

イソニコチン酸ヒドラジット治療患者の喀痰中 結核菌群の耐性度の変動について

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳 沢 謙)

佐 藤 直 行

(受付 昭和30年1月8日)

イソニコチン酸ヒドラジット (INH) 治療患者の喀痰中結核菌群について、耐性菌の出現とそれ以後の消長の経過を追求し、治療開始後 26 週までの成績を報告し^{1-a)}、さらにそれら耐性菌株の菌力が減弱していることも報告した^{1-b)}。

同じ 5 例の患者について、26 週以後 4 週毎に 50 週まで同様の追跡を行った。

実験方法は、既報した通りなのでここには省略する。ただ既報の成績では、痰 1 cc 中の総生菌数の消長と、INH の 3 濃度の小川培地上で分離した生菌数の消長とを示した。ここでは前報の成績をふくめて、各濃度の INH 耐性菌の喀痰中総生菌数に対する分布率をとつて、INH 耐性菌の出現経過を総括するつもりである。

実 験 成 績

分離結核菌群中に分布している 0.05, 0.5, 5 r/cc の INH 耐性菌の比率を、定量的に検査した培養成績から百分率で表現し、図 1 として示した。ただしこれら 0.05, 0.5, 5 r/cc の INH 耐性菌は、それぞれの INH を含む小川培地上に発育した結核菌をとつている。したがつて 0.5, 5 r/cc の耐性菌が分離されているときには、0.05 r/cc の耐性菌とした中には、0.5, 5 r/cc の耐性菌もふくまれているわけである。図の縦軸には分離総生菌数に対する INH 耐性菌の分布率をとり、横軸には治療開始後の経過週をとつた。喀痰 1 cc 中の分離総生菌数の消長は百分率の下に示し、INH 治療の中止期間ないし他薬剤との併用期間も示した。

No. 21 では他の 4 例に比較して排出総生菌数が最も少なく、治療開始 50 週後 (以下週のみを記す) には治療開始当初の値に近くなつている。0.05 r/cc の耐性菌は、8 週後に 40% の分布を示したが、22 週後には 100% となりその後 50 週まで 40~100% の間の分布率をとり、多少の変動を示している。

0.5 r/cc の耐性菌は、14 週後に 3% の分布率を示したが、18, 22 週には分離できず、26 週後には再び 5% の分布率を示した。それが 0.1% の分布率と減少して、38, 42 週には 20% の分布率と増加したが、46 週後には 0.3% となり、50 週後には分離できなかつた。5 r/cc の

図 1 INH 治療患者の喀痰中結核菌群の耐性度の変動

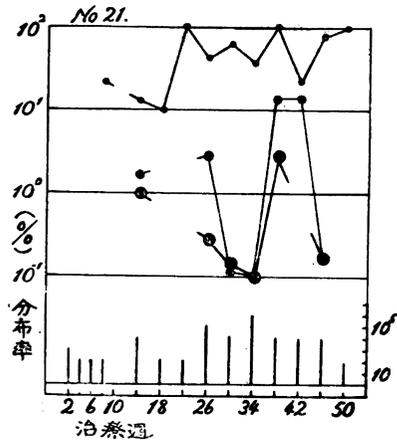
0.05, 0.5, 5.0 r/cc の耐性菌の分布率の消長をとつて示す。

縦軸：耐性菌の分布率 (%)

横軸：治療開始後の経過週

喀痰 1 cc 中の総生菌数の消長は百分率の下に示す。

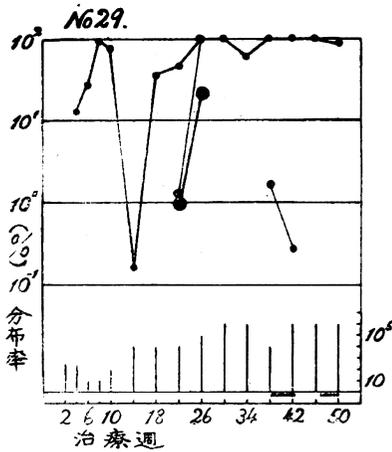
- — ● : 0.05 r/cc 耐性菌
- — ○ : 0.5 r/cc 耐性菌
- — ● : 5.0 r/cc 耐性菌
- — □ : INH 治療中止期間を示す
- — □ : INH と SM, ST, PAS との併用期間を示す



耐性菌は、14 週後に 1% の分布率を示したが、経過中最低 0.1%, 最高 5% の分布率を占めて、他の 4 例にくらべてやや異つた変動過程を示している。

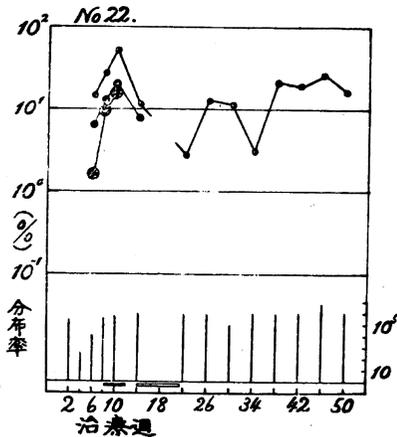
No. 29 では総生菌数は 10 週後まで 10^8 、24 週後まで 10^7 の order であり、その後 $10^5 \sim 10^6$ の生菌が排出されている。

0.05 r/cc の耐性菌は、4, 6 週後にそれぞれ 20%, 50% の分布率を示し、8, 10 週後には 90% 以上となつている。それが 14 週後には 0.3% の分布率となり、18, 22 週後には 60, 70% と増加し、26 週以後は大体 100% に近い分布率となつている。



0.5, 5 r/cc の耐性菌は, 22 週後に初めて 2%, 1% の分布で分離され, 26 週後には 100%, 40% の分布率に増加している。その後は 10^6 の order の生菌数が排出されているにもかかわらず, 0.5 r/cc の耐性菌は 38, 42 週後に 3%, 0.5% の分布率で分離できたのみで, 5 r/cc の耐性菌は全く分離できなかった。

No. 22 では総生菌数は 2 週後の 10^5 の order から 4 週後には 10^2 の order に減少し, 6 週後には 10^4 の order と再び増加し, 8 週後からは $10^5 \sim 10^6$ の order の排出をみている。



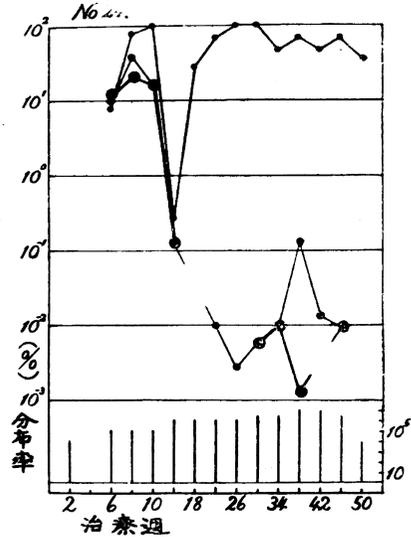
0.05 r/cc の耐性菌は, 6 週後の 25% の分布率から, 8, 10 週後の 50%, 75% と増加したが, 14 週後には 15% と減少した。菌の分離が不能であった 18 週後は除くとして, 22 週後には 5% という経過中最低の分布率となっていた。

その後の分布率の上昇も緩徐であつて, 0.05 r/cc の耐性菌としては他の 4 例にくらべて特殊の経過を示している。すなわち 22 週後から 50 週後までの間は, 5~40% の分布率をとつている。0.5 r/cc の耐性菌は, 6 週後に初めて 8% の分布率を示し, 8, 10 週後には 20%, 35% と増加したが, 14 週後には 9% とやや減少してい

る。それ以後は 38 週後に 0.6% の分布をただ 1 回示したのみである。

5 r/cc の耐性菌も, 6 週後に 3% の分布率を示したが, 8, 10 週後には 10%, 25% と増加している。しかし 10 週後の分布率が最高であつて, それ以後は 10^5 以上の生菌が排出されているにもかかわらず, 50 週後まで全く分離することができなかつた。

No. 24 では総生菌数は, 2 週後の 10^4 から 4 週後には菌の分離不能という程に減少し, 6, 8, 10 週後には 10^5 の order となり, 以後 10^6 の生菌の排出をみている。

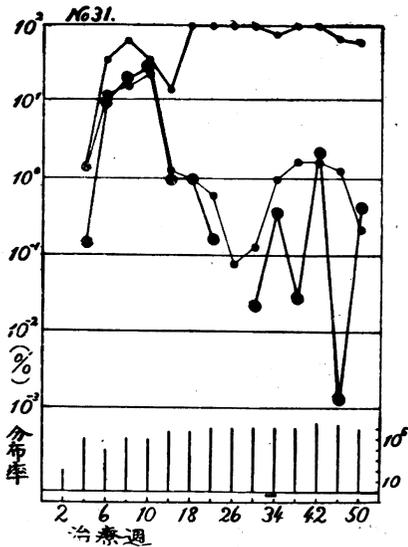


0.05 r/cc の耐性菌は, 6 週後に 9% の分布率を示したが, 8, 10 週後には急に 90%, 100% に増加している。それが 14 週後には 0.5% と激減し, 再び 50%, 85% と増加して 26, 30 週後には 100% の分布率となつている。その後 50 週まで 70~80% の分布率を占めている。

0.5 r/cc の耐性菌は, 6 週後に 10% の分布率を示したが, 8, 10 週後には 60%, 30% となつている。5 r/cc の耐性菌も, 10%, 40%, 20% の分布率を示し, 8 週後に最高 40% となつている。ところが 14 週後には, 0.5, 5 r/cc の耐性菌がともに 0.2% の分布率となり, 総生菌数が 10^4 の order となつた 18 週後にはともに分離できなかった。0.5 r/cc の耐性菌は 22 週以後も毎回分離されているが, その分布率は治療開始後の前半期のそれに比較して非常に低率となつている。すなわち 26 週後の分布率 0.005% から, 38 週後の 0.2% までの間は増加の傾向を示しているが, 38 週後から 50 週までの間はやや減少の傾向を示している。

5 r/cc の耐性菌も 30 週以後多くて 0.01% 最低 0.001% の分布率となつている。

No. 31 では総生菌数は, 2 週後の 10^2 が最低で 4 週後には 10^5 の order に増加し 10 週後まで大体 10^5 の



order であつて、14 週以後 10^6 の order の生菌を排出している。

0.05 r/cc の耐性菌は、4 週後に 1.5% の分布率を示し、6, 8, 10 週後にはそれぞれ 60%, 80%, 60% となり、14 週後には 25% とやや減少している。しかし 18 週後には 100% の分布率となり、それ以後も 100% かそれに近い分布を占めている。

0.5 r/cc の耐性菌は 4 週後の 1.5% の分布率から、6, 8, 10 週後にはそれぞれ 20%, 30%, 45% となつている。5 r/cc の耐性菌も、4 週後の 0.3% の分布率から、6, 8, 10 週後にはそれぞれ 10%, 35%, 50% の分布を占めている。そして 0.5, 5 r/cc の耐性菌は、ともに 10 週後の分布率が最高となつているが、14 週後にはともに 2%, 1% と減少し、18 週後にはともに 1%, 22 週後には 0.8%, 0.3% とさらに減少している。26 週後には 0.5 r/cc の耐性菌が最低の分布率 0.09% を示し、5 r/cc の耐性菌は分離できなかつた。その後 0.5 r/cc の耐性菌の分布率は、再び少しく上昇しており、34 週後から 1~3% の分布を占めていたが、50 週後には 0.4% と減少している。5 r/cc の耐性菌も 26 週後からは、大きな増減の中をもつて分離されていて一定の傾向は認められず、0.1% の分布率を中心として増減している。

以上の結果から、既報の 26 週までの成績では No. 22, 24, 31 の 3 例において 5 r/cc の耐性菌が消失したとしたが、完全に消失したとみられるのは No. 22 の 1 例のみとなつた。他の No. 24, 31 の 2 例では 5 r/cc の耐性菌は前者では 0.01~0.001% の分布率で、後者では 0.1% 前後の分布率で分離されており、その出現後から分布率の最高期にみられた比率に比較すると非常に低くなつている。

また 26 週以後の結果から 5 r/cc の耐性菌の消長を観察しようとした。No. 21, 29 の 2 例のうち No. 21 では

0.5, 5 r/cc の耐性菌の分布率は、38 週後の成績が最高となつているが、その他の時期には 5 r/cc の耐性菌の分布率は、1~0.1% の間にあつて、他の例に比較してやや異なつた消長を示している。No. 29 では 26 週後に最高の分布率を示していた 5 r/cc の耐性菌は、その後全く分離できなかつた。

ところで 5 r/cc の耐性菌は、治療開始 4, 6 週後に見たものと、遅れて 14, 22 週後に見たものがある。それらの最高分布率は、5%, 30%, 30%, 40%, 50% であつて、50% 以上の分布率を示したものはない。そして最高分布率を示した時期から 4~6 週後には、すべての例に分布率の激減もしくは消失するという現象を観察しえた。しかし激減後の分布率は、INH 感性菌株中から 0.5, 5 r/cc の耐性菌が分離される比率よりは高いけれども、この分布率で INH 治療の障碍となるものとは考えられない。

さらに 14 週後の成績では、3 濃度の耐性菌の分布率が、程度の差があつても 5 例ともに減少していることを認めた。

以上の成績から、既報の 26 週後までの現象は、INH 治療の際における耐性菌の出現とその増減経過のうち興味深い点であり、それ以後の成績は前半期の裏づけとなつている。

考 察

drug, parasite, host 間の triangular interrelationship において²⁾、薬剤耐性菌の出現経過として、特にストレプトマイシン (SM) の場合には、耐性菌の出現、その分布率の上昇という経過があつて、いわゆる完全耐性菌に近い菌群の排出が持続するものと考えられて来た^{3,4)}。この場合 SM 耐性菌は治療開始前に分離された感性菌との強弱はともかくとして有毒菌とされて来た⁵⁻⁹⁾、完全耐性菌が排出されるとともに SM の使用も無効であるとされて来た。しかしこの SM 耐性菌の出現の動態も、喀出生菌数及び耐性菌数の面から精細に追求されてはいない。薬剤耐性菌の宿主体内における動態を、分離結核菌群の耐性度の変動から間接的に把握して、その動態が耐性菌の菌力の強弱と関連していることを認めるに到つたのは、INH の場合が最初である。

すなわち drug, parasite, host が三頂点となつてつくる三角形の一辺、host, parasite, relationship において INH 耐性菌の菌力が減弱しているという特性があるために、耐性菌が人体内で特異な運命をたどることは明白であると思う。

もつとも人体内における菌力の程度が、実験動物に対する菌力の強弱と相平行するかいなかは、なお疑問視される点である。

それは INH 耐性菌が明らかに分裂増殖を示していた

分布率の上昇期、および最高期に分離された耐性菌株と、それ以後の分離耐性菌株との間に、テンジクネズミに対する菌力の差を認めることができず、いずれも弱毒菌であった^{1-b)}。この弱毒菌が人体内で相当の分裂増殖を示して、ある時期以後にはただ生存するのみという状態か、或いは消失するという現象を示している。もつとも病巣組織内に出現した INH 耐性菌は弱毒菌であることからして、一般に弱毒結核菌が臓器内に定着した後動物体内で示す増殖、生存という動態と、同様の動態をとるものと考えの方が妥当かもしれない。

さらに治療開始後 14 週時の分離結核菌群は、特異な構成を示している。分離菌群の構成は、時日とともに変動しているとしても、10 週後から 4 週間間に INH 感性菌の増加に対して耐性菌の減少という変動が起きているのは、drug と parasite との間の関係に、不均衡が起つたことを示唆するものではなからうか。そしてその後 0.05 r/cc の耐性菌がその分布率を増加し、分離菌群中の大部分を占めるようになってきているが、1 日 200 mg の INH 投与では排出喀痰中の総生菌数に対しては、何らの影響も及ぼしていないといえるであろう。

INH 0.05 r/cc という濃度は、径口投与によつて到達する INH の血中濃度より低く^{10,11)}、SM の場合と異なり喰細胞内の結核菌を *in vitro* で発育阻止する INH の濃度でもある^{12,13)}。またこの濃度の INH 耐性菌感染の実験的結核症に対しても、INH は十分その治療効果を発揮するものと思われる¹⁴⁾。したがつてこのような実験成績から考察しても、INH 0.05 r/cc 耐性菌の生体内における動態は、生体内において INH の抗結核菌力の減弱をさらに一層強く推定されるものがある。

宿主体内における結核化学療法剤の抗結核菌作用を減弱させる原因として、多くの因子があげられているけれども²⁾、INH の場合にはそのいかなる原因機作によるものかは全く不明である。

INH 治療開始当初の強い抗結核菌作用は、排出総生菌数の減少という事実によつて知ることができるのに反して、経過中のある時期以後全くその抑制効果を見ることができなくなっている。*in vitro* の実験では INH の拮抗物質の存在することが確認されているが¹⁵⁻¹⁸⁾、*in vivo* においても INH の抗結核菌力を減弱させる機作が存在しているのかもしれない。

in vitro の耐性検査において INH 耐性値の限界をどこにおくかは問題のあるところである¹⁹⁾。一般に薬剤耐性菌の耐性という限界は、*in vitro* の検査によつてある耐性値の結核菌がある分布を示すようになって、初めて薬剤の使用も無効であると判定されるような、臨床症状を基準にすべきであるとされている。

この立場からすれば、これらの症例においては臨床症状の一指標となる喀痰中の排出総生菌数は不変であるか

ら、0.05 r/cc の培地上に発育できた結核菌も、細菌学的に 0.05 r/cc の耐性菌であるにかかわらず、当然いわゆる INH 耐性菌としてよいことになるであろう。

しかし 0.05 r/cc の培地上に発育できるこれらの結核菌が、一応 INH 耐性菌と判定されるとしても、SM の場合と異なり上述したような何らかの機序によつて、生体内における INH の抗菌作用が減弱していると推定される時、これを一般的な耐性という概念をもつて考えることはできないであろう。何となれば従来の薬剤耐性という概念は、drug と parasite のみの関係からみており、host と drug との関係を不問にしている。この点に考慮を払わぬ限り、本実験に示した 0.05 r/cc 耐性菌の意味づけはできないであろう。

本実験では 0.5, 5 r/cc の培地上に発育した結核菌が、ともに共通した特異の現象過程を示しており、いわゆる INH 耐性菌という範囲に入れて観察して来た。この点 (0.05 r/cc の培地上に発育できることから、0.05 r/cc の耐性菌として来た菌群とは、明らかに異つた消長を示している。ただ No.22 の 0.05 r/cc の耐性菌の分布率は、他の 4 例に比較すると少しく低くなつている。すなわち排出総生菌数の 50% かそれ以上の菌は、0.05 r/cc の培地上にも発育できないものであるにもかかわらず、INH の抗菌作用はほとんど観察することができない。

この No.22 の 0.05 r/cc の耐性菌を含む混合菌群の菌力検査の結果では、天竺ネズミの脾から分離される結核菌は、対照培地上にのみ発育できる INH 感性菌であつて、0.05 r/cc の耐性菌と感性菌との間に菌力の差があることを認めた。したがつて 0.05 r/cc の耐性菌の菌力が、対照培地上にのみ発育できる感性菌のそれとくらべてより弱いという事象をもつて、その一因子としたいがなお確言することはできない。

ところで INH 治療患者の排出する結核菌の耐性度を定量的に観察したものに、Tompsett の報告がある²⁰⁾。その報告によれば、1 r/cc 、10 r/cc の INH 耐性菌はそれぞれ最高 30%、10% の分布率を示すのみであつて、さらに 7-9 カ月の観察中に分離結核菌の 70% かそれ以上は、*in vitro* で 1 r/cc の INH でそれらの発育が阻止されるものであるとしている。しかし INH 耐性菌の出現後にみる耐性菌の減少ないし消失という例はあげていない。したがつてこの INH 耐性菌の分布率でもつて、宿主体内における INH の治療効果の期待しがたいことを考察し、動物実験によつて感染菌株中の INH 耐性菌の混入率と INH 治療効果との関係を見るといつている。この点本報告に示したところと全く一致していない所である。その耐性検査はいわゆる間接法によつており、分離結核菌数も示されていないので、排出菌数と耐性菌出現との関係も明らかでない。ただ間接法によつて起る定量的観察の誤差は少ないとしている。Tompsett

の考察は彼我の検査方法の差によるものか、不一致の点であるがその原因は不明である。

さらに本報告に示したような INH 耐性菌の特異な消失減少を認めぬ場合もあるとされている²¹⁾²²⁾。しかしこうした例においても長年月の観察によつて、どんな消長をたどるか、さらに疫学的に INH 耐性菌の占める意義を追求することによつて、明確な証明を得ることができであろう。

結 論

INH 単独治療患者 5 例の喀痰中分離結核菌群の耐性度の動態を定量的に検査して、喀痰 1 cc 中の分離結核菌数と INH 0.05, 0.5, 5 γ /cc の耐性菌の分布率の消長を観察した。治療開始後 30 週から 50 週までの実験成績は、既報の 26 週までの結果を確認するのに十分なものとなつた。

INH 0.5, 5 γ /cc の耐性菌が初めて in vitro で証明される時期には遅速があり、その分布率にも多少の差があつたけれども、5 例全部にこれらの INH 耐性菌を認めることができた。

5 γ /cc 耐性菌の分布率は、最高のときでも 50% を超すことがなく、分布率の最高期に達して後 4~6 週後には、2 例において消失 2 例において分布率の激減という現象をみた。

また 30 週以後の喀痰中の排出生菌は、ほとんど 0.05 γ /cc の INH 耐性菌と 0.05 γ /cc 以下の感性菌とから成り立つており、前者が 100% に近い高率の分布を占めていた例もあつた。

以上の現象から INH 耐性菌の患者病巣内における出現型式が明らかにされ、特に INH 耐性菌は生体病巣内において永久不変の事象として持続するものでないといふことができる。

この生体内における INH 耐性菌の動態は、INH 耐性菌の菌力が減弱しているために起るものであり、さらに INH 単独治療の場合には、INH の生体内における抗菌作用が減弱することを推定して、本実験で観察しえた現象を 2 つの因子をとりあげて考察した。

柳沢部長の御校閲を深謝する。また国立中野療養所の諸先生の御協力に感謝する。

文 献

- 1) 佐藤直行: a) 結核, 29: 393~397, 1954. b) *ibid.* 30: 247~251, 1955.

- 2) Davis, B. D. & Mc Dermott, W.: Dubos, R. J. 編. *Bacterial and Mycotic Infection of Man*, Second edition. 726~775, Lippincott Company, 1952.
- 3) Crofton, J. & Mitchison, D. A.: *Brit. Med. J.* No. 4588: 1009~1015, 1948.
- 4) 小酒井望: 結核研究の進歩, No.1: 171~182, 1953.
- 5) 柳沢 謙: 臨床病理, 1: 2~11, 1953.
- 6) 小酒井望・坂口 弘: 医学と生物学, 19: 98~95, 1951.
- 7) 村田太郎: 結核, 28: 453~457, 1953.
- 8) Feldman, W. H., Karlson, A. G. & Hinshaw, H. C.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 57: 162~174, 1948.
- 9) Steenken, W. Jr. & Wolinsky, E.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 58: 353~362, 1948.
- 10) Elmendorf, D. F. Jr., Cawthon, W. U., Muschenheim, C. & Mc Dermott, W.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 65: 429~442, 1952.
- 11) 日比野進: 結核研究の進歩, 1: 158~170, 1953.
- 12) Suter, E.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 65: 775~776, 1952.
- 13) Mackaness, G. B. & Smith, N.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 66: 125~133, 1952.
- 14) Mitchison, D. A.: *Brit. Med. J.* No.4854: 128~130, 1954.
- 15) Schaffer, W. B.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 68: 272~276, 1953.
- 16) Pope, H.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 68: 988~993, 1953.
- 17) Fisher, M. W.: a) *Amer. Rev. Tuberc.*, 69: 471~472, 1954. b) *ibid.* 69: 797~805, 1954.
- 18) Cohn, M. L., Oda, U., Kovitz, C. & Middlebrook, G.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 70: 465~475, 1954.
- 19) Medical Research Council: *Lancet*, 265: 213~217, 1953.
- 20) Tompsett, R.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 70: 91~101, 1954.
- 21) Johnston, R. N. & Riddel, R. W.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 70: 442~452, 1954.
- 22) Petit, A.: *Schweiz. Med. Wschr.* 83: 754~755, 1954.