

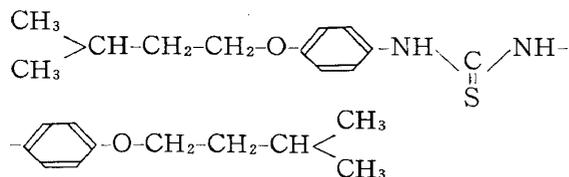
# 4-4' Diisoamyloxythiocarbanilide の試験管内 抗結核菌作用に関する研究

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第1 (教授 内藤益一)

前川 暢夫・津久間 俊次・蒲田 迪子  
岩井 嘉一・雑賀 宣二郎

## 第1章 緒 言

4-4' Diisoamyloxythiocarbanilide(以下DAT)は thiourea の2重置換誘導体であり、次の如き構造を示す。



さて、thiourea 誘導体の抗結核菌作用については1941年 Meyer<sup>1)</sup>の報告以来、周知の事実であり、是迄に多くの報告がある。著者らの研究室に於ても、京都薬大藤川教授らの協力を得て thiourea 誘導体の抗結核作用について多年にわたり検索し、その一部は既に報告した所<sup>2)</sup>である。

1958~9年 Tacquet, Macquet, Buu-Hoi ら<sup>3)</sup>は DAT をとりあげ、試験管内実験、動物実験による検討の結果、DAT がかなり優れた抗結核作用を示す事を報告した。その後、Freeksen ら<sup>4)</sup>、Crowle ら<sup>5)</sup>の動物実験による追試検討に於ても、DAT は優れた成績を示し、本邦に於ても、多大の関心と注目をあびるに至った。

著者らは DAT の抗結核菌作用について若干の試験管内実験を行なったので、その成績を報告する。

## 第2章 実験材料

### 1. 培 地

10%牛血清加キルヒナー液体培地、Dubos 液体培地及び1%小川培地を使用した。なお、Dubos 液体培地は実験1、2及び6に於ては榮研製を、実験8では Bact Difco TB Broth with Tween 80 を用いた。

### 2. 菌 株

研究室保存の H37Rv 感受性株、本株より試験管内で作成した streptomycin (SM), p-aminosalicylic acid (PAS), isonicotinic acid hydrazide (INH), kanamycin (KM), viomycin (VM), ethionamide (TH), TBI 及び DAT 各耐性株、並びに京都大学結核胸部疾患研究所及び関係諸施設に入院中の肺結核患者の喀痰中より分離された人型結核菌50株を用いた。

### 3. 菌 液

菌液作成は次の方法によった。

#### (1) Dubos 培養菌液

Dubos 液体培地に10日前後培養し、その培養液を Dubos 液体培地で適当に稀釈したものを菌液として用いた。

#### (2) ガラス玉磨砕菌液

1%小川培地で約3週間増菌後の菌集落、もしくは、10%牛血清加キルヒナー液体培地に約2週間前後表面培養して得られた菌膜をとり、ガラス玉入りコルベンで磨砕し、生理的食塩水で所定の濃度迄稀釈した。

#### (3) 石油ベンジン菌液

菌株を1%小川培地で2~3週間培養し、培地斜面上に約5mlの石油ベンジンを注入、ピペットで充分攪拌して斜面上の菌集落をベンジン中へ分散させ、大菌塊の落下をまってから石油ベンジンで所要濃度迄稀釈して用いた。

### 4. 使用薬剤

DAT, SM, PAS, INH, KM, VM, TH 及び TBI の8検体を実験に用いた。この中で、DAT, TH 及び TBI は粉末を秤量の上、0.1%の濃度に N, N'-dimethyl formamide (DFA) に溶解し、PAS は注射用 PAS-Na を秤量し、70%エチル・アルコールで溶解滅菌したものをを用いた。SM, KM 及び VM は 1g 力価入り vial を、INH は注射用 アンプル入りのものを使用した。

5. シリコン被覆スライド

東の方法<sup>6)</sup>により作成した。

第3章 実験方法並びに実験成績

実験1 各種培地に於ける DFA の制菌最低濃度 (MIC) の検討

1. 実験方法

まず, DAT の溶媒として用いた DFA の MIC を10%牛血清加キルヒナー液体培地, Dubos 液体培地及び1%小川培地を用いて検討した。即ち, 常法の遞減倍数稀釈法によって DFA の稀釈列を作り, H37Rv 感性株 Dubos 液体培養菌液 (0.5mg/ml) を駒込ピペットで一滴宛接種し, 37°C 4 週間培養後 (Dubos 液体培地では2週後) 判定した。従って, 接種菌量は1培地当り約 0.02mg である。培地量は液体培地は 2ml, 小川培地は 5ml で, 薬剤の添加稀釈は小川培地では加熱凝固前に行なった。

表1 各種培地における DFA の MIC

培地	MIC (mg/ml)
10%牛血清加キルヒナー液体培地	25.0
Dubos 液体培地	25.0
1%小川培地	50.0

4 週判定 (Dubos 液体培地は 2 週)

2. 実験成績

表1に示す如く, DFA の MIC は10%牛血清加キルヒナー液体培地及び Dubos 液体培地で 25mg/ml, 1%小川培地で 50mg/ml の値を示した。

実験2 各種培地に於ける DAT の MIC の検討

1. 実験方法

実験1に於けると同様の方法で DAT の稀釈列を作成し, 1培地当り H37Rv 感性株 Dubos 培養菌液 0.02mg を接種した。なお, シリコン被覆スライド培養法 (SSC)<sup>6,7)</sup> では H37Rv 株石油ベンジン菌液 (1mg/ml) に瞬時浸漬し結核菌を附着させたシリコン被覆スライドを10%牛血清加キルヒナー液体培地の倍数稀釈列に1枚ずつ投入培養した。1スライド当りの附着生菌

単位数はおよそ $10^6$ である。各培地共, 37°C 4 週間培養後に判定した。

表2 各種培地における DAT の MIC

培地	第1回実験	第2回実験 (γ/ml)
10%牛血清加キルヒナー液体培地	25.0 ≤	12.5
シリコン被覆スライド培養法	25.0 ≤	12.5
Dubos 液体培地	3.13	3.13
1%小川培地	50.0 ≤	25.0

4 週判定

2. 実験成績

表2に示した。DAT の MIC は Dubos 液体培地で 3.13γ/ml とやや低い値を示したが, その他の培地では12.5γ/ml, 25γ/ml ないしそれ以上の値を示した。特に, 第1回の実験では Dubos 液体培地を除く各培地で, DAT の MIC が高く, 溶媒の DFA の影響が出て, DAT の正確な MIC を把握出来なかった。なお, 液体培地の DAT 濃度 25γ/ml 以上では薬剤の析出を認めた。

実験3 DAT の MIC に及ぼす培地 pH 及び接種菌量の影響について

1. 実験方法

伊藤の方法<sup>8)</sup>により培地 pH を 5.5, 6.5 及び 7.5 に修正した10%牛血清加キルヒナー液体培地を用いて DAT の倍数稀釈列を作成し, H37Rv 感性株 Dubos 培養菌液を接種, 37°C 4 週間培養後 MIC を判定した。接種菌量は 1ml 当り約 0.1, 0.01 及び 0.001mg の 3 種である。

表3 DAT の MIC に及ぼす培地 pH 及び接種菌量の影響

pH	菌量 (mg/ml)	MIC (γ/ml)		
		0.1	0.01	0.001
5.5		12.5	12.5	12.5
6.5		25.0 ≤	25.0 ≤	25.0 ≤
7.5		12.5	6.25	3.13

使用培地: 10%牛血清加キルヒナー液体培地

2. 実験成績

表3に示した。まず, 培地 pH についてみると, pH 6.5 で MIC がもっとも高く, pH 5.5 もしくは 7.5 では MIC が低下する傾向を認めた。この傾向はアルカリ側に於て, より顕著に認め

られた。

一方、DAT の接種菌量と MIC の関係についてみると、pH 7.5 では、接種菌量が増加すると共に MIC も上昇したが、pH 5.5 では差を認めず、pH 6.5 では判定不能であった。

**実験 4** 培地置換培養法による DAT の MIC の検討

1. 実験方法

神田の方法<sup>9)</sup>に準じた。即ち、10%牛血清加キルヒナー液体培地を用いて、DAT の倍数稀釈列を2系列作り、これらに約 1mg/ml の石油ベンジン菌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枚宛投入し、37°C の孵卵器で培養し、そのうちの1系列は週2回、新たに作成せる同様の倍数稀釈列へスライドを置換し、他の1系列はそのまま培養を続け、2週及び4週後に判定を行なった。

**表 4** 培地置換培養法による DAT の MIC

培 養 法		2 週判定	4 週判定
第1回	培地置換法	1.56	1.56 (γ/ml)
	非置換法	12.5	12.5
第2回	培地置換法	3.13	3.13
	非置換法	25.0 ≤	25.0 ≤

培養法：シリコン被覆スライド培養法

2. 実験成績

**表 4** に示した。DAT の培地置換培養法と非置換法の MIC は、2週及び4週判定のいずれに於ても、後者は前者の8倍以上の MIC を示し、DAT が in vitro で極めて不安定な薬剤であることを認めた。なお、本実験の4週判定時に、培地置換培養法のシリコン被覆スライド上に、DAT 濃度が 12.5γ/ml 以上の場合、肉眼的に薬剤の析出附着が認められた。

**実験 5** 患者分離株に対する DAT の MIC の検討

1. 実験方法

未治療患者分離株50株を1%小川培地で約3週間増菌後、その集落からガラス玉磨砕菌液を作成した。これらの菌液を用いて10%牛血清加

キルヒナー液体培地に於ける DAT の MIC を検討した。接種菌量は培地 1ml 当り約 0.01mg、判定は培養後4週とした。

**表 5** 患者分離株に対する DAT の MIC

MIC	株 数
6.25 (γ/ml)	10
12.5	25
25.0 ≤	15
合 計	50

接種菌量：0.01mg/ml

使用培地：10%牛血清加キルヒナー液体培地

2. 実験成績

**表 5** に示す如く、患者分離株 50 株のうち、DAT 6.25γ/ml で10株、12.5γ/ml で25株、25γ/ml 又はそれ以上で阻止せられたもの15株であった。

**実験 6** 一定濃度の DAT 併用による各種抗結核薬の耐性上昇阻止に関する検討

1. 実験方法

増量的継代法によった。0.05γ/ml に DAT を含有する Dubos 液体培地及び DAT を含まぬ同培地を用いて、SM, INH, KM 及び TH の倍数稀釈列を作成し、各稀釈列に Dubos 液体培地に10日間培養の H37Rv 感受性株約 1mg/ml を接種し、37°C 3週間培養後 (INH は2週間)、肉眼的に旺盛な結核菌発育を示す最高の薬剤濃

**表 6** 一定濃度の DAT 併用による各種抗結核薬の耐性値の推移

薬剤	継代				
	1	2	3	4	5
DAT 単独	3.13	3.13	3.13	6.25	6.25 (γ/ml)
SM 単独	0.156	1.25	6.25	31.3	625
DAT併用時	0.078	0.625	3.13	15.6	31.3
INH 単独	0.0156	0.313	1.25	6.25	25.0
DAT併用時	0.0156	0.156	1.25	1.25	25.0
KM 単独	0.078	0.313	25.0	625	5000
DAT併用時	0.078	0.156	0.78	3.13	31.3
TH 単独	0.625	6.25	7.8	31.3	62.5
DAT併用時	0.625	6.25	7.8	31.3	31.3

併用濃度：DAT 0.05γ/ml

度を第1代の耐性値と定めた。ついで各薬剤単独及び DAT を含む薬剤稀釈列を第1代と同様に作成し、第1代の耐性値とした薬剤濃度に発育した菌液を各系列毎に約 0.1mg/ml を接種した。かくして5代にわたって継代培養を実施した。なお、同時に DAT 単独の耐性上昇についても検討した。

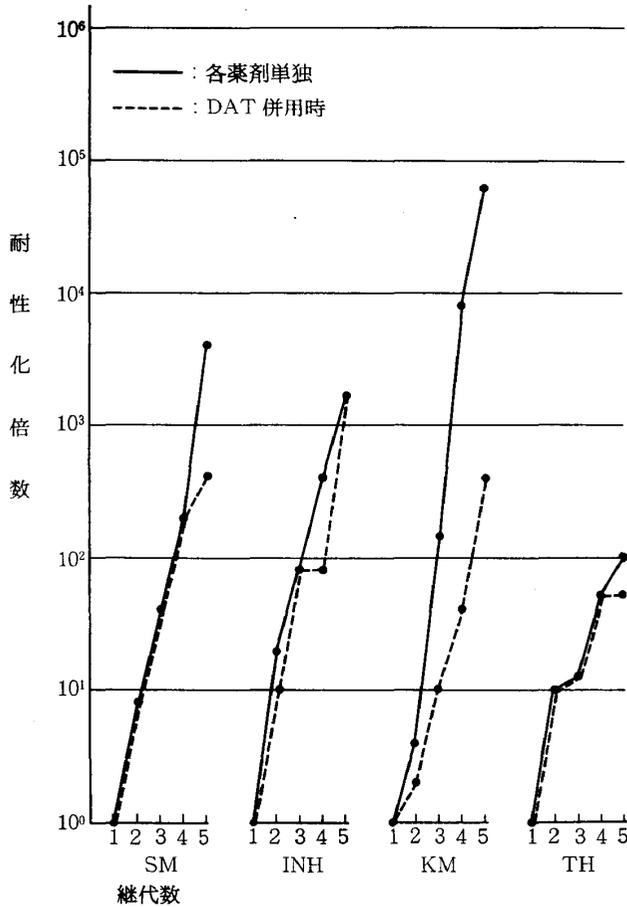


図1 各種抗結核薬耐性化に対するDATの併用阻止効果

2. 実験成績

表6及び図1に示した。DAT 併用時には、KM の耐性上昇が多少共遅延せられたが、その他の薬剤では、耐性上昇遅延効果は殆んど認められなかった。又、DAT 単独の耐性上昇は第5代で第1代の2倍に上昇したのみであった。

実験7 各種抗結核薬耐性菌に対するDATのMICの検討

1. 実験方法

10%牛血清加キルヒナー液体培地に約2週間表面培養して得られた H37Rv 感受性株及び本

株の SM, PAS, INH, KM 並びに VM 各耐性株の菌膜より作成したガラス玉磨碎菌液を用いて、DAT の10%牛血清加キルヒナー液体培地に於ける MIC を検討した。接種菌量は培地 1ml 当たり約 0.01mg で、37°C 4週間培養後判定した。

表7 各種抗結核薬耐性菌に対するDATのMIC

菌 株	耐 性 度	D A T
H37RvR-SM	10 <sup>4</sup> <	6.25 (γ/ml)
H37RvR-PAS	15.6	6.25
H37RvR-INH	25.0	12.5
H37RvR-KM	10 <sup>4</sup> <	6.25
H37RvR-VM	31.3	6.25
H37RvS		6.25

接種菌量：0.01mg/ml

使用培地：10%牛血清加キルヒナー液体培地

2. 実験成績

表7の如く、DAT は SM, PAS, INH, KM 及び VM 各耐性株に対しても感受性株と同様の制菌作用を示した。

実験8 DAT, TH 及び TB1 3剤相互間に於ける交叉耐性の検討

1. 実験方法

H37Rv 感受性株及び本株の DAT, TH 並びに TB1耐性株の Dubos 培養菌液を用いて、DAT, TH 及び TB1 の Dubos 液体培地並びに 1%小川培地に於ける MIC を検討した。接種菌量は 1試験管当たり約 0.02mg で、判定は Dubos 液体培地で培養2週後、1%小川培地で培養4週後とした。

2. 実験成績

表8a, 8b, 9a, 9b, 10a 及び 10b に示した。

(1) DAT 及び TH 相互間の交叉耐性

TH は DAT 耐性株に対して、Dubos 液体培地で3回中2回、1%小川培地で2回中1回、感受性株の1/2に制菌力が低下した。一方、DAT は TH 耐性株に対して、Dubos 液体培地で3回中2回、感受性株の1/2~1/4に制菌力が低下した。従って、試験管1本程度の差で誤差範囲かとも思われるが、DAT, TH 相互間の部分的交叉耐性の存在を疑うべきではないかと思われる

表 8a Dubos 液体培地における TH 及び TBI の DAT 耐性菌に対する MIC

株	薬剤	第 1 回			第 2 回			第 3 回		
		TH	TBI	DAT	TH	TBI	DAT	TH	TBI	DAT
H37RvR-DAT		2.0	31.3	12.5	3.9	125	25.0	2.0	62.5	( $\gamma/ml$ ) 12.5
H37Rv-S		2.0	0.125	0.39	2.0	0.0313	0.20	1.0	0.0625	0.10

2 週判定

表 8b 1%小川培地における TH 及び TBI の DAT 耐性菌に対する MIC

株	薬剤	第 1 回		第 2 回	
		TH	TBI	TH	TBI
H37RvR-DAT		31.3	250 $\leq$	31.3	( $\gamma/ml$ ) 250 $\leq$
H37Rv-S		15.6	15.6	31.3	3.9

4 週判定

表 9a Dubos 液体培地における DAT 及び TBI の TH 耐性菌に対する MIC

株	薬剤	第 1 回			第 2 回			第 3 回		
		DAT	TBI	TH	DAT	TBI	TH	DAT	TBI	TH
H37RvR-TH		0.39	0.25	125	0.39	0.0625	125	0.39	0.0625	( $\gamma/ml$ ) 62.5
H37Rv-S		0.39	0.25	3.9	0.20	0.0625	3.9	0.10	0.0625	1.0

2 週判定

表 9b 1%小川培地における TBI の TH 耐性菌に対する MIC

株	薬剤	第 1 回		第 2 回	
		TBI	TH	TBI	TH
H37RvR-TH		15.6	250 $\leq$	15.6	( $\gamma/ml$ ) 500 $\leq$
H37Rv-S		3.9	31.3	3.9	31.3

4 週判定

表 10a Dubos 液体培地における DAT 及び TH の TBI 耐性菌に対する MIC

株	薬剤	第 1 回			第 2 回		
		DAT	TH	TBI	DAT	TH	TBI
H37RvR-TBI		6.25	2.0	62.5	6.25	2.0	( $\gamma/ml$ ) 62.5
H37Rv-S		0.39	3.9	0.25	0.20	3.9	0.0625

2 週判定

表 10b 1%小川培地における TH の TBI 耐性菌に対する MIC

株	第 1 回		第 2 回	
	TH	TBI	TH	TBI
H37RvR-TBI	31.3	250 $\leq$	31.3	500 $\leq$ ( $\gamma$ /ml)
H37Rv-S	31.3	3.9	31.3	3.9

4週判定

成績が得られた。

(2) DAT 及び TBI 相互間の交叉耐性

TBI は DAT 耐性菌に対して、Dubos 液体培地で感受性株の1/250~1/4000に、1%小川培地で1/16~1/64以下に制菌力が低下した。DAT の TBI 耐性菌に対する制菌力は Dubos 液体培地で感受性株の1/16~1/32に低下した。即ち、DAT, TBI 両者間に於て完全交叉耐性の存在を認めた。

(3) TH 及び TBI 相互間の交叉耐性

TBI の TH 耐性菌に対する制菌力は、Dubos 液体培地では認められなかったが、1%小川培地で感受性株の1/4に低下した。又、TH は TBI 耐性株に対して、1%小川培地では認められなかったが、Dubos 液体培地で2回中2回共、感受性株の2倍の制菌力を示した。TH, TBI 両剤間に於ては、TH 耐性菌が TBI に対して一方向的部分的耐性を示す傾向を認めた。

なお、DAT の制菌力は1%小川培地で著しく低下するので DAT については同培地を使用しなかった。

第4章 総括並びに考按

DAT の試験管内実験に際して、DAT が水に極めて難溶であり、溶媒として、N,N'-dimethylformamide (DFA)を用いたが、DFA の MIC は10%牛血清加キルヒナー液体培地及び Dubos 液体培地で 25mg/ml, 1%小川培地では 50mg/ml を示した。所で、DAT の MIC についての検討では、Dubos 液体培地では 3.13 $\gamma$ /ml と低く出たのは問題ないとしても、10%牛血清加キルヒナー液体培地及びシリコン被覆スライド培養法で 12.5~25.0 $\gamma$ /ml, 1%小川培地で 25.0~50.0 $\gamma$ /ml の値をとったが、この値は溶媒の DFA

の影響を無視し得ない範囲内にあり、DAT の MIC を判定する上で困難を感ずる場合があった。そこで、DAT の MIC が DFA の影響を無視し得ぬと思われる時不等号で示した。

DAT の制菌力については、Tacquet ら<sup>3)</sup>は、鶏卵培地では DAT の活性が低下するが、Tween を含まない Dubos 液体培地での MIC は 0.5 $\gamma$ /ml と優れた成績を報告している。又、小関ら<sup>10)</sup>は1%小川培地の場合は 25 $\gamma$ /ml でも殆んど阻止作用が認められず、Krichner 半流動培地及び Tween 80 を含まない Dubos 液体培地では 5~10 $\gamma$ /ml で軽度ないし中等度の阻止、25 $\gamma$ /ml で強度ないし完全阻止を認め、岡ら<sup>11)</sup>は Dubos 液体培地で 50 $\gamma$ /ml で発育完全阻止を認めている。又、五味<sup>12)</sup>によると、Dubos 液体培地では 10~25 $\gamma$ , Dubos 寒天及び Kirchner 寒天培地では 50~100 $\gamma$  といい、一般に DAT の制菌作用は弱いとしている。著者らの検討でも、DAT の制菌力は Dubos 液体培地でやや強く出たが、その他の培地では弱い制菌力しか認められなかった。

DAT の pH と制菌作用について、Tacquet ら<sup>3)</sup>は、DAT の制菌力は pH 6.3~7.0 でもっとも弱く、pH 5.9 及び 7.5 でもっとも強く出たという。著者らの検討でも、pH 6.5 で制菌力がもっとも弱く、pH 5.5 でやや強く、pH 7.5 では、もっとも強く出て、Tacquet らの報告<sup>3)</sup> とほぼ同様の成績を得た。これは、SM, TBI, VM 及び KM の制菌作用がアルカリ性で増強され、PZA, PAS 及び sulfisoxazole が酸性で増強される<sup>13)</sup>のと好対照を示している。又、DAT の MIC は接種菌量を 0.001mg/ml から 0.1 mg/ml へ増加させると、pH 7.5 では4倍高くなったが、pH 5.5 及び pH 6.5 では、DAT の MIC は溶媒

の影響を無視出来ぬ範囲内にあるので判定不能であったが、pH 7.5 の成績よりすると、DAT は接種菌量の影響をある程度受ける薬剤と想像される。

注目すべきことは、培地置換培養法による検討で DAT が培地内で極めて不安定な薬剤であることが明らかになったことである。従って、動物実験、更に進んで臨床の場に於ては、普通培養法の制菌力から想像される以上の DAT の性能が期待されてよいかも知れない。

次に、患者分離株に対する MIC について、Tacquet ら<sup>3)</sup> は Dubos 液体培地で 42 株を検討し、0.5 $\gamma$  9 株、1 $\gamma$  7 株、2 $\gamma$  18 株、5 $\gamma$  8 株であったとし、Eidus ら<sup>14)</sup> は fraction V 0.5% 含有の Sauton 培地の MIC は 2/3 は 0.5 $\gamma$  で、1 $\gamma$  では 85% が、2 $\gamma$  では 98% が阻止せられたとしている。Tacquet らは Dubos 液体培地での H37Rv 感性株の MIC を 0.5 $\gamma$  とし、Eidus らは fraction V 0.5% Sauton 培地で 0.4 $\gamma$  としているので、患者分離株中には、DAT に対して H37Rv 株より感受性が落ちる株の割合が比較的多いようである。著者らの 10% 牛血清加キルヒナー液体培地での検討では、患者分離株 50 株中、6.25 $\gamma$  で 10 株、12.5 $\gamma$  で 25 株、25 $\gamma$  ないしそれ以上で 15 株が阻止せられた。DAT の MIC が 25 $\gamma$  以上は判定不能であるので直接比較出来ないが、MIC 12.5 $\gamma$  以下の株が 70% をしめ、H37Rv 感性株の MIC を 12.5~25 $\gamma$  とすると、これより感受性がおちる株は 30% 以上を占めることはあるまいと思われる。

今日、併用療法が結核化学療法の常識となっているが、もっとも大きな理由の 1 つとして薬剤の耐性獲得を防止もしくは遅延せしめようとするにある。DAT の *in vitro* に於ける性能は決して優れたものであるとはいえないが、性能の低い薬剤の通例として DAT も耐性のつきにくい薬剤であり、耐性を速やかに獲得しやすい SM、INH、KM 及び TH 等の性能の高い薬剤と DAT を併用することにより、これら薬剤の耐性獲得を防止もしくは遅延せしめ得るならば、その薬剤と DAT の併用は臨床上有意義であるといえる。DAT を 0.05 $\gamma$ /ml の濃度で併用し、

各種抗結核薬の耐性上昇の推移を検討したが、著者の実験条件では、KM の耐性上昇が DAT の併用により多少共遅延せられることが分った。即ち、KM に DAT を併用することは臨床上有利であるといえる。

DAT と他の抗結核薬との交叉耐性については、Tacquet ら<sup>3)</sup>、岡ら<sup>11)</sup> は SM、PAS 及び INH との間に交叉耐性がないとしている。著者らの検討でも、DAT が SM、PAS、INH、KM 及び VM 各耐性菌に対して H37Rv 感受性株に対すると同様の制菌作用を示すことを認めた。

さて、DAT、TH 及び TB1 3 剤はその化学構造中に CS-NH<sub>2</sub> の構造をもち、これら 3 剤相互間の交叉耐性の問題については論議のあるところである。まず、DAT と TH 相互間の交叉耐性については、Rist ら<sup>15)</sup> は *in vitro* で TH に耐性となった株は thiourea 誘導体に耐性であったといい、岡ら<sup>11)</sup> は TH 耐性菌は DAT にも耐性であったと報告している。然し、患者分離株による検討で、Urbancik ら<sup>16)</sup> は TH 耐性菌は DAT に感受性で heterocyclic thiosemicarbazone に耐性の場合のみ DAT にも耐性を示すといい、Meissner ら<sup>17)</sup> も TH 耐性菌は DAT に耐性を示さないという。又、Eule ら<sup>18)</sup> によると、DAT 耐性菌で TH に耐性の存在するのは thiosemicarbazone 耐性が同時に認められる場合のみであって、それ以外では DAT 耐性菌は TH 耐性を伴わないとしている。

DAT と TB1 両者間の交叉耐性については、Sojková ら<sup>19)</sup> は *in vitro* で thiosemicarbazone 耐性菌は thiourea 誘導体にも耐性であったと報告している。又、患者分離株による検討で、Meissner ら<sup>17)</sup> は TB1 耐性菌はだいたい DAT にも耐性だが、DAT 耐性菌は TB1 に耐性でなかったといい、Eule ら<sup>18)</sup> は、DAT 耐性菌は thiosemicarbazone 耐性を伴うことがあるという。

TH と TB1 両剤間については、Rist ら<sup>15)</sup> は *in vitro* で TH 耐性となった株は TB1 にも耐性であるが、逆に TB1 耐性株は TH に感受性であるという。東村<sup>20)</sup>、川合<sup>21)</sup> も *in vitro* で同様の成績を報告している。更に東村<sup>22)</sup> は、治療

によって TH 耐性となった患者株は TB1 にも耐性が上昇しているという。患者分離株の検討では、Eule ら<sup>18)</sup>は TH と TB1 の間に75%の交叉耐性が存在したとしている。Sojková ら<sup>19)</sup>も TH 耐性株中に高率に thiosemicarbazone 耐性を認め、thiosemicarbazone 耐性株中にも TH 耐性を示すものを認めるという。然し、Meissner ら<sup>17)</sup>は、TH 耐性菌は TB1 に感受性という。以上、諸家の報告でも DAT, TH 及び TB1 3 剤相互間の交叉耐性については完全な成績の一致を見いだすことが出来ない。著者らの H37Rv 株を用いての *in vitro* の検討では DAT TB1 相互間の交叉耐性を認めた。DAT と TH 間では部分的交叉耐性の存在が疑われた。TH, TB1 相互間では、10%牛血清加キルヒナー液体培地では認めなかったが、1%小川培地に於て TH 耐性菌が TB1 に対しても耐性を示す傾向を認め、Rist, 川合らと同様の成績を得た。

DAT, TH, TB1 3 剤相互間の交叉耐性、特に、DAT と臨床の実際に繁用されている TH との交叉耐性の問題については、DAT の抗結核薬としての存在価値という見地から重大な意味を有する。もし、真実、DAT と TH 間に交叉耐性が存在するならば、DAT の性能よりみて、決して TH をこえる薬剤とは思われないので、DAT の実際臨床面への登場は殆んど望まれないであろう。この点については、更に将来の検索にまちたい。

## 第5章 結 論

4-4' Diisoamyloxythiocarbanilide (DAT) の試験管内抗結核菌作用を検討し、次の如き結論を得た。

1. DAT の制菌最低濃度は Dubos 液体培地で 3.13 $\gamma$ /ml とやや低い値を示すが、10%牛血清加キルヒナー液体培地、シリコン被覆スライド培養法及び 1%小川培地で 12.5~25 $\gamma$ /ml 前後の値を示す。

2. DAT の制菌力は培地 pH 6.5 でもっとも弱く、それより酸性又はアルカリ性で増強し、接種菌量の影響がさほど著明ではない。

3. DAT の制菌力は培地内で不安定である。

4. 10%牛血清加キルヒナー液体培地に於け

る検討で、未治療患者分離株 50株中、20%が 6.25 $\gamma$  で、50%が 12.5 $\gamma$ , 30%が 25 $\gamma$  ないし、それ以上で阻止せられた。

5. DAT の耐性上昇は一般に緩徐であり、耐性値は 5代で 2倍になったのみである。

6. KM の耐性上昇は DAT 併用により遅延される傾向を示す。

7. DAT は SM, PAS, INH, KM 及び VM と交叉耐性を持たないが、TB1 とは交叉耐性を示す。又、TH との間には部分的交叉耐性が僅かに存在するのではないかと思われる成績が得られた。

8. なお、主題とは直接関係はないが並行して行なった実験によると、1%小川培地に於て、TH が TB1 に対して一方向的部分的交叉耐性を示す傾向を認めた。

## 文 献

- 1) Mayer, R.L.: *Revue Medicale de France*, 9: 393, 1941.
- 2) 津久間俊次他: *京結紀要*, 14: 23, 1965.
- 3) Tacquet, A., Macquet, V., Buu Hoi, N.P., *et al.*: *Annales de l'Inst. Pastur de Lille*, 10: 43, 1958~1959.
- 4) Freeksen, E., & Rosenfeld, M.: *Beitr. Klin. Tbk.*, 127: 386, 1963.
- 5) Crowle, A.J., Mitchell, R.S., *et al.*: *Am. Rev. Resp. Dis.*, 88: 716, 1963.
- 6) 東向一郎: *京結紀要*, 7(3)増刊1号: 461, 1959.
- 7) 東向一郎: *京結紀要*, 7(3)増刊2号: 22, 1959.
- 8) 伊藤 篤: *京結紀要*, 7: 143, 1958.
- 9) 神田瑞雄: *京結紀要*, 7(3)増刊1号: 328, 1959.
- 10) 小関勇一他: *結核*, 38: 62, 1963.
- 11) 岡捨己他: *日胸*, 23: 326, 1964.
- 12) 五味二郎他: *日胸*, 23: 77, 1964.
- 13) 河田利延: *京結紀要*, 7(3)増刊3号: 13, 1959.
- 14) Eidus, L., & Hamilton, E.J.: *Am. Rev. Resp. Dis.*, 90: 258, 1964.
- 15) Rist, N., *et al.*: *Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis.*, 79: 1, 1959.
- 16) Urbancik, R., *et al.*: *Acta Tuberc. et Pneumol. Belgica*, No. 1, 1963.
- 17) Meissner, G., *et al.*: *Beitr. Klin. Tbk.*, 130: 289, 1965.
- 18) Eule, H., *et al.*: *Beitr. Klin. Tbk.*, 134: 247, 1967.
- 19) Sojková, M., *et al.*: *Prax. Pneumol.*, 19: 522, 1965.
- 20) 東村道雄: *結核*, 36: 733, 1961.
- 21) 川合 満: *京結紀要*, 13: 184, 1965.
- 22) 東村道雄: *結核*, 37: 103, 1962.