

日本熱帯医学会雑誌

Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene

第 3 卷 第 3, 4 号

昭和 50 年 12 月 15 日

内 容

総 説

- 熱帯医学と鉄代謝 (英文) 榊屋 富一 205-218
Pharmacological Classification of Toxic Proteins from Snake Venoms LEE, C. Y. 219-225

原 著

- 東カリマンタンおよび西イリアンにおけるクロロキン耐性熱帯熱マラリア
第 2 報 海老沢 功, 福山 民夫, 川村 善治 227-234
ラオスに於けるマラリアに対する Sulfamonomethoxine, Chloroquine 及び
Pyrimethamine の治療成績の比較検討 (英文)
..... 山本 利雄, 天野 博之, 山中 亨, 岩本 宏文
相原 雅典, 岡田 雅幸, 小野 喜雄, 柴崎 定男 235-245
ネパール産野犬に寄生していた *Taenia hydatigena* について (英文)
..... 沢田 勇, 正垣 幸男 247-249

学 術 記 録

- 九州熱帯医学シンポジウム第 5 回学術集会講演要旨 251-262

会 報

- 昭和 50 年度第 1 回幹事会記録 263
幹事選挙経過と結果 263-264

投 稿 規 定

日熱医学会誌
Jap. J. T. M. H.

日 本 熱 帯 医 学 会

IRON METABOLISM IN TROPICAL MEDICINE

TOMICHI MASUYA

Received for publication 6 August 1975

Abstract: Many cases of sideropenic symptoms, other than hypochromic, microcytic anemia, have been collected in Kyushu and in Okinawa. They include sideropenic adynamia, flat-, spoon- and fragile nails, angular stomatitis, rhinitis atrophicans-ozæna, dysphagia, hypo- and anacidity, gastritis atrophicans, pica including olfactory pica, a retardation of physical and mental growth. Possible occurrence of congenital malformations has been proposed. Considering the roles of iron in the organism, other than hemoglobin, pathobiochemical observations have been done in clinical cases and experimental animals. Citrate accumulation in blood and tissues, low ATP synthesis, slow down of TCA-cycle, due to a decrease in ferrous enzyme activity (aconitase), might explain the mechanism of sideropenic adynamia. Low DNA synthesis, low cell renewal rate due to decreased activities in iron-flavin enzymes (NADH₂-dehydrogenase and succinic acid dehydrogenase) would suggest the mechanism of disturbance in proliferation and maturation of cells in the epithelial tissues. In early childhood, iron deficiency could cause a retardation of growth, not only physical but mental, too. Iron deficiency in the embryos, might possibly cause congenital malformations, since flavin deficiency has been known to cause various malformations.

Aetiological factors causing iron deficiency in Okinawa and in the tropics have been discussed. Less iron intake—iron poor pork, instead of beef, less iron absorption due to high calcium content in the tapwater, due to duodenojejunal lesions in strongyloidiasis and excess iron loss due to intestinal bleeding in ankylostomiasis, hematochyluria in filariasis etc. The dermal iron loss by excess sweating may be an additional factor in those, acclimatisation has not yet been established.

For prophylaxis, following items have been recommended. Iron fortification of pork, removal of calcium from the tapwater, removal of parasites, iron premedication having to be done in some cases and cooking using old style iron pans, instead of stainless steel or alumite pans.

INTRODUCTION

Although the iron deficiency disease is prevalent in the tropics, previous reports have been confined almost exclusively to iron deficiency anemia. The recognition as a clinical entity of iron deficiency disease and the analysis or pathophysiological considerations on each sideropenic symptom have not yet been done. The present author has recognized a high incidence of iron deficiency disease in Okinawa in his practice in the University Hospital. In this opportunity, the author would like to introduce his pathophysiological studies since 1951, with many coworkers in Kago-

This paper was presented for the presidential lecture in XVI Annual Meeting of Japanese Society of Tropical Medicine. Dept. of Internal Medicine, University of the Ryukyus, Naha, Japan.

shima University (Fujita, 1960; Kawa, 1958; Miyake, 1959; Nabekura, 1959; Nagayama, 1960; Sagara, 1960; Sonoda, 1960; Suetsugu, 1960 and Takeda, 1960) and in Kyushu University (Hara, 1963; Matsumoto, 1967; Mineta, 1967; Miyaji, 1963; Miyaji and Hara, 1965; Miyaji, 1965; Yokoyama, 1964; Ikuta, 1966 and Akiyama, 1964), and would like to clarify the disease pattern of the iron deficiency disease and then consider the aetiological factors of iron deficiency in the tropics and in Okinawa and finally to mention his concept on the prophylaxis.

SIDEROPENIC SYMPTOMS

Hypochromic, microcytic anemia is well known as iron deficiency anemia. However, it is very often dimorphic in the warm climate, suggesting complication of the other deficiencies.

Considering the roles of iron in the organism other than hemoglobin, the author and his coworkers have been able to collect many cases of various sideropenic symptoms other than the hypochromic, microcytic anemia.

Sideropenic adynamia, repeatedly described by Heilmeyer and Harwerth (1970), involves easy fatiguability, muscular weakness, mental fatigue, lack of drive, difficulty in concentrating, loss of energy and rapid exhaustion. Such easy fatiguability, inability to work, could be very often improved by a single injection of iron.

Damages or lesions of epithelial tissues are quite common in iron deficiency disease. Angular stomatitis, smooth tongue, atrophic gastritis, dysphagia known as Plummer-Vinson syndrome, hypo- and anacidity, fragile, flat or spoon nails are not so rare (Masuya, 1963; Yokoyama, 1964). Rhinitis atrophicans and ozaena may be seen, although they are rare (Bernat, 1966).

Disturbances in physical and mental growth might be in many cases ascribed to iron deficiency in early childhood. Many cases of pica (peculiar fancies or abnormal appetite, including olfactory pica) have been observed (Masuya *et al.* 1957; Masuya, 1963; Sonoda, 1960). Finally, a possible occurrence of congenital malformations has been suggested, referring to the observations by Erdogan and Reimann (1964), in iron deficient youngers in Turkey and to those by Baird *et al.* (1955), Warkany and Takacs (1959) and others in riboflavin deficient animals.

PATHOPHYSIOLOGICAL CONSIDERATIONS

The accumulation of citrate in the blood in human cases and in the muscle and brain in iron deficient animals have suggested a reduced activity of aconitase, one of ferrous enzymes, in TCA-cycle (Miyake, 1959; Akiyama, 1964). In iron deficient rats, was observed more or less definite decrease in aconitase activity in the heart muscle and kidney (Morizono, 1965).

A decrease was detected in ^{32}P incorporation into ATP in the skeletal muscles of iron deficient animals (Hara and Miyaji, 1963). In the long term phlebotomized dogs was seen a reduced concentration of cytochrome C in the heart muscle. These findings showed that sideropenic adynamia would be due to a slow down of TCA-cycle, dependent on a reduced activity of aconitase, a decrease in the production

of ATP and in more profound iron deficiency, a reduction of cytochrome C concentration. The factors disturbing the energy production were thought to be far more than in the other types of anemia.

The growth rate of the nails was less in iron deficient cases than that in the healthy, far less than those in cases with heart-, lung- and liver diseases, where the nails were apt to become convex, parrotbeak-like (Yokoyama, 1964). As shown in Photo. 1, the spoon nails were seen to be improved moderately in 47 days of iron injection and completely in 90 days (Masuya, 1958; Yokoyama, 1964). The flat or spoon nails occurred by far predominantly in anemic cases, while, it is strange to see flat or spoon nails in cases of polycythemia rubra vera, with RBC more than 8 million and Hb more than 24 g/dl. However, those deformities of the nails could be observed only in cases with low plasma iron levels. Ferrokinetic studies in 4 cases of polycythemia rubra vera, has revealed an iron deficiency state, due to excess formation of hemoglobin at the expense of tissue iron (Masuya, 1965; Ikuta, 1966).

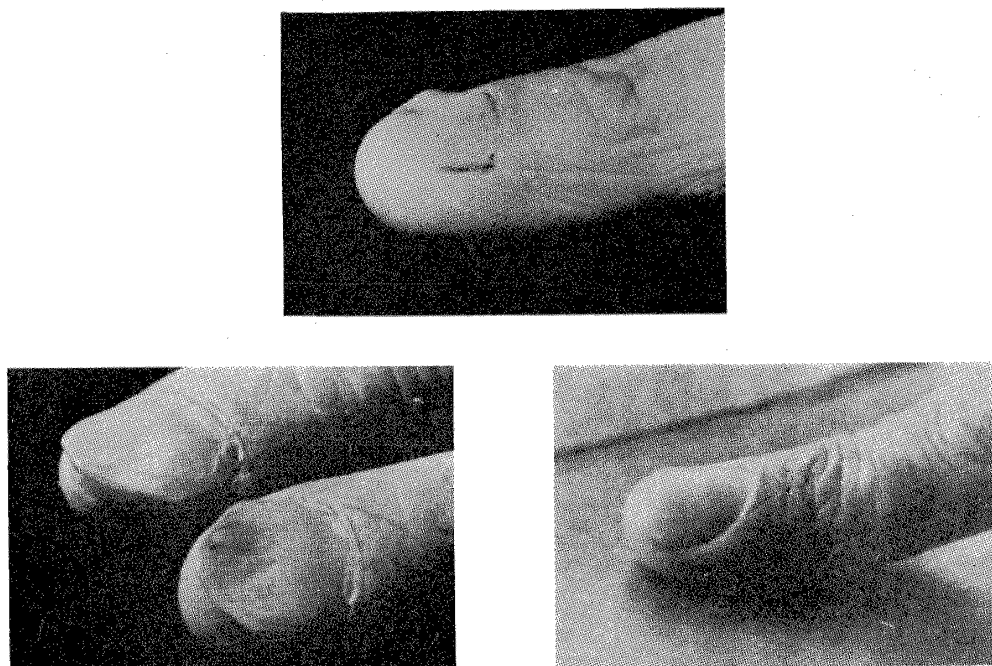


Photo. 1 Improvement of the spoon nails by iron injection.

Top: Before injection Left: after 47 days Right: after 90 days of injection

Although, there have been many discussions, whether the atrophic gastritis was the cause or result of iron deficiency (Badenoch *et al.*, 1957; Brumfit, 1960; Davidson and Markson, 1955; Lees and Rosenthal, 1958), atrophic lesions in the gastric mucosa could be produced in iron deficient rats (plasma iron being 47 ± 5.0 ug/dl, compared to 245 ± 35.9 ug/dl in the control, non-hemin iron in the liver being 10.7 ± 3.14 ug/g compared to 26.4 ± 3.42 ug/g in the control rats, Mineta, 1967; Matsumoto, 1967; Masuya, Inoue and Abe, 1967). The thickness of the

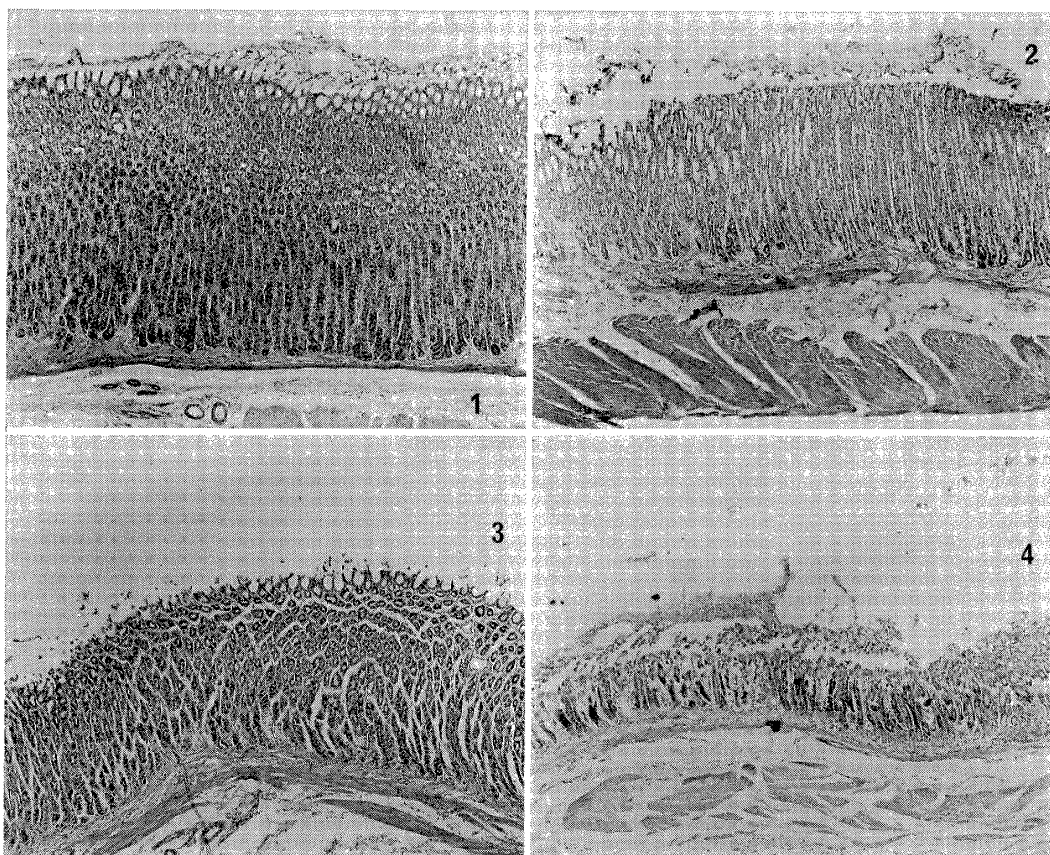


Photo. 2 The gastric mucosa of the normal rat (1) and in the moderate (2), advanced (3) and profound (4) atrophy in iron deficient rat.

gastric mucosa went on to decrease and were detected a reduction in the number and eosinophilic stainability of the parietal cells and in the number of the chief cells (Photo. 2). The gastric acidity went on to decrease.

In those deficient rats were seen a decrease in ^{32}P -incorporation into DNA-fraction of the epithelium of the intestinal mucosa, a markedly slow migration of the ^3H -thymidine labelled cells from the crypt to the tip of the villus in the duodenal mucosa and narrowing of the regenerating zone, showing retardation of the cell renewal rate (Hara, 1963; Matsumoto, 1967; Masuya, 1965).

The significance of NADH_2 dehydrogenase activity in cell division and that of succinic acid dehydrogenase activity in cell maturation have been confirmed in cases of *Torula utilis* and Ehrlich ascites carcinoma cells and in the regenerating liver of the mammals by Miyaji (1963, 1965). These two enzymes are iron-flavin enzymes. In iron deficient animals, was detected a definite decrease in SDH-activity in the kidney and heart muscle and more or less decrease in the liver, intestine and skeletal muscle. A reduction in NADH_2 dehydrogenase activity was seen in the kidney, liver and skeletal muscle (Miyaji and Morizono, 1966). A markedly reduced activity of SDH was also detected histochemically in the parietal cells in the stomach of the iron deficient rats (Matsumoto, 1967).

Ivan Bernat (1966) in Budapest has published a monograph—Die Ozaena, eine Manifestation der Eisenmangelkrankheit, and has proposed rhinitis atrophicans and ozaena as crew of sideropenic symptoms, which has been accepted by Heilmeyer and Harwerth (1969) in the Colloquia in Switzerland., published in 1970. They could reproduce rhinitis atrophicans in iron deficient mice and as a final stage of mucosal atrophy, they have shown extensive nasal incrustation and complete absence of subepithelial glandular tissue. In Fukuoka and Kurume, both in Kyushu, not a single case of ozaena has been found during these 8 years, in spite of continued efforts. In Okinawa, a case of ozaena was allowed to examine by courtesy of Assist. Prof. Noda (otorhinolaryngology) in the University Hospital (Table 1).

TABLE 1 A case of ozena, rhinitis atrophicans and tracheal stenosis

S. H.	18 2/3 Yrs.	Female					
Hb	12.5 g/dl	RBC	414×10^4	Ht	35.6%	MCV	85 μ^3
MCH	29.8 μg	MCHC	34.5%	SeFe	60 $\mu\text{g/dl}$		

A girl of 18 2/3 yrs. with mild hypochromic anemia and low plasma iron (60 $\mu\text{g/dl}$) showed rhinitis atrophicans with classical ozaena and tracheal stenosis. Saddle nose was accompanied.

Thus, hypo-, anacidity, atrophic lesions of the gastric mucosa, angular stomatitis and rhinitis atrophicans, even ozaena, might be interpreted as reduced function, retardation of the cell renewal rate and disturbed maturation in the epithelial tissues, which might be ascribed to the reduction of the activities of the iron-flavin enzymes. In cases, where a cell proliferation in the germinal layers of the nail is critically maintained and is retarded in the surface layers, the nail would become concave quite similarly to the thick covers of the books exposed to the direct rays of the sun.

A girl of 18 1/6 yrs. with diaphragmatic hernia and marked sideropenia, plasma iron being 17 $\mu\text{g/dl}$, showed a marked retardation of physical and mental growth, together with spoon nails. No menarche, no pubic hair. Her height, weight and bust corresponded with those of 12–13 yrs. old girls. Her I. Q. was only 50 percent. The improvement was noted both in physical and mental growth, after medication of iron. A rapid sexual awakening, painting her face and looking in the mirror all day long, were reported by the patients in the same room. At her discharge, she did not allow to be taken pictures without clothes (Masuya, 1963).

Prasad *et al.* (1961), Erdogan and Reimann (1964) and Goecksel and Tartaroglu (1964) have reported dwarfism or sexual immaturity among the iron deficient youth in Iran, Turkey and Egypt (Reimann has reported since 1955). Such retardation of physical and sexual growth would be ascribed at least partially to retardation of cell proliferation and maturation, due to reduced activities of the iron-flavin enzymes, in the early childhood. As early as 1928, Schmidt has described a dramatic weight increase in a mouse from the third iron deficient generation, after giving iron from the 76th day of life. Heilmeyer and Harwerth (1970) have commented that iron has acted as though it were a “growth vitamin” in this case.

According to the investigations by the Ryukyu Government in 1967, the average height and weight of all boys and girls (6–18 yrs.) in Okinawa showed to be 97.4–99.1% in height, and 93.2–96.4% in weight, of those in the other prefectures all over Japan, in all ages.

As early as 1926, Smillie and Spencer have reported a marked degree of mental retardation among the rural white school children with heavy hookworm infestation—500 or more *Necator americanus*. In moderate infection (100–500) showed a slight degree of mental retardation. The children with slight infection (less than 25) showed normal I. Q. Iron deficiency in hookworm infection, due to daily fecal blood loss, has been repeatedly reported by Masuya and his coworkers (Masuya, 1958, 1963, 1965; Nabekura 1959). Those who accept iron deficiency in hookworm infection would easily accept that the mental retardation, observed by Smillie and Spencer, might be due to profound iron deficiency in childhood.

TABLE 2 Pattern of congenital defects produced in the rat

Cases	Most frequent defects	Other defects
Vitamin A deficiency	Coloboma of retina Ectopic ureters Diaphragmatic hernia Anophthalmia	Tendency to hermaphroditism Fused kidneys Cardiovascular anomalies
Riboflavin deficiency	Shortened long bones and mandible Fused ribs and toes Cleft palate	Ventricular septal defect Hydronephrosis Hydrocephalus Microphthalmia Hernias
Folic acid deficiency	Universal teratogen	Virtually every organ and system

Hoet, J. P. *et al.* (1960) Congenital malformation. Ciba foundation symposium.

As shown in Table 2, congenital malformations, such as cleft palate, fused ribs and toes, shortened long bones and mandible, hydrocephaly, ventricular septal defects, or diaphragmatic hernia have been observed among the offspring of the riboflavin deficient animals, by Baird *et al.* (1955), Warkany and Takacs (1959) and others. If the growth disturbance could be ascribed to iron deficiency and to decrease in NADH₂ dehydrogenase and SDH activities in early childhood, a possible occurrence of congenital malformations would be expected in iron deficiency in the embryos, since riboflavin might take part in the cell proliferation and maturation as iron-flavin enzymes. In this way, would be very interesting a high incidence of cleft palate among the poorer families in Japan (Fujino, 1961) and the description of polydactylia, syndactylia and brachcephaly among the iron deficient youth in Turkey by Reimann (1955, 1964).

Pica is one of the peculiar sideropenic symptoms (Masuya *et al.*, 1958; Sonoda, 1960; Masuya, 1963). Over 60 cases have been observed. The materials devoured were raw rice, leaves of tea, ash of cigarettes, refreshing pills, earth, charcoal, sand,

straw of rice, toy balloon, and extraordinarily large amount of crude sugar or soy-bean paste. A boy of 6 yrs. suffered from intestinal obstruction, due to a mass of remnants of gummi balloon. His parents testified that he has taken many toy balloons during one year. A young wife has grieved for her difficulty to pass before the henhouse without picking the chicken food. The olfactory pica has been first described by Masuya (1965). The schoolboys in some countryside used to run after his taxi. They said that it was delicious behind the car. Some ladies were very fond of gasoline or volatile insecticides. Such pica was seen predominantly in the female and in the majority of the cases, low plasma iron has been detected. Prof. Videbeck in Copenhagen has commented for the Masuya's presentation (1973), that he had seen pica in a case of polycythemia rubra vera. The long standing vicious habits could be completely improved in a week by iron injection.

Acetylcholine is synthesized, in general, from ATP and acetate. However, in the nervous tissues, the synthesis was predominantly from ATP and citrate (Ebashi, 1953). The theory of hunger contraction of the stomach for the appetite by old authors has completely denied, since agastric patients or those with vagotomized stomach show active appetite. The feeding centre has been shown to localize in the lateral area near Ncl. ventromedialis hypothalami in several animals. In hungry animals a shift of ATP to the feeding centre has been shown by Larsson and Forsberg (1954). In iron deficient rats, an increase of the acid soluble phosphorus was noted both in the frontal lobe and in the brain stem, while the increase of ATP-P was seen only in the brainstem, involving the feeding centre (Masuya, 1963). The accumulation of citrate in the blood and brain in iron deficient animals has already been shown (Miyake, 1959; Akiyama, 1964). These findings would allow to speculate a possible shift of ATP to the feeding centre in iron deficiency and a possible excess formation of acetylcholine in the brainstem or in the feeding centre, which might provoke an abnormal appetite as to devour the usually inedible matter. Here, it will be meaningful to cite Buffa and Peters (1950), who have observed fluoroacetate, an aconitase inhibitor, causing accumulation of citrate and hyperactivity in the central nervous system.

AETIOLOGICAL FACTORS

1. Less iron intake, less meat and even less vegetables in the tropics. In Okinawa, the pork is by far predominantly taken. As shown in Table 3, the less iron content in the pork than in the beef has been reconfirmed by Fujio and Kawasaki (1974) and as for the pork in Okinawa by Tanaka (1974).

2. Faulty iron absorption. Excess phytate (too much cereals), low vitamin C and low animal protein are known to inhibit iron absorption (Moore, 1956; Layrisse *et al.*, 1969; Martinez-Torrez and Layrisse, 1971). Especially in Okinawa, high calcium content in the tapwater (up to 228-300 ppm) inhibits iron absorption (Table 4). In the solution of $^{59}\text{FeCl}_3$ in the tapwater in Okinawa (calcium hardness 228-235 ppm), the radioiron absorption was about 1/2 of that in the tapwater in Fukuoka (less than 50 ppm) in perfusion method, using rat intestine. While, in the water (89 ppm) from the other source in Okinawa, it was almost the same

TABLE 3 Iron content of meats

Kind of meats	Analysis table	Fujio <i>et al.</i> ¹	Tanaka ²
Beef			
Shoulder	2.8 mg/100 g	2.75	
Liver	10.0	5.45	
Corned, canned	4.0	2.26	
Yamatoni	5.2	3.57	
Whale			
Chilled	5.0	2.56	
Yamatoni	9.0	7.55	
Chicken			
		1.88	
Pork			
Thigh	2.4	1.10	
Shoulder			1.57
Liver	16.00	16.50	12.73

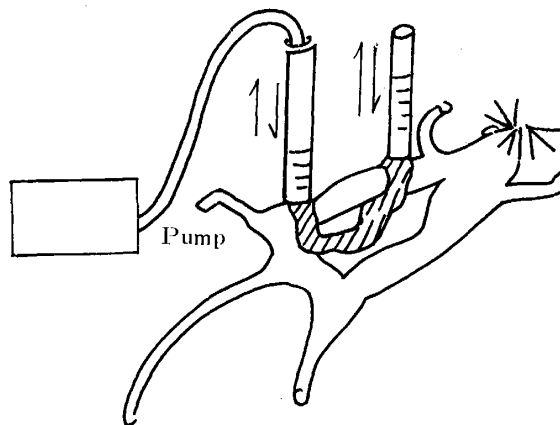
1 Atomic absorption technique.

2 The pork from Okinawa was tested by Dr. R. Tanaka at Osaka Prefectural Institute of Public Health (1974).

TABLE 4 Calcium and iron content in the water

Tap water	Total hardness	Iron content
Naha city		
Uema system	86 ppm	0.06 ppm
Tomari system	228	0.07
Chubu system	235	0.08
Miyako health ctr.	3000	
Fukuoka city	20-50	0.1, 0.15, 0.3

1. Wister King mafe rats 230-300 g Nembatal anesthesia
2. Small intestine immediate distal to pylorus 8-12 cm
3. Perfusion with each tap water 10 ml, containing tracer dose of $^{59}\text{FeCl}_3$



4. Perfusion 60 minutes, 37 C

Fig. 1 Simple apparatus for absorption study.

TABLE 5 ^{59}Fe -absorption using different hardness of water

Water	Hardness	Mucosa	Submucosa	Blood	Liver	Spleen
Fukuoka	50 ppm	0.419	0.043	0.041	0.119	0.039
Uema	89 ppm	0.393	0.037	0.013	0.058	0.004
Tomari	228 ppm	0.236	0.045	0.016	0.070	0.009
Chubu	235 ppm	0.231	0.018	0.008	0.060	0.007

Values are indicated % cpm per 0.1 g tissue in average.

as that in Fukuoka (Fig. 1 and Table 5).

Although malabsorption by sprue or kwashiorkor is not seen in Okinawa, strongyloidiasis is quite prevalent. Duodenofiberscopy revealed more or less definite changes even in non-symptomatic carriers. In the moderate or severe cases, granulomatous or submucosal tumor-like findings may be obtained by means of fluoroscopy and duodenofiberscopy. The very site of iron absorption may be severely involved (Photo. 3).

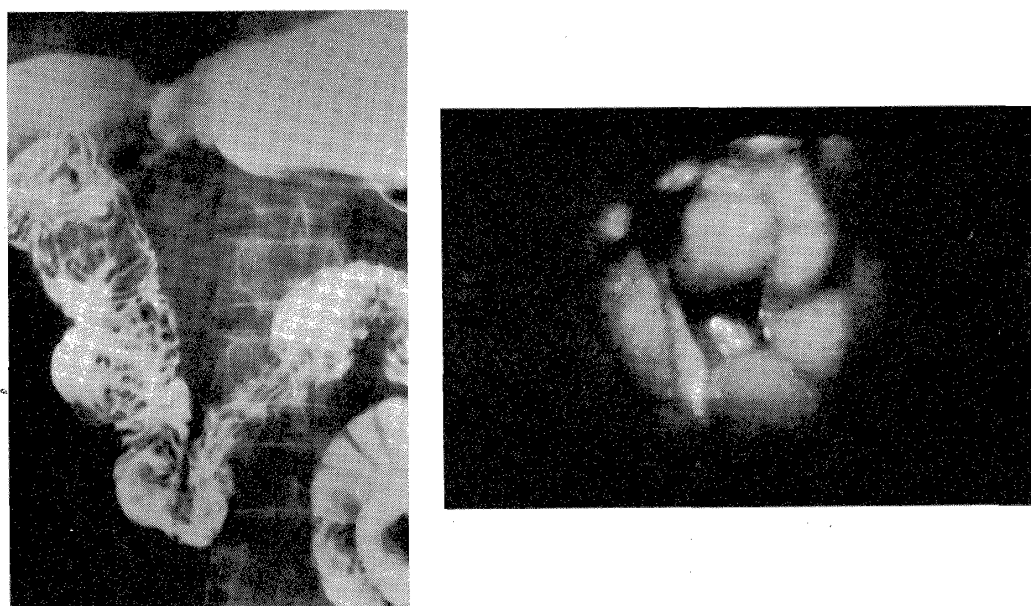


Photo. 3 Fluoroscopy and duodenofiberscopy of a case of strongyloidiasis.

61 yrs. Male, Hb 14.3 g/dl, RBC 433×10^4 , WBC 7,300, SeFe 85 ug/dl, Serum protein 7.6 g/dl, Albumin 50.8%, Globulin α_1 5.0, α_2 9.4, β 11.9, γ 22.6%.

3. Excess iron loss. Intestinal blood loss, hematuria, hematochyluria, hemosiderinuria, hemoglobinuria may be caused in ankylostomiasis, schistosomiasis, strongyloidiasis, filariasis, malaria, hemolytic anemias and black water fever in the tropics. In Okinawa, besides strongyloidiasis, hookworm disease and filariasis have not yet been completely eradicated (Photo. 4).

The dermal loss of iron, especially in the warm climate, has been confirmed by many workers and the skin has been regarded as one of the active excretory

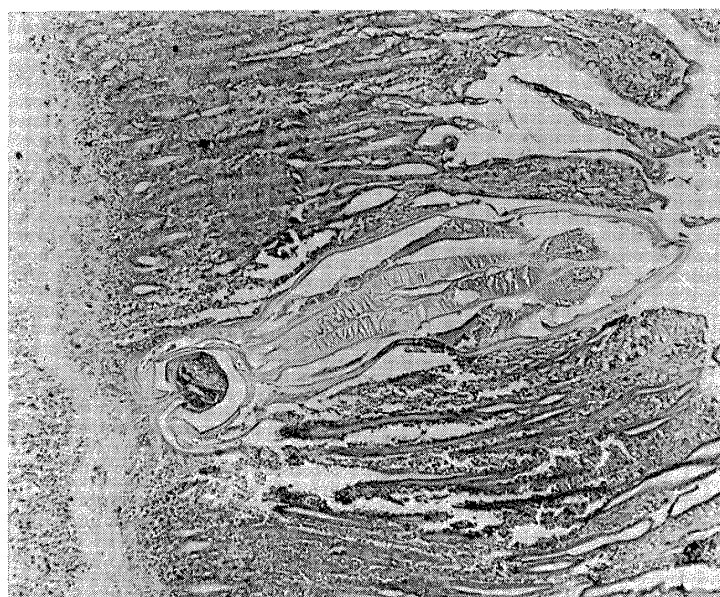


Photo. 4 Ankylostoma caninum, just biting off the intestinal mucosa.

TABLE 6 Dermal loss of iron by active sweating

	Total body surface m ²	Surface area of sweating regions cm ²	Volume of sweat per hour ml	Iron in cell rich sweat mg/l	Iron in cell free sweat mg/l
Average	1.63	1,139	9.0	1.15	0.34
Range	1.46-1.80	1,010-1,351	4.6-23.7	0.63-1.88	0.15-0.53

Hussain, Patwardhan and Sriramachari (1960) have concluded, assuming that their values were representative for Indians as much as 15 mg iron could be lost per day under conditions of maximal sweating.

TABLE 7 Mechanisms of iron-deficiency in the tropics

1. Less iron intake often critically low	
Less meat in general, sometimes less vegetable	
Religious vegetarian	
Mainly pork, rarely beef in Okinawa	
2. Defect of iron absorption	
Excess phytate (cereal), low vitamin C, low animal protein	
High calcium in the water (Okinawa 200-300 ppm/Fukuoka 20-50 ppm)	
Sprue, Kwashiorkor — Malabsorption	
Strongyloidiasis — Duodenojejunal lesions (Site of iron absorption)	
3. Excess iron loss	
Hookworm disease — Intestinal blood loss (strongyloidiasis, too)	
Schistosomiasis — Ditto and hematuria	
Filariasis — Hematochyluria	
Malaria — Hemosiderinuria	
Hemolytic anemias — Hemoglobinuria	
Black water fever — Hemoglobinuria	
Dermal loss — Sweat, especially cell rich sweat	

organs of iron. The cell rich sweat has been known to contain more iron. The dermal iron loss may be a factor in the new inhabitants, in whom the acclimatisation has not yet been established (Table 6). Table 7 is the summary of these aetiological factors.

PROPHYLAXIS

1. Removal of parasites. In cases of severe iron deficiency, the first choice must be to give iron, before the vermifuge.
2. Removal of calcium from the tapwater.
3. Vitamin C rich, citrus fruits. There is a special species of citrus fruits in Okinawa.
4. Animal protein rich diet. Layrisse *et al.* (1969), and Martinez-Torrez and Layrisse (1971) have noted fish or the same aminoacid mixture increased iron absorption from corn and black bean. They have observed beef approximately doubled the absorption of vegetable iron.
5. Fortification with iron of rice, bread and pork may be considered. Especially, in Okinawa, fortification of pork would be the best. The tablets of brewer's yeast are willingly taken by pigs. Iron should be mixed with brewer's yeast and put in the pig's food.
6. The liver is one of important source of iron. However, the method of cooking to remove PCB or other fatsoluble contaminated substances must be considered, for example to roast on the wirenet, not in the pan.
7. Finally, the old style iron pan should be recommended, instead of stainless steel or alumite pans, since the iron content of the foods is known to be increased markedly, by cooking in iron pans (Table 8, Moore, 1965).

TABLE 8 Effect of cooking in iron skillet on Fe-content of foods

Kind of foods	Cooking time (min.)	Iron content (mg/100 g)	
		Glass dish	Dutch oven
Spaghetti sauce	180	3.0	87.5
Gravy (meat juice)	20	0.43	5.9
Potatoes, fried	30	0.45	3.8
Rice, casserole	45	1.4	5.2
Beef hash	45	1.52	5.2
Apple butter	120	0.42	52.5
Scrambled eggs	3	1.7	4.1

Moore, C. V. (1965)

REFERENCES

- 1) Akiyama, T. (1964): Pathophysiological studies on iron metabolism — The metabolism of the organic acids related to TCA-cycle in iron deficiency, *Kyushu J. Hematol.*, 14, 147
- 2) Badenoch, J., Evans, J. R. and Richards, W. C. (1957): The stomach in hypochromic ane-

- mia, *Brit. J. Haematol.*, 3, 175
- 3) Baird, C. D. C., Nelson, M. M., Mone, I. W., Wright, H. V. and Evans, H. M. (1955): Congenital cardiovascular anomalies produced with the riboflavin antimetabolite, galactoflavin, in the rat, *Fed. Proc.*, 14, 428
 - 4) Bernat, I. (1966): Die Ozaena, eine Manifestation der Eisenmangelkrankheit, Akademia Kiado, Budapest
 - 5) Beutler, E. (1957): Iron enzymes in iron deficiency. I. Cytochrome C, *Am. J. Med. Sci.*, 234, 517
 - 6) Beutler, E. and Blaisdell, R. K. (1960): Iron enzymes in iron deficiency. V. Succinic acid dehydrogenase in rat liver, kidney and heart, *Blood*, 15, 30
 - 7) Beutler, E., Larsh, S. E. and Gurney, C. W. (1960): Iron therapy in chronically fatigued non-anemic women. a double-blind study, *Ann. int. Med.*, 52, 378
 - 8) Brumfit, W. (1960): Primary iron-deficiency anemia in young men, *Quart. J. Med.*, 29, 1
 - 9) Buffa, P. and Peters, R. A. (1950): The in vivo formation of citrate induced by fluoroacetate and its significance, *J. Physiol.*, 110, 488
 - 10) Cooper, M. (1957): Pica, Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Ill.
 - 11) Davidson, W. M. and Markson, J. L. (1955): The gastric mucosa in iron deficiency, *Lancet*, 2, 639
 - 12) Ebashi, S. (1953): Studies on choline acetylase. II, *Folia pharmacol. jap.*, 49, 485
 - 13) Erdogan, G. and Reimann, F. (1964): The cephalic index in severe iron deficiency anaemias and its significance, Abstracts, Xth Intl. Congr. Hematol., F: 44. (Stockholm)
 - 14) Fujino, H. (1961): Consideration on the cause of harelip, cleft palate, *Saishin Igaku*, 16, 2301
 - 15) Fujita, R. (1960): Pathophysiological studies on hookworm disease. A-14 Histochemical studies on organ iron, *Kyushu J. Hematol.*, 10, 476
 - 16) Goeksel, V. and Tartaroglu, N. (1964): Eisenmangelanaemie mit Minderwuchs, Hypogonadismus, Hepatosplenomegalie und Schaedeldeformitaeten, Abstracts, Xth Intl. Congr. Hematol., F: 45. (Stockholm)
 - 17) Hara, Y. (1963): Pathophysiological studies on iron metabolism — The experimental studies on the mechanism of the epithelial lesions in iron- and V.B₂ deficiencies, *Fukuoka Acta Med.*, 54, 758
 - 18) Hara, Y. and Miyaji, K. (1963): The experimental studies on debility in iron deficient anemia, *Fukuoka Acta Med.*, 54, 777
 - 19) Heilmeyer, L. and Harwerth, H. G. (1970): Clinical manifestations of iron deficiency, in *IRON DEFICIENCY. Colloquia Geigy.* ed. by Hallberg, L., Harwerth, H. G. and Vannotti, A., Academic Press, London and New York, 375
 - 20) Ikuta, S. (1966): Pathophysiological studies on iron metabolism—Ferrokinetics in various diseases, with special reference to practical application, *Kyushu J. Hematol.*, 16, 265
 - 21) Kawa, A. (1958): Pathophysiological studies on hookworm disease. A-1 Clinical investigations on sideroblast (I), (II), *Kyushu J. Hematol.*, 8, 760, 797
 - 22) Layrisse, M., Cook, J. D., Martinez-Torrez, C., Roche, M., Kuhn, I. N., Walker, R. B. and Finch, C. A. (1969): Food iron absorption. A comparison of vegetable and animal foods, *Blood*, 33, 430
 - 23) Lees, F. and Rosenthal, F. D. (1958): Gastric mucosal lesions before and after treatment of iron deficiency anemia, *Quart. J. Med.*, 27, 19
 - 24) Leonard, B. J. (1954): Hypochromic anemia in R. A. F. recruits, *Lancet*, 1, 899
 - 25) Martinez-Torrez, C. and Layrisse, M. (1971): Iron absorption from veal muscle, *Am. J. Clin. Nutr.*, 24, 531
 - 26) Masuya, T. (1958): Iron metabolism in hookworm disease, *Acta Hematol. Jap.*, 21, 235
 - 27) Masuya, T., Sonoda, S. and Kadota, K. (1958): Pathophysiological studies on hookworm dis-

- ease—Pica, as one of the sideropenic syndrome, *Acta med. Universt. Kagoshima*, 1, 1
- 28) Masuya, T. (1959): Hookworm disease and anemia—Pathogenesis of hookworm anemia, in *Japanese Medicine in 1959. Proc. XV General Assembly of Japan Society of Medicine, (Tokyo) II*, 575
 - 29) ——— (1963): Clinical aspects in iron metabolism, *J. Jap. Soc. Int. Med.*, 51, 1299
 - 30) ——— (1965): Parasitic anemias, mainly hookworm anemia, *Handbook of Hematology*. ed. by Jap. Hematol. Soc., IV, 281
 - 31) ——— (1965): Pathophysiology in sideropenic symptoms, *Israel J. Med. Sci.*, 1, 733
 - 32) Masuya, T., Inoue, M. and Abe, M. (1967): Atrophic gastric lesions in experimental iron deficiency, *Recent Advances in Gastroenterology*. ed. by H. Ueda, I, 441
 - 33) Matsumoto, T. (1967): Pathophysiological studies on iron metabolism—Iron-flavin enzymes and cell renewal rate in gastrointestinal mucosa, *Kyushu J. Hematol.*, 17, 355
 - 34) Mineta, H. (1967): Pathophysiological studies on iron metabolism—Clinical and experimental observations on the relationship between iron deficiency and the gastric mucosal changes, *Kyushu J. Hematol.*, 17, 301
 - 35) Miyaji, K. (1963): Participation of DPNH-diaphorase to cell division, *Vitamin*, 27, 163
 - 36) ——— (1963): Consideration on the occurrence of mucosal symptoms in V. B₂ deficiency, *Vitamin*, 28, 347
 - 37) Miyaji, K. and Hara, Y. (1965): Effect of riboflavin or iron deficiency on the cell renewal rate of intestinal mucosa, *Vitamin*, 31, 185
 - 38) Miyaji, K. (1965): Several considerations of the syndromes of riboflavin deficiency on the stand point of cell division, *Vitamin*, 32, 295
 - 39) Miyaji, K. and Morizono, Y. (1966): NADH-diaphorase activity in subcellular fractions of mouse tissues, *J. Vitamin. (Kyoto)*, 12, 179
 - 40) Miyake, T. (1959): Pathophysiological studies on hookworm disease, A-9 On the citrate metabolism, *Kyushu J. Hematol.*, 9, 595
 - 41) Moore, C. V. (1956): Iron metabolism and nutrition, *The Harvey Lectures. Series 55*, 67
 - 42) ——— (1965): Iron and nutrition, *Scandinav. J. Hematol. Series Hematologica*, 6
 - 43) Morizono, Y. (1965): Pathophysiological studies on Iron metabolism—Effect of iron deficiency on the iron enzyme activities, *Fukuoka Acta Med.*, 56, 241
 - 44) Nabekura, M. (1959): Pathophysiological studies on hookworm disease, A-7 Fecal blood loss, *Kyushu J. Hematol.*, 9, 706
 - 45) Nagayama, S. (1960): Pathophysiological studies on hookworm disease, A-10 Clinical investigations on hookworm carriers (A), *Fukuoka Acta Med.*, 51, 178
 - 46) Prasad, A. S., Halsted, J. A. and Nadimi, M. (1961): Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia, *Amer. J. Med.*, 31, 352
 - 47) Rawson, A. and Rosenthal, F. D. (1960): The mucosa of the stomach and small intestine in iron deficiency, *Lancet*, 1, 730
 - 48) Reimann, F. (1955): Wachstumsanomalien und Missbildungen bei Eisenmangelzustaenden (Asiderose) *Verhandl., V. Konger. Europ. Gesel. Haematol. Freiburg/Br.* 546
 - 49) Roche, M., Perez-Gimenez, M. E., Layrisse, M. and Prisco, E. D. (1957): Gastrointestinal bleeding in hookworm infection. Studies with radioactive chromium (Cr⁵¹). Report of five cases, *Amer. J. Digest. Dis.*, 2, 265
 - 50) Sagara, T. (1960): Pathophysiological studies on hookworm disease, A-12 Clinical investigations on hookworm carriers (B), *Fukuoka Acta Med.*, 51, 113
 - 51) Schmidt, M. B. (1928): Einfluss eisenreicher und eisenarmer Nahrung auf Blut und Koerper, *Hdb. d. Norm. u. Pathlo. Physiologie. XVI. II*, 1931. Jena Fischer
 - 52) Smillie, W. G. and Spencer, C. R. (1926): Mental retardation in school children infected with hookworms, *J. Educ. Psychol.*, 17, 314

- 53) Sonoda, S. (1960): Pathophysiological studies on hookworm disease, A-11 Clinical observations on pica, Fukuoka Acta Med., 51, 464
- 54) Suetsugu, K. (1960): Pathophysiological studies on hookworm disease, A-13 Comparative observations on anemia due to hookworm and phlebotomies, Kyushu J. Hematol., 10, 517
- 55) Takeda, K. (1960): Pathophysiological studies on hookworm disease. A-15 Biochemical studies on organ iron, Kyushu J. Hematol., 10, 261
- 56) Vannotti, A. (1949): Funktionelle Beziehungen zwischen Haemoglobin- u. Cytochrom C-stoffwechsel, Schweiz. Med. Wochschr., 79, 261
- 57) Waldenstroem, J. and Hallen, L. (1938): Iron and epithelium. Some clinical observations, Acta Med. Scandinav., Suppl., 90, 380
- 58) Warkany, J. and Takacs, E. (1959): Experimental production of congenital malformations in rats by salicylate poisoning, Am. J. Pathol., 35, 315
- 59) Yokoyama, T. (1964): Studies on the diagnostic significance of the nail in internal medicine, Fukuoka Acta Med., 55, 665

熱帯医学と鉄代謝

榊 屋 富 一

九州、沖縄において低色性小球性貧血以外の鉄欠乏症症状の多数例を集めた。鉄欠乏性無力症、扁平爪、円匙爪、脆弱爪、隅角口内炎、萎縮性鼻炎—臭鼻症、嚥下困難、低酸症、無酸症、萎縮性胃炎、嗅覚性を含む異嗜症、身心発育遅延などである。先天性奇形発生の可能性をも指摘した。

生体における血色素以外の鉄の役割を按じて、臨床例および実験動物について病態生化学的観察を行った。血液、組織中のクエン酸蓄積、ATP生成低下、TCA環の遅延は二価鉄酵素 Aconitase の活性低下に基づくものとして鉄欠乏無力症の機序を説明し得よう。鉄フラビン酵素—NADH₂脱水素酵素、コハク酸脱水素酵素の活性低下に伴う DNA 生成低下、細胞更新率の低下は上皮組織における細胞分裂および成熟の障害の機序について示唆するであろう。幼児期早期の鉄欠乏は身心発育の遅延を起した。フラビン欠乏により種々の先天奇形を起す事が知られているので、胎児期における鉄欠乏は先天奇形を起す可能性がある。

沖縄および熱帯における鉄欠乏の原因としては鉄摂取の低値—牛肉でなく鉄含量の少ない豚肉の摂取；鉄吸収の障害—水道水の Ca 含量の過多、糞線虫症による十二指腸空腸の病変；鉄の過剰亡失—鉤虫症における腸内出血、フィラリア症における乳糜血尿、さらに熱帯馴化を確立してない人々にとっては過剰発汗による皮膚よりの鉄亡失も問題となる。

予防法としては、豚肉の鉄強化、水道水よりの Ca 除去、寄生虫の駆除（ある場合には駆虫前の鉄剤投与が必要）、食品調理に際しステンレススチールやアルマイト鍋の代りに、旧来の鉄鍋を使用することを奨励した。

PHARMACOLOGICAL CLASSIFICATION OF TOXIC PROTEINS FROM SNAKE VENOMS

CHEN-YUAN LEE

Received for publication 25 June 1975

Abstract: Toxic proteins in snake venoms are classified according to their principal pharmacological properties as follows: 1) Neurotoxins — postsynaptic neurotoxins from elapid and sea snake venoms and presynaptic neurotoxins from some elapid and crotalus venoms. 2) Myotoxins — Cardiotoxins from elapid venoms and crotoamine and other basic proteins from crotalus venoms. 3) Toxic proteins acting on blood vessels and other smooth muscle organs — vasculotoxins, hemorrhagins, and bradykinin-releasing esterases from viperid and crotalid venoms, and phospholipase A from most snake venoms. 4) Local necrotizing agents — proteolytic enzymes from crotalid and viperid venoms and cardiotoxins from elapid venoms. 5) Coagulants — Factor X activators, prothrombin activators and thrombin-like enzymes. 6) Anticoagulants — inactivation of thromboplastin, Factor V and prothrombin, and fibrinolytic enzymes.

Toxic proteins in snake venoms may be grouped into the following six categories according to their principal pharmacological properties.

I. NEUROTOXINS

Although the term "neurotoxins" (NTXs) is ill-defined and may lead to confusion, the NTXs from elapid and sea-snake venoms have been shown to act selectively on the neuromuscular (N-M) junction without any marked effects on other organ systems including the central nervous system (cf. 20, 22). All of the NTXs from elapid and sea-snake venoms are basic polypeptides and devoid of any known enzymic activity. They can be classified into two distinct groups: "postsynaptic toxins" and "presynaptic toxins". Cobra NTXs, α -bungarotoxin and sea-snake NTXs belong to the former, while β -bungarotoxin belongs to the latter. The postsynaptic toxins are composed of either 61-62 or 71-74 amino acid residues in a single chain cross-linked by four or five disulfide bridges, respectively. In spite of the difference in their number of amino acid residues, striking similarities in their primary and secondary structures are found among these toxins. In contrast, the amino acid composition of β -bungarotoxin is quite different from that of postsynaptic toxins.

Postsynaptic NTXs produce anti-depolarizing N-M block by combining specifi-

cally with cholinergic receptors on motor endplates. These NTXs also act as specific antagonists at cholinergic receptors on the electric tissue membrane. Pretreatment with d-tubocurarine, C₁₀, ACh or carbachol protects the receptor against binding of these NTXs. Both axonal conduction of the motor nerve and electrical properties of the muscle membrane are unaffected. Unlike NTXs with 61–62 residues, α -bungarotoxin and cobra NTXs with 71 residues block N–M transmission irreversibly in most preparations, probably due to richness in hydrophobic amino acids in their molecules. Because of its specific and irreversible nature of the receptor binding, α -bungarotoxin has been extensively used for characterization and isolation of cholinergic receptors (1, 9, 10, 26).

Presynaptic NTXs, as exemplified by β -bungarotoxin, produce an irreversible N–M block by depressing ACh release from motor nerve endings, leaving the sensitivity of endplates to ACh unaffected. The reduction of ACh release by β -bungarotoxin is preceded by a facilitated release of transmitter and an increased frequency of miniature endplate potentials (MEPP). This inhibitory effect of β -bungarotoxin on the release mechanism is delayed when the nerve activity is decreased; e.g. decreased rate of nerve stimulation, decrease in calcium concentration or increase in magnesium concentration in the bathing medium. As in the Mg-induced paralysis, the amplitude of EPPs on repetitive stimulation is rather sustained, suggesting the failure of release mechanism. After complete N–M block, the store of ACh in the rat diaphragm is not reduced. Ineffectiveness of choline as an antagonist and unaltered uptake of choline in the rat diaphragm treated with β -bungarotoxin exclude the possible involvement of a hemicholinium-like action. In the diaphragm of mice injected with β -bungarotoxin, synaptic vesicles have been shown to be markedly depleted (11). However, no appreciable change can be found in the hemidiaphragm, if its phrenic nerve has been cut before injection of the toxin (Lee *et al.*, unpublished). These findings indicate that an additional factor such as a high rate of phrenic discharges is required for depletion of synaptic vesicles by the toxin.

Viperotoxin isolated from *Vipera palestinae* venom has been claimed to be a NTX which acts primarily on medullary vasopressor centers leading to lethal circulatory failure (cf. 14). It remains to be proven, however, that such a basic protein can pass through the blood-brain barrier in sufficient quantity to produce central effects.

II. MYOTOXINS

Cardiotoxin (CTX), direct lytic factor (DLF), cobramine, cytotoxin and toxin γ are all strongly basic polypeptides isolated from various cobra venoms (cf. 22). Recent evidence indicates that they are either identical or at least a family of homologous toxins. They are composed of 60–61 amino acid residues in a single chain cross-linked by four disulfide bonds.

Cardiotoxin affects various kinds of cells, causing irreversible depolarization of the cell membrane. It produces contracture of skeletal muscle, blockade of axonal conduction and systolic arrest of the isolated heart. These effects are inhib-

ited by high Ca^{++} and potentiated by phospholipase A (PhA) which by itself has little effect on these preparations. CTX is by itself only weakly hemolytic, but acts synergistically with PhA. The local irritant action as well as the cytotoxic effect of CTX may account for the local tissue damage observed in cobra bite (18).

Besides cobra venoms, some of the elapid venoms (e.g. *Bungarus fasciatus*, coral snakes) appear to contain CTX-like principles (24, 37).

Crotamine is also a strongly basic polypeptide toxin, isolated from the venom of *Crotalus durissus crotaminicus*. It consists of 46 amino acid residues, including four half-cystines. It resembles cobra CTX in its very high lysine (11 residues) and low arginine (2 residues) contents but unlike cobra CTX, it is devoid of threonine, alanine and valine (17). Although crotamine has been classified as a NTX (cf. 7), its pharmacological properties are quite different from those of NTXs, and it may be better classified as a myotoxin.

Crotamine induces an immediate contracture followed by spontaneous and irregular contractions of skeletal muscles of the rat. This effect is inhibited by tetrodotoxin, Ca^{++} , Mg^{++} and K^{+} , but only partly by curarization or chronic denervation (7, 12). The mode of action has not been fully elucidated, but a change in Ca^{++} or Na^{+} permeability on the muscle membrane has been postulated. On the other hand, its stimulant effect on skeletal muscles of baby chicken has recently be shown to be presynaptic in origin (Lee, unpublished).

Like crotamine, the basic proteins isolated from the venoms of *Crotalus adamanteus*, *Crotalus v. viridis*, and *Crotalus h. horridus* have a stimulant effect on skeletal muscles of the rat as well as of the baby chicken. The site of action appears to be on the muscle membrane for the former while on the nerve terminal for the latter (23). Of special interest is the finding that the basic proteins from *C. adamanteus* and *C. h. atricaudatus* produce myocardial damage in mice, leading to elevation of serum enzyme levels (4).

III. TOXIC PROTEINS ACTING ON BLOOD VESSELS AND OTHER SMOOTH MUSCLE ORGANS

Vasoculotoxins The heated venom of *Vipera russellii* produces a long-lasting hypotension which appears to be peripheral in origin (19). Although the active toxin has not been purified, it is postulated that the venom contains some vasoculotoxin which causes direct vasodilatation. Viperotoxin isolated from *Viper palestinae* might also belong to this category.

Hemorrhagins Previously, the hemorrhagins HR1, HR2a and HR2b, isolated from *Trimeresurus flavoviridis* venom, have been claimed to be devoid of proteolytic activity (28, 36). A recent study, however, reveals that HR1, HR2a and HR2b all can liberate Folin-positive material from kidney basement membranes (27). Therefore, evidence is strengthened that hemorrhage is due to proteolytic weakening of the stabilizing apparatus (i.e. the basement membrane and the perivascular fibrils) of the small vessels.

The hemorrhage produced by *Naja naja* venom on the lung surface capillaries has been attributed to a synergistic action of DLF and PhA (5).

Bradykinin-releasing esterases Bradykinin, a nonapeptide with powerful hypotensive and smooth muscle-stimulating properties, is regarded as the mediator in the venom-induced, abrupt hypotension. It is released from bradykininogen, a plasma γ -globulin precursor, mostly by crotalid and viperid venoms (15), but exceptionally by *Ophiophagus hannah* venom (25). The bradykinin-releasing activity has been attributed to a specific arginine-ester hydrolase (35).

Phospholipase A (PhA) This enzyme may cause various pathophysiological effects, by releasing autopharmacologic substances, such as histamine, serotonin and slow-reacting substance (SRS-C). Some of the hemodynamic effects as well as the action on smooth muscle of cobra venom can be attributed to PhA (21). Besides, as already mentioned, PhA exhibits synergistic effects with CTX (DLF).

IV. LOCAL NECROTIZING AGENTS

The main evidence for ascribing the necrotic effect of snake venoms to proteolytic enzymes was the high protease content of many crotalid and viperid venoms endowed with this action and the lack of proteases in elapid venoms, the majority of which do not evoke this effect. Local necrosis produced by cobra venom, however, is attributable to CTX, possibly potentiated by PhA (18).

V. COAGULANTS

Coagulant effects are exhibited in snake venoms according to the following mechanisms:

1. Factor X activator An arginine-esterase of molecular weight over 100,000 has been purified from *Vipera russellii* venom (34, 38). It splits off from purified plasma Factor X, a strongly coagulant derivative (FXa) that is by itself an esterase.
2. Prothrombin activator (a) Complete prothrombin activator (conversion of prothrombin to thrombin without Factor V). A powerful procoagulant which promotes the conversion of prothrombin to thrombin has been purified from *Echis carinatus* (33). It is an acidic protein (M. W. 86,000) and possesses some proteolytic activity. (b) An incomplete prothrombin activator (conversion of prothrombin to thrombin in the presence of Factor V) has been found in the venoms of *Notechis scutatus* (tiger snake) and *Acanthophis antarcticus* (13).
3. Trombin-like enzyme The homogeneous thrombin-like principles isolated from the venoms of *Agkistrodon rhodostoma* (16) and *Agkistrodon acutus* (29) are glycoproteins that resemble thrombin in its molecular weight. But they differ from thrombin in several respects. They are more heat-stable than thrombin (16, 29). Both peptides A and B are removed from fibrinogen during the formation of fibrin by thrombin, while only peptide A is removed by reptilase, the thrombin-like enzyme of *Bothrops jararaca* venom (3). Unlike thrombin, they are not inhibited by heparin (16, 29). No clot retraction nor factor XIII (Fibrin stabilizing factor) activation is found with the thrombin-like enzyme (29). Arvin, the thrombin-like enzyme from *Agkistrodon rhodostoma* venom induces a loss of fibrinogen by conversion into fibrin by systemic application (32). It has been used for prophylaxis

and therapy of thrombosis (2).

VI. ANTICOAGULANTS

A number of mechanisms account for the anticoagulant effects of snake venoms.

1. Inactivation of thromboplastin The components, which can inactivate thromboplastin, have been separated from the venoms of *Naja nigricollis* (6), *Naja naja atra* (8) and *Agkistrodon acutus* (31). The components from cobra venoms exhibit phospholipase A activity, and are thought to be the main anticoagulant through phospholipid destruction.
2. Inactivation of Factor V The components which can inactivate Factor V have been separated from the venoms of *Naja naja atra* (Ouyang and Chen, unpublished) and *Agkistrodon acutus* (31).
3. Inactivation of prothrombin A principle which can inactivate prothrombin has been purified from *Agkistrodon acutus* venom (31).
4. Fibrinolysis Fractions which can cause fibrinolysis have also been separated from *Agkistrodon acutus* venom (30).

REFERENCES

- 1) Barnard, E. A., Wieckowski, J. and Chiu, T. H. (1971): Cholinergic receptor molecules and cholinesterase molecules at mouse skeletal muscle junctions, *Nature*, 234, 207-209
- 2) Bell, W. R., Pitney, W. R. and Goodwin, J. F. (1968): Therapeutic defibrination in the treatment of thrombotic disease, *Lancet*, 7541, 490-493
- 3) Blombäck, B. (1958): Studies on the action of thrombic enzymes on bovine fibrinogen as measured by N-terminal analysis, *Arkiv Kemi*, 12, 321-335
- 4) Bonilla, C. A., Fiero, M. K. and Novak, J. (1971): Serum enzyme activities following administration of purified basic proteins from rattlesnake venoms, *Chem. Biol. Interactions*, 4, 1-10
- 5) Bonta, I. L., Vincent, J. E. and Noordhoek, J. (1972): The role of direct lytic factor (DLF) and phospholipase-A in the local hemorrhagic effect of *Naja naja* venom, *J. Formosan Med. Assoc.*, 71, 333-335
- 6) Boquet, P., Izard, Y., Meaume, J. and Jouannet, M. (1967): Recherches biochimiques et immunologiques sur le venin des serpents. II. Étude des propriétés enzymatiques et toxiques des fractions obtenues par filtration du venin de *Naja nigricollis* sur sephadex, *Ann. Inst. Pasteur*, 112, 213-235
- 7) Brazil, O. V. (1972): Neurotoxins from the south american rattle snake venom, *J. Formosan Med. Assoc.*, 71, 394-400
- 8) Brisbois, L., Rabinovitch-Mahler, N., Delori, P. and Gillo, L. (1968): Etude des fractions obtenues par chromatographie du venin de *Naja naja atra* sur sulphoéthyl-sephadex, *J. Chromatography*, 37, 463-475
- 9) Chang, C. C., Chen, T. F. and Chuang, S. T. (1973): N, O-di and N, N, O-tri (3H) acetyl-bungarotoxins as specific labelling agents, *Brit. J. Pharmacol.*, 47, 147-160
- 10) Changeux, J. P., Kasai, M. and Lee, C. Y. (1970): Use of snake venom toxin to characterize the cholinergic receptor protein, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 67, 1241-1247
- 11) Chen, I. and Lee, C. Y. (1970): Ultrastructural changes in the motor nerve terminals caused by β -bungarotoxin, *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.*, 6, 318-325
- 12) Cheymol, J., Gonçalves, J. M., Bourillet, F. and Roch-Arveiller, M. (1971): Action neuro-

- musculaire comparée de la crotamine et du venin de *Crotalus durissus terrificus* var. *crotaminicus*. 1. Sur préparations neuromusculaires in situ, *Toxicon* 9, 279–286
- 13) Denson, K. W. (1969): Coagulant and anticoagulant action of snake venoms, *Toxicon*, 7, 5–11
 - 14) de Vries, A. (1971): Research on snake venoms, In *Kupt Holim Year Book* Vol. 1, 24–36, Tel-Aviv
 - 15) Diniz, C. R. (1968): In *Venomous animals and their venoms* Vol. 1 ed. Bücherl, W., Buckley, H. and Deulofew, V., Academic, New York, 217–227
 - 16) Esnouf, M. P., and Tunnah, G. W. (1967): The isolation and properties of the thrombin-like activity from *Ancistrodon rhodostoma* venom, *Brit. J. Haemat.*, 13, 581–590
 - 17) Gonçalves, J. M. and Giglio, J. R. (1964): In *Abstract II. 6th Int. Conger. Biochem.*, New York, 170
 - 18) Lai, M. K., Wen, C. Y. and Lee, C. Y. (1972): Local lesions caused by cardiotoxin isolated from formosan cobra venom, *J. Formosan Med. Assoc.*, 71, 328–332
 - 19) Lee, C. Y. (1948): *J. Formosan Med. Assoc.*, 47, 14
 - 20) ——— (1970): *Clin. Toxicol.*, 3, 457–472
 - 21) ——— (1971): In *Neuropoisons* Vol. 1, ed. Simpson, L. L., Plenum, New York, 21–70
 - 22) ——— (1972): Chemistry and pharmacology of polypeptide toxins in snake venoms, *Ann. Rev. Pharmacol.*, 12, 265–286
 - 23) Lee, C. Y., Huang, M. C. and Bonilla, C. A. (1973): In *Animal and plant toxins* ed. Kaiser, E., Wilhelm Goldmann Verlag, München, 173–178
 - 24) Lin, Shiau S. Y., Huang, M. C. and Lee, C. Y. (1972): Isolation of cardiotoxic and neurotoxic principles from the venom of *Bungarus fasciatus*, *J. Formosan Med. Assoc.*, 71, 350–357
 - 25) Mebs, D. (1968): Vergleichende Enzymuntersuchungen an Schlangengiften unter besonderer Berücksichtigung ihrer Casein-spaltenden Proteasen, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 349, 1115–1125
 - 26) Miledi, R., Molinoff, P., and Potter, L. T. (1971): Isolation of the cholinergic receptor protein of *Torpedo* electric tissue, *Nature* 229, 554–556
 - 27) Ohsaka, A. (1973): In *Animal and plant toxins*, ed. Kaiser, E., Wilhelm Goldmann Verlag, München, 93–98
 - 28) Omori-Satoh, T. and Ohsaka, A. (1970): Purification and some properties of hemorrhagic principle I in the venom of *Trimeresurus flavoviridis*, *Biochim. Biophys. Acta*, 207, 432–444
 - 29) Ouyang, C., Hong, J. S. and Teng, C. M. (1971): Purification and properties of the thrombin-like principle of *Agkistrodon acutus* venom and its comparison with bovine thrombin, *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 26, 224–234
 - 30) Ouyang, C. and Teng, C. M. (1972): Purification and properties of the anticoagulant principle of *Agkistrodon acutus* venom, *Biochim. Biophys. Acta*, 278, 155–162
 - 31) Ouyang, C., Teng, C. M. and Hong, J. S. (1972): Purification and properties of the coagulant and anticoagulant principles of *Agkistrodon acutus* venom, *J. Formosan Med. Assoc.*, 71, 401–407
 - 32) Reid, H. A. and Chan, K. E. (1968): The paradox in therapeutic defibrination, *Lancet*, 7541, 485–486
 - 33) Schieck, A., Kobnalik, F. and Habermann, E. (1972): The prothrombin-activating principle from *Echis carinatus* venom. I. Preparation and biochemical properties, *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 272, 402–416
 - 34) Schiffman, S., Theodor, I. and Rapaport, S. I. (1969): Separation from Russell's viper venom of one fraction reacting with factor X and another reacting with factor V. *Biochemistry*, 8, 1397–1405
 - 35) Suzuki, T. (1966): Separation methods of animal venoms constituents, *Mem. Inst. Butantan*, 33, 389–409

- 36) Takahashi, T. and Ohsaka, A. (1970): A purification and some properties of two hemorrhagic principles (HR2a and HR2b) in the venom of *Trimeresurus flavoviridis*; complete separation of the principle from proteolytic activity, *Biochim. Biophys. Acta*, 207, 65-75
- 37) Weis, R. and McIssac, R. J. (1971): Cardiovascular and muscular effects of venom from coral snake, *Micrurus fulvius*, *Toxicon*, 9, 219-228
- 38) Williams, W. H. and Esnouf, M. P. (1962): The fractionation of Russell's-viper (*Vipera russel-
lii*) venom with special reference to the coagulant protein, *Biochem. J.*, 84, 52-62

東カリマンタンおよび西イリアンにおける クロロキン耐性熱帯熱マラリア 第2報

海老沢 功・福山 民夫¹・川村 善治

昭和50年4月13日 受付

前報でわれわれは東カリマンタンおよび西イリアンで感染したクロロキン耐性熱帯熱マラリアの2症例について報告した(海老沢ら, 1974, 1975)。これらの地域にクロロキン耐性熱帯熱マラリアがあることはWHOの報告(1973)には記載されていない。今回われわれはさらに両地域の別の箇所感染したクロロキン耐性熱帯熱マラリアについて検索する機会を得たので報告する。

研究 方 法

血漿, 血球および尿中のクロロキンの定量法については前報にのべた(海老沢ら, 1974)。蛍光分光光度計(日立 Model MPF 2A)を用いて血中のクロロキンを測定するときは, 陰性および陽性対照を次のとおりにした。すなわち血清または血漿中のクロロキン測定時には正常馬血清を陰性対照, これにクロロキン塩基を200ng/mlに加えたものを陽性対照とした。血球中のクロロキン測定には正常ヒト血球の25%水溶液を陰性対照とし, これに400ng/mlにクロロキンを加えたものを陽性対照とした。

EDC (Ethylene dichloride) へのクロロキン抽出, 0.1N NaOH による洗浄, 0.1N HCl による抽出を行い, 1N NH₄OH を加えてクロロキンの蛍光を測定する。陰性と陽性対照, 検体の蛍光度をそれぞれ F_n , F_p , F_i とすると検体中のクロロキンは血清の場合は

$$x = 200 \times \frac{F_i - F_n}{F_p - F_n} \text{ (ng/ml)}$$

で表わされる。血球の場合もこれに準ずる。

サルファ剤の定量は津田・松永(1942)の方法で行い, 熱帯熱マラリア原虫のクロロキン感受性は Rieckmann の方法(1968, 1971)で行った。マラリア原虫の培養には今回は主として screw cap つきの試験瓶を用い, 抗生物質を使わなかった。38-40 C で24時間培養後, 前法(海老沢ら, 1974)の基準に従って各クロロキン濃度における核分裂ないし成熟阻止率を求めた。クロロキン濃度対阻止率のグラフから50%および100%成熟阻止濃度を求めた。

症 例

症例3 I. T., 26歳男, 体重66kg, 木材輸入業。

旅行歴: 1974年10月15日-20日の間, 東カリマンタンのサンクリラン, サマリダ, バリクパパンに出張した。とくにサンクリランでは木材の伐採, 積み出しの現場にゆき, 現地人労務者の宿泊するバラックにとまり, 蚊に刺された記憶がある。抗マラリア剤はクロロキン塩基を毎週1回150mgずつ内服した。

発病: 10月30日より悪寒, 倦怠感, 嘔吐をもって発病, 11月1日と2日, クロロキンを150mgずつ1日2回, 計600mg内服した。11月5日-19日の間は発熱, 下痢などがありパラチフスを疑われ, クロラムフェニコールを与えられた。一時下降した熱は19日より再び上昇しはじめ22日からクロロキンを与えられ23日から下熱した。12月1日東京に帰り翌日入院した。その間11月22日より10

日間にクロロキン塩基を 4.5g 内服した。入院時熱帯熱マラリア原虫 (p. f.) の生殖母体 (g.) [以下 pfg と略] が 2,760/ μ l 認められた。12月4日よりプリマキンを1日 15mg ずつ5日間内服し、12月9日から pfg は消失した。

第1回再燃: 12月17日微熱を主訴として来院。無性熱帯熱マラリア原虫 (以下 pfr と略) 陰性。クロロキンを中止してから20日目の12月21日より悪寒を伴った発熱があり, 12月24日悪寒, 頭痛, 筋痛を主訴として入院。pfr は 19,520/ μ l を数えた。同日よりクロロキン療法を開始, 27日まで計 1,800mg (27mg/kg) を与えた。治療開始日を第1日とすると発熱は2日目, pfr は5日目に消失した (図1)。

第2回再燃: クロロキン内服終了後10日目の1975年1月6日, 37.3 C の発熱があり, 1月7日来院。pfr は 15,320/ μ l を数えた。サルファモノメトキシシ 500mg とピリメサミン 25mg を含

有する MP 錠を2錠内服させた。発熱と pfr はともに3日目に消失した。クロロキン療法の際と異なる点は, 体温, pfr ともに MP 錠を内服した翌日上昇しているが3日目には急激に下降していることである (図1)。

症例4 H. K., 55歳男, 体重 57kg, 木材輸入業。旅行歴: 1974年10月9日-24日インドネシアに出張, その間15日-20日は症例3と行動を共にし, サンクリランで蚊に刺された。抗マラリア剤はプログアニールを毎日 100-200mg ずつ内服したが帰国後中止した。

発病: 10月29日より悪寒, 頭痛を伴って発熱, 体温は 39-40 C に達した。11月1日よりクロロキンを5日間, 毎日それぞれ 480, 360, 180, 180, 180mg, 計 1,380mg (24mg/kg) 内服したが完全に下熱せず, 11月6日国立相模原病院に入院した。同日 38.8 C の発熱があり, 下熱剤インドメサジ

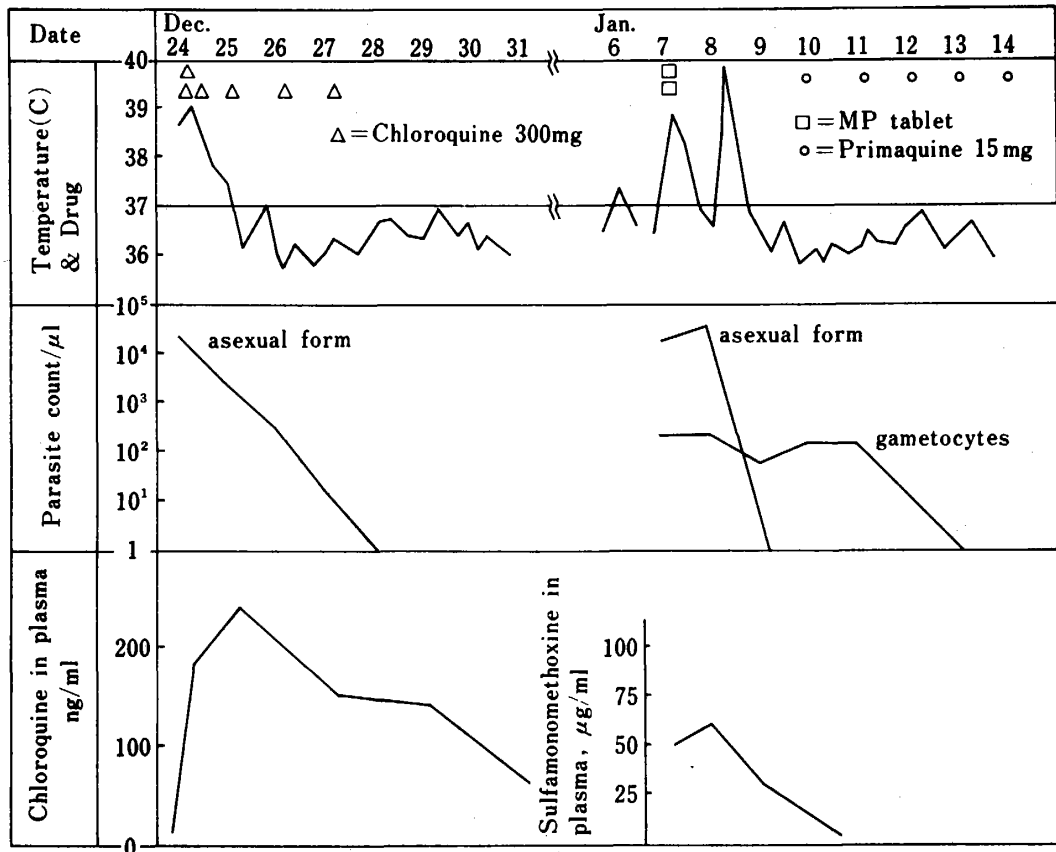


Fig. 1 Clinical course of Case 3, I. T.

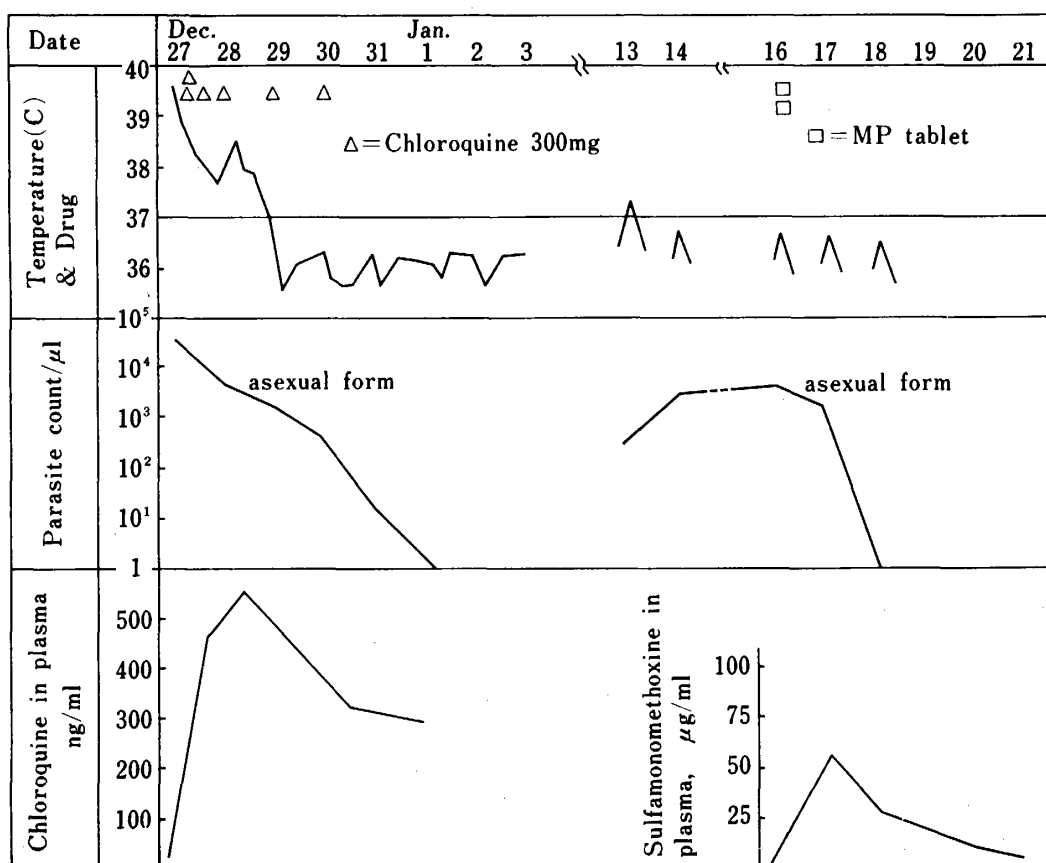


Fig. 2 Clinical course of Case 4, H. K.

ンを内服して一時下熱，15日に再び38.8 Cの発熱がありテトラサイクリンを与られている。23日に退院後も微熱があり，クロールテトラサイクリンを1日1g，2日間内服したら下熱した。

12月12日来院。pfgが920/μlあり，17日よりプリマキンを一15mgずつ5日間内服。12月21日にはpfgは陰性となった。

第1回再燃：クロロキン内服終了後20日目，12月25日に悪寒，吐き気をもって発熱し，27日に来院。体温39.6 C，pfr 31,710/μl，同日よりクロロキン療法を開始。30日まで計1,800mg (31mg/kg)与えた。発熱とpfrはそれぞれ3日目と5日目に消失した。途中から出現したpfgは前回同様のプリマキン療法で消失した。

第2回再燃：クロロキン内服終了後14日目の1975年1月13日，37.3 Cの発熱があった。翌日発熱はなかったがpfrは2,890/μlあり，16日には4,000/μlになった。外来でMP錠を2錠与え

たところ，pfrは3日目に陰性になった。発熱は16日以降なかった(図2)。

症例5 K.S. 26歳男，体重66kg，地形測量技師。

旅行歴：1974年6月15日インドネシアのビアク島に空路到着，西イリアンのナビレに渡り，ここを本拠地として毎日20km北東のキミ湾に船で行き，上陸して地形測量に従事した。作業地は湿地帯とジャングルがあり，多数の蚊に刺された。ナビレには約50日間滞在し，8月9日ビアク島より空路，ジャカルタ，シンガポール，ホンコン，台湾を経て東京に8月22日戻った。抗マalaria剤はクロロキンを毎週300mgずつ内服し，最後に内服したのは8月18日であった。

発病：クロロキン300mg内服後2日の8月20日に，悪寒をもって発病，体温は39 Cに達した。その後39—40 Cの弛張熱が続き，いくつかの病院

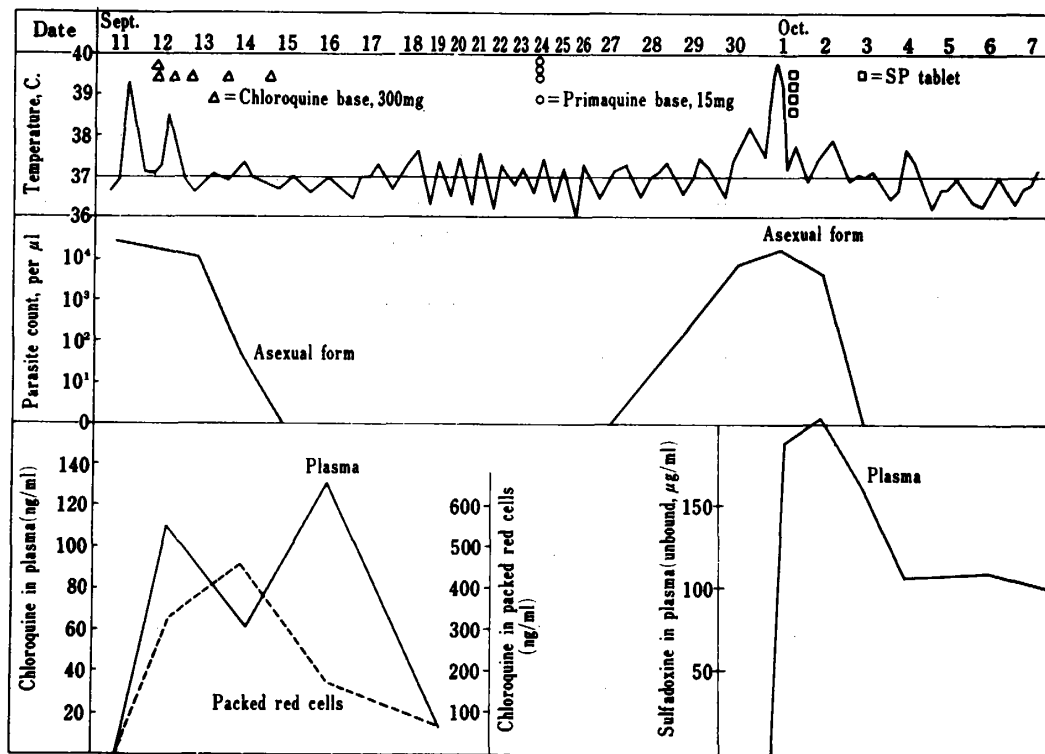


Fig. 3 Clinical course of Case 5, K. S.

を経て9月11日入院した。pfr は $24,250/\mu\text{l}$ 、pfg は $720/\mu\text{l}$ を数えた。12日よりクロロキン療法を開始、15日まで計 $1,800\text{mg}$ ($27\text{mg}/\text{kg}$) を与えた。pfr は4日目に消失した。発熱は4日目に一時消失したが7日目より微熱が持続した。pfg はプリマキンを1回 45mg 、1日与えただけで6日目に消失した。

再燃：クロロキン内服終了後13日目の9月28日、pfr は再び出現し、10月1日には $16,170/\mu\text{l}$ に達した。同日、1錠中 500mg のサルファドキシシンと 25mg のピリメサミンを含むSP錠を4錠内服させた。発熱は5日目に、pfr は3日目に消失した(図3)。

測定成績

薬剤濃度と無性熱帯熱マラリア原虫のクロロキン感受性

血漿内クロロキン濃度は3例とも $30\text{ng}/\text{ml}$ (約 $0.1\text{nM}/\text{ml}$) 以上の値を示した。この値は Peters

(1970)によるとクロロキン感受性 pfr を駆除するに十分な数字と考えられている。3例の血漿中最高クロロキン濃度はそれぞれ $240, 550, 134\text{ng}/\text{ml}$ であり、血球内クロロキン濃度は血漿内クロロキンよりも一般に高値を示した。

また3例の pfr に対するクロロキンの50%成熟阻止濃度は $288, 173, 141\text{ng}/\text{ml}$ (それぞれ $0.90, 0.54, 0.44\text{nM}/\text{ml}$) であった。同時に測定したスリランカ由来のクロロキン感受性 pfr は $45\text{ng}/\text{ml}$ の値を示した。この値から問題の3例の pfr はクロロキン感受性株より3倍以上の耐性を示していることがわかり、また Rieckmann *et al.* (1968, 1971) のデータとほぼ一致する(図4)。

血中サルファ剤の値については、サルファ剤単独では抗マラリア作用が少ないので参考の程度にしかならないが、吸収が速いことと、サルファドキシシンでは排泄が遅いことが見立つ。

第3, 第4例ではサルファモノメトキシシンの最高濃度が両例とも 1g を内服して、ともに $61\mu\text{g}/\text{ml}$ の値を示した。サルファドキシシン 2g を内服した

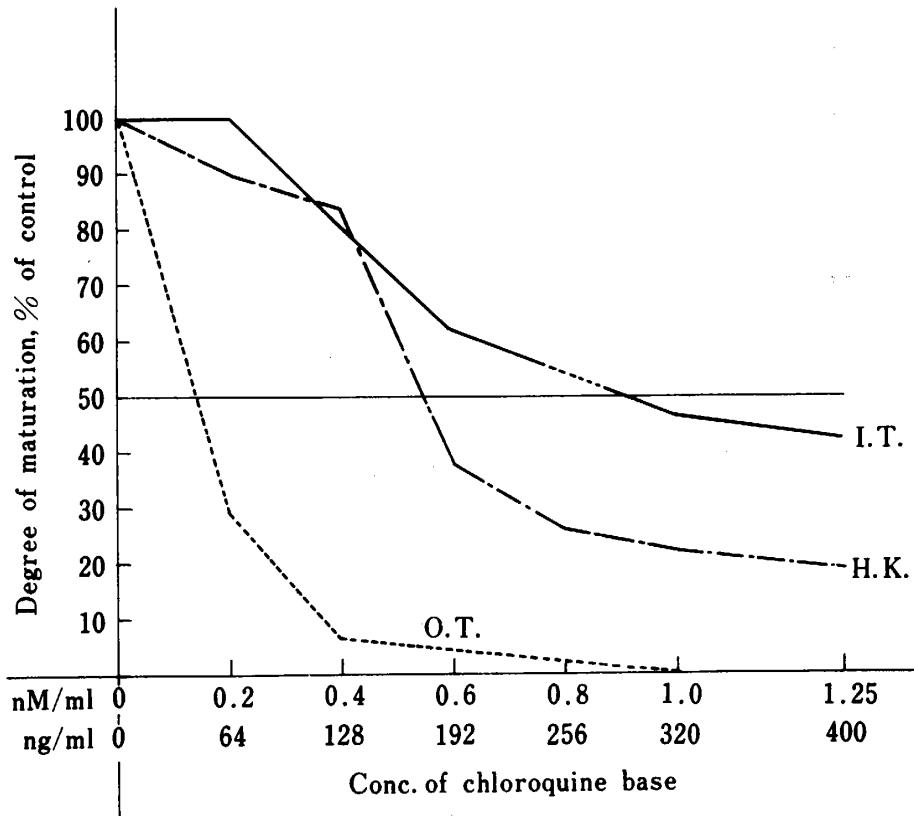


Fig. 4 In vitro chloroquine-sensitivity test of *P. falciparum* from East Kalimantan (I. T. & H. K.) and Sri Lanka (O. T.).

第5例では最高 $208 \mu\text{g/ml}$ を示している。3例とも全治しており、両サルファ剤がほぼ同様の抗マラリア作用があるとすれば上述のデータの比較からサルファドキシンは 1g で充分かも知れない。

生殖母体のプリマキン感受性

3例とも経過中に出現した生殖母体に対してプリマキン（1日1回 45mg 、あるいは1日 15mg 5日間）を与えたが全例とも生殖母体の速やかな消失をみた。

考 察

血漿および血球中のクロロキン濃度とくにその最高値と50%成熟阻止濃度 (MIC) を比較して何らかの相関を得ようとしたができなかった。第3, 5例ではクロロキン濃度は血球内 $>50\% \text{ MIC}$ $>$

血漿内の順であり第4例では血球内 $>$ 血漿内 $>$ 50% MIC の順を示した。再燃がおきるか否かは要するに残存する pfr があるかないかによって決まるので50% MIC よりむしろ100% MIC の方がより実用的かもしれない。但しいくつかの株のクロロキン感受性を比較するには50% MIC の方が便利であろう。

第3, 4例は同じ場所でほぼ同時に感染した。臨床的にクロロキンに対する反応はほぼ同様であったが50% MIC が $288, 173\text{ng/ml}$ と異なった値を示した。両例ともクロロキン療法を2回受けたあとに再燃した時 in vitro の感受性テストを行った。それまでに内服したクロロキンの量が第3例は 6.9g (第1回 5.1g , 第2回 1.8g)、第4例は 3.18g (第1回 1.38g , 第2回 1.8g) であった。このクロロキン内服量の差が50% MIC に影響したのか否か不明である。

われわれがとりあつかった輸入マラリア症例中、1965年から1975年3月までカリマンタンからの輸入マラリア7人中3人、ニューギニア（西イリアンとニューブリテン島を含む）からのマラリア27人中2人、計34人中5人が熱帯熱マラリアであり、のこりは全部三日熱マラリアである。

しかも5人の熱帯熱マラリアはすべて1974年に見られ、かつクロロキン耐性を示した。

以上の事実から最近になって東カリマンタンや西イリアンにクロロキン耐性熱帯熱マラリアが出現したと考えるべきなのか、問題がある所であろう。

とくに西イリアンで感染した例（海老沢ら、1974）が行ったマノクワリ地区や第5例が行ったキミ湾は日本人があまり入っていない地域である。

ただしカリマンタンでは北部のサバーですでにクロロキン耐性熱帯熱マラリア原虫が報告されており（WHO, 1973; Clyde *et al.*, 1973）、東カリマンタンのサマリダでも臨床的にクロロキン RI 耐性の症例が経験されている（Verdrager and Loekman, 1975）。そこでこの地方では北部より著者ら（1974, 1975）が報告したトルクスレイマン、サンクリラン、サマリダとかなり広い地域にクロロキン耐性熱帯熱マラリアが分布していると推定される（図5）。その由来に関しては第2—5例の感染した場所はいずれも原住民およびインドネシア各地からの労務者が多数集まっているので、これらの労務者と共にその地域に持ちこまれた可能性も除外できない。



Fig. 5 Distribution of chloroquine-resistant falciparum malaria in Southeast Asia and Oceania.

Arrows indicate the place of chloroquine-resistant falciparum malaria reported by the present authors. 1=Laos (Ebisawa *et al.*, 1970) 2=Turksleiman 3=Sangkulirang 4=Manokwari region 5=Kimi Bay

結 論

1) 東カリマンタンのサンクリランと西イリアンのキミ湾で1974年に感染した、クロロキン RI

耐性の熱帯熱マラリアを報告した。

2) 3例ともクロロキン 1,800 mg を内服（体重 1kg 当りそれぞれ 27, 31, 27mg）し、嘔吐せず、吸収され、再感染がないことを確認した。

3) *in vitro* における無性原虫のクロロキン感

受性は50% 成熟阻止濃度がそれぞれ 0.90, 0.55, 0.44nM/ml であった。対照のクロロキン感受性株は 0.14nM/ml の値を示した。

4) カリマンタンとニューギニアから輸入され

た34人のマラリア患者中熱帯熱マラリアは5人で、すべて1974年に罹患、すべてクロロキン耐性であった。クロロキン耐性熱帯熱マラリアはこれらの地方で広がりつつあると思われる。

文 献

- 1) Clyde, D. F., McCarthy, V. C., Gilman, R. H. and Miller, R. M. (1973): Characterization of a drug-resistant strain of *Plasmodium falciparum* from Sabah, J. Trop. Med. Hyg., 76, 226-230
- 2) 海老沢功, 福山民夫 (1974): マラリアとくにクロロキン耐性熱帯熱マラリアについて, 総合臨床, 23, 1777-1783
- 3) 海老沢功, 福山民夫, 三井源蔵 (1974): 西イリアンおよび東カリマンタンにおけるクロロキン耐性熱帯熱マラリア 第1報, 日熱医学会誌, 2(3, 4), 165-172
- 4) Ebisawa, I. and Fukuyama, T. (1975): Chloroquine-resistance of *P. falciparum* in West Irian and East Kalimantan, Ann. Trop. Med. Parasitol., 69, 275-282
- 5) Peters, W. (1970): Chemotherapy and drug resistance in malaria, Academic Press, London and New York
- 6) Report of a WHO Scientific Group (1973): Chemotherapy of malaria and resistance to anti-malarials, WHO Technical Report Series No. 529, Geneva
- 7) Rieckmann, K. H., McNamara, J. V., Frischer, H., Stockert, T. A., Carson, P. E. and Powell, R. D. (1968): Effects of chloroquine, quinine, and cycloguanil upon the maturation of asexual erythrocytic forms of two strains of *Plasmodium falciparum* in vitro, Amer. J. Trop. Med. Hyg., 17, 661-671
- 8) Rieckmann, K. H. (1971): Determination of the drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*, J. Amer. Med. Assoc., 217, 573-578
- 9) 津田恭介, 松永勢実 (1942): 有機微量分析に関する知見 第11報。1-(β -Diaethylaminoethylamino)-naphthalin によるスルファミンその他の芳香族一級アミノ化合物の定量, 薬学雑誌, 62, 362-364
- 10) Verdrager, J. and Loekman, A. (1975): Personal communication

CHLOROQUINE-RESISTANT FALCIPARUM MALARIA
IN EAST KALIMANTAN AND WEST IRIAN
II. ADDITIONAL CASES AND REVIEW
OF THE PROBLEMS

ISAO EBISAWA, TAMIO FUKUYAMA AND YOSHIHARU KAWAMURA

Received for publication 9 April 1975

1) Two cases of falciparum malaria infected at Sangkurilang, East Kalimantan and a case infected at Kimi Bay, West Irian were found to be chloroquine RI resistant. 2) All the 3 patients were given 1,800 mg of chloroquine base (27, 31 and 27 mg per kg of body weight) in four days. The drug was not vomited, and its absorption was confirmed by quantitative study of the blood and urine for chloroquine. The reinfection was excluded when recrudescence occurred. 3) The in vitro chloroquine-sensitivity test was made and the 50 percent maturation inhibition concentration of chloroquine against the three isolates and a chloroquine-sensitive Sri Lanka strain was 0.90, 0.55, 0.44 and 0.14 nM/ml, respectively. 4) 34 cases of malaria (29 vivax and 5 falciparum) were imported from Kalimantan, West Irian, Papua and New Guinea during the past 10 years. Falciparum malaria was seen for the first time in 1974 and all the 5 cases turned out to be chloroquine-resistant. It is concluded that chloroquine resistant falciparum malaria is prevalent in East Kalimantan and West Irian.

EFFECTS OF SULFAMONOMETHOXINE, CHLOROQUINE
AND PYRIMETHAMINE AGAINST *PLASMODIUM*
FALCIPARUM AND *PLASMODIUM VIVAX*
IN THE KINGDOM OF LAOS

With special reference to evaluation of antimalarial
efficacy of sulfamonomethoxine

TOSHIO YAMAMOTO, HIROYUKI AMANO,¹ TOHRU YAMANAKA,
HIROBUMI IWAMOTO, MASANORI AIHARA, MASAYUKI OKADA,
YOSHIO ONO AND SADA O SHIBAZAKI²

Received for publication 14 June 1975

Abstract: Exclusive therapy with sulfamonomethoxine, exclusive therapy with chloroquine, and the therapy with the combination of sulfamonomethoxine and pyrimethamine have individually been applied to 118 patients with malaria in Laos, and the effects were comparatively evaluated on the basis of quantitative progress in asexual parasitemia. The results are summarized as follows:

1) The presence of chloroquine-resistant type of malaria was suspected. 2) It was confirmed that sulfamonomethoxine has therapeutic efficacy comparable to that of chloroquine. 3) The therapeutic efficacy of sulfamonomethoxine was of a delayed type. 4) The combination of sulfamonomethoxine and pyrimethamine showed 100% effectiveness in the disappearance of parasitemia on blood film. 5) The following method was established on the ground of the above findings for the prophylaxis and therapy of malaria: For prophylaxis of malaria, 500 mg of sulfamonomethoxine should be administered twice a week, provided that the MP-therapy is at any time available. For the treatment of malaria, exclusive therapy with sulfamonomethoxine should be used as the first choice, and the progress in the number of asexual parasitemia should be observed for at least one week while this therapy is being applied.

Until the number of asexual parasitemia increases or is found to remain unexpelled even one week after its administration, no other therapy such as chloroquine or the combination of sulfamonomethoxine and pyrimethamine should be applied.

Even today, malaria is still one of the tropical diseases that require much attention. Since 1966 we have continued the clinical service activities at Brazzaville, Congo, Africa. Since 1970 visiting clinic services have also been carried out by our medical team in the Kingdom of Laos, Southeast Asia.⁵¹⁾

Quinoline derivatives have been the essential drugs for the therapy of malaria at the present time.¹⁾⁸⁾²¹⁾⁴⁵⁾ In fact, our therapy and prophylaxis against malaria have depended mainly on quinoline derivatives so far. However, in view of acci-

1 Dept. of Overseas Medical Services, 2 Dept. of Clinical Pathology, Tenri Hospital, Tenri, Japan.

dental incidents of malaria among our members and of the hepatic disturbances attributable to their administration, routine administration of chloroquine against malaria should be re-evaluated. In addition, from the observation of the patients we treated in tropical areas, it may be assumed that there exists chloroquine-resistant malaria.²⁾⁴⁾ Two cases³⁷⁾ of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* infection in Colombia were reported in 1961, followed by many reports on the similar cases in Thailand,²³⁾⁵³⁾ Cambodia,¹⁹⁾ Malaysia,¹⁵⁾³⁶⁾ Vietnam,³¹⁾⁴⁶⁾ Singapore,³⁹⁾ the Philippines,⁴³⁾ and Laos.¹⁸⁾ Some of them were found to be also resistant to other antimalarials, and some others were also found to have reduced their response to quinine.¹⁵⁾³¹⁾⁴⁶⁾

Malaria was almost entirely eliminated in Japan for a time being after the Second World War, but, as the number of Japanese travellers abroad increased, the number of malarial patients also increased, and even the death due to this disease have been reported.⁴⁰⁾ We have had a case with *Plasmodium ovale* Stephens brought back from Brazzaville, Congo.³⁾

The available antimalarials besides quinoline derivatives are various sulfonamides as the p-aminobenzoic acid antagonists,²⁵⁾ pyrimethamine, chloroguanide and cycloguanil pamoate²⁵⁾ as the folic acid reductase inhibitor and a new drug, called colchicine.³²⁾

In our clinical service activities in Laos, observations were made on the effect of three methods of treatment: exclusive use of chloroquine, exclusive use of sulfamonomethoxine, and combination of sulfamonomethoxine and pyrimethamine on *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. The therapeutic effects of these three agents have been compared and evaluated with the reduction rate of asexual parasitemia as an indication. Based on these results, we will discuss the prophylaxis and therapy against malaria.

MATERIALS AND METHODS

MATERIALS:

Patients in Ban Keun village and refugee camps in the neighboring villages in Laos were the subject of this study. The number of patients we treated were 118 in total. They were diagnosed by means of thick or thin blood films. 118 cases of malaria consisting of 79 *Plasmodium falciparum* and 39 *Plasmodium vivax*, of which 3 cases were reinfected and 2 cases were superinfected. Of these 118 patients, 57 cases were followed-up using thick or thin blood film tests to indicate asexual parasitemia.

DRUG ADMINISTRATIONS:

The patients were divided into three groups in order to compare and to evaluate the effectiveness of the treatment regimens.

DRUGS USED IN EACH GROUP WERE AS FOLLOWS:

1. Exclusive sulfamonomethoxine therapy (M group)

- The first day: 40 mg/kg of body weight
 The second day: 20 mg/kg of body weight
 The third day: 20 mg/kg of body weight
2. Exclusive chloroquine therapy (C group)
 Chloroquine 1,500 mg therapy
 The first day: 600 mg
 Six hours later: 300 mg
 The second day: 300 mg
 The third day: 300 mg
 in accordance with the WHO method based on a dose of 1,500 mg.
3. Combinations of sulfamonomethoxine and pyrimethamine therapy (MP group)
 1 mg of pyrimethamine and 20 mg of sulfamonomethoxine per kg of body weight.
 This combination was given at the same time.

RESULTS

As the result of treatment, the disappearance ratio of asexual parasitemia was 55% in the M-group, 54% in the C-group and 100% in the MP-group (Tables 1 and 2).

TABLE 1 The effect of treatment (1)

Treatment	Number of cases	Number of ...*	ratio %
M-group	22	12	55
C-group	13	7	54
MP-group	22	22	100

M — sulfamonomethoxine, C — chloroquine

MP — sulfamonomethoxine + pyrimethamine

* Number of disappearance of asexual parasitemia

TABLE 2 The effect of treatment (2)

Treatment	Type of malaria	Number of cases	Number of ...*	ratio %
M-group	<i>Plasmodium falciparum</i>	11	6	55
	<i>Plasmodium vivax</i>	7	3	43
C-group	<i>Plasmodium falciparum</i>	7	3	43
	<i>Plasmodium vivax</i>	5	3	60
MP-group	<i>Plasmodium falciparum</i>	13	13	100
	<i>Plasmodium vivax</i>	8	8	100

* Number of disappearance of asexual parasitemia

However, it should be noted that the blood examinations were occasionally carried out on separate days due to the difficult travelling conditions of the medical

team.

The relationship between the dates of examination after treatment and the results concerning the disappearance of asexual parasitemia is shown in Table 3.

TABLE 3 The effect of treatment upon disappearance of asexual parasitemia

Time after treatment	M-group		C-group		MP-group	
	Number of tested cases	Number of disappearance cases	*	**	*	**
2nd day	6					
3rd day	14	5	4	2	4	4
4th day	1	1				
5th day	2		1	1		
6th day	2	2				
7th day	4	3	2		11	10
2 weeks	1	1	5	4	5	5
3 weeks			1		3	2
4 weeks	1					
5 weeks					1	1

* Number of tested cases

** Number of disappearance cases

Among those M-group patients who were treated with sulfamonomethoxine alone, 20 cases were followed-up on the second or third day after the treatment, only 5 cases turned to negative. Whereas, of the 6 cases which were followed-up on the 6th or 7th day, 5 cases were found to have turned to negative. One case did not indicate negative reaction even in the 4th week after medication.

In the C-group, neither at early stage (third day) nor about two weeks after the treatment, did anyone turn to negative.

In the MP-group, asexual parasitemia in blood film of all the patients except 2 disappeared in the subsequent examination, either immediately after or 1 to 3 weeks after the medication.

Table 4 shows the results of the changes in the number of asexual parasitemia on observation day after the treatment.

In the M-group, 21 patients were followed-up on the 2nd, 3rd or 4th day after the therapy. Of these, 6 cases showed no asexual parasitemia detected in the blood film. In 9 cases, more than 80% reduction in the number of asexual parasitemia was seen. Four cases showed a reduction of more than 50% in the number of asexual parasitemia. Only two patients showed no change in the number of asexual parasitemia even during administration of this drug.

Of the 12 patients whose turning to negative was confirmed, 7 cases were found with *Plasmodium falciparum* and 3 cases with *Plasmodium vivax*. Four of these with *Plasmodium falciparum* turned to negative on the third day, while another on the 4th day and the other two on the 7th day. The two cases which turned to negative on

TABLE 4 The effect of treatment with sulfamonomethoxine alone and chloroquine alone upon disappearance of asexual parasitemia

M-group:	I.	Explored during the second to fourth days	21 cases
		Disappearance	6 cases
		Reduction more than 80%	9 cases
		Reduction 50% to 80%	4 cases
		Unchanged	2 cases
	II.	Exploration on the 12 cases with disappearance of asexual parasitemia	
	a)	Cases with <i>Plasmodium falciparum</i>	
		3rd day	4 cases
		4th day	1 case
		7th day	2 cases
		(One showed 66% reduction on the third day)	
		(Another showed 22% reduction on the 5th day)	
b)	Cases with <i>Plasmodium vivax</i>		
	3rd day	1 case	
	6th day	2 cases	
		(80 and 87% reduction on the third day)	
		7th day	1 case
		2nd week	1 case
C-group:	a)	Seven cases out of 13 disappeared at the second test. (2 cases on the 2nd day, 1 case on the 5th day, and 4 cases on the 14 th day)	
	b)	Of 6 cases, 3 remained unchanged, and 3 others showed more than 80% reduction. (explored on the end of the 1st, 2nd, and 3rd week, respectively)	

the 7th day were both checked during the treatments. One of them showed a reduction of 66% on the 3rd day, and the other showed 22% on the 5th day. Of the three cases with *Plasmodium vivax*, one turned into negative on the third day, while the other two turned into negative on the 6th day. Of the latter two, one showed a reduction of 80% and the other 87% on the third day.

From the above-mentioned results, it may be claimed that although the disappearance ratio of asexual parasitemia of the M-group amounted to only 50% at our post-medication check, sulfamonomethoxine even when administered alone can provide good therapeutic effect against *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*.

Of the 13 patients who underwent chloroquine alone (C-group), 7 cases turned to negative.

Of the 6 cases which showed no negative turning, 3 were checked at the end of the 1st, 2nd and 3rd week respectively, showing more than 80% reduction in asexual parasitemia. However, the other 3 remained unchanged in terms of the number of asexual parasitemia of the blood specimens. Not only from this result, but also from

their clinical symptoms, they were suspected to be of the chloroquine-resistant type of malaria. These 6 cases were switched to either the M-group or the MP-group but, unfortunately, no further followed-up has been made.

Of the 22 cases of the MP-group, 20 cases showed disappearance of asexual parasitemia at the time of the post-medication check. Of the two cases which showed no negative turning at the primary post-medication test, one showed improvement in his clinical symptoms at the end of the first week after the medication, but showed increase in asexual parasitemia in his blood specimens. However, at the end of the third week after the medication, with no additional medication, the asexual parasitemia disappeared. One patient was febrile at the end of the third week, and was eventually found to have asexual parasitemia. Re-medication was then started and the asexual parasitemia disappeared two weeks later (at the end of the 5th week after the initial medication).

DISCUSSION

Quinoline derivatives have so far been used widely against malaria as a remedy for both its prophylaxis and therapy. However, since the chloroquine-resistant malaria was reported in many areas in recent years, it was claimed that the prophylactic and therapeutic methods against malaria should be re-evaluated. It has been known that sulfonamides is effective for the therapy against malaria since Coggeshall¹⁷⁾ reported on sulfadiazine in 1941. However, their practical use was rare in view of the outstanding efficacy of quinoline against the disease. Later, the effects of sulfamethoxine,²⁷⁾ sulfadimethoxine, sulfamethoxypyridazine,¹³⁾ sulfalene,⁶⁾³³⁾³⁴⁾ sulfadiazine,⁴¹⁾ and many other sulfonamides were reported.

Especially, concerning the sulfones, diaphenylsulfone (D. D. S.) became the object of particular attention and its schizontocidal effect was reported. Furthermore, it was reported that diformyl diamino diphenyl sulfone (D. F. D.)¹⁶⁾ was even more effective. Sulfonamides appear to be effective and the longer acting drugs appear to be more effective, probably because of the maintenance of longer and more constant antagonism to para-aminobenzoic acid.²⁵⁾ Particularly noted is the fact that the efficacy of sulformethoxine with 100 to 200 hours' half life should be attended to in the future. Yoshinaga reported in 1970 that sulfamonomethoxine was effective against *Plasmodium falciparum* in Kenya.⁵²⁾

In the course of prophylaxis and therapy against malaria within the staff of our overseas medical service team, we used to apply mainly chloroquine, but had been disturbed by the hepatic disorders due to chloroquine. Amano *et al.*, our colleagues, reported that malaria broke out in the hiatus of chloroquine administration which were to be discontinued because of emerging hepatic disturbances after administration.

Further, the application of chloroquine which has long been used in the orthopedic field has come to be avoided due to the recent upheaval of the iatrogenic diseases caused by excessive medication like the SMON disease which is ascribed to the long-term administration of chinoform.

From these facts, we feel that the use of chloroquine as a prophylactic drug against

malaria should be re-examined. Although sulfonamides can not always be free from side effects, no particularly notable reports have been published so far on its side effects even though it has been daily applied over several years as one of the combined chemotherapy against pulmonary tuberculosis. As clearly realized by our present study, it can be claimed that the exclusive administration of sulfamonomethoxine has sufficient efficacy, not inferior to that of chloroquine, against malaria. Our studies indicate that the efficacy of sulfamonomethoxine is better than that of chloroquine. From the above-mentioned findings it is our belief that sulfamonomethoxine is preferable to chloroquine for the prophylaxis and therapy of malaria in the present practice.

Pyrimethamine, chloroguanide, cycloguanil pamoate, and trimethoprim as folic acid reductase inhibitor were introduced to the clinical use against malaria. It has been, however, reported that these new antimalarials are more toxic to human bodies than sulfonamides according to their actions to cause megaloblastic changes in the bone marrow and to invite anemia due to their inhibitory effects against folic reduction.²⁵⁾ Of these antimalarials, pyrimethamine was developed in 1948 by G. H. Hitchings,²⁴⁾ followed by many investigations concerning this drug. However it should be noted that pyrimethamine is prone to develop resistance.⁹⁾¹²⁾⁴⁸⁾ It has been reported that this agent was effective against both *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*, but the amount of the therapeutic dose of an antimalarial varies depending on the strains of *Plasmodium falciparum*,²⁶⁾ and that large parasitemias and large doses of this agent will develop a high degree of resistance, much faster than the method of repeated exposure to small doses.⁴²⁾⁴⁴⁾ Since chloroquine resistant malaria has acquired cross resistance, antimalarials with many modes of different association have been re-examined. First of all, the combination of sulfadiazine with pyrimethamine³⁵⁾ was studied, followed by those of chloroquine with quinine or mepacrine,⁵⁾ but their effects were found to be insufficient. The combination of one of sulfonamides or sulfones with one of the folic reductase inhibitors has been shown to produce a true synergism as the folic acid pathway was attacked at two different places.²⁵⁾ Various ways of combination were tried, such as sulfone and pyrimethamine,¹⁰⁾³⁰⁾ sulfalene and trimethoprim,¹⁴⁾ sulfamethoxazole and trimethoprim, and D. F. D. and trimethoprim.²⁰⁾ Among them, the combination of sulformethoxine and pyrimethamine has attracted the greatest interest, and a large number of reports have been published.⁵⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁸⁾²²⁾²⁹⁾⁴⁷⁾⁴⁹⁾⁵⁰⁾ Because of the difficulty in obtaining large quantities of Fansidar (the combination of sulformethoxine and pyrimethamine), the combination of sulfamonomethoxine and pyrimethamine (MP-group) was adopted in our present study. As reported in this paper, its efficacy amounted to 100% in the disappearance of parasitemia in blood film. This is an excellent result. The outstanding efficacy was also confirmed in a refugee camp. Our second team rendered their treatment to almost all inhabitants of the camp against malaria which was rampant at that time, and ten months later, the third team could hardly find any one still affected by malaria. However, several points have yet to be re-examined before applying the remedy further to more extensive uses.

Firstly, it should be pointed out, as discussed from literature, that pyrimethamine is characterized by its likelihood to acquire resistance. Secondary, the fact that this drug achieved 100% efficacy may suggest that there might have been excessive ad-

ministration of this medicine to malaria. In fact, WHO also admitted that further studies would be needed in determination of its final dose against the disease. One of the problems to be mentioned here is that the single dose of 1,000 mg/50 kg of sulfamonomethoxine and 50 mg/50 kg of pyrimethamine (2 tablets of MP) is sufficient for attaining 100% efficacy and that a dose of 500 mg of sulfamonomethoxine and 25 mg of pyrimethamine (a tablet of MP) is needed once a week for prophylaxis against malaria. Taking into consideration the above-mentioned points, it may be claimed at least that the particular combination would be highly effective if it is applied at one swoop in accordance with a careful plan to eradicate malaria in a district. It should be, however, pointed out that, in view of this outstanding efficacy, its fragmental or insufficient use only to stop symptoms should be strictly restricted.

REFERENCES

- 1) Allison, J. L., O'Brien, R. L. and Hahn, F. E. (1965): DNA; Reaction with chloroquine, *Science*, 149, 1111-1113
- 2) Amano, H., Kurata, S. and Yamamoto, T. (1972): Tropical diseases observed in Tenri hospital, *J. African Studies*, 12, 62-65
- 3) Amano, H., Kurata, S. and Yamamoto, T. (1972): A case of *Plasmodium ovale* malaria, *Nettai*, 6, 162-168
- 4) Amano, H. and Yamamoto, T. (1973): A case of *Plasmodium falciparum* malaria treated with sulfamonomethoxine alone, *Jap. J. Trop. Med. Hyg.*, 1, 149-150
- 5) Bartelloni, P. J., Sheehy, T. W. and Tigertt, W. D. (1967): Combined therapy for chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* infection, *J. Amer. Med. Ass.*, 199, 173-177
- 6) Baruffa, G. (1966): Clinical trials in *Plasmodium falciparum* malaria with a long-acting sulfonamide, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 60, 222-224
- 7) Basu, P. C., Mondal, M. M. and Chakrabarti, S. C. (1962): Treatment of human malaria by diamino-diphenyl-sulphone (DDS), singly and in combination with pyrimethamine; A preliminary study of their effects in *P. vivax* and *P. falciparum* infections in Rajasthan, India, *Indian J. Malariol.*, 16, 157-175
- 8) Bowman, I. B. R., Grant, P. T., Kermack, W. O. and Ogston, D. (1961): The metabolism of *Plasmodium berghei*, the malaria parasite of rodents, *Biochem. J.*, 78, 472-478
- 9) Burgess, R. W. and Young, M. D. (1959): The development of pyrimethamine resistance by *Plasmodium falciparum*, *Bull. Wld Hlth Org.*, 20, 37-46
- 10) Chin, W., Contacos, P. G., Coatney, G. R. and King, H. K. (1966): The evaluation of sulfonamides, alone or in combination with pyrimethamine in the treatment of multi-resistant *falciparum* malaria, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 15, 823-829
- 11) Chum-Chantol (1969): Interet de l'association de la sulformethoxine (Fanasil) et de la pyrimethamine (1) dans la cure radicale du paludisme a *Plasmodium falciparum*, *Revue Int. Servs. Sante Armees*, 42, 557-568
- 12) Clyde, D. F. and Shute, G. T. (1954): Resistance of east African varieties of *Plasmodium falciparum* to pyrimethamine, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 48, 495-500
- 13) Clyde, D. F. (1967): Antimalarial effects of diaphenylsulfone and three sulfonamides among semi-immune Africans, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 16, 7-10
- 14) ——— (1969): Sulfalene and trimethoprim in acute *falciparum* malaria (Correspondence), *J. Amer. Med. Ass.*, 209, 563
- 15) Clyde, D. F., DuPont, H. L., Miller, R. M. and McCarthy, V. C. (1970): Prophylactic and sporontocidal treatment of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* from Malaya, *Trans.*

- R. Soc. Trop. Med. Hyg., 64, 834-838
- 16) Clyde, D. F., Rebert, C. C., McCarthy, V. C. and Dawkins, A. T. (1970): Diformyl diaminodiphenyl sulfone (DFD) as an anti-malarial in man, *Milit. Med.*, 135, 527-536
 - 17) Coggeshall, L. T., Maier, J. and Best, C. A. (1941): The effectiveness of two new types of chemotherapeutic agents in malaria, *J. Amer. Med. Ass.*, 117, 1077-1081
 - 18) Ebisawa, I., Muto, T., Kameko, S. and Mitsui, G. (1970): Response of Laotian malaria strains to chemotherapy, *Jap. J. Exp. Med.*, 40, 151-157
 - 19) Eyles, D. E., Hoo, C. C., Warren, McW. and Sandosham, A. A. (1963): *Plasmodium falciparum* resistant to chloroquine in Cambodia, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 12, 840-843
 - 20) Fasan, P. O. (1971): Trimethoprim and sulphamethoxazole compared with chloroquine in the treatment and suppression of malaria in African schoolchildren, *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 65, 117-121
 - 21) Haas, E. (1944): The effect of atabrine and quinine on isolated respiratory enzymes, *J. Biol. Chem.*, 155, 321-331
 - 22) Harinasuta, T., Viravan, C. and Reid, H. A. (1967): Sulphormethoxine in chloroquine resistant falciparum malaria in Thailand, *Lancet*, 1, 1117-1119
 - 23) Harinasuta, T., Suntharasamai, P. and Viravan, C. (1965): Chloroquine-resistant falciparum malaria in Thailand, *Lancet*, 2, 657-660
 - 24) Hitchings, G. H., Elion, G. B. and Werff, H. V. (1948): Pyrimidine derivatives as antagonists of pteroylglutamic acid, *J. Biol. Chem.*, 174, 765-767
 - 25) Hunsicker, L. G. (1969): The pharmacology of anti-malarials, *Arch. Intern. Med.*, 123, 645-649
 - 26) James, S. P., Nicol, W. D. and Shute, P. G. (1932): A study of induced malignant tertian malaria, *Proc. R. Soc. Med.*, 23, 1153-1186
 - 27) Laing, A. B. G. (1964): Antimalarial effect of sulphorthodimethoxine (Fanasil), *Brit. Med. J.*, 2, 1439-1440
 - 28) ——— (1965): Treatment of acute falciparum malaria with diaphenylsulfone in northeast Tanzania, *J. Trop. Med. Hyg.*, 68, 251-253
 - 29) ——— (1968): Hospital and field trials of sulphormethoxine with pyrimethamine against Malaysian strains of *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*, *Med. J. Malaya*, 23, 5-19
 - 30) ——— (1970): Malaria suppression with fortnightly doses of pyrimethamine with sulfadoxine in the Gambia, *Bull. Wld Hlth Org.*, 43, 513-520
 - 31) Legters, L. J., Wallace, D. K., Powell, R. D. and Pollack, S. (1965): Apparent refractoriness to chloroquine, pyrimethamine, and quinine in strains of *Plasmodium falciparum* from Vietnam, *Milit. Med.*, 130, 168-176
 - 32) Luketic, G. C., Santini, R. and Butterworth, C. E. (1965): Depression of whole blood folate activity by colchicine, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 120, 13-16
 - 33) Martin, D. C. and Arnold, J. D. (1968): The drug response of a normal and a multi-resistant strain of *P. falciparum* to sulphalene, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 62, 810-815
 - 34) Martin, D. C. and Arnold, J. D. (1969): Enhanced sensitivity of *P. falciparum* to sulphalene as a consequence of resistance to pyrimethamine, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63, 230-235
 - 35) McGregor, I. A., Williams, K. and Goodwin, L. G. (1963): Pyrimethamine and sulfadiazine in treatment of malaria, *Brit. Med. J.*, 2, 728-729
 - 36) Montgomery, C. R. and Eyles, D. E. (1963): Chloroquine resistant falciparum malaria in Malaya, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 57, 409-416
 - 37) Moore, D. V. and Lanier, J. E. (1961): Observation on two *Plasmodium falciparum* infections with abnormal response to chloroquine, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 10, 5-9
 - 38) Neva, F. A. (1967): Malaria-Recent progress and problem, *New Engl. J. Med.*, 277, 1241-1252

- 39) Ng, W. C., Fung, W. P., Colbourne, M. J. and Gilles, H. M. (1969): Chloroquine-resistant malaria in Singapore, *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 63, 313-316
- 40) Ogihara, M., Ohira, I., Matuzaki, S. and Nakatani, K. (1972): An autopsy case of malignant tertian malaria with cerebral involvement, *Nettai*, 7, 6-7
- 41) Powell, R. D., De Gowin, R. L. and McNamara, J. V. (1967): Clinical experience with sulfadiazine and pyrimethamine in the treatment of persons experimentally infected with chloroquine resistant *Plasmodium falciparum*, *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 61, 396-408
- 42) Ramakrishnan, S. P., Prakash, S., Chowdhury, D. S. and Basu, P. C. (1961): Studies on *Plasmodium berghei* Vincke and Lips, 1948, *Indian J. Malar.*, 15, 95-106
- 43) Ramos, O. L. (1968): Chloroquine and other anti-malaria drugs resistant *Plasmodium falciparum* from Palawan, Philippines, *J. Philip. Med. Ass.*, 44
- 44) Rollo, J. M. (1952): Daraprim resistance in experimental malarial infections, *Nature*, 70, 415
- 45) Schellenberg, K. A. and Coatney, G. R. (1961): Influence of antimalarial drugs on nucleic acid synthesis on *Plasmodium gallinaceum* and *Plasmodium berghei*, *Biochem. Pharmacol.*, 6, 143-152
- 46) Sheehy, T. W. and Reba, R. C. (1967): Treatment of chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* infections in Vietnam, *Ann. Intern. Med.*, 66, 616-622
- 47) Verdrager, J., Riche, A. and Chheang, C. M. (1967): Traitement du paludisme a *P. falciparum* par les sulfamides-retard, *Presse Med.*, 75, 2839-2840
- 48) Wilson, T. and Edeson, J. F. B. (1953): Treatment of acute malaria with pyrimethamine, *Br. Med. J.*, 1, 253-255
- 49) Wolfensberger, H. R. (1970): Clinical trials with Fansidar. Bactrim and chloroquine in 300 cases of acute falciparum malaria, *Far East Med. J.*, 6, 48
- 50) Wolfensberger, H. R. (1971): Curative and suppressive treatment of *P. falciparum* malaria with oral and parenteral Fansidar, *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.*, 2, 39
- 51) Yamamoto, T., Amano, H., Kurata, S. and Takahashi, H. (1972): Some aspect of the tropical medicine based on experience in Congo and Laos, *Nettai*, 6, 41-68
- 52) Yoshinaga, T., Tsutsumi, Y., Tsunoda, K. and Yamamura, Y. (1970): Studies on the antimalarial property of 4-methoxy-6-sulfanilamidopyrimidine monohydrate (sulfamonomethoxine; DJ-1550) and on its effect on the chloroquine-resistant malaria, *Arzneim-Forsch. (Drug Res.) Jahrgang*, 20, 1206-1210
- 53) Young, M. D., Contacos, P. G., Sticher, J. E. and Millar, J. W. (1963): Drug resistance in *Plasmodium falciparum* from Thailand, *Amer. J. Med. Hyg.*, 12, 305-314

ラオスに於けるマラリアに対する Sulfamonomethoxine, Chloroquine 及び Pyrimethamine の治療成績の比較検討

山本 利雄・天野 博之¹・山中 亨・岩本 宏文
相原 雅典・岡田 雅幸・小野 喜雄・柴崎 定男²

ラオスに於ける118例のマラリア患者に対して、Sulfamonomethoxine 単独療法、Chloroquine 単独療法および Sulfamonomethoxine と Pyrimethamine の合剤による療法を行い、その効果を asexual parasitemia の量的推移を基本にして比較検討して、以下の推論を得た。1) Chloroquine 耐性のマラリアの存在が推察された。2) Sulfamonomethoxine は Chloroquine に劣らない治療効果があることが確認された。3) Sulfamonomethoxine の治療効果は遅効性であるように考えられた。4) Sulfamonomethoxine と Pyrimethamine の合剤は、血液塗抹標本中の原虫消失に100%の治療効果を示した。5) 以上の諸成績をもとにして、マラリアの予防と治療に関して以下の方法が確立された。マラリアの予防に関しては、Sulfamonomethoxine と Pyrimethamine の合剤が何時でも使えるよう準備されているという条件下に於いて、第一次薬剤として Sulfamonomethoxine 500mg を1週2回服用する。マラリアの治療に関しては、Sulfamonomethoxine 単独療法を第一次治療とし、少なくとも1週間は本療法下に asexual parasitemia の推移を観察する。この観察によって、asexual parasitemia の増加、ないしは1週間後に尚その消失をみない時、はじめて、Chloroquine ないしは Pyrimethamine との合剤の使用を考える。

1 天理よろづ相談所病院海外医療科 2 臨床病理部

ON THE CESTODE *TAENIA HYDATIGENA* FROM THE WILD DOG IN NEPAL

ISAMU SAWADA¹ AND YUKIO SHOGAKI²

Received for Publication 20 November 1975

Abstract: A cestode belonging to the genus *Taenia* was found in the small intestine of a wild dog captured in Kathmandu, Nepal. This is the first record of the helminth fauna from the wild dog in Nepal.

The cestode dealt with in this paper was collected from the small intestine of the wild dog, *Canis familiaris*, in Kathmandu, Nepal on January 14, 1974 by Shogaki.

The present specimens were fixed in five percent formalin under cover glass, washed in running water over the night, and then, stained with Heidenhain's hematoxylin. After a careful investigation, they have been identified with *Taenia hydatigena* Pallas, 1766. This is the first record of *Taenia hydatigena* from the wild dog in Nepal.

Taenia hydatigena Pallas, 1766

Diagnosis (all measurements in millimeters): Fully developed strobila measuring 135 to 147 in length with maximum width 7.5 to 8.8. Scolex pyriform or reniform, 0.138 to 0.201 long and 1.02 to 1.17 wide. Rostellum distinct but not massive, 0.345 to 0.373, armed with about 28 hooks set in two rows. First row hooks 0.175 to 0.217 long; provided with a slightly bent sharp blade, and handles of them usually not sinuous, second row hooks 0.133 to 0.140, with a very bent pointed blade. Suckers spherical, measuring 0.287 to 0.301 by 0.294 to 0.308. Neck usually distinct, 0.62 to 0.74 wide. Immature and mature segments greater in width than in length; but senile segments longer than broad. Genital papillae slightly protrude out of segment margin; they irregularly alternate; located near the middle of the lateral margin.

Male genital organs. Testes 520 to 536 in number; 235 to 250 in poral side and 285 to 286 in aporal side, and occupying almost entire median field of segment between longitudinal excretory vessels, measuring 0.042 to 0.056 in diameter. Testes are not laid behind the vitelline gland, not between the vitelline gland and the ovary, not a short distance anterior to the ovary, and not between the vas deferens and the vagine. Cirrus pouch, cylindrical, 0.154 to 0.189 long and 0.077 to 0.126 wide. Vas deferens without seminal vesicle.

1 Biological Laboratory, Nara University of Education, Nara, Japan. 2 Dept. of Medical Zoology, Faculty of Medical Technology, Fujita-Gakuen University, Toyoake City, Aichi Pref., Japan.

Female genital organs. The bilobated ovary lying in posterior half of segment; the aporal wing somewhat larger than the poral one; the former 0.622 to 0.761 wide and 0.415 to 0.443 long, the latter 0.595 to 0.692 wide and 0.346 to 0.415 long. The reticulated vitelline gland with its lateral margins stretched out transversely does not reach the lateral margins of ovary. Round Mehlis' gland, 0.042 to 0.056 in diameter, lying between the ovary and the vitelline gland. The vagina extending from genital pore to the ovary in the form of a curve, its internal extremity being dilated into a rather expanded seminal receptacle in the interovarian field. In mature segments, the uterus consisting of a median stem with about 10 lateral multiple branches on each side. The mature uterus is filled with oval eggs with very delicate membranes; oval or rounded eggs, measuring 0.035 by 0.032 spherical onchosphere, 0.021 by 0.025, surrounded by thick radially striated membranes; whose thickness were 0.018 to 0.021, with 0.011 long embryonal hooks.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are very grateful to Mr. Bodh Shamshere Jang Burdur Rana in Kathmandu and Mr. Kazuhisa Inuzuka of Kosei Hospital in Anjo City, for their kind help to collect the material.

REFERENCES

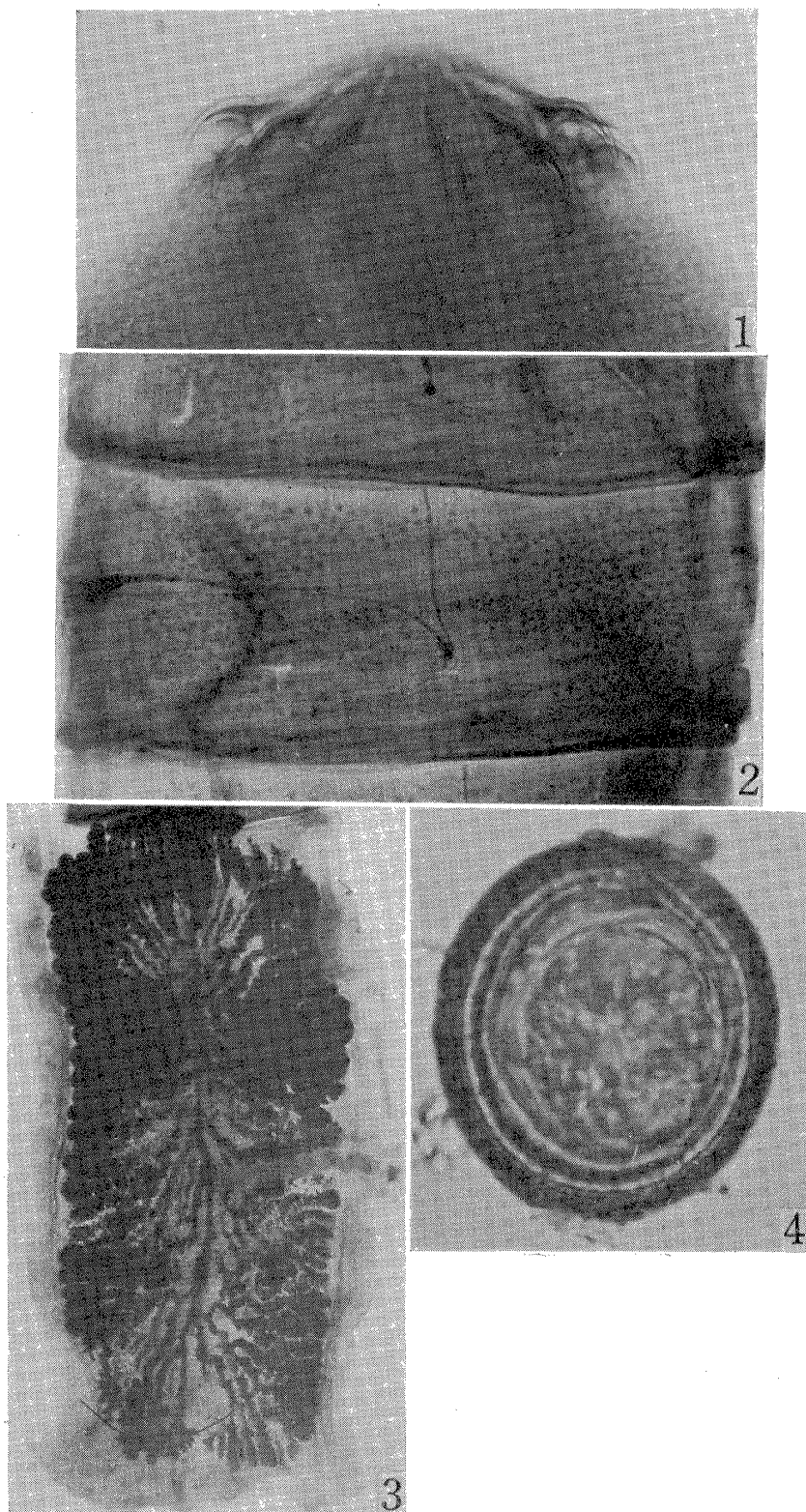
- 1) Skrjabin, K. L. (1964): Essentials of cestodology, Vol. IV. Taeniata of animals and men and diseases caused by them, Izdatelsto Nauka, Moscow, (in Russian)
- 2) Wardle, R. A. and McLeod, J. A. (1952): The zoology of tapeworms, Univ. Minn. Press., Minneapolis

ネパール産野犬に寄生していた *Taenia hydatigena* について

沢田 勇¹・正垣 幸男²

1974年1月14日、ネパールのカトマンズで捕獲した野犬から多数の条虫が採取された。同定の結果、犬条虫の一種である *Taenia hydatigena* であることが判明した。虫体の長さは135—147mm、巾は7.5—8.8mmの中型条虫で、特徴としては額嘴に28個の額嘴鉤が2列に並んでいる。長鉤は0.175—0.217mm、短鉤は0.133—0.140mm。精巢は520—536個を数え、老熟片節では縦走する子宮幹があり、約10個の側枝を出している。虫卵は0.035×0.032mm、六鉤幼虫は0.021×0.025mm、胚鉤は0.011mmである。本記載はネパールにおける野犬からの条虫の最初の報告例である。

1 奈良教育大学生物学教室 2 名古屋保健衛生大学衛生学部医動物学教室



Figs. *Taenia hydatigena*

1 Scolex ($\times 90$) 2 Mature segment ($\times 20$) 3 Senile segment ($\times 10$) 4 Egg ($\times 1,300$)

九州熱帯医学シンポジウム 第5回学術集会講演要旨

と き: 昭和49年1月14日(月)

と ころ: カトリックセンター講堂

(長崎市上野町10-34)

世話人: 長崎大学熱帯医学研究所 内藤達郎

話 題

- コレラおよび類似症に関する最近の知見
- 1 はじめに 武谷 健二
 - 2 コレラエンテロトキシンとその生物活性 大橋 誠
 - 3 コレラ患者の病理解剖 関根 一郎
 - 4 コレラ予防法としてのトキソイド免疫 大友 信也
 - 5 NAG ビブリオ感染症と毒素 神中 寛
 - 6 おわりに 武谷 健二

共同研究報告

- 韓国済州島に於けるマレー糸状虫症の研究
- 片峰 大助

特別講演

- ケニアにおけるマラリアについて
—その実態と問題点—
- 村上 文也

現地レポート

- 1 韓国釜山地区の肝吸虫流行地を訪ねて 佐藤 淳夫
- 2 学生の立場からみた東南アジアの医学研究 浜砂 重仁, 山本 真志, 山本 登
- 3 学生の立場からみた東南アジアの医療 松井 敏幸, 安藤 文英
- 4 ネパール, インドのヘルスニードと医療援助について 山口 誠也
- 5 エチオピアにおける痘瘡根絶対策に協力して 牧野 芳大
- 6 ケニア国ナクル州立病院への医療援助に参加して 大田 絹枝, 松武 滋子
堀 元子, 川良 玲子
西村 聖子, 宮崎美知子
中村 春枝, 中村 晴代
- 7 タンザニアにおける医学医療事情 西原 英徳

討 論 会

- 海外研究活動における問題点
- 司会 川島健治郎

話 題

コレラおよび類似症に関する最近の知見

武谷 健二 (九大・医・細菌)

1 はじめに

思い起せば終戦直後、中国大陸からの多数の復員帰国者のコレラ検疫を九州の細菌学者が協力して行ったのは当地に近い浦頭の検疫所でありましたが、今回当長崎市で内藤会長のもとでこのシンポジウムをもつことはその意味でも意義深いと思われまふ。その後コレラの問題は一時収まっておりますが、御承知のように1960年にセレベス島に端を発したエルトルコレラは東南アジアを席卷し、中近東からアフリカ、東ヨーロッパに及び中部ヨーロッパ、北欧にも飛火する状況となっております。この間、主として我が国と米国との学者を中心としてコレラに関する研究は着々と進められ、特に最近コレラのエンテロトキシンの存在、その作用機序とコレラの発生病理における役割などが明らかにされるに至り、トキソイドによる予防の問題も真剣に検討されるようになりました。

このシンポジウムにおいては、コレラに関する最新の知見を皆さんに御理解いただくために、現在研究の第一線にある方々にそれぞれの専門の方面から解説を御願ひしました。すなわち、エンテロトキシンとその作用機序の解説を大橋博士に、病理所見を関根博士に、トキソイドの予防への応用の可能性を大友博士に、コレラ類似ビブリオによるコレラ様下痢症の問題を神中博士に御話しただくことに致しました。

2 コレラエンテロトキシンとその生物活性

大橋 誠 (予研・細菌第1部)

コレラに特有な下痢はコレラ菌の産生する外毒素(コレラエンテロトキシン)によって惹起されることが最近明らかにされた。この毒素は Finkelstein らによって分離精製され結晶化されるに至っている。易熱性、易酸性の単純タンパクで、プロナーゼでは不活化されるが、トリプシンでは

されず、抗原性、免疫原性を有する。分子量は約84,000。Finkelstein は毒素の精製過程で、免疫学的には毒素と同じ性質を持つが生物活性を欠く、自然トキソイドとも言うべき物質を分離した。このものの分子量は58,000であるという。最近では、毒素の分子構造についての研究が盛んになっている。

この毒素は、最初コレラ菌培養上清を幼若ウサギに経口投与すると致死性の下痢が起るといふ観察によってその存在が認識されたものであるが、その後分離精製に関する研究の進展に伴って、その生物学的活性についての知見も累積されてきた。現在までに明らかにされてきた生物活性を列挙すれば次の通りである。

- (1) 実験動物(幼若ウサギ、幼若マウス、イヌ)およびヒトに経口投与すると下痢を発現する。
 - (2) 成熟ウサギの小腸結紮ループに注入すると液体の貯留を起す。
 - (3) 皮内注射により局所に限局性の浮腫硬結を起す。これは局所の毛細血管の透過性亢進によるもので毒素の生物活性の定量に利用される。同様の透過性亢進作用はラットの腸間膜微小循環系においても観察されている。この場合、血管周囲に分布する肥胖細胞の脱顆粒が見られる。
 - (4) マウスに静脈内注射すると48~72時間後に動物は死亡する。但しこの場合下痢は見られない。
 - (5) 脂肪細胞における脂肪分解を促進する。
 - (6) イヌに静脈内注射すると血糖値が上昇する。マウス、ラットの肝臓、ヒト血小板の乳剤においてもグリコーゲン分解が促進される。
 - (7) イヌに静脈内注射すると、肝性アルカリホスファターゼ、GOT 値が上昇する。
 - (8) ウサギおよびヒトの小腸粘膜の生検材料の粘膜側に毒素を作用させると、能動的な Na イオンの吸収が阻害され、Cl イオンの分泌が促進される。これは、同材料の漿膜側にプロスタグランディン、テオフィリンあるいはサイクリック AMP を作用させた時の変化と同じである。
- (4)から(8)までの観察は毒素の作用機序と関連して興味深い。すなわち毒素が小腸粘膜に作用

して水分の過剰分泌が起る機序にはサイクリック AMP が関与することが示唆されている。この後この仮説を立証するための研究が推進され、次のような知見が得られている。

(9) 小腸粘膜組織に毒素を作用させると、実際にサイクリック AMP 濃度が上昇する。

(10) この濃度の上昇は、アデニールサイクラーゼの活性化に伴うもので、ホスフォジエステラーゼ活性の低下によるものではない。

(11) コレラ患者の小腸生検材料でも同様にアデニールサイクラーゼ活性の上昇が見られる。

(12) 培養マウス副腎細胞のステロイドゲネシスなど、サイクリック AMP の関与が知られている生理作用にも影響を及ぼしうる。前述の(5)、(6)、(7)などもこの範疇に入る。

以上のようにコレラエンテロトキシンは小腸粘膜の生理機能に作用してその活性を発現するものである。

この毒素のレセプターは上皮細胞のブラッシュボーダーの構成成分であるガングリオシッド、とくに G_{M1} であることが明らかにされている。

このようにコレラエンテロトキシンの性質および作用機序が明らかにされることによって、コレラの下痢の薬物療法の途が開かれようとしているし、トキシノイドによる予防にも希望がよせられつつある。

3 コレラ患者の病理解剖

関根 一郎(長崎大・熱帯医研・病理)

我々の教室では、日米医学協力計画コレラ専門部会の援助により、昭和43年から45年までの3年間に亘り、マニラ市サンラサロ病院で20余例のコレラ患者の剖検をする機会を得、コレラにより惹起される急性下痢腸炎の病理形態学的研究及びコレラ患者の全身臓器の病理学的検索を行ってきた。

検索の対象とした21例中16例が10歳以下の小児であり、近年輸液・抗生物質を中心とする治療の進歩により死亡率は極めて低くなったものの、小児では未だ死亡するものが多いことを示している。

下痢・嘔吐と共に発症し、その量は1日数lから、10数lにも及ぶ。内容は、コレラ菌、粘液、

腸管粘膜からの脱落上皮が多量に含まれ、又同時に多量の電解質が入っている。体液、電解質が急激且つ多量に体内から消失するため、極度の脱水、虚脱状態となり、洗濯婦様の手、コレラ顔貌を呈する。循環血液量の減少、血液の粘稠化、電解質のバランスの崩れにより様々の変化が生じ、適切な治療がなされなければ、死の転帰をとることになる。

(剖検所見)

小腸：米とぎ汁様と形容される多量の下痢液の産生に主役を演ずる小腸は、肉眼的組織学的に、著変を示す。腸管壁は一般に貧血性で、多量の水様性内容のために強い拡張を示し、その半数は低K血症のため鼓腸を伴う。腸内容の色は発症初期のものは米とぎ汁様であるが、発症後時間のたったものでは胆汁色、即ち黄色から緑色調と変じていく。これは臨床的に、発症後間もなくの便が米とぎ汁様であるのが、治療開始後黄色から緑色へと変化していくのに一致している。

組織学的に、小腸の絨毛構造は大きな変革を呈する。故渡辺はコレラの腸管粘膜の変化を3病期に分け、経過順に炎症期、癒着期、寛解期と名付けている。炎症期とは、粘膜に強い浮腫、細胞浸潤を来し、変性した上皮細胞が絨毛先端より脱落する時期、癒着期とは、絨毛が平坦化し、腺窩は伸長し、絨毛同志の癒着が見られる時期、寛解期とは、変革を果たした絨毛構造が元の姿へ復帰する時期である。演者はこの癒着期で代表される絨毛構造の変革を24時間余という極めて短時間に起す因子として、絨毛先端よりの上皮の脱落及び、炎症による腺窩部での上皮細胞分裂の亢進という上皮細胞動態に着目している。

膵臓：膵液の分泌亢進がコレラで起こり、過剰な膵液が下痢に動員されているのではないかとの観点より、発症後の時間経過と、外分泌顆粒である zymogen 顆粒の消長を観察した。発症後短時間のものでは、あたかも排泄直後のように分泌細胞の胞体は空胞化してみえ、発症後10時間から10数時間のものでは、かなりの蓄積がみられ、下痢が7日及び3週間に亘ったものでは、腺房自体が疲弊萎縮したような像を呈した。

肝臓：約半数に軽度の腫大と急性うっ血を認める。又肝細胞の脂肪変化が発症後の時間経過と共に進行している。

腎臓：尿細管の脂肪変性を発症後24時間以上経過した全例に認める。

肝細胞、腎尿細管の脂肪変性は急性脱水に基づく anoxia, 低 K 血症, toxemia, 等により惹起されたと思われる。

心臓：全身循環量が極めて減少しているにもかかわらず、右心に濃縮した血液が充満、内腔を拡大している。又心筋には anoxia によると思われる様々の程度の変性を認める。

脾臓：全例に脾炎の像を認める。

コレラは急性下痢腸炎の代表であり、形態学的には小腸粘膜に著変を認める。他臓器の変化は、脱水によるものと、炎症の直接反応によるものとに大別できるとと思われる。

4 コレラ予防法としてのトキソイド免疫

大友 信也 (化血研)

最近のコレラ感染病理学の研究成果として、コレラ症の発現主要因はコレラ菌の産生する外毒素 (cholera exotoxin, cholera enterotoxin) にあることが明らかとなった。一方現行コレラ予防対策として使用されている死菌ワクチンには40~50%の予防効果と、約3カ月間の持続性しか期待できない。両事実と立脚して近時コレラトキソイドによる予防効果の如何が問題とされつつある。一般に細菌外毒素をホルマリンなどで無毒化したトキソイドは、高温度環境にさらすと毒性が復帰する現象がみられる (in vitro reversion)。コレラ外毒素のホルマリントキソイドは、前記のように in vitro の毒性復帰を起こすが、更に in vivo でもこれが生じる性質があり警戒されている。すなわち無毒化したトキソイドを動物に皮下接種したのち、7~12日頃局所の発赤硬結が生じ始め数日間持続する反応である。従ってトキソイド作製上この点に対する留意が必要である。

コレラトキソイドの免疫効果を想定する意味で、われわれはコレラ外毒素に対する抗体 (抗毒素) が実際にコレラ症の予防に効果的であるか否かを

最初に調べた。部分精製コレラ毒素で免疫して得た馬抗毒素血清 (E1006-10A) を正常ウサギに静注して数時間後、ウサギの腸管ループにコレラ生菌または精製コレラ毒素を接種して投与抗毒素の作用を調べた。どちらの場合も対照無処理ウサギのループ内での液体貯留に比し、抗毒素投与ウサギループでは著明な抑制がみられ、受身免疫による抗毒抗体はウサギループ試験におけるコレラ原性を防御することが確実に認められた。

次に試験的に作製したホルマリントキソイドをウサギに接種し、4週および7週目に採血し、同時に同じウサギについて毒素によるループ試験を行った。免疫ウサギにおけるループ試験抑制効果は、トキソイドの接種量と相関し、トキソイド 2mcg 以上の接種ウサギで免疫効果が認められた。ループ試験で観察された自動免疫効果と、同じウサギでの血清抗毒抗体価との相関でも両者に平行関係がみられたが (免疫4週後)、免疫7週後のウサギでは、血中抗毒素価の低下したものでもループ試験での免疫効果が認められたものもあった。

さらにトキソイド免疫マウスを用い、1群にコレラ毒素の静脈内接種、1群にコレラ菌の腹腔内接種を行い、死亡率によってトキソイドの効果を調べた。免疫マウスは毒素攻撃に対しては明らかな防御効果を示したが、コレラ生菌の腹腔内攻撃に対しては何ら防御効果を示さなかった。後者の成績は種々の問題を含んでいるのでその解釈には慎重を要するが、最も考慮すべき点は、コレラ菌の腹腔内接種によるマウス死亡と真のコレラ症との非類似性があげられるであろう。

以上の免疫実験によりコレラ症に対するトキソイドの免疫効果は期待し得るものと考えられた。これらの成績から出発して、次の段階のトキソイド作製実験に移った。これには前にも述べたように、ホルマリントキソイドでの in vivo reversion を考慮しながら不活化実験を行う必要がある。毒性復帰試験はトキソイドの 0.1ml (100mcg) をウサギおよびモルモットの皮内に接種し、毎日局所の発赤硬結を観察し判定した。

精製コレラ毒素 1mg/ml 溶液 (PBS) にホルマ

リンを加え 37°C に incubate し無毒化 (PF 反応陰性化) したトキソイドは、ホルマリンの添加量、incubation 期間などを変化させても *in vivo* での復帰性を除くことはできない。そこで種々のアミノ酸をトキソイド化に際して添加することを試みた。試験したアミノ酸のうち、グリシン、リジンおよびアラニンを追加するとホルマリントキソイドの毒性復帰性が減弱し、特にグリシンにその効果が最も強くみられた。しかしながら、トキソイドの抗原性 (Craig 法による抗体結合能試験) および免疫原性 (動物での抗毒素産生能) は毒性復帰性の強いトキソイドの方に高くみられ、トキソイドの安定性 (安全性) と免疫原性はある程度逆相関することが認められた。従って実用的なトキソイドは、この両者の相反する性質のバランスを考慮して作製しなければならない。数回の実験の結果、精製コレラ毒素 1mg/ml にホルマリン 0.2%、グリシン 0.03M を添加し、37°C 30 日間の処理によるトキソイド化が適当であるという成績が得られている。

5 NAG ビブリオ感染症と毒素

神中 寛 (九大・医療技術短大)

1968年の秋、スーダンにおいてコレラに類似した下痢症の流行があり、発生した患者は600名以上、死者も100名以上を数えたが、コレラ菌は分離されず、そのかわり患者、死体、流行の原因になったと考えられる水などから、ビブリオではあるが抗コレラ菌血清に凝集しないいわゆる NAG ビブリオのみが分離され、演者らによってこの下痢症の原因菌であることが確認された。現在 NAG ビブリオとは、生化学的性状は定型的なコレラ菌とほとんど一致するが、O抗原を異にする菌であるとされていて、これらの菌はよくこの定義と一致し、大部分は坂崎のO-37群に属し、一部がO-5とO-36に属していることが判明した。

このような NAG ビブリオによるコレラ様下痢症については、19世紀末以来、かなりの数の報告があるが、近年になるまで、その実験的な病原性を確認されたものはなく、ただ1例の実験室での人体感染例があるのみである。一方 NAG ビブリ

オ感染症が独立した疾患であるのか、やはりコレラであるのか、NAG ビブリオが病原菌として独立の群あるいは種であるのか、というような問題についても、はっきりした見解は従来なかったと言ってよい。最近になって、NAG ビブリオをコレラ菌の一型として扱うべきであるという意見が出ているが、まだ一般的には受け入れられるに至っていない。

一方、動物によるコレラの実験的感染系が種々考案されたため、下痢症の原因とみなされた NAG ビブリオにより、乳のみウサギ、ウサギ腸管ループなどを用いて、コレラ症状の発現に成功した例があり (Gupta ら, 1956; Dutta ら, 1963; McIntyre ら, 1965; Sack, 1973), 前述のスーダン分離の菌株も演者らによって、ウサギ腸管ループ法で病原性を確認され、更に量は少ないがコレラ毒素類似の毒素を産生して、この毒素は中和試験でコレラ毒素と殆んど区別できないことなどが見出された (神中ら, 1970, 1972), その後の研究で、他の NAG ビブリオでも同様の毒素を産生するものがあることが見出されたが、その毒素は必ずしも単一でなく、その中の一成分が特にコレラ毒素とよく似ていることがわかった。しかしこの成分も、種々の他の方法でコレラ毒素と区別できるので、更にその分子の性状や生物学的活性などについて充分な検討をする必要があり、目下その方面の研究がすすめられている。

6 おわりに

武谷 健二 (九大・医・細菌)

4人の演者の御講演によってコレラ研究の現状を総合的に御理解いただけたものと思います。すなわち、コレラの発生病理にはエンテロトキシンがきわめて重要な役割を果し、しかもその作用機序の詳細についてもかなりの事実が明らかにされているのが現状であります。しかし、一方、大橋博士、関根博士の御指摘にもあったように、トキシンだけでコレラの発生病理を説明する米国学者の考えにはなお問題があると考えられます。またトキソイドによる予防も将来性のある方法であることが明らかにされましたが、これがどの程度実

用性をもつかは今後の問題であります。一方、コレラ類似ビブリオがコレラエンテロトキシンにきわめて類似したトキシンを産生する事実も今後多くの興味深い問題を提起するものと思われまます。

今日の演者は何れも国際レベルで研究を進めておられる方々であります。その大部分がこの九州熱帯医学シンポジウム'の会員であることは我々にとって誠に心強い限りであり、今後の御研究の飛躍の進展を期待して本シンポジウムを終りたいと思います。

共同研究報告

韓国濟州島に於けるマレー糸状虫症の研究

片峰 大助 (長崎大・熱帯医研・寄生虫)

1) 濟州島に於けるマレー糸状虫の分布と伝搬の疫学: 1970年から1972年にかけて濟州島の南岸に沿う数部落で仔虫検索、皮内反応、臨床観察を行い、既にマレー糸状虫の濃厚な流行があることを知った。その姿を対象の一つである Wimi-I-Ri についてみると、仔虫陽性者の分布、*A. togoi* の密度、若年者に於ける皮内反応の強さと陽性率いずれの点からみても海岸地帯で感染率が高く、山手にかけて減少する。マレー糸状虫の伝搬は *A. togoi* の飛翔距離から来る密度と密接に関係し、同症の感染は海岸地区に集積される。集団治療にあたっては、Back-ground を含め広い範囲にわたっての対策が必要である。*A. togoi* の自然感染率、感受性はきわめて高く、又蚊体内で感染幼虫が出来る期間も6~10日で短い。従って当地では *A. togoi* によってきわめて能率的に伝搬が行われていることがわかる。

2) 臨床症状: マレー糸状虫症の臨床症状は成書に記載されているように、四肢に限定された象皮病とこれに先駆するリンパ管炎と発熱である。特に急性症状期(ピネリンモンサル)に於いて表皮の表面に線状発赤と同時にしばしばリンパ管の拡張がみられることは本症の本態を考える上に重要と思われる。いずれにしても本症の病変の中心はバンクロフト糸状虫症の場合と同様、リンパ管の炎症、その破綻と機能障害にあるが、それが四肢

に限られることが特徴であり、成虫の寄生部位との関係が考えられる。DEC による治療に際して、マレー糸状虫症の場合は特に全身反応が高率で強い。しばしば1週間位も持続する高熱と、特定局所に発赤、硬結がみられる。一方この発熱反応が集団治療を行う場合大きな障害となっているが、この度の試みでプレドニゾロンの最初の3日間の少量の投与にてこの全身反応をほとんど完全に阻止し得ることが確認された。このことは集団治療に応用して大きな効果をあげるものと考えられる。

3) その他の寄生虫学的事項: ①ミクロフィラリアの微細構造; *B. pahangi*, *D. immitis* それと同時に *B. malayi* の微細構造を走査電顕を用いて観察した。*B. malayi* のミクロフィラリアの特徴として cephalic disk に1本の大きな鉤、第1体環に3本の棘がみられる。体環の数や、Ep, Ap の開口部、尾部の構造など明らかに *D. immitis* とは異なる。しかし *B. pahangi* とは決定的な体表面の相違点は明らかでない。

②濟州島株 *B. malayi* の「ネコ」への移植実験; 濟州島に於けるマレー糸状虫は強力な集団駆虫により数年を出でずに姿を消す運命にある。そこで自然感染の *A. togoi* から得た感染幼虫150ないし260隻を日本から持っていった「ネコ」3頭の股部皮下に移植し、100日にて何れもミクロフィラリアの出現がみられた。更に「ネコ」に継代移植に成功した。一般住民にみられる末梢血内のミクロフィラリアは定型的な夜間出現性を示す。「ネコ」に移植させたものでは夜間の優位はみられるが、昼間の仔虫数も多く定期出現性が人ほどはっきりしない。

特別講演

ケニアにおけるマラリアについて

——その実態と問題点——

村上 文也 (長崎大・熱帯医研・内科)

最近我が国でも熱帯地から移入されるマラリア患者が増加し話題となっているが、その対策を考える場合には、予め感染地におけるマラリアの実態について十分な知識をもっておくことが大切であろう。

演者は約1年3カ月間の滞在中に見聞したケニアのマラリアの実態について紹介すると共に、アフリカから我が国に移入されたマラリアの問題点について2, 3の考察を試みたい。

ケニアではマラリアは現在も尚結核と並んで重要な疾患であるが、現地では本症に関する系統的な疫学調査はなされていないし、予防対策に至っては未だ全く手がつけられていない状況である。

ケニアでもマラリアの浸淫は低湿地帯に限られて居り、海拔1,300m以上の所謂 High land area には患者の発生は殆んどみられていない。ケニアの中で浸淫が最も濃厚な地域はビクトリア湖の周辺で、この地域に居住している Luo 族住民にとって重要な風土病の一つとなっている。又インド洋沿岸から内陸に向かって流れる Tana 河流域も濃厚な流行地としてあげられる。

ケニアの流行地では1年を通じてマラリア患者の発生がみられるが、特に大雨期である4月から8月にかけて本症が多発する傾向がある。このようなマラリア感染の季節的消長について1972年 Benett らはタンザニアの Hazda 地区で調査を行っている。それによると、この地区では乾期には *P. malariae* による感染が大半で、又感染するのは子供達に多いという。*P. malariae* はアフリカのサバンナ地帯に広く分布している species である上、ヒトに感染すると low density の parasitaemia が数カ月以上に亘って存続するという特徴をもっているため、乾期でもこの地区では *P. malariae* の感染が盛んに行われるものと推定さ

れる。一方同じ Hazda 地区でも雨期になると成人が主に感染し、感染の半数以上は *P. falciparum* で占められるようになる。

Rees ら (1971) によると、ケニアの Kenyatta 病院に入院したマラリア患者88例中82例は *P. falciparum* による感染であったとしている。このようにケニアでマラリア感染の主役を演じているのは *P. falciparum* であるが、その他に *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* も発見され、ケニアにはすべての種類の Plasmodium が分布していることが明らかにされている。就中、従来西アフリカに限局しているとされていた *P. ovale* がケニアでも5例と少数ながら発見されたことは注目に値する。Rickman ら (1971) の報告でもビクトリア湖畔の Lambwe Valley 地区でマラリア感染者の7.1%に *P. ovale* が発見されている。ケニアでは今日でも住民の移動が殆んどみられないことから考えると、*P. ovale* はもともとケニアに土着していたことも考えられる。

熱帯熱マラリアの臨床像は多彩なためその診断に困難を感じる場合があるとされている。

演者のケニアの経験でも、熱発作を欠くもの、黄疸や胃腸症状が著明な場合などには屢々他の疾患と誤診しがちであった。特にケニアの熱帯熱マラリア患者では、悪心、嘔吐、腹痛、下痢などの胃腸症状を呈するものが多く、中林ら (1971) のフィリピンの症例と比較してもその頻度は明らかに高率であった。その原因としては原虫の strain の差によるものか又は host 側の因子が関係しているのか不明であるが、興味ある問題である。

現地では血中に原虫を多数保有しているにもかかわらず全く症状を呈しない症例が屢々みられるが、この事実は現地住民の間にはマラリアに対する抵抗乃至は免疫が存在することを意味している。マラリアの免疫の問題に関しては Cohen, McGregor (1964) など多数の業績がある。特に既感染者の 7S γ -globulin を患者に投与すると血中の trophozoite が著明に減少することが知られて居り、本症予防の可能性を示唆している。

Sickle cell anemia はケニアでも時々みられる HbS を有する遺伝疾患であるが、この患者では

P. falciparum が感染してもその発育が抑制され、マラリアによる致命率も正常人に比べて低いとされている。その上 sickle cell trait をもった婦人では正常婦人より生殖能力がすぐれているという。従ってアフリカ住民間に高率に存在するこの遺伝異常はマラリアに対する防波堤の一つとなり種族維持に役立っているとも考えられよう。

Tropical splenomegaly も又熱帯地方に特有な疾患で、Oomenら(1970)によると、ケニアのMachakos 地区でも splenomegaly 97例の中18%に本症がみられたと報告している。その成因については未だ定説はないが、Shaper(1969)は剖検例の脾の重量について詳細に分析を行った結果、本症患者の発生はマラリアの high endemic area より low endemic area に多く、本症は non-immune や partially immune な人達のマラリアに対する exaggerated response によっておこると推定している。又 Watson-Williamsら(1968)は本症患者25例に Proguanil 毎日 100mg を投与し14カ月乃至80カ月の長期間に亘って観察したところ、全例に脾腫の縮小、貧血の改善がみられたとしている。従って本症はマラリアと密接な関連を有していることは否定出来ない。

東アフリカにおける *P. falciparum* の薬剤耐性については今日まで多数の報告があるが、その中 Proguanil, Pyrimethamine 耐性株はアフリカ全土に分布して居り、特に Clyde(1967)はタンザニアで詳細な観察を行っている。Chloroquine 耐性についてもアフリカ各地からいくつかの報告がみられるものの、まだ確認されたものはなく、今のところ東アフリカ各地における耐性株の存在については否定的な見方が強い。然しながら Rift Valley Provincial Hospital での演者の経験では、Chloroquine を総計 2g 以上を投与しても原虫の消失をみない症例に時々遭遇した。今後の慎重な観察が必要であろうが、いずれにせよアフリカでも Chloroquine 耐性の出現は時間の問題であろう。

次に演者は上記病院で熱帯熱マラリア患者を対象として Sulfamonomethoxine (Diameton) の抗マラリア作用について観察した。投薬開始から原

虫消失までの期間は経口投与(総量 4~7g) 9例平均 3.2日、それに対し静注投与(10% 10ml, 3~7回) 9例では平均 1.4日、後者の方が速効性にまさるようと思われる。又 Chloroquine 総量 2g を投与しても原虫が陰性化しなかった5例にも本剤を投与し1~3日間で全例の原虫を消失させることが出来た。

前述のように最近我が国でもアフリカへの渡航者が増加し、それに伴って帰国中又は後にマラリアを発症する case も少なくない。演者の経験したカメルーン、ガーナより帰国して発病した熱帯熱マラリア3症例の臨床経過、治療の概要について述べた。又我が国で1968年から1973年までに報告されている移人熱帯熱マラリアは8例あるが、いずれも発病後比較的早期に受診しているにもかかわらず、中7例は初診時感冒、不明熱などと診断されマラリアは疑われていない。又入院後も熱帯熱マラリアと確診されたものはわずかに1例にすぎず、4例では入院時より死亡時まで他疾患として治療されている。又1例は熱帯熱マラリアとして治療をうけているにもかかわらず発病7日後に死亡している。この事実は、熱帯熱マラリアの診断と治療の困難さを如実に物語っている。又原虫の赤血球感染率が5%以上になると死亡率が高い。死亡例は4例は全例意識障害、けいれんなどの所謂脳性マラリアの像を呈し、その中2例は無尿を主徴とする急性腎不全の臨床像を示した。又黄疸は死亡例全例に高度にみとめられた。生化学的所見では LDH 値の高度の上昇が本症の診断上有力な参考になることを強調したい。

次に non-immune の日本人がアフリカの流行地へ旅行し或は居住する場合の予防の問題について考えてみたい。Martin と Arnold(1967)はウガンダの Kampala の患児から分離した *P. falciparum* 株をアメリカの volunteer に接種した結果、本株はすべての抗マラリア剤に感受性があり、Chloroquine は 300mg base 1回投与では8例中4例に再燃がみられたが、450mg 及び 600mg 1回投与では全例平均 3.1日で原虫は消失したと報告している。従ってアフリカにおける non-immune とヒトの予防投薬量としては最低週1回

450mg 以上が必要であると考え。最近 Chloroquine の長期投与の際の副作用が問題となっているが、*P. falciparum* が non-immune の個体に感染した場合の致命率がかかなり高いことからみると、多少の副作用は無視しなければならない場合もある。一方 Chloroquine の原虫に対する薬理学的作用から考えると、その地域の流行実態に応じて間歇的な予防投薬を行う試みも今後検討する必要がある。又現地への旅行者、赴任者への啓蒙や帰国者の適切な健康管理などの対策も欠くことが出来ない。

現地レポート

1 韓国釜山地域の肝吸虫流行地を訪ねて

佐藤 淳夫 (鹿児島大・医・医動物)

調査地慶尚南道金海郡金海邑食満里は、244 戸、人口約 1,400 で洛東江の下流平野部に位置し、水田耕作を主体とする純農村である。又、肝吸虫の虫卵陽性率は80%以上を示す大流行地帯に属している。我々は肝吸虫症の撲滅対策上最も基本となる糞便処理の実情と地域水系内に生息する第1中間宿主マメタニシの分布・感染状況を知る目的で調査を行った。

糞便処理については貯留式(カメ又はセメント槽)で、各家で汲取りを行う(76.4%)のが原則で、直接田畑に使用する家が35%あるが、一方堆肥として利用するものが89%に及んでいる。即ち、従来通りの肥料指向型の処理を家庭単位で行っているが、直接施肥することは次第に減少して、堆肥としての利用が拡大定着してきている。

マメタニシは、水田内及びこれから排出される排水路で水量の少ない細流には生息せず排水路でも本流合流地点に近い水量の多い下流になるに従って生息が多くなり、洛東江本流に最も生息が濃厚であった。更に採集 51 地点からの 7,540 個体のマメタニシ中63個(0.84%)が肝吸虫に感染しており、陽性地点28(55%)は排水路の本流への出口及び本流沿岸に集中し、且つ、川岸の家屋の配置にも関係がある様である。即ち、糞便処理の面からは直接施肥された糞便及び堆肥として田畑

に施肥されたものが流れにより運ばれてマメタニシ生息水域に達する場合と堆肥を作る作業に伴って住家周辺が糞便により汚染され、そこから虫卵が流出する場合とが指摘出来る。

2 学生の立場からみた東南アジアの医学研究

浜砂 重仁, 山本 真志, 山本 登
(長崎大・医・熱医研会)

私達3名は、昨年(1973年)の夏、約3週間にわたり、東南アジア及び台湾の医学研究についてみる機会を得たので、その感想について述べた。

タイ国においては、日本の援助により設立されたウイルス研究所を訪れた。ここでは、主に腸管系ウイルス、その中でも現在徐々に増加している小児マヒの疫学的研究、アルボウイルスについては、出血熱の診断とデングウイルスの研究がなされていた。伝染性疾患の中では、急性下痢症が最も多く、次に出血熱、マラリアの順で、急性下痢症については、原因すら不明で今後の研究が期待される。マラリアは、一貫した撲滅運動が行われ減少の傾向にあるが、クロロキン耐性、経済的問題が残っている。マヒドール大学の熱帯医学部を訪れた時、SEAMEO を中心として、メコン川流域の水系伝染病の研究、撲滅に力を注いでいるとの話を聞き、その広大な構想に驚くと同時に、この計画が順調に遂行されることを希望して止まない。

次にマレーシアのクアラルンプールの医学研究所—1900年に設立された歴史ある研究所—で最も印象に残ったことは、2,000エーカーの平面地域と、60mの高度からなる立体的な、しかも原始林に近いフィールドで、そこに生息するすべての生物を捕獲し、ウイルスや寄生虫等、又 vector との関係性を究明している点であった。

以上のように、立派な研究、施設(数は少ないが)はあるにしても、依然として基礎的疾患が多い(例えば、寄生虫疾患の罹患率が100%の地域が多い)ことを考えるにあたり、これらの研究成果が、まだ行政方面に十分生かされていないことと、一般住民の衛生上の知識不足、研究者の層の薄さ等の根本的問題があり、発展途上国の感が強く、何らかの形でこれらを補うような援助の必

要性を痛感した。

3 学生の立場からみた東南アジアの医療

松井 敏幸, 安藤 文英
(九大・医・熱医研会)

九州大学医学部熱帯医学研究会は1973年の夏会員2名をフィリピン・タイに派遣した。費用は日本国際医療団よりの援助給付金と会の資金と自己負担よりなる。日程は8月11日より3週間。目的は 1) フィリピン・タイにおける医療事情の視察 2) 熱帯病の実態 3) 現地医学生との交歓 4) フィールドの確立がそれである。フィリピンでの根拠地はマニラにあるサンラサロ伝染病院である。同行された九大神中博士のコレラトキシンに関する仕事を見学するとともに同病院に実修に来ている学生・インターンを紹介していただき多く歓談する機会を持った。マニラには七つの医学部があるがそのうち四つの大学医学部の学生と知り合い、付属病院、施設などを見学した。更に病院において多くの感染症を見ることができた。それらから全般的な医療事情、疾病構造を推察することができた。様々な資料から、日本の20年前の姿と見てよいと思う。こうした国々ではまだまだ感染症が克服されておらず常在的な流行をしている。一般衛生状態の不備、教育水準、政治経済など様々な角度から見て不十分であることが痛感された。又現地に駐在しておられる日本人の方々から医療援助に関する問題、経済のあり方など様々な話をうかがった。

タイには四つの大学があるが、そのうち3校の学生と会うことができ、医学部を見学することができた。タイについても感染症はまだまだ克服されていない。医療施設の普及と医者はまだ圧倒的に不足している。

今後の活動方針もこれらにのっとり考えられねばならない。

4 ネパール、インドのヘルスニードと医療援助について

山口 誠哉 (久留米大・医・公衆衛生)

インドは人口約5億(1967)で中国(本土)に

次いで世界第2位の人口大国である。ネパールは推定人口1,100万人で人口規模は小さいが、国民の公衆衛生状態は大同小異である。

一定地区をモデルとして統計調査をおこなった推計によれば、ネパールの年平均一人当たり所得は米ドル約80ドル、粗出生率1,000対40、粗死亡率1,000対22、乳児死亡率は1,000対200と高い。ネパール国民一人当たりの衛生関係国家予算は僅か144円(日本円)で文盲率88%である。ネパール政府は教育制度改革をおこない、教育の普及とともに文盲率の解消とそれに伴う衛生教育の徹底を期しているが、その速度はにぶい。

日本の対外援助、なかんずく医療援助は、必ずしも適切なものであったと言いがたく、時には場当たり的とも言えるべきプロジェクトも見られ、各国のヘルスニードと一致しない且つ実効をとまわらないものも見られたことは遺憾である。

インド・ネパール国民の罹病状況は、季節病、下痢、腸炎、結核、癩、低栄養、寄生虫等、生活条件不良のための伝染性疾患を主とした患者が多く、国民の疾患に対する抵抗力も低いために致命率も高い。

したがって、これらの国に対する医療技術援助は小手先のものであってよい筈はなく、従来の我が国の援助を大巾に改革したものでなければならぬと思われる。

即ち今後期待される対外医療援助は、真に各国のヘルスニードに合致するものであり、それが単に「見てくれ」や援助のための援助ではなく、発展途上国の国民の健康保護増進のため直接役に立ちしかもそれが技術面においてもその国で芽生えしかも成育して行くようなものでなければならぬ。

5 エチオピアにおける痘瘡根絶対策に協力して

牧野 芳大 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)

1971年9月より1972年9月までの1年間を、WHOがエチオピア国で行っている痘瘡撲滅対策(Smallpox Eradication Programme)に参加する機会を得た。

エチオピアは面積は日本の約3倍、人口は約3分の1であり、主に2,000m以上の山間部より成っている。ここで痘瘡対策は、1971年よりエチオピア人サニタリアン、日本・アメリカ・オーストリアのボランティアが中心となって行われている。

この国での痘瘡撲滅の重点は、100% Vaccinationではなく、如何にうまく Smallpox の伝搬をブロックするかに置かれた。又それと同時に、痘瘡患者が発生した時の reporting system の確立をも行うと言うものである。その為、まず村々をしらみつぶしに調べ、endemic areaを見つけ、その周囲を Vaccination して行った。その結果、1970年は722例しか報告されていなかったものが、project の始まった1971年には、active surveillanceにより26,000例となり、WHOの報告の55%に達した。以後徐々に減少し、1972年は17,000例、1973年は8月迄で3,900例となって来ている。現在までに北部の Begemdir, Gojjam, Wollo の3州を除いた州では、大体コントロールされた状態となって来ている。

この国では、Begemdir州を中心として Variolation が国民の間はかなり行われており、それによる患者がかなり多く発見されている。Begemdir州に於ては、1971年の患者3,048例中75%、1972年は2,143例中36%、1973年は8月迄の512例中52%がこの Variolation によるものであった。この Variolation がこの国での大きな問題点となって来ている。

痘瘡患者は5—14歳が全体の47%で最も高く、1—4歳及び15歳以上は23%、1歳以下は2%、その他7%となっている。男女差は見られなかった。又死亡率は1.3%であった。attack rate は72.2%であるが、1—4歳及び5—14歳の年齢層では85%となっている。

このように、エチオピアに於ける痘瘡対策はかなりの成果をあげているが、Variolationの風習のある北部の地域が最後まで残るものと思われる。しかし、1974年末までにはほとんど撲滅される見通しである。従って、アフリカでの唯一の痘瘡温存国であったエチオピアが Smallpox free となると、今後はインドを中心として、パキスタン・バ

ングラデシュ付近が最後の endemic area となるであろう。

6 ケニア国ナクール州立病院への医療援助に参加して

大田 絹枝, 松武 滋子, 堀 元子
川良 玲子, 西村 聖子, 宮崎美知子
中村 春枝, 中村 晴代

(長崎大・附属病院・看護部)

日本政府による中近東アフリカ医療技術援助計画の一環として、ケニア国ナクール州立病院へ長崎大学から医療団が派遣されて今年で早や8年目を迎えた。看護部からも計8人が参加した。西村及び宮崎は昭和45年12月から2年間看護業務に就く機会を得たので現地の看護体系について述べる。

現地の看護制度: ケニア国では独立以前に先進諸国からそれぞれ異なった看護方法が導入されていた。しかし、独立と同時に統一はされたものの未だ旧制度が根強く残存している。1例としてナースにおける General Nurses, Psychiatric Nurses, Public Health Nurses, Community Nurses, Child Care Nurses, Sick Children Nurses 等、各専門別区分の存在がある。看護教育の方法には二通りがある。即ち、小学校卒業後2年半の専門教育を受ける場合と小学7年、中学2年、高校2年卒業後3年半の専門教育を受ける場合とである。例えば、小児科専門のナースに小卒と高卒後の2種の者がいる。ケニア厚生省によると1971年のナースの実働数は15,314人で半数以上は小学卒のものが占めている。高卒の場合のカリキュラムを日本の場合と比較すると、ケニア国では修業期間が日本より半年長いにも拘らず講義時間数は日本の約1/2である。そしてほとんどの時間は臨床実習の名をかりた日夜の労働に費されている現状である。

内科病棟における勤務状況: 西村及び宮崎の業務は Nursing Sister として日本で言う病棟婦長の職であった。昼間は受持病棟内の管理、夜勤時は病院全体の夜間の管理にあたった。内科領域(担当病棟内のまとめ)の疾患別の患者数は1967年2月より4年間に総数2,685名で1位肺炎

323名, 2位マラリア281名, 3位胃潰瘍218名などであった。36床の病棟内では, 各部族間で異なった言語と伝統ある習慣があるため, それぞれの要望をみたすには非常な苦勞があった。例えば野菜類は一切食べない部族, 一生涯全身を洗わない部族, 町の魔術師を頼って治療途中で退院するもの, あるいは, 入院時に15シル(約700円)を支払うことで, 衣食住が保障される病院生活に浸り医師の退院許可を拒む例などがあって, 病棟勤務には複雑なものがあった。

任期終了近くに出席したある会合で, 真の看護, ナースの専門性, 看護教育の改善, などについて現地人自らの反省の声が高まりつつあるのを聞く機会があった。こうした会話の中から混沌としているケニア看護界の中にも将来の方向を自らの手で位置づけようとする努力をしみじみ感じた。

7 タンザニアにおける医学医療事情

西原 英徳(九大・医・解剖)

1972年2月より8月までの約6カ月間, タンザニア共和国ダレサラーム大学医学部で電子顕微鏡学の指導を行った。この間に見聞した現地の医学医療事情について述べる。

タンザニアにおける医師の養成はダレサラーム大学医学部のみで行われており, 1972年度には進学予定者が49名であった。ウガンダのマケレレ大学, その他の外国の大学へ進学する者が36名あり,

全部でこの年は85名の医大進学者があったことになる。因に大学進学者の総数は1,064名であった。

この年の Medical Technical School の卒業生は19名で臨床検査技師として全土に配置されたし, 看護学校は全国に23カ所あり約500名が卒業した。

医学教育に携わるスタッフの数は基礎医学12名, 公衆衛生関係5名, 臨床医学17名で, 患者2万人に医師一人といわれるこの国では, 医師は診療と教育に追われ高度の研究はなかなか出来にくいようであり, 必要性は感じても医学生数を増加することも困難である。

医師の総数は232名(うちタンザニア人123名)で地方における診療は殆んど Assistant Medical Officer, Medical Assistant, Rural Medical Aid, なかでも比較的数の多い Medical Assistant によって行われているようである。

風土的環境, 経済的貧困のため多くの疾病がある上に予防対策も十分でない。また大衆の無知から命をおとす者も多い。数年前某国の援助により二つの近代的設備をもった病院が建設されたが, この病院の維持費に政府は相当の支出をしている。国土広大, 交通も不便なこの国ではかかる病院を利用出来る者は国民の数%にしかすぎず, 医学部の職員のなかにもこのような金を国民の衛生教育と保健対策の改善へ支出する方が国策に沿うといった考えもある。

JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

Vol. 3 No. 3, 4

December, 1975

CONTENTS

Review

- MASUYA, T.
Iron Metabolism in Tropical Medicine 205-218
- LEE, C. Y.
Pharmacological Classification of Toxic Proteins from Snake Venoms 219-225

Original article

- EBISAWA, I., FUKUYAMA, T. AND KAWAMURA, Y.
Chloroquin-resistant *Falciparum* Malaria in East Kalimantan and West Irian
II Additional Cases and Review of the Problems (in Japanese) 227-234
- YAMAMOTO, T., AMANO, H., YAMANAKA, T., IWAMOTO, H., AIHARA, M.,
OKADA, M., ONO, Y. AND SHIBAZAKI, S.
Effects of Sulfamonomethoxine, Chloroquine and Pyrimethamine against *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in the Kingdom of Laos
With special reference to evaluation of antimalarial efficacy
of sulfamonomethoxine 235-245
- SAWADA, I. AND SHOGAKI, Y.
On the Cestode *Taenia hydatigena* from the Wild Dog in Nepal 247-249

Published by

JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

c/o Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University
12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852, Japan