

結核菌のカナマイシン耐性に関する研究

第4報 KMあるいはFM耐性菌感染動物に対するKM, FM
およびVMの治療実験

前 田 徹

国立予防衛生研究所結核部 (部長 室橋豊穂)

受付 昭和34年8月21日

緒 言

前報告¹⁾でKM, FMおよびVMの試験管内における交叉耐性を検討し, 1,000 γ/ml の耐性菌ではKMとFMが相互に完全交叉耐性を示すことを確認したが, VM 1,000 γ/ml 耐性菌がKM 1,000 γ/ml 耐性であるというSteenkenらの報告²⁾を確認するまでにはいならなかつた。しかし, Steenkenより1958年11月に分与されたKM耐性菌, FM耐性菌およびVM耐性菌を用いて, 治療実験を行なう機会を得たのでその成績を報告する。

**〔実験1〕 H37RvR-KM および H37RvR-FM
感染モルモットの実験的結核症に対す
るKM, FMおよびVMの治療効果**

実験方法

1) 使用動物: 体重 350 g \pm 30 g の健康モルモット 45 匹を用いた。

2) 感染菌株および感染方法: Steenkenより分与されたKM耐性菌(H37RvR-KM), FM耐性菌(H37RvR-FM)およびVM耐性菌(H37RvR-VM)を1%小川培地に継代増菌し, 2代目2週培養の發育旺盛な菌の0.01 mgを0.1 mlの蒸溜水に浮遊せしめて, 静脈内に感染した。それぞれの感染生菌数は1%小川培地で, H37RvR-KM 22.3×10^4 , H37RvR-FM 9.3×10^4 , H37RvR-VM 28×10^4 であつた。

3) 実験群と薬剤投与方法: 実験群の編成は次のごとくである。

〔第1群〕5匹, H37RvR-KM感染, FM 20 mg/kg
/日治療

〔第2群〕5匹, 同上, VM 80 mg/kg
/日治療

〔第3群〕5匹, 同上, 無治療対照群

〔第4群〕5匹, H37RvR-FM感染, KM 40 mg/kg
/日治療

〔第5群〕5匹, 同上, VM 80 mg/kg
/日治療

〔第6群〕5匹, H37RvR-FM感染, 無治療対照群
第7群から第9群まで計15匹はH37RvR-VM感染群であつたが, 感染菌のVM耐性度不明のため実験から除外した。

薬剤は感染翌日より0.5 ml中に所要量を溶解し, 筋肉内に注射した。治療は日曜を除く1週6日毎日行ない, 剖検3日前に中止し, 感染後5週で剖検した。

4) 剖検所見よりの効果判定法および臓器内結核菌定量培養法: 肉眼所見は淋巴腺腫脹と臓器の結核結節をもつて判定した。淋巴腺腫脹は腫脹を認めないもの(0), 穀物大腫脹(+1), 大豆大腫脹(+2), それ以上の腫脹(+3)とし, しつべき, そけい, えきか, 後腹膜それぞれの左右淋巴腺および門脈, 気管, 後胸骨の淋巴腺を検べ, 各動物の淋巴腺腫脹指数を合計し, 各群の平均値を求めた。臓器の結核結節は肺, 肝, 脾について, 結節を認めないもの(0), 数認めるもの(+1), 若干認めるもの(+2), 数多く孤立結節を認めるもの(+3), 全面に数えきれないほど認めるもの(+4)とし, 各動物について病変指数を合計し, 各群の平均値を求めた。また脾重を計測し, さらに肺, 肝, 脾各10 mg中の生菌数を培養した³⁾。

実験成績

感染に用いた菌の試験管内薬剤感受性は表1のごとくである。500 γ/ml 完全, 1,000 γ/ml 不完全耐性のH37RvR-KMはFM 100 γ/ml でも不完全耐性であつたが, FM 100 γ/ml 耐性菌とFM 1,000 γ/ml 耐性菌の分布はほぼ同等であつた。またVMには50 γ/ml 以上感性であつた。

1,000 γ/ml 完全耐性のH37RvR-FMはKM 1,000 γ/ml にも完全耐性で, VM 50 γ/ml には感性であつた。

H37RvR-VMはKMおよびFMにはもちろん, VMにも50 γ/ml 感性であつた。したがつて本実験でのH37RvR-VM感染群の実験成績は省略した。体重の増減からみても治療経過に特筆すべき差がなかつた。

KM耐性菌感染動物に対するFMおよびVMの治療効果は表2に示すごとくで, 淋巴腺腫脹においてはFM

表 1 Steenken より分与された H37Rv 株の KM, FM および VM 耐性菌それぞれの各薬剤に対する耐性 (発生集落数)

薬剤濃度 γ/ml	菌株 H37Rv	R-KM	R-FM	R-VM
	対 照	0	125	42
KM	100	125	47	0
	500	117	53.5	0
	1,000	58	53	0
FM	100	74	56.5	0
	500	63	43	0
	1,000	67	51.5	0
VM	50	0	0	0
	100	0	0	0
	1,000	0	0	0

注: 培 + 接種菌量 $10^{-5}mg$

治療群は対照群よりやや軽く, VM 治療群は FM 治療群よりさらに軽い。肺, 肝, 脾の病変においては FM 治療群は対照群よりきわめてわずかに軽いようにみえる程度で大差ないが, これに対して VM 治療群は対照群より著明に病変が少なかった。

表 2 H37RvR-KM 感染動物に対する FM および VM の治療効果

実 験 群	対 照 群	FM 治療群	VM 治療群
淋巴腺腫脹指数	14.2	6.4	4.2
臓器病変指数	8.8	7.4	0.8
脾 重 (g)	4.9	4.4	1.4

注: 感染生菌数 22.3×10^4

表 3 H37RvR-FM 感染動物に対する KM および VM の治療効果

実 験 群	対 照 群	KM 治療群	VM 治療群
淋巴腺腫脹指数	15.2	5.2	6.8
臓器病変指数	9.2	5.8	3.2
脾 重 (g)	7.5	3.3	2.2

注: 感染生菌数 9.3×10^4

FM 耐性菌感染動物に対する KM および VM の治療効果は表 3 のごとく, 淋巴腺腫脹よりみれば VM 治療群も KM 治療群も対照群よりも軽いが, 臓器病変をみると明らかに VM 治療群がもつとも軽い。しかし KM 治療群は対照群と VM 治療群の間にありかなり罹患度が強かった。

次に肺, 肝, 脾中の結核菌生菌数よりみるに, KM 耐性菌感染動物においては表 4 のごとく VM 治療群は肺, 肝, 脾いずれにおいても対照群より生菌数は著明に少ないが, FM 治療群はわずかに少ない程度である。また, FM 耐性菌感染動物についてみると, 表 5 のごとく VM 治療群は対照群に比して著明に臓器中生菌数が少ない。これに対して KM 治療群では対照群より生菌数は少ないが, VM 治療群に比すれば明らかに多い。

表 4 H37RvR-KM 感染動物の肺, 肝, 脾 10 mg 中の生菌数

実 験 群	動物番号	肺	肝	脾
対 照 群	1	2,400	12,000	9,000
	2	4,230	8,000	18,000
	3	1,630	16,000	17,000
	4	10,700	35,000	36,000
	5	18,000	22,000	18,000
F M 治療群 (20mg/kg/日)	6	1,600	2,600	21,000
	7	90	4,700	9,000
	8	1,100	2,600	22,000
	9	2,700	1,200	10,000
	10	8,300	6,600	20,000
V M 治療群 (80mg/kg/日)	11	11	80	2,130
	12	1	79	240
	13	6	24	840
	14	30	110	1,800
	15	7	58	2,840

表 5 H37RvR-FM 感染動物の肺, 肝, 脾 10 mg 中の生菌数

実 験 群	動物番号	肺	肝	脾
対 照 群	1	2,100	8,300	60,000
	2	5,200	4,500	35,000
	3	2,300	9,000	43,000
	4	1,530	3,600	22,000
	5	2,700	19,000	34,000
K M 治療群 (40mg/kg/日)	6	60	1,900	11,000
	7	270	700	10,900
	8	600	0	6,600
	9	1,100	100	4,200
	10	100	300	7,000
V M 治療群 (80mg/kg/日)	11	3	19	240
	12	5	6	1,300
	13	70	0	4,000
	14	110	100	1,300
	15	70	180	8,400

〔実験2〕 H37RvR-KM および H37RvR-FM 感染モルモットの実験的結核症に対する KM および FM の治療効果

実験1において、KM 耐性菌感染動物に対してFM の、また FM 耐性菌感染動物に対して KM のそれぞれの治療効果を多少とも認めたので、再確認のために本実験を行なった。対照群としては無治療対照群のほかに KM 耐性菌感染後 KM 治療を行なう群と、FM 耐性菌感染後 FM 治療を行なう群を加えて対照とした。

実験方法

- 1) 使用動物：体重 300 g 前後の健康モルモット 30 匹を用いた。
- 2) 感染菌株および感染方法：実験1と同様、感染生菌数は KM 耐性菌 5.5×10^4 、FM 耐性菌 13×10^4 であった。
- 3) 実験群と薬剤投与方法：実験群の編成は次のごとくである。

- 〔第1群〕 5 匹, H37RvR-KM 感染, 無治療対照
- 〔第2群〕 5 匹, 同上, KM 40 mg/kg /日治療
- 〔第3群〕 5 匹, H37RvR-KM 感染, FM 20 mg/kg /日治療
- 〔第4群〕 5 匹, H37RvR-FM 感染, 無治療対照
- 〔第5群〕 5 匹, 同上, FM 20 mg/kg /日治療
- 〔第6群〕 5 匹, 同上, KM 40 mg/kg /日治療

治療および剖検は実験1と同様に行なつた。

- 4) 剖検所見よりの効果判定法および臓器内結核菌定量培養法：全く実験1と同様である。

実験成績

感染菌の試験管内薬剤感受性は表6に示すごとくで、H37RvR-KM は KM 1,000 γ/ml および FM 1,000 γ/ml 完全耐性であった。H37RvR-FM は FM 1,000 γ/ml および KM 1,000 γ/ml 完全耐性であった。

動物の治療経過は実験1と同様、体重その他について特記すべき変化を認めなかつた。

KM 耐性菌感染動物の肉眼所見は表7のごとくで KM 治療群と FM 治療群とは無治療対照群に比すればきわめてわずかに病変が少ない程度にすぎず、KM 治療群と FM 治療群との差異はほとんど認められなかつた。また FM 耐性菌感染動物については表8のごとくで FM 治療群と KM 治療群との間にほとんど差がなく、治療群の病変はむしろ無治療対照群よりもやや重いと云う。

次に肺、肝、脾の臓器中の生菌数についてみると、表9のごとく KM 耐性菌感染動物の対照群と KM あるい

表6 実験2における感染菌のKMおよびFMに対する耐性(発生集落数)

薬剤濃度 γ/ml	菌株 H37Rv	R-KM	R-FM
	対 照	0	55
KM	10	18	92
	100	42.5	138
	500	73	132
	1,000	66	99
FM	10	48	117
	100	38	115
	500	65	143
	1,000	74	142

注：培地接種菌量 $10^{-5} mg$

表7 H37RvR-KM 感染動物に対する KM および FM の治療効果

実 験 群	対 照 群	KM 治療群	FM 治療群
淋巴腺腫脹指数	10.2	7.2	7.6
臓器病変指数	8.8	7.4	8.0
脾 重 (g)	3.7	1.9	2.3

注：感染生菌数 5.5×10^4

表8 H37RvR-FM 感染動物に対する FM および KM の治療効果

実 験 群	対 照 群	FM 治療群	KM 治療群
淋巴腺腫脹指数	4.4	5.6	6.2
臓器病変指数	8.4	9.2	9.4
脾 重 (g)	3.8	3.8	4.5

注：感染生菌数 13×10^4

は FM 治療群との間に差がみられない。また FM 耐性菌感染動物についても表10のごとくで、無治療対照群と KM あるいは FM 治療群とはほとんど差がなかつた。

考 察

H37RvR-KM は試験管内で FM と完全交叉耐性を示したが、実験1における H37RvR-KM 感染動物に対しては FM の治療効果がわずかに認められるようであった。実験2でも肉眼所見にはわずかに認められたが、臓器の結核菌生菌数からみればほとんど効果が認められなかつた。かかる肉眼所見の相違については、H37Rv 感性菌感染動物に対する治療効果を比較対照とした

表 9 H37RvR-KM 感染動物の肺, 肝, 脾 10 mg 中の生菌数

実験群	動物番号	肺	肝	脾
対 照 群	1	4,000	C.	15,000
	2	2,900	400	30,000
	3	4,100	2,000	43,000
	4	1,800	5,700	47,000
	5	33,000	C.	53,000
KM 治療群 (40mg/kg/日)	6	1,500	6,600	8,000
	7	7,000	3,300	40,000
	8	33,000	3,000	19,000
	9	24,000	2,300	18,000
	10	11,000	9,300	11,000
FM 治療群 (20mg/kg/日)	11	7,000	12,000	28,000
	12	6,000	3,000	14,000
	13	7,700	1,300	19,700
	14	2,500	700	31,000
	15	5,500	2,000	9,000

注: C.: Contamination

表 10 H37RvR-FM 感染動物の肺, 肝, 脾 10 mg 中の生菌数

実験群	動物番号	肺	肝	脾
対 照 群	1	C.	150,000	27,000
	2	34,000	17,700	42,000
	3	11,000	2,300	26,000
	4	C.	130,000	36,000
	5	5,000	1,700	33,000
FM 治療群 (20mg/kg/日)	6	8,000	6,000	20,000
	7	8,000	22,000	63,000
	8	28,000	10,000	26,700
	9	66,000	15,000	73,000
	10	126,000	380,000	160,000
KM 治療群 (40mg/kg/日)	11	1,200	1,000	18,300
	12	51,000	12,000	36,000
	13	13,000	20,000	18,000
	14	20,000	8,000	22,700
	15	6,000	13,000	19,300

注: C.: Contamination

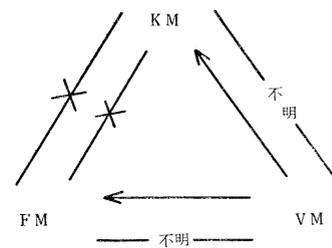
考慮をばらうとともに、KM および FM が同一治療効果を示す投与量についても検討を加える必要があると思う。感性菌感染動物に対する FM の治療効果はすでに報告⁴⁾があるごとく相当著明であるが、投与量の変化とその治療効果の関係についてさらに検討を要するであろう。しかし本実験で無治療対照群および KM 治療群⁵⁾を比較対照とした場合、KM 耐性菌感染動物に対する FM の治療効果はほとんどみることがなかつ

た。これに対して、VM の治療効果は明白で、試験管内でも VM 50 γ/ml でその発育が阻止されていたことから当然期待される成績である。前報告¹⁾においては、H₂R-KM は VM と不完全交叉耐性を示していたが、もし H₂R-KM の菌群中に VM 50 γ/ml に対してほぼ 90% の感性菌を含むものを感染したとすれば、この程度の不完全交叉耐性でも VM の治療効果は相当期待できるのではなからうか。

さらに H37RvR-FM は KM と試験管内で完全交叉耐性を示したが、FM 耐性菌感染動物に対する KM 治療群の病変は実験 1 では無治療対照群よりきわめてわずかながら軽かつた。しかし実験 2 では反対に少しく重かつた。このような成績の相違は動物の個体差や実験時期など実験上の影響が加わる結果であろう。いずれにして H37RvR-FM 感染動物に対して KM の治療効果には全くみるべきものがなかつた。これに対して、VM には相当の治療効果を認めた。

先に柳沢⁶⁾は実験 1 の成績から、KM 耐性菌感染動物に対して FM の治療効果を、また FM 耐性菌感染動物に対して KM の治療効果を認めるごとく述べたが、実験 2 の成績とあわせて考えると、図 1 のごとくで KM と FM の両者の間の関係は Steenken の成績⁶⁾と一致するとみてよい。

図 1 各耐性菌感染動物に対する治療効果模型図 (実験 1, 2 の総括)



注:
 X: 効果がない。
 A ← B: A 耐性菌感染動物に B が効果がある。

以上の治療成績から試験管内で 1,000 γ/ml 程度の完全交叉耐性を示す場合には、動物体内においてもその薬剤の治療効果が全く認められない。しかし不完全交叉耐性の場合には、その交叉耐性の程度によってある程度治療効果も期待できるのではないかと思うが、それらの事象については、さらに試験管内、動物体内における実験成績の積み重ねが必要になり、将来に残された興味深い問題点であろう。

結 論

KM 1,000 γ/ml 完全耐性菌および FM 1,000 γ/ml 完全耐性菌による動物の実験的結核症に対する KM, FM および VM の治療効果を検討して次のごとき成績

を得た。

1) KM 耐性菌感染動物に対して FM の治療効果はなかつた。

2) FM 耐性菌感染動物に対して KM の治療効果はなかつた。

3) KM 耐性菌あるいは FM 耐性菌感染動物のいずれに対しても VM の治療効果は相当認められた。

稿を終わるに当たり、終始御指導、御校閲を賜わつた予研柳沢副所長、室橋部長、佐藤博士ならびに技術的援助を頂いた丸山技官に深く感謝する。

文 献

- 1) 前田徹：結核，35：159，昭35.
- 2) W. Steenken, Jr., V. Montalbino, & J.R. Thurston : Amer. Rev. Tuberc., 79 : 66, 1959 ; Ann. N.Y. Acad. Sci., 76 : 103, 1958.
- 3) 宮本泰：臨床，4 : 307, 昭26.
- 4) W. Steenken, Jr., E. Wolinsky, & B.J. Bolinger : Amer. Rev. Tuberc., 62 : 300, 1950.
- 5) 金井興美・柳沢謙：日本細菌学雑誌，13 : 1, 昭33 ; K. Yanagisawa, et al. : Ann. N.Y. Acad. Sci., 76 : 88, 1958.
- 6) 柳沢謙：第34回日本結核病学会総会，カナマイシンシンポジウム，昭34.