

破傷風の実験治療学的研究

第 6 報

破傷風菌感染に対する抗生物質並びに解毒剤併用成績

金沢大学医学部日置内科教室(主任 日置教授)

小 矢 崎 直 美

Naomi Koyasaki

(昭和30年1月28日受附)

緒 論

管内において破傷風菌発育に対し強力な静菌作用を営む物質は諸種抗生物質の出現において二三これを数えるに至つたが、未だ所謂大殺菌作用を有し、菌感染に対しその発病を阻止することは容易でない。菌そのものに対し、たとえ大殺菌作用を営むことが出来ても発病を阻止し得ない理由は特に本菌感染において二つある。その一は本菌が芽胞形成を営み芽胞の薬剤に対する抵抗力の大なるものがあるからであり、その二は菌の産生する毒素にして極めてその強烈なものがあるからである。

かくて本菌感染に対する治療的研究を一気に達成し能わざるが故に、実験的にはこれを各種の条件において分離して行うことが行われる。先ず菌毒素を破壊し——但しこの場合芽胞のみを残すので——所謂芽胞感染に対する薬物の発病阻止試験が試みられる。而してかかる試験において最近教室西川¹⁾は Usnin 酸が特に良好なる発病阻止成績を示すこと、並びに更にこれを Penicillin と併用して従来報告せられたる如何なる成績よりも優れた成績を挙げ得ることを報じ、次いで教室藤井²⁾は当時その出現を見たる Aureomycin, Terramycin と Usnin 酸との治効力を比較検討し、何れもよくその発病を阻止し得るが、量的に、又或いは化学的治療指数よりこれを見て Aureomycin が特に優れたるこ

とを経験した。しかしこれら薬物は試獣の発病をよく阻止し得るとはいえ決して直接に芽胞を強く侵すものではなかつた。唯、藤井は芽胞と共に接種する異物として肝小片³⁾を採用したる際、かかる治療によりて芽胞の体内より極めて速かに消失することを経験し、これ恐らく肝小片の挿入によりて芽胞の出芽を容易に促し、菌そのものに対する薬物の作用によつて遂に芽胞をも跡形なく消失せしめ得るものでないかと推論した。

次いで第二の問題、破傷風毒の解毒についてこれを論ずるに、抗毒素血清以外に未だ嘗て確実に解毒的に働く薬物の存在を吾々は知ることが出来なかつたが、これ又教室與儀⁴⁾は曩に一定量の菌毒素に対し或る条件において Thio-salicylsäure が完全にこれを解毒せしめることを見出し、更に余は前報⁵⁾において Salicylamid の解毒作用が Thio-salicylsäure より寧ろ優れたることを報じた。しかし乍ら実際に生体内において完全に解毒目的を達するには薬物の作用が極めて迅速なるべきを要するが故に、著者等の研究を以てするも毒素接種后上記薬物を注射して眞に効を奏することは甚だ寡いかも知れぬが、兎も角も一応見るべき成績を獲得したので、本報においては一步を進めて菌培養液、即ち其処には菌・芽胞・毒素すべてのものが存在す

るという条件において前記抗生物質と解毒物質とを共に作用せしめたる場合、果してよくそ

の発病を阻止し得るや否やに関する検討を進めた。以下その詳細を記録する。

実験材料並びに実験方法

1. 実験動物

体重18~20グラムのマウスを使用した。

2. 破傷風菌培養液

本学細菌学教室保存の破傷風菌 T₃ 株を肝片加ブイヨンにて 37°C, 48時間培養せる全培養液を用いた。

3. 稀釈菌培養液の調製

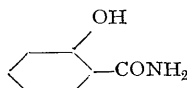
上記の破傷風菌培養液のマウスに対する最小致死量は本菌全培養液の10万倍稀釈液 0.1cc 乃至 0.2cc 附近に存した。即ち上記量の注射後 3 乃至 5 日にして試験は定型的破傷風症状を発現して確実に斃れたが、該量以下では症状を発現せしめ得るも試験は終に死に至

らしめるには足りなかつた。而して実験に当つては、上記最小致死量の10倍量の菌培養液、即ち1万倍（注射後48時間以内に試験を確実に斃す量）の破傷風菌培養液を調製使用した。

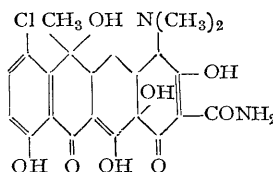
4. 使用薬物

次に示す4種の薬物と破傷風抗毒血清を使用した。而して各薬物の毒性乃至解毒力の程度に応じて1頭当り 5mg, 2mg, 1mg, 0.5mg を使用することとし、或はこれと滅菌蒸留水に溶解し、又或いは苛性曹達時には稀塩酸を若干加えて溶解し、可及的 pH を中性の近辺に在らしめるように努め、その注射量も薬剤併

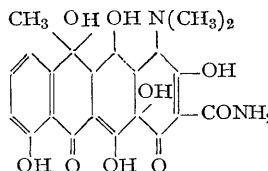
Salicylamid Fp. 140°C



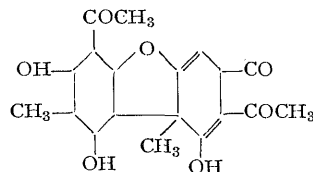
Aureomycin-HCl "Lederle" 純品



Terramycin-HCl "Pfizer,, 力価 875mcg/mg



Usninsäure Fp. 195°~197°C



Tetanus-serum "武田薬品製"

Aureomycin はその純品と Lederle 社より、Terramycin は Pfizer 社より共にこれを贈られたことを謹謝する。Usninsäure は Usnea longissima より当教室において抽出せられた。

用の結果1頭当りの量の増加することは避け難いとはいえ極力1cc以内に止めるように計つた。但し供試薬物の夫々の使用量及び溶解の方法に関する更に詳細は

以下成績を述べるに際してこれを詳記する。破傷風抗毒血清は滅菌生理的食塩水で稀釈して使用した。

5. 実験の方法

上述の如く調製せる1万倍稀釈破傷風菌培養液 0.1 cc と同じく上述の如く溶解せる各種薬物溶液の混合液或いは単独液とを試験管内にて混和し、或いは直後に、或いは 37°C で1時間放置せしめた後にその全液量をマウス各頭の右側腰背部皮下に注射した。而して追加注射を要する場合についてはその都度該当薬液を調製して規定時間に注射を行ったが、その詳細は以下成績を述べるに際してこれを詳記する。

又同一の実験をなすに当つて3頭のマウスを以て1群としこれを使用した。

なお肝片接種実験については教室藤井の嚮に発表せる実験に従い次の如く行つた。即ち、使用肝片は牛の肝臓を使用、肝臓ブイオン作成と同様の方法でこれを作成し、その大きさを 3mm 眞角とした。この肝片を滅菌肝臓ブイオン中に入れ加熱滅菌した後、滅菌シャーレ中に移し、ここへ上述1万倍稀釈破傷風菌培養液を注ぎ込み充分浸した後(凡そ30分間)、その1個宛をマウス各頭の右側腰背部皮下へ接種、創口をコロジウムを以て閉鎖した。而してその直後に、接種肝片周囲皮下に該当薬液注射を実施し、追加注射を要する群については規定時間にこれを行つた。

6. 観察期間並びに症状の表示規準

観察期間は大体10日以内とした。又症状の程度を記載するために次の記号を使用し各成績を示す際に括弧中にこれを記したが、その意味は次の如くである。

(±)……………尾根部が僅かに右方に偏倚し、従つて歩

行に際し尾部が体正中線よりも右方に転倚し、注射部附近の皮膚に牽縮による2~3条の皺襞形成を認め、尾を把握して持上げると軀幹を右方に屈曲するが如き運動をするもの。

(+)……………上記症状が更に進み右下肢に強直性痙攣を来し、従つて少しく跛行し、両耳翼を少しく后方に翻転し、僅かに過敏状態となり、尾は益々右方に転倚す。

(++)……………上記の程度が更に強くなり、右下肢は臍部を下にして強直性に伸展し地に着け得ず、軀幹は僅かに右方に屈曲し、尾も亦尾根部より右方に屈曲している。更に又両耳翼を后方に翻転し、全身の毛を逆立て過敏状態となつており、尾を把握して持上げると全身は痙攣を發し軀幹を右方に屈曲する運動をなす。

(+++)……………症状が更に進み、右下肢は臍部を上方に向けて強く強直性伸展を来し、体を僅かに弓状反らし極めて過敏となる。

而してこの上病勢が更に進めば完全に両下肢共伸展を来し、少しの刺戟によつても全身強直性に痙攣、后弓反張を来す。これは死の直前の症状であつて絶対に死より免れない。

6. 結果の判定

上記の如き破傷風症状を何ら起さず、終始無症状に経過し生存する場合には無論これを卓効あるものと認めた。なお、対照群に比し死期の延長を認めるものはその延長時間の程度に従つて優劣を決定した。

実 験 成 績

a. Thiosalicylsäure 並びに Salicylamid の 10 000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響について各薬剤何れも1頭当り夫々 1mg を使用することとし、例により夫々その4頭分の溶液を予め調製した。即ち Thiosalicylsäure はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.3cc とを加えて溶解し (pH 7)、Salicylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.4cc とを加えて溶解し (pH 8.2)、これを使用した。而してこれらの溶液の各 $\frac{1}{4}$ と上記 10000 倍稀釈菌培養液 0.1cc を試験管内にて混和し、これを1頭当りとして直後に注射した。

その成績は第1表に示す如く、注射后14時間

において3群は何れも可成り重い破傷風症状を発現したが、その程度は Salicylamid 群が最も軽度で Thiosalicylsäure 群と対照群とは略々同等であつた。Thiosalicylsäure 群と対照群は時間の経過につれて次第に重篤化し、注射后41時間で共に全頭斃死したが、Salicylamid 群は前二者に較べて比較的緩慢に経過し、48時間後に1頭が、65時間後に残りの2頭が斃死するに至つた。

ここにおいて薬液を時を隔てて追加注入することによつて今少しく成績の向上を得ないであろうかというので、予め毒素薬物混合液は全く前記試験におけると同様にこれを直後に注射

し、しかしその後6時間間隔に Salicylamid のみ 1mg 宛を追加注射すること前後7回に及

んで結果を検討した。但し毒素は 10000 倍稀釈菌培養液 0.1cc を用いた。

第1表 Thiosalicylsäure 並びに Salicylamid 各 1mg の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績 (管内混和直後に注射する場合)

注射後経過日数		1 日			2 日			生存率
注射後経過時間		14時間	18時間	24時間	41時間	48時間	65時間	
Thiosalicylsäure	死				3			$\frac{0}{3}$
	生	3 (++)	3 (###)	3 (###)				
Salicyl amid	死					1	2	$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (+)	3 (++)	3 (###)	2 (###)		
対 照	死				3			$\frac{0}{3}$
	生	3 (++)	3 (###)	3 (###)				

その成績は第2表に示す如く、注射後12時間において対照群に軽度の症状発現を認めしたが Salicylamid 群には症状発現を見ず、18時間後には両者共に症状の進行を認めしめたが、その程度は対照群において遙かに重篤であり、24時間後に后者の1頭、28時間後に更に残りの2頭が斃死したのに比べ、Salicylamid 群は30時間後に2頭、32時間後に最後の1頭が斃死した。

(但し第7回の薬液注射は Salicylamid 群の最後の1頭が症状甚だ重篤であつたので、第6回注射2時間後に実施した。)

即ちこの成績では解毒力を有する Salicylamid を追加補給せるに拘わらず前回程の結果を得ることが出来なかつたのであるが、兎も角も若干解毒作用を惹起し得ることにおいては変りがない。

第2表 Salicylamid の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績 (管内混和直後に注射、その後6時間間隔で 1mg 宛追加注射する場合)

注射回数	第1回	第2回	第3回	第4回	第5回		第6回	第7回	生存率
注射後経過日数	1 日								
注射後経過時間	0時間	6時間	12時間	18時間	24時間	28時間	30時間	32時間	
Salicylamid	死						2	1	$\frac{0}{3}$
	生	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3(+.++.###)	3 (###)	3 (###)	1 (###)	
対 照	死				1	2			$\frac{0}{3}$
	生	3 (-)	3 (-)	3 (±)	3 (###)	2 (###)			

b. Aureomycin と Salicylamid との併用による 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響について

Aureomycin, Salicylamid 各 1mg の併用を行うこととし、例により夫々その4頭分の溶液を予め調製した。即ち Aureomycin はその4mg

に滅菌蒸留水 1.6cc と N/10 NaOH 液 0.4cc とを加えて溶解し (pH 6.0)、これに前記の如く溶解した4頭分の Salicylamid (pH 8.2) を加えて混和し正に pH 7 たらしめ得た。而してこの混合液の $\frac{1}{4}$ と上記 10000 倍稀釈菌培養液 0.1cc とを試験管内にて混和し、これを1頭当

りとして直后注射群と 37°C に 1 時間放置后注射群とを設けた。

その成績は第 3 表に示す如く、注射后 12 時間において薬剤処置群と対照群とは何れも同程度の破傷風症状を発現し、その後 18 時間后、24 時

間后と各群共症状は重篤化したが、遂に 31 時間后において対照群が 2 頭、直后注射群が 1 頭斃死し、次いで 42 時間后には対照群及び直后注射群の残り夫々 1 頭と 2 頭が斃死するに至つた。一方 37°C、1 時間放置后注射群は 31 時間后に

第 3 表 Aureomycin と Salicylamid 各 1mg の併用による 10000 倍稀釈破傷風培養液に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日					生存率
		12時間	18時間	24時間	31時間	42時間	
直后注射群	死生	3 (+)	3 (++)	3 (++)	1 2 (++)	2	$\frac{0}{3}$
37°C 1 時間放置后注射群	死生	3 (+)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3	$\frac{0}{3}$
対 照	死生	3 (+)	3 (++)	3 (++)	2 1 (++)	1	$\frac{0}{3}$

においては症状極めて重篤なるものも斃死するものを認めず、42 時間后において 3 頭略々同時に斃死するに至つた。

c. Aureomycin 2mg と Salicylamid 1mg との併用並びに Aureomycin 5mg と Salicylamid 1mg との併用の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響について

曩の実験において Aureomycin 1mg と Salicylamid 1mg との併用が何ら見るべき成績を挙げ得なかつたので、この度は Aureomycin を 1

頭当り 2mg 及び 5mg に増量して Salicylamid 1mg との併用を以て上記菌培養液に挑むこととした。例により夫々その 4 頭分の溶液を予め調製した。先ず Aureomycin 2mg 群の方はその 4 頭分即ち 8mg に滅菌蒸留水 0.8cc を加えて溶解し、これに前記の如く溶解した 4 頭分の Salicylamid 液 (pH 8.2) を加えて混和し、更に N/10 NaOH 液 0.2cc を加えて全溶液の pH を正に 7 たらしめ得た。

次に Aureomycin 5mg 群においてはその 4

第 4 表 Aureomycin 2mg と Salicylamid 1mg との併用並びに Aureomycin 5mg と Salicylamid 1mg との併用の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日		2 日			生存率	
		14時間	24時間	36時間	48時間	51時間		64時間
Aureomycin 2mg 群	死生	3 (±)	3 (±.++.++)	3 (++)	3 (++)	1 2 (++)	2	$\frac{0}{3}$
Aureomycin 5mg 群	死生	3 (±)	3 (+..+.++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3	$\frac{0}{3}$
対 照	死生	3 (++)	3 (++)	3				$\frac{0}{3}$

頭分即ち 20mg に滅菌蒸溜水 1.5cc と N/10 NaOH 液 0.4cc とを加えて溶解し、これに前同様 Salicylamid 液 (4mg, pH8.2)を加えて混和し更に N/10 NaOH 液 0.2cc を加えて全溶液の pH を正に 7 たらしめ得た。

以上の如く調製した 2 種の薬剤溶液の各 1/4 と上記 10000 倍稀釈菌培養液 0.1cc とを試験管内にて混和し、37°C に 1 時間放置后マウスに注射した。

その成績は第 4 表に示す如く、14 時間后においては対照群に可成り重篤な症状発現を認めたが、Aureomycin 2mg 群並びに 5mg 群ではその症状は極めて軽度であつた。次いで 24 時間后には薬剤処置群並びに対照群共に症状の進行を認めたが、就中対照群が甚だ重篤化し、遂に 36 時間后においては対照群は 3 頭共に略々同時に斃死せるを認めたが、薬剤処置の各群は症状は次第に重篤化したるものなお斃れたるものなく、その後 51 時間后に至り 2mg 群が 1 頭斃死せるを認め、次いで 64 時間后に至つて 2mg 群の残り 2 頭と 5mg 群の 3 頭が略々同時に斃死するに至つた。かくて対照群に比べ Aureomycin 2mg 群は 15 時間乃至 28 時間の死期延長を、又 Aureomycin 5mg 群は 28 時間の死期延長を認めしめたが薬剤処置 2 群の間には殆んどその差を見なかつた。

d. Aureomycin 2mg と Salicylamid 1mg との併用並びに各薬剤単独の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響について(但し各群共追加注射を 30 分後 1 回、その後 2 時間置きに 3 回実施)

前記実験において僅か乍ら試獣の死期延長を認め得たが、更に良い成績を期待して本実験を試みた。即ち薬剤処置群は Aureomycin 2mg と Salicylamid 1mg との併用群、Aureomycin 2mg 並びに Salicylamid 1mg の各単独群を設けた。

第 5 表 Aureomycin 2mg と Salicylamid 1mg との併用並びに各薬剤単独の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績 (但し各群共追加注射を 30 分後 1 回、その後 2 時間置きに 3 回実施した場合)

注 射 後 経 過 日 数	2 日										生 存 率	
	14 時 間	32 時 間	36 時 間	48 時 間	56 時 間	72 時 間	96 時 間	104 時 間	120 時 間	126 時 間		
Aureomycin 2mg Salicylamid 1mg 併用群	死	3(-.+.+.+)	3(+.+.+.+)	3(+.+.+.+)	3(+.+.+.+)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	2	1	0	3
	生	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	
Aureomycin 2mg 単独群	死	3(+.+.+.+)	3(+.)	3(+.)	3							3
	生	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	
Salicylamid 1mg 単独群	死	3(+.+.+.+)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3						3
	生	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	
対 照	死	3(+.)	1	2								3
	生	3(+.)	2(+.)									
Aureomycin 2mg 総 量 10mg 但し薬物自身の 毒性試験	死	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3
	生	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	3(+.)	

薬剤の調製法は併用群及び Salicylamid 1mg 単独群については前記実験と全く同様であり、唯 Aureomycin 2mg 単独群については先ずその 8mg (4頭分)を滅菌蒸留水 1.6cc で溶解し、更に N/10 NaOH 液 0.8cc を加えて正に pH 7 たらしめ得た。而してこれら薬液の各 1/4 と上記 10000 倍稀釈菌培養液 0.1cc とを試験管内にて混和し 37°C に 1 時間放置后注射し、爾后各群共に夫々当該薬液を 30 分后、2 時間后、4 時間后並びに 6 時間后の計 4 回同一局所に追加注射を行つた。

その成績は第 5 表に示す如く、注射后 14 時間において対照群、Aureomycin 単独群並びに Salicylamid 単独群の各群に症状の発現を見たが、就中対照群が最も重篤であり、各単独群はなお軽度であつたが、Aureomycin・Salicylamid 併用群では無症状なるを認めた。次いで 32 時間后には、前記三者は症状更に重篤化し遂に対照群の 1 頭が斃死、36 時間后には残りの 2 頭も尽く斃れたのに対し、各薬剤処置単独群においては症状重篤なるもなお斃れるものなく経過したが 48 時間后には Aureomycin 単独群が 3 頭略々同時に、次いで 56 時間后には Salicylamid 単独群が 3 頭略々同時に斃れるに至つた。一方 Aureomycin・Salicylamid 併用群では症状の進行は終始緩慢で、56 時間后に至り症状は漸く重篤化したとはいえなお全頭元気に生存し、104 時間后に始めてその 2 頭が斃れ、次いで 126 時間后に残りの 1 頭も斃死せるを認めたことは対照群に対し実に 68 時間乃至 90 時間の死期延長を観察したことになる。因に Aureomycin それ自身の毒性は下記表に記載される。

Aureomycin LD₅₀ (mg/kg)

投与方法	投与量	20瓦マウスに対する 換算量
静脈内	155 (140~172)	3.1 (2.8~3.4)
腹腔内	192 (145~250)	3.8 (2.9~5.0)

上記実験において用いられた量は、恰もその可能なる範囲を脱し可成りに大量であるので、その薬効が發揮せられても、一方毒性による影響ということが考えられねばならぬが、この点

において上記に使用したと同一の量を同一の方式において健康マウスに注射せる成績では、これを同時に第 5 表に示したように、これがために動物が死することがなかつたので、一応薬物の毒性によるものでなく、その効力の及ばなかつたものであると見做し得る。

e. Aureomycin, Terramycin の各 2mg 並びに Usninsäure 0.5mg の夫々と Salicylamid 1mg の併用、以上 4 薬剤単独の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響について (併用 3 群並びに Salicylamid 単独群は追加注射として Salicylamid 1mg を 30 分后 1 回、その後 2 時間置きに 3 回実施)

Aureomycin 並びに Terramycin は 1 頭当り夫々 2mg, Usninsäure は 1 頭当り 0.5mg を使用することとし、この三者に夫々 Salicylamid 1 頭当り 1mg を併用した。而して以上併用 3 群に対し Aureomycin, Terramycin, Usninsäure 並びに Salicylamid 夫々 1 頭当り 2mg, 2mg, 0.5mg 並びに 1mg の単独使用群を設けた。各薬剤の溶解法は Aureomycin と Salicylamid 併用群、Aureomycin 単独群並びに Salicylamid 単独群は前記実験と全く同様である。而して Terramycin と Salicylamid 併用群については先ず Terramycin の 4 頭分 8mg を滅菌蒸留水 1.2cc に溶解し、これに前記の如く溶解した Salicylamid 液 1.2cc (4 頭分 4mg, pH 8.2) を混和し、更に N/10 NaOH 液 0.4cc を追加して正に pH 7 たらしめ得た。又 Usninsäure と Salicylamid 併用群については Usninsäure 注射薬 (5cc 中に 10mg を含有す。) を使用し、4 頭分として 2mg (1cc) を採り、これに同じく Salicylamid 液 1.2cc を加えて pH 8.2 ならしめて使用した。Terramycin 単独群はその 8mg に滅菌蒸留水 1.6cc を加えて溶解しこれに N/10 NaOH 液 0.6cc を加えて pH 7 ならしめ、Usninsäure 単独群はその 2mg (1cc) に N/10 HCl 液 0.08cc を加えて pH 8.2 ならしめてこれを使用した。而してこれら薬剤処置 7 群の各溶液の 1/4 と上記 10000 倍稀釈破傷風菌培養液

第6表 Aureomycin, Terramycin の各 2mg 並びに Usninsäure 0.5mg の夫々と Slicylamid 1mg の

併用, 以上 4 薬剤單獨の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績

(併用 3 群並びに Salicylamid 單獨群は追加注射として Salicylamid 1mg 宛を 30 分後 1 回, その後 2 時間置きに 3 回実施した場合)

注射後経過日数	1 日			2 日			3 日			生存率	
	14時間	18時間	24時間	31時間	42時間	50時間	55時間	66時間	74時間		90時間
Aureomycin 2mg Salicylamid 1mg 併用群	死 3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	1 2 (++)	2 (++)	2 (++)	2			0 — 3
Terramycin 2mg Salicylamid 1mg 併用群	死 3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	1 2 (++)	2 (++)	1 (++)	1 (++)	1 (++)	1	0 — 3
Usninsäure 0.5mg Salicylamid 1mg 併用群	死 3 (+)	3 (+)	3 (++)	3 (++)	1 3 (++)	2 (++)	2 (++)	2 (++)	1 (++)	1	0 — 3
Aureomycin 2mg 單獨群	死 3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3						0 — 3
Terramycin 2mg 單獨群	死 3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	2 1 (++)	1					0 — 3
Usninsäure 0.5mg 單獨群	死 3 (±)	3 (±)	3 (+)	3 (+)	3 (+)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3	0 — 3
Salicylamid 1mg 單獨群	死 3 (++)	3 (++)	3 (++)	2 1 (++)	1 (++)	1 (++)	1				0 — 3
対照	死 3 (++)	3 (++)	1 2 (++)	2							0 — 3

0.1cc とを試験管内にて混和し 37°C に 1 時間放置后、マウスに注射した。爾后追加注射として Salicylamid 液 1 頭当り 1mg を併用 3 群並びに Salicylamid 単独群のみに対し 30 分后 1 回、その後 2 時間置きに 3 回計 4 回実施した。

その成績は第 6 表に示す如く、注射后 14 時間において全群に症状の発現を見たが、就中対照群において最も重篤で、Aureomycin・Salicylamid 併用群、Terramycin・Salicylamid 併用群、Aureomycin 単独群、Terramycin 単独群並びに Salicylamid 単独群これに次ぎ、Usninsäure・Salicylamid 併用群、Usninsäure 単独群が最も軽度であつた。時間の経過と共に各群何れも症状は進行し、注射后 24 時間には対照群の 1 頭、31 時間后には対照群の残り 2 頭と Salicylamid 単独群の 2 頭が斃死した。42 時間后には Aureomycin・Salicylamid 併用群の 1 頭、Terramycin・Salicylamid 併用群の 1 頭、Aureomycin 単独群の 3 頭並びに Terramycin 単独群の 2 頭が夫々斃れ、50 時間后には Usninsäure・Salicylamid 併用群の 1 頭が初めて斃れ、Terramycin 単独群の残り 1 頭も斃れるに至つたが、Usninsäure 単独群はなお 1 頭の斃死するものもなく症状の進行も最も緩慢であつた。而して 55 時間后には Terramycin・Salicylamid 併用群が 1 頭と Salicylamid 単独群の最後の 1 頭が斃死した。次いで 66 時間后には Aureomycin・Salicylamid 併用群の残り 2 頭が遂に斃れ、74 時間后には Usninsäure・Salicylamid 併用群の 1 頭、90 時間后には Terramycin・Salicylamid 併用群及び Usninsäure・Salicylamid 併用群の各残り 1 頭宛が斃れ、同時に Usninsäure 単独群の 3 頭が斃死するに至つた。

f. Aureomycin 2mg と Salicylamid 1mg との併用、Usninsäure 0.5mg と Salicylamid 1mg との併用並びに以上各薬剤単独の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響について（但し肝片同時接種を行う。）

各群の薬剤溶液の調製法はすべて前記実験と同様である。又実験の方法も大体前述の通りで

あり、但し菌培養液皮下注と同時に肝片をも接種、直後に各群夫々該当薬液を注射し、引続き併用の 2 群及び Salicylamid 単独群のみ 2 時間置きに計 2 回 Salicylamid 1mg の追加注射を実施した。而して翌日、翌々日と各群夫々同様該当薬液を同一局所に注射を行つた。蓋し破傷風菌芽胞接種試験においてこれと臓器小片を共に接種感染せしむれば Aureomycin を治療の目的に投与せる際よく感染を防護するのみならず、菌及び菌芽胞をして甚だ速かに組織中より消滅せしめ得ることは先きに同僚藤井のこれを立証せる所なるを以て、本術式によつて菌液接種の場合、薬物併用の効果を一層強化せしめんとしたものである。然るにその成績は第 7 表に示す如くで、注射后 14 時間において全群に何れも破傷風症状の発現を見たが、対照群並びに各薬剤単独群において同程度に重篤であり、併用の 2 群はそれに比べなお軽度であつた。24 時間后には Aureomycin・Salicylamid 併用群の症状は依然前と同程度に止まれるを認めしめ、Usninsäure・Salicylamid 併用群にあつてはその症状は進行して各薬剤単独群並びに対照群のそれと並行したが、就中対照群が最も重篤化していた。爾后、時間の経過と共に症状は全群において進行したが、遂に 55 時間后において対照群並びに各薬剤単独群が略々同時に全頭斃死するに至り、併用の 2 群は症状重篤化せるもなお 1 頭の斃れるものも認めしめなかつた。而して 72 時間后において Usninsäure・Salicylamid 併用群の 3 頭が殆んど時を同じうして尽く斃れ、次いで 93 時間后に至り Aureomycin・Salicylamid 併用群の中 2 頭が、108 時間后において残りの 1 頭が遂に斃死するに至つた。

g. Tetanus-serum の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響について

次に Tetanus-serum の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に対する治効力を観察した。即ち武田薬品製の Tetanus-serum (1cc 中 1200 旧国際単位含有) を用い、18~20 グラムのマウスに対する適量として 1 頭当り 6 単位及び 12 単位を使

第7表 Aureomycin 2mg と Salicylamid 1mg との併用 Usninsäure 0.5mg と Salicylamid 1mg との併用並びに以上各薬剤單獨の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績 (但し肝片同時接種を行う場合)

注射後経過日数			1日		2日		3日		4日		生存率
注射後経過時間			14時間	24時間	33時間	48時間	55時間	72時間	93時間	108時間	
Aureomycin 2mg Salicylamid 1mg	併用群	死生	3 (+)	3 (+)	3(##)	3(##)	3(##)	3(##)	2 1 (##)	1	$\frac{0}{3}$
Usninsäure 0.5mg Salicylamid 1mg	併用群	死生	3 (+)	3 (++)	3(##)	3(##)	3(##)	3			$\frac{0}{3}$
Aureomycin 2mg	單獨群	死生	3 (++)	3 (++)	3(##)	3(##)	3				$\frac{0}{3}$
Usninsäure 0.5mg	單獨群	死生	3 (++)	3 (++)	3(##)	3(##)	3				$\frac{0}{3}$
Salicylamid 1mg	單獨群	死生	3 (++)	3 (++)	3(##)	3(##)	3				$\frac{0}{3}$
対照		死亡	3 (++)	3 (++)	3(##)	3(##)	3				$\frac{0}{3}$

用することとし、予め滅菌生理的食塩水で稀釈して 0.1cc 中に 6 單位及び 12 單位を含有する 2 種の抗毒素血清を作成した。一方比較として健康人普通血清を使用した。次に以上 3 種の血清各 1 頭当り 0.1cc と 10000 倍稀釈破傷風菌培養液 0.1cc とを例の如く管内にて混和し、

37°C に 1 時間放置后マウスに注射した。

その成績は第 8 表に示す如く、対照群及び普通血清処置群では注射后 14 時間において早くも可成り重篤な症状を呈し、時間の経過と共に頓に重篤化し、遂に両群共 36 時間後に全頭尽く斃死するに至つたが、Tetanus-serum 処置群にお

第 8 表 Tetanus-serum 並びに普通血清の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績 (管内混和, 37°C に 1 時間放置後注射)

注射後経過日数			1日			2日		5日	10日	生存率
注射後経過時間			14時間	18時間	24時間	36時間	42時間			
Tetanus-Serum 12u	死生		3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	$\frac{3}{3}$
Tetanus-Serum 6u	死生		3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	$\frac{3}{3}$
普通血清	死生		3 (++)	3 (##)	3 (##)	3				$\frac{0}{3}$
対照	死生		3 (++)	3 (##)	3 (##)	3				$\frac{0}{3}$

いては12単位使用群も6単位使用群も共に終始全く無症状に経過し、最終観察日たる10日後においても些かの症状発現も認めしめず、元気なるを確認した。

ここにおいて菌液接種後に Tetanus-serum を注射してもなお前記実験と同様の成績を獲得し得るやを検討した。即ちマウス1頭当り10000倍稀釈破傷風菌培養液0.1ccを右側腰背部皮下に接種後30分において、Tetanus-serum 単位を1頭当り注射量として同一局所へ注射した。

その成績は第9表に示す如く、対照群においては例の如く、菌液注射後14時間において可成り重篤な症状を発現し、その後次第に症状進行し、36時間後には全頭の斃死を見たが、Tetanus-serum 処置群は前記実験同様終始無症状に経過し、最終観察日たる10日後においても全頭無症状、元気なるを観察したことは、Tetanus-serum の治効力の至大なることを更めて確認せしめたものといわねばならぬ。

第9表 Tetanus-serum の 10000 倍稀釈破傷風菌培養液に及ぼす影響についての成績
(菌液注射30分後に Tetanus-serum を同一局所に注射する場合)

注 射 後 経 過 日 数		1 日			2 日	5 日	10 日	生存率
		14時間	18時間	24時間	36時間	48時間		
Tetanus-serum 12u	死							
	生	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	$\frac{3}{3}$
対 照	死				3			
	生	3 (H)	3 (H)	3 (H)				$\frac{0}{3}$

総 括

以上本実験は、薬物として最もよく一定量の破傷風毒素を解毒することを著者が創めて見出した Salicylamid と、破傷風菌芽胞接種試験においてよくその発病を阻止し得た Aureomycin, Terramycin 並びに Usninsäure との併用効果をいろいろに検したものであるが、所期の如く以上薬物の併用は破傷風菌感染に際し、よく動物の死期を延長し得ることを知らしめた。しかし遂に動物を救助せしめ得なかつたことは、その効力の未だ抗毒素血清使用に及ばざること遙かなるものがある。

なおしかしこれを詳細に観察するに、Aureomycin と Salicylamid との併用は、その各々を単独使用するよりも無論効果のより優れたものがあつたが、Usninsäure ではこれを頻回接種せる場合、必ずしも Salicylamid との併用がなくても略々同一の効果を挙げ得たことは注

目すべきで、曩に教室藤井の破傷風菌芽胞接種試験によれば、量的に Aureomycin が Usninsäure に勝りたるが如き結果であつたが、かかる成績は Usninsäure 必ずしも Aureomycin に劣らず、質的には却つて強力なるが如くさえ覚えしめるものである。

更に藤井は嘗て芽胞と同様に肝小片を接種し、その後 Aureomycin を投与して被接種体より菌体の迅速に消滅することを証したので、これを利用し、菌培養液接種と同時に肝小片、抗生剤、Salicylamid を同時に与えてその効果を見たのであつたが、肝小片の存在にも拘わらずそれでも試獣として遂に死より免れしめなかつたことは、抗生剤が菌芽胞に直接に働くのでなくて恐らく肝小片の存在において発芽した菌体に働くのであろうという藤井の所論に対しなお吟味すべきものがあることを思わしめる。

兎に角、以上著者の研究は破傷風治療研究に百尺竿頭一步を進めたものには相違ないが、なお抗生剤、解毒薬物の効果に関しその限界を示

したものであつて、これが実地応用を目論むにはなお多くの研究を要するものがある。

結

1) 著者は曩に Salicylamid が破傷風毒素に対し一定の条件において能く解毒的に作用し、生体に比較的無害なる物質としては比類なきものであることを始めて見出したので、本物質と破傷風芽胞感染試験において認むべき感染防禦作用を営む Aureomycin, Terramycin, Usninsäure 等の抗生剤を同時使用して破傷風培養液接種マウスに対する感染防禦作用を検せるに、

論

Aureomycin, Salicylamid 併用は動物の死期をよく延長せしめ得るものがあることを知つた。

2) 但しこれを抗毒素血清使用の甚大なる効力に比すればこの種試験の向上には更に研究を重ねねばならぬ。

擧筆するに臨み御懇篤な御指導と御校閲とを賜つた恩師日置教授に深甚の謝意を表する。

文

- 1) 西川利夫：破傷風の実験治療学的研究，第3報，十全医学会雑誌，54，347，1953.
- 2) 藤井美樹：破傷風の実験治療学的研究，第4報，十全医学会雑誌，55，19，1953.
- 3) 藤井美樹：破傷風の実験治療学的研究，第

献

- 5報，十全医学会雑誌，55，911，1953.
- 4) 興儀実治：破傷風毒素の含硫化合物による解毒について，十全医学会雑誌，56，591，1954.
- 5) 小矢崎直美：十全医学会雑誌，印刷中.