

試験管内におけるリビドマイシンの抗結核作用に関する研究

宝来善次・清水賢一・山本公弘
 藤沢義範・山下和雄・竹永昭雄
 間瀬忠・増谷隆之

奈良県立医科大学第2内科

受付 昭和46年5月25日

STUDIES ON ANTITUBERCULOUS ACTIVITY OF
 LIVIDOMYCIN IN VITRO*

Zenji HORAI, Kenichi SHIMIZU, Kimihiro YAMAMOTO, Yoshinori FUJISAWA,
 Kazuo YAMASHITA, Akio TAKENAGA, Tadashi MASE
 and Takayuki MASUTANI

(Received for publication May 25, 1971)

Lividomycin has been produced by the Institute of the Kowa Company. The results of basic research of Lividomycin are already reported by the Kowa Company. Antituberculous activity of Lividomycin in vitro has been investigated using Kirchner's half liquid media and 1% Ogawa media in our laboratory.

Bacteriostatic activity against H₃₇Rv-S strain was observed in 0.5 mcg/ml concentration of Kirchner's half liquid media and 25.0 mcg/ml of 1% Ogawa media. The growth of H₃₇Rv-R-SM strain was inhibited under the same concentration of each media as in the case of H₃₇Rv-S strain. Bacteriostatic activity against H₃₇Rv-R-KM and H₃₇Rv-R-VM strain, however, was reduced in each media. Bacteriostatic activity against wild strains was observed in each media similar to the preserved strains.

Lividomycin seems to have cross resistance with Kanamycin, but further studies must be made as a new antituberculous drug.

実験目的

リビドマイシン (LVM) は興和株式会社東京研究所において研究開発された新抗生物質で、名古屋市の土壌から分離された *Streptomyces Lividus* n-sp ATCC 21178 によつて生産されるものである。その基礎的研究の結果はすでに明らかにされている¹⁾。臨床への応用のための各種実験が各方面で展開されるようになった。われわれは結核菌に対する LVM の試験管内抗結核作用を各種の結核菌株を用い、キルヒナー半流動培地および1%小川

培地によつて検討した。

実験方法

1. 使用菌株

実験に供した結核菌株としては、保存菌株は H₃₇Rv-S, H₃₇Rv-R-SM, H₃₇Rv-R-KM, H₃₇Rv-R-VM の4株であり、患者分離株は薬剤感受性の A, B, C, D, E の5株と SM 100 mcg 完全耐性 (KM 未耐性), INH 10 mcg 完全耐性 (KM 未耐性), KM 10 mcg 完全耐性+SM 10 mcg 完全耐性+INH 10 mcg 完全耐性, VM 100 mcg

* From the 2nd Department of Internal Medicine, Nara Medical University, 840, Shijo-cho, Kashiwara city, Nara Pref. 634 Japan.

Table 1. Growth of Preserved Strain in Kirchner's Half Liquid Media

Preserved strain	Concentration of added lividomycin (mcg)						
	0	0.5	1.0	2.5	5.0	10	25
H ₉₇ Rv-S	+ +	- -	- -	- -	- -	- -	- -
H ₉₇ Rv-R-SM	+ +	- -	- -	- -	- -	- -	- -
H ₉₇ Rv-R-KM	+ +	+ +	51 40	- -	- -	- -	- -
H ₉₇ Rv-R-VM	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +

Remarks

Colony of growth: -; no colony, number; to 99 colonies, +; from 100 to 199 colonies, ++; over 200 colonies

Table 2. Growth of Drug Sensitive Wild Strain in Kirchner's Half Liquid Media

Drug sensitive wild strain	Concentration of added lividomycin (mcg)						
	0	0.5	1.0	2.5	5.0	10	25
Strain A	+ +	+ +	+ +	- -	- -	- -	- -
Strain B	++ ++	+ +	- -	- -	- -	- -	- -
Strain C	++ ++	+ +	- -	- -	- -	- -	- -
Strain D	++ ++	- -	- -	- -	- -	- -	- -
Strain E	++ ++	- -	- -	- -	- -	- -	- -

Remarks

Colony of growth: -; no colony, number; to 99 colonies, +; from 100 to 199 colonies, ++; over 200 colonies

Table 3. Growth of Drug Resistant Wild Strain in Kirchner's Half Liquid Media

Drug resistant wild strain	Concentration of added lividomycin (mcg)						
	0	0.5	1.0	2.5	5.0	10	25
SM 100 mcg	+ +	- -	- -	- -	- -	- -	- -
INH 10 mcg	++ ++	- -	- -	- -	- -	- -	- -
KM 10-SM 100-INH 10 mcg	++ ++	+ +	+ +	30 20	10 5	- -	- -
VM 100 mcg	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +

Remarks

Colony of growth: -; no colony, number; to 99 colonies, +; from 100 to 199 colonies, ++; over 200 colonies

完全耐性の4株である。

2. 使用培地

一般に用いているキルヒナー半流動培地および1%小川培地が使用された。

3. 菌接種ならびに観察方法

キルヒナー半流動培地ならびに1%小川培地のいずれにおいても、使用菌株は1%小川培地において増菌され、各菌種の10⁻⁶ mg 0.1 ml (約100~200コ)を接種し、キルヒナー半流動培地においては28日間、1%小川培地においては40日間培養して集落数を観察した。それぞれの培地におけるLVMの添加濃度をもつて抗菌力の指示濃度とした。

実験成績

A. キルヒナー半流動培地のLVM各濃度における各菌株の菌増殖状態

1. 保存菌株の菌増殖

その菌増殖の状態はTable 1にみられるとおりである。

H₉₇Rv-SおよびH₉₇Rv-R-SM株は0.5 mcgで菌増殖阻止がみられた。H₉₇Rv-R-KM株は1.0 mcgで菌増殖がみられ、2.5 mcgで菌増殖阻止がみられた。ところがH₉₇Rv-R-VM株は25 mcgの濃度においても菌増殖がみられている。

2. 患者分離薬剤感受性株の菌増殖

その菌増殖の状態はTable 2にみられるとおりである。

A株は2.5 mcgで菌増殖阻止がみられたが、B, C株

Table 4. Growth of Preserved Strain on 1% Ogawa Media

Preserved strain	Concentration of added lividomycin (mcg)						
	0	2.5	5.0	10	25	50	100
H ₉₇ Rv-S	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	— —	— —	— —
H ₉₇ Rv-R-SM	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	62 75	— —	— —
H ₉₇ Rv-R-KM	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +
H ₉₇ Rv-R-VM	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++

Remarks

Colony of growth: —; no colony, number; to 99 colonies, +; from 100 to 199 colonies, ++; over 200 colonies

Table 5. Growth of Drug Sensitive Wild Strain on 1% Ogawa Media

Drug sensitive wild strain	Concentration of added lividomycin (mcg)						
	0	2.5	5.0	10	25	50	100
Strain A	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	— —	— —
Strain B	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	— —	— —
Strain C	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	— —	— —
Strain D	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	+ +	— —
Strain E	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	— —

Remarks

Colony of growth: —; no colony, number; to 99 colonies, +; from 100 to 199 colonies, ++; over 200 colonies

Table 6. Growth of Drug Resistant Wild Strain on 1% Ogawa Media

Drug resistant wild strain	Concentration of added lividomycin (mcg)						
	0	2.5	5.0	10	25	50	100
SM 100 mcg	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	— —
INH 10 mcg	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	— —	— —
KM 10·SM 100·INH 10 mcg	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++
VM 100 mcg	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++

Remarks

Colony of growth: —; no colony, number; to 99 colonies, +; from 100 to 199 colonies, ++; over 200 colonies

は 1.0 mcg で菌増殖阻止があり, D, E 株は 0.5 mcg で菌増殖阻止がみられた。A 株では LVM に対する感受性低下を思わせる結果となつている。

3. 患者分離薬剤耐性株の菌増殖

その菌増殖の状態は Table 3 にみられるとおりである。

SM 100 mcg 耐性株, INH 10 mcg 耐性株は 0.5 mcg で菌増殖阻止がみられた。KM 10 mcg·SM 100 mcg·INH 10 mcg 耐性株は 10 mcg で菌増殖阻止がみられたが, VM 100 mcg 耐性株では 25 mcg の濃度でも菌増殖阻止がみられなかつた。

B. 1% 小川培地の LVM 各濃度における各菌株の菌増殖状態

1. 保存菌株の菌増殖

その菌増殖の状態は Table 4 にみられるとおりである。

H₉₇Rv-S 株は 25 mcg, H₉₇Rv-R-SM 株は 50 mcg で菌増殖阻止がみられた。H₉₇Rv-R-KM 株は 100 mcg でも不完全増殖がみられ, H₉₇Rv-R-VM 株は 100 mcg で完全増殖がみられ, いずれも菌増殖阻止はみられなかつた。

2. 患者分離薬剤感受性株の菌増殖

その菌増殖の状態は Table 5 にみられるとおりである。

A, B, C 株は 50 mcg で菌増殖阻止がみられたが, D, E 株は 100 mcg で菌増殖阻止がみられている。A 株はキルヒナー半流動培地では感受性低下を思わせるが, 1% 小川培地では菌増殖阻止は十分みられている。

3. 患者分離薬剤耐性株の菌増殖

その菌増殖の状態は Table 6 にみられるとおりである。

SM 100 mcg 耐性株は 50 mcg で不完全増殖, 100 mcg では増殖阻止がみられ, INH 10 mcg 耐性株は 50 mcg で増殖阻止がみられた。KM 10 mcg・SM 100 mcg・INH 10 mcg 耐性株および VM 100 mcg 耐性株は 100 mcg でも増殖阻止がみられなかつた。

考 案

新抗生物質リビドマイシンが各方面の研究施設において、結核に対して試験管内実験および動物実験が行なわれるようになった。われわれはキルヒナー半流動培地ならびに 1% 小川培地を用いて各結核菌株に対する LVM の試験管内抗結核作用を検討した。保存菌株 H₃₇Rv-S 株に対しては、キルヒナー半流動培地では 0.5 mcg, 1% 小川培地では 25 mcg で菌増殖阻止がみられている。また、H₃₇Rv-R-SM 株に同様の傾向がみられ、SM とは交叉耐性なしと判定できる。ところが保存菌株 H₃₇Rv-R-KM 株および H₃₇Rv-R-VM 株に対しては両培地において明らかに感受性低下が認められ、とくに VM 耐性株に顕著であり、KM, VM とは交叉耐性ありと考えられる。

患者分離薬剤感受性株に対しては H₃₇Rv-S 株に対すると同様の傾向が認められた。また、SM 耐性株、INH 耐性株に対しても感受性株に対すると同様の傾向があり、SM, INH とは交叉耐性なしと考えられる。しかし、

KM 耐性株および VM 耐性株に対しては感受性低下が明らかで、KM, VM とは交叉耐性ありと考えられる。堂野前ら²⁾も KM, VM と交叉耐性ある成績を報告している。岡ら³⁾は KM との交叉耐性を認めているが VM とは交叉耐性なしと述べている。

LVM はその基礎的研究の成績から KM, VM とその作用のうえから類似点のあることが報告されている。われわれの試験管内抗結核作用を検討した結果によると KM, VM とは交叉耐性を示すようである。しかし、薬剤未耐性菌株、SM 耐性株、INH 耐性株に対してはキルヒナー半流動培地では低濃度において抗菌作用を示し、1% 小川培地では卵黄との結合により力価の低下が認められるようであるが、25~50 mcg で菌増殖阻止が認められている。

以上からリビドマイシンは新しい抗結核薬として今後諸種の研究の展開に期待されるものである。

本研究にさいし興和株式会社からリビドマイシンの分与を受けたことを感謝する。

文 献

- 1) 興和株式会社: Lividomycin の研究, 昭 45. 6.
- 2) 堂野前維摩郷 他: Lividomycin の抗結核作用に関する研究, 日本結核化学療法研究会総会, 昭 45. 6.
- 3) 岡捨己 他: ツベラクチノマイシン-N, リビドマイシンの抗結核作用, 第 46 回日本結核病学会総会, 昭 46. 4.