

## 炭疽沈降素血清の特異性に関する研究

## 第11報 抗炭疽血清に強陽性を示す細菌間の抗原関係

高木 静雄, 広直 武司

**Studies on the Specificity of Anthrax Precipitin Serum.**

## (11) The Antigenic Relation of Bacterial Species which Exhibit Strong Group Reaction with Anti-anthrax Serum.

By

Shizuo TAKAGI and Takeshi HIRONAO

Department of Veterinary Science, College of Agriculture

(Received September 30, 1956)

In connection with the work published in the previous report 10, experiments by the usual precipitation method were made on antigenic relation to *B. anthracis* of the organisms of the genus *Bacillus*—*B. megatherium*, *B. pseudoanthracis*, and organisms of *B. 1*, *B. 16*, *B. 17*, *B. 18*, *B. 19*, *B. 20* and *B. 21* which were isolated in our laboratory—and on mutual antigenic relation of these organisms. Comparative re-examination of both bacterial extracts and products as antigens was also carried out.

**A. Results obtained with bacterial extracts used as antigens.**

1. The four organisms, *B. megatherium*, *B. 1*, *B. 17* and *B. 20*, are extremely related to *B. anthracis* in antigenicity. They react well each other and it is difficult to separate these four antigenically from *B. anthracis*. It is, therefore, interesting that if ASCOLI's precipitin test is made with antisera prepared against these four organisms and materials from anthrax-infected animals, a positive reaction like in the case of anti-anthrax serum may occur. *B. anthracis*, however, may be separated from the four by its weak antigenicity to any one of the antisera prepared against *B. 16*, *B. 18*, *B. 21*, *B. pseudoanthracis*, etc.

2. The three organisms, *B. 16*, *B. 18*, and *B. 21*, are extremely related each other in antigenicity. They exhibit antigenic properties similar to those of the four organisms described above. They are, however, differentiated from the above four by the weak reaction of their antisera with *B. anthracis*.

3. *B. pseudoanthracis* exhibits very close antigenicity to the above three organisms of *B. 16*, *B. 18* and *B. 21*, and it is difficult to separate from these three. In the present work differentiation is attempted by its antigenicity to antisera prepared against the other test organisms.

4. *B. 19* clearly differs in antigenicity from the other organisms and with the exception of *B. 18*, no organisms reacted with the antiserum of this organism. Differentiation from *B. 18* is, of course, evidently capable, since antisera of both organisms exhibit each other different reactions with the other organisms.

**B. Results obtained with bacterial products used as antigens.**

1. Antigenic difference (or similarity) between bacterial species was rather evidently exhibited with the bacterial products than with the extracts.

2. All the organisms tested are, like in the case of experiment A, classified grossly into four groups, the group of *B. megatherium*, *B. 1*, *B. 17*, *B. 18* and *B. 20*, and the group of *B. 16* and *B. 21*, and the remaining two groups of *B. pseudoanthracis* and *B. 19*. These latter two, respectively, exhibited quite specific antigenicity which differed from each other.

3. The result which differed from that of experiment A was that *B. anthracis* exhibited the same antigenic properties as observed with the four organisms of the *B. megatherium* group and even with its antigenicity to antisera prepared against the other organisms exclusive of the above four, such differentiation as that capable in the case of the bacterial extract was quite

impossible.

In experiment A, *B. 18* rather resembled *B. 16* and *B. 21* and these three belonged to the same group, but experiments with products clarified that this organism is rather related to the organisms of the *B. megatherium* group.

4. Since the *B. 17* product reacts with the antisera of both *B. 16* and *B. megatherium* groups, this organism seems to be of the intermediate type of these two groups.

From the results described above, mutual antigenic differences were recognized even between bacterial species which were almost impossible to differentiate each other by their antigenicity to anti-anthrax serum.

## 緒 言

第10報<sup>1)</sup>に於ては抗炭疽血清に強弱様々の類属反応を示す細菌——*B. anthracis*, *B. 21*, *B. cereus*, *B. subtilis* 及び *M. aureus*—の相互の抗原関係を沈降反応によつて検べた結果を報告したのであるが、今回は更に抗炭疽血清に常に強陽性を示す細菌だけをえらび、それらの抗原関係の追究を行った。

既に第1報<sup>2)</sup>にも報告し又その後の研究によつて、抗炭疽血清に強い反応を示す菌は吾々の取扱つた範囲内では何れも *Bacillus* 属菌であつて、標準株では *B. megatherium* (時に *B. pseudoanthracis*) 及び吾々が土或は枯草より分離した7株 (*B. 1*, *B. 17*, *B. 18*, *B. 19*, *B. 21*) の細菌——その一般生物学的性状を BERGEY'S Manual<sup>3)</sup> に照して検べると略々 *B. megatherium* に近似のもの——であるが、これら標準株及び分離7株は単に抗炭疽血清に対する反応性からみると何れも *B. anthracis* と殆ど区別がつかない程よく似ている。はたしてこれらの菌は *B. anthracis* と全く同一の抗原を有するものであるか、又これらの菌の間の相互抗原関係はどうかを、反応原として菌体浸出液と菌の産生物質とを用いて検べたのでこゝにその大要を報告する。

Table 1A. Precipitin test with Anti-anthrax serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract						
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:25600	1:51200	1:102400
<i>B. anthracis</i>	4	3	3	2	1	1	1
<i>B. megatherium</i>	4	4	3	2	1	1	1
<i>B. pseudoanthracis</i>	4	2	1	0			
<i>B. 1</i>	4	3	3	2	1	1	1
<i>B. 16</i>	4	3	3	2	1	1	1
<i>B. 17</i>	4	3	2	2	1	1	0
<i>B. 18</i>	4	3	3	2	1	1	0
<i>B. 19</i>	4	3	2	2	1	0	
<i>B. 20</i>	4	3	3	2	1	1	0
<i>B. 21</i>	4	3	3	2	1	1	1

4~0 : The degree of reaction

## 実験材料並びに方法

1. 使用菌株の由来：すべて第1報に記載する通りである。但し *B. megatherium* は東京大学農学部家畜細菌学教室より分与を受けたものである。
2. 菌体浸出液の作り方、産生物質の採り方、各菌抗血清の作り方：すべて第10報に記載する方法によつた。
3. 沈降反応の実施：前報通り重層法によつた。

## 実験成績

1. 菌体浸出液を反応原として検べた各菌相互の反応性関係

Table 1B. Precipitin test with diluted Anti-anthrax serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of Antiserum			
	1:20	1:40	1:80	1:100
<i>B. anthracis</i>	4	3	0	
<i>B. megatherium</i>	3	2	0	
<i>B. pseudoanthracis</i>	1	0		
<i>B. 1</i>	3	1	0	
<i>B. 16</i>	3	2	1	0
<i>B. 17</i>	3	2	0	
<i>B. 18</i>	3	2	0	
<i>B. 19</i>	3	2	0	
<i>B. 20</i>	3	2	0	
<i>B. 21</i>	3	2	0	

*B. anthracis* はじめ抗炭疽血清に強い反応を示す *B. megatherium*, *B. pseudoanthracis* 及び分離7株の夫々の抗血清と夫々の菌体浸出液とで交叉反応を試み第1~10表並びにそれらを総括した第11表に示すような結果を得た。

先ず抗炭疽血清に対する各菌の反応性をみると、浸出液の高濃度の場合はずべて同様の強い反応を示し彼我の区別がつかない

Table 2. Precipitin test with Anti-megatherium serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract					
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:12800	1:25600
<i>B. anthracis</i>	4	4	2	1	0	
<i>B. megatherium</i>	4	4	3	1	1	0
<i>B. pseudoanthracis</i>	3	1	0			
<i>B. 1</i>	4	4	2	1	0	
<i>B. 16</i>	4	4	3	2	1	0
<i>B. 17</i>	4	4	3	1	0	
<i>B. 18</i>	4	4	3	1	1	0
<i>B. 19</i>	4	3	2	1	0	0
<i>B. 20</i>	4	4	2	1	1	0
<i>B. 21</i>	4	4	3	1	1	0

Table 3. Precipitin test with Anti-B. 1 serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract					
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:25600	1:51200
<i>B. anthracis</i>	4	3	2	1	0	
<i>B. megatherium</i>	4	4	3	1	0	
<i>B. pseudoanthracis</i>	2	1	0			
<i>B. 1</i>	4	4	2	1	0	
<i>B. 16</i>	4	4	3	2	1	0
<i>B. 17</i>	4	4	3	2	1	0
<i>B. 18</i>	4	4	3	2	1	0
<i>B. 19</i>	4	3	1	1	0	
<i>B. 20</i>	4	3	1	1	0	
<i>B. 21</i>	4	2	1	0		

Table 4. Precipitin test with Anti-B. 17 serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract				
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:12800
<i>B. anthracis</i>	4	4	1	0	
<i>B. megatherium</i>	4	3	2	1	0
<i>B. pseudoanthracis</i>	2	1	0		
<i>B. 1</i>	4	4	2	1	0
<i>B. 16</i>	4	4	3	1	0
<i>B. 17</i>	4	4	2	1	0
<i>B. 18</i>	4	4	2	1	0
<i>B. 19</i>	4	3	2	1	0
<i>B. 20</i>	4	4	3	1	1
<i>B. 21</i>	4	4	3	1	0

Table 5. Precipitin test with Anti-B. 20 serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract					
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:25600	1:51200
<i>B. anthracis</i>	4	3	2	1	0	
<i>B. megatherium</i>	3	2	1	1	0	
<i>B. pseudoanthracis</i>	2	0				
<i>B. 1</i>	4	3	2	1	0	
<i>B. 16</i>	4	4	2	1	0	
<i>B. 17</i>	4	4	2	1	0	
<i>B. 18</i>	4	4	2	2	1	0
<i>B. 19</i>	4	2	2	1	0	
<i>B. 20</i>	4	3	2	1	0	
<i>B. 21</i>	4	3	2	1	0	

いが、終末価に於て *B. pseudoanthracis* はかなり著明に他の菌と異り、又 *B. 19* も他より僅に低いように見受けられる。その他の株は *B. anthracis* と殆ど同様の高い終末価を示した(第1表A)。

又抗血清を稀釈して用いた場合も *B. pseudoanthracis* だけは20倍迄陽性であるが、他は *B. anthracis* 同様40~80倍迄陽性で、これからみても *B. pseudoanthracis* は他と区別出来るように思われる(第1表B)。

以上は抗炭疽血清に対する各菌の反応性であつたが、その逆の場合即ち *B. anthracis* 以外の菌の抗血清に対する *B. anthracis* の反応性並びに各菌相互の反応性をみると、*B. anthracis* は *B. megatherium*, *B. 1*, *B. 17*, *B. 20* の4株の抗血清に対してのみ強陽性を示し、その他の株の抗血清には軽度か又は陰性で明らかにこの4株は他と区別出来るようである。且つこの4株は相互の反応性が全く類似するばかりでなく、これら4株の抗血清に対する他菌の反応性も又同様に強い点も似ている。以上のようにこの4株は抗原的に *B. anthracis* と近い関係にあると思われるが、特に興味あることはこれら4株の抗血清は炭疽感染モルモットの肝を以て ASCOLI 反応を行うと抗炭疽血清と同様に強い反応を示したことである。然し *B. anthracis* はこの4株以外の菌(*B. 16* その他)の抗血清には反応しないか、又は軽度の反応であつてこの点では4株と差違が認められる(以下この4株を *Megatherium group* と呼称)。

次に *B. 16*, *B. 18*, *B. 21* の3株(以下 *B. 16 group*)は互いの反応性から、又それら抗血清に対する他菌の反応性よりみて略々類似の抗原性を示して、前記 *Megatherium group* に近い抗原性を示しているが、然しこの *B. 16 group* の抗血清に対する他の菌の反応性が一般に *Megatherium group* 抗血清より稍々弱いこと特に *B. anthracis* の反応性が

Table 6. Precipitin test with Anti-B. 16 serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract						
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:25600	1:51200	1:102400
<i>B. anthracis</i>	1	0					
<i>B. megatherium</i>	4	3	2	1	0		
<i>B. pseudoanthracis</i>	2	1	0				
<i>B. 1</i>	3	1	1	0			
<i>B. 16</i>	4	3	2	1	0		
<i>B. 17</i>	4	3	2	2	1	1	0
<i>B. 18</i>	4	3	2	2	1	1	0
<i>B. 19</i>	2	1	0				
<i>B. 20</i>	2	1	0				
<i>B. 21</i>	3	1	0				

Table 7. Precipitin test with Anti-B. 17 serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract						
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:25600	1:51200	1:102400
<i>B. anthracis</i>	1	1	1	0			
<i>B. megatherium</i>	4	3	2	1	0		
<i>B. pseudoanthracis</i>	2	1	0				
<i>B. 1</i>	3	2	1	0			
<i>B. 16</i>	4	4	3	2	1	1	0
<i>B. 17</i>	4	4	3	2	1	1	0
<i>B. 18</i>	4	4	2	1	1	0	
<i>B. 19</i>	1	1	0				
<i>B. 20</i>	2	1	0				
<i>B. 21</i>	4	2	1	1	0		

Table 8. Precipitin test with Anti-B. 21 serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract				
	1:100	1:400	1:1600	1:6400	1:12800
<i>B. anthracis</i>	0				
<i>B. megatherium</i>	2	2	1	0	
<i>B. pseudoanthracis</i>	0				
<i>B. 1</i>	2	1	1	0	
<i>B. 16</i>	4	3	2	1	0
<i>B. 17</i>	4	3	3	1	0
<i>B. 18</i>	3	2	1	0	
<i>B. 19</i>	1	0			
<i>B. 20</i>	2	1	1	0	
<i>B. 21</i>	3	2	1	1	0

Table 9. Precipitin test with Anti-pseudoanthrax serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract				
	1:100	1:400	1:1600	1:3200	1:6400
<i>B. anthracis</i>	1	0			
<i>B. megatherium</i>	3	2	1	0	
<i>B. pseudoanthracis</i>	2	2	1	0	
<i>B. 1</i>	2	2	1	0	
<i>B. 16</i>	2	2	1	0	
<i>B. 17</i>	2	1	1	0	
<i>B. 18</i>	3	2	1	1	0
<i>B. 19</i>	0				
<i>B. 20</i>	2	1	1	0	
<i>B. 21</i>	0				

著しく弱いことで *Megatherium* group とは一応区別出来ると思う。

*B. pseudoanthracis* は *B. 16* group のものに近い抗原性で両者の区別が困難であるが、他の菌の抗血清に対する反応性特に抗炭疽血清に対する反応の力価並びに *Megatherium* group の抗血清に対する反応性が一般に *B. 16* group よりも低いことで一応区別が出来ると思う。

最後に *B. 19* は *B. anthracis*, *Megatherium* group 及び *B. 16* group の何れのものとも著しく異り、この抗血清には自己と *B. 18* のみが反応し、他の菌は全く反応を示さなかった。勿論 *B. 18* とはその抗血清に対する他の菌の反応性で違うことが分る。

## 2. 菌の産生物質を反応原として検べた各菌間相互の反応性関係

実験1と同様の試験を各菌の産生物質を用いて行つた結果(第12表参照), 大要は実験1の場合と類似しているが、又違う点もみられた。

即ち菌体浸出液を用いた場合と同様に *B. megatherium*, *B. 1*, *B. 17*, *B. 20* が全く同様の抗原関係を示し, *B. 16* と *B. 21* が又同様の関係を示し, *B. pseudoanthracis* と *B. 19* とは夫々何れとも異なる全く特異的な抗原性を示した。

異なる点としては, *B. anthracis* が前記 *Megatherium* group の4株と全く同様の態度を示して, 菌体浸出液を用いた時のように *B. 16* group 或はその他の菌の抗血清に対する反応性が全くなくて, 従つて *Megatherium* group と全然区別つかない点, *B. 18* が *B. 16* group より分れて *Megatherium* group のものに近い抗原性を示したことである。実験1でこの *B. 18* は *Megatherium* group に近い抗原性のものであろうと述べて置いたのであるが, この産生物質を以ての試験でもうなずかれるのである。又 *B. 17* の産生物質は *B. 16*, *B. 21* の抗血清にも反応し, 又

Table 10. Precipitin test with Anti-B. 19 serum and the bacterial extract

Antigen	Dilution of extract				
	1:100	1:400	1:1600	1:3200	1:6400
<i>B. anthracis</i>	0				
<i>B. megatherium</i>	0				
<i>B. pseudoanthracis</i>	0				
<i>B. 1</i>	0				
<i>B. 16</i>	0				
<i>B. 17</i>	0				
<i>B. 18</i>	4	3	2	1	0
<i>B. 19</i>	4	3	2	1	0
<i>B. 20</i>	0				
<i>B. 21</i>	0				

*Megatherium* group の抗血清にも反応するが、この *B. 17* は矢張り両 group の中間型と思われる。

こゝに興味あることは前第10報でも述べたように、菌体浸出液を反応原として用いた場合よりも産生物質を用いた場合の方が各菌間の抗原性の異同が比較的判然とすることである。

### 考 察

吾々は既に第1報にも記載したが、*B. pseudoanth-*

*racis* 及びその近縁細菌が抗炭疽血清に類属反応を示すことは古く<sup>4)5)6)</sup>から認められており、現時もそれが通念となつているが、然しその逆の場合即ちそれら類属反応菌の抗血清に対する *B. anthracis* の反応性についてはその報告が極めて少いようで、且つ逆の場合の反応性は極めて弱いと見なされており、TOPLEY and WILSON<sup>7)</sup> の成書にも抗 pseudoanthrax 血清には *B. anthracis* は反応しないか、又は弱い反応であると記載している。然し今回吾々の研究に於て供試株にはそれら抗血清に *B. anthracis* が極めてよく反応するもの (*B. megatherium* 及び分離菌3株) のあることが認められた。勿論 TOPLEY and WILSON の記載に該当している株 (*B. 16*, *B. 21*, *B. 19*) もあつた。

*B. megatherium* と *B. pseudoanthracis* との関係についての従来に記載を見ると、TOPLEY and WILSON の成書には *B. megatherium* は *B. pseudoanthracis* と同一物であると記載され、BERGEY'S Manual には *B. megatherium* は別物で *B. pseudoanthracis* は *B. cereus* と同一物であるように記載されて両記載に多少差違が見られる。これら分類は主としてその生物学的性状によつてなされているようであつて、その抗

Table 11. Summary of tables 1~10

Antigen (Extract)	Antiserum	Anthrax serum	Megatherium serum	B. 1 serum	B. 17 serum	B. 20 serum	B. 16 serum	B. 18 serum	B. 21 serum	Pseudoanthrax serum	B. 19 serum
<i>B. anthracis</i>		4	4	4	4	4	1	1	0	0	0
<i>B. megatherium</i>		4	4	4	4	4	4	0	2	3	0
<i>B. 1</i>		4	4	4	4	4	3	3	2	2	0
<i>B. 17</i>		4	4	4	4	4	4	4	4	2	0
<i>B. 20</i>		4	4	4	4	4	2	2	2	2	0
<i>B. 16</i>		4	4	4	4	4	4	4	4	2	0
<i>B. 18</i>		4	4	4	4	4	4	4	3	3	4
<i>B. 21</i>		4	4	4	4	4	3	4	3	0	0
<i>B. pseudoanthracis</i>		4	3	2	2	2	2	2	0	2	0
<i>B. 19</i>		4	4	4	4	4	2	1	1	0	4

Table 12. Antigenic relation of the strains with the bacterial product

Antigen (Product)	Antiserum	Anthrax serum	Megatherium serum	B. 1 serum	B. 17 serum	B. 20 serum	B. 18 serum	B. 16 serum	B. 21 serum	Pseudoanthrax serum	B. 19 serum
<i>B. anthracis</i>		4	4	3	3	4	2	0	0	0	0
<i>B. megatherium</i>		3	2	2	2	2	1	0	0	0	0
<i>B. 1</i>		3	4	3	3	3	2	0	0	0	0
<i>B. 17</i>		3	4	3	3	3	3	3	3	0	0
<i>B. 20</i>		3	4	3	3	3	2	0	0	0	0
<i>B. 18</i>		3	4	3	4	2	3	0	0	0	0
<i>B. 16</i>		3	4	3	4	3	2	1	1	0	0
<i>B. 21</i>		3	4	3	3	3	3	2	2	0	0
<i>B. pseudoanthracis</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>B. 19</i>		3	3	3	3	2	2	0	0	0	1

原性特に *B. anthracis* との抗原関係を加味して再検討すればより判然とするのではないかと思考する。

尚, 従来 *B. anthracis* と他の *Bacillus* 属菌との抗原関係の検索に用いられた反応原は主として菌体成分由来の物質によつていようであつて, 菌の産生物質を以ての研究は皆無のように思うが, 吾々は前第10報に報告したように今日もこの菌の産生物質を用いて行つた結果, 菌体浸出液を反応原として用いた時よりも各菌間の抗原関係が比較的明瞭に出てきたことは興味深く思うのであつて, かゝる抗原関係の探索には両反応原の併用は意義があるのではあるまいか。

### 結 論

抗炭疽血清に対する反応性からみれば殆ど差違のない供試 *Bacillus* 属菌 9 株の抗原性を交叉試験によつて検べた結果, *B. anthracis* と交叉的にも極めて近いもの, 著しく異つたもの及びそれらの中間型と思われるものがあつて, 抗原的に相当差違のあることが認め

られた。

尚, この抗原性の差違は反応原として菌体浸出液を用いた時よりも菌の産生物質を用いた時の方が明瞭に認められた。

終りに臨み種々御援助を仰いだ教室尾藤行雄講師並びに馬場威助手の両氏に感謝の意を表する。

### 文 献

- 1) Takagi, S. & Hironao, T.: Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B, 6, 1956.
- 2) 高木静雄: 日本細菌学雑誌, 9(10), 885, 1954.
- 3) Breed, R. S., Murray, E. G. D. & Hitchens, A. P.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- 4) Ascoli, A.: Zbl. Bact., 1. Abt., Orig., 58, 63, 1911.
- 5) Schutz, W.: Arch. Wissensch. u. Tierheilk. 38, Heft 3, 207, Heft 4, 311, 1912.
- 6) Pfeiler, W. & Drescher, L.: Z. Infektkr. Parasikr. u. Hyg. Haust., 13, 341, 1913.
- 7) Wilson, G. S. & Miles A. A.: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 3rd ed., Edward Arnold Co., London, 1946.