

## Sulfisoxazole の結核菌培養に及ぼす影響

山 田 生 郷

九州大学医学部第一内科 (主任 山岡教授)

同和鉱業小坂鉱山病院 (院長 佐藤二郎)

松 岡 茂

九州大学医学部第一内科

(昭和 34 年 2 月 12 日受付)

## 1. 緒 言

1943 年 W. A. WAKSMAN により Streptomycin (以下 SM と略) が発見され、次いで PAS や INAH 等が結核症に有効な事が立証され、結核治療上臨床的に広く用いられる様になった。一方、1933 年 DOMAGK に依つて創製された Sulfa 剤は、その後長足の進歩を遂げると共にその応用範囲も広まってきた。1944 年 Roche 製薬会社にて、M. HEFFER, H. M. WEST 等により創製された Gantrisin (3, 4-Dimethyl-5-sulfanilamido-isoxazole) (Sulfisoxazole) (Thiasin [山之内]) (以下 SI と略) が、SCHNITZER 等により Sulfa 剤としての優秀性が立証され、最近では更に抗結核作用を有する事が判明し、広く世間の注目を集める様になった。そこで、SI の抗結核作用ならびに他の抗結核剤との協働作用を追究せんとして、人工的に作製した結核菌液に、SI ならびに他の抗結核剤を作用せしめ、その培養に及ぼす影響を検討し、次の様な結果を得た。尙実験に用いた SI は山之内製薬株式会社提供の Thiasin である。

## 2. 実験方法並びに成績

## 2.1. SI の試験管内発育阻止作用

## 2.1.1. 実験方法

1% 第一磷酸カリ培地に 3~6% 週間培養した人型結核菌 H<sub>37</sub>Rv 株及び肺結核患者から分離した SM, PAS 及び INAH の 100 mcg に対し耐性を有する各結核菌株を混菌のまま秤量し、磨砕コルベンによる手振法で滅菌

蒸溜水を用いて 10 mg/cc × 10<sup>-4</sup> のものとして、これを 0.1 cc 宛、SI を夫々 0.1, 0.5, 1.5, 10, 15, 20, 30, 40 及び 50 mcg/cc 含んだ 1% 第一磷酸カリ培地に培養し、37°C の孵卵器で 4 週間後に判定した。

## 2.1.2. 成績 (第 1 表)

H<sub>37</sub>Rv 株においては 30 及び 40 mcg/cc で発育が阻止された。SM 100 mcg 耐性宮田株においては 40 mcg/cc, PAS 100 mcg 耐性稲村株においては 20 及び 30 mcg/cc, INAH 100 mcg/cc 耐性新野株に於ては 15 mcg/cc で発育が阻止され、一般に SI の抗菌力は 15~40 mcg/cc の範囲内にあつた。

## 2.2. SI 単独並びに SI と他抗結核剤との併用の結核菌培養に及ぼす影響

## 2.2.1. 実験方法

前項に述べたと同様の方法で、H<sub>37</sub>Rv 株の 10 mg/cc × 10<sup>-4</sup> の菌液を作製し、次いでその 0.4 cc を、あらかじめ段階稀釈した SI 並びに SM, PAS 及び INAH の生食水溶液 2.6 cc に加え、混和直後と室温放置 1, 2 及び 3 時間目にその 0.3 cc を同量の 1% NaOH 水に混じ、更にその 0.1 cc 宛を 1% 第一磷酸カリ培地 3 本に接種した。培地はこれを動かして菌液をその斜面に平等に行き渡らせ、1 昼夜斜面台にねかした後封蠟し、37°C の孵卵器で 4 週間培養した。かくて薬液を含まない混和直後培養の菌集落数を対照とし、SI 並びに SI と他抗結核剤との併用効果を検討した。

## 2.2.2. 成績

## 2.2.2.1. SI 単独 (第 2 表)

SI の濃度を 5, 10, 15, 20, 25, 30 及び 40 mcg/cc とすると、常に平行的でないが、試験管内での SI に対する接触時間の延長に伴つて、培養による菌集落数は減少した。然し乍ら SI 濃度を 40 mcg/cc 迄急速に高めても菌集落数の減少は緩か且つ動揺が甚しく、直後培養に於ては、SI 濃度の影響は 25 mcg/cc であつた。即ち、対照集落

第 1 表 Thiasin の結核菌に対する試験管内発育阻止濃度

菌 株	SI 濃度 (mcg/cc)	0.1	0.5	1	5	10	15	20	30	40	50
H <sub>37</sub> Rv 株	{	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-
		卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-
宮 田 株 (SM 100 mcg 耐性)	{	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-
		卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-
稲 村 株 (PAS 100 mcg 耐性)	{	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-
		卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-
新 野 株 (INAH 100 mcg 耐性)	{	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-
		卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-	-

第2表 SI の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度 (mcg/cc)		対照	5	10	15	20	25	30	40
接触時間	直後	225	222	219	195	192	159	171	150
	1時間	210	204	202	189	159	198	201	93
	2時間	174	150	117	120	90	105	87	57
	3時間	135	87	69	66	72	78	63	45

(数字は発育集落数)

第3表 SI+SM の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度		対照	5		10		15		20		25		30		40	
SM 濃度			0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	8.0	12.0							
接触時間	直後	284	265	230	202	190	184	127	39							
	1時間	266	233	213	179	171	149	120	26							
	2時間	250	222	209	185	160	135	123	31							
	3時間	198	187	143	140	118	91	68	43							

(数字は発育集落数)

数の 225 に対し 159 であった。

## 2.2.2.2. SI+SM (第3表)

薬剤濃度は SI 5 mcg/cc+SM 0.5 mcg/cc (以下 mcg/cc 略), 10+1.0, 15+1.5, 20+2.0, 25+4.0, 30+8.0 及び 40+12.0 とした。

直後培養に於ては, 15mcg/cc に於て 71.1% となり, 30 mcg/cc では集落数は約半分の 127 となり, SM との協合作用が認められたが, 一般に試験管内に於ける接触時間及び濃度に対する関係から見て, 培養による菌集落数の減少は, 低濃度に於て特に SI 単独の場合に勝っている。

## 2.2.2.3. SI+PAS (第4表)

薬剤濃度は SI 5 mcg/cc+PAS 0.125 mcg/cc (以下 mcg/cc 略), 10+0.25, 15+0.5, 20+1.0, 25+2.0, 30+4.0 及び 40+8.0 とした。

試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見て, 培養による菌集落数の減少は, SI 単独に比して勝れ, 特に低濃度の併用では著しく SI と SM の併用をも凌駕したが, 高濃度の併用ではこれに劣った。ただ, SI 40 mcg/cc と PAS 8.0 mcg/cc の併用により急激に発育阻止に至った事が注目された。

## 2.2.2.4. SI+INAH (第5表)

薬剤濃度は SI 5 mcg/cc+INAH 0.06 mcg/cc (以下 mcg/cc 略), 10+0.125, 15+0.25, 20+0.5, 25+1.0, 30+2.0 及び 40+4.0 とした。

試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見て, 培養による菌集落数の減少は, その全域にわたって SI 単独は勿論, SI+SM 及び SI+PAS に比し著しかった。特に SI 10 mcg/cc と INAH 0.125 mcg/cc

の併用により菌集落数は約半分となり, SI 40 mcg/cc と INAH 4.0 mcg/cc の併用により完全に発育が阻止された。

## 2.2.2.5. SI+SM+PAS (第6表)

薬剤濃度は単独及び2者併用の場合と同様にした。

試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見て, 培養による菌集落数の減少は, SI 単独及び SI+SM には全域にわたって勝れており, SM+PAS に対しては高濃度に於て著しかった。即ち, SI 30 mcg/cc, SM 8.0 mcg/cc, PAS 4.0 mcg/cc の併用に於て菌集落数は 20% 以下に減少し, これは時間の経過と共に著明となった。

## 2.2.2.6. SI+SM+INAH (第7表)

薬剤濃度は単独及び2者併用の場合と同様にした。

試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見て, 培養による菌集落数の減少は, SI 単独に比し低濃度ではそう著明ではないが, 高濃度では特に著しく, 3者併用の効果が窺われ, 2者併用のうち SI+SM には著しく勝れ, 又 SI+INAH に比しては低濃度では著明

第4表 SI+PAS の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度		対照	5		10		15		20		25		30		40	
PAS 濃度			0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0							
接触時間	直後	289	199	188	170	159	188	120	0							
	1時間	246	183	148	180	161	177	182	0							
	2時間	184	110	76	98	85	101	84	0							
	3時間	147	94	75	66	83	80	88	0							

(数字は発育集落数)

第5表 SI+INAH の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度		対照	5		10		15		20		25		30		40	
INAH 濃度			0.06	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0							
接触時間	直後	395	316	225	193	167	152	66	0							
	1時間	383	228	218	185	159	108	52	0							
	2時間	317	179	160	154	111	72	43	0							
	3時間	292	178	160	105	82	56	30	0							

(数字は発育集落数)

第6表 SI+SM+PAS の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度		対照	5		10		15		20		25		30		40	
SM 濃度			0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	8.0	12.0							
PAS 濃度			0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0							
接触時間	直後	258	201	174	150	126	114	45	36							
	1時間	216	192	168	153	123	110	48	35							
	2時間	205	180	147	138	117	105	39	24							
	3時間	172	159	141	132	105	60	24	8							

(数字は発育集落数)

第7表 SI+SM+INAH の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度		5	10	15	20	25	30	40
SM 濃度	対照	0.5	1.0	1.5	2.5	4.0	8.0	12.0
INAH 濃度		0.06	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0
接触時間	直後	223	175	161	131	96	66	0
	1時間	169	103	87	87	58	54	0
	2時間	118	75	62	53	52	37	0
	3時間	92	56	51	39	34	21	0

(数字は発育集落数)

第8表 SI+PAS+INAH の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度		5	10	15	20	25	30	40
PAS 濃度	対照	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
INAH 濃度		0.06	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0
接触時間	直後	227	91	72	61	56	58	33
	1時間	176	69	57	57	48	55	25
	2時間	155	54	50	50	45	40	26
	3時間	149	41	36	34	35	31	22

(数字は発育集落数)

な差は認められないが、高濃度では勝り、SI 30 mcg/cc, SM 8.0 mcg/cc, INAH 2.0 mcg/cc の併用で集落の発生は完全に阻止された。又 SI+SM+PAS に対しては低濃度では差はないが、高濃度の併用では明らかに集落の減少が著しかった。

## 2.2.2.7. SI+PAS+INAH (第8表)

薬剤濃度は単独及び2者併用の場合と同様にした。

試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見て、培養による菌集落数の減少は、SI 単独は勿論、SI+SM, SI+PAS 及び SI+INAH の何れにも勝っているが、3者併用では SI+SM+INAH に低濃度では勝っているが、高濃度では劣った。即ち、SI 30 mcg/cc に PAS 4.0 mcg/cc 及び INAH 2.0 mcg/cc を併用しても集落発育を阻止出来なかつた。

## 2.2.2.8. SI+SM+PAS+INAH (第9表)

第9表 SI+SM+PAS+INAH の結核菌培養に及ぼす影響

SI 濃度		5	10	15	20	25	30	40
SM 濃度	対照	0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	8.0	12.0
PAS 濃度		0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
INAH 濃度		0.06	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0
接触時間	直後	253	95	90	75	68	50	0
	1時間	216	71	65	51	48	39	0
	2時間	193	60	52	46	38	30	0
	3時間	172	53	41	34	27	19	0

(数字は発育集落数)

薬剤濃度は単独及び2者併用の場合と同様にした。

試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見て、培養による菌集落数の減少は、単独、2者併用及び3者併用の何れにも勝り、最低濃度の併用で40%以下に減少し、時間の経過と共にこの傾向は更に著明となり、各薬剤間の協力作用が認められた。

## 3. 総括並びに考按

SI の結核菌発育阻止濃度を1% 第一燐酸カリ培地に於て検したが、SM, PAS 及び INAH に感受性又は耐性なるを問わず、15~40 mcg/cc であつた。

次に SI 単独並びに SI と他抗結核剤との併用効果を試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見たが、SI 単独の場合、その影響が見られたのは25 mcg/cc からであつたが、40 mcg/cc の濃度でも発育集落数は対照集落数に比し50%以下にならなかつた。然し乍ら SI と他抗結核剤との2者併用に就いて見ると、何れも SI の抗菌力が増強されており、特に SI と INAH の併用に於て著明で、SI 40 mcg/cc と INAH 4.0 mcg/cc の併用により完全な発育阻止を認めた。一方 SI と PAS の併用は、SI 40 mcg/cc と PAS 8.0 mcg/cc の併用で発育阻止を見たが、これ以下の濃度の併用では SI 単独と大差はなかつた。次に3者併用に就いて見ると、SI 単独は勿論、2者併用よりも勝れており、低濃度の併用では SI+PAS+INAH, 高濃度の併用では SI+SM+INAH が勝っていた。次に4者併用は、単独及び2者並びに3者併用の何れにも勝っており、SI 5 mcg/cc, SM 0.5 mcg/cc, PAS 0.125 mcg/cc 及び INAH 0.06 mcg/cc を併用する事により、発育集落数は40%以下に減少した。

SI の試験管内抗菌力に就いて諸家の報告を見ると、牛場等<sup>2)</sup>は20~50 mcg/cc とし、斎藤等<sup>3)</sup>は KIRCHNER 及び DUBOS 培地並びに小川培地にて3~10 mcg/cc であつたと報告し、小川等<sup>4)</sup>は25 mcg/cc で完全なる発育阻止を見たと言へ、その他東村<sup>5)</sup>は50 mcg/cc, 小酒井等<sup>6)</sup>は10~20 mcg/cc であつたと述べ、大略一致した成績を得たが、この結果からもわかる様に、SI は SM や INAH と異り、単独で極めて強い抗結核作用を示す薬剤でない。

次に SI と他抗結核剤との併用に就いて見ると、その効果に関しては諸家により一致していない。即ち、斎藤等<sup>3)</sup>は SI+SM はむしろ拮抗的に働き、SI+PAS では無影響、SI+INAH では相乗作用があつたと述べ、内藤<sup>7)</sup>も SI と INAH の併用では協力作用を認め、培地が酸性になると一層著明となり且つこの関係は SM 耐性菌並びに PAS 耐性菌に於ても同様であつたと報告している。小酒井等<sup>6)</sup>は SI+PAS では拮抗的又は無関係で

あるが、INAH 又は SM と併用すると相加作用のある事を述べ、又小川等<sup>4)</sup>も SI+SM 及び SM+INAH では協力作用を認めたが、直立拡散法では SI と SM との間に結抗的傾向を認めている。

此の様に諸家の報告にも見られる如く、SI そのものではその抗結核作用は強力でないにも拘らず、之に他抗結核剤特に INAH を併用する事により、その抗菌力の増強を窺い知る事が出来る。即ち、伊庭<sup>5)</sup>は SI, INAH の併用による結核菌試験管内殺菌作用に就いて検し、結核菌の発育能力を停止せしめるに要する INAH の最低濃度は、SI の併用により著しく低下し、SI, INAH の併用は著明な協力効果を示す事を述べ、著者の実験でも SM+INAH 並びに 3 者併用では INAH を含む併用、即ち SI+PAS+INAH 及び SI+SM+INAH が発育集落数の減少が著明であつた。事実、現今の結核化学療法に於て、SI は専ら INAH と併用して用いられており、既に数多くの報告<sup>9-15)</sup>がなされているが、特に内藤<sup>7)</sup>は SI+INAH の治療が SM+PAS の効果を凌駕し且つ SM+PAS 療法後の再治療に際しては INAH+PAS 療法を用いるより、SI+INAH 方法を採用する方が合目的なる事を説き、又吉田<sup>16)</sup>も INAH+PAS 療法より SI+INAH 療法の方が勝れていると述べている。この様に SI が併用薬剤として用いられるとなると、相手薬剤の耐性上昇阻止力が問題となつて来るが、現在の段階では未だはつきりした結論は出ていないが、或る程度耐性を阻止する事が分つている。

以上から、SI そのものよりはむしろ他抗結核剤、特に INAH と併用する事により、抗結核剤として当然広く用いられるべき薬剤と考えられる。

#### 4. 結 論

SI の結核菌培養に及ぼす影響を検し、次の如き結果を得た。

- 1) SI の試験管内結核菌発育阻止濃度は 15~40 mcg/cc であつた。
- 2) SI 及び SI と他抗結核剤との併用効果を試験管内に於ける接触時間並びに濃度に対する関係から見て、培養による菌集落数の減少は、4 者併用が最も勝れ、次いで INAH を含む 3 者併用、及び 2 者併用に於て著明であつた。
- 3) 以上の実験から、SI は INAH を併用する事により抗結核剤として優れたる薬剤であると考えられる。

#### 文 献

- 1) SCHNITZER, R. J., *et al.*: J. Pharm. & Exp. Therap. 88: 1, 47, 1946.
- 2) 牛場大蔵, 他: 日本臨牀結核 15:10, 664, 1956.
- 3) 斎藤紀仁, 他: 日本臨牀結核 15:10, 694, 1956.
- 4) 小川政敏, 他: 日本臨牀結核 15:11, 778, 1956.
- 5) 東村道雄: Chemotherapy 3:187, 192, 1955.
- 6) 小酒井望, 他: 日本臨牀結核 15:11, 770, 1956.
- 7) 内藤益一: 日本臨牀結核 15: 11, 674, 1956.
- 8) 伊庭一男: 京都大学結核研究所紀要 6: 1, 4, 1957.
- 9) 小野寺忠純, 他: 呼吸器診療 12: 9, 747, 1957.
- 10) 桜井宏, 他: 綜合臨床 6: 10, 1987, 1957.
- 11) 東村道雄, 他: 日本臨牀結核 17:6, 415, 1958.
- 12) 鈴木弘造, 他: 新薬と臨牀 7: 4, 282, 1958.
- 13) 板垣友祐, 他: 新薬と治療 41: 8, 1958.
- 14) 児玉利幸, 他: 医療 12: 3, 241, 1958.
- 15) 畠中猛男: 医療 12: 4, 330, 1958.
- 16) 吉田敏郎: 京都大学結核研究所紀要 6:2, 288, 1958.