

原 著

Sulfadimethoxine と Kitasamycin の *Mycobacterium*
avium-M. intracellulare Complex にたいする
発育阻止作用

東 村 道 雄

国立療養所中部病院

受付 昭和 57 年 9 月 4 日

IN-VITRO BACTERIOSTATIC ACTIVITIES OF SULFADIMETHOXINE
AND OF KITASAMYCIN ON *MYCOBACTERIUM*
AVIUM-M. INTRACELLULARE COMPLEX

Michio TSUKAMURA*

(Received for publication September 4, 1982)

Sulfadimethoxine inhibited growth of strains of *Mycobacterium avium-M. intracellulare* complex at a concentration of 1 to 10 $\mu\text{g/ml}$, and Kitasamycin inhibited its growth at a concentration of 2.5 to $>20 \mu\text{g/ml}$. These agents may be tried clinically as chemotherapeutic agents, together with minocycline which was reported as effective previously, in the treatment of lung disease due to this organism.

緒 言

Mycobacterium avium-M. intracellulare complex による肺感染症は、日本における非定型抗酸菌症の90%を占める¹⁾²⁾。しかし、現在この感染症に対する有効な治療法は存在せず、約20%の患者で自然治癒が期待できるのみである³⁾⁴⁾。その理由は、この菌が通常すべての抗結核剤に対して耐性を示すことによる。時に、kanamycin, ethionamide, cycloserine に感受性を示すことがあつても、これらの薬剤は臨床的には略無効である⁵⁾。そこで、我々は抗結核剤以外の薬剤の中に、この菌に有効な薬剤をみつけようと努力してきたが、最近、minocycline が試験管内でも臨床面でもある程度有効であることを見出した⁶⁾⁷⁾。しかし、minocycline の作用は、結核に対する isoniazid や rifampicin のように強力なものではないので、minocycline と併用すべき第2、第3の薬剤を求めてきた。今回、sulfadimethoxine と kitasamycin が、

この菌に対して試験管内発育阻止作用を示すことを観察しえた。

実験方法

被検株10株は1981年に当院入院中の患者から分離し、我々のもとで *M. avium-M. intracellulare* complex と同定したものである。これらの菌を分離した患者はいずれもこの菌の感染症と考えられる症例であつた。同定法および診断基準は既報した⁸⁾⁹⁾。

Sulfadimethoxine(中外製薬, sulxin) は、始め 10mg/ml の割合に propylene glycol に溶解し、これを蒸留水で希釈し、その1容を滅菌前の小川培地 100容に添加し、所定の終末濃度を得た。Kitasamycin (東洋醸造株式会社, 静岡; Leucomycin) は東洋醸造提供の“Working Standard”の原末を水に溶かして滅菌前の小川培地に添加した。

小川培地の組成は次の通りである。原液 (1% sodium

* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

Table 1. Growth-inhibitory action of sulfadimethoxine on strains of *Mycobacterium avium-M. intracellulare*

Strain	Method	Growth of test strain				
		Concentration of sulfadimethoxine ($\mu\text{g/ml}$)				
		10	5	2.5	1.25	0
E 10387	A	-	-	-	-	+
	B	-	++	+++	+++	+++
E 10388	A	-	-	-	+	+
	B	++	+++	+++	+++	+++
E 10389	A	-	-	-	+	+
	B	-	-	++	+++	+++
E 10390	A	-	-	+	+	+
	B	++	+++	+++	+++	+++
E 10397	A	-	-	+	+	+
	B	++	+++	+++	+++	+++
E 10286	A	-	-	+	+	+
	B	++	+++	+++	+++	+++
E 10289	A	-	-	-	-	+
	B	-	-	++	+++	+++
E 10297	A	-	-	-	-	+
	B	-	-	-	++	+++
E 10304	A	-	-	-	+	+
	B	-	-	+++	+++	+++
E 10306	A	-	-	-	+	+
	B	-	++	++	+++	+++

+ 10 to 50 colonies ++ Thin membranous growth

+++ Abundant membranous growth

All test strains were isolated recently from patients who had lung disease due to their organisms. The test strains were first cultivated on Ogawa egg medium at 37°C for 14 days, and, from these cultures, a bacterial suspension of 1 mg wet weight/ml was prepared for each strain. The suspension was diluted with a 0.1% Tween 80 aqueous solution until 10^{-5} . Sulfadimethoxine (Chugai Pharmaceutical Co., Tokyo; sulxin) was first dissolved in propylene glycol at a concentration of 10 mg/ml, diluted and then added to Ogawa egg medium before sterilization. The medium was sterilized by heating at 90°C for 60 minutes. The inhibitory concentration of the agent was observed in the following two ways:

A. Each medium was inoculated with a 0.02 ml sample (one loopful of a spiral loop) of 10^{-4} or 10^{-5} suspensions, and growth was observed after incubation at 37°C for 21 days (media inoculated by a diluted suspension giving growth of 10 to 50 colonies on control medium were used for reading an inhibitory concentration);

B. Each medium was inoculated with a 0.02 ml sample of the original suspension, and the results were read after incubation at 37°C for 14 days.

glutamate および 1% KH_2PO_4 水溶液), 100 ml; 全卵液, 200 ml; glycerol, 6 ml; 2% malachite green 水溶液, 6 ml. sulfadimethoxine および kitasamycin は滅菌前の培地に添加した。培地は 7 ml ずつ 165×16.5 mm の試験管に分注し, 90°C 60分間滅菌して斜面培地とした。

被検菌はまず, 小川培地に 37°C 14日間培養して発育した集落を取り, これを 0.2% Tween 80 含有水溶液

に浮遊させて菌液(湿菌量 1 mg/ml)とした。更に, この菌液を10倍希釈していき, 10^{-5} 液まで作った。この菌液を渦巻白金耳で1白金耳(0.02 ml)ずつ各培地に接種し, 底に 3 mm の切れ目のついたダブルゴム栓を施し, 37°Cに培養した。発育阻止濃度の判定は, 接種量により次の2法を用いた。(A) 10^{-4} または 10^{-5} 液を接種した培地では 37°C 21日後に判定した。 10^{-4} 液または 10^{-5} 液接種のいずれの培地をとるかは対照培地(薬剤なし)

Table 2. Growth-Inhibitory Action of Kitasamycin on Strains of *Mycobacterium avium-M. intracellulare* complex

Strain	Method	Growth of test strain				
		Concentration of kitasamycin ($\mu\text{g/ml}$)				
		20	10	5	2.5	0
E10387	A	—	—	+	+	+
	B	—	+++	+++	+++	+++
E10388	A	—	+	+	+	+
	B	+++	+++	+++	+++	+++
E10389	A	—	—	+	+	+
	B	—	++	++	++	++
E10390	A	—	+	+	+	+
	B	+++	+++	+++	+++	+++
E10397	A	—	—	+	+	+
	B	++	+++	+++	+++	+++
E10286	A	—	—	—	—	+
	B	—	++	+++	+++	+++
E10289	A	—	—	—	+	+
	B	—	—	++	+++	+++
E10297	A	—	—	—	—	+
	B	—	—	—	++	+++
E10304	A	—	—	+	+	+
	B	—	—	+++	+++	+++
E10306	A	—	—	+	+	+
	B	—	++	+++	+++	+++

The methods used for testing the inhibitory concentrations is shown in Table 1. Kitasamycin (Leucomycin, Toyo Jozo Co., Shizuoka, Japan) was dissolved in distilled water and added to Ogawa egg medium before sterilization.

の集落数によつた。対照培地で10~50集落の発育を示す系列で判定した。(B)原液を接種した培地では、37°C 14日後に発育を判定した。

実験結果

Sulfadimethoxine の発育阻止濃度は、各培地 10~50 生菌単位接種の場合、1~5 $\mu\text{g/ml}$ であつた。一方、原液 (1mg/ml) を 0.02 ml ずつ接種した場合は、2.5~10 $\mu\text{g/ml}$ であつた (表1)。

Kitasamycin の発育阻止濃度は、各培地 10~50 生菌単位接種の場合、2.5~20 $\mu\text{g/ml}$ であり、原液接種の場合は、5~>20 $\mu\text{g/ml}$ であつた (表2)。

考 察

本報では sulfadimethoxine が *M. avium-M. intracellulare* complex の菌に対してかなり強い試験管内抗菌力を持つことを見出した。著者は、1955年に各種サルファ剤の抗結核菌作用を検して、sulfisoxazole と sulfathia-

zole が比較的強い静菌作用を示すことを報告した¹⁰⁾。この両者の中、sulfisoxazole は抗結核剤として、その後かなりの期間、我が国で臨床的に使用された。その後、持続性サルファ剤が出現した時、sulfadimethoxine, sulfisoxazole および sulfaphenazole が約 5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で人型結核菌の発育を阻止することを報告した¹¹⁾。また、著者は sulfadimethoxine がマウス体内でも人型結核菌の発育を抑制することを観察した¹²⁾。この sulfadimethoxine も臨床的に使用されたが、その後、有力な抗結核剤の出現とともに使用されなくなつた。しかし、当時の臨床経験は sulfadimethoxine 1日 1g 毎日投与が比較的長期間使用可能なことを証明した。したがつてこの薬剤を *M. avium-M. intracellulare* complex 肺感染症に直ちに使用しても差し支えないと思われる。

一方、kitasamycin は1974年久世ほか¹³⁾によつて *M. intracellulare* に対する試験管内抗菌作用が検討されている。彼等の成績では kitasamycin の発育阻止濃度は 0.78~50 $\mu\text{g/ml}$ の広い範囲に散らばつているが、我

々の成績では 2.5~>20 $\mu\text{g/ml}$ の間となつた。kitasamycin も比較的副作用の少ない薬剤で、長期投与の可能性が期待される。我々は先に minocycline の *M. avium-M. intracellulare* complex 肺感染症に対する有効性を報告した⁶⁾⁷⁾。したがつてこの「minocycline+sulfadimethoxine+kitasamycin」の3者併用療法の臨床応用が、試みられてよいと思われる。我々は現在、minocycline 1日 100 mg 毎日, sulfadimethoxine 1日 1.0 g 毎日, kitasamycin 1日 600 mg (1回) または 1日 1200 mg (分2または分3) 毎日の経口投与を *M. avium-M. intracellulare* complex 肺感染症患者に試みつつある。その臨床成績は近い将来報告の予定である。

なお、我々は sulfisomezole および sulfisoxazole のこの菌に対する試験管内抗菌作用も検討したが、両剤とも 50 $\mu\text{g/ml}$ でも発育を阻止しえなかつた(成績省略)。

結 論

Sulfadimethoxine は *Mycobacterium avium-M. intracellulare* complex の発育を試験管内実験で 1~10 $\mu\text{g/ml}$ で阻止した。また, kitasamycin は、この菌の発育を 2.5~>20 $\mu\text{g/ml}$ で阻止した。この両者は、先に報告した minocycline とともに *M. avium-M. intracellulare* complex 感染症に対して臨床的に試みられてよい薬剤であると思われる。

文 献

1) Tsukamura, M. et al.: Epidemiologic studies of lung disease due to mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis* in Japan, *Reviews of Infectious Diseases*, 3: 997-1007, 1981.

- 2) 東村道雄他(国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班): 日本における非定型抗酸菌感染症の研究(国療非定型抗酸菌症共同研究班1980年度報告)-*Mycobacterium kansasii* 症の 'endemic status' から 'epidemic status' への変化, 結核, 57: 299-310, 1982.
- 3) 東村道雄他: *Mycobacterium intracellulare* による肺感染症の臨床像, 結核, 49: 139-145, 1974.
- 4) 東村道雄他: *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* complex による「一過性感染症」について, 結核, 56: 309-317, 1981.
- 5) 東村道雄他: *Mycobacterium avium-intracellulare* complex による肺感染症の臨床像, 結核, 51: 41-46, 1976.
- 6) Tsukamura, M.: In-vitro antimycobacterial activity of minocycline, *Tubercle*, 61: 37-38, 1980.
- 7) 東村道雄他: *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* による肺感染症に対する minocycline を含む化学療法 of 臨床効果, 結核, 56: 57-61, 1981.
- 8) Tsukamura, M.: Identification of mycobacteria, pp. 1-75, *The National Chubu Hospital, Obu, Aichi, Japan*, 474, 1975.
- 9) 東村道雄: 非定型抗酸菌による肺疾患の診断基準案, 結核, 53: 367-376, 1978.
- 10) 東村道雄: Sulfonamides の結核菌発育阻止作用 (in vitro) についての知見補遺, *Chemotherapy*, 3: 187-191, 1955.
- 11) 東村道雄: 持続性サルファ剤の抗結核菌作用, *医学と生物学*, 54: 12-14, 1960.
- 12) 東村道雄: 持続性サルファ剤 sulfadimethoxine の生体内抗結核菌作用, *医学と生物学*, 56: 13-15, 1960.
- 13) 久世文幸・武田貞夫・前川暢夫: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性 II, 一般抗生物質, 抗腫瘍剤, 抗レプラ剤 (B663) 等に対する感受性, 結核, 49: 189-194, 1974.