

原 著

新抗菌物質 DL8280 の肺結核に対する 臨床適用の試み

東 村 道 雄・柳 瀬 正 之

国立療養所中部病院

受付 昭和 59 年 4 月 2 日

TRIAL OF CLINICAL ADMINISTRATION OF A NEW ANTIBACTERIAL SUBSTANCE DL 8280 ON PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Michio TSUKAMURA* and Masayuki YANASE

(Received for publication April 2, 1984)

A trial of clinical administration of a new antibacterial substance DL8280 on patients with pulmonary tuberculosis was carried out. All four patients have been hospitalized in this hospital for 17 to 20 years and are treatment-failure cases who are excreting tubercle bacilli resistant to most antituberculous agents (Table 1). DL8280 was given to the patients as a single dosis of 300 mg daily per os for 6 to 8 months. Only isoniazid or enniomycin was used in combination, and tubercle bacilli of the patients were resistant to these agents.

By administration of DL8280, tubercle bacilli in sputa decreased in all four patients, and one patient showed negative conversion (Table 2). Resistance to DL8280 of tubercle bacilli occurred in three patients, who remained culture-positive (Table 3). The plasm concentration of DL8280 after a single administration of 300 mg is shown in Table 4. No side-effects were observed in all patients during the administration period.

In view of the above results, DL8280 seems to be effective for lung tuberculosis. Not only the decline of tubercle bacilli in sputum but also the appearance of resistance to DL8280 show the efficacy of the agent, as the resistant population appears only when susceptible organisms are suppressed by an agent.

Keywords : New antibacterial substance DL8280, Pulmonary tuberculosis **キーワード** : 新抗菌物質 DL8280, 肺結核

緒 言

DL8280 は、第一製薬株式会社によって合成された新抗菌物質で、次の化学構造を持つ。9-fluoro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-2,3-dihydro-7H-pyrido(1,2,3-de)1,4-benzoxazine-6-carboxylic acid (分子量361.37; C₁₈H₂₀FN₃O₄)。DL8280の抗酸

菌に対する抗菌作用および結核菌に対する発育阻止作用および殺菌作用、耐性出現形式については先に報告した^{1)~3)}。今回は、DL8280の肺結核患者に対する試験投与の結果を報告する。本報の試験投与の結果、臨床での有効性を認めえたので、現在、より多数の症例について臨床研究を行ないつつある。その結果は近く報告する予定である。

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

研究方法

DL8280投与患者および投与方法

治療対象とした患者4名は、国療中部病院に入院して以来、17～20年を経た患者で、その間殆んど持続的に排菌していた患者である。この間、種々の化学療法を受け、服用不能の薬剤以外のすべての抗結核剤に耐性を示していた。X線像で4名とも硬化巣中の空洞を示した。DL8280は1錠100mgの錠剤として供されたので、1日300mgを朝食後1回に毎日服用させた。投与期間は6～8ヵ月である。併用剤としては、既に耐性を示した1剤（INHまたはEVM）を投与した。

喀痰検査

朝痰1個を取り、先ず塗抹標本を作り、auramine染色による蛍光法で鏡検し、結果をZiehl-Neelsen染色によるGaffky号数に修正して示した。その後、等量の4% NaOH液を加えて室温で15分間振盪して液化し、その0.02mlを渦巻白金耳⁴⁾で「Tween卵培地⁵⁾」に接種した。接種した培地の試験管には、底に3mmの切れ目のあるダブルゴム栓を施し、37°Cに培養した。集落は4週後および8週後に観察した。被検株が結核菌であることは既報の方法で確かめた⁶⁾。

DL8280 耐性検査

1%小川培地にDL8280を10, 5, 2.5, 1.25および0μg/ml含有させた培地を作って耐性検査に用いた。被検株を白金耳で1白金耳(約湿菌量0.1mg)ずつ接種し、37°C 4週培養後に判定した。

DL8280の血中濃度

静脈血1.6mlを採取して、3.8%クエン酸ソーダ液0.4mlと混合し、静置によって得た上清(血漿)に直径7mmのdiscを浸し、これを次の平板培地に置いて、37°C

3日間培養し、生じた発育阻止帯の直径を測り、これを予め作製した標準曲線と比較してDL8280の濃度を測定した。クエン酸ソーダ液添加のための希釈の影響の修正は行なわなかった。

発育阻止帯の測定の被検株には *Mycobacterium aurum* 15007株を用いた。15007株をDubos液体培地5mlに37°C 3日間培養し、この培養液0.5mlを、Sauton寒天培地の溶解したもの10mlに加えて混和し、直径10cmの合成樹脂製ペトリ皿に注いで平板培地を作った。この上に、血漿に浸したdisc(直径7mm)を置いて37°C 3日間培養した後、発育阻止帯の直径を測定した。

研究結果

肺結核に対するDL8280の臨床効果

DL8280の投与を行なった4名の患者の背景因子を表1に、DL8280投与前12ヵ月と投与後5～7ヵ月の喀痰検査の成績を表2に示す。DL8280の投与量は4例とも1日300mgを毎日朝食後に1回投与した。併用薬剤は、症例1ではINH 1日0.4g毎日、症例2ではEVM 1日1g週3日筋注、症例3は抗結核剤併用なし、症例4はINH 1日0.3g毎日であった。いずれの併用薬も既に耐性を示していたから、事実上はDL8280の単独投与(「準単独投与⁷⁾」)といえる。

症例1. DL8280投与前は12ヵ月間連続で培養+～++であったが、DL8280投与を始めると第1月で培養32集落、第2ヵ月で培養15集落と菌数が減した。しかし、第3ヵ月からは培養+～++に復帰してしまった。耐性検査の成績をみると、投与前は1μg/ml感性であったのが、第5ヵ月では5μg/ml耐性菌になっていた(表3)。

症例2. この患者もDL8280投与前は毎月培養+

Table 1. Background Factors of Patients Who Received Administration of DL8280

Case	Age and sex	Hospitalization period	Resistance of tubercle bacilli to antituberculous agents ^a	X-ray picture
1	58 female	19 years	SM, INH, PAS, TH, EB	A giant cavity in left upper lobe
2	44 female	20 years	SM, INH, PAS, KM, EVM, RFP, EB	A giant cavity with sclerotic lesion in right lung
3	60 female	17 years	SM, INH, PAS, EVM, RFP, EB, TH	A medium-sized cavity in sclerotic lesion in left upper lobe
4	48 female	20 years	SM, INH, KM, EVM, RFP, EB	A medium-sized cavity in right upper lobe with sclerotic process; left lung was resected 19 years ago

a SM, Streptomycin(20 μg/ml); INH, Isoniazid(0.1 μg/ml); PAS, p-Aminosalicylate(1 μg/ml); KM, Kanamycin(100 μg/ml); EVM, Enviomycin(100 μg/ml); RFP, Rifampicin(50 μg/ml); EB, Ethambutol(5 μg/ml); TH, Ethionamide(40 μg/ml). Ogawa egg medium was used for the resistance test.

～++であったのが、投与第1ヵ月で培養7集落に減少した。第2ヵ月以後は培養+～++に復帰してしまった。表3の耐性検査の成績をみると、第2ヵ月まではDL82801 μ g/ml 感性菌であるが、第3月には5 μ g/ml 耐

性菌となっていた。

症例3. この症例はDL8280投与前は月例検痰12回中8回培養陽性であったが、DL8280投与後は5ヵ月続けて培養陰性となった。月例検痰による培養陽性率を

Table 2. Mode of Excretion of Tubercle Bacilli from Patients Before and After Administration of DL 8280

Case	Results of monthly sputum examinations																			
	Before administration of DL 8280											After administration of DL8280								
	Month											Month								
	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	
1 - Smear	III	V	VIII	VI	V	VI	VII	VI	VI	V	VI	VI	IV	IV	VI	VI	VIII	VI		
	Culture 4 w	+	+	++	+	++	+	+	++	+	++	+	8	4	+	+	++	++		
	Culture 8 w	+	+	++	+	++	+	+	++	+	++	+	32	15	+	+	++	++		
2 Smear	V	VI	-	VI	V	VII	V	VII	IV	IV	III	V	IV	V	-	VII	VII			
	Culture 4 w	+	+	+	+	+	-	++	-	+	+	+	-	1	++	++	++			
	Culture 8 w	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	7	+	++	++	++			
3 Smear	-	III	-	III	-	-	-	V	-	III	-	V	-	-	-	-	-			
	Culture 4w	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	Culture 8 w	17	43	3	+	-	-	-	3	+	8	+	-	-	-	-	-			
4 Smear	IV	-	V	III	V	II	VII	V	IV	IV	V	III	III	III	-	-	-	-		
	Culture 4 w	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	++	++	-	9	-	1	5	-	++
	Culture 8 w	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	++	++	+	15	-	2	5	-	++

4 w, 4 weeks; 8w, 8 weeks. The arabic number in culture shows the number of colonies, and symbol+ shows the amount of colonies more than 100 and symbol++show the amount of colonies showing a confluent growth.

Table 3. Resistance to DL8280 of Tubercle Bacilli from Patients Who Received Administration of DL8280

Case	Time in months after administration	Resistance to DL 8280 (μ g/ml)				
		10	5	2	1	0
1. ■■■	0	-	-	-	+	+++
	5	5	+++	+++	+++	+++
2. ■■■	0	-	-	-	-	+++
	2	-	-	-	20	+++
	3	10	+++	+++	+++	+++
3. ■■■	0	-	-	-	-	+++
	Negative conversion					
4. ■■■	0	-	-	-	-	+++
	4	-	-	+	+++	+++
	5	-	-	+++	+++	+++

+++ , Confluent growth; +, not confluent but more than 100 colonies; arabic number shows the number of colonies. The Ogawa egg medium was used, and one loopful of test organisms growing on the Ogawa egg medium was inoculated onto each medium. The growth observed after incubation at 37°C for 4 weeks.

χ^2 -testで検定すると、投与前 (8/12)、投与後 (0/5) で、この差は有意である ($p < 0.05$)。即ち、DL8280投与後の菌陰性は偶然のものではなく、DL8280投与によるものと危険率5%以下で推定してよい。

症例4. 投与前の月例検痰による培養陽性率は(10/12)で培養の集落は+~++ (100集落以上または一部融合集落)であった。DL8280投与の第2月には集落数15と減じ、第3月には陰性となった。しかし、第4月2集落、第5月に5集落が現われ、第6月は陰性であったが、第7月には培養++に復帰してしまった。この患者の結核菌はDL8280投与後第4月で1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 耐性であるが、第5月の5集落の耐性検査を行なうと2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 耐性で、空洞の結核菌は耐性菌集団に置き換わっている。第7ヵ月の培養(++)は耐性菌の増殖によるものと推定された。

以上の4症例の経過をみると、第1、2例では効果が少なく、第3、4例では効果が大きいとみられるが、前者2例の硬化巣中空洞は長径7cm以上の大空洞であり、後者2例の硬化巣中空洞は直径1.5~3.0cmの中等大空洞であった。従って、空洞の大きさと臨床効果と関係があると思われた。

X線像は全例とも不変であった。また、全例とも赤血球数、白血球数、血小板数、Hb量、血液像、肝機能(GOT, GPT, ALP), BUNに変化を認めなかった。また、尿中の蛋白の出現もなく、オージオメーター所見の悪化を認められなかった。要するに、自覚および他覚的な副作用は認めなかった。

DL8280の血漿中濃度

結果を表4に示す。300mg 1回経口投与後の最高濃度は2~6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。表4の症例Aは最も高い濃度を示したが、この患者は表1~3の症例3に当る。即ち、培養陰性化が起こった症例である。しかし、血中濃度と臨床効果の関係は現在のところ不明で向後の研究課題である。

考 察

DL8280の肺結核に対する臨床効果

抗結核剤の臨床効果を判定するには次の2つの方法がある。

- 1) 第1は喀痰中への排菌の減少、より明確には排菌の消失を証明する。
- 2) 第2は使用抗結核剤に対する耐性出現を証明す

Table 4. Plasm Concentration of DL 8280 after Administration of Oral Single Dosis 300 mg

Time in hours	Concentration of DL 8280 in the plasm ($\mu\text{g}/\text{ml}$)							
	Case A Female 60 kg	Case B Female 27 kg	Case C Male 50 kg	Case D Male 36 kg	Case E Male 45 kg	Case F Male 48 kg	Case G Female 38 kg	Case H Female 42 kg
1	0.0	2.0						
2	1.0	3.6		2.5	2.4	2.4	0.0	0.5
3	3.6	3.2	2.8					
4	6.5		2.5	2.3	1.4	1.8	1.8	2.4
5	4.5		2.5					
6				1.2	0.4	1.0	1.0	3.6

The plasm concentration of DL8280 was measured by the disc method, using strain 15007 of *Mycobacterium aurum* as an indicator organism. The strain was subcultured in a Dubos liquid medium, 5ml, at 37°C for 3 days. A 0.5ml sample of this medium was poured into 10 ml of a melted modified Sauton agar medium (sodium glutamate was substituted for asparagine), and this was poured into a Petri dish, 10cm in diameter. After cooling, a disc (7mm in diameter) was immersed in to a test plasm and placed onto the surface of the above plate. The plate was then incubated at 37°C for 3days, and the diameter of the inhibition zone was measured. The plasm concentration was determined comparing the diameter of inhibition zone with the standard curve.

る。

第1の方法は自明の理で今さら説明を要しないと思われる。第2の方法は、比較的弱い抗結核剤で単独使用では菌の陰性化が起こらない場合に適用出来る。過去には、KM⁷およびTH⁹の場合がそうで、菌の陰性化は起こらなかったが耐性菌が出現した。耐性菌集団が出現するためには、抗結核剤により感性菌の発育が抑制され、突然変異による耐性菌が増殖することが必要である。即ち、耐性出現は、感性菌の発育抑制があつてはじめて起こるもので、抗結核剤が有効に働いていることを示すものである。ただ、抗結核剤の力が劇的に強いと感性菌の発育阻止が著明で、生菌数の減少が目立つが、抗結核剤の力が弱いと感性菌の発育遅延にとどまり、感性菌集団から耐性菌集団への'population change'は緩慢にしか起こらない。即ち、あまり著明な菌数の減少なしに耐性菌が出現する筈である。耐性菌出現の速さは、抗結核剤の強さのほかに、突然変異率の大小および空洞内の生菌数にも関係する⁹⁾¹⁰⁾。

DL8280の場合は、第1の排菌数の減少も観察出来たし、また第2の耐性出現も観察出来た。従つて、DL8280が臨床的に有効なことは確実と思われる。

DL8280の効果が空洞の大きさに関係があるらしいことは、次のように説明できる。一般に大空洞は小空洞よりも、より多数の生菌を含んでいると考えられる。従つて、その中には多数の耐性菌が含まれている筈である。従つて、準単独療法の場合には、治療が失敗しやすいのも当然である⁹⁾¹⁰⁾。

結 論

新抗菌物質 DL8280を1日1回300mgの経口投与方法で、4名の病歴17~20年の肺結核患者に"準単独投与方法"で6~8ヵ月間投与した。この治療により4名全部に排菌の減少が認められ、内1名では排菌の陰性化が起こった。菌が陰性化しなかった3名では、投与後3~5ヵ月でDL8280耐性菌が出現した。DL8280投与による副作用は認められなかった。

文 献

- 1) Tsukamura, M. : *In vitro* antimycobacterial activity of a new antibacterial substance DL-8280, Differentiation between some species of mycobacteria and related organisms by the DL-8280 susceptibility test, *Microbiol Immunol*, 27 : 1129-1132, 1983.
- 2) 東村道雄・水野松司・外山春雄 : 新抗菌物質 DL8280の抗結核菌作用, 発育阻止作用, 殺菌作用, 交叉耐性及び他抗結核剤との併用効果, *結核*, 59 : 429-434, 1984.
- 3) 東村道雄 : *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv株)のDL8280耐性形式, *結核*, 59 : 337-339, 1984.
- 4) 東村道雄・外山春雄・深谷勇一 : 喀痰から抗酸菌を分離するための渦巻白金耳接種法についての知見補遺, *医療*, 33 : 509-513, 1979.
- 5) Tsukamura, M., Toyama, H., and Fukaya, Y. : "Tween egg medium" for isolating mycobacteria from sputum specimens, *Microbiol Immunol*, 23 : 833-838, 1979.
- 6) Tsukamura, M. : Identification of mycobacteria, p. 1-75, The National Chubu Hospital, Obu, Aichi, Japan, 1975.
- 7) 東村道雄・安保孝・勝沼六郎 : 肺結核患者における Kanamycin 耐性結核菌発現の臨床的研究, *結核*, 34 : 625-633, 1959.
- 8) 東村道雄・安保孝・河西栄文 : 結核菌の1314Th耐性に関する臨床的研究 (第2報). *結核*, 37 : 141-144, 1962.
- 9) 東村道雄 : PASのSMまたはINAH耐性阻止機作についての理論的考察, PAS少量投与方法に関連して, *日本胸部臨床*, 18 : 277-280, 1959.
- 10) Tsukamura, M. : Theoretical basis of multiple chemotherapy from bacteriological aspects, *Chemotherapy*, 7 : 157-160, 1959.