

放線菌の抗菌性物質に就て 第14報

實驗的黄色葡萄狀球菌感染に對する Actinomyces griseoflavus 株產生抗生物質 No. 4 製劑の作用 及び本劑と他藥物との共同効果に就て

金沢大学医学部日置内科教室(主任 日置教授)

松 井 英 雄

Hideo Matsui

(昭和24年9月14日受附)

緒 言

No. 4 製劑は前報にも記せるやうに吾教室に於て分離せられた Actinomyces griseoflavus の一株より得られる抗生物質であつて、桿菌としては殊に「チフス」菌等に強力に作用する特徴を有すると共に、球菌に対してもその抗菌性強く、葡萄狀球菌に対しては「チフス」菌に対するよりも優に数倍する効力を試験管内に於て示した。

其処で問題の1は本物質の使用も亦能く黄色葡萄狀球菌感染動物を死から救ひ得るかと思ふこと。

併し本物質は現在迄に精製せられた範圍に於て教室丹保¹⁾が實驗に依つて之を示したやうに Streptomycin に約倍する毒性を有するので、抗生物質が諸種の他の藥物の併用に依つてその作用を増強せしめられると云ふ事實を漸次究明しつつある吾教室研究の一翼として行はれた前報報告の成績を茲に利用し、

問題の2として藥物併用に依つて No. 4 製劑の使用量を低下せしめ、能く安全量範圍内に於て實際感染を防止し得るかと思ふこと、或は言ひ換へるならば藥物併用に依つてより顯著なる効果を期待し得るかと思ふこと。

次に葡萄狀球菌感染に於て、嘗て岡部²⁾も之

を示したやうに仮令 Penicillin を用ひて能く試験動物の發病を抑止し得たやうな場合でも屢々生体内菌の完全消滅は短時日内に容易に之を果し得なかつたのであるが、丹保が「マウス」の「チフス」菌感染に於て本製劑の Streptomycin との併用が試験動物を感染死から救ふと共に、能く比較的短時日内に病原菌の死滅せしむることを立証せしに鑑み、

問題の3として葡萄狀球菌感染に際しても亦 No. 4 製劑の使用乃至本劑と他藥物との併用が斯くも強力に發病防遏に役立ち得るかと思ふこと。

之等の諸問題に解明を與へんと欲して企てたのが本文である。

實驗の結果は本製劑は幸に葡萄狀球菌に対して「チフス」菌に対するよりも強力に作用するので夫自身でも適量に於て動物を能く感染死から救ふことが出来、而も之に Trypaflavin, 乃至 Tuberflavin 或は Sulfathiazole の投與を配すればよりその影響を効果的ならしむることの可能性が立証せられ、且感染後数日中に完全に病原菌を生体内から掃蕩し得ることが明かになつた。今その経緯を次に録する。

実 験

実験方法

1) 試獣 試獣としては體重 13~16g を有する雌性「マウス」を用いた。

2) 菌種及接種法 名古屋大學醫學部細菌學教室より分譲を受けた黄色葡萄狀球菌(寺島株)を用いた。今之を10代前後「マウス」を通過して毒力を高めた後10%血清加「ブイオン」にて 37°C 24時間培養し、最小致死量の4倍量即8倍稀釋液 0.5c.c. を毎回腹腔内に注射した。猶最小致死量は「ブイオン」に於ける24時間培養液30倍稀釋 0.5c.c. であり、「マウス」は之に依つて極めて急激なる経過を辿り、概ね12時間以内に斃死した。

3) 被檢藥物及其投與法

No. 4 製劑 本劑の製法に就ては本研究の第10報³⁾にその大略を誌した。精製度も此程度のもので而も此時は培養液の抗菌價があまり上昇しなかつたので 1mg=50~100 T.U. (250~500 S.U.) と云ふ程度に過ぎなかつた。因に茲に T.U., S.U. と稱するは夫々「チフス」菌單位、葡萄狀球菌單位を意味し、1「チフス」菌單位とは1立の培地中に存する No. 4 製劑の量がちょうど「チフス」菌の一定の菌株の生長を阻止する量を云ひ、葡萄狀球菌單位とは上述の「チフス」菌に代ふるに葡萄狀球菌を以て行へる單位を云ふ。

併用せしむべき供試藥物その種類は次の如くであつた。

- | | |
|-------------------------|------------------|
| 1) Tuberflavin | 4) Diphenylamine |
| 2) Trypaflavin | 5) Sodium iodide |
| 3) Sulfathiazole (Na 鹽) | |

第10報に之を記載せるやうに試験管内に於て Tuberflavin は No. 4 製劑の葡萄狀球菌に對する48時間の發育阻止作用を Tuberflavin の 300000 倍稀釋培地で4倍、その殺菌作用を4倍、その 400000 倍稀釋培地では發育阻止力を2倍、殺菌力を2倍、Sulfathiazole の Na 鹽はその 10000 倍稀釋培地で發育阻止力を4倍、殺菌作用を4倍、20000 倍稀釋培地では發育阻止力を2倍、殺菌作用を2倍、Diphenylamine はその 10000 倍稀釋培地で發育阻止力を16倍、殺菌作用を16倍、20000 倍稀釋培地では夫々4倍、4倍に増強した。而して Trypaflavin, Sodium iodide は試験管内實驗に於ては孰れも何等増強を示さなかつたのであるが後述するが如き理由に依り、茲に供試したものである。

藥液の調製に關して No. 4 製劑單獨のときは所要單

位を生理的食鹽水に溶解し皮下注射を行ひ、容量は1回に 0.1c.c. に限定した。他藥物の併用の際には 0.1 c.c. の蒸溜水に Tuberflavin, Trypaflavin, Sulfathiazole (Na 鹽), Sodium iodide の1回注射量を、又 0.1c.c. の 45% Alcohol に Diphenylamine の1回注射量を溶解せしめ、更に之を以て No. 4 製劑の所要單位を溶解して試獣の背部皮下に之を用いた。

No. 4 製劑及藥物併用投與は本菌感染経過の速かなるに鑑み、第1日は第1回を菌接種後2時間目に開始し、第2、第3回を更に4時間、6時間の間隔に於て此3回で1日量を與へる、斯くて12時間後に第2日に入り、毎8時間毎に分割して同じく1日量を投與した。而も初期に血中濃度を高める意味で、第1日の初回量を同日1日量の $\frac{2}{3}$ となし、第2、第3回は殘餘量を等分して與へた。各試験に於ける使用總量は實驗成績記載中にその都度之を記述する。

4) 効果判定 觀察期間は菌接種日より15日間とし、感染後の生存頭數と平均生存日數とを以て効果判定の基準とした。斃死せのものの中疑はしきものはその心血の塗抹標本を作つて鏡檢し、或は心血培養に依つて敗血症に依る死であるか否かを確めた。又15日間恙なく生存せるものに於てはその中一部を屠殺解剖し、化膿巢の有無を檢し、同時に心血、肝、脾、腎の壓汁より1白金耳を獲て之を寒天平板に塗抹培養し、「マウス」体内の菌の消長を檢した。更に藥物の充分なる治効量を投與せる場合体内菌の殘存に關し事實を知る爲に、15日以内適當の時間に殺せしめたる際にも同様に各臓器の菌培養を施行した。

実験成績

[I] 葡萄狀球菌感染時に於ける No. 4 製劑の効力

前述の如くして「マウス」に葡萄狀球菌感染を惹起せしめ、No. 4 製劑の1日量 300, 250, 200, 150 T.U. を夫々2日間注射した。成績は第1表の如くであつて1日量 300 T.U. 2日間投與で動物は完全に感染死から救はれる。此量は幸に葡萄狀球菌感染獸に對しては中毒量以下である。因に No. 4 製劑の中毒量は丹保の示す処に依れば全量 500 T.U. (1日6時間置きに4回に分割注射す) で先無毒、Streptomycin が 1250 T.U. で無毒であつたのに比すればその毒

力は約倍であつた。

〔II〕 No. 4 製剤と他薬物との併用効果

No. 4 製剤の量を有効量以下即 150 T.U. となし、之と同時に使用するべき薬物量に関しては、試獣1頭（概ね 15g）に就き Tuberflavin

1日量 0.015, 0.03mg を2日間試み、Sulfathiazole, Diphenylamine は孰れも 0.5~1.0mg を1日量（2日間投與）と定めた。投與法の詳細に就ては前記実験方法の項、又は下記成績表に之を示したから略する。

第 I 表 No. 4 製剤有効量

No. 4 製剤 1日量 (T.U.)	一興 日回 投數	投與 日數	試 獸 數	各日斃死マウス數						生 存 數	百 分 率	平存 均日 生數
				1	2	3	4	5	6~15			
300 (1500 S.U.)	3	2	4	0	0	0	0	0	0	4	100	15.0
250 (1250 S.U.)	3	2	4	1	0	0	0	0	0	3	75	11.5
200 (1000 S.U.)	3	2	4	3	0	0	0	0	0	1	25	4.5
150 (750 S.U.)	3	2	4	4						0	0	1.0
對 照			4	4						0	0	1.0

a) Tuberflavin, Sulfathiazole, Diphenylamine に関する実験

a') Tuberflavin 1日量 0.015mg, Sulfathiazole, Diphenylamine 0.5mg 皮下注射 (第II表)

Tuberflavin, Sulfathiazole, Diphenylamine のみの対照群並に No. 4 製剤併用群共凡そ2日以

内に死亡した。之を要するに此量に於て薬物を併用してもその効果は認められないのである。

b') Tuberflavin 1日量 0.03mg, Sulfathiazole, Diphenylamine 1.0mg 皮下注射 (第III表)

前回皮注実験よりも更に薬物量を増大し1日量を 0.03mg, 1.0mg とした。

第 II 表 薬物 1日量 0.015, 0.5mg 皮下注射

No. 4 製剤 1日量 (T.U.)	薬 物 1日量 (mg)	一興 日回 投數	投與 日數	試 獸 數	各日斃死マウス數						生 存 數	百 分 率	平存 均日 生數
					1	2	3	4	5	6~15			
150 (750 S.U.)		3	2	3	3						0	0	1.0
150 (750 S.U.)	T. 0.015	3	2	3	1	1	1				0	0	2.0
150 (750 S.U.)	S. 0.5	3	2	3	2	1					0	0	1.3
150 (750 S.U.)	D. 0.5	3	2	3	2	1					0	0	1.3
	T. 0.015	3	2	3	2	1					0	0	1.3
	S. 0.5	3	2	3	2	1					0	0	1.3
	D. 0.5	3	2	3	3						0	0	1.0
對 照				3	3						0	0	1.0

備考 T. : Tuberflavin S. : Sulfathiazole D. : Diphenylamine

Tuberflavin, Sulfathiazole, Diphenylamine の 併用群は Tuberflavin, Sulfathiazole にて 3 匹
みの対照群は凡そ 2 日以内に死亡し, No. 4 製 中 2 頭を救命し 67% 生存率を得た。

第 III 表 薬物 1 日量 0.03, 1.0mg 皮下注射

No. 4 製劑 1 日量 (T.U.)	薬 物 1 日量 (mg)	一與 日回 投數	投與 日數	試 獸 數	各日斃死マウス數						生 存 數	百 分 率	平存 均日 生數
					1	2	3	4	5	6~15			
150 (750 S.U.)		3	2	3	3						0	0	1.0
150 (750 T.U.)	T. 0.03	3	2	3	1	0	0	0	0	0	2	67	10.3
150 (750 S.U.)	S. 1.0	3	2	3	1	0	0	0	0	0	2	67	10.3
150 (750 S.U.)	D. 1.0	3	2	3	2	1					0	0	1.3
	T. 0.03	3	2	3	2	1					0	0	1.3
	S. 1.0	3	2	3	2	1					0	0	1.3
	D. 1.0	3	2	3	3						0	0	1.0
對 照				3	3						0	0	1.0

b) Tuberflavin, Trypaflavin, Sodium iodide
に関する実験 (第 IV 表)

以上の実験に於て Tuberflavin, Sulfathiazole
に依る併用効果が認められるが果して Acridine
は本剤でなければならぬか, Trypaflavin であつ
てはならないか, 本剤は試験管内での条件で

は共同効果を示さなかつたが, 今の条件では如何
であらうか, 又 Tuberflavin にのみ効力を認め
るとすれば沃度の作用でもなからうか斯やう
なことを知る爲に Trypaflavin 1 日量 0.03mg,
Sodium iodide 1 日量 1.0mg を皮下に注射して
比較考察した. Sodium iodide のみ投與の場合

第 IV 表 Tuberflavin, Trypaflavin, Sodiumiodide に関する実験

No. 4 製劑 1 日量 (T.U.)	薬 物 1 日量 (mg)	一與 日回 投數	投與 日數	試 獸 數	各日斃死マウス數						生 存 數	百 分 率	平存 均日 生數
					1	2	3	4	5	6~15			
150 (750 S.U.)		3	2	3	3						0	0	1.0
150 (750 S.U.)	T. 0.03	3	2	3	1	0	0	0	0	0	2	67	10.3
150 (750 S.U.)	Tr. 0.03	3	2	3	1	0	0	0	0	0	2	67	10.3
150 (750 S.U.)	I. 1.0	3	2	3	3						0	0	1.0
	T. 0.03	3	2	3	2	1					0	0	1.3
	Tr. 0.03	3	2	3	3						0	0	1.0
	I. 1.0	3	2	3	3						0	0	1.0
對 照				3	3						0	0	1.0

備考 T. : Tuberflavin
Tr. : Trypaflavin
I. : Sodium iodide

並に Sodium iodide と No. 4 製剤との併用群は孰れも1日以内に斃死したが, Tuberflavin, Trypaflavin の No. 4 製剤併用群は前回実験に於ける Sulfathiazole 併用試験と同様な成績を示し可なり優秀なる成績を示した。

〔III〕 同上試験に於て遂に生存せる「マウス」体内菌の消長 (第V表)

2日間の観察期間生存し、先斃死より免れたらと思はれた「マウス」を各実験中より1頭宛

第V表

2日間生存「マウス」体内菌の消長

No. 4 製剤 1日量 (T.U)	薬物 1日量 (mg)	心血	肝	脾	腎
300 (1500 S.U.)		+	+	+	++
250 (1250 S.U.)		+	++	++	++
200 (1000 S.U.)		+	+++	++	+++
150 (750 S.U.)	T. 0.03(皮注)	-	+	+	++
150 (750 S.U.)	Tr. 0.03(〃)	-	++	+	++
150 (750 S.U.)	S. 1.0(〃)	-	+++	++	+++

5日間生存「マウス」体内菌の消長

No. 4 製剤 1日量 (T.U)	薬物 1日量 (mg)	心血	肝	脾	腎
300 (1500 S.U.)		-	-	-	-
250 (1250 S.U.)		-	-	-	-
200 (1000 S.U.)		-	-	-	+
150 (750 S.U.)	T. 0.03(皮注)	-	-	-	-
150 (750 S.U.)	Tr. 0.03(〃)	-	-	-	+
150 (750 S.U.)	S. 1.0(〃)	-	-	-	-

〔註〕 菌集落 (一) : なし (++) : 10~20個
(+) : 數個 (+++): 20~50個

15日間生存「マウス」体内菌の消長

No. 4 製剤 1日量 (T.U)	薬物 1日量 (mg)	心血	肝	脾	腎
300 (1500 S.U.)		-	-	-	-
250 (1250 S.U.)		-	-	-	-
200 (1000 S.T.)		-	-	-	-
150 (750 S.U.)	T. 0.03(皮注)	-	-	-	-
150 (750 S.U.)	Tr. 0.03(〃)	-	-	-	-
150 (750 S.U.)	S. 1.0(〃)	-	-	-	-

屠殺、解剖し、体内臓器に於ける菌を培養した処、猶菌の存在を証明したが、No. 4 製剤1日量 300 T.U. と Tuberflavin, Trypaflavin 各々 0.03mg とを夫々2日間併用せる群に於ては Sulfathiazole 1.0mg 併用した群及び No. 4 製剤単独使用群に比し菌数は明かに少なかつた。次に5日間の観察後解剖、培養した処では No. 4 製剤 150 T.U. と Trypaflavin 0.03mg とを併用せる群に於て独り腎中に甚だ僅少の菌を証明したるのみで、Tuberflavin, Sulfathiazole と No. 4 製剤との併用群に於ては全く菌を証明しなかつた。

又15日間の観察後、解剖、培養した処 No. 4 製剤と Tuberflavin, Trypaflavin, Sulfathiazole との併用群に於ては孰れも全臓器に菌を証明しなかつた。囊に岡部は Penicillin と二三薬物との同じく葡萄状球菌に対する併用効果に就て報告したが、その際感染後10日を経ても猶若干菌の存在を認めてゐる。本実験に於て感染5日後全臓器が無菌であつたと云ふことは No. 4 製剤の強力を語るものとなさなければならぬ。

総

括

以上成績に於て黄色葡萄状球菌に対する No. 4 製剤の効果及びその作用の薬物に依る増強現象は、動物実験的にも確認せられるに至つた。此際共同効果を發揮し得る薬物は曩に試験管内実験に於て挙げられた三薬物中 Tuberflavin,

Sulfathiazole のみとなり Diphenylamine には実効が伴はない。而うして試験管内実験では再三試みたが、Trypaflavin に現はれずして Tuberflavin にのみ共同効果の成績が示されたのであつたが、動物実験的には Trypaflavin の作用も亦之

を否定し得ないことが立証された。之等の療法に依つて生体内菌の存在も亦比較的迅速に滅却せられることは毒性が若干強いだけ効力も亦頗

る大で完全に殺菌療法的であることを語つてゐる。

結 論

著者は本篇に於て黄色葡萄状球菌感染試獣が No. 4 製剤に依りても治癒せしめられること及び本製剤の効果が Tuberflavin, Trypaflavin, Sulfathiazole に依つて増強せられることを動物実験的に確認し得た。又感染獣は本剤使用に依

つてその体内病原体を比較的短時日に消滅せしめ得られる事実を指摘する。

拙筆するに當り終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜はり、且御校閲を忝うした恩師日置教授に深甚なる謝意を表す。

文 献

1) 丹保：十全醫學會雜誌，印刷中。

2) 岡部：金大結研年報，8，I，1949，印刷中。

3) 松井：十全醫學會雜誌，前掲。