

# 黄疽出血性「スピロヘータ」病の 實驗治療學的研究

## 第 4 報

### 諸抗生物質の黄疽出血性「スピロヘータ」に及ぼす作用

金澤醫科大學日置内科教室(主任日置教授)

北 村 豊 三 郎

*Toyosaburo Kitamura*

野 村 稔

*Minoru Nomura*

(昭和24年2月26日受附)

#### 緒 言

現代治療醫學に一大革新を齎した抗生物質の研究は古く Pasteur の時代に開始されてゐる。即ち一空中微生物たる *Pseudomonas pyocyanea* の培養液が脾脱疽菌の發育を阻止する事を知り、この抗菌現象が感染の治療に應用され得可き事を暗示した。爾來微生物の代謝産物に關する研究が漸次盛んになり、遂に Fleming (1929) によつて *Penicillium notatum* より Penicillin が發見された。Penicillin 療法は各種感染性疾患に對し現在既にその大綱が成り、人類に偉大なる貢獻を成してゐる。

Penicillin は主として球菌性疾患に卓効を呈するが、之に對し Gram 陰性桿菌に作用するものとして Waksman (1941) 等が分離した *Aktinomyces griseus* の產生する Streptomycin がある。本劑が特に結核菌に對し嘗て見ない強力なる抗菌力を示し、結核治療劑として世界注視的である事は餘りにも有名である。

然らば之等著名抗菌製劑の「スピロヘータ」諸疾患に對する効果は如何となすに、先づ Penicillin に關しては、Makoney<sup>1)</sup> (1943) 等が初期

梅毒患者に本劑を用ひ好結果を収めてより、俄然一般「スピロヘータ」性疾患に對する研究の好目標をなすに至つた。而して今問題の中心を吾黄疽出血性「スピロヘータ」病に移して暫らく文獻を涉獵するに、即ち Abraham<sup>2)</sup> (1941) は試験管内實驗に於て黄疽出血性「スピロヘータ」は葡萄狀球菌に比して 300 倍の抵抗性を有すると記載し、次で Alston and Broom<sup>3)</sup> (1944), Heilman and Herrell<sup>4)</sup> (1944), Augustine<sup>5)</sup> (1944) は本病海狸に對し Penicillin 療法を行ひ、何れも早期に用ひれば有効であると述べ、Larson<sup>6)</sup> (1945) は血清療法と比較し Penicillin 療法が同様な効果がある事を認め、Bulmer<sup>7)</sup> (1945) は本病患者に極めて早期に 4 日間連続 125 萬單位を用ひ之を治療せしめ得た事を報じた。又我國に於ては北岡<sup>8)</sup> (1945), 久保<sup>9)</sup> (1948) 等の試験管内實驗を行ひたるあり、何れも抑制作用を肯定し、更に生體內に於ても有効であると記載したものがあつたが、その詳細なる實驗報告には未だ接し得ない。

次に Streptomycin に關しては最近 Heilmann

<sup>10</sup> (1945) が本病海狸に Streptomycin 療法を行ひ、著明なる防禦作用を有するも Penicillin より弱く、本劑は Penicillin 療法の補助劑として用ふべしと述べたものが見出され、茲に黄疽出血性「スピロヘータ」病に對する抗生物質療法としては今日 Penicillin が最も有望視されてゐるが、今之等の報告を凡て信ずるにしても、本病の凡ゆる時期に之を用ひて有効であると云ふ譯でもなく、猶本疾患の治療には解決さるべき多くのものを有してゐると云ふより外なきが如くである。

茲に於て著者等は特に黄疽出血性「スピロヘータ」に對し、著者等の教室に於て蒐集し得たる Penicillium, Aspergillus, Actinomyces に屬する多數株中抗菌性を發揮し得る物質の探求に乗出し、得たる結果に就てその概略を報告せんとするものである。

今著者等の教室に於て蒐集し得た Penicillium 屬は囊に川口<sup>11)</sup>の報告せるが如く 117 株に上る。その中結核菌、葡萄狀球菌を目標とし抗菌性物質を産生すと目されたるもの 2 株、Aspergillus 屬は倉金<sup>12)</sup>の報じたやうに 40 株に上つたが、抗菌性物質産生は結核菌、大腸菌を對象として 1 株に限られ、Actinomyces は寺内、坂戸、松谷<sup>13)</sup>の報告に於て見らるゝやうに 72 株に及んだが、その中有効株は 6 株を指折り數えるに過ぎなかつたとは云へ、兎角之等「カビ」の種類はその培地の如何によつて或は抗菌性物質を産生する事の多寡あるべきに鑑みて、斯る一様の培養法によつて或株の抗菌性物質産生の有無を決定する事は早きに過ぐるものがあるであらう。又獨り葡萄狀球菌乃至大腸菌のみを一應の對象として抗菌物質の産生如何を論斷するも亦過誤を冒す原因とも成り得べき事は豫め承知しなければならぬ。(即ち以上成績の如きは之を特定の株が、記された培地の使用に於て抗菌物質を産生しなかつたと解すべきである。)そこで本研究に於て著者等は獨り上記の如くして抗菌性

物質産生を認めしめたる株に就てのみならず、然らざるものに対してもその幾つかを拾つて特に本「スピロヘータ」に對し培養濾液の抗菌性を呈する事なきやを検した。併し大體に於て以下實驗成績に示されるやうに葡萄狀球菌なり、大腸菌なりに對し抗菌性を示さなかつた株は本「スピロヘータ」に對しても殆ど凡て有効性を示さなかつたので、未だ本「スピロヘータ」に對して檢索を行はなかつた爾餘の株に於ても、たとい逐一檢査を施行しても陽性成績を得る可能性は甚だ寡つたであらうと思はれる。結局多少共有効性の認められたものは可檢範圍に於て、培養濾液では Actinomyces griseolus (No. 21) の夫が見出されたのみで、他は漸く精製物質に於て、即ち Penicillin, Citrinin, 及び Kojic acid に於て之を認めたに止まつた。

蓋し上記文獻にも存するが如く Penicillin に對して本「スピロヘータ」が葡萄狀球菌に於けるよりも 300 倍近くの抵抗をなすと云ふのでは被檢 Penicillin 産生株 Penicillium notatum No. 21 培養濾液に於て本「スピロヘータ」に對する抗菌性を證し能はざりしは當然の事で、Kojic acid に於ても倉金の報ざるが如く、本物質は寧ろ人型結核菌に對し最も有効性を示すもので夫とても餘り強力なものではないので濾液を用ひて陽性成績を得る事は難く精製せられたる Kojic acid そのものに於て始めて若干の本「スピロヘータ」に對する抗菌性を認めしめたものである。斯くて上記の如く Actinomyces griseolus No. 21 濾液に於て 160 倍有効と云ふ價を得たるは寧ろ頗る珍重すべき數字であるとせねばならぬ。

猶最近に至つて戰爭中米國に於て Morton<sup>14)</sup>が始めて Kojic acid の抗菌性を論じ、本「スピロヘータ」に對し 10,000 倍の發育阻止力を有すると記載したとの事を知つたが、之は吾々の研究成果によれば何かの間違でなからうかと思はれる。

## 實 験

### A) Penicillium 屬に關するもの

1) 供試菌株: 供試菌株は當教室に於て分離保存せられた *P. yesoensum* Hanzawa 1 株, *P. roseocinnabarium* 1 株, *P. jantho-citrium* Biourge 2 株, *P. waksmani* Zaleski 1 株, *P. fellutanum* Biourge 2 株, *P. chrysogenum* 2 株, *P. chlorophaeum* Biourge 3 株, *P. notatum* Westling 6 株, *P. meleagrinum* Biourge 2 株, *P. Biourge* 1 株, *P. lanosum* Zaleski 6 株, *P. commune* Thom 3 株, *P. fusco-glaucum* 3 株, *P. Janezewskii* Zaleski 1 株合計43株であつた。猶 *P. chlorophaeum* Biourge (No. 84) に就てはその抽出物質 Citrinin, 又 *P. notatum* Westling に就てはその精製物質たる Penicillin をも試験に供した。

#### 2) 培養方法:

以上被検株を何れも 2% 葡萄糖「ブイヨン」(pH=7.0) に 23°C~25°C 2 週間培養し, その濾液を原液として實驗に供した。

#### 3) 實驗方法:

第1報に同様なも, 供試培養濾液を多量に「コルトフ」培地に加へる事は培地に變化を來し「スピロヘータ」の運動に影響する事あるを慮り, 培養濾液 0.2cc を培地 1.8cc 中に加へて10倍稀釋より倍々稀釋を行つた。

Citrinin は (1/10N.) NaOH を以て 100 倍溶液を作り, 又 Penicillin は蒸留水を以て330 倍溶液となし通

法の如く倍々稀釋をし, 37°C の孵卵器中に納め, 24 時間後「スピロヘータ」の運動を暗視野装置の下に觀察した。

### 實 験 成 績

第1表に示した如く, 著者等は Penicillium 屬43株の培養濾液並に抽出精製物質 (Citrinin, Penicillin) 2 種に就き, 本病「スピロヘータ」に對する試験管内實驗を行つた處, Penicillium 屬43株の培養濾液に於ては有効株を見出し得なかつた。然し乍ら No. 84 より抽出物質たる Citrinin は 2,000 倍に於て有効であり, Penicillin (Na 鹽本邦製) は中には最高 3,300 倍にて完全に「スピロヘータ」の運動を停止した場合もあつたが, 多く 300 倍前後の力價を示した。無論供試 Penicillin は何れも葡萄狀球菌(寺島株)に對し 120 萬倍の抗菌價を呈し檢定には通るものであつた。

### B) Aspergillus 屬に關するもの

1) 供試菌株: 供試菌株は當教室に於て分離保存せる *A. sydowi* 1 株, *A. niger* 11 株, *A. fumigatus* 12 株, *A. oryzae* 2 株, *A. ochraceus* 2 株, *A. nidulans* 2 株, *A. clavatus* 1 株, *A. glaucus* 2 株, *A. flavus* 3 株合計36株に關した。

#### 2) 培養方法:

第 1 表 Penicillium 屬の實驗成績

菌 株 名	菌 株 番 號	結 核 菌	葡萄狀球菌	黃疸出血性スピロヘータ
<b>Monovorticillata</b> Manovorticillata stricta Sclerotigena <i>P. yesoensum</i> Hanzawa	No. 120.	—	—	—
Floccosa <i>P. roseo-cinnabarium</i>	No. 72	—	—	—
Velutina <i>P. jantho-citrium</i> Biourge	No. 5, 136.	—	—	—
Monovorticillata ramigena <i>P. waksmani</i> Zaleski	No. 144.	—	—	—
<b>Asymmetrica</b> Velutina Velutina divaricata <i>P. fellutanum</i> Biourge	No. 101, 133.	—	—	—
Radiata ( <i>P. chrysogenum</i> series) <i>P. chrysogenum</i>	No. 9, 27.	—	—	—

<u>P. chlorophaeum Biourge</u>	No. 84	1:20	1:80	—
	No. 105, 123	—	—	—
<u>P. notatum Westling</u>	No. 21.	—	1:160	—
	No. 26, 51, 52, 70, 92, 127.	—	—	—
<u>P. meleagrinum Biourge</u>	No. 39, 128.	—	—	—
Velutina restricta <u>P. Biourge</u>	No. 4'.	—	—	—
Lanata typica <u>P. lanosum Westling</u>	No. 18, 47, 48, 60, 66, 131, 142, 146,	—	—	—
<u>P. Raciborskii Zaleski</u>	No. 10, 14, 15, 65, 148, 149.	—	—	—
<u>P. commune Thom</u>	No. 1.	1:20	1:80	—
	No. 8, 126.	—	—	—
<u>P. fusco-glaucum</u>	No. 4, 54, 139.	—	—	—
Lanata divaricata <u>P. Jancezewskii Zaleski</u>	No. 143.	—	—	—
P. chlorophaeum Biourge (No. 84) の精製物質 (Citricin)		1:32.000		1:2.000
Penicillin (明治)			1:1220.000	1:3.300

以上36株何れも次の Czapek 改變培地に 25°C 14日間培養した。

Czapek 改變培地

葡 萄 糖	40.0g	} 蒸溜水で 1立とす
硝 酸 カ リ	2.0g	
磷 酸 ソ ー ダ	1.0g	
鹽 化 カ リ	1.0g	
硫酸マゲネシウム	0.5g	
硫酸第一鐵	0.01g	

次で培養液を中性となしたる後 Berkefeld N. 或は Chamberland L<sub>3</sub> を用ひて吸引濾過, 實驗に供した。

3) 實驗方法:

前述に同じ。

### 實 驗 成 績

第2表に示した如く, 著者等は Aspergillus 屬 36 株の培養濾液並に No. 34 の精製物質 (Kojic acid) に就き, 本病「スピロヘータ」に對する試験管内實驗を行つた處, Aspergillus 屬 36 株の培養濾液に於て有効株を見出し得ず, 僅かに No. 34 よりの抽出物質 Kojic acid が 1.000 倍に於て「スピロヘータ」の運動を完全に停止す

る事を見た。

C) 放線菌に關するもの

1) 供試菌株:

供試菌株は Actinomyces (以下 A. と略す) griseoflavus 5 株, A. polensis 2 株, A. olivaceus 1 株, A. microflavus 2 株, A. alboflavus 1 株, Chromogenic type 8 株, A. viridochromogenes 6 株, A. bobili 1 株, A. griseolus 2 株, その他 21 株計 49 株であつた。何れも本教室にて分離保存せる處のものである。

2) 培養方法:

上記菌株を 3~5% 粗製「マルトローゼ」加「ブイヨン」に 25°C 14日間培養し, その培養濾液を試験に供した。但し No. 21 株に於ては特に Czapek 培地をも用ひた。

3) 實驗方法:

前述に同じ。

### 實 驗 成 績

第3表に示した如く, 放線菌 49 株の培養濾液に就て, 本病「スピロヘータ」に對する試験管内實驗を行つた處, 唯 1 株 (No. 21) に於て 160 倍

第2表 Aspergillus 属の實驗成績

菌 株 名	菌 株 番 號	結 核 菌	大 腸 菌	黄疸出血性スピロヘータ
<i>Aspergillus Sydowi</i>	No. 1.	—	—	—
<i>Aspergillus niger</i>	No. 2, 4, 5, 6, 8, 9, 12, 14, 15, 31, 39.	—	—	—
<i>Aspergillus fumigatus</i>	No. 7, 11, 13, 16, 19, 20, 24, 26, 32, 33, 38, 40.	—	—	—
<i>Aspergillus oryzae</i>	No. 3, 8.	—	—	—
<i>Aspergillus ochraceus</i>	No. 10, 36.	—	—	—
<i>Aspergillus nidulans</i>	No. 17, 22.	—	—	—
<i>Aspergillus clavatus</i>	No. 18.	—	—	—
<i>Aspergillus glaucus</i>	No. 23, 24.	—	—	—
<i>Aspergillus flavus</i>	No. 29, 35.	—	—	—
	No. 34.	1:80	1:10	—
<i>Aspergillus flavus</i> (No. 34.) よりの抽出物質 (Kojic acid)		1:16.000	1:800	1:1.000

で「スピロヘータ」の運動を完全に停止せしめた。

備考: 本菌株は3~5%粗製「マルトゼ」加「ブイヨン」では抗菌價生産が甚だ微弱で, Czapek 培地により

始めてこの抗菌價を得る事が見出された。詳細に關して後日報告の機會を持つ豫定である。

本菌株は *Actinomyces griseolus* に屬し著者等が之迄に集め得た菌株培養濾液中唯一の有効株である。

第3表 放線菌の實驗成績

菌 株 名	菌 株 番 號	葡萄狀球菌 (寺島株)	大 腸 菌	黄疸出血性スピロヘータ
No. soluble pigment formed. Proteolytic action strong in gelatin <i>Actinomyces griseoflavus</i>	No. 4.	1:2560	1:80	—
	No. 5, 7, 14, 25.	—	—	—
<i>Actinomyces polensis</i>	No. 29, 35.	—	—	—
<i>Actinomyces olivaceus</i>	No. 12	—	—	—
<i>Actinomyces microflavus</i>	No. 43	1:800	1:20	—
	No. 24	—	—	—
Proteolytic action weak in gelatin weak (after 2 weeks)	No. 15, 32, 36, 40, 41, 50, 54, 58.	—	—	—
very weak (after 3 weeks) ( <i>Actinomyces alboflavus</i> )	No. 16	1:2560	1:10	—
	No. 9, 13, 52, 53, K. 5.	—	—	—
Not determined	No. 11, 20, 22, 28, 33, 37, K. 8, 9.	—	—	—
Soluble pigment formed in all media containing organic substances. chromogenic type	No. 1, 2, 3, 10, 17, 34, 51, 55.	—	—	—

<i>Actinomyces viridochromogenes</i>	K. 10.	—	1:160	—
	No. 6, 19, 26, 42, K. 11	—	—	—
Soluble pigment on organic media faint brown, golden yellow or blue, pigment brown. <i>Actinomyces bobili</i>	No. 8	—	—	—
<i>Actinomyces griseolus</i>	No. 18.	1:320	1:10	—
	No. 21	1:160	1:40	1:160

### 結 論

著者等は黄疽出血性「スピロヘータ」に對し、*Penicillium* 屬43株、*Aspergillus* 屬36株、放線菌49株の培養濾液並に抽出精製物質 (Citrinin, Kojic acid, Penicillin) 3種の試験管内に於て之に及ぼす作用を検した處、次の如き結論を得た。

- 1) 被檢菌株培養濾液中、*Actinomyces griseolus* に屬する1株の有効株を見出した。
- 2) 精製物質たる Citrinin, Kojic acid, 並に

*Penicillin* は共に多いか少ないか有効であつて、その中で *Penicillin* は最も高い抗菌價を示した。

3) 併し精製 *Penicillin* でも最も高力價のもので、3,300倍(稀釋法に依る)、多くは300倍前後で、培養濾液で160倍の有効力を示した前記放線菌株抗生物質は今後仔細に検討されなければならぬ。

擱筆に當り、御指導と御校閱を賜つた恩師日置教授に深謝す。

### 文

- 1) Makoney: Amer. J. Syph., 27, 525, 1943.
- 2) Abraham: Lancet, 2, 177, 1941.
- 3) Alston and Broom: Brit. med. J., 2, 718, 1944.
- 4) Heilman and Herrell: Mayo. Clin., 19, 89, 1944.
- 5) Augustine: New England J. Med., 231, 358, 1944.
- 6) Larson: Pub. Health Rep., 60, 319, 1945.
- 7) Bulmer: Penicillin and its practical appli-

### 獻

- cation (Fleming) より引用。 8) 北岡: 日本臨床, 3, 238, 1945. 9) 久保: 日新醫學, 35, 108, 1948. 10) Heilmann: Amer. J. med. Sci., 206, 642, 1943. 11) 川口, 安江, 徳野: 金結核研年報, 6, 1, 1947. 12) 倉金: 金結核研年報, 7, 79, 1948. 13) 寺内, 坂戸, 松谷: 金結核研年報, 6, 85, 1947. 14) Morton: J. Bakt., 50, 579, 1945.