

# 細菌の薬剤耐性に関する研究

## 第 13 報

### 結核菌の INAH 耐性化に関する一考察

#### 第2編 各種トリ型結核菌の INAH 分解作用および薬剤の影響について

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

中 瀬 真 一

（受付：昭和35年5月15日）

### 緒 言

私は先にトリ型結核菌竹尾株の INAH 分解能について報告したが、今回は更に竹尾株以外のトリ型菌の INAH 分解能を検索するととも

に各種薬剤がこの INAH 分解能に及ぼす影響について検討を加えた。以下はその成績の概要である。

### 実験材料および実験方法

#### 1) 使用菌：

教室保存のトリ型竹尾株，獸調株，細谷株，A 62 株および 4127 株の薬剤感性菌およびこれらの INAH 100 $\gamma$ /ml 完全耐性菌を使用した。これら INAH 耐性菌は前報における竹尾株の場合と同様に INAH 含有培地に逐次継代して得られたものである。

#### 2) 使用薬剤：

SM (硫酸ストレプトマイシン)，PAS (パラアミノサリチル酸ナトリウム)，PZA (ピラジナマイド)，Thiasin (ズルフアイソキサゾール)，V. B<sub>1</sub> (塩酸チアミン)，V. B<sub>2</sub> (リボフラビン磷酸エステル)，V. B<sub>6</sub> (塩酸ピリドキシン)，ニコチン酸，ニコチン酸アミド，V. C (アスコルビン酸)，V. K (VK<sub>3</sub> 重亜硫酸ナトリウム) および E. D. T. A (エチレンジアミン四酢酸)。

#### 3) INAH の測定方法：

a) Fe AZM による測定，前報記載の方法に従った。ただし先には INAH 添加溶液として 5%グリセリンブイヨンおよび M/15 磷酸緩衝液 (pH 6.8) を用いたが今回は M/15 磷酸緩衝液 (pH 6.8) のみを用いた。

b) 生物学的測定，血清加 Kirchner 培地 4.0 ml に INAH を含む試料 (あらかじめ 100°C, 30 分加熱) 1.0 ml を加え，これにトリ型菌竹尾株の 1 mg/ml 菌液 0.1 ml を接種する。菌接種後 96 時間 37°C に培養して判定した。その発育程度が対照と変らざるもの (H)，表面菌膜形成 (+)，わずかに表面発育 (±)，発育なきもの (—) と記載した。

### 実験成績

I トリ型菌による INAH の分解 (図 1, 表 1)

図 1 は INAH 添加溶液に各感性菌あるいは

耐性菌を加えた場合および菌を加えない場合の INAH 減少度を示したものである。この図から明らかなように獸調株，細谷株および A 62 株

は竹尾株の場合とほぼ同程度の、4127株はやや劣る INAH 分解能を有する事が認められた。しかしてこれらの INAH 耐性菌はそれぞれの感性菌より高い INAH 分解能を有する事も既報の竹尾株における成績と一致していた。4127株が他の菌株に比してやや INAH 分解能の劣ることはその発育速度が遅い事と関係があるのではないかと考えられるところである。また生物学的活性も INAH 溶液に竹尾株 INAH 耐性菌を添加したものでは、48時間後に対照の約  $\frac{1}{4}$  となりほぼ AZM による測定と一致した。

## II 菌の INAH 分解に及ぼす薬剤の影響:

竹尾株の感性菌と INAH 耐性菌を用いた。以下の実験では INAH 添加溶液単独、感性菌含有 INAH 添加溶液および耐性菌含有 INAH 添加溶液（以下これら溶液をそれぞれ被験薬剤添加時の対照という）のそれぞれに各薬剤を 100 $\gamma$ /ml の割に加えたものについて INAH の減少度を比較した。

a) PAS, PZA, V. B<sub>1</sub>, V. B<sub>6</sub>, ニコチン酸アミドおよび V. C の影響 (図 2 a):

これら薬剤は INAH 溶液あるいは菌含有 INAH 溶液に添加しても INAH の分解曲線は対照のそれとほとんど同一であつた。すなわちこれらの薬剤は水溶液中での INAH の分解に対しても、菌の INAH 分解作用に対してもほとんど影響を与えないものと考えられる。

b) SM の影響 (図 2 b):

SM の感性菌また耐性菌含有 INAH 添加溶液に加えるとそれぞれの対照におけるよりも INAH の減少が大であつたが、INAH 溶液に加えても INAH の減少が認められ、かつそれぞれの対照との間の INAH 減少度はほぼ同程度であつた。すなわち SM は水溶液中の INAH の減少を大ならしめる作用を有するが、菌の INAH 分解作用に対してはほとんど影響を与えないものとする事が出来る。

c) V. B<sub>2</sub> の影響 (図 2 c. 表 2):

V. B<sub>2</sub> 添加後溶液を光線下に置いた場合には V. B<sub>2</sub> を感性菌また耐性菌含有 INAH 添加

溶液に加えるとそれぞれ対照よりも INAH 減少は大であるが、INAH 溶液に V. B<sub>2</sub> を加えた場合よりも INAH 溶液に菌を加え更に V. B<sub>2</sub> を加えた場合はその減少度は少なかつた。(ことに 48 時間後)、この現象は V. B<sub>2</sub> は光線下では水溶液中の INAH を強く分解する作用を有するが、菌の存在でこの作用が抑制されるように考えられる。この V. B<sub>2</sub> の INAH 分解作用は遮光する事によりほぼ消失し、各対照群とこれに V. B<sub>2</sub> を加えた場合の INAH 分解曲線はそれぞれ相似したものとなつた。生物学的活性も光線下で V. B<sub>2</sub> を添加した場合には著明な低下が認められた。また菌を添加しなかつたものは、菌を添加したものより僅かではあるが活性度が低いように思われた。

d) ニコチン酸の影響 (図 2 d):

ニコチン酸を加えると溶液中の INAH の分解は対照と比較して、やや抑制されるようである。しかしニコチン酸添加は感性菌または耐性菌含有 INAH 溶液での INAH の減少度はそれぞれの対照群もほぼ同程度であつた。このことからニコチン酸は水溶液中の INAH 分解を抑制する作用を有するが、菌の INAH 分解作用に対してはほとんど響がないので菌の存在によつてニコチン酸のこのような作用が阻止される事を示しているものと考えられる。

e) Thiasin の影響 (図 2 e):

Thiasin 添加群ではそれぞれの対照群と比較していずれも軽度ではあるが INAH の減少がやや多かつた。しかしこれら三対の減少程度の差は僅少で菌の INAH 分解作用に対しても抑制的であるか否かは明らかではない。

f) E. D. T. A の影響 (図 2 f):

E. D. T. A 添加群ではそれぞれ対照群に比し INAH 分解がかなり全般に抑制される事が認められた。しかし E. D. T. A 添加により感性菌または耐性菌含有 INAH 溶液とそれぞれの対照との間の INAH 減少度の差を見るとほぼ同程度であつた。したがつて E. D. T. A は水溶液中での INAH 分解に対しては抑制的に働

らくが、菌の INAH 分解作用に対してはほとんど影響がないものと思われる。

#### g) V. K の影響 (図 2 g) :

V. K のみを添加した場合には対照と比較してやや INAH の分解が抑制される程度である

が、V. K 添加は感性菌または耐性菌含有 INAH 溶液ではそれぞれの対照群よりもはるかに INAH の分解が少ない。すなわち V. K には菌の INAH 分解作用を著明に抑制する作用があると思われる。

## 考 案

トリ型菌竹尾株に INAH 分解作用に存する事は既に報告したが<sup>1)</sup>、今回は更に獸調株、細谷株、A 62 株および 4127 株について検討を行ったところ、これらの菌株にも竹尾株と同様な INAH が分解作用認められた。またこれらの INAH 耐性菌は感性菌よりも高い INAH 分解能を有すると考えられる成績が得られた。次にこの INAH 分解の防止ならびにその本態をいくかでも明らかにせんとして種々の薬剤を添加してその影響を検討した。水溶液中での INAH の分解を促進させる作用を有する薬剤は SM および V. B<sub>2</sub> (光線下) であつたが、この機転としては明らかではないが V. B<sub>2</sub> の場合は次のようにも考えられる。すなわち V. B<sub>2</sub> の分解促進作用は、遮光下では認められなくなる事実から考えて V. B<sub>2</sub><sup>2)</sup> の光化学的触媒作用により INAH が酸化分解されることに起因するのではないかと推定されるところである。一方水溶液中での INAH の分解を抑制する薬剤はニコチン

酸、Thiasin および E. D. T. A であつた。しかしてニコチン酸<sup>3)</sup> は重金属塩と反応して不溶性の塩を作る事が知られ、E. D. T. A は 2 価の鉄イオンと錯塩を作ると言われており、したがつてこの両者は水溶液中に存在する種々の金属イオン (INAH 分解を促進させる) を減少せしめ、このために水溶液中の INAH の分解が抑制されるのではないかと考えられる。一方 Thiasin に関しては全く推断さえも許されない現状である。さて菌の INAH 分解能に直接影響を及ぼしたと思われる薬剤は V. B<sub>2</sub> (光線下) と V. K の 2 つであつた。菌の INAH 分解能に対する両薬剤の抑制作用はかなり著明であり、こゝに菌の INAH 分解作用の本態を解明する重要な手がかりが得られたのであつて、この事実は今後菌の INAH 耐性化の機構解明の一翼をになうものと考えられ、又実地応用の面からも今後の研究に期待するところが大きい。

## 結 論

私はトリ型結核菌竹尾株、獸調株、細谷株、A 62 株および 4127 株の INAH 分解作用ならびにそれらの INAH 分解に及ぼす各種薬剤の影響について検討し次の様な結果を得た。

1) すべてのトリ型菌に INAH 分解作用が

認められ、かつ INAH 耐性菌は感性菌より高い INAH 分解能を有する事を明らかにした。

2) V. B<sub>2</sub> および V. K は菌の INAH 分解作用を抑制する効果を有するを知つた。

## 文 献

- 1) 中瀬真一：金大結研年報，17 (中)，271，1959。  
2) 清水祥一：ビタミン学 (佐橋佳一編集)，396，1956。  
3) 小川俊太郎：

- ビタミン学 (佐橋佳一編集)，503，1956。  
4) 左右田徳郎：化合物辞典，442，1954。

図 1 トリ型菌による INAH の分解

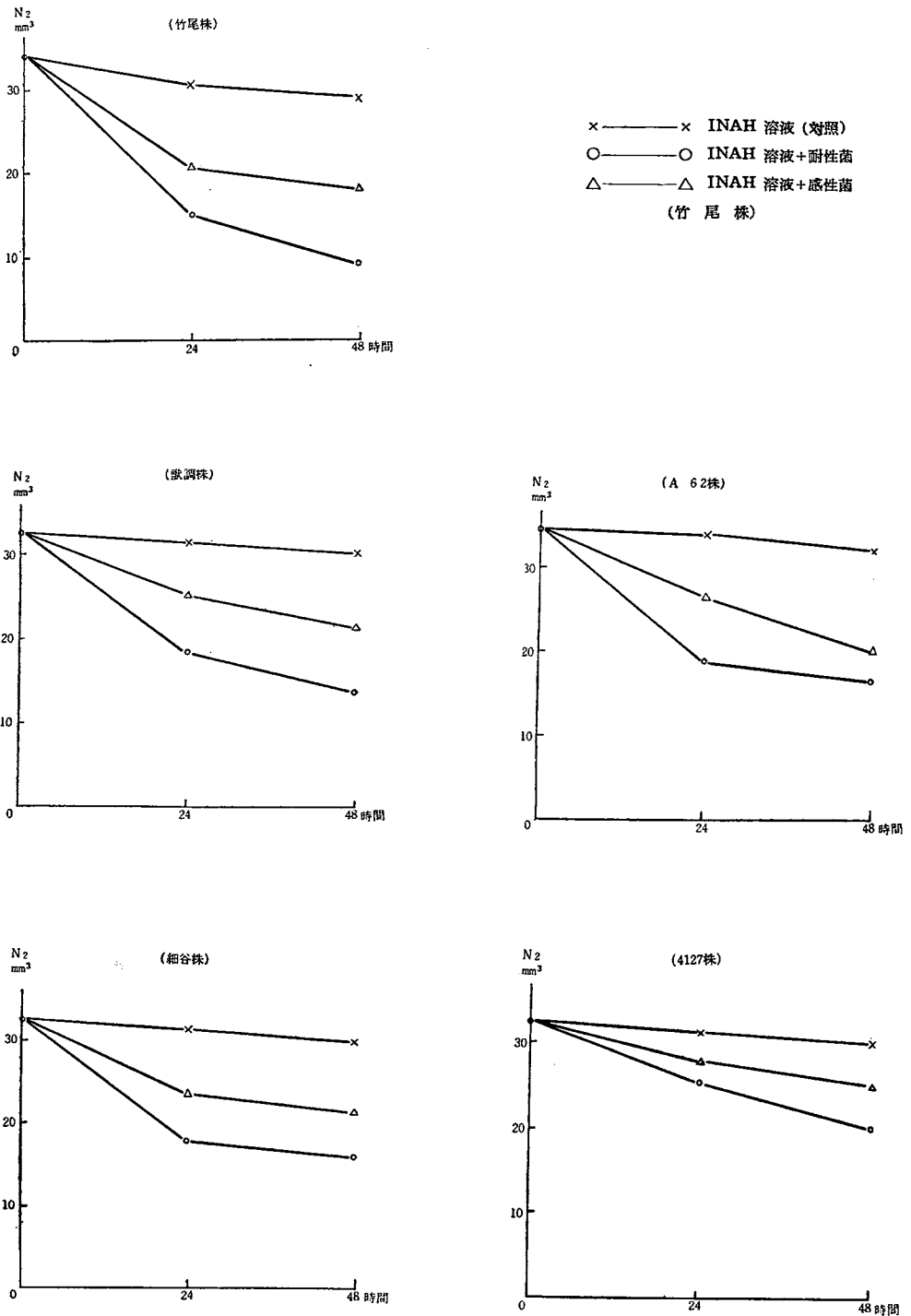
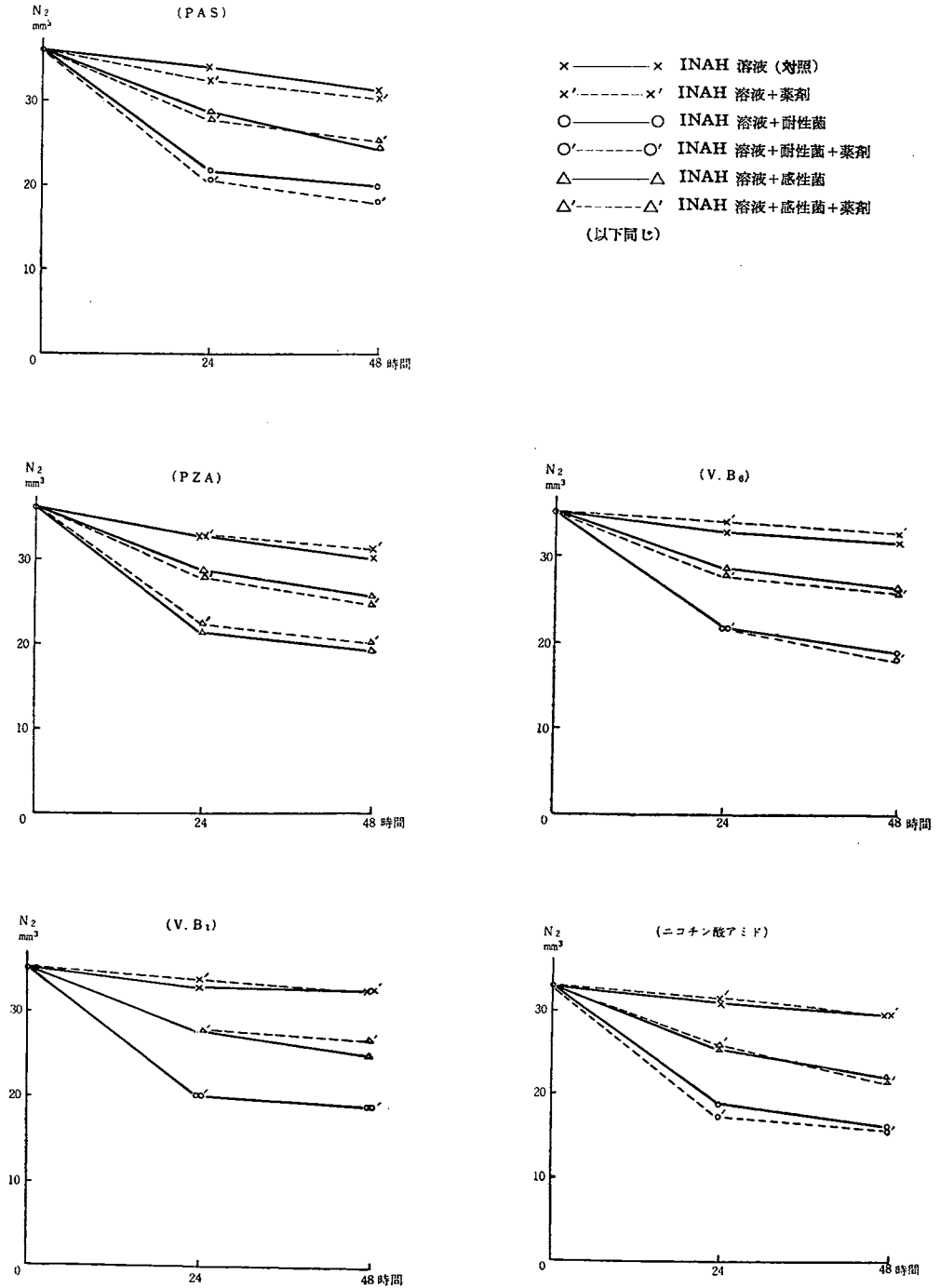
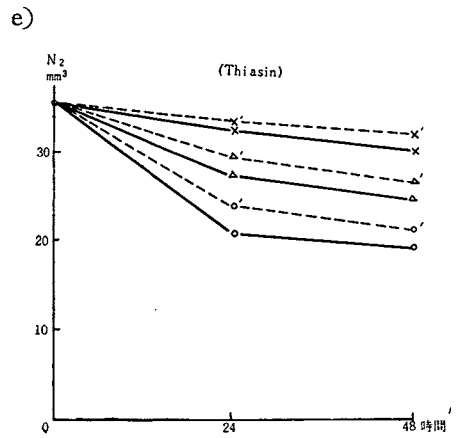
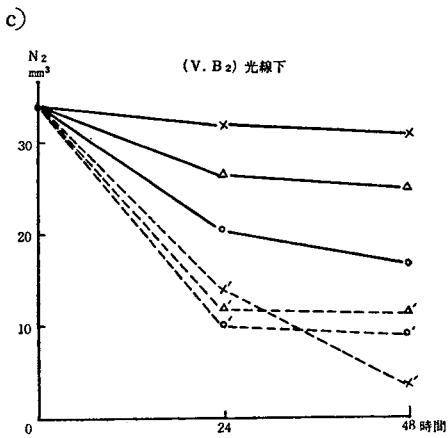
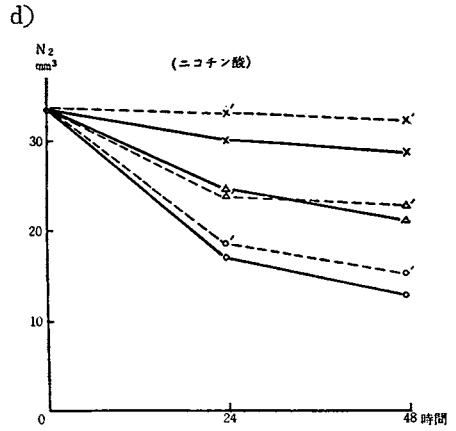
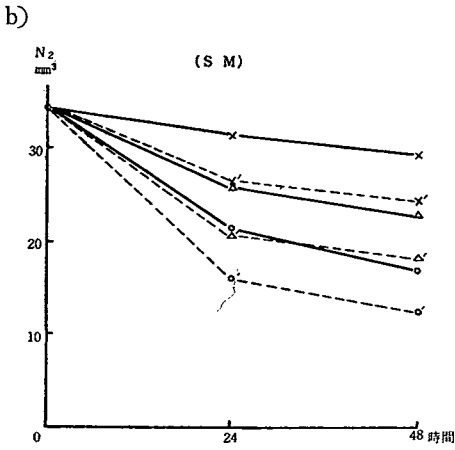
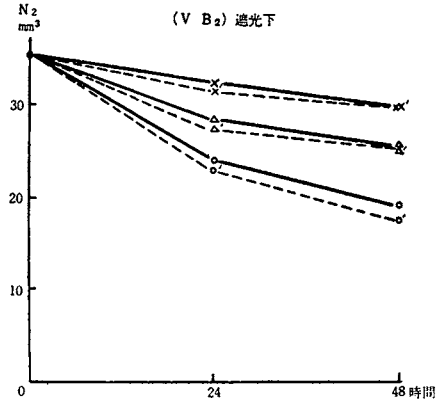
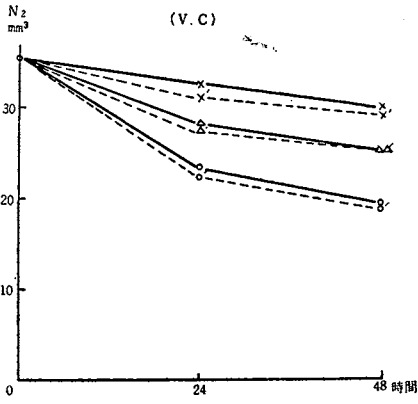


図 2 菌の INAH 分解におよぼす薬剤の影響

a)





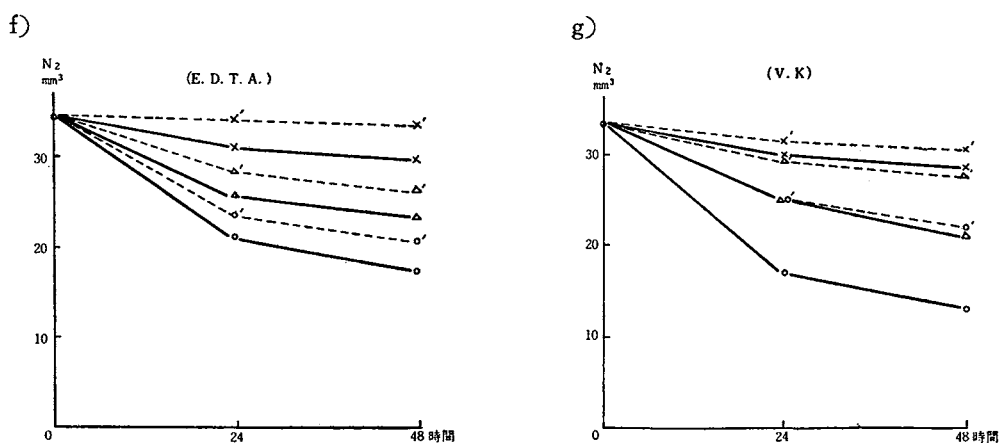


表 1 INAH 溶液に INAH 耐性菌を添加した場合の生物学的活性の変化 (48時間後)

試料 \ 試料の希釈倍数	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	対照	FeAZM N <sub>2</sub> mm <sup>3</sup>
*対照	—	—	—	—	±	++	++	33.0
INAH	—	—	—	—	+	++	++	27.2
INAH+ INAH 耐性菌	—	—	±	+	++	++	++	10.3

血清加 Kirchner 培地 4.0ml + 試料 1.0ml (トリ型菌竹尾株 0.1mg接種)

対照：100γ/ml INAH 溶液を作製後直ちに培地に加えた。従つて試料希釈倍数が 1:1 の所の培地 INAH 濃度は 20γ/ml である。

INAH：100γ/ml INAH 溶液 37°C, 48時間放置。

INAH+INAH 耐性菌：100γ/ml INAH 溶液に INAH 耐性菌を添加 37°C, 48時間放置 (表 2 もこれに準ずる)

表 2 INAH 溶液に V. B<sub>2</sub> を添加した場合の生物学的活性の変化

試料 \ 試料の希釈倍数	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	対照	FeAZM N <sub>2</sub> mm <sup>3</sup>
*対照	—	—	—	—	±	++	++	33.0
INAH	—	—	—	—	+	++	++	27.2
INAH+V.B <sub>2</sub>	—	±	++	++	++	++	++	4.5
INAH+V.B <sub>2</sub> + INAH耐性菌	—	+	+	++	++	++	++	11.9