

原 著

*Mycobacterium avium* Complex に対する Sulfadimethoxine の  
試験管内活性に関する知見補遺

— Sulfadimethoxine と他抗結核剤との併用効果 —

束 村 道 雄

国立療養所中部病院内科

受付 昭和 63 年 10 月 28 日

A SUPPLEMENT STUDY ON THE *IN VITRO* ACTIVITY OF  
SULFADIMETHOXINE ON *MYCOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX

— Combined Effect with Other Antituberculosis Drugs —

Michio TSUKAMURA \*

(Received for publication October 28, 1988)

Previously the author observed that sulfadimethoxine is most effective among sulfa drugs against *Mycobacterium avium* complex strains (Tsukamura, M. : Kekkaku 58 : 247-250, 1983) and used this drug in the treatment of pulmonary infection caused by *M. avium* complex (Tsukamura, M. : Kekkaku 59 : 33-37, 1983). In the present study, some supplemental observations were carried out on the *in vitro* activity of this drug. *In vitro* susceptibility testing of sulfadimethoxine by the use of Ogawa egg medium was influenced by the number of viable bacteria (colony-forming units) used in the susceptibility testing (Table 1). By the use of small inocula (50 to 100 colony-forming units), minimal inhibitory concentration (MIC) was determined as 0.8 to 3.13  $\mu\text{g/ml}$ , whereas, by the use of large inocula, the MIC was determined as 6.25 to 25  $\mu\text{g/ml}$ . Furthermore, the prolongation of incubation time resulted in the elevation of the MIC (Tables 1 and 2). The finding shows that the activity of this drug is only to delay the growth. Comparing various combinations with low concentrations of other drugs, combinations with p-aminosalicylate, isoniazid and pyrazinamide seemed to be antagonistic, and combinations with the other drugs seemed to be additive (Table 2).

The influence of the inoculation size on the reading of MICs were compared in *Mycobacterium tuberculosis* and *M. avium* complex strains (Table 3 and 4). The susceptibility testings to most drugs were influenced by the inoculation size. However, the testings to ethionamide, ethambutol and isoniazid in *M. tuberculosis* strains were less influenced by the inoculation size. In contrast, the susceptibility testings to ethionamide and isoniazid in *M. avium* complex strains seemed to be more influenced. It is suggested that this difference is due to a difference in the mode of action of drugs between these two organisms.

\* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

**Key words :** *Mycobacterium avium* complex, *In vitro* activity, Sulfadimethoxine, Combined effect, Antagonism

**キーワード :** *Mycobacterium avium* complex, 試験管内活性, Sulfadimethoxine, 併用効果, 拮抗

## 緒言

著者は、前に、種々のサルファ剤の *Mycobacterium avium* complex に対する試験管内抗菌作用を比較した結果、Sulfadimethoxine (SX) が最も作用が強いことを観察し、これを、実際に *M. avium* complex 肺感染症の治療に用いた<sup>1)2)</sup>。本報では、SX の場合を例として、*M. avium* complex の感受性試験の問題点について論じるとともに、本剤と他抗結核剤との併用効果について得た新しい知見を報告する。

## 実験方法

菌株 : *Mycobacterium avium* complex の次の株を使用した。13008 (血清型 20), 13016 (血清型 4), 13034 (血清型 18), 13022 (血清型 20), 13023 (血清型 9), 13032 (血清型 12) の 6 株。 *Mycobacterium tuberculosis* の保存株 05001 (H37Rv) および新たに抗結核剤未使用の患者から分離した 3 株 (05163, 05164, 05165) を使用した。いずれも、当研究室で既報の方法で同定した<sup>3)</sup>。 *M. avium* complex の血清型は、農林省家畜衛生試験場 (当時) の根本久、柚木弘之、岡博士により決定された。

抗結核剤に対する感受性試験 : 培地は「1%小川培地」を使用した。Sulfadimethoxine (SX) (中外製薬), rifampicin (RFP) (Lepetit, Milano) および ethionamide (TH) (塩野義製薬) は propylene glycol に溶解し、その 1 容を、滅菌前の小川培地 100 容に加えて所定の濃度とした。他の抗結核剤, streptomycin sulfate (SM) (明治製薬), kanamycin sulfate (KM) (明治製薬), enviomycin sulfate (EVM) (東洋醸造), isoniazid (INH) (塩野義製薬), ethambutol (EB) (科研科学), minocycline hydrochloride (MC) (日本レダリー) は、水に溶解し、その 1 容を小川培地に加えた。その他、5-fluorouracil (5FU) (協和醸酵), 5-fluorocytosine (5FC) (Hoffman La Roche, Basel), cycloserine (CS) (明治製薬), pyrazinamide (PZA) (三共), sodium p-aminosalicylate (PAS) (塩野義製薬) も使用した。5FU, 5FC, PZA は propylene glycol に、他は蒸留水に溶解して培地に加えた。小川培地は、7 ml ずつ 165 × 16.5 mm の試験管に分注し、90°C 60 分間滅菌して斜面培地とした。

小川培地に 14 日間培養した菌株を白金耳で取ってガ

ラス玉コルペンに入れ、5 分間振盪して均一化し、これに 0.1% Tween 80 水溶液を加えて菌液 (約 10 mg/ml) を作り、この菌液を同じく 0.1% Tween 80 水溶液で希釈して 10 倍希釈列を作った ( $10^{-6}$  まで希釈)。接種は、この 10 倍希釈列の各菌液から、渦巻白金耳 (1 白金耳で 0.02 ml 接種可能) で 1 白金耳ずつ培地に接種した。接種した試験管に、底に 3 mm の切れ目のあるダブルゴム栓を覆せ、37°C に培養し、21 日後または 28 日後に発育を観察した。培養日数は表に示してある (菌株の発育速度により、21 日後または 28 日後に判定した)。

## 実験成績

### 1. 接種生菌単位数と最低発育阻止濃度の関係

最低発育阻止濃度 (MIC) は、検査に用いる接種生菌単位数 (colony-forming units) によって影響された (Table 1)。Table 1 に示した 3 株の中で、13008 と 13016 の 2 株は発育速度が遅く、一方、13034 株は速かった。13034 株では、 $10^{-6}$  菌液接種で 21 日後に集落数の算定が可能になったが、13008 と 13016 の両株では、28 日後によろやく算定が可能となった。

Table 1 は、3 株を比較するために、28 日後の発育を示した。“actual count” 可能な接種量で比較すると、13008 と 13016 両株に対する sulfadimethoxine (SX) の MIC は、 $0.8 \mu\text{g/ml}$  で、13034 株に対しては  $3.13 \mu\text{g/ml}$  である。ただし、後に Table 2 に示すように、13034 株でも 21 日後に “actual count” 可能になったところで判定すると、 $0.8 \mu\text{g/ml}$  となる。

以上の判定方法が、前に、東村<sup>4)~6)</sup> が提唱した “actual count 法” による判定である。これに対して、 $10^6 - 10^8$  生菌数を含む原液接種の場合では、MIC は、それぞれ、25, 6.25 および  $25 \mu\text{g/ml}$  と判定される。接種生菌数が大きい場合、MIC の判定は、“actual count 法” のように clear-cutly にはできない。しかし、発育が急に減少する点を取れば、迷うことなく判定が可能であった。

### 2. Sulfadimethoxine と他抗結核剤の併用効果

13034 株を用いて、SX と他抗結核剤の併用効果をみた成績を Table 2 に示す。判定は、 $10^{-6}$  菌液接種で “actual count” が可能となった 21 日後に行った。この条件で、SX の MIC は  $0.8 \mu\text{g/ml}$  であった (Table 2 の対照)。併用効果を試す薬剤の濃度は、被検株の発育にあまり影響しない濃度を選んだつもりであったが、

Table 1. *In-Vitro* Growth-Inhibitory Activity of Sulfadimethoxine against *Mycobacterium avium* Complex

Strain	Concentration of Bacterial Suspension (Logarithms)	Sulfadimethoxine Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )										
		200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.6	0.8	0.4	0
13008	0	-	## *	## *	## *	##	##	##	##	##	##	##
	-4	-	-	-	-	-	-	-	-	2	##	##
	-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	##	+
	-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46	50
13016	0	-	-	-	-	-	## *	##	##	##	##	##
	-4	-	-	-	-	-	-	-	-	9	##	##
	-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60	56
13034	0	-	-	7	##	##	##	##	##	##	##	##
	-4	-	-	-	-	+	## *	## *	##	##	##	##
	-5	-	-	-	-	-	-	+	##	##	##	##
	-6	-	-	-	-	-	-	-	26	70	71	80

The Growth of test strains were observed after incubation at 37°C for 28 days, on which the number of colonies became countable.

+ Abundant membranous growth. # Partially confluent growth. + More than 100 discrete colonies.

Actual numbers indicate the number of colonies. Symbol \* shows markedly scanty thin membranous growth.

Remark. Strains 13008 and 13016 grow slowly and their colony numbers were countable only after incubation for 28 days. On the other hand, strain 13034 grows fast and its colony numbers were countable after incubation for 21 days. However, in the table, the growth was observed after 28 days in all three strains. As shown in Table 2, the growth of strain 13034 was inhibited at a concentration of 0.8  $\mu\text{g/ml}$  when observed after incubation for 21 days.

Table 3. Influence of Inoculation Size on the Reading of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) in Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Strains

Drug	Minimal Inhibitory Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )							
	Strain H37Rv (05001) ( $24 \pm 7$ ) $\times 10^4$ ( $24 \pm 7$ )		Strain 05163 ( $29 \pm 9$ ) $\times 10^4$ ( $29 \pm 9$ )		Strain 05164 ( $50 \pm 11$ ) $\times 10^4$ ( $50 \pm 10$ )		Strain 05165 ( $40 \pm 11$ ) $\times 10^4$ ( $40 \pm 11$ )	
RFP	3.13	0.8	6.25	1.6	6.25	0.8	1.6	0.4
SM	3.13	0.8	25.	1.6	3.13	0.8	12.5	1.6
TH	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
EB	0.8	0.8	0.8	0.8	1.6	0.8	0.8	0.8
INH	0.05	0.025	0.1	0.05	0.1	0.025	0.05	0.05
KM	100.	12.5	100.	25.	50.	6.25	100.	25.
EVM	12.5	6.25	25.	12.5	25.	6.25	25.	12.5
SX	50.	6.25	> 50.	50.	50.	3.13	> 50.	50.
MC	0.8	0.4	12.5	6.25	> 50.	25.	25.	12.5

RFP, Rifampicin; SM, Streptomycin sulfate; TH, Ethionamide; EB, Ethambutol; INH, Isoniazid; KM, Kanamycin sulfate; EVM, Enviomycin sulfate; SX, Sulfadimethoxine; MC, Minocycline hydrochloride. The numbers written under the strain names are the numbers of colony-forming units inoculated to each medium in the susceptibility testing. The MICs of strain 05001 were determined after incubation at 37°C for 21 days, and the MICs of other strains after incubation at 37°C for 35 days.

Table 2. *In-Vitro* Growth-Inhibitory Activity of Sulfadimethoxine on Strain 13034 of *Mycobacterium avium* Complex When Combined with Other Antituberculosis Drugs

Concentration of Suspension	Combined Drug	Sulfadimethoxine Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )										
		100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.6	0.8	0.4	0	
$10^0$	None	—	++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	OX 1	—	—	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5FU 1	—	—	—	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5FC 1	—	—	++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	CS 5	—	++*	++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PAS 10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PZA 25	++*	++*	+++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	INH 1	++*	++*	+++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	RFP 5	—	—	—	++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	SM 10	—	++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	KM 20	—	+++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	EVM 20	—	++*	+++*	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
$10^{-4}$	None	—	—	—	—	—	—	+	+	+++	+++	
	OX 1	—	—	—	—	—	—	+	+	+++	+++	
	5FU 1	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	
	5FC 1	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	
	CS 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	PAS 10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	PZA 25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	
	INH 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++*	
	RFP 5	—	—	—	—	—	—	—	—	+++*	+++	
	SM 10	—	—	—	—	—	—	—	—	+++*	+++*	
	KM 20	—	—	—	—	—	—	—	—	+++*	+++	
	EVM 20	—	—	—	—	—	—	—	—	+++*	+++	
$10^{-6}$	None	—	—	—	—	—	—	—	—	72	86	
	OX 1	—	—	—	—	—	—	—	—	31	57	
	5FU 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	5FC 1	—	—	—	—	—	—	—	—	10*	81	
	CS 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	PAS 10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	PZA 25	—	—	—	—	—	—	—	—	10*	81	
	INH 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	RFP 5	—	—	—	—	—	—	—	—	15*	46	
	SM 10	—	—	—	—	—	—	—	—	15*	44	
	KM 20	—	—	—	—	—	—	—	—	25*	95	
	EVM 20	—	—	—	—	—	—	—	—	20*	53	

The growth was observed after incubation at 37°C for 21 days.

## Abundant membranous growth # Partially confluent growth. Actual numbers indicate the number of colonies actually counted. The symbol\* shows that the growth was thin and scanty or small colonies.

Combined drugs : OX, Ofloxacin ; 5FU, 5-Fluorouracil ; 5FC, 5-Fluorocytosine ; CS, Cysloerine ; PAS, Sodium p-aminosalicylate ; PZA, Pyrazinamide ; INH, Isoniazid ; RFP, Rifampicin ; SM, Streptomycin sulfate ; KM, Kanamycin sulfate ; EVM, Enviomycin sulfate ( $\mu\text{g/ml}$ ).

接種量を“actual count”可能な程度に小さくすると、意外にも、被検株の発育は、5FU 1 $\mu$ g/ml, CS 5 $\mu$ g/ml, PAS 10 $\mu$ g/ml, および INH 1 $\mu$ g/ml で阻止されてしまった。したがって、これら4剤を除いて、他の抗結核剤と SX の併用効果をみると、対照と極立った差はなく、併用効果があるとは思われなかった。

しかし、原液接種（接種生菌単位は約 $10^8$ ）でみると、5FU, CS, PAS, INH の添加でも豊富な発育がみられた。この条件で併用効果をみると、PAS 10 $\mu$ g/ml, PZA 25 $\mu$ g/ml および INH 1 $\mu$ g/ml の添加により SX 100 $\mu$ g/ml にも多少の発育が起こり、この3剤と SX の間に拮抗があると思われた。特に、PAS 10 $\mu$ g/ml の共存下では SX 100 $\mu$ g/ml でも豊富な発育がみられた。その他の薬剤に関しては、実験誤差を考えると、判然とした併用効果があるかどうかは結論できなかった。ただ、RFP に関しては、若干の併用効果があることが示唆されたが、結論を出せるほど著明な効果とはいえないように思われた。

### 3. 接種生菌数の影響に関する *M. tuberculosis* と *M. avium complex* の比較

以上のように、*M. avium complex* に対する SX の MIC 測定は、接種生菌単位によって、かなり著明に影響されることが分かった。したがって、次に、他の抗結核剤についての影響を観察してみることにした。また、*M. tuberculosis* と *M. avium complex* とで、このような影響に差があるものかどうかをみることにした。

Table 3 に *M. tuberculosis* で行った実験結果を、Table 4 に *M. avium complex* で行った実験結果を示

す。“Actual count 法”の判定は、全く簡単明瞭に行い得た。しかし、その $10^4$ 倍の接種でも、MIC 値は高くはなかったが、それなりに、発育が急激に減少する濃度を MIC とすれば、判定に迷うことはなかった。MIC の切れ目は、SX の場合よりも、より明瞭であった。こうして測定した MIC 値の比較を Table 5 に示す。

*M. tuberculosis* では、接種生菌単位数の影響が著明なのは、RFP, SM, KM, SX の MIC 測定であり、影響が少ないのは、TH, EB, INH の MIC 測定であった。一方、*M. avium complex* では、ほとんど全部の抗結核剤の MIC 測定について接種生菌単位数がかなり影響するように思われた。SX の MIC 測定については、*M. tuberculosis* でも、*M. avium complex* でも、接種生菌単位数の影響が著しいように思われた。

## 考 察

本報の実験で示されたように、*M. avium complex* の SX 感受性の測定は、接種生菌単位数によって影響される。しかも、その影響は、他の抗結核剤の場合よりも著しい。したがって、生菌単位数による影響を克服しようとするれば、接種生菌単位数を 20~100 に規定する“actual count 法”<sup>4)~6)</sup>によるしかない。この方法は、1958年に東村<sup>4)</sup>によって結核菌の薬剤感受性のために提唱された方法で、原理的には、Canetti et al.<sup>7)</sup>による“Proportion method”と同じである。測定方法は全く同じであるが、Canetti et al. が一定薬剤濃度における耐性菌の%をとったのにたいして、東村の考えは、測定誤差が大きくて表示してもあまり意味のない%の表

Table 4. Influence of Inoculation Size on the Reading of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) in Susceptibility Testing of *Mycobacterium avium* Complex Strains

Drug	Minimal Inhibitory Concentration ( $\mu$ g/ml)					
	Strain 13022 ( $29 \pm 3$ ) $\times 10^4$		Strain 13023 ( $40 \pm 6$ ) $\times 10^4$		Strain 13032 ( $46 \pm 11$ ) $\times 10^4$	
	( $29 \pm 3$ )	( $29 \pm 3$ )	( $40 \pm 6$ )	( $40 \pm 6$ )	( $46 \pm 11$ )	( $46 \pm 11$ )
RFP	> 200.	> 200.	200.	100.	200.	50.
SM	200.	100.	200.	50.	100.	25.
TH	100.	100.	200.	25.	50.	25.
EB	25.	12.5	6.25	3.13	12.5	6.25
INH	12.5	1.6	3.13	1.6	3.13	0.8
KM	200.	100.	200.	200.	200.	50.
EVM	100.	50.	100.	50.	50.	50.
SX	12.5	3.13	12.5	3.13	6.25	1.6
MC	> 50.	> 50.	50.	50.	> 50.	> 50.

RFP, Rifampicin; SM, Streptomycin sulfate; TH, Ethionamide; EB, Ethambutol; INH, Isoniazid; KM, Kanamycin sulfate; EVM, Enviomycin sulfate; SX, Sulfadimethoxine; MC, Minocycline hydrochloride. The numbers written under the strain names are the numbers of colony-forming units inoculated to each medium in the susceptibility testing. The MICs were determined after incubation at 37°C for 21 days.

Table 5. Comparison of Influence of Inoculation Size on the Reading of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) between the Susceptibility Testings of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* Complex Strains

Drug	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>				<i>Mycobacterium avium</i> Complex		
	05001	05163	05164	05165	13022	13023	13032
RFP	1/4	1/4	1/8	1/4		1/2	1/4
SM	1/4	1/16	1/4	1/8	1/2	1/4	1/4
TH	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/8	1/2
EB	1/1	1/1	1/2	1/1	1/2	1/2	1/2
INH	1/2	1/2	1/4	1/1	1/8	1/2	1/4
KM	1/8	1/4	1/8	1/4	1/2	1/1	1/4
EVM	1/2	1/2	1/4	1/2	1/2	1/2	1/1
SX	1/8		1/16		1/4	1/4	1/4
MC	1/2	1/2		1/2		1/1	

The numbers in the table show the ratio of the MIC determined by the use of small inocula against the MIC determined by the use of large inocula ( $10^4$ -fold).

示を止めて、規制した接種生菌単位数使用のもとに耐性を絶対濃度で表示した方がよいということにあった。

今から20~30年前は、この方法で問題はなかった。しかし、最近になって若干の問題が生じてきた。それは、以前は、結核菌の発育は、比較的速くて揃っていた。しかし、最近、結核菌でも発育速度の遅いものが多くなってきた。Table 3に示すように、保存株の05001株(H37Rv)の集落数は21日後に数えられるのに、最近の分離株では35日かかっている。このように判定日数に差があると、RFPやTHのように培養中に培地の薬剤が分解する薬剤の感受性測定の場合、MICが同値であるといっても、21日で判定した場合と35日で判定した場合は、本当の感受性は違ったものになる<sup>8)</sup>。

*M. avium* complexのRFP感受性測定またはTH感受性測定の場合でも同じ問題が起こる。*M. avium* complexには、7H10寒天培地のような透明な培地で発育初期の集落をみると、flat, transparentな型とdomed, opaqueな型があることが知られている<sup>9)</sup>。われわれの最近の研究結果(未発表)によると、前者は発育速度が速く、後者は遅い。本報に使用した株でも、13008と13016は後者の集落形態に属し、発育が遅い。したがって、集落数算定のためには、少なくとも28日培養しなければならない。これに対して、他の株は、前者の集落形態を示し、発育が速く、21日培養で集落数算定が可能である。

このように、“actual count法”を実施するためには、株によって判定日数を変えねばならないという不便を生じる。判定日数を変えても、SXを含む大部分の抗結核剤では、培地での薬剤分解は起こらないので問題はないが、RFPやTHのように培地中で分解する薬剤に

ついては、分解による力価の減少を考慮しなければならない。これは、はなはだ厄介な問題である。

それでは、判定までの日数を、一定日数に決めてはどうであろうか。21日にしてしまうと、一部の株は、21日後には、単個集落が発育しないから感受性測定が不可能である。したがって、遅い方に合わせて28日後に判定することになる。この場合、例えば、発育の速い13034株の場合、21日後に判定すると、SXのMICは $0.8 \mu\text{g/ml}$ となるが(Table 2)、28日後まで判定を延ばすと、MICは $3.13 \mu\text{g/ml}$ となる(Table 1)。このように、培養日数を延ばすとMICが増大する現象は、サルファ剤のように、発育遅延的にだけしか作用しない薬剤では避けがたい現象である<sup>10)</sup>。結論として、原理的には、発育の速い株では21日培養で、遅い株では28日培養で“actual count法”により判定するのが最も合理的であろうと思われるが、手技が複雑となって実行が困難であることは否めない。

そこで考えられることは、いっそのこと、接種生菌単位数を大量にして、培養日数を14日間に短縮して判定してはどうかということである<sup>11)</sup>。この方法でも、MICの測定は決して困難ではなく、測定誤差も一定範囲にとどまる<sup>12)</sup>。ただし、SXについては、MIC値は培養日数の延長に伴って高くなるので<sup>10)</sup>、一定の培養日数(例えば14日)を用いることが必要である。

SXと他の抗結核剤の*M. avium* complexに対する併用効果の実験では、興味ある結果が得られた。すなわち、SXとPAS, INHまたはPZAとは、拮抗的に働くということである。特に、PASとSXとの拮抗作用は著明であった。PAS  $10 \mu\text{g/ml}$ 単独の存在では、単個菌に近い状態で接種された*M. avium* complexの発

育を阻止するにもかかわらず、PAS 10 $\mu$ g/mlとSXが共存すると、SX 100 $\mu$ g/mlでも豊富な発育が起こってしまった。PASとSXの拮抗作用は、前に、束村<sup>13)</sup>が*M. tuberculosis*で報告したが、*M. avium complex*でも拮抗作用がみられた。

接種生菌単位数がMIC測定に及ぼす影響の*M. tuberculosis*と*M. avium complex*の比較実験で注目されるのは、INHのMIC測定が、前者ではあまり影響されないのに、後者ではかなり影響されることである。これは、INHの作用機作が両者で異なっていることを示唆する。INHの*M. tuberculosis*に対する作用は、一定濃度を越えると急激に発育停止をもたらすが<sup>8)</sup>、*M. avium complex*では、たんに発育遅延的にとどまることが示唆される。なぜなら、発育遅延的であるほど、MICが接種生菌単位数によって動揺するからである。この例は、SXでよく観察される(Table 5)。

最後に、“actual count法”で観察される*M. avium complex*に対するSXのMICは0.8~3.13 $\mu$ g/mlであるのに対し、大量接種法では6.25~25 $\mu$ g/mlである(Tables 1 and 2)。このいずれが、SXの臨床効果を表示するのに、より近いのかという問題がこのころ。参考に肺結核の場合を考察してみる。*M. tuberculosis*に対するSXのMICは、“actual count法”で5 $\mu$ g/mlである<sup>14)</sup>。一方、SX 1g内服後の人体の血中濃度は、30~60 $\mu$ g/mlが12時間以上維持されるという<sup>15)</sup>。これをみると、SXは、肺結核の治療に奏功してよいはずであるが、国療化研の成績によると、零とはいえないがPASにも劣るという<sup>16)</sup>。しかし、マウスの実験では、SXも、またsulfaisoxazoleも、単独で結核菌の発育を阻止することが可能である<sup>17)18)</sup>。すなわちマウスの実験は、必ずしもヒトの肺結核の治療モデルにはならない。この差は、恐らく、マウスの実験感染症では空洞形成がないのに、ヒトの肺結核の主病変は空洞であるという厳然たる事実に基づくものであろう。サルファ剤がp-aminobenzoic acid (PABA)と競合して核酸合成を阻害するという定説を肯定すれば、空洞内の核酸分解産物によってSXを含むサルファ剤の作用が不活化されることが十分考えられる。このように考えると、*M. avium complex*肺感染症の空洞性病変の治療薬として、SXに多くを期待することは無理であろう。それにもかかわらず、SXをも使用せざるえないほど、本症の治療に確実に奏功する薬剤を、われわれはもたないというのが現状である。

## 結 論

1. *M. avium complex*にたいするsulfadimethoxine (SX)の最低発育阻止濃度(MIC)の測定は、接種する生菌単位数によって著明に影響される。したがっ

て、MIC測定は、“actual count法”で行うことが望ましいが、“actual count法”の実施は、手技的に多少の困難を伴う。SXのMICを厳密に測定する臨床的意義も十分明らかではない現状では、routine的な非定量的なMIC測定法も許容されると思われる。

2. *M. avium complex*に対するSXの作用は、発育遅延的であると思われる。この作用に対し、INHとPZAは多少とも拮抗的に作用すると思われる。特に、PASの拮抗作用は著明である。INHは、*M. tuberculosis*に対してはbactericidalに作用するが、*M. avium complex*に対しては、発育遅延作用を示すのみであることが示唆された。

## 文 献

- 1) 束村道雄：SulfadimethoxineとKitsamycinの*Mycobacterium avium-M. intracellulare complex*にたいする発育阻止作用，結核，58：247~250，1983。
- 2) 束村道雄：Sulfadimethoxine, minocyclineおよびKitsamycinの併用による*Mycobacterium avium-M. intracellulare complex*肺感染症の治療，結核，59：33~37，1984。
- 3) Tsukamura, M. : Numerical classification of 280 strains of slowly growing mycobacteria. Proposal of *Mycobacterium tuberculosis* series, *Mycobacterium avium* series, and *Mycobacterium nonchromogenicum* series, *Microbiol Immunol*, 27 : 315-334, 1983.
- 4) 束村道雄：Kanamycinの耐性検査，医学と生物学，49：87~90，1958。
- 5) Tsukamura, M. : “Actual count” method for the resistance test of tubercle bacilli, *Jap J Tuberc*, 12 : 46-54, 1964.
- 6) Canetti, G., Armstrong, A. R., Bartman, K., Cetrangolo, A., Hobby, G. L., Lucchesi, M., Stewart, S. M., Sula, L., Tsukamura, M. and Schmiedel, A. : Recent progress in drug resistance test for tubercle bacilli (major and minor drugs). *Bull Int Union Tuberc*, 37 : 185-225, 1966.
- 7) Canetti, G., Rist, N. and Grosset, J. : Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Méthodologie, critères de résistance, résultats, interprétation. Revue de Tuberculose et de Pneumologie*, 27 : 217-272, 1963.
- 8) 束村道雄，水野松司：抗結核剤の結核菌発育遅延作

- 用の比較, 結核, 55 : 365~370, 1980.
- 9) Moehring, J. M. and Solotorovsky, M. R. : Relationship of colonial morphology to virulence for chickens of *Mycobacterium avium* and the nonphotochromogens, *Am Rev Respir Dis*, 92 : 704-713, 1965.
  - 10) Tsukamura, M., Noda, Y. and Yamamoto, M. : The nature of antituberculous action of sulfisoxazole, *Chemotherapy*, 6 : 165-170, 1958.
  - 11) 束村道雄, 一山 智 : *Mycobacterium avium* complex に対する抗結核剤の最小発育阻止濃度測定 of 培養期間について, 結核, 63 : 107~110, 1988.
  - 12) Tsukamura, M. : Evidence that antituberculosis drugs are really effective in the treatment of pulmonary infection caused by *Mycobacterium avium* complex, *Am Rev Respir Dis*, 137 : 144-148, 1988.
  - 13) 束村道雄 : 人型結核菌 PAS 耐性株で観察される sulfathiazole の抗結核菌作用に対する PAS の拮抗作用, *医学と生物学*, 37 : 145~147, 1955.
  - 14) Tsukamura, M. : Comparative studies on the *in vitro* antituberculous action of long-acting sulfonamides, *Chemotherapy*, 8 : 268-270, 1960.
  - 15) 山田生郷, 渡辺十郎, 阿部光夫他 : Sulfadimethoxine (sulxin) の血中並びに尿中排泄濃度およびその抗菌力, *内科の領域*, 9 : 46~54, 1961.
  - 16) 国立療養所結核化学療法共同研究班 : Sulfa 剤, pyrazinamide 及び INH 誘導体の評価, *日本胸部臨床*, 22 : 323~337, 1963.
  - 17) 束村道雄 : 持続性サルファ剤 sulfadimethoxine の生体内抗結核菌作用, *医学と生物学*, 56 : 13~15, 1960.
  - 18) 束村道雄 : マウスの実験的結核に対する SM, INH, sulfisoxazole 併用療法の治療効果, 結核, 36 : 293~296, 1961.