

結核化学療法における Sulfamethizole の位置

とくに血清総合抗菌力からみた本剤と INH および SM との併用効果

山 田 豊 治

北海道大学第一内科 (主任教授)

月居典夫・佐藤竜也・佐々木貞雄・高橋利道

北海道大学第一内科・国立札幌療養所

前 田 和 夫 ・ 福 田 晃

国立札幌療養所

受付 昭和 40 年 4 月 9 日

EVALUATION OF THERAPEUTIC EFFECT OF SULFAMETHIZOLE ON PULMONARY TUBERCULOSIS*

Observations of Specific Serum Antimycobacterial Activity Test
(S.S.A.A.T.) by Vertical Diffusion Method

Toyoji YAMADA, Norio TSUKIORI, Tatsuya SATO, Sadao SASAKI,
Toshimichi TAKAHASHI, Kazuo MAEDA and Akira FUKUDA

(Received for publication April 9, 1965)

In order to investigate the therapeutic effect of sulfamethizole (Urocidal), following experiments were done.

Vertical diffusion method was performed to evaluate serum antimycobacterial activity of experimental animal which was administered sulfamethizole : Ten rabbits received this drug intramuscularly singly or in combination with sulisoxazole, isoniazid or streptomycin. Thirty minutes later, blood was obtained by cardiac puncture. Each 1 ml. of serum separated from the blood was put into the bottom of the test tubes containing 1% Ogawa's media which had been inoculated with human virulent tubercle bacilli, H₃₇Rv, its isoniazid-resistant and streptomycin-resistant strain, respectively. The antibacterial effect of the drugs in serum was determined by measuring the width of inhibitory zones on the vertical diffusion medium after 3 weeks-incubation.

In addition to vertical diffusion method, following animal experiments were performed :

(1) 270 mice, strain CF-1 were divided into three groups of 90 mice. Each group was inoculated intravenously with tubercle bacilli H₃₇Rv and its two drug resistant variants mentioned above, respectively. Each group was further divided into three subgroups. The first three of each subgroup received daily sulfamethizole alone. The second three and the third three received sulfamethizole with isoniazid and sulfamethizole with streptomycin, respectively. After three weeks treatment, all animals were sacrificed for gross and bacteriological examination.

(2) 54 guinea pigs were inoculated subcutaneously with virulent tubercle bacilli, Nakano strain. Three weeks after inoculation, the animals were treated with the same drugs daily as in the mouse experiment for 5 weeks, and then sacrificed for gross and bacteriological examination.

* From the Hokkaido University, School of Medicine, Sapporo, Hokkaido, Japan.

Following results were obtained.

1 Specific Serum Antimycobacterial Activity Test by the vertical diffusion method revealed that the inhibitory action of sulfamethizole in rabbit serum was stronger than that of sulfisoxazole on the growth of $H_{37}Rv$ tubercle bacilli, its isoniazid-resistant and streptomycin-resistant strains.

2 Sulfamethizole showed the synergistic action on the suppressive effect of isoniazid or streptomycin on growth of tubercle bacilli.

3 The same effect of sulfamethizole was confirmed in vivo.

4 S.S.A.A.T. seemed to be valuable to determine the combination effect of antituberculous drugs currently used.

緒 言

病巣内結核菌に対する抗結核剤の効果は、宿主、菌、薬剤の3者の関係が満足されて初めて出現するものであることは論をまたない。実際の臨床治療面におけるこの種の問題の検索方法としては、現在はおつばら薬剤耐性検査が広く実施されている。しかしながら耐性検査は、あくまでも菌と薬剤との2者の関係の検討であつて、この方法では宿主の因子を知ることは不可能である。

われわれはこの点に着目して、患者に抗結核剤を投与した後の血清を、その患者の排出菌に培地上で作用せしめるいわゆる血清総合抗菌力検査が、耐性検査よりも宿主因子を加味する意味でより目的であり、さらにはこの成績のほうがより良くその薬剤の臨床効果と一致していることを報告してきた^{1)~3)}。

今回は従来よりもつばら尿路感染症の治療剤として用いられてきた Sulfamethizole (ウロサイダル) が、他のサルファ剤同様に抗結核剤として用いるか否かを、もつばら血清総合抗菌力検査と動物実験の面から観察した。なおこの実験では生体に投与した2種類以上の抗結核剤が、体内でどのような作用を示すかを、直立拡散法を利用して若干の分析を行ないえたのであわせて報告する。

実験方法

1. 血清総合抗菌力検査法

血清総合抗菌力(以下血抗菌力と略す)の基本原理は、患者自家菌に対するその患者血清中薬剤の抗菌力をいうのであるが、ここでは家兎による動物実験を行なつたため、使用菌株は $H_{37}Rv$ 株、 $H_{37}Rv \cdot INH$ 10 γ 耐性株(以下 R-INH 株と略す)および $H_{37}Rv \cdot SM$ 10 γ 耐性株(以下 R-SM 株と略す)を用いた。血抗菌力検査は、1% 小川拡散培地による直立拡散法により行ない、あらかじめ 10^{-3} mg の蒸溜水菌浮游液を接種した同培地管底に家兎に Sulfamethizole (以下 SMT と略す) 単独

あるいは他の抗結核剤と併用投与した後に採血した血清 1 ml を注加、綿栓封蠟後培地を直立させたまま 37°C 2~3 週間培養して、注加血清面よりの菌の発育阻止帯を測定し、その長さ(mm)を血抗菌力値とした。

家兎は10匹使用し、これらに対して第1日目には SMT per kg 60 mg, 第2日目は Sulfisoxazole (以下 SI と略す)の同量, 第3日目は INH per kg 5 mg をそれぞれ経口的に投与, その後4日目に SM per kg 20 mg 筋注, 5日目 INH+SMT, 6日目 INH+SI, 7日目 SM+SMT, 8日目 SM+SI の併用投与を行なつた。採血はいずれも薬剤投与 30 分後に心臓穿刺により行ない、分離した血清 1 ml ずつを $H_{37}Rv$, R-INH, R-SM をそれぞれ接種した拡散培地管底に注加した。

2. マウスによる動物実験

家兎を用いて行なつた SMT その他薬剤の血抗菌力検査成績が、動物結核症の治療効果とどのように関係するかを確かめるためマウスを用いて以下の実験を行なつた。

使用したのは CF₁ 株マウス 270 匹で、これらを 90 匹ずつ3群に分ち、第1群には $H_{37}Rv$ 株を、第2群には $H_{37}Rv \cdot R-INH$ 株、第3群には R-SM 株をそれぞれ 1 mg ずつ尾静脈内に感染させた。その後1週間放置して、各群とも週6日ずつ6週間次の治療を行なつた。

- | | |
|----------------------------|------|
| (1) control (無処置) 群 | 10 匹 |
| (2) SMT 単独群 (per kg 60 mg) | 10 匹 |
| (3) SI " (") | 10 匹 |
| (4) INH " (per kg 1 mg) | 10 匹 |
| (5) SM " (per kg 20 mg) | 10 匹 |
| (6) INH・SM 併用群 | 10 匹 |
| (7) INH・SI " | 10 匹 |
| (8) SM・SMT " | 10 匹 |
| (9) SM・SI " | 10 匹 |

各薬剤はいずれも生食水溶液としてマウス背部皮下に注射した。治療効果の判定は、治療終了の翌日全マウスをエーテルで屠殺し、その肺を剔出して定量培養を行な

い、肺内生菌数を確かめることにより行なつた。

3. モルモットによる動物実験

ヒト型毒力結核菌仲野株(薬剤感性株)の生食水菌浮遊液 1/100 mg を右下腹部皮下に感染させた 54 匹のモルモットを 6 匹ずつ 9 群に分ち、マウスと同様の治療を行なつた。なお治療は菌感染 3 週後から 5 週間行ない、いずれも薬剤は生食水溶液として腋窩部皮下に注射した。判定は治療終了翌日に屠殺剖検して、肝、肺、脾臓と所属リンパ腺の肉眼的病変程度を確かめるとともに、脾の定量培養を行なつた。

実験結果

1. 家兎による SMT の血清総合抗菌力の検討

in vitro における SMT の抗結核菌作用は 7~16 mcg/ml といわれ、また INH とも優れた相乗作用を示すことはすでに報告されている。in vitro にみられる相乗効果が、in vivo ではいかなる形で現われるかを知るために血抗菌力検査を用いて行なつた成績を表 1 および図 1 に示した。これによるとまず SMT 単独投与による効果は、

対照として行なつた SI 単独投与によるそれよりも強く現われていることが分かつた。すなわち H₃₇Rv 株に対する発育阻止帯の長さは、SMT は平均 27.1 mm, SI は 17.8 mm, R-INH 株に対しては SMT 20.3 mm, SI 10.0 mm, R-SM 株に対しては SMT 24.8 mm, SI 15.6 mm で、いずれも SMT のほうが優れた成績を示していた。同様な傾向は INH および SM との併用投与のさいにも認められた。すなわち INH と SMT および SI の併用をみると、H₃₇Rv 株に対しては INH・SMT は平均 71.2 mm, INH・SI は 66.5 mm, R-INH 株に対しては SMT 34.8 mm, SI は 26.3 mm, R-SM 株に対しては SMT 70.9 mm, SI 68.7 mm で、INH・SMT が INH・SI よりも強い効果を示すことが分かつた。また SM との併用でも H₃₇Rv 株に対し SM・SMT 39.2 mm, SM・SI は 35.8 mm, R-INH 株では SMT 37.3 mm, SI 33.2 mm, R-SM 株では SMT 42.9 mm, SI 38.9 mm で、SM・SMT 併用のほうが SM・SI よりも、

いづれの菌に対してもより優れた作用を示していた。今回行なつた血抗菌力の成績が、そのまま生体内にお

Table 1. Measurement of Inhibitory Action of SMT Alone or Combined with INH and SM Against Tubercle Bacilli by S.S.A.A.T. (Vertical diffusion method)

		S M T (60 mg/kg)			S I (60 mg/kg)			I N H (5 mg/kg)			S M (20 mg/kg)		
Rabbits		Rv	R-INH	R-SM	Rv	R-INH	R-SM	Rv	R-INH	R-SM	Rv	R-INH	R-SM
1		27	16	21	19	8	9	69	0	76	25	22	10
2		26	18	24	17	11	16	67	0	66	27	24	11
3		27	21	26	19	10	19	66	0	65	27	24	8
4		29	26	29	14	9	11	60	0	67	27	23	10
5		28	20	26	16	11	17	61	0	54	29	21	2
6		21	18	24	18	9	16	59	0	68	25	26	7
7		29	19	26	16	15	23	60	0	57	25	21	12
8		28	24	24	18	8	16	62	0	65	27	22	8
9		29	23	26	17	8	11	61	0	67	26	24	10
10		27	18	22	14	11	18	64	0	66	25	21	4

		INH・SMT			INH・SI			SM・SMT			SM・SI		
Rabbits		Rv	R-INH	R-SM	Rv	R-INH	R-SM	Rv	R-INH	R-SM	Rv	R-INH	R-SM
1		79	35	82	67	20	75	41	33	43	37	33	42
2		78	38	72	64	27	61	39	39	43	34	35	42
3		77	33	75	66	27	68	36	37	41	39	34	41
4		71	35	74	64	28	65	38	33	41	37	34	40
5		65	38	64	69	29	73	44	41	47	36	35	39
6		68	32	70	70	27	69	41	37	43	34	33	37
7		64	30	64	71	29	68	36	31	42	34	26	33
8		69	37	70	64	27	69	38	36	43	36	34	40
9		72	38	72	64	27	71	40	39	41	37	35	41
10		69	32	66	64	22	68	39	37	45	34	33	34

Fig. 1. Measurement of Inhibitory Action of Various Anti-tuberculous Drugs Against Tubercle Bacilli by S.S.A.A.T. (Vertical diffusion method)

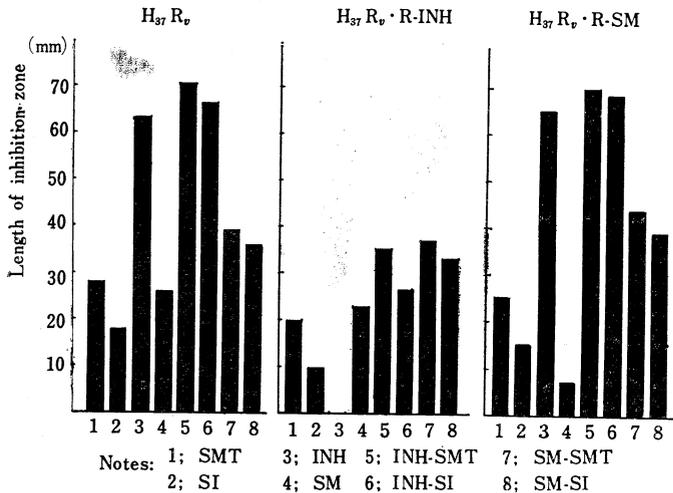
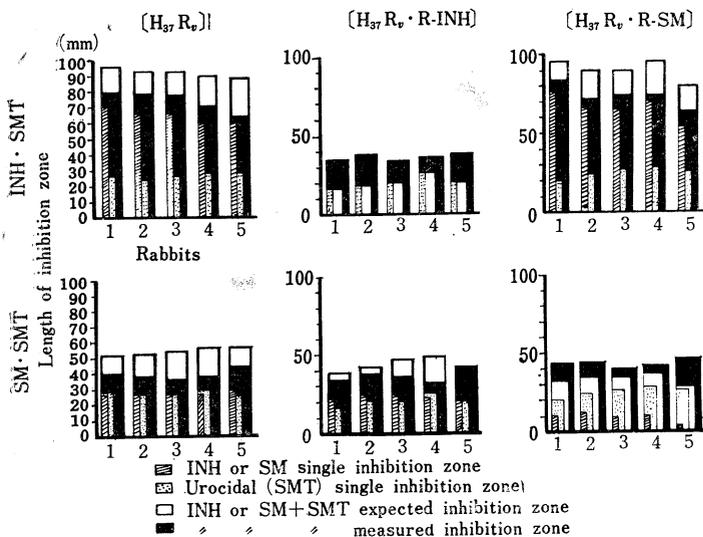


Fig. 2. Evaluation of S.S.A.A.T. (Vertical diffusion method) on Effects of Combined Administration of Anti-tuberculous Drugs



ける効果を示していると即断することには無理があろうが、少なくとも若干の宿主条件を加味した本実験では、SMT は SI よりわずかながらも優れた抗結核菌作用があり、INH および SM との併用投与でもより優れた効果を示すものといえる。

図2および3は SMT と SI の INH および SM に対する相乗作用を血抗菌力的に検討した成績である。直立拡散法による2剤投与の血清の抗菌作用は、常識的には個々単独薬剤を投与して得られた阻止帯長の総和で示されると考えられよう。ところが図に示したように INH・SMT 併用投与の $H_{37}R_v$ 株に示した抗菌作用は、INH 単独と SMT 単独投与の和を下回る阻止帯が得られ、

この傾向は R-SM 株に対しても同様に認められた。しかし他方 R-INH 株に対しては、INH 単独の抗菌力はまったく認められず(表1)、SMT のみが阻止力を示していたことから、両者併用投与による阻止帯長は当然 SMT 単独のそれと同一のものであろうと予想していたところ、実際にはそれをはるかに上回る阻止帯が得られた。すなわち R-INH 株に対してはまったく無効であった INH が、SMT を併用することにより相乗作用を現わし有効化したものといえる。なおこの現象は図3に示した INH・SI の併用投与でもまったく同様に認められた。

次に SM・SMT の併用でも、 $H_{37}R_v$ 株および R-INH 株に対してその効果は単独の和よりも下回って現われ、逆に R-SM 株には上回って現われた。

以上の事実から INH あるいは SM とサルファ剤とを併用することは、それぞれの主剤に耐性を示す菌には相加ではなく相乗効果が現われることを示唆しているように考えられるが、その機作の解明には今後さらに検討が必要であるし、この現象をそのまま生体内で適合するか否かは臨床的裏付けが必要であろう。

2. マウス結核症に対する SMT の治療効果

家兎による血抗菌力検査の成績が、動物結核症の治療効果と一致するか否かを確かめるために、マウスに $H_{37}R_v$ 株、R-INH 株および R-SM 株を感染させて SMT その他の治療を行なった成績を図4に示した。これはマウスの肺内生菌数を治療群別に表わしたものであるが、3株感染マウスとも SMT および SI 単

独治療ではまったく効果はみられず、 $H_{37}R_v$ および R-SM 株感染マウスでは INH・SMT および INH・SI の併用効果はかなり良く現われていた。これに対して SM・SMT の併用効果は、SM 単独のそれに比べてとくに優れた点は認められなかつた。

血抗菌力の成績からの推測では、R-INH 感染マウスにおける INH・SMT および INH・SI の併用と R-SM 感染マウスに対する SM・SMT および SM・SI の併用効果はかなり期待したのであるが、本成績はいずれもそれを裏書きしえなかつた。これは血抗菌力と治療実験に用いた動物の種類の違いによるものか、あるいはマウスの実験条件の不備によるものかはさらに検討の必要が

Fig. 3. Evaluation of S.S.A.A.T. (Vertical diffusion method) on Effects of Combined Administration of Anti-tuberculous Drugs

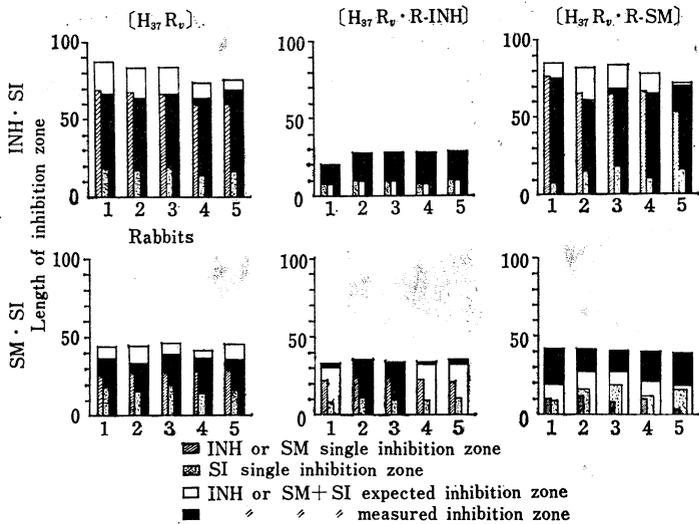
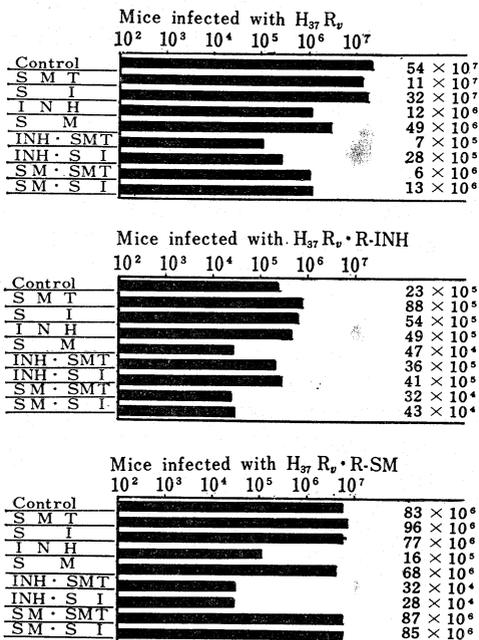


Fig. 4. Therapeutic Effect of SMT Against the Growth of Tubercle Bacilli in the Lungs of Mice



あろう。

3. モルモット結核症に対する SMT の治療効果

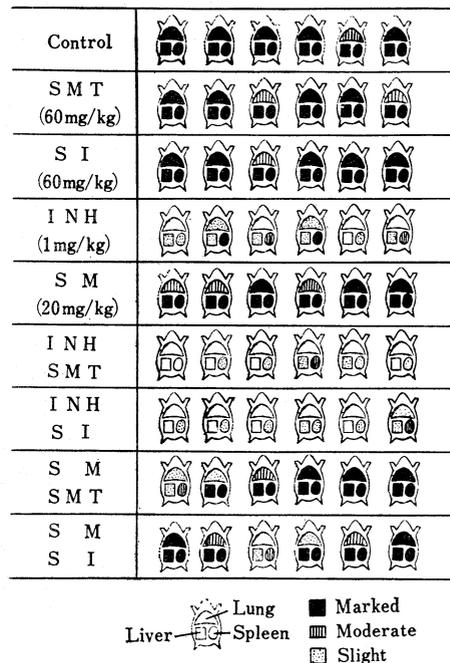
ヒト型毒力結核菌を感染したモルモットの実験的結核症に対する SMT の治療効果を図5および図6に示した。図5にみるように、肺、肝、脾の病変程度は、SMT および SI 単独治療群ではまったく効果がなく、INH·SMT および INH·SI 併用投与群でかなり優れた効果が

認められた。これに反して SM·SMT, SM·SI 群ではほとんど効果は見られなかつた。この現象は図6に示した臓器、リンパ腺の病変ヒストグラムでも同様に認められ、脾の平均重量も INH·SMT および INH·SI がほとんど正常モルモットと同じ程度で、優れた治療傾向がうかがわれ、脾の生菌数もこれと良く一致していた。

総括ならびに考案

肺結核治療面に Sulfisoxazole がかなり良く応用しうることを内藤⁴⁾あるいは斎藤⁵⁾が報告して以来、わが国におけるサルファ剤の結核治療への導入が急速に積極化してきたようである。その後サルファ剤の基礎的ならびに臨床的抗結核作用が多く研究者により検討され、SMT についても 2, 3 の報告がなされてい

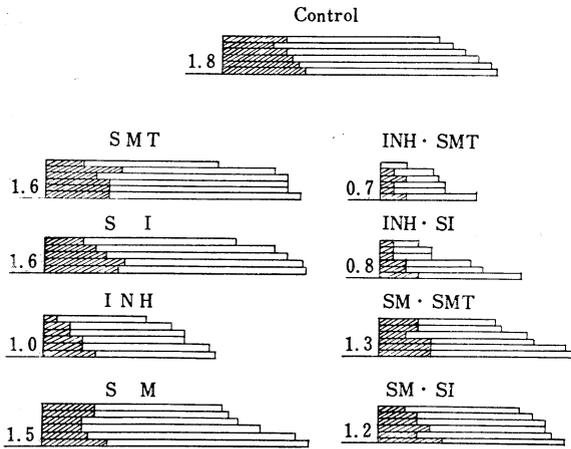
Fig. 5. The Macroscopic Findings of Tuberculous Lesion in Lungs, Liver and Spleen of Guinea Pigs



る⁶⁾。

今回われわれはSMTの抗結核作用を、従来行なわれてきた研究方法と多少角度を変えて、いわゆる Host-Parasite-Drug' Relationship の立場からの検討を試みたのであるが、その結果 in vitro の実験では観察しえぬ興味ある知見が得られた。すなわち直立拡散法を用いて行なつた血抗菌力検査では、多少とも宿主条件を加味し

Fig. 6. Histogram Indicates the Macroscopic Findings of Tuberculous Lesion in Organs and Lymphonodes of Guinea Pigs



Figures indicate mean weight (g) of spleen

た比較的定量的な抗菌力の評価を行なうことが可能であり、これによつて SMT が SI よりも強い抗菌力を有すること、また INH あるいは SM と併用すると、とくにその主剤耐性菌に対してより強く相乗作用が現われることなどを知ることができた。またいわゆる試験管内抗菌力試験では、容易に観察しえない同種薬剤の微細な力価の差を確かめたことも、直立拡散法を用いての本実験が一応成功したものと考えられる。

家兎で行なつた血抗菌力検査の成績と、マウス結核症に対する治療成績とがあまり良く一致しなかつたことは、血抗菌力の成績がただちにその薬剤の病理的变化をも含めた結核病巣への作用を意味しないことを物語つていともいえよう。すなわち血抗菌力では、生体に投与した薬剤の抗菌作用とその生体自身の抗菌力の総和が培地上に増殖する結核菌の発育を阻止することをみるのであつて、換言すればこのことは生体内に発育している菌への阻止力をみる方法ともいえよう。したがつてこの検査成績は生体内結核菌の運命を予知するには応用しえても、病理的变化の推移までは予測しえないとも考えられる。本実験における両者の成績の不一致は、動物の種類の間違もあることながら、上述のような推定もその一因であろう。したがつてこの点の解明は、臨床的に血抗菌

力検査成績と当該抗結核剤投与による排菌所見の推移との関係を究明することによりある程度なしうるよう思われる。

いずれにせよ SMT の結核治療面への応用は、他のサルファ剤と比較して決して遜色を示すものではなく、むしろより効果的であることは今回の基礎実験ならびにわれわれの行なつた臨床実験⁹⁾からも強調し得られる。

結 論

1) 家兎による血清総合抗菌力検査では、Sulfamethizole は $H_{37}R_v$ 株、 $H_{37}R_v \cdot R-INH$ 株および $H_{37}R_v \cdot R-SM$ 株に対して、Sulfisoxazole よりも優れた抗菌作用を示す。

2) Sulfamethizole と INH あるいは SM との併用効果を血清総合抗菌力的にみると、 $H_{37}R_v$ 、 $R-INH$ 、 $R-SM$ 株に対していずれも著明な効果を有し、とくに主剤耐性菌に対しては強い相乗作用を示す。

3) マウスの実験的結核症に対しては Sulfamethizole の単独効果は得られないが、INH との併用効果が $H_{37}R_v$ および $R-SM$ 感染マウスで顕著に認められた。ただし家兎での血清総合抗菌力成績とマウスでの治療成績とは必ずしも良く一致しない。

4) モルモット実験的結核症に対しては、とくに Sulfamethizole と INH との併用が優れた治療効果を示したが、SM との併用効果は認められない。

本論文の要旨は、第4回日本胸部疾患学会総会シンポジウムで発表した。

摺筆に当たり本研究にご協力をいただいた国立札幌療養所長宮城行雄博士に感謝するとともに、薬剤の提供をいただいたエーザイ株式会社に厚謝する。

主 要 文 献

- 1) 月居：胸部疾患，6：1302，1962.
- 2) 月居：結核，38：375，1963.
- 3) 月居：第4回日本胸部疾患総会号，34，1964.
- 4) 内藤：結核の臨床，3：458，1955.
- 5) 斎藤：結核，29：284，1954.
- 6) 伊藤：日胸臨，20：127，1961.
- 7) 小川：結核，37：243，1962.
- 8) 長浜 他：投稿中.