

イソニコチン酸ヒドラジッド耐性結核菌の菌力に関する研究

第2報 カタラーゼ反応と菌力の関係について

杉 本 一

国立療養所大日向荘

受付 昭和35年3月3日

緒 言

1953年 Middlebrook が INH 高度耐性菌にはカタラーゼ作用陰性でしかもモルモットに弱毒のものがあるということを発見して以来、INH 耐性菌の多くのものにおいてカタラーゼ活性が見出されないということが内外の多くの文献にみとめられる。私は結核患者の喀痰中の INH 耐性菌、感性菌のカタラーゼ活性とハツカネズミに対する菌力との関係について検討し、さらに耐性度ならびにカタラーゼ活性の推移と菌力の変化の関係について6カ月間動的に観察した結果を報告する。

研究対象

1. 結核患者を54例えらんで INH 耐性検査をおこない各耐性菌群に対してカタラーゼ検査とハツカネズミに対して動物実験をおこなった。
2. 54例のうち28例はとくに6カ月間耐性の推移を観察するとともにカタラーゼ検査、菌力の変化について検討した。
3. 静的観察は54例とともに6カ月間動的に観察した28例のものも加え合計174例の成績である。

研究方法

1. INH 耐性検査と動物実験方法は第1報に報告したので省略する。
 2. カタラーゼ活性測定方法：Middlebrook 法により30% 過酸化水素水と10% Tween 80 水溶液の等量液を動物接種のために一部かきとられた残りの3% KH_2PO_4 培地（耐性培地および無 INH 培地）の上の結核菌集落の上に滴下して発泡状態を調べた。さらに動物に接種した菌液の定量培養をおこなった4週間後の培養菌群にも同様な方法でカタラーゼ検査をした。
- 判定：発泡状態が20秒内に培地のほとんど全体に及ぶものを \oplus 、30秒内に全体の25～75%に及ぶものを \oplus 、1分以内にごく一部のみが発泡するものを \pm 、1分たつても発泡しないものを $-$ とした。

研究成績

静的観察

1) 完全耐性、不完全耐性の場合のカタラーゼ検査成績（以下カタラーゼを「カ」と略）

臨床細菌学的に表現されている完全耐性、不完全耐性の場合の耐性培地および無 INH 培地に培養された菌群の「カ」検査成績は表1、図1である。10 γ /cc 耐性菌群をみると完全耐性の場合でも不完全耐性の場合でも

表1 完全耐性、不完全耐性とカタラーゼ反応の成績

耐性度 γ /cc	カタラーゼ反応 培地	陽 性			
		-	\pm	+	\oplus
10 完全	10 γ 培地	23			
	無 INH 培地	8	3	4	
10 不完全	10 γ 培地	4			
	無 INH 培地	3	1	9	1
1 完全	1 γ 培地	2	3	7	
	無 INH 培地	1	1	3	3
1 不完全	1 γ 培地		1	1	1
	無 INH 培地	1		4	6
0.1 完全	0.1 γ 培地		2	1	9
	無 INH 培地				7
0.1 不完全	0.1 γ 培地				
	無 INH 培地				2
感 性 菌			1	8	40

10 γ /cc 耐性培地に培養されたものはすべて「カ」陰性であった。無 INH 培地に培養された菌群では完全耐性の場合には15例のうち8例が陰性、7例が陽性、また不完全耐性の場合には陰性が少なく14例のうち3例、残りの11例は陽性を示ししかも強度に発泡を示す例がみられてきた。1 γ /cc 耐性菌群では1 γ /cc 耐性培地からの菌群も無 INH 培地からの菌群も「カ」陰性より陽性の方が圧倒的に多く、さらに0.1 γ /cc 耐性菌群、感性菌群では全例が陽性でしかも強度に反応するものもつとも多い。

図1 INH 耐性度とカタラーゼ反応

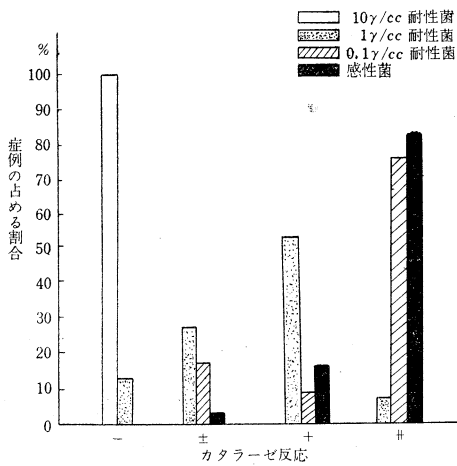
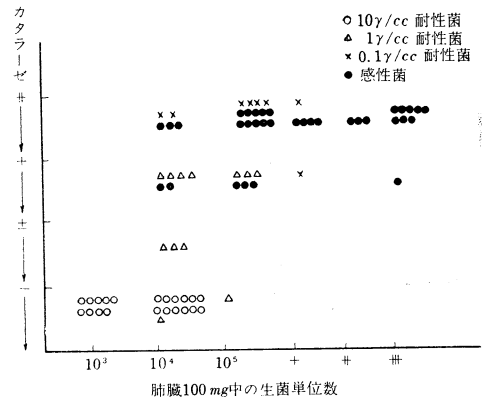


図2 INH耐性度とカタラーゼ反応、肺内生菌単位数との関係



2) 耐性菌および感性菌のカタラーゼ検査成績とハツカネズミ肺臓内生菌単位数

耐性菌や感性菌の「カ」検査成績とハツカネズミに対する菌力との関係をしるために接種生菌単位数が $n \times 10^3$ ($10 < n < 100$) であつたものの成績を示したものが表2, 図2である。

表2 INH耐性度とカタラーゼ活性、肺内生菌単位数との関係

耐性度 γ/cc	カタラーゼ 反応	肺100mgあて 生菌単位数			10 ⁵		
		10 ³ また 10 ³ 以下	10 ⁴	10 ⁵	+	++	+++
10	-	9	12				
	±						
	+						
	++						
1	-		1	1			
	±		3				
	+		4	3			
	++						
0.1	-						
	±						
	+				1		
	++		2	4	1		
感性菌	-						
	±						
	+		2	3			1
	++		3	10	4	3	8

のものは感性菌の菌力よりは弱いものもあるが「カ」陰性のものより強い菌力を示すものが多い。0.1 γ/cc 耐性菌は全例が「カ」陽性で肺臓内生菌単位数が 10⁵ 以上のものが多くなっている。感性菌も全例が「カ」陽性で、1 γ/cc 耐性菌の「カ」陽性のものより強い菌力のものが多かつた。

動的観察

6カ月間毎月1回、耐性度の推移と、「カ」反応およびハツカネズミに対する菌力の変化を観察した28例の成績を耐性低下群、耐性不変群、耐性上昇群にわけて示すと次のごとくなる。

耐性低下群：INH を服用せずに 10 γ/cc 耐性から 1 γ/cc 耐性に低下した1例の成績は、はじめ 10 γ/cc 完全耐性であつたときは無 INH 培地上の菌群は「カ」± で 10 γ/cc 耐性培地上の菌群は「カ」陰性で両者ともにハツカネズミに対して 10³ order の肺臓内生菌単位数を示していたものが 1 γ/cc 耐性になると耐性培地上の菌群は「カ」± となり肺臓内生菌単位数も 10⁴ と多くなり、さらに無 INH 培地からの菌群は「カ」++ で 10⁵ 以上の生菌単位数を示し耐性低下につれて「カ」陽性となり菌力は強くなつた。10 γ/cc 完全耐性から 10 γ/cc 不完全耐性となつた1例は不完全耐性となつたときの無 INH 培地上の菌群は「カ」陽性となり菌力も強くなつてきた。

耐性不変群：10 γ/cc 耐性を持続した5例は完全耐性の例であるが、4例は耐性培地でも無 INH 培地からの菌群も「カ」陰性を動的にもつづけ菌力の変化もみられなかつた。また他の1例は無 INH 培地上の菌群は「カ」陽性、耐性培地上の菌群は「カ」陰性の状態をつづけ「カ」陽性のものは臓器内生菌単位数は 10⁵ の強毒を示し、「カ」陰性の耐性培地上の菌群は 10⁴ の肺臓内生菌単位数を示しこの状態が6カ月間つづいた。1 γ/cc 耐性をつづけた1例は耐性培地上の菌群は「カ」陰

10 γ/cc 耐性菌をみると「カ」陰性のものが 100% である。1 γ/cc 耐性菌の「カ」陰性のものも肺臓内生菌単位数は 10⁵ order 以下で感性菌より弱く、「カ」陽性

性で肺臓内生菌単位数は 10^4 をつけ、無 INH 培地上の菌群は「カ」 \pm , 10^5 の生菌単位数をつづけた。0.1 γ /cc 耐性を持続した 1 例と感性をつづけた 2 例はいずれも「カ」陽性をつづけ菌力も不変で強い菌力であった。

耐性上昇群：INH 感性から 0.1 γ /cc 耐性に上昇した 3 例はいずれの場合にも「カ」陽性で菌力は強く両者の間に変化は少なかった。また感性から 1 γ /cc 耐性に上昇した 2 例のうち 1 例は菌力の変化がなく「カ」陽性をつづけ、他の 1 例ははじめ「カ」陽性で肺臓内生菌単位数は 10^5 以上の強い菌力であったが 1 γ /cc 耐性に上昇したときは生菌単位数は少なくなり「カ」反応も耐性培地上の菌群ではごく一部が発泡する土となり、無 INH 培地上の菌群は「カ」陽性をつづけた。1 γ /cc 不完全耐性から 1 γ /cc 完全耐性となり持続している例は無 INH 培地からの菌群は菌力が強くなり、1 γ /cc 耐性培地上の菌群は菌力がやや劣っていたが「カ」はいずれの場合も陽性であった。INH 感性から 10 γ /cc 不完全耐性に上昇した 3 例はいずれも無 INH 培地からの菌群の「カ」は陽性で不変であり菌力も不変をつづけた。そして 10 γ /cc 不完全耐性となつたとき、10 γ /cc 耐性培地からの菌群は 2 例が「カ」陰性となり、また、1 例が土となり感性菌落出の場合の菌力に比較して著しく少ない生菌単位を示した。また 0.1 γ /cc 耐性から 10 γ /cc 耐性に上昇した 3 例をみると無 INH 培地の菌群の菌力は不変であり「カ」陽性をつづけたが、耐性培地からの菌群はいずれも耐性上昇にしたがい菌力は劣り「カ」も陰性となつた。次に 1 γ /cc 耐性から 10 γ /cc 耐性に上昇した 4 例では 2 例が耐性度の上昇につれて菌力も弱くなり、耐性培地上の菌群も「カ」陽性から陰性になり 2 例が耐性度が上昇しても菌力は不変であった。この 2 例は耐性度の上昇により「カ」陰性となつた 1 例と耐性菌群のごく一部が発泡した土の 1 例である。また 10 γ /cc 不完全耐性から 10 γ /cc 完全耐性に上昇した 1 例は菌力は不変、「カ」も陰性をつづけた。

総括ならびに考案

カタラーゼ反応の機作は諸説あり明らかでないが¹、Middlebrook² らは INH 高度耐性菌には「カ」陰性でしかもモルモットに弱毒のものがあることを発見し、INH 耐性でも「カ」陽性のものは毒力の減弱は比較的わずかであることを報告した³。その後この「カ」の有無と INH 耐性菌の関係については多数の研究が相ついで現われたが、INH 耐性菌は「カ」陰性で発育しにくいことは知られているがこの機序については不明である⁴。Gaffney⁵、Steenken⁶、Knox⁷、Widlock⁸、Joubioux⁹ らもこれを追試して彼の説を肯定している。「カ」産生能と直接関係のあるのは INH 耐

性度よりは毒力であるとの考えは他にもある¹⁰が、ともかく「カ」産生能と毒力との間に明瞭な関係があることは確かであろう¹¹とされている。私はまず耐性度と「カ」産生能との関係を定性的にしらべたが、0.1 γ /cc 耐性菌と感性菌では程度の差はあつても全例が「カ」陽性であった。1 γ /cc 耐性菌になると「カ」陰性のものもみられるが大部分のものは「カ」陽性でありさらに 10 γ /cc 耐性菌をみると完全耐性、不完全耐性とをふくめて 10 γ /cc 耐性培地上の菌群は全例が「カ」陰性で、1 γ /cc 耐性培地に培養されたときは「カ」陰性のものの方が「カ」陽性のものより多く、無 INH 培地に培養された場合には完全耐性のときには「カ」陰性のものが「カ」陽性のものより多く、不完全耐性の場合には反対に「カ」陽性のものの方が陰性のものより多かつた。これは感性菌の混在の度合いがちがうことを意味するものであろう。INH 耐性、毒力、カタラーゼの相関関係について Wolinsky¹² はモルモットを使つて実験し、INH 耐性度の高いほど「カ」陰性菌がふえ毒力の弱い菌が多くなる傾向があり、また「カ」陽性菌は耐性でも毒力の強いものが多くしかし「カ」陰性の INH 耐性菌でも毒力がかなりつよく、「カ」陽性の INH 弱耐性菌でも毒力の弱いものもあるという幅のある報告をした。小酒井¹³ も同じような結果を報告した。私の成績では 10 γ /cc 耐性菌群はすべて 10^4 以下の肺臓内生菌単位数を示し感性菌にくらべると弱い菌力であり、10 γ /cc 耐性菌群で「カ」陽性のものは無 INH 培地や 1 γ /cc 耐性培地、0.1 γ /cc 耐性培地からえられた菌群であるが「カ」陰性菌群よりは菌力は強く、しかし感性菌の大部分よりは劣っていた。1 γ /cc 耐性菌をみると 10 γ /cc 耐性菌と大体同じ傾向で「カ」陰性のものは菌力は劣っており「カ」陽性のものは感性菌の菌力に等しい菌力を示すものもみられた。0.1 γ /cc 耐性菌では「カ」陽性のものが全例で菌力もつよく、感性菌も「カ」陽性が全例で 10^5 以上の肺臓内生菌単位数を示すものが著しく多いが、一部に「カ」陽性で 10^4 の生菌単位を示すものがみられた。小酒井もいわゆる感性菌に属する 0.1 γ /cc 耐性、「カ」陽性菌で毒力が著しく減弱していたものを報告している。私の例でも同じような例を経験したがいずれも INH 治療をうけているもので、したがつて INH に曝されたことがあるという点では真の意味の感性菌とはいえないかもしれない。

つぎに動的に INH 耐性と「カ」反応とハツカネズミに対する菌力の変化とを検討してみる。「カ」反応は INH 耐性獲得により陰性になることが多いが¹⁴、活性度を低下することが知られている¹⁵。Nassau¹⁶ は動物に対する毒力は INH 高度耐性菌の 4/5 が「カ」陰性で毒力が減弱していることを認め、Desbordes¹⁷、Neumany¹⁸、Krebs¹⁹ らはモルモットに対する毒性

を併行してしらべ、毒性は「カ」活性の減退に直接関係しているといひ、さらに Krebs は「カ」陰性の INH 耐性菌の毒力は量的なものでなく INH 耐性菌の本質であるといつている。INH 耐性、「カ」陰性の結核菌に対してハツカネズミの感受性をみると Middlebrook²⁰⁾, Peizer²¹⁾, Cohn²²⁾ らは感受性の低くないことを発表し、高橋²³⁾ も患者喀痰中の「カ」陰性の INH 耐性菌は必ずしも毒力が弱いとはいえないといつている。私の 28 例の動的に観察したものをみるとまず耐性低下の場合には 10 γ /cc 耐性から 1 γ /cc 耐性になった場合であるが、耐性低下にしたがって「カ」陰性から陽性になり菌力も強くなってきている。10 γ /cc 完全耐性から 10 γ /cc 不完全耐性になった 1 例は不完全耐性のときに無 INH 培地の菌群が「カ」陽性となり菌力も強くなってきている。耐性不変群では感性菌、0.1 γ /cc 耐性をそれぞれつけたものは「カ」陽性をつづけ菌力も強いままの状態、また 10 γ /cc 耐性を持続したものは耐性培地上の菌群は「カ」陰性で感性菌より劣った菌力をつけていた。耐性上昇群をみると感性菌から 0.1 γ /cc 耐性に上昇した場合にはいずれも「カ」陽性で菌力は強く変化も少なかった。1 γ /cc 不完全耐性から 1 γ /cc 完全耐性に上昇した例では「カ」陽性をつづけたが、無 INH 培地からの菌群は菌力が強くなり耐性培地上の菌群は菌力が弱くなってきている。感性菌や 0.1 γ /cc 耐性菌または 1 γ /cc 耐性菌から 10 γ /cc 耐性に上昇した例では 10 γ /cc 耐性になったときに耐性培地上の菌群は「カ」陰性となり菌力の衰えるものが多く、感性菌の喀出の場合の菌力に比べ著しく劣った肺臓内生菌単位数を示した。これに対して無 INH 培地からの菌群は 10 γ /cc 耐性になった場合でも「カ」陽性で菌力は不変のものが大部分であった。英²⁴⁾、海老名²⁵⁾ も INH 耐性、「カ」活性減弱菌にはハツカネズミに対して弱毒のものが多くといつているが、私も上記成績から INH 耐性上昇につれて「カ」活性減弱しハツカネズミに対して感性菌より菌力が劣つてきているが、弱毒ではなくなお相当の臓器内生菌単位数を示すという点では諸家の成績に大体一致するように思われる。

結 論

肺結核患者の喀痰から分離された INH 耐性菌および感性菌の 174 例のカタラーゼ反応検査とハツカネズミに対する菌力を全肺臓内生菌単位数と比較検討するとともに 28 例を動的に 6 カ月間観察して次の結果をえた。

1. 10 γ /cc 耐性菌は全例がカタラーゼ反応陰性であった。1 γ /cc 耐性菌になるとカタラーゼ陽性のものが陰性のものより多く 0.1 γ /cc 耐性菌と感性菌では全例が陽性であった。

2. 臨床細菌学的に 10 γ /cc 完全耐性と表現された

場合でも無 INH 培地に培養された菌群は感性菌と同じように「カ」陽性を示すものがある。不完全耐性の場合にはより多くのものが「カ」陽性であった。

3. 10 γ /cc 耐性培地に生えた菌群はいずれも「カ」陰性であったが、10 γ /cc 耐性菌で 1 γ /cc, 0.1 γ /cc 耐性培地に培養されたような場合には感性菌と同じように陽性をしめすものがみられた。

4. ハツカネズミに対する菌力との関係では「カ」陰性のものは菌力が劣るものが多く「カ」陽性のものは強い菌力を示すものが多かった。

5. 同一患者の耐性の推移を動的に観察した場合 10 γ /cc 耐性から 1 γ /cc 耐性になった場合には耐性低下時にハツカネズミに対して菌力は強くなり「カ」も陰性から陽性となった。これは 10 γ /cc 完全耐性から 10 γ /cc 不完全耐性になった場合にもみられた。また耐性度の上昇した場合にはハツカネズミに対して菌力の弱くなるものが多く「カ」も陰性となった。耐性度の上昇していく場合でも無 INH 培地上の菌群では「カ」も陽性をつづけハツカネズミに対して菌力も強く不変の状態をつづけたものがかなりみられた。

終りに御校閲と御助言を賜りました群馬大学三橋准教授および御指導、御校閲を戴いた予研柳沢謙部長に深甚なる感謝の意を表し西野龍吉荘長、内田達次博士の御援助を感謝します。

文 献

- 1) 鈴木正二：医学大辞典，南山堂，昭29.
- 2) Middlebrook, G. : Am. Rev. Tub., 69 : 471, 1954.
- 3) Cohn, M. : Am. Rev. Tub., 70 : 641, 1954.
- 4) Middlebrook, G. : Am. Rev. Tub., 75 : 155, 1957.
- 5) Gaffney, E. : Am. Rev. Tub., 71 : 799, 1956.
- 6) Wolinsky, E. : Am. Rev. Tub., 73 : 768, 1956.
- 7) Knox, R. : Am. Rev. Tub., 73 : 726, 1956.
- 8) Peizer, L. : Am. Rev. Tub., 71 : 305, 1955.
- 9) Bernard, E. : Rev. de la Tub., 19 : 1185, 1955.
- 10) Peizer, L. : Am. Rev. Tub., 72 : 246, 1955.
- 11) 海老名敏明：日結，15 : 833, 昭31.
- 12) Wolinsky, E. : Am. Rev. Tub., 73 : 768, 1956.
- 13) 小酒井望：日結，16 : 573, 昭32.
- 14) Desbordes, T. : Acta Phtisiologica, —22, 11, 1956.
- 15) 徳久梯次郎：呼吸器診療，12 : 313, 昭32.
- 16) Nassau, E. : Tubercle, 36 : 281, 1955.
- 17) Desbordes, T. : Ann. l'Inst. Pasteur, 90 : 22, 1956.

- 18) Neumayr, R. : Proc. Soc. Biol. Med., 89 : 468, 1955.
- 19) Krebs, A. : Beit. Klin. Tub., 115 : 460, 1956.
- 20) Middlebrook, G. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 88 : 568, 1955.
- 21) Peizer, L. : Am. Rev. Tub., 74 : 428, 1956.
- 22) Cohn, M. : Am. Rev. Tub., 70 : 641, 1954.
- 23) 高橋正雄 : 日本細菌学雑誌, 12 : 315, 昭32.
- 24) 英軒 : 金大結研年報, 14(中) : 191, 昭31.
- 25) 海老名敏明 : 日結, 15 : 833, 昭31.