

結核菌の 1314 Th 耐性に関する臨床的研究 (第 2 報)

東 村 道 雄・安 保 孝・河 西 栄 文

国 立 療 養 所 大 府 荘

受 付 昭 和 37 年 1 月 5 日

Alpha-ethyl-thioisonicotinamide (1314 Th) が高い菌陰転率を示す点で優れた抗結核剤であることはすでに広く承認されたところである。しかし 1314 Th の場合にも、他の抗結核剤と同様に耐性の出現が治療の障害となる。結核菌の 1314 Th 耐性に関する特徴は、Rist など¹⁾、Brouet など²⁾、Routier など³⁾、東村など⁴⁾⁵⁾ によつて指摘された自然耐性株の存在である。この自然耐性株が 1314 Th 治療の重大な障害となることは著者⁶⁾ により観察された。われわれの成績によれば、1314 Th 未使用患者中にも約 20% の自然耐性株保有者がある⁵⁾。すなわち 1314 Th の治療効果は初回治療でもかなりの個人差があり、自然耐性例ではほとんど治療効果を期待できない場合もある。また 1314 Th 治療に伴う耐性の出現は速やかでおおよそ 1~4 カ月^{3)~9)}、平均 2.5 カ月⁴⁾ であり、5 カ月以後には菌陽性者全例が耐性となるという⁹⁾。本報では前報⁴⁾⁵⁾ に続いて、(1) 自然耐性と治療効果の関係、(2) 耐性出現経過、(3) 耐性の安定性、(4) 併用による耐性阻止について観察した結果を報告する。

観察材料および方法

国立療養所大府荘入院中の患者で慢性空洞性肺結核を有し、SM, PAS, INH 3 者に耐性を示す患者 25 例 (ただし 3 例は SM のみ感性) を対象とした。耐性検査の方法は 1% 小川培地を用いる actual count 法 (直接法)¹⁰⁾ でその詳細は前報した⁴⁾。検査は毎月、1314 Th のほかに、Kanamycin (KM), SM, PAS, INH 5 剤について施行した。喀痰は 1 日痰を用いた。

治療方法: 1314 Th は 1 日 0.5 g で毎日投与し、全例に耐性薬剤 (SM, PAS, INH) を併用した。1314 Th と耐性薬剤を使用した場合は事実上 1314 Th の単独に近い条件と思われるので (無効とは考えられぬが¹¹⁾), 便宜上以下 1314 Th 単独という。治療区分は、1314 Th 単独 13 例, 1314 Th+KM (1 週 2 g) 併用 6 例, 1314 Th+Cycloserine (CS, 毎日 0.5 g) 併用

4 例, 1314 Th+SM (1 週 2 g) 併用 2 例である。1314 Th 投与期間は 4 カ月である。

治療効果の判定は、「菌陰転」または菌陰転がなくても空洞が 1/2 以下に縮小し、かつ血沈、咳嗽、喀痰の減少が著明な例を「好転 (improvement)」とし、他を「不変」とした。自覚症状のみの好転は不変とした。

観察結果ならびに考察

1. 自然耐性と治療効果の関係 (表 1, 図 1)

治療前耐性度 (自然耐性) と治療効果 (4 カ月治療後) の関係は表 1 のごとくになる。治療前 5 γ 耐性のもは大部分好転しているが、10 γ 以上のもは大部分不変である。10 γ 以上耐性で好転した 1 例は CS 併用例であつた。

2. 1314 Th 治療に伴う耐性上昇経過 (図 1)

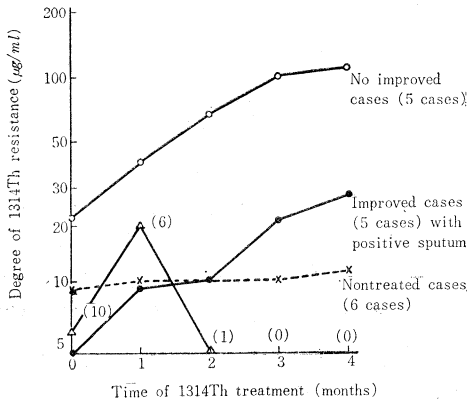
治療前の耐性度と治療効果の密接な関係は図 1 にもみられる。不変例ははじめから耐性度が高い。菌が陰転しない例は不変例も好転例も耐性度が上昇する。上昇は両者ほぼ並行的であるごとくにみえるが、不変例ははじめの耐性度が高いだけ上昇の終値が高い。好転例の 3

Table 1. Relationship between the Resistance Level to 1314 Th before Treatment and the Rate of Sputum Conversion or Therapeutic Effect of the Drug

Level of 1314Th resistance before treatment	Rate of sputum conversion	Rate of clinical improvement
5 $\mu\text{g/ml}$	9/16	14/16
10	0/3	0/3
20	1/4 *	1/4
30	0/1	0/1
50	0/1	0/1
	10/25	15/25

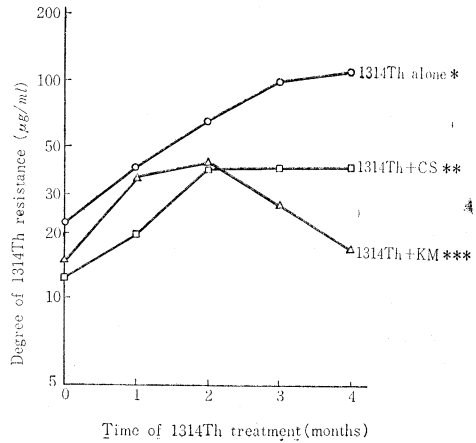
* This case of sputum conversion was the case treated with 1314Th plus cycloserine.

Fig. 1. Change in ¹³¹⁴Th Resistance in the Patients Treated with or without ¹³¹⁴Th Alone (Average value)



Open triangles indicate the improved cases showing sputum conversion (10 cases). Numbers in brackets indicate the numbers of positive sputum cases. Nontreated cases mostly consisted of very far-advanced cases and, accordingly, it appears that the degree of ¹³¹⁴Th resistance in this control group has been higher at the beginning of the observation than that in the improved groups⁵⁾.

Fig. 2. Change in ¹³¹⁴Th Resistance in the Patients Treated with ¹³¹⁴Th with No Significant Clinical Improvement



* ¹³¹⁴Th alone (daily 0.5 g), average of 5 cases; ** ¹³¹⁴Th plus cycloserine (daily 0.5 g), average of 2 cases; *** ¹³¹⁴Th plus kanamycin (weekly 2 g), average of 3 cases. Degree of resistance was expressed as an average value.

Table 2. Effect of Single Use of ¹³¹⁴Th and Combined Use of It with Other Drugs on Sputum Conversion

	Rate of sputum conversion
¹³¹⁴ Th alone	3/15 (23%)
¹³¹⁴ Th + Kanamycin	3/6
¹³¹⁴ Th + Cycloserine	2/4
¹³¹⁴ Th + Streptomycin	2/2
	7/12 (58%)

4. ¹³¹⁴Th 投与の既存耐性に及ぼす影響 (表 3)

¹³¹⁴Th 投与により既存の他薬剤 (SM, P A S, INH) 耐性が低下するということが Daddi など⁶⁾¹³⁾により報告されている。しかし、このような問題は routine 法では観察困難と思われるし、また間接法で一応接種菌量 (mg) を揃えても、同一菌量に含まれる生菌数の動揺によつてはなほ信頼度の低い結果しか得られない。かかる問題をとり扱うには、接種生菌数を一定化する actual count 法がもつとも適当であると思われる。われわれが actual count 法で測定した結果をまとめると表 3のごとくなる。われわれの例は全例耐性薬剤を用いているが、菌陰転に失敗し、耐性薬剤の投与にもかかわらず耐性が比較的一定化している例 (1 段階以内) で、われわれのいう耐性限界¹⁴⁾¹⁵⁾に達した例である。したがつて、既存耐性に対する影響の観察には比較的適当な例と思われるが、得られた結果は Daddi の報告を支持するにはいたらなかつた。すなわち、症例数が 15 例だけのためなお検討の余地はあるが、1 段階

カ月後の耐性度が、不変例の治療前の耐性度とほぼ同程度であることは興味深い。事実、この時期にはちょうど ¹³¹⁴Th の治療効果が判然としなくなる時期であつた。したがつて、¹³¹⁴Th の「臨床耐性」の境界が 20~30 r であるとした前報⁴⁾の結論はまず適当と思われる。菌陰転例は 1 カ月後一過性に耐性度の上昇がみられたが、2 カ月以後には大部分菌が陰転した。非治療例の耐性度が高いのは超重症例のためかと思われる⁵⁾。また非治療例の耐性度が横這いであるのは、actual count 法耐性検査が比較的正確である一つの証査とみられる。

3. Cycloserine 併用, Kanamycin 併用または SM 併用による ¹³¹⁴Th 耐性出現の遅延 (図 2, 表 2)

治療によつて菌が陰転せず、臨床経過も不変の例で、耐性上昇の経過をみると図 2のごとくなる。図から CS 併用または KM 併用が ¹³¹⁴Th 耐性出現を遅延させることが推定される。SM 併用例は 2 例とも菌陰転したので比較ができなかつたが、おそらく有効であることはまず疑いないように思われる。

菌陰転率は表 2 に掲げたが、CS, KM, SM の併用により菌陰転が増すことは明らかである。全体で約 40% の菌陰転を得たが、多剤耐性例にこのような高率の菌陰転をみたことは、著者の経験では、KM, VM, CS に勝る好成绩であるように思われる。併用による菌陰転率の上昇は当然のことではあるが、¹³¹⁴Th 使用時の組合せ薬剤として KM, CS, SM が適当であることを示している。併用による成績の向上は堂野前など¹²⁾の臨床的観察と一致する。

程度の低下例とともに同程度の上昇例も認められ、既存耐性が低下するとは思われなかつた。

5. 1314 Th 併用の KM 耐性出現に及ぼす影響 (表 3)

1314 Th-KM 併用で菌陰転をみなかつた 3 例中 2 例は、4 カ月目に KM 1,000 γ 耐性が出現したが、1 例は KM 100 γ 耐性以下 (感性) にとどまつた。KM 投与では CS 1 日 0.5 g 1 週 2 日と併用しても 3 カ月後には KM 100 γ 耐性~1,000 γ 耐性になるから¹⁰⁾、4 カ月後でも KM 100 γ 感性の 1 例があつたことは、1314 Th 併用が多少とも KM 耐性出現を抑制する力があるものと思われる。

6. 1314 Th 耐性の安定性 (表 4)

1314 Th 投与の中止後、耐性薬剤 (SM, PAS, INH) を投与しつつ 1314 Th 耐性の推移を観察した結

Table 3. Effect of 1314Th Treatment on the Drug Resistance to Other Drugs, Which Had Been Already Established, in the Cases with No Sputum Conversion

Drug	Degree of Resistance		
	Increased	Unchanged	Decreased
Streptomycin	1	10	4
PAS	6	9	0
INH	5	7	3
Kanamycin	2 *	1 *	

Numbers in table indicate the numbers of the cases observed.

* Treated with 1314Th plus kanamycin.

果は表 4 のとおりである。1314 Th 耐性は投薬中止後 8 カ月後も安定に保持されている。

Table 4. Stability 1314Th Resistance after Discontinuation of 1314Th Administration

Case	Degree of 1314Th resistance ($\mu\text{g/ml}$)												
	Treated with 1314Th					Not treated with 1314Th *							
	0	1m	2m	3m	4m	5m	6m	7m	8m	9m	10m	11m	12m
1	5	20	20	30	30	20	50	30	30	30	50	10	30
2	5	10	5	5	20	20	30	50	50	30	50	50	30
3	10	30	50	50	30	30	50	50	50	50	50	50	50
4	10	5	50	50	100	100	100	200	50	100	100	100	100

m= month

* Treated with "resistance-drugs" alone.

総 括

1) 多剤耐性結核菌を有する慢性空洞性肺結核 25 例に 1314 Th 単独 (ただし耐性薬剤を併用) 13 例, Cycloserine 併用 4 例, Kanamycin 併用 6 例, SM 併用 2 例の投与を 4 カ月行なつて、耐性の推移を actual count 法で毎月追求した。

2) 1314 Th+耐性薬剤の場合の菌陰転率は 3/13 (23%) であつたのに対して、CS 併用, KM 併用または SM 併用の場合の菌陰転率は 7/12 (58%) で著明に高率であつた。CS, KM, SM などは 1314 Th の併用薬剤として有効であると思われる。

3) 1314 Th 耐性の出現は CS または KM の併用により遅延した。

4) 治療前の 1314 Th 耐性度 (自然耐性度) と 1314 Th の治療効果の間には密接な関係がある。自然耐性例に対する治療効果は低い。したがつて 1314 Th の治療効果は初回治療でも個人差が著しい。1314 Th 耐性度が

actual count 法で 20~30 γ 耐性に達すると治療効果は激減する)

5) 1314 Th 4 カ月の投与によつて、既存の耐性はほとんど影響を受けない。

6) 1314 Th 治療で出現した 1314 Th 獲得耐性は治療中止後 8 カ後にいたつても安定に保持されている。

本研究に使用した 1314 Th は塩野義製薬株式会社学術部から提供を受けた。ここに謝意を表する。

文 献

- 1) Rist, N., Grumbach, F., & Libermann, D.: Amer. Rev. Tuberc., 79: 1, 1959.
- 2) Brouet, G., Marche, J., Rist, N., Chevallier, J., & LeMeur, G.: Amer. Rev. Tuberc., 79: 6, 1959.
- 3) Routier, J., Audrin, J., & Mme. Boyer: Poumon et Coeur, 7: 657, 1960.

- 4) Tsukamura, M., & Abo, T.: *Kekkaku*, 36: 361, 1961.
- 5) Tsukamura, M., & Kasai, E.: *Jap. J. Chest Dis.*, 20: 671, 1961.
- 6) Daddi, G., Corda, M., Grassi, C., e Sacerdoti, C.: *Giorn. Ital. tuberc.*, 12: 205, 1958.
- 7) Véran, P., Rist, N., Trichereau, R. et Moigneteau, C.: *Presse Medicale*, 67: 1597, 1959.
- 8) Nitti, V., Miraglia, E. e Virgilio, R.: *Arch. Tisiol. Mal. App. Resp.*, 15: 971, 1960.
- 9) Rist, N.: *Adv. Tuberc. Res.*, 10: 69, 1960.
- 10) Tsukamura, M., Abo, T., & Katsunuma, R.: *Kekkaku*, 34: 625, 1959.
- 11) Tsukamura, M.: *Adv. Tuberc. Res. (Japan)*, 27: 185, 1959 (in Japanese).
- 12) Donomae, I.: *Nihonjishimpo*, No. 1897: 9, 1960.
- 13) Daddi, G., Corda, M., Grassi, C., e Sacerdoti, C.: *Giorn. ital. tuberc.*, 18: 267, 1960.
- 14) Tsukamura, M.: *Kekkaku*, 35: 704, 1960.
- 15) Tsukamura, M., & Abo, T.: *Chemotherapy*, 9: 337, 1961.

Clinical Studies on the Alpha-ethyl-thioisonicotinamide (1314Th) Resistance of Tubercle Bacilli (Report II)

Chronic treatment-failure cases of pulmonary tuberculosis, who were excreting tubercle bacilli resistant to all of streptomycin (SM), isoniazid (INH) and PAS, were treated for 4 months with 1314Th alone (daily 0.5 gm, with "resistance-drugs" = SM, INH, PAS), with 1314Th + cycloserine (CS) (daily 0.5 gm), with 1314Th + kanamycin (KM) (weekly 2 gm), or with 1314Th + SM (weekly 2 gm). Degree of 1314Th resistance of tubercle bacilli was monthly determined in these cases. Drug resistance test for 1314Th was conducted by a direct method named by the authors as "the actual count method". The method consists of inoculating onto a series of egg media containing graded concentrations of the drug (0, 5, 10, 20, 30, 50, 100 and 200 $\mu\text{g/ml}$) each 0.02 ml of three dilutions, 10^0 , 10^{-2} and 10^{-3} , of sputum fluid, which was homogenized by addition of one volume of 5% KOH (or 8% NaOH). Count was made after 4 and 6 weeks and the degree of resistance was determined as the highest concentration of the drug, on which small inocula consisting of 10 to 100 (near fifty) viable cell units can grow. In other words, a series of media showing the nearest number of colonies to fifty per tube in the control were used for determination of the resistance levels. The results obtained are as follows:

1) Sputum conversion was obtained at a rate

of 3/13 (23%) in the single use of 1314Th and at a rate of 7/12 (58%) in the combined use (Table 2).

2) Natural resistance to 1314Th showed a close correlation with the therapeutic effect of 1314Th (Table 1 and Fig. 1). The existence of the natural resistance more than 10 $\mu\text{g/ml}$ markedly decreased the sputum conversion rate, and most cases of the sputum conversion were found in those cases showing a resistance level less than 5 $\mu\text{g/ml}$ before the treatment (Table 1).

3) Resistance to 1314Th reached a level more than 20 $\mu\text{g/ml}$ in all cases with positive sputum after the treatment with 1314Th for 3 months and no significant clinical improvement was observed after this time. Therefore, the limit of the resistance in clinical sense seemed to be 20 or 30 $\mu\text{g/ml}$ levels (Fig. 1).

4) Emergence of acquired resistance to 1314Th was retarded by the combined uses of 1314Th + CS and/or 1314Th + KM (Fig. 2). These drugs (and SM also) were considered to be effective drugs for the combination with 1314Th.

5) Degrees of resistance to SM, INH and PAS, which had existed before the treatment with 1314Th, was not markedly affected by the use of 1314Th for 4 months (Table 3).

6) Even after the cease of 1314Th administration, the resistance to 1314Th once established in tubercle bacilli remained stable throughout 8 months of treatment period with other drugs.