

# 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（補遺）

二、三の球菌に於ける核酸及び糖代謝と，その際の  
溶血毒産生能に就いて

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

梅 崎 伸

（受付：昭和31年6月24日）

## 緒 言

溶連菌の Streptolysin S（以下“S”と略記）産生が核酸添加により著しく増強されることが発見<sup>1)</sup>されて以来，種々の新知見が報告されつつあり，核酸効果の機転自体に関する研究も又多く，“S”産生に関して，そのエネルギー源より検索せるものに Bernheimer<sup>2)3)</sup>，細谷・江上<sup>4)</sup>等の研究がある．先に私は<sup>5)</sup>〔核酸＋含水炭素〕の混合基質に於ける溶連菌の代謝を検圧法的に検索し，同時にその際産出される“S”を測定することにより，含水炭素の利用は溶連菌

の保生状態に於ける代謝機能の現われであり，“S”産生とは直接関係が無いことを立証し，更に核酸の分解による酸素消費も“S”産生エネルギーとして利用されたための現象とは考え難いことをも指摘した．

この見解に基き，私は，更に二、三の球菌に就いて，核酸及び含水炭素基質時の代謝と溶血毒産生能の有無につき検討した結果，上記の知見を一層明示し得る成績を得たので以下その成績を報告する．

## 実 験 方 法

供試菌株：口峽炎患者咽頭より分離せる白色葡萄球菌1株（家兎血液寒天培地に培養せる本菌集落は溶血環を有した），非溶血性連鎖状球菌1株及び緑色連鎖状球菌1株を使用した．

菌液作製，基質の調製，検圧方法及び溶血試験術式は前に報告した要領に従った．<sup>5)</sup>

即ち

菌液作製：使用菌の一白金耳を普通ブイオン（pH 7.4）2 ml に接種し，24時間培養の後，その1 ml を普通ブイオン（pH 7.4）300 ml に接種，12時間37°Cにて培養の後，リングル氏液で2回遠心洗滌し，M/15

燐酸緩衝液（pH 7.4）15 ml に浮游せしめ，その1 ml 宛を使用した．

基質の調製：葡萄糖（規格品）及び核酸（Merck）を使用し，夫々所要最終濃度の5倍に作製した．

検圧方法：Warburg氏検圧計を使用し，旧法により全液量2.5 ml になる如く菌液，基質を加えて，120分間の酸素消費を観測した．酸素消費量は乾燥菌量10 mg に換算した．

溶血試験：検圧法的観測終了後直ちに菌液を遠心し，その上澄液について型の如く<sup>5)</sup>行つた．

推計学的観察：前報<sup>2)</sup>の方法に準じた．

## 実 験 成 績

溶血性連鎖状球菌（S株）に於ける核酸，含

水炭素及び〔核酸＋含水炭素〕を基質とした場

合酸素消費並びに“S”産生との関連性に就いては既に前論文<sup>5)</sup>で述べた如くで、核酸添加時の“S”産生量は含水炭素を更に追加することにより、何ら増強されない反面、呼吸は核酸単独基質時に比し著しく増加することを示している。(Table 1,5, Fig. 1)

本報に於ては、同様な検圧的観察及び溶血試験を駆使して、二、三の口峽炎患者咽頭より分離した球菌につき検討を加えた所、次の成績を得た。

1) 白色葡萄状球菌(木越株): 120分間の酸素消費量は、内部呼吸約16cmm, 核酸添加時30cmm, 葡萄糖添加時237cmmで、[核酸+葡萄糖]基質では290cmmにして、何れの基質の場合も、溶連菌に見られた如き、時間の経過と相俟つ呼吸の減退現象は認められなかつた。然しながら、核酸、葡萄糖及び[核酸+葡萄糖]の各基質時に於ける呼吸量の相互関係は溶連菌に於けるものと全く同一であつた。しかも注目すべき事は、家兎血液寒天に於いて、溶血環を認める本菌は、核酸添加及び[核酸+葡萄糖]添加によつて、溶血毒産生を何ら増強されなかつた点であつた。(Table 2,5, Fig 2)

2) 非溶血性連鎖状球菌(庄株): 120分間の酸素消費量は内部呼吸7cmm, 核酸添加時27cmm, 葡萄糖添加時165cmmで、一方[核酸+葡萄糖]基質時では390cmmと他の単独基質の場合に比し、非常に酸素消費量が増加したが、溶血毒産生能は、核酸添加時も、[核酸+葡萄糖]添加時でも、全く陰性であつた。即ち本菌では、核酸及び葡萄糖が夫々単独基質として代謝を受ける場合より、両者が混合基質として代謝される場合の方が、甚だしく酸素消費量の増加を招来したが、溶血毒産生能は単独、混合両基質時でも全く附与されなかつた。(Table 3, 5, Fig. 3)

3) 緑色連鎖状球菌(榎本株): 前2株に比し、酸素消費量は少く、120分間の酸素消費量は、内部呼吸8cmm, 核酸添加時21cmm, 葡萄糖添加時26cmmで、[核酸+葡萄糖]基質時では41cmmを示した。本菌に於ても、核酸又は葡萄糖単独基質の場合に比し、[核酸+葡萄糖]混合基質の場合が、酸素消費量の増加する傾向を充分認められ、一方、溶血毒産生能に及ぼす上記基質の作用は全く認められなかつた。(Table 4,5, Fig. 4)

### 総括並びに考按

核酸効果は溶血性連鎖状球菌( $\beta$ -型溶連菌)に特異的な現象であり、他の非溶血性連鎖状球菌、緑色連鎖状球菌、肺炎菌及び葡萄状球菌では陰性であることが知られている<sup>1) 6)</sup>。先に溶連菌の核酸効果に関して、代謝面よりそのエネルギー源問題を検討したが<sup>5)</sup>、本報では、核酸効果が認められないとされている菌株に就き、核酸及び葡萄糖代謝と、溶血毒産生能の有無とを探索し、核酸効果とそのエネルギー源問題の一層の解明を試みんとしたもので、実験成績を総括して見るに、供試せる球菌は口峽炎患者咽頭より分離せる溶血性の白色葡萄状球菌、非溶血性連鎖状球菌及び緑色連鎖状球菌各1株で、各菌株の代謝を検圧法的に探索した所、核酸は多少の差はあれ、分解を受けて菌の活動源とな

つていると考へるべく、之に葡萄糖を添加すれば、之等基質の菌エネルギー源としての価値を益々高めると考へし得る成績を得た。私は先に溶連菌が略々同じ代謝関係を示している事を報告したが<sup>5)</sup>、之等を考へ合わせると、高エネルギー源として加えられた含水炭素は、葡萄状球菌、非溶血性連鎖状球菌により、よく分解利用されるが、その菌に溶血毒産生能を附与したり、又は増強したりするものでなく、核酸を基質とした場合も同様に溶血毒産生には無関係である。就中、本実験に於て、溶血性を有する葡萄状球菌の1株につき核酸の影響を検討されたが、溶血毒を増産する傾向は全く見られず、更に葡萄糖を追加しても、呼吸の増大にも拘らず、溶血毒産生能には無影響であつたことは $\beta$

型溶連菌に於ける核酸効果の特異性を実証すると共に、核酸効果の機転に一つの手懸りを与えるものと思ふ。即ち、溶連菌、葡萄状球菌、非溶血性連鎖状球菌及び緑色連鎖状球菌の核酸及び葡萄糖基質時の呼吸を見るに、その酸素消費は明かに増大している事、溶連菌の之等基質に於ける瓦斯代謝が、他の菌株のそれと酷似している事等より見て、かかる代謝現象はあくまで菌の保生状態へのエネルギー獲得代謝と解すべく、溶血毒産生へのエネルギーとは関係を持たない事を知り得るのである。ただ、核酸基質時の酸素消費が、溶連菌の場合、約2倍に

なっている点は、菌株による差異なのか、又は溶連菌が溶血毒を産生するために核酸に化学的变化を与えた結果かは明らかではないが、基質として加えられた核酸が、岡本教授、細谷教授等の指摘されるが如く、*「本来無活な核酸が溶連菌の特異性能により化学的に変化を与えられ、溶血性を付与された核酸に移行する」*事は間違いない。ただ、核酸分解により得たエネルギーが、溶血性を付与された核酸に移行する機転に利用されるとは思考し難い事は上述の成績から主張出来るものと思ふ。

## 結 論

溶連菌の“S”産生と代謝との相関性を論ずるに当り、口峡炎患者咽頭より分離せる溶血性の白色葡萄状球菌、非溶血性連鎖状球菌及び緑色連鎖状球菌の夫々1株につき、核酸及び〔核酸+葡萄糖〕を基質とした場合の瓦斯代謝と溶血毒産生能とを検索し、次の成績を得た。

1) 溶血性白色葡萄状球菌は核酸を分解利用し、更に〔核酸+葡萄糖〕基質では、瓦斯代謝の増大を見たが、何れの基質の場合も溶血毒産生増強は全く見られなかつた。

2) 非溶血性連鎖状球菌も核酸を分解し、〔核酸+葡萄糖〕基質では供試菌中最大の酸素消費量を示したが、何れの基質時でも溶血毒産生

能を付与することはなかつた。

3) 緑色連鎖状球菌も核酸又は〔核酸+葡萄糖〕を基質とした場合、酸素消費を認めたが、供試菌中最も少なかつた。而してその際、溶血毒産生能を付与することはなかつた。

要するに之等の成績を溶連菌の場合と比較するに、核酸を分解し、又、〔核酸+葡萄糖〕添加で更に酸素消費が増大する点では全く同一であるが、溶血毒産生増強は全く認められず、換言すれば、溶連菌の核酸による溶血毒増強は、代謝により獲得したエネルギーとは直接無関係に遂行される溶連菌の特異的現象であると思ふ。

## 文 献

- 1) Okamoto, H. : Jap. J. Med. Sci., IV. pharmacol., 12, 167, 1940. 2) Bernheimer, A. W. : J. Exp. Med., 88, 149, 1948. 3) Bernheimer, A. W. : *ibid*, 90, 373, 1949. 4) Hosoya, S., Hayashi, T., Mori, Y., Egami, F., Shimomura, M., and Yagi, Y. :

- Jap. J. Exp. Med., 20, 25, 27, 1949. 5) 梅崎 伸 : 金大結研年報, 14(2), 237; 251, 1956. 6) 岡本 肇 : 細胞化学シンポジウム 3, 145, 1954. 7) 細谷省吾, 他 : 基礎と臨床, 1, 211, 1948.

Table 1 Respiration of *Str. haemolyticus* in Ribonucleic acid, Glucose and Ribonucleic acid+Glucose, which was added as substrate

The final concentration of substrates added was as follows : Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

Reaping taken after (min.)	Oxygen up-take $X_{O_2}$ cmm		
	Nucleic acid	Glucose	Nucleic acid+Glucose
20	13.2	41.2	47.3
40	30.5	83.0	137.0
60	44.2	118.1	187.0
80	56.0	146.0	228.2
100	63.9	166.0	244.5
120	69.9	180.8	250.6

Fig. 1 Respiration of *Str. haemolyticus* in Ribonucleic acid and Glucose

The final concentration of substrates added was as follows :  
Nucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

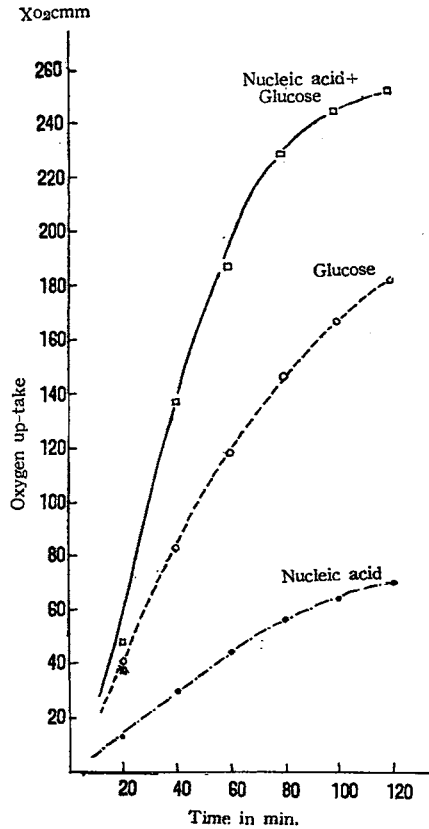


Table 2 Respiration of *Staphylococcus albus* in Ribonucleic acid and Glucose

The final concentration of substrates added was as follows: Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

Reading taken after (min.)	Oxygen up-take $X_{O_2}$ cmm		
	Nucleic acid	Glucose	Ribonucleic acid + Glucose
20	7.1	38.8	44.0
40	12.4	78.0	88.0
60	18.2	120.6	143.3
80	22.9	160.8	194.5
100	27.0	199.1	241.6
120	30.1	236.9	289.0

Table 3 Respiration of *Str. nonhaemolyticus*, in Ribonucleic acid and Glucose

The final concentration of substrates added was as follows: Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

Reading taken after (min.)	Oxygen up-take $X_{O_2}$ cmm		
	Nucleic acid	Glucose	Nucleic acid + Glucose
20	18.1	104.6	129.0
40	21.4	142.2	252.6
60	23.0	155.6	319.7
80	25.6	160.2	359.0
100	27.1	164.3	380.1
120	27.4	165.1	392.2

Fig. 2 Respiration of *Staphylococcus albus* (Kigoshi strain) in Ribonucleic acid and Glucose

The final concentration of substrates added was as follows: Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

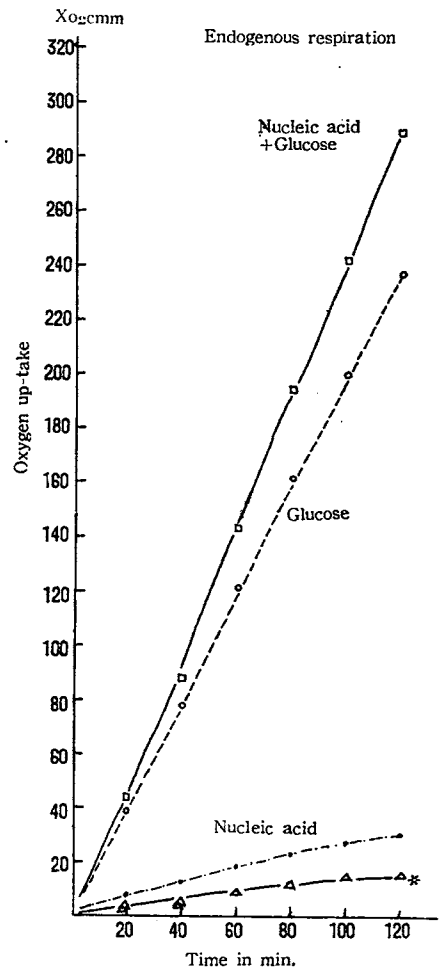


Fig. 3 Respiration of *Str. nonhaemolyticus* in Ribonucleic acid and Glucose

The final concentration of substrates added was as follows : Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

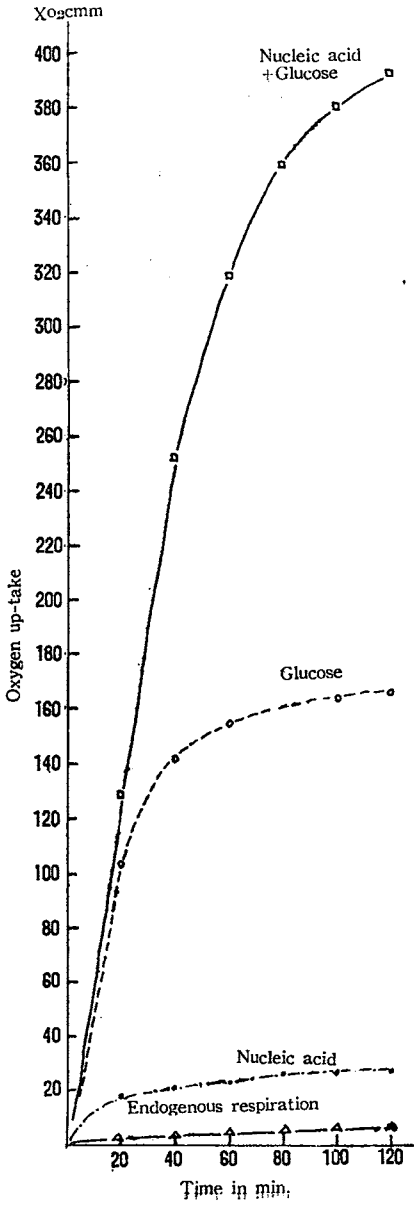


Fig. 4 Respiration of *Str. viridans* in Ribonucleic acid and Glucose

The final concentration of substrates added was as follows : Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

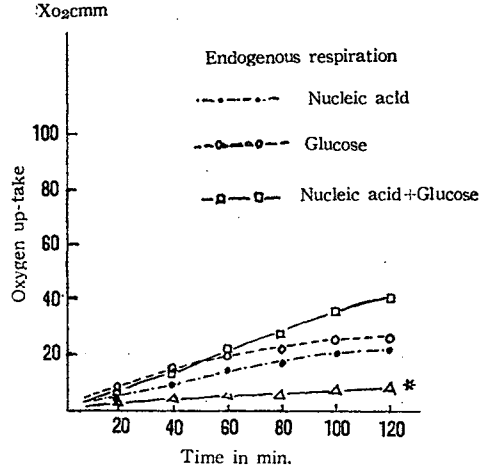


Table 4 Respiration of *Str. viridans* in Ribonucleic acid and Glucose

The final concentration of substrates added was as follows : Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

Reading taken after (min.)	Substrates added		
	Nucleic acid	Glucose	Nucleic acid + Glucose
20	2.7	7.3	3.5
40	8.8	14.5	12.4
60	12.7	19.3	21.3
80	15.7	22.1	27.8
100	20.0	25.1	37.0
120	21.1	25.6	40.8

Table 5 Influences of Ribonucleic acid and Glucose upon Hemotoxin-formation of various cocci \*

The final concentration of substrates added was as follows :

Ribonucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

Hemolysis test, in which 0.85% NaCl solution was used as the diluent. 1 ml of washed blood cell suspension was added to 1 ml of the diluted supernate, obtained from the mixture of cocci suspension and substrates.

Strains tested*	Substrates added	Dilution of supernatant											
		1: 2.5	1: 5	1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1,280	1: 2,560	
Str. haemolyticus (S strain)	Control	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	++	-
	Glucose	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid + Glucose	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-
Str. phylococcus albus (Kigoshi)	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid + Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Str. non-haemolyticus (Shyō)	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid + Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Str. viridans (Kashimoto)	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nucleic acid + Glucose	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*St. r. haemolyticus (S strain) transferred from Department of Pharmacology, School of Medicine, Kanazawa University. The other strains were isolated from angina patients.

\*\*Supernates tested were taken from cocci suspensions which were incubated with ribonucleic acid and Glucose for 2 hours at 37°C.

### indicates complete hemolysis; ##, ++, +, ± indicate partial hemolysis; - indicates no hemolysis.