

Enduracidin の家兎実験梅毒治療効果について

善養寺 浩 大久保暢夫・堀 幹郎・鶴田康子・柴田 実・西条頼広

東京都立衛生研究所 細菌部

I. はじめに

最近、武田薬品工業株式会社によって開発された peptide 系抗生物質である Enduracidin は、中沢¹⁾の総括発表の中に示された私どもの成績²⁾が示すごとく、ブドウ球菌、レンサ球菌をはじめジフテリア菌、ウェルシュ菌などグラム陽性菌に対し *in vitro* で特異的な抗菌作用を示し、また、グラム陽性球菌のマウス感染治療実験でもきわめてすぐれた治療効果が認められている。

今回は、このような特異な抗菌域を示す Enduracidin が梅毒に対しても治療効果を有するか否かを検討するために、家兎実験梅毒について治療実験を行なった。実験には、梅毒治療に対すぐれた効果を示す Penicillin を対照に用いて、Enduracidin の効果を比較判定した。

II. 実験材料および方法

1. 供試薬剤

Enduracidin (EDC と略す) は Lot. No. 06429Z の実験用 2.5% 溶液そのままを用いた。対照には Penicillin G カリウム (PC-G と略す) を用い、これは使用のつど局方注射用精製水に溶解した。

2. 薬剤投与方法および量

EDC および PC-G とともに 1 日 2 回、10 日間連続、大腿部筋肉内に投与した。

薬剤量両は薬剤とも 1 日 50 mg/ウサギである。この量は PC-G の成人 1 日量に換算すると 120 万単位になり、常用投与量の 2 倍に相当する。

10 日間の総投与量は 両薬剤とも 500 mg/ウサギとなる。

3. 実験動物

実験には、体重ほぼ 3 kg に統一した白色雄性雑系家兎を用いた。すべての家兎について *Treponema pallidum* に対する抗体の有無を実験前に検査し、いずれも陰性であることを確かめておいた。

供試家兎は次のごとく 8 群に分け、総計 59 匹を用いた。

1) 背皮内感染実験

- | | |
|------------|-----|
| ① EDC 治療群 | 5 匹 |
| ② PC-G 治療群 | 5 匹 |

③ 溶媒投与群	5 匹
---------	-----

④ 無処置対照群	5 匹
----------	-----

2) 睪丸内感染実験

① EDC 治療群	10 匹
-----------	------

② PC-G 治療群	10 匹
------------	------

③ 無処置対照群	10 匹
----------	------

④ 継代再感染群	9 匹
----------	-----

以上のうち、溶媒投与とは Enduracidin の溶媒のみを投与したものであり、継代再感染とは治療後睪丸内に活性 *Treponema* が存在するか否かを検討するため、常法にしたがつて、その睪丸液を健常家兎睪丸に移植して発症の有無をみたものである。

4. 感染方法

常時、家兎睪丸に接種継代し保持している *Treponema pallidum* Nichols (*Tp* と略す) を健常家兎睪丸に接種し、宮沢³⁾の方法に従がつて、それより *Treponema* 浮遊液を調製し、1 ml 中の *Treponema* 数をつねにほぼ 10^6 個に規定したのち、背皮内感染群ではその 0.1 ml あてを、硫化バリウムで脱毛した家兎背皮内の 4 カ所にそれぞれ接種し、睪丸内感染群ではその 1 ml あてを両側睪丸実質中に接種した。

5. 継代再感染実験

この実験は治療終了後家兎睪丸組織中に *Tp* が生残するか否かを検討するための実験であり、各治療群および対照群の中から任意に 1 匹あてを選び、治療終了の翌日、その 1 側の睪丸を摘出し、つぎのごとく、健常家兎睪丸に接種した。すなわち、1 個の睪丸を細挫し、これに 5% 非働化ウシ血清加生理食塩水 8 ml を加え、水平振盪機 (梅毒血清反応のガラス板試験用) で 30 分間振盪して *Tp* を遊出させ、その浮遊液の 1 ml あてを各群 3 匹の家兎睪丸実質中に接種した。

以上の実験家兎について、肉眼的に発症の有無を観察する一方、接種後 10 日、20 日および 30 日目に各群 1 匹あてについて血中抗体価の測定ならびに睪丸を摘出し病理組織学的検討を行ない、薬剤投与群の効果を判定した。

6. 血中抗体価の測定

睪丸内感染群については、実験経過中、ガラス板法および補体結合反応諸方法により血中抗体価の消長を定量

的に測定し、効果判定の参考にした。

7. 病理組織学的検討

辜丸内感染群については、血中抗体価測定と同時期に、各群1匹あての辜丸を摘出し、ホルマリン固定、ヘマトキシリン・エオジン染色により病理組織学的に治療効果を判定した。

III. 実験成績

1. 背皮内感染群治療実験

治療効果は、いつたん発症させたのちに薬剤を投与し、病像修復の程度により判定した。

健常家兎の脱毛背皮内に *Tp* を接種すると、約1週間で接種局所は発赤、腫脹が明瞭に認められ、日を追って病変は強くなり、腫脹は徐々に硬化し、その硬結は10日で基底部直径が10~13mm程度となる。この時期には硬結が顕著となる一方、中心部は軟化しはじめ、いわゆる梅毒性膿疱疹の状態となつている(写真1)。

この時期すなわち感染後11日目より治療を開始し、治療群と同一条件においた無処置対照群と対比させながら判定した。

治療5日後の所見：PC-G治療群の大部分は局所病変は消褪しているが、なお、ある個体には軽度の発赤、腫脹が残存しているのがみられた。一方、EDC治療群で

は軽度に発赤のみが残っていたものが少数みられたが、腫脹、硬結は触知できず、ほとんどすべてこのような病変は消失していた(写真2)。

治療10日後の所見 この時期すなわち感染後21日目の無処置対照群の局所病変は、感染10日目の変化がそのまま残存し、腫脹、硬結、発赤が著明であり、このような変化は全局所に認められた(写真3)。なお、溶媒のみを接種した対照群では、こうした病変のほか中心部にかなりの潰瘍が大部分にみられ、前者対照群より病像はかえって増悪している印象が強い。

PC-G治療群のほとんどすべての局所病変は消褪し、硬結を触知できるものはなかつた。しかし、なお2,3の局所に発赤の残存があつた。EDC治療群では発赤、腫脹、硬結は全局所に認められず、正常に復帰していた。

2. 辜丸内感染群治療実験

本実験においても、発症後治療を開始し、肉眼的および病理組織学的に病変修復の程度を観察して、薬剤効果を判定した。

Tp を健常家兎辜丸に接種すると、背皮内感染の場合と同様に、感染後約7日から辜丸の腫脹が認められ、10日目では辜丸の腫大、陰囊の緊張などが著明となり、辜丸実質は軟骨様硬度をもつ硬結を触知させる(写真4)。

各薬剤とも治療は感染後11日目より開始した。

写真1 *Tp* 接種 2×10^6 /ml 10日目



写真2



写真3

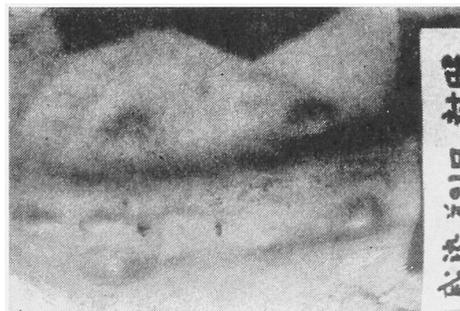


写真4

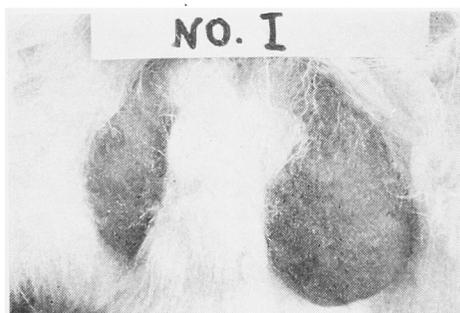
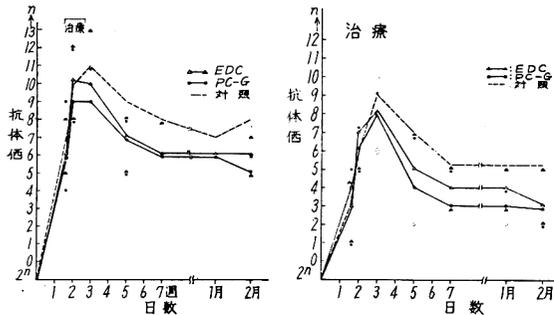


図1 緒方法によつて測定した抗体価の消長 図2 ガラス板法によつて測定した抗体価の消長



1) 治療による病像の変化

治療5日後の所見：対照群と比較して、EDC および PC-G 治療群ともに陰嚢の緊張は著しく軽快し、辜丸の腫大、硬結も顕著に消失した。

治療10日後の所見：この時期すなわち感染後21日目の対照群では、感染10日目の所見がそのまま、もしくはやや増悪して持続し、陰嚢は水腫様腫大が高度であり、辜丸の腫大、硬結も顕著であつた。

これに比較して、EDC および PC-G 治療群とも肉眼的には病変はほぼ完全に正常に復帰しており、辜丸の硬結、腫大も全例ともほとんど触知できなかつた。

2) 血中抗体価の消長

辜丸内感染群の血中抗体価の消長を測定した結果は図1および2のごとくである。この図では、縦軸に2ⁿで血清希釈倍数を、横軸に日数を示した。各線はウサギ1群の平均値、プロットはその最高および最低値である。

全ウサギについて感染前抗体陰性であることを確かめてある。これが実験的感染により徐々に抗体上昇がみられ、感染21日目ごろ最高値を示し、以後漸減していった。しかし、この抗体価の消長はEDC および PC-G 治療群とも対照群とほぼ相似した態度を示し、やや対照群のほうが抗体価の上昇は高く、それに比例して、低減も弱い傾向がみられるが、この成績の範囲では薬剤治療効果と抗体価の消長との間には相関が認められない。この点は善養寺⁴⁾の他の実験とも一致し、急性動物細菌感染実験などと異なり、動物実験でもかなり長い経過をたどる梅毒感染では、いつたん発症させることにより充分な抗体産生刺激が加わるために、本報のごとき薬剤投与方法では対照群と治療群との間に抗体消長に有意差をみることはできないものと考えられる。

3) 病理組織学的所見

対照群と治療群との間にはつぎのごとく病理組織学的に顕著な差異が認められ、明らかに薬剤治療の有効性が認められた。

写真5 感染50日目

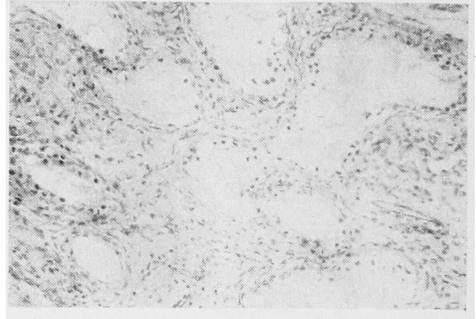
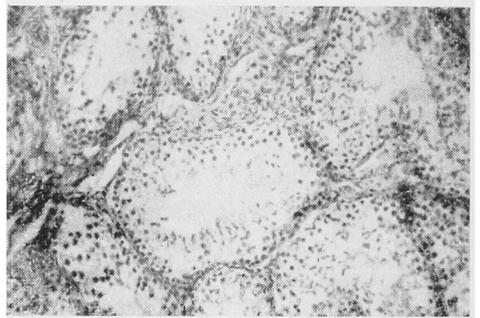


写真6 PC-G 30日



対照群：感染10日後の変化——精細管の萎縮と間質における小円形細胞の浸潤および線維化の初期変化が精細管基底膜から始まっている。感染15日目の変化——精細管の萎縮が強くなり、間質の小円形細胞浸潤、結合組織の増生、毛細血管の新生が認められ、また、好中球の出現もみられた。感染20日目の変化——精細管の萎縮は高度となり、精上皮はまったく消失し、セルトリ細胞のみとなる。間質の線維化はさらに進み、また、小円形細胞の浸潤が高度となり、リンパ球小結節も出現する。感染後35日目の変化——部分的にセルトリ細胞の増生像がみられはするが、精細管の萎縮はさらに高度となる。間質の線維化は著しく高進し、小円形細胞の浸潤をともなっている。感染後50日目の変化——精細管の萎縮、間質の線維化がさらに顕著となり、リンパ球、プラズマ細胞の浸潤が残っている。なお、間質結合組織の線維化はきわめて高度となるとともに、精細管腔にはセルトリ細胞が遺残するのみで、造精機能の障害が著しく、もはや精子形成像はほとんど認められない(写真5)。

PC-G 治療群：治療開始5日後の所見——肉眼的には病変の軽快は著しかつたが、組織学的には感染15日目の所見とほぼ同様であつた。治療開始10日後でも対照所見とほぼ相似しているが、全体的には明らかにその程度は弱い。治療終了後15日目の所見——精細管の萎縮は概して軽度であるが、なお、精子形成阻害がみられ

写真7 EDC 30日



る。間質の結合組織の増生は軽度、小円形細胞の浸潤も軽度になつている。治療終了後30日目の所見——精細管の萎縮が軽度に残り、部分的に低精子形成がみられる。また、間質結合組織も軽度に遺残し、軽度の小円形細胞浸潤も部分的に認められた(写真6)。

EDC治療群：治療10日目までの所見はPC-G治療群と大差はない。治療終了15日目の所見——精細管の萎縮が軽度に残っているが、精上皮の配列は部分的には正常像に近い。間質の結合組織増生、線維化、リンパ球浸潤はなお軽度に遺残している。治療終了30日目の所見——この時期にいたると、組織学的にはほぼ完全な修復を示し、正常像となつている。すなわち、精細管の萎縮はほとんどなく、精子形成像も正常であり、間質の線維化や細胞浸潤もほとんど認められない(写真7)。

4) 継代感染実験

対照の継代感染3匹中1匹に遅れて軽度の発症がみられたほか、他の2匹は発症せず、また、EDCおよびPC-G治療群ともすべて発症がみられなかつた。

IV. 考 察

本実験ではEDCの家兎実験梅毒治療効果をPC-Gを対照として比較検討したものである。使用薬剤量はPC-Gに換算した場合、成人常用投与量の2倍となつているが、これは実験開始当時には、組織内への浸透度が明らかにされていなかつたためであり、また一方では、効果の比較はより判定しやすい量の投与が確実であると考へたためである。もちろん、PC-GとEDCとの投与量は

まったく同等であるから、常用量より多くても、実験梅毒の治療では両者の効果判定は充分可能である。

さて、以上述べたごとく、Tpの背皮内感染および睾丸内感染群に対するEDCの治療効果は、肉眼的にはまったく同等といえるし、背皮内感染だけではむしろEDCのほうがややよい成績であるような印象を受ける。また、睾丸感染治療実験の病理組織学的所見によると、明らかにEDCはすぐれた治療効果を示し、早期にTpを死滅させるためか、修復は著しく速く、PC-Gに勝るとも劣らないすぐれた効果が認められる。なお、2,3,6カ月後の所見も追跡する必要はあるが、治療終了後30日ですでに完全に睾丸組織は正常像に復帰していることから、これまでの実験結果によりその効果は充分判定可能である。

V. 結 論

Enduracidinの家兎実験梅毒に対する治療効果をPenicillinと比較して検討した結果、つぎのごとくの結論を得た。

1) 家兎背皮内および睾丸内感染に対し、EDCはPC-Gと同等ないしはややすぐれた治療効果を示した。

2) 病理組織学的所見でも、肉眼的所見同様、EDCはPC-Gと同等ないしはややすぐれた効果を示し、対照群が感染後50日では睾丸は機能的に荒廃し、修復の可能性はみられないのに対し、EDC治療群の同時期では睾丸機能は組織学的にはまったく正常に復帰している像を示している。PC-G治療群もほぼこれと同様な所見であるが、なお、軽度に病変の遺残がみられた。

3) 治療終了翌日の睾丸を健常家兎に接種した継代感染実験はEDCおよびPC-Gともに陰性であつた。

4) 治療効果と血中抗体価の消長との間には、本実験の場合は相関はみられなかつた。

文 献

- 1) 中沢昭三：Enduracidin シンポジウム，日本化学療法学会東日本支部総会，昭42.10.7，札幌
- 2) 善養寺 浩ほか：未発表
- 3) 富沢孝之：性病，44, 99~112, 1959
- 4) 善養寺 浩ほか：診断と治療，55, 161~384, 1967

THERAPEUTIC EFFECT OF ENDURACIDIN IN EXPERIMENTALLY INFECTED SYPHILITIC RABBITS

HIROSHI ZENYOZI, NOBUO OKUBO, MIKIO HORI, YASUKO TSURUTA,
MINORU SHIBATA & YORIHIRO SAIJO

Department of Microbiology, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences

The therapeutic effect of enduracidin (EDC) was comparatively examined with potassium penicillin G in rabbits experimentally infected with syphilis. The followings were observed.

1) EDC was given intramuscularly in a dose of 50 mg/day for 10 days in rabbits infected with syphilis by inoculation in the back and testis and the effect appeared to be somewhat superior compared to similarly infected animals treated with PC-G.

2) The histological examination after treatment also showed that EDC had the same, if not superior effect compared to PC-G. In the control, the function of the testis was destroyed with no possibility of restoration 50 days after intratesticular infection while in the EDC group, the testicular function appears to be histologically restored normal.

The PC-G group showed a grossly similar picture but some pathological changes still remained.

3) The next day after completion of the therapeutic course, testicular tissue from the experimental animal was implanted in a healthy animal but the results with both EDC and PC-G groups were negative.

4) There appeared no relationship between the therapeutic effect and the changes in antibody level of the blood.