

日本化学療法学会第7回総会一般講演要旨

昭和34年6月5日(第1日)

(1) 実験的肺結核症の血清コリンエステラーゼ及びアルカリ性フォスファターゼについて

吉田利雄・千葉品雄・荒巻公輝
日本医大木村内科

私達はツ反応陰性の家兎を用いて、実験的肺結核症の血清コリンエステラーゼ及びアルカリ性フォスファターゼの変化を追求し、併せてストレプトマイシン、カナマイシン治療を試み、化学療法剤の血清酵素に及ぼす影響の一端を観察した。

結核菌は、H₃₇RaINAH 感性菌及び H₃₇RvINAH 100 mcg 耐性菌を使用した。コリンエステラーゼの測定は樋口 五味氏法で、活性値は mg/dl を示し、アルカリ性フォスファターゼの測定は福山、山下氏法でポダンスキー単位を示す。

1次抗原接種後のコリンエステラーゼ活性値の変動は、1,2週共に処置前の値より僅かに減少が見られる程度である。

1次抗原接種2週以後に2次抗原として、H₃₇RaINAH 感性菌、H₃₇Rv INAH 100 mcg 耐性菌を肺注して、血清コリンエステラーゼ活性値は両者とも3週で最低値を示しているが、耐性菌の方が感性菌より低い値と接種前の値へもどるのが遅れているようである。

2次抗原接種直後から、ストレプトマイシン 100 mg を週2回筋注すると、何れも第1週が最低値で、2週以後は漸次処置前の値にもどるが、化学療法剤を使用しないものよりは回復が早いようである。また、耐性菌群は感性菌群より少々低い値のように思われる。

前と同様なものにカナマイシン 200 mg を週2回筋注すると、この例ではストレプトマイシン治療群と較べて回復の程度が少々おそいように思われる。

1次抗原接種後のアルカリ性フォスファターゼ活性値の変動では、感性菌群、耐性菌群共に著明な変化は見られない。

コリンエステラーゼ同様、2次抗原接種後の変化では、両群共に1,2週と次第に増加して、3週が最高値であるが、4週以後は漸次もとの値にもどる。耐性菌群の方が、左の感性菌群よりも少々高値のようである。

2次抗原接種後、コリンエステラーゼと同様なストレプトマイシン治療群である。両群共2週が最高で以後次

第に処置前の値にもどり、非治療群より回復が早いように思われる。

前のストレプトマイシンの代りにカナマイシンを筋注したものである。感性菌群はストレプトマイシン治療群より少し高い値を示す位で大体同じ程度のカーブであるが、耐性菌群では2週を過ぎても尚増加して4週で最高値を示し、7週後にも処置前の値にもどっていないことが興味ある点と考える。

以上、実験的結核症では、2次抗原接種後のコリンエステラーゼ活性値は1週目で著明に低下し、4週目位から回復するが、耐性菌使用群では感性菌使用群に較べて緩慢である。然るにアルカリ性フォスファターゼ活性値は3週を頂点として増減し、あたかもコリンエステラーゼ活性値と逆三角形を形づくる。

また、これらの家兎に化学療法を行なうと、コリンエステラーゼ活性値もアルカリ性フォスファターゼ活性値も共に非治療群の活性値に較べて変動が少ないようで、従って回復時期も早いようである。ストレプトマイシン治療群よりカナマイシン治療群の方が変化が著しく、回復度も遅いかと思われる。

なお、先に私達が結核病学会で述べた血清鉄、銅、蛋白、残余窒素類の実験的結核症における変化と総合的に判定して、肝機能との関連を一応考えられるのではないかと思う。

(2) 3-(*p*-Alkoxyphenyl)-rhodanine 類の抗結核菌作用について

谷山兵三・安井凡平
大阪大学薬学部

内田 誉・中井陸雄・松下美代
大阪市立大学医学部放射線科

4-チアゾリドン誘導体の化学構造と抗結核菌作用との関連性を解明する手段として、さきに 2-Salicylidene-hydrazono-4-thiazolidone の3位がアルキルまたはアリル基で置換すると、もとの化合物のとき強かつた抗菌作用が著しく弱まる現象が生じた[薬学雑誌 77, 210 (1957)]。また 5-(α -methylalkylidene)-rhodanine 類およびその3位の N-アルキルおよびフェニル置換体を合成したが、抗菌性の増強にはさして影響を与えなかった[薬学雑誌 77, 1236 (1957)]。さらに3位をアルキル、脂肪酸、アリル、アロアルキル、アミノ、フェニルアミ

ノおよびイソニコチノイルアミノ基ら約 17 種の置換体を合成し、*in vitro* の抗菌試験を行なつたが、*p*-メトキシフェニルおよび *p*-メチルフェニル基が特に注目すべき抗菌性を示し、これらのアルキル基の炭素数を 4~6 個を有する化合物にすれば従来の実験結果から推して、かなり有望な抗結核化学療法剤が出現し得るような示唆を得た [第 6 回日本化学療法学会近畿総会 (1958 Nov.)]。

これまで演者らは 2-(*p*-alkoxyphenyl)-1,3-di-(α -pyridyl) guanidine 類のアルコキシフェニルのアルキル基の炭素数 4 個が最高抗菌力をもつ化合物で、L-cystin bis (*p*-alkoxyanilide) では $-C_6H_5$ でそれ以上の炭素数では急激に作用が弱まることを知った [Chem. Pharm. Bull. 7 (1959)]。

本系統の化合物でも同様の傾向を示すであろうと想像されるので、アルキル基の炭素数 1~8 個の直鎖アルコキシフェニル置換体を合成し、抗菌作用を検討したが、前の 2 報告と同様で炭素数の増加と共に作用が強くなり、 $C_4H_9OC_6H_4$ -置換体が最高でそれ以上の炭素数では作用が弱まる。しかも今回の最高抗菌力のもの、前回までのものより作用強く (0.3 mcg/ml), INAH 耐性菌に対しても強力な阻止作用が認められるし、この領域に対する化学療法剤として興味ある化合物のグループである。また 3-(*p*-alkoxyphenyl)-rhodanine の合成原料である *p*-alkoxyphenylamine 類の作用も同じ傾向が存在することも併せて知った。

(3) 2- α -Methylsalicylidenehydrazono-4-thiazolidone 関連化合物の抗結核菌作用について

谷山兵三・安井凡平

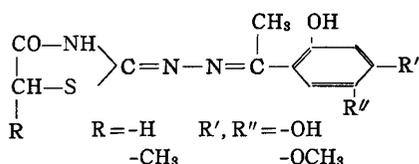
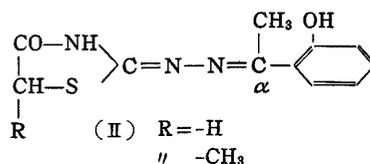
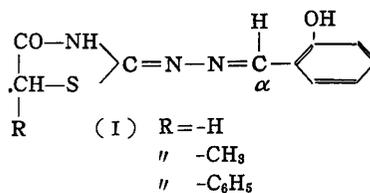
大阪大学薬学部

内田 誉・奥田良雄

国立療養所刀根山病院

さきに 2-Salicylidenehydrazono-4-thiazolidone (I) および 5-アルキルならびに 5-フェニル誘導体が強い抗結核菌作用 [薬学雑誌 75, 382 (1955)] を有するが、その溶解度が小さいことが最大の欠点であった。このためサリチリデン基の α 位のメチル置換体である 2- α -methylsalicylidenehydrazono-4-thiazolidone およびその 5-メチル誘導体である 2- α -methylsalicylidenehydrazono-4-thiazolidone (II) およびその 5-メチル誘導体を合成したところ、溶解度は増したが、抗菌力が 1/10~1/100 に低下するので [薬学雑誌 76, 1365(1956)], サリチリデン基の α 位の置換が抗菌力の発現に大きな障害を来たすのではないかと推定を下したが、今回こ

れと同様な



化学構造で α 位にメチル基を有し、ベンゼン極にはもとの水酸基の他に、水酸基に対しメタまたはパラ位に新しく水酸基かまたはメトキシ基の何れかの 1 個を導入した 8 種の関連化合物を合成し、*in vitro* の抗菌試験に供した。その結果はもとの水酸基に対しメタまたはパラ位に水酸基を有するジヒドロキソ誘導体はむしろもとの化合物より抗菌力が弱くなり、新にメトキシ基の導入は (I) または 5-アルキル (フェニル) 誘導体に近きまで抗菌力 (1~3 mcg/ml) に復したので、 α 位のメチル基は必ずしも重大な影響を及ぼすとは考えられないので、さらに検討を要する。また本研究の化合物の合成原料として dihydroxyacetophenone およびそのモノメチルエーテルのチオセミカルバゾン類 4 種を合成した。これらの化合物は DOMAGK, MITSCH らのチビオン誘導体と化学構造が類似するのであるが、演者らの試験結果では抗結核菌作用において何ら認むべきものはなかった。

[誌上発表]

(4) Glyceraldehyde-INAH の抗結核菌作用

内田 誉・奥田良雄

国立療養所刀根山病院

谷山兵三・土屋 務

大阪大学薬学部

INAH の誘導体は INAH 自身よりも著しく毒性が少く、かつ有効血中濃度の持続が延長する等の利点から、最近では INAH はその誘導体の形で用いられる趨勢にある。

我々はグリセリンが培養上、結核菌の唯一の炭素源であることに注目し、グリセリン代謝のプレカーサーであるグリセロアルデハイドと INAH の結合物である 2-(Isonicotinylhydrazono)-2, 3-propanediol (GA-NH) および 2-(Isonicotinylhydrazono)-1, 3-propanediol (DOANH) を合成し、それ等の抗結核菌力を検査した。

(1) 試験管内抗結核菌作用。合成培地表面培養法、キルヒナー血清培地、Dubos 培地及び小川氏鶏卵培地等を用いて、その抗菌力を検査した。両物質ともに分子量は INAH の 1.53 倍あり、その分子中に含まれる INAH の量に換算して、抗菌力を INAH と比較した。

DOA-NH はいずれの培地でも INAH よりも抗菌力が強く、GA-NH は Dubos 培地と小川培地で INAH よりも強く、全体として試験管内抗結核菌力は DOA-NH > GA-NH > INAH の順に強い。INAH の耐性菌は、試験管内に於て、特に液体培地中では、長時間培養により培養 1 代目にすでに必ず発現するが、両物質ともに耐性菌の 1 代目発現が明らかでない。

(2) 生体内抗結核菌作用。人型結核菌を静脈内より感染せしめた純系マウスに一定量の薬剤をカテテルを用いて胃内投与し、一定期間後肺及び脾の臓器定量培養を行ない、臓器 1 mg 中より発育した集落数を比較することにより生体内抗菌力を検査した。その結果、感染 3 日後より投薬 24 日群では、抗菌力は INAH=GA-NH > DOA-NH の傾向を示したが、感染後 3 週間放置し、生体内で結核病変が一定程度進行してから 30 日間治療を行なった、所謂 Delayed Test 群では GA-NH > DOA-NH > INAH の順に抗菌力が強く、対照として同時に検査した SM の抗菌力は遙かに悪い。

(3) 以上を総括すると、Glycerin と INAH との結合物と言うべき GA-NH 及び DOA-NH は試験管内及び生体内ともに INAH よりも強い抗結核菌作用を示している。

[誌上発表]

(5) 旧ツベルクリン併用 INH 療法中の喀痰結核菌の推移

河盛勇造・徳臣晴比古・前山 昇・河村正一
熊本大学河盛内科

私共は旧ツベルクリン (OT) 又はメチル抗原注射を INH-PAS に併用することにより、喀痰中 INH 濃度の上昇を見ることを報告したが、本併用実施中の喀痰中結核菌を量的並びに染色性の変化について追及し、以下の成績を得たので報告する。

1. 実験方法

i 研究材料：熊本大学河盛内科並びに関係療養所入院中の肺結核患者について、その排菌状況並びに薬剤耐性を検し、主として長期排菌者及び INH 感性或は低耐性のせの 37 例を選択して、毎週 2 回宛喀痰を採取した。

ii 研究方法：肺結核患者に INH 1 日 600 mg 分 3, PAS 1 日 10 g 分 4 投与と共に、旧ツベルクリン 2,000 倍液を 1 ml 1 週、1.5 ml 1 週、2 ml 2 週連日皮下注射し、以上の 4 週を 1 クールとし、1 週目の注射中止の後クールを繰返し、その喀痰塗抹標本を室橋氏の記載によるマラカイト緑、フクシン染色により染色し、百視野中総菌数及び緑染菌を算定し、総菌数に対する緑染菌の百分率を求めた。更にクール開始前及び 1 ml, 1.5 ml, 2 ml と OT を増量する毎に血中及び喀痰中 INH 濃度を測定し、毎クール開始前に直接法により薬剤耐性を検した。

2. 実験成績

i 菌数の推移

治療前の菌数を前値とし、治療による菌数の推移を検索したところ、クール回数には影響なく OT 注射量が 1 ml 又は 1.5 ml の場合には夫々 37 例中 5 例及び 37 例中 2 例に菌数の増加が認められるが、2 ml 以上、即ち概ね第 3 週以後及び中止時は逆に夫々 37 例中 13 例及び 32 例中 10 例に菌数の減少が認められ、且つ後者の時期には喀痰中 INH 濃度の上昇が認められた。

ii 緑染菌の推移

治療前の緑染菌の百分率を前値とし、治療による緑染菌の推移を検したところ、菌数の増加をみた OT 1 ml, 1.5 ml の注射期間に緑染菌の率は夫々 37 例中 5 例及び 37 例中 2 例に減少を認めるが、2 ml 以上及び中止時は夫々 37 例中増加 2 例減少 5 例及び 32 例中増加 2 例減少 2 例であり、緑染菌の率は増減相半ばする結果をえた。

iii 空洞内容と空洞壁組織中結核菌の染色性

60 例の切除病巣を空洞内容と空洞壁組織とに分離し、各無菌生理的食塩水を加え均等化し、その一部を載せ硝子に塗抹し、マラカイト緑、フクシン染色をし、残余全量に 8% NaOH を加え 1% 小川培地に培養した。

病巣内容及び空洞壁ともに塗抹陽性であった 12 例について、緑染菌の率を検したところ、空洞内容に比し空洞壁組織中の緑染菌の率が高いものは 12 例中 6 例で、空洞内容の方の率が高いものは 1 例のみであった。

3. 総括

OT 併用初期に於て、室橋氏マラカイト緑、フクシン染色による緑染菌の率は減少し、逆に菌数は増加するが、OT 増量に伴って喀痰中 INH 濃度の上昇を認める第 3, 4 週からは緑染菌の率は増減相半ばし、続いて陰性化を見る例が多くなった。

この成績を、切除肺病巣の空洞壁に於ける菌の染色性と考え合せると、OT 併用による乾酪物質の排除が想像された。

(6) 2,3 新サルファ剤の抗結核作用について

影浦正輝・栗村武敏

神戸市立玉津療養所

伊藤文雄

阪大堂野前内科

近時 Sulfisoxazole が抗結核剤として用いられ、特に INH との併用が臨床的にも使用されつつあるが、最近サルファ剤の種々なる誘導体が出現しており、これら新サルファ剤の抗結核作用を基礎的ならびに臨床的に検討したのでここに報告する。

試験管内実験

使用薬剤は Sulfisomezole (以下 MS) および Sulfamethizole (SMZ) と、従来からある Sulfisoxazole (SI), Sulfathiazole (ST) の 4 種で、結核菌発育阻止作用を検した結果、概ね 20 mcg/cc にて完全発育阻止を認められた。

次に SM, PAS, INH 3 剤との併用効果を、H₃₇Rv 株、10% 血清加キルヒナー培地を用いて検討したが、各サルファ剤共に SM あるいは PAS との間にはほとんど協力作用を認めず、INH との間には明らかな協力作用を認めた。次に MS, SMZ あるいは INH を所要濃度に加えた 10% 血清加キルヒナー培地に H₃₇Rv 株 0.1 mg を接種し、3 週毎に継代培養を重ねて INH 耐性の上昇を検討したが、INH 単独培地では 5 代目に 200 mcg INH 耐性菌を得たのに対し INH 添加培地に MS あるいは SMZ を 2 mcg/cc に加えた培地を用いて INH 耐性上昇阻止を見た所、5 代目に於て両者共 5 mcg INH 耐性に止まつており、INH 耐性上昇に対する MS および SMZ の阻止効果を明らかにみとめた。

臨床成績

MS, INH 併用治療および SMZ, INH 併用治療は、INH, PAS 併用治療と共に、病型別よりみると、MS, INH 併用群と INH, PAS 併用群とほぼ相似た症例構成を示すが、SMZ, INH 併用群では重症例が多く、空洞に於ても他の 2 群に比し硬化壁空洞を高率に認めた。

次に胸部 X 線像に対する効果を見ると、MS, INH 併用群と INH, PAS 併用群とはほぼ同程度の改善率を示したが、SMZ, INH 併用群では 35% の軽度改善率を認めたにすぎなかつた。空洞に対する効果に於ても、MS, INH 併用群 59%, INH, PAS 併用群 57% と、同様の

改善率を認めたのに対して、SMZ, INH 併用群では 28% の軽度改善率を認めたにすぎなかつた。

次に喀痰中結核菌の推移を見ると、塗抹において、MS, INH 群の菌陰転率は 69% であり、INH, PAS 群の 62% とほぼ同程度であつたが、SMZ, INH 群では 25% の低率を示し、培養においても塗抹とほぼ同様の成績であつた。

なお治療終了時排菌陽性者の耐性検査を行ない、INH 1 mcg 以上耐性例の出現率を見ると、MS, INH 併用群では 14 例中 3 例、21%, SMZ, INH 併用群では 12 例中 3 例、25%, INH, PAS 併用群では 16 例中 3 例、19% であり、MS, INH 群においては INH, PAS 群と同程度の INH 耐性獲得阻止をみとめた。SMZ, INH 群の臨床成績が他の 2 群より劣るのは、先にのべた如く、重症例の多かつた為と考えられる。

なお副作用であるが、両剤共、軽度の嘔気、食欲不振を訴えた者を数例認めたが、治療継続には差支えなかつた。また MS, INH 群にて発熱例を 1 例認めたが、此患者は PAS アレルギーの既往があり、体質的なものと考え治療を中止した。血液検査、肝機能検査にて異常を認めたものは無く、全治療期間を通じて重篤な副作用は認められなかつた。

また MS, INH 群、SMZ, INH 群においては、治療終了時に、それぞれのサルファ剤耐性を検査したが、20 mcg 以上耐性菌の発現は認められなかつた。

サルファ剤を抗結核剤として使用した例は従来から見られるが、ストレプトマイシンやヒドラジド程の強力な効果は期待出来ない。しかし PAS その他従来の抗結核剤耐性患者が多数見られる現在、われわれが新サルファ剤、とくに Sulfisomezole と INH 併用治療により、INH, PAS 併用例に劣らぬ臨床成績をおさめたこと、INH, PAS 併用群と同程度の INH 耐性獲得阻止を認めたこと、又これ等新サルファ剤の耐性菌出現の見られなかつたことは、重篤な副作用を認めなかつたことと併せて考えて、結核の如き慢性疾患に対し長期投与の可能性を与えるものであり、今後抗結核剤の 1 つに加えられるべきものとする。

(6 追加) Sulfa 剤の試験管内抗結核菌実験及び臨床実験

小川政敏・江波 戸

国立東京療養所

私共も Sulfa 剤の結核菌に対する試験管内実験及び臨床実験を行なつたので追加する。

試験管内実験：方法は直立拡散法と稀釈法によつた。本法による拡散は増川氏らの 1 次元拡散公式に適合する

ので、同氏らの方法に従い $y = \log c$, $y^2 = \log c$ 直線を用いて薬剤の発育阻止濃度を求めた。試験菌は人型結核菌 H₃₇Rv 株 0.001 mg 接種, 2 週間培養。培地は 1% 小川培地 (一部は Kirchner 寒天を併用) を用いた。完全発育阻止, 不完全発育濃度 (多少なりとも菌の発育で阻止される) は, Sulfisoxazol, Sulfamethyrol は夫々完全 10 mcg, 不完全 18 mcg 前後で, 最もすぐれ, Methyl-sulfanilamidoisoxazol は 15 及び 26 mcg で之につき, 長持続性の Sulfaphenylparazol 12 及び 30 mcg, Sulfamethoxypridazine 18, 及び 44 mcg で, 効力は半分に近く, Sulfon 剤の D. D. S. 及びその誘導体の Promin は更に効果が弱い。

臨床実験: (1) Sulfisoxazol については既報の如くであるが, Paraphenylparazol 1.0 g 分 2, INH 0.2 分 2 を毎日 INH 0.25~1 mcg 耐性の結核患者 4 名, 及び初回治療者 1 名につき経口投与し, 3 カ月観察した。投与 1 例は shock をおこし他は不変であった。顕著なことは喀痰が投与後増加し, 黄色調となり, 粘稠度をまし喀出しにくくなる。之に反し Sulfisoxazol に再び変えると痰も著明に減少し色調もうすくなり, 量も減少して対照的であった。以上の所見から結核に対する臨床効果は結核者に対する Sulfa 剤の抗菌力のみならず, 他の機序も考慮する必要がある Sulfa 剤であつても同一に論じ難い様に思われる。

(2) 外科手術に Sulfamethyrol を併用した例。SM・INH 耐性患者の肺切除術の際 Sulfamethyrol を毎日 2g を投与したが, 1 名も合併症なく良好であった。小数例であるが, 有望である。

(7) Streptomycin 高度耐性菌接種によるマウス結核症の治療実験について

山岡三郎・増井準治・三富和郎・大和 宏
能勢 亨・宮入文悦・押小路忠雄
横浜警友病院 (院長 岩井誠四郎)

化学療法の長期化に伴い, 抵抗性菌の増加が治療上重大な問題となつて来た。今回は DDN 系雄マウスを使用し, SM 100 mcg 以上耐性強毒人型結核菌黒野株の 0.2 mg をマウスの尾静脈より接種し, 下記の各種治療群に分けて, その効果を比較検討した。

治療群	治療法
A群	PAS 毎日, SM, INAH 週 2 回
B群	PAS, INAH 毎日
C群	PZA, INAH 毎日
D群	PAS, INAH 毎日, SM 週 2 回

E群	PAS 毎日, VM 週 2 回
F群	INAH 毎日, VM 週 2 回
G群	感染後無処置 (対照群)
H群	未感染無処置

1 群各 10 匹として施行し, 各群 2 匹宛, 定期的 (3 週, 7 週, 12 週, 16 週) に屠殺し, その病理細菌学的検査を行なつた。薬剤の 1 日の投与量は SM 500 mcg, PAS 5,000 mcg, INAH 100 mcg, PZA 1,000 mcg, VM 1,000 mcg である。

実験成績

体重曲線: 定期的に各群の平均体重を測定したが, 対照群 (G群) 及び E群は 2 週以後に於て著明の体重減少が見られ, 他の群に於ては健康マウス (H群) と略同程度に体重の増加を示している。

各治療群の肺及び脾の平均重量は E群を除き他の治療群は対照群に比して, 極めて低い値を示し, 薬剤の効果が著明に現われている。

各治療群に於ける治療効果の比較: 対照群 (G群) は菌接種後 3 週前後に於て, 又 E群も 4 週前に全く死亡した。何れも剖検の結果結核死である事を確認した。他の群に於ては事故死を除き自然死は認められなかつた。3 週治療の右肺より分離した菌群に於て, 対照群と治療群を比較すると, A群は対照群に比し, 約 1/16 B群は 2,500/1 C群は 1/1,500 D群は 1/4,000 E群は 1/5 F群は 1/2,000 の菌数を示し, B, C, D, F 群は薬剤の効果が著明に現われている。3 週治療から 16 週治療に至る各群の培養成績を比較すると, A 及び F 群は 16 週治療にかけて漸次菌数の減少を示すが, B 及び C 群は 12 週にかけては菌数の著明な減少を示すも, 16 週に及び菌数の増加が示され, 又 D 群も 16 週に及び菌の増殖傾向が現われている。B 群 (INAH 及び PAS 毎日投与) と C 群 (INAH 及び PZA 毎日投与) の治療効果の間に有意の差は認められなかつた。

耐性について

SM 耐性度の変動並びに併用方法別の耐性菌発現の状態を観察した。PZA 耐性検査用培地には pH 5.5 に修正した。1% 小川培地を, VM 耐性検査用培地には Kirchner 寒天培地を使用した。

SM 耐性度の変動について

A 群 E 群及び G 群に於てはその耐性分布の上で著明な変動は認められなかつたが, B, C, D, F 群では著明の低下が認められた。即ち, B, F 群の 16 週治療, 及び D 群の 12 週, 16 週治療の肺より分離された菌群について見ると, 10 mcg/cc では完全耐性を示すも 100 mcg/cc に於ては極く僅かの部分耐性が認められたに過ぎなかつた。

PAS, INAH, VM 及び PZA 耐性の変動について、これ等薬剤の使用群に於て、その耐性分布の上で著明なる変動は認め得なかつた。

病理所見

臓器の肉眼的病変は各群とも肺に於て強く、次で脾に認められ、肺、腎に於ては不明であつた。対照群(G群)とE群に於ては肺の充血も強く、又結核結節形成も多数に認められている。病理組織学的所見として、E及びG群は肺に於ける病巣の大きさ、分布も広範であり、液性滲出、多形核白血球の浸潤、核破片の存在が著明に認められると共に、大小の壊死巣を多数に認めた。A群に於ては病巣の分布は未だ広範なるも、壊死巣の存在は殆んど消失して居る。B, C群は病巣も比較的良く限局化し、円形細胞、泡状細胞、大単核細胞の浸潤を主とし、周辺肺組織は気腫状を呈している。F, D群の肺病巣の分布は更に小さく、略胞隔に一致して円形細胞浸潤を主とした限局性小病巣の撒布を僅かに認める程度であつた。

結 語

1. SM 高度耐性菌接種によるマウス結核症に対し、INAH の毎日併用療法が一層有効であり、PAS, VM の併用療法は無効であつた。
2. INAH 毎日併用投与群に於て、SM 耐性の低下が認められたものがある。
3. 病理組織像においては、PAS, VM の併用群が相当病変強く、INAH 毎日併用投与群間に於ては治療効果を云々するに足る程著明な差異は認めなかつた。

(8) 肺結核患者より分離した SM 発育増強性結核菌について

藤 谷 正 信

大日本紡績貝塚工場附属病院

ここに報告する SM 発育増強性結核菌とは SM 含有及び非含有いずれの培地に於ても発育するが、前者に於て発育が促進される菌株をいい、SM がなければ全く発育しない SM 依存株と区別している。

著者は結核患者の喀痰より SM 発育増強株を分離し、これを用いて以下の実験を行なつた。

1) SM 発育増強株の分離

喀痰より分離した 15 株の SM 100 mcg 耐性菌を、SM 100 mcg/ml 加小川平板培地に稀釈培養して得た各 5~15 コの集落を SM 100 mcg/ml 加 KIRCHNER 培地に培養し、3 週間後の発育が対照培地より旺盛な菌株を SM 発育増強株とみなした。その結果、132 コの集落中 6 コの SM 発育増強性菌株を得た。この中症例 No. 1, No. 2 よりの 2 菌株を W 株及び O 株と称し、以後 SM

100 mcg/ml 加小川培地に継代培養した。

この 2 株を種々の濃度の SM を含有する小川培地に培養した結果は、SM 量の多い程発育が良好であつた。W 株、O 株の対照及び SM 加小川培地上の発育は、両者間に著明な差を認めた。

2) 継代培養の影響

W 株及び O 株の長期間に亘る SM 加小川培地継代培養後、並びに W 株の SM 含有及び非含有 DUBOS 培地 5 代継代培養後も SM 発育増強性を維持していた。

3) W 株の単個菌より得た集落の SM 発育増強性

継代 11 代の W 株を SM 含有及び非含有小川培地に稀釈培養し、各培地より 5 コの集落をとつて増菌した。これらの菌株の SM 発育増強性を検討すると共に、SM 含有および非含有小川培地に移植して生じた集落中より、任意に 1 コ宛とり増菌した。ついでそれらの菌株の SM 発育増強性の有無を検討したが、全て SM 発育増強性を示した。

4) W 株のモルモット全血液内に於る発育

W 株を用いて健康モルモットの全血液及び SM 100 mcg/ml 加全血液内での発育を S. C. C. 法で検討したが、W 株は全血液内でも SM の存在により発育が促進された。

5) W 株及び O 株接種マウスの生存期間

両菌株の 0.5 mg を dds 系マウスの尾静脈内に接種し、体重 g 宛 10, 20, 50, 100 mcg の各 SM 連日投与群と対照群の各群 10 匹宛とし、感染後 35 日間それらの生存日数を観察した。

W 株接種群では期間中に死亡するものなく、O 株接種群においては、対照の 60% が生存したのに対し、SM 投与群では 18 日より死亡が見られ、SM 投与の影響が明らかに認められた。

6) マウス静脈内接種毒力実験

W 株、O 株、H₃₇Rv-SM 耐性株の SM 加 DUBOS 培地培養菌を、Na₂-Nishida 系マウスの尾静脈内に接種した。SM 1 mg, 5 mg 各連日投与群及び対照群に分け(各群 15 匹) 3, 5, 7 週後に剖検、肺、脾よりの菌培養を行なつた。

W 株接種群では各群とも肉眼的所見は軽度で死亡するものはなかつた。O 株接種群では SM 投与群にのみ第 5 週より 8 匹の死亡がみられ、死亡したマウスの肺病変は特に高度であつた。W 株接種群の培養成績では、SM 5 mg 投与群に於て 5 週以後に肺からの発生集落数が対照に比し稍多い傾向を認めるに過ぎなかつた。また O 株接種群では、5 週以後に SM 投与群において臓器からの発生集落数が対照より多い傾向がみられた。H₃₇Rv-SM 耐性株接種群については、SM 投与による著差は認めえな

かつた。

7) モルモット静脈内接種毒力実験

W株, H₃₇Rv-SM 耐性株をモルモットの静脈内に接種し, 対照群, SM 20 mg 及び 100 mg 連日投与群とし, 3, 6 週後に剖検, 臓器の定量培養を行なつた。

W株接種群では 6 週後において SM 100 mg 投与群の肉眼的所見が稍著しく, をた各臓器からの集落数が他の 2 群に比し明らかに多かつた。H₃₇Rv-SM 耐性株接種群では, 各週とも肉眼的並びに培養成績において, SM 投与の影響はみられなかつた。

総 括

肺結核患者の喀痰より分離した 15 株の SM 100 mcg 耐性菌について, 132 コの集落を検査し, 6 コの SM 発育増強性菌株を得, この中 W 株及び O 株を用いて実験を行なつた。

1) W 株及び O 株は長期間の継代培養によつてもその性質を維持し, W 株の単個菌より得た集落は皆 SM 発育増強性を示し, また動物通過後も同様の性質を認めた。

2) W 株及び O 株を動物に静脈内接種して, SM 投与の影響を検討したが, 生存日数または臓器よりの菌培養成績において SM 投与による影響を認めた。H₃₇Rv-SM 耐性株接種動物においては, SM 投与による著差を認めなかつた。

(9) 細胞の直接関与しない生体内環境と細胞の関与する環境における抗結核剤の動き方に関する研究 (第 1 報)

伊藤 薫・伊藤澄子

国立三朝療養所

各種抗結核剤の生体内での作用機序を推定し, 適切且つ充分な化学療法を決定する一助として, 薬剤の流血中濃度の消長と共に組織液が薬剤投与によつて, 結核菌に対し如何に作用する様になるかを知る為, 自身考案した Chamber 法 (京大結研紀要第 7 巻第 1 号昭和 33 年) を用い新鮮な細胞の働きに関与しない乾酪巣或は, 空洞のモデルとしての Chamber O 及び L を用い実験を行なつた。一般に流血中の薬剤濃度は一時的には高濃度となるが発育阻止濃度持続時間は 4 時間位の短時間である。

然るに組織液では可成り constant に結核菌の発育を阻止し得る。但し SM 20 mg/kg 週 2 回 INAH 6 mg/kg 毎日, INAH 10 mg/kg 週 2 回単独及び INAH 6 mg/kg に PZA 50 mg/kg を併用して毎日投与した場合等は微かな発育を見, 使用量が不足の傾向が認められた。PZA は慣用使用量では体液のみの環境に於ては抗結核菌作用

は全く認め得なかつた。INAH 及び SM は, 生体内で蛋白と結合することなく低分子のままて作用することが証明された。PZA も含めて各種の抗結核剤は単独でも, 併用しても 1 カ月以内には組織液中では殺菌効果は認め得なかつた。

一方非壊死病巣である新しい滲出巣中では結核菌は液性の因子のみでなく新鮮な細胞の活発な働きを受けていることは勿論である。この意味に於て Chamber 法に工夫を加え新しい Chamber Z を用い化学療法剤を使用した動物の個々の細胞の結核菌に対する直接の働きを見ると共に U 字板法と名付けた全く新しい実験方法を考案し, 新鮮な細胞の働き自由に関与する新しい病巣のモデルとなし得たので, これら多くの実験方法を併用し, 各種抗結核剤の働きを体液と細胞の 2 つの面から *in vivo* に於て分析的に研究を行なつた。

研究方法 Chamber Z は Chamber O の透過膜に注射針で穴をあけ遊走細胞の浸入を許すものである。U 字板法とは厚さ約 1 mm で幅約 5 mm の合成樹脂板の略々中央を熱したピンセットで挟み樹脂板を柔らかくし厚さ約 1.5 mm のスライドガラスを挟むようにして折り曲げる。この際 1 片を長くすると皮下又は腹腔内への挿入其の他の点で便利である。滅菌は 60°C 約 30 分温浴し約 60°C に調節したパラフィン溶融器等で乾燥する。かかる U 字板の内面に石油ベンゼン法で比較的単個菌に近くした菌液を塗抹し動物の皮下又は腹腔内に挿入する。短期間に内容は遊走細胞で満たされ塗抹結核菌はかかる環境に存在することになる。

用いる抗結核剤投与は挿入と同時にしない, U 字板と共に Chamber O 及び Chamber Z を同一家兔に挿入し一定の期間後互の塗抹菌の発育の有無, 程度, 細胞との関係等を比較する。挿入 U 字板を取り出す際には, 長い方の 1 片をつかみ, 引き出すと容易である。取り出した U 字板はピンセットで無理に拵げると曲り角から容易に 2 枚に折れる。この各片及び内容を用いて, 塗抹或は培養を行なう。

実験結果

(1) 静菌作用; PZA を 50 mg/kg 投与家兔に於て挿入 2 週間目の U 字板或は Chamber Z に於ては Chamber O に於けるより塗抹菌の発育がやや遅く, 少くとも明らかな細胞内発育像に認められなかつた。PZA 100 mg/kg でも略々同様の傾向が認められた。又両者共肺野に Tuberkel が認められた。

SM 1 日 10 mg/kg では各挿入法に於て軽度の発育像が認められたが特に細胞内でも増殖像らしいものが認められた。SM 1 日 1 回 10 mg/kg 及び PZA 50 mg/kg 毎日併用の場合には各挿入法に於て発育像は認められな

かつた。対称無処置家兎に於ては細胞の内外を問わず各挿入法に於て塗抹菌が良く発育していた。

塗抹菌の生死の判定は挿入 50 日後に無菌的に取り出した内容を岡片倉培地に塗抹して行なつたが全てに於て未だ明らかな殺菌の現象は認められなかつた。

又、耐性の上昇は SM に対してのみ検定したが Chamber Z 及び U 字板等細胞の関与する場合に於ては耐性の上昇が遅れる傾向が見られた。

(10) 人体に投与された SM 並びに PAS の血中に於ける消長の個体差と、それに及ぼす SM 並びに PAS の長期使用の影響について

内藤益一・津久間俊次・中西通泰
京都大学結核研究所北学療法部

一定量の INAH を人体に投与したあとの、血清中の INAH 濃度を生物学的に測定して、INAH の代謝には著明な個人差のあること、然し各個人に就いては INAH の代謝は、長期間 INAH を服用しても略一定したものである事を認めて、33 年の本会総会で報告した。

今回は続いて SM 及び PAS に就いて同様にその血中に於ける消長の個体差と、SM 並びに PAS の長期使用がそれに及ぼす影響を検討した。

実験方法

SM 並びに PAS の血清中に於ける生物学的に有効な濃度の測定には稀釈法を用いた。即ち、SM は 30 mg/kg を筋注、PAS は注射用 PAS-Na を 20 mg/kg の割で静注し、1 時間後に採血、それから分離した血清を、KIRCHNER 液体培地で 10 本の試験管を用いて、1.5 倍の稀釈を行ない、これに人型結核菌 H₃₇Rv を接種、4 週間 37°C で培養後、この稀釈列と別にもうけた既知濃度の SM 或は PAS を含む対照列とに於ける結核菌の発育阻止を肉眼的に比較判定する事により計算した。

実験対象

いずれも京大結研に入院中の 20 才から 40 才までの成人男女である。

実験成績

既往に SM を全く使用した事のない者 28 名では血清中 SM 濃度は最低 14.8 mcg/cc、最高 113 mcg/cc、平均 45.7 mcg/cc であり、一方現在まで SM を継続使用中の者、43 名では最低 9.4 mcg/cc、最高 113 mcg/cc、平均 44 mcg/cc であつた。SM 使用中の者はそれまで

に SM を、平均して 70 g を使用しているが、SM 未使用者と比較して、SM 使用の有無、及び量の多少によつて血清中濃度に差を認める事はなかつた。血清中 SM 濃度は両者とも著明であつた。

同一患者について SM を含む化療を始める前と、一定期間 SM 注射を続けたあととで、同じ方法で血清中濃度を比較測定したが、その結果、SM を長期間使用しても血清中濃度に大きな変動を来すことなく、増減の傾向にも一定したものは認められなかつた。この事は家兎を用いた実験でも同様であつた。即ち、家兎に SM 20 mg/kg の割で 1 日 1 回、隔日に約 3 カ月間に 40 回の注射を行ない、その前後に於ける血清中濃度を測定したが、やはり著しい変動は無かつた。

次に家兎に四塩化炭素を注射して肝障害を起し、その前後に於ける血清中 SM 濃度を測定したが、血清中 SM 濃度は肝障害により、明な変動を受けることはなかつた。

次に PAS に就いても SM に行なつたと同様の実験を行なつたが、その結果、PAS では以上に述べた SM とはやや異なる成績を得た。即ちその 1 つは、PAS の代謝は既往に PAS を使用した事のない者と、現に使用中の者との異ると云う事である。PAS 未使用者の者 24 名の血清中濃度は最低 0.8 mcg/cc、最高 15 mcg/cc、平均 6.0 mcg/cc であり、一方 PAS を現に使用中の者 38 名では、その平均使用量は 2,600 g であるが、最低 0.8 mcg/cc、最高 33.3 mcg/cc、平均 15 mcg/cc となり、いずれも著しい個体差のあることは SM と同様であつたが、PAS 使用中の者の血清中濃度は、未使用者のそれの 2 倍以上の高い値を示し、PAS を継続内服することにより血清中濃度の上昇する傾向を認めた。

次に四塩化炭素で肝障害を起した家兎では、障害を起す前に較べて血清中濃度は SM では著変がなかつたが、PAS では著明に高くなることであつた。即ち PAS では肝障害を起した家兎は約 3~5 倍の高い値を示した。

以上を要約すると、人体に投与された SM 並びに PAS の血清中濃度の個体差は INAH と同じく著明であつたが、連続投与の血清中濃度の変動に及ぼす影響は SM では認めず、PAS では血清中濃度を高める様な傾向を生じた。

【質問】

鳥居敏雄(北大)

1. SM の血中濃度と腎機能との関係をみたか。
2. 我々は SM が GFR と同じに排泄されるのを見たが、この点を検討されたい。

【解答】

中西通泰(京大結研)

私共の実験対象には腎障害を認める者はなかつたので、この点の検討は出来なかつた。