

## 抗ブドウ球菌化学療法の実験的研究

河 盛 勇 造  
熊本大学

### 1. 本研究の目的

ブドウ球菌（以下ブ菌）に対する化学療法剤の抗菌力の判定は、現在ほとんどすべて試験管内における菌の発育阻止効果によつて行なわれている。しかし他種細菌の多くについては、何等かの方法による動物実験的な検討がなされていることを考えると、この様に試験管内実験の成績のみで判断することに、物足りなさを感じるものである。

勿論ブ菌についても、家兎に皮下膿瘍を作り、あるいはマウスに敗血症を惹起せしめ、その治癒率をもつて抗ブ菌物質の効力を生体内で検定しようとする方法も、用いられている。しかしこの内、マウスを敗血症死せしめるためには、甚だ多数の菌体を接種する必要がある、しかも確実に全動物を斃すことの出来る菌株は少い。

昭和 35 年に私共が各種感染症の病的材料、および健康者の咽頭などから分離したブ菌 178 株について、その  $10^8$  VU をマウスの静脈内に接種し、10 日以内に敗血症死を来す率を検討したところ、この様な多量の菌の接種によつてさえ、25% の菌株は 1 頭をも殺し得ず、全動物を斃せしめたのはコラグアーゼ陽性株中の 32% のみであつた。

一方私共が日常臨床において観察するブ菌感染症の多くは、ブ菌による菌血症乃至敗血症に基く症状を主体とするものは稀で、膿瘍形成を病像の特長とする例が多い。ブ菌性肺炎がその早期から肺膿瘍の像を呈する如きは、この事実を端的に示していると言えよう。

したがつて可及的臨床像に近い動物実験を行なうとすれば、実験的膿瘍に対する治療効果を観察する必要があると思う。家兎の皮下膿瘍を用いることは、この目的にかなうが、これには動物の個体差と、これを考慮した場合には実験を行なう上の経済的制約が生じる。

これに対して、マウスの静脈内ブ菌接種による腎の膿瘍形成は、これ等の不利益をよく除くことが出来、実際に用い得る方法と考えられた。さらに腎における膿瘍を、単に肉眼的に判定するのみでなく、腎内のブ菌数を定量培養的に判定することにより、ブ菌に因る膿瘍の程度およびその治癒状況を精細に判定し得るのではないかと考え、この方法を中心に検討を重ねた。

### 2. 実験方法

先ず前述のブ菌株の一部について、マウスの静脈内接種による敗血症死と、腎の膿瘍形成の程度を比較すると、両者は必ずしも一致せず、早期にマウスを斃すが膿瘍形成は軽度のもの、および敗血症死はほとんど来さないのに腎には多数の膿瘍を作る菌株のあることが知られた。

私共は後者、すなわち膿瘍形成が高度で、しかも動物を早期に斃さない菌株が、化学療法剤の効果判定に適していると考え、この性質を有する林田株・射場株などを、主として以下の研究に用いて来た。

実験方法の検討は種々な方向から行なつて来たが、その結果以下に記す術式が、現在のところ最も適当なものと考えている。しかし後述する様に、今後検討を要する点も少くない。

#### 1) 感染方法

ブ菌のブイヨン 24 時間培養を生理的食塩水で稀釈し、0.2 cc をマウス尾静脈内に接種する。

#### 2) 病変判定基準

剖検時腎の膿瘍の範囲が、両側を合せて 1 側腎以上に及ぶものを 5 とし、以下その程度に応じて 1 までの 5 段階を設け、さらに 3 個以内の小膿瘍のみを認めるものを 0.5、全く病変を認めないものを 0 と判定した。

また両側腎を磨砕し 7% 食塩水にて乳液を作成し、10 倍階段稀釈により 7% 食塩加寒天平板上で定量培養した。その集落を得た稀釈度の対数値をもつて、腎内生菌数を示した。

#### 3) 治療効果の判定

上記の腎病変肉眼的所見および腎内生菌数をあらゆる数字をもつてヒストグラムを作成し、非治療対照群と治療群を対比せしめた。

#### 3. 試験管内抗菌力と生体内治療効果の比較

この様な動物実験を用いることにより、化学療法の効果を生体内で判断した結果、2, 3 の事実を知り得た。

先づ第 1 は各薬剤の試験管内における抗菌力の強さの比率は、必ずしも生体内の治療効果と一致しない点である。

すなわち林田株の TC·EM·CP に対する感受性は、試験管内稀釈実験によつて、それぞれ 0.8, 0.2 および 4.0 mcg/ml の MIC が得られており、射場株はそれぞ

れ 1.6, 0.4, 6.0 mcg/ml と判定されているが、試験管内において最も感受性の強い EM を、TC と同量用いて治療を行なったマウスの実験では、むしろ腎膿瘍の形成も高度で、また腎内生菌数も多い成績を示した。

さらに両菌株について、TC・EM・CP の MIC との比率を種々に変えて、治療実験を試みた結果、林田株では EM の 8, CP の 2 に対して TC は 1/4 の量で同程度の効果を示し、射場株でも EM の 4, CP の 2 倍比率の投与は、TC の 1/2 量よりも治療効果の低いことが認められた。

この事実が各抗生物質の生体内における分布、ことに病巣への滲透程度などによることは、容易に推測される。したがって各薬剤の吸収・排泄・体内分布と試験管内抗菌力を組合せて考えれば、十分うかがい得るわけではあるが、この様な動物実験によつて、それを一層簡単に知ることが出来たのである。

さらに私共は最近 Acetylspiramycin (ACSPM) についての実験で、試験管内抗菌力および薬剤の血中濃度のみの追及では、判断し得ない様な現象を、マウスの実験的治療によつて認めたのである。

すなわち ACSPM は Spiramycin (SPM) に比して血中濃度も低く、また試験管内抗菌力も弱いにもかかわらず、ブ菌感染マウスを治療すると腎膿瘍形成の程度、ならびに腎内生菌数において、共に ACSPM がより良好な効果を示した。

恐らく病巣内における薬剤濃度が血中のそれとは異なつた推移を示すか、あるいは病巣中のブ菌が試験管内で培養された菌とは異なつた感受性を、この二種の薬剤に対して示すなど、種々の因子の関与が考えられる。

#### 4. 抗生物質の併用

抗生物質間の拮抗作用については、JAWETZ が報告した様に、TC・CP などの群と PC・SM などの群の併用が、かえつて抗菌力を低下せしめる事実が明らかにされている。しかしこの現象は専ら試験管内実験によつて検討されたものであり、ことにブ菌に関しては、果して同様な事実を生体内で認め得るか否か、なお証明されていない。

私共は前実験と同じく、ブ菌静脈内感染マウスの腎膿瘍の程度ならびに腎内生菌数を指標として、PC-G と TC または CP の併用実験を試みた。すなわち林田株感染マウスに対して、PC-G 1 日 1 mg および TC 0.2 mg の併用投与群は、明らかに PC-G 単独投与群よりも膿瘍の形成が高度で、また培養による生菌数も多いことが知られ、TC 単独投与よりもなお劣る治療効果にとどまっていた。

次にこれ等 2 種の薬剤を同時に与えた場合と、時期を

異にして与えた場合で、治療効果に差のあることが知られたのである。すなわち林田株および射場株の何れにおいても、PC-G を先づ注射し、2 時間後に TC を与える異時併用は、両者の同時投与又は TC を先づ与えて 2 時間後に PC-G を注射する異時併用の際に見られる拮抗現象を示さず、PC-G 単独とは同程度、むしろ 2 週治療後ではそれよりも良好な治療効果を示したのである。

この事実は、PC-G と CP の併用の際にも認められ、TC と同じく先づ PC-G を注射し 2 時間後に CP を与える異時併用により、各単独よりも良好な効果を得ることが出来た。

以上の如く、JAWETZ が試験管内で証明した拮抗作用を生体内で確認し得たと同時に、この様な拮抗現象を防止するための投与方法を工夫し得ることを見出したのは、動物実験の有利性の 1 つと考えられる。

#### 5. Penicillinase 産生ブ菌に対する PC-G の効果

PC-G 耐性ブ菌の感染症に対して、PC-G が有効であつたと思える症例に遭遇することは、臨床においてそれ程珍しくない。私共はこれを動物実験により確かめることとした。すなわち PC-G 感性の林田株を対照とし、PC-G 耐性の 9 株を用いて感染せしめたマウスを、PC-G 1 mg を 1 日量として治療した結果、全く感性株と同程度に PC-G によつて腎膿瘍がおさえられる菌株が 5 株に及んでおり、内 3 株は試験管内では 10 mcg/ml の MIC を示すものであつた。これ等の内 2 株については、さらに PC-G の量を 1/10 に減じて実験を繰返したが、やはり有効な成績を得ている。

この様な試験管内感受性検査の成績と、生体内における PC-G の効果の間に不一致の存することは、菌株の産生する PC-ase に原因を求めるのが当然と考える。すなわち PC-G に対する感受性検査の間に、菌の産生する PC-ase により PC-G が不活性化されるためと推測されるので、次の実験を試みた。

先づ稀釈寒天平板上で種々な程度の PC-G 感受性を示すブ菌株の稀釈菌液を、種々な濃度に PC-G を含む寒天平板上に接種し、生じた集落数を算える方法によつて、菌株内における各濃度耐性個体の分布を調べた。その結果、10 mcg/ml 耐性の福山株でも約 90% の個体に 0.08 mcg/ml 感性の個体で占められており、大森株では同じ濃度に感性の個体が 100% 近い比率に含まれていた。この成績から菌株内に含まれる PC-G 耐性個体に極めて少数であると思われる。

次に PC-G に対する MIC が 0.08 u/ml の 209 P 株と、PC-G 耐性の 4 株を種々な割合で混合し、それを寒天平板上に流して PC-G 感受性検査を行なうと、 $10^{-8}$  乃至  $10^{-5}$  程度の微量の混在で、3~4 段階、ことに上農

株を混じた場合では6段階、すなわち64倍も感受性の低下が認められた。

この様に混合菌液からPC-G加寒天平板培地上に発育した集落を採り、個々に増菌して再びそのPC-G感受性検査を行なうと、その大部分は元の209P株と同程度のPC-G感受性を示しており、恐らくこれ等が混入菌体の産生するPC-aseの影響によつて、PC-G耐性個体であるかの様に判定されたためと思われる。

その他、PC-G耐性菌のブイヨン培養6時間後、すなわち対数的増殖期に種々な量のPC-Gを添加しても、以後3~6時間内は静菌作用が証明され、その後再び菌数の増加を見るが、菌株によつてはPC-G 5 mcg/mlの添加によつてこの再増殖を抑え得る場合のあることを認め得た。

この成績からPC-G耐性菌株がPC-Gと接触しても、PC-aseが産生されるまでにはある程度の時間が必要であり、その間は菌の増殖は阻止されるものであることが知られ、この事実と前実験により確められた如く、極めて少量の耐性個体の混在が菌株全体のPC-G感受性検査成績を変える事実は共に、生体内におけるPC-G耐性菌のPC-G感受性に関する一見矛盾的な現象の解明に資するものとする。

#### 6. 本実験方法の改良を要する点

この様にマウスを用いた動物実験的な検討によつて、私共は抗菌化学療法について、いくつかの新知見を加えることが出来たが、しかし尚この方法には改善を要する点が多いと思う。

その第1は現在用いている菌量、すなわち $10^5 \sim 10^6$ の多量菌接種は、必ずしも是認されることではなく、若しより少量な菌の接種によつて腎膿瘍形成が可能であれば、さらに条件の整つた実験が行ない得ると思う。そのために更に多数の菌株から、腎膿瘍を高度に作り、しかも敗血症死の少ないものを選び出す努力をしている。

第2は、従来の実験には専ら菌接種当日から治療を開始する方法を用いて来たが、これは厳密な意味では治療実験とは言い難く、感染予防実験に近いと思われる。そのため、菌接種24時間後から治療を開始する方法を試みている。

この場合にはPC-G 1 mg またはTC 0.2 mg の治療では、3日又は1週後における腎膿瘍は対照動物と大差がないが、2週以後において菌数の減少が著明となる。

すなわち接種1日後からの治療開始は、直後開始よりも治療効果が劣るが、2週以上の治療によつては効果が明らかとなるので、何れの方法が化学療法剤の効果を正しく表現しているかにつき、今後数学的処理を行なつた上で結論を得たいと考える。

#### 7. 結 語

以上私共が現在まで行なつて来た抗菌化学療法に関する実験的研究の概要を述べた。これ等は今後更に検討すべき多くの点を残しているが、一応の実験方法を組立て得たと考えるので、試験管内実験との併用によつて、抗菌化学療法に関する諸種の問題解決に役立て、あるいは新しい抗菌物質の効果批判に応用したいと思う。

本研究は下に記した協同研究者の努力に負うものである。

宮崎幸雄、松本卓司、野田俊策、田中脩示、三瀬貞博、富松正太、古田利房。

また本研究の詳細は、既に下記の通り報告して来た。本講演はこれ等を総括し、且つその後得た成績を加えたものである。

- 1) 河盛勇造：化学療法と内科臨床，II，薬剤耐性ブドウ球菌について，日本内科学会雑誌，49，922，昭35。
- 2) 宮崎幸雄：ブドウ球菌の薬剤感受性と生物学的性状及び病原性に関する研究，Chemotherapy，9，297，昭36。
- 3) 河盛勇造・松本卓司：ブドウ球菌の実験的マウス感染症，特に化学療法剤の効果判定への応用，モダンメデイア，8，321，昭37。
- 4) 松本卓司：ブドウ球菌感染マウスを用いた実験的化学療法に関する研究，Chemotherapy，11，312，昭38。
- 5) 野田俊策：ブドウ球菌感染マウスに対する各種抗生物質の併用効果に関する研究，Chemotherapy，13，412，昭40。
- 6) 田中脩示：Penicillinase産生ブドウ球菌のPenicillin G感受性に関する研究，Chemotherapy，14，昭41，掲載予定。