ストレプトマイシンアレルギーの実験的研究

甲 斐 義 宏

東京大学伝染病研究所臨床研究部 (部長 北本 治教授) 埼 玉 県 立 小 原 療 養 所 (所長 藤岡万雄博士)

(昭和 34 年 3 月 7 日受付)

ストレプトマイシン(以下、SMと略)は結核治療に広く用いられ、結核患者に光明を与えつつあるが、一方いくつかの副作用があり、難聴は障害として永く残り、治療中止のやむなきに至ることがあり、注射後ショック等により死亡する等の報告1)もみられる。これら副作用の発現を予防又は予知して、SMの効果のみを最大限に発揮せしめることは、結核の臨床に携るものにとつては、最大の関心事である。著者は既にSMによると思われるショック及びアレルギー様反応2)に対して臨床的観察を行ない、又SMの皮内反応3)についても考察した。今回はSMの皮内反応成績について、家兎を用いて動物実験を行なつたので報告する。

実 験 方 法

生後半年以上1年まで経過した体重 2.0 kg から 3.5 kg にわたる家兎を使用した。 家兎は4群にわけ,第1群はAからH,第2群はJからN,第3群はPからT,第4群はVからXまでとし,各家兎は別々の飼育箱に入れ,同一環境のもとで飼育した。

第4群V, W, X はそれぞれ体重 2.0 kg, 2.9 kg, 3.1 kgで対照とした。第1群から第3群まで、各家兎の体重は表の如くで、第1群中Aは筋肉内、Bは皮内に、5倍稀釈ジヒドロストレプトマイシン(以下, DHSM と略)の20 mg/kg を、単独に、Cは皮内、Dは筋肉内、E は筋肉内に、又F, G, H 及び第2群 J, K, L, M, N, 第3群 P, Q, R, S, T は皮内に、5倍稀釈 DHSM の 20 mg/kg と、これと等量の Freund's adjuvant を加えて注射した。注射は A, B, C, D, E は 15 日間毎日連続投与し、その後 15 日間は実施せず、F, J, K, P, Q, R は週2回、4週間投与し、その後 30 日間は実施せず、又G, H, L, M, N, S, T は週3回、4週間投与し、その後 30 日間は実施せず観察した。

実験中は、1) 毎週体重測定を行なつた。

- 2) 注射開始及び感作終了後,期間の経過した家兎に対しては,10 倍稀釈 0.1 cc の DHSM による皮内反応を実施して,15 分,30 分,60 分,120 分,24 時間,48 時間目の所見を観察した。
- 3) A, B, C, D, E に対しては、注射開始及び注射 開始 30 日後には血算を行なつた。

- 4) 又同 A, B, C, D, E の家兎に 120 mg の DHSM を筋肉内に注射し、1時間後に採血し血清を分離して、 各家兎共濾紙電気泳動法により斎藤の方法()によつて、 蛋白分割と DHSM の定量を試みた。即ち5)、肉エキス 10, ペプトン 10, 寒天 15, 蒸溜水 1,000, pH 8.0 の 測定用培地を用いた。次いで枯草菌 PCI 219 株を1週 間,寒天斜面 37℃ に培養し,其の1標準白金耳を滅菌蒸 溜水 10 cc に浮遊せしめ、60℃ 1時間温浴中に入れて、 非働化し芽胞のみとなして氷室に貯え、之を先の培地に 0.2% の割に混和して, 試験管(内径3mm)に分注し, 固まつてから約1時間氷室に放置した。この培地に濾紙 電気泳動法によつて、蛋白分割を行ない、0.5 cm 間隔 に等分して得た切片を 1/15 mol 燐酸緩衝液 (pH 8.0) に数時間ひたした後、その液を先の0.2%枯草菌加培地 の上に重層した。これを3時間氷室に入れ,取出して37 。C にて 18 時間培養して、阻止帯の幅を測定し、前もつ τ DHSM 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.1 u/cc によつて得られた表から DHSM の u/cc を算定した。
- 5) 次に A, B, C, D, E 及び第2群 J, K, L, M, N の各家兎に対し、0.5% 硫酸アトロピン 0.1 cc の筋肉内注射を行ない、同時に10倍稀釈 0.1 cc の DHSM による皮内反応を実施した。
- 6) A, B, C, D, E 及び第3群 P, Q, R, S, T の各家兎に対しても, 1% 塩酸ピロカルピン 0.05 cc の筋肉内注射を行ない, 同時に SM 皮内反応を行なつた。
- 7) A, B, C, D, E の各家兎に対して 0.5% 硫酸アトロピン $0.1\,\mathrm{cc}$ 及び 1% 塩酸ピロカルピン $0.05\,\mathrm{cc}$ の同時筋肉内注射を行ない,その際同時に SM 皮内反応を行なつた。
- 8) 次いで A, B, C, D, E の各家兎に 1,000 倍塩化 アドレナリン 0.05 cc を筋肉内に注射し、同時に SM の 皮内反応を実施した。
- 9) 第1群中 A, D, E, F, G, H の各家東に対して, 5 倍稀釈 DHSM の 120 mg を筋肉内, 又同時に 1,000 倍塩化アドレナリンの 0.1 cc を皮内に注射, B, C の家 兎に対しては 1,000 倍塩化アドレナリンの 0.1 cc を皮内に注射後, 1 時間目に 5 倍稀釈 DHSM の 120 mg を

筋肉内に注射した。

10) 第2群の各家兎に対して5倍稀釈 DHSM の 120 mg を筋肉内, 又同時に 0.5% 硫酸アトロピンの 0.1 cc を皮内に注射した。

11) 第3群の各家兎に対して5倍稀釈 DHSM の 120 mg を筋肉内, 又同時に 1% 塩酸ピロカルピンの 0.1 cc を皮内 に注射した。

12) さらに 9), 10), 11) で得られた 皮内注射部位の発赤又は注射部位に対し て組織学的検査を実施した。

実験成績

体重測定の結果、感作終了時には、表の如く 2,3 の家兎に体重の減少がみられたが、多くは同一体重か又は増加がみられた。感作開始前及び開始 30 日目に実施した DHSM の皮内反応では、各家兎共、発赤、硬結あらわれず、反応陰性と考えられた。

又感作開始前及び開始 30 日後の血算に於ても,特別の変つた所見はみられなかつた。血清蛋白分割の測定の結果では図の如く,特別な所見はみられなかつたが,

オ1図 戸紙電気泳動法による蛋白分劃中のSMの定量

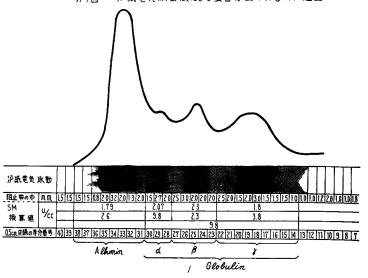


表1 SM 感作家兎に対する皮内反応 (第1群)

		20		10	% IF %		,, ,		TO CASTAT	,		
	家兎に対するDH の注射方法及び量	SM実験	感作	DH SM	(60 分後)		为反応 (2)	アドレナ	リンの皮内反	リンの皮内反応 (DHSM 同時筋注		
	(DHSM (20 mg/kg 使用	\ 時の	時の体重	内反		ピロカ ルピン の筋注		30 分後	60 分後	120 分後	24 時間	
A	DHSM 単独に創 15日間連続実施, 後15日目に実験員	以 2.5	1	1	0×0	0×0	(発赤) 1×1 (mm)	4 × 4 (5×5(発赤) (mm)	6×6(発赤) 2.5×2.5 (中心蒼白部) (mm)	3×3(発赤)* 2×2 (中心蒼白部) (mm)	
В	DHSM単独に皮内 15日間連続実施, 後15日目に実験関	注 以 2.7	2.9	0×0	0×0	0×0	(発赤) 3×3 (mm)	1時間目に	ン皮内注射後 DHSMを筋注		二重発赤)* 発赤) 中心蒼白部)	
С	DHSM+Freund' adjuvant を皮内と 15日間連続実施, 後15日目に実験開	s 主 以 2.2	2. 45		0×0	0×0	(発赤) 4×4 (mm)	アドレナリ 1時間目に	ン皮内注射後 DHSMを筋注	(29.5×29.5) 4.5×4.5	二重発赤)* 発赤) 中心蒼白部)	
D	DHSM+Freund' adjuvant を筋注 日間連続実施,以 15日目に実験開始	15 【後 2.3			0×0	0×0	(発赤) 1×1 (mm)	2×2(発赤) (mm)	5×5(発赤) (mm)	4.5×4.5 (発赤) 2.5×2.5 (中心蒼白部) (mm)	3.5×3.5 (発赤)* 2.0×2.0 (中心蒼白部) (mm)	
E	Dと同様		2. 5	0×0	0×0	0×0	(発赤) 1×1 (mm)	3×3(発赤) (mm)	3×3(発赤) (mm)	5.5×5.5 (発赤) 3×3 (中心蒼白部) (mm)	(mm)	
F	DHSM+Freund's adjuvant を皮内 週2回計8回実施, 後30日目に実験開	s E 以 3.3	3.6	İ	実施せず	実施せず	実施	6×6(発赤) 2.5×2.5 (中心蒼白部) (mm)	8×8(発赤) 3×3	8×8(発赤)* 3×3		
G	DHSM+Freund's adjuvant を皮内沿 週3回計10回実施, 後30日目に実験開	以 3.4	3. 5 kg	0×0	実施せず	実施せず	実施せず	(mm)	8×8(発赤) 3×3 (中心蒼白部) (mm)	8×8(発赤) 3×3 (中心蒼白部) (mm)	7×7(発赤)* 3×3 (中心蒼白部) (mm)	
н	G と 同 様	2. 9 kg	2. 9 kg	0×0	実施せず	実施せず	実施せずし	4×4(発赤) 2×2 (中心蒼白部) (mm)	5×5(発赤) 2.5×2.5 (中心蒼白部) (mm)	7×7(発赤) 2.5×2.5 (中心蒼白部) (mm)	7×7(発赤)	
*	囲すのため切除											

^{*} 標本のため切除

DHSM 量を濾紙電気泳動法により測定した結果では、アルブミンには平均 $2.6\,\mathrm{u/cc}$ 、グロブリンには平均 $9.8\,\mathrm{u/cc}$ (α -グロブリンには $9.8\,\mathrm{u/cc}$, β -グロブリンには $2.3\,\mathrm{u/cc}$, γ -グロブリンには $3.8\,\mathrm{u/cc}$) であり、DHSM はアルブミンよりむしろグロブリンに結合する場合が多いのではないがと考えられた。

次に 0.5% 硫酸アトロピン或は 1% 塩酸ピロカルピンの単独筋肉内注射時の DHSM 皮内反応, 又は硫酸アトロピンと塩酸ピロカルピンの同時注射時の DHSM 皮内反応に際し,以上の筋肉内注射,皮内注射部位共に何ちの変化も認める事が出来なかつた。

次いで 1,000 倍塩化アドレナリン 0.05 cc を筋肉内 に注射し、同時に前回と同様 10 倍稀釈 DHSM 0.1 cc の皮内反応を行なつた場合では、SM の皮内注射を行な つた部位に発赤がみられた。即ちBでは 60 分 3×3 mm, C では 30 分 4×4 mm で、A, D, E では著明ではなかった。

次いで、第1群ではアドレナリン、第2群ではアトロピン、第3群ではピロカルピンを皮内注射して、同時にDHSMを筋肉内に注射し(但しB,Cはアドレナリンを皮内に注射して1時間後にDHSMを筋注)それぞれの皮内注射部位を30分、60分、120分、24時間にわたり検査した結果、表1、2、3の如く、第1群全家兎のアドレナリン注射部位に、中心蒼白部を持つた著明な発赤を、第2群全家兎のアトロピン注射部位に軽い発赤を認めたが、第3群全家兎のピロカルピン注射部位には、発赤、その他の変化を全く認める事は出来なかつた。

以上、アドレナリン、アトロピン、ピロカルピンを皮

表 2 SM 感 作 家 兎 に 対 す る 皮 内 反 応 (第2群)

-	Γ				I	1 _		DITOMA				
	家兎に				実験開	感作終	DHSM	DHSMの 皮内反応	アトロピ	ンの皮内反応	(DHSM の同	司時筋注)
i	の注射 (DHSM			重 g 使用)			の皮内 反応	及り反心 同時アトロ ピン筋注	30 分後	60 分後	120 分後	24 時間後
J		nt を 回実	*皮卢 施,	d's 引注週2 以後30	2. 4 kg	2.8 kg	0×0	0×0	4×4 (薄い発赤) 2×2 (中心蒼白部) (mm)	4×4 (薄い発赤) 2×2 (中心蒼白部) (mm)	(mm)	
ĸ	J	٤	同	様	2.3 kg	2.7 kg	0×0	0×0	4×4 (薄い発赤) 1.5×1.5 (中心蒼白部) (mm)	3.5×3.5 (薄い発赤) 1.5×1.5 (中心蒼白部) (mm)	3×3 (薄い発赤) 1.5×1.5 (中心蒼白部) (mm)	
L		nt を 回実	:皮巾 施,	为注週3 以後30	3.3 kg	3.0 kg	0×0	0×0	3×3 (薄い発赤) (mm)	3×3 (薄い発赤) (mm)	2×2 (薄い発赤)* (mm)	
M	L	٤	同	様	2.8 kg	2.8 kg	0×0	0×0	5×5 (薄い発赤) 1×1 (中心蒼白部) (mm)	4×4 (薄い発赤) ・1×1 (中心蒼白部) (mm)	3×4 (薄い発赤) (mm)	4×4 (薄い発赤)* (mm)
N	L	٤	同	様	2.6 kg	2.4 kg	0×0	0×0	I×1 (薄い発赤) (mm)	2×2 (薄い発赤) (mm)	2×2 (薄い発赤) (mm)	2×2 (薄い発赤) (mm)

^{*} 標本のため切除

表3 SM 感作家 兎に対する皮内 反応 (第3群)

	家兎に対する DHSM の 注射方法及び量				実験開始	感作終了	DHSM	DHSMの 皮内反応	ビロカルビンの皮内反応 (DHSM の同時筋注)				
			0 mg/l	cg 使	用)	時の体重	時の体重	皮内反応	(同時ピロカ) ルピン筋注)	30分後	60分後	120分後	24時間後
P	DHSM- 皮内注道 30日目に	12回記	計8回			2. 35 kg	2.5 kg	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0
Q	P	٤	同	様		2.1 kg	2.5 kg	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0*	İ
R	Р	٤	同	様		2. 65 kg	2.5 kg	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0
s	DHSM- 皮内注题 30日目に	3 回 1	計10回		nt を 以後	2.5 kg	2.4 kg	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0*	
T	s	حـــــــــــــــــــــــــــــــــــــ	同	様		3.3 kg	3.0 kg	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0	0×0*

^{*} 標本のため切除

内注射して、反応がみられた部位に対して、組織学的検査を行ない、次の如き所見が得られた。即ち、前処置に於て DHSM と Freund's adjuvant の等量を、週2回、或は週3回、4週間にわたつて皮内投与した F, G, Hにアドレナリン、第2群にアトロピン、第3群にピロカルピンを皮内注射し、次いで DHSM を筋肉内注射した家兎では、組織学的検査でアドレナリン及びアトロピンの方が程度は軽かつた。

さらに DHSM 単独, 又は DHSM と Freund's adjuvant の等量を毎日

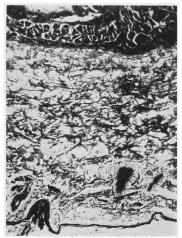


写真 1 (H. E. 染色) 無感作家兎に1,000 倍塩化アドレナ リン 0.1 cc を皮内注射して注射部 位を 24 時間後に切除したもの。 皮下に浮腫がみられるが全く細胞渗 潤は観察されなかつた。(10×7)

15 日間にわたつて皮内或は筋肉内投与した。家兎について観察すれば、Aでは皮下に円形細胞渗潤がみられ、且一部には、プラスマ細胞も観察された。ただしこのプラスマ細胞の数は少なかつた。Bでは表皮に特別な反応はみられないが、ごく軽い充血が、又深皮では充血に加えて浮腫が観察された。又Cではやはり充血と浮腫が観

察されたが, 充血 と浮腫の度合は SM 単独で感作し

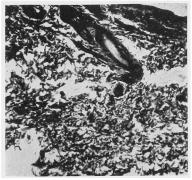


写真 2 (H. E. 染色) 感作家兎(ジヒドロストレプトマイシンを連続筋肉内に注射した家兎) に1,000 倍塩化アドレナリン 0.1 cc を皮内注射して(同時にジヒドロストレプトマイシン 120 mg を筋肉内 注射)皮内注射部位を 24 時間後に 切除したもの。

皮下に円形細胞渗潤がみられ且一部にはプラスマ細胞も観察された。ただしこのプラスマ細胞の数は少なかつた。 (10×7)



写真 3 (H. E. 染色) 感作家鬼(ジヒドロストレプトマイシンと Freund's adjuvant を筋肉内に連続注射した家鬼)に 1,000 倍塩化アドレナリン 0.1 cc を皮内注射して(同時にジヒドロストレプトマイシン 120 mg を筋肉内注射)皮内注射部位を 24 時間後に切除したもの。皮下に円形細胞渗潤,プラスマ細胞を観察され,更に肉芽様の組織がつくられ細かい線維の増殖が少いながら観察された。(10×7)



写真 4 (H. E. 染色)

感作家 兎 (ジヒドロストレプトマイシンと Freund's adjuvant を筋肉内に連続注射した家兎) に 1,000 倍塩化アドレナリン 0.1 cc を皮内注射して(同時にジヒドロストレプトマイシン 120 mg を筋肉内注射)皮内注射部位を 24 時間後に切除したもの。

皮下に出血を起したもの。 (10×20)

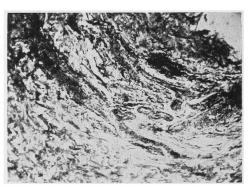


写真 5 (H. E. 染色)

感作家 兎 (ジヒドロストレプト マイ シンと Freund's adjuvant を筋肉内に連続注射した家兎)に 1,000 倍塩 化アドレナリン $0.1\,\mathrm{cc}$ を皮内注射して (同時 にジヒドロストレプトマイシン $120\,\mathrm{mg}$ を筋肉内注射) 皮内注射 部位を $24\,\mathrm{時間後に切除したもの。}$

脈管周囲の細胞渗潤を起したもの。(10×7)

た A, B \sharp b SM \sharp Freund's adjuvant で感作した \sharp の方が著明であつた。Dでは円形細胞渗潤,プラスマ細胞を観察され,更に肉芽様の組織がつくられ,細かい線維の増殖が少いながら観察された。

一方, DHSM で感作していない第4群の対照家兎に対して, 1,000 倍塩化アドレナリンの 0.1 cc を皮内に注射して 24 時間後に当注射部位に出来た 3.2×3.4mm の蒼白部を切除した場合には,皮下に浮腫がみられるが全く細胞渗潤は観察されなかつた。

次いで、1,000 倍塩化アドレナリンの皮内注射と同時に、5倍稀积 DHSM 120 mg を筋肉内に注射したが、アドレナリンのみ単独に注射した場合と同様 4.5×4.5 mm の蒼白部のみ観察され、組織学的検査でも同様、細胞渗潤は全くなく浮腫のみ観察された。

考 按

ペニシリンは一部の細菌疾患の治療には確実且偉大な 効果を有し、不可欠の抗生物質と考えられるが、それに よるアレルギー様反応の出現又はショック死亡が注目され、このために投与を躊躇する傾向がみられる。

SM もペニシリン同様、発見以来間もなくアレルギー 様反応のある事が報告され、日を加えるにしたがつてア レルギー様反応及びショックに関する報告¹⁾ が多数にみ られている。

著者はこれに関して先般肺結核患者における SM の皮内反応が に就て実験し、考察を加えたが、今回は家兎に SM 単独、又は SM に adjuvant を加えて、皮内注射又は筋肉内注射し SM による感作実験を行なつた。即ち、感作後 SM 皮内反応及びアドレナリン、アトロピン、ピロカルピン筋注時の SM 皮内反応、又は SM 筋注時のアドレナリン、アトロピン、ピロカルピン皮内反応を各家 兎に実施した。

その結果, 1) SM を全く投与していない、即ち, SM で感作していない家兎では、SM, アトロピン、ピロカルピン, アドレナリンの皮内反応を行なつても、発赤、硬結等の反応は全くみられず、アドレナリンの皮内注射部にみられた蒼白も組織学的検査で浮腫以外に細胞渗潤, 充血等の反応は全くみられなかつた。

- 2) SM を投与した、即ち、SM 感作家兎では SM の 皮内反応、又は SM 皮内注射にアトロピン、ピロカルピンを筋注しても反応は全くみられないが、アドレナリン を筋注した場合は SM の皮内注射実施部に軽度の発赤の みられる家兎が観察された。
- 3) SM 感作家兎にアドレナリン, アトロピン, ピロカルピンの皮内注射を実施し, SM の筋注を行なうと, ピロカルピンでは反応なく, アトロピンでは皮内注射部位に軽度の発赤を, アドレナリンでは中心に蒼白部をも

つた著明の発赤が観察される。この部を組織学的に観察 して、浮腫、充血、細胞渗潤を認め正常組織との差異も 明らかに認められた。

4) ペニシリンアレルギーは、投与されたペニシリンがアルブミンと結合し、これにより抗原となり、抗体産生を来したもので、1種の抗原抗体反応であろうとも言われるが、SM に於ては^{6,7,8)}、アルブミンとの結合がみられないと言われている。著者が濾紙電気泳動法を用いて観察した結果によれば、同様にアルブミンよりむしろグロブリンに結合する様に考えられた。

中尾⁹⁾ はペニシリンショックの本態に関する研究に於て、ペニシリンショックに際しては、アドレナリン等の交感神経ないし中枢神経興奮剤は、ペニシリンの毒性を増強するため、アナフィラキシー発現を誘発し、治療剤として危険であり、投与は一考を要するとのべている。SM の場合に於ても、自律神経の不安定によりペニシリン同様これを増強することも考えられるし、一方 SM 感作家兎で、アトロピン及びアドレナリン、特にアドレナリンで著明に皮内反応を行なつた部位に発赤を助長するという上記実験事実から考えて、SM アレルギーの発現にはアドレナリン又はアドレナリンに関係ある物質の関与があるのではないかとも考えられる。

以上の事実から、SM アナフィラキシー発現時に、少くとも盲目的にアドレナリン投与を行なう事なく、慎重な使用が必要と考えられる。

結 語

家兎について SM による感作を行ない、感作家兎に対して種々の皮内反応を実施して考察を加えた。

- 1) 1群では SM(20mg/kg) 単独又は SM+Freund's adjuvant を連日 15 日間,皮内又は筋肉内に注射して感作し,注射終了後 2 週目に SM 皮内反応を行ない,他方の群では SM+Freund's adjuvant を週 2 又は 3 回,皮内に注射して感作し,注射終了後 4 週目に SM 皮内反応を行つた。
- 2) 各感作家兎共 SM の皮内反応に対して何らの反応 も示さなかつた。
- 3) 又 SM の皮内反応と同時に、アトロピン、ピロカルピンを筋肉に注射した場合も全く反応を見なかつた。
- 4) 次に SM の皮内反応と同時に、アドレナリンを筋 肉内注射すると、感作家兎では SM の皮内反応部位に軽 度の発赤を認めた。
- 5) また SM 筋肉内注射と同時に、アドレナリン、アトロピン、ピロカルピンをそれぞれの家鬼に皮内注射すると、感作家兎ではアドレナリン、アトロピン皮内注射部位に発赤をみ、ピロカルピンでは発赤を認めず発赤の程度はアトロピンに軽く、アドレナリンに著明であつた。

- 6) 無処置の対照家兎では,何らの反応もみなかつた。
- 7) 以上の相異は、組織学的検査でも明らかであつた。 以上より、SM アレルギーの発現には、アドレナリン 又はアドレナリンに関係ある物質の関与が考えられる。

終に、御指導、御校関を賜わつた恩師東京大学 北本治教授に深謝します。又御指導、御便宜をお与え下さつた埼玉県立小原療養所長 藤岡万雄博士、東京大学 大谷杉士助教授に謝意を表します。なお協同研究者として、色色御指導、御協力下さつた吉田文香博士、東大伝研病理研究部 青山友三博士に深謝します。

本論文の要旨は、昭和 33 年 6 月、第 6 回日本化学療

法学会総会に於て発表した。

文 献

1) 甲斐義宏: 最新医学 13, 2, 187, 1958.
2) 甲斐義宏: Chemotherapy 5, 7, 353, 1957.
3) 甲斐義宏: Chemotherapy 5, 7, 349, 1957.

4) 斎藤典穂: 結核 31, 2, 95, 1951.

5) 森久保茂,他: 日本臨床結核 9, 4, 187, 1950.

6) 佐々貫之,他: 日本医師会雜誌 36,2,74,1956.7) 竹中文一郎,他: 耳鼻咽喉科 29, 2,79,1957.

8) 竹中文一郎,他: 耳鼻咽喉科 28, 7, 53, 1956.

9) 中尾健,他: 日本医事新報 1793, 26, 1958.