

近畿支部第4回総会講演要旨

昭和11年11月17日 大阪大学微生物病研究所講堂に於いて

(1) コハク酸々化酵素系に及ぼす Antimycin A の影響

中川 博・福丸稔一・国田信治

大阪大学 微生物病研究所 化学療法研究部

LEBEN, KEITT 等が放線菌の1株より分離した Antimycin A は、宿主に対する毒性の高い抗生物質であるが、チトクローム系の特異的阻害剤として興味ある物質である。原田等も Antimycin A と同一と考えられる抗生物質を分離したので、われわれは、その分与を受けて、そのコハク酸々化酵素系に対する作用を検討した。豚心筋より KEILIN, HARTREE 法により精製したコハク酸々化酵素系に対する作用は 3~4 mcg/cc で強い阻害がみとめられ、10 mcg/cc で 95% 以上の強い阻害を示した。ヒドロキノンを基質としてチトクローム C 酸化酵素に対する作用を検討したが、10 mcg/cc でも阻害を受けない。コハク酸々化酵素系にメチレン青を添加すると、Antimycin A による阻害の回復を認める。但しメチレン青の添加は O₂ 吸収の絶対値には変りなく、ただその速度の促進的效果をもつものと見られる。

以上の実験結果より、実験に使用した Antimycin A もチトクローム b から c に至る過程に対し阻害作用を示すものと思われるが、更に Antimycin A の高濃度の場合、脱水素酵素或はチトクローム b にも多少の阻害効果をもつものと思われる。而して原田氏等の分離した Antimycin A も LEBEN, KEITT の報告した Antimycin A と同一のものであることが酵素学的にも推定出来た。

(2) ペニシリンの出血に及ぼす影 響について

中原 健三

大阪大学医学部第1外科

胸部手術、特に肋膜外気胸術後腔内出血がかなり長く持続するものがあるので、腔内に注入された高濃度のペニシリンがその部の止血に悪影響を与えるか否かを検査した。之に関しては、1947年 FLEMING & FISH が口腔内手術時大量のペニシリンを使用した為、後出血の増加を見たと発表して以来血液凝固に及ぼす影響について

は賛否両論あり一定していないので、この点を解明せんとして次の実験を行った。

I. 試験管内実験

(a) 倍数希釈でペニシリン溶液の系列を作り健常家兔の血液と混和凝固時間を測定した。又(b)熱破壊ペニシリンにつき同様の実験をした。その結果 (a) 6,000 u/cc 以上の高濃度では明かに凝固時間は延長し、50,000 u/cc 以上では血液凝固は起らず溶血が見られた。(b) 熱破壊ペニシリンではその影響はかなり少いが、やはり相当強い凝固時間の延長が認められた。

II. 生体内実験

(A) 全身投与群 2 kg 内外の健常家兔に 20 万~150 万単位のペニシリンを静注、数分後採血し、その凝固時間を測定したが、注射前のそれと殆んど差異を認めなかつた。

(B) 局所投与群： 健常家兔の皮下小静脈を露出周囲より剝離し、1カ所で切離、直ちに生理的食塩水を滴下して止血する迄の時間を測定、対照とする。その対照部位で同様にして小静脈を切離、既知濃度のペニシリン溶液を滴下、止血する迄の時間を測定した。その結果 25,000 u/cc 以上の高濃度のペニシリン溶液では著明に出血時間が延長する。

以上の成績から、(1) 6,000 u/cc 以上の高濃度のペニシリンは明かに血液凝固を阻害する。(2) 局所に 25,000 u/cc 以上の高濃度のペニシリンを作用させると、その部の出血時間は延長する。(3) 実質性の出血がある場合、その局所に大量の高濃度ペニシリンが作用すれば大量出血の危険も予想されるから注意を要すると云えよう。

(3) Albamycin (Streptonivicin) に関する研究

中塚正行・荒谷春恵・岡村義久

大下浩二・中林和夫

広島大学医学部薬理学教室

Albamycin (Ab) の抗菌作用、耐性及び薬理作用を窺い、次の如き成績を得た。

I. 抗菌作用： 黄色葡萄球菌(黄菌)及び大腸菌に対する50%発育阻止濃度は、何れも酸性側(pH 6.0)に於て 0.03~0.015 mcg/cc、及び 60~30 mcg/cc でアルカリ側(pH 8.0)では 0.5 mcg/cc 及び 200~125 mcg/cc

で、pH 6.0 に於て抗菌作用は最も大である。次に 4~100°C に於ける力価の安定性は 4~37°C ではきわめて安定で、50°C ではやや力価は低下の傾向を、又 80~100°C では約 50% 低下する。局作用型式は黄葡萄菌には静菌及び殺菌的、大腸菌には静菌的に作用する。

II. 耐性獲得並に復帰：黄葡萄菌の耐性獲得は 1~6 代の間は緩徐であり、爾的階段的に増加し、20 mcg/cc 耐性株を得た。大腸菌では階段的に増加し、1,000 mcg/cc 耐性株を得た。かかる耐性株の感性復帰は 10 代では全く認められない。次に他の抗生物質との交叉耐性は、Penicillin, Streptomycin, 及び Chloramphenicol との間には全く認められないが、Chlortetracycline, Oxytetracycline 及び Erythromycin との間は程度乍ら交叉耐性が認められる。

III. 薬理作用

a. 1 回適用の場合：家兎血圧に対し 20 mg/kg では影響を与えないが、50 mg/kg では軽度乍ら下降する。家兎耳殻及びガマ後肢血管に対し 10^{-6} ~ 10^{-5} では変化なく、 11^{-4} ~ 10^{-3} では明らかに拡張する。摘出蛙心臓に対し 10^{-8} では殆ど変化なく、 10^{-7} ~ 10^{-3} では抑制する。摘出家兎腸管に対し、 10^{-7} では変化なく、 10^{-6} ~ 10^{-5} では運動を促進し、 10^{-4} ~ 10^{-3} では明らかに抑制する。蛙腸間膜血管透過性に対し、10 mcg でやや充まる他は殆ど変化を与えない。以上の如く Ab 少量及び中等量では概して著明な作用をみとめないか、もしくは軽度乍ら Cholinergic な作用を示し、他方大量では筋肉自体に麻痺的に作用するものと思される。

b. 長期適用の場合：Ab 10 mg/kg/1 日—30 日間連続適用時、体重の増減は殆ど認められまい。その際の自律神経毒感受性は 10 日間連続投与例では殆ど変化なく、20 日間連続投与例では Acetylcholin (Ach) 感受性はやや充まり、30 日間連続投与例では Adrenalin 感受性は明らかに低下し、Ach 感受性は明らかに充まっている。

しかし乍ら Pilocarpin 感受性には変化はない。かかる自律神経系の不均衡の出現はきわめて興味深い点であり、その原因解明の度、目下 Adrenalin 及び Ach を中心とした酵素系に及ぼす影響を検討中である。

(4) 結核に対する Antibiotics の研究

とくに放線状菌の 1 新種の産生する Antibiotic について

今村荒男・堀三津夫・中沢鴻一
柴田元雄・立岡末雄・三宅 彰

大阪結核研究会

財団法人大阪結核研究会は結核化学療法の研究を主目的として設立され、今村研究委員長を中心として阪大微生物研竹尾結核研究部堀研究室、財団法人醸酵研究所及び武田薬工研究所の 3 研究機関が協同研究を実施し、1950 年来結核に対する Antibiotics 探索に研究焦点を集中して研究を続けているが、最近興味ある成果をえたので、ここに今日までの Antibiotics の研究の概要を報告する。

I. 研究方法の概要

(1) 第 1 次 Screening：放線状菌の培養濾液 (50 倍希釈) の人型結核菌に対する増殖抑制作用の検索 (*in vitro*)。

(2) 第 2 次 Screening：第 1 次 Screening によつて pick up された放線状菌の培養濾液から抗菌性物質を粗粉末としてとりだし、この Sample について人型結核菌に対する抗菌力の検索 (*in vitro*)。

(3) 第 3 次 Screening：第 2 次 Screening で 5~10 万倍希釈以上で人型菌の増殖を抑制した Sample について、マウスの実験的結核に対する治療効果の検討。

(4) モルモットの実験的結核に対する治療効果の検討：第 3 次 Screening の成績を考慮し、数種の Sample についてモルモットの実験的結核に対する治療効果の検討。

II. 研究成績

(1) 第 1 次 Screening に際して Test organism として人型結核菌と鳥型結核菌のいずれを用いるかをあらかじめ検討した結果、放線状菌の培養濾液の人型或は鳥型結核菌に対する増殖抑制作用は必ずしも平行しないことが判明したので、第 1 次 Screening に際しては人型菌を用いることにした。

(2) 第 1 次 Screening：約 6,900 株の放線状菌の培養濾液について検索し、490 株の放線状菌を pick up した。

(3) 第 2 次 Screening：89 種の Sample について実験し、100 万倍以上の希釈で人型菌の増殖を抑制するもの 14 をえた。

(4) 第 3 次 Screening：61 種の Sample について実験した結果、効果を示したものは Antibiotic 23572 のみである。

(5) 6 種の Sample のモルモットの実験的結核に対する効果を検したのに、Antibiotic 23572 のみが効果を示した。

(6) Antibiotic 23572 について：Antibiotic 23572 はわれわれが *Streptomyces humidus* と名付けた *St. hygrosopicus* 属に属する新種によつて産生され、Antibiotic 23572 の物理化学的性質は Dihydro-st-

reptomycin (DHSM) のそれによく一致し、結核菌に対する抗菌作用 (*in vitro* 及び *in vivo*) も DHSM と同様であるので、Antibiotics 23572 は DHSM であると判断される。

今日、Streptomycin を化学的に還元してえられていた DHSM を直接産生する放線菌の 1 新種を発見したことは意義あることと考える。

(5) 放線菌 5915 の産生する抗生物質について

油谷 巖・須貝哲郎

大阪市立大学医学部生化学教室

放線菌 5915 株はその培養濾液中にただ 1 種の抗生物質を産生する。本物質は広くグラム陽性菌、グラム陰性菌及び抗酸性菌に対して有効で、その物理化学的諸性状から cycloserine、又はそれに極めて類似した抗生物質であろうと推定されるが、本産生株は従来 cycloserine 産生株として報告されている *Str. orchidaceus*, *Str. garyphalus*, *Str. lavendulae* 及び *Str. K-300* 株と異なるように思われ、又今までの記載菌種に該当するものを見出しえないので、之を新菌種と考え、*Streptomyces naqasakiensis*, *nov. sp.* (油谷株) と命名したい。

本株は spiral も whirl も形成せず、球状～卵円形の胞子を生じ、合成培地上で桃色調の厚い綿毛様菌糸を形成し、こはく黄色の水溶性色素を産生する非クロモゲン型の株である。各種培地の培養諸性状を観察し、PRIDHAM 培地に種々の炭素源を加えて、その利用性を検討した。

本抗生物質の生物学的定量法、培養条件の検討、単離精製法について述べ、精製試料について種々の物理化学的並びに生物学的性状の成績を報告し、cycloserine の文献に示される成績と比較した。

本物質は等電点 pH 7.1~7.2 の両性物質と思われ、親水性でメタノールを除く一般有機溶媒に不溶である。活性炭、アルミナ等の吸着剤に水溶液から吸着されず、強陽イオン及び強陰イオン交換樹脂に定量的に吸着される。濾紙クロマトグラフィにおける R_f 値は水で 0.91、エタノール：水 (1:1) 系で 0.66、80% エタノール水で 0.45、水飽和 n-BuOH：氷醋 (3:1) 系で 0.42、t-ブタノール：氷醋：水 (74:3:25) 系で 0.35 を示し、ニンヒドリン発色斑は橙黄色を呈する。呈色反応は biuret 陰性、ninhydrin 陽性、FeCl₃ 陽性で橙赤色を呈する。本粉末を酸分解した液について、濾紙クロマトグラフィを行い、セリンに一致する 1 個のニンヒドリン陽性

斑を認めた。又この粉末 (35 u/mg) のマウスに対する毒性は腹腔内注射で、約 1 g/kg で 5 匹中 1 匹の即日死亡をみた。

(6) イソニコチン酸ヒドラジッド及びその誘導体による結核発病防止並に治療に関する実験的研究

内田 誉・三木勝治・奥田良雄

国立療養所刀根山病院

INAH は、結核の治療のみならず、初感染時の発病阻止の目的にも用いられようとして居り、種々な誘導体の形で用いようとする傾向が見られる。しかし使用にあたって、INAH 自体でさえも、投与量、投与方法、投与期間等について確たる基準が示されているとは言い難い。我々は、誘導体の抗結核作用の比較や使用時の基礎的基準を得るため、マウスを用いて種々の実験を行つて居るのでその成績を報告する。

実験方法は次の通りである。即ち、体重 15~20 g の純系マウス NA 2 に、人型結核菌 H₃₇Rv 又は H₂ 株の凍結乾燥菌 0.1 mg を尾静脈より感染せしめ、翌日よりゾンデを以つて処定の薬剤を胃内に投与し、一定期間後屠殺し、肺並に脾を摘出、ホモジナイズし、NoOH 水 4% の割で前処理の上、3% 小川氏培地に定量培養し、同量の臓器中より発育した結核菌の集落数によつて薬剤の効果を判定した。

その結果、(1) INAH は、同一量では週 2 回投与より毎日投与の方が明かに成績がよい。(2) 投薬中止後、再び菌が増加しないまで治療する為には、マウスの実験的結核症に於ても、少くとも 6 週以上、毎日 5 mg/kg 投与の必要がある。(3) Glucuronolactone isonicotinyl hydrazone, Sodium glucuronate isonicotinyl hydrazone [I], Isonicotinyl hydrazide methansulfonate [II] 及び Isonicotinyl hydrazinopyruvic acid の Na 又は Ca 塩等はいづれも多少の差はあるが、INAH に近い抗結核菌作用を示す。(4) INAH と γ -Pyridin aldehyd thiosemicarbazone の 1:4 の混合物である Tebafen の抗結核菌作用も INAH と大差がない。(5) 以上の薬剤並に、多くの INAH の Benzaldehyd 誘導体は、いづれも初感染結核の発病防止に用いて効ありと考えられる。(6) Pyrazinamide 又は Sulfisoxazole と INAH との併用効果は、この実験方法では認められない。(7) [I], [II] 等は毒性少く大量投与が可能であるが、INAH 同様、治効の限界があるらしく、一定量以上は効果が認められない。

(7) 実験的結核症における各種抗結核剤長期併用療法の効果の比較

内藤益一・前川暢夫・菱谷健比古

京都大学結核研究所化学療法部

SM, INH, PAS の3種抗結核剤を使用して実験的結核症に対する長期併用療法を試み、その併用法及投与方法の組み合わせに依る効果の比較並びに長期投薬に依る治療成績を検討した。即ち、予め感作せる海豚 66 匹の右眼前房内に結核菌 H₃₇R_v 株を接種し、前眼部結核症を惹起せしめ、病変が平均する様 7 群に群別、次の様な投薬治療を行なつた。

- (A) SM, INH, PAS 毎日連続投与 (S_毎I_毎P_毎)
- (B) SM, INH 週2回, PAS 毎日投与 (S₂I₂P_毎)
- (C) INH, PAS 毎日連続投与 (I_毎P_毎)
- (D) INH 週2回, PAS 毎日投与 (I₂P_毎)
- (E) SM, PAS 毎日連続投与 (S_毎P_毎)
- (F) SM 週2回, PAS 毎日投与 (S₂P_毎)
- (G) 対照群

投薬量は SM 10 mg/kg, 皮下注射, INH 6 mg/kg, PAS 200 mg/kg 経口投与とした。治療実験は1カ年持続し、その間眼病変を左眼を対照しつつ、なるべく詳細に追跡観察し、その他体重等一般状態に就て経過を記録した。1カ年に亘る長期間の為約半数の動物は治療途上で斃死したが、その都度剖検、臓器定量培養を施行した。生存動物に就ては治療開始後 52 週目に一斉に剖検及臓器定量培養を行なつた。治療成績上、体重経過では大体本投薬量の範囲に於ては、各群とも漸増的な経過をとり、眼病変は各併用群とも毎日投与群は間歇投与群を上廻る良い成績が見られ、特に A 群は傑出した成績を示し、順序は A, C, B, D, E, F 群で、I_毎P_毎 群もかなり優れた効果が窺い得るに反し、S_毎P_毎 群、S₂P_毎 群の成績は近似して病変も高い。G 群は全例ともほぼ6カ月以内に斃死をとげ、眼病変は著しく高い。剖検観察として脾、肝、肺、腺の肉眼的所見を検索したが、眼病変に夫々比例せる成績を取めた。培養では眼、脾、肝、肺に就て検し、A 群は全例中1例の肝より2コの小集落を証明したに過ぎず、B, C 群と稍増加し、D 群ではかなり高率に菌を認め、F 群では多少とも全例陽性の成績を得た。G 群では全例高度に菌発育が見られた。以上より永続的な病変進行阻止、菌発育阻止と云う観点から、投与方法では間歇法より毎日法が良い成績であるが、SM, PAS 併用法ではその間の差は前者程著明ではなかつた。

(8) 抗結核剤の“in vivo” screening test として人型結核菌・黒野株によるマウスの実験的結核感染に関する基礎的研究

西村治雄・中島 清

塩野義製薬研究所

北研・水之江博士が分離した人型結核菌・黒野株は全博士の報告の如くマウスに対して強毒な菌株であり、同時に私等が“in vivo” screening test として定めた標準接種菌量 0.5 mg per mouse (15~17 g) 静注は昭和 28 年 10 月から本年迄の過去 3 年半有余の 13 回の実験結果から非常に安定な、均一した毒力を有することを認めた。即ち、この接種菌量は 14 日目頃から斃死し、20 日目には死亡率 100% となり、その TD₅₀ は総て 15~16 日を示した。更に又、毒力保持の為めには時折マウス体内を通過し、これを小川培地に 2 週間培養後氷室に保存するだけで十分その目的を達し、実験動物としても dd 系と NA₂ 系マウスいずれもその感受性は特別な差異を認めなかつた。この点でも非常に便利な菌株である。

私等は以上の基礎実験にもついで、各種の抗結核剤によるこの黒野株感染マウス実験的結核症に対する影響を検討し、その成果から次の方法を抗結核剤の“in vivo” screening test の1つの標準法とした。

即ち、黒野株のグリセリン・ブイヨン表面培養 3 週間培養菌苔の湿潤量 0.5 mg を per mouse (15~17 g) に静注し、その翌日から薬剤を体重に比例し投与し、対照の TD₅₀ (50% 死亡日) 迄投与を行い、35 日間を以て観察を打ち切り、その効果判定としては生存率、TD₅₀ 及びその得点 (処置群の TD₅₀ から対照群の TD₅₀ を差引いた日数) 並に肺の肉眼的剖検所見の程度等の 3 点を総合判定として有効量を定めた。

(9) 抗結核剤 TB₁ の妊娠母体並びに胎児に及ぼす影響に関する基礎的並びに臨床的研究

藤森速水・奥山通雄

大阪市立大学医学部産婦人科学教室

基礎実験として、妊娠動物(ラット)に TB₁ を投与し、母児両者各臓器の形態学的及び組織学的所見並びにコハク酸脱水素酵素 (以下 SDH と略す) の活性度推移を検索し、以て本剤の妊孕母獣及び胎仔に及ぼす影響を検討した。臨床実験としては、妊娠母体に TB₁ を投与し、

母体の TB₁ 吸収排泄状況と胎児への移行、並びに胎児各臓器内分布をしらべ、又妊娠母体（妊娠各月、産褥）に TB₁ を投与し、母児に及ぼす副作用に就いて観察を行い、投与量の問題に就いて検討を加えた。

結論として、(1) 基礎実験では TB₁ (2 mg/kg) の普通投与量の範囲内では、母体諸臓器には形態学的並びに組織学的に著明な異常は認められなかつたが、他方胎仔に於いては、TB₁ 投与量の増加に応じて胎仔の（死亡）吸収を促進する如く、妊娠継続率の悪化が認められ、更に組織学的には普通投与量の範囲内に於いても、肝、腎に於いては他の臓器に比し悪影響を思わせる所見がみられた。SDH の活性度に関しては、母体に於いては普通投与量の TB₁ は腎の該活性度に対しやや刺戟的に働く以外は特に強い抑制は認められなかつたが、他方胎仔に於いては TB₁ の普通投与量の範囲内に於いてすら肝の SDH 活性度に対して抑制的に働く所見が認められ、斯かる結果から本剤は普通投与量に於いても胎児に対してよい影響は与えないと云い得る。

(2) 臨床実験では、妊娠母体の TB₁ の吸収排泄状況は非妊娠時と著明な差はみられなかつたが、他方胎児へは臍帯を経て速かに相当量が移行し、肝に特に多量証明された。本剤投与時の母体に於いては著しい副作用は認められなかつたが、胎児には軽度の發育障碍（悪影響）が認められ、基礎実験と考えあわせて、妊娠中の本剤使用には充分の注意を要するものと思われた。上記実験の結果、妊娠母体に投与する TB₁ は 2 mg/kg 以下が望ましいと考えられる。

(10) Background を一定にした治療群に対する結核各種化学療法の治療効果の比較検討（第 1 報）

短期治療成績

中院孝円・阪本彩児・生駒純一郎
河本 和・佐藤三郎・安井雅典
神 弘久・本山新三・小武敏郎
神戸医科大学第一内科学教室

吾々は現在実施されつつある肺結核の各種併用化学療法の治効について、その特長及び優劣を確める目的を以て、最近数年間に実施した長期化学療法の治療効果を再検討したので、今回は治療開始 4 カ月及び 6 カ月の初期の成績に就いて報告する。

今回比較検討する治療法は、次の 5 種である。

1. INAH 0.2~0.3 g 又は Isonicotinoyl hydrazino pyruvic acid (=IP) 1.5~2.0 g 連日投与群=Id
2. INAH 0.2 g+PZA 1.0 g 連日投与群=I+PZA

3. SM 1 回 1 g 週 2 回+IP 1.0 g 連日投与群=SiId
4. SM 1 回 1 g 週 2 回+INAH 0.2 g 週 2 回+PAS 10 g 連日投与群=SiIiP

5. SM 1 回 1 g 週 2 回+PAS 10 g 連日投与群=SiP

比較検討を行う為には Background を一定にする必要があるので、次の条件に従つて症例を選出した。(a) 化学療法の初回治療である事、(b) 年令 18~42 才、(c) VI 型又は VII 型の病変を有するもので、(d) 各群に於ける IV 型と VII 型の症例数の比率は 3:1 とする。この様な条件に基いて選出した各群症例数は 4 カ月間観察せるものは Id=20 例、I+PZA=35 例、SiId=17 例、SiIiP=22 例、SiP=37 例、計 131 例であり、6 カ月間観察せるものは Id=15 例、SiId=14 例、SiIiP=20 例、SiP=32 例、計 81 例である。

治療効果の判定は厚生省療研の規準に従つて、治療開始後 4 カ月及び 6 カ月目に判定したが、その結果は主要次の如くである。

1. I+PZA 群及び SiId 群は、4 カ月治療で他群に比し好転率が高く、而も効果が速かに現れる。
2. SiId 群と SiP 群及び SiIiP 群との間には、6 カ月間治療で好転率の差が認められなくなる。
3. Id 群の治療効果は他の各群殊に I+PZA 群又は SiId 群に比して最も悪い。

以上の事から、ITAH 又は IP を連日使用する併用療法は速効的であり、INAH を間歇的に使用したり、SM を主体とする治療法は遅効的であると考えられる。

(11) 昭和 31 年京都市内に発生せる赤痢菌の薬剤耐性に就て

中沢昭三・西村頼之

京都薬科大学微生物学教室

京都地方に流行した赤痢菌の薬剤耐性に関しては、先に中沢等により昭和 26 年以降 5 カ年間の推移が報告されたが、今回私共は本年京都市内に発生した赤痢菌分離株約 50 株に対する薬剤感受性を調べ、次の結果を得た。

1. Streptomycin に対しては 50 株中 46 株は何れも標準株と同一感性であり、2 株は未だ高度 (100 mcg/cc) 耐性株であつた。
2. Chlortetracycline に対しては昨年の成績と比較するとやや弱いながら耐性株が増加した。
3. Oxytetracycline に対しては全株標準株と同一感受性を示した。
4. Chloramphenicol に対しては昨年同様に以上 3 者に比し最も感性高く、更に耐性株の出現は全く認められなかつた。