

## ジフテリア菌の生存機構

III. ジフテリア菌の Restphase 形成の位相差顕微鏡的研究  
—PW-8 (Tronto) 株の特殊性—

金沢大学医学部細菌学教室(主任: 西田尚紀教授)

寺 木 友 一

(昭和38年5月6日受付)

先にジフテリア菌が陳旧培地で作る「oval granule」が種々の条件下での実験の結果から、この菌の rest phase であり且つ生化学的には metabolic dormancy をもつものと推定<sup>1)</sup>した。その後行つた細胞化学的分析並びに電子顕微鏡所見<sup>2)</sup>は、このものが vegetative phase のものと全く異なり、特に電子顕微鏡所見ではその生成は sporangia から spore を出す構造に似ていることを示した。本報ではこの spore-like structure をもつ rest phase 形成の過程を位相差顕微鏡で追つた所見について報告する。

ジフテリア菌の位相差顕微鏡的観察では Hewitt<sup>3)</sup>の論文があり、彼は club-shape が決して artifacts でないと述べている。しかしながら、彼は菌を採取した培地名及び培養時間について全く触れておらず、彼の所見とは比較検討し難い。著者は前述の目的で3～21日間にわたつて位相差顕微鏡によつてその形態変化の過程を追求した。

## 実験方法

使用菌株: 前報<sup>1)</sup>に使用した13株と PW-8 (Tronto) 株を使用した。写真は主として金谷株及び PW-8 (Tronto) 株のものを示した。

培地: 前報<sup>1)</sup>に使用した各種培地を本報でも使用した。

位相差顕微鏡写真: 千代田光学製位相差装置を使用し、Asahi flex II型を用いて撮影した。菌の生存実験: 前報<sup>1)</sup>にしたがつた。

## 実験成績

実験 I. ジフテリア菌が生存する場合としない場合での位相差顕微鏡下の所見。

先に菌が生存する際には「oval granule」の形成が著しいと述べた。PW-8 (Tronto) 株は後述するように生存する力の弱い菌であるが、Chocolate 寒天培地上に保存すると 0～4°C では1カ月も生存し得ないのに、37°C では7カ月生存する(後述)。図1(4日)、図2(12日)、図3(21日)は37°C に保存した Chocolate 寒天培地上の菌で、この培地上の菌は図1, 2, 3に見る如く club-shape 形成が極めて著しい。これに対して生存が37°C では1カ月の Löffler 培地上の菌は granular となりながら(この時には異染小体は出来る)ついに「oval granule」を形成しそなたつた形をして消えて行く(図4, 5, 6)。

Löffler 培地の上でも25°C にジフテリア菌が保存されると、PW-8 (Tronto) 株をのぞくすべての菌株が長期(平均9.8カ月)に生存する(後述)。このような株を37°C, 36時間培養した後10カ月間 Löffler 培地上で25°C に保存すると図7に見られる如く「oval granule」を多く見ることが出来る。PW-8 (Tronto) 株は5カ月に死滅したが(4カ月になお生存している)、4カ月目の所見ではすでにこのような光輝ある「oval granule」は小さな顆粒点として存在し(図8)。6カ月目には消失してしまつていた。

実験 II. PW-8 (Tronto) 株と他株の種々の条件下での生存と顆粒体形成期間の比較。

生存実験の際 PW-8 (Tronto) 株を他の諸株と一諸に用いたのであるが、この株だけが著しく生存力が弱いことが注目された。PW-8 (Tronto) 株は毒素原性がとりわけ強い菌株であるが、生化学的に他の菌株とどのように相異しているかについてはそれを暗示するような1, 2の報告<sup>4)5)</sup>がある程度にすぎないが、「生存力の強い形即ち oval granule」——著者はこれを

Studies on the Mechanism of Survival of *C. Diphtheriae* III. The Phase Contrast-Microscopical Studies on the Formation of "Oval Granule" as the Rest Phase, Particularly in pertaining to a Characteristic Feature of PW-8 (Tronto) Strain. Yuichi Teramoto Department of Bacteriology (Director: Prof. S. Nishida), School of Medicine, University of Kanazawa.

spore-like structure と呼んだが——を形成出来ぬということは重要な職能の差異として注目すべきことと思われた。そこでこの差異について比較検討を試みた。

生存実験では他の通常のジフテリア菌はそれぞれの

表 I PW-8 株 (Tronto 株) と他株の種々の条件下での生存月数の比較

条 件	菌 株 PW-8 株 (Tronto 株)	他 株		
		生存範囲	平均	
Löffler 培地	37°C	1**	1~4**	2.5**
	25°C	4	7~15	9.8
	0~4°C	1	1~5	2.6
Chocolate 寒天培地	37°C	7	7~11	9.2
	25°C	7	8~14	11.3
	0~4°C	0	1~2	1.2
Chocolate* 寒天培地	1%寒天	3	6~8	7.0
	1.5%寒天	6	7~11	8.2
	2%寒天	6	8~14	12.2
血清寒天培地* 血液寒天培地* 血球寒天培地	4	4~5	4.5	
	4	4~16	9.6	
	10	13~19	16.5	
Chocolate 寒天培地* C.C.Y. 培地	7	8~15	12.5	
	1	5~9	7.1	
血液ブイヨン培地	37°C	1	2~4	2.7
	25°C	3	4~13	8.7

\* 25°C 保存.

\*\* 数字は生存月数.

表 II PW-8 株 (Tronto 株) の他株の種々の条件下での顆粒体生存月数の比較

条 件	菌 株 PW-8 株 (Tronto 株)	他 株		
		生存範囲	平均	
Löffler 培地	37°C	0.5	0.5~2	1.0
	25°C	3	6~15	9.7
	0~4°C	0	0~1	0.4
Chocolate 寒天培地	37°C	7	7~11	9.2
	25°C	7	6~14	10.8
	0~4°C	0	0~1	0.3
Chocolate* 寒天培地	1%寒天	3	5~8	6.6
	1.5%寒天	6	7~11	8.2
	2%寒天	6	7~14	11.6
血清寒天培地* 血液寒天培地* 血球寒天培地	1	1~4	3.6	
	1	4~15	7.5	
	10	13~19	16.3	
Chocolate 寒天培地* C.C.Y. 培地	7	8~15	12.5	
	1	4~9	6.4	
血液ブイヨン培地	37°C	1	2~4	2.7
	25°C	1	4~12	8.0

\* 25°C 保存.

環境で生存の長短は場合によつて変化しましたが、表 I, II に示した如く、PW-8 (Tronto) 株だけはいかなる時にあつてもこれらのグループから一段と離れて低い生存力並びに顆粒体の形成を示すのが常であつた。もとより「oval granule」の形成も生存と一致して消長した。換言すれば PW-8 (Tronto) 株は rest phase (spore-like structure) 形成力の極めて弱い株であるといえる。

考 按

陳旧な培地でジフテリア菌の rest phase (spore-like structure) に対して「Gram 強陽性の oval granule」という判定が最も容易であると述べたが、このような「oval granule」は多分染色上の人工産物であろうと Bisset<sup>6)</sup>らは述べている。確かに Chocolate 寒天培地21日培養の菌には図3に見るような club-shape の菌が殆んどであるのに、この時期の Chocolate 寒天培地上の菌の Gram 染色ではかなりの「oval granule」が見られるのであるから、尾部が Gram 陰性となり且つ Gram 陽性部がやや過重に染まつて、いくらかの人工産物を作るものと想像される。

しかし図7に見る如く、25°C で10カ月目の金谷株ではその club-shape の尾部が極めて小さいものとなり殆んど「oval granule」といつてよいものになつていふのを見ることが出来る。加えて前報で示した如く電子顕微鏡所見からもこの遊離した「oval granule」を見ることが出来るからその存在は否定出来ない。

一方また PW-8 (Tronto) 株が特にその生存力が弱いということは、換言すれば rest phase (spore-like structure) を作り得ぬことは「毒素原性菌が孢子性能を失うときに出来る」という Clostridia での一連の仕事<sup>7)8)9)10)11)12)</sup>と比較する時、真に興味ある問題と考えられる。Clostridia の毒素原性をこの面からみることが全く新しい視野であるように、ジフテリア菌の毒素原性をこの面から見ることは全く新しい親野ではあるが、著者はこの問題に非常な関心をもつてゐる。

結 論

1) ジフテリア菌が長く生存し得る環境と生存し得ぬ環境下でのこの菌の rest phase について位相差顕微鏡所見を示した。

2) 強毒素原性株の PW-8 (Tronto) 株は他の用いられたどのジフテリア菌よりも生存能が弱く且つこの rest phase (spore-like structure) 形成に欠陥をもつ菌であることを指摘した。

終りに御指導と御校閲下さいました西田尚紀教授に深く感謝致します。また熱心に御鞭撻下さいました谷友次名誉教授に深く感謝致します。

### 文 献

- 1) 寺本友一：十全医会誌，印制中。
- 2) 寺本友一：十全医会誌，印刷中。
- 3) Hewitt, L. F. : J. Gen. Microbiol., 5, 287 (1951).
- 4) Pappenheimer, A. M. Jr. & Hendee, E. D. : J. Biol. Chem., 171, 701 (1947).
- 5) Barksdale, L. : Bact. Rev., 23, 202 (1959).
- 6) Bisset, K. A. : J. Gen. Microbiol., 3, 93 (1949).
- 7) 石田勝一・山岸高由・河合康守・西田尚紀：医学と生物学，62, 41 (1962).
- 8) 石田勝一・山岸高由・西田尚紀：医学と生物学，62, 151 (1962).
- 9) 玉井健三・西田尚紀：医学と生物学，64, 115 (1962).
- 10) 真田一郎：医学と生物学，64, 174 (1962).
- 11) 河合康守・山岸高由・石田勝一：医学と生物学，64, 170 (1962).
- 12) 中川原儀三・西田尚紀：医学と生物学，65, 142 (1962).

### Abstract

The rest phase "oval granule" of *C. diphtheriae* was studied with use of phase contrast-microscope. Most of the "oval granules" seemed to be situated on the top of club-shaped cells of this organism.

Tronto strain, a strongly toxinogenic strain, was proved to be the weakest with an ability to form the "oval granule" among strains tested. Considering a series of works in this laboratory on the close relationship between abortive sporulation and toxinogeny in clostridia, the author suggested that a defect in forming the "oval granule" is related with the highly toxinogenic nature of PW-8 (Tronto) strain.

### 位相差顕微鏡写真説明

- 図1：PW-8 (Tronto) 株，×1600，Chocolate 寒天培地，37°C，4日培養。
- 図2：PW-8 (Tronto) 株，×1600，Chocolate 寒天培地，37°C，12日培養。
- 図3：PW-8 (Tronto) 株，×1600，Chocolate 寒天培地，37°C，21日培養。
- 図4：PW-8 (Tronto) 株，×1600，Löffler 培地，

37°C，2日培養。

図5：PW-8 (Tronto) 株，×1600，Löffler 培地，37°C，14日培養。

図6：PW-8 (Tronto) 株，×1600，Löffler 培地，37°C，21日培養。

図7：金谷株，×1600，Löffler 培地，25°C，10ヵ月培養。

図8：PW-8 (Tronto) 株，×1600，Löffler 培地，25°C，4ヵ月培養。



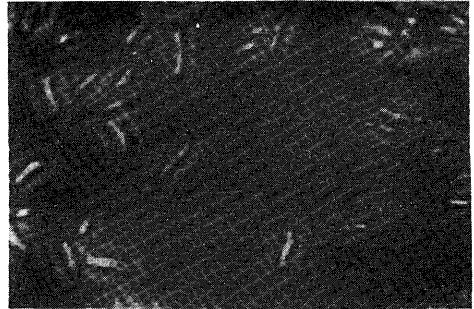
☒ 1



☒ 2



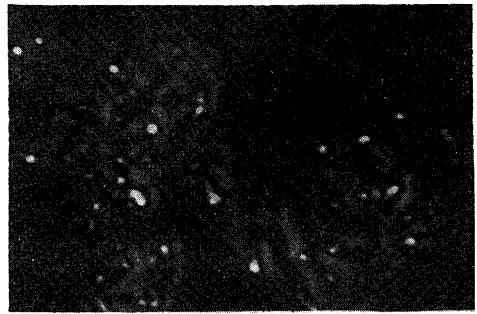
☒ 3



☒ 4



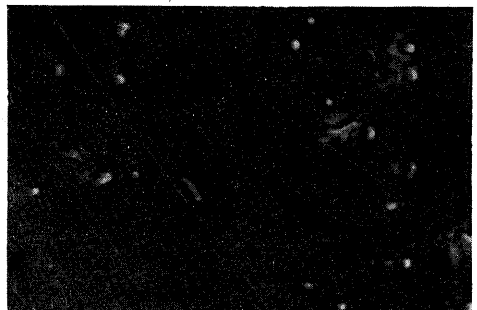
☒ 5



☒ 6



☒ 7



☒ 8