ブドウ球菌産生物質の精製とその血管透過性 に及ぼす影響 (第3報)

抗ヒスタミン剤・ACTH・Cortisone 及び強力ネオミノフアー
ゲン C の血管透過性に及ぼす影響

藤 枝 賢 暁

東京大学・伝染病研究所・第3細菌研究部 (部長 武田徳朝教授)

[受付: 6月10日・1958年]

緒 言

炎症機構を研究する為に、比較的炎症初期に起る現象の一つとして血管透過性 (以下血透性と略) の問題を取りあげ、先に化膿性炎症の起炎菌として最も重要な菌種の一つであるブドウ球菌の α -toxin¹⁾ 及び coagulase²⁾ の精製及び血透性に及ぼす影響について報告し、 α -toxin の最小血透亢値は 0.2 γ であるが、coagulase のそれは約 20 γ であり、後者の作用は非特異的なものであると述べた。

ここでは比較的強い作用を示す α -toxin の血管透過性亢進 (以下血透亢と略) 作用に対して、抗ヒスタミン剤 (以下抗ヒ剤と略)・ACTH cortisone 及び強力ネオミノフアーゲン C (以下SNMCと略) が如何なる抑制作用を示すかを観察して、 α -toxin により惹起される血透亢の因子と、従来血透亢因子として論じられている histamine 様物質及び Menkin の leukotaxine, exudin 等との関係を考察し、併せて *Pseudomonas fluorescens* 菌体内毒素の場合とも比較検討し、炎症の際の血透亢の機序について考按した。

実験材料

1. *Staphylococcus* α -toxin

第1報¹⁾に記載した精製 α -toxin Fr. A 11-6を使用した。即ち、ブドウ球菌寺島株の培養濾液から methanol 沈澱並びに zone electrophoresis により分離精製した毒素で、MHD ca 30 γ ・MND ca 250 γ ・MLD ca 40 γ /gm の活性を有するものである。

2. *Pseudomonas fluorescens* 内毒素

稀酢酸抽出、アセトン分画法により得た毒素 (Fr. L

26 B B) で化学的には lipocarbohydrate-protein-complex³⁾ で一般の菌体内毒素の性状⁴⁾ を有し、12 gm 前後のマウス (ddD 系) に対する LD₅₀ は 32.49 γ である。

3. Histamine

Merck 社製の塩酸塩 (C₅H₉N₃+2HCl) である。

4. 抗ヒスタミン剤

β -dimethylamino-ethyl-benzhydryl-ether の塩酸塩の白色稜状を示す結晶で Restamin コーワ crystal で興服産業株式会社の分与によるものである。

5. ACTH

米国アーマー研究所製 Acther で 1 mg は 1 I.U. を含む。

6. Cortisone acetate suspension

米国メルク社製 cortisone で 1 瓶 20 ml 中に 500 mg を含有し、且 benzyl alcohol 0.9% 含有する。

7. 強力ネオミノフアーゲン C (SNMC)

ミノフアーゲン製薬の製品で、グリチルリチン 0.2%・システイン 0.1%・グリシン 2.0% を主成分とする製剤である。

8. Trypan blue は東京化成の製品である。

FUJIEDA Yoshiaki: Studies on the purification of staphylococcus products and their effects on the capillary permeability in the rabbits. (3) Studies on the inhibitory effects of anti-histaminics, ACTH, cortisone and stronger-neo-Minophagen C upon the capillary permeability produced by the staphylococcus α -toxin. 3 rd., Div. The Inst. f. Infect. Dis., Univ. of Tokyo. — Jap. J. of Bact., 13(11), 1042-1046, 1958.

実験方法

先ず抑制実験に用いた両毒素の確実に且判然と血透亢を示す最小量を知る為に、 α -toxin 及び *Ps. fluorescens* 毒素について、第1報¹⁾記載の Menkin の家兎を用いる方法に従いそれらの血透亢の最高を示す2時間値について量的観察 ($2 \cdot 0.2 \cdot 0.02 \gamma$) を夫々4匹の家兎を用いて実験した処、大体両毒素の本実験に用いた分画の血透亢の最小量は従前の成績¹⁾通り 0.2γ 前後である事を確認したが、本実験においては両毒素の確実に且判然と血透亢を示す 2γ を用いる事にした。尚血透亢についての判定基準は第1報¹⁾記載に準じた。

抑制効果の実験方法

α -toxin 及び *Ps. fluorescens* 内毒素の血透亢の最高を示す2時間について、抗ヒ剤・ACTH・cortisone 及び S NMC の血透亢に対する抑制効果を観察した。即ち、刈毛した家兎 (雄) 背部皮内に毒素 $2 \gamma/0.2 \text{ ml}$ と上記の各被検物質の pH 7.0 の生理食塩水各稀釈液 (1000, 100, $10 \gamma/0.2 \text{ ml}$, 但し S NMC は原液及び $1/10 \cdot 1/100$ 稀釈液 0.2 ml) とを混じて家兎を殺す2時間前に注射し、殺す1時間前に静注した 1% trypan blue (体重 1 kg 当り 4 ml) の局所への集積の状態を肉眼的に観察した。

尚対照として夫々の毒素 2γ 及び上記の各被検物質のみによる血透亢を観察した。本実験における条件及びその他の事については第1報¹⁾の項に準じた。但し histamine の血透亢に対する抗ヒ剤の抑制実験においては、histamine の血透亢の最高を示す30分について上記と同様な実験方法並に条件に従って行つた。

実験成績

1. 抗ヒ剤

前述した様に、血透亢は histamine を介して惹起されるという説があるので、先ず histamine のみによる血透亢の観察を行つた処、30分で血透亢の最高を示し、その最小血透亢値は 0.2γ 前後であつた。次いで、histamine の血透亢の最高を示す30分について、確実に且判然と血透亢を示す histamine 2γ が抗ヒ剤により抑制されるか否かの実験を行つた。その成績は第1表に示す如く、抗ヒ剤 10γ でも histamine の血透亢を抑制し且 100γ では判然と抑制効果が認められた。尚対照として用いた抗ヒ剤のみ (30分) による血透亢は 100γ でも認められなかつた。以上、histamine には血透亢作用が認められ且その血透亢は抗ヒ剤により抑制される成績を得た。

さて次に α -toxin 及び *Ps. fluorescens* 内毒素の血透亢が抗ヒ剤によつて抑制されるか否かを実験した。その

第1表 抗ヒ剤の Histamine による血透亢に対する抑制効果

家 兎	番 号	体 重	抗 ヒ 剤 + Histamine 2γ		対 照	
			抗 ヒ 剤 の 量		Histamine 2γ	抗 ヒ 剤 100γ
			100γ	10γ		
110		2.5kg	—	+	++	—
111		2.3	—	—	+	—
112		2.2	—	±	++	—

第2表 抗ヒ剤の血透亢に対する抑制効果

	家 兎		抗 ヒ 剤 の 量			対 照
	番号	体重	1000γ	100γ	10γ	毒素 2γ
抗 ヒ 剤 + α -toxin 2γ	71	2.8kg	++	++	++	++
	72	3.1	++	++	++	++
	73	2.5	+	+	+	+
	74	3.1	+	+	+	+
抗 ヒ 剤 + <i>Ps. fluor.</i> 内毒素 2γ	75	2.9	++	+	+	+
	76	2.5	+	+	+	+
	77	2.8	++	++	++	++

成績は第2表に示す如く、抗ヒ剤は $1000 \cdot 100 \cdot 10 \gamma$ 共に α -toxin 及び *Ps. fluorescens* 内毒素の血透亢に対して抑制作用は認められなかつた。尚対照とした抗ヒ剤 (2時間) だけは 1000γ では時に血透亢を示す場合もあるが、 100γ では反応は認められなかつた。この様に大量の抗ヒ剤によつてもこれらの血透亢が抑制できない事は、少くとも両毒素によつて生ずる血透亢が histamine のみを介して生ずるものではない事を示すと考えられる。

2. ACTH 及び Cortisone

Menkin は ACTH⁵⁾ 及び cortisone⁶⁾ を用いて彼の所謂血透亢因子といつている leukotaxine 及び exudin による血透亢の抑制効果を報告しているので、私もそれらと比較検討する為に両毒素の血透亢に対する ACTH 及び cortisone の抑制効果を観察した。即ちその成績は第3表に示す如く ACTH 1000γ は両毒素の血透亢を抑制するが $100 \cdot 10 \gamma$ では判然とした抑制を認め難かつた。尚対照として ACTH のみを注射した場合には 1000γ でも血透亢作用は認められなかつた。

次に cortisone の場合は第4表に示す如く、 $1000 \cdot 100 \cdot 10 \gamma$ 共に両毒素の血透亢に対する抑制作用は認められなかつた。尚対照として cortisone のみを注射した場合には 1000γ で時に血透亢を示す場合もあるが 100γ では反応は認められなかつた。

第 3 表 ACTH の血透亢に対する抑制効果

	家 兎		ACTH の 量			対 照 毒素27
	番号	体重	1000γ	100γ	10γ	
ACTH + α-toxin 27	83	2.4kg	—	—	++	++
	84	2.5	—	+	+	+
	85	2.5	+	++	++	++
	86	2.5	±	+	+	+
ACTH + Ps. fluor. 内毒素 27	83	2.4	—	—	++	++
	86	2.5	—	++	++	++
	87	2.5	±	+	+	+
	88	2.5	—	++	++	++

第 4 表 Cortisone の血透亢に対する抑制効果

	家 兎		Cortisone の 量			対 照 毒素27
	番号	体重	1000γ	100γ	10γ	
Cortisone + α-toxin 27	90	2.5kg	++	++	++	++
	93	2.5	++	•	•	++
	94	2.9	+	+	+	+
	95	2.5	+	+	+	+
Cortisone + Ps. fluor. 内毒素 27	93	2.5	++	•	•	++
	96	2.9	++	++	++	++
	97	2.5	+	+	+	+
	98	3.0	+	+	+	+

以上の成績を Menkin の成績^{5,6)} と比較してみると (第 6 表) 両毒素の血透亢作用には leukotaxine が介在するとは考え難く exudin と同様な態度を示している。

3. 強力ネオミノフアゲン C (SNMC)

SNMC は抗アレルギー剤として臨床上用いられてい

第 5 表 SNMC の血透亢に対する抑制効果

	家 兎		SNMC の 量			対 照 毒素27
	番号	体重	1x	1/10x	1/100x	
SNMC + α-toxin 27	86	2.5kg	—	•	•	++
	99	3.1	—	++	++	++
	100	2.5	—	++	++	++
	102	3.0	+	+	++	++
SNMC + Ps. fluor. 内毒素 27	86	2.5	—	•	•	++
	102	3.0	±	±	++	++
	103	2.5	—	+	+	+
	104	3.0	+	+	+	+
	105	2.8	—	+	+	+

るので、両毒素の血透亢が SNMC により如何なる影響をうけるかを観察した処、第 5 表に示す如く SNMC の原液は両毒素の血透亢を抑制するが 10・100 倍稀釈液では判然とした抑制効果は認め難かつた。尚対照として SNMC のみを注射した場合には原液でも血透亢作用は認められなかつた。

以上 SNMC が両毒素の血透亢を抑制する作用を示している事は仲々興味深い。

考 案

血透亢の一般的な機序について 2, 3 の代表的な見解にふれてみると Ungar⁷⁾ は血透亢の過程を線維素分解酵素系 fibrinolytic system で次の様に説明している。

即ち、催炎体の刺激そのものの為に血透亢が惹起されるのではなく、催炎体の種類により bacterio-fibrinokinase, cyto-fibrinokinase, sero-fibrinokinase 等が PFL (cyto-fibrinolysin) を FL (fibrinolysin) に活性化し、これが蛋白を分解し、histamine 及び leukotaxine 等が産生され、その作用で血透亢が惹起されると説明している。

一方血透亢因子として Lewis⁸⁾ は histamine 様物質を、Menkin は leukotaxine, exudin を挙げ、又 Dut-hie & Chain⁹⁾ は Menkin の leukotaxine の存在を否定してこれは傷害組織における蛋白分解の中間産物であるところの一種の polypeptide であるといっており、又最近 Rowley & Benditt¹⁰⁾ は 5-hydroxytryptamine が主役をなすと主張している。この様に血透亢因子についても諸説があり、未だ一致した見解は得られていない。

Histamine についてみると、Lewis⁸⁾ は histamine そのものの注射により浮腫を惹起出来る事と、更に histamine 前階物質として得られるヒスチジンが殆ど全ての組織細胞内に存在している事からして血透亢因子は histamine 様物質であると述べている。Bier & Silva¹¹⁾ は histamine は 500,000~1000,000 倍濃度でも trypan blue による組織の着色反応を惹起出来るし、又 histamine の少い滲出液は組織の着色反応を惹起する事は出来ないという実験から炎症局所の histamine の意義を重視している。Last & Loew¹²⁾ も trypan blue を用いて抗ヒ剤が血透亢に拮抗する事を証明している。しかし Rigdon は Xylole を皮膚に適用した時に生ずる充血は抗ヒ剤を注射しても変化がないと述べている。この様に histamine についても、これを重視するものと否定的な見解とがみられるが、私の行つた実験では、histamine が血透亢を示しており、血透亢の 1 因子である可能性を

示すものと考えられる。又この histamine の血透亢は抗ヒ剤により阻止されるが α -toxin 及び Ps. fluorescens 内毒素の血透亢は抗ヒ剤で阻止されない。従つて少なくともこれら両毒素による血透亢は histamine のみを介して生じたものとは考え難い。即ち何か histamine 以外の因子が介在するものと思われるが、これが 5-hydroxytryptamine であるか或はそれ以外の因子であるかは不明である。

Menkin も histamine 説に対しては否定的な立場をとつてをり、炎症局所のアルカリ滲出液から leukotaxine を、酸性滲出液から exudin を抽出して、これらが血透亢因子であると主張し、又更に滲出液中に含まれている程度の histamine 量によつて生ずる組織の着染反応は滲出液或はそれから抽出される量の leukotaxine によつて惹起される組織の着染反応に比較して遙かに軽微であり、0.55 mg の histamine の水溶液を家兎の皮下に注射しても組織の着染反応は起らないと云つてゐる。又 Menkin は leukotaxine の血透亢は局所に共に混じて用いた副腎皮質エキス¹³⁾ 及び cortisone⁶⁾ に抑制されるが ACTH⁵⁾ には抑制されない。又之と反対に exudin の血透亢は ACTH⁵⁾ には抑制されるが cortisone⁶⁾ には抑制されない成績 (第6表) を示し、exudin の血透亢

第6表 抑制効果の総括

	抗ヒ剤	ACTH	Cortisone	SNMC
α -Toxin	×	○	×	○
Ps. fluor. 内毒素	×	○	×	○
Leukotaxine	・	×	○	・
Exudin	・	○	×	・

○印：抑制，×印：抑制せず

は leukotaxine 及び histamine 以外のものであると云つてゐる。

生体を用いる血透亢の実験等において特に実験方法及び条件が結果に影響する所が多いと思われる。この事が研究者によつて相反する結果が報告される大きな原因の一つと考えられるが、本実験においては Menkin の方法を用いたので彼の成績と対比するために ACTH 及び cortisone によつて如何なる影響がみられるかを実験した。

即ち、 α -toxin 及び Ps. fluorescens 内毒素の血透亢に対して ACTH 及び cortisone を用いて抑制実験を行ったが、これらは何れも ACTH に抑制され cortisone

には抑制されない成績 (第3・4・6表) を示しており、之を先に記載した Menkin の実験成績^{5,6)} (第6表) と比較してみると、彼の exudin と同様な態度を示している。しかし exudin の化学的本態も明かでないし、果して私の行つた両毒素の場合に exudin が介在するものか或は ACTH 及び cortisone に対して三者とも同様な態度を示しているのて更に此の三者間に共通の第3の因子が存在するの否かの決定は今後の研究に俟つ外はない。

次に SNMC は動物実験で Arthus¹⁴⁾ Schwartzmann 現象¹⁵⁾ 及びアナフィラキシー¹⁶⁾ を抑制する作用を示し、又臨床上主として抗アレルギー剤として用いられている。血透亢は以上の現象の病変発生過程の初期において一つの重要共通因子となつてゐると考えられ、又栗栖等¹⁶⁾ は SNMC の抗アナフィラキシー作用機序についてアナフィラキシーに際して発現する血透亢に対し SNMC が抑制的に作用する事が一因子と考えられると述べてゐる。今回の実験において SNMC が α -toxin 及び Ps. fluorescens 内毒素の血透亢を抑制している成績が得られた。これは Arthus, Schwartzmann 現象等と、 α -toxin 及び Ps. fluorescens による血透亢との間に何か共通の因子が存在することを示唆するものと思われるが、SNMC の作用機転も明かでないのて、それが如何なる過程であるかは不明である。

結 論

Menkin の家兎を用いる実験方法により、 α -toxin の血透亢に対する抗ヒ剤・ACTH・cortisone 及び SNMC の抑制作用を観察し、併せて Ps. fluorescens 内毒素によるそれと比較検討し次の結論を得た。

α -toxin 及び Ps. fluorescens 内毒素の血透亢は共に ACTH 及び SNMC により抑制出来るが、抗ヒ剤及び cortisone では抑制出来ない。従つて両毒素による血透亢が histamine のみを介して惹起されたものとは考え難く、更に他の因子が介在するものと考えられる。

拙筆するに当り御指導並に御校閲を給つた武田徳晴教授に厚く感謝し、且御鞭撻を給つた東京通信病院産婦人科部長安井修平博士に深謝すると共に、種々の助言と便宜を与えられた当研究室の渡辺貞博士の御好意に深謝する。

本研究は文部省科学研究費 (炎症の発生機構研究班) の援助を受けたので茲に謝意を表する。

本論文の要旨は、昭和29年6月20日 (於新潟) ・昭和31年11月5日 (於東京) 及び昭和32年11月19日 (於箱

根) 文部省総合研究炎症防衛班委員会において発表した。

文 献

- 1) 藤枝: 日細菌学誌, 13, 884, 昭 33.
- 2) 藤枝: 日細菌学誌, 13, 721, 昭 33.
- 3) 武田等: 東京医事新誌, 68(8), 17, 昭 26.
- 4) 武田: 日細菌学誌, 8(特), 441, 昭 28.
- 5) Menkin, V.: Am. J. Phys., 166, 518, 1951.
- 6) Menkin, V.: Am. J. Phys., 166, 509, 1951.
- 7) Ungar, G.: Lancet, 1952, ii, 742.
- 8) Lewis, T.: Heart, 11, 2091, 1924.
- 9) Duthie & Chain: Brit. J. Exp. Path., 20, 417, 1939.
- 10) Rowley, D. A. & Benditt, E.: J. Exp. Med., 103, 399, 1956.
- 11) Bier & Rocha e Silva: 「炎症の新しい概念」 p. 42, 1954(医学書院)より転載.
- 12) Last & Loew: 「抗ヒ剤とアレルギー」 p. 28, 昭 26(医学書院)より転載
- 13) Menkin, V.: Am. J. Phys., 129, 691, 1940.
- 14) 栗栖・柴田・畔柳: 最新医学, 9, 1261, 昭 29.
- 15) 市川等: ミノファージェン研究部報告, 160, 1, 昭 25.
- 16) 栗栖等: アレルギー, 6, 250, 昭 32.