化学療法剤乃至抗生物質間の相互作用に関する実験的研究

第3報 Aureomycin と Penicillin 又は Chloromycetin との
間の試験管内相互作用について

宮 原 忠 義

広島大学医学部細菌学教室 (主任 占部薫教授)

〔受付: 7月4日1955年〕

緒 言

抗生物質を同時に2種またはそれ以上併用することによつて起る試験管内相互作用については、協力、拮抗、平均及び無影響の4つの現象が知られている。これらのうちの拮抗作用に関しては Jawetz, Gunnison & Coleman¹⁾ が管内において、腸球菌に対する Penicillin (以下 Pc) と Chloromycetin (以下 CM) との間に拮抗現象のあることを初めて注目をひき、続いて Jawetz, Gunnison, Speck & Coleman²⁾ は連鎖球菌を供試して同様のことを検知し又 Gunnison, Coleman & Jawetz³⁾ は同菌を用いて Pc と Aureomycin (以下 AM) 或は Terramycin との間の拮抗作用を、更に Jawetz, Gunnison, Bruff & Coleman⁴⁾ は7つの抗生物質間の相互作用について詳細に報告した。わが国では石山^{5) 6) 7)} が黄色葡萄球菌 209 P 株を供試して数種の抗生物質を種々組合せて追究した結果、Pc と AM との或濃度以上の組合せでは両者間に拮抗作用がみられるが、AM と CM との間には逆に協力作用のあることを報告しており、そのほかに中塚ら⁸⁾ 及び山本⁹⁾ の Pc と CM 及び AM との間の協力作用に関する報告、中渡瀬¹⁰⁾ の Pc, AM 両剤間の無干渉についての報告などもみられる。私¹¹⁾ も先に Pc と CM との併用効果に関して検討した結果、Pc の抗菌作用は CM によつて阻害せられ CM の抗菌作用は Pc によつて促進せられることを認めた。今回は AM と Pc 又は CM との間の試験管内相互作用について、黄色葡萄球菌を供試して実験を試みたのでここに報告する。

実験方法

- (1) 供試菌株: 黄色葡萄球菌 209 P 株。
- (2) 供試培地: 中性3%普通寒天培地及び中性普通ブイヨン。
- (3) 供試薬剤: Penicillin-Natrium (万有製薬製),

Aureomycin (Lederle 社製) 及び Chloromycetin (Park-Davis 社製)。

(4) 供試菌に対する供試薬剤の抗菌価: 黄色葡萄球菌 209 P 株に対する供試薬剤のブイヨンを用いての連続希釈法による最小阻止濃度 (M.I.C.) は AM 及び CM ではともに 1 r/cc Pc は 0.05 u/cc であった。

(5) 実験術式: ブイヨンによつて Pc は 25 u/cc から 0.005 u/cc まで、AM は 25 r/cc から 0.1 r/cc まで、又 CM は 15 r/cc から 0.1 r/cc までそれぞれ通減的且つ無菌的に希釈したものをを用意する。

Pc と AM との組合せの第1実験: ブイヨン 5 cc ずつに Pc の 0.1, 5, 10, 15, 20 及び 25 u/cc と AM の 0, 1, 5, 10, 15, 20 及び 25 r/cc とのすべての組合せをつくり、それらに予め供試菌株の1白金耳量をブイヨン 5 cc に移植し、血温 24 時間培養した菌液の 0.5 cc を滅菌溜水 50 cc に添加して希釈したものを 1 cc ずつ移植する。

Pc と AM との組合せの第2実験: Pc の 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 及び 1 u/cc と AM の 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 及び 15 r/cc とのすべての組合せをつくり (各管 5 cc)、これらに予め供試菌株の1白金耳量をブイヨン 5 cc に移植し、血温 24 時間培養した菌液の 0.5 cc を滅菌溜水 80 cc に添加して希釈したものを 1 cc ずつ移植する。

(この論文の要旨は第27回日本細菌学会総会において報告した)。

MIYAHARA, Tadayosh: Experimental studies on interplay between chemotherapeutics and antibiotics. Report 3 On the mutual action in vitro between aureomycin and penicillin or chloromycetin. The Microbiological Department of the Hiroshima Medical College. — Jap. J. of Bact., 11 (1), 17-22, 1956.

表 1 Penicillin と Aureomycin との併用成績 (第 1 回実験)

薬剤添加肉汁 内 放置時間	AM濃度 Pc濃度	25 r/cc	20 r/cc	15 r/cc	10 r/cc	5 r/cc	1 r/cc	0
2 時 間	25 u/cc	45	38	42	35	19	16	13
	20 u/cc	29	55	38	23	19	18	10
	15 u/cc	150	130	82	91	36	45	39
	10 u/cc	140	180	95	72	52	38	35
	5 u/cc	+	+	+	+	+	+	150
	1 u/cc	+	+	+	+	+	+	+
	0	+	+	++	++	++	++	++
4 時 間	25 u/cc	36	16	18	33	30	21	13
	20 u/cc	51	34	26	15	25	19	5
	15 u/cc	60	55	46	42	49	72	20
	10 u/cc	49	65	48	45	28	20	18
	5 u/cc	+	100	+	140	100	90	78
	1 u/cc	+	+	+	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	++	++	++
6 時 間	25 u/cc	17	6	3	8	0	0	0
	20 u/cc	15	22	11	3	25	10	5
	15 u/cc	24	4	14	7	5	3	1
	10 u/cc	41	52	73	96	68	10	15
	5 u/cc	90	85	45	65	72	50	52
	1 u/cc	+	150	+	160	+	180	90
	0	+	+	+	+	++	++	∞
24 時 間	25 u/cc	12	20	8	6	10	0	0
	20 u/cc	17	5	11	22	15	20	0
	15 u/cc	32	13	26	25	16	2	8
	10 u/cc	19	27	14	17	3	1	0
	5 u/cc	49	40	27	65	33	12	12
	1 u/cc	+	+	+	120	+	140	140
	0	+	+	+	+	++	++	∞
48 時 間	25 u/cc	3	5	0	0	2	0	0
	20 u/cc	11	1	13	7	0	0	0
	15 u/cc	4	12	31	12	15	0	0
	10 u/cc	14	3	16	13	9	1	0
	5 u/cc	47	140	52	35	61	80	20
	1 u/cc	170	80	190	+	+	+	150
	0	+	+	++	++	++	++	∞

註: 数字は発生集落概数を示し記号の + ~ ∞ は発生集落量を示す (以下の表も同じ)

AM と CM との組合せの実験: AM の 0, 0.1, 0.5, 1.5, 10 及び 15 r/cc と CM の 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 及び 15 r/cc とのすべての組合せをつくり (各管 5 cc) これらに予め供試菌株の 1 白金耳量をブイヨン 5 cc に移植し, 血温 24 時間培養した菌液の 0.1 cc を滅菌溜水

50 cc に添加して稀釈したものゝ 1 cc ずつを移植する。

以上のようにして菌移植後は各試験管を血温に保ち, 2, 4, 6, 24 及び 48 時間たつて取り出し, それら各試験管からの 1 白金耳量ずつを斜面培地に塗抹し, 血温 24 時間保つた後に発生する集落の数をよみとつた。

表 2 Penicillin と Aureomycin の併用成績 (第 2 回実験)

薬剤添加肉汁 内 放置時間	AM濃度 Pc濃度		15 τ /cc	10 τ /cc	5 τ /cc	1 τ /cc	0.5 τ /cc	0.1 τ /cc	0
2 時 間	1 u/cc		+	110	190	120	99	150	95
	0.5 u/cc		+	150	+	+	+	180	130
	0.1 u/cc		+	+	170	150	+	+	130
	0.05 u/cc		+	+	++	+	++	+	+
	0.01 u/cc		++	++	++	+	++	++	++
	0.005 u/cc		+	++	+	+	++	++	++
	0		+	++	+	++	++	++	++
4 時 間	1 u/cc		+	190	150	+	180	160	120
	0.5 u/cc		+	+	100	+	190	76	82
	0.1 u/cc		+	+	+	+	+	+	140
	0.05 u/cc		+	+	+	++	+	+	+
	0.01 u/cc		++	+	++	++	++	++	++
	0.005 u/cc		+	+	+	++	++	++	++
	0		+	+	+	++	++	++	++
6 時 間	1 u/cc		110	100	190	130	84	95	63
	0.5 u/cc		+	+	150	180	120	67	94
	0.1 u/cc		+	170	+	160	62	130	86
	0.05 u/cc		+	+	+	+	+	+	+
	0.01 u/cc		+	++	++	++	++	++	++
	0.005 u/cc		++	+	++	++	++	++	++
	0		+	+	++	++	++	++	++
24 時 間	1 u/cc		+	140	+	93	77	58	62
	0.5 u/cc		+	+	170	+	91	110	95
	0.1 u/cc	180	+	+	+	160	130	+	140
	0.05 u/cc		+	++	+	+	+	+	+
	0.01 u/cc		+	+	++	++	++	++	++
	0.005 u/cc		+	+	++	++	++	∞	∞
	0		+	+	++	++	++	++	∞
48 時 間	1 u/cc		+	+	190	170	140	98	130
	0.5 u/cc		+	+	+	190	+	180	160
	0.1 u/cc		++	+	+	+	190	+	+
	0.05 u/cc		+	++	+	++	+	+	+
	0.01 u/cc		++	++	++	++	++	++	++
	0.005 u/cc		++	++	++	++	∞	∞	∞
	0		++	++	++	++	++	∞	∞

実験成績

I. Pc と AM との組合せの第 1 実験の成績

こゝでは前記の「第 1 回実験」の成績についてのべるが、この際の成績は一括して表 1 にかゝげた。

即ち Pc の 1~25 u/cc と AM の 1~25 τ /cc とを種々の濃度の組合せのもとに含有する各ブイオンに供試菌

を移植し血温 2 時間放置した後それから寒天斜面に還元培養した結果では、表 1 に示したように発生集落量が薬剤非添加対照ブイオンからは++の程度出現したのに対して、Pc のみを含むブイオンからではその濃度が 1 u/cc の時には+, 5 u/cc では約 150 コ, 10 u/cc では 35 コ, 15 u/cc の時には 39 コ, 20 u/cc の時には 10 コ, 25 u/cc

の時には13コとPcの濃度には逆比して発生集落数が減少する傾向がみられる。又AMのみを含むブイヨンからの還元培養にあつてもその濃度が1r/ccの時には14, 5r/cc及び10r/ccの時には14, 15r/ccの時には14, 20及び25r/ccの時には14の程度に発生し、AMの濃度の大きくなるに従つて、発生集落量が漸減した。ところがPcとSMとを種々の濃度の組合せのもとに含有するブイヨンからの同じく培養2時間後の還元培養成績を見ると、たとえばPc 1, 5, 10, 15, 20及び25u/ccを含むブイヨンに、AMを1r/ccずつを併加したブイヨンからの還元培養では、発生集落の数乃至量はそれぞれ14, 14, 38, 45, 18及び16コとなつており、前述のPc単独添加の場合の集落数(14, 約150, 35, 39, 10及び13コ)に比していずれも発生集落数にわずかの増加がみられた。これと同様の傾向はPcを1, 5, 10, 15, 20及び25u/cc含むブイヨンにAMの5, 10, 15, 20及び25r/ccを併加したさいのいずれの場合にもみられた。即ちこのような結果よりみるとPcの抗菌作用に対してはAMが多かれ少かれ拮抗したことを物語るものと考えられる。ところが他方AMの抗菌作用に対するPcの影響についてみるに、例えばAM 1r/cc単独含有ブイヨン放置2時間後よりの還元発育は14の程度であつたのに対して、AM 1r/cc含有ブイヨンにPcを1~25u/cc併加したものからの同時時間後の還元培養ではPcの併加濃度に比例して発生集落の数乃至量が減少していることが認められ、これと類同の傾向はAMの添加濃度が5~25r/ccのいずれにでもPcを通増併加した場合にも認められたので、このことからしてAMの抗菌作用に対してはPcはさきとは逆に協力的にはたらくものと考えられる。なお以上と同様な関係即ちPcに対するAMの拮抗及びAMに対するPcの協力の傾向は、両剤を種々の濃度比に含むブイヨンに、放置する時間がさらにのびて4, 6, 24及び48時間になつても、そのいずれにおいても常に認められた。

II. PcとAMとの組合せの第2実験の成績

こゝでは前記の「第2回実験」即ち第1回実験の場合よりもPc及びAMの添加濃度並びに移植菌量をさらに減量しての実験の成績であるがこれはまとめて表2に示した。

即ち表1についての読み方に倣つてこの表2を通覧すると、稀釈法によるPcのM.I.C. (実験方法の(4)参照)である0.05u/cc及び同じくAMのM.I.C.である1r/ccより以上の諸濃度の両剤の組合せでは第1回実験の場合ほど著明ではないにしてもやはり多少とも

Pcの抗菌力に対してAMが拮抗し、反対にAMの抗菌力に対してPcが協力するような傾向がみられた。ところが両剤ともそれぞれのM.I.C.以下の濃度で組合せられたさいには、両間に拮抗も協力もともにほとんどみられず、両剤を全く含有しない対照の場合におけるとえらぶところのないような所見を示した。即ちこの様な場合には、組合せた両剤間にはなんらの相互作用も現れない即ち無影響と考えられた。

III. AMとCMとの組合せの成績

この実験の成績は一括して表3に示した。

即ちAMの0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10及び15r/ccとCMの0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10及び15r/ccとを種々の濃度の組合せのもとに含有する各ブイヨンに供試菌を移植し、血温2時間放置後に取り出して、それらから寒天斜面に還元培養した結果では、発生集落数が対照ブイヨンからは約150コの発生したのに対して、AMの1r/ccのみを含むブイヨンからは約120コ発生した。またCMのみを含む培地からはその15r/ccの時には約100コ、10r/ccの時には約120コ、5r/ccの時には約150コ又1r/ccの時には約170コの集落をそれぞれ生じた。しかるにこれら両剤のそれぞれ上記と同濃度の併加培地よりの還元培養成績をみるとそれぞれ47コ, 59コ, 80コ及び73コとなつている。このことは明らかにCMの抗菌作用にAMが協力していることを示すものとみてよからう。又見方を変えてAMの1~15r/ccにCMの1r/ccをそれぞれ併加したものよりの還元発育について上記と同様にして成績をよむと、AMの抗菌作用に対してCMが協力したことが明らかにうかゞえる。即ち以上によりAMとCMとはそれぞれのM.I.C.以上の濃度では相互に協力し合うものと判断される。これと同様の傾向は両剤併加ブイヨン内の放置時間が4~48時間後の場合にもやはり認められた。又両剤のうちいずれか一方がそのM.I.C. (AM, CMともにM.I.C.は1r/cc)以下の濃度の場合、たとえばAM 1r/ccとCM 0.5又は0.1r/ccとの併用の場合においては、それらに放置2時間後よりの還元培養の際の発生集落数はそれぞれ58及び77コであつて、これはAM 1r/cc単独時のその約120コ、CM 0.5r/cc単独時のその約130コ及びCM 0.1r/cc単独時のその約150コに比していずれも減少していることがみられたが、このことによつてCMがM.I.C.以下の濃度であつてもその抗菌力に対してAMが協力することを示すものとみて大過ないであろう。同様にしてM.I.C.以下の濃度のAMに対してCMが大体において協力の傾向を示すものであることを表3によつて

表 3 Aureomycin と Chloromycetin との併用成績

薬剤添加肉汁 内 放置時間	AM濃度 CM濃度	15 r/cc	10 r/cc	5 r/cc	1 r/cc	0.5 r/cc	0.1 r/cc	0
2 時 間	15 r/cc	21	19	78	47	58	73	100
	10 r/cc	25	11	91	59	65	25	120
	5 r/cc	50	51	100	80	110	68	150
	1 r/cc	49	13	43	73	120	160	170
	0.5 r/cc	60	30	65	58	150	150	130
	0.1 r/cc	84	82	90	77	97	120	150
	0	100	81	100	120	130	150	150
4 時 間	15 r/cc	28	21	32	41	64	100	100
	10 r/cc	50	19	66	50	35	59	100
	5 r/cc	69	65	60	38	91	33	140
	1 r/cc	50	11	46	63	57	70	89
	0.5 r/cc	57	46	100	48	100	120	190
	0.1 r/cc	27	70	46	93	85	160	150
	0	73	81	87	100	130	180	180
6 時 間	15 r/cc	42	30	62	63	70	60	74
	10 r/cc	12	19	43	59	38	35	63
	5 r/cc	46	42	51	87	35	93	100
	1 r/cc	28	33	63	60	74	50	92
	0.5 r/cc	43	59	78	65	100	140	120
	0.1 r/cc	31	44	100	87	78	190	+
	0	56	64	120	90	120	+	+
24 時 間	15 r/cc	23	3	19	6	8	14	30
	10 r/cc	25	4	26	40	51	35	52
	5 r/cc	19	12	29	50	40	120	120
	1 r/cc	20	26	150	+	++	++	++
	0.5 r/cc	11	33	+	+	++	++	++
	0.1 r/cc	8	28	+	++	++	++	++
	0	28	46	+	++	++	++	++
48 時 間	15 r/cc	16	40	91	65	81	53	100
	10 r/cc	32	34	23	23	53	80	95
	5 r/cc	90	52	43	46	90	++	++
	1 r/cc	100	80	96	++	120	++	++
	0.5 r/cc	85	88	100	+	++	++	++
	0.1 r/cc	91	120	+	++	++	++	++
	0	89	+	+	++	++	++	++

よみとりえられる。ところがこれら両剤ともそれぞれの M.I.C. 以下の濃度において組合されたさいには、還元発
生集落数はそれぞれの単独時のそれと大差がなかったか
ら、このような場合には組合せた両剤間にはなんらの相
互作用も現れないものと考えて大過ないであろう。

考 按

抗生物質の試験管内併用効果に関しては諸家により種
々の菌を用いて実験が行われており、そのさいの判定法
としては稀釈法、比濁法、重層法或は生菌数計算法等が
援用されているが、用いられる判定法の如何によつて成
績に多少の差異の生ずることはむしろ免れないところで
あろう。又同じ薬剤についての併用実験にあつてもその

組合せ濃度の如何によつては当然成績に多かれ少かれ差異の生ずることも亦止むをえないところであろう。

先に Jawetz ら^{1) 2) 3) 4) 12)} は生菌数計算法によつて CM 及び AM が腸球菌或いは連鎖球菌に対する Pc の抗菌作用を阻害することを認め、さらに現在知られている有効な抗生物質を Pc, Streptomycin, Bacitracin 及び Neomycin の第 I 群と AM, CM 及び Terramycin の第 II 群とに 2 大別し、殺菌効果群であるところの第 I 群相互間ではしばしば相乗的或は相加的に働き決して拮抗的に作用することがなく、静菌効果群であるところの第 II 群間では相互に僅かながら相加作用がみられること及び第 I 群の薬物に第 II 群の薬物が加えられた時にはこの相互作用の様相は甚だ複雑となり、例えば供試菌が第 I 群に対して感受性菌であるときには相互間に拮抗作用がみられるが、之に反して第 I 群に対して抵抗性の細菌であるならば相互間に協力的作用がみとめられることを述べている。

又石山^{6) 7)} も同じく菌数計算法により黄色葡萄球菌 209 p 株を用いて Pc と AM との併用効果を追究した結果、M.I.C. 以下の濃度での併用では相互に協力作用がみられるが、それ以上の濃度の組合せでは相互間に干涉或いは拮抗効果があらわれたと報告している。

これらに反し、山本⁹⁾ は比濁法により黄色葡萄球菌を用いて検討した結果、Pc と AM との間には或る程度の協力作用を認め拮抗作用は殆んど認められなかつたと述べている。私の今回の実験成績はこの山本の実験結果及び上記の石山の M.I.C. 附近の濃度の併用では Pc と AM との間に協力作用があるという成績とは異つているが、他面石山の M.I.C. 以上の濃度の併用では Pc と AM との間に拮抗或いは平均作用があるという成績とはかなり近似の点が見出される。

次に私の AM と CM との間に相互協力が見られたという成績は、それらの併用濃度の如何にかゝらず両剤間に協力作用が認められたという石山^{6) 7)} 及び Jawetz ら^{4) 12)} の実験結果とほぼ一致したものといつてよからう。

結 論

1) 試験管内において、黄色葡萄球菌に対する Pc の抗菌作用は AM によつて多少とも阻害又は拮抗されるが、AM のそれはこれと反対に Pc によつて多かれ少かれ促進又は協力される。

2) この様な現象は両剤をそれぞれの最小阻止濃度以上の濃度に組合せた場合において著明にあらわれ、何れか一方がその最小阻止濃度以下の濃度で組合せられたさ

いには微弱となり、又両剤ともそれぞれの最小阻止濃度以下の濃度において組合せられたさいには殆んど認められなくなる。

3) AM と CM との試験管内抗菌作用の間には両剤それぞれの最小阻止濃度以上の濃度の組合せの際のみならず、いつれか一方がその最小阻止濃度以上の濃度で組合された際にもともに両剤間に相互協力の関係がみられる。

(稿を終るに臨んで、御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師占部薫教授に対して深甚な謝意を表する)。

主 要 文 献

- 1) E. Jawetz, J. B. Gunnison & V. R. Coleman: The combined action of penicillin with streptomycin or chloromycetin on enterococci in vitro, Science, 111, 254, 1950.
- 2) E. Jawetz, J. B. Gunnison, R. S. Speck & V. R. Coleman: Studies on antibiotic synergism and antagonism. The interference of chloramphenicol with the action of penicillin, Arch. Int. Med., 87, 349, 1951.
- 3) J. B. Gunnison, V. R. Coleman & E. Jawetz: Interference of aureomycin and terramycin with action of penicillin in vitro, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 75, 549, 1950.
- 4) E. Jawetz, J. B. Gunnison, J. A. Bruff & V. R. Coleman: Studies on antibiotic synergism and antagonism. Synergism among seven antibiotics against various bacteria in vitro, J. Bact., 64, 29, 1952.
- 5) 石山: 抗菌物質の拮抗作用. 森永薬報, 35, 2, 昭 26.
- 6) 石山: 抗生物質の併用効果について. 日本臨床, 10, 637, 昭 27.
- 7) 石山: 抗生物質併用療法に於ける協力作用と拮抗作用. 日本医師会雑誌, 30, 513, 昭 28.
- 8) 中塚, 荒谷及び山本: Penicillin と Chloromycetin との併用効果について. 日本薬理学雑誌, 46, 204, 昭 26.
- 9) 山本: Penicillin とその他 2, 3 抗生物質の併用作用に就て, 広島医学, 6, 354, 昭 28.
- 10) 中渡瀬: Penicillin と Chloromycetin との併用効果について. J. Antibiotics, Ser. B, 6, 83, 1953.
- 11) 宮原: 化学療法剤ないし抗生物質の相互作用に関する実験的研究. 第 1 報 Penicillin と Chloramphenicol 間の試験管内拮抗並びに協力作用について, J. Antibiotics, Ser. B, 6, 298, 1953.
- 12) E. Jawetz & J. B. Gunnison: An experimental basis of combined antibiotic action, J. Am. Med. Assoc., 150, 693, 1952.