

氏 名	水 口 茂 みず ぐち しげる
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 394 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	嫌気性アノイリナーゼ菌知見補遺

論文調査委員 (主 査)
教 授 田部井 和 教 授 岡 本 耕 造 教 授 藤 原 元 典

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は3編から成り立っている。

その1 *Lactobacillus bifidus* はアノイリナーゼ菌(K・L)に拮抗するか

アノイリナーゼ菌(K・L) (以下An菌(K・L)と記す) すなわち *Clostridium thiaminolyticum* と *Lactobacillus bifidus* との拮抗または共棲現象を検討したものである。

まず An 菌 (K・L) と *L. bifidus* との混合培養に好適な、糖を加えない培地として、0.1%に塩酸システインを加えた肝臓ブイオン5と V.F ブイオン1とを混合した培地 (pH・7.0) を考案した。つぎに本培地に両菌種を混合培養した場合の総菌数は、被検菌液を V.F 寒天を用いる平板法で、また *L. bifidus* の菌数は、*L. bifidus* 用培地 (後出) を用いる平板法により、算定するのが適当であることを認めた。

本研究では、上法で得た総菌数から *L. bifidus* 菌数を引いた残りを An 菌 (K・L) 菌数とした。このほか An 菌 (K・L) 菌数を直接算定するためには、高層普通寒天内深部集落法を行なった。

著者が考案した培地において An 菌 (K・L) は、至適培地 (すなわち V.F ブイオン) に培養した場合と同様に、形態上の変化をきたすことなく、ほぼ同等に増殖したのに対し、*L. bifidus* の増殖は、至適培地である1%のブドー糖、0.2%のシステインを加えた肝臓ブイオンに培養した場合に比較して、24時間後にはやや高度であったが、その後においてはわずかに抑制された。新培地に両菌種を別々に培養した場合の培地の終末 pH を東洋濾紙の pH 試験紙で測定すると An 菌 (K・L) では 7.2、*L. bifidus* では 4.8 であった。

混合培養における An 菌 (K・L) の *thiaminase* 活性を松井・藤原法で測定すると、単独培養した場合の活性に比較して約 1/2 に低下したが、細菌数は、72時間培養では混合培養の場合と単独培養の場合との間に差異を認めなかった。したがって An 菌 (K・L) の増殖は、*Bacillus thiaminolyticus* あるいは *Bacillus aneurinolyticus* の場合と同様に、*L. bifidus* の存在によって抑制されないことを認めた。

その2 人腸内嫌気性アノイリナーゼ菌の簡便な平板分離培養法

従来の黄燐燃焼法を用いる煩雑な方法のかわりに、焦性没食子酸と無水炭酸ソーダを用いる酸素吸収法により、人糞からの An 菌 (K・L) の簡便な一分離培養方法を考案した。本法は表面ならびに深部集落の形成に好適であり、また嫌気度が持続するために、日を追っての検査にも好適である。本法はその操作が簡単かつ容易であるところから多数の試料を同時に処理するのに好適な方法である。実際に、本法により An 菌 (K・L) を分離するには、二つの方法によった。一つは希釈した検体を直接 liver veal agar 平板上に塗抹する方法であり、他は予め V.F ブイヨンで増菌せしめた後培地に塗抹する間接法であった。得た成績によれば、前者の分離成功率が 1/75 であったのに対し、後者のそれは 3/75 であり、後者において成功例が多かった。

その 3 人の糞便より分離した嫌気性アノイリナーゼ菌の性状について

Cl. sporogenes が Cl. thiaminolyticum (An 菌 (K・L)) と同様にアノイリナーゼを有するのみならず、両者は近似した性状を有することから、両者が同一菌種であるか、あるいは異なる菌種であるかにつき疑問をいだく学者がある。著者はこの問題につき検討を加えた。

著者はサイアミン欠乏症を伴わない各種疾患患者の糞便から、5 株の An 菌 (K・L) を分離した。これら 5 菌株は、すでに発表された An 菌 (K・L) 標準株とはほぼ同様な形態的、生物学的、化学的性状を有した。これらの菌株は、供試した 2 株の Cl. sporogenes とは生物学的性状および化学的性状において酷似したが、両者の間で異った性質も多少存在した。これに反し、免疫学的には、分離 5 菌株は、加熱抗原と免疫家兎血清を用いる交叉凝集反応により、Cl. sporogenes とは区別できることを認めた。ことに、この相違は分離 5 菌株中の 3 株において明確であった。

論文審査の結果の要旨

この論文は 3 編から成り立っている。

1. 嫌気性アノイリナーゼ菌 (An 菌 (K・L)) と *Lactobacillus bifidus* が、おのおの至適に発育し得る、糖を加えない、培地を考案して、両菌を混合培養した。その結果、a. 好気性アノイリナーゼ菌の場合における同様に、An 菌 (K・L) は、*L. bifidus* により発育を抑制されないこと、および b. An 菌 (K・L) のビタミン B₁ 分解能は、混合培養により低下すること、を認めた。

2. 焦性没食子酸と無水炭酸を用いる酸素吸収法を応用することにより、じゅうらい用いられていた黄燐燃焼法にくらべて、装置ならびに手技が簡単で、表在性集落が得やすく、かつ多数の検体を一時に取り扱い得る、An 菌 (K・L) の一新分離培養法を考案した。

3. 近来問題になっている、An 菌 (K・L) と *Clostridium sporogenes* との異同について検討を加えた結果、両者は生物学的性状ではほとんど区別し得ないが、加熱抗原によるウサギ免疫血清との凝集反応によれば、区別されることを認めた。

以上本論文は学問的に有益であって、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。