

3',4'-Dideoxykanamycin B に関する観察

岡 捨己・熊野伸子・大泉耕太郎・有路文雄

東北大学抗酸菌病研究所

ま え が き

3',4'-Dideoxykanamycin B (以下, DKB) は, 梅沢 兵夫博士により耐性機転に基づいて耐性菌に有効な物質として開発された抗生物質で, 緑膿菌および耐性菌に対して極めて有効であることが知られている。

以下, DKB を用い小実験を行なったので報告する。

1. DKB の抗菌作用

DKB をハートインフュージョン寒天にいれ, 保存各菌株の MIC を検査した。対象としてゲンタミシン(GM), カナマイシン (KM) をおいた。緑膿菌 10 株に対する MIC は Table 1 のとおり, DKB では 0.78 mcg/ml か

ら 3.13 mcg/ml であり, GM でも 0.78 mcg/ml から 3.13 mcg/ml であつたが, 表のとおり DKB は GM より抗菌力が強いものが多かつた。KM では MIC は 100 mcg/ml ないしそれ以上であつた。

クレブシエラ 9 株に対する DKB の MIC は, 0.78 mcg/ml から 6.25 mcg/ml であり, GM のそれは 0.2 mcg/ml から 3.13 mcg/ml であつた。KM の MIC は 1.56 mcg/ml から 12.5 mcg/ml で 2 株では 100 mcg/ml 以上であつた (Table 2)。

変形菌 5 株に対する DKB の MIC は 3.13 mcg/ml から 6.25 mcg/ml であつたが GM では 3.13 mcg/ml

Table 1. Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics

Sex	Age	Diagnosis	Specimen	SM	CP	TC	PC	MPI-PC	AB-PC	EM	CER	KM	GM	DKB	GM	KM
M		Pyothorax	Sputum	++	-	##	-	-	-	-	-	-	##	1.56	0.78	>100
M	70	Bronchial asthma	"	++	-	-	-	-	-	-	-	-	##	1.56	3.13	100
M	58	Pulmonary tuberculosis	"	++	##	++	-	-	-	-	-	-	##	0.78	1.56	100
F	67	Lung cancer	"	-	##	++	-	-	-	-	-	-	##	1.56	1.56	>100
M	53	Pneumonia	"	++	-	-	-	-	-	-	-	-	##	1.56	1.56	100
M	59	Carcinoma of esophagus	"	-	-	##	-	-	-	-	-	-	##	1.56	0.78	100
M	65	Lung cancer	"	++	-	++	-	-	-	-	-	-	##	0.78	1.56	100
M	56	Lung cancer	"	++	-	++	-	-	-	-	-	-	##	1.56	3.13	>100
M	55	Gastric ulcer	"	-	++	++	-	-	-	-	-	-	##	3.13	1.56	>100
M	5		Urine	++	-	+	-	-	-	-	-	-	##	3.13	1.56	>100

Sensitivity of *Ps. aeruginosa* to SM, CP, TC, PS, MPIPC, EM, CER and KM was evaluated by disc method.

Table 2. Sensitivity of *Klebsiella* to antibiotics

Sex	Age	Diagnosis	Specimen	SM	CP	TC	PC	MPI-PC	AB-PC	EM	CER	KM	GM	DKB	GM	KM
M	68	Pulmonary suppuration	Sputum	+	++	##			-	-	-	##	##	0.78	0.78	12.5
M	75	Lung cancer	"	++							-	##	##			
M	43	Lung cancer	"	++	##	##			-	-	##	##	##	3.13	0.2	1.56
M	62	Hodgkin's disease	"	##	##	##	-	-	-	-	##	##	##	3.13	1.56	12.5
M	70	Bronchial asthma	"	##	##	-	-	+	-	-	-	##	##	3.13	3.13	12.5
M	60	Pulmonary suppuration	"	+	-	-	-	-	-	+	-	-	##	1.56	0.78	>100
F	45	Pulmonary suppuration	"	++	##	##	-	-	-	-	##	+	##	0.78	1.56	6.25
M	60	Pulmonary suppuration	"	+	-	-	-	-	-	-	-	-	##	6.25	1.56	>100
M	4		Urine	++	-	-	-	-	-	-	-	+	##	6.25	0.39	12.5

Table 3. Sensitivity of *Proteus* to antibiotics

Sex	Age	Diagnosis	Specimen	SM	CP	TC	PC	MPI-PC	AB-PC	EM	CER	KM	GM	DKB	GM	KM
M	10		Urine	+++	+++	-			-	-	++	+++	+++	6.25	3.13	12.5
F			"	++	+++	+			-	-	-	++	+	6.25	3.13	25
M	1		"	++	+++	+			-	-	-	++	+	3.13	3.13	25
F	5	Urinary tract infection	"	++	+++	+			-	-	-	+	+	6.25	3.13	25
M	4	Acute nephritis	"	++	+++	+			-	-	-	++	-	3.13	3.13	25

Table 4. Sensitivity of *E. coli* to antibiotics

Sex	Age	Diagnosis	Specimen	SM	CP	TC	PC	MPI-PC	AB-PC	EM	CER	KM	GM	DKB	GM	KM
F	43	Septicemia	Urine	++	-	-			+++	-	+++	+++	+++	3.13	0.78	6.25
F	75	Gastric cancer	"	++	+	+			+++	-	+++	+++	+++	6.25	1.56	6.25
M	53	Lung cancer	"	++	-	+++			-	-	-	-	+++	3.13	0.78	>100
M	5		Kot	+++	+++	+++			+++	-	+++	+++	+++	3.13	1.56	6.25
F			"	++	+++	-			+++	-	+++	+++	+++	6.25	1.56	25
F	22	Pulmonary tuberculosis	"	+++	++	++			+	-	-	+++	+++	3.13	1.56	6.25
F	23	"	"	++	+	+++			+++	-	+++	+++	+++	6.25	3.13	>100
M	7	Chronic nephritis	Urine	++	-	-			-	-	±	-	+++	1.56	0.78	>100
F	27	Cholelithiasis	"	++	-	-			-	-	+++	+++	+++	1.56	0.78	6.25
F	49	Cystitis	"	+	-	-			+++	-	+++	+++	+++	1.56	1.56	6.25

Table 5. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* to antibiotics

Strain	SM	CP	TC	PC	MPIPC	ABPC	EM	CER	KM	GM	DKB	GM	KM
No. 1	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.2	0.1	3.13
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.2	0.1	1.56
3	+++	+++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.2	0.2	3.13
4	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.2	0.39	3.13
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.2	0.39	1.56
6	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++			
7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.2	0.2	25
8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.2	0.2	1.56
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.78	0.78	25
10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0.39	0.2	1.56

Table 6. Sensitivity of *Pneumococcus* to antibiotics

Strain	DKB	GM	KM	Strain	DKB	GM	KM
No.1	1.56	0.78	6.25	No.4	12.5	1.56	6.25
2	1.56	0.78	12.5	5	12.5	1.56	6.25
3	1.56	1.56	6.25	6	0.2	0.39	6.25

と DKB より抗菌力が強かった。KM では 12.5 mcg/ml から 25 mcg/ml であった (Table 3)。

大腸菌 10 株に対して DKB の MIC をみると、1.56

mcg/ml から 6.25 mcg/ml であり、GM では 0.78 mcg/ml から 3.13 mcg/ml であり、KM では 6.25 mcg/ml から 25 mcg/ml で 100 mcg/ml 以上のものもあつた (Table 4)。

黄色ブドウ球菌 9 株に対する DKB の MIC は 0.2 mcg/ml から 0.78 mcg/ml であり、GM では 0.1 mcg/ml から 0.39 mcg/ml、KM では 1.56 mcg/ml から 3.13 mcg/ml であつた。ただし 2 株は 25 mcg/ml であつた (Table 5)。

肺炎球菌 6 株に対する DKB の MIC は 0.2 mcg/ml

Table 7. Effects of DKB against *Mycobacterium tuberculosis*

	mcg/ml	0	0.1	1	2.5	5	10	12.5	25	50	100
H ₃₇ Rv-S	KM	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
	DKB	+++	++	++	++	+	+	+	-	-	-
KM 2000 r-R	DKB	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Medium : DUBOS liquid medium
 Evaluated for 3 weeks

Effects of DKB against lung tuberculosis in mice

Control	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
KM	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
DKB	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

1 mg H₃₇Rv-KM-R was intravenously injected to tail.
 Treated with 4 mg KM and 4 mg DKB.
 Autopsy was performed on 16th day of treatment.

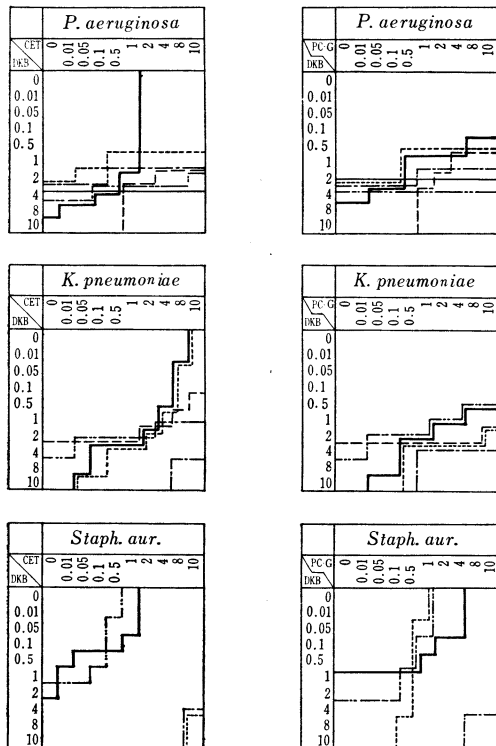
から 12.5 mcg/ml であり, GM は 0.39 mcg/ml から 1.56 mcg/ml であり, KM では 6.25 mcg/ml から 12.5 mcg/ml であった (Table 6)。

結核菌に対しては KM が H₃₇Rv-S (感性菌) を 1 mcg/ml で発育を阻止したが DKB は 25 mcg/ml で発育を阻止した。ただし DKB は KM 耐性菌 H₃₇Rv-KM-R (2,000 mcg/ml) を 100 mcg/ml でも阻止しない。

この事実は *in vivo* においても H₃₇Rv-KM-R 1 mg を尾静脈内に注射し, 5日目から KM 4 mg, DKB 4 mg で治療し 16 日後, 剖検すると, 両群に同様に肺に結核病変が認められたことから知りうる (Table 7)。

以上のとおり, DKB は広域性スペクトルを有する抗菌力の強い抗生物質であり, とくに緑膿菌に対して抗菌力が強いことが注目される。

Fig. 1 Additive effects of DKB and CET or PC-G



2. DKB と CET または PC-G との相加作用
P. aeruginosa, *K. pneumoniae*, *Staph. aur.* に対して DKB とセファロシン (CET) または PC-G との相加作用の有無をハートインフュージョン寒天培地で検索した。Fig. 1 のとおり, いづれの菌株に対しても DKB と CET, または DKB と PC-G は軽度ながら相加作用はあるようである。

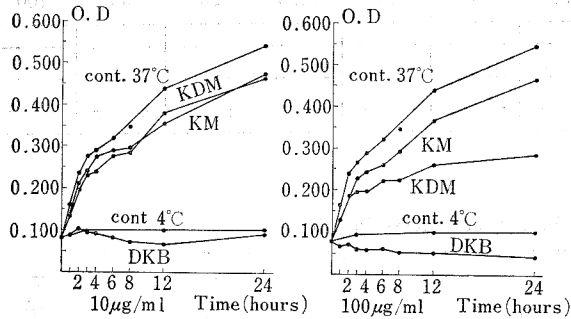
3. DKB のクレブシエラに対する溶菌作用
 KM 耐性のクレブシエラ菌をハートインフュージョン培地にいれ増菌の推移を optical density で測定した。この際, DKB, KM, KDM (カネドマイシン) をそれぞれ 10 μg/ml に溶解し, 37°C に静置した。対照として薬剤を加えない培地にクレブシエラを接種したものを 37°C および 4°C においた。

また DKB, KM, KDM をハートインフュージョン培地にそれぞれ 100 μg/ml に加えたものを用いた。

Fig. 2 のとおり, 対照群, KM 培地, KDM 培地では logarithmic に増菌し, O.D. は 0.08 から 24 時間までに 0.2 ないし 0.55 ぐらいになったが, DKB を加えたものは optical density がまさなかつた。また 4°C に静置したのも増菌は認められなかつた。

24 時間後, 菌液を遠心し顕微鏡下で検査すると, 対照菌では典型的なクレブシエラの形態を示していたが

Fig. 2 Bacteriolytic action of DKB against *Klebsiella*

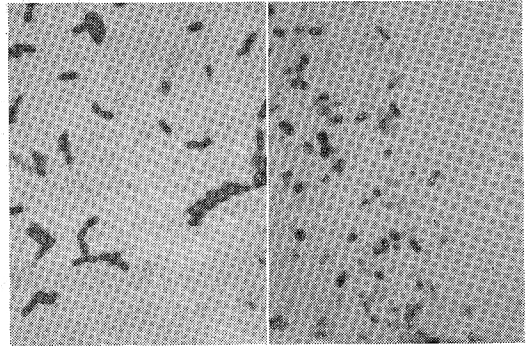


DKB を加えたものでは菌体が崩壊したり、細胞質が透明化したり種々の退行型を示し、染色性も悪くなっていた。そのうちにわずかに典型的なクレブシエラ菌が散在している (Photo 1)。

4. DKB の作用をうけたクレブシエラの微細構造と DKB の作用機作

クレブシエラを DKB 100 mcg/ml, 20 時間作用させ、電子顕微鏡的に観察すると Photo 3, 4, 5 のとおりである。対照 Photo 2 の無処置のクレブシエラでは細胞壁に囲まれて、リボゾーム顆粒からなる細胞質が充満し、その中に線維様構造を有する種々の形の核が見られる。DKB の作用をうけたものは細胞質が凝縮し、細胞膜との間隙が広がっている。またリボゾームの形も不整となつている。核構造を有する部分は、極めて広がっている。ところどころに細胞壁は外方に角様突起を出し、これと関係して細胞質にメソゾーム様構造もあらわれる。しかし、これらの所見は DKB 100 mcg/ml 20 時間の接触で崩壊せず、残つたクレブシエラの所見と思われるので DKB の濃度を下げ、DKB との接触時間の短い条件で観察されなければならない。

DKB もアミノグリコサイド系の抗生物質である KM と同様に蛋白合成を阻害すると推定し、クレブシエラリボゾームで mRNA のリボゾームのクラス別分布をみた。Table 8 のとおり、logarithmic phase にあるクレブシエラ培養液に ^{14}C -Uracil (終末濃度 0.2 $\mu\text{Ci}/\mu\text{l}$) を加えて 3 時間、37°C であらかじめ stable RNA をラベルし、KM または DKB 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加えて 37°C、60 分静置し、その後、 ^3H -Uracil (終末濃度 25 $\mu\text{Ci}/\mu\text{l}$) を加えて 37°C、5 分、mRNA の pulse labeling を行なつて遠心した沈渣 (20,000 \times g, 5 min, 0°C) を海砂で磨砕し、遠心した上澄 (8,000 \times g, 10 min, 0°C) について、Table 9 のような条件で Sucrose density gradient analysis を行なつた。その結果は Fig. 3 のとおり、対照無処置の菌 (DKB ないし KM を加えない)



Control
Klebsiella in contact with DKB(100 mcg/ml DKB)
Photo 1 *Klebsiella* lysis under a microscope

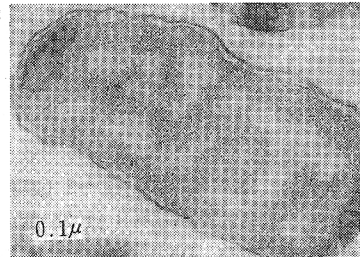


Photo 2 *Klebsiella* under an electron microscope (control)

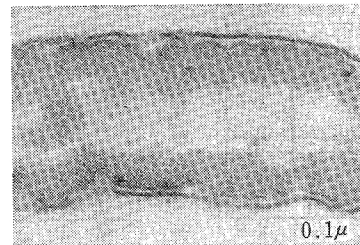


Photo 3 *Klebsiella* under an electron microscope (treated with DKB, I)

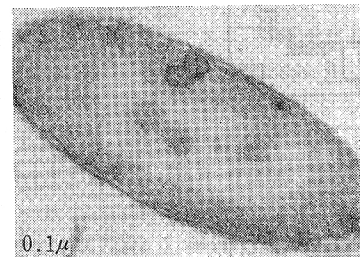


Photo 4 *Klebsiella* under an electron microscope (treated with DKB, II)

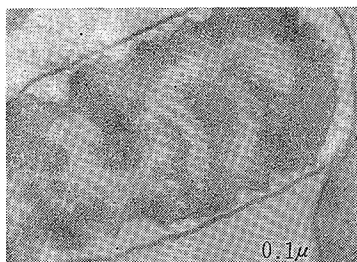


Photo 5 *Klebsiella* under an electron microscope (treated with DKB, III)

Table 8. Distribution of mRNA among different classes of *Klebsiella* ribosomes
—Experimental procedure—

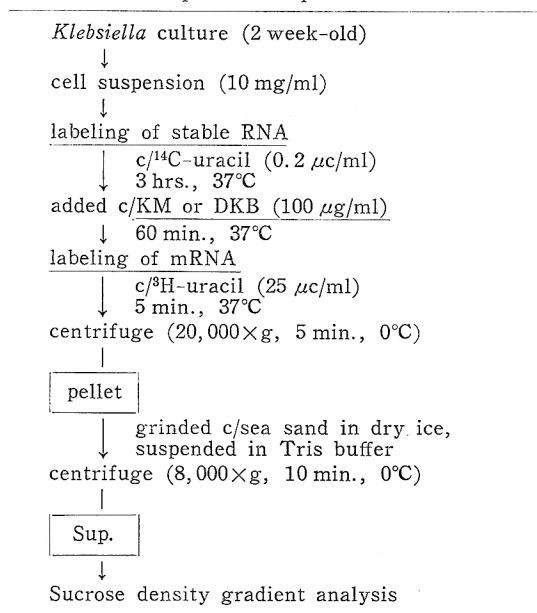


Table 9. Sucrose density gradient analysis

Gradient : Linear, 15~30% sucrose (28 ml)
c/ 10 mM Tris (pH 7.5) 10 mM MgSO ₄ 40 mM NaCl
Centrifugation : 25,000 rpm, 5°C
2,5 or 12 hrs.
(RPS 25 A Rotor)
Fractionation : 32 fraction per gradient
(manual)
Radioactivity determination :
Liquid scintillation system

では stable RNA に比例して, mRNA の産生が認められ 70 S, 50 S, 30 S のピークが明瞭である。いつぼう, DKB を加えたものでは 70 S に相当するリボゾーム上に pulse によるピークを認めないことから, この 70 S は蛋白合成における機能を消失したものと考えられ, KM の場合と同じくりボゾームサイクルに対する DKB の障害が窺知される。しかし, この観察も補足して DKB が蛋白合成のいずれのステップを障害するか観察されなければならない。

5. 臨床的観察

(1) 合併症のほとんどない呼吸器感染症および尿路感染症に対する DKB の効果

DKB は 50 mg 1日2回筋注し, 15~20日間投与した。呼吸器感染中, Table 10 のとおり, 肺炎 1, 肺化膿症 3, 肺膿瘍 1で起炎菌は肺炎桿菌 2, α型溶連菌 2, 双球菌 1であつた。DKB の効果は, 著効 2, 有効 3と判定された。

また肺炎桿菌を証明した腎盂腎炎でも有効であつた。

(2) 合併症を有する呼吸器感染症のたん中グラム陰性菌に対する DKB の影響

Table 11 のとおり, 肺結核, 肺癌, 慢性肺化膿症, 気管支拡張症で, たん中からグラム陰性菌を証明された

Table 10. Effectiveness of DKB against respiratory tract infections

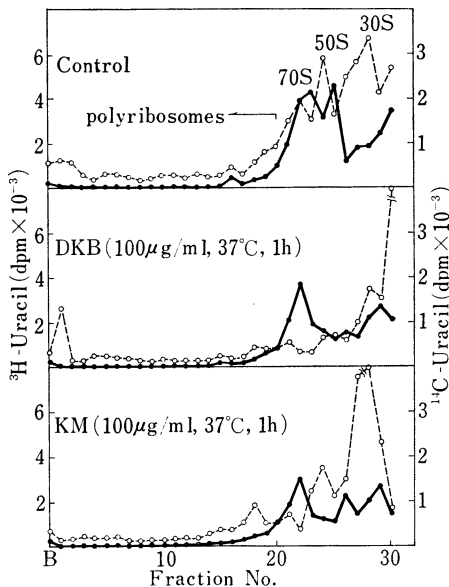
Name	Age, Sex	Diagnosis	Bacteria	Dose	Treatment days	Effectiveness
S. S.	35 m.	Pulmonary suppuration	<i>α-Streptococcus hemolyticus</i>	50 mg×2 50 mg×3	15 days	Markedly effective
K. I.	64 m.	Pulmonary suppuration	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	50 mg×2	15 days	Effective
T. M.	48 m.	Pulmonary abscess	<i>Klebsiella</i>	50 mg×2	15 days	Effective
S. M.	47 m.	Pulmonary suppuration	<i>α-Streptococcus hemolyticus</i>	50 mg×2	19 days	Effective
S. S.	34 m.	Pneumonia	<i>Diplococcus</i>	50 mg×2	20 days	Markedly effective
T. T.	28 f.	Pyelitis	<i>Klebsiella</i>	50 mg×2	17 days	Effective

11 例に DKB 50 mg, 1 日 2 回 7 日間投与し, 投与後ならびに投与後 1 週目にグラム陰性菌の推移を比較した。クレブシエラ 6 中 3 は消失し, 3 は菌数が極めて減少した。変形菌 3 中 2 は消失し, 1 は菌数が減少した。またエンテロバクテリア, 大腸菌それぞれ 1 は, 消失した。

(3) DKB の副作用

例数はないが, 血液検査, 肝機能検査 (GOT, GPT),

Fig. 3 Distribution of *Klebsiella* ribosomes



腎検査 (BUN), 尿水蛋白沈渣, 聴力検査において DKB の投与後, 異常を認めなかつた。ただ 1 例において DKB 注射後, 顔面紅潮し, 血圧が上り, 不快感をおぼえたアレルギー様症状を示したものがあつたが, 確実に DKB によるものか否か決定できなかつた。

(4) 症例

症例 1, 35 才, 男, 肺化膿症 (Fig. 4)

発熱, せき, たんを訴えて来院。胸部写真にて左中肺野に均等性な鷲卵大の濃厚陰影あり (Photo 6)。赤沈 96, 白血球 10,900, DKB 50 mg 1 日 2 回, 6 月 1 日から 12 日まで投与。6 月 13 日から 15 日まで 1 日 3 回 150 mg 投与した。投与後 3 日目から平熱となり DKB 投与終了時には赤沈 13, 白血球 6,900, 左中肺野の濃

Fig. 4 Case 1

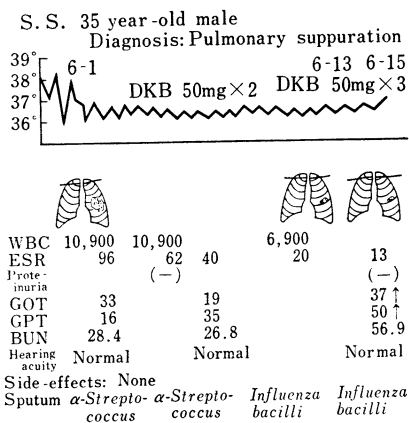


Table 11. Effects of DKB against gram-negative organisms in sputum of severe pulmonary diseases.

Name	Age	Sex	Diagnosis	No. of organisms (Before adm.)	Dose of DKB	No. of organisms (after adm.)	On 1 st week after treatment stoppage
T. R.	49	m.	Pulmonary tuberculosis	<i>Klebsiella</i> (卅)	50mg x 2 x 7	4	(-)
I. C.	56	f.	Pulmonary tuberculosis + Pyothorax	<i>Proteus vulgaris</i> (卅)	50mg x 2 x 7	(-)	5
H. T.	41	m.	Pulmonary tuberculosis	<i>Proteus mirabilis</i> (卅)	50mg x 2 x 7	(-)	(-)
I. T.	63	m.	Pulmonary tuberculosis	<i>Enterobact.</i> (卅)	50mg x 2 x 7	(-)	<i>E. coli</i> 2
O. A.	40	m.	Pulmonary tuberculosis	<i>Proteus vulgaris</i> (卅)	50mg x 2 x 7	20	<i>E. coli</i> 2
S. I.	53	m.	Lung cancer	<i>Klebsiella pn.</i> (卅)	50mg x 2 x 7	(-)	(-)
I. M.	63	f.	Lung cancer	<i>E. coli</i> (卅)	50mg x 2 x 7	(-)	(-)
S. J.	44	m.	Lung cancer	<i>Klebsiella pn.</i> (卅)	50mg x 2 x 11	11	(-)
S. Y.	45	f.	Chronic pulmonary suppuration	<i>Klebsiella</i> (卅)	50mg x 2 x 11	(-)	(-)
E. S.	68	m.	Bronchiectasis	<i>Klebsiella</i> (卅)	50mg x 2 x 11	25	(-)
S. T.	60	m.	Right middle lobe syndrome	<i>Klebsiella</i> (卅)	50mg x 2 x 91	(-)	(-)

Klebsiella : 3/6 disappeared 3/6 decreased
Proteus : 2/3 disappeared 1/3 decreased
Enterobact. : 1/1 disappeared
E. coli : 1/1 disappeared

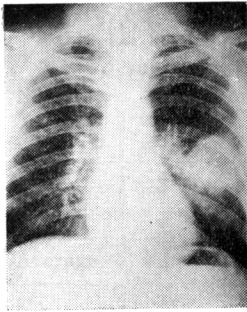


Photo 6
Case 1 (May 30, 1972)

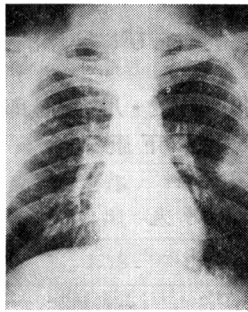
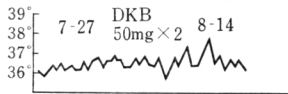


Photo 7
Case 1 (June 12, 1972)

Fig. 5 Case 2

T. S. Sixty-year-old male
Diagnosis:
right middle lobe syndrome



	7-27	DKB 50mg×2	8-14	
WBC	6,900	4,500	4	6,900
ESR	26	5	4	20
Proteinuria	(-)	(+)	(+)	(+)
GOT	17	28	18	33
GPT	7	26	10	38
BUN	19.5			
Hearing acuity	Normal			
Side-effects:	None			
Sputum	% <i>Klebsiella</i> (++++)	% <i>Klebsiella</i> (++)		

厚陰影は拇指頭大にまで縮少し (Photo 7), 著効例と認められた。尿, GOT, GPT, BUN, 聴力はおおよそ正常範囲にあつた。ただし, この症例においては, たん中の起炎菌と思われたものは α 型溶連菌であつた。

症例 2, 60才, 右中葉症候群 (Fig. 5)

せき, たんを訴え右中下肺野に肺炎様無気肺陰影があつて来院した。たん中にクレブシエラが多少証明されたので DKB 50 mg 1日2回, 7月27日から8月14日まで投与した。クレブシエラは5日後消失し, たん中には肺炎球菌だけ証明された。諸検査成績は正常範囲内にあり, 肺陰影はわづかに消褪した。この症例は起炎菌クレブシエラに対して有効であつた。

ま と め

DKB について小実験を開始しはじめたが, 今後, 研究を拡充しなければならない。しかし, これらの成績から言えることは次のとおりである。

現在, 多くの有効な抗生物質が使用されているので, 新しく登場する抗生物質には, 従来の抗生物質のもつていない異なつた特性をもつことが要請される。DKB は広域スペクトルを有し, 抗菌力が強いだけでなく, スウドモナス, クレブシエラ, 大腸菌, また耐性菌に対して強い抗菌力を有することが *in vitro* で証明されている。この事實は, 臨床的にグラム陰性菌感染症, ことにクレブシエラ, 大腸菌などで証明されたから, 今後, 投与方法, 投与量を改善し, 感染症に対処したい。

文 献

- 1) 市川篤二: 新薬シンポジウム “DKB”, 第19回日本化学療法学会東日本支部総会, 第21回日本伝染病学会東日本地方会総会合同学会, 1頁, 昭和47年11月
- 2) 梅沢浜夫: DKBの基礎, 構造と活性, 第19回日本化学療法学会東日本支部総会, 第21回日本伝染病学会東日本地方会総会合同学会, 3頁, 昭和47年11月

OBSERVATIONS ON 3', 4'-DIDEOXYKANAMYCIN B

SUTEMI OKA, NOBUKO KUMANO, KOTARO OIZUMI and FUMIO ARIJI

Research Institute for Tuberculosis and Leprosy, Tohoku University

Laboratory and clinical investigations were performed on a new antibiotic, 3', 4'-dideoxykanamycin B (abbr. DKB), and following results were obtained.

(1) The minimum inhibitory concentration of DKB was determined on various strains preserved in our laboratory. The values obtained were 0.78~3.13 mcg/ml to *Pseudomonas aeruginosa*, 0.78~6.25 mcg/ml to *Klebsiella*, 3.13~6.25 mcg/ml to *Proteus*, 1.56~6.25 mcg/ml to *Escherichia coli*, 0.2~0.78 mcg/ml to *Staphylococcus aureus*, 0.2~12.5 mcg/ml to *Pneumococcus*, and 25 mcg/ml to *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv-S.

(2) In *in vitro* experiments with *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*, DKB demonstrated a slight additive action with cephalothin or penicillin G.

(3) Under the action of DKB, *Klebsiella* exhibited various degenerations in cytoplasm and cell wall.

(4) DKB was administered to 17 cases of respiratory tract infection at a daily dose of 50 mg×2 for 7~20 days, and the satisfactory results were obtained.