

数種の二次抗結核剤の毎日投与法と間歇投与法との 効果比較に関する試験管内実験

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第一（主任：教授 内藤益一）

太 田 令 子

第1章 緒 言

現在用いられている抗結核剤の中には、主として臨床的に副作用を軽減する目的で週2～3回の間歇投与方式がとられているものがあり、治療効果の上で連続投与に比して必ずしも不利益ではないといわれ¹⁻⁴⁾、又一般にもその様に信じられている傾向がある。一方、種々の抗結核剤の抗菌効果と細菌の発育相との関係が検討され⁵⁾、結核菌に於ても一般細菌と同様に、薬剤作用はその増殖期に最も強く発揮されると報告されている⁶⁻¹⁶⁾。従って、若し適当な間隔において薬剤を投与して細菌の増殖期にのみ薬剤を作用させ得るとすれば、間歇投与法は連続投与法よりも優れた効果を示す可能性すら考えられるのである。

さて、連続投与法と間歇投与法に関する基礎的研究として動物実験は、既に数多く行なわれている。河野²⁴⁾及び蓑谷²⁵⁻²⁷⁾はその動物治療実験の結論として、INH 毎日投与の優位を認めており、Bloch²⁸⁾はINHの投与量を比較的大量にすれば間歇投与法も有望であると述べ、Bartmann²⁹⁻³²⁾は発病予防及び治療上に於ける投与方法の比較検討から、やはり間歇投与法ではINH量が問題となること及び間歇投与よりも連続投与が優れていることを指摘している。

しかし、より基本的な *in vitro* の検討は、Armstrong¹⁷⁾、池田¹⁸⁾の報告以外殆んど見当ら

ない。Armstrong¹⁷⁾の Millipore Chamber 装置を用いた INH 単独作用の実験成績では、発育阻止効果、殺菌効果共連続作用法が間歇作用法より優れているという。又池田¹⁸⁾の INH を中心とした一次抗結核剤の単独及び併用作用法に関する Silicone-Coated Slide 培養法^{19,20)}を用いた実験成績では、薬剤の種類、作用方式等により程度の差はあるが、結核菌の発育阻止効果、殺菌効果、耐性上昇防止等何れの面からも連続作用法は間歇作用法より劣ることはなく、むしろ明らかに優れている場合もあるという。即ち、INH を中心とした一次抗結核剤による治療実験及び試験管内実験では、臨床的比較検討成績¹⁻⁴⁾と異なって連続投与の優位を指摘している。

しかしながら、結核の化学療法には多くの場合長期の薬剤投与を要する上に、二次抗結核剤は聴力低下、視野狭窄、胃腸・肝機能障害、精神障害等の副作用を持つものが多く、これらを防止する意味からも治療効果との関連に於て間歇投与法の可能性について検討する必要があると考えられる。

そこで著者はこの問題に関して試験管内での検討を企図した。もとより試験管内の成績が直ちに結核治療の臨床にあてはめ得るものではないが、ここでは細菌学的に数種の二次抗結核剤の濃度と作用時間とが、制菌効果、殺菌効果、

薬剤耐性上昇にいかなる影響を与えるかについて検討した。

第2章 制菌効果

第1節 実験材料

菌株：教室保存の H37Rv 株を 1%小川培地で 4 週間培養したものを使用した。

Silicone-Coated Slide：東の方法^{19,20)}によって作成した。即ち普通のスライドガラスを縦に 3 切したものの（幅 8~9 mm, 長さ 75 mm）をクローム硫酸中に 24 時間浸漬、流水中で数時間洗滌してから乾燥し、更に石油ベンジンで洗浄した後室温で乾燥し、このスライドを粘度 350 centistokes の dimethyl silicone (DC 200 Fluid) をクロロホルムに 2%(v/v) に溶解した silicone oil 溶液中に瞬時浸漬した後室温で風乾し、300°C 1 時間熱処理したものを使用した。

菌液及び菌接種法：上述の H37Rv 株の菌集落を別の試験管に移し、石油ベンジンを加え、振盪して菌を分散させ、2~3 分間静置して粗大菌塊を沈澱せしめた後、上清を他の試験管に移し硫酸バリウム標準液と比濁することにより約 1 mg/ml の石油ベンジン菌液とした。この菌液中に silicone-coated slide を約 15 mm の深さに瞬時浸漬して菌を付着させた²¹⁾。この場合の slide 1 枚当りの付着生菌単位は約 10^6 である。

培地：pH ca. 6.5 の 10%牛血清加 Kirchner 培地（以下単に培地と略す）を用いた。

被検薬剤：kanamycine (KM), α -ethylthioisonicotinamide (TH), ethambutol (EB), cycloserine (CS), TH の sodium methanesulfonate (THS) の各々の単独作用時について検討した。KM はバイアル入りのものを蒸留水で 100 mg/ml に溶解し、EB は α -ethambutol を秤量、70% ethanol にて 100 mg/ml に溶解し、滅菌の為 1 時間放置してから更に蒸留水で 10 mg/ml に希釈した。CS は無菌アンプル入りのものを 10 mg/ml まで蒸留水で希釈した。TH は秤量し dimethylformamide (DFA) に溶解し、10 mg/ml にした。THS は注射用アンプル入りのものを蒸留水に溶解し、TH に換算して 10 mg/ml になる様にした（THS 1.6 g は TH 1 g に相当）。これらの薬剤をその後は培地を用いて所要の薬剤希釈例を作成した（表 1 参照）。

試験管：内径 10 mm, 長さ 120 mm のガラスキャ

ップ付小試験管を使用した。

第2節 実験条件及び実験方法

薬剤作用温度：37°C とした。

実験群の構成：KM, CS, TH, EB, THS の各々の薬剤について連続作用群と間歇作用群の 2 通りに分け、合計 10 群とした。間歇投与群は 1 週の内 2 日、例えば月曜日と木曜日各々 24 時間薬剤作用させ、この操作を 4 週間繰返した。又連続作用群は 4 週間毎日 24 時間薬剤を作用させた。

実験操作：池田の方法¹⁸⁾によって操作した。即ち、石油ベンジン菌液に浸漬して結核菌を付着させた silicone-coated slide（以後 SS と略す）を直ちに試験管内に投入し、培地 2 ml を注入し 37°C で培養した。石油ベンジン菌液作成後 SS を試験管に投入するまでの操作は 30 分以内とした。培養 2 日後各 SS を培地量 3 ml の薬剤希釈列に移し、37°C で 24 時間薬剤作用させた後夫々の SS を、4 ml の生理的食塩水を入れた 3 本の試験管で 3 回洗滌して SS に付着した薬剤を除いた後、間歇作用群の SS は薬剤非含有培地に移し、又連続作用群の SS は新しく調製した薬剤希釈列の該当試験管に投入、37°C で培養を続けた。以後 3 日~4 日毎に同じ操作を繰返した。連続作用群も生理的食塩水で洗浄したのは、実験操作による物理化学的な影響、例えば培地の温度低下、或は新しい外気との接触等の実験条件を両群に可及的に平等にする為である。

全実験を通じて一度使用した培地、薬剤希釈列は二度と使用せず、又生理的食塩水も総て新しく調整して実験を行なった。薬剤含有培地から非含有培地へ移す時は、全期間を通じて薬剤作用を受けない対照の SS も同様に生理的食塩水で洗滌した。尚、薬剤非含有培地を 2 ml, 薬剤含有培地を 3 ml, 生理的食塩水を 4 ml としたのは、薬剤非含有培地で培養された結核菌の総てが薬剤含有培地に浸されて薬剤の作用を受け、又 SS 及び菌に付着した薬剤が可及的に完全に生理的食塩水によって除去される為である。

判定方法：4 週間薬剤作用終了時に、肉眼的に SS 上に発育した結核菌集落数を判定した。

第3節 実験成績

各薬剤の各作用方法に於ける判定成績は表 1 及び表 2 に示した。

1. KM 単独作用

1 週間に 2 日（例えば月曜日と木曜日）、各々 24 時間薬剤を作用させる間歇作用方式で発育

表 1 主要二次抗結核剤の制菌作用

試験管番号	薬 剤 名 作用方式 mcg/cc	KM		CS		EB		TH		THS	
		連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用
1	1,000	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
2	500	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
3	250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	125	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	62.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	31.3	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—
7	15.6	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—
8	7.8	—	20	—	+	—	++	—	10	—	—
9	3.9	—	30	36	++	—	++	—	+	—	—
10	1.95	—	20	++	++	—	++	3	50	—	+
11	0.975	—	++	++	++	+	++	10	++	—	++
12	0.488	20	++	++	++	++	++	100	++	—	++
13	0.244	100	++	++	++	++	++	+	++	—	++
14	0.122	50	++	++	++	++	++	++	++	++	++
15	0.061	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
16	0.0305	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
17	0.0153	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
18	0.0076	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
19	0.0038	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
20	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

〔註〕作用方式 連続作用：1回24時間毎日薬剤作用

間歇作用：1回24時間週2日薬剤作用

各々4週間薬剤作用させた。

判定方法：4週間薬剤作用終了時に、肉眼的にSS上に発育した菌集落がSS表面の2/3以上を覆う時(++)，2/3～1/3の時(+)，1/3以下の時(+)とし、集落数100以下の場合は、その数を記入した。

阻止最低濃度（以後 MIC と略す）は 1.95 mcg/ml であり、連続作用方式の 0.122 mcg/ml に比較してかなり劣っており、16倍の差が認められた。

2. CS 単独作用

間歇作用方式では MIC は 7.8 mcg/ml であり、連続作用方式では 3.9 mcg/ml であり、濃度差は 2 倍であった。

3. EB 単独作用

週2日作用の間歇作用方式の MIC は 62.5 mcg/ml で、毎日連続作用方式の MIC の 0.975 mcg/ml よりはるかに劣っており、実に64倍であった。

表 2 主要二次抗結核剤の制菌最低濃度 (MIC)

薬剤名	作用方式		制菌最低濃度 mcg/ml	
			間歇作用方式	連続作用方式
KM			1.95	0.122
CS			7.8	3.9
EB			62.5	0.975
TH*			1.95	0.244

〔註〕間歇作用方式は1回24時間週2日作用

連続作用方式は毎日作用、薬剤作用期間は4週間とした。

(++)，(+)は制菌効果なし，(+)以下は制菌効果ありと判定して制菌最低濃度 (MIC) を、mcg/ml により表示した。

*TH についての表示値は、THS を用いて求め、TH 量に換算したものである。

(分子量比は TH：THS=1:1.6)

4. THS 単独作用及び TH 単独作用

THS の間歇作用群の MIC は、TH 量に換算すると 1.95 mcg/ml で、これも連続作用方式の 0.244 mcg/ml に比較して 8 倍も間歇作用方式が劣っていた。

TH については他の薬剤と少し異った結果が認められた。即ち、間歇作用群の第 1 管目の、薬剤濃度 1000 mcg/ml の SS と、第 2 管目の 500 mcg/ml の SS では制菌作用が認められず、逆にそれ以下の濃度即ち、250 mcg/ml から 7.8 mcg/ml の間の SS では制菌されているということである。再度実験を繰返したが同様の結果がみられた。この高濃度で発育した部分を無視すると間歇作用方式の MIC は 1.95 mcg/ml、連続作用方式では 0.244 mcg/ml であり、その濃度差は 8 倍であった。この高濃度で発育が抑制されない現象の原因は不明である。

第 4 節 小 括

この実験から、KM, CS, EB, THS, TH 単独作用では、制菌力は連続作用方式が間歇作用方式より優れているといえる。但しその差は薬剤によって異なり、EB で最も大きく 64 倍であり、KM では 16 倍、TH, THS では 8 倍、CS では僅かに 2 倍の差であった。この様な薬剤による差は、培地環境に於ける薬剤の安定性と関連があるのではないかと考えられる。即ち、本実験に用いた培地、作用温度では、EB が最も安定であり、CS が最も不安定で、KM, TH, THS はその中間である。その為に CS の連続作用方式では 3～4 日間薬剤を作用している間に、培地内の CS の抗菌力に低下がみられ、十分な制菌効果が得られないのではないかとと思われる。

TH の間歇投与方式に於いて、1000 mcg/ml、500 mcg/ml の高濃度で制菌効果がみられず、かえってそれ以下の濃度で制菌効果が認められたが、この奇異な現象については今後検討していきたいと思っている。

第 3 章 殺 菌 効 果

第 1 節 実 験 材 料

菌株、菌液及び菌接種方法、培地、被検薬剤、シリ

コン被覆スライド、試験管等は総て第 2 章と同様である。

第 2 節 実験条件及び実験方法

実験操作は第 2 章の制菌効果判定後、第 2 章の SS の置換と同じ方法で生理的食塩水で SS を 3 回宛洗滌し、2 ml の薬剤を含まない培地に入れ 37°C で培養した。

判定方法：薬剤非含有培地に置換後 4 週間 37°C で培養して菌増殖が認められない場合を殺菌されたものとした。判定基準は第 2 章の MIC 判定基準と同様である。

第 3 節 実 験 成 績

各薬剤の各作用方式の判定成績を総合して表 3 に示した。集落数 100 以下のものは殺菌効果ありとして殺菌最低濃度を mcg/ml で表示したのが表 4 である。

1. KM 単独作用

殺菌最低濃度は 1 週 2 日薬剤作用の間歇作用方式では 31.3 mcg/ml、毎日作用の連続作用方式では 0.975 mcg/ml で連続作用の方が 32 倍強い殺菌効果を示した。

2. CS 単独作用

殺菌最低濃度は、間歇作用方式では 1000 mcg/ml 以上であり、連続作用方式では 15.6 mcg/ml であり、連続作用の方が 64 倍以上強力な殺菌効果を持つことがわかった。

3. EB 単独作用

EB 単独作用でも間歇作用方式では、殺菌最低濃度は 1000 mcg/ml 以上であり、連続作用方式では 1.95 mcg/ml であり、やはり連続作用が 500 倍以上強力な殺菌作用を示した。

4. THS 単独作用及び TH 単独作用

殺菌最低濃度は間歇作用方式では 1000 mcg/ml 以上であり、連続作用方式では 1.95 mcg/ml であり、その差は 500 倍以上であった。

第 4 節 小 括

以上の実験成績から、KM, CS, EB, THS 及び TH の単独作用では、殺菌力は連続作用方式が明らかに間歇作用方式よりも優れているといえる。しかもその差は、KM では 32 倍である

表 3 主要二次抗結核剤の殺菌作用

試験管番号	薬 剤 名 作用方式 mcg/cc	KM		CS		EB		TH		THS	
		連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用	連 続 作 用	間 歇 作 用
1	1,000	1	8	—	+	—	++	—	++	—	+
2	500	5	6	—	++	—	++	—	++	—	++
3	250	1	—	—	+	3	++	—	+	—	++
4	125	—	50	2	++	11	++	—	++	—	++
5	62.5	3	50	—	+	4	++	—	++	—	++
6	31.3	1	30	5	++	4	++	—	++	—	++
7	15.6	6	+	30	++	11	++	—	++	—	++
8	7.8	9	+	++	++	18	++	—	++	—	++
9	3.9	3	++	++	++	3	++	3	++	7	++
10	1.95	12	++	++	++	20	++	20	++	4	++
11	0.975	30	++	++	++	++	++	+	++	+	++
12	0.488	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
13	0.244	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
14	0.122	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
15	0.061	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
16	0.0305	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
17	0.0153	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
18	0.0076	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
19	0.0038	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
20	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

〔註〕 間歇作用方式は週 2 日（各 24 時間）薬剤作用，連続作用方式は毎日作用した。

薬剤作用期間は 4 週間とし，その後 4 週間培養して判定した。

SS 表面の 2/3 以上を菌集落が被っている時は（++），2/3～1/3 を（+），1/3 以下を（+）とし，集落数 100 個以下の場合はその数を示した。

表 4 主要二次抗結核剤の殺菌最低濃度

薬 剤	殺 菌 最 低 濃 度 mcg/cc	
	間 歇	連 続
KM	31.3	0.975
CS	>1000.0	15.6
EB	>1000.0	1.95
TH*	>1000.0	1.95

〔註〕 薬剤作用方式は制菌作用と同じで 4 週間薬剤作用させた。その後 4 週間培養し，菌集落数 100 個以下を殺菌効果ありとした。

*TH は THS を用いて実験し，TH 量に換算して表示した。

が，CS，EB，THS 及び TH では 64～500 倍以上である。これは，CS，EB，THS 及び TH の間歇作用方式では 1000 mcg/ml という高濃度でも殺菌効果が得られない為である。

第 4 章 薬剤耐性獲得

第 1 節 実験材料

試験管，SS，菌株，培地，被検薬剤等は総て第 2 章と同様である。尚これらの他に増菌用に 1%小川培地を使用した。

第 2 節 実験条件及び実験方法

第 3 章で殺菌効果判定の際認められた菌集落について，各対応薬剤に対する耐性検査を行った。即ち，菌集落の発育した SS を約 2 ml の石油ベンジン中に投入し，全集落より石油ベンジン菌液を作成し，その菌液 0.2 cc を 1%小川培地に流し増菌し，松島³⁹⁾の方法に準じて耐性検査を行った。即ち，1%小川培地上で 4 週間培養増菌した菌集落に約 2 cc の石油ベンジンを加えて振盪し，全集落より石油ベンジン菌液を作成し，硫酸バリウム標準液と比濁して約 1 mg/cc の

濃度とした。これに SS を瞬時浸漬した後数秒間そのまま SS を空気にさらして石油ベンジンを蒸発させた後、耐性培地に投入、37°C で培養した。耐性培地は次の薬剤濃度にした。

即ち、KM は 1mcg/ml, 10mcg/ml, 100mcg/ml の3種類、CS は 10mcg/ml と 20mcg/ml, EB は 5mcg/ml, 10mcg/ml 及び 25mcg/ml, TH 及び THS は THS を用いて耐性検査をし、その濃度は TH に換算して 5mcg/ml, 10mcg/ml とした。

判定方法は前章と同様に(++)、(++), (+), 100 以下の場合には集落数を数えた。判定は3週間後に行った。

第3節 実験成績

CS は 10 mcg/ml, 20 mcg/ml について、EB では 5 mcg/ml, 10 mcg/cc で、又 THS は TH に換算して 2.5 mcg/ml, 5 mcg/ml, 10 mcg/ml で耐性検査したが、全群共感受性であ

表5 薬剤耐性検査成績

試験番号	薬剤作用濃度 (γ/cc)	薬剤名		KM		TH		THS	
		耐性度		KM		TH		TH	
		作用方式		1 mcg/ml		5 mcg/ml		5 mcg/ml	
				連続作用	間歇作用	連続作用	間歇作用	連続作用	間歇作用
1	1,000			—	++	×	6	×	—
2	500			—	15	×	2	×	—
3	250			—	—	×	10	×	—
4	125			—	1	×	100	×	—
5	62.5			—	++	×	++	×	—
6	31.3			—	—	×	++	—	—
7	15.6			++	—	—	+	—	—
8	7.81			—	—	++	20	—	—
9	3.91			++	—	++	100	—	—
10	1.95			++	8	++	70	—	—
11	0.98			++	—	++	50	—	—
12	0.49			++	—	++	—	—	—
13	0.24			+	—	++	4	—	—
14	0.12			2	—	—	—	—	—
15	0.061			18	—	1	—	—	—
16	0.031			—	—	—	—	—	—
17	0.015			—	—	—	3	—	—
18	0.0076			—	—	—	—	—	—
19	0.0038			—	—	—	1	—	—
20	0			—	—	—	—	—	—

〔註〕 ×は殺菌された為耐性検査出来なかったもの
 /はその他の理由で耐性検査出来なかったもの
 (—)は表示濃度で感受性を示したものである。

った。KM, TH, THS については表5に示す通りである。尚、表3では総て殺菌され(—)と表示してあるのに耐性検査しているものは、表3に示した実験とは別に、同じ条件で実験した時、集落の発生（恐らく接種生菌数の差によるものと考えられる）がみられたので、その集落で耐性検査したものである。

KM については、連続薬剤作用群では比較的低い濃度（15.6 mcg/ml～0.24 mcg/ml）で耐性獲得を認め、間歇作用群では、表には示さなかったが 5000 mcg/ml から 62.5 mcg/ml の濃度で耐性獲得を認めた。又、THS の実験の場合は全く耐性を認めなかったが、時を別にした TH の実験では連続作用群で 7.8 mcg/ml から 0.24 mcg/ml の濃度で著明な耐性獲得を、又間歇作用群ではそれより高濃度の 125 mcg/ml から 3.9 mcg/ml のあたりで耐性獲得の傾向を認めた。THS の場合と TH の場合の差が何に起因するかは不明であるが、僅かながらの実験条件の差によるものではないかと考えられる。

第4節 小 括

CS, EB 及び THS では耐性獲得は認められなかった。KM については連続作用方式、間歇作用方式共 1 mcg/ml に不完全耐性がみられ、TH でも連続、間歇共 5 mcg/ml に不完全耐性獲得がみられた。耐性上昇帯は、KM, TH 共に間歇投与群の方が薬剤濃度の高い部分にあり、連続作用方式では薬剤濃度のより低い部分にある。両者共不完全殺菌された濃度域に一致している。

第5章 総括及び考按

第1節 実験条件及び実験方法の考察

本実験は比較実験であるから、実験条件は総て同一でなければならない。SS への菌の付着数、石油ベンジンによる影響、生理食塩水で洗滌する際に菌が脱落するか否かの検討が必要となる。内藤等²²⁾の報告によると附着生菌単位数は、石油ベンジン菌液約 1 mg/cc の時には菌液を作ってから30分以内に操作を終れば判定に及ぼす影響は殆んどなく、又一旦 SS に付着

した菌は本実験に不都合なほどの脱落は認めないとされている。付着菌量と薬剤効果の関係については久世の報告²³⁾があり、SS法では菌量による影響をあまり認めない。著者はこれらのことを考慮に入れて本実験を行なった。

薬剤作用前に2日間培養したのは、石油ベンジンの影響が残る場合を考えて、それを出来る限り除く為である。

薬剤作用温度は37°Cとしたが、実験操作中には一時37°C以下になることは避け難いけれども、総てのSSが出来る限り同じ条件になる様に連続作用群も生理的食塩水で洗滌し、同じ位の時間室温に曝す様に注意した。以上のことから、連続作用群と間歇作用群との比較は可能と考える。

第2節 発育阻止最低濃度と殺菌最低濃度

本論文の実験条件では、発育阻止力、殺菌力共に連続作用方式の方が優っており、特に間歇作用方式では発育阻止力に比較して殺菌力が極めて弱くあらわれる。

化学療法剤はgrowing cellに対しては強い効果を発揮するが、resting cellに対してはより弱い効果を発揮するに止まるという⁶⁻¹⁰⁾。この事実から、もし化学療法剤の作用期間、非作用期間及び薬剤濃度の組合せが適当な場合にはgrowingの状態にある菌にのみ薬剤を作用させることが可能となり、間歇作用法が連続作用法に優るとも劣らぬ効果をもたらすかも知れない。

しかし、本実験成績をこの考え方から見た場合、上述の可能性に対しては否定的なものと言えよう。しかしながら検討した間歇作用方式が1回24時間、週2日作用という1つの方式のみであり、Armstrong¹⁷⁾、池田¹⁸⁾の方法にしても限られた実験条件であるから、これらの実験成績が上述の考え方を確実に否定するものとは言えないことは当然であろう。

では何故に間歇作用方式は連続作用方式に比して発育阻止力、殺菌力共にこの様に劣るのだろうか。

先づ発育阻止力についてみると、間歇投与方

表6 殺菌力と発育阻止力の割合

薬剤名	作用方式	間歇作用	連続作用
KM		16	8
TH		>500	8
EB		>16	2
CS		>128	4

〔註〕数字は $\frac{MSC}{MIC}$ を示す。

式では、1回24時間の薬剤との接触による結核菌の発育阻止作用がその後の2日乃至3日間持続する為にはかなり高濃度でなければならないと考えられる。不完全な発育阻止作用を受け、発育が遅延している菌では、薬剤非含有培地に移された2日乃至3日の間に発育増殖し、4週間後の発育阻止力判定時には、肉眼的に認め得る集落に発育すると考えられる。

又、殺菌最低濃度(MSC)について考えると、このことは一層著明で、発育阻止最低濃度(MIC)とMSCとの差を各薬剤の作用方式別に倍数で示したのが表6である。連続作用方式ではMSCのMICに対する割合は2~8倍であるが、間歇作用方式では、殺菌力が強いとされているKMでも16倍、TH、EB、CSではいづれも殺菌力が非常に弱く、1000.0 mcg/ml以上である為連続作用方式とは倍数が比較にならない程である。この事実は薬剤使用中は菌の増殖を認めなくとも、薬剤作用終了後再び増殖が起り易いことを示している。この様な現象が起るのは、1回24時間の薬剤作用によって結核菌の増殖能力を長期間阻止し続け、少くとも4週間以上増殖を抑制するか又は殺菌する為には、結核菌に対して特に殺菌作用の強い薬剤を非常に高濃度に与える必要があると思われる。つまり24時間の薬剤作用は結核菌にとっては短期間の打撃に過ぎないのではないかと考えられる。

第3節 耐性上昇について

CS、EB、THSの3剤では、連続作用群、間歇作用群共耐性獲得は認められなかった。これに反してKMでは1 mcg/ml、THでは5 mcg

/ml に耐性を示すものがあつた (表 5 参照)。

両者共耐性上昇帯の広さ及び耐性度と薬剤作用方式との間に、特に関係は認められなかったが、耐性上昇帯は不完全殺菌帯とはほぼ一致しており、連続作用群と間歇作用群を比較すると、両薬剤共前者の方が低濃度作用帯に於て耐性上昇を示している。これは両群の発育抑制最低濃度及び殺菌濃度が、連続作用群に於てはより低いということによるものとも考えられる³³⁾。しかし耐性獲得という現象にも複雑な問題が含まれており、結論を下すことは極めて困難である。

本実験に於ても、高濃度の薬剤作用に耐えて生き残った菌でも必ずしも耐性上昇を認めなかった。この現象は McDermott³⁷⁾ の microbial persistence の理論、即ち、細菌も外敵の攻撃から身を守る為に擬死 “playing dead” の状態になるという考え方を採用すれば説明出来ると考えられるが、耐性検査培地の薬剤濃度以下の濃度で耐性獲得していることも考えられ、必ずしも感受性のままであるか否かは確定出来ない。しかし、本実験に用いた耐性培地以下の薬剤濃度では、自然耐性菌との区別が出来ないので、わざと実験は試みなかった。

又、本実験に於ける耐性獲得も、KM 1 mcg/ml, TH 5 mcg/ml 共に不完全耐性であり、やはり生き残った菌のすべてが耐性を獲得してはいないと考えられ、このことも microbial persistence によるものかとも考えられる。

TH では耐性上昇がみられ、THS ではみられないことについては、両薬剤の相違の1つであるところの THS の水溶性によるものかとも思われるが原因はわからない。

第4節 諸家の報告との比較考察

抗結核剤の間歇作用と連続作用の相違に関する試験管内実験の報告は、Armstrong¹⁷⁾ の INH 間歇作用実験と、池田¹⁸⁾ の INH, SM, PAS を用いた実験がある。Armstrong の報告によると、INH で、1日2時間毎日作用方式と1日4時間毎日作用方式とで6日間単独作用させると、発育阻止力は1日2時間作用方式では2.0

mcg/ml で完全、0.5~1.0 mcg/ml で中等度、0.25 mcg/ml で僅少であり、1日4時間作用方式では1.0 mcg/ml で完全、0.5 mcg/ml で僅少となっている。又、殺菌効果は、0.25 mcg/ml ~16 mcg/ml の範囲内では全く認められていない。このことから INH の様な殺菌力の優れた薬剤でも、間歇作用では発育阻止力も弱く、殺菌力は彼の実験方法では全くみられない、即ち、H37Rv 株は殆んど死滅しないと言える。

池田の報告によると、SM, PAS, INH を用いて単独作用及び併用作用実験を行なっているが、薬剤により多少の差はあるが、発育阻止作用に於ても連続作用方式は間歇作用方式に劣ることはなかった。薬剤作用方式は、1日2時間毎日1週間、1日4時間毎日1週間、1日4時間週2日4週間、1日24時間週2日4週間作用等の間歇作用方式を1日24時間毎日、1週間作用又は4週間作用の連続作用方式を比較したものである。又、殺菌力に於ては間歇作用方式は連続作用方式より相当劣っていた。又耐性獲得の頻度と程度を低下させる為には、間歇投与方式は不利であろうという。

即ち、本論文の実験とは、方法も、使用薬剤も可成異っているにも拘らず、Armstrong の報告も、池田の報告も共に、間歇作用方式が連続作用方式に比較して、発育阻止力、殺菌力、耐性上昇のどの点に関しても優れていないという点で、本論文の結果と同様であるといえよう。

第5節 本実験と臨床との関連

試験管内と生体内では結核菌の性状にも相違があることが知られており^{34~36)}、本実験の結果を直ちに臨床に当てはめ得るとは考えられないが、本実験の結果のみから計算すれば、仮に KM を毎日投与法から週2日法に変更すれば、結核菌の発育抑制の為には16倍量の薬剤量を要し、殺菌効果を求めるならば32倍量を要する。CS では同様に制菌には2倍、TH では8倍、EB では64倍量を要する。週2日投与法で殺菌効果を期待することは CS, TH, EB 共に殆んど不可能といえよう。

耐性についても間歇投与の方が連続投与よりも耐性上昇頻度が低いという報告^{1,2)}があり、これが間歇投与法を行なう理由の1つとなっている。しかし、本実験から考えると、耐性上昇のみられる濃度範囲（以下耐性上昇帯という）は間歇投与群の方がやや狭いかとも考えられるが、耐性上昇を来す薬剤濃度は連続投与法の8倍から16倍と高くなっている。耐性上昇帯は前にも述べた様に、不完全殺菌帯とはほぼ一致している。このことから考えると、臨床成績で間歇投与法において耐性上昇が起り難いのは、この方法では人体の病巣まで浸透し得る薬剤濃度が、薬剤耐性上昇濃度以下である、言い換えれば、病巣内結核菌に耐性上の影響を与え得る濃度にすら達していないのではないかと考えられる。

もともと副作用防止の為に週2日というような間歇投与方式が考え出されたのであるが、少なくとも本実験の結果から考察すれば、発育阻止効果、殺菌効果からみて連続投与方式と同等の効果が得られる様に投薬するには、週2日の間歇投与方式では2～500倍以上の投与量を必要とし、副作用軽減には役立ち得るとしても、抗菌効果の面からは有利とは考えられない。

第6章 結 語

シリコン被覆スライド培養法を用いて、KM, CS, EB, TH について、発育阻止力、殺菌力及び耐性上昇に関して、1回24時間週2日作用の間歇作用方式と連続作用方式を比較検討した。成績を概括すれば次の如くである。

1. 本実験で検討した何れの薬剤でも、その結核菌発育阻止効果は間歇作用方式に比べて連続作用方式の方が優れており、MICの差はEBで最も大きく、KM, THは中間で、CSでは最も小さかった。

2. 殺菌効果においては連続作用方式の優位はより著明であり、殺菌最低濃度の差はKMで最も小さく、CS, EB, THの間歇作用方式では相当高濃度でも菌を死滅せしめる事はかなり困難であり、連続作用方式より相当劣ることが認

められた。

3. 本実験の範囲では、CS, EB, THS については、連続作用、間歇作用共に耐性上昇を認めなかった。KM, TH については、両作用方式共、発育阻止最低濃度以上で、しかも十分な殺菌効果を示さない薬剤濃度域に耐性上昇がみられる。この不完全殺菌濃度域は間歇作用群が連続作用群より高濃度域にあり、これに一致して耐性上昇帯も間歇作用群の方が高濃度域にある。この様な高濃度域は臨床投与量では到達しにくい範囲にあるので、これが間歇投与で耐性が上昇しにくい原因ではないかと思われる。

4. 週2日の間歇投与方式は、この実験の範囲では発育抑制効果、殺菌効果の点から見て連続投与方式より不利であると考えられる。

（擲筆するに当り終始御指導を賜った前川助教授、吉田講師、並びに直接研究面で御教導下さった津久間博士、池田博士に深甚の謝意を表します。）

参 考 文 献

- 1) Veterans Administration Committee on Streptomycin: J. A. M. A., 147-3: 253, 1951.
- 2) 厚生省結核療法研究協議会: 日本医事新報, 1540: 4215, 昭28, 1561: 1255, 昭29.
- 3) 熊谷岱蔵, 他: 日本胸部臨床, 16-特別号: 別1, 昭32.
- 4) 熊谷岱蔵, 他: 日本胸部臨床, 15-9, 臨時増刊号: 別1, 昭31.
- 5) Hobby, G. L. et al.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 50: 281, 1942.
- 6) Hobby, G. L. et al.: Amer. Rev. Tuberc., 76-6: 1031, 1957.
- 7) Mitchison, D. A. et al.: Amer. Rev. Tuberc., 74-2: 109, 1956.
- 8) 森下昭三: 胸部疾患, 4-6: 585, 昭35.
- 9) 稲津舜介: 鹿児島大学医学雑誌, 11-6: 2732, 昭35.
- 10) 稲津舜介: 鹿児島大学医学部雑誌, 12-2: 161, 昭35.
- 11) Forbes, M. et al.: Med. J. Osaka Univ., 7-4: 795, 1957.

- 12) 鈴木鐮三郎, 他: 結核, 30-10: 567, 昭30.
- 13) Horai, Z. et al.: Med. J. Osaka Univ., 7-4: 795, 1957.
- 14) Kanai, K.: Jap. J. Med. Sci. Biol., 8-1: 63, 1955.
- 15) Ueno, T.: Rep. Med. Res. Probl. Jap. Anti-Tbc. Ass., 3-3: 311, 昭30.
- 16) Wagner, W. H.: Beitr. Klin. Tub., 110-3: 236, 1953.
- 17) Armstrong, A. R.: Amer. Rev. Tuberc., 81-4: 498, 1960.
- 18) 池田宣昭: 京結紀要, 12-1: 21, 昭38.
- 19) 東向一郎: 京結紀要, 7-3, 増刊1号: 461, 昭34.
- 20) 東向一郎: 京結紀要, 7-3, 増刊2号: 22, 昭34.
- 21) 山本 寿: 京結紀要, 3-1: 49, 昭29.
- 22) 内藤益一, 他: 京結紀要, 12-2: 112, 昭39.
- 23) 久世文幸, 他: 京結紀要, 12-2: 97, 昭39.
- 24) 河野博臣: 京結紀要, 7-3, 増刊1号: 437, 昭34.
- 25) 藁谷健比古: 胸部疾患, 2-6: 260, 昭33.
- 26) 藁谷健比古: 胸部疾患, 2-8: 363, 昭33.
- 27) 藁谷健比古: 胸部疾患, 2-9: 417, 昭33.
- 28) Bloch, H.: Amer. Rev. Resp. Dis., 84-6: 824, 1961.
- 29) Bartmann, K. et al.: Beitr. Klin. Tub., 121-4: 460, 1959.
- 30) Bartmann, K. et al.: Beitr. Klin. Tub., 115-4: 269, 1956.
- 31) Bartmann, K. et al.: Beitr. Klin. Tub., 118-5: 297, 1958.
- 32) Bartmann, K. et al.: Beitr. Klin. Tub., 122-4: 251, 1960.
- 33) 今井節朗: 胸部疾患, 1-4: 164, 昭32.
- 34) Segal, W. and Bloch, H.: J. Bac., 72: 132, 1956.
- 35) Segal, W. and Bloch, H.: Amer. Rev. Resp. Dis., 75: 495, 1957.
- 36) Segal, W.: Amer. Rev. Resp. Dis., 91: 285, 1965.
- 37) McDermott, W.: Jale J. Biol. and Med., 30-2: 257, 1958.
- 38) 岩井嘉一: 京結紀要, 13-2: 99, 昭41.
- 39) 松島留蔵: 京結紀要, 8-1, 増刊2号: 595, 昭34.