ウイルス性疾患に対するメフェネシン・プロピレングリコール溶液の効用

I. メフェネシン・プロピレングリコール溶液のインフルエンザに対するウイルス学的研究——抗ウイルス作用

中西 謙三* 吉岡 勇雄** 高田 雄正***
梅原 千治**** 柳生 三郎**** 村山 寿*****

KENZO NAKANISHI, ISAWO YOSHIOKA, YUSEI TAKATA, SENJI UMEHARA,
SABURO YAGYU AND HISASHI MURAYAMA: MEPHENESINPROPYLENEGLYCOL IN TREATMENT OF VIRAL DISEASES.

I INACTIVATION OF INFLUENZA VIRUS WITH MEPHENESINPROPYLENEGLYCOL

〔受稿 10月23日1957〕

緒 言

ウイルス性疾患に対する治療は、殆どすべて非特異的療法であるが、尚特殊療法としては免疫療法、化学療法も行われて居る。然しウイルス性疾患に対しては細菌感染症に於けるが如き見事な治療成績は得られず、僅かに鼠蹊リンパ肉芽腫症、おうむ病、トラコーマに対するスルホンアミド剤、オーレオマイシン・テラマイシン等二三の抗生物質の有効性が認められているに過ぎなく、インフルエンザの治療も依然対症療法の域を出ないのが現状である。先に著者の一人梅原^{1),2)}は昭和28年冬（大阪15例，A'型流行）の，昭和29年から同33年にかけて（尾ヶ崎及び東京18例，A'型散発）の，及び昭和31年冬（東京60例，A型流行）のインフルエンザ流行に際してメフェネシン，プロピレングリコール溶液（ミオセロール三共）がインフルエンザの治療に効果があつたことを認めた。私達は本剤が非特異的に症候寛解に働くのではないかと考えたのであるが，果してそうであるか或は又抗ウイルス作用を有するのであるか，その機転が何れにあるかを検討したいと考え，先ず次の如き実験を行い，本剤が抗ウイルス性を有するか否かを検討したのでここにその実験成

績を報告する。

実 験

使用薬剤：プロピレングリコールPropylene-glycol (Propanediol-1,2)（以下PPGと略す）——これは製剤用溶剤であつて三共製 PPG を用いた。70%の溶液である。メフェネシンプロピレングリコール溶液Mephenesinpropylene-glycol (3-C-Toloxyl-1,2-propanediol)（以下MPGと略記する）——メフェネシンはBergerとBradleyにより発見された筋弛緩剤であるが，視床またはそれ以下の中脳または脳幹ならびに脊髓中の中間ノイロンに作用すると考えられ，サリチル酸剤に劣らない解熱作用及び局所麻酔作用をも併せ有する。なお本剤はクラレのような呼吸麻痺を認めないとされて居る。私達は三共製静注用製剤ミオセロールMyoserol（メフェネシン2.5%，PPG10%，葡萄糖10%を含む）及び中外製薬製皮下筋肉用注射液マイアノールMyanol（メフェネシンを10%を含む）を使用した。

ウイルス：インフルエンザウイルスA型FMIを用いた。鶏卵接種実験には卵馴化株を，組織培養実験には卵馴化株の組織継代株を，又マウス感染実験にはマ

* 東京医大・内科・臨床ウイルス・リケツチア部
研究所 笠原研究室

****東京医大内科

*****東京医大小児科

**北里研究所笠原研究室

***東京医大小児科，北里研

ウス馴化株を使用した。

実験1 組織培養法によるメフェネシンのインフルエンザウイルスに対する作用

11日卵の漿尿膜 (CAM) を約1cm 平方の大きさに切りとり、この9片を小シャーレに入れる。この様なシャーレを数多く用意する。ミオセロールの原液及びミオセロールを60%, 20%に含む Hanks 液を FM1組織継代株 (c. c. A. 価640) の 10^{-2} , 10^{-3} Hanks溶液と等量混合し室温に10分間放置した。PPGの原液及び60%, 20% Hanks 液も同様 FM1 組織継代株の 10^{-2} , 10^{-3} Hanks 溶液と等量混合して室温に10分間放置した。対照として FM1 組織継代株の 10^{-2} , 10^{-3} 溶液と Hanks 液とを等量混合し室温に10分間放置した。10分間室温放置後各混合液を小シャーレに入れ CAM の小片がこの混合液に浸る様にした。これを室温に30分間放置し、ウイルスを CAM に吸着させた後各 CAM の小片1ヶを普通試験管内に入れ Hanks液 (pH約7.8) を1.5ml 宛加え、ダブルキャップで密栓後35°Cの孵卵器に設置した振盪機に直立のまゝかけて振盪培養し

1サンプルにつき9本の試験管があるから日を逐つて此等のうちより3本宛取り出し内液をブールし、雞赤血球0.25%液でC.C. A. 価を測りウイルスが増殖したかを調べた。

実験成績は第1表の如くで、ミオセロールは原液加のもの (即ちメフェネシン1.25% PPG 5%となつてゐる) はウイルスの増殖を阻止したが、ミオセロール60%, 20%及び PPG は何れもウイルスの増殖を阻止することが出来なかつた。

実験2 鶏卵接種によるメフェネシンのインフルエンザウイルスに対する作用

前実験同様ミオセロールの原液, 60%, 20%液を FM1 卵馴化株の 10^{-3} , 10^{-4} 液と等量混合し室温10分間放置後、その0.1ml を5ヶ宛の11日卵の尿膜腔に接種し48時間孵卵した後尿膜腔液を採取しそのC.C. A. 価を測定してウイルスが増殖したか否かを検した。PPGも夫々その10%, 6%, 2%液をFM1卵馴化株の 10^{-3} 及 10^{-4} 液と等量混合した後前記同様処置した後接種してウイルスの増殖を検した。

実験成績は第2表に示す如くであつた。即ち 10^{-4} ウ

Table 1 Tissue culture of FM1 virus inactivated with mephenesin.

	Solution	mephenesin in Inoculant	P. P. G. in Inoculant	Virus Suspension	HA	Virus Suspension	HA
Myoserol	100%	1.25%	5%	10^{-2}	—	10^{-3}	—
	60%	0.75%	3%		+		+
	20%	0.25%	1%		+		+
Propylene-glycol	100%	0	35%		+		+
	60%	0	21%		+		+
	20%	0	7%		+		+
Hanks solution		0	0		+		+

Table 2 Influenza virus FM1 inactivated with mephenesin (inoculated into eggs)

	Solution	Mephenesin	P. P. G.	Virus Suspension	HA.	Virus Suspension	HA.
		in Inoculant					
Myoserol	100%	1.25%	5%	10 ⁻³	+	10 ⁻⁴	—
	60%	0.75%	3%		+		+
	20%	0.25%	1%		+		+
Propylene- glycol	14%	0	5%		+		+
	9%	0	3%		+		+
	3%	0	1%		+		+
Control		0	0		+		+

Table 3 Mice inoculated with FMI Virus plus Mephenesin (Myoserol)

		FMI 10 ⁻¹	FMI 10 ⁻³	Myoserol control
Myoserol Solution	Mephenesin Concentration in Inoculant	Mice inoculated	Mice inoculated	Mice
100%	1.25%	+ ₆ (1)+ ₆ (1)+ ₆ (1)+ ₆ (2)+ ₈ (2)	× ₀ + ₇ (1)+ ₇ 0)+ ₈ (0)+ ₈ (3)	× ₀ S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂
60%	0.75%	+ ₆ (3)+ ₆ (3)+ ₆ (4)+ ₆ (4)+ ₆ (4)	× ₀ × ₀ + ₆ (1)+ ₆ (1)+ ₇ (1)	S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂
20%	0.25%	+ ₅ (4)+ ₅ (4)+ ₆ (3)+ ₆ (3)+ ₆ (4)	+ ₆ (2)+ ₈ (4)+ ₈ (4)+ ₈ (4)S ₁₂ 0)	S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂ S ₁₂
Virus Control		+ ₅ (4)+ ₅ (4)+ ₆ (4)+ ₆ (4)+ ₆ (3)	+ ₆ (4)+ ₆ (4)+ ₆ (4)+ ₈ (3)+ ₉ (3)	

X₀ Mice died soon after inoculation

+₇ (2) Mice died 7 days after inoculation showing lesion of 2/4 pulmon

イルス液とミオセロール原液とを混合したものに於てはウイルスの増殖を認めなかつたが、他の例ではすべて C. C. A. 価陽性にてウイルスの増殖阻止を認めることは出来なかつた。

実験 3 メフェネシンを作用させたインフルエンザウイルスのマウス感染実験、その一。ミオセロール原液及その60%, 20, 液を作り、その各々にマウス馴化 FMI株の感染マウス肺の10⁻³及10⁻⁴液を夫々等量に加えたもの及び10⁻³, 10⁻⁴ウイルス液、ミオセロール原液、60%, 20%液はブイオンを等量加えたものを1時間4°Cに保ち、約12gのマウス各5匹にエーテル麻酔下0.03ml宛経鼻接種した。接種後12日間観察しマウスの生死及び肺の変化をしらべた。

その成績は第3表に示す通りであつた。即ち、ミオセロールを加えたウイルス液を接種したマウスは殆んどすべて斃死した。その肺の変化はウイルス10⁻³液と混合のものでは原液のものが幾分軽度であつた。又10⁻⁴ウイルス液と混合のものでもやはり原液、60%液のものが20%液のものより肺の変化が幾分軽度であつた。対照としてミオセロールのみ（原液、60%液、20%液、ブイオン等量混合）を接種したものでは原液で接種直後斃死した1匹以外はすべて12日後も生残し、肺には肉眼的に何等病変を認めなかつた。即ちミオセロールは経鼻接種実験に於てはマウスの斃死を防禦す

ることが出来なかつたが、たゞ肺病変の発現は幾分防止するものの如くであつた。マウス肺所見のみについて見るならば対照の FMI 接種マウスは型の如くコンソリデーションを示すに対しメフェネシン加ウイルス接種マウスではメフェネシン高濃度のものでは病変は軽度であつた。

実験 4 マウス感染実験。その二。

今回はミオセロールの代りにマイアノールを用いてその抗ウイルス作用をしらべた。即ちマイアノール（原液はメフェネシンを10%含む）を稀釈してメフェネシン含量1.5%, 0.5%及び0.1%のブイオン稀釈液を作り、その各々にFMI感染マウス肺の10⁻³ブイオン稀釈液の等量を加えたもの及び対照として10⁻³ウイルス液にブイオンを等量加えたものを4°C 1時間放置した後、その各液の0.03mlを10~12gのマウス5匹宛にエーテル麻酔下経鼻接種した。接種後その生死及肺所見を観察した。

その成績は第4表に示す如くであつた。即ち、マイアノールを加えたものを接種したマウスも対照のウイルス液を接種したものと同様すべて6日以内に死亡し、肺には何れも明かなコンソリデーションを認めた。従つてマイアノールは4°C 1時間で0.75%以下の濃度ではインフルエンザウイルス FMI 株を不活化する能力を認めなかつた。

Table 4 Mice inoculated with FMI Virus plus Mephenesin (Myanol)

		Virus FMI 10 ⁻³				
Myanol Dilution	Mephenesin Concentration in Inoculant	Mice				
1: 7	0.75%	+ ₄	+ ₅	+ ₅	+ ₅	+ ₅
1: 20	0.25%	+ ₄	+ ₄	+ ₄	+ ₅	+ ₆
1: 100	0.05%	+ ₄	+ ₄	+ ₅	+ ₅	+ ₅
Control Virus 10 ⁻³ ×½		+ ₄	+ ₄	+ ₅	+ ₅	+ ₆

Table 5 Mice inoculated with FMI Virus and Mephensin (Myanol)

Myanol Dilution	Mephensin Concentration in Inoculant	FMI 10 ⁻¹					FMI 10 ⁻³				
		Mice					Mice				
1 : 2	5 %	× ₀	× ₀	+ ₂ (0)	+ ₂ (0)	+ ₄ (0)	× ₀	+ ₂ (0)	+ ₄ (0)	+ ₇ (0)	+ ₆ (0)
1 : 3	3.3%	× ₀	× ₀	× ₀	+ ₂ (2)	S ₁₁	× ₀	+ ₁ (4)	+ ₇ (0)	+ ₁₁ (0)	S ₁₁
1 : 5	2 %	+ ₇ (2)	+ ₇ (0)	+ ₈ (0)	+ ₉ (2)	+ ₉ (1)	+ ₇ (1)	+ ₇ (4)	+ ₇ (0)	+ ₇ (1)	+ ₉ (0)
Virus Control		+ ₂	+ ₂	+ ₃	+ ₃	+ ₃	+ ₄	+ ₄	+ ₄	+ ₄	+ ₇

Table 6 Mice inoculated with FMI Virus plus Mephensin (Myanol)

	Myanol Dilution	Mephensin concentration in Inoculant	Mice	Mice inoculated with lung marked *,**
FMI 10 ⁻³	1 : 2	2.5 %	× ₀ + ₇ *(0)+ ₈ (1) + ₉ ** (0)	*+ ₄ (1)+ ₅ (4) + ₆ (3), **+ ₄ (2) + ₆ (3) + ₇ (2)
	1 : 4	1.25%	+ ₆ (3)+ ₆ (1) + ₇ (0) + ₇ (1)	
Control	1 : 2	2.5 %	× ₀ + ₁ (0) S ₁₁	
	1 : 4	1.25%	× ₀ S ₁₁ S ₁₁	
	Virus 10 ⁻³ × ½		+ ₆ + ₇ + ₇	

実験5 マウス感染実験。その三。

前の実験でMPGと低濃度ではウイルスに対する不活化作用を何等認めることが出来なかつたのでメフェネシンを10%に含むマイアノールを用いてその高濃度に於ける抗ウイルス作用をしらべた。FMIマウス馴化株の感染マウス肺を磨碎し、ブイオンで10⁻¹及び10⁻³に稀釈し、各稀釈液にマイアノールを加えてメフェネシンの濃度を5%、3%及び2%とし、1時間4℃に放置した後マウス5匹宛にそれらの0.03mlをエーテル麻酔下に経鼻接種し、11日間観察し生死並に肺の変化をしらべた。

実験成績は第5表の如くであつた。即ち、メフェネシンはマウスに対する毒性が相当強いものの様で接種直後に麻痺を起して死亡するものが認められたほか、メフェネシン高濃度のものは早期に麻痺衰弱を生じて死亡するものが多かつた。而もそれ等の肺は肉眼的には著しい変化を認めることがなかつた。二三変化のあるものも多くはインフルエンザ感染マウス肺とは趣を異にし充血を示す程度であつた。マウスは接種後11日の観察期間中に殆どすべて死亡したが、肺所見についてのみ見るならば対照のFMI接種マウスは型の如くコンソリデーションを示して死亡したにかかわらずメフェネシン加ウイルス接種マウスではかかる変化を示すものは甚だ稀であつた。

実験6 マウス感染実験。その四。

次にマイアノールをブイオンで稀釈してメフェネシ

ン濃度5%及び2.5%液を作り、之にFMI感染マウス肺の10⁻³液を等量加え4℃1時間放置後12gのマウス4匹宛にその各混合液0.03mlを経鼻接種すると同時に対照として5%及び2.5%メフェネシン液及び10⁻³ウイルス液に各等量のブイオンを加え同じく4℃1時間放置した後夫々3匹宛のマウスに経鼻接種し11日間観察した。

その成績は第6表に示す如く、対照ウイルス接種マウスは型の如く肺病変を示して斃死し、メフェネシン加ウイルス接種マウスも何れも斃死したが、前実験同様肺病変は頗る軽度であつた。又対照のマイアノール単独吸引マウスは半数は生残し且何等肺変化を示さなかつた。然しながら5%メフェネシン、ウイルス混合液接種マウスで肉眼的に肺病変を示さず斃死したものの肺の10⁻¹液を更に3匹宛の10gマウスに経鼻接種した所、夫等のマウスは代れも型の如く肺にコンソリデーションを示して斃死した。即ちメフェネシンは高濃度でもウイルスFMIを不活化しなかつた。

考 按

以上の実験によりMPGはマウスに対する毒性が強いのみならずインフルエンザウイルスFMIに対してそれに作用してウイルスを不活化する能力を有するが、それはさほど著明なものではないことを認めた。PPGは相当高濃度でもウイルスを不活化しない。従つてMPGの抗ウイルス作用はMPG中のメフェネシン

によるものであろう。私達はウイルス不活化の実験を行っただけで感染動物に対する治療実験は行っていないので、梅原等が報告したインフルエンザに対するMPGの治療的効果がウイルスそのものに対する直接作用か、MPGが生体機嚢に作用して二次的に治療効果を挙げたものか、或はたゞ単に解熱作用を示したにすぎないのかは明かにすることが出来ない。メフェネシンのインフルエンザウイルスFMIに対する不活化能力は大して著しいものではない所を見ると、MPGのインフルエンザ治療効果はむしろウイルスに対する直接の不活化作用以外の何等かの因子が働いて居るものと思われる。この点は今後の実験を俟つて明かにせられなければならない。

結 語

筋弛緩剤として発見されたメフェネシンが臨床的にはインフルエンザに対して治療的効果があると報告されたが、私達はその治療効果が何に基くかを知らうとして、先ずインフルエンザウイルスFMIを不活化するか否かを確かめるために組織培養、鶏卵接種及びマウス感染試験を行つた。その結果メフェネシンは鶏卵馴化FMI株に対して軽度ではあるが、ウイルス不活化能を有することを認めたが、マウス感染試験では明らかな結論を引き出すことは出来なかつた。

文 献

- 1) 梅原千治ほか：ウイルス疾患の治療の試み（メフェネシン・プロピレングリコール溶液単独静注法の効果）内科の領域，5，93～99，昭32
- 2) 梅原千治ほか：メフェネシン・プロピレングリコール溶液による流行性感冒治療の成績，第31回日伝総会，昭32，東京。

ウイルスの血球凝集反応の本態に関する研究

第2報 血球の自家呼吸とその血球の凝集価との関連性について*

中 川 洋**・新 宮 正 久**

YOH NAKAGAWA & MASAHISA SHINGU: STUDY ON THE MECHANISM OF VIRAL HEMAGGLUTINATION.

II. RELATIONSHIP BETWEEN THE ENDOGENOUS OXIDATIVE RESPIRATION OF ERYTHROCYTES AND ITS HEMAGGLUTINATION TITER.

〔受稿10月24日1957〕

緒 言

ウイルスの血球凝集反応の分野には幾多の興味ある問題がある。我々の注目をひいたのは凝集素あるいはウイルスは特定の血球の構成成分に対して特異的親和性を有していることである。Hirst¹⁾によつて見出された一群のウイルスが血球の表面にある基質に対する酵素作用をもっているという発見と Burnet 等²⁾により見出された RDE によつて処理した血球がウイルス吸着誘出によつて変化をうけた血球とウイルスをもちや吸着しないという点で極めて似ているということは、血球はウイルスを吸着するのみで増殖の場とはな

りえない点では宿主細胞とは区別せられなければならないが、その反応に関与する酵素と基質との分析を促すには充分であろう。そこで、このウイルス、凝集素あるいは RDE と血球との関係を検索すればウイルス感染の機序が比較的容易に把握されるのではないかとの考えをもつて、ウイルスに対する receptor のもつ血球表面での生理機能的役割について実験を行つた。しかして、ワールブルグ検圧法により血球の自家（酸化）呼吸とその血球の示す凝集価との間に一連の関連性の存在を認めた。以下この関連性について述べ諸賢の御批判を仰ぐ次第である。

* 此の論文の一部は昭和30年11月6日、日本細菌学会第8回九州支部会（熊本）において発表した。

**久留米大学医学部微生物学教室（主任、中川洋教授）