

## INH 耐性菌の試験管およびマウス体内における変動

中野 昭・花岡 正人・権守 赴夫  
鈴木 忠蔵・内藤 明・中村 一郎

北里研究所 (指導 部長 水之江公英)

受付 昭和 35 年 12 月 16 日

## I 緒 言

INH 耐性結核菌の耐性度は不安定で, *in vitro*, *in vivo*, あるいは種々薬剤の影響などの特殊環境においても, 実験的臨床的にしばしば耐性の低下ないし感性復帰が起こるといわれている。しかしながら一方においては Population 構成の純粋な INH 耐性株は安定しており, 継代培養または動物通過などによつても耐性の変動を認めたい報告がみられる。これらの点に関連して, マウス体内における INH 耐性菌の耐性度の推移および SM あるいは INH 投与による影響などについては先に報告したり。

INH 耐性菌の安定性については, 感受性菌に比べて発育速度が遅く<sup>2)~5)</sup>, また Virulence の減弱や特殊の Growth Factor を必要とする<sup>3) 6)~16)</sup>などの成績から, 耐性菌株を構成している INH 耐性菌と感受性菌との増殖力の差が耐性の変動に關与する重要な因子と

考えられている<sup>17) 22)</sup>。そこで本報においては, マウス体内で耐性を獲得させた INH 耐性株を, 原株感受性菌と種々の比率に混在せしめた場合の試験管内継代による INH 耐性 Population の変動を追求するとともに, マウス諸臓器内の INH 耐性菌と感受性菌の消長について比較し検討を加えた。

## II 実験材料および方法

## 1. 実験材料

当所保存の強毒人型結核菌黒野株 (K), およびこれを用いてマウス体内において INH 耐性を獲得させた No. 90 株 (R)<sup>23)</sup>, また No. 90 株のマウス体内 8 週通過後の肺より分離した 10  $\gamma/ml$  含有培地上の INH 耐性株 (R') の各 3%  $KH_2PO_4$  培地 10 日間培養の菌集落を用いた。

(K) は INH 感性で Catalase 反応陽性, (R)(R') は INH 10  $\gamma/ml$  以上完全耐性で Catalase 反応陰性であつた (表 1)。

表 1 使用菌株とその INH 耐性 Population

菌 株	対 照 培 地		INH 濃 度 $\gamma/ml$				カタラーゼ 反 応
	0 $\gamma$		0.1	1.0	10	100	
K 黒野株 (原株)	10 <sup>-2</sup>	##	-	-	-	-	(+)
	10 <sup>-4</sup>	24	-	-	-	-	
R 耐性黒野株 (No. 90)	10 <sup>-4</sup>	82	77	95	71	47	(-)
		100%	94%	116%	87%	57%	
R' 同上 再接種 8 週後の マウス肺より分離	10 <sup>-7</sup>	13.5	9	14	10	0.5	(-)
		100%	67%	104%	74%	3.7%	

培地は 3%  $KH_2PO_4$  培地およびその INH 含有培地 (0.1  $\gamma$ , 1  $\gamma$ , 10  $\gamma$ , 100  $\gamma/ml$ ) を用いた。

## 2. 試験管内実験

INH 耐性 Population は, すべて対照の 0  $\gamma$  培地および耐性測定培地上のそれぞれの発育菌集落がなるべく算定可能となるように, 適宜滅菌蒸溜水で 10 倍段階希釈したもの 3 ないし 5 段階について各 0.1 ml 宛 2 本の培地に接種し, 4 週間培養後の発育菌集落数より

判定した。なお 10  $\gamma$  以上 INH 耐性菌を含有する比率  $\left( \frac{10\gamma/ml \text{ 含有培地上の発育集落菌数}}{\text{対照培地上の発育集落菌数}} \times 100 \right) \%$  を耐性菌含有率として比較した。

INH 耐性株 (R)(R') および原株感性菌 (K) の手振りコルベン法による各 1  $mg/ml$  遠心均等生食水浮遊菌液を, 種々の比率に混合して INH 耐性の Population を測定したのち, それぞれの対照培地上の菌集落を 10 日ないし 2 週間ごとに 3 ないし 9 代まで培地

塗抹継代培養を行ないながら、各代ごとに I NH 耐性 Population を前記の方法により追求し、また一部については Middlebrook の方法により Catalase 反応を実施した。

3. 動物実験

生後 3~4 週の体重 13.6 g 前後の ddN 系マウスを用い、4 群に分けて試験管内実験と同様に (R'),

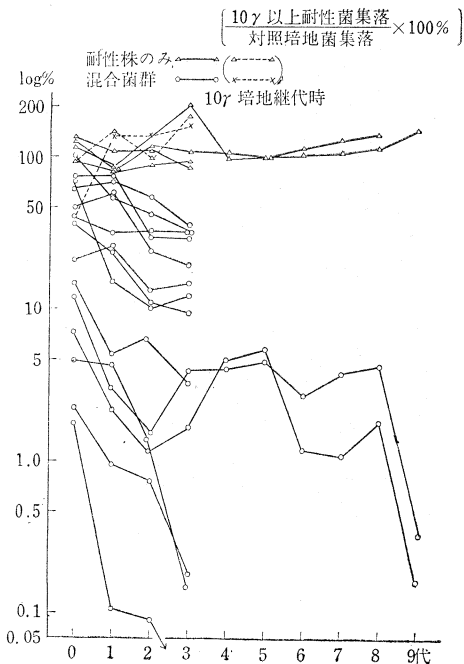
(K) およびその混合菌液 (M) をそれぞれ 0.1 ml 宛尾静脈に接種感染せしめた。第 III 群 (K<sup>0.05</sup>) においては、(K) の菌液 0.05 ml に滅菌生食水 0.05 ml を加えて 0.1 ml とした。4 群の接種生菌単位数、I NH 耐性 Population および Catalase 反応は表 2 のごとくである。

表 2 動物接種生菌単位数とその I NH 耐性 Population

接 種 群	接 種 生 菌 単 位	I NH 濃 度 $\gamma/ml$				カタラーゼ 反 応
		0.1	1.0	10	100	
I R'	20 × 10 <sup>4</sup> 100%	21.5 108%	16 80%	15 75%	0.35 1.8%	(-)
II M	25 × 10 <sup>4</sup> 100%	2.5 10%	2.5 10%	3.2 13%	0.24 1.0%	(+)
III K <sup>0.05</sup>	(16.5 × 10 <sup>4</sup> )	-	-	-	-	(+)
IV K <sup>0.1</sup>	33 × 10 <sup>4</sup>	-	-	-	-	(+)

感染後毎週体重を測定し、2, 4, 6 および 10 週後にそれぞれ 2 ないし 3 匹宛屠殺剖検し、肺、脾、肝および腎の重量測定後 1% NaOH 水を加えて homogenize し、適宜 10 倍段階希釈したものの 3 ないし 5 段階について、定量培養と I NH 耐性 Population の測定を行なった。また対照培地発育菌集落について、一部僅少のものは増菌して Catalase 反応を調べた。

図 1 0 $\gamma$  培地継代による I NH 耐性 Population の変動



なお実験期間中の斃死マウスは剖検して結核死か否かを確かめた。

III 実験成績

I. 試験管内実験

(1) (R) または (R') と (K) との混合菌群においては、最初の I NH 耐性菌含有率が 1.67~99.2% の 14 種を I NH 非含培地で継代すると、それぞれの混合菌群中の耐性菌含有率の変動は図 1 のごとくで、継代 1 ないし 2 代目よりすでに著明な減少が認められた。菌液混合時に耐性菌含有率が 1.28% と 7.17% の場合は、継代を重ねるに従って含有耐性菌は変動を繰り返しながら 9 代目にかんがりの減少がみられるが、なお消失することなくそれぞれ 0.34% と 0.18% に 10 $\gamma$  以上 I NH 耐性菌の残存を認めた。また混合時耐性菌含有率 1.67% のものが継代 3 代目において 10 $\gamma/ml$  含有培地上に菌集落の発育をみなかつたのは、対照培地 (61 × 10<sup>2</sup>) と同一 Order の培養を行なったため、これは接種菌量を多くしてみないと耐性菌含有の程度は決めがたいと考えられる。

以上の耐性菌含有率の変動は、最初の混合時の含有耐性菌が 10% 程度以下の少ない場合のほうが、より多く混在した場合に比べてその減少度が著明であり、また 10 $\gamma/ml$  以上の高耐性における減少のほうが 1 $\gamma/ml$  以下の低耐性における減少度よりも大なる傾向がみられた。

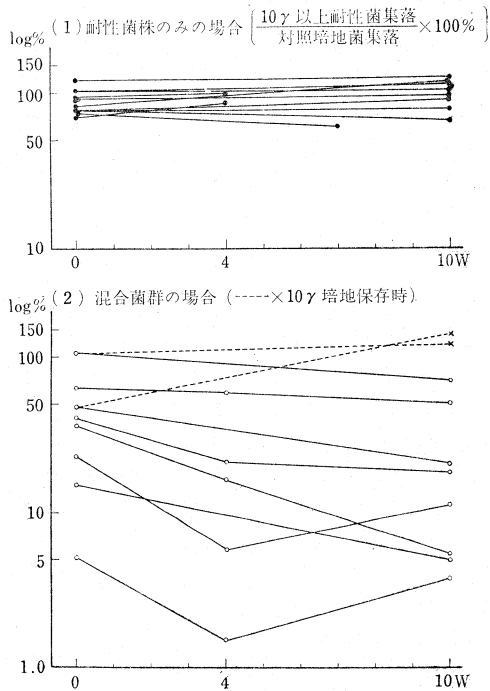
混合時耐性菌含有率 40.5% のものを I NH 非含培地で継代すると 3 代目に 31.4% であつたが、これを I NH 10 $\gamma/ml$  含有培地で継代すると 1 代目から

対照培地よりも耐性培地に発育菌集落数が多く Full Population を続けた。

(2) 感性菌 (K) を混合せず耐性株 (R)(R') のみの場合には、INH 10  $\gamma/ml$  含有培地で継代すると同様に Full Population を続けるが、INH 非含培地に継代しても耐性菌含有率の変動はわずか認められたが減少は認められなかった (図 1)。

(3) INH 非含培地で 5~10°C 程度の低い室温に 4 ないし 10 週保存して再び Population 構成を調べると、耐性株 (R)(R') のみの場合は INH 非含培地継代時と同様に耐性菌含有率の減少を認めない [図 2 (1)]。感性菌 (K) との混合菌群においては、

図 2 0 $\gamma$  培地保存 (5~10°C) による INH 耐性 Population の変動



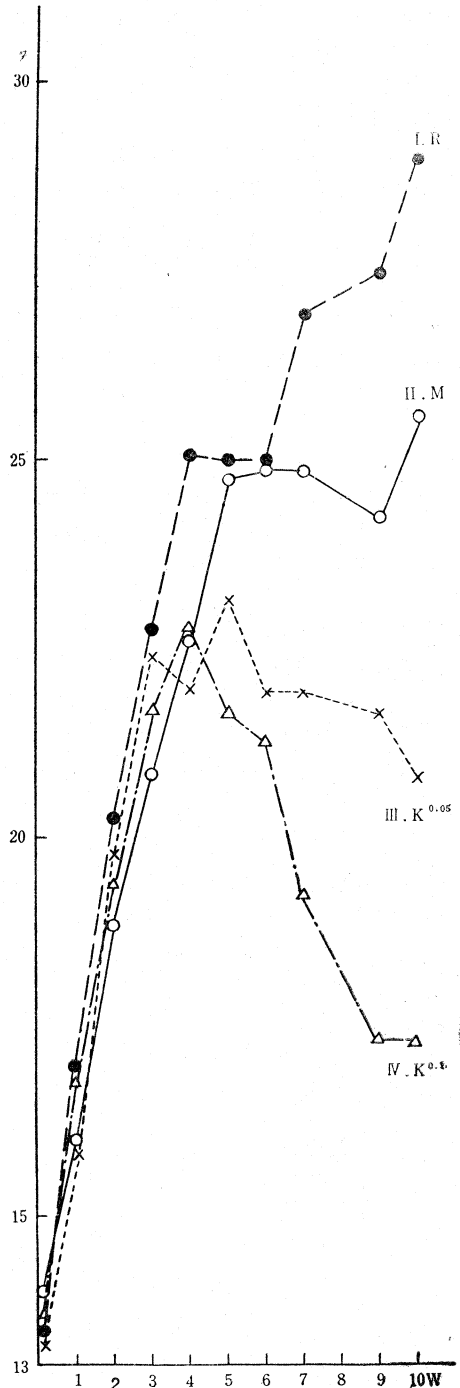
INH非含培地継代時に比べて耐性菌含有率の減少が比較的小さい傾向がみられた。なお 10  $\gamma/ml$  培地上保存菌集落の耐性は当然 Full Population を示した [図 2 (2)]。

(4) INH 非含培地上の菌集落の Catalase 反応は、耐性菌株のみの場合は継代培養ごとに陰性のままで、混合菌群においては混合時 12.8% および 7.17% に 10  $\gamma$  以上耐性菌を含むものは INH 非含培地継代9代まで終始陽性であり、いずれも継代培養による変化が認められなかった。

II. 動物実験

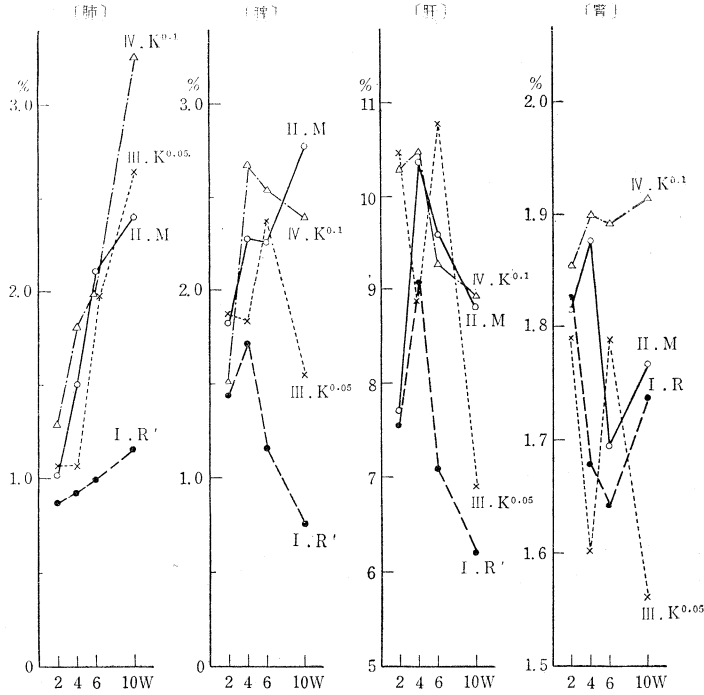
1. マウス体重の推移

図 3 マウス平均体重



菌接種後の平均体重の推移は図 3 のごとくで、3 ないし 4 週まではいずれも増加を続けるが、各群の差は 5 ないし 6 週以後著明となる。耐性菌感染群 (R') は引き続き増加するが、混合菌感染群 (M) は以後の変動少なく、感性菌感染の III, IV 群においては次第に減少をみるにいたつた。感染 10 週後の体重増加率は、

図4 臓器重量(対体重%)の推移



(R') + 114.8%, > (M) + 82.9%, > (K<sup>0.05</sup>) + 56.4%, > (K<sup>0.1</sup>) + 27.2% の順で著明な差がみられた。

2. 臓器重量の推移

4 臓器の平均重量の変動を、それぞれの平均体重に対する比(%)として図4に示す。肺においては体重増加率と著明に逆行して、感染10週後には(R') < (M)

< (K<sup>0.05</sup>) < (K<sup>0.1</sup>) となった。脾および肝でも耐性菌感染群(R')は最小で(M)および(K<sup>0.1</sup>)との差が大きく、それぞれの臓器内生菌単位数の消長に類似する傾向がみられたが、腎では4群の間の差は明らかでない。

3. 臓器内生菌単位数の消長と、そのINH耐性菌含有率の変動

4 群の各臓器10mg当りの平均生菌単位数の消長

を、耐性菌感染群(R')と混合菌感染群(M)における10<sup>7</sup>以上INH耐性菌含有率の変動と対比してみると図5(1)、(2)のごとく、肺においてもつとも著明な傾向が認められた。

1) 肺: 耐性菌感染群(R')では10週後まで生菌単位数は増減なく、またその耐性菌含有率にもほとんど変動がない。混合菌感染群(M)では生菌単位数は2→4週と6→10週には変動なく、4→6週の間は感性菌感染(III, IV)群にみられると同様の著明な菌増殖が認められた。混合菌群中の耐性菌含有率は、この生菌単位数の消長と密接に逆行して2→4週および6→10週には変動少なく、4→6週の間には激減することが認められた。これは混合菌群において4→6週の間には増殖するのは混在する感性菌であることを示すものと考えられ

図5(1) 臓器内生菌単位数(10mg当り)とそのINH耐性Populationの推移

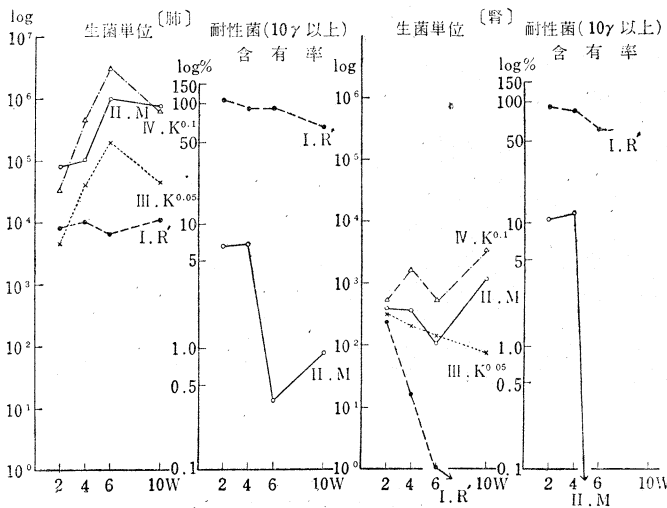
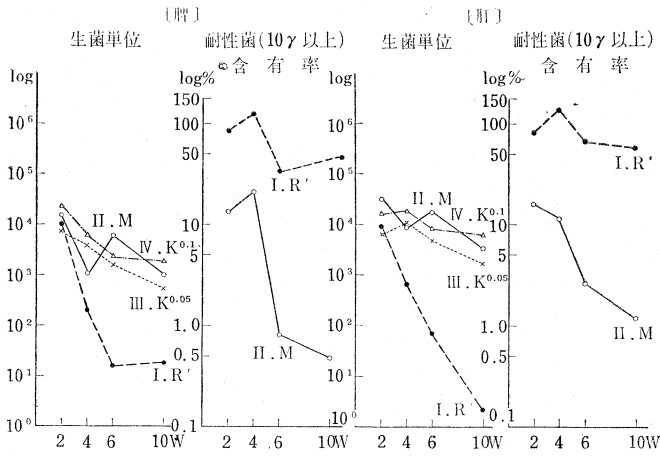


図 5 (2) 臓器内生菌単位数 (10 mg 当り) とその I NH 耐性 Population の推移



る。

また感性菌感染 (III, IV) 群においては、生菌単位数は 6 週後まで著明に増加したのち減少して、感染 10 週後は 4 週後とほぼ等しかった。10 週後の生菌単位数は (R') がもつとも少なく、(K<sup>0.1</sup>) および (M) が等しく、(K<sup>0.05</sup>) はその中間にあつて各 1 Order 宛の差を認められた。

2) 腎：耐性菌感染群 (R') では脾、肝におけると同様に生菌単位の激減をみ、10 週後は 10<sup>-2</sup> 稀釈においては培養陰性となつた。これに対して III (K<sup>0.05</sup>) 群の生菌単位の変動は少ないが、混合菌感染群 (M) では IV (K<sup>0.1</sup>) 群におけると同様にいずれも 4→6 週に減少傾向をみたのち、6→10 週にはかなりの菌増殖がみられるにかかわらず、混合菌群中の含有耐性菌は 4 週までは変動せず 6 週以後には 10<sup>-2</sup> 稀釈において培養できなかつた。

なお IV, II 群と III 群との間の 10 週後の生菌単位数差は、肺におけるそれに近似して 1 Order 前後であつた。

3) 脾：耐性菌感染群 (R') では生菌単位数は 2→4→6 週と激減してゆくが、6→10 週は変動がない。生菌単位の著明な減少のさいに耐性菌含有率の軽度の減少が認められた。混合菌感染群 (M) においては生菌単位数は一たん減少したのち 4→6 週にわずかに増加し、以後再び減少して 10 週後は 4 週目とほぼ等しくかなりの生菌単位数を保つにかかわらず、その耐性菌含有率は 4→6 週の間に激減を示した。

感性菌感染 (III, IV) 群も経過とともに生菌単位の減少をみたが軽度であつた。また IV, II, III の各群の間の生菌単位数差は全経期間中僅少であつたのに対して、これらと I 群 (R') との間には 2 Order 前後の著しい差がみられた。

4) 肝：耐性菌感染 (I) 群の生菌単位数は経過とともに激減を続けるが、その耐性菌含有率が軽度の変動を示すにすぎないのは脾におけるそれに類似する。混合菌感染 (II) 群も 2→10 週までに、感性菌感染 (III, IV) 群にみられるとき僅少な減少傾向をみるが、脾におけると同様にかかなりの生菌単位数を保ちながらその耐性菌含有率は 4→6 週の間に同様の激減が認められた。

なお IV, II, III 各群の間の生菌単位の差も脾におけると同様に僅少で、これらと I 群 (R') との間には 3 Order 以上の著しい差がみられた。

以上各群におけるそれぞれの臓器別生菌単位数はいずれも肺においてもつとも多く、脾、肝では大差なく腎ではやや少なかつ

た。

また 4 群の間の生菌単位の差は、肺においては 2 週目より著明で 10 週後は (IV) ≃ (II) > (III) > (I) であつたが、脾、肝では終始 IV, II, III 群の差は僅少で I 群のみ著明な減少をみた。腎でも 2 週目は各群の差は少なく、10 週後は (IV) > (II) > (III) の順で I 群は 10<sup>-2</sup> 稀釈では対照培地にも菌集落の発生がみられなかつた。

I NH 耐性 Population の推移をみると 10 γ/ml 以上 I NH 耐性の菌を含む比率は、耐性菌感染群 (R') ではいずれの臓器においても 10 週後まで変動が少ない。ことに肺内では安定を示した。他の臓器にみられた僅少の変動、ことに 4→6 週の軽度の減少は全生菌単位数の減少のためであろう。これに対して混合菌感染群 (M) における含有耐性菌の比率変動にはほぼ一定の傾向がみられた。すなわち 4 臓器のいずれにおいても 2→4 週まではほとんど変動なく、感染時と同様の比率に保たれるが、4→6 週に激減がみられ、6→10 週後は再び変動が比較的僅少であつた。この含有耐性菌激減の時期に一致して 4→6 週に全生菌単位数は、肺において著明な増殖を示し脾、肝でも増殖傾向が認められた。腎においては 6→10 週に全生菌単位の増加をみるにかかわらず、その含有耐性菌は激減して 4 週以後は 10<sup>-2</sup> 稀釈でも培養できなかつた。

これらの経過を感性菌感染群 (III, IV) における生菌単位の消長とあわせ考えると、マウス肺内においては I NH 耐性菌に比して感性菌の増殖がより著明で、また腎、脾および肝では I NH 耐性菌の減少が感性菌より速やかなために、混合菌群における I NH 耐性 Population は変動をきたしやすく、その耐性菌含有率は感染後 4→6 週の間に減少が著明であつた。これに対して感性菌の混在が僅少で試験管内で安定した耐性菌を

感染した群では、耐性菌含有率の変動は少なく安定性が認められた。

しかしながら感染時 12.8% に耐性菌を含有する混合菌群においても、10 週後の肺脾肝においてなお 1.0% 前後に耐性菌が残存し完全な感性感化はみられなかった。また 10  $\gamma/ml$  以上の高耐性菌の減少のほうが 1.0  $\gamma/ml$  以下の低耐性菌の減少度よりもやや大なる傾向がみられた。

#### 4. Catalase 反応の経過

4 臓器より分離された対照培地上の菌集落の Catalase 反応は、混合菌群および感性菌群ではすべて陽性を示し、耐性菌感染群では陰性のままで変化がなかった。

#### 5. マウス致死状況

定時屠殺処理以外の実験期間中のマウス結核死は少数で、I 群 (R') 1/18 (46 日目)、II 群 (M) 1/20 (65 日目)、III 群 (K<sup>0.05</sup>) 1/22 (34 日目)、IV 群 (K<sup>0.1</sup>) 3/17 (47 日目、49 日目、70 日目) で各群の差は明らかでないが感性菌感染の群にやや多かつた。

### IV 総括および考案

#### I. 試験管内実験について

in vitro で耐性を獲得上昇した INH 耐性株を INH 非含有培地で継代を繰り返すと、速やかに感性に復帰、または耐性低下を示すという報告もあるが<sup>2)24)~29)</sup>、耐性の低下消失をみない報告も多い<sup>3)18)30)~38)</sup>。

またいろいろな Population 構成が考えられる患者材料から分離した INH 耐性菌群では、in vitro 継代によつてしばしば耐性が低下または消失すると報告されている<sup>18)23)25)29)~41)</sup>。

次に INH 耐性菌と感性菌、または高耐性菌と低耐性菌などを実験的に混合した菌群を継代培養した場合の成績では、耐性菌の占める比率は減少していくが、完全に感性菌のみになることはない<sup>5)20)29)31)</sup>。

INH 高耐性菌 (10  $\gamma/ml$ ) と低耐性菌 (0.1  $\gamma/ml$ ) の等量混合菌群を数代継代培養すると、2 例は 10  $\gamma$  耐性菌の含有率が 1% 以下になつたが、他の 2 例では含有率の減少を認めなかつたと小酒井<sup>42)</sup>は報告しており、安淵<sup>33)</sup>は鳥型竹尾株の INH 完全耐性の 1,000  $\gamma$  と 1  $\gamma$  との等量混合菌群について、継代 1 代目より耐性が変動し 7 代後完全耐性は 10  $\gamma$  になつたという。

単個菌分離 INH 耐性株の継代培養の成績では、柴田<sup>43)</sup>は 3~8 代、長田<sup>44)</sup>は 9 カ月間いづれも耐性の変動を認めず、稲垣<sup>21)</sup>は 3 株中 2 株が 16~22 代で完全耐性菌の消失をみたすと述べている。

以上のごとき INH 耐性菌の不安定性については Back Mutation の可能性も考えられるが<sup>22)45)46)</sup>、分離菌では Population 構成が種々雑多であるため<sup>35)36)47)~</sup>

51)、発育養素の要求性が複雑で INH 耐性菌の増殖が抑制されやすいこと<sup>3)6)~16)52)53)</sup>また Szybalski<sup>2)</sup>、Fisher<sup>3)</sup>、Dissmann<sup>4)</sup>、佐藤<sup>5)18)</sup>その他多くの報告のごとく<sup>17)19)~22)41)</sup>、INH 耐性菌の発育速度が感性菌に比べて遅いことなどが重要な因子であろう。

本実験においても、INH 耐性株のみの場合には INH 非含有培地で継代しても、その Population は 9 代まで変動が少なく安定している。しかし原株感性菌と混在すると不安定となり、1 ないし 2 代目より耐性菌は激減した。接種菌量を多くすれば、鈴木<sup>54)</sup>、中島<sup>55)</sup>などの成績のように 9 代まで耐性菌は消失しなかつた。また安淵<sup>33)</sup>、稲垣<sup>21)</sup>らの成績と同様に、継代開始前に INH 耐性菌含有率が 10% 程度以下の少ない場合のほうが、より多い場合に比べて継代による含有耐性菌の減少度が大い傾向がみられた。耐性菌減少のさいは、10  $\gamma$  以上の高耐性菌のほうが 1  $\gamma$  以下の低耐性菌よりも早く減少するようにみうけられた。

INH 耐性の恒久性は Catalase (+) のものではなく、(-) のものに比較的高いと Manten<sup>40)</sup>は述べており、大藤<sup>22)56)</sup>は混合菌株中の感性菌が少なくなると Catalase (-) になり、また特殊な培養条件下では Catalase (-) → (+) となることを認めている。継代培養菌の Catalase 反応は、INH 耐性株のみの場合は諸報告<sup>22)27)41)56)</sup>と同様実験期間中 Catalase 活性の復活はみられず、混合菌群においては最初から (+) のままであつた。

INH 非含有培地に発育した集落を、そのまま 5~10°C 程度で 10 週まで保存した場合の INH 耐性 Population は、INH 耐性菌のみの場合はもちろん変動少なく、原株感性菌と混在している場合でも継代培養時に比べれば含有耐性菌の減少が比較的少ないようにみうけられた。混合菌群を INH 10  $\gamma$  含有培地で培養して保存した場合はもちろん Full Population を示した。

これらの成績から、旺盛な分裂増殖を繰り返している継代培養時には、INH を含まない培地で継代すると感性菌と INH 耐性菌との増殖速度差が著明となるため、混在する感性菌によつて over grown されて含有耐性菌の比率が減少し Population 変動が大い。そしてその減少速度は継代前の菌群中の INH 耐性菌と感性菌との占める比率によつて左右され、最初に耐性菌の占める比率が大いほど相対的な含有耐性菌減少度が小さくなる傾向にあるように思われる。これに対して Viability に影響の少ないと思われる低温においては、感性菌と耐性菌との発育速度差が比較的少なくなるために、含有 INH 耐性菌の比率減少も軽度となるように考えられる。

#### II. 動物実験について

INH 耐性菌と感性菌、または高耐性菌と低耐性菌

などを混合、感染させてマウスに対する毒力および I NH 耐性分布をみた成績<sup>27)57)58)</sup>を総合すると、混合する感性菌の毒力の強い場合は耐性菌の Population は著しく減少するが、弱毒の場合は減少しないことが報告されている。

混合菌のモルモットの皮下感染実験においても<sup>20)59)~62)</sup>、結核病変が主として混在する感性菌によつて起こされ、含有耐性菌の著明な減少または消失をみることが示されている。

本実験における I NH 耐性菌の毒力は、肺内生菌単位よりみて原株感性菌黒野株に比べてかなり減弱しているが、マウスに対して無毒とはいいがたく、これはマウスにおける渡辺<sup>63)</sup>、中野<sup>1)</sup>およびモルモットにおける高崎<sup>64)</sup>の成績と一致する。

使用した I NH 耐性菌は、最初マウス体内で耐性を獲得したのち I NH 非含培地で継代を繰り返したもので、マウスに再接種して分離しても Population 変動がほとんどなく安定性を認めた。そこで原株感性菌との混合感染および各単独感染を行なつた4群のマウスについて、諸臓器における I NH 耐性菌と感性菌の分布動態を比較観察した。

マウス死亡率は感性菌 0.1 mg 感染群にやや多いが、他群との差が明らかでなかつたのは水之江ら<sup>65)</sup>のいう遠心菌液を用いたことも関係しているかと思われる。体重増加率は耐性菌感染群において最大で、肺の重量と逆比例した。臓器より分離した菌集落の Catalase 反応はすべて、耐性菌感染群(-)、感性菌感染群(+)、混合菌感染群(+ ) のままで変化をみながつた。

臓器別生菌単位、ことに肺においては耐性菌感染群では 10 週後まで増減なく耐性菌含有率も変動が少ないが、混合菌感染群の生菌単位は 4→6 週の間感性菌感染群におけると同様の著しい菌増殖が認められるにかかわらず、混合菌群中の耐性菌含有率はこの間に激減を示した。これは混合菌感染群において 4→6 週の間増殖するのは混在する感性菌であることを示している。また腎においては耐性菌感染群は急速に生菌単位の減少をみ 10 週後  $10^{-2}$  稀釈では培養して集落を認めないが、それまでは耐性菌の Population の変動はほとんどない。これに対して混合菌感染群では感性菌感染群と同様、6→10 週に再び菌増殖傾向を示すにかかわらず、菌群中の  $10^7$  以上耐性菌は 6 週以後  $10^{-2}$  稀釈では培養しても集落が認められず、 $1^7$  以下の耐性菌がわずかに認められたのみであつた。脾および肝においても耐性菌感染群では著明な生菌単位の減少と耐性菌の Population に軽度の変動がみられるが、混合菌感染群ではかなりの生菌単位を保つにかかわらず、感染後 4→6 週の間耐性菌含有率の著しい減少がみられた。

すなわち I NH 耐性菌のみの場合はマウス臓器内に

においても安定しているが、感性菌と混在すると Population 変動が甚しくなる。これは I NH 耐性菌の増殖に比して感性菌のそれが著明なためか、あるいは感性菌よりも耐性菌のほうがより速やかに体内より消失するためか、菌集団中の I NH 耐性菌の占める比率が激減する。その経過はいずれの臓器においても、感染後 2→4 週は変動少なく、4→6 週の間激減したのち 6→10 週後は再び変動が少ない傾向がみられた。したがつて混合菌群の毒力は主として感性菌によつて示されることがうかがえる。しかし菌接種時の耐性菌含有率 12.8% のものが 10 週後なお 1.0% 前後であつたことから、混合菌集団においても動物体内で完全に感性化することは容易であるとは考えがたい。

## V 結 論

安定した I NH  $10^7/ml$  以上完全耐性の黒野株と原感性株を用いて試験管内実験と動物実験を行なつた。

- 1) I NH 耐性株のみを I NH 非含培地で継代しても 9 代まで Population 変動はほとんどなかつた。
- 2) I NH 耐性菌と感性菌の混合菌集団を継代培養すると、両者の増殖力の差が著しいため耐性菌の Population が減少する。このさい、感性菌の混在率が多いほど、また高耐性のほうが低耐性よりも早く減少する傾向が認められた。
- 3) 低温保存時には I NH 耐性菌と感性菌との増殖能の差が少なくなるためか、継代培養時に比して混合菌集団における I NH 耐性の Population の変動が小であつた。
- 4) マウスに対する混合菌集団の毒力は、主として混在する感性菌によつて示されるようで、感染後 4→6 週の間 I NH 耐性菌と感性菌の差がもつとも著明に現われた。これはマウス体内における耐性菌および感性菌の増殖率の差によるものであろう。
- 5) I NH 耐性菌が 10% 程度の混合菌集団においても、マウス体内で 10 週後まで耐性菌の残存がみられ、感性菌のみにはならなかつた。

## 文 献

- 1) 中野昭：結核，35：206，昭35。
- 2) Szybalski, W. et al. : Am. Rev. Tuberc., 65 : 768, 1952.
- 3) Fisher, M. W. : ibid., 66 : 626, 1952.
- 4) Dissmann, E. : Naturwissenschaften, 41 : 218, 1954.
- 5) 佐藤直行：結核，30：119，昭30。
- 6) Middlebrook, G. et al. : Science, 118 : 297, 1953.
- 7) Middlebrook, G. : Am. Rev. Tuberc., 69 : 471,

- 1954.
- 8) Fisher, M.W. : *ibid.*, 69 : 476, 1954.
- 9) Fisher, M.W. : *ibid.*, 69 : 797, 1954.
- 10) Cohn, M.L. : *ibid.*, 70 : 465, 1954.
- 11) Cohn, M.L. et al. : *ibid.*, 70 : 641, 1954.
- 12) Middlebrook, G. et al. : *ibid.*, 70 : 852, 1954.
- 13) Barry, V.C. et al. : *ibid.*, 71 : 785, 1955.
- 14) Middlebrook, G. et al. : *ibid.*, 75 : 155, 1957.
- 15) Peizer, L.R. et al. : *ibid.*, 68 : 290, 1953.
- 16) Steenken, W. Jr. et al. : *ibid.*, 68 : 548, 1953.
- 17) 坂本彩児 : 神戸医科大学紀要, 8 : 1, 昭29.
- 18) 佐藤直行 : 医学と生物学, 31 : 250, 昭29.
- 19) 上田新 他 : 結核, 31 (増刊号) : 141, 昭31.
- 20) 山上清 : 大阪大学医学雑誌, 10 : 941, 昭33.
- 21) 稲垣忠子 : 胸部疾患, 3 : 430, 昭34.
- 22) 大藤真 : 結核研究の進歩, 26 : 188, 昭34.
- 23) 渡辺元洋 : 結核, 34 : 503, 昭34.
- 24) Pansy, F. et al. : *Am. Rev. Tuberc.*, 65 : 761, 1925.
- 25) Barnett, M. et al. : *Lancet*, CCLXIV : 314, 1935.
- 26) 中山瑛一 : 九州大学結核研究所紀要, 2 : 1, 昭30.
- 27) 曾和健次 : 大阪大学医学雑誌, 10 : 951, 昭33.
- 28) 田中完己 : 日本細菌学雑誌, 13 : 781, 昭33.
- 29) 渡辺定友 他 : 呼吸器診療, 14 : 445, 昭34.
- 30) Knox, R. et al. : *Lancet*, CCLXIII : 854, 1952.
- 31) Lecocq, N. et al. : *Compt. rend. Soc. Biol.*, CXLVII : 522, 1953.
- 32) 柳沢謙 他 : 結核研究の進歩, 1 : 42, 昭28.
- 33) 安淵義男 他 : 日本臨床結核, 14 : 987, 昭30.
- 34) Tsukamura, M. et al. : *The J. of Antibiotics*, Ser. A, 9 : 132, 1956.
- 35) 三浦幸二 : 結核, 31 : 616, 昭31.
- 36) 三浦幸二 他 : *ibid.*, 32 : 567, 昭32.
- 37) 菊地正世 : 抗酸菌病研究雑誌, 13 : 212, 昭33.
- 38) 諸星淳造 : 東京慈恵会医科大学雑誌, 74 : 47, 昭34.
- 39) 英軒 : 金沢大学結核研究所年報, 13 : 57, 昭30.
- 40) Manten, A. et al. : *Acta tuberc. scand.*, 34 : 190, 1957.
- 41) 徳久梯二郎 : 呼吸器診療, 14 : 441, 昭34.
- 42) 小酒井望 : 結核, 33 (増刊号) : 350, 昭33.
- 43) 柴田一郎 : *ibid.*, 32 : 17, 昭32.
- 44) 長田進 : *ibid.*, 33 : 699, 昭33.
- 45) 堀三津夫 : *ibid.*, 33 (増刊号) : 14, 昭33.
- 46) 堀三津夫 : 結核研究の進歩, 24 : 168, 昭34.
- 47) Morse, W.C. et al. : *Am. Rev. Tuberc.*, 69 : 464, 1954.
- 48) Meissner, G. et al. : *Beitr. Klin. Tub.*, 116 : 114, 1956.
- 49) 東村道雄 : 医学と生物学, 38 : 11, 昭31.
- 50) 東村道雄 他 : 日本化学療法学会雑誌, 5 : 105, 昭32.
- 51) Tsukamura, M. et al. : *The J. of Antibiotics*, Ser. A, 10 : 31, 1957.
- 52) 牛場大蔵 他 : 日本臨床結核, 17 : 618, 昭33.
- 53) 牛場大蔵 他 : 結核研究の進歩, 26 : 63, 昭34.
- 54) 鈴木九五 他 : 九州大学結核研究所紀要, 4 : 98, 昭33.
- 55) 中島康次 : 昭和医学会雑誌, 19 : 186, 昭34.
- 56) 大藤真 他 : 結核, 33 (増刊号) : 253, 昭33.
- 57) 徳久梯二郎 : 呼吸器診療, 13 : 563, 昭33.
- 58) 杉本一 : 結核, 33 : 803, 昭33.
- 59) Rist, N. et al. : *Rev. tuberc.*, 19 : 659, 1955.
- 60) Meissner, G. : *Dis. Chest*, 26 : 15, 1954.
- 61) Meissner, G. : *Beitr. Klin. Tub.*, 110 : 538, 1954.
- 62) Meissner, G. : *ibid.*, 113 : 62, 1955.
- 63) 渡辺元洋 : 結核, 34 : 533, 昭34.
- 64) 高崎宗陽 : *ibid.*, 35 : 363, 昭35.
- 65) 水之江公英 他 : *ibid.*, 31 : 344, 昭31.