

氏名(本籍)	くま 熊	だ 田	かおる 薫	(栃木県)
学位の種類	医学博士			
学位記番号	博甲第398号			
学位授与年月日	昭和61年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	細菌の混合培養系における相互作用について：数理的実験的研究			
主査	筑波大学教授	医学博士	橋本	達一郎
副査	筑波大学教授	医学博士	稲田	哲雄
副査	筑波大学教授	医学博士	長谷川	鎮雄
副査	筑波大学教授	医学博士	濱口	秀夫
副査	筑波大学助教授	医学博士	村上	正孝

論文の要旨

消化管等、一般に生態系においては、多菌種が同時に存在し、種々の影響を相互に及ぼしている。この場合相互作用として、栄養素の利用に関する競争、一方の菌の他菌種に対する抑制及び促進作用等が考えうる。そこで、単純化した系を実験系に取り入れ、細菌の増殖をその特性と考えられるいくつかのパラメーター（最大増殖速度 μ_m 、 μ_m の1/2を与える基質濃度 K_s 、定常期最大細胞 N_s ）に還元し、これらのパラメーターが単純化した実験系においてどのような役割を果たすかについて追及することを目的とする。

(2) 方法

菌株としては、E. coli, S. marcescens, A. calcoaceticusを用いた。使用培地としてはDavisの基礎培地変法を用い、炭素源としてはグルコースを用いた。上記のパラメーターは単独にバッチ培養を行って求めた。混合培養はバッチ培養及び連続培養によった。

また培養濾液の増殖促進及び抑制の効果を調べるために、培養濾液を0.1 μ mミリポアフィルターで濾過し、これについて次の2つの実験を行った。①この濾液に直接各菌を接種し増殖の程度を調べた。②この濾液をゲル濾過し、各画分について①と同様の実験を行った。

シュミレーションモデルとしては次式を用い、大型計算機を用いて数値計算を行った。

$$dS/dt = (S_0 - S) D - (\mu_1/y_1) SN_1 / (K_{s1} + S) - (\mu_2/y_2) S \cdot N_2 / (K_{s2} + S)$$

$$dN_1/dt = \mu_1 SN_1 / (K_{S1} + S) - DN_1$$

$$dN_2/dt = \mu_2 SN_2 / (K_{S2} + S) - DN_2$$

ここにおいてSは制限基質濃度、Dは希釈率、 N_1 は培地中の菌数、 μ_1 は最大増殖率、 y は産出率、 K_{S1} は $1/2 \mu m$ を与える基質濃度である。

(3) 結果及び考察

E. coliとS. marcescensとの混合培養系

定常期最大細菌数はS. marcescensの方がE. coliより大であり、 K_S 値はほぼ等しかった。最大増殖速度 (μm) はE. coliの方が大きかった。バッチ培養ではE. coliの増殖速度及び N_S はコントロールと同じであったが、S. marcescensのそれらはコントロールより低下した。これは増殖速度の大きいE. coliの方が、栄養素の競争において有利であることを示している。

連続培養では、E. coli、S. marcescensを同時に培養した場合、及びS. marcescensが先住菌として定常状態にあるところにE. coliが侵入した場合、共にE. coliが優占種となった。微分方程式を用いたシミュレーションの結果、計算値はE. coliの場合、実験期間全体にわたり計算値ときわめてよく一致した。S. marcescensについては実験開始から50時間は計算値は、実験値とよく一致した。しかし50時間以後、計算値と異なり、実験では菌が消失せず低いレベルで定常に達した。

E. coliとA. calcoaceticusの混合培養系

A. calcoaceticusの最大増殖速度はE. coliより大であるが、 N_S はE. coliより小さかった。培養初期ではA. calcoaceticusが優位となるが、最終的にはE. coliが優占種となった。このことはおそらく培養初期には増殖速度が主要要因となっているが、後には N_S 値が大きな影響を与えるからであろう。

連続培養においては、E. coliは増殖速度が低いにもかかわらず、優占となった。これに対し、A. calcoaceticusは菌数の変動が大きい複雑な挙動を示した。

共存する菌の代謝産物等が他種に有利に働くという可能性が考えられたため、濾液及び濾液のゲル濾過画分について、再び各菌を接種しその増殖を調べた。その結果、A. calcoaceticusは初めの培養でこの菌自身が含まれていなかった培養液には非常によく増殖し、コントロールの N_S より高い値を示した。またE. coliの濾液のゲル濾過画分については、S. marcescensの増殖促進画分が確認された。

そこで、一方の菌の代謝産物等が他方の増殖を促進すると想定し、このモデルとして微分方程式を提案した。この式の計算結果は、S. marcescensとE. coliの混合培養について培養期間全体(数百時間)にわたり実験値によく一致した。

審 査 の 要 旨

本研究は感染症の領域において複数菌感染を解析するための基礎研究として極めてユニークな定量的研究であり、従来現象論的な追求にとどまっていた面に新領域を開拓したものである。複雑で解析の困難な混合培養系をできるだけ単純化し、単純化した実験系で数理的扱いを試みたところに価値を認めるものである。修正した微分方程式の計算値と実験値を調べたところにその独創性が見受けられる。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。