

原 著

主要抗結核薬の性能比較に関する試験管内実験的検討

池 田 宣 昭

国立療養所南京都病院

京都大学結核胸部疾患研究所内科 1

受付 昭和61年1月7日

COMPARATIVE STUDIES ON *IN VITRO* ACTIVITIES OF
IMPORTANT ANTITUBERCULOUS DRUGS

Nobuaki IKEDA *

(Received for publication January 7, 1986)

By the members of the First Department of medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University, many comparative studies were undertaken *in vitro* to investigate the clinical chemotherapeutic effects of principal antituberculous drugs, and bacteriostatic and bactericidal abilities of every drug under various experimental conditions and factors were discussed. When we evaluated the ability of each drug, it was essential to consider all over results obtained under following conditions and factors of experiments.

- 1) Various periods of contact of bacilli with drugs.
- 2) Intermittent and continuous contact of bacilli with drugs.
- 3) Contact of bacilli with drugs under various conditions and factors inadequate for the growth of tubercle bacilli.
 - a) Incubating temperature (37°C, 25°C and 4°C).
 - b) The activity of drugs after exposure to PAS.
 - c) The effects of O₂, CO₂ and N₂ gas exposure on the activity of drugs.

These experiments were carried out by using the silicone-coated slide culture (SSC) method and H37Rv strain.

The results of these experiments showed that RFP had the most extensive effects, especially prominent bactericidal activity even in a short period of time and in intermittent contact with bacilli. I think that these findings support the satisfactory clinical results of short course chemotherapy with regimens including RFP. And, each drug has respective characteristic abilities, for example, PAS has strong bacteriostatic but scarcely bactericidal activity, and INH has a small difference between minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) in continuous contact, but a large difference in intermittent contact with bacilli, and so forth.

On the other hand, we elucidated that the small difference between MIC and MSC of drugs was desirable to improve the bactericidal effect in combined chemotherapy. For all that, it was almost impossible to intensify the antituberculosis chemotherapeutic

* From the National Sanatorium Minami Kyoto Hospital, Joyo City, Kyoto 610-01 Japan.

effects of these drugs under conditions and factors inadequate for the growth of tubercle bacilli *in vitro*.

Therefore, I think that quite new ideas are necessary to accomplish the eradicated chemotherapy under every environment, and the present results of *in vitro* experiments obtained under various conditions and factors have a very significant meaning in order to complete the eradicated chemotherapy.

Key words : Antituberculous chemotherapy, Minimal inhibitory concentration (MIC), Minimal bactericidal concentration (MBC), Eradicated chemotherapy, Intermittent contact, Periods of contact, Various conditions inadequate for the growth, Silicone-coated slide culture (SSC) method

キーワードズ : 抗結核化学療法, 発育阻止最低濃度, 殺菌最低濃度, 滅菌的化学療法 (根絶的化学療法), 間欠作用, 作用期間, 発育に不適当な諸条件, シリコン被覆スライド培養法

I. 緒 論

抗結核薬を臨床に用いる場合, 私どもの最終目的は生体内結核菌の絶滅であろう。このいわゆる eradicated chemotherapy の考え方も, 1956年 Mc Cune ら¹⁾²⁾ が INH に PZA を併用することでその可能性を示唆したものの, RFP の出現までは非常に困難な課題として残されてきた。しかし, RFP の登場は, それまでの結核化学療法の効果判定方法 (あるいは基準) まで変更させてしまった。即ち, RFP 出現以前には, 細菌学的見地から, 試験管内実験的には発育阻止力 (minimal inhibitory concentration : MIC) を, 動物実験的には生残菌数を, また臨床的には菌陰性化率をもってその薬剤 (または治療術式) の性能を比較するのが一般的であった。しかし, RFP 導入後は試験管内実験的には殺菌力 (minimal bactericidal concentration : MBC) で, 動物実験並びに臨床では菌再陽性率で化学療法の性能を比較しうようになった。これは eradicated chemotherapy 実現に向っての大きな進歩を示すものであろう。今日では更にすすんで臨床上短期化学療法の検討が数多く見られるようになった。

今日までの結核化学療法進歩の過程から我々は多くのことを学んだが, ここでは私どもの研究室 (京都大学結核胸部疾患研究所内科1) で得られた過去の成績も含めて, 色々な実験条件下における試験管内実験成績から, 主要抗結核薬の性能を比較検討してみたい。そして各薬剤の, それぞれの実験条件下で示される性能が, eradicated chemotherapy 実現に向けてどのような意味を持つのかについても私見を述べてみたい。

私は, *in vitro* で抗結核薬の性能を比較する場合, 次のような実験条件とその判定成績の組合せで総合的に

判断することが必要であると考えている。即ち, A) 薬剤作用時間 (長, 短), B) 薬剤作用方法 (連続・間欠等), C) 薬剤作用環境 (発育に不適当な条件, pH 等), D) 発育阻止効果および E) 殺菌効果などである。以下に順を追って述べてみたい。

なお, 議論の錯綜を避けるため, 今回の検討はシリコン被覆スライド培養法 (SSC 法) を用いた成績に限定した。

II. 実験方法

SSC 法に使用されるシリコン被覆スライド (SS) は東の方法³⁾ によって作製した。即ち, 普通のスライドを縦に3切したもの (幅8~9 mm, 高さ7.5 cm) をクローム硫酸中に24時間浸漬, 流水中で数時間洗浄してから乾燥, 更に石油ベンジンで洗浄した後, 室温で乾燥し, このスライドを粘度350~500 CENTISTOKES の DIMETHYL-SILICONE (DOW CORNING 社製 "DC 200 FLUID") の2% (V/V) クロロホルム溶液に1分間浸漬後, 室温で1~2時間風乾し, 300°C 1時間熱処理を行なって完成した。

菌株は研究室保存の H37Rv 株で1%小川培地で3~4週間培養したものを使用した。

菌液および SS への菌接種方法: 上述の菌集落に石油ベンジン液を加え, よく振盪, 攪拌して菌を分散させ, 2~3分間静置して粗大菌塊を沈澱させた後上清を他の試験管に移し, 硫酸バリウム標準液と比色することにより約 1 mg/ml の石油ベンジン菌液を作製し, その菌液中に SS を約 2 cm の深さに数秒間浸漬して菌を附着させた。

培地は特にことわらない限り pHca6.5 の10%牛血清加キルヒナー液体培地を用いた。この培地中に菌附着 SS を投入し培養するわけである。

発育阻止効果の判定は薬剤作用終了の時点で、殺菌効果の判定は菌附着SSを薬剤含有培地より取り出し、生理的食塩水で3回宛洗浄し更に薬剤を含まない培地で4週間培養後に行なった。

成績判定は肉眼的に行ない、菌集落がSS表面の2/3以上を占める場合を(卍)、同様に2/3~1/3を占める場合を(+)とし、更に菌集落数100まではその実数を記入し、100以上で(+)に達しない場合を(+)とした。

SS法の特徴

SS法の最大の特徴は、その原著^{3,4)}にも記載されているごとく、通常の実験操作、即ちSSの試験管からの出し入れや、生理的食塩水での洗浄、培地の交換などに際して、いったんSSに附着した結核菌が脱落しにく

いことである。また、石油ベンジン菌液中の結核菌は殆んど単個菌化しており、またSS表面に均等に附着するので、薬剤効果の定量的比較検討が可能となり、間欠投与法のモデル実験はもとより、発育阻止力判定後薬剤を除去して殺菌力を検討する際などにも極めて便利である。このSSC法の開発がなければ今日までの私どもの数多くの実験的検討は不可能であったと考えられる。

Ⅲ. 薬剤作用期間

(1) 実験成績

1週間から1週間隔で4週間まで作用期間を変えて検討してみた。殺菌効果の判定成績、即ち薬剤除去後更に4週間培養した時点での菌集落発育状態は表1~4に示すとおりである。この成績で見ると、一番短期間でそ

表1 抗結核薬作用期間別殺菌効果(1)

薬剤名	期間	試 験 管 番 号																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	K
RFP	1W	—	—	—	1	2	8	21	100	+	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	2W	—	—	—	—	—	—	—	—	1	27	+	+	+	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	3W	—	—	—	—	—	—	—	—	5	9	+	+	+	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	4W	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍
INH	1W	—	20	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	2W	—	—	6	50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	卍	卍
	3W	—	—	—	—	17	28	30	50	40	40	+	+	+	+	+	+	+	+	卍	卍
	4W	—	—	—	—	2	10	18	12	10	16	16	28	50	50	+	+	+	+	卍	卍

(注) 表1~4共通: SSC法, 10%牛血清加キルヒナー液体培地, PZAのみ変法 pH5.5で
 薬剤作用
 薬剤濃度: 第1管1,000μg/ml, 以後倍数稀釈法による
 菌株: H37Rv
 表中の数字は菌集落数を示す

の薬剤の持つ効果を充分に発揮する薬剤はRFPである。即ち、RFPは1週間作用ではやや不十分であるが、2週間作用の効果と4週間作用の効果は同じとみてよい。INHは2週間作用で発育菌数はやや減少するが充分ではなく、3週間作用、4週間作用とその効力を強める。一方、1,000μg/ml作用で最も殺菌力の弱い薬剤はPASである。次いでEBも殺菌力は弱く、しかも効果発現に時間を要する。なお、PASでは薬剤濃度の中間部分で、3週間作用および4週間作用に限り、それ以上の薬剤濃度よりも殺菌力が強くなる現象を認めた。また、EBでも3週間作用に限り同様の現象を認めた。TH

とPZAはそれぞれの薬剤の効果を充分発揮するには4週間を要した。一方、いわゆるアミノ配糖体系に属するSM, KMおよびEVMは互いによく似た傾向を示している。即ち、2週間作用では不十分な効果であるが、3週間作用、4週間作用では比較的強い殺菌力を示した。しかし、一定薬剤濃度以上では、即ち例えば10μg/mlであろうと1,000μg/mlであろうと、発育してくる菌集落数はほぼ同数であった。

(2) 考案

極めて基本的な問題であるが、化学療法剤一般に言うように、抗結核薬でも短期間作用で有効なものもあれ

表2 抗結核薬作用期間別殺菌効果(2)

		試 験 管 番 号																			
薬剤名	期間	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	K
SM	1 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	2 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	3 W	20	50	18	40	20	26	17	11	16	24	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	4 W	14	18	7	18	5	11	7	32	12	38	25	9	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
KM	1 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	2 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	3 W	+	+	40	+	25	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	4 W	7	32	18	25	16	21	19	26	21	22	40	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅
EVM	1 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	2 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	3 W	+	40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	4 W	5	20	14	13	22	16	36	20	+	+	+	+	13	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

表3 抗結核薬作用期間別殺菌効果(3)

		試 験 管 番 号																			
薬剤名	期間	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	K
PAS	1 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	2 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	3 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	4 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
EB	1 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	2 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	3 W	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	4 W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
TH	1 W	—	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	2 W	—	—	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	3 W	—	—	—	—	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	4 W	—	—	—	—	—	15	15	27	20	+	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅

ば、逆に効果発現に長期間の作用が必要なものもある。上記の成績にみられるごとく、効果判定の時期によっては各薬剤の真の性能を見落す恐れがあることを知るべきであろう。

また、RFPのように一定薬剤濃度以上では殆んど菌

集落の発生をみない薬剤もあれば、アミノ配糖体系に属するSM, KMおよびEVMに認められるように、一定薬剤濃度以上では発育菌数は著明に減少するが、極めて高い薬剤濃度まで生き残り菌を認める場合もある。これらの生き残り菌の多少がそれぞれの薬剤に対する自然耐

表4 抗結核薬作用期間別殺菌効果(4)

薬剤名	期間	試験管番号																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	K
PZA	1W	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	2W	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	3W	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	4W	30	12	2	40	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

表5 連続作用時と間欠作用時(24時間×2回/週)の抗菌力差(2^x)
(4週間薬剤作用時)

	x	
	MIC	MBC
INH	2	7
RFP	1	1
SM	3	7
KM	4	4
EB	6	>10
TH	3	>11
PAS	>15	*
PZA**	3	>5

注1) 菌集落発育が(++)
 以上は抗菌力なしとする
 2) * 連続作用時の
 MBC 1000 μg/ml
 以上で比較不能
 3) ** 薬剤作用培地の
 pH5.5

表6 MIC値とMBC値の差(2^x)
(4週間薬剤作用時)

	x	
	連続作用時	24時間週2回作用時
INH	1	5
RFP	1	1
SM	3	7
KM	2	2
EB	1	>5
TH	2	>10
PAS	>15	*
PZA**	2	>5

注1) 発育菌集落が(++)以上は抗菌力なしとする
 2) * MICが1,000 μg/ml 以上で比較不能
 3) ** 薬剤作用培地の pH5.5

性菌の差のみでないことは、これらの菌の一部が感受性菌であることから明らかである。これらの生き残り菌が臨床における再悪化と関連してどのような意味を持つのかは興味深い問題と考える。また、RFPのこれらの成績(短期間作用で強い殺菌効果を示し、しかも一定濃度以上で生き残り菌がなくなる)は、臨床における殺菌効果の強さを示唆するものではなかろうか。

周知のごとく *in vitro* の実験では、発育阻止効果の判定時(多くの場合薬剤作用3~4週間)は全ての薬剤において、ある一定の薬剤濃度で菌集落の発育は殆んどなくなる。即ち、それ以上の薬剤濃度に菌集落を認める場合は非常に少ない。従って、MIC値の決定については議論の余地は殆んどない。これに反しMBC値ではどうであろうか。ここに示した成績からもわかるごとく、ある薬剤は一定濃度以上で比較的急速に発育菌集落数が

減少し、ある濃度以上では全く菌集落の発育を認めなくなる。一方、アミノ配糖体系に属する薬剤に見られるごとく、一定の濃度以上で発育菌集落数は減少するが1,000 μg/mlでもゼロとはならない。このような場合MBCとはどの薬剤濃度を指すのであろうか。私どもは今日まで(++)以上の菌集落数の存在を無効として一応の区切りとしてきたが大いに議論の余地があろう。また、研究目的によってこの判定基準は変更されて当然であろうと考える。なお、4週間以上薬剤を作用させ続けた場合、4週間では生き残った菌の運命がどうなるかは重要な問題であろうがここでは割愛する。

IV. 薬剤作用方法

(1) 実験成績

私どもは既に昭和38年池田⁵⁾がSM, PASおよび

INHの間欠作用実験成績を、昭和44年には太田⁶⁾がKM, CS, EBおよびTHの、更に昭和52年には裏辻⁷⁾がRFPの間欠作用実験成績を報告している。また、第58回および第60回日本結核病学会総会では池田がPZAの間欠作用実験成績を報告した。

上述の各報告にみられる検討内容は連続作用、週2回24時間作用、週1回24時間作用、1日2時間毎日作用、1日4時間毎日作用、1日4時間週2日作用、1日3時間週2日作用、1日1時間週2日作用および1日1時間週1日作用などであった。これらの成績から各実験に共通であった週2日24時間作用時の抗菌力を連続作用時の抗菌力と比較すると表5のごとくである。薬剤作用期間はいずれも4週間である。被検薬剤濃度は全て倍数稀釈法で行なわれたのでその差を 2^x の x で示してある。いずれも連続作用時の抗菌力が強かったので間欠作用時の抗菌力が 2^x 倍弱かった($\frac{1}{2^x}$ であった)ことを示している。また、前述したとおり、薬剤の殺菌効果を判定する場合、発育菌集落が全くなくなる最低薬剤濃度をMBCとするか、同様に100までとするか、(+)までとするか、(++)までとするかは議論の多いところであろうが、ここでは(+)までを殺菌効果ありとして判定したものである。

(2) 考案

抗結核薬を *in vitro* で作用させる場合、連続作用と間欠作用とではどのような差があるであろうか。臨床的には間欠投与は多いし、また連続投与と言われているものでも血中薬剤濃度からみると間欠作用に近い場合も多いと考えられる。にもかかわらず、これらに関する *in vitro* での検討は比較的少ない。私どもは前述したようにSSC法というこれらの実験には極めて便利な実験手段を持っている。この方法で数多くの間欠作用時の成績を得ることができた。

これらの成績から、連続作用に比較して間欠作用で最も有効な薬剤はRFPである。即ち、MICでもMBCでも差は 2^1 倍である。逆に最も不適当なものはPASである。発育阻止効果はともかく、殺菌効果では連続作用時でも $1,000 \mu\text{g/ml}$ 以上で間欠作用時と比較することすらできなかった。SMおよびKMでもこれだけの差(SM: MIC 2^3 倍, MBC 2^7 倍, KM: MIC 2^4 倍, MBC 2^4 倍)があれば、連続作用時に匹敵する効果を間欠作用時に得るためには非常な大量が必要であり、臨床上的での使用は實際上不可能である。しかし、逆に考えると、間欠投与方法で使用している量で連続投与方法が可能な時は、例えばSMでは発育阻止力で 2^3 倍、殺菌力で 2^7 倍の効果を期待できることを忘れてはならないだろう。INHのMBCにおける差が 2^7 倍であることは、INH少量投与の優秀さを論じた臨床病理学的な報告⁸⁾に比較して意外という感があるかもしれない。しかし、薬剤

に殺菌効果を全く期待できなかった時代に、薬剤の発育阻止効果を上手に利用し、空洞への流注気管支の閉塞を防ぎながら病巣の完全治癒をめざした研究とは所詮比較すべきものではなからう。このことは熊谷ら⁹⁾が既にその論文中に“薬剤が殺菌的に働かならば、生菌の全く残らないよう大量与えるのが当然である”と述べていることから明らかである。

V. 発育阻止力と殺菌力

(1) 実験成績

IVで述べた池田⁵⁾、太田⁶⁾および裏辻⁷⁾の報告から、4週間連続作用時のMIC値とMBC値との差を 2^x の x で示した(前述のごとく被検薬剤濃度が倍数稀釈法で決められたため)ものが表6(左列)である。また、同表(右列)には24時間週2回作用時のMIC値とMBC値の差も示されている。ここでも便宜上(++)以上の菌集落発育を認めた薬剤濃度を無効とし、(+)以下の菌集落発育を認めた薬剤濃度は有効とした。このような判定でよいかどうかの議論は前述のとおりである。

(2) 考案

結核菌は発育の活発なときほど薬剤の作用をうけやすい。逆に何らかの原因で発育がおそくなり、または止まった場合には薬剤の影響はうけにくくなる。これはVIでも詳述するが、この考え方から推論すれば、ある薬剤の“発育は抑制するが殺菌はしない薬剤濃度”は同時併用の他剤の殺菌効果を弱める可能性がある。即ち、*eradictive chemotherapy* 実現のためにはMIC値とMBC値は近いほどよいと考えられる。但し、IIIで述べたように、それぞれの薬剤には特徴があり、いくら高濃度にしても全ての結核菌を殺菌しえない薬剤も多いのが現実である。

上述の仮説を前提として連続作用実験成績のMIC値とMBC値の差をみると、*eradictive chemotherapy* に最適の薬剤はRFP(2^1 倍)、INH(2^1 倍)およびEB(2^1 倍)であり、次いでKM(2^2 倍)およびPZA(2^2 倍)(有効薬剤濃度が高濃度で、薬剤作用中の培地pHが5.5であることに注意を要するが)、更にSM(2^3 倍)の順となる。またPAS($2^{>15}$ 倍)は最も不適当な薬剤である。24時間週2回作用実験の成績からは、同様に、RFP(2^1 倍)、KM(2^2 倍)、INH(2^5 倍)、SM(2^7 倍)の順となり他剤は比較不能であった。

これらの成績とIIIで示したRFPの殺菌効果の特徴即ち、“有効薬剤濃度も低く、短期間作用でも有効であり、しかも一定濃度以上では全く菌集落の発育を認めない”成績とを合わせ考えるとき、これらの *in vitro* の成績は、最近のRFP・INHを主剤とする初回短期化学療法法の成績にみられる菌再陽性率の低さを説明する1つの根拠を示しているように考えられる。

VI. 発育に不適当な条件と化学療法

(1) 実験成績

④ 低温下での薬剤作用

結核菌の発育に不適当な条件下での薬剤作用に関するモデル実験として、私どもは先ず低温即ち、4°Cおよび25°Cでの薬剤作用実験⁹⁾¹⁰⁾を行なった。その成績の詳細は原著にゆずるが、結論として、4°Cでは薬剤の数をいかに増加しても、また濃度をいかに濃くしても、全ての薬剤の抗菌力は著明に減弱し、殆んど無効に近いものであった。25°CではRFPおよびINHに限り、4°Cよりやや強い抗菌力を認めたが、37°Cで作用させた場合に比し、効果は著明に減弱された。RFPおよびINH以外の薬剤は4°Cの場合と同様無効であった。しかし、4°Cおよび25°C 4週間薬剤作用で生き残った結核菌に耐性上昇を全く認めなかった。

⑤ 他剤の殺菌効果に及ぼすPASの影響

詳細は原著にゆずり割愛するが、私どもの最初のモデル実験¹¹⁾¹²⁾では、PAS 1 μg/mlおよび10 μg/mlで1週間結核菌を前処理すると、その後のINH単独あるいはINH・PAS (1 μgまたは10 μg/ml)の殺菌効果が明らかに減弱された。しかし、この実験群では薬剤作用開始当初よりINHにPASを併用するとこのような現象は見られなかった。ところが次のモデル実験¹³⁾で、INH・PAS同時併用でもPASの濃度を更に上昇させて詳細に検討してみると、PASの1,250 μg/ml~2,500 μg/mlの濃度域で、100 μg/mlに比し、INHの殺菌効果が減弱される成績を得た。

⑥ ガス曝露下での薬剤作用

山鳥¹⁴⁾は液体培地上の試験管内空気をCO₂ガス、N₂ガスおよびO₂ガスなどに置換することで結核菌の発育に不適当な環境をつくり実験している。詳細は原著にゆずるが、それぞれのガスと各薬剤との組合せで成績は複雑である。しかし、各薬剤はCO₂ガスおよびN₂ガスの場合、効果発現までにより多くの時間を要し、且つ薬剤濃度の上昇が必ずしも殺菌効果の上昇に繋がらなかった。しかし、RFPのみは例外で、その殺菌力はガスの影響を殆んどうけなかった。

(2) 考案

私どもは今日まで*in vitro*で抗結核薬の性能を比較するにあたり、被検菌の発育状態まで考慮して検討したであろうか、結核菌の発育に適当な条件下即ち、薬剤がもっともよく効く条件下でのみ実験を続けたことはなかったであろうか。RFPの出現までは発育に適した環境でいかに結核菌の発育を止め、いかにしてより多くの結核菌を殺すかで精一杯であったことも事実であろう。しかし、生体内の結核菌は、免疫学的側面も含めて、必ずしも発育に適当な環境にばかり存在するとは限らない。発

育に不適当な環境では、その条件により、結核菌の発育はおそくなり、極端な場合は停止することもあると考えられる。これらの発育のおそいまたは止まった菌の殺菌あるいは滅菌は耐性菌の処理とともに eradicated chemotherapy 達成に向けての最重要課題と考える。

限られたモデル実験ではあるが、発育に不適当な色々な環境に存在する結核菌を殺菌または滅菌することは、発育に適当な環境における場合に比し、その環境により程度の差こそあれ、困難であることを知った。しかし、これらの成績からも、RFPのみは、他剤が殆んど無効の場合でも、優れた殺菌効果を示すことが多かったことは特筆すべきことであった。今後これら dormant またはこの状態に近い菌をも確実に殺す eradicated chemotherapy の完成のためには、RFP 級またはそれ以上の殺菌効果を持つ新薬の開発はむろんのこと、免疫学的見地からの検討も含め全く新しい次元の異なる発想が必要なのかもしれない。

VII. ま と め

*in vitro*の実験成績のみから抗結核薬の完全な性能評価ができるものでないことを承知のうえで、今日までに得られた私どもの成績から、それぞれの薬剤の持つ抗菌力について色々な角度から比較検討し、試験管内実験の持つ意義をも含めて私見を述べた。

とかく忘れ去られる傾向にある *in vitro*における薬剤の性能検討が、今後一層多くの角度から行なわれ、また更に新しい実験方法、実験技術の発展により、より正確にそれぞれの薬剤の性能が判定され、eradicated chemotherapy の完成が1日も早いことを期待したい。

謝 辞

稿を終るにあたり、終始ご指導を賜わり、またご校閲いただいた恩師京大名誉教授・和歌山赤十字病院長・前川暢夫先生に心からの感謝を捧げるとともに、京大胸部研内科Iの協同研究者並びにご協力いただいた方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Mc Cune, R. M., Tompsett, R.: Fate of Mycobacterium Tuberculosis in Mouse Tissues as determined by the Microbial Enumeration Technique. I The Persistence of drug-susceptible Tubercle Bacilli in the Tissues despite prolonged antimicrobial Therapy, J Exp Med, 104: 737, 1956.
- 2) McCune, R. M., Tompsett, R. and McDermott, W.: The Fate of Mycobacterium Tuberculosis in Mouse Tissues as determined by

- the Microbial Enumeration Technique. II The Conversion of Tuberculous Infection to the Latent State by the Administration of Pyrazinamide and a Companion Drug, *J Exp Med*, 104 : 763, 1956.
- 3) 東向一郎: 結核菌の Silicone-Coated Slide Culture Method (SSC), 第1編 Silicone-Coated Slide の作成法および作成条件が結核菌の吸着・発育に及ぼす影響の検討, 京大結研紀要, 7-3, 増刊1号 : 461, 1959.
- 第2編 Silicone-Coated Slide への結核菌の吸着及び SSC に於ける結核菌の発育, 京大結研紀要, 7-3, 増刊1号 : 468, 1959.
- 第3編 SSC に於ける種々の Factor の検討並びに SSC の応用例, 京大結研紀要, 7-3, 増刊2号 : 22, 1959.
- 4) 内藤益一他: Silicone-Coated Slide への結核菌の附着に影響する諸因子の検討補遺, 京大結研紀要, 12-2 : 112, 1964.
- 5) 池田宣昭: 結核化学療法剤の毎日投与法と間欠投与法との効果比較に関する試験管内実験的研究, 京大結研紀要, 12 : 21, 1963.
- 6) 太田令子: 数種の二次抗結核剤の毎日投与法と間欠投与法との効果比較に関する試験管内実験, 京大胸部研紀要, 2 : 198, 1969.
- 7) 裏辻康秀: Rifampicin (RFP) の抗結核作用と作用時間に関する試験管内実験的研究, 京大胸部研紀要, 10 : 1, 1977.
- 8) 熊谷岱蔵他: 肺結核の化学療法における INH の量の問題, 日本臨床結核, 16-特別号, 1957.
- 9) 前川暢夫他: 結核菌の発育に不適當な条件と化学療法, I. 培養温度と化学療法剤の効果, 結核, 46 : 235, 1971.
- 10) 前川暢夫他: 結核菌の発育に不適當な条件と化学療法, V. 培養温度と化学療法剤の効果(2), 結核, 48 : 913, 1973.
- 11) 前川暢夫他: 結核菌の発育に不適當な条件と化学療法, II. INH および SM の抗結核性に及ぼす PAS 前処理の影響, 結核, 46 : 293, 1971.
- 12) 前川暢夫他: 結核菌の発育に不適當な条件と化学療法, III. PAS 前処理と INH・PAS 併用効果, 結核, 46 : 491, 1971.
- 13) 前川暢夫他: 結核菌の発育に不適當な条件と化学療法, IV. INH と PAS の併用効果, 結核, 47 : 1, 1972.
- 14) 山鳥英世: ガス曝露下における結核化学療法剤の効果に関する実験的研究, 第1編 結核菌発育阻止効果について, 結核, 56 : 429, 1981.
- 第2編 殺菌効果について, 結核, 56 : 465, 1981.
- 第3編 薬剤耐性獲得について, 結核, 56 : 521, 1981.