

感染性肝腎障害症の成因に関する実験的研究

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：青柳安誠教授）

片 岡 善 一

〔原稿受付：昭和34年5月20日〕

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE PATHOGENESIS OF INFECTIOUS HEPATORENAL SYMPTOM-COMPLEX

by

ZENICHI KATAOKA

From the 2nd Surgical Department, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

Staphylococcus aureus F.D.A. 209-P was subcultured 50 times successively every 24 hours 37°C on media (pH 7.0) containing organ-tissue extracts, such as liver, kidney, lung and skeletal muscles extracts. These strains were called *the Liver-adapted strain*, *the kidney-adapted strain*, *the lung-adapted strain* and *the muscle-adapted strain* respectively. The strain subcultured on media free of organ-tissue extract was called *the control strain*. The experiments have been undertaken in order to study in detail the organ-tissue affinities and the enzymatic actions of these adapted strains. The results obtained are shown as follows:

(1) The growths of each adapted strain were promoted by adding their respective organ-tissue extracts to broth media, and then compared with other organ-tissue extracts. Our special attention was called to the fact that the growths of the liver- and kidney-adapted strain were promoted by adding either the liver or the kidney extract.

(2) The protease activities of each adapted strain were activated by adding their respective organ-tissue extracts, while the protease activities of the liver- and kidney-adapted strain were activated by adding either the liver or the kidney extract.

(3) The catalase activities of each adapted strain showed a value corresponding to the catalase activities of the very extracts added, while the liver- and kidney-adapted strain showed an approximately similar activity.

(4) Following the intravenous injection of bacterial suspensions, the p^{32} labeled liver- or kidney-adapted strain showed comparatively abundant and prolonged distribution in the liver, kidney and spleen, as compared with those of the other strains. In the case where p^{32} only was administered, its excretion was observed to be quicker than in the case when it was labeled in the bacteria.

These experimental results prove that each *staphylococcus* strain adapted to the organ environments of liver or kidney, shows a peculiar organ affinity for both liver

and kidney, and such organ affinity results from a peculiar change in the bacterial enzyme system induced under such organ environments. Therefore, it is considered that the special organ affinity of disease germs can be expected to play an important role in the occurrence of infectious hepatorenal symptom-complex.

目 次

第1章 緒 言	第1節 緒 言
第2章 菌を臓器に適応させるための誘導と方法	第2節 各臓器のカタラーゼ活性
第1節 緒 言	第3節 各適応菌のカタラーゼ活性
第2節 実験材料および実験方法	第4節 考 按
第3節 各適応菌の発育に及ぼす臓器組織浸出液の影響	第5章 放射性磷 (P^{32}) により標識した各適応菌の宿主体内における分布に関する研究
第3章 各適応菌のプロテアーゼ活性に及ぼす臓器組織浸出液の影響	第1節 緒 言
第1節 緒 言	第2節 実験方法の概要
第2節 実験材料ならびに実験方法	第3節 実験材料
第3節 実験成績	第4節 実験方法
第4節 考 按	第5節 実験成績
第4章 各適応菌のカタラーゼ活性について	第6節 考 按
	第6章 結 語

第1章 緒 言

Gaucher (1866) が肝臓と腎臓の特殊関係について注目して以来、この両者の関係の重要性が次第に認識されるようになり、各方面から多くの業績があげられるに至つた。フランスでは Lancereaux (1882), Richardière (1890) らにつづいて、Dérot (1935) は臨床的観察から帰納した考えに基づき本症を一つの疾患と見做して、“Hépatonéphrite”と名付けた。一方、松尾 (1927) もこの両者の関係に早くから気が付き、Hepatorenale Erkrankung を提唱していた。すなわち、肝臓と腎臓の解剖学的類似性と機能的相関性を強調し、臨床的研究に基づいて本症を唯一で同一の伝染性あるいは中毒性原因により、同時に肝腎両臓器がおかされる疾患と定義した。

肝腎障害症といわれる疾患は、原因的にみて感染性、中毒性、原因不明性等と分けられ、またその症状、病理解剖学的所見等それぞれの立場から分類されるとともに、またいろいろの観点から本疾患の発生機転が研究されている。その主なものは、1) 肝腎両臓器の構造の類似性または機能の相関性に重きをおく説。松尾およびその共同研究者らは、肝腎両臓器が色素排泄機能をはじめ、水、異種蛋白、細菌、尿素等の処理についても共同作用、代償作用をいとむことを明らかにし、解毒作用にも密接な関係があることを証明した。故に肝あるいは腎臓の障害は二次的に又それぞれの障害を起すことは当然考えられるとのべている。ま

た両臓器が一次的に同一の菌、または毒物によつて侵されることは、小西が組織の体外培養による実験によつて明らかにした。すなわち、Hepatotoxin および Nephrotoxin は、これらと親和性を有する臓器に直接作用して、いずれも肝および腎臓をとくに強く侵すと述べている。三田はこの現象を両臓器の蛋白構造の相似性に帰して説明している。太田は、肝ならびに腎が菌、毒物に対して相似の吸着相として働らくため、これらに対する感受性が両臓器において類似していると考えている。2) 肝腎両細胞毒による両臓器の抵抗減弱に菌血症が加わると考える説。村は家兎の腹腔内に同種肝または腎臓器乳剤を注射し、各所属臓器を障害させておき、菌を注射して肝および腎の病変の発生を容易にしたと述べている。3) Seröse Entzündung 説、感染性、中毒性、原因に基づく諸種の疾患の際に、肝に Seröse Entzündung の発生を見ることが多いと Eppinger は報告した。Fahr は重症食餌中毒に併発した肝腎症に、腎の著明な炎症性浮腫を認めた例を報告し、Nonnenbruch も同様な例をあげ、肝腎症の際にこのような病変はしばしば存在することを予測している。松尾門下の辻も、感染性中毒性、原因で起つた軽症の肝腎症の数例を報告している。4) 肝臓の抗利尿ホルモン不活性化機能の低下に基づくとする説。波沢は麻酔とか、手術後に発生する肝腎障害症において、諸種の刺激による抗利尿ホルモン排泄の増加や、肝の機能障害による抗利尿ホルモン不活性化機能の低下を原因としている。以上を概観すると、主に

宿主側の観点に立つての見解であるが、他の条件、とくに菌体側の条件の吟味は未だ未解決のままに残されている。菌の宿主体内への侵襲に際して、臓器、組織に対する親和性が有力な因子となることはすでに明白な事実であるが、私はこの点に鑑み、感染性肝腎障害症発生の要因として、菌の臓器に対する親和性を検討し、併せて本症発生における病原体側の意義を考察するため以下の実験を行なった。

第2章 菌を臓器に適応させるための誘導と方法

第1節 緒 言

微生物が環境に対して適応的に変化することは、古くからしばしば観察されているところである。しかし、この変化の本質については、Karström (1930), Lewis (1934), Beadle & Tatum (1941) らの示すように、spontaneous mutation, natural selection,あるいは adaptation 等があげられている。最近の遺伝生化学的研究によつて、遺伝子が酵素の生成に関与し、さらには細胞内化学反応を支配していることが明らかになったが、Beadle らの実験も示すように、与えられた条件によつて惹起された酵素系の変化が、One gene one enzyme の理論に従つて固定化し、遺伝し得ることは明らかである。さて、さきに石上、真先、土倉らは、同一の菌株に出発したブドウ球菌を家兎横紋筋浸出液および骨髓浸出液を加えた培地に継代培養し、人為的に横紋筋、または骨髓からの化学的環境に成育をとげさせて、いわゆる myostrain または osteostrain を誘導したのであるが、私も同一の方法によつて同一菌株から出発したブドウ球菌を肝ならびに腎臓浸出液添加培地に50代継代培養して肝臓適応菌ならびに腎臓適応菌を作製し、一方対臓器対照として肺および横紋筋適応菌をも作製し、普通寒天培地に継代培養したものを単なる対照菌とした。理想的には感染性肝腎障害症の病原体として代表的な Weil 氏病スピロヘータを供試菌とすべきであるが、実験上大量の菌塊を必要とし、またブドウ球菌による感染性肝腎障害症の症例も数多く報告されている点より、本実験においてはブドウ球菌を供試菌とした。

第2節 実験材料および実験方法

実験材料 1) 継代用培地

体重約 2kg の健康家兎を両側頸動脈切断によつて充分に脱血致死させ、肝、腎、肺、横紋筋を外科無菌的に採取し、適量の実験用海砂および4倍量の生理的食塩水

を加えて乳鉢で磨砕し、遠心沈澱して上清をとり、pH 7.0 に修正した後、Seitz 濾過器で濾過滅菌し、その 0.5cc を予め 45°C に加熱溶解せしめた pH 7.0, 3% 普通寒天培地 4.5cc に無菌的操作をもつて加え、37°C, 24時間孵置して無菌状態をたしかめた後使用に供した。

2) 標準黄色ブドウ球菌

本学微生物学教室保有の黄色ブドウ球菌 F. D. A. 209-P 株を使用した。

実験方法

前述の培地に単離して得た同一菌株に出発する黄色ブドウ球菌を 37°C, 24時間の培養により各50代継代培養した。この間、菌集落の吟味、塗抹鏡検または単離を併用して雑菌の混入をさけた。なお、継代培養の時間は予め行なつた基礎実験によつて、菌の酵素形成の最も旺盛といわれる定常期にあることを確かめた上で決定した。

第3節 各適応菌の発育に及ぼす臓器組織浸出液の影響

1) 実験方法の概要

前述のようにして得た各菌の白金耳宛を接種した 5cc のブイヨン培養液に、第2節 1) の方法によつて調製した臓器組織浸出液を同種、他種とも各 0.1cc を加えた後、37°C, 24時間孵置し、ブイヨン 1cc 中の菌量を鳥潟沈澱計によつて測定した。

2) 実験成績 (第1表)

第1表 臓器組織浸出液の菌発育に及ぼす効果

菌 種	浸出液0.1cc				
	肝	腎	肺	筋	対照
肝	3.45	2.57	2.40	2.29	2.26
腎	2.33	2.87	2.18	2.21	2.15
肺	2.75	2.83	3.35	2.86	2.80
筋	2.82	2.88	2.70	3.24	2.73
対 照	2.55	2.52	2.45	2.47	2.30

(mg/cc)

一般に臓器組織浸出液の添加によつて、いずれの菌においても多少の発育促進があらわれたが、ことに各適応菌は、同種の浸出液の添加によつて明らかな発育促進を示した。この成績は真先らの実験成績と同様の結果を示している。なお興味あることは、肝、腎両適応菌が肝、腎いずれの浸出液の添加によつても、他種の浸出液の添加の場合よりも一層著明な菌発育促進作用をうけたことである。

第3章 各適応菌のプロテアーゼ活性に
及ぼす臓器組織浸出液の影響

第1節 緒 言

活発な細菌の代謝を円滑に遂行する機構はいうまでもなく、菌体に存在する数多くの酵素系であるが、プロテアーゼは其中でも菌体蛋白合成、分裂増殖等の前提となり、また菌の生活力や毒性とも密接な関係をもつものといわれている。細菌のプロテアーゼに関する系統的な報告としては、Maschmann, 今泉(1938), 斎藤, 大西(1941), 阿部(1947)らの業績があり、とくにブドウ球菌プロテアーゼについては、阿部が詳細に報告している。私はこれらの諸氏の方法により、各適応菌ならびに対照菌のプロテアーゼ能を測定し、一方これらの酵素能に対する各臓器組織浸出液の影響等を観察するため、以下の実験を行なつた。

第2節 実験材料ならびに実験方法

実験材料 1) 酵素材料

- a) 乾燥菌体粉末: pH 7.0 ブイヨン培地に被検菌を 37°C, 24時間培養し、さらに 3%寒天培地に37°C, 18時間培養して、生じた菌集落を生理的食塩水で集め遠心分離し、4倍容量のアセトンで3回、3倍容量のエーテルで2回処理した後、デシケーターに収めて減圧乾燥した。使用に際しては4%の割合にグリセリン水(グリセリン1:水1)に懸游して酵素液となした。
- b) 自己消化液: a)と同様にして集菌、洗滌したものを目盛り付き小遠沈管中で30分間毎分3000回転で

遠心沈澱し、その菌量の5倍の蒸留水に懸游し、トルオールを重層し、37°C, 48時間自己消化させ、全消化液を酵素液とした。

2) 基 質

カゼイン、ゼラチン、ペプトンをそれぞれ、3%, 4%, 2%の割合に緩衝液に溶解し、*n*-NaOHを添加してpHを調整した。

3) 緩 衝 液

m/15 KH_2PO_4 -m/15 Na_2HPO_4 (Sörensen) 磷酸塩緩衝液を使用した。

4) 組織浸出液

第2章 1) に述べた方法により調製した。

実験方法

主反応として4%乾燥菌体粉末グリセリン水懸遊液または自己消化液2cc + 基質緩衝液溶液18cc, 全量20ccの組成とし、トルオール 0.5cc を加えて、37°C, 24時間孵置した。対照として酵素液のかわりにグリセリン水、または蒸留水を、基質緩衝液溶液のかわりに緩衝液を用いた組成をとつた。また組織浸出液の影響をみる場合は、各組成に0.1cc を添加した。混合直後、および24時間、37°C に孵置後の反応組成を5.0cc 宛とり、中和ホルマリン液を1.0cc 加え、フェノールフタレインを指示薬として、Sörensen のフォルモール滴定法によって酸値を測定し、対照値を差引いた酸値増加を酵素分解値となした。

第3節 実 験 成 績

1) 至適水素イオン濃度 (第2表)

第2表 菌プロテアーゼの至適水素イオン濃度

酵 素	基 質	pH				
		酸 値 増 加 cc (n/10 NaOH)				
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0
乾 燥 粉 末	カゼイン	0.23	0.40	0.68	0.76	0.63
	ゼラチン	0.11	0.20	0.33	0.41	0.34
	ペプトン	0.26	0.42	0.72	1.03	0.80
自消 化 己液	カゼイン	0.17	0.26	0.47	0.53	0.44
	ゼラチン	0.07	0.15	0.22	0.30	0.20
	ペプトン	0.19	0.35	0.50	0.66	0.57

細菌プロテアーゼはpH 7.0~8.0の間に至適pHを有するといわれており、菌種による差異は少ないとされている。対照菌を使用して第2表に示すような成績を得た。すなわち基質として、カゼイン、ゼラチン、ペプトンのいずれを用いた場合においても、至適pHは

7.5であつた。

2) 継代培養によるプロテアーゼ能の消長

(第3表)

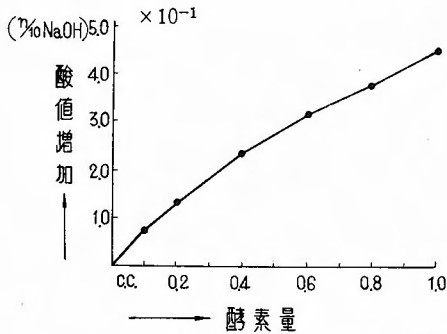
継代培養による酵素能の変動はほとんど見られない。各菌の比較においても有意の差を認めなかつた。

第3表 世代別菌プロテアーゼ能

菌種 世代	肝	腎	肺	筋	対照
30	0.46	0.49	0.38	0.47	0.50
40	0.45	0.50	0.38	0.53	0.42
50	0.53	0.50	0.46	0.49	0.53

cc (n/10 NaOH)

3) 酵素濃度と酵素作用との関係 (第1図)



第1図 酵素濃度と菌プロテアーゼ能

以上の実験条件下においては、一定濃度までは酵素濃度に比例して酵素作用も増加し、図でみるようなほぼ直線的な関係がえられた。このことから酸値増加すなわち酵素量と考えることができる。

4) 各菌のプロテアーゼ能に及ぼす各臓器組織浸出液添加の影響 (第4表～第8表)

第4表a 臓器組織浸出液の菌プロテアーゼ能に及ぼす影響

—— 肝 適 応 菌

	酸値増加 cc (n/10 NaOH)				
	肝	腎	肺	筋	対 照
No. 1	0.44	0.46	0.38	0.40	0.34
2	0.86	0.77	0.61	0.51	0.59
3	0.54	0.50	0.38	0.50	0.36
4	0.53	0.54	0.50	0.52	0.48
5	0.39	0.36	0.30	0.36	0.32
6	0.64	0.59	0.38	0.35	0.44
7	0.65	0.61	0.44	0.46	0.44

菌プロテアーゼ能賦活率は、

$$\frac{(\text{浸出液を添加したときの酸値増加値}) - (\text{浸出液を添加しないときの酸値増加値})}{(\text{浸出液を添加しないときの酸値増加値})} \times 100 (\%)$$

第4表b 臓器組織浸出液添加による菌プロテアーゼ能賦活率
—— 肝 適 応 菌

浸 出 液	肝	腎	肺	筋
No. 1	28	35	12	18
2	46	31	3	-14
3	50	39	6	39
4	10	13	4	8
5	22	13	-6	13
6	45	33	-14	-21
7	48	38	0	3
平 均	38%	29%	1%	6%

第5表a 臓器組織浸出液の菌プロテアーゼ能に及ぼす影響

—— 腎 適 応 菌

浸出液	酸値増加 cc (n/10 NaOH)				
	肝	腎	肺	筋	対 照
No. 1	0.54	0.54	0.44	0.44	0.44
2	0.62	0.59	0.61	0.56	0.56
3	0.75	0.74	0.74	0.68	0.44
4	0.72	0.88	0.66	0.64	0.54
5	0.79	0.85	0.67	0.58	0.56
6	0.72	0.70	0.52	0.44	0.42
7	0.55	0.51	0.32	—	0.47

第5表b 臓器組織浸出液添加による菌プロテアーゼ能賦活率

—— 腎 適 応 菌

浸 出 液	肝	腎	肺	筋
No. 1	23	23	0	0
2	11	1	9	0
3	70	68	68	55
4	32	63	22	19
5	41	52	19	4
6	71	67	24	5
7	17	9	-31	—
平 均	38%	41%	16%	14%

としてあらわした。

乾燥菌体粉末を酵素源とした場合は、臓器組織浸出液添加による影響は第10表に示すようにいずれの菌においても著明ではないが、自己消化液を酵素源として使用した場合には、明瞭に賦活作用が観察され、特色

第6表a 臓器組織浸出液の菌プロテアーゼ能に及ぼす影響
——肺適応菌

酸値増加 cc (n/10 NaOH)					
浸出液	肝	腎	肺	筋	対 照
No. 1	0.51	0.51	0.54	0.51	0.46
2	0.64	0.56	0.68	0.40	0.40
3	0.43	0.44	0.61	0.54	0.41
4	0.46	0.44	0.44	0.40	0.38
5	0.44	0.40	0.38	0.38	0.36
6	0.40	0.48	0.60	0.50	0.40
7	0.51	—	0.61	0.53	0.48

第6表b 臓器組織浸出液添加による菌プロテアーゼ能賦活率
——肺適応菌

浸出液	肝	腎	肺	筋
No. 1	11	11	17	11
2	60	40	70	0
3	5	7	48	36
4	21	16	16	5
5	22	11	6	6
6	0	20	50	25
7	6	—	27	10
平 均	15%	17%	33%	9%

第7表a 臓器組織浸出液の菌プロテアーゼ能に及ぼす影響
——筋適応菌

酸値増加 cc (n/10 NaOH)					
浸出液	肝	腎	肺	筋	対 照
No. 1	0.74	0.74	0.46	0.86	0.54
2	0.68	0.59	0.66	0.76	0.47
3	0.52	—	0.52	0.49	0.46
4	0.70	0.72	0.60	0.60	0.60
5	0.48	0.48	0.49	0.54	0.55
6	0.48	0.42	0.42	0.56	0.46

第7表b 臓器組織浸出液添加による菌プロテアーゼ能賦活率
——筋適応菌

浸出液	肝	腎	肺	筋
No. 1	36	36	-15	60
2	45	26	40	62
3	12	—	12	7
4	17	20	0	0
5	-16	-16	-14	-2
6	14	-9	-9	22
平 均	16%	11%	3%	25%

第8表a 臓器組織浸出液の菌プロテアーゼ能に及ぼす影響
——対照菌

酸値増加 cc (n/10 NaOH)					
浸出液	肝	腎	肺	筋	対 照
No. 1	0.50	0.52	0.45	0.47	0.41
2	0.53	0.71	0.63	—	0.53
3	0.41	0.47	0.45	0.41	0.39
4	0.54	0.63	0.57	0.51	0.51
5	0.53	0.51	0.41	0.46	0.39

第8表b 臓器組織浸出液添加による菌プロテアーゼ能賦活率
——対照菌

浸出液	肝	腎	肺	筋
No. 1	22	27	10	15
2	0	34	19	—
3	5	21	15	5
4	6	23	12	0
5	36	30	5	18
平 均	14%	27%	17%	15%

第9表 賦活率(総括)

菌 種	浸出液	肝	腎	肺	筋
肝		38%	29%	1%	6%
腎		38	41	16	14
肺		15	13	33	9
筋		16	11	3	25
対 照		14	27	17	15

第10表 臓器組織浸出液添加の菌プロテアーゼ能に及ぼす影響

—肝適応菌の乾燥粉末を酵素液とした場合—

酸値増加 cc (n/10 NaOH)						
菌種	浸出液	肝	腎	肺	筋	対 照
肝		0.60	0.68	0.70	0.64	0.69
腎		0.52	0.61	0.62	0.50	0.60
肺		0.70	0.68	0.62	0.68	0.62
筋		0.67	0.78	0.68	0.62	0.66
対 照		0.60	0.61	0.58	0.58	0.58

のある態度がうかがわれた。すなわち、(1) 各適応菌はそれぞれの臓器組織浸出液の添加によつて著明な酵素活性をあらわし、(2) とくに、肝ならびに腎適応菌の酵素能は、肝、腎いずれの浸出液の添加によつても著明に賦活され、他の菌と比べてみると、この両適応菌はあたかも同一の菌のような態度を示した。

5) 臓器組織浸出液の菌プロテアーゼ賦活作用に対する透析、熱処理等の影響 (第11表)

第11表 浸出液の賦活効果に及ぼす透析、熱処理の影響

菌 株	区 分	対 照	組織汁加 0.2cc		
			正 常	透 析	熱処理
肝 適 応 菌		5.3	7.6	7.6	7.4
腎 適 応 菌		5.0	7.2	7.2	6.9
筋 適 応 菌		4.8	5.7	5.3	5.0

賦活作用の因子が透析、熱処理によつて変化するものであるかどうかを知るために、各臓器組織浸出液を室温で24時間、透析用セロファンで透析し、熱処理としては60°C、1時間加熱したものを使用した。肝ならびに腎浸出液は透析、熱処理等によつてほとんど影響を受けないが、横紋筋浸出液では透析によつて軽微な減少を、熱処理によつては著しい減少を示した。この成績は賦活作用を示す因子が非透析性の、恐らくは蛋白分子様のものであることを示すものと思われる。早川、伊藤らは組織のトリプターゼ活性は透析アルブミンの添加によつて著明に亢進すると報告しており、土倉も同様の報告をしている。

第4節 考 按

Rosenthal & Pathay, Weissfeiler らは、ブドウ球菌の感染性、毒性は同一菌株においては、そのプロテアーゼ量と平行するとさえ極言しており、実際に炎

症のメカニズムにおいて病原菌プロテアーゼの果す役割も、ガス壊疽を一つの適例として解明されつつある。

以上の実験成績も示すように自己消化液を酵素源とした場合に、各適応菌プロテアーゼ能は、同種の臓器組織浸出液の添加によつて最大の賦活作用を受け、ことに肝ならびに腎適応菌のそれらは肝および腎の浸出液の添加によつてほぼ同一の賦活作用をうけ、臓器対照とした肺ならびに筋適応菌のそれらと明らかに異つた態度を示した。この成績は従来いろいろの方面から説かれていたところの肝、腎両臓器の相似性が、細菌の臓器環境に対する適応酵素の生成という、酵素化学的見地からも首肯されるものであることを意味している。一方また肝、腎いずれかの臓器で止着し、増殖した菌は肝、腎いずれの臓器環境下においても、菌体蛋白の合成、ひいてはその増殖が促進せられることを示している。Spiegelman, S., 須田らは、細菌の酵素的適応のときには、酵素蛋白部、いわゆるアポ酵素の変化が主体をなすと述べている。一方赤堀らは細胞内プロテアーゼの抽出法について、自己消化法は、細胞内のプロテアーゼにより体蛋白は分解されるが、酵素蛋白は球状蛋白に属するので分解され難く、比較的安定な抽出法であり、またアセトン・エーテル処理乾燥法は不安定な酵素蛋白を変性させ、失活させる危険があるとのべている。乾燥菌体粉末を酵素源としたプロテアーゼ活性が、自己消化液の場合に比べて、添加臓器組織浸出液に対して不特定の反応を示したことは、抽出操作における酵素蛋白の変性に由来するものと考えると理解され易いのである。

第4章 各適応菌のカタラーゼ活性について

第1節 緒 言

Thenard (1811) が動物組織による過酸化水素の分解を報告して以来、カタラーゼについては多くの業績がある。細菌カタラーゼは、プロテアーゼとともに、細菌酵素のうちでもその生活力と毒性等に緊密な関係を有している点から、種々検討されている。すなわち、Gottstein (1893), Hahn (1897) をはじめ、Löwenstein (1903), McLeod (1923), 藤田 (1931) らは種々な細菌についてのカタラーゼ活性を報告している。伊藤 (1924) はレンサ球菌のカタラーゼに関する研究において、溶血性レンサ球菌中、定型的β型のような溶血力の強い菌株はカタラーゼの産生が多く、

緑連鎖菌のような溶血力の弱いものはカタラーゼを欠くと述べ、その毒力との関係を報告している。またペニシリン耐性菌においては毒力が低下していることが一般に知られているが、この耐性菌はカタラーゼ産生の低いことは、岩川、宮村らが報告しているとおりである。

また、Virtanen & Karström (1925)、伊藤、板野、荒川らは、培地の種類、成分等によりカタラーゼ産生が著しく影響されると述べている。そこで、前述の各適応菌のカタラーゼ活性を比較考察し、また培地に添加した浸出液の影響は、カタラーゼの産生にあらわれているかどうかを追究するために、以下の実験を行なった。

第2節 各臓器のカタラーゼ活性

1) 実験材料ならびに実験方法

実験材料

1) 酵素液

健康家兎を両側頸動脈切断によつて充分脱血致死させ、肝、腎、肺、大腿筋を採取し、磷酸塩緩衝液で充分血液を洗い去り、濾紙で水分を除去し、乳鉢に1gをとつて50倍の蒸留水を加え磨砕し、毎分3000回転、5分間遠心沈澱させた上清を酵素液とした。

2) 基質溶液

0.01 N H₂O₂ 液 (0.1 N H₂O₂ を使用の度に m/15 磷酸塩緩衝液に加えて調製した)、pH 7.0

3) 0.005 N KMnO₄

4) 2N H₂SO₄

実験方法

カタラーゼ測定法は、検圧法と過マンガン酸カリ法に大別されるが、後者が比較的簡便でしかも正確であるため多く用いられているので、測定には過マンガン酸カリ滴定法を用い、主に小管の方法に準じて実施した。順序は、

1) 100cc の三角コルベンに 50cc の基質溶液をと、細砕した氷浴中に入れ冷却しておき、2) 別に冷却しておいた酵素液を1cc 基質溶液に加えて、よく振盪した後、3) 作用開始後、3分、6分、9分の3回に反応液5cc 宛をとり、予め用意してある 2N H₂SO₄ 5cc の中に注加して反応を停止させ、4) 0.005N KMnO₄ で微紅色を呈するまで滴定し、消費量をBとした。5) 基質溶液 5cc に 2N H₂SO₄ を 5cc 加え、ついで酵素液 0.1cc の順で作つた液を同様に KMnO₄ で滴定し、消費量をAとした。6) $K = \frac{1}{t} \log \frac{A}{B}$ によつて算出した各分毎のK値を平均した。7) K値の平均値を1000倍したものをカタラーゼ活性度として記載し

た。

2) 実験成績

健康家兎の臓器カタラーゼ量については、多くの報告が血液、肝あるいは腎、肺、筋の順に多いとのべている。肝、腎の順序は報告者によりいろいろである。私の実験成績では腎の方が少し高く、以下肝、肺、横紋筋の順であり、横紋筋は前3者よりはるかに少い値を示した(第12表)。酵素量とカタラーゼ活性とはあ

第12表 各臓器のカタラーゼ能

臓 器	活 性 度			
	750倍			50倍
	肝	腎	肺	筋
時 間				
3 分	44.9	46.9	35.8	22.1
6	43.0	45.1	34.1	20.8
9	42.2	44.1	33.5	20.3
平 均	43.4	45.3	34.5	21.1

る程度までは比例的に増減した。(第13表)

第13表 肝臓浸出液のカタラーゼ能

時 間	活 性 度		
	0.5cc	1cc	2cc
酵 素 量			
3 分	22.6	44.9	85.1
6	21.7	43.0	83.2
9	21.3	42.2	82.0
平 均	21.9	43.4	83.4

第3節 各適応菌のカタラーゼ活性

1) 実験材料ならびに実験方法

実験材料

各適応菌ならびに対照菌、その他の材料は前節と同様である。なお血液寒天に継代培養したものを血液適応菌として加えた。

実験方法

予め行つた基礎実験によつて、酵素液として磷酸塩緩衝液 (pH 7.0) に菌を 4mg/cc の割合に含有するものを用い、その他は前節の方法に準じた。

2) 実験成績

第14表に示したように、血液寒天に継代した菌のカタラーゼ能が最高で、以下肝ならびに腎適応菌は相前後し、肺および横紋筋適応菌の順であつた。すなわち、各培地に添加した組織浸出液のカタラーゼ活性の順で

第14表 各菌のカタラーゼ能

		活 性 度 (4mg/cc)				
菌 種 時間		適 応 菌				対照
		肝	腎	肺	筋	
3 分		30.1	29.9	29.0	26.3	24.8
6		29.6	29.4	28.2	25.2	24.1
9		29.2	28.9	27.7	24.5	23.5
平 均		29.6	29.4	28.3	25.3	21.1

あり、興味深い結果を示したことになった。ただし、肝浸出液は腎浸出液よりもカタラーゼ活性はやや低いが、肝および腎適応菌ではほぼ同様の活性度を示した。横紋筋適応菌は、対照菌よりやや高い程度で、横紋筋浸出液のカタラーゼ活性が低いのとよく合致している。このことはカタラーゼ含量の多い血液寒天の菌と好対照であつた。

第4節 考 按

正常動物の臓器組織におけるカタラーゼについては、Batteli & Stern, Rosenbaum, 藤田, 野崎, 佐々木らの研究があり、動物の種類、実験方法の違いによつてその成績は必ずしも一致しないのであるが、野崎によれば、家兎においてはその幼熟にかかわらず、血液、肝、腎、肺、筋の順に多いと述べている。前述のように各適応菌もこの順に従つたのであるが、藤田はブドウ球菌を血液寒天に接種してみても、なんらの活性増加も認められなかつたとのべている。しかし、ただ一回の接種であり、これだけでは培地の影響を決定することはできない。板野、伊藤はいずれも血液加培地における著しい菌カタラーゼの増加を報告しているが、Waring & Werkman(1942) らは培地に含まれる鉄の量により、菌カタラーゼ産生に著しい差を認めたという。以上のことから菌カタラーゼ産生に対して培地が重要な意味をもつことは了解できるのである。

現在、カタラーゼは酸化酵素系の一員として分類されているが、その生理的意義は決定されているわけではなく、あるいは細胞に有害な H_2O_2 を分解して保護作用に与かるとともに、その際発生した O_2 を酸化機転に利用させるものといわれ、最近では、Keilin & Hartree (1945) らは黄色酵素の働きによつて生ずる H_2O_2 でアルコールを酸化する触媒作用をもつと主張しているが、一般にはやはり酸化機転に関与すると観るのが妥当であつて、菌の生活力の上に有力な意義をもつものと理解されるのである。

以上の各適応菌、ことに肝ならびに腎適応菌における特異的なカタラーゼ能の変化とあわせ考えると真に興味ふかいものがある。

第5章 放射性磷 (P^{32}) により標識した各適応菌の宿主体内における分布に関する研究

第1節 緒 言

人工放射性同位元素 P^{32} の微生物学的应用については、Schmidt, Clark & Goring (1948) らが、 P^{32} を添加した培地における細菌の發育状態を観察し、Kaplan, Jraum & Bankowsky (1948) らは P^{32} を添加した Sauton 培地に結核菌を培養し、放射能が発育結核菌に賦与されることを報告した。 P^{32} を用い標識した細菌を実験動物に接種して、その体内分布を観察する試みは、Hevesy (1948) が P^{32} 標識人型結核菌をモルモットに接種した実験に始まり、その後色々の人々によつて追試が行われているが、倉光らは P^{32} 標識レンサ球菌をラッテに接種してその体内分布を調べ、菌の各臓器に対する親和性、あるいは感作による変動等を研究した。さきに私は前述の各適応菌の臓器親和性を、臓器に病変を惹起するための最少菌量により定められるか、どうかを動物実験に匡したところ、菌量と炎症とが厳密な比例関係を示さないために、この試みは成功をおさめ得なかつた。そこで各適応ブドウ球菌を P^{32} で標識し、各菌の臓器親和的態度を、接種した菌の宿主体内各臓器への分布によつて追求するため、以下の実験を試みた。なお、 P^{32} 標識菌の作製には、山村、三好、伊藤らの報告に鑑みて、培地内の非放射性磷を最少の量にして、 P^{32} の菌体内への能率的な吸収をはかるため、合成培地を使用した。

第2節 実験方法の概要

P^{32} 標識各適応菌ならびに対照菌を 3mg 宛 1cc の生理的食塩水浮遊液として体重 900~1000g の雄家兎の耳静脈に注入し、24時間ないし48時間後に脱血致死させて、各臓器の 1g 宛をとり、電気炉によつて乾性灰化して測定試料とし、G.M. 管でそれらの放射能を測定した。

第3節 実験材料

1) アミノ酸合成培地

Knight 氏ブドウ球菌合成培地を桑原氏が改良した組成に従つて作製し、Seitz 濾過器にかけて濾過滅菌して使用した。

2) 供試菌

前記各適応菌ならびに対照菌を使用した。

3) 実験動物

動物の老幼、性別、栄養状態の差異等から受ける影響をできるだけ避けるために、体重約1kgの雄家兔を同一の飼料で約1週間飼育し、とくに虚弱なものを除いて実験に供した。

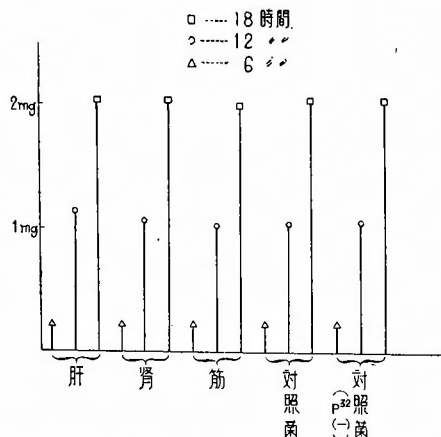
第4節 実験方法

1) P^{32} 標識菌の調製法

前述のアミノ酸合成培地に P^{32} を磷酸塩の形で、培地 1cc に $5\mu\text{c}$ の割合で添加し、被検菌を接種後24時間、 37°C に孵置した。これを遠心沈澱して集菌し、洗滌液に放射能がなくなるまで洗滌を繰返した後、菌量を鳥潟沈澱計により測定し、1cc 中に 3mg の菌量を含むよう生理的食塩水に菌を懸遊して調製した。

2) 標識菌投与法

本実験は放射性エネルギーの強弱に示標をおくものであるから、投与量の正確さを重要視する必要がある。そこでツベルクリン皮内反応用の注射器を使用し、前記標識菌浮遊液を家兔耳静脈内に確実に 1cc 量注入した。なお Kaplan らは一定範囲までは、菌量とそのあらわす放射能は平行するとのべているが、注入前に、調製した菌浮遊液 (3mg/cc 含有のもの) の同量を取り、各菌のカウントを調査したところ、各菌ともほぼ同様のカウントをあらわした。このことは予め行つた合成培地における菌の発育テストにおいて、各菌の間に発育曲線の差異をみとめなかつたことから了解されるところである (第2図)。



第2図 P^{32} 加合成培地における各菌の発育

3) 試料作製法

前記各標識菌注入後、24時間ないし48時間後に、両側頸動脈切断によつて充分に脱血致死させ、各組織の 1g 宛ならびに血液 1cc を採取し、直径 1.5cm の丸型プリキ製容器に入れ、電気炉で約1時間乾性灰化して測定試料とした。血液標本は乾燥のみのものと、乾燥後同様乾性灰化したものと両方を作製した。

4) 試料測定法

島津製作所製 Geiger-Müller 計数管を使用し、測定距離は 2cm に一定した。なお、試料の測定前後に、それぞれ10分間づつ自然計数を測定し、その平均値を試料のカウントから差し引いて補正した。

5) 成績表示法

P^{32} の分布は、比放射能 (specific activity) (SA と略記) によつて比較されるが、SA の表現には目的に応じていろいろな方法がある。ここでは臓器あるいは組織 1g についての放射能 (Count/min/g-tissue) を測定して SA とした。同一動物の同一臓器については、すくなくとも 6 ヲ所より試料を採取して、平均値を求め、3 頭平均の測定値を表示した。

第5節 実験成績

1) 合成培地における各菌の発育

予め用意したアミノ酸合成培地に、各適応菌をその液 1cc 中鳥潟沈澱計10度目の割合になるよう接種し、菌発育を時間毎に比濁法によつて測定したが、第2図に示すように各菌とも同じ態度で発育していた。 P^{32} の影響は全く証明できなかつた。

2) P^{32} 標識の菌プロテアーゼに対する影響 (第15表)

第15表 P^{32} 標識菌におけるプロテアーゼ能の変化

菌種 P^{32} 附加量	酸値増加 cc (n/10 NaOH)				
	肝	腎	肺	筋	対照
$5\mu\text{c/cc}$	0.52	0.56	0.50	0.54	0.54
0	0.52	0.57	0.48	0.53	0.52

表示のように全く影響をみとめなかつた。

3) 静注24時間後の実験家兔体内における P^{32} 標識菌の分布 (第16表)

4) 静注48時間後の実験家兔体内における P^{32} 標識菌の分布 (第17表)

静注24時間後の実験家兔における P^{32} 標識菌の分布は、第16表に示すごとくであつて、各菌共腎、肺等

第16表 P³²標識菌静注後24時間の体内分布

		Count/min/g-tissue					無 機 P ³²
菌 株 臓 器		適 応 菌				対 照 菌	
		肝	腎	肺	筋		
肝	No. 1	295	338	332	341	318	143
	2	329	317	295	334	287	138
	3	318	313	307	316	304	156
	平 均	314	323	311	330	303	146
腎	No. 1	72	70	69	55	71	78
	2	83	75	69	68	60	72
	3	77	76	71	63	65	72
	平 均	77	74	70	62	65	74
肺	No. 1	323	314	338	304	304	91
	2	288	335	356	325	287	88
	3	296	327	323	290	283	104
	平 均	302	325	339	306	291	94
脾		295	279	267	273	278	92
筋		14	11	14	12	11	3
血 液		3	5	3	2	3	3

第17表 P³²標識菌静注後48時間の体内分布

		Count/min/g-tissue					無 機 P ³²
菌 株 臟 器		適 応 菌				対 照 菌	
		肝	腎	肺	筋		
肝	No. 1	256	248	200	215	203	69
	2	253	260	190	233	190	78
	3	235	253	178	227	195	73
	平 均	248	254	189	225	196	73
腎	No. 1	77	69	71	62	51	64
	2	72	77	58	51	60	70
	3	79	74	63	49	57	61
	平 均	76	73	64	54	56	65
肺	No. 1	144	119	165	123	92	54
	2	132	120	160	108	119	63
	3	130	110	167	110	111	61
	平 均	135	116	164	114	107	59
脾		132	125	115	108	126	72
筋		2	3	1	2	2	0
血 液		0	0	0	0	0	0

多く分布したが、肝には特に多く分布することはなかった。48時間後では肝、腎、肺のいずれに対しても比較的明瞭にそれぞれの適応菌が多く分布していた。無機 P³² のみの投与では、臓器に蓄積する度合いが少なく、排泄の早いことが明らかとなった。24時間後の値と、48時間後の値との比較によつて明かなように、臓器の P³² 排泄率の高いのは肺であつて半分以下になり、次いで脾、肝であり、腎においてはほとんど変化を認めなかつた（第18表）。また、筋肉、血液のカウ

第18表 残 存 率 (%)
48時間後の Count
24時間後の Count × 100

臓器	適 応 菌				対照菌、無機P ³²	
	肝	腎	肺	筋		
	%	%	0.0	0.0	0.0	0.0
肝	78.9	78.6	60.7	68.1	64.6	50.0
腎	98.7	98.6	91.4	87.0	86.1	87.8
肺	44.7	35.6	48.3	37.2	36.7	62.7
脾	44.7	44.8	43.0	39.5	45.3	78.2

ントは低く、比較考察上に根拠となし得ないものであつた。臓器の左右別による大小は認められなかつた。

第 6 節 考 按

一般に、微生物が放射性物質に対して強い抵抗性をもつことはよく知られており、Hansen & Blegen (1931) らの報告では、92～99%の高濃度の重水素中でも発育は抑制されなかつたとのべている。P³² の影響については、三好、伊藤、金らが黄色ブドウ球菌、大腸菌等について調べ、ブイオン培地中では500μc/ccまでは大した変化がないとのべ、Pearson (1949) らも fungi や結核菌について、P³² や I¹³¹ の作用を検討し、全く影響をみとめなかつたと報告している。山村らも結核菌について Sauton 培地中では、30μc/ccまでは影響がなかつたといつている。このことからみて、標識の添加した量 (5μc/cc) では菌発育にたいする影響が証明されなかつたのは当然であろう。P³² 標識菌のプロテアーゼ能も標識前にくらべて不変であつたが、猪野、高山らは P³² 標識結核菌のウレアーゼ、カタラーゼについて変化をみとめなかつたと報告している。

次に菌の宿主体内分布であるが、これは、1) 注入された生菌の宿主体内での処理による P³² の体外への排泄、2) 宿主体内での菌自身の P³² の turnover、3) この turnover された P³² の生体による捕捉、4)

菌の分裂増殖による菌体内 P³² の分割等、複雑な要素があり、P³² の各臓器における計測値が直ちにその宿主臓器内の菌量を示すものではないにしても、無機 P³² だけの注入実験の成績と比較すると、ある一定の時間以内では各臓器の示す放射能は、その中に含まれる菌量を半ば定量的に表現するものといえよう。

山村らは、P³² 標識各種結核菌をマウスに静注して体内および肝からの P³² の消失の割合を測定し、マウスに対し毒力株である人型結核菌、弱毒株である B.C.G.、無毒株である鳥型菌の間には、人型、B.C.G.、鳥型の順で、組織に P³² が多い。換言すれば菌が残存しており、弱毒株程速やかに宿主体内で処理され、体外に排泄されるが、毒力株はその逆であるとのべている。私の実験でも、肝および腎における各適応菌の分布をみると、肝腎両適応菌はいずれも他の菌に比べて多く残存しており、換言すれば臓器に対する親和性を明らかに示している。

なお、生体内における P³² の turnover の問題が測定に影響を与えることは前述のとおりであり、倉光らは早期の測定を推しているが、山村らは反対に10日以上にもわたる検索も行つている。早期に大量の P³² の菌体からの離脱があれば、無機 P³² 注入の時と同様の結果になる筈であり、丸本も主張するように、turnover の問題はあつても、測定成績の意味を無にすることは考えられないのである。また、菌の宿主組織臓器に対する親和性を観察するには、やはり菌の止着ということ考虑すべきであり、変動が劇しい短時間後の計測値では適正を欠くものと思われる。

第 6 章 結 語

感染性肝腎障害症の発生要因として、病原菌とその臓器親和性との問題をとりあげて追求し、次の結論を得た。

- 1) 各臓器の有する化学的環境に適応させる目的で作製した、各臓器浸出液添加培地にそれぞれ継代培養して得た各適応菌は、それぞれの臓器組織浸出液の添加によつて発育促進作用をうけ、とくに肝、腎両適応菌は肝、腎いずれの浸出液の添加によつても同様な促進作用をうけた。
- 2) 各適応菌のプロテアーゼ活性は、それぞれ同種の浸出液の添加によつて亢進し、肝、腎両適応菌のそれらは肝、腎いずれの浸出液の添加によつても同様の賦活作用を受けることがわかつた。
- 3) 各適応菌のカタラーゼ活性は、添加浸出液自体のカタラーゼ活性に順応した値を示し、肝ならびに腎

適応菌では相似の値を示した。

4) P^{32} 標識各適応菌の宿主体内分布は、一般に肝、脾、肺、腎、横紋筋、血液の順に多くあらわれ、肝、腎、脾における分布において、肝ならびに腎適応菌は、他の適応菌、対照菌よりも比較的多く認められた。しかも時間的追求によつて、各適応菌はそれぞれの相当する臓器において、とくに肝ならびに腎適応菌は肝および腎のいずれにおいても、よく残存止着し、菌に標識された P^{32} が長く保持されていることを示した。無機 P^{32} だけの投与では、これを菌に標識した場合に比べてその排泄が非常に速やかであつた。

すなわち肝ならびに腎の臓器組織環境に適応したブ

ドウ球菌は、それぞれいずれも肝および腎に対して特異的な臓器親和性を示し、しかもこれらの臓器親和性は、当該臓器環境下における菌体内酵素系の特異な変動に基づくことが明らかにされた。

以上の実験結果によつて感染性肝腎障害症の複雑な発生病理の解明に一新知見を加えることができたと思ふのである。

本文を終るに際し、本研究について終始御懇篤な御指導、御助言を戴いた、本教室石上浩一講師に深く感謝致します。

なお本論文の要旨は昭和34年6月13日第85回近畿外科学会において発表した。

文

- 1) Abe, T.: Bakterienproteasen. *Tohoku J. Exp. Med.* **49**, 1~2, 27~38, 1947.
- 2) 赤堀四郎: 酵素研究法. I・II・III, 朝倉書店, 東京, 昭31.
- 3) 土倉一郎: 多発性筋炎及び多発性骨髄炎の発生原因に関する酵素化学的研究. *日外宝*, **4**, 1384, 昭34.
- 4) Clark & Goring: Growth of bacteria in the presence of radioactive phosphorus. *J. Bact.* **62**, 352~354, 1951.
- 5) Cohn, W.E. & D.M. Greenberg: Studies in mineral metabolism with the aid of artificial radioactive isotopes. *J. Biol. Chem.* **123**, 185~198, 1938.
- 6) Chiewitz, O. & G. Hevesy: Radioactive indicators in the study of phosphorus metabolism in rats. *Nature*. **136**, 754~755, 1935.
- 7) Dubos, R. J. & C. M. McLeod: The effect of tissue enzyme upon pneumococci. *J. Exp. Med.* **67**, 791~797, 1938.
- 8) 江上不二夫: 標準生化学実験. 初版, 文光堂, 東京, 昭28.
- 9) Fly, J. O.: The determination of the distribution of bacteria in the rat by the use of radioactive isotopes. *J. Franklin Inst.* **232**, 385~387, 1941.
- 10) Fujita, A. & T. Kodama: Manometrische Bestimmung der Katalase. *Bioch. Zschr.* **232**, 20~34 1931.
- 11) Gale, E.F.: The chemical activities of bacteria. IIIrd Ed. England. 1951.
- 12) Gale, E.F.: Factors influencing the enzymic activities of bacteria. *Bact. Rev.* **17**, 139~173, 1943.
- 13) Hansen, K. & E. Blegen: Versuche über die Wirkung schweren Wassers

献

- auf Mikroben. *Klin. Wschr.* **14**, 1113, 1935.
- 14) Hevesy, G.: Radioactive indicators. Interscience publishers. Inc. New York 1948.
- 15) Hino, M.: Über die Proteasenwirkungen der Gefrierschnitte der Gewebe. *Tohoku J. Exp. Med.* **47**, 165~174, 1944.
- 16) Hayakawa, H. & F. Ito: In vitro activation of tissue tryptase of rabbit. *Tohoku J. Exp. Med.* **60**, 361~366, 1954.
- 17) Helwig, F. C. & T. G. Orr: Traumatic necrosis of the liver with extensive retention of creatinine and high grade nephrosis. *Arch. Surg.* **24**, 136~144 1932.
- 18) 久田欣一: X線のマウス体内 P^{32} 分布に及ぼす影響. *金沢医理学叢書*, **37**, 167~237, 昭31.
- 19) 石上浩一: ペニシリン耐性菌の酵素作用に関する実験的研究. *抗菌物質研究*, **5**, 1~50 昭27.
- 20) 石上浩一, 真先敏邦: 多発性筋炎並びに骨髄炎の発生に関する実験的研究. *日外会誌*, **57**, 136~137 昭31.
- 21) 石上浩一, 真先敏邦: 急性化膿性筋炎. *最新医学*, **12**, 1303~1313, 昭32.
- 22) 石原恵三: 化膿性ブドウ球菌の多元性について. *日外会誌*, **56**, 574~575, 昭30.
- 23) 猪野茂, 高山照三: P^{32} 負荷培養基に於ける人型結核菌青山B株の発育所見について. *新潟医学*, **68**, 289~295, 昭29.
- 24) 飯沼昌男: 細菌蛋白並びに感染動物の臓器又は血清蛋白の構成アミノ酸に関する研究. *京府医大誌*, **52**, 543~567 昭28.
- 25) 伊藤成義: 連鎖状球菌の「カタラーゼ」に就いて. *細菌学雑誌* **345**, 1306~1318, 大正13.
- 26) 井上硬: 肝臓機能不全症と尿毒症. *実験消化器病学雑誌*, **1**, 401~409, 大正15.
- 27) 岩川克信, 宮村定男: 葡萄球菌カタラーゼ産

- 生に及ぼすペニシリン及びストレプトマイシンの影響。ペニシリン其他抗生物質, **3**, 334~335, 1950.
- 28) Imaizumi, M.: Über die Bakterienenzyme. *J. Biochem.* **27**, 45~79, 1938.
 - 29) 倉光一郎他: P^{32} を以てする細菌の体内分布に関する実験的研究. *医療*, **6**, 496~499, 昭27.
 - 30) 倉光一郎他: 放射性磷 (P^{32}) の体内分布に関する実験的研究. *医療*, **8**, 523~527, 昭29.
 - 31) 神前武和: 酵素学. 至文堂, 東京, 昭25.
 - 32) 桑原章吾: 各種細菌の合成培地. *最新医学* **3**, 337~344, 昭23.
 - 33) 桑原章吾: 細菌の耐薬性についての知見補遺. *日新医学*, **39**, 486~490, 昭27.
 - 34) Kaplan, A., J. Jraum, & R.A. Bankowski: Correlation of the radioactivity of suspensions of tubercle bacilli with their turbidity. Method of estimating weight in doses of tubercle bacilli. *Am. Review Tubercul.* **58**, 102~111, 1948.
 - 35) Keilin, D. & E.F. Hartree: Properties of catalase. Catalysis of coupled oxidation of alcohols. *Bioch. J.* **39**, 293~301, 1945.
 - 36) 化学実験学, 第2部, 第12巻: 微生物及び酵素実験法. 第6版, 河出書房, 東京, 昭23.
 - 37) 菊地武彦, 脇坂行一, 明石修三: 生物学的試料中の放射性磷の測定法. *最新医学*, **6**, 822~829, 昭26.
 - 38) 小菅高之, 前鼻勇: 小動物肝臓カタラーゼの一測定法. *医学と生物学*, **31**, 243~244, 昭29.
 - 39) Lawrence, J.H. & K.G. Scott: Studies on neoplasms with the aid of radioactive phosphorus. I. The total phosphorus metabolism of normal and leukemia mice. *J. Clin. Invest.* **19**, 267~271, 1940.
 - 40) Maschmann: Über Bakterienproteasen. I. *Bioch. Zschr.* **294**, 1~33, 1937.
 - 41) Maschmann: Über Bakterienproteasen. III. *Bioch. Zschr.* **295**, 351~368, 1938.
 - 42) Masaki, T.: Experimental study on the pathogenesis of polymyositis and polyosteomyelitis. *日外宝*, **25**, 464~493, 昭31.
 - 43) 前田敏郎: 多発性筋炎及び骨髄炎の成因に関する実験的研究. *日外宝*, 未発表.
 - 44) 水野伝一編: 細菌の生理. 第1巻, 共立出版社, 東京, 昭30.
 - 45) 村義夫: 臓器乳汁使用による肝腎微候群について. *十全医学*, **59**, 131~168, 昭32.
 - 46) 三好誠一, 金庚熙, 伊藤洋平: 放射性磷同位元素 P^{32} の細菌に対する作用. 第一報, 細菌の発育に及ぼす影響について, *医学と生物学*, **39**, 9~11, 昭31.
 - 47) 丸本晋: P^{32} 標識異種赤血球による網内系機能の検索. *京府医大誌*, **63**, 53~63, 昭33.
 - 48) 丸本晋, 伊地知浜夫: 臓器灌流に関する2,3の検索. *京府医大誌*, **64**, 901~904, 昭33.
 - 49) 三輪清三, 松本清一: ブドウ球菌の性状及び薬剤耐性. *日本伝染病学誌*, **31**, 122~123, 昭32.
 - 50) 松尾巖: 肝腎障害症. *大阪医大誌*, **12**, 3, 77, 昭26.
 - 51) 松尾巖: 肝腎障害症. *最新医学*, **7**, 227~239, 昭27.
 - 52) 松尾巖: 肝腎障害症. *臨床の進歩*, **5**, 1~46, 昭26.
 - 53) 野中福次: 糸状菌による P^{32} の吸収と移行について. *Radioisotopes*, **4**, 2, 37~43, 昭30.
 - 54) 野崎美鈴: 健康家兎臓器「カタラーゼ」量につきて. *朝鮮医学*, **19**, 1550~1553, 昭4.
 - 55) 西脇安: P^{32} の一般的性質及新しい放射線量の単位. *大市医大誌*, **1**, 93~100, 昭27.
 - 56) 中山哲: 細菌の遺伝学. *日新医学*, **39**, 625~636, 昭27.
 - 57) Onoyama, M.: Studies on tissue protease. *Act. Schol. Med. Univ. Kyoto*, **27**, 76~82, 1949.
 - 58) 緒方章他: 化学実験操作法. 20版, 南江堂, 東京, 昭30.
 - 59) 大石太: 肝障害下における細胞毒腎炎の病像に関する研究. *名古屋医学*, **75**, 662~683, 昭33.
 - 60) 小笠原一夫: 腸内細菌酵素と感染. *総合医学* **12**, 903~913, 昭30.
 - 61) Pearson, I. A. & J. M. Hammer: Studies on the metabolism of radioisotopes by various fungi and bacteria. *Am. J. Roentgenol. & Rad. Therap.* **61**, 839~846, 1949.
 - 62) Pearson, I.A. & J.M. Hammer: Studies on the behavior of fungi in the presence of radioactive isotopes. *J. Bact.* **56**, 397~402, 1948.
 - 63) Rosenthal, E. & J. A. Patai: Über die proteolytische Aktivität von Streptokokken, Staphylokokken und Coli-Kulturen. *Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73*, 406~413, 1917.
 - 64) Schmidt: The effect of radioactive phosphorus upon A suspension of escherichia coli. *J. Bact.* **55**, 705~710, 1948.
 - 65) Spiegelman, S. & R. Dunn: Interactions between enzyme-forming systems during adaptation. *J. Gen. Physiol.* **31**, 153~173, 1947.
 - 66) Spiegelman, S. & J. M. Reiner: The formation and stabilization of an adaptive enzyme in the absence of its substrate. *J. Gen. Physiol.* **31**, 175~193, 1947.
 - 67) Spiegelman, S. & J.M. Reiner: The relation of enzymatic adaptation to the metabolism of endogenous and exogenous substrates. *J. Gen. Physiol.* **31**, 27~49, 1947.

- 68) Spiegelman, S.: Nuclear and cytoplasmic factors controlling enzymatic constitution. Cold Spring Harbor Symp. **11**, 256~277, 1946.
- 69) Sacks, J.: Radioactive isotopes as indicators in biology. Chem. Rev. **42**, 411~456, 1948.
- 70) Stephenson: Bacterial metabolism. Ⅲed. 1949.
- 71) Saitoo, H.: Über der Bakterienenzyme. Ⅲ. Mitteilung. Über die Gärtner-Proteasen. J. Biochem. **34**, 213~232, 1941.
- 72) 斉藤正行: 光電比色計に依る臨床化学検査. 5版, 南江堂, 東京, 昭30.
- 73) 須田正巳: 適応酵素の研究. 酵素化学シンポジウム **1**, 73, 1949.
- 74) 須田正巳: 適応酵素の研究. 酵素化学シンポジウム **4**, 11~31, 1950.
- 75) 佐々木保: 家兎諸臓器カタラーゼに関する実験. 京府医大誌, **62**, 986~992, 1955.
- 76) 菅原常雄, 猪野茂, 佐藤昭子: P^{32} 負荷人型 T.B. 菌接種モルモットに於ける T.B. 菌の体内分布とその病原性に関する研究. 新潟医学雑誌 **69**, 1199~1205, 昭30.
- 77) 佐治淑夫, 石割隆太郎: 放射能の測定, Radioisotopes. **2**, 1~10, 昭28.
- 78) 渋沢喜守雄: 外科侵襲に伴う腎機能の変化. 最新医学, **7**, 563~572, 昭27.
- 79) 武田徳晴: 炎症と酵素. 総合医学, **12**, 952~955, 昭30.
- 80) 高尾信安: 光電管応用による細菌発育曲線の研究. 京府医大誌, **52**, 395~427, 昭28.
- 81) 宇佐美鍵一, 小林快三: 腎疾患と内分泌腺並に肝臓との関連性(2). 日新医学, **41**, **6**, 297~311, 昭29.
- 82) Vitanen, A. I. & H. Karström: Quantitative Enzymbestimmungen an Mikroorganismen. I. Der Katalasegehalt der Bakterien. Bioch. Zschr. **161**, 9~46, 1925.
- 83) Weiß, A.: Weitere Beiträge zur Frage der experimentellen Glomerulonephritis. Beitr. Path. Anat. allg. Path. **96**, 111~128 1935.
- 84) Weissfeiler, J.: Etude de la proteolyse microbienne avec une nouvelle méthode. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. **105**, 275~281, 1928.
- 85) 山村雄一他: P^{32} による結核菌の磷代謝並びに結核アレルギー反応に関する研究. Radioisotopes **1**, 39~40, 昭27.
- 86) 山村雄一他: P^{32} 標識結核菌の調製とその応用 **2**, 55, 昭28.
- 87) 山村雄一他: P^{32} 標識菌による抗酸性菌の病原性に関する研究(第1報) Radioisotopes. **3**, 22~25, 昭29.
- 88) 吉田久士 "Locus minoris resistentiae" の研究. 日外宝 **12**, 574~603, 昭10.