

培地置換培養法による諸種 結核化学療法剤の静菌作用の検索

〔第3篇〕 Viomycin, Cycloserine 及び Kanamycin
の静菌作用に就いて

京都大学結核研究所化学療法部（主任 教授 内藤益一）

神 田 瑞 雄

【内 容 抄 録】

Viomycin, Cycloserine 及び Kanamycin の静菌力を培地置換培養法にて検索した所、普通培養法に比して、Viomycin は少々強く、Cycloserine はかなり強くあらわれ、Kanamycin は僅かに強くなるという成績を得た。

緒 言

本論文第2編に於いて培地置換培養法（以下置換培養法）により Streptomycin, Dihydrostreptomycin, PAS, INH 及び TB1 の静菌作用を検索した結果、INH は培養中に著しく不活性化することを知った¹⁾。

本編に於いては新しい抗結核剤の内より3種の抗生物質 Viomycin（以下 VM）、Cycloserine（以下 CS）及び Kanamycin（以下 KM）に就いて置換培養法により静菌作用を検索した。

VM は *Streptomyces puniceus*²⁾ 又は *Streptomyces floridiae*³⁾ によつて産生される抗生物質である。人型結核菌 H37Rv 株に対する VM の発育阻止最低濃度（以下 MIC）に就いては多数の報告²⁻⁷⁾があるが、血液又はアルブミン加液体培地では概ね 3.7~12.5 γ /cc の MIC を示すようである。当教室の津久間⁸⁾等によると10%血清加 Kirchner 培地で 3.13 γ /cc、Dubos 培地で 0.78 γ /cc、岡・片倉培地では著しく減弱して 25 γ /cc の MIC を示し、又伊藤⁹⁾、河田¹⁰⁾の詳細な検討により、VM の静菌力は接種菌量の増加、培地 pH の酸性化等によつてかなり低下する事が知られている。

CS は *Streptomyces orchidaceus* によつて

産生される抗生物質で¹¹⁾、全く同一物質が独立に各所で分離されているが、Merck 社の Oxamycin¹²⁻¹³⁾、黒沢の Orientmycin¹⁴⁻¹⁵⁾ があり、その母体である放線菌の名称も少々 *Streptomyces garyphalus*, *Streptomyces lavendulae* と呼ばれている。人型結核菌 H37Rv 株に対する CS の MIC に就いても多数の報告¹⁶⁻¹⁷⁾があり、液体培地で概ね 3.13~12.5 γ /cc と報告されている。当教室の河田¹⁰⁾の研究によると CS の MIC は、培地 pH、接種菌量等の影響をうけがたく、大体 12.5 γ /cc の MIC を示し、又津久間⁸⁾等の成績では培地差による変化も非常に少いという成績を得ている。

KM は1955年1月梅沢等¹⁹⁾によつて発見された *Streptomyces Kanamyceticus* より産生される broad spectrum の新抗生物質で、人型結核菌 H37Rv 株に対する MIC に就いても既に柳沢²⁰⁾、堂野前²¹⁾、内藤²²⁾及び Robinson²³⁾ 等多数の報告がある。当教室の実験成績による MIC は、4週間判定で10%血清加 Kirchner 培地では 1.25 γ /cc、Dubos 培地では 0.625 γ /cc、岡・片倉培地では減弱して 10.0 γ /cc で、培地 pH がアルカリ性になると静菌力がやや増強し、又接種菌量や培地血清量が多くなるとかなり低下するという成績を得ている。尚今迄にあらわれた種々の抗結核剤と交叉耐性がないので SM、INH に次ぐ第3の薬として注目されている。

本編に於いては、これ等3種の抗生物質の静菌力検索成績に就いて記載する。

実験材料及び実験方法

培地、菌液、実験方法及び判定基準はすべて

2編¹⁾と同様である。

VM は三共製薬の1.0瓦入り第1バイアル, CS は塩野義製薬の 10 mg 入りアンプル, KM は明治製菓の 1.5 瓦入りバイアルを使用し, すべて滅菌蒸溜水で溶解稀釈して被検薬液を調製した。

実験成績

培養開始 4 週間後の肉眼的判定成績は表 1 に示した如く, VM の静菌力は実験 2 回の内 1 回は置換培養法に於ける方が 2 倍強く, 他の 1 回は 4 倍強く出た。CS の静菌力は置換培養法に於ける方が 4 倍強く出た。KM の静菌力は置換培養法に於ける方が 2 倍強く出た。顕微鏡的判定も同時に行なつたが全く同様の成績であつたので記載を省略した。

総括及び考按

Finlay²⁾によると VM は室温, pH 5~6 にて概ね安定であるが, 100°C では約12時間で力価が半減するといわれている。又 Barz³⁾ は温度と pH を種々変えて VM の活性を調べた所, pH 2.0, 25°C, 24時間; pH 2.0, 100°C, ¼時間; pH 7.0, 25°C, 24時間で何れも 100%; pH 7.0, 100°C, ¼時間で59%; pH 9.5, 25°C, 24時間で81%; pH 9.5, 100°C, ¼時間で32%活性を保つと報告しており, 文献的に孵卵温度程度では力価を減弱しない安定した物質と考えられる。だが pH による影響はかなり著しく, 酸性溶液では安定であるが, アルカリ性溶液では不

安定であるといわれる。しかし著者の調べた文献範囲では, 何れも作用時間が短いので, 果して結核菌培養中にどの程度崩壊不活性化するか否かを知る事は出来なかつた。さて著者の 2 回の実験では置換培養法に於ける静菌力は普通培養法にくらべ 1 回は 2 倍強くあらわれ残り 1 回は 4 倍強くあらわれたのであるが, この成績から VM が pH 6.5 (±0.1), 37°C の培地内で少々力価の減弱をきたすものと考えてよいと思われる。

CS は溶液状態で室温放置であれば殆んどその力価の減弱をきたさないといわれている。即ち Steenken⁷⁾ によれば, 水溶液として室温で放置, 2時間, 7日, 14日, 21日後夫々に於ける MIC を調べた所, 2 週間判定ですべて 6.25 γ /cc と不変, 4 週間判定でもすべて 12.5 γ /cc と不変で, 21日間放置しても力価の低下は認められなかつたという成績を得ている。但し放置時間を延長して28日とすると, 2 週間判定では 6.25 γ /cc と不変, 4 週間判定で始めて 25.0 γ /cc と½低下, 放置37日とすると 2 週間判定で 12.5 γ /cc と½低下, 4 週間判定で 50 γ /cc と¼低下という成績で, 28日, 37日と延長して始めてわずかずつの力価の低下を見始めた程度である。これに反し孵卵温度では幾分か力価の低下を来たすといわれている。即ち Renzetti¹⁶⁾ は 3 種の培地を用いて種々の濃度に CS を入れ, 孵卵器内に 1 週間置いたあとの濃度の変化を化学定量的に調べているが, 液体培地に就いては当初 10 γ /cc は 0 となり, 20 γ /cc は 0.4 γ /cc,

表 1 普通培養法と置換培養法との比較

薬剤	実験番号	培養法	第1管中 薬剤濃度 (γ /cc)	試 験 管 番 号										MIC (γ /cc)
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	対照	
VM	1	普通 置換	100	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	6.25
			100	—	—	—	—	—	—	+	+	+	++	+++
	2	普通 置換	100	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	12.5
			100	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++
CS	普通 置換	100	—	—	—	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	25	
		100	—	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	6.25	
KM	普通 置換	10	—	—	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	0.63
		10	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	0.31

40~50 γ /cc は 36.0 γ /cc, 100 γ /cc は 66.4 γ /cc に濃度が減少する成績で, 当初低濃度程度減少が甚だしく $\frac{1}{5}$ ~ $\frac{1}{10}$ の減少を示している事は注目に値する。CS の力価の pH による影響としては, アルカリ性溶液では安定であるが, 中性又は酸性溶液中では不安定であるといわれている¹⁸⁾。著者の実験では, CS は置換培養法に於ける方が普通培養法にくらべ発育阻止力が4倍強く出たのは案外孵卵器内にて力価がかなり減弱する事を示すものと思われ, 上記の文献の成績を裏付けるものである。

KM はその水溶液中では極めて安定で, 例えば 100°C 30分加熱しても, 又 40°C に半年間放置しても分解せずその力価を減弱しない¹⁹⁾といわれている。著者の実験では置換培養法に於ける MIC は普通培養法に比し $\frac{1}{2}$ であつたことは KM が比較的安定性の高い物質であることを立証するものと思われる。

結 論

新抗結核剤の内3種の抗生物質 Viomycin, Cycloserine 及び Kanamycin に就いてその静菌力を培地置換培養法で検索した結果, 普通培養法に比して Viomycin は少々強く, Cycloserine はかなり強くあらわれ, Kanamycin は僅かに強くなつた。換言すれば, 培地内で Viomycin はやや不安定, Cycloserine は不安定, Kanamycin は概ね安定な薬剤と考えられる。

(欄筆に当り, 終始御指導及び御援助を賜わった当教室助手津久間俊次博士と実験に終始御協力を戴いた当教室東向一郎学兄とに深甚の謝意を表します。)

文 献

- 1) 神田：本論文第2篇
- 2) Finlay Hobby et al. : Am. Rev. Tuberc., 63 : 1, 1951.
- 3) Bartz, & Ehrlich, J. : ibid, 63 : 4, 1951.
- 4) Ehrlich, J. et al. : ibid, 63 : 7, 1951.
- 5) Hobby. : ibid, 63 : 17, 1951.
- 6) Youmans et al. : ibid, 63 : 25, 1951.
- 7) Steenken et al. : ibid, 63 : 30, 1951.
- 8) 津久間：胸疾, 2 : 522, 1858.
- 9) 伊藤篤：京結紀要, 7 : 143, 1958.
- 10) 河田：京結紀要掲載予定
- 11) Harned et al : Antibiotics and Chemotherapy, 5 : 204, 1955.
- 12) Harris, et al : ibid, 4 : 183, 1955.
- 13) Cuckler et al : ibid, 4 : 191, 1955.
- 14) 黒沢：Journal of Antibiotics, 12 : 82, 1952.
- 15) Kurosawa : Yokohama Med. Bull., 3 : 386, 1952.
- 16) Renzetti et al : Am. Rev. Tuberc., 74 : 128, 1956.
- 17) Steenken et al : ibid, 73 : 539, 1956.
- 18) Conzelman : Antibiotics and Chemotherapy, 5 : 444, 1955.
- 19) 梅沢：日本医師会雑誌, 39 : 713, 1958.
- 20) 柳沢：内科, 1 : 12, 1958.
- 21) 堂野前他：日結, 17 : 525, 1958.
- 22) 内藤：文部省結核化学療法班会議, 1958.
- 23) Robinson et al : 日本医師会雑誌, 39 : 727, 1958.