

肺結核患者結核菌の 1314 Th 耐性の持続性について

東 村 純 雄

国立療養所大府荘 (荘長 勝沼六郎博士)
名古屋大学医学部第一内科 (主任 日比野進教授)

受付 昭和 37 年 12 月 10 日

結核菌の 1314 Th (α -ethylthioisonicotinamide) 耐性の臨床的発現様式については、かなりの報告があるが、1314 Th 耐性が 1314 Th 中止後も持続するかどうかについての報告はきわめて少なく、東村 (道) など¹⁾ が 1314 Th 4 カ月投与によつて成立した 1314 Th 耐性例 4 例について “actual count”²⁾³⁾によつて毎月 8 カ月間観察した結果、1314 Th 耐性は持続的であると記載しているのみである。一方、山田など⁴⁾は昭和 37 年 4 月の日本結核病学会総会で東村 (道) などと反対の結果を報告した。すなわち山田などは 1314 Th 耐性例 6 例について観察し、5 カ月後に 6 例中 5 例に感性復帰を認めたとする。これらの相反する観察結果にかんがみ、著者は前回よりも症例を増し、「接種生菌数」による耐性度の動揺を防止するため “actual count 法”を採用して、1314 Th 耐性の持続性を検討したのでその結果を報告する。

実験方法

対象：国立療養所大府荘入院の患者で、慢性有空洞肺結核で、SM, PAS, INH 3 者耐性を示す患者に、1314 Th 1 日 0.5 mg を投与した。このさい耐性薬剤、kanamycin (KM) または cycloserin (CS) を併用したが、ともかく 1314 Th 耐性が発現したものを観察対象とした。観察期間は 1314 Th 中止後 5~17 カ月である。観察期間中耐性薬剤またはサルファ剤を使用したもの 8 例、耐性薬剤と KM を使用したもの 2 例、耐性薬剤と CS を使用したもの 1 例である。

耐性検査法：耐性検査は “actual count 法”²⁾³⁾によつた。すなわち 24 時間痰を採取し (この間、化学療法剤中止)、これに等量の 5% KOH を加えて均一化したのち、喀痰原液、100 倍希釈液、1,000 倍希釈液のそれぞれから 0.02 ml ずつを渦巻白金耳で次の 1314 Th を含む 1% 小川培地に接種した。1314 Th 濃度 0, 5, 10,

20, 30, 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ とし 6 週培養後に集落数を数え、対照培地に 10~150 集落を示す系列 (できるだけ 50 集落に近いもの) で、集落発生を示す最高濃度で耐性を表現した。1314 Th 耐性の定義としては前報¹⁾⁵⁾⁶⁾の結果に基づき、1314 Th 30 $\mu\text{g/ml}$ 耐性をとつた。

実験成績

観察結果は図 1~11 に症例を示し、これを表 1 に一括した。

(1) 1314 Th 耐性の持続性

11 例の 1314 Th 耐性例中、5~17 カ月の観察期間中に感性復帰 (耐性菌集団から感性菌集団への population change) を示したものは 2 例 (症例 6 および 10 で、残りの 9 例 (9/11=82%) は 1314 Th 耐性が持続した。(図 1~11, 表 1)。(真の感性復帰か、単なる動揺かは区別しがたいので、最終検査に 5~10 r 耐性 (二感性) の線に復帰したものを感性復帰と定義する。したがつて、これが耐性動揺の単なる一コマである可能性がもちろん存在する。

(2) 1314 Th 耐性の動揺

耐性が持続した例には、耐性度が比較的一定水準で持続したもの (7/9=80%) と耐性度の動揺のはなはだしいもの (症例 8 および 9, 2/9=20%) とがあつた。感性

Table 1. Stability of 1314 Th Resistance in Tubercle Bacilli Occurring in Sputa of Tuberculous Patients

	Time in months after the cease 1314Th administration						
	2	5	7	8	9	10	11
Number of 1314 Th resistance cases per the total cases observed*	10/11	10/11	9/10	8/9	8/8	6/6	3/3

* Ratio of 1314 Th resistance maintainance

Sumio TSUKAMURA (The Obuso National Sanatorium, Obu-cho, Chita-gun, Aichi Prefecture and the First Department of Internal Medicine, Medical School of Nagoya University, Nagoya, Japan): Stability of Alpha-Ethylthioisonicotinamide (1314 Th)-Resistance in Tubercle Bacilli Occurring in Tuberculous Patients.—Kekkaku, 38 (5) : 172~175, 1963.

Fig. 1. Case 1. ■ female

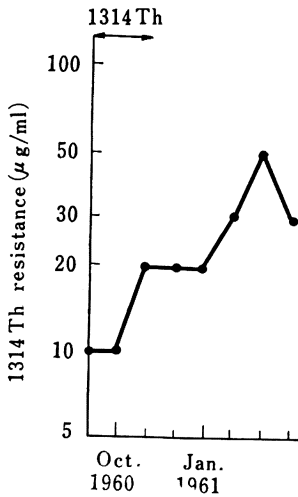


Fig. 2. Case 2. ■ female

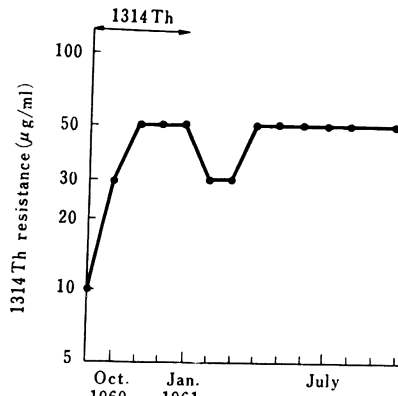


Fig. 3. Case 3. ■ male (Natural resistance case)

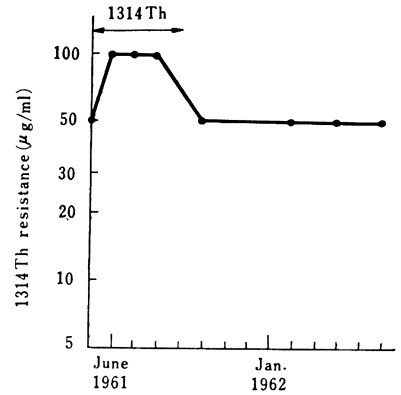


Fig. 4. Case 4. ■ male

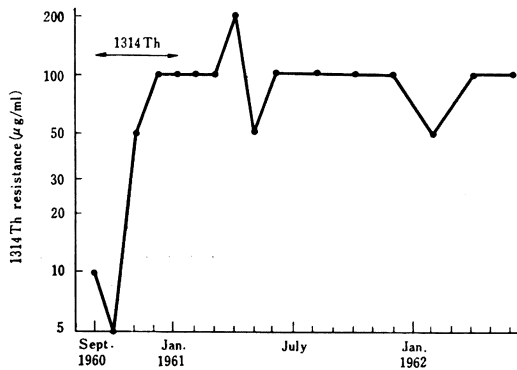


Fig. 5. Case 5. ■ male

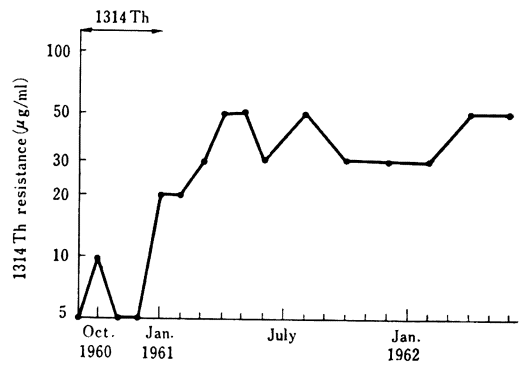


Fig. 6. Case 6. ■ female

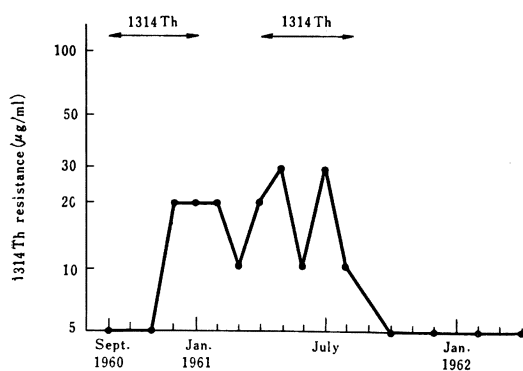
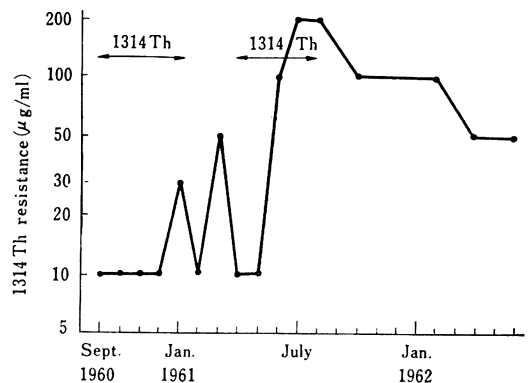


Fig. 7. Case 7. ■ female



復帰に数えた症例 10 もあるいはこのような動揺例かも知れない。

(3) 感性復帰と化学療法の関係

1314 Th 耐性発現後に, KM を使用したものが 2 例 (症例 3 および 8), CS を使用したもの (症例 11) が 1 例あるが, この 3 例では感性復帰は起こっていない。感性復帰が起こった 2 例はいずれも耐性薬剤を使用した

例である。したがって 1314 Th 中止後の化学療法剤の種類と感性復帰とが関係があるとは思われない。

症例 6 は明らかに感性復帰例とみなされる例であるが, この例は 1314 Th を 4 か月ずつ 2 回使用し, 第 2 回の 1314 Th (CS 併用) 中止の時すでに復帰が起こっている。

Fig. 8. Case 8. ■ male

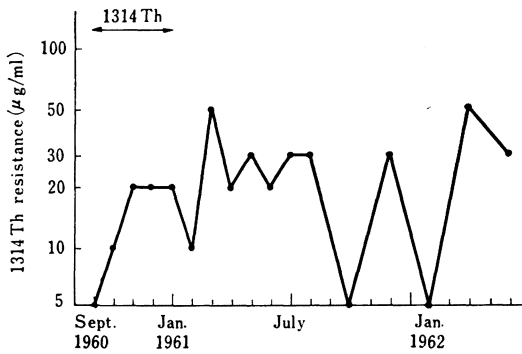


Fig. 9. Case 9. ■ male

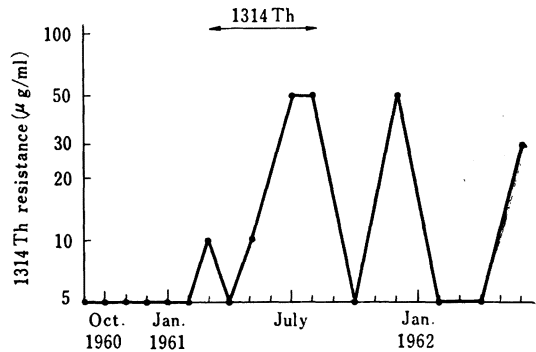


Fig. 10. Case 10. ■ female

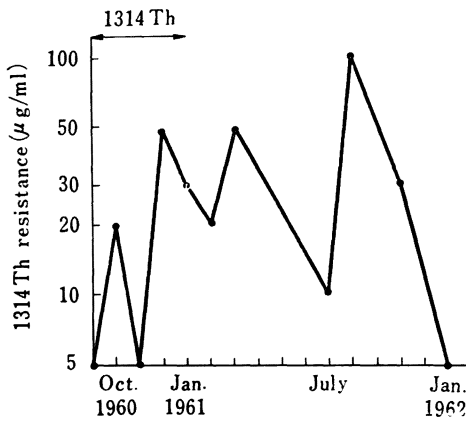
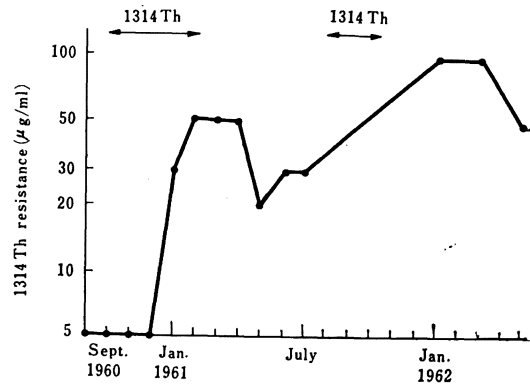


Fig. 11. ■ female



考 察

耐性動揺ないし感性復帰と他薬剤耐性との関連性

耐性動揺は感性復帰と密接な関係があると考えられる。検査期間が短い、検査回数が少なければ、耐性動揺は感性復帰とみえることもありうる。

1314 Th 耐性が動揺しつつ維持された2例と感性復帰を示した2例とで、他薬剤耐性の推移を“actual count法”で観察すると、症例8ではSM 1,000 r 耐性、PAS 1~10 r 耐性、INH 1 r 耐性で持続し、症例9ではSM 1,000 r 耐性、PAS 1~10 r 耐性、INH 0.1 r 耐性でこれらの耐性は1314 Th 耐性の動揺に関係なくほとんど一定している。

感性復帰例の症例6でもSM 1,000 r 耐性、PAS 10~100 r 耐性、INH 0.1~1 r 耐性で持続しているし、症例10でもSM 100~1,000 r 耐性、PAS 1~10 r 耐性、INH 1~10 r 耐性が持続している。この所見は次のように考えれば説明できるように思われる。すなわちSM、PAS、INHはいままで繰返し使用されたために、排菌病巣のほとんど全部の菌が耐性菌になっているが、1314 Thのほうは使用期間が比較的短期間であるために、淘汰が不十分で、一部の病巣に感性菌が残っている。そ

してときどきこれらの感性菌が多く排泄されるものと思われる。したがって1314 Thの使用がもつと長期になればなるほど安定に耐性菌集団が生じるだろうと思われる。試験管内実験では結核菌の1314 Th耐性は他の薬剤耐性と同様に安定である。耐性菌集団が継代に対して安定なのはMycobacteriumの一つの特徴と思われる。

感性復帰の他の原因としては、排菌数の減少もあげられる。完全に均一化していない菌集団では、耐性度は「接種生菌数」の大小によって動揺する。したがって症状が好転して排菌数が減少すると、routine法で検査していれば同一構成の菌集団を排泄していても耐性度が低下してくることがありうる。しかし、本報の検査は“actual count法”で行なっているため、このような可能性は考えにくい。

本報では全例について毎回、1日排菌数(生菌単位)を測定したが、感性復帰例の症例6では1日排菌数は $10^8 \sim 10^4$ で経過し、症例10でも1日排菌数は観察期間中 10^8 の単位をおおむね維持した(1314 Th使用後一時 10^5 まで減少したが耐性菌集団が変わると同時に 10^8 の単位に復した)。

山田など⁴⁾は6例の1314 Th耐性例について5ヵ月後に耐性度を測定し、5例に感性復帰を認めたと報告して

いる。その結果がわれわれの成績と相反する理由は、耐性度測定が routine 法で行なわれているために、「接種生菌数」の動揺のために耐性度が動揺した例も復帰例と数えられる場合があるのではなからうか。しかしわれわれの“actual count 法”で検した場合も少数例では山田などがいうごとき感性復帰現象が存在することが認められた。

結 論

1314 Th 耐性の出現した肺結核患者 11 例について、1314 Th 投与中止後 5～17カ月にわたって、接種生菌数を比較的一定化する耐性検査法 (actual count 法) で 1314 Th 耐性を追求した。その結果 11 例中 9 例では観察期間中耐性が維持された。これら 9 例中 7 例は耐性度が比較的一定水準に維持されたが、2 例では動揺がはなはだしかった。感性復帰は 2 例で起こったが、KM や

CS など新抗結核剤の使用とは関係がなかつた。

以上の結果から、1314 Th 耐性も他抗結核剤耐性と同等に人体内で比較的安定なものと考えられる。

ご指導を受けた勝沼六郎荘長、日比野進教授、大府荘内科医長東村道雄博士に感謝の意を表する。

文 献

- 1) 東村道雄・安保孝・河西栄文：結核，37：141，昭37.
- 2) 東村道雄：医学と生物学，49：89，昭33.
- 3) 東村道雄・安保孝・勝沼六郎：結核，34：625，昭34.
- 4) 山田豊治 他：結核，37：529，昭37. (結核病学会演説要旨)
- 5) 東村道雄・安保孝：結核，36：361，昭36.
- 6) 東村道雄・河西栄文：日本胸部臨床，20：671，昭36.
- 7) 東村道雄・河西栄文：Chemotherapy，4：227，昭31.

Stability of Alpha-Ethylthioisonicotinamide(1314 Th)-Resistance in Tubercle Bacilli Occurring in Tuberculous Patients

Tuberculous patients having chronic cavities and excreting tubercle bacilli resistant to streptomycin, isoniazid and PAS were treated with 1314 Th (daily 0.5 gm) for four months and it was observed whether or not 1314 Th-resistant population of tubercle bacilli produced by the treatment is persistent after the cease of 1314 Th administration. Drug resistance test was made by the so-called “actual count method”.²⁾³⁾⁵⁾ This method consists of the determination of drug resistance level as the highest concentration of drug, on which small inocula consisting of 10 to 150 viable cell units (nearest to 50) can grow as visible colonies after 6 weeks of incubation at 37°C. Medium used was Ogawa's egg medium consisting of the following composition: basal solution (1% KH₂PO₄ and 1% sodium glutamate), 100 ml; whole eggs, 200 ml; glycerol, 6 ml; 2% malachite green solution, 6 ml (the resulting pH 6.8). The drug was dissolved first in propylene glycol and then diluted with distilled water. The drug solution was added to the medium before sterilization to obtain a series of the following final concentrations; 0, 5, 10, 20, 30, 50, 100 and 200 μg/ml. The limit of 1314 Th resistance was defined as a level of 30 μg/ml resistance in view of the results obtained previously¹⁾³⁾. The observation was conducted during 5 to 17 months after the

cease of 1314 Th treatment. Resistances to streptomycin, isoniazid, PAS and kanamycin also were measured by the actual count method. Viable numbers of tubercle bacilli excreted per day were measured in every determination of drug resistance.

The results obtained are shown in figures 1 to 11 and in table 1.

Persistence of 1314 Th resistance during the observation period was observed in nine among eleven cases as reported by M. Tsukamura¹⁾. Among the nine, seven maintained their resistance level relatively stably and two showed a marked variability. Two of eleven cases showed a reversal to susceptibility (population change from resistant to susceptible population) as discussed by Yamada et al.⁴⁾. The reversal took place irrespective of the use of new antibiotics, kanamycin or cycloserine.

In view of the results above described, it was concluded that resistance to 1314 Th in tubercle bacilli is relatively stably maintained in tuberculous patients.

- 1) Tsukamura, M., Abo, T. Kasai, E.: Kekkaku, 37: 141, 1962.
- 2) Tsukamura, M.: Medicine & Biology, 49: 87, 1958.
- 3) Tsukamura, M., Abo, T. & Katsunuma, R.: Kekkaku, 34: 625, 1962.
- 4) Yamada, T. et al.: Report at the meeting of the Jap. Soc. for Tuberc. held in April 1962.
- 5) Tsukamura, M. & Abo, T.: Kekkaku, 36: 361, 1961.