

結核菌の焦性葡萄糖代謝に就て

国立療養所刀根山病院(院長 渡辺三郎博士)

大阪大学理学部化学科(指導 赤堀四郎教授)

山村 雄一

大阪大学理学部化学科(指導 赤堀四郎教授)

笹川 泰治

山本 康郎

〔本論文の要旨は昭和23年11月近畿結核集闘会並びに昭和24年4月第24回日本結核病学会総会に於て発表せり〕

第1章 緒言

結核菌の焦性葡萄糖の代謝に就ては全く研究が行われていない。川畑⁽¹⁾はツンベルグのメチレン青法にて人型及び牛型結核菌の脱水素反応に就て研究を行い焦性葡萄糖に就ては人型・牛型共に速かに其の脱水素反応を起すが、人型矢号株のみは脱水素しないと述べている。

結核菌の焦性葡萄糖代謝の研究の皆無であるのに比べて其の他細菌に就ては特に酵素化学的研究が多く、乳酸菌(Lipmann⁽²⁾)淋菌(Barron⁽³⁾)、葡萄状球菌及び淋菌⁽⁴⁾ (Krebs 大腸菌(Still⁽⁵⁾) Clostridium butylicum(Koepsell and Johnson⁽⁶⁾)、及び Proteus vulgaris (Stumpf⁽⁷⁾) 等がある。私共は結核菌の代謝を酵素化学的に観ようとして先に結核菌のグリセリンの代謝に就て報告した⁽⁸⁾が本報に於ては結核菌の焦性葡萄糖の代謝に就て述べる。

第2章 実験方法

結核菌浮游液の調製法、及び焦性葡萄糖の酸化の測定法は凡て前報⁽⁹⁾の如く行つた。使用菌株は鳥型菌を使用した。基質としては Erlenmeyer 法にて調製したる焦性葡萄糖の 1/10 モル溶液 0.1 cc を用いた。焦性葡萄糖の定量は Clift and Cook⁽¹⁰⁾ 法に従つた。

以上の他に結核菌膜を基質に作用せしめて一定時間後其の分解産物を追求する方法を併用した。

第3章 実験成績

第1節 結核菌による焦性葡萄糖の酸化

鳥型菌浮游液を焦性葡萄糖に作用せしめて、酸素消費量をワールブルグの検圧法に従つて測定したのに、一分子の焦性葡萄糖に対して3原子の酸素消費をみとめた。

又焦性葡萄糖の 0.13 モル溶液に鳥型菌のグリセリン肉汁培養第6日目の菌膜(生理的食塩水にて充分洗滌し、培養成分を除去したもの)を作用せしめ、分解消失する焦性葡萄糖を Clift and Cook 法で測定したのに 37°C に於て 40 時間後 35% 64 時間後 53%、92 時間後 73% 分解されているのを知つた。

又ワールブルグ検圧法にて Warburg 及び Yabusoc⁽⁹⁾ 法にて呼吸商(R. Q.)を測定した結果では、グリセリン寒天培養第7日目の菌にて、焦性葡萄糖を添加したときの値は 1.11 であり、菌のみの R. Q. は 0.85 である。

以上の成績から明らかに鳥型菌によつて焦性葡萄糖の酸化分解が行われることを知つた。

第2節 至適 pH に就て

N/10 磷酸緩衝液にて種々の pH 緩衝液を作り、焦性葡萄糖の酸化の至適 pH を求めると 7.5 附近にあり、一塩基性脂肪酸の至適 pH と一致している。

第3節 Q₀₂ と培養条件との関係

鳥型菌のグリセリン寒天培地から数本のグリセリン寒天培地及び Kirchner 氏無蛋白培地(Kirchner 氏培地より血清を除いたもの*)に同時に植継いで培養第3乃至10日目に各々菌浮游液を調製して菌のみの場合と、之に 2×10^{-6} モル量の

焦性葡萄糖を添加した場合とに就て Q_{O_2} を測定した。その成績は第1表に示す如く培養第6乃至8日目に基質を加えた時と、菌のみのときの Q_{O_2} の差は最も大で従つて基質の酸化は最も強く、又

グリセリン肉汁培地の方が遙かに Q_{O_2} の差が大きく酵素作用が強い。即ち菌の焦性葡萄糖々化作用は菌の培養日数及び培養条件により影響される。

第1表 Q_{O_2} と培養条件との関係 (数字は Q_{O_2} を示す)

	培養日数	3	4	5	6	7	8	9	10
グリセリン寒天培養菌の Q_{O_2}	菌のみ	6.1	8.2	8.0	15.8	11.2	10.1	11.0	9.0
	焦性葡萄糖添加	6.0	8.1	8.2	34.8	24.5	24.0	12.0	10.0
Kirchner 培地培養菌の Q_{O_2}	菌のみ	4.7	6.0	6.1	10.6	8.8	10.4	10.0	9.0
	焦性葡萄糖添加	5.0	6.7	8.6	12.8	11.0	13.4	12.0	10.1

* Kirchner 氏無蛋白培地の組成はグルタミン酸ソーダ 0.5%, クエン酸ソーダ 0.25% 硫酸マグネシウム 0.25% KH_2PO_4 0.4%, $Na_2HPO_4 \cdot 12 \cdot H_2O$ 0.3%, グリセリン 3%, 寒天 3% である。

第4節 種々の阻害剤の影響

第2表に示す如く結核菌の焦性葡萄糖々化力は亜硫酸青酸によつて低濃度で阻害せられる。然しマロン酸阻害はみとめられない。此の点はグリセリンの酸化と異なつている。

第5節 焦性葡萄糖の酸化中間代謝物質に就て

鳥型菌のグリセリン肉汁培養第6日目の菌膜を無菌的に採り、之を充分に滅菌生理的食塩水にて洗滌し、之に附着している培養成分を除去し、(乾燥菌量 1.8g、之を焦性葡萄糖ソーダの 0.13 モル溶液(磷酸緩衝液 N/10 pH 7.5; $MgSO_4$ を 0.25% の割に含む。) 500 cc に浮遊せしめ、温度 $37^\circ C$ にて、一定時間後一定試料を採り、Clift and Cook 法にて焦性葡萄糖量を測定し、92 時間後 73% 分解されているのを知つた。次に此の 92 時間作用後の試料に就て第3表の要領に従つて分解生成物を調べた結果、分解焦性葡萄糖量の 7.1% に相当する醋酸と、微量の琥珀酸を証明することが出来た。

対照としては焦性葡萄糖を含まない磷酸緩衝液に同様菌膜を浮遊せしめたが分解産物として醋酸が痕跡のみとめられたのみである。

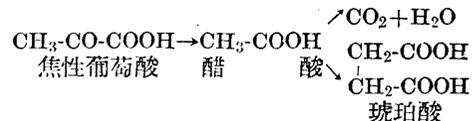
上述の如く焦性葡萄糖の代謝生成物として醋酸が証明されたので、次に醋酸ソーダを基質として

鳥型菌を作用せしめ、22 時間後 94.4%、64 時間後 98.6% の醋酸が分解消失しているのを認め、水蒸気蒸溜残液のエーテル抽出部から微量の琥珀酸を証明し得た。

第2表 阻害剤の影響

添加阻害物質	添加終末濃度 (モル)	阻 害 度	
		菌の呼吸 に対し	焦性葡萄糖の酸化 に対し
亜硫酸ソーダ	10^{-3}	0%	100%
青酸ソーダ	10^{-4}	20%	100%
マロン酸	1/240	0%	0%

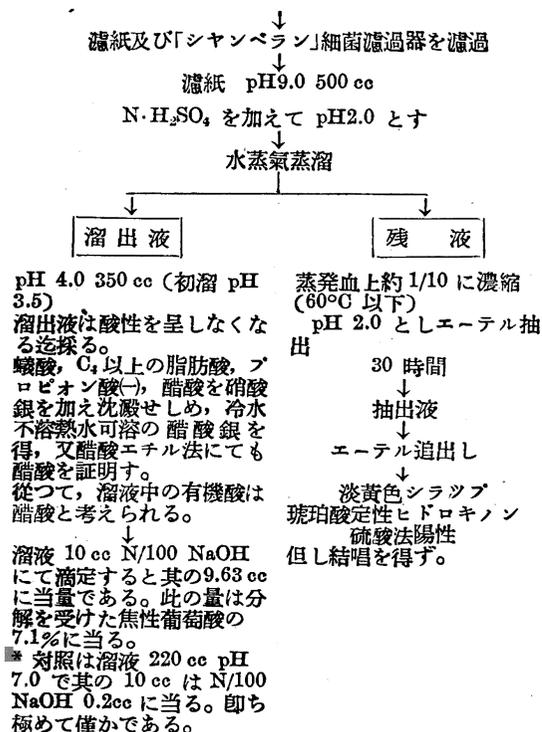
焦性葡萄糖の酸化生成物として醋酸の少量しか検出し得なかつたのは生成した醋酸が更に菌により分解し去つたためであろう。又焦性葡萄糖、醋酸の両者よりその分解産物として微量の琥珀酸のみとめ得たのであつて、従つて焦性葡萄糖は結核菌によつて次の如き変化を行うものと思われる。



但し琥珀酸は定性反應にて証明出来たのみであるので將來の検討を要する。

第3表 鳥型菌による焦性葡萄糖の中間代謝
鳥型菌のグリセリン肉汁培養第6日目の菌膜(菌量 1.8g)を焦性葡萄糖の 0.13 モル溶液 500 cc に作用せしむ。

$37^\circ C$ 92 時間後 73% の焦性葡萄糖分解せる試料



第4章 結 論

焦性葡萄糖は鳥型結核菌によつて酸化せられ、グリセリン肉汁培養菌は無蛋白培地培養菌に比し、著しく酸化酵素作用が強く、其の酸化の至適 pH は 7.5 附近にあり、亞砒酸・青酸によつて阻

喀痰培養による結核集團檢診の研究

(第二報) 菌陽性者の臨牀所視に就て

鳥 取 市 民 病 院

萩 原 宏 治

(此の論文の要旨は第 21 回日本結核病学会に発表した)

第一章 緒 言

集團檢診によつて発見した結核患者の臨牀所見に就ては多くの人によつて論じられているが^{(1)-(9), (16)-(19)}、患者全員を入院せしめて觀察した報告は見当らない。著者はさきに喀痰培養によつ

害せられる。而して焦性葡萄糖は一部醋酸を経て完全分解せられ、小部分は琥珀酸となる一つの代謝過程が考えられる。

稿を終るに臨み、御指導と御鞭撻を賜つた恩師渡辺三郎院長並びに赤堀四郎教授に謹んで謝意を表す。又市原硬教授の御指導と御校閲を賜つたことに深謝する。

文 献

- (1) 川畑：福岡医学会誌 27卷 833(昭9)
- (2) Lipmann; Nature 141 831 (1938); 144 381 (1939) Enzymologia; 4 65 (1937)
- (3) Barron; J. Biol. Chem. 113 695 (1939), Barron and Müller; J. Biol. Chem. 97 691 (1939) Barron and Lymann; J. Biol. Chem. 127 143 (1939)
- (4) Krebs; Biochem. J. 26 1236 (1932)
- (5) Still; Biochem. J. 35 380 (1941)
- (6) Koepsell and Johnson; J. Biol. Chem. 145 (1942) 379
- (7) Stumpf; J. Biol. Chem. 159 529 (1945)
- (8) 山村・笹川：大阪医学会 昭23年3月例会, 日本結核病学会総会, 昭和 24 年 4 月発表。
- (9) Warburg and Yabusoe; Biochem. Z. 146 380 (1924)
- (10) Clift and Cook; Biochem. J. 26 1283 (1932)