

Alpha-Ethyl-Thioisonicotinamide (1314Th) の

基礎的研究

第 1 篇 1314Th 単独の試験管内抗結核菌作用について

京都大学結核研究所内科学第 1 (主任教授 内藤 益一)

副 手 川 合 満

(昭和40年1月15日受付)

第 1 章 緒 言

結核の化学療法は近年長足の進歩をとげ、結核死亡数は激減し患者数もかなり減少したものの最近にいたって streptomycin (SM), para-amino-salicylic acid (PAS) 及び isonicotinic acid hydrazide (INH) 等のいわゆる 1 次薬剤に耐性を示す既治療患者、並びにこれらの薬剤に対する耐性菌感染症例の数が次第に増加して¹⁾²⁾、現在の結核治療にとって大きな障壁となっていることは周知の事実である。

その後 viomycin (VM), kanamycin (KM), cycloserine (CS), pyrazinamide (PZA), sulfisoxazole (SI), 等のいわゆる 2 次薬剤が発見されたが、いずれの薬剤も INH や SM に比して効果が弱くこのため一つでも多くの新しい抗結核剤の出現が強く待望されているのである。

α -ethyl-thioisonicotinamide (1314Th) は 1956年 Libermann³⁾ らによって合成された結核化学療法剤で、1952年 Thioisonicotinamide に 20 γ /ml の制菌力をみとめたことにはじまるといわれている。一方 Libermann らとは別個に Gardner⁴⁾ らも 1954年に thioisonicotinamide がマウスの実験的結核症に有効であることを見出し、それ以後 thioisonicotinamide の種々な誘導体が研究され^{3,5)} ていたが、1956年に Libermann らによって最も興味のあるものとして α -ethyl-thioisonicotinamide 即ち 1314Th が報告された。1314Th に関しては既に多数の報

告がみられるが、著者は薬剤の作用する人体内の環境が極めて多様である点から、1314Th の抗菌作用についても出来るだけ多角的に検討する必要があると考え若干の基礎的研究を行なったのでその成績を報告する。

本篇に於いては 1314Th 単独の試験管内抗結核菌作用について記載する。

第 2 章 実 験 材 料

1) 培 地

a) 10%牛血清加キルヒナー培地

成書記載の通りに作成した。又、必要に応じて、伊藤⁶⁾の方法により、1N-HCl. 又は 1N-NaOH を用いて培地 pH を 5.5, 6.5及び7.5に修正した。

b) 10%牛血清加キルヒナー寒天培地

キルヒナー基本培地 90.0ml に Bacto Special Agar Noble 1.3g を加え、コッホ釜で溶解滅菌し、48~50°C に冷えてから非働化して、牛血清 10.0ml を加え、よく混和し、径 16.5mm 長さ 170.0mm の試験管に 5.0ml づつ分注して、斜面に固めたものである。

c) Tween-albumin 培地

その組成は次の通りである。

拘攪酸アンモニウム鉄	0.01g
硫酸マグネシア	0.1g
塩化カルシウム	0.0005g
硫酸亜鉛	0.0001g
ペプトン(大五栄養K.K.製)	2.0g
アスパラギン	2.0g
第 2 磷酸ナトリウム	2.5g
第 1 磷酸カリウム	1.0g

硫酸銅 0.0001g
蒸溜水 900.0ml.

この基汁を溶解後、1.5 気圧、20分間高压滅菌し、基汁 80.0ml に対して、Bovine Albumin powder (Armour pharmaceutical company 製) の 5% 溶液 10.0ml, Tween 80(0.5%)10ml, 50%ブドウ糖液 1.0ml を加え、48時間 37°C に培養し、無菌的なことを確かめて後、使用に供した。

d) 1%第一磷酸カリ培地

成書⁷⁾に記載された方法により作成した。

2) 菌液

供試株は、当研究室保存の人型結核菌 H37Rv 株である。又、必要に応じて、H37Rv 感性株より分離した H37RvR-INH Catalase(+), H37RvR-INH Catalase(-), H37RvR-SM, H37RvR-PAS, H37RvR-KM, H37RvR-VM, H37RvR-Tetracycline, H37RvR-TBI, 及び H37RvR-1314Th を用いた。

菌液は次の如くして作成した。菌液濃度の判定はすべて比濁法による。尚、特にことわりのない限り、Tween-albumin 菌液を用いた。

a) Tween-albumin 培養液稀釈菌液

Tween-albumin 培地に 7~10日間 深部均等培養した培養液を十分に振盪攪拌して菌を分散させた後、同培地で適当に稀釈して所要の濃度の菌液とした。

b) ガラス玉磨砕菌液

10%牛血清加キルヒナー培地に、約 2 週間表面培養して得られた菌膜を、ガラス玉入り丸底コルベンにとり、少量づつ生理的食塩水を加えながら振盪して、菌懸濁液を作り、約20分間静置の後、上清を適量とり、これを生理的食塩水で更に所要濃度まで稀釈して用いた。

c) 石油ベンジン菌液

Silicone-coated Slide Culture Method^{8,9)} (SSC 法と略記) に用いた。化学用石油ベンジンの約 5ml を径 16.5mm 長さ 170.0mm の試験管にとり、これに結核菌塊又はコロニーを 2~3 白金耳とって、よく分散せしめ、必要に応じて更に石油ベンジンで所定の濃度に稀釈した。又、石油ベンジンの菌障害作用を考慮して、菌液作成後30分以内に菌接種を終了せしめた。

以上の他の点については、個々の実験の項で記載する。

第 3 章 実験方法並びに実験成績

I 1314Th の最低発育阻止濃度(MIC)に及ぼす培地 pH 及び接種菌量の影響の検討

1. 実験方法

常法の通滅倍数稀釈法によった。即ち、小試験管(径 15mm, 長さ 150mm) 10本を併列し、10%牛血清加キルヒナー培地を第 1 管に 3.6ml 第 2 管以下、第10管までには、2.0ml ずつ分注し、第 1 管に被検薬液 0.4ml を加え、10倍稀釈にし、駒込ピペットにて攪拌、その 2.0ml を第 2 管に移し、以下第 9 管まで倍数稀釈し、第 10 管は薬剤を含まない対照培地とした。ついで Tween-albumin 稀釈菌液を駒込ピペットで滴下、37°C 4 週間培養後判定した。

被検薬剤は 1314Th 及び対照薬剤として dihydrostreptomycin(DHSM)を用い、培地 pH は 5.5, 6.5, 7.5, の 3 種、接種菌量は培地 1ml 当り 0.1, 0.01, 及び 0.001mg の 3 種である。

2. 実験成績

表 1 1314Th の発育阻止最低濃度(MIC)に及ぼす培地 pH 及び接種菌量の影響

抗結核剤	接種菌量 (mg)	培 地 pH		
		5.5	6.5	7.5
DHSM	0.1	10.0	5.0	0.625
	0.01	2.5	0.625	0.313
	0.001	1.25	0.313	0.156
1314Th	0.1	1.25	1.25	1.25
	0.01	0.625	0.625	0.625
	0.001	0.625	0.625	0.625

使用培地：10%牛血清加キルヒナー培地

表 1 に示した。先づ培地 pH についてみると対照薬剤の DHSM は、培地 pH がアルカリ性になるに従って制菌力が著明に増強されたが、1314Th は培地 pH には殆んど影響をうけず、例えば接種菌量 0.1mg のとき、培地 pH 5.5 のときも 7.5 のときも同じ 1.25γ/ml の MIC を示した。

次に接種菌量の影響についてみると、対照の DHSM は接種菌量が多くなるに従って制菌力が著明に低下したのに反して、1314Th は接種菌量 0.001mg のときは 0.625γ/ml, 0.1mg のときは 1.25γ/ml であって、わずか 2 倍の差しか認められず、1314Th はあまり接種菌量に影響されないという成績を示した。

II 各種培地における 1314Th の発育阻止最低濃度 (MIC) の検討

1. 実験方法

使用培地は 1%第1 燐酸カリ培地 (1%小川培地) 10%牛血清加キルヒナー培地, 10%牛血清加キルヒナー寒天培地, Tween-albumin 培地の 4 種類であって培地はすべて pH 7.0 に修正した。これらの培地を用いて, 通減倍数稀釈法によって 1314Th の MIC を検討した。培数稀釈は, 液体培地は第 3 章 I. 1. でのべた方法でおこない, 寒天培地は 48~50°C に於いて, 卵培地では培地凝固前に薬液を添加して倍数稀釈をおこなった。菌液は, H37Rv 株の Tween-albumin 培養稀釈菌液を用い, 一試験管当り, 0.01mg 接種 37°C 2 週及び 4 週後に判定した。

2. 実験成績

表 2 各種培地における 1314Th の発育阻止最低濃度 (MIC)

使用培地	MIC	
	2 週判定	4 週判定
10%牛血清加キルヒナー液体培地	0.313	0.625 (γ/ml)
10%牛血清加キルヒナー寒天培地	0.313	0.625
Tween-albumin 培地	2.5	5.0
1%第1 燐酸カリ卵培地	15.6	31.3

接種菌量 : 0.01mg

表 2 に示した。10%牛血清加キルヒナー培地での制菌力を 1 とすると, 10%牛血清加キルヒナー寒天培地ではほぼ同様, Tween-albumin 培地では約 1/10, 1%第1 燐酸カリ培地では約 1/50 の値を示した。

III 1314Th の制菌作用と培地中の血清濃度との関係の検討

1. 実験方法

志保田¹⁰⁾の方法に準じて, 10%, 30%, 50% 70%及び90%牛血清加キルヒナー培地を作成した。即ち, 表 3 に示す如き割合に10倍濃厚キルヒナー原液と非働性血清に滅菌蒸溜水を混和し, 培地 pH を 6.6~6.8 に修正し, これらの培地を用いて, 通減倍数稀釈法で 1314Th の

表 3 各種濃度血清加キルヒナー培地の培地組成

培地組成	血清濃度				
	10%	30%	50%	70%	90%
牛血清	10	30	50	70	90 (ml)
10倍濃厚キルヒナー原液	10	10	10	10	10
滅菌蒸溜水	80	60	40	20	—
総量	100	100	100	100	100

制菌力を検討した。使用菌液は 0.5mg/ml の H37Rv 株 Tween-albumin 培養稀釈菌液で, 接種菌量は培地 1ml 当り約 0.01mg 培養開始後 2 週及び 4 週後に判定を行なった。

2. 実験成績

表 4 1314Th の発育阻止最低濃度 (MIC) に及ぼす牛血清加キルヒナー培地中の血清濃度の影響

キルヒナー培地中の血清濃度	MIC	
	2 週判定	4 週判定
10%	0.625	1.25 (γ/ml)
30%	1.25	2.5
50%	2.5	5.0
70%	2.5	5.0
90%	2.5	5.0

接種菌量 : 0.01mg

実験成績は表 4 に示す如く, 10%牛血清加キルヒナー培地における制菌力を 1 とすると, 90%牛血清加キルヒナー培地における制菌力は 1/4 となり, 2 週間判定では, 2.5γ/ml 4 週間判定では 5.0γ/ml の MIC を示した。

IV 培地置換培養法による 1314Th の制菌作用の検討

この実験は, 1314Th の制菌作用が, 培養中に変化するかどうかを検討する目的でなされたものである。

1. 実験方法

神田¹¹⁾の方法によった。即ち, 第 1 管の 1314Th 濃度を 20γ/ml とする 20 管 1 系列の通減倍数稀釈列 2 系列を作り, これらに 0.1mg/ml の濃度の H37Rv 株ベンジン菌浮游液に瞬時浸漬して結核菌を吸着させたシリコン被覆スライド

を1枚ずつ投入、37°Cの孵卵器で培養し、その内の1系列は週2回、新たに作成せる同様の倍数希釈列へスライドを置換し、他の1系列はそのまま培養して4週目にMICを判定した。尚、対照薬剤としてINHを用いた。

2. 実験成績

表5 培地置換培養法による1314Thの制菌作用

抗結核剤	MIC	
	週2回培地置換	培地置換せず
1314Th	0.156	0.313(γ/ml)
INH	0.0625	1.0

使用培地：10%牛血清加キルヒナー培地、シリコンスライド培養法による
1スライド当り 4×10⁴ V.U.

実験成績は表5であって、1314Thは培地置換をしたものの方が対照（非置換）に比べて1管だけ制菌作用が強く出た。又、INHのMICは、両法の間で著明な差が認められた。即ち1314Thはin vitroで比較的安定な制菌効果を保持することをしめした。

V 各種抗結核剤耐性菌に対する1314Thの制菌作用の検討

1. 実験方法

10%牛血清加キルヒナー培地(培地 pH 6.5)接種菌量は培地 1ml 当り約 0.01mg、の条件で通減倍数希釈法によって1314Thの制菌作用を検討した。使用菌株は、H37Rv 感性株及びSM, PAS, INH, KM 及び VM 耐性株で、菌液はガラス玉コルベンによる磨砕法で作成した。判定は培養開始後4週間である。

2. 実験成績

表6の如き成績を得た。1314ThのMICはいづれの菌に対しても0.625~1.25γ/mlで、試験管1管を実験誤差と考えると、1314ThはSM, PAS, INH, KM 及び VM 耐性菌に対しても感受性菌と同じ制菌作用を示すことが明らかとなった。

VI 1314Th 耐性菌に対する各種抗結核剤の制菌作用の検討

1. 実験方法

表6 各種抗結核剤耐性菌に対する1314Thの制菌作用

菌 株	耐 性 度 (γ/ml)	MIC (γ/ml)
H37RvS		0.625
H37RvR-INHCatalase(+)	12.5	0.625
H37RvR-INHCatalase(-)	25.0	1.25
H37RvR-KM	10000.0	0.625
H37RvR-PAS	25.0	0.625
H37RvR-SM	10000.0	0.625
H37RvR-VM	25.0	0.625

接種菌量：0.01mg

使用培地：10%牛血清加キルヒナー培地

10%牛血清加キルヒナー培地(pH 6.5)を用いて通減倍数希釈法により1314Th耐性菌に対する各種薬剤の制菌作用を検討した。使用菌株はH37RvR-1314Th、菌接種は Tween-albumin 菌液で、培地 1ml 当り 0.01mg、抗結核剤は、SM, PAS, INH, KM, CS, VM, SI, SOM (o-aminophenol methansulfonate), TC, HON (δ-hydroxy-γ-oxo-d-norvaline), PZA, Eb (ethambutol) d型及び1314Thである。

判定は培養開始後4週間、INHのみは2週間とした。

2. 実験成績

表7 1314Th 耐性菌に対する各種抗結核剤の制菌作用

抗結核剤	菌 株	
	H37Rv-S	H37RvR-1314Th
SM	0.625	0.625(γ/ml)
PAS	0.078	0.078
INH	0.063	0.063*
KM	1.25	0.625
CS	6.25	6.25
VM	3.13	3.13
SI	31.3	31.3
SOM	6.25	6.25
TC	0.78	0.78
HON	125.0	125.0
PZA	250.0	250.0
Eb(d型)	6.25	6.25
1314Th	0.195	25.0

接種菌量：0.01mg 4週判定(*INHは2週)

使用培地：10%牛血清加キルヒナー培地

表7で示した通りであって、1314Th 耐性菌は、いづれの薬剤に対しても感性菌とほぼ同じ感受性を示した。

Ⅶ 1314Th と TBI との間の交叉耐性の有無についての検討

1. 実験方法

1314Th 又は TBI を凝固前の1%小川培地に加えて、通減倍数希釈を行ない、常法の如く凝固滅菌後、Tween-albumin 培養菌液を 0.1ml 接種し、37°C 4週間培養後判定した。使用菌株は H37Rv 感性株、H37RvR・1314Th 500γ/ml 耐性株及び H37RvR・TBI 50γ/ml 耐性株である。

2. 実験成績

表8 1314Th 耐性菌・TBI 耐性菌に対する1314Th 及び TBI の制菌作用

抗結核剤	菌 株		
	H37Rv・S	H37Rv・R-1314Th	H37Rv・R-TBI
TBI	0.18	1.56	≥50.0
1314Th	31.3	≥500.0	31.3

接種菌量：0.01 mg 4週判定
使用培地：1%小川培地

表8で示す如く、TBI は H37Rv 感受性株を 0.18γ/ml, H37RvR-1314Th を 1.56γ/ml で制菌し、1314Th は H37Rv 感受性株も H37RvR-TBI も同じく 31.3γ/ml で阻止した。

即ち、試験管内で耐性を上昇せしめた 1314Th 耐性菌は、TBI に軽度の耐性を有するが、TBI 耐性菌は 1314Th に感受性であるという一方向的、且つ、部分的な交叉耐性を示すという成績が得られた。

Ⅷ 1314Th 未使用患者より分離した株に対する感受性の検討

1. 実験方法

使用培地は10%牛血清加キルヒナー培地、使用菌株は京都大学結核研究所及び関係諸施設に入院中の 1314Th 未使用肺結核患者より分離した結核菌97株である。これらの株を1%小川培地に増菌、これより0.1mg/ml の石油ベンジン菌浮游液を作成し Silicone-coated Slide^{8,9)} 培養法

で 1314Th に対する感受性を検討した。1314Th の培地内濃度は 1γ/ml, 2γ/ml, 5γ/ml, 10γ/ml 判定は 2 週間後肉眼的に行なった。

2. 実験成績

表9 1314Th 未使用患者より分離した97株に対する 1314Th の制菌作用

MIC	菌 株		百分率	
	発育阻止株数	累積株数	発育阻止株百分率	累積百分率
(γ/ml)	(株)		(%)	
10	4		4.1	
5	3	7	3.1	7.2
2	6	13	6.2	13.4
1	84	97	86.6	100.0

使用培地：10%牛血清加キルヒナー培地、シリコンスライド培養法による

表9に示した如く、検査した 97 株のうち、1314Th 1γ/ml で阻止したもの84株 (86.6%) 2γ/ml で阻止したもの6株 (6.2%) 5γ/ml で阻止したもの3株 (3.1%) 10γ/ml で阻止したもの4株 (4.1%) であって、10γ/ml で阻止しなかったものは1株も認めなかった。逆にみると 1γ/ml 感性が84株86.6%で、1γ/ml 耐性株は13株13.4% 2γ/ml 耐性株は7株7.2%、5γ/ml 耐性株は4株 4.1% 10γ/ml 以上の耐性株は認めなかったことになる。

Ⅸ 1314Th 内服患者より分離した株に対する 1314Th 感受性の検討

1. 実験方法

被検菌株は京都大学結核研究所及び関係諸施設に入院中の患者で、1314Th 既使用患者より分離した結核菌44株で、その他の実験方法は前項と全く同じである。尚、検査した菌株のうち約半数は 1314Th 単独投与例であって、過去に TBI を使用したことが明らかな株は除外した。

2. 実験成績

表10に示したが、7ヶ月以上の場合は例数が少ないので一応除外して、1~3ヶ月及び、4~6ヶ月の両者について比較してみると 1γ/ml で阻止する株は、3ヶ月未満では11株(64.7%) 6ヶ月未満では10株 (50%) と漸次減少の傾向にあり、それに応じて耐性株の増加がみとめられる。

表 10 1314Th 内服患者より分離した44株に対する 1314Th の制菌作用

MIC (γ /ml)	1314Th 内服期間											
	1~3				4~6				7~ (月)			
	発育阻止株数	累積株数	百分率	累積百分率	発育阻止株数	累積株数	百分率	累積百分率	発育阻止株数	累積株数	百分率	累積百分率
>10	1		5.9		2		10.0		0		0	
10	1	2	5.9	11.8	2	4	10.0	20.0	0	0	0	0
5	0	2	0	11.8	4	8	20.0	40.0	3	3	42.9	42.9
2	4	6	23.5	35.3	2	10	10.0	50.0	0	3	0	42.9
1	11	17	64.7	100.0	10	20	50.0	100.0	4	7	57.1	100.0

使用培地：10%牛血清加キルヒナー培地，シリコンスライド培養法による。

X 1314Th の殺菌効果の検討

1. 実験方法

SSC 法^{8,9)}を用いた。即ち10%牛血清加キルヒナー培地を用い、第1管の 1314Th 濃度が100 γ /ml の倍数希釈系列(10管) 2系列を作り、これに 0.1mg/ml 石油ベンジン H37Rv 株浮游液を用いて、結核菌を吸着させたシリコン被覆スライドを投入し、37°C で薬剤を作用させ、次いで、7日、14日、21日、及び28日後に1系列づつ取り出し、各スライドを3回づつ滅菌生理的食塩水で洗滌した後、1314Th を含まない10%牛血清加キルヒナー培地中に移し、更に37°C で4週間培養し、スライド上の菌発育の状態を観察し、菌発育の認められないものを殺菌効果があったものと判定した。

2. 実験成績

表11 1314Th の単独殺菌効果

作用日数	殺菌最低濃度
7 (日)	25.0 (γ /ml)
14	6.25
21	6.25
28	3.13

使用培地：10%牛血清加キルヒナー培地，シリコンスライド培養法による

所謂“殺菌効果”を得を得るに要した 1314Th の最低濃度 γ /ml を作用期間別に表示したものが表11である。即ち、1314Th の殺菌効果は、1314Th と菌との作用時間が延長するに従って著明に増加し、28日接触の場合には、殺菌最低濃度は 3.13 γ /ml を示し、1314Th の MIC に

比較的近い値を示した。

第4章 総括並びに考按

さきに著者の研究室の河田¹²⁾は数種の抗結核剤の制菌力に与える接種菌量および培地 pH の影響を検討し、一般に接種菌量の異なる程、MICが低下する傾向にあり、とくに PAS, TBI, PZA に於て著明であり、又、DHSM, TBI, VM 及び KM に於てはアルカリ性で、PZA, SI は酸性で制菌力が増強されると報告している。1314Th について岡¹³⁾らは小川培地では接種菌量が 10⁻¹mg の場合に比し 10⁻⁵mg では制菌力が倍になると報告し、Nitti¹⁴⁾らは培地 pH がアルカリ性の場合に制菌力が弱まると述べている。著者の実験では接種菌量及び培地 pH によって対照薬剤の DHSM が変化を示すに反して、1314Th は接種菌量の変化(0.1→0.001mg)による MIC の動きは、わずかに2倍にすぎず、又 pH による影響も全く認めなかった。即ち 1314Th の制菌力は、接種菌量及び培地 pH の影響をあまりうけない薬剤であるといえる。

次に、著者は 1314Th の MIC と使用培地との関係をみたところ、10%牛血清加キルヒナー培地および10%牛血清加キルヒナー寒天培地では 0.625 γ /ml Tween-albumin 培地では 5.0 γ /ml 1%小川培地では 31.3 γ /ml となった。諸家の成績と比較するため、表12を作成してみたが、これをみると、キルヒナー培地の MIC は Rist¹⁵⁾ 戸田¹⁶⁾ らの成績とほぼ等しく、Tween-albumin 培地の MIC は堂野前¹⁷⁾らの成績とほぼ

表 12 文献よりみた 1314Th の Minimum Inhibitory Concentration

著 者	使 用 培 地	MIC	文 献
Rist	10%牛血清加 Youmans 培地	0.6~1.2 (γ /ml)	(3)
戸 田	10%牛血清加キルヒナー培地	1.0	(15)
北 本	Youmans 培地	2~ 5	(16)
堂 野 前	10%牛血清 albumin 加 Dubos 培地 1%小川培地	1~ 5 10~25	(17)
Steenken	Tween-albumin 培地 10%馬血清加 Proskauer-Beck 培地	1.6 12.5	(18)
河 盛	小川培地 キルヒナー寒天培地	5 5	(19)
著 者	10%牛血清加キルヒナー培地 10%牛血清加キルヒナー寒天培地 Tween-albumin 培地 1%小川培地	0.625 0.625 5.0 31.3	

一致するが、1%小川培地では堂野前らの成績よりやや低く出ているようである。いづれにせよ使用培地の種類によって 1314Th の MIC が変化するという事は臨床上殊に耐性検査に際して重要な意味を与えるものと思う。

著者の研究室の山下²⁰⁾は数種の抗結核剤について、培地中の血清濃度による MIC の変化につき検討をおこない、PZA, SI, TC の制菌力は血清濃度の増加とともに、かなりの低下を示すと報告した。著者は 1314Th につき同様の検索を行ない、培地中の血清濃度が増加するとともに制菌力は低下し、10%牛血清加キルヒナー培地での制菌力の 1 とすると、90%牛血清加キルヒナー培地での制菌力はその 1/4 の強さを示したのである。この成績よりみると、1314Th は比較的血清濃度の影響を受けやすい薬剤に属すると思われる。

さて、神田¹⁴⁾の培地置換培養法による諸種抗結核剤の制菌力の研究成績が示すように、常用の制菌力検査では抗結核剤のあるものは、培養中に生物学的活性が変化するため真の制菌力よりも過少評価(例えば INH)、又は過大評価(例えば INHG)される場合がある。そこで著者は INH を対照として、1314Th の制菌力を MSC (Minimum sterilizing concentration) であら

わしてみたのであるが、その結果 1314Th は SM, PAS 等と同じく、比較的薬剤効果が安定したものであることを確かめることが出来た。

1314Th の SM, PAS, INH, KM 等の耐性菌に対する制菌力に関しては多くの報告がある。N. Rist²¹⁾ら及び Lucchesi²²⁾は 1314Th と INH との間には交叉耐性はなく、むしろ INH 耐性菌の 1314Th に対する感受性は高められているという。戸田¹⁵⁾は SM, PAS 耐性菌に対しては感性菌と同様に制菌するが、INH 耐性菌にはやや制菌力の低下が、KM 耐性菌にはやや制菌力の充進を認めた。著者の実験成績では、SM, PAS, INH, KM, VM 耐性株は大体感性菌と同程度の感受性を示した。この点北本¹⁶⁾、堂野前等の報告と一致している。一方 1314Th 耐性菌に対する他の抗結核剤の制菌作用については、東村²³⁾らが Actual count 法で検討し、SM, INH, PAS, KM, VM は感受性菌と同様に作用することをみとめている。著者は H37Rv 感性株から試験管内で作成した 1314Th 耐性株を用い、SM, PAS, INH, KM, CS, VM, SI, SOM, TC, HON, PZA 及び Eb の制菌作用を 10%牛血清加キルヒナー培地を用いて検討したが、いづれの薬剤も、感受性株と同様の制菌作用を示し東村と同様の成績を得た。

この様に 1314Th が TBI を除く他の抗結核剤と交叉耐性がないことは異論のない処であるが、TBI のみは例外であって、Rist³⁾らによると 1314Th と TBI との間には一方向的交叉耐性があり、1314Th 耐性菌は TBI に耐性を示すが、TBI 耐性菌は 1314Th 感性であるという。而してその 1314Th と TBI との間の交叉耐性に関しては多くの研究がなされている^{23,24,26,27)}。東村^{23,24)} は、H37Rv 株及び喀痰中結核菌を用いて Actual count 法により 1314Th→TBI の方向の一方向的交叉耐性を認めているが、これは 1314Th 高耐性菌 (125 γ 耐性菌) のみに認められ 1314Th 低耐性菌 (32 γ 耐性菌) の TBI 感受性は不変であるという。著者は H37RvR-1314Th 株 (500 γ) 及び H37RvR-TBI 株 (50 γ) を用いて検討したが、Rist、東村らのいう如く、1314Th 耐性菌は TBI に軽度の耐性を示し、TBI 耐性菌は 1314Th に耐性を示さず、一方向的且つ部分的な交叉耐性の存在を確認した。

患者喀痰中結核菌の 1314Th 感受性については Rist³⁾ら、Brouet²⁵⁾らが、1314Th 未治療患者に 2～4% の 1314Th 自然耐性株があることを報告して以来多くの研究がなされており^{13,17,28)}、1314Th 未治療患者に相当の割合に自然耐性株があり、これら自然耐性例では、1314Th の治療効果が少ないという報告もみられている^{29,30)}。著者は 10% 牛血清加キルヒナー培地を用いて SSC 法にて 1314Th 未治療患者より分離した 97 株について、1314Th の感受性を検討し、1 γ /ml 以上の耐性株は 13 株 (13.4%) 2 γ /ml 以上の耐性株は 7 株 (7.2%) という成績を得た。著者は SSC 法で検討したため他の報告と直接比較することはできないが、1314Th 未治療株に自然耐性株の存在するという事は諸家の成績と一致している。

次に 1314Th 服用に伴なう耐性化を同様の方法で検討した処、2 γ /ml 以上の耐性は、服用期間が 1～3 ヶ月では 11.8% 4～6 ヶ月では 40% となり、未治療者の 7.2% に比して明らかに耐性の上昇を認めた。1314Th は比較的耐性の上昇が早いということは多くの研究者によって認められているが^{3,16,21,28,31,32,33)}、著者の成績は

これを臨床的耐性検査によって裏書きしたものであると云えよう。

終りに 1314Th の殺菌効果であるが、1314Th と菌との接触時間が延長するに従って著明に殺菌力は増強され、4 週間接触の際は MIC に近い値を示すことが明らかとなったのである。文献的には 1314Th の殺菌力に関する報告は非常に少なく、わずかに Lucchesi²²⁾らが 1314Th 100 γ /ml の液に菌を接触させておいても、12 日間接触させなければ殺菌作用はみられず、殺菌作用は INH に劣ると報告しているのがみられる程度である。

第 5 章 結 論

1314Th の試験管内抗結核菌作用を検討した結果次の結論を得た。

(1) 1314Th は 10% 牛血清加キルヒナー培地において 0.625～1.25 γ /ml の Minimum inhibitory concentration を示し、培地 pH、接種菌量の影響を殆どうけない。

(2) 1314Th は使用培地の種類によって著明な Minimum inhibitory concentration の変化を示し、10% 牛血清加キルヒナー液体培地の Minimum inhibitory concentration を 1 とすると、10% 牛血清加キルヒナー寒天培地ではほぼ同様、Tween-albumin 培地では 5～10、1% 第 1 燐酸カリ培地では 25～50 となった。

(3) 1314Th の制菌作用は培地中の血清濃度が 10% から 90% に増加すると、約 1/4 に減弱した。

(4) 1314Th の制菌作用は in vitro で比較的安定である。

(5) 1314Th は TBI を除く他の抗結核剤と交叉耐性をもたない。

(6) 1314Th は TBI に対して一方向的部分的交叉耐性を示した。

(7) 1314Th 未使用患者分離株 97 株の中 86.6% は 1 γ 感性、7.2% は 2 γ 以上の耐性を示した。1314Th 使用期間が 1～3 ヶ月では 2 γ 以上耐性が 11.8%、4～6 ヶ月では 40% とかなりの耐性の上昇がみとめられた。

(8) 1314Th のいわゆる殺菌効果は薬剤の作

用時間が延長するに従って著明に増加し、4週間接触の場合の最低殺菌濃度は Minimum inhibitory concentration に比較的近い値を示した。

(欄筆に臨み始終御指導を頂きました前川暢夫助教授、吉田敏郎博士、津久間俊次博士をはじめ当研究室の各位に深謝いたします。)

文 献

- 1) 内藤益一, 他: 京大結研紀要, 9 : 129, 1961
- 2) 内藤益一, 他: 京大結研紀要, 11 : 38, 1962
- 3) Rist, N., Grumbach, F., and Libermann, D. : Amer. Rev., Tuberc., 79 : 1, 1959
- 4) Gardner, T.S., Wenis, E., and Lee, J. : Jour. Organ. Chem., 19 : 753, 1954
- 5) Libermann, D., Rist, N., and Grumbach, F. : Bull. Soc. chim. biol., 38 : 231, 1956
- 6) 伊藤篤: 京大結研紀要, 7 : 143, 1958
- 7) 厚生省検査指針, I ~ (3), 1959
- 8) 東向一郎: 京大結研紀要, 7 (3)増刊1号 : 461, 1959
- 9) 東向一郎: 京大結研紀要, 7 (3)増刊3号 : 22, 1959
- 10) 志保田明: 京大結研紀要, 1 : 135, 1953
- 11) 神田瑞雄: 京大結研紀要, 7 (3)増刊1号 : 328, 1959
- 12) 河田利延: 京大結研紀要, 7 (3)増刊3号 : 13, 1959
- 13) 岡捨己: 日本胸部臨床, 21 : 92, 1962
- 14) Nitti, V., : Arch. Tisiol., 14 : 819, 1959
- 15) 戸田忠雄, 他: 日本臨床結核, 18 : 862, 1959
- 16) 北本治他: 日本胸部臨床, 19 : 758, 1960
- 17) 堂野前維摩郷, 他: 日本医事新報, 1897号 : 9, 1960
- 18) W. Steenken, Jr., et al : Amer. Rev. Resp. Dis., 81 : 761, 1960
- 19) 河盛勇造, 他: 結核, 35 : 68, 1960
- 20) 山下直二郎: 京大結研紀要, 8 : 5, 1959
- 21) Rist, N., : Bull. Internat. Union Tuberc., 28 : 208, 1958
- 22) Lucchesi, M., et al : Ann. Ist. "C. Forlanini" 19 : 451, 1959
- 23) 東村道雄, 他: 結核, 36 : 733, 1961
- 24) 東村道雄: 結核, 37 : 103, 1962
- 25) Brouet, G., : Bull. Internat. Union Tuberc., 28 : 216, 1958
- 26) Bartmann, K., : Tbk. arzt., 14 : 525, 1960
- 27) 高橋欽一, 他: 日本胸部臨床, 21 : 359, 1962
- 28) 東村道雄, 他: 日本胸部臨床, 20 : 671, 1961
- 29) 東村道雄, 他: 結核, 34 : 625, 1959
- 30) 東村道雄: 結核, 36 : 361, 1961
- 31) Brout, G., et al : Amer. Rev. Tuberc., 79 : 6, 1959
- 32) Daddi, G., et al : Amer. Rev. Resp. Dis., 81 : 303, 1960
- 33) 堂野前維摩郷, 他: 日本医事新報, 1934号 : 27, 1961