41) SPEER, V.C., BROWN, H., QUINN, L. & CATRON, D.V.: *J. Immun.*, **83**, 632 (1959). 42) SCHNEIDER, L. & SZATHMARY, J.: *J. Ztschr. f. Immunitätsf.*, **95**, 465 (1939). 43) 鈴木, 及川, 田中: 日畜会報, **37**, 76 (1965).

44) TALBOT, R.B. & ANDRESEN, E.: *Am. J. Vet. Res.*, **25**, 1556 (1964). 45) TITUS, R.S.: *SWest. Vet.*, **13**, 230 (1961). 46) VICKERS, C.L.: *Vet. Med.*, **55**, 37 (1960).

臨 床

豚の実験的急性トキソプラズマ症に対する SDDS (2-スルファモイル-4,4'-ジアミノジフェニルスルホン) の治療効果

大島 慧* 稲見芳治* 田中英文*

(昭和 43 年 9 月 20 日受付)

Therapeutic Effect of 2-Sulfamoyl-4,4'-Diaminodiphenylsulfone (SDDS)

on Acute Experimental Toxoplasmosis in Pigs

S. OHSHIMA, Y. INAMI, and H. TANAKA

(Biological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd., Toda-shi, Saitama, Japan)

SUMMARY

Experiments were carried out to examine the chemotherapeutic effect of 2-Sulfamoyl-4,4'-Diaminodiphenylsulfone (SDDS), which had been found very effective against experimental acute toxoplasmosis in pigs, as well as in mice.

A total of 39 pigs were infected with *Toxoplasma* of porcine origin, and 29 of them medicated with SDDS intramuscularly at doses ranging from 3.75 to 60 mg per kg of body weight per day, beginning at varying time after infection.

The minimal effective dose that would kill the parasite completely when the medication was started on a day after the appearance of obvious symptoms of this disease could be estimated to be around 10 mg/kg which should be given once daily for 7 days. At lower doses, or when the medication was delayed until 4 days after the illness appeared, SDDS was also very effective for suppressing the symptoms, although the parasite still remained in one or a few tissues of the treated pigs.

豚のトキソプラズマ症は、豚の重要な疾病の一つとして、また人への感染源として、近時ますます重視されつつある。

われわれは、多数の物質について探索の結果、SDDS (2-Sulfamoyl-4,4'-Diaminodiphenylsulfone) が、マウスの実験的トキソプラズマ症に対し、従来用いられている Sulfapyrimidine 剤より有効であり³⁾、極めて毒性の低いことを発見した。

本報では、SDDS を豚の実験的トキソプラズマ症に応用した成績を報告する。

材 料 お よ び 方 法

供試原虫株および感染方法：使用したトキソプラズマは、農林省家畜衛生試験場より分与された自然感染豚由来の HG 株で、感染 4 日後のマウス腹水より集めた原虫を生理食塩液で洗滌し、豚の腹腔内に接種した。接種数は、豚 1 頭当り遊離原虫 $1.9 \sim 2.0 \times 10^7$ とした^{1,2,5)}。

供試豚：ヨーク系子豚、体重 15～26 kg で感染 7 およ

び 1 日前に色素試験で抗トキソプラズマ抗体陰性だった 39 頭を用いた。

薬剤および投与方法：SDDS は、0.3～0.4% の CM C (カルボキシメチルセルロース) を含む滅菌生理食塩液に 7% 以下の濃度に懸濁して用いた。サルファモノメトキシンは市販の 10% 注射液を用いた。両剤とも、臀部筋肉内に注射した。

マウス：dd 系雌マウス、体重 20 ± 2 g、6 週令をパラサイテミア (原虫血症) の探索および臓器からの原虫分離に使用した。

観察：a) 臨床症状：直腸温および症状は朝夕記録した。b) パラサイテミア：パラサイテミアは、ヘパリン加全血をマウス 1 頭当り 0.5 ml づつ、1 サンプル 3 頭に腹腔内注射し、接種マウスの発症、斃死により探索した。c) 抗体価推移：血清中抗体は、色素試験で測定した。d) 臓器内原虫の探索：実験豚は感染後 40 日以上経過してから放血殺し、脳、横隔膜、肝、腎、脾、肺、脾、リンパ節、心筋および肋間筋について、トキソプラズマの生残を探索した。方法は、ブレンダー型ホモゲナ

* 田辺製薬株式会社

豚の実験的急性トキソプラズマ症に対するSDDS (2-スルファモイル-4,4'-ジアミノジフェニルスルホン) の治療効果

第1図 実験豚の体温変化と臨床症状 (実験1)

(注) Medication: 投薬

Anorexia and lassitude: 食欲不振および元気なし (衰弱)

Coughing: 発咳 Diarrhea: 下痢 Erythema: 紅斑

イザーにて、10gの臓器に10mlの生理食塩液を加えて乳剤を作り、二重ガーゼで濾過し、濾液5mlにペニシリン10,000u、ジヒドロストレプトマイシン20mgを加え、マウス1頭当たり1mlづつ、1サンプル5頭に腹腔内接種し、マウスの発症、斃死を観察した。接種後4週間生存したマウスは、各サンプルごとに、脳乳剤を作り、健康マウスに継代してさらに観察を続けた。HG株の性質から、1代、2代のいずれにも発症が認められなかった場合、トキソプラズマ陰性と判定した。観察は、感染当日を○日として記録した。

実験成績

実験1. 豚での効力確認
実験

この実験は、マウスのトキソプラズマ症に有効だったSDDSが豚の本症に対して、同様な効果を発揮するかどうかを確認する目的で行なった。8頭の豚を用い、SDDSおよびサルファモノメトキシンは、感染当日から1日1回7日間、角田らの報告⁵⁾を参考に、SDDSは30および60mg/kg/day、サルファモノメトキシンは60mg/kg/day投与した。実験は、1965年9月に開始した。

1-a) 臨床症状: 体温の変化および症状は第1図に示したごとくであった。体温は、全頭いずれも感染2日後に40℃以上になり、薬剤投与豚では2~5日後に平熱に復したが、感染対照豚では7~10日継続した。

SDDS投与の4頭では、発熱期間中食欲不振、元気なく、軽い咳が認められたが、サルファモノメトキシン投与のNo.5では発熱以外、全く異常は認めなかった。感染対照群の3頭では、食欲不振と元気のない状態が感染翌日から13~15日続き、その間No.8に激しい咳、No.6およびNo.8に下痢が認められ、また、耳翼に紅斑が現われた。

1-b) パラサイテミア: 感染1, 3, 5, 12および19日後に、パラサイテミア探索の結果、第1表に示すごとくであった。感染対照群では、No.6が3および5日後、No.7およびNo.8が3, 5および12日後に陽性であったが、薬剤投与豚では、No.1の5日後を除き、すべて陰性であった。

1-c) 抗体価: 感染12, 19および40日後の血清につき、色素試験を行なった結果、第1表に示すごとくであった。SDDS投与の4頭の抗体価は、12日後に最も高く、以後徐々に下降して、40日後には1:64あるいはそれ以下になった。他の4頭では、段々に上昇し、40日後には、1:1024あるいはそれ以上になった。

1-d) 剖検所見および体重変化: 剖検時肉眼的観察では、肺を除き、著変は認められなかった。肺炎の治癒病

第1表 実験豚のパラサイテミアと色素試験抗体価の推移 (実験1)

薬 剤	投 与 量 (mg/kg/day×days)	豚 No.	感 染 後 日 数							
			パラサイテミア					色素試験抗体価		
			1	3	5	12	19	12	19	40
SDDS	30×7	1	—	—	+	—	—	1:64	1:64	1:32
		2	—	—	—	—	—	1:256	1:128	1:64
	60×7	3	—	—	—	—	—	1:128	1:64	1:16
		4	—	—	—	—	—	1:256	1:128	1:64
サルファモノ メトキシン	60×7	5	—	—	—	—	—	1:256	1:1,024	1:1,024
感 染 対 照	—	6	—	+	+	—	—	1:256	1:1,024	1:1,024
		7	—	+	+	+	—	1:1,024	1:2,048	1:4,096
		8	—	+	+	+	—	1:64	1:512	1:4,096

第2表 体重変化と臓器内生残原虫 (実験1)

薬 剤	投 与 量 (mg/kg/day×days)	豚 No.	体 重(kg) 感染前—40日後	脳	横 膈 膜	肝	腎	脾	肺	膵	リ ン パ	心 筋	肋 間 筋
SDDS	30×7	1	22—54	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		2	23—56	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	60×7	3	22—53	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		4	22—55	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
サルファモノ メトキシ	60×7	5	26—55	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+
感染対照		6	17.5—37.5	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+
		7	24—46	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+
		8	15—34	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+

(注)・分離を行なわなかった。

第3表 実験豚のparasitemiaと色素試験抗体価の推移 (実験2)

投与開始時期	投 与 量 (mg/kg/day×days)	豚 No.	感 染 後 日 数									
			パ ラ サイ テ ミ ア					色 素 試 験 抗 体 価				
			1	3	5	10	20	10	20	40		
感 染 当 日	30×7	1	+	+	—	—	—	1:64	1:64	1:64		
		2	+	+	—	—	—	1:16	1:16	1:4		
		3	+	+	—	—	—	1:64	1:32	1:16		
感 染 3 日 後	30×7	4	+	+	+	—	—	1:256	1:512	1:256		
		5	+	+	+	—	—	1:64	1:64	1:64		
		6	+	+	+	—	—	1:256	1:64	1:16		
	60×7	7	+	+	+	—	—	1:64	1:128	1:16		
		8	+	+	+	—	—	1:512	1:256	1:64		
		9	+	+	+	—	—	1:512	1:256	1:64		
感 染 6 日 後	30×7	10	+	+	+	—	—	1:256	1:1,024	1:256		
		11	+	+	+	—	—	1:256	1:1,024	1:156		
	60×7	12	+	+	+	—	—	1:1,024	1:2,048	1:64		
		13	+	+	+	—	—	1:512	1:1,024	1:256		
感 染 対 照	—	14	—	+	+	+	—	1:1,024	1:8,192	1:4,096		
		15	—	+	+	+	—	1:1,024	1:1,024	1:1,024		
		16	+	+	+	+	—	1:256	1:8,192	1:4,096		

第4表 体重変化と臓器内生残原虫 (実験2)

投与開始時期	投 与 量 (mg/kg/day×days)	豚 No.	体 重(kg) 感染前—40日後	脳	横 膈 膜	肝	腎	脾	肺	膵	リ ン パ	心 筋	肋 間 筋
感 染 当 日	30×7	1	19—38.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		2	18—39.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		3	21—40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
感 染 3 日 後	30×7	4	21—41.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	15—35.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		6	23—47	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	60×7	7	18—34.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		8	21—30.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		9	18—39.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
感 染 6 日 後	30×7	10	16—43	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		11	20—42.5	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	60×7	12	20—42	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—
		13	19—44	+	+	+	—	—	—	—	+	+	—
感 染 対 照	—	14	17—21.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		15	18—37.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		16	14—27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

巢が、8頭中6頭に認められたが、感染対照のNo.8では重度、No.6およびNo.7では中等度、SDDS投与

熱になったが、3～5日間、発熱と期を同じくして食欲不振が認められた。No.7では3日間、軽い下痢があっ

のNo.1およびNo.2では軽度、No.4では軽微であった。

体重変化は、第2表に示すごとく、感染対照群に発育の遅れが認められた。

1-e) 臓器内生残原虫：剖検時臓器内原虫分離の結果、第1代マウスにおいて、感染対照豚3頭とサルファモノメトキシ投与No.5の脳、心筋および肋間筋から原虫が検出され、第2代マウスで、No.6のリンパ節から検出された。

SDDS投与の4頭では、いずれの臓器からも分離されなかった(第2表)。

実験2. 投薬開始時期と効果に関する実験

実用的に考えた場合、トキソプラズマ症の治療は、発症後に開始されるのが普通である。そこで、SDDSを感染後3および6日経過後から、1日1回7日間30および60mg/kg/day投与してみた。この実験は、16頭の豚を使用し、1966年2月に開始した。

2-a) 臨床症状：体温表と症状は第2図に示したごとくであった。すべての豚は、感染2日後に40℃以上の発熱を示した。感染当日からSDDSを与えたNo.1からNo.3の3頭では、他の臨床症状は全く認められず、2～3日後に平熱に復した。感染3日後すなわち発症翌日から投与開始したNo.4からNo.9の6頭では、約4日後に平

豚の実験的急性トキソプラズマ症に対するSDDS (2-スルファモイル-4,4'-ジアミノジフェニルスルホン) の治療効果

第2図 実験豚の体温変化と臨床症状(実験2)

(注) Medication : 投薬

Anorexia and lassitude : 食欲不振および

元気なし(衰弱)

Coughing : 発咳

Diarrhea : 下痢

Erythema : 紅斑

た。SDDSを感染後6日、すなわち発症4日後から投与した No. 10 から No. 13 の4頭では、投与開始後1～3日で下熱し、食欲が回復した。No. 10 の耳翼に感染6日後に紅斑が現われ、4日間継続した。感染対照豚3頭中、No. 15 は感染8日後には大体常態に復したが、No. 14 は35日以上、No. 16 は20日近く高熱が続き、激しい咳嗽と食欲不振が認められた。

2-b) パラサイテミア：感染1, 3, 5, 10および20日後に、流血中の原虫を探索した結果、第3表に示すごとく、感染当日からSDDSを投与した群では5日後に、発症後から投与した豚ではNo. 11を除き10日後に陰性であった。感染対照豚は、10日後にもすべて陽性であった。

2-c) 抗体価推移：感染10, 20および40日後の血清について、色素試験を行なったところ、第3表に示すごとくであった。No. 2を除き、10日後には1:64以上の抗体価を示した。SDDS投与豚の最終抗体価は、大体において下降気味で、1:256あるいはそれ以下であったが、感染対照豚の抗体価は、1:1024, 1:4096, 1:4096と高かった。

2-d) 剖検所見および体重変化：SDDS投与豚の剖検時肉眼所見は、No. 2, No. 4, No. 5およびNo. 7に少数の豚肺虫の寄生、No. 8の肝に白色小壊死巣の点在を認めた外、著変は無かった。感染対照豚の内、No. 14に重度の肺炎、胸膜炎死巣および心内膜炎、No. 16に重度の肺炎および胸膜炎を認めた。No. 14の肝辺縁に多量のフィブリン附着があった。

体重変化は、第4表に示したごとくで、No. 14およびNo. 16の發育のおくれが明らかであった。

2-e) 臓器内生残原虫：第4表に示すごとく、SDDSを感染当日あるいは発症翌日から投与した豚からは、全く原虫が分離されなかった。発症4日後から投与した4頭では、No. 10の脳、No. 11の肋間筋、No. 12の脳および心筋、No. 13の脳、横隔膜、心筋および肝から原虫が検出された。感染対照豚では、No. 14の被検全臓器から、No. 16の8臓器から原虫が分離された。

実験3. 発症後投与開始時の最少有効量に関する実験

前記2つの実験の結果、SDDSは豚の急性ト

キソプラズマ症に対し、発症が認められてから投薬を開始して、すぐれた治療効果があることが明らかになった。この実験では、発症翌日から1日1回7日間SDDSを投与した場合の、SDDSの最少有効量を調べることを目的とし、SDDS 3.75, 7.5, 15.0, 30.0 mg/kg/day 7日間の群と、同時に30 mg/kg/dayを下熱の日まで続けた群とを作った。15頭の豚を用い、1966年8月に実験を開始した。

すべての豚が、感染2日後に40℃以上の発熱を示したので、投薬は3日後から行なった。

3-a) 臨床症状：感染対照群およびSDDS 3.75 mg/kg/day 投与群の熱は、7～8日間続いたが、7.5 mg/kg/dayあるいはそれ以上を投与した豚では、第1回注射後3～4日で下熱した。この実験では、高熱時に食欲不振があった外、異常は認められなかった。

3-b) パラサイテミア：第5表に示すごとく感染3, 5, 7, 10, 15および20日後に、パラサイテミアを調べた。感染3および5日後には、すべての豚が陽性だったが、SDDS 7.5 mg/kg/day以上投与豚では7日目以降、3.75 mg/kg/day投与豚では10日目以降陰性であった。感染対照群では、臨床症状が消えていたにもかかわらず、20日後にも陽性であった。

3-c) 抗体価：感染10, 20および40日後の血清についても色素試験を行なった結果、第5表に示すごとくで、No.14を除くすべての豚で、10日後に1:1024に抗体価が上昇した。40日後の抗体価は、SDDS投与豚が、いずれも1:256または1:1024であったのに対し、感染対照豚では、いずれも1:4096を示した。

3-d) 剖検所見および体重変化：剖検時肉眼的観察では、著変は認められず、体重の変化も、第6表に示すごとく、とくに悪いものはなかった。

3-e) 臓器内生残原虫：臓器内生残原虫の探索を行なった結果は、第6表に示すごとくであった。SDDS投与豚の臓器を接種した第1代マウスは全く発症しなかったが、第2代マウスにより、3.75 mg/kg/day 投与3頭の内、No.1の脳および肋間筋、No.2の脳から、また、7.5 mg/kg/day 投与の3頭の内、No.6の肋間筋から原虫が分離された。感染対照群3頭では、心筋、横隔膜、肋間筋および脳から揃って原虫が検出され、さらにそれぞれ2, 3の臓器に認められた。

考察ならびに結論

上述の成績から、マウスの実験的急性トキソプ

第3図 実験豚の体温変化と臨床症状 (実験3)

豚の実験的急性トキソプラズマ症に対するSDDS (2-スルファモイル-4,4'-ジアミノ
ジフェニルスルホン) の治療効果

第5表 実験豚のパラサイテミアと色素試験抗体価の推移 (実験3)

投 与 量 (mg/kg/day×days)	豚 No.	感 染 後 日 数										色 素 試 験 抗 体 価		
		パ ラ サ イ テ ミ ア												
		3	5	7	10	15	20	10	20	40				
3.75×7	{	1	+	+	+	—	—	—	1 : 1,024	1 : 4,096	1 : 1,024			
		2	+	+	+	—	—	—	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 1,024			
		3	+	+	+	—	—	—	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 1,024			
7.5×7	{	4	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 256	1 : 1,024			
		5	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 1,024			
		6	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 256	1 : 256			
15.0×7	{	7	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 1,024			
		8	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 1,024			
30.0×7	{	9	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 256			
		10	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 256			
30.0×4	{	11	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 256	1 : 256			
		12	+	+	—	—	—	—	1 : 1,024	1 : 256	1 : 1,024			
感 染 対 照	{	13	+	+	+	+	+	+	1 : 1,024	1 : 1,024	1 : 4,096			
		14	+	+	+	+	+	+	1 : 256	1 : 1,024	1 : 4,096			
		15	+	+	+	+	+	+	1 : 1,024	1 : 4,096	1 : 4,096			

性は認められなかった。このことから、自然感染における発症の多様性は容易に想像出来るが、不顕性感染の存在を考えれば、極めて複雑な様相が推察される。SDDSを投与した29頭中、臓器から原虫を検出した豚は7頭で、22頭からは全く分離されなかった。7頭の内訳は、発症4日後から投与開始の4頭、発症翌日から投与したうち、3.75 mg/kg/dayの3頭中2頭および7.5 mg/kg/dayの3頭

第6表 体重変化と臓器内生残原虫 (実験3)

投与量 (mg/kg/day ×days)	豚 No.	体重(kg)		横 脳 膜	隔 肝 膜	腎 脾 膜	肺 脾 膜	心 筋 節	リ ン パ 節	心 筋 間 隙
		感 染 前	40 日 後							
3.75×7	1	17.5—44.5	+	—	—	—	—	—	—	+
	2	18.5—45.5	+	—	—	—	—	—	—	—
	3	18.5—48	—	—	—	—	—	—	—	—
7.5×7	4	19.5—53.5	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	20.5—54	—	—	—	—	—	—	—	—
	6	19.5—37.5	—	—	—	—	—	—	—	+
15.0×7	7	16—45	—	—	—	—	—	—	—	—
	8	18.5—44	—	—	—	—	—	—	—	—
30.0×7	9	24.5—63.5	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	21.5—43	—	—	—	—	—	—	—	—
30.0×4	11	17.5—58	—	—	—	—	—	—	—	—
	12	16.5—43	—	—	—	—	—	—	—	—
感染対照	13	22—57.5	+	+	—	—	+	—	+	+
	14	22—50.5	+	+	+	—	+	—	+	+
	15	22—47.5	+	+	—	—	+	+	+	+

ラズマ症に有効だったSDDSが、豚の実験的急性トキソプラズマ症にも、発症が明らかに認められてから投与して、有効であることが明らかになった。自然感染の場合には、発症後から治療が開始されるのが普通なのでこれは重要なことである。実験した最少投与量 (3.75 mg/kg/day) でも有効ではあるが、3.75 および 7.5 mg/kg/day 投与群の少数臓器から原虫が検出されたことから、原虫を完全に殺す最少有効量は、10 mg/kg/day 前後と推測された。

上記3回の実験で、39頭の豚にほとんど同じ条件でトキソプラズマを感染させた。しかしながら、3回の実験の感染対照群間には、観察した諸示標、すなわち臨床症状、パラサイテミア、抗体価推移、剖検所見、臓器内原虫分布の程度に相当な差があり、必ずしも示標間の並行

中1頭で、これらのうち4頭では1臓器から、2頭は2臓器からで、1頭だけ4臓器に原虫を認めた。一方、感染対照豚9頭では、最少3臓器、最も多いものでは被検臓器のすべてから原虫を分離した。臓器別に見れば、脳から全例、心筋および肋間筋から9頭中8頭に原虫生残が認められた。

これらの実験成績から、SDDSは人および動物のトキソプラズマ症治療剤として有用な化合物と考えられる。

終りに本実験に使用したHG株を分与下さり、貴重な御意見を賜った家畜衛生試験場角田清枝官、色素試験について御指導を賜った予防衛生研究所小林昭夫技官に、深甚なる謝意を表します。また、本研究に終始貴重な御意見と御鞭撻を賜った前動物医薬品検査所長信藤謙蔵博士、本研究所所長阿部久二博士ならびに道家信道氏に深謝致します。実験に御協力頂いた矢沢正明氏ならびに新井和文氏に感謝致します。

本報告は第62回ならびに第63回日本獣医学会において、その一部を講演した。

文 献

- 1) FOLKERS, C.: *Vet. Rec.*, 76, 747 (1964).
- 2) FOLKERS, C.: *Vet. Rec.*, 76, 770 (1964).
- 3) OHSHIMA, S., TANAKA, H. & INAMI, Y.: *Jap. J. Parasitol.*, 16, 331 (1967).
- 4) SAKUMA, S., FUJITA, T., OHSHIMA, S. & KIYOMOTO, A.: *Pharmacometrics, in press.*
- 5) TSUNODA, K., SUZUKI, K., ITO, S. & TSUTSUMI, Y.: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 5, 27 (1965).

× × ×