

Kanamycin の結核菌発育抑制作用 第2報

大平 一郎・遠藤 次夫・堀江 吉宏

日比 準一・杉山 正暉

東京慈恵会医科大学林内科 (主任 林直敬教授)

(昭和 35 年 9 月 5 日 受付)

緒 言

1955 年に予研の梅沢 浜夫氏らによって発見された Kanamycin¹⁾(以下, KM と略記)は *Streptomyces kanamyceticus* の培養液中に産出される水溶性, 塩基性の抗生物質であるが, その抗菌作用は広く, グラム陽性菌, 陰性菌, 特に結核菌に対し Streptomycin (以下, SM と略記)に匹敵する効果のあることが報告されている^{2,3,4,5)}。

我々は第1報として, 薬剤感性標準結核菌を使用して KM 及び諸種抗結核剤併用時並びに ACTH 併用時に於ける結核菌発育抑制作用を Slide Cell Culture 法 (以下, SCC 法と略記)にて比較検討し, 併せてその時に於ける KM の血中濃度を測定し, その成績を第34回日本結核病学会総会に於て発表したが⁶⁾, 今回, 第2報として, 薬剤耐性結核菌を用いて, 前記同様の実験を行ない, 以下の成績を得たので報告する。

資料並びに実験方法

入院肺結核患者を使用し実験 24 時間前より, 総ての抗結核剤の服用を中止し, 朝食 30 分後に検査を実施した。即ち KM 1.0 g を蒸留水 3.0 cc に溶解後, 上腕三角筋部に筋注し (5 例), 併用例では KM 1.0 g 筋注と同時に Para amino salicylic acid-Ca (以下, PAS-Ca と略記) 2.5 g を内服 (5 例), Isonicotinic acid hydrazid (以下, INH と略記) 0.2 g を同時内服 (5 例), Cycloserine (以下, CS と略記) 0.25 g を同時内服 (5 例), Pyrazinamide (以下, PZA と略記) 0.5 g を同時内服 (5 例) 並びに ACTH 10 単位を同時に筋注した (5 例)。対照として SM 1.0 g を前記 KM 同様に同方法にて筋注した (5 例)。

結核菌発育抑制作用は SCC 法にして比較検討した。即ち, 実施前及び 30 分, 1, 2, 4, 6, 24 時間後に採血し, これと肺結核患者喀痰より分離し馬鈴薯グリセリン培地にて増菌した SM 1,000 mcg/cc 完全耐性, PAS 100 mcg/cc

完全耐性, INH 100 mcg/cc 不完全耐性の菌浮游液 (滅菌生理的食塩水 1.0 cc に 5.0 mg の菌を含有し瑪瑙鉢にて十分に研磨後 3,000 回転 5 分遠沈後の上清) の 1 白金耳量の菌液を使用して実施し, 37.0°C 7 日間培養後 ZIEHL-NEELSEN 染色を行ない, 判定は, 標本中の 50 菌群の菌の平均発育数をもつて表わし, その抑制率 (服用前の菌数より各検査時間時の菌数を減じ, 之を服用前の菌数にて除したもの) を求めた。

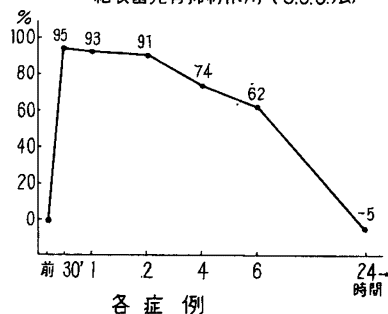
血中濃度は前記の服用 30 分, 1, 2, 4, 6 時間後に採血し, 枯草菌 (P.C.I.219 株) を使用し, 重層法⁷⁾によつて測定した。

実 験 成 績

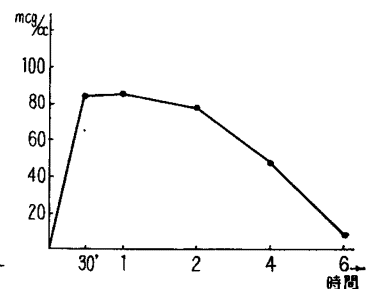
1. KM 1.0 g 筋注例

第1表に示す如く, 30 分より 6 時間にわたり抑制作用が認められ, その5例平均の抑制率は 30 分後 95%, 1 時間後 93%, 2 時間後 91% と稍著明であり, その後, 漸次減少し, 4, 6 時間後夫々 74%, 62% を示し, 24 時間後では服用前に復している。血中濃度 3 例平均値は 30 分, 1 時間後が最高で, それぞれ 84 mcg/cc, 85 mcg/cc 以後 2, 4, 6 時間後 78 mcg/cc, 47 mcg/cc, 8 mcg/cc で 6 時間後に於ても 5 mcg/cc 以上の濃度を

図1 KM 1.0g 筋注
結核菌発育抑制作用 (S.C.C.法)



血 中 濃 度



症例	時間	前	30'	1	2	4	6	24
1		24.6	1.0	1.2	1.0	3.1	6.3	27.3
2		24.5	1.1	1.1	1.4	6.6	7.7	20.8
3		30.2	1.2	1.3	1.3	3.4	19.8	34.6
4		26.9	1.4	2.9	1.3	9.5	7.7	29.3
5		14.9	1.4	1.7	5.4	9.3	4.5	15.0

症例	時間	30'	1	2	4	6
1	90	72	90	48	8	
2	90	118	72	43	8	
3	72	64	72	52	9	

保持しているのが認められる。

2. KM 1.0 g 筋注 + PAS-Ca 2.5 g 内服例

第2表に示す如く、30分より6時間にわたり著明な抑制作用が認められ、5例平均の抑制率は、特に30分、1、2、4時間後に於てそれぞれ95%、95%、93%、94%と最も著明であり、6時間後も88%を示している。24時間後では、それでも尚9%の抑制率が認められた。

即ち、前者のKM 1.0 g 単独筋注例に比較すると、その協力作用は強く、抑制時間は長時間にわたっている。血中濃度3例平均値は30分、1、2、4、6時間後それぞれ84 mcg/cc、103 mcg/cc、90 mcg/cc、58 mcg/cc、14 mcg/ccを示している。

3. KM 1.0 g 筋注 + INH 0.2 g 内服例

第3表に示す如く、30分より6時間にわたり抑制作用が認められるが、前2者が30分～1時間後に最高抑制率を示しているのに対し、本例では2時間後に最高を呈しているのは、第11症例に於て30分後21.2、1時間後19.1と菌数の減少を認めない様な症例があるためである。5例平均では30分後78%、1、2、4、6、24時間後ではそれぞれ80%、94%、92%、83%、-9%である。血中濃度は殆ど前者と同様であるが、第11症例は30分、1時間後ではそれぞれ18 mcg/cc、43 mcg/ccと比較的低濃度である。

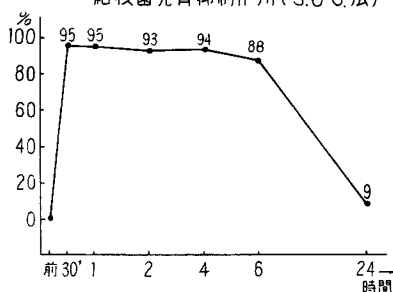
4. KM 1.0 g 筋注 + PZA 0.5 g 内服例

第4表に示す如く、その抑制率の時間的経過はPAS-Ca併用例によく似ているが、PAS-Ca併用例よりもその抑制率は稍弱く、5例平均は30分、1、2、4、6時間後はそれぞれ95%、90%、92%、87%、76%で24時間後は-7%である。血中濃度も前者と殆ど同様で6時間後も尚14 mcg/ccを維持している。

5. KM 1.0 g 筋注 + CS 0.25 g 内服例

第5表に示す如く、最高抑制率は2時間後に出現し、

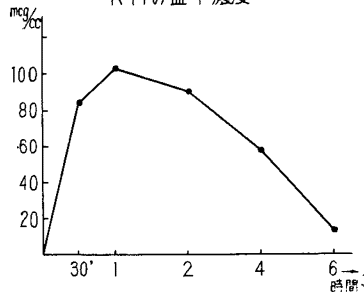
図2 KM 1.0g 筋注 + PAS-Ca 2.5g 内服
結核菌発育抑制作用 (S.C.C.法)



各症例

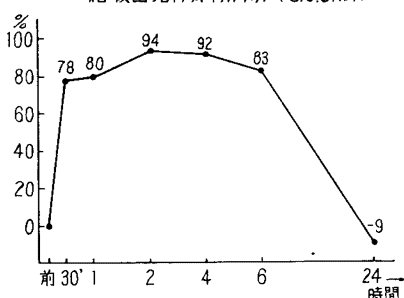
症例	時間	前	30'	1	2	4	6	24
6		41.4	1.7	1.3	1.4	1.8	4.0	38.4
7		38.1	1.1	1.1	1.7	1.4	1.0	37.8
8		34.0	1.0	1.1	1.3	2.4	3.8	26.3
9		19.0	2.1	1.2	2.4	1.4	4.6	15.6
10		19.9	1.3	3.0	3.8	2.2	5.0	20.8

KMの血中濃度



症例	時間	30'	1	2	4	6
6		72	72	130	66	19
7		100	110	91	66	15
8		79	127	50	43	9

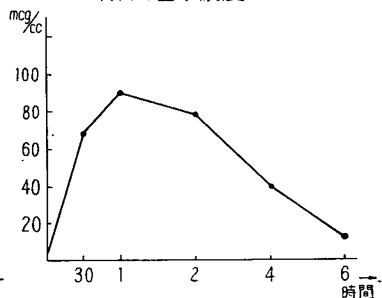
図3 KM 1.0g 筋注 + INH 0.2g 内服
結核菌発育抑制作用 (S.C.C.法)



各症例

症例	時間	前	30'	1	2	4	6	24
11		28.9	21.2	19.1	1.3	1.2	1.7	35.0
12		33.0	1.1	1.1	1.0	1.3	1.6	33.6
13		26.4	1.0	1.4	1.1	1.3	1.3	25.5
14		12.3	1.1	1.1	1.1	1.3	1.0	11.4
15		17.3	1.2	1.2	1.7	5.0	14.2	23.3

KMの血中濃度



症例	時間	30'	1	2	4	6
11		18	43	55	48	28
12		79	127	79	30	6
13		100	100	100	43	6

30分、1、2時間後はそれぞれ87%、88%、90%であるが、4、6時間後には夫々77%、74%と稍弱く、24時間後には-4%である。血中濃度は最高抑制率が2時間後であるのに比し、1時間後が最高で78 mcg/ccを示し、以後時間の経過と共に減少し、6時間後では13 mcg/ccである。

6. KM 1.0 g 筋注 + ACTH 10 単位筋注例

第6表に示す如く、2時間後が最高で94%の抑制率を示しているが、30分後91%、1時間後92%、4、6時間後それぞれ82%、58%はKM 1.0 g 単独筋注例と殆ど同様の傾向を示している。24時間後では-5%である。血中濃度3例平均値は30分後62 mcg/cc、1、

2, 4, 6 時間後それぞれ 93 mcg/cc, 85 mcg/cc, 48 mcg/cc, 25 mcg/cc である。

7. SM 1.0 g 筋注例

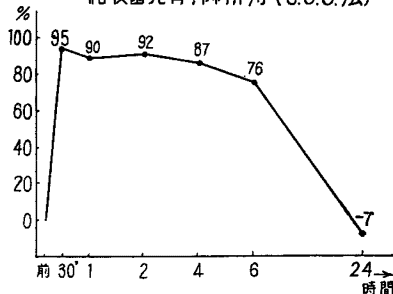
KM の対照として実験を行なったもので第 7 表に示す如く, SM 1,000 mcg/cc 完全耐性菌を使用した関係上, その抑制作用は弱く 30 分, 1, 2, 4, 6, 24 時間後は, それぞれ 18%, 38%, 26%, 25%, 28%, -5% である。

総括並びに結語

我々は第 1 報として, 薬剤感性 $H_{37}R_v$ を使用し, KM 及び諸種抗結核剤併用時並びに ACTH 併用時に於ける結核菌発育抑制作用, 並びに KM の血中濃度を報告したが, その結果は S.C.C. 法の 30 分後では, (1) KM+PAS-Ca 87%, (2) KM+INH 84%, (3) KM+ACTH 83%, 1 時間後では, (1) KM+PAS-Ca 90%, (2) KM+INH 85%, (3) KM+ACTH 82%, 2 時間後では, (1) KM+PAS-Ca 86%, (2) KM+INH 81%, (3) KM+ACTH 79%, 4 時間後では, (1) KM+PAS-Ca 89%, (2) KM+INH 81%, (3) KM+CS, KM+ACTH, SM 76%, 6 時間後では, (1) KM+PAS-Ca 85%, (2) KM+CS 75%, (3) KM+ACTH 71%, 8 時間後では, (1) KM+PAS-Ca 69%, (2) KM+ACTH 58%, (3) KM+ACTH (1 時間前筋注) 57%, 24 時間後では, (1) KM+INH 18%, (2) KM+PAS-Ca 69%, (3) KM+ACTH, SM 10% の如くであり, 最も併用効果の認められたものは PAS-Ca 併用例で, INH 併用例は之に次ぎ, KM 単独例は SM 単独例同様の効果を認めるも, 全体では併用例に比較すると, その効果は稍弱く, CS, PZA 併用例は PAS-Ca, INH 併用例と KM, SM 単独例の中間位を示し, ACTH 併用例は CS, PZA 併用例と KM, SM 単独例の中間位を示した。

当教室の遠藤は, 既に PAS⁹⁾, INH 及びその誘導体⁹⁾, 並びに CS の結核菌発育抑制作用¹⁰⁾ を報告したが, PAS-Ca 3.3 g 内服例 5 例平均では, 30 分より 4

図 4 KM 10g 筋注 + PZA 0.5g 内服
結核菌発育抑制作用 (S.C.C. 法)



各症例

症例	時間	前	30'	1	2	4	6	24
16		21.8	1.6	1.3	1.3	2.0	7.0	26.6
17		28.5	1.1	1.1	1.1	6.0	6.8	29.0
18		41.7	1.1	1.1	1.2	5.6	8.2	51.5
19		34.3	2.5	1.1	2.1	4.1	3.6	34.0
20		35.5	1.7	3.5	1.5	1.0	14.5	32.7

KM の血中濃度

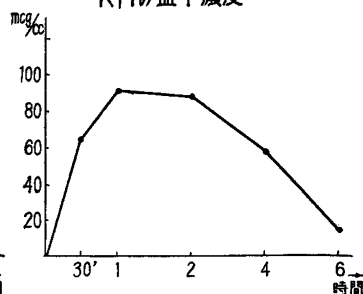
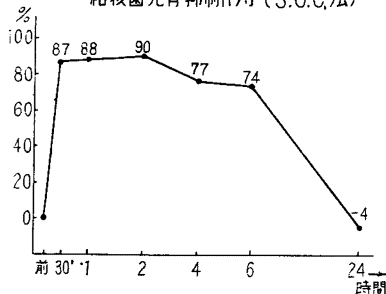


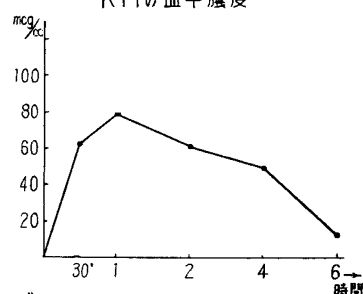
図 5 KM 10g 筋注 + CS 0.25g 内服
結核菌発育抑制作用 (S.C.C. 法)



各症例

症例	時間	前	30'	1	2	4	6	24
21		22.6	1.0	1.2	1.4	3.3	4.2	25.4
22		26.7	1.2	1.4	1.3	2.9	9.5	31.3
23		22.0	1.8	1.4	1.8	3.0	4.4	19.9
24		35.8	12.0	10.1	7.7	6.4	3.1	34.2
25		32.8	2.0	2.2	1.5	16.8	15.1	35.8

KM の血中濃度

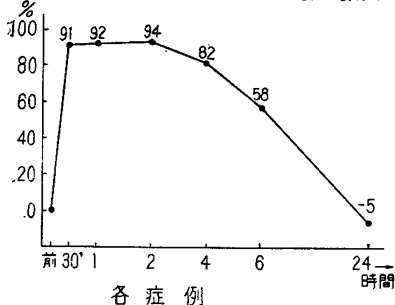


時間にわたり抑制が認められ, 最高は 1~2 時間後で, その抑制率はそれぞれ 54, 56% であり, INH 4 mg/kg 内服例では 5 例平均 30 分より 6 時間にわたり, 前者よりも稍著明な抑制を示し, 1, 2, 3, 4, 6, 8 時間後の抑制率は, それぞれ 78%, 71%, 70%, 58%, 39%, 7% であり, CS 250 mg 内服例 3 者平均では 1~4 時間にわたりその抑制作用は認められた。即ち 1, 2, 3, 4, 6, 8 時間後の抑制率は 41%, 55%, 56%, 60%, 39%, 21% を示している。

KM は上記の何れとも協同作用を示し有効であることが認められた。

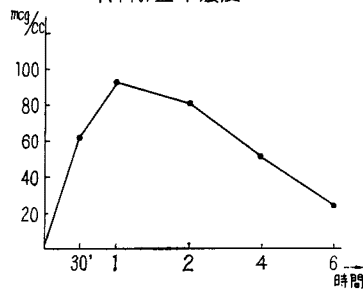
宝来¹¹⁾によれば, KM の抗菌力は接種菌量によつて

図6 KM10g筋注+ACTH100単位筋注
結核菌発育抑制作用(S.C.C.法)



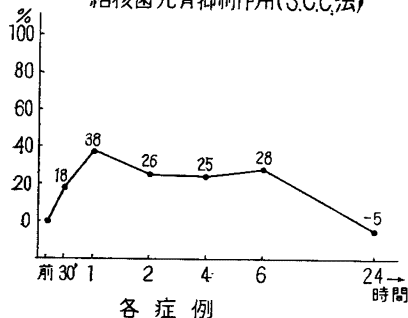
症例	時間	前	30'	1h	2h	4h	6h	24h
26		26.9	1.0	1.2	1.5	3.5	2.2	30.7
27		35.8	1.7	1.0	2.0	1.5	3.0	31.1
28		36.4	2.9	1.5	2.5	3.3	6.5	39.4
29		38.2	5.4	6.3	2.8	15.7	14.9	39.0
30		17.5	1.7	2.7	1.2	4.4	12.0	19.0

KMの血中濃度



症例	時間	30'	1h	2h	4h	6h
26		61	105	90	48	25
27		55	90	64	40	25
28		70	83	100	55	26

図7 SM 1.0g筋注
結核菌発育抑制作用(S.C.C.法)



症例	時間	前	30'	1h	2h	4h	6h	24h
31		34.8	35.5	24.3	21.6	30.8	31.7	33.0
32		46.1	24.5	3.1	33.5	23.0	21.5	59.7
33		28.1	18.6	27.8	31.3	27.0	20.8	27.2
34		29.9	25.6	23.9	14.2	28.8	29.4	34.4
35		39.1	41.0	30.0	30.6	24.5	24.4	30.8

多少動揺するが、 $5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^3$ の接種菌量では、H₃₇Rv, H₃₇Rv-R-SM, H₃₇Rv-R-INH いずれの菌株に対しても 2.5 mcg/cc で増殖を阻止し、0.25 mcg/cc では全く阻止しえないと報告し、北本治¹²⁾、柳沢謙¹³⁾によれば、モルモット、マウスの実験的結核症に対して KM は SM, PAS, INH 耐性菌感染に於ても感染菌同様に有効であると報告している。以上の観点により KM が SM, PAS, INH 高度耐性結核菌に対し、如何なる抑制作用を示すかをみるため、又、諸種抗結核剤並びに ACTH 併用時に於て第 1 報と殆ど同様な方法で比較検討した。その結果は、

30 分後の抑制率は KM 95%, KM+PAS-Ca 95%, KM+INH 78 %, KM+CS 95%, KM+PZA 87 %, KM+ACTH 91%, SM 18% で、(1) KM, KM+PAS-Ca, KM+CS, (2) KM+ACTH, (3) KM+PZA の順。

1 時間後の抑制率は KM 93%, KM+PAS-Ca 95%, KM+INH 80 %, KM+CS 90%, KM+PZA 88 %, KM+ACTH 92%, SM 38% で (1) KM+PAS-Ca, (2) KM, (3) KM+ACTH の順。

2 時間後の抑制率は KM 91%, KM+PAS-Ca 93%, KM+INH 94 %, KM+CS 92%, KM+PZA 90 %, KM+ACTH 94%, SM 26%

で、(1) KM+INH, KM+ACTH, (2) KM+PAS-Ca, (3) KM+CS の順。

4 時間後の抑制率は KM 74%, KM+PAS-Ca 94%, KM+INH 92%, KM+CS 87%, KM+PZA 77%, KM+ACTH 82%, SM 25% で、(1) KM+PAS-Ca, (2) KM+INH, (3) KM+CS の順。

6 時間後の抑制率は KM 62%, KM+PAS-Ca 88%, KM+INH 83%, KM+CS 76%, KM+PZA 74%, KM+ACTH 58%, SM 28% で、(1) KM+PAS-Ca, (2) KM+INH, (3) KM+CS の順であり、24 時間後の抑制率は KM+PAS-Ca のみ 9% で、その他のものは大差は認められない。

即ち、著明な効果を認めたものは、KM+PAS-Ca, KM+INH, KM+CS であり、その併用効果は KM 単独時に比較すると、長時間に及び KM+PZA, KM+ACTH は KM 単独時と殆ど大差はない様である。

伊藤文雄¹⁴⁾は H₃₇Rv 株を KM 0.25 mcg/cc 含有 DUBOS 培地に継代培養し、8 代後 100 mcg/cc KM 耐性となったが、INH 0.025 mcg/cc 同時含有では KM 50 mcg/cc 耐性、PAS 0.05 mcg/cc を同時含有では KM 5 mcg/cc 耐性を示したことは、PAS により KM の耐性上昇を著るしく遅延せしめうることを報告しているが、このことは我々の KM+PAS-Ca の併用効果が感性菌のみならず耐性菌に対しても著明に抑制することと考え合せ、研究の今後に於ける期待がよせられる。

KM の血中濃度は市川¹⁵⁾、藤井¹⁶⁾、米満¹⁷⁾ 我々の第 1 報⁹⁾の成績と大差なく、大体 6 時間後迄有効血中濃度を維持しており、各薬剤併用時、ある程度の差はあるが、KM の血中濃度には変化は及ぼさない。

我々は、薬剤高度耐性結核菌を使用して KM 及び諸種抗結核剤併用時並びに ACTH 併用時の結核菌発育抑制作用を S. C. C. 法を用いて比較検討し、次の結論をえた。

(1) KM+PAS-Ca, KM+INH, KM+CS にその著明な抑制効果をみた。

(2) KM+PZA, KM+ACTH は KM 単独時とその抑制効果は殆ど大差はない。

本研究の要旨は日本化学療法学会第6回東日本支部総会に於て発表した。

参 考 文 献

- 1) UMEZAWA, H., *et al.*: J. Antibiotics, Ser. A, 10, 181, 1957.
- 2) 柳沢謙, ら: 日本細菌学雑誌, 12(11), 857, 1957.
- 3) 柳沢謙, ら: 日本細菌学雑誌, 12(12), 919, 1957.
- 4) 金井興美, ら: 日本細菌学雑誌, 13(1), 1, 1958.
- 5) 柳沢謙, ら: 日本細菌学雑誌, 13(8), 714, 1958.
- 6) 大平一郎, 遠藤次夫, ら: 東京慈恵会医科大学雑誌, 第 75 巻, 第 9 号, p. 2009, 1960.
- 7) 鳥居敏雄, 川上保雄: 日本ペニシリン学術協議会 p. 1, 1949.
- 8) 鈴木康郎, 遠藤次夫: 呼吸器診療, 第 12 巻, 第 10 号, p. 833, 1957.
- 9) 遠藤次夫: 東京慈恵会医科大学雑誌, 第 73 巻, 第 9 号, p. 1859, 1958.
- 10) 遠藤次夫: 東京慈恵会医科大学雑誌, 第 74 巻, 第 8 号, p. 1735, 1958.
- 11) 宝来善次: 第 34 回日本結核病学会総会シンポジウム, カナマイシンについて, p. 55, 1959.
- 12) 北本治: 日本医師会雑誌, 39, 738, 1958.
- 13) 柳沢謙, ら: 日本細菌学雑誌, 12, 857, 1957.
- 14) 伊藤文雄, ら: Chemotherapy, Vol. 6, No. 4, p. 251, 1958.
- 15) 市川篤二・内科, 第 1 巻, 第 3 号, p. 24, 1958.
- 16) 藤井良知, ら: 日本医師会雑誌, 39, 740, 1958.
- 17) 米満敬一: Chemotherapy, Vol. 6, No. 4, p. 254, 1958.