なり、骨梁及び顎骨外廓の緻密質は、發育が悪くなる。

擧筆するに當り、終始変らざる御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りたる岡田教授並びに種々御教示と御助言を頂いた三村助教授に深く感謝すると共に、本研究に深き御理解を寄せられた長尾学長に感謝の意を表する。

尙本研究は岡田教授の硬組織の生理及び藥理の研究の一部として、文部省科学研究費の援助を受けた。記して謝意を表する次第である。

文 献

1) Addison, W. N. F., and Appleton, J. L., On the development of the ameloblasts of the molars of the albino rat, with special reference to the enamel-free areas. *Anat. Rec.*, Vol. 21, p. 43, 1921. —2) Donaldson, H., *The Rat*. Philadelphia, 1924. —3) Gottlieb, B., u. Orban, B., *Zahnfleisch-Entzündung und Zahnlockerung*. 2. Aufl. Berlin, 1936. —4) 石田竹二, 硬組織の生理及藥理, 第29報 醋酸鉛生体染色による歯牙セメント質形成の研究. *日本藥理学雑誌*, 45 卷 p. 68, 1949. —5) Kronfeld,

R., *Histopathology of the teeth and their surrounding structures*. 2nd ed. Philadelphia, 1945. —6) Lehner, J., u. Plenk, H. *Die Zähne*. Möllendorff's Handbuch d. mikrosk. Anatomie des Menschen. Bd. V/3. Berlin, 1936. —7) Lukomsky, J., *Befunde an einem retinierten Zähne*. *Deutsche Monatsschr. f. Zahnheilk.* Bd. 49, s. 321, 1931. —8) Noyes, F. B., Schour, I., and Noyes, N. J., *Textbook of dental histology and embryology*. Philadelphia, 1944. —9) Okada, M., u. Mimura, T., *Zur Physiologie und Pharmakologie der Hartgewebe*. I. Eine Vitalfärbungsmethode mit Bleisalzen und ihre Anwendung bei den Untersuchungen über die rhythmische Streifenbildung der harten Zahngewebe. *Jap. J. Med. Sc.*, IV. Pharmacol., Vol. 11, p. 166, 1936. —10) 小野友正, 醋酸鉛生体染色法を應用して検索したる大黒鼠の臼歯根成長速度と生後日数との關係, 第11回 日本医学会齒科分科会誌. p. 11, 1942. —11) Shmamine, T., *Das Sekundäres Zement*. *Deutsche Zahnheilk.*, Heft 13, s. 34, Leipzig, 1910. —12) 所敏一, 実験用白鼠の臼歯形態に就いて, 第3回報告 *日本齒科学会雑誌* 30 卷, p. 329, 1937.

鼻疽菌の發育に及ぼす各種物質に就て

財團法人化学療法研究所 (指導 長谷川教授)

篠 塚 徹

(Shinozuka-Tetu)

(本論文の要旨は昭和19年大日本獣医学会第16回学会に於て報告した)。

I. 緒 言

従来鼻疽の治療剤としては水銀剤、沃度剤、Salvarsan 等が使用されたがその効果に就ては讃否両論があり、Lührs¹⁾は数年間に亘つて多数の化学療法剤、細菌製剤並びに血清療法等による鼻疽の治療を試みたが遂に満足すべき結果は得られなかつたと述べている。我國に於ては未兼²⁾は Prontosil によつて化学療法を試みた。

長谷川教授³⁾はさきに多くの共同研究者と共に Biscoclaurin 型アルカロイドの結核の化学療法に関する研究に就て報告した。この研究に於て実験

的結核に対し有効な物質の大部分は Wright の slide cell culture 法 (s. c. c.) で結核菌に対し強力な發育阻止作用を有するものの中にあるのを認めた。勿論 s. c. c. では發育阻止作用はないが生体内で相当有効なものゝあつたのは事實であるが、s. c. c. は病原菌に対する化学療法剤の作用を比較的簡単に観察できるので余等は化学療法剤の選択法としてこの方法を推賞している。

今回の報告では s. c. c. により鼻疽菌の發育を最も強力に阻止する物質を探索し且つその物質の發育阻止力に及ぼす種々なる條件に就て研究し

た。

II. 実験

A. マウス、モルモット、家兎の全血液内に於ける鼻疽菌の発育に就て

s. c. c. は 1929 年 Wright⁴⁾ が血液内に細菌を培養する一新法として案出したもので、此方法に依る各種細菌の血液内培養に関する報告は多数にのぼっている。Prausnitz⁵⁾, Maitland⁶⁾, Hughes⁷⁾, 眞柄⁸⁾等は葡萄球菌に就て、眞柄⁸⁾, Colebrook⁹⁾, Fleming¹⁰⁾¹¹⁾, 斎藤¹²⁾, 石渡¹³⁾等は連鎖球菌に就て、眞柄¹⁴⁾¹⁵⁾, 清水¹⁶⁾等は肺炎双球菌に関して、眞柄¹⁴⁾, 小栗¹⁷⁾等はチフス菌、赤痢菌、コレラ菌等に対し、高橋¹⁸⁾はデフテリ菌に就て夫々報告した。結核菌に関する業績は極めて多く Wright⁴⁾ の報告を初めとして、我國では佐藤¹⁹⁾, 伊藤²⁰⁾, 緒方²¹⁾, 西村²²⁾等の報告がある。其外著者²³⁾は放線菌に就て報告をした。

余は s. c. c. により鼻疽菌の発育を強力に阻止する物質を探索するに先立ち、先づ予備実験として鼻疽菌を健全なマウス、モルモット及び家兎の全血液内に培養してその発育状態を観察した。

供試菌：鼻疽菌札幌株で、菌液の調製法は普通寒天培地 (pH 7.0) に 20 時間培養したもの 1 白金耳を 5 cc のブイオンに浮遊させ、更に之をブイオンにて 10 倍及び 100 倍に稀釈したものである。菌液は調製後可及的速かに使用した。

血液：成熟した健全なマウス、モルモット及び家兎より、心臓穿刺法により無菌的に採血し、その全血液内に培養した。

培養操作：s. c. c. の術式は既に Wright⁴⁾, 佐藤¹⁹⁾, 高橋¹⁸⁾, 伊藤²⁰⁾, 眞柄⁸⁾, 緒方²¹⁾, 西村²²⁾等が詳細に記載しているが余²⁴⁾も既に記述したのでこゝには概要を記載する。即ち滅菌した載物硝子の上に約 0.02 cc の菌液をのせ、之に無菌的に採取した血液 0.2 cc を注ぎ、滅菌した毛細管ピペットにて充分に混和し、この菌血液混和液を予め滅菌しておいた両端に紙片を糊着けた載物硝子の上 2 カ所に滴下し、その上に滅菌した載物硝子を重ね合せた。両硝子の周囲は熔融したパラフィンで緊密に封鎖し 37°C に所要時間培養した。培養時間は 24, 48, 72 時間として夫々の時期に於ける鼻疽菌の発育状況を観察した。培養を終了した時には両載物硝子を離し、血液膜の附着している載物硝子を 5% フォルマリン水 200 cc に数滴の割合に醋酸を加えた液中に投じて、

鼻疽菌を殺菌し、赤血球を溶解する。この液中に約 10 分間浸し、しかる後に之を充分に水洗し、次で乾燥して、ギームサ染色を施して鏡檢した。

培養所見：集落は肉眼的に識別することは極めて困難であるが、ギームサ染色を施した標本を鏡檢すると血液膜の周辺部に殊に集落を認める。集落は白血球を中心として発生するが血液膜の中央部にも散在する (図 2 参照)。個々の集落を形成する菌は幅 0.5 μ 長さ約 3 μ の両

図 1 Slide cell culture 法に於ける鼻疽菌の集落

端鈍円の眞直な或は多少彎曲した杆菌であつて、中には数個の顆粒が念珠狀に連なっているものもある。接種菌数の多い場合及び鼻疽菌の発育に好適な血液内に於ては増殖した菌は集落を形成しないで血液膜上に密生する。反之接種菌数が少い時又は鼻疽菌の発育を抑制する傾向のある血液内に於ては比較的大きな集落を形成する。

実験成績：a. 10 倍稀釈菌液を接種した場合の 48 時間培養所見は家兎血液内に於ては 1 視野 (接物鏡 90 $\times$, 接目鏡 5 $\times$) に直径 10—30 μ の集落が 5—10 個、モルモット血液内に於ては直径 50—80 μ の集落が 1—2 個と、直径 20—30 μ の集落が 3 個、マウス血液内に於ては直径 30 μ の集落が数視野に 4—5 個認められた。

b. 100 倍稀釈菌液を接種した場合の 48 時間培養所見は家兎血液内に於ては 1 視野に直径 40—60 μ の集落が 5—6 個、モルモット血液内に於ては直径 50—80 μ の集落が 4—5 個、マウス血液内に於ては直径 30 μ の集落が数視野に 4—5 個認められた。又家兎血液内に於ては菌は集落形成をして増殖する外、集落を形成しないで増殖する像が認められた。

培養時間による培養成績の差異は 48 時間培養

は24時間培養のものより集落の直径の増大又は集落数の増加が認められたが、48時間培養と72時間培養との間には殆んど差異はなかつた。

以上を通覧するに鼻疽菌は家兎の全血液内に於ける発育が最も良好で、モルモットの全血液内に於ける発育がこれに次ぎ、マウスの全血液内に於ける発育は不良であつた。

B. 全血液内培養法(s. c. c. 法)に於ける鼻疽菌の発育に及ぼす種々物質の影響に就て

供試血液：前実験に於て鼻疽菌は家兎全血液内に於て最も良好な発育増殖を示したので、本実験に於ては体重2.5 kg の健康家兎の全血液を使用した。

培養操作：普通寒天培地(pH 7.0)に20時間培養した鼻疽菌札幌株の1白金耳を5 cc のブイヨンに浮遊させ、更にブイヨンで10倍或は100倍に稀釈したものを使用した。

被検物質：Biscoclaurin 型アルカロイド類10種、色素剤9種並に Sulfonamid 剤9種である。Bisescoclaurin 型アルカロイドは近藤博士より分與されたもので同博士²⁵⁾によると何れも Diphenyläther を構成する橋状酸素を有する物質で、2個の Benzylochinolin がエーテル型酸素で1カ所乃至数カ所で連結された構造を有するものである。長谷川教授²⁶⁾等は之等が実験的結核症に対して結核結節形成阻止作用のある事を既に報告した。供試アルカロイドは Dauricin, Tetrandrin, Isotetrandrin, Berbamin, Oxyacanthin, Cycleanin, Trilobin, Isotrilobin, Cepharanthin 及びタマサキツツラフヂの総アルカロイドである。之等の物質は大部分が防己科植物に含有された成分である。Trilobin, Isotrilobin 及び Oxyacanthin は硫酸塩を、他は塩酸塩溶液を70°C に30分間3回宛滅菌して使用した。色素剤は Karbonium 族の Fuchsin (Merck), Rubin S (Merck), Crystallviolett (Grübler), Gentianaviolett B (Merck), Methylgrün (Merck), Azin 系の Safranin O (Grübler), Thiazin 系の Methylenblau (Merck), Monoazo 系の Indoinblau 及び Methylorange (小西)の9種で何れもその水溶液を加熱滅菌して使用した。Sulfonamid 剤は 4'-Sulfonamid-phenyl-azo-7-äthylamino-1-oxy-naphtalin-3, 6 disulfonsäure である Prontosil soluble (Bayer), Para-aminobenzol sulfonamid である Therapol (第一製薬), Para-aminobenzol sulfonacetamid である Neogerison (山之内), 2-para-Aminobenzol sulfonamid-

pyridin である Adiplon (塩野義)及び Trianon (田辺)等の注射薬及び浅野教授²⁶⁾が合成した枝鎖脂肪酸基を有する N'-Acylsulfanilamid の誘導体である N'-dodecanoyl-sulfanilamid, N'-undecenoyl-sulfanilamid, N'-(α -methyl)-tetradecanoyl sulfanilamid, N'-(α -methyl)-dodecanoyl-sulfanilamid の9種である。

培養操作：大体前実験に準ずるが菌液は0.02 cc, 被検物質は0.02 cc, 家兎全血液は0.2 cc を混和して37°C に48時間培養した。発育阻止作用のある物質に就ては2回以上実験を繰返してその結果を確めた。

培養所見：菌の発育が阻止されない標本では前実験に記載した様な所見であるが、発育が多少抑制された場合には菌体は延長して糸状となり、集落の中央部に於ては纏れ合つて塊状をなし、延長した菌糸は集落の周辺部より放射状に延びている。この延長した菌糸中には数個の濃青色の顆粒が存在しているものがある。而して菌糸の両端は何れも鈍円を呈している。培養成績の判定は(一)全然発育せぬもの、(±)発育極く微弱、(+)発育微弱、(++)発育稍々良好、(+++)発育良好とした。

実験成績：Biscoclaurin 型アルカロイドでは表1の様に Cepharanthin は1000倍稀釈、Oxyacanthin は2000倍稀釈迄鼻疽菌の発育を完全に阻止した。他のアルカロイドでは2000倍稀釈で多少阻止力のあるものはあつたが、4000倍稀釈では阻止作用は認められなかつた。

色素類では表2の様に Crystallviolett は5000倍稀釈で菌の発育を完全に阻止し、50000倍稀釈でもなお阻止作用を認めた。Methylorange は10000倍稀釈でかなり強力な発育阻止力を示した。

Sulfonamid 剤では表3 A—Dの様に Prontosil soluble 及び Sulfonamid (Therapol) は500倍稀釈でも発育阻止作用は全く認められなかつた。然るに Sulfonacetamid (Neogerison) は40000倍稀釈迄、Sulfapyridin (Adiplon, Trianon) は80000倍稀釈迄菌の発育を完全に抑制し、阻止作用は極めて強力であつた。Sulfapyridin の発育阻止作用は320000倍稀釈に於てもなお認めることができた。N'-acylsulfanilamid の誘導体では N'-dodecanoyl-sulfanilamid は8000倍稀釈迄、N'-undecenoyl-sulfanilamid は4000倍稀釈迄、

N'-(α -methyl)-tetradecanoyl-sulfanilamid 及び N'-(α -methyl)-dodecanoyl-sulfanilamid は夫々 2000 倍稀釈迄強力に菌の發育を阻止した。

表1 Biscoelaurin 型アルカロイド類の鼻疽菌の發育に及ぼす影響(48時間培養)

濃度 物質名	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	対照
Dauricin	+++	+++	+++	+++	+++
Tetrandrin	++	+++	+++	+++	+++
Isotetrandrin	+++	+++	+++	+++	+++
Berbamin	++	+++	+++	+++	+++
Oxyacanthin	—	—	++	+++	+++
Cycleanin	++	++	+++	+++	+++
Trilobin	+	+++	+++	+++	+++
Isotrilobin	+++	+++	+++	+++	+++
Cepharanthin	—	+	+++	+++	+++
タマサキツブラフ チ総アルカロイド	++	++	+++	+++	+++

表2 諸種色素類の鼻疽菌の發育に及ぼす影響(48時間培養)

濃度 色素名	5000	10000	50000	100000	対照
Indoinblau	+++	+++	+++	+++	+++
Fuchsin (M)	+++	+++	+++	+++	+++
Rubin S (M)	++	++	++	++	+++
Methylgrün (M)	++	+++	+++	+++	+++
Gentianaviolett B (M)	++	+++	+++	+++	+++
Crystallviolett (G)	—	+	++	+++	+++
Safranin O (G)	+	+	+	+	+++
Methylenblau (M)	+++	+++	+++	+++	+++
Methylorange (小西)		±	++	+++	+++

(M) Merek 製 (G) Grüber 製

以上の成績を通覽するに供試物質 28 種の中で鼻疽菌の發育を最も強力に阻止したのは Sulfapyridin 2 種で、それについては Sulfacetamid であつて、菌の發育を完全に阻止する濃度は前者は 80000 倍稀釈、後者は 40000 倍稀釈であつた。

表3 諸種 Sulfonamid 剤の鼻疽菌の發育に及ぼす影響(48時間培養)

A. Prontosil solbile

濃度	1:500	1:1000	1:2000	対照
	+++	+++	+++	+++

B. Para-aminobenzol-sulfonamid (Therapol)

濃度	1:200	1:400	1:800	1:1600	対照
	±	++	++	+++	+++

C.

濃度 物質名	1:40000	1:80000	1:160000	1:320000	1:640000	対照
Para-aminobenzoi- sulfonacetamid (Neogerison)	—	++	++	+++	+++	+++
2-para-aminobenzol- sulfonamidpyridin (Adiplon)	—	—	+	++	+++	+++
" (Trianon)	—	—	+	++	+++	+++

D.

濃度 物質名	2000	4000	8000	16000	32000	64000	対照
N'-dodecanoyl- sulfanil-amid	—	—	±	+	++	+++	+++
N'-undecenoyl- sulfanil-amid	—	—	+	+++	+++	+++	+++
N'-(α -methyl)-te- trade-canoyl- sulfanilamid	—	+	+++	+++	+++	+++	+++
N'-(α -methyl)- dodecanoyl- sulfonamid	—	+	++	+++	+++	+++	+++

C. 試験管内に於ける鼻疽菌に及ぼす Sulfapyridin の影響に就て

次に Sulfapyridin の鼻疽菌に対する發育阻止作用に及ぼす條件に就て実験を行つた。

供試菌液：5%グリセリン寒天培地に 20 時間培養した鼻疽菌札幌株 1 白金耳を 10 cc の普通ブイヨン又は生理的食鹽水に浮游させたもの或は之を更に 10 倍、100

倍, 1000 倍に稀釈した菌液を使用した。

被検物質: Sulfapyridin は Trianon 注射薬(田辺)を種々なる濃度に稀釈して, その一定量を一定量の液体培地に添加した。

a. Sulfapyridin の発育阻止作用と接種菌量との関係
5%グリセリンブイオン培地(pH 6.9)9.0 cc に Sulfapyridin 稀釈液 1.0 cc を注加し, 物質の濃度は1万倍, 2万倍, 4万倍……123万倍稀釈とした。菌液は10倍, 100倍, 1000倍稀釈液を駒込ビベットで各1滴宛接種した。その12, 24, 48, 120時間目の培養成績は表4の様

表4 Sulfapyridin の発育阻止作用と接種菌量との関係

接種菌液	培養時間	濃 度									
		一万倍	二万倍	四万倍	八万倍	一六万倍	三二万倍	六四万倍	一二八万倍	対照	
一〇〇〇倍菌液	12時間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	24 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	48 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	120 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
一〇〇倍菌液	12 "	—	—	±	±	+	+	+	+	+	+
	24 "	—	—	±	±	+	+	+	+	+	+
	48 "	—	—	±	±	+	+	+	+	+	+
	120 "	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
一〇倍菌液	12 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	24 "	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+
	48 "	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	120 "	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

である。培養成績は培地の濁濁の程度により+, ++, +++にわけ, 全然濁濁をおこさないものを—, 判定困難なものを±とした。なお濁濁をおこした試験管については塗抹標本を作つて鼻疽菌であることを確めた。10倍稀釈の菌液を接種したものでは Sulfapyridin の濃度が1万倍稀釈でも発育を阻止しなかつた。然るに100倍稀釈の菌液を接種したものでは48時間迄の完全阻止濃度は2万倍稀釈, 120時間では1万倍稀釈であつた。1000倍稀釈の菌液を接種したものでは48時間迄の完全阻止濃度は4万倍稀釈, 120時間では1万倍稀釈であつた。

以上の成績より同一濃度の Sulfapyridin でも接種菌量が多ければ発育阻止力は弱く, 少ければ強く現われる。又接種菌量が少い時には観察を例えば120時間位迄行わなければ成績の判定を誤ることがある。

b. Sulfapyridin の発育阻止作用と接種菌の陳旧度との関係

4%グリセリンブイオン培地(pH 6.4)に Sulfapyridin 稀釈液を $1/10$ 量宛注加し, 24, 48, 72, 99時間培養の鼻疽菌の10倍稀釈菌を駒込ビベットで各1滴宛接種した。その結果は表5の様に発育阻止力は24時間後の観察では24時間培養菌を接種したもので32000倍稀

表5 Sulfapyridin の発育阻止作用と接種菌の陳旧度との関係

観察時間	接種菌の陳旧度	濃 度									
		二万倍	四万倍	八万倍	一六万倍	三二万倍	六四万倍	一二八万倍	二五万六千倍	対照	
二四時間	24時間培養菌	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	48 "	—	—	—	—	—	—	±	±	±	+
	72 "	—	—	—	—	—	—	—	±	±	+
	99 "	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+
四八時間	24 "	—	—	—	—	±	+	+	+	+	+
	48 "	—	—	—	—	±	±	+	+	+	+
	72 "	—	—	—	—	—	±	+	+	+	+
	99 "	—	—	—	—	—	±	±	+	+	+
七二時間	24 "	—	—	—	—	±	+	+	+	+	+
	48 "	—	—	—	—	±	+	+	+	+	+
	72 "	—	—	—	—	±	+	+	+	+	+
	99 "	—	—	—	—	—	±	+	+	+	+

釈, 99時間培養菌を接種したものでは128000倍稀釈であつた。併し72時間後の観察では前者は16000倍, 後者は32000倍稀釈で, その差は著明でなくなつた。48時間培養菌と72時間培養菌に対する発育阻止作用は概ね同程度であつて, 前記の新鮮菌と陳旧菌に対する発育阻止作用の大体中間であつた。之を要するに鼻疽菌は老齡な程 Sulfapyridin の発育阻止作用を受け易い。

c. Sulfapyridin の発育阻止作用と培地の種類との関係

Sulfapyridin を添加した5%グリセリンブイオン(pH 6.9), 1%葡萄糖ブイオン(pH 7.0), 10%家兎血清ブイオン(pH 6.8)に1000倍稀釈の菌液を駒込ビベットで滴宛接種し, 又薬剤を添加した4%グリセリンブイオン(pH 7.0), 1%ベプトン水(pH 5.6), 普通ブイオン(pH 7.0)に10倍稀釈の菌液を駒込ビベットで1滴宛接種し48時間培養せるに, その成績は表6の様に1000倍稀釈菌液を接種した場合は Sulfapyridin はグリセリンブイオン培地では4万倍, 葡萄糖ブイオン培地では8万倍, 血清ブイオン培地では64万倍まで菌の発育を完全に阻止した。10倍稀釈菌液を接種した場合はグリセリンブイオン培地及びブイオン培地では5千倍稀釈で

表6 Sulfapyridin の發育阻止作用と培地の種類との関係(培養 48 時間)

接種菌液	濃 度		濃 度									
	培地の種類		五 千 倍	一 万 倍	二 万 倍	四 万 倍	八 万 倍	一 六 万 倍	三 二 万 倍	六 四 万 倍	一 二 八 万 倍	対 照
一稀 ○釈 ○菌 ○液 倍	5%グリセリン ブイオン		—	—	—	—	—	+	+	+	++	++
	1%葡萄糖 ブイオン		—	—	—	—	—	—	+	+	+	++
	1%血清 ブイオン		—	—	—	—	—	—	—	—	—	±
一釈 ○菌 倍液 稀	1%ペプトン水		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	4%グリセリン ブイオン		—	±	±	±	±	+	++	++	++	++
	普通ブイオン		—	±	±	+	++	++	++	++	++	++

菌の發育を完全に阻止したが、ペプトン水では全然阻止作用が認められなかつた。

d. Sulfapyridin の發育阻止作用と培地の pH との関係

pH 6.0, 6.5, 6.9, 7.4 の 5%グリセリンブイオン培地に Sulfapyridin を種々の濃度に添加し、1000 倍稀釈の菌液を駒込ピペットで 1 滴宛接種して 37°C に一定時間保つた。その成績は表 7 の様に 48 時間目の所見では

表7 Sulfapyridin の發育阻止作用と培地の pH との関係

観 察 時 間	濃 度		対 照									
	培地の pH		一 万 倍	二 万 倍	四 万 倍	八 万 倍	一 六 万 倍	三 二 万 倍	六 四 万 倍	一 二 八 万 倍		
一 二 時 間	6.0	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+	
	6.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	6.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	7.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
二 四 時 間	6.0	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+	
	6.5	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+	
	6.9	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+	
	7.4	—	—	—	—	—	—	±	±	+	+	
四 八 時 間	6.0	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	
	6.5	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	
	6.9	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
	7.4	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	

培地の pH が 6.0 及び 6.5 では 2 万倍、pH 6.9 では 4 万倍、pH 7.4 では 16 万倍の稀釈で菌の發育を完全に阻止した。即ち Sulfapyridin はアルカリ性の培地に於て

發育阻止作用が強力であつた。

e. クエン酸ソーダ加家兎血液内に於ける Sulfapyridin の殺菌作用

以上の実験は何れも鼻疽菌に対する Sulfapyridin の發育阻止作用に関するものであるが、殺菌作用に就て次の様な実験を行つた。即ち 3.8% クエン酸ソーダ液を 20% の割に添加した家兎血液 1.8 cc に各種濃度の Sulfapyridin 稀釈液 0.2 cc を加え、之に菌液を駒込ピペットで 1 滴宛接種し、37°C に一定時間作用させ、その 2 白金耳をグリセリンブイオン培地 (pH 7.0) に接種して 48 時間培養した。その成績は作用時間が 5 時間では 400 倍、12 時間及び 20 時間では 800 倍、48 時間では 1600 倍稀釈であつた。

f. 鼻疽菌の Sulfapyridin に対する薬剤抵抗性

5%グリセリンブイオン培地 (pH 7.0) に Sulfapyridin 稀釈液を 1/10 量宛注射し、之に菌液を駒込ピペットで数滴宛接種し、37°C に 48 時間培養し、菌が發育して来た試験管の中 Sulfapyridin の濃度が最も高い培地に發育して来た菌を次の Sulfapyridin 添加培地に移植し、かくの如くにして 4 代迄継代培養したその成績は表 8 の様

表8 Sulfapyridin 添加培地に於ける鼻疽菌の継代培養成績(42 時間毎に継代培養)

濃度 継代數		濃度								
		五千倍	一万〃	二万〃	四万〃	八万〃	一六万〃	三二万〃	六四万〃	対照
第1代	第2代	—	—	—	—	±	十 ¹	++	++	++
第3代	第4代	—	—	—	—	十 ²	+	++	++	++
第3代	第4代	—	—	—	十 ³	++	++	++	++	++
第4代	第4代	—	—	+	+	++	++	++	++	++

(1 の菌液を第 2 代に、2 の菌液を第 3 代に、3 の菌液を第 4 代に接種せり)

に第 1 代では鼻疽菌は Sulfapyridin の濃度は 16 万倍稀釈で發育したが、第 2 代では 8 万倍、第 3 代では 4 万倍、第 4 代では 2 万倍稀釈で發育した。即ち代を重ねるに従つて鼻疽菌は Sulfapyridin の發育阻止作用を受け難くなつた。

III. 考 察

マウス、モルモット、家兎等の鼻疽感染試験に就て持田²⁷⁾は鼻疽菌をマウスの腹腔内に接種せるに病巣は脾臓に著明で、肝臓、肺臓等には少く、ストラウス反應陽性のものは少いと報告してい

る。辻²⁸⁾はモルモットの腹腔内に接種すれば速かに且つ確実にストラウス反應は発現するが、睪丸以外の臓器に於ては病変は皆無又は僅少であつたと述べている。寺門²⁹⁾も大体同様な所見を認めている。渡辺³⁰⁾は家兎の腹腔内に接種した場合は睪丸、副睪丸及び鼻部に著明な病変を認めたが一般実質臓器に於ける病変は是に平行しなかつたと報告している。以上の文献より鼻疽菌の実験的感染に対してマウス感受性が極めて強いものではない様である。これに対してモルモット及び家兎は感受性が強く、殊に家兎は一番強い様に考えられる。

余の実験成績では s. c. c. による鼻疽菌の発育に対しては家兎血液が最も適当で、モルモット血液はこれにつぎ、マウス血液は好適でなかつた。

s. c. c. による細菌の全血液内培養成績と動物の感性との関係につき佐藤³¹⁾は人型結核菌は感受性強き動物の血液内では旺盛な発育増殖をとげたが、先天的に結核に対して免疫性の強い動物の血液内では増殖しなかつたと報告し、竹谷³²⁾は各種動物の全血液内に各種結核菌を培養し実験の一部に於ては先天性結核免疫と菌の増殖阻止現象とが一致した事を報告した。又著者²⁹⁾は放線状菌は家兎の全血液内に於て最も良好な発育をとげ、モルモット、ラツテ、マウス等の全血液内に於ては発育は一般に旺盛でない事を観察し、長谷川教授等³³⁾が実験的放線状菌症の実験動物としては家兎がモルモット、ラツテ、マウスより適当であつたと述べた成績と比較し、血液の抗菌性と動物の感受性との間に関係がある様に思われると曾て報告したが、鼻疽菌に就ても血液の抗菌性と動物の感受性との間に何等かの関係があるのではなからうかと思われる。

s. c. c. に於て Crystallviolet は 5000 倍稀釈で鼻疽菌の発育を完全に阻止し、供試色素種の中で最も阻止作用が強力であつたが、河合³⁴⁾、豊島³⁴⁾も試験管内に於て Crystallviolet は鼻疽菌に対して強力な発育阻止作用又は殺菌作用のある事を認めている。未兼等²⁾は Prontosil の鼻疽症

に対する作用を述べたが、余の実験成績では発育阻止力は極めて弱いものであつた。Sulfonamid 剤 9 種の内でも最も発育阻止作用が強力であつたのは Sulfapyridin で 8 万倍稀釈迄鼻疽菌の発育を完全に阻止し、64 万倍稀釈でもなお発育阻止作用が認められた。

余等²⁹⁾は結核の化学療法の研究に於て s. c. c. にて結核菌の発育を強力に阻止する物質の中に動物実験に於て有効な物質のある事を述べたが、この見地より余は s. c. c. により鼻疽菌に対する発育阻止力の最も強力であつた Sulfapyridin を動物実験に移してその効果を観察したい。

試験管内に於ける Sulfapyridin の鼻疽菌に対する発育阻止作用は次の様な條件によつて影響をうけた。Colebrook³⁵⁾は Sulfonamid は培地内に於て少数の溶血性連鎖球菌を接種した場合には発育阻止作用を示すが、多数の菌を接種した時は発育阻止作用は低下すると述べているが、鼻疽菌に於ても接種菌量が少い程 Sulfapyridin の発育阻止力は強力である。Finkelstone-Sayliss,³⁶⁾ Long, Bliss³⁶⁾等は Sulfonamid は陳旧培養の連鎖球菌に対する方が幼若菌に対するより効果があつたと報告し、長谷川教授³⁷⁾は Sulfapyridin の肺炎双球菌に対する発育阻止作用は老朽菌程著明であつたと述べているが、鼻疽菌に於ても陳旧培養程 Sulfapyridin の発育阻止力は強力である。Long, Bliss³⁶⁾、長谷川教授³⁷⁾等は Sulfonamid の効果は poor medium に於ける方が rich medium に於けるより強力であると述べたが、鼻疽菌に於ても Sulfapyridin の発育阻止力は rich medium に於けるより poor medium に於ける方が強力である。家兎血清加ブイオン培地に於ける鼻疽菌の発育は極めて不良であつて、Sulfapyridin を 128 万倍稀釈に添加した方が反つて菌の発育が良好であつた。s. c. c. では家兎全血液内に於ける発育は極めて旺盛であつた。又クエン酸ソーダ加家兎血液内に於ても鼻疽菌は生存していた。実験結果より家兎血清ブイオン培地内に於て鼻疽菌の発育が不良な理由は明かでなく将来の研究に俟ちたい。ペプトン水に於ては Sulfapyridin の

発育阻止作用が低下したのは、Lockwood³⁸⁾が指摘した様にペプトンには Sulfonamid 剤の作用を妨碍する因子がある事と、培地が酸性の爲と思われる。長谷川教授は小泉と共に肺炎菌に対する Sulfapyridin の作用状態は基礎培地の水素イオン濃度の相違により著しい発育状態の変化を示すことを報告した。鼻疽菌に於ては培地が弱アルカリ性の方が Sulfapyridin の発育阻止作用は強力であつた。小泉⁴⁰⁾は試験管内で Sulfonamid を添加した培地に肺炎菌を継代培養すると菌は薬剤抵抗性を獲得する事を報告した。鼻疽菌に於ても Sulfapyridin 加培地に継代培養すると菌は薬剤抵抗性を得る。

IV. 結 論

(1) 鼻疽菌は Slide cell culture 法により家兎全血液内に於て最も良好なる発育をとげ、モルモット全血液内に於ては之に次ぎ、マウス全血液内に於ては最も不良であつた。

(2) Slide cell culture 法により鼻疽菌の発育阻止作用は Biscoclaurin 型 アルカロイド 10 種の中では Oxyacanthin が、色素類 9 種の中では Crystallviolett が最も強力であつた。Sulfonamid 剤 9 種の中では Sulfapyridin 及び Sulfonacetamid が強力で、完全阻止濃度は前者は 8 万倍稀釈、後者は 4 万倍稀釈であつた。

(3) 試験管内に於ける Sulfapyridin の鼻疽菌に対する発育阻止作用は接種菌量、接種菌の陳旧度、培地の成状、培地の pH 等により影響をうけた。

(4) 試験管内に於て鼻疽菌は Sulfapyridin に対する抵抗性を獲得した。

(5) 家兎血液中に於ける Sulfapyridin の鼻疽菌に対する殺菌力は 1600 倍稀釈であつた。

(附 記)

最近 American Journal of Hygiene, Vol. 47, No. 2, 1948 に Miller 等は Sulfadiazine は試験管内で鼻疽

菌の発育を強力に阻止し、且つ hamster に於ける実験的急性鼻疽症に対して非常に有効であつたと報告し、既に鼻疽症患者 6 例に於て Sulfadiazine 療法が効果を収めたことを紹介している。

(欄筆に臨み 恩師長谷川教授の御指導御鞭撻を謝し、供試物質を惠與下さつた 近藤博士及び 浅野教授に深謝し、文献の閲覧に就て種々御便宜を賜つた予研田島所員並に東大山本教授の御好意に感謝します)。

文 献

- 1) Lühns, Handb. d. path. Mikroor., Bd. 6, Teil I, 1929. —2) 未発, 当山, 満洲國馬疫研究処報告, 1 号, 康德 7 年. —3) 長谷川編, 結核の化学療法に関する研究, 1942. —4) Wright, Colebrook a. other, Lancet, p. 356, 1923. —5) Prausnitz, Meitzner, Zent. f. Bakt., Bd. 94, 1925. —6) Maitland, Brit. J. Exp. Path., Vol. 7, 1926. —7) Hughes, Brit. J. Exp. Path., Vol. 17, 1936. —8) 眞柄, 日婦会誌, 26 卷, 1931. —9) Colebrook, Buttle a. other, Lancet, p. 1323, 1936. —10) Fleming, J. of Path. and Bact., Vol. L, 1940. —11) Fleming, Lancet, p. 74, 1933. —12) 石渡, 日婦会誌, 13 卷, 1929. —13) 眞柄, 実験医学, 13 卷, 1929. —14) 眞柄, 日婦会誌, 26 卷, 1931. —15) 清水, 実験医学, 24 卷, 1940. —16) 小栗, 実験医学, 22 卷, 1938. —17) 高橋, 実験医学, 11 卷, 1927. —18) 佐藤, 実験医学, 10 卷, 1926. —19) 伊藤, 結核, 8 卷, 1930. —20) 緒方, 結核, 10 卷, 11932. —21) 西村, 結核, 13 卷, 1935. —22) 篠塚, 口腔病学会雑誌, 17 卷, 1943. —23) 篠塚, 長谷川編著結核の化学療法に関する研究, 62 頁, 1942. —24) 近藤, 薬学雑誌, 55 卷, 1935. —25) 浅野, 中野外, 薬学雑誌, 64 卷, 1944. —26) 持田, 日獸会誌 14 卷, 1935. —27) 辻須藤, 陸軍獸医学学校昭和 13 年度研究, 1 班, 1939. —28) 寺門, 三角外, 家畜衛生協会報, 1939. —29) 渡辺, 中村, 日獸会誌, 3 卷, 1941. —30) 竹谷, 十全会誌, 46 卷, 1941. —31) 長谷川, 宮崎外, Japanese J. of Med. Sciences. V. Path. Vol. III, 1933. —32) 河合, 衛生学傳染病学雑誌, 22 卷, 1926. —33) 豊島, 澁谷, 日獸会誌, 16 卷, 1937. —34) Finckelstone-Sayliss, Lancet, p. 792, 1937. —35) Long, Bliss, Clinical use of sulfanilamide and sulfapyridine and allied compounds, 1939. —36) 長谷川, 日傳会誌, 16 卷, 1942. —37) Lockwood, Lynch, J. A. M. A., 114, 1940. —38) 長谷川, 小泉, 日本医学及び健康保険, 2241 頁, 1942. —39) 小泉, 実験医学, 27 卷, 1943.