

持続性サルファ剤の抗結核作用特に INH との併用効果

第2編 持続性サルファ剤-INH 併用投与時の血中制菌力の消長

京都大学結核研究所化学療法部 (主任教授 内藤益一)

副 手 清 水 明

(昭和37年9月20日受付)

内 容 抄 録

健康家兎に経口投与によって、持続性サルファ剤5種とINHとの併用投与時の血中制菌力の消長を、INH単独、INH・SI併用投与を対照として、志保田の方法により、90%、50%、10%各血清加キルヒナー培地を用いて比較検討した。

その結果、各持続性サルファ剤は、血中制菌力に於いて、SI程著明でなかったが、INHとの間に併用効果を認め得た。

第1章 緒 論

Domagk等によって1953年Prontosilが発見されて以来、サルファ剤の進歩はめざましいものがあるが、近年更に従来のサルファ剤より血中有効濃度の持続時間が長く、投与量が $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ ですみ、且副作用のより少ないもの、即ち持続性サルファ剤の出現を見るに至った。

一方Isonicotinic acide hydrazide (以下INHと略記)とSulfisoxazole (以下SIと略記)との併用が内藤¹⁾により着想され、1952年以来諸種の基礎的、臨床的実験が行われて来たが、北川²⁾は志保田の方法³⁾により血中制菌力の消長を検討し、INH・SI併用時の血中制菌力がINH単独時のそれより著明に延長される事を認めている。著者は前編で持続性サルファ剤とINHとの試験管内協力作用を検索し、SIに近い効果をあげるものとしてSulfaphenazole (以下SPと略記)及びSulfathiomethylpyridazine (以下SY-1と略記)を認め、之に続いてはSulfisomezole (以下MS-53と略記)及びSulfadimethoxine (以下SDMと略記)が位し、Sulfamet-

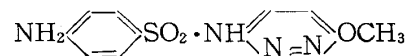
hoxypyridazine (以下SMPと略記)及びSulfamethomidine (以下SMMと略記)が最下位を占めるが、其差違は僅少である事を明らかにした。

然しサルファ剤をINHと併用して生体に投与した場合、試験管内制菌作用に於ける協力作用の他に、INHのAcetylationを肩代りして、その血中制菌効果を高め且持続せしめる事が既にBiehl⁴⁾、Mitchell⁵⁾、Johnson⁶⁾、Mendel⁸⁾、Morse⁹⁾¹⁰⁾、Bell¹¹⁾、吉田¹²⁾、北川²⁾によって究明されて居る。当然持続性サルファ剤とINHとの併用効果を吟味するに当たっても、此の点が明らかにされねばならない。

然るに此の方面の研究としては僅かに杉本等¹⁴⁾、貝田等¹⁵⁾のMS-53に就ての実験、塩田等¹⁶⁾の持続性サルファ剤5種に就ての実験があるのみである。

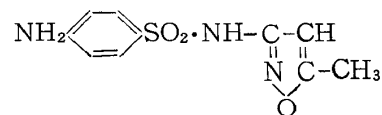
茲に次の5種の持続性サルファ剤とINHとの併用による血中制菌力の消長を比較検討し、報告する所以である。

1) Sulfamethoxypyridazine (SMP と略記)



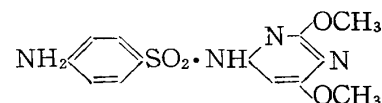
Lederkin (武田) Pyridazin (明糖)

2) Sulfisomezole (MS-53 と略記)



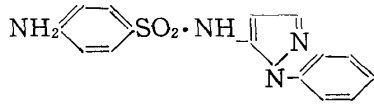
Sinomine (塩野義)

3) Sulfadimethoxine (SDM と略記)



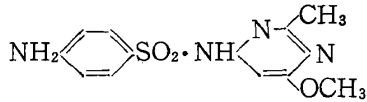
Sulxin (中外) Omnibon (山内) Abcid
(第一)

4) Sulfaphenazole (SP と略記)



Merian (®) Orisul (千葉)

5) Sulfamethomidine (SMM と略記)



Methofadin (田辺)

第2章 実験材料及び実験方法

I) 実験材料

a) 結核菌浮游液

グリセリン・ブイヨン培地に移植後14~18日の発育旺盛な時期にある人型結核菌 H₃₇Rv 株の菌膜を白金耳にて釣取し、これを無菌的に滅菌濾紙で水分を取り、小川の硝子玉入り肉厚コルベンに入れ振盪磨砕し、次で滅菌蒸留水を漸次注加しつつ振盪し、大体10mg/ccの濃度の菌液を作製し試験管に採取、暫時試験管立てに放置して大きな菌塊を沈め静かにその上清を取り、この菌液を滅菌蒸留水を用いて0.5mg/ccの菌液になるように希釈し、可及的均等な菌浮游液を調製(先に光電比色計にて作製した標準菌液の0.5mg/ccの濁度を基準として)之を実験に供した。

b) 使用培地

Kirchner 培地原液の蒸留水の量のみを変えた3種の基本培地、即ち10倍濃厚、2倍濃厚及び Kirchner 培地原液を調製し、100°C 30分間24時間毎に3回に亘って Koch の蒸気滅菌釜で間歇的蒸気滅菌を行い、フラン器中で48時間雑菌試験を行った後、後述する如き術式により血清を加えて90%、50%、10%血清加 Kirchner 培地を作製し実験に用いた。

第1表 10倍濃厚 Kirchner 培地原液の組成

| | | |
|---------------|----------|----------|
| Dinatrium | Phosphat | 3.0 g |
| Monokalium | Phosphat | 4.0 g |
| Magnesium | Sulfat | 0.6 g |
| Natrium | Citrat | 2.5 g |
| Asparagin | | 5.0 g |
| Glycerin | | 20.0 cc |
| Aq dest | | 100.0 cc |
| pH 6.2~6.4 とす | | |

10倍濃厚 Kirchner 培地原液の組成は、第1表に示す如くである。之を夫々5倍及び10倍に滅菌蒸留水で希釈して、2倍濃厚 Kirchner 培地及び Kirchner 培地原液を作製し、夫々実験に供した。

c) 使用動物

実験に使用した動物は、体重3kgの健全家兎で6匹について実験を行った。

II) 実験方法

a) 投与方法及び薬剤投与量

実験に際しては、早朝空腹時に1回薬剤投与を行ない、実験終了まで食飼を与えなかった。又投与薬剤は水溶液又は懸濁液として4又は5号のネラトンカテーテルを胃の中に挿入して注射器により送入投与した。

薬剤投与量は下記の如くである。

- 1) INH 2mg/kg
- 2) INH 2mg/kg+SI 20mg/kg
- 3) INH 2mg/kg+SMP 3.4mg/kg
- 4) INH 2mg/kg+MS-53 14mg/kg
- 5) INH 2mg/kg+SDM 3.4mg/kg
- 6) INH 2mg/kg+SP 6.6mg/kg
- 7) INH 2mg/kg+SMM 3.4mg/kg

上記薬剤投与量はいずれも臨床投与量の割合で決定した。同一家兎に3週間間隔にて1)より7)までの組合せ順に志保田³⁾の方法により実験を行った。

b) 採血並びに血清分離方法

採血は、薬剤投与前、投与後1, 3, 5, 7時間に家兎の耳静脈より無菌的に約5ccの血液をガラスキャップ付遠沈管(容量約10cc, 3,000 r.p.m. に耐えるもの)内に採取し、24時間静置後折出せる血清を3,000 r.p.m. にて20分間遠沈分離し、分離せる血清を実験に供した。

c) 実験術式

3列に並べた滅菌小試験管に、先に分離した血清を採血時間毎に、夫々0.1cc, 0.5cc, 0.9ccとり、その上に先に述べた基本培地、即ち Kirchner 培地原液0.9cc, 2倍濃厚 Kirchner 培地原液0.5cc, 10倍濃厚 Kirchner 培地原液0.1ccの順に加え、各試験管何れも1.0ccとする。

次でこれを56°Cの温槽中で30分間加温非動化して冷却後、予め調製した結核菌浮游液を各1滴(0.05cc)宛滴下し、ガラスキャップを施しフラン器中に納め、4週間培養の後菌の発育状態を判定した。尚対照として薬剤投与前の家兎血清について同様の操作を行った。この術式を表示すれば、第2表の如くである。

d) 成績判定

原則として判定は、培養第4週後に行った。成績判

第2表 術 式

| 培地血清濃度 | 血 清 量 | 使 用 原 液 及 び 量 | 計 | 菌 浮 游 液 | |
|--------|-------|---------------------|-------|---------|-----|
| 90% | 0.9cc | 10倍濃厚 Kirchner 培地原液 | 0.1cc | 1.0cc | 1 滴 |
| 50% | 0.5cc | 2 倍濃厚 Kirchner 培地原液 | 0.5cc | 1.0cc | 〃 |
| 10% | 0.1cc | Kirchner 培地原液 | 0.9cc | 1.0cc | 〃 |

定に際しては対照として薬剤投与前の血清を加えた培地と比較しつつ各試験管内に於ける菌発育状態を観察した。判定規準は第3表に示す如くである。

第3表 判 定 規 準

- (一) 菌発育を全く認めないもの
- (+) 管底にのみ菌発育を認めたもの
- (++) 液面迄菌膜の発育を認めたもの
- (+++) 其の上管壁に迄増殖進展したもの

これは試験管内に於ける菌発育を肉眼的に観察し得た結果を示したものである。

尚(+)をもって完全阻止とし、対照より弱い発育のものを不完全阻止とした。

第3章 実 験 成 績

INH 2mg/kg+SMP 3.4mg/kg, INH 2mg/kg+MS-53 14mg/kg, INH 2mg/kg+SDM 3.4mg/kg, INH 2mg/kg+SP 6.6mg/kg, INH2mg/kg+SMM 3.4mg/kg 及び対照として INH 2mg/kg, INH 2mg/kg+SI 20mg/kg を家兎に経口投与せる場合の血中制菌力持続時間を一括表示すれば、第4表の如くであった。

尚表中の数字は、薬剤投与後の血清中での菌発育完全阻止を認めることが出来た時間を現わし、() 内の数字は、不完全阻止を認めることの出来た時間を表わしたものである。

1) 90%血清加 Kirchner 培地の場合：

対照の INH 単独では、実験家兎6例の内完全阻止は1例が5時間まで、他の5例が3時間まで、INH・SI 併用では、実験家兎6例の全例が5時間まで完全阻止を認めた。一方 INH・SMP 併用では実験家兎6例中4例が5時間まで、他の2例が3時間まで完全阻止を認めた。INH・MS-53 併用では、実験家兎6例中5例が5時間まで、残り1例が3時間まで完全阻止を認めた。INH・SDM 併用では、実験家兎6例の内、完全阻止は5例が5時間まで、残り1例が

3時間までであった。INH・SP 併用では、実験家兎6例中3例が5時間まで、3例が3時間まで完全阻止を認めた。更に INH・SMM 併用では、実験家兎5例中3例が5時間まで、2例が3時間まで完全阻止を認めた。

2) 50%血清加 Kirchner 培地の場合：

対照の INH 単独では、実験家兎6例中5例が3時間まで、残り1例が1時間まで完全阻止を認め、INH・SI 併用では完全阻止が、実験家兎6例の内3例が5時間まで、3例が3時間まで認められた。INH・SMP 併用では実験家兎6例全例が3時間まで完全阻止を認めた。INH・MS-53 併用では、完全阻止は実験家兎6例中2例が5時間まで、残り4例が3時間まで認められた。INH・SDM 併用では、実験家兎6例中3例が5時間まで、3例が3時間まで完全阻止を認めた。INH・SP 併用では、完全阻止が実験家兎6例の内5例が3時間まで、残り1例が1時間まで認められた。INH・SMM 併用では、実験家兎5例中1例が5時間まで、4例が3時間まで完全阻止を認め得た。

3) 10%血清加 Kirchner 培地の場合：

対照の INH 単独では、実験家兎6例の内2例が3時間まで、4例が1時間まで完全阻止を示した。又 INH・SI 併用では、実験家兎6例中5例が3時間まで、1例のみが1時間まで完全阻止を認めた。INH・SMP 併用では、実験家兎6例の内1例が5時間まで、3例が3時間まで、2例が1時間まで完全阻止を示し、INH・MS-53 併用では、完全阻止が実験家兎6例中4例が3時間まで、2例が1時間まで認めた。INH・SDM 併用では、実験家兎6例の内5例が3時間まで、1例のみが1時間まで完全阻止を示し、INH・SP 併用では、完全阻止は実験家兎6例中2例が3時間まで、4例が1時間まで認めた。最後に INH・SMM 併用では、実験家兎

第4表 実験成績

| 投与薬剤 | 投与量 | 家兔番号 | 血清加Kirchner培地 | | |
|-------------|-------------------|------|---------------|------|------|
| | | | 90% | 50% | 10% |
| INH | 2mg/kg | 1 | 5 | 3 | 3 |
| | | 2 | 3(5) | 3 | 1(3) |
| | | 3 | 3(5) | 3 | 1(3) |
| | | 4 | 3(5) | 3 | 1(3) |
| | | 5 | 3(5) | 1(3) | 1(3) |
| | | 6 | 3(5) | 3(5) | 3 |
| INH + SI | 2mg/kg + 20mg/kg | 1 | 5(7) | 3(5) | 3(5) |
| | | 2 | 5 | 3(5) | 3(5) |
| | | 3 | 5(7) | 5(7) | 3(5) |
| | | 4 | 5(7) | 3 | 1(3) |
| | | 5 | 5(7) | 5 | 3 |
| | | 6 | 5(7) | 5 | 3 |
| INH + SMP | 2mg/kg + 3.4mg/kg | 1 | 5(7) | 3(5) | 1(5) |
| | | 2 | 5 | 3(5) | 5 |
| | | 3 | 5 | 3(5) | 1(3) |
| | | 4 | 3(5) | 3(5) | 3(5) |
| | | 5 | 3(5) | 3(5) | 3(5) |
| | | 6 | 5 | 3 | 3 |
| INH + MS-53 | 2mg/kg + 14mg/kg | 1 | 5(7) | 3(5) | 1(5) |
| | | 2 | 5(7) | 3(5) | 1(3) |
| | | 3 | 3(5) | 3(5) | 3(5) |
| | | 4 | 5(7) | 5 | 3(5) |
| | | 5 | 5(7) | 5 | 3(5) |
| | | 6 | 5(7) | 3(7) | 3(5) |
| INH + SDM | 2mg/kg + 3.4mg/kg | 1 | 5(7) | 5(7) | 3(5) |
| | | 2 | 5(7) | 3(5) | 3(5) |
| | | 3 | 5(7) | 3(5) | 3 |
| | | 4 | 5(7) | 5(7) | 1(5) |
| | | 5 | 5(7) | 5(7) | 3(5) |
| | | 6 | 3(7) | 3(5) | 3(5) |
| INH + SP | 2mg/kg + 6.6mg/kg | 1 | 5 | 3(5) | 3 |
| | | 2 | 3(5) | 3(5) | 1(3) |
| | | 3 | 5 | 3(5) | 1(3) |
| | | 4 | 3(5) | 3(5) | 3 |
| | | 5 | 5 | 3(5) | 1(3) |
| | | 6 | 3 | 1(3) | 1 |
| INH + SMM | 2mg/kg + 3.4mg/kg | 1 | 5 | 3 | 3 |
| | | 2 | 5 | 5 | 3(5) |
| | | 3 | 3(5) | 3 | 1 |
| | | 4 | 5(7) | 3 | 3 |
| | | 5 | 3(7) | 3 | 1 |
| | | 6 | 死亡 | — | — |

() は不完全阻止を示す。

5例の内3例が3時間まで、残り2例が1時間まで完全阻止を示した。

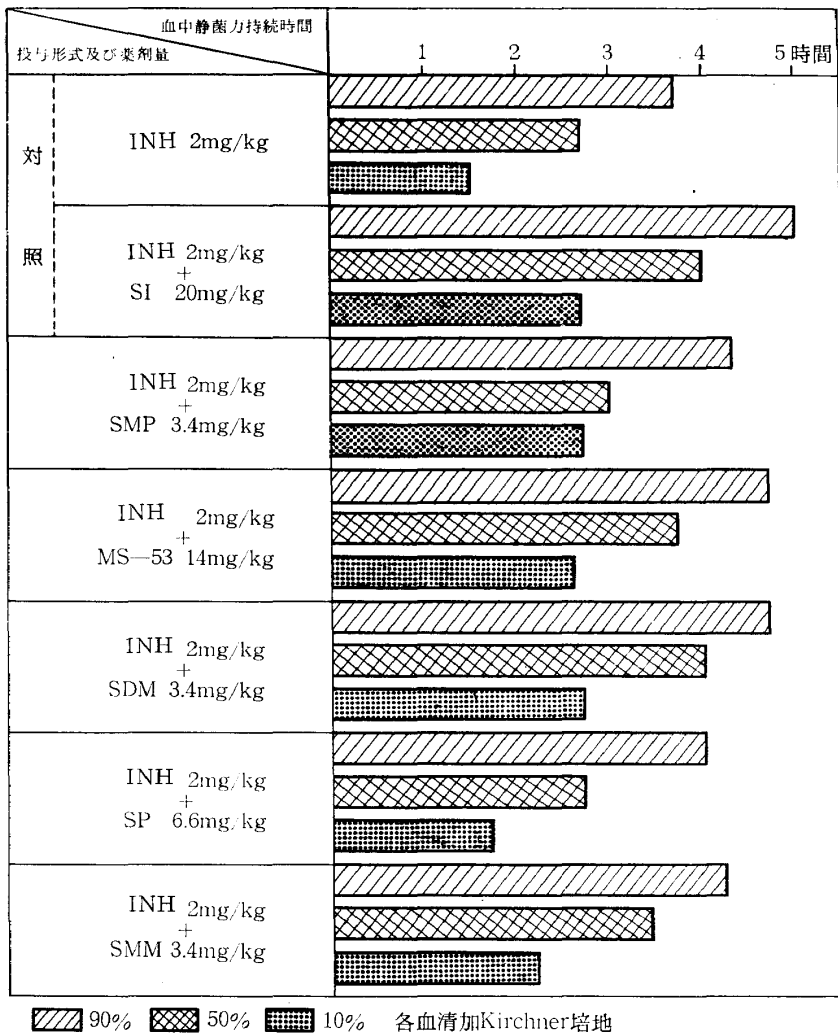
第4章 総括並びに考按

著者は体重 3kg 前後の健常家兔を用いて、INH と 5 種の持続性サルファ剤を併用投与してその血中制菌力の消長を、対照として INH 単独、INH・SI 併用投与時のそれと比較した。その成績は第3章に述べた如くであるが、これらの成績を一括して図示すれば、第1図の如くで、これは INH に 5 種の持続性サルファ剤を併用した場合、——対照として INH 単独及び INH・SI 併用投与の場合——各投与群（1群家兔 6 匹）の 90%、50%、10% 各血清加 Kirchner 培地に於て、菌発育完全阻止時間の平均値を各投与形式について示したものである。

90% 血清加 Kirchner 培地に於ける血中制菌力持続時間の平均値は、INH 単独が 3.7 時間、INH・SI 併用が 5.0 時間、INH・SDM 併用と INH・MS-53 併用が 4.7 時間、INH・SMP 併用が 4.3 時間、INH・SMM 併用が 4.2 時間、INH・SP 併用が 4.0 時間を示し、90% 血清加 Kirchner 培地での INH との併用効果は、SI が最も著明であり、SDM、MS-53 は SI と略同様であり、SMP、SMM、SP は SI より稍劣っている。

50% 血清加 Kirchner 培地に於ける血中制菌力持続時間の平均値は、INH 単独が 2.7 時間、INH・SI 併用が 4.0 時間、INH・SDM 併用が 4.0 時間、INH・MS-53 併用が 3.7 時間、INH・SMM 併用が 3.4 時間、INH・SMP 併用が 3.0 時間、INH・SP 併用が 2.7 時間を示し、50% 血清加 Kirchner 培地での INH との併用効果は、SI と SDM が等しく、MS-53、SMM は SI より稍劣り、SMP は併用効果は僅かであり、SP は併用効果を認めなかった。

10% 血清加 Kirchner 培地に於ける血中制菌力持続時間の平均値は、INH 単独が 1.5 時間、INH・SI 併用、INH・SDM 併用、INH・SMP 併用が 2.7 時間、INH・MS-53 併用が 2.3 時間、INH・SMM 併用が 2.2 時間、INH・SP 併用が 1.7 時間を示し、10% 血清加 Kirchner 培地に於ける



第1図 血中制菌力持続時間

INH との併用効果は、SI, SDM, SMPが等しく、次で MS-53, SMM が稍劣り、SP は併用効果は全く認めなかった。

以上の事より INH との併用効果の最も著明なものは SI であり、次で SDM, MS-53, SMP, SMM, SP の順と云えよう。この結果は、先に前編にて述べた試験管内実験での INH との併用効果の序列と必ずしも一致しない。

然し之は寧ろ当然と言うべきである。何故ならば INH とサルファ剤との併用の奏効機転は、結核菌に対する制菌作用に於ける協力と、血中 INH の Acetylation をサルファ剤が肩代りして INH 血中濃度をより高く持続せしめる作用との二つの点からなるが故であり、加うるに持続性サルファ剤の提唱される 1 日量が区々であり、今回の使用量は之にならった事も序列が変わった 1 因であろう。いずれにしても此処で明か

に言い得ることは、何れの持続性サルファ剤も本実験の成績で、INH との併用作用に於て SI には幾分劣ったと言う事である。

初め著者は、INH・持続性サルファ剤併用が、INH・SI 併用と略同様の成績を期待し得るのではないかと考え、本実験を行ったが、結局は INH・持続性サルファ剤併用は INH・SI 併用程効果が著明でないが、INH 単独の場合よりも程度の差こそあれ併用効果を認めたと云う成績に落着いた次第である。

さて INH にサルファ剤を併用すると血中濃度が上昇、延長する事は、既に諸家によって発表されている如く、遊離アミノ基を有する SI, 持続性サルファ剤, PAS 等によって、INH 自体の生体内に於ける解毒機構である Acetylation が Competitive に阻止される事によって血

中の free-INH 濃度即ち活性の INH 濃度が高く、且つ長く維持されると云われている。此処で SI と持続性サルファ剤とを比べれば、その臨床投与量は SI の方が多く、持続性サルファ剤の 1.5~6 倍量である故に、その血中濃度も高く、INH の Acetylation の肩代りをよくする為に、持続性サルファ剤の場合に比べ血中の活性 INH 濃度が高く、且つ長く維持される事によって血中制菌力持続時間も最も延長されたものと考えて差支えないものと思われる。

さて本実験と同じような INH 持続性サルファ剤併用時の血中制菌力に関する文献は他に見られないが、杉本等¹³⁾貝田等¹⁴⁾は MS-53 と INH を併用すれば、INH 有効濃度の血中持続時間は延長を、活性 INH 血中濃度は高くなると述べており、塩田等¹⁵⁾は微生物学的測定法を用いて INH・持続性サルファ剤併用投与時、INH

400mg 1回内服時に血清内活性 INH 濃度を上昇せしめるが、SI を併用した場合に比べて稍劣るようであったと報告されているが、之等の報告と今回の著者の実験成績とは略同様の傾向を示していると云えよう。

第5章 結 論

健常家兎を使用して INH・SMP 併用, INH・MS-53 併用, INH・SDM 併用, INH・SP 併用及び対照として INH 単独, INH・SI 併用投与時の血中制菌力の消長を比較検討した結果,

1) 90%血清加 Kirchner 培地での血中制菌力持続時間は, SI が最高で以下 SDM, MS-53, SMP, SMM, SP の順であった。

2) 50%血清加 Kirchner 培地での血中制菌力持続時間は, SI と SDM が同等で最も長く, 以下 MS-53, SMM, SMP, SP の順であった。

3) 10%血清加 Kirchner 培地での血中制菌力持続時間は, SI, SDM, SMP が同等で最も長く, 以下 MS-53, SMM, SP の順であった。

以上の成績より, 持続性サルファ剤は, 血中制菌力に於いて, SI 程著明でなかったが INH との間に併用効果を認め得た。

(欄筆するに当り終始御懇切なる御指導と御援助を賜った吉田敏郎博士並びに研究室諸氏に深甚なる謝意を捧げます。)

文 献

- 1) 内藤益一：日本臨床結核 15, 674 (1956)
- 2) 北川良治：京大結研紀要 5; 68 (1956)
- 3) 志保田明：京大結研紀要 1; 2 (1953)
- 4) Biehl, J.P. : Tr. Fifteenth Conf. on the Chemotherapy of Tuberculosis, Veterans Administration, Army and Navy, p279 (1956)
- 5) Mitchell, R.S., et al ; Unpublished
- 6) Johnson, W. J. ; Nature, 174, 744 (1954)
- 7) Johnson, W. J. ; Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 92, 446 (1956)
- 8) Mendel, W., et al ; Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 91, 409 (1956)
- 9) Morse, W. C., et al ; Am. Pract., 7, 1900 (1956)
- 10) Morse, W. C., et al ; Tr, Fifteenth Conf. on the Chemotherapy of Tuberculosis, Veterans Administration, Army and Navy, p.283 (1956)
- 11) Bell, J. C., et al ; Amer. Rev. Tuberc., 76, 152 (1957)
- 12) 吉田敏郎：京大結研紀要 6 ; 281 (1957)
- 13) 杉本一他：胸部外科 14-11, 941 (1961)
- 14) 貝田勝美他：最新医学 15-5, 1338 (1960)
- 15) 塩田憲三他：結核 36-2, 106 (1961)