

結核化学療法の基礎的研究

第70報 PASCON の試験管内抗結核作用について*

金沢大学結核研究所細菌免疫部 (主任: 柿下正道教授)

松田 知夫 浅地 元

長岡 寛伯 高木 治洋

(受付: 昭和40年12月3日)

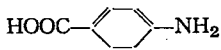
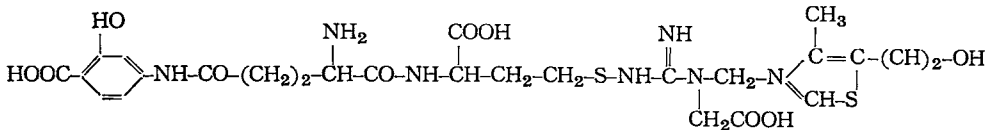
緒 言

PAS とニンニク成分である Scormin との結合物質である PASCON についてはすでに臨床的に使用され、PAS に比し少量で PAS と同程度の治療効果が得られ、しかも PAS に比し副作用が少ない等の長所を有することが報告

されている。1)~4)

われわれは PASCON の試験管内抗結核作用について2, 3の基礎的実験を行ったので、以下その成績について報告する。

PASCON 推定構造式



PAS

実験 1

各種ヒト型結核菌の PASCON および PASに対する感受性について

実験方法

1 供試薬剤および使用培地

PASCON (理研化工), PAS-Na の 10mg を 70% アルコール 10ml に溶解したものを原液 (1,000r/ml) とし、これをそれぞれ Dubos 液体培地を用いて希釈し、0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100r/ml の 2ml 宛の系列を作成した。

2 供試菌株および接種方法

表 1 に見られるごとく、SM および INH に対して種々の感受性を示す患者より分離した結核菌 15 株および H₃₇Rv 株を Dubos 液体培地に 2-3 代継代後同培地に 2 週間培養後、手振り法により約 1mg/ml になるように菌浮遊液を作成し、その 1 滴宛を上記薬剤希釈培地に接種し、密栓して 37°C、4 週間培養後菌の発育限界を判定した。

実験成績

H₃₇Rv の PAS, PASCON に対する最高発育濃度はいずれも 0.1r/ml であったが、患者

由来の菌株について PAS と PASCON に対する感受性を比較すれば、PAS に対し 0.5r/ml

* 本論文の要旨は昭和40年9月第12回日本結核病学会北陸地方学会において発表した。

のもの5株で, そのうち PASCON も0.5 r /ml のもの1株, 他の4株は PASCON では1 r /ml を示し, PAS 1 r /ml のもの2株はいずれも PASCON 2 r /ml, PAS 2 r /ml の1株は PASCON では5 r /ml, PAS 5 r /ml の4株は いずれも PASCON 10 r /ml, PAS 10 r /ml の 3株中2株は PASCON も10 r /ml であった

実験 2

PASCON の血中濃度について

実験方法

成人男子3名を1組とし, 早朝空腹時に PASCON 錠を300mg, 200mg および100mg を1回に内服せしめ, 3時間目と5時間目に肘静脈より無菌的に血液5ml を滅菌遠心管に採取し血清を分離した。血清は Dubos 液体培地で2倍より256倍まで2ml 宛倍数希

が, 他の1株は20 r /ml であった。すなわち PASCON は PAS と同様またはやや低い抗菌力を示すが, PAS と PASCON の間には完全に交差耐性が認められた。しかし SM, INH の感受性との間には全く相関々係は認められなかった。

実験成績

PASCON の H₃₇Rv に対する最低発育阻止濃度は0.3 r /ml で, 一方3名宛の血清の発育阻止最高希釈培数の平均値は表2のごとくであ

積し, その希釈系列に H₃₇Rv 株を実験1のごとく接種し, 37°C, 4週培養後発育阻止限界を判定した。一方同時に PASCON の Dubos 液体培地希釈系列にも同様 H₃₇Rv を接種しその発育阻止限界を判定した。

った。すなわち100mg 投与でも3時間後約5 r /ml, 5時間3 r /ml 以上であり, 300mg 投与ではこれの約2倍の血中濃度が得られた。

実験 3

ヒト型結核菌 H₃₇Rv 株を PASCON, INH, SM 単独および PASCON-SM, PASCON-

INH 併用培地に継代した場合の感受性の変動および併用効果について

実験方法

Dubos 液体培地中に SM (Dihydrostreptomycin) 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1,000 r /ml, あるいは INH 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 r /ml になるように調製し, それぞれの濃度に対し更に PASCON が 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 r /ml に含まれるような2重希釈系列をつくり, 各

試験管にヒト型結核菌 H₃₇Rv 株を実験1のごとく接種した。37°C, 4週間培養後に菌の発育限界を判定し, 各系列の菌の充分発育した試験管のうち薬剤の最も高い濃度に発育したものから再び菌液を作成し, 同様な2重希釈系列に接種, 13代まで繰返し継代した。同時に各薬剤の単独希釈系列についても同様に継代を行なった。

実験成績

1) PASCON 単独継代と SM または INH との併用継代の PASCON に対する感受性の変動の比較 (図1)

PASCON 単独継代では階段状に感受性の低下が見られ9代で10 r /ml に達したが, PASCON-SM 併用継代では最初は PASCON 単独と同一の感受性低下状況を示し3代で

0.5 r /ml となるが, 以後は長く同一の感受性を維持し13代でようやく1 r /ml に達した。また PASCON-INH 併用継代では4代まで感受性の低下は見られず, 5代より漸次感受性の低下が見られるが, その程度は PASCON 単独よりやや緩慢で12代でようやく2 r /ml に達した, 以上の結果より, SM あるいは INH を併用継代

することにより、PASCON 単独継代の場合に比し結核菌の PASCON 耐性獲得の遅延が認められた。

2) SM または INH 単独継代と PASCON との併用継代の SM または INH に対する感受性の変動の比較 (図 2~3)

SM 単独継代では 2 代より急激に SM 感受性の低下が見られ 9 代で 1,000r/ml に達した。一方 SM-PASCON 併用継代の場合は感受性の低下は単独継代の場合に比しゆるやかで、4 代より 8 代まで 10r/ml, 9 代より 12 代まで 50r/ml で 13 代で 100r/ml となった。すなわち PASCON 併用により明らかに結核菌の SM 耐性化の遅延が認められた。

一方 INH 単独継代と INH-PASCON 併用

継代では、INH に対する感受性の低下はほとんど同一の経過をたどり、5 代に到りとも 20r/ml に達し、INH に対する耐性化は PASCON 併用によっても遅延せしめることは出来なかった。

3) PASCON と SM あるいは INH との併用効果

表 3, 4 に示されるように太い線で囲まれた範囲が併用効果を示すものであるが、SM-PASCON, INH-PASCON 併用のいずれの場合も初代では併用効果は認められなかったが、継代によって PASCON および SM または INH に耐性化が生じた場合に、種々の程度に併用効果が認められた。

考 案

著者らは PASCON の抗結核作用に関する基礎的実験として、先づ患者より分離した種々の菌株および H₃₇Rv 株について PASCON の抗菌力を PAS と比較したところ、PASCON は PAS と同程度またはわずかに低い抗菌力を有し、両者の間には完全に交差耐性が認められた。竹中⁵⁾らは PAS 耐性株に対する PASCON および PAS の抗菌力の実験で、両者は同程度の抗菌力を示すが Mol 比では PASCON と PAS は約 5 : 1 の比であるから、等 Mol では PASCON は PAS の 5 倍の抗菌力があると述べている。われわれの実験においては H₃₇Rv 株では PAS と PASCON は同一の抗菌力を示すが、患者由来の菌株では PASCON は PAS と同一または 1/2 の抗菌力を示した。したがって Mol 濃度では 2~5 倍、平均約 3 倍の抗菌力を有することが認められた。また PAS と同様に SM あるいは INH とは全く交差耐性は認められなかった。

次に PASCON は臨床的に少量で PAS と同程度の治療効果が得られることから^{1)~4)}、PASCON は少量で高い血中濃度が得られることが考えられるので、われわれは人体における PASCON 内服による血中濃度を生物学的に測定したところ、その血清希釈倍数において

300mg 投与では 3 時間後 36 倍、5 時間後 19 倍、また 100mg 投与では 3 時間後 16 倍、5 時間後 11 倍で H₃₇Rv の発育を阻止することが認められた。これを血清中 PASCON 濃度に換算すると、100mg 投与でも 3 時間後約 5 r/ml, 5 時間後約 3 r/ml 以上であり、300mg 投与ではその約 2 倍の血中濃度が得られたことになる。大田⁶⁾は Kirchner 培地を用いて PAS 10gm 内服 3 時間後の血清では 10% 添加、5 時間後の血清では 50% 添加で結核菌の発育を阻止すると述べている。また日比野⁷⁾らは PAS 10gm 朝食前経口投与で、その血中濃度は 3 時間後 14.8~20.6r/ml, 4 時間後 10~15r/ml であると述べている。これらを比較しても PASCON は PAS に比較して、非常に高い血中濃度を維持していることが知られる。

PAS と SM⁸⁾⁹⁾あるいは INH¹⁰⁾¹¹⁾ 併用により、PAS 耐性の発現を遅延せしめることはつとに述べられているが、PASCON においても PASCON 単独継代では 9 代で 10r/ml まで耐性となるが、SM または INH と併用培地に継代することにより、単独の場合に比べ著明に PASCON 耐性獲得の遅延が認められた。

SM 耐性の発現が PAS の併用により遅延することも Graessle¹²⁾ らの報告があり、また

SM 耐性の発現を遅延せしめても阻止出来ないとも言われている。¹³⁾¹⁴⁾ われわれの SM-PASCON 併用継代実験においても, SM 単独継代と比較して PASCON 併用継代は結核菌の SM 耐性獲得を明らかに遅延させ, 図2に見られるごとく併用では3代から13代まで SM 単独の10~50倍の感受性を示した。

INH 耐性が PAS 併用によって阻止あるいは遅延することが認められ報告されている。^{15)~19)} 一方君野²⁰⁾は PAS は結核菌の INH 耐性化阻止にはほとんど無効であると述べている。われわれの PASCON による実験で図3に見られるごとく, ほとんど INH 耐性化阻止に効果はなく, 君野の PAS における報告と一致した成績が得られた。

PASCON と SM あるいは INH との併用効

結 論

Scormin と PAS の結合物質である PASCON について各種ヒト型結核菌に対する抗菌力, 人体に投与した場合の血中濃度, 試験管内において SM または INH と併用継代培養を行った場合の耐性化の状況および抗菌作用におよぼす併用効果等につき検討を行い次の成績を得た。

1) 患者より分離した結核菌15株および H₃₇Rv 株に対する抗菌力は PAS とほぼ同等またはやや低い程度であり, PAS との間には完全に交差耐性が認められたが, INH, SM との間には全く交差耐性は認められなかった。

2) 人体に内服投与した場合の血中濃度は 100mg 1回投与3時間後で約 5 r/ml, 5時間後で約 3 r/ml であった。

文 献

- 1) 上田直紀, 他: 第18回国立病院療養所総合医学会発表, 1963.
- 2) 後藤正彦, 他: 第18回国立病院療養所総合医学会発表, 1963.
- 3) 由利健三, 他: 結核, 39(5), 187, 1964.
- 4) 竹中哲夫, 今津史郎, 他: 医療, 18(4), 15, 1964.
- 5) 竹中哲夫, 東村道雄, 他: 医療, 18(4), 13, 1964.

果については, いずれも Jawetz²¹⁾, 小酒井²²⁾らの表現によれば初代では“無関心”であったが, 継代により結核菌が PASCON および併用剤に耐性化した場合においてある程度の“相加的”な効果が認められた。

以上の成績より PASCON は PAS と完全に交差耐性を示すが, SM, INH とは交差耐性を有せず, PAS とほぼ同程度の抗菌力を有し, PAS に比し高い血中濃度が得られる点, また試験管内において SM の耐性化を遅延せしめ, 耐性菌に対しては SM または INH と抗菌力の相加的併用効果が認められる等の基礎的実験成績, および PAS に比し副作用少なく, 少量で治療効果を挙げると言う臨床的報告等をあわせ考えれば, 本薬剤は PAS にかわる抗結核剤として有望であると考えられる。

3) PASCON-SM, PASCON-INH 併用添加培地に H₃₇Rv 株を継代培養を行った結果

a) PASCON-SM 併用の場合は PASCON または SM 単独継代の場合に比し PASCON または SM に対する耐性化の遅延が認められるが, PASCON-INH 併用の場合には PASCON 耐性化の遅延は認められるが, INH 耐性化には影響がなかった。

b) PASCON-SM, PASCON-INH 併用においてともに第1代においては抗菌力の相加的効果は認められないが, 継代培養により添加薬剤に耐性化が生じた場合にそれぞれ相加的効果が認められた。

献

- 6) 大田正久: 京大結研紀要, 3(2), 156, 1955.
- 7) 日比野進, 磯江驥一郎: 結核の化学療法(結核新書19集), 医学書院, 185, 1953.
- 8) Tempel, C.W., Hughes, F.J., Mardis, R.E., Towbin, M.N. and Dye, W.E.: Am. Rev. Tuberc., 63, 295, 1951.
- 9) 早川 晋: 金大結研年報, 13(中), 131, 1955.
- 10) 水野 護: 結核, 28(6), 283, 1953.
- 11) 早川 晋: 金大結研年報, 13(中), 123, 1955.

- 12) Graessle, D.E. & Pietrowski, J.J.: J. Bact., 57, 459, 1949.
- 13) Medical Research Council: Brit. Med. J., 4769, 1157, 1952.
- 14) Daniels, M. & Hill, A.B.: Brit. Med. J., 4769, 1162, 1952.
- 15) Medical Research Council: Brit. Med. J., 4844, 1005, 1953.
- 16) 沼田 至：日結, 13, 659 ; 763, 1954.
- 17) 芦野芳久：抗酸菌病研究雑誌, 8(4), 238, 1953.
- 18) 上野高正：日本細菌学雑誌, 9(1), 909, 1954.
- 19) Tuberculosis Chemoth. Trials Committee: Brit. Med. J., 4911, 435, 1955.
- 20) 君野徹三：最新医学, 9, 167, 1953.
- 21) Jawetz, E.: Arch. Int. Med., 90, 301, 1952.
- 22) 小酒井望, 飯村利子：日結, 15, 11, 1952.

表1 標準株および患者由来のヒト型結核菌の PASCON
および PAS に対する感受性の比較

菌株No.	PASCON	P A S	SM, INH 感受性**
1 5 5	5*	2*	SM(S)INH(5rPR)
5 2 8	2	1	SM(S)INH(5rR)
5 3 8	1	0.5	SM(10rR)INH(5rR)
5 6 8	20	10	SM(10rR)INH(5rR)
5 7 7	10	5	SM(S)INH(1rPR)
5 9 6	10	5	SM(100rR)INH(S)
6 0 5	1	0.5	SM(10rR)INH(S)
6 4 5	10	5	SM(S)INH(5rPR)
7 0 4	10	10	SM(100rR)INH(5rPR)
8 4 5	10	5	SM(100rR)INH(S)
8 6 2	10	10	SM(100rPR)INH(5rR)
9 0 9	2	1	SM(10rPR)INH(5rR)
9 2 8	1	0.5	SM(S)INH(1rR)
9 6 5	1	0.5	SM(S)INH(S)
9 7 0	0.5	0.5	SM(S)INH(S)
H ₃₇ Rv	0.1	0.1	SM(S)INH(S)

* : 最高発育濃度 r/ml (Dubos 液体培地)

** : 3%小川培地による直接法の成績

S : Sensitive, PR : Partially resistant.

R : Completely resistant

表2 PASCON 内服による血清の結核菌発育阻止能

PASCON 内服量	3時間後	5時間後
	血清の発育阻止最高希釈倍数 (平均値)	
300 mg	1 : 36	1 : 19
200	1 : 26	1 : 15
100	1 : 16	1 : 11

注 : 同時に行なった PASCON の H₃₇Rv の
阻止能…… 0.3 r/ml (Dubos 液体培地)

図1 ヒト型結核菌H₃₇Rv株を PASCON 単独及び SM, INH 併用培地に継代した場合における PASCON 感受性の変動 (Dubos 液体培地)

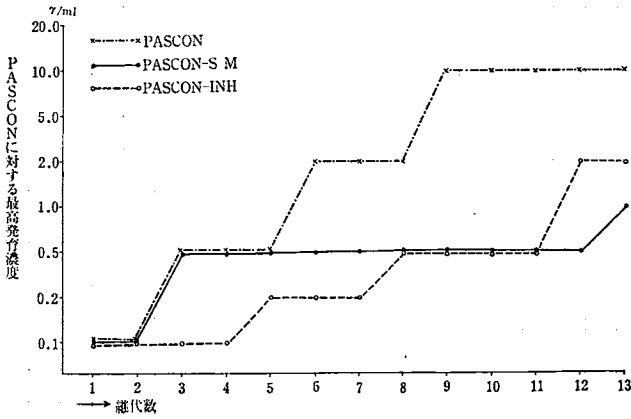


図2 ヒト型結核菌 H₃₇Rv 株を SM 単独及び PASCON 併用培地に継代した場合における SM 感受性の変動 (Dubos 液体培地)

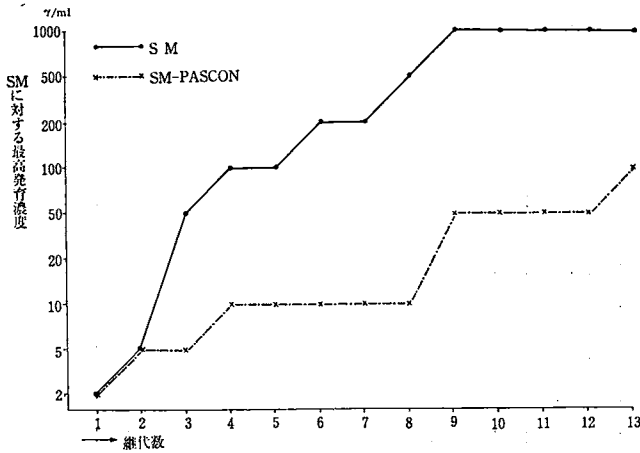


図3 ヒト型結核菌 H₃₇Rv 株を INH 単独及び PASCON 併用培地に継代した場合における INH 感受性の変動 (Dubos 液体培地)

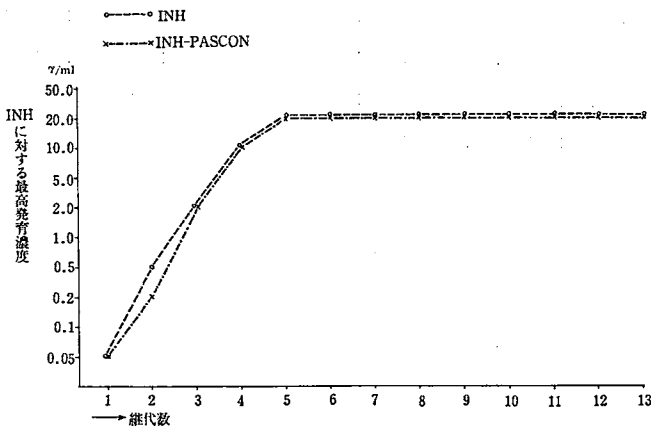


表3 PASCON-SM 併用継代時における併用効果

P : PASCON 数字は薬剤濃度 τ /ml

第 1 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡	≡
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡	≡
0	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡	≡

第 2 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡

第 3 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡	≡
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡	≡
0	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡	≡

第 4 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≡	≡	≡

第 5 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

第 6 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

第 7 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

第 8 代

P \ SM	1000	500	200	100	50	20	10	5	2	1	0.5	0
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

