

され易く、燕麦、人参期間は陽性率が低いように思われる。但し 1958 年 8 月は最低の陽性率を示しているが、これは小樽産のモルモットであり、卵白 Al 自身にも陰性のものが 5/9 匹と相当存在した。このことは同時期に行なつた前述のモルモット血清 Al+Pc 感作群が浜松産であり、そうとう高率に陽性である点からみても、モルモットの種類で感作能力の著しい差があることを示している。

結 論

(1) モルモットを Al と incubate した Pc で感作する方法は最も死亡率も少く確実である。

(2) モルモット血清 Al と Pc を incubate したものでモルモットを感作出来る。

(3) この際の SCHULTZ-DALE 反応は強力な即時型の腸管収縮を起し、アナフィラキシー誘発も可能である。

(4) SCHULTZ-DALE 反応の抑制試験では、Pc、ベニシロ酸で弱いながら脱減作が成立し、ベニル酸、ベニシレン酸は不明である。

(5) 季節によつてモルモットの感作される率が異なり、夏秋に強く冬春に弱いが、これは本来の季節の変動か、種属差か、食餌の差かは分らない。

(9) 細菌性アドレナリン増感物質に関する研究 (続報)

島本多喜雄・山崎博男・井上道郎

藤田 勉・小泉 実・内田秀真

前沢 秀憲・小西藤治

東京医歯大臨床生理学教室

我々は先の本学会において Gram 陰性桿菌の内毒素を静注した際に、流血中血小板数が著明に減少し、また血中 Serotonin の増加することを報告した。その後 2, 3 の高分子物質も血液像及び Serotonin 代謝に対して細菌毒素と同様な変化を与えることを知つた。

今回はこれらの成績について述べ、更に細菌毒素による血小板の減少機序、及び Reserpine による細菌毒素の致死効果抑制に関する成績を加える。

(1) 細菌毒素による流血中血小板減少と Serotonin 代謝の変化

家兎に赤痢菌内毒素 100 mcg/kg 静注後の血小板数は、30 分～2 時後よりいずれも減少して注射前値の平均 50% となり、48 時間後においても 2 例を除いて他は前値への回復を示さなかつた。これに対して白血球数は 4 時間後まで一過性に減少するが、その後著明な白血球増多を示し 48 時間後も回復をみなかつた。

こういう流血中血小板数の減少機序について我々は細

菌毒素静注後の家兎血漿中に、血小板を凝集する物質のあることを証明しえた。すなわち、毒素静注後の家兎 9 例の血漿を健康な家兎の血小板と混和すると、5 例 (56%) で直ちに血小板の凝集をみた。こういう凝集は対照血漿 12 例中にはみとめなかつた。

他方、赤痢菌内毒素多糖類分劃 50 mcg/kg, 500 mcg/kg 静注後の心筋内毛細管の電子顕微鏡像を観察したが、血管内皮細胞は 3 時間後著明な浮腫状肥厚を来し、8 時間後には血漿が濃縮し、白血球及び血小板が附着し、毒素多糖類による毛細管内血栓形成を証明しえなかつたが、毛細管障害像及びそれにつづく血行障害像を認めた。こういう血栓形成も血小板減少機序の 1 面をなすと思われる。

次に生理的食塩水点滴中の家兎に細菌毒素を静注し、尿中 HIAA の排泄量を観察したが、細菌毒素 100 mcg/kg により HIAA 排泄量は著明に増加することを知つた。この成績から赤痢菌毒素により体内 Serotonin の著明に増加せることを裏書きする。

他方、Reserpine 1 mg/kg 静注後 24 時間に同様の実験を行なつたが、その際には尿中 HIAA 排泄量の増加をみとめなかつた。また予め 24 時間前に Reserpine を静注後赤痢菌毒素を静注したが、Reserpine の 1 mg/kg は赤痢菌毒素の血小板減少作用には特記すべき影響を与えないにも拘わらず、毒素 1 mg/kg の致死効果を完全に抑制しうる成績をえた。Reserpine 1 mg/kg の前処置は血小板中の Serotonin を大部分消失させる量である。メカニズムの詳細は必ずしも明らかではないが、以上の成績は少くとも赤痢菌毒素による病態が Serotonin 代謝と密接な関係にあることを推定させる。

これと別に我々はブタ血液の 50% 浮遊液を家兎に 2.5 cc/kg 静注し、異種輸血の影響を観察しているが、無処置家兎では輸血直後 12 例中 6 例が死亡し、他の 6 例は生存はするが、3 例では 6 時間に及ぶショック症状の持続をみた。これに対して 24 時間前または 48 時間前に Reserpine 1 mg/kg を静注した各 5 例ではいずれも 48 時間生存した。即ち、血小板中の Serotonine を消失させるに足る Reserpine の予防的注射によつて致死効果の抑制される事實は、菌毒素のみに特異的でなく、生体内に高分子物質が注入され、または生体内に高分子物質が形成された際の致死効果に抑制的影響を示すものと推定される。

(2) 高分子物質による流血中血小板の減少と Serotonin 代謝の変化

SCHWARTZMANN 現象が高分子物質によつても惹起されることから、我々は家兎について Glycogen, Kaolin, Dextran などの高分子物質と血液像、Serotonin 代謝及

び Adrenalin 皮内反応との関係を追求した。

Glycogen 10, 100 mg/kg の静注時に血小板数は30分後に何れも約50%の減少を示し24時間後にも回復をみなかった。白血球数は2時間後一過性に約80%の減少を示した後著明な白血球増多をみた。

尿中 HIAA 排泄量は Glycogen 15 mg/kg では増加をみなかったが、50 mg/kg では著明な増量を示した。

Kaolin の静注では血小板数は10 mg/kg では著変なく、30及び100 mg/kg ではそれぞれ、30, 90%の減少を示した後何れも動物は死亡した。白血球数は1時間後何れも減少し、その後の白血球増多をみとめなかった。

Dextran 30 及び100 mg/kg の静注では血小板は1~2時間後約50%の減少を示したが、24時間後前値に回復した。白血球数は何れも一過性に15~30%の減少を示した後増多を示した。

要 約

我々は赤痢菌毒素によつて血小板に著明な減少がみられ、白血球には一過性減少とこれに続く増多をみとめた。血小板減少機序として血漿中の血小板凝集物質が重要であり、同時に毒素多糖類による血行障害が目される成績を示した。また、尿中 HIAA 排泄量の測定から毒素による病態発生が Serotonin 代謝の変化と密接な関係にあることを示し、赤痢菌毒素の致死効果に対して Reserpine が抑制作用を有することを報告した。Reserpine のこういう作用は異種輸血の予防にも有効なことを示した。

次に Glycogen, Dextran, Kaolin 静注時の成績を報告し、これらの高分子物質は菌毒素と同様な血小板減少作用を有し、白血球数については Glycogen 及び Dextran に細菌毒素と同様な一過性減少及びこれに続く増多をみとめた。Glycogen では HIAA 排泄量の増多をみとめ、赤痢菌毒素にみたこれらの作用が毒素の高分子構造に由来する可能性を示した。これらの変化はアドレナリンによつて促進されるものと思う。

(10) 抗生剤と γ -Globulin の併用効果

上田 泰・長谷川勢・矢崎博通

慈恵医大上田内科

抗生剤と γ -Globulin との併用効果は FISHER が動物実験によつて Chloramphenicol と γ -Globulin との間にあることを証明し、WAISBREN は Chloramphenicol, Streptomycin 及び Penicillin 等と γ -Globulin との併用効果を臨床的に実証したが、われわれは今回この特異な併用効果をブドウ球菌及び PCI 219 株を用いて、2, 3 抗生剤に対する試験管内耐性獲得状況から実験を行なつた。

先ず呼吸器感染症患者の喀痰から分離培養した感受性 γ 菌 2 株を選び、普通寒天平板培地によつて増量的に継代培養して、その耐性獲得状況を観察し、同時に同培地に γ -Globulin 10 mcg/cc 及び 100 mcg/cc を加えて同様操作により耐性獲得の状況を観察し比較検討した。

第1に Penicillin を用いた際の γ 菌の耐性上昇態度は、 γ -Globulin 10 mcg/cc 併用では継代第5代で始めの感性の25倍、第10代で100倍、15代で1,000倍の耐性を獲得するが、 γ -Globulin 100 mcg/cc 併用の際は上昇程度は極めて低く、継代第11代でも10倍の耐性にしか至らず、19代にしてはじめて100倍に達し、21代では500倍の耐性を獲得するが、24代目には再び低下して100倍の耐性となり容易に上昇をみない。この傾向を γ -Globulin を加えず Penicillin 単独の耐性獲得状況と比較すると、単独の際は継代第7代で200倍、13代で早くも1,000倍の耐性を獲得し大きな差異が認められる。

第2に Chloramphenicol と γ -Globulin を併用した際の同一 γ 菌の耐性上昇の態度は、 γ -Globulin 10 mcg/cc 併用の際は継代第3代で始めの感性の4倍に達するが、以後は上昇がおそく17代ではじめて5倍、23代で10倍の耐性を獲得する。 γ -Globulin 100 mcg/cc を加えた際は更におそく第3代で3倍の耐性を獲得したのち、却つてしばらくは耐性獲得の低下が目立ち、16代で始めて4倍、22代で5倍、25代で7.5倍の耐性を得るにとどまる。これを Chloramphenicol 単独の際と比較すると、継代第2代で早くも4倍、13代で5倍、20代で7.5倍、23代で10倍と階段状の耐性上昇を示し、矢張り γ -Globulin 併用の際は明かな耐性獲得の遅延がみられる。

第3に Tetracycline と γ -Globulin との併用の際の γ 菌の耐性上昇は、 γ -Globulin 10 mcg/cc 併用では継代第7代で始めの感性の10倍の耐性を得るが、以後再び低下し第21代まで10倍以上には上昇せず、22代で40倍に達する。 γ -Globulin 100 mcg/cc 併用の際は継代第8代まで全く耐性は上昇せず、第10代で2倍、13代で4倍、21代で漸く7.5倍に達するが以後は再び耐性が低下する。これを Tetracycline 単独の際と比較すると最も大きな差異を示し、即ち単独では第2代で早くも10倍、4代で25倍、9代では100倍の耐性を獲得し、 γ -Globulin の顕著な併用効果と極めて対照的である。

次に PCI 219 株を用いて同様 Oleandomycin と γ -Globulin との併用効果を普通寒天平板を用い増量的継代培養により観察すると、 γ -Globulin 10 mcg/cc を加えた際は継代第7代で始めの感性の10倍、10代で40倍、22代で400倍の耐性を得るが、 γ -Globulin 100 mcg/cc を加えると第13代までは4倍の耐性上昇をみるに過ぎ

ず、16代で40倍、22代で200倍となり、矢張り緩徐な耐性上昇傾向がうかがわれる。これを Oleandomycin 単独の場合と比較すれば全く同様に継代第10代で40倍、14代で400倍に上昇し明らかな差異が認められる。

われわれはさきの第4回日本化学療法学会総会に於いて、一剤に耐性を得た菌株は他の薬剤に対しては極めて早く耐性を獲得する性質を有することを報告した。例えば、ブ菌の Penicillin 感性株と Penicillin 耐性株とで同じ Tetracycline に対して耐性を獲得させると、感性株に較べて耐性株は数代早く耐性が上昇するのを認める。そこで Penicillin 高耐性ブ菌を用いて γ -Globulin を併用した際の Tetracycline に対する耐性上昇の態度を観察すると、 γ -Globulin 10 mcg/cc 併用の場合は継代第3代で20倍、第8代で50倍に達し、 γ -Globulin 100 mcg/cc 併用では第4代で10倍、5代で20倍となり上昇が遅れる。これを前述の Penicillin 感受性株による Tetracycline 単独の耐性獲得状況と比較してみると、継代第3代で10倍、7代で50倍、8代で200倍となり、 γ -Globulin との併用は前述の耐性株としての特徴を失わせる程の大きな効果を有することが明かである。

以上、総括すると γ -Globulin は Penicillin, Chloramphenicol, Tetracycline, 及び Oleandomycin の諸剤いづれにも耐性上昇の面で相当な併用効果を示し、かつこの効果はブドウ球菌、枯草菌のいずれでも同様であつた。この併用効果は10mcg/ccを加えた際よりも100mcg/ccを加えた場合のほうが著しかった。更にこの併用効果は薬剤耐性株の他剤に対する速やかな耐性獲得の特性をさまたげる程有効であつた。

(11) Penicillin による内性器障害並びにその防止に関する実験的研究

野間政敏

京都府立医科大学産婦人科学教室

戦後化学療法剤及び抗生物質、中でも Penicillin (Pc) が感染予防の目的で、開腹術時腹腔内使用が繁用されるに至つて、その腹腔内使用例にしばしば癒着をきたし易いという報告に接するが、産婦人科領域においては、これについて余り報告をみなかつた。そこで私は卵管成形術及び子宮卵管造影術時、時に起る感染予防の目的に使用される Pc の局所使用が、反つて卵管癒着を増強又は促進させるのではないかと考え、次のような実験を行ない組織学的に検討し、2, 3 の知見を得たので報告する。

実験方法

腹膜癒着実験 マウスを次の3方法により実験した。

1. 開腹せず直接各種濃度の Pc 溶液 0.5 cc (以下同

様) を腸管に刺入しないよう腹腔内に注入する。

2. 腹壁に1cm内外の切開を施し、腹腔内に Pc を注入する。

3. 2. と同様開腹術を行なつて、更に刀の後面先端で腹膜に出血を起さない程度にほぼ同一の強さの刺戟を加え、Pc を注入する。

いずれも1週後開腹して観察した。

子宮障害実験： 卵管腔の変化を追求することは小動物による場合はかなりの困難を伴い、加うるにその変化の判定に正確を期し難い故子宮腔の変化を以てこれに代えた。ラツテを開腹、正確に薬物溶液 0.1 cc を子宮腔に注入し、その漏出を防ぐためになるべく卵管峽部に近い子宮部分のほぼ一定部位にて卵管側と腔部側の2カ所を結紮し、これ以外なるべく無用の刺戟を与えぬよう留意した。Polyethylene 管挿入時は、1週後管を抜去して Pc 溶液を注入し、更に1週後致死させ子宮の一定部位に於いて連続切片を作製し、Hämatoxylin-Eosin 重染色、Van-gieson 氏染色、Azan-Malorie 染色等を施し、その組織像について検索した。

子宮障害阻止実験： ラツテを上記と同様の方法で、Polyethylene 管操作後、各 200,000 u/cc Pc と癒着阻止剤の等量混合液 0.1 cc を子宮腔に注入し、上記同様その組織像について阻止効果を検索した。

実験成績

(腹膜癒着実験)

非開腹及び開腹時 Pc 腹腔内注入： Pc 濃度に関係なく全例に癒着を認めない。

開腹時腹膜刺戟後 Pc 注入： 23 例中 16 例に癒着発生を認めた。即ち、500 u/cc 群 4 例中 1 例、2,000 u/cc 群 5 例中 3 例、10,000 u/cc 群及び 20,000 u/cc 群の各 5 例中 4 例及び 50,000 u/cc 群 4 例の全例である。従つて、Pc 濃度の高くなるに従つて癒着発生の頻度及び程度も比例的に高くなるようである。

(子宮障害実験)

子宮腔 Pc 注入： 子宮腔は 100,000 u/cc 注入時にはじめて強い狭窄が認められ(16.7%)、200,000 u/cc 群では子宮腔の一部に閉塞を来した(16.7%)。

子宮腔造影剤注入： 子宮腔の閉塞は Endografin 群及び Moljodol 群とも全例に認めないが、子宮腔の一部は軽度狭窄状態を示しているものもあつた。一般に組織破壊の程度は Endografin 群の方が Moljodol 群よりも軽い傾向にある。

Pc 及び Endografin 子宮腔併用注入： 10,000~20,000 u/cc では Pc と Endografin の成績が相加して子宮腔閉塞を来さず、これは臨床上両者を併与しても何ら支障を来さぬと考えるのに好都合である。

Polyethylene 管操作後 Pc 子宮腔注入 : Polyethylene 管操作のみによる対照群を含めた全群に於いて、子宮腔の一部に狭窄ないし閉塞を惹起した。しかも Pc 濃度が高くなるに従つてその頻度と強さが増強する傾向にある。子宮腔の一部に閉塞を認めたものは、対照群 16.7%, 1,000 u/cc 群 25%, 5,000 u/cc 群 16.7%, 10,000 u/cc 群 33.3%, 50,000 u/cc 群 50%, 100,000 u/cc 群 66.7% 及び 200,000 u/cc 群 100% である。

(子宮障害阻止実験)

蛋白分解酵素 (Nagarse 及び Trypure Novo) : 10 mg/cc 群は全例に閉塞を認めず、5 mg/cc 群よりも優秀な成績である。

抗癌剤 :

(1) Nitrogen Mustard N-Oxide (N.M.O)

子宮閉塞は 50 mcg/cc 群 80% 及び 200 mcg/cc 群 75% に認めた。従つて、N.M.O は蛋白分解酵素よりも一般に其組織破壊力の強いことがうかがえる。

(2) 8-Azaguanine (Azan)

Azan は蛋白分解酵素よりも障碍阻止作用は遙かに劣るが、N.M.O よりもやや優れている。Hormone 剤 (ACTH 及び Cortisone) : これらの効果は余り認められなかつた。

総 括

上述の結果から開腹術に際してはなるべく無用な機械的刺激を避け、Pc の腹腔内使用は高濃度より低濃度のほうが癒着防止上のぞましい。造影剤またはこれと Pc 併用時を除き、子宮腔 Pc 単独投与及び Polyethylene 管子子宮腔操作後の局所投与時には、Pc の子宮障害を来す可能性の存する事実が判明し、且つ、その頻度及び強さは薬剤濃度に比例して増強することが明確となつた。こういう際には蛋白分解酵素の応用が適切なことがわかつた。以上は動物実験があるから、これら子宮腔の変化はそのまま卵管腔の変化を現わすとは考えられないし、人卵管に於いても、これと同様な変化がみられるとも考えられない。しかし少くともこれによく似た変化が起り得るということはいふに過ぎない。従つて、その凡てを臨床に応用することは、常に必ずしも妥当とは言えないが、しかし、これら諸所見から、抗生物質投与の人卵管障碍に及ぼす影響並びにその阻止対策を推論する 1 根拠を与えるものである。

【質 疑】 中 島 精 (慶大婦人科)

Pc の高濃度を腹腔内に使用すれば癒着を促進することは知られておるが、全身投与によつて実験したか。

【応 答】 野 間 政 敏 (京府大婦人科)

Penicillin の局所投与による腹腔内癒着または卵管障碍に及ぼす影響については、実験していない。

(12) 化学療法剤と VB₁ 代謝

新谷 博一・茂在 敏司

大原 将男・柳 沢 裕

昭和医大第一内科

Sulfa 剤による VB₁ 代謝障碍は以前から注目され、Sulfa 剤のもつ抗菌作用の 1 つもこれに帰させる人もあるが、その機構は必ずしも明らかでない。ヒトに於いても Sulfa 剤使用により B₁ 欠乏症状を見るのは臨床家もしばしば経験し、その機構についても多くの憶測がある。その 1 つに、腸内で B₁ 合成にあずかる細菌の Sulfa 剤による抑制があげられるが、反対者も少くないことは周知のとおりである。また、Co-Carboxylase の作用を Sulfathiazole が抑制することが知られ、Carboxylase の蛋白部に対する B₁ と Sulfathiazole の競合によるのではないかとの憶測もあるが、なお仮定にとどまるものである。Sulfa 剤の生化学的、薬理学的作用を考察するに当つては、広く Sulfa 剤として共通に考えるよりも、その化学的構造を異にすることにより、各々独自の作用として考慮する必要がある。

此処では VB₁ のもつチアゾール核を有する Sulfathiazole を中心とし、これと類似の構造を有しながらチアゾール核をもたない Sulfadiazine と Irgafen とについて臨床的実験的にこれらの B₁ 代謝に及ぼす影響の差異について検討した。ヒトに於ける検索は主として成年健康者について蛍光法を用い次のとおり行なつた。

即ち、Sulfa 剤を投与しない前の血中総 B₁ 並びに遊離 B₁ 量及び B₁ 10 mg 皮下注射 30 分後の血中総 B₁ 並びに遊離 B₁ 量、負荷後 4 時間尿中 B₁ 排泄量の測定を行なつた。次で Sulfathiazole 1.5 g づつ 8 時間々隔で 2 回経口投与 5 例、Irgafen 1.0 g づつ 8 時間々隔で 2 回経口投与 6 例について各最終投与 2 時間後の血中総 B₁、遊離 B₁ 量及びこれに 10 mg 皮下注射 30 分後の血中総 B₁、遊離 B₁ 量及び負荷後 4 時間尿中 B₁ 排泄量を測定し、各々を比較検討した。Sulfathiazole の治療量の 2 回程度の投与によつては、このような検査法により把握出来るような一定の B₁ 代謝の変化は見られなかつた。Irgafen についても同様の成績である。そこで Sulfa 剤の投与を更に増加させて同様の検索を行なつた。即ち Sulfathiazole は初回量 3.0 g 以後毎 6 時間に 1.5 g づつ 5 日間 13 例につき、Sulfadiazine は同量同期間用い 5 例につき、Irgafen は 8 時間毎に 1 g づつ 5 日間 7 例につき、投与前及び各最終投与 8 時間後に測定した。血中 B₁ 量については各 3 群共に一定の傾向が見られるようである。これ

を更に分り易くするため、各 Sulfa 剤投与前後の血中総 B₁ 量に対するエステル型 B₁ 量の比率、並びに同じく各 Sulfa 剤投与前後の血中のそれを計算し比較検討した。Sulfathiazole 投与前後において B₁ を負荷しない場合の血中エステル型 B₁ の占める比率を測定し得た 6 例について比較すると、血中エステル型 B₁ の比率は Sulfathiazole により特別の影響をうけないかのようにある。次に Sulfathiazole 投与前後において B₁ 10 mg を皮下注射によつて負荷した後の血中エステル型 B₁ の総 B₁ に対する比率を測定し得た 12 例について比較すると、半数、即ち 6 例のこの比較は投与後にかなり著しく減少してゐるが、3 例では殆んど比率に変化なく、残りの 3 例ではむしろ投与後に於いて、この比率は増加を示す。従つて此の結果から一定の結論を引き出すことは出来ない。

次に Irgafen 投与前後に於いての B₁ を負荷しない場合のその比率は測定し得た 5 例については投与前後に変化はない。Irgafen 投与前後に B₁ を負荷した 7 例では比率の減少傾向を示すもの 3 例、ほぼ不変のもの 3 例、増加の傾向を示すもの 1 例で、一定の傾向は認められない。減少を示すものも Sulfathiazole 群のそれに比し、その程度は極めて軽度である。

Sulfadiazine の場合にもほぼ同様の結果である。即ち、血中 B₁ の態度からこの 3 種の Sulfa 剤の B₁ 代謝への影響を明らかにすることは困難である。しかし、Sulfa 剤投与前後における B₁ 負荷後 4 時間尿中 B₁ 排泄量を見ると、Sulfathiazole 投与群においては投与前に比し、B₁ 排泄量がかなり増加している。Sulfadiazine, Irgafen においてはこういう傾向を認めることは出来ない。即ち、Sulfathiazol 群では 13 例中 8 例が明らかに増加を示しているが、Sulfadiazine 群では 5 例中 1 例が、Irgafen では 7 例中 2 例が僅かに増加を示しているに過ぎない。この所見はこの 3 種の Sulfa 剤の VB₁ 代謝への影響の差を示しているものと考えられる。

次に、試験管内に於いてマウス肝ホモジネートを用い Sulfathiazole の VB₁ の磷酸化に及ぼす影響を検討した。最も普遍的に用いられる組成をもつた溶液の反応系を用い、Warburg gefäß 中で 38°C 40 分間 incubate 後、生成されたエステル型 B₁ の総 B₁ に対する比率を反応液及び肝ホモジネートのみの場合、これに VB₁ 3 mcg を加えた場合及び VB₁ 3 mcg, Sulfathiazole 10 mg を加えた場合について測定した。反応液に肝ホモジネートのみの場合はエステル型 B₁ は 80% 前後以上を示すが、これに B₁ 3 mcg を加えた場合は 65% 前後となり、加えられた B₁ の全部ではないが、大部のものが磷酸化されるが、Sulfathiazole 存在下に於いては、その比率は著

しく減少し 30~46% となる。従つて、少くとも Sulfathiazole による B₁ 代謝への影響の 1 因子はその肝に於ける磷酸化阻礙にある事が明らかである。以上のとおり、Sulfathiazole を中心とし、これと化学構造の類似する Irgafen, Sulfathiazine の人の B₁ 代謝に及ぼす影響を検討したのであるが、血中エステル型 B₁ の総 B₁ に対する比率は Sulfa 剤の 2 回程度はもちろん、5 日間連続投与によつても一定の変化を認めることが出来ない。此のことは皮下注射により 10 mg の B₁ を負荷した場合にも同様で、一定の傾向を明らかに認めない。しかし B₁ 負荷後の 4 時間尿中 B₁ 排泄量を見ると興味ある事実が見られた。即ち、Sulfathiazole 投与群では明らかに尿中 B₁ 排泄量の増加が見られるに反し、Irgafen, Sulfadiazine 群に於いてはこのような傾向は認められない。このことは投与された B₁ の肝臓における蓄積能力障礙によると考えられる。

肝臓に於ける B₁ は殆んど大部分が結合型として蓄積される。Sulfathiazole の存在下にマウス肝と共に incubate された B₁ エステル化は極めて著しい抑制をうけることを実験的に知る事が出来た。即ち、肝臓に於ける VB₁ 蓄積の Sulfathiazole による障礙の 1 因子はこの肝臓のエステル化能の減少によるものと考えることが出来る。

久保等は抗生物質、クロルテトラサイクリン(オーレオマイシン) 或いはコーチゾンの影響下において検索を行ない、同様の現象を見たが更にかかる物質の存在下に於ける肝の呼吸及び磷酸代謝の検索から ATP の産生の障礙を総定したが Sulfathiazole の場合にも考え得られる処である。Sulfathiazole の場合には Carboxylase の蛋白質部に対する B₁ との競合が考えられねばならない。しかし、試験管内実験に与えられた条件から想像するならば前者の可能性が多いように感ぜられるが、なお検討を要する。Sulfadiazine, Irgafen では吾々の検索条件では少くとも Sulfathiazole に見るような B₁ 代謝障礙を認め得なかつたが、臨床的に認められる Sulfathiazole 以外の他の Sulfa 剤による B₁ 代謝障礙の因子は外に求めねばならぬのではないかと推測される。吾々の検索成績から、次の点を認める事が出来た。Sulfathiazole, Sulfadiazine, Irgafen を 5 日間連続投与した後にも血中エステル型 B₁ の総 B₁ に対する比率は殆んど影響が認められない。10 mg 皮下注射後、Sulfathiazole 投与群では、4 時間尿中 B₁ 排泄量の増加が認められるが、Irgafen, Sulfadiazine 投与群ではこの傾向を認めない。試験管内において Sulfathiazole の存在下ではマウス肝ホモジネートの B₁ 結合化は著しく抑制される。

(13) *Candida* の螢光顕微鏡的研究 II

Candida albicans の薬品及び抗生物質に
対する影響

大平一郎・大橋 栄

岩崎富士弥・遠藤 次夫

東京慈恵会医科大学林内科教室

著者等は先に主として物理的諸因子が、*Candida albicans* (*C. alb.* と省略) の螢光像に如何なる影響を与えるか、またその螢光像の変化により *C. alb.* の生死鑑別が可能であるかどうかを実験し、その成績を第 1 編 (Chemotherapy 6 (2): 1958) に於て述べたが、今回は各種化学薬品及び抗生物質を使用し、前回と同様の諸実験を施し、次のような成績を得たので報告する。

I. 実験材料及び実験方法

螢光色素は、Merck 製 Acridinorange (A. O. と省略)、実験に供した *C. alb.* はサブロー寒天培地 48 時間培養のものであり、螢光顕微鏡装置は Winkel-Zeiss 製簡易型螢光顕微鏡 (矢崎式) を使用した。

実験 1. 化学薬品の影響

菌をサブロー平板培地 10 枚に平等に塗布し、37°C, 24 時間培養後、菌が平等に発育したものを使用し、各シャーレの蓋に、アルコール、クロロホルム、ホルマリン、エーテルを各々 1.0 cc 及び少量のヨードを入れた時計皿を置き、前述の菌の発育したシャーレをそれぞれ被せ、室温に放置し、1, 2, 3, 4, 24 時間の各時間後にシャーレの中央部の菌をとり、培養し、一方 10,000 倍 A. O. の 1.0 cc に 1 白金耳の菌を混じり、10 分後に鏡検した。しかし、ヨードの入ったシャーレは時々軽く加温した。

実験 2. 抗生物質の影響

Penicillin は 1,000, 10,000, 100,000 単位, Streptomycin は 10, 100, 1,000, 10,000 mcg/cc, Tetracycline, Oxytetracycline はそれぞれ 1, 10, 100 mg/cc, Chloramphenicol, Cycloserine はそれぞれ 0.01, 0.1, 1, 10 mg/cc, Eurocidin, Candimycin はそれぞれ 0.01, 0.1, 1, 10, 50, 100 mg/cc, Colimycin は 0.01, 0.1, 1, 10 mg/cc, Trichomycin は 0.1, 1, 10 mcg/cc の各濃度の溶液を作り、これに一定量の *C. alb.* を加え室温放置 1, 2, 3, 4, 24, 48 時間後に逐次的に、これをサブロー寒天培地に培養し同時に 10,000 倍 A. O. 溶液 1.0 cc に菌 1 白金耳を混じり鏡検した。

II. 成績

視野に現われた赤色、緑色螢光色調を呈する菌数を示す方法は第 1 編と同様に下記の記号を使用した。

0/5 全て緑色光菌のみ

1/4 大部分緑色光菌

2/3 緑色光菌の稍多い場合

2.5/2.5 両者ほぼ同数

3/2 赤色光菌の稍多い場合

4/1 大部分赤色光菌、少数の緑色光菌を含む

5/0 全て赤色光菌のみ

1. 化学薬品の影響

99% アルコール：1 時間から全部の菌は赤色光を呈し、少数の黄～褐色の菌が認められ螢光は強い。培養では 4 時間までは集落発生をみるが、24 時間後には集落は全然認められない。

クロロホルム：1 時間後より螢光色調は全部赤～褐色光菌であり、培養では、1 時間より全く集落の発生を認めない。

ホルマリン：螢光弱く、1 時間より 24 時間に至るまで、赤黄色菌が大部分で、少数の淡緑色光菌が散在するのを認めた。培養では 3 時間までは対照と同程度に発育し、4 時間では発育の抑制がみられ、24 時間では集落は全く認められない。

エーテル 4 時間までは、少数の緑色菌と多数の淡赤色菌を認め、24 時間では全部輝の弱い淡赤色菌となった。培養では、1 時間で対照と同程度の発育を認め、2, 3 時間で強い発育抑制が認められ、4 時間以後では全く発育しない。

ヨード：3 時間迄は赤褐汚染色の菌がやや多く、4 時間以後は殆んど大部分赤褐汚染色の菌となる。培養では 1 時間後より、集落の発生を認めない。

2. 抗生物質の影響

Penicillin, Streptomycin, Tetracycline, Oxytetracycline, Cycloserine は各濃度に於て 48 時間後に至るも、螢光色調に何らの変化も認められず、培養に於ても対照と同程度に発育した。

Chloramphenicol に於ては、48 時間後に多少赤色菌の増加する傾向が認められたが、培養では対照と同程度に発育した。

一般に溶液濃度が高くなると (50~100 mg/cc) 鏡検時に抗生物質の結晶が多く出現し、螢光色調の判定が、非常に困難な場合が多くなる。

Eurocidin

螢光色調の変化

1 時間後には 10 mg で多少赤色菌の増加する傾向がみられるが、50, 100 mg では結晶の出現が多く螢光色調の判定が非常に困難である。3, 4 時間でも殆んど同様の所見であるが、0.1, 1 mg に於て緑色菌の中に黄褐色の被膜様のものを有し、中心部は帯黄緑色に染まつた菌

が増加するのが認められる。24 時間後には、0.1mg 以上で赤色菌の増加が認められ、緑色菌でも淡黄色調をおびるものがみられる。48 時間では 0.1 mg 以上で赤色菌は更に増加する。

培養成績

1 時間後で 10 mg 以上に発育抑制がみられ 2,3 時間後も殆んど同様の所見であり、4 時間では 50 mg 以上で、更に発育は抑制される。24 時間後には 1, 10 mg で抑制がみられ、50, 100 mg で集落発生は全く認められない。48 時間では 0.1, 1 mg で強い抑制が認められ、10 mg 以上では、集落の発生は全く認められない。

Candimycin

螢光色調の変化

1 時間後には 1 mg 以上で赤色菌の増加がみられ、50, 100 mg では、殆んど赤色菌のみである。2, 3, 4 時間では多少赤色菌増加の傾向が認められるが、殆んど 1 時間後と同様の所見である。24 時間では 10 mg で赤色菌の増加がみられ、50, 100 mg では抗生物質の結晶析出が多く菌の判定は極めて困難である。48 時間では 0.1, 1 mg に於て赤色菌の増加が認められ、10 mg 以上では殆んど赤色菌のみとなる。

培養成績

1 時間後のものでは、1, 10 mg で発育の抑制がみられ、50, 100 mg では、直接培養では集落の発生は全く認められず、洗滌後培養したものでは、強度の発育抑制が認められた。2 時間後には 10 mg で強度の発育抑制、50 mg では全く発育しないか、または少数の集落発生を認めるのみである。100 mg では、集落発生を全くみない。3, 4 時間では同様の成績であるが、24 時間後には 50 mg 以上で完全に発育は抑制される。48 時間でも同様の成績である。

Colimycin

螢光色調の変化

1 時間後には 0.1 mg 以上で赤色菌の増加がみられ、10 mg では大部分赤色菌である。

2 時間では、0.1 mg 以上で大部分が赤色菌であり、3, 4 時間では 1 mg 以上では全く赤色菌のみで緑色菌の混在を認めない。24, 48 時間では、0.01 mg で少数の緑色菌の混在するのを認め、0.1 mg 以上では赤色菌のみとなる。

培養成績

1 時間後 0.1, 1 mg で軽度の発育抑制、10 mg で強い抑制がみられ、2 時間では 0.1 mg 以上で強く抑制、3 時間でも殆んど同様であるが、殊に 10 mg では、更に抑制され、40~50 コの集落を認めるのみである。4 時間では 0.1 mg 以上で、20 コ以下の集落発生を認め、

24 時間では 10 mg で全く集落の発生を認めない。

Trichomycin

螢光色調の変化

4 時間までは変化は認められない。24, 48 時間後には、0.1 mcg で赤色菌の増加が認められ、1 mcg 以上では全く赤色菌のみとなる。

培養成績

螢光色調の変化と同様 4 時間までは発育抑制はみられず、24 時間後に 1 mcg で、強い抑制を認め、10 mcg では集落発生をみない。48 時間では、0.1 mg で強い抑制を認め、1 mcg 以上では集落発生は全く認められない。

III. 考按及び結論

一般に *Candida* 属に対して Penicillin, Streptomycin, Tetracycline 系薬剤, Chloramphenicol 等は、無効であるとされており、我々の実験に於ても螢光顕微鏡所見、培養ともに同様の結果を得ている。

Trichomycin の *Candida* 発育抑制に関しては多くの報告がある。即ち、細谷は 0.25 mcg で有効であるとのべ、水野は 0.1~0.4~1.6 u で発育抑制を観察、伊藤は最低 0.09 u, 最高 0.39 u の間で阻止されると報告し、池本は最低阻止濃度は 0.25~0.19 mcg, 三辺は 10 u, 堀は 0.3 mcg と、それぞれ報告している。我々の実験では 0.1~1 mcg で培養及び螢光顕微鏡所見に於て発育阻止の成績を得ている。しかし、本実験のように、これら薬剤の *Candida* に対する作用を螢光顕微鏡検査と培養により比較検討した報告は見当たらない。

我々は第 1 編に於て A. O. により *C. alb.* を生体染色する場合にその生死を鑑別するのに好都合の諸条件を検討したが、今回は、その条件の下に於て各種化学薬剤、抗生物質が *C. alb.* の螢光色調をどう変化させるか、そして更にその色調の変化と培養結果との間にどんな関係があるか、即ち、薬品、抗生物質を作用させた菌の生死鑑別が可能であるかどうかにつき実験を行ない、次の結論を得た。

化学薬品の影響

(1) アルコール、クロロホルム、ホルマリン、エーテル等は、1 時間後から殆んど菌は赤色を呈し、ヨードだけ赤褐汚染色を呈した。

(2) 培養ではクロロホルム、ヨードでは 1 時間後から全く集落の発生を認めず、エーテル、ホルマリン、アルコールの順で、発育の抑制作用がみられ、どの薬品に於ても、24 時間後には、集落の発生は全く認められない。

アルコール、ヨード、ホルマリンを作用させた場合の螢光色調の変化と培養成績とが一致しない所見もあるが、これは各薬品の螢光色調に及ぼす影響が大きいもの

と思われ、今更検討しなすれば ならない問題である。

抗生物質の影響

(3) Penicillin, Streptomycin, Tetracycline, Oxytetracycline, Cycloserine, Chloramphenicol はいずれも、蛍光法及び培養で *C. alb.* に対する効力は認められない。

(4) Trichomycin, Colimycin, Eurocidin, Candimycin の順に効果が認められ、蛍光色調の変化(赤色菌の増加)と培養成績とは一致している。

(5) 蛍光法、培養法両者共に無処置の菌と洗濯して使用した菌との比較では大きい差は認められなかつた。

(14) クリプトコッカス症の研究

第 1 報

クリプトコッカス髄膜炎患者の髄液よりの分離株について

村上精次・池本秀雄・宮本 薫

順天堂大学医学部第 1 内科

森 邦 義

同臨床検査部

クリプトコッカス症は年々増加の傾向があり、且つ真菌学に対する一般の関心により生前に診断されることも少くないようである。併し髄膜炎症状を呈した患者の殆んど全てが死の転帰をとっている。

患者は 43 才の男子銀行員で、死亡直前に髄液より酵母様真菌を証明し、剖検後全身の多くの臓器に真菌性病巣の撒布がみられ酵母菌症、更にその後に至つてクリプトコッカス症と診断されたが、臨床症状、病理所見等は既に内科地方会で山川氏等により報告されたので、今回は主として本菌の特異的な性状について報告する。

本菌は Malt agar 又はサブロー寒天培地で約 3 日間で発育し、初めは淡黄白色の酵母様集落を呈するが次第に黄褐色となり、やや光沢のある辺縁の平滑な割合柔かい集落を呈する。液体培地では菌は管底に発育し表面には皮輪の形成が殆んど認められない。Malt extract では菌はほぼ球状で平均直径 4~5 μ で、1~2 ときに数個の出芽及び一部に発芽管ないし極く原始的な仮性菌糸がみられる。

Corn meal の slide culture, 人参培地, 石膏培地では菌糸, 典型的な仮性菌糸及び子嚢胞子はみられず、且つ cartenoid pigment 及び分節胞子もみられない。従つて LODDER 等 (1952) の分類によれば本菌は *Crypto-*

coccaceae 科の亜科 *Cryptococcoideae* に属するが、そのなかでも発育速度により *Pityrosporium* 属を、発芽の模様及び細胞の形態より *Brettanomyces*, *Kloeckera*, *Trigonopsis* 属を、典型的な仮性菌糸のないことなどよりして *Candida* 属をそれぞれ否定しようとする。

最後に最も問題となるのは *Cryptococcus* と *Torulopsis* であるが、LODDER は糖の非分解、莢膜形成、澱粉様物質合成の菌を *Cryptococcus* とし特に後者を重視して、澱粉様物質を合成しないものはたとえ莢膜を有しても *Torulopsis pinus* 及び *molischiana* の如く *Torulopsis* 属に入れている。本菌は培地上 8 継代 3 カ月頃まで莢膜を形成せず、また澱粉合成が時に陽性或いは陰性で、エタノールを利用せず何れに属させてよいか迷つた。糖分解及び利用等は *C. neoformans* に一致した。

偶々患者の脳の氷結切片のインジアインク染色で莢膜を有しない菌に混つて著明な莢膜を有する菌が証明された。従つて更に培地上で検討したところ 11 代継代 3 カ月に至つて初めて大部分が莢膜を有するのがわかつた。併しこれを新しい培地に移植すると莢膜の大部分は消失し、一方興味あることは本菌は 20 代継代でもなお一部に原始的な仮性菌糸を示した。更にマウスに静注して 2 日目に死亡したものの肺のインジアインク染色で殆んどが莢膜を有することが認められた。*Torulopsis* 属で死亡したものでは莢膜を認め得なかつた。なお動物病原性ないし毒性として *Torulopsis* 属でもマウスは死亡しており、*Cryptococcus* の方が毒性が強いということは必ずしもいえぬ場合があり、マウスの死亡率のみで両者を鑑別することは無理であると考えられる。

数種の *Torulopsis* 及び *Cryptococcus neoformans* の薬剤に対する感受性として、抗生物質ポリミキシン B に対しては *C. neoformans* 及び *T. famata* がほぼ同程度の感受性を示した。以上、本菌を 2~3 の *Cryptococcus neoformans* 及び *Torulopsis* と比較しつつ検査し、なお検討の予地が多少あるが、一応本菌は *C. neoformans* と同定されてよいと思う。本菌は莢膜を培地上では容易に証明し難く、且つ剖検上臓器においても莢膜がみられぬものが多く同定上困難を来したが、将来このような 1 種の変異株による髄膜炎の発症も予想され、特殊な培地でもない限り LODDER 等の分類法はかなりの時日を要すると思われ、少くとも莢膜の証明は動物を使用することが最も迅速であり、培地上では継代数よりはむしろその“古さ”に関係すると考えられ、今後この両者における差異の本態を検討したいと思う。

(15) 抗真菌性物質による実験的クリプトコッカス症の治療について

上田英雄・大塚恭生・佐々隆之
金児克己・福島孝吉・明石哲二
池本秀雄・進藤秀雄

東京大学上田内科

最近日本に於いて分離された *Cryptococcus neoformans* 4 株の送付をうけ、当教室分離の 3 株及び Duke 株と合わせ 8 株について種々比較実験を行なつていて、現在までに得られた成績を報告する。なお、各株の提供を得た大学、教室名をもつて略称することとし、それぞれ東邦株、東大皮膚科株、大阪株、順天堂株、田坂株 M₁ 株、M₂ 株、Duke 株とする。

1) 形態について

Cryptococcus neoformans の本来の形態として、カプセルを持つていることは、既知であるが、ここに集められた 8 株については、そのカプセルの存否及びその厚さにかかなりの相異を示し、サブロー培地に培養したものは、あるものは、全部にカプセルを有し、あるものは、ほとんどカプセルを有しないものもある。カプセルの多いものから順にならべると、1) Duke 株、2) 東邦株、3) 大阪株、4) 順天堂株、5) M₁ 株、6) M₂ 株、7) 東大皮膚科株、8) 田坂株となり、5) 以下は現在ほとんどカプセルをもつていない。しかし、培養条件の変化、又は生体内に於いては、カプセルの有無に変化を来し、5) ~8) にもカプセルの出現を見るようになる。

2) 各種薬品の最低阻止濃度について

8 株の *C. neoformans* 及び対照として *Candida albicans*, *Torulopsis glaburata*, *Torulopsis famata*, *Torulopsis candida* の 4 株を合せ、12 株について Polymyxin B, Actidione, Amphotericin B, Nystatin, Trichomycin, Mersonin, Gentiana violet による最低阻止濃度を測定した。*C. neoformans* の 8 株については、2~4 倍の差は認める場合もあるが、カプセルの有無によつては、一定の傾向を認めることが出来なかつた。

3) 毒力について

各株を一定条件にて培養し、14~16g のマウスを用い、1 匹につき、5,000,000 の菌を静注、1 群 20 匹として、5 週間の経過を観察した。結果は動物の平均を斃すに要する日数より判定し、強い順に列記すると、東邦株、順天堂株、大阪株、田坂株、M₁ 株、東大皮膚科株、M₂ 株、Duke 株となる。東邦株と Duke 株とではかなりの差があり、前者は 2 日で 17 匹斃すに対し、後者は 30 日を要している。なお、カプセルの有無による毒力の差

は見られない。更に各群数匹づつ、死後に於いて菌数計算を行なつた。一般的に早期死亡のものは肺の菌数が極めて多く、肝、脳とつづき、2 週前後よりは、脳に於けるものが著しく増加し、肝はほとんど変化せず、肺はいちじるしく減少した。同時に組織についての検査も行なっているが、なお結果は不明である。

4) 感染防禦実験について

Amphotericin B についての感染防禦実験は次のとおり行なつた。即ち、田坂株、Duke 株の 2 種を使用、菌数は各々 5,000,000、14~16g のマウスを 20 匹 1 群とし、Amphotericin B は suspension として、50,000 u/kg、25,000 u/kg 及び 12,500 u/kg の 3 段階として、菌接種後 24 時間より治療を開始、2 週間連日腹腔内に注射をした。田坂株に於いては、Control が 12 日にして、全数死亡するに対し、治療群は、2 日目に各段階 4~8 匹の死亡をみたのみで、その後はほとんど死亡するものがなく、明らかに延命効果がみとめられた。Duke 株に関しては、その株の毒力が弱いためか、はつきりと差があらわれないが、治療中止後 10 日にして、数匹の差があり、効果があると思われる。

次に、Nystatin による感染防禦実験については、方法はすべて前者と同様とし、Nystatin は Suspension として、1 匹あたり 3,000 u、1,500 u、750 u を腹腔内に使用した。しかし Nystatin の毒性が強く、治療群の死亡数のはるかに、Control 群を上回つたため、以後 Nystatin の量を各々半量とし、3 日に 1 回の治療とすることとした。しかし約 10 日間の経過をみるに、ほとんど効果を見ることが出来なかつたので、11 日目に(最後の治療の翌日)各群 3 匹づつ、脳の菌数計算を行なつたが、その結果は Control 群と治療群の間にはほとんど差は認められず、Nystatin の腹腔注射による効果はほとんどないものと思われた。

なお、Amphotericin B の血中濃度、カプセルの厚さの差による免疫学、血清学的研究を現在行なつているが、未だその結果を得るに至つていない。

第 2 日

(16) 放射性物質・抗癌剤による HeLa 細胞の形態変化の推移

野嶽幸雄・光石 堅・渡辺信一
林 昭・大塚勝章・林 文裕
慶大産婦人科教室

抗癌剤の影響を X 線、Co⁶⁰ のそれと比較することは意味深い。演者等は HeLa 細胞の角チューブ培養により、抗癌剤は培地に含有せしめ、X 線、Co⁶⁰ はそれぞれ、

100, 250, 500, 1,000 g を 1 回照射, 5 日後培地交換を行ない可及的長時間に亘る短冊, ギムザ染色標本を得て形態的变化を主として比較検討した。現在までの成績を要約する。

1) 抗癌剤では Carzinophilin (CZ), Mitomycin C (MT) と Thio-TEPA (TP) の影響は Nitromin (NMO), Azan (AZ), Sarkomycin (SR) に比し遙に漸進的遷延性で有効濃度の幅も広く, 96 時間後に最高変化に達し, 他の 3 者では 12~48 時間前後であつた。

2) 全細胞壊死し硝子面から完全に剥脱する濃度と最少影響濃度との幅は凡そ次の如し。

MT 25.0 mcg/cc 以上……0.005~0.0020 mcg/cc
 CZ 12.5 mcg/cc 以上……0.001~0.0005 mcg/cc
 SR 250.0 mcg/cc 以上…… 62~31 mcg/cc
 AZ 1,000 mcg/cc 以上……12.50~62.500 mcg/cc
 NMO 30 mcg/cc 以上…… 2~1 mcg/cc
 TP 1,250 mcg/cc 以上……19 mcg/cc 以下に及ぶ。

3) 高濃度領域では形態変化に薬剤別特徴が窺われた。AZ では原形質の泡沫状空胞化, SR では印環細胞様変化, CZ・MT・NMO・TP では崩壊像が著明であつた。特に MT・TP の場合巨細胞の規則正しい出現に注目された。

4) 濃度と形態変化の移行が最も規則的に相伴う MT につき核計算による増殖曲線と形態変化鑑別計算を併せ行ない影響の全貌を一層明かにすることが出来た。巨細胞は比較的低濃度に出現する。

5) X 線, Co⁶⁰ の影響は 1,000 r 照射でも, 抗癌剤群と比し著しく緩慢, 漸進, 遷延的であつた。形態変化上, 核濃縮, 異常分体像, 原形質突起形成, 巨大細胞, 特に多核形成, 巨細胞の溶失, 奇怪形, 紡錘形小型細胞の残留に注目された。巨細胞は照射漸次増加するが最大頻度は照射後 7~10 日の間にあつた。

6) X 線, Co⁶⁰ 効果の最もよい指標は総分体像数と巨細胞数との推移であつた。この両線を得て, X 線, Co⁶⁰ 照射量別の効果を比較することが出来た。同率の照射量倍加により Co⁶⁰ の効果は X 線に比し凌駕した。

7) 影響の漸進的, 遷延性なることと, 巨細胞の規則正しく出現する点からみて, 抗癌剤群では MT と TP が最も放射線に近似すると言える。

(17) Bis (hydroxy-3, 5-dibromo-phenylazo)-*n*-propylphloroglucinol の抗腫性吟味

宮 地 民 子

金沢大学医学部薬理学教室
 金沢大学結核研究所化学部

吉田肉腫, エールリッヒ癌及び Sarcoma 180 の何れの腹水型腫瘍細胞を腹腔内に移植した担癌動物に対しても Bis (2-hydroxy-3, 5-dibromophenylazo)-*n*-propylphloroglucinol [Azo-106] の腹腔内投与が顕著な抗腫瘍効果を示すことに就いては己に実証された処である。

然らば Azo-106 には流血を介して遠隔的に腫瘍抑圧効果を呈する性能があるだろうか。この問題に対する吟味としてエールリッヒ癌並に Sarcoma 180 の夫々に就いて

- 腫瘍細胞の腹腔内移植動物に対する皮下投与による治療
- 腫瘍細胞の腹腔内移植動物に対する経口投与による治療
- 腫瘍細胞の皮下移植動物に対する腹腔内投与による治療
- 腫瘍細胞の皮下移植動物に対する皮下投与による治療

という 4 方式の実験を行なつた。

其の成果を概括すれば, 次の如くである。

1) エールリッヒ癌並に Sarcoma 180 の腹腔内移植 (腹水型腫瘍) 動物に対し Azo-106 の皮下注射を行なつた実験では軽度ながらも抗腫瘍効果が認められた。

2) 腹水型腫瘍に対する Azo-106 の経口投与実験では有意の結果は期待し得られなかつた。

3) 結節型腫瘍 (Solid tumor) に対する実験では, Azo-106 の腹腔内投与でもまた皮下投与でも, 腫瘍の増大が明らかに抑圧されるという結果であつた。

(18) HeLa 細胞に対する抗癌性物質の作用について

伊藤泰一・宮村定男・庭山清八郎

新潟大学医学部細菌学教室

GEY 等により人工培養の行なわれた HeLa 細胞は, それが 1 種の人癌細胞であることから現在 *in vitro* anti-cancer screening に広く応用されつつあり, 本邦においては新田等の報告がある。

私共は培地稀釈法により HeLa 細胞に対する各種抗菌性物質及び抗癌性物質の発育阻止濃度を測定し, 次いで本細胞を接種した寒天平板拡散法をも試みたので, ここに報告する。

HeLa 細胞は 20% 牛血清加 YLE 培地, 1 週間培養のものを用い, 予め pH 7.4 の燐酸緩衝食塩水で 2 回洗滌後, 0.02% Versenate 加燐酸緩衝食塩水で管壁より細胞を剥離し, 1,000 r.p.m. 10 分間遠心後, 血球計算盤で計測, 所要の濃度の細胞浮遊液を作製して実験に供した。

試験管稀釈法では、YLE 培地を以て各種薬剤を溶解、試験管に分注、倍数稀釈の系列を作り、その 0.9 ml に 5×10^4 /ml 濃度の細胞浮遊液 0.1 ml を添加、斜め横にして 37°C に培養、72 時間後 Phenol red の色調の変化及び肉眼並に鏡検上正常発育の認められない最小濃度をもつて発育阻止濃度とした。

その結果は Actinomycin C, 8-Azaguanine, Carzinophilin, Gramicidin J, Mercuric chloride, Merthiolate, Nitromin 及び Trichomycin に著明の作用が認められ、何れも $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の濃度で細胞は完全に発育が阻止され、Colistin, Guanofuracin, Fradiomycin (Neomycin), Oxytetracycline, Sarkomycin, Triethylene melanine, 及び N·N'·N''-Triethylene thiophosphoramidate 等では $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ の間で阻止作用が認められた。Chloramphenicol, Chlortetracycline, Erythromycin, Kanamycin, Nystatin, Penicillin, Streptomycin 及び Tetracycline 等の抗生物質は $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上でも作用が認められず、又 Sulfaisoxazole, 6-Mercaptopurine 及び Urethane 等も本実験では抗 HeLa 作用が微弱であった。新田の実験では培養 3 日目に薬剤を添加し、細胞の脱落、変性及び死滅等でその抗細胞性を測定しているが、抗生物質における一般方法に準じて当初から薬剤を加えた私共の実験においては、発育及び pH の時間的推移の観察が容易で、その結果も新田の細胞死滅濃度と略々同様の成績を示した。

次いで HeLa 細胞の寒天平板拡散法については DI PAOLO 等の報告があるが、反応の発現が著明でないと述べている。私共は Peptone 1 g, Glucose 0.5 g, NaCl 0.25 g, Na_2HPO_4 0.3 g, Bacto-agar 1.5 g 及び蒸留水 100 ml の組成の培地を用い、加熱融解後 48°C に保つた培地 9 ml に非動物性牛血清 1 ml 及び HeLa 細胞浮遊液 ($1 \times 10^7/\text{ml}$) 1 ml を加え、Petri 皿に流し、冷蔵庫内に固め平板とした。細胞数は多い程明瞭な結果を示し、 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 以下では明かな反応を呈しない。上記の平板に各種薬剤の種々の濃度の溶液に浸した Paper disc を適当数置き、 37°C で 18 時間培養する。しかる後 disc を取り去り、滅菌蒸留水で表面を洗った後、0.01% 2,6-Dichlorophenol indophenol を注ぎ平板の表面を青く染め、再び 37°C に 30~60 分放置する。薬剤の作用を受けた部分は細胞が還元性を失い、上記の Indicator により青色環を生ずる。私共の実験では HeLa 細胞の場合でも Ehrlich 癌細胞の場合と同様明瞭な青色環が出現し、この青色環の直径を計測すると Actinomycin C, Carzinophilin, Gramicidin J, Guanofuracin, Mercuric chloride, Merthiolate, Nitromin, Sarkomycin, Trichomycin 及び Triethylene melanine 等において $1,000$

$\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の濃度を含む disc で明瞭な青色環が認められ、又 8-Azaguanine, Chlortetracycline, Colistin, Oxytetracycline 及び N·N'·N''-Triethylene thiophosphoramidate 等では $10,000 \mu\text{g}/\text{ml}$ の disc で青色環が現われ、Chloramphenicol, Erythromycin, Kanamycin, Fradiomycin, Nystatin, Penicillin, Streptomycin 及び Tetracycline 等の抗生物質並に Sulfaisoxazole, 6-Mercaptopurine 及び Urethane 等では全く青色環の発現を見なかつた。この成績は 37°C 18 時間培養の結果であるが、 4°C 18 時間、即ち低温で細胞の静止した状態では 8-Azaguanine, Carzinophilin, Mercuric chloride, Merthiolate, Sarkomycin, Trichomycin 及び N·N'·N''-Triethylene thiophosphoramidate のみに青色環が見られ、然も Mercuric chloride, Merthiolate 及び Trichomycin 以外は青色環は不明瞭で、且つ小さい。後 3 者は 37°C 培養の場合と殆んど同様の青色環を示し、これらは直接脱水素酵素或いは細胞自身に作用することが想像され、逆にその他のものは 37°C 長時間培養にのみ著明の反応を示すことから、これらが細胞の活生に作用したものと考えてよいと思う。尙 Indicator として 2,6-Dichlorophenol indophenol の結果を主として報告したが、Methylene blue でも殆んど同様の成績が得られた。

次に稀釈法と平板法との結果を比較するに略々同様の傾向が見られ、抗腫瘍剤とされている Actinomycin C, 8-Azaguanine, Carzinophilin, Nitromin, Sarkomycin, Triethylene melanine 及び N·N'·N''-Triethylene thiophosphoramidate 等では何れも強い作用が認められるが、6-Mercaptopurine 及び Urethane は共に作用微弱で、又抗生物質中 Colistin, Gramicidin J, Fradiomycin, Tetracycline group 及び Trichomycin 等に抗細胞性が見られたが、Chloramphenicol, Erythromycin, Kanamycin, Nystatin, Penicillin 及び Streptomycin 等には殆んど作用なく、これらが本細胞の培養に培地成分として雑菌混入防止の目的に充分使用し得ることが窺われた。

Mercuric chloride 及び Merthiolate の作用は当然のことながら強力で、尙 Guanofuracin には Ehrlich 癌細胞の場合と同様抗細胞性が見られた。

以上、HeLa 細胞について各種抗生物質並びに薬剤の作用を試験管稀釈法並びに寒天平板拡散法によつて測定した成績を述べたが、抗腫瘍剤の作用は極めて複雑で、かかる試験管内実験から生体内効果を速断することのできないことは当然であるが、従来抗腫性を有すると考えられている物質に多く陽性の結果を示したことは、動物実験に比すれば極めて簡単なこれらの方法が抗癌性物質