

INAH 耐性結核菌の人体における病原性に関する研究 (第1報)

高橋欽一・松島良雄・綿引定昭・永富鳳一

国立埼玉療養所

受付 昭和33年7月16日

I 緒 言

Middlebrook ら¹⁾²⁾ は INAH に高度の耐性を示す結核菌はそのカタラーゼ活性の顕著に減弱ないしは消失しているものが多く、このような結核菌はモルモットに対する病原性が著しく減弱していることを報告している。しかし INAH 耐性結核菌のマウスに対する毒力は顕著に減弱していないという論文³⁾⁴⁾⁵⁾が多い。一方生体ことに人体内における INAH 耐性菌の病原性については人体という複雑きまわる宿主の条件も加わりまだ不明の点が多い。われわれは2例(FおよびS氏)の化学療法初回治療例で巨大空洞をもつた重症混合型肺結核症の患者に1日量INH-G-Na(ヒドロロンサン)2.0gを授与、前者では治療4カ月目、後者では2カ月目からINAHに対し10 γ /cc完全耐性を示したが治療を中止することなく約1年間INH-G-Naを引続き授与した。両者ともに喀痰中結核菌は塗抹、培養ともに常に陽性であつたが一般状態は著明に好転し、X線上下では軽度改善の像を示した。これら2症例の喀痰から感性株、耐性株、混合株を分離、モルモットに接種し惹起する病変ならびに両者の喀痰中および混合株接種モルモットの脾臓より分離したINAH耐性菌Population構成の変動を調べ、INAH耐性結核菌の人体に対する病原性を説明することがどの程度可能であるか、またこのような症例に引続きINH-G-Naを授与することの意義を検討しようと考えた。

II 実験方法

実験動物は体重300g前後のツ反陰性の白色モルモットを、飼料は全部固形飼料を用いた。薬剤の授与方法はあらかじめINH-G-Naを2%の割合に混入した固形飼料を早朝空腹時に1匹当り3gを授与、ほぼ食いつくしたのち薬剤を含まない固形飼料を与えた。使用菌株はF氏の治療4カ月目、S氏の治療5カ月目の喀痰を直接にINAHを含まない3%小川培地に塗抹分離したカタラーゼ反陽性の菌株(以下混合株と略)と、それをINAH 0.5 γ /cc含有小川培地およびINAHを全く含まない小川培地に再接種し、前者に発育せず後者にだけ発育したカタラーゼ反陽性の菌株(以下感性株と略)とINAH 50 γ /cc含有培地に2代継代培養し分離

したカタラーゼ反陰性の菌株(以下耐性株と略)の3株を使用し、小川培地に3週間培養の菌 $\frac{1}{10}$ mg(湿重量)を右前胸部の皮下に接種した。モルモットはF群(F氏の喀痰より分離した菌株を接種した群)およびS群に分けおのおの36匹を次の6群とした。①感性菌接種非治療群、②同治療群、③耐性菌接種非治療群、④同治療群、⑤混合菌接種非治療群、⑥同治療群、治療は攻撃直後より開始し治療期間は5週と9週に大別した。撲殺したモルモットは肺、脾、初感染所属淋巴腺の重量を測定、またこれら臓器に1%NaOHを加えホモジナイザーで均等化し小川培地を用い臓器中の菌の定量培養を行い、肺、脾、肝、淋巴腺の肉眼的ならびに病理組織所見を検した。INAH耐性菌Population構成は、F氏は治療4および11、S氏は5および12カ月の喀痰を3%小川培地に塗抹分離した菌株につき、また混合株を接種したモルモットは5および9週後に剖検し、脾臓より分離できた菌株につき間接法によつて調べた。

III 実験成績

1) モルモットの剖検時肉眼的ならびに病理組織所見と臓器内結核菌定量培養成績(図1~4)

F群(図1, 2):

〔非治療群〕感性菌接種群は一般に病変が高度で肺、肝、脾ともに結節が融合して認められ、脾はきわめて大、菌数は肺、脾とも非常に多い。耐性群は病変はきわめて軽度、脾に類上皮細胞を主とする結節を少数に認め、脾の大きさはほぼ正常、肺、脾中の菌数は少ない。混合群は感性群と大差を認めない。

〔治療群〕感性、耐性、混合の3群はともに病変少なくともとくに5週より9週において少ない。

S群(図3, 4):

〔非治療群〕感性、耐性群ともに病変は非常に少ないが両者を比較するとわずかに感性群に病変が多い。混合群は病変がもつとも高度とくに5週では脾に著明で、9週では肺、脾、肝ともにさらに高度の病変が認められた。

〔治療群〕感性、耐性、混合ともに病変は非常に少なくともとくに5週に比し9週では病巣の減少がみられた。脾の大きさはほぼ正常、肺脾中の菌数も非常に少ない。

2) INAH耐性菌Population構成の変動

図 1

		F群 5週						
		非治療群			治療群			
感性菌	動物番号	1	2	3	4	5	6	
	病理組織所見							
	肺	全重量	4.4g	3.5g	3.2g	2.3g	2.3g	2.2g
		10mg中菌数	680	3,500	105	0	0	0
	脾	全重量	3.9g	7.0g	2.8g	0.6g	0.7g	0.6g
	10mg中菌数	1,050	846	1,250	6	33	1	
耐性菌	動物番号	7	8	9	10	11	12	
	病理組織所見							
	肺	全重量	3.2g	2.7g	3.2g	1週以内に死亡	2.5g	2.7g
		10mg中菌数	0	0	1		0	0
	脾	全重量	0.5g	0.8g	0.7g		0.6g	0.7g
	10mg中菌数	0	8	7		0	6	
混合菌	動物番号	13	14	15	16	17	18	
	病理組織所見							
	肺	全重量	4.2g	3.6g	4.9g	2.3g	2.7g	2.7g
		10mg中菌数	230	113	4,250	31	13	0
	脾	全重量	4.8g	2.6g	5.5g	0.5g	0.4g	0.4g
	10mg中菌数	775	1,538	6,250	94	93	0	

図 2

		F群 9週						
		非治療群			治療群			
感性菌	動物番号	19	20	21	22	23	24	
	病理組織所見							
	肺	全重量	3.2g	4.4g	6.1g	3.9g	3.1g	2.0g
		10mg中菌数	0	107	695	0	0	0
	脾	全重量	0.9g	7.8g	1.9g	0.6g	1.1g	0.4g
	10mg中菌数	0	1,420	470	0	0	0	
耐性菌	動物番号	25	26	27	28	29	30	
	病理組織所見							
	肺	全重量	3.7g	7週肺炎死	3.1g	3.3g	2.8g	2.8g
		10mg中菌数	0	0	0	0	0	0
	脾	全重量	1.9g		0.7g	0.4g	0.6g	0.5g
	10mg中菌数	0	0	0	0	0	0	
混合菌	動物番号	31	32	33	34	35	36	
	病理組織所見							
	肺	全重量	4.1g	4.2g	7.0g	2.7g	2.8g	2.8g
		10mg中菌数	490	56	3,750	0	0	0
	脾	全重量	7.5g	8.9g	4.0g	0.4g	0.6g	0.4g
	10mg中菌数	445	840	765	112	0	0	

図 3

		S群 5週					
		非治療群			治療群		
感性菌	動物番号	37	38	39	40	41	42
	病理組織所見						
	肺	全重量 3.9g 10mg中菌数 0	全重量 4.3g 10mg中菌数 0	全重量 3.8g 10mg中菌数 0	全重量 3.6g 10mg中菌数 0	全重量 2.7g 10mg中菌数 0	全重量 2.7g 10mg中菌数 0
	脾	全重量 0.5g 10mg中菌数 1	全重量 0.9g 10mg中菌数 0	全重量 1.0g 10mg中菌数 1	全重量 0.8g 10mg中菌数 0	全重量 0.7g 10mg中菌数 0	全重量 0.5g 10mg中菌数 0
耐性菌	動物番号	43	44	45	46	47	48
	病理組織所見						
	肺	全重量 1週以内に死亡 10mg中菌数	全重量 3.1g 10mg中菌数 0	全重量 3.9g 10mg中菌数 0	全重量 2.6g 10mg中菌数 0	全重量 2.6g 10mg中菌数 10	全重量 2週以内に死亡 10mg中菌数
	脾	全重量 10mg中菌数	全重量 0.7g 10mg中菌数 1	全重量 0.6g 10mg中菌数 0	全重量 0.5g 10mg中菌数 1	全重量 0.6g 10mg中菌数 2	
混合菌	動物番号	49	50	51	52	53	54
	病理組織所見						
	肺	全重量 3.3g 10mg中菌数 1	全重量 2週以内に死亡 10mg中菌数	全重量 3.8g 10mg中菌数 0	全重量 2.4g 10mg中菌数 0	全重量 2.9g 10mg中菌数 0	全重量 4.3g 10mg中菌数 0
	脾	全重量 0.7g 10mg中菌数 79		全重量 0.7g 10mg中菌数 130	全重量 0.5g 10mg中菌数 211	全重量 0.6g 10mg中菌数 0	全重量 0.7g 10mg中菌数 0

図 4

		S群 9週					
		非治療群			治療群		
感性菌	動物番号	55	56	57	58	59	60
	病理組織所見						
	肺	全重量 3.5g 10mg中菌数 0	全重量 3.4g 10mg中菌数 0	全重量 4.1g 10mg中菌数 0	全重量 2.8g 10mg中菌数 0	全重量 3.0g 10mg中菌数 0	全重量 2.4g 10mg中菌数 0
	脾	全重量 0.7g 10mg中菌数 5	全重量 0.8g 10mg中菌数 0	全重量 0.9g 10mg中菌数 1	全重量 0.6g 10mg中菌数 0	全重量 0.5g 10mg中菌数 0	全重量 0.3g 10mg中菌数 7
耐性菌	動物番号	61	62	63	64	65	66
	病理組織所見						
	肺	全重量 3.9g 10mg中菌数 0	全重量 1週以内に死亡 10mg中菌数	全重量 4.0g 10mg中菌数 0	全重量 2.7g 10mg中菌数 0	全重量 3.3g 10mg中菌数 0	全重量 3.1g 10mg中菌数 0
	脾	全重量 0.8g 10mg中菌数 0		全重量 0.5g 10mg中菌数 0	全重量 0.5g 10mg中菌数 0	全重量 0.3g 10mg中菌数 0	全重量 0.5g 10mg中菌数 0
混合菌	動物番号	67	68	69	70	71	72
	病理組織所見						
	肺	全重量 4.6g 10mg中菌数 0	全重量 4.3g 10mg中菌数 0	全重量 5.0g 10mg中菌数 0	全重量 3.6g 10mg中菌数 0	全重量 2.9g 10mg中菌数 0	全重量 2.3g 10mg中菌数 0
	脾	全重量 1.3g 10mg中菌数 0	全重量 1.4g 10mg中菌数 1	全重量 2.0g 10mg中菌数 0	全重量 0.7g 10mg中菌数 0	全重量 0.4g 10mg中菌数 0	全重量 0.5g 10mg中菌数 0

凡 例

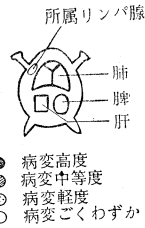


図5～8は喀痰中の種々の耐性度の菌群の割合を百分比で表わしたものである。F および S 氏の喀痰中 INAH 耐性菌 Population は図5, 6 に示されているように治療4～5カ月の比較的早期には大量の INAH 感性菌, 軽度耐性菌とともに多数の INAH 高度耐性菌を含んでいたが, INHG-Na の治療を約1年継続したのちでは INAH 高度耐性菌は消失または著明に減少し 0.6～1.2 γ/cc の軽度耐性菌の増加を認めている。なお剖検したモルモットの脾臓から分離した菌の Population 構成は S 株混合菌接種群において5週目に剖検した No. 51 (非治療群) と No. 52 (治療群) からは

図5 S 氏 喀痰中 INAH 耐性菌 Population 構成の変動

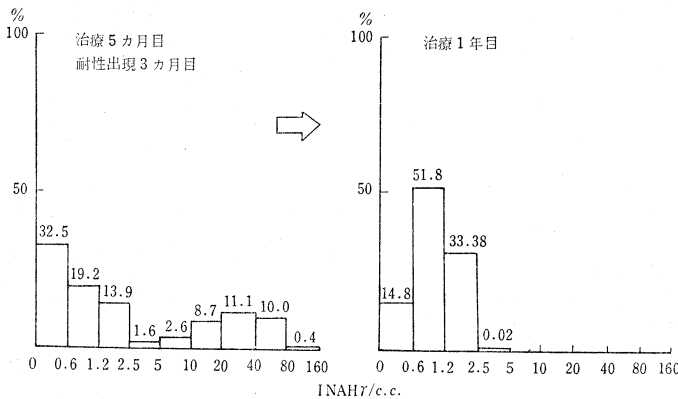
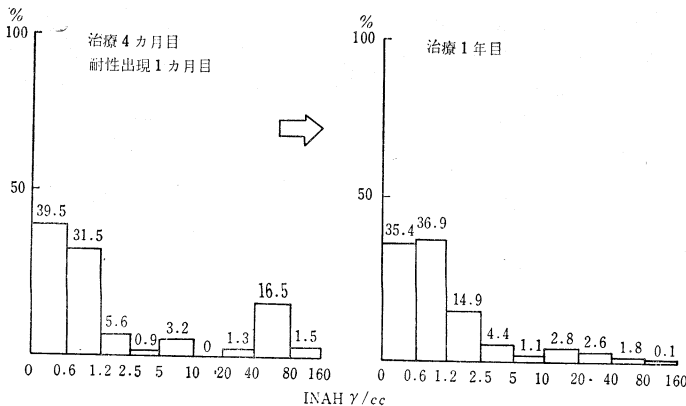


図6 F 氏 喀痰中 INAH 耐性菌 Population 構成の変動



大部分 0.6 γ/cc 前後の INAH 軽度耐性菌を分離, INAH 高度耐性菌の消失を認め(図7), F 株混合菌接種 9 週後に No. 34 (治療群) から多くの 1.2～2.5 γ/cc , No. 31 (非治療群) からは 0.6～2.5 γ/cc 程度の INAH 軽度耐性菌を分離することができたが, INAH 高度耐性菌は認められなかった(図8)。

IV 総括ならびに考察

INAH で治療した患者から分離した INAH 耐性結核菌はモルモットに対しその病原性が著明に低下しているという多数の報告^{1) 6)～10)}がある。一方試験管内で INAH に耐性の菌株を INAH を含まない培地に継代培養すると耐性の程度が減弱していく現象がみられ^{12) 13)}, 佐藤²²⁾は INAH 感性および耐性結核菌を人工的に混合した菌群の耐性度の変化を観察し INAH 耐性菌より INAH 感性菌の方がその發育速度が早いことを推定している。臨床的にも INAH 投与患者に出現した INAH 耐性結核菌は治療中止後または INAH 投与を継続しても耐性度の動揺, 感性復帰等の現象がみられる^{15) 16) 20)}。

Tompsett¹⁹⁾, 佐藤¹⁸⁾は INAH 治療患者の排出する結核菌の耐性度を定量的に観察しとくに治療早期にみられる高度耐性菌は永久不変に継続するものでないことを証明している。そして小酒井²³⁾はじめ多くの人々は生体内における INAH 耐性菌の耐性度の変動もまた INAH 耐性菌の毒力の減弱, INAH 耐性菌の増殖が遅いことに帰している。

以上のように INAH 投与患者の喀痰から分離した INAH 耐性菌のモルモットに対する病原性と, 喀痰中の INAH 耐性菌の耐性度の変化が全く別箇に検索されているが, われわれは同一の患者の喀痰から分離した耐性株, 感性株, 混合株をモルモットに接種, その病原性を調べ同時に喀痰中ならびに混合菌接種モルモットの脾臓より分離した INAH 耐性結核菌 Population 構成の変動を追求し臨床症状と対比し INAH 耐性菌の人体における病原性について考察した。

1) われわれのモルモットに接種したいわゆる感性株は INAH 0.5 γ/cc 含有小川培地に發育せず, INAH を全く含まない小川培地にのみ發育したカタラーゼ反応陽性の菌株であるから当然 INAH 軽度耐性菌もある程度含まれていると思われるが, 臨床的にほとんど同じような症状ならびに経過を示した F および S

図7 S株 Population 構成 (混合菌)

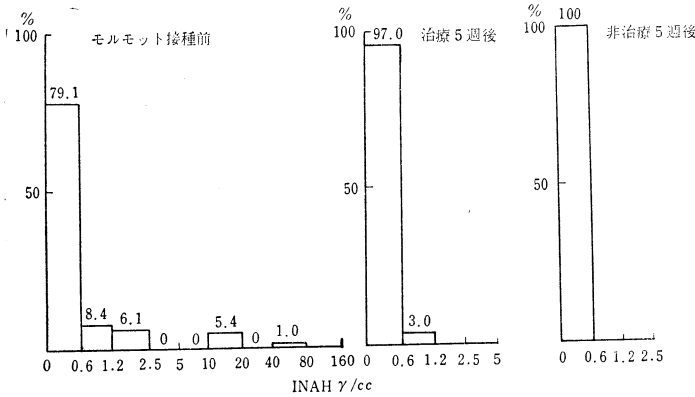
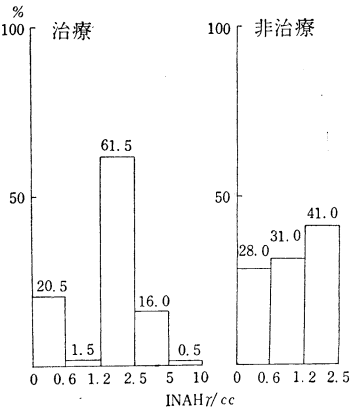


図8 F株 Population 構成 (混合菌)
モルモット接種9週後



氏から分離した感性ならびに混合株をモルモットに接種し、そのさい認められた病変は F 群は高度であつたが S 群は軽度で両者の病変に著明な差異を示したことは興味深く思われた。Steenken ら⁹⁾も INAH 治療前に1人の患者から分離した INAH 感性結核菌はモルモットに対しほとんど病原性を示さなかつたと報告している。しかし1人の患者の喀痰を INAH 50 γ/cc 含有小川培地で2代継代培養し分離した高度耐性菌接種によりモルモットに認められた病変は同じ患者から同時に分離した感性菌ならびに混合菌接種群よりも明らかに少なかつた。また F および S 群の混合菌接種非治療群のモルモットは一般に著明な病変を示したが、治療群においては病変はさきわめて軽度であつた。これは F および S 氏の臨床経過に比較しかなりの差異があるようにみえるが、両氏とも治療開始時すでに大きな空洞を示す著明な病変があつたこと、感染モルモットに対し INHG-Na の投与量が pro kilo 200 mg で人間に通常用いる量の5~10倍であつた等の理由によるのであろう。

2) F および S 氏の喀痰中 INAH 耐性菌 Population 構成は INAH に対し 10 γ/cc 完全耐性発現後1

~3カ月では INAH 感性菌、軽度耐性菌とともに多数の 40~80 γ/cc 程度の INAH 高度耐性菌を含んでいたが INHG-Na の大量投与1年後では INAH 高度耐性菌はほとんど消失、感性菌は減少の傾向を示した。Middlebrook ら²¹⁾は INAH 耐性菌は空洞内で増殖すると述べているが、われわれの一侧に大きな空洞をもちしかも対側にほとんど病変のない2症例の観察からは空洞内においても INAH 高度耐性菌の増殖は非常に弱いことが推定された。

3) F および S 株混合菌接種モルモットを5および9週後に剖検してその脾より分離した INAH 耐性菌 Population 構成においても INAH 高度耐性菌の消失を認めた。

4) 以上臨床的に喀痰中に常に多量の INAH 耐性菌を排出しているにもかかわらず一般状態の著明な好転、X線上軽度の軽快像を認める点、喀痰中 INAH 耐性菌 Population 構成の変化と、その喀痰をモルモットに接種し、剖検後脾より分離した菌株の Population 構成の変化に相似した傾向を認める点、特有な INAH 高度耐性菌の消失または著明な減少、モルモットの剖検所見等から人体においてもモルモットにおけると同様に INAH 高度耐性菌の病原性が著しく減弱していることをかなりの確からしさをもつていつてもよいであろう。

5) しかしわれわれの症例において最初患者の病巣内に増殖した INAH 高度耐性結核菌が INHG-Na の治療を継続していくうちに消失または著しく減少したことはその菌の病原性の減弱に基くものと考えられるにしても、かかる耐性菌が最初にならぬに病巣内に出現したかの理由については、病原性の減弱と相矛盾するところがあるかと思われる。この点の解釈に当つてはどうしても化学療法を続行することにより患者の栄養状態の好転、アレルギー状態の変化等宿主の状態の変化を推定せざるをえなく、病原性の強弱という現象があくまで宿主、寄生体関係によつて左右されることを示唆していると思われ(14) 17)。

6) なお INHG-Na 1日量 2.0 g を連日投与したにもかかわらず依然として喀痰中多量の 0.6~1.2 γ/cc 程度の INAH 耐性菌の排出を認めたことは INAH の血中濃度は生物学的定量法によると非常に個人差があり²⁴⁾、喀痰中 INAH の濃度は血中濃度に比較し著しく低いにしても²⁵⁾、このように大きな硬化性の空洞壁に存在する結核菌に対し薬剤の作用しにくいことを実際に物語っているものと思われる。Barnett ら²⁶⁾は INAH 耐性結核菌を動物に接種、種々の量の INAH を投与し、INAH 0.2~1.0 γ/ml 程度の耐性菌を高率に含有して

いる場合には多量の INAH を投与しても効果はなかなか認めがたいといひ、沢田²⁷⁾は臨床的に INAH 耐性度が 0.1 γ /cc という軽度でしかも INAH の大量投与を行つても無効の場合のあることに注目しているが、われわれの実験成績からも生体内の INAH 軽度耐性菌に対する INAH の効果は INAH または INAH 誘導体を大量に投与したときでさえ予想外に低く、今後臨床的には喀痰中 INAH 耐性菌 Population 構成と、種々の量の INAH または INAH 誘導体を使用したさいの臨床効果との関係、INAH の血中濃度ならびに Acetyl 化と臨床効果との関係等が検討されなければならないであろう。堀¹¹⁾は INAH の Indücer としての可能性を推定し、治療初期に大量の INAH の投与を推奨しているが、INHG-Na 大量投与のさい、INAH 耐性発現の早期には図 5, 6 にみられるように Population 構成 (百分比) が高度耐性菌と軽度耐性菌の 2 つの山を形成している事実をさらに深く追求する必要があると思われる。そして臨床的に INAH 治療にさいし出現する INAH 軽度耐性菌は患者の病状によつては経口的に投与した INAH の影響をうけることが少ないと思われるので、現状では菌の陰性化を目標とし、INAH 耐性発現を極力抑えることに努めることが必要であろう。

7) 重症の空洞性肺結核症に対し INHG-Na の大量を投与、INAH 耐性出現後引続き治療を継続することは病原性が比較的強いと考えられる INAH 感性菌の増殖を抑え、少なくとも症状の悪化を防止することには役立つと思われるが、このような症例に高度の治療効果を得るためにはできればさらに大量の INAH または INAH 誘導体を投与または直接高濃度の INAH を空洞壁に作用させることが必要と思われる。

V 結 語

2 例の化学療法初回治療例で重症混合型の肺結核症の患者に 1 日量 INHG-Na 2.0 g を約 1 年間投与し、INAH に対し耐性発現後比較的早期にその喀痰からおのおの感性株、耐性株、混合株を分離、モルモットに接種し 5 および 9 週後の剖検所見ならびに喀痰中および混合株接種モルモットの脾より分離した INAH 耐性菌 Population 構成の変動を調べ、臨床経過と対比し INAH 耐性結核菌の人体における病原性に論及した。

われわれの実験結果から INAH 高度耐性結核菌はモルモットにおけると同様人体内においてもその病原性が著明に減弱しかつその病原性の強弱は宿主、寄生体に左右されることが推定せられた。そして今後生体内における INAH 軽度耐性結核菌に対する INAH および INAH 誘導体の影響が宿主側の条件とともに基礎的臨床的に検討されなければならないであろうことを考察した。

稿を終るに臨み種々御指導を賜つた慶応大学細菌学

教室牛場教授、秋山学士、病理学教室久田講師に深謝し、臨床検査室の諸兄の御協力に感謝する。

なお種々の御配慮を賜つた中外製薬株式会社に深謝する。本論文の要旨は昭和 33 年 5 月第 33 回日本結核病学会総会において発表した。

文 献

- 1) Middlebrook, G. : Am. Rev. Tuberc., 69 : 471, 1954.
- 2) Middlebrook, G., Cohn, M.L. & Schaefer, W.B. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 852, 1954.
- 3) Cohn, M.L., Kovitz, C., Oda, U. & Middlebrook, G. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 641, 1954.
- 4) Morse, W.C., Weiser, et al. : Am. Rev. Tuberc., 69 : 464, 1954.
- 5) Bloch, H., Widelock, D. & Peizer, L.R. : Am. Rev. Tuberc., 68 : 734, 1953.
- 6) Vink, H.H., Manten, A. & Behker, J.H. : Am. Rev. Tuberc., 74 : 633, 1956.
- 7) Mitchison, D.A. : Brit. Med. J., 4854 : 128, 1954.
- 8) Peizer, L.R., Minkin, A. & Widelock, D. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 728, 1954.
- 9) Steenken, W., Jr. & Wolinsky, E. : Am. Rev. Tuberc., 68 : 548, 1953.
- 10) 堀三津夫 : 第 33 回日本結核病学会総会特別講演.
- 11) Peizer, L.R., Widelock, D. & Klein, S. : Am. Rev. Tuberc., 68 : 290, 1953.
- 12) Pansy, F., Stander, H. & Donovick, R. : Am. Rev. Tuberc., 65 : 761, 1952.
- 13) Szybalski, W. & Bryson, V. : Am. Rev. Tuberc., 65 : 768, 1952.
- 14) 牛場大蔵 : 結核の臨床, 3 : 129, 昭30.
- 15) 熊谷岱蔵 : 日結, 12 : 609, 昭28.
- 16) Johnston, R.N. & Riddle, R.W. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 442, 1954.
- 17) 五味二郎 : 結核, 32 (増刊号) : 1, 昭32.
- 18) 佐藤直行 : 結核, 30 : 310, 昭30.
- 19) Tompsett, R. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 91, 1954.
- 20) 石川哲也 : 結核, 30 : 183, 昭30.
- 21) Middlebrook, G. & Cohn, M.L. : Science, 118 : 297, 1953.
- 22) 佐藤直行 : 結核, 30 : 119, 昭30.
- 23) 小酒井望 : 結核, 32 (増刊号) : 65, 昭32.
- 24) 河盛勇造 : 第33回日本結核病学会総会シンポジウム「INH大量療法」, 昭33.
- 25) 河盛勇造 : 臨床と研究, 35 : 87, 昭33.
- 26) Barnett, M., Bushby, S.R.M. & Mitchison, D.A. : Lancet, 1 : 314, 1953.
- 27) 沢田藤一郎 他 : 日結, 17 : 342, 昭33.