

Flucytosine, Amphotericin B による肺真菌症と脳真菌症の化学療法の解析

松本慶蔵・井手政利・宇塚良夫
野口行雄・今岡 誠・渡辺貴和雄
長崎大学熱帯医学研究所内科

(昭和 54 年 10 月 4 日受付)

真菌症に対する化学療法の解析を試み、以下の結果を得た。

i) AMPH と 5-FC に対する病原性真菌の感受性は、4% ブドウ糖加 MH Broth にて増菌後 10^5 /ml 均等調整液を、AMPH では 4% ブドウ糖加 AH Agar に、5-FC では YMA に接種する、従来法より迅速かつ安定した新法を開発した。

ii) 上記の方法にて測定した病原性真菌の感受性をみると、内科的 3 大真菌では 2 薬剤はほぼ同様の結果であった。5-FC には一部耐性菌がみられた。

iii) 5-FC の組織内濃度は検定菌として *S. aureus* 209 P を用いる新法にて容易に測定された。血中濃度のピークは投与後 1~3 時間にあり、1~4g の投与量で 16.5~177 μ g/ml を示し、一部蓄積傾向もみられた。2 症例で喀痰中濃度を測定し、その喀痰中・血中ピーク濃度化はそれぞれ 17% および 57.3% と良好な喀痰中移行を示した。また、脳膿瘍の 2 症例で髄液中移行を検討し、髄液・血中ピーク濃度比はそれぞれ 50%、69% と良好な髄液中移行がみられた。AMPH の気管内注入による気管、気管支系からの吸収は不良であった。

iv) 肺および脳真菌症 6 症例の検討で上記の結果を裏付ける成績が得られた。AMPH 投与の 2 症例では何れも留意すべき副作用がみられ、適切な投与法、量の選択が必要とされる。一方、5-FC 投与による副作用の発現は少ないが、とくに宿主条件の改善も重要な治療因子と考えられる。

はじめに

近年、抗菌性抗生物質の著しい発展とその使用の増加により、菌交代症としての肺真菌症が増加している。また悪性腫瘍、悪性リンパ腫、白血病、膠原病等の既存疾患による免疫不全や広義の免疫抑制剤の投与、放射線療法に由来する免疫不全を場とし、或いは易感染の傾向をもつ糖尿病、アルコール性肝硬変、高齢者等を場とし種種の真菌症が増加し注目¹⁾されている。さらに肺の嚢胞、空洞に寄生して生ずるアスペルギローマ (aspergilloma) も比較的良好に経験される。

これら真菌症のうち内科的真菌症(深部真菌症)に対する信頼すべき抗真菌薬は、極めて最近まで amphotericin B しか一般に使用できなかったが、この薬剤のもつ副作用の激烈さは臨床応用上の大きな隘路となっていた。

しかるに経口真菌剤の flucytosine (5-fluorocytosine) が開発され、高抗菌力、良吸収性、低毒性の故に有効性が期待され、かつその期待に答える有用性についての多くの報告¹⁻³⁾がみられ、しかも最近本邦でも一般に臨床使用が可能となった。しかし本剤の感受性測定が一般化

せず、血中濃度など組織内濃度を測定する方法が繁雑で化学療法の解析が不充分とのうらみがあったので、私共はこの薬剤の組織内濃度測定法について、被検菌として黄色ブドウ球菌 209 P 株を用いる新しい安定した高感度の方法を開発し、その有用性について既に簡略に報告⁴⁾した。それ以来、肺真菌症と脳真菌症を対象に、血中・喀痰中・髄液中 5-FC 濃度を上記法にて測定し、臨床例における有効性とその化学療法効果の解析を行ってきた。その結果、新知見を含む幾つかの興味ある成績を得たので報告する。

実験方法

1. 薬剤感受性測定法の比較

1) amphotericin B (以下 AMPH と略記) に対する病原性真菌の感受性測定は、当教室分離株ならびに本学皮膚科 西本勝太郎助教授から分与された真菌計 27 株について、以下の 4 方法の比較を行った。

i) 4% ブドウ糖を加えた MÜELLER-HINTON (MH と略記) Agar を基礎培地に AMPH を加えたものに、4% ブドウ糖加 MH Broth に 37°C 18 時間培養したものを同 broth にて 10^5 /ml に希釈した液の 1 エーゼを

画線塗布する。

ii) i)と同様の基礎培地に AMPH を加え、さらに東大細菌学教室⁵⁾(従来法と略記)と同様に菌液を作製したもの1エーゼを画線塗布する。

iii) yeast morphology agar (YMA と略記)に A-M-PH を加えたものに、i)に記載した菌液を接種する。

iv) YMA に薬剤を加え、SABOURAUD glucose agar に24時間37°Cに培養した菌を浮遊液とし、530 mμにて0. D. を測定し0.02になるように希釈した液を1エーゼ画線塗布する(この方法が従来法である)。

以上は酵母菌用のものであるが、私共の方法として、ブドウ糖加 MH Broth で25°C~37°C (*aspergillus* の場合37°C. *phialophora* の場合25°C) 48~72時間振盪恒温槽で振盪培養した培養菌液をさらにNK ミクロナイザー(日本精機)で均一化し、原液10倍の2段階の希釈菌液1エーゼを接種する方法を考案した。

2) flucytosine (以下5FC と略記) に対する病原性真菌の感受性測定法の比較

5FC に対する感受性測定は、前記27株について以下の2方法の比較を行った。

i) 4% ブドウ糖加 MH Broth に、酵母菌、糸状菌を1)に示した方法で10⁸/ml に調整した菌液を5FC 加 YMA に1エーゼ画線塗布する。

ii) 従来法

2. 薬剤組織内濃度測定法

1) 5FC については以下の私共の方法⁴⁾にて行った。その方法は以下のとおりである。

① MH Agar 100 ml に対し、*Staphylococcus aureus* 209 P を heart infusion broth に1夜37°Cに培養したものを1%になるように加える。

② 上記作製培地にカップをおき被検試料を加え、4°Cに3時間静置後37°Cに移す(血清は原液、喀痰は、喀痰5に対し20% acetyl cystein を1の割合に加え乳剤としたもの、髄液は原液を試料とした)。③培養18時間後外側阻止円を計測し判定する。④標準曲線は、血清が対象の場合放はプールヒト血漿を、喀痰や髄液では1/15 M PBS pH 7.2 を用いて、薬剤を溶解し上記法にしたがい作製する。

この方法によって、5FC にて治療中の肺真菌症、脳真菌症患者の血清、喀痰、髄液各濃度を測定した。

2) AMPH については従来法^{5,6)}に従った。

3. 5FC, AMPH による真菌症化学療法臨床的検討
肺アスペルギルス症 (pulmonary aspergillosis) 3 症例、肺カンジダ症 (pulmonary candidiasis) 1 症例に対する5FC と AMPH の治療成績の概略を述べ、それに加えアスペルギルス脳肉芽腫、黒カビ脳腫瘍の各々

1 例の5FC 治療成績について述べる。

成 績

1. 薬剤感受性測定法の比較

われわれが試みた4%ブドウ糖 MH Broth にて酵母菌を培養すると18時間で約10⁷/ml の真菌数が得られることが、繰返しの実験で確認された。糸状菌の場合、同様の MH Broth にて上記条件で振盪培養すると48~72時間で十分に増殖し、これを均一化すると約10⁸/ml の菌液が得られることも確認された。この方法は従来法⁵⁾に比し、時間を著しく短縮でき、かつ操作が簡便な特徴がある。

被検菌の内訳は次のとおりである。

Candida albicans 9株, *Candida tropicalis* 9株, *Cryptococcus neoformans* 4株, *Aspergillus fumigatus* 5株

i) AMPH に対する感受性測定法の比較:一括して各方法の成績相関を Fig. 1 に示したが、4方法間に著しい差はない。また私共の抗原調整法による成績が感受値がやや高い傾向にある。

ii) 5FC に対する感受性測定法の比較:5FC は蛋白と結合⁷⁾するため、基礎培地を MH Agar とした場合、

Fig. 1 Correlations among four methods of determining MICs of AMPH against pathogenic fungi

- (1) M. H. Agar supplemented with 4% glucose + Homogenized 10⁸/ml spore cultured on M. H. Agar supplemented with 4% glucose
- (2) M. H. Agar supplemented with 4% glucose + Spore suspension of 0. D. 0.02 (530 nm)
- (3) Y. M. Agar + Homogenized 10⁸/ml spore cultured on M. H. Agar supplemented with 4% glucose
- (4) Y. M. Agar + Spore suspension of 0 D. 0.02 (530 nm)

M. H. Agar : MÜELLER HINTON Agar

Y. M. Agar : Yeast Morphology Agar

No. : Yeast 22 strains

● : Mold 5 strains

(*Aspergillus*)

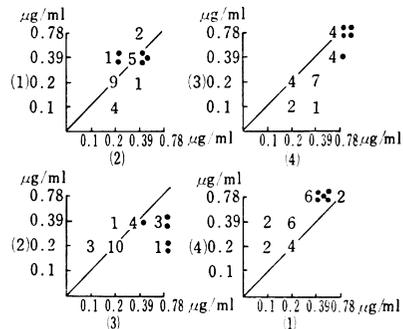
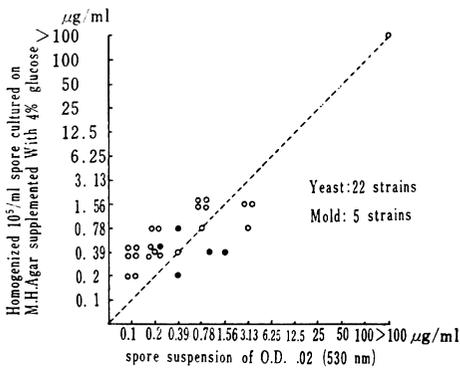


Fig. 2 Correlation between 2 methods of determining MICs of 5-FC against pathogenic fungi (Yeast Morphology Agar)



成績が著しく不安定であった。それ故、基礎培地を合成培地たる YMA とし、菌液調整の異なる 2 法を比較した。その 2 方法の相関成績を Fig. 2 に示すが、図示のように 2 方法間の成績はほぼ等しかった。

2. 病原性真菌の 5 FC, AMPH に対する感受性

以上の成績を基に次の方法で病原性真菌の感受性 (MIC) を測定した。

基礎培地：YMA (BBL)

菌液調整：i) 酵母菌の場合：4% ブドウ糖加 MH Broth 37°C, 18 時間培養菌液 (≒10⁷/ml) を同 broth にて 10⁵/ml となるように希釈する。ii) 糸状菌の場合：1 白金耳の孢子を 4% ブドウ糖加 MH Broth で 25°C か 37°C (*aspergillus* : 37°C ; *phialophora* : 25°C) 48 ~72 時間、恒温槽で振盪培養する。この培養菌液を NK ミクロナイザー (日本精機) で均一化する (≒10⁶/ml)。菌数確認のため原と 10 倍希釈菌液の 2 者を用いる。

(なお当教室では、5% ブドウ糖加 MH Broth が自家製であるため、現在それに代えて、Yeast Nitrogen Base (Difco) を用い同様の成績を得ている)。

基礎培地に薬剤を加え、各々の菌液の 1 ユーゼを画線塗布し、至適温度条件にて培養し、酵母菌では 18 時間、糸状菌では 48~72 時間後に MIC を判定する。

この私共の方法によって得られた病原真菌の MIC 分布を Table 1 に示した。(なお *phialophora* 類真菌は本学 西本教授から供与をうけた)。

表示のように、*Candida albicans* では AMPH に対し 0.2 µg/ml に集中するが、5 FC には ≤0.1 µg/ml から 0.78 µg/ml に分布しており、いずれも高感受性菌であった。*Candida tropicalis* では AMPH に対し 0.2 ~0.39 µg/ml に集中し耐性菌は認められなかったが、5 FC には、9 株中 5 株が 0.78 µg/ml 以下に、3 株は 3.13 µg/ml に分布し、1 株だけ ≥100 µg/ml の高度耐性菌であった。*Cryptococcus neoformans* では、AMPH に対し 0.2~0.39 µg/ml にあるが、5 FC には ≤0.1~0.78 µg/ml に分布しており、両者とも耐性菌は認められなかった。

Aspergillus fumigatus では、AMPH, 5 FC ともに耐性菌はなく、0.2~3.13 µg/ml に 8 株すべてが分布している。*Aspergillus niger* は 1 株だけで、5 FC には 100 µg/ml 以上の耐性菌であったが、AMPH については実験の失敗と継代不能のため判定できなかった。

Phialophora pedrosoi 2 株は AMPH, 5 FC にも感受性を示し 1.56~3.13 µg/ml であった。*Phialophora verrucosa* 2 株は AMPH に感受性を示したが、5 FC には高度耐性菌であり、*Phialophora compactum* は両剤に対し感受性を示した。

Table 1 MICs of AMPH and Flucytosine against pathogenic fungi

Species	No.	MIC (µg/ml)											
		≤0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
<i>Candida albicans</i>	9	4	④ 4		1								
<i>Candida tropicalis</i>	9	1	②	⑦ 1	3		3						1
<i>Cryptococcus neoformans</i>	4	1	③ 2	①	1								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	8		② 1	③ 3	3	① 1	②						
<i>Aspergillus niger</i>	1	N. T.											
<i>Phialophora pedrosoi</i>	2					1	① 1						
<i>Phialophora verrucosa</i>	2		①	①									2
<i>Phialophora compactum</i>	1			①			1						

○ : AMPH : Flucytosine

以上を要約すると、酵母菌では少数の 5 FC 耐性菌を除き、両薬剤に対する感受性値はほぼ等しく、糸状菌では 5 FC にだけ耐性菌がみとめられたが、深在真菌症の起炎菌である糸状菌は同様な感受性値を示したといえる。

3. 5 FC 組織内濃度測定法に及ぼす薬剤渗透のための 4°C 保存時間の影響について

私共の新法の特長はすでに報告したように、従来法に比較し高感度かつ阻止円が大きく辺縁が明らかで計測し易い点にある。さらにカップに試料を入れた後の 4°C 保存の時間的影響の有無を明らかにするため直後、1, 2, 3, 4, 5 各時間 4°C 保存後の阻止円直径を標準曲線作製方法に準じて測定した。その結果を Fig. 3 に示す。この成績から明らかなように各法に差がないことが判明し、かつ従来法より高感度で相関係数も高いことが確認されたので、この方法は試料をカップに入れてから直ちに 25°C 或いは 37°C 培養を行なうことにした。

4. 血中濃度、喀痰中濃度、髄液中 5 FC 濃度

以下の症例番号は後記症例一括表 (Table 2) の番号と同一である。

血中濃度は 5 例について測定した。Fig. 4 は症例 1 で 5 FC 4g を 1 回投与した時の血中濃度である。1 時間後にピークに達し (75 µg/ml)、しだいに下降し 6 時間後でも 44 µg/ml であった。本例の腎、肝機能は正常であ

Fig. 3 Standard calibration lines of 5-FC

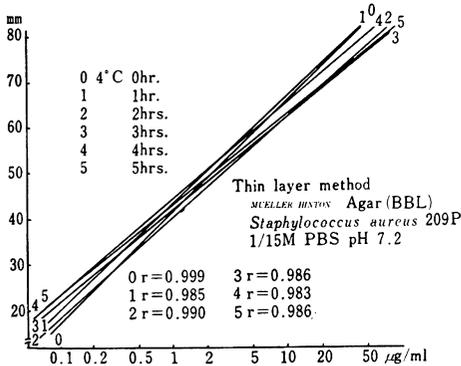


Fig. 4 Serum and sputum levels of 5-FC 4g per os S. T. 60 y. o. Male. Pulmonary aspergillosis

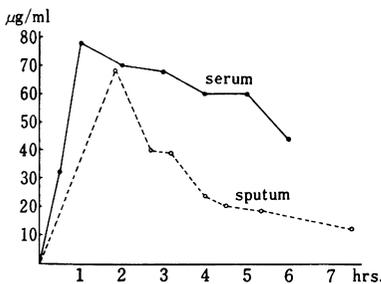


Table 2 Summary of 6 patients with mycosis

No.	Name	Sex Age	B. W.	Diagnosis	Causative organisms	Drug	MIC (µg/ml)	route	Daily doses and duration	Clinical effect	Antifungal effect	Side effect
1	S. T.	M. 69	56	Pulmonary aspergilloma	<i>Aspergillus fumigatus</i>	5-FC -AMPH	0.39	P. O.	4g × 3 × 11 days	poor	fair	Anemia, Fever
2	K. K.	M. 65	51	Pulmonary aspergilloma	<i>Aspergillus fumigatus</i>	5-FC AMPH	0.39 0.78 3.13	T. T. * P. O. D. I.	1-5 mg × 1 × 8 days 1.25g × 4 × 17 days 2-15mg × 1 × 70 days	poor good good	poor good good	Hemospotum Eruption Chil Hypokalemia Fever
3	T. K.	M. 51	39	Pulmonary aspergilloma (D. M.)	<i>Aspergillus niger</i>	5-FC	> 100	Inhal.	5 mg × 3 × 1 year	unknown	unknown	Hemospotum
4	K. Y.	F. 42	52	Pulmonary candidiasis	<i>Candida albicans</i>	5-FC	0.78	P. O.	1g × 4 × 10 days	excell.	good	(-)
5	S. O.	F. 34	40	Cerebral chromoblastomycotic abscess	<i>Phialophora pedrosoi</i>	5-FC	3.13	P. O.	1.7g × 3 × 60 days	poor	poor	(-)
6	S. C.	M. 46	42	Cerebral abscess	<i>Aspergillus fumigatus</i>	5-FC	0.2	P. O.	2-3g × 4 × 103 days 2-4g × 3 × 40 days	good	unknown	(-)

* : transtracheal ** : intratracheal

Fig 5 Serum levels of 5-FC (Flucytosine)
Case 2: K. K. male 65 y. o. 51 kg. Pulmonary
aspergillosis 5-FC 5g p. o.
MÜLLER HINTON Agar *Sta. aureus* 209 P
thin tayer cup method

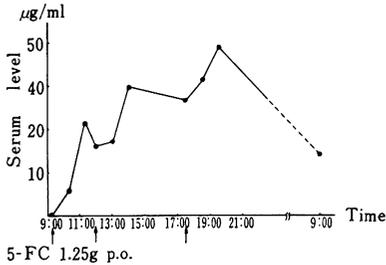
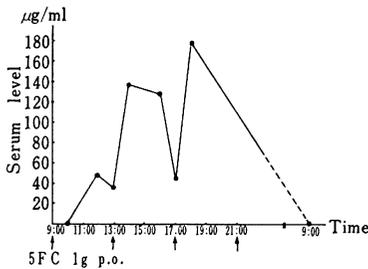


Fig. 6 Serum levels of 5-FC(Fluycytosine)
Case 3: T. K. male 51 y. o. 39 kg. Pulmonary
aspergillosis Flucytosine 4g p. o.
MÜLLER HINTON Agar *S. aureus* 209 P thin
layer cup method



る。投与後約2時間の喀痰中濃度は $67 \mu\text{g/ml}$ と高濃度で、血中濃度より速やかに低下したが、7時間後の喀痰中濃度は $12.5 \mu\text{g/ml}$ を示した。Fig. 5 は症例2で本剤 1.25g を図示のように3回投与した時の血中濃度推移である。投与回数の増加にしたがい血中濃度は高く蓄積傾向が認められ、その各々のピーク値は第1回投与後 $23 \mu\text{g/ml}$ 、第2回 $38 \mu\text{g/ml}$ 、第3回 $48 \mu\text{g/ml}$ に達した。翌朝最終投与から14時間後でも $12.5 \mu\text{g/ml}$ の血中濃度が得られた。Fig. 6 は症例3で本剤 1.0g を4回投与した時の血中濃度推移で、初回の血中ピーク値 ($46 \mu\text{g/ml}$) は3時間後、第2・3回ピークはともに1時間後で $136 \mu\text{g/ml}$ 、 $177 \mu\text{g/ml}$ と蓄積傾向がみられた。第4回後のピーク値は測定していないが、12時間後の血中濃度は測定限界以下であった。

Fig. 7 は、症例2, 3の喀痰中濃度推移で、破線がその値の推移を示している。両者ともに真菌球をみとめる肺アスペルギルス症である。全般的に症例2の喀痰中濃度は症例3のそれに比し低い。症例2の低値は $2.5 \sim 7.5 \mu\text{g/ml}$ 、高値は $11 \sim 27.5 \mu\text{g/ml}$ であった。症例3の低値は $4 \sim 11 \mu\text{g/ml}$ で高値は $15 \sim 30 \mu\text{g/ml}$ であっ

Fig. 7 Sputum levels of 5-FC

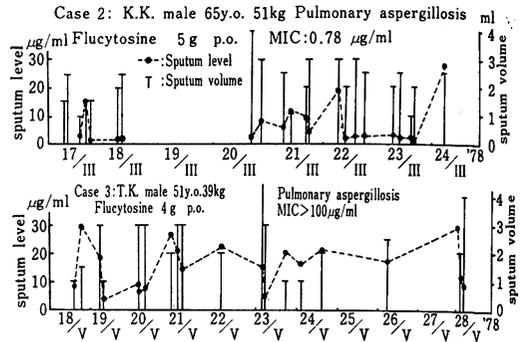
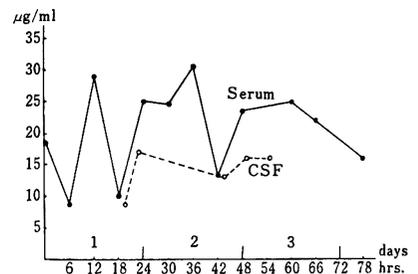


Fig. 8 Serum and CSF levels of 5-FC
Case 6: S. C. 46 y. o. Cerebral abscess. 5-FC
 6g/day p. o.



た(この値は分離真菌のMICより著しく高い)。

症例5の血中濃度と髄液中濃度はすでに報告⁸⁾したが、1日 8g 投与では先例と同様使用日数毎に血中濃度は高くなり $16.5 \mu\text{g/ml}$ から $60 \mu\text{g/ml}$ と増加したが、髄液中濃度も $2.2 \mu\text{g/ml}$ から $41 \mu\text{g/ml}$ と増加した。1日 12g に増量したところ、血中濃度は $74 \mu\text{g/ml}$ 、髄液中濃度は $51 \mu\text{g/ml}$ と増加し、明らかに dose response を認めた。

Fig. 8 は症例6の1日 6g 4分割投与時の血中濃度と髄液中濃度の経過を示したものである。症例5と同様に、髄液中への良好な薬剤移行が認められ、血中ピーク値は約 $30 \mu\text{g/ml}$ で、髄液中には $8 \sim 15 \mu\text{g/ml}$ の濃度が持続した。ただし本例においては4日間の連投でも血中の薬剤蓄積傾向は認められなかった。

5. 気管内に AMPH を注入した時の血中・喀痰中濃度

症例1に AMPH 5mg を蒸留水 1ml に溶解し5%ブドウ糖 4ml に加え 5ml としてから輪状軟骨下に気管内に注入し、以後の血中濃度と喀痰中濃度を測定した。注入2時間まで血中濃度は測定限界以下であり、喀痰中には約30分後に $0.8 \mu\text{g/ml}$ 、1時間後に $1.2 \mu\text{g/ml}$ とピーク値に達し、4時間値 $0.2 \mu\text{g/ml}$ であったが、6時間値は測定限界値以下となった。

症例2に同様に本剤 10mg を蒸留水に溶解し、生理

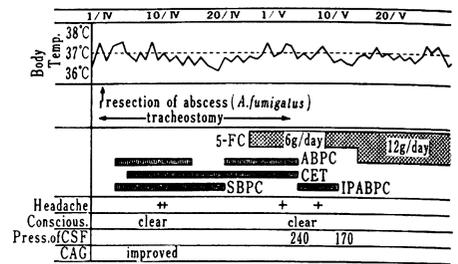
て悪寒戦慄が出現したため、Hydrocortisone 100 mg を併用投与した。(5% ブドウ糖 500 ml, 2 時間点滴)。しかし 5 月 29 日に血清 K 2.5 mEq/L と低カリウム血症となったため本剤の投与を中止し、高カリウム薬剤の点滴 (Solita T3, Aspara K) を行ない、4.0 mEq/L に回復したので治療を 6 月 2 日から再開し、溶解液として Solita T3 を用い 15 mg を隔日投与することにした。本法施行前と約 2 週後の胸部 X 線所見を比較すると、両肺真菌菌周辺の結節性陰影消失と左真菌球像の縮小がみられた。この治療中 8 月 24 日に真菌が 10⁻⁷ 分離されたため上記治療法に加え、AMPH の 15 mg の ultrasonic nebulizer 吸入法 (朝, 昼, 夜各 5 mg 3 回の吸入) も加えた。薬剤隔日点滴法は 70 回にて止め、吸入法だけ施行した。しかしその後血痰が出現した。(昭和 54 年 5 月 21 日退院。両肺の病巣の存在と、肺機能上の検討から手術は不可能と判断した。現在外来加療中である)。なお Hydrocortisone 治療により血中好酸球数の正常化と高 IgE 値が次第に低下した。全経過中腎機能の低下、尿の異常所見はなかった。

iii) 症例 3 症状の詳細は別誌に報告⁹⁾した。その要点は Table 2 に示すとおりである。本例は糖尿病を基礎にもつ肺化膿症と肺アスペルギローマの合併例で *Aspergillus niger* が起炎菌であった。本菌の MIC は 100 μ g/ml 以上で、5 FC の喀痰中濃度の成績から考えて、本剤が有効であったとするより、自然治癒の可能性を考慮すべきであろう。

iv) 症例 4 症状の詳細は別誌に報告¹⁰⁾している。その要点は Table 2 に示した。本例は外傷性頸椎症にて持続硬膜外チューブ留置術を行なった直後、昭和 53 年 3 月 31 日に急性に発症し発熱、咳あり、SBPC 無効で両側中肺野の軟い斑状陰影は増大した。多量に検出された *Candida albicans* の 5 FC に対する MIC は、0.78 μ g/ml で、本剤 5g/日分 3 (2 カ月投与) にて劇的改善を認めた。なお副作用はなかった。

v) 症例 5 症状の詳細は別誌に報告⁹⁾した。(要点は Table 2 に示す)。*Phialophora pedrosoi* による脳膿瘍の患者で他に糖尿病、重症の気管支炎を併発していた。脳外科手術により本真菌を分離したが、5 FC に対する感受性は、3.13 μ g/ml で、髄液中移行も 200 mg/kg 投与で 30 μ g/ml, 300 mg/kg で 50 μ g/ml と高かった。103 日間の本剤治療を行なったが (経口チューブ)、細菌性呼吸器感染症により死亡した。剖検時摘出部の再発はなかったが、中枢神経系、肝、肺、腎に小膿瘍が認められ、*Phialophora pedrosoi* が分離された。ただし剖検時の本菌の 5 FC 感受性は測定していない。臨床検査値の異常はみられなかった。

Fig. 11 Case 6 : S. C. 46 y. o. Cerebral abscess



vi) 症例 6 46 才, 男, *Aspergillus fumigatus* による脳膿瘍症例である。42 年に肺結核にて肺切除術をうけて以来肺結核の SM, PAS, INH の 3 者併用療法をうけていた。脳圧亢進症状, 片まひ, 意識障害等あり, 左脳腫瘍が疑われて脳外科の手術をうけたが, 病巣は肉芽腫様で切除部から *Aspergillus fumigatus* が分離された。その後の経過は Fig. 11 に示す。その後, 意識は清明となったが, 知能低下, 軽度の右片まひを残し今日に至っている。

考 察

肺ノカルジア症¹¹⁾¹²⁾や新しい真菌症¹³⁾を含む内科的真菌症の化学療法に当って重要な点は、起炎真菌の早期分離と決定と正しい抗真菌剤の選択と投与量、投与方法の決定¹⁴⁾である。真菌の分離について最近の進歩は少ないが、抗真菌剤として新しく 5 FC が登場したことによって、内科的に信頼に足る広域抗真菌剤が AMPH に加え 2 剤となり、これら薬剤に対する病原真菌の感受性の速やかな測定と、各種投与方法による薬剤の吸収、移行についての研究が化学療法上必然的に重要なものとなった。

以上の観点から、従来法にては時日を要する感受性測定を速やかにするため、4% 加 MH broth に酵母菌では静置培養、糸状菌では振盪培養後均等化する新法を考案した。この新法は、従来法より著しく早く、得られる菌数も、一定しているため操作も簡便であり、その MIC 値も従来法と同様であることを、AMPH, 5 FC 2 剤について確認した。2 剤を検定する共通の培地として、YMA や YNB⁶⁾ がすぐれている点は従来と同様である。

私共の方法によって得られた病原真菌の 2 剤に対する感受性成績は、5 FC が AMPH 同様な高い抗菌力を有し、ことに *Candida cryptococcus* に著明で、糸状菌でも AMPH に劣らない抗菌力を有していることが確認された。*Aspergillus fumigatus* にも 0.2~1.56 μ g/ml と高い抗菌力をもち、内科的 3 大起炎真菌である *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* に 1.56 μ g/ml 以下の薬剤濃度で抑止できることが確認された。これらの成績はこれまでの諸外国の成績^{6), 15), 16)}と一致している。また最近庄

目される黒色真菌症^{9),17)}の原因菌である *Phialophora pedrosoi* や *verrucosa* にも AMPH 同様の抗菌力をもっている。5FC のもつ大きな弱点として耐性化¹⁸⁾があげられるが、6 症例にて分離された真菌には 1 例も耐性菌はないが症例 6 の黒色カビ性脳膿瘍症例ではその可能性を否定し得ず、経時的検討が必要である。

5FC の臨床薬理を明確にするための組織内濃度の測定が重要であるが、検定菌として *Saccharomyces cerevisiae* を用いたこれまでの方法では阻止円の辺縁が不明確でかつ 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と感度が低かったのに比し、私共の *Staphylococcus aureus* 209 P を検定菌として用いた場合、阻止円は大きく明確でかつ測定感度も 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と高感度で喀痰等分泌液中濃度の測定も容易となった。5FU の薬剤濃度を測定する場合の検定菌として同様にこの菌が用いられており、5FC の取込みに共通点があるものと推定される。ただし 209 P 以外の黄色ブドウ球菌では著しく耐性であった。この理由は明らかではない。

私共の開発した方法によって検討した 5FC のラット臓器内濃度はすでに報告⁴⁾したが、その結果、本剤の吸収が良く、肺、肝、腎に良く移行し、腎移行が高値なため腎排泄系薬剤と推定され、かつ脳への移行は肺、肝よりも高く脳真菌症への本剤の応用が期待された。5FC の諸外国の報告⁹⁾ や三代の報告¹⁹⁾ も高い吸収性や諸種深在性真菌症への臨床応用につき高い評価を与えている。私共の新法による組織や分泌物中濃度は、本剤の高吸収性、血中濃度の長い保持、高い髄液中への移行を再確認させ、先の病原真菌の 5FC に対する感受性成績と対比すると深在性真菌症への有効性が期待できることを示した。私共は本剤開発以来まだ報告されていない喀痰中濃度を経時的に測定した。その成績は病原真菌の MIC を考慮すると病巣にて本剤と真菌の接触する場が想定される肺炎や肺および脳の膿瘍では臨床的治癒をもたらすものと考えられ、臨床成績とも一致した。しかし真菌球をもつ肺アスペルギルス症では、本剤と真菌が接触し難い病理学的病巣が考慮され、一部の消失はあるが、真菌球の完全消失には至っていない。しかし症例 2 で述べたように真菌球以外の陰影の消失を見た点は本剤の薬効過程を明らかに示すものである。

AMPH の臨床応用について一般に点滴投与が行なわれているが、5FC 同様全身投与法では、アスペルギローマに有効性が期待できないため症例 1、症例 2 の症例に輪状軟骨下注入と気管支ファイバースコープによる AMPH の注入と超音波ネブライザーによる吸入を施行した。症例 1 では有効性なく、喀血を招来し中止し、症例 2 では真菌球の一部消失と縮小を認めたが、やはり血症

が増して中止した。症例 2 における AMPH 単独点滴投与では急速な低カリウム血症を認めたが溶剤に Solita T3 を用い、Hydrocortisone の併用が AMPH の副作用発現防止に役立つことがすでに報告されているので、Hydrocortisone 50~100 mg を加えたが、そのため 70 回の隔日投与が副作用なく可能であった。

5FC の副作用として症例 1 に貧血と発熱が経験されたが、本剤投与中止と一時的水性プレドニン投与によって治癒した。症例 2 には発疹がみられ、本剤中止にて同様治癒した。6 例中 2 例に副作用を認めているが、AMPH と異なり重篤なものはない。5FC の副作用の原因としてヒト体内での 5FU への転換²⁰⁾が確認されている。

アスペルギルスによる肺真菌球は内科的によく経験されるものであるが、2 剤の種々異なる治療法によっても治癒させ得なかった。1 例は外科手術により治癒している。近年アスペルギルス性肺真菌球の外科手術の可否について、自然治癒例もあり、また術後の肺機能低下などの理由により慎重であるべきだと報告²¹⁾もあるが、症例 1 はその意味で手術不可能性であった。また今日の重症深在性真菌症に AMPH と 5FC の併用療法が試みられ、その有用性^{22~24)}が 5FC の耐性発現防止も含んで報告されているが、副作用の発現には十分な注意の必要がある。

肺真菌症にしても脳真菌症にしても、背景因子のない症例は一部の肺クリプトコッカス症²⁵⁾を除き少ない。それゆえ宿主条件の改善も重要な治療因子である。症例 3 の *Aspergillus niger* による真菌球治癒はその点大きな示唆を与えている。

副作用が少なく、病原真菌を耐性化させない真菌症の化学療法上のあり方はなお今後の大きな課題であるが、速やかな病原真菌の分離と同定および臨床薬理の正しい把握と宿主の十分な理解に基づいてはじめて解決されるであろう。今後残された課題は少なくない。

文 献

- 1) BENNETT, J. E.: Chemotherapy of systemic mycosis (I, II). *New Engl. J. Med.* 290: 30~32, 320~322, 1974
- 2) ATKINSON, G. W. & H. L. ISRAEL: 5-Fluorocytosin treatment of meningeal and pulmonary aspergillosis. *Ann. J. Med.* 55: 496~504, 1973
- 3) HARDER, E. J. & P. E. HERMANS: Treatment of fungal infections with flucytosine. *Arch. Int. Med.* 135: 231~237, 1975
- 4) 松本慶蔵, 渡辺貴和雄, 宇塚良夫, 今岡 誠, 野口行雄, 鈴木 寛: 新しい 5-FC 組織濃度測定法。医学のあゆみ 100: 289~290, 1977
- 5) 東大医学部細菌学教室編: 5 Fluorocytosine に関

- する真菌学的検査法ならびに体液濃度測定法。
- 6) SCHADOMY, S: *In vitro* studies with 5-fluorocytosine. Appl. Microbiol. 17: 871~877, 1969
 - 7) HOEPRICH, P. D. & P. D. TIMM: Obfuscation of the activity of antibiotics by culture media. J. Inf. Dis. 126: 353~361, 1972
 - 8) 森山忠良, 安永暁生, 小野博久, 森 和夫, 松本慶蔵, 宇塚良夫: 5 Fluorocytosine (5 FC) の併用による黒カビ脳腫瘍の外科的治療。脳神経外科 5: 685~690, 1977
 - 9) 松本慶蔵, 井手政利, 宇塚良夫, 山本真志, 渡辺貴和雄: 肺アスペルギルス症。臨床成人病 8: 1733~1739, 1978
 - 10) 松本慶蔵: 肺カンジダ症。臨床成人病, 投稿中
 - 11) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 西岡きよ, 野口行雄, 木村久男, 滝島 任: 二次的免疫不全に合併せるノカルジア肺炎とそれに続発した全身性クリプトコッカス症の1症例。最新医学 29: 353~357, 1974
 - 12) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 西岡きよ, 木村久男, 野口行雄, 本田一陽, 滝島 任: ノカルジアの抗菌剤に対する感受性と臨床効果の解析。最新医学 30: 294~298, 1975
 - 13) KAMMER, R. B. & J. P. UTZ: *Aspergillus* species endocarditis—The new face of a note so rare disease. Am. J. Med. 56: 506~521, 1974
 - 14) 渡辺一功: 真菌性肺炎の診断と化学療法。臨床成人病 9: 1117~1125, 1979
 - 15) SHADOMY, S.: Further *in vitro* studies with 5 fluorocytosine. Infection Immunity 2: 484~488, 1970
 - 16) SHADOMY, S.; C. B. KIRCHOFF & A. E. INGROFF: *In vitro* activity of 5-fluorocytosine against *Candida* and *Torulopsis* species. Antimicrob. Agents & Chemoth. 3: 9~14, 1973
 - 17) 西本勝太郎, 山浦英明, 前島和樹, 船元富美子: 5-Fluorocytosine による黒色真菌症の治療経験。西日皮膚 37: 397~403, 1975
 - 18) POLAK, A. & H. J. SCHOLER: Mode of action of 5-fluorocytosine and mechanisms of resistance. Chemotherapy(Basel) 21: 113~130, 1975
 - 19) 三代俊治, 与芝 真, 清水喜八郎: クリプトコッカス髄膜炎に対する 5-fluorocytosine (5-FC) の効果。Chemotherapy 23: 2595~2598, 1975
 - 20) DIASIO, R. B.; D. E. KAKINGS & J. E. BENNETT: Evidence for conversion of 5-fluorocytosin to 5-fluorouracil in humans. Possible factor in 5-fluorocytosine clinical toxicity Antimicrob. Agents & Chemoth. 14: 903~908, 1978
 - 21) VARKEY, B. & H. D. ROSE: Pulmonary aspergilloma—a rational approach to treatment. Am. J. Med. 61: 626~631, 1976
 - 22) UCLA Conference. (Moderator, EDWARDS, J. E.): Severe candidal infections—clinical perspective, immune defense mechanisms and current concepts of therapy. Ann. Int. Med. 89: 91~106, 1978
 - 23) UTZ, J. P.; I. L. GARRIQUES, M. A. SANDE, J. P. WARNER, G. L. MANDELL, R. F. MCGHEE, R. J. DUMA & S. SHADOMY: Therapy of cryptococcosis with a combination of flucytosine and amphotericin B. J. Inf. Dis. 132: 368~373, 1975
 - 24) BENNETT, J. E.; W. E. DISMUKES, R. J. DUMA, G. MEDOFF, M. A. SANDE, H. GALLIS, J. LEONARD, B. T. FIELDS, M. BRADSHAW, H. MAYWOOD, Z. A. MCGEE, T. R. CATE, C. G. COBB, J. F. WARNER & D. W. ALLING: Amphotericin B—Flucytosine in cryptococcal meningitis. New Engl. J. Med. 301: 126~131, 1979
 - 25) BENNETT, J. E.: Flucytosine. Ann. Int. Med. 86: 319~322, 1977
 - 26) HAMMERMAN, K. J.; K. E. POWELL, C. S. CHRISTIANSON, P. M. HUGGIN, H. W. LARSH, J. R. VIVAS & F. E. TOSH: Pulmonary cryptococcosis: Clinical forms and treatment—A center for disease control cooperative mycosis study. Am. Rev. Resp. Dis. 108: 1116~1123, 1973

ANALYSIS OF FLUCYTOSINE AND AMPHOTERICIN B THERAPY ON PULMONARY AND CEREBRAL MYCOSIS

KEIZO MATSUMOTO, MASATOSHI IDE, YOSHIO UZUKA,
YUKIO NOGUCHI, MAKOTO IMAOKA
and KIWAO WATANABE

Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine,
Nagasaki University

We tried to evaluate the efficacy of Flucytosine and Amphotericin B (AMPH) on pulmonary and cerebral mycosis.

We established a new technique of measuring antifungal activity of Flucytosine and AMPH, which is more rapid and stable than that previously reported. In this method, homogenized spore of 10^5 /ml cultured on MÜELLER-HINTON Broth (M. H. Broth) supplemented with 4% glucose were inoculated on M. H. Agar supplemented with 4% glucose for AMPH and on Yeast Morphology Agar (Y. M. Agar) for Flucytosine. It was noticed that many strains of three crucial pathogenic fungi isolated frequently from clinical specimens were susceptible almost equally to Flucytosine and AMPH. A few strains resistant to Flucytosine were observed.

Bioassays for Flucytosine in serum, urine and cerebrospinal fluid (CSF) were performed readily by our new technique using *Staphylococcus aureus* 209 P (*S. aureus* 209 P) as the test organism.

The serum peak levels were 16.5~177 μ g/ml at 1~3 hours after administration of Flucytosine 1~4 g orally. The accumulation of this drug could be demonstrated on a few case. In two cases sputum concentrations of Flucytosine were measured. Ratios of maximum sputum level to peak serum concentration were 17% and 57.3%. In other cases ratios of maximum CSF level to peak serum level were 50% and 69%.

Serum concentrations of AMPH were found to be low when instilled into trachea.

On six cases of pulmonary and cerebral mycosis, the clinical results supported by our new bioassays were observed. Noteworthy side effects were observed in two cases administered AMPH, therefore it is important to determine appropriate doses and route of administration. On the other hand side effects of Flucytosine were few. At the chemotherapy of mycosis the effort to improve the host conditions may be required.