

p-AMINOSALICYLHYDRAZIDE の基礎実験

国立療養所再春荘 佐藤良一

熊本大学医学部微生物学教室 浮辺正和

(1953年12月23日受付)

p-Aminosalicylhydrazide (PASH と略記) に就いては、既に加来¹⁾、三崎²⁾、柿本³⁾等その薬理作用並びに抗菌作用に関する研究発表があり、その実験的結核症に対する薬効に就いては、安井⁴⁾等の報告がある。余等は先頃から INAH と PAS との併用がその単独使用に比して治療効果が相加的であり、且つ菌の耐性獲得防止の点で有利ではあるまいかとの考えの下に、この点に就いて検討を加えつつあつたところ、たまたま本剤の出現を見るに及んで、上述の意味から興味を覚えたので、熊本大学薬学部 加来教授からその供与を受け、本剤の試験管内結核菌発育阻止作用、毒性試験並びに Screening Test を実施し、結核の化学療法剤としての本剤の価値に就いて検討考察を加えたので、その結果を茲に報告し、諸彦の御批判を俟ちたい。

実験方法並びに成績

1. 試験管内結核菌発育阻止作用

A. 1% KH₂PO₄ 培地を使用した実験

PASH, PAS, INAH に就いて、それぞれの薬液添加濃度が 0.1, 0.5, 1.0, 10.0, 50.0, 100.0 mcg/cc となるように培地を調整し、各濃度毎に培地 2 本づつを使用した。接種菌株は人 F 及び H37Rv で、培地 1 本について菌量 0.1mg づつ接種した。培養 4 週目の成績は第 1 表のとおりである。

第 1 表 1% KH₂PO₄ 培地を使用した実験成績

菌 株	添加薬液	薬液濃度 mcg/cc						K
		0.1	0.5	1.	10	50	100	
人 F	PAS	++	+	+	-	-	-	卍
	INAH	+	-	-	-	-	-	
	PASH	卍	卍	卍	+	-	-	
H37Rv	PAS	++	+	+	+	-	-	卍
	INAH	±	±	-	-	-	-	
	PASH	++	++	+	+	-	-	

[注]

- 卍 培地全面に苔様発育
 - 卍 2/3~培地全面の集落
 - 卍 培地 2/3 以下~100 コ以上集落
 - +
 - 100 コ以下の集落
- 接種菌量 0.1mg 4 週の成績

即ち、完全阻止濃度は人 F では INAH 0.1~0.5 mcg/cc, PAS 1.0~10.0 mcg/cc, PASH 10.0~50.0 mcg/cc, H37Rv では INAH 0.5 mcg/cc 前後, PAS 10.0~50.0 mcg/cc, PASH 10.0~50.0 mcg/cc で、PASH の阻止力は 1% KH₂PO₄ 培地を使用した場合は PAS とほぼ同様か、またはやや劣る結果を得た。

B. SAUTON 培地を使用した実験

PASH, PAS, INAH に就いて検討した。薬液添加濃度は(A)と同様である。接種菌株は B. C. G., H37Rv, 人 F, 青山 B, 非病原性抗酸性菌 920 号の 5 種で、本培地で馴らしたものを 1 エーゼづつを各濃度について 2 本づつの培地に接種した。培養 3 週目の成績は第 2 表のとおりである。即ち、完全阻止濃度は B. C. G. では PASH, PAS, INAH とも 10.0~50.0 mcg/cc であるが、増殖の程度から見ると、PASH が最も阻止力が弱いように思われる。H37Rv では PAS 1.0~10.0 mcg/cc, INAH 0.1~0.5 mcg/cc, PASH 0.5~1.0 mcg/cc で、PASH の阻止力は SAUTON 培地を使用した場合は PAS とは

第 2 表 SAUTON 培地を使用した実験成績

菌 株	添加薬液	薬液濃度 mcg/cc						K
		0.1	0.5	1.	10	50	100	
B. C. G.	PAS	卍	++	++	+	-	-	卍
	INAH	+	±	±	+	-	-	
	PASH	卍	卍	卍	+	-	-	
H37Rv	PAS	卍	++	±	-	-	-	卍
	INAH	±	-	-	-	-	-	
	PASH	卍	+	-	-	-	-	
人 F		-	-	+	-	-	-	卍
青山 B	PASH	-	-	++	±	-	-	卍
		-	-	卍	卍	卍	卍	卍
920 号		-	-	卍	卍	卍	卍	卍

[注]

- 卍 液面から更に管壁まで増殖
 - 卍 液全面に発育
 - ++ 液面 2/3 以上発育
 - +
 - 明らかに発育増殖したと認められるもの
 - ± 増殖したかどうか明らかに判断できないもの
 - 増殖の傾向を認めないもの
- 接種菌量: 1 エーゼ 3 週の成績

ぼ同様か、またはやや勝る結果を得た。なお PASH は人Fに対して 1.0~10.0mcg/cc、青山Bに対して 10.0mcg/cc 前後の阻止力を示し、非病原性抗酸性菌 920号に対しては 100.0mcg/cc でも発育を阻止しなかつた。

2. 急性毒性試験

体重 10±1g のマウス 6匹づつ 5群、各群に PASH 結晶をそれぞれ 1, 3, 5, 10, 15mg を 1回経口投与して 3日間観察した。3mg 以上の投与群に於いては、投与後 3時間頃から軽度の不安、立毛、痙攣を認め、10mg 投与群に於いて 1匹、15mg 投与群に於いて 2匹死亡した(第3表)、死亡例は総て 1日目に死亡した。

第3表 急性毒性試験 (経口投与)

投与量	1mg 100 mg/kg	3mg 300 mg/kg	5mg 500 mg/kg	10mg 1000 mg/kg	15mg 1500 mg/kg
死亡数	0/6	0/6	0/6	1/6	2/6
使用数					
生存率	100%	100%	100%	83.4%	66.7%

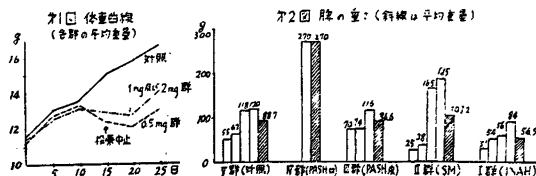
3. 慢性毒性試験

体重 10±1g のマウスを 10匹づつ 4群に分け 3群には各群にそれぞれ PASH 結晶 0.5, 1 及び 2mg を 1日 1回毎日経口投与し、残り 1群を対照とした。2週間で投薬を中止し、3週まで観察した。1mg 投与群、2mg 投与群に於いてはほぼ 1週から食思不振、立毛、不安、水様下痢を示し、うち 6匹は著るしい腹部膨満を呈した。死後剖検すると、胃腸の著るしいガス充満、肺及び肝の充血腫脹、腸の出血性炎症を認めた。生存率は第4表に示すように、0.5mg 投与群 8/10, 1mg 投与群 5/10,

第4表 慢性毒性試験 (経口投与)

投与量 (1日量)	0.5mg 50 mg/kg	1mg 100 mg/kg	2mg 200 mg/kg	対 照
死亡数	2/10	5/10	6/10	0/10
使用数				
生存率(%)	80	50	40	100

投与群 4/10, 対照群 10/10 であつた。体重の推移は第1図のように、対照群が順調な増加傾向を示したのに反して、投与群は投与後 10日頃から次第に減少し、投与中止後 5日目頃から増加し始めた。



4. Screening Test

体重 10g のマウス 40匹を 5群に分け、I群 INAH 投与、II群 SM 投与、III群 PASH 経皮投与、IV群 PASH 経口投与、V群を対照とした。先ず全群に人F株 0.1mg を尾静脈に接種し、翌々日から薬剤投与を開始した。即ち、I及びII群にはそれぞれ INAH 0.5mg, SM 1mg を、III群には PASH 0.25mg を背部皮下に接種し、IV群には PASH 0.25mg を経口的に投与して、V群は無処置とした。その後、毎日 1回、同量の薬剤投与を継続したが、III及びIV群に於いては菌接種後 14日目頃から腹部膨満、水様下痢を呈して死亡し始め、19日目に III群 3匹、IV群 1匹を残すのみとなつたので、20~

第5表 定量培養成績

群	動物番号	脾	肺
I	1	5	1
	2	1	4.5
	3	(-)	(-)
	4	(-)	(-)
II	1	32	(-)
	2	6	(-)
	3	155	160
	4	100	(+)
III	1	(卅)	(卅)
	2	(卅)	(卅)
	3	(卅)	(卅)
IV	1	(卅)	(卅)
	2	(卅)	137.5
V	3	(卅)	105.0
	4	(卅)	(卅)

[注]

算用数字は集落数を示す(臓器 0.01mg 中の数を示す)

卅 培地全面苔様発育

卅 ほぼ培地全面の集落

卄 培地 2/3 以下で集落を数え

られぬもの

判定は 6週におこなつた

軽く、IV群が最も重い(第2図)。定量培養の成績では、I, II群が概ね所期の効果を示したのに反して、III群、IV群はV群より悪い結果を示している(第5表)。

総括並びに考按

PASH の結核菌に対する試験管内発育阻止作用に就いて、加来等はその阻止力が青山Bに対して 10mcg/cc、非病原性抗酸性菌 920号に対して 1,000mcg/cc であると

述べ、柿本等は H37Rv に就いて検討した結果、INAH に勝るとも劣らないと述べている。また、三崎等は H37Rv に就いておこなった実験の結果、PAS と INAH の中間値を占めるものようであると言っている。余等の成績では、その阻止力は使用培地によつて多少の動揺はあつたが、人 F, H37Rv, 青山 B, B. C. G. に対して概ね 1.0 mcg/cc から 50.0 mcg/cc の間にあり、非病原性抗酸菌 920 号に対しては 100 mcg/cc でも阻止せず、だいたい加来等の成績と一致しており、INAH, PAS と比較培養した成績からは概ね PAS と同程度の阻止力を有するものと云えよう。毒性に就いては、加来は LD₅₀ を 1.5 mg/10g と述べているが、余等の急性毒性試験の成績では、15 mg/10g でなお半数死亡に達せず、その毒性はかなり小さくなつてゐる。この点に就いては、余等の実験は経口投与のみによるものであるから、更に検討を要すると考える。慢性毒性試験の成績では、0.5 mg/10g の 2 週間投与でも 2/10 の死亡率を示し、投薬後体重の減少があつたことは注意を要することであり、更に検討を加える必要があると思う。実験的結核症に及ぼす PASH の影響に就いて安井等は、モルモットを用いて検討し、20 mg/300g 投与に於いて INAH に準じ、PAS より強大であると述べているが、余等のマウスを用いた Screening Test に於いては PASH 0.25 mg の皮下接種、経口投与でいずれも効果を認めず、却つて慢性毒性試験に際して呈したと同様の症状を示して、大部分が斃

死したことは PASH 長期投与にあつての毒性に就いて更に詳細に追究するの要を痛感させるものである。

結 論

1. PASH の結核菌に対する試験管内発育阻止作用を INAH, PAS と比較検討し、概ね PAS と同程度の阻止力を有することを知つた。

2. PASH の急性毒性試験をマウスを用いて実施したが、15 mg/10g (経口投与) でも半数死亡に達しなかつた。

3. PASH の慢性毒性試験をマウスを用いて実施したが、0.5 mg/10g (経口投与) で 2/10 の死亡率を示し、体重の減少があつたことは注意を要する。

4. マウスを用いて実施した Screenig Test に於いては、PASH 0.25 mg/10g の皮下接種、経口投与でいずれも全く効果を認めなかつた。

拙筆にあたり、終始御懇切な御指導並びに御校閲を賜つた庄長 坂元正徳博士、熊本大学医学部 六反田藤吉教授並びに本研究に種々の御教示及び便宜を御与え下さつた熊本大学薬学部 加来天民教授に深謝する。

本論文の一部は第 8 回厚生省医務局研究発表会で発表した。

文 献

- 1) 加来, 加瀬, 作間: 薬学雑誌 73 (6) 522
- 2) 三崎, 坂井: 医学と生物学 25 (1) 38
- 3) 柿本, 関川, 山本: 薬学雑誌 72: 1646
- 4) 安井: 十全医学雑誌 55 (4): 532

抄 録

Genus *Herellea* 変異株に依る急性細菌性心内膜炎

SORRELL, W. B. and WHITE, L. V. Am. J. Clin. Path. 23 (2): 134~138, 1953.

従来致命的感染の原因となつた報告のない *Mimeae* 族, Genus *Herellea* の 1 変異株と考えられる菌に依る急性心内膜炎の剖検 1 例報告。入院 25 日前より発熱・心窩部痛・咳嗽・起坐呼吸を以て発病。入院時は昏睡状態で直に毎 4 時間 60~100 万単位 Pc 筋注開始, 計 Pc

920 万使用せるも入院後 5 日に死亡。剖検にて大動脈弁の急性潰瘍性血栓性心内膜炎, 脾・腎・脳が多発性小梗塞, 広汎な気管支肺炎, 急性及び慢性前立腺炎を認め, 多数グラム陰性菌集簇を心臓巣と梗塞内に証明した。入院翌日の血液を脳心浸出液・0.5% 寒天混合培地に 96 時間培養してグラム陰性桿菌を純培養に得。C. M. 10 μ g に感受性, Pc 10 Oxford 単位, A. M. 40 μ g, S. M. 50 μ g, T. M. 50 μ g に抵抗性であつた。本菌の諸種生物学的性状及び血清学的性状からは Genus *Herellea* の変異株と考えられると論じている。(三方内科 抄)