パイロジェンと発熱のしくみ

加 納 晴 三 郎*

1. ま え が き

パイロジェン (pyrogen) とは、ごく微量で恒温動物の体温を異常に上昇させる物質の総称であるが、後述するように古くからさまざまな物質が知られている。一般に pyrogen といえば細菌性発熱物質をさすが、この主成分はグラム陰性桿菌の夾膜を構成するリポ多糖 (lipopolysaccharide : LPS) のことである。

感染や炎症などによる発熱はよく知られており、熱型によって病因の診断は可能であるが実験的に再現させることは困難である¹⁾。その理由は宿主側の正常体温の維持機構にも不明な点が多く、また、感染という宿主側の反応性もさまざまな要因に支配され、実験的な成績と臨床反応と直結させるには、なお、へだたりが大きい²⁾。

発熱物質と発熱機構の問題は発熱物質の化学構造と活性の関係、体温維持機構、また感染という複雑な機構などの諸問題を含んでおり、化学や細菌学のみならず広い学問の分野を包括しており、境界領域の学問として古くから各方面よりの概説が行われてきた^{3)~5)}。

2. 発熱性物質

2-1. 発熱物質

無機物質としては亜鉛や硫黄のコロイドが知られており、有機物質としては脂肪コロイド、牛乳、2,4-dinitrophenol (DNP)、エチコラノロン (男性ホルモンの一種)、植物多糖体や血液型物質などが知られて

いる。また、生体の内因性物質としては白血球性発熱物質 (leucocytic pyrogen : LP) をはじめ、各種の交感神経性アミン類やプロスタグランディンE (男性生殖器より得られるホルモンの一種) などが知られている¹⁾。また、ある種のウイルス、ことにミキソウイルス群であるインフルエンザウイルス、ニューカッスルウイルス (にわとりのウイルス病)、およびムンプスウイルス (おたふくかぜウイルス) などはウサギに感染を伴わない発熱反応を起こすことが知られている⁶⁾、ウイルス病や腸内細菌群感染による発熱についてはここではふれない。

2-2. 細菌性発熱物質

細菌感染における細菌毒素の本態を解明することは細菌学の黎明期よりの問題であった。細菌化学としての基礎を確立したのは Max-Planck 研究所の Westphal 教授である。1952 年 Westphal ら⁷⁾ は多数の腸内細菌より phenol 水で効率よくリポ多糖を抽出する方法を考案し、それによって多数のサルモネラ R 型菌よりリポ多糖を抽出し、それらを加水分解後糖組成を明らかにした。その結果、R 型菌は親株のいかにかわらず、単糖組成は常に一定しており、ヘプトース (Hep), グルコース (Glu), ガラクトース (Gal), KDO*¹, およびグルコサミン (Glu. N) などの 5 種の糖のみであった。S 型菌はこれ以外の糖を含んでおり、したがって、S 型菌のリポ多糖は内部基本型は、この 5 種の糖を基本とするいわゆる R-core を中心として外側に O-側鎖を形成しておりこれが O 抗原特異性を規定しているものと考えた。O-側鎖は菌株により異なっており、マンノース (Man), ラムノース (Rha), フコース (Fuc) および 3,6 デオキシヘキソースなどを含んでいる。このことから S→R 変異と

* Seizaburo KANO 国立衛生試験所大阪支所 (540 大阪市東区法門坂町 6) 薬理部長、大阪大学微生物病研究所 (565 大阪府吹田市山田上) 講師・薬博 Pyrogen and Its Mechanism

*¹ KDO : 2-keto-3-deoxyoctonate

第1図 サルモネラ属 O 及び R 抗原構造と S→R 変異

第2図 サルモネラ, ミネソタ, R 595 株のリピッド A の構造

いう現象は一般に分離した菌は円型の S 型集落 (smooth) を作り、継代するにしたがって周辺の不整な乾燥した粗散な R 型集落 (rough) を作るようになり O 抗原特異性を失う現象をいうのであるが、おそらくは S 型菌が何らかの代謝障害を受けて O 側鎖を作る能力を失ったものと考えられている。したがって、親水性の多糖を失ったために疎水性となり乾燥集落を作るものであろう。このことを図示すると第1図のようになる⁹⁾。

LPS はこのような単位構造の重合体であって分子量はさまざまで普通数百万の鎖状構造をなしている。第1図に明らかなように親水性の多糖体構造と疎水性のリピッド構造を持つため分子は両親媒性を示す。リピッドは lipid A と呼ばれる特異な構造を示し、KDO を介して結合しているが現在でも構造は確定されていないといえる。その理由は菌の種類や抽出方法の差など

によってさまざまな標品が得られるからである。第2図にそれらの代表例としてサルモネラミネソタ株 R 595 の lipid A の化学構造を示した⁹⁾ この構成脂肪酸はラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸および β -ヒドロキシミリスチン酸などで、その比は 1:1:1:3 であるといわれている。脂肪酸の生理活性に関与する度合は明らかでないが、少なくとも LPS 活性のない手であるといわれている。

2.3. 細菌性発熱物質の構造と活性

LPS のような巨大分子は生理活性の発現に分子サイズが関係していることが多く、単位構造の重合度の大小による。発熱活性と分子サイズの関係は発熱機構を明らかにする一つの鍵であると考えられる。

1966年 Ribí¹⁰⁾ は LPS にデオキシコール酸ナトリウム (DOC) を作用させると単位構造に解離し、同時に発熱性を失うが、DOC を透析または希釈すればふたたび活性が回復することを示した。形態的にも

分子の集合と解離が起こることが明らかにされており、第3図に示したごとくとなっている。DOC はほかの発熱物質に作用しないことから、LPS に対する特異反応として利用することができる。すなわち、ある溶液が発熱性を示すとき、これに DOC を加えて発熱が失われるか否か、また、DOC を透析してふたたび活性が現われるか否かで LPS の混在しているか否かを証明することができる。

3. 発熱の機序

3-1. 体温

恒温動物の体温は種属により多少の差があるが哺乳類では 35°C から 40°C の間にある。鳥類は全般に高く、40°C から 42°C の間にある。おそらく急速に運動を要求されるためにエネルギーレベルを常にあげておくことが必要なものと考えられている。

体温がなぜ一定に保たれているかという問題は少なくとも生体の酵素反応を容易に行なわしめる目的があり、そのことはまた物理的に、化学的にも生物の環境への適応性を著しく増大せしめている原因でもあり、生物の進化の過程そのものであるともいえる。

加納晴三郎氏 昭和 22 年京都帝国大学薬学科卒業。慶応大学薬化学研究所及び大阪大学微生物病研究所を経て、38年以降現職。この間、フンボルト給費生として西ドイツ、マールブルグ大学にて研究。専門分野は薬理学及び、毒物学。

第3図 リポ多糖 (LPS) の凝集と解離に伴う発熱性の変化

3-2. 体温の調節機構

体温の調節機構はさまざまな因子が関係し、きわめて複雑であるが、一般的に熱の産生と熱の放散のバランスの上に立っている。産熱の基本は食物の摂取によるが、放熱に關係する要素は血管の拡張、呼吸の促進、また発汗などの生理学的因子に伝導、輻射、対流、温度差などの物理的因子が相互に關係しており現在でも明確な結論が得られているわけではない¹¹⁾。

3-3. 体温上昇の機序

3-3-1. セットポイント説

体温の上昇と下降の機構は主として中枢神経系ことに視床下部に温度感受性ニューロン^{*2}が局在し、その支配にあるとされている。視床下部は生命の基本的な活動をつかさどる神経が集約されており、特に食欲、性欲、睡眠および体温調節機構などが局在している。1961年に中山および Hardy¹²⁾らは視床下部前野に微小電極を挿入して温度刺激を与えたところ、温度に鋭敏に反応するニューロンが存在することを発見し、それぞれ温ユニット、冷ユニットと名づけた。温ユニットの刺激により体温は上昇し冷ユニットの刺激により体温が下降することから定常体温の変動はこのセットポイントの上下への変動により生ずるもので、いわば恒温槽のリレーのセットに相当するものであるとの説を提唱した。この説をセットポイント説と呼び、これを裏づける実験が行なわれた。すなわち、LPS や白血球性発熱物質 (LP 後述) などを直接この冷ユニットのニューロンに投与すれば直腸体温は上昇し、温ユニットに解熱剤を投与すれば体温の下降がみられることが確かめられた¹³⁾。電気生理学的に行なわれたこの実験は体温調節にかかわる、もっとも基本的な実験として現在の主流的な考え方である。

3-3-2. アミン媒体説

Feldberg ら¹⁴⁾により提唱されているもので体温上昇に關与する神経は交感神経であることから、セロトニン^{*3} (5-HT) をネコの脳室内に注射すると体温は上昇し、また、LPS を投与すれば脳内 5-HT 濃度が増加することから、5-HT が発熱媒体として重要であるといっている。また、5-HT の前駆体である 5-ハイドロキシトリプトファン (5-HTP) も同様に発熱を起こすことも知られている。

その他の媒体としてアドレナリン (Adr) およびノルアドレナリン (N-Adr) が神経細胞内で一定の比をもって存在しており、この変動により発熱が起こるというもので、Raskora ら¹⁵⁾の実験によれば Adr および N-Adr を $150\mu\text{g}+20\mu\text{g}$ の比で両者を注射すれば LPS と同様の発熱を起こすことを認めている。

3-3-3. 白血球性発熱物質媒体説

LPS をウサギに注射すれば、ただちに多核白血球 (WBC) や網内系細胞群に補捉され、白血球性発熱物質 (LP) または内因性発熱物質が放出されるが両者はほぼ同一と考えられている。これらは中枢に到達して発熱反応を起こすというものである。この考えは Beeson¹⁶⁾が LPS を注射したウサギの血中に LPS と異なる発熱性物質が存在することを確認したことから出発し、その後 Atkins, Wood らの広範な研究が行なわれており、LP の化学的および生物学的特性がかなり明らかにされ、広く受け入れられている説である²⁾。

LP はウサギの WBC を *in vitro* で $37\sim 41^{\circ}\text{C}$ で培養すれば得られ、LPS を添加すれば収量はさらに増加する。著者ら¹⁷⁾も WBC を大量に培養し、LP の生成機構や生物化学的特性の一部を明らかにしたが、現在までの諸家の結果を総合すれば、LP は WBC 内では不活性化の状態にあるが、活性化機構が作動し、活性化され遊離する。分子量は1万前後のリポタンパク質でリピッドが必須である。易熱性であり、ウサギに注射すれば発熱は一過性におこり、頻回注射してもウサギの反応性は変らず耐性とならないなどの性質が明らかにされている。脳室内に注射すれば微量でも反応することから中枢にレセプターがあるものと考えられる。しかし、体温中枢が LPS と共に LP も反応するということは今後 LP のレセプターの問題として興味が残っている。

*2 広義の神経細胞

*3 5-ハイドロキシトリプタミン、神経細胞内に含まれる交感神経機能の伝達物質

第4図 各種分子サイズのバイロジェンによる注射部位と発熱活性との関係
() はウサギの脳脊髄液中に注射したもの、その他は静脈内注射
A: 分子量30万以上, B: 30万~10万, C: 10万~5万, D: 5万以下
FI-5: タテ軸に温度 (20mm=1°C), ヨコ軸に時間 (40mm=1時間) をとったときの発熱曲線の面積 (mm²) を 100 で除した値, FI-5 は 5 時間までの値

3-3-4. イオン説

一般に神経の興奮は神経細胞膜内外の Na^+ イオンと K^+ イオンの濃度差の変化による。 Na^+ イオン濃度は膜の外に高く、 K^+ イオンはその反対である。刺激（インパルス）の伝達はこの両イオンの濃度勾配が逆になったときに生ずるものであるが通常は Na^+ ポンプによって形質膜外に能動輸送されている。しかし、Feldberg ら¹⁹⁾は 0.9% NaCl 溶液を脳室内に注入するとこのポンプの限界をこえて神経は持続的興奮が起り体温は上昇する現象を認めた。このとき Ca^{++} イオンを添加すれば Na^+ イオンの膜内への流入が止まり、体温上昇は起こらなかった。LPS を加えた場合でも同様であったことから Feldberg は Na^+ イオン濃度が発熱の基本であり、 Ca^{++} イオンはこの作用を止めることから Ca ブレーキと呼んでいる。したがって、これらのイオンの動きの中で特に Ca^{++} イオンが発熱反応に重要な鍵があるのではないかと考える人もある。

3-3-5. その他の考え方

細菌性発熱物質は発熱反応のみならず多様な生理作用を示す。たとえば、直接血管に作用して障害、特に透過性亢進をきたし、シュワルツマン反応を示したり、非特異的感染防御作用やアジュバンド（抗体形成促進）作用を示したり、また、直接組織障害作用や抗腫瘍作用を持つなどさまざまな作用が知られている。全身反応である発熱反応はこれらの諸作用の細胞レベルの作用の集約もしくは相補的なものであるとも考えられる。

著者らの研究グループは pyrogen の主たる発熱作用を明らかにするためには pyrogen の示すそれぞれ

第5図 バイロジェンによる発熱機構の推定図

の生理作用を詳細にし、それらの現象を体系化したものに総合的に理解さるべきだと考えている。現在までに得られた数多くの知見から発熱反応の一つのモデルを考える上に必要な実験事実の主なものは次のごとくである。

ウサギに LPS を静脈内に注射したのち、脳脊髄液 (CSF) を採取しほかのウサギの CSF 内に注射すると発熱を起こすという現象から、静脈内から LPS は一部 CSF 内にもろ過されること。また脳内ではきわめて微量で反応しうが、中枢作用によらない発熱物質である DNP は脳内では発熱を起こさないことなどが明らかとなった。一方、LPS は巨大分子であるがメンブランフィルターで分画すると 30 万以上のものが 84.5%, 30 万から 10 万までのものが 3.8%, 5 万以下のものが 10.9% ぐらいの組成を持っていることが明らかになった。これらの各分画をウサギの CSF および静脈内にそれぞれ注射し、発熱活性を調べた結果、第4図に示したような成績を得た¹⁹⁾。すなわち、CSF 内でも静脈内でも LPS の分子サイズの大きいものほど活性が強いこと、および脳内では反応性はきわめて高いことなどが示されている。このことは二つの重要な意味を持っている。一つは LPS は脳血液関門*⁴ (B.B. Barrier) で捕捉修飾を受ける可能性とほかの一つは LPS は全身臓器に分配され、シュワルツマン反応のごとく何らかの効果を与えている可能性である。第一の点は神経線維梢、またはグリア細胞に含ま

*⁴ 末梢血流と脳神経を直接交流を防ぐ組織でリポタンパクを主とする

れ、また、B.B. Barrier の主成分の一つであると考えられるリポタンパク質 (proteolipid) と LPS との反応性を *in vitro* で検討したところ、LPS は容易に活性を失うことを見いだした。この不活性化の度合は動物種による LPS への反応性にも対応しているようである²⁰⁾。第二の点は LPS は末梢臓器のミトコンドリアに吸着し、ミトコンドリアの機能に影響を与え、特に酸化的リン酸化過程に uncoupler として作用することが明らかにされている。ミトコンドリアの機能への効果と薬理学的反応性は、なお十分に解明されていないが、以上の諸事実と諸家の研究から、著者は現段階における発熱物質とその機構について第5図に示したようなシェーマを考えている。すなわち、LPS は血中の WBC により LP とそれに付随して血管透過性亢進因子 (PF) を放出し、LPS の一部はまた直接 B.B. Barrier を通って中枢のレセプターに到達する。LP は PF によってレセプターに到達し、さまざまな反応系により末梢の発熱機構を作動せしめる。LPS の一部はまた直接この機構に関与すると考えている。

4. む す び

以上二、三の角度から発熱物質とその作用機構を述べたが、発熱反応は全身反応として、複雑な機構の集約であって、特に発熱物質のごとき高分子の反応性はなお未知の点が多く、関連領域の進歩に負うところが大きい。特に体温調節神経が何ゆえに細菌毒素と反応するかという点は発生学的な視点で把握されることも今後の問題点と考えられる。

文 献

1) 吉利 和：内科，32，(2)，272，(1973)

2) 加納晴三郎：ファルマシア，6，(6)，397 (1971)

- 3) E. Atkins : *Physiol. Rev.*, **41**, 580 (1960)
- 4) H. Raskova, J. Vanecek : *Pharmacol. Rev.*, **13**, 1 (1961)
- 5) C. Euler : *Pharmacol. Rev.*, **13**, 361 (1961)
- 6) S. Kanoh, H. Kawasaki : *Biken J.*, **9**, 177 (1966)
- 7) O. Westphal, O. Lüderitz, F. Z. Bester : *Z. Naturforsch.*, **7b**, 148 (1952)
- 8) O. Lüderitz, A. M. Staub, O. Westphal : *Bacteriol. Rev.*, **30**, 192 (1966)
- 9) E. Rietschel, H. Gottert, O. Lüderitz, O. Westphal : *Eur. J. Biochem.*, **25**, 166 (1966)
- 10) E. Ribi, R. L. Anacker, R. Brown, W. J. Hasins, B. Marmgren, K. C. Milner, J. A. : *J. Bacteriol.*, **92**, 1493 (1966)
- 11) 中山昭雄：体温とその調節，中山書店，(東京) (1970)
- 12) A. Nakayama, J. W. Eisenman, J. D. Hardy : *Science*, **134**, 560 (1961)
- 13) A. Wit, S. C. Wang : *Amer. J. Physiol.*, **215**, 1160 (1968)
- 14) W. Feldberg, R. D. Meyer : *J. Physiol.*, **173**, 226 (1964)
- 15) H. Raskova, K. Masek : 2nd int. Pharmacol. Meeting, **2**, 155 (1963)
- 16) P. B. Beeson : *J. Clin. Med.*, **27**, 524 (1948)
- 17) S. Kanoh, H. Kawasaki, M. Yoshida, A. Nishio : *Jap. J. Pharmacol.*, **17**, 125 (1967)
- 18) W. Feldberg, P. N. Saxena : *J. Physiol.*, **211**, 245 (1970)
- 19) Y. Ogawa, S. Kanoh, H. Takagi : *Jap. J. Pharmacol.*, **23**, Sp. 75 (1973)
- 20) 小川義之，加納晴三郎 (未発表)