

Rickettsia の代謝に関する研究

岡山大学医学部微生物学教室 (主任 村上栄教授)

中山 忠 夫

[昭和31年10月15日受稿]

緒 言

Rickettsia が生細胞の存在する場合のみ増殖する所謂偏性向細胞性の性状を有するため、其の代謝系はかなり複雑な体制を予想される。かりに Rickettsia 自体に代謝系が存在するとしても、常に宿主細胞の代謝系に依存してのみ自己増殖を営むと云うことが推定される。故に Rickettsia の代謝系の追究は必ず宿主細胞との関連性のもとに検討されなければならないと思われる。

既に R. tsutsugamushi (以下 R. t と略記す) が R. prowazeki 及び R. mooseri (以下 R. p, R. m と略記す) と同様に、孵化鶏卵卵黄嚢内での増殖が可能な事実は羽里、桑田 (1944)¹⁾ Clancy and Cox (1946)²⁾ Smadel et al. (1946)³⁾ Bengtson (1946)⁴⁾ Topping (1946)⁵⁾ 等により多数の R. t に就て確められた。其の後 Bovarnick and Snyder (1949)⁶⁾ に始まる Rickettsia の代謝の研究は、感染卵黄嚢から精製された R. m が、Glutamate を酸化すると同時に、Pyruvate, Succinate, も程度の差はあるが酸化する事実を明かにした。爾来、此の研究を端緒とし、Bovarnick and Miller (1950)⁷⁾ は、Rickettsia 個有の Glutamate-Asparate-transaminase の存在を証明し、次で Wiessmann et al. (1952)⁸⁾ によりて、 α -Ketoglutamate, Fumarate, Malate, Oxaloacetate に対しても、活性ある酵素系の存在を認めた。更に Price (1953)⁹⁾ も同様な事実を R. rickettsi に就ても証明している。

以上の業績は総て感染卵黄嚢より出発し、或は Shepard & Topping (1947)¹⁰⁾ の精製

法に倣い、又は Celite, 牛血清の Fraction V (Albumin) により組織成分を吸収し、Rickettsia をより純粋に分離し、更に Trypsin による消化を採用する試みがなされた。Karp (1954)¹¹⁾ は正常卵黄嚢免疫血清により非持異性抗元を吸収することにより精製を行つている。此等の方法は更に Snyder 一門によりて続けられ、Rickettsia の代謝系の研究の飛躍的發展を来す迄に至つた。

斯る業績を通覧するに、所詮、代謝系の研究には、増殖した Rickettsia を感染組織成分より如何に純粋に、而も活性度を喪失しない程度に分離するかが、重要な課題となる様に思われる。Rickettsia の純培養に成功せぬ限り、純粋な状態では蒐集出来ぬことは当然であるが、より純粋なる Rickettsia の状態を以て実験することが、必須の条件となるは自明の理である。

次に R. t が他の Rickettsia と異り、卵黄嚢内増殖はかならずしも一様でなく、著しい定着性の差を示す事実は、既に、Lewthwaite et al. (1946)¹²⁾ 桑田 (1953)¹³⁾ の指摘した如くであるが、最大の増殖を認めた場合に於ても、R. p R. m と比較し、増殖は一般に劣るように思われる。此の点は、更に此の種の研究の大きな障碍となるものと思惟される。

以上の諸点からも、R. t の代謝系に関する研究は、頗る困難を予想せられるので、我々は特に R. p R. m に就て、Snyder 等の研究を追試し乍ら、R. t の増殖性に就ては充分注意を払い、中等度の卵黄嚢内増殖を示したものを採集し、部分的精製を試みつつ、其の代謝過程を追究し、幾分の考察を加えるべく意図した。

第一章 実験材料及び実験方法

Rickettsia : 実験に使用した Rickettsia は R. p は Breinl, R. m は Wilmington 系で、凍結乾燥後保存されたものを、予研北岡博士より分与を受け、当教室に卵黄囊累代により保存されていたものである。R. t は昨年香川県下に於ける馬宿病の病原と同定された、鼠に由来する香川 IV, 香川 XXII の 2 系であり、マウス腹腔内接種によりて累代され、今日に及んでいる。尚対照に既知の R. t として、Karp, 大関, 大沢の三系を使用した。各 R. t ともに、孵化鶏卵黄囊に馴致する迄に至つていて、孵化鶏卵 5~8 代後の感染価は、一般に LD₅₀ 10⁻⁵~10⁻⁷ を示すものである。

卵黄囊内接種 : Rickettsia に感染発症したマウス肝脾乳剤 (脱脂乳加食塩水10倍乳剤) を調製、其の 0.3ml を形の如く、37°C 孵卵器で、6~7 日間孵化させた卵に接種した。接種後は 35°C の孵卵器内に収め 9~10 日間培養し、続いて之等の卵の卵黄囊を集め、Homogenizer で乳剤として、初代と同様 6~7 日卵に接種した、2 代以後に於ては 8~10 日で死卵を除去、生き残つた卵からのみ累代を行つた。其の間卵黄囊の塗沫標本を作り、Rickettsia の検出に努め、同時にマウスへの復原試験を行い、実験に使用したのは、卵累代 5 代以後の中等度の増殖を示したものを実験材料とした。

酸素消費量の測定 : 総て Warburg 検圧計によつて測定した。緩衝液は Bovarnick and Snyder (1949) に準拠し 0.126 M KCl, 0.0018 M NaCl, 0.0012 M KH₂PO₄, 0.0103 M Na₂HPO₄, pH 7.5 に補正し、使用した。R. t の実験では特に Fe⁺⁺ Mg⁺⁺ Mn⁺⁺ 等の金属イオンを添加した同様の緩衝液を以て充当した。

Warburg-flask には主室に Rickettsia 浮遊液 2.0ml. と緩衝液 0.7ml. を添加、側室に 1/10M の基質 0.3ml. 副室に 10% KOH 0.5ml. を入れ、全量 3.5ml. とした。測定温度は 37.5°C, 瓦斯腔は空気、振盪回数は 1

分間約 100 回の振盪を与えて、反応を平等にすることに努めた。尚測定は Umbreit の通法に従い、2 時間の O₂ 消費量を測定した。更に同一過程によつて正常卵黄囊より精製したものを同一浮遊液を対照とし、厳密に実験と対比せしめて判定した。

部分的精製法 : 精製に於ては、今回の実験では特に感染卵黄囊を可及的除去し乍ら R. p R. m では特に各分割を得、各分割に就て検討し、精製方法は主に精製法 1 に従つた。R. t に就ては主に精製法 2 によつた。従つて遠心沈澱法のみで行い、他の精製法は採用しなかつた。R. p, R. m は卵黄囊の増殖は極めて良好であつたので、初代の感染卵黄囊より調製したが、R. t では中等度の増殖を示した卵黄囊累代第 5 代以後のものに就て、鏡検によりも増殖を確認した後、多数の卵黄囊を採集し、50% 乳剤を調製せる後、表示せる過程により精製を試みた。精製に際しては、努めて迅速に行つた後、直ちに Warburg 検圧計に装したが、遠心沈澱中を除き、絶えず氷中に貯蔵し、温度による影響を避ける様に努めた。

第二章 実験成績

1. 部分的精製に就ての検討

前述の部分的精製法 I に就て観察するに、Bovarnick and Snyder (1949) の方法で特別の精製法を加味しない反覆遠心法により、感染組織成分とは比較的能率よく分離されるようである。然し乍ら、其の過程に於て、相当の長時間を要するため、Rickettsia の活性度が喪失し易い傾向が認められた。R. p 及び R. m に於ては、最後の遠心操作による上清液は、軽く濁濁の状を呈し、鏡検上多量の Rickettsia をさながら純培養の状態で証明し得る。此の浮遊液によつて O₂ 消費を検するに、酵素活性は著しく障害を蒙る如く推測される。就中 Glutamate に於ては顕著である。之を精製法 II による場合は、未だ相当度の感染組織成分の残存があることは否定出来ないが、所要時間は短縮され、而も活性度の障害

Table 1. Purification of rickettsial Suspension (1)

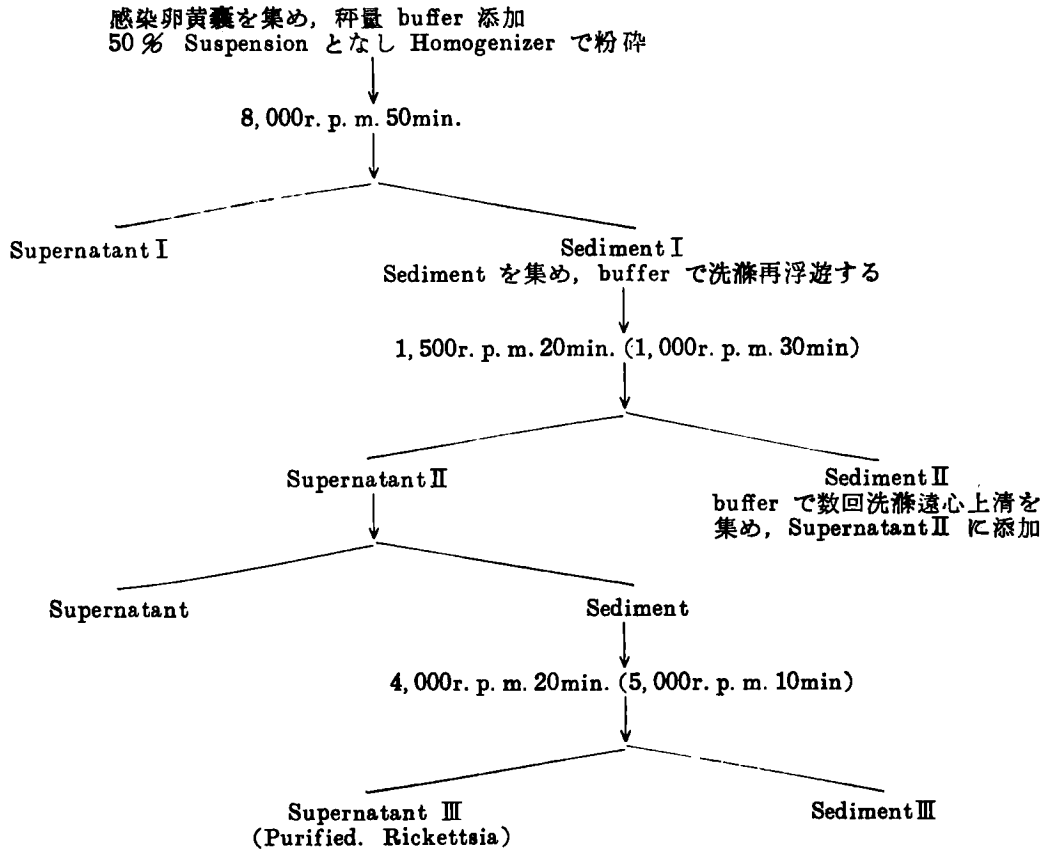


Table 2. Purification of rickettsial suspension (2)

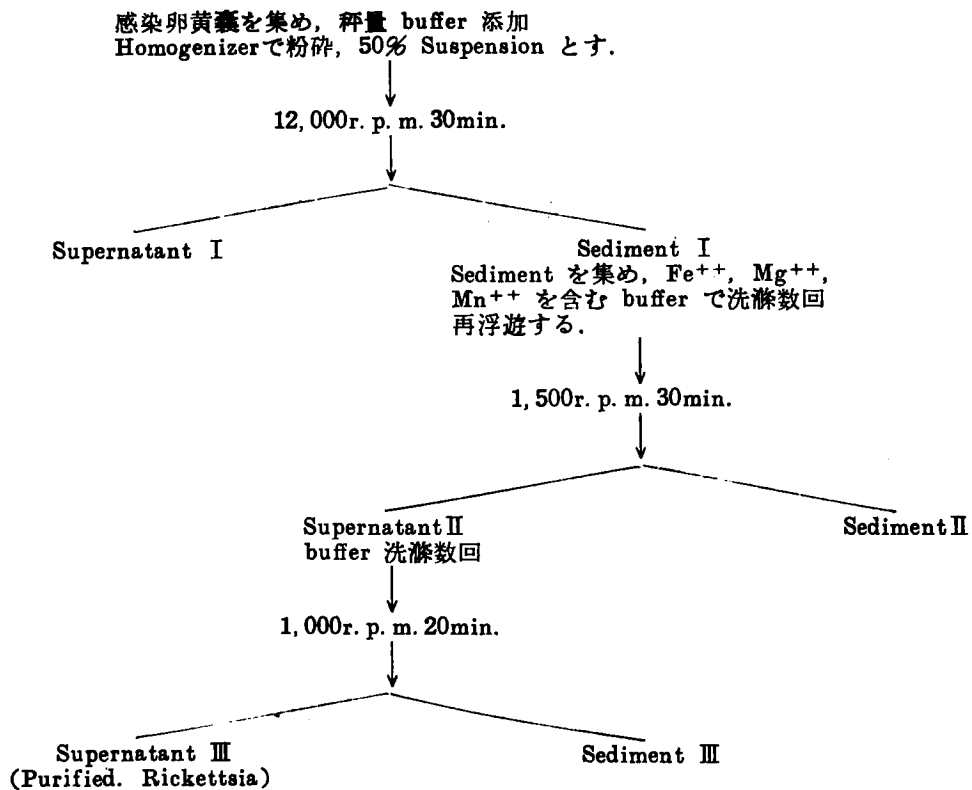


Table 3

Purification of Rickettsial suspension Comparison of certain properties of infected and non-infected yolk sac material at purified method

Yolk sac infected with R. Prowazekii.

Exp.No.	purified method	Oxygen consumption			
		glutamate	succinate	pyruvate	asparate
1	purified method I	13.9	22.5	5.0	13.0
2	"	10.0	20.0	7.0	21.0
3	purified method II	26.0	52.7	12.0	24.0
4	"	34.0	64.2	10.0	42.0

Test mixture : final volume 3.5ml. substrate 1/50M. Containing rickettsial suspension 2.0ml.

Normal yolk sac. Control

Exp.No.	purified method	Oxygen consumption			
		glutamate	succinate	pyruvate	asparate
1	purified method I	1.4	1.8	1.2	1.8
2	"	1.4	1.2	1.2	1.6
3	purified method II	1.0	1.0	0	0
4	"	1.2	1.6	0	1.2

Table 4

Purification of rickettsial suspension.

Yolk sac infected with R. (Tsutsugamushi Kagawa IV.)

Exp.No.	purified method	Oxygen consumption			
		glutamate	succinate	asparate	
1	purified method I	24.0 (8.0)	17.0 (2.0)	24.7 (3.0)	
2	"	27.5 (8.0)	19.8 (7.0)	34.5 (1.0)	
3	purified method II	37.0 (17.0)	48.0 (9.0)	38.0 (3.0)	
4	"	35.0 (12.0)	37.5 (10.0)	24.0 (2.0)	

Test mixture : final volume 3.5ml. Containing Rickettsial suspension 2.0ml. substrate 1/50M. () in Control.

Normal yolk sac. control

Exp.No.	purified method	Oxygen consumption		
		glutamate	succinate	asparate
1	purified method I	1.2	1.7	1.4
2	"	1.0	1.0	0
3	purified method II	0	0	1.5
4	"	1.2	1.5	1.8

Table 5
Purification of Rickettsial suspension
Oxidation at key stages in purification process

Fraction	purified method	Oxygen consumption		
		glutamate	succinate	asparate
Sediment I	purified method I	57.7 (14.0)	97.6 (15.0)	84.5 (12.5)
Sediment II	〃	48.7 (4.1)	89.4 (9.7)	52.5 (10.1)
Sediment III	〃	10.5 (7.0)	14.7 (6.0)	18.0 (10.5)
Supernatant I	〃	20.0 (8.0)	22.0 (10.0)	17.8 (8.7)
Supernatant II	〃	32.8 (4.9)	74.8 (4.7)	37.4 (7.1)
Supernatant III	〃	20.4 (2.5)	49.0 (4.0)	29.9 (5.0)
Sediment I	purified method II	60.9 (10.0)	86.3 (14.0)	82.0 (10.0)
Sediment II	〃	57.4 (10.0)	80.5 (14.0)	74.0 (12.0)
Sediment III	〃	12.0 (7.5)	18.0 (10.0)	20.0 (15.0)
Supernatant I	〃	12.0 (6.7)	20.0 (8.0)	20.8 (14.0)
Supernatant II	〃	54.0 (14.0)	80.0 (12.0)	48.0 (9.3)
Supernatant III	〃	29.8 (10.0)	58.0 (12.0)	45.5 (12.0)

Test mixture : final volume 3.5ml. containing Rickettsial suspension 2.0ml.
substrate 1/50M. () in control (non substrate)

Table 6
Oxygen uptake by suspension of *R. prowazeki*.

Substrate	Strain Pool No.	R. p. (Breinl)		R. m. (Wilmington)	
		1	2	1	2
No Substrate		2.7	4.4	1.8	1.7
Glutamate		29.4 (4.0)	32.0 (10.0)	47.5 (2.0)	34.0 (11.0)
α -Keto glutaric Acid			7.5		4.0
Succinate		48.5 (1.6)	35.0 (1.3)	45.5 (2.0)	27.0 (2.0)
Fumarate		8.7 (2.0)	5.5 (1.2)	1.2 (1.0)	8.0 (1.0)
Malic Acid		4.5			2.0
Asparate		34.5 (1.0)	27.0 (1.8)	37.0 (1.6)	42.0 (1.7)
Formate		7.0	2.1	2.0	0.5
Oxaloacetate		2.5		5.0	
Pyruvate		7.0 (1.6)	6.7 (1.7)	9.2 (1.9)	7.0 (2.0)
Citrate		8.1 (5.0)		2.7 (1.5)	
Lactate		4.5	3.8	2.6	2.0
Proline		11.8 (11.0)	6.5 (4.0)		5.0 (2.0)

Test mixture : final volume 3.5ml.

Containing Rickettsial suspension 2.0ml. substrate 1/50M. () in control.

は尠い様に思われる。当然此の場合は、対照に於ても呼吸量は増加を示している。R. tに就ては、R. p, R. m と比較し、増殖性に乏しい点と共に、精製方法 I による場合は酵素活性度は甚だ不安定であり、所要の数値が得

られぬ場合が多いので其後は総て精製法 II による精製に従つた。(第 1, 第 2 表)

次に R. p, R. m に就て、精製方法 I による場合、如何なる過程に於て、如何に活性度が喪失するかを追究した結果では、反復する遠

沈法によりて感染組織成分と Rickettsia が分離されてゆくに従い、より純粹の形で Rickettsia を得る分割に伴い、O₂ 消費量は減少している。勿論此の過程に至るまでの他の悪感作も考慮しなくてはならないが、精製に際し更に慎重に検討を要するものと思惟される。(第3, 第4, 第5表)

2. R. p. 及び R. m. に於ける酸素消費

R. p. 及び R. m. 感染卵黄囊より前記の部分的精製法Ⅱによつて、精製を試みたものを実験に使用し、Krebs 廻路に於ける中間物質夫々に就て O₂ 消費を見た。(第6表)

表示せる如く、Glutamate, Succinate, Asparate の数値は比較的安定し、酸化する傾向を有してをり、次で Fumarate, Pyruvate, α-Ketoglutamate は、低い乍らも酸化するのが認められた。此の実験から、2 カルボン酸系の存在は明かに推定されるが、3 カルボン酸系の存在は明かでなく、数値として記載するまでに至らなかつた。之等の成績に於ける数値が、Wiessmann et al. と比較して、低

いのは、Rickettsia の濃度にも関係あるであろうし、著者は実験を行わなかつたが、Rickettsia の急死毒との関連性を検討することも必要であると思われる。

3. R. t. に於ける酸素消費

R. t. に就ても大略同様の感染卵黄囊を反復遠心沈澱することにより精製を行つたが、R. t. にあつては特に其の増殖度に就ては詳細に吟味した。香川県下に於て分離した香川系 R. t. では卵黄囊内増殖度は比較的良好で、著明な定着性の差は見られなかつたが、卵黄囊累代5代以後に於ても、尚安定した増殖性を示さぬ場合があつた。他の R. t. に於ても、大体中等度の増殖度を示す場合もあつたが、累代によつては、良好な増殖が認められぬ事が時にあつたので、総て実験を中止した。R. t. の実験には更に緩衝液に Fe⁺⁺, Mg⁺⁺, Mn⁺⁺ 等の金属イオンの一定濃度を添加、pH の影響も考慮して実験したが、此等の影響は著明ではなかつた。(第7, 第8表)

Table 7

Influence of Mg⁺⁺ Fe⁺⁺ Mn⁺⁺ concentration on the glutamate oxydation by purified suspension of R. tsutsugamushi (Kagawa IV.)

Fe ⁺⁺		Mg ⁺⁺		Mn ⁺⁺	
Conc. (M)	O ₂ uptake	Conc. (M)	O ₂ uptake	Conc. (M)	O ₂ uptake
	glutamate		glutamate		glutamate
10 ⁻⁶ M	21.8 (7.0)	10 ⁻⁵ M	24.0 (4.0)	10 ⁻⁶ M	20.0 (4.0)
10 ⁻⁵ M	20.0 (10.0)	10 ⁻⁴ M	28.0 (5.0)	10 ⁻⁵ M	27.5 (7.0)
0.5×10 ⁻⁴ M	38.5 (7.0)	10 ⁻³ M	37.0 (10.0)	0.5×10 ⁻⁴ M	47.0 (7.0)
		10 ⁻² M	30.5 (1.8)		

Table 8

Influence of pH on the oxidation of glutamate by purified suspension of R. tsutsugamushi (Kagawa 4)

Initial pH	After 60 minutes in warburg	O ₂ uptake
		glutamate
5.6	5.75	27.5 (4.0)
6.5	6.7	24.0 (5.0)
7.2	7.35	31.5 (4.0)
7.5	7.6	48.0 (11.0)
7.7	7.8	21.0 (7.0)

Test. mixture : final volume 3.5ml.

containing Rickettsial suspension 2.0ml. glutamate 1/50M. 1.0ml.

次に R. t. に於ける O₂ 消費を見るに, R. p. (第9表) Glutamate, Succinate, Asparate. 及び R. m. と略々同様なる所見が得られた。では相当度に於て, 個有の代謝酵素系による

Table 9
Oxygen uptake by suspension of R. tsutsugamushi
with added glutamate and krebs cycle members.

Substrate	R. tsutsugamushi				
	Kagawa 4	Kagawa 22	Oseki	Osawa	Karp
No. Substrate	16.0 (2.0)	8.0 (2.7)	0.8	10.0 (8.0)	9.0 (2.0)
Glutamate	42.0 (19.0)	29.5 (5.0)	34.7 (3.4)	27.5 (10.0)	37.0 (12.0)
α -Keto Glutamate	15.0 (9.0)		12.0 (3.0)	21.0 (3.0)	15.0 (7.0)
Succinate	45.0 (3.0)	52.0 (7.0)	47.0 (12.0)	48.0 (4.0)	47.0 (5.0)
Asparate	38.0 (2.0)	27.5 (6.0)	34.7 (15.0)	27.0 (7.0)	25.0 (5.0)
Fumarate	20.0 (12.0)		10.0 (7.0)		15.0 (5.0)
Formate			15.5 (5.0)		
Oxaloacetate		7.5 (2.0)		5.0 (2.0)	5.0 (2.5)
Pyruvate	12.0 (4.0)	11.0 (5.0)	11.5 (6.5)	12.0 (6.0)	22.0 (7.0)
Citrate	10.0 (4.0)			5.0 (3.0)	15.0 (3.5)
Lactate			7.5 (5.0)		5.0 (2.0)
Glucose		10.0 (10.0)		7.5 (4.5)	
β -Glycerophosphate			42.0 (4.0)		43.0 (5.0)

Test mixture : final volume 3.5ml.

Containing Rickettsial suspension 2.0ml.

酸化が見られ, 続いて α -Keto-Glutamate, Fumarate, Oxalacetate, Pyruvate, Formate にも或る程度乍ら酸化が認められた。就中 β -Glycerophosphate に於て, 相当度の酵素活性が認められた事は興味ある事と思われる。

4. R. t. の酸素消費に及ぼす阻害剤の影響
R. t. の各 Strain に就ても同様の酵素活性が認められたので, 阻害剤5種による阻害剤の影響を検討した。(第10表) 其の成績では

阻害剤の及ぼす阻害度は, 或る程度の差は示してはいるが, 一様に認められる。就中, Monojodoaceticacid の及ぼす阻害は最も著明である。かかる酵素毒の作用に差があり, 而も, Monojodoaceticacid (CH₂ICOOH) が高度の阻害度を示した事実は, かつて鈴木 (1953)¹⁶⁾ が R. mooseri の急死毒を著明に減弱させると述べた成績と共に, Metabolic Activity, Toxic Activity とは密接な関連性

Table 10
Effect of variation metabolic inhibitors on the oxidation of
glutamate by suspension of R. tsutsugamushi (Kagawa 22)

Metabolic inhibitor	Concentration of inhibitor	Rate of oxidation
Arsenite	$2 \times 10^{-3}M$	37.0 (9.0)
Cyanite	$10^{-3}M$	17.0 (0)
Fluoride	$10^{-2}M$	40.0 (12.0)
Monojodoaceticacid	$4 \times 10^{-3}M$	3.3 (8.0)
Malonate	$2.5 \times 10^{-2}M$	35.0 (10.0)
No Inhibitor		47.0 (10.0)

Test system : final volume 3.5ml.

Containing rickettsial suspension 2.0ml. glutamate 1/50M. 10 ml.

Table 11
Effect of antimicrobial substances on the rate of oxidation of
glutamate by *R. tsutsugamushi* (Kagawa IV.)

Antimicrobial Substance	Concentration	Rate of oxidation
Chloramphenicol	160 $\mu\text{g/ml}$	47.0 (1.0)
"	280 $\mu\text{g/ml}$	35.0 (6.0)
"	400 $\mu\text{g/ml}$	21.0 (7.0)
Aureomycin	70 $\mu\text{g/ml}$	44.0 (7.0)
"	350 $\mu\text{g/ml}$	40.5 (7.0)
"	1750 $\mu\text{g/ml}$	20.0 (6.0)
P-Aminobenzoic Acid	700 $\mu\text{g/ml}$	50.0 (10.0)
"	1500 $\mu\text{g/ml}$	42.0 (6.0)
"	1800 $\mu\text{g/ml}$	45.0 (7.0)
"	2000 $\mu\text{g/ml}$	24.0 (6.0)
No antimicrobial substance		52.0 (9.0)

Test system : final volume 3.5ml.

Containing rickettsial suspension 2.0ml. glutamate 1/50M. 1.0ml.

() Rate of control.

を推定するに足るものと思料せられ、*R. t.* に就ても、更に感染乃至毒性との関連をも、尚示唆するものがあり、甚だ興味ある事実と思われる。

5. *R. t.* の酸素消費に及ぼす抗菌性物質の影響

酵素毒による阻害実験と共に実施した成績では、抗菌性物質中の Chloramphenicol, Aureomycin, P. A. B. A. 共に低濃度に於ては、呼吸抑制を示さないが、適度の濃度に於ては、抑制効果を示すようである。即ち、Aureomycin 1750 $\mu\text{g/ml}$. Chloramphenicol 400 $\mu\text{g/ml}$. P. A. B. A. 200 $\mu\text{g/ml}$. では一様に抑制効果を発揮する事実が観察された。而し、Aureomycin が就中最も優位の成績として毎回認められた。此等の成績を総合して、Wiessmann et al. (1952), Karp & Snyder (1952) の所見と相通ずるものがあるように思惟された。

総括及び考察

以上の実験成績から、*R. t.* に就ても、*R. m.* の実験 (Snyder 一門, Wiessmann) 更に *R. Rickettsi* (Price) と同様に、其の代謝系は個有のものである如く推定せられた。我々の課

題は、前述の実験成績を追加確認すると同時に、*R. t.* が在来までに、卵黄嚢内増殖が不安定と述べられている記載を、夫々の Strain に就て検討し、其の定着性を窺い *R. p.*, *R. m.* に就て行つた代謝過程の追究を、*R. t.* に就て試み、特に細胞との関連性の上に立脚して、考察を加うる意図のもとに出発した。予想した如く、*R. t.* の増殖性の不良は、実験を数十回に亘り、中途にして止めるような結果に到り、更に *R. t.* 濃度、精製の影響等で O_2 消費量の数値を記載するに到らなかつた実験例をも経験したが、これは *R. t.* の増殖度が他の *Rickettsia* と比較し、遜色を有する点に帰せられる。*R. t.* に就ての代謝の研究は、高度の増殖性を示す Strain の撰択と、如何にしてより純粋に、より活性度を喪失せぬ如く、*R. t.* の蒐集を行うかの問題がむしろ急務であるように思料せられた。

Bovarnick and Snyder (1949) に始る代謝系の研究は、此の後 Snyder 一門によりて更に発展を遂げ、たとえば毒性 (*R. m.* に於ける急死毒と溶血毒) と酵素活性との密切不離の関係等の研究は、此後の方向を示唆するものがある。

R. t. の酵素活性度を追究した著者の試みで

は、先人の業績と略々同一の傾向は認められるが、Glutamate, Succinate, Asparate を強く酸化し、 α -Ketoglutamate, Fumarate, Malate, Oxaloacetate, Pyruvate. をも酸化する点と、 β -Glycerophosphate をよく酸化する事実は注目すべきものと思われる。酵素毒による抑制実験では、程度の差はあるが、一様に阻害効果を示す如く思われ、殊に Monojodo-Acetic Acid ($\text{CH}_2\text{I COOH}$) の示す高度の呼吸抑制は、興味深いものがある。かつて鈴木(1953)は、試験管内に Rickettsia と KCN, 又は CH_2ICOOH の如き酵素毒を作用させると、著明に毒性を減弱させ得ると述べたが、著者の成績には、KCN は左程でないが、 CH_2ICOOH は著しい抑制効果を挙げた事実は、更に詳細に、今後の問題として究明したいと思う。続いて行つた抗菌物質の影響は、抗菌物質の濃度に左右されるものであるが、適度の濃度に添加する場合はやはり、抑制作用を呈する事実は、酵素学的にも有意義な結果と認められ得ると信ぜられる。要するに著者の得た知見は、R. t. に於ても、同一の過程に於ても、略々同様の Rickettsia 自体の代謝系があるものと推定され、生細胞の援助によつて、一般哺乳動物と同様一定の代謝が営まれているものであり、Rickettsia 自体の代謝系は、極めて不完全な体系ではあるが、存在し、それのみでは、代謝は営まれず、従つて自己増殖も考えられないと推定するのが至当ではなからうか。

結 論

R. t. に就て、R. m., R. p. と同一の操作により部分的精製を試み、Wahrburg 検圧計によりて、 O_2 消費量を測定した。其の結果、次の結論を得た。

1) R. t. の部分的精製法によつてより純粋に、より活性度を喪失せぬ程度に Rickettsia を蒐集し得た。

2) Wahrburg 検圧計による O_2 消費量を測定した結果、Glutamate, Succinate, Asparate に強い酸化を示すのを認め、他に α -Ketoglutamate, Fumarate, Malate, Oxaloacetate, pyruvate も酸化するのが認められ、 β -Glycerophosphate も亦良く酸化する事実に明かにした。

3) 酵素毒による阻害実験では、ある程度の阻害作用は一様に認められたが、就中 Monojodo Acetic Acid の阻害は、著明であつた。

4) 抗菌物質の抑制実験では、濃度によりて左右され、高濃度の場合には低濃度に比して、著しい呼吸抑制を示すものであり、特に Aureomycin では、毎回著明な効果を發揮するのを認めた。

5) R. t. のもつ個有の代謝系は、不完全ながらも存在し、生細胞よりの援助のもとに、或は連繫のもとに、始めて体系化され、自己増殖を営むまでに到るのではないかと推定される。

稿を終るに当り、村上教授の御指導と御校閲に深謝する。

文 献

- 1) 羽里, 桑田 : 日本細菌学雑誌, 1, 66—77, 1944.
- 2) Clancy & Cox. . J. Bact, 51, 629, 1946.
- 3) Smadel et al. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 62, 1946.
- 4) Bengtson. : Pub. Health. Rep. 61, 1946.
- 5) Topping. . Pub. Health. Rep. 61, 1946.
- 6) Bovarnick and Snyder. : J. Exp. Med. 89, 1949.
- 7) Bovarnick and Miller. . J. Biol. Chem, 184, 1950.
- 8) Wiessmann, et al. : J. Immunol. 68, 74, 1952.
- 9) Price. : Amer. J. Hyg. 58, 1953.
- 10) Shepard & Topping. : J. Immunol. 55, 1947.
- 11) Karp. : J. Bact, 67, 1954.
- 12) Bovarnick et al. : J. Bact, 66, 1953.
- 13) Snyder et al. : J. Bact, 67, 1954.

- 14) Lewthwaite et al. : Med. J. Austral, II, 1946. Med. 79, 1952.
15) 桑田 : ヴィールス, 3, 3, 1953. 18) Allen et al. : J. Bact, 67, 1954.
16) Suzuki. : Japan. J. Exp. Med., 21. 19) 村上他 : 日本細菌学会記録, 1954.
17) Karp & Snyder. : Proc. Soc. Exp. Biol. &

Department of Microbiology Okayama University Medical School
(Director : Prof. Dr. Sakae Murakami.)

Studies on the metabolism of Rickettsia

By

Tadao Nakayama

The author tried the partial purification of rickettsiae proliferated in the embryonated egg yolk sacks, and measured the respiration of these partially purified rickettsiae by the usual manometric technique. The results are as follows :

1. By partial purification, it was possible to obtain more purified and not inactivated rickettsiae.
 2. As a result of oxygen consumption measurement with Warburg manometer, glutamate, succinate and aspartate were strongly oxidized, and, at the same time, α -ketoglutarate, fumarate, malate, oxaloacetate, pyruvate and β -glycerophosphate were also oxidized pretty well.
 3. All enzymic inhibitors showed some inhibition, of which most remarkable was that by monoiodoacetate.
 4. The inhibitive action of various antibiotics is varied according to their concentration. However, aureomycin proved to show always very remarkable inhibition.
 5. Though incomplete, Rickettsia tsutsugamushi has its proper metabolic system, and is inferred to keep its proliferation by completing its metabolic system in support or connection with living cells
-