

鼠ライ菌の無細胞培養液による培養

京都大学結核胸部疾患研究所細菌血清学部

大 岩 弘 治

この研究は次の様な発想のもとで始められた。ライ菌、鼠ライ菌の発見以来、これ等の菌の培養に関して長年にわたって、多くの研究者達が、培養組成の改良、培養方法の工夫を続けて来たが、未だ無細胞培養液で確実に増殖させ、継代し得る方法は見出されていない。この事は逆に、これ等の菌が通常の意味での無細胞培養液では増殖し得ないことを暗示するものである。一方宿主体内に於ても、これ等の菌は細胞内増殖のみを行う絶体寄生微生物であると断定したい。この事は先に述べた、これ等の菌が無細胞培養液で増殖し得ないと云う仮説と表裏一体をなすものである。更に生化学的検討に於ても、これ等の菌の catabolic な代謝系が、完全な形では未だに発見されていない事は、培養不可能な事と大いに関係がありそうである。この様な事から仮りに、これ等の菌は、進化の過程の中で、エネルギー獲得の系を遺伝的に欠く様になり、宿主細胞内で、宿主細胞の代謝系に依存しながら、自己細胞の合成を行っている特殊な種であると仮定した。もしこの仮定が正しければ、試験管内に細胞内環境を持込めば、或は菌の増殖が期待出来るのではないかと考え、実験の系を組んだ。実際には、

使用菌株は、マウス接種の鼠ライ菌熊本株、ハワイ株である。これ等の菌をトリプシン処理、遠心装作等により出来るだけ、宿主組織を除いて集め、滅菌シリコン・スライドに吸着させた。

培養液は、加える組織の細胞内酵素活性を出来るだけ維持する目的で、高濃度蔗糖、ATP、Cytochrome C等を含んだ基礎培養液を用意した。これに幼若健康なH系マウスの脳を加えて

ホモゲナイズし、遠心後、その上清をザイツ濾過器で濾過した脳スープを培養液とした。この培養液は当然ながら種々の酵素活性を保持している。

この培養液に先の鼠ライ菌を吸着させたシリコン・スライドを入れ、37°Cで培養する。翌日、又新たにマウス脳スープ培養液を作り、これにこのスライドを入れ換える。この様な装作を毎日繰返していった。

その結果、20週で肉眼でやっと見える位の曇りが、スライド上に現われ、40週を過ぎると、無数の象牙色の顆粒群が見られた。これを Ziehl-Neelsen 染色すると無数の抗酸菌が見られた。この菌は一般培養基、結核菌用培養基には増殖しなかった。鼠ライ菌が増殖したと考えたい所である。この様な培養法で、第2代の継代も同様な結果が得られた。

しかし、動物への再接種は期待通りの結果は未だ得られていない。現在迄に、熊本株、2代目、通算84週培養の菌をマウス3匹に接種したが発症を見なかった。ハワイ株初代40週の菌を接種した場合も、病巣形成は見られなかった。しかしこの時使用したマウスは、鼠ライ菌に強いDD系マウスであった。ハワイ株2代目、通算81週の菌を感受性の高いH系マウス4匹の皮下に注射した。5ヶ月後その内の1匹ではあるが、注射局所に腫瘤が認められた。それは直径2mm白色で局所に強い炎症反応は認められなかったが、塗抹標本を作り、鏡検した所細胞内に多数の抗酸性菌を保有する多数の細胞が見られた。

現在の所詳な考察は避けるが、動物発症を目ざして、尚検討を続けて行くつもりである。