

原 著

Minocyclineの抗結核菌作用（試験管内実験）

東 村 道 雄・水 野 松 司

国立療養所中部病院

受付 昭和 57 年 11 月 1 日

IN VITRO ANTITUBERCULOUS ACTION OF MINOCYCLINE
ON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Michio TSUKAMURA* and Shoji MIZUNO

(Received for publication November 1, 1982)

In vitro antituberculous action of minocycline hydrochloride was studied using the H₃₇Rv strain of *Mycobacterium tuberculosis* and 23 strains isolated from tuberculous patients. Minocycline inhibited growth of the H₃₇Rv strain on the Ogawa egg medium at a concentration of 2 µg/ml, when small inoculations composed of 18 to 92 viable units were used (Table 1). Only a streptomycin-resistant strain isolated from the H₃₇Rv by 'one step-selection' with 1,000 µg of streptomycin per ml tended to show a little higher resistance (Table 1). Minocycline inhibited growth of *M. tuberculosis* strains isolated from patients at concentrations of 2.5 to 5 µg/ml (Table 2).

Bactericidal activities of various antituberculous agents were compared with the action of minocycline. The bactericidal action showed, from the strongest, the following order: Isoniazid, rifampicin, streptomycin and minocycline (Fig. 1). Bactericidal activity to kill more than 70% of organisms after contact with agent for 24 hours was 0.1 µg for isoniazid per ml, 1 µg for rifampicin per ml, 1 µg for streptomycin per ml, respectively. Minocycline did not show such activity even at a concentration of 10 µg/ml. However, slight bactericidal activity was shown also in this agent (Fig. 1).

For testing the bactericidal activity of minocycline, both 6-day-old and 14-day-old cultures were used. The growth phase of these cultures are shown in Fig. 2. No significant difference was observed between these two cultures as to the bactericidal action of minocycline.

In conclusion, minocycline showed considerable bacteriostatic activity on *M. tuberculosis*. It may be useful for chemotherapy of tuberculosis as an accessory agent.

緒 言

我々は前に抗酸菌の minocycline (MC) 感受性を検した際、結核菌の発育が MC 6 µg/ml で阻止されることを観察した¹⁾。抗酸菌感染症に対する MC の臨床効果は、*M. marinum* 感染症^{2,3)} で 3 例、*M. fortuitum* 感染症⁴⁾

で 1 例の使用報告がある。また、東村ほか⁵⁾ は 10 数例の *M. avium-M. intracellulare* 肺感染症に対して MC と抗結核剤とを併用しある程度の効果があったと報告した。我々の実験成績によると、結核菌に対する MC の発育阻止濃度は *M. marinum*⁶⁾ や *M. intracellulare*¹⁾ に対するのと同程度である。この所見は MC が肺結核の治療

* From The National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

にも補助的手段として使用できることを示唆している。もちろん、MCに多くを期待することはできないであろう。しかし、国立療養所に今日なお存在する多剤耐性結核菌保持患者に使用してある程度の効果があるかもしれない。この点、MCは既に広く使用されている薬剤であり、我々の *M. intracellulare* 症での使用経験に照らしても1年以上の連続投与が可能である。このような見地に立ってMCの抗結核菌作用を見直すため本報の基礎実験を行なった。

実験方法

被検株としては *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv株およびその耐性株を使用した。耐性株は“one-step selection”で分離した。しかし、PAS耐性株のみは“two-step selection”によった。各耐性株分離のために使用した薬剤濃度は次の通りである。SM, 1,000 μ g/ml; KM, 200 μ g/ml; INH, 10 μ g/ml; RFP, 100 μ g/ml; PAS, 1および100 μ g/ml(小川培地使用)。KM \cdot LVM \cdot PM \cdot CPM 4重耐性株はKM, 1,000 μ g/ml培地により、EVM \cdot VM \cdot CPM \cdot KM \cdot LVM \cdot PM 6重耐性株はPM, 1,000 μ g/ml培地によって分離した(LVMはLividomycin; PMはparomomycin)。原株(H₃₇Rv株)および耐性株のMC感受性は接種量18~92生菌単位を用いる“actual count”法^{7)~9)}によって測定した。

また、結核患者の喀痰から新たに23株の結核菌を分離し、そのMC感受性も測定した。結核菌はp-nitrobenzoic acid(0.5mg/ml)培地に発育しないことを確かめた¹⁰⁾これらの菌株の小川培地3週培養菌から湿菌量1mg/mlの菌液を作り、その0.02mlを渦巻白金耳で種々のMC量を含む小川培地に接種し、37 $^{\circ}$ C 3週培養後に発育を判定した。

MCは“minomycin”の静注用製剤を水に溶かして滅菌前の小川培地に加えた。小川培地は165 \times 16.5mmの試験管に7mlずつ分注し、90 $^{\circ}$ C 60分滅菌して斜面培地とした。

MC, INH, RFP, SMの殺菌作用は次の方法で実験した。まず、小川培地2週培養のH₃₇Rv株をガラス玉コルベンで5分振盪して均一化し、これを生食水(0.9% NaCl液)に浮遊させて湿菌量10mg/mlの菌液を作った(比濁法により濃度を測定した)。この菌液1.0mlをDubos液体培地100mlに加え、よく振盪して混合し37 $^{\circ}$ Cで14日間培養した。このDubos液体培地培養液を10mlずつ滅菌試験管に分注し、これに種々の薬剤液0.1mlを加えて所期の薬剤濃度を含有する菌液を作った。この菌液(Dubos液体培地)を37 $^{\circ}$ C 24時間培養して菌と薬剤を接触させた後、3,000rpm 15分遠心して菌を集め、これに生食水10mlを加えて洗滌した。洗滌を3回繰り返した後、最後は0.1% Tween 80水溶液10mlに菌を浮遊させた。この浮遊液を同じく0.1% Tween 80水溶液で希釈し10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴の希釈菌液を

作った。この原浮遊液および希釈液の0.02mlずつを渦巻白金耳で小川培地に接種し、37 $^{\circ}$ C 3週後に集落数を数えた。集落数は培地3本の平均値を取った。対照の生菌数と薬剤接触後の生菌数の比によって薬剤の殺菌作用を示した。なお、MCの殺菌作用実験だけは、上述のDubos液体培地14日培養菌の他に、6日培養菌についても同様の実験を行なった。但し、6日培養菌は菌量が少なく実験が困難であったためMC以外では実験を行なわなかった。

使用した薬剤は、MC (Lederle Japan), SM (明治製薬, streptomycin sulfate), INH (塩野義製薬), RFP (Lepetit SpA, Milano, 原末)であった。RFPはまず、10mg/mlの割合にpropylene glycolに溶解し、後、蒸留水で希釈した。他は蒸留水に溶解した。RFPとINHは100 $^{\circ}$ C 5分加熱して滅菌し、使用した。MCおよびSMは注射用製品から無菌的に水溶液を作った。

M. tuberculosis H₃₇Rv株のDubos液体培地における発育曲線は次のように測定した。小川培地で2週間培養した菌から湿菌量10mg/mlの菌液を作り、この1mlをDubos液体培地100ml(300ml—Erlenmeyer flask)に接種し37 $^{\circ}$ Cで静置培養した。培養日数0, 2, 4, 8, 10, 14, 21日後に培地から、2.0mlを取ってLeitz photometer(波長610m μ)で比濁して比濁度(optical density)を測定した。測定後、培地を0.1% Tween 80水溶液で10倍希釈していき10⁻⁵まで希釈した。各希釈液を渦巻白金耳で0.02mlずつ小川培地3本に接種し、37 $^{\circ}$ C 21日培養後に集落数を算定した。集落数と希釈度から培地0.02mlに含有される生菌単位を計算し、曲線を作った。

実験成績

1. Minocyclineの結核菌発育阻止作用

“Actual count”法で検定した場合(本法の実験では各培地あたり18~92生菌単位の接種量), *M. tuberculosis*およびその耐性株の発育はMC 2 μ g/mlで阻止された。しかし、SM耐性株の感受性はやや低かった(表1)。

患者分離株のMC感受性は非定量的方法で測定した。MCの発育阻止濃度は2.5~5 μ g/mlであった。患者株の抗結核剤耐性とMC感受性との間には特別な相関関係はないように思われた(表2)。

2. Minocyclineの結核菌殺菌作用

M. tuberculosis H₃₇Rv株のDubos液体培地14日間培養菌に対するDubos液体培地中でのMCの殺菌作用、および比較のためのINH, SM, RFPの殺菌作用を図1に示した。殺菌作用は菌と薬剤とが24時間接触した場合の生菌数減少率で示した。

最も強い殺菌作用を示したのはINHで、0.1 μ g/mlの濃度に24時間接触すると70%以上の菌が発育能力を喪失した。1 μ g/mlでは95%以上の菌が発育能力を失った。しかし、それ以上濃度を増加させても殺菌力は

Table 1. In Vitro Bacteriostatic Activity of Minocycline on *Mycobacterium tuberculosis* strain H₃₇ Rv and its Drug-Resistant Mutant Strains

Strain	Minocycline concentration (μg/ml)								
	50	40	30	20	10	5	2	1	0
Parent, H ₃₇ Rv	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Streptomycin-resistant	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Kanamycin-resistant	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Isoniazid-resistant	-	-	-	-	-	-	-	+	+
p-Aminosalicylate-resistant	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Rifampicin-resistant	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Quadruply resistant	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Hextuply resistant	-	-	-	-	-	-	-	+	+

All test strains were cultivated at 37°C for 21 days on Ogawa egg medium, and from these, bacterial suspensions, 10 mg wet weight/ml, were prepared. The suspensions were diluted by a 0.1% Tween 80-aqueous solution until 10⁻⁶, and diluted suspensions and the original suspension were inoculated onto Ogawa egg medium slants containing various concentrations of the agent by a spiral loop that delivers a 0.02 ml sample. The media inoculated were stoppered by a gum cap

with a 3 mm cut-line in its bottom and incubated at 37°C for 21 days. The inhibitory concentration of minocycline was read in media inoculated by a 10⁻⁵ suspension, in which 18 to 92 colonies grew on control medium without agent (this method of reading the inhibitory concentration is the 'Actual count method' of Tsukamura (Medicine and Biology 49: 87-90, 1958; Japan J Tuberc, 12: 46-54, 1964). The minocycline used was minocycline hydrochloride for injection (Lederle Japan, Tokyo).

Streptomycin-resistant strain was isolated from single colony of the parent strain that grew on Ogawa egg medium containing 1,000 μg of streptomycin per ml. Kanamycin-resistant strain was isolated from single colony that grew on medium containing 200 μg of kanamycin per ml, isoniazid-resistant strain from single colony that grew on medium containing 10 μg of isoniazid per ml, rifampicin-resistant strain from single colony that grew on medium containing 100 μg of rifampicin per ml, quadruple resistant strain from single colony that grew on medium containing 1,000 μg of kanamycin per ml, and hextuple resistant strain from single colony that grew on medium containing 1,000 μg of paromomycin per ml. p-Aminosalicylate-resistant strain was isolated by 'two-step-selection' using the first 1 μg/ml and the second 100 μg/ml.

Table 2. Sensitivity to Minocycline on Ogawa Egg Medium of Twenty-Three Strains of *Mycobacterium tuberculosis* Isolated from Patients

Strain	Minocycline concentration (μg/ml)					Resistance to antituberculous agents								
	20	10	5	2.5	0	C	SM	INH	PAS	KM	TH	RFP	EB	EVM
1	-	-	+	+++	+++	+	+	+	+	-	-	-	+	-
2	-	-	+	+	+++	+	-	-	-	-	+	+	-	-
3	-	-	-	-	+++	+	+	+	-	+	+	+	+	+
4	-	-	-	-	+++	+	-	+	+	-	+	+	+	-
5	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
6	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
7	-	-	-	+	+++	+	+	20	+	+	16	11	+	+
8	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
9	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
10	-	-	+	+++	+++	+	+	+	-	-	-	-	+	+
11	-	-	+	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	+	+	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	+	+++	+	+	+	-	+	-	+	-	-
14	-	-	+	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	-	-	+	+++	+++	+	+	+	+	-	-	-	-	-
16	-	-	+	+++	+++	+	+	+	+	+	-	+	+	+
17	-	-	-	-	+++	+	+	+	-	+	+	+	+	+
18	+	+	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	+	+	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
21	-	+	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-

++, Confluent growth; +, partially confluent growth or thin membranous growth; + more than 100 colonies; actual number indicates the number of colonies.

The growth was observed after incubation at 37°C for 3 weeks.

C, control; SM, Streptomycin, 20 μg/ml; INH, isoniazid, 0.1 μg/ml; PAS, para-aminosalicylate, 1 μg/ml; KM, kanamycin, 100 μg/ml; TH, ethionamide, 40 μg/ml; RFP, rifampicin, 50 μg/ml; EB, ethambutol, 5 μg/ml; EVM, enviomycin, 100 μg/ml.

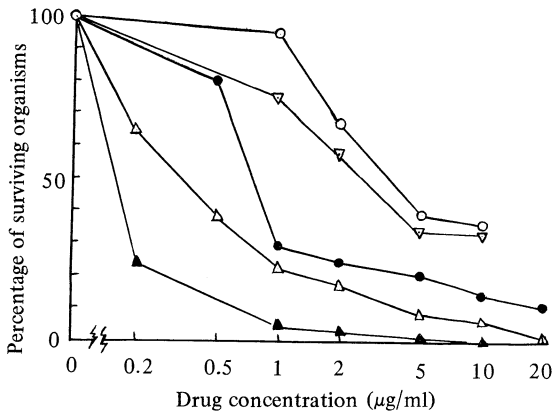


Fig. 1. Comparison of bactericidal action of various antituberculous agents on *Mycobacterium tuberculosis* strain H₃₇ Rv

A bacterial suspension, 10 mg weight/ml, was prepared from a 14-day-old culture of the H₃₇ Rv strain growing on Ogawa egg medium. One ml of this suspension was inoculated into 100 ml of Dubos liquid medium placed in an Erlenmyer flask (300 ml). The medium was cultivated at 37°C for 14 days, and then 10 ml samples of the medium were placed into tubes, 165 by 16.5 mm, respectively. To these media dispensed, a 0.1 ml sample of various concentrations of antituberculous agent was added to give a final concentration desired. The media were incubated at 37°C for 24 hours. After the 24 hour-contact, the bacteria of the medium were centrifuged and washed three times with each 10 ml of a 0.9% NaCl solution and then were suspended in 10 ml of a 0.1% Tween 80-aqueous solution. This suspension was diluted with the same solution until 10⁻⁴. From each of these dilutions, 0.02 ml samples were inoculated onto Ogawa egg medium slants by a spiral loop. The tubes inoculated were incubated at 37°C for 21 days and the number of colonies was counted.

Experiment on the bactericidal activity of minocycline was carried out not only using a 14-day-old culture but also using a 6-day-old culture. The growth phases of these cultures are shown in Fig. 2.

Dubos liquid medium was prepared as follows: 2.4 g of Difco Bacto TB Broth Base (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A.) was dissolved in 180 ml of distilled water and sterilized by autoclaving at 120°C for 20 minutes. This solution was added with 20 ml of Bovine serum (Eiken Co., Tokyo).

- Percentages of surviving organisms of a 14-day-old culture in various concentrations of minocycline
- ▽—▽ Percentages of surviving organisms of a 6-day-old culture in various concentrations of minocycline

- Percentages of surviving organisms of a 14-day-old culture in various concentrations of streptomycin
- △—△ Percentages of surviving organisms of a 14-day-old culture in various concentrations of rifampicin
- ▲—▲ Percentages of surviving organisms of a 14-day-old culture in various concentrations of isoniazid

強くならなかった。

INHに次いでRFPの殺菌作用が強かった。RFPの殺菌作用は0.2µg/ml以上でみられ、1µg/mlの濃度に24時間接触されると約80%の菌が発育能力を失った。そして、INHの場合と同様に、それ以上濃度を高めても殺菌作用は強くはならなかった。

SMは0.5µg/mlでは殺菌作用がなかったが1µg/ml以上では殺菌作用が認められた。しかし、SMの殺菌作用はINHおよびRFPよりは弱かった。

MCの殺菌作用は上述の3者と比較すると遙かに弱かった。しかし、殺菌作用皆無というわけではなかった。1µg/mlでは殺菌作用はみられなかったが2µg/ml以上の濃度では多少の殺菌作用が認められた。MCに関しては、6日培養菌と14日培養菌を比較した。6日培養菌の方が僅かに感受性が強いように思われたが、この程度の差は実験誤差の範囲を出ないであろう。この6日培養菌と14日培養菌がいかなる発育期にあるかを図2に示した。培地の単位容積あたりの生菌数曲線からみると、6日菌は対数期の終り近くにあたり、14日菌は停常期にある菌である。

考 察

前にTsukamura¹⁾は結核菌の発育がMC 6µg/mlで阻止されることを報告した。この成績は小川培地を使用し、湿菌量0.02mgを接種したときの成績である。結核菌に対する抗結核剤の発育阻止濃度測定に最も強く影響するのは接種生菌単位の量である^{7)~9)}。したがって、再現性のある成績を示すためには、接種生菌数を一定化する必要がある。“actual count法”^{7)~9)}は、この目的のためのものである。即ち、接種生菌数を10~100の間になるような方法で測定すると、H₃₇Rv株に対するMCの発育阻止濃度は2µg/mlとなった¹⁾。本報では、同じ方法で種々の抗結核剤耐性株に対するMCの発育阻止濃度を測定したが、おおそ原株に対するのと同じ成績が得られた。ただ、SM耐性株のみは若干感受性が低下していた。以上の成績はMCが抗結核剤耐性菌に対しても有効なことを示唆している。

次の実験ではMCに殺菌作用があるかどうかを実験するとともに、比較のためにINH, RFP, SMの殺菌作用についても実験した。

SMの結核菌に対する殺菌作用は Smith and Waks-

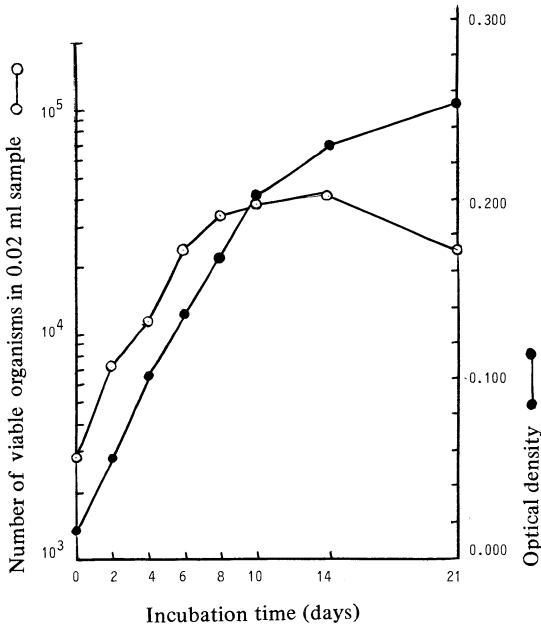


Fig. 2. Growth curves of *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv in Dubos liquid medium

A bacterial suspension, 10 mg wet weight/ml, was prepared from a 14-day-old culture of *M. tuberculosis* strain H37Rv growing on Ogawa egg medium. One ml sample of this suspension was inoculated to 100 ml of Dubos liquid medium placed in an Erlenmeyer flask of 300 ml. The medium was incubated at 37°C, and at various intervals, 2 ml samples of the medium were taken and their optical density was measured using a Leitz photometer (filter 610 mμ). The samples were diluted with a 0.1% Tween 80-aqueous solution until 10⁻⁵. One-fiftieth ml samples of each dilution were inoculated onto Ogawa egg medium slants by a spiral loop and the tubes inoculated were incubated at 37°C for 21 days. The number of colonies was then counted, and the number of viable organisms in a 0.02 ml sample was plotted.

man,¹²⁾ Garrod¹³⁾および東村¹⁴⁾により報告され、INHの殺菌作用については Schaefer,¹⁵⁾ 鈴木・東村¹⁶⁾などにより、RFPの殺菌作用は Tsukamura and Tsukamura,¹⁷⁾ Pallanza et al.¹⁸⁾ などにより観察されている。本報では、これらの比較を行なったが試験管内実験に関する限り、INH、RFP、SMの順となった(図1)。24時間の接触で70%以上の菌を殺す濃度は、INH 0.1μg/ml以上、RFPおよびSM 1μg/ml以上であった。0.5μg/mlの濃度ではRFPは60%の菌を殺したが、SMは殆んど殺菌作用を示さなかった。これに対して、MCの殺菌作用は遙かに弱かった。1μg/mlでは殆んど作用がなく、2μg/mlで30~40%の菌の発育能力を消失させた。しかし、5~10μg/mlの濃度でも約60%の菌の発育能

力を奪ったにすぎなかった。

抗結核剤の殺菌作用の実験としては、2、3の濃度を用いて日を追って生菌数を数えていくものが多い。本報のように24時間接触で多数の濃度を用い、濃度と殺菌作用の関係をみたものは見当たらない。我々の実験ではINHの殺菌作用の方がRFPのそれより勝っていた。しかし、最近の Dickinson & Mitchison¹⁹⁾の報告ではRFPの殺菌力の方がINHの殺菌力より勝っていたという。しかし、その成績をみるとRFP 1μg/mlとINH 1μg/mlでの4日および7日培養後の生菌数は両者同じである。しかし、8°Cに保っておいて各週5日間、1日1時間または6時間37°Cに incubate した場合はRFP中での生菌数減少の方がINHの場合より強く起こっている。しかし、このような実験が生体内のモデルとして通用するかどうかは甚だ疑問に思える。どの実験でもそうであるが、実験技術の関係から、使用される菌は停常期の菌であるのが普通である。我々の実験では菌の洗滌を行なったが、他の実験では洗滌を行なったとは書いてないものが多い。

我々の実験成績によるとMCは微弱ながら殺菌作用をもっている。それは、とりたてて強調する程のものではないが、ないよりはましであろう。しかし、臨床的に殺菌作用が期待できるとも思われない。

MCの抗酸菌に対する効果については、珍しく非定型抗酸菌に対する *in vitro* 実験^{1) 6)} と臨床実験^{2) 5)} が先行している。臨床的に多少とも有効と言われる *M. marinum*^{2) 3)} と *M. intracellulare*⁵⁾ に対するMCの発育阻止濃度と結核菌に対するそれとを比較するとほぼ同じ水準にある。これからみると、結核菌に対しても臨床的に多少とも有効ではないか、そして多剤耐性の難治結核の悪化時の補助的治療として使用できないかという考えが、この小研究の発端であった。本報では、試験管内の実験を行なったにすぎないが、前に述べたようにMCは既に臨床的に広く用いられている薬剤であり、我々の報告でも6ヵ月間の使用では特記する程の副作用を認めていない⁵⁾。また、その後の約10例の経験では1ヵ年の使用も可能であった(1日100mg毎日経口投与)。したがって、肺結核の特殊な症例、例えば多剤耐性菌保有患者の悪化の場合などに補助的抗結核剤として試用されてよいと思われる。

結 論

Minocyclineは結核菌の発育を、1%小川培地で、2~5μg/mlの濃度で阻止した。この阻止作用は抗結核剤耐性菌に対しても同じであった。また、minocyclineは微弱な殺菌作用があることが示唆された。minocyclineは多剤耐性結核菌保有患者の悪化の場合などに、補助的抗結核剤として試用されてよいと思われる。

また、INH、RFP、SMの結核菌殺菌作用についても実験したが、殺菌作用はINHが最強でRFP、SMが

これに次いだ。これらの薬剤の殺菌作用は比較的低濃度で発揮され、濃度の増加は必ずしも殺菌作用の増強とはならなかった。

文 献

- 1) Tsukamura, M.: *In-vitro* antimycobacterial activity of minocycline, *Tubercle*, 61: 37, 1980.
- 2) Loria, P. R.: Minocycline hydrochloride treatment for atypical acid-fast infection, *Arch Dermatol*, 112: 517, 1976.
- 3) Locksin, N. A.: Treatment of *Mycobacterium marinum* infections with minocycline, *Arch Dermatol*, 113: 987, 1977.
- 4) 飯島正文他: *Mycobacterium fortuitum* 皮膚感染症の1例, 日本皮膚科学会雑誌, 88: 389, 1978.
- 5) 東村道雄他: *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* による肺感染症に対する minocycline を含む化学療法の臨床効果, 結核, 56: 57, 1981.
- 6) Torres, J. R. et al.: In vitro sensitivity of *Mycobacterium marinum* to minocycline and deoxycycline, *Tubercle*, 59: 193, 1978.
- 7) 東村道雄: Kanamycin の耐性検査, 医学と生物学, 49: 87, 1958.
- 8) Tsukamura, M.: "Actual count" method for the resistance test of tubercle bacilli, *Japan J Tuberc*, 12: 46, 1964.
- 9) Canetti, G. et al.: Recent progress in drug resistance tests for tubercle bacilli (major and minor drugs), *Bull Int Un Against Tuberc*, 37: 185, 1966.
- 10) Tsukamura, M. and Tsukamura, S.: Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* by p-nitrobenzoic acid susceptibility, *Tubercle*, 45: 64, 1964.
- 11) 東村道雄・水野松司: *Mycobacterium tuberculosis* の minocycline 耐性形式, 結核, 56: 459, 1981.
- 12) Smith, D. G. and Waksman, S. A.: Tuberculostatic and tuberculocidal properties of streptomycin, *J Bacteriol*, 54: 253, 1947.
- 13) Garrod, L. P.: The nature of the action of streptomycin on tubercle bacilli. *Am Rev Tuberc*, 62: 582, 1950.
- 14) 東村道雄: 結核菌発育環と streptomycin の殺菌作用との関係について, 医学と生物学, 22: 41, 1952.
- 15) Schaefer, W. B.: The effect of isoniazid on growing and resting tubercle bacilli, *Am Rev Tuberc*, 69: 125, 1954.
- 16) 鈴木籙三郎・東村道雄: *Mycobacteria* の growth phase と INH の殺菌作用との関係, 結核, 30: 567, 1955.
- 17) Tsukamura, M. and Tsukamura, S.: Antituberculous action of rifamycin SV. *In vitro* and *in vivo* studies, *J. Antibiotics, Ser A*, 15: 216, 1962.
- 18) Pallanza, R. et al.: Rifampicin: A new rifamycin. II. Laboratory studies on the antituberculous activity and preliminary clinical observations. *Arzneimittel-Forsch.*, 17: 529, 1967.
- 19) Dickinson, J. M. and Mitchison, D. A.: Experimental models to explain the high sterilizing activity of rifampin in the chemotherapy of tuberculosis, *Am Rev Resp Dis*, 123: 367, 1981.