

「ストレプトマイシン」耐性結核菌の毒力に関する研究

慶応義塾大学医学部(指導 牛場 大蔵教授)
 国立療養所久里浜病院 (院長 宍戸芳男)

村 田 太 郎

(昭和 28 年 6 月 25 日受付)

緒 論

1944 年 Waksman により発見された「ストレプトマイシン」(以下「ス」と略す)は試験管内実験動物実験を経て 1946 年には米国の Veterans Administration の臨床実験¹⁾を筆頭に世界各国で用いられ人類に大きな幸をもたらした。しかるに近年続々と登場した抗生物質中「ス」はこれに対し細菌が最も早く且つ高度に耐性を獲得する事が知られ重大な問題となつた。この耐性の発現機序に関しても又多くの人々により研究²⁾³⁾が行われて Demerec(1948)の自然的突然変異説が有力なものとなりつつある。私は結核菌の耐性獲得が変異によるものであるかどうかは別として感受性菌・耐性菌の関係の一端をうかがうべく両者の毒力を比較せんとした。元來結核菌の毒力を判定するには種々の方法⁴⁾⁵⁾があるが要するに毒力とは生体内で増殖して病巣を作る能力であらう⁶⁾。よつて下記の様如き実験を試みた。すなわち当院における結核患者の「ス」治療前後より得たる感受性菌・耐性菌及び依存性菌を動物皮下に接種しその毒力を比較検討しついで感受性菌感染群の「ス」治療終了後の遠隔成績を追求した。毒力の判定には菌の皮下接種に「ス」投与という条件を加味した場合を含め一定期間の後剖検し脾重量を測定し各臓器の肉眼的所見を観察し更に定量培養法によりその菌数を測定した。

第 1 編 「ス」耐性結核菌の毒力に関する実験

同一人より分離した感受性菌・耐性菌の 3 組を主体として計感受性菌 5 株、耐性菌 4 株の毒力を比較しこれに「ス」治療を加味しついで依存性菌より分離せる耐性菌の毒力をもこれと比較した。

(1) 実験方法

動物：体重 400~600g の雄海猿「ツ」反応 (10×「ツ」液) 陰性のものを 1 菌株に 5 匹ずつ使用

接種菌：金子株(感受性) 金子株(耐性)

水野株(") 水野株(")

松生株(") 松生株(")

以上同一人よりのもの 3 組

鶴岡株(感受性) 吉江株(耐性)

白石株(") 大友株(")

以上いずれも耐性は 1000Y でキルヒナー寒天培地又

は岡・片倉培地に 1.5~2 カ月培養のものを(耐性菌は感受性菌の混入をさけて⁸⁾⁹⁾「ス」含有キルヒナー寒天培地より鈎菌) 瑪瑙乳鉢を用い生理的食塩水を以つて菌液とした。なお本研究における耐性測定にはすべてキルヒナー寒天培地¹⁰⁾¹¹⁾を使用した。継代により毒力の変化する事¹²⁾が考えられるので比較するもの同志継代の条件を同一にし又菌液は時間がたつと不均等になるので¹³⁾作製後すみやかに使用した。

菌量： $\frac{1}{100}mg$ 又は $\frac{1}{10}mg$ を 0.1cc に含めて接種した。
 接種部位：胸骨部皮下

「ス」治療：菌接種後 14 日目に再び「ツ」反応を行い 16 日目に同反応の判定を行うと同時に治療を開始毎日 1 回 10mg. を 1cc に含めて皮下に 30 日間投与した(但し投与は第 3 図の水野株・金子株の耐性菌群のみ)。

剖 検：同上終了後 5 日(これは「ス」の体外排泄¹⁴⁾を目的とした。)つまり菌接種後 50 日に行つた。

判 定：接種局所・所属りんば腺・脾・肝・肺及び肺門りんば腺の肉眼的所見を Hinshaw & Feldman's Key により記載し脾重量を測定しその平均値を海猿の体重 1 kg. あてに換算し又脾・肝・肺 1mg. 中の結核菌数を定量培養法¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾で測定した。なお臓器の乳化には慶大

第 1 表 脾重量の比較(単位 mg/K.)

感 受 性 菌		耐 性 菌	
K 株	3420	K 株	1635
M 株	2075	M 株	3283
Ma 株	3642	Ma 株	1606
T 株	1937	Y 株	2490
S 株	2115		

第 2 表 定量培養(臓器中菌数 個/mg)

感 受 性 菌		耐 性 菌		
		脾	肝	肺
K 株	193.4	21.7	2.3	K 株 78.0 2.2 1.5
M 株	40.5	2.2	0.3	M 株 280.0 10.6 17.2
Ma 株	63.5	5.8	2.6	Ma 株 41.5 9.0 0.3
S 株	50.0	5.8	0.7	

第 3 表

脾 重 量(mg/K)		定量培養菌数(個/mg)			
処置	対 照	治 療		対 照	治 療
菌株					
水野 (R)	3283	2671	脾 肝 肺	280 10.6 17.2	241 9.5 7.6

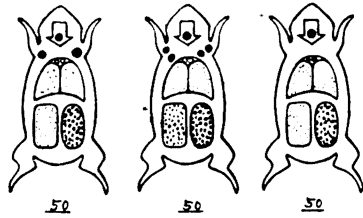
金子 (R)	1635	983	脾	78	47
			肝	2.2	0.8
			肺	1.5	1.5

細菌学教室考案の「ホモチナイザー」¹⁸⁾を使用した。病変記載下部の数字は剖検日数を表す。

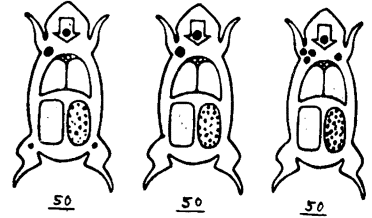
〔2〕成績 第1~3図, 第1~3表

第 1 図 A) 感受性菌 B) 耐性菌

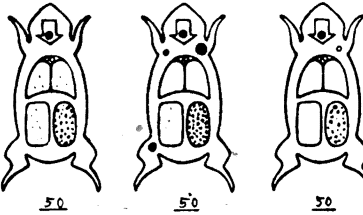
金子株
キルヒナー1寒天3代
1Y (-)



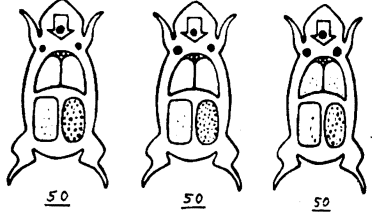
1000Y (+)



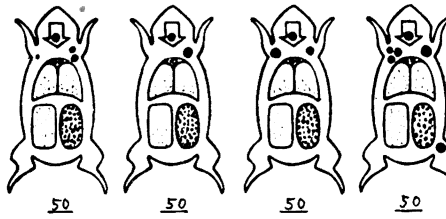
水野株
キルヒナー1寒天2代
1Y (+)



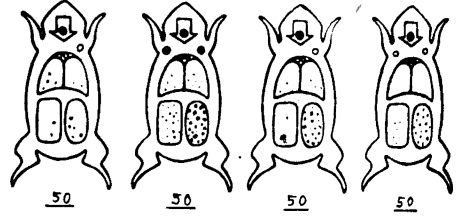
1000Y (+)



松生株
キルヒナー1寒天3代
1Y (+)

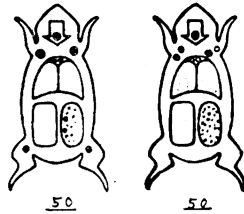


1000Y (+)

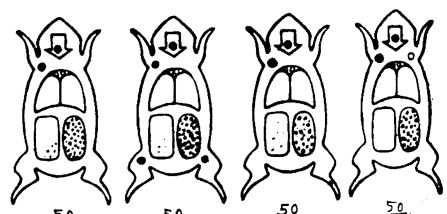


第 2 図 A) 感受性菌 B) 耐性菌

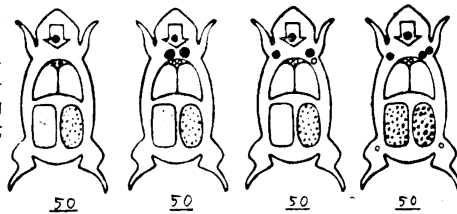
岡・片倉初代
白石
1Y (-)



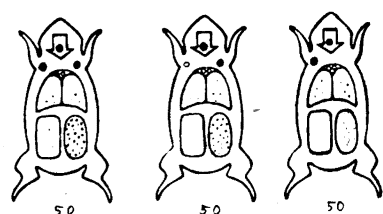
岡・片倉初代
吉江
1000Y (+)



岡・片倉初代
鶴岡
1Y (+)

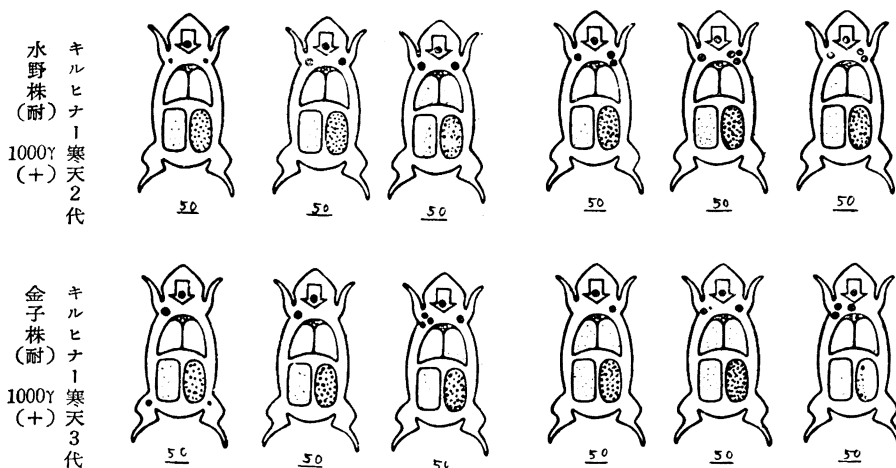


キルヒナー1寒天11代
大友
1000Y (+)



第 3 図

A) 対 照 群
B) 治 療 群



上記の第1, 2図を比較するに金子株・松生株では感受性菌の方が病変は強く水野株では耐性菌の方がやや強いように思われ、白石株(感)・鶴岡株(感)・吉江株(耐)では白石株の病変最も少なく他の2株はあまり差がない。更に第1, 2表によれば脾重量の多いものからならべて見ると松生(感)・金子(感)・水野(耐)・吉江(耐)・白石(感)・水野(感)・鶴岡(感)・金子(耐)・松生(耐)の順になり定量培養による臓器 1mg 中の菌数の多いものからならべて見ると脾では水野(耐)・金子(感)・金子(耐)・松生(感)・白石(感)・松生(耐)・水野(感)の順になる。又大友株(耐)は依存性菌の「ス」含有キルヒナー寒天培地に継代中分離されたものであるが接種菌量が $\frac{1}{10}$ mgで多いにかかわらず上記の如き病変を示し他の菌より毒力は弱いように思われる。元株たる依存性菌は $\frac{1}{10}$ mgを海蜆皮下に接種して見たが50日及び100日剖検で接種局所の病変のみで所属りんば腺・臓器に肉眼的に変化なく又定量培養で脾・肝・肺より「ス」投与群からも菌を検出し得なかつた。更に感受性菌感染群(図表略)と耐性菌感染群に「ス」治療を行つたが前者では治療効果は明らかであつたが後者では治療群・対照群に差を認めなかつた。すなわち耐性菌の毒力は「ス」投与で増強も減弱もしない事が認められた(第3図, 第3表参照)。

第2編 「ス」治療の遠隔成績に関する動物実験

感受性菌6株を以つて動物を感染せしめついで「ス」治療を行い終了後直ちに剖検して見ると臓器に肉眼的病変は認められないが定量培養で微量の菌を検出し得る状態になる。この微量の菌が「ス」治療中止後如何なる運命をとるかを追求めた。

(1) 実験方法

動物：第1編と同様、1菌株に10匹ずつ使用

接種菌：6菌株いずれも感受性菌で培養と使用の条

件第1編と同様

菌量：町田・小竿・松生株は $\frac{1}{100}$ mg、加藤・溝川・水野株は $\frac{1}{10}$ mgを0.1ccに含ませて使用

接種部位：胸骨部皮下

剖検：いずれの菌株のものも「ス」治療終了後5日すなわち菌接種後50日にその半数を剖検し「ス」終了直後の所見とし残余半数を更に50日放置すなわち菌接種後100日に剖検し直後の所見と比較した。

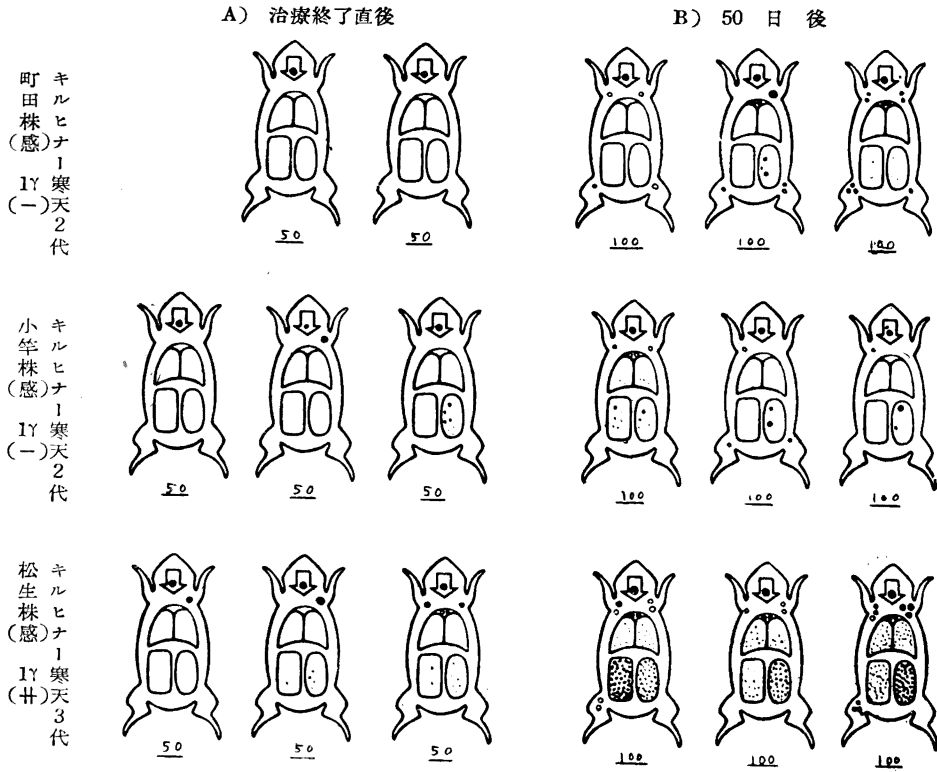
判定：判定比較の基準は第1編のそれと同じ。

〔2〕成績 第4, 5図, 第4表

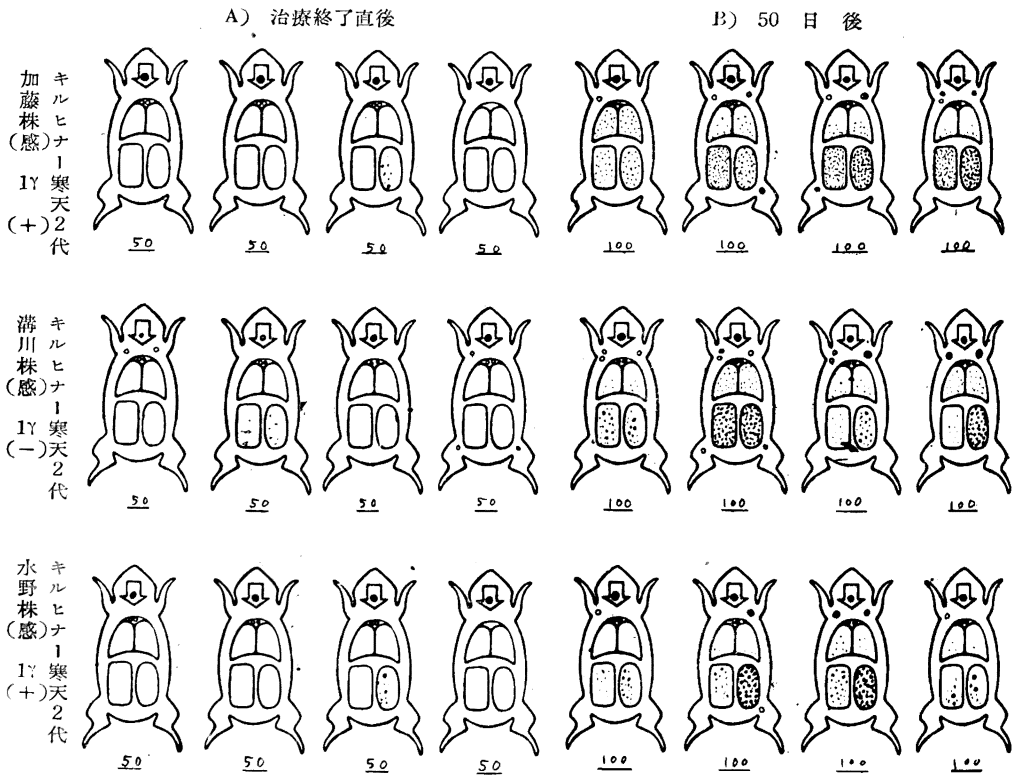
第 4 表

菌株	脾重量 (mg/K)		臓器	定量培養菌数(個/mg)	
	50日	100日		50日	100日
町田	900	1111	脾 肝 肺	0 0 0	9.5 1.7 0
小竿	1123	791	脾 肝 肺	0 0.1 0	0 0 0
松生	1562	4665	脾 肝 肺	10.9 2.0 0.8	186.5 67.8 9.8
加藤	988	2231	脾 肝 肺	2 5.3 1.6	18.5 36.5 7.4
溝川	969	2205	脾 肝 肺	8 0.9 0	10.5 0.5 0
水野	987	3140	脾 肝 肺	13 0.7 0	74 6.4 1.0

第 4 図



第 5 図



上記の図及び表を見るにいずれの菌株でも 100 日の方が 50 日より変化が強いようである。つまり「ス」治療終了直後臓器中に微量存在した菌はその後 50 日間に著明な病変をつくるに至ることが観察される。しかし小羊及び町田株では他株に比して肉眼的病変の進展が軽度、かつ菌数の増加もほとんど認められないか又は僅かであった。なお 100 日剖検時病巣より分離された菌の耐性を再び測定したが接種時と変化がなかった。なお病理組織学的に検索すると松生・町田・小羊のいずれの株でも 100 日剖検時肺・肺門リンパ腺・脾及び肝に病巣を認め殊に肺門部リンパ腺における病巣は大きく且つ密度も大であり又比較的大なる乾酪巣も認めた。肺病巣は類上皮細胞の繁殖が主で銀好線維・膠原線維の増殖は極めて軽微であるに反しリンパ腺・肝及び脾の病巣は乾酪巣を囲む類上皮細胞及びラ氏型巨大細胞層には銀好線維の増殖が著明で更に外層より膠原線維の増殖も認められた。

考案並びに総括

第 1 編の実験を考えて見るに、用いた感受性菌も耐性菌も患者の痰より分離したものであるから一応毒力はある筈であるという柳沢¹⁹⁾の論は別として元株から変異により耐性菌が生ずるものとすれば両者の毒力を比較する事は临床上にも重要な問題である。本実験中の同一患者より分離した 3 組のものは互に毒力に差があるように思われる。つまり耐性獲得と同時に毒力が変化したわけである。がその方向は一定でなく或いは強く或いは弱くなっている。またその程度は軽度であるが肉眼的変化・脾重量・定量菌培養の判定方法間に並行的に認められた。橋本²⁰⁾は B.C.G. を用い感受性菌・耐性菌の毒力を比較しこの間に一定の関係はないといっている。小酒井²¹⁾は 7 株で脳内接種法等により比較し両者に毒力の差はないと報告している。本実験の大友株は耐性と毒力と同時に変化している。Doane²²⁾も依存性菌で同様のことを報告している。大友依存性菌接種では動物に臓器病変を作り得ず又定量培養で菌を検出し得なかつたが Yegian²³⁾も同様の菌株を報告している。橋本²⁴⁾は又依存性人型菌の海狸静脈感染 8 週後の剖検で「ス」投与群及び無処置群の脾から菌を証明している。本実験では皮下感染 7 週後の剖検で「ス」投与群からも菌を検出していないがこれは依存性の程度の差にもよるであろう。大友株(依)は試験管内で 100~1000Y 依存性であり 1~10Y では発育しない。けだし生体内の「ス」濃度を 100Y 以上にすることは實際上困難であろう。次に耐性菌感染群の治療実験で耐性菌は「ス」投与で毒力の変化せぬ事が認められるがこれは Feldman, Karlson, Hinshaw²⁵⁾, Kirshheimer, Youmans²⁶⁾も報告している。次に第 2 編の実験について考察して見ると前記の如く「ス」治療中止により体内の菌は増殖して病変も進展する。これは按ずるに海狸の結核症は人類の粟粒結核のような像を呈するが人類のそれ

は「ス」で最も治癒しやすい病型であり又「ス」治療中止後も治癒が長期間安定な形で続く事は臨床家のみならず病理学者等²⁷⁾²⁸⁾²⁹⁾も認めるところである。この差は病理標本に見られる如き生体の反応型式に人類と動物に差がある為に生じて来るものと考えられこの点が動物の化学療法剤による治療実験より人類の疾患の治療効果に比較論を行う場合最も注意を要するところであろう。

結 語

以上要するに同一患者より分離した 3 組の「ス」感受性・耐性結核菌等の毒力を動物実験を以て比較し又耐性菌の毒力が「ス」投与で変化するか否かを検討し又依存性菌の継代中得たる耐性菌の毒力もこれ等と比較し第 2 の実験では感受性菌感染動物の「ス」治療の遠隔成績を追求した。

拙筆にあたり終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた牛場教授に衷心より深謝しなお本研究の病理学的検索に御援助を頂いた病理学教室影山圭三助教授、久田太郎助手に深甚なる謝意を表する次第である。

本研究の一部は関東支部会(昭和 27 年 2 月 23 日)において講演した。

文 献

- 1) William B. Tucker: Am. Rev. Tuberc., Vol. 60: 715, 1949.
- 2) Paul Bordet: 医学のあゆみ, 14: 243, 昭 27.
- 3) 秋葉朝一郎: 医学のあゆみ, 13: 250, 昭 27.
- 4) Lea Richmond and al.: Am. Rev. Tuberc., Vol. 62: 632, 1950.
- 5) 渡辺喜海: 結核, 18: 101, 昭 15.
- 6) 染谷四郎外 2 名: 結核, 26: 24, 昭 26.
- 7) 小川辰次外 5 名: 結核, 26: 219, 昭 26.
- 8) 小酒井 望: 結核, 25: 317, 昭 25.
- 9) Diran Yegian and al.: J. Bact., Vol. 56: 177, 1948.
- 10) 村田太郎: 東京医事新誌, 7: 13, 昭 25.
- 11) 村田太郎: 東京医事新誌: 68: 12, 昭 26.
- 12) 染谷四郎外 3 名: 結核, 26: 74, 昭 26.
- 13) 岡 治道外 15 名: 日本臨床結核, 7: 47, 昭 23.
- 14) 村田太郎外 1 名: 医療, 4: 658, 昭 25.
- 15) 小川辰次: 結核, 24: 19, 昭 24.
- 16) 小川辰次外 1 名: 結核, 24: 25, 昭 24.
- 17) 小川辰次外 2 名: 結核, 24: 97, 昭 24.
- 18) 佐々木正吾外 2 名: 慶応医学会例会, 昭 25, 5.
- 19) 柳沢 謙: 日本医事新報, 1487 号, 8, 昭 27.
- 20) 橋本達一郎: 結核, 26: 238, 昭 26.
- 21) 小酒井 望: 総合医学, 7: 4, 昭 25.
- 22) Edwin A. Doane and al.: Am. Rev. Tuberc., Vol. 64: 191, 1951.

- 23) Diran Yegian and al. : J. Bact., Vol. 55 :
459, 1948.
- 24) 橋本達一郎 : 医学と生物学, 23 : 201, 昭27.
- 25) William H. Feldman, And. al. : Am. Rev.
Tuberc., Vol. 57 : 1, 1948.
- 26) Waldeman F. Kirchheimer and al. : Am.
Rev. Tuberc., Vol. 66 : 486, 1952.
- 27) 吉川正澄 : 日本臨床結核, 9 : 572, 昭25.
- 28) Baggenstoss A. H. and al. : Am. Rev. Tuberc.,
Vol. 55 : 54, 1947.
- 29) Florey. Curtis M. and al. : Am. Rev. Tuberc.,
Vol. 58 : 421, 1948.

〔訂 正〕

第28巻, 第8号所載の「実験的結核症に対する Isonicotinic acid hydrazide の治療効果 殊にその遠隔治療成績について——原著者 宮本 泰也2名」中 Table 3 (381頁) 及び Table 4 (382頁) の下段の第一項目「Untreated Control」は「Streptomycin」の誤りにつき訂正致します。
