

特別講演

化学療法的作用機序

慶応義塾大学医学部 助教授

五味二郎

目

次

緒言

第1章 臨床統計的観察

第1節 化学療法的作用機序の臨床的研究方法について

第2節 空洞に対する化学療法

第3節 浸潤ならびに乾酪巣に対する化学療法

第4節 外科的療法と化学療法

第5節 空洞吸引後INH注入療法

第2章 Streptomycin

第1節 Streptohydrazid

第2節 Dihydro-desoxy-streptomycin

附 Cortisone と化学療法の併用

第3章 INH

第1節 INHのアセチル化

第2節 INH誘導体

第3節 各種薬剤によるINHアセチル化阻止

第4節 INHアセチル化機転に関する研究

第5節 INHと各種ビタミン類との拮抗

第6節 INHおよびINH誘導体の副作用とビタミンB₆

第4章 PAS

第1節 PASと他の抗結核剤との比較検討

第2節 血清蛋白との結合

第3節 Hydroxyprocaïne-Penicillin

第4節 Phenyl-PAS

第5節 新しいPAS誘導体に関する研究

第6節 O-Hydroxyphenyl-PAS

結語

緒言

感染症である肺結核症を理解するためには、結核菌と宿主との間の相互関係を究めねばならない。宿主は結核菌の侵入によって、それ自身時々刻々に変化し、結核菌自身も生体内環境の種々なる因子によつて影響される。相共に影響しつつ変化する宿主と寄生体との関係が、複雑なる肺結核症の病像と経過とを具現するものである。肺結核症において胸部X線写真上石灰化初期変化群と同時に空洞性の第二次肺結核症を認める症例は少なくない。初期変化群が石灰沈着を以て自然治癒を営んでいるにもかかわらず、同じ結核菌によつて生じた第二次結核症が何故自然治癒を営みえないで肺癆に進展するのであろうか。これは一旦結核菌の侵入を受けた宿主は、結核菌の発育増殖に対する反応を侵入前とは異にするという宿主と寄生体との間の相互関係の変化に基いて理解すべきであろう。かかる類似例は感染症には少なくない。梅毒において、第1期、第2期、第3期の病像が全く異なり、また化学療法剤の治療効果も異なることはよく知られた事実である。その他肺炎菌肺炎後の膿胸、皮膚膿瘍の発生もまた同様である。

最近驚異的進歩をとげた化学療法は、宿主と寄生体の両者に作用するもので、ここに、宿主と寄生体と薬物との間の相互関係という一層複雑難解な概念の下に肺結核症を理解せねばならなくなつたのである。しかし化学療法は宿主と寄生体との相互関係に影響を与えるので、

その影響を検討することは、感染症の理解に一步近づきうるのではないかとの考えから、化学療法的作用機序を検討した。

化学療法的作用機序は広汎な問題であり、この研究には種々なる方法が考えられるが、寄生体に対する化学療法剤の発育阻止作用あるいは殺菌作用の機序ならびに耐性菌発現の機序と、宿主に対する化学療法的作用機序とに大別される。勿論両作用機序が不即不離の関係にあることは言うまでもない。細菌の物質代謝の酵素化学的研究からみた化学療法剤の作用機序の研究は、わが国の諸学者によつても多くのすぐれた研究業績があり、また化学療法的作用機序についての病理組織学的研究についても先輩諸学者の多くのすぐれた研究業績があるが、ここには主として化学療法的作用機序に影響を及ぼす生体側の因子を中心として論じたいと思う。

このためまず臨床統計的観察を行い、各種の化学療法が如何なる機序で肺結核の経過を良好ならしめるかを検討した。また化学療法剤のあるものは Penicillin の如く試験管内においても、動物実験においても、また臨床的応用の際にも卓効があるが、これに反してある化学療法剤はPASの如く試験管内抗菌力と動物実験あるいは人体実験の成績が著しく異なるものがあるので、これを解明せんとして生体内における化学療法剤の抗菌力に及ぼす諸因子を検討した。

第1章 臨床統計的観察

慶応大学病院, 北里研究所附属病院, 国立神奈川療養所, 国立埼玉療養所, 市立浦和療養所, 市立飯田病院, 東京歯科大学市川病院, ベトレームの園ならびに中野組合病院にて治療せる肺結核患者のうち, 初回化学療法を6ヵ月以上実施し, かつ1年以上の観察を実施しえた肺結核患者を個人調査表によつて調査検討した。化学療法のみで治療された患者は485例で, このうちSM, PAS, INHの3者併用療法で主として治療されたものは135例, SM, PAS併用療法で治療されたものは308例,

INH, PAS併用療法で治療されたものは42例である。化学療法後に切除術を実施したものは140例である。

第1節 化学療法の作用機序の臨床的研究方法について

化学療法のみで治療された485例の治療効果は, 約3分の1は著効, 約半数は有効で, 無効は僅かに12%である。化学療法別に治療効果を見るに, 表1の如くSM, PAS, INHの3者併用が最もすぐれており, INH, PAS併用が最も劣っている。

喀痰中の結核菌の陰性化率は, 表2の如く3者併用群

表1 化学療法の種類と効果

種類 \ 効果	著効	有効	無効	計
SM+PAS	112 (36.4%)	158 (51.2%)	38 (12.4%)	308 (100%)
SM+PAS+INH	46 (34.0%)	78 (57.8%)	11 (8.2%)	135 (100%)
INH+PAS	10 (23.8%)	25 (59.5%)	7 (16.7%)	42 (100%)
計	168 (34.7%)	261 (53.7%)	56 (11.6%)	485 (100%)

が最も高率で, また各治療群ともに治療期間の延長と共に陰性化率は増加している。胸部X線写真所見の軽快率をみるに, 表3の如く, 3者併用群の軽快率は最も高率で, また各治療群ともに治療期間の延長と共に軽快率も増加している。

表2 各化学療法による喀痰中結核菌の陰性化率

種類 \ 期間		6ヵ月	12ヵ月	18ヵ月
鏡 検	SM+PAS	50 (51.5%)	70 (72.1%)	56 (78.0%)
	SM+PAS + INH	31 (77.5%)	36 (90.0%)	22 (95.4%)
	PAS+INH	12 (80.0%)	12 (86.0%)	10 (77.0%)
培 養	SM+PAS	82 (57.0%)	98 (68.0%)	71 (71.0%)
	SM+PAS + INH	48 (70.6%)	59 (86.8%)	36 (92.4%)
	PAS+INH	11 (53.0%)	14 (67.0%)	15 (88.0%)

しかしながら3者併用療法が, SM, PAS併用INH, PAS併用療法より如何にしてすぐれた効果を示す

かを検討するためには, 生体側の要因として治療前の肺結核の病型を考慮しなければならない。

治療対象患者の病型をN.T.A.の分類に従つて分けてみると, 各治療群ともに中等度が最も多いのであるが, 18ヵ月治療したものは, INH, PAS併用群, 次いで3者併用群に高度のものが多くなっている。N.T.A.の分類はX線写真上における病巣の拡がりに, 空洞の有無と大きさを加味したもので, 病巣の質的な性状はほとんど考慮されていない。同じ中等度と称してもその中には化学療法の効果の著明な浸潤型もあれば, 効果の少ない硬化性病巣であることもあるので, 化学療法を対象とした研究には, このN.T.A.の分類は不適當である。

また治療前の病型を岡氏病型分類によつて分けてみると, 各治療群ともに化学療法の効果の顕著な肺炎型ならびに浸潤型が最も多い。しかし混合型の中から, 化学療法の効果の殊に期待できない荒蕪肺を別個に選んでみると, 各治療群の間に差がある。岡氏病型分類は病理学的研究を基礎として, すべての肺結核症をX線写真所見から分類したものであるが, 化学療法の効果の顕著である浸潤型の中でも, その病巣の拡がりの広いものは, 効果の少ない混合型の中に入るし, また荒蕪肺の問題もあるので, 化学療法の研究を対象とした場合には, 多少の混乱は避けられない。

肺結核の主要なる病巣は空洞ならびに乾酪巣であるので, 化学療法の作用機序の臨床的研究方法として, この空洞ならびに乾酪巣のみについて, これらの病巣の性状の諸因子が化学療法の作用機序に如何なる影響を与える

表 3 胸部X線写真の軽快率

軽快度	治療方法	期間			
		6ヵ月	12ヵ月	18ヵ月	24ヵ月
全軽快例	SM+PAS	148 (47.0%)	190 (61.1%)	152 (69.0%)	91 (69.5%)
	SM+PAS+INH	81 (60.0%)	100 (74.1%)	52 (75.4%)	16 (76.2%)
	INH+PAS	9 (21.4%)	22 (52.4%)	18 (54.6%)	8 (57.1%)
著明軽快例	SM+PAS	65 (20.1%)	114 (36.9%)	92 (41.8%)	69 (52.7%)
	SM+PAS+INH	37 (27.4%)	54 (40.0%)	36 (52.2%)	11 (52.4%)
	INH+PAS	2 (4.8%)	11 (26.2%)	8 (24.3%)	3 (21.5%)

かを検討した。

第2節 空洞に対する化学療法

空洞が消失、癭痕化、嚢胞化ならびに濃縮被包化を来した場合を軽快と判定して、321個の空洞に対する3者併用療法、SM、PAS併用療法、INH、PAS併用療法の3種類の化学療法の効果をみるに、3者併用療法が最もすぐれている。しかし空洞に対して化学療法が如何に作用するかを検討するためには、空洞の性状を考慮しなければならぬ。

第1項 空洞の大きさと化学療法の効果

長径4.0cm以上の大空洞の軽快率は中空洞ならびに小空洞に比して遥かに低率である。中空洞ならびに小空洞の軽快率には大差がないが、小空洞の軽快率の方がややすぐれている。

第2項 空洞の形と化学療法の効果

空洞の形を円形、非円形、大多房性、小多房性に分類して、化学療法の効果をみるに、円形空洞は非円形空洞よりも軽快率がすぐれており、多房性空洞、殊に大多房性空洞は軽快し難い。

第3項 空洞ならびにその周囲の病巣の性状と化学療法の効果

空洞ならびにその周囲の病巣の性状として、周囲に新しい浸潤をともなつた空洞、所謂結核腫の中心が崩壊したと考えられる空洞、ならびに周囲に広汎な硬化を有する空洞に分類して化学療法の治療効果をみるに、所謂結核腫の中心が崩壊したと考えられる空洞の軽快率は最も高く、次いで周囲に新しい浸潤を伴う空洞であり、周囲に広汎な硬化を有する空洞は最も軽快しがたい。

第4項 周囲に新しい浸潤をともなう空洞に対する3種類の化学療法の作用の比較

以上のように空洞に対する化学療法の効果は、空洞の大きさ、形、周囲の病巣の性状等の諸因子の組み合わせによつて影響されることは明らかである。したがつて3種類の化学療法の作用を比較するためには、同一性状の空洞について検討することが必要である。空洞の大きさ

形が化学療法の効果に影響するが、周囲に新しい浸潤を伴う空洞の大きさは中あるいは小であり、またその形も円形であるので、周囲に新しい浸潤を伴う空洞のみについて、3種類の化学療法が如何に作用するかを検討した。消失、索状化、星芒状化、嚢胞化、濃縮被包化を合計した軽快率は、3者併用群に最も高く、SM、PAS併用群とINH、PAS併用群との間にはほとんど差がない。しかしながら軽快像のうち消失、索状化、星芒状化、嚢胞化等の癭痕治療の像を示したのを見ると、INH、PAS併用群に多く、3者併用群とSM、PAS併用群との間にはほとんど差が見られない。また濃縮被包化を来したのもののみを見ると、3者併用群に最も多く見られ、次いでSM、PAS併用群で、INH、PAS併用群に最も少ないのである。INH、PAS併用群は例数は少ないが、化学療法としてSMを併用した場合には、濃縮被包化を来し易いという成績が得られた。(表4、5、6)

表 4 周囲に新しい浸潤のある空洞の軽快率 (消失、索状化、星芒状化、嚢胞化、濃縮被包化)

治療方法	治療月数		
	12ヵ月	18ヵ月	24ヵ月
SM+PAS	70 (43%)	80 (60%)	63 (66%)
SM+PAS + INH	45 (57%)	32 (69%)	10 (77%)
INH+PAS	8 (47%)	10 (62%)	3

表 5 周囲に新しい浸潤のある空洞の消失、索状化、星芒状化、嚢胞化を来せる症例

治療方法	治療月数		
	12ヵ月	18ヵ月	24ヵ月
SM+PAS	44 (27%)	59 (44%)	57 (60%)

SM+PAS + INH	22 (28%)	22 (47%)	6 (46%)
INH+PAS	7 (41%)	9 (56%)	2 (40%)

表6 周囲に新しい浸潤のある空洞の濃縮被包化を来した症例

治療月数	12ヵ月	18ヵ月	24ヵ月
治療方法			
SM+PAS	26 (16%)	21 (16%)	6 (6%)
SM+PAS + INH	23 (29%)	10 (22%)	4 (31%)
INH+PAS	1 (6%)	1 (6%)	1 (20%)

第3節 浸潤ならびに乾酪巣に対する化学療法

X線写真において浸潤巣と乾酪巣とを明確に区別することは容易でないで、これらの病巣を一括して、276個の病巣について、その性状と化学療法の治療効果との関係を検討した。消失、索状化、星芒状化を来したものを癒痕治癒したものとして軽快像とした。

第1項 浸潤ならびに乾酪巣の大きさや化学療法の効果

病巣の大きさを、大、中、小に分類して癒痕化率をみるに、大きな病巣は最も軽快率が高く、中等大の病巣と小さな病巣との間には余り差がなく、また治療期間の延長と共に軽快率は増加している。これは大きな病巣は化学療法の効果の著明な浸潤巣であり、中、小病巣は化学療法の効果の少ない被包乾酪巣が多いためである。

第2項 浸潤ならびに乾酪巣の形と化学療法の効果

病巣の形を円形、不整形、有尾形に分類して癒痕化率をみるに、円形病巣は不整形病巣よりも軽快率が低いが、これは不整形病巣は主として浸潤巣であり、円形病巣は主として被包乾酪巣であるためである。

第3項 被包化著明、不著明の浸潤ならびに乾酪巣に対する化学療法の効果

X線写真上においてその境界明瞭な病巣を被包化著明と考え、その境界不明瞭な病巣を被包化不著明と考えて分類して癒痕化率を見るに、被包化著明な病巣の癒痕化率は被包化不著明な病巣より劣っている。

第4項 円形、不整形の浸潤ならびに乾酪巣に対する3種類の化学療法の比較

以上のように浸潤ならびに乾酪巣に対する化学療法の効果は、その大きさ、形、境界明瞭あるいは不明瞭等の諸因子の組み合わせによつて影響を受けることは明らかであり、大きな、不整形の境界不明瞭な病巣は浸潤巣であるので、軽快率は高いのである。

円形の病巣は、その大きさは中あるいは小であり、境界も明瞭であり、被包乾酪巣と考えられるので、これに対して3種類の化学療法の作用を検討した。表7の如く、INH、PAS併用群は例数が少なく比較検討できなかったが、3者併用群とSM、PAS併用群とを比較すると、3者併用群の方が癒痕化率が高くなっている。かかる円形病巣に対して、如何なる化学療法が透亮像をしばしば出現せしめうるかは、最も興味ある問題であるが、透像出現例が少ないために結論は得られなかった。

実験的にINHの乾酪性物質融解作用の有無を検討す

表7 円形、不整形の浸潤ならびに乾酪巣に対する3種の化学療法の効果の比較

		12ヵ月			18ヵ月			24ヵ月		
		癒痕化	縮小	透像出現	癒痕化	縮小	透像出現	癒痕化	縮小	透像出現
円形	SM・PAS	8 (11)	38(52)	2 (3)	13(28)	25(53)		10(33)	12(40)	1 (3)
	SM・PAS・INH	6 (16)	23(60)	1 (3)	9 (60)	5 (33)		3	2	
	INH・PAS		4	1		2	1			2
	計	14(12)	65(55)	4 (3)	22(32)	32(47)	1 (1)	13(34)	14(37)	3 (8)
不整形	SM・PAS	25(27)	54(57)	1 (1)	17(27)	36(58)		17(50)	14(41)	1 (3)
	SM・PAS・INH	27(51)	23(43)	1 (2)	17(74)	5 (22)		2	1	
	INH・PAS	2	5		1	3		1	2	
	計	54(35)	82(53)	2 (1)	35(39)	44(49)		20(50)	17(43)	

()内は%

るために、慶大病理学教室の久田は18例の切除肺より得た乾酪物質をモルモットの皮下に埋没し、INHあるいは

はSMにて、2~14週治療したが、INHが殊に乾酪性物質融解作用があることを証明できなかった。

第4節 外科的療法と化学療法

切除標本より術前に施行された化学療法の作用機序を検討することは、重要な研究方法である。140例の切除術を施行した症例について、手術前の化学療法の種類、期間と切除標本所見との関係を検討したが、大部分の症例が6~12カ月のSM, PAS併用療法後に手術されておるために、この関係を明らかにすることをえなかつた。

第1項 空洞を切除せる場合

手術前のX線写真において空洞残存明らかなるもの44例(42.3%)、しからざるもの60例(57.7%)を手術せるに、その切除標本の肉眼的所見においては空洞残存49例(61.3%)、濃縮被包化26例(32.5%)、癥痕前期2例(2.5%)、癥痕化3例(3.8%)であつた。また手術前喀痰中の結核菌培養陰性例は87例(89.6%)であつたが、切除標本の空洞内容培養陰性例は11例(19.0%)であり、また空洞内容の鏡検陽性培養陰性例は24例(41.4%)にみられた。

第2項 被包乾酪巣を切除せる場合

手術前のX線写真において被包乾酪巣と思われる病巣78個を切除せるに、67例(86.0%)は被包乾酪巣であつたが、5例(6.3%)は癥痕化しており、6例(7.7%)は空洞化していた。また術前喀痰培養陽性例は6例(9.7%)であつたが、切除病巣培養成績では陽性11例(32.3%)であり、また鏡検陽性培養陰性例は13例(37.3%)にみられた。

このように術前のX線写真所見と切除標本所見の一致しないことは、前述のX線写真所見より見た化学療法の成績には多少の誤差があることを認めざるをえない。化学療法を施行した後に切除した材料においてしばしば鏡検陽性培養陰性の成績が見られたことは注目すべきである。かかる所見を化学療法の作用のみに帰することはできないが、またかかる結核菌が死菌であると断定することもできない。長期化学療法を実施しつつある1肺結核患者で、化学療法の途中より、毎週1回の鏡検にて常にガフキー2号ないし4号を証明するようになったが、頻回の培養検査では常に陰性であつた。しかしその頃、患者の2才の幼児がツベルクリン反応自然陽転した。かかる状態を継続していたが、約6ヵ月後1回だけ培養陽性の成績を得た。その後左肺の結核腫の消失と共に鏡検、培養ともに陰性化した。かかる症例より見ても、鏡検陽性、培養陰性の成績の判定については慎重を要する。

第5節 空洞吸引後INH注入療法

重症肺結核で巨大空洞があり、また高度の肋膜肝胝とそこに空洞をみとめるような症例に対しては化学療法は極めて作用し難い。これを荒蕪肺として一括して化学療法の治療効果をみると、喀痰中の菌陰性化率も30%以下であり、耐性菌も出現し易い。したがつて化学療法の

治療効果判定の上からは、かかる病型を示すものは別個に取り扱うことが必要と考えられる。

化学療法のみで治療した全症例のうち、治療前の喀痰培養成績が陽性で、かつ治療後もX線写真上空洞を明らかにみとめるような症例のみを選び、治療後の喀痰培養成績をみると、治療期間の長短に関係なく、37~38%は培養陽性を示している。したがつてかかる症例から見れば、化学療法の治療効果には一定の限界があることを知りうる。

以上のような重症肺結核患者に対しては、化学療法の効果は極めて少ないし、また体力劣え、肺機能の障害の存する場合には、外科的療法も実施し難いのである。かかる患者を救いうる唯一の途は殺菌療法以外にない。このような症例に対して、空洞内に高濃度の薬剤を直接注入することを試みたが、この際には速やかに注入薬剤に対して高度の耐性菌が生ずることが判明した。

そこで予め空洞吸引を実施し、空洞内の乾酪性物質を機械的にできるだけ排除した後、2.5%INH水溶液を空洞内に注入するという治療法を39例(46個の空洞)に実施した。治療対象患者の肺活量は非常に減少したものが多く、術前喀痰中の結核菌の耐性検査成績では、SM, PAS, INHに完全耐性を示しているものが少なくない。治療成績は表8, 表9に示す如く、X線写真上において空洞消失せるもの20%、縮小せるもの60%であり、喀痰中結核菌の陰性化せるもの60%、空洞内容の結核菌陰性化せるもの81%の成績を得た。喀痰中結核菌の陰性化率の低いのは、他になお空洞が存するためであ

表8 胸部X線写真所見 (透亮像の変化)

所見	時期	A. 吸引終了時	B. 注入終了時
	消 失		0
縮 小		23 (50.0%)	28 (60.8%)
不 変		23 (50.0%)	9 (19.6%)
拡 大		0	0
計		46 (100%)	46 (100%)

表9 喀痰および空洞内容の結核菌培養成績

	喀 痰	空 洞 内 容
陰 性 化	22 (59.5%)	33 (80.5%)
陽 性	15 (40.5%)	8 (19.5%)
小 計	37 (100%)	41 (100%)
初めより陰性	1	
不 検	1	

る。このような手術不可能な重症患者に対しても、すぐれた治療効果をあげたことは注目すべきである。

高濃度のINHは結核菌に対して殺菌的に作用することが報ぜられている。本治療法がINH耐性患者に対しても奏効し、喀痰ならびに空洞内容を高率に陰性化したことは、高濃度のINHの注入が殺菌作用を呈したとも考えられるが、INH注入前に空洞内容を吸引し、乾酪性物質を機械的に排除したことも、本療法の治療効果をあげた重要な因子である。

しかしながら、この治療法もすべての重症患者に実施しうるわけではない。したがって個々の化学療法剤の作用機序を検討して、より有効な化学療法の発見が必要である。

第2章 Streptomycin (SM)

SMの化学構造と作用機序との関係については、多くの研究があり、その構造式中の streptidin が細菌の発育素である inosit の guanidin 置換体であることが特に注目されている。

SMの作用機序の研究の一方法として、各種のSM誘導体を研究する途があるが、ここには streptohydrazid (streptomycilidene isonicotiny l hydrazine sulfate) と dihydro-desoxy-streptomycin について述べる。

第1節 Streptohydrazid (SH)

これまで抗菌力のある2つの化学療法剤を結合させた種々なる薬剤が合成されて研究されたが、いずれも単一の化学療法剤よりすぐれていないことが証明された。

streptohydrazid はSMとINHの化合物であり、その試験管内抗菌力もすぐれていることが証明されている。そこでマウスの実験的結核症に対する streptohydrazid の治療実験を行った。SM感受性菌黒野株をマウス静脈内に接種し、streptohydrazid、INHおよびdihydrostreptomycin 各単独治療とINH、dihydrostreptomycin の併用で治療した成績をみるに、streptohydrazid はdihydrostreptomycin より著明な治療効果を示すが、INH、dihydrostreptomycin の併用より劣っている。次にSM耐性株をマウス静脈内に接種して治療実験を行った成績は、streptohydrazid はINH単独治療、INHとdihydrostreptomycin の併用療法より劣っており、dihydrostreptomycin 単独治療よりはすぐれている。このように streptohydrazid はSMとINHの化合物であるが、何故dihydrostreptomycin とINHを混合した場合より治療効果が劣るのかについてはINH誘導体の作用機序の項に一括して述べる。

第2節 Dihydro-desoxy-streptomycin

新たに合成された dihydro-desoxy-streptomycin はその抗菌力は dihydrostreptomycin と同様であり、マウスに対する急性毒性も dihydrostreptomycin とほぼ

同様である。マウスの実験的結核症に対する治療実験では、生存日数、斃死率も、肺臓ならびに脾臓の重量から見ても、dihydrostreptomycin と dihydro-desoxy-streptomycin の間には差はなく、定量培養の成績も同様で、両者の治療効果に差を認めない。

このように dihydrostreptomycin、dihydro-desoxy-streptomycin のようにSMの構造式中の streptose に水素添加、あるいは脱酸素を行つても、SMの本質的な抗菌力に変化を与えない。

附. Cortisone と化学療法剤の併用

SM治療によつて肺結核患者が極めて早期に気分良好、食欲増進、解熱を見、中毒症状を減退させる事實は、SMが結核菌に対する発育阻止作用を有するばかりでなく、生体に対しても、何等かの作用を呈するものと推定されている。慶応大学小児科教室において結核性髄膜炎患者を長期にわたりSMにて治療したところ、60例中2例に著明な多毛症の発生を経験した。このような事實からSMにcortisone様の作用のあることが想像されるが、最近重症な急性肺結核症に化学療法剤とcortisoneの併用療法が研究されている。

化学療法にもかかわらず、高熱持続し、X線写真右上肺野に巨大空洞があり、咳嗽、喀痰著明、羸瘦高度な患者にcortisoneと化学療法とを併用したところ、顕著な効果を得た1症例を経験した。cortisoneは17日間に合計1gを投与した。

化学療法にACTHあるいは副腎皮質ホルモンを併用する治療法は、他の感染症と同様に肺結核においても漸次汎く行われる傾向にある。しかしcortisoneには感染症増悪効果とこれに全く矛盾する臨床症状軽快効果がある。感染症の発症が侵入せる病原体の発育増殖を阻止せんとする宿主の関心によるものであるならば、もし宿主が病原体の発育増殖に対して無関心の態度をとる時は、それはたとえ感染症の治癒という形式をとらなくとも、臨床症状軽快を来しうるものと考えられる。

cortisoneの感染症に対する作用機序こそは、宿主をして侵入した病原体に対して、無関心の態度をとらしめるものであり、またこの無関心説によつて初めてcortisoneの感染症増悪効果とこれに矛盾する臨床症状軽快効果とを一元的に説明しうるものと考えられる。したがって化学療法にcortisoneを併用する場合には、化学療法が有効であることが絶対的な前提条件である。

第3章 INH

劃期的な新結核薬として5年前に発表されたINHは、その後の多くの臨床実験によつて、優れた抗結核薬であることが明らかとなつたが、SMに較べて遥かに優れた臨床効果を示すものとは言いえない。

しかし試験管内抗菌力はINHはSMより10倍も強力

であり、またマウスの実験的結核症の治療効果も、INHはSMの100倍に匹敵するほど顕著である。初めてINHによる動物実験を行った人達が、INHに対して如何に希望と期待をもつたかは、容易に知ることができる。マウスの実験的結核症と人の結核症とを同一に論ずることは勿論できないが、マウスの実験的結核症に対して、かくも強力な治療効果を示すINHが、臨床的応用の際には何故これに匹敵する効果を發揮しえないのであろうか。INHの作用機序を研究するに当つて、まずこの疑問を解明しようと試みた。

第1節 INHのアセチル化

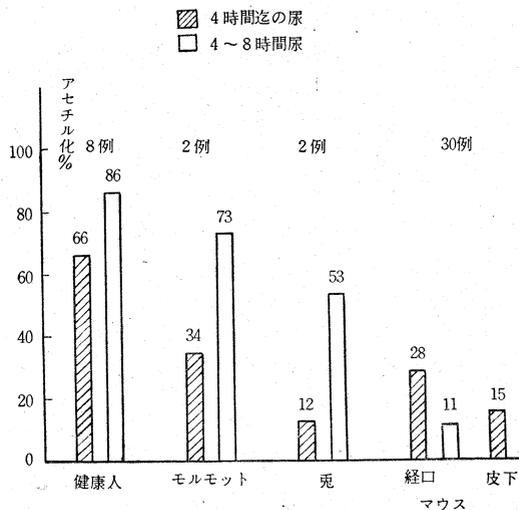
薬剤に対する生体反応の一つとして、amino基を有する多くの薬剤は、程度の差はあるとしても、体内においていずれもアセチル化を受けて解毒され、その結果として生じたアセチル化体はいずれもその効力を全く失つてしまう。INHもまたこの例外ではなく、アセチル-INHの抗菌力はINHの1/1,000に減ずる。

INHが体内でアセチル化される率には個人差があるが、人体8例に0.3gのINHを1回に投与した際、尿中の24時間全排泄量の中、経口投与の場合は82%、筋肉内注射の場合は78%がアセチル-INHの形である。すなわち人体にINHを投与した場合にはINHの大部分はアセチル化を受けて抗菌力を失つてしまう。

これに反して、INHをマウスに投与した場合には、人体とは著しく異なつて、INHはマウス体内ではアセチル化を受け難い。家兎および海獣ではINHのアセチル化を受ける率は、人体より少なく、マウスより多い。(図1)

この実験成績から見れば、INHのマウス実験的結核症と人間の肺結核に対する治療効果の相違には、INHのアセチル化率の高低が大いに関与していると考えられ

図1 人および各種動物尿のINHAcetyl化率



る。したがつてもしINHのアセチル化を防ぐことができれば、INHの人間の肺結核に対する治療効果を一層顕著ならしめるものと考えられる。これにはアセチル化を受け難いINH誘導体を見出すこと、および他の薬剤によつてアセチル化を防ぐという2つの方法が考えられる。

第2節 INH誘導体

第1項 各誘導体の抗結核菌作用

INH誘導体として、Hydrazine型であるINH-メタンサルホン酸ソーダ (IHMS), Hydrazone型誘導体であるINH-焦性葡萄糖酸ソーダ (IPN), INH-グルクロン酸ソーダ (IGN) ならびに streptohydrazid (SH) を検討した。

これらの薬剤の試験管内抗菌力は各誘導体に含有されているINHの量に比例している。(表10)

表10 INHおよび本研究に使用せるINH誘導体

薬品名	略名	INH含量	抗菌力
イソニコチン酸ヒドラジド	INH	100%	0.125γ/cc
INH-メタンサルフォン酸ソーダ	IHMS	50.6%	0.25γ/cc
INH-焦性ブドウ酸ソーダ	IPN	45.6%	0.25γ/cc
グルクロン酸-Na. イソニコチニールヒドラゾン	IGN	36.9%	0.25γ/cc
硫酸ストレプトマイシンイソニコチン酸ヒドラゾン	SH	19.1%	0.125γ/cc

第2項 毒性および血中濃度

INH誘導体の毒性は、INHに較べると遥かに弱く、殊に静脈内注射の際には経口投与に比して著明に軽減されている。

また血中濃度は、いずれの誘導体もINHのような高いピークが現われませんが、その持続時間は長い。

第3項 INH誘導体とINHアセチル化

人体8例にINHならびに各誘導体を経口投与した場合の尿中排泄状況ならびにアセチル化率をみると、大部分はアセチル化されており、INHと各種誘導体との間にほとんど差を認めない。(第2図)

これに反して、人体4例にINHおよび各種の誘導体を臀筋内に注射した際の尿中排泄状況ならびにアセチル化率は、経口投与時とは非常に異なる。すなわちINH

図 2 I N Hおよび I N H誘導体の経口投与時の尿中排泄および Acetyl 化率 (人体実験 8 例平均値)

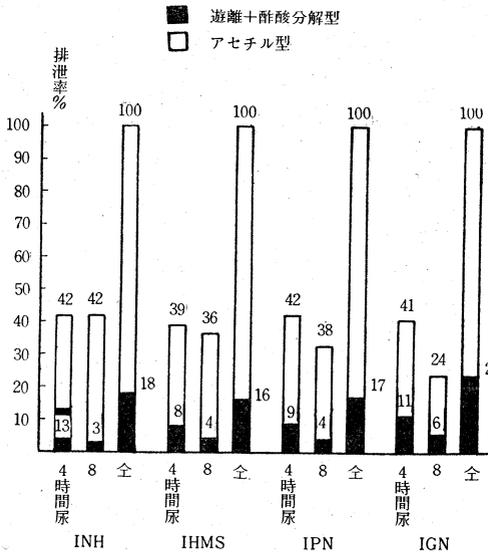
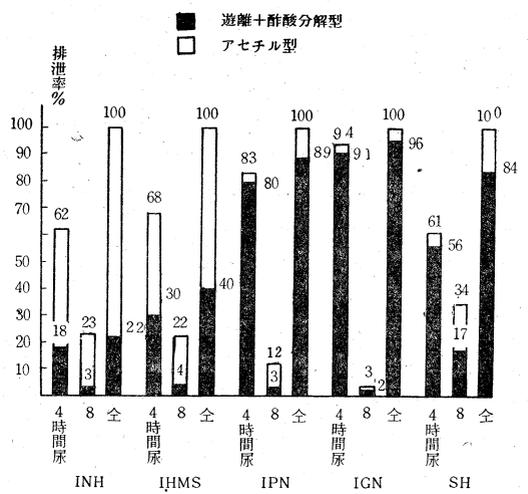


図 3 I N Hおよび I N H誘導体の筋肉内投与時の尿中排泄および Acetyl 化率 (人体実験 8 例平均値)



は経口投与時と全く同様に筋肉内注射でもアセチル化されるが、I P N、I G NおよびS Hは経口投与時と異なつて、筋肉内注射ではほとんどアセチル化されない。I H M Sは他の誘導体と異なつて、経口投与時よりは少ないのであるが、筋肉内注射でもかなりアセチル化される。(第3図)

第4項 I N H誘導体のアセチル化と抗結核作用
I N H誘導体は非経口的に投与された場合には、アセチル化されにくいという事実から、これら誘導体を非経口的に投与すれば、一層顕著な治療効果をあげられるであろうと推定される。これを実験的に証明せんとしてマウスの実験的結核症に対する各誘導体の経口投与ならびに皮下注射による治療効果を比較検討した。

平均生存日数ならびに死亡率をみるに、表11の如く、

表 11 平均生存日数および死亡率

薬剤	投与量 投与方法	平均生存日数				死亡率			
		50γ		100γ		50γ		100γ	
		経口	皮下	経口	皮下	経口	皮下	経口	皮下
I N H		10W以上	10W以上	10W以上	10W以上	0/4	0/4	0/4	0/4
I H M S		10W以上	10W以上	10W以上	47	0/4	0/4	0/4	1/4
I P N		10W以上	38	10W以上	46	0/4	4/4	0/4	4/4
I G N		10W以上	41	10W以上	37	0/4	3/4	0/4	4/4
感染無処置群		34				8/8			

I N Hは経口投与、皮下注射のいずれも著明な効果を認める。これに反してI P N、I G Nは経口投与においては、I N Hと同様に有効であるが、皮下注射では治療効果は全然認められない。I H M Sは皮下注射でも治療効果を認めるが、経口投与よりはその成績は劣つている。治療3週後の肺重量ならびに肺の定量培養の成績でも、全く同様の関係が見られる。

この成績は、実験当初に期待した成績とは全く反対であり、I N H誘導体はI N Hと異なつて、アセチル化を

受け難い投与方法では、治療効果を現わしえないという矛盾した結論に到達した。

I N H誘導体のアセチル化ならびに動物実験成績については、堂野前教授等の研究成績もこれに一致している。

第5項 I N H誘導体の作用機序

(1) ペーパークロマトグラフィによる研究

I N Hの各誘導体は、皮下注射では治療効果は極めて少ないが、試験管内では前述の如く、その含有するI N

Hに比例した強い抗菌力を示す。この矛盾した事実を説明せんとして、試験管内において、これら誘導体からINHそのものが遊離されて抗菌力を示すのであるか否かをペーパークロマトグラフによつて検討した。薬剤を水に溶解した場合には、IHMSは比較的速やかにINHを遊離するが、IPN、IGNは7日ないし10日目に初めてINHを遊離する。しかるに薬剤をDubos液体培地に溶解し、37°Cの孵卵器中に放置した場合は、各誘導体は、皆速やかにINHを遊離する。

また人体より採取せる胃液中に薬剤を溶解し、37°C 3時間放置後、同様に実験を行つても、これら誘導体はいずれもINHを遊離する。

(2) 毒性の経口変化

試験管内においてINH誘導体よりINH自身が遊離されるのであれば、INH誘導体溶液は時間の経過と共に、毒性は当然上昇すべきである。

INHおよびその誘導体を、Dubos培地に溶解し、1日、4日、7日後にこの溶液を用いて、マウスLD50/kgを測定したところ、INHは日を経るに従いやや毒性が低下したが、INH誘導体は逆に毒性の上昇を示した。(表12)

表 12 経日変化によるINHおよびINH誘導体の急性毒性(皮下注射による) Dubos培地に溶解した場合

日 数	薬 剤			
	INH	IHMS	IPN	IGN
0	170	395	1575	3690 以上
1	170	264	940	380
4	200	194	674	325
7	220	271 以上	674 以上	391 以上

数字はLD₅₀mg/kg, INH換算
各薬剤につき5群, 1群10匹使用

以上の実験成績はINH誘導体はINHを遊離することによつて初めて抗結核菌作用を示すものであることを証明するものである。

INH誘導体の臨床的治療効果をこれらの実験成績から批判することは困難である。INH誘導体は人体に経口的に投与された場合には、徐々にINHを遊離するために毒性も少なく、したがって大量投与が可能である。INH誘導体の大量投与の治療効果は、今後の研究によつて判断すべきである。

しかしながら、INHのアセチル化をこのようなINH誘導体で防ぎ、治療効果を高めようという考えは、成り立ちえない。

第3節 各種薬剤によるINHのアセチル化阻止

第1項 化学的定量による実験

INH誘導体によつて、INHのアセチル化を阻止せんとする企図は前述の如く、不成功であつたので、INHのアセチル化を防ぐ他の方法、すなわち種々なる化学療法剤を併用することによつて、INHのアセチル化を阻止しうるかどうかを検討した。

このため肝臓ホモジネート系とCo-enzymA系を用いて、試験管内における各種薬剤のINHアセチル化阻止実験を行つた。各種薬剤によるINHのアセチル化阻止率は、肝ホモジネート系を用いた場合には、低濃度においてはPZA、PABAが強い阻止率を示し、Co-enzymA系を用いた場合にもPZAはPASよりも強い阻止率を示した。(表13, 14)

表 13 肝ホモジネート系によるINHアセチル化の抑制

抑 制 物 質	濃 度 M/1×10 ⁻⁴	抑 制 率 %
PAS	5	0
	10	83
	20	55
PZA	5	51
	10	0
	20	0
PABA	5	44
	10	0
	20	18
サルチルアマイド	5	33
	10	2
	20	0
スルファイソキサゾール	10	0
サイクロセリン	20	42

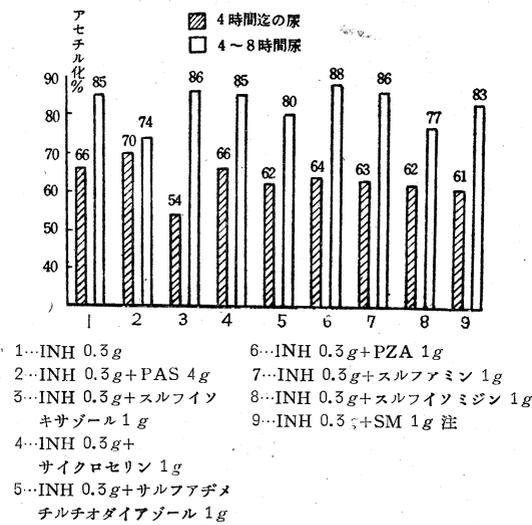
表14 Co-enzymA系によるINHアセチル化およびその抑制

		アセチル化率 %
INH		48
抑 制 物 質	濃度M/1×10 ⁻⁴	抑 制 率 %
PAS	10	33
PZA	10	50

次に各種の薬剤とINHとを同時に人体に投与して、INHのアセチル化率を測定した。INH 0.3g とPZ

A 1.0g とを併用した場合に、4時間尿におけるINHのアセチル化率が最も低値を示したが、PAS, SM, サイクロセリン、スルフイソキサゾールおよび他のサルファ剤については有意の差を認めなかつた。PZAがINHのアセチル化をある程度抑制することは、INHと化学構造が似ているPZAとINHの競合的機序によるためか、PZAが肝臓のアセチル化機転に影響を与えるためと推定される。このことはまた試験管内で抗結核作用を現わし難いPZAが、何故INHとの併用療法の際に優れた効果を示すかという機序解明にある根拠を与えるものである。(図4)

図4 INHのAcetyl化に対する各薬剤のAcetyl化阻止効果の比較
人体8例平均 ただしINH+SM群のみ4例



第2項 生物学的定量による実験
(スライドカルチャー法)

INHのアセチル化が併用薬剤によつて阻止されれば、遊離INHの血中濃度は上昇し、したがつて生物学的定量によつても、INHの抗菌力は増強される筈である。これがために、人体にINH 0.3g とPAS 4g, PZA 2g, sulfisoxazol 1g をそれぞれ併用した場合の血清抗菌力をスライドカルチャー法によつて測定した。

スライドカルチャーの実施方法は、マウス尾静脈内に結核菌を接種し、1週後にマウスを屠殺し、その脾臓をホモジナイズして、塗抹標本をつくり、これを血清を倍数稀釈した試験管内に挿入して培養し、2週後に染色し検鏡判定した。この際血清はDubos培地および96.7%血清培地で稀釈し、またPASならびにsulfisoxazoleを併用した際には試験管内にPABAを加え、PASならびにsulfisoxazoleの抗菌力を消滅させた。

PZA単独では、服用後1時間の原血清でも抗菌力を示さないが、INHとPZAを併用した場合には、INH単独よりも抗菌力が増強されているし、また他の薬剤とINHとの併用に比べてより強い抗菌力を示した。INHとsulfisoxazoleにも多少の併用効果を認めた。これは前述の実験のINHとPZAの併用の際に、INHのアセチル化が最も強く阻止された成績に一致するものである。(表15)

第4節 INHアセチル化機転に関する研究

先に述べた如くマウス体内では、INHは人体と異なつてアセチル化を受け難い。もしマウスにアセチル化に関与する種々なる物質を授与すれば、マウス体内でINHのアセチル化が高率となり、INHの体内における抗

表15 Slide culture 法によるINHと諸種薬剤との併用効果
外越例 1時間血清 (Dubos 培地使用成績)

薬 剤	化学定量	稀 釈 倍 数						
		原血清	3 ×	9 ×	27 ×	81 ×	243 ×	729 ×
INH	3.0γ/cc	—	—	+	+++	+++	+++	+++
INH+PAS	3.0	—	—	+	+++	+++	+++	+++
INH+PZA	3.7	—	—	+	+	+++	+++	+++
INH+Sulfisoxazole	2.7	—	—	+	+++	+++	+++	+++
PZA		+++	+++	+++	+++			

PAS, Sulfisoxazole は培地にPABA 10γ/cc 添加, その作用を消滅させた。

結核作用が減弱するか否かについて実験を行つた。アセチル化反応に関与する物質、すなわち Co-enzymeA, パントテン酸, ビルビン酸, ニコチン酸アミド, ニコチン酸, 塩化マグネシウムおよびビタミンB₁とINHとを授与して、マウスの実験的結核症に対して、これらの物

質が如何に影響するかを検討した。その死亡率, 3週屠殺時の肺の肉眼的所見, 肺ならびに脾の重量および定量培養成績を見るに、ビタミンB₁およびビタミンB₆併用群はINH単独に較べ、ほとんど差を認めないが、Co-enzymeA, パントテン酸, ビルビン酸, ニコチン酸アミ

ド、塩化マグネシウムを含む治療群の成績はINH単独よりもやや劣つた成績を示した。したがつてマウス体内でINHのアセチル化率の低い原因は、これらの物質の不足によるものではないかと考えられるが、そのうちいずれの物質が主役を演じているかについては、明らかにしなかつた。

現在アセチル化機転は主として肝臓において行われると考えられているので、黄疽患者6例にINHを服用せしめてそのアセチル化率を測定した。黄疽患者のアセチル化率は、健康者に比し低値を示したので、INHのアセチル化には肝臓が関与するものと考えられる。

第5節 INHと各種ビタミン類との拮抗

INHと化学構造が類似するビタミン類、すなわちニコチン酸アミドおよびビタミンB₆等によつてINHの抗結核作用が拮抗されるや否やを検討したが、試験管内においても、マウス治療実験においても、PASに対するPABAの如き競合的拮抗関係は証明しなかつた。

第6節 INHおよびINH誘導体の副作用とビタミンB₆

近時INHならびにその誘導体の大量投与が結核治療に用いられる傾向にある。この際の副作用発現に対して、ビタミンB₆の有効なことが報告されているので、その基礎的実験として白鼠を用いて、INHならびにその誘導体の副作用発現に対するビタミンB₆の作用を検討した。INHおよびその誘導体を皮下注射した場合には、ビタミンB₆は白鼠のINH血糖低下作用を阻止し、痙攣発現を抑制し、また痙攣発現までの時間を延長しうる。IHMSはINHに比しかなり低い毒性を示している。またINHおよびその誘導体を、ビタミンB₆欠乏食にて飼育した白鼠に、長期間大量投与した際に、ビタミンB₆はINHの毒性、すなわち一般状態の障害、体重減少、血糖降下およびキサンソレン酸排泄等を軽減せしめ、死亡率を低下せしめた。先に述べたようにINHの抗結核作用に影響を及ぼさないビタミンB₆が、INHの副作用を軽減せしめうるといふことは、INHの抗結核作用とその副作用は全く別の機序によるものであることを推定せしめるものである。

このようにINHの大量投与の副作用に対し、ビタミンB₆は極めて有効であるので、今後広く行われる傾向にあるINH大量投与による肺結核の治療には、ビタミンB₆の併用を行うべきであると考えられる。

INHが動物実験ほどすぐれた治療効果を臨床において現わしえないのは、INHが動物と異なつて人体では、その大部分がアセチル化される機転のためと考えられる。さらにINH誘導体はINHを遊離しない場合には、抗結核作用を発現しえない事実から、INHの化学構造上の有効基はヒドラジンのアミノ基と推定される。したがつてINHが抗結核作用を現わすためには、この

アミノ基が遊離している必要がある。今後人の結核に対する治療効果を増強させるためには、INHのアセチル化をより強く阻害する競合的作用のある薬剤の探求が必要であると考えられる。

第4章 PAS

Lehmann がPASの抗結核作用を発見して以来10年になるが、PAS単独の臨床的治療効果はSMあるいはINHに比べて劣ることが一般に認められている。

PASの試験管内における結核菌の発育阻止力は強力であるにもかかわらず、何故に充分なる治療効果を現わしえないかという疑問がある。この疑問を究明することによつてPASの作用機序を解明せんと試みた。

第1節 PASと他の抗結核剤との比較検討

PASとSMおよびINHの試験管内抗菌力、動物治療実験成績をみるに、PASの試験管内抗菌力は強力であつて、その阻止力はINHとSMの中間に位するが、しかしマウス実験的結核症に対する治療効果を各薬剤の重量比で示すとPASは僅かにSMの約1/50、INHの1/1,000の効果を示すにすぎない。臨床的使用量1回3.4g 食後服用の際のPASの血中濃度は、化学的定量法で約50 γ /ccという高い値を示す。このPAS服用時の血清の抗菌力をSlide culture法で生物学的に定量を行つてみると、Dubos-albumin培地で稀釈した場合には、ほぼ化学的定量に一致した活性を示す。したがつてPASが血中へ吸収された場合に化学的変化を受けて無効になるとはいへないので、PASが動物実験ならびに人体投与の際に充分な治療効果を現わしえないのは、他の理由によるものと考えねばならない。

第2節 血清蛋白との結合

第1項 チゼリウス電気泳動法による実験

血中に吸収されたPASを含む血清をチゼリウス電気泳動装置によりalbumin分層およびglobulin分層とに純粋に分離し、おのおの分層中のPAS濃度を測定し、PASと血清蛋白との結合状況を検討したところ、PASはほとんど100% albuminと結合し、globulin分層中は残存しない。

第2項 透析法による実験

さらに同一血清を透析法によつて実験しても、PASは半分以上がalbuminと結合して透析内液に残留する。

第3項 化学的定量と生物学的定量

先に述べた如くalbumin含有量の少ない培地では、化学的定量とSlide culture法を用いる生物学的定量とを同時に行つた際のPASの値はほぼ一致する。しかしこの際96.7%血清含有Dubos培地、すなわち血清培地でPASの結核菌に対する発育阻止力を検討すると、Dubos-albumin培地のPASの発育阻止力に比し10倍

あるいはそれ以上の減弱した値を示す。これと同じ実験 清によつて効力の減弱を来たさない。(表16)
をINHで行つた成績をみると、PASとは異なつて血

表 16 Slide culture 法によるPASの実験成績
結核患者2例朝食後PAS4g 服用

名前 成績 血清	山 石 例				藤 谷 例				PAS 混入		
	稀 倍 積 数	化 定 学 量	成 績		稀 倍 積 数	化 定 学 量	成 績		γ/cc	S	D
			S	D			S	D			
1 時 間 血 清	原血清	62.5γ/cc	-		原血清	42.5γ/cc	-		100	-	-
	3×	20.8	+	-	3×	14.2	+	-	33	-	-
	9×	6.9	++	+	9×	4.7	+	-	11	+	-
	27×	2.3	++	+++	27×	1.6	+	+	3.7	+	-
	81×	0.8	+++	++	81×	0.53	++K	+	1.2	++	++
	243×	0.27	+++	+++	243×	0.18	+++	+++	0.4	++	++
	729×	0.09	+++	+++	729×	0.06	+++	+++	0.13	K	+++
4 時 間 血 清	原血清	13γ/cc	+		原血清	7.95	+		0 対 照	+++	+++
	3×	4.3	+	+	3×	2.65	++	+		++	+++
	9×	1.4	++	++	9×	0.88	++	+		++	+++
	27×	0.47	++	+++	27×	0.29	++	+++		+++	+++

S : 血清培地 (96.7%血清含有 Dubos 培地)
D : Dubos-Albumin 培地

なお諸種薬剤の血清蛋白との結合状況を実験した成績をみると、SMはチゼリッス法では albumin と全く結合せず、透析法でも7%の結合率しか示さない。INHもチゼリッス法で15.3%、透析法で28%の結合率を示す

にすぎない。このようにSM、INHがPASと異なつて血清 albumin と結合し難い事実は、SMあるいはINHの抗結核作用が血清によつて減弱されないという理由を説明するものである。(表17)

表 17 各薬剤の家兎筋注時の血清蛋白との結合状況

薬 品 名	投 与 量	血 中 濃 度	蛋白との結合	
			電気泳動法による%	透析法による%
INH	100mg	34.6γ/cc	15.3	28
DHSM	400mg	295	≒0	7
PAS-Na	200mg	123	≒100	63
Phenyl-PAS	500mg	14.5	38.5	53.3
morphorino ethyl-PAS	200mg	125	≒100	43.3
OH-procaine-Pc	80万u.	53	≒0	21.2
Sulfamine	1.5g	189.6	≒0	15.8
Sulfisoxazole	1.0g	412	53	41.4
Sulfathiazole	1.0g	502	81	28

透析にはセロファン No. 300 を使用する。

PASが試験管内においてSMあるいはINHに匹敵する抗菌力を有し、毒性の点においてもSM, INHより遥かに弱い値を示し、さらに高い血中濃度を保ちうるにもかかわらず、動物実験ならびに臨床実験においてSM, INHより遥かに弱い効力しか現わしえない原因は、上述の実験成績が示しているようにPASが血清albuminと結合し、不活性化されることによるものと考えられる。

PASが血清albuminに結合するのは、PASのカルボン酸基とalbuminの塩基性基とのイオン結合によるものと考えられるので、PASの遊離カルボン酸基をふさぐことにより、albuminと結合しにくいPAS誘導体の発見が当然予想される。種々実験の結果かかる誘導

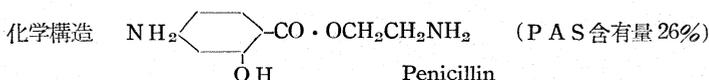
体として、hydroxyprocaine および PAS-phenyl-ester の2つが注目すべき成績を示すことを知った。

第3節 Hydroxyprocaine-Penicillin

hydroxyprocaine-penicillin はPAS誘導体の1つであつてチゼリッス法では血清蛋白と結合せず、透析法でも21.2%の結合率しか示さず、PASとは大いに作用態度を異にする。H₃₇Rv株に対する抗菌力はPASの約1/2で、PABAによつてPASと同様に拮抗される。

マウス実験の結核症に対する治療効果は、PASの1/20の治療量でPASと同程度の治療効果を現わしたが、本剤は毒性が強いため大量投与が不可能であるので、SMあるいはINHほどの充分な効果を期待することはできない。(表18)

表 18 Hydroxyprocaine-Penicillin (OH-P-Pc)



実 験 成 績

薬 剤		OH-P-Pc	PAS	対 照
成 績	H ₃₇ Rv 株	3	1	
	630株(新分離)	1	1	
	中野株(SM-R)	3		SM 100γ 以上
	北畠株(PAS-R)	100	100	
PABAとの拮抗		++	++	
血清蛋白との結合		結合しない	ほとんど全部結合す	
マウス(黒野株使用)治療実験	投 与 量	皮下 2mg	皮下 10mg	
	死 亡 率	10/10	10/10	10/10
	平均死亡日数	43日	40.7日	30.7日
	肺重量(3W)	596mg	290mg	390mg
	定量培養(3W)	+++	++	+++
	治 療 効 果	微 効	微 効	

第4節 Phenyl-PAS

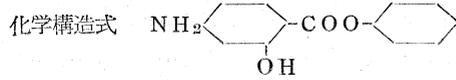
Phenyl-PASは、チゼリッス法で38.5%、透析法で53.3%の血清アルブミンとの結合率を示す。本剤は極めて難溶性の物質で、人体および家兎に投与したさいの血中濃度は極めて低く、同量投与したPASの約1/50を示すにすぎない。試験管内抗菌力はH₃₇Rv株に対して1.5γ/ccで、PASよりもやや劣つている。マウス実験的結核症に対する治療効果は、経口投与した場合は全く無効であるが、皮下へ投与した場合には顕著な治療効果を示し、その効果はPASに遥かに勝り、さらにSMよりもややすぐれた効果を示した。以上述べた如く血中濃度が

上昇せず、試験管内抗菌力もPASに劣る本剤がマウス実験的結核症に対し著明な効果を現わしうる事実は驚くべきことである。しかしながら本剤が経口投与では無効であり、皮下投与の際には局所に壊死癰瘍を生ずるという欠点があるので、臨床的応用は困難であると思われる。(表19)

第5節 新しいPAS誘導体に関する研究

PAS誘導体については多くの研究報告があるが、PASに勝る新しい誘導体は発見されず、依然としてPASのみが使用されている。プロントゾールに始つたサルファ剤がサルファミンに進み、さらにサルファチアゾー

表 19 Phenyl-p-amino-salicylate



実 験 成 績

成績 薬 劑	試内 抗 菌 管 力	毒 性	マウス治療実験							
			投与法	投与量	10週迄 の 死亡率	平均 死亡日数	肺重量 (3W)	脾重量 (3W)	肺定量培養 (3W100×)	脾定量培養 (3W10×)
Phenyl-PAS	1.5γ/cc	急性 LD ₅₀	経口	5 mg/マウス	5 / 6	39日	413	303	∞	∞
		経口 4000 mg/kg 以上	皮下	5 mg	0 / 6		207	223	5	8
		皮下 2000 mg/kg 以上	経口	10mg	4 / 5	50日	217	241	211	250
		慢性 皮下に壊死癰痕	皮下	10mg	0 / 5		140	227	0.8	24
PAS	1.0γ/cc		経口	20mg	3 / 6	69日	192	323	15	267
			皮下	20mg	2 / 6	65日	180	262	16	138
DHSM	2.0γ/cc		皮下	0.5mg	0 / 6		280	360	99	113
対 照					5 / 8	45日	296	299	265	∞

ル、ダイアジン、サルファイソキサゾールと新しい有力な誘導体へと進展したのに比べ、PASに関する研究は誠に遅々たるものがある。

ここにおいてPASが何故効力が劣るのかという命題から出発し、新しい作用機序の観点から実験を進め、hydroxyprocaine と phenyl-PAS の2つのPAS誘導体は新しいより有効なPAS誘導体の母体としての役割を果しうるものと信じ、これら2つの薬剤より導かれた化学構造を有する新誘導体40種を合成し、実験的研究を進めた。

第1項 Hydroxyprocaine 系PAS誘導体

hydroxyprocaine の毒性を低減し、さらに一層の効果を期待するため、ピリミジン核、チアゾール核等で置換した誘導体を合成し実験を行ったが、hydroxyprocaine より以上のものは発見しえなかつた。

第2項 Phenyl-PAS系PAS誘導体

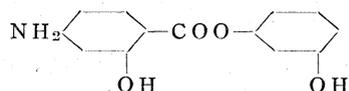
phenyl-PAS系の誘導体として合成したるものは12種であるが、このうち hydroxyphenyl-PAS 群がPASよりも4倍強い試験管内抗菌力を有し、マウス実験的結核症に対してもPASより数等勝つた治療効果を示すことを知りえた。(表20)

表 20 Phenyl-PAS系の新誘導体の試験管内抗菌力
H₃₇Rv株, Dubos 培地, 3週判定

濃度γ/cc.	10	5	2.5	1.25	0.625	0.31	0.156	0.078	0.039	0.02
PAS-Na	-	-	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++
o-Hydroxyphenyl-PAS	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++	+++
m-Hydroxyphenyl-PAS	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++	+++
p-Hydroxyphenyl-PAS	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++	+++
o-Methoxyphenyl-PAS	-	-	-	-	-	±	±	+	++	+++
o-Ethoxyphenyl-PAS	-	-	-	-	-	+	+	++	+++	+++
p-Methoxyphenyl-PAS	-	-	-	-	-	-	±	+	++	+++
Phenyl-PAS	-	-	-	±	+	++	+++	+++	+++	+++

hydroxyphenyl-PAS群のうち現在までのところ最も有効と考えられるのは o-hydroxyphenyl-PASである。(表21)

表21 Ortho-Hydroxyphenyl-PAS



第6節 o-Hydroxyphenyl-PAS

本剤は白色結晶粉末で、アルカリ性において水に可溶である。試験管内抗菌力は H₃₇Rv 株に対し Dubos 培地で 0.3γ/cc であつて、同時に行つた P A S の 1/4 の低

濃度でよく發育を阻止する。試験管内で行つた P A B A との拮抗現象は、10γ/cc の P A B A によつて P A S の抗菌力が 100γ/cc 以上に減弱されるのに反し、本剤では 25γ/cc に減弱されるにすぎない。(表22)

表 22 Phenyl-P A S 系の新誘導体の P A B A との拮抗現象
Dubos 培地 P A B A 10γ/cc 添加, H₃₇Rv 株, 3週判定

濃度 γ/cc	100	50	25	12.5	6.25	3.1	1.56	0.78
薬劑								
PAS-Na	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
o-Hydroxyphenyl-PAS	-	-	-	+	++	+++	+++	+++
o-Methoxyphenyl-PAS	-	-	-	+	++	+++	+++	+++
o-Ethoxyphenyl-PAS	-	-	+	++	++	+++	+++	+++

マウスに対する毒性をみると、LD₅₀ は皮下投与では約 4,000mg/kg, 経口投与では約 2,000mg/kg で P A S と同程度で毒性が低い。家兔の血中濃度は経口 250mg/kg 投与の際には、1時間値が最高で 31γ/cc という比較的高い値を示す。マウス実験的結核症において本剤と他

の hydroxyphenyl-P A S との治療効果を比較検討した成績をみると、本剤は他の薬劑に比し死亡率および平均生存日数においても、体重増加率曲線においても勝つた成績を示しているし、また 3 週屠殺時の肺重量、肺定量培養成績でも同様の成績がみられる。(表23)

表 23 平均生存日数および死亡率

治療薬劑	治療方法	治療量	死亡せるマウスの平均生存日数	8週までの死亡率
o-Hydroxyphenyl-PAS	経口	5 mg	41日	2/7
o-Hydroxyphenyl-PAS	皮下	1 mg	48.7日	3/7
m-Hydroxyphenyl-PAS	経口	5 mg	44日	7/7
m-Hydroxyphenyl-PAS	皮下	1 mg	34日	5/7
p-Hydroxyphenyl-PAS	皮下	1 mg	44.3日	7/7
PAS-Na	経口	5 mg	33.8日	6/7
感染無処置群			38.7日	7/7

hydroxyphenyl-P A S は OH の位置が ortho, meta, para のいずれであつても試験管内抗菌力に差はなく、マウスに対する毒性の点でも三者の間に特に大きな差が認められないにもかかわらず、三者のうちで ortho 体のみが動物実験で特に有効であることは興味深い、この機序についてはさらに検討を要する。一方 hydroxy を methoxy あるいは ethoxy で置換した場合には、試験管内抗菌力はほとんど変わらないが、動物治療実験ではこれらはいずれも ortho-hydroxyphenyl-P A S よりも劣つた成績を示した。これはこれら置換体が水に溶け難いために血中濃度が上昇し難い事実で説明できる。

上述の実験成績は o-hydroxyphenyl-P A S が P A S より数等勝つた新しい P A S 誘導体であることを示している。そしてその効果はほぼ SMI に匹敵するほど強力であると考えられる。

結 語

化学療法的作用機序という広汎な題目をかかげたが、主として化学療法的作用機序に影響を及ぼす生体側の因子を中心として述べた。

(1) 臨床統計的観察から、空洞ならびに乾酪巣の性状の諸因子が化学療法の効果に及ぼす影響を検討し、周囲に新しい浸潤を有する空洞に対しては SMI を含む化学療法は濃縮被包化を来し易いことを認めたが、INH に乾酪性物質融解作用のあることを積極的に証明しえなかつた。重症肺結核患者に対しては殺菌療法以外に救うる途はないと考えられるが、空洞吸引後高濃度の INH 注入によつて見るべき効果を得た。

(2) 化学療法劑と cortisone 等の副腎皮質ホルモンの併用は、化学療法劑が有効であることが絶対的な前

提条件である。

(3) INHおよびその誘導体の研究から、これらの作用機序に生体内アセチル化機転が重大なる影響を及ぼすことを見出し、INHの生体内アセチル化を防ぐためには、INHと併用して競合的役割を演ずる薬剤の探求が必要なることを述べた。

(4) PASが血清 albumin と結合することは、その作用機序に重大なる影響を与えることを証明し、hydroxyprocaine および phenyl-PAS の研究から、新しいより有効なるPAS誘導体として、ortho-hydroxyphenyl-PASを見出した。これが真価は今後の動物実験、臨床実験によつて正しく批判されることと思う

が、この研究を契機としてより有効なるPAS誘導体の出現を期待している。

謝 辞

終にのぞみ、本講演の機会を与えられた限部会長に厚く御礼申上げる。

また大森教授、石田教授の多年の御指導、厚生省結核療法研究協議会および文部省科学研究費結核班の諸先生方の御指導ならびに埼玉療養所を始め諸施設の御後援に対して深謝する。殊に文字通り寝食を忘れて多年御協力された医局同僚伊藤信也、青柳昭雄、栗田棟夫、井上礼太郎、小原正夫、熊谷敬の諸兄には御礼の言葉もない次第である。

結核症の発病について

—結核症の進展について—

国鉄東京保健管理所 千葉 保之

日本における再感染発病論者の代表は、内藤さんと家森さんであると思っております。ところがお説を拝聴しておりますと、意外にも、私と同一結論でありましたので、いささか闊志を失つたような気がいたします。……むろん結論にいたるまでの道程においては、かなり私とくいちがった点もあるようでございます。しかし、それらも、なんら本質的な問題ではなかつたようです。なんとなればご指摘の数字については、あとで、いちいち、新進の人たちから、お答えいただくつもりでおりますが、要するに、問題は、観察された所見をどう解釈するかという点にあると考えられるからであります。もともと観察された所見というものは、真実そのものではありません。所見によつて、その真実をつかまへようとしているだけのことであります。ところが、その所見は、つかわれた手技の可検域と適用方法とによつて自らその内容がちがつてきます。それだけに、所見の解釈も、いろいろちがつてくることも、やむをえないと思ひます。ただそこには、2つの面があると考えられます。すなわち可能性 (Possibility) と普遍性 (Probability) であります。可能性は頭のうえではいかようにも考えられることとございましょう。しかし、その可能性がどの程度ありそうか、Probable だかということとは別問題であると思ひます。真実はすべて可能性から普遍性を通して初めて具体的になつていくものだからです。したがつて、内藤さんがお示しの所見については、可能性のうえからは、まったく同意見でございしますが、普遍性のうえでは問題であろう、むしろ私は、反対の解釈をいたしたいと思ひます。そこで、内藤さんのご親切なご指摘にも沿いたい意味で、あらためて、私の基本的な解釈をのべさせていただきます。

1. 陽転時の意義

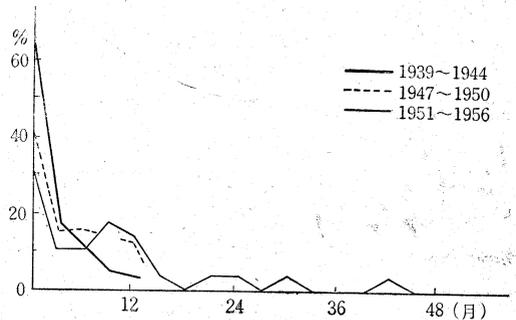
結核症の発病を論ずるにあつて、私が陽転時の重要性をとくに強調するのは、次の所見によつたものでございます。

- ① 陽転早期に新病巣が集積する。
- ② 陽転早期に肺内転移をおこしやすい。しかもそれは肺尖、上野に多い。
- ③ それらの病巣は陽転早期ほど悪化、進展しやすい。

い。

まず第1点は1図に示すようでございます。太線は終

第1図 陽転より病巣発見までの期間



戦前。ほかには戦後のもの。一見してわかるように、戦前・戦後を問わず、病巣発見が陽転早期に集つております。この傾向は戦前のものがとくに著明です。年数でいうと1年までが目だつております。戦後の傾向としては、発病率そのものが下つておることはこの図でも明らかであります。しかし発病までの期間がおそくなつたかどうかは、かんたんには申せぬのではないかと思います。なんとなれば、なるほど、この図でも Curve が1年後のほうに延びているようにみえます。ところが、この終戦前と後とはまず検査方法がちがつております。X線検査でいいすと終戦前は直接撮影、戦後は間接撮影が主になつております。可検域のちがいの大きいことは申すまでもありません。次に検査間隔です。同じ検査でも3ヵ月ごとにするか6ヵ月ごとにするかなどで自ら発見の時期がおくれてまいります。1回は終戦前のが1~3ヵ月、戦後が3~6ヵ月間隔です。間隔の長くなるにつれ、発見のずれてくるのが考えられます。

検査方法の次に陽転時期の確認方法の問題があります。ことにBCGをさした場合は。戦後には法律化とともに、この接種がよく普及し、それに、BCGワクチンそのものも改善され力価もあがり、したがつて自然陽転との鑑別がいよいよ難しくなつてきております。かてて加えて戦後のツ液の力価の動揺、反覆注射の影響などツ反応の可検域をいろいろと左右しております。

いつばう陽転期の確認を問診で行うと、そのまちがいは大きくなります。病氣などの既往症とちがつて、ツ反

応の結果など忘れやすいものです。いつも陰性あるいは陽性などのときはともかく、途中、陰転したり陽転したりなどした場合は、まず半分はあてになりません。私たちの調査では、1～2年間の短い間の記憶ですら45%の思いがいが証明されました。これは年齢にも教養にも必ずしも左右されておりませんでした。なおBCG接種したかどうかの間診でも同様でした。戦後、ほかの予防接種も普及していますので、それとの思いがいがいも少なくありませんでした。

このように検査手技の可検域の程度によつて、得られた所見がちがつてくるだけではありません。対象のとりかたにもひどく関係してまいります。たとえば外来患者ないし入院患者などについて見る場合です。この場合はたとえ記憶によつて調べたとしても、その結果はそのまま信頼することはできません。何となれば、そのときの外来なり、入院なりの患者はたまたま、陽転の古いものだけ集つたものかも知れません。そうでないという保証はどうしてつけられますでしょうか。もし陽転早期に発病した者がより多く、すでに外来なり入院なりをすましておつたとしたら、その調査では陽転後早期の発病が少なくなるのはあたりまえのことでしょう。とかく、幸いにして検査しえた者だけの成績では普遍性が少なくなります。同時にその時たまたま検査しえなかつた者つまり脱落者の調査もしなければ、可能性はいいえても普遍性の検討はできないはずです。

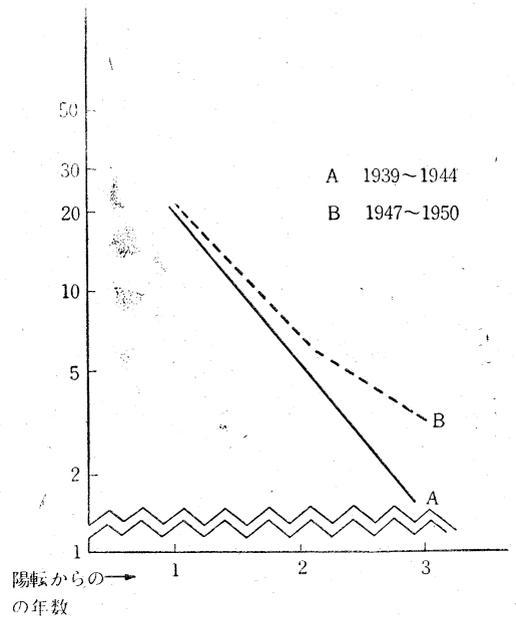
また特殊の職業集団だけをみた時も、データのかたよりを吟味しなければならぬこともあります。たとえば鉄道従事員だけといった場合がそうです。しかし幸いなことには、鉄道員と申しまして、そのなかには日本人の代表的な職業はみな含まれております。いずれにしても鉄道以外の5集団をしらべてみましたところでも同様でした。

つまり、終戦後の今日といえども、なお陽転後の発病は早期に多いということが言いうると思います。

陽転時の重要性を考えられます第2の点は、はじめの転移も陽転早期に多いということでありま。2図がそれです。A線は終戦前でははじめが高率ですが、以後はぐつと低くなつてまいります。終戦後(B線)も同様です。もし3年以内に転移をおこしたものだけについてみると、その7割までが1年以内におこつております。次にその転移率は肺尖ないし上野に圧倒的に多くあらわれます(拙著:結核初感染の臨床的研究, 東鉄保健管理所報2集)。もし肺上野のほうが治りにくいというようなことがあるとしたら、なおたいへんです。これらの転移率のうちには、将来いつの日か、やがて燃え上ることなしとはだれもいいえないことでしょう。

第3点に、陽転早期の病巣は、初感染巣であれ転移巣であれ、はじめのうちは、とくに悪化しやすい傾向をも

第2図 陽転後転移形成までの期間



つておることです(既述拙著)。

したがつて、これらの理由からだけ申しまして、陽転早期ないし陽転時の意義は、発病の見地からは、重大であります。しかもそれは終戦後の今日と雖も、なおまだ忽せにできないと考えるものでございます。

と申しまして、陽転早期以後はまつたく病巣があらわれないというのではございません。そのあらわれる率はぐつと低くなるが、なおかつポツポツ発見されることはたしかであります。結核は慢性的の病気ですから1年や2年で完全に治りきるなどとは考えられません。再発したり治つたりまた再発したり、くりかえすことは稀ではないでしょう。だから結核の発病があつて尾を引くのは当然であろうと考えます。ただここで峻別したいのは発病論と予防対策です。前者は人工的にどうこう動かすわけにはいきません。しかし後者はどこかで割り切らないと実行にはうつすことができません。医学と行政は常にこうした関係にあります。たとえば、もし発病防止にだけ全生涯を捧げて悔いなしとでもいうのでしたら、陽転早期などはおつしやらずに、一生懸命と安静にでもしているにこしたことはないかも知れません。しかしそれは聖人ならぬ人間生活の実際においては、むずかしいことであると思います。だとすれば、どこかで一線をひかねばならない。もつとも危険なときだけは、せめて、それに専心する。あとはほどほどに——ということになることでしょう。それが陽転早期の間ということですから。もし数字で言うなら、1年ぐらいというところになることと思います。短かいてこしたことはないので半年ぐらいならいいのですが、そうもいかないの、少なく

とも1年という線をひいたのです。全国民を対象としたら、まあ、このへんががまんできることだろうと割りきつたのです。だからこそ1年を過ぎても、少なくとも年1回は集団検診をうけていただきたいということにもなっておるわけです。

2. 結核症への進展

この問題については、古来、世界的に論議の多いものであることは申すまでもありません。日本では北欧の Heimbeck (1929) らと同様に有馬 (1929)、今村 (1931)、岡 (1932)、熊谷 (1938)、見田 (1941) らによつて、初感染巣からの続発説が主張されていました。

いずれにしても、この問題の検討には、次のような諸点が重要であろうと思います。採られた材料にかたよりのないことが1つ。これがためには、たまたま外来を訪れたような陽転者などを集めたのでは危険性があります。やはり、いろいろな集団について、ある時期に陽転したものの全員残さず対象とすることが必要となります。次は、観察の途中、一時検査不能になった者までの調査。それから、陽転早期の病巣は動きやすいからX線検査間隔を短かく定期的にやること。そうでないと、どつちが先か後かわからなくなります。また観察対象の数も、かなり多くないと、普遍性はいいえない——など。この線に沿つて終戦前、3,838名の陽転者から625名に病巣を発見し、それを中心として研究したことがあります。その結果、やはり、結核症は初感原発巣から進展すると結論したのでした。終戦後の研究でも、この点については同様の結論を得ております(東鉄保健管理所報2集)。その際、主要なものとしては次の2つを考えております。すなわち

- ① 初感原発巣の進展拡大
- ② 初感原発巣からの転移

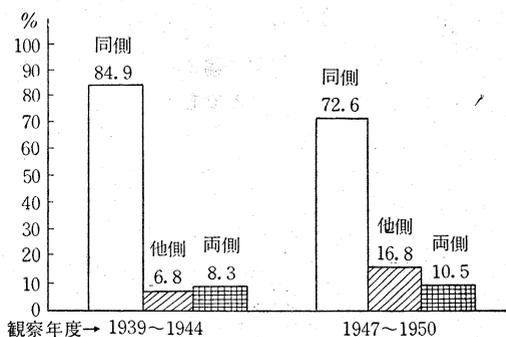
むろんリンパ腺巣からの転移その他も考えられないことはないでしょうが、私たちの成績では、問題とならない数字で、少なくとも主なものではなからうと思います。初感原発巣からの転移につきましては、すでに申しあげましたように陽転早期におこり、肺尖野に多いので、その予後はかなり重大なことが多いわけでございます。だからといつてしかし、この肺尖転移巣だけをとくに重視して別扱いにする必要もなからうと考えます。なんとすれば、結核においては、いつたん、病巣が成立すると、その病巣は独立し、わが道を歩いていくからです。原病巣が治ろうが治るまいが、そんなことには関係なく、あとからの転移巣は勝手に経過していきます。ことに肺尖ないし上野のものは陽転早期のものほど進展しやすい傾向がみうけられます。つまり時には原発巣が治り転移巣から進展することもありうるわけです。このようなものを Hedvall らは Subprimäre Initialherde と名

づけたのでありましょう。だが、こういう場合は、私たちの多数例のなかでは、きわめて稀だつたのです。つまり初感原発巣の進展拡大が主でありました。Hedvall らが Subprimäre Initialherde とした例でも、原発巣を証明しておるものはわずか19例中3例にすぎません。証明できなかつた例まですべて、わざわざ、前に原発巣があつたと考えることもないでしょう。むしろ、それをそのまま原発巣と考えたほうがより Probable ではなからうかと思つたわけです。そこで、私は Subprimäre Initialherde はほとんどすべて初感原発巣の一型(臓影ないし斑点集合状影)であると推論したのでした(1948)。Frostad らも同様の結論をえております(1944)。ところが Hedvall は Frostad に答えて、その例は急性の場合で、われわれの場合は亜慢性ないし慢性の場合であろうと反論しております(1946)。この点については今後なお研究の余地があると思つております。ただ、熊谷は Subprimäre Initialherde のできたときはすでに第二次結核症の第1歩であろうといつておるように、私も、現在までのデータから、経過の急性、慢性はともかく初感原発巣が結核症の出発点であるといつたほうが、むしろスッキリするのではないかと考えております。

Bräuning らの Frühinfiltrat (1922~1938) についても同様です。この仕事の致命的欠陥は初感染の証明がないことです。強いて発生論的に考えるとすれば、私は、その大部分は初感原発巣の一型(整形影)にあたと解釈したことがございます。

次に転移の様式です。可能性はむろん、気管支性も血行性もあると思います。しかし普遍性からいいますと気管支性が主であろうと思つております。何となれば転移巣は、陽転当初でも同側に圧倒的に多くおこるからです。第3図がそれです。転移源(初感原発巣)に対して

第3図 肺内初発見転移巣の転移源に対する発見例



8割前後同側におこりました。終戦前後とも同傾向です。もし血行性であるとすれば両側にくる Probability は多いと考えねばなりません。

転移の進みかた：初めての転移は肺尖に多いと前に申しあげましたが、その次はどこかを調べました。そうす

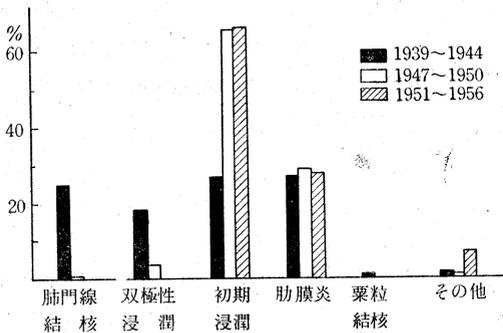
ると、肺尖から下の方へ進んでいくことが、やはり多い、もし反対側に転移をおこす場合は、これまた肺尖が多い、それからあとは、ほかのところ、すなわち下へ、このようなことが重なりあいますと転移巣は肺尖ないし上野に多く、それから下のほうへ拡がるということになります。また、それらの病巣自身についてみても、はじめのもののほど空洞化しやすい傾向をもっております。

以上要するに、肺結核症は主として、初感染発病から原発巣自身が進展拡大するいつぼう、転移は気管支性にまず肺尖・上野におこり、やがて Apico-Caudal に進むことによつて成立する——と結論するものであります。

なお初感染時の特異症状の一つとして、かつて Erythema nodosum があげられておりましたが、こんどヨーロッパで Hedvall と会つたときの話では、自ら、あれは非特異性のものだろうと訂正しておりました。

陽転後初めての病型：陽転後はじめての病型は4図に

第4図 陽転発病者の初発見時病型



示すようです。肺門リンパ腺の腫脹は終戦後には、目立って少なくなりました。したがって相対的に初期浸潤の比率は高まつてまいりました。ただし肋膜炎については、まだそんな傾向はみえません。にもかかわらず外来などで、少なくなつたのは、主に陽転発病者そのものの絶体数が総体的に減つてきたためだと考えられます。

3. 再感染発病と再発

再感染があるとすれば、そのもつともおこりやすい例として夫婦結核が検討されております。古くは Jacob u Pauwitz 以来、近くは小池らの精細な調査があります。いずれも、夫婦ともに結核だつた例は10%前後を示しております。しかし、これらは問診を主としたものでありますので、私たちは、自ら実際に検査した例を集計してみたことがあります。これによると夫婦とも結核はやはり8%でありました。これをさらに追求すると、結婚前にツ反応陰性または病巣をもつておるもの、すなわち初感染発病もしくは再発と認められるものが大部分でした。残る1%だけが結婚前の状態が不明でありました。

しかしこの1%さえも、以上の Probability を考えると、まるまる再感染発病とは考えられません。それどころか、ほかの発病も同じ割合で考えるなら、むしろ再感染によるものを否定したほうが、より Probable です。

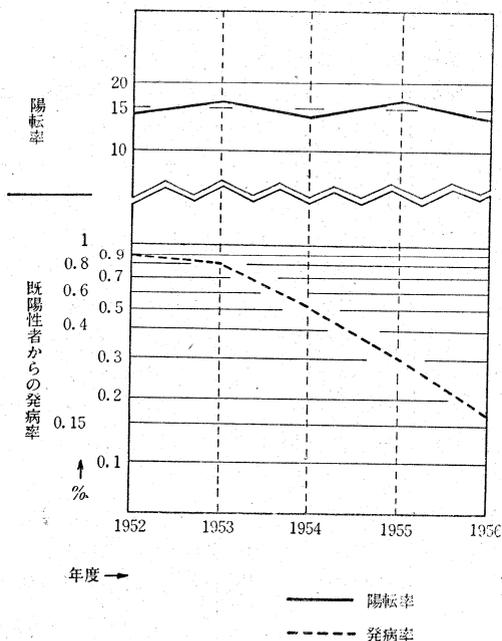
次に職場における発病のすがたを追求してみました。まず1年以上前にすでにツ反応陽性いわゆる既陽性で病変をもつてないもの6万人について肺門リンパ腺腫脹がみられるかどうかの検討です。この集団を毎年、定期的にみてまいりますと、年に2~3人、それらしき陰影を発見します。%にしたら0.01%附近。しかしこれもさらに分析撮影したり経過をみたりしてますと、S₆の結核巣だつたり、ガンだつたり、ときに一過性のものだつたりして、またたしかに肺門リンパ腺腫脹例と診断された例はありません。肋膜炎などについても同様です。みつげられる%は、もつと多いですが、それをそのまま結核性とはいいい切れません。未感染者にでも、ほぼ同率にみられるからです。

さらに空洞をもち伝染源とみなされる人と同一職場に働き、密接に生活していた既陽性無所見344名と、職場にまったく結核有病者をもたなかつた既陽性無所見者124名とを5年間にわたり、追いかけてながら調べた成績がございます。これによると発病率は伝染源のなかつたほう1.6%、あつたほう1.2%で大差ありません。しかしその職場の陰性者からの陽転率は伝染源のあつたほうが、はるかに高く3倍。例数は少ないが、これではまず再感染発病は考えにくいと思います。

最後に、28,000名の集団を最近5年間みた成績があります。その間、約1割、転勤、退職、死亡などありましたが、これら脱落者についても、無作為抽出で調べた結果は、とくに材料のかたよりはみられませんので、ここでは在籍者についてだけ述べることにいたします。

未治病巣をもつていなかつた既陽性者の経過です。5年間に2.6%に新しく病巣を認めております。年平均0.5%。これはむしろ間接撮影を年1回ずつやつておつた集団です。もし病巣を新しく発見したら前の間接をみなおし、前にあつたらその時の発見というふうに訂正して、毎年の新発見率をみますと5図のようです。すなわちはじめ0.9%、その後、数字はともかくだんだん減つて来る傾向は著明であります。しかるに自然陽転率は年間15%の線であり動きません。この陽転率は外来性に菌をふりかぶる率とも考えられますが、その率は下らないのに、病巣発見率だけが下るとすれば、これはもう再感染発病以外の因子をより多く考えるのが Probable だということになります。たとえば、同じ対象でもはじめ間接でなく直接撮影で無所見なものからの発病率をみると、5年間にわずか0.9%で間接の%となります。ということははじめX線検査の可検域以下で発見できなかつ

第5図 陽転率および既陽性無所見者からの結核新発見率

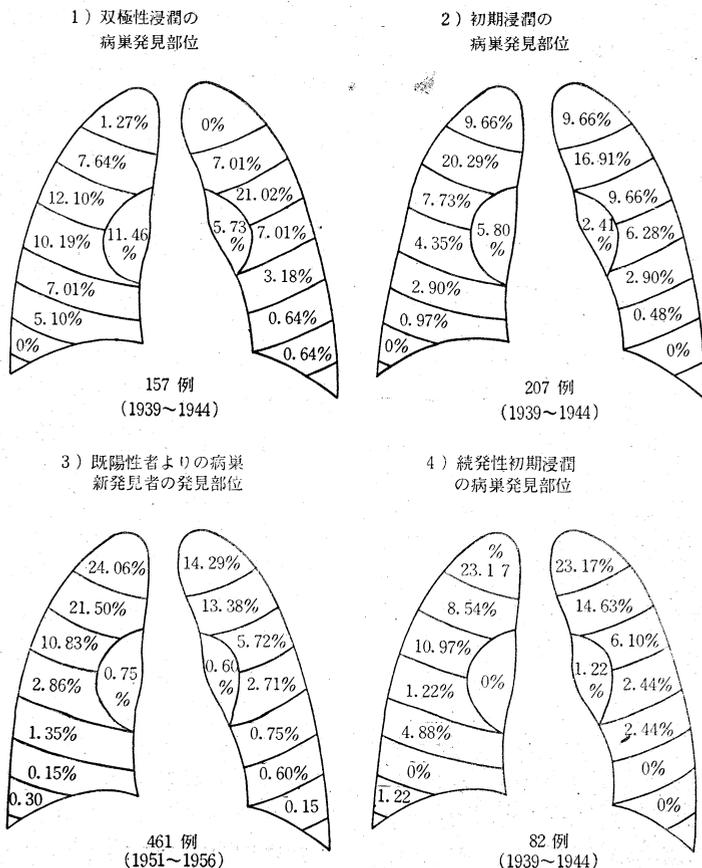


たものからの再発と考えるほうがより確かであるということになります。

次にただいま申しました既陽性無所見者からみつけた新病巣の発見部位をみたのが6図です。双極性浸潤は第2肋間野に多い、初期浸潤は第1肋間野。しかるに肋膜炎、リンパ腺腫脹からいきなり肺内にあらわれた続発性初期浸潤すなわち初感原発巣からの転移と思われるものは肺尖野に多い。既陽性無所見者からのものは、この転移型に近い。つまり陽転後におこしやすい転移巣が、X線可検域下に潜在しており、たまたま情勢の変化により進展してきたと考えるほうが、より自然だと思います。むしろ一部は初感原発巣の再発とも考えられますが、といつてムリに再感染をもちだすこともなかろうと思います。

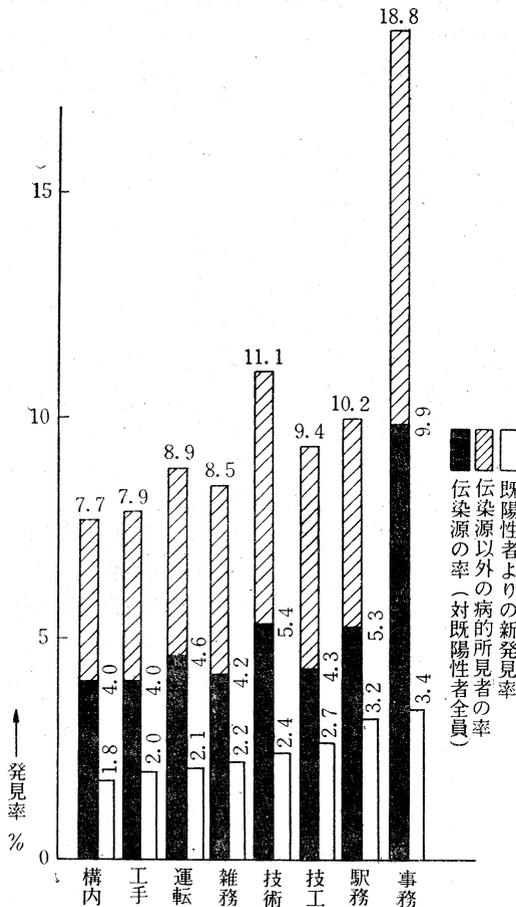
こんどは伝染源がたくさん同じ職場にいた場合といない場合と既陽性者からの発病の頻度のちがいをみました。これが7図です。発病率(白樺)の低いほうから高いほうに集団をならべてみました。この白樺に対して、それぞれの伝染源の密度(黒樺)をみますと、このほうは必ずしも平行しません。ということはもし再感染発病があるとすれば、伝染源が多い集団ほど発病率が高くて然るべきだと思います。そうでないことは再感染発病で

第 6 図



は説明できません。

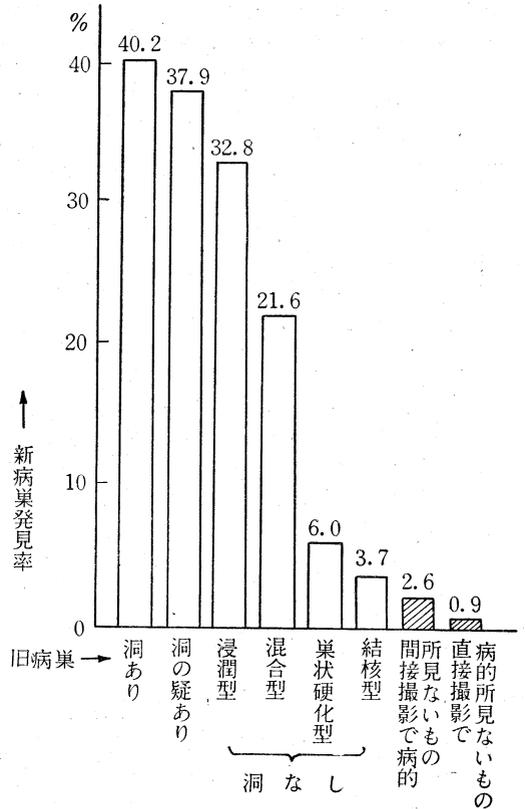
第7図 業務系統別新発見者 (既陽性者18,009名の5年間の観察)



観点をかえて、すでに病巣をもっているものについて5年間に新しい病巣をあらわしてくる%をみたのが8図です。新病巣発見率はむろん空洞あるものに高く、ないもの、かたまっているものほど少ない。したがってこの場合、私たちは新病巣をもつて、旧病巣からの転移であるとするには、たれしも、そう異論ないと思います。同様のことはまた旧病巣それ自身の悪化率についても、いえると思います。この論理を同様に進めてまいりますと、X線ではじめ病巣のみえないものに、あとになって新しくみえてきたとしたら、次のように解釈するのが普通だと思います。すなわちはじめは小さくてX線可検域下にあつた病巣からの転移ないしそれ自身の悪化であろう——と。間接では2.6%、直接では0.9%、年間平均0.2%以下ということになります。

以上要約しますと再感染発病の可能性はいかようにも考えられるが、それも最大限は直接撮影の場合の年平均0.2%以下ということになります。しかもこの0.2%以下のなかでも、同じ確率で悪化ないし再発の因子が考えら

第8図 病的所見者の悪化 (病的所見者1949例について5カ年間に悪化例516例26.5%)

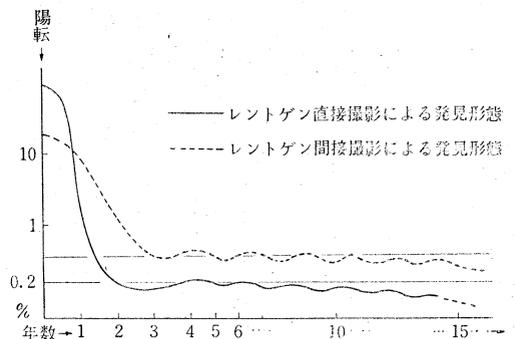


れるとすれば、もはや数字のうえでは再感染発病は問題にならないであろうと推論されます。少なくとも日常生活では、再感染発病は Probability のうえではゼロに近いといわざるをえないのであります。

結 語

そこで私は結核の発病の模型を次のように考えております (第9図)。

第9図 陽転と結核症発見との関係模型図



直接撮影でしかもたびたび検査するほど発病は陽転期

に近く認められる。それ以後はしばらくは発病があらわれなくさえる。もし間接撮影で、検査間隔も長びくほど陽転期をはなれていく。さも発病までの期間が長くなつたように見える。しかしいずれにしても検査方法には可検域があるし、また結核症は慢性の経過をとるもので

あるから、陽転期早期以後はまったく発病がゼロになるとは考えられない。ゼロにむかつてゆるく、長く尾を引くであろう。そして陽転からずつとあとに発病してくるものと雖も、それはやはり再感染発病でなく、再発が主であろう。

結核症の発病について

—疫 学—

—旧くからツベルクリン反応陽性であつた者
からの新しいX線の発病の問題—

京都大学結核研究所 内 藤 益 一

最初に本シンポジウムに参加の光栄を与えられた隈部会長に御礼を申し上げます。なお時間の都合上本主題に関連した諸家の文献の大部分を省略させて頂いたことをおことわりして置きます。

さて結核の発病という言葉はかなり漠然としておりますので、まず私のこれから使わせて頂く言葉の意味をはつきり限定して置きたいと思ひます。すなわち「結核の発病」なる言葉を肺のX線の発病、すなわち「従来の検診でX線的に全く異常所見がないか、石灰化陰影を認めるのみであつた者に、今回結核性陰影と思われるものが新しく出現した」という意味に使ひます。また陽転発病とは千葉さん所沢さんの御解釈より余祐を持たせて「BCGによらない陽転の後2カ年以内のX線の発病」という意味に使ひます。既陽性発病とは「2カ年以上前にBCGによらないで陽転している者に起つたX線の発病」という意味に使うことにします。

さてツベルクリン陽転に引続いて肺結核が発病する場合についての研究は、わが国では殊に精細に行われてまいりましたが、私がここに取上げようとするのは、旧くから既陽性であつた者における新しい発病の頻度、爾後の経過、そしてそのうちに含まれるかも知れぬ外因性再感染発病の可能性の問題であります。

わが国において成人初感染について最も広範かつ精密なる調査を試みられた千葉さん方の結論によると、「日本では結核症が初感染から続発することが多く、ツベルクリン既陽性無所見者からその後病巣を発見することは極めて低率である。自分の調査では初年度に0.54%、次年度は0%であつた」と言われ、また「陽転者中その16.3%が初感染巣を現わし、1~3年後にその半が治癒した。そしてその有所見者は全部陽転後1カ年以内に発見された」と述べておられます。これを文字通り解釈すると、陽転者の8%位が軽重はともあれ慢性肺結核に移行し、その他は大體一生涯肺結核発病の心配がないという風にも取れる、極めて明快に割切られた結論でありました。果してほんとうにそこまで割切つておられたのか、あるいは当時の状態において、成人初感染肺結核につ

いての啓蒙の熱意から割切つた表現法を取られたのではないかも知れられるのであります。

それはともかくとして、成人のツベルクリン陽転に引続いて現われる肺結核発病の問題がわが国において広くかつ深く認識されたことは、先覚熊谷、岡岡氏に引続いて千葉さん所沢さんの偉大なる功績によるものと深甚の敬意を表するものであります。また私自身がこの学説を強く支持していることは昭和18年の本会における私の報告をお聴き下さつた方々の後記憶に残つているところと信じます。

しかし、一方観点を變えて見ますと、千葉さん方のあまりにも割切られた結論では説明に困難を感じる2~3の事実に当面するのであります。

まず第一に、化学療法切除術以前の昭和10年代のわが国の死亡統計を見ますと、毎年の全死亡者の約13~14%が結核で死亡しているのであります。(第1表)近藤さ

第1表 結核死亡数と総死亡数との累年比較
(近藤氏 結核の予防とその対策より)

年次 (昭和)	総死亡数	結核死亡数	総死亡千に付 結核死亡
14	1,268,760	154,371	121.67
15	1,186,595	153,154	129.07
16	1,149,559	154,344	134.26
17	1,166,630	161,484	138.42
18	1,219,013	171,473	140.66

んの補正を適用すると、17%弱という数字になります。これが決して一時的の現象でなく、かなりの間続いているのでありますから、大雑把に言つてその頃の日本人の17%は結核で死に、83%は他の病気で死んで行つたと言つて非常に大きな誤りはなからうと思われるのであります。ところで前述の千葉さん方の御説で陽転者の8%位だけが慢性肺結核になるのだとすると、どうもあまりにも数字の差違が大き過ぎると思われるのであります。第一に日本人のうちには結核に感染しないで死ぬ人

も相当ある筈ですし、またX線的に慢性肺結核の病像に移行した人がいくら昭和10年代でも全部が全部死んだ訳ではありません。そこで千葉さん方の御説から考えると、その頃の毎年の全死者中の結核死亡者の割合はどう考えても5%を越える筈がないと推定されるのであります。それが事実には17%という数字が出ている、これが第1の矛盾であります。

次に、見方を換えて昭和10年代の日本人の1年間のツベルクリン陽転者の数を推定して見ましょう。最近の厚生省の実態調査で全国民のツベルクリン陽性率は60%であり、このうちにはBCGによる陽性者も含まれている筈であります。それから類推して昭和10年代のツベルクリン陽性率はどんなに高く見ても60%を越えたことはあるまいと考えます。さて当時毎年の陽性率に大差はなかつたと推定して考えを進めましょう。

全国民の毎年のツベルクリン陽性率は主として1カ年

間の死亡者と出生者と陽転者によつて変る筈であります。このうちで死亡者の陽性率は一般より高いのではないかと想像されますが、その人達の死亡によつて全国民の陽性率に大幅の低下が惹起されるとは考えられません。そこで毎年の陽性率に大差がなかつたとすれば、出生と陽転とで大体相殺していたと推定されます。すなわち1カ年間に生れて来た者の数の60%以下の数が1カ年間に陽転していたであろうと推測されるのであります。さて当時1カ年間の出生数の平均を調べて見たところ、ざつと211万で、その60%と申すと126万6千、これ以下がすなわち当時の1カ年間の陽転者数と推定されるのであります。一方その頃の1カ年間の結核死亡数は近藤さんの補正を適用すると平均21万3千でありますから、当時1カ年間に100人以下の人が陽転する一方で17人が結核で死んで行つたということになるのであります。

(第2表) 勿論個々の人間の陽転と死亡との間には大

第2表 昭和12~18年におけるわが国の総人口、出生数、
総死亡数および結核死亡数

年次 (昭和)	総人口	出生数	総死亡数	結核死亡数
12	70,360,000	2,164,949	1,207,899	144,620
13	70,590,000	1,911,966	1,259,805	148,827
14	70,930,000	1,885,957	1,268,760	154,371
15	72,540,000	2,100,164	1,186,595	153,154
16	72,750,000	2,260,270	1,149,559	154,344
17	73,450,000	2,216,271	1,166,630	161,484
18	73,980,000	2,235,431	1,219,013	171,473
平均値		2,110,715		155,468

な時間的「ずれ」があり、しかもその間の年月はまちまちではありますけれども、その頃の結核死亡者がさかのぼつて陽転した頃の一般の陽転率が死亡した頃より高かつたとは考えられませんから、100人以下が陽転してそのうちの17人が結核で死亡したと推定しても、死亡率を著しく過大に見つめたとは言えないのではないかと考えられるのであります。そこで前述の千葉さん方の学説から割出した「慢性肺結核に移行した8%」がみんな死んでも未だ9%不足ということになります。これが第2の矛盾であります。

さて次に、昭和28年度厚生省結核実態調査の成績からツベルクリン陽性者中のX線の有所見者率を年齢別に推定して見たのが第3表なのであります。これを見ますと、30歳以上の陽性者のうち33~44%がX線の有所見者であります。千葉さん方の学説では「陽転者中その16.3%が初感染染を現わし、1~3年後にその5%が治癒

第3表 昭和28年度厚生省結核実態調査成績

年齢階級別	「ツ」陽性率	肺結核有所見者率	「ツ」陽性者中の有所見者率(大約)
15~19	70.8	9.2	13.0
20~24	68.8	13.5	19.6
25~29	72.0	19.2	26.7
30~34	71.1	23.3	32.8
35~39	69.5	24.3	35.0
40~44	69.2	24.8	35.8
45~49	68.7	27.3	39.8
50~54	67.1	27.4	40.8
55~59	63.9	28.1	44.0

した」とありますが、治癒した者の全部が何等かの陰影

を残したと仮定しても16.3%である筈であります。33~44%という数字はあまりにも多過ぎはしないでしょうか？ 勿論陽転後年月を経て石灰沈着と共に初めて陰影を現わすこともありましようが、一方陽転後現われた陰影で後に見えなくなるものも多い筈です。また年齢と共に有所見者率が高いのは、年齢が長ずるに従つて陽転に引続くX線の発病率が高くなるのでしょうか？ かような事実は私自身を含めて諸家の報告に認められないところであります。とすれば何をもちて説明したら良いのでしょうか？ BCG接種が若年者に多いからという説明も一応は成立ちますが、それでは30歳以上でなお増加することの説明がつかかねます。これが第3の矛盾であります。

しかし上述の実態調査成績には非結核性異常陰影がある程度混入していることと想像されますので、次に私共自身が1工場の集団検診で、非結核性異常陰影をできるだけ除いて集計した成績を(第4表)に御覧に入れます。本工場はBCG接種を励行しているためツベルクリン陽性者即自然感染者とは言えないのでありますが、しかもなお30歳以上で陽性者中X線の有所見者率は23~26%という高率を示し、これまた年齢と共に上昇の一途を辿っているのであります。これが第4の矛盾であります。

第4表 工場における結核実態調査

年齢階級別	「ツ」陽性者	「ツ」陽性者中の有所見者	「ツ」陽性者中の有所見者率
15~19	1,161	81	7.0
20~24	2,719	345	12.7
25~29	1,483	280	18.9
30~34	698	161	23.1
35~39	480	115	24.0
40~44	412	106	25.8

以上4つの奇妙な矛盾は「X線の異常所見の発現はツベルクリン陽転後1カ年と限らずその後もポツリポツリと起るものだ」と想定すれば訳なく解決するのでありますが、一方上述の種々の統計はかなり大雑把なものであり、かつ私自身の考察も種々の推定や仮定の上に立っておりますので、私自身これらをもつて千葉さん方の結論に対する反証として提出する勇気を持たないのであります。ただこれらの矛盾を感じたことが私共をして直接にこの問題と取組ませる動機となり、研究を続行せしめる刺戟となつたことは確かであります。

そこで私共が昭和24年度より京都市に近い小都市の1工場において数千の従業員を対象として、この主題を中心として検索してまいつた結果を申し上げたいと思ひます。X線の発病の判定方法としては常に、前回異常所見

なきか石灰化陰影のみであつた者を一括して6×6間接撮影を試み新しい異常陰影出現の疑ある者を選び出し、過去に撮つてあつたフィルムと比較して以前には認められなかつたことを確認し、なお2~3カ月の後再検、場合によっては直接撮影を試み、フィルム等の事故でもなく、また一過性の陰影でもなかつたことを確認した上で、X線の発病と決定したのであります。かようにして判定致しますと、最初新陰影出現の疑を抱かれた者の大部分は篩い落されるものでありまして10%あるいはそれ以下が残るにすぎないのであります。ただし既陽性発病の判定に当つて昔の陽転時以来のX線写真を全部揃えて比べた訳ではありません。大抵は過去2~3年から数年にわたる写真との比較であります。当然陽転時に異常陰影が現われて一度全く消え今回再び現われたという場合も含まれておきましょう。またツベルクリン反応の前歴は一部問診で知れたのでありますが、最近数年のツベルクリン反応は私共が実施した成績によつて判定したものであります。なお本工場従業員は常時約7,000名に上り、年齢は20歳代が半数を占め、15歳~19歳と30歳~34歳がこれに次ぎ、35歳以上は最も少なくなかつ年齢と共に少数となつてゐることを申添えて置きます。(第5表)

さてまず第6表を見て頂きましょう。本工場において5年間にわたる陽転発病者の数と既陽性発病者の数とを比較したものでありまして、既陽性発病者が陽転発病者の2倍近くに上ります。ただしこれをもつて一般に陽転発病より既陽性発病の方が頻度が高いと申すのでは決してありません。何故ならば本工場ではツベルクリン陽性で入社した者が陰性で入社した者の6倍に達するからであります。しかし少なくとも本工場のような所で既陽性発病を全然無視するならば、発病者の実に2/3を見逃すという重大な結果を来すことを声を大にして申し上げねばなるまいと思ふのであります。

ただしここに一つ問題があります。既陽性発病が相当あると言つたところでその経過が極めて良く治療の必要なく治るものならばほど重大な問題とは言えない訳であります。かような意味から本工場である期間中に治療を要するに到つた患者について発病時期を追求して見た結果が第7表であります。ここに陽転発病26例に対して既陽性発病は34例を占めております。すなわちこの点まで考えましても本工場では既陽性発病から悪化する者の方が多いのであります。では一体陽転発病者のうちの要治療にまで悪化した率と、既陽性発病者のうちの悪化率とどちらが高いか？これを対比したのが第8表でありまして、かように見ますと陽転発病者の経過の方がやや悪い、しかし既陽性発病者の経過も決して樂觀を許されないうことが解るのであります。

かようにして既陽性発病というものはその数においてもその質においてもかなり重大な問題であると思ふに

第5表 年度別平均在籍調査表 (32. 1. 12調)

年 齢 \ 年 度	24	25	26	27	28	29	30	31
15~19	2,422	2,911	2,636	1,843	1,579	1,279	1,216	970
20~24	2,584	3,095	2,877	3,125	3,003	2,903	2,760	2,321
25~29	1,054	1,190	1,275	1,353	1,471	1,500	1,599	1,830
30~34	563	600	616	606	620	697	768	865
35~39	449	490	489	503	506	499	486	507
40~44	331	374	390	395	389	398	417	428
45~49	162	169	182	203	245	277	301	318
50以上	79	91	110	99	102	118	126	169
計	7,644	8,920	8,575	8,127	7,915	7,671	7,673	7,408

第6表 ツ陽転時期とX線の発病

年度(昭和)	25	26	27	28	29	総 計
「ツ」反応との関係						
陽 転 発 病 者	11	6	11	10	6	44
既 陽 性 発 病 者	23	19	16	16	12	86
陽 転 期 不 明 の 者	16	5	2	1	2	26
「ツ」(-)或は(±)の者	3	2	0	1	0	6
不 明 の 者	9	0	0	0	0	9
計	62	32	29	28	20	171
連続検査人員数	約 4,500	約 6,000	約 7,000	約 7,000	約 7,000	

第7表 治療を要するに到った者の発病時期

既 陽 性 者	陽 転 発 病 者	不 明 の 者	陰 性 発 病 者
34	26	15	1

第8表 発病時期とその経過

	好転或は不変		悪 化		計
	実数	%	実数	%	
陽 転 発 病 者	6	33.3	12	66.7	18
既 陽 性 発 病 者	22	44.0	28	56.0	50

到りましたので、かような症例の初発病型や年齢とその後の経過との関係を調べて見たのであります。まず陰影の位置および性状とその後の経過との関係を調べたのが第9表と第10表とであります。上野、中野の者の経過が比較的悪く、下野の者は比較的宜しい。上野の者を細別すると、肺尖鎖骨下に跨る者が最も悪く、次いで鎖骨下の順となり、肺尖野のみに限局する者は比較的良好的経過

第9表 初発陰影の位置および性状と経過 (I)

		好転或は不変		悪 化		計
		不	変			
上 野	雲塊状陰影	10	14	24		24
	斑点状 "	5	4	9		9
中 野	雲塊状 "	2	8	10		10
	斑点状 "	1	1	2		2
下 野	雲塊状 "	4	1	5		5
	斑点状 "	0	0	0		0

第10表 初発陰影の位置および性状と経過 (II)

		好転或は不変		悪 化		計
		不	変			
肺尖及び鎖骨下	雲塊状陰影	0	1	1		1
	斑点状 "	0	2	2		2
肺 尖	雲塊状 "	3	2	5		5
	斑点状 "	1	0	1		1

鎖骨下	雲塊状 "	7	11	18
	斑点状 "	4	2	6

第11表 年齢と経過

年齢階級別	好転或は不変		悪化		計
	実数	%	実数	%	
15 ~ 24	13	41.9	18	58.1	31
25 ~ 39	7	36.8	12	63.2	19
40 ~	4		0		4

過を取るもののように見えます。陰影の性状から見ると雲塊状の、つまり大きな陰影の方が、斑点状すなわち小さい陰影の者より悪化傾向が強いということが、当然ながら認められるのであります。年齢との関係では第11表のように、15歳から24歳の間と25歳から39歳との間では大差なく、40歳を過ぎると悪化傾向は著しくないように見受けられます。

では一現在在のツベルクリン陰性者と既陽性者として将来の発病の危険率は如何ほど違うか？この疑問に答えるべく、私共は昭和27年度および28年度において入社した者の入社当時のツベルクリン反応陰陽と、昭和30年度までの発病との関係を調べまして、第12表の成績を得まし

第12表 ツ(+)入社者と(-)入社者との発病率の比較

	「ツ」(+) 入社者	「ツ」(+) 入社者	「ツ」(±) 入社者
入社人員	1,051	182	192
そのうちの 発病者数	5	3	2
%	0.48	1.65	1.04

た。すなわち陰性入社者からの発病率は陽性入社者のその3、4倍に達するのでありまして、成人初感染肺結核の重要性はここにおいてもまた確実に立証されるのであります。しかし既陽性者の発病頻度もかなり重大なものであると考えざるを得ないのであります。

さて最後に問題は、既陽性発病の原因として外因性再感染が意味を持つかどうかということに移ります。

まず第1に職場を現場と事務室とに分けておのおのにおける肺結核の悪化と発病とを検討して見ましょう。一体どちらの職場の者が悪化し易いか？前年度の要注意者のうちから次年度に現われる要治療すなわち悪化した者を職場で分けて見ますと、第13表に出しましたように、現場勤務の者の方が、悪化率が幾分高いということが窺われます。これはおそらく労働量の差によるものではないかと想像されます。ではツベルクリン陰性で入社した

第13表 職場と悪化

	現場	事務室
昭和28年秋要注意者	522	119
そのうち昭和29年に要治療となつた者	12	3
%	2.3	2.5
昭和29年要注意者	681	144
そのうち昭和30年に要治療となつた者	15	1
%	2.2	0.7

第14表 職場と発病

昭和26, 27, 28年度 実数	「ツ」(-)入社者 現場：事務室	「ツ」(+) 現場：事務室
		300 : 40
%	88.2 : 11.8	85.3 : 14.7
昭和25~ 29年 実数	陽転発病 現場：事務室	既陽性発病 現場：事務室
		20 : 6
%	76.9 : 23.1	81.5 : 18.5

者の発病はどちらが多いかと申しますと、直接の比率を出しえないのですが、両方の職場におけるツベルクリン陰性で入社した者の比率は大體第14表の上左側のようになっているのですが、陽転発病した者の比率はその下側のようになっています。つまり事務室の者の方が陽転発病する率が著明に高いようであります。

これは勿論感染機会が濃厚だからだと推測されます。そこで既陽性で入社した者の発病の比率が上に述べた2つの型のいずれをとるか？これを見たのが同じ表の右側であります。その結果は陽性入社者の14.8%が事務室に這入っているにすぎないのに既陽性発病者のうちの事務室の者の割合が18.5%を占めており、この場合にも感染機会の濃淡が幾分の原因をなしているのではないかと想像されるのであります。しかしこれは何人入社して何人が発病という直接の比率を出したものでないので、これをもつて外因性再感染の証拠とするだけの勇気を私自身持ちえないのであります。

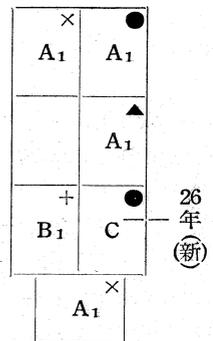
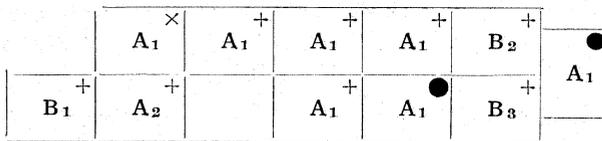
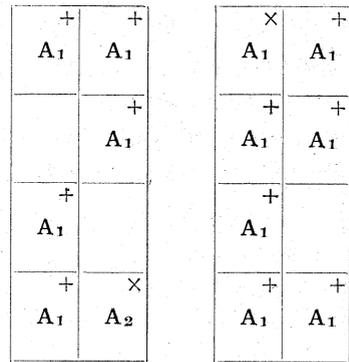
そこで次に、開放性肺結核患者の発見された職場と発見されなかつた職場とで同室者のX線所見が如何に違つかを比較して見ました。その結果が第15表であります。これを見て頂くと解るように、開放性肺結核患者のいた職場では入社時ツベルクリン陽性者にして現在有所見の者が多い。ただしそのうちには入社時から所見があつたのかどうか不明の者もあるが、明らかに入社後の発病と

第15表 職場における開放性結核患者の有無と検診成績

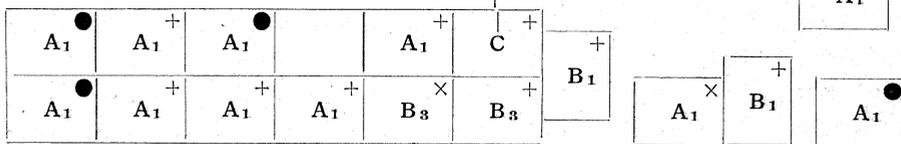
	開放性患者のいた職場			開放性患者のいなかった職場
	A	B	C	
入社時「ツ」陰性者	7	43	9	55
入社後自然陽転者	6	26	8	24
そのうちX線所見発現者	1	11 (内2例放開性)	1	4
B C G陽転かも知れぬ者	0	13	1	26
入社時「ツ」既陽性者	11	62	29	98
入社後現在まで無所見	4	39	21	95
入社前からか後か不明なるも閉鎖性肺結核をもつ者	2	14	7	3
入社前からか後か不明なるも開放性肺結核をもつ者	3	3	1	0
入社後X線の異常所見の現われた者	2	6	0	0
入社時「ツ」不明現在陽性者	0	13	7	35
入社後現在まで無所見	0	9	6	33
閉鎖性肺結核をもつ者	0	3	1	2
開放性肺結核をもつ者	0	1	0	0

第1図 従業員デスクの位置による観察

- C 開放性を含む著明な肺結核
- B₃ 中等度肺結核
- B₂ 軽度肺結核
- B₁ 軽微肺結核
- A₂ 石灰化陰影のみのもの
- A₁ 異常所見なきもの
- + 入社時「ツ」既陽性者
- 入社後自然陽転者
- ▲ 入社後B C G陽転かも知れぬ者
- × 入社時「ツ」不明現在陽性者



ガフキー6号



判別された者も多いのであります。

このうちCの職場は事務室であつて机を並べて長年その位置が固定されていた場所であつたので、試みに机の位置を図に書いて見たところ、第1図の如くなつたので

あります。この図を見ますと開放性患者および著明な肺結核患者の向側に有所見者が発見されている、しかもそれが入社時ツベルクリン陽性の者であつたということが分ります。勿論陰性社は入社後全部陽転し、うち1例は

著明な肺結核に進展しております。それは当然としてツベルクリン陽性で入社して、著明な肺結核患者の向側に座つて毎日その声咳に接していた者に有所見者が発見され、それがこの場合3つの場所のいずれにも認められるということをして全然無意味のものとして捨て去ることが果して妥当でありましょうか？勿論以上の成績の一つ一つは偶然の出来事でないとは断言できません。しかしかように種々のデータが出てくると、必ずしも偶然の出来事の連続とも断定できかねるのであります。

以上を総括致しますと、ツベルクリン陽転に引続く肺結核を最も重要視すべきであるということには私自身も

全く賛成なのでありますが、ツベルクリン反応が旧くから陽性で現在X線的に無所見の者からの発病も相当大切な問題と考えるのであります。またその場合、かくれていた初感染の続きの病巣の再燃が多かろうとは思いますが、外因性再感染による発病もまた、全然否定し去る訳には行かないと考えるものであります。本問題についての精細なる研究が多方面から現われることを念願する次第であります。現在のところは外因性再感染もありうると考えて、感染予防の方法を講ずる方がより実際的であろうという、極めて平凡な結論に終るのであります。

結核症の発病について

— 病 理 —

— 変死者の病理解剖よりみた成人肺結核症の発生と進展 —

神戸医科大学教授 家 森 武 夫

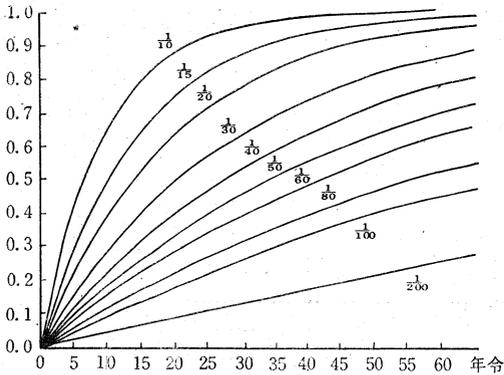
1. 感 染 率

肺結核症の発生を論ずる場合には、その環境の結核蔓延度を考えねばならない。

いまある住民が1年間に新しく結核に感染する割合(感染率)を a とすれば、満 n 歳の結核既感染者の累積値を $P_n(a)$ とすれば、 $P_n(a) = 1 - (1-a)^n \dots\dots (1)$

種々の感染率 $(\frac{1}{10} \sim \frac{1}{200})$ について、この値の年齢による推移を図示すると第1図の如くである。

第1図 種々の感染率における結核既感染者 $\{1 - (1-a)^n\}$ の年齢による推移



また各年齢層(i)における既感染の割合 P_i が与えられる時は、感染率 a の近似値は次式から計算することができる。(京大結研紀要2巻1号—昭和28年発表)

$$\log(1-a) = \frac{\sum_{i=1}^m n_i \times \log[1-P_i]}{\sum_{i=1}^m n_i^2} \dots\dots (2)$$

変死者の解剖によつて結核病巣を発見しうる率は京都市および神戸市について私の得た成績は第1表、および第2表の如くである。

かような数値から感染率の近似値を(2)式により求めると、昭和24~25年の京都では感染率1/15、昭和26~27年の京都では1/25、昭和28~29年の神戸では1/25となる。

第1表 京都市内変死者263例中の解剖学的結核例 (昭和28~29年)

年 齢 n_i	0 19	20 24	25 29	30 34	35 39	40 44	45 49	50 54	55 59	60 以上	合 計	20歳 以上の 合計
検査例数	28	59	35	18	13	20	19	10	19	42	263	235
結核病巣 を有する 例	15	44	25	17	11	14	17	9	14	38	204	189
同上の率 $P_i(a)$.54	.75	.72	.94	.85	.70	.89	.90	.74	.90	.78	.80

第2表 神戸市内変死者256例中の解剖学的結核例 (昭和28~29年)

年 齢 n_i	0 19	20 24	25 29	30 34	35 39	40 44	45 49	50 54	55 59	60 以上	合 計	20歳 以上の 合計
検査例数	40	39	51	17	21	17	18	14	9	30	256	216
結核病巣 を有する 例	12	30	41	16	19	13	15	10	8	24	188	176
同上の率 $P_i(a)$.30	.77	.80	.94	.91	.87	.83	.71	.89	.80	.73	.82

これらは第3表で示されるように、Prag, Amsterdam, Dresden, Breslau 等の病理解剖による成績から計算した値と比べると幾分低いか、ほぼ近似した値を示している。これらに対し北米でも Hagerstown のような半田

第3表 病理解剖により算出した感染率

研 究 者	研 究 発 表 年 代	場 所	感 染 率
Naegeli	1900	Zürich	1/9
Schürmann	1926	Dresden	1/22
Winkler	1933	Breslau	1/21
Straub	1937	Prag	1/17
		Amsterdam	1/22
		Suma- 中国人(中)1/3 tra ジャバ人(ジ)1/5 ³	

Lande & Wolff	1938~1944	Hagerstown	1/56
家森, 宇野(宏)	1949~1950	京都市	1/15
家森, 出目, 笹尾	1951~1952	京都市	1/25
家森, 宇野(一郎)	1953~1955	神戸市	1/25

園地方では感染率は1/56で極めて低い。

ツ反応の年齢層別の陽性率よりも、感染率を計算することができるが、その成績は第4表の如くである。すなわち都市では1/20のようないく分大きい値を示すが、村部では1/65の如く小さい値を示している。

第4表 ツ反応成績より算出した感染率

研究者	年代	場所	感染率
広木, 孫	1937	半農半牧蒙古人部落	1/6
高橋, 土田	1937	東京市深川区某アパート	1/7
Fernando	1940	ウルグァイ	1/9
河盛, 永山	1937~1941	大阪市内	1/19
東京市	1937	東京市内	1/20
国勢調査	1935	全国市部平均	1/23
京都市	1950	京都市内	1/29
国勢調査	1950	神戸市内	1/40
"	1935	全国村部平均	1/65

また感染率 (a) が一定であると仮定した場合には高次感染の理論値を代数的に誘導することができることについて、すでに京大結研紀要2巻1号(昭和28年)に発表しているが、aを結核感染率(結核菌の肺侵入率)とし、nを満年齢とした場合、そのn年後の陽性者の1次感染より5次感染に至る累積理論値は、第5表の式で与えられる。

第5表 代数的に誘導せられる高次感染の累積理論値

1次結核感染	$\dots P_1(a) = 1 - (1-a)n$
2次結核感染	$\dots R_n(a) = 1 - (1-a)^n(1+na)$
3次結核感染	$\dots T_n(a) = 1 - (1-a)^n \left\{ 1 + na + \frac{n(n+1)}{2} a^2 \right\}$
4次結核感染	$\dots Q_n(a) = 1 - (1-a)^n \left\{ 1 + na + \frac{n(n+1)}{2} a^2 + \frac{n(n+1)(n+2)}{3 \cdot 2} a^3 \right\}$
5次結核感染	$\dots PE_n(a) = 1 - (1-a)^n \left\{ 1 + na + \frac{n(n+1)}{2} a^2 + \frac{n(n+1)(n+2)}{3 \cdot 2} a^3 + \frac{n(n+1)(n+2)(n+3)}{4 \cdot 3 \cdot 2} a^4 \right\}$

これら高次感染の累積値の誘導は次の如くにして可能である。すなわちn年後の2次感染の陽性者の累積値をR_n(a)とすれば、

$$\begin{aligned}
 R_n(a) &= R_{n-1}(a) + [P_{n-1}(a) - R_{n-1}(a)]a + [1 - P_{n-1}(a)]a^2 \\
 &= R_{n-1}(a) + a\{[1 - P_{n-1}(a)]a + P_{n-1}(a)\} - R_{n-1}(a) \\
 &= R_{n-1}(a) + a[P_n(a) - R_{n-1}(a)] \\
 &= ap_n(a) + (1-a)R_{n-1}(a) \\
 &= a[1 - (1-a)^n] + (1-a)R_{n-1}(a)
 \end{aligned}$$

したがって、

$$R(a) - (1-a)R_{n-1}(a) = a - a(1-a)^n \dots\dots\dots (1)$$

$$(1-a)R_{n-1}(a) - (1-a)^2R_{n-2}(a) = a(1-a) - a(1-a)^{n-1}(1-a) \dots\dots\dots (2)$$

$$(1-a)^2R_{n-2}(a) - (1-a)^3R_{n-3}(a) = a(1-a)^2 - a(1-a)^{n-2}(1-a)^2 \dots\dots\dots (3)$$



$$(1-a)^{n-1}R_1(a) - (1-a)^nR_0(a) = a(1-a)^{n-1} - a(1-a)(1-a)^{n-1} \dots\dots\dots (n)$$

(1)(2)……(n) を辺々加えれば

$$R_n(a) - (1-a)^nR_0(a) = a \sum_{n=0}^{n-1} (1-a)^n - na(1-a)^n$$

$$\begin{aligned}
 R_n(a) &= a \frac{1 - (1-a)^{n-1+1}}{1 - (1-a)} - na(1-a)^n \\
 &= 1 - (1-a)^n - na(1-a)^n
 \end{aligned}$$

したがって、

$$R(a) = 1 - (1-a)^n(1+na)$$

またn年後における3次感染の累積値をT_n(a)とすれば、

$$\begin{aligned}
 T_n(a) &= T_{n-1}(a) + \{R_{n-1}(a) - T_{n-1}(a)\}a + \{P_{n-1}(a) - R_{n-1}(a)\}a^2 + \{1 - P_{n-1}(a)\}a^3 \\
 &= T_{n-1}(a) + a\{[R_{n-1}(a) + (P_{n-1}(a) - R_{n-1}(a))]a + [1 - P_{n-1}(a)]a^2 - T_{n-1}(a)\}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= T_{n-1}(a) + a\{R_n(a) - T_{n-1}(a)\} \\
 &= T_{n-1}(a) + a\{1 - (1-a)^n(1+na) - T_{n-1}(a)\} \\
 &= a - a(1-a)^n(1+na) + (1+a)T_{n-1}(a)
 \end{aligned}$$

故に、

$$T(a) - (1-a)T_{n-1}(a) = a - a(1-a)^n - na^2(1-a)^n \dots\dots\dots (1)$$

$$(1-a)T_{n-1}(a) - (1-a)^2T_{n-2}(a) = a(1-a) - a(1-a)^{n-1}(1-a) - (n-1)a^2(1-a)^{n-1}(1-a) \dots (2)$$

$$(1-a)^2T_{n-2}(a) - (1-a)^3T_{n-3}(a) = a(1-a)^2 - a(1-a)^n - (n-2)a^2(1-a)^{n-2}(1-a)^2 \dots\dots\dots (3)$$

$$(1-a)^{n-1}T_1(a) - (1-a)^nT_0(a) = a(1-a)^{n-1} - a(1-a)^n - (1)a^2(1-a)^n \dots\dots\dots (n)$$

(1)(2)……(n) を辺々相加えれば

$$T_n(a) - (1-a)^nT_0(a) = a \sum_{n=0}^{n-1} (1-a)^n - na(1-a)^n - a^2(1-a)^n \sum_{n-1}^n n$$

$$T_n(a) = 1 - (1-a)^n - na(1-a)^n - a^2(1-a)^n \frac{n(n+1)}{2}$$

したがって、

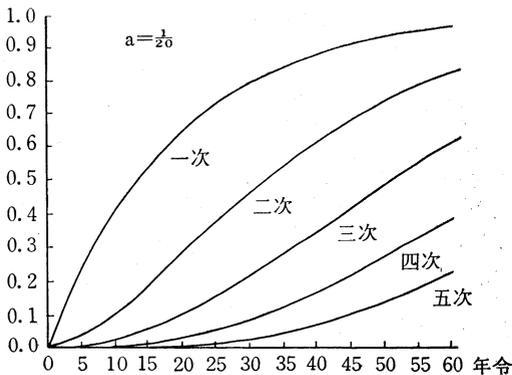
$$T_n(a) = 1 - (1-a)^n \left\{ 1 + na + \frac{n(n+1)}{2} a^2 \right\}$$

高次感染の理論値はその他、微積分学的にも指数函数として誘導せられるが、変死者の結核病巣および再感染巣の検出率と比較して論ずる範囲では上記の代数学的な誘導値でも正解であると考えられるので、この式によって2, 3の考察を加えることにする。

すなわち、この理論値を感染率1/20の場合について計算すると第2図のように1次感染(初感染)の値も大きい、2次以上の高次感染の理論値もこれに応じて高い値をとっている。

感染率が低い1/50の場合には第3図の如く、2次以上の高次感染の値は1次感染に比してほとんど問題にするに足らないほど小さいことを示している。

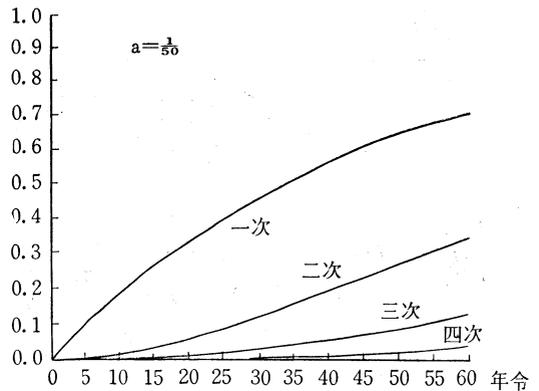
第2図 感染率1/20の場合の1次および高次感染の累積理論値



累積値でなく、新しい感染の年齢による推移をみると第4図および第5図の如く、1次感染と高次感染の関係をより明瞭に認識することができる。

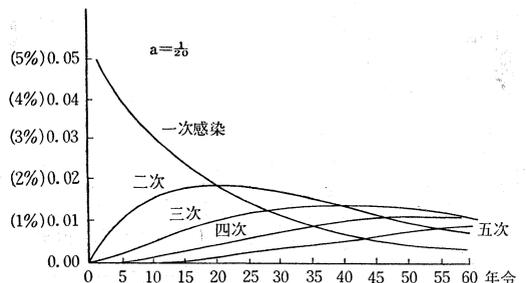
すなわち感染率1/20では高次感染がほぼ20歳以後1次

第3図 感染率1/50の場合の1次および高次感染の理論値(累積値)

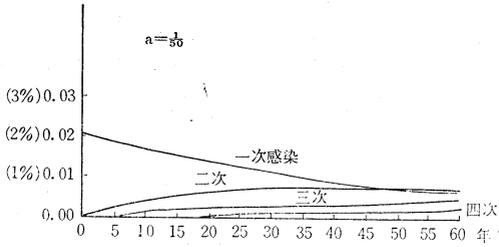


感染を凌駕することになるが、感染率1/50では極めて高年に至るまで、1次感染より、高次感染が遅かに低い値を示している。

第4図 感染率1/20の場合の新しい1次感染および高次感染の理論値



第5図 感染率1/50の場合の新しい1次感染および高次感染の理論値



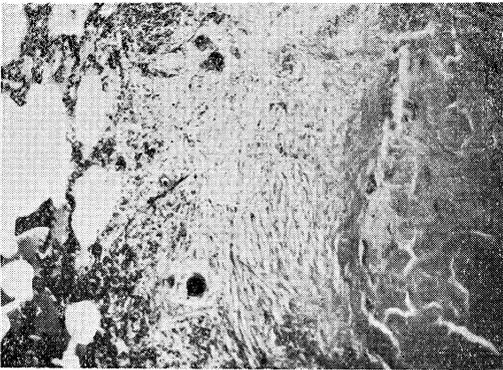
2. 京都市および神戸市の変死者の結核病巣の分類

さて私は変死者にて実際にみられる病巣を追及して、その発生経路を窮明しようとした。(京大結研紀要, 1巻112, 3巻1号, 5巻1号, Acta. Path. Jap. 5. Supple)

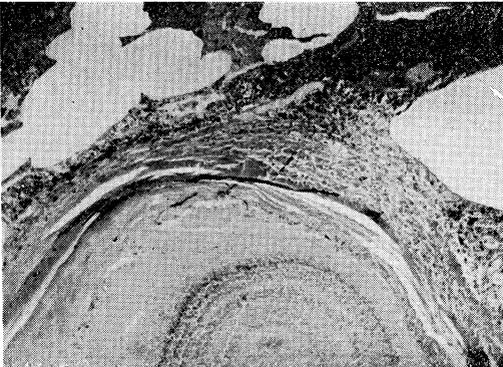
病巣の性格の判定に際しては、問題となる病巣を、組織学所見より、次のような6種に分ち、病巣成立後の経過を比較検討した。すなわち

- A. 類上皮細胞を有する乾酪巣 (第6図)
- B. 被包性乾酪巣 (第7図)

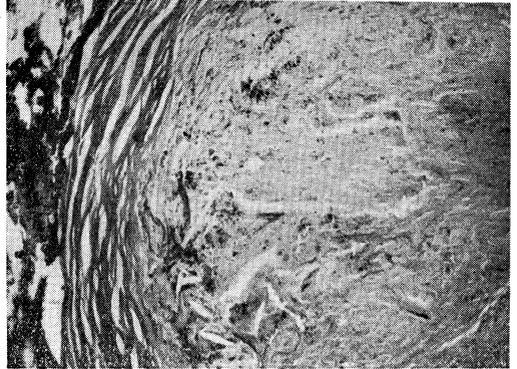
第6図 A. 類上皮細胞を有する乾酪巣 (van Gieson 染色)



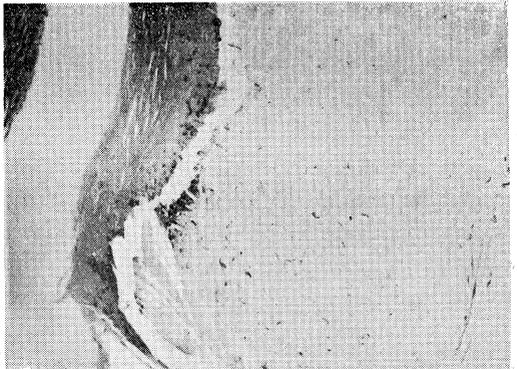
第7図 B. 被包性乾酪巣 (van Gieson 染色)



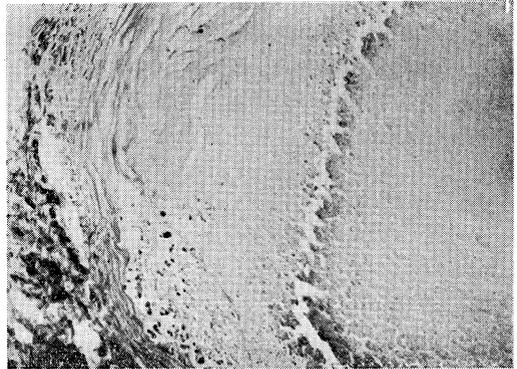
第8図 C. 被包性白堊巣 (van Gieson 染色)



第9図 D. 被包性石灰化白堊巣 (van Gieson 染色)



第10図 被包性化石巣 (van Gieson 染色)

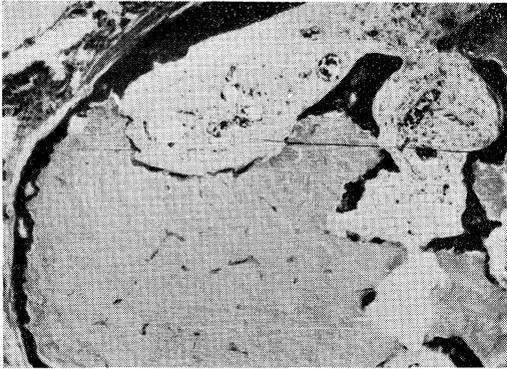


- C. 被包性白堊巣 (第8図)
- D. 『被包性石灰化白堊巣』(第9図)
- E. 被包性化石巣 (第10図)
- F. 被包性化石骨化石巣 (第11図)

である。

このうちA. 類上皮細胞反応を有する乾酪巣は最も新しい成立を示すもので、B. 被包性乾酪巣と、C. 被包性白堊巣とは被包後の経過が比較的短かく、石灰化は未だ著明でなく、Aschoff-Puhlの特異性被膜と非特異性被膜の区別がほぼ明瞭である。また白堊と名乗づけたもの(C, D)は多数のコレステリン針状結晶の出現が認められるものである。D. 被包性石灰化白堊巣と、E.

第11図 E. 被包性化石巢 (van Gieson 染色)



被包性化石巢は石灰化が一層進行したものであり、被膜は線維性となり、細胞成分が少なく、特異性被膜と非特異性被膜の区別は困難となっている。すなわちいずれも病巣成立後の経過は古いものである。

F. 被包性化石巢では、被膜内に現われていた新しい細胞性増殖が進行した場合で、被膜は極めて薄くなるか、あるいは一部で断裂、開放して、内部への増殖細胞の一部から化石が現われたものである。

したがって被膜および石灰化等の程度からみれば、B. 被包乾酪巣と、C. 被包白堊巣はほぼ類似し、D. 被包性石灰化石巢と、E. 被包性化石巢とはほぼ類似した古さを示している故に、変死者肺の病巣はその組織学的性格により、ほぼ4等級に分けられる訳である。

かようにして京都市の変死者263例、神戸市の変死者256例合計519例を肺の結核病巣について分類して、第6表の如き成績が得られた。すなわち結核病巣を有しないもの127例(24%)、1次結核のみを認めるもの228例(44%)、2次結核を認めるもの164例(32%)という成績を得た。

第6表 変死者の肺内結核病巣

	神戸	京都	合計
結核病巣なし	68 (27%)	59 (22%)	127 (24%)
一次結核	109 (43%)	119 (45%)	228 (44%)
肺の二次結核	79 (31%)	85 (32%)	164 (32%)
合計	256	263	519

このうち1次結核のみを有する228例についてみれば第7表の如く、リンパ腺巣のみがみられるものは81例(36%)、肺の初感染巣のみで、リンパ腺巣を伴わないものは31例(14%)、肺の初感染巣とリンパ腺巣の群形成をみとめるものは116例(51%)であり、Rankeの定型的なKomplex形成を示すものは約半数を占めるにすぎないものである。

また初感染巣が単一のものは122例で、多発性のもの

は25例となっている。

この関係をさらに検討すれば第8表の如く、初感染巣1個のものは岡先生88.4%、Gohn 83.5%、私の成績83%であり、ほぼ一致した値がみられる。

第7表 一次結核症の分類

	肺初感染巣 (-) リンパ腺巣 (+)	肺初感染巣 (+) リンパ腺巣 (-)	肺初感染巣 (+) リンパ腺巣 (+)	合計
肺初感染巣 (-)	81			81 (36%)
単一停止 初感染		27	95	122 (54%)
多発停止 初感染		4	21	25 (11%)
合計	81 (36%)	31 (14%)	116 (51%)	228

第8表 停止初感染巣の病巣数

病巣数	1	2	3	4	5以上	合計
Gohn	83.5%	8.8%	7.6%			
岡	88.4%	6.2%	3.6%	0.8%	0.8%	102例
家森 (例数)	83.0% (122)	12.2% (18)	2.0% (3)	1.4% (2)	1.4% (2)	147例
			17%(25)			

治癒停止性の初感染巣の大きさは第9表の如く、粟粒大およびそれ以下のものが66%、すなわち2/3を占めていて、われわれの検索ではかなり小さい病巣まで見逃さなかつた事実を示している。

またかような治癒停止性の初感染巣の肺における分布は第10表の如く、上葉よりも下葉にいく分多いという成績を示している。

第9表 停止初感染巣の大きさ

	粟粒大 3×3mm 以下	麻実大 5×5	小豆大 5×6~ 5×10	豌豆大 10×6 mm以上	合計
単一初 感染	83	28	5	6	122
多発初 感染	32	21			53
合計	115 (66%)	49 (28%)	5 (3%)	6 (3%)	175

第10表 治癒性初感染巣の肺葉内分布

	単一初感染	多発初感染	合計	%	
上葉	上	20	11	31	17%
	中	14	1	15	8%
	下	14	5	19	11%
中葉		9	6	15	8%

下葉	上	22	13	35	20%	99	55%
	中	20	17	37	21%		
	下	23	4	27	15%		

次に変死者の2次結核症164例を組織学所見を考慮して、その発生経路を推定すると第11表の如く、解剖学的再感染巣例43例(9%)、気管支性伝播を示す初感染性病巣形成例61例(11%)、両肺均等分布の病巣形成を示す(Simmon氏病巣形成)例16例(3%)、重複病巣形成例(経路不明)15例(3%)、リンパ腺巣周囲性病巣形成例14例(3%)、空洞性結核例(経路不明)20例(4%)という成績が得られた。これらについてさらに説明を加えることにする。

第11表 変死者の肺の二次病巣の分類

	例数	%
結核病巣なし	127	26
一次結核病巣	228	44
解剖学的再感染巣形成	29	6
気管支性伝播を伴う初感染性(または重複性)病巣形成	14	3
気管支性伝播を伴う初感染性(または重複性)病巣形成(両肺均等性分布 Simon)	61	11
重複病巣形成	16	3
リンパ腺巣周囲性病巣	15	3
他の2次病巣と併合(単独例)	7	3
7	3	
空洞性肺結核	20	4
合計	519	100

3. 解剖学的再感染巣

まず私が解剖学的再感染巣として選んだものは、初感染巣に拡大、著明な不整形化、近傍性気管支伝播等が認められない場合で、問題とする病巣が初感染に比べ組織学的等級よりみて、明瞭に新しく、かつ離れた肺区域に存在するものである。

このような解剖学的再感染巣の分布は第12表の如く、治癒停止性の初感染巣の場合とことなり上葉に好発していることが注目せられる。

第12表 再感染巣の肺葉内分布

		例数	%	合計
上葉	上	20	35%	34
	中	8	14%	
	下	6	11%	

中葉		3	5%	3
下葉	上	7	12%	20
	中	2	4%	
	下	11	19%	
合計				57

また第13表の如く問題とする再感染巣が初感染巣と反対側に存在する場合と、同側に存在する場合がほぼ同数に認められる。

第13表 再感染巣の分布

	例数	%
両側再感染巣	4	9.3%
初感染巣と反対側肺の再感染巣例	20	46.5%
初感染巣と同側肺の再感染巣例	19	44.2%
合計	43	

さらにかかる再感染巣のうちリンパ腺巣と群形成をなすものは43例中10例(23%)のみで、第14表からわかるように初感染の場合よりもリンパ腺巣を伴わない場合が一層多数にみとめられる訳である。

第14表 解剖学的再感染巣とリンパ腺巣の群形成および気管支性伝播

	気管支性伝播(-)	気管支性伝播(+)	合計
リンパ腺群形成(+)	7	3	10 (23%)
リンパ腺巣(-)	22	11	33 (77%)
合計	29 (33%)	14 (67%)	43

またこれらの再感染巣のうち気管支性伝播を有するものは第15表の如く約1/3で、他の2/3は治癒・停止性で、後者の方が遥かに多いものである。

さて初感染例では気管支性伝播または重複病巣形成を有するものは第15表の如く約34%という値を示しているから、解剖学的見地から論ずることが可能であるところの、病巣形成を有するものについては、その気管支性伝播の頻度は初感染巣と再感染巣ではほぼ近似した値を示していることになる。

第15表 再感染巣および初感染巣の微小性治癒と気管支性進展

	再感染巣		初感染巣	
	例数	%	例数	%
微小性治癒	29	67%	147	66%
気管支性進展(重複病巣形成)	14	33%	76	34%

このような解剖学的再感染例の年齢別頻度を京都市および神戸市の変死者について私の得た成績を示せば第16表および第17表の如くである。

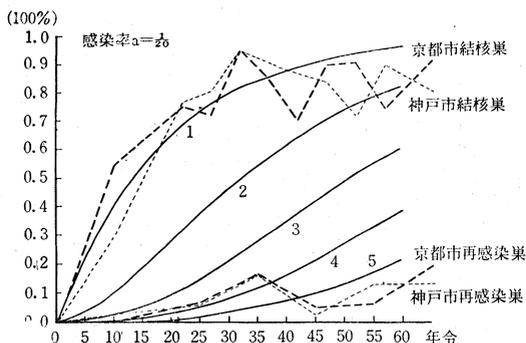
第16表 再感染率の年齢層別頻度(京都市)

年 齢	0 ~ 19	20 ~ 29	30 ~ 39	40 ~ 49	50 ~ 59	60 以上	合計	20歳 以上の 合計
検査例数	28	94	31	39	29	42	263	235
解剖学的結核例	15	69	28	31	23	38	204	189
再感染例	0	6	5	2	2	8	23	23
再感染の頻度%	0	6.3	16.1	5.1	6.8	19.0	8.7	9.7

第17表 再感染率の年齢層別頻度(神戸市)

年 齢	0 ~ 19	20 ~ 29	30 ~ 39	40 ~ 49	50 ~ 59	60 以上	合計	20歳 以上の 合計
検査例数	40	90	38	35	23	30	256	216
解剖学的結核例	12	71	35	28	18	24	188	176
再感染例	1	5	6	1	3	4	20	19
再感染の頻度%	2.5	5.6	15.8	2.6	13.0	13.3	7.8	8.8

第12図 感染率1/20の理論値と京都神戸の解剖学的結核率および再感染率の頻度



またこれら第16表および第17表の数値を感染率1/20の場合の1次感染および高次感染の理論値と比較して図示すると、第12図の如く、青年年期ではほぼ4次感染の理論値に、高年者では5~6次感染の理論値に近い値を示している。

すなわち平均的に考えれば、外来性高次感染は初感染よりも極めて癩瘰化治癒傾向ないし吸収化治癒の傾向が強いことを示している。したがってまた結核菌が初感染と同じように肺に吸入せられる場合を考えると、1次感染に比し、2次ないし3次感染では乾酪巣形成を有する病巣形成に至るものは極めて少なく、多くの場合には吸収化または癩瘰化治癒に向うことを示している。

したがって再感染による解剖学的な病巣は感染(結核菌吸入)が繰り返される間に、たまたま、人体の免疫のないし抵抗性の減弱に際して感染の場合において初めて形成せられるものと考えられる。

勿論解剖学的再感染率はたとえ気管支性伝播を伴う場合でも、その病巣は概ね微小性であり、臨床的な再感染発病について論ずる場合には、これらの成績の示すところとは別の注意深い考慮が必要であることは勿論である。

4. 重複病巣

重複病巣と名づけた場合は、問題とする病巣が組織学的に互いに近似した等級性(成立後の経過)を示している、① 多発性に現われた初感染率を示すものか、② 初感染率と外来性再感染率を示すものか、③ 初感染率と初感染後短期間内についた気管支性伝播病巣を示すものか、または、④ 初感染率と初感染直後血行性に肺に現われた病巣を示すものか、の判定が困難な場合である。

このような15例中リンパ腺巣の位置から推定せられる初感染部位と問題とする病巣が同側にあるものが3例(20%)、同側および他側にあるものが4例(27%)、他側肺のみにあるものは8例(53%)であった。

5. 初感染性気管支伝播

ここで問題とした61例は初感染率よりの気管支性伝播の明瞭な例のみでなく、一部重複病巣よりの気管支性伝播例を包含するものである。第18表で明らかな如く、これらの多くは近傍性病巣形成を伴っている(56%)。これについて近傍性と遠隔性病巣を併有する場合で(25%)、遠隔性病巣のみを有するものはこれらに比して少数である(13%)。もし前述の単純な重複病巣例を初感染性気管支伝播による病巣形成と仮定して、上述の61例に加えれば、遠隔性病巣による病巣形成は必ずしも稀ではないという結果になる。しかし重複病巣例とした例は必ずしも初感染性気管支伝播のみに基くものではないことは明らかで、再感染による病巣を可成含むだろう。

第18表 初感染率(または重複病巣)の気管支性伝播

	初感染率	初感染率のみ	近傍性病巣形成	遠隔性病巣形成	近傍性病巣と遠隔性病巣併存	合計
単一初感染	微小		7	1	2	10
	拡大		10	3	6	19
多発初感染(または重複)病巣	微小		5	3	1	9
	拡大		4	12	1	6
合計		4	34	8	15	61
%		6%	56%	13%	25%	

さて近傍性病巣形成のみを有する55例の初感染率

の発生部位をみれば第19表の如く、上葉上部および上葉中部に多いことが注目せられる。

したがってこれらの部位の初感染巣は、他の部位におけるものよりも気管支性伝播の危険を多くはらむものであることを示している。このような気管支性伝播を有する初感染巣が上葉に好発することに対比してききに示した如く治癒・停止性の初感染巣は上葉よりも下葉に幾分多いという傾向が認められることは、初感染巣の部位がその後の増悪ないし治癒に影響を及ぼす因子として作用することを示すものとして注目せられるべきであろう。

第19表 近傍性気管支性伝播を有する初感染巣(または重複病巣)の部位

		単一初感染巣	多発性初感染巣または重複病巣	合計	%
上葉	上	12	14	26	47%
	中	2	2	4	25%
	下	2	1	3	5%
中葉			2	2	4%
下葉	上	3	1	4	7%
	中	1	2	3	5%
	下	2	1	3	5%
合計		22	33	55	

次いで遠隔性伝播を有する32例の気管支性伝播病巣は第20表の如く、上葉上部および下葉上部に頻発することが注目せられる。

第20表 遠隔性気管支性伝播による病巣形成の部位

		同一肺葉内	同側他肺葉内	他側肺	合計	%
上葉	上		5	6	11	34%
	中	2		1	3	9%
	下	1	1	2	4	13%
中葉			2		2	6%
下葉	上	1	2	4	7	22%
	中	1	1		2	6%
	下		1	2	3	9%
合計		5	12	15	32	

また組織学的な検討により、気管支性伝播を有する初感染性病巣形成例61例についてみると、第21表の如く初感染よりの古い伝播から新しい時期の進展に至る微小性の進展がほぼ連続的に認められる場合が19例(31%)に認められる。したがって組織学的にみる限りにおいて、

変死者にみられる微小性の初感染巣でも初感染巣よりの気管支性伝播が短かい期間(1~2年)で、全く停止するとは言い切ることができないものである。

第21表 初感染性気管支性進展の時期および経過

		例数	%
A	古い時期から新しい時期に至る進展	19	31
	古い伝播のみで停止	11	36
B	やや古い伝播のみで停止	11	
	C	やや新しい伝播	6
新しい伝播のみ		14	
合	計	61	100

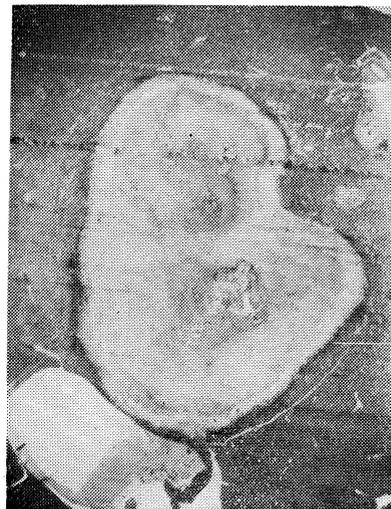
6. 血行性転移病巣形成

肺における血行転移性病巣形成を窮明するための資料を得るため、肺外臓器(肝、脾、腎、骨盤腔、その他)

第13図 肝における小転移病巣

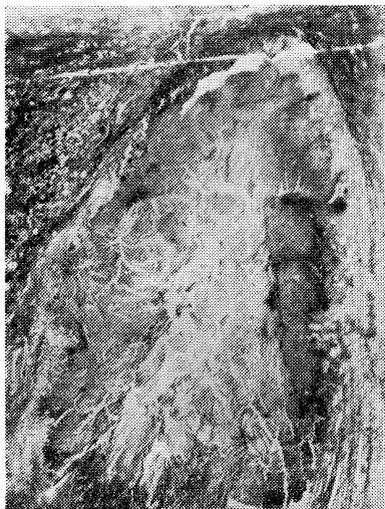


第14図 脾における小転移病巣

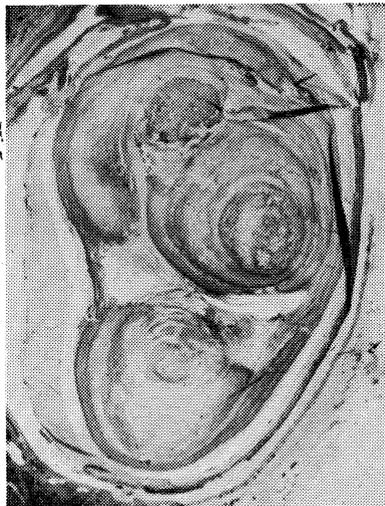


への孤立性小転移病巣の検出に努めた。この検査は困難を極めたものであるが、これらの薄細切によつて第13図(肝の小転移病巣)、第14図(脾の小転移病巣)、第15図(腎の小転移病巣)、第16図(精囊近傍結合組織内の転移性小病巣)の如き結核性成立と考えられる小病巣の検出に成功した。勿論結核以外の成因による類似の小病巣は周到に除外したものである。(京大結研紀要4巻1号一昭和30年)

第15図 腎における小転移病巣



第16図 精囊近傍結合組織内の小転移病巣



変死者393例中にこのような肺外臓器の小病巣が37例見出されたが、その組織学的性状と臓器における頻度の関係は第22表の通りである。

またこれら病巣の性状ごとに被膜の性格と肺における初感染巣またはリンパ腺のそれとを比較して血行転移の発生の時期を判定して第23表のような成績が得られた。

すなわち、初感染成立時(第1期)の転移形成が最も多く21例で、次いでリンパ腺巣の拡大期すなわち第2期

第22表 変死者393例中の肺外臓器への血行転移性小病巣形成

孤立性小転移病巣を有する肺外臓器	肝	脾	腎	骨盤腔	合計
A 類上皮細胞反応を有する結節または乾酪炎	3	(1)	6	1	10
B 被包乾酪巣	3	2		1	6
B-C (結核性)癥痕性小病巣		3	1	2	6
C 被包化石病巣	2	9		3	14
D 被包化石骨化石病巣	1				1
合計	9	14	7	7	37

第23表 肺外転移の時期

結核病型	時期 初感染期 転移 (第1期)	リンパ腺 病巣拡大 期転移 (第2期)	気管支性 伝播期 転移	再感染期 転移	空洞結核 転移	肺外 転移例	検査例	肺外転移 の頻度	主要病変 成立時の 転移頻度
結核病巣なし	1					1	83	1%	
一次結核症	17	2		2		21	197	11%	9%
不均等性二次結核	1		1			2	80	3%	1%
両肺均等性二次結核	1	6				7	19	37%	32%
空洞結核	1				3	4	14	29%	21%
合計	21	8	1	2	3	35	393	9%	

の転移が8例であつた。この8例のうち6例は両肺に2次病巣の均等分布を有するもので、いわゆる Simon 氏病巣形成が認められるものである。

また肺外臓器への転移巣形成は1次結核のみを有する197例中21例(11%)であるが、初感染巣の気管支性伝播または解剖学的再感染巣を有する例での転移巣形成は極めて僅少であることを示している。

しかし両肺に均等な病巣分布を有する19例では、肺外臓器への転移形成は7例でその37%に当り最も多いものである。このような Simon 氏病巣形成例は多く解剖学的にはリンパ腺巣の拡大があり、血行転移との間に、他の場合よりも密接な関係を有することを示している。

その他空洞性結核症14例中、空洞化ないし肺病変の進展に伴う肺外転移は3例で、21%に当つている。すなわち血行転移巣形成は高度の肺の結核性進展に際しては再び上昇することを示しているものである。

7. 結 論

以上の成績により肺の2次結核病巣の発生経路を考える場合に、最も多く最も重要なものは初感染性気管支性進展である。これが全検査例519例中61例(11%)を示すに対し、気管支性伝播を有する解剖学的再感染巣例は14例(3%)にすぎず、血行転移による病巣形成と推定せられるところの両肺に均等分布を示す Simon 氏病巣形成例は16例(3%)で、これらは共に初感染性気管支伝播による病巣形成と比較するとかなり僅少なものであり、また微小性病巣のことが多く、その意義は小さいものである。

しかし精細な病理解剖学的検索によつて初めて認めうる如き病巣形成を問題とする病理学者の立場においてはこれらの数値もまた全く無視し去ることはできないものである。

結核症の発病について

—病 理—

—成人肺結核症の発病に関する病理解剖学的研究—

結核予防会結核研究所 (所長 隈部英雄) 北 鍊 平

成人肺結核症が肺尖または鎖骨下、すなわち肺上部に始まることが圧倒的に多いことは決定的な事実である。今日成人肺結核症がどこから始まるかという問題はどのように明らかであるが、それでは何故肺上部から始まるか、如何なる経路で肺上部から始まるかという第2、第3の問題については必ずしも見解の一致がみられていない。

この見解の不一致は、これらの問題を初感染との関連の下に考察しないために生じていると考えられる。この観点から第2次結核症の初発病巣の成立を理論的に考えてみると、次の可能性がある。

1. 初感原発巣の進展拡大
2. 再感原発巣の進展拡大
3. 初感原発巣またはリンパ腺巣からの転移
4. 再感原発巣またはリンパ腺巣からの転移
5. 転移巣の進展拡大またはそれからの転移

すなわち、初発病巣は原発巣か転移巣かいずれかであることは確かであるが、そのいずれが重要な役割を果たすかを分析することは、前述の「何故」「如何にして」という問題を明らかにするためにも必要なことである。

1. 成人肺結核症は何故に肺尖または鎖骨下に始まることが多いか

第2次肺結核症の初発病巣が S^1 、 S^2 に多く、次で S^6 に多いことは明らかであり、このように一葉においても特定の肺区域に集中する傾向があるが、それにしても上葉に多く下葉に少ないことは確かである。X線の追求によつても大体上(中)葉に80%、下葉に20%生ずるといつてよいが、今結核研究所および保生園の単独区域切除例719例についても(表1)、右上(中)葉81.6%、下葉18.4

表1 単独区域切除例の切除部位 (719例)
(塩沢, 久留)

例数	S^1	S^2	S^3	S^4	S^5	小計(%)	S^6	S^7	S^8	S^9	S^{10}	小計(%)		
右肺	294	93	137	9	0	1	240	81.6	47	10	3	2	1	54(18.4)
左肺	425	382	12	2	0	0	396	(93.2)	20	2	0	4	2	29(6.8)
計	719	612	21	2	1	0	636	(88.5)	67	3	0	7	4	83(11.5)

%で、上(中)葉が4倍多い(左肺は S^{1+2} を1区域に数えているので正確さを欠いている)。

この理由として現在までにあげられている因子は次の3つに大別できる。

1. 解剖学的、機能的因子
2. 菌の侵入頻度の不均等性 (Smith 説)
3. 個体の抵抗性 (Rich 説)

しかしこれらの説明には共通した2つの欠点が認められる。すなわち、これら因子のいずれか1つで説明しようとする傾向があることと、初感原発巣と関連づける努力がなされていないことである。

現在までに知られており、また考慮しうる解剖学的機能的な上葉下葉のちがいを列挙すると、次の通りであるが、

1. 体積、表面積、(肺胞の数、大きさ)
2. 気管支の長さ、屈曲
3. 呼吸による動き、ひつぱり
4. 気管支内気流速度
5. 呼吸機能(肺活量、肺胞ガス組成、換気、血流分布、呼吸商)
6. 肺動脈圧、血流の配分
7. リンパ流
8. 組織化学的構成?
9. 中枢神経の影響?

これらの因子のどれが重要かは、にわかに断定することができない。またこれらの因子のみで、1次巣と2次巣の分布の喰いちがいを説明しつくすことはできない。

さて初感原発巣の分布については、必ずしも一定した見解がとられていなが、これは正確に各肺葉の単位体積に対する密度として計算されていないためである。

成人健康肺の体積をメラチン注入法によつて測定してみると、右肺対左肺は約57:43、右肺では上中葉対下葉は51:49、左肺では上葉対下葉47:53である(表2)。

次に過去の諸業績および自家例(肺癆、非肺癆例を含む)から成人肺初感原発巣の各肺葉分布を集計すると、総数2321個について、右肺対左肺は56.6:43.3となり、ほぼ正確は体積比に一致する。また、右肺では上中葉対

表2 成人健康肺の体積(cc) (高瀬, 青木, 鈴木)

右肺			左肺			
番号	上葉	中葉	下葉	番号	上葉	下葉
1	620(36%)	240(13%)	880(51%)	1	620(46%)	730(54%)
2	790(36%)	310(14%)	1100(50%)	2	720(43%)	940(57%)
3	500(40%)	125(10%)	625(50%)	3	1100(47%)	1250(53%)
4	550(36%)	260(17%)	725(47%)	4	500(43%)	650(57%)
5	660(43%)	255(17%)	630(41%)	5	610(49%)	630(51%)
6	490(32%)	280(18%)	760(50%)	6	690(50%)	680(50%)
7	650(34%)	300(15%)	790(51%)			
平均	609(36%)	253(15%)	813(49%)	平均	707(47%)	813(53%)

注 1. No.1 No.2 は左右同一人の肺, 他は左右別人の肺
 No.1, 右:左=56:44, No.2, 右:左=57:43
 2. 測定方法: 変死者肺に直ちに温めた10%ゲラチン溶液を気管支より注入, 十分膨脹復元せしめ気管支端をしぼり, そのまま水にて冷し固定する。これを各葉に切断, 水中に入れて体積をはかる。

下葉 63.5:36.5, 左肺では上葉対下葉 58.7:41.3 となり, したがって分布密度は右上中葉1.25, 下葉0.74, 左上葉1.25, 下葉0.78 となり, 上下の密度比は右1.69, 左1.60 となり, 初感原発巣もまた上葉に集積する傾向を示す(表3, 4)。

しかしこれはせいぜい1.6倍程度で, 2次巣のごとく4倍にはならない。

表3 諸報告による成人における初感原発巣の各葉分布 (確認および推定を含む)

発表者	総数	右肺			左肺			
		上葉	中葉	下葉	計	上葉	下葉	計
Puhl Schür- mann 岡	112	36	12	19	67	32	13	45
	648	183	41	126	350	170	128	298
	136	27	15	37	79	30	27	57
岩下	87	25	10	15	50	23	14	37
杵野	82	17	11	17	45	21	16	37
宇野	51	9	1	20	30	8	13	21
岩崎	141	51	6	17	74	40	27	67
影山	688	240	20	152	412	164	112	276
北	376	89	42	76	207	103	66	169
合計	2321	677	158	479	1314	591	416	1007
	%	51.5	12.0	36.5	(56.6)	53.7	41.3	(43.4)

注 1. 諸報告はいずれも約90%は15歳以上, 他に Ghén, Lange, Bl men`erg, 中田の報告あるも小児肺なる故省略。
 2. () 内多は左右比。

表4 初感原発巣各葉密度比

右上中葉,	$\frac{63.5}{51} = 12.5$	左上葉,	$\frac{58.7}{49} = 1.25$
右下葉,	$\frac{36.5}{47} = 0.74$	左下葉,	$\frac{41.3}{53} = 0.78$
上中葉:下葉=	1.69	上葉:下葉=	1.60

成人肺炭粉沈着についてみると, 炭粉粒子の停滞は上葉に著明であることは周知のごとくであるが, 粒子の大きさを測定してみると(表5, 6)上葉, 下葉ともに5ミクロンを越えることがなく, 1ミクロン以下が約90%を占め, 大きさの分布度も上下に差がない(青木, 松尾)。これより類推すれば菌の吸入頻度の上下の差は知りえないが, 入りうる菌塊の大きさには上下の間に差がない。また一般に認められているように, 停滞の度は上葉が大であろうと考えられる。

表5 呼吸小気管支, 肺胞壁, 肺胞内炭粉粒子(松尾)

大きさ(μ)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	計
数	4162	739	94	1	3	0	1	5000
%	83.24	14.79	1.88	0.02	0.06	0.00	0.02	100

注 1. 人肺フォルマリン固定, パラフィン包埋組織切片を鏡検法により測定。
 2. 炭粉粒子以外のヘモジリン, フォルマリン色素との区別は行わなかった。
 3. 粒子が食食されているものは円形小粒子の集合しているもので可能な限り個々に計算した。

表6 遠沈法による人肺内炭粉粒子の大きさ(青木)

大きさ	48歳合		64歳合	
	上葉%	下葉%	上葉%	下葉%
約0.6μ	42.0	45.1	52.0	45.6
約1μ	50.0	43.2	44.8	44.0
約2μ	6.4	9.6	2.0	7.6
約3μ	1.2	1.2	0.8	1.6
約4μ	0.4	0.8	0.4	1.2
全視野中最大の粒子	5×3μ	4×3.5μ	4×3.5μ	5×4μ

注 1. 変死者肺約10~20gをとり, 20%NaOH 液で1時間煮たのち水を加え, 2000~3000回連続沈1回行い, 次にKClO₃(2%)液にて15~30分煮沸し, 水を加え同様の遠沈1回行い, これをオブエクトグラスにのぼし鏡検する。
 2. 上葉, 下葉各250個を数え大きさの分布をみた。
 3. この程度の遠沈では微細な粒子は落ちないので粒子の大きい方へ測定値が寄る考えられる。

また, 非肺癆例79例84個の治癒した初感原発巣の大きさを上中葉, 下葉別に比較すると, 表7のごとく大部分は5mm以下であるが, 下葉においては, 6mm以上の大きいものがみられる(統計的に有意)。この事実はX線写真X型1743例の石灰化初感原発巣についても同様にいえる(表8)。すなわち下葉では初感原発巣が

表7 非肺癆群治癒初感原発巣の大きさと位置(79例 84個)

肺葉	径(mm)										計
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
上(中)葉	5	21	6	9	3						44
下葉	5	15	5	6	2	4	1	1	0	1	40

表 8 X線写真XAXAにおける石灰化原発巣の大きさと位置1743例
〔渡辺, 八尾, 吉武, 今村, 久野, 塩沢, 福田(東鉄)〕

径 mm													計		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13	14
上野	74	179	132	74	32	8	6	3	0	2	2	0	0	1	513
%	14.4	34.9	25.7	14.4	6.2	1.6	1.2	0.6	0	0.4	0.4	0	0	0.2	100
下野	84	290	342	229	133	76	31	17	14	8	2	2	2	0	1230
%	6.8	23.6	27.8	18.6	10.8	6.2	2.5	1.4	1.1	0.7	0.2	0.2	0.2	0	100

る程度大きい場合もよく治癒しうることを示している。
したがって上下の解剖学的機能的素因の差は確かに存在しているが、初感原発巣の片寄りからせいぜい1.6倍程度にすぎないといえる。しからば、2次結核症の初発病巣が約4倍程度上葉に片寄るのは、さらに他の因子が考慮されねばならない。これについて論理的に考えられる因子は、当然初感原発巣と2次巣の成立時の条件のちがいによって求められるが、それは、

1. 菌の侵入形式の相違
2. 個体の抵抗性の増強
3. 初感原発巣の片寄りに支配される因子

の3つである。

第1の因子については、初感染とちがう形成がああとすれば、それは第1は血行性転移であり、第2は気管支性転移である。外来性再感染形式については、初感染と同じ形式と考えられるのでここでは問題にならない。

血行性転移の場合、静脈角よりの菌の血流内侵入が起れば立位の人間では肺上葉に向う機会が多いことはSmithらの想定するところで、われわれも犬の実験で、上空静脈、下空静脈よりの血液が心臓で均等に混合せず肺に不均等に分布することを確認した(安野)。すなわち犬を麻酔開胸後、頸部または鼠蹊静脈からピラセトン、水、血液等にメチレンブルーを溶かしたもの約10ccを注入し、2次循環のはじまる以前に肺門をけつした。そうすると、各肺葉の着色度は著明に差が認められ

表 9 左心および右心内接種による24時間後の臓器内菌分布(モルモット, BCG 0.01mg)(平沢)

接種部位	動物番号	臓器10mgあたり生菌数*		
		肺	肝	脾
左心	A ₁	10	51	79
	A ₂	5	41	79
	A ₃	4	33	53
右心	V ₁	19	42	108
	V ₂	11	19	54
	V ₃	5	25	70

注 生菌数は定量培養法により発育集落数にて示した。数字は培地3本の平均集落数

た。しかし一方モルモットによる実験で、菌を右心から入れても、左心から入れても24時間後の肺臓定量培養には著しい差はない(平沢)。すなわち表9の如く、モルモットにBCG 0.01mgを左心または右心内接種後24時間後の肺、肝、脾の定量培養成績は両群において著しい差が認められない。肺では右心接種群がやや菌数が多いが著しい差はないといえる。すなわち菌が血行性に最初に到達する臓器にすべて捉えられるのではない。また菌の血行性侵入門戸が常に静脈角であることはいえない。またこの形式のみでは初発病巣が初期変化群側に片寄る事実は説明できない。したがってこの経路が主役であるとはいえない。

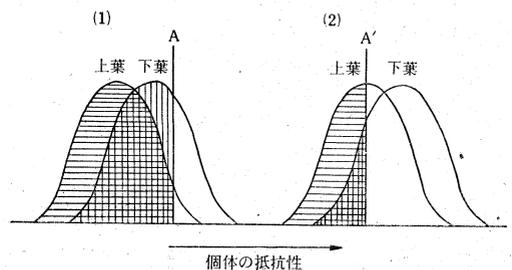
次に気管支性転移については、外来性吸入感染と異なり、菌は空気中を浮遊する形でなく、気管支性粘膜をつたって逆行性に吸引されることによると思われる。

線毛上皮の運動に逆らって吸引される理由は、気管支内気流速度が吸気時に大きく呼気時に小さいという点から理解しうる。

この場合、吸引菌量はしばしば多量でありらる。2次巣形成に際しては菌量が大でなければならぬと考えられるから、この経路は重大である。

第2の因子は、個体の抵抗性の問題である。個体は自然の状態で先天抵抗性をもっているが、これが上葉と下葉との間でも前述のように解剖学的機能的因子に支配されて異なっており、上葉は弱く下葉は強い。この関係が感染によって個体の抵抗が高まる(獲得抵抗性)際に、そのまま持ちこされると仮定すれば、概念的には図1に示すような関係になる。すなわち2次巣の形成に際しては初感原発巣形成に比べて上葉の片寄りが相対的に大となる。したがって個体の抵抗性の高まりは大きな因子で

図 1 個体の抵抗性と上、下葉の病巣形成頻度



説明

1. 上葉と下葉の抵抗性にはずれがある。
2. 各葉の抵抗性は多数の人間において個人差があり、これが正規分布をとるものとする。
3. (1)は初感染の場合でA線より左において病巣形成を起すが、ほとんど全体に病巣ができるので、上葉の病巣形成頻度の差はわずかである。
4. (2)は2次病巣形成場合でA'線より左にしか病巣ができない。つまり(1)のA線に比し(2)のA'線は相対的に左にずれる。したがって上葉と下葉の病巣形成頻度の差は大となる。
5. この場合、抵抗性が高まっても上葉と下葉との間の抵抗性のずれはそのまま持越されるものと仮定する。

ある。

第3の因子について、初感原発巣自体の進展拡大またはこれが転移源となる場合を考えると、これは初感原発巣の位置および局所の素因に関連する。すなわち初感原発巣は約1.6倍上葉に多く、進展、転移も同じ素因に支配されるとすれば、その可能性は模型的に示せば $1.6 \times 1.6 = 2.5$ となる。再感原発巣を確認することは本研究では不可能であったが、家森らのいうことを承認すれば、これらは上葉に多いという。この事実は前記第2因子から論理的にも妥当であるが、そうだとすれば、これも考慮しなければならない。しかし、初感原発巣成立の頻度にくらべると、それと同量の微量な菌によるかかる再感原発巣の成立頻度はいちじるしく少ないと考えられる。

この問題に関連して、非肺癆群と肺癆群の初感原発巣の各肺葉分布を比較すると、肺癆群の方が初感原発巣の上葉への片寄りが大きい(表10)。これは岩崎も指摘している通りである。

これは肺結核症の発展が初感原発巣の上葉占位とある程度相関していることを示し、第3の因子が重大であることがわかる。この関係は転移巣からの2次的転移の場合にも同様である。

表10 非肺癆例と肺癆例との間の初感原発巣分布のずれ(初感原発巣確認および推定を含む)

		右 肺			左 肺			
		上葉	中葉	下葉	計	上葉	下葉	計
非肺癆群	杓 掛	17	11	17	45	21	16	37
	宇 野	9	1	20	30	8	13	21
	北	23	11	25	59	19	21	40
	計	49	23	62	134	48	50	98
肺癆群	岩 崎	51	6	17	74	40	27	67
	北	66	31	51	148	84	45	129
	計	117	37	68	222	124	72	196

注 初感原発巣は肺癆群の方が上(中)葉に片寄る(危険率1%以下)

以上のことから、成人肺結核症の初感原巣が何故上葉

に片寄るかという問題は、今までのように解剖学的機能的因子または Smith の血流説のみによつて説明することは誤りであつて、初感原発巣成立に際してみられる程度の上葉の解剖学的機能的因子のほかに、さらに2次的に加わる次の3因子が働くものと考えねばならない。すなわち、巣の侵入形式の相違、個体の抵抗性の増強、転移源としての初感原発巣(稀に再感原発巣)および転移巣の上葉への片寄りがこれである。そうでなければ2次肺結核症の初発病巣が約4倍も上葉に片寄ることは説明しえない。

今後さらに肺区域に分割して考察すること、および各因子の本質論的分析を行うことが望まれる。

2. 成人肺結核症の初発病巣は如何なる経路で生ずるか

第2次肺結核症の初発病巣が何故上葉に片寄るかという問題を分析するとき、前述のように菌の侵入経路に関する因子を除外することができない。すなわち、初発病巣が何故上葉に多いかという問題と、如何なる経路で生ずるかという問題とは分離できない。

初発病巣が成立する経路について考えられる可能性は最初に示したように5つあるが、これらのいずれの可能性も否定することはできない。しかし、どれが主役を演ずるかという蓋然性の問題については、病理解剖学的に検討しうる問題である。

研究方法として非結核屍を用いる方法と、結核屍を用いる方法の2つがあるが、互いに一長一短があり、この2つの方法は合わせ行ふべきものと思われる。

本研究では1935~1944年の成人肺結核屍351例を材料とし、非結核屍102例を参考資料とした。この351例は戦前の材料であり、したがって戦後と発病形式が違つているという非難があるかもしれないが、この材料の年齢構成は40歳以上が98例(30%)を占め50~80歳が48例で、つとめて高年齢を集めた。もし初感染に引きつづく進展が多数を占めるとしても、この時代には再感染の機会はかえつて多いと考えられるから、その間の状態はこれら高年齢層の検討で可能であると考えられる。

これらの材料について、分析の重点を初感原発巣および肺門リンパ腺の乾酪巣においた。331例について初感原発巣を確認したものは79例(22.5%)であつた。

このうちに87個の原発巣があつたが、同一肺区域または同一肺葉に2個ある場合を1個と数え、84個について初感原発巣の性状をみると、表11のごとく、初感原発巣の崩壊の直接の証拠があるものは37例(44%)、転移源として間接の証拠があるもの17例(20%)で計64%であつた。

表 11 初感原発巣84個の分類

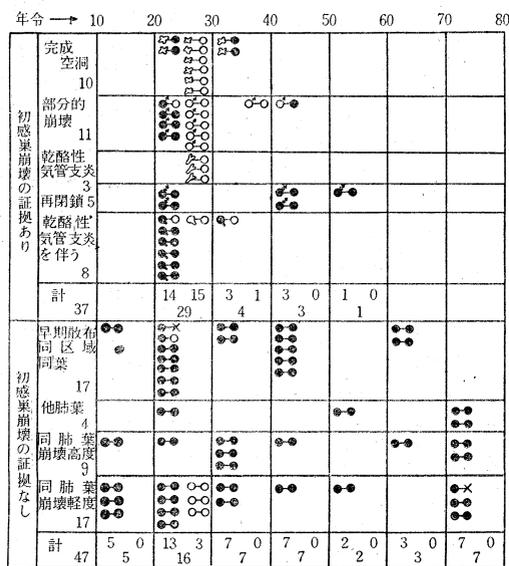
1 崩壊巣 a 完成空洞	10	} 37(44%)……	原発巣の崩壊の直接の証拠あり
b 部分的崩壊	11		
c 乾酪性気管支炎	3		
2 被包巣 a 崩壊再開鎖			
b 乾酪性気管支炎を伴う	5	} 17(20%)…原発巣の転移源としての間接の証拠あり	原発巣の崩壊の直接の証拠あり
c 早期撤布被包巣を伴う	8		
同一肺区域10	} 21		
同一肺葉 7			
同側肺 3			
他側肺 1	} 13(16%)不明	原発巣の転移源としての証拠なし	
d 同一肺葉の崩壊著明 9			
e 同一肺葉の崩壊軽度17	17(20%)		

以上の事実は初感原発巣が崩壊進展し、また管内性転移を起す公算が相当大であることを示している。

しかし、前表で初感原発巣の崩壊の直接の証拠がある37個とそうでない47個との2群の年齢分布をみると(図2)、前者は20歳台までのものが78.4%であるのに後者に44.7%にすぎず、かつ70歳台のものが7例もあり、しかもそのうち3例は石灰化または骨化初期変化群のほかには全く新鮮な2次巣を認めるのみであった。また初期変化群が石灰化の状態を示すものは前者56.8%であるのに、後者では93.6%を占める。初感原発巣の崩壊がみられる場合、その進展が短期間に起こることは当然考えられることで、この2群の時期的ずれを直ちに再感染に結びつけることはできない。しかし後者の群に再感染によるものが含まれていないとはいえない。

次にリンパ腺巣の気管支への破壊は351例中22例(6.3

図 2 初期変化群性状と年齢



注 ○ 乾酪化 ● 石灰沈着 ● 骨化 × 無変化
 ○● 左初感原発巣、右リンパ腺巣を示す

%)に認めたが、そのうち4例は後述する2次性乾酪巣の破壊であつて、しかも1次性変化とは系列的に無関係な位置にあるもので、明らかに初期変化群に属さないのので、これを除外すると5.1%であつた。

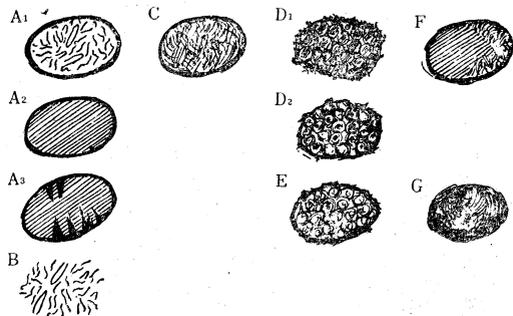
次に初感原発巣中石灰化するものの崩壊が4例あり(図2)、またリンパ腺の石灰化したものの崩壊が3例ある。これらは少数ではあるが、石灰沈着後、すなわち感染後晩期にも初期変化群の崩壊がありうることを示している。

さて、初期変化群の研究において、リンパ腺巣の組織学的分析が基本であつたことは Ranke の研究で明らかであるが、この分析に岡が鍍銀染色を導入したことは画期的な意義をもつていると考えられる。本研究では岡の方法を踏襲した。Ranke 以後初期変化群の概念が定型化され機械的に把握する傾向があらわれ、結核肺リンパ腺被包乾酪巣はすべて初期変化群に属し、Beitzke の晩期乾酪化の知見を除いては2次的にはかかるものは全く生じないかのごとき印象を与えている。しかし、事実は

表 12 肺門リンパ腺乾酪巣の分類

1 次性変化				2 次性変化			
A ₁	A ₂	A ₃	C	B			
FA ₁	FC			D ₁	D ₂	E	
GA ₁	GA ₂	GC		FB	FD ₁	FD ₂	FE
移行型				移行型			
A—D		C—D		A ₂ C		A—D C—D	

図 3 リンパ腺乾酪巣分類



説明 A₁ 固有の網状構造を保ち線維の増殖がない。
 A₂ 無構造。
 A₃ 無構造であるが周辺に束状線維が内部に向つて走っている。
 B A₁ と同じ線維構造であるが被膜を欠いている。
 C 比較的一様に細線維が緻密に増殖している。
 D₁ 結節構造の集り、各結節の中心部には線維を認めない。
 D₂ 結節構造の集り、各結節の中心部にはわずかに線維増殖している。
 E 結節構造の集り、各結節は中心部まで籠状

線維構造を示す。

F A₁, C, D₁, D₂, Eの一部または過半部が無構造のもの。

G 太い線維(膠原または硝子)の塊となっているもの、中心に一部A₁, A₂, C等が残っているものがある。

これに反して、結核肺リンパ腺乾酪巣の組織像は実に複雑で、そのために説明に苦しむ場合が少なくない。

さて肺門リンパ腺乾酪巣を鍍銀染色の線維構造から、図3(附図参照)のごとき10型に分類し、これをさらに1次性変化と2次性変化に分けた(表12)。

この基本型によって分析すると、351例中2例の組織検索不能例を除く349例は次の3群に大別しうる(表13)

表 13 成人結核屍肺 349 例の肺門リンパ腺病変による分類

	1次性変化	2次性変化	例数(%)
I群. 定型的变化	+	-	187(53.6)
II群. 非定型的变化 a	+	+	121(34.6)
b	-	+	9(2.6)
III群. 無変化	-	-	32(9.2)

すなわちI群、定型的变化とは1次性変化が単個または系列的に存在するもので、この場合移行型がはじめから、または下流にまたは不規則に系列中に現われることがある。II群、非定型的变化のaとは、定型的变化の系列のほかに、これと系列的関連がなくして2次性変化を有するもので、2次性変化は系列的のことも非系列的のこともあり、またそれが移行型であることがある。II群のbとは定型的变化の系列を欠き、2次性変化のみが存在するものである。III群はいずれの型の変化も認められないものである。

すなわち、1次性変化が初期変化群を表現していると考えられるから、これより、I+II a=308例(88.2%)に初期変化群リンパ腺巣が認められ、II b群、9例(2.6%)は2次性変化のみ、III群、32例(9.2%)は全く無変化であつた。一方2次的変化がみられるものは合計130例(37.2%)もあり、この成因が何であるかを知ることが大切である。もし外来性再感染によつて、Terplan の変化群を生じ、それより肺結核症の進展が起ることがあるとすれば、このII群の中に当然含まれねばならない。もしこのような成因が主なものであるならば、II群はI群にくらべ高年齢に片寄り、初感染からの経過時間の古いものに集積するはずである。

しかし、図4表14のごとくこれら3群の年齢別分布はほとんど一致している。また1次性変化が石灰化の状態のものとの割合は、年齢別にみてI群とII群との間に差はない(図5、表15)。

さらにII群のaから Terplan の変化群に類似するものを選び出すと27例(7.7%)ある。ここで Terplan の

図 4 リンパ腺乾酪巣の型と年齢分布

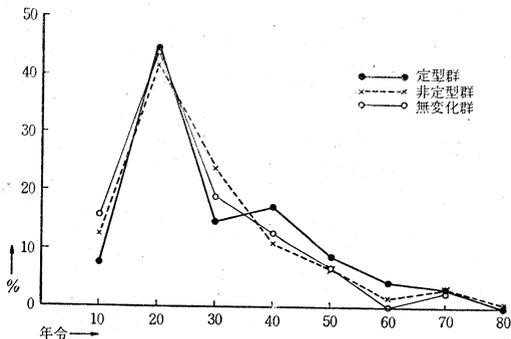


表 14

年齢	年齢								計
	10	20	30	40	50	60	70	80	
定型群	14	84	27	32	16	8	6	0	187
	7.5	44.6	14.5	17.2	8.6	4.3	3.2	0	100
非定型群	16	54	31	14	8	2	4	1	130
	12.3	41.5	23.8	10.8	6.2	1.5	3.1	0.8	100
無変化群	5	14	6	4	2	0	1	0	32
	15.6	43.8	18.8	12.5	6.3	0	3.1	0	100

図 5 定型、非定型群の1次性変化の年齢別石灰化率

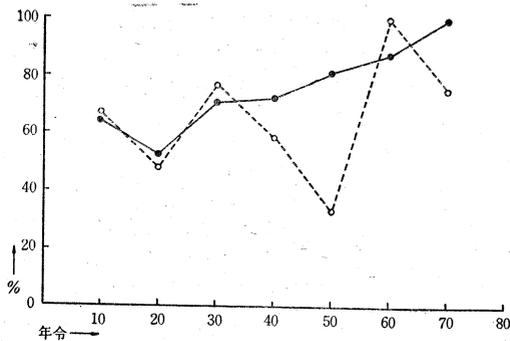


表 15

	年齢	年齢							
		10	20	30	40	50	60	70	80
I群, 定型的变化	石灰化	9	44	19	23	13	7	6	0
	乾酪性	5	40	8	9	3	1	0	0
	石灰化の比	64.3	52.4	70.4	71.9	81.3	87.5	100	0
II群a非定型变化	石灰化	10	25	23	7	2	2	3	0
	乾酪性	5	27	7	5	4	0	1	0
	石灰化の比	66.7	48.1	76.7	58.3	33.3	100	75.0	0

表 16 定型群と Terplan 変化群との年齢分布

年 齢	10	20	30	40	50	60	70	80	計
定型群 リンパ腺石灰化	9	44	19	23	13	7	6	0	121
Terplan 群	3	7	11	4	0	1	1	0	27

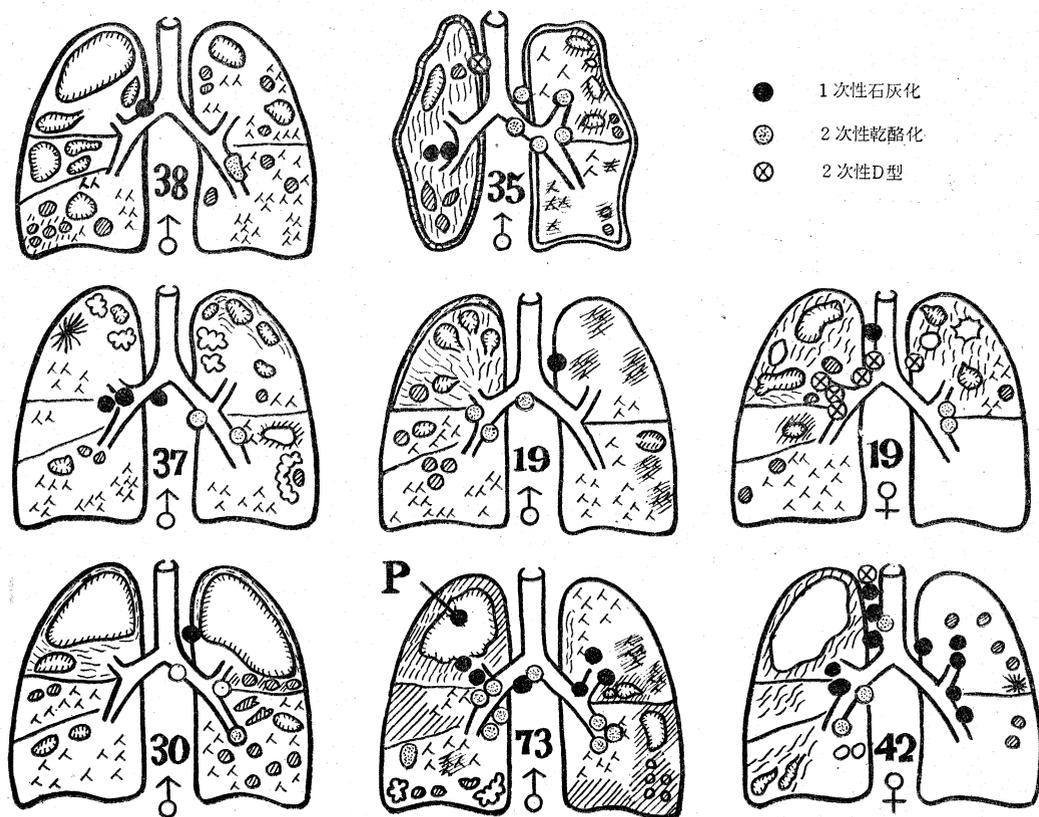
注：年齢分布に両群のくい違いはない。

変化群を次のように定義した。すなわち、1次性変化がAまたはC型で石灰化または骨化しており、2次性変化は移行型（A, C, A-D, C-D）であり乾酪性であるものである。この場合、D型は除外し、1次性変化の下流にみられる乾酪性病巣は1次性変化に属させ、2次性変化として扱わなかつた。

これらの27例は10~29歳10例, 30~49歳5例, 60歳,

70歳各1例で、年齢分布に特異性はない(表16)。この27例を検討してみると、初期変化群の肺またはリンパ腺巣が崩壊が起つているもの4例、陳旧肺石灰巣の崩壊1例があり、この5例はリンパ腺の2次性変化を生ずる前に転移源を生じていたと考えられる。また、巨大空洞に対応して2次性変化が生じているものが10例、2次性変化が両側性に多数不規則に生じているものが4例ある。これらは2次性変化成立の原因を外来性と考えるににくいものである。残余の8例中6例は2次性変化成立の原因が外来性か内因性かいずれともいえないが肺に陳旧病巣を有し、2例のみはかかることなく外来性と考えてもよい例であつた。すなわちその1例は1側に石灰化リンパ腺巣があり、他側に乾酪性の崩壊したリンパ腺巣を有しているが、2例とも肺には新鮮な病変を認めるのみであつ

図 6 Terplan 変化群類似例



た(図6)。したがって351例中2例は外来性再感染の疑が濃くこれはわずか0.6%にすぎない。一方、1次性変化が石灰化していないのに、かかる2次性変化を対側にもつている例がある点から、必ずしもこれらの症例を外来性再感染と考えることはできない。むしろ肺の病変に対応して内因性にリンパ腺の2次性変化を生じたと考えられるものが多い。

次にII群130例中リンパ腺2次性変化が偏側にのみある78例について肺病変との関係を見ると、その重い側に生じているものが44例(56%)、かえって軽い側に生じているものが10例、他の24例は肺の左右病変が同程度のものであつた。したがってかかる2次性変化は肺の重は病変の側に生ずる傾向がある(危険率1%)。またこの78例中40例すなわち半数以上は、巨大空洞、多発性空洞

表 17 肺門リンパ腺巢の型と腸間膜リンパ腺の型および腸間潰瘍との関連 (岩井)

腸間膜リンパ腺変化	腸潰瘍				計(%)	非定型群				計(%)
	-	+	++	###		-	+	++	###	
O, B 結節のみ	3	4		7	7(58.3)	1			1	8(22.5)
	1	11	7	21		1	4	3	8	
A, C A + C	1	3	3	7	7(20.8)	2			2	5(17.5)
		2	2	3		3	1	1	5	
B						1	1		2	
C + B							1		1	
A+C+B						1			1	
A + D			1		1	1	1		2	
C + D		1		3	4	3	3		6	
A+C+D						2	2	2	6	
A+B+C+D								1	1	
D		3	1		4	1	1	1	3	
B + D			1		1		1		1	
C+B+D						1			1	
計	5	22	13	8	48	2	18	10	40	

乾酪性肺炎, 気管支肺炎に対応していた。

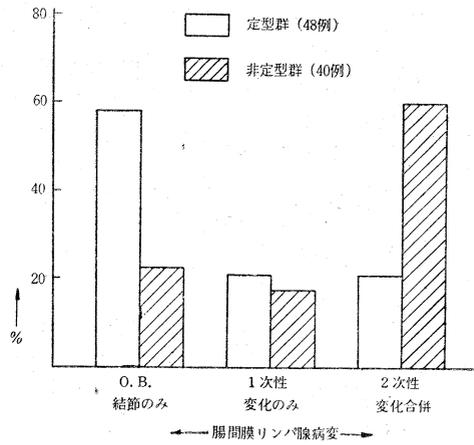
したがって2次性変化はある程度肺病変に相関している。しかしI群にみられるように、これと同じ程度の肺病変があつてもリンパ腺に2次性変化が起つていないものが数多く存在する。すなわち肺病変に対応して2次性変化を生じるためには、他の要因が求められねばならない。

この点について、I群48例、II群40例を無作意的に抽

出して、その腸間膜リンパ腺の乾酪巣の状態を検討した(岩井)。その結果は表17、図7のごとくで、腸間膜リンパ腺にもまたしばしば2次性変化が現われるが、それはI群II群とも腸潰瘍が高度なほど出現率が高い。

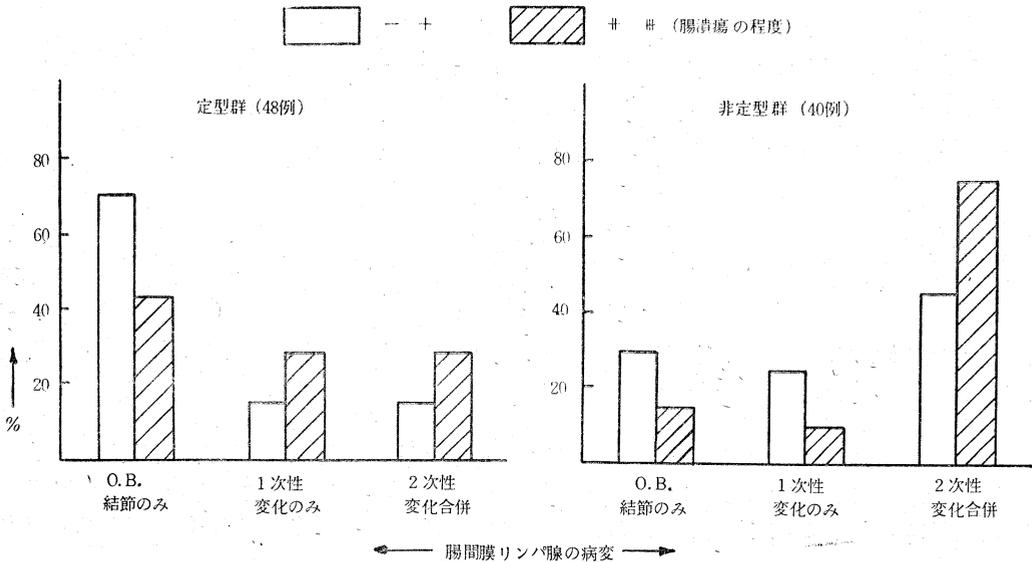
それにもかかわらずI群すなわち肺門リンパ腺に1次性変化のみがみられる群では、腸間膜リンパ腺は無変化または結核結節のみ、または1次性変化のみのものが圧倒的に多く(38例, 79%), 2次性変化を認めるものは21%にすぎない。これに反してII群すなわち肺門リンパ腺に2次性変化を有する群では腸間膜リンパ腺にも24例(60%)に2次性変化を認めた。すなわち肺と腸のリンパ腺の変化には明らかに相関がある(表17, 図8)。

図 8 肺門リンパ腺病変と腸間膜リンパ腺病変 (岩井)



故に、かかるリンパ腺の2次性変化は肺および腸の局所病変に関連したものであるが、しかし全身的反応性が一方の因子として無視できない。2次性変化中には被膜

図 7 腸潰瘍と腸間膜リンパ腺の病変との関係 (岩井)



の欠除せるものがあるが、これは死亡前比較的短期内に、個体が反応性を失ったときに生じたものであろう。

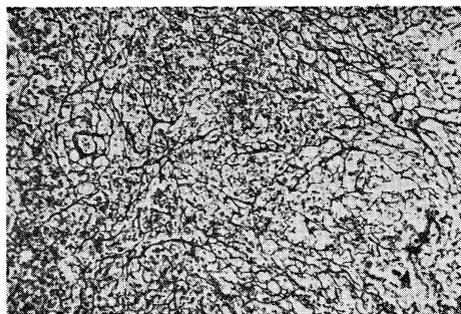
以上のごとく、肺結核屍では定型的初期変化群のほかにはしばしば2次性乾酪性変化を生ずるものであるが、それは主として内因性のものであると思われる。これらのうちに外来性のものであるかどうかは決定できなかったが、もしあるとしても問題にならないほどわずかであろう。Terplanの意味する再感染がこのように少ないとすれば、重感染はさらに少ないとみてよい。

以上、肺結核屍の検索によると、第2次肺結核症の初発病巣は初期変化群からの直接の進展および管内性転移が圧倒的であり、また前述の理由から血行性転移もありうると考える。また初期変化群の石灰沈着後の崩壊がみ

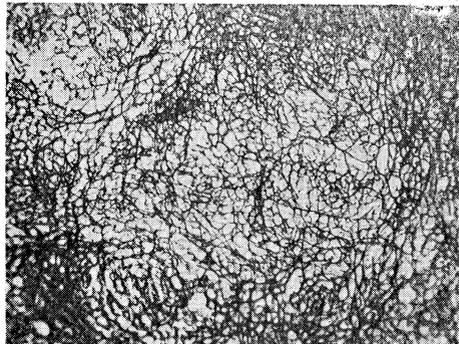
られる点からこれらの晩期進展もありうるが、これより類推すれば一旦肺上部に管内性または血行性に成立潜在した転移巣からの晩期進展も相当ありうると考えられる。再感原発巣成立およびこれからの進展あるいは転移は、その可能性を否定しえないとしても問題にならない程度のものであると考える。

終りにこの研究報告の機会を与えられた隈部会長に謝意を表するとともに、私の研究に当初より絶えず指導と激励を賜わった岡治道先生、ならびに隈部英雄先生に深い感謝を捧げる。また研究部長岩崎龍郎先生の本研究に対する御鞭撻、および本研究に御協力いただいた結核予防会施設の部員諸君および国立中野療養所、国立清瀬病院、浴風園、国立東京第二病院に対して厚く感謝する。

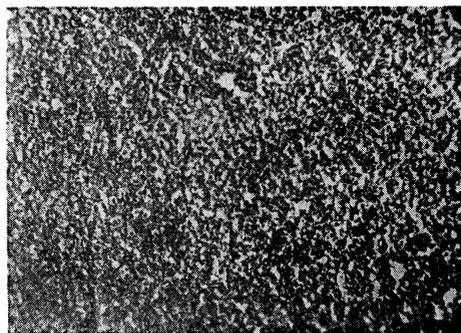
附図 肺門リンパ腺被包乾酪巣の銀線維構造 (1~10)



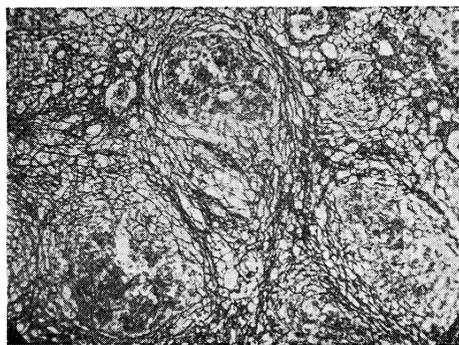
1 A₁ 型



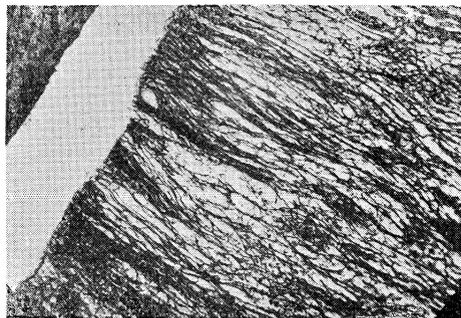
4 C 型



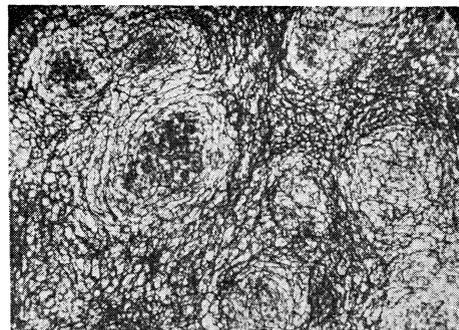
2 A₂ 型



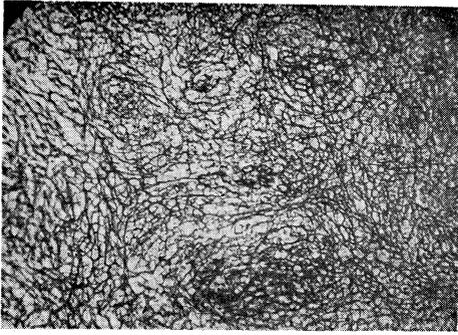
5 D₁ 型



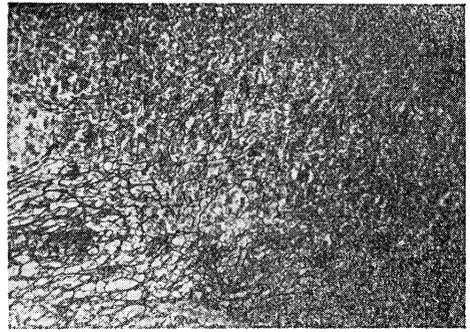
3 A₃ 型



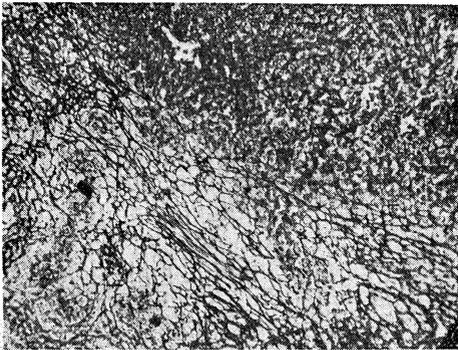
6 D₂ 型



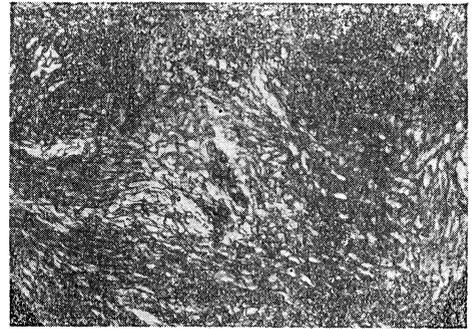
7 E 型



9 Fc 型



8 FA₁ 型



10 G 型

結核菌の抵抗性について

—臨 床—

東大伝研付属病院・東京大学教授 北 本 治

目 次

序 言

- 喀痰における耐性と病巣における耐性
- 早朝痰における耐性と病巣における耐性
- 未治療患者の結核菌の感受性
ならびに耐性菌感染
- 耐性の抑制
- 2者または3者耐性

総合耐性

耐性と悪化

INH耐性菌のビルレンツ

—マイクロプラトールによる純粋な耐性菌についての検索—

結 語

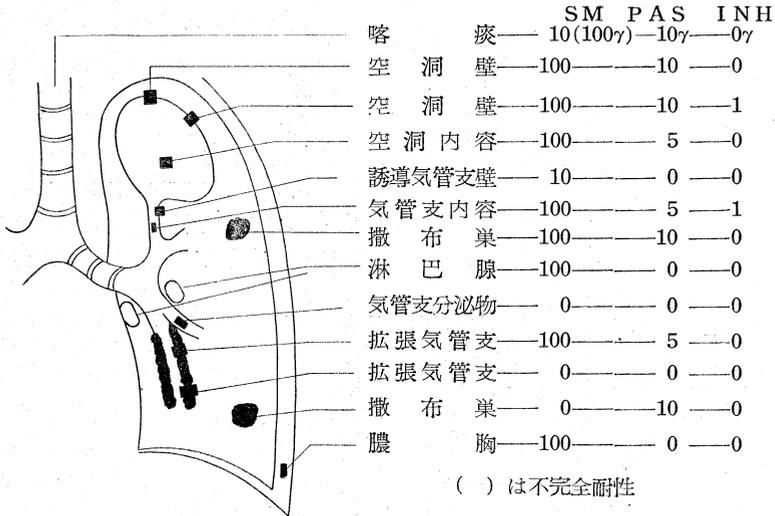
結核菌の抵抗性の問題を臨床面から取扱うに当り、範囲が広汎であるので、いくつかの問題に限定したい。

まず臨床上耐性を扱う場合の前提条件ともいふべき事項について一言する。

喀痰における耐性と病巣における耐性

切除肺における諸病巣の耐性値と喀痰のそれとを比較

図表 1 喀痰における耐性と病巣における耐性 (切除例による検索)



臨床上各病巣の耐性を測ることは不可能であるから、われわれは通例、喀痰の耐性をとらえて論ずるほかないが上述の事を考慮からはずすべきでない。

対照すると、多くは一致するが、一部は不一致を呈する。その1例は図の如く、喀痰ではSM10%, PAS10%, INH0%であるが、空洞壁、空洞内容、誘導気管支壁等以下の諸病巣をみると、SM100%, INH1%のものがある。喀痰の10%は病巣の100%のところと0%のところの菌の集合体の値を示している。

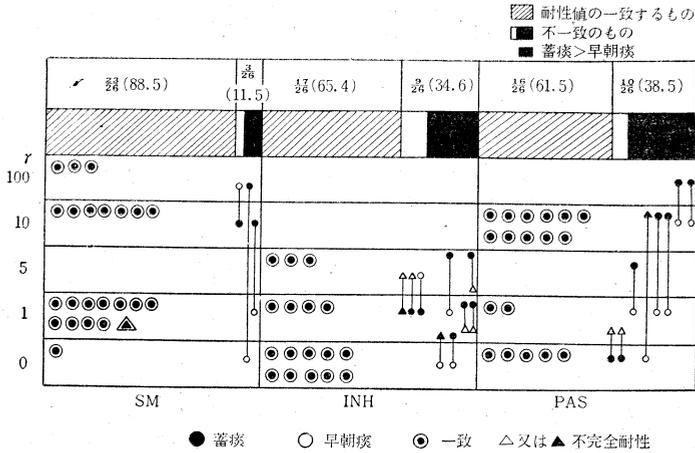
早朝痰における耐性と蓄痰における耐性

早朝痰と1日の蓄痰(午前8時から翌日同時刻まで)

未治療患者の結核菌の感受性 ならびに耐性菌感染

における耐性値は大部分一致する。しかし一部に不一致が見られ、SMでは11.5%, INHでは34.6%, PASでは38.5%であり、不一致の過半数は早朝痰の方が蓄痰より低値を示した(図表2)。

図表 2 早朝痰における耐性と蓄痰（1日）における耐性



図表 3 未治療患者より分離せる菌の薬剤感受性

r	SM	PAS	INH
1,000		△	
100	○	△	
10	○	○	△
5			△
1	○	△	△
0	○	○	○
全例	67例	67例	67例

(SM・PAS・INH 3種の耐性を測定した株のみに就て集計)
△: 不完全耐性を示す。

この問題には、SM、PAS、INHなどの耐性を並行的に全部測定した株について論じないと、測定されていない薬剤に対する耐性が問題となるので、3種の耐性を同時に並行して測定した株のみについて集計した。未治療患者の結核菌67株中、完全耐性でSM 10 γ 以上は4例(0.6%)——うち1例は100 γ ——PAS 10 γ 以上は1例(0.15%)で、なおPAS 10 γ の例は同時にSM 10 γ であつた(図表3)。

これら耐性菌感染と推定される症例をみると、いずれも結核患者と接触機会の多い者ばかりで、3名は看護婦であり、また第2、第4例の2例はSM、PAS登場以前に陽転していた例である(図表4)。

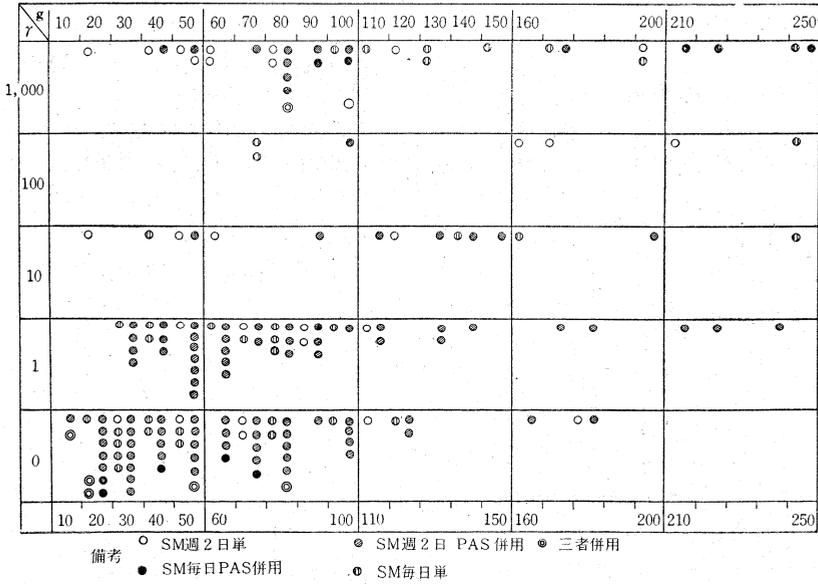
耐性の抑制

まずSM10~250g 使用例について、諸種の使用法別にPAS併用の影響をみる(図表5)と、黒い輪SM週2日単独に対し、SM週2日+PAS毎日併用、および3者併用において耐性が抑制され、SM毎日に対し、SM毎日+PAS毎日併用において耐性が抑制され、SM週

図表 4 耐性菌感染と思われる例

性	1. 大 ○	2. 江 ○	3. 三 ○	4. 福 ○
職業	看護婦	看護婦	看護婦	運転手
陽転	昭26. 4	昭16	昭22	昭19
環境	昭25より 結核病棟勤務	昭26より 結核病棟勤務	昭28より 結核病棟勤務	昭29より 結核 患者(友人)と接触
発病	昭29. 9	昭29. 4	昭30. 6	昭31. 3
X線像				
耐性	SM: 10, PAS: 1, INH: 0	SM: 10, PAS: 10, INH: 0	SM: 10, PAS: 0, INH: 0	SM: 100, PAS: 0, INH: 0

図表 5 SM耐性とPAS併用の有無

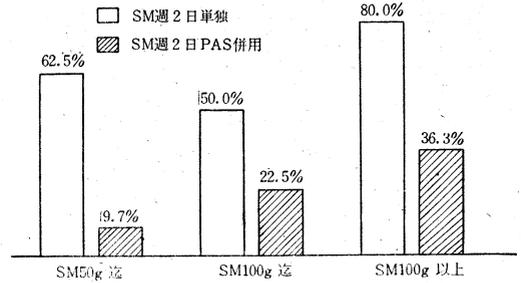


2日単独とこれにPAS毎日を併用したものとを用量別にみると(図表6),使用量の増すにつれて,SM耐性出現率は増すが,しかし単独使用に比し明らかに抑制される。

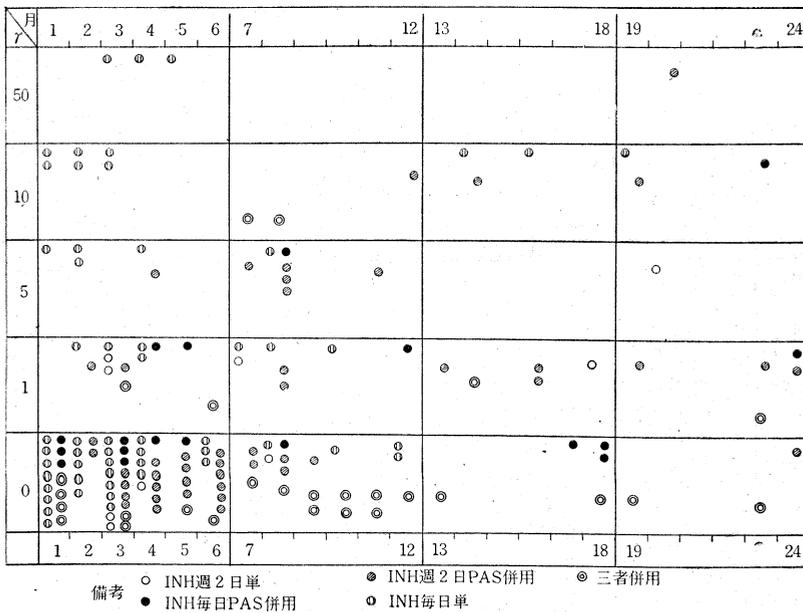
INHについてもINH週2日法に対しINH週2日+PAS併用,INH毎日法に対しINH毎日+PAS併用が抑制を示した(図表7)。

INH毎日法に対するGT₁毎日併用(これはGT₃という混合剤使用)PZA併用をみても,後者においてINH耐性が抑制される(図表8および9)。

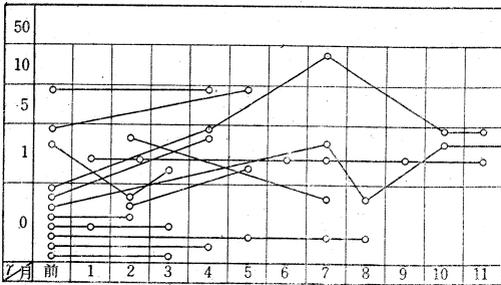
図表 6 SM耐性とPAS併用の有無



図表 7 INH耐性とPAS併用の有無



図表 8 GT₃(INH+GT₁)投与患者におけるINH耐性の推移

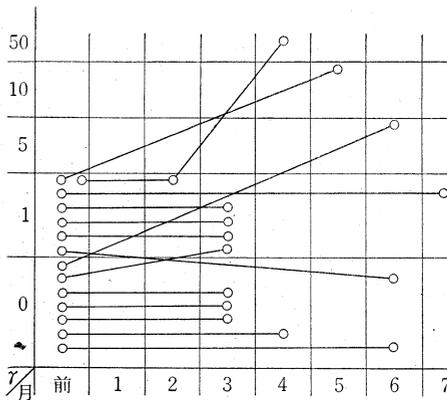


VMも2~6ヵ月使用例で、PAS、INHまたはIHMS併用の場合、耐性出現は少ないようである。ただしVMについては対照例をえがきたいので断、定は保留したい(図表11)。

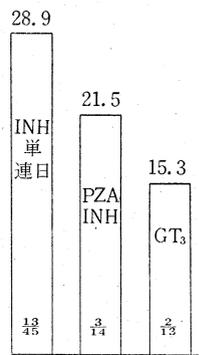
PAS耐性はINHまたはSM、または3者併用でいずれにおいても、併用による著しい抑制はみとめにくい(図表12)。

すなわち、併用において、甲が毎日、乙が週2日である場合、甲は単独使用に近い態度を示し、乙では耐性出現抑制をうけ易いのがみられる。

図表 9 PZA・INH併用患者におけるINH耐性の推移



INH耐性(5γ)上昇率



図表 10 VM耐性測定例

番号	姓	使用月数	総g数	併用	VM耐性 γ/cc	SM耐性 γ/cc
1	■	6	75	PAS, INH	10	10
2	■	3.5	40	IHMS	1	10
3	■	2.5	21	SM(一部) IHMS	1	0
4	■	2	11	PAS, IHMS	1	1,000
H ₃₇ Rv					0(1)	

2者または3者耐性

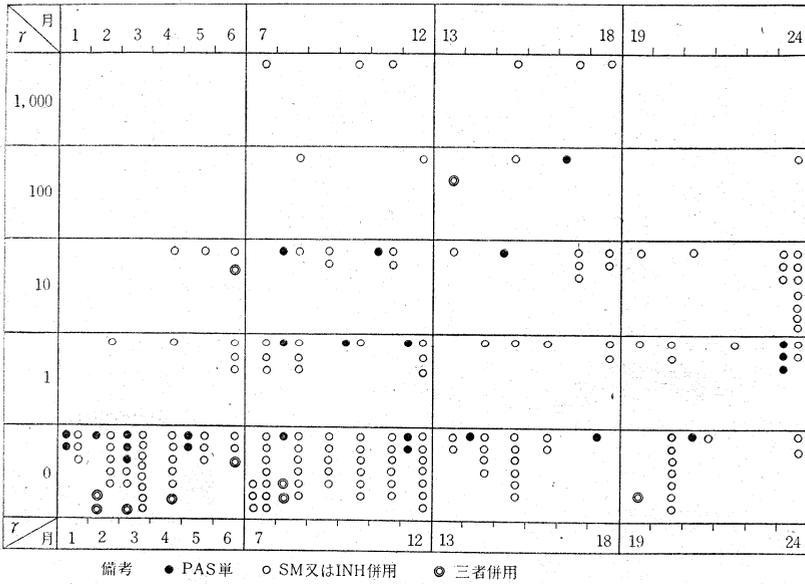
ここでいう2者または3者耐性は、ある菌株が抗結核剤の2つまたは3つに耐性を呈したものを指し、必ずしも菌株中の個々の菌が2重または3重に耐性を担つたもの、すなわち2重または3重耐性 (double or triple resistant) であることをのみ指すものではない。

われわれは、SM、INH、PASの3種の耐性のう

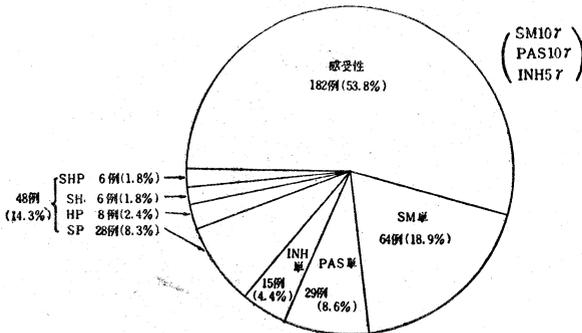
ち1つでも測定してない株は除き、3種耐性を並行的にすべて測定したもの338株について最近数年間の状況を調査した。338株中感受性のも53.8%、SM耐性18.9%、INH耐性4.4%、PAS耐性8.6%、SM、PAS 2者耐性8.3%、INH・PAS 2者耐性2.4%、SM・INH 2者耐性1.8%、3者耐性1.8%であり、2者および3者耐性合計は14.3%に達した(図表12)。

またこれを昭和29, 30, 31各年にわけてみると、IN

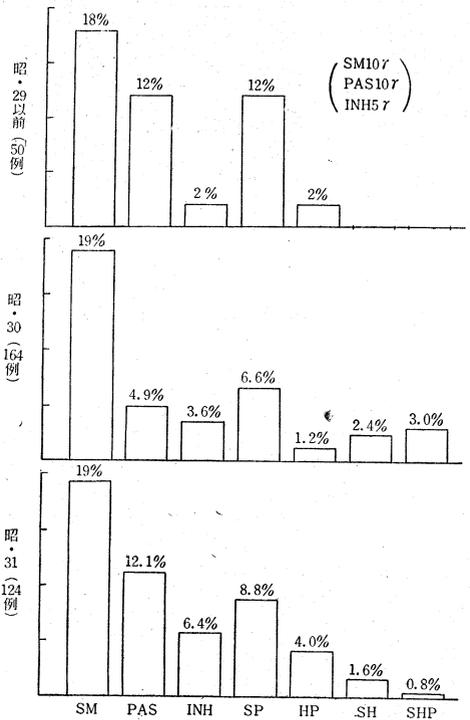
図表 11 PAS耐性とINHまたはSM併用の有無



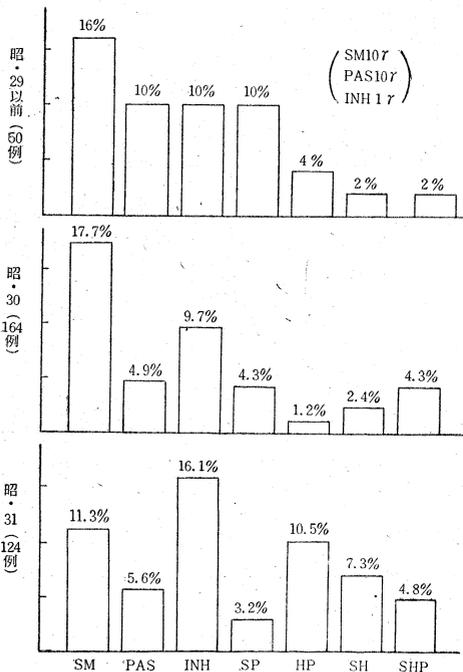
図表 12 3種の耐性を測定した338株についての耐性種別



図表 13 2~3者耐性の逐年傾向



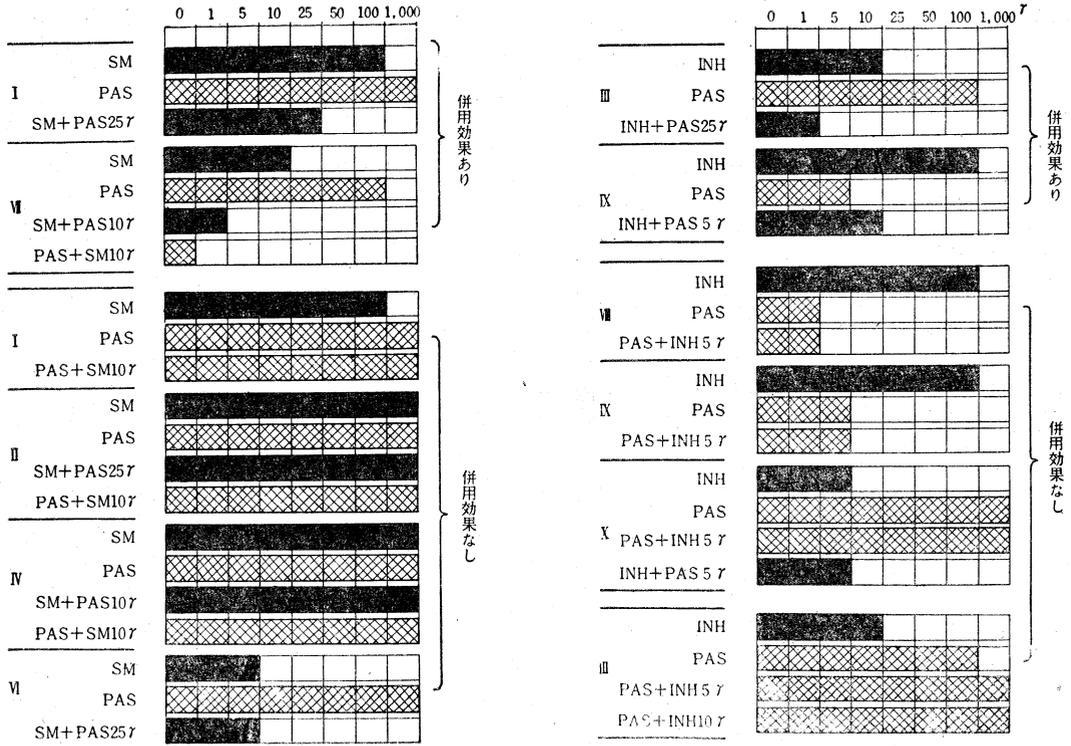
図表 14 2~3者耐性の逐年傾向



H耐性および諸種の2者または3者耐性が増加の傾向を示し、殊にINHの境界を1γにするこの傾向は顕著である(図表13および14)。

次に2者耐性の場合少なくとも in vitro では単独で無効な濃度であっても、両者を組合せて作用させると、その阻止限界が下る場合がある。例えば図表15の表中VIIの株の如く、SM10γ、PAS100γ耐性であっても、PAS10γを加えてSMを作用させると、SM5γで阻止され、

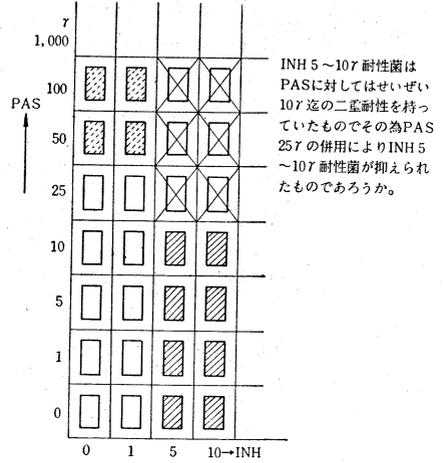
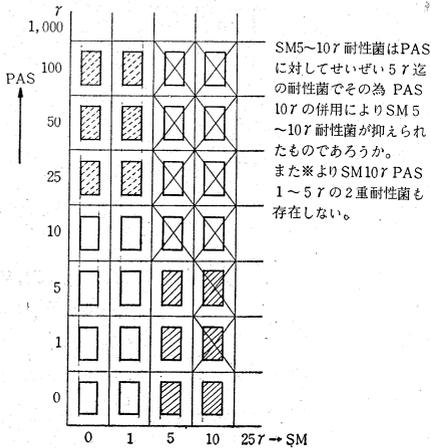
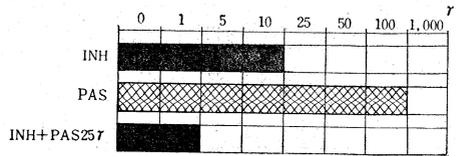
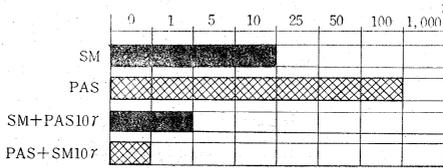
図表 15 2者に耐性の菌に対する併用効果 (in vitro) (SM・PASの場合)



SM10 γ を加えてPASを併用すると、PAS1 γ で阻止される。図の上段は阻止限界の下つた例、下段は下らなかつた例で、一般には下る例の方が少ない。INH, PAS 2者耐性の場合にも同様のことがみられる (図表16)。以上の例に少しく考察を加えると (図表17), SM10 γ , PAS100 γ の2者耐性株では、下段に示すような範囲の菌、すなわち、SMにのみ耐性の各段階の菌 (SMに対する single resistant), PASにのみ耐性の各段階の菌 (PASに対する single resistant) およびSMの各段階とPASの各段階の各種の組合せに相当する多数の2重耐性菌 (SM・PAS両者に対する double resistant) が各種各様に混在している可能性があるわけである。しかし上述の例ではPAS10 γ を加えるとSM

5 γ で阻止されるのであるから、SM5~10 γ 耐性菌はPASに対してはせいぜい5 γ までの耐性菌である管で図中の2重耐性菌は存在しなかつた場合と推定され、またSM10 γ を加えるとPAS1 γ で阻止されたのであるから、SM γ , PAS1および5 γ の2重耐性菌すなわち図中の2重耐性菌は存在しなかつたものと推定される。すなわち、この菌株中には Δ 印以外の組合せに相当する菌みが存在していた場合と考えることができる。もしもポピュレーション中にまたは Δ 印の如き菌が存在する場合には、同じくSM10 γ , PAS100 γ の2者耐性であっても、2剤を組合せた場合上述の如き阻止限界の下降がみられないものと考えられる。

図表 18 INH・PAS 2者に耐性を有する菌株
に対する併用効果 (Youmans 培地)



同様のことは INH10γ, PAS100γの例についても いうる(図表18)。

しかし、2剤が拮抗する場合もみられることなどから、以上のようなポピュレーションの側からのみする説明以外に、なお他の因子の考慮も必要と考えられる。換言すれば2重耐性菌そのものに対する2剤の協同作用というものを全面的に否定することはできない。しかしこれはなお今後の問題である。

総合耐性

以上の事実から2者耐性の場合、各個別に測定値を出す以外に、2剤を組合せて測定する耐性、いわば『総合耐性』ともいうべきものを考えることができる。

われわれはかかる観点から、諸種の組合せ培地を作って、測定することを試みている。すなわち、① 薬剤を含まぬもの、② SMのみを含むもの、③ INH、④ PAS、⑤ SMとPAS、⑥ SMとINH、⑦ PASとINH、⑧ SMとINHとPAS、以上8種

図表 19 2者および3者耐性を考慮した
直接法による耐性検査法
(3%KH₂PO₄培地)

薬剤の組合せと濃度	
1	対 照
2	SM10γ
3	PAS10γ
4	INH 5γ
5	SM10γ+PAS10γ
6	SM10γ+INH 5γ
7	PAS10γ+INH 5γ
8	SM10γ+PAS10γ+INH 5γ

類の培地を作り、これによつて被検株の耐性測定を行い、①—④によつて個別耐性を⑤—⑧によつて2者ないし3者の総合耐性を察知するのである。

図表 20 8種類の耐性培地を用いた直接法
(2者耐性の例)

番号	患者名	直 接 法 (3%小川培地)								間接法 (Youmans培地)		
		①対照	② S	③ P	④ H	⑤ S+P	⑥ S+H	⑦ P+H	⑧ S+P+H	S	P	H
1	■	++	++	++	-	-	-	-	-	0	0(1)	0(1)
2	■	+++	++	+++	-	+	-	-	-	1	1(1000)	0(1)
3	■	+++	+++	+ ₍₂₎	++	+ ₍₂₎	++	-	-	10(1000)	0(1)	1(10)
4	■	++	++	++	-	++	-	-	-	10(1000)	1(1000)	0(1)
5	■	++	++	+	-	-	-	-	-	10	1000	1(10)
6	■	+++	++	++	-	+ ₍₅₎	-	-	-	0(1)	1	1
7	■	+++	+++	+++	+ ₍₃₎	+++	+ ₍₁₀₎	+ ₍₅₎	+ ₍₄₎	10	1(1000)	0(1)
8	■	+++	+++	+++	+ ₍₁₎	+++	-	-	-			

図表 21 8種類の耐性培地を用いた直接法
(3者耐性の例)

番号	患者名	直 接 法 (3%小川培地)								間接法 (Youmans培地)		
		①対照	② S	③ P	④ H	⑤ S+P	⑥ S+H	⑦ P+H	⑧ S+P+H	S γ/cc	P γ/cc	H γ/cc
1	■	+++	+++	++	+++	++	++	-	-	1	1(1000)	1(10)
2	■	+++	+++	++	++	+++	++	+ ₍₅₎	-	1000	100(1000)	1(5)
3	■	++	+	++	+	+	-	-	-	1(10)	100(1000)	1(10)
4	■	++	++	++	+	+	-	+ ₍₆₎	-	1	1000	1(10)
5	■	+++	+++	++	++	+++	+	+	+	100(1000)	100(1000)	1
6	■	++	++	+	++	+	+	-	-	1000	1(10)	0
7	■	+++	+++	++	+	++	+	+ ₍₄₎	+ ₍₄₎	1000	1(1000)	1(5)
8	■	+++	++	+	++	+	++	+ ₍₁₅₎	-			

S: SM, P: PAS, H: INH

この方法にも勿論複雑な点があるが、個別に耐性でも、総合的には阻止される例を認めるのである。

以上の場合、組合せ薬剤の濃度のとり方については、なお考慮の余地を残しているが、SMの10γについては多くの人の一致しているところである。INHについてわれわれの成績からみると(図表22)、INH単独使用時における耐性菌の比率、耐性菌の耐性度、を組合せて考えた場合、有効例がある程度ある限り——有効例数が悪化例数をかりに下廻つても——その薬を使用しようような境界が臨床上好ましいものと考え、INH1γ耐性菌が86~1%の比率で存在してもなお好転例をみることから、太線の如き境界を考慮することができ、これに血中濃度、単独使用の可能性、INHは使用範囲をひろげても経済的負担の増加が少ないこと、などを参酌し、現在まで一応上述の如き濃度を採っている。併用の場合には、これより低くてもよいということは考えられる。

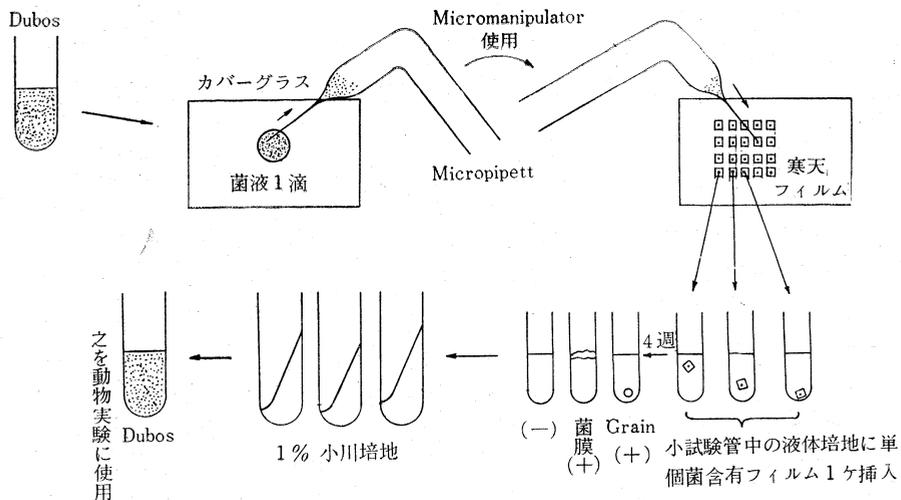
耐性と悪化

SM耐性患者が切除または成形等の外科療法の際、成績の劣ること、殊にSM100γ以上の場合それが著しいが、耐性患者の経過における悪化という点、殊に後に述べるINH耐性菌のピルレンツと関連して考えた場合、未だ十分判明していないようである。

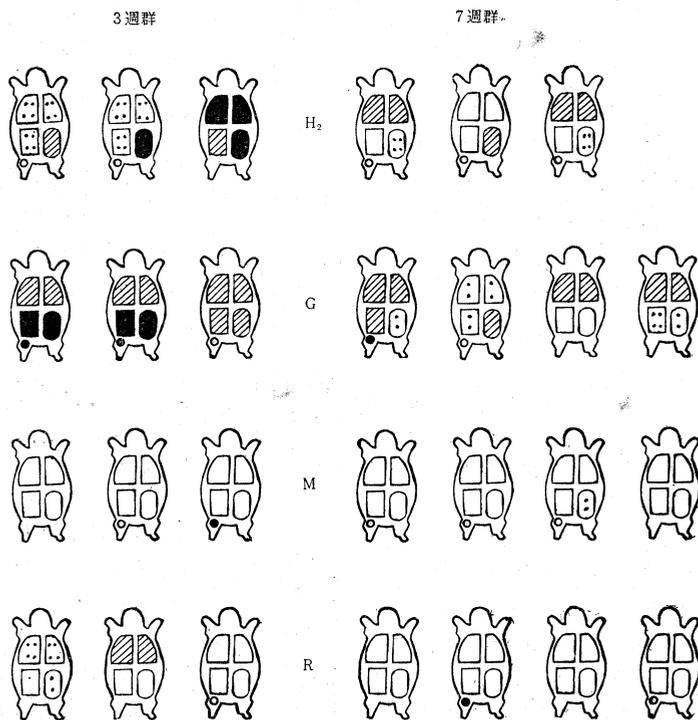
一般に耐性が出現すると、他の薬剤を使用するのが常であるが、他の薬剤を用いておれば、それが悪化を少なくするので、一旦耐性がついたのち他の薬剤を用いなかった症例について、この種の検討を行うのがよいが、かかる症例は比較的少ないのである。

今悪化当時の菌の感受性をみると(図表23)、SMでは、0、1、10、100各γの比率がほぼ平均しているが、INHでは0、1、5、10各γの順に比率が低くなっている。一般患者における比率とにらみ合せて考察し、I

図表 24 ミクロマニピュレーターによる結核菌単個菌培養実験方法

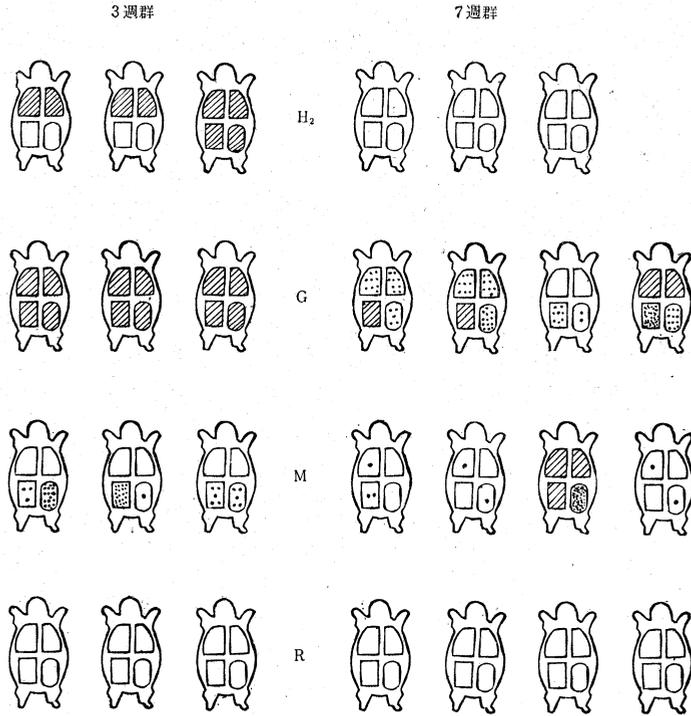


図表 25 モルモット臓器肉眼的所見



臓器病変の程度により■>▨>▩にて示す。
 ○は所属リンパ腺が小豆大以上に腫脹せるを示し
 ●はその乾酪化せるを示す。

図表 26 モルモット臓器定量培養成績



■ 1,000倍稀釈にて集落数 100個以上
 ▨ 1,000倍稀釈にて集落数 100個以下
 ● 10 倍稀釈の集落数を点にて示す。

マウスでは死亡率は H₂>G>M>R群の順を示し、臓器肉眼的所見はG>H₂>M>Rの順を示し、臓器結核菌定量培養ではG≧H₂>M>Rの順を示し、R群では僅少の菌を証明したのみであった。

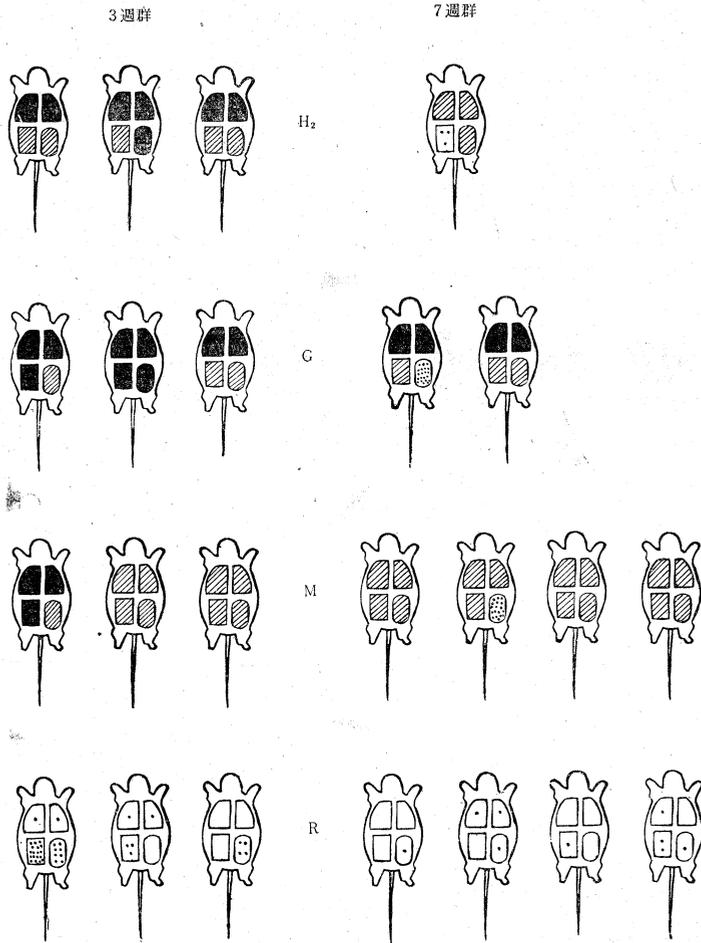
動物通過後の各菌株の耐性測定の結果は3株とも接種前と変りなく、菌株中の菌ポピュレーションの検索でも接種前と変りなかつた。

なおビルレンツを保有したG株については、接種菌量を2種類にした上、さらに1回動物実験を繰返したが結果は同様であつた。

これらの実験からみると、カタラーゼ陰性であつてもG株の如くビルレンツを保有し、平行しないものあることが証明されると共に、INH耐性菌にはRの如くビルレンツの0に近いものがあると同時に、Gの如くビルレンツを保有するものの存在することが証明される。

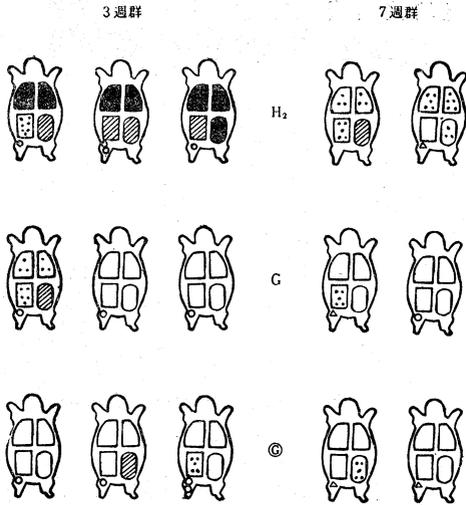
マイクロニプラトールによつてえた純粋なINH耐性菌によるビルレンツの検索は従来欧米でもやられていなかったものであり、以上の結果は、臨床上にも参酌されうる。

図表 28 マウス臓器定量培養成績



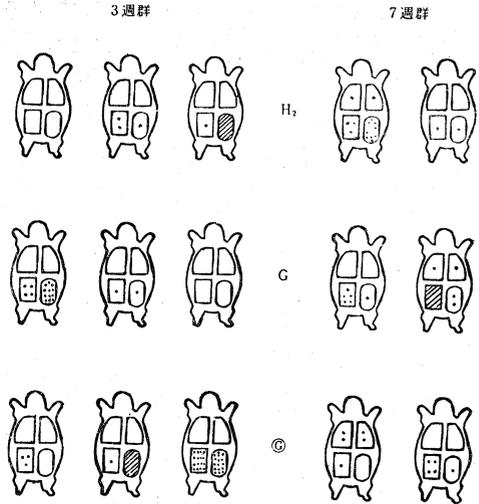
■ 1,000倍稀釈にて集落数 100個以上
 ▨ 1,000倍稀釈にて集落数 100個以下
 ● 10 倍稀釈の集落数を点にて示す。

図表 29 モルモット臓器肉眼的所見



臓器病変の程度により■>▨>▩にて示す。
○及△は所属リンパ腫大、○>△にて示す。

図表 30 モルモット臓器定量培養成績



▨ 1,000倍稀釈培地にて集落数20個以上
▩ 1,000倍稀釈培地にて集落数を点の数にて示す。
集落数は1% 小川培地2本の合計。

6) 悪化における役割としては、INH耐性菌の方がSM耐性菌より、占める率が低い。この点からもINH耐性菌のビルレンツ減弱傾向がうかがえるようである。

7) INH耐性菌のビルレンツ問題については、従来欧米でもマイクロマニプラトールによつた純粋な耐性菌による実験がない。われわれは、マイクロマニプラトールによつてえた、純粋なINH耐性菌について、モルモットおよび純系マウスに対するビルレンツを検索し、INH耐性菌にはビルレンツの極めて低いものがあると同時に、ビルレンツの保有されているものもあることを明らかにした。

結 語

1) 喀痰における耐性と病巣における耐性は大多数一致する。しかし、一致しない場合があり、殊に病巣の方

が高い場合があり、臨床判断上注意を要する。

2) 早朝痰における耐性と蓄痰における耐性は大多数一致する。しかし12~39%に不一致がみられ、不一致の過半数では蓄痰の方が高値を示した。

3) 未治療患者67名から耐性菌感染と思われる例4例をえた。0.6%に当たっている。うち1例はSM100耐性3例はSM10耐性で、各例とも結核患者と接触の多い人であつた。

4) 耐性の抑制はSMはPAS併用により、INHはPAS、PZA、GT₁併用によりみられ、併用の際甲が毎日、乙が週2日の場合には、甲の耐性は単独使用に近い態度を示した。

5) 2者または3者耐性は、逐年増加の傾向にある。これに対し、個別の耐性のみでなく、いわば総合耐性を測ることを試み、その意義について考察した。

結核菌の抵抗性について

—臨床—

国立東京第一病院検査科 小 酒 井 望

耐性の臨床に関する諸問題の中で、私は(1)肺結核を対象とした臨床的な耐性・感受性の境界に関する一考察と、(2)INH耐性菌のモルモットに対する virulence と、生体内における耐性の持続性の相関を討論のテーマに選んだ。

1. 臨床的な耐性・感受性の境界について

SM, PAS, INH 3 剤に対する菌の感受性がどの程度低下したならば、各薬剤の効果が期待できなくなるか、すなわち臨床的な耐性・感受性の境界をどこに置かかに関しては、諸家の研究、提案——特に杉山氏、北本氏ら——があるが、まだ一致した見解に到っていない。この臨床的な耐性・感受性の境界を求めること、換言すれば臨床的耐性発現の基準化は、単独投与と併用療法の場合を分けて考える必要のあることは常識的に認められている。しかし今日では専ら併用療法が行われているので、この場合について考察した。

第31回本総会(昭和31年)において、国立病院結核耐性共同研究班が本問題を採り上げ、SM・PAS併用128例、INH・PAS併用111例について検討した。すなわち治療開始時の両剤に対する耐性と、治療3ヵ月後の喀痰量、喀痰中結核菌数、およびX線所見の変動の関係から、SM・PAS併用ではSM10 γ /cc, PAS1 γ /cc を境とし、INH・PAS併用ではINH1 γ /cc, PAS1 γ /cc を境とすべきこと、そして耐性の表わし方は小川培地を用いた直接耐性測定法によつて、この各濃度培地に対照培地と同程度ないし1段階程度の差のある発育を示した場合を耐性とするのが妥当であることを結論した(私共も班員として本共同研究に参加した)。

SM10 γ /cc, INH1 γ /cc なる濃度は、これら薬剤の血中濃度から推定される病巣内濃度を考えると、一応うなづける濃度である。しかしPAS1 γ /cc はこれに反して著しく低い。そこでPAS1 γ /cc なる境界の妥当性について考察した。

抗結核剤の効果判定の目安として、喀痰中結核菌数の消長を用いることが最も妥当と考えられる。私共はこの菌数の消長の観察方法として、1日喀出生菌数、すなわち1日量の喀痰中にある生菌数を、7~10日毎に治療期間中測定することが最も正確な方法であることを確か

め、この方法を今日まで多数の例に実施して来た。

そして次の2つの事実からPAS1 γ /cc を境界とすることが妥当であると考ええる。

(1) PAS1 γ /cc に所謂完全耐性ないしそれに近い程度に耐性の患者(ただしSMまたはINHには感受性)に、PAS・SMまたはPAS・INHの2剤併用を行うと、1日喀出生菌数が一度減少して再増加し、菌数の再増加と前後してSMまたはINH耐性菌が出現増加する経過がSMまたはINH単独投与の場合と同様であることを確かめた。喀出菌数の多いPAS1 γ 耐性患者(10 γ /cc耐性菌はほとんど認められない)3例にPAS・INHを毎日併用したところ、30~40日で菌数が最少(治療前の1/100~1/10,000)となり、再び菌数が増加するに伴つてINH10 γ /cc耐性菌が出現増加し、60~90日で菌数が治療前のそれに戻つた。この経過はINH単独毎日投与の場合のそれと全く同じで、十数例のINH単独毎日投与例で経験したところである。なおINH間歇、PAS毎日投与の1例でこれとほぼ同様の経過をたどつたのを経験した。同じくPAS1 γ 耐性患者2例にSM間欠、PAS毎日併用したところ、50~70日で菌数が最少となり、菌数の再増加に伴つてSM10 γ /cc または100 γ /cc耐性菌が出現増加し、100日前後で菌数が治療前に戻るのが見られた。この経過はSM単独間歇投与の場合と同様と考えてよい。

以上の例では、PASの併用効果がほとんどないと考えられる。

(2) SMまたはINH耐性菌を所謂完全耐性程度に有する患者でPAS1 γ /cc に発育する菌を有しない患者に、SM・PASまたはINH・PAS併用療法を行つたところ、1日喀出生菌数が一度減少し、ついで再増加する前後に、PAS1 γ /cc耐性菌が出現し、菌数の増加に伴つて1 γ /cc耐性菌の割合が増加した。すなわちPAS1 γ /cc耐性菌は通常の投与方法では発育を阻止できないことになる。ほとんどすべての菌がSM10 γ /cc耐性である喀出菌数の多い患者2例に、SM・PAS併用を行つたところ、30~50日で菌数が最少(治療前の1/100~1/1,000)となり、菌数の再増加と共にPAS1 γ /cc耐性菌が出現増加し、60~80日で菌数が治療前に戻つた。また菌数の消長は著明でなかつたが、50日前後にPAS1 γ /cc

耐性菌が出現増加し始めた例も経験した。INH耐性患者でも同様の1例を認めた。

以上の事実は併用療法の場合、PAS 1 γ /cc に所謂完全耐性程度をもつて耐性・感受性の境界とすることの妥当性を示すものと言えよう。

ただし、PAS耐性測定に当つては、上述の国立病院耐性共同研究班も私共も、1, 10, 100 γ /cc なる濃度段階を用いたので、1 γ /cc と10 γ /cc の間に真の境界濃度があるかも知れないが、それは今後検討する必要がある。なお耐性測定は今日一般に用いられている小川培地による方法で、直接法を原則として用いた。一部は定量的表示(耐性菌の割合を正確に求める方法)を用いたが、大部分は通常の直接法であるため、培地1本当りの接種菌数を調節できず、所謂見かけの完全耐性または見かけの不完全耐性なる現象を防ぎえなかつた。したがつて、耐性・感受性の境界をなす耐性菌の割合の正確な数値を求めることは今後に残されている。

2. INH耐性菌の生体内における耐性の持続性とモルモットに対する Virulence の関係

INH治療によつてINH耐性菌を喀出するようになった患者の、INH耐性の推移を詳細に観察すると次の3群に分けられる(第1表参照)。

第1表 耐性低下群および耐性持続群の実例

(1) INH治療中にかかわらず耐性低下を認めた例
小○(INH 0.2g 毎日内服)

治療日数	INH各濃度含有培地上に発育した集落の状態(直接法)				
	0	0.1	1	10	100 γ /cc
51	+++	+++	++	++	+
74	+++	+++	+++	++	+
95	+++	+++	+++	++	+
136	+++	+++	+++	++	+
169	+++	+++	+++	+	0
202(終了時)	+++	+++	+++	+	0
終了後 130	+++	+++	++	0	0

注:表に掲げた全期間を通じ1日喀出生菌数に著変なく、X線所見にも変化なし。

(2) INH治療中止後次第に耐性低下を認めた例
小○

治療日数 および 終了後日数	INH各濃度含有培地上に発育した集落の%(対照培地を100とする)					
	0	0.1	1	3	10 γ /cc	
治療中	57	100%	—	12	9.0	0.00
(75日で中止)	73	100	42	9.2	3.2	0.00

治療終了後	87	100	73	4.6	4.1	0.00
	150	100	27	2.7	1.2	
	221	100	15	2.8	0.43	
	256	100	—	0.80	0.19	
	279	100	36	0.060	—	
	327	100	36	0.083	0.011	

注:本例はINH投与中止後他の化学療法は行わず。治療中、終了後を通じて1日喀出生菌数に著変なく、X線所見にも変化を認めなかつた。

(3) INH治療中止後長く耐性を持続した例
山○

治療終了後日数	他の化学療法	1日喀出生菌数	INH各濃度含有培地上に発育した集落の%				
			0	1	3	10	100 γ /cc
68	この期間 SM・PAS を併用	7.7 \times 10 ⁷	100%	11	10	8	0.00
148		3.0 \times 10 ⁸					
173		5.0 \times 10 ²					
208		3.5 \times 10 ³	100	10	—	13	
231		3.8 \times 10 ⁶	100	10	11	11	
334		2.4 \times 10 ⁸	100	33	22	25	
369		4.1 \times 10 ⁷	100	27	22	22	
453		6.3 \times 10 ⁷	100	—	44	41	

(1) INH治療を継続中にかかわらず、ある期間認められた高耐性菌が次第に認められなくなり、低耐性菌のみとなるもの。

(2) INH治療終了後、他の化学療法を行わなくてもINH耐性菌の割合の減少するもの。

(3) INH治療終了後長期間、INH耐性菌を喀出し続け、喀痰中の耐性菌の割合にほとんど変化のないもの。

共同研究者石川が長期間観察した12例について分類したところ、(1)群4例、(2)群3例、(3)群5例となつた。(1)(2)群が耐性低下群で、(3)群が耐性持続群である。所謂耐性低下は耐性菌産生の母地である空洞が縮小閉鎖されるようなことがあれば当然認められるが、ここで言う耐性低下群は、そのような現象はなく、X線所見上変化なく、また1日喀出生菌数もほとんど変化がないにもかかわらず、耐性菌の減少を認めた例を意味する。

この臨床的にINH耐性の低下の認められることが、INH耐性菌の著しい特長である。INH耐性菌の他の特長は、モルモットに対する virulence の弱いものが多いことである。一方INH耐性菌はカタラーゼ陰性のものが多く、かかるカタラーゼ陰性菌はモルモットに対する virulence が弱い、カタラーゼ陽性菌はINH耐性でも virulence が強いというのが一般の常識である。

私はまずINH治療を受けた19例の患者から分離したINH耐性菌ならびに感受性菌31株のモルモットに対す

る virulence を測定した (各菌株 4~8 匹のモルモットの大腿皮下に $10^6 \sim 10^5$ 生菌単位を感染させ、60 日後に屠殺剖検し、各臓器病変の肉眼的所見、定量培養の成績から virulence を判定した。なお各臓器の菌の耐性を測定し、当病変が接種菌によつて惹起されたものであることを確認した)。モルモットに対する virulence を III, II, I, ± と分類すると、 $10\gamma/cc$ 耐性株 22 株中 II 4 株、I 5 株、± 13 株、このうち virulence のかなり強い (II) 2 株 (同一患者について時期を異にして採つた耐性菌) がカタラーゼ陽性であつたのみで他はすべて陰性であつた。 $3\gamma/cc$ 耐性株、 $1\gamma/cc$ 耐性株各 1 株はいずれも極めて弱かつた (± 程度)。 $0.3\gamma/cc$ 耐性株 3 株はいずれも virulence は + 程度であつたが、1 株のみカタラーゼ陽性であつた。 $0.1\gamma/cc$ 耐性株、 $0.1\gamma/cc$ 感受性株 4 株はいずれもカタラーゼ陽性であり 3 株は virulence が極めて強かつたが、1 株は極めて弱かつた (± 程度)。すなわち一般に $10\gamma/cc$ 耐性菌は virulence が弱く、またカタラーゼ陰性で、所謂感受性菌は virulence が強くカタラーゼ陽性である。しかし $10\gamma/cc$ 耐性菌でカタラーゼ陰性でもかなり強い virulence を示すもの、また所謂感受性菌でカタラーゼ陽性でも virulence のかなり弱いものもあつた。

ここで生体内における INH 耐性の持続性、つまり耐性低下群と耐性持続群のあることが、INH 耐性菌のモルモットに対する virulence に強弱のあることによつて解釈できないかと考え、耐性低下群 4 例 (いずれも $10\gamma/cc$ 耐性菌の漸次減少した例) と耐性持続群 3 例 (いずれも $10\gamma/cc$ 耐性菌の長く持続した例) の $10\gamma/cc$ 耐性菌のモルモットに対する virulence を比較した。

耐性持続群 3 例の $10\gamma/cc$ 耐性菌は、いずれも喀痰中に 10~50% の割合に混在していたものを採つて virulence を測定したが、かなり強いもの (II) 2 例、比較的弱いもの (I) 1 例であり、かなり強い 1 例はカタラーゼ陽性であつたが、他の 2 例は陰性であつた。これに対し耐性低下群 4 例の $10\gamma/cc$ 耐性菌の採取時期は、喀痰中の菌がほとんどすべて $10\gamma/cc$ 耐性菌の場合から、僅か 0.1% 以下の場合までであるが、いずれの $10\gamma/cc$ 耐性菌もカタラーゼ陰性で、3 例は virulence は極めて弱く (±)、1 例は比較的弱かつた (+ 程度)。すなわち私共の結果から見れば、耐性持続群の耐性菌の方が virulence がより強いようであるが、virulence が強いと言っても感受性菌に比べると弱い。次に耐性低下群の $10\gamma/cc$ 耐性菌 3 株、耐性持続群のそれ 2 株、および他の $10\gamma/cc$ 耐性菌 6 株を、薬剤を含みぬ小川培地に最長 2 年間、30 代近くまで継代したところ、いずれの耐性菌も耐性の低下を認めなかつた。以上の実験結果から、耐性持続群のカタラーゼ陽性耐性菌の 1 例を除くと、耐性持続群と耐性低下群で耐性菌を比較しても、それほど顕著な差は認められな

い。

次に試験管内において耐性菌と感受性菌を混じた材料を継代すると、耐性菌の割合が速やかに減少する場合は知られている (佐藤氏は早くからこの事実に注目している)。

私は種々の程度の耐性菌、感受性菌の混在している喀痰材料を薬剤を含みぬ培地に継代すること、および同一患者の耐性菌と感受性菌ないし高耐性菌と低耐性菌を混合して同様に薬剤を含みぬ培地に継代することによつて、耐性菌の割合が減少すること、時には継代 1、2 代で激減する場合のあることを知つた。2 例の $1 \sim 10\gamma/cc$ 耐性菌を 1% 前後に含んだ喀痰材料 (耐性菌の割合は定量的に測定) の薬剤を含みぬ培地に発育した菌苔を同じく薬剤を含みぬ小川培地に継代し、同時に各種耐性菌の割合を定量的に測定したところ、継代 1、2 代で $1 \sim 10\gamma/cc$ 耐性菌の割合は 0.01% ないしそれ以下に激減した。また INH と Pyrazinamide 併用療法中の患者で、最初かなりの割合に (おおよそ 10%) $10\gamma/cc$ 耐性菌が認められたのが、2~3 カ月の経過で $10\gamma/cc$ 耐性菌が認められなくなり、 $0.1 \sim 0.3\gamma/cc$ 耐性菌のみとなつた例で、 $10\gamma/cc$ 耐性菌を 1% に含んだ喀痰材料を薬剤を含みぬ小川培地に継代したところ、 $10\gamma/cc$ 耐性菌の割合が激減した。なおこの $10\gamma/cc$ 耐性菌のみを薬剤を含みぬ培地に数代継代しても耐性の低下を認めなかつた。この場合、継代による耐性菌の割合の減少は、耐性菌の逆変異によるものではなく、混在する感受性菌ないし低耐性菌によつて惹起されたものであることを知りうる (第 2 表)。また INH 治療中の患者の喀痰から同一時期に分離した INH

第 2 表 生体内一試験管内共に耐性低下した例

年月日	薬剤	1 日曝出 生菌数	INH 耐性 (直接法)					
			0	0.1	0.3	1	3	10
31.7.30	SM PAS	2.1×10^8	+	+	+	+	+	+
8.6		2.6×10^8	+	+	+	+	+	+
10.6		1.3×10^5						
10.27		2.0×10^5	+	+	+	+	+	+
11.24	INH PZA	6.9×10^5	+	+	+	+	45	13 23
12.1		7.2×10^4	+	+	+	+	3	1 0
12.20		2.3×10^5	+	+	+	+	52	20 0 0
32.1.26		3.0×10^5	+	+	+	+	39	0 0 0
1.31		9.0×10^5	+	+	+	+	7	0 0 0

- ①の 10γ 耐性菌は 0 培地の継代により耐性低下せず。
 ②の菌を 0 培地に継代することにより耐性菌の割合激減

	0	0.1	1	$10\gamma/cc$
②	100%	%	0.98%	0.50%
↓ 継代	100	0.74	0.0008	

H $10\gamma/cc$ 耐性菌と $0.3\gamma/cc$ 感受性菌を等量混合して継代

したところ、次第に $10\gamma/cc$ 耐性菌の割合が減少した。

かく耐性菌と感受性菌の混じた材料を試験管内で継代すると、耐性菌の割合が減少する場合のみならず、継代しても耐性菌の割合が減少しない場合も見られた。喀痰

から同一時期に分離した $10\gamma/cc$ 耐性菌と $1\gamma/cc$ 感受性菌を混合して、薬剤を含まぬ培地に継代したところ、8代に到つても $10\gamma/cc$ 耐性菌の割合が減少する傾向が見られなかつた(第3表)。

第3表 試験管内耐性持続例

例の INH耐性株 (INH-R) と INH感受性株 (低耐性株) (INH-S) を混合
 INH-R…… $10\gamma/cc$ 耐性
 INH-S…… $1\gamma/cc$ 感受性 ($0.1\gamma/cc$ 耐性)

継代数	菌液(1mg/cc)の稀釈倍数	INH各濃度含有培地上に発育した集落数					
		0	0.1	0.3	1	3	$10\gamma/cc$
1		INH-R ($3.9 \times 10^6/cc$) と INH-S ($8.9 \times 10^5/cc$) を等量混合					
5	原液 (1mg/cc)	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	10^{-3}	+	+	+	+	+	+
	10^{-4}	20	21	26	23	13	17
6	原液 (1mg/cc)	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	10^{-3}	++	++	++	++	++	++
	10^{-4}	100	81	56	66	83	52
8	原液 (1mg/cc)	卅					卅
	10^{-3}	+, +, +					+, +
	10^{-4}	23, 19, 16, 13					19, 10

この試験管内における耐性菌、感受性菌混在の状態における耐性低下群と耐性持続群のあることが、生体内における両群のあることと相似している。そして共存する耐性菌と感受性菌の virulence の差が耐性の持続性を支配するのではないかと考えられる。

生体内における耐性低下群では、病巣内に混在する耐性菌が、感受性菌ないし低耐性菌に比べて、モルモットに対する virulence が低いことが、耐性低下なる現象を惹起する主な原因であろうとの推論に対し、次の実験的事実がこれを裏付けるであろう。すなわち (1) 試験管内で継代により高耐性菌の割合の減少した2例で、高耐性菌と低耐性菌 (1例では $10\gamma/cc$ 耐性菌と $0.3\gamma/cc$ 耐性菌、1例では $10\gamma/cc$ 耐性菌と $0.1\gamma/cc$ 耐性菌) のモルモットに対する virulence を比較したところ、低耐性菌の方が強かつた。(2) 上述の如く生体内で耐性低下を認めた例で、耐性菌、感受性菌の混在した喀痰材料を試験管内で継代したところ、耐性菌の割合が激減した(第2表)そして (3) 実際に生体内で耐性低下を認めた1例で、耐性菌が感受性菌に比較して著しく virulence が弱かつたのを経験した。本例は最初喀痰中の菌がほとんどすべて $10\gamma/cc$ 耐性菌であつたのが、約3カ月の間に $10\gamma/cc$ 耐性菌の割合が漸次減少し、ほとんどすべて $0.1\gamma/cc$ 耐性菌となつたが、最初の $10\gamma/cc$ 耐性菌は virulence が極めて弱く、一方最後の $0.1\gamma/cc$ 耐性菌は極めて強かつた(第4表)。この例では病巣内に混在する耐性菌と感受

第4表 耐性低下例における耐性菌—感受性菌の virulence の比較

年月日	薬剤	1日喀出 生菌数	INH 耐性(直接法)					γ/cc
			0	0.1	1	3	10	
30.8.8	例	6.8×10^4	#	#	#	#	①	
8.15		1.2×10^5	+	+	+	+		
8.29		1.3×10^5	卅	卅	卅	卅	卅	
9.5		1.2×10^5						
10.3		6.1×10^4	#	#	#	#	#	
10.10		2.3×10^5						
11.14		1.4×10^5	#	#	4	0	3	
11.21		3.7×10^5	+	0	0			
11.28		3.6×10^3	②	0	0	0	0	

	耐性	モルモットに対する virulence	カタラーゼ
①	10γ	±	—
②	0.1γ	卅	++

性菌のうち、耐性菌の virulence が弱いために、耐性菌の割合が減少し、耐性の低下が見られたと考えられる。ただしこの場合、一般に考えられているように、モルモットに対する virulence が人体の場合と併行するという仮定が必要であることは申すまでもない。

これに対し耐性持続群では、病巣内に Virulence の強い感受性菌ないし低耐性菌が存在しなくなつて耐性菌のみとなつているのか、あるいは混在する耐性菌と感受性

菌ないし低耐性菌が同程度の virulence を有するのではないかと予想される。

耐性持続群で、混在する耐性菌と感受性菌の virulence を比較した例はない。すなわち直接的な証拠はないが、次の事実は間接的な証拠となるのではなかろうか。すなわち、(1) 先に述べた如く、試験管内で耐性菌と感受性菌(低耐性菌)の混じた材料を継代しても、耐性菌の減少の認められない場合がある(第3表)。

(2) 同一患者の同一喀痰内の所謂感耐性菌が耐性菌と

同様 virulence が著しく低下して、両者の間に認むべき差のない場合がある。INH と他薬剤を併用中の患者で、混在する 10⁷/cc 耐性菌と 0.1⁷/cc 耐性菌のモルモットに対する virulence を比較したところ、いずれも著しく低下していた。そこで両種の菌がほぼ等量混在している喀痰を直接接種したが、病変は同様軽度であつた(第5表)。本例は高耐性菌、感受性菌混在のまま、漸次菌陰性化したため耐性の持続性を追求できなかった。

以上の事実から、生体内の INH 耐性の持続性を菌の

第5表 喀痰中に混在する高耐性菌、低耐性菌共にモルモットに対する virulence の低下していた例

供試材料	INH 耐性	モルモットに対する Virulence	カタラーゼ	備考
高耐性菌	10 ⁷ /cc	±	—	多数の集落の混合につき時期を異にして2回、および孤立した集落2個について行つた結果はいずれも同じ
低耐性菌	0.1 ⁷ /cc (0.3 ⁷ /cc感受性)	±	++	3個の孤立した集落について行つた結果はいずれも同じ
喀痰	高耐性菌と低耐性菌が等量混合	±	++ と 一 が等量混合	雑菌除去、中和して接種

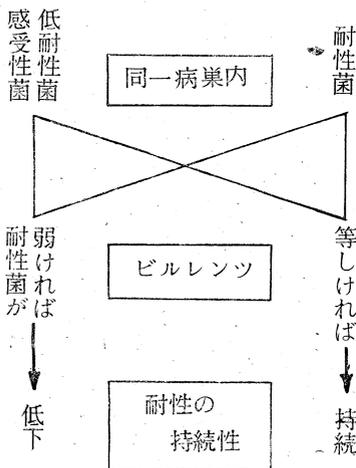
1. 本例は INH と他薬剤の併用を続け、最後に PAS・INH 併用により次第に菌陰性化した。高耐性菌と低耐性菌は最後まで混在した。
2. モルモットに対する接種菌数は、分離菌は 10⁵~10⁶ 生菌単位、喀痰の場合は 10³ 生菌単位。

virulence と関係づけて説明すると第6表の如くなる。すなわち、同一病巣内に耐性菌と感受性菌ないし低耐性菌が混在する場合、耐性菌の virulence が弱ければ耐性

の低下が見られ、両方の菌の virulence が等しければ耐性が持続する(申すまでもなく、モルモットに対する virulence の強弱が人体の場合と併行するとの仮定の下に)。

この仮説が成立するためには、上述の実験的事実のみでは根拠が薄弱であるとのそしりはまぬかれないであろうが、乏しい実験結果からあえて私の考え方を述べて討論の材料に供した。(終りに本研究は坂口前院長、小山内科医長の指導により、内科三上、石川、亀山諸氏と共同で行つたものであり、検査科佐藤、飯村両技術員の技術援助を受けたことを附言する)

第6表 耐性の持続性と virulence



結核菌の抵抗性

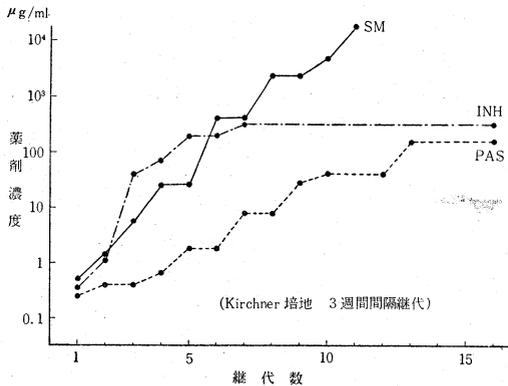
—細菌—

慶応義塾大学医学部細菌学教室 牛場大蔵

結核菌の薬剤耐性を細菌学の立場から眺める場合、まことに多くの問題があるが、今回は時間の関係上、耐性上昇の機序ないし耐性菌の起源の問題と、耐性上昇阻止という2つの問題に焦点をしばつて論じたい。

まず広く薬剤耐性を考えるとき、初めに必要なことはそれを薬剤別に考慮しなくてはならないことである。たとえば人型結核菌H₃₇Rv株を各種薬剤加Kirchner培地にいわゆる増量継代を行うと、特にストレプトマイシン(SM)は急速に高い耐性に達する特異なpatternを示すのに対し、イソニコチン酸ヒドラジド(INH)、パラミノサリチル酸(PAS)等は比較的低濃度耐性で頭打ちとなることは、多くの研究者によつて経験されて

図1 H₃₇Rv株の単独薬剤に対する耐性獲得状況(増量継代)



いるところである(図1)。もちろん継代による耐性上昇の遅速によつて直ちに変異率の大小を云々することは危険であるが、SMはこの速く耐性が上昇するという以外に、また一足跳び(one-step)に高度完全耐性になりうるという大きな特徴が、DemerecのいわゆるSM-patternの名の下に広く知られている。

"SM-indifference" と "SM-resistance"

われわれは上述の点について過去主にサルモネラ、大腸菌等を用いて細菌遺伝学的的分析を行つてきたが、いまその結論だけを述べれば、一足跳びに高度完全耐性となるものは、段階的あるいは連続的に、中間耐性を経て上昇する耐性と、遺伝学的に異なるものであつて、前

者の現象を"SM-indifference"(不関性)と呼び、これに対して後者の現象を狭義の"SM-resistance"(耐性)と呼んだ。

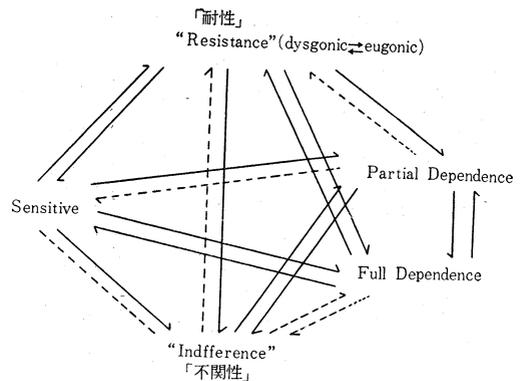
この二者がおそらく異なつた遺伝子的支配を受けているのであろうことを端的に示す一つのデータとして、表1に大腸菌K-12株で行つた fluctuation test を示す。

表1 E. Coli, K-12のSM-indifference への変異率

	Mutation rate per bacterium per generation
原株から	2×10^{-11}
10µg/ml耐性菌から	1×10^{-11}

すなわちSM-indifference への mutation rate per bacterium per generation は、原株からのものも、われわれのいうSM-resistant(この場合は10µg/ml SM耐性)からのものもほとんど等しく、"indifference" と "resistance" との間には、遺伝子的の共通性のないことを知つた。そのほかここには示さないが、同じくK-12株における recombination, あるいは肺炎双球菌を用いた transformation 等の実験結果からしても、上記の二者が遺伝学的に全く別個のものであろうと推論し、図2に示すような pattern を提出したのである。この図

図2 SM耐性型式の模型図



において、実線は実験によつてすでに証明されたもの、破線で示すのはまだ推定の域にある経路である。

これらのことは主に結核菌以外の菌種による実験であつて、結核菌そのものを用いたものではないが、それは

実験技術上の制約上致し方のないところであり、また大腸菌等による成績がおそらくは結核菌にもあてはめられるであろうということは、Mitchson の考察等からもうかがえるところである。

INH および PAS の耐性 pattern

これに反し、INH、PASその他については、われわれのいう狭義の "resistance" のみが見られるようであるが、その細菌遺伝学的研究は主に抗酸性菌そのものを用いるために基だ不完全であり、未解決の点が多いといわざるをえない。殊に INH 耐性菌について特殊の発育素要求の問題等がからんでくるので、将来生化学的探求がもつと進んだ上で、初めて遺伝学的にも明らかとなりうる余地がありそうに思われる。

耐性菌の起源

さて耐性菌の起源については、われわれのいう "SM-indifference" が「突然変異および選択」(spontaneous mutation and selection) によつて出現していることは、Lederberg 夫妻の replica 実験その他で明らかであるが、"resistance" の起源、特に極めて低い耐性菌の起源についてはまた確定的のことがいえない。しかしこの点につきわれわれはかつて発表した通り *Mycobacterium 607* の SM $1\mu\text{g/ml}$ 耐性菌、さらにそれから二次的に $5\mu\text{g/ml}$ 耐性菌を replica 法で、薬剤に接触しない菌から採取することに成功したことは、やはり狭義の "resistance" が突然変異によつて生じているのではないかと想像せしめる。

しかしこれらのことは必ずしも、自然界における耐性菌の出現が、すべて突然変異・選択によるというのではなく、他の機序の可能性を否定するものではない。たとえば薬剤そのものの遺伝子変異に対する誘導作用を、特に SM で主張する学者がある。われわれはこの点に関し、それが主張される根拠の一つとなつた、いわゆる "resting cell" (休止菌) を SM と接触させて、耐性が上昇するか否か、という実験を中心に研究してきたが、現在まで、それを積極的に支持するデータを持ちあわせていない。

そのうち、抗酸性菌を用いた成績のみを、図 3、4 に示すと、*H₃₇Rv*、M607 株ともに、SM と接触後に耐性菌の増加した場合には、必ず SM による生菌数の著減と、増殖しうる温度等の条件があり、したがつて死菌体栄養素を利用して元々存在した耐性菌が選択的に増殖したということがどうしても否定しえなかつた。なお、サルモネラについて、SM の存在するとしないとにかかわらず、感受性菌から "indifference" への mutat. rate per bact. per generation は同一であつたというデータを経験している。

図 3 SM と 1 ヶ月間接触せしめた *H₃₇Rv* 洗滌菌の耐性分布の変動 (37°C)

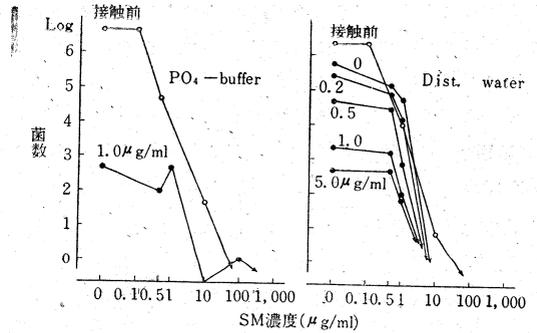
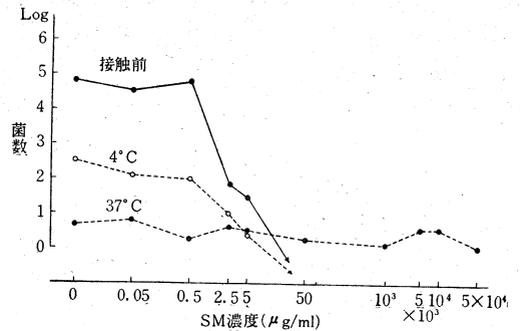


図 4 SM と 7 日間接触せしめた *M. 607* 株洗滌菌の耐性分布の変動 (PO₄-buffer)



以上のほか、環境への酵素的適応に似た、いわゆる physiological adaptation を主張する学者もあるが、この説の基礎に遺伝学的概念をいかに取り入れるか、またこの説の根拠となる実験がどの程度、遺伝的の現象をとり扱っているか否かが、十分に検討されねばならないであろう。

耐性上昇阻止の問題

つぎに本日のテーマの後段として、耐性上昇阻止の問題に進みたいと思う。耐性阻止のうち、特に 2 種薬剤併用によるそれは、臨床的に広く用いられるところであり、試験管内でもまた断片的に認められているが、それがいかなる機序によつてもたらされるかについては、現在系統的にほとんど研究されていないといえる。

そもそもこの問題については表 2 に示したような可能

表 2 併用による耐性阻止機構

- (1) 2 種薬剤に対する double mutation rate の僅少性
- (2) "collateral Sensitivity"
- (3) 増殖に対する "synergism"
- (4) 誘導作用の不活性化

性が考えられよう。さて第 1 の可能性は、最も広くいわ

れていることで、試験管内で1つの菌株が両薬剤に同時に耐性化する変異率、すなわち double mutation rate が実際に起りうるとみなすにはあまりにも小さいことを指すものであるが、これを生体内にそのままではめることは到底できないことが明らかである。

何となれば同時に使用する薬剤のおのおのが、果してどれだけの割合で病巣内の結核菌、それも細胞内および細胞外のおのおの菌へ、到達しうるかば病巣の状態によつて一様ではないし、またたとえ2種の薬剤が同時に相当の濃度で到達しえたとしても、病巣内にある諸種の拮抗物質あるいは水素イオン濃度等の影響によつて、すべてが一様に抗菌性を発揮しうるとは限らない。これらのことは結核化学療法におけるいわゆる“病巣論”の論議の困難性をもち出すまでもなく、多くの未解決の問題を含んでいるわけであるが、要するに結核菌が特に長期間病巣内に存在する間には、2種以上の薬剤の併用によつても十分、単独薬剤への耐性化を次々と起しうると考えられるからである。

そこで併用による耐性阻止の問題は、その目的が

“double mutation” すなわち同時に2重耐性になる現象を防ぐのではなく、各単独薬剤に対する変異現象を阻止するということに求められるべきであり、また事実、今日そのような目的で併用療法が行われていると考えられる。それではこの単独薬剤への耐性化を併用がいかにして阻止するのであるか、これについては表2に示した第2以下の可能性が考えられるであろう。すなわち第2の可能性は1つの薬剤に耐性となつた菌株は、かえつて他の薬剤に対して、原株よりも感受性となる。すなわち“collateral sensitivity”を呈するという現象で、他の菌種については時として知られていることであるが、われわれは結核菌で種々の面から本問題を系統的に追究してみた。

Collateral Sensitivity

まず H₃₇Rv の各薬剤耐性株の他薬剤に対する感受性を Dubos 培地における通常の薬剤稀釈法、および少しでも生体内環境に近づけようとの意図から、モルモット単核細胞内における増殖阻止実験と比較した(表3, 4)。

表3 H₃₇Rv耐性菌の他剤に対する感受性 (Dubos 培地: 2週間)

薬 剤	菌 株	0.01	0.025	0.05	0.1	0.25	0.5	1	2.5
INH	原 株	+++	+++	+++	++	++	—	—	—
	SM-R	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
	PAS-R	+++	+++	+++	±	—	—	—	—
SM	原 株	+++	+++	+++	+++	±	—	—	—
	PAS-R	+++	+++	+++	+++	±	—	—	—
	INH-R	+++	+++	+++	+++	+++	±	—	—
PAS	原 株	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
	SM-R	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	±
	INH-R	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	±

表4 H₃₇Rv耐性菌の他剤に対する感受性 (モルモット腹腔単核細胞内)
菌: Dubos 7日—2回 wash-susp in Dubos

薬 剤	菌 株	0	0.01	0.1	1	5	10	100	1000
INH	原 株	+++	+++	+	±				
	SM-R	+++	+++	±	—				
	PAS-R	+++	+++	±	±				
SM	原 株	+++				++	++	±	±
	PAS-R	+++				±	±	±	±
	INH-R	+++				±	±	—	—
PAS	原 株	+++			+++		++	+	
	SM-R	+++			+++		++	±	
	INH-R	++			C		±	±	

単核細胞内増殖実験はモルモット腹腔細胞を集めて結核菌を食菌せしめ、Suter の roller-tube 法で種々濃度

の薬剤を含んだ環境で培養し、日を逐つて抗酸性染色を行い、単核細胞内増殖の程度を観察したものである。

この両表を比較するとき、Dubos 培地においてはPAS耐性菌がINHに対し、またINH耐性菌がPASに対して、原株よりもかえって感受性となつている如き結果であるが、モルモット単核細胞内の成績ではPAS耐性株はSMに対して感受性となつており、またINH耐性株はPASのみならずSMに対しても感受性となつているかのような結果であつた。

そこで特にINH耐性株についての成績を確かめるため、それを中心とした別の実験を行つたところ表5に示したように、この時もやはりSMに対しては前回同様に

表5 H₃₇Rv耐性菌の他剤に対する感受性 (モルモット腹腔単球中)

薬剤	菌 株	0	1	5	10	100
SM	原 株	+++	+++	±	±	
	INH-R	+++	+	±	±	
PAS	原 株	+++			±	±
	INH-R	+++			±	-

感受性であつたが、PASに対しては10 μ g/mlで今回は原株と差がなく、したがって使用濃度の関係上不明な成績に終つた。

要するにこのような増殖阻止実験では、培地中増殖と細胞内増殖とは結果が同じでなく、かつ成績は必ずしも再現性が予想されないのであつた。

そこでつぎに各薬剤耐性株を他の薬剤を含んだDubos培地に培養し、その増殖曲線を比濁によつて追求して感

図5 H₃₇Rv耐性菌の他剤影響下における発育曲線I

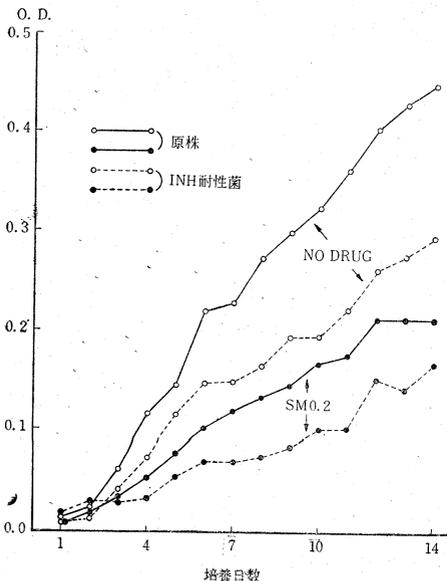


図6 H₃₇Rv耐性菌の他剤影響下における発育曲線II

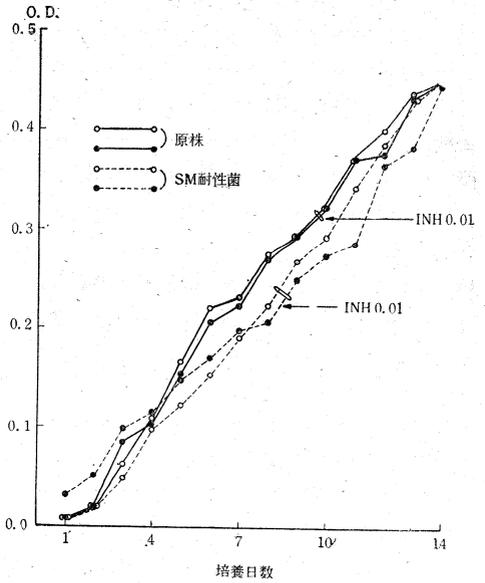
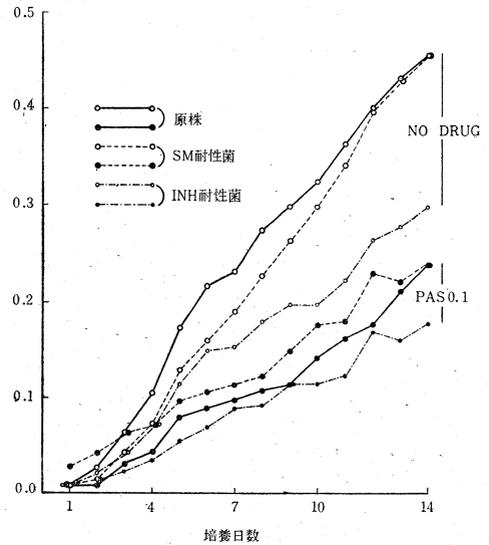


図7 H₃₇Rv耐性菌の他剤影響下における発育曲線III



受性原株と比較した。(この実験ではPAS耐性菌はその耐性に不安定性を示したので用いていない)。成績の一部を図5, 6, 7に示すと、INHによつてSM耐性株は何ら影響をうけていないようであるが、SMに対するINH耐性株の態度は本株が薬剤のない環境でも発育不良のために一見不明であり、かつPASに対するSMおよびINH耐性株の態度も判断が難かしい。

そこで表6に示すような推計学的の処理を行つた。すなわち増殖曲線がほぼ整一である4~8日間の各組合せ3本宛の optical density (比濁) の読みを用いて、薬

表 6 〔薬剤培地増殖度 / 無薬剤増殖度〕の比較

薬剤	菌株	4~8日幾何平均	p
SM 0.2	原株	0.5386 (0.5379~0.5393) \	<0.001
	INH-R	0.2729 (0.2056~0.3622) /	
INH 0.01	原株	1.0170 (0.9390~1.0980) \	<0.2
	SM-R	0.9583 (0.8589~1.0690) /	
PAS 0.1	原株	0.4256 (0.3716~0.4880)	<0.05
	SM-R	0.5262 (0.4322~0.6405)	
	INH-R	0.5250 (0.4622~0.5965)	

剤含有培地での増殖度と薬剤のない培地での増殖度との比を幾何学的に集計し、student-t-test を行うと表6の右端に示す如く、INH耐性株はSMによって原株よりも有意の差をもつて抑えられ、また本株およびSM耐性株はPASによつては少なくとも使用した濃度によつてはかえつて増殖が促進されるというような結果を得た。

しかしこれらの結果は、INH耐性菌のSMに対する態度を除いては、さきに述べたモルモット単核細胞内実験、あるいはDubos培地中の成績と必ずしも一致せず、したがつていわゆるcollateral sensitivityは、よし一部であるとしても、それほど著明なものではないといふのであろう。

さらにわれわれはもう1つの証明法として、耐性株を感受性菌と混在せしめた場合はどうなるかを実験した。すなわちH₃₇Rvの原株Sと1,000μg/ml SM耐性株Rを1:1, 100:1, 10000:1の割合に混合して、薬剤なし、PAS 0.1μg/ml およびINH 0.01μg/ml 加 Dubos 培地に培養し、その間普通小川および1000μg/ml SM加小川培地上で生菌数を算定したところ、耐性菌が1万分の1という少数の場合においてのみ、PASおよびINHの存在で消失したほかは、薬剤の有無にかかわらずSとRとはほぼ同じ比率をもつて存在していた。また同様のことをINH耐性株と原株との混合についても行つて、ほぼ同様の成績を得ている。

耐性分布からみた協力作用

つぎに併用による耐性阻止機構の第3の可能性として、増殖阻止による協力作用 (synergism) が特に耐性分布の高濃度の方の菌に著明であれば、それによつて連続的あるいは段階的に高度耐性へ向う変異を阻止するということが考えられる。そこでわれわれは他の薬剤の一定量添加培地における耐性分布の測定という方法によつて、協力作用を検討してみた。実験は2回くり返したが、そのうちの1例を示すと、図8, 9, 10の通りであ

る。

図はH₃₇RvのSM, INH, PAS耐性分布について、それぞれ他の薬剤一定量を加えた場合を、加えない対照と比較し、かつ下段には各濃度における対照の菌数に対する薬剤を加えた場合の菌数の比をパーセントで示

図 8 耐性分布からみた Synergism

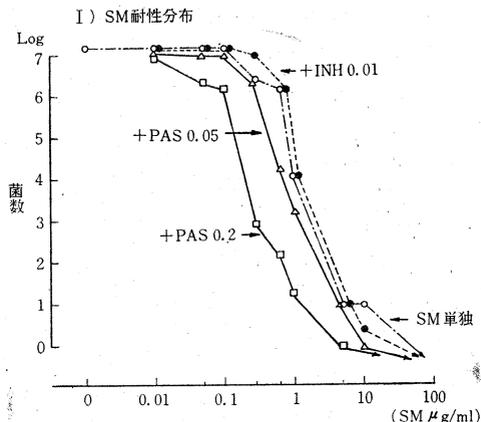


図 9 耐性分布からみた Synergism

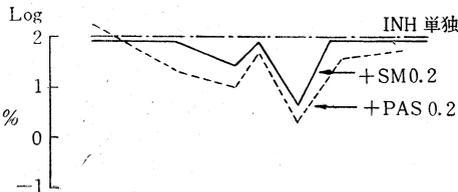
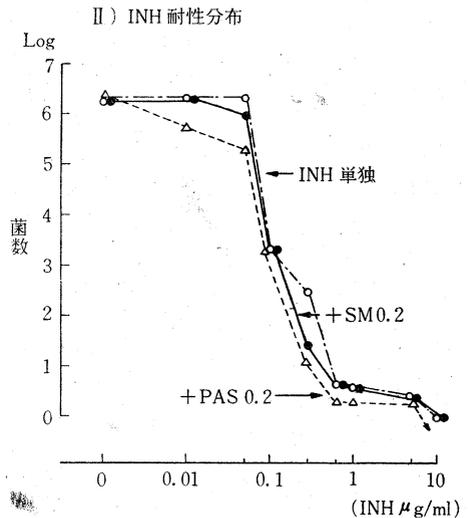
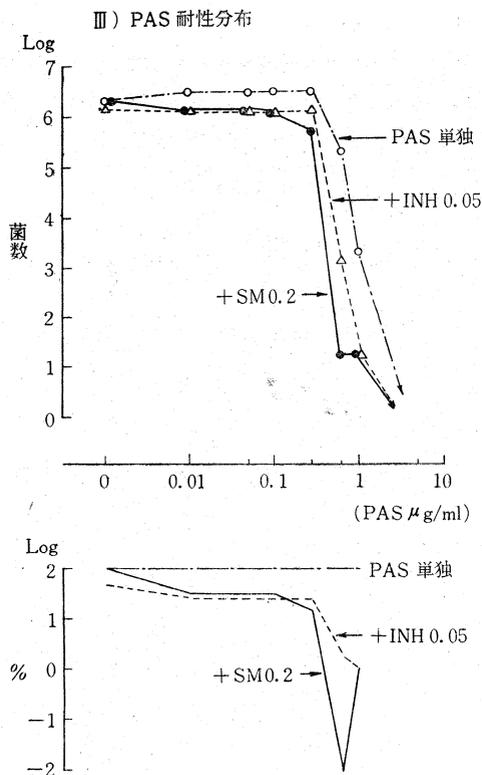


図10 耐性分布からみた Synergism



してある。ここに見る通り、SM耐性分布に対するPAS添加の影響は殊に、 $0.2\mu\text{g/ml}$ 添加の場合に著明であり、耐性分布の高い方の抑制が見られている。なおこの時、パーセントではずつと高濃度の方では抑制が著明でないように出ているが、これは分布菌の実数が僅少のために誤差が大きく、この部分のパーセントには大きな意義がないと見るべきである。一方INH耐性分布に対してSMおよびPASの影響はあまり著明でないが、PAS耐性分布に対しては、やはり高度耐性の部分に向うにつれてINHおよびSMの抑制が著明であつた。

このように耐性分布からみた協力作用は、組合せ如何によつては相當に著明であり、殊に高濃度分布菌に対して抑制が比較的に大であることは、連続的ないし階段的に耐性が上昇するのを阻止するのに、重要な意義があると考えられた。

誘導作用の不活性化

最後に残された第4の可能性、すなわち一薬剤の耐性上昇に関する誘導作用を他の薬剤が、何らかの方法によつて不活性化するという点については、上記の実験から否定はできない。しかし前述したように、われわれはまだ薬剤の誘導作用そのものを積極的には認めていないのであり、また将来誘導作用不活性化を証明するためには、別種の方法によつて検討すべき問題が多く残されているというべきであろう。

む す び

以上わたくしは細菌学的に見た結核菌の薬剤耐性に関して2つの問題をとり扱い、まず耐性上昇機序ないし起源についてはSMの特殊性と、われわれのいう“indifference”と狭義の“resistance”の遺伝学的相異を強調し、かつSM耐性菌の起源について若干の考察をした。

そしてその後段においては、薬剤併用による耐性阻止の機構を論じ、厳格な意味での二重耐性という現象は生体内に適用され難いとの考察から、併用による阻止は単独薬剤への耐性化阻止を対象とすべきことを論じた。そしてこの場合、限られた実験方法、菌株等の関係からのみの考察ではあるが、いわゆるcollateral sensitivityは時として認められることはあつても、重要な機序となるほど著明なものでないであろうこと、それに対し、耐性分布の高濃度分布菌に対する選択的ともいふべき協力作用が、むしろ耐性阻止の重要な因子ではなからうかと推論した。

結核菌の抵抗性について

—抗結核剤ストマイ—

名古屋大学医学部日比野内科 田 中 伸 一

緒 言

昭和29年日本結核病学会総会において、日比野は、結核菌のSMの抵抗性問題に関する特別講演を行い、SM耐性問題に関しては菌体の磷酸代謝、核酸代謝に論点が集約されるであろうことをのべている。私共はこの線に沿ってさらに研究を続行し、SM抵抗性の問題究明に寄与すると共に、磷酸、核酸の面より捉えた細胞化学一般にも貢献したいと考えた。

日比野の報告の要約は、

① SMは鳥型結核菌のSM感性菌(1~0.5 γ /ml以下)に対し、その解糖呼吸のような炭水化物代謝にあまり大きな影響を与えない。なお蛋白質である既知酵素の作用には影響を与えないようである。ただ焦性ブドウ酸を基質とした場合、菌の呼吸およびその基質の消失を僅かSMは抑えるが、クエン酸のそれらには全然といつてよいほど影響を与えぬ。

② 菌体酸溶性画分の磷酸化合物群の含有量が、SMにより若干変化するほかP³²のIncorporationにSMは不均衡を来さしめる。酸不溶性画分において、SMはRNA量にさほど影響を与えないがP³²のIncorporationを強く阻止する。

③ SM耐性菌(1,000 γ /ml以上)にはSMは①②のような作用を示さない。

④ SM耐性菌と感性菌の、菌体構成成分を分析すると、糖、アミノ酸、種々の磷酸化合物、リポイド、RNA、DNA等々の量において、現在までのところSM耐性なる現象を首肯せしむるに足る有意な差異を、耐性感性両菌の間に認めえなかつた。

⑤ SM耐性菌は所謂 Mutant でその Population は安定しており、かつSM耐性菌のDNAを感性菌に接触させると、それをSMなくしてSM耐性ならしめる。このDNAによる抵抗性の賦与は菌体内代謝と共軌軸をもつており、DNAには種族特異性があるらしい。

以上の諸事実より自明なように、INAHやPASの如く代謝拮抗物質の性格をもつ薬剤の場合のような構造式の類縁性から抵抗性云々の問題を研究することはSMでは全く不可能であり、天然物であるSMの抵抗性の究明は方法論的にも至難な感を抱かしめる。

ともかく、私共の研究は、以上の足跡より、感性、耐性両菌で一応決定的差異を認めたところの、そしてまたSM耐性に最も意味が深いと想像される含磷酸物質、核酸に研究の力点が集中されるようになった。

(2) 実験材料

本研究はSM抵抗性の研究を主眼とするため、実験の便宜上、特記しない限り、鳥型結核菌竹尾株を用いた。約40lのStainless Steel製タンクで、グリセリンブイオンを培地として、4日間通気培養したものを常用した。

(3) 高分子酸性物質とSM

SMの作用を考えるのに、まず第一に広く知られている事実は、一種のBaseであるSMが核酸と結合することである。

私はこのことに着目し、後述する如く、私共がSM耐性菌の特性を考える上に不可欠な物質であることを見出したPolyphosphate, PolysaccharideやRNA, DNA等の高分子酸性物質とSMの関連を、試験管内において高分子化学的に研究した。

すなわち、(SM, 高分子酸性物質, Cation)あるいは(SM, 高分子酸性物質, 塩基性色素)等の複合系において、SMやCationのPolarographicな測定、色素の分光分析を実施し、SMが高分子酸性物質たるRNA, Polyphosphate, Polysaccharide等の物理化学的性状の変異を来すことにより、結核菌の生理的活動を荒廃に陥れるものではないかと思惟した。またさらに、SM抵抗性発現にやはり高分子酸性物質が参画しているであろうことを推察させるmodel実験を提示した。

① Metachromasy

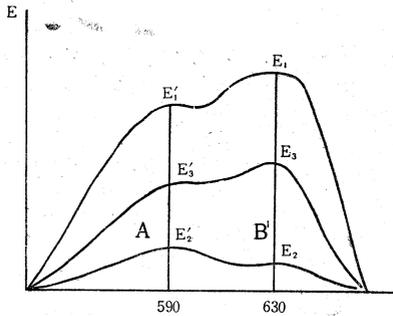
Toluidine blueの吸収曲線は、pH7.0において630 μ にPeakを有し、590 μ にShoulderを持つ。このようなbasic dye solutionにRNA, Polyphosphate, Polysaccharideのような高分子酸性物質の溶液を添加すると、630 μ におけるoptical densityは極めて低くなり、590 μ のoptical densityはそれに比し、低下の度合いが少ないような傾向を示す。換言すれば、吸収曲線は全体にRNA等の添加前に比し低くなり、Peakが

590m μ に移した型を示すようになる。かかる Metachromasy を定量化する方法として、

- a) 630m μ における optical density の比を求めること。
- b) 590m μ と630m μ の optical densityの比を求めること。
- c) 590m μ より短波長部の面積と、590m μ より長波長の部分の面積の比を求めること等を試みた。

Metachromasy という現象を正確に定量化することは極めて困難であるが、一応第1, および第2の方法により主に記載することとした。(第1図)(第2図)

Fig. 1 Quantitative Studies of Metachromatic Spectra



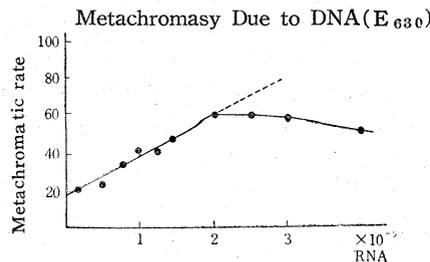
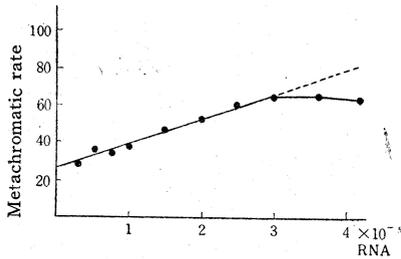
A) Metachromatic rate

- 1) $E_{630} \frac{E_1 - E_2}{E_1}$
- 2) $E_{590}/E_{630} \frac{E_2'}{E_1'} / \frac{E_2}{E_1}$
- 3) Area of A/Area of B

B) The recovery rate of metachromasy

- 1) $E_{630} \frac{E_3 - E_2}{E_1 - E_2}$
- 2) $E_{590}/E_{630} \frac{E_3'}{E_1'} / \frac{E_3}{E_1} \text{ or } \frac{E_2'}{E_1'} / \frac{E_2}{E_1}$
- 3) Area of A'/Area of B

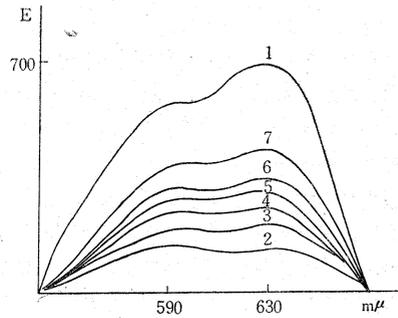
Fig. 2 Metachromasy Due to RNA (E_{630})



この色素と高分子酸性物質たとえばRNAとの結合は塩類で解離させられる。その効果は Mg⁺⁺ が最も強いようである。(第3図)

Fig. 3 Dissociation of RNA Dye Complex by Salts

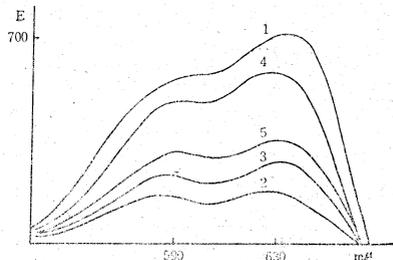
1. $3 \times 10^{-5}M$ TB
 2. " + 0.003% RNA
 3. " + " + M/50KH₂PO₄ + Na₂HPO₄
 4. " + " + M/50NaCl
 5. " + " + M/50BaAc
 6. " + " + M/50KCl
 7. " + " + M/50MgCl₂
- in water pH6.8



RNAによつて生じた Metachromasy は SM1,000 γ/ml により元に復する。SMの濃度が高くなるほど復元の割合は大になる。630m μ の吸収の割合でも、 E_{590}/E_{630} でも、Metachromasy の復元が認められる。(第4図)

Fig. 4 Dissociation of RNA Dye Complex by SM

1. $3 \times 10^{-5}MTB$
 2. " + 0.003% RNA
 3. " + " + 0.1% NaCl
 4. " + " + 0.1% SM
 5. " + " + 0.01% SM
- in water pH6.8



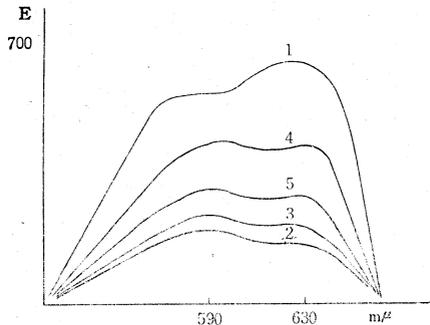
すなわちSMは自身が Nucleic acid と結合することにより basic dye nucleic acid complex を dissociate すると考えられる。

DNAにおいても、RNAにおけると同様、SMの影響

響をうける。(第5図)

Fig. 5 Dissociation of DNA Dye Complex by SM

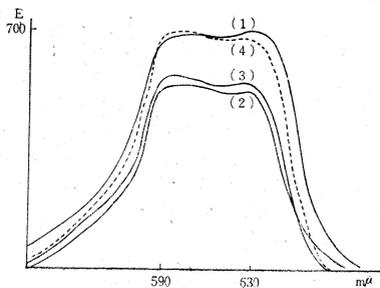
1. 3×10^{-5} MTB
 2. " + 0.002% DNA
 3. " + " + 0.1% NaCl
 4. " + " + 0.1% SM
 5. " + " + 0.01% SM
- in water pH6.8



鳥型結核菌より抽出した Polyphosphate について、Toluidine blue の Metachromasy を試みると、これもまた、SMにより復元することを認める。(第6図)

Fig. 6 Dissociation of Polyphosphate Dye Complex by SM

- (1) 3×10^{-5} MTB
- (2) 3×10^{-5} MTB + Polyphosphate (P:3γ/cc)
- (3) " + " + SM100γ/cc
- (4) " + " + SM1000γ/cc



酸溶性および酸不溶性 Polyphosphate 抽出の過程において、塩類を完全に除去することは極めて困難なことであり、塩類の混入が Metachromasy を阻害することより考えても Metachromasy の程度をこの実験から定量化することは容易なことではない。

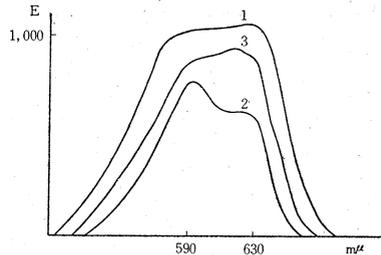
しかし、SMにより明らかに Metachromasy が復元することを認め、SMが Polyphosphate と basic dye の complex を dissociate することが観察された。

鳥型結核菌より Ecteola cellulose にて分画し、得られた酸性多糖体について検討を試みると、Metachromasy が認められ、それはSMにより前者同様復元を認

める。(第7図)

Fig. 7 Dissociation of Polysaccharide Dye Complex by SM

1. 3.9×10^{-5} MTB
2. " + Acidopolysaccharide100γ/cc
3. " + " + SM100γ/cc



塩基性色素と酸性多糖体も complex を生ずるが、やはりSMがこれを dissociate すると考えられる。このSMが高分子物質に結合することによる Metachromasy の復元現象を、 E_{630} および E_{590}/E_{630} により定量化したものをここにはその1, 2例のみ掲示するに止める。(第8図, 第9図)

Fig. 8 Dissociation of Polyphosphate Dye Complex by SM

Recovery Rate of Metachromasy (E_{630})

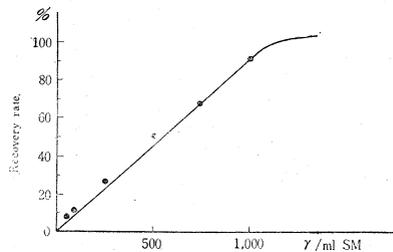
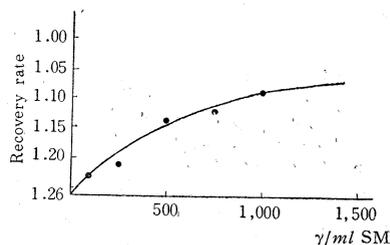


Fig. 9 Dissociation of Polysaccharide Dye Complex by SM

Recovery Rate of Metachromasy (E_{590}/E_{630})



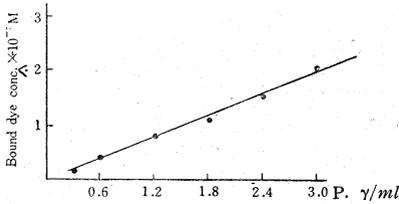
なおRNA, DNA, 酸溶性および酸不溶性 Polyphosphate 酸性多糖体等の高分子酸性物質と、SMと、塩基性色素の三者間には、軌を一にする成績を得た。

② Partition analysis (分配分析)

高分子酸性物質に対する、SMと塩基性色素の相互作用を別の観点より研究した。

Rosaniline sol. ($2.7 \times 10^{-6} M$), RNA ($1.3 \times 10^{-8} \sim 10^{-10} M$), n-hexanol, n-heptane 混液(1:1), この三者の混液について, 上層の有機溶媒層と下層の水層の両者の Optical density を計測した。RNAが存在すると Rosaniline の桃色が上の有機溶媒層に移行する。上層に対する下層の桃色素の Distribution coefficient (分配係数) は, 添加したRNA量と一定の関係をもつ。(第10図, 11図)

Fig. 10 Bound Dye Concentration and Polyphosphate(Acid insoluble)



Distribution Coefficient and Polyphosphate (Acid insoluble)

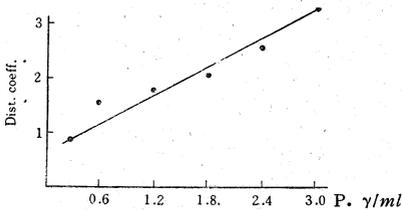
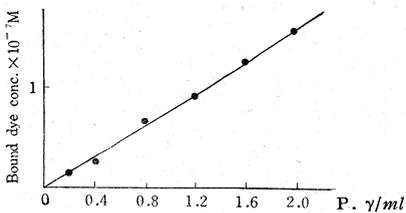
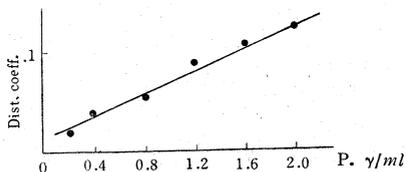


Fig. 11 Bound Dye Concentration and Polysaccharide



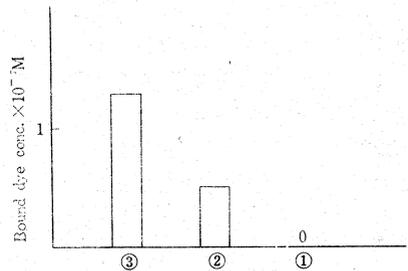
Dist. Coefficient and Polysaccharide



核菌の, Acid polysaccharide および, Polyphosphate でも全く同様の成績をえた。すなわち第10図, 第11図, に示したような, 高分子酸性物質と Rosaniline の液に SMを共存せしめると, SMがそれら高分子酸性物質と

Fig. 12 Influence of SM on Bound Dye Concentration (acid insoluble polyphosphate)

- ① $2.7 \times 10^{-6} M$ Rosaniline
- ② $2.7 \times 10^{-6} M$ Rosaniline + Polyphosphate (P 1.2 γ/ml + SM 100 γ/ml)
- ③ $2.7 \times 10^{-6} M$ Rosaniline + Polyphosphate



Influence of SM on Distribution Coefficient (Acid insoluble Polyphosphate)

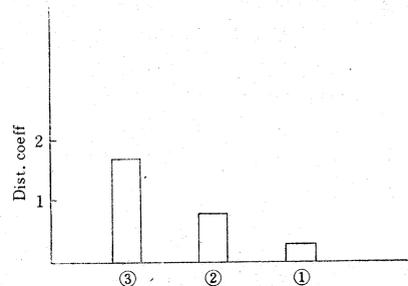
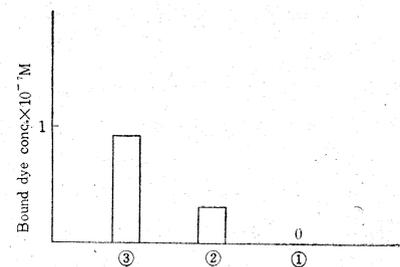


Fig. 13 Influence of SM on Bound Dye Concentration (Polysaccharide)

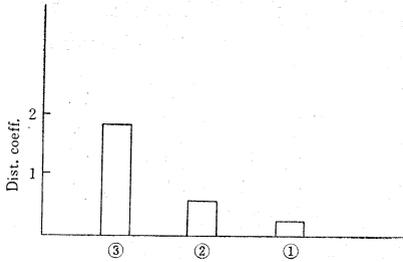
- ① $2.7 \times 10^{-6} M$ Rosaniline
- ② " + Polysaccharide (P 1.4 γ/ml + SM 100 γ/ml)
- ③ " + Polysaccharide



この系に SMを加えると, SMが色素と RNAの結合を解離せしめることが, 結合色素濃度および, 上層の色素濃度に対する下層のそのの Distribution coefficient (分配係数) の両者より明らかとなつた。

この事実は RNA, DNAのみならず, Ecteola cellulose による Ion exchange chromatography で得た結

Influence of SM on Distribution Coefficient (Polysaccharide)



結合し、結合色素濃度が減少すること、また分配係数も減少することが示された。ここに私共が結核菌にその存在を主張する Polyphosphate, Polysaccharide についての実験成績のみを掲示する。(第12図, 第13図)

以上の如く、耐性菌がSMに抵抗性を発現するためには、核酸や Polyphosphate 等の高分子酸性物質がSMと結合して、その作用をさげぎる働きをもっているものとも推察される。第14図に示すような3つの室から成り、そのおのおのの室の間にセロファン膜を張つた容器を使用して、左の室にSMを入れて放置すると、SMは右の方に透析されて左右両室に平等に分布するが、中央の小室に水の代りに Polyphosphate や核酸や Polysaccharide を入れておくと、これに阻まれてSMは右の室にほとんど移らない。すなわち、RNA等高分子酸性物質とSMが結合して、SMの移動がはばまれる。(第14図15図)

Fig. 14 Dialysis Apparatus

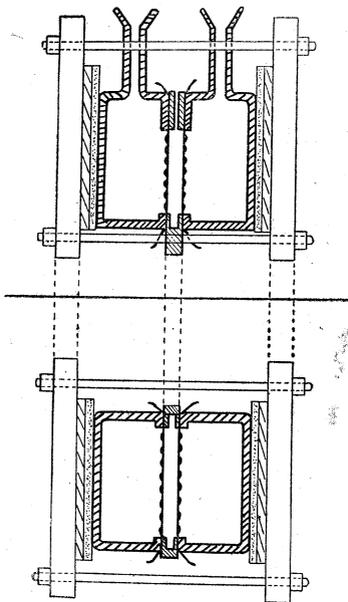
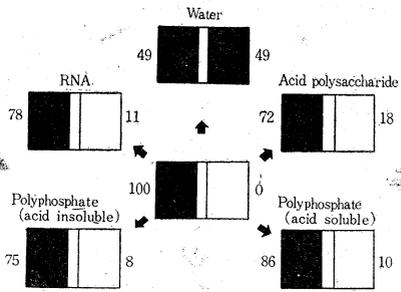


Fig. 15 Influence on Dialysis of SM in the Presence of Phosphorous Compounds

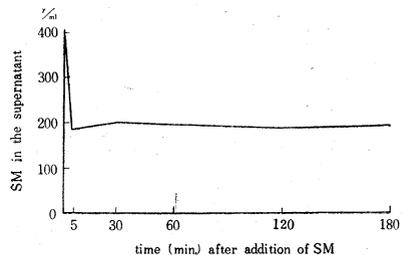


SMが核酸, Polyphosphate 酸性 Polysaccharide 等の高分子酸性物質と結合することは以上により判明した。その際SMは塩基として作用すると考えられる。

③ 一方微生物の細胞膜表面には、 PO_4^{--} 基や COO^- H-基の如く陰性に荷電する結合手が存在していて、種々の Cation の吸着に関与しており、たとえば抗生物質の中で陽性荷電する Polymixin は、菌膜で結合し、そこで破壊的作用を行つて菌の Germination を妨げると報告されている。この Polymixin と同じように陽性荷電するSMと結核菌ではその間の消息はどうであろうか。私はこの問題を Polarograph を用いてSMを定量する一方、菌の生物学的活性は安息香酸の適応酵素産生を目安として検討し、菌とSMの関係を研究した。

まずSMが菌体に結合する反応速度を調べてみると、菌の懸濁液にSMを添加後、種々の時間で遠沈して上清に残るSMの量を逐時定量してみると、第16図の如く大略5分で菌とSMの結合反応は終結し、その後は残存S

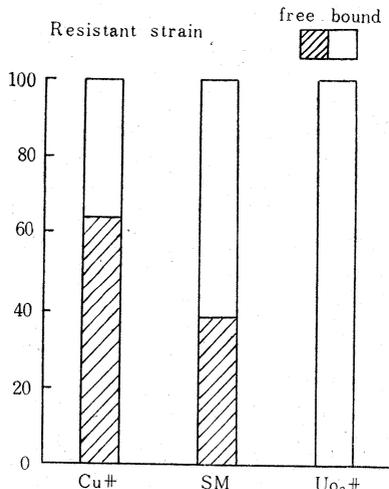
Fig. 16 Uptake of SM by Tubercle Bacilli as a Function of Exposure Time



M量は変化しない。しかしてSM耐性・感性両菌でSMとの結合量、結合速度には差異はない。したがつてこの実験により、耐性菌はSMに親和性がなく結合しないとか、SMを破壊するとかの現象により抵抗性を発現するものでないことが判明した。

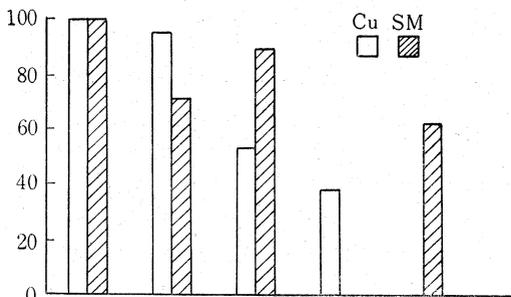
次に菌に対するCu⁺⁺, SM及びUO₂⁺⁺の親和性を検すると、それはUO₂⁺⁺ > SM > Cu⁺⁺の順になる。(第17図)またCu⁺⁺とSMは互いに排他的に核酸と結合する。またそ

Fig. 17 Binding of Cations by Tubercle Bacilli



The concentrations of cations are $2 \times 10^{-3}M$, and that of the cell suspension $60mg/ml$.

Fig. 18 Interaction between SM and Cu⁺ for Nucleic Acid



SM	+	+	+	-	+
NA	-	+	+	+	+
Cu	+	+	+	+	-

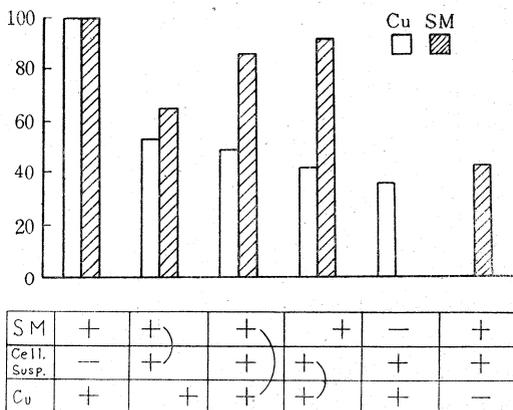
(Cuのみ後) (三つを同) で添加 (時に混合)

(左端の柱は加えたCu⁺およびSM, これを100として, ポーラロの波高を棒グラフで表した)

れらは菌とも互いに排他的に結合する (第18図, 19図) 故にSMと接触させた菌を水で洗滌した後も, SMが菌体表面に残つていれば, Cu⁺の菌に結合する量がそれだけ減少するから, Cu⁺の測定により間接に菌体表面に残存するSM量を推定することができる。

この性質を利用して, SMの作用と菌の適応酵素産生能の関係を調べてみた。すなわち菌をSM含有液で振盪して, その菌に結合しているSMの量を計測するのに, SMを接触させた菌と, させない菌のCu⁺結合能の差から菌表面のSM量を換算した。このようにして定量した

Fig. 19 Interaction between SM and Cu⁺ for Tubercle Bacilli.

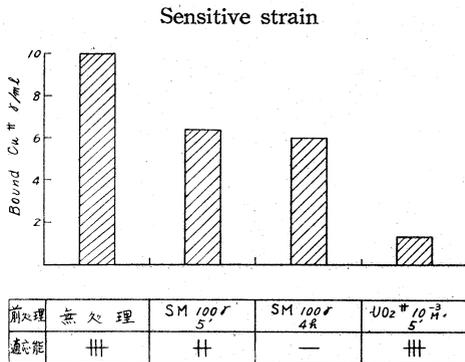


(Cuのみ) (三つ同) (SMの) 加後) (時に混) (み後) で添和 添加

(左端の柱は加えたCu⁺, およびSM, これを100として, ポーラロの波高を棒グラフで表した)

菌体表面に結合しているSM量と適応酵素産生能の関係を対比検討してみた。まず菌体に結合しているSM量については, 終濃度 $10\gamma/ml$ のSM溶液5分接触の場合より, 終濃度 $100\gamma/ml$ のSM溶液5分接触の場合の方が菌に結合しているSM量はやや多く, 次にSM濃度は同一 $100\gamma/ml$ で4時間菌とincubateした場合は $100\gamma/ml$ 5分の場合と, 菌体表面に結合しているSM量はほぼ等しい (第20図)。しかしながら安息香酸に対する適応酵素産生

Fig. 20 Influence of SM on Metal Binding of the Cell Surface of Tubercle Bacilli, especially in Connection with the Phenomenon of adaptive Enzyme Formation.

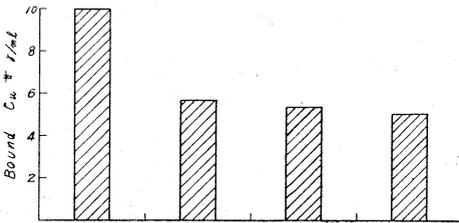


The concentration of Cu⁺ is $20\gamma/ml$ and that of the cell suspension $30mg/ml$.

能は, 菌に対するSMの結合量とは必ずしも一致しておらず, $100\gamma/ml$ 5分では依然適応能を保有しており, $100\gamma/ml$ 4時間で初めて適応能は完全に喪失する。すな

わち菌体表面に結合しているSM量と、適応酵素産生能からみた、菌の生物学的機能の間には一定の関係はないらしい。因みに、 PO_4^{---} と定量的に結合する UO_2^{++} は菌のAnionic groupにも図のように強い親和力を持っており、菌と強く結合する。しかしながら適応酵素産生能は依然保有している。また第21図に示す耐性菌において、SMとの結合状態は感性菌とほぼ同様であるが適応

Fig. 21 Influence of SM on Metal Binding of the Cell Surface of Tubercle Bacilli, especially in Connection with the Phenomenon of adaptive Enzyme Formation
Resistant strain



前処理	無処理	SM 1000γ 5'	SM 100γ 4h	SM 1000γ 4h
敏感	+++	+++	+++	+++

The concentration of Cu^{++} is $20\gamma/ml$
and that of the cell suspension $30mg/ml$.

酵素産生能は依然存在している。これら諸事実から考えると、SM抵抗性の問題や、SMの作用機序の問題は、菌体表面におけるこの種解析より明らかにすることは困難であるように思われる。就中SMが結核菌の適応酵素産生を抑制する際には濃度の他に時間的因子が関係しているの、Cu結合能から推定した菌体表面のSM量とか、菌体表面の PO_4^{---} に結合した UO_2^{++} 量とかと、菌体の適応酵素産生能から捉えた菌細胞の機能とは平行しない。換言すればSMの作用は菌のAnionic groupを塞ぐ(block)というような非特異的な問題ではなく、菌体内における時間的因子の関与する特有かつ複雑なメカニズムに関係するものと思われる。

次に菌体内代謝の問題について述べよう。

(4) 菌体内含磷酸化合物の代謝とSM

SM問題を研究するには、静的な菌体成分の分析等では到底不可能であることを知った私共は、同位元素 P^{32} C^{14} を使用したTracer experimentを繁用した。しかし、同位元素の研究に最も大切なことはContaminationの防止で、過去数10年間にわたって一般に行われていたBa塩による分割操作は、この点全く不満足なものであることは世の等しく認めるところとなつた。そして従来

私共が結核菌で発表したこの種の研究においても方法論の充実と共に新しい実験方法で再吟味しなければならないこととなつた。まず P^{32} や $2C-C^{14}$ glycineをTracerとして、その各種画分へのIncorporationについてIon exchange chromatographyを施行し、これを静的あるいは動的に吟味した。

① 結核菌をSauton培地に懸濁させ、一方にSM $1000\gamma/ml$ を添加し、対照には何も加えず、両者を1時間半 $37^\circ C$ にincubateする。そこで P^{32} やglycineを両方に加えさらに一定時間 $37^\circ C$ にincubateし、Perchloric acid (PCA)やTrichloroacetic acid (TCA)で酸溶性画分を抽出3回、ついでアルコール、アルコール・エーテル(3:1)、クロロホルム・メタノール(1:1)で脂質を抽出、残渣を酸不溶性画分とする。

酸溶性磷酸化合物のように分子量の小さい物質の画分はDowex 1 (Crosslinkage 10)で行つた。酸不溶性磷酸化合物、すなわち核酸画分をTCAやPCAで抽出した時、上清に於けるRNAの崩壊したMononucleotideやOlygonucleotideの混合物の画分にはDowex I (Crosslinkage 2)を用いた。なお溶媒はPotter等の義酸系を採用した。

高分子の核酸や多糖類の画分にはEcteola cellulose (当研究室にて合成)を用い、Automatic fraction collectorでColumn chromatographyを専ら施行した。そして、数百本に分画された各試験管について、cpmの測定、Ribose Desoxyriboseの定量、磷の定量、紫外部の吸光度($260m\mu$, $275m\mu$, $280m\mu$ 等)の定量をし、また必要ならば、Rechromatography, Paper chromatography)を併用して、SMのSite of actionを研究すると共に、SMの抵抗性の本態に迫らんことを企てた。

吸収スペクトルの測定は専ら島津製作所製Beckmann typeのSpectrophotometerによつた。磷酸はFiske Sabbarow法、RiboseはOrcinol HClを用いるBial reactionによるMeijbaum法、DesoxyriboseはDiphenylaminを用いる(Dische reactionによる)方法をもつて測定した。窒素はParnasによるマイクロケルダール法、糖の定量定性にはResorcinol-HClやAnthroneによる反応も用いた。

② SM耐性菌に試験管内でSMを作用せしめた場合と、感性菌と同様SMを接触させた場合と、両菌体内に於ける代謝のSMによる影響を、結核菌が行う諸種の代謝過程にわたつてくまなく比較検討すると、磷酸、核酸にSMの論点が集約されることは日比野の報告にもあるところである。

酸溶性磷酸化合物のDowex I (crosslinkage 10)によるChromatogramをここに示す。(第22, 23, 24, 25図)。実線で記したのが $260m\mu$ のEで、黒々ぬりつぶしたのが P^{32} のcpmである。耐性菌では対照とSMと

Fig. 22 Chromatographic Separation of Acid Sol. Nucleotides (Exchanger Dowex- I) Resistant strain

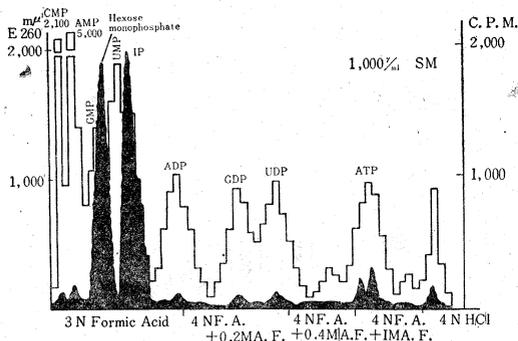


Fig. 23 Chromatographic Separation of Acid Sol. Nucleotides (Exchanger Dowex- I) Resistant strain

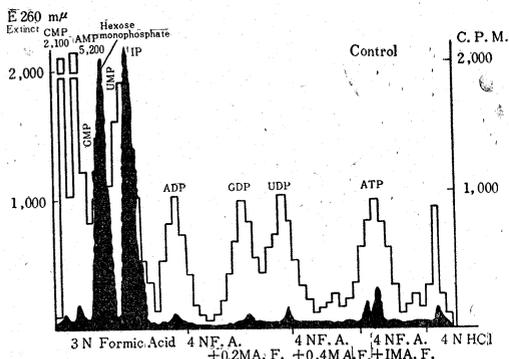


Fig. 24 Chromatographic Separation of Acid Sol. Nucleotides. (Exchanger Dowex- I) Sensitive Strain

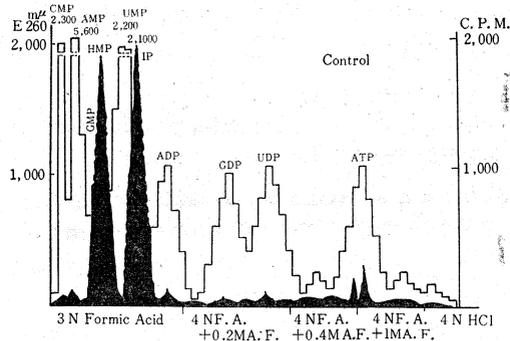


Fig. 25 Chromatographic Separation of Acid Sol. Nucleotide (Exchanger Dowex- I) Sensitive Strain

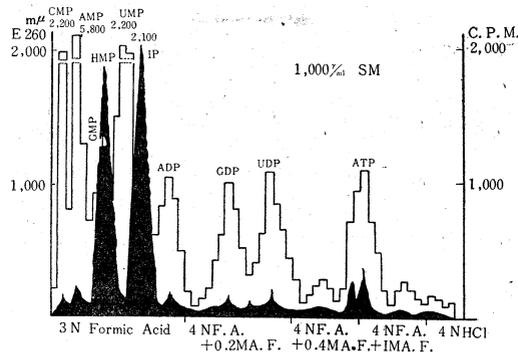


Table. 1 Specific Activities of Various Fractions

SM-Sensitive				SM-Resistant		
SM	Control	SM/Cont.		SM	Control	SM/Cont.
40.0	20.0	2.0	ATP	11.5	17.0	0.7
38.0	36.0	1.1	ADP	26.0	20.0	1.3
23.0	19.0	1.2	AMP	10.8	12.4	0.9
21.0	14.0	1.5	UDP	12.8	11.2	1.1
11.2	9.6	1.2	GDP	23.6	22.4	1.1
4.2	2.4	1.7	CMP	4.1	4.4	0.8
75.0	70.0	1.1	Hexose-P	10.0	11.2	0.9
43.0	31.0	1.4	P-P	17.0	17.2	1.0

接触させたものとあまり差がない。感性菌においても E₂₆₀mμ の山で比較すると、対照と SM を接触させたものではほとんど相異がない。しかし黒くぬりつぶした P³² の cpm は SM を働かせた方が多いようである。次

に Specific activity cpm/py を表示する。(第1表) これによると、耐性菌で ATP, ADP のところで幾分 SM の影響がみられるが、他ではほぼ影響がないと考えられる。

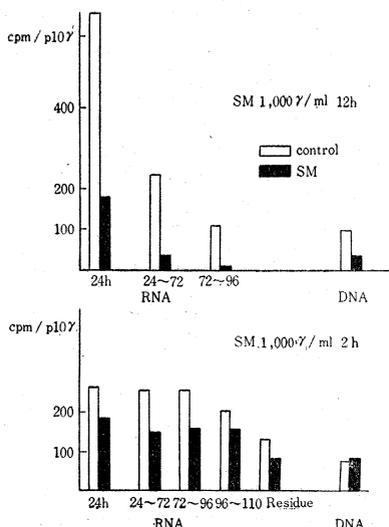
左の感性菌で見ると、どの Nucleotide でも SM を働かせた方に常に Specific activity が高い。Hexose-phosphate ではあまり変化がないようである。Polyphosphate (P-P) では Specific activity の比率が 1.4 と SM と接触させたもので高くなっているようであるが、ATP が重り合つて出てきているので P-P については結論は出し難い。このように酸溶性 Nucleotide における P³² の Specific activity が SM と接触させたもので高くなることは、後述するように核酸や Polyphosphate の重合化の段階が SM で阻止されるためと考えられる。なお Hexose monophosphate で P³² の Specific activity が SM でほとんど影響されていないが、これは糖、糖の磷酸エステル等の定量分析からも SM は解糖には影響を与えないであろうという先の成績に全く一致する結果である。

③ 次に脂質には、SM は P³² の Incorporation からみると直接関係がないらしいことは先にものべたところである。しかし SM は酸不溶性画分の特に RNA に強い障害を与える。よつてこれをさらに詳細に研究することとした。

SM は酸不溶性画分の特に RNA の回転を強く阻害する。SM を 2 時間作用させた場合は RNA のみ阻害され、DNA の回転はほとんど妨げられないが、12 時間接触させるとこれは当然のことと思われるが DNA も阻害されてくる。(第 26 図)

私共はこの RNA の SM による侵襲をさらに深く研究した。

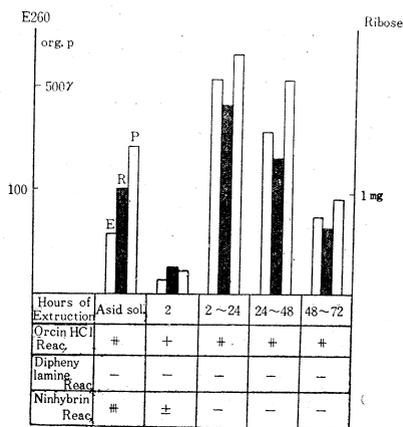
Fig. 26 TCA Extract of Nucleic Acid Influence of SM on the Incorporation of P³² into Nucleic Acid



a) 所謂酸不溶性画分も、長期間の 2% PCA (氷室または室温) 抽出により、また 5% TCA 長時間連続抽

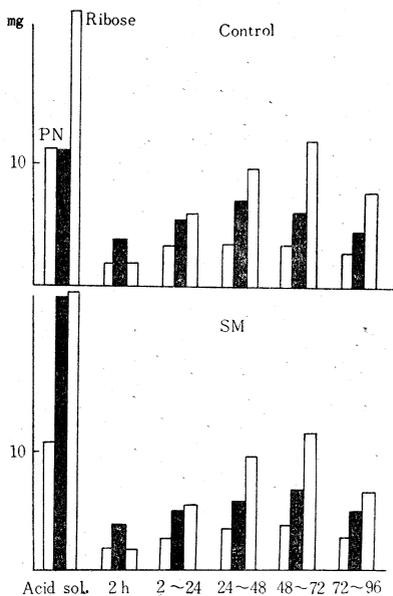
出により RNA の水解物が得られる。抽出物の分析値からは SM の影響は見られない。(第 27, 28 図)

Fig. 27 TCA Extract of so called Acid insol. Fraction



Content in g TBB (wet weight)

Fig. 28 TCA Extract of so Called Acid Insol. Fraction

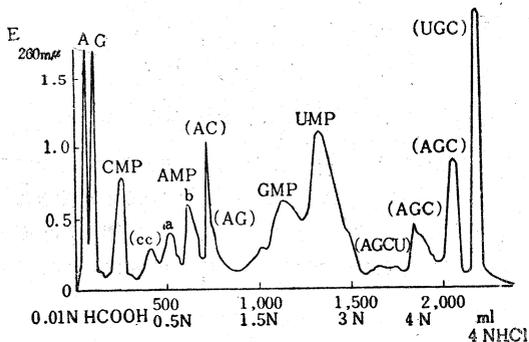


すなわち、紫外部に強い吸収を持ち、オルシン硫酸反応強陽性、有機燐を多く含み、デフェニールアミン反応およびニンヒドリン反応陰性であり、しかも酸溶性画分と異なり、RNA に近い、E₂₆₀/P、N/P を持つていて、RNA が壊れて抽出されたと考えられる。事実、Adenine, Guanine, Cytosine, Uracil の 4 塩基の定量により RNA 由来であることが明確となつた。この抽出物の Ribose/E₂₆₀μ は RNA に比しやや高い。その理由は後述するが、Ribose の重合した多糖体の存在が想

像される。

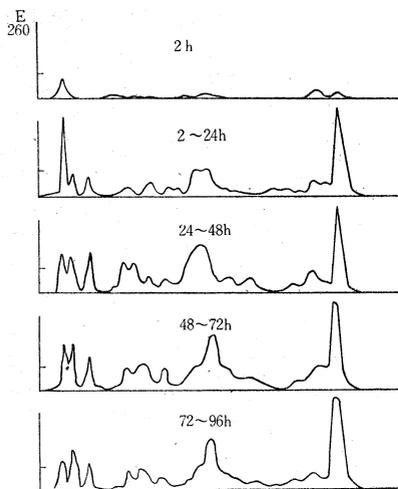
b) この抽出物を Dowex-1 (×2) にかけて、 HCOOH 濃度を漸次 4 N まで上げた Ion exchange resin chromatogram を示すと、(第29図) 比較的酸に弱い Nucleotide

Fig. 29 Chromatographic Separation of TCA Extract
(Exchanger : Dowel- I)



の Base である Adenine, Guanine, 次いで CMP, AMP, GMP, UMP の4つの Mono-nucleotide のほかに、2~3種の溶媒による Paper chromatography で Single spot となり、水解すれば RNA由来の2~3種以上の Base を持つた、おそらくは Oligo-nucleotide と思われるものが抽出されており、これらが重り合つて複雑な Pattern を示している。24h, 48h, 72h, 96h とおのおのの抽出物の Chromatogram を見ると、ほぼ同一の Pattern をなしている。(第30図)

Fig. 30. TCA Extract of so-called Acid Insoluble Fraction Chromatographic Pattern Dowex I, × 2



少し溶媒の Gradient を荒く上げて chromatography を行つたのが (第31図) の上である。これを 0.1N KOH のアルカリ水解90分により Oligo-nucleotide を Mono-

Fig. 31 Chromatographic Separation of so called TCA Extract

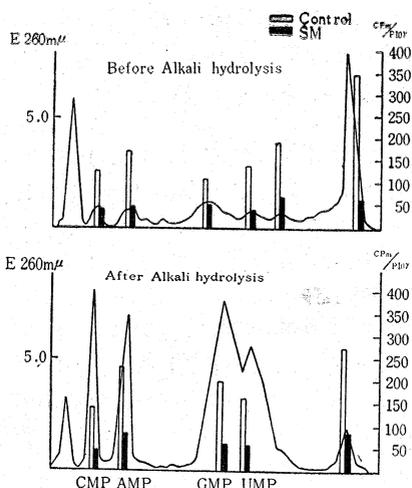
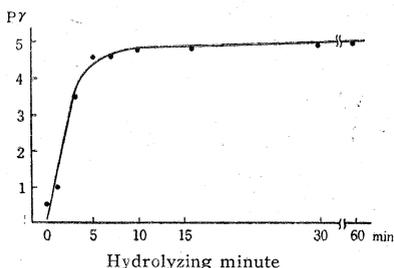


Fig. 32 Hydrolysis Curve of Ba-Salt (pH 4.5)



nucleotide 迄分解し整理すれば、Adenine, Guanine の Free Base と CMP, AMP, GMP, UMP の4つの Mononucleotide とお水水解されなかつた右端の若干の部分の6つの山を持つ Pattern となる。(第31図下)

c) これらの Peak の P^{32} の specific activity を同時に示したが、SMでいずれの箇所も Incorporation が阻害されている。

4つの Nucleotide では、specific activity は AMP に最も高く、次いで GMP に高い。CMP, UMP はやや低いとその2つはほぼ同一の specific activity を示す。(第2表) なお右端の Peak に最も specific activity

Table. 2 Incorporation of P^{32} in RNA-Nucleotides

Nucleotide	AMP	GMP	CMP	UMP
Specific Activity of P^{32}	100	84	78	81

1) Specific Activity of AMP : 100

2) Average of 14 Cases

が高いが、これについては後に詳述する。これらのいず

れも、SMはその代謝回転を抑えていることが判明した。

SM作用時に私共の実験条件ではRNA量そのものには大きな影響はなく、(第28図)各時間的抽出画分の抽出のされ方、またその抽出されたもののChromatographic patternにも差はなかつたが、 P^{32}/P は相当な差があつた。すなわち、前述のように(第26図)SM2時間作用の場合には P^{32} のDNAへのIncorporationには何等差がないのにRNAへのIncorporationは相当強く抑えられており、SM12時間作用させたものではRNAには P^{32} はほとんど入っていないくらいであり、DNAにも僅かであるがSMが代謝を抑制しているようであつた。

d) RNAを種々の時間抽出した各画分についてそれぞれのおおのIon exchange resin chromatogram上のPeakのspecific activityを比較した実験では、右端に高いspecific activityを示す部分があるほかは特に高いspecific activityのある所はない。すなわち、RNA核酸のmetabolic inhomogeneityの有無については疑わしい。

しかしこの(第31図)の高いイオン強度で初めてeluteされる部分は、他に比して高いspecific activityがあるのでこの部分を注目し種々の研究を行つた。

e) この部分のIN鉱酸、 $100^{\circ}C$ において、無機磷に水解される水解曲線を見ると、易水解の形を示している。(第32図)また P^{32}/P を時間おきにとれば、易水解の部分にspecific activityが高く、この部に P^{32} が多く入っている。(第3表)なお、この画分の物は強い

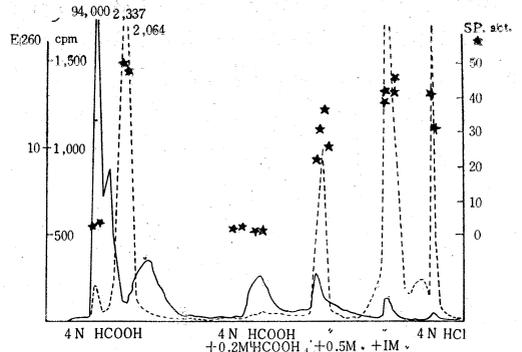
Table 3

Hydrorizing Time	0~10'	10~30'	30~60'	60~T
P γ	40.5	5.5	10.4	57.6
cpm	2000	175	75	450
cpm/p	50	32	7	7

Metachromasyを示し、酸性でBa塩を作り、分析値からはPolyphosphateが主体をなすと考えられ、Metaphosphateと想像される。

次にこの左端の部分をさらに細かく分画することを試みたところ、4N Formic acidにAmmonium formateをgradientに加えることによりさらに細かく分画できることが判つた。(第33図)これによると、左端の山は酸溶性Mononucleotideが同時に溶離して来たものであり、次の P^{32} の高いcpmは無機Pである。その右のいくつかの山について考えてみるとcpmの高い所と紫外部の吸収の高い所は必ずしも一致せず、始めのうちは吸収の割にcpmが低く、終りにしたがつてcpmが吸収に比して多くなり、またSpecific activityも次第

Fig. 33 Inhomogeneity of Polyphosphate



に多くなつて来ており、これらのspecific activityの高い部分も2~3のPeakに分けることができた。このPolyphosphateを2, 3の方法で精製してみると、第4表の如くPolyphosphateに一部NucleotideがConj-

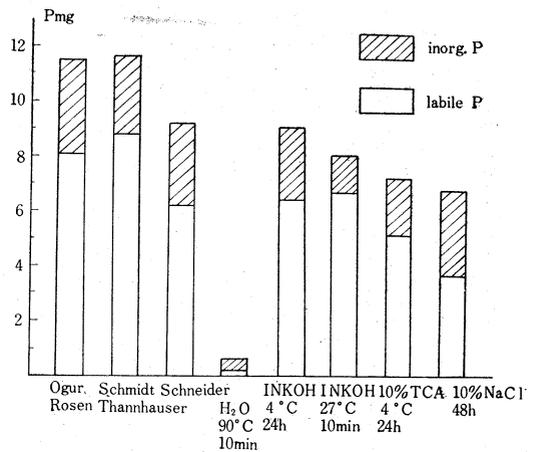
Table 4 Labile P Mol/Base Mol

	Exp. I	Exp. II
RNA Crude Extr.	0.33	0.26
Dowex-1	1.54	3.42
EtOH-Ppt.	6.45	
Ba-Ppt.	17.0	17.2
Dowex-50		16.9

cf. ATP = 2

ugateしているものらしい。この結核菌のPolyphosphateは(第34図)に示したような方法条件で抽出され

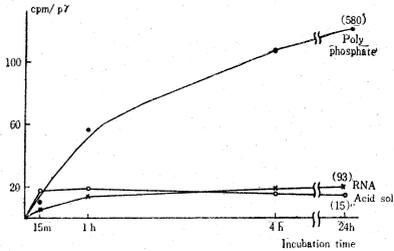
Fig. 34 Extraction of Polyphosphate in TBB Pmg/wet weight 10g



る。酵母やデフテリア菌のPolyphosphateと抽出され方がこの鳥型結核菌では幾分異なるようである。しかしいずれの方法によつても、Labile Pの一部が無機Pに崩

解することはまぬがれない。この図は酸不溶性画分の無機Pおよび10分P (IN HCl, 100°C. 10分は無機PとなるP)を記したものである。この物質は細胞生理上、核酸や蛋白の合成にも重要な意義をもつと思われる。第35図は酸溶性リン化合物, RNA, Polyphosphate等へのP³²のIncorporationをSpecific activityで時間

Fig. 35 Incorporation of P³² in Various Phosphorus Compounds



的推移を示したものであるが、24hでRNAの93に対し、Polyphosphateでは580と非常に高くなっており、これは高エネルギーリン化合物のPoolではなからうかと想像される。

かくの如く私は、SMの作用点がRNAにある事実を追究中、PolyphosphateもやはりSMの作用を考える上に大切であることを知った。なお、耐性菌では全くかかるSMの影響は見出されない。

④ a) 更に私はSM抵抗性の問題と追究するためC¹⁴H₃-glycineをmedium中に加えて菌体各画分へのC¹⁴のIncorporationを検討した。

前述の如くにして得た菌体を、酸溶性画分および脂質を除去した残渣である所謂酸不溶性画分より、IN PCA, 18h, 冷室にて2~3回抽出した画分をRNA画分とし、その残渣より0.5N hot+PCA, 15分間、2回抽出した画分をDNAとするOgar-Rosen法によつて分画した。そして各画分の一部を、炭素量として2~3mgになるようにとり、Lindenbaum氏改良型湿式灰化器によつて灰化し、発生したCO₂をBa(OH)₂溶液に吸収させ、BaCO₃として計量し、そのcpmの値をBaCO₃の量による自己吸収係数で補正したものを真のcpmとした。第36図

b) 図に示す如く耐性菌ではSMに接触させたものは、させなかつたものに比してRNAへのIncorporationが相当程度阻止されているほかは、ほとんど各画分のSpecific activityに差がない。感性菌では、(第37図)SMを作用させたものは作用させなかつた対照に比して、酸溶性画分のほかは、所謂酸不溶性画分、すなわちRNA, DNA, 蛋白ともに著明にIncorporationが抑制されている。なおLipoidではほとんど差がなく酸溶性画分はSMを作用させたものの方がSpecific activityが

Fig. 36 Influence of SM on the Incorporation of Glycine (C-2-C¹⁴)

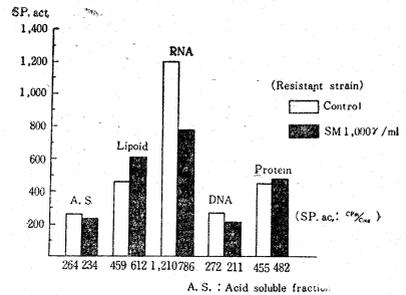
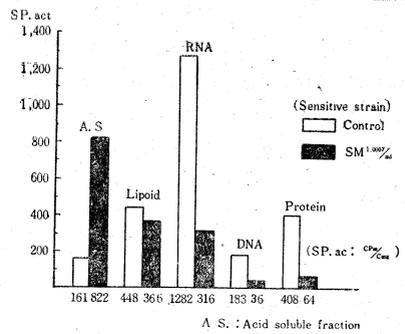


Fig. 37 Influence of SM on the Incorporation of Glycine (C-2-C¹⁴)



高く、与えられたGlycine由来のC¹⁴が高重合化されずに残っていることを示している。

この顕著な障害が認められたRNAを水解抽出して、その構成NucleotideをIon exchange chromatographyで分画すると、第38, 39図で示すように、GlycineのC¹⁴は広く知られている如くPurine baseによく入っている。耐性菌では(第38図)SMを接触させたもの、させなかつたもの、共によくIncorporateしている。一方、感性菌においては、対照ではFree base, AMP, GMPともによくC¹⁴H₃-glycineがIncorporateしている、SMを作用させたものでは非常に抑制されている

Fig. 38 Incorporation of Glycine in RNA Chromatographic Separation of RNA Nucleotides Resistant Strain

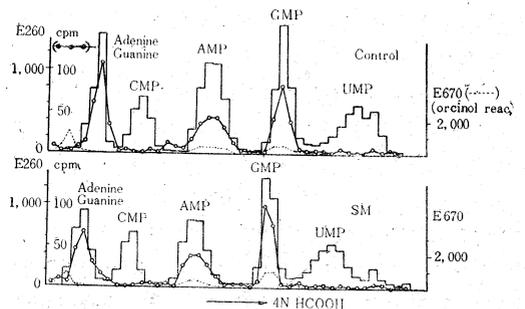
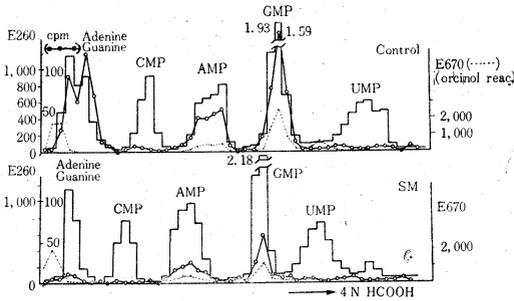


Fig. 39 Incorporation of Glycine in RNA
Chromatographic Separation of RNA Nucleotides
Sensitive Strain



(第39図)。これを模式化したものが第5表で、SMに接触させたものは、それぞれ対照に比して10~40%しか Incorporate していない。

Table. 5 Incorporation of Glycine in RNA
Specific Activity of Various Fractions
(Specific Activity : cpm/E₂₆₀)

Sensitive Strain			
	Free Base	AMP	GMP
Control	105	68	81
SM1000γ/ml	11	26	26
Incorporation %	11%	38%	32%
Resistant Strain			
	Free Base	AMP	GMP
Control	65	39	54
SM1000γ/ml	73	48	73
Incorporation %	112%	122%	135%

⑤ a) 以上は核酸や、多糖体や、Polyphosphate を PCA や TCA の過激な操作で処理したものについて研究したものである。私共はかかる高分子物質を可及的温和な条件で細胞外に分離し、イオン交換クロマトグラムでさらに分画して研究してみたいと考えた。

結核菌体をアルコール、エーテル、クロロホルム等で脱脂し、これを 1M NaCl とクロロホルムならびに少量の Desoxychol 酸とガラス粉で越夜磨砕する。その上清抽出液にアルコールを加えると、RNA, DNA, 多糖体が沈澱として得られる。これを Ecteola cellulose による Ion exchange chromatography を行う。この Ecteola cellulose は当研究室で合成したものであるが、極めて弱塩基性のイオン交換体で、吸着させた抽出物を溶出させるには 0.02N より 2N まで、gradient に濃度を上げた NaCl 溶液、さらに N NaCl 溶液 pH = 9 および

Fig. 40 Chromatographic Separation of
Nucleic Acid and Polysaccharide
(Exchanger Ecteola-Cellulose)
Resistant Strain

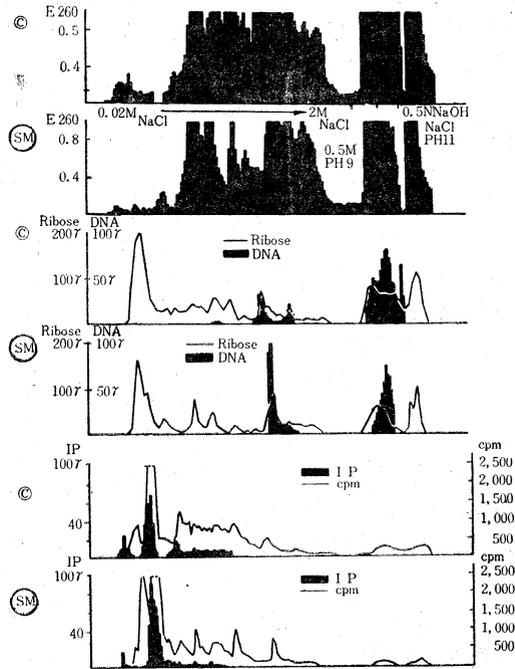
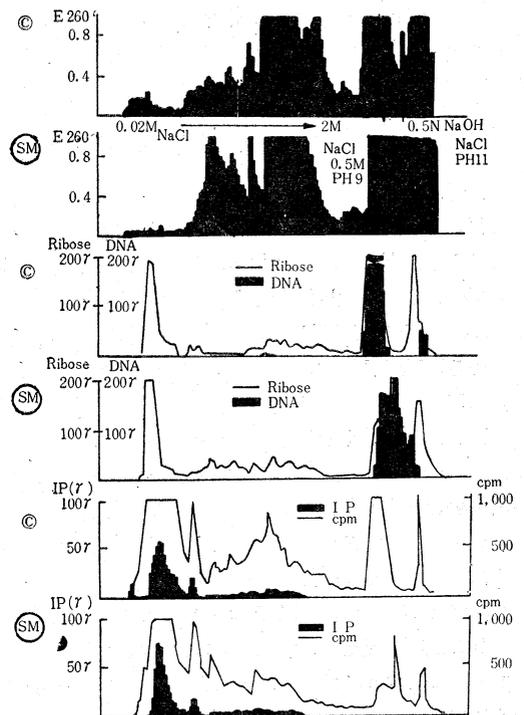


Fig. 41 Chromatographic Separation of
Nucleic Acid and Polysaccharide
(Exchanger Ecteola-cellulose)
Sensitive Strain



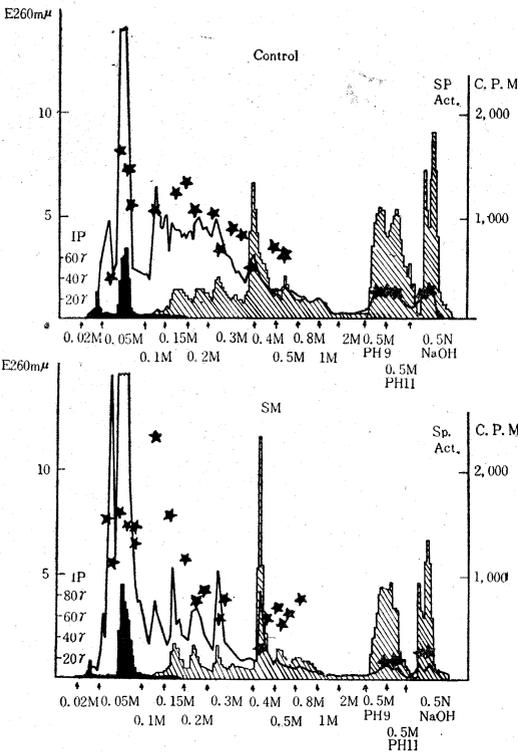
pH=11, 最後に0.5N NaOH溶液を用いる。

b) 第40, 41図はこのIon exchange chromatogramで, 上より2段ずつ, E260 μ , Ribose および Desoxy-ribose, 無機Pおよび cpm を示している。第42, 43図は, 実線で cpm を, 黒くぬつた所は無機P, 斜線は E260 μ , 星は Specific activity を示す。

i) 第40, 42図は耐性菌について行つたものであるが, 耐性菌では SM で核酸代謝に全く影響を与えない,

ii) Chromatography により, 核酸に数個の Peak に分れているが, 感性菌に SM を作用させると, 核酸に対する P³² の Incorporation が阻止されること, および P³² のほとんど入らぬ核酸の部分が出てくること判る。(第41, 43図)

Fig. 42 Chromatographic Separation of RNA, DNA, Acidpolysaccharide (Exchanger: Ecteola-Cellulose) Resistant Strain



iii) E260 μ がなく, Orcinol-HCl 反応の強い, 有機磷酸をもつ Peak が存在し, これは多糖体と思われる。

このように温和な条件で研究したのもでも, 感性菌では各画分で P³² の Incorporation が SM で抑制されるが, 耐性菌では影響されず, 核酸の Polymerization の段階でおさえられていることが判る。第42図, 43図の星で示した Specific activity を棒グラフで示したのが第44

Fig. 43 Chromatographic Separation of RNA, DNA, Acidpolysaccharide (Exchanger: Ecteola-Cellulose) Sensitive Strain

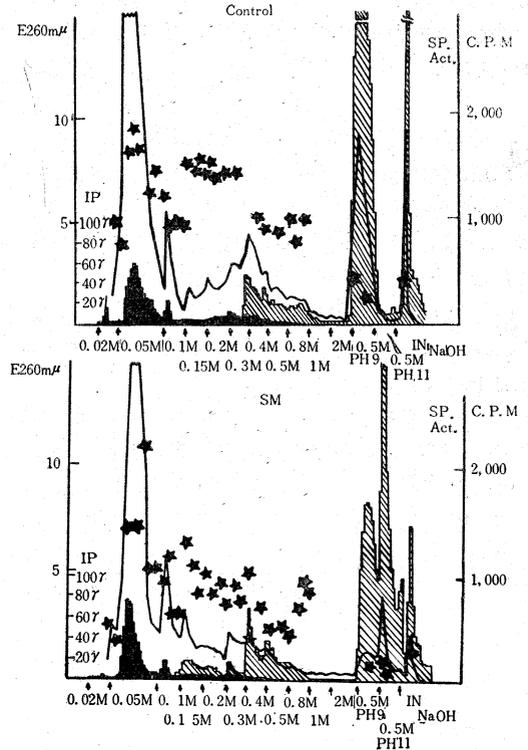
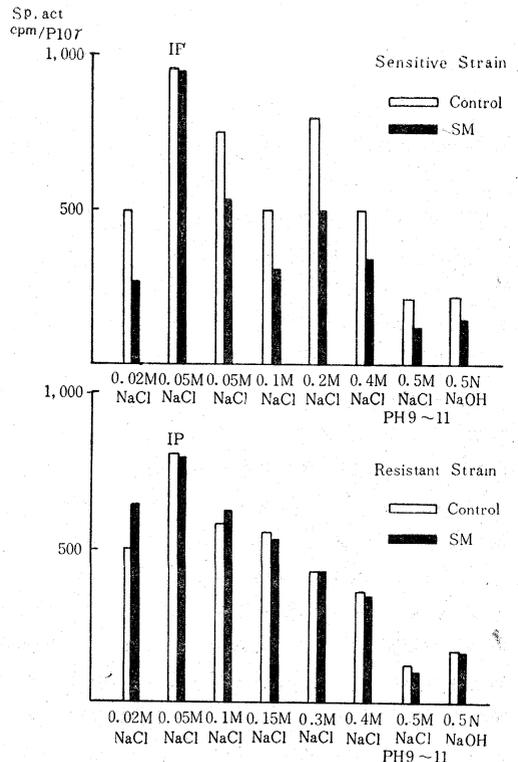


Fig. 44 Specific Activity of Respective Fractions Sensitive Strain



図である。

かくて私は、SMの site of action は、SMが一種の Base であることから考えても、RNAを始めとして Polyphosphate や Acid Polysaccharide に結合して、その物理化学的性質を変化させるところに起因するよう考えるに至つた。

(5) む す び

SM耐性菌とは、SMにより核酸や Polyphosphate の生合成が何等の影響をうけぬことが特性であることを知つた。これは下のような実験諸事実より帰納されたものである。

(1) SMは結核菌内の高分子酸性物質たとえば RNA, DNA, Polyphosphate, Acid Polysaccharide 等と結合する。

(2) SMは菌とも、(1) 同様、その酸性の基と結合する。しかしSMの作用は菌表面に結合しているSM量と並行関係はない。またその作用は酸性の基を非特異的にただ塞ぐというところにはない。SMは菌体内の代謝に障害を与える。

(3) SMは結核菌の酸溶性画分への P^{32} の導入を促進する。

(4) SMは結核菌中のRNA, Polyphosphate への P^{32} の Incorporation を抑制する。(3) はこのための二次的現象と思われる。

(5) SMは C^{14} でマークした Glycine を Tracer とした際、結核菌のRNA, DNA, 蛋白への C^{14} の Incorporation を強く抑制する。

(6) 結核菌の核酸を、温和な条件で抽出、分画した場合でも、核酸への P^{32} の Incorporation をSMは抑制する。

(7) (3)——(6)の現象はSM耐性菌ではみられない。

これを要するに、SMは解糖、呼吸、酸溶性 Nucleotide の代謝には影響なく、結核菌の核酸や蛋白の生合成を抑制する。これに対し耐性菌はこの抑制がみられず、細胞増殖が営まれる所が特異点であると言ひらる。

謝辞 終に臨み本報告の光栄ある機会を与えられた、隈部会長に衷心より感謝の意を表します。なお恩師日比野教授、敬愛する堀先生、山村先生の御指導御激励に謝意を表すると共に、研究室同僚の御協力に厚く御礼申し上げます。

追記：本原稿投稿後最近当研究所において、鳥型菌から分離精製せる Polynucleotide phosphorylase の活性をSMが強く阻害することを確認した。これはこの Polynucleotide phosphorylase には Primer としてのRNAが必要であり、その Primer とSMが結合して物理化学的性質が変化をうけて酵素活性が阻害されるものと想像される。

結核菌の抵抗性について

—PAS 耐性の機構—

名古屋大学医学部生化学 勝 沼 信 彦

PAS 耐性と云つても広い分野にわたる問題が含まれるので、私はこのシンポジウムの研究目的を「PAS 耐性菌は PAS 存在下にも何故増殖できるかという一線に限定した。したがって耐性獲得機構、SM への耐性上昇に及ぼす影響および PAS 耐性菌の一般的性状等に関しては触れないことにする。この目的のためにはまず未だ全く不明であつた PAS の specific inhibitor としての機作を解明しなければならない。そこで私は常にこれの追求と耐性の問題を表裏一体にして研究する方法をとつた。

この報告は次の4つの相連した段階から出来上つている。その第1項目は、どのような反応系をPASは阻害するか、しかもこの反応系阻害は制菌力を説明するのにどの程度有力な部分を占めるか。耐性菌ではこの Coenzym F (CoF) 関与の反応系がどのようになつているか。第2項目は、菌体内CoF量はそれぞれPAS有無の状況下に感性耐性両菌種間でどのように異なるか。第3項目はCoF生合成経路の中でどこをPASは直接侵襲するか。最後には、何故耐性菌ではCoF生合成阻害がPASにより起らないのか。

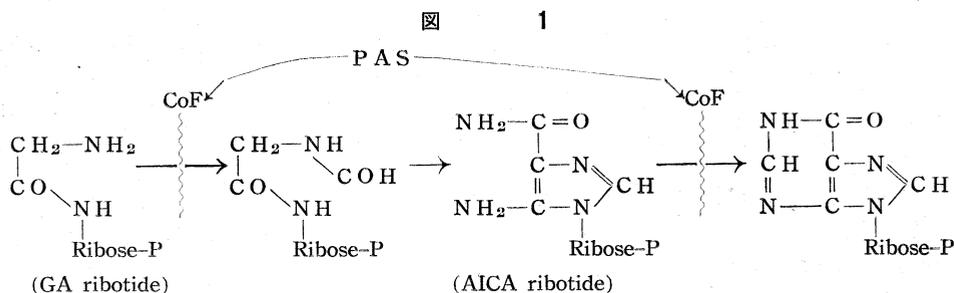
以上の順序を追つた実験から次の結論を得た。PAS

はすべての transformylase 関与の反応系活性の低下を来させるが耐性菌ではこの活性低下が起らない。これは感性菌(S菌)ではPASによりCoF生合成阻害が起るが、耐性菌ではこの阻害が起らないためである。その理由はR菌はS菌と同じCoF生合成経路も持つが全く別な経路を持ち、前者は(S菌と同一路)PASにより阻害されるが、後者(R菌特有路)はPASに感受性がない。したがつてR菌はPAS存在下にはこのR菌特有の副路により生存に必要なCoF生合成を行つていることが明らかとなつた。

(1) Transformylase 関与の反応系

(a) プリン核生合成酵素反応

S菌ではPASが存在すると Purine の生合成が図1の如く2カ所で阻止されて中間体である Glycineamide ribotide (GA ribotide) と 4-amino 5-imidazolecarboxamide (AICA) ribotide の蓄積が培地中に起る。これは共にCoF関与の反応であり、出来上つた Purine またはCoF誘導体が共存するとPASの制菌力は弱化し、同時にAICA系化合物の蓄積は著明に減少することから、この反応系阻害の重要性を知ることができる。



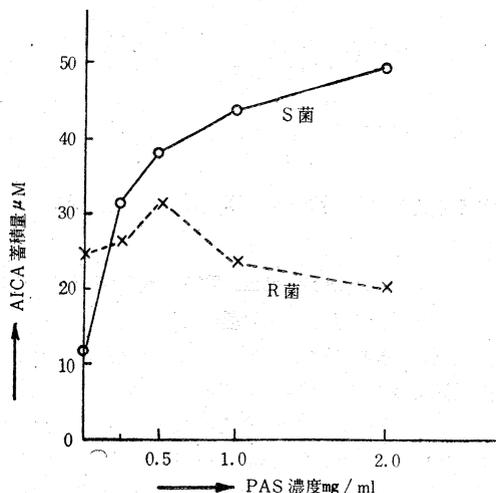
ところが図2の如くR菌ではこの蓄積は起らず、PAS存在下の方がむしろ蓄積は減少する。すなわちR菌はPAS存在下でも Purine 生合成がむしろよく遂行されることが明らかとなつた。

Sulfonamide 剤でも同じく AICA ribotide の蓄積を来すが、S菌、PAS-R菌の間に差がない。すなわち制菌力においてばかりでなく物質代謝の面からも交叉耐性がないことがわかつた。しかしPAS-R菌はAminopt-

erine にも同時に耐性を示す、AICA ribotide の蓄積で見てもS菌では Aminopterin で多量のAICA ribotide の蓄積を来すがPAS-R菌では Aminopterin によりこの蓄積が起らなくなつている。このように構造の異なつた二者の間に交叉耐性が存在することを制菌力、代謝の両面から証明できたわけで、この理由に関しては後に説明がつく。

(b) 核酸の量・質両面の差異

図2 培地中への AICA ribotide 蓄積量の比較



Purine 生合成がこのように阻害されているのだから菌体核酸の量、質両面に変化が来てはいないかを考え、S, R 両菌をそれぞれ PAS 有無の環境下に培養し菌体 DNA, RNA 量およびこれらの構成塩基の Purine 対 Pyrimidine 比を定量したが有意な差異は認めなかつた (山村, 谷, 寺井)。すなわち菌体構成核酸まではその影響が及んでいないわけである。

(c) メチオニン生合成酵素

本菌においてもメチオニンは Homocysteine と Serine から CoF 関与で生合成される。S, R 両菌の無細胞抽出液を酵素源として活性度を比較すると表 1 の如く、S 菌

表 1 メチオニン生合成酵素活性の比較

菌種	PAS 濃度	比活性
S 菌	0	1.62
	1mg/ml	0.84
R 菌	0	1.21
	1mg/ml	5.57

では PAS で部分阻害した菌体の抽出液は約半分の活性に減少しているが R 菌では PAS 存在下に得た菌体の抽出物の方が増加している点、Purine 生合成系と同一結果を得た理である。

これから S 菌では PAS により CoF 関与反応が阻害されているが R 菌では阻害されていないことがわかった。

(2) CoF の菌体内含有量

S, R 両菌でそれぞれ PAS 有無の環境下に得た菌体内 CoF 含有量にどのような差異が生じているのであろうか。そこで私等の CoF 定量法 (Aceton 分割 - Resin 処理で得た CoF-free の Apo-transformylase に Sample

を加え Inosinic acid → AICA ribotide 反応量で定量) によると表 2 の如く、S 菌では PAS 存在下に得たものは菌体内 CoF 量は半減しているが R 菌では同一条件下で

表 2 菌体内 CoF 含有量の変化

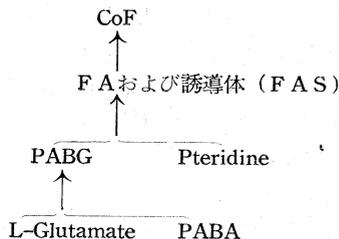
菌種	PAS 濃度	CoF 量/蛋白量
S 菌	0	1.01 μg/mg
	1mg/ml	0.58 "
R 菌	0	0.66 "
	1mg/ml	1.13 "

逆に約 2 倍に増加している。したがって R 菌では PAS 存在下にも CoF 生合成が阻害されていないためにこれ関与の反応系もつつがなく行われるわけである。

(3) CoF 生合成経路

この菌 (S) の CoF 生合成経路が図 3 の如きものである

図 3 CoF 生合成経路



ることはすでに報告した。すなわち L-グルタミン酸と PABA が CoA, ATP 関与で p-Aminobenzoylglutamate (PABG) が出来、これが Pteridine と結合して葉酸 (FA) およびその誘導体になり、さらに還元され蟻酸誘導体となつて CoF が合成される。まず PABG までの反応であるが、これは PAS は全然阻害しない。Sulfonamide 剤はここを阻害する。次に PABG と Pteridine から ATP, formate, Homocysteine, V.C, DPN 共存下に CoF を生合成させる反応では、S 菌では表 3 の如

表 3 PABG と Pteridine から CoF 生合成

菌種	PAS 濃度	生成 CoF 量	阻害度
S 菌	0	7.5 γ	86.7%
	500 γ/ml	1.0 γ	
R 菌	0	4.9 γ	8.2%
	500 γ/ml	4.5 γ	

く 86.7% の阻害を PAS により受けるが R 菌ではほとんど阻害を受けない。したがってこの間の反応に問題点が存在するので、次に FA から CoF までの反応を行うに全然 S 菌でも PAS の阻害を受けない。PABG と Pteridine

からFAまでの点が阻害点として残ったことになる。私等はFA誘導体はStr. faecalisを使用する微生物定量法を使用した。FA自身の定量はイオン交換樹脂IR-4Bに吸着させたものの中で食塩水(pH6.0)の1.0~2.0Molで溶出されるものをStr. faecalisで定量したものである[Str. faecalis 活性物質(FAS)は多くのFA誘導体を含むから]。そこでPABGとPteridineからFASまでの生合成をS, R両菌抽出酵素で行い、全FASおよび1.0~2.0Mol. 分割FAS(FA)で定量すると

図4 PABGとPteridineからFASの合成とPASの影響

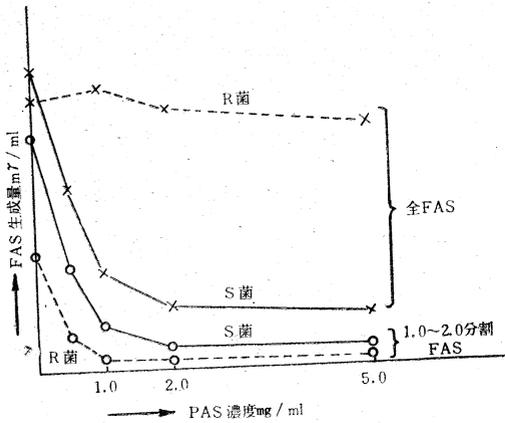


図4の如く、S菌では共にPASにより合成が阻害される。R菌では非常に興味深いことには全FASは阻害されないが、1.0~2.0分割FASはS菌同様に生成が阻害される結果を得た。これはR菌も一部S菌と同じ1.0~2.0分割FASを合成し、これは両菌ともにPASで阻害されるが、R菌はこの分割以外にPASによりその合成が影響を受けないFASを合成すると考えねばならない。すなわちこのFASを経由してCoFが合成される故に阻害を受けないといえる。

(4) 感性菌と耐性菌のCoF生合成経路のちがい

何故このようなことが起るのかを知るために、PABGとPteridineからの反応液を除蛋白後多量にIR-4B(Cl型)に吸着させ水で洗滌後NaCl濃度を段階的に0.25, 0.5, 0.7, 1.0, 2.0, 4.0, 4.5Molと上昇させ5mlずつ各分割10~15本宛分取し、約100本にわたりStr. faecalis活性とCoF活性を定量する。まずS菌については図5の如くPASの存在しない場合はFASは1.0~2.0分割のみであり、CoFは0.7分割のみにしか存在しない。PASが存在下に反応させるとFAS 1.0~2.0もCoF0.7も共にほとんど合成されなくなる。しかしR菌は図6の如くPASが存在しない場合にはFASは

図5 感性菌のCoF生合成路

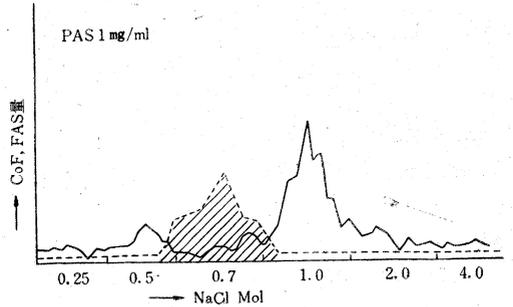
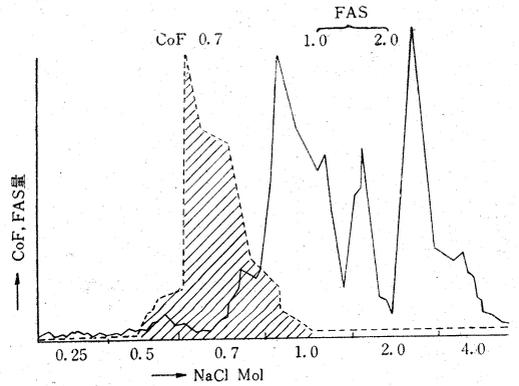
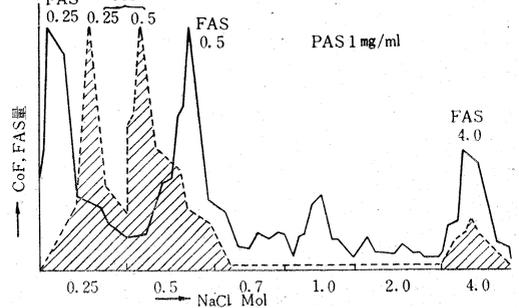
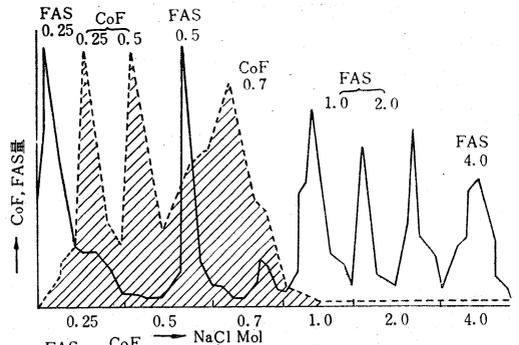


図6 PAS耐性菌のCoF, 生合成路

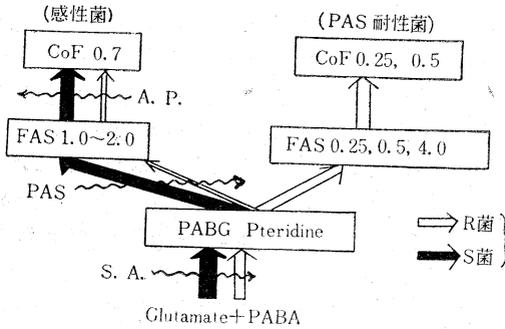


S菌と同じ1.0~2.0分割のほかは0.25, 0.5, 4.0分割が合成されている。この中でS菌と同じFAS1.0~2.0はPASによりS菌同様合成されなくなるが、R菌特有のFAS0.25, 0.5, 4.0物質の合成はPASにより阻害されない。CoFに関してもR菌ではPASの存在しない場

合にはS菌と同じCoF0.7が残存しているが、その他にR菌特有のCoF0.25, 0.5が合成され、S菌と同じCoF0.7はS菌同様PASにより合成が阻害されるが、R菌特有のCoF0.25, 0.5物質の合成は阻害を受けないことが明らかにわかる。S菌ではFAS1.0~2.0経由のCoFのみの合成路であり、しかもこの経路はPASで阻害されるのであるが、R菌は残存しているこの経路以外にR菌特有のPASで影響を受けないFAS0.25, 0.5, 4.0経由のCoF0.25, 0.5の合成路を持っていることにより生存可能となるわけである。図7にこの関係をまとめてある。AminopterinはFAからCoFを阻害するものであるから、この図の如くPAS耐性菌でAminopterin耐性になりうる理由がよく説明できた。またSulfonamide剤と交叉耐性のないこともよくわかる。

本講演の機会を御与え下さった隈部会長、堀座長に感謝いたします。御指導いただいた山村雄一、堀田一雄両教授、御助言下さった日比野教授、渡辺教授、勝沼六郎荘長、および御協力いただいた刀根山病院、大府荘、名大医学部生化学教室の諸学兄に御礼申し上げます。使用研究費は文部省結核研究班(耐性)費によつたことを班長戸田忠雄教授に感謝いたします。

図7 PAS耐性の機構模式図



結核菌の抵抗性について

—生化学的な面からみた結核菌の薬剤抵抗性—

—Isonicotinic acid hydrazide (INH) 耐性の研究—

大阪大学微生物病研究所
竹尾結核研究部第2研究科

庄 司 宏

細菌が薬剤に対して耐性という性質をあらわす機構としては、(1) 薬剤の作用をこうむる細菌の必須代謝系と薬剤が結合しえない、(2) 細菌による薬剤の不活性化、(3) 薬剤の作用に拮抗する物質の増産、(4) 薬剤の作用をこうむる代謝系にかわる薬剤の作用をうけない代謝系の活性化、等の諸事象でおおむねこれを理解することができる。筆者は結核菌のINH耐性の研究にこれらの諸事項を一応の作業仮説として実験を行った。

実験に供した結核菌は主として鳥型結核菌竹尾株(4% Glycerol 肉汁, 表面培養法で7.5 γ /mlのINHに感性)およびこの菌株を継代培養によつて人為的にINH耐性としたINH耐性株(4% Glycerol 肉汁, 表面培養法で2500 γ /mlのINHを添加しても増殖可能)である。

I 第(1)の仮説の検討

筆者は数年来 Mycobacteria の Amino 酸代謝について研究を行つており、この間に鳥型結核菌竹尾株が菌体内に多量の遊離Glutamic acid(GA)〔乾燥菌量100mgに対し10 μ M近くのGA〕を蓄積していること、およびGA脱炭酸酵素を有していることを明らかにした。乾燥菌量100mg近くの濃厚洗滌菌浮遊液を Warburg 容器にとり側室から酢酸緩衝液(pH5.0)を注加すると菌体内の遊離GAを基質として定量的にCO₂が放出され γ -Amino 酪酸が形成される。この際緩衝液にGAを添加しても発生CO₂量の増加はみられず一定時間後、GA測定用の Acetone 乾燥大腸菌末を注加することにより添加GAに相当するCO₂の発生が測定される。すなわち添加したGAは鳥型菌の生菌によるGA脱炭酸作用をこうむらない。しかし鳥型菌に Acetone 処理を行い菌表面に変質を与えると外界に添加したGAも定量的に脱炭酸される。このことからGA脱炭酸酵素は菌体内に存在することを推定した。

INHはGA脱炭酸酵素を阻害するが、他の Carbo-nyl 試薬もまたこの酵素を阻害し、結核菌に対する抗菌力がINHより弱いNicotinic acid hydrazideはINHより強くGA脱炭酸酵素を阻害する。したがつてINH

のGA脱炭酸酵素阻害がこの薬剤の結核菌に対する抗菌作用の本態を示しているものとは考えられずINHの作用機作にどの程度の役割を演じているかは疑問であるが、菌体内酵素であるGA脱炭酸酵素に対するINHの阻害をひとつの示標として鳥型結核菌竹尾株のINH耐性という性質について第(1)の仮説を検討し、その結果次の諸事実を明らかにした。

(A) 2000 γ /ml INH添加培地に増殖した耐性株はINH無添加培地に増殖した菌株と同様に菌体内GAを脱炭酸する能力を有しており、また一定期間、菌を増殖させた後培地にINHを添加し数時間菌とINHを接触させると、感性菌のGA脱炭酸能は低下するが耐性菌では低下しない。

(B) 耐性菌の培養にINHを添加した場合、培養瓶を氷室にいれ、あるいは無酸素状態にして菌の代謝を制限すると、そのGA脱炭酸能は低下する。

(C) 洗滌菌として Warburg 容器中でINH(M/1000)を接触させると感性菌は勿論、Warburg 容器に添加された量(137 γ /ml)の10倍以上のINH(2000 γ /ml)添加培地に増殖しなおGA脱炭酸能の低下をみなかつた耐性菌もGA脱炭酸能の低下がみられる。

(D) Acetone 乾燥菌としてINHを作用させると環境に添加したGAを脱炭酸する能力は感性株、耐性株ともに著明に低下する。

以上の成績と Barclay 等のC¹⁴で標識したINHを培地に添加した場合、菌に結合するINH量が耐性株では感性株よりもはるかに少ないとの実験成績よりして、鳥型結核菌のINH耐性という性質は、菌の増殖環境においてINHの菌体内への透過を抑制することに基因し、INHの作用をこうむる菌体内の必須代謝系とINHとの結合を阻止していることによつて発現されていると解される。また上記の成績はINHの菌体内への透過の抑制にはINH耐性株のなんらかの代謝過程という機能的な面が共軛していることを示唆しているもので、これについて種々の実験を行つたがまだ結論を得ていない。

II 第(2)の仮説の検討

結核菌のINH耐性という性質の発現に耐性株によるINHの分解が関連しているか否かを検討し、次の成績をえた。

(A) 耐性株の培養にINHを添加し日を逐つて培地中のINHの変化を濾紙 Chromatography で追求したのに、菌を移植せずに Glycerol 肉汁培地にINHを添加した場合に比してINH (β -Naphthoquinone sulfonate 発色斑, Picryl chloride 発色斑)の顕著な減少とこれに反比例する Isonicotinic acid (Benzidine および Cyanogen bromide 発色斑)の出現を認めた。

(B) 洗滌菌を用いてINHの分解を追求したが、感性株、耐性株ともに極少量のINHを分解したに止まり、両者の間に差異を認めない。また結核菌のINH耐性株はその Catalase 活性が減弱していることが多く報告されており、鳥型結核菌竹尾株のINH耐性株も H_2O_2 分解能が低下しているので、菌の物質代謝にもなつて発生する H_2O_2 が耐性菌では処理され難く、また Lewin 等の触媒の存在下にINHが H_2O_2 により容易に分解されるとの成績よりして、耐性菌が H_2O_2 存在下にINHを分解する機構を有するのではないかと考え、洗滌菌を用いて H_2O_2 の共存下にINHの分解を検索したが感性株、耐性株ともに少量のINHを分解したのみで、その間に大差を認めない。また H_2O_2 の発生基質となる、DL-Alanine, Hypoxanthine, Diamine 等の洗滌菌による酸化に際してのINHの分解を検討したが、著明な分解は認められず、感性株、耐性株間に差異はなかつた。

以上の成績は結核菌のINH耐性株はその増殖環境においてINHを分解する可能性を示しているが、その機構の詳細はなお不明である。

III 第(3)の仮説の検討

INHの結核菌増殖抑制作用に拮抗する必須代謝物質として Fisher は Heminを、Pope は Pyridoxal, Pyridoxine を報告しているがINH耐性株にこれらの代謝物質が増量している証左はない。Glycerol 肉汁培地および Sauton 培地に増殖した鳥型菌竹尾株のINH耐性株感性株の菌体中の Pyridoxal-phosphate を Tryptophanase を用いる方法(阪大医学部生化学教室に依頼)で測定したのに100mgの乾燥菌中に Glycerol 肉汁の場合耐性株は2.4 γ 、感性株は2.0 γ 、また Sauton 培地の場合には前者は1.6 γ 、後者は1.5 γ の Pyridoxal-phosphate が測定され両株間に差異は認められなかつた。

IV 第(4)の仮説の検討

結核菌に対するINHの抗菌作用の本態を説明するにたる作用機作は今日なお明らかでなく、感性株のINHの阻害をこうむる本態的な代謝系、あるいはこの阻害さ

れる代謝系の機能を代償しえて、しかもINHの阻害をうけないような代謝系の耐性株における出現を予想することが困難であるので、一応INH耐性株と感性株についてなんらかの代謝上の差異を見出すべく検索を行つたが、両株の間に H_2O_2 分解能にみられたような著しい差異を認めることはできなかつた。

上述の成績よりして鳥型結核菌竹尾株がINHに対し耐性を発揮しうるのはINH耐性株がなんらかの代謝を営むことにより、INHの菌体内への透過を抑制し、INHの作用をこうむる菌体内要素との結合を阻止していることが一つの因子であると考えられ、また耐性株によるINHの不活性化の可能性も考慮されねばならない。

しかもなお(3)(4)の仮説に対しても検討の余地を残している。

以上の成績を勘案することによつて、筆者は薬剤に対して耐性として表現される菌株につき、次の2種の耐性様式を仮定したい。

(1) 薬剤の作用をうける必須代謝系に代つて薬剤の作用を受けない別の必須代謝系をもつことにより耐性を示す菌株。

Gale 等は Penicillin 耐性の Staphylococcus が Penicillin によつて阻害される Amino 酸の取込機構に代つて、菌体内に新しく Amino 酸の合成機構を獲得していることを述べている。

(2) 菌の増殖はなお薬剤の作用をこうむる必須代謝系に依存しているがなんらかの機構が派生して必須代謝系を薬剤から保護することにより耐性を示している菌株。

これにはさらに2つの様式が考えられる。

(a) たとえば Trypanosoma の砒素剤に対する耐性にみられるように薬剤の作用をこうむる代謝系はなお存在するが、薬剤がこれと結合しえない。

(b) Sulfonamide 剤に耐性のある細菌ではこの薬剤の作用に拮抗する p-Aminobenzoic acid を増産するものがあることが知られているが、このように拮抗物質を増産することによつてその薬剤の作用をまぬかれているもの。

INH耐性鳥型結核菌は(2)の(a)に属する耐性様式と考えられるので、もし耐性発現に共軛するなんらかの代謝過程を阻害する薬剤が存在するならば、INHはINH耐性株の菌体内に侵襲して菌体内の要素と結合し耐性株に対しても抗菌作用を発揮するであろうことが推測される。筆者はこの想定のもとに多数の薬剤について検討した結果 Salicylaldehyde hydrazone(SAH)がこのような性質をもつことを見出した。すなわちSAHは単独では1000 γ/ml の濃度でINH耐性、感性の鳥型菌の増殖を阻止することはできないが、100 γ/ml SAH および500 γ/ml INHの併用で2500 γ/ml INH耐性株

の増殖を阻止することができる。SAHのこのような作用が仮説I(A)によつて解釈しうることは、INHとSAHとを耐性株の培地に添加するとINH単独では阻害をうけなかつた耐性株のGA脱炭酸作用が阻害されることより肯定しうる。この場合、SAH単独の添加ではGA脱炭酸作用はほとんど阻害されなかつた。

それならばSAHは鳥型菌のどのような代謝系を阻害するかとの当然の疑問に対していろいろ実験を行つたところ、SAHは菌呼吸を阻害し、菌によるAcetate, DL-Alanineの酸化に対してはことに耐性株のそれを強く抑制するという成績がえられたがいまだ結論をうるにいたらない。INH耐性株に対するSAH, INHの併用効果はSalicylic acid, Salicylic acid amide, Salicylaldoximeではみられない。またSAHは100 γ /ml INH

耐性人型結核菌W株、および水木株に対しKirchner培地でINHとの併用効果が認められた。

SAH, INHの併用がINH耐性株の増殖を阻害するという成績は当然o-OxibenzaldehydeとINHとのhydrazone結合物[N-isonicotinyl-N'-(salicylidene)-hydrazine]の効果如何を考えさせ、このものは2500 γ /ml INH耐性の鳥型菌に対しINH換算量200 γ /mlでその増殖を完全に阻止し、また上記のINH耐性人型結核菌2株に対してもINH換算量25 γ /mlで増殖を完全に阻止した。m-Oxibenzaldehyde, p-Oxibenzaldehydeおよびo-CarboxybenzaldehydeとINHの結合物にはINH耐性株に対する著明な増殖阻止作用はなく、またINHとの併用効果も認められなかつた。

シンポジウムに対する追加討論

〔内藤氏への追加〕 島尾 忠男 (結核予防会)

1. 第二次大戦前の日本では、感染したものの10数%が死亡していたものと考えられる。この点千葉の陽転者からの慢性肺結核症発生8%という数字より高いが、千葉の集団は特定のもので、これを全国にひきのぼす点に問題がある。2. 陽性者に対する有所見率の分析には、治癒所見は必ずしも陽転発病の形をとらないこと、BCGの普及、その集団の結核に曝露された歴史等を考慮に入れる必要がある。3. 悪化率の分析には病型・菌・治療等の背景を揃えないと、労働の程度と関連づけられない。4. 陽転発病率、既陽性発病率とも事務にやや高いが、この程度の差は偶然にも起りうるものである。5. 感染源と発病の関係、特に外来性再感染を問題にする場合には、感染源と接触を始めた時期を基準にして、その時のX線無所見者について、その時のツ反応別に観察をする必要がある。

〔家森氏への質問〕 東 義国 (結核予防会)

家森教授の、高次感染の理論は、疫学的に非常に有益な試みであり、これを剖検所見と関連させて、外来性再感染の問題を提起されたことは、結核の疫学と病理学とが結びつく、1つの契機として重視せねばならないと思う。この問題をさらに発展させるために、私は家森教授の高次感染の理論式を検討し、わずかの修正を加えた。図の横軸は時間、縦軸は頻度を現わす。左下より右上に向う破線は1次感染の累積曲線で、これの微分曲線は左上より右下に走る実線である。斜線をほどこした細い柱は各瞬間、たとえば時点 t における1次感染率である。これに対して、家森理論に従い1次感染とひとしい確率で2次感染がおこるとすれば、それは右上に向う実線のように累積される。これは数学的には累積1次感染を現わす式の微分に累積1次感染を現わす式をかけたものとなる。今これを時点0から t まで積分すれば、累積2次感染率は $p_2(t) = 1 - (1+ut)xe^{-ut}$ となる。同様にして累積3次感染率 $p_3(t)$ が得られる。一般に、時間 t 後の累積 n 次感染率は図の上方にある式として得られる。この式の時間 t は家森教授の式では n となっており、 e^{-u} は家森教授の $(1-a)$ に相当する。さらにこの式中の u は、0.15より小さい範囲内では $(1-e^{-u})$ の近似値とみてさしつかえない。これらのおきかえをやつてもなお、両式間に、くいちがいがあがるが、それは私の式中 t , t^2 , t^3 , 等となるべきところが、家森教授の式では t , $t \times (t+1)$, $t \times (t+1) \times (t+2)$ 等として現われていることによるので、このために家森教授の理論値は過小に現われる。この点を修正すれば、式そのものは正確になる。だがそれによつて曲線の基本的な形の変化

はおこらず、やはり2次、3次等の累積感染率は1次感染の右下に次第に上昇率のゆるくなる曲線群の重畳としてえがかれる。以上の式に、年間感染率5%を入れると4次の累積感染率は、30歳で17.87%、50歳で22.78%となり、5次のそれは30歳で13.36%、50歳で10.33%でとなり、これはそれぞれの年齢の1次累積感染率の10~20%程度で無視できぬ大きさとなる。これらの曲線群と重ねて、剖検による「外来性再感染集」の発見率を年齢別に置点したとき、もしある次数の累積感染曲線と一致しても、それからただちに、たとえ平均的にいつてもその次数の再感染による病巣形成であるとはいえない。むしろ、もし再感染による病巣形成があるとすれば、2次以上のすべての高次感染による病巣形成の確率は等しいとした方がはるかに自然であつて、もしそうするならば、年齢別の病巣発見率は、各年齢における累積高次感染率の全次数の総和に一定確率をかけたものと等しくなり、したがつて、たとえ、これらの病巣がすべて再感染病巣だとしても、ひとつの再感染によつて病巣が形成される確率は極めて小さなものとなるであろう。

〔東氏への回答〕 定森武夫

私の変死者の解剖より得た結核病巣ことに解剖学的結核(1次感染)と、解剖学的再感染集(2次以上の外来性感染)の数値の数学的取り扱いに関して、東義国さんより質疑を得たが、この方面の追求に関して、初めて力強い同志を得たことを喜び、有意義な質疑に対して敬意を表す。本年2月このシンポジウムの準備打合せにおいて、1次および高次感染の理論値は、私が行つたような代数学的な誘導法のほかに、指数函数にて現わし、微積分学的の誘導をすることが可能であることを東さんと話し合つたが、速かにこれを解決せられたことに驚嘆し、かつ敬服する。東さんの誘導せられた理論式およびその図解は、ただ今幻燈にて拝見したが、一瞬のことでゆつくり比較検討する余裕もなく、直ちにお答えすることは不可能であるから、いずれ適当な機会を求めたいと思う。理論値の誘導に際しては、数学的な取り扱いの前提として、若干の仮定が必要である。したがつて誘導法の異なる2つの理論値を比較考察する場合には、これらのどちらの仮定がより適当であるかが問題となる。東さんの理論値と私のものとの間に無視できない解離があるとすれば、これらの規定の相違に基くものと考えられるため、私の理論式誘導において前提とした仮定をもう一度検討してみたいと思う。私の仮定はこの方面の最初の私の論文(Acta Tub. Jap., 1953, 京大結研紀要, 1928.)で示しているように、

$$n \text{ 年目の未感染者は } O_n = (1-a)^n \dots (1)$$

既感染者 P_n に関しては、 $P_n = 1 - (1-a)^n \dots (2)$
 の如く、一定の感染率 a の環境では、年齢 n に従って増加するということと、

$$2 \text{ 次感染 } R_n \text{ に関しては、 } R_n - R_{n-1} = (R_{n-1} - P_{n-1}) a + O_n a^2 \dots (3)$$

の如く増加するということである。 T_n 以下も同様である。この仮定は、私の得た実際値に適應する範囲においては、大局的にみて著しい矛盾が認められない。したがってこの前提のもとに代数的に誘導せられた理論値は、私の得た解剖学的な数値を取り扱う範囲において正解であると考えられる。(1), (2), 式の意味より考えれば、私の

P_n (1次感染), R_n (2次感染), T_n (3次感染) ……等においては、 P_n は n 年目において1次感染を経過したものの総計であり、このうちにはさらに2次以上の高次の感染を経たものを含むものである。したがって、 P_n は1次以上の感染者の合計であり、また R_n は2次以上の高次感染者の合計で、 T_n , Q_n , $P_n E_n$ 等についても同様である。今、1次感染を経ているが、2次以上の高次感染を経ないもの、すなわち1次感染のみを有するものの n 年目における合計を p_n とし、同様に2次感染のみの場合を r_n とし、以下同様に t_n , q_n , $p_n e_n$ ……とすれば、

$$P_n = p_n + r_n + t_n + q_n + p_n e_n \dots$$

$$R_n = r_n + t_n + q_n + p_n e_n + \dots$$

$$T_n = t_n + q_n + p_n e_n + \dots$$

となる。また

$$O_n = (1-a)^n$$

$$p_n = P_{n-1} (1-a) + O_{n-1} \cdot a (1-a)$$

$$r_n = r_{n-1} (1-a) + P_{n-1} \cdot a (1-a) + O_{n-1} \cdot a^2 (1-a)$$

$$t_n = t_{n-1} (1-a) + r_{n-1} \cdot a (1-a) + P_{n-1} \cdot a^2 (1-a) + O_{n-1} \cdot a^3 (1-a)$$

等の関係が成立することから、

$$P_n = n (1-a)^n \cdot a$$

$$r_n = \frac{n \cdot (n+1)}{1 \cdot 2} (1-a)^n \cdot a^2$$

$$t_n = \frac{n \cdot (n+1) (n+2)}{1 \cdot 2 \cdot 3} (1-a)^n \cdot a^3$$

の値を誘導することができる。私が解剖学的に得た数値とこれらの理論値を比較する場合には、 P_n, r_n, t_n, q_n ……よりも、 $P_n R_n, Q_n$ ……がより適当であるように考えられる。次に、

$$A_n = R_n + T_n + Q_n + P_n E_n + V_n + W_n + X_n + Y_n + Z_n \dots$$

…とすれば、 n 年目の再感染の病巣の形成率 S_n は、2次以後の高次感染における病巣形成が、いずれも同じ一定確率において現われるとすれば、

$$S_n = b A_n \dots (4)$$

の関係が得られる。したがって東さんの「年齢別の病巣

発見率は、各年齢における累積高次感染率の 次数の総和に一定確率をかけたものと等しくなる」という考えには賛意を表す。しかし解剖学的再感染巣の性質より考えれば、

$$S_n = b [R_n + (1-b)T_n + (1-b)^2 Q_n + (1-b)^3 P_n E_n + \dots] \dots (5)$$

と考える方がより厳密であるが、 S_n に実際値を代入し、 b の値を求める場合には、近似値として (3)式をとった方が便利である。この (3)式の S_n に京都市および神戸市の、解剖学的再感染巣の発見率 0.015 (0~19年), 0.060 (20~29年), 0.160 (30~39年), 0.041 (40~49年) 0.096 (50~59年), 0.167 (60年~) をあてはめ、10次以降の累積値は高年に至るまで極めて小であるからこれを切り捨て、 A_n として第9次までに到る高次感染の累積値の総和として、これを理論式より計算して、あてはめる場合には、再感染巣形成係数 b の近似値は最小自乗法により

$$b = \frac{\sum A_n \cdot S_n}{\sum A_n^2} \dots (6)$$

によつて算出することができる。これを計算して、

$$b = \frac{1}{12}$$

という値が得られるが、この値を別々に算出すると、39年まででは $b = \frac{1}{7}$, 40年以後では $b = \frac{1}{14}$ となり、高年齢では再感染による病巣形成は一層困難となることを示している。いずれにしても、再感染による病巣形成は同じような感染に際して、初感染の場合よりも $\frac{1}{7} \sim \frac{1}{14}$ 程度に少なく現われるものであり、これは外来性再感染における顕著な治癒性を現わしているものと考えられる。次に、再感染巣の形成は、第2次、第3次、第4次、においてそれぞれ $bR_n, bT_n, bQ_n, bP_n E_n$ …… [(5)式に従えば、 $bR_n, b(1-b)T_n, b(1-b)^2 Q_n, b(1-b)^3 P_n E_n$ ……)] であるから、いずれの場合においても、第2次感染に際する病巣形成が最も多く、以下第3次、第4次、第5次と少なくなる。しかし n が大となるにつれ、 T_n 以下のより高次の感染の値は、 R_n (より低次の値) より小であるが、漸次その比重が大となり、高年では、より高次の感染による病巣が漸次増加するようになる。以上は b は各年齢において一定で、かつ各次数の感染において、一定であるとの仮定に基くものであるが、初感染より長い経過を有する、より高次感染の場合よりも、初感染より概して短い間隔において、(なお生体において旺盛な Allergy 性ないし免疫性を有する時期において現われることが多い、第2次感染(低次感染)では再感染巣形成係数が幾分小さいものであろうと推定せられる。したがってこのことを加味すれば、再感染巣の形成の問題は、さらに複雑な考慮が必要となるわけである。

〔結核症の発病 (病理) への追加〕

影山 圭三 (慶大病理)

私共も、肺結核症進展の病理について、年来研究を継続して来ていて、家森、北さんとは問題の取り上げ方および対象として用いた材料がやや異なるので、私共の得た成績のうち2、3の点について追加する。1肺癆死例に

おける2次変化群について：肺癆死例においては、肺内初感染巣および再感染巣が高度かつ広汎な病変に埋没されることが多いために、それを確認することが不可能に近いので、やむをえず主として肺門部リンパ腺病変を対象として検索した結果、表1に示すような成績を得た。すなわちリンパ腺病巣のみについて言えば、Terplan の

表 1 2次変化群類似病巣 (リンパ腺病巣のみ)

分類	例数	2次変化群 類似病巣例	年 令 な ら び に 性 別							
			20才以上		21 ~ 30		31 ~ 40		41才以上	
			♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
肺葉切除例	30	1 (3.3%)	0	0	1	0	0	0	0	0
晩期播種例	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肺結核経過中 事故死亡例	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肺癆死例	67	6 (8.9%)	0	0	2	1	2	0	0	1
肺癆例総計	118	7 (5.9%)	0	0	3	1	2	0	0	1

Terplan : 249 例中 29 例 (12%)

Medlar : 100 例中 45 例 (45%)

2次変化群に一致するものは7例 (5.9%) であつた。これらの7例は肺に高度かつ広汎な空洞性肺結核症を有するもので、年齢、臨床経過等も併せ考慮して、肺病巣からの淋巴行性転移巣であると考えた方が妥当であり、同時に肺癆死例においては、リンパ腺病巣のみから第2次変化群を決定することは甚だ危険であるとの結論に到

達した。2) 肺結核症の初期病巣すなわちわれわれの言う初発病巣の成立機転に関する研究成績について：そこで私共は肺癆初期の剖検例、すなわち私共の所謂初発肺結核症例を研究対象に選び、昭和23年以降、東京都監察医院において剖検した、中毒、災害死等の急性死例の検討に着手した。表2は総数 11,874 例中特に精査した 1,404

表 2 肺結核病巣の分類 (1,404例)

年 令	0~10		11~20		21~30		31~40		41~50		51~60		61以上		小計	全例に 対する%	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀			
二結 次核 (-)	P.K.(-)	2	3	65	44	80	35	32	13	30	15	37	12	43	22	433	30.8%
	P.R.(+)	1	1	38	26	121	65	62	25	87	22	74	29	67	41	659	47.0%
小計		7		173		301		132		154		152		173		1092	77.8%
P.K.の%				37.0%		61.5%		65.9%		70.8%		67.8%		62.4%		60.3%	
二結 次核 (+)	治癒結核			2	2	9	4	10	4	12	3	9	2	6	7	70	5.0%
	初発結核	1		10	6	41	14	19	4	20	7	16	1	14	6	159	11.2%
	肺癆	1		3	2	19	9	8	5	13	0	8	4	10	1	83	6.0%
小計		2		25		96		50		55		40		44		312	22.2%

例の概要を示すものであり、159 例の初発結核症例を見出した。これらはいずれも撤布巣が少なく肺の2次結核症としては、比較的初期のものであり、ほとんどすべての例は肺葉切除例の病巣に比べ、さらに早期のものであつた。私共は肺病巣の中で最も大きくかつ最も活動性を

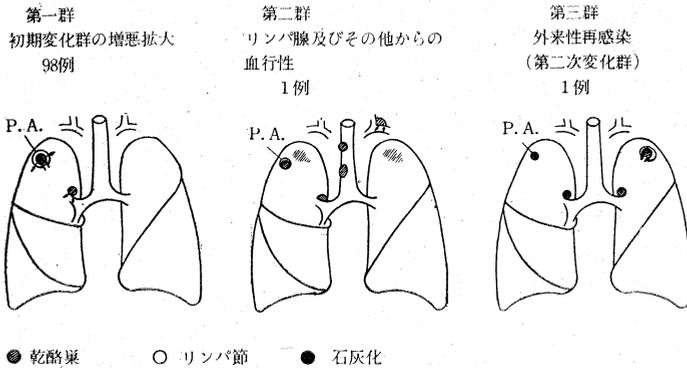
示す病巣を初発病巣とした。表3は検索がほとんど完了した100例について、初発病巣の肺区域別は分布を示すものであり、両側上葉殊にS₁およびS₂に極めて高い頻度を示している。表4は初発病巣成立機転を示すもので、私共の例は3群に整理される。ここでこれら3群の形態学

表 3 初発病巣の部位について (100例)

右 側				左 側			
葉 別	Seg.	例 数	小 計	葉 別	Seg.	例 数	小 計
上	S ₁	17 (※)	41 (41%)	上	S ₁₊₂	40(※)	41 (41%)
	S ₂	24			S ₃	1	
	S ₃	0			S ₄		
中	S ₄	1	2 (2%)	下	S ₅		8 (8%)
	S ₅	1			S ₆	6	
下	S ₆	3	8 (8%)	下	S ₇₊₈	1	8 (8%)
	S ₇				S ₉		
	S ₈	3			S ₁₀	1	
	S ₉						
	S ₁₀	2					
総 計		51		総 計		50	

※ 両側肺尖部に血行性初発病巣を有する1例を含む

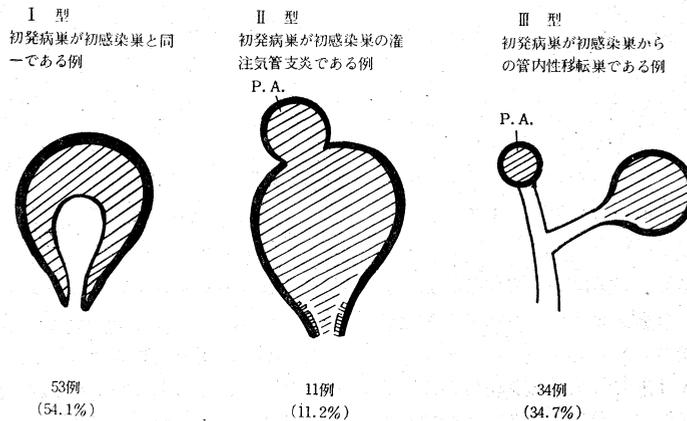
表 4 初発病巣成立の模型



的特徴を要約すると、第I群においては初感染巣がそのまま拡大して初発病巣となった例、および初感染巣の灌注気管支炎巣が初発病巣となった例が多く、他のすべて

の例においても初感染病巣が菌の撒布源となつたと考えられる陳旧化した崩壊像を認めたものであり、第II群においては、初感染巣からの管内性撒布がほぼ否定され、静

表 5 第一群の成立過程



豚角リンパ腺に高度な病変を有するので、同部を介して血行中に菌が輸入したことが容易に想像され、しかも両側上肺野にほぼ同程度の新鮮病巣を認めた。第Ⅲ群は肺およびリンパ腺に完備した初期変化群および2次変化群を有するものであつた。陳旧病巣の再燃およびリンパ腺病巣が気管支に穿孔して生じた初発結核例は認めなかつた。

図の如く、第Ⅰ群が圧倒的に多く、第Ⅱおよび第Ⅲ群は各1例ずつである。表5の如く第Ⅰ群をさらに3型に分類した。Ⅰ型は初発病巣が初感染巣の拡大によるもので53例、Ⅱ型は初発病巣が初感染巣の灌注気管支炎である例で11例、Ⅲ型は、初発病巣が初感染巣からの管内性転移巣である例で34例であつた。表6は第Ⅰ群にお

表 6 第一群 管内性成立例における初発病巣と初感染巣との関係 (98例)

	0~10		11~20		21~30		31~40		41~50		51~60		61才以上		小 計
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
I型 初感染巣が初発病巣である例 (53例)			6	2	17	4	6		5	5	4		3	1	53
II型 初感染巣の灌注気管支炎巣が初発病巣なる例 (11例)	1		2		2	1		1	2	1	1				11
III型 初発病巣と初感染巣と同一Seg.なる例			1			4	3		2		2				12
同一肺葉なる例					1			2	1				2		6
同側なる例			1		2		3						1		7
反対側なる例			2		2	2			2					1	9
小 計	1		14		35		15		18		7		8		98

る初発病巣と初感染巣との位置的關係を示すもので、両者が同一肺区域内にある例76例(77.5%)同一肺葉内にある例は82例(83.7%)、同側肺内にある例は89例(90.8%)であつた。僅かに9例において初発病巣が初感染巣と反対側に認められた。以上述べたように、私共の結論は、初発病巣の成立は、初感染巣およびその灌注気管支炎巣の増悪ならびに初感染巣からの管内性転移によるものが圧倒的に多く(98%)、血行性転移によるものと考えられるものおよび再感染によるものは各1例ずつである。

〔北本氏への質問〕

宮本 泰 (神奈川県衛生研究所)

表に示された耐性に関する統計値は小川培地で測定された値であるが、血清加液体培地によらなければ正確な値は得られないと思う。単独、二重、三重を問わずINH加鶏卵培地には生えないか、非常に生えにくくなるこの点の御意見を伺いたい。

〔回答〕 私は、Youmans 液体培地を常時使用しており小川培地は一部に用いたものである。私がパスツール研究所と留学当時、あちらで Youmans 培地が主に用いられており、私は以来ずっとこの培地を用いている。

〔北本氏への追加〕

工藤 祐 是 (結核予防会結研)

北本氏の単個菌株における成績に追加して人為的耐性

株の単個菌株 (SM 100000 γ INH-100 γ) では甚だハッキリした成績を示した。すなわちINH 100γ株はほとんど無毒化していた。しかし、臨床検査では耐性毒力カタラーゼの關係は甚だ区々で、これらは異なつた遺伝因子に独立に起る変異でその同時に起る程度の問題であろうと思われる。

〔北本・小酒井両氏への追加・質問〕

宮本 泰 (神奈川県衛研)

表に示された耐性に関する統計値は小川培地で測定された値だが、血清加液体培地によらなければ正確な値は得られないと思う。単独、二重、三重を問わずINH耐性の関与する場合は、それらのINH耐性菌はINH加鶏卵培地には生えないか非常に生えにくくなる。この点の御意見を伺いたい。小酒井氏へ。INH耐性が一層正確に測定できるような培地を使用する問題、委員会で採用して戴ければ幸いである。

〔北本・小酒井両氏への追加〕 高橋 (東大細菌)

INAHの耐性測定に、小川培地を用いると、高度の耐性株は生えにくい場合があるようである。ここに極端な場合として、小川培地に甚だ發育しにくく、INAHが入るとよく發育するものをあげたが、これより少ない程度の發育不良株は、時々あり、Albumin 寒天を用いることが良いと思うがいかが。

〔小酒井氏への質問〕

宮本 泰 (神奈川県衛研)

INH耐性測定に当って鶏卵培地と血清加培地では値が相違するが、この点について考慮されたか。INH耐性が一層正確に測定できるような培地を使用する問題、委員会で採用して戴ければ幸いである。

〔回答〕 私の実験結果はすべて鶏卵培地を用いてのものであり、血清加培地と比較した経験はない。

〔牛場氏への追加〕

豊原 希一 (結核予防会結研)

私共の所で昨年1年間にINHに対する耐性を検査した994株およびSMに対する耐性を検査した1005株(いずれも臨床材料より得られた菌株である)これらの菌株について耐性度別度数分布をみた。黒のコラムがINH耐性を検査した菌株、白のコラムがSM耐性を検査した菌株を示している。横軸に耐性度、縦軸には菌株の数をとっている。まずINHについてみるとINHに耐性を示さざるもの322株(32.5%) 0.1 γ 耐性のもの239株(23.9%) 1 γ 耐性のもの151株(15.2%) 10 γ 耐性のもの282株(28.4%)で1 γ 耐性株が最も少なく10 γ 耐性株は感性株について多い。次にSMについてみるとSMに耐性を示さざるもの124株(12.3%) 1 γ 耐性のもの254株(25.2%) 10 γ 耐性のもの291株(28.9%) 100 γ 耐性のもの336株(33.6%)で感性株が最も少なく1 γ 、10 γ 、100 γ 、と段階的に耐性株の数が多くなっている。次に臨床材料より分離された676株のINHに対する耐性度と定性法によるカタラーゼ活性度との関係をみた。図のように、一般的傾向として感性菌はカタラーゼ+以上のものが圧倒的に多く耐性度が高くなるにつれてカタラーゼ-のものがふえるが、感性菌でもカタラーゼ±ないしのものもみとめられ、また10 γ 耐性株にもカタラーゼ+以上のものが相当数みとめられる。またINH耐性菌のカタラーゼ活性とモルモットに対する毒力との関係をみたところ(毒力は一から(5+)までの6段階カタラーゼ活性はワールブルヒ法による酵素発生量(μ l)で示している)一般的傾向としてはカタラーゼ活性の減弱している菌は毒力も減弱している傾向はめとめられるが例外また往々みられる。なおまたINH耐性菌にはペルオキシターゼ活性も消失しており、鉄プロフィリン系酵素の消失を思わせる。以上のデータから次の2つの点について牛場先生のお考を伺いたい。(1) SM耐性の面からみると感性菌の数が最も少なく耐性度が上昇するにつれて菌株の数もふえ100 γ 耐性株が最も多いのに反し、INH耐性の面からみると1 γ 耐性株が最も少なく10 γ 耐性株は逆に多くなっている。この点SMとINHの耐性獲得の機序は少し違うように思える。INHに耐性を獲得する菌は比較的にすみやかに10 γ まで耐性となりそこでたまってしまうのではないかと考える。(2)

INH耐性菌の耐性度とカタラーゼおよび毒力との関係は一定の方向はもっているが因果関係ではなく、それぞれ独立におこる現象ではないかと考える。

〔結核菌の抵抗性への追加〕〔E. Coli の Streptomycin 耐性獲得の機作〕秋葉朝一郎・横田健(東大細菌)

bacteria の drug resistance の origin が突然変異と選択のみを唯一の機作とするか、あるいは薬剤の直接作用が induced mutation または adaptation として関与しているのかは内外において10年来討論され、いまだに判然とされない事実である。著者は少なくともSM耐性獲得においては、SMの直接作用が細菌のSM耐性上昇に1つの因子として関与しているであろうことを、bacteria の buffer suspension に高濃度のSMを加えることにより耐性菌含有率を増加せしめうることから明らかにしたが、この問題は今後の諸先生の追試にまっことして、本日は次の2点について追加したい。第1はSMが non-specific な mutagenic effect を持つということ、第1表がそれを示す1つの成績で、auxotrophic E. coli を37°C buffer 中でSM 100 μ g/ml \sim 2000 μ g/ml 処理を3時間行くと、prototrophy へのreverse mutation ratio が明らかに上昇していることを示している。勿論この場合SM処理によつて得られた逆変異菌は安定した遺伝性を有し、またSM耐性とのlinkage は認められない。すなわち以上の成績からSMは1種の chemical mutagen と考えられる。第2はsodium nitroprusside が2重選択以外の機作で E. coli のSM耐性獲得を防止する事実である。sodium nitroprusside は100 μ g/ml の量で E. coli 19 K12, BO54, NIHJ などの in vitro におけるSM耐性上昇を防止するがこの濃度の sodium nitroprusside は単独では被験菌に対して抗菌力を示さず、またSMとの拮抗作用、協力作用も認められない。さらに第2表に示す如く sodium nitroprusside の効果はSM sensitive の菌から resistant bacteria になるのを防ぐのであつてSM耐性菌の増殖を選択的に抑制することによるものではないことが知られた。以上の2点から E. coli のSM耐性獲得にはその機作の1つの因子として induced mutation または adaptation が関与しているものと著者は考えるものである。終りに追加討論の機会を与えられた阪大堀教授に深謝する。

〔牛場教授への追加〕 秋葉 朝一郎 (東大)

SMの誘導変異作用を考えざるをえない2 \sim 3のDataを追加として述べた。

〔田中氏への追加〕 武谷 健二 (九大細菌)

われわれは抗酸性菌の形態学的研究を従来から行つており、形態を機能との関連においてとらえるべく努力しているが、田中氏の成績の一部と関係深い成績を得ているので予報的に報告する。結核菌の電顕像に見られる電

子線不透過性の顆粒はメタフォスフェイトを主体とし強いメタクロマジーを示す。洗滌菌体にPとマレイトあるいはグリセリン等の基質を与えて37度に保つとこの顆粒は大きくなりメタフォスフェイトの蓄積を示す。教室の徳永との実験によればこの蓄積はSMによつて阻害されるが、耐性菌ではこの阻害が起らない。

〔田中氏への質問〕 横田 健 (東大細菌)

本日のSM作用機作としての核酸蛋白合成阻害と、先に発表した bound nucleotide 形成との間の関係はどうか。

〔回答〕 核酸、蛋白の合成阻害がSMの作用の第一の侵襲点と目下考えている。その従属現象として Moderate high polymer の物質の形成がみられるのではないかと考えている。なお因みに、酸溶性の Nucleotide の Dowex-1 Resin Chromatogram を見ると ATP の右にさらにもう1つの Peak が存在し、 $\Delta 7 p$ を持っている。

〔田中氏への質問〕 加藤 允彦 (国療刀根山病)

①SM感受性菌に試験管内でSMを作用させて、SMの作用時に P^{32} や C^{14} のグリシンの incorporation の低下をみてゆくという方法論は問題があるのではないか。

②SMがポリフォスフェイトRNAなど高分子酸性物質と結合する以上、このポリフォスフェイトへの P^{32} の入り込みを云々するのはこれも問題ではないか。

〔回答〕 ①私の研究の目的はSM耐性の本質論にある。そのためまずSM感性菌と耐性菌の差異を追求してきた。すなわち、静的には菌体成分の差異、動的には菌体中間体の差異、SMと接触した時のそれらの態度、等を検討している。そしてSM耐性菌の特異点を浮彫りにしてきた。SM耐性菌の耐性である由縁を具体的に把握する方法を見出そうと努力している。何かよい考えがおありか。

②SMの静菌作用の Primary の侵襲点がどこにあるかを、ここ5年来検討してきた結果、解糖、呼吸のような力源供給系、ATP等の酸溶性Nucleotideの回転のようないわば力源転換系等にはSMは Primary の侵襲点はないことを見出した。SMの働きは酸性の高分子物質と結合することにより、その作用を発現することは示した如くであるが、Metabolism を検討してみても Polyphosphate や RNA のような高分子酸性物質の代謝回転がおちていることが明らかとなった。しかし蛋白の合成の抑制されることも確実となっているので、蛋白、RNA、Polyphosphate 等の生合成の相互関係の研究が今後の問題となる。

〔田中氏への質問〕 加藤 允彦 (国療刀根山病)

1. SM感受性菌に試験管内でSMを作用させてSMの作用時に P^{32} や C^{14} のグリシンのインコーポレイショ

ンの低下をみてゆくという方法論は問題があるのではないか。2. SMがポリフォスフェイトRNAなど高分子酸性物質と結合する以上、このポリフォスフェイトへの P^{32} の入り込みを云々するのはこれも問題ではないか。

〔田中氏への質問〕 横田 健 (東大細菌)

本日のSM作用機作としての核酸蛋白合成阻害と先に発表した bound nucleotide 形成との間の関係如何。

〔結核菌の抵抗力への追加—結核アレルギーよみ耐性菌〕

北沢 幸夫 (健康保険療養所松籟荘)

INAH耐性菌を動物に初感染した際に弱毒化しているとの報告は多い。勿論耐性菌による人体の初感染も起りうるが、臨床的には耐性菌を有する患者の増悪好転は体内性再感染巢の転帰に基くことが多いと思われる。そこで家兎を感性強毒菌K株で感作して5週後に耐性菌で再感染し、2日後に出現するアレルギー性炎の程度およびこの病巢の推移をX線病理学的に追求し、従来行つてきた感性強毒菌K株再感染の際のそれと比較して知りえたところを報告したい。まずわれわれが使用した耐性菌であるが、患者Aの喀痰より培養せるA株はSM10 γ PA S10 γ 完全耐性 INAH 1 γ 不完全耐性を示した。このA株の小川培地にはえた菌で家兎に初感染せしめると20日後に軽微な陰影が出現し、2ヵ月後には全野を覆うものと一肺野にとどまるものがあり、これを剖検すると大葉性乾酪性肺炎を呈するものと細葉性結節性増殖巣を呈するものがあり、感性強毒菌K株の初感染がほとんど全例大葉性乾酪性肺炎を呈するものに比較するとやや弱毒であると言える。A株以外に患者Mの喀痰より培養せる耐性菌M株(SMのみ100 γ 耐性)の10 γ SM培地にはえた菌を使用した。まずA株を経気道性に再感染すると感性強毒菌K株と全く同程度のアレルギー性炎が出現する。その後の経過ではこのアレルギー性炎は吸収され2ヵ月後にはほとんど異常陰影を認めず、組織所見では軽微な細胞浸潤と癥痕をみた。M株でもアレルギー性炎は同程度に出現し、これが吸収して2ヵ月後に少数の細葉性増殖巣と癥痕と軽微な細胞浸潤をみた。感性強毒菌K株の2ヵ月後では細葉性結節性増殖巣を示す。すなわちこの2種の耐性菌では感性強毒菌K株と同程度の過敏性現象を呈し、他方その後の経過では同程度あるいはむしろより強い治癒傾向を示した。すなわちこの耐性菌では完全な定型のコッホ氏現象をみた訳である。さて感性菌K株に高濃度の抗結核剤を接触せしめると「生え難き結核菌」となるが、これで再感染するとアレルギー性炎は極めて軽微となり、X線所見では早期陰影は認め難い。そこで INAH には感性である A株を INAH に接触せしめても同様の現象をみた。その際対照としてA株を蒸溜水中に6日間 37°C に保存して再感染したところが、早期陰影はほとんど出現しなかつた。しかるに感性菌K株

では同様の操作によつても早期陰影は出現したし、K株を加熱して死菌として、そのままでも、あるいは上記の操作を行つても高度の早期陰影があらわれる。一方A株のこの水中保存せる菌を小川培地に培養したが、集落は1ヶ形成したのみで、「生え難き菌」となつており、この実験を繰り返したが、同じ結果をえた。すなわちA株は増殖力が弱いと言える。すなわちこのA株の増殖力の減弱と過敏性現象の減弱とは平行している。以上の事実は抗結核剤による菌の静置は加熱により殺菌せる菌による再感染の場合とは相反して抗原性をも減弱せしめたと考えられる。これらの事実は少数の耐性菌による成績であつて多数の耐性菌を用いて実験する必要がある、かつ感作条件も種々にかえて実験する必要がある。以上の所見から2~3の臨床所見を説明してみると、耐性菌によるシューブの際にその後の経過は極めて良好な経過をとりうる場合のあることも考えられる。勿論耐性薬剤以外の抗結核剤を使用することが治癒傾向を促進せしめることは当然であろう。また空洞の浄化、乾酪巣の融解排除が抗結核剤使用時にみられるが、その際シューブを起す頻度が極めて少ないようである。この際菌の撒布がないからではなく、「生え難き菌」となつたために撒布は起つたがX線所見上認めうべき病巣を形成しなかつたためであるとも考えられる。

〔結核菌の抵抗性への追加—菌体内赤色蛍光物質と INAH 耐性〕

後藤 幹保 (名大理研平田)

勝沼信彦・正田享 (名大生化)

鳥型菌には数種類の蛍光物質が存在するが、この中で赤い蛍光をもつ赤色色素はヒドラジド耐性菌には欠如する。したがつてこの物質は耐性と何らかの関連をもつと

考えられる。この物質をここに記した方法で分離し、吸収を測定すると、 $397\text{ m}\mu$ にポルフィリン特有のソレー帯を示し、それより長波長領域には $\lambda_{\text{max}} 498, 528, 570, 598, 625\text{ m}\mu$ の吸収が見られる。この吸収スペクトルおよびペーパークロマトにより赤色色素はコプロポルフィリンのエステルであることを確認した。(このものを加水分解すると、4個の $-\text{COOH}$ をもつポルフィリンとなり、その HCl 数は 0.09 と測定され、このことは加水分解物がコプロポルフィリンであることを示す。) 赤色蛍光物質の吸収スペクトルをコプロポルフィリンテトラメチルエステルと比較すると $1\sim 2\text{ m}\mu$ の差でよく一致する。以上より、鳥型菌の赤色蛍光物質はコプロポルフィリンエステルの類であり、このポルフィリンが菌の耐性化により消失することが分かつた。そこで鳥型菌より分離した赤色物質を加えた場合の INAH の作用を調べたが、これがエステルであるため培地に溶解せず、その効果を調べることはできなかつた。しかるにメゾポルフィリンについて調べたところ、明らかに INAH の作用を阻害するという結果が得られた。このことから INAH は直接または間接的にポルフィリン環の合成を阻害する働きをもつとも考えられ、このことは耐性菌においてポルフィリンを含むカタラーゼの減少ということやヘミン、チトクロームにより INAH 作用が阻害されるという事実と共に、INAH の制菌機作ならびに、菌性の機構に細膜膜の透過性のほかに、ポルフィリン環の生成との関連においても INAH の作用を考えることもできるのではないと思われる。ここで同定したカタラーゼとポルフィリンとの関係については山村先生と共同研究することになつている。