

抗生素と酵素剤との併用にかんする研究

—とくに Proctase との併用について—

深 谷 一 太・北 本 治

東大医科研内科(主任: 北本 治教授)

(昭和 45 年 2 月 6 日受付)

I. ま え が き

蛋白分解酵素は抗生素と併用してその病巣内浸透性を亢進させ¹⁾、髓液中への移行を増加させるとところから、治療上有利に働くことが実験的にみとめられている。臨床的には夙に本剤は壞死組織融解作用が局的に利用されていたが、さらに抗炎症作用・抗凝血作用・粘液融解作用などとともにこの化学療法剤の浸透性亢進作用を利用して適用範囲が拡大されてきた^{2~6)}。酵素剤の投与が抗生素の消化管からの吸収を促進し、血中濃度の上昇をもたらすとともに、細菌と組織との接触を充分にし、喰菌細胞の働きを高めることに効力増強作用の原因があると推測され、さらに薬剤耐性菌の出現抑制にも与つていると述べられている。

さきに中沢ら⁶⁾は実験的感染症に対する治療効果を検討して、ムコ多糖類分解酵素 lysozyme について抗生素とくに PC との併用による相乗的抗菌効果がブドウ球菌を用いたときとくにすぐれていることを報告している。その他 lysozyme により溶菌作用を来たした菌では PC, SM, OM, CP, TC, EM など多種類の抗生素で抗菌力の増強をみとめたという報告⁸⁾もある。また α -chymotrypsin を併用したとき、PC-G の皮下組織内、血中、腎内濃度も上昇し、通常使用量の 10 倍以上に達するともいわれ⁹⁾、bromelain を用いた成績では PC-G 耐性上昇には影響ないが、ブイヨン中での菌増殖をやや抑制し、血中濃度、pouch 濃度はやや高くなつたが、臓器内濃度は脾を除いてすべて同等であることが PC-G のほか EM, TC, CP を用いてみとめられたとされた¹⁰⁾。このように諸家の報告からみると、一般的に酵素剤の抗生素との併用はとくに PC 系抗生素で多く実験されて、その相乗的効果がたしかめられているといえよう。私共も proctase といふ *Aspergillus niger* の生産する蛋白分解酵素を中心とし、2, 3 のものと比較しつつ検討を行なつたので、その成績を述べる。

II. 方法および成績

1. 合成 PC 効力値におよぼす影響

Proctase と methyl-thio-bromo-cynamyl-PC とを、種々の濃度に混合して 37°C 3 時間放置後その効力値を測

表 1 Proctase の影響

Proctase		
	a : 2,500 u/ml	
	b : 1,250	
	c : 625	
Methyl-thio-bromo-cynamyl-PC	出発時濃度	
A	12.5 mcg/ml	
B	6.3	
C	3.1	
37°C 3 時間 → 測定		
		mcg/ml
A	a b c	13 12.5 12.5
B	a b c	8.7 6.9 6.3
C	a b c	3.9 4.1 3.4

表 2 Trypsin の影響

Trypsin		
	a : 1,000 HUM/ml	
	b : 500	
	c : 250	
Methyl-thio-bromo-cynamyl-PC	出発時濃度	
A	12.5 mcg/ml	
B	6.3	
C	3.1	
37°C 3 時間 → 測定		
		mcg/ml
A	a b c	11.5 13 12.5
B	a b c	6.6 6.9 7.9
C	a b c	2.9 2.9 3.2

図1 Proctase 添加の黄色ブドウ球菌
発育におよぼす影響

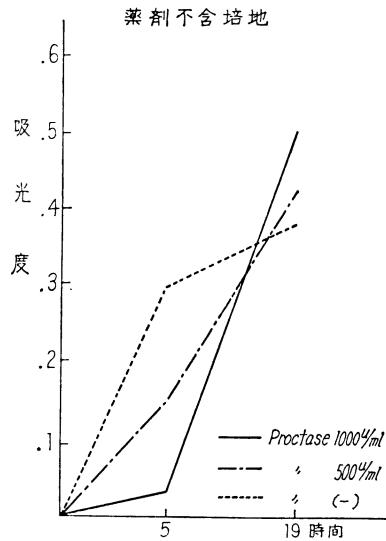
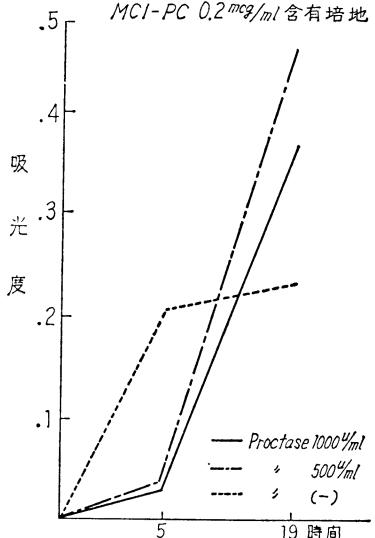


図2 Proctase 添加の黄色ブドウ球菌
発育におよぼす影響
MCI-PC 0.2 mcg/ml 含有培地



定して出発時の濃度と比較したが、とくに低下を認めなかつた（表1）。Trypsinについても同様の実験を行なつたが、表2のとおり、同じく力値の変動はみとめられなかつた。

2. ブドウ球菌発育におよぼす影響

ブイヨン中に proctase 1,000 u/ml, 500 u/ml をそれぞれ入れ、対照とともにブドウ球菌 209 P 1 白金耳接種後の発育の模様を吸光度であらわすと、図1のとおりで proctase 添加により培養初期の菌の発育はやや遅延するが、やがて増殖に転じ、対照との間に差をみとめない

図3 Proctase 添加の黄色ブドウ球菌
発育におよぼす影響
MCI-PC 0.4 mcg/ml 含有培地

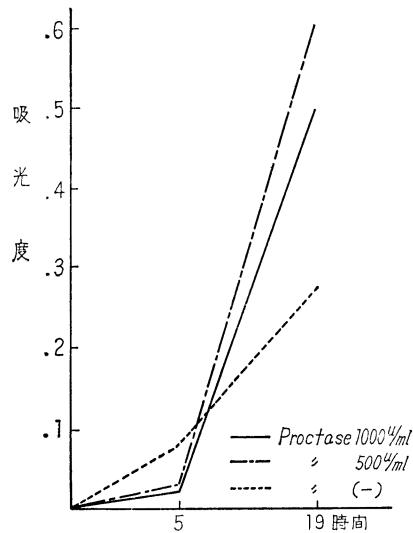


表3 黄色ブドウ球菌の MCI-PC に対する感受性
におよぼす 2, 3 の酵素剤添加の影響

Proctase : 250 u/ml
Pronase : 0.5 PUK/ml
Trypsin : 100 HUM/ml

MIC mcg/ml	MCI-PC	MCI-PC + Proctase	MCI-PC + Pronase	MCI-PC + Trypsin
1.6	1株	1	1	0
0.8	4	1	3	2
0.4	27	27	20	21
0.2	4	5	2	13
0.1	0	1	0	0
0.05	0	1	0	0
計	36	36	36	36

発育を示した。

この組合せで MCI-PC 0.2 mcg/ml をさらに添加して黄色ブドウ球菌の発育の模様を観察したが、このときも図2のとおり初期に proctase 群の抑制傾向をみとめたが、後に到つて吸光度はむしろ proctase 群で大となつた。MCI-PC 0.4 mcg/ml を添加したときの模様は図3のとおりで、ほぼ同様の傾向を示した。

3. 感受性試験における酵素剤添加の影響

黄色ブドウ球菌の MCI-PC に対する感受性値を、化学会議標準法案に準じて測定するさい、それぞれの平板に proctase 250 u, pronase 0.5 PUK, trypsin 100 HUM をそれぞれ 1 ml 中に含むように加えた平板を作製しておき、各々へ 36 株の臨床分離株を塗抹して

表 4 黄色ブドウ球菌の AB-PC に対する感受性におよぼす 2, 3 の酵素剤添加の影響

Proctase : 250 u/ml
Trypsin : 100 HUM/ml

MIC mcg/ml	AB-PC	AB-PC+ Proctase	AB-PC+ Trypsin
>100	4株	6	0
100	8	10	3
50	8	4	4
25	2	2	4
12.5	2	4	4
6.3	2	2	3
3.1	1	1	5
1.6	5	3	2
≤0.8	5	5	12
計	37	37	37

表 5 黄色ブドウ球菌の CP に対する感受性におよぼす 2, 3 の酵素剤添加の影響

Proctase : 250 u/ml
Trypsin : 100 HUM/ml

MIC mcg/ml	CP	CP+Proctase	CP+Trypsin
>100	2株	1	2
100	1	3	3
50	3	2	1
25	4	4	14
12.5	22	22	16
6.3	5	3	1
3.1	0	2	0
計	37	37	37

表 6 黄色ブドウ球菌の SPM に対する感受性におよぼす Proctase 添加の影響

MIC mcg/ml	SPM	SPM+ Proctase	MIC mcg/ml	SPM	SPM+ Proctase
≥100	8	8	3.1	2	3
50			1.6		
25	1	1	0.8		2
12.5	25	27	≤0.4		4
6.3	15	6	計	51	51

MIC を測定した。その成績は表 3 のとおりで proctase 添加で MIC 値が平板 2~3 枚の差を示したものがわずかに認められ、trypsin 添加群でも平板 1 枚 MIC 値が小さくなつたものがみられた。Pronase 添加群では対照とほとんど差違をみとめなかつた。

同様の MIC 値測定を、黄色ブドウ球菌の AB-PC に対する感受性検査について行なつた成績は表 4 のとおりで、proctase 添加によつてはあまり変動を示さなかつた。

表 7 マウスの黄色ブドウ球菌皮下感染における 2, 3 の酵素剤の影響

MCI-PC : 10 mg/kg 1 回経口

Proctase : 50 u

Proctase 1+Pancreatin 5 : Proc. として
8.3 u

Bromelain : 10 mg

		菌接種前 4 日間経口投与			
		膿瘍径 mm	評点 平均	膿瘍径 mm	評点 平均
		Proctase 前処置		Proctase+Pancreatin 前処置	
黄色 ブドウ 球菌 10 ⁹ コ ² 背部 皮下 接種	M C I P C 投 与 群	8×7.5 19×7 15×9 16×11	2.5 4 3 3.5	16×12 20×18 16×6 13×7	3.5 4 3 3
		Bromelain 前処置		無 処 置 群	
	対 照	12×7 9.5×16 >20×>20 10×15	3 3.5 3.4 3	>20×10 19×11 15×13 19×12	4 4 3 4
		>20×9 >20×14	4 4	>20×10 >20×13	4 4

表 8 マウスの黄色ブドウ球菌皮下感染における 2, 3 の酵素剤の影響

CP : 10 mg/kg 1 回経口

各酵素剤：菌接種前 4 日間経口投与

		菌接種前 4 日間経口投与			
		膿瘍径 mm	評点 平均	膿瘍径 mm	評点 平均
		Proctase 前処置		Proctase+Pancreatin 前 処 置	
黄色 ブドウ 球菌 10 ⁹ コ ² 背部 皮下 接種	C P 投 与 群	7×5 7.5×12 14×7 5.5×9.5	2 3 3 2.5	10×6 10×10 9.5×8.5 13×6	2.5 2.5 2.5 3
		Bromelain 前処置		無 処 置 群	
	対 照	7.5×7.5 6×6 8.5×14 9×6	2.5 2 2.5 2.5	23×13 17×7 9×7 11×8	4 3 2.5 3
		>20×9 >20×14	4 4	>20×10 >20×13	4 4

たが、trypsin 添加により MIC 値の小となつたものが幾株かみとめられた。

また CP に対する黄色ブドウ球菌の感受性値におよぼす proctase および trypsin 添加の影響は表 5 のとおりで、両者とも明瞭な MIC 値の変動を示すには到らな

かつた。

また黄色ブドウ球菌の SPM に対する感受性値におよぼす proctase 添加の影響をみた成績は表 6 のとおりで、被検 51 株中 6 株において、その MIC 値がかなり小となり平板 3~4 枚の差を示したものがあつたことは注目された。

4. 実験的感染における酵素剤の影響

黄色ブドウ球菌臨床分離株 19⁹ コをマウスの背部皮下に接種して同時に MCI-PC 10 mg/kg 1 回経口投与し、48 時間後屠殺して背部皮下膿瘍の大きさを計測し、評点を与えて平均値を算出した。このさい前処置として、菌接種前 1) proctase 50 u, 2) proctase 1 に対して pancreatin 5 の割合に含有する酵素剤 (proctase として 8.3 u, 3) bromelain 10 mg, の 3 者をそれぞれ 4 日間経口投与した 3 群をつくり、無処置治療群、対照治療群の 5 群について比較した。その成績は表 7 のとおりで、各群の平均値でみると、酵素剤前処置群ではすべて無処置群より膿瘍の大きさが小で、MCI-PC の効果をさらに強めると思われる傾向を示した。種々の酵素剤間の差違は明らかでなかつた。

同様の前処置を行なつて、CP 10 mg/kg 1 回経口投与を行なつたときの膿瘍形成阻止効果は表 8 にみられるところ、酵素剤添加群はすべて無処置群にまさりよい成績を収めた。

5. マウス臓器内濃度への影響

Proctase 投与による MCI-PC のマウス臓器内濃度の消長におよぼす影響をみるために、proctase 50 u/kg 2

図4 Proctase 投与によるマウス臓器内濃度の消長への影響

MCI-PC : 200 mg/kg 経口投与
Proctase : 50 u/kg 2 回筋注前処置

Proctase 処置群 :
対照群 :

	30 分後	1 時間	3 時間
肝	82% 68	62 60	53 14
脾	1 4 0 7	1 1.5 0 3.7	0 5.1 0 5.2
腎	28 47	38 47	0 13 0 11
肺	0 7 0 18	0 4.5 0 11	20 0 6
腸肉 心	/	125% 150	1,000 200
考 清	19 mg/ml 0 25	16 0 21	0 4.2 0 1.6

図5 臓器内濃度の消長への影響

AB-PC : 200 mg/kg 経口投与
Proctase : 250 u/kg 3 回筋注前処置

Proctase 処置群
対照群

	30 分後	1 時間	3 時間
肝	4.4 mg/ml 0 8.2	4.4 0 5.7	0 1.6 0 1.0
腎	17.5 0 44	28 0 31	5.7 0 19
肺	7.7 0 12.5	3.8 0 4.0	0 1.2 0 2.5
脾	/	0 1.4 0 1.7	/
備 考 清	6.6 mg/ml 0 13.8	5.2 0 8.0	0 0.72 0 0.93

回筋注前処置群と無処置群をつくり、MCI-PC 200 mg/kg 経口投与時の各臓器内濃度を型のとおり測定した成績は図 4 のとおりで、臓器によりいくぶんの相違はみられるが一定の傾向はないようであつた。

同様にして AB-PC について proctase 250 u/kg 3 回筋注時の臓器内濃度を比較した成績は図 5 のとおりで、前処置群でやや全体的に低値を示すようであつた。

III. 考 察

種々の蛋白分解酵素、たとえば trypsin, varidase, bromelain を抗生剤と併用したとき、血中濃度の上昇を良好にするとともに、皮膚・浸出液中の抗生剤の透過性を高めて濃度上昇を来すことがいわれている。Proctase についても既に検討が報告され、耐性ブドウ球菌に抗生剤、とくに PC-G との併用により感受性を増強させる作用を有するとされる。私共もこの proctase について 2, 3 の検討を行なつたが、平板培地を用いる感受性検査でときに酵素剤添加平板においてかなりの MIC 値の好転をみとめることが観察された。しかしこのような MIC 値の変動を伴なう菌株は臨床分離の被検株のうちせいぜい 10% 程度であつて、大多数の菌株では大した変動をみとめなかつた。In vivo に直接反映するとても臨床上の期待は必ずしも大とはいえないと思われる。また 1 菌株を用いて行なつた in vitro の菌発育曲線におよぼす影響でも初期の菌発育抑制傾向がみられたが、やがて対照群と同程度に混濁をみとめるようであつた。この現象が如何なる意味を有するかは不明である。またマウスの実験的感染における効果が、酵素剤添加群ですぐれでおり、酵素剤の影響とも思われるが、さらに

被検菌数のことなる実験を重ね、菌種の異なつたものについても実験を加えて、さらに普遍性をみると必要であろう。私共は被検菌として黄色ブドウ球菌のみをほとんどの実験にとり上げているに止まるので、一般的な結論への言及にはさらに検討を要しよう。

また臓器内濃度の測定では、酵素剤添加の影響が不明瞭であつたが、この実験において酵素剤を前処置として投与するにさいして筋注を行なつたことが、経口投与時の上記実験の感染症治療の好成績を裏付けえなかつたのかも知れない。さらに検討を要しよう。

IV. 結 論

2, 3 の抗生素と酵素剤、とくに proctase との併用にかんする基礎的検討を行なつて次の成績をえた。

1. 抗生素作用下のブドウ球菌の発育にさいし、proctase 添加は初期にやや抑制的に働く。
2. ブドウ球菌の抗生素に対する感受性値は酵素剤の添加により、ときに増強された。
3. 各種酵素剤前処置後の、実験的ブドウ球菌感染における膿瘍阻止効果は対照に比しやや良好であつた。
4. 酵素剤とくに proctase 前処置マウスの抗生素投与時の臓器内濃度は対照群と大きな相違を示さなかつた。

本論文の大要は第 17 回日本化学療法学会総会において発表した。

文 献

- 1) SPENCER, M. C.: Enzymatic treatment of chronic skin ulcers. J. A. M. A. 193(4) : 272~274, 1965
- 2) GILLER, F. B.: The effect of bromelain on levels of penicillin in the cerebrospinal fluid of rabbits. Amer. J. Pharm. 134 : 238~244, 1962
- 3) 柴田清人、久野昂一、佐藤史朗、原 則之: 蛋白分解酵素剤の適応と使い方。治療 48(2) : 287~292, 1966
- 4) 山村雄一、大河内寿一: 抗炎症剤としての酵素。診断と治療 54(9) : 1605~1613, 1966
- 5) 総田敏次: 酵素による治療、特にその抗炎症作用。日本医事新報 No. 2165, 3~8, 1965
- 6) 山村雄一、伊藤文雄: 酵素療法剤。診断と治療 54(1) : 85~91, 1966
- 7) 中沢昭三、板垣守正、山本郁夫: マウス実験的感染症に対する Lysozyme と化学療法剤との併用効果。Chemotherapy 12(6) : 447, 1964
- 8) 山田忠雄、平尾文男、岸本 進、黒田 稔、螺良英郎、稻井真弥、高橋久雄: 抗生物質の抗菌作用に及ぼす lysozyme の影響。Chemotherapy 6 (4) : 215, 1958
- 9) 石井良治、石引久弥、大井博之、恒川 陽、中村泰夫: 化学療法における蛋白分解酵素の併用効果。Chemotherapy 14(2) : 113, 1966
- 10) 上田 泰、長谷川 勢、中村 升、松本文夫、斎藤 篤、野田一雄: 蛋白分解酵素と抗生素との併用効果に関する研究。Chemotherapy 11(6) : 387, 1963

STUDIES ON THE COMBINATION OF ANTIBIOTICS AND ENZYMES

With Special Reference to Proctase

KAZUFUTO FUKAYA and OSAMU KITAMOTO

The Department of Internal Medicine, The Institute of Medical Science,

The University of Tokyo

(Director : Prof. O. KITAMOTO)

Basic studies on the combination of several antibiotics and proteolytic enzymes with special reference to proctase were carried out and the following results were obtained.

1. The growth of *Staphylococcus aureus* under the existence of some antibiotics was slightly more inhibited by adding proctase in initial stage.
2. The sensitivity of *Staphylococcus aureus* against some antibiotics was increased two to eight folds on the plate containing enzymes in few instances.
3. The inhibiting effect against abscess formation in the experimental *Staphylococcus aureus* infection was somewhat superior in the group with pre-treatment of various enzymes than the one without treatment.
4. The organ level of antibiotic in mice pre-treated with proctase was not so different from the control ones.