

胎盤 Lysozyme の実験的エンドトキシン・ショックに対する効果

須山 忠和・井坂 健一

ミドリ十字・中央研究所

(昭和 45 年 3 月 28 日受付)

グラム陰性細菌や、その endotoxin によつて誘発される bacteremic shock あるいは endotoxin shock は、種々の病態生理的变化、すなわち、白血球減少¹⁾、凝固性低下²⁾、体温低下¹⁾、免疫反応性変化^{1,3)}などを惹起し、hemodynamic な変化を伴う急激な心血管系の collapse により生体を死に至らしめる。この shock 状態は、臨床上比較的多い合併症とみなされており、尿路、腸管、子宮および肺などが菌感染の源泉となつているが⁴⁾、endotoxin shock の発現機構や、それに対する生体防禦能については未だ明らかでない。しかしグラム陰性細菌は腸管などに多数常在しているので、生体条件の変化によつては、endotoxin が腸壁、すなわち intestinal barrier を透過すると考えられ、従がつて生体は endotoxemia に抵抗しようとする何らかの防禦能を保持していることが推定される¹⁾。近年、細菌感染に伴う phagocytic な機能の亢進と免疫現象が、一連の生体反応としてとらえられて来ており、異物の解毒に関する細胞レベルでの研究が、生体の自然抵抗性や防禦機構の解明に1つの手掛りを与えている⁵⁾。AOKI らは^{3,6)}、endotoxin 投与後の動物において、肝、脾の網内系細胞に、補体と免疫グロブリンが endotoxin をとり囲むようにして存在していることを、蛍光抗体法で認めており、さらに血中の *Salmonella typhosa* に対する自然抗体および補体が endotoxin 投与後急激に低下することを報告し、この shock に Immune mechanism の関与を想定している。感染に対する自然抵抗性の要因の1つと考えられている Lysozyme は、卵白をはじめ、ヒト・動物の組織や分泌液中に広く見出され FLEMING 以来その *in vitro* 溶菌作用、とくにグラム陽性菌に対する作用が多くの人々により研究されて来た。Exogenous に投与した Lysozyme は、生体の phagocytosis を高め、また、抗体と補体の関与する免疫溶菌系において、その溶菌反応を増強・促進することが注目されている⁷⁻¹¹⁾。私共は前報で¹²⁾、ヒト胎盤から精製した Lysozyme の各種細菌に対する作用をしらべたところ、*Staphylococcus aureus*、*Diplococcus pneumoniae*、*Clostridium tetani* に対しては、*in vitro* ではほとんど抗菌作用を示さないにも拘わらず、*in vivo* のマウス実験的感染症において明らかな救命効果を示し、とくに *Cl. tetani* 感染症

に対して効果が著しいことを認めた。今回は、*Shigella flexneri* などグラム陰性腸内細菌から精製された endotoxin (lipopolysaccharide) を用い、これらにより誘発させた実験的 endotoxin shock 死に対する胎盤 Lysozyme の影響を検討した結果、著しい救命効果が認められたので報告する。

実験材料と方法

1. 使用薬剤および Endotoxin

Lysozyme は、ヒト胎盤から抽出・精製した凍結乾燥末で、KK ミドリ十字製であり、安定剤としてマンニトを含有する。その 1 mg (力価) は、*Micrococcus lysodeikticus* を基質として寒天内拡散法^{13,14)}により溶菌活性を測定するとき、Lysozyme 標準品 (国立衛研・卵白リゾチーム) の 1.0 mg に相当する活性を持つ。免疫グロブリンは、低温エタノール法で調製されたヒト・ガンマ・グロブリン乾燥末 (KK ミドリ十字) を、生理食塩水に溶解して使用した。Endoxin は、Difco 社製凍結乾燥末で、以下の規格の標品を生理食塩水に懸濁して用いた。

(1) BOIVIN の trichloroacetic acid 法で調製した endotoxin :

Difco code 3920 Lipopolysaccharide *E. coli* 026 B 6
Difco code 3998 Lipopolysaccharide *S. typhimurium*
Difco code 3105 Lipopolysaccharide *S. enteritidis*
Difco code 3107 Lipopolysaccharide *S. flexneri*

(2) WESTPHAL の phenol 抽出法で調製した endotoxin :

Difco code 3126 Lipopolysaccharide *S. enteritidis*
Difco code 3128 Lipopolysaccharide *S. flexneri*

2. ラット実験的 endotoxin shock

体重 250~300 g のドンリウ系雄ラット 30 匹を 10 匹ずつ 3 群に分ける。実験は、Lysozyme 300 mg/kg/day (約 75 mg/ラット/日)、1 回腹腔内投与群および、Lysozyme 100 mg/kg/day (約 25 mg/ラット/日)、3 日間連続腹腔内投与群の 2 群とし、他の 1 群は対照として生理食塩水を投与した。最終薬物投与後 4 時間目に、*Salmonella enteritidis* の endotoxin (Difco code 3126) 10 mg/kg を静脈内に 1 回投与した後、24 時間の生死で効果を判定した。

3. マウス実験的 endotoxin shock

(1) 種々の endotoxin 量に対する Lysozyme 前投与の影響: 体重 16~18 g の dd 系雄マウス 360 匹を使用する。実験は 5 シリーズに分け、第 1 シリーズは *Salmonella enteritidis* endotoxin (Difco 3105) に対する Lysozyme の効果を、第 2 シリーズは *Salmonella typhimurium* endotoxin (Difco code 3998) に対する効果を、第 3 シリーズは *Escherichia coli* endotoxin (Difco code 3920) に対する効果を、第 4 シリーズは *Shigella flexneri* endotoxin (Difco code 3107) に対する効果を、第 5 シリーズは *Shigella flexneri* endotoxin (Difco code 3128) に対する効果を、それぞれ検討した。各シリーズは 60~90 匹のマウスを用いて、10 匹ずつ 6~9 群に分け、endotoxin の 3 段階用量につき、それぞれにつき Lysozyme 投与群および対照群 (生理食塩水または免疫グロブリン投与) をもうけた。実験方法は、Lysozyme 75 mg/kg/日 (約 1.5 mg/マウス/日)、3 日連続腹腔内投与した後、4 時間目に endotoxin 12, 24, 48 及び 96 mg/kg を腹腔内に投与、以後 72 時間まで生死を観察して効果を判定した。

(2) 同時投与による効果: Lysozyme-endotoxin incubation mixture 投与実験: *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* および *E. coli* の各 endotoxin の生理食塩水懸濁液 (濃度: 2.5, 5, 10 mg/ml) と、Lysozyme 125 mg/ml とを等容量混合し、37°C 60 分水浴加温後、その 0.2 ml/マウスを腹腔内に 1 回投与し、以後 72 時間まで生死を観察した。

(3) Lysozyme 最小有効量: *S. flexneri* endotoxin shock に対して種々の用量の Lysozyme を投与した場合の、用量-反応曲線を求めるために、体重 16~18 g の dd 系雄マウス 60 匹を使用する。これを 10 匹ずつ 6 群に分け、Lysozyme の各種投与量を 3 日間連続腹腔内投与する。投与量は 2.5, 5, 10, 25, 50 mg/kg/日とした。最終注射 4 時間後に、*S. flexneri* endotoxin (Difco code 3107) 48 mg/kg を 1 回腹腔内投与し、以後 72 時間までマウスの生死を観察した。なお対照群としては Lysozyme のかわりに生理食塩水を投与した。

実験結果

1. ラット実験的 endotoxin shock

S. enteritidis endotoxin 10 mg/kg を、ラット静脈内に 1 回投与した場合の死亡率は 80% (10 匹中 8 匹死亡) であつた。ところが endotoxin 注射 4 時間前に、Lysozyme 300 mg/kg を 1 回腹腔内投与した群では、死亡率 30%、endotoxin 注射 2 日前から、Lysozyme 100 mg/kg/日を 3 日連続腹腔内投与した群では死亡率 40% であり、明らかに Lysozyme の救命効果が認められた(表

Table 1. Effect of lysozyme pretreatment on shock lethality to *S. enteritidis* endotoxin (rats)

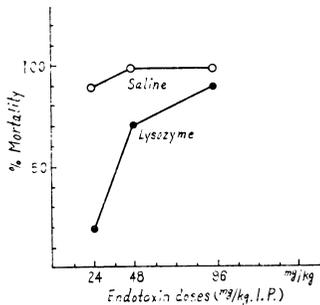
<i>S. enteritidis</i> endotoxin	Lysozyme pretreatment (Dose × day)	Mortality	
		rat died/rat used	%
10 mg/kg, I. V.	300 mg/kg × 1 I. P.	3/10	30
10 mg/kg, I. V.	100 mg/kg × 3 I. P.	4/10	40
10 mg/kg, I. V.	Saline (Control)	8/10	80

Table 2. Effect of lysozyme pretreatment on shock lethality to various endotoxins (mouse)

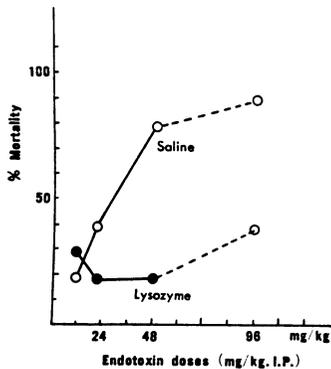
Derived strain	Endotoxins Dosage (I. P. inj.)	Lysozyme pretreatment 75 mg/kg × 3 days I. P. inj	Mortality	
			mice died/mice used	%
<i>S. enteritidis</i>	24 mg/kg	Lysozyme Saline (cont.)	2/10 9/10	20 90
	48 mg/kg	Lysozyme Saline (cont.)	7/10 10/10	70 100
	96 mg/kg	Lysozyme Saline (cont.)	9/10 10/10	90 100
<i>S. typhimurium</i>	12 "	Lysozyme Saline (cont.)	3/10 2/10	30 20
	24 "	Lysozyme Saline (cont.)	2/10 4/10	20 40
	48 "	Lysozyme Saline (cont.)	2/10 8/10	20 80
<i>E. coli</i>	12 "	Lysozyme Saline (cont.)	2/10 4/10	20 40
	24 "	Lysozyme Saline (cont.)	9/10 9/10	90 90
	48 "	Lysozyme Saline (cont.)	9/10 10/10	90 100
<i>S. flexneri</i> (Boivin type)	24 "	Lysozyme G. G. (cont.) Saline (cont.)	1/10 5/10 4/10	10 50 40
	48 "	Lysozyme G. G. (cont.) Saline (cont.)	1/10 9/10 8/10	10 90 80
	96 "	Lysozyme G. G. (cont.) Saline (cont.)	10/10 10/10 10/10	100 100 100
<i>S. flexneri</i> (Westphal type)	24 "	Lysozyme G. G. (cont.) Saline (cont.)	4/10 7/10 6/10	40 70 60
	48 "	Lysozyme G. G. (cont.) Saline (cont.)	4/10 6/10 7/10	40 60 70
	96 "	Lysozyme G. G. (cont.) Saline (cont.)	10/10 8/10 10/10	100 80 100

1)。この場合、300 mg/kg を 1 回前投与した群と、これを 100 mg/kg/日ずつ 3 日間で分割投与した場合とは救命効果に有意の差はみられない。

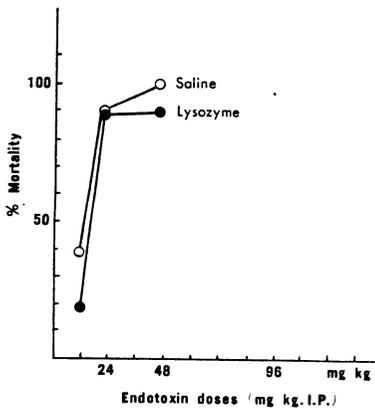
Fig. 1 (1)-(5) Effect of Lysozyme pretreatment (75 mg/kg x 3 days) on lethality to varying doses of endotoxins.
(1) *S. ENTERITIDIS* ENDOTOXIN



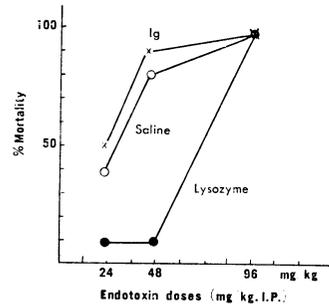
(2) *S. TYPHI-MURIUM* ENDOTOXIN



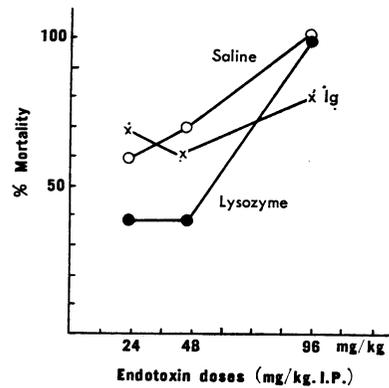
(3) *E. COLI* ENDOTOXIN



(4) *S. FLEXNERI* ENDOTOXIN (BOIVIN)



(5) *S. FLEXNERI* ENDOTOXIN (WESTPHAL)



i) *S. enteritidis* endotoxin shock: endotoxin 24 mg/kg を腹腔内に投与した場合のマウス死亡率は 90% (10 匹中の 4 匹死亡) であつたが, endotoxin 投与 2 日前より Lysozyme 75 mg/kg を 3 日間投与した群では, 死亡率 20% となり, 著しい救命効果のあることを知つた。また endotoxin 48 mg/kg 腹腔投与では, マウス死亡率 100% であつたが, Lysozyme 投与によりそれが 70% に減少した。Endotoxin 96 mg/kg 投与群では死亡率 100% で, Lysozyme 前投与によつてもそれが 90% に減少したにすぎない。これら endotoxin doses と Lysozyme 効果との関係は図 1-(1) に示す。

ii) *S. typhi-murium* endotoxin shock: endotoxin 12 mg/kg および 24 mg/kg 腹腔内投与で, マウス死亡率はそれぞれ 20%, 40% にすぎない。48 mg/kg 投与ではマウス死亡率は 80% に達したが, Lysozyme 75 mg/kg/日 3 回前投与によりこの死亡率は 20% に減少して著しい救命効果を認めた。Endotoxin 用量と Lysozyme 効果との関係は図 1-(2) に示す。

iii) *E. coli* endotoxin shock: いずれの endotoxin 用量に対する shock についても, Lysozyme 前投与に

2. マウス実験的 endotoxin shock

(1) 種々の endotoxin 用量を腹腔内に投与した場合の Lysozyme 前投与による救命効果

表 2 に示すとおり, 死亡率 80~90% となるような endotoxin 用量 (48 mg/kg またはそれ以下) に対しては, *E. coli* をのぞくいずれの endotoxin shock 死に対しても, Lysozyme 75 mg/kg/日 3 回前投与により, 死亡率は 10~20% に減少することがわかつた。

よる効果は明らかでなかつた。ただ endotoxin 12 mg/kg 群において死亡率 40% であつたのが Lysozyme 前投与により 20% に減少した。Endotoxin の dose-response 関係は図 1-(3) に示す。

iv) *S. flexneri* endotoxin shock: BOIVIN trichlor の acetic acid 法で調製した endotoxin (Difco code 3107) を 24 mg/kg 腹腔内投与した場合、72 時間内のマウス死亡率は、対照群 (生理食塩水またはグロブリン前処置) において 40~50% であつたが、Lysozyme 前投与群では死亡率 10% となつた。また、endotoxin 48 mg/kg では、対照群の死亡率が 80~90% に達したのに反し、Lysozyme 前投与群では死亡率 10% であり、著しい救命効果を示した。なお endotoxin 96 mg/kg では Lysozyme 前投与による死亡率の減少は認め難い。これらの関係は図 1-(4) に示す。WESTPHAL の phenol 法で調製した endotoxin (Difco code 3128) の 24~48 mg/kg の腹腔内投与の場合、対照群 (生理食塩水またはグロブリン前処置) では、マウス死亡率 60~70% であつたのに反し、Lysozyme 前投与ではそれが 40% となり、有意の差で救命効果が認められた。Endotoxin doses と死亡率の関係は図 1-(5) に示す。

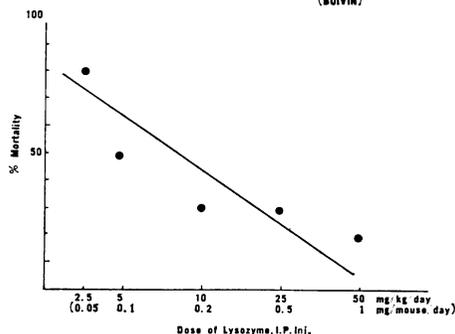
(2) Endotoxin と Lysozyme との同時投与と実験

各種濃度の endotoxin を一定濃度の Lysozyme (125 mg/ml) と試験管内で 37°C 60 分 incubate した後、これをマウス腹腔内に投与し、その死亡率を求めた結果は表 3 に示した。*S. enteritidis* endotoxin の 5 mg/ml 濃度のもの 0.2 ml 投与 (24 mg/kg 投与相当) したマウスでは、死亡率が 70% であつたのに、この endotoxin を Lysozyme と共に混合して投与した場合では死亡率は 30% に減少し、Lysozyme の抗毒素作用がうかがえた。

Table 3. Effect of lysozyme on endotoxins

Endotoxin-Lysozyme Mixture				Mortality	
Endotoxin derivative strain (mg/ml. mix.)	Lysozyme (mg/ml mix.)	Mixture injected (ml/mouse)	mouse died/mouse used	%	
<i>S. enteritidis</i>	2.5	125	0.2	1/10	10
	2.5	—	0.2	2/10	20
	5	125	0.2	3/10	30
	5	—	0.2	7/10	70
	10	125	0.2	4/10	40
	10	—	0.2	5/10	50
<i>S. typhi-murium</i>	2.5	125	0.2	0/10	0
	2.5	—	0.2	1/10	10
	5	125	0.2	1/10	10
	5	—	0.2	4/10	40
<i>E. coli</i>	2.5	125	0.2	0/10	0
	2.5	—	0.2	2/10	20
	5	125	0.0	1/10	10
	5	—	0.2	6/10	60
	10	125	0.2	3/10	30
	10	—	0.2	6/10	60

FIG. 2 DOSE-RESPONSE RELATIONSHIP (MOUSE) *S. FLEXNERI* ENDOTOXIN: 48mg/kg I.P. (BOIVIN)



なお、37°C 60 分、生理食塩水中で incubate した endotoxin の 10 mg/ml を 0.2 ml 投与 (48 mg/kg 投与相当) では、死亡率 50% を示したが、intact な endotoxin では表 2 にみられるように 48 mg/kg 投与で死亡率 100% であつたことから考えて、37°C 60 分処理で、その toxicity がやや減弱するのではないかと思われる。*S. typhi-murium* endotoxin でも対照群 (endotoxin のみ 5 mg/ml, 0.2 ml 投与) で死亡率 40% であつたのに、Endotoxin-Lysozyme Mixture ではそれが 10% に減少していた。この endotoxin では、37°C 60 分処理による endotoxin それ自身の毒力減弱はほとんどみられないようであつた。*E. coli* endotoxin では、5 mg/ml, 0.2 ml 投与群 (対照群: 24 mg/kg 投与に相当) で、死亡率 60% であつたのに、Endotoxin-Lysozyme Mixture 投与群では死亡率 10% となり、Lysozyme に抗毒素効果が認められた。この endotoxin の場合も、37°C 60 分処理による毒力の低下がみられた。

(3) Lysozyme 最小有効量

S. flexneri endotoxin (Difco code 3107) の 48 mg/kg 腹腔内投与により発現するマウス Shock 死 (死亡率 80~90%) に対し、各種用量の Lysozyme を 3 日間連続前投与したときの Dose-response 曲線は図 2 に示した。これから明らかのように single dose として 5 mg/kg/日またはそれ以上の Lysozyme 量で、この endotoxin shock 死に対する予防効果が認められた。

3. 病理所見

Endotoxin shock による死亡は、その大部分が、endotoxin 投与後 24 時間以内にみられた。死亡した動物の剖検では、一般に、心臓のうつ血、肺の膨隆および出血斑、肝の著明なうつ血がみられ、腸管では粘膜がやや浮腫状で粘膜下、漿膜に出血斑がみられる。腎はうつ血性で剖面がやや混濁しているが、副腎にはとくに認むべき変化はなかつた。組織学的には心筋の空胞変性、肺胞の拡張と出血ならびに小血管が多数認められる。肝細胞

は著しい変性を示し、Kupffer 細胞の腫大と共に、大小の壊死巣がみられる。腸管では粘膜下に小出血がみられ、漿膜下にも出血巣をかなり認める。腎では細尿管上皮の変性ならびに血栓をみとめ、うつ血、出血に伴なう、円形細胞浸潤もかなりみとめられた。副腎では実質細胞の変性がみられた。これらの病理所見は endotoxin の種類とは関係なく、いずれも循環系不全にもとづく hyboxia の結果と考えられ、変性と壊死が主体をなすようであった。これに対し、Lysozyme 前投与により生存したマウスの剖検では、上記所見が全く認められないか、または非常に軽度であり、肝における Kupffer 細胞の増殖、腫大がみられる他、うつ血、出血などの異常所見は、ほとんど見られなかつた。

考 察

Endotoxin shock は、グラム陰性腸内細菌の endotoxin により誘発される生体の循環動態不全と、それに続く細胞レベルでの代謝障害とみなされている^{4,15)}、現在、これに対する臨床的処置としては、酸素供給、抗生物質、corticoids および血管拡張剤などを、単独または適当に組合せて使用することにより、効果をあげている。私共は予備的に、ラットのアナフィラキシー・ショック死に対して、胎盤リゾチムが抗ショック作用を示すことを実験的に認めたが、今回の、ラットおよびマウスを用いた報告で、抗原感作に直接関与しない endotoxin shock に対しても、ヒト胎盤 Lysozyme に予防効果を認めたことは興味深い。ヒト γ -Globulin 処置では効果のなかつたことからみて、この Lysozyme の効果は特異的なものと考えられる。この実験で、Lysozyme が数種の異なる endotoxin shock に対して、同様に protective effect を示した。このことは、Lysozyme が、特定の細菌 Lipopolysaccharide の特定部位と相互作用をもつものではないことを示している。いつぼう、endotoxin-lysozyme mixture をマウスに投与したときにも、Lysozyme に抗毒素作用が認められた。しかし、これが Lysozyme 自身のもつ *in vitro* 抗毒素作用なのか、あるいは投与された Lysozyme が生体を通しての *in vitro* 抗毒素作用なのかは断定し難い。Lysozyme の生理機能は未だ明らかにされていないが、それが細胞内の Lysosome に局在していること¹⁶⁾、phagocytosis に伴って多く出現すること等は¹⁷⁻¹⁹⁾、Lysozyme が生体の防御反応に密接な関連をもつことを示唆している。

結 論

ヒト胎盤から抽出、精製した Lysozyme を用いて、マウスおよびラットの実験的 endotoxin shock に対する効果を調べた。

(1) マウスを用いる実験で、死亡率が 80~90% と

なるような endotoxemia に対して、Lysozyme 75 mg/kg/日 3 回前投与した場合の死亡率は、*Salmonella enteritidis* endotoxemia において 20%、*Salmonella typhi-murium* endotoxemia において 20%、*Shigella flexneri* endotoxemia において 10% であり、いずれも著しい死亡率の減少を認めた。対照として用いたヒト γ -Globulin の前投与では、死亡率の減少は全くみられなかつた。

(2) マウスの *E. coli* endotoxemia に対しては、Lysozyme 前投与でわずかに死亡率の減少を認めるのみであつたが、endotoxin を Lysozyme と混合して同時投与した場合には、明らかに死亡率の減少を認めた。

(3) Lysozyme 用量-反応曲線から、マウスの *Shigella flexneri* endotoxemia に対する Lysozyme の最小有効量は 5 mg/kg/日(筋肉内投与)であり、それ以上の投与量において救命効果(死亡率の減少)がみられた。

(4) ラットを用いる実験においても、同様に endotoxemia に対する Lysozyme の効果がみとめられた。

文 献

- 1) FILKINS, J.P. & DILUXIO, N.R.: Heparin protection in endotoxin shock. *Amer. J. Physiol.* 214(5): 1074~1077, 1968
- 2) GANS, H. & KRIVIT, W.: Effect of endotoxin on the clotting mechanism. II. On the variation in response in different species of animals. *Ann. Surg.* 153: 453~458, 1961
- 3) 青木重久: ショックの病理学的研究——蛍光抗体法による免疫組織学的解析, エンドキシンを以てするモデル実験。アレルギー-16 (1): 20~28, 1967
- 4) BLAIR, E., WISE, A. & MACKAY, A.G.: Gram-negative bacteremic shock. *J. Amer. Med. Assoc.* 207(2): 333~336, 1969
- 5) NELSON, D.S.: In *Macrophages and Immunity*, p. 275, North-Holland Publishing Co., Amsterdam, London, 1969
- 6) AOKI, S., MERKEL, M. & MCCABE, W.R.: Immunofluorescent demonstration of the common enterobacterial antigen. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121: 230~234, 1966
- 7) KURASHIGE, S., OSAWA, N., KAWAKAMI, M. & MITSUHASHI, S.: Experimental Salmonellosis. X. Cellular immunity and its antibody in mouse mononuclear phagocytes. *J. Bact.* 94(4): 909~906, 1967
- 8) AMANO, T., MORIOKA, T., SEKI, Y., KASHIBA, S., FUJIKAWA, K. & ICHIKAWA, I.: Studies on the immune bacteriolysis. IX. The effect of immune bacteriolytic system and lysozyme on the cell wall preparation. *Med. J. Osaka Univ.* 6(4): 1023~1026, 1956
- 9) AMANO, T., FUJIKAWA, K., MORIOKA, T., MITAMA, A. & ICHIKAWA, S.: Quantitative stu-

- dies on immune bacteriolysis. I. A new method of quantitative estimation. *Biken's J.* 1: 13~25, 1958
- 10) MUSCHEL, L. H., CAREY, W. F. & BARON, L. S.: Formation of bacterial protoplasts by serum components. *J. Immun.* 82: 38~42, 1959
- 11) MUSCHEL, L. H. & JACKSON, J. E.: Activity of the antibody complement system and lysozyme against rough gram negative organisms. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 113: 881~884, 1963
- 12) 須山忠和, 小黒義五郎, 土居卓治, 井坂健一: 胎盤リゾチームのマウス実験的感染症に及ぼす効果: *Clostridium tetani*, *Staphylococcus aureus* および *Diplococcus pneumoniae* による実験。 *Jap. J. Antibiotics* 22(4): 287~298, 1969
- 13) WIECZOREK, Z., CZAJKA, M. & KOWALOZYK, H.: Assay of serum lysozyme by the diffusion method. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 15(6): 829~832, 1967
- 14) OSSERMAN, E. F. & LAWLER, D. P.: Serum and urinary lysozyme in monocytic and monomyelocytic leukemia. *J. Exp. Med.* 124(4): 921~951, 1966
- 15) SCHUMER, W. & SPERLING, R.: Shock and its effect on the cell. *J. Amer. Med. Assoc.* 205(4): 215~219, 1968
- 16) DECKX, R. J., VANTRAPPEN, G. R. & PARRIEN, M. M.: Localization of lysozyme activity in a paneth cell granule fraction. *Biochim. Biophys. Acta* 139(1): 204~207, 1967
- 17) HEISE, E. R. & MYRVIK, Q. N.: Secretion of lysozyme by rabbit alveolar macrophages *in vitro*. *Res-Journal of the reticulo endothelial society* 4: 510~523, 1967
- 18) COHN, Z. A. & BENSON, B.: The *in vitro* differentiation of mononuclear phagocytes. III. The reversibility of granule and hydrolytic enzyme formation and the turn over of granule constituents. *J. Exp. Med.* 122: 455~466, 1965
- 19) CLINE, M. J., MELMON, K. L., DAVIS, W. C. & WILLIAMS, H. E.: Mechanism of endotoxin interaction with human leucocytes. *Brit. J. Haemat.* 15: 539~547, 1968

PROTECTIVE EFFECT OF PLACENTAL LYSOZYME ON ENDOTOXIN SHOCK

TADAKAZU SUYAMA and KEN-ICHI IZAKA
Central Laboratory, Midori Jyuji Company

Lysozyme preparation extracted from human placenta was evaluated for ability to influence shock lethality induced by various gram-negative bacterial endotoxins.

(1) Experimental endotoxemia were produced in male mice by the intraperitoneal injection of bacterial lipopolysaccharides in such amounts that 80 to 90% of mortality was caused in the control group (without lysozyme treatment). The pretreatment of lysozyme (75 mg/kg/day for 3 days, intramuscularly injections) reduced the mortality level to 20% in *Salmonella enteritidis* endotoxemia, to 20% in *Salmonella typhi-murium* endotoxemia, and to 10% in *Shigella flexneri* endotoxemia. Whereas the pretreatment of human gamma globulin did not alleviate the mortality induced by these endotoxins.

(2) While the lysozyme reduced the toxicity of *E. coli* endotoxin *in vitro*, pretreatment of mice with lysozyme did not significantly influence shock lethality, only reducing the mortality level to 20% when non-treated group showed 40% of mortality.

(3) Minimum effective dose of lysozyme against *S. flexneri* endotoxin shock in mice was found to be approximately 5 mg/kg intramuscular injection from the result of dose-response relationship.

(4) Rat endotoxemia was also protected by lysozyme pretreatment.

The results obtained here may implicate a role for lysozyme in the physiological defense against endotoxemia.