

# 第 13 回 日本化学療法学会総会 一般講演 I

昭和 40 年 6 月 3~4 日 東京都国立教育会館に於いて

会長 真 柄 正 直

## 第 1 日

### 第 1 群) 感染症の基礎的研究 (その 1)

#### (1) 農薬中毒肺炎の実験的研究

プラストサイジン S 家兎経気管注入時の肺の組織学的変化について

木下康民・荻間 勇・山作房之輔  
門馬勇次・近藤有好・望月博之  
関根 理・広野耕一・柳田隼人  
山本 保・山崎雅司

新潟大学医学部木下内科教室

吾々は、第 11 回本学会東日本支部総会に、プラストサイジン S に依る肺炎の 3 症例を報告した。その後本剤の生体、特に肺に与える影響をみる為に動物実験を行ない、若干の知見を得たので報告した。

#### 方 法

プラストサイジン S ベンジルアミノベンゼンスルホン酸塩を注射用蒸留水で溶き、100~0.0001 mcg/cc の段階の液を調製し、成熟家兎の気管に小切開を加え、各濃度溶液を各 1 cc 宛細いビニール管を通じて注入、家兎を右下に傾け、できるだけ右肺に流入する様にした。

注入後、体温・白血球数を測定、胸部 X 線撮影を行なった。注入後 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28 日目に屠殺し、肝・脾・腎・肺をとり出して、それぞれ組織学的に検査した。尚、肺をとり出すときは、胸腔を閉じたまま気管を切断し、そこからホルマリンを注入して充分固定した後にとり出した。

対照として注射用蒸留水のみ 1 cc を注入した群を作り同様観察した。

#### 成 績

白血球数・体温に有意の変動なく、肝・脾・腎には組織学的に著変はみられなかつた。

胸部 X 線では、変化の激しいものに気管支肺炎を思わせる陰影が認められた。

肉眼的には、主として右肺に暗赤色の比較的限局した病変がみられ、変化の強いものには軽度の硬結がみられた。

組織学的には、0.001 mcg/cc 以下では殆んど変化なく、変化のある群では、変化の程度は、濃度の濃いものほど強く、濃度の等しいものでは、日を経るに従い強く

なる傾向がみられた。肺胞腔にはフィブリン析出、浮腫、出血がみられ、特に 100 mcg/cc 注入群 5, 7 日目で極めて著明、偽好酸球浸出は 100~0.001 mcg/cc の各群にみられ、日を追つて高度となつた。末梢気管支上皮の腫大、増生は 100~1 mcg/cc 群 5 日目頃から著明となり、殊に 100 mcg/cc 群 7 日目では、肺胞腔を殆んど埋めつくした様な感があつた。

尚、対照群には特記すべき変化がみられなかつた。

#### 考 按

農薬の普及につれ、中毒事件が頻発する傾向にあり、その取扱いには嚴重な注意が要望される。本剤は、化学的組成が未だ解明されておらず、その中毒の機序は推測の域を出ないが、吾々の動物実験及び、臨床例観察の結果から、気管支炎・肺炎が惹起されることは略々確実と思われる。

実験方法として、粉剤吸入が合理的ではあるが、装置・吸入濃度・吸入時間などに技術的問題があるので、第 1 段階として溶液注入を行なつた。

#### 結 論

吾々は、プラストサイジン S ベンジルアミノベンゼンスルホン塩酸水溶液を家兎の肺に経気管的に注入し、多彩な変化を認めたので報告した。

#### (2) 胆のう炎に関する研究

1. 抗生物質の胆汁酸の協力効果
2. 大腸菌の胆汁酸に対する適応

加藤康道・富沢磨須美・桜庭喬匠  
松本義孝・田中一志・石谷 孝

北海道大学真下内科

#### 1. 抗生物質と胆汁酸の協力効果

胆のう炎の成立機転に胆汁、殊に胆汁酸の関与することが報告されている。我々も犬の胆のう内に Deoxychol 酸注入によつて、胆のう壁の炎症の起こることを確めた。しかしこの場合の胆汁成分には著変を示さなかつた。胆のう炎の成立機転として 1 次的原因が細菌以外であつても、細菌感染の 2 次的変化が加わることは明らかであり、化学療法の必要性が起る。胆汁酸はそれ自身、抗菌力があり、化学療法剤との併用効果が期待され、次の実験を行なつた。

(実験方法)

胆のう炎検出菌には, *Staph. aur.*, *Enterococcus*, *E. coli*, *Proteus* 等が多いので, これら菌株を用いた。胆汁酸には Chol 酸 (C), Deoxychol 酸 (DC), Taur-ochol 酸 (TC), Glycochol 酸 (GC) を用い, 抗菌力は T. S. B. にて稀釈法で測定した。

#### (結果及び考案)

各種胆汁酸の試験管内抗菌力をみるに, 球菌では DC が強い抗菌力を示し, C は *Staph. aur.* にも抗菌力が著しい。一般に抱合胆汁酸は遊離胆汁酸程著明でない。*E. coli* 3 株と *Proteus* では, DC が C よりも抗菌力のやや強い傾向がある。胆汁酸と抗生物質の最大発育濃度を併用した場合, 球菌では一部を除いて協力効果が著明であった。*E. coli* NIHJ 株では C を除き, かなりの協力効果が認められ, *E. coli* B 株, C-43 株でも同様の傾向がみられた。*Proteus* では AB-PC に於いて C が DC より協力効果大なる点異なるが他は同様であった。胆汁内移行等もあり, *in vivo* の問題は一概に言えないが, 一部を除いて *in vitro* の協力効果が認められた。

#### 2. 大腸菌の胆汁酸に対する適応

胆汁酸の抗菌力により, 細菌の胆のう内繁殖は, 不利であるが, 胆のう炎には細菌が検出される。この場合細菌の胆汁酸に対する適応又は胆汁成分の変化が考えられるが, 前述の様に, 胆汁成分に著変をみなかつた。又最近 POVTMAN 等は *E. coli* が胆汁酸含有培地での継代培養により, 胆汁酸に対する適応が起ると報告しており, 我々もこの点について検討した。

#### (実験方法)

*E. coli* NIHJ 株で胆汁酸含有 TSB に継代培養した株と原株を同一条件下での増殖推移をみた。

#### (結果及び考案)

0.2% C, 0.01% DC, 0.2% DC 含有 TSB に 5 代継代培養した株と原株を 0.2% C 含有 TSB に接種し, 3 時間迄の増殖推移を Plate count method で行なつたが, 各々原株より増殖促進が認められた。特に 0.2% C 継代株で増殖が速くであった。Turbidimetric method で 0.2% C に 5 代継代培養した株と原株を 0.4, 1.0, 1.5, 2.0% C に接種した場合, 両株に著しい差はなかつたが, 継代培地の C 含量を 0.6, 0.8, 1.0% とし, 1.5% C に接種したところ, 原株と明らかに差があり, 特に 0.8% C 継代株で著明であった。以上我々の実験でも, *E. coli* の胆汁酸に対する適応が認められたが, この場合遊離の DC が産生されなかつたので (Thin layer chromatography による), この様な株が胆のう炎成立機転に関与するか否かは今後の問題であろう。

#### [質問] (2) 大久保 滉 (関西医大 1 内)

われわれは, 以前, 胆汁が抗生物質の活性を低下させ

る (抗生物質の種類によつてその程度が異なるが) ことをみている。今, 胆汁酸が活性を強めるとの成績を報告されたが, それ以外の胆汁成分については如何。

[回答] (2) 桜庭 喬 匠 (北大第 2 内科)

Free の Chol 酸, Deoxychol 酸を主として抗生物質との併用効果を調べたので, 他の Factor についての抗菌力協力効果については今後の検討問題であると思われる。

#### (3) 白鼠の臓器モノアミン酸化酵素に及ぼす抗生物質の影響

岸川基明・後藤幸夫・川口 寛

伊藤勝介・小沼 賢・辻 重春

名市大第一内科

森 田 繁 二

名大青山内科

肝性昏睡の対策としての抗生物質投与の治療的意義は本来の抗菌作用に基づく腸内細菌の変動を介して腸内細菌によるアンモニアあるいはアミン産生増大を防止する点にあることは当然であるが, 今回私共はアミンの酸化解毒に関与する Monoamine oxidase (MAO) 活性の面における抗生物質の影響を観察した。

#### 実験方法

実験動物はウイスター系雄ラット。体重 150 g 前後のものを, 抗生物質としては TC, CP, SM, PC, Neomycin (NM) を用い, それぞれの大量連注群, 少量連注群, 大量経口投与群について MAO 活性の変動を対照群と比較観察した。24 時間絶食後, 十分脱血して肝および腸管を剔出し, SCHNEIDER の方法に準じて Mitochondria を分離し, ワールブルグ検圧法により, Tyramine を基質として 60 分間の酸素消費量を測定した。同様の方法で *in vitro* における抗生物質の影響についても観察した。

#### 実験成績

正常ラットの MAO 活性は肝において高値を示し, 小腸, 大腸では肝に比し低値を示した。

TC, CP, SM, PC いずれの大量連注群でも肝の活性低下がみられたが, TC において最も著明であり, 次いで CP, SM に活性低下を認め, PC では軽度であった。少量連注群は TC において肝の活性低下を軽度に認める以外に各抗生物質による変動はみられなかつた。腸管の MAO 活性は TC により低下傾向を示したが, 全般的に著変を示さなかつた。

経口投与群では TC 投与によつて肝における著明な活性低下がみられたのに反し, CP, SM, PC, NM などの投与では変動がみられないか, むしろ臓器 MAO 活性の

増加傾向が観察された。

次に、TC 大量連注群における肝の MAO 活性低下に対し、ビタミン B<sub>2</sub> の投与はかなりの活性回復を示し、また TC 連注中止後 3 日目ではある程度の回復が認められた。

*In vitro* における実験結果は TC の高濃度で活性の低下傾向を示したが、他の抗生剤では著明な変動を示さなかつた。

#### 結 語

以上の実験成績から、TC の大量連注および経口投与における肝の MAO 活性低下が特に注目される。CP, SM などでは大量連注群において活性低下を認める以外には変動は少い。CP, SM, NM などの経口投与ではむしろ活性の上昇傾向がみられた。

腸内細菌に対する影響から考えても、肝性昏睡の対策として抗生物質の経口投与が望ましいが、MAO 活性に関する本成績からも NM, SM などの経口投与が有利であり、TC の投与は不利に作用することの可能性が示唆される。

#### (4) 抗生物質と血清蛋白との結合に関する基礎的研究 第 4 報

檜井秀夫・荒谷春恵  
広島大学医学部薬理学教室

先に抗生物質と血清蛋白との結合について限外濾過法および平衡透析法を用いて検討したが、今回は血清蛋白分画および分画相互の結合分配率について得た成績と薄層 Chromatography による成績を報告する。

1) 抗生物質と血清蛋白との結合について検討し、4 つの Type に分類した。すなわち i) 結合率 70% 以上でそのうち不活性化率の高いもの (合成 Penicillin, Chloramphenicol), ii) 結合率 70% 以上でそのうち再生率が高いもの (Tetracycline 類, Chlorabulin), iii) 結合率 70% 以下でそのうち不活性化率が高いもの (Penicillin-G, Lincomycin), iv) 結合率 70% 以下でそのうち再生率の高いもの (Streptomycin, Kanamycin) と分けた。

2) 抗生物質と血清蛋白との結合は動物の種を変えても、また、*in vitro*, *in vivo* いずれの場合においてもほぼ同一態度であることをうかがい得た。

3) 抗生物質と血清蛋白各分画との結合率は Albumin 分画と高い結合率をしめすもの (Penicillin-G, Chloramphenicol, Tetracycline, Lincomycin, Kanamycin, Chlorabulin) および Globulin 分画と高い結合率をしめすもの (合成 Penicillin, Streptomycin) があ

り、Albumin 分画と結合するものの大部分は不活性化される。

4) 37°C, 2 時間恒温振盪平衡透析法での各分画相互の結合分配率は、血清と各分画混合液とは Tetracycline, Streptomycin を除いては同一程度の結合率をしめし、分画単独と混合液を比較すると、Penicillin-G, Chlorabulin では相加的、その他の抗生物質では拮抗的な態度をしめした。

5) 限外濾過残液 (蛋白部分) の抗菌価は Chlorabulin が最も高く、Tetracycline が一番低い値をしめすが、この蛋白部分は Buffer での稀釈により増強した抗菌価をしめし、血清蛋白と結合したもののうち遊離して再び活性をとり戻し、その際の抗菌価の差を再生率とした。

6) つぎに、蛋白部分の抗菌価は抗生物質が血清蛋白と結合状態において抗菌作用をしめすことを薄層 Chromatography によつて確認した。すなわち、抗生物質添加血清では抗生物質単独の場合と同一位置および原点の 2 つの Spot (菌発育阻止像および発色) をみとめ、また限外濾過後の濾液および残液 (蛋白部分) の稀釈液では抗生物質単独と同一位置に、残液 (蛋白部分) では原点にそれぞれ Spot をみとめた。つぎに肝 homogenate の場合は Spot は原点にみとめられず、血清の場合と異なつた態度をしめした。なお Tetracycline の Spot は Teiling し、やや態度が異なつた。

以上の諸事実より抗生物質は血清蛋白と結合し、その度合は抗生物質の種類によつて差がみられるが、結合したもののうち一部は不活性化され、一部は抗菌作用をしめし、一部は可逆的結合により再び遊離して抗菌作用をしめすものがあることをうかがい得た。

[質問] (3) 荒谷春恵 (広大, 医, 薬理)

1) Serotonin を基質とした場合の MAO 活性について。

2) Diamine oxidase について。

以上御検討の結果を御教下下さい。

[質問] (3) 真下啓明 (北大 2 内)

MAO 活性に及ぼす TC の作用は通常の臨床投与量で問題になる濃度と考えられるか。

[質問] (4) 同 上

蛋白と結合型のまま抗菌作用を発揮するということは、蛋白との binding site と biological active な部位とが異なると考えるのか。

[回答] (3) 伊藤勝介 (名市大第一内科)

1. Serotonin を基質とした場合については MAO には基質特異性が少いことから考えて、今回は Tyramine についてのみ行なつた。Diamine oxidase についてはみ

ていない。

2. ラッテに 50 mg/100 g および 5 mg/100 g の TC を使用したので、臨床上使用される量に比すれば大量と考える。50 mg/100 mg 注射の場合に注射部位壊死が軽度に見られたが、少量注射ではみられず、経口投与においても注射の場合と同様の MAO 活性の変動をみたことから可能性を論じた。

〔回答〕(4) 荒谷 春恵 (広大, 医, 薬理)

薄層クロマトグラムから濾紙を介して、寒天上に蛋白が移行する。したがって、蛋白と結合のまま抗菌作用をしめし、その結合状態は蛋白と抗生物質がならんだ状態、すなわち物理的結合と考えられる。

### (5) 抗生物質のキレート作用とその抗菌機序との関係

横田 健・岩田和夫  
東京大学医学部細菌学教室

目的 すでに細菌の蛋白合成阻害剤として知られている Tetracycline 誘導体や Erythromycin, Leucomycin などの macrolide 抗生物質の作用点は菌の ribosome にあり、これらの薬剤は 70 S 活性 ribosome 粒子中の Mg イオンをキレートして、これを不活性の 50 S, 30 S 以下の small ribosome に解離することが蛋白合成阻害作用の基盤になつていてと考えられる成績が得られたので、金属イオンをキレートすることにより蛋白合成阻害をひきおこす新しい化学療法剤を理論的に開発することができるかどうか、その可能性を検討することを目的とした。

方法 *E. coli*, *B. megaterium* および EHRlich 腹水癌細胞の全細胞および ribosome 系による蛋白合成能に TC, EM が如何なる影響を及ぼすか <sup>14</sup>C-アミノ酸の蛋白画分中へのとり込みの面から検討するとともに、理論的に考えて蛋白合成阻害作用の存在が考えられる Anthracycline 系折生物質、およびその chromophore である Oxyanthraquinone についても細菌および高等生物細胞の全細胞および ribosome 系による蛋白合成に対する影響を検討した。

成績 1) EM, LM は *B. megaterium* の全細胞による蛋白合成を強く阻害し、*E. coli* のそれを中等度に抑制し、EHRlich 細胞には影響を与えないが (100 μg/ml)、これらの ribosome 系による蛋白合成はすべて強く抑制する。2) TC は *B. megaterium* および *E. coli* の全細胞による蛋白合成を強く、EHRlich 細胞のそれを中等度に阻害するが、ribosome 系の蛋白合成はすべての細胞からのものについて強く抑制する。3) Anthra-

cycline (AC) は EHRlich 細胞と *B. megaterium* の intact cells による蛋白合成は強く抑制し、*E. coli* のそれに対する障害はないが (100 μg/ml)、すべての細胞からの ribosome 系による蛋白合成はかなり強く抑えられる。4) Anthrarufin (1,5-dihydroxy anthraquinone) には抗菌力は 100 μg/ml で認められず、又全細胞による蛋白合成も阻害されないが、ribosome 系によるそれはかなり強く抑制する。5) これらの薬剤の抗菌力又は蛋白合成阻害作用は Mg イオンの添加で特異的に拮抗される。6) これらの薬剤は *B. megaterium* の ribosome preparation を *in vitro* で処理すると 70 S 顆粒の減少をきたす。7) ESR により、Mg イオンとこれらの薬剤がキレート化合物をつくることが示される。

考察 以上の成績から Anthraquinone とくに 1,5-dihydroxyanthraquinone には菌細胞内に入る力はないが、cell-free 系では蛋白合成阻害作用のあることが知られたので、細胞内への透過性の高い Oxyanthraquinone 誘導体をつくれれば期待した目的を達成する可能性もあるものと考えられる。

### 第1群) 感染症の基礎的研究 (その2)

### (6) 抗生物質生物学的定量法(重層法)の基礎培地と試験菌の検討に関する研究

新井 蔵吉

昭和大学病院中央研究検査所細菌部

抗生物質の重層定量法に関しては鳥居・川上氏法、藤井・GROSSMAN 氏微量定量法等が広く応用されているが私はこれらの原理に基づき試験菌基礎培地指示剤等の検討を行なつた結果を発表し御批判を仰ぎたいと思う。

基礎培地 A 処方 (1% の Heart Infusion Agar (Difco) 100 ml pH 7.2, 溶連菌 (KOOK 株) Brain Heart Infusion 液体培地 (5% 加血清) 24 hrs 培養→10×0.5 ml, 各血液 (馬血, 羊血, 人血等) 8 ml) は藤井氏法に等しく 1% の Heart Infusion Agar (以下, H. I. Ag と略す) を pH 7.2 に修正, 試験管は内径 4 mm, 長さ 10 cm 程度のもの使用, 特に指示剤である血液の比較を行なつた。馬, 羊, 人など何れの血液においても測定可能であるが馬血で最も阻止帯が長く低濃度まで測定できた。次いで羊血, 人血の順であつた。

基礎培地 B (1% の Heart Infusion Agar (Difco) 100 ml, pH 7.2, 1% の NaNO<sub>3</sub> 2 ml, 0.1% の Methylene blue 0.5 ml, 溶連菌昭和 No. 1 [Brain Heart Infusion 液体培地 (5% 加血清) 24 hrs 培養]→5×1 ml) は H. I. Ag 培地は溶連菌の発育が良いため菌株を

選べば血液を使用しないで測定できる。連鎖球菌の中にはメチレン青を比較的強度に還元するものとしなないものがあることは知られている。私は小林の分類法によりI型と決定した20株の中より還元力の強い1株を検出した。これの抗生剤に対する感受度は溶連菌COOK株と等しく、これを溶連菌昭和No. 1としB処方に従って測定した結果、Cephalothin, CETは0.005 mcg/ml, EM, PCGは0.01 mcg/mlの濃度まで測定できメチレン青はやや褪色するが阻止帯がはつきり見られる。

基礎培地C処方(1%のBrain Heart Infusion Agar (Difco) 100 ml, pH 7.2, 1%のNaNO<sub>3</sub> 0.2 ml, 0.1%のC<sub>12</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>NCl<sub>2</sub>Na·2H<sub>2</sub>O 0.4 ml, *C. xerosis* Brain Heart Infusion 液体培地(5%加血清)24 hrs 培養→2×1 ml)はBrain Heart Infusion Agar(以下, B. H. I. Agと略す)を培地とし処方の如く指示剤に2,6-チクロル, フェノールインド, フェノールナトリウム0.1%液を加え試験菌に*Corynebacterium xerosis*を使用したところCET, EM, PCGは0.01 mcg/ml, CP, TC, KMでは0.19 mcg/ml~0.39 mcg/mlの範囲まで測定可能であった。基礎培地Dは処方に示す如くで(1%のBrain Heart Infusion Agar (Difco) 100 ml, pH 7.2, 1%のNaNO<sub>3</sub> 2 ml, 0.1%のC<sub>12</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>NCl<sub>2</sub>Na·2H<sub>2</sub>O 1 ml, 溶連菌昭和No. 1 [Brain Heart Infusion 液体培地(5%加血清)24 hrs 培養]→5×1 ml), B. H. I. Agに溶連菌昭和No. 1を試験菌としB処方に準じて測定することができる。これらC, D処方とも枯草菌(PCI)を試験菌とした時の阻止帯と同じである。拡散時間, 拡散温度, 培養時間は藤井氏法に準じて検討した。抗生剤の殺菌的に作用するものと静菌的に作用するものとは, 試験菌に及ぼす影響もそれぞれ異なるため, A法で10°C 6時間の拡散, 37°C 15時間前後のもの, B法では発育温度域である15°C~20°Cの室温に10時間前後の拡散, 37°C 5~6時間の測定の2群に分けて実施した結果, 殺菌的に作用するものは変化が少なく, 静菌的なものではB法が低濃度まで測定できた。これは重層と同時に菌は活動を初め37°Cに移すことにより指示剤を短時間に変化せしむるためと思われる。

結論: 血液を指示剤とする場合は馬血が最も適する。B処方に従えば試験菌の選択により血液は使わず同程度の測定は可能である。拡散温度の研究は重要である。*C. xerosis*, *C. belfanti*等を試験菌としての研究は更に検討を加える予定である。人体血中濃度の測定の結果は次の発表にゆずる。

〔質問〕(6) 伊藤忠夫(名古屋市立大学第一外科)  
重層法に用いる試験管の内径の変化並びに菌量(試験菌)により阻止帯の鮮明度, 出現時間, 長さ等変化して

来ると思うが。

〔回答〕(6) 新井蔵吉(昭和大学病院中央研究検査所細菌部)

御質問の試験管, 菌量に付いてお答えする。試験管は口演にて申し上げた通り内径4 mm, 長さ10 cm程度のものを使用した。これは分注操作がよいので沈降管よりやや大きい程度である。処法の如く1%のAgarのため48°Cの恒温槽を使用しないで分注できる。恒温槽内におく時間が長いと試験菌に及ぼす影響が大きい。試験菌はA処方はCOOK株B処方はメチレン青還元力のある(溶連菌昭和No. 1)を使用C処方は*C. xerosis*を使用した。菌量はBrain Heart Infusion Broth 24時間培養をしたものを, それぞれ処方の如くに加えた。血液を使用しない場合は菌量を多くした。

## (7) 抗生物質の定量に関する研究

### IV ジヒドロストレプトマイシン(DSM) 耐性株を用いた試験について

米沢昭一・二宮幾代治  
畦地速見・鈴木勝夫  
農林省動物医薬品検査所

抗生物質を混合して化学療法剤として製造し, 使用することは, 近年盛んに行なわれ, この傾向は, 国の内外を問わず, 特に動物薬において著しいものがある。これら混合抗生物質製剤の分離定量については, これまでも, いわゆる試験菌原株を使用した試験を行ない, その成績は過去数回にわたって本学会に報告した通りである。また, その結果は動物用抗生物質検定基準にも採り入れて有利に活用しているが, 原株の分離能力には限度があるので, これを越えた高い濃度の抗生物質が混入された場合, そのままの試料から本来の抗生物質のみの力価を確実に証明することは不可能な場合がある。このように混合抗生物質の濃度が増大した場合, その抗生物質に対する試験菌の耐性度を上げれば, 特定抗生物質を分離する能力はそれだけ高められるわけである。われわれは, このような意図に基づき特殊能力を有する試験菌の育成と応用方法に関する試験を進めて来た。現在, 検定に比較的多く使われている菌のうち*Bacillus subtilis* P. C. I. 219 (sub. と略), *Micrococcus flavus* P. C. I. 1216 (flavus と略), *Sarcina lutea* P. C. I. 1001 (Sarcina と略), *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* P. C. I. 1209 (aureus と略)の4種について数種の抗生物質に各々単独耐性をもたせたものを育成しつつあるが, 今回はDSMに高度の耐性を獲得せしめた上記4菌について, 2, 3の試験を行ない実用的に応用価値の高いと思われる成績を

得た。

耐性株育成の方法は、DSM を添加した寒天培地に順次継代する方法を採ったが、*sub.*, *Sarcina*, *aureus* は 10 代で、*flavus* は 7 代で高い DSM 耐性株が育成された。育成した 4 種の DSM 耐性株の DSM 以外の抗生物質に対する感受性は、原株と比較して基本的態度に変化を認めず、多少感受性が高まっているものもあつた。なお、これらの耐性株を平板円筒法による力価試験に応用した結果、耐性 *sub.* はロイコマイシン (LM) の定量に用いて LM の 800 倍量の DSM が混在しても DSM の影響を受けず、LM のみの定量が可能と推測される成績を得た。耐性 *flavus* はバントラシン (BC) の定量に用いて BC の 6,000 倍量の DSM が混在しても DSM の影響を受けず、BC のみの定量が可能と思われる成績を得た。耐性 *Sarcina* はテトラサイクリン (TC) の定量を用いて TC の 500 倍量の DSM が混在しても DSM の影響を受けず、TC のみの定量が可能と思われる成績を得た。耐性 *aureus* はフラジオマイシン (FM) の定量に用いて、FM の 2,000 倍量の DSM が混在しても DSM の影響を受けず、FM のみの定量が可能と思われる成績を得た。

〔質問〕 (7) 岩田 和夫 (東大細菌)

各耐性株の耐性の安定性についてうかがいたい。

〔回答〕 (7) 米沢 昭一 (動物医薬品検査所)

現在、普通寒天継代 43 代であるが、耐性度の安定性は極めて良く、安定している。

## (8) スピラマイシン誘導体に関する研究

高平汎志・加藤博正・杉山勲敬

石井澄洋・羽田友恒・宇津慶三

熊部 潔・小島良平

協和醗酵富士工場

スピラマイシンベースをアセチル化して、モノアセテート (I), (II) 及びジアセテートが得られる。モノアセテート (I) はマイクロゾ部位の OH 基がアセチル化し、(II) は N-ジメチル基隣接の OH 基がアセチル化され、ジアセテートは両者がアセチル化されたものである。これらの物質は I.R., T.L.C., pK'a, アセチル価測定等により確認した。

酸安定性：モノアセテート (I), ジアセテートの耐酸性は著しく高く 37°C, N/10 HCl 中 15 時間後に於ても、力価残存率は 100% を示すがモノアセテート (II), ベースの 5 時間後の残存率は夫々 38, 22% である事からして耐酸性に関与している OH 基はマイクロゾ部位

のものと推定される。

血中濃度：ラットに 500 mg/kg (ベース換算) 経口投与後経時的に血中濃度を測定するとモノアセテート (II), ジアセテートの場合は 1 時間値が最大で夫々 15.2, 12.4 mcg/ml を示し以後経時と共に低下している。モノアセテート (I) は全体的に見ればベースより低い値であるが、5 時間にピークを示しかなりの持続性が認められる。これらの事より血中濃度の一時的上昇に関与する OH 基は N-ジメチル基に隣接するものである事が証明された。

臓器内濃度：血中濃度と同様な測定法で行なつたがモノアセテート (I), ジアセテートはベースに比較して何れも高い数値を示し 10 時間にピークが見られる。特にモノアセテート (I) は貯蔵中に著しく 10 時間値で 1,430 mcg/g を示している事は注目される。肺臓、脾臓、腎臓に於ても高濃度且つかなりの持続性が認められる様に臓器親和性が著しく高い事が特徴である。

生体内動態：ラットに経口投与 4 時間後に採血、採尿しクロロホルム抽出後、T.L.C. 法にてチェックするとベースでは血液、尿中に約 1/2~1/3 量のネオスピラマイシン (スピラマイシンベースを硫酸にて pH 4.0 に調整後 37°C で加水分解するとマイクロゾのはずれたネオスピラマイシンが得られる) が検出された。モノアセテート (I) の場合はベースのみが検出される事からして生体内で酵素的に脱アセチルされるものと想像される。ジアセテートの場合は一部分がベースになり残りはモノアセテートである事が確認された。以上の事からモノアセテート (I) はベース、ジアセテートはモノアセテート、ベースの形態で吸収されているものと推定される。

感染治療実験：*Staphylococcus aureus* Neumann を使用し ICR マウス (B. W. 16±1 g) の尾静脈より接種後薬物を経口投与し延命日数、治療効果を測定した結果、モノアセテート (I) はベースの 1/4 量投与と同程度の治療効果を示すがジアセテートではベースの 1/2~1/3 量に相当し、モノアセテート (II) はベースよりやや優れた効果を示している。他のマクロライド系抗生物質と比較するとモノアセテート (I) はアイロソ (エリスロマイシン) の 1/2 量に相当しトリアセチルオレオンドマイシンよりやや優れた効果が認められた。

(9) スピラマイシンの新誘導体 Acetyl-Spiramycin に関する基礎的研究

中 沢 昭 三

東大伝染病研究所

横田芳武・南 亜夫・三谷敬子

吉岡 修・金沢和子・下山幹雄

斎藤安正・瀬野幸子

京都薬科大学微生物学

新しく開発された Acetyl-SPM について基礎的研究を行ない次の如き成績が得られた。

1. 抗菌スペクトラムについては SPM と殆んど同様であるが、抗菌力は一般に Ac-SPM は SPM より劣る。例えば *Staph. aureus* の場合 SPM は 0.39 mcg/ml であるが Ac-SPM は 1.56 mcg/ml である。他種の細菌についても同一傾向である。
  2. 臨床分離ブドウ球菌とくに Macrolide 群抗生物質耐性菌に対しては Ac-SPM は SPM よりもその抗菌力は強くなる傾向である。この点興味深い。
  3. 抗菌力に及ぼす pH, 血清, 菌量の影響については SPM~Ac-SPM 間に大差は認められない。
  4. 耐酸性については SPM そのものも非常に安定な物質であるが Ac-SPM は更に安定化が增強されている。
  5. ブドウ球菌の増殖曲線に及ぼす SPM と Ac-SPM の影響について検討したが両者間に差異は認められなかった。
  6. ブドウ球菌の試験管内耐性獲得状態について SPM, Ac-SPM を比較検討したが、3株の中2株は Ac-SPM に対する耐性が SPM に比し抑制される傾向が認められた。
  7. SPM, Ac-SPM 間の交叉耐性, また Macrolide 群間との Ac-SPM 交叉耐性は完全に成立した。
  8. Sephadex column filtration を応用して血清蛋白との結合について検討を加えたが、SPM は 18%, Ac-SPM は 9% と丁度 SPM の 1/2 の結合率を示した。
  9. 生体内抗菌作用についてはマウス実験的肺炎或は溶血レンサ球菌感染症について SPM, Ac-SPM を同一量投与 (P. O.) しその効果を比較したところ、Ac-SPM が SPM よりも一層優れていることが確認された。
- 今後更にこのいろいろな点で優れた特長のある Ac-SPM の作用機序について詳細に検討を加えたい。

(10) Leucomycin の生体内分布に関する研究

内 田 勝 久・岩 田 和 夫

東大医細菌

Macrolide 系抗生物質 Leucomycin は今日広く臨床に用いられ、その効果が認められているが、近時、生産菌株の選択及び精製法の改変等により発見当時の製剤にくらべ内容的に著しい向上が認められ、特に最近の製剤はその成分中最も抗菌力に優れた A<sub>1</sub> 分画が非常に豊富となつていることが立証されている。そこで演者等は最近の Leucomycin 製剤について再検討することを企画し、その一環として今回は生体内分布について調べた結果を報告する。検体としては Leucomycin base, Leucomycin tartrate, Leucomycin A<sub>1</sub> 分画, Tetrahydro leucomycin を用いた。

(1) 血清蛋白との結合

電気泳動法, 造析平衡法, Sephadex による Gelfiltration 作用等により検討したが、完全な結合にほとんどみとめられなかつた。

(2) 赤血球との吸着機構

Leucomycin は Macrolide 系抗生物質のうち吸着量が多いことはすでに知られているが、その吸着機構については、未だ完全に解明されていない。そこで、この点について検討した結果、正常な表面構造へのみ吸着されること、原形質に結合せる bound hemoglobin を除去するか、あるいは Trypsin 等により表面構造を処理することにより薬剤の吸着が低下することを認めた。なお、その吸着は、温度 dependent であり、また ATP, Mg の存在で促進され、Urea の存在で低下する。血球外液を Hypertonic にした場合、吸着は認められない。

(3) 臓器内分布

ウサギを用い、臓器内分布を調べた。静脈内注射の場合は投与後 2 時間を peak とし 6 時間まで各臓器ともかなりの高濃度に分布しており、特に胆汁に多く存在していた。筋肉内投与の場合は静脈内投与の場合と同様 6 時間まで各臓器に有効量存在していたが、4 時間を peak とし、随液への移行も認められた。経口投与の場合は、4 時間でかなりの濃度が認められたが、静注、筋注の場合に比し臓器内濃度は低い。

次に開腹し直視下に空腸上部に注入投与したが経口投与の場合と同様臓器内濃度はあまり高くなかつた。なお投与量は各投与方法とも 100 mg/kg である。