

## 外毒素による内毒素の致死作用の増強機序

西尾 晃・加納 晴三郎\*

(家畜薬理学研究室)

(55年8月9日受理)

### Enhancement of Endotoxin-Lethality by Group A Streptococcal Pyrogenic Exotoxin

Akira NISHIO and Seizaburo KANOH\*

(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

#### 緒 言

Kim and Watson<sup>8)</sup> は猩紅熱の原因菌である溶血性連鎖球菌の菌体外毒素成分から、発熱活性を有する低分子蛋白質の抽出と精製に成功し、この物質を pyrogenic exotoxin(以下 exotoxin または外毒素と略記する)と呼んだ。この外毒素は分子量約 30,000 で streptolysin O や S を含まず、発熱活性のほかにも諸種の生物活性を有することが明らかにされている。<sup>14)</sup> そのうちでも特異的な作用として、内毒素の致死作用を著しく増強する作用があげられている。すなわち、致死量の数百分の1量の外毒素をウサギに静注して3~4時間後に内毒素を静注すると、内毒素の致死作用が著しく増強される。この量的関係についてはすでに Kim and Watson<sup>8)</sup>により詳しく調べられている。

しかし、この増強作用の機序についてはいまだ明らかでなく Schlievert<sup>13)</sup>が数種の解熱消炎薬が、この増強作用を阻止しえなかったと報告しているにすぎない。

本論文では、この外毒素による内毒素の致死作用の増強が内毒素の発熱作用の増強によるのか、または心臓-血管系に対する作用の増強によるのかを検討した。

#### 材料と方法

##### 1. 毒素の調製

内毒素 (endotoxin; lipopolysaccharide) は E. coli UKT-b (阪大微研より分与) をブイヨンで18時間培

本報告の一部は、1980年4月第89回日本獣医学会において発表した。

\*国立衛生試験所大阪支所薬理部、大阪市東区法円坂1-1-43 Department of Pharmacology, National Institute of Hygienic Sciences, Osaka Branch, 1-1-43 Higashi-ku, Osaka 540

養し、集菌洗滌を行ったのち、アセトン乾燥菌体とし、フェノール法<sup>16)</sup>により抽出し、アルコールおよび100,000g×60min.の遠沈により精製した。

外毒素 (exotoxin) は Streptococcus pyogenes (type-12) (阪大微研より分与) をトッド・ホイットブローで18時間培養後、超遠沈により菌体と融解菌体由来の菌体内成分を除いた培養上清から Kim and Watson<sup>8)</sup>の方法により抽出精製した。

それぞれの毒素は所定の濃度になるように無菌で pyrogen-free の生理食塩水に溶解したのち静脈または大槽内に注射した。

##### 2. 使用動物と各種生物活性の測定法

日本白色雄性ウサギを用い、体重 2.0~2.7kg の範囲のものを選び、一定期間室温 24±1°C、湿度 50±10%の動物室で飼育し、同様の環境条件にて実験を行った。

両毒素の発熱活性はウサギを pyrogen-test 用の保定台に固定し、各濃度の毒素液を 1ml/kg づつ耳静脈より注射または 0.1ml/ウサギづつを大槽内に注射したのち直腸温を銅-コンスタンタンの熱電対により測定した。

心拍数および呼吸数はウサギを腹位に固定して測定した。すなわち、心拍数は第Ⅱ誘導による心電図より、呼吸数は鼻腔近接部に固定したサーミスタ温度計の温度変化により測定した。同時に直腸温と耳翼皮膚温を熱電対により測定した。

血圧は、ウサギを urethane (1g/kg, 皮下注) にて麻酔したのち、背位に固定し、左総頸動脈にカニューレを挿入し、その圧変化を圧トランスジューサを介して測定した。

##### 3. その他

使用する器具類は常法により無菌かつ pyrogen-free

にしたのち使用した。

## 結 果

### 1. 内毒素の発熱に対する外毒素前処置の影響

外毒素の前処置が内毒素による致死作用を著しく増強するとされているが<sup>8)</sup>、内毒素による発熱作用を増強するかどうかは明らかでない。

外毒素の10, 100および1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をそれぞれ一群12羽のウサギに静注して体温変化を調べた。各投与群のうち3羽のウサギには外毒素投与3時間後に1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の内毒素を静注し、他の3羽には0.1 $\mu\text{g}/\text{ウサギ}$ の内毒素を大槽内に投与した。その時の体温変化と24時間内での死亡数をFig. 1に示した。図に示したように外毒素は10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与量で1~2 $^{\circ}\text{C}$ の発熱を示した。その発熱曲線を内毒素のそれと比較すると潜

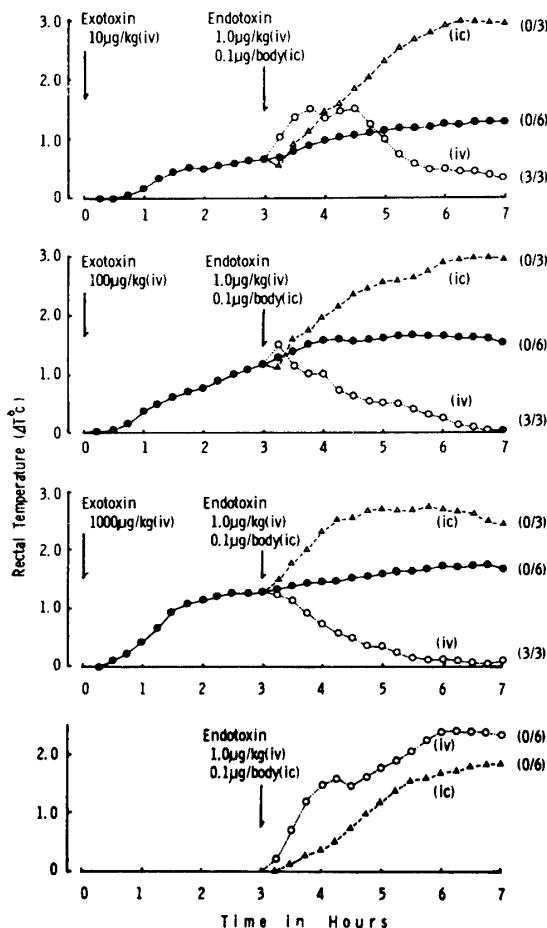


Fig. 1. Febrile response induced by exotoxin and the effects of endotoxin on exotoxin-fever and capacity to enhance lethality. Each curve represents the mean of three to six rabbits. Numbers in brackets are the numbers of the dead per the used rabbits.

時が長く、一峰性で長時間持続する特徴を有していた。外毒素投与3時間後に内毒素を投与すると、前処置した外毒素の用量に応じて内毒素の静注による発熱が抑制された。100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の外毒素で前処置したときは内毒素による発熱がみられず、逆に上昇していた体温が下降した。他方、内毒素を大槽内に投与したときは、その発熱は外毒素の前処置により著明な影響を受けなかった。

今回使用している外毒素を2mg/kg静注しても、また内毒素を1mg/kg静注してもウサギは死亡しない。しかし、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の外毒素を静注して3時間後に1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の内毒素を静注したウサギは24時間内に全例死亡した。これに対し、内毒素を大槽内に投与したウサギでは死亡例はみられなかった。

これらの成績は、外毒素前処置による内毒素の致死作用の増強は内毒素の発熱作用の増強によるのではないことを示している。

### 2. 内毒素の心拍数に対する効果と外毒素前処置の影響

外毒素の前処置により内毒素の発熱が抑制され、あたかも内毒素の致死量を静注したときと類似の変化を示した。大量の内毒素投与による死亡の原因の一つは内毒素の心臓-血管系への作用の結果であろうと推定されているので<sup>5)</sup>、内毒素と外毒素の単独投与時および併用時の心拍数の変化を中心として呼吸数、直腸温および耳翼皮膚温の変化を調べた。その典型例をFig. 2に示した。図に示すように、いずれの毒素も単独投与では直腸温の上昇に伴い耳翼皮膚温の低下、心拍数の増加および呼吸数の減少がみられた。外毒素投与3時間後に内毒素を投与すると、外毒素投与により上昇および増加していた直腸温と心拍数は下降および減少した。また減少していた呼吸数と低下していた耳翼皮膚温はそれぞれ一過性に増加または上昇した。すなわち、外毒素投与後に内毒素を投与すると、内毒素の単独投与時とは逆方向の変化を示した。しかし、直腸温の変化を除いてはいずれも一過性の変化であった。

上述の変化の方向と度合が両毒素の量的関係によりどのような影響を受けるかを明らかにするため、まず両毒素をそれぞれ単独で投与したときの心拍数の変化と投与量との関係を調べた。その成績をFig. 3に示した。Fig. 3の(A)に示したように内毒素の1, 10, 100および1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を静注すると、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の投与量では投与約15分後より心拍数は増加しはじめ、1~3時間後に最高値に達し、それ以後徐々に減少した。1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の内毒素を投与すると投与数分内に

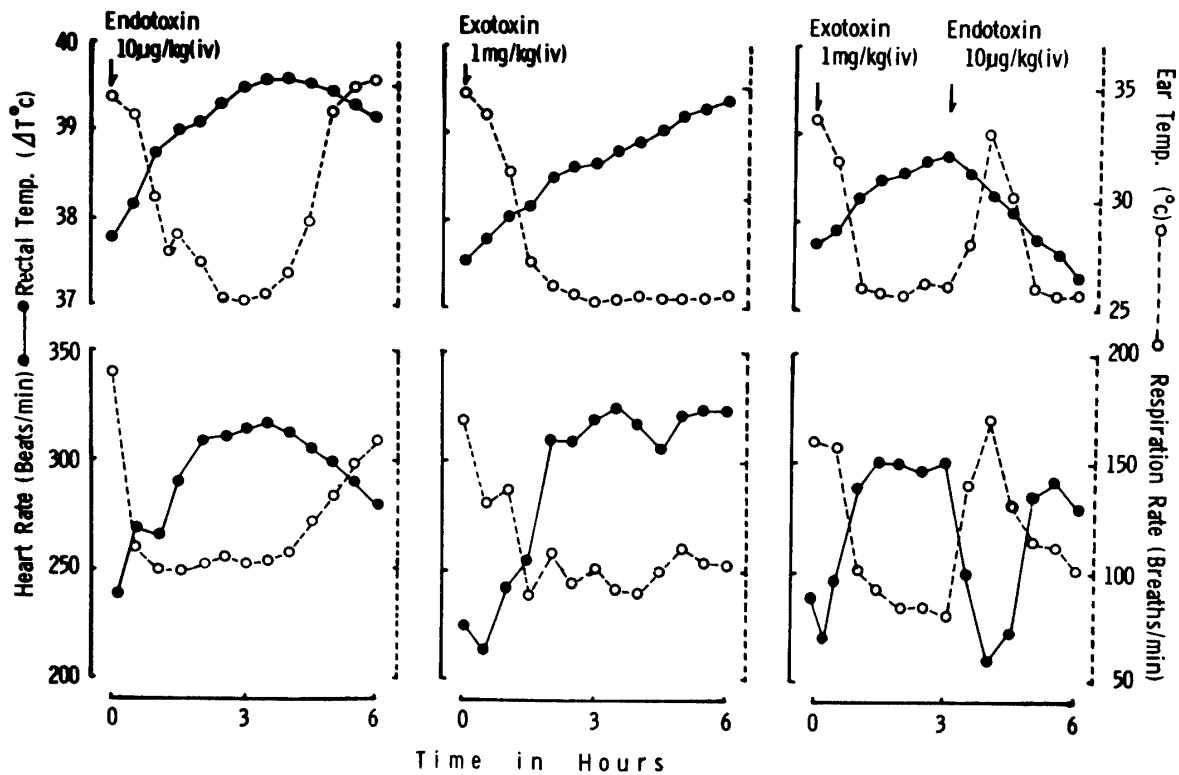


Fig. 2. Effects of endotoxin, exotoxin and their combination on the rectal and ear temperatures, heart rate and respiration rate in rabbits. Each curve represents the typical response from three to five rabbits.

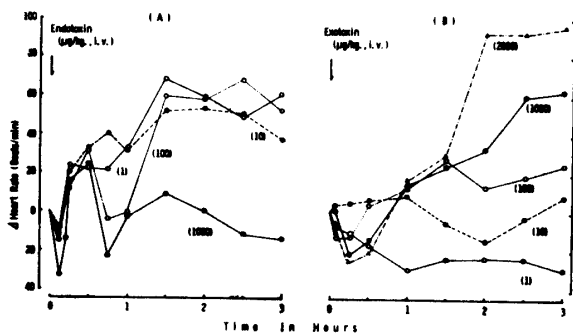


Fig. 3. Effects of endotoxin and exotoxin on heart rate in rabbits.

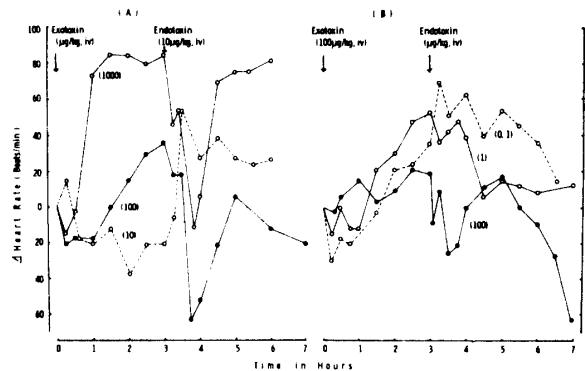


Fig. 4. Quantitative relationship between exotoxin and endotoxin in the change of heart rate in rabbits.

T波の増大とP波の消失を伴う不整脈が数秒間みられたが、心拍数の増加は他の投与量に比し弱かった。

外毒素の 1, 10, 100, 1000 および 2000 $\mu$ g/kg を静注すると、Fig.3 の(B)に示したように 1 $\mu$ g/kg と 10 $\mu$ g/kg の外毒素量ではその効果は明らかでなく、100 $\mu$ g/kg 以上の投与量で有意の心拍数の増加がみられた。外毒素ではいずれの投与量でも心電図に異常は認められなかった。

外毒素前処置後の内毒素投与による心拍数の低下の

度と前処置外毒素量との関係、および一定量の外毒素で前処置して内毒素の投与量を変えたときの心拍数の変化の度合を検討した。その成績を Fig. 4 に示した。Fig.4 の(A)に 10, 100 および 1000 $\mu$ g/kg の外毒素を静注して3時間後に一定量の内毒素 (10 $\mu$ g/kg) を静注したときの心拍数の変化を示した。図に示すように 100 $\mu$ g/kg 以上の外毒素を前処置しておくと 10 $\mu$ g/kg の内毒素の投与により心拍数の一過性の急激な減少がみられた。そこで 100 $\mu$ g/kg の外毒素で前処

置したのち 0.1, 1 および 100 $\mu$ g/kg の内毒素を静注した。その成績を Fig.4 の(B)に示した。図に示すように 1 $\mu$ g/kg 以上の内毒素を投与すると心拍数の減少がみられ、心電図にも異常がみられた。すなわち、外毒素投与3時間後に 1 $\mu$ g/kg の内毒素を投与すると30分後に 2~3 分間不整脈がみられた。内毒素の投与量が多い場合は30秒以内に不整脈が現われ、30分後でも認められた (Fig.5)。

外毒素と内毒素の量的関係による心拍数、呼吸数、直腸温および耳翼皮膚温の変化の方向、不整脈の有無および致死作用増強の有無を Fig.6 にまとめて示した。この図より、ウサギに何らかの変化を起こさせるための前処置外毒素量の最小有効量は 10 $\mu$ g/kg であり、前処置後の内毒素の最小有効量は 1 $\mu$ g/kg であるといえよう。

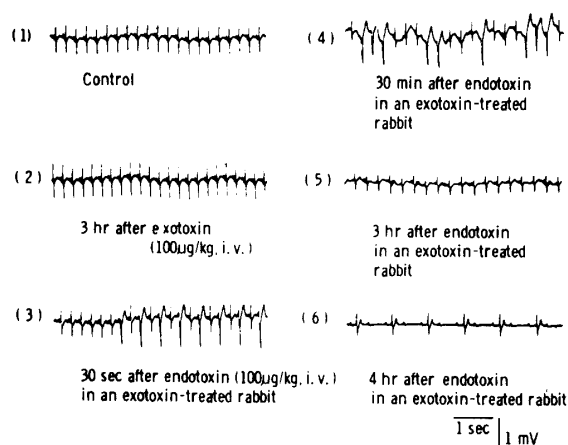


Fig.5. Typical arrhythmia induced by endotoxin in the exotoxin-treated rabbits. Rabbits given endotoxin (100 $\mu$ g/kg, i.v.) 3 hr after the administration of exotoxin (100 $\mu$ g/kg, i.v.).

Exotoxin ( $\mu$ g/kg, iv.)	Endotoxin ( $\mu$ g/kg, iv.)	Heart Rate	Respiration Rate	Rectal Temp.	Ear Temp.	Arrhythmia	Lethality (Dead/Used)
1000	—	↑	↓	↑	↓	—	0 / 6
—	10	↑	↓	↑	↓	—	0 / 6
1000	10	↓	↑	↓	↑	+	3 / 3
100	10	↓	↓, ↑	↓	↑	+	3 / 3
10	10	↑, ↓	↓, ↑	↓	↑	+, —	3 / 3
1	10	↑	→	↓	↑	—	0 / 3
-----							
—	100	↑	↓	↑	↓	—	0 / 6
100	100	↓	↑	↓	↑	+	3 / 3
100	1	↑, ↓	↑, ↓	↓	↑	+, —	3 / 3
100	0.1	↑, ↓	↓	↓	↑	—	0 / 3
100	0.01	→	↓	→	→	—	0 / 3
-----							
1000	0.01	↑	↓	↑	→	—	0 / 3
10	1	↑	↓	↑	→	—	3 / 3

↑: Response with increase  
 ↓: Response with decrease  
 →: Response with no change

Fig. 6. Enhanced lethality and change of some biological responses to endotoxin in exotoxin-treated rabbits. Endotoxin administered 3hr after exotoxin administration.

### 3. 内毒素の血圧に対する効果と外毒素前処置の影響

Fig. 6 にまとめて示したように、100 $\mu$ g/kg 以上の外毒素を前処置しておく、1 $\mu$ g/kg 以上の内毒素の投与により不整脈を示す例が多くみられ、ウサギの死亡率も高い。しかし、不整脈を示さずに死亡する例も

みられた。またすでに Fig. 2 に示したように外毒素前処置後に内毒素を投与すると、内毒素投与直後から心拍数は急激に減少するが、1~2 時間後に内毒素投与前のレベルに戻り、それ以後徐々に減少する例が多くみられ、死亡の原因を不整脈のみに求めることはできないと考えられた。

そこで、血圧の変動について検討した。ウサギを urethane で麻酔したのち、1mg/kg の内毒素および外毒素をそれぞれ単独に耳静脈より投与したときの血圧と心拍数の変化を調べた。その結果を Fig. 7 に示した。図に示したように、内毒素および外毒素をそれぞれ単独に投与したときの血圧の変動は対照として生理食塩水を投与したときと有意の差は認められなかった。心拍数はそれぞれの毒素の投与により増加したが、心電図には異常は認められなかった。

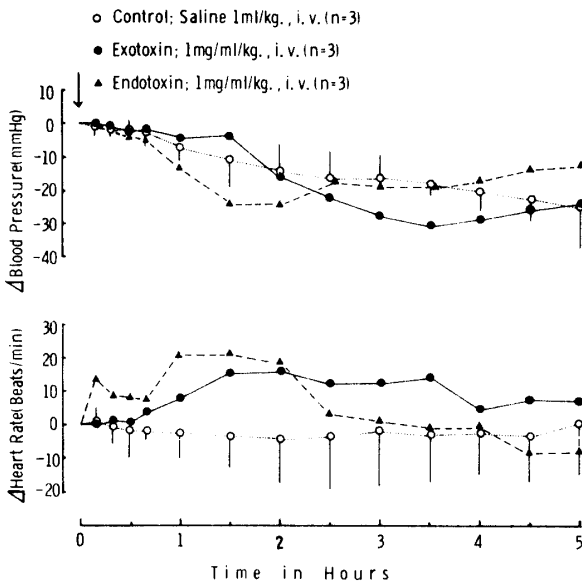


Fig. 7. Effects of endotoxin and exotoxin on systemic arterial blood pressure in urethane anesthetized rabbits. Vertical bars indicate standard deviation.

併用時の効果を調べるため、1mg/kg の外毒素を投与して3時間後に 1, 10, 100 および 1000 $\mu$ g/kg の内毒素をそれぞれのウサギに投与した。その成績を Fig. 8 に示した。図に示したように、10 $\mu$ g/kg 以上の内毒素を投与すると血圧の低下と心拍数の減少が著明で、投与30分以内に Fig. 5 に示したと類似の不整脈がみられる例が多い。1 $\mu$ g/kg の内毒素の投与では血圧も心拍数の変化も著明ではなかったが、投与30分後より不規則に徐脈がみられる例があった。

#### 4. 増強効果に影響する因子

##### (1) 外毒素に対する発熱耐性ウサギでの検討

前述したように、正常ウサギに外毒素を前処置しておくとい毒素の投与により発熱の抑制と心拍数の一過性の急激な減少がみられ、100 $\mu$ g/kg の外毒素の前処置後に内毒素の 10 $\mu$ g/kg を静注するとウサギは全例死亡することが明らかとなった。このような現象が発熱耐性ウサギでみられるかどうかを明らかにすることは

内毒素と外毒素の作用機序および外毒素の増強効果の解析のために重要であると考えられる。

外毒素に対する発熱耐性ウサギの作成を試みた。3羽のウサギに最初の一週間は 100 $\mu$ g/kg の外毒素を連日静注した。次の一週間は 1mg/kg の外毒素を連日静注した。このような処置を受けたウサギは 100 $\mu$ g/kg の外毒素の静注により発熱を示さなかった。このような状態のウサギを発熱耐性ウサギとして使用した。発熱耐性ウサギでの外毒素と内毒素の併用効果を検討したところ、Fig. 9 に示す結果を得た。Fig. 9 の(A)に示したように、無麻酔の発熱耐性ウサギでは外毒素を投与しても当然直腸温の上昇はみられない。また心拍数の増加もみられなかった。外毒素投与3時間後に内毒素の 10 $\mu$ g/kg を静注しても直腸温はほとんど変化しなかったが、心拍数は弱いながら上昇した。対照の非耐性ウサギでは Fig. 1, 2 および 4 で示したと同様の变化を示し、24時間内に全例死亡した。しかし、耐性ウサギでは死亡例はみられなかった。

このような処置により死亡しなかった耐性ウサギでは血圧反応も起こらないことが示唆されたので、上述の実験終了一週間後に血圧反応について調べた。その成績を Fig. 9 の(B)に示した。図に示したように発熱耐

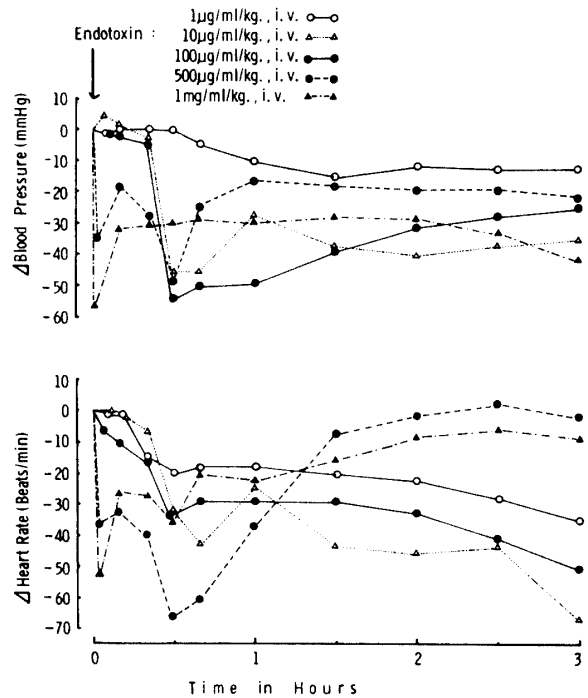


Fig. 8. Changes in blood pressure and heart rate induced by endotoxin in the exotoxin-treated, urethane anesthetized rabbits. Each rabbit was given exotoxin (1mg/kg, i.v.) 3 hr before endotoxin.

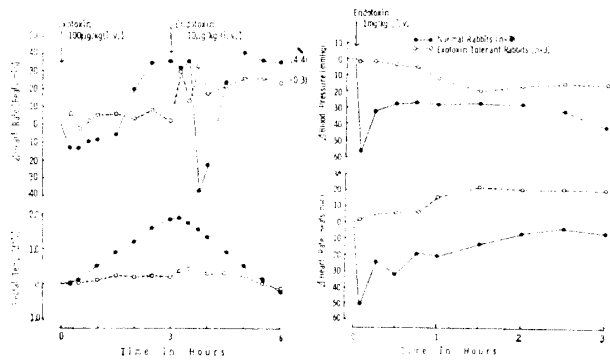


Fig. 9. Responses to exotoxin and endotoxin in the exotoxin-tolerant rabbits. Endotoxin was administered intravenously 3 hrs after exotoxin administration. ●—●; control rabbits, ○—○; exotoxin-tolerant rabbits\*. \*: Rabbits were repeatedly injected with exotoxin (100 µg/kg, i.v.) for the first week once a day, then injected with exotoxin (1 mg/kg, i.v.) for the next week every day.

性ウサギでは 100 µg/kg の外毒素を前処置した後に 1 mg/kg の内毒素を投与しても血圧下降および心拍数の減少はみとめられなかった。

## (2) 薬物前処置の影響

大量の内毒素をウサギやイヌに投与すると流血中に neurotransmitter としての catecholamine, histamine および acetylcholine などが遊離してくることは古くから知られており<sup>9)</sup>, 内毒素の血圧下降作用に cholinergic または adrenergic な機構が含まれていると考えられている。そこで外毒素前処置後の内毒素による血圧下降や致死作用にこれら機構が関与しているかどうかを確かめるために, acetylcholine の拮抗薬である atropine と catecholamine の拮抗薬である propranolol を用いて検討した。すなわち, 外毒素 (1 mg/kg) を静注して 2 時間 45 分後にそれぞれのウサギに atropine sulfate (1 mg/kg) または dl-propranolol (1 mg/kg) を耳静脈より注射し, その 15 分後に内毒素 (1 mg/kg) を静注して血圧と心拍数の変化を調べたところ Fig. 10 に示す結果を得た。図に示したように atropine を前処置されたウサギでは内毒素による血圧下降は阻止された。また propranolol を前処置されたウサギでは内毒素による心拍数の減少は阻止された。しかし, atropine または propranolol を処置してもウサギは 24 時間内に全例死亡した。

## 考 察

内毒素による発熱に伴って心拍数の増加することは

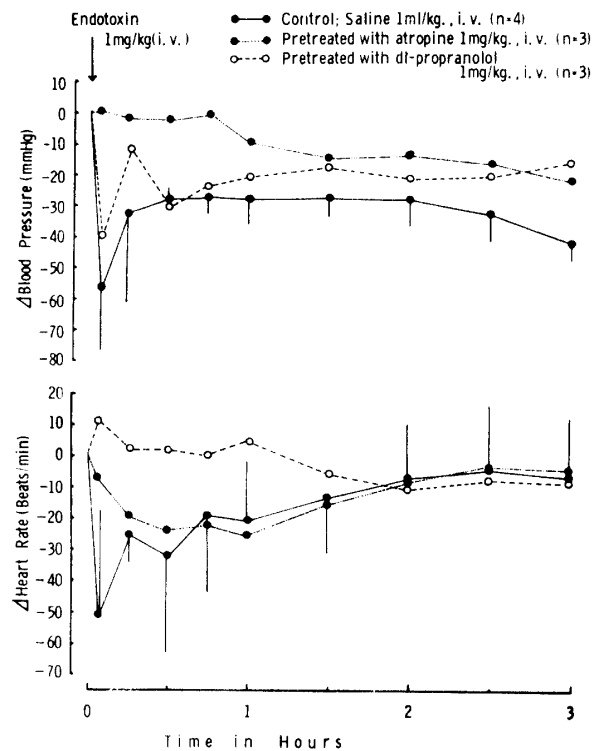


Fig. 10. Effects of adrenergic and cholinergic blockers on the changes in blood pressure and heart rate induced by endotoxin in the exotoxin-treated, urethane anesthetized rabbits. Exotoxin (1 mg/kg, i.v.) was administered 3 hrs before endotoxin administration. Each blocker was given 15 min before endotoxin. Vertical bars indicate standard deviation.

よく知られている。<sup>1,3,11)</sup> また内毒素による死亡の原因として shock が重要な因子であるとする報告も多く, 心臓-血管系への内毒素の作用が多方面より研究されている。<sup>2,4,5,12,17)</sup>

他方, 内毒素の示す種々の作用が宿主の状態, たとえば年齢<sup>10,15)</sup>や免疫状態<sup>9)</sup>により変ることが明らかにされており, 当然, 外毒素による影響も重要な問題と考えられる。本論文はこの観点より外毒素と内毒素の相互作用を直腸温, 心拍数, 血圧および致死効果を主な指標として検討したものである。

Fig. 1 に示したように内毒素 (1 µg/kg) の静注によりウサギは 2°C 前後の発熱を示すが, 10 µg/kg 以上の外毒素を静注して 3 時間後に内毒素を静注すると発熱は抑制され, 24 時間以内に全例死亡した。しかし, 内毒素 (0.1 µg/body) を大槽内に投与されたウサギでは内毒素の単独投与時とほぼ同程度の発熱がみられ, 死亡例もなかった。これらの成績は外毒素前処置

による内毒素の致死作用の増強は内毒素の発熱の増強によるものではないこと、および中枢神経系の関与の少ないことを示唆している。

上述したように外毒素前処置による内毒素の致死作用の増強は末梢臓器での問題と考えられたので、無麻酔ウサギの心電図と心拍数を主な指標として検討した。Fig. 2 と 3 に示したように内毒素および外毒素をそれぞれ単独で投与すると、発熱に伴って心拍数の増加、耳翼皮膚温の低下および呼吸数の減少を示すが、外毒素前処置後に内毒素を投与すると発熱の抑制、心拍数の一過性の急激な減少とそれに続く緩徐な減少、耳翼皮膚温の一過性の上昇と呼吸数の一過性の増加を示し、内毒素単独投与時とは逆方向の反応を示した。心電図では Fig. 5 に示したような不整脈がみられ、外毒素の前処置が心臓-血管系のレベルで効果を発揮していることが考えられた。この点を酔麻下のウサギの血圧反応で確かめたところ、Fig. 8 に示したように著しい血圧下降がみられ上述の考えを支持する成績を得た。

外毒素の単独投与では、2mg/kg 静注しても血圧下降や心電図上の異常は認められず、この標品には心臓毒としての Streptolysin O や S が含まれていないことが逆に証明された。<sup>7)</sup>

外毒素の 100 $\mu$ g から 1mg/kg を連日静注してもウサギの飼料摂取量や体重増加に影響せず、2週間後には 100 $\mu$ g/kg の外毒素を静注しても発熱を示さず、いわゆる発熱耐性となった。Fig. 9 の(A)と(B)に示したように発熱耐性ウサギでは、外毒素の投与により心拍数の増加はみられず、内毒素による不整脈を伴う心拍数の減少や血圧下降もみられず、死亡例もなかった。すなわち、多量の外毒素の連日投与は次回に投与された外毒素の作用を何らかの機序により無効にすることが示唆された。

外毒素の前処置による内毒素の血圧下降作用や致死作用の増強反応に cholinergic あるいは adrenergic な機序がどの程度関与しているかをそれぞれの blocker を用いて検討したところ、Fig. 10 に示したように、初期の血圧下降は acetylcholine の antagonist である atropine により阻止され、この反応系の初期に cholinergic な機序が関与していると考えられた。

以上の成績より、外毒素による内毒素の致死作用の増強には発熱反応は増強されず、内毒素の循環系に対する作用が増強されることが明らかとなった。

## 要 約

ウサギを用いて外毒素による内毒素の致死作用の増強が内毒素の発熱作用の増強によるのか、または心臓-血管系に対する作用の増強によるのかを検討し、以下の成績を得た。

1. 外毒素の 10, 100 および 1000 $\mu$ g/kg を静注すると 1~2°C の発熱がみられた。

2. 10 $\mu$ g/kg 以上の外毒素を静注して3時間後に 1 $\mu$ g/kg の内毒素を静注すると、内毒素の発熱が抑制され、ウサギは24時間内に全例死亡した。しかし、外毒素投与後に 0.1 $\mu$ g/body の内毒素を大槽内に投与しても外毒素無処置時とほぼ同程度の発熱がみられ、ウサギの死亡例はなかった。

3. 外毒素 (10~2000 $\mu$ g/kg) および内毒素 (1~100 $\mu$ g/kg) をそれぞれ単独で静注すると発熱に伴い心拍数の増加、耳翼皮膚温の下降および呼吸数の減少がみられた。両毒素の上記投与量では心電図に異常は認められなかった。

4. 外毒素 (10~1000 $\mu$ g/kg) の静注により増加した心拍数は 10 $\mu$ g/kg の内毒素の静注により急激に減少し、不整脈を伴う例がみられた。この変化は前処置外毒素量と3時間後に投与する内毒素量に依存していた。

5. 耳翼皮膚温と呼吸数も外毒素または内毒素の単独投与では下降または減少するが、外毒素前処置後に内毒素を投与すると、内毒素単独投与時とは逆方向の反応を示した。

6. 両毒素ともに単独投与では 1000 $\mu$ g/kg を静注しても血圧下降は認められないが、外毒素を前処置したのちに内毒素を投与すると著しい血圧下降がみられた。この血圧下降は atropine により阻止された。

7. 外毒素を二週間にわたり連日投与されたウサギでは、外毒素による発熱および心拍数の増加は認められず、内毒素投与による血圧下降や致死増強効果も認められなかった。

## 文 献

- 1) Cooper, K.T.: Some physiological and clinical aspects of pyrogen. in Wolstenholme, G.E.W. and Birch, J. (eds.), *Pyrogen and fever*. p. 5-7, Churchill Livingstone, Edinburgh and London (1971)
- 2) Emerson, T.E. Jr.: Total and regional cerebral hemodynamic and metabolic abnormalities during endotoxin shock: Prevention with methylprednisolone. *Adv. Neurol.*, **20**, 173-181 (1978)
- 3) Gilbert, R.P.: Mechanisms of the hemodynamic effects

- of endotoxin. *Physiol. Rev.*, **40**, 245-279 (1960)
- 4) Hess, M.L. and Briggs, F.N.: The effect of gram negative endotoxin on the calcium uptake activity of sarcoplasmic reticulum isolated from canine myocardium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **45**, 917-923 (1971)
  - 5) Hildebrand, G.J., Ng, J., Seys, Y., and Madin, S.H.: Differentiation between pathogenic mechanisms of early and late phase of endotoxin shock. *Am. J. Physiol.*, **210**, 1451-1460 (1966)
  - 6) Hinshaw, L.B.: Release of vasoactive agents and the vascular effects of endotoxins. in Kadis, S. and Weinbaum, G. (eds.), *Microbial toxins*. vol. V., p. 209-260, Academic Press Inc., New York (1971)
  - 7) Jeljaszewicz, J., Szmigielski, S. and Hryniewicz, W.: Biological effects of Staphylococcal and Streptococcal toxins. in Jeljaszewicz, J. and Wadström, J. (eds.), *Bacterial toxins and cell membranes*. p.185-227, Academic Press Inc., New York (1978)
  - 8) Kim, Y.B. and Watson, D.W.: A purified group A Streptococcal pyrogenic exotoxin. Physicochemical and biological properties including the enhancement of susceptibility to endotoxin lethal shock. *J. Exptl. Med.*, **131**, 611-628 (1970)
  - 9) Landy, M.: The significant immunological features of bacterial endotoxins. in Wolstenholm, G.E.W. and Birch, J. (eds.), *Pyrogen and fever*. p. 49-57, Churchill Livingstone, Edinburgh and London (1971)
  - 10) Nishio, A. and Kanoh, S.: Development changes in the febrile response to endotoxin in rabbit. *Japan. J. Physiol.*, **30**, 647-655(1980)
  - 11) Nishio, A. and Kanoh, S.: Studies on the difference in the biological activities induced by pyrogen in rabbits re-trained by two different methods. *Japan. J. Pharmacol.*, **30**, 566-570 (1980)
  - 12) Neuhoh, H.: Changes in hemodynamics and gas metabolism after endotoxin injection. in Urbaschek, B., Urbaschek, R. and Neter, E. (eds.), *Gram-negative bacterial infections*. p. 256-264, Springer-Verlag, Wien New York (1975)
  - 13) Schlievert, P.M., Bettin, K.M. and Watson, D.W.: Effect of antipyretics on group A streptococcal pyrogenic exotoxin fever production and ability to enhance lethal endotoxin shock. *Proc. Soc. exptl. Biol. & Med.*, **157**, 472-475 (1978)
  - 14) Watson, D.W. and Kim, Y.B.: Erythrocytic toxins. in Aji, A.J., Montie, T.C. and Kadis, S. (eds.), *Microbial toxins*. vol. III., p. 173-187, Academic Press Inc., New York (1970)
  - 15) Watson, D.W. and Kim, Y.B.: Modification of host responses to bacterial endotoxins. I. Specificity of pyrogenic tolerance and the role of hypersensitivity in pyrogenicity, lethality and skin reactivity. *J. Exptl. Med.*, **118**, 425-446 (1963)
  - 16) Westphal, O. and Lüderitz, O.: Chemische Erforschung von lipopolysacchariden gram negativer Bacterien. *Angew. Chem.*, **66**, 407-417 (1954)
  - 17) White, G.L., Archer, L.T., Beller, B.K. and Hinshaw, L.B.: Increased survival with methylprednisolone treatment in canine endotoxin shock. *J. Sur. Res.*, **25**, 357-364 (1978)

### Summary

Group A streptococcal pyrogenic exotoxins(exotoxin) have been known to enhance the lethal effects of endotoxin. The present study was designed to determine whether the enhancement of endotoxin-lethality by exotoxin depends on the enhancement of the susceptibility to febrile systems or on that of the susceptibility to cardiovascular systems. The following results were obtained.

1) Intravenous administration of exotoxin (10, 100 and 1000 $\mu$ g/kg) produced in rabbits febrile responses averaging 1 to 2°C.

2) In rabbits the febrile response induced by the intravenous administration of exotoxin (10 $\mu$ g/kg) was reduced by the intravenous administration of endotoxin (1 $\mu$ g/kg) executed 3 hrs after the former. All the rabbits died in less than 24 hrs. On the other hand, when endotoxin (0.1 $\mu$ g/kg) was given intracisternally on rabbits 3 hrs after exotoxin (10 $\mu$ g/kg., i.v.) administration, there was no difference between the exotoxin-treated and the nonexotoxin-treated control rabbits noted in the febrile response induced by endotoxin. No rabbits died.

3) Increased heart rate, fallen ear temperature and decreased respiratory rate were observed in febrile response induced by the intravenous administration of exotoxin (10-2000 $\mu$ g/kg) or endotoxin (1-100 $\mu$ g/kg). A sort of abnormality was observed in cardiograph. And the rabbits pre-treated with exotoxin and tested with endotoxin 3 hrs later showed increased respiratory rate and elevated ear temperature.

4) Increased heart rate induced by exotoxin (10-1000 $\mu$ g/kg., i.v.) fell rapidly after the administration of endotoxin (10 $\mu$ g/kg., i.v.), followed by arrhythmia. Rapid fall in heart rate was considered to be related with the amount of the dose of both toxins.

5) Each toxin, when injected separately, induced no fall in the systemic arterial blood-pre-



ssure, at the dose of 1 mg per kg., but endotoxin produced a rapid fall in blood-pressure in the rabbits pretreated with exotoxin 3hrs before. This rapid fall was prevented by the pretreatment made with atropine. Atropine, however, prevented no enhancement of endotoxin-lethality.

6) No enhancing effect of exotoxin was observed in exotoxin-tolerant rabbits treated with exotoxin, for two weeks, every day.

These data suggest that what is involved in the mechanisms underlying the enhancement of endotoxin-lethality is not the central nervous systems but the cardiovascular systems.