

黄疸出血性「スピロヘータ」病の実験治療学的研究

第 7 報

黄疸出血性「スピロヘータ」病感染動物に対する 二、三薬物の「ペニシリン」作用増強に就て

金沢医科大学日置内科教室(主任 日置教授)

北 村 豊 三 郎

Toyosaburo Kitamura

(昭和24年9月5日受附)

緒 言

著者は曩に黄疸出血性「スピロヘータ」に対する Penicillin と他薬物の試験管内に於ける協同作用に就て検し, Hydroquinone, 2-Methyl-1,4-naphthohydroquinone diacetate が Penicillin の作用を増強することを認め之を前報¹⁾に誌した。

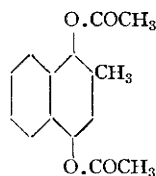
今之等の作用が生体内に於ても同様に証明せられるか否かを検討する爲に本動物実験を行った。亦 2-Methyl-1,4-naphthoquinone sodium bisulfite additionproduct 及び Sulfathiazole sodium salt, Sulfadiazine sodium salt, Sulfamerazine sodium salt 等に就ても同様試験を行ったので、此処にあはせて報告するものである。

即ち供試物質は次に示す6種である。

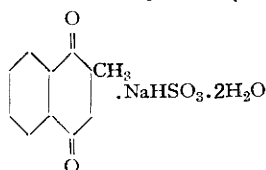
(1) Hydroquinone (H.)



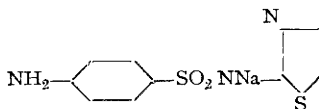
(2) 2-Methyl-1, 4-naphthohydroquinonediacetate
(Vit. K₄-diacetate)



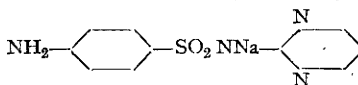
(3) 2-Methyl-1, 4-naphthoquinone sodium bisulfite additionproduct (Vit. K₃-bisulfite)



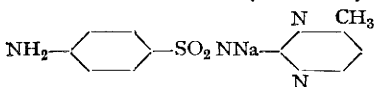
(4) Sulfathiazole sodium salt (S. T. Na)



(5) Sulfadiazine sodium salt (S. D. Na)



(6) Sulfamerazine sodium salt (S. M. Na)



註 () 内は略號を示し、以下薬物名は略號に據る。

実 験

実験方法

(1) 実験動物 体重凡そ 200~300g の健康なる海狼を用いた。

(2) 菌種並に接種方法 九州大學第一内科教室より分與せられた黄疸出血性「スピロヘータ」株(以下「スピロヘータ」を「スピ」と略記す)を使用した。今之を5代以上動物を通過させ毒力を高めた後、血液加「コルトフ」培地中に培養し、更に暗視野装置にて一視野に2~3條程度發見するに至るまで滅菌蒸溜水にて稀釋し、その0.5ccを海狼腹腔内に接種した。

(3) 判定 本「スピ」接種後3~4日にて、動物は体温39~40°Cに上昇し、食慾不振。立毛を認めしめ、運動不活潑となり、5~6日にて黄疸を發し死亡する。肉眼的剖検所見としては黄疸、皮下出血、肺の點狀出血を認めしめる。「スピ」の證明は、肝臓の一切片を「オブジェクトグラス」上に取り生理的食鹽水を1白金耳加へ之を磨碎稀釋し、暗視野装置にて鏡檢した。更に必要なりと認めたるものには内臟器の組織標本を作製して病勢を判断した。下記藥物の投與に依り遂に發病を免れたるものに於ては、1ヶ月後致死剖検に付し、特に肝臓中「スピ」の檢索に意を用いた。

(4) Penicillin(以下P.と略記す)及び藥物の投與、何れも菌接種後24時間目より海狼背部筋肉内に注射した。

(a) P.の投與 海狼はP.に對し比較的耐性の低い動物であり、Hamre²⁾は健康海狼に對するP-Na鹽の靜脈内注射の毒性は、per kg 最小致死量7500~53000單位であつたと述べてゐる。吾教室野村の經驗に依れば、per kg 10000單位以下の投與(1~2日に涉り4~5回に分割して筋注せる場合)では安全であり、又氏はその報文³⁾に於て、200~300gの本病海狼に全量5000~6000單位のP.を1日3~4回に分割投與して之を死から免れしめ得る場合があつたと述べた(病獸は大量投與に耐え得るものがあることを示してゐる)。

勿論製品に依りP.の海狼に對する毒性の異なる場合もあり、亦投與様式に就ても充分考慮すべきである。

著者はP.-Na鹽(明治製)を使用し、1cc中1000單位を含有する様に滅菌蒸溜水に溶解し、總量per kg 10000單位を1日2回(下記H.併用の場合)乃至4

回(下記Vitamin K及びSulfanilamide併用の場合)分割注射し3日間連用實驗を行つた。

(b) 藥物の投與

(イ) Hydroquinone. 有毒物質にて15gの「マウス」に對して3mg以上では痙攣を發して死亡し、漸く2mgで一時衰へを見せるが間もなく元氣を恢復する。著者は1日量per kg 3mgを2回に分割注射3日間連用實驗を行つたが、海狼(200~300g)には何等の異常が認められなかつた。

(ロ) Vit. K₄-diacetate 及び Vit. K₃-bisulfite. Vit. K₄-diacetate は水に難溶にて胡麻油に溶解、Vit. K₃-bisulfite は滅菌蒸溜水に溶解、之を使用した。Vit. K₃-bisulfite は海狼に對し1日量per kg 60mgにて死亡し、per kg 50mgにては一次元氣は衰へるが間もなく恢復する。依つて著者は1日量per kg 40mgを本實驗に於て使用する事にした。Vit. K₄-diacetateの毒性は之より弱いがVit. K₃-bisulfiteと比較する意味に於て同様per kg 40mgを使用した。何れも1日4回に分割注射し、3日間連用實驗を行つた。

(ハ) S.T. Na, S.D. Na 及び S.M. Na. 夫々滅菌蒸溜水に溶解使用した。比較的少量投與に依る急性中毒試験に於て、Welch⁴⁾等は「マウス」に對する半数耐量が、S.M. Naにてはper kg 2.5gであつてS.D. Naのper kg 2.8gと略々等しいと述べてゐる。*亦Feinstone⁵⁾等は同様「マウス」に對し半数耐量が、S.D. Naに於てper kg 1.5~1.75g, Sulfapyridine sodium saltにては大體per kg 1.5gであり、van Dyke⁶⁾等に依ればS.T. Naも同様per kg 1.5gであつたと報じてゐる。斯く本劑の「マウス」に對する毒性は略々等しいものの如くである。

翻つて之等藥物の海狼に對する毒性試験は乏しいが、久保⁷⁾は本病の動物治療試験に於て、Sulfamethylthiazole sodium salt 及び Sulfapyridine sodium salt を4日以上毎日連續注射し(1日量2回に分注)、その最大量と安全量を決定した。即ち1日量 Sulfamethylthiazole sodium salt に於ては最大耐量per kg 940mg, 安全量per kg 430mg 以下、Sulfapyridine sodium salt にては最大耐量per kg 600mg, 安全量per kg 260mg 以下であつたと述べてゐる。

著者は本實驗に於て安全量にて而も可及的大量を投

* 但し吾教室前川等⁵⁾は Sulfamerazine の方が Sulfadiazine よりも毒性の少いことを報じてゐる。

與、之等藥物の効果を比較検討せんとし、何れも1日量 per kg 260mg を用ひることとした。即ち此の1日量を4回に分割注射し、3日間連用實驗を行つた。

前記何れの場合も P. 及び藥物の注射は之を同時期に行つた。亦併用療用の場合と雖も、兩者の注射全液量は 1cc を超える様なことはなかつた。

實驗成績

(1) Penicillin と Hydroquinone の協同作用に関する實驗

P. と H. の併用群に6頭、P. のみの使用群に3頭、H. のみの使用群に2頭、無処置群として3頭を配した。先づ菌液 0.5cc を海狸腹腔

内に接種し、24時間後夫々前述の如き P. 及び H. の量を1日2回に分割注射し3日間連用、その経過並に剖檢所見を觀察した。

成績は第1表に示すが如くである。P. と H. の單獨使用群及び無処置群は、何れも定型的症狀を呈し、7日以内に死亡した。而して P. と H. の併用群では、8日に1頭、9日に1頭、10日に1頭何れも定型的な症狀の下に死亡したが、他の3頭は残存することが出来た。生存率は50% (3/6) である。P. 及び H. の單獨使用群にては1頭をも救助し得ないのに比べて遙に良い成績と云はねばならぬ。

第1表 Penicillin と Hydroquinone の協同作用に関する實驗

實驗群	ペニシリン 投与量 (mg)	Hydroquinone 投与量 (mg)	投与方法	解剖所見			生存日数							判定			
				出血	肝臓	脾臓	2	4	6	8	10	12	14		→		
1	240		P., H. 1日2回分割注射	+	+	+										死	
2	250			-	-	-											生
3	260	10000 単位		+	+	+											死
4	270	10000 単位		+	+	+											死
5	270			-	-	-											生
6	270			-	-	-											生
7	250		P 1日2回分割注射	+	+	+											死
8	270	10000 単位		+	+	+											死
9	260			+	+	+											死
10	240		H 1日4回分割注射	+	+	+											死
11	220	9mg		+	+	+											死
12	240		對照	+	+	+											死
13	240			+	+	+											死
14	220			+	+	+											死

(2) Penicillin と Vit. K₄-diacetate 及び Vit. K₃-bisulfite の協同作用に関する實驗成績

P. と Vit. K₄-diacetate, P. と Vit. K₃-bisulfite の併用群各々5頭、P., Vit. K₄-diacetate 及び Vit. K₃-bisulfite 單獨使用群夫々3頭、無処置群3頭を用ひた。菌接種24時間後より、夫々前述の如き P., Vit. K₄-diacetate 及び Vit. K₃-bisulfite の量を1日4回分割注射し、3日間連用、無処置群と共にその経過並に剖檢所見を觀

察した。

成績は第2表に示すが如くである。P. Vit. K₄-diacetate, Vit. K₃-bisulfite を單獨使用した群及び無処置群は何れも定型的症狀を呈し、第5~9日に斃死した。然るに P. と Vit. K₄-diacetate を併用した群に於ては、2頭は P. 單獨使用群と同時に定型的な症狀の下に死亡したが、他の3頭は救命することが出来た。生存率は60% (3/5) である。P. と Vit. K₃-bisulfite の

併用群に於ては、3頭が治療開始後24~48時間目に死亡した。剖検するに肺臓の出血のみが顯著で、黄疽の発現なく、肝中に「スピ」を証明しなかつたが、之は恐らく藥物の影響が加はり余りにも早期死亡を致した爲であらう。組織学的には、肺臓に於て出血、氣管支の上皮剝離、

細胞浸潤、小血管周囲の浮腫の像を認め、肝臓にては充血、「グリソン」氏鞘の浮腫、上皮の溷濁腫脹、腎臓に於ては充血、細胞浸潤の像が見出された。他の2頭中1頭は10日にて定型的なる症状の下に斃れ、1頭は遂に残存することが出来た。生存率は20% (1/5) である。

第2表 Penicillin と 2-Methyl-1, 4-naphthohydroquinone diacetate 及び 2-Methyl-1, 4-naphthohydroquinone sodium bisulfite addition product の協同作用に関する実験

添添番 群	添 飼 日 間	添 飼 量	添 飼 物 質	投 与 法	解剖所見			生存日数							判 定		
					次 徴	出 血	肝 中 「 スピ」	2	4	6	8	10	12	14			
1	250	250	10000 単位 Vit. K ₁ -diacetate 120mg P., Vit. K ₁ -diacetate 1日4回分注	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
2	260	260		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	生
3	250	250		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死
4	270	270		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	生
5	270	270		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	生
6	250	250	10000 単位 Vit. K ₁ -bisulfite 120mg P., Vit. K ₁ -bisulfite 1日4回分注	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
7	240	240		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死
8	260	260		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	生
9	250	250		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死
10	240	240		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死
11	250	250	10000 単位 P., 1日4回分注	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
12	240	240		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
13	240	240		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
14	240	240	Vit. K ₁ -diacetate 120mg Vit. K ₁ -diacetate 1日4回分注	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
15	240	240		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
16	260	260		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
17	240	240	Vit. K ₁ -bisulfite 120mg Vit. K ₁ -bisulfite 1日4回分注	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
18	250	250		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
19	260	260		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
20	230	230	対 照	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
21	210	210		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	
22	220	220		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	死	

以上実験に依り恰も試験管内試験の示すやうに独り Vit. K₁-diacetate と P. との併用に於て、頗る顯著な協同効果を發揮したるは極めて興味深き事実となすべきである。

3) Penicillin と S.T.Na, S.D.Na 及び S.M.Na

の協同作用に関する実験成績

P. と S.T.Na, S.D.Na 及び S.M.Na 併用群に夫々3頭、P. 使用群に3頭、無処置群に3頭を用ひた。菌接種後24時間目より前記量を夫々1日4回に分割注射3日間連続した。

成績は第3表に記載した如くである。

S.T.Na と P. を併用した場合、3頭中2頭は何れも P. 単独投與の場合よりも早く、但し対照群よりも僅に永く生存後死亡してゐるが、既に出血は比較的強度であつたにかゝらず、黄疽は僅に認められるのみで、肝中の「スピ」を証明することが出来るには出来たが數視野に一條を發見する程度に過ぎず、即ち肝炎の進行が稍々遅延して認められたこと及び他の1頭に於

て遂に之を救命し得たことは寧ろ本併用療法の若干の意義を物語るものであらうか。

S.D.Na と P. を併用した場合には、3頭中2頭は定型的な症狀を呈し、P. 投與群と同時に死亡した。他の1頭は P. 投與群より早く但し対照群と同時に即ち第6日目に斃死し、出血は比較的強度であつたが黄疽は少く、肝中「スピ」の証明は困難であつた。併し結局本併用療法の意義は皆無であると見るが至当である。

第3表 Penicillin と Sulfathiazole sodium salt, Sulfamerazine sodium salt 及び Sulfadiazine sodium salt の協同作用に関する實驗

海城番號	日付	投與量	投與法	投與時期	解剖所見		生存日數							判定			
					出血	肝中「スピ」	2	4	6	8	10	12	14				
23	270	260	250	10000 單位	S. T. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
24	270	260	250	10000 單位	S. T. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
25	270	260	250	10000 單位	S. T. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	生
26	240	240	240	10000 單位	S. D. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
27	270	270	270	10000 單位	S. D. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
28	260	270	260	10000 單位	S. D. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
29	240	240	240	10000 單位	S. M. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
30	250	250	250	10000 單位	S. M. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
31	270	270	270	10000 單位	S. M. Na 760mg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
11	220	220	220	10000 單位	P 1日4回分服注射	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
12	250	250	250	10000 單位	P 1日4回分服注射	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
13	240	240	240	10000 單位	P 1日4回分服注射	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
20	210	210	210	10000 單位	對	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
21	210	210	210	10000 單位	對	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死
22	220	220	220	10000 單位	對	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	死

註 (1) 黄疽の欄中 (±) は極めて軽度なるを示す。

(2) 肝中「スピ」の欄中*は數視野に僅かに1條を發見せられる程度であつた。

S.M. Na と P. を併用した場合、3頭中1頭は、注射後72時間目に非定型的な症狀にて斃れてゐる。黄疽は未だ認められず、肝中「スピ」の証明が困難であつたことは早期死亡に依るものである。組織学的には、肺臓の充血、出血像、氣管支腔内の高度の上皮剝離を呈し、肝臓では充血、靜脈の鬱血、「グリソン」氏鞘の浮腫、上皮の溷濁腫脹、腎臓に於ては充血、細胞浸潤、

上皮の溷濁腫脹が認められた。但し第7日に死亡した他の1頭に於ても、黄疽を僅に認むるのみで、肝中「スピ」の証明も困難であつたことは、S.T.Na 併用時に於けると同様 Sulfanilamide が肝炎の進行を若干遅延せしめる傾向にあることを認めないわけには行かぬやうである。但し残る1頭も P. 投與群と同時に定型的な症狀を惹起して斃れて居り、併用療法の意義は極めて

寡い。

考 按

以上の成績を総括して考へる時に、著者が曩に試験管内試験に於て P. の作用を増強するものとして H. 及び Vit. K₄-diacetate を挙げたことは、生体内試験にも同様に適用せられることが確認せられて意義が一層深い。

両薬物の併用効果の比較に関しては、H. は試験管内試験に於て最も強力であつたが、生体内試験で6頭中3頭生存し、Vit. K₄-diacetate は試験管内では H. の次に位し、生体試験で5頭中3頭の残存頭数となり、両者の甲乙を認め得なかつた。但し薬物の使用量が相違してゐるので遽に実験の優劣を断ずるは早計たる譏りを免れない。とは言ひながら本研究の第5報に於て、野村³⁾が P. per kg 50000~6000 単位使用して、7頭中高々2頭しか生存せしめ得なかつたことに比すれば、実験治療学的に遙かなる成績の向上である。而も此の有効両薬物とも paraquinone に属し、化学構造上一脈相通するものがあることも學術上極めて興味の寡からざ

る処である。Vit. K₄-diacetate は肝臓機能障碍に際して認められる血漿「プロトロムビン」値の減少に拮抗し得るものとして知られてゐるが、Vit. K₃-bisulfite に依つては如上のやうな好結果を齎らさないので、本物質の作用は Vitamin としてではなく、特に化学療法的に協同的にての力を展開するものと見做さなくてはならぬ。

Sulfanilamide 系物質に関しては、久保⁸⁾は Sulfapyridine sodium salt 及び Sulfamethylthiazole sodium salt を本病動物治療試験に使用し何れも無効であつたと述べ、亦 Patterson⁹⁾は Sulfathiazole, Sulfadiazine を本症患者に投與し同様無効だと述べたが、斯る Sulfanilamide と P. を併用するも其の効果は殆んど期待し得ない。寧ろ悪化せしむる場合もあることに留意せねばならない。但し僅に S.T.Na に於て3頭の中1頭救命することが出来た事実も看過することを得ない。

結 論

著者は実験的黄疸出血性「スピロヘータ」感染動物の治療試験に於て、Penicillin と Hydroquinone, 2-Methyl-1, 4-naphthohydroquinone

diacetate との顯著なる併用効果を確認する。

撰筆するに當り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師日置教授に深甚の謝意を捧げる。

文 献

1) 北村: 十全醫學會雜誌52,497,1949. 2) Hamre: 佐々・島本著, Penicillin 療法より引用. 3) 野村: 十全醫學會雜誌52,301,1949. 4) Welch, A. D., Mattis, P. A., Latven, A. R., Benson, W. M. & Shiels, E. H.: J. Pharm. & Exp. Therap. 77: (4) 357-391, 1943. 治療, 30, 4, 100, 昭23. より引用. 5) 前川・西野: 十全醫學會雜誌51,250,1948. 6) Feinstone, W. H., Williams, R. D., Wolfe, R. T., Huntington,

E., and Crossley, M. L.: Bull. Johns-Hopkins Hosp., 67, 427, 1940. 7) van Dyke, H. B., Greep, R. O., Rake, G., and McKee, C. M.: Proc. Soc. exp. Biol. & Med., 40: 619, 1939. (6) より引用. 8) 久保: 日本傳染病學會雜誌, 16, 123, 1941. 9) Patterson: J. A. M. A., 134 (13), 1077, 1947.