

## フチバジッド耐性菌の毒力に関する研究

中 村 善 紀 ・ 日 比 恵 正

日本鋼管清瀬浴風院 (院長 三友義雄博士)

受付 昭和 33 年 10 月 25 日

## I 結 言

フチバジッド (以下 FT と略) が試験管内においても、臨床実験成績においても優れた抗結核剤であることは、われわれが今まで数次にわたって発表してきたところである<sup>1)~3)</sup>。しかしながら FT 耐性菌が INH 耐性菌と交叉耐性を有することは、この薬の大きな弱点と考えられる。

他方 INH 耐性菌が INH 感性菌よりも毒力が著しく減弱していることは、Steenken<sup>4)</sup>、Middlebrook<sup>5) 6)</sup> の一連の研究から急速に注目されるようになったのであるが、INH 誘導体耐性菌の毒力に関してはまだ必ずしも解明されているとはいえない。ことに INH 誘導体では人体内で遊離された INH が作用するという説と、誘導体そのものが作用するという説がある今日、INH の誘導体たる FT の耐性菌がいかなる毒力を示すかは興味ある問題と考える。

## II 実験方法

実験に用いた感性菌は  $H_{37}Rv$  で、FT および INH に対してともに感性である。耐性菌は  $H_{37}Rv$  感性菌を FT を含む Dubos-Albumin 液体培地 (榮研) に階段的に培養して 6 代目に得た FT 100  $\gamma/cc$  耐性菌である。この FT 100  $\gamma$  耐性菌は INH と交叉耐性をもつていて、INH の 10  $\gamma/cc$  に相当している。すなわち FT 耐性菌は INH より 1 order 高い価を示している。 $H_{37}Rv$ -INH 10  $\gamma$  耐性菌は INH を含む培地から作られた変異株である。

本実験に供試した感性菌は 1 株、FT 耐性菌は 3 株 (A, B, C)、INH 耐性菌は 1 株で、各菌株とも単一コロニーを作らせて可及的純粋な菌株を分離した。感性菌はカタラーゼ陽性であり、耐性菌はカタラーゼ陰性であることを確認した。

## 実験動物と接種方法：

海猿については、ツベルクリン反応陰性であることを確認したのち、各群 5 頭として右下腹部皮下に菌を接種した。接種菌量は湿菌量 0.1 mg を 0.2 cc に均等浮遊液としたものを用い、いずれも生菌単位を測定した。

マウス (dd 系) の場合は、1 群 10 匹として、感性菌、FT 耐性菌、INH 耐性菌それぞれ 1 株ずつを

接種した。1 mg, 0.1 cc の菌液を尾静脈に注射した。

## 観察：

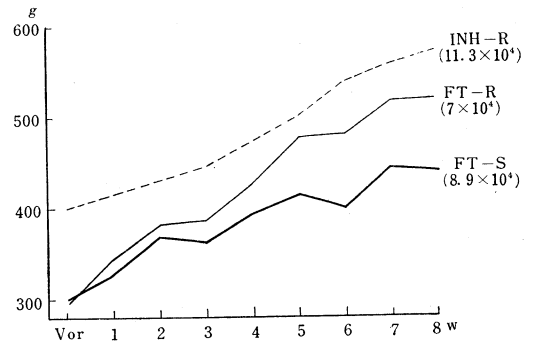
海猿では、接種後毎週 1 回体重を測定し、またツベルクリン反応の推移を検査した。8 週後に屠殺剖見して諸臓器の肉眼的病変を検し、一部の肺については組織学的検査も行つた。また肺、肝、脾、リンパ節等の臓器の結核菌定量培養を行い、得た菌については再び耐性検査を行つた。

マウスについては、6 週後に屠殺して各臓器の肉眼的所見を検し、肺、脾、リンパ節の定量培養を行つた。

## III 実験成績

海猿の成績：

図表 1 海猿体重曲線 (平均値)



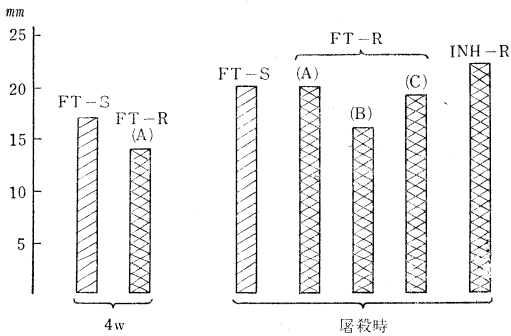
( ) 内：生菌数

体重の推移 (図表 1) は感性菌群 (FT-S) では接種前平均 306 g であったが 8 週後には 426 g となり、平均 120 g の増加であるのに対し、FT 耐性菌群 (FT-R) では接種前 293 g、8 週後 520 g となり平均 227 g の増加であり、INH 耐性菌群 (INH-R) では接種前 399 g、8 週後 573 g で、平均 182 g の増加をきたした。すなわち体重は耐性菌群の方が感性菌群より 1.5~1.8 倍増加している。

ツベルクリン反応 (図表 2) は接種後 4 週目にいずれも陽性を示し、8 週目にはさらに強い陽性を示した。感性菌群と FT 耐性菌群および INH 耐性菌群間には、ツベルクリン反応の強さには大差はなかつた。

剖見所見 (図表 3) では、感性菌群は肺に充血と多数の結核結節の撒布がみられ、肝、脾ともに腫大し大小の結節が多数に認められた。リンパ節も動物によつては大

図表 2 ツベルクリン反応 (硬結直径平均値)



図表 3 海猿臓器肉眼所見

(菌株)	(生菌数)	実験 I				
FT-s	$8.9 \times 10^4$					
FT-R(A)	$7 \times 10^4$					
INH-R	$11.3 \times 10^4$					
		実験 II				
FT-S	$39 \times 10^4$					
FT-R(B)	$30 \times 10^4$					
FT-R(C)	$1.3 \times 10^4$					

豆大あるいはそれ以上に腫大し、中心が乾酪化しているもの、膿瘍の形成されているものもあつた。また注射局所に膿瘍を認めたものもあつた。これに反して FT 耐性菌群および INH 耐性菌群では、肺、脾ならびに接種局所に軽度の肉眼病変を認めたものも少数あつたが、大多数は肉眼的に認められる病変を示さなかつた。

すなわち感性菌群と FT および INH 耐性菌群とでは臓器の結核病変に著しい差があり、そのもつとも著明な差は脾臓に認められた (図表 4)。感性菌群では脾重量平均 3.46 g で結核結節も多数に認められたが、FT 耐性菌群では平均 1.12 ~ 0.96 g, INH 耐性菌群

では 1.35 g であり、病変の程度がきわめて軽いかまたは全く認められなかつた。

図表 4 海猿脾臓肉眼所見

感性菌		平均重量	3.46 g
FT耐性菌			1.04 g
INH耐性菌			1.35 g

組織学的検査では、感性菌群の肺は上皮様細胞の浸潤が著明でその中心部は壊死に陥つている (図表 5)。FT 耐性菌群および INH 耐性菌群の肺では、肺肺炎の像を認めたものはあるが上皮様細胞の浸潤はなかつた (図表 6)。臓器定量培養成績 (図表 7) については、各臓器 10 mg 中の平均集落数が感性菌群では肺 160, 肝 273, 脾 550, リンパ節 119, 局所 4,617 であるのに対して、FT 耐性菌群では肺、肝には菌は全く検出されず、局所および脾にわずかの菌を認めた群があつただけである。INH 耐性菌群では局所に菌を認めたものはあつたが、他の各臓器には全く菌を検出しえなかつた。

なお定量培養で得た菌は原菌株と同じ耐性を示していた (図表 8)。

すなわち以上の成績からみると、FT 耐性菌も INH 耐性菌も海猿に対して進行性病変をおこさないものと思われる。

マウスの成績では、肉眼的病変 (図表 9) は肺および脾にごくわずかに認められたが、3 群間には著しい差異を認めなかつた。肺の組織学的検査でも感性菌群と耐性菌群に大差なく、軽度の肺肺炎を認めるに

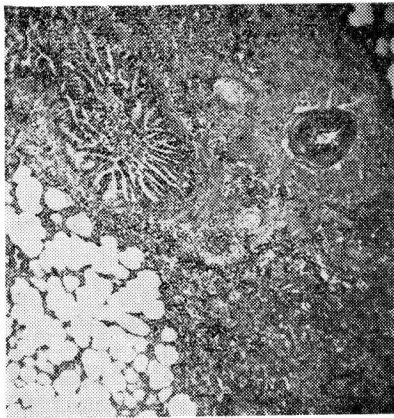
すぎなかつた (図表 10)。

定量培養の成績 (図表 11) からみると、感性菌群と FT 耐性菌群では肺および脾から同程度の多量の菌を検出することができた。INH 耐性菌群ではこの 2 群より菌数は少なかつたが、やはり菌を培養しえた。

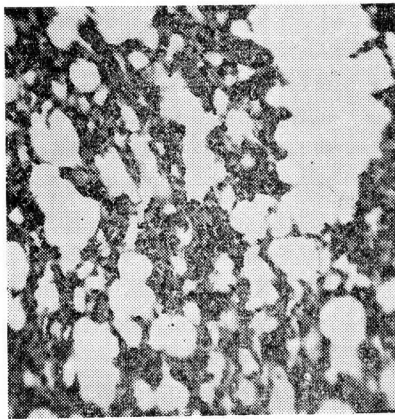
#### IV 総括および考察

INH 耐性結核菌の毒力についてはすでに多数の研究があり、その大部分は少なくとも海猿に対しては SM 耐性菌と異なり、INH 耐性菌は毒力の減弱を示す点で一致している 4)~10)。しかしながら INH 誘

図表 5



図表 6



図表 7 定量培養：海狼各臓器10mg中、平均集落数（各群平均値）

	肺	肝	脾	リンパ節	局所
FT-S	160	275	550	119	4,617
FT-R (A)	0	0	67	0	
FT-R (B)	0	0	0	8	4,350
FT-R (C)	0	0	0	0	冊
INH-R	0	0	0	0	冊

図表 8 臓器内結核菌の耐性試験

動物番号	接種菌株	部位	γ/cc				I N H					
			F T									
			100	10	1	0.1	0	100	10	1	0.1	0
11	感性菌	局所	-	-	-	1	冊	-	-	-	-	冊
12	〃	脾	-	-	-	3	冊	-	-	-	-	冊
13	〃	リンパ節	-	-	-	2	冊	-	-	-	-	冊
15	〃	局所	-	-	-	-	冊	-	-	-	-	冊
16	FT耐性菌	リンパ節	冊	冊	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊
		局所	冊	冊	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊
17	〃	リンパ節	冊	冊	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊
		局所	冊	冊	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊
19	〃	局所	冊	冊	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊

導体耐性菌の毒力についての仕事はほとんどみられず、わずかにソ連において Ginzburg 11) の FT 耐性菌についての研究があるだけである。Ginzburg によれば、10~40 γ/ml の FT 耐性菌 0.1~0.01 mg を海狼皮下に接種した場合、1 株のみ普通の毒力、1 株は弱毒、

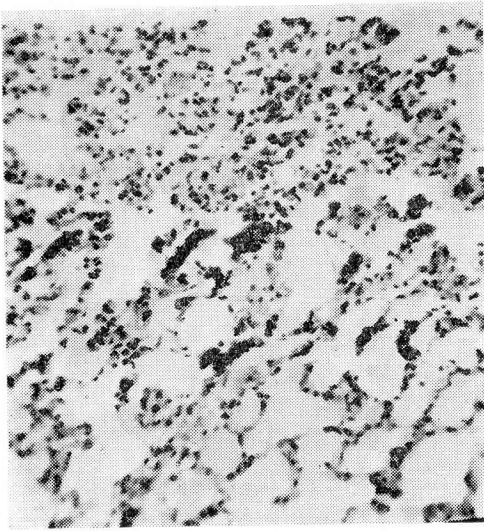
図表 9 マウス臓器肉眼所見

(菌株)	(生菌数)	肉眼所見								
FT-S	$29.7 \times 10^4$									
FT-R	$43.3 \times 10^4$									
INH-R	$44.5 \times 10^4$									

2株に無毒に近い弱毒、3株は無毒であつたが、最後の3株もマウスに対しては毒力を示していたという。

われわれは INH 誘導体耐性菌の毒力減弱の問題を、INH 耐性菌毒力との比較において解明するため

図表 10



図表 11 マウス定量培養：各臓器10mg中、平均集落数

	肺	脾	リンパ節
FT-S	191	404	27
FT-R	176	506	
INH-R	15	3	

に、FT 耐性菌を用いて実験を行った。FT 100 γ 耐性菌を接種した海猿は INH 10 γ 耐性菌の場合と同じく、感性菌接種海猿に比し体重増加が著明であり、耐性菌の毒力が減弱していることを予想せしめたが、はたして剖見所見において INH 耐性菌群、FT 耐性菌群ともに、感性菌接種群に比し著しく病変の程度が軽く、とくにその差は脾臓において著明であった。臓器定量培養成績からみても、感性菌群では各臓器に多数の集落を認めたのに反し、FT 耐性菌、INH 耐性菌両群においては注射局所以外には全く菌がないか、またはきわめて少数を脾、リンパ節に認めたにすぎなかった。しかも FT 耐性菌群と INH 耐性菌群との間にはほとんど毒力の差を認めることができなかつた。

以上の事実に加えて、すでに述べたように FT 耐性菌、INH 耐性菌ともにカタラーゼ陰性であり、しかも両者が交叉耐性を有していることを考えあわせると、両耐性菌は本質的には同一であるか、または少なくともきわめて類似した性質を有しているものと考えられる。

人体内で INH 誘導体から INH が遊離して作用するか否かの問題はさておき、少なくとも in vitro では、耐性菌毒力の面から考えると、FT 耐性菌は FT そのものに特異的な性質を有するのではなく、その本質は INH 耐性菌と共通のものと思われる。換言すれば INH と FT の構造上の作用点は同一であろうと考え

られる。われわれは材料として FT 耐性菌を用いたが、IHMS, INHG, IP 等、他の一連の INH 誘導体の耐性菌の場合にも、FT 耐性菌についてわれわれが以上に述べたことと全く同じことがいえるものと推測される。

次に実験動物としてマウスを用いた場合の INH 耐性菌毒力減弱の問題については、まだ諸家の成績が一致していない。海猿ほど著明ではないが、マウスの場合もやはり毒力が減弱するといわれている。しかしまた一方には毒力は減弱していないとする報告も多い(7,12)。われわれの実験成績では、臓器定量培養成績において INH 耐性菌群はその菌数が、感性菌群、FT 耐性菌群に比し少なかつたが、概括的にみると耐性菌群、感性菌群間にそれほど著明な差異を見出すことができず、また臓器の病理所見では 3 群間にほとんど差を認めえなかつた。とくに実験動物としてマウスを用いる場合には、諸系統マウス間の個性差、実験条件、その他複雑な因子に実験成績が左右される可能性が大きいものと思われる。諸家の成績の不一致も、その主たる原因はここにあるのであろう。マウスに対する耐性菌毒力の問題については、今後さらに精密な検討を加える必要があるものと考えられる。

V 結 論

- 1) 海猿の実験では、H<sub>37</sub>Rv について FT 100 γ 耐性菌と INH 10 γ 耐性菌とは感性菌に比し著しく毒力が減弱している。
- 2) マウスの実験では、感性菌と耐性菌の間に肉眼的ならびに組織学的所見からも定量培養成績からも、差を見出すことができなかつた。
- 3) FT 耐性菌と INH 耐性菌とは海猿に対して著しく毒力を減弱しているが、両者間に毒力について差をつけることはできなかつた。また両者が交叉耐性を有し、かつカタラーゼ陰性である点から、両菌はきわめて類似した性質を有しているものと考えられる。

稿を終るにのぞみ、御指導、御校閲を賜わつた三友義雄院長に対して深甚なる謝意を表します。

本論文の要旨は第 33 回日本結核病学会総会において発表した。

文 献

- 1) 中村他：日結, 16(7) : 544, 昭32.
- 2) 日比：呼吸器診療, 12(8) : 655, 昭32.
- 3) 三友他：日結, 16(11) : 844, 昭32.
- 4) Steenken : Am. Rev. Tuberc., 68(4) : 548, 1953.
- 5) Middlebrook : Am. Rev. Tuberc., 69(3) : 471, 1954.

- 6) Cohn, Middlebrook : Am. Rev. Tuberc., 70(4) : 641, 1954.
- 7) Morse : Am. Rev. Tuberc., 69(3) : 464, 1954.
- 8) Karlson : Am. Rev. Tuberc., 70(3) : 531, 1954.
- 9) Peizer : Am. Rev. Tuberc., 70(4) : 728, 1954.
- 10) 工藤他 : 結核, 32(10) : 551, 昭32.
- 11) Ginzburg : Probl. Tuberk., 1957-1.
- 12) Bloch : Am. Rev. Tuberc., 68(5) : 734, 1953.