

核酸による溶血性連鎖状球菌の溶血毒 増産現象の発見について

岡 本 肇

ある種の連鎖状球菌が赤血球溶解の性質を有することを初めて観察したのは Marmorek (1895年)であつて、以来約40年溶連菌溶血毒素 (Streptolysin) 問題に関しては多数の学者が溶連菌による疾病 (丹毒, 敗血症, 産褥熱, 猩紅熱等) との関連性において, あらゆる方面から攻撃してきたのでありますが, 何分溶血毒を多量に生産せしめる適当な培養法がなかつたために実験は遅々として進まず, あまつさえ 1938年 Todd によつて本菌の産出する溶血毒素には Streptolysin S (Oxygen-stable hemolysin) と Streptolysin O (Oxygen-labile hemolysin)* との二種類があることが指摘せられるに及んで問題は一層複雑化し, 本毒素の化学的本質問題のごときはこれを攻究しようにもその方途がないといつた状態でありました。

ところが, 翌 1939年著者が溶連菌の連鎖形成に及ぼす諸種生体物質の影響の研究を続行中, たまたま酵母核酸 (Ribonucleic acid) を加えた培養基で溶連菌の溶血毒産出が驚異的に高まつていることを観察しましたことから, ここにはしなくも, Streptolysin S (St-S) 難問題解明への途がひらけ, しかもこれを契機として核酸の生化学的研究分野に新生面が展開されてきたのであります。すなわち著者はこの核酸による溶連菌の溶血毒増産現象 (以下これを核酸効果とも略記) の発見と同時に本現象の意義と価値の究明に着手したわけであります。爾来18年, まず St-S 産出条件の吟味から始められたこの研究は, 間もなく伊藤氏をはじめ多くの協力研究者を得まして, 核酸効果の特異性の実証, St-S の分離精製法の攻究, St-S の生理, 薬理, 化学的性状の追究, St-S 中毒に対する対策の確立, St-S の病因論的考察, 更には核酸効果を逆用して核酸の生化学的研究へ進むといった具合にはなほだ快適に進歩したのであります。すなわち

1) St-S 増産は酵母核酸のみならず, 肝・腎から分離せられた Ribo-核酸によつても起ることを実証し, また Ribo-核酸存在下における溶血毒の増産は β -型溶連菌を対象とした場合においてのみ見られる特異現象であつて, 諸他のグラム陽, 陰性菌を対象としたものでは陰性成績に終ることを確めたこと,

2) St-S 増産に対する Ribo-核酸の至適濃度は大体 1%前後であつて, この好適条件下で溶連菌を培養すると普通ブイヨン培養におけるよりも 5,000 倍も多く St-S を含有する培溶液が得られ

* この間 Streptolysin O に対する研究も Herbert, Todd, Bernheimer 等の努力によつて相当進んだのであるが, その分離精製の方は未だ尚単に濃縮化されたという程度に過ぎない。勿論本毒素は核酸には全く無関係性である。

ることを確めたこと、

3) 溶連菌の1%酵母核酸加ブイオン培養液を原料として、これから St-S を殆ど純粋状態に分離することに成功したこと、

4) この精製 St-S は溶血性物質としては正に強力無比であつて、その溶血限界濃度は2億分の1にも及ぶことが立証され、ここに溶連菌が従来夢想だにされなかつた程猛毒性の溶血毒素を産出しているものであることが明示されたこと、また

5) かくして得られた精製 St-S の理・化学的性状について緻密な検索を行つて、本毒素の本質が Polynucleotide 構成質である(すなわち Ribo-核酸が溶連菌の特異性能によつて溶血性を附与された核酸に転化する)との結論に到達したこと、

6) Trypan blue 系色素の一群が試験管内並びに生体内で St-S に対し特異的に強力な解毒作用(St-S は非抗原性で本毒素の中毒には血清療法の可能性がない)を発揮することを発見したこと、

7) 溶連菌生菌体(いわゆる Resting bacteria)を単に核酸溶液に作用せしめるだけで St-S が迅速にしかも大量に産生されることを実証し、本毒素の産生機序を生化学的方面より追究したこと、

8) 2,2'-Dihydroxyazobenzene 及びその Tetrabromo-誘導体が核酸効果に対する強力なる阻害物質であることを見出したこと、

9) St-S には銀イオンと反応して可溶性錯塩を形成する特性があり、これによつて元来熱に対してはなほだしく不安定な本毒素が完全に耐熱状態となることを発見したこと、

10) 核酸の化学構成とその St-S 増産に対する効果性との間に密接な関係があることを明らかにし、核酸化学の研究分野へ核酸効果を指標とする生物学的検索方法を新に導入したこと、などはその最重要成果といえましょう。

しかも核酸効果の研究発表はいち早く内外学者の注目するところとなり、日本では細谷教授(伝研)、江上教授(名大)、Barksdale(406 医学総合研究所)等によつて、また米国では Bernheimer 一派(New York University)、Pillemer(Western Reserve University)、Petermann 等によつて追試せられ、これらの研究室をはじめとして、その他からも本研究を基礎とした精緻な業績が相次いで発表せられるに至つたのであります。

さて、核酸効果の発見がこのように内外学者の注目の的となるに至りました理由の一つは、もちろん上記のように、この発見によつて直接的には細菌毒素である St-S の研究に飛躍的な進展が招来されたことに因るのであります。他面本研究が核酸の生化学的研究分野において更に深い意義を包蔵しているからといえるのであります。すなわち核酸は1871年 Miescher によつて初めて細胞核の構成成分として分離せられたのであります。以来 Kossel, Steudel, Feulgen, Hammarsten, Levene, Gulland 等の努力によつてその化学的組成が次第に明らかとなり、これは Polynucleotide 構成のはなほだ複雑な高分子化合物であり、構成成分の Pentose の種類によつて Ribo-及び Desoxyribo-核酸に二大別されること、動植物を通じて細胞核のみならず原形質内にも存在することなどが知られてきました。時あたかもビタミン、酵素化学を中心とする生化学は目覚ましい躍進途

上にあつて、その花々しい業績の結果、生命現象を左右する種々の酵素の Coenzyme (例えば Codehydrase I 及び II, Riboflavine-燐酸, Flavine-adenine dinucleotide 等) が相次いで分離せられ、いずれも Mono-あるいは Di-nucleotide に属する物質であることが明らかとなるに及んで核酸系化合物は一躍生化学者の重大関心事となつてきました。

ところが、このような輝かしい業績にもかかわらず Polynucleotide 型核酸にあつては、これが生物学上重要な意義 (Biological importance) を有するに違いないとは従来いろいろと推測・強調せられてきたところでありますが、さてその生物学的活性 (Biological activity) 如何という問題になりますと何ら確たる直接的証明をもたらしたものがなく、依然として暗中摸索ただ細胞中に存在する核酸を形態学的に顕微鏡下で観察した所見から、その役割をあれこれ想像しているに過ぎなかつたのであります。St-S に対する核酸効果の発現は実にこのような情勢下においてなされたのであります。

かくして、Ribo-核酸にあつては、上述のごとく、その生化学的研究が始めて動的なものとなつてきたというわけではありますが、降つて1944年 Avery, MacLeod & McCarty (Rockefeller 研究所) によつて肺炎双球菌の Type transformation factor (肺炎双球菌の型の転換を惹起せしめる化学物質) が Desoxyribo-核酸であるという遺伝生化学上画期的な発見をもたらされるや、ここに核酸の重要性に対する認識が遂に高まり、今日のように細菌学、遺伝学、ウイルス学、生化学等生物学全般を通じて核酸研究全盛の時代が現出するに至つたという次第であります。

Bernheimer はその論著 (J. Exp. Med., 88, 149, 1948; Bact. Reviews, 12, 195, 1948.) において、核酸効果発見の重要性を Avery 等の研究と相対比せしめて強調していますが、実際核酸研究の現況を眺めて見ましても、核酸の生物学的活性に関してこれを顕著、確實且つ直接的に検証したもののとしては、この二つの現象があるだけであります。

要するに核酸効果発見の意義は 1) Polynucleotide 型核酸の生物学的活性に対する最初の検証であること、2) 長年難攻不落であつた Streptolysin S 問題の研究が一大進展をきたすに至つたこと、及び 3) 核酸の生化学的研究分野に新機軸が打ち出されたことの3点にあるといえましょう。しかして周知のように、現在では核酸に生命現象の秘奥が蔵されているという考えが支配的であり、その故にこそ核酸研究が隆盛を極めていることに想到しましても、今後核酸効果に関する研究もまたこの方面を指向して更に展開されて行くものと考えられるのであります。尚当大学結核研究所並びに医学部薬理学教室では目下核酸効果の研究成果に基き、制癌に関する実験的研究が進められていることもここに附言して置きたいことの一つであります。

ちなみに著者等の研究は Dubos 著: Bacterial and Mycotic Infections of Man (1952), 中村・秋葉編: 細菌学 (1955), McCarty 著: Streptococcal Infections (1954) をはじめ、その他内外の核酸に関する成書によつて広く紹介されております。

以上きわめて簡単ながら核酸による溶血性連鎖状球菌の St-S 増産現象発見の動機と、本現象に基いて展開された知見の主なものについて紹介致しましたが (詳細は細胞化学シンポジウム, 3, 145,

1954: 細菌毒素シンポジウム, 1, 94, 1955. における総説を参照せられたい), 著者はここに筆をおくに当り著者がこの研究に専念できるように終始御配慮下され, その上種々と御助言を賜つた恩師石坂伸吉先生に深く感謝の意を表すると共に, この研究の展開に御協力して下さつた諸氏に心からの御礼を申し上げる次第であります.

研究報告

1. Okamoto, H.:
Über die hochgradige Steigerung des Hämolyisinbildungsvermögens des Streptococcus haemolyticus durch Nukleinsäure. I. Mitt. Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 12, 167, 1940.
2. 伊藤 亮:
其の 2. 溶連菌溶血毒の性状に就て. 日本薬物学雑誌, 28, 41, 1940.
3. Okamoto, H., Miura, K., Ito, R. und Kyoda, S.:
III. Mitt. Versuche zur Isolierung von Streptolysin aus 1% Nukleinsäure-Bouillonkultur des Streptococcus haemolyticus. Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 13, 23, 1941.
4. Ito, R.:
IV. Mitt. Über die Bedeutung der Tetranukleotid-Konstitution der Nukleinsäure als wirksamer Faktor bei der Streptolysinbildung des Streptococcus haemolyticus. Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 13, 85*, 1941.
5. Ito, R.:
V. Mitt. Versuche zur Immunisierung von Kaninchen mit hochaktiven Streptolysinpräparaten. Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 13, 87*, 1941.
6. 伊藤 亮:
第 6 報 溶連菌溶血毒素に対し特異的に強力なる解毒作用を発揮する化学物質に就て. 日本薬物学雑誌, 30, 124, 1941.
7. Okamoto, H., Kyoda, S. und Ito, R.:
VII. Mitt. Weitere Ergebnisse der Untersuchung zur Darstellung hochgereinigter Streptolysinpräparate. Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 14, 99, 1941.
8. Kyoda, S.:
VIII. Mitt. Vergleich über das Verhalten der roten Blutkörperchen des Menschen und verschiedener Tierarten gegenüber der lytischen Wirkung des Streptolysins. Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 14, 216*, 1941.
9. 岡本 肇・松田研斎・京田 進:
第 9 報 溶連菌の 1% 核酸加ブイオン培養より分離せる高度純化の溶血毒素分屑 (Streptolysin fraktion) に就ての化学的研究. 日本薬物学雑誌, 33, 370, 1941.
10. 松田研斎:
第 10 報 溶連菌溶血毒素の薬理学的研究. 日本薬物学雑誌, 36, 171, 1942.

11. Matsuda, K.:
XI. Mitt. Beiträge zur Isolierung des Streptolysins. Jap. J. Med. Sci.,
IV. Pharmacology, 16, 117*, 1944.
12. Ito, R., Okami, T., and Yoshimura, M.:
Part XII. On the Production of Streptolysin by Resting Hemolytic Streptococci
Suspended in Nucleic Acid Solution. Jap. Med. J., 1, 253, 1948.
13. Ito, R., Okami, T., Yoshimura, M. and Sagara, S.:
Part XIII. The Inhibition of the Production of Hemolytic Toxin of Streptococcus
Pyogenes by o:o'-Dihydroxyazobenzene and Related Compounds.
Jap. Med. J., 1, 260, 1948.
14. 渡辺四郎, 池田邦武, 田上 守, 中川正明:
溶連菌の1%核酸ブイオン培養液より分離せる溶血毒素の血液白血球の機能及び形態に及ぼす
影響に就て. 十全会雑誌, 46, 3920, 1941.
15. 原田 孝:
溶血毒の生体に及ぼす効果についての実験的研究.
金沢大学医学部耳鼻咽喉科学教室業績集, 315, 1952.
16. 大西 淳:
Streptolysin S 溶血に関する研究.
第1編 家兎-, 蛙-及び鶏-赤血球に於ける Streptolysin S 溶血の顕微鏡的観察.
第2編 Streptolysin S 溶血に影響する諸種要因に就て.
金沢大学結核研究所年報, 10 (下), 37, 1952.
17. 宮地知男:
Streptolysin S に対する Trypan Blue の拮抗作用の機序に関する研究.
金沢大学結核研究所年報, 11 (下), 237, 1953.
18. 厚地千恵子, 姫野保徳, 浜田 明:
Ag-Streptolysin-"S"-Complex の抗菌力試験. 金沢大学結核研究所年報,
12 (中), 1, 1954.
19. Shoin, S.:
On the Stabilizing Effect of Silver Salts upon Streptolysin-S.
Japan. J. Exp. Med., 24, 13, 1954.
20. Okamoto, H.:
Das Streptolysin, Hämotoxin des Streptococcus haemolyticus. 1943.
21. 岡本 肇:
薬物の細菌の生物学的性状に及ぼす影響に関する研究二題.
金沢大学結核研究所年報, 1, 67, 1943.
22. 岡本 肇:
核酸に因る溶血性連鎖状球菌の溶血毒素増産現象について.
細菌学の新領域, 106頁, 1953.
23. 岡本 肇:
核酸効果と之に基づく Streptolysin-S 研究の展開.

- 細胞化学シンポジウム, **3**, 145, 1954.
24. 厚地千恵子, 山本恵一, 山田治郎左衛門, 金山早苗, 阪東芳雄 :
Ag-Streptolysin-"S"-Complex の抗微生物試験. 金沢大学結核研究所年報, **12**(下), 107, 1954.
25. 姫野保徳 :
Dihydroxyazobenzene 系誘導体の静菌状態溶連菌による Streptolysin S 産出能に及ぼす影響
に就ての検索. 同上, **12** (下), 111, 1954.
26. 清水隆作 :
酵母核酸の銀塩に対する非イオン化能に就て. 薬学雑誌, **76**, 158, 1956.
27. 岡本 肇 :
核酸に因る溶連菌の溶血毒増産現象に基く研究其の後の成果.
細菌毒素シンポジウム, **1**, 94, 1955.
28. 得田与夫, 山本恵一, 山田次郎左衛門, 葛葉 晋 :
グリセリン抽出による肝-Ribo-核酸の分離試験. 十全医学会雑誌, **57**, 1325, 1955.
29. 正印 達, 得田与夫, 伊藤 佐, 山本助五郎, 北川 秀 :
家兔腎臓及び肝臓より分離した Ribo-核酸標本の核酸効果に就て. 同上, **57**, 1385, 1955.
30. 宝達 務 :
Streptolysin S に対する正常血清の影響性に関する研究.
第I項 : 血清の抗 Streptolysin S 作用の機序に就て.
第II項 : Streptolysin S の熱非動化に対する血清の防禦的影響に就て.
金沢大学結核研究所年報, **13** (中), 195, 1955.
31. 伊藤 佐 :
Ag-Streptolysin-S-Complex の性状に就て. 十全医学会雑誌, **57**, 1762, 1955.
32. 山本恵一 :
砒素-並びにアンチモン-化合物の静菌状態溶連菌による Streptolysin S 産出能に及ぼす影響に就
て. 同上, **57**, 1804, 1955.
33. 山本 泰 :
銀塩の Streptolysin S に対する耐熱化効果の特異性に就て. 同上, **57**, 2200, 1955.
34. 山田次郎左衛門 :
核酸に因る溶連菌の溶血毒増産現象に関する研究
第14報 単純化メジウムに於ける静菌状態溶連菌の Streptolysin S 産出実験.
同上, **58**, 145, 1956.
35. 有沢和夫 :
Streptolysin S の銀塩による耐熱化現象に対する知見補遺. 同上, **58**, 54, 1956.
36. 塚本真惇 :
Streptolysin S の Trypan blue 処置家兔血液像に及ぼす影響.
金沢大学結核研究所年報, **13** (下), 91, 1955.
37. 岡本 肇, 有沢和夫, 榊崎哲夫, 越村三郎, 清水隆作 :
精製 Streptolysin S と酵母核酸との紫外線—並びに赤外線—吸収スペクトル及び電気泳動に於
ける比較実験. 同上, **14** (上), 131, 1956.
38. 梅崎 伸 :

- 溶連菌に於ける物質代謝, 就中 Streptolysin S 産生に対する糖類の無関係性に就いて.
同上, 14 (中), 263, 1956.
39. 杉山篤弘:
核酸に因る溶連菌の溶血毒増産現象に関する研究.
第15報 熱非働化 Streptolysin S の Streptolysin S 増産に対する効果性に就いて.
同上, 14 (中), 271, 1956.
40. 大門弘文:
Ag-Streptolysin S-Complex についての脱銀試験. 十全医学会雑誌, 58, 921, 1956.
41. 山本 泰, 伊藤 佐, 杉山篤弘, 正印 達, 阪東芳雄:
核酸による溶血性連鎖状球菌の溶血毒増産現象に関する研究.
第16報 高度純化の Ribo-核酸の Streptolysin S 増産効果についての実験.
同上, 59, 121, 1957.
42. 清水隆作, 姫野保徳, 貴志源吾, 伊藤 佐:
核酸による溶血性連鎖状球菌の溶血毒増産現象に関する研究.
第17報 メチル酵母核酸の溶連菌の Streptolysin S 産出に及ぼす影響について.
同上, 59, 127, 1957.
43. 清水隆作:
Ag-RNA-Complex からの脱銀によるリボ核酸の再生について (第2報).
同上, 77, 676, 1957.
44. 清水隆作:
Ag-RNA-Complex を介する核酸の精製法について (第3報).
薬学雑誌, 77, 561, 1957.
45. 小寺一英:
Streptolysin S の溶血効果に及ぼす温度的影響に就て.
十全医学会雑誌, 1957 (印刷中).
46. Hirata, R.:
Experimental Anticancer Studies. Part I. The Preparation of 6-(2'-Hydroxy-3',5'-dibromophenylazo)-4-hexylresorcinol and Related Compounds, with Brief Reference to their Anticancer Activity. Pharmaceutical Bulletin, 460, 1956.
47. 越村三郎, 村沢健介, 中川栄一, 上田 稔, 阪東芳雄, 平田良三:
制癌に関する実験的研究. 第2報
吉田肉腫並にエールリツヒ腹水癌に及ぼす 6-(2'-Hydroxy-3', 5'-dihalophenylazo)-4-hexylresorcinol 及び其の関連物質の影響について.
第15回日本癌学会記事, 癌, 47, 393, 1956.
48. Koshimura, S., Murasawa, K., Nakagawa, E., Ueda, M., Bando, Y. and Hirata, R.:
Experimental Anticancer Studies. Part III. On the Influence of Living Hemolytic Streptococci upon the Invasion Power of Ehrlich Ascites Carcinoma in Mice. Japan. J. Exp. Med., 25, 93, 1955.
49. 越村三郎, 村沢健介, 上田 稔, 阪東芳雄, 平田良三, 太田孝哉, 石川正幸:
制癌に関する実験的研究. 第4報

Hydroxybenzylidene-, Phenoxazone-, Quinone-誘導体及び諸他物質の吉田肉腫に対する影響性に就いての検索. 第15回日本癌学会記事, 癌, 47, 391, 1956.

50. Hirata, R.:

Experimental Anticancer Studies. Part V. Bis (2-Hydroxy-3,5-dibromophenylazo)-Alkylphloroglucinols and their Inhibitory Effect Against Ehrlich Ascites Carcinoma in Mice. Japan. J. Exp. Med., 27, 99, 1957.

51. Ohta, T.:

Experimental Anticancer Studies. Part VI. Experiments on the Influence of Living A Group Hemolytic Streptococci and Several Other Species of Microorganisms on the Invasion Power of Ehrlich Carcinoma Cells to Mice. Japan. J. Exp. Med., 27, 107, 1957.

52. Koshimura, S., Shimizu, R., Masusaki, T., Ohta, T. and Kishi, G.:

On the Formation of Streptolysin S by Acting Hemolytic Streptococci on Tumor Cells. Japan. J. Microbiol., 2, No. 1, 1958 (in press).