

結核化学療法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的研究

第1篇 結核菌発育抑制効果について

(京都大学結核研究所化学療法部 主任 教授 内藤 益一)

副 手 池 田 宣 昭

(38.9.2 受付)

第1章 緒 言

結核化学療法剤の投与方式の中で現在最も広く用いられているのは、PAS を毎日投与し、SM 又は INH を毎日又は間歇的に投与する2者又は3者併用療法であろう。この中 SM は主として聴力及び平衡障害等の副作用を防止する目的から間歇投与の方式がとられているが、治療効果も連続投与方式に比して劣らないと云う報告もあり¹⁾、一般にもその様に信じられて来た傾向がある。INH の間歇投与方式は“INH 週2日単独投与法は INH 毎日単独投与法と比較して、臨床効果に於いては大差なきも、耐性菌発現の点に於いてすぐれている”と云う療研の報告²⁾に起因すると思われる。其後熊谷等^{3,4)}による、主として病理解剖学的な検索も INH の間歇投与方式を支持している。

一方 Hobby⁵⁾ 以後、細菌学的に、種々の化学療法剤の作用効果と細菌の発育相との関係が明らかとなり、結核菌もその増殖期に抗結核剤の作用を強く受けることが明らかとなった^{6)~16)}。この事実は少なくとも理論的には、間歇投与法によって細菌の増殖期のみに薬剤を作用させ得ることが考えられ、その場合連続投与法に劣らず殺菌効果に於いてはむしろ優るかも知れないとも考えられる。

云うまでもなく、結核の化学療法に於いては出来るだけ強力、確実な治療を開始して、1日も早く病巣内結核菌の発育を停止させ、出来れば殺菌し、ひいては耐性化を防止して十分な治

療効果を上げる様に努力せねばならない。この意味に於いて間歇投与方式が以上の要請を満足させる最上の投与方式かどうか、特に連続投与方式に勝るか又は匹敵する治療効果をあげ得るものかどうかを検討する必要がある。

これに関して既に動物実験及び臨床的比較研究が行なわれている。しかし動物実験では結核菌及び薬剤に対する反応性が人体とかなり異なっている為、その成績がそのまま人体に当てはまるとは云えないし、臨床実験では Background の統一が困難である。しかも投与量、投与方式を変えてその間の優劣を比較研究することは、その編成に於いて夥しい治療対象を必要とする。

著者はこの問題に対して *in vitro* での検討を企図した。もとより *in vitro* の成績が直ちに人体に当てはめられるものでないことは当然である。しかしここでは副作用、個体の感受性等の問題から一旦離れて、純細菌学的に薬剤の効果と比較研究することが可能であり、又適当な実験方法を用いれば、薬剤の濃度効果、時間効果の相関関係、薬剤併用の効果、ひいては個々の薬剤の個性とも云うべき特徴を推定し得るかなり大規模な比較検討も可能である。

しかるに試験管内に於ける間歇投与法の検討は A.R. Armstrong¹⁷⁾ の報告以外殆んど見当たらない。これは恐らく抗結核剤の試験管内間歇投与による実験が従来の細菌学的手段では方法的に非常に困難であった為であろう。A. R.

Armstrong は Millipore Chamber なる実験装置を考案使用した。この装置では一種の Membrane Filter を使用し、この Membrane を通して薬剤含有培地及び薬剤非含有培地の交換を行ない、6日間の薬剤作用後に Membrane 上に発育した菌集落を肉眼的並びに顕微鏡的に観察している。この方法では装置及び操作が複雑となり、大規模な比較実験では非常な労力を必要とする。

幸い著者等の研究室で考案されたシリコーン被覆スライド培養法¹⁸⁾¹⁹⁾はスライドに吸着した結核菌が普通の細菌学的操作では殆んど脱落しないと云う特徴を持ち、培養中に培地を繰返えし置換する事も十分可能である。又本研究所辻研究室で考案された石油ベンゼン菌液²⁰⁾を用いると、菌液濃度が一定であればスライド上の吸着菌単位数はほぼ一定であると云う利点がある。従ってこれらの方法を用いれば、間歇投与法云いかえれば菌と薬剤とが間歇的に接触する様な作用方式の実験を in vitro で比較的簡易に行なう事が出来るのである。しかもこの方法によれば薬剤作用期間が1カ月以上に及んでも実験操作は可能である。

そこで著者は、シリコーン被覆スライド培養法を用いて、抗結核剤の制菌力、殺菌力及び結核菌の薬剤耐性化に及ぼす薬剤の作用濃度、作用時間、作用間隔の影響並びにこれらに対する薬剤併用効果を検討した次第である。

本篇に於いては先ず結核菌発育抑制効果について報告する。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 実験材料

試験管：内径 1cm, 高さ 12cm のガラスキャップ付小試験管を使用した。

シリコーン被覆スライド：東の方法¹⁸⁾によって作製した。即ち普通のスライドを縦に3切したもの（巾8～9mm, 高さ 7.5cm）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、更にベンゼンで洗滌した後、室温で乾燥し、このスライドを粘度 350 centistokes の Dimethyl Silicone (DC200Fluid) をクロロホルムに2% (v/v) に溶かした処理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。

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

菌液及び菌接種方法：上述の H37Rv 株の菌集落を別の試験管に移し、石油ベンゼンを加え、よく振盪して菌を分散させ、2～3分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色することにより約 1mg/cc の石油ベンゼン菌液とした。この菌液中にシリコーン被覆スライドを約 2cm の深さに瞬時浸漬して菌を附着させた。

培地：pHca6.5 の 10%牛血清加キルヒナー培地を使用した。

被検薬剤：INH, DHSM, 及び PAS-Na の各単独及び併用時について検討した。INH の稀釈は最初より10%牛血清加キルヒナー培地（以後単に培地と略す）で行ない、DHSM は蒸留水で 100mg/cc 迄稀釈し、その後は培地を用いて稀釈した。又 PAS-Na の稀釈は70% アルコールを用いて 100mg/cc とし、以後培地を用いて稀釈した。

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：表1に示す通りである。実験群の構成に当っては現在の臨床投与法を参考とした。1日2時間又は1日4時間作用方式は临床上の1日1回投与法を、1日24時間作用方式は临床上の分割投与法を模倣化したものである。又薬剤作用期間1週間群は A. R. Armstrong の報告追試の意味も兼ねて行なった。

実験操作：石油ベンゼン菌液へ浸して結核菌を附着させたシリコーン被覆スライド（以後 SS と略す）を直ちに試験管に投入し培地 2cc を注入、37°C で培養する。2～3日後各 SS を薬剤含有培地 3cc を入れた試験管に移し所定の時間 37°C で薬剤を作用させた後、夫々2本の試験管に分注した 4cc の生理的食塩水で SS を2回洗滌し、それぞれ予定された薬剤非含有培地又は薬剤含有培地 2cc を入れた試験管に移して培養を続ける。この操作を薬剤作用期間1週間群では毎日、薬剤作用期間4週間群では週2日繰返えすのである。（図1参照）

例えば4週間薬剤作用群で薬剤単独1日4時間週2日作用方式では、火曜日に薬剤を含まない培地で菌附着 SS 20枚の培養を開始し、3日後金曜日に各 SS を予め倍数稀釈法で調製された薬剤を含む 3cc の培地に移し、4時間 37°C で薬剤を作用させた後、生理的食塩水で洗滌し、これを薬剤非含有培地に移して37°C で培養を続け、以後毎週の火曜日と金曜日に同様の操

表 1 実験群の構成

作用 期間	薬剤数	薬剤名	薬剤作用方法	薬 剤 濃 度
1 週 間	単独	INH	① 1日2時間毎日 ② 1日4時間毎日 ③ 1日24時間週2日 ④ 1日24時間毎日	第1管 1,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管迄
		SM	① 1日2時間毎日 ② 1日4時間週2日 ③ 1日24時間週2日 ④ 1日24時間毎日	第1管 10,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管迄
4 週 間	単独	INH SM PAS	① 1日4時間週2日 ② 1日24時間週2日 ③ 1日24時間毎日	INH: 第1管 1,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管迄 SM, PAS: 第1管 10,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管迄
	2者 併用	INH・PAS SM・PAS	① 1日4時間週2日 ② 1日24時間週2日 ③ 1日24時間毎日	INH: 第1管 1,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管～第22管迄 SM: 第1管 10,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管～第22管迄 PAS: 0.1 γ /cc を固定濃度とし連続的に作用させた。
	併用	INH・SM	① 1日4時間週2日 ② 1日24時間週2日 ③ INH 1日24時間毎日 SM 1日24時間週2日 ④ 1日24時間毎日	INH: 第1管 100 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管～第22管迄 SM: 第1管 10,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管～第22管迄
	3者 併用	INH・SM ・PAS	① 1日4時間週2日 ② 1日24時間週2日 ③ INH 1日24時間毎日 SM 1日24時間週2日 ④ 1日24時間毎日	INH: 第1管 100 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管～第22管迄 第1管: 1,000 γ /cc, 以後倍数希釈法により第19管～第22管迄 PAS: 0.1 γ /cc を固定濃度とし連続的に作用させた

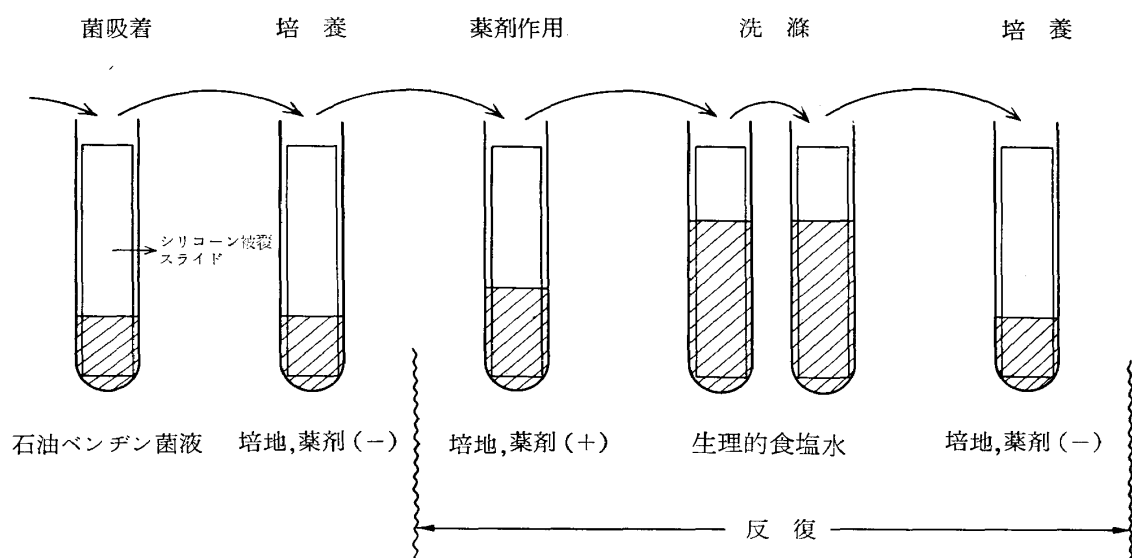


図 1 シリコーン被覆スライド培養法による薬剤間歇投与法の実験模式図

表 2 抗結核化学療法剤の連続作用時並びに間歇作用時に於ける
発育阻止最低濃度一覧表 *其の1

薬剤作用方法 薬剤作用期間 薬剤数 薬剤名	1 週 間		4 週 間						
	単 独		単 独			2 者 併 用			3 者併用
	INH	SM	INH	SM	PAS	INH ・PAS	SM ・PAS	INH ** ・SM	PAS ** 0.1γ/cc
						PAS 0.1γ/cc	PAS 0.1γ/cc		
1日2時間毎日	0.24	—	—	—	—	—	—	—	—
1日4時間毎日	0.24	>10000	—	—	—	—	—	—	—
1日4時間週2日	—	>10000	>1000	>10000	>5000	0.24	9.77	1000	0.98
1日24時間週2日	0.12	156.25	0.49	156.25	2500	0.015	2.44	3.91	0.12
INH 1日24時間毎日 SM 1日24時間週2日	—	—	—	—	—	—	—	7.81	0.015
1日24時間毎日	0.0076	4.88	0.49	4.88	0.076	0.0038	0.038>	0.49	0.031

*: 全く菌集落を認めない最低薬剤濃度

(表中数字は γ/cc を示す)

**: SM 濃度で示す —: 実験せず

表 3 抗結核化学療法剤の連続作用時並びに間歇作用時に於ける
発育阻止最低濃度一覧表 *其の2

薬剤作用方法 薬剤作用期間 薬剤数 薬剤名	1 週 間		4 週 間						
	単 独		単 独			2 者 併 用			3 者併用
	INH	SM	INH	SM	PAS	INH ・PAS	SM ・PAS	INH ** ・SM	PAS ** 0.1γ/cc
						PAS 0.1γ/cc	PAS 0.1γ/cc		
1日2時間毎日	0.24	—	—	—	—	—	—	—	—
1日4時間毎日	0.24	>10000	—	—	—	—	—	—	—
1日4時間週2日	—	>10000	1000	>10000	>5000	0.24	9.77	1000	0.98
1日24時間週2日	0.12	156.25	0.12	156.25	2500	0.015	2.44	0.49	0.12
INH 1日24時間毎日 SM 1日24時間週2日	—	—	—	—	—	—	—	0.49	0.015
1日24時間毎日	0.0076	4.88	0.015	4.88	0.076	0.0038	0.038>	0.12	0.031

*: 菌集落数100迄は発育阻止力あり, +, ++, +++は発育阻止力

(表中数字は γ/cc を示す)

なしとした場合 **: SM 濃度で示す —: 実験せず

作で SS に薬剤を作用させ、実験開始4週間後にスライド上の菌発育の有無を判定した。

2者併用群の中、PAS-SM, PAS-INH 併用群では PAS のみは 0.1γ/cc で連続的に作用させた。例えば PAS (0.1γ/cc)-SM 併用群で 1日24時間週2日作用方式に於いては、0.1γ/cc の濃度に PAS を含む SM の倍数希釈列に24時間 SS を浸漬した後、生理的食塩水で洗滌し、次いで 0.1γ/cc の PAS のみ

を含む培地に移して培養を続け、この操作を毎週2日繰返し4週間続けた。INH-SM 併用群では、INH, SM 両薬剤共間歇作用方式と INH 連続 SM 間歇作用方式とがあり、両薬剤共倍数希釈法によって薬剤含有培地を調製してある点が PAS 併用群と異なっている。

3者併用の場合は薬剤が1つ加わるのみで2者併用群と全く同様である。

表 4 抗結核化学療法剤の連続作用時並びに間歇作用時に於ける
発育阻止最低濃度一覧表 *其の3

薬剤作用方法	薬剤作用 期間 薬剤数 薬剤名	1 週 間		4 週 間						
		単 独		単 独			2 者 併 用		3 者併用	
		INH	SM	INH	SM	PAS	INH ・PAS PAS 0.1γ/cc	SM ・PAS PAS 0.1γ/cc	INH ** ・SM	PAS ** 0.1γ/cc
1 日 2 時間毎日		0.24	—	—	—	—	—	—	—	—
1 日 4 時間毎日		0.24	>10000	—	—	—	—	—	—	—
1 日 4 時間週 2 日		—	>10000	1000	>10000	>5000	0.24	9.77	1000	0.98
1 日 24時間週 2 日		0.12	156.25	0.12	156.25	2500	0.015	2.44	0.49	0.12
INH 1 日 24時間毎 日 SM 1 日 24時間 週 2 日		—	—	—	—	—	—	—	0.12	0.015
1 日 24時間毎日		0.0076	4.88	0.015	4.88	0.076	0.0038	0.038>	0.12	0.031

*: 菌集落数100迄, 及び+は発育阻止力あり, ++, +++は発育阻止力 (表中数字は γ/cc を示す)
なしとした場合 **: SM 濃度で示す —: 実験せず

表 5 抗結核化学療法剤の連続作用時並びに間歇作用時に於ける
発育阻止最低濃度一覧表 *其の4

薬剤作用方法	薬剤作用 期間 薬剤数 薬剤名	1 週 間		4 週 間						
		単 独		単 独			2 者 併 用		3 者併用	
		INH	SM	INH	SM	PAS	INH ・PAS PAS 0.1γ/cc	SM ・PAS PAS 0.1γ/cc	INH ** ・SM	PAS ** 0.1γ/cc
1 日 2 時間毎日		0.24	—	—	—	—	—	—	—	—
1 日 4 時間毎日		0.061	>10000	—	—	—	—	—	—	—
1 日 4 時間週 2 日		—	>10000	1000	>10000	>5000	0.24	9.77	62.5	0.98
1 日 24時間週 2 日		0.12	156.25	0.12	156.25	19.53	0.015	2.44	0.24	0.12
INH 1 日 24時間毎 日 SM 1 日 24時間 週 2 日		—	—	—	—	—	—	—	0.061	0.00048>
1 日 24時間毎日		0.0076	4.88	0.015	4.88	0.038>	0.0038	0.038>	0.12	0.03

*: 菌集落数100迄, +, ++, は発育阻止力あり, +++は発育阻止力 (表中数字は γ/cc を示す)
なしとした場合 **: SM 濃度で示す —: 実験せず

全実験を通じて1度使用した培地は薬剤含有の有無に拘らず2度と使用せず又生理的食塩水も全て新しく調製して実験を行なった。又菌附着 SS は必ず同一番号の試験管で薬剤作用, 洗滌, 培養の操作が繰り返されたことは云うまでもない。薬剤含有培地から非含有培地へ移す時は対照の SS も同様に洗滌した。尚薬剤含有培地を 3cc, 非含有培地を 2cc, 洗滌用 生理的食塩水を 4cc 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漬され, 一方薬剤含有培地を可及的完全に洗滌除去せんが為である。

判定方法: 4 週間薬剤作用群では薬剤作用終了時に, 1 週間薬剤作用群では実験開始後 2 週間即ち薬剤作用終了 5~7 日後に肉眼的に SS 上に発育した結核菌集落数を判定した。判定基準は菌集落が 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 100 以下の場合 (+)

とせず大略その数を記入した。

第3章 実験成績及びその比較検討

各作用群に於ける各作用方式の判定成績を総括し γ/cc で示したのが表2～5である。

表2に示される数字は全く菌集落の発育を認めなかった最低薬剤濃度であり、表3に示される数字は100以下の菌集落の発育を認めた最低薬剤濃度である。同様に表4に示される数字は(+)以下の菌発育を認めた最低薬剤濃度であり、表5に示される数字は(++)以下の菌発育を認めた最低薬剤濃度である。

この判定成績をいかなる基準で比較検討すべきかは種々の考え方があろう。対照と比較すれば(++)の成績も発育抑制作用を受けていることを示しているのに違いはない。(++)は更に強い発育抑制作用を受けたことを示しており、集落数100以下では益々強い作用を受けたことになる。この場合1ケの集落も認めない最低薬剤濃度で各作用方式を比較することが出来るが、この方法によると自然耐性菌の発育が存在する場合は比較を誤る恐れがある。(++)は対照に比し $\frac{1}{8} \sim \frac{3}{8}$ の菌発育であるから当然この判定成績の最低薬剤濃度で比較しても良い。しかし発育抑制作用が著明で、然も自然耐性菌等による誤りのない判定成績で比較検討するのが最も妥当である。(+)の判定成績はこの意味から最も比較検討に適當している。

従って(+)迄発育抑制効果あり、(++)及び(+++)は発育抑制効果なしと仮定して各作用方式を比較検討したい。かかる条件で発育阻止最低濃度を γ/cc により表示したのが表6～9である。

表6～9に示した発育阻止最低濃度を基準として各作用群及び各作用方式を比較検討する。

第1節 薬剤作用期間1週間の場合

1 INH 単独作用群 (表6)

3種類の間歇作用方式の発育阻止最低濃度(以後MICと略す)は何れも $0.24\gamma/\text{cc} \sim 0.12\gamma/\text{cc}$ であり、連続作用方式の $0.0076\gamma/\text{cc}$ に比較してかなり劣り16～32倍の差が認められた。

2 SM 単独作用群 (表6)

SMのMICは1日4時間週2日作用方式及び1日4時間毎日作用方式では $10,000\gamma/\text{cc}$ 以上であり、1日24時間週2日作用方式では $156.25\gamma/\text{cc}$ 、連続作用方式では $4.88\gamma/\text{cc}$ であった。

以上の成績から間歇作用方式が連続作用方式に比し劣っているのが明らかであるが、INHの場合は間歇作用方式間に差が少く、SMの場合は1日24時間週2日作用方式と他の2つの間歇作用方式間に差のある点で異なっている。又1日4時間毎日作用方式と連続作用方式との差はSMでは4,096倍以上、INHでは32倍であった。

第2節 薬剤作用期間4週間の場合

第1項 単独薬剤作用群

1 INH 単独作用群 (表7)

1日4時間週2日作用方式のMICは $1,000\gamma/\text{cc}$ 以上であり、1日24時間週2日作用方式のMIC $0.12\gamma/\text{cc}$ に比し8,192倍以上の差を認める。これに対し1日24時間週2日作用方式のMICと連続作用方式のMIC $0.015\gamma/\text{cc}$ との差は8倍であった。又1日4時間週2日作用方式と連続作用方式との差は65,536倍であった。

2 SM 単独作用群 (表7)

1日4時間週2日作用方式のMICは $10,000\gamma/\text{cc}$ 以上であり、1日24時間週2日作用方式のMIC $156.25\gamma/\text{cc}$ に比較して128倍以上の差が認められた。1日24時間週2日作用方式のMICと連続作用方式のMIC $4.88\gamma/\text{cc}$ の差は32倍であった。1日4時間週2日作用方式と連続作用方式との差は4,096倍以上であった。

3 PAS 単独作用群 (表7)

1日4時間週2日作用方式のMICは $5,000\gamma/\text{cc}$ 以上、1日24時間週2日作用方式のMICは $2,500\gamma/\text{cc}$ 、連続作用方式のMICは $0.076\gamma/\text{cc}$ であった。従って1日24時間週2日作用方式と連続作用方式との差は32,768倍であった。

以上の各単独薬剤4週間作用群の成績に共通する点は間歇作用方式よりも連続作用方式が優れていることであり、相違点は1日24時間週2日作用方式と連続作用方式との差の大小に見ら

表6 各作用方式に於ける發育阻止
最低濃度 其の1

薬剤作用方法	薬剤作用期間	1 週 間	
	薬剤数	単 独	
	薬剤名	INH	SM
1 日 2 時 間 毎 日		0.24	—
1 日 4 時 間 毎 日		0.24	>10000
1 日 4 時 間 週 2 日		—	>10000
1 日 24 時 間 週 2 日		0.12	156.25
1 日 24 時 間 毎 日		0.0076	4.88

(表中数字は γ/cc を示す)

—: 実験せず

表7 各作用方式に於ける發育阻止
最低濃度 其の2

薬剤作用方法	薬剤作用期間	4 週 間		
	薬剤数	単 独		
	薬剤名	INH	SM	PAS
1 日 4 時 間 週 2 日		1000	>10000	>5000
1 日 24 時 間 週 2 日		0.12	156.25	2500
1 日 24 時 間 毎 日		0.015	4.88	0.076*

(表中数字は γ/cc を示す)

*: 反復実験では 0.076~0.15 γ/cc であった

表8 各作用方式に於ける發育阻止
最低濃度 其の3

薬剤作用方法	薬剤作用期間	4 週 間	
	薬剤数	2 者 併 用	
	薬剤名	INH・PAS	SM・PAS
1 日 4 時 間 週 2 日		0.24	9.76
1 日 24 時 間 週 2 日		0.015	2.44
1 日 24 時 間 毎 日		0.0038	0.038>

(表中数字は γ/cc を示す)

れる。即ちその差は INH に最も少なく, PAS に最も多く, SM はその中間である。

第2項 2 者 併 用 群

1 PAS-INH 併用群 (表8)

併用 PAS 濃度 0.1 γ/cc の場合, INH の MIC は, 1 日 4 時間週 2 日作用方式では 0.24 γ/cc , 1 日 24 時間週 2 日作用方式では 0.015 γ/cc , 連続作用方式では 0.0038 γ/cc であった。従って 1 日 4 時間週 2 日作用方式と 1 日 24 時間週 2 日作用方式との差は 16 倍であり, 1 日 24 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差は 4 倍であった。又 1 日 4 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差は 64 倍であった。

INH 単独 4 週間作用群に比較すると, 1 日 4 時間週 2 日作用方式では 4,096 倍, 1 日 24 時間週 2 日作用方式では 8 倍, 連続作用方式では 4 倍, それぞれ PAS 併用群が優れていた。

各作用方式に於ける PAS の併用効果を比較すると, いづれの INH 作用方式でも發育阻止力は増強されるが, 特に 1 日 4 時間週 2 日作用方式で著明であった。

2 PAS-SM 併用群 (表8)

併用 PAS 濃度 0.1 γ/cc の場合, SM の MIC は, 1 日 4 時間週 2 日作用方式では 9.76 γ/cc , 1 日 24 時間週 2 日作用方式では 2.44 γ/cc , 連続作用方式では 0.038 γ/cc 以下であった。従って 1 日 4 時間週 2 日作用方式と 1 日 24 時間週 2 日作用方式との差は 4 倍であり, 1 日 24 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差は 64 倍以上であった。又 1 日 4 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差は 256 倍以上であった。

SM 単独 4 週間作用群に比較すれば, 1 日 4 時間週 2 日作用方式では 2,048 倍以上, 1 日 24 時間週 2 日作用方式では 64 倍, 連続作用方式では 128 倍以上, それぞれ PAS 併用群が優れていた。PAS を併用することで SM の間歇作用方式間の差が少なくなっているが, 1 日 24 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差は依然として 64 倍以上に達していることは注目すべきである。

PAS-INH 併用群と PAS-SM 併用群とを比較すると, INH 及び SM 各単独 4 週間作用群の比較に際して見られたと同様に, PAS-INH 併用群では 1 日 24 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差が小さいが, PAS-SM 併用群ではこの差が大きい。

表 9 各作用方式に於ける發育阻止
最低濃度 其の4

薬剤作用方法	薬剤作用 期間	4 週 間			
		2 者 併 用		3 者併用	
		INH	SM	PAS 0.1 γ /cc	
				INH	SM
1 日 4 時間週 2 日		100	1000	0.098	0.98
1 日 24 時間週 2 日		0.049	0.49	0.012	0.12
INH 1 日 24 時間毎 日 SM 1 日 24 時間 週 2 日		0.012	0.12	0.0015	0.015
1 日 24 時間 毎日		0.012	0.12	0.0031	0.031

(表中数字は γ /cc を示す)

3 INH-SM 併用群 (表 9)

INH 及び SM の薬剤濃度比は 1:10 とした。各作用方式の MIC を見ると、両薬剤共 1 日 4 時間週 2 日作用方式では SM-1,000 γ /cc, INH-100 γ /cc, 両薬剤共 1 日 24 時間週 2 日作用方式では SM-0.49 γ /cc, INH-0.049 γ /cc, INH 連続 SM 1 日 24 時間週 2 日作用方式及び両薬剤共連続作用方式では SM-0.12 γ /cc INH-0.012 γ /cc であった。従って両薬剤共 1 日 4 時間週 2 日作用方式と両薬剤共 1 日 24 時間週 2 日作用方式との差は 2,048 倍であり、両薬剤共 1 日 24 時間週 2 日作用方式と INH 連続 SM 1 日 24 時間週 2 日作用方式との差は 4 倍であり、INH 連続 SM 1 日 24 時間週 2 日作用方式と両薬剤共連続作用方式との間には差を認めなかった。又両薬剤共 1 日 4 時間週 2 日作用方式と両薬剤共連続作用方式との差は 8,192 倍であった。

1 日 4 時間週 2 日作用方式と 1 日 24 時間週 2 日作用方式との差が大きく、1 日 24 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差が小さいことは INH 単独 4 週間作用群に似ている。

INH 及び SM 各単独 4 週間作用群に比較して見ると、INH では 1 日 4 時間週 2 日作用方式で約 10 倍、1 日 24 時間週 2 日作用方式で約 2.5 倍、それぞれ發育阻止力は増強されているが、連続作用方式では殆んど同一と見てよい。SM では 1 日 4 時間週 2 日作用方式で 20 倍以上、1

日 24 時間週 2 日作用方式では約 320 倍、連続作用方式では約 40 倍、それぞれ發育阻止力が増強されている。これは主として INH の發育阻止力の影響によるものと考えられるが、1 日 4 時間週 2 日作用方式及び 1 日 24 時間週 2 日作用方式殊に前者では INH も SM によって發育阻止力が増強されている点に留意すべきである。

第 3 項 3 者併用群 (表 9)

INH 及び SM の薬剤濃度比は 1:10 とした。

併用 PAS 濃度 0.1 γ /cc に於ける各作用方式の INH 及び SM の MIC は次の如くであった。即ち両薬剤共 1 日 4 時間週 2 日作用方式では SM-0.98 γ /cc, INH-0.098 γ /cc, 両薬剤共 1 日 24 時間週 2 日作用方式では SM-0.12 γ /cc, INH-0.012 γ /cc, INH 連続 SM 1 日 24 時間週 2 日作用方式では SM-0.015 γ /cc, INH-0.0015 γ /cc, 両薬剤共連続作用方式では SM-0.031 γ /cc, INH-0.0031 γ /cc であった。従って両薬剤共 1 日 4 時間週 2 日作用方式と両薬剤共 1 日 24 時間週 2 日作用方式との差は 8 倍、両薬剤共 1 日 24 時間週 2 日作用方式と INH 連続 SM 1 日 24 時間週 2 日作用方式との差も 8 倍、それぞれ後者が優れている。INH 連続 SM 1 日 24 時間週 2 日作用方式と両薬剤共連続作用方式では 2 倍の差で前者が優れていたが、之はむしろ実験誤差と見るべきであろう。

3 者併用群と INH-SM 2 者併用群との成績を比較して見ると、両薬剤共 1 日 4 時間週 2 日作用方式では 1,024 倍、両薬剤共 1 日 24 時間週 2 日作用方式では 4 倍、INH 連続 SM 1 日 24 時間週 2 日作用方式では 8 倍、両薬剤共連続作用方式では 4 倍、それぞれ 3 者併用群が優れていた。

3 者併用群及び PAS-INH 2 者併用群の成績を比較して見ると、1 日 4 時間週 2 日作用方式では薬剤濃度にして前者が約 2.5 倍優れており、1 日 24 時間週 2 日作用方式では殆んど同一であり、連続作用方式に於いても殆んど差違を認めない。

3 者併用群及び PAS-SM 2 者併用群の成績を比較すると、1 日 4 時間週 2 日作用方式では

約10倍、1日24時間週2日作用方式でも約20倍、それぞれ3者併用群が優るが、連続作用方式では殆んど差違を認めない。

第4章 考 按

第1節 実験条件及び実験方法に対する考察

本実験は比較実験である。従ってSSに附着する菌数は全て同一でなければならない。又石油ベンゼンの結核菌に及ぼす影響も考慮されなければならないし、SSへ附着した菌が生理的食塩水で洗滌する際に脱落しないかどうかの検討も必要である。これらの詳細は別報²¹⁾で報告されるが、簡単に述べれば、附着菌数は石油ベンゼン菌液中へのSS浸漬回数が等しい時はほぼ同様であり、石油ベンゼン菌液も濃度が約1mg/ccの場合は、作製後30分以内に操作を終れば肉眼判定に及ぼす影響は少なく、又一旦SSに附着した菌は比較実験に不都合なほどの脱落は認めない。附着菌量と薬剤効果との関係については久世等の報告²²⁾があり、菌量の多少による薬剤効果の差をあまり認めない。

実験操作中発育菌集落数の少ない場合は、各集落の発育が極めて良好で集落が過大となり、時にSS表面より脱落するのを認めたが、特に判定成績に影響するほどの頻度ではなかった。

薬剤作用前に2～3日間培養したことについての特別な細菌学的意味はない。単に石油ベンゼンの影響が残る場合を考えて出来る限りその影響を少なくする目的であった。薬剤作用前の培養日数の差があまりに大きいと、薬剤効果に差を生ずるが、2～3日の間では殆んど差違を認めない²³⁾。

前述の様に約1mg/ccの石油ベンゼン菌液では肉眼判定に関する限り作製後30分以内であれば差違を認めなかったとしても、生菌数は時間の経過と共に減少するであろうから、これによって生ずる実験誤差を可能な限り排除する必要がある。この目的で薬剤作用時間の長い方へ最初に浸漬したSSを使用し、薬剤作用時間の短い方へ最後に浸漬したSSが来る様に使用した。従ってこの問題に関する限り、間歇作用方式の薬剤効果が劣る場合は確実に劣ることを示

しているものと言えよう。

薬剤作用温度は37°Cを原則としたが、実際上は必ずしも容易ではなかった。実験操作中SS周辺の温度は37°C以下となる場合が多い。直ちに37°Cの環境に返したとしても、温度の上昇は徐々である。従って使用する薬剤含有培地、薬剤非含有培地、生理的食塩水等をあらかじめ37°Cに保温したとしても、この問題に関しては薬剤作用時間が短い作用方式ほど不正確となる比率は大きい。結核菌の増殖が盛んな時ほど薬剤作用が有効である^{6)~16)}とすれば、そして温度が37°Cより下れば菌の増殖が衰えると考えれば、間歇作用方式は連続作用方式に比較して作用された時間内での薬剤効果は不十分となる。

1週間薬剤作用群の発育阻止最低濃度は、薬剤作用終了後判定迄に5～7日薬剤非含有培地中で培養している為4週間薬剤作用群の成績に比較して不正確であるかも知れない。しかしシリコーン被覆スライド培養法に於いては、1週間の培養では肉眼的に菌集落を認め得ない。従って薬剤作用中完全に発育を阻止されていた菌は、その後に発育したとしても判定日には菌集落として認められるにはいたらないと考えられる。ところが不完全な発育阻止作用を受け、発育が遅延していた菌集落は、判定日迄に肉眼的に認め得る集落に発育するかも知れない。この意味で不正確となる恐れがあるが、A.R. Armstrongの報告追試の意味もあり、又完全に発育を阻止されていた菌については判定を誤る恐れもないのでこの実験術式を採用した次第である。

第2節 諸家の報告との比較考察

A. R. ArmstrongのINH間歇作用実験の報告¹⁷⁾によると、1日2時間毎日作用方式の発育阻止力は2.0γ/ccで完全、0.5～1.0γ/ccで中等度、0.25γ/ccで僅少、1日4時間毎日作用方式では1.0γ/ccで完全、0.5γ/ccで僅少となっている。薬剤作用期間は6日間であるので著者の行なったINH単独1週間薬剤作用群の成績と比較すると、1日2時間毎日作用方式及び1日4時間毎日作用方式共に0.24γ/ccであり、ほ

は同様の成績を示していると云えよう。この報告以外に試験管内での実験成績報告は見当らない。

間歇投与法と連続投与法との動物実験による比較検討は河野²⁴⁾, 養谷^{25) 26) 27)}, Hubert Bloch²⁸⁾, K. Bartmann^{29) ~ 32)} 等数多くの報告がある。これらの動物実験成績と試験管内成績とを直接比較検討することは必ずしも当を得ないが, その成績の概要を知ることが臨床上にも有意義なことと考える。河野及び養谷はその治療実験の結論として, INH を含む併用群が SM を含む併用群に優り, しかも INH 毎日投与群の優位を認めている。又 Hubert Bloch 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, K. Bartmann はその系統の実験の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 INH 量が間歇投与法では問題となること及び間歇投与よりも連続投与, 薬剤単独投与よりも併用投与の優位を指摘している。これらの動物実験の成績に於ける INH の優秀さは著者の成績でも明らかである。又 1 日 24 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との差が INH に於いて一番小さく, SM がこれに次ぎ, PAS が最も大きいという成績は, 投与量によっては INH の間歇投与法も有望であるとの動物実験成績と考え合わせて興味あるものと言えよう。

第3節 本実験成績の臨床との関連性

薬剤単独 4 週間作用群に於ける成績のみから計算すれば, INH を毎日投与法から週 2 日投与法に変更した場合, 後者で約 8 倍量を投与すれば効果は等しくなるが, SM では 30 倍量以上投与しなければならなくなる。INH 及び SM の発育阻止最低濃度, 臨床投与量及び副作用等から考え, 連続投与法と同じ効果をもたらす INH の週 2 日投与法は臨床上少々困難であり, SM のそれは副作用等を考慮すれば不可能に近い。又同様に単に本実験成績のみの計算では, PAS に於いて間歇投与法で連続投与法と同じ効果をもたらすことは一層困難と云えよう。

薬剤の併用数が増加するにつれて間歇投与法と連続投与法との差が小さくなるが, 間歇投与

法が連続投与法に優ることはない。従って連続投与法は現在の投与法中最良である。然しもしも間歇投与法を行なわねばならない何らかの理由がある場合は INH が最も適格者と云えよう。逆に間歇投与法を連続投与法に変更することでもたらされる薬剤効果の増加は SM に於いて INH よりも大きいことに留意すべきである。

第5章 結 語

シリコーン被覆スライド培養法を用いて, INH, SM, PAS について, 各単独及び併用の連続投与法と間歇投与法との効果を発育阻止力の面から比較検討した。薬剤作用方式は主として現在臨床的に行なわれている投与法を参考とした。

1 薬剤の種類, 数に関係なく連続作用方式が間歇作用方式に劣ることはない。単独薬剤の場合は, 間歇作用方式が明らかに連続作用方式に劣るが, 併用薬剤数が多くなるにつれて次第にこの差は小さくなる傾向にある。

2 薬剤を単独で作用させた場合, 1 日 24 時間週 2 日作用方式と連続作用方式との発育阻止最低濃度に於ける差は INH で最も小さく, PAS で最も大きく, SM はその中間である。この傾向は PAS-INH 併用及び PAS-SM 併用作用時にも見られる。

3 INH 及び SM に PAS を連続的に併用することで, それぞれの, いかなる作用方式に於いても発育阻止力は増強される。殊に INH, SM の間歇作用時に於いて併用効果は著明である。

4 3 者併用時に於いても INH は連続的に使用すべきである。この場合の SM は, 連続と間歇とで大差は認められなかった。

擱筆するに当たり, 終始御指導を賜った前川助教授, 吉田博士, 並びに直接研究面で御教導下さった津久間博士に深甚の謝意を表します。又長期間にわたって御助力いただいた技術員宮崎, 加藤, 矢島, 菅野の 4 氏に心から感謝の意を表します。

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) 熊谷他：日本胸部臨床, 16-特別号：昭32
- 4) 熊谷他：日本胸部臨床, 15-9, 臨時増刊号：昭31
- 5) G.L. Hobby et al: Proc. Soc. Exper. Biol & Med., 50:281, 1942.
- 6) G.L. Hobby et al: Am. Rev. Tuberc., 76-6: 1031, 1957.
- 7) D.A. Mitchison et al: Am. Rev. Tuberc., 74-2: 109, 1956.
- 8) 森下：胸部疾患, 4-6: 585, 昭35
- 9) 稲津：鹿児島大学医学雑誌, 11-6: 2732, 昭35
- 10) 稲津：鹿児島大学医学雑誌, 12-2: 161, 昭35
- 11) M. Forbes et al: J. Bact., 84-5: 1099, 1962.
- 12) 鈴木：結核, 30-10: 567, 昭30
- 13) Z. Horai et al: Med. J. Osaka Univ., 7-4: 795, 1957.
- 14) K. Kanai: Jap. J. of Med. Science & Biology, 8-1: 63, 1955.
- 15) Ueno: Rep. Med. Res. Probl. Jap. Anti-Tbc. Ass., 3-3: 311, 昭30
- 16) W. H. Wagner: Beitr. Klin. Tub., 110-3: 236, 1953.
- 17) A. R. Armstrong: Am. Rev. Tuberc., 81-4: 498, 1960.
- 18) 東：京大結研紀要, 7-3, 増刊1号: 461, 昭34
- 19) 東：京大結研紀要, 7-3, 増刊2号: 22, 昭34
- 20) 山本：京大結研紀要, 3-1: 49, 昭29
- 21) 池田他：第23回日本結核病学会近畿地方会発表, 昭36
- 22) 久世他：第25回日本結核病学会近畿地方会発表, 昭37
- 23) 池田：未発表
- 24) 河野：京大結研紀要, 7-3, 増刊1号: 437, 昭34
- 25) 藁谷：胸部疾患, 2-6: 270, 昭33
- 26) 藁谷：胸部疾患, 2-8: 363, 昭33
- 27) 藁谷：胸部疾患, 2-9: 417, 昭33
- 28) Hubert Bloch: Am. Rev. Resp. Dis., 84-6: 824, 1961.
- 29) K. Bartmann et al: Beitr. Klin. Tub., 121-4: 460. 1959.
- 30) K. Bartmann et al: Beitr. Klin. Tub., 115-4: 269, 1956.
- 31) K. Bartmann et al: Beitr. Klin. Tub., 118-5: 297, 1958.
- 32) K. Bartmann et al: Beitr. Klin. Tub., 122-4: 251, 1960.