

百日咳の実験治療学的研究

第 3 報

各種抗生物質並びに 2~3 化合物の百日咳菌發育に及ぼす作用について

金沢大学医学部日置内科教室(主任 日置教授)

伊 澤 健 吉

Kenkichi Izawa

(昭和27年5月4日受附)

緒 言

著者は先に本研究第1報¹⁾において Diphenyl-sulfon, Diphenylsulfid 誘導体の, 第2報²⁾において Diphenylaether, Pyridylphenylaether 誘導体の百日咳菌に対する試験管内作用を夫々検索し, 報告した。

然るにその後, Penicillin に始まる Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin 等の所謂, 抗生物質が欧米において理想的化学療法剤として出現し, その發揮する抗菌作用の素晴しさを耳にするに至り, 日常百日咳の化学療法達成を念ずる著者もまた, 未知の抗生物質中に対百日咳有効物質を探索すると共に, 相次いで現われた前記抗生物質や 2~3 新化合物の百日咳菌に対する効力を追求すべく, 検索の歩を進めざるを得なかつた。

即ち著者が前2報に報じた検索を行つていた当時(1946), 著者達の教室において多種の「青かび」³⁾, 並びに放線菌⁴⁾が分離されていたので, その中より「青かび」61株, 放線菌2株, 計63株を選び, 「青かび」ではその培養濾液に

つき, 放線菌ではその培養濾液よりの抽出物質については対百日咳菌試験管内作用を検索せしに, 以下 No.21 抗生物質と称するものにおいて比較的百日咳菌に対し強力な作用を有するやに覚えたので, その精製, 毒性等について仔細に検討すると共に, 同じく放線菌産生抗菌物質である前記 Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin, それに瓦斯桿菌産生物質たる Colistin 等, 各種既知抗生物質の作用をも検し, これらを比較する所があつた。外当時これら抗生物質の出現と併行して現われた Tibione, Guanofuracin^{5) 6)}, それに当教室が化学療法剤として特に興味を寄せた Usminsäure⁷⁾ 等⁸⁾, 等の化合物の作用をも併せて検討する所があつた。

なお, 以下抗生物質中 No.4 産生物質とあるは当教室において主として化膿菌, チフス菌等に対し坂戸⁹⁾等が報告しているものであり, 詳細な記述を省略する。

実 験 材 料

〔1〕 菌 株 :

百日咳菌は北陸血清製造所保存の S 型を使用した。

〔2〕 培 養 液 :

普通「ブイヨン」に脱絨纖維素人血液を20%に加え,

平等に混和した後時々振盪しつつ加熱煮沸し血液凝固後十分に冷却、濾紙を以て透明に濾過し PH 7.0 に苛性「ソーダ」を以て修正の後滅菌試験管に分注。法の如く間歇滅菌した^{9) 10)}。

〔3〕菌浮游液：

予め Bordet-Gengou 培地に 37°C, 48時間培養した百日咳菌の1白金耳を 5.0cc の前記培養液に浮游せしめた。

〔4〕供試物質：

〔a〕「青かび」培養濾液

I. Monoverticillata

A. Monoverticillata stricta

1. Sclerotigena

No. 120……P. yesoensum Hanzawa

2. Floccosa

No. 74……C. pfefferianum Wehmer

No. 64……P. citreo-viride Biourge

No. 72……P. reseo-cinnabarium Biourge

3. Velutina

No. 136……P. jantho-citrinum Biourge

B. Monoverticillata ramigena

No. 144……P. waksmani Zaleski

II. Asymmetrica

A. Velutina

1. Velutina-elliptica-magna

No. 20……P. digitatum Saccardo

2. Velutina divaricata

No. 147……P. glaucogriseum

No. 101, No. 133……P. fellutanum Biourge

3. Radiata (P. chrysogenum series)

No. 27……P. chrysogenum

No. 84, No. 105, No. 123……

P. chlorophaeum Biourge

No. 63……P. griseo-roseum

No. 21, No. 26, No. 51,

No. 52, No. 55, No. 62,

No. 70, No. 92, No. 93,

No. 127……P. notatum Westling

No. 58, No. 121……P. virescens Bainier

No. 39, No. 128……P. meleagrinum

Biourge

No. 125……P. baculatum Westling

4. Stellata (P. roqueforti series)

No. 94……P. roqueforti Thom

B. Brevi compacta

No. 41

C. Lanata typica

No. 25', No. 25'', No. 48,

No. 38, No. 47, No. 60,

No. 66, No. 73, No. 75,

No. 76, No. 131, No. 142,

No. 146……P. lanosum Westling

No. 65, No. 148, No. 149……

P. Raciborskii Zaleski

No. 53, No. 69, No. 77……

P. biforme Thom

No. 126……P. commune Thom

No. 54, No. 139……P. fusco-glaucum

D. Lanata divaricata

No. 56……P. simplicissimum Thom

No. 68……P. Rivolii Zaleski

No. 130……P. Jenseni Zaleski

No. 143……P. Janczewskii Zaleski

E. Fasciculata

No. 45……P. expansum Thom

No. 79……P. janthogenum Biourge

III. Biverticillata-symmetrica

No. 23……P. desciscens Oudemans

N. B. P. Penicillium C. Citromyces

〔b〕放線状菌産生物質

1. No. 4 製剤 (Streptomyces griseoflavus)

2. No. 21 製剤 (Streptomyces griseolus)

3. Streptomycin (Streptomyces griseus)

4. Chloromycetin (=Chlororamphenicol)

(Streptomyces venezuelae)

5. Aureomycin (Streptomyces aureofaciens)

6. Terramycin (Streptomyces rimosus)

〔C〕Colistin

〔D〕化合物

1. Tibione (p-Acetaminobenzaldehydethiosemicarbazone)

2. d-Usninsäure (K-Salz)

3. Guanofuracin (5-Nitro-2-furfurylideneamino-guanidine HCl-Salz)

備考 1

No. 4 製剤は当教室の坂戸等³²⁾が分離、培養、抽出した Streptomyces griseoflavus 産生物質を使用した。

No. 21 製剤は当教室の坂戸等⁴⁾が分離した *Streptomyces griseolus* を著者が培養及び抽出、精製したものである。

Streptomycin は「アリリカ」放出 Streptomycin を使用した。

Chloromycetin は輸入の「パークデービス」社製品である。

Aureomycin は輸入の「レダリー」研究所製 Aureomycin hydrochloride を用いた。

Terramycin は輸入の「ファイザー」社製 Terramycin hydrochloride を使用した。

Colistin は「ライオン」製薬のものを使用した。

Tibione は三共薬品を使用した。

Uşninsäure は三田製薬製の供試品を使用した。

Guanofuracin は富山化学製品を使用した。

備考 2 : 特に放線菌 No. 21 株産生抗生物質の精製。

No. 21 株が *Streptomyces griseolus* に属し、その産生物質が Streptothricin 系物質に近いもので

あることは既に小林¹¹⁾が述べている。又その抽出法において Streptomycin-Streptothricin 系物質における抽出法と若干相違していることも小林が記している通りである。而して著者も No. 21 株より小林の抽出法により淡黄褐色船状物質を得、体重 15g の「マウス」の背部皮下に該粗製物質を注射してその毒性を検した所、小林の記した通り、最小致死量は 1.0mg であつた。よつて著者はこの毒性を更に減ずるべく、「アルミナ」を吸着剤とする「クロマトグラフ」法により精製した所、吸湿性の強い灰白色粉末を得た。該精製物質の毒性は 15g 「マウス」につき、皮下注射で最小致死量 2.0mg であつた。注射後 4～5 日目に死亡し、剖検するに壊死性腎炎の像を認めた。本報における No. 21 株産生物質の実験成績はすべてこの精製物質の成績である。

本精製品の毒性について : No. 21 抗生物質抽出に当り、小林の粗製法に更に「クロマトグラフ」法を加えてその毒性を、最小致死量「マウス」15g につき 1.0mg より 2.0mg にすることが出来た。

実験方法

1) 「青かび」の濾液はそのままこれを原液とし、その他の供試物質中、水に可溶性のものはこれに滅菌蒸留水を加えて溶解し、水に難溶のものは溶媒として、Chloromycetin と Terramycin には「プロピレングリコール」を、Aureomycin には N/100 HCl 液を、Tibione には 70% 「アルコール」と「フォルムアミド」を用いて溶解し、所要稀釈溶液となしたものを原液とした。

架列した滅菌小試験管の第 1 管に培養液 1.8cc を入れ、これに被検物質の原液 0.2cc を加えて全量を 2.0cc となし、(即ち第 1 管の被検物質濃度は 1:1000

となる) 混和した後その 1.0cc を第 2 管に移して混和する。以下同様にして順次各管に 1.0cc 宛を移し最後の管より 1.0cc を捨てる。かくする時は各管の内容はすべて 1.0cc となり、且つ被検物質の濃度は第 1 管は 1:1000、第 2 管以下は 2 倍宛の通減稀釈となる。次に各管に前記の百日咳菌浮游液の 1 滴宛を滴下し、全管を振盪した後孵卵器内に納める。なお対照には 1.0cc 培養液に単に菌浮游液 1 滴を加えたものを置いた。

2) 成績判定は本研究第 1 報¹⁾に同じ。

実験成績

1) 供試「青かび」61株の培養濾液の百日咳菌に対する試験管内発育阻止並びに殺菌作用を検したが、何れの株についても 10 倍稀釈において既に何らの作用をも認められなかつた。

2) 「青かび」を除く被検物質の百日咳菌に対する試験管内発育阻止並びに殺菌作用は別表の通りである。

特記すべきは放線菌 No. 21 株産生物質が阻止作用 1:200,000、殺菌作用 1:125,000 を示したことである。この成績は阻止作用においては Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin の夫に劣るが、殺菌作用においては他の何れの被検物より優れている。

又 Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin,

Terramycin, Colistin 等の抗生物質が何れもその阻止作用に比し殺菌作用が弱く、阻止力と殺菌力との差が甚だしいのに対し、Tibione, Usnisäure, Guanofuracin では阻止作用は前記物質程強力でないが、殺菌作用においてもなお相当のものが存することは注目すべきものと思われる。

別 表

被 検 物 質	阻止作用	殺菌作用
1 No 4 抗生物質	16.000	8.000
2 No 21 抗生物質	200.000	125.000
3 Streptomycin	250.000	100.000
4 Chloromycetin	250.000	12.000
5 Aureomycin	250.000	14.000
6 Terramycin	250.000	18.000
7 Colistin	100.000	50.000
8 Tibione	8.000	8.000
9 d-Usnisäure	4.000	4.000
10 Guanofuracin	4.000	4.000

総括並びに考按

Penicillin 研究の初期において既に、Penicillin は百日咳菌には無効といわれた。而して Penicillin 研究の発達と共に、同じ Penicillin にも Penicillin F, G, X, K 等、組成を異にするものがあり、夫々独特の抗菌性を有することが明らかとなつてゐる¹³⁾。そうであつて見れば同じ Penicillium 中に百日咳菌に有効な未知の Penicillium 株がないと断定して了うのは早計ではないかと考え、未知の Penicillium 株をもう少し検索したいとの願いから当地方の「青かび」につき、その培養濾液の百日咳菌に対する試験管内作用を検したが、前記の成績の通り有効株を見出すことが出来ず、Penicillin は百日咳菌に対して発育阻止力を有さないという諸説¹³⁾¹⁴⁾を裏付けるに留まつた。

次に Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin 等の試験管内における百日咳菌発育阻止成績に関し諸文献を見るに、

Streptomycin については既に1945年 Hegarty¹⁵⁾等は試験管内で発育阻止、殺菌両作用があることを証明し、Keefe¹⁶⁾は発育阻止に必要な Streptomycin 最小量を 1.26~3.0 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (1:793,000~333,000) といひ、Wells 等¹⁷⁾は 0.8~80.0 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (1:1250,000~12,000) と述べている。Chloromycetin については既に Smith¹⁸⁾, Mc Lean¹⁹⁾, Alexander²⁰⁾が試験管内で他の抗生物質以上に百日咳菌に有効なことを認め、Wells¹⁷⁾は発育阻止に必要な Chloromycetin 最小量を 0.16~8.0 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (1:6250,000~125,000) と述べている。Aureomycin については Bell & Pittman²¹⁾並びに Bradford & Day²²⁾によつて百日咳菌に有効なことが認められ、Bradford 等は最小有効量を 25~50 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (1:40,000~20,000) といひ、Wells¹⁷⁾等は 0.16~12.5 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (1:6250,000~80,000) といつてゐる。更に Terramycin については Gladys L. Hobby²³⁾等は最小有効量を 5.0 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (1:200,000) といひ、Wells 等¹⁷⁾は 0.2~12.5 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (1:5000,000~80,000) といつてゐる。(これらの成績を見るに、有効量に相当の幅があるが、これは菌株によつて生ずるものと思われる。)而して以上の各抗生物質の対百日咳菌有効度を比較して Wells¹⁷⁾は Chloromycetin, Aureomycin 及び Terramycin の三者は殆んど同じ力価を示し、Streptomycin は三者より劣ると述べてゐる。

Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin 等各抗生物質の試験管内阻止力を文献に見れば以上の如くであるが、この成績を念頭において著者の検索した各抗生物質の成績を見るに、次のことが考えられる。

(1.) Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin の阻止力は何れも夫々前記文献の有効量の幅の間に位置している点において文献の成績と一致しているが、Wells 等が Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin の三者は同じ力価だが Streptomycin はこれらより劣ると述べてゐる点において著者の成績と異な

つている。

(2) 文献では殺菌力に関する成績は明らかでないが、著者の成績の阻止力と殺菌力を比較する時、Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin が阻止力の割に殺菌力に乏しいに対して、Streptomycin は No. 21 と共に比較的高い殺菌力を保持している点も注意すべきものと思う。

(3) 又 No. 21 が阻止力において他の4抗生物質より劣るが、その殺菌力においては独り最高を示しており、而もその製精法を工夫することによつて精製物質の毒性 1.0mg/マウス 15g を 2.0mg/マウス 15g に減じ得たことも興味あることと思う。

結

「青かび」濾液61種、抗生物質7種、化合物3種の百日咳菌に対する試験管内発育阻止、殺菌両作用を検し、次の結論を得た。

1. 当地方「青かび」61株の培養濾液で百日咳菌に対し抗菌性を有するものはなかつた。

2. 著者は著者達の教室で分離した放線状菌中に、百日咳菌に対し有効な No. 21 株を見出し、その抗生物質を抽出精製して百日咳菌に対する試験管内発育阻止、殺菌両作用を検し、次の結果を得た。

a) No. 21 株産生抗生物質は対百日咳菌試験管内作用において発育阻止力 1:200,000、殺菌力 1:125,000 を示した。

b) No. 21 株産生抗生物質を精製しその毒性を検した所、体重 15g 「マウス」につき皮下注射で最小致死量 2.0mg であつた。

文

- 1) 伊沢： 十全医学会雑誌，50，286，1947。
 2) 伊沢： 十全医学会雑誌，52，402，1949。
 3) 川口・安江・徳野： 金大結核年報，6，1，1947。
 4) 寺内・坂戸・松谷： 金大結核年報，6，81，1948。
 5) 三浦： 十全医学会

(4) 更に最近、百日咳治療剤として市販されている Colistin の成績も前記抗生物質のそれには及ばないまでも、かなりの阻止、殺菌両作用を有することは認めてよい。

なお放線菌病、「ヂフテリー」等に対し有効なことが著者達の教室において認められている Usninsäure^{24), 25), 26), 27)}、結核治療剤たる Tibione、及び広範囲の抗菌性を有する Guanofuracin^{28), 29), 30), 31)} が百日咳菌にも或る程度の作用力を有し、Usninsäure は阻止、殺菌両作用とも 1:4,000、Tibione は阻止、殺菌両作用とも 1:8,000、Guanofuracin は阻止、殺菌両作用とも 1:4000 を夫々示した。

論

3. 抗生物質、Streptomycin, Chloromycetin (Chloramphenicol), Aureomycin, Terramycin, Colistin 及び化合物 Tibione, d-Usninsäure, Guanofuracin の対百日咳菌試験管内作用と、No. 21 株産生物質のそれとを比較して、次の結果を得た。即ち No. 21 株産生物質は発育阻止力において Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin に劣るが、殺菌力においては何れよりも優つている。

4. Tibione, d-Usninsäure, Guanofuracin も又百日咳菌に対し若干ながら発育阻止、殺菌両作用を有することを認めた。

拙筆に当り御懇篤な御指導、御校閲を賜わつた恩師日置教授に深甚の謝意を表し、併せて実験に御協力下さつた各位に深謝致します。

献

- 雑誌，51，273，1948。
 6) 三浦・湯本： 十全医学会雑誌，52，1949。
 7) 佐々木： 十全医学会雑誌，52，474，1950。
 8) 佐々木： 十全医学会雑誌，52，379，1950。
 9) 高橋： 十全医学会雑誌，38，2516，1933。

- 10) 中野 : 十全医学会雑誌, 48, 913, 1943.
 11) 小林 : 十全医学会雑誌, 53, 392, 1951.
 12) 佐木 : 「ペニシリン」, 1946. 13) 梅沢 : 「ペニシリン」と「ストレプトマイシン」, 1949.
 14) 久保 : 「百日咳とその治療」, 114, 1949. 15) Hegarty, : J. Bact., 50, 651, 1945. 16) Keefer et al, : J. A. M. A., 132, 1946. 17) Wells E. B., : J. Pediat., 36, 752, 1950. 18) Smith R. M., : J. Bac., 55, 425, 1948.
 19) Mc Lean, : I. Clin. Invest., 28, 953, 1949. 20) Alexander, H. E., : J. Clin. Invest., 28, 867, 1949. 21) Bell & Pittman, : Publ. Hlth. Rep., 64, 589, 1949.
 22) Bradiord & Day, : J. Pediat., 35, 330, 1949. 23) Gladys L. Hobby, : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73, 503, 1950. 24) 佐竹 : 十全医学会雑誌, 52, 214, 1950.
 25) 佐々木 : 十全医学会雑誌, 52, 474, 1950.
 26) 佐々木 : 十全医学会雑誌, 52, 379, 1950.
 27) 小林 : 十全医学会雑誌, 53, 392, 1951.
 28) 三浦 : 十全医学会雑誌, 51, 273, 1948.
 29) 湯本 : 十全医学会雑誌, 52, 198, 1949.
 30) 三浦 : 十全医学会雑誌, 52, 204, 1949.
 31) 三浦 : 十全医学会雑誌, 53, 133, 1951.
 32) 坂戸 : 金大結核年報, 6, 95, 1948.