

Sulfamethoxazole-Trimethoprim 合剤に関する基礎的臨床的研究

——インフルエンザ菌 *in vivo* 実験の新しい試み——

松本慶蔵・西岡きよ・横山紘一・荒井澄夫・中村 隆

東北大学医学部第一内科

緒 言

細菌感染症に対するサルファ剤の効果については、病原ブドウ球菌や腸内細菌の耐性菌の急速な増加や血清蛋白結合による薬剤活性の低下、アレルギー現象の発現等々によつて、サルファ剤が比較的狭い範囲に限られつつある現況にかんがみ、私どもは先に sulfamethopyrine¹⁾ についての研究成績と使用経験から今日的にサルファ剤をいかに評価すべきかについて報告した。

さて近時開発された sulfamethoxazole-trimethoprim 合剤 (ST 合剤) については1969年の日本において開かれた国際化学療法学会において多くの発表²⁾ をみ、その呼吸器感染症や尿路感染症に対する効果が明らかで大方の注目をあびた。

このたび本剤の研究を行なうにあたり私どもは第1に近年ますます注目されているインフルエンザ菌およびその感染症³⁾ に対する効果を、基礎的に解析し、第2に臨床的研究を行なつた。特にインフルエンザ菌実験感染系をマウス皮下に潰瘍性病変として作ることが出来、それを場本剤の効果を検定し得た点の事実を強調したい。

I 実験方法ならびに成績

A) インフルエンザ菌の ST 合剤に対する感受性分布とその各々の薬剤に対する感受性分布の比較

i) インフルエンザ菌用耐性培地作製法

Levinthal stock 作製法 (Pediatrics 1970, p. 827) にしたがひ、次のように行なつた。

馬血液を2000 r. p. m, 15分遠心し上清を捨て血球部分を取り、蒸留水に加え10%馬血球溶液 (溶血) を作り、-20°C に入れ、1夜放置した。次日室温にてとかし、こ

の液1に対し BHI broth (Dicfo) 9を加え、37°C に1夜放置する。ついで60°C water bath 中で30分加熱しよく振る。これを冷却遠心機にて2500 r. p. m, 45分遠心し、上清をザイツにてろ過し、これを4°C に保存する。これが Levinthal stock である。

使用に際し、broth は Levinthal stock と等量に、滅菌した BHI (Difco) を加えたものを用いた。agar は BHI (Difco) に2% agar (栄研) を加えて滅菌したものに Levinthal stock を等量加えて用いた。

耐性培地はさらに次のように調製した。

Trimethoprim (以下 TMP) 10mg を0.5ml の propylene glycol にとかし、蒸留水で10ml とする。……1mg/ml を調製。

Sulfamethoxazole (以下 SMX) 10mg を可及的少量の1/8N-NaOH に溶解し、これを蒸留水で10ml とする。……1mg/ml を調製。

TMP, SMX 各々100~0.2mcg/ml 含有となるように先の平板培地に加えた。

合剤は SMX : TMP が5 : 1になるようにして平板培地に加えた。

被検インフルエンザ菌は教室の呼吸器感染症で有意に分離されたもので26株を用いた。菌はいずれも Levinthal broth にて1夜培養 (10⁶/ml) したものを生理的食塩水にて100倍に希釈し、10⁶/ml を1白金耳接種した。判定は24時間で最も条件として良かった。対照として *Staphylococcus aureus* 209-P 株, *Escherichia coli* NIHJ を用いた。

ii) 成績

インフルエンザ菌の SMX に対する MIC 分布は表1

表1 *H. influenzae* の感受性

薬 剤	株 数	MIC (mcg/ml)									
		0.2 $\geq$	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	>100
SMX	26	1		1		3	3	1	3	2	6
TMP	26	10	13	3							
ST (5 : 1)	26	1	4	9	6	3	3				
		{ S T	0.17 $\geq$	0.32	0.65	1.3	2.61	5.21			
			0.03 $\geq$	0.07	0.13	0.26	0.52	1.04			

に示すように、 $\leq 0.2 \sim > 100$ mcg/ml に広く分布し、25 mcg/ml 以上の MIC 価を示す菌は17であり、過半数を示す。

それに比較し TMP に対する MIC 分布は0.78 mcg/ml 以下であり、ピークは0.39 mcg/ml に存する。

ST 合剤に対する MIC 分布は6.25 mcg/ml 以下に分布し、そのピークは0.78~1.56 mcg/ml にある。

合剤としてその併用効果があるか否かについての判定は、この成績に関する限りインフルエンザ菌では必ずしも明確ではない。すなわち、インフルエンザ菌の ST に対する感受性は ST 中の TMP に一方的に依存することも否定出来ないからである。今後の検討はインフルエンザ菌以外の菌で行ないたいと考えている。

B) インフルエンザ菌——マウス皮下感染系を用いた SMX, TMP, ST 3 剤の効果の比較成績について

i) 実験系作製法について

これまでの抗菌剤の効果に関する *in vivo* 実験は多くは感染菌の腹腔内ないしは血中接種による敗血症型でかつ治療は感染菌の接種と同時にこなされる場合が多い。かかる実験系はいわゆる抗菌力スクリーニングの方法としては良いとしても、著しくヒトの感染から遠い系であるとの反省から私どもは従来、試みられることの極めてまれなインフルエンザ菌感染系と抗菌力の検討について、新しい試みを行なった。

a) 実験動物：dd 系マウス15g (東北大マウスセンター飼育)

b) インフルエンザ菌：使用したインフルエンザ菌は慢性呼吸器感染症(慢性細気管支炎)由来の病原性の明らかな菌株である。私どもの研究室で作った FILDERS 変法培地⁴⁾に1夜培養し(使用シャーレは径7cm)、このシャーレに蒸留水4mlを入れ、コンラージにて培地表面を良く攪拌後、ピペットにて採取する。この菌数は約 10^9 /ml であり、この 10^9 /ml の菌液を感染菌として用いる。

c) マウス—インフルエンザ菌感染系：マウスの背部にインフルエンザ菌液0.2mlを皮下に接種する。接種部位は次第に腫瘍状にふれるようになる。4~5日後に表面に潰瘍を作る。放置しても次第に治癒に向うが、病巣は皮膚を切りとり膿瘍径を縦径と横径を測り、その和

の1/2をもつて示した。

薬剤はインフルエンザ菌接種の24時間後より投与し1日1回経口投与した。

SMX は1.0 mg/M, TMP は1.0 mg/M, ST は SMX 0.1 mg/M, TMP 0.02 mg/M にしたものを併用測定の日まで連日投与した。

ii) 成績

表2にその成績を示した。薬剤未治療群を含む実験群は4群で、1群5匹を用い接種5日に判定した。膿瘍内にエーゼを入、れインフルエンザ菌が再分離されるか否について検討した。すなわち、SMX 群はいずれも膿瘍を形成に成し、その平均膿瘍径は4.9 mm であつたが、TMP 群は SMX 群と平均膿瘍径は異ならないが、菌の再分離の面で異なっており、SMX 群より良い成績であつた。ST 群はその含有薬剤の各々が少なく、かつ S:T の比は5:1に含まれているが、膿瘍消失2があり、平均膿瘍径は2.5 mm で、さらに菌再分離は1/5にすぎなかつた。対照群と比較しても SMX は差なく、TMP は菌再分離の点でやや良く、ST 例は明らかな効果の差を示した。

したがって合剤効果の判定は、この系について見る限り明瞭であり、臨床的にもインフルエンザ菌感染症に対する効果が期待される結果と考えられた。

II 臨床成績

本剤の臨床応用例は全15症例で一括して表3および表4に示した。すなわち、呼吸器感染症7例、尿路疾患7例、腸チフス菌保菌者1例である。

i) 呼吸器感染症例における本剤効果について

対象7例はいずれも難治性呼吸器感染症で症例7の膿胸例をのぞき、長期間私ども研究グループの管理をうけている症例である。基礎的研究により推定されたインフルエンザ菌感染に対しては明らかな菌の本剤投与による消失がみられたが、症例3の感染性喘息症例はいわゆる耐性ブドウ球菌や有意菌数の肺炎球菌が認められたにもかかわらず、感受性成績の示すとおり菌の消失および症状の軽快安定を持続した。症例6の効果判定は不可能であつたのは、外来治療例で遠方の外来例であり、かつ細気管支炎の中でも重症例で十分な検査が出来なかつたこと、および菌の交代により、PD-93の併用を行なつた

表2 インフルエンザ菌に対する成績

薬 剤	投与量	膿 瘍 径 (mm)					平 均	菌再分離
SMX	1.0 mg/M	5.7	3.6	5.5	6.1	3.4	4.9	4/5
TMP	1.0	5.5	4.5	3.0	5.1	6.5	4.9	2/5
ST	S 0.1 T 0.02	4.1	5.5	2.7	0	0	2.5	1/5
Control		6.5	4.5	5.7	4.6	2.4	4.8	4/5

表3 ST合剤臨床成績

No.	氏名, 性, 年齢	疾 患	投与量 日数	効 果	備 考
1	M. O. ♂ 27	Chr. Bronchitis	4 T × 7	++	発病2年前
2	H. Y. ♀ 46	"	4 T × 14	+	"
3	T. I. ♂ 50	Inf. Asthma	4 T × 47	++	Sinuitis op. 44年より
4	M. A. ♀ 65	Chr. Bronchitis	4 T × 14	++	43年初診
5	T. Y. ♂ 48	Chr. Bronchiolitis	4 T × 21	+	約10年前より
6	S. E. ♂ 61	"	4 T × 32	?	約12年前より
7	T. H. ♂ 64	Empyema	6 T × 6	? ~ -	血尿5カ月前より
8	K. K. ♀ 26	Pyelonephritis	4 T × 14	++	
9	Y. N. ♀ 49	"	4 T × 7	++	
10	Y. I. ♂ 23	"	4 T × 7	++	3回くりかえし
11	I. S. ♀ 71	Lung Tuberculosis + Cystitis	4 T × 3	-	
12	H. T. ♀ 58	Pyelonephritis	4 T × 7	++	頻回くりかえし
13	E. U. ♀ 49	"	{ 4 T × 21 4 T × 7	++ ++	20年前より発病 投薬休止1カ月
14	H. T. ♂ 56	Livercirrhosis + Pyelonephritis	4 T × 28	++	頻回のため長期投与
15	K. K. ♂ 52	Typhus carrier	6 T × 27	++ (~ ?)	

時期があつたためである。

膿胸症例は他の抗生物質の効果のないままに、ST合剤を投薬したところから下熱傾向を示したが、胸部X線所見はむしろ悪化したので判定不能としたが、むしろ無効に近いと考えられる。しかも起炎菌は *Sphaerophorus varium* で、高層中に disc を加えた試験では阻止円はなく、無効が推定されたが、本剤の特殊性からかかる検査法が正しいか否かの検討はまだ行なっていない。

慢性呼吸器感染症の効果判定は、急性症に比較し困難ではあるが、起炎菌の消長、自覚症の消長、喀痰量や性状の改善、白血球数、赤沈等の消長によつて決定する。図に示した++は有効（著効に近い）、+は従来の有効と考えて良い。

なお症例1～6までの症状はその後私どもの感染症グループの外来管理をうけつづけている。

ii) 尿路感染症症例における本剤効果について

7症例中起炎菌は5例が大腸菌でいずれもST discに感受性を示したが、これらのすべては本剤4T投与により菌消失とともに自覚症、尿所見も正常化し、有効と判定された。1例のグラム陰性桿菌は *Alkaligenes dispar* であり、本剤に対し感受性を示し、有効であつた。しかし、腸球菌例では投薬により自覚症は軽快したものの、尿中菌数は不変であり、投薬3日目に本剤による薬疹が出現し、無効と判定した。本剤投与が長期にわたつた症例はいずれも慢性腎盂炎と診断されているものである。症例13は3週投薬後1カ月休薬、再発のため1週投薬した症例である。本症例での特徴は本剤投与による自覚症

の著明改善をこれまでの薬剤と比較して、感ずると患者自身の発言であつた。ただし2度目投薬も直ちに有効であつたが、1回目ほどの自覚症改善はなかつた。本剤の投薬によりその後再発をみない例は、4例で従来難治例2例は再発をくりかえしている。

症例13における再発の場合、大腸菌はST合剤に感受性を示していたこと、これは症例12でも同様でこの点の本剤の特異性が確認された。

iii) 腸チフス菌保菌者に対する本剤の効果について

症例15はいわゆる腸チフス菌の長期保菌者で著者の1人松本が管理を依頼されている外来症例である。昭和40年10月に子供が腸チフス発症し、菌検索の結果、父親である本症例が保菌者であることが判明した。昭和40年12月胆嚢切除術を受けたが、排菌が止まらず、昭和41年7月に当科に入院したが、7カ月の各種抗生物質投与でも反応せず、以後外来管理治療を行なつて来た。長期のCP投与と胆汁排泄促進剤を併用し治療して来たが、やはり排菌は止まず、昭和45年7月よりABPC 2.0gの投与に変更し、他剤としては、vitaneurin 3T, gallogen 6Tを併用し、昭和46年3月に至つた。その間、胆汁、便の培養を行ない、その陽性頻度は減少の傾向が認められて来た。本年3月3日より本剤6T投与に変更し、27日間投与を続行した。抗菌剤中止後4月中旬より胆汁培養を今日まで6回行なっているが、まったく陰性となり全治したと考えられる。

さて本剤によつて carrier state を脱し得たか否かは慎重を要するが、ABPC投与8カ月にわたるもKot中

表4 ST合剤臨床成績(検査所見)

No.	起炎菌	disk	熱(°C)	赤沈(mm)	自覚症	白血球数	赤血球数 ×10 ⁴	肝機能		発疹
								GOT	GPT	
1	<i>H. inf.</i> (H) (-)	++	37.2	1.5	血痰	7500(L)	553	25	45	(-)
			36.5	3	(-)	6400	528	27	40	
2	<i>Pn.</i> 10 ⁶ " 10 ⁵		N	25	咳, 痰 ++	7400(L)	433	12	2	(-)
			N	24	± ±	5000		19	4	
3	<i>(Pn. 10⁷</i> <i>Sta. au. 10⁵</i> <i>(Pn. <10⁴</i> <i>St. (-)</i>	++ ++	N	51	Asth 発作	7350		31	10	(-)
			N	24	軽快			11	7	
4	<i>H. inf.</i> 10 ⁸ (-)	++	N	120	咳, 息切れ	6600(L)	337			(-)
			N	96	やや軽快	5500(L)	335			
5	<i>H. inf.</i> 10 ⁵ (-)	++	N	50	痰 ++ 黄色	7800	485	15	17	(-)
			N	45	量・性状良	7000	480	12	10	
6	<i>H. inf.</i> ? (-)		37~38		痰 ++ 息切 ++			11	3	(-)
			37.5	95	一時軽快→悪化	10700		12	3	
7	<i>Sphaeroph.</i> <i>Varium</i>	-	39.2	137	高熱, 胸痛	13900	341	normal		(-)
			36.8	124	解熱, X線悪化					
8	<i>E. coli</i> 10 ⁶ (-)	++	37.5	3	さむけ					(-)
			N	5	(-)					
9	<i>E. coli</i> 10 ⁶ (-)	++	38	25	腰痛, 頻尿	9400(L)	486	8	2	(-)
			N	10	-	7000	488	20	8	
10	<i>G(-)B</i> 10 ⁶ (-)	++	37.2	7	排尿痛, 腰痛	4200	550			(-)
			N	12	(-)	6000	550	12	7	
11	<i>Enterococcus</i> 10 ⁶ " 10 ⁵	+	N	12	頻尿			18	7	投薬3日目 本剤薬疹
			N	16	(-)			18	11	
12	<i>E. coli</i> 10 ⁶ (-)	++ -	37.5	73	頻尿, 頭痛	8200(L)	385	8	2	(-)
			N	82	(-)	4100	385	9	8	
13	<i>E. coli</i> 10 ⁶ (-)	++	37.5	36	頭痛, サラサラ感	6700(L)	597	9	4	(-)
			N	15	(-)	5800		7 8	2 2	
14	<i>E. coli</i> 10 ⁶ (-)	++	38.8	50	高熱, 腰痛	15000		90	170	(-)
			N	15	(-)	7000		60 82	103 116	
15	<i>S. typhi</i> (Duodenal 10 ⁴) 以後休業後 4回十二指腸 液培養陰性	++	N		なし	5800		14	12	(-)
						14200		14	8	
						14250		11	11	
						6100				

の細菌は陰性であつたが、胆汁中に証明されたことが多かったことを考えると本剤の効果を否定し得ない。私どもは今後かかる症例に多くの経験を重ねて判断したいと考えている。

iv) 副作用について (表4)

15 症例中本剤の明らかな副作用と考えられたのは発疹 1 例であつたが、その前後の肝機能の悪化はなく薬剤性肝炎とは考えられなかつた。血液所見で投薬後の副作用はなかつたが、腸チフス菌保菌者で中間に白血球増多が認められた。しかし、本剤によるものか否かは不明で投薬後は異常を示していない。尿路感染症は勿論であるが尿所見は本剤投与により改善をみた例はあるが、異常例は尿蛋白、沈渣所見で異常はなかつた。

III 考察

サルファ剤そのものの臨床上の応用価値の低下が一般的知識として考えられ、そのために地域的な特性も、菌株別の考慮も比較的小さくされているとの感がある。私どもはすでに sulfamethopyrazine についてこのことを考察したが、BUSHBY⁵⁾ のいわゆる“sulphonamide potentiator”としての TMP の出現によつて、新しいサルファ剤研究のアプローチが得られた感がある。すなわち耐性菌の出現、そしてそのための新抗生物質の開発というこれまでのパターンに新しい面を開いたものとして、この合剤の意義が認められよう。しかもこの事実が単純明解に培地上において見いだされうる BUSHBY⁶⁾ の研究が特に私どもの目をとらえた。

さて本剤が多くの抗菌剤においてその位置を占めるためには、私どもは慢性呼吸器感染症の最も重要な起炎菌であるインフルエンザ菌を対象として基礎的検討を行なうこと、また *in vivo* でインフルエンザ菌感染症に対する本剤効果をいかにすれば良いかの 2 点に研究の主眼をおいた。前者については、用いた耐性培地のゆえか、あるいはまた薬剤の低濃度部分の配慮が充分でなかつたためか、そのメカニズムは不明であるが、合剤効果を明らかにすることはできなかつた。しかし、すでに実験成績で述べた私どもの *in vivo* での新しい系は明らかな合剤効果を示すことができた。私どものみる限り、かかる方法での本剤の効果は示されていない。

臨床成績について特に慢性呼吸器感染症についてみると起炎菌が感受性を示す限り、菌の消失は明らかに期待しうる。ただし本剤の効果が 1 日 ABPC 2.0g 投与に匹敵するかあるいはそれよりすぐれているとの HUGHES⁷⁾ や PINES⁸⁾ の意見には必ずしも同意できない。その点での MAY⁹⁾ の慎重な意見にどちらかといえば傾いている。

したがって今後の本剤に対する検討としては、かかる疾患を対象に薬剤の適正量の問題、投与日数の問題等注

意深い control study を考えている。

次に腸チフス菌の carrier に対する本剤についてみると、すでに自験成績でも述べたように、本剤によつて長期にわたつたいわゆる chronic carrier が菌消失したとも考えられる点である。PUGSLEY¹⁰⁾ は腸チフスの流行後の carrier に対する本剤の効果については注意深く、その効果を控え目に表現しているが、自験例とも合わせ、今後の検討が特に要求されよう。私どもは仙台における腸チフスの流行後の chronic carrier の治療に極めて難渋し、何人かは外来管理とせざるを得なかつた経験に照しても特に留意したい。

副作用については自験例では発疹 1 例にすぎなかつたが、本剤の構造上使用にあたり特にその発現の防止に留意すべきである。

IV 結論

i) 慢性呼吸器感染症由来のインフルエンザ菌 26 株について SMX, TMP, ST (5:1) の 3 者に対する感受性分布を Levinthal 変法培地で行ない比較したが、調べた範囲内では ST に対する感受性は主として ST 中の TMP に依存しているように思われた。

ii) インフルエンザ菌——マウス皮下感染系を場とした SMX, TMP, ST (5:1) の効果を膿瘍径、菌再分離率で比較し明らかな合剤効果を確認し得た。

iii) 呼吸器感染症 7, 尿路感染症 7, 腸チフス保菌者 1, 計 15 症例に対する ST 合剤効果は 4~6 錠 (1 錠中 SMX 400mg, TMP 80mg) の投与で起炎菌が本剤に感受性を示す限り有効の成績を得た。副作用として 1 例に発疹を認めた。腸チフス保菌者に対しては本剤の効果が推定できる成績を得たがなお今後の検討が必要である。

文 献

- 1) 中村隆, 松本慶蔵ほか: Sulfamethopyrazine の気道感染症に対する効果。Chemotherapy 16: 817~820, 1968
- 2) Progress in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy I, University Tokyo Press, 1970.
- 3) 松本慶蔵ほか: インフルエンザ菌の臨床細菌学。内科 26: 474~479, 1970
- 4) 荒井澄夫, 松本慶蔵ほか: インフルエンザ菌の臨床細菌学。Chemotherapy 19: 199~203, 1971
- 5) BUSHBY, S. R. M. & G. H. HITCHINGS: Trimethoprim, a sulfonamide potentiator. Brit. J. Pharmacol. Chemother. 33: 72, 1968
- 6) BUSHBY, S. R. M.: Combined antibacterial

- action *in vitro* of trimethoprim and sulfonamides. Postgrad. Med. J. 45: 10~17, 1969
- 7) HUGHES, D. T. D.: Treatment of exacerbations of chronic chest infections with combinations of sulfamethoxazole-trimethoprim. VI International Congress Chemotherapy, Tokyo, 1969
- 8) PINES, A. *et al.*: Preliminary experience with trimethoprim and sulfamethoxazole in the treatment of purulent chronic bronchitis. VI International Congress Chemotherapy, Tokyo, 1969
- 9) MAY: VI International Congress Chemotherapy, Tokyo, 1969
- 10) PUGSLEY, D. J. *et al.*: Use of trimethoprim and sulfamethoxazole in tropical Africa. VI International Congress Chemotherapy, Tokyo, 1969

EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON SULFAMETHOXAZOLE-TRIMETHOPRIM COMBINATION PRODUCT: WITH PARTICULAR REFERENCE TO THE APPLICATION OF A NEW METHOD FOR *IN VIVO* EXPERIMENTS WITH *HEMOPHILUS INFLUENZAE*

KEIZO MATSUMOTO, KIYO NISHIOKA, KOICHI YOKOYAMA,
SUMIO ARAI and TAKASHI NAKAMURA

The First Department of Internal Medicine, Tohoku University, School of Medicine

1. Antibacterial activities of sulfamethoxazole (SMX), trimethoprim (TMP) and SMX-TMP combination (5:1) were investigated against 26 strains of *Hemophilus influenzae* isolated from patients with chronic respiratory tract infections. The distribution of sensitivities as determined by a modified LEVINTHAL method indicated that the bacterial sensitivities were largely dependent upon their sensitivity to TMP under the tested conditions.

2. The potentiation of antibacterial activities by SMX-TMP combination mixed at a ratio of 5:1 was clearly confirmed in an experiment employing subcutaneous infection with *Hemophilus influenzae* in mice.

3. A clinical trial of SMX-TMP combination product (SMX 400 mg and TMP 80 mg per tablet) in dosages 4-6 tablets daily in 7 patients with respiratory tract infections, 7 patients with urinary tract infections and 1 patient with *Salmonella* carriers demonstrated that this preparation is effective as long as pathogenic organisms isolated from the clinical materials were sensitive to the combination *in vitro*. Aside from a single case of drug exanthem, no adverse reaction has been recorded.

Further experience is required to confirm the effect of this combination product in *Salmonella* carriers.