

# ピラジナマイド耐性結核菌の検査について

## 第4報 ピラジナマイド感性および耐性結核菌を感染したマウス結核症の 治療実験ならびに耐性菌の出現

沢 井 武

北里研究所附属病院 (指導 小川辰次)

受付 昭和34年5月4日

### I 緒 論

第3報<sup>1)</sup>において pH を 5.5 にした 1% 小川培地で作った耐性検査用培地を用いてピラジナマイド (以下 PZA と略) 耐性結核菌の検査が可能であることを述べたが、この培地をさらに吟味する意味で、PZA 感性菌および PZA 耐性菌で感染した実験的マウス結核症を PZA で治療した場合に、臓器中結核菌の耐性の変動を pH 5.5 の培地によりつかみうるかどうか? 換言すれば私の培地は耐性検査に使用できるかどうかを実験するとともに、この培地で得た PZA 1,000  $\gamma$  耐性菌で感染した実験的マウス結核症を PZA で治療したときに効くかどうか、換言すればこの培地で得た耐性菌はマウス体内においてもはたして耐性菌であるかどうかを検討したので報告する。

### II 実験方法

#### A) 実験の概略

黒野 PZA 感性株を感染したマウスは 23 匹で 8 匹を対照群、15 匹を治療群とした。黒野 PZA 1,000  $\gamma$  耐性株を感染したマウスは 41 匹で、13 匹を対照群、28 匹を治療群とした。治療群は感染翌日より PZA 3 mg を 0.3 cc の蒸留水に溶解させてゾンデを用いて連日経口投与した。対照群、治療群ともに 1 週ごとに体重を測定し、表 1 に示すように 4 週、8 週、12 週目に屠殺剖検し、死亡したものはその都度剖検し、肉眼的に病変をよく検査するとともに、脾、肝、肺よりの結核菌の分離培養を行ない、分離しえた菌については PZA 耐性を検査した。屠殺前日は治療を中止した。

#### B) 実験の方法

##### 1) マウス

ddN 系雄マウスの 12~14 g のもので、生後 3 週のものを用いた。

##### 2) 感染に用いた菌株および感染の方法

pH 5.5 の 1% 小川培地で 10  $\gamma$  以下の耐性を示した黒野株および人工的に作った PZA 1,000  $\gamma$  耐性の黒野株の 2 週培養のものを手振り法で 1 mg/cc の菌液

とし、その 0.1 cc をマウス尾静脈内に注射した。生菌単位は黒野株は  $7 \times 10^6$ 、耐性株は  $13 \times 10^5$  である。

##### 3) 剖検所見の肉眼的判定

柳沢に従い病変のあつたものは次の 4 段階に区別した。結節きわめて多数で臓器をおおう程度のものを(卍)、結節かなり多数のものを(卅)、結節散在するが 10 をこえないものを(++)、結節数えられるものを(+)とし、また病変のないものを(-)とした。

##### 4) 臓器よりの結核菌の定量培養の方法

屠殺または斃死したマウスの脾、肝、肺の一部をとつて重量をはかり、乳鉢で磨碎し、10 倍量の 1% NaOH で均等化し、さらに脾と肝は 10 倍、100 倍、1,000 倍に、肺はさらに 10,000 倍に希釈して各種積段階を 0.1 cc 宛 1% 小川培地 2 本に接種し、37°C で培養して 1 週ごとに集落数を算え、5 週目で算えた集落数から臓器 10 mg 中の生菌数を比較した。

##### 5) 耐性検査の方法

上記 1% 小川培地に発育した集落を可及的沢山とつて手振り法で菌液として、蒸留水で希釈して  $10^{-2}$  mg/cc とし、これを 0.1 cc 宛 pH 5.5 の 1% 小川培地で作った耐性検査用培地に接種した。耐性値は 4 週目で判定し集落の発育した PZA 混入濃度のもつとも高いところをもつて耐性値とし、対照培地とほぼ同数発育したものを完全耐性、対照培地に比して集落数の少ないものは不完全耐性とした。

### III 実験成績

#### A) 黒野株 (PZA 感性結核菌) による実験

##### 1) 生存期間

対照の 8 匹中 4 週で屠殺した 2 匹を除いて 6 匹は 5 週までに皆斃死したが、その生存期間は表 1 のようである。

また治療群では斃死したものは表 1 のように 6 匹で 3 週、4 週、7 週、12 週、14 週、16 週におのおの 1 匹宛斃死し、その他は 4 週、8 週、12 週で屠殺した。以上の成績から感性菌で感染したマウスに PZA を投与すると生存期間がのびることがわかる。

表1 マウス生存期間

| 感染した菌種                  | 治療の有無 | 感染後の期間 (週) |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |
|-------------------------|-------|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
|                         |       | 感染時        | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |   |
| 黒野PZA                   | 対照群   | 斃死したもの     |    | 1  | 2  | 2  | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |
|                         |       | 屠殺したもの     |    |    |    | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |
|                         |       | 生存マウス数     | 8  | 8  | 7  | 5  | 1  | 0  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |
| 感性株                     | 治療群   | 斃死したもの     |    |    | 1  | 1  |    |    | 1  |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    | 1  |   |
|                         |       | 屠殺したもの     |    |    |    | 5  |    |    |    | 3  |    |    |    |    | 1  |    |    |    |   |
|                         |       | 生存マウス数     | 15 | 15 | 15 | 14 | 8  | 8  | 8  | 7  | 4  | 4  | 4  | 4  | 3  | 2  | 1  | 1  | 0 |
| 黒野PZA<br>1,000 $\gamma$ | 対照群   | 斃死したもの     |    |    | 1  |    | 2  |    |    | 1  | 1  |    |    |    |    |    |    |    |   |
|                         |       | 屠殺したもの     |    |    |    | 7  |    |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |   |
|                         |       | 生存マウス数     | 13 | 13 | 13 | 12 | 5  | 3  | 3  | 3  | 1  | 0  |    |    |    |    |    |    |   |
| 耐性株                     | 治療群   | 斃死したもの     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    | 2  |    | 1  | 1  |    |    |   |
|                         |       | 屠殺したもの     |    |    |    | 6  |    |    |    | 11 |    |    |    |    | 6  |    |    |    |   |
|                         |       | 生存マウス数     | 28 | 28 | 28 | 27 | 21 | 21 | 21 | 21 | 10 | 10 | 10 | 8  | 8  | 1  | 0  |    |   |

注：表中数字は例数を示す

表2 黒野株を接種した対照群マウスの臓器肉眼所見および定量培養成績

| 期間 (週) | 臓器<br>マウス番号 | 肺    |                      | 肝                |                      | 脾                |                      |
|--------|-------------|------|----------------------|------------------|----------------------|------------------|----------------------|
|        |             | 肉眼所見 | 定量培養成績               | 肉眼所見             | 定量培養成績               | 肉眼所見             | 定量培養成績               |
| 4 週    | △ 1         | 卍    | $\infty \times 10^5$ | -                | $\infty \times 10^4$ | -                | $\infty \times 10^4$ |
|        | △ 2         | 卍    | $\infty \times 10^5$ | -                | $\infty \times 10^4$ | -                | $\infty \times 10^4$ |
|        | △ 3         | 卍    | $\infty \times 10^5$ | -                | $78 \times 10^3$     | -                | $96 \times 10^2$     |
|        | △ 4         | 卍    | $\infty \times 10^5$ | -                | $\infty \times 10^4$ | -                | $\infty \times 10^4$ |
|        | △ 5         | 卍    | $\infty \times 10^3$ | -                | $\infty \times 10^4$ | -                | $\infty \times 10^4$ |
|        | △ 6         | 卍    | $\infty \times 10^5$ | -                | $\infty \times 10^4$ | -                | $\infty \times 10^4$ |
|        | 7           | 卍    | $97 \times 10^5$     | -                | $160 \times 10^2$    | -                | $16 \times 10^3$     |
|        | 8           | +    |                      | $37 \times 10^3$ | -                    | $11 \times 10^4$ | -                    |

注：△印は斃死したマウス  
 表中記載は集落数を示す  
 ∞印は集落算定不能のもの

## 2) 肉眼的病変と臓器よりの結核菌の定量培養成績

対照群 8 匹のマウスの肉眼所見は表 2 のようであつて、このうち 6 匹は死亡、2 匹は屠殺したものである。肺ではほとんどが 卍~卍 の所見を示し、肝、脾には病変はみられない。また定量培養成績ではいずれも多数の集落を認めたが、肺がもつとも多く、1 匹を除いて  $10^5$  のオーダーであり、肝、脾は肺より少なく、 $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$  のオーダーであるが、両者の間には集落数のうへの差はない。なお No. 8 の脾は (-) を示した。次に治療群 15 匹の 4 週、8 週、12 週目の肉眼的病変と臓器定量培養の成績は表 3 に示した。屠殺したものはそれ

ぞれ 6 匹、3 匹、1 匹であつて、この期間に斃死したものはそれぞれ 2 匹、1 匹、3 匹である。成績をみると 4 週目の病変は対照に比してかいて軽度であり集落数も少ない。そして 8 週、12 週と治療期間が長びいても病変は大差はないが、集落数は減少してくる。すなわち PZA は単独でも、実験のマウス結核症においては効果的であることがわかる。

## 3) 耐性結核菌の出現

完全耐性と不完全耐性に分けて観察した。10 $\gamma$  までを感性菌、100 $\gamma$  および 100 $\gamma$  以上を耐性菌とする。成績は表 4 に示すように、対照群では耐性検査を行な

表3 黒野株を接種した治療群マウスの臓器肉眼所見および定量培養成績

| 期間(週) | 臓器<br>マウス番号 | 肺    |                      | 肝    |                      | 脾    |                      |
|-------|-------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|
|       |             | 肉眼所見 | 定量培養成績               | 肉眼所見 | 定量培養成績               | 肉眼所見 | 定量培養成績               |
| 4週    | △ 1         | 卅    | $\infty \times 10^5$ | -    | $\infty \times 10^4$ | -    | $\infty \times 10^4$ |
|       | △ 2         | 卅    | $\infty \times 10^5$ | -    | $\infty \times 10^4$ | -    | $\infty \times 10^4$ |
|       | 3           | -    | $106 \times 10^5$    | -    | $56 \times 10^2$     | -    | $69 \times 10^3$     |
|       | 4           | -    | $48 \times 10^5$     | -    | $53 \times 10^3$     | -    | $31 \times 10^3$     |
|       | 5           | 卅    | $200 \times 10^5$    | -    | $160 \times 10^2$    | -    | $200 \times 10^2$    |
|       | 6           | -    | $64 \times 10^4$     | -    | $120 \times 10^2$    | -    | $81 \times 10^2$     |
|       | 7           | +    | $91 \times 10^4$     | -    | $60 \times 10^2$     | -    | $35 \times 10^2$     |
| 8週    | △ 8         | 卅    | $200 \times 10^5$    | -    | $16 \times 10^3$     | -    | $39 \times 10^3$     |
|       | 9           | 卅    | $112 \times 10^4$    | -    | $18 \times 10^3$     | -    | $9 \times 10^3$      |
|       | 10          | -    | $53 \times 10^4$     | -    | $4 \times 10^3$      | -    | $6 \times 10^3$      |
|       | 11          | 卅    | $91 \times 10^5$     | -    | $13 \times 10^3$     | -    | $5 \times 10^3$      |
| 12週   | △ 12        | 卅    | $53 \times 10^4$     | -    | $6 \times 10^2$      | -    | $4 \times 10^2$      |
|       | △ 13        | 卅    | $117 \times 10^4$    | -    | $16 \times 10^2$     | -    | $9 \times 10^2$      |
|       | △ 14        | +    | $31 \times 10^2$     | -    | $60 \times 10$       | -    | $54 \times 10$       |
|       | 15          | -    | $19 \times 10$       | -    | $7 \times 10$        | -    | $1 \times 10$        |

注:表2に同じ

表4 黒野株を接種したマウスの臓器中結核菌のPZA耐性値

| 耐性の種類 | 治療の有無および期間<br>PZA $\gamma/cc$ | 治療の有無および期間 |      |      |       |      |      |       |     |      |       |      |      |
|-------|-------------------------------|------------|------|------|-------|------|------|-------|-----|------|-------|------|------|
|       |                               | 対照 4週      |      |      | 治療    |      |      |       |     |      |       |      |      |
|       |                               |            |      |      | 4週    |      |      | 8週    |     |      | 12週   |      |      |
| 臓器    | 脾                             | 肝          | 肺    | 脾    | 肝     | 肺    | 脾    | 肝     | 肺   | 脾    | 肝     | 肺    |      |
| 完全耐性  | 5,000                         |            |      |      |       |      |      |       |     |      |       |      |      |
|       | 1,000                         |            |      |      | 1(1)  |      | (1)  | (1)   |     |      |       |      |      |
|       | 100                           |            |      |      | 1(1)  | 1(2) | 2    | 1     | (1) |      |       |      | (2)  |
|       | 10                            | (1)        | (1)  | 1(1) | 3     | 4    | 3(1) | 2     | 3   | 3(1) | 1(3)  | 1(3) | 1(1) |
|       | 0                             | 1(2)       | 1(2) | (2)  |       |      |      |       |     |      |       |      |      |
| 不完全耐性 | 5,000                         |            |      |      |       |      |      |       |     |      |       |      |      |
|       | 1,000                         |            |      |      | 2(1)  | 1(1) | 2(1) | (1)   | (1) |      |       |      |      |
|       | 100                           |            |      | (1)  | 3(1)  | 4(1) | 3(1) | 3     | 2   | 2(1) | (1)   | (2)  | 1(2) |
|       | 10                            | 1(2)       | 1(2) | 1(1) |       |      |      | 1     | 1   | 1(2) | 1(1)  | (1)  |      |
|       | 0                             | (1)        | (1)  | (1)  |       |      |      |       |     |      |       |      |      |
| 検査臓器数 |                               | 1 (3)      |      |      | 5 (2) |      |      | 3 (1) |     |      | 1 (3) |      |      |

注:表中数字は例数を示す  
( )は斃死したマウス

つた4匹すなわち12株では、完全耐性でとるといづれも感性菌であり、不完全耐性でとると、斃死した1匹の肺より分離した結核菌が100%の耐性を示したが、その他はいずれも感性菌である。すなわち接種前の耐性値と大差ない。次に治療群をみると治療4週では、検査した7匹すなわち21株中完全耐性では10株(48%)、不完全耐性ではその全部が耐性菌であった。また8週では4匹すなわち12株中完全耐性でとれば4株

(33%)、不完全耐性でとれば10株(83%)が耐性菌である。さらに治療12週では12株中完全耐性でとれば2株(17%)、不完全耐性でとれば6株(50%)が耐性菌であった。すなわち耐性菌の出現の数は4週、8週において著明である。なお一般に斃死したものは屠殺したものに比して耐性値がやや高くする傾向があつた。このように感性菌で感染した実験的マウス結核症を治療することによつて、私の培地でPZA耐性菌を認める

表5 黒野 P Z A 耐性株を接種した対照群マウスの臓器肉眼所見と定量培養成績

| 期間(週) | 臓器<br>マウス番号 | 肺    |                       | 肝    |                      | 脾    |                       |
|-------|-------------|------|-----------------------|------|----------------------|------|-----------------------|
|       |             | 肉眼所見 | 定量培養成績                | 肉眼所見 | 定量培養成績               | 肉眼所見 | 定量培養成績                |
| 4 週   | △ 1         | 卅    | 19 × 10 <sup>5</sup>  | -    | 18 × 10 <sup>8</sup> | -    | 50 × 10 <sup>3</sup>  |
|       | △ 2         | 卅    | 143 × 10 <sup>5</sup> | -    | 74 × 10 <sup>8</sup> | -    | 113 × 10 <sup>2</sup> |
|       | △ 3         | 卅    | 101 × 10 <sup>4</sup> | -    | 53 × 10 <sup>2</sup> | -    | 27 × 10 <sup>8</sup>  |
|       | 4           | 卅    | 43 × 10 <sup>5</sup>  | -    | 84 × 10 <sup>2</sup> | -    | 7 × 10 <sup>8</sup>   |
|       | 5           | 卅    | ∞ × 10 <sup>5</sup>   | -    | 39 × 10 <sup>8</sup> | -    | 50 × 10 <sup>3</sup>  |
|       | 6           | 卅    | 78 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 40 × 10 <sup>8</sup> | -    | 200 × 10 <sup>2</sup> |
|       | 7           | 卅    | 91 × 10 <sup>5</sup>  | -    | 62 × 10 <sup>8</sup> | -    | 9 × 10 <sup>2</sup>   |
|       | 8           | -    | 0                     | -    | 0                    | -    | 0                     |
|       | 9           | 卅    | 39 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 57 × 10 <sup>2</sup> | -    | 21 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 10          | 卅    | 24 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 5 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 5 × 10 <sup>2</sup>   |
| 8 週   | △ 11        | 卅    | 84 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 12 × 10 <sup>2</sup> | -    | 14 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | △ 12        | 卅    | 63 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 64 × 10 <sup>2</sup> | -    | 51 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 13          | -    | 0                     | -    | 0                    | -    | 0                     |

注: 表2に同じ

表6 黒野 P Z A 耐性株を接種した治療群マウスの臓器肉眼所見と定量培養成績

| 期間(週) | 臓器<br>マウス番号 | 肺    |                       | 肝    |                       | 脾    |                       |
|-------|-------------|------|-----------------------|------|-----------------------|------|-----------------------|
|       |             | 肉眼所見 | 定量培養成績                | 肉眼所見 | 定量培養成績                | 肉眼所見 | 定量培養成績                |
| 4 週   | △ 1         | 卅    | 5 × 10 <sup>5</sup>   | -    | 41 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 72 × 10 <sup>8</sup>  |
|       | 2           | 卅    | 180 × 10 <sup>4</sup> | -    | 47 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 96 × 10 <sup>8</sup>  |
|       | 3           | 卅    | 8 × 10 <sup>5</sup>   | -    | 5 × 10 <sup>2</sup>   | -    | 8 × 10 <sup>2</sup>   |
|       | 4           | 卅    | 86 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 6 × 10 <sup>8</sup>   | -    | 6 × 10 <sup>8</sup>   |
|       | 5           | 卅    | 30 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 21 × 10               | -    | 7 × 10 <sup>2</sup>   |
|       | 6           | -    | 0                     | -    | 0                     | -    | 0                     |
|       | 7           | 卅    | 93 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 43 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 27 × 10 <sup>2</sup>  |
| 8 週   | 8           | 卅    | 36 × 10 <sup>5</sup>  | -    | 12 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 89 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 9           | -    | 27 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 8 × 10                | -    | 19 × 10               |
|       | 10          | 卅    | 16 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 86 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 49 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 11          | 卅    | 25 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 40 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 63 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 12          | 卅    | 39 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 106 × 10 <sup>2</sup> | -    | 43 × 10 <sup>8</sup>  |
|       | 13          | 卅    | 11 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 39 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 64 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 14          | 卅    | 19 × 10 <sup>5</sup>  | -    | 16 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 30 × 10 <sup>8</sup>  |
|       | 15          | 卅    | 113 × 10 <sup>4</sup> | -    | 92 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 34 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 16          | -    | 0                     | -    | 0                     | -    | 0                     |
|       | 17          | 卅    | 86 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 17 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 7 × 10 <sup>2</sup>   |
|       | 18          | -    | 0                     | -    | 0                     | -    | 0                     |
| 12 週  | △ 19        | 卅    | 46 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 91 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 113 × 10 <sup>2</sup> |
|       | △ 20        | 卅    | 11 × 10 <sup>4</sup>  | -    | 43 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 34 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | △ 21        | 卅    | 120 × 10 <sup>8</sup> | -    | 16 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 93 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | △ 22        | 卅    | 130 × 10 <sup>8</sup> | -    | 11 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 34 × 10 <sup>2</sup>  |
|       | 23          | -    | 23 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 0                     | -    | 0                     |
|       | 24          | -    | 0                     | -    | 0                     | -    | 0                     |
|       | 25          | 卅    | 14 × 10 <sup>8</sup>  | -    | 7 × 10                | -    | 41 × 10               |
|       | 26          | -    | 39 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 19 × 10               | -    | 30 × 10               |
|       | 27          | +    | 86 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 28 × 10               | -    | 61 × 10               |
|       | 28          | -    | 13 × 10 <sup>2</sup>  | -    | 5 × 10                | -    | 19 × 10               |

注: △印は斃死したマウス 表中記載は集落数を示す

表7 黒野 PZA 耐性株を接種したマウスの臓器中の結核菌の PZA 耐性値

| 耐性の種類 | 治療の有無および期間<br>PZA $\gamma$ /cc | 対 照 群 |      |      |     |     |     | 治 療 群 |      |      |     |   |   |      |      |           |  |
|-------|--------------------------------|-------|------|------|-----|-----|-----|-------|------|------|-----|---|---|------|------|-----------|--|
|       |                                | 4 週   |      |      | 8 週 |     |     | 4 週   |      |      | 8 週 |   |   | 12 週 |      |           |  |
|       |                                | 脾     | 肝    | 肺    | 脾   | 肝   | 肺   | 脾     | 肝    | 肺    | 脾   | 肝 | 肺 | 脾    | 肝    | 肺         |  |
| 完全耐性  | 5,000                          |       |      |      |     |     |     |       |      |      |     |   |   |      |      |           |  |
|       | 1,000                          | 1(1)  | 1    | 3(1) | (1) | (2) | (1) | 3(1)  | 3(1) | 4(1) | 7   | 6 | 7 | 3(2) | 3(3) | 4(4)      |  |
|       | 100                            | 4(2)  | 5(2) | 3(2) | (1) |     | (1) | 2     | 2    | 1    | 2   | 3 | 2 | 1(2) | 1(1) | 1         |  |
|       | 10                             | 1     | (1)  |      |     |     |     |       |      |      |     |   |   |      |      |           |  |
|       | 0                              |       |      |      |     |     |     |       |      |      |     |   |   |      |      |           |  |
| 不完全耐性 | 5,000                          |       |      |      |     |     |     |       |      | 1    | 1   |   | 2 |      |      | 1         |  |
|       | 1,000                          | 3(2)  | 3(1) | 3(2) | (2) | (2) | (2) | 4(1)  | 5(1) | 4(1) | 8   | 8 | 7 | 3(3) | 3(4) | 3(4)      |  |
|       | 100                            | 3(1)  | 3(2) | 3(1) |     |     |     | 1     |      |      |     | 1 |   | 1(1) | 1    | 1         |  |
|       | 10                             |       |      |      |     |     |     |       |      |      |     |   |   |      |      |           |  |
|       | 0                              |       |      |      |     |     |     |       |      |      |     |   |   |      |      |           |  |
| 検査臓器数 |                                | 6 (3) |      |      | (2) |     |     | 5 (1) |      |      | 9   |   |   | 4(4) |      | 4(4) 5(4) |  |

注：表中数字は例数を示す  
( ) は斃死したマウス

ことができた。

B) PZA 耐性結核菌による実験

1) 生存期間

対照群は 13 匹であるが、4 週と 8 週で屠殺したものを除けば、表 1 に示すように 9 週までのうちに斃死し、治療群は 28 匹であるが 4 週、8 週、13 週で屠殺したものを除けば 14 週までも生存し対照群に比して生存期間は長い。対照群と治療群の動物数が同じでないし、途中で屠殺もしているので比較することはむずかしいが、耐性菌で感染した場合でも PZA 治療により生存期間が長びくことが推定できる。

2) 肉眼的病変と臓器よりの結核菌の定量培養成績

まず病変をみると病変はいずれも肺のみであることは前と同様である。この場合も治療群と対照群とのマウスの数が違うので比較しにくい、対照群の屠殺 4 週、8 週の肉眼的病変、治療群の 4 週、8 週の病変と大差ないと考えられる (表 5, 6)。また治療 12 週のは、対照がないので比較できないが、治療 4 週、8 週のものに比しては多少較度である。次に定量培養の成績は病変に相応して、4 週、8 週では対照群と治療群との間にほとんど差がないが、12 週の治療群は 4 週、8 週の治療群に比して少ない。以上の事実は PZA 1,000 $\gamma$  耐性菌で感染したマウスの実験的結核症は 12 週の治療により効果を示したと考えるとよいのではなからうか？。

3) 耐性結核菌の消長

成績は表 7 に示したようである。1,000  $\gamma$  の耐性菌を接種したのであるが、対照群では完全耐性でとると、4 週、8 週までの生存および斃死の例では 1,000  $\gamma$  でありであつて、中には 100  $\gamma$ 、10  $\gamma$  を示したのものも少

数例ある。治療群では完全耐性でとると、4 週、8 週、12 週ともにはつきりした消長を示さないが、不完全耐性でとれば、4 週で 1 株、8 週で 3 株、12 週で 1 株の 5,000  $\gamma$  の耐性を示すものがみられた。すなわち軽度の耐性値の上昇がみられた。このように耐性菌で感染した実験的マウス結核症においても、私の培地により耐性の上昇することを認めた。

IV 総括および考察

私は pH 5.5 の 1% 小川培地および pH 4.7 の 3% 小川培地、ことに前者は PZA 耐性結核菌の検査に使用できるのではないかと推定できる種々の成績を示したが、さらにこの培地が使用できるかどうかを確かめるために、感性菌を接種したマウスの実験的結核症を治療し、屠殺した臓器より菌を分離し、分離した菌により間接法により耐性値を測定して、はたして耐性値の上昇がこの培地でつかめるかどうかを実験したところ、治療により耐性値の上昇することをみた。耐性値の上昇の事実は耐性菌で感染した実験的マウス結核症の治療においても認められた。これらの成績は私の推定をさらに裏づけるものであつて、私の培地は PZA 耐性結核菌の検査に使用できることを示すものと思われる。さらにこの培地によつて得た PZA 耐性結核菌ははたしてマウス体内でも耐性であるかどうかを検討した。すなわち PZA 1,000  $\gamma$  耐性結核菌をマウスに感染し、治療の実験をした。その結果は長期にわたり治療するとある程度効果的であることがわかつた。この事実は私の培地で得た 1,000  $\gamma$  の耐性菌はマウス体内でもある程度耐性菌であることには間違いはないが、決定的なものではないこと

を示すものと考えられよう。したがって臨床的の耐性値の決定には、さらに種々の耐性の度の菌株につき実験するとともに、試験管内の耐性値と臨床的の効果を多数例について検討する必要がある。次に 1,000 $\gamma$  の耐性菌を感染したマウスの対照の臓器より分離した菌が必ずしも同じ耐性値を示さなかつたことは、この培地で分離された P Z A 耐性結核菌の不安定性を示すものであろう。なお私の感性菌の実験では P Z A は単独でも効果があつたが、この成績は染谷ら<sup>2)</sup>、高橋ら<sup>3)</sup>、箕野ら<sup>4)</sup>、Wasz-Höckert ら<sup>5)</sup>、神頭<sup>6)</sup>の成績と一致する。また P Z A 耐性菌によるマウスの実験的結核症においても、前述のように 12 週の治療により多少の効果を認めたが、Wasz-Höckert らは効果を認めていない。氏らの実験は接種菌量および治療期間は私の場合とほぼ同様であるが、P Z A の投与量ははつきりしないし、菌株も私のは黒野株であるのに、氏らのは H<sub>37</sub>Rv の 400 $\gamma$  以上の耐性菌である。成績の相違は何によるかわからない。

以上の事実からこの培地による P Z A 耐性検査法は SM, P A S, I N H 等の耐性検査法と同一視することは無理であらうが、適当な方法がない現今では、次善の策としてこのような方法を用いることもやむをえないではなかろうか。

## V 結 論

pH 5.5 の 1% 小川培地が P Z A 耐性結核菌の検査に使用できるかどうかを検討するために、まず P Z A 感性結核菌を接種し治療したマウスの臓器より分離した菌により、耐性値の上昇をつかむことができるかどうかを検討した。次にわれわれの培地で証明された P Z A 1,000 $\gamma$  の耐性結核菌はマウスの体内でも耐性と考えられるかどうかを検討するために、P Z A 1,000 $\gamma$  の耐

性結核菌を接種したマウスに P Z A の治療を行ない、効果があるかどうかを実験するとともに、臓器より分離した菌につき耐性値を検討した。その結果次のような成績を得た。

1) P Z A 感性株を接種したマウスの対照群の臓器より分離した結核菌は 10 $\gamma$  および 10 $\gamma$  以下の耐性を示し、P Z A 感性株を接種したマウスを治療することにより、その臓器より分離した結核菌の約 1/10 に 100 $\gamma$ , 1,000 $\gamma$  のような耐性値の上昇がみられた。

2) pH 5.5 の 1% 小川培地で作った P Z A 1,000 $\gamma$  の耐性結核菌を接種したマウスに対しても、12 週程度の治療を継続すると、P Z A はある程度効果的であつた。また治療したものの臓器より分離した菌には耐性値の軽度の上昇を認めたものも少数例あつた。

以上より pH 5.5 の 1% 小川培地は P Z A 耐性検査用培地として、次善の策として使用することはやむをえないものであろう。

終りにのぞみ終始御指導を戴き、御校閲を賜つた慶応大学医学部石田二郎教授ならびに北里研究所部長小川辰次先生に深謝する。

## 文 献

- 1) 沢井：結核，34：692，昭34.
- 2) 染谷・林・高橋・田嶋・鈴木・江頭・小河：胸部疾患，1：259，昭32.
- 3) 高橋・綿引・宮田・田村・川瀬・八田：呼吸器診療，11：59，昭31.
- 4) 箕野：第34回日本結核病学会総会発表，昭34.
- 5) Wasz-Höckert, O., McCune, R. & M. McDermott : Am. Rev. Tbc., 74 : 572, 1956.
- 6) 神頭：胸部疾患，1：250，昭32.