

# 抗生物質の試験管内相互作用に関する研究

## 第一編

### 黄色葡萄球菌寺島株に対する Penicillin, Streptomycin, Aureomycin, Terramycin, Chloromycetin の試験管内相互作用について

岡山大学医学部微生物学教室（指導：村上 栄教授）

佐藤 公人

〔昭和32年2月27日受稿〕

#### 緒言

抗生物質を同時に2種又はそれ以上併用する事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。これらの拮抗作用に関しては Jawetz, Gunnison & Coleman<sup>1)</sup> が管内に於て腸球菌に対する Penicillin (以下 P) と Chloromycetin (以下 CM) との間に拮抗現象のある事を初めて認め、続いて Jawetz, Gunnison, Speck & Coleman<sup>2)</sup> は連鎖球菌を供試して同様な事を知り、又 Gunnison, Coleman & Jawetz<sup>3)</sup> は同菌を用いて P と Aureomycin (以下 AM) 或は Terramycin (以下 TM) との間の拮抗作用を、更に Jawetz, Gunnison, Bruff & Coleman<sup>4)</sup> は7つの抗生物質の相互作用について詳細に報告した。我国では石山<sup>5)6)7)</sup> が黄色葡萄球菌 209 P 株を供試して P と AM との或濃度以上の組合せでは両者間に拮抗作用が見られるが AM と CM との間には協力作用がある事を報告し、戸川<sup>8)</sup> は黄色葡萄球菌 209 P 株を供試して P, Streptomycin (以下 SM), AM, CM, TM のそれぞれ2つの組合せ合計10組の併用効果について実験した結果 P+SM, AM+CM, AM+TM, CM+TM の場合互に協力作用を、P+AM, P+CM, P+TM の場合拮抗作用があり、SM+AM, CM+SM, SM+TM の場合には一方に協力作用、他方に拮抗作用がある

と云う3つの型式があると報告し、宮原<sup>9)10)</sup> は葡萄球菌 209 P 株及び寺島株を用い P と CM を併用した時には P の抗菌作用は CM により阻害され CM の抗菌作用は P により促進協力されることを認め P と AM を併用した時には P の抗菌作用は AM により多少とも阻害されるが AM のそれは P により多少とも協力され、又 AM と CM の併用は相互に協力的であると報告しており、その外に中塚等<sup>11)</sup> 及び山本<sup>12)</sup> の P と CM 及び AM との間の協力作用に関する報告、中渡瀬<sup>13)</sup> の P, AM 両剤間の無干渉についての報告も見られる。又山本<sup>14)</sup> は黄色葡萄球菌, S. Typhi を供試して電位測定により P, SM, TM, AM, Sulfadiazine の併用効果を検定し St. aureus に於ては P+SM, CM+AM, AM+TM, P+Sulfadiazine は相乗作用, P+AM, P+CM, P+TM, SM+AM, SM+CM, SM+TM, Sulfadiazine+SM, Sulfadiazine+AM, Sulfadiazine+CM, Sulfadiazine+TM は拮抗作用, Sulfadiazine+P は黄色葡萄球菌に相乗作用, S. Typhi には拮抗作用があると報告している。

著者は黄色葡萄球菌寺島株を供試して P, AM, TM, CM, SM のそれぞれ2つの組合せ合計10組の併用効果について肉眼にて数えられる範囲に希釈培養し実験を試みた。

実験材料

- 1) 供試菌株： 教室保存の黄色葡萄球菌 寺島株。
- 2) 供試薬剤： Penicillin-natrium (Pと略す), Dihydro-streptomycin (SM), Chloromycetin (CM), Aureomycin (AM), Terramycin (TM)。
- 3) 供試培地： pH 7.4 の 0.8%寒天培地を用いた。

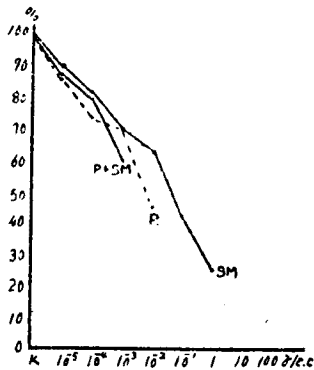
実験 I

P の 100 r/cc より10倍稀釈し  $10^5$  r/cc に及ぶ1系列, SM を 100 r/cc より10倍稀釈し  $10^5$  r/cc に及ぶ1系列, P 100 r/cc と SM 100 r/cc, P 10 r/cc と SM 10 r/cc, P 1 r/cc と SM 1 r/cc, P  $10^{-1}$  r/cc と SM  $10^{-1}$  r/cc, P  $10^{-2}$  r/cc と SM  $10^{-2}$  r/cc, P  $10^{-3}$  r/cc と SM  $10^{-3}$  r/cc, P  $10^{-4}$  r/cc と SM  $10^{-4}$  r/cc, P  $10^{-5}$  r/cc と SM  $10^{-5}$  r/cc を併用する1系列の各培地及び各系列に薬剤を含ませ対称培地 5.5 cc (45~50°C) に予め用意した24時間培養供試菌 2 mg/cc ブイオンを  $10^9 \sim 10^{10}$  に稀釈したものを 0.5 cc 宛加え振盪し直後に冷水にて凝固させ 24 時間 37°C に培養し肉眼にて発生コロニーを数え, 対称を 100%とし横軸に薬剤濃度, 縦軸に発生コロニー数を取りグラフとした。

実験成績

図 I に示した, P:  $100r/cc \sim 10^{-5}r/cc$ ,

第 I 図



SM:  $100r/cc \sim 10^{-5}r/cc$  及び此等を併用した結果では全て薬剤が高濃度に移行するにつれ発生コロニーは漸減している。

P について見ると強抵抗菌と弱抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^5 \sim 10^{-2}$  r/cc で約  $10^3$  倍, 最高発育濃度は  $10^{-2}$  r/cc で発生コロニーは対称の45%, P+SM に就てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 10^{-3}$  r/cc で約  $10^3$  倍, 最高発育濃度は  $10^{-3}$  r/cc で発生コロニーは対称の59%, SM に就て見るとその間の抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称の25%を示している。以上よりして供試菌集団中には個々によりその抵抗性(耐性度)にかなりの差がある事を示している。之は環境の変化による淘汰と考えられる。P と SM の併用は P 側から見ても SM 側から見てもその抗菌作用は協力的であると云える。

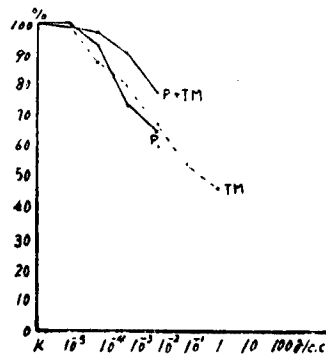
実験 II

P と TM を用いて前実験と同様の実験を行った。

実験成績

図 II に示した, P, TM, P+TM の全ての

第 II 図



例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれて漸減している。P について見ると弱抵抗菌と強抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^5 \sim 10^{-2}$  r/cc で約  $10^3$  倍, 最高発育濃度は  $10^{-2}$  r/cc で発生コロニーは対称の63%, P+TM に於てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 10^{-2}$  r/cc

で約  $10^3$  倍, 最高発育濃度は  $10^{-2} r/cc$  で発生コロニーは対称の76%, TM に於てはその幅が  $10^{-5} \sim 1 r/cc$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 r/cc$  で発生コロニーは対称の46%を示している. 以上よりして供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかなりの差が見られ, P と TM の併用では P 側より見ると P の抗菌作用は TM により阻害され TM のそれは P により増強されている.

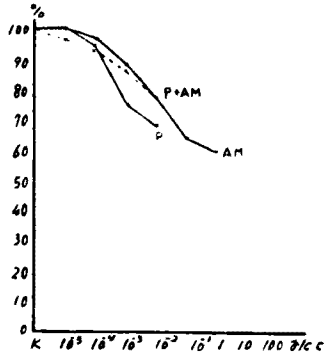
実験 III

P と AM を用いて同様の実験を行った.

実験成績

成績は図IIIに示した. P, AM, P+AM と

第 III 図



全ての例に於て薬剤が高濃度に移行するにつれて発生コロニーは漸減している. P に於ては弱抵抗菌と強抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 10^{-2} r/cc$  で約  $10^3$  倍, 最高発育濃度は  $10^{-2} r/cc$  で発生コロニーは対称の67%, P+AM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 10^{-2} r/cc$  で約  $10^3$  倍,  $10^{-2} r/cc$  に於ける発生コロニーは対称の77%, AM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 r/cc$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 r/cc$  で発生コロニーは対称の59%を示している. 以上より供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかなりの差が見られ, P と AM の併用は P 側より見ると P の抗菌作用に対し AM は拮抗的であり AM 側より見ると AM の抗菌作用は P により増強されている. 即ち P は AM に対し協力的であると云える.

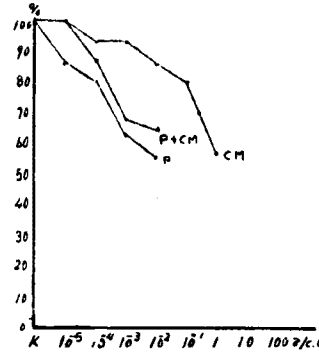
実験 IV

P と CM を用いて同様の実験を行った.

実験成績

成績は図IVに示した. P, CM, P+CM と全

第 IV 図



ての例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれて漸減している. P に於ては弱抵抗菌と強抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 10^{-2} r/cc$  で約  $10^3$  倍の差があり最高発育濃度は  $10^{-2} r/cc$  で発生コロニーは対称の56%, P+CM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 10^{-2} r/cc$  で約  $10^3$  倍, 最高発育濃度は  $10^{-2} r/cc$  で発生コロニーは対称の65%, CM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 r/cc$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 r/cc$  で発生コロニーは対称の57%を示している. 以上よりして供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかなりの差が見られ, P と CM の併用は P 側よりみると P の抗菌作用に対し CM は拮抗的, CM 側よりみると CM の抗菌作用は P により促進され協力的と云える.

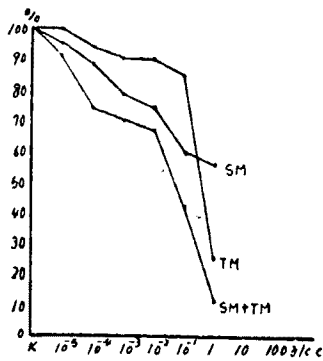
実験 V

SM と TM を用いて同様の実験を行った.

実験成績

成績は図Vに示した. SM, TM, SM+TM と全ての例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれて漸減している. SM に於ては強抵抗菌と弱抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 r/cc$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 r/cc$  で発生コロニーは対称の55%, SM+TM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 r/cc$

第 V 図



で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$  で発生コロニーは対称の12%, TM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 \text{ r/cc}$  で約  $10^5$  倍を示し最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$  で発生コロニーは26%を示している. 以上より供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかかなりの差があり, SM と TM の併用は SM, TM 何れの側よりみても抗菌作用は共に極く僅かながら増大されており協力的と云える.

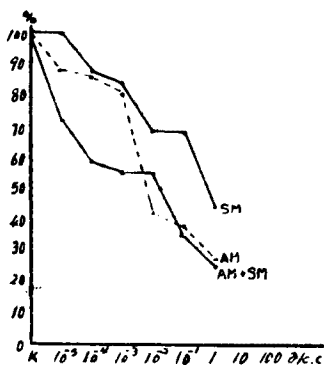
#### 実験 VI

SM と AM を用いて同様の実験を行った.

#### 実験成績

成績は図VIに示した. SM, AM, SM+AM

第 VI 図



と全ての例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれ漸減している. SM に於ては強抵抗菌と弱抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 \text{ r/cc}$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$  で発生コロニーは対称の44%, SM と AM の併用では抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 \text{ r/cc}$

で約  $10^5$  倍を示し最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$  で発生コロニーは対称の25%, AM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 \text{ r/cc}$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$  で発生コロニーは対称の26%を示している. 以上より供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかかなりの差があり, SM と AM の併用は SM, AM 何れの側よりみても抗菌作用は共に極く僅かながら増大されており協力的と云える.

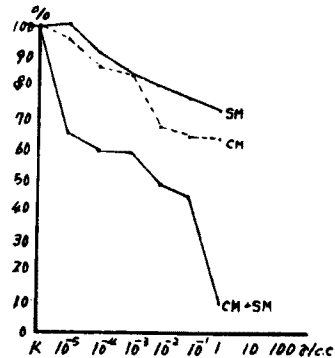
#### 実験 VII

SM と CM を用いて同様の実験を行った.

#### 実験成績

成績は図VIIに示した. SM, CM, SM+CM

第 VII 図



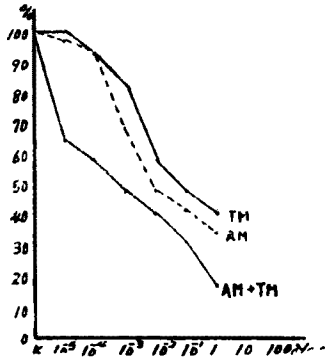
と全ての例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれ漸減している. SM に於ては強抵抗菌と弱抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 \text{ r/cc}$  で約  $10^5$  倍で最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$ , 発生コロニーは対称の71%, SM+CM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 \text{ r/cc}$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$  で発生コロニーは対称の9%, CM に於てはその抵抗性の幅が  $10^{-5} \sim 1 \text{ r/cc}$  で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は  $1 \text{ r/cc}$  で発生コロニーは対称の63%を示している. 以上より供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかかなりの差があり, SM と CM の併用は SM, CM 何れの側よりみてもその抗菌作用はごく僅かながら増大されており協力的と云える.

#### 実験 VIII

TM と AM を用いて同様の実験を行った.

実験成績

成績は図VIIIに示した, TM, AM, TM+AM



と全ての例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれて漸減している. AM に於ては強抵抗菌と弱抵抗菌との間に抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍の差があり最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称の 34%, TM に於てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称 40%, AM と TM を併用した例に於てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称の 16% を示している. 以上より供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかんがりの差があり, TM と AM の併用は何れの側よりみてもその抗菌作用は増大されており協力的と云える.

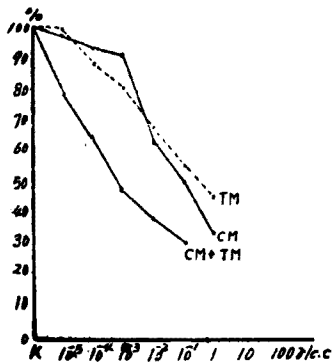
実験 IX

TM と CM を用いて同様の実験を行った.

実験成績

成績は図IXに示した, TM, CM, TM+CM

第 IX 図



と全ての例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれて漸減している. TM に於ては強抵抗菌と弱抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称の 45%, CM に於てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称の 33%, TM と CM を併用したものに於てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 10^1$  r/cc で約  $10^4$  倍, 最高発育濃度は  $10^1$  r/cc で発生コロニーは対称の 30% を示している. 以上よりして供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかんがりの差があり, TM と CM の併用は TM, CM 何れの側よりみても抗菌作用は増大されており協力的と云える.

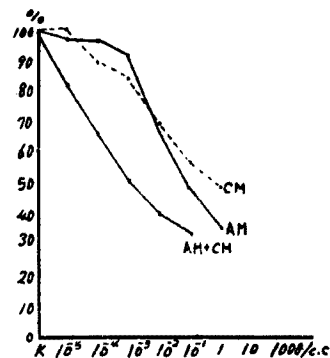
実験 X

AM と CM を用いて同様の実験を行った.

実験成績

成績は図Xに示した, AM, CM, AM+CM

第 X 図



と全ての例に於て発生コロニーは薬剤が高濃度になるにつれて漸減している. AM に於ては強抵抗菌と弱抵抗菌との間の抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称の 35%, CM に於てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 1$  r/cc で約  $10^5$  倍, 最高発育濃度は 1 r/cc で発生コロニーは対称の 49%, AM と CM を併用したものに於てはその抵抗性の幅が  $10^5 \sim 10^1$  r/cc で約  $10^4$  倍, 最高発育濃度は  $10^1$  r/cc で発生コロニーは対称の 33% を示

している。以上よりして供試菌集団中には個々によりその抵抗性にかなりの差があり、AM と CM の併用はAM, CM 何れの側よりみてもその抗菌作用は増大しており協力的と云える。

### 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際の判定法としては稀釈法、比濁法、重層法、生菌数計算法、発育時間電位測定法等が用いられているが此等判定法の如何により成績に多少の差異が見られる。又同じ薬剤についての併用実験であつても組合せ濃度の如何により成績に差異を生ずる。先に Jawetz<sup>1)2)3)4)15)</sup>等は生菌数計算法によりCM, AM は腸球菌或は連鎖球菌に対するPの抗菌作用を阻害することを認め抗生物質をP, SM, Bacitracin, Neomycin の第I群と、AM, TM, CM の第II群に大別し第I群相互間ではしばしば相乗的乃至相加的に働き決して拮抗的に作用する事がなく、第II群間では僅かながら相加作用が見られ、第I群の物質に第II群の物質が加えられた時は相互作用は複雑になり例えば供試菌が第I群に対して感受性菌であると相互間に拮抗作用がみられ、之に反し第I群に抵抗菌であると相互間に協力作用がみられると述べている。戸川<sup>8)</sup>は平板培養法を用い Wooff-Hügel の集落計算盤を用いて葡萄球菌 209 P 株を供試して P+SM, AM+CM, AM+TM, CM+TM の場合協力的、P+AM, P+CM, P+TM の時拮抗作用があり、SM+AM, SM+CM, SM+TM の場合一方に協力作用、他方に拮抗作用があると報告し、石山<sup>5)6)7)</sup>は黄色葡萄球菌 209 P 株を供試して P+AM の場合には両者間に拮抗作用がみられ AM+CM の場合には協力作用があると報告し、宮原<sup>9)10)</sup>は葡萄球菌 209 P 株及び寺島株を供試して P+CM の場合にはPの抗菌作用はCMにより阻害されCMのそれはPにより促進され P+AM の場合にはPの抗菌作用はAMにより阻害されAMの

それはPにより協力され、又 AM+CM の場合は相互に協力的であると報告している。此に反し山本<sup>12)</sup>は比濁法により黄色葡萄球菌を用いて検討した結果PとAMの間には或る程度協力作用を認め拮抗作用は認められなかつたと報告し、山本<sup>14)</sup>は P+SM, AM+CM, AM+TM の時協力作用、P+AM, P+TM, P+CM, SM+AM, SM+CM, SM+TM, CM+TM の時拮抗作用があると述べている。

今回の著者の実験成績は此の山本<sup>12)</sup>の成績とは異つているが他面石山<sup>5)6)7)</sup>の M. I. C. 以上の濃度の併用ではPとAMの間に拮抗或は平均作用があると云う成績、宮原<sup>9)10)</sup>の P+AM, P+CM の場合Pの側よりみるとAM, CM は拮抗しCM, AM の側よりみるとPは協力しAM+CM の場合は互に協力的であると云う成績とはほぼ一致し P+SM, AM+CM, AM+TM, CM+TM の場合互に協力作用がある事は戸川<sup>8)</sup>、石山<sup>5)6)7)</sup>、Jawetz<sup>4)</sup>の成績とはほぼ一致し、P+SM, AM+CM, AM+TM の時協力作用がある点は山本<sup>14)</sup>の成績と一致し TM+CM が協力作用のある点は山本<sup>14)</sup>のそれと異り、P+AM, P+CM, P+TM の場合には一方に協力的であり他方に拮抗的である点は戸川<sup>8)</sup>と異り宮原<sup>9)10)</sup>のそれに一致し、SM+AM, SM+CM, SM+TM の場合は互に極く僅かではあるが協力的であり山本<sup>14)</sup>、戸川<sup>8)</sup>の成績とは異つている。供試菌集団中には個々により抗生物質に対して相当に抵抗性(耐性)の差がある事を示している。

### 結 論

試験管内に於て黄色葡萄球菌寺島株に対する P, SM, AM, TM, CM のそれぞれ2つの組合せ合計10組の併用効果について実験した結果

1) P+SM, AM+TM, CM+TM, AM+CM の場合にはその抗菌作用は供に協力的である。

2) SM+TM, SM+AM, SM+CM の場合にはその抗菌作用は極く僅かながら供に

的である。

3) P+CM, P+TM, P+AM の場合には P の抗菌作用は CM, TM, AM により阻害され CM, TM, AM の抗菌作用は P により促進される事を認めた。

4) 供試菌集団中には個々により抗生物質に対し相当抵抗性の差がある。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を頂いた恩師村上教授に深甚なる謝意を表します。

### 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) 戸川: 葡萄球菌に対する抗生物質の併用効果について, *日本細菌学会雑誌*, **6**, 8, 1951.
- 9) 宮原: 化学療法剤ないし抗生物質間の相互作用に関する実験的研究, *The Journal of antibiotics*, Ser. B. **6**, 298, 1953.
- 10) 宮原: 化学療法剤ないし抗生物質間の相互作用に関する実験的研究, *日本細菌学会雑誌*, **11**, 17, 1956.
- 11) 中塚, 荒谷及び山本: Penicillin と chloromycetin との伍用効果について, *日本薬理学会雑誌*, **46**, 204, 昭26.
- 12) 山本: Penicillin と其他 2, 3 の抗生物質の伍用効果について, *広島医学*, **6**, 354, 昭28.
- 13) 中渡瀬: Penicillin と chloromycetin との併用効果について, *J. Antibiotics*, Ser. B. **6**, 83, 1953.
- 14) 山本: 電位測定による抗菌物質の検定法(Ⅲ) *岡山医学会雑誌*, **66**, 511, 昭29.
- 15) E. Jawetz & J. B. Gunnison: An experimental basis of combined antibiotic action, *J. Am. Med.*, **150**, 693, 1952.

## Studies on the Reciprocal Action of Antibiotics

### I. The reciprocal action of antibiotics to Staphylococcus aureus(Terashima)

By

Kimito Sato

Department of Microbiology, Okayama University Medical School  
(Director: Professor Dr. Sakae Murakami)

In this report, the author reports about the effect of the combinative administrations of each two of the following antibiotics, penicillin, streptomycin, aureomycin, terramycin, and chloromycetin; the tested combinations were 10 as a whole. As a test organism, Staphylococcus aureus (Terashima) was taken. The results are as follows:

1) The antibacterial actions are co-operative to each other in each of the following combinations, penicillin and streptomycin, aureomycin and terramycin, aureomycin and chloromycetin, and chloromycetin and terramycin.

2) Though very slight, the antibacterial actions are co-operative in each of the following combinations, streptomycin and terramycin, streptomycin and aureomycin, and streptomycin and chloromycetin.

3) In each of the combinations of penicillin with chloromycetin, terramycin, and aureomycin, the antibacterial action of penicillin is inhibited by the other, while each action of chloromycetin, terramycin, and aureomycin is enhanced by penicillin.

4) Among the groups of tested organism, the individual difference of resistance to antibiotics is observed.

---