

薬剤併用の結核菌耐性発現に及ぼす 影響に関する研究

〔第3編〕 Viomycin, Cycloserine 併用が各薬剤に対する 結核菌の耐性発現に及ぼす影響に就いて

京都大学結核研究所化学療法部（主任 教授 内藤 益一）
和風会医学研究所附属加茂川病院（院長 西岡 諄）

国 枝 義 治

【内 容 抄 録】

本篇では Viomycin (VM) と Cycloserine (CS) を併用して結核菌 $H_{37}R_v$ 株の試験管内恒量置換培養を行い、両剤に対する耐性発現状況を夫々単独使用時の場合と比較した。その結果、5代までの成績では VM 耐性発現は CS との併用により阻止されず、又 CS に対しては5代までは耐性の発現を認めなかつた。

緒 言

Viomycin (VM) 及び Cycloserine (CS) は、何れも従来の抗結核剤に耐性を獲得した結核菌にも効力がある、と云う点で注目されたが、両剤とも単独では抗菌力弱く、且つ副作用が強く現われる為に、他剤との併用がすゝめられている。VM に対しては、Para-aminosalicylic acid 又は Isoniazid (INAH) の併用が有効とされ¹⁾⁻⁸⁾、CS は主として INAN との併用がすゝめられている⁹⁾⁻¹⁴⁾。INAH に VM 或は CS を併用した場合の各薬剤に対する耐性獲得状況については第2篇¹⁵⁾で報告した。ところでこの両者、即ち VM と CS の併用効果を基礎的或は臨床的に観た報告は今までにない様であるが、最近河田は一連の試験管内併用実験で両剤の併用効果を認めている¹⁶⁾。即ち、臨床投与量の比 (VM: CS = 2:1) で両剤を混合して $H_{37}R_v$ 株に対する発育抑制作用を見ると、各々単独の場合に比して抗菌作用が2~4倍増強される、と言う成績を、同様の実験を2回行つてその中1回に認めた。

そこで著者は之等両剤の併用効果を耐性の面から検討すべく、恒量置換法による試験管内培養実験を行い、5代に亘り耐性の推移を観察した。

実 験 方 法

培養基、結核菌浮游液、実験術式は第1篇¹⁸⁾と同様である。培地内の両剤の比は、臨床投与量に応じて VM: CS = 2:1 となる様にした。

実 験 成 績

第1表は VM, CS 併用時と VM 単独使用時の VM 耐性の推移である。VM 単独時、VM 1000 γ /cc 培地の菌は増菌せしめることが出来なかつた。VM 100 γ /cc 培地では、初代で 200 γ /cc 耐性となり以後多少動揺はあるが、5代まで 200 γ /cc 耐性に留まつている。VM 10 γ /cc 培地でも初代で 200 γ /cc 耐性、以後コロニー数は増えているが5代まで 200 γ /cc 耐性に留まつた。VM 1 γ /cc 及び 0.1 γ /cc 培地では耐性上昇は殆ど認められず、5代目に僅かに 100 γ /cc 耐性を示した。

VM, CS 併用時には、VM 濃度 1000 γ /cc 及び 100 γ /cc 培地内の菌は増菌不能であつた。VM 濃度 10 γ /cc 培地では、VM 単独時と同様初代より5代まで 200 γ /cc 耐性を認め、VM 濃度 1 γ /cc 培地では4代まで 100 γ /cc 耐性、5代では 200 γ /cc 耐性を得ている。VM 濃度 0.1 γ /cc 培地では、4代まで耐性発現を認めず、5代で

第 1 表 VM 単独使用時及び VM, CS 併用時の VM 耐性の推移

代	耐性検査培地 VM γ /cc 培地 薬剤	500	200	100	50	25	12.5	K	耐性検査培地 VM γ /cc 培地 薬剤	500	200	100	50	25	12.5	K
I II III IV V	VM 単独 1000 γ /cc	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	VM 1000 γ /cc + CS 500 γ /cc	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)
I II III IV V	VM 単独 100 γ /cc	- - - - -	+70 +1 - - +	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	VM 100 γ /cc + CS 50 γ /cc	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)
I II III IV V	VM 単独 10 γ /cc	- - - - -	+2 +5 ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	VM 10 γ /cc + CS 5 γ /cc	- - - - -	+25 - ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
I II III IV V	VM 単独 1 γ /cc	- - - - -	- - - - -	- - - - +	+3 +3 +7 +6 +15	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	VM 1 γ /cc + CS 0.5 γ /cc	- - - - -	- - - - +	+7 - +1 +1 ++	+6 +1 +4 +32 ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
I II III IV A	VM 単独 0.1 γ /cc	- - - - -	- - - - -	- - - - +	- - +4 ++ +65	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	VM 0.1 γ /cc + CS 0.05 γ /cc	- - - - -	- - - - +	- - - - ++	+2 - +2 - ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
I II III IV V	VM 単独 0 γ /cc	- - - - -	- - - - -	- - - - -	+6 - +1 +3 +12	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	注 (-)は増菌時に菌発育を認めなかつた事を示すもの +=集落数が100以下 ++=100~200 ++=融合を示す							

VM 100 γ /cc 耐性を認めた。

第 2 表は CS, VM 併用時及び CS 単独使用時の CS 耐性の推移である。即ち, CS 単独時には, CS 500 γ /cc 培地内の菌は増菌出来ず, CS 50 γ /cc 培地では初代 12.5 γ /cc, 3 代で 25 γ /cc 耐性と対照と差がなく, 4 代以後は増菌出来なかつた。CS 5 γ /cc, 0.5 γ /cc 及び 0.05 γ /cc の各培地でも何れも対照培地の菌と同様, 耐性発現を認めなかつた。CS, VM 併用時は, CS 濃度 500 γ /cc 及び 50 γ /cc 培地内の菌は増菌不能であり, CS 濃度 5 γ /cc 以下の培地では, CS 単独時と同じく耐性発現は認められなかつた。

総括並びに考按

VM の菌発育阻止濃度が, 使用する培地によりかなり差があることに就いては既に多くの報告がある¹⁹⁻²⁵⁾。即ち, 液体培地を用いた場合には, それは大体 2.5 γ /cc~12.5 γ /cc であるが,

同じ液体培地でも血清を加えた場合は, 加えない場合に比しやや値が高くなると言われている。固形卵培地を用いた場合は, 液体培地に比べてかなり高くなり, 大体 30 γ /cc~50 γ /cc となつている²²⁻²⁵⁾。又, 固形培地を加熱凝固後, その上に VM 溶液を流す場合にも, 10 γ /cc~25 γ /cc を必要とすると報告されている^{22, 25)}。之等培地による発育阻止濃度の相異について, 河盛等²³⁾は, 固形卵培地を用いる場合は加熱により VM が一部非活性化されるのではないかと述べているが, 一方 Bartmann 等²¹⁾は, 加熱, pH, 接種菌量等の諸因子について検討を行つた結果, 之等は VM の菌発育阻止濃度に差を生ずる原因とは考えられないと述べている。

著者は今回の実験では前篇¹⁾と同じく, 1% KH₂PO₄ 培地を用いたが, その場合 VM の菌発育阻止最低濃度は何れも 50 γ /cc~100 γ /cc と, かなり高い値を示した。

第2表 CS 単独使用時及び CS, VM 併用時の CS 耐性の推移

代	耐性検査培地 CS γ /cc 培地 薬剤	50	25	12.5	6.25	K	耐性検査培地 CS γ /cc 培地 薬剤	50	25	12.5	6.25	K
I II III IV V	CS 単独 500 γ /cc	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	CS 500 γ /cc + VM1000 γ /cc	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)
I II III IV V	CS 単独 50 γ /cc	- - (-) (-) (-)	- - ++ (-) (-)	++ ++ ++ (-) (-)	++ ++ ++ (-) (-)	+++ +++ +++ (-) (-)	CS 50 γ /cc + VM 100 γ /cc	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)
I II III IV V	CS 単独 5 γ /cc	- - - - -	- - +8 +5 +65	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++	CS 5 γ /cc + VM 10 γ /cc	- - - - -	- +30 ++ +5 +92	++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++
I II III IV V	CS 単独 0.5 γ /cc	- - - - -	- - +14 +1 +60	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++	CS 0.5 γ /cc + VM 1 γ /cc	- - - - -	- +5 +20 +17 +98	++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++
I II III IV V	CS 単独 0.05 γ /cc	- - - - -	- - +12 +6 +60	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++	CS 0.05 γ /cc + VM 0.1 γ /cc	- - - - -	- +16 +60 - +80	++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++
I II III IV V	CS 単独 0 γ /cc	- - - - -	- - +2 +26 +70	++ ++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++	+++ +++ +++ +++ +++						

VM に対する耐性発現に就いては、Steenken 等²¹⁾は増量継代法により4代までは耐性上昇は極めて少く、それ以後急速に上昇して8代以後には1000 γ /cc 耐性がえられたと述べており、その他の報告²⁰⁾²⁶⁻²⁸⁾も VM に対する比較的速やかな耐性獲得を認めているが、SM に対するよりはやゝ遅い様である。

著者の実験では、VM 100 γ /cc 及び 10 γ /cc 培地で 200 γ /cc 耐性が5代まで続いたに留まり、VM 1 γ /cc 及び 0.1 γ /cc 培地では5代で僅かに 100 γ /cc 耐性を得たに過ぎない。前篇¹⁵⁾の実験では、VM 3 γ /cc 培地に於て、2代で500 γ /cc 4代では1,000 γ /cc 耐性を得ているから、VM は 3 γ /cc 辺の濃度の培地で最も耐性を生じ易いのではないと思われる。CS を併用した場合は、VM 濃度 100 γ /cc 培地内の菌も発育力が低下して増菌不能となつた他は、VM 単独時に比して

耐性阻止効果は認められなかつた。

次に、CS の菌発育阻止濃度は、諸家の報告²⁹⁾⁻³⁵⁾を総合すると大体 5 γ /cc~50 γ /cc であり、液体培地と固形培地では後者の方が少し高い値を示す様である³⁵⁾。著者の場合は、前篇の実験同様、1%KH₂PO₄ 培地を使用したのであるが、25 γ /cc~50 γ /cc とかなり高い値を示した。

CS の耐性発現については、耐性獲得は認められないと云う報告¹¹⁾³⁶⁾がある一方、Steenken 等³²⁾、Yeager 等³¹⁾、海老名等³⁷⁾は in vitro で、急速ではないが CS 耐性獲得を認めている。東村等¹⁷⁾は継代培養では2代以後 CS 20 γ /cc 耐性菌は容易に獲られるが、50 γ /cc 耐性菌は得られなかつたと述べ、堂野前等³⁵⁾も継代培養で、50 γ /cc 以上の耐性菌は容易に出現しないと報告している。

著者の実験では、5代までの短期間ではあつ

たが、どの濃度に於ても CS 耐性は得られず、発育許容最高濃度は対照と同じく 25 γ /cc に留まった。VM との併用時には、CS 濃度 50 γ /cc の培地内の菌も増菌不能となり、併用効果が見られたが、CS 濃度 5 γ /cc 以下の培地では勿論耐性発現は認められなかった。

結 論

VM と CS を併用して、H₃₇R_V 株の試験管内恒量置換培養を行い、次の成績を得た。

1) VM 耐性は 5 代まで 200 γ /cc 耐性に留まり、CS 併用によりその阻止効果は認められなかった。

2) CS 耐性は 5 代まで認められず、VM との併用時にも勿論耐性の発現は見られなかった。

(欄筆するに当り終始御援助を賜った津久間博士、今井博士に深謝の意を表します。)

文 献

- 1) Pitts, F.W. et al: Disease Chest, 23, 241, 1953.
- 2) Tucker, W.B.: Am. Rev. Tbc., 70, 812, 1954.
- 3) Phillips, S. et al: Am. Rev. Tbc., 72, 843, 1955.
- 4) Hackney, R.L. et al: Disease Chest, 24, 591, 1953.
- 5) 梶田昭他: 結核の臨床, 2—6, 63, 1954.
- 6) 笹本浩他: 結核診療, 6—5, 299, 1914.
- 7) Schutz, I.: Beitr. Klin. Tbc., 114, 436, 1955.
- 8) Bariéty, M. et al: Rev. Tbc., 21, 7, 1957.
- 9) Tacon, J.L. et al: Rev. Tbc., 21, 1241, 1957.
- 10) Epstein, I.G. et al: Am. Rev. Tbc., 75, 553, 1957.
- 11) Wollinsky, E. et al: Am. Rev. Tbc., 75, 510, 1957.
- 12) Martin-Lalande, J. et al: Poumon, 13,

339, 1957.

- 13) 堂野前維摩郷他: 最新医学, 12—5, 43, 1957.
- 14) 宝来善次他: 呼吸器診療, 12—11, 890, 1957.
- 15) 岡枝義治: 第 2 篇.
- 16) 河田利延: 京大結研紀要に近く掲載予定
- 17) 東村道雄他: 医学と生物学 43—3, 79, 1957.
- 18) 岡枝義治: 第 1 篇.
- 19) Bartz, Q.R. et al: Am. Rev. Tbc., 63, 4, 1951.
- 20) Ehrlich, J. et al: Am. Rev. Tbc., 63, 7, 1951.
- 21) Steenken, J.w. et al: Am. Rev. Tbc., 63, 30, 1951.
- 22) Gernéz-Rieux et al: Rev. de la Tbc., 15, 665, 1951.
- 23) 河盛勇造他: 診療, 7—11, 904, 1954.
- 24) Bartmann, K. et al: Beitr. Klin. Tbc., 115, 211, 1956.
- 25) Coletsos, P.J. et al: Ann. Inst. Pasteur, 93, 210, 1957.
- 26) Youmans, G.P. et al: Am. Rev. Tbc., 63, 25, 1951.
- 27) 高階二郎: 抗酸菌病研究雑誌, 10—2, 108, 1954.
- 28) Hobby, G.L. et al: Am. Rev. Tbc., 63, 17, 1951.
- 29) Cuckler, A.c. et al: Antibiot. & chemoth. 5, 191, 1956.
- 30) Cummings, M.M. et al: Antibiot. & chemoth. 5, 198, 1956.
- 31) Yeager, R.L. et al: Am. Rev. Tbc., 75, 1016, 1957.
- 32) Steenken, W. et al: Am. Rev. Tbc., 73, 539, 1956.
- 33) Véran, P. et al: Rev. Tbc., 21, 1161, 1957.
- 34) Coletsos, P.J. et al: Rev. Tbc., 21, 1228, 1957.
- 35) 堂野前維摩郷他: 日結, 15—4, 59, 1957.
- 36) Epstein, I.G. et al: Disease Ches, 29, 241, 1956.
- 37) 海老名敏明他: 呼吸器診療, 12—11, 873, 1957.