

抗菌性物質作用の増強に関する研究

第10報 肺炎菌感染動物に対するペニシリン と二、三薬物との相乗効果に就て

金澤醫科大學日置内科教室 (主任日置教授)、

佐 伯 恂 一

(受付昭和24年3月9日)

Junichi Saeki : Studies on the Stimulation of Activities of Antibiotica with Chemical Substances. Rep. 10. Synergistic Effect of Penicillin and some Drugs in Experimental Pneumococcal Infection of Mice.

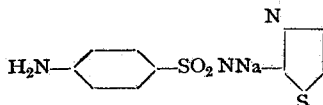
緒 言

前報¹⁾ 試験管内実験に於て、著者は肺炎菌に対する Penicillin (以下Pと略す)作用の増強薬物として、被検物質60種類中、Sulfathiazole Sulfamethylthiazole, Sulfaguanidine の3種を最も優秀なるものとして、又之に次ぐものとして o-Aminophenol, Chineron, Sulfamine, Marfanil, Sulfapyridine, Sulfamerazine 等々を挙げたが、本報に於ては之等薬物がPに果して協同的に作用するか否かを生體實驗即感染「マウス」を用ひて究明せんと欲した。但供試薬物は上記 Sulfathiazole, Sulfamethylthiazole, Sulfaguanidine, Sulfapyridine, Sulfadiazine, Sulfamerazine の6種とした。

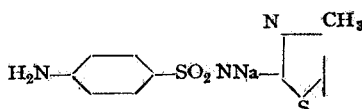
尙本生體實驗では便宜上凡て水溶性ナトリウム鹽を使用して居り、前報に於ける之等薬物に関する試験は原物質を有機溶媒に溶解して行つてあるので、本文に於ては水溶性物質に就て更めて試験管内に於けるP増強作用を繰返し確認することにした。

被 検 物 質

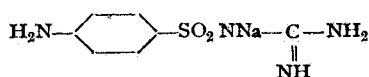
1) Sulfathiazole (Sodium salt) [S.T.Na]



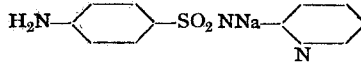
2) Sulfamethylthiazole (Sodium salt) [S.M.T.Na]



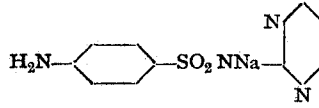
3) Sulfaguanidine (Sodium salt) [S.G.Na]



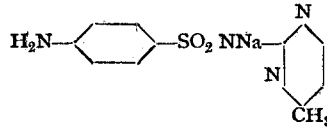
4) Sulfapyridine (Sodium salt) [S.P.Na]



5) Sulfadiazine (Sodium salt) [S.D.Na]



6) Sulfamerazine (Sodium salt) [S.M.Na]



[] 内は略字を示し、以下これを用ふ。

實 験

[A] 供試薬物の試験管内に於ける P 作用増強実験

實 験 方 法

實驗方法並に判定法は前報に詳述した。

實 験 成 績

前報に於ては S.T., S.M.T., S.G. が P に對し特に顯著に増強作用を示し、S.P., S.D., S.M. には特に認むべき作用がなかつたのであるが、今回之がナトリウム鹽を作製し水溶性となし、肺炎双球菌 I 型に對する試験管内實驗を繰返し行つた處でも第 I 表に示す如く略々同様の結果を得てゐる。但此場合には S.D_{Na} にも若干効果が現れてゐる。即ち S.T._{Na}, S.M.T._{Na} に於て 10000 倍稀釋液、20000 倍稀釋液とも菌發育阻止作用、殺菌作用に於て、既に 24 時間後 P 單獨の効果に比し之を 4 倍強化し、他は何れも約 2 倍に之を増強してゐることが認められる。(第 I 表)

第 I 表 () 内は殺菌作用を示す。

番 號	薬 物	菌發育 阻止限 界濃度	作用濃度	時 間	抗 價 菌										増強 倍數
					10	20	40	80	160	320	640	1280	K		
0	對 照 精製 Penicillin (Sodium salt)			24	(-)	(-)	(-)	(+)	+	+	+	+			
				48	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+				
1	S. T. Na	<1000	1:10000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	× 2 × 4	
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	× 4 × 4	
			1:20000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	× 2 × 4	
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	× 4 × 4	

2	S. M. T. Na	<1000	1:10000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	4
			1:20000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	4
3	S. G. Na	<1000	1:10000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	4
			1:20000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2
4	S. P. Na	<2000	1:10000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2
			1:20000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2
5	S. D. Na	<2000	1:10000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	4
			1:20000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2
6	S. M. Na	<2000	1:10000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	×	4
			1:20000	24	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2
				48	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	×	2

〔B〕肺炎双球菌 I 型感染動物に於ける P に対する薬物の相乗作用に就て

実験方法

- 1) 試獣 使用「マウス」は體重13~17瓦を有し、雄性で發育良好なるものを用ひた。
- 2) 菌株 使用菌株は當教室に保存せる肺炎双球菌 I 型を用ひた。即「マウス」を數代通過し毒力を高めた後、10%血清「ブイオン」(pH7.6)にて 37°C に於て24時間培養し、その生理的食鹽水10萬倍稀釋液 0.3c.c. を腹腔内に注射するに、24時間以内に「マウス」を確實に斃死せしめ得た(最

小致死量の 1000-10000 倍に相當す). 而して斯かる強力なる毒力の保持は, 菌を毎日新たなる血清「ブイオン」培地に移植培養し, 且 1 週間毎に 1 回「マウス」を通過せしめることによつて可能であつた.

3) 藥物投與法 P は「萬有」の「ナトリウム鹽を用ひ, 0.1c.c. に下記用量を含む如く調製し背部皮下に注射した. 藥物も同じく, 0.1c.c. に下記用量を含む如く調製し背部皮下に注射した. P と併用する時には同時に同所に注射を施行した. 注射は菌接種後 1 時間を経て行つた. 投與回数は表に示す通り 1 日 1 回投與と, 1 日 3 回即ち 8 時間毎に投與した 場合がある. 1 日 3 回投與の場合, P 及藥物は總量の 3 分の 1, 例へば P 1 日總量 120 單位 (藥物 1.5mgr) ならば 1 回 40 單位宛 (藥物 0.5mg) である.

4) 效果の判定 感染後の生存頭數と平均生存日數とを以て效果判定の基準とした. 觀察期間は菌接種日より 10 日間とした. 斃死せるものはその都度, 心血の塗抹標本を作つて檢鏡し, 或は培養によつて敗血症死の有無を確めた.

實 驗 成 績

[I] P 及藥物併用 1 回治療實驗

a) P 1 回投與の有効性

先づ豫備實驗としての有效單位を決定する爲, 數段階に P の量を分け, 1 日 1 回投與した. その結果, 漸く 100 單位に於て 20% の生存率を示し, その倍量 200 單位でも此成績を改善し得なかつた (第 II 表). 勿論 P の投與は之を數日に涉つて連用する場合, よく肺炎菌感染から動物を救助し得るは既定の事實であるが, 今余等の目的は不足なる P の量を用ひ, 且藥物の併用により良好なる結果の生起如何を見るにあるが故に, 先づ P 單獨なる場合は 100 單位使用することにして, 之に對する藥物併用の結果を次項の如く試みることにした.

第 II 表

(u.) 皮下注射 Penicillin	投與 回数	投與 日數	試 獸 數	各日斃死マウス數							生 存 數	百 分 率 %	平 存 日 數
				1	2	3	4	5	6	7-10			
(對 照)			5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
10	1		5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
20	1		5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1.2
50	1		5	2	3	0	0	0	0	0	0	0	1.6
70	1		5	1	4	0	0	0	0	0	0	0	1.8
100	1		5	0	2	1	0	1	0	0	1	20	4.4
200	1		5	0	2	0	1	1	0	0	1	20	4.6

b) P 及藥物併用 1 回投與試驗

今上述試験管内實驗により P に配するに, S.T._{Na}, S.M.T._{Na}, S.G._{Na} を以てするときは 4 倍の増強を發揮し得るを以て, 兩者を併用せんとする本實驗に於ては P 25 單位, 藥物夫々 0.5mgr を毎回使用して P 100 單位使用と同成績を得るや否やを次の如く實驗した. 此際此量による藥物の

單獨の投與では感染動物の總てが24時間内に斃死する。因に此量を 60 kg の人體に換算すると1回 2 g の注射と云ふことになる。無論試験管内實驗の如くんば此藥物用量が生體中に於ける濃度は尠くとも S.T._{Na}, S.M.T._{Na}, S.G._{Na} に於て夫々 10mg% に達しなければならないが、今此ことをこゝでは除外して直ちに實驗成績に問ふこととする。その結果藥物の配量斯くの如く 0.5mg 1 回では動物として對照に於けると同様遂に救助せしむるを得なかつたが、併し動物の生命を延長しむる點に於て略々成績を等しくし、藥物の併用の效果歴然たるものがあることを示した。この事は兩者に於ける平均生存日數に現れてゐるが、詳細に論ずれば S.T._{Na} 併用が最も優れたる成績を示し、S.M.T._{Na}, S.G._{Na} 何れも僅かに之に劣つた結果を呈してゐると見ることが出来る。(第III表)

第 III 表

Penicillin (u.) 皮下注射	藥 物 (mg) 皮下注射		投與 回數	投與 日數	試 獸 數	各日斃死マウス數							生 存 數	百 分 率 %	平 存 均 日 生 數	
	總 量	總 量				1	2	3	4	5	6	7-10				
(對 照)					5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
100			1		5	0	2	1	0	1	0	1	0	0	0	4.0
25			1		5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
	S.T. _{Na}	0.5	1		5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
	S.M.T. _{Na}	0.5	1		5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
	S.G. _{Na}	0.5	1		5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
25	S.T. _{Na}	0.5	1		5	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0	4.0
25	S.M.T. _{Na}	0.5	1		5	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0	3.4
25	S.G. _{Na}	0.5	1		5	0	1	2	0	2	0	0	0	0	0	3.6

備考 此試験は2回試みてゐるが略々同様の結果に終つてゐる。

(II) P 及藥物併用數回分割治療實驗

a) 今 P 及藥物併用の效果は前述の如くして略々試験管内成績を裏書きするが如くであるが、1 回の治療では甚だ不完全なるを免れない事實により、次に數回に治療を分割して之を試むることとした。先づ豫備實驗として S.T._{Na} のみを取上げ、その量を 1.5 mg (3 回に分割投與) に固定し、P は之を 30 單位より階段的に増量併用し (之又 3 回に等分す)、如何なる組合せに於て 100% の治療效果を得しむるやを觀察した。即ちかより詳細に述べれば P 及藥物の前記量を 1 日 3 回、第 1 回は、菌接種後 1 時間目に之を行ひ、第 2 回、第 3 回目は夫々之より 8 時間毎に注射した。斯くて結果は P 總量 120 單位、藥物總量 1.5 mg を以て完全治療 100% 率に達し、P の夫以下では夫々 60%、40% と云ふ風に成績低下し、45 單位以下では既早如何に藥物を併用するもその效なきことが知られた。(第IV表)

b) そこで實驗を更めて繰返し、而も今回は對照として、P の 120 單位、藥物の 1.5 mg 單獨の同じく分割投與試験を試みた處、對照たる治療法に於ては何等動物の生命を延長せしむるを得なかつたのである。(第V表)

第 IV 表

Penicillin (u.) 皮下注射	薬 物 (mg) 皮下注射		投 與 回 數	投 與 日 數	試 獸 數	各日斃死マウス數							生 存 數	百 分 率 %	平 存 均 日 生 數	
	總 量	總 量				1	2	3	4	5	6	7-10				
(對 照)					5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
30	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	2	1	1	1	0	0	0	0	0	3.2
45	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	1	1	0	2	1	0	0	0	0	4.2
60	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	1	1	0	1	0	2	40	6.6	
75	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	1	0	0	2	2	40	7.6	
90	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	0	1	0	1	3	60	8.4	
120	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	0	0	0	0	5	100	10.0	

第 V 表

Penicillin (u.) 皮下注射	薬 物 (mg) 皮下注射		投 與 回 數	投 與 日 數	試 獸 數	各日斃死マウス數							生 存 數	百 分 率 %	平 存 均 日 生 數	
	總 量	總 量				1	2	3	4	5	6	7-10				
(對 照)					1	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
120	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	0	0	0	0	5	100	10.0	
	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	3	1	1	0	0	0	0	0	2.6	
120			3	1	5	0	0	3	0	1	1	0	0	0	4.0	

c) 次で S.T.Na, S.M.T.Na, S.G.Na の 3 藥物に就て同時に同様實驗を行つた結果は第 VI 表の如くであつた。即 S.T.Na では勿論今回も生存率 100% (平均生存日數 10.0) であり, S.M.T.Na は生存率 80% (平均生存日數 8.8), S.G.Na は生存率 60% (平均生存日數 7.8) である。以上 3 藥物中では S.T.Na が最も好成績を収めしめたのであつた。(第 VI 表)

第 VI 表

Penicillin (u.) 皮下注射	薬 物 (mg) 皮下注射		投 與 回 數	投 與 日 數	試 獸 數	各日斃死マウス數							生 存 數	百 分 率 %	平 存 均 日 生 數
	總 量	總 量				1	2	3	4	5	6	7-10			
(對 照)					5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
120			3	1	5	0	0	2	0	2	0	0	1	20	4.2
	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	2	2	1	0	0	0	0	0	2.8
	S.M.T.Na	1.5	3	1	5	0	2	2	1	0	0	0	0	0	2.8
	S.G.Na	1.5	3	1	5	0	3	2	0	0	0	0	0	0	2.4
120	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	0	0	0	0	5	100	10.0
120	S.M.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	1	0	0	0	4	80	8.8
120	S.G.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	1	1	0	0	3	60	7.8

d) 第 VII 表には前記に準じた試験を新に S.P.Na, S.D.Na, S.M.Na に就て檢した結果を示してゐる。之等藥物の使用量も亦同じく 1.5 mg 總量に止めてゐる。然るに S.P.Na では生存率 20% (平均生存日數 4.4), S.D.Na, S.M.Na は夫々此試験では甚だしく劣り, 遂には動物を救助せしむ

るを得なかつた。之より薬物の使用量を増量すれば如何か知らないが、一應之等の成績は試験管内成績ともよく符合してゐるとも云ふことが出来る。(第VII表)

第 VII 表

Penicillin (u.) 皮下注射	薬物 (mg) 皮下注射	投與回数	投與日数	試 獣 数	各日斃死マウス数							生 存 数	百 分 率 %	平 存 均 日 生 数	
					1	2	3	4	5	6	7-10				
(對 照)					5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0
120		3	1	5	0	2	2	0	0	0	0	1	20	4.0	
	S.P.Na	1.5	3	1	5	0	4	1	0	0	0	0	0	2.2	
	S.D.Na	1.5	3	1	5	0	3	1	1	0	0	0	0	2.6	
	S.M.Na	1.5	3	1	5	0	2	2	1	0	0	0	0	2.8	
120	S.P.Na	1.5	3	1	5	0	0	4	0	0	0	1	20	4.4	
120	S.D.Na	1.5	3	1	5	0	1	4	0	0	0	0	0	2.8	
120	S.M.Na	1.5	3	1	5	0	0	5	0	0	0	0	0	3.0	

e) 最後に第VIII表は S.T.Na, S.T.M.Na, S.G.Na, S.P.Na, S.D.Na, S.M.Na に関するP併用試験を同時に同一条件の下に於て、尙一度行つた結果を示してゐる。此成績では遺憾乍ら、S.T.Na併用試験は80%の生存率を得しめたに過ぎないが、尙本物質のP作用増強は第1位にあり、S.M.T.Na, S.G.Na 之に次ぎ、而うして S.P.Na, S.M.Na, S.D.Na では對照單獨の場合に比して何等の差違存せず、その効果を疑はしむるに過ぎない。總じて此結果は前回の數試験に示されたと全く同様である。(第VIII表)

第 VIII 表

Penicillin (u.) 皮下注射	薬物 (mg) 皮下注射	投與回数	投與日数	試 獣 数	各日斃死マウス数							生 存 数	百 分 率 %	平 存 均 日 生 数
					1	2	3	4	5	6	7-10			
(對 照)					5	5	0	0	0	0	0	0	0	1.0
120		3	1	5	0	2	1	1	0	0	0	1	20	4.2
	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	2	2	1	0	0	0	0	2.8
	S.M.T.Na	1.5	3	1	5	0	2	3	0	0	0	0	0	2.4
	S.G.Na	1.5	3	1	5	0	3	2	0	0	0	0	0	2.4
	S.P.Na	1.5	3	1	5	0	3	2	0	0	0	0	0	2.4
	S.D.Na	1.5	3	1	5	0	3	1	1	0	0	0	0	2.6
	S.M.Na	1.5	3	1	5	0	2	2	1	0	0	0	0	2.8
120	S.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	1	0	0	4	80	8.8
120	S.M.T.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	2	1	0	2	40	6.6
120	S.G.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	2	1	0	2	40	6.6
120	S.P.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	3	1	0	1	20	5.4
120	S.D.Na	1.5	3	1	5	0	0	1	3	0	0	1	20	5.0
120	S.M.Na	1.5	3	1	5	0	0	0	4	0	0	1	20	5.2

考 按

以上の實驗成績に於て肺炎双球菌 I 型に對する P 作用の他藥物による増強は、動物實驗に於ても略々完全に實證され得た。但動物實驗では試験管内實驗に於て優秀なりし Sulfathiazole, Sulfamethylthiazole, Sulfaguanidine の 3 藥物中でも就中 S.T.Na が最も優秀なる成績を示したことは以て銘記すべきである。今此効果が特に相加作用であるか、相乗作用であるかに關しては著者は勿論前者を否定し得るものではないが、後者の存在をも併せて妥當と認めることは獨り試験管内實驗に於ける成績が一つの實證をなすのみならず、動物實驗に於ても P 單獨、藥劑單獨治療よりも兩者を併用せる場合、明かに單なる相加作用と見るよりも飛離れて優秀な効果が示されてゐることによつて充分なる根據を獲得せるものと深く信ずる。余等の教室では斯かる抗生物質に對する藥物の協同効果を 1947 年來より色々實驗してゐるが、此種實驗は米國に於ても試みられてゐた事實を今日に至り聞知するに至つてゐる。即文獻によれば米國の J.A. Kolmer²⁾ が肺炎双球菌感染「マウス」に對して P と Sulfadiazine との併用が單獨療法よりも優れてゐたことを報じ、同じ事實を E.H. Sulfan 氏等も支持してゐる。但之等の實驗に於ては P の使用頗る大量であり又併用効果の根據は必ずしも余等の如く基礎的とは云ひ難く、而も余の成績とはその結果を異にしてゐることに注目しなければならない。余等の成績では Diazine との併用は効果が擧がらず P と Sulfathiazole との併用療法に於て始めて最も優れてゐる結果を獲得し得たのである。

而して余等の得た此結果は臨床上にも極めて重要であらねばならぬ。吾々は現在更に進んで實際の症例に就て種々之を檢討してゐるが、その頗る興味深い成績は追つて之を述ぶる機會に恵まれるであらう。

結 論

- 1) 著者は本篇に於て肺炎双球菌 I 型感染に於ける Penicillin 作用の Sulfathiazole, Sulfamethylthiazole, Sulfaguanidine による相乘的效果を動物實驗に於ても確認した。
- 2) 以上 3 藥物の中で Sulfathiazole が動物實驗的には最も効果がある。

稿を終るに臨み、恩師日置教授の御懇篤なる御指導と御校閲に對して深甚の謝意を表する。

文 獻

- 1) 佐伯 金結核研年報, 7, 103, 1948.
- 2) Kolmer, J. A. : Am. J. med. Sci., 215, (2), 136, 1948.
- 3) Sulfan, E. H., Jenkins, D. E. & Cutting, W. C. : Arch. Int. Med., 76, 161, 1945.