原 著

5-Fluorocytosine の抗真菌活性に関する研究

第1報 試験管内抗菌活性、特に抗菌スペクトルと
抗菌活性に及ぼす諸因子の影響岩田 和夫 山口 英世 内田 勝久
平谷 民雄 山本 容正

東京大学医学部細菌学教室

緒 言

近年、諸種の誘因による、表在性並びに深在性真菌症の世界的増加が注目されており、それに対する抗真菌剤の開発研究が進められているが、従来、抗真菌活性は強力でも毒性が比較的強いために適用には制限を余儀なくせざるを得ない薬剤が多い憾みがあった。ここに抗菌活性が強く、毒性の可及的に弱い抗真菌剤の出現が待望されるゆえんがあり、5-fluorocytosine (以下 5-FC) はかかる背景において発見された新抗真菌剤である。

5-FC はピリミジンのフロール置換体 (fluoropyrimidine) で、1956年 Hoffmann-La Roche 社 (USA) で合成された。その化学と生物活性については、Malbica ら¹⁾により記載されている。Grunberg ら²⁾がマウスの実験的真菌感染症に対する有効性を確認して以来、本剤はカンジダ症^{3)~11)}、クリプトコックス症^{3)~5)10)~12)}、*Torulopsis glabrata* 感染症¹⁰⁾¹³⁾クロモミコースス¹⁰⁾などの真菌症々例に適用されて、すぐれた治療成績が報告されている。ただし、*Histoplasma capsulatum*、*Blastomyces dermatitidis*及び細菌 (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* のグラム陽性並びに陰性の諸菌種) に

ついては、それらの実験的感染に無効であるという²⁾。

一方、5-FC の *in vitro* 抗真菌活性については、酵母状真菌に関する研究が特に多く、いずれも *in vivo* と対応して、*Candida albicans*^{5)10)11)16)~20)}、その他の *Candida* 属菌種¹¹⁾¹⁹⁾²⁰⁾、*Cryptococcus neoformans*^{3)10)11)17)~19)21)}、*T. glabrata*^{10)11)20)~23)} が高度に感受性であることが示されている。これに比して糸状菌や二相性真菌を対象とした報告は少ないが、*Aspergillus fumigatus*¹¹⁾¹⁷⁾¹⁹⁾、その他の *Aspergillus* 属菌種 *Geotrichum* 属菌種¹⁹⁾²⁰⁾、黒色糸状菌菌種¹⁹⁾は感受性を有するけれども、皮膚糸状菌菌種¹⁹⁾はすべて非感受性であるという成績が報告されている。また本剤の MIC 値は使用培地の種類やその他種々の測定条件により大きく変動することが知られている¹⁷⁾²⁰⁾。

著者らはこれら 5-FC に関する従来の成績との比較及び新しい観点から本剤の *in vitro* 並びに *in vivo* の抗菌活性の詳細な検討を行なうべく一連の研究を進めてきた。本報告では多種の病原性真菌菌種の他に細菌を含む多数の菌種・菌株に対する 5-FC の抗菌スペクトルを調べるとともに、*C. albicans* を用いて、MIC 測定に際しての培地の組成に性状、接種菌量、判定までの培養日数、薬剤溶液の pH、試験菌の形態など、本剤の *in vitro* の抗菌活性に及ぼす諸種の因子について検討を加え、その作用の特性を追究した。

材料と方法

使用 5-FC: 日本ロシュ K.K. より分与された精製原末標品 (Lot. No. A329278) を使用した。

抗真菌活性の測定: 各種病原真菌 (一部非病原真菌) 26菌種87菌株を用いた。これらは薬剤を含まない Sabouraud glucose agar (以下 Sabouraud agar と略) 斜面に

Kazuo IWATA, Hideyo YAMAGUCHI, Katsuhisa UCHIDA, Tamio HIRATANI and Yoshimasa YAMAMOTO: Studies on Antifungal Activities of 5-Fluorocytosine 1. *In vitro* Antimicrobial Activity of the Agent, with Special Reference to Antimicrobial Spectrum and Influences of Various Factors on the Activity, from Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

定期的に継代，保存したものを使用した。そのなかには比較的最近患者から分離された株も相当多数含まれている。接種菌液は，酵母および酵母様真菌では，上記培地に37°C，24時間培養後の発育菌に滅菌生理食塩水を適量加えて浮遊させたものを採取し，菌浮遊液の O.D.

520値が0.02になるように調整した。この菌液は *C. albicans* または *Saccharomyces cerevisiae* では約 10^7 細胞/mlの濃度に相当する。糸状菌の場合には，Sabouraud agar 斜面に27°C，2～7週間（孢子形成良好の菌で2週間，不良のものでは4～7週間）培養した後，0.05% (v/v) Tween 80加生食水を加えて孢子を採取し，静置して大きな菌塊を除いた。この孢子浮遊液を酵母の場合と同じ O.D. 値に希釈調整した。5-FC は蒸留水に10mg/mlの濃度に溶解し，濾過滅菌したものを基準液として使用した。

固形培地上での感受性試験（寒天希釈法）に際しては，5-FC 基準液の2倍希釈系列を作り，Bacto-yeast morphology agar (Difco)（以下 YMagar と略^{24)~25)} および Sabouraud agar に混釈して薬剤最終濃度500～0.5 μ g/ml を含む平板の系列を作製した。各平板に上記菌液を1白金耳量（約10 μ l）画線塗抹し，酵母類は37°C，48時間（一部発育の遅い *S. cerevisiae* 菌株のみは27°C，3日間），糸状菌類は27°C，5日間培養した後，完全発育阻止を示す寒天平板の最小薬剤濃度をもつて最小発育阻止濃度（MIC）と判定した。なお，極めて発育の遅い一部の菌株については5-FC 無添加対照平板において充分に菌が発育した時点で判定を行なった。

液体培地による感受性試験（液体希釈法）においては，0.15% L-アスパラギンと1%グルコースを添加した Bact-yeast nitrogen base (Difco) (YNB と略) broth^{24~25)} 及び Sabouraud glucose broth (Sabouraud broth と略) に5-FC 基準液を加えて各2 ml を含む試験管の2倍希釈系列を作製し，それぞれに前述の菌液を生食水でさらに5倍希釈したものを0.1ml ずつ接種し，寒天希釈法の場合準同一条件で培養，判定を行なった。

5-FC の抗真菌活性への接種菌量と培養時間の影響は，*C. albicans* MTU 12021，同 MTU 12030，*S. cerevisiae* ATCC 9763 の計3株について YM agar と Sabouraud agar の比較において，それらの平板培地上の MIC により検討した。接種菌量は培地1 ml 当たり 10^5 ， 10^6 ， 10^7 ， 10^8 個の細胞数，培養時間は1，3，7時間とした。

5-FC 抗真菌活性に及ぼす pH の影響を調べる実験においては，*C. albicans* MTU 12021株を試験菌とし，5-FC を pH 域値5～9の各 M/10リン酸緩衝液 (KH_2PO_4 -

Na_2HPO_4)，pH 域値2～6の各 M/10 グリシン-塩酸緩衝液および pH 域値7～11の各 M/10 グリシン-水酸化ナトリウム緩衝液に溶解，希釈して5 μ g/ml 及び20 μ g/ml の2種の5-FC 溶液を調製し，Shadomy¹⁷⁾ による5-FC 体内濃度測定の方法に準拠して寒天拡散法により各試料の周囲に形成される発育阻止円の大きさを計測した。

二相性を示す *C. albicans* の酵母 (Y) 相及び菌糸 (M) 相のそれぞれの形態の菌に対する5-FC 抗菌力の比較検討には *C. albicans* MTU 12013株を用いて実験を行なった。この菌株は適当な基礎培地を用いた場合，添加する酵母エキスの濃度によりその発育形態をほぼ完全に Y 相か M 相のいずれかに変換することができるからである²⁷⁾。本菌株を Sabouraud agar 斜面に27°C，36時間培養し，その少量を取り，表4に示す4種の液体培地に接種して27°Cで振盪培養した。36時間後に各々遠心集菌して生食水に再浮遊して接種菌とし，Y，M，Y(M)，M (Y) の記号に示すように完全な Y 相と M 相，大部分が Y 相で一部 M 相を混ざるもの，大部分が M 相で一部 Y 相を混ざるものの4種類の発育形態を示す菌液が得られた。なお，固形培地としての Sabouraud agar 斜面における27°C，36時間培養菌は M(Y) 相で，比較上本実験に加えたが，この場合は生食水に直接浮遊させた。いずれの菌液も O.D.₅₂₀ 値0.02に希釈調整した後，上記の寒天希釈法に準拠して，それぞれの形態に対する5-FC の MIC を測定した。

抗細菌活性の測定：YM agar (pH 7.2に再調整) 及び heart infusion agar (以下 HI agar と略) で各種グラム陽性並びに陰性細菌各3菌種計13株の教室保存菌株に対する5-FC の抗菌活性の測定を行なった。接種菌液にはそれぞれの測定培地から寒天を除いた培地，すなわち L-アスパラギン・グルコース加 YNB broth 及び HI broth (pH 7.2に調整) で37°C，24時間前培養し，生食水で O.D.₅₂₀ 値0.02に希釈調整したものをを用いた。菌接種後37°C，48時間培養し，MIC を判定した。

成 績

1. 各種病原真菌の5-FC に対する感受性

表1に YM agar 平板及び Sabouraud agar 平板上で得られた諸種の酵母類並びに糸状菌類を含む真菌菌株に対する5-FC の MIC を示した。実験結果に示されるように，ほとんどすべての感受性菌種において5-FC の MIC は Sabouraud agar 平板にくらべて YM agar 平板を用いた場合の方が $1/2$ 以下の低い値を示した。すなわ

Table 1 Susceptibility of Various Test Strains of Fungi to 5-Fluorocytosine as Measured on Bacto-Yeast Morphology Agar and Sabouraud Glucose Agar

Organism	No. of strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
		Bacto-yeast morphology agar	Sabouraud glucose agar
<i>Candida albicans</i>	12	0.5—2	2—16
<i>C. tropicalis</i>	2	0.5	4
<i>C. pseudotropicalis</i>	2	< 0.5	1—2
<i>C. kursei</i>	2	0.5—2	8—16
<i>C. prarpsilosis</i>	2	0.5—1	8—16
<i>C. stellatoidea</i>	1	0.5	16
<i>C. guilliermondi</i>	2	0.5	2—8
<i>Torulopsis glabrata</i>	2	< 0.5	... *
<i>T. fumata</i>	1	< 0.5	... *
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3	0.5—0.5	8
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8	< 0.5	1—8
<i>Geotrichum candidum</i>	1	0.5	2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	9	0.5—2	8—16
<i>A. flavus</i>	1	4	64
<i>A. niger</i>	1	0.5	2
<i>Penicillium notatum</i>	2	0.5—1	8—16
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	3	0.5—2	8—130
<i>Sporothrix schenckii</i>	1	1	2
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	28	0.5—32**	4—64**
<i>Phialophora verrucosa</i>	5	1—4	4—32
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	4	> 500	> 500
<i>T. rubrum</i>	1	500	> 500
<i>Microsporum audouini</i>	1	... *	500
<i>M. canis</i>	1	> 500	> 500
<i>M. gypseum</i>	1	> 500	> 500
<i>Epidermophyton floccosum</i>	1	500	> 500

* Not tested. ** The mean value was 4. *** The mean value was 16.

ち、YM agar 上では試験菌として用いたすべての酵母並びに酵母状真菌は強い感受性を示し、*Aspergillus* 属などの糸状菌、*Blastomyces* 属、その他の二相性真菌もほぼこれに匹敵する感受性を示した。クロモミコーススの起因菌である *Fonsecaea pedrosoi* や *Phialophora verrucosa* の諸菌株も強い感受性を示すが上記の諸菌種にくらべれば、やや低い傾向がみられた。皮膚糸状菌菌種は、いずれも 5-FC 抵抗性であった。

2. 各種細菌の 5-FC に対する感受性

表2は pH 7.2で YM agar 上で発育し得る幾種かの細菌菌株に対する 5-FC の MIC を同培地並びに HI agar 上で測定した結果をまとめたものである。5-FC は HI agar 上では、グラム陽性並びに陰性細菌に対し、

ともに抗菌活性はほとんど発現しないが YM agar 上では被検菌株のすべてに対し 6—100 $\mu\text{g/ml}$ の範囲の MIC を示し、使用培地による MIC 場合の差違は真菌の場合よりもはるかに顕著にある点が注目される。このように本剤は抗真菌活性に加えて、それよりは弱い抗細菌活性をも備えていることが認められた。

3. 5-FC の抗菌活性に及ぼす接種菌量並びに培養時間の影響

C. albicans 2株及び *S. cerevisiae* 1株に対する 5-FC の *in vitro* 活性に及ぼす接種菌量並びに培養時間の影響について YM agar 及び Sabouraud agar 平板上で検討した。表3から明らかなように、両培地において接種菌量効果が認められ、試験3菌株に対する MIC 値は接

Table 2 Antibacterial Activity of 5-Fluorocytosine as Measured on Bacto-Yeast Morphology Agar and Heart-Infusion Agar

Organism	MIC (μg/ml)	
	Bacto-yeast morphology agar	Heart-infusion agar
<i>Bacillus anthracis</i> B-2	12.5	> 800
<i>B. subtilis</i> IAM 1144	12.5	> 800
" AEKEN	100	> 800
" B-1	12.5	> 800
<i>B. megaterium</i> IAM 11001	12.5	> 800
<i>Escherichia coli</i> K-12	50	> 800
" B	100	> 800
" IAM 1268	50	> 800
" C	12.5	> 800
" O-55	6.3	> 800
<i>Proteus vulgaris</i> P-3	50	> 800
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ps-1	100	> 800
" Ps-2	100	> 800

種菌量の増加につれて高くなるが、YM agar を用いた場合は軽度で Sabouraud agar の場合にその傾向が強まることが観察された。また培養時間と MIC 値の関係も両培地について同様の傾向がみられた。

Table 3 Effect of Inoculum Size and Incubation Time on *In Vitro* Activity of 5-Fluorocytosine against *C. albicans* and *S. cerevisiae* on Bacto-Yeast Morphology Agar and Sabouraud Glucose Agar

Conc. of cell suspension inoculated (cells/ml)	Incubation time (day)	MIC (μg/ml)					
		<i>C. albicans</i> MTU 12021		<i>C. albicans</i> MTU 12030		<i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763	
		Y	S	Y	S	Y	S
10 ⁵	1	...	...	...	0.4	...	0.4
	3	< 0.2	0.8	< 0.2	6.4	< 0.2	3.2
	7	0.4	6.4	0.4	6.4	< 0.2	3.2
10 ⁶	1	...	...	...	1.6	...	1.6
	3	0.4	3.2	0.4	12.5	0.2	12.5
	7	0.8	12.5	0.8	12.5	0.4	12.5
10 ⁷	1	< 0.2	0.8	< 0.2	1.6	< 0.2	3.2
	3	0.4	6.4	1.6	50	0.4	6.4
	7	1.6	50	3.2	50	0.8	50
10 ⁸	1	< 0.2	3.2	0.4	6.4	< 0.2	3.2
	3	1.6	25	12.5	50	1.6	12.5
	7	12.5	>50	25	>50	6.4	25

Y = Bacto-yeast morphology agar.
S = Sabouraud glucose agar.
... indicates no visible growth on drug-free control plates.

4. 5-FC の抗真菌活性に及ぼす pH の影響

pH 2～11の領域の種々の pH 値に調整した3種の緩衝液に本剤を5 μg/ml または20μg/ml 含有するように溶解し、*C. albicans* MTU 12012株を試験菌として寒天拡散法により生ずる発育阻止円の大きさから判定を行なつたところ、表4に示されるように、5-FC 5 μg/ml 及び20μg/ml のいずれの濃度においても試験した範囲の pH 値では抗菌活性になんらの影響も認められなかつた。

5. *C. albicans* の発育形態と 5-FC 感受性

表1に示される5-FCの抗真菌スペクトルから酵母類にくらべて糸状菌の方が低感受性である傾向がうかがわれたので、Y相とM相の2つの発育形態をとる *C. albicans* MTU 12013株を用い、これらの菌形態の5-FC感受性にどのような差違があるかをYM agar 上で検討した。表5の成績から明らかなように、接種菌がY相であれM相であれ、5-FC に対する感受性には全く相違がみられなかつた。

6. 液体培地使用による 5-FC の MIC 測定値—固形培地との比較

寒天希釈法により得られる5-FCの各種真菌に対するMIC値が液体希釈法による値とどのような相関性をもつかを知るために、YM agar 平板上で得られた測定値と、アスパラギン・グルコース加 YNB broth 中での値

Table 4 Effect of pH of the Solution of 5-Fluorocytosine on Its Antifungal Activity against *C. albicans* as Determined by Agar Diffusion Method

pH value	Diameter of inhibitory zone (mm)					
	Phosphate buffer		Glycine-HCl buffer		Glycine-NaOH buffer	
	Concentration of the 5-FC solution tested ($\mu\text{g/ml}$)					
	5	20	5	20	5	20
2			25	28		
3			21	29		
4			22	29		
5	23	30	21	27		
6	21	30	21	28		
7	22	31			22	27
8	23	30			21	28
9	21	30			20	27
10					21	28
11					25	30

The strain used: *C. albicans* MTU 12013

Table 5 Antifungal Activity of 5-Fluorocytosine against *C. albicans* in Yeastlike and Mycelial Phases as Measured on Bacto-Yeast Morphology Agar

Inoculum		MIC ($\mu\text{g/ml}$)
Preculture medium	Cell morphology**	
Sabouraud glucose agar	M (Y)	0.13
Basal medium* + 0.5% yeast extract	Y	0.13
Basal medium* + 0.1% yeast extract	M	0.13
1% Peptone + 1% glucose + 0.5% yeast extract	Y (M)	0.13
1% Peptone + 1% glucose + 0.1% yeast extract	M (Y)	0.13

The strain used: *C. albicans* MTU 12013.

* $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 8g, KH_2PO_4 3.6g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1-2g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g, glucose 8g in 1 liter distilled water, pH 5.9.

** Y, purely yeastlike; Y(M), mostly yeastlike with a few mycelial cells; M(Y), mostly mycelial with a few yeastlike cells; M, purely mycelial.

との比較検討を行なった。表1と表6に示される成績から明らかなように、両者の抗菌スペクトルのパターンはほぼ完全に一致すること、また感受性真菌に関しては固形培地上での MIC よりも液体培地上での MIC 値が幾

Table 6 Susceptibility of Various Fungal Strains to 5-Fluorocytosine as Determined in Yeast Nitrogen Base Broth

Organism	No. of strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Candida albicans</i>	5	< 0.3—1
<i>C. tropicalis</i>	1	1
<i>C. pseudotropicalis</i>	1	2
<i>C. krusei</i>	1	1
<i>C. parapsilosis</i>	1	0.5
<i>C. stellatoidea</i>	1	4
<i>C. guilliermondi</i>	1	<0.13
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	0.25
<i>Cryptococcus neoformans</i>	3	<0.13—0.5
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	<0.13—0.5
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	2	8—16
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	3	100—500

分低いことが認められた。

考 察

5-FC の *in vitro* 抗菌活性に関する研究は少なくないが、そのほとんどは比較的少数の菌種、特に酵母類を対象としたもので、広範囲の真菌菌種でしかも多数の菌株について本剤の抗真菌スペクトルを検討した成績は本報告以前には Scholar¹⁹⁾ による報告にみられるのみである。今回の実験成績で *C. albicans* その他の *Candida* 属諸菌種、*Cr. neoformans*, *T. glabrata*, *S. cerevisiae*などの酵母類に最も高い感受性が認められたことは従来報告されたすべての成績^{3)10)11)16)~22)}と一致する。また酵母類よりもやや感受性が低いとされてきた *A. fumigatus* などの糸状菌類においても酵母類と同等の高い感受性が示されたこと、黒色糸状菌の多くの菌株でもこれらの菌種に近い感受性が得られたこと、しかし皮膚糸状菌菌種はすべて 5-FC 抵抗性であること、以上の点に関しても Scholar¹⁹⁾ の成績に一致する。しかしながら Scholar の成績で感受性が低いとされた *B. dermatitidis* などの二相性真菌においても、今回われわれが得た成績では、*Aspergillus* 属等に匹敵する感受性が認められ、皮膚糸状菌を除く菌種の大部分の試験菌株に対する 5-FC の MIC は YM agar 上及び YNB broth 中で $4\mu\text{g/ml}$ 以下の値を示した。Shadomy¹⁸⁾ によれば、 100mg/kg/日 、用量の 5-FC 投与を受けた患者では血中及び髄液内薬液濃度はそれぞれ $10\sim30\mu\text{g/ml}$ 及び $8\sim20\mu\text{g/ml}$ に達したという。この成績とわれわれの成績とを照らし合わせるならば、本剤は酵母状真菌による感染症のみならず、アスペルギル

ス症、プラストミセス症、スポロトリクム症、クロモミコーススなどほとんどすべての真菌症、特に深在性真菌症もしくは深在性皮膚真菌症に適用され得ることが示唆される。ことに amphotericin B 感受性が低いクロモミコースス起因菌に対しては 5-FC をまず適用すべきであろう。これらの病原真菌に対する 5-FC の *in vitro* 並びに *in vivo* の抗菌活性の詳細は続報で述べる。

従来 5-FC の MIC 測定には Scholar¹⁹⁾ の報告など一部の例外を除けば、すべて YNB broth 中での液体希釈法を用いており、Shadomy¹⁷⁾ は *S. cerevisiae* に対する MIC が YNB broth 中で測定した場合よりも YM agar 平板培地を用いて寒天希釈法によつて行なつた場合の方が数倍以上敏感な値をとると報告している。われわれが多数の菌種について行なつた実験でも同様の傾向が認められたが、抗菌スペクトルのパターンに関してはこの二つの方法の間にとくに相違はなかつた。測定方法としての簡便さと再現性の点を考慮するならば、5-FC の MIC 測定には YM agar 培地を用いた寒天希釈法を標準化する方向が好ましいと思われる。

われわれの実験成績はほとんどすべての 5-FC 感受性真菌について YM agar を Sabouraud agar に変えた場合に MIC が 5～10 倍上昇することを示した。これは核酸塩基、ヌクレオシド類を多量に含むヘプトンや酵母エキスの添加により 5-FC の抗真菌活性が強く拮抗阻害されることを報告した Shadomy ら²¹⁾、Scholar¹⁹⁾、Hoeprich と Finn²⁸⁾ などの成績に一致する。さらに、5-FC 抗真菌活性が接種菌量並びに培養時間により強い影響を受けることを示したわれわれの成績は従来の成績¹⁹⁾²⁸⁾と合わせてこれまで同種の菌について得られてきた MIC 値に研究者間でばらつきがあつたことの原因を示唆するとともに、5-FC 抗菌活性の比較もしくは測定方法の標準化を考える場合には接種菌量並びに判定までの培養時間を厳密に規定する必要性があることを示している。

C. albicans の 5-FC 感受性は接種菌の菌形態、すなわち酵母相かあるいは菌糸相かにかかわりなく、一定の値を示したことは、特に侵襲組織内で菌糸相をとりやすい本菌に対し 5-FC が *in vivo* でも充分な抗菌作用を発揮する事実と矛盾しない。また 5-FC の抗菌活性が pH の影響を受け難いという成績は、本剤が炎症局所、胃、膈などにおいても充分な効力発現を期待させる証左となるであろう。

5-FC の抗細菌活性に関してはほとんど報告がなかつたが、今回のわれわれの成績から少なくとも YM agar に

発育しうる幾種かの細菌に対しては真菌ほどではないにしてもかなり強い抗菌力を発現し、5-FC の抗菌スペクトルが予想以上に広いことが示された。しかもこの抗細菌活性は HI 培地のような天然培地上で認められなかつたことは抗真菌活性が Sabouraud agar 培地上で著しく低下した事実によく対応し、それぞれの微生物に対する 5-FC の作用が同一機序に帰因する可能性を示唆する。Koechlin ら²⁹⁾によれば、5-FC の活性型は 5-fluorouracil であり、この変換にあずかる cytosine deaminase は真菌細胞に固有であり哺乳動物組織には欠如しているという。しかしながら、以前より大腸菌には cytidine deaminase の存在が確認されており³⁰⁾、このことから細菌細胞においても 5-FU が生成されて抗菌作用を示すと考えることができよう。

結 論

真菌（病原菌を中心とし、一部非病原菌を含む）26 菌種 87 株に対する 5-Fuorocytosine (5-FC) の MIC は、Bacto-yeast morphology agar 平板では、大多数において 2 $\mu\text{g/ml}$ 以下であり、黒色糸状菌には $<0.5\sim 32\mu\text{g/ml}$ と菌種菌株による差異が比較的大きく、皮膚糸状菌には $>500\mu\text{g/ml}$ であつた。

MIC 値は使用培地によつて著しく相違し、Sabouraud glucose agar 平板では数倍高く、Bacto-yeast nitrogen base broth による液体希釈法では数分の一低かつた。但し、これら MIC 測定の方法における抗真菌スペクトルのパターンは全体として同様であつた。

5-FC の抗真菌活性に及ぼす諸因子の影響について、*Candida albicans* を試験菌として検討した結果、溶液の pH 値の変動は広範囲において無関係であり、接種菌量の増大と培養時間の延長も比較的軽度であり、試験菌の形態の酵母相と菌糸相に対して同程度の活性を示すことを認めた。

本剤はグラム陽性並びに陰性の細菌類、6 菌種 13 株に対しても中等度（6～100 $\mu\text{g/ml}$ ）の MIC 値を有することを明らかにした。

以上の成績から、5-FC は広域の強力な抗真菌活性のほか中等度の抗細菌活性を示し、その抗真菌活性は諸因子の影響を受けることの少ない特徴的な抗真菌剤であるとみなすことができる。

本論文の要旨は第 17 回日本医真菌学会総会（昭和 48 年 8 月 31 日～9 月 1 日岐阜市）において発表した。

5-FC 標品を分与された日本ロシュ K.K. に感謝する。

REFERENCES

- 1) Malbica, J., Sello, L., Tabenkin, B., Berger, J., Grunberg, E., Burchenal, J.H., Fox, J.J., Wempen, I., Gabriel, T. and Duschinsky, R.: Some biological properties of 5-fluorocytosine and its derivatives. *Federation Proc.*, **21**: 384, 1962.
- 2) Grunberg, E.E., Tisworth, E. and Bennett, M.: Chemotherapeutic activity of 5-fluorocytosine. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1963, p. 566—568, 1964.
- 3) Grunberg, E. E., Prince, H.N. and Utz, J.P.: Observations on the activity of two newer antifungal agents, saramycetin (X-5079C) and 5-fluorocytosine. *In*: 5th International Congress of Chemotherapy (Vienna, Austria, 26 June—1 July, 1967), Vol. 4, p. 69—76, Med. Akademie, Vienna, 1967.
- 4) Tassel, D. and Madoff, M.A.: Treatment of *Candida* sepsis and *Cryptococcus* meningitis with 5-fluorocytosine. *J.A.M.A.*, **206**: 830—832, 1968.
- 5) Fass, R.J. and Perkins, R.L.: 5-Fluorocytosine in the treatment of cryptococcal and candida mycoses. *Ann. Intern. Med.*, **74**: 535—539, 1971.
- 6) Warner, J.F., McGiehee, R.F., Duma, R.J., Shadomy, S. and Utz, J.P.: 5-Fluorocytosine in human candidiasis. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1970, p. 473—475, 1971.
- 7) Record, C.O., Skinner, J.M., Sleight, P. and Speller, D.C.E.: *Candida* endocarditis treated with 5-fluorocytosine. *Br. Med. J.*, **1**: 262—264, 1971.
- 8) Davis, R.R. and Reeves, D.S.: 5-Fluorocytosine and urinary candidiasis. *Br. Med. J.*, **1**: 577—579, 1971.
- 9) Schönebeck, J., Steen, L. and Tärnvik, A.: 5-Fluorocytosine treatment of *Candida* infections of the urinary tract and other sites. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, **6**: 37—43, 1972.
- 10) Vandeveld, A.G., Mauceri, A.A. and Johnson, J.E.: 5-Fluorocytosine in the treatment of mycotic infections. *Ann. Intern. Med.*, **77**: 43—51, 1972.
- 11) Steer, P.L., Marks, M.I., Klite, P.D. and Eickhoff, T.C.: 5-Fluorocytosine an antifungal compound. A report on clinical and laboratory experience. *Ann. Intern. Med.*, **76**: 15—22, 1972.
- 12) Utz, J.P., Tynes, B.S., Shadomy, H.J., Duma, R.J., Kannan, M.M. and Mason, K.N.: 5-Fluorocytosine in human cryptococcosis. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1968, p. 344—346, 1969.
- 13) McDonald, R., Greenberg, E.N. and Kramer, R.: Cryptococcal meningitis. *Arch. Dis. Child.*, **45**: 417—420, 1970.
- 14) Philpot, C.R. and David, L.: Cryptococcal meningitis in pregnancy. *Med. J. Aust.*, **2**: 1005—1007, 1972.
- 15) Webb, A.J., Speller, D.C.E. and Buckler, K.G.: *Torulopsis glabrata* septicaemia treated with 5-fluorocytosine. *Lancet*, **1**: 839—840, 1970.
- 16) Pittillo, R.E. and Ray, B.J.: Chemotherapeutic activity of 5-fluorocytosine against a lethal *Candida albicans* infection in mice. *Appl. Microbiol.*, **17**: 773—774, 1969.
- 17) Shadomy, S.: In vitro studies with 5-fluorocytosine. *Appl. Microbiol.*, **17**: 871—877, 1969.
- 18) Shadomy, S.: Further in vitro studies with 5-fluorocytosine. *Infect. Immun.*, **2**: 484—488, 1970.
- 19) Scholar, H.J.: Antimycoticum 5-fluorocytosine (oral antimycotic agent, 5-fluorocytosine). *Mykosen*, **13**: 179—188, 1970.
- 20) Hamilton-Miller, J.M.T.: A comparative *in vitro* study of amphotericin B, clotrimazole and 5-fluorocytosine against clinically isolated yeasts. *Sabouraudia*, **10**: 276—283, 1972.
- 21) Shadomy, S., Shadomy, H.J., McCay, J.A. and Utz, J.P.: In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B, hamycin and 5-fluorocytosine. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1968, p. 452—460, 1969.
- 22) Drouhet, W.: Spectre antifongique de l'Amphotéricin B, de la 5-FC, du clotrimazole et de la griséofulvine sur les champignons des mycoses profondes. *Bull. Soc. Franç. Mycol. Méd.*, **20**: 12—15, 1972.
- 23) Marks, M.I., Steer, P. and Eickhoff, T.C.: In vitro sensitivity of *Torulopsis glabrata* to amphotericin B, 5-fluorocytosine, and clotrimazole (Bay b 5097). *Appl. Microbiol.*, **22**: 93—95, 1971.
- 24) Van der Walt, J.P.: Criteria and methods used in classification. *In*: The Yeasts (ed. Lodder, J.) 2nd ed., p. 82, North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1970.
- 25) Wickerman, L.J.: Taxonomy of yeasts. 1. Techniques of classification, 2. A classification of the genus *Hansenuli*. *Tech. Bull. No. 1029*, p. 1—56, U.S. Dept. Agric. Washington, D.C., 1951.
- 26) Wickerman, L.J. and Rettger, L.F.: *J. Trop. Med. Hyg.*, **42**: 174—178, 1939.
- 27) Yamaguchi, H.: Dimorphism in *Canadida*

- albicans*. I. Morphology-dependent changes in cellular content of macromolecules and respiratory activity. J. Gen. Appl. Microbiol., **20**: 87—99, 1974.
- 28) Hoeprich, P.D. and Finn, P.D.: Obfuscation of the activity of antifungal antimicrobics by culture media. J. Inf. Dis., **126**: 353—361, 1972.
- 29) Koechlin, B.A., Rubio, F., Paimer, S., Gabriel, T. and Duschinsky, R.: The metabolism of 5-fluorocytosine-2¹⁴C and of cytosine-¹⁴C in the rat and the disposition of 5-fluorocytosine-2¹⁴C in man. Biochem. Pharmacol., **15**: 435—446, 1966.
- 30) Wang, T.P., Sable, H.Z. and Lampen, J.O.: Enzymatic deamination of cytosine nucleosides. J. Biol. Chem., **184**: 17—28, 1950.
-