

原 著

Tuberactinomycins の実験的抗結核性について

小 関 勇 一・岡 本 茂 広・室 橋 豊 穂

国立予防衛生研究所結核部

受付 昭和 48 年 1 月 25 日

ANTITUBERCULOUS ACTIVITIES OF THE TUBERACTINOMYCINS
IN VITRO AND IN EXPERIMENTAL ANIMALS*

Yuichi KOSEKI, Shigehiro OKAMOTO, and Toyoho MUROHASHI

(Received for Publication January 25, 1973)

Tuberactinomycin, TUM, is a collective name for a group of peptide antibiotics among which TUMs A, B, N and O may be distinguished. In 1968 Nagata et al. reported the antituberculous antibiotic tuberactin¹⁾ produced from a strain, B-386, of *Streptomyces griseoverticillatus var. tuberacticus*, which was later renamed TUM²⁾ and finally found to be a mixture of two components A and B; the latter identified as viomycin.⁴⁾ A mutant of the strain, designated N-130, produced TUMs N and O.^{3) 4)}

The present paper describes an attempt designed to compare the in vitro and in vivo activities of these components and also reports cross-resistance studies in vitro.

In vitro observations: The results are recorded in Tables 1 and 2. It may be noted that each of the TUMs inhibited the growth of the H37Rv drug-susceptible strain in a concentration of 4 or 8 mcg per ml in Kirchner's semi-liquid medium with 10 per cent horse serum, and of 25 mcg per ml in Ogawa's egg medium. Cross-resistance studies were performed utilizing 22 drug-resistant H37Rv strains. The strains resistant to SM, KM, PAS, INH, CS, EB, ETH, and RFP were all sensitive to the TUMs (TUM-A, Me-TUM-A, and TUM-N), whereas the VM- and CPM-resistant strains were resistant to the TUMs. On the other hand, the strains resistant to TUMs were all susceptible to SM, PAS, INH, CS, EB, ETH, and RFP, but not to VM and CPM. The slightly TUM-resistant strains (nos. 22 and 24 in Table 2-b) were sensitive to KM, whereas the highly TUM-resistant strains (nos. 21 and 23) were resistant to KM. In brief, among the strains resistant to TUMs, VM, and CPM complete reciprocal cross-resistance was observed, while incomplete non-reciprocal cross-resistance was found between the strains resistant to TUMs and KM.

In vivo observations: Male mice, weighing about 20 g, were inoculated intravenously with a suspension of the drug-susceptible H37Rv strain in a dose of either 1 mg or 0.001 mg bacilli per mouse. The animals heavily inoculated were divided into 9 groups of 10 animals each, and therapy was begun on the first day after inoculation and continued for 21 days. All survivors were killed on the fiftieth day. The results were evaluated on the basis of mean survival time (Table 3). The animals with the small dose were treated for

* From the Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Shinagawa-ku, Tokyo 141, Japan.

only two weeks and sacrificed on the fifteenth day after inoculation. In this case viable bacterial units in the lungs and spleen were used for evaluating the results (Table 4). From the data in these tables it may be seen that TUM-N as well as TUM-A (2 mg per day each) was as effective as viomycin (2 mg per day) against H37Rv strain in experimental mouse tuberculosis.

1968年、永田ら¹⁾により発見された、新抗結核抗生物質ツペラクチン (Tuberactin, TU) は、その後ツペラクチノマイシン (Tuberactinomycin, TUM) と改名²⁾され、またその生産菌 B-386 (*Streptomyces griseoverticillatus* var. *tuberacticus*) の培養濾液からは、TUM の major 成分である Tuberactinomycin-A (TUM-A, T₁) と minor 成分 (TUM-B, T₄) が、また B-386 の変異菌 N6-130 株の培養濾液からは、major 成分である Tuberactinomycin-N (TUM-N, T₅) と minor 成分 (TUM-O, T₆) が分離・精製され、さらにそれぞれの化学構造も決定されるに至つた^{3,4)}。

これら一連の研究開発の過程で、われわれは各種精製段階の Tuberactinomycins (TUMs) を入手する機会を得、その抗結核性を検討し、2, 3の成績をすでに学会に報告^{5,6)}してきた。今回は、後期の実験で得た成績を要約して記録報告する次第である。

材料および方法

1. 試験管内発育阻止試験

a. 薬剤：TUMs として、TUM, TUM-A, TUM-B, TUM-N, TUM-O のほか、TUM-A をメチル化した Methyl-tuberactinomycin-A (Me-TUM-A, T₃) の各塩酸塩を、また対照薬剤として抗結核薬 10 剤 (表 2-a および 2-b 参照) を使用した。

b. 培地：主として 10% 馬血清加 Kirchner 半流動培地 (中試験管に 5 ml ずつ分注) を用い、一部の試験管には 1% 小川培地も使用した。被検薬剤の添加終末濃度 (いずれも力価単位による) として、半流動培地の場合は、1,024 mcg/ml (あるいは 8,192 mcg/ml) を最高濃度とする 2 倍希釈系列を用いた。

c. 菌株：人型結核菌 H 37 Rv 株および試験管内で各種抗結核薬にそれぞれ接触させて分離した H 37 Rv 薬剤耐性菌 22 株 (表 2-a および 2-b 参照) を用いた。このうち PAS 耐性菌 (No. 6 株) と VM 高耐性菌 (No. 10 株) は米国の Trudeau 研究室 (Dr. Steenken, W., Jr.) 由来である。

d. 接種菌：Dubos-Tween-albumin 培地で 8~9 日培養した培養菌液を、滅菌精製水を加えて 1 mg/ml 濃度に濁度を調整したのち、100 倍希釈液をつくりその 0.1 ml (10⁻³ mg 菌量) を接種に用いた。

e. 判定：37°C に 3 週間培養したのち、集落の発育

状況を肉眼的に観察するとともに、各薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) を記録した。「耐性」の定義は、「被検菌株に対するある薬剤の MIC を、感性親株に対する同剤の MIC で割つた値 (耐性度) が、4 ないしそれ以上である場合、被検菌株はその薬剤に耐性である」とした。また便宜上その値が 1 桁であれば低耐性、2 桁を中等度耐性、3 桁ないしそれ以上であれば高耐性とした。

2. マウス実験結核に対する薬剤投与試験

薬剤投与効果を、延命効果 (実験 I) および臓器内菌増殖に対する抑制効果 (実験 II) で評価しようと試みた。

a. マウス：ddY 系の雄マウス (体重 20 g 前後) を用い、各群 10 匹ずつとした。

b. 感染：H 37 Rv 株のソートン培地第 2 代 15 日培養菌から手振り法によつて 5 mg/ml 菌液をつくり、実験 I ではその 0.2 ml (1 mg 菌量) ずつを、実験 II ではその 1,000 倍希釈液の 0.2 ml (0.001 mg 菌量) ずつを、いずれも尾静脈より接種した。

c. 薬剤投与：TUM-A, Me-TUM-A, TUM-N, および Viomycin (VM) の各薬剤を、1 日 1 匹当たりそれぞれ 2 mg および 0.5 mg を投与量として用いた。感染翌日から、実験 I では 3 週間、実験 II では 2 週間、連日の皮下注射によつて投与した。

d. 剖検：実験 I では治療終了後も引続き観察を続け、感染後 50 日で実験を打ち切つた。この間、斃死したマウスは剖検により結核死であることを確かめた。各群の平均生存日数を算出し、非治療対照群の値と比較した。実験 II では、治療終了の翌日、すなわち感染 15 日後に全動物を屠殺・剖検し、摘出した肺および脾をそれぞれ秤量の上、定量培養法によつて 1% 小川培地に接種した。その培養成績から、各臓器中に含まれる平均生菌単位数を計算し、非治療対照群の値と比較した。なお、治療開始直前の臓器内生菌数を推定するため対照群をもう 1 群おき、感染翌日に屠殺し同様に肺・脾の定量培養を行つた。

成績

1. TUMs の薬剤感性結核菌 H 37 Rv 株に対する試験管内発育阻止力

Kirchner 半流動培地および 1% 小川培地における TUMs 5 剤ならびに対照薬剤 VM, CPM, KM の発育阻止成績を、表 1 に示した。表にみるごとく、小川培地

Table 1. Growth Inhibitory Effect of Tuberactinomycins, Viomycin, Capreomycin, and Kanamycin on H37Rv Strain of *M. tuberculosis*

Medium	Drug conc. (mcg/ml)	Tuberactinomycins					VM	CPM	KM
		TUM-A	Methyl-TUM-A	TUM-B	TUM-N	TUM-O			
Kirchner's semi-liquid medium with 10% horse serum	32	—	—	ne	—	ne	ne	ne	ne
	16	—	—	—	—	—	ne	ne	ne
	8	—	—	—	—	—	—	ne	ne
	4	+++	+++	—	0.5	—	—	—	—
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
	1	ne	ne	ne	ne	ne	+++	+++	—
	0.5	ne	ne	ne	ne	ne	ne	+++	++
Ogawa's 1% egg medium	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	50	—	—	—	—	—	—	—	—
	25	—	—	—	—	—	—	—	0.5
	10	+++	+++	++	+	+	++	+	++
	5	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	ne
	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

i) Inoculum size : 10^{-3} mg (17×10^3 V.U.).

ii) Incubation time : 21 days at 37 C.

iii) Growth (number of colonies) : +, confluent; ++, innumerable but distinct; + or figures, less than 200; —, no growth. ne = not examined.

では、各薬剤の H37Rv に対する MIC はいずれも 25 mcg/ml と等しく、抗菌力に差をほとんど認めなかつた。これに対し、Kirchner 半流動培地では、TUM-A, Me-TUM-A の MIC が 8 mcg/ml, TUM-B, TUM-N, TUM-O および VM の MIC は 4 mcg/ml, また CPM, KM の MIC はそれぞれ 2 および 1 mcg/ml と、被検薬剤間に若干の差を認めた。

2. 薬剤感性ならびに耐性 H37Rv 株に対する TUM 3 剤 (TUM-A, Me-TUM-A, TUM-N) および既知抗結核薬 10 剤の交叉耐性試験

感性親株および耐性株計 23 株に対する各薬剤の MIC (mcg/ml) を Kirchner 培地で求め、その結果を表 2-a および 2-b に総括した。表中 MIC の下に斜体活字で表した数字は、材料および方法の項で説明した耐性度の値を示し、その大きさが 4 ないしそれ以上であれば交叉耐性ありと判定した。それぞれの耐性菌がもっている分離時の接触薬剤に対する耐性度は、太枠の中に囲んで示した。

これらの表から、交叉耐性に関して次の点が指摘される。

i) TUMs, VM, および CPM。これらの薬剤の 1 つに耐性である菌は、ほかの残りの薬剤にもほぼ同程度に耐性であり、交叉耐性は両方向性しかもほぼ完全な形に認められた。

ii) TUMs と KM。TUM および Me-TUM-A 高耐性菌 (No. 21 および 23 株) は、いずれも KM に対する高耐性を示したが、TUM-A および TUM-N 低耐性

菌 (No. 22 および 24 株) はともに KM に感性であつた。一方、KM 耐性菌 (No. 11, 12 および 13 株) は、その耐性度にかかわりなく、いずれも TUM 3 剤に感性であつた。すなわち TUMs 耐性菌と KM 耐性菌との間には、一方向性の、しかも不完全な形の交叉耐性が認められた。

iii) TUMs とその他の抗結核薬 7 剤 (SM, PAS, INH, CS, EB, 1314 TH, RFP)。

これらの薬剤に耐性である菌の間には、交叉耐性を認めなかつた。

3. 動物実験

i) 結核マウスに対する TUMs の延命効果 (実験 I)
表 3 に成績をまとめた。H37Rv 1 mg を静注した非治療対照群の動物は、感染後 17~27 日の間に全例死亡し、その平均生存日数は 19.1 日であつた。これに対し、治療群とくに TUM-N, VM, および TUM-A の各 2 mg 投与群で著しい延命効果が認められた。前 2 群では全動物が実験終了時までで生残した。

ii) 結核マウスの臓器内増菌抑制効果 (実験 II)
治療群, 対照群それぞれの臓器内生菌単位数 (平均値) を定量培養の成績から計算し、表 4 に示した。

感染翌日に屠殺した対照 (I) 群と、感染 15 日後に屠殺した非治療対照 (II) 群の生菌数を比較してみると、後者の肺で約 400 倍、同脾で約 300 倍に増加していることが推定された (表では生菌単位数を対数で表している)。これに対し、TUMs および VM の各 2 mg 投与群では、両臓器で明らかな増菌抑制効果が認められ、対

Table 2-a. Minimal Inhibitory Concentrations of Tuberactinomycins (TUM-A, Methyl-TUM-A, and TUM-N) and Other Anti-tuberculous Drugs against Parent and Drug-resistant H37Rv Strains in Kirchner Semi-liquid Medium with 10% Horse Serum

Drug	No. of H37Rv strains										
	Parent	RAS-R	INH-R	CS-R	EB-R	ETH-R	RFP-R	TUM(s)-R			
	(1)	(6)	(7)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)	(24)
TUM-A	4 <i>1</i>	8 <i>2</i>	8 <i>2</i>	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	>8,192 >2,048	32 8	>1,024 ≥ 512	64 16
Me-TUM-A	4 <i>1</i>	8 <i>2</i>	8 <i>2</i>	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	>1,024 ≥ 512	64 16	>1,024 ≥ 512	64 16
TUM-N	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	4 <i>1</i>	2 0.5	≤ 2 ≤ 0.5	≤ 2 ≤ 0.5	2 0.5	>1,024 ≥ 512	32 8	>1,024 ≥ 512	32 8
PAS	0.25 <i>1</i>	256 <i>1,024</i>						0.5 2	0.5 2	0.5 2	0.25 <i>1</i>
INH	0.13 <i>1</i>		256 <i>2,048</i>					0.13 <i>1</i>	>0.13 ≥ 2	>0.13 ≥ 2	0.13 <i>1</i>
CS	8 <i>1</i>			128 <i>16</i>				8 <i>1</i>	8 <i>1</i>	8 <i>1</i>	8 <i>1</i>
EB	2 <i>1</i>				16 8			4 2	4 2	4 2	2 <i>1</i>
ETH	2 <i>1</i>					256 <i>128</i>		2 <i>1</i>	2 <i>1</i>	2 <i>1</i>	2 <i>1</i>
RFP	1 <i>1</i>						256 <i>256</i>	2 2	2 2	1 <i>1</i>	1 <i>1</i>

- i) Inoculum size : 10⁻³ mg.
- ii) Incubation time : 21 days at 37 C.
- iii) Minimum inhibitory concentration (MIC) : mcg/ml.
- iv) Italic figures : $\frac{\text{MIC of the resistant strain}}{\text{MIC of the parent H37Rv}}$; the value of 4 or more was regarded as resistance or cross-resistance to the corresponding drug.
- v) TUM-A indicates tuberactinomycin-A; Me-TUM-A, methyl-tuberactinomycin-A; TUM-N, tuberactinomycin-N; PAS, para-aminosalicylic acid; INH, isoniazid; CS, cycloserine; EB, ethambutol; ETH, ethionamide; RFP, rifampicin.
- vi) Strain(21) was obtained by in vitro exposure of parent H37Rv to a TUM-bulk(Lot #13) containing TUM-A, TUM-B(VM) and Me-TUM-A.

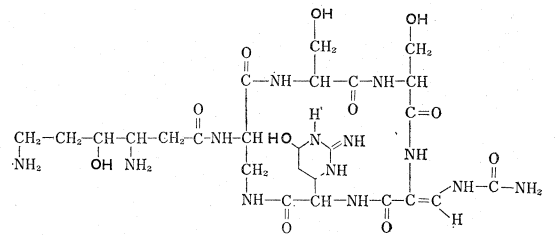
照(Ⅱ)群における増加の数分の1ないし1/10程度にとどまっている。

以上の動物実験Ⅰ,Ⅱを通じ、TUM-N および TUM-A の各 2 mg 投与の治療効果は、対照薬剤 VM の 2 mg 投与効果にはほぼ等しいと判定された。

考 察

最近、TUMs (-A, -B, -N および -O) の化学構造が解明されるに及び、TUM-B は、永い間抗結核薬として使用されながら化学構造が未定であった VM そのものにはかならないと判定⁷⁾⁸⁾されるに至った。これら 4 剤の化学構造はきわめて近似しているが、一方、抗結核薬 CPM (ⅠA, ⅠB; ⅡA, ⅡB) も VM に近縁である⁹⁾と推定されている。いずれも抗菌スペクトルが狭く、抗酸菌に対して主活性を示すペプチド抗生物質で、抗生物質

Fig. TUM-A⁷⁾



の中でも特異な一群を形成しているものと考えられる。これらの薬剤を、化学構造上、同一の基本骨格を有する一連の化合物とみなし、TUM-A (図) のもつ 4 コの水酸基 (構成アミノ酸である γ -hydroxy- β -lysine, tuberactidine, および 2 つの serine の各 1 コ) を、水素またはアミノ基で置換した TUM-A の誘導体として配列すれば次のごとくである。

Table 2-b. Minimal Inhibitory Concentrations of Tuberactinomycins (TUM-A, Methyl-TUM-A, and TUM-N) and Other Anti-tuberculous Drugs against Parent and Drug-resistant H37 Rv Strains in Kirchner Semi-liquid Medium with 10% Horse Serum

Drug	No. of H37Rv strains																							
	Parent		SM-R				VM-R				KM-R				CPM-R				TUM(s)-R					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)	(21)	(22)	(23)	(24)						
TUM-A	4	1	4	4	8	32	32	>1,024 ≥ 512	8	8	8	32	32	64	>8,192 ≥ 2,048	32	>1,024 ≥ 512	64						
	1	1	1	1	2	8	8	8	2	2	2	8	8	16	8	8	16	16						
Me-TUM-A	4	1	4	4	8	32	32	>1,024 ≥ 512	8	8	8	32	64	128	>1,024 ≥ 512	64	>1,024 ≥ 512	64						
	1	1	1	1	2	8	8	8	2	2	2	8	8	32	8	16	16	16						
TUM-N	4	1	4	2	4	32	32	>1,024 ≥ 512	4	4	4	32	32	128	>1,024 ≥ 512	32	>1,024 ≥ 512	32						
	1	1	1	0.5	1	8	8	8	1	1	1	8	8	32	8	8	8	8						
SM	2	1	32	64	8,192 ≥ 8,192	2	4	32	8	16	8	2	4	4	2	4	1	4						
	1	1	16	32	1	1	2	16	4	8	4	1	2	2	1	2	0.5	2						
VM	4	1	4	4	8	64	64	>8,192 ≥ 4,096	≤ 4 ≤ 1	8	8	64	64	128	4,096 1,024	64	>1,024 ≥ 512	128						
	1	1	1	1	2	16	16	16	1	2	2	16	16	32	16	16	16	32						
KM	1	1	0.5	1	1	1	1	512	8	8	>8,192 ≥ 8,192	1	2	32	256	2	256	2						
	1	1	0.5	1	1	1	1	512	8	8	8	1	2	32	256	2	256	2						
CPM	2	1	2	1	2	32	32	>1,024 ≥ 1,024	2	2	32	32	32	256	>8,192 ≥ 4,096	32	>1,024 ≥ 1,024	64						
	1	1	1	0.5	1	16	16	16	1	1	16	16	16	128	16	16	16	32						

i) All footnotes of table 2-a apply also to table 2-b.

ii) SM indicates dihydrostreptomycin ; VM, viomycin ; KM, kanamycin ; CPM, capreomycin.

Table 3. Effect of Three-week Treatment with Tuberactinomycin-A, Methyl-tuberactinomycin-A, Tuberactinomycin-N, and Viomycin on the Survival Time of Mice Intravenously Infected with *M. tuberculosis* H 37 Rv Strain^{a)}

Drug	Treatment ^{b)}		Survivors (50th day after infection)	Mean survival time in days(Extremes)
	Daily dose (mg)	Duration (Days)		
Non-treated (Control)	—	—	0/10	19.1(17~27)
TUM-A	2	21	8/10	>50 (28, 47)
"	0.5	21	4/10	26.8(19~28)
Me-TUM-A	2	21	6/10	42.7(21~36)
"	0.5	21	0/10	23.3(20~31)
TUM-N	2	21	10/10	>50
"	0.5	21	3/10	39.8(20~49)
VM	2	21	10/10	>50
"	0.5	21	0/10	24.0(16~31)

a) Dose of infection: 1 mg (21×10^6 V.U.).

b) Treatment: started on the first day after inoculation, subcutaneously.

Table 4. Effect of Two-week Treatment with Tuberactinomycin-A, Methyl-tuberactinomycin-A, Tuberactinomycin-N, and Viomycin on Viable Bacterial Units in the Lungs and Spleen of Mice Intravenously Infected with *M. tuberculosis* H 37 Rv Strain^{a)}

Drug	Treatment ^{b)}		No. of animals used	Sacrificed on (Day after infection)	Log. No. of viable bacterial units ^{c)} (Mean \pm S.D.)	
	Daily dose (mg)	Duration (Days)			Lungs	Spleen
Pretreatment (Control I)	—	—	10	1st	3.144 \pm 0.301 **	3.087 \pm 0.064 **
Non-treated (Control II)	—	—	10	15th	5.767 \pm 0.054	5.508 \pm 0.213
TUM-A	2	14	10	15th	4.873 \pm 0.302 **	4.911 \pm 0.041 *
"	0.5	14	10	15th	5.441 \pm 0.136 ns	5.371 \pm 0.200 ns
Me-TUM-A	2	14	10	15th	5.071 \pm 0.062 **	4.737 \pm 0.372 **
"	0.5	14	10	15th	5.433 \pm 0.180 ns	5.410 \pm 0.251 ns
TUM-N	2	14	10	15th	4.663 \pm 0.208 **	4.379 \pm 0.191 **
"	0.5	14	10	15th	5.566 \pm 0.152 ns	5.074 \pm 0.293 ns
VM	2	14	10	15th	5.321 \pm 0.300 *	4.721 \pm 0.321 **
"	0.5	14	10	15th	4.995 \pm 0.180 **	4.983 \pm 0.299 ns

a) Dose of infection: 0.001 mg (21×10^3 V.U.).

b) Treatment: started on the first day after inoculation, subcutaneously.

c) In comparison with Control II: ** ($p < 0.01$); * ($0.01 < p < 0.05$); ns, non-significant.

薬 剤	水 酸 基 の 置 換				水酸基の 保有数
	γ -(OH)- β -Lys	Tbd	Ser	Ser	
TUM-A	OH	OH	OH	OH	4
Me-TUM-A	OH	OCH ₃	OH	OH	3
TUM-B(VM)	H	OH	OH	OH	3
" -N	OH	H	OH	OH	3
" -O	H	H	OH	OH	2
CPM-I A	H	H	NH ₂	OH	1
" -I B	H	H	NH ₂	H	0
" -II A	(欠)	H	NH ₂	OH	1
" -II B	(欠)	H	NH ₂	H	0

注:「CPMがVMと同一の基本骨格をもつ⁹⁾¹⁰⁾」は、現在なお推定段階である。

市販されている CPM や、臨床試験などに供されている TUM-N は、いずれも major 成分のほか minor 成分も含むといわれているが⁹⁾¹¹⁾、実験的には各成分を純粋な形で使用することが現在可能となり、また CPMs の立体構造も早晩明らかにされるであろうから、抗菌活性や交叉耐性の比較研究が一段と進展することが期待される。

われわれが実施した交叉耐性試験では、i) 培地として Kirchner 半流動培地を、また ii) 被検菌として保存株 H 37 Rv とその薬剤耐性株を用いた。第 1 の理由は、交叉耐性を検討するには耐性度を問題にせざるをえないので、薬剤によつては力価減弱の著しい卵培地を避け、不活化も少なく成績に比較的安定性のある上記半流動培地の使用が望まれたからである。また、第 2 の理由は、次のようであった。本来の目的からいえば、治療患者由来菌について検討するのが望ましいのであるが、患者菌の場合は、a) 薬剤接触歴を厳密に明らかにするのが困難なことが多い、b) 薬剤投与前と投与後に、同一患者から感性親株と耐性株を分離し、pair で検査することがなかなか困難である、c) 単一薬剤とだけ接触歴をもつ耐性度の異なる耐性菌をそろえるのが困難である、d) 分離培養で得られる耐性菌の population 構成が純粋でなく、mixed population である可能性が大きい、などの問題を含み検査成績の分析がきわめて複雑になることが推定された。したがって、われわれはできるだけ単純な *in vitro* の系で耐性菌を作り検討することにした。そのため、薬剤含有 1% 小川培地に感性 H 37 Rv 親株を大量接種し、得られた耐性菌集落を分離し、さらに population 構成を純粋にする目的で、薬剤を含まない(あるいは含む)小川培地で「集落分離」を繰返したのち、耐性菌として実験に用いた。

結核菌の場合、患者由来の耐性菌と、このように *in vitro* で作った耐性菌との間に、耐性機構上相違があるか否か不明であり、後者 *in vitro* 菌における交叉耐性関係がそのまま患者株にあてはまるか否かは、疑問である

う。しかし、両者における異同を鮮明にするためにも、一方で *in vitro* 耐性菌の検討を深める必要があると思われる。

成績で述べたように、われわれの系では TUM-A、Me-TUM-A、TUM-N、VM および CPM に耐性である菌は、これら薬剤のいずれに対してもほぼ完全な交叉耐性を示したが、他の薬剤 (SM)、あるいは他の薬剤 (KM) 耐性菌が介在した場合に若干異なる関係がみられた。すなわち、耐性度の低い KM 耐性菌 (No. 11 および No. 12 株) はこれら 5 剤のいずれにも感性であつたが、KM 高耐性菌 (No. 13 株) は、CPM に中等度の交叉耐性を示し TUMs および VM には感性であつた。また、対 SM 関係では、VM 高耐性菌 (No. 10 株) が SM に中等度交叉耐性を示したが、TUMs および CPM の高耐性菌はいずれも SM に感性であつた。この場合、高耐性の耐性度がさらに問題かもしれないが十分な検討が行われていない。

豊原¹²⁾¹³⁾ は、TU と TUM-N に関する実験を行い、試験管内、モルモットおよびマウスの実験結核症において両剤は VM とほぼ等しい抗結核性を発揮すること、また CPM および VM 耐性菌が両剤に交叉耐性を示すことを報告している。大里ら¹⁴⁾¹⁵⁾ は肺結核患者に TUM と TUM-N をそれぞれ他の抗結核剤と併用して投与し、副作用が少なく治療成績は良好であつたと報告している。今後さらに臨床治療上の対照試験が加えられ、TUM-N の評価が定まるものと期待される。

結 論

薬剤感性および耐性結核菌 H37Rv 株に対する Tuberculinomycins の試験管内発育阻止力を検討するとともに、マウス実験結核に対する TUMs 3 剤の治療実験を行い、次のような成績を得た。

1) TUM-A、-B、-N、-O、および Me-TUM-A の薬剤感性 H 37 Rv 株に対する MIC は、1% 小川培地で 25 mcg/ml、Kirchner 半流動培地で 4 ないし 8 mcg/ml で、*in vitro* の発育阻止力は対照薬剤 VM にはほぼ等しかった。

2) TUMs (TUM-A、Me-TUM-A および TUM-N) と VM、CPM との間には、両方向性の、ほぼ完全な交叉耐性が認められた。しかし、他の抗結核剤 (SM, PAS, INH, CS, EB, 1314 TH, RFP) と TUMs との間には、交叉耐性はなかつた。なお、TUMs 高度耐性菌は KM に対し高度の交叉耐性を示したが、KM 耐性菌は TUMs に感性で、TUMs と KM との間には一方向性の、しかも不完全な交叉耐性が認められた。

3) H37Rv 株を静脈内感染させたマウスに、感染翌日から連日 2 ないし 3 週間、皮下注射による TUMs (TUM-A、Me-TUM-A、TUM-N) の投与を行つた。延命効

果ならびに臓器内の増菌抑制効果からみて、TUM-N および TUM-A の各 2 mg/匹/日 (100 mg/kg) 投与成績は対照薬剤 VM の 2 mg/匹/日 (100 mg/kg) 投与成績にほぼ等しいと判定された。

以上の結果から、TUM-N および TUM-A の実験的抗結核性は優れているものと結論された。

終りに、Tuberactinomycins を提供された東洋醸造株式会社に感謝します。

文 献

- 1) 永田明穂・早野和夫・星野保夫：日本抗生物質学協，第160回研究会講演，昭和43年3月（於東京）；結核，43：249，1968.
- 2) Nagata, A., T. Ando, R. Izumi, H. Sakakibara, T. Take, K. Hayano & J. Abe : J. Antibiotics, 21 : 681, 1968.
- 3) Ando, T., K. Matsuura, R. Izumi, T. Noda, T. Take, A. Nagata & J. Abe : J. Antibiotics, 24 : 680, 1971.
- 4) Izumi, R., T. Noda, A. Ando, T. Take & A. Nagata : J. Antibiotics, 25 : 201, 1972.
- 5) 小関勇一・岡本茂広・金井興美・室橋豊穂：結核，43：535，1968（抄録）.
- 6) 小関勇一・安地節・岡本茂広：結核，45：43，1970（抄録）.
- 7) Yoshioka, H., T. Aoki, H. Goko, K. Nakatsu, T. Noda, H. Sakakibara, T. Take, A. Nagata, J. Abe, T. Wakamiya, T. Shiba & T. Kaneko : Tetrahedron Letters, 2043, 1971.
- 8) Noda, T., T. Take, A. Nagata, T. Wakamiya & T. Shiba : J. Antibiotics, 25 : 427, 1972.
- 9) Bycroft, B. W., D. Cameron, L. R. Croft, A. Hassanali-Walji, A. W. Johnson & T. Webb : Nature, 231 : 301, 1971.
- 10) Bycroft, B. W. : Chem. Comm., 660, 1972.
- 11) 永田明穂：私信（1972）.
- 12) 豊原希一：結核，43：245，1968.
- 13) 豊原希一：結核，47：181，1972.
- 14) 大里敏雄・豊原希一：結核，46：59，1971.
- 15) 大里敏雄・豊原希一：結核，47：177，1972.