發熱物質に關する研究(2)

小林 衛

(京都大學醫學部藥理學教室)

(昭和二十五年十一月一日受付)

本研究は文部省科學試驗研究費の補助を受けて行つた。

緒 言

第1報〔日新醫學, 37卷, 10~11號, 448頁, 昭和35年12月〕ではブドウ糖注射時の發熱原因に關する研究を報告したが, 今度は發熱試驗方法に關連する基礎的な問題について検討してみることにした。米國ではすでに Pyrogen Test が藥局方に取り入れられているのでこれを參考にすると共に, これにならつて實驗動物は總てウサギを用いることにした。發熱實驗を行う場合には先ず實驗動物の正常時の體溫の色々な性質を知っておかななくてはならない。所が今までのウサギの體溫に關係が深い多くの研究報告を見ると, 正常時の體溫に餘りにも無關心であるように見受けられる。云いかえればウサギ正常體溫を何度ときめるかについて一定の標準がなかつた。この點で米局 Pyrogen Test が38.9~39.8°Cの體溫を示すウサギに限つて實驗に使用するようにきめているのはよい。また外界の溫度, 食餌攝取及び運動なども體溫に深い關係があろうし, 更に以上の事柄が發熱に對し量的にどの位の影響を與えるかも検討してみる必要がある。

發熱試驗の對象たる發熱物質の中で細菌に由來する發熱物質(このような發熱物質を Pyrogen と呼ぶことにする)が最も重要な役割を演ずるものと考えられる。Pyrogen に就ては最近相當に研究されるようになって來てはいるが, まだまだ不明な點が非常に多い。その本體については最近純粹に取り出されたと云う報告¹⁾もあるが, まだ一般に認められる段階には至っていないようであり, またこのようなものを入手することは勿論困難な現狀でもある。そこで實際の實驗に使用する場合には, 細菌體及びその濾液又はこれ等を多少精製したものが用いられている。この場合當然 Pyrogen 以外の他の成分が混入して來るから Pyrogen それ自體だけの性質を知ることは困難である。しかしながら實際の發熱の對象となるものは勿論純粹な Pyrogen ではない。そこで細菌體及びその生産物を一應 Pyrogen として取扱ひ, この Pyrogen とそれが發熱を來す條件との間の關係について, 前述の正常體溫維持に對する諸條件を糾明すると同時に, 研究を行つた。

實驗方法及び實驗成績

實驗動物としては總てウサギを用い, 體溫測定は第1報の方法にしたがつた。第1報に於ては被檢物の發熱性の有無を調べることに主力を注いだので, 發熱と判定するのに一定の標準をもうけたのであるが, 今度は發熱を含めた廣い意味の體溫變動を検討したのであるから, 發熱判定法には拘泥しなかつた。

發熱物質としてはチフス菌ワクチン, 普通大腸菌液及びいわゆる陳舊蒸溜水を用いた。

A. 正常時のウサギ體溫に就て

1) 正常時のウサギ體溫値

米局 Pyrogen Test に用いられるウサギ體溫は38.9~39.8°Cであることは前述の通りであり, 一應この値は正常體溫の標準になるものと考えられる。しかしながら今までに報告されている體溫の値は各實驗者によつて非常にまちまちであつて, これらの値を綜合してみると, 37.5°C位から40.0°C位までが正常體溫の範圍に入っている。勿論この様な廣い範圍の體溫が正常體溫とみなされるべきではないと考え, この點に就て再検討してみた。

2kg内外のウサギを購入してから2週間位の間通常の食餌を充分に與え健康に注意して飼育しておき, 實驗

當日小さな檻に移して食餌から離し、2^h後に体温を測定した。450例に就て測定した体温では、(a) 平均体温は39,26°C ($\sigma=0,21$)であつた。(b) 体温値の分布状態は第1圖に示した通りであつて39,3°C盛が最も多く、これを中心にして段々減少している。しかし大部分は38,9~39,6°Cの間に含まれている。

(c) 以上の体温測定は大體四季を通じて行つたものであり、実験室の温度は7°C位から28°C位までであつた。外界温度(室温)の高低によつてウサギ体温に高低があるかどうかを調べるために室温の高さによつてウサギ体温を分類してその平均値を第1表に示した。この表によると、この程度の室温の相違によつてはほとんど体温の値には差異が認められない。

2) 食餌摂取と体温との関係

食餌摂取によつてウサギの体温が上昇することは今までも報告されているが^{2,3,4)}、この點に就て再検討してみると共に絶食してからど

の位たてば發熱試験に使つて差しつかえないかと云う點も調べてみた。(a) 6^h絶食させてあつたウサギに食餌を與え、攝食前後の体温を比較してみた所、攝食直後に於ける体温は總て食前よりも高い値を示した。その体温上

第1表. 外界温度と体温.

外界温度	平均体温(°C)	標準偏差(σ)	例数
10°C以下	39,28	0,20	14
10,5~15°C	39,30	0,19	123
15,5~20°C	39,27	0,22	129
20,5~25°C	39,23	0,20	158
25,5°C以上	39,30	0,16	26

昇度は、0,35°C位の比較的小さな値のこともあつたが、又一方0,6~0,65°Cに及ぶ相當大きな値を示すことも少くなかつた。(b) 小さな檻の中にウサギを入れ食餌を與えたまま6^h中の体温動搖の状態をしらべてみた。この体温動搖の値は0,35°C位の小さな値のこともあつたが時には0,7°C以上に及ぶこともあつた。(c) 小さな檻の中で充分に飼料を與えておいたウサギを急に絶食させた後、檻から移すことなくその間の体温の推移をしらべてみると、絶食直後は一般に体温は高いが、徐々に下降して最初から1~1,5^h後で体温は安定する。絶食後1,5^hから4^h内の動搖は0,05~0,35°Cであつた。

第1圖. 正常体温の分布.

3) 環境の變化と体温との関係

發熱試験にウサギを使用する場合同一の環境に相當なぐ飼育して、充分にその環境になれたものを用いるのが理想的であろうが、實際上には不便な事が多いので、環境を變えた場合にも使用して差しつかえないかどうか、即ち環境の變化と体温の關係と云う點を調べてみた。このため平生は充分に運動の出来る廣い場所で十分に食餌を與えて飼育しておいたウサギを實驗に臨んで小さな檻に移し絶食させて、以後の体温の推移を調べた結果、移した直後の体温は39,40~40,15°C (平均39,71°C)であつて相當に高い有意な値を示したが、以後相當に大巾に下降し最初から1,5~2^h後には体温は安定して來た。即ち2^h後から4^h内の体温動搖は0,05~0,40°Cであつた。つまり環境を變えた場合一時的に相當大きな体温の變動を來たすにもかかわらず、比較的短時間の間に、前項で示したような環境を變えない場合の体温にほとんど劣らない安定した体温に復歸するのである。

4) 栄養状態と体温との關係

饑餓の状態ではウサギ体温は一般に低下し發熱し難くなることは今までの報告^{2,3,5)}に見られる所であるが、私の経験では体温が低い場合には發熱試験を行うと發熱の程度が弱い様に思われた。そこで一定期間食餌の量を強く制限して、饑餓の状態に陥らせたウサギについて体温を測定してみた所、その約半数は38,9°C以下の低い體

温を示した。しかし残り半数中には $39.5\sim 39.6^{\circ}\text{C}$ の体温を示すものもあつて必ずしも皆が皆低い体温を示すわけではなかつた。この栄養不良のウサギに就て發熱性を調べてみると、他の健常ウサギでは $1.45\sim 2.1^{\circ}\text{C}$ の体温上昇を來すはずの量の Pyrogen を注射した場合、僅かに $0.2\sim 0.9^{\circ}\text{C}$ の体温上昇を示したに過ぎなかつた。即ち栄養不良のため Pyrogen に對して著しく鈍感になることがわかつたが、更に食餌を十分に與えておいた場合でも下痢を起している時とか妊娠中などには相當に鈍感になるように思われた。

B. Pyrogen について

1) Tolerance

Beeson⁶⁾ は Pyrogen を同一の動物に反復注射する時には、その動物は Pyrogen に對して Tolerance を生じて著しく發熱し難くなること、またこの現象は抗元抗體反應によるのではなく、R.E.S. の Pyrogen を處理する機能が著しく充進するためであると詳細に説明している。また浦口氏⁷⁾ はカビから得た發熱物質について同様に Tolerance が生ずることを報告している。一方 Seibert⁸⁾、Todd⁹⁾ 及び Centanni¹⁰⁾ などは Pyrogen の反復注射によつて發熱の程度は變化しないように云つてゐる。米局 Pyrogen Test では同一ウサギを一定間

隔をおいて何回も使用して良いことになつてゐるが、これは後者の説にしたがつてゐると考えられる。この點は發熱試験にとつて相當重大な問題なのでこゝに取り上げてみることにした。

この實驗では、常に力價一定なる普通大腸菌 (No.102) 純粹培養液を一定濃度に稀釋してその一定量を3~4日の間隔を置いてウサギに反復注射して發熱度を調べた。その結果は第2圖に示した通りであつてこの様な實驗條件のもとでは Pyrogen を反復注射しても發熱度は餘り變化しなかつた。

第2圖. 連續投與と發熱度 (平均の値を示す)。

註: 1群の動物数は4匹とし、5回連續投與した。○印は第5回目の注射時、3匹の對照動物の發熱度の平均値を示す。

第3圖. Pyrogen 量と發熱度 (1群動物数6, 發熱度は平均値)。

2) Pyrogen の量と發熱度との關係

Pyrogen を含んでゐると考えられる陳舊蒸溜水を確實に Pyrogen-free にした蒸溜水で倍數稀釋してこれを5cc/kgづゝ靜注し、1群を6匹としてその各々の最高發熱度の平均を記録した結果は第3圖に示した通りである。即ち一定量の Pyrogen の力價と發熱度との間に平行關係があることが認められる。

3) 大量の Pyrogen の作用

前項で述べた實驗に於て、その原液の10cc/kg 或いはそれ以上の大量を靜注した場合には、必ずしも發熱の程度は強くなくまちまちであつて、時にはショック様の症狀をおこして死亡することさえあり、この様なときには輕微な發熱を示してから急激に体温は下降して死亡する。そこで大量 Pyrogen の作用

を追求してみることにした。このためには陳舊蒸溜水を用いると注射液量が非常に大量になつて不便なばかりでなく、大量の液自体の作用も考えなければならないので、特にチフス菌ワクチンを用いることにした。即ち60°Cで1^h滅菌し、1cc生理食鹽水中にチフス菌（米國株）死菌1mgを含むものを用いた。

a) 致死量は第2表に示した通りであつて、初めてこのワクチンを静注する時は比較的小量で死亡するが、豫め3~4日前に致死量以下（0,25~0,025cc）のワクチンを與えたことのあるウサギ（これをB群と呼び、前者をA群と呼ぶことにする）は著しく抵抗力が増大してA群では全例死亡した2cc/kgの倍量（4cc/kg）の投與によつてもB群では1例も死亡していない。死亡例の症状を観察してみると、注射より約1^h後に軀幹及び四肢の麻痺が現れるようになり、これと共に體温は急激に下降する。それから10~20^m後に痙攣をおこして死亡する。死亡例の發熱度は0,85~1,35°Cであつて、高度の發熱で死亡するのでないからいわゆる發熱死¹⁾とは異なるようである。

b) 大量の Pyrogen 注射時の發熱度は第3表に示す通りであつて、A群とB群との間に非常な相違がある。

第3表. 發熱度（平均の値を示す）。

投與量(cc/kg)	A群發熱度(°C)	B群發熱度(°C)
0,01	1,80	—
0,05	2,28	—
0,1	1,15	2,0
0,25	1,45	—
0,5	1,22	2,10
1,0	1,00	2,40
2,0	0,98	2,15
4,0	—	2,00

群の場合と異つて呼吸及び血圧には餘り大した變化が認められない。この事實はA, B兩群の發熱度の差異と密接な關係があるように思われる。

第2表. 致死量。

投與量(cc/kg)	A 群	B 群
0,25	1/2	—
0,5	3/8	1/4
1,0	3/8	1/2
2,0	1/2	1/4
4,0	—	1/4

A群では0,05cc/kgの静注によつて最も強い發熱を示すがそれより増量するとかえつて發熱度は減少する。

一方B群ではA群で發熱度が減少した0,1cc/kg以上の大量投與に對して非常に強い發熱度を示している。しかもA群では死亡する様な大量に對してさえもB群では強い發熱が見られる。

c) ウサギ血脈及び呼吸に及ぼす影響：實驗には無麻酔ウサギを用いて0,2cc/kg以上のワクチン静注時に於けるA群とB群とを比較検討した。先ずA群では注射してから10~30^mを経過すると著しく血脈が下降し、以後餘り恢復しない。又呼吸は血脈下降と共にその深さ及び速さが強く増加する。一方B群に於てはA

總括及び考察

(1) ウサギの正常時の體温の平均は39,26°Cである。今までの報告と比較してみると Seibert¹²⁾ の39,05°C及び Pembrey¹³⁾ の38,7°Cより多少高く、Frothingham & Minot¹⁴⁾ の39,9°C及び Moore³⁾ の39,68°Cよりも低い。又體温の分布状態は39,3°C臺が最も多くこれを中心として左右兩翼ともども段々減少している。これらは39,9~39,6°C臺にその大部分が含まれているので、大體この範圍を正常體温とみなすのが妥當のように思われる。これは Moore³⁾ の39,4~39,9°C, Bock¹⁵⁾ の38,6~39,9°C或いは Freund¹⁾ の38,6~39,6°Cなどの値とは多少違つた値であるが、米局 Pyrogen Test の使用可能範圍の體温とは割合によく一致する。(2) 外界温度は7~28°C位の範圍内では體温に餘り影響を及ぼさない。ウサギの體温は季節的に相當な變動があると云う報告もあるが、これは與える食餌など、それ以外の色々の條件に餘り注意を拂なかつた爲ではないかと考えられる。(3) 食餌攝取によつて體温は上昇し、又絶食させない場合は體温動搖が大であることは今までの報告に示された通りであつた。絶食後體温は徐々に下降するが、1~1,5^h經過すると安定し、以後そのまま持續する。この時期が發熱試驗を行うのに最も適している。(4) 廣い場所で飼育していたウサギを小さな檻に入れた様な環境の變化でも體温に相當強い影響を及ぼすが、これは一時的であつて1,5~2^h經過すると體温は安定し、やはり發熱試驗に用いて差しつかえなくなる。(5) 饑餓の状態をながく續けたウサギ體温はその約半数に於て正常體温より低い値を示し、しかも體温の高低にかかわらず Pyrogen に對する反應性が低下している。(6) 普通大腸菌純粹培養液を3~

4日の間隔において連続投與した結果では、回を重ねても餘り發熱度は減少しなかつた。この事實は前述の *Beeson*⁶⁾ 及び浦口氏⁷⁾ などの報告とは全く一致しない。しかしこれらの實驗と私のそれとを比較した場合 Pyrogen の注射間隔が違つていることもかかる相違の出でくる一因となろうし、更に用いた Pyrogen 自體の種類性質のちがいも大きな原因の一つとも考えられるので、次の機會には更にこの問題に就て検討してみたいと思つている。(7) 陳舊蒸溜水を用いて行つた實驗では、一定量中に含まれる注射 Pyrogen の力價が増加するにしたがつて發熱度も増大した。即ち兩者の間には平行關係が成立する。(8) 注射 Pyrogen が一定量以上になると Pyrogen 量と發熱度の平行關係が成立しなくなる。大量 Pyrogen の作用をみるためにチフス菌ワクチン (1cc中に 1mg のチフス死菌を含む) を用いて行つた實驗では、初めてワクチンを靜注された個體 (A群) では 0.5~2cc/kg の投與量で半数以上死亡しているが、豫め少量のワクチンを靜注しておいた個體 (B群) では 0.5~4cc/kg の投與量で 1例も死亡していない。即ち致死量以下のワクチンを注射しておくことによつてこのワクチンの致命的効果に對して著しい抵抗性が生ずる。これは從來、單に免疫現象として片附けられていたものかも知れない。

次に發熱度に就ては、新しい動物 (A群) では 0.05cc/kg の投與によつて最も強く發熱するが、これより多量を投與するとかえつて發熱度は減少する。一方豫め少量の同ワクチンで處置しておいた動物 (B群) では 0.05cc/kg 以上の大量投與時には前述のように致命的効果が著しく減少しているにもかかわらず強く發熱する。また大量ワクチン (0.2cc/kg 以上を用いた) の血壓及び呼吸に對する作用は、A群では靜注してから一定時間後血壓は著しく下降し、以後この状態が續き、これと共に呼吸の深さ及び速さが増加する。一方B群では血壓及び呼吸の著しい變化は認められない。この事實から次のことが想像される。即ち、A群に於て大量の Pyrogen によつて發熱がかえつて抑制されるのは、血壓下降の二次的な結果であり、又B群では血壓下降が現れないために發熱が抑制されないと。福田氏¹⁷⁾ は大腸菌に就いて、血壓下降及び呼吸興奮作用があること、又少量で發熱し大量では體温が下降することを報告している。これは私のA群の實驗成績と割合によく一致しておるのであつて、このようなことはその他の色々な細菌にも共通しているのでないかと考えられる。また *Todd & Wylie*¹⁸⁾ は、ある種の細菌は Pyrogen の外に體温下降物質を產生し、しかもこの下降物質は第1回目の投與時のみに作用を現わし、第2回目以後には無効になると云つてゐる。これはこの血壓下降作用の二次的な効果だけを見たためではないかと想像される。要するにこれ等の事實は見方によつては、從來のワクチン免疫の現象を更に一步すすめて解析したとも云えるのである。

最近米國に於て Pyrogen が惡性高血壓症の治療に用いられるようになった¹⁹⁾。Pyrogen の効果がどの様な機轉によるか今の所詳細は明かでないので、これと私の行つた實驗に於ける Pyrogen の血壓下降作用との關係に就いては今にわかに云々することが出来ないが、更に今後機を見て検討すべき問題であると考えている。

引用書目

- 1) *Robinson & Flusser*: Journ. of Biol. Chem. **153**, 529 (1944).
浦口: 臨牀 **2**, 141~146 (1949)による。
- 2) 田坂: 日新醫學 **31**, 39~56 (1942).
- 3) *Moore*: Amer. Journ. of Physiol. **46**, 244~251 (1918).
- 4) *Kraus*: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. **72**, 97~129 (1913).
- 5) *Freund*: Ibid. **65**, 225~238 (1911).
- 6) *Beeson*: Journ. of exp. Med. **86**, 23~44 (1947).
- 7) 浦口: 日本藥理學雜誌 **45**, 110~110 (1949).
- 8) *Seibert*: Amer. Journ. of Physiol. **63**, 80~96 (1924).
- 9) *Todd*: Quart. Journ. of Pharmacy & Pharmacol. **21**, 240~252 (1947).
- 10) *Centanni*: Deutsch. med. Wochenschr. **66**, 263~265 (1940).
- 11) 松岡: 東京醫學會雜誌 **47**, 1415~1428 (1933).
- 12) *Seibert*: Amer. Journ. of Physiol. **67**, 83~83 (1923).
- 13) *Pembrey*: (12) による。

- 14) *Frothingham & Minot*: Amer. Journ. of Physiol. **30**, 430~435 (1912).
- 15) *Bock*: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. **68**, 1~40 (1912).
- 16) 來島: 日本藥物學雜誌 **37**, 347~364 (1943).
- 17) 福田: 東京醫學會雜誌 **38**, 1683~1720 (1924).
- 18) *Todd & Wylie*: Journ. of Pharmacy & Pharmacol. **1**, 818~835 (1949).
- 19) *Page & Taylor*: Modern Concepts of Cardiovasc. Dis. **18**, 51~52 (1949).

this animal on its back on a dry wooden board by thermocautery without anesthesia. Special cannula were inserted into the ureters on both sides, and using a Y-form tube the urine was collected into a thin glass measuring cylinder, and its amount was read every 15 minutes. With no water-supply the urine of the animals thus treated generally decreased slowly and rather regularly, and 2 or 3 hours later its quantity reached a level of *ca.* 0.1 cc in this time-interval. Using this level as a control, 0.5–1.0 cc of 1 normal solution or 4 cc of isotonic solutions these agents were injected into Vena cutanea magna. Soon after this injection the urine-flow increased in most cases, and usually after one hour more it returned to the control level; sometimes to a lower level than before. This increased portion during this period was divided by injected solution's quantity and multiplied by 100, so I expressed the activity of the diuretic action of a certain pharmacum in percent-rate. As to the method for the investigation of the ratio of excreted substances through both glomeruli and tubules, I applied "modified *Tamura's* operation" on Japanese toads. The determination of the agents in toad's urine was carried out by *Van Slyke* and *Palmer's* method well known as the total organic acid estimation of urine, but I modified it slightly in details taking thymol blue as an indicator instead of phenolsulphophthalein and tropaeolin OO. Increase of urine flow by the intravenous injection of 1 normal solution of acetate was 50.8%, succinate 82.9%, adipate 79.4% and suberate 132.6%. On the other hand, in case of isotonic solution, acetate was 25.9%, succinate 41.9%, adipate 28.2% and suberate 49.5%. The ratio of elimination of organic sodium salts from tubules as compared with that from glomeruli, by the intravenous injection of acetate was 4/100, succinate 14/100,

adipate 17/100 and suberate 26/100. The diuretic actions of these salts were usually less effective when injected into Vena abdominalis which corresponds to the portal vein of warm-blooded and the liverless toads according to *Molitor* and *Pick's* method very often showed higher diuretic response to the organic salts than normal toads.

Author

10. KOBAYASHI, Mamoru. Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto *Studies of pyrogens* (2) (pp. 75–80) Graphs 3 Tables 3

The body temperature of 450 normal rabbits has been measured rectally in the natural posture and it has been found that their body temperature became constant two hours after meals averaging 39.26 C ($\delta=0.21$ C); a large number of them stand between 38.9 and 39.6 C. These results were almost constant in rooms where the temperature ranged from 7° to 28°C. On the other hand, the pyrogenic activity of the infected distilled water injected in the ear-vein of the rabbits was shown to be parallel to its dose amount. With repeated intravenous injections of a certain amount of *Escherichia coli* filtrate rabbits do not develop tolerance against their pyrogenic reactions.

Author

11. KOBAYASHI, Mamoru. Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto *Studies of pyrogens* (3) (pp. 81–85) Graphs 6

The intravenous injections of infected distilled water have been shown to develop three types of fever curves on rabbits. (1) With doses of more than 10 cc/kg the curve falls suddenly after injection by shock. (2) With 1.25–10