

植物生長素及びナフトキノ ン誘導體の 結核菌發育に及ぼす影響

九州大學醫學部細菌學教室

戸 田 忠 雄 阿 武 壽 人

結核の化學療法はストレプトマイシンの出現により、飛躍的進歩をしたが未だ理想には程遠い。化學療法劑を見つけようとする場合に卓効ある物質だけを探し求め、他は顧みないのも一つの行き方であるが、先人の使いもらした、しかも化學構造の類似した物質を系統的に調べて化學構造と作用との關係を明らかにし、より有効な物質をみつける手がかりとする事も無意義ではあるまい。

試験方法には *in vivo*, *in vitro* の別があり、化學療法劑を探するには *in vivo* がよく、結核菌の代謝に及ぼす影響をみるには *in vitro* の方が都合がよい。Slide cell culture (SCC と略記) はその結果が *in vivo* の成績に平行する事が多いといわれ、しかも試料が微量でたり、結果が早くわかる利點がある。

筆者等は東大藪田農化教室より植物生長素を、科研黒田チカ博士よりナフトキノ ン誘導體を分與され主として SCC により、一部の物質はソートン培地に 加えて結核菌の發育に及ぼす影響をしらべてみたので、その結果をここに發表する。貴重な試料を與えられた方々には本紙上で厚く御禮申上げる。

實 験 方 法

1) 被檢溶液 所要量を化學天秤で正確に秤量します。1%溶液を作りこれを原液とし、順次10倍ずつ稀釋してゆく。溶媒はいろいろで植物生長素の中酸の形の物は水に難溶であるので夫々當量の重曹を加え Na 鹽の溶液とする。始めから鹽の形で水に易溶なものは蒸溜水にとかしたが不溶なものは無水酒精を使つた。ナフトキノ ン誘導體はアルカリにとけやすいので 0.2%の割合に無水炭酸重曹を加えた生理的食鹽水を溶媒とした。不安定

な物質が多いので SCC の場合には滅菌は 60°C 30分 1 回に止めた。ソートン培養の場合は止むを得ず正規の間歇滅菌をした。

2) SCC 法 被檢液 0.05cc, 菌液 0.05cc を血液 0.4cc に混合培養した。菌は人型結核菌 F 株、血液はツベルクリン反應陽性健康成人の、できるだけ同一人のものを用いた。菌液の作り方、使用器具、培養操作、標本作製法等當教室の慣用法に準じたから⁽¹⁾、詳細は省略する。判定は次の規準に従つた。

陰 性—菌體個々に散在し集落なし
弱 陽 性—菌體 2~4 個が集落をつくる
輕度陽性—菌體 5~10個が集落をつくる
中等度陽性—菌體 11~30個が集落をつくる
強度陽性—菌體 31~50個が集落をつくる
最強度陽性—菌體 51個以上が集落をつくる
なお同一條件の標本を 6 枚作り 5 日間培養後 4 枚、8 日間培養後 2 枚とりだして觀察した。

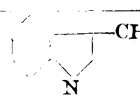
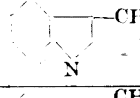
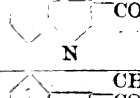
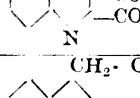
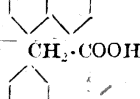
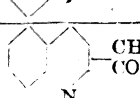
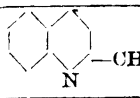
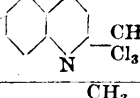
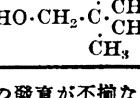
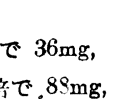
3) ソートン培養 水を 1 割少々したソートン培地を作り培地 9 に對し被檢液 1 の割合に混合する。菌はやはり人型 F 株のソートン培地に累代したものを使用する。培養には 50cc の三角フラスコを使いこの中に培地 20cc を入れる。3~4 週間培養してよく發育した菌膜を直径 5mm の渦卷白金耳でできるだけ等しい大きさにとる。フラスコは左から右に濃度がしだいにうすくなるように順次ならべ、菌を移植する際もこれに従つて横に植えてゆき移植菌膜の差による影響をできるだけ小さくするように努めた。3~4 週間たつて對照が充分發育した時にとりだして加熱滅菌、菌體を濾紙上にとり一旦乾燥後化學天秤で秤量しその重量によつて發育の度合を比較した。

實驗成績

1) 植物生長素 10 種類について SCC を行い第 1 表に示す成績を得た。

2) ソートン培養を行つたのは 4 種類であるがバントテン酸カルシウム及びβアラニンの成績を第 2 表第 3 表に示す。αカルボキシβインドール酪酸は 3 週間培養後の菌收量(フラスコ 8 個の平

第 1 表 植物生長素の SCC 成績(上段 5 日、下段 8 日間培養)

名 稱	構 造 式	稀 釋 倍 數						對照
		10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	
β インドール酪酸加里 (ヘテロキシ)		+	+	+	+	/	/	+
β インドールプロピオン酸		-	+	+	+	/	/	+
β インドール酪酸		+	+	+	+	/	/	+
α カルボキシβ インドール酪酸		+	+	+	+	/	/	+
α ナフタリン酪酸		+	+	+	+	+	+	+
フェニール酪酸		+	+	+	+	/	/	+
py キノリールαオキシ プロピオン酸曹達		+	+	+	+	/	/	+
キノリールアクリル酸		+	+	+	+	/	/	+
p7-1(ωトリクロールαオキシ) プロピールキノリン		+	+	+	+	/	/	+
バントテン酸		+	+	+	+	/	/	+

對照の發育が不揃なのは孵卵器停電のため

均値)が 10³ 倍稀釋で 15mg, 10⁴ 倍で 36mg, 10⁵ 倍で 84mg, 10⁶ 倍で 93mg, 10⁷ 倍で 88mg, 對照 91mg で 10⁴ 倍迄阻止作用がみられる。py キノリール α オキシプロピオン酸曹達は 4 週間培養後の菌收量(フラスコ 7 個の平均値)が 10³ 倍稀釋で 13mg, 10⁴ 倍で 107mg, 10⁵ 倍で 125mg,

對照 106mg で 10³ 倍迄しか阻止作用がない。

3) ナフトキノ誘導體 14 種類について SCC を行つたがその成績は第 4 表に示す通り。

總括と結論

1) 植物生長素 SCC で阻止作用を示したの

第2表 パントテン酸 ソートン培養(4週間)

稀 釋 倍 數	フ ラ ス コ 番 號								平均
	1	2	3	4	5	6	7	8	
10 ³	45	47	47	40	/	/	/	/	45
10 ⁴	91	102	121	120	99	92	103	83	101
10 ⁵	83	89	93	102	77	106	100	65	89
10 ⁶	63	69	96	98	79	64	71	39	72
10 ⁷	68	57	86	95	83	雜	85	73	78
對 照	48	51	78	93	55	72	59	67	65

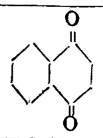
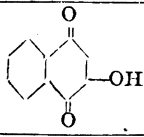
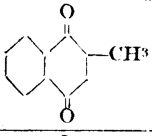
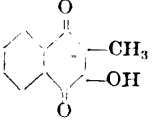
單位 mg. 「雜」は 雜 菌 迷 入

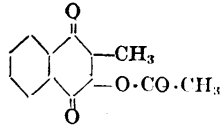
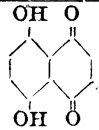
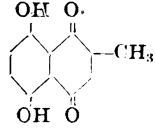
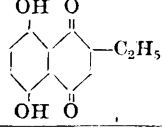
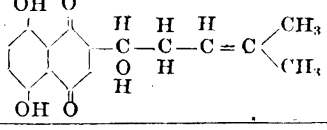
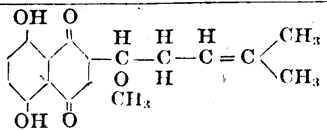
第3表 βアラニン ソートン培養(4週間)

稀釋倍數	フ ラ ス コ 番 號									平均
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
10 ³	136	122	142	137	143	/	/	/	/	136
10 ⁴	138	134	129	139	139	124	沈	155	144	138
10 ⁵	135	139	138	142	141	116	124	138	129	134
對 照	144	132	145	147	151	114	109	140	145	136

單位 mg. 「沈」は 菌 膜 沈 下

第4表、ナフトキノン誘導體 SCC 成績(上段5日、下段8日間培養)

名 稱	構 造 式	稀 釋 倍 數		對 照
		10 ³	10 ⁴	
ナフトキノン		+	+	+
		卍	卍	卍
ロウソニン		±	+	+
		卍	卍	卍
ビタミン K ₃		+	+	+
		卍	卍	卍
フチオコール		±	+	+
		+	卍	卍

アセチルフチオコール		±	+	+
		+	+	+
ナフタザリン		+	+	+
		+	+	+
メチルナフタザリン		+	+	+
		+	+	+
エチルナフタザリン		+	+	+
		+	+	+
シコニン		+	+	+
		+	+	+
アルカンニン	シコニンの異性体	+	+	+
		+	+	+
メチルシコニン		+	+	+
		+	+	+
スピノクロール(3種共)	未 決 定	+	+	+
		+	+	+

は4種で最も阻止力の強いのがβ インドールプロピオン酸、次がα ナフタリン醋酸、次はαカルボキシβ インドール醋酸とフェニール醋酸である。5日目では阻止作用がみられても8日目にはこれが認められなくなる場合があるから少しでも作用のある物質をみのがさないためには菌数が少く算定の容易な5日目の判定が適当であると思う。SOCの場合に促進作用を示すものはない。SOCとソートン培養の両方を行った3物質についてみるとソートン培養の方が添加物質の影響が鋭敏にあらわれる。岩前⁽²⁾はヘテロキシンをロング

培地に加え阻止作用をみているが1/1,000M~10/1,000 Mという高濃度であつたためであらう。

従来ベンゼン核、インドール核を含む物質は結核菌の發育を阻止するといわれているが、同じインドール核をもつ物質の中プロピオン酸だけに阻止作用がみられ醋酸酪酸は無効だがα位にカルボキシル基が入ると酪酸も阻止作用をあらわす。又側鎖に同じ醋酸基をもつ3物質の中でαナフタリン醋酸だけが阻止作用を示している。

Peterson⁽³⁾はバントテン酸は結核菌の發育と無関係としているが、ソートン培地に加えた場合に

10³ 倍では發育を著明に阻止、10⁴倍 10⁵倍 では著明に促進した。βアラニン⁴はバントテン酸の構成成分であるので、試みたのであるが、全然無影響であり結核菌はβアラニンからバントテン酸を合成する能力をもたないと思われる。

2) ナフトキノ⁵ン誘導體 14 種についての成績は第4表の通りであるが、この中フチオコ⁶ールは結核菌の菌體成分であつて非常に低い酸化還元電位をもち、⁽⁴⁾結核菌の酸化還元⁷に何等かの役割を果しているだろうと想像されている。スピノクロームは「うに」の棘より抽出された物質で、むらさきうにから得たもの1種、ばふう⁸うにから得たもの2種合計3種類あり、その構造式は未決定であるがナフトキノ⁵ン核をもつ事はわかつてい⁹る。この中で阻止作用を示したのは5種類、阻止力の最も強いのがフチオコ⁶ール、次がロウソ¹⁰ン、アセチル¹¹フチオコ⁶ール、次がナフトキノ⁵ン、ビタ¹²ミン¹³K₃である。フチオコ⁶ールについてはすでに外山⁽⁵⁾の報告があり高濃度で阻止、低濃度で促進するというが筆者等は低濃度はしらべてみなかつた。構造式をみると5.8位にOH基の入つたナフトザ¹⁴リン系物質は無効で狭義のナフトキノ⁵ン系物質だけが有効であつた。なお3位にOH基の入つたものが阻止力強く2位のCH₃基は大して影響が

ないように見える。Ball⁽⁴⁾によれば酸化還元電位E₀はフチオコ⁶ール 0,2937、ロウソ¹⁰ン 0,352、ユグロン(8ヒドロキシ1,4ナフトキノ⁵ン) 0,435でナフトザ¹⁴リンのE₀は當然ユグロンより大であるから、この成績もE₀の低い物ほど結核阻止力を示すという佐藤⁽⁶⁾、柳澤等⁽⁷⁾の説に一致するものである。

バントテン酸のように高濃度では阻止するが低濃度では逆に促進作用を示すものがあり、これらの中にも低濃度で促進性をあらわす物質の存在も考えられるのであるが此の度は單に阻止作用をみるに止めた。

文 献

- 1) 戸田忠雄：結核菌ト B.C.G 144頁，昭19，南山堂
- 2) 岩前五六：結核．15，517，昭12．
- 3) Peterson, W. H. & Peterson, M. S.: 醫學のあゆみ 2, 377, 昭21.
- 4) Ball, E. G.: J. biol. Chem. 101, 773, 1933; 103, 191, 1933.
- 5) 外山重高：結核．16，1077，昭13．
- 6) 佐藤秀三、安藤啓三郎、田中計徳，實驗醫學雜誌 19, 618, 昭10.
- 7) 柳澤 謙、須賀井忠男；結核．16，617，昭13．