百日咳菌の研究

第五編 百日咳の経過と菌型との関係

春日 忠善 中瀬 安清 浮島 光威 高津 邦芳

北里研究所 (部長 春日忠善)

〔受付: 2月27日 1954年〕

百日咳菌の菌型問題は比較的分離後継代数の少ない菌株と人工培養を重ねた保存株との間又は保存株相互の間に付いて研究されて来た。私共は第一編¹⁾及び第二編²⁾で集落所見上区別し難い smooth 集落の百日咳菌が抗原構造上 I 型, III 型及び移行型に分類されることを述べた。この様な抗原構造を異にする菌が患者の病巣にも存するものであろうか?, 又もし存するとすれば百日咳の感染や経過と如何なる関係があるであろうか? 等を主眼としたのがこの研究である。

I. 研究の方法

種々の発病日の百日咳様患児の鼻咽腔後壁及び咽頭粘膜面より得た材料を直ちに Bordet-Gengou 平板に塗り, 37°C 3日間培養した。これを30倍双眼顕微鏡下にて観察しつゝ集落所見とスライド予備凝集にて疑わしい集落を可及的10個宛鉤菌した。この際第一編に述べた各型の集落の特徴に留意し, もし混在するならばこれ等総ての型の菌が鉤菌される様につとめた。これをB-G斜面に1代純培養し, L S及びO因子血清との凝集反応によつて菌型を決定した。

II. 患者より菌株の分離

1952年5月より10月迄の期間に, 通信病院及び赤十字病院小児科に於ける百日咳様患者216名に付いて, 経過日を異にして可及的頻回分離を試み, 延860例に達した。この中菌の分離された者は216名中91名(42%), 延860例中187例(21%)であつた。

III. 病歴日と菌型との関係

同一患者から同時に分離された各集落の菌型を見るに表1の如く187例中I型菌のみ検出された者が51%で他はI型と移行型の混合19%, 移行型のみ30%, 移行型とIII型の混合(3%)であつた。

これを発病よりの経過日数別に見るとI型のみ検出された者と移行型及びIII型の検出された者との割合は5日以内では9:4であつたが6~10日では39:22となり

第1表 菌を分類した病歴日と菌型

病歴日	例数	I型	I移行型	移行型	移行III型	不詳	I移行型
1~5	13	9	1	3			9:4
6~10	61	39	9	11		2	39:22
11~20	73	34	5	30	4		34:39
21~30	17	5	6	5	1		5:12
31~	19	7	4	7	1		7:12
不詳	4	3	1				3:1
計	187	97	26	56	6	2	97:88
%	100	51	19	30	3	1	52:48

11~20日の者では34:39, 21日以後の者では12:24であつた。即ち発病の初期にはI型のみ検出される者が多く, 経過の進むに従つて移行型及びIII型の検出される者が多かつた。

IV 同一患者から病歴日を異にして分離された菌の菌型

同一患者から病歴日を異にして分離した成績(図1)を見るに全経過を通じI型のみ分離された者が39例中12例(31%), 始めI型のみで後に移行型を混じ又は移行型のみとなり或いは移行型とIII型を混じたものが17例(44%), 終始I型に移行型を混じ又は移行型のみ検出された者10例(26%)であつた。即ちこの試験でも初めI型のみであつた患者が経過の進むに従つて移行型及びIII型に変化する者の多いことを示した。

終始移行型を混じ又は移行型のみであつた10例が移行型による感染であつたか否かはこれだけでは不明であ

KASUGA Tadayoshi, NAKASE Yasukiyo UKI-SHIMA Koi and TAKATSU Kuniyoshi: Studies on Haemophilus pertussis, Part 5 The types of H. pertussis isolated from various progress of Whooping-cough, Kitasato Institute. — Jap. J. of Bact. 9(5), 345-347, 1954.

図 1 同一患者に於ける病歴日と分離された菌型

ろう。

V. 移行型による感染

第三編りで述べた様に I 型は菌力及び毒性が常に高く、移行型は変異の程度によって I 型に近い菌力及び毒性のものから III 型に近いもの迄あり、III 型は極めて弱い。

自然の流行に於て移行型が極めて高率に排泄されることは II, III に述べた如くであるが、この際移行型による感染は起らないであらうか。

このためには感染経路の略明かな家族内二次感染に於て、先に発症した者の排泄する菌型が移行型に変化してから潜伏期凡そ 1 週間以上を経て発症した例の菌型を調べることが一つの方法であらう。この研究中家族内二次感染を起した例が 10 例あつたが、いずれも一次感染(先に発病した)者が I 型菌を排菌している時期の 1 週以内に発症した例のみであつて、二次感染者より発病後始めて分離した菌はいずれも I 型菌であつた。従つて移行型による感染の有無を知ることは出来なかつた。表 1 に於て発病 10 日以内に移行型のみ検出された 14 例の分離病歴日は、発病 3 日目 1 例、4 日目 2 例、6 日目 2 例、7 日目 1 例、8 日目 6 例、10 日目 2 例であつた。図 1 で I 型の感染を受け体内で移行型変異を起したと考えられる例は最も早いもので発病 8 日目であつた。このことからすると発病 3～4 日目に移行型のみ分離された例の如きは移行型による感染ではあるまいか。

VI. Bordet Gengue 培地継代による変異性の相違

発病後の経過日を異にして分離した I 型菌は B-G 培地継代によつて I 型→移行型→III 型に変異するのに相異あるかを検した。即ち各 I 型菌を B-G 斜面に 37°C に 3 日置きに 30 代継代し、各代に於ける斜面菌を L S

及び O 因子血清と凝集反応を行つて菌型を定めた。

a) 分離病歴日と変異の難易

発病 1～5 日目迄に分離した I 型菌 10 株中 7 株 (70%) は B-G 継代 30 代に至るも I 型を保持したが、6～10 日目に分離した菌では 28 株中 9 株 (32%)、11 日目以降に分離した菌では 40 株中僅かに 7 株 (18%) が I 型を保持したに過ぎなかつた。(表 2)

第 2 表 分離した病歴日と B-G 培地 30 代継代による I 型菌の変異

菌を分離した病歴日	I 型を保持	移行型に変異		III 型に変異	
	株数	株数	変異した平均代数	株数	変異した平均代数
1～5	7	3	13代		
6～10	9	19	9代	4	13代
11～15	4	19	8代	1	11代
16～20	2	7	8代	2	27代
21～30	1	7	7代		
計	23	55		7	

移行型になる迄の平均継代数も発病 6 日目以後に分離した菌の方が、夫れ以前に分離した菌よりも短かつた。又発病 6 日目以後に分離した菌は継代によつて移行型より更に進んで III 型に変化したものが 7 株あつた。

即ち発病 5 日以内に分離された I 型菌は、それ以後に分離された I 型菌より B-G 培地継代に対し安定な様である。

b) 同一患者より病歴日を異にして分離した菌の変異性

同一患者より病歴日を異にして分離した I 型菌相互の B-G 継代による変異性を比較するに、就れの例に於ても早い病歴日に分離した菌よりも遅い病歴日に分離した菌の方が継代数の少ない中に移行型に変化した。

即ちこの際も (a) と同じことが云える。更に患児の全経過を通じて I 型菌のみ検出された例では、5 例中 3 例に於て 13～20 病歴日と云う比較的遅い病歴日に分離された I 型菌が B-G 30 代継代によつても尚 I 型を保持した。

即ち全経過を通じ I 型菌のみ検出される如き患児の菌は、分離病歴日の早い遅いに係らず、B-G 継代に対しても安定な様である。

VII 考 按

1) 新しく分離した I 型菌を B-G に継代した際に斜面の菌が移行型の反応を示すに至る平均代数は (表 2) 8～6 代であつた。このことから適当に製造された B-G 培

地に分離し、1代純培養した2代菌又は3代菌は病巣の菌の菌型を示すと見做されるであろう。

私共の成績では約51%がI型のみであるに過ぎずして、その他はI型と移行型の混合、移行型のみ又は移行型とIII型の混合であつた。この様に病巣の菌が単一型でないことは新しい知見であつて、種々の面に重大な関係を持つものである。

2) 私共は第4報¹⁾でI型菌ワクチンはマウス脳内感染に対し強い免疫性を有するが、III型菌ワクチンにはこれを認め得ず、移行型ワクチンは両者の間の種々の程度の力価を示すことを報告した。新鮮分離菌がこの実験成績の如く約50%もが移行型(時にはIII型)であることは、新鮮分離菌でつくつたワクチンの力価に差のあると云うこれ迄の諸家の成績(第一編文献参照)の一因であると思われる。

3) 発病の初期にはI型菌が多く、経過の進むに従つて移行型の多くなる(表1)こと、同一患者で始めI型であつた者が経過の進むに従つて移行型、時にはIII型に変化する(図1)ことは、体内に於てI型→移行型→III型変異即ち有莢膜菌→無莢膜菌への変異の行われることを示している。この現象はチフス回復期にV→W変異の見られること、ペストの無毒生菌ワクチン注射によつて強い免疫状態にあるモルモットにEnvelopeを有する強毒菌を注射すると、その菌はEnvelopeを失つた変異を体内で起すことなど同じ機序によるものと解される。又発病の初期に分離したI型菌よりも遅れて分離し

た菌の方がB-G培地継代によつて速かにI型→移行型変異を起すのは、遅れて分離した菌の方がより多く感染免疫の影響を受けているためではなからうか。

4) I型菌による感染の多いことは、発病早期にI型菌の多い(5日以内70%)ことで知れる。然し発病10日以後に於て移行型の菌を排泄する患者が半数以上も存することは移行型による感染の可能性を考えさせる。

図1でI型の感染を受け、体内で移行型変異を起したと解される例は最も早いもので発病8日目であつた。従つて表1で発病3、4日目に既に移行型の菌のみ検出された例の如きは移行型による感染ではなからうか。

VIII 結 語

患児の病巣からもI型菌の外、極めて高率に移行型及びIII型菌が分離された。

発病は初期にはI型菌が多く、経過の進むに従つて移行型菌の検出率が多くなつた。

病巣にある移行型菌及びIII型菌はI型菌が体内で変異したものと移行型菌による感染と思われるものとがあつた。

患者より材料の採取及び培養を担当して下さつた通信病院浜田医長、篠田、藤野両学士及び赤十字病院内藤医長、丸山学士に深謝する。

文 献

- 1) 春日忠善, 外三名: 日本細菌誌, 8, 841, 1953.
- 2) 春日忠善, 外三名: 日本細菌誌, 8, 927, 1953.
- 3) 春日忠善, 外三名: 日本細菌誌, 9, 53, 1954,
- 4) 春日忠善, 外三名: 日本細菌誌, 9, 99, 1954,