

百日咳の実験治療学的研究

第 5 報

各種抗生物質並びに 2~3 化合物による 百日咳菌菌体毒素中和試験について

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

1949 年当教室において日置、佐々木¹⁾は Usninsäure がデフテリー感染を防止すると共に、デフテリー毒素を中和するという事を見出した。即ち Usninsäure 溶液をデフテリー毒素に加えて 37°C に 1 時間保持する時は、Usninsäure の 2mg で該毒素最小致死量の 2 倍量を中和し、37°C に 24 時間保持する時は、Usninsäure の 1mg で上記毒素量を中和し得ることを、海狸の皮下及び皮内注射で確認した。

この事実に興味をもつた著者は本研究第 3 報²⁾、第 4 報³⁾において No. 21 製剤他、各種の既知抗生物質や 2~3 の新化合物の、百日咳菌に対する発育阻止及び殺菌作用を試験管内と動

物実験により検索した後、更に進んでこれら供試物質の百日咳菌菌体毒素に対する中和作用を追求した。

供試物質は次の 8 種類である。

1. No. 21 製剤
2. Streptomycin
3. Chloromycetin (Chloramphenicol)
4. Aureomycin
5. Terramycin
6. Colistin
7. d-Usninsäure (K-Salz)
8. Guanofuracin (HCl-Salz)

実験材料並びに実験方法

1) 実験動物：10~12g の健康マウスを使用した。

2) 菌株：北陸血清製造所より分譲された L₄ 株第 1 相菌を使用した。

3) 菌体毒素液の調製：Bordet-Gengou 培地に 37°C、48 時間培養せる上記菌株を滅菌生理的食塩水 1.0cc に 5.0mg の割合で浮遊させ、その菌浮遊液を -50°C 以上に 24 時間保つて冷凍死菌液を得た。なおその菌液の 1 白金耳を Bordet-Gengou 培地に植えて生菌のないことを確かめた。

該液のマウスに対する致死量を決定するためにマウスを数群に分ち、各群を 4 頭宛として夫々の量の該液をマウス腹腔内に注射し、1 週間観察した結果、最小致死量が菌量にしてマウス 10g につき 0.2mg なることを知つた。よつて本実験には上記毒素液の 0.1cc (菌量 0.5mg) を使用することにした。本菌量は接種後第 2~4 日目にマウスを確実に死亡さすに足る量である。

4) 薬物投与方法：薬物投与はすべて皮下注射法によつた。薬物投与は菌体毒素液接種後直ちに 1 回のみ

行つた。

供試物質中、水溶性の No. 21 製剤, Streptomycin, Colistin, Guanofuracin は滅菌生理的食塩水に溶解し、水に難溶な Chloromycetin は 75% 「プロピレングリコール」に、Aureomycin と Terramycin は N/100 HCl 液に夫々溶解せしめた。(但し Terramycin は本法によるも完全溶解であり得なかつた。)

なお各供試物質とも本実験における使用量ではマウスに対し認むべき毒性はなかつた。

5) 実験方法 : 体重 10~12g のマウスの腹腔内に上記毒素液 0.1cc (菌量 0.5mg) を注射した後、直ちに被検物質の各稀釈液をマウスの背部皮下に注射した。

6) 効果判定 : 動物は毒素液接種後、1週間観察し、生存頭数を以て効果判定の規準とした。

斃死したマウスを剖検すれば、急性腹膜炎の所見を呈し、腹腔内に滲出液並びに斑状出血を認めた。

実験成績

〔1〕各種抗生物質及び2~3化合物に関する実験 : (第1表)

本実験では全供試物質につき行つた。投与量はマウス 10g につき No. 21 製剤, Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin,

Colistin の6種は何れも 0.5mg, Usninsäure は 0.2mg, Guanofuracin は 0.3mg である。

成績は第1表の如く第3~4日目に全頭死亡した。これを剖検するに腹腔内に滲出液の滯溜、粘膜炎下出血が認められた。

第 1 表

| 薬 剤 | 一 投 回 与 量 mg/10g | 注 回 射 数 | 使 用 マ ウス 数 | 経過日数別生存マウス数 | | | | | | | 生 存 率 (%) | |
|---------------|---------------------------|------------|---------------------|-------------|---|---|---|---|---|---|--------------------|---|
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| No.21 製 剤 | 0.5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Streptomycin | 0.5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Chloromycetin | 0.5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Aureomycin | 0.5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Terramycin | 0.5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Colistin | 0.5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| d-Usninsäure | 0.2 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Guanofuracin | 0.3 | 1 | 4 | 4 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 対 照 | ∖ | ∖ | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

〔2〕抗生物質6種の増量投与による実験 : (第2表)

第 2 表

| 薬 剤 | 一 投 回 与 量 mg/10g | 注 回 射 数 | 使 用 マ ウス 数 | 経過日数別生存マウス数 | | | | | | | 生 存 率 (%) | |
|---------------|---------------------------|------------|---------------------|-------------|---|---|---|---|---|---|--------------------|---|
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| No21 製 剤 | 1.0 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Streptomycin | 1.0 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Chloromycetin | 1.0 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Aureomycin | 1.0 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Terramycin | 1.0 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Colistin | 1.0 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 対 照 | ∖ | ∖ | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

本実験では No. 21 製剤, Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin, Colistin の 6 抗生物質の投与量を倍加した。

その結果は第 2 表の如くで、〔1〕実験の成

績と同様、各抗生物質とも 1 頭をも死亡より免れしめることは出来なかつたし、死期延長をもたらすことも出来なかつた。

考 按

1909年 Bordet 及び Gengou がモルモットの腹腔内に百日咳菌を注射してモルモットが死ぬのは菌の毒素によるものであることを指摘して以来、百日咳菌の毒素の作用を闡明せんと多数の学者が努力している。百日咳の各種症状の中、(A) 血液像の変化、(B) 脳脊髄液の変化、(C) 痙咳発作、については毒素の作用が特に重要視されているようである。即ち

(A)、血液像の変化、特に特徴あるリン巴球増多の原因に関しては、痙攣性咳嗽発作によりリン巴球が胸部リン管やリン巴球貯藏所から血液中に押し出されるためという Hess³⁾ の説、迷走神経殊に廻帰神経の刺戟により咳嗽が起り、リン巴球増加を来すという Friedleben, Gnénean の説、又、気管及び気管周囲のリン巴腺腫脹の刺戟により咳嗽を發しリン巴球増多を来すという De Amicis, Paccioni の説等があるが、これらの説は何れも顧みられなくなり、Fröhlich⁴⁾, Hillenberg⁵⁾, Ziegler⁶⁾ 等の毒素説が重要視されている。

(B)、脳脊髄液の変化、特に液圧亢進、アルブミン量増加、細胞数増加等の所見の発現理由は他の伝染病の場合と同様、百日咳菌の毒素によるものと考えるべきであるという⁷⁾。

(C)、痙咳発作は所謂 Reprise といわれ、百日咳に特有なものである。この百日咳特有の咳嗽発作の成立機転はまだ十分に説明されてはいないが、末梢神経には何らの変化も認めず、中枢神経系において脳膜の炎症性変化、海馬角のグリア増殖、脳幹特に延髄及び脊髄の頸部並びに頸胸部の脊髄神経節細胞の変性、グリア増殖等を見、更に迷走神経分岐部や肺門の神経節細胞における退行性変化や単核細胞浸潤を見て、これらの変化出現の原因を百日咳菌毒素による

ものとする説や、咳嗽発作は百日咳毒素によつて呼吸器粘膜及び同部に分布する神経の過敏性が高まつているためだろうとする説等が主なるものである。

以上述べた所からして、百日咳の各症状の成立機転には未だ不明な点もあるが、少なく共百日咳菌毒素がその成立に重要な役割をもつてゐることは否めない問題だと思ふ。

かかる観点から百日咳の化学療法を考える時、百日咳の治療を完全なものとするには単に菌そのものゝ抑圧のみでなく、更にその毒素の中和→解毒という点まで進まねばならぬと思われる。本研究の第 3～4 報において報じた如く、著者は各種の抗生物質が百日咳菌に対し抗菌作用を有することを認めたが、以上の理由からして著者は更にこれら物質の、百日咳菌菌体毒素に対する中和作用を検討した。しかし乍らその結果は成績の示す如く、供試物質中菌体毒素を中和出来るものは一つもなかつた。即ちこれら供試物質は菌の発育増殖は阻止出来ても、菌の毒素はこれを中和することが出来ないといひ得る。

これら供試物質中、Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin, Colistin の 5 種は既に百日咳治療剤として臨床に應用され始め、その臨床上の効果成績も漸次報告されつつある。今日までに出たその報告を見るに、これら抗生物質は何れも、その効果を認めるには百日咳の早期(カタル期か痙咳期の初め)においてこれを用いた場合であるという点において一致しているようであるが、このことは本報の中和試験成績からも推測されるのではなからうか。

結 論

1) 著者は本報において、No. 21 製剤、Streptomycin, Chloromycetin, Aureomycin, Terramycin, Colistin, d-Usninsäure, Guanofuracin の百日咳冷凍死菌菌体毒素接種 マウス に対する効果を検索した。

2) 上記供試物質は何れも該毒素に対して中

和作用を有せず、該毒素接種マウスを、その毒素による死より救うことも、又死期を延長させることも出来なかつた。

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。

文 献

- 1) 伊沢：十全医学会雑誌，56，1，1954.
- 2) 伊沢：十全医学会雑誌，56，7，1954.
- 3) Hess：Zschr. f. Kinderh.，1921，27，117.
- 4) Fröhlich：Jahrb. f. Kinderh.，1897，44，53.
- 5) Hillenberg：Zschr. f. Kinderh.，

- 1924，37.
- 6) Ziegler：Schweiz med. Wschr.，1926，56，84.
- 7) Bayer：Klin. Wschr.，1935，1032.
- 8) 日置・佐々木：Jap. Med. J.，1949，12.