

## 人型結核菌のSM耐性上昇機作に関する研究

## 第I部 SM耐性上昇現象の分析

旗野 脩 一

東京大学美甘内科

受付 昭和31年7月3日

## 緒 言

結核菌のSM耐性についての論議はすでにおおくの研究者によつてくりかえされている。Demerec<sup>1)</sup>, Klein および Kimmelman<sup>2)</sup>, Yegian および Vanderline<sup>3)</sup>, 牛場および渡辺<sup>4)</sup> 5) らはもつばら菌の突然変異と耐性菌の選択的増殖によつて説明し, Linz<sup>6)</sup> 秋葉および横田<sup>7)</sup> 8) 金井<sup>9)</sup>, 君野<sup>10)</sup> らは誘導変異を承認し, 堀<sup>11)</sup> は適応説を唱えている。著者<sup>12)</sup> は結核菌のSM耐性および耐性上昇の機作を分析するに当つて, 多くの研究者の選んだ方法によらず, 臨牀的観点からとくに次の点に留意して実験を行つた。すなわち菌種は有毒人型結核菌 H<sub>37</sub>Rv 株を用い, 接触条件は培地内の薬剤濃度を継代毎に漸増する階段的継代接触法をさけ, 実験期間を通じてSM 1g 筋注時における血中濃度の程度に維持して, 秋葉<sup>7)</sup> の提案する恒量連続接触法を行い, さらにSM間歇投与療法に準じた間歇的接触法を行つた。なお耐性上昇の機作の分析のために補足的実験として, 緩衝液中で休止菌とSMとを接触させ, また Dubos 培地において接触させる菌量, SM量を種々に変えて検討し, さらに耐性菌と感性菌の増殖速度の比較, 耐性菌と感性菌の混合培養の影響等についても検索を行つた。

SMによる菌の形態学的変化については, 秋葉および上条<sup>13)</sup> の著変なしとの報告があるが, 耐性上昇と関連して形態上の変化があれば, 臨牀家にとっては耐性上昇早期判定の有益な補助手段であるので, 一般に行われる染色標本を使用して形態学的観察を行い, 検討を加えた。

以下第I部において耐性上昇現象の分析を, 第II部において形態学的観察をまとめる。

## 第I部 人型結核菌のSM耐性出現ならびに上昇現象の分析

## 実験方法

使用菌。人型結核菌 H<sub>37</sub>Rv 株の Dubos 培地<sup>14)</sup> 1週間培養のもの。SMはすべてザヒドロSM硫酸塩を使用。SMとの接触培養には三角コルベン (容量100~200ml) に浅く入れた Dubos 培地 (20~25ml) に上記菌液を接種。間歇接触は濃度1γ/ml となるように週2回SMを加え24時間接触させた後, 4,000 r.p.m. 30分遠心, 上清をす

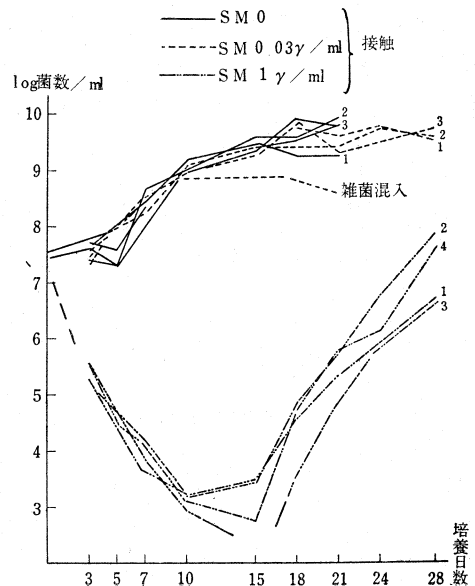
て, 再び培養液を加えSMを洗い, 再び遠心し上清をすて, 沈んだ菌塊を解きほぐして新たな培養液へ移した。緩衝液は1%に Difco 製 Bacto albumin (5%に葡萄糖を含む) を加えた磷酸緩衝液 (pH 7.0) を使用。この際菌はあらかじめ同緩衝液で3回洗滌後使用。以上の各種観察はいずれも4週間行つた。

表1 培養条件下 (37.5°C) における Dubos 培地内SM濃度の変化  
3ml 入り試験管 各3本の平均値  
25ml 入り三角コルベン

週	見掛上の濃度変化		蒸発水分補充の場合	
	試験管	コルベン	試験管	コルベン
0	10.5	10.5	10.5	10.5
1	11.2	14.0	10.8	13.0
2	11.9	11.8	10.7	10.3
3	13.6	12.4	10.9	10.1
4	18.1	17.1	12.6	13.5
5	19.8	15.6	11.9	12.0
6	17.3	14.3	9.7	9.3

単位は γ/ml

図1 SM各濃度に接触培養させた Dubos 培地内菌数の変化



菌数計算には菌液を滅菌蒸留水で10倍希釈系列とし1%小川培地に接種、8週まで毎週判定して計算。耐性判定にはデヒドロSMを所期濃度の2倍量を加えて滅菌凝固した小川培地を使用した。

予備試験

図2 SM恒量接触による耐性変化(Dubos培地で判定)

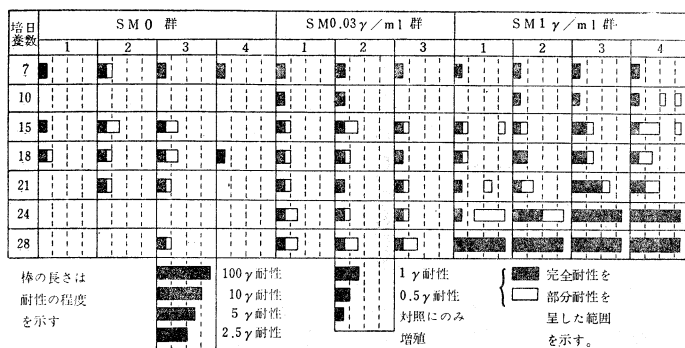
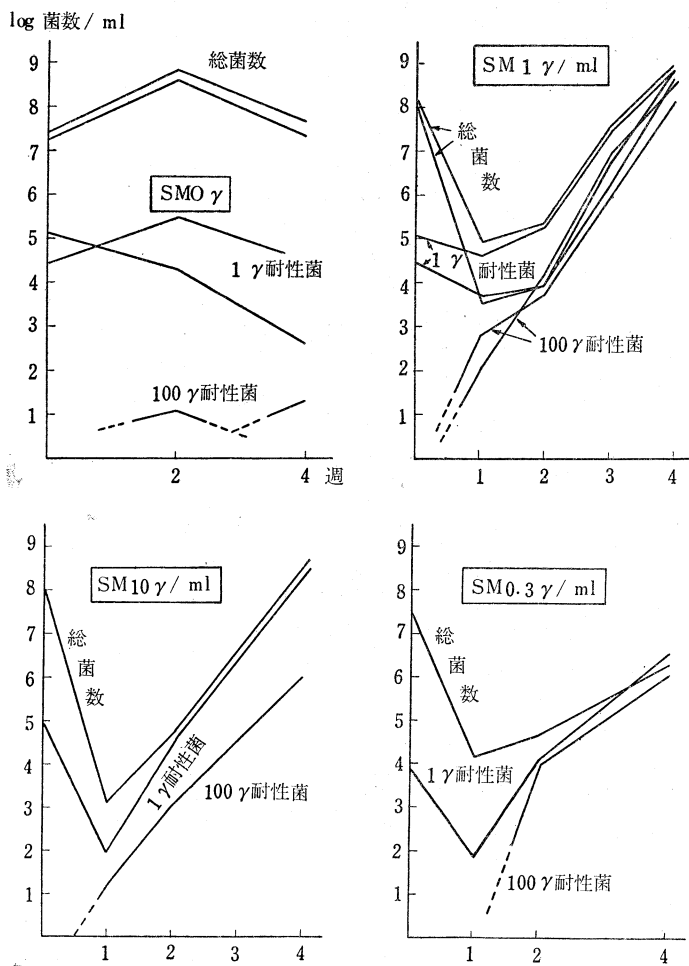


図3 SM接触による菌数変化(Dubos培地使用)



1. 接触SM濃度の選定

Dubos 培地では、SM 0.05 $\gamma$ /ml 以下では菌の増殖に影響なく、0.5 $\gamma$ /ml 以上ではほとんど増殖を許さない。本実験では耐性菌の選択的増殖を起さない低濃度のSMの作用と、ほとんど増殖を許さない高濃度のSMの作用とをみるためにさらに余裕をとってそれぞれ0.03 $\gamma$ /mlおよび1/mgを選んだ。

2. Dubos培地内におけるSMの安定性

実験条件下におけるSM量の変化を帯培養法<sup>15)</sup>で検討した。表1に示すように、SMは安定で、分解よりも水分蒸発による濃縮の影響が現われる。4週後では7~8割の見掛上の濃度増加が起るが、1で述べたように余裕をとった本実験では、この程度の変化は成績判定上差支ない。

3. Dubos培地の増殖許容範囲

Dubos 培地に稀釈菌液を接種した場合、小川培地上1箇および5箇の集落がえられる程度の菌量では増殖が認められず、7箇のものでは18日目頃増殖による混濁が認められた。すなわち Dubos 培地では小川培地上数箇以上の集落が証明される場合には3~4週で明らかな増殖が認められる。

実験成績

1. SM連続接触による菌数と耐性の変化

対照, SM 0.03 $\gamma$ /ml 含有, SM 1 $\gamma$ /ml 含有培地各4本あてで連続接触させた場合の菌数の変化を図1に示す。3群とも群内では著しい差がない。対照群と0.03 $\gamma$ 群とにおいては差がない。1 $\gamma$ 群では初め急激に減少するが10~15日目より増加し、後に急増する。蒸発水分を補いつつ Dubos 培地でSM耐性を判定した成績を図2に示す。菌の増殖状況が対照と同様である範囲を完全耐性、対照より遅れあるいは少量である範囲を部分耐性の度とした。対照群, 0.03 $\gamma$ 群では、菌数が増すとともに0.5~1 $\gamma$ に部分耐性を示した。その他不連続的に10 $\gamma$ , 100 $\gamma$ 培地に増殖する場合が数回あつた。1 $\gamma$ 群では培地4本すべてにおいて、24~28日目に急激に100 $\gamma$ 完全耐性発現を認めた。

次にこの現象における耐性分布を定量的に調べた成績では、菌数は図3、耐性は図4の如く変化している。実験開始時の菌量は多く(>18<sup>8</sup>/ml), 1 $\gamma$ 接触によ

図4 SM接触による耐性分布の変化(Dubos 培地使用)

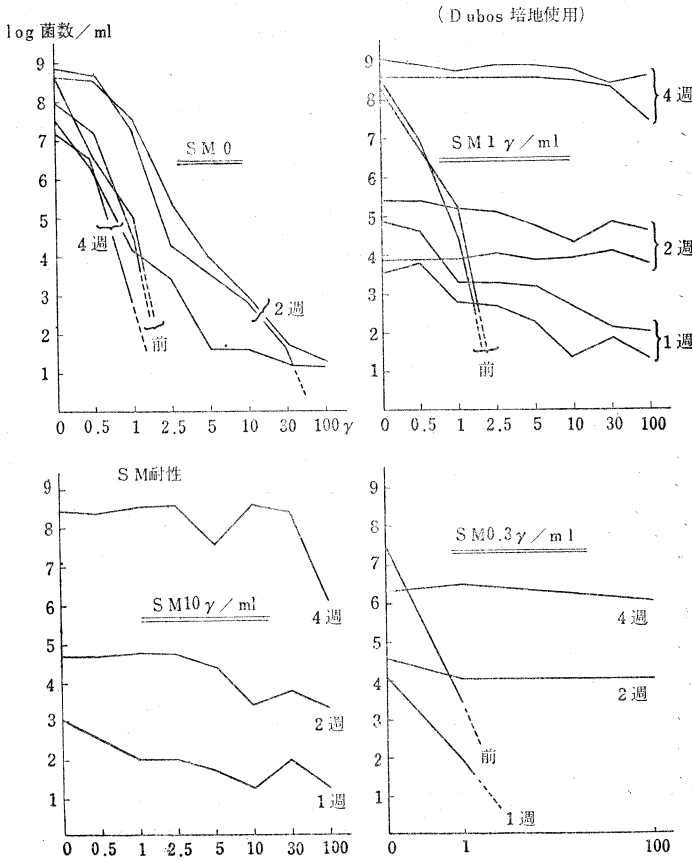
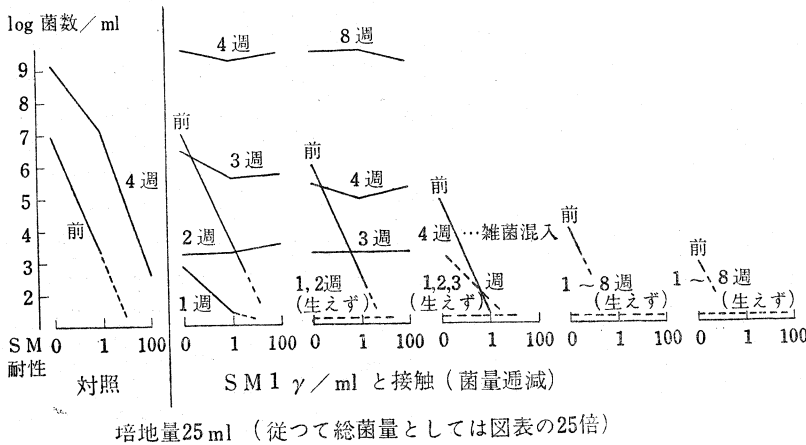


図5 菌量と耐性出現状況



る菌数減少は軽度で、100 $\gamma$  耐性菌は1週後1/10~1/100程度となり、4週後は完全耐性に近づいてくる。0.03 $\gamma$  接触では菌数および耐性の変化は対照と同様である。対照群でもわずかながら100 耐性菌を生じている。なお0.3 $\gamma$ 、10 $\gamma$ と接触させた成績も1 $\gamma$  接触と同様にほとんど100 $\gamma$  完全耐性を生じた。

## 2. 菌量と耐性出現

耐性発現が適応や誘導変異すなわちSMの菌代謝系あるいは遺伝子に対する直接作用に基くものならば、SM接触は菌量の多少を問わず耐性上昇を起す筈である。それを確かめるために10倍稀釈系列とした菌液で1と同じく、SM1 $\gamma$  連続接触を行った。結果は図5の通りで、総菌数 $2 \times 10^5$  程度以下の場合には8週後になっても生菌を証明できず、1 $\gamma$  含有培地には増殖は不可能であり、この菌液をSM非含有 Dubos 培地に継代してもやはり菌の増殖を認めえなかつた。したがって1 $\gamma$  以上の耐性菌は生じなかつたものとみなされる。菌数 $2 \times 10^6$  程度以上の場合は菌数の著しい減少にもかかわらず、やがて菌の増殖をみ、かつ実験1に見たような100 $\gamma$  完全耐性が菌の増殖開始後1週程度の期間内に生じた。

## 3. 耐性菌と感性菌の増殖速度の比較

高耐性菌の増殖速度が早いと見掛上耐性上昇を呈することになる。感性菌をSM非含有 Dubos 培地へ、高耐性菌をSM非含有および1 $\gamma$ /ml 含有培地へ接種し、増殖の早さの差を比濁法で検討した。図6に示すように三者間に差を認めなかつた。実験1でみた如く、1 $\gamma$  で分離した菌はすでにそのとき100 $\gamma$  耐性となつていて1 $\gamma$  耐性菌の分離が不可能なため、1 $\gamma$  耐性菌と感性菌および100 $\gamma$  耐性菌との間の増殖速度の比較を行うことはできなかつた。しかし増殖速度は固型培地上の集落形成の早さからも比較できる。表2に1例をあげる。1 $\gamma$  培地に生える耐性菌は対照および100 $\gamma$  培地に生える菌よりも集落形成に遥かに長時間を要する。すなわち耐性が1 $\gamma$  程度の菌は100 $\gamma$  耐性菌よりも増殖が遅い。

## 4. 耐性菌感性菌混合培養の影響

SMの作用以外に相互の代謝産物の干渉等が、菌の増殖速度、耐性分布に影響するかどうかを見るために、混合比を種々に変えて培養し、菌数の比を追うと表3のようになる。若干の誤差や動揺はあるが実験1でみたような著しい変化の原因となるような影響はない。100 $\gamma$  耐性

表2 集落数増加状況例

資料は図4, 図5のもとになったもの(実験開始前の耐性分布判定の基礎成績)

種類	コ 番 ル ベ ン 号	小 川 培 地	菌 液 十 倍 稀 釈 回 数	判 定 日 (接 種 後 経 過 日 数)							
				18	22	25	29	36	41	52	62
対 照 群	1	対 照	6	79	98	99	融合	—	—	—	—
			7	3	3	4	5	5	5	2	融合
		8	0	0	0	雑菌	—	—	—	—	—
		0.5γ	6	0	0	0	6	6	6	6	7
	2	対 照	6	118	156	129	融合	—	—	—	—
			7	2	12	15	16	13	融合	—	—
		8	0	0	0	10	1	1	1	1	1
		0.5γ	6	0	0	0	3	3	3	3	3
S M   γ/cc 接 触 群	1	対 照	6	69	88	85	81	85	85	融合	—
			7	2	6	9	8	10	8	8	8
		0.5γ	6	0	0	0	0	4	4	4	4
		1γ	3	0	0	0	0	1	1	14	15
	2	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—
			7	9	12	13	13	14	融合	—	—
		8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—
		0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6	69	88	88	88	82	融合	—	—	
		7	9	12	13	13	14	融合	—	—	
	8	1	2	3	3	3	3	雑菌	—	—	
	0.5γ	6	0	0	0	0	3	4	4	4	
群	対 照	6									

図6 感性菌と耐性菌の増殖速度比較

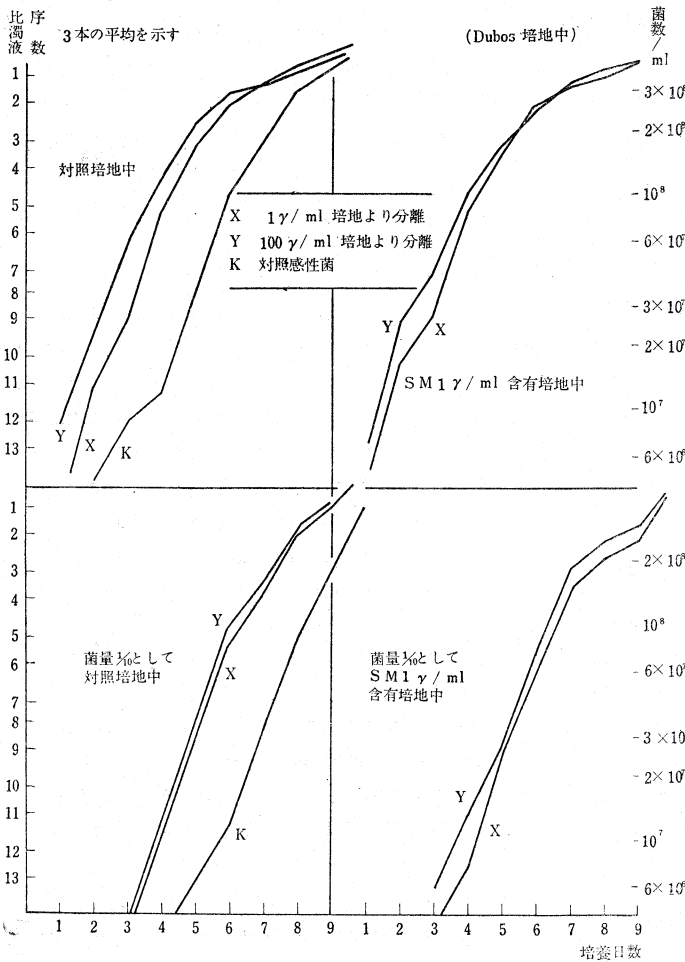
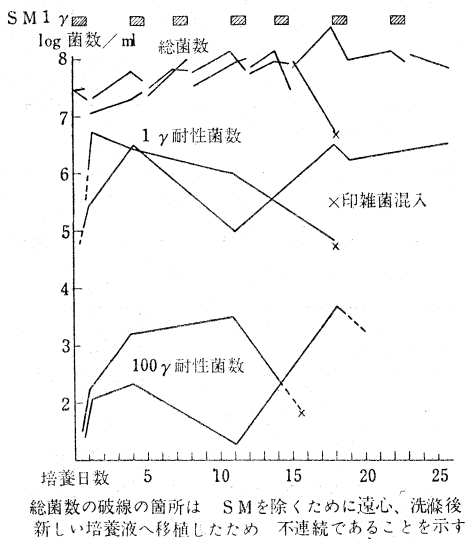


図7 SM間歇接触による菌数変化



総菌数の破線の箇所は SMを除くために遠心、洗滌後新しい培養液へ移植したため不連続であることを示す

なわち週4回、耐性はSM接触直前に週1回測つた。洗滌や移植に伴う菌の凝集や損失が誤差の原因となつて動

揺が大きい、通覧して菌数増加は緩慢であり、耐性上昇傾向はあまりない。感性菌が最後まで大部分を占めて残る。

6. 磷酸緩衝液中での菌数と耐性の変化  
菌数は図8aに示す如く緩慢に減少した。SM 1γ/ml 含有の場合は対照の約1/10になっている。SMの作用は培養液の場合に較べてごくわずかである。SM耐性については図8に示す通りで、緩衝液内での耐性上昇は認められなかつた。

総括ならびに考案

本節においては、1g SM筋注の際SMが血液中で達しうる最高濃度である50γ/ml (16)を遙かに越え、臨床上SMが無効となる100γ耐性菌を便宜上高耐性菌と称し、SMが長時間にわたつて維持される濃度である1γ/ml附近に耐性を持ち、SMの効果がある程度しか期待できない1γ耐性菌を低耐性菌と称し、それぞれR、rと略記し、感性菌をSと略記することとする。ここに述べるR、rは渡辺<sup>17)</sup>のSM indifferent, dysgonic resistantの概念とは全く異なつて、臨床的便宜を考慮した定義である。

[1] 総括

A. 菌とSMとの接触条件に関する資料

(1) 緩衝液。SMとの接触のみではR、rを生じない。

(2) 菌の分裂を抑えない程度の微量SM。耐性に影響を与えない。

(3) 大多数の菌の分裂を阻止する濃度のSM。

(時期)*	(菌数)	(耐性)
初め	大部分死滅	S 不変
↓	次	徐徐に増殖
↓	次	著しい増殖
		r増加、ただしS>r
		ほとんどR

\* 菌量により時間は異なる

(4) 菌量。(3)の現象が起るためには、はじめの死滅期に生残りうるだけの菌量(約 $2 \times 10^6$ 以上)が必要である。

(5) 週2回SM 1γ/ml 間歇接触

S…間歇期にのみ緩慢に増加

$R/r \ll 1$  3)のように $R/r \approx 1$ とならない。

$r/S \ll 1$  感性菌が最後まで大部分を占める。

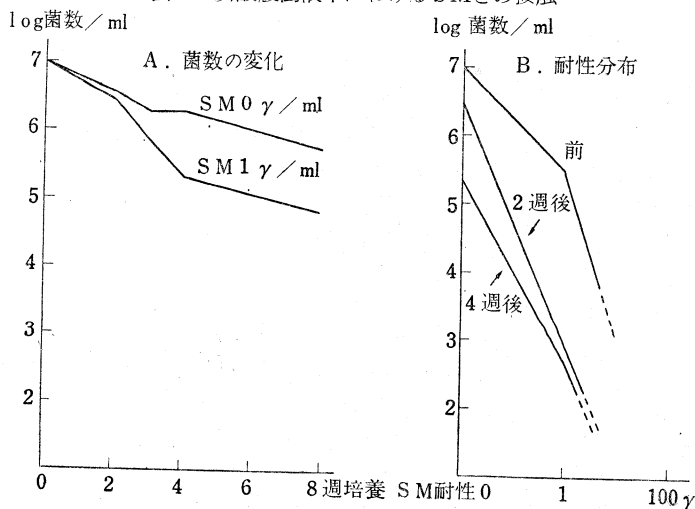
B. 菌の増殖速度に関する資料

(6) S (対照培地)  $\approx$  R (対照培地)

$\approx$  R (SM含有培地)

ただしR+Sで詳しくみるとSがやや早い。

図8 磷酸緩衝液中におけるSMとの接触



め  $R:r=1:10^4 \sim 10^5$  位の開きがあるから、今仮に  $r$  が分裂しないままでいたとしても、 $R$  が  $r$  を覆いつくすには 2~3 週かかる計算になる。ところが実験 1, 2 では、 $R$  が出現してから菌の大部分を占めるまでの時間は 1 週位のものである。このような事実からは i) の外に iii) も加っていると考えざるをえない。

C.  $r, R$  出現と耐性上昇の機作について  
 緩衝液中の SM 接触および微量 SM による耐性出現状況に関する著者の成績は (1)(2) の如くで、牛場<sup>4)</sup>らの所見と一致し、横田<sup>8)</sup>の報告のような誘導変異作用(以下 m. e.) は認め難い。また緩衝液に葡萄糖を加えると耐性が上昇するという、鳥型菌による堀<sup>11)</sup>の成績とも一致し

- (7)  $r$  (SM含有培地) <  $R$  または  $S$
- C. 耐性菌の出現頻度に関する資料
- (8) 幼弱な菌では  $10^8$  程度の菌数の中では、 $R=0$
- (9) その菌が総菌数  $10^9 \sim 10^{10}$  に増殖する過程で、SM となら接触しないでも  $R=10^1$  の程度に  $R$  が出現する。
- (10)  $r$  は動揺があるが、 $10^4 \sim 10^5$  に 1 箇程度
- (11)  $R+S$  の混合培養によって  $R, S$  の比率に大きな動揺はない。

[2] 以上の資料による考察

A.  $rR$  の起源について

(8)(9)(10) から、諸家<sup>1)2)3)4)5)9)10)</sup>の説く如く SM と接触しないでも突然変異によって、 $r$  および  $R$  が生じうることは明らかであるが、同時に SM の関与によっても生じうる。このことは B, C で論ずる。

B.  $r$  の変異性について

(a)  $S \rightarrow r$  について。SM の誘導変異作用によって  $S$  から  $r$  が生じると考えるにしても、(4) の事実からみてその頻度は低く、 $2 \times 10^6$  以上の  $S$  菌に数箇の  $r$  を生ずる程度と考えられる。この程度の頻度は、SM の関与なしで突然変異によって生じている  $r$  の頻度を上まわるものではなく (10)、実際の見地からは、 $r$  の出現には SM の誘導変異作用を考慮する必要はないと考える。

(b)  $r \rightarrow R$  について。すなわち (3) の事実については次の三通りの説明ができる。i) 増殖速度に関して  $R \gg r$  のため、ii)  $r \rightarrow R$  の突然変異率が高いため、iii) 変異  $r \rightarrow R$  が SM により促進されるため。SM なしでも  $r \rightarrow R$  が起り易いなら、培養中次第に  $R$  の比率は増してくる筈であるが、SM を含まぬ条件では (8)(9)(10)(11) のように  $r$  および  $R$  はほぼ一定頻度で存在する。したがって ii) は否定できる。著者の実験条件では、分裂が早い場合でも、菌数増加は 1 週に  $10^2 \sim 10^{2.5}$  位である。はじ

まない。 $r, R$  の新たな出現には

- i) 菌の分裂増殖 (1) (11)
- ii) SM の一定量 (2) (3)
- iii) 菌の一定量 (4)

の三条件が必要である。

SM 最少必要量は追究していないが、 $0.3 \gamma/ml$  では  $10 \gamma/ml$  と同じく連続接触中に菌のほとんどが  $R$  となる。 $0.03 \gamma/ml$  では不変である。すなわち  $S$  の分裂を抑え、 $r$  および  $R$  のみを分裂させる程度の SM が必要と思われる。

菌量については (4) の如くで、(10) と考え合わせるとき、SM との接触以前に数箇以上の  $r$  が存在する程度の菌量が  $R$  出現の必要条件と考えざるをえない。

(3) の現象における SM 濃度は  $0.3 \gamma/ml \sim 1 \gamma/ml$  程度であるから、(3) はいわゆる one step の  $R$  選択現象とは異なるものである。これは同じような条件下において  $S$  が  $R$  より遙かに多い耐性分布をえた金井<sup>9)</sup>の成績とは異なっている。細かい数字はあげていないがさきに君野<sup>10)</sup>は同じような傾向を見て、その機作を m. e. と考えている。著者も前報<sup>12)</sup>においてそのように発表し、続いて牛場<sup>5)</sup>らも確認している事実であるが、その機作について次のように説明を深めたい。

一定量 ( $2 \times 10^6$  程度) 以上の  $S$  には突然変異によって発生した  $r$  が数箇以上含まれている。SM 適用によって  $S$  は増殖を停止し次第に死滅する。 $r$  のみ選択的増殖を起す。 $S$  または  $r$  からは突然変異によってごくわずかに  $R$  を生ずるが、その外に  $r$  から SM による誘導変異  $R$  を生じていく。しかも増殖速度に関して  $r < R$  であるから、(液体培地においては)  $r$  の存在はたちまち  $R$  に覆われてしまうと考えられる。

SM の m. e. についてのまとめ。 $S \rightarrow r$  の場合は、すでに本節 (A) 項で述べたように、たとえあるとしても

それによつて生じた  $r$  の数は突然変異耐性菌  $r$  の存在頻度以下にすぎず、実際上の意義を有しない。また *E. Coli* で横田<sup>8)</sup>が見たような  $S \rightarrow r \rightarrow R$  式の耐性漸増は認められなかつた。 $r \rightarrow R$  に関しては、SM を含まぬ場合は、 $10^4 \sim 10^5$  に 1 箇位の割合でまれであるが、SM 存在下ではもつと起り易くなつていゝと考えられる。すなわち  $r \rightarrow R$  については SM の誘導変異の役割が重要である。

### 〔3〕 臨床的意義について

およそ *in vitro* の実験を演繹して複雑な臨床の問題を論ずるのは無理があるが、臨床応用の立場から 2, 3 の点についてふれてみたい。

#### 1. SM の殺菌ないし減毒効果

実験 1, 2, 3 のように生菌数が減少～消失することは、SM の作用を受けた菌はなにか新しく有利な条件が与えられなければ死滅していくことを意味する。すべての菌を直接に殺していく消毒剤の如く強力なものとはいえないが、一応金井の如く殺菌効果があるといえる。この効果は間歇使用ではほとんどない。したがつて治療の原則としては間歇的使用でなく連続的使用が望ましい。休止菌に対しては殺菌効果は乏しく安定した病巣には無効であろう。

#### 2. 菌 量

SM 耐性出現には Yegian<sup>9)</sup> の如く菌数が決定的条件である。菌数が少ないときには殺菌効果が著しく、生体側の反応と相まつて小さな病巣は単独使用で根治できよう。菌数が十分にあり増殖が良好な場合は連続接触する SM 量は 0.3 $\gamma$  でも 10 $\gamma$  でも同様に高耐性を生ずる。したがつて副作用を恐れて少量の SM を使用することは妥当でないであろう。

#### 3. 耐 性

上述のように、菌量が多い場合は菌は死滅せず高耐性菌を生ずる。これを防止するためには、併用療法の外に間歇療法が次善策と考えられる。

### 結 語

有毒人型結核菌  $H_{37}Rv$  株を用いて、SM 量、菌量をいろいろに変えた条件下の Dubos 培地および緩衝液に

おいて、連続あるいは間歇接触を行わしめ、約 1 カ月間にわたり菌数および、耐性分布の経時的動態を観察した。その結果次の知見をえた。

1. SM はある種の殺菌の効果を示す。
2. SM は休止菌に対しては殺菌的效果乏しく、また耐性を上昇せしめない。
3.  $H_{37}Rv$  株は  $10^8 \sim 10^9$  に  $10^1$  程度の SM 高耐性菌を、 $10^4 \sim 10^5$  程度の SM 耐性菌を含む。
4. 低耐性菌は SM 含有培地において高耐性菌よりも増殖速度が遅い。高耐性菌は培地中の SM の有無に拘らず感性菌と同様の増殖速度を示す。
5. 感性菌の増殖に影響しない程度の微量 (0.03 $\gamma/ml$ ) SM 接触では耐性は上昇しない。
6. 連続接触する SM は低濃度 (0.3 $\gamma \sim 1\gamma$ ) であっても菌量が低耐性菌を含む量 (約  $2 \times 10^9$ ) 以上ならば、4, 7 により菌の大部分は高耐性菌で占められる。それ以下ならば 1, により菌は証明されなくなる。
7. 耐性菌の起源は、低耐性菌はほとんどが、突然変異で、高耐性菌の一部は突然変異、一部は低耐性菌からの SM による誘導変異で出現するものと考えられる。SM 使用中の高耐性出現については後者の役割が大きいと考えられる。
8. 間歇接触では殺菌の効果は著しくないが、菌の増殖は緩慢であり、耐性上昇も少ない。

以上の実験結果に基づき、SM 連続ないし間歇療法の臨床的意義について考察を加えた。

文献は第 II 部において一括記載する。

稿を終るに臨み、御指導御校閲を賜つた恩師美甘義夫教授に深謝し、御援助頂いた村尾誠講師、岡野正光博士に感謝します。

有意義な御指示を賜つた秋葉朝一郎教授、横田健学士菌株の分与と実験上多くの御援助を頂いた高橋昭三学士にも厚く謝意を表します。

(本稿の要旨は第 30 回日本結核病学会総会において発表した。なお研究費の一部は厚生省科学研究費によつたものである。)