

結核化学療法に於ける薬剤交互併用療法と同時併用療法との効果比較に関する試験管内実験

第 3 篇 薬剤耐性上昇阻止効果

京都大学結核研究所内科学第1（教授 内藤 益一）

大学院学生 中 井 準

昭和40年1月8日受付

第1章 緒 言

第1篇¹⁾、第2篇²⁾に述べた如く、薬剤交互併用療法の着眼点の一つは、砂原³⁾によれば薬剤の比較的短期間での交代による、結核菌の耐性上昇の阻止にあり、この耐性上昇を防ぐことによって、薬剤の効果を長期間にわたって低下することなく持続させて、より優れた治療効果をもたらそうとするものである。

薬剤を単独に使用した場合、薬剤の種類によって差はあるが、結核菌は比較的速やかに耐性化するものであり、また、この耐性上昇を阻止するには、交叉耐性のない薬剤を併用することが有効であることは既に古くから知られている⁴⁾。この耐性上昇阻止という点での併用効果は、薬剤を併用すれば、そのうちの一部の薬剤だけに耐性化しても、他剤の作用を受けるであろうし、また、併用した薬剤の総てに対して耐性化する機会、確率からみて、単独の薬剤に対して耐性化する機会よりずっと少ないということによって説明される。

然し、薬剤交互併用療法が、通常の同時併用法に比して、耐性上昇阻止効果に於て一層有力であろうという実験的根拠はまだ見当らない。そこでこの交互併用療法の試験管内での耐性上昇阻止効果を、第1篇¹⁾、第2篇²⁾と同様に、シリコンスライド培養法を⁵⁾⁶⁾用いて、同時併用との比較に於て検討した次第である。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 実験材料

使用菌株、培地、シリコン被覆スライド（以下SS）、ガラスキャップ付試験管、被検薬剤等実験材料は第1篇¹⁾に記載したと同様である。尚その他に増菌用に1%小川培地を使用した。

第2節 実験方法

実験群の構成：第1篇、第2篇と同様、図1に示した8種の併用方式を行なったが、各群の第1管の薬剤濃度はストレプトマイシン（以下SM）160 γ /ml、パラアミノサリチル酸（以下PAS）160 γ /ml、イソニコチン酸ヒドラジッド（以下INH）8 γ /ml、スルフイソキサゾール（以下SI）50 γ /ml、サイクロセリン（以下CS）8 γ /ml、ピラジナマイド（以下PZA）30 γ /ml、1314TH（以下TH）8 γ /mlである。

実験手技：第1篇¹⁾に記載した通りの方法でSSに結核菌 H37Rv を付着させ、薬剤交互併用及び同時併用を8週間行なった後、各SSを生理的食塩水で2回ずつ洗滌してSS表面の薬剤を除いてから薬剤非含有培地に移して更に4週間培養した。こうして交互併用、同時併用によって殺菌されるに至らなかった菌集落を増殖させた後、小試験管にとった約2mlの石油ベンジン中にSSを浸漬、振盪して石油ベンジン菌液を作製し、これの各々0.1mlを1%小川培地に接種、37°Cで培養した。尚、発育集落数の少ないSSについては、石油ベンジン菌液を作製せず、SSを直接1%小川培地に塗擦、培養した。こうして4週間培養後、小川培地に発育して来た結核菌についてそれぞれ耐性検査を行なった。

図 1 実験群の構成

薬 剤		第 1 週	第 2 週	第 3 週	第 4 週	第 5 週	第 6 週
薬 剤 交 互 併 用 群	1	SM PAS INH SI					
	2	SM PAS INH CS					
	3	SM PAS INH PZA					
	4	SM PAS INH TH					
薬 剤 同 時 併 用 群	5	SM PAS INH SI					
	6	SM PAS INH CS					
	7	SM PAS INH PZA					
	8	SM PAS INH TH					

耐性検査は当研究室松島²⁾の方法に準じて行なった。即ち、菌集落の発育した1%小川培地に約2mlの石油ベンジンを加え、振盪して、全集落より石油ベンジン菌液を作製し、別の試験管にとってから更に石油ベンジンの適当量を加えて、0.15mg/mlの硫酸バリウム標準液と肉眼的に等しい濁度になる様調製した。この菌液濃度は約1mg/mlとなる。この菌液にSSを瞬時浸漬して菌を付着させ、数秒後SSの石油ベン

ジンが蒸発してから、予め調製した耐性培地に投入、培養した。

耐性培地は、表1記載の濃度に薬剤を含む10%牛血清加キルヒナー培地である。

いずれの群も SM, PAS, INH についての耐性検査を行なうとともに、図1の実験群番号1と5とは SI についての耐性を、2と6とは CS, 3と7とは PZA, 4と8とは TH の耐性をも検査した。

表 1 各薬剤の耐性検査濃度

薬 剤	濃 度 (γ/ml)
SM	10, 100
PAS	1, 10, 100
INH	1, 10
SI	50, 100, 500
CS	20, 50, 100
PZA	100, 500
TH	1, 5, 10
対 照	0

判定は培養4週後まで毎週行なったが、ここでは2週後の成績をとった。判定基準は第1篇¹⁾、第2篇²⁾と同様、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(≡)とした。尚、集落数50以下の場合はその数を記録した。

第3章 実験成績

耐性検査成績のうち、SM+PASとINH+SIとの交互併用方式と、SM+PAS+INH+SI 4者同時併用方式とのINHに対する耐性検査成績を代表として表2に示した。この表で、試験管番号1の列は、交互併用方式ではSM 16γ/ml+PAS 160γ/mlとINH 8γ/ml+SI 50γ/mlとを1週間ずつ交互に作用させた菌株の、INHに対する耐性検査成績であり、同時併用の方はSM 16γ/ml, PAS 160γ/ml, INH 8γ/ml, SI 50γ/mlの4剤を同時に連続作用させた菌株の耐性検査成績である。試験管番号2の列は、試験管番号1のそれぞれ1/2量の薬剤を作用させた菌の耐性検査成績である。以下同様に第N番の列は、交互併用、同時併用ともにそれぞれの第

1管目の1/2ⁿ⁻¹量の薬剤を作用させた菌株の耐性検査成績である。

薬剤作用によって殺菌され、1箇の菌集落も得られなかったため、耐性検査が出来なかったものを×印で示し、菌集落の発育をみたが耐性検査を行なわなかったものを○印で示した。耐性検査に於て、少数の集落が発育したものはその集落数を記載したが、薬剤の種類または濃度によっては、対照株にも少数の集落の発育を認めた場合があるので、これを直ちに耐性発現と認めることは出来ない。しかし、対照株の耐性検査成績で薬剤含有培地に(+)以上の発育を示したものはなかったので、本研究では、薬剤含有培地に(+)以上の発育を認めた場合を、その薬剤濃度に於ける耐性ありとした。

上記基準に従って、各交互併用と同時併用との各薬剤別の耐性検査成績を簡略化して表現したのが図2～5である。図中、作用SM濃度の欄に記した数字は、その試験管番号の菌が、交互併用或は同時併用の期間中、交互併用では隔週に、同時併用では連続して、その濃度のSMの作用を受けたことを示す。他の薬剤作用濃度についても全く同様である。

第1節 各薬剤に対する交互併用方式及び同時併用方式の耐性上昇(図2～5)

SM 耐性

どの交互併用、同時併用に於ても、SM 10γ, 100γに対する耐性はみられなかった。即ち、SM耐性の上昇阻止に関しては、両併用方式は殆んど同等の効果を有すると思われる。

表 2 SM+PAS⇔INH+SI 交互併用及び SM+PAS+INH+SI 4者同時併用のINH耐性検査成績

試験管番号		INH濃度(γ/ml)																			
併用方式		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SM+PAS⇔INH+SI 交互併用	10	×	×	×	×	×	—	○	—	○	—	○	—	○	—	○	—	○	—	○	—
	I	×	×	×	×	×	—	○	—	○	—	○	—	○	—	○	—	○	—	○	—
	K	×	×	×	×	×	≡	○	≡	○	≡	○	≡	○	≡	○	≡	○	≡	○	≡
SM+PAS+INH+SI 4者同時併用	10	×	×	×	×	×	×	×	×	≡	—	—	○	—	○	—	○	—	○	—	—
	I	×	×	×	×	×	×	×	×	≡	C ₅	—	○	—	○	C ₁	○	—	○	—	C ₅
	K	×	×	×	×	×	×	×	×	≡	≡	≡	○	≡	○	≡	○	≡	○	≡	≡

×：殺菌効果を認め耐性検査不能

○：耐性検査を行わず

図 2 SM・PAS⇔INH・SI 交互併用と SM・PAS・INH・SI 4 者同時併用とに於ける耐性検査成績

試験管番号	SM						PAS						INH						SI								
	併用方式			交互併用			同時併用			併用方式			交互併用			同時併用			併用方式			交互併用			同時併用		
	耐性検査濃度			10 100			10 100			耐性検査濃度			1 10 100			1 10 100			耐性検査濃度			50 100 500			50 100 500		
	作用SM濃度			作用PAS濃度			作用INH濃度			作用SI濃度																	
1	16	×	×	×	×	×	160	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
2	8	×	×	×	×	×	80	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
3	4	×	×	×	×	×	40	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
4	2	×	×	×	×	×	20	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
5	1	×	×	×	×	×	10	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
6	0.5	〇	〇	〇	〇	〇	5	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
7	0.25	〇	〇	〇	〇	〇	2.5	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
8	0.125	〇	〇	〇	〇	〇	1.25	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
9	0.0625	〇	〇	〇	〇	〇	0.625	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
10	0.0313	〇	〇	〇	〇	〇	0.313	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
11	0.0156	〇	〇	〇	〇	〇	0.156	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
12	0.0078	〇	〇	〇	〇	〇	0.078	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
13	0.0039	〇	〇	〇	〇	〇	0.039	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
14	0.00195	〇	〇	〇	〇	〇	0.0195	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
15	0.00098	〇	〇	〇	〇	〇	0.0098	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
16	0.00049	〇	〇	〇	〇	〇	0.0049	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
17	0.00024	〇	〇	〇	〇	〇	0.0024	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
18	0.00012	〇	〇	〇	〇	〇	0.0012	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
19	0.00006	〇	〇	〇	〇	〇	0.0006	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	
20	0	〇	〇	〇	〇	〇	0	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	〇	

■：耐性獲得あり

▨：耐性獲得なし

×：殺菌されたため耐性検査不能

○：耐性検査せず

SI：雑菌汚染

耐性検査濃度（は作用薬剤濃度）はいずれも %/ml

■ : 耐性獲得あり
 〇 : 耐性獲得なし
 × : 殺菌されたため耐性検査不能
 〇 : 耐性検査せず
 S : 雑菌汚染

(耐性検査濃度) は
 作用薬剤濃度
 いずれも 7/ml

図 3 SM・PAS⇄INH・CS 交互併用と SM・PAS・INH・CS 4 者同時併用とに於ける耐性検査成績

- : 耐性獲得あり
 ▨: 耐性獲得なし
 ×: 殺菌されたため耐性検査不能
 ○: 耐性検査せず
 S: 雑菌汚染

検査濃度) は
 作用薬剤濃度) は
 いずれも γ /ml

試験管番号	SM				PAS								INH				CS							
	併用方式		交併用	互併用	同併用	時併用	併用方式		交併用	互併用	同併用	時併用	併用方式		交併用	互併用	同併用	時併用	併用方式		交併用	互併用	同併用	時併用
	耐性検査濃度	作用SM濃度					耐性検査濃度	作用PAS濃度					耐性検査濃度	作用INH濃度					耐性検査濃度	作用CS濃度				
			10	100	10	100			1	10	100	1			10	100	1	10			1	10	20	50
1	16	×	×	×	×	160	×	×	×	×	×	×	8	×	×	×	×	8	×	×	×	×	×	×
2	8	×	×	×	×	80	×	×	×	×	×	×	4	×	×	×	×	4	×	×	×	×	×	×
3	4	×	×	×	×	40	×	×	×	×	×	×	2	×	×	×	×	2	×	×	×	×	×	×
4	2	×	×	×	×	20	×	×	×	×	×	×	1	×	×	×	×	1	×	×	×	×	×	×
5	1	×	×	×	×	10	×	×	×	×	×	×	0.5	×	×	×	×	0.5	×	×	×	×	×	×
6	0.5	○	○	×	×	5	○	○	○	×	×	×	0.25	○	○	×	×	0.25	○	○	○	×	×	×
7	0.25	▨	▨	×	×	2.5	▨	▨	▨	×	×	×	0.125	▨	▨	×	×	0.125	▨	▨	▨	×	×	×
8	0.125	▨	▨	×	×	1.25	▨	▨	▨	×	×	×	0.0625	▨	▨	×	×	0.0625	▨	▨	▨	×	×	×
9	0.0625	○	○	▨	▨	0.625	○	○	○	▨	▨	▨	0.0313	○	○	▨	▨	0.0313	○	○	○	▨	▨	▨
10	0.0313	▨	▨	▨	▨	0.313	▨	▨	▨	▨	▨	▨	0.0156	■	▨	▨	▨	0.0156	▨	▨	▨	▨	▨	▨
11	0.0156	○	○	▨	▨	0.156	○	○	○	▨	▨	▨	0.0078	○	○	▨	▨	0.0078	○	○	○	▨	▨	▨
12	0.0078	S	S	○	○	0.078	S	S	S	○	○	○	0.0039	S	S	○	○	0.0039	S	S	S	○	○	○
13	0.0039	○	○	▨	▨	0.039	○	○	○	▨	▨	▨	0.00195	○	○	▨	▨	0.00195	○	○	○	▨	▨	▨
14	0.00195	▨	▨	○	○	0.0195	▨	▨	▨	○	○	○	0.00098	▨	▨	○	○	0.00098	▨	▨	▨	○	○	○
15	0.00098	○	○	▨	▨	0.0098	○	○	○	▨	▨	▨	0.00049	○	○	▨	▨	0.00049	○	○	○	▨	▨	▨
16	0.00049	▨	▨	○	○	0.0049	▨	▨	▨	○	○	○	0.00024	▨	▨	○	○	0.00024	▨	▨	▨	○	○	○
17	0.00024	○	○	▨	▨	0.0024	○	○	○	▨	▨	▨	0.00012	○	○	▨	▨	0.00012	○	○	○	▨	▨	▨
18	0.00012	▨	▨	○	○	0.0012	▨	▨	▨	○	○	○	0.00006	▨	▨	○	○	0.00006	▨	▨	▨	○	○	○
19	0.00006	○	○	▨	▨	0.0006	○	○	○	▨	▨	▨	0.00003	○	○	▨	▨	0.00003	○	○	○	▨	▨	▨
20	0	▨	▨	▨	▨	0	▨	▨	▨	▨	▨	▨	0	▨	▨	▨	▨	0	▨	▨	▨	▨	▨	▨

図 4 SM・PAS⇔INH・PZA 交互併用と SM・PAS・INH・PZA 4 者同時併用とに於ける耐性検査成績

試験管番号	SM						PAS						INH						PZA					
	併用方式			交互併用		同時併用	併用方式			交互併用		同時併用	併用方式			交互併用		同時併用	併用方式			交互併用		同時併用
	耐性検査濃度	作用SM濃度	10	100	10	100	耐性検査濃度	作用PAS濃度	1	10	100	1	10	100	耐性検査濃度	作用INH濃度	1	10	100	耐性検査濃度	作用PZA濃度	100	500	500
1	16		×	×	×	×	160	×	×	×	×	×	×	×	×	8	×	×	×	×	30	×	×	×
2	8		×	×	×	×	80	×	×	×	×	×	×	×	×	4	×	×	×	×	15	×	×	×
3	4		×	×	×	×	40	×	×	×	×	×	×	×	×	2	×	×	×	×	7.5	×	×	×
4	2		×	×	×	×	20	×	×	×	×	×	×	×	×	1	×	×	×	×	3.75	×	×	×
5	1		×	×	×	×	10	×	×	×	×	×	×	×	×	0.5	×	×	×	×	1.875	×	×	×
6	0.5		×	×	×	×	5	×	×	×	×	×	×	×	×	0.25	×	×	×	×	0.938	×	×	×
7	0.25				×	×	2.5			×	×	×	×	×	×	0.125			×	×	0.469		×	×
8	0.125				×	×	1.25			×	×	×	×	×	×	0.0625			×	×	0.234		×	×
9	0.0625		○				0.625	○	○	○						0.0313	○				0.117	○		
10	0.0313						0.313									0.0156					0.059			
11	0.0156		○				0.156	○	○	○						0.0078	○				0.029	○		
12	0.0078			○		○	0.078				○	○	○	○	○	0.0039		○		○	0.015		○	○
13	0.0039		○				0.039	○	○	○						0.00195	○		○		0.0073	○		
14	0.00195			○		○	0.0195				○	○	○	○	○	0.00098		○		○	0.0037		○	○
15	0.00098		○				0.0098	○	○	○						0.00049	○		○		0.0018	○		
16	0.00049			○		○	0.0049				○	○	○	○	○	0.00024		○		○	0.0009		○	○
17	0.00024		○				0.0024	○	○	○						0.00012	○		○		0.0005	○		○
18	0.00012			○		○	0.0012				○	○	○	○	○	0.00006		○		○	0.0002		○	○
19	0.00006						0.0006									0.00003					0.0001			
20	0						0									0					0			

■

：

耐性獲得あり

||||

：

耐性獲得なし

×

：

殺菌されたため耐性検査不能

○

：

耐性検査せず

S

：

雑菌汚染

検査濃度）は
作用薬剤濃度）は
いずれも %/ml

■ : 耐性獲得あり
 |||| : 耐性獲得なし
 × : 殺菌されたため耐性検査不能
 ○ : 耐性検査せず
 S : 雑菌汚染

検査濃度) は
 作用薬剤濃度
 いずれも %/ml

図 5 SM・PAS⇄INH・TH 交互併用と SM・PAS・INH・TH 4 者同時併用とに於ける耐性検査成績

試験管番号	SM				PAS				INH				TH			
	併用方式		交互併用		併用方式		交互併用		併用方式		交互併用		併用方式		交互併用	
	耐性検査濃度		10 100		耐性検査濃度		1 10 100		耐性検査濃度		1 10 100		耐性検査濃度		1 5 10	
	作用 SM 濃度	作用 PAS 濃度	作用 INH 濃度	作用 TH 濃度	作用 SM 濃度	作用 PAS 濃度	作用 INH 濃度	作用 TH 濃度	作用 SM 濃度	作用 PAS 濃度	作用 INH 濃度	作用 TH 濃度	作用 SM 濃度	作用 PAS 濃度	作用 INH 濃度	作用 TH 濃度
1	16	160	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
2	8	80	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
3	4	40	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
4	2	20	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
5	1	10	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
6	0.5	5	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
7	0.25	2.5	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
8	0.125	1.25	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
9	0.0625	0.625	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
10	0.0313	0.313	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
11	0.0156	0.156	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
12	0.0078	0.078	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
13	0.0039	0.039	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
14	0.00195	0.0195	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
15	0.00098	0.0098	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
16	0.00049	0.0049	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
17	0.00024	0.0024	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
18	0.00012	0.0012	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
19	0.00006	0.0006	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
20	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

: 耐性獲得あり
 : 耐性獲得なし
 : 殺菌されたため耐性検査不能
 : 耐性検査せず
 : 雑菌汚染

検査濃度) は
 作用薬剤濃度) は
 いずれも γ/ml

PAS 耐性

交互併用方式ではどの併用も PAS 1 γ , 10 γ , 100 γ に対する耐性は認められなかったが、同時併用では SM・PAS・INH・SI 4 者同時併用の第10管に於てのみ PAS 1 γ の耐性が認められた。

INH 耐性

SM, PAS, INH, SI の組合せ(図2)に於ては、交互併用には INH 1 γ , 10 γ に対する耐性は認められなかったが、同時併用の第9管に INH 10 γ の耐性を認めた。

SM, PAS, INH, CS の組合せ(図3)では、交互併用の第10管に INH 1 γ の耐性を認め、同時併用では 1 γ , 10 γ に対する耐性を認めなかった。

SM, PAS, INH, PZA の組合せ(図4)では、交互併用、同時併用ともに INH 1 γ , 10 γ の耐性を認めなかった。

SM, PAS, INH, TH の組合せ(図5)では、交互併用には耐性を認めず、同時併用の第10管に INH 10 γ の耐性を認めた。

SI 耐性(図2)

交互併用、同時併用とも SI 50 γ , 100 γ , 500 γ に対する耐性は認められなかった。

CS 耐性(図3)

これも、交互併用、同時併用ともに CS 20 γ , 50 γ , 100 γ に対する耐性は認められなかった。

PZA 耐性(図4)

交互併用には PZA 100 γ , 500 γ に対する耐性は認められなかったが、同時併用では第9, 10管に PZA 100 γ の耐性を認めた。

TH 耐性(図5)

交互併用に於ては、第8, 12, 14, 16, 18の各管に 1 γ の耐性を、第10管には 5 γ の耐性を認めたが、同時併用では第9, 10管に 1 γ の耐性を認めたのみであった。

第4章 考 按

第1節 交互併用と同時併用との耐性 上昇阻止効果の比較考察

本実験の交互併用と同時併用との耐性上昇を各薬剤別にみて行くと、PAS耐性に関しては、SM, PAS, INH, SI の組合せによる同時併用に

於て第10管に PAS 1 γ 耐性を認めたほかは、各交互併用、同時併用に PAS 耐性はみられなかった。全体として、PAS 耐性上昇阻止作用は交互併用も同時併用もほとんど同程度であるといっても差支えないであろう。

INH 耐性上昇阻止効果については、一、二の併用で耐性上昇を認めたものもあったが、交互併用と同時併用との間に著明な差がない。

PZA 耐性についてみると、同時併用の方に 100 γ 耐性がみられたが、SSC に於ける PZA の MIC は、菌液濃度 1mg/ml の場合 62.5 γ /ml⁹⁾とされているので、確実に耐性上昇といい得るかどうかわしい。この場合も交互併用、同時併用の間に著明な差がないというべきであろう。

TH についても、1 γ 耐性が交互併用に多くみられたが、TH の SSC に於ける MIC⁹⁾は 0.625 γ /ml 程度であるから、TH 1 γ 耐性を耐性上昇と考えるには無理があるかも知れない。そこで TH 5 γ 耐性以上を耐性上昇と考えると、耐性上昇の認められたのは交互併用の第10管のみで、交互併用、同時併用間に著明な差がない。

また、SM, SI 及び CS については、交互併用、同時併用ともに耐性上昇を認めず、これら薬剤の耐性上昇阻止には、両併用方式は殆んど同程度の効果を有するものと思われる。

以上を総括すると、二、三の併用方式に於て耐性上昇を認めたものもあったが、全体として交互併用又は同時併用のどちらかに耐性上昇が著しいという傾向はみられなかった。つまりこの実験範囲内では交互併用方式そのものが耐性上昇阻止効果に於て同時併用に勝るとはいい難く、むしろ両者はほとんど同程度の効果を有すると解した方が適当であろう。

本実験では、各併用とも8週間作用後の耐性上昇を検討し、INH, PAS, PZA, TH の4種の薬剤に対する耐性を認めたが、SM, SI 及び CS には両併用とも殆んど耐性上昇を認めなかったのである。SI, CS は元来耐性の上昇しにくい薬剤であるが¹²⁾、SM は比較的耐性の上昇し易い薬剤であるから、その耐性が上昇しなかったのは、薬剤作用期間が短かったためかも知れ

ない。交互併用と同時併用との耐性上昇阻止効果の比較を更に確実にするためにも、もっと薬剤作用期間を長くした場合も検討すべきであるが、薬剤作用を長期にわたって行なうと、薬剤濃度の低い側の SS の菌は、発育過剰となって培地中に脱落するおそれがある。この点に於ける制約から 8 週間という薬剤作用期間は、著者の経験上、ある程度の余裕を見込んでの最長限度である。

第2節 耐性上昇と発育阻止濃度及び殺菌濃度との関係

本篇で検討した薬剤交互併用及び同時併用の耐性上昇と、第1篇¹⁾、第2篇²⁾で述べた発育阻止効果及び殺菌効果との関係をみるために、図6～9に、これらの関係を簡略化して示した。尚、SM, PAS, SI, CS については、見るべき耐性上昇を認めなかったので省略した。

図6 SM・PAS⇔INH・SI 交互併用と、SM・PAS・INH・SI 4者同時併用とに於ける発育阻止効果及び殺菌効果とINH耐性獲得との関係
(薬剤濃度はいずれも 7/ml)

試験管番号	併用方式		交互併用		同時併用		□ : 耐性獲得 ▨ : 発育阻止作用なし ◆ : 不完全発育阻止, 殺菌作用なし ◇ : 不完全発育阻止, 不完全殺菌 ∴ : 完全発育阻止, 不完全殺菌 × : 完全殺菌 ○ : 耐性検査せず S : 雑菌汚染
	作用INH濃度	耐性検査濃度	1	10	1	10	
1	8	×	×	×	×		
2	4	×	×	×	×		
3	2	×	×	×	×		
4	1	×	×	×	×		
5	0.5	×	×	×	×		
6	0.25	∴	∴	×	×		
7	0.125	○	○	×	×		
8	0.0625	∴	∴	×	×		
9	0.0313	○	○	∴	∴		
10	0.0156	◆	◆	◆	◆		
11	0.0078	○	○	◆	◆		
12	0.0039	▨	▨	○	○		
13	0.00195	○	○	◆	◆		
14	0.00098	▨	▨	○	○		
15	0.00049	○	○	◆	◆		
16	0.00024	▨	▨	○	○		
17	0.00012	○	○	▨	▨		
18	0.00006	▨	▨	○	○		
19	0.00003	▨	▨	▨	▨		
20	0	▨	▨	▨	▨		

- : 耐性獲得
 ≡ : 発育阻止作用なし
 ◆ : 不完全発育阻止, 殺菌作用なし
 ◇ : 不完全発育阻止, 不完全殺菌
 ∴ : 完全発育阻止, 不完全殺菌
 × : 完全殺菌
 ○ : 耐性検査せず
 S : 雑菌汚染

図7 SM・PAS⇔INH・CS 交互併用と、SM・PAS・INH・CS 4者同時併用とに於ける発育阻止効果及び殺菌効果とINH耐性獲得との関係
(薬剤濃度はいずれも 7/ml)

試験管番号	併用方式		交互併用		同時併用		
	作用INH濃度	耐性検査濃度	1	10	1	10	
1	8	×	×	×	×	□: 耐性獲得	
2	4	×	×	×	×	≡: 発育阻止作用なし	
3	2	×	×	×	×	◆: 不完全発育阻止, 殺菌作用なし	
4	1	×	×	×	×	∴: 完全発育阻止, 不完全殺菌	
5	0.5	×	×	×	×	⊗: 完全殺菌	
6	0.25	○	○	×	×	○: 耐性検査せず	
7	0.125	∴	∴	×	×	S: 雑菌汚染	
8	0.0625	∴	∴	×	×		
9	0.0313	○	○	∴	∴		
10	0.0156	◆	◆	◆	◆		
11	0.0078	○	○	◆	◆		
12	0.0039	S	S	○	○		
13	0.00195	○	○	◆	◆		
14	0.00098	≡	≡	○	○		
15	0.00049	○	○	◆	◆		
16	0.00024	≡	≡	○	○		
17	0.00012	○	○	≡	≡		
18	0.00006	≡	≡	○	○		
19	0.00003	○	○	≡	≡		
20	0	≡	≡	≡	≡		

この図で薬剤の菌に対する作用を、次の如く分類して表現した。但し、以下の文中「ほぼ同程度の菌集落数」とは、集落の発育程度を示す記号(+), (++) , (≡) に於て差がない程度の菌集落数を意味する。

発育阻止作用については、薬剤作用終了時まで全く菌集落を認めなかったものを完全発育阻止とし、各判定時に対照の薬剤非含有培地で培養した SS と、ほぼ同程度の集落の発育をみたものを発育阻止作用なしとした。この両者の中間にあたるものを不完全発育阻止とした。殺菌作用については、最終判定時に全く集落を認めなかった「完全殺菌」、対照より明らかに集落数の少ない「不完全殺菌」、対照とほぼ同程度の集落数を認めた「殺菌作用なし」の3つに分けた。

この発育阻止作用と殺菌作用との組合せで

- (1) 発育阻止作用なし、(勿論殺菌作用なし)(○)
- (2) 不完全発育阻止で殺菌作用なし (◆)
- (3) 不完全発育阻止で不完全殺菌 (⊗)
- (4) 完全発育阻止で殺菌作用なし
- (5) 完全発育阻止で不完全殺菌 (⋮)
- (6) 完全殺菌 (×)

などの作用形式が考えられるが、(4)の完全発育阻止で殺菌作用なしという例は、本実験ではみられなかった。

以上の如き種々の薬剤作用をうけた結果、耐性上昇が認められたものを、太い枠で囲んで示した。(□)

図6～9によると、耐性上昇は大体に於て、不完全殺菌作用を示す濃度(図の⊗及び⋮)と、殺菌作用はないが、不完全な発育阻止作用を示す濃度(図の◆)のあたりにみられた。

かなりの数の菌が殺菌される様な薬剤濃度

で、その作用に耐えて生き残った菌、及びほとんど殺菌はされなかったが、ある程度の発育阻止作用を受けた菌が耐性上昇を示したのであって、これは池田⁹⁾が薬剤の単独作用、2者、3者併用でみたのと同様の成績で、内藤^{10,11)}のいう薬剤作用に抗して増殖した菌が耐性化するという現象がここにも見られたのである。しかし、中にはこの様な薬剤作用に耐えて生き残った菌が、耐性を示さない場合もあった。一例を挙げると、図9の試験管番号4の交互併用の菌は、8週間にわたってSM, PAS, INH, THの作用を受け、しかもそのINHの作用濃度は1γであるから、これに耐えて生き残った菌がINH 1γに耐性を示さなかったのは奇異の感を抱かせるが、この説明は今後の検討に俟たねばならない。

図 8 SM・PAS⇄INH・PZA 交互併用と、SM・PAS・INH・PZA 4者同時併用とに於ける発育阻止効果及び殺菌効果と INH 耐性獲得及び PZA 耐性獲得との関係
(薬剤濃度はいずれも γ/ml)

試験管番号	INH					PZA				
	併用方式		併用方式		作用INH濃度	併用方式		併用方式		作用PZA濃度
	交互併用	同時併用	交互併用	同時併用		交互併用	同時併用	交互併用	同時併用	
1	×	×	×	×	8	×	×	×	×	30
2	×	×	×	×	4	×	×	×	×	15
3	×	×	×	×	2	×	×	×	×	7.5
4	×	×	×	×	1	×	×	×	×	3.75
5	×	×	×	×	0.5	×	×	×	×	1.875
6	×	×	×	×	0.25	×	×	×	×	0.938
7	⋮	⋮	×	×	0.125	⋮	⋮	×	×	0.469
8	⋮	⋮	×	×	0.0625	⋮	⋮	×	×	0.234
9	○	○	⋮	⋮	0.0313	○	○	⋮	⋮	0.117
10	◆	◆	◆	◆	0.0156	◆	◆	◆	◆	0.059
11	○	○	◆	◆	0.0078	○	○	◆	◆	0.029
12	⊗	⊗	○	○	0.0039	⊗	⊗	○	○	0.015
13	○	○	◆	◆	0.00195	○	○	◆	◆	0.0073
14	⊗	⊗	○	○	0.00098	⊗	⊗	○	○	0.0037
15	○	○	◆	◆	0.00049	○	○	◆	◆	0.0018
16	⊗	⊗	○	○	0.00024	⊗	⊗	○	○	0.0009
17	○	○	⊗	⊗	0.00012	○	○	⊗	⊗	0.0005
18	⊗	⊗	○	○	0.00006	⊗	⊗	○	○	0.0002
19	⊗	⊗	⊗	⊗	0.00003	⊗	⊗	⊗	⊗	0.0001
20	⊗	⊗	⊗	⊗	0	⊗	⊗	⊗	⊗	0

- : 耐性獲得
 ⊗ : 発育阻止作用なし
 ◆ : 不完全発育阻止、殺菌作用なし
 ⋮ : 完全発育阻止、不完全殺菌
 × : 完全殺菌
 ○ : 耐性検査せず

図 9 SM・PAS⇄INH・TH 交互併用と、SM・PAS・INH・TH 4者同時併用とに於ける
 発育阻止効果及び殺菌効果と INH 耐性獲得及び TH 耐性獲得との関係
 (薬剤濃度はいずれも γ /ml)

試験管 番号	INH				TH									
	併用方式 耐性 検査 濃度	交 互 併 用		同 時 併 用		併用方式 耐性 検査 濃度	交 互 併 用			同 時 併 用				
		作用 INH 濃度	1	10	1		10	作用 TH 濃度	1	5	10	1	5	10
1	8	×	×	×	×	8	×	×	×	×	×	×	×	
2	4	×	×	×	×	4	×	×	×	×	×	×	×	
3	2	×	×	×	×	2	×	×	×	×	×	×	×	
4	1	∴	∴	×	×	1	∴	∴	∴	×	×	×	×	
5	0.5	○	○	×	×	0.5	○	○	○	×	×	×	×	
6	0.25	∴	∴	×	×	0.25	∴	∴	∴	×	×	×	×	
7	0.125	○	○	×	×	0.125	○	○	○	×	×	×	×	
8	0.0625	∴	∴	×	×	0.0625	◻	∴	∴	×	×	×	×	
9	0.0313	○	○	∴	∴	0.0313	○	○	○	◻	∴	∴	∴	
10	0.0156	◆	◆	◇	◇	0.0156	◆	◆	◆	◻	◇	◇	◇	
11	0.0078	○	○	◆	◆	0.0078	○	○	○	◆	◆	◆	◆	
12	0.0039	▨	▨	○	○	0.0039	▨	▨	▨	○	○	○	○	
13	0.00195	○	○	◆	◆	0.00195	○	○	○	◆	◆	◆	◆	
14	0.00098	▨	▨	○	○	0.00098	▨	▨	▨	○	○	○	○	
15	0.00049	○	○	◆	◆	0.00049	○	○	○	◆	◆	◆	◆	
16	0.00024	▨	▨	○	○	0.00024	▨	▨	▨	○	○	○	○	
17	0.00012	○	○	◆	◆	0.00012	○	○	○	◆	◆	◆	◆	
18	0.00006	▨	▨	○	○	0.00006	▨	▨	▨	○	○	○	○	
19	0.00003	▨	▨	▨	▨	0.00003	▨	▨	▨	▨	▨	▨	▨	
20	0	▨	▨	▨	▨	0	▨	▨	▨	▨	▨	▨	▨	

◻

：耐性獲得

▨

：発育阻止作用なし

◆

：不完全発育阻止，殺菌作用なし

◇

：不完全発育阻止，不完全殺菌

∴

：完全発育阻止，不完全殺菌

×

：完全殺菌

○

：耐性検査せず

- : 耐性獲得
 ▨ : 発育阻止作用なし
 ◆ : 不完全発育阻止, 殺菌作用なし
 ◇ : 不完全発育阻止, 不完全殺菌
 ∴ : 完全発育阻止, 不完全殺菌
 × : 完全殺菌
 ○ : 耐性検査せず

第5章 結 論

著者の採用した4種の交互併用方式は、薬剤作用期間が8週間という本実験の条件では、同種薬剤の同時併用とほぼ同程度の耐性上昇阻止効果を示した。

第6章 全篇の総括

結核化学療法強化の趨勢は、多剤併用、大量投与という方向に向っている様であるが、一方、薬剤交互併用療法という強化策も提唱されている。著者は、結核化学療法の強化には、多剤同時併用と交互併用とのどちらの方式を採用する方が有利であるかを明らかにするため、この両方式の優劣を、シリコンスライド培養法を用いて試験管内で比較検討した結果、次の成績を得た。

薬剤交互併用方式は1, 2, 3篇で検討した結核菌発育阻止作用、殺菌作用、耐性上昇阻止作用のいずれの面に於ても、同時併用方式より劣るか、或はせいぜい同程度の効果しか示さなかった。

以上を総合して考えると、結核化学療法の術式を強化しようとする場合、交互併用方式よりはむしろ同時併用方式の方がすぐれているのではないかと推定される。少なくとも本実験の範囲ではその逆の成績を得ることは出来なかったのである。

副作用という点からみれば、各薬剤に休止期間をおくことの出来る交互併用が有利な場合もある。特に、現在いわゆる2次抗結核剤の範疇に入れられている薬剤の中には、かなり強い副作用のため、継続投与がしばしば困難な薬剤

もあり、またすぐれた治療効果をもちながら、副作用が強いため、臨床に繁用されていない薬剤もある。これらを、その併用効果と副作用とを勘案して、交互併用という方式で用いることは有力な方法で、今後検討の余地があると考えられる。

(欄筆に臨み御指導を賜った津久間博士に深甚の謝意を表します)

文 献

- 1) 中井：本論文第1篇
- 2) 中井：本論文第2篇

- 3) 砂原：結核研究の進歩, 30号：22, 昭和36年
- 4) Middlebrook, G., and Yegian, D. : Amer. Rev. Tuberc., 54 : 553, 1946.
- 5) 東：京大結研紀要, 7-3増1 : 461, 昭和34年
- 6) Higashi, K., et al. : Am. Rev. Resp. Dis., 85 : 392, 1962.
- 7) 松島：京大結研紀要, 8-1増2 : 595, 昭和34年
- 8) 久世：京大結研紀要, 12 : 97, 昭和39年
- 9) 池田：京大結研紀要, 12 : 43, 昭和38年
- 10) 内藤：日本医事新報, No. 1698 : 8, 昭和31年
- 11) 内藤：臨床病理, 4 : 348, 昭和31年
- 12) 田中：京大結研紀要, 13 : 35, 昭和39年