

よつた。マウスは教室飼育 dd 系マウス、生後3週、平均体重 10 g (9 g~11 g) のものを選んで使用し、治療群は3匹1群、対照群は10匹~20匹を1群とした。又 inhalation は 10^{-4} ウイルスを20分噴霧したが、その接種ウイルス量は $5LD_{50}$ に相当し、対照群は平均6.9日で全部死亡する。濾液は0.1 ml を腹腔内に、感染前日朝夕2回、感染当日夕1回(感染後)、翌日朝夕2回、翌々日朝1回夫々注射した。14日観察後マウスの生存率で効果を判定したが、平均生存日数も算出、比較検討した。

実験成績

1) *In vitro* screening :

100例の培養濾液についての Maitland type screening の成績は $\# 15$, $\# 13$, $+ 24$, $- 43$, 実施しなかつたもの5であつた。 $\#$ 以上を有効とすれば有効なものは28例であり、このなかで *in vivo* でも有効なものは $9/28=32\%$ であり、無効な67例のなかで *in vivo* でも有効なものは $12/67=18\%$ である。100例の濾液の25について2週間後に Blindstyle で再検に廻した成績は $22/25=88\%$ の適中率を示し再現性は極めて高い。

抗ポリオ性及び抗腫瘍性との関係をみると、ポリオに *in vivo* で有効な全3濾液及び SN 36 にマウスで有効な全2濾液はいつでも Maitland type の Test でインフルエンザに対し有効なものなかにあるが、抗ポリオ性と抗癌性との間には関係はない。しかもポリオに有効な3濾液は HeLa 細胞を用いた抗ポリオ *in vitro* screening で無効なものである。

又、20g dd 系マウス腹腔内接種の毒性とこの *in vitro* screening の成績の間には全く相関がみられなかつた。

2) *In vivo* screening :

In vivo screening の成績は、生存率 $3/3$ のものが1, $2/3$ のものが1, $1/3$ のものが20で合計22であつた。この中11について -25°C 3~4 週凍結保存した同一濾液について再検定した結果、生存率で有効と判定されたものは $2/11=18.1\%$ に過ぎず、生存日数で対照群の平均生存日数より2~3日の延命をみた2例を加えても 36% しか再現性がなかつた。しかもこの11例中の3例について再培養した濾液について再検した結果、有効と判定されたものは1例であつた。従つてポリオの *in vivo* screening に較べ再現性が低い。

考察並びに結論

抗ポリオ物質の *in vivo* screening に較べ抗インフルエンザ物質の *in vivo* screening の結果の再現性の低い事は、 -25°C に保存された培養濾液についてのみならず、極めて安定と思われる既知合成剤についてもあてはまる事である。勿論感染に使用するウイルス量を増せば

この難を避け得ると思われるが、ABOB 等の様に少量ウイルス感染症でのみ有効な物質が知られており、且ひと感染症はかなり少量のウイルスで起つている事が予想されているので、我々はこのシステムに当分たよる予定である。ただし、3日目の Sacrifice による肺野 Consolidation 及び HA 価測定など判定基準を変更する事は化学療法の観点からも、ウイルス感染論の立場からも充分考慮に値しよう。

Maitland type の screening の再現性の高い事は我がここ数年にわたつて主張して来た事であり、何等かの形で細胞に毒性を与える物質のよき screening 法といわねばならない。

(21) 抗インフルエンザ物質に関する研究

北本 治・橋田 晃・野村孝義

東大伝研内科

抗ウイルス物質研究協議会 (代表) 北本 治

近年「抗インフルエンザ物質」(以下、抗フルー物質)として、Caprochlorone, Xenalamine, ABOB (N-N'-Anhydrobis β -hydroxyethyl) biguanide HCl) 等があるが、欧州でかなり用いられている ABOB について研究を行ない、抗フルー物質の足がかりとした。

われわれは、先きにチオセミカルバゾン系の化合物の抗フルー性を検索したことがあるが、1 昨年以來、抗ウイルス物質研究協議会を作つて ABOB に関する協同研究を行ない、今までに日本伝染病学会東日本地方会、日本内科学総会「ウイルス及びウイルス病」総合研究班主催のシンポジウム「抗ウイルス物質」等に発表して来た。本日はそのこの成績を加え、主として教室の成績を述べ、一部は上述の協同研究成績を述べる。

基礎実験として、アメリカの LIN は、ABOB がニワトリの卵、Deembryonated egg、及び Tissue culture 等により、細胞内ウイルス増殖を抑制することをみており、作用機作についてウイルスの核酸およびリポпротеインの合成阻害を推定して、virustatic といつている。このことは協同研究者の石田、甲野教授らの成績でもほぼ同様である。すなわち、Virus-Hostcell System に作用することはほぼ間違いないと考えられる。われわれが動物実験を試みたところでは、MELANDER と同様、6日以内の死亡を5として、病変のないのを0と1、6段階を設けた Index を用いたが、インフルエンザ PR 8 株のマウス鼻腔内注入感染で 50 mg/kg 1日3回注射で抑制が認められ、また Inhalation chamber を用いた吸入感染でも 100 mg/kg 1日2回の注入で、抑制が認められ

た。毒性試験では LD₅₀ (経口) は 10100 mg/kg で、毒性の少いことが著しく、人体でも 900 mg またはそれ以上の 7~10 日使用で、副作用を認めない。

応用研究として、1960~1961 年の冬におけるインフルエンザ B 流行に際し、発熱 5 日以上のもが、対照群 26% に対し、ABOB 群は 10% であった。また 1961~1962 年冬のインフルエンザ A₂ 流行では、5 日以上発熱が、対照 30.0% に対し、ABOB 群では 9.7% であり、このうち、血清反応で確認せられたインフルエンザ症例のみについてみても、対照 25% に対し、ABOB 群は 10.7% であった。その他の諸症状についても、咳嗽以外は、出現率及び出現期間が小であった。

また、流行が集団に侵入した際、発病防止的に、1 日 600~900 mg を 7~14 日間服薬させたところ、発病率は対照に比し、約半分となることがしばしばあり、ことに、服薬 4 日以後の発病率は約 1/6 の場合もみられた。ABOB による発病防止と「人」ワクチンの関係は、恰も BCG と INH による発病防止との関係に相似している。両者は互に相補うものと考えられる。

なお ABOB の誘導体として、日本で S 社が作った N'-iso-Butyl-biguanide HCl については、動物実験で ABOB より強力であるが、詳細は追って発表することとしたい。

以上 ABOB に関する成績を報告し、抗インフルエンザ物質の足がかりとした。

(22) ³⁵S 標識 PC-G による体内分布と破壊に関する研究

齋藤 玲

北海道大学第 2 内科

³⁵S 標識 PC-G (³⁵S-PC) を用いて、その薬理的性質を放射能測定法と生物学的測定法とで比較検討した。培地中に ³⁵S 標識 Na₂SO₄ を加えて生合成によつて得た ³⁵S 標識 PC-G K 塩を用いた。生物学的力価は 1,500 u/mg、放射能は G-M 管にて約 40~60 c. p. m./u であった。放射能測定 (Radio-PC) は試料を過塩素酸湿式酸化法により酸化し BaCl₂ を加え、BaSO₄ の沈澱を作り、平板上に乾燥させて G-M 管で計数を行なつた。平板上の BaSO₄ を秤量し、selfabsorption による補正を行なつた。生物学的測定 (Bio-PC) は溶連菌 S-8 株を用い鳥居氏重層法を使用した。

(1) ラットにおける組織内分布：体重 100 g 前後のラットを用い granuloma pouch を作成後、8 日目に実験を行なつた。³⁵S-PC 3×10⁴ u/kg を静注後、30, 60, 90 分の各組織内濃度を測定した。膜腸壁、膜にも PC

の移行が見られた。Bio-PC/Radio-PC の比は血漿ではほぼ 0.6 で筋、皮膚も同程度の値を示した。肺はこの比は漸減し、腎では漸増した。肝は特異で各時間非常に低値を示した。Bio-PC/Radio-PC の比が小さい事は不活性型の PC が増す事を示し、これは蛋白結合や組織により破壊され生物学的不活性の化合物に変化する事を予想させるものである。特に肝でこれが著しい事は PC が破壊され、集積されている事が考えられる。

尚、家兎における組織内濃度もラットとほぼ同様の傾向を示した。髄液にも微量であるが検出された。

(2) 家兎における血漿濃度及び尿中、胆汁中排泄：家兎に ³⁵S-PC 3×10⁴ u/kg を静注後、時間的に血漿濃度及び尿中排泄率を見た。血漿において Bio-PC/Radio-PC の比は 30 分まではほぼ 0.5 で以後漸減して 1 時間では 0.2~0.3, 6 時間では 0.01 になっている。これは時間と共に血中の活性の PC は非常に減少して行くが、それに比較して不活性化されたものは尚残存している事を示す。Penicillenic acid, Penicilloic acid, Penicillamine 等の PC 代謝産物が血中に増加しているものと思われる。尿中排泄率は 1 時間でその排泄され得るものの大半は排泄される。6 時間で Radio-PC は 75~85% で約 80%, Bio-PC は 48~52% で約 50% の回収率であった。Bio-PC/Radio-PC の比は 0.6 で血漿よりも大きく、これは血中で蛋白結合等により不活性を示す PC も再び結合がとれ活性化される可能性を示すものである。腎クリアランスは Radio-PC は Bio-PC に較べて低値を示す傾向にあり、PC とは腎クリアランスの異なる物質を含む事が考えられる。胆汁中排泄率は 90 分で Radio-PC は 5~10%, Bio-PC は 1~3% であり、両者の比は 0.23~0.25 で尿中に較べ約 1/3 であった。肝における状態と合わせ考えるに PC は肝で破壊され、胆汁中に排泄される事が予想できる。

(3) ステロイド使用後の組織内濃度：ラットに Granuloma pouch 作成 2 日目より Dexamethazone phosphate 500 r/kg 1 週間筋注処理した後、³⁵S-PC 3×10⁴ u/kg を静注し組織内濃度を測定した。膜の採取は不能であった。各組織の Bio-PC/Radio-PC の比は無処置群と同様の傾向を示したが個々の組織内濃度は Bio-PC, Radio-PC 共にステロイド処理群は低値を示した。³⁵S-PC 30×10⁴ u/kg 静注後 90 分においても同様の傾向を示した。この事はステロイド処置により PC の Distribution volume が増加するものと考えられる。

(4) PC の蛋白結合：正常人血清、人膿、ラット血清を用い ³⁵S-PC を 200 u/cc の割合に加え、37°C、2 時間 incubate して後、濾紙電気泳動を行ない、その濾紙を X 線フィルムを用いて Autoradiography を行なつ

た。³⁵S による黒化はアルブミン分画のみに見出され、PC はアルブミンにのみ結合する事を示した。

(23) 肝機能と抗生物質の体液中濃度について

柴田清人・大河内正敏

名古屋市立大学第一外科学教室

(指導 柴田清人教授)

肝障害時に於ける経口投与抗生物質の生体内の態度を検討するため、臨床例及び CCl₄ 肝障害家兎について、Syncillin, Ilosone (P. E. L. S.), Achromycin-V の経口投与时体液中濃度を測定したので報告する。

I. 動物実験

実験方法は家兎に CCl₄ 0.1 u/kg 及び 0.3 cc/kg を筋注して各々肝障害を発生させ、抗生物質としては Syncillin 1 万 u/kg, Ilosone 20 mg/kg, Achromycin V 25 mg/kg を開腹して十二指腸内に注入し、抗生物質の濃度測定は帯培養法で、又肝機能は B. S. P. 試験で行なつた。

(1) 各抗生物質の血中濃度

CCl₄ 筋注後 2 日目及び 5 日目の抗生物質の血中濃度を B. S. P. 試験の程度から 4 つに分類した。

I 型, II 型はほぼ健康例に近く、III 型, IV 型は B. S. P. 排泄障害が強くなるにつれて血中濃度が高く長時間持長する傾向にある。又、総胆管結紮家兎に於いても血中濃度はともに健康例よりも高値で Peak の出現も遅い。

(2) 胆汁中濃度及び移行量

肝障害例の胆汁中濃度は健康例よりも高く長時間持長するが、胆汁量が減少するのでむしろ移行量は低下する。

(3) 尿中濃度及び排泄量

各抗生物質何れも肝障害例では Peak の出現が遅れ、排泄量は健康例と比較すると Syncillin ではほぼ同量、Ilosone は 3 倍、Achromycin V では同量である。この事から血中濃度の上昇が遅いので尿中排泄量も遅くなつて高値を示すものと考ええる。

II. 臨床実験

外科患者で肝機能障害を認めた 7 例に Syncillin, 14 例に Ilosone, 10 例に Achromycin V を空腹時服用せしめて、血中濃度、尿中濃度、尿中排泄量を測定した。

(1) 血中濃度

動物実験と同様に 4 つに分類すると、I, II 型はほぼ健康例に近く、肝機能も中等度障害を呈し、III, IV 型では Peak の出現が遅れ、時間と共に高値を持長する。Meulengracht 値上昇、B. S. P. 排泄障害、A/G 比低下

等の肝障害の強いもの程高い血中濃度を維持することが判明した。

(2) 尿中濃度及び排泄量

動物実験と同様に健康例に比して Peak がおくれ、血中濃度と大体平行して排泄量も後期になつて高くなる傾向にある。

III. 肝障害家兎に於ける血清、胆汁、肝組織の抗生物質力価に及ぼす影響

肝障害家兎の血清、胆汁、肝組織に各抗生物質を入れて 37°C のもとに時間的にその抗菌力価を測定すると、血清では共に健康血清に較べ軽度に減少するが、胆汁、肝組織では健康例に比してむしろ軽度の増加の傾向にある。又、肝組織を 6 分間煮沸し前述の実験を行なうと、Syncillin については肝障害例では殆んど力価の低下を認めない。EM, TC では健康例、肝障害例共に有意の差を認めない。

臨床例に於いては、肝障害が強くなる程、その血清の Syncillin の抗菌力価の影響が少なくなる。従がつて血中濃度と血清中の抗菌力価との間に相関関係がある様に思われる点興味がある。EM, TC については力価の影響が殆んどない。

結 語

肝障害時に於ける経口投与抗生物質の生体内に於ける態度を検討するため、臨床例及び CCl₄ 肝障害家兎について体液中濃度を測定した所、障害の強いもの程、濃度は後時間まで持長し、その Peak が著しくずれることが判明した。

(24) 化学療法剤の網内系におよぼす影響

真下啓明・原田敏雄・清水喜八郎

島山正己・国井乙彦・陣立恒夫

山田栄八郎・島田 馨

東京大学吉内科

我々は感染症と網内系の関係を追求する 1 段階として各種化学療法剤の網内系機能におよぼす影響を Carbon particles 法により検討し若干の知見を得たので報告する。

I. 実験方法

1) 網内系機能検査法

網内系機能検査法として、比較的簡単でしかも基礎的な検討が充分に行なわれている点から我々は HALPERN らの提唱した Pelikan インクによる Carbon particles 法を用いた。

実験動物は体重 2 kg 前後のウサギを用い、体重 100g

あたり 4 mg の Pelikan インクを静注し、2~5 分間隔で耳静脈より採血し比色により血中 Clearance curve を求め、これから $C=Co \times 10^{-Kt}$ の式より HALPERN らのいわゆる Phagocytic Index K を求め、網内系機能の指標とした。

2) 使用薬剤および投与方法

Penicillin G は 10 万単位 6 日間、Chloramphenicol sodium succinate は 40 mg 7 日間、Oxytetracycline は 40 mg 5 日間、Streptomycin は 200 mg 5 日間、Sulfadimethoxine は 200 mg 5 日間、Prednisolone sodium hemisuccinate は 4 mg 6 日間、Nitrogen mustard N-oxide は 10 mg 6 日間、Typhoid vaccine は 0.1 cc を 5 日間それぞれ連日静注を行なった。Block として Pelikan インクを体重 100 g あたり 4 mg 2 日静注を行なった。

II. 実験成績

1) 正常状態の網内系に対する各種薬剤の影響

Penicillin G 連続投与では、投与前後でほとんど Phagocytic Index K の差が認められず、投与後の Phagocytic Index の投与前のそれに対する百分率で表わすと $108.2 \pm 5.27\%$ で、Chloramphenicol 連続投与でも $100.1 \pm 17.7\%$ で同様にほとんど差が認められなかった。Tetracycline 系は HELANDER SNELL らにより網内系に親和性を有すると報告されているが、Oxytetracycline 連続投与では、一部やや K の上昇をみたのみで $116.6 \pm 28.1\%$ で全体としては大きな影響は認められなかった。次に、Streptomycin 連続静注でもほとんど変化なく $100.1 \pm 13.1\%$ で、Sulfadimethoxine でもほとんど差が認められず $94.9 \pm 25.0\%$ であつた。Prednisolone では、ほとんど影響が認められず $94.9 \pm 4.6\%$ であつたが、第 1 回測定後、すなわち Block された状態から投与を開始した場合にはやや K の低下がみられ $72.5 \pm 10.5\%$ で、Nitrogen mustard N oxide 連続投与でも同様にほとんど影響がみられず K は $102.1 \pm 7.4\%$ で Block 直後から投与した場合にやはりやや K の低下が認められ $77.5 \pm 21.5\%$ であつた。

すなわち Prednisolone, Nitrogen mustard N oxide は正常の網内系に対してはそれほど影響を与えないが、Block された状態からの機能回復に対しては抑制的に働くものと考えられる。

2) チフスワクチン連続静注時の網内系に対する各種薬剤の影響

感染時の網内系の動きに対する各種薬剤の影響が実際の治療にあたって問題となるので、我々は感染に準ずる状態としてチフスワクチン 0.1 cc 連続 5 日間静注を行ない、連続投与後 3 日目に K の上昇が著明で 200.5 ± 38.7

%であることを認めたので、これに対し各種薬剤を最初 5 日間チフスワクチンを併用し、その後 2 日間薬剤のみ投与を継続し 8 日目に機能測定を行なった。Penicillin G とチフスワクチン併用群ではチフスワクチン単独群と比較して一部 K の上昇の抑制を示すものもあつたが全体として K は $153.8 \pm 68.0\%$ で K 上昇の著しい抑制は認められず、Chloramphenicol とチフスワクチンの併用群でも K は $151.8 \pm 52.8\%$ で同様の傾向を示した。Oxytetracycline とチフスワクチンの併用群では K は $150.8 \pm 23.6\%$ ではほぼ同様の傾向を示すが、全体としてやや K 上昇抑制の傾向が認められた。これらに対し Prednisolone とチフスワクチンの併用では $110.9 \pm 17.1\%$ で明らかにチフスワクチンによる K 上昇の抑制がみられ、さらに Nitrogen mustard N oxide との併用でも同様に K 上昇の抑制が著明で $116.8 \pm 31.0\%$ であつた。すなわち Prednisolone, Nitromin は感染刺激に対する網内系の反応に対し抑制的に働くものと考えられ、これのみをもつて直ちに感染抵抗性の減弱とすることは出来ないが感染時にこれらの薬剤を使用する場合には考慮されなければならない問題であると思われる。

抗生物質ではこのような影響は著明ではなかつたが、将来より強力な薬剤の出現、あるいは大量投与の趨勢などを考え合わせるとやはり注意すべき問題であると思われる。

(25) 蛍光処理法による組織内細菌の動態

上田 泰・田所博之
山県正夫・酒井 紀
慈恵医大上田内科

我々は感染症の発生機序を解明するために、対比蛍光処理法を用い、各種感染症患者の臓器組織内細菌の動態について検討を加えた。今回は特に腎及び心についての結果を報告する。

1. 腎組織内細菌について

症例は腎盂腎炎 35 例、慢性糸球体腎炎 20 例、本態性高血圧症 12 例、糖尿病 6 例、敗血症 13 例、白血病 27 例の計 113 例の生検及び剖検例について、腎組織内細菌の検索を行なった。腎盂腎炎では 94% に細菌を証明し、明らかに腎臓内で増殖したと考えられるものは 82.9% であつた。慢性糸球体腎炎では 60% に細菌を証明し、40% に明らかに感染の存在を示した。以下、本態性高血圧症では 25% 及び 8.3%、糖尿病では 50% 及び 16.6%、敗血症では 38.4% 及び 30.7%、白血病では 22.2% 及び 7% の割合だつた。細菌の存在部位は間質

及び尿管周囲に多く、間質では腎盂腎炎で 74.2%、慢性糸球体腎炎 45.0%、本態性高血圧症 25.0%、糖尿病 50.0%、敗血症 46.1%、白血病 22.2% と高率に見られ尿管周囲でも腎盂腎炎で 74.2%、慢性糸球体腎炎 45.0%、本態性高血圧症 25.1%、糖尿病 50.0%、敗血症 38.4%、白血病 22.2% とやはり高率に見られ、各疾患とも同じ様な傾向を示した。細菌の形態には特に疾患による相違は認められなかつた。

2. 心組織内細菌について

敗血症 8 例、亜急性細菌性心内膜炎（以下、S. B. E. と略す）5 例、計 13 例について同様に心組織内細菌の検索を行なつた結果、心外膜下層及び心筋層に多数の細菌を認め、しかも心内膜及び心内膜下組織にはほとんど存在していなかつた。心筋内細菌も心外膜側に多く見られ、心内膜側には少なかつた。これは敗血症、S. B. E. いずれも大体同じ様な所見を呈した。

3. 臓器親和性について

細菌が血行性に体内の臓器に行く場合、臓器に依り親和性が異なる様である。小児ブドウ球菌性敗血症患者及び実験的菌血症マウスについて検討して見ると最も多く細菌を認めたのは腎であり、その次が肺、心で、最も少なかつたのは肝であつた。腎及び肺は組織反応が起りやすく、心、肝に起りにくい事と或る程度関係があるのではないかと考えられる。

結 語

組織内に侵入した細菌はほぼ同一の形態をとり、感染症の種類による差は認められなかつた。同時に同一臓器内に於てもその分布状態に差はなかつた。しかし血行感染では細菌の臓器に対する親和性が各々の臓器に依り異なる様であり、今回の検討では腎、肺、心、肝の順であつた。しかも組織反応を起しやすい腎及び肺に細菌を多く認めたという事は興味ある事であり、感染症の発生には細菌は勿論、この様に臓器が組織反応を起し易いか或は起しにくいという事が重要な役割を演ずるのではなからうか。今回の実験からは心筋内に認められた細菌は心内膜を通過して心筋に入ったのではなく、心外膜側より冠動脈を通つて侵入したのではないかと推測される。

(26) 大腸菌の Chloramphenicol 不作用に関する研究

宮村定男・重野直也
新潟大学医学部細菌学教室

腸管内より分離された *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Morganella*, *Rettingerella*, *Providencia*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Pseudomonas* 及び *Can-*

dida について、Chloramphenicol (以下、CP) 耐性と CP 不作用を比較したところ、*Pseudomonas* と *Candida* を除き、耐性株に多くの CP 不作用の著明なものの存在することを、更に多数の株について認めた。*Pseudomonas* と *Candida* は大部分 CP に抵抗性を有したが、これにはやはり CP 不活性は認められない。

大腸菌において、人工的に耐性を与えた場合、増量継代法によつたものは何れも CP 不作用の増強を認めないが、耐性赤痢菌から伝達させた場合は同時に強い CP 不作用をも獲得する。また大腸菌から耐性を伝達させた *Sh. flexneri*, *S. typhi*, *S. paratyphi* B 及び *Citrobacter* においても同様であつた。このことは耐性因子と不活因子との密接な関係を示すものと考えられる。

耐性大腸菌の CP 不作用は菌体部分に存在し、それは各種の物質により賦活される。即ち Glucose, Peptone, Albumin, Casamino acid 及び Yeast extract 等は強度に、Maltose 及び Tryptophan は中等度に、Trehalose, Mannitol, Glycine, Asparagin 等は軽度に賦活する。なお 0.1% ブドウ糖液をもつて、菌の濃度とその不活化する CP 濃度との関係を検討し、それが平行することを知つた。

本作用に関する物質は菌体内に存在することが推定されるので、次に Penicillin, Glycine 及び LiCl による大腸菌 Spheroplast について、本作用を検した結果、Spheroplast もまた本作用を示したので、この物質は細胞壁に関係のない菌体部分に存在するものと考えられる。

〔追加〕胆道疾患に於ける起炎菌の抗生剤感受性について

志村秀彦・小玉益生・小西昌三 (九大第一外科)

最近 6 年間に於ける外科的胆道疾患々々 394 例の胆嚢及び、胆管胆汁より検出された細菌の抗生物質感受性について検討した。

胆道疾患中、結石例では高率に細菌の存在を認め、特に肝内結石或は胆管内結石例では 90~100% 頻度を示す。

検出細菌の種類は、大腸菌及び之れに他の腸内細菌、或は球菌との混合感染が多い。

此等検出細菌の抗生物質感受性を検討すると、大腸菌単独感染例ではクロランフェニコール、ストレプトマイシンには尚強い感受性を示した。又大腸菌と他の腸内細菌との混合感染例も、単独感染と同様 70~80% の感受性を示した。グラム陽性球菌、即ち葡萄球菌、連鎖球菌ではエリスロマイシン、オレアンドマイシンの他、ストレプトマイシン、クロランフェニコールにも比較的強い感受性を示した。此等、胆道疾患は屢々発熱発作を繰返し、

其の間長期の抗生物質が使用されているにも拘らず、ストレプトマイシン、クロランフェニコール等に強い感受性を示す事は興味がある。其の原因については尚充分明かでないが、胆汁酸の耐性獲得阻止作用、或は抗生剤の胆汁内排泄の問題が考えられる。従つて腸内細菌の耐性問題を検討するには *in vivo* に於ける種々の条件を考慮する必要がある。

(27) Leucomycin の作用機作について

木村徳次 - 小林和世

立教大学理学部

鉛木皓司

順天堂大学体育学部

渡辺哲夫

東洋醸造株式会社研究部

Leucomycin の作用機作については、田子らにより蛋白質合成の阻害、Glycine incorporation の阻害、糖類酸化の阻害等が報告されている。私達は Leucomycin の作用機作を、枯草菌を用いて呼吸阻害の面から検討し、若干の成績を得たので報告する。

実験方法

枯草菌 P 219 株を普通寒天培地で 20 時間培養、生理食塩水で 3 回洗滌、同上に Suspend して、37°C、2 時間振とう preincubation したものを実験に用いた。

酸素吸収は Warburg manometer を用いて 37°C で測定した。

菌体内 N 量は Kjeldahl 法により分解後、NH₃ を今井らの方法により測定した。

菌量は菌の濁度を 570 mμ で測定した。この結果 Warburg manometer による酸素吸収の前後に濁度の変化はなく、また生菌数を調べても変動はなかつた。

Leucomycin およびその他の抗生物質は濁度および生菌数に変化のない同一一定濃度を用いた。

実験結果

Leucomycin を菌体内 N 量 1 mg 当り 360 γ の割で添加して、糖類、アミノ酸、脂肪酸を基質とした時、酸素吸収阻害がみられた。しかし、Fumalate, Malate, Succinate, Oxaloacetate, Citrate, cis-Aconitate, α-Ketoglutarate, および Isocitrate 等は顕著な阻害がみられた。従つて以後の実験においては酸素吸収量の多い Malate, Succinate を基質として用いた。

次に、Leucomycin の濃度と酸素吸収の阻害度の関係を、Malate, Succinate について求めると、菌体内 N 量 1 mg 当り、4~5 γ で夫々 90%、80% 以上の阻害を示

した。また Leucomycin は A₁, A₂, B₁, B₂, B₃, B₄ の各成分に分画する事が知られており、それらの各々について同様に濃度と阻害度との関係を Malate について求めると A₁, A₂ は 1 γ で 98% の阻害を示した。各成分の阻害の順は A₁, A₂, B₁, B₂, B₃, B₄ で A₁ が一番阻害している。一方 Cup 法により抗菌力を求めると A₁, B₂, B₄, B₃, B₂, B₁ の順であり、A₁ が最大の抗菌力を示し、A 成分については一致しているが B 成分については順位が逆転している。なお B₃, B₄ については 4~5 γ で酸素吸収の阻害がみられず、かえつて活性化の現象がみられている。この現象は A₁, A₂, B₁, B₂ 夫々についても 1 γ 以下の濃度においては一様にみられた。

以上の如く Leucomycin の作用機作の 1 つとして酸素吸収の阻害をみて来たが、この現象が Leucomycin に特有であるか、または、Macrolides に共通した性質か、をみるために他の抗生物質との比較を行なつた。即ち抗生物質、1.2 × 10⁻⁷ M の濃度で Malate の酸化阻害を調べてみた結果、Leucomycin, Magnamycin, Spiramycin および Erythromycin は夫々 99%、98%、37% および 27% 阻害であり、Penicillin, Kanamycin は影響がなかつた。Leucomycin, Magnamycin はこの様に同程度の阻止を示したが、この 2 者は化学構造の点で似ており Malate の酸化阻害においても類似することは興味がある。

Leucomycin が Malate の酸化を阻害することが以上の実験により明らかになつたので、阻害型式を検討した所、拮抗阻害であり、また酸化のどの段階で阻害するかを DPNH の 340 mμ の減少で調べた所、DPNH-O₂ の間で 17% の阻害がみられ、DPNH-Ferricyamide の間では全然影響はなかつた。一方 Leucomycin と枯草菌とを preincubation した所、DPNH-O₂ の間で 42% の阻害がみられた。従つて少なくとも電子伝達系又は酸化的磷酸化系に Leucomycin が何等から阻害を行なうものであると思われる。

(28) ペニシリナーゼに関する研究

川上保雄・堀 正雄・田中栄一

昭和医科大学第一内科

私達は前回に引続きペニシリナーゼに関する研究をしているが、今回はブ菌ペニシリナーゼ、及び *cereus* ペニシリナーゼの各種合成ペニシリンに対する作用、並びに其の免疫学的特異性の有無に関する実験をしたので其の成績を報告する。

ペニシリナーゼは *cereus* のものは市販品を用い、*Staphylococcus* のものは当教室で作つたものを用いた。耐

性ブ菌ペニシラーゼは 50 単位程度のペニシリン G 耐性ブ菌の 1 株を用い、其の精製には TODD-HEWITT 培地を用いて培養した。培養日数は 4 日、6 日目に最高を示し其れ以後は反つて減退する。また菌体内外に含有せるペニシラーゼは 1~4 日以内では菌体の方にペニシラーゼが多く認められたので、私どもは TODD 培地に耐性ブ菌を 1 日培養後、菌体をアセトンで処理し、次いでエーテルを用いて乾燥粉末としたものを使用した。

次にペニシリン G、スタフシリン、並びにスタフシリン V の *Staphylococcus penicillinase* に対する抵抗性を見ると、ペニシリン G では 4 mg/cc のペニシラーゼを 37°C 4 時間作用すると 20 単位以下のペニシリン G の力価は完全に消失するが Staphcillin, Staphcillin V では同様の条件下でもほとんど力価の減退は見られず、反つて若干阻止帯が一樣に長く見られた。次にペニシラーゼの各濃度差に就いて調べてみると、ペニシリン G に *cereus penicillinase* を作用させると、作用時間 4 時間ではペニシラーゼの濃度が増加するにつれ、力価の減退が大きくなり 10 単位以下のペニシリン G では 200 単位のペニシラーゼで顕著に減少し、1,000 単位のペニシラーゼでは完全に消失している。スタフシリンでは各濃度のペニシラーゼでは全く力価の減退が見られず、反つて、どういふわけかわからないが 1,000 単位の所では、かなり力価が増した様な結果になった。同様にスタフシリン V でも全く力価の減退はなかった。次にペニシラーゼの作用時間で各種ペニシリンの力価が如何に変化するかを見ると、Staphcillin では 1,000 単位のペニシラーゼを用いても少なくとも 4 時間までは力価の減退が全くなく、かつ 20 時間後検した所でも大した力価の減退が認められなかった。同様に Staphcillin V に於ても同様、20 時間後に尚力価の減退が殆んど見られない。次に Synthepen P 及び Viccillin に就いて調べてみると各濃度のペニシラーゼを 1 時間及び 4 時間作用したが、Synthepen P は或る程度以上のペニシラーゼでは 1 時間にして若干不活性化され 4 時間では全く不活性化されることが認められる。尚 Viccillin に就いてもほぼ同様であつた。ただし Penicillin G よりは大分 Penicillinase の分解を受け難い事が認められた。

次に *Cereus* 及び *Staphylococcus penicillinase* の抗血清を作り、夫々の抗血清が夫々の Penicillinase の Penicillin G 分解作用に如何に影響するかを調べたが、培地中に Penicillin G 及び抗血清を混入し、ペニシラーゼ液を重層した。抗血清がペニシラーゼ作用に拮抗する程発育帯が短くなり *cereus* ペニシラーゼを重層した場合 Anti-*cereus penicillinase* 血清では著明に発育帯が短くなつたが、Anti-*Staphylococcus peni-*

illinase 血清では影響が軽度であり、即ち Anti-penicillinase 血清には Penicillinase の種類による特異性があることが認められた。また *Staphylococcus penicillinase* を用いた場合に同様な特異性を認められる。次にこれら Anti-penicillinase 血清が耐性ブ菌或は大腸菌に対する Penicillin G の阻止力を増大するか否かを調べた。耐性ブ菌に対しては Anti-penicillinase 血清が明らかに Penicillin G の力価を増大させるものもあることが認められた。

結 論

以上を要約すると、

(1) 新合成ペニシリン、即ちスタフシリン、スタフシリン V ではペニシラーゼに対して極めて強い抵抗性を示すが、シンセペン P、ピクシリンでは或る程度ペニシラーゼによつて分解されるが、ペニシリン G は抵抗性が極めて弱く短時間で完全に分解される。

(2) *Cereus penicillinase* と *Staphylococcus penicillinase* では免疫学的特異性がある事が認められた。

(3) Synthepen P, Viccillin では温度による影響があり、熱に対して分解され易い為、ペニシラーゼに対する測定の場合考慮しなければならないことがわかつた。

(29) 新抗生物質 G-261 物質 (II)

動物治療実験

松前昭広・佐野敬元・秦 藤樹
北里研究所

新たに分離した *Streptomyces chartreusi* 類似菌株の生産する G-261 物質の菌学、培養、精製法及び生物学的、理化学的諸性状に就いては去る 4 月「日本細菌学会総会」に於いて報告した。本物質は蛍光を発する黄緑又は赤色板状結晶で *in vitro* 試験でグラム陽性菌の発育をかなり強く (1.56~12.5 mcg/ml) 阻止する。そこで今回は本物質の主として毒性、血清の影響、血中濃度、更に 2, 3 のグラム陽性菌を感染させたマウスに対する感染防禦実験及びウイルスに対する効果について報告する。

急性毒性：本物質は水に難溶の為、C. M. C. で suspend し投与した。マウスに対する急性毒性は経口投与で 1,000 mg/kg 以上、皮下注射で LD₅₀ 895 mg/kg、腹腔注射では 718 mg/kg であつた。

慢性毒性：マウスに 1 日 1 回 12 日間連続投与した結果、経口投与では 600 mg/kg 以上に堪え、腹腔投与では 300 mg/kg を連続投与したものは 4 日目より 7 日目に全数死亡したが、100 mg/kg では全て生存した。而も体重は本物質投与期間中は増加しなかつたが投与中止

後増加を続けた。

血清の影響：血清の影響を調べる目的で本物質を一定量加えた0~90%馬血清含有液を37°C、1時間~6時間作用させ、*B. subtilis* PCI 219を試験菌とする薄層寒天法によつて力価を調べた処、力価の減少は殆んど認められなかつた。

血中濃度：1.5~1.6 kgの家兎に本物質を500 mg/kg経口投与し、30分後から24時間迄の血中濃度を調べた処、1時間目から血中に出現し始め、5~7時間で最高値20 mcg/mlに達し以後減少するが、24時間後でも尚、1.2 mcg/ml検出出来た。

また200 mg/kg筋肉注射した例では30分後より血中に出現し始め、3時間で最高値9.0 mcg/mlに達し、以後減少し12時間後に1.2 mcg/mlを示したが24時間後では検出出来なかつた。以上の如く*in vitro*でグラム陽性菌に1.56~12.5 mcg/mlで有効であり、血清中で力価の減少なく、血中濃度が5 mcg/ml以上証明出来たので*Streptococcus*、*Staphylococcus*、*Diplococcus*を夫々感染菌とした時のマウス感染防禦実験を行なつた。

Streptococcus hemolyticus、*Staphylococcus albus*及び*Diplococcus pneumoniae*のマウス感染防禦実験：Brain heart bouillonに37°C、18~20時間培養した菌液を15~16 gのマウスに静脈接種し、菌感染後1時間目より治療を開始した。

Streptococcus hemolyticus 10^{-1} ~ 10^{-5} 菌量を感染させたマウスは全て死亡したが、 10^{-3} 菌量を感染させ、経口投与法で本物質を1日4回、2日間投与した群のCD₅₀は3.174 mg/kgであり、 10^{-4} 菌量を感染させて本物質を経口投与した群のCD₅₀は2.8 mg/kg、腹腔治療群では3.242 mg/kgを示した。即ち腹腔投与よりも経口投与したものが良い成績を示した。同様に*Staphylococcus albus*を感染菌とし 10^{-1} 菌量を用いた場合、腹腔投与群のCD₅₀は3.102 mg/kgを示した。

*Diplococcus pneumoniae*を感染菌とし、感染菌量 10^{-1} 菌量でのCD₅₀は0.79 mg/kg、 10^{-2} 菌量では0.499 mg/kgを示した。以上の如く3菌種を用いた感染防禦実験に於いて慢性毒性量と治療最少有効量との比はいずれも40~50:1であつた。

Influenzae virus、日本脳炎ウイルス及び*E. coli* phage T₂、T₃に対する増殖阻害作用：Chartreusin様物質(G-72物質)はInfluenzae virus PR 8に対して組織培養法で増殖阻害を示し、*E. coli* phage T₃に対して増殖阻害を示すという東北大学の報告があるのでG 261物質に就いて実験を行なつた。Influenzae virus 10^{-5} 液と本物質1,000 mcg/ml~10 mcg/ml溶液とをcontactし、

37°Cに30分間作用させた後11日卵の漿尿腔に0.2 ml接種し、48時間後赤血球凝集反応により効果を調べた処、virusの増殖を阻害しなかつた。そこで更に濃度、方法を変えて検討する予定である。また*E. coli* B株を用いてT₂及びT₃ phageの増殖阻害を調べた。本物質の稀釈溶液に*E. coli* B 9×10^7 及びphage 1×10^7 を加え37°C、15分及び60分作用せしめ、菌数及びphageの作るplaque数を数えた処、T₂、T₃ phage及び*E. coli* B共に増殖しており、本物質による増殖阻害は認められなかつた。更に我々が以前新抗ウイルス物質Cephalomycinで行なつた方法に従がい本物質の各濃度溶液に 10^{-1} 日本脳炎ウイルスの脳乳化剤を加えて0°C、15分作用させ、次いで12 gのマウスに0.4 ml宛腹腔接種してマウスの延命をみた処、62 mcg/ml以上でやや有効であつたが、日本脳炎ウイルスに対する実験は更に検討する予定である。

(30) Tylosinの抗菌性に就いて

西村治雄・中島清・田中融
塩野義製薬株式会社研究所

Lilly研究所において発見された*Streptomyces fra-diae*類似放線菌の産生するマクロライド群に属する新抗生物質Tylosinを入手したので、これと類似のErythromycin(以下、EMと略称)と比較しながら*in vitro*ならびに*in vivo*の抗菌力について検討し、次の所見を得た。

1. Agar streak法による本物質の*in vitro*の抗菌像はEMとまったく一致しているが、全般的にやや弱い抗菌力を示した。

臨床材料から分離した*S. aureus* 18株を用いて同じくAgar streak法によつて両者に対する感受性を比較したところ、EMに対して耐性を獲得していない菌株は上記同様Tylosinに対してやや弱い感受性を示し、EMに対して200 mcg/ml以上の抵抗性を示す5株ではいずれもTylosinに対しても同様200 mcg/ml以上の抵抗性を示した。ただし弱度のEM抵抗菌3株はTylosinに対して正常な感受性を示した。

これによつて両者に対する耐性の獲得には部分的な交叉性を示すものと考えらる。

2. I型肺炎双球菌接種マウスに対する感染防禦力試験の成績では、本剤の内服に当つて重曹を併用するとEM同様単独投与よりも効力の増強が見られた。

しかし、単独投与群ならびに重曹併用群ともにTylosinはEMより感染防禦力において劣る。