

L-form に関する研究

第Ⅱ報 L-form の生物学的研究

金沢大学医学部微生物学教室(主任 谷友次教授)

専攻生 前 川 一 郎

(昭和33年12月5日受付)

Studies on the L-form of Bacteria

Report II Biochemical Behaviour

ITIRO MAIKAWA

Department of Microbiology, School of Medicine, Kanazawa University

(Director : Prof. Dr. T. Tani)

ABSTRACT

It was reported in the preceding paper that two freshly isolated *Proteus vulgaris* strains produced abundant L type colonies on soft cow serum agar plates containing Penicillin (Maikawa, 1957).

The biochemical behaviour of the L-form of *Proteus vulgaris* is reported in this paper.

On the sugar fermentation, acid was produced from glucose and xylose but not from maltose and sucrose.

Gas production was questionable.

Gelatin was not liquefied during the time from the 1st day to the 15 th.

I. 緒 言

L-form の生物学的性状については現在十分に研究されていない。その糖分解能については 1950 年 Weinberger は *Salmonella* の L-form の方は糖分解能がいくらか弱いだけで原細菌と同様に作用する²⁾、と述べているが、*Proteus* 菌の L-form の糖分解能については現在報告されていないようである。

L-form の血清学的研究及び糖分解の研究は原細菌及び PPLO との関係を一層明らかにする上において極めて重要なものと考えられる。

著者は *Proteus* 菌の L-form³⁾ について糖分解、インドール反応、ゼラチン液化ガス産生能等について原細菌と比較実験を行ったのでその実験成績を報告する。

L-form の血清学的研究及び糖分解の研究は原細菌及び PPLO との関係を一層明らかにする上において極めて重要なものと考えられる。

II. 実験材料及び実験方法

1. 使用菌株

分離株 Hx (7) 及びそれより発生した継代培養20代の L-form³⁾ 同じく L-form を発生した分離株岡本、対照株として伝研 Hx、伝研 O_{X19} の5株について実験した。

2. 培 地

A. 原株の糖分解用培地として次の処方のもを用いた。

培地処方

バクトペプトン	1.0g	} pH 7.6
食 塩	0.5g	
蒸 溜 水	100.0cc	

以上の培地に各種糖類を 0.5%の割に加えた。

B. L-form の糖分解用培地として次の如き培地を使用した。

培地の処方

バクトペプトン 1.0g
 第一燐酸カリ 0.5g
 食 塩 0.3g
 蒸 溜 水 ad 100.0cc

pH 8.0~8.2 とする。これに 0.2% BTB 液 1.2cc を加える。以上の培地に各種糖類 0.5% の割に加える。100°C 15分宛 3 回滅菌。ついで牛血清を15%の割

に加えた。

C.ゼラチン液化用培地として牛血清加培地 No. 5³⁾ にゼラチン20%の高層培地を使用した。

D. ガス産生能検査のためには牛血清加培地 No. 5³⁾ の1%高層寒天を使用した。

E. 運動性検査は牛血清加培地 No. 5³⁾ の0.4%高層寒天を使用した。

III. 実 験 成 績

A. 原株の生物学的性状

原株として Hx (7) 株, 岡本株について, 対照株として伝研 Hx, 伝研 OX₁₉ について糖分解試験, インドール反応, 形態, グラム染色, 運動性, 鞭毛等について比較実験を行った。その実験成績は第1表に示した。

これによるとグルコースは4株とも第1日後分解。キシローゼは4株とも第1日後分解, マルトーゼは Hx (7), 伝研 HX, 伝研 OX₁₉ の3株は第1日後分解, 岡本株は第15日後非分解であつた。

ザリシンは Hx (7) 伝研 Hx, 伝研 OX₁₉ は第1日後分解, 岡本株は第7日後分解。

サッカローゼは Hx (7), 伝研 HX, 伝研 OX₁₉ は第

1日後分解, 岡本株は第7日後分解。

ラクトローゼ, マーニット, アドニッド, イノジッド, ズルチットは4株とも第15日後非分解であつた。

インドール反応は Hx (7), 岡本株は弱陽性, 伝研 HX 及び OX₁₉ は強陽性であつた。

形態は4株とも桿菌, グラム染色では4株ともグラム陰性, 固有運動は Hx (7), 岡本株, 伝研 HX は何れも運動性あり, OX₁₉ は固有運動なし, 鞭毛は Hx (7), 岡本株, 伝研 HX は何れも周毛菌で, OX₁₉ は鞭毛なし。

以上の糖分解能より L-form を発生した *Proteus* 菌は F. KAUFFMANN⁴⁾ の分類によると *Proteus vulgaris* に位置するものである。

第1表 原株の生物学的性状

原株	分離株 Hx(7)	グ	キ	マ	ザ	サ	ラ	マ	ア	イ	ヅ	イ	形	グ	運	鞭	
		ル	シ	ル	リ	ツ	ク	ン	ド	ノ	ル	チ	ン	グ	動	毛	
		コ	ロ	ト	シ	ロ	ゼ	ト	ト	ト	ツ	ツ	ド	ム	性	性	
		ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	ロ	
		ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	ゼ	
原株	分離株 Hx(7)	+1	+1	+1	+1	+1	-15	-15	-15	-15	-15	-15	弱陽性	桿菌	陰性	+	周毛性
	分離株 岡本	+1	+1	-15	+7	+7	-15	-15	-15	-15	-15	-15	弱陽性	桿菌	陰性	+	周毛性
対照株	伝研 HX	+1	+1	+1	+1	+1	-15	-15	-15	-15	-15	-15	陽性	桿菌	陰性	+	周毛性
	伝研 OX ₁₉	+1	+1	+1	+1	+1	-15	-15	-15	-15	-15	-15	陽性	桿菌	陰性	-	-

註: 1) +1.....培養1日後陽性 -15.....15日培養後も陰性
 2) 以下の表もこれに倣う。

B. L-form の糖分解

次に L-form の糖分解試験を行ったが, L-form は普通の糖分解用培地⁵⁾では発育しないので L-form 用糖分解培地として第2章第2項に記載した L-form

用糖分解培地を使用した。

L-form 用糖分解培地を使用して対照として Hx (7), OX₁₉ を用いて実験したところペプトン培地と同様の実験成績を示したので, この培地にペニシリン

G 1.500u/ml の割に加え Hx (7) とその L-form (継代培養20代) について糖分解試験を行った。その

実験成績は第2表に示した。

これによるとグルコースは Hx (7) は第1日後分

第2表 L-form の糖分解能

		グ ル コ ー ゼ	キ シ ロ ー ゼ	マ ル ト ー ゼ	ザ リ シ ン	サ ッ カ ロ ー ゼ	ラ ク ト ー ゼ	マ ン ニ ット	イ ノ シ ット	ア ド ニ ッド	ツ ル チ ット
培地にペニシリンを含まず	Hx(7)	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ¹	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵
	OX19	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ¹	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵
培地にペニシリン1,500u/mlを含む	Hx(7)	+ ¹	+ ¹	+ ¹⁰ 弱	- ¹⁵	+ ¹³ 弱	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵
	L-form	+ ¹³	+ ⁷	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵	- ¹⁵

解, L-form では第13日後分解した。キシローゼは Hx (7) は第1日後分解し, L-form では第7日後分解した。マルトーゼでは Hx (7) は第10日後弱分解し, L-form では第15日後非分解。ザリシンは Hx (7) も L-form も第15日後非分解であつた。サッカローゼでは Hx (7) は第13日後弱分解, L-form は非分解であつた。ラクトーゼ, マンニット, アドニッド, イノシット, ズルチットは Hx (7) も L-form も第15日後非分解であつた。

又 L-form が糖分解した第7日後のキシローゼ及

び第13日後のグルコース培地より各1,白金耳を採り, 牛血清加培地 No. 5 に後培養を行ったところ多数の L-form の集落を発生した。

以上要約すると L-form ではグルコース及びキシローゼでは速度が遅いが糖分解能は保持されていたが, マルトーゼ, ザリシン, 及びサッカローゼでは糖分解能を消失していた。

C. 運動性, ガス産生能, ゼラチン液化性等について Hx (7) と L-form, 岡本株 について比較実験した。その実験成績は第3表に示した。

第3表 L-form の生物学的性状

		Hx(7)		L-form	岡本株
		ペニシリン 含まず	ペニシリン 1,500u/cc	ペニシリン 1,500u/cc	ペニシリン 含まず
運動性(潤濁)	牛血清加培地 No. 5 (0.4%高層寒天)	(潤濁) + ¹	(透明) - ⁷	(透明) - ⁷	(潤濁) + ¹
ガス産生能	牛血清加培地 No. 5 (1%高層寒天)	+ ¹	+ ¹	- ¹⁵	+ ¹
ゼラチン液化	牛血清加培地 No. 5 (ゼラチン20%高層)	+ ⁷	- ¹⁵	- ¹⁵	+ ¹⁰

運動性は Hx (7) は第1日後陽性, 培地にペニシリンを含むものは第7日後陰性, L-form では第15日後陰性で, 岡本株は第1日後陽性であつた。

ガス産生能は Hx (7) は第1日後陽性, L-form で

は第15日後陰性, 岡本株は第1日後陽性であつた。

ゼラチン液化性については Hx (7) は第7日後陽性, 培地にペニシリンを含むものでは Hx (7) は第15日後陰性, L-form は第15日後陰性であつた。

IV. 総括並びに考按

L-form に関する糖分解試験の報告は現在極めて少なく、1950年 Weinberger が *Salmonella* の L-form の糖分解に関して報告したのみである。その結論として血清学的性質及び糖分解反応は原細菌と同様であつた、と述べている²⁾。

著者は分離株 *Proteus vulgaris* の L-form と原細菌の糖分解能を比較実験したところ、グルコースは第13日後分解し、キシローゼは第7日後分解し、速度は遅いが糖分解能を保持していたが、サッカロゼとマルトゼでは糖分解能は消失していた。このサッカロゼとマルトゼの糖分解能消失に関しては、原株をペニシリン含有培地で糖分解試験を行つても著明に糖分解能が弱くなつてくるが、L-form は継代培養を重ねるに従つて、ある種の糖分解は次第に失われて行く傾向にあるのではないかと考えられるが、この点は今後の研究にまたねばならない。

次に PPLO と L-form の根本的な差異の一つとして、L-form はもとの細菌と同じ糖分解を行うから、L-form の固定したと思われる PPLO の糖分解の様

相はもつと変化に富んでいなければならないが、事実 PPLO の糖分解は、殆んど同じ種類のもを分解する³⁾、という点があげられているが、これに関しては L-form は原細菌と同じ糖分解を行うという実験的根拠は *Salmonella* の L-form に関する Weinberger²⁾ の報告が唯一のものであつて、この報告だけで L-form 全部の糖分解の様相を結論することはできないと考えられる。それは著者の実験成績ではサッカロゼとマルトゼの分解能が消失しているからであつて、L-form の糖分解能は継代培養を重ねるに従つて、ある種の分解能は次第に失われて行く傾向にあると考えられるからである。この点より推論すると、生体内で L-form の固定したと考えられる PPLO の糖分解の様相は余り変化に富んでいないことも予想され得ることであるが、この点に関しても今後多数の L-form の糖分解試験と PPLO の糖分解試験の結果が比較検討されて解決される問題であると考えられるが本邦においてもこの方面の研究を期待するものである。

V. 結

Proteus 菌の L-form について糖分解、インドール反応、ゼラチン液化、ガス産生能、運動性について原細菌と比較実験した。成績は次の如し。

1) L-form を発生した分離株 *Proteus* 菌は糖分解試験の結果 F. Kauffmann の分類による *Proteus vulgaris* に位置するものである。

2) L-form の糖分解能はグルコース及びキシロー

論

ゼでは保持されていたが、サッカロゼ及びマルトゼでは消失していた。

3) L-form の運動性及びガス産生能、ゼラチン液化能力は消失していた。

拙筆するに臨み、恩師谷教授の御懇篤なる御指導並びに御校閲に対し深く感謝します。

文

- 1) Dienes, L. : Bact. Reviews., 15 (4) : 245~283 (1951).
 2) Weinberger, Madoff, and Dienes, J, Bact., 59 (6) : 765~776 (1950).
 3) 前川 : 十全会雑誌, 59 (9) : 933~945 (1957).
 4) F. Kauffmann : Entero-

献

- bacteriaceae. 285~349 (1954).
 5) 谷 : 医学微生物学, 第4版, 南山堂, 東京.
 6) 本間 : 医学のあゆみ, 21 (2) : 101~105 (1956).
 7) 小島・滝田 : 腸内細菌, 421~431 (1956).