

結核菌による *l*-チロジンの分解

(第 3 報)

大阪阿武山赤十字病院研究室 (院長 矢野精太郎博士)

白 井 裕

(昭和 29 年 7 月 12 日受付)

鳥型結核菌により *l*-チロジンからチロゾール及びパラオキシフェニール醋酸が形成される等 *l*-チロジンの分解及び分解機転について報告してきたが今回は鳥型菌以外の人及び牛型菌並びに非病原性抗酸性菌による *l*-チロジンの分解について報告する。

## 実験方法

第 1 報<sup>1)</sup>と全く同じである。

第 1 章 人型菌による *l*-チロジンの分解

## 第 1 節 有毒人型菌による実験

菌株：保存株 5 株と当院入院結核患者喀痰より分離した 3 株である。保存株 5 株の中  $H_{37}Rv$  株、 $H_2$  株、青山 B 株、高垣株は大阪竹尾結核研究所より、F 株は京都大学結核研究所より分譲を受けたものである。当院患者喀痰より分離した 3 株は皆ストレプトマイシン 10mg/cc 耐性、イソニコチン酸とドラジッド 1Y/cc 耐性の菌である。

これら 8 株の中前 4 株は発育は良好であつて該ソートン変法培地では 30 日目頃より旺盛な発育を示し沈下することなく表層に厚い菌膜を作つたが後 4 株はきわめて発育が悪かつた。

## 実験成績

第 1 表に示すように 60 日~130 日間培養したのは鳥型菌のように充分発育さすには少なくとも 2 カ月を要し 1 カ月ではやつと発育を開始したかと思われる程度であるからである。

それでもなお *l*-チロジンの分解能力は乏しく多量のチロジンを残存していた。

チロゾール分割にはいずれの菌株でもミロン氏反応陽性の油状分のみしか得られなかつたがこれを少量のエーテルに溶かして濾過しエーテルを駆逐して冷却するとごく微量であるが美しい針状結晶を得た。これを陶土板で油状分を去つて融点測定をするとチロゾールの融点  $91^{\circ}C$  に近く比較的鋭敏に融けた。これをクロマトにかけるとチロゾールによく一致した。

酸分割は大體ミロン氏反応は陰性であつたが  $H_2$  株 90 日培養実験と 黒株 実験では陽性でクロマトでパラオキシフェニール醋酸に一致するスポットを得た。

アミン分割はいずれもミロン氏反応陰性であり、クロマトでも何のスポットも得なかつた。

第 1 表 人型菌による *l*-チロジンの分解

菌株	供試チロジン (g)	培養日数	培養液 pH	乾燥菌量 (g)	粗チロゾール (mg)	融点 (補正なし)	酸性分解物	残存チロジン (g)
$H_{37}$ 株 I	1	60	5.4	5.8	①	—	—	0.3
$H_2$ 株 I	1	60	5.6	10.1	①	—	—	0.9
青山 B 株	1	60	5.4	6.1	4 ( $89^{\circ}\sim 91^{\circ}C$ )	—	—	0.65
高垣株	1	60	5.6	10.0	①	—	—	0.35
F 株 I	1	60	5.8	1.3	①	—	—	0.83
F 株 II	1	130	7.4	2.0	3 ( $86^{\circ}\sim 89^{\circ}C$ )	—	—	0.9
$H_{37}$ 株 II	1	100	5.8	4.8	7 ( $88^{\circ}\sim 90^{\circ}C$ )	—	—	0.5
$H_2$ 株 II	0.8	90	5.8	6.0	5 ( $88^{\circ}\sim 90^{\circ}C$ )	①	—	0.26
患者 黒株	1	90	6.8	1.6	①	—	①	0.4
患者 黒株	1	90	6.8	0.6	①	—	—	0.6
患者 黒株	1	110	6.5	0.8	①	—	—	0.42
対照 $H_{37}$ 株	0	60	7.0	5.7	—	—	—	0

①とはクロマトでのみ証明されたもの

第 2 節 *Mycobacterium tuberculosis*

## No. 607 による実験

菌株は武田薬品醸酵化学研究所より分譲を受けたものである。この菌は人型菌かどうかについて意見があるがこれに関し Walter C. Tobie<sup>15)</sup> の報告を参考として以下述べる。該菌をなんらの顧慮もなく無毒人型菌として報告している人が多いが 1932 年 Hastings and Mc Carter は普通の結核菌が生えぬ普通寒天にも生えその発育は急速であつて無毒でありさらにこの菌の由来について明確でないことより雑菌ではないかと疑問を持つていた。また Youmans はこの菌を単に無毒で急速に発育する抗酸性菌として慎重に報告している。またこの菌は普通の有毒人型菌に比べて遙かに少ない量のズルファミン、ズルファアアゾール、ズルファダイアジンで発育が阻害され、又ペニシリンに対する態度においてもかなり性質が異なるようである。以上の諸点から Walter C. Tobie はこの菌はその由来は人型結核菌から出発したかも知れぬが継代培養の途中で変異を来したと考えその性質から

実験に用いる時は雑菌として取り扱うべきであると云っている。しかし本章では一応人型菌と関連して取り扱って置く。

### 実験成績

#### 実験1 10日間培養成績

鳥型菌とほとんど同程度の速さで発育したが10日培養では1gの*l*-チロジンをを用いて0.25gの*l*-チロジンを残存する。

チロゾール分割には融点測定もできぬ微量の結晶を得たがミロン氏反応陽性であつたのでクロマトにかけるとチロゾールに一致した。酸及びアミン分割にはなんらの結晶も得ずミロン氏反応も陰性の油状分のみであつた。

#### 実験2 20日間培養成績

発育は同じく良好で20日間で沈下しかけていた。そして用いた1gの*l*-チロジンは全部消費されていた。

チロゾール分割に針状結晶を得たので陶土板で油状分を去ると0.1gで融点86°~89°C(補正なし)であつた。勿論ミロン氏反応陽性であつたのでこれを石油エーテルで再結晶すると0.04gの純チロゾールを得た。

酸分割にもミロン氏反応陽性の油状分を得たのでこれをクロマトにかけパラ-オキシフェニール醋酸に一致することを知つた。

アミン分割はミロン氏反応陰性の油状分のみでクロマトでも何のスポットも得なかつた。

### 小括及び考按

1) 5種の保存株有毒人型菌では高垣株を除いては(高垣株でも恐らく微量の結晶は得られたと思われるが)いずれも微量ではあるがチロゾールの結晶を得たが患者喀痰より分離したストレプトマイシン耐性(依存株 dependant と云える)の3株では発育はきわめて悪いためかチロゾールは結晶として得られなかつた。

しかし8株11実験とも*l*-チロジンの分解能力は乏しいがすべてチロゾールがクロマトで証明されている。*l*-チロジンを含みぬ対照実験(H<sub>37</sub>株による)では勿論クロマトでも何等認むべきスポットを得ていない。

酸分割には2株からクロマトでパラ-オキシフェニール醋酸のスポットを得た。

2) 一般に無毒人型菌と云われているNo.607株では10日間培養でなお*l*-チロジンは残存しているが20日間培養では全部分解され10%の粗チロゾール(4%の純チロゾール)を得た。又酸分割にも20日培養でパラ-オキシフェニール醋酸をクロマトで証明した。

### 第2章 牛型菌による*l*-チロジンの分解

一般に牛型菌は人型菌よりなお発育は緩慢であるから培養期間はやはり60日乃至100日とした。

菌株: 三輪株・有馬株・竹尾株の3株で大阪竹尾結核研究所より分譲を受けたものであつて前記ソートン変法培地での発育状態は有馬株が最も良く鳥型菌程の厚

い菌膜を40日目頃に作るが、三輪株を充分発育させるには100日を要し、竹尾株は初め発育が良いが30日目頃より全く増殖しなかつた。

### 実験成績

第2表に綜括するように牛型菌は*l*-チロジンの分解能力に乏しく、多量のチロジンを残存するが、チロゾール分割のみは強くミロン氏反応陽性でクロマトでチロゾールに一致する油状分を得た。そこでこれを少量のエーテルに溶かして濾過しエーテルを駆逐して冷却してみた。すると最も発育のよい有馬株のチロゾール分割からは美しい微量の針状結晶を得たので陶土板で油状分を去ると2.7mgで融点88°~89°C(補正なし)であつた。チロゾール結晶であろう。酸及びアミン分割はミロン氏反応陰性でクロマトでも何等認むべきスポットを見なかつた。

第2表 牛型菌による*l*-チロジンの分解

菌 株	三輪株	三輪株	有馬株	竹尾株
供試チロジン	1g	1g	1.25g	1g
培養日数	80日	100日	60日	80日
培養濾液pH		6.4	6.4	5.4
乾燥菌量	2.0g	3.8g	8.5g	2.3g
チロゾール	Ⓐ	Ⓐ	2.7mg	Ⓐ
酸性分解物	0	0	0	0
アミン	0	0	0	0
残存チロジン	0.7g	0.7g	0.9g	0.95g

Ⓐとはクロマトでのみ証明されたもの

### 小括及び考按

有馬株のごとく鳥型菌程の良好な発育を示しても、また100日間も培養しても*l*-チロジンの分解能力はきわめて乏しい。しかし確かに僅かであるが分解され、有馬株のごとくきわめて微量ではあるがチロゾールの結晶を得、いずれの株からもクロマトでチロゾールを証明した。しかし酸やアミンはなんら証明されなかつた。

### 第3章 非病原性抗酸性菌による

#### *l*-チロジンの分解

#### 実験1 スメグマ菌による実験

菌株: 武田薬品醸酵化学研究所より分譲を受けたもので *Mycobacterium smegmatis* (Treuisan) であり赤橙色の色素を産生する抗酸性菌である。発育は固形培地(小川培地)では鳥型菌に類似してよい。

実験成績: 前記ソートン変法培地では鳥型菌程良好ではないが比較的発育は早く20日間で全面にやや厚い菌膜を作つたので30日間培養で取り出した。乾燥菌量は2.7gで培養濾液pHは5.6であつた。*l*-チロジン1gを用いたがほとんど分解されず0.95gも残存していた。

チロゾール、酸、アミン各分割とも結晶は得られず、ミロン氏反応陰性でクロマト上にも何のスポットも得なかつた。

## 実験2 チモテー菌による実験

菌 株： 大阪微生物研究所より分譲を受けたものであつて発育はきわめてよい。

実験成績： 前記ソートン変法培地でも発育はきわめて良いが鳥型菌よりは少しく劣るようであつたので30日間培養で孵卵器より出した。乾燥菌量は6.4gであつて培養濾液 pH は5.0となつていた。1gの*l*-チロジンを用いて0.25gを残存していた。

しかしチロゾール，酸，アミン各分割とも結晶は得られずミロン氏反応陰性の油状分のみであつてなんらの分解物も証明できなかつた。

### 小括及び考按

序言にも前述したがワールブルグ氏検圧計での成績<sup>16)</sup>では非病原性抗酸性菌は*l*-チロジンを分解すると云われている。著者の実験でチモテー菌は*l*-チロジンを分解するようであるがスメグマ菌は分解したとしても微量であろう。又分解物としてチロゾール，酸性分解物も証明で

きなかつた。すなわちチロゾール形成は抗酸性菌一般の通性ではないようである。

### 本編の総括

人型及び牛型結核菌によつては*l*-チロジンは分解されないといわれているが著者の実験でこれら菌も鳥型菌に比べて*l*-チロジンの分解能力は乏しいが確かにその一部は分解され、分解産物として微量のチロゾール結晶を得た。

クロマトでは一部にパラ-オキシフェニール醋酸も証明して量的には比較にならぬ程微量であるが鳥型菌の場合に似ている。

*Mycobacterium tuberculosis* No. 607では、鳥型菌に匹敵する程多量のチロゾールが得られ人型菌の性質からこの点異なるがスメグマ菌の実験成績のようになんらの分解物も得られなかつた性質とも全く異なる。

(文献の末章で一括掲揚する)