



Title	動物体通過に伴うH37Rv保存株の菌力変動について
Author(s)	横井, 敏夫; YOKOI, Toshio; 平野, 五郎 他
Description	
Citation	結核の研究, 7, 26-31
Issue Date	1958-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26627
Type	departmental bulletin paper
File Information	7_P26-31.pdf



動物体通過に伴う H₃₇R_v 保存株の菌力変動について

横井敏夫 平野五郎

石山司浪 澄川栄一郎

(北海道大学結核研究所細菌部 主任：大原 達教授)

緒 言

如何なる細菌も、長期間に亘つて生活条件に変化を与えられた場合その菌力に変化を来たすが、特にこの事が著しいのは結核菌である。わが国の如く結核が蔓延している社会的状態にあつては、成人の大部分がツ反応陽性を示す事からも窺われる如く、結核菌は絶えず人間から人間へと感染して人体通過を繰り返して行く。このような菌と、研究室において人工培地に植え継がれていつた菌との間には、菌力においてのみならず物質代謝その他の面においても当然何らかの差が現われるであろう事は想像に難くない。

一般に患者より分離された直後の結核菌は強力な菌力を示すが、これが人工培地上に長期間継代されて行くうちに次第にその菌力が失われて行く事は屢々観察されている。例えばわれわれの研究室において好んで用いられる人型菌仲野株は、ひとたび海狸を通過すると菌力を恢復するが、人工培地継代によつて容易に毒力の低下を来たすし、往々にして実験に失敗する事すら経験している。然し反対に人工培地継代によつてその菌力を失にくい菌株もあり、その代表的なものとしては H₃₇R_v 株、H₂ 株などが挙げられている。但しこれら両菌株の示す菌力の安定性についても意見は必ずしも一致していない。例えば橋本等¹⁾は Glycerin bouillon 馬鈴薯培地及び Sauton 培地に培養した両菌株について海狸に対する菌力を調べた結果、その菌力には予測することの出来ない変動のある事を認め、これと反対に Youmans ら²⁾³⁾は H₃₇R_v 株の動物通過実験によつてその菌力が極めて安定したものである事を報告している。即ち Youmans ら²⁾³⁾は、H₃₇R_v 株の一定量を純系マウス Strong A 株に毎月静脈内接種し、マウス体内を通過しつつそれぞれの median survival time を計算して行つた。これを5カ年間続けた結果、総計177群、2000匹以上のマウスにおける median survival time は constant に10日より16日迄の間であり、マウス体内通過によつて菌力は上昇もしないし減弱もしない

ことを知つた。これらの成績を統計学的に検討して見ても、各年毎の median survival time と各月毎のそれとの間には差を認めることが出来ず、H₃₇R_v 株の菌力は5年間の実験期間中を通じ相当に安定したものであると述べて居る。

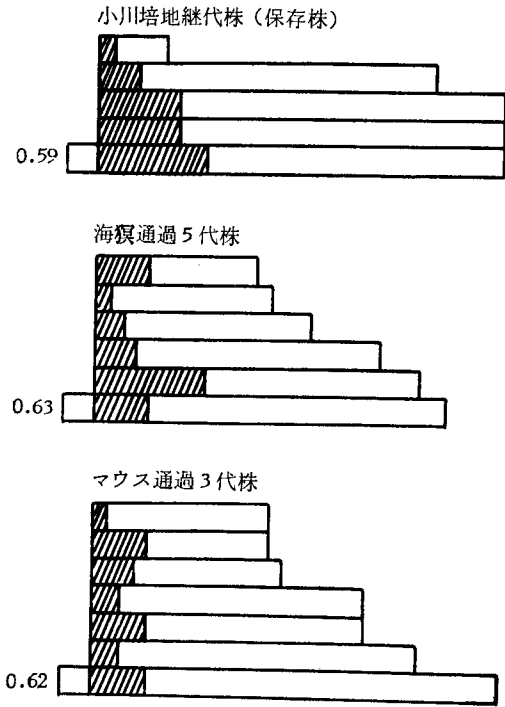
次に考えなければならないのは1つの菌株中に含まれる population の問題である。人工培地上に増殖した菌は数多い colony から構成されているが、個々の colony の持つ菌力は一定しているか否か、更に各 colony 中の個々の菌のそれは一定なものであるか否かについては疑問があり、金井⁴⁾、橋本ら⁵⁾は SM 耐性菌についてこの問題を追求している。即ち彼等は人工培地に結核菌を接種して one step で SM 耐性菌の僅少な colony を得、各 colony の持つ菌力を検索した。その結果金井⁴⁾は個々の菌を強毒型と不安定弱毒型(動物体1代通過により菌力が恢復して強毒型となるもの)とに分け、橋本等も皮下からの侵入力において菌力を異にする2つの群を観察し、何れも母株は種々菌力の異なる細胞の集合体であると述べている。このような strain の継代において、毒力の弱い細胞の増殖力が優勢となつて来れば全体としては当然菌力が落ちて来る。かかる strain の菌力を元にもどすためには一般に動物体通過が最も良い方法とされている。この際の菌力の増強は、使用した動物以外のものに対しても昂まつて行く場合もあるし、それが通過した動物だけに限られる場合もある。又時には他の動物に対しては反つて菌力が減弱することもある。例えば狂犬病の固定毒、種痘の痘苗などはそれぞれ家兎、牛を継代したもので、これらの動物に対しては毒力が増強するが、人間に対しては毒力の減弱することを利用して Vaccination に使用されているのは衆知の如くである。

著者は研究室保存の H₃₇R_v 株について、これが動物体通過によつて菌力の上昇を来たすか否かを調べると共に、上述の諸点を考慮して人型菌に感受性の高い海狸と比較的感受性の低いマウスとを通過した場合の菌力を比較して見た。われわれの H₃₇R_v 保存株は長い間の人工培地継

なかつた。

(ii) 保存株, 海猿通過株, マウス通過株の海猿に対する菌力の比較 (第1表, 第2図)。21頭の子猿を3群に分ち, 各7頭宛にそれぞれ保存株, 海猿通過5代株, マウス通過3代株を接種して8週後にその病変を調べた。第1

第2図 各継代株による海猿病変のヒストグラム



第2表 保存株及び各継代株接種海猿脾における生菌数の比較 (8週後定量培養成績)

接種菌	接種生菌数	屠殺日時	各動物の脾10mg中の生菌数
保存株	5.0×10^4	1955 12.16	203, 101, 50, 3.7, 2.3,
海猿通過2代株	5.7×10^4	1956 7.4	43, 2, 0.3, 0, 0,
海猿通過3代株	9.7×10^4	1956 10.15	133, 55, 17.3, 3.7, 0,
海猿通過4代株	12×10^4	1957 1.7	11.7, 3, 1, 0.3, 0,
海猿通過5代株	1.7×10^4	1957 4.24	103, 29, 17, 0.7, 0, 0,
マウス通過3代株	3.3×10^4	1957 4.24	40, 7.7, 7, 3.3, 2, 1.3,
保存株	1.6×10^4	1957 4.24	1240, 397, 36, 9.7, 0.7,

表はその結果を示すものであり, これをヒストグラムによつて示したのが第2図である。第1表 (又は第2図) を見るに, 病変の程度においても, 脾の平均重量においても, 又体重の減少度においても特に指摘し得るような相違点は見いだせなかつた。即ち結核に対し稍感受性の低いマウスを3代通過してもこれが海猿に対する毒力を減弱させるような事はなく, 又マウス通過, 海猿通過によつて保存株の毒力が増強したようにも思われなかつた。

(iii) 保存株及び各継代株接種海猿脾における生菌数の比較 (第2表)。保存株及び各継代株をそれぞれ5頭乃至6頭の子猿に接種し8週後に屠殺して脾臓内の生菌数を定量培養によつて測定した。結果は第2表に示す如くである。この表の如く, 接種生菌数は全例において大体一定量を注射し得たので, これらが海猿体内で如何に増殖するかはその菌力を窺う上に興味あることであつたが, 結果においては目立つ差違を見だし得なかつた。唯 1957年3月に保存株を接種した海猿のうち1頭だけ, 脾内において10mg中1240と云う特に著しい増殖を認めたが, 動物の個体差と定量培養に避けられない実験誤差とを考慮に入れるならば, 第2表の成績は, 保存株及び各継代株間に海猿体内での増殖力において相違するものがない事を示しているものと考えてよからう。

2) マウス通過株の菌力について (第3表)

マウスを使用した主目的は勿論通過菌株を得るためであるが, この他に, かかる通過菌株はマウスに対して菌力

第3表 各継代株及び保存株感染マウス肺における生菌数の比較 (感染8週後屠殺)

動物通過代	接種生菌数	屠殺日時	各動物の肺1mg中の生菌数
保存株	5.7×10^5	1956 7.4	9.7, 6.7, 6.2, 3.7, 1.7,
マウス通過1代株	5.4×10^5	1956 10.15	85, 79.7, 77.7, 70, 22, 17.7, 7, 5,
マウス通過2代株	9.3×10^5	1957 1.7	12.3, 10, 7, 4.7, 4.3, 4, 1.3, 0.3, 0, 0,
マウス通過3代株	3.3×10^5	1957 4.24	9.7, 9.3, 2.7, 1, 0, 0.7, 0.7, 0.3, 0, 0, 0,
海猿通過5代株	1.7×10^5	1957 4.24	21.3, 1, 1, 0.3, 0.3, 0, 0, 0, 0,
保存株	1.6×10^5	1957 4.24	64.3, 5.7, 1.7, 1, 0.7, 0.7, 0.3, 0, 0,

は増強しても海猿に対してはあるいは菌力が減弱するかも知れないと云う期待があつた。この点については前述の如く期待は裏切られたのであるが, マウスに対しても亦, 菌力の変化は認められなかつた。第3表に示す如くマウス通

過1代から3代までの菌株及び保存株をマウスに接種し、8週後に殺して肺1mg中の生菌数を調べた結果は、何れの strain も同じ程度の菌力を持つている事が観察された。即ちマウスを3代通過しても菌力は上昇せず、保存株のそれと差を認めなかつた。

又第3表においては海狸を5代通過した菌がマウスに対しどの様な菌力を示すかについても調べて見たが、やはり他の継代株との間に差は認められていない。

尚マウス通過株の海狸に対する菌力については前項に述べた。

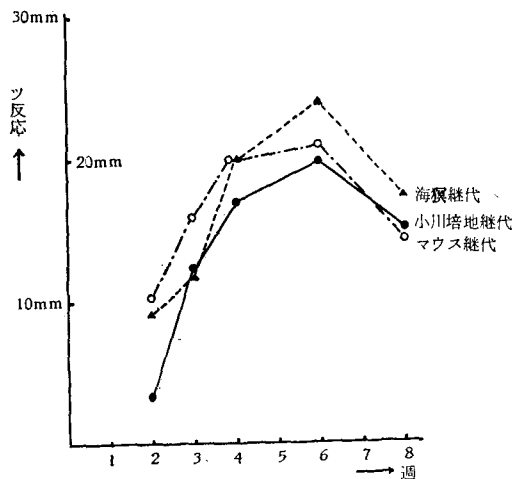
3) 保存株の菌力について

これまでに掲げた図及び表から明らかなように、動物体内を数回通過した菌株と人工培地継代の保存株との間には、菌力において差があるような成績は見られなかつた。

4) 動物通過株及び保存株接種海狸におけるツ反応の推移 (第3図)。

この実験において保存株・海狸通過株及びマウス通過株の接種を受けた海狸は、すべて毎週ツ反応を検査したが、その成績の平均値を求めて図示したものが第3図である。図の如くツ反応は各群とも2週頃より次第に増強し、

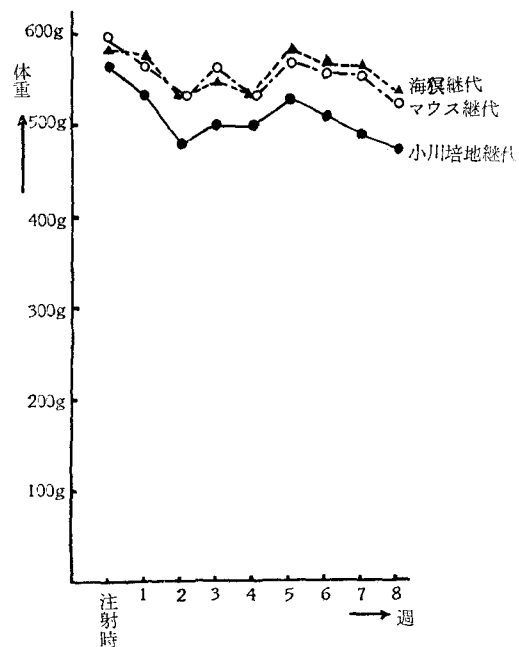
第3図 各種継代株接種海狸におけるツ反応の推移



6週後において各群とも最大値を示した。ツ反応推移の傾向は各群大体同じであるが、保存株接種群は幾分その現われ方が弱いようであつた。

5) 動物通過株及び保存株接種海狸における体重の推移 (第4図)。

第4図 動物通過株及び保存株接種海狸における体重の推移



上と同様に体重の平均値を図示したものが第4図である。即ち海狸通過株及びマウス通過株を接種された海狸は全く同じ体重の推移を示し、保存株接種群は上記2群に比し幾らか体重減少の程度が高いように思われたが、全体的に見て有為な差は認められていない。

考 察

以上の実験成績を通覧して見るに、H₃₇R_v 株は数代動物体内を通過せしめても、人工培地継代の保存株に較べその菌力は少しも増強していないことを知つた。この実験に使用された H₃₇R_v 株は 1951 年に予研より分与されてから現在に至るまで約6年間小川培地に継代されたものであるが、その菌力は当研究所保存の他の人型菌株と比較して稍弱いように思われる。勿論海狸に進行性の病変を起すし、動物体内における菌の増殖状態から見ても毒力株であることは間違いないが、分離当初の本株は強毒株として知られて居り、今日外国文献などに見られる H₃₇R_v 株の毒力などから推論して見ても、著者の使用した H₃₇R_v 株には人工培地継代中に弱毒化した形跡が多分に認められる。

H₃₇R_v 株のみに限らず他の菌株にあつてもその菌力の安定度は継代に用いられた培地、植継ぎの期間、その他

種々の条件によつて異つて来る事は容易に想像し得る。従つて今日世界各国に保存されている $H_{37} R_v$ 株がすべて同じ菌力を持つものとは勿論考えられない。現に同じ $H_{37} R_v$ 株でも $H_{37} R_v$ (Bloch) は強毒株であり $H_{37} R_v$ (Dubos) は弱毒株であることが知られている。但し人工培地継代中における菌力の変動に関してもいろいろ問題がある。例えば Ratcliff 等⁶⁾ は $H_{37} R_v$ 株を液体培地に継代中、突然原因なしに弱毒化するのを見たが、同じ条件で培養を続けて行くうちに、再びその菌力はもとに復帰したと報告している。

緒言の項で述べた SM 耐性菌についての実験成績からも窺えるように、 $H_{37} R_v$ 株の場合も弱毒、強毒種々程度を異にする細胞(菌)の集合体からこれが構成されている事は十分考慮され得る。従つて何れの細胞がより強力な発育を営むかによつて、長い間には全体としての毒力が変つたものになつて来る可能性は否定出来ない。一般に母株が菌力を異にする細胞の集合体である場合、感受性動物の体内を通過する事によつて strain 全体としての毒力が増強して来ることは衆知の事実である。2, 3 の例を拾つて見ると、Smithburn⁷⁾ は人工培地継代中に菌力の自然低下を来たした人型菌 Saranac $H_{37} R_v$ 株、牛型 Saranac BI 株を海狸脳内の数代通過によつて菌力を上昇せしめ得たと報告し、Willis⁸⁾ は毒力結核菌一株を約 8 年間に亘り海狸体内を 50 代通過させた結果、通過株の毒力は原株に比較して幾分上昇した事を認め、一方、同株を人工培地に 8 年間継代したものは著明に毒力が低下していたと述べている。

このように動物体通過によつて毒力が増強される機作については、生体のもつている防衛力のために弱毒細胞は死滅せしめられ、個体の抵抗に打ち勝つた強毒細胞のみが増殖する為に全体としての菌力が増強すると云う淘汰説が略々定説となつている。然しこの他にも動物個体に細菌の毒力を高める未知の要素があるかも知れず、又菌の方にも生体内の何らかの作用を受けてはじめて毒力を発揮し得るような潜在的な部分があるのかも知れないが、この種の研究は未だ殆んど行われていない。

然しながら感受性動物通過によつて菌力が上昇すると云う事は、必ずしも constant に見られることではない。菌株によつては如何に動物体内を通過しても菌力の上昇を来たさないものがある。例えば Willis⁸⁾、Cumming⁹⁾ も報告している如く、人工培地継代によつて自然に菌力の低下した RI 株は、その菌力を上昇せしむべく 10 年間も海狸体内を通過させて見たが、これによつて少しも菌力を昂める事は出来なかつたし、衆知の如く BCG においても動物体通過によつて毒力を恢復せしめようと云う試みはず

べて失敗に終つている。

一方また、結核菌は長期間人工培地に継代されても必ずしも菌力低下を来たすものとは限らない。前述の如く $H_{37} R_v$ 株を 5 年以上も人工培地に継代した Youmans 等²⁾の研究によれば、この長い期間にマウスに対する菌力が減少したと云う成績は少しも認められていないからである。

著者が本実験に使用した $H_{37} R_v$ 株は前述の如く 6 年間も人工培地を継代し、その間一度も動物体内を通過せしめたことのないものであつたので、当然ある程度の菌力低下が予想され、従つてこれを海狸に継代する事によつて恐らくはかなりの菌力上昇が見られるのではないかと期待したものであつたが、この実験は既に見て来た如く菌力の極めて安定している事を認める結果に終つた。著者の行つた動物体内通過は 1 年半に亘るものであつたが、これだけの動物通過ではまだ不十分で菌力の上昇を見るためには更に長期間に亘つて継代を繰り返さなければならないのかも知れない。然し Youmans 等の 5 年間に及ぶ継代によつても菌力は不変であつたし、仮令 1 年半の継代にもせよ、若し菌力が上昇し得るものならば、増強の程度はどうであれ多少なりとも上昇のきざしを見せて然るべきではないだろうか? 先にも述べたように同じ人型菌でも仲野株は人工培地継代によつて容易に毒力は下るし、又一回の動物通過によつて可なり著明にこれが恢復する。

以上の実験成績から見れば $H_{37} R_v$ 株の菌力は極めて安定したものであり、仲野株のそれは極めて不安定なものである。然らばこのように菌力の安定であり不安定であることがそれぞれの菌の strain として持つている特性なのであろうか? われわれはこれに対し甚だ疑問無きを得ない。何となれば、これには分離された当初より人工培地に植え継がれて来た期間の長短がかなりの関係を持つているように思われるからである。一般に患者から新しく結核菌を分離した場合、その中に含まれる個々の細胞(菌)は皆一様の菌力を持つている訳ではなく、その population は菌力を異にする様々な細胞から構成されているに違いない。今これを強弱唯二種類の細胞から構成されていると仮定しよう。想像が許されるならば、このような strain を人工培地に植え継いで行つた場合菌力の強い方の細胞が次第に影をひそめ、弱い方の細胞の発育が優勢になつて来る可能性は十分考えられる。この場合継代期間の長短によつて強弱両細胞の比率は勿論異なる。而して強い方の細胞がある程度以上残つている strain を動物通過した場合、前述した selection によつて全体の菌力上昇を来たすことは大いにあり得よう。然し人工培地継代の結果遂に強い方の細胞が消失してしまつた場合には最早如何に動物通過を繰

り返しても菌力の恢復を期待することは出来ないのではなからうか？ このような strain の菌力はこの段階において安定する。ECG についても同様な想像が可能である。云うまでもなく ECG の原株は牛型毒力菌であつたが、牛胆汁を含んだ馬鈴薯培地にこれを 13 年間 250 代もの長期に亘つて継代し続けた結果、現在の如き弱毒株となつたものである。かかる長期の継代によつて原株に含まれていた強毒の細胞が遂に全く消失してしまつたとすれば今日に至つて如何に動物通過を繰り返しても最早毒力の恢復を見ないことは寧ろ当然と思われる。

さて H₃₇ R_v 株は謂わば歴史の古い菌である。本実験に用いられた同株がわれわれの手に入るまでにどのような取り扱いを受けて来たかは知るよしもないが、この菌は長い間培地から培地へと植え継がれているうちにすつかりその菌力が固定してしまつたものと思われる。かかる strain の菌力がそれなりに安定している事は別に不思議でない。これに反しわれわれの屢々用いる 仲野株は分離してから H₃₇ R_v 株程時日を経していない。この株の population は未だ強弱色々の細胞から成つて居り、従つて容易に菌力が落ちやすく又容易に菌力が上り得るのではなからうか？

然しながら人工培地継代に伴う菌力の変動に関しては上述とは反対の可能性も亦考える必要がある。即ち強弱 2 種の細胞から成る strain のうちには人工培地継代中弱い方が次第に減少し強い細胞のみが残るような strain もあり得るであろう。このような strain は初めから動物通過によつてそれ以上菌力は上らないであろうし、又人工培地継代によつて菌力が減少もしないであろう。かかる strain は特性的に菌力の安定な strain と云つて差支えあるまい。然し一般に雑草や雑菌がはびこり易い如く生物学的な通則から見てこのような可能性は可なり少いではなからうか？

要するに問題は population の如何にかかつて居るようと思われる。Population の均一な strain は菌力が安定して居るであろうし、不均一なものは菌力が当然不安定であろう。然し以上述べた考察は単個菌培養による極めて労多き研究によつてはじめて実証されるものであり、菌力に関する真の mechanism については今後の研究に俟つ所甚だ大と云うべきである。

一方又結核菌の菌力を生体内通過によつて弱め得るか否かについても多少議論の余地がある。一般的に云えば狂犬病ワクチンや痘苗のように感受性の低い動物を通過せしめる事によつて菌力の弱まる場合もあるが、結核菌の場合これに反対するものとしては Küster¹⁰⁾ の実験がある。彼は哺乳動物型結核菌を 1 年以上も冷血動物に継代したあ

とで体内より分離した菌について培養上の性質や菌力を調べたが、どの分離菌も元の性状を失つていなくなつたと述べている。他方 Griffith¹¹⁾ は狼瘡の 5 例から強毒な牛型菌を分離したが、数年後になつて同じ例の病巣から分離された菌は弱毒化しているのを見た。これは同一生体内で毒力が弱められた例のようにも見えるが、果して菌株全体が弱毒化したのか、或いは population 中の弱毒菌を偶然発見したものかは不明である。何れにせよ同一生体内又は感受性を異にする個体内において結核菌が弱毒化するか否かについて決定的な事は分つていない。それも菌力自体が極めて複雑な因子によつて決定されるものであり、その本質を追求することは将来の細菌学、病理学に残された大きな問題である。

結 語

人工培地を 6 年間継代した H₃₇ R_v の保存株について海狸及びマウス体内通過によりその菌力が上昇するか否かを調べたが、1 年半動物体内を通過した菌株と保存株との間には菌力において相違が認められなかつた。従つて本報に用いられた H₃₇ R_v 株の菌力は安定したものと見做し得る。尚また結核に対し感受性の低いマウスを通過する事によつてその菌力が減弱すると云うような傾向も認められなかつた。

引用文献

- 1) 橋本達一郎, 他 1 : 結核, 29—6, 221—224, 1954.
- 2) Youmans, G. P. and Youmans, A. S. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 90. 238—240, 1955.
- 3) Youmans, A. S. and Youmans, G. P. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 92—3, 566—569, 1956.
- 4) 金井興美 : 日本細菌学雑誌 10—9, 791—797, 1955.
- 5) 橋本達一郎他 1 : 医学と生物学, 31—3, 115—119, 昭 29.
- 6) Ratcliffe, H. L. and Merrick, O. V. : Am. J. Path. 33—1, 107—129. 1957.
- 7) Smithburn, K. C. : Am. Rev. Tuberc. 39, 116—127, 1937.
- 8) Willis, H. S. : Am. Rev. Tuberc. 28. 884—898. 1933.
- 9) Cummings, D. E. : Am. Rev. Tuberc. 26. 369—378. 1932.
- 10) Küster, E. : リツチ著, 結核の病理発生論 (隈部英雄訳) 69 頁より引用.
- 11) Griffith, A. S. : Jour. State. Med. 30. 139. 1922.