

北里柴三郎博士と気腫疽菌研究

田村 豊†

酪農学園大学動物薬教育研究センター (〒069-8501 江別市文京台緑町582)

Dr. Shibasaburo Kitasato and *Clostridium chauvoei* infection
Yutaka TAMURA†

* Center for Veterinary Drug Development, Rakuno Gakuen University, 582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu 069-8501, Japan

(2019年8月6日受付・2019年9月23日受理)

北里柴三郎博士は、ペスト菌を発見し、また破傷風の治療法を開発するなど、感染症研究の発展に多大な貢献をした偉人の一人で「日本の細菌学の父」と呼ばれた。獣医学関連でいえば、動物用ワクチンを開発し製造していた北里研究所の創立者であり、獣医学部を擁する北里大学の学祖である。北里博士は破傷風菌 (*Clostridium tetani*) と同時に、世界で反芻動物の重要な細菌感染症である気腫疽の原因菌である気腫疽菌 (*Clostridium chauvoei*) を世界に先駆けて純粋培養に成功した。しかし、反芻動物に限定して感染するためか、人獣共通感染症の起因菌である破傷風菌の陰に隠れて、この事実はまったく知られていない。また、獣医系大学の獣医細菌学の講義でも紹介されていない。今般、(学)北里研究所北里柴三郎記念室から『北里柴三郎学術論文集』(北里柴三郎研究シリーズ, 学校法人 北里研究所, 東京 (2018)) が刊行されたことを契機に、あらためて北里博士の気腫疽菌研究について紹介したい。

北里博士は、1883年に東京医学校(現 東京大学医学部)を卒業し医学士となられた。その後、内務省衛生局に奉職し、1885年にベルリン大学へ留学して、ルイ・パスツールとともに、近代細菌学の開祖といわれるロベルト・コッホに師事した。1889年に世界で初めて破傷風菌の純粋培養法に成功 [1] し、1890年には破傷風抗毒素を発見 [2] して世界の医学会を驚嘆させた。さらに、血清療法という、培養菌液ろ過液を少量ずつ動物に

注射しながら血清中に抗体を産生させる画期的な手法を開発することになった。1890年に血清療法をジフテリアに応用し、同僚であったベーリングと連名で、「動物におけるジフテリア免疫と破傷風免疫の成立について」 [2] という論文を発表した。第1回ノーベル生理学・医学賞の候補者として名前が挙がったが、結局は抗毒素という研究内容を主導していた博士でなく、共同研究者のベーリングのみが受賞した。今考えても同じ日本人としてこの決定に納得がいかないが、この経緯についてはいろいろな書籍に書かれているので、そちらに譲りたい。

次に気腫疽菌について紹介したい。気腫疽菌は筋肉の出血やガス壊疽を主徴とする反芻動物の急性致死性感染症である気腫疽の原因菌である [3]。本菌は世界中の土壌に分布し、温暖な地方に汚染地帯を形成する。一般的に散発的な発生が多く、栄養が十分な若齢牛がかかりやすいといわれている。現在は、きわめて有効なワクチンが実用化されており、ワクチン接種の普及に伴い発生数は激減して最近では年間5頭以下で推移している。従来は法定伝染病だったが、現在は届出伝染病に指定されている。

では、何故に北里博士は気腫疽菌の研究を実施したのであろうか。ご自身は医師であることから、医療で問題となる感染症をテーマに診断法や予防法を研究したかったと思われる。破傷風菌は絶対嫌気性菌であり厳密な嫌気条件下でしか培養することはできない。当時の水素ガ

† 連絡責任者: 田村 豊 (酪農学園大学動物薬教育研究センター)

〒069-8501 江別市文京台緑町582 ☎011-388-4190 FAX011-388-4192

E-mail: tamuray@rakuno.ac.jp

† Correspondence to: Yutaka TAMURA (Center for Veterinary Drug Development, Rakuno Gakuen University)

582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu 069-8501, Japan

TEL 011-388-4190 FAX 011-388-4192 E-mail: tamuray@rakuno.ac.jp

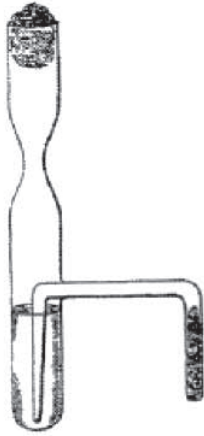


図1 リボリウス導管 [6]
横の管にキップの装置から水素ガスを吹き込んで熱封入して培養した。



図2 北里柴三郎博士とキップの装置
北里博士の左手に持っているのが亀の子シャーレ (学北里研究所 北里柴三郎記念室所蔵)。

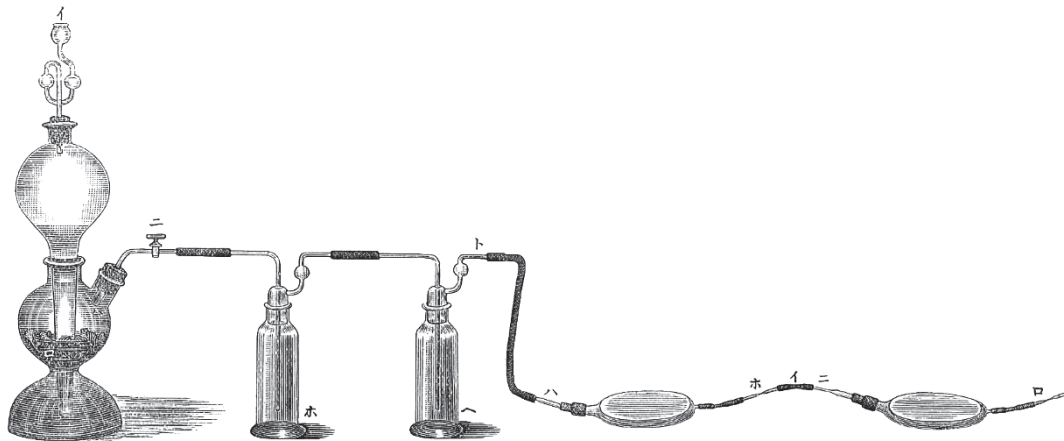


図3 キップの装置に連結した亀の子シャーレ
亜鉛と硫酸を混合して水素ガスを作製した (学北里研究所 北里柴三郎記念室所蔵)。

スを使う培養法や安全キャビネットもない施設では、不慮の爆発により実験室内感染を起こすことも想定された。破傷風に罹ると産生する毒素（テタヌストキシン）により、重症の場合は全身の強直性痙攣を引き起こし、死亡率も高い。そのため、培養法も病原性も確立していない破傷風菌を直接分離することに躊躇したものと考えられる。そこで、培養するにあたって破傷風菌と同じような嫌気度を要求し、そして人に感染しない類似菌種として気腫疽菌をモデルとして分離方法を予備的に検討することを思い浮かべたものと推察される。まさに、今でいうバイオセーフティーの考えに基づいた対応であった。なお、最近日本で気腫疽菌による人体感染例が1例報告されている [4]。

破傷風菌の純粋培養に成功した同じ年に、気腫疽菌の培養法に関するドイツ語論文を公表している [5]。この論文が、気腫疽菌の世界で初めての純粋培養の報告になる。医療分野では破傷風菌をはじめ赤痢菌や腸炎ビブリ

オなどの分離に日本人研究者が果たした役割の大きさが示されているが、動物分野では気腫疽菌の報告が最初で唯一であると思われる。論文内容のみで驚くのは、今でも通じる気腫疽菌に関する多くの知見が得られていることである。まず、博士は気腫疽菌が動物体内で増殖するので、感受性のある動物の肉で作成したブイオン中で増殖すると考え、モルモットの肉でブイオンを作製した。このブイオンの中に気腫疽に罹患した動物の血漿を一白金耳接種して混合し（原液）、この原液一白金耳を新たなブイオンに接種した（第一希釈液）。さらにもう一度同じことを繰り返し（第二希釈液）、それぞれのブイオンをリボリウス導管（図1）[6]の中に入れ、横の管からキップの装置（図2と3）で作製した水素ガスを入れて開口部を熱溶封し、35～38℃のフラン器で24～40時間培養したところ増殖が認められた。最も希釈して発育した培養液の0.2～1.0mlをモルモットの皮下に接種すると、30～48時間後に気腫疽で死亡した。気腫疽菌

の培養液は2週間以上放置するか、80℃で30～40分間加熱すると毒力がなくなっていた。また、毒力がなくなった培養液をモルモットに接種すると、モルモットは気腫疽に免疫になり、このモルモットから生まれた子も気腫疽に対して免疫になることを示した。

この論文を熟読すると、多くの示唆に富んだ点がみえてくる。まずは、気腫疽菌に感受性のある動物のブイヨンなら増殖すると考えたことや、寒天平板で増殖ができないときに、ブイヨンを用いて限外希釈法によりクロニングを試みるなどである。また、現在にも通じる知見として、気腫疽菌と類似した性状を示し、気腫疽の病変部からもしばしば分離される悪性水腫菌 (*Clostridium septicum*) との重要な鑑別点として生体内での形態の違いを示していることである。つまり、気腫疽菌は単在か短い連鎖なのに対し、悪性水腫菌は長い連鎖（フィラメント）を形成することである。この知見は、今なお気腫疽の診断に利用されている。菌形も大部分は棍棒状の桿菌であり、中央または末端に膨らみ（芽胞）があることも示している。さらに驚くことは、気腫疽菌の最初の論文でありながら、現在の気腫疽ワクチンの基礎となる知見を提供したことである。気腫疽ワクチンの最初は、1887年にアーロイングラが感染組織の抽出液を乾燥し、高熱で滅毒したものといわれている [7]。それが、同じ年に現在も使用される培養液を用いたワクチンを報告したのである。まだ実用化されていないながらも、免疫をもったモルモットから生まれた子どもにも、免疫が誘導される母子免疫が成り立つことも示した。加えて、キップの装置での爆発を防ぐために、空気を取り除くために直ぐに装置につながず、水を満たした試験管を逆にした中を通して、試験管が一杯になったら火を近づけて、爆発しないことを確認してからリボリウス導管に接続するという、実験を行う上での注意事項まで記載している。論文の中に実験の危険性を回避する方法を記載することは異例であるものの、自ら3回の爆発事故を経験したことから、親切心で注意を喚起したものと思われる。

北里博士は、翌年の1890年に先の報告の補遺の論文を報告した [8]。ここでは扁平ガラス容器（亀の子シャーレ）を用いた気腫疽菌の固形培地中での純粋培養法を述べている。気腫疽で死んだモルモットの血漿を、中性の寒天培地の入っている亀の子シャーレにとり、混合して水素ガスを通した。シャーレのガス取り込み口を熱溶封して培養したところ、表面が不規則で暗い中心部は光の輪で囲まれたコロニーが出現した。平板培養が可能となったことから、純粋培養が可能となり、気腫疽菌のさまざまな性状が明らかにされた。例えば、菌体は末端が丸い桿菌であることや、芽胞は卵形で芽胞を持つ菌

は紡錘形にみえることなどである。この固形培地上で細菌を分離する手法は、恩師であるコッホの影響が大きいといわれている。つまり、パスツールが液体培地に拘り、固形培地を使わなかったことと考えを異にしている。この研究手法の差が、新規の病原体の発見の多くがコッホ門下で行われた理由ともいわれている。

以上、北里博士による2つの気腫疽菌に関する論文を紹介した。記載したとおり、卓越した技術により世界で最初に培養困難な気腫疽菌の純粋培養に成功し、さまざまな性状に関する知見を提供して獣医学の進展に多大な貢献をした。さらに、現行の気腫疽ワクチンの原型ともいえる知見を提示した。著者も、かれこれ20年ばかり気腫疽菌の研究に携わってきたが、この2つの論文を超えるような内容であったかと忸怩たる思いである。最近、気腫疽菌に機能が明らかでないプラスミドの存在が報告されている [9]。北里博士が示したように、培養液を長期間放置すると毒力がなくなるとの記述から、病原性プラスミドの存在をも示唆され、北里博士を超える今後の研究の進展に期待したい。

引用文献

- [1] Kitasato S : Ueber den tetanuserreger, Dtsch. Med. Wschr., 15, 635-636 (1889)
- [2] Behring EA, Kitasato S : Uber das zustandekommen der diphtherie-immunität und der tetanus-immunität bei thieren, Dtsch Med Wschr, 16, 1113-1114 (1890)
- [3] 田村 豊 : 気腫疽, 動物の感染症, 明石博臣ほか編, 第4版, 116, 近代出版, 東京 (2019)
- [4] Nagano N, Isomine S, Kato H, Sasaki Y, Takahashi M, Sakaida K, Nagano Y, Arakawa Y : Human fulminant gas gangrene caused by *Clostridium chauvoei*, J Clin Microbiol, 46, 1545-1547 (2008)
- [5] Kitasato S : Ueber den rauschbrandbacillus und sein culturverfahren, Z Hyg, 6, 105-116 (1889)
- [6] Liborius P : Beiträge zur kenntniss des sauerstoffbedürfnisses der bacterien, Z Hyg, 1, 115-177 (1886)
- [7] 飯田広夫 : I. *Clostridium chauvoei*, 獣医微生物学, 平戸勝七編, 第4版, 385, 養賢堂, 東京 (1971)
- [8] Kitasato S : Ueber das Wachstum des rauschbrandbacillus in festen nährsubstraten. nachtrag zu der abhandlung: Ueber den rauschbrandbacillus und sein culturverfahren, Z Hyg, 8, 55-61 (1890)
- [9] Rychener L, In-Albon S, Djordjevic SP, Chowdhunry PR, Nicholson P, Ziech RE, de Vargas AC, Frey J, Falquet L : *Clostridium chauvoei*, an evolutionary dead-end pathogen, Front Microbiol, 8, 1054 (2017), (online), (<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01054>), (accessed 2019-08-21)