

「スピロヘータ」ノ「オキシダーゼ」反應

岡山醫科大學皮膚科泌尿器科教室 (主任皆見教授)

村山五瀨男

目 次

第1章 緒論	1) 「オキシダーゼ」反應ノ顯微鏡の所見
第2章 實驗方法	2) 「オキシダーゼ」反應ノ暗視野所見
1) 試薬	3) 「スピロヘータ」ノ銀嗜好性顆粒試験
2) 實驗材料	第4章 總括及ビ考按
3) 顯微鏡の検査ノ方法	第5章 結 論
第3章 實驗成績	

第 1 章 緒 論

最近組織染色法ノ進歩發達ハ實ニ著シク殊ニ病理組織學者ニ依リ興味ヲ以テ研究サルルモノハ細胞内顆粒染色法及ビ組織ノ生體染色法トス。細胞内顆粒染色法ノ中最モ多望ナル將來ヲ有スルモノノ一トシテ「オキシダーゼ」反應ヲ數ヘントス。抑モ「オキシダーゼ」反應トハ α -Naphthol 及ビ Dimethylparaphenylen-diamin トヨリ Indophenol 青ヲ合成スル反應ヲ云フモノナリ。此反應ハ遠ク Ehrlich¹⁾ 氏 (1885 年) ガ上記兩試薬ノ混合液ヲ家兔靜脈内ニ注入スルコトニヨリ各臟器ノ青ク染色スルヲ見シニ始マリ續イテ Röhmann und Spitzer¹⁾ 兩氏ニヨリ試験管内ニ於テ臟器粥ニ就テ同反應ガ試ミラレ Winkler¹⁾ 氏ニヨリ人間ノ血液塗抹標本ニ於テハ同反應ニ由リテ白血球ノ青染シ赤血球ノ染色セラレザルコトガ證明サレ越テ Schultze¹⁾ 氏ニ至リ始メテ各臟器ノ凍結切片ニ就テ「オキシダーゼ」反應ヲ證セラレシモノナリ。

爾來「オキシダーゼ」ニ關スル顯微化學的研究ハ病理組織學の方面ニ於テ長足ノ進歩ヲ遂ゲ Schultze 氏ニ次ギ Gierke, Gräff, Klopfer¹⁾ 氏等出デ我國ニ於テハ長與¹⁾, 藤原²⁾, 池田³⁾, 勝沼⁴⁾, 熊谷⁵⁾ 諸氏ノ業績相續イテ出デタリ。

竊テ細菌學の方面ニ於テハ Dietrich und Liebermeister⁶⁾ (1902 年) 兩氏ニヨリ脾脫疽菌其ノ他 2—3 ノ細菌ニ此反應ヲ應用シ菌體內ニ青色ノ顆粒ヲ見出シタルニ始マリ、次デ Schultze⁷⁾ 氏ニヨリ 10 種ノ細菌ニ於テ「オキシダーゼ」反應ガ檢セラレ、Kramer⁸⁾ 氏ハ更ニ多數ノ細菌ニ就テ此反應ヲ應用シ、Brandt⁹⁾ 氏ハ細菌ノ「オキシダーゼ」顆粒ノ形態學の研究ヲ發表シ、我國ニ於テハ傳研ノ西部¹⁰⁾ 氏ニヨリ 45 種ノ細菌ノ「オキシダーゼ」反應ガ報告サレシモ、「スピロヘータ」ノ「オキシダーゼ」ニ關シテハ余ノ調査セシ範圍ニテハ未ダ充分ナル研究ナキモノノ如シ。唯 1 例 Krume⁸⁾ 氏ニヨリ鶏「スピロヘータ」ノ「オキシダーゼ」反應ガ檢セラレ陰性ノ成績ヲ報告サレシヲ見ルノミ。余ハ下記 3 種ノ「スピロヘータ」ニ就キ其ノ「オキシダーゼ」反應ヲ檢シタルヲ以テ茲ニ報告セントス。

第 2 章 實驗方法

1) 試 藥

西部氏ニ從ヒ第 1 液ハ α -Naphthol ヲ 1%ニ生理的食鹽水ニ加熱溶解シ、第 2 液ハ Dimethylparaphenylenediamin ノ微量ヲ同ジク生理的食鹽水ニ溶解シ微カニ淡紫色ヲ呈スル程度ニ止メ、使用前第 1 及ビ第 2 液ヲ等量ニ混ジ濾過シテ使用ニ供シタリ (P. H. 7.4).

2) 實驗材料

再歸熱「スピロヘータ」、鼠咬症「スピロヘータ」及ビ實驗家兎黴毒ノ「スピロヘータバリエーダ」ヲ用ヒ前者ハ「マウス」ニ移植セルモノヨリ血液ヲ取り、後者ハ實驗家兎黴毒ノ瘰癧ノ初期硬結ヨリ刺戟漿液ヲ取りテ檢シタリ。

3) 顯微鏡の検査ノ方法

懸滴標本及ビ塗抹標本ニ於テ檢査シ、懸滴標本ニ於テハ再歸熱及ビ鼠咬症「スピロヘータ」ハ之等ヲ移植セル「マウス」ノ血液ノ 1 滴ヲ取り、又實驗家兎黴毒ノ「スピロヘータバリエーダ」ハ其ノ初期硬結ヨリ採取セル刺戟漿液ノ 1—2 滴ヲ用ヒ、何レモ 2 乃至 3 滴ノ蒸留水ニ稀釋セルモノノ 1 滴ヲ被覆硝子ノ上ニ取り、之ニ上記兩試藥混合液ノ 1 滴ヲ加ヘ懸滴内ニ於テ「オキシダーゼ」反應ヲ起サシメ顯微鏡下ニ檢シ、塗抹標本ニ於テハ血液或ハ刺戟漿液ヲ薄ク載物硝子ニ塗抹シ未ダ乾燥セザル間ニ兩試藥混合液ヲ 1 滴點滴シ 1 乃至 2 分間放置シ後被覆硝子ニテ覆ヒ顯微鏡下ニ檢シタリ。

第 3 章 實驗成績

1) 「オキシターゼ」反應ノ顯微鏡の所見

懸滴標本ニ於テ其ノ「オキシダーゼ」反應ヲ顯微鏡下ニ觀察スルニ、弱擴大ニ於テハ懸滴ノ邊緣ガ青色ヲ呈シ、又塗抹標本ニ於テハ視野全體ガ青色ヲ呈ス。而シテ此部分ヲ強擴大ニテ檢スルニ無數ノ分子運動ヲナセル深青色顆粒ト多數ノ黃褐色圓形ヲ呈セル赤血球ト青色顆粒ヲ以テ充セル少數ノ白血球ヲ認ム。而シテ此分子運動ヲナセル青色顆粒ハ大小不同ノ圓形ナリ、其ノ運動多クハ限局性ニシテ且其ノ數ヲ増サズ。然ルニ此他ニ時間ノ經過スルニ從ヒ徐々ニ Indophenol 青ノ顆粒狀ニ視野中ニ出現シ次第ニ其ノ數ヲ増スモノアリ。而シテ此顆粒ハ「オキシダーゼ」ノ色調ニ比シテ稍薄キヲ以テ兩者ノ區別ハ甚ダ容易ナリ。

余ハ上記三種ノ「スピロヘータ」ノ「オキシダーゼ」反應試驗ニ於テ之等菌體内ニ青染セル顆粒ヲ見ズ、全ク「スピロヘータ」ノ不染色性ナルヲ知ル。

2) 「オキシダーゼ」反應ノ暗視野所見

余ハ上記「オキシダーゼ」反應ヲ檢セシ標本ヲ更ニ暗視野装置ノ下ニ再檢セシニ、白血球ノ如キ「オキシダーゼ」陽性ノ顆粒ヲ有スルモノニアリテハ其ノ青色顆粒ハ光輝アル赤紫色ヲ呈シ、又分子運動ヲナセル深青色顆粒モ同様ニ赤紫色ヲ呈ス。之ニ反シテ赤血球ノ如キ「オキシダーゼ」反應陰性ノモノニ於テハ此赤紫色光輝アル顆粒ヲ認メズ。尙ホ各種「スピロヘータ」ニ於テ

モ其ノ菌體內ニカカル色調ヲ帶ベル顆粒ハ認メズ。唯光輝アル白色ノ螺旋形ヲ呈シテ盛シニ運動セルヲ認ム。

3) 「スピロヘータ」ノ銀嗜好性顆粒試験

上床氏ハ血液細胞及ビ唾液腺ニ於ケル銀嗜好性顆粒ニ就テノ研究ニ於テ還元顆粒ハ「オキシダーゼ」顆粒ト其ノ分布殆ド相一致スルモ、其ノ反應物質ノ性質上ニ差異アルモノト述ベタリ。余ハ今此方法ヲ3種ノ「スピロヘータ」ニ應用セリ。即チ塗抹標本ヲ酒精性「アンモニア」銀溶液ニ5分間作用セシメ、「アンモニア」酒精ニテ瞬間分別シ、「フォルマリン」ニ投ジテ後檢セシカドモ各種「スピロヘータ」ハ何レモ陰性ノ成績ヲ得タリ。即チ本染色後「フクシン」又ハ「ピロニン」等ニ依リ、殊ニ再歸熱「スピロヘータ」ハ複染色液ノ色ヲ採レリ。

第4章 總括及ビ考按

余ハ以上ノ余ノ實驗ニ徵シ再歸熱、鼠咬症及ビ實驗家兔微毒ノ「スピロヘータ」ハ何レモ「オキシダーゼ」反應ノ陰性ナルコトヲ信ゼントス。即チKramer氏ノ鶏ノ「スピロヘータ」ニ關シテノ「オキシダーゼ」反應成績ニ一致スルヲ見タリ。余ノ實驗成績ヲ按ズルニ、「スピロヘータ」ニシテ若シ「オキシダーゼ」反應陽性ナリト假定シ其ノ1菌體內ニ數箇ノ「オキシダーゼ」顆粒存在ストセバ其ノ形狀ハ連鎖狀球菌ノ如キ觀ヲ呈スベキナリ。又1菌體內ニ唯1箇ノ「オキシダーゼ」顆粒アリトスレバ其ノ顆粒ノ運動ハ「スピロヘータ」ノ運動ニ隨ヒ迅速ニシテ且移動的ナラザルベカラザルナリ。然ルニ上記顯微鏡の所見ノ條下ニ述ベシ如ク「オキシダーゼ」陽性顆粒ハ個々獨立的ニシテ連鎖狀球菌様ニ連ナレルモノナク、且其ノ運動甚ダ鈍シ。故ニ各種「スピロヘータ」ノ「オキシダーゼ」顆粒ナキコトヲ檢鏡シ得タリシモノニシテ、是レ確實ニ同反應ナキコトヲ裏書スル第1ノ理由ナリ。尙ホ分子運動ヲナセル「オキシダーゼ」陽性ノ青色顆粒ヲ暗視野装置ニヨリ檢セシニ、此青色顆粒ハ光輝アル赤紫色顆粒トシテ認メラルルコトハ前述セシ如シ。余ハ再歸熱「スピロヘータ」ノ塗抹標本ニ於テ其ノ「オキシダーゼ」反應ヲ此装置ニヨリ檢セシニ青色顆粒ヲ認メザル視野ニ於テ「スピロヘータ」ハ白色ノ光輝アル螺旋形ヲ呈シ盛シニ運動セルヲ見タリ。尙ホ其ノ菌體內ニハ上記ノ如キ赤紫色光輝アル顆粒ヲ見ルコトナシ。即チ此事實ハ再歸熱「スピロヘータ」ノ菌體內ニ「オキシダーゼ」反應ノ起ラザリシコトヲ裏書スル第2ノ理由ナリ。

次ニ上述セシ如ク上床氏ノ試験ヲ追試シ同氏ノ所謂「オキシダーゼ」反應ナキ處ニ銀嗜好性顆粒ナシト云フ事實ニシテ眞ナリセバ、余ノ實驗ニ徵シテ各種「スピロヘータ」ハ銀嗜好性顆粒試験、皆陰性成績ヲ來シタルガ故ニ即チ此事實ハ各種「スピロヘータ」ニ「オキシダーゼ」反應ナキコトヲ裏書スル第3ノ理由ナリ。以上ノ如ク考按シ來ルトキハ「スピロヘータ」ノ「オキシダーゼ」反應ハ愈々陰性ナルコトヲ確信シ得。但シ余ハ「スピロヘータ」ノ銀染色トシテFontana氏

法ヲ檢セルニ總テ染色セシカド、上記銀顆粒染色ニテハ陰性ナリシモノニテ、此兩法ノ差異ハ前者ニハ「タンニン」酸液ヲ使用スルモ「フォルマリン」ヲ用ヒズ、後者ニハ「タンニン」酸ヲ使用セズシテ「フォルマリン」ヲ用ヒテ還元セシモノニシテ此間ニ多少ノ化學的反應ニ由リ染色上ノ差異ヲ來セルモノト思惟ス。

第 5 章 結 論

再歸熱「スピロヘータ」、鼠咬症「スピロヘータ」竝ニ實驗家兔微毒ノ「スピロヘータバリーダ」ニ α -Naphthol 及ビ Dimethylparaphenylendiamin ヲ用ヒテ其ノ「オキシダーゼ」反應ヲ檢シ次ノ結論ヲ得タリ。

- 1) 「スピロヘータ」ノ形狀ヲ有スル青色物體ヲ視野中ニ全然認メズ。
- 2) 「オキシダーゼ」反應ヲ起サシメタル標本ヲ直チニ暗視野装置ニテ檢スルトキハ「スピロヘータ」ハ白色光輝アル物體トシテ固有ノ運動ヲナスモ、青染セル顆粒ハ赤紫色光輝アル物體トシテ限局性ノ分子運動ヲナス。而シテ上記「スピロヘータ」ノ運動ハ全然青色顆粒ヲ認メザル部位ニ於テモ認ムルヲ得。即チ「スピロヘータ」ハ「オキシダーゼ」反應ヲ有セザルコトヲ斷定シ得ベシ。

拙筆スルニ當リ恩師皆見教授ノ懇篤ナル御指導ヲ深謝シ併セテ醫局諸賢ノ御援助ヲ多謝ス。

(2. 11. 30. 受稿)

文 獻

- 1) 長興, 日新醫學. 第 2 年. 第 9 號. 1913 年
- 2) 藤原, 國家醫學會雜誌. 第 314 號. 1913 年
- 3) 池田, 東京醫學會雜誌. 第 27 卷. 1423 頁. 1913 年.
- 4) Katsunuma, Intrazellulare Oxydation und Indophenolblausynthese, Histochemische Studie über die „Oxydasereaktion“ im tierischen Gewebe. Jena, 1924.
- 5) 熊谷, 岡山醫學會雜誌. 第 39 年. 第 4 號. 1927 年.
- 6) Dietrich und Liebermeister, Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 32, 1902.
- 7) Schultze, Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 56, 1910.
- 8) Kramer, Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 62, 1912.
- 9) Brandt, Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 72, 1914.
- 10) 西部, 實驗醫學雜誌. 第 11 卷. 第 6 號. 1927 年.
- 11) 西部, 實驗醫學雜誌. 第 11 卷. 第 7 號. 1927 年.
- 12) 上床, 愛知醫學會雜誌. 第 34 卷. 第 7 號. 1927 年.

*Kurze Inhaltsangabe.***Über die Oxdasereaktion von Spirochäten.**

Von

Iseo Murayama.

*Aus der Universitäts-Hautklinik in Okayama.**(Vorstand: Prof. Dr. Seigo Minami).*

Eingegangen am 30. November 1927.

Ich habe die Indophenolreaktion bei *Spirochaeta pallida*, *recurrens* und *morsumuris* geprüft. Aber diese Reaktion fiel bei allen Spirochäten negativ aus. Auch nach dem Verfahren konnte ich im Dunkelfeld nicht gefärbte Spirochäten konstatieren.

(Autoreferat).