マロン酸ソーダの *Salmonella enteritidis* 感染に及ぼす影響

八田 貞義 山地 幸雄 田中 弘子

国立衛生試験所細菌部

山 内 信

日本医科大学衛生学教室

[受付: 3月13日 1954年]

まえがき

実験動物に或変化を生ぜしめた際における細菌感染の、成立或はその進行についての研究目的は、それらから宿主と微生物間の反応ならびに生体の抵抗力の本態をうかがい、また時として、抵抗力の減弱した際にとるべき処置を知ろうとするにある。

たとえば色素、墨汁などによる細網内皮系の閉塞¹⁻⁷⁾ 化学的薬剤による細網内皮系傷害⁸⁻¹⁰⁾の際の感染或は免疫実験、X線照射の際の抵抗力の減弱等に関する観察¹¹⁻¹⁹⁾などが、それである。細網内皮系の閉塞実験は動物により又閉塞のための注射材料の量的関係などが、複雑なためか、必ずしも一致した成績が得られていないようであるが、X線照射を応用した実験、特に最近数年間の報告には、X線照射時の細菌感染に対する抵抗力、或は免疫反応の減弱が種々の点から確認されている。

生体における代謝と生体内の病原体増殖とについては1951年以來いくつかの研究報告がある。Ackermannは sodium fluoroacetate の致死量以下の量を注射されたマウスでは、tricarboxylic acid cycle の阻害のために、肺にクエン酸の蓄積がおこり、influenza virus の増殖が制限され²⁰⁾、また in vitro の組織においてもクエン酸により、virus の増殖は阻害される²¹⁾ことを認めた。Ainslie²²⁾は sodium monofluoroacetate 或は methionine sulfoximine を注射されたマウスでは、中枢神経系における、poliomyelitis virus が少ないという。Mogabgab ら²³⁾は fluoroacetate を注射されたマウスは influenza virus, mumps virus 或は maus pneumonia virus 感染に際して、僅かではあるが生存期間が延長されると報告した。Berry らは *Salmonella typhimurium* を接種されたマウスに、sodium malonate を注射し、それらが対照の感染マウスよりも、はるかに

早期に菌血症を呈して斃れることを認め²⁴⁾、更に sodium fluoroacetate, sodium arsenite 等の tricarboxylic acid cycle に対する抑制物質、及びそれら抑制物質のために体内に蓄積すると知られている sodium citrate、及び sodium succinate²⁵⁻²⁸⁾の注射においても、*S. typhimurium* 感染マウスの死期が早められることが報告されている²⁹⁾。

われわれは *Salmonella enteritidis* の感染に及ぼす malonate の作用について行つた、実験成績を次に述べる。

1. 実験材料及び方法

使用菌株; 予研より分与され、さきにX線被照射動物における細菌感染の実験¹⁹⁾に用いた *S. enteritidis* の RG 3 一株を使用した。

実験動物: 体重 11~14 g 又は 18~22 g のマウスを使用した。

Malonate: 小宗化学薬品会社製の malonic acid $\text{CH}_2(\text{COOH})_2$ より調製された, disodium malonate $\text{CH}_2(\text{COONa})_2$ を用いた*。これを 0.5 cc 中に 1 回の注射量を含むように生理食塩水に溶解した。基礎実験として malonate の腹腔内注射の際の毒性を検したところ、マウスは 50 mg 1 回注射により 1~2 日後に斃死したが、

* malonate 調製に御協力を與えられた国立衛生試験所、井下田技官に感謝の意を表する

HATTA Sadayoshi, YAMAZI Yukio, TANAKA Hiroko and YAMAUCHI Makoto: The Effect of Malonate on *Salmonella enteritidis* Infection in Mice. Bacteriological Assay Section, National Hygienic Laboratory, Tokyo. Department of Hygiene, Nippon Medical School, Tokyo. — Jap. J. of Bact., 9 (6), 405-408, 1954.

25 mg では生残しラッテは 100 mg 1 回注射に耐過生存した。

実験方法：菌の接種は所要菌量を 0.5 cc 中に含むように調製した浮游液を、被験動物の腹腔内に注射した。経口投与の際にはブイヨン培養の 8 滴（菌数約 4 億個）を、パンの小片に浸して摂食させ、数分以内に食べ終つたものを実験の対象とした。斃死動物はその死因を確認するために、培養により菌血症の有無を検した。

2. 実験成績

実験 1：RG 3 一株の 3.5×10^2 個を体重 11~15 g のマウスの腹腔内に接種し、その直後よりはじめて、1 時間々隔で 8 回 malonate を注射した。malonate の注射量は 1 回目には 20 mg としたが、この量ではマウスがかなり弱るようであつたので、2 回目よりは 10 mg 宛とした。その成績は第 1 表に示した。malonate を注射

第 1 表 S. enteritidis 接種後、1 時間おきに malonate 或は生理食塩水を注射されたマウスの生残数（1 群 10 匹）

接種後の 時 間	総注射 回 数	10mg malonate を 1 時間おきに注射 (0.5cc)		対 照 0.5cc 生理 食塩水注射 菌 3.5×10^2 個 接 種
		菌 3.5×10^2 個を接種	菌を接種 せず	
0~4	4	10	10	10
4~5	5	10	9	10
5~6	6	10	9	10
6~7	7	10	9	10
7~8	8	9*	9	10
8~24	8	8*	9	10
24~48	8	8	9	10
48~72	8	7	9	10

マウスの体重：11~15 g.

* 7~8 時間及び 8~24 時間後に死んだマウスは血中菌陰性。

されたマウスは接種後 72 時間に 10 匹中 3 匹が死に、malonate の代りに生理食塩水を注射されたマウスは 72 時間後には全部生き残つた。然し 3 匹の斃死マウスのうち、2 匹からは菌が検出されなかつた。malonate のみの注射では 10 匹中 1 匹が 4 時間以内に死んだが、これは malonate の注射量が多過ぎたためであろう。

実験 2：実験 1 では明らかな結果が得られなかつたので、この実験においては接種菌量を 4.7×10^4 個とし、その他の条件は実験 1 と同様にした。たゞし malonate の注射量は毎回 10 mg とした。その結果は第 2 表に示したとおりで malonate を注射された被接種マウスは、

第 2 表 S. enteritidis 接種後、1 時間おきに malonate 或は生理食塩水を注射されたマウスの生残数（1 群 10~5 匹）

接種後の 時 間	総注射 回 数	10mg malonate を 1 時間おきに注射 (0.5cc)		対 照 0.5cc 生理 食塩水注射 菌 4.7×10^4 個 接 種
		菌 4.7×10^4 個を接種	菌を接種 せず	
0~4	4	10	5	10
4~5	5	10	5	10
5~6	6	10	5	10
6~7	7	10	5	10
7~8	8	10	5	10
8~24	8	10	5	10
24~48	8	6	5	10
48~72	8	5	5	10
72~96	8	3	5	9
96~120	8	2	5	9
120~144	8	0	5	8
144~168	8		5	7
168~192	8		5	6

斃死マウスは全部血中菌陽性

マウスの体重 11~14 g

接種後 24~48 時間以内に 10 匹中 6 匹が死に、144 時間までには全部が斃死した。他方菌接種後生理食塩水を注射された対照マウスは、72~96 時間後に最初の 1 匹が死に、192 時間後にも 10 匹のうち 6 匹が生残した。malonate のみの注射をされたものは、192 時間まで全部生残した。すなわちこの実験により腹腔内に注入された malonate は、S. enteritidis 感染マウスの死期を早めることが確認された。

実験 3：上の 2 回の実験では malonate は 1 時間おきに 8 回注射されたが、この実験においては、菌の経口投与直前に 1 回 malonate を腹腔内に注射した。malonate の注射量は 25 mg とした。菌投与の方法は実験方法の項に記した。その成績によると、18~22 g のマウスでは malonate を注射されたものも、食塩水を注射されたものも、いずれも菌投与後 1~2 週間で菌血症のため斃死し、両者の間に差はなかつた。

3. 考 え 方

Potter ら²⁶⁾ 及び Busch 等²⁷⁾²⁸⁾ は malonate を動物に注射すると血液及び臓器に succinate, citrate が蓄積することを認め、これは生体内の citric acid cycle を進行させる酵素の作用が、阻害されるためであるとした。Krebs ら²⁹⁾ は malonate により baker's yeast の succinic dehydrogenase が障碍されることを認めた。

Berry ら²⁴⁾は *S. typhi-murium* を用いて行つた実験において, malonate を注射された感染動物の生存時間が減少したのは, その体内における tricarboxylic acid cycle の, 阻害のためではないかと推論した。われらの実験により Berry らのえた知見は *S. enteritidis* 感染においても追試確認されたが, Berry らの推論の是非の決定についてはなお検討の余地があろう。Busch ら²⁵⁾は生体内に注射された malonate の 55 % が 6 時間以内に尿中に排泄され, その 1 回注射は, 約 1 時間 succinate の血中濃度を増加させるが, 2 時間後には succinate の濃度は正常に復することを認め, citric acid cycle の閉塞を継続させるためには, 頻回の注射が必要であると示した。Lifson ら³⁰⁾は C^{13} -carboxyl-labelled malonate をマウスに注射し, その後 6 時間以内に, 呼吸器の炭酸ガス中に labelled carbon の 20~32 % を認め, このことから malonate が比較的短時間で同化されると推定した。われわれの実験では, malonate 1 回注射後に菌を摂食させたマウスは, 生理食塩水注射後に菌を摂食させた対照マウスと同様に, 菌血症を呈して斃れた。この所見は上の報告と考えあわせると, malonate の感染動物に対する生存時間の短縮作用が, 宿主体内の代謝の変調によるとの考え方の根拠となろう。

福見ら³¹⁾は tri-or dicarboxylic acid cycle は *S. typhi* では regular に働いているのではない, と報告しており, これらの点についての研究は細菌感染現象の究明に, 一つの分野を開くのではないかと思う。

む す び

マウスに *Salmonella enteritidis* 4.7×10^4 個を腹腔内接種し, その直後よりはじめて 10 mg 宛の malonate を 8 回, 1 時間おきに腹腔内注射すると, それらのマウスは接種後 24~144 時間で全部 ($10/10$) 斃死した。しかるに malonate の代りに生理食塩水を, 同様の方法で注射された対照マウスは, 接種 72~96 時間後に死に始め ($1/10$), 192 時間後にも半数以上 ($6/10$) が生残した。腹腔内に接種する菌量を 3.5×10^2 個とした際には, malonate を注射されたマウスは観察した限りにおいて, 対照マウスよりいくらか早く死んだものがあつたが, 対照との間に顕著な差を示さなかつた。

マウスに malonate 25 mg を 1 回腹腔内注射しその直後に *S. enteritidis* を経口投与すると, それらのマウスは, 食塩水を注射された対照マウスと同様に 1~2 週間後に斃死した。

以上感染動物の malonate による生存時間の短縮は, 宿主体内の tricarboxylic acid cycle の障害によると

の推論について論じた。

文 献

- 1) Jungeblut, C. W. & Berlet, J. A.: J. Exp. Med. 43: 613~621, 1926: 43: 797, 1926.
- 2) Lewis, P. A. & Loomis, D.: J. Exp. Med. 43: 263, 1926.
- 3) Meyer, H.: Z. Hyg. Infect. Kr. 106: 124, 1962.
- 4) Ross, G. B.: Brit. J. Exp. Path. 7: 346~352, 1926.
- 5) Ross, V.: J. Immunol. 12: 237, 1926.
- 6) Cannon, P., Bear, R., Sullivan, T. L. & Webster, J. B.: J. Immunol. 17: 441~463, 1929.
- 7) Tuft, L.: J. Immunol. 27: 63~80, 1934.
- 8) Hektoen, L.: J. Inf. Dis. 19: 69, 1916, 19: 737, 1916.
- 9) Hektoen, L. & Corper, H. J.: J. Inf. Dis. 26: 330, 1920, 28: 279, 1921, 31: 305, 1922.
- 10) Weaver, J. B., Tyler, M. W. & Scheurman, D. K.: J. Lab. Clin. Med. 28: 1775, 1943.
- 11) Beuter, H. & Gazon, H. M.: J. Immunol. 68: 227~242, 1952.
- 12) Bond, V. P., Shechmeister, I. L., Swift, M. N. & Fisher, M. C.: J. Inf. Dis. 91: 26~32, 1952.
- 13) Miller, C. P. & Shorter, G.: J. Lab. & Clin. Med. 39: 462, 1952.
- 14) Shechmeister, I. L., Bond, V. P. & Swift, M. N.: J. Immunol. 68: 87~95, 1952.
- 15) Gonschery, L., Marston, P. Q. & Smith, W. W.: Am. J. Physiol. 172: 359~364, 1953.
- 16) Marston, R. Q., Gonschery, L., Alderman, I. M. & Smith, W. W.: Am. J. Physiol. 172: 365, 1953.
- 17) 中川, 神田, 大隈: 日本細菌学雑誌, 8: 891~891, 1953.
- 18) Shechmeister, I. L. & Adler, F. L.: J. Inf. Dis. 92: 228~239, 1953.
- 19) 八田, 山地, 田中, 平林, 山内: 第 23 回日本衛生学会口演, 1953.
- 20) Ackermann, W. W.: J. Exp. Med. 93: 630~624, 1951.
- 21) Ackermann, W. W.: J. Biol. Chem. 189: 421~428, 1951.
- 22) Ainslie, J. D.: J. Exp. Med. 95: 9~18, 1952.
- 23) Mogabgab, W. J. & Harsfall, F. L., Jr.: J. Exp. Med. 96: 531~548, 1952.
- 24) Berry, J. L. & Mitchell, R. B.: J. Inf. Dis. 93: 75~82, 1953, Science, 118: 140~140, 1953.
- 25) Berry, J. L. & Mitchell, R. B.: J. Inf. Dis. 93: 83~92, 1953.
- 26) Potter, V. R. & Busch, H.: Cancer Res. 10: 353~356, 1950.

- 27) Busch, H. & Potter, V. R.: Cancer Res.
12 : 660~665, 1952.
- 28) Busch, H. & Potter, V. R.: J. Biol. Chem.
198 : 71~77, 1952.
- 29) Krebs, H. A., Gurin, S. & Eggleston, L. V.:
Biochem. J. 51 : 614~628, 1952.
- 30) Lifson, N. & Stolen, J.A.: Proc. Soc. Exper.
Biol. & Med. 74 : 451~453, 1950.
- 31) 福見, 佐山, 中谷 : Jap. J. Med. Sci. & Biol.
5 : 487~492, 1952.