

(Lancet, October 4, 1924) (17) Minkowsky (Laryngoscope, 39, 819, 1929) (18) Eloesser, L. (Amer. Rev. Tbc. 25, 123, 1934) (19) Reichle, H. S. & Frost, T. T. (Amer. J. Path. 10, 651, 1934) (20) Bugher, J. C., Littig, J., & Culp, J. (Amer. J. Med. Sc. 193, 515, 1937) (21) Flance, I. J. & Wheeler, P. A. (Amer. Rev. Tbc. 39, 633, 1939) (22) Chia-ssu Huang (Amer. Rev. Tbc. 47, 500, 1943) (23) Berblinger, W. (Schweiz. med. Wehnschr. 74, 348, 1944) (24) Perez, J. A. (Rev. de tuberc. d. Uruguay. 12,

1, 1944) (25) Silverman, G. (Dis. of Chest, 11, 3, 1945) (26) Meissner, W. A. (Ibid. 11, 18, 1945) (27) Wilson, N. J. (Ibid. 11, 36, 1945) (28) Sweany, H. C. & Belm, H. (Ibid. 14, 1, 1948) (29) Salkin, D., Cadden, A. V. & Edson, R. C. (Amer. Rev. Tbc. 47, 351, 1943) (30) Ornstein, G. G., & Epstein, I. G. (Quart. Bull. Sea View Hosp. 3, 109, 1938) (31) Oatway, Jr. W. H., Gale, J. W. & Mowry, W. A. (Thoracic Surg. 13, 1, 1944)

## 結核菌による脂肪酸の酸化に就て

国立療養所刀根山病院 (院長 渡辺三郎博士)

阪大理学部化学科 (指導 赤堀四郎教授)

山 村 雄 一

笹 川 泰 治

国立療養所刀根山病院 (院長 渡辺三郎博士)

今 津 史 郎

(本論文の要旨は昭和24年4月日本結核病学会総会に於て発表せり)

### 第1章 緒 言

Lelior & Munoz<sup>(1)</sup> は aerobic の条件でネズミの肝臓の homogenize したものが酪酸を *in vitro* で酸化して、アセト酪酸と  $\beta$ -オキシ酪酸とすることを、且つ此の酪酸々化作用は極めて不安定であるとし、毎常同一の成績を得ないとしている。一般に脂肪酸酸化酵素は極めて不安定とされているので Quastel<sup>(2)</sup> らは該酵素は肝臓中にはあるが、肝細胞を破壊するとその力を消失すると述べている。

その後 Munoz & Lelior<sup>(3)</sup>、及び Lehninger<sup>(4)</sup> <sup>(5)</sup> らによつて、モルモット及びネズミの肝臓を homogenize することによつて比較的安定な酵素が得られ、チトクローム C と アデノシン 3 磷酸を加えると、 $C_4$  より  $C_{15}$  迄の酸化が観察出来るとしている。

いずれにせよ、脂肪酸酸化酵素は極めて不安定

とせられ、homogenize した肝組織を用いて成功しているに過ぎないのであるが、私共は結核菌を十分に洗滌した後生理的食塩水に浮遊せしめた、「休止菌」が  $C_2$  より  $C_{22}$  迄の一塩基性脂肪酸を酸化し、又二塩基性脂肪酸類も著明に酸化し、而も該酵素系は極めて安定であることを知つたので此処に報告する。

### 第2章 実験方法

#### 第1節 脂肪酸の酸化分解の測定法

基質として各種の脂肪酸を用い、之に結核菌浮遊液を作用せしめワールブルグの検圧計によつてその酸素吸収量の増加を測定した。容器主室に菌浮遊液 (酵素液) 1.0 cc, 1/10 N 磷酸緩衝液 (pH 7.0) 0.3 cc を入れ、側室に基質を、中央小室に20% 苛性加里液 0.2 cc を入れ、発生する炭酸ガスを吸収せしめた。容器は空気を以て充たし、測定温度は凡て 37.5°C である。

基質としては、各種の一塩基性脂肪酸、二塩基性脂肪酸の一定濃度溶液 (1/10 モル又は 1/200 モ

ル溶液)の0.1 ccを苛性ソーダにて正確に中和したものをを用いた。

### 第2節 結核菌浮游液の調整法

菌株は凡て鳥型結核菌(竹尾株)を用いた。

鳥型菌のグリセリン肉汁寒天培地に培養第3乃至5日目の菌を白金耳を用いて無菌的に採集し、生理的食塩水に浮游せしめ、数回(通常5回)遠心沈澱、洗滌を繰り返して最後にメノウ乳鉢中で20分間充分磨碎して均等な浮游液とし、再び生理的食塩水に浮游せしめたものをを用いた。浮游液中の菌量は毎回可及的同一とするよう心掛け、正確な菌量は乾燥菌量を以てあらわすこととした。

## 第3章 実験成績

### 第1節 一鹽基性脂肪酸の結核菌による酸化

種々の主として直鎖状脂肪酸を基質として結核菌による酸化を行い、第1表の如き成績を得た。之を要約すると

(1)飽和脂肪酸に就ては炭素数が増大するに伴つて1分子の脂肪酸に対する酸素吸収量が増加している。然しその中特によく酸化せられるのは、酪酸、及びミリスチン酸(C<sub>14</sub>)よりステアリン酸(C<sub>18</sub>)附近であつて、吉草酸、カブロン酸は炭素数が酪酸より大であるにも拘わらず、之と同等又は以下の酸素吸収量を示し、ペヘン酸(C<sub>22</sub>)は、ステアリン酸より遙かに酸素吸収量が少い。又、

ラウリン酸の酸素吸収量はC<sub>10</sub>、C<sub>14</sub>の脂肪酸に比して少い。

(2)イソの脂肪酸はノルマルの脂肪酸に比して酸化され難い。

(3)不飽和脂肪酸に就ては油酸は殆んど完全に酸化されているが、リノール酸、リシノール酸は酸化され難い。スウンデンレン酸は著しく酸素消費が大である。

(4)酪酸の酸化の至適pHは7.5附近にある。

### 第2節 結核菌による二鹽基性脂肪酸の酸化

次に同様にして種々の二鹽基性脂肪酸に就て実験を行つたが、その成績は第2表に示す如くであつて之を要約すると、

(1)ヂカルボン酸はC<sub>2</sub>よりC<sub>10</sub>迄いずれもよく酸化せられる。

(2)C<sub>4</sub>ヂカルボン酸(Szent Gyorgyi)は他のヂカルボン酸に比して一般に酸素吸収量が多いが、フマル酸、オキサール酢酸は特に低濃度に於てその完全分解に要する酸素原子量の数倍の酸素吸収量を示している。即ち自ら酸化されるのみならず、菌の呼吸(Autorepiration; 又は endogenous respiration)を著しく促進すると考えられる。然るに、フマル酸の立体異性体であるマレイン酸や、琥珀酸の誘導体であるデブロム琥珀酸は酸素消費量が少い。

第1表 脂肪酸の結核菌による酸化

使用菌は鳥型菌のグリセリン寒天培養第3乃至5日目の菌浮游液は1.0 ccである。基質は下表の量を添加す。温度37.5°Cにてワールブルグ検圧計にて酸素吸収量を測定し、1分子の基質に対する吸収酸素原子数を定めた。

特に記載しない限り、ノルマルの脂肪酸を示す。

基質名	基質の炭素原子数	添加基質量(モル)	結核菌		基質1分子に対する消費酸素原子数	基質1分子の完全分解に要する酸素原子数
			培養日数	菌量 mg/cc		
蟻酸	1	10 <sup>-5</sup>	3	10.6	1.1	1
醋酸	2	10 <sup>-5</sup>	5	10.1	3.0	4
酪酸ノルマル	4	10 <sup>-5</sup>	4	8.9	8.1	10
〃イソ	4	10 <sup>-5</sup>	4	8.9	4.3	10
吉草酸イソ	5	10 <sup>-5</sup>	4	8.9	7.3	13
カブロン酸ノルマル	6	10 <sup>-5</sup>	4	7.1	7.3	16

グ イ ソ	6	$10^{-5}$	4	7.1	2.4	16
ヘ プ チ ル 酸	7	$10^{-5}$	4	7.1	10.5	19
カ プ リ ル 酸	8	$10^{-5}$	3	12.8	13.5	22
ノ ニ ル 酸	9	$10^{-5}$	3	12.8	16.0	25
カ プ リ ン 酸	10	$10^{-5}$	3	12.8	19.6	28
ラ ウ リ ン 酸	12	$10^{-6}$	3	10.2	12.8	34
ミ リ ス テ ン 酸	14	$10^{-6}$	3	10.2	32.0	40
ス テ ア リ ン 酸	18	$0.5 \times 10^{-6}$	3	15.1	52.6	52
ベ ヘ ン 酸	22	$0.5 \times 10^{-6}$	3	21.5	35.3	64
レ プ リ ン 酸		$10^{-5}$	4	8.9	2.0	11
ヂ メ チ ル ア タ リ ル 酸	1Δ	$10^{-5}$	3	21.5	3.1	12
ウ ン デ ミ シ ン 酸	11 1Δ	$0.5 \times 10^{-6}$	3	10.5	48.0	30
油 酸	18 1Δ	$0.5 \times 10^{-6}$	3	21.5	50.0	51
リ ノ ー ル 酸	18 2Δ	$0.5 \times 10^{-6}$	3	21.5	26.8	50
リ シ ノ ー ル 酸	18 2Δ	$0.5 \times 10^{-6}$	3	21.5	24.8	50

第2表 鳥型菌による二塩基性脂肪酸の酸化  
実験条件は第1表に同じ

	基 質 名	構 造 式	添加基質 (モル)	結 核 菌		基質1分子 に対する消費酸 素原子数	基質1分子 の完全分解 に要する酸 素原子数
				培養日 数	菌 量 μg/cc		
C <sub>4</sub>	琥 珀 酸	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-COOH} \\   \\ \text{CH}_2\text{-COOH} \end{array}$	$10^{-5}$	4	12.7	5.6	7
			$10^{-6}$			5.6	
ヂ カ ル	フ マ ー ル 酸	$\begin{array}{c} \text{CH-COOH} \\    \\ \text{HOOC-CH} \end{array}$	$10^{-5}$	5	9.9	5.9	6
			$10^{-6}$			8.6	
$10^{-7}$	8.3						
ボ ン 酸	林 檜 酸	$\begin{array}{c} \text{CHOH-COOH} \\   \\ \text{CH}_2\text{-COOH} \end{array}$	$10^{-5}$	5	9.7	3.6	6
			オキザール 酸	$\begin{array}{c} \text{CO-COOH} \\   \\ \text{CH}_2\text{-COOH} \\   \\ \text{CH-COOH} \\    \\ \text{CH-COOH} \end{array}$	$10^{-5}$	5	10.3
$10^{-6}$	10.1						
$10^{-7}$	20.3						
マ レ イ ン 酸	マ レ イ ン 酸	$\begin{array}{c} \text{CH-COOH} \\    \\ \text{CH-COOH} \end{array}$	$10^{-5}$	5	10.3	1.7	6
			ヂ ブ ロ ム 琥 珀 酸	$\begin{array}{c} \text{CHBr-COOH} \\   \\ \text{CHBr-COOH} \end{array}$	$10^{-5}$	5	9.9
オキシ ヂ カ ル ボ ン 酸	$\begin{array}{c} \text{OHCH-COOH} \\   \\ \text{HCOH-COOH} \end{array}$	$10^{-5}$			4	12.7	1.2
		メ ソ 酒 石 酸					
		粘 液 酸		$10^{-5}$	5	10.3	2.1
α- 糖 酸			$10^{-5}$	5	10.3	1.3	

デ カ ル ボ ン 酸	莖酸	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{COOH} \end{array}$	10 <sup>-5</sup>	5	10.3	1.0	1
	マロン酸	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$	10 <sup>-5</sup>	5	10.3	3.7	4
	グルタル酸	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	10 <sup>-5</sup>	5	9.9	2.7	10
	アデピン酸	$\begin{array}{c} \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	10 <sup>-5</sup>	5	9.9	2.0	13
	コルク酸	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ (\text{CH}_2)_6 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$	10 <sup>-5</sup>	4	9.4	26.0	19
	アゼライン酸	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ (\text{CH}_2)_7 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$	10 <sup>-5</sup>	4	9.4	28.4	22
	セバチン酸	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ (\text{CH}_2)_8 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$	10 <sup>-5</sup>	4	9.4	30.0	25

#### 第4章 結 論

(1) 鳥型結核菌によつて一塩基性脂肪酸は C<sub>2</sub> より C<sub>22</sub>迄酸化せられ、且つ特に酪酸、ステアリン酸等はよく酸化を受ける。

(2) 二塩基性脂肪酸もよく酸化せられ、その中、C<sub>4</sub>デカルボン酸、就中フマル酸、オキサール醋酸は自ら酸化を受けるのみならず、菌自身の呼吸を著しく増進せしめる。

#### 文 献

- (1) Leloir & Munoz ; Biochem. J. 33 734 (1939)
- (2) Quastel & Wheeley ; Biochem. J. 27 1753 (1933)
- (3) Munoz & Leloir ; J. Biol. Chem. 147 355 (1943)
- (4) Lehninger ; J. Biol. Chem. 157 363 (1945)
- (5) Lehninger and Kennedy ; J. Biol. Chem. 173 753 (1948)

## 結核菌培養に於ける資材節約に関する研究

### (第2報) 培養基に就いて.....其の二

財団法人結核予防会結核研究所 (所長 隈部英雄)

小 川 辰 次

#### I. 諸 論

第1報<sup>(1)</sup>に引き続き、今回は肋水を培地に應用することを実験したので、その成績を報告する。

肋水自身は、結核菌の發育に対して阻制的に働くことは、幾多の諸先進によつて証明されたところである。しかし、固形培地として凝固器で固める場合は、液体である場合と、その性質が全く交つて来る故、我々は此処に検討の余地があると考えた。

#### II. 方 法

第1報の場合と全く同様である。

#### III. 実 験 成 績

(1) 肋水にKirchner<sup>(2)</sup>培地の基礎液及び岡<sup>(3)</sup>片倉培地の基汁の各要素を混入した実験、並びに混入すべき色素の量の実験。

肋水にグリセリンを2%に加え、これに岡片倉培地の場合のように、2%のマラヒット緑液を2%の割合に入れて、分離培養に使用しても結核菌は全然發育して来ない。培地のpHは8.5前後である。それで岡片倉培地の基汁の各要素を同%に入れ、或いはKirchnerの液体培地の基礎培地の