

腸内細菌ニ對スル Sulfonamid 劑ノ効果試験

駒込 B 菌ニ對スル Sulfapyridin ノ試験管内作用ニ就テ

金澤醫科大學小兒科學教室(泉教授指導)

醫學士 伊藤隆信

Takanobu Ito

(昭和19年9月30日受附)

本研究ハ昭和18年度文部省科學研究費ノ補助ヲ仰ゲリ、記シテ以テ謝意ヲ表ス。

目 次

第1章 緒言	第3節 Sulfapyridin 「ブイオン」ノ PH ノ影響ニ就テ。
第2章 文獻	第4節 培養基種類ニヨル殺菌作用ノ差異
第3章 實驗方法並ニ成績	第5節 培養温度ノ影響
第1節 Sulfapyridin 濃度ト菌浮游液濃度トノ關係。	第4章 總括及ビ考按
第2節 Sulfapyridin ノ發育阻止作用ノ時間的推移。	第5章 結論

第1章 緒 言

疫癘様症狀ニ對スル治療法ノ確立ハ小兒科領域ニ於テ最も重要且ツ緊急ヲ要スル問題ノ一ニシテ、之ガ解決ニ完璧ヲ期センガ爲メ、當教室ニ於テハ既ニ十數年來、本症發生機轉ノ本態ニ關シ各方面ヨリ研究セラレ、今ヤ本症狀ハ主トシテ腸管内ニ感染ヲ來セル各種細菌ノ増生ヲ基調トシテ、之等細菌ニヨリ產生セラレタル有毒「アミン」就中「ヒスタミン」或ハ「ヒスタミン」様物質ノ中毒ニヨリテ惹起セラル、モノナラントノ結論ニ到達シツ、アリ。從ツテ之ガ治療方針トシテハ、「ヒスタミン」中毒ニ對スル解毒劑又ハ拮抗性藥劑ノ發見ト共ニ、他方有毒「アミン」產生源タル病原菌ノ迅速ナル撲滅或ハ發育阻止ノ方策ヲ樹立シ得レバ治療ノ目的ハ充分ニ達シ

得ラル、理ナリトス。

然ルニ近時各種「ズルフオンアミド」劑ハ其ノ應用範圍漸ク擴マリ、球菌類ハ勿論各種桿菌感染ニ對シテモ亦治療的効果アリトセラル、ニ至レリ。就中昭和16年以來我國ニ於テ赤痢又ハ大腸炎、小兒下痢症等ニ卓効ヲ奏スルコト確認セラレ、之ニ關スル臨牀的報告相踵ゲリ。殊ニ血膿様粘液便ノ急速ナル恢復、下痢回数ノ減少著明ナルモノアリトセラル。余等教室ノ成績モ大略之ニ一致スルヲ見ル。然レドモ其ノ奏効機序ニ就テハ未ダ悉ク闡明セラレタリトハ云フヲ得ザルモノアリ。其ノ主要ナル作用ハ殺菌乃至ハ細菌發育阻止ニアル可シトハ、諸家ノ相一致セル推論ナルガ如キモ、遺憾乍ラ其ノ實驗的檢索

ヲ行ヒシ者尠シ。茲ニ於テ余ハ「ズルフオンアミド」及ビ其ノ誘導體ノスカル腸内病原菌ニ對スル試験管内作用ヲ検討シ、聊カ得ル所アリタ

ルニヨリ報告シ、以テ諸賢ノ御教示ヲ仰ガントス。

第2章 文 獻

文獻ニ徵スルニ1935年 G. Domagk ガ「マウス」ノ溶連菌感染試験ニ多大ノ効果アリトシテ Prontosil (以下 Pr. ト略記ス)ノ卓効ヲ發表シ、同年佛國ノ Tréfoel 一派ハ Pr. ハ動物體內ニテ分解サレ、其ノ分解産物ノ一種ナル「ズルフニールアミド」ガ該化合物 治効ノ本態ナリト信ズトノ報告ヲ行ヘリ。茲ニ於テ此ノ新化學療法化合物ノ系統的研究ヘノ道拓カレ、其ノ臨牀的應用並ニ實驗的研究ハ恰モ燎原ノ火ノ如ク各方面ニ勃興シ全世界ヲ風靡スルニ至レリ。然ルニ之ガ作用機轉ノ本態タルヤ實ニ複雑多岐ヲ極ムルモノノ如ク、今尙ホ釋然タラズ、諸説紛々タリ。

其ノ主要ナル作用機序ヲ擧グレバ、(1)直接病原體ニ作用シテ所謂殺菌劑トシテノ役割ヲ演ズルモノナリヤ、(2)生體ノ自然防禦力ヲ助長スルモノナリヤ、(3)之等兩者ノ綜合作用ニヨルモノナリヤ、ノ3作用ナリトス。而シテ直接作用トシテハ、病原菌ヲ殺滅スルカ、又ハ其ノ増殖ノ阻止力、菌ノ抵抗力ヲ減弱セシムルカ、或ハ菌ノ毒力ヲ喪失セシムルモノナリヤ等種々ノ作用考ヘラル。

Domagk 及ビ Bürger ハ Pr. ハ溶連菌ニ對シ、試験管内作用ヲ有セズトシ、Mayer ハ Pr. ノ生體內作用ニ關シ、其ノ生體防禦力ノ刺戟助長及ビ「アゾ」化合物ノ病原體ニ對スル直接作用物質ヘノ變化ナル2種ノ相異ル作用機序ヲ考ヘタリ。Domagk ハ此ノ説ヲ容認シ而モ特ニ後者ニ贊同セリ。

「ズルフオンアミド」劑(以下「ズ」劑ト略記ス)ノ試験管内殺菌作用ニ關シ、Colebrook 及ビ共同研究者ハ後述ノ如ク接種菌量ノ多寡ヲ以テ極メテ重要ナル條件ト見做シ、適當ノ菌量ニ於テ發育阻止作用ヲ認め、Nitti, Long 及ビ其ノ共

働研究者等モ之ヲ承認セリ。

更ニ Rosenthal ハ藥劑ノ濃度ニヨリテハ肺炎双球菌ノ發育阻止乃至ハ殺菌作用ヲ確認シ、而モ同濃度ニテハ連鎖狀球菌ニ對シテハ該作用ヲ認めズトテ、菌ノ種類ニヨリ作用ヲ異ニスルモノナラントノ示唆ヲ與ヘタリ。Neter ハ脊髓液内腦膜炎菌ニ對シ試験管内ニテ殊ニ「ズ」劑ノ大量適用ニヨリ完全發育阻止ノ起ル事ヲ報ジ、Long 等ハウエルシー菌ニ對シ「ズ」劑ノ1萬倍濃度ニ於テ發育抑制作用ヲ認めタリ。

我國ニ於テモ同種ノ實驗報告尠カラズ。即チ齋藤氏ハ葡萄狀球菌並ニ大腸菌ニ對スル Therapol ノ殺菌作用ヲ檢シ何等作用ヲ認めズトナシ、松村氏ハ Pr. ノ連鎖狀球菌ニ對スル試験管内作用ヲ各種培地ニ於テ檢索セシモ何レモ發育阻止乃至殺菌作用ヲ證セザリキ。近藤氏ハ Pr. 及ビ Therapol ノ溶連菌、葡萄狀球菌並ニ大腸菌ニ對スル作用機序ニ就キ實驗シ、Pr. ハ之ヲ生體ニ應用シテ著効アルニ拘ラズ、試験管内ニテハ直接殺菌作用ハ證明セラレズ、之ニ反シ Therapol ハ試験管内ニ於テ明カニ菌ノ發育抑制作用ヲ發揮スル事實アルニ徵シ、複雑ナル構造式ヲ有スル Pr. ハ生體內ニ於テヨリ簡單ナル Therapol ト同一分子式ヲ有スル物質ニ分解セラレテ初メテ細菌ニ作用スルモノナラントセリ。土屋、福見氏等ハ Therapol 及ビ Disseptal ヲ用ヒ淋菌、肺炎双球菌、連鎖狀球菌ニ對シ殺菌乃至發育阻止作用ヲ認めルモ、葡萄狀球菌、志賀菌、鼠「チフス」菌、ゲルトネル菌ニ對シテハ何レモ作用ヲ認めズト。津田氏モ亦 Therapol ノ溶連菌、葡萄狀球菌、肺炎菌ニ對スル成績ヲ述ベ、藥劑ノ濃度ト菌量トノ關係ヲ詳細ニ檢索シ、殺菌作用ヲ確認セリ。又黃氏ハ腸球菌ニ對スル12種類ノ「ズ」劑ノ作用ニ就キ檢討シ、一基

及ビ四基「ズ」劑殊ニ後者ニ殺菌力強ク二基「ズ」劑並ニ Sulfapyridin (Trianon) ニ作用極メテ弱シトセリ。更ニ長谷川、小泉氏ハ Sulfapyridin (以下 Sp. ト略記ス) ノ肺炎菌ニ對スル發育阻止及ビ殺菌作用アルヲ述べ、殊ニ長谷川教授ハ昭和16年日本微生物學會總會ニ於テ『最近化學療法劑ノ作用機轉ニ關スル研究』ナル宿題講演ニ於テ肺炎菌ニ對スル Sp. ノ各種條件下ニ於ケル殺菌作用ニ就キ詳細ナル報告ヲ試ミラレタリ。其他上井氏及ビ共働研究者ハ Sulfaguanidin ノ腸内病原菌ニ對スル殺菌作用ヲ認め、里村氏ハ黃色葡萄狀球菌ニ對シ「ズ」劑ガ培養生活組織影響下ニ於テ酸化セラレタル場合、又ハ適當ナル過酸化水素量ノ添加ニヨリ強力ナル發育抑制作用ヲ呈シ、「ペプトン」、「ビタミン」C 或ハ葡萄糖ノ如キ還元性物質添加ニヨリ作用ノ減弱ヲ認メタリ。又福田氏ハ赤痢菌叢ニ對スル「ズ」劑ノ試験管内作用ニ於テ Neo-Poleon, Therapol, Albasil 中第三者最モ殺菌作用強ク、Pr. 及ビ Aktisol ハ全ク作用ナシトセリ。

次ニ「ズ」劑ガ細菌ノ形態的變化ニ及ボス影響ニ就キテ Levaditi 及ビ Vaisman ハ「ズ」劑ノ直接作用ヲ重視シ、Rubiazol ハ連鎖狀球菌ノ莢膜形成ヲ阻害シ喰細胞作用ヲ容易ナラシメ、以テ治効作用ヲ發揮スルモノナラントシ、Domagk, Rosenthal, Adolph 及ビ Lockwood, Gay and Clark 並ニ Meyer 等モ培養基内、或ハ生体内何レニ於テモ「ズ」劑ト接觸セル連鎖狀球菌ニ形態的變化即チ連鎖ノ延長ト各個菌體ノ腫脹ヲ來セルヲ報ジ、Lookwood ノ如キハ連鎖内菌ノ融合及ビ連鎖ノ透明化ヲ認メタリト云フ。

細菌ノ產生スル有毒物質ニ對スル「ズ」劑ノ作用ニ就キテハ、毒物ノ中和又ハ產生抑制ニ有効ナリトノ報告モ亦尠カラズ。Boss ハ Pr. 含有培地内ニ於テ溶連菌ガ溶血素ノ生成能力ヲ消失スル事ヲ發見シ、Levaditi 及ビ Vaisman モ Pr. 及ビ Neo-Pr. 等ニヨリ溶連菌ノ白血球溶解素並ニ溶血素作用ノ阻害セラル、ヲ報ジ、又同時ニ「マウス」ノ生體實驗ニ於テ淋菌ノ菌体内毒素ノ中和サル、事ヲ證明セリ。Carpenter モ淋菌

ノ菌体内毒素ノ致死量ヲ投與セル「マウス」ヲ「ズ」劑處置ニヨリ救助シ得ル事ヲ報ジ、長谷川氏ハ Pr. ノ「マウス」前處置ニヨリ「ハブ」蛇毒ヲ不活性化スル事實ヲ認メタリ。

然ルニ他方連鎖狀球菌ノ毒素ハ一旦生成セラレタル時ハ最早之ニ對スル「ズ」劑ノ中和作用ハ皆無ナリト信ズル者アリ。Garrod, Meyer, Pawson 及ビ Rosenthal 等之ナリ。

以上要之「ズ」劑ノ細菌ニ對スル直接作用ノ主張ナル、根據ハ、主トシテ試験管内ニ於ケル菌發育阻止作用、或ハ培養基内又ハ試験動物体内ニ於ケル細菌ノ形態的變化、或ハ莢膜形成阻止、又ハ細菌毒素ノ減弱等ノ可能性ニ存スルモノノ如シ。

然レドモ細菌ニ對スル「ズ」劑ノ直接作用タルヤ、培養條件其他ノ實驗方法ノ相違ニヨリ成績ニ異同アリ。斯ノ如ク試験管内ニ於ケル實驗成績ガ時ニ不確實ナルニ對シ、生體實驗ニ於テ特ニ卓効ヲ呈スル事實アルニ徴シ、多クノ學者ハ本藥劑ニヨル生體自身ノ抗細菌力ノ增強ガ重要ナル役割ヲ演ズルモノナラントセリ。

即チ Welch 等ハ Brucella 菌ノ海狸感染試験ニ就キ「ズ」劑ヲ以テ處置セルモノト、然ラザルモノトノ間ニ「オブソニン」喰細胞係數ヲ測定セシニ、前者ニ於テハ總テ喰細胞作用ノ增強ヲ認め、「ズ」劑ガ生體ノ防禦機構ヲ刺戟スルモノナラントセリ。又 Buttle ハ本劑ヲ以テ肺炎菌感染ヨリ治療セル「マウス」ハ再感染ニ對シテ免疫性ヲ有シ、連鎖狀球菌ニ於ケル實驗ニ於テハ「マウス」ハ免疫性ヲ獲得セズト報ゼリ。Whitby ハ Sp. 治療ニヨリ肺炎菌感染ヨリ恢復セル「マウス」ハ其後何等ノ治療ヲ施ス事ナクとも同菌ノ再感染ニ對シ抵抗セリト云フ。更ニ Buttle 等ハ「マウス」ニ「チフス」菌ヲ接種シ、次デ「ズ」劑治療ヲ行ヒタル場合ニ就キ血清検査ヲ試ミ、時ニ凝集素ノ増生ヲ證明セリト。津田氏ハ葡萄狀球菌、連鎖狀球菌、肺炎菌ニ對スル Pr. Therapol, Adiplon ノ(特ニ連鎖狀球菌ニ對シ選擇的ナルモ) 試験管内喰菌促進作用ノ存在ト共ニ、生体内ニ於ケル「オブソニン」增強作用ヲ發揮ス

ル事ヲ確認シ、「ズ」劑ハ體內ニ於テ球菌ニ對シテ一定度ノ發育阻止乃至殺菌ノ作用ヲ發現スルト共ニ、他方細菌自體ニモ作用シテ喰菌サレ易クシ、且ツハ正常「オブソニン」ヲ增強セシムル作用アリトシ、本劑ノ治効作用ヲ斯カル3作用ノ協力ニヨル所大ナル可シト推論セリ。又松村氏ハ「チフス、ワクチン」並ニ牛血清ヲ以テ免疫セル家兎ニ Pr. ノ注射ヲ行フ時ハ生體內血液ノ凝集素並ニ沈降素ノ產生促進セラル、事ヲ確認セリ。

然ルニ Levaditi 等ハ Pr. 治療ニヨリ連鎖狀球菌性腹膜炎ヨリ恢復セル「マウス」ハ尙ホ新鮮「マウス」ト同様再感染ニヨリ斃死スト云ヒ、Nitti 等モ亦白鼠、家兎ニ於テ同様ノ成績ヲ擧ゲ、更ニ恢復血清ハ同系菌ノ凝集ヲ來サズト述べ。又 Seastone ハ海猿ニ於テモ陰性成績ヲ報ジ、Fischer ハ「ズ」劑適用家兎ノ血液「オブソニン」係數ニ於テ適用前ト適用後3~4時間トノ間ニ何等差異ヲ認めズト云フ。更ニ Feinstone ハ Sp. 治療ニヨリ肺炎菌(I, II型)感染ヨリ恢復セル「マウス」ノ大多數ハ極メテ微量ノ同菌再感染ニヨリ斃死スル事ヲ認メタリ。

次ニ「ズ」劑ガ生體ノ喰細胞作用ヲ刺戟スルヤ否ヤニ就キテ Bliso 及ビ Long ハ BenzoI 注射ニヨリテ「マウス」ニ所謂實驗ノ顆粒性白血球減少症ヲ惹起セシメ置キ、之ニ溶連菌ヲ接種シ、序イデ「ズ」劑ノ強力治療ヲ施行セルモ「マウス」ハ悉ク斃死セリ。此ノ事實ハ多核白血球ノ助力ナクシテハ「ズ」療法ノ奏効期待シ難キ事ヲ示スモノナラントセリ。Levaditi 及ビ Vaisman ハ Rubiazol ヲ以テセル治療及ビ非治療「マウス」ノ腹腔内滲出液ヲ檢索シ、治療群ノ腹腔液塗抹標本ニハ連鎖狀球菌ヲ缺如シ、多數ノ多核白血球、單核細胞及ビ鹽基嗜好性細胞ノ存在ヲ認メシガ、對照ノ夫レニ於テハ多數ノ莢膜内菌ト大部分溶解セル白血球ヲ認メタリ。Finkelstein, Birkeland ハ海猿血液ヨリ分離セル白血球ヲ用ヒテ Pr. 處置ニヨル影響ヲ檢シ、連鎖狀球菌ニ對シテ明カニ白血球ノ喰菌度ノ增強ヲ認メタリ。

本邦ニ於テモ前述ノ津田氏ノ報告ノ外ニ、松村氏ハ「マウス」ノ脾臟別出ニヨリテ溶連菌感染ニ對スル Pr. ノ治効ノ減退ニ注目シ、且ツ墨汁填塞操作ニヨリテモ同様感染防禦力ノ低下ヲ認め、Pr. ノ治効機轉ニハ網狀織内被細胞系統ノ機能ニ關係密ナルモノアリト論ゼリ。

然ルニ斯カル事實ヲ否定スル學者モ亦尠カラズ。Mellon, Gross, Cooper ハ毒性強キ連鎖狀球菌ヲ皮内注射セル海猿ノ皮膚變化ヲ檢鏡シタルニ、「ズ」劑處置群ニ於ケル該部ノ喰菌現象ハ對照群ニ比シ強度ナラザル事ヲ證シ、更ニ Cooper 及ビ Gross ハ肺炎菌 III 型感染白鼠ノ白血球變化ニハ何等「ズ」劑ノ影響ヲ認めズ、而モ輕度ノ喰菌現象ハ治療ノ有無ヲ問ハズ何レニモ認メタリト報ゼリ。其他 Weinberg 等ノ數百ノ「マウス」ヲ以テセル實驗ニ於テモ、「ズ」劑ニヨル白血球ノ喰菌増加並ニ肝、脾等網狀織細胞ノ喰菌現象ヲ認めザリキ。尙ホ Hammerschmidt 等ノ興味アル實驗ニ於テ、即チ「マウス」ニ連鎖狀球菌ト寒天トヲ同時ニ注射シ體內寒天培養ヲ行ヒシガ、白血球ハ強度ニ浸潤シテ壁ヲ形成シテ細菌ノ侵入ヲ防止セルヲ觀察セシモ、其際喰菌現象ハ認めザリキト。

敘上ノ如ク、「ズ」劑適用ニヨリテ生體ノ抗體形成ヲ促進シ得ルヤ否ヤハ尙ホ疑問ノ餘地アリ、且ツ其ノ喰菌能力ニ對スル增強作用モ亦直チニ肯定シ得ザルガ如シ。他方試験管内、或ハ生體內ニ於ケル「ズ」劑ノ細菌ニ對スル直接作用ハ幾多先人ノ認ムル處ニシテ、大多數ノ研究者ハ「ズ」劑ノ作用ハ先ヅ菌發育阻止ノ形式ヲトリ、之ガ菌ノ侵入ヲ障碍シ、以テ生體防衛機轉ヲシテ其ノ全能力ヲ發揮セシムルモノナラントノ見解ナリ。即チ Domagk ハ連鎖狀球菌ハ必シモ該藥物ニヨリ殺菌サレザルモ、著シク退化セシメラレ、白血球又ハ組織喰菌細胞ニヨリ遂ニ驅除セラル、事ノ可能ナル可キヲ説キ、Levaditi モ亦含硫黃「ベンゾール」化合物ハ生體ヲ介シテ細胞ニ作用スルモノナル可ク、此際生體ノ役割ハ藥物ヲ變化セシメ其ノ排泄ヲ調整シ、菌ノ正常増殖ヲ中絶セシメ、更ニハ菌ノ莢

膜形成ヲ阻止シ、且ツ喰菌裝備ニヨリ其ノ崩壊ヲ一時的又ハ永久的ニ保證スルニアリト記載セリ。長谷川教授モ「ズ」系物質ノ菌ニ對スル直接作用ニ重點ヲ置キ、藥劑ノ種々ノ濃度ノ關係ヨ

リ考ヘ、生體內ニ於テハ藥劑ノ到達ニヨリ菌ノ發育阻止セラレ、殺菌ハ二次的ニ生體ノ自然防禦力ノ果ス處ナラント結論セラレタリ。

第3章 實驗方法並ニ成績

第1節 Sp. 濃度ト菌浮游液

濃度トノ關係

余ハ本實驗ヲ施行スルニ當リ、先ヅ基本的ニ藥劑濃度ト菌量トノ關係ヲ明カニセント欲シ、次ノ如キ實驗ヲ行ヘリ。

實驗方法

1) Sp. 「ブイオン」製法： Sp. ハ豫メ「ブイオン」ヲ以テ2%トナル如ク注射液ヲ稀釋、PH ヲ7.5ニ訂正シ置キ。之ヲ原液トシ、更ニ之ヲ遞減的ニ稀釋セルモノ各1ccヲ小試験管ニ分注セリ。

2) 菌浮游液： 供試菌ハ當大學細菌學教室ヨリ分與セラレタル駒込 BIII 菌ニシテ、實驗ノ都度、普通寒天斜面培養24時間後ニ其ノ一金耳(約2mg)ヲ1ccノ滅菌生理的食鹽水ニ浮游セシメ、之ヲ原菌液トシ、更ニ所要ノ倍数稀釋菌液ヲ製ル。

3) 成績判定： 絨上ノ如クシテ製レル菌液各一滴

(1/2注射針ヨリ1滴、即チ略0.01cc)ヲ所要培地ニ滴下シ、37°C. 24時間培養シタル後各試験管ヨリ一金耳ヲ普通寒天(PH. 7.2)ニ移植培養シ、48時間後ニ發生セル菌聚落數ヲ讀ミ成績ヲ判定セリ。

實驗成績

第1表ニ示セルガ如ク、Sp. ノ殺菌作用ハ菌液濃度ニヨリ略一定ノ差異ヲ示セリ。即チ菌液10倍稀釋ニテハ2% Sp. 「ブイオン」ニテ殺菌セラレ、又20~50倍稀釋菌液ニテハ5倍 Sp. 濃度、50倍稀釋菌液ニ於テハ40倍 Sp. 濃度、1000倍稀釋菌液ニテハ80倍 Sp. 稀釋濃度ヲ以テ夫々殺菌作用ノ限界濃度ナリトス。

尙ホ PH. 7.5 ノ Sp. 「ブイオン」ハ2%ニ於テ相當ノ Sp. 沈澱ヲ生ジ、其ノ約20倍稀釋液即チ0.1%ニ於テ漸ク沈澱ヲ見ザルニ至ル。故ニ爾後 Sp. 「ブイオン」ハ0.1%ヲ以テ原液トセリ。

第1表 Sp. 濃度ト菌液濃度トノ關係

試験管番號	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
SP. 「ブイオン」 稀釋倍數	一	五	一〇	二〇	五〇	一〇〇	二〇〇	三〇〇	五〇〇	一〇〇〇	對照
菌液稀釋倍數	5	10	20	50	100	500	1000				
	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	-	-	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	-	-	-	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	-	-	-	-	-	±	±	±	+	++	+++
	-	-	-	-	-	-	±	±	+	++	+++

註： SP. 「ブイオン」原液ハ2% SP. 「ブイオン」菌原液ハ菌一金耳ヲ生理的食鹽水1cc.ニ浮游セシメタルモノ。

符號說明： - 菌聚落無キモノ(殺菌ヲ意味ス)

± 菌聚落 50以下
+ // 50~100
++ // 100~300
+++ // 300~1000
+++ // 1000以上

又試ミ = 100, 500, 1000 倍稀釋菌液ノ各1滴ヲ普通寒天 = 平板培養ヲ行ヒシニ, 其ノ菌聚落數ハ大體 100倍 = 於テ2500個, 500倍 = テ 400 ~ 500個, 1000倍稀釋菌液 = 於テハ 180 ~ 230 個ヲ算セリ. 即チ爾後ノ實驗 = ハ原菌液ノ 500 倍稀釋ヲ以テ供試菌液トシテ實驗ヲ行フモノトセリ.

**第2節 Sp. ノ發育阻止作用
ノ時間的推移**

先ヅ Sp. ノ殺菌又ハ發育阻止作用ガ時間的 = 如何ナル經過ヲ示スヤヲ知ラント欲シ, 菌接種後 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 時間毎ノ 8 回 = 於

テ其ノ都度各培養ノ一白金耳ヲ寒天平板培養 = 移シ發育阻止作用ノ程度ヲ比較觀察シ, 第2表 = 示セル如キ成績ヲ得タリ.

即チ培養後最初ノ 6 時間迄ハ或ル速度ヲ以テ菌ノ増殖認メラル. 而シテ 9 時間後ハ 6 時間後ノ成績ト大差ナク, 12 時間後 = ハ菌ノ發育阻止作用漸ク認メラレ, 更 = 24 時間後 = ハ 0.1% Sp. 「ブイオン」ノ $\frac{1}{2}$ 濃度, 48 時間後 = ハ其ノ $\frac{1}{16}$ 濃度 = テ夫々殺菌作用ヲ發現シ來リ, 更 = 72 時間後 = 於テモ略同程度ノ作用存續シアリ. 依ツテ爾後ノ試験管内實驗ハ 48 時間培養ヲ以テ行フ事トセリ.

第 2 表 Sp. ノ殺菌作用ノ時間的推移

試験管番號	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
SP. 「ブイオン」 稀釋倍數											
作用時間	一	二	四	八	一六	三二	六四	一二八	二五六	五一二	對照
1 時間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9 "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
12 "	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
24 "	-	-	±	±	±	+	++	++	++	++	++
48 "	-	-	-	-	-	+	++	++	++	++	++
72 "	-	-	-	-	-	±	++	++	++	++	++

註 : SP. 「ブイオン」原液ハ 0.1% SP. 「ブイオン」
表中ノ各符號ハ第 1 表 = 同ジ.

**第3節 Sp. 「ブイオン」ノ PH.
ノ影響 = 就テ**

赤痢菌簇ノ至適水素「イオン」濃度ハ 7.0 ~ 8.0 トサル. 從ツテ藥劑加増地 = 於テモ亦 PH. ノ變動 = 伴ヒ菌發育 = ハ自ラ差異ヲ生ズ可キモノナラン.

第 3 表 = 示セル如ク, 至適限界濃度タル PH. 7.2 及ビ 7.5 = 於テハ殺菌作用ハ略同等ノ成績ヲ示シ, 8.0 = 於テハ稍殺菌作用ノ増強ヲ示セ

リ. 而シテ至適 PH. 以下又ハ以上 = 就テ見ルニ, PH. 6.0 及ビ 6.5 = 於テ殺菌作用劣リ, 9.0 = 於テハ殺菌作用ノ増強ヲ示セリ. 之ヲ以テ觀ルニ, Sp. 「ブイオン」内 = 於テハ PH. ノ増大 = 伴ヒ殺菌作用増進サル、モノノ如シ.

爾後ノ實驗ハ Sp. 「ブイオン」ノ PH. ヲ 7.5 トシテ行フ事トセリ.

尙ホ PH. ノ修正ハ 10% 炭酸曹達入ビ 1% 醋酸ヲ以テセリ.

第 3 表 Sp.「ブイオン」ノ PH ト殺菌作用

試験管番號	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
SP.「ブイオン」 稀釋倍數											
PH.	一	二	四	八	六	三	齒	二六	二五	五三	對照
6.0	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
6.5	—	—	—	—	±	++	+++	+++	+++	+++	+++
7.2	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++
7.5	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++
8.0	—	—	—	—	—	—	±	+	+++	+++	+++
9.0	—	—	—	—	—	—	—	—	±	++	+++

第 4 節 培養基種類ニヨル
殺菌作用ノ差異

Sp. ガ駒込 B 菌ニ對シテ、培養基ノ相違ニヨリ如何ナル殺菌作用ノ差異ヲ示スヤヲ檢セリ。

1%「ペプトン」水ニハ照内「ペプトン」ヲ使用シ、肉汁ハ挽牛肉 500 瓦ヲ水 1000cc.ニ 100 度 1~2 時間浸出センメタル濾液ヲ以テセリ。「ブイオン」ハ規定通り調製センモノニシテ、血清加「ブイオン」ハ非動物性家兔血清ヲ 10%ニ加ヘ

タルモノナリ。尙ホ各培養基ハ何レモ PH. 7.5ニ補正セリ。

第 4 表ニ示ス如ク、各種培養液中、血清加「ブイオン」ニ於テ Sp. ノ作用最モ低ク、「ペプトン」水及ビ肉汁ノ如キ所謂 poor medium 中ニ於テハ當然菌其ノモノノ發育モ不良ナルノミナラズ、Sp. ノ作用ト相俟チテ殺菌力愈々増強セラル、モノノ如シ。

第 4 表 培養基種類ニヨル殺菌作用ノ相違

試験管番號	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
SP.「ブイオン」 稀釋倍數											
培養基種別	一	二	四	八	六	三	齒	二六	二五	五三	對照
1%「ペプトン」水	—	—	—	—	—	—	±	±	+	++	++
肉汁	—	—	—	—	—	—	—	±	+	++	+++
普通「ブイオン」	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++
10%血清「ブイオン」	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

第 5 節 培養溫度ノ影響

培養溫度ト殺菌作用トノ關係ヲ檢セントシ、

2 個ノ孵卵器ノ溫度ヲ夫々調節シ、同時ニ何レモ 48 時間培養ヲ行ヒタリ。結果ハ第 5 表ニ示セ

第 5 表 培養溫度ト殺菌作用トノ關係

試験管番號	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
SP.「ブイオン」 稀釋倍數											
培養溫度	一	二	四	八	六	三	齒	二六	二五	五三	對照
39°~40°C	—	—	—	—	—	—	±	+	++	+++	+++
37°C	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++

ルガ如シ。

即チ 39°~40°C = 於テハ 0.1% Sp. 「ブイオン」ノ 32 倍稀釋 = テ殺菌作用ヲ現ハシ、37°C =

於ケルヨリ約 2 倍ノ殺菌作用アルモノノ如ク、尙ホ全般 = 發育阻止的ナリ。

第 4 章 總括及ビ考按

抑モ「ズ」劑ノ試験管内 = 於ケル菌發育阻止作用又ハ殺菌作用タルヤ使用菌量ト密接ナル關係アルモノノ如ク、Colebrook, Nitti 及ビ Long 等何レモ接種菌量ノ少量ナル程藥劑ノ作用顯著ナル事ヲ認め、Fleming ハ Slide cell culture = 於テ同様ノ事實ヲ指摘セリ。

又本邦 = 於テモ津田氏ハ連鎖狀球菌 = 對スル Therapol ノ作用 = 就キ、上井氏等ハ大腸菌、「チフス」菌、志賀菌、駒込 A 及ビ B 菌 = 對スル Sulfaguanidin ノ作用 = 就キ、福田氏ハ志賀菌 = 對スル Neopoleon ノ作用 = 就キ、夫々使用菌量ト藥劑ノ作用トノ間 = 極メテ緊密ナル關係アル事ヲ記載セリ。

余ノ實驗成績モ亦更 = 其間ノ事情ヲ明示スルモノニシテ、既 = 第 1 節 = 述ベシ如ク、菌原液 (菌 2mg. ヲ滅菌生理的食鹽水 1cc. = 浮游セシメタルモノ) ノ 10 倍稀釋菌液 = テハ 2% Sp. 「ブイオン」、20~50 倍稀釋菌液 = テハ 0.4% Sp. 「ブイオン」、100 倍稀釋菌液 = テハ 0.2% Sp. 「ブイオン」、500 倍稀釋菌液 = テハ 0.05% Sp. 「ブイオン」、1000 倍稀釋菌液 = テハ 0.025% Sp. 「ブイオン」 = 於テ、夫々殺菌作用ノ現ハル、事ヲ知レリ。即チ余ノ實驗 = 於テハ恰モ Chandler a. Taneway ノ觀察ノ如ク、菌發育抑制乃至殺菌作用ハ大略「ズ」劑ノ濃度 = 正比例シ菌量 = 逆比例スルガ如キ成績ヲ得タリ。

次 = 殺菌作用ノ時間的推移 = 就キテハ、第 2 節 = 述ベタル如ク、培養 6 時間迄ハ全般 = 亙リ可ナリノ菌發育増殖ヲ示スモ、9 時間後 = 於テハ漸ク發育停止ノ状態トナリ、12 時間後 = ハ發育阻止作用現ハレ、24 時間後 = ハ稍殺菌的トナリ、48 時間後 = 於テハ劃然タル殺菌作用現ハル。而シテ其後 72 時間目 = 於テモ略同程度ノ結果ヲ存續ス。

小泉氏ハ Sp. ノ肺炎双球菌 = 對スル作用 = 於テ初メ 5 時間ハ正常速度ノ發育ヲ認ムルモ、爾後對照ノ試験管内ノ濁濁ガ最大 = 達スル = 反シ、Sp. ノ添加セラレタルモノハ各々其ノ濃度 = ヨリ發育阻止期ヨリ漸次殺菌期 = 入ルト述べ、Mc. Intosh, Whitby 等モ同様ノ事實ヲ報ジ、斯カル發育阻止階梯ノ存スル所以ハ、接種原菌ハ藥劑ノ作用ヲ受ケズシテ、寧ロ之ヨリ分裂セル幼若ナル菌 = シテ初メテ其ノ作用ヲ受クル爲メナラントセリ。Chandler a. Taneway モ亦發育期ノ先行スル所以ハ、菌体内 = ハ既 = 將來發育 = 對シ缺ク可カラザル物質ヲ具備シ居ルガ故 = 初期 5~6 時間ハ藥劑ノ作用ヲ蒙ルコト尠キ爲メナリト云ヘリ。何レニセヨ或ル一定時間後 = 於テ初メテ發育阻止乃至殺菌作用ノ現ハル、事ハ誰シモ認ムル處ナル可シ。

Sp. 「ブイオン」ノ PH. ノ差異 = ヨル殺菌作用ノ相違 = 關シテハ第 3 節 = 記セル如ク、PH. ノ 6.0 ヨリ 9.0 = 進行スル = 從ヒ殺菌作用ノ増大スルヲ知レリ。尙ホ赤痢菌ノ至適 PH. 限界内即チ PH. 7.2~7.5 = 於テハ略同程度ノ殺菌乃至發育阻止作用ヲ認メシメタリ。

小泉氏ハ肺炎菌ノ Sp. 「ブイオン」 PH. ノ相違 = ヨル菌發育狀況 = 就キ PH. 6.4 又ハ 9.0 = 於テハ、至適 PH. 内 = 於ケルモノヨリモ、明カ = 發育阻止又ハ殺菌作用強力ナリト述べ、之 = 比較セバ余ノ場合至適 PH. 以下即チ 6.0 乃至 6.5 ノ際ハ寧ロ殺菌作用ノ低下ヲ認メタル點 = 於テ聊カ趣ヲ異ニセリ。之 Sp. ハ培地ノ「アルカリ」性ナル程其ノ溶解度ヲ増シ惹イテハ作用効果ノ増強ヲ來セルモノ = 非ズヤト愚考セリ。

尙又培養基ノ營養價ト「ズ」劑ノ作用トノ關係モ重要ナル事項ニシテ、Bliss 等ハ此ノ關係 =

注目シ、菌發育ニ好適ナル50%馬血清加「ブイオン」中ニテハ單純「ブイオン」中ニ於ケルヨリモ「ズ」劑ノ効力低ク、更ニ單純「ブイオン」内ニ於ケルヨリモ寧ロ菌發育不良ナル尿中ニ於テ「ズ」劑ノ作用顯著ナル事ヲ認メタリ。Lookwood ハ「ペプトン」加血清ヲ培地トセバ、「ズ」劑ノ $\frac{1}{4}$ 0000 濃度ニテ既ニ溶連菌ノ發育ヲ阻止スルモ、「ペプトン」ヲ除去スレバ更ニ其ノ作用増大スト述べ、Mellon 及ビ Bambas ハ食鹽水ト「ブイオン」ニ就キ「ズ」劑ノ作用ヲ比較シ、前者ニ於テ作用大ナリト報ズ。然ルニ福田氏ハ普通「ブイオン」、10%家兔血清加「ブイオン」及ビ10%免疫血清加「ブイオン」ノ三者ヲ培地トシテ志賀菌ノ Albasil ニ對スル殺菌作用ヲ檢セルニ、三者殆ト大差ナシト云フ。

然ルニ余ノ實驗成績ニ徴スルニ、肉汁、1%「ペプトン」水、普通「ブイオン」並ニ10%家兔血清加「ブイオン」ヲ夫々培地トスル場合ニ就テ SP. ノ殺菌作用ヲ比較スレバ、敍上ノ順序ニ其ノ作用ノ減弱ヲ見タリ。而モ各培地ノ對照ニ於ケル菌ノ發育狀況ヲ見ルニ、肉汁及ビ「ペプトン」水ニテハ「ブイオン」並ニ血清加「ブイオン」ヨリ菌ノ發育劣リ、試験管内ノ濁濁度ニ於テモ相當ノ差異ヲ示セリ。斯ノ如キ事實ト前述ノ

Bliss, Lookwood, 並ニ Mellon 等ノ實驗報告トヲ合セ考フルニ、培地ノ榮養價ト「ズ」劑ノ試験管内殺菌作用トハ略逆ノ關係ニアルモノト思惟セラル。

最後ニ培地溫度ノ殺菌作用ニ及ボス影響ニ關シテハ、White a. Parker ニヨレバ、 $39^{\circ}\sim 40^{\circ}\text{C}$ ニ於テハ「ズ」劑ノ $\frac{1}{5}$ 000 稀釋ニテ溶連菌ヲ殺スニ對シ、 $36^{\circ}\sim 39^{\circ}\text{C}$ ニテハ單ニ發育阻止アルノミト云フ。更ニ White ハ溶連菌ニ對スル「ズ」劑ノ作用溫度ト藥量ノ關係ニ就キ詳述シ、 30°C 以下ニテハ100mg%以下ニテ無効、 39°C ニテハ100mg%以上ニテ殺菌力アルモ、 37°C ニテハ 39°C ニ於ケルヨリ100倍ノ藥量ヲ要スト。又 Spink ハ葡萄狀球菌ニ對シ 37°C ニテハ藥劑ノ高濃度ニ於テスラ殺菌力微弱ナルカ無効ナルモ、 40°C ニテハ殺菌力増強セリト記セリ。津田氏モ亦連鎖狀球菌ノ Therapol 加「ブイオン」培養ニ際シ 37°C ニ比シ 40°C ニ於テ其ノ作用増強セラル、事ヲ報ジ、福田氏ハ志賀菌ニ就キ Albasil 「ブイオン」内ニテ 37°C ニ比シ 42°C ニ於テ約2倍ノ殺菌力アルヲ報告セリ。

余モ亦第5節ニ記セルガ如ク、培養溫度 $39^{\circ}\sim 40^{\circ}\text{C}$ ニ於テ 37°C ヨリモ殺菌力大ナルヲ知ル。

第5章 結 論

Sulfapyridin ノ駒込 B 菌ニ對スル試験管内殺菌作用ニ就キ檢索セン結果次ノ如シ。

1) 殺菌乃至發育阻止作用ハ Sulfapyridin ノ濃度ニ略比例シ、菌量ニ逆比例シテ發現スルヲ見ル。

2) 最初一定時間迄ハ發育状態ヲ呈シ、後發育停止次ニ發育阻止乃至殺菌作用ヲ發現ス。

3) 効果ハ培地水素「イオン」濃度ノ菌發育至適ノ濃度圏内ニ於テハ互ニ相似タルモ、水素「イオン」濃度ノ増加ニ從ヒ作用ノ増大スルヲ見ル。

4) 細菌ノ發育ニ對シ適當セル培地程藥劑ノ作用ハ減弱セリ。

5) 殺菌作用ハ培養溫度ノ高キモノニ於テ増強セラル。

擧筆スルニ當リ終始御懇篤ナル御指導ヲ賜ハリ、剩ヘ御校閲ノ勞ヲ忝ウセシ恩師泉教授ニ萬腔ノ謝意ヲ捧グ。

尙ホ不斷ノ御鞭撻ヲ戴キシ助教高橋博士並ニ、細菌株ヲ分與下サレシ本學細菌學教室谷教授及ビ講師盛永博士ニ深甚ノ謝意ヲ表ス。

引用文獻

- 1) 齋藤弘：皮膚科泌尿器科雜誌，第44卷，4號（昭和13年）。 2) 松村正澄：日本微生物病理學雜誌，34卷，368頁（昭和15年）。 3) 近藤誠：日本婦人科學雜誌，32卷，10號，110頁（昭和12年）。 4) 土屋三司，福見秀雄：實驗醫學，21卷，163頁（昭和14年）。 5) 津田：醫學研究，第14卷，587頁（昭和15年）。 6) 黃瑞傳：衛生學傳染病學雜誌，36卷，292頁（昭和15年）。 7) 長谷川秀治，小泉豊：日本醫學及健康保險，3205號，2241頁（昭和17年）。 8) 上井，北澤，福本，天部：藥學雜誌，62卷，299頁（昭和17年）。 9) 里村春三：日本藥學雜誌，35卷，4號，375頁（昭和17年）。 10) 福田正雄：長崎醫學會雜誌，第20卷，5號，782頁（昭和18年）。 11) 長谷川秀治：實驗醫學，32卷，12號。 12) 松村：日本微生物病理學雜誌，35卷，第1，6，7號（昭和16年）。 13) Domagk, G.: *Deutsch. med. Wchnschr.*, 61: 250, 1935. 14) Tréfouël, J., Tréfouël, Mme., Nitti, F. and Bovet, D.: *Compt. rend. Soc. de biol.*, 120: 756, 1935. 15) Bürger Domagk, G.: *Deutsch med. Wchnschr.*, 17: 672, 1937. 16) Mayer, R. L.: *Biol. Med. Supp.* 27: 35, 45, 1937. 17) Domagk, G.: *Klin. Wchnschr.*, 15: 1585, 1936. 18) Colebrook, L., Buttle, G. A. H. and O. Meara, R. A. Q.: *Lancet* 11: 1323, 1936. 19) Nitti, F., Bovet, D. and Depiere, F.: *Compt. rend. Soc. de biol.*, 124: 16, 1937. 20) Rosenthal, S. M.: *Public Health Rep.*, 52: 192, 1937. 21) Neter, E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 38: 37, 1938. 22) Long, P. H. and Bliss, E. A.: *Canad. M. A. J.*, 37: 457, 1937. 23) Levaditi, G. and Vaisman, A.: *Compt. rend. Soc. de biol.* 119: 946, 1935. 24) Adolph, P. E. and Lookwood, J. S.: *Arch. Otolaryng.*, 27: 535, 1938. 25) Gay, F. P. and Clark, A. R.: *J. Exper. Med.*, 66: 535, 1937. 26) Meyer, E.: *Duart. Bull. Sea. View. Hosp.*, 3: 380, 1938. 27) Boss, O. A.: [Tier experimentelle Untersuchungen über die Wirkungsweise von Prontosil, Inang Dissert, Dok. Med. Marburg. 1935]. 28) Levaditi, G. and Vaisman, A.: *Compt. rend. Soc. de biol.* 120: 1077, 1935. 29) Carpenter, C. M., Hawley, P. L. and Barbour, G. M.: *Science* 88: 530, 1938. 30) Garrod, L. P.: *Lancet* 1: 1125, 1178, 1938. 31) Dawson, M. H. and Hobby, G. L.: *J. Clin. Investigator* 17: 520, 1938. 32) Rosenthal, S. M.: *Med. Am. Dist. Col.*, 6: 337, 1937. 33) Welch, H., Wentworth, J. A. and Mickle, F. L.: *J. A. M. A.* 111: 2259, 1938. 34) Buttle, G. A. H.: *Proc. Roy. Soc. Med.*, 31: 1548, 1937. 35) Whitby, L. E. M.: *Lancet*. 1: 1210, 1938. 36) Buttle, G. A. H., Parish, H. J., Mc. Leod, M. and Stephenson, D.: *Lancet*. 1: 681, 1937. 37) Levaditi, Vaisman: *Presse Med.* 43, 2097, 1935. 38) Nitti a. Bovet: *Compt. rend. Acad. d. Sc.* 202: 1221, 1936. 39) Seastone, C. V.: *J. Immunol.* 33, 403, 1937. 40) Fischer, A.: *Arch. internat. de Pharmac. et de therap.* 56: 131, 1937. 41) Feinstone, W. H., Bliss, E. A. Ott, E. and Long, P. H.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 62: 565, 1938. 42) Bliss and Long: *J. A. M. A.* 109, 1524, 1937. 43) Levaditi a. Vaisman: *Compt. rend. Acad. de sci.* 200: 1694, 1935. 44) Finkelstein Birkeland: *Science (N. Y.)*. 1: 441, 1938. 45) Mellon, R. R., Gross, P., and Cooper, F. B.: *J. A. M. A.* 108, 1858, 1937. 46) Cooper and Gross: *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 37: 333, 1937. 47) Weinberg, Mellon and Schinn, L. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 39: 640, 1937. 48) Hammerschwidt, Johann: *Zbl. Batt. Bar. ink. Ksh.* 144, 443, 1939. 49) Domagk: *Dermat. Wchnschr.* 107: 797; 1938. 50) Levaditi: *Schweiz. Zeitsch. f. Allgena. Path. u. Bakt.* 1: 365, 1938. 51) Fleming, A.: *J. of Pathology a. Bacteriology* 1: 70, 1940. 52) Chandler and Janeway: *Proc. Soc. exp. Biol and Med.* 40, 179, 1939. 53) Mc. Intosh, Whitby: *Lancet*. 1: 431, 1939. 54) Bliss, E. A. and Long, P. H.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 60: 149, 1937. 55) Long a. Bliss: *South. M. J.* 31: 308, 1939. 56) Lockwood, J. S.: *J. Immunol* 35: 155, 1938. 57) Mellon, R. R. and Bambas, L. L.: *Med. Red.* 146: 247, 1937. 58) White, H. J., and Parker, J. M.: *Job. Bact.* 36: 481, 1938. 59) Spink, W. W.: *J. Immunol*, 37, 1937.