マウス腹腔内感染に及ぼすブドウ球菌トキシイド 及びペニシリンの影響について

沢 井 芳 男 伊 藤 正 次 郎 石 井 卓 彌

東京大学伝染病研究所試験製造室（主任 沢井芳男助教授）

（受付：9月25日・1959年）

緒 言

ブドウ球菌のマウス腹腔内感染において、前の報告で伊藤¹⁾は回復型の感染経過を示すマウスに対して、同時に α 毒素分劃を加えてやると、その感染型を非敗血症型に移行させマウスを死亡させることを示した。ところで α 毒素の産生量が少いか又は菌量の少ない場合は動物は回復型の感染型をたどって生存するが、このような場合接種局所の菌が消失しても、菌は体内の各臓器から検出された。さらにこの体内菌分布に対しても α 毒素が重要な役割を果していることを知った。

今回この体内に分布された菌の消長をやや長期にわたって観察し、その間にブドウ球菌トキシイド、あるいはペニシリン等がこれ等の経過にどのような影響を与えるかを検討した結果、2、3の興味ある知見を得たのでここに報告する次第である。

実験材料、方法

1. 菌株：この菌株は伊藤が前の実験に用いたものと同じ菌株で、黄色集落、溶血性、コアグラゼ陽性、食塩耐性、マンニト分解性、ゲラチン液化性を深有している。なおペニシリン感受性は栄研製デスク2uにおいて耐性、10uでは弱感受性を示した。

2. 菌液：110番培地に保存した込宮株を普通寒天斜面に24時間培養後、前以て作製しておいた菌濃度標準曲線を用いて、エバンス比色計により1.0 mg/mlとなる様生理食塩水に浮遊した。

3. 臓器の菌分布検査法：血液、肺、腹腔、肝、脾、腎について次の様に行つた。血液は心血を、腹腔は腹腔をひらいてその周囲の腹膜、腸間をも擦過してその1白金耳を110番培地平板の6分劃の1分劃に塗抹した。その他の臓器は摘出して100℃の温水で手早く洗い、良く水分を取り、長軸にそつて切り、その割面を直接1分劃

ずつに塗抹した。菌量が多く集落が分離出来なかつた場合を卅、分離集落が多数生えた場合を卅、50~20個を十、それ以下の場合には個数を記録した。

4. 攻撃方法：1.0 mg/mlの菌液0.5 mlをdd系マウス生後4週の腹腔内接種を行つた。マウスは124匹を4群にわけられ、対照群としては菌のみ接種し34匹を用いた。トキシイド接種群は30匹のマウスに菌接種後24時間に毎日1回ずつ1週間連続してブドウ球菌トキシイド（伝研試験製造製造品）0.5 mlずつを腹腔に注射した。ペニシリン接種群はペニシリン50 u/mlの生理食塩水稀釈液を作りその0.5 mlを30匹のマウスに前と同様1週間連続注射した。ペニシリン加トキシイド群は上記のトキシイド0.5 mlとペニシリン50 u/mlの0.5 mlを同時に30匹のマウスに前と同様注射した。

実験成績

表1に示された様に、対照群4匹は24時間後に剖検された。他の群は2、3、5、7日後にそれぞれ5匹が剖検され各臓器の菌培養が行われた。注射後7日迄にトキシイド群では1匹、ペニシリン群では1匹、ペニシリン加トキシイド群では3匹、対照群では1匹死亡した。7~14日ではトキシイド群2匹、ペニシリン群2匹、ペニシリン加トキシイド群0、対照群2匹死亡した。従つて2週迄に各群とも3匹ずつ死亡した。2週以後にはトキシイド群3匹、ペニシリン群2匹死亡し、ペニシリン加トキシイド群は1匹も死亡せず生残つた。対照群は最も悪く注射後35日で全部死亡した。その他の群の生残つたマウスは生存し続け7月24日注射後108日にいたるも生

SAWAI Yoshio, ITO Shojiro, ISHII Takuya: Influence of staphylococcus toxoid and Penicillin upon intraperitoneal infection in mice. Laboratory of Biological products, Institute for Infectious Diseases. Jap. J. of Bact., 15(5), 474-477, 1960.

表 1 込宮株 0.5 mg 腹腔攻撃後の転帰, 攻撃 1959 年 4 月 6 日

	トキシソイド群			ペニシリン群			ペニシリン トキシソイド群			対 照 群		
	注射後 日 数	月 日	転帰	注射後 日 数	月 日	転帰	注射後 日 数	月 日	転帰	注射後 日 数	月 日	転帰
	2	4・8 (5 匹)	解剖	2	4・8	死	2	4・8	死	1	4・7 (4 匹)	解剖
	3	4・9 (5 匹)	解剖	2	4・8 (5 匹)	解剖	〃	〃	〃	2	4・8	死
	5	4・11	死	3	4・9 (5 匹)	解剖	2	4・8 (5 匹)	解剖	2	4・8 (5 匹)	解剖
	〃	4・11 (5 匹)	解剖	5	4・11 (5 匹)	解剖	3	4・9 (5 匹)	解剖	3	4・9 (5 匹)	解剖
	7	4・13	死	7	4・13 (5 匹)	解剖	5	4・11	死	5	4・11 (5 匹)	解剖
	14	4・20	死	8	4・14	死	5	4・11 (5 匹)	解剖	7	4・13 (5 匹)	解剖
	〃	〃	〃	〃	〃	〃	7	4・13 (5 匹)	解剖	11	4・17	死
	28	5・4	死	42	5・18	死	108	7・24	生	14	4・20	死
	46	5・22	死	47	5・23	死			〃	28	5・4	死
	60	6・6	死	108	7・24	生			〃	〃	〃	〃
	108	7・24	生			〃			〃	30	5・6	死
			〃			〃			〃	31	5・7	死
			〃			〃			〃	35	5・11	死
			〃			〃			〃	〃	〃	〃
									〃	〃	〃	
14 日 迄 死 亡 率	3/10			3/10			3/10			3/10		
14 日 後 死 亡 率	3/7			2/7			0/7			7/7		
死 亡 率	6/10			5/10			3/10			10/10		

存し続けた。

その間において各群のマウスは5匹ずつ注射後2, 3, 5, 7日に生存したマウスを選んで解剖され臓器内菌分布が検討された。その結果は表2に示されているが、まず対照群では24時間後には肺、血液を除いて他の臓器にはほとんど均等に高濃度に分布していた。ところが48時間ないし3日になると腹腔及び腹腔各臓器の菌分布は不規則となり、菌分布は各臓器に低下する傾向がみられ、5~7日では更にこの傾向は著明となった。但し例外として腎臓では7日のもので再び増加の傾向がみられた。処置群でもこの様な傾向がみとめられたがこれ等の対照群と処置群とを比べると5日ないし7日においてトキシソイド及トキシソイド加ペニシリン群に菌分布がわずかに抑制されているように見うけられた。しかし全般を通じて7日目では腎臓だけが低い菌分布を示していた

ことが注目された。しかし全般的にみて各群を通じて著明な差はみとめることが出来なかつた。又7日後には培養処見によらなくても、唯肉眼処見だけでも各群のそれぞれの臓器の半数以上に膿瘍の形成を認めることが出来た。表2に示された如く、注射局所、腹腔内の処見、とくに腎の膿瘍は著明であつた。また膿瘍の形成は対照群も処置群も大差がなかつた。その後3ヵ月後にはこの膿瘍は益々巨大になり、腹腔をひらかなくとも外部から腫脹を観察出来るほどの大きさに達したが、マウスは死亡せず一見健康で生存し続けた。各群相互の差は肉眼処見上からも明かには認められなかつた。

考 察

マウスに最小致死量近くの菌量を腹腔に攻撃した場合、24時間あるいは48時間以内の急性死をまぬかれたも、

表 2

注射後 2 日

培養所見

対 照 群							トキシノイド群							ペニシリン群							ペニシリン トキシノイド群						
	Lu	B	Ex	Le	Mi	Ni		Lu	B	Ex	Le	Mi	Ni		Lu	B	Ex	Le	Mi	Ni		Lu	B	Ex	Le	Mi	Ni
6	11	4	+	++	+	++	1	—	—	++	++	++	++	1	—	1	++	++	++	++	1	—	11	++	++	++	++
7	8	10	++	++	++	++	2	—	—	12	5	++	++	2	—	++	++	++	++	++	2	1	++	++	++	++	++
8	—	3	++	++	++	++	3	—	4	++	++	15	+	3	—	1	++	++	+	++	3	14	++	++	++	+	++
9	3	—	+	—	+	16	4	—	—	10	++	++	5	4	—	2	++	++	+	++	4	++	—	++	++	+	++
10	—	1	+	11	+	5	5	—	—	+	6	8	—	5	6	++	++	++	++	++	5	—	—	++	++	2	+

3 日

11	—	—	++	++	+	++	6	—	3	+	2	++	++	6	—	—	+	++	++	++	6	+	+	++	++	++	++
12	4	2	++	++	++	++	7	++	++	+	+	++	++	7	—	3	+	2	—	4	7	—	++	++	++	+	++
13	—	—	3	++	++	+	8	—	—	++	++	+	+	8	—	—	—	4	—	—	8	—	—	—	—	—	+
14	—	—	8	—	3	11	9	—	1	4	—	+	+	9	5	—	2	+	+	1	9	1	—	12	9	8	2
15	—	—	++	2	—	1	10	—	4	—	2	1	1	10	—	—	—	—	1	—	10	+	8	—	—	—	—

5 日

16	12	29	++	++	++	++	11	—	—	1	5	—	++	11	—	1	++	+	++	++	11	—	—	—	++	—	16
17	21	—	31	26	8	++	12	—	1	—	—	—	++	12	—	+	3	++	++	++	12	1	—	—	+	—	+
18	1	1	1	—	++	1	13	—	—	14	—	2	++	13	—	—	—	1	++	++	13	—	—	1	1	—	—
19	3	—	3	1	6	1	14	1	14	++	3	1	—	14	—	—	+	3	1	—	14	—	—	—	—	—	—
20	—	2	1	—	—	—	15	—	—	++	30	—	2	15	—	—	—	—	5	—	15	—	—	—	—	—	—

7 日

21	—	2	++	++	++	++	16	—	1	6	7	8	++	16	++	—	+	++	++	++	16	—	1	—	2	1	++
22	—	4	1	++	11	++	17	—	1	—	2	—	++	17	—	—	4	—	++	++	17	1	—	6	1	3	++
23	—	1	—	6	15	++	18	—	7	—	1	3	++	18	—	—	—	1	—	++	18	2	—	2	2	1	++
24	—	7	1	1	1	++	19	—	—	1	—	—	—	19	—	—	—	++	5	—	19	—	—	—	—	6	7
25	—	1	6	7	8	++	20	—	—	—	—	—	—	20	—	—	+	+	—	1	20	9	+	—	1	—	—

注射後 7 日

肉眼所見

	胸	腹	腸	肝	脾	腎	注射局所	胸	腹	腸	肝	脾	腎	注射局所	胸	腹	腸	肝	脾	腎	注射局所	胸	腹	腸	肝	脾	腎	注射局所		
	腔	膜	膜					腔	膜	膜					腔	膜	膜					腔	膜	膜						
21	—	+	+	+	+	+	+	16	—	+	+	+	—	卅	+	+	+	+	—	卅	+	16	—	+	+	—	—	卅	+	
22	—	+	—	—	+	+	+	17	—	—	+	—	—	—	+	+	+	卅	—	—	+	+	17	—	+	+	—	—	卅	+
23	—	+	—	+	—	—	+	18	—	+	—	—	—	卅	+	+	+	—	—	卅	+	18	—	+	+	—	—	卅	—	
24	—	—	+	—	—	—	—	19	—	—	—	—	—	—	+	+	卅	+	—	—	+	19	—	+	+	—	—	—	+	
25	—	+	+	—	—	—	+	20	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	—	—	+	20	—	—	—	—	—	—	—	

註 培養所見

++ 単コロニーを示さず一面に生えた場合

++ 単コロニーで多数

+ コロニー 50~20

数 コロニー数

肉眼所見

++ 膿瘍大臓器に変形を認む

++ // 多 数

+ // あ り

— // な し

のでも体内臓器にかなり長期にわたって菌が分布され、慢性の経過をたどり、その間にマウスは散発的に死亡する。

この様な経過に対してブドウ球菌トキシノイドあるいはペニシリンが治療的な意味でどの様に影響するかを観察した結果、これ等の薬剤の投与が菌の分布を阻止するような著しい効果はなかつたが、生死の上では明らかな差が存在しているようであつた。トキシノイド 0.5 ml ずつ 1 週間連続投与という条件はマウスに対して多量すぎると云えるが、表 1 に示されたように 1 週間内ではペニシリン加トキシノイド群が 3 匹死亡した、他の群は 1 匹ずつ死亡している。この様にペニシリン加トキシノイド群はマウスに対して多量すぎたと云えると思う。2 週間の間の死亡は各群とも 3 匹となり差は認められない。また一方では 100 日余りの観察であるのでトキシノイドの免疫効果ということも考えなければならないが、臓器内菌分布をあまり阻止していなかつた。この点はペニシリンも同様であつて 1 週間連続投与された 25 u ずつのペニシリンが耐性株である込宮株の菌分布に対して余り影響を及ぼさなかつたと云う点では必ずしも適量でなかつたかも知れない。それでは処置群に見られた延命効果はどう説明すべきであろうか。

一つの考え方は病巣の限局化が強く起り生体一般への影響が弱くなつたという事も考えられ、又一方では局所化された菌がある程度低下されたのではないかも知えられるが、溶血能、ペニシリン感受性等の変化は著明に認める事が出来なかつた。勿論その間に体内に残存した菌自身による自家免疫ということも考えなければならない。

又生体内への菌分布では接種系路が異なるが、Smith²⁾等の行つた経静脈による現象と良く似ていた。すなわち血液や肺は少く腎に最も長く止る傾向を示した。しかし注意しなくてはならないのは Smith 等は慢性に経過する場合でも 2 週間を境として生死が決定することを述べているが、われわれの実験では対照群では 1 カ月後に死亡するものもあり、この点では Smith 等とは異つた成績であつた。

総 括

マウスにブドウ球菌の強毒株を腹腔内に接種しトキシノイド、ペニシリンあるいは両者の協同の影響を観察した結果生死ではペニシリン加トキシノイド群が最も良い成績を示した。ところが菌の体内分布あるいは膿瘍等の病変に対しては対照群も処置群も大差はなく、上述の生死の差を説明することは困難であつた。

すなわち体内分布では肺、血液には菌は比較的少いが、腹腔局所、肝、脾、腎等には相当高濃度に分布されるが、その中でも腎が最も強く分布永続した。また 7 日頃から認められた膿瘍は徐々に著明となり慢性に経過し、約 3 カ月後には外部からも触知されるようになった。

文 献

- 1) 伊藤正次郎：ブドウ球菌のマウス腹腔内感染の病因に関する研究，日本細菌学雑誌，15，4，発表予定。
- 2) Smith, J. M.: Studies on the fate of virulent and avirulent staphylococci in mice. Ann. N. Y. Acad. Sci., 65, 67-72, 1956.