



Title	肺結核症に対するINAH-Sulfa剤併用療法の作用機転に関する研究
Author(s)	東海林, 誠; SHŌJI, Makoto
Description	
Citation	結核の研究, 9, 12-22
Issue Date	1958-10
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/26653">https://hdl.handle.net/2115/26653</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	9_P12-22.pdf



# 肺結核症に対する INAH-Sulfa 剤併用療法の 作用機転に関する研究

東海林 誠

(北海道大学結核研究所予防部 主任 高橋義夫教授)

(北海道大学結核研究所化学部 指導 西風修助教授)

(国立北海道第一療養所 所長 原岡任吉博士)

(昭和33年7月28日受付)

## 緒 言

Isonicotinic acid hydrazid (以下 INAH と略す) が抗結核化学療法剤として知られて以来 (1952 年), INAH に関する臨床的研究は勿論, 基礎的研究も亦多数発表されている。他方又 INAH と併用的役割を果す化学療法剤として Paraaminosalicylic acid (以下 PAS と略す), Pyrazinamide (以下 PZA と略す), Sulfa 剤 (以下 SL と略す) がある。SL 剤については古くから試験管内に於いて結核菌に対する或程度の発育阻止力を有する事が認められていたが<sup>24), 25)</sup>臨床的効果を確認するまでには到らなかった。近時 SL 剤の進歩は著しいものがあり, 吸収, 排泄, 抗菌力において優れ, 且副作用の極めて少い SL 剤の出現をみるに及んで, 同時に臨床抗結核化学療法剤として特に併用的価値が認められる様になった<sup>25), 26), 28), 30), 31)</sup>。

著者らはさきに INAH の誘導体であるところの INAH-metha sulfonate と SI-isomidine 併用の臨床実験を行ったが, レ線改善及び喀痰内結核菌の陰転化に著明な効果を認め<sup>27)</sup>, 且つその効果が INAH SL 剤個々の抗菌力の総和ではなく何らかの機転によつて INAH と SL 剤の効果が相乗的に増加して居るのであるとの推測を持つに到つた。諸家の報告によれば, SL 剤は Streptomycin (以下 SM), PAS とは併用効果がなく, INAH との併用によつてのみ著しい抗結核作用を示すと云われているが<sup>29), 31)</sup>, かかる併用効果の機転を追求するに当り, SL 剤そのものの抗菌作用について見れば次の如くである。即ち従来 SL 剤の結核菌に対する抗菌力は SI-thiazol については良く知られて居り<sup>22), 23)</sup>, 更に SI-isoxazol についても研究されている<sup>23), 29), 41)</sup>。何れの成績においても SL 剤単独にて治療効果を期待し得る程の強い抗菌力を示して居ないが, しかしこれら SL 剤

の抗菌力は培養条件によつて異り, 卵培地と Kirchner 培地とに於いてはその結核菌発育阻止濃度に著しい差がみられ<sup>29), 31)</sup>, 且つ又培地の pH の変化にも大きく影響される事が認められる<sup>29)</sup>。INAH と SL 剤の併用効果の研究は SI-isoxazol を用いて最も多く試みられて多くの報告がなされている。それらの報告によれば INAH-SI-isoxazol は INAH 単独よりもはるかに静菌効果において勝り<sup>29), 31)</sup>, 協力効果が認められる。且つ INAH 耐性菌の発現を阻止若しくは遅延する作用があるとされている<sup>29), 31), 23)</sup>。一方本 INAH の作用に関する生化学的研究では, INAH は生体内代謝によつて Acetyl 化され抗菌作用が殆んど認められないか, 又は全くない誘導体に変化する事が Cuthbertson<sup>1), 2)</sup> によつて報告され, 又かかる代謝によつて生ずる活性 INAH の Acetyl 化の生化学的過程に SL 剤が拮抗的に働くと云う Jonson<sup>5), 6)</sup>の報告がある。Middlebrook<sup>42)</sup>, 河盛<sup>32)</sup>らの云う如く INAH の吸収, 排泄の Pattern が個人により異り<sup>23), 3)</sup>, 而も投与量に比して血中濃度が比較的低いものである以上<sup>6)</sup>治療効果の点からも有効な遊離 INAH 濃度の血中に於ける上昇を望み種々なる INAH 誘導体が研究されつつある。微生物学的方法を用いた実験によれば, PAS 併用時には明かに INAH の有効血中濃度が上昇する結果が認められている<sup>7)</sup>。又家兎を用いた実験でも PAS 又は SL 剤を併用した場合には血漿中の遊離 INAH 濃度の増加が見られると云う Jonson<sup>5), 6)</sup>らの化学的測定法による実験報告もなされている。

今回著者は表題の如く肺結核症を対象として INAH-SL 剤併用時における SL 剤の作用機転を数種の SL 剤を用いて追求した。而して体内に於ける両者薬剤の生化学的過程に関連せる機序については化学的測定法に従い, 同時に被検血清の一部をもつて培養方法による抗菌力試験を実施した。又著者は2種の方法による

試験管内 INAH-SL 剤併用の発育阻止実験を行ったので、観察し得た成績をここに報告する次第である。

## [I] INAH-SL 剤併用時における血中濃度

### 研究条件

国立北海道第二療養所に入院加療中の肺結核患者

(軽症乃至中等症)について INAH-SL 剤併用投与時における血中濃度を測定した。この場合の被検者は 23 名、年令 18~51 才、うち男 18 名、女 5 名であつた。体重は 40~67 斤、平均 54.2 斤であり既往の治療に INAH, SM, PAS を使用して居り各個人別の臨牀症状は第 1 表に示す如くである。

表 1 被検者個人別臨牀症状

症例	年令	性別	体重	体重 1 宛宛 INAH 投与量	病 型	病勢	血 沈 1 時間値	咯 痰 中 結 核 菌
No. 1	18才	♀	48kg	6.25 mg	IV B	1	8 耗	-/2
2	38	♀	45	6.66	IV B	1	11	-/2
3	26	♂	61	4.91	IV A	4	1	-/2
4	43	♂	66	4.55	IV A	5	12	4/2
5	24	♂	54	5.56	IV B	1	6	-/2
6	31	♂	59	5.08	V	1	2	-/2
7	31	♂	67	4.48	VII	3	3	-/2
8	39	♂	56	5.36	VII	8	30	400/2 以上
9	51	♂	66	4.55	IV A	4	2	-/2
10	43	♂	59	5.08	IV A	4	8	49/2
11	36	♂	46	6.52	IV A	8	73	400/2 以上
12	38	♂	53	5.66	IV A	4	9	-/2
13	22	♀	50	6.00	VI	3	14	-/2
14	27	♂	52	5.77	VII	4	7	200/2
15	45	♂	56	5.36	V	1	2	-/2
16	28	♀	47	6.83	VII	9	30	-/2
17	38	♀	40	7.50	IV A	4	18	-/2
18	51	♂	49	6.12	VI	8	12	G3
19	26	♂	50	6.00	IV A	6	10	-/2
20	26	♂	49	6.12	IV B	1	2	-/2
21	23	♂	55	5.45	VI	1	6	-/2
22	29	♂	62	4.84	VII	9	5	-/2
23	21	♂	56	5.36	IV	2	2	-/2

咯痰中結核菌は G: 塗抹ガフキ号数, 他は培地 2 本中のコロニー数を示す。

さて INAH 並に SL 剤の併用において使用した薬剤の種類及び投与量は第 2 表に示したが、この場合使

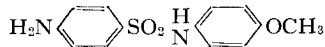
表 2 対象群と投与薬剤

対象群	回数	投与薬剤
第 1 群	第 1 回	INAH 0.3
	第 2 回	INAH 0.3+Sulfisomidin 2.2
	第 3 回	INAH 0.3+Sulfisoazol 1.4
第 2 群	第 1 回	INAH 0.3
	第 2 回	INAH 0.3+Sulfathiazol 2.0
	第 3 回	INAH 0.3+Sulfamethoxy-pyridazine 1.5

用薬剤に対する馴れを防ぐ意味で投与間隔は 2 週間とし、投与前 48 時間は SM 以外の抗結核剤及び SL 剤一切を与えなかつた。使用薬剤の投与は午前 8 時(朝食 30 分~1 時間後)経口的に与え、採血は投与直前、投与後 1 時間、3 時間、5 時間、9 時間に行つた。又 INAH 及び SL 剤の体重宛投与量は INAH 4.5~7.5 mg/kg で平均 5.7 mg/kg となり、SI 剤においては SI-isomidine 33~49 mg/kg 平均 39.7 mg/kg SI-isoxazole 21~31 mg/kg 平均 25.0 mg/kg SI-thiazole 32~50 mg/kg 平均 40.7 mg/kg \*SI-methoxy-Pyridazine 24~38 mg/kg 平均 29.8 mg/kg であつた。なお上記 4 種の SL 剤は

各々等 mol に投与した。

\*SI-methoxypyridazine (Lederle の Kynex を本実験に使用す) は最近合成された新しい SL 剤で次の構造式を有する。



### 3-Sulfanilamido-6-methoxypyridazine

その特性として血中及び尿中に高濃度に移行し、Acetylation が少く、抗菌力は SI-diazine と等しいと云われ、又 3 瓦 1 回の経口投与で 4~5 日乃至それ以上血中に見出されると報告されている<sup>19)~21)</sup>。

#### 測定方法

血中 INAH 濃度測定法としては Bromcyan<sup>9),10)</sup>法, p-Dimethylaminobenzaldehyde 法<sup>17)</sup> picryl chloride による呈色反応を利用する方法<sup>1)</sup>, Scott<sup>18)</sup> の 1-chloro-2,4-dinitro-benzol 法及び微生物学的定量法<sup>7)</sup> などがあるが, PAS 及び SL 剤によつて影響されない測定法として Bromcyan 法を選び、岩本<sup>33)</sup>の方法に従つて実施した。

即ち採取せる血液を遠沈によつて血清を分離し蒸溜水で一定希釈する。更に 10% タングステン酸ソーダ及び N/3-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加えて振盪加温、次いで冷水で急冷して遠心分離する。上澄を分取してこれに KMO<sub>4</sub> 液を滴下加温して 1/2 量になるまで蒸発せしめ 1% アスコルビン酸溶液を着色が消失するまで滴下する。これを重盪煎上で蒸発乾固してこれに 0.2% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液を一定量加えてさらに遠心分離し透明な上澄をとり比色管に入れ、Ammonia buffer 及び飽和 Bromcyan 液を加えて 2 分後に波長 415 にて吸光度を測定する。測定には島津の分光光度計を使用した。又予め Bromcyan 法によつて INAH 及び SL 剤の一定量  $\gamma$  液を以つて INAH に対する SL 剤の影響を検したが INAH の吸光度に SL 剤は何ら影響を与えない事を確めた。SL 剤の測定には Naphthylethylendiamin 法を用いた。

さて Hughes, Leon, Schmitt<sup>29),30)</sup> らによれば生体内で INAH 代謝により生ずるものは Acetylissonisid, Isonicotinylhydrazon, N-methylisoniazid, Isonicotinic acid, Isonicotinylglycin, Isonicotinamid で遊離の Isonicotin 酸は direct Bromcyan 法で証明出来る。又総 Isonicotin 酸はゆるい酸化を行つて後 Bromcyan 法で証明出来る云々。又 Cuthbertson<sup>1)</sup> らは Nicotinic acid Nicotinamide Nicotinic acidhydrazid, Nicotylglycin は Bromcyan 法で同色に発色すると述べている。本実験においては予め Nicotinic 酸の量を測定して除き、

遊離 INAH 量及び総 INAH 量を算出した。Acetyl-INAH は 0.4N の塩酸をもつて Acetyl 基を除き遊離 INAH 量に加えて総 INAH 量とした。

## 研究成績

### 血中 SL 濃度

第 1 図及び第 2 図はそれぞれ上記第 1 群 (SI-isomidin 併用と SI-isoxazole 併用を行つたもの) 並びに第 2 群 (SI-thiazole 併用と SI-methoxypyridazine 併用を行つた) の血中 SL 濃度の消長を示したものであるが, SI-isomidine 2.2 瓦投与群では 5 時間値が 29.9±7.51  $\gamma$ /cc, SI-isoxazole 投与群では同様に 5 時間が 25.1±9.05  $\gamma$ /cc で投与後 5 時間値は両 SL 剤とも最高血中濃度を示し、9 時間後においてもなおやや高い濃度を維持している。然し乍ら SI-isomidine が SI-isoxazole に比較して幾分早く血中に増加し且つ早く排泄される様に見られる。第 2 群においては SI-thiazole 投与群においては前群と略々同様な経過を示すが最高値はやや低く且つ血中持続時間も短かつた SI-methoxypyridazine 投与群では 1.5 瓦経口投与後の血中濃度は 1 時間値 10.1±5.83  $\gamma$ /cc, 3 時間値 29.7±10.16  $\gamma$ /cc, 5 時間値 66.5±14.04  $\gamma$ /cc, 9 時間値 63.6±13.06  $\gamma$ /cc で本実験に使用せる何れの SL 剤と比較しても極めて高い血中濃度を示した。又その吸収も速かで短時間内に高い血中濃度に達し血中持続時間も著しく長かつた。

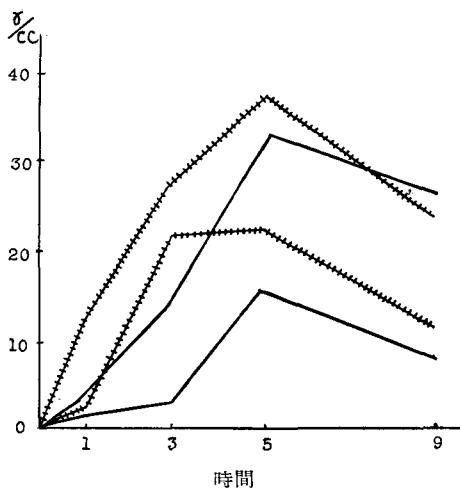


図 1 Sulfa 剤血中濃度平均値曲線 (第 1 群)

実線内 SL-isoxazole 1.4 gr  
 条線内 SL-isomidine 2.2 gr  
 (等モル投与)

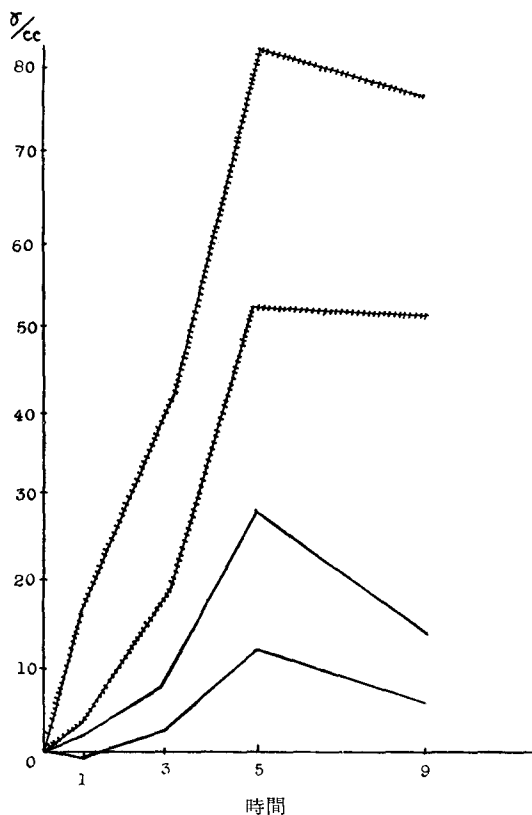


図 2 Sulfa 剤血中濃度平均値 (第 2 群)  
 実線内 SL-thiazole 2.0g  
 条線内 SL-methoxypridazin 1.5g  
 (等モル投与)

#### 血中 INAH 濃度

前記 2 群における INAH 単独及び SL 併用投与時の血中遊離 INAH 濃度の消長を第 3 図及び第 4 図に示した。即ち INAH 単独投与時に於いては両群ともに投与後 1 時間に既にかなり高い上昇を示し 3 時間後に最も高い血中濃度を示した。5 時間後には 1 時間値より低いがなお相当量認められるが、9 時間後には殆んど血中に INAH を認め得なかつた。又最高血中濃度を示した 3 時間値においては第 1 群は  $1.6 \pm 0.49$ 、第 2 群は  $1.8 \pm 0.41$  であり、両群とも INAH 血中濃度の消長は類似した傾向を示した。次に SL 剤併用時における血中遊離 INAH 濃度を測定した結果第 1 群では INAH SL-isomidine 併用時及び INAH-SI-isoxazole 併用時ともに 1 時間値に於いて INAH 単独投与時と比べて稍低い、3 時間値は遙かに高く 5 時間値及び 9 時間値においても同様に高い血中濃度を示した。即ち SL 剤併用時には INAH 単独投与時よりも遊離 INAH の最高血中濃

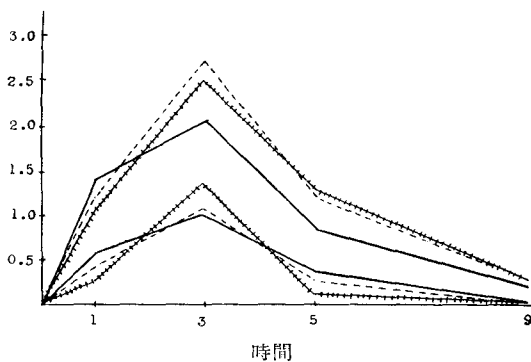


図 3 遊離 INAH 血中濃度平均値曲線 (第 1 群)

実線 INAH 単独  
 条線 INAH SL-isoxazole 併用  
 点線 INAH SL-isomidine 併用

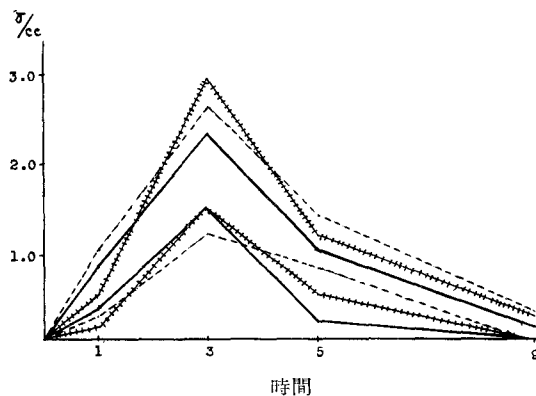


図 4 遊離 INAH 濃度平均値曲線 (第 2 群)

実線 INAH 単独  
 条線 INAH SL-thiazole 併用  
 点線 INAH SL-methoxypridazine 併用

(3 時間値) が高く、且つ又血中持続時もより長かつた。第 2 群では INAH SL-thiazole 併用時、INAH SL-methoxypridazine 併用時ともに遊離 INAH の最高血中濃 (3 時間値) は INAH 単独投与の場合に比較して高く、5 時間値及び 9 時間値も同様に高かつた。然し投与後 1 時間の値では SL-thiazole 併用時が最も低かつた。

第 5 図、第 6 図には上記 INAH 単独及び SL 剤併用の 2 群の総 INAH 濃度を示した。第 1 群における INAH 単独投与では遊離 INAH 濃度と類似の傾向を示す曲線を得た。而して 3 時間値が最高値を示し、1 時間値、5 時間値は略々等しく 9 時間後には総 INAH は殆んど血中に認め得なかつた。第 2 群においても同様な消長を示した。

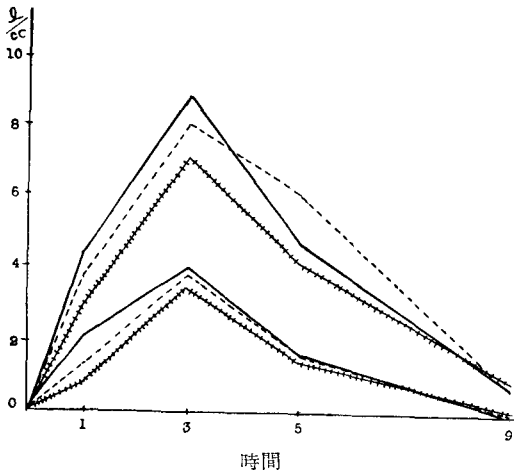


図 5 総 INAH 血中濃度平均値曲線 (第 1 群)  
 実線 INAH 単独  
 条線 INAH SL-isoxazole 併用  
 点線 INAH SL-isomidine 併用

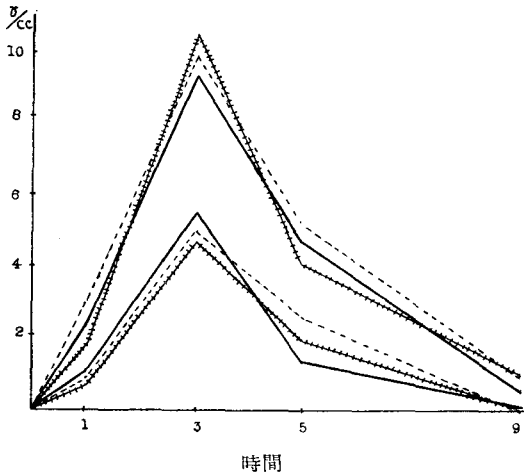


図 6 総 INAH 血中濃度平均値曲線 (第 2 群)  
 実線 INAH 単独  
 条線 INAH SL-thiazole 併用  
 点線 INAH SL-methoxy-pyridazine 併用

SL 剤併用時の総 INAH 血中濃度を見るに第 1 群の SL-isomidine 併用及び SL-isoxazole 併用時ともに INAH 単独に比して投与後何れの時間に於いても低く、ただし SL-isomidine 併用時のみ幾らか高かった。第 2 群においても同様である。これらを通じてみるに総 INAH の血中濃度は INAH 単独投与時に高く SL 剤併用時には却つて低い値を示す事を知った。而して血中 INAH 濃度は薬剤投与後急速に上昇して 3 時間後に最高となり 5 時間後にはかなり減少を来して 9 時間後には

殆んど認め得なくなる。総 INAH と遊離 INAH は略々平行して増減を示す事を知り得た。INAH の血中濃度は個人により差が大きいが Elmendorf<sup>11)</sup> によれば成人に対して 3 mg/kg の経口投与によつて 1~6 時間後に最高血中濃度に達し、その値は 1.3~3.4 γ/cc と報告し、又 Bürger<sup>12)</sup> は 2.5~5.0 γ/cc と報告している。本実験の結果では INAH 単独投与時における最高血中遊離 INAH 濃度は 3.5~0.6 γ/cc であつた。

次に投与 INAH の吸収、排泄の関係をみるに、速かに高血中濃度に達して比較的短時間内に血中から消失する症例と、これに反して、徐々に血中濃度の上昇がみられ、且つ最高値も低く消失まで長時間を要する症例と両者の中間的傾向を有する症例とが観察された。即ち症例 No. 11 では血中遊離 INAH 濃度が 1 時間値 3.5 γ/cc, 3 時間値 2.6 γ/cc, 5 時間値 0.4 γ/cc であり 9 時間値は 0 であつた。症例 No. 16 では 1 時間値 0.2 γ/cc 3 時間値 1.0 γ/cc, 5 時間値 0.4 γ/cc, 9 時間値 0.2 γ/cc であつた。

Middlebrook<sup>42)</sup> は INAH-Acetyl 化率の高低によつて迅速非活性者と遅延非活性者の 2 つの Type に分けて INAH が血中に速かに且つ高い濃度に吸収され速かに消失する者を迅速非活性者とし、血中濃度が低く持続の長いものを遅延非活性者としている。又この 2 つの Type は治療上の効果と密接な関係があると報告されて居る。本実験において遅延性非活性者に属するものは 6 例であつた。

INAH の非活性化率

血中遊離 INAH 濃度及び総 INAH 濃度より INAH 非活性化率を求め第 7 図と第 8 図に示した。INAH 非活性化率は総 INAH に対する Acetyl 化 INAH の比を百分率を以つて示した。第 1 群では投与後 1 時間では

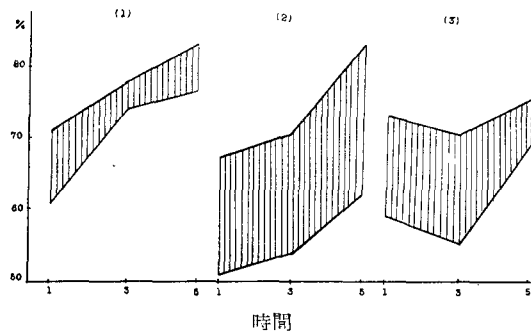


図 7 INAH 非活性化率平均値曲線 (第 1 群)  
 (1) INAH 単独  
 (2) INAH SL-isomidine 併用  
 (3) INAH SL-isoxazole 併用

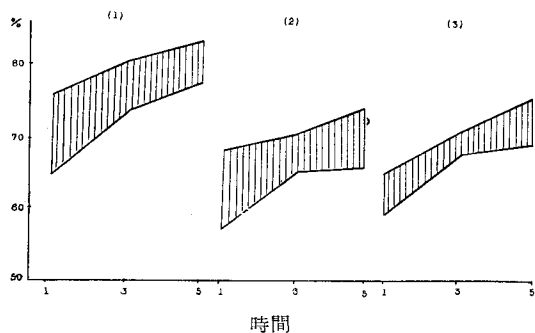


図 8 INAH 非活性化率平均値曲線 (第 2 群)

- (1) INAH 単独  
 (2) INAH SL-methoxy pyridazine 併用  
 (3) INAH SL-thiazole 併用

INAH 単独及び SL 剤の間に INAH 非活性化率の差はみられず、投与後 3 時間の平均値では INAH 投与時と比較して SI-isomidine 併用時には 13.8%, SI-isoxazole 併用時には 13.1% 何れも非活性化率の減少を示し、投与後 5 時間の平均値では SI-isomidine 併用時には 6.1%, SI-isoxazole 併用時には 5.7% 減少して居り、何れも推計学上有意の或いは略々有意の差が認められた。第 2 群においては投与後 3 時間では INAH 単独に比して SI-thiazole 併用時が 7.9%, SI-methoxy pyridazine 併用時が 9.4%, 5 時間値では SI-thiazole 併用時が 8%, SI-methoxy pyridazine 併用時が 10.5%, 何れも低く推計学上有意の或いは略々有意の差が認められた。以上の成績の如く INAH 単独投与時と比較して SL 剤併用時には明かに血中の INAH 非活性化率は減少している事が認められた。且つ又 SI-methoxy pyridazine の如く長時間高い血中濃度を持続する場合に於いては、INAH 非活性化率の低下も著しく、持続的である。INAH と SL 剤が Acetylation に関して互いに拮抗的に働くとするれば両者に適応した量的関係があるかも知れないと今泉<sup>37)</sup>は述べているが、INAH の Acetylation が併用せる SL 剤の血中濃度と Acetylation に影響されて増減している如く観察された。

第 3 表には INAH 非活性化に及ぼす SL 剤併用効果について症例数からみた成績を示した。SL 併用せる場合、投与後 3 時間及び 5 時間では非活性化率の減少をみる例が多く、且つその作用は併用 SL 剤の種類に不拘同様であつた。本表に於いて SL 剤併用にも不拘非活性化率の増加せる例に遅延非活性型に属するもの多く、3~5 時間値に於いて減少を示した SI-isomidine 併用の 3 例中 2 例、SI-isoxazole 併用の 2 例、SI-thiazole 併用の 1 例、SI-methoxy pyridazine 併用の 1 例は遅延性

非活性者であつた。

表 3 INAH-SI 併用時における INAH-非活性化率の変化

	時間	減少	不変	増加
INAH-SI-isoxazole	1	7例	0例	4例
	3	8	0	3
	5	9	1	0
INAH-SI-isomidine	1	7	0	4
	3	11	0	0
	5	5	0	2
INAH-SI-thiazole	1	6	1	3
	3	10	0	0
	5	9	0	1
INAH-S-methoxy pyridazine	1	7	0	3
	3	10	0	0
	5	9	0	1

## 〔II〕 INAH SL 剤併用時における 血清抗菌力試験

### 血清抗菌力試験について

化学的定量法として前記の如く Bromcyan 法により遊離 INAH 及び非活性 INAH の消長を追求したが、それと並行して生体内における INAH SL 剤併用時の抗結核菌作用の変動を知る目的を以て以下の実験を行った。

被検者に投与された薬剤が生体内に吸収され、血液中に移行して、その溶媒たる血液を介して病巣の結核菌に作用する以上、薬剤を含む血液それ自体の抗菌力を知る事が必要である。被検者血清を用いて SM 或いは INAH 等の抗結核剤の發育阻止力を観察する方法には、Slide Cell Culture, 志保田<sup>38)</sup>の考案した高濃度に被検者血清を含むキルヒナー培地による方法、Dubos 液体培地を用いる方法などがあるが、本実験には志保田の方法によつて INAH SL 剤投与者の血清抗菌力を投与後時間の経過に従つて検索した。

### 実験方法

前記血中濃度測定に際して採血せる INAH SL 剤投与者の血液を、薬剤投与の直前、投与後 1 時間、3 時間、5 時間、9 時間の 5 回に分けて採血し、滅菌スピッツグラスに無菌的に採り、暫時放置の後、3000 回転 20 分間遠心沈澱して血清を分離した。培地には、キルヒナー氏原液の 10 倍濃厚液を作り、培地 1 cc 当り血清 0.2 cc, 滅菌蒸溜水 0.7 cc, 10 倍濃厚キルヒナー原液 0.1 cc の割になる様に加えた。使用せる菌株は人型結核菌 H37Rv 株を 10% キルヒナー培地に 2 週間培養せるものを培地 1 cc 当り菌量 0.01 mg になる様に加えた。

これを 37°C 2 週間孵卵室で培養した後、判定した。判定は対照と比較して、管底に殆んど異常を認めないものを (-) 管底のみに菌発育を認めるものを (+) 液面に

菌膜を形成したものを (++) とした。

実験成績

第 4 表及び第 5 表に実験成績を示した。即ち INAH

表 4 血清抗菌力試験 第 1 群

症例 No.	投与前			1 時間			3 時間			5 時間			9 時間		
	INAH 単	INAH-isoxaz	INAH-isomid	INAH 単	INAH-isoxaz	INAH-isomid	INAH 単	INAH-isoxaz	INAH-isomid	INAH 単	INAH-isoxaz	INAH-isomid	INAH 単	INAH-isoxaz	INAH-isomid
1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
7	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
8	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
9	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
10	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
11	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
12	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+

20% 患者血清加キルヒナー培地 2 週間培養

表 5 血清抗菌力試験 第 2 群

症例 No.	投与前			1 時間			3 時間			5 時間			9 時間		
	INAH 単	INAH-thiazol	INAH-met-pyri	INAH 単	INAH-thiazol	INAH-met-pyri	INAH 単	INAH-thiazol	INAH-met-pyri	INAH 単	INAH-thiazol	INAH-met-pyri	INAH 単	INAH-thiazol	INAH-met-pyri
13	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
14	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
15	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
16	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
17	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
18	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
19	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
20	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
21	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
22	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

20% 患者血清加キルヒナー培地 2 週間培養

単独, SL 剤併用の両群ともに投与後 3 時間までは菌の発育を認めなかつた。投与後 5 時間では発育抑制効果は INAH 単独の場合よりも SL 剤併用の場合に強く認められた。使用せる 4 種の SL 剤のうち SI-methoxy-pyridazine 併用群に於いては全例に発育阻止が認められた。投与後 9 時の血清に於いては, INAH 単独では発育抑制は見られなかつた。SL 剤併用の場合にも SI-methoxy-pyridazine を除いてあまり抑制効果は認められなかつた。SI-methoxy-pyridazine 併用では 9 時間後血清についても抑制効果がみられ, 血清抗菌力の持続が他の SL 剤の併用群より長かつた。

以上の成績から INAH と SL 剤を併用投与せる場合において, 20% 被検者血清を含むキルヒナー培地によつて血清抗菌力を見た結果, INAH 単独投与時の血清の発育阻止力は投与後 3 時間まで, SL 剤併用投与時にはおおむね 5 時間まで持続する事が分つた。

### 〔III〕 INAH SL 剤併用による試験管内 抗菌力実験

試験管内に於いて SL 剤が或る程度の抗結核菌作用を有する事は既に知られていた<sup>1),2)</sup>。最近 SL 剤が臨牀的に有効な抗結核剤と認められるようになったが, SL 剤の抗結核作用が特に INAH との併用によつて如何に変動するか改めて検討されなければならない。著者は前

章に記述したように化学的測定法を用いて INAH SL 剤併用時における INAH 血中濃度を測定, 同時に血清抗菌試験を行つて, 生体内における両薬剤の併用効果を認め得たのであるが, 更に試験管内における抗菌力を知るべく以下の実験を行つた。

#### キルヒナー培地による抗菌力試験

10% 血清加キルヒナー培地を使用し, 培地の pH を 5.6, 6.0, 7.0 の 3 種とした。培地 1 cc 当り 0.01  $\gamma$ , 0.025  $\gamma$ , 0.05  $\gamma$ , 0.1  $\gamma$  になるように INAH を加えた。SL 剤は SI-isomidine, SI-isoxazole, SI-thiazole, SI-methoxypyridazine を各々培地 1 cc 当り 5  $\gamma$ , 10  $\gamma$ , 20  $\gamma$ , 40  $\gamma$  となるように加えた。以上の INAH SL 剤を含む総べての組合せの培地を作り実験に使用した。人型結核菌 H37Rv 株を培地 1 cc 当り 0.01 mg となる如くに接種した。2 週間 37°C に培養した後, 前記血清抗菌力試験の判定に従つて判定を行つた。

#### 実験成績

実験の結果は第 6 表に示した。INAH 単独では pH 5.5~7.0 の間では抗菌力に差を認めず何れも 0.05  $\gamma$  で完全に発育は阻止された。即ち INAH の抗菌力は, pH の変動によつて影響を受けない事を知つた。SL 剤のみを含む培地では pH 5.5 の時 40  $\gamma$ /cc が最低発育阻止濃度であるが pH 6.0 及び 7.0 の場合にはこの濃度で

表 6 INAH-Sulfa 剤試験管内抗菌力

$\gamma$ /cc	培地 pH	SI	SI	Sulfisoxazol				Sulfisomidin				Sulfathiazol				Sulfamethoxypyridazin			
		INAH	0	5	10	20	40	5	10	20	40	5	10	20	40	5	10	20	40
pH 7	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 6	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.05	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 5.5	0	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-
	0.01	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	±	-	-
	0.025	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	±	-	-	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

10% 血清加キルヒナー培地 2 週刊培養

も猶發育が認められた。INAH SL 剤併用せる培地に於いてはやや併用効果は認め得たが、それは pH 6.0 及び 7.0 では著明ではなかつた。又 4 種の SL 剤は抗菌力に於いて明かな相異を認め得なかつた。

実験の成績から、試験管内抗菌力の上から見ると、SL 剤は酸性のメヂウムに於いて、抗菌力を示すが培地 pH 6.0~7.0 においては抗菌力は著しく低下し、且つ又 INAH との併用効果も明かではない。PZA は試験管内において培地の pH の低い場合に著明な抗菌力を示す事が知られているが<sup>13)</sup>、SL 剤も亦同様な傾向を持つているようである。

### Dubos 培地における發育阻止実験

#### 実験方法

キルヒナー培地による INAH SL 剤併用試験管内抗菌力試験と並行して Dubos 液体培地による兩種薬剤

併用の試験管内發育阻止実験を行つた。

培地は Dubos 基礎培地 (栄研) にアルブミンを 10% 加えた Dubos 液体培地を用い、培地の pH は 6.8~7.0 とした。人型結核菌 H<sub>37</sub>Rv 株の Dubos 培地に旺盛に發育せるものを使用し、菌量 0.1 mg を加えて 10 日間 37°C にて培養し、菌増殖によつて生じた培地の濁濁度を光度計によつて測定した。測定には日立の光電光度計を使用した ( $\lambda$ : 550)。培地に加えた薬剤はキルヒナー培地の試験管内実験に使用せるものと同種として、INAH は 0  $\gamma$ /cc, 0.005  $\gamma$ /cc, 0.01  $\gamma$ /cc SL 剤は上記 4 種をそれぞれ 0  $\gamma$ /cc, 10  $\gamma$ /cc, 20  $\gamma$ /cc, 40  $\gamma$ /cc, 80  $\gamma$ /cc として総べての組合せを持つ培地を作製した。

#### 実験成績

第 7 表に成績を示した。即ち SL 剤単独では 40~80  $\gamma$ /cc に著明な吸光度の差がみられ、この間に有効阻止濃度の限界がある如くに觀察された。SL 併用時には

表 7 Dubos 培地による INAH-Sulfa 剤併用時の發育阻止実験

$\gamma$ /cc	INAH	SI	SI-isoxal	SI-isomidin	SI-thiazol	SI-methoxypprid
0		0	0.325	—	—	—
		10	0.297	0.298	0.295	0.311
		20	0.290	0.292	0.297	0.298
		40	0.280	0.278	0.288	0.290
		80	0.120	0.114	0.135	0.145
0.005		0	0.128	—	—	—
		10	0.117	0.118	0.120	0.124
		20	0.105	0.107	0.103	0.108
		40	0.073	0.075	0.070	0.075
		80	0.034	0.032	0.031	0.033
0.01		0	0.082	—	—	—
		10	0.055	0.050	0.052	0.058
		20	0.045	0.045	0.047	0.049
		40	0.028	0.030	0.032	0.031
		80	0.026	0.025	0.025	0.030

数字は培地の濁濁度を Optical density にて示す  
培地は pH 6.8~7.0

發育阻止力の増加が認められた。又使用せる SL 剤相互の間に發育阻止力に関して著明な差は認められなかつた。

著者はキルヒナー培地における INAH 剤 SL 剤併用抗菌力実験において、培地中における SL 剤の減量が著しい事を知つた。しかも同時に添加せる INAH にはかかる減量は著明ではなかつた。これは培地の加温等の操作によるものか否かは不明であるが、培養日数の経過に

も関連がある如く考えられた。上記 Dubos 培地は短期日に成績の判定が出来、且つ又肉眼的に判断するのと異り、吸光度によつて数的に表現出来る<sup>36)</sup>のでこの方法に従つて実験を行つた。実験成績に見る如く SL 剤単独の抗菌力は 40~80  $\gamma$ /cc であり、INAH との併用効果も又 SL 剤の高い濃度においてのみ認められた。

## 総括及び考按

INAH-SL 剤併用の臨床的効果は多くの研究者によつて既に発表されて居り、著者らも先に報告した如く優れた治療効果を示している。SL 剤に、或る程度の抗結核作用のある事は古くから知られていたが、最近の新しい SL 剤を用いてもそれ自身の抗菌力はあまり著明なものではない。たとえ SL 剤が PZA の如く酸性のメジウムに於て著しい抗菌力を示すとしても、生体内における結核菌と SL 剤の接触するメジウムが必ずしも強い酸性を示すとは云い得ない。結核菌周囲の単球、中性球中の pH が 4.5~5.5 であるとの Muc-Darmot<sup>13)</sup> の報告はあるが、乾酪巣の pH は 6.3~6.8 で<sup>14)</sup> 炎症部でも pH 6.0~6.7<sup>15)</sup> であるとするれば、生体内における SL 剤単独の抗菌力は他の抗結核剤に比ぶるべくもないものであろう。SL 剤が培地の種類によつてかなり異つた発育阻止力を示す点については如何なる理由によるものか未だ知られていない。著者が測定したところではキルヒナー培地に添加された SL 剤は極めて早い速度で減量するもので INAH に比較して著明な差がある。又培地作製の過程において減量する事が考えられるが、これらの点については更に検討を要するであろう。試験管内において SL 剤は INAH との併用効果を示したが、中性のキルヒナー培地におけるよりむしろ、pH 5.5 の培地において併用効果が明瞭であつた。又 INAH 耐性菌に関する知見によれば、SL 剤は INAH 耐性発現を遅延乃至阻止せしめると云われている。以上の点から結核症に対する治療効果を推測する事は出来る。

INAH の体内分解に関しては INAH の微生物学的測定法によつて有効 INAH の血中濃度を測り臨牀上に用いようとする試みが Middlebrook らによつてなされているが<sup>12)</sup>、生化学的方法によつて遊離型 INAH と非活性化 INAH とを測定した本実験の結果では遊離 INAH の血中濃度が低く臨床効果を期待出来難い症例を認めた。INAH に対して PAS を併用投与した場合に血中 INAH 濃度の上昇を来すと云う報告が<sup>7), 8)</sup> 見られるが、著者の実験によれば、INAH に SL 剤を併用せる場合、遊離 INAH 濃度の上昇が認められ、特に投与後 3 時間以後に於いて高く、且つ持続する傾向があつたが、同時に測定した非活性化 INAH 量から、血中遊離 INAH 濃度の上昇は、SL 剤が INAH の非活性化を阻止している為である事を知つた。又 SL 剤の INAH のアセチル化阻止力は SL 剤の血中濃度と密接な関係を有するものであるとの結果を得た。この事は、INAH に対し丁度充分な量の SL 剤が与えられて、はじめて遊

離 INAH の上昇が認められるかも知れないと云う今泉<sup>37)</sup> の推測を裏づけるものと考ええる。INAH の血中濃度には個人差が著しく Middlebrook の云う迅速非活性者と遅延非活性者があつたが、前者に於いては速かに高血中濃度に達し又迅速に排泄され、INAH 非活性化率も又大であつたが、SL 剤の併用効果が大きく、血中遊離 INAH 濃度は上昇し、持続時間も延長した。本実験には 4 種の SL 剤を使用した。何れも血中濃度が高く特に SI-methoxypridazine は高い血中濃度と長い持続時間を示したが結核菌に対する発育阻止力及び INAH との併用効果については稍良好な成績を得たに止つた。

## 結 論

INAH に対する SL 剤併用効果の機転を研究する目的で SI-isomidine, Sulfisoxazole, SI-thiazole 及び SI-methoxypridazine の 4 種の SL 剤を (等モル) INAH と併用して結核患者に投与し、INAH の血中濃度、アセチル化におよぼす上記 SL 剤の影響および投与後患者血清の抗菌力をしらべたところ、INAH の血中濃度を高く保ち、アセチル化を防ぎ、したがつて患者血清の抗菌力を長時間持続させると云う点では上記 4 種の SL 剤の間に著明な差異は認められなかつた。即ち INAH に対する SL 剤併用効果の機序は、SL 剤それ自身の抗結核作用よりも、むしろ SL 剤併用によつて INAH のアセチル化が遅れ、したがつて遊離 INAH が血中に長時間しかも高く保たれるという点にあると思われる。

拙筆に際し、本研究を命ぜられ御指導と御校閲を賜つた高橋義夫教授に深く感謝する。又研究に当り、御指導、御助言を戴いた西風尙助教授並びに原岡壬吉所長に深く感謝する。

本研究の要旨は第 33 回日本結核病学会に発表した。

## 文 献

- 1) Cuthbertson et al : Biochem. J., 25, 669, 1953.
- 2) Hughes et al : Trans. 14th Conf. Chem. tbc. Va-Army-Navy, 217, 1955.
- 3) Hughes et al : Am. Rev. tbc., 70, 266, 1954.
- 4) Carroll et al : Am. Rev. tbc., 75, 6, 1957.
- 5) Jonson et al : Am. Rev. tbc., 70, 465, 1954.
- 6) Jonson et al : Proc. Soc. Exp. Biol., 6, 1956.
- 7) Mandel et al : Proc. Soc. Exp. Biol., 91, 409, 1956.
- 8) Mores et al : 15th Conf. on Chemotherp. tbc.,

- 70, 465, 1954.
- 9) Rubin et al : Dis. chest., 21, 439, 1953.
- 10) Rubin et al : Am. Rev. tbc., 65, 392, 1955.
- 11) Elmendorf et al : Am. Rev. tbc., 65, 392, 1952.
- 12) Buerger et al : Beitr. Klin. tbc., 108(6), 429, 1953.
- 13) Mac. Dermot et al : J. exp. med., 41, 399, 1952.
- 14) Weiss : Am. Rev. tbc., 63, 694, 1951.
- 15) Was Hoeckert Muc Cune : Am. Rev. tbc., 74(4) 572.
- 16) R. Boenick et al : Klin. wshr., 803, 1955.
- 17) Kelly et al : Am. Rev. tbc., 65, 484, 1952.
- 18) Scot : J. pharm. et pharm., 4(10) 1952.
- 19) E. Mayer : An. New York Acad. of Science., 457-1956.
- 20) Boger et al : Antibiotic. and Clinic. Therap., 3, 378, 1956.
- 21) Frisk et al : Antibiotics annual, 1956-424.
- 22) 東村 : Chemotherapie, 3(5) 30.
- 23) 東村 : J. Antibiotic. Ser. B., 8(9) 409, 1955.
- 24) 田中 : 金沢医大年報, 8年上巻, 67~昭 24.
- 25) 半場他 : 日結, 15(10) 昭 31.
- 26) 小山他 : 新薬と治療, 29, 昭 31.
- 27) 東海林, 佐藤 : 呼吸器診療, 13(6) 昭 33.
- 28) 内藤 : 結核の臨床, 3(8) 昭 30.
- 29) 内藤 : 日結, 15(10) 昭 30.
- 30) 小川 : 日結, 15(11) 昭 31.
- 31) 齋藤他 : 日結, 15(10) 昭 31.
- 32) 河盛 : 臨床と研究, 35(1) 昭 33.
- 33) 岩本 : 薬学雑誌, 74(1) 昭 29.
- 34) 谷奥 : 臨床と研究, 35(1) 昭 33.
- 35) 志保田 : 京大結研紀要, 1(2) 昭 28.
- 36) 草間 : 結核, 33(3) 昭 33.
- 37) 今泉 : 呼吸器診療, 12(5) 昭 32.
- 38) 堂野前 : 臨床と研究, 30(1) 昭 28.
- 39) 佐藤 : 抗酸菌病研究雑誌, 8(4) 昭 28.
- 40) 東村 : 日結, 17(6) 昭 33.
- 41) 小酒井他 : 日結, 15(11) 昭 31.
- 42) Middlebrook : 日結, 15(10) 昭 31.
- 43) 寺松 : 肺, 3, 204 昭 31.