

氏名	田 中 文 彦 な たか みみ ひこ
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬博第4号
学位授与の日付	昭和33年3月31日
学位授与の要件	薬学研究科薬学専攻・博士課程修了者 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文題目	抗生物質共存下におけるビタミン類の微生物 定量法に関する研究
	(主査)
論文調査委員	教授 鈴木友二 教授 富田真雄 教授 宇野豊三

論文内容の要旨

ビタミンの微生物学的定量法は近年長足の進歩をみせ、この方法によらねば微量定量できにくいビタミンも多いが、抗生物質使用患者の体液、尿中のビタミン、抗生物質とビタミンの混合製剤、抗生物質製造時の培地中のビタミンなどを測る場合など、抗生物質共存下におけるビタミンの定量が最近要望されているので、著者は、汎用されている抗生物質の共存下のビタミンの定量法について研究した。その結果、いずれの場合にも満足し得る対策を考案したが、2~3の抗生物質の存在下にあつては、それぞれの抗生物質に対する耐性菌を用いることによって、はじめて目的を達し得た。また、この研究を通じて、抗生物質とビタミンとの拮抗ならびに菌の耐性獲得にともなう栄養要求の変化などについても若干の知見を得た。

I 乳酸菌類の抗生物質に対する耐性獲得

Streptococcus faecalis R, *Leuconostoc mesenteroides* p-60, *Lactobacillus arabinosus* 17-5, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermenti* 36 の5種の乳酸菌を用いて、これら菌株のペニシリン、ジヒドロストレプトマイシン、クロランフェニコール、エリスロマイシン、クロールテトラサイクリン、テトラサイクリン、バントラシンなどに対する耐性獲得をしらべた。クロランフェニコール以外のものにあつては、いずれも、20回以下の継代培養で耐性を獲得した。特に精査したのは、ビタミン定量に最もよく用いられる *Lact. arabinosus* と *St. faecalis* についてであるが、それらの結果は下の表に示す。なお、クロールテトラサイクリンおよびテトラサイクリンにあつては表中の濃度 200 γ /c.c. で飽和である。

II 抗生物質共存下におけるビタミン類の微生物定量

抗生物質共存下にビタミンを定量しようとするとき、抗生物質を一応三つの群に分けることができた。

第1の群のものはコリスチンで、この抗生物質は特定の乳酸菌、例えば *St. faecalis*, *Lact. casei* などに対して抑制作用を示さなかった(コリスチン 1000 γ /c.c. でも影響ない)ので、これら菌株を用いれば、抗生物質の存在を考慮しなくてよい。実際、著者は、コリスチン添加尿で葉酸、パントテン酸の定量について吟味し、好結果を得た。

	ジヒドロストレプトマイシン	クロランフェニコール	クロールテトラサイクリン	テトラサイクリン	エリスロマイシン	ペニシリン G	バシトランシ
Streptococcus faecalis R	10代で 10000 γ /cc (100倍)	106代で 1000 γ /cc (200倍)	16代で 200 γ /cc (40倍)	13代で 200 γ /cc (100倍)	13代で 1000 γ /cc (5000倍)	22代で 500 γ /cc (50倍)	4代で 1000 γ /cc (20倍)
Leuconostoc mesenteroides p-60	5代で 10000 γ /cc (200倍)	112代で 200 γ /cc (100倍)	親株は 200 γ /ccで 抑制されない	7代で 200 γ /cc (2倍)		23代で 500 γ /cc (1000倍)	4代で 1000 γ /cc (22倍)
Lactobacillus arabinosus 17-5	8代で 10000 γ /cc (500倍)	79代で 50 γ /cc (25倍)	3代で 200 γ /cc (2倍)	13代で 200 γ /cc (4倍)	21代で 10 γ /cc (500倍)	19代で 500 γ /cc (50倍)	2代で 1000 γ /cc (5倍)
Lactobacillus casei	7代で 10000 γ /cc (2000倍)	71代で 200 γ /cc (100倍)	14代で 200 γ /cc (100倍)	12代で 20 γ /cc (10倍)		26代で 50 γ /cc (100倍)	5代で 1000 γ /cc (20倍)
Lactobacillus fermenti 36	6代で 10000 γ /cc (20000倍)	93代で 50 γ /cc (50倍)	17代で 200 γ /cc (200倍)	8代で 50 γ /cc (25倍)		25代で 200 γ /cc (1000倍)	

() 内は、親株との比較値である。

第2の群のものはいずれの菌にも抑制作用をもっているが、熱に比較的不安定な抗生物質で、これに属するものにテトラサイクリン、クロールテトラサイクリン、ペニシリン、バシトランシなどがある。これら抗生物質の共存する体液にあっては、あらかじめ加熱処理することによってその影響が除かれ得る。著者は、上の五つの抗生物質の共存下、あらかじめ検体を熱処理して葉酸の定量を行ない、好結果を得た。しかし、熱に不安定なビタミン、例えば、パントテン酸などにあつては次の耐性菌を用いる方が好結果を収めやすい。

第3の群は、いずれの菌にも抑制作用をもっていて熱にも安定なもので、エリスロマイシン、クロランフェニコール、ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシンなどがこれに属する。この場合は、各抗生物質に対する対性菌を用いて定量を行なう必要があり、著者も、実際に、耐性を獲得させて得た菌を用いてパントテン酸、葉酸、ニコチン酸などの定量を試み、好結果を得た。なお、クロールテトラサイクリンやテトラサイクリン、バシトランシについては、通常の体液濃度のときは熱処理でその影響が除かれるが、耐性菌も容易に得られるので、耐性菌を用いても目的を達し得た。なお、ジヒドロストレプトマイシン耐性菌は、ストレプトマイシンにも交叉耐性をもつので、ストレプトマイシンを含む試料にも応用できる。

III 抗生物質とビタミンの拮抗ならびに耐性獲得に伴う栄養要求の変化

著者の上記の研究を通じて、抗生物質とビタミンの拮抗も看られたが、その一つは、エリスロマイシンの *St. faecalis* に対する増殖抑制が0~20m γ /c.c. の間でパントテン酸ではぼせり合的的に回復されたことである。この事実は、エリスロマイシンの静菌作用がパントテン酸の代謝と密接に関連していることを示しているが、著者の得たエリスロマイシン耐性菌(1000 γ /c.c. で増殖可能)では、パントテン酸との拮抗がみられなかった事実によつても、上の考えは支持されるものと思う。また、抗生物質の耐性菌の多くにつ

いて栄養要求をしらべた結果、一般に、ビタミン要求は親株と変わりなかったが、*Lact. casei* のジヒドロストレプトマイシン耐性菌では、かえって増殖のためにジヒドロストレプトマイシンの存在を必要とし、このジヒドロストレプトマイシン要求は、アスパラギン、グルタミンの添加によって代償されることを知った。すなわち、この耐性菌は、ブイヨン培地ではジヒドロストレプトマイシンの存否に関せず増殖し、ビタミン定量用の半合成培地ではジヒドロストレプトマイシンの存在でのみ増殖し得たが、この半合成培地にアスパラギンとグルタミンを加えると、ジヒドロストレプトマイシンが存在しなくても増殖がみられた。アスパラギン、グルタミンともにジヒドロストレプトマイシンの抗菌作用に拮抗することをも、著者は見出したが、これらの事実は、耐性獲得の機作を考える資料とならう。

論文審査の結果の要旨

微生物定量法によらねば微量定量できにくいビタミンも多く、また、抗生物質共存下におけるビタミンの定量も要望されているので、汎用されている抗生物質共存下のビタミンの微生物定量法について研究した。

I 乳酸菌類の抗生物質に対する耐性獲得

Streptococcus faecalis R, *Leuconostoc mesenteroides* P-60, *Lactobacillus arabinosus* 17-5, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermenti* 36 の5種の乳酸菌を用いて、ペニシリン、ジヒドロストレプトマイシン、クロランフェニコール、エリスロマイシン、クロールテトラサイクリン、テトラサイクリン、バントラシンなどに対する耐性獲得をしらべた。

クロランフェニコール以外のものにあつては、いずれも25回以下の継代培養で耐性を獲得した。

II 抗生物質共存下におけるビタミン類の微生物定量

抗生物質共存下にビタミンを定量するとき、抗生物質を一応、三つの群に分けることができた。

第1群の例は、コリスチンで、特定の乳酸菌たとえば *St. faecalis*, *Lact. casei* などに対して抑制作用を示さない（コリスチン1000 γ /c.c.でも影響ない）ので、これらの菌株を用いれば抗生物質の存在を考慮しなくてもよい。実際、著者は、コリスチン添加尿で葉酸、パントテン酸の定量について吟味し、好結果を得た。

第2群は、いずれの菌にも抑制作用をもっているが、熱に比較的不安定な抗生物質で、テトラサイクリン、クロールテトラサイクリン、ペニシリン、バントラシンなどである。あらかじめ、加熱処理によってその影響が除かれ得る。

第3群は、いずれの菌にも抑制作用をもっていて、熱にも安定なもので、エリスロマイシン、クロランフェニコール、ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシンなどがこれに属する。この場合は、各抗生物質に対する耐性菌を用いて定量を行なう必要があり、著者も、実際に、耐性菌を用いて好結果を得た。ジヒドロストレプトマイシンにも交叉耐性をもつ。

III 抗生物質とビタミンの拮抗ならびに耐性獲得に伴う栄養要求の変化

上記の研究を通じて、抗生物質とビタミンの拮抗をも看られたが、その一つは、エリスロマイシンの *St. faecalis* に対する増殖抑制が0~20m γ /c.c.の間でパントテン酸ではぼせり合的に回復されたことである。この事実は、エリスロイマシンの静菌作用がパントテン酸の代謝と密接に関連していることを示

しているが、著者の得たエリスロマイシン耐性菌(1000 γ /c.c.で増殖可能)では、パントテン酸との拮抗がみられなかった事実によっても、上の考えは支持されるものと思う。また、耐性菌の多くについて、栄養要求をしらべた結果、一般に、ビタミン要求は親株と変わりなかったが、Lact. casei のジヒドロストレプトマイシン耐性菌では、かえって、増殖のためにジヒドロストレプトマイシンの存在を必要とし、このジヒドロストレプトマイシン要求はアスパラギン、グルタミンで代償された。アスパラギン、グルタミンともに、ジヒドロストレプトマイシンの抗菌作用に拮抗することを、著者は見出したが、これらの事実は、耐性獲得の機作を考える資料となろう。

よって、本論文は、薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。

〔主論文公表誌名〕

ビタミン 第16巻(昭. 34)第6号
(未公表分は、ビタミン近刊号予定)

〔参 考 論 文〕

- チオアルキル置換群を有するアルキルアミノアセトアニリド類について—局所麻酔剤の研究第3報
共著者 ~ 栗原藤三郎・丹羽弘司
薬学雑誌 第72巻(昭. 28)第12号
- 一次元拡散法を応用したビタミン、アミノ酸の微生物定量法
共著者 ~ 鈴木友二
薬学雑誌 第77巻(昭. 32)第10号
- アスパラギン酸モノおよびジヒドラジドの生物学的活性—アミノ酸代謝拮抗物質の研究第9報
共著者 ~ 鈴木友二
薬学雑誌 第77巻(昭. 32)第11号
- 家兎肝臓を用いてのペニシリン G の分解
共著者 ~ 鈴木友二
薬学雑誌 第79巻(昭. 34)第4号