

薬剤耐性上昇に関する *in vivo* の実験的研究

第一報

マウス実験の結核症におけるヒドラジッドならびに
ストレプトマイシン耐性上昇について

木 村 仁

東京大学伝染病研究所内科学研究部 (指導 北本 治 教授)

受付 昭和 39 年 10 月 2 日

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE DEVELOPEMENT OF DRUG RESISTANCE IN VIVO*

Part I. Studies on the Developement of Hydrazid (INH) and Streptomycin
(SM) Resistance on Experimental Tuberculosis in Mice

Hitoshi KIMURA

(Received for publication October 2, 1964)

Although many authors have tried to induce drug resistance in experimental tuberculosis, they have not always succeeded in obtaining resistant tubercle bacilli.

Different from any previous experiments, the author inoculated in the present study low resistant tubercle bacilli obtained *in vitro* to mice and observed the subsequent development of drug resistance.

H₂ strain of tubercle bacilli was inoculated to Dubos medium containing 0.05 γ /ml of INH or 1 γ /ml of SM, and after 2 weeks' incubation in the former and 10 days' incubation in the latter, the resultant bacilli which became partially resistant to 0.5 γ /ml of INH or completely resistant to 1 γ /ml of SM were inoculated intravenously to white mice in 0.1 mg dose. Two weeks after the infection, these animals received the treatment with relatively small dose of INH (0.2 mg daily) or SM (0.4 mg daily) for two months at the longest.

The INH- and SM-resistances of the bacilli isolated from the lungs of mice were measured by 1% Ogawa medium.

The results obtained were as follows :

- 1) The strains isolated from the mice infected with sensitive H₂-strain and treated with INH or SM, showed no resistance to these drugs.
- 2) The strains isolated from the mice infected with INH-low resistant H₂-strain and treated with INH alone, INH combined with cycloserine (CS), or INH combined with sulfoxazole (SI), showed partial resistance to 5 r of INH.

Combined use of CS and SI presented no inhibitory effect to the resistance development to INH.

- 3) The strains isolated from the animals received combined treatments with SM and INH, SM, INH and SI, and SM, INH and disoxyl (DAT), revealed incomplete resistance to 10 of SM despite of the remarkable decrease of viable counts from the lungs, but there were not observed any bacilli resistant to 50 of SM such as seen in the case treated with SM alone, showing the inhibitory effect of the above combinations against the developement of resistance to SM.

* From Department of internal medicine, The Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo, Minato-Ku Shiba Shirogane Dai-cho, Tokyo, Japan.

From the above results it is suggested that the survived bacilli after chemotherapy might become drug resistant inspite of the decrease of viability, and that the initial chemotherapy should be powerful enough to effect negative conversion of tubercle bacilli. Also a sufficient cares should be paid to the appearance of low resistant bacilli, even in the case without cavity.

緒 言

結核菌の薬剤耐性上昇は *in vitro* においては比較的に速やかにかつ認められる。これに反して、マウスやモルモットを用いた実験的結核症において薬剤耐性上昇を観察することは、従来より、多くの研究が報告されているが^{1)~26)}、一般にきわめて困難であるとされ、各者の成績もまちまちである。これまでの諸成績を検討してみると、感性菌接種後、化療を加えて、恒常的にかつ高率に耐性菌の出現をみたとしているのは、黒野株^{16)~21), 26)}または牛型 TC 50 株^{22)~24)}という特殊な株を用いた場合および感染後、副腎皮質ホルモンを併用した場合²⁵⁾に限られる。

しかし他の一般的な人型結核菌たとえば H_2 株などにおいても、生体・菌・薬剤をめぐる諸条件の総合が、動物が生存し続けつつ、一方、菌の増殖が適当な薬剤濃度下で維持される場合、*in vivo* において耐性上昇をみることは可能なのではないかと考えられる。人に比して感受性の低い動物に実験的結核症をつくり化学療法を実施した場合、菌の増殖は強く抑えられて耐性菌の出現にまではいたらないのであり、前記黒野株および TC 50 株はマウスに対する Virulene のきわめて高い菌株であり薬剤に抗して増殖する菌力を有するものと思う。

しかし他の一般的な人型結核菌たとえば H_2 株ではどうであろうか。このさい、臨床に菌の薬剤感受性が若干でも低下し低耐性菌がわずかでも出現すると以後は比較的速やかに耐性上昇がみられるという点より、従来の感受性菌より出発する諸実験とは趣を異にするが、*in vitro* で低濃度薬剤と短時間接触させ若干感受性の低下をみた H_2 株をマウスに接種し、原感受性菌接種の場合と対比しつつ、以後の耐性上昇の状況を観察し、あわせて低耐性菌のもつ役割を追求することも意義があると考えられる。薬剤耐性に遺伝子が関与するさい、単一の遺伝子でなく、耐性濃度のいくつかの段階に対応する数々の遺伝子が考えられ、かつ相互に Potency が異なっているとされている^{28)~30)}。

ここに上述の条件におけるヒドラジッド (INH) およびストレプトマイシン (SM) 耐性上昇の状況、および、これに他のいくつかの薬剤を併用した場合の影響に関する実験成績について報告する。

実験材料

使用菌株：(表 1)

1) INH 低感受性菌 (以下 H_2 -INH-Low R 株) として人型結核菌 H_2 株の大量を 0.05 γ /ml INH 加 Dubos 培地に接種し 2 週間継代恒量均等培養したものを用いた。その動物接種前の INH 感受性は表 1 のごとくで 0.1~0.5 γ /ml 不完全耐性を示している。

2) SM 低感受性菌 (以下 H_2 -SM-Low R 株) として H_2 株の大量を 1 γ /ml SM 加 Dubos 培地に接種し 10 日間均等培養したものを用い、その動物接種前 SM 感受性は表 1 のごとくで 1 γ /ml 完全耐性を示している。

3) 対照として H_2 株の Dubos 培地に均等培養したものを用いた。

使用動物：

dd 系マウスの生後 4 週、雄性、体重 15 g ないし 17 g のものを用いた。

使用抗結核薬：

INH, SM のほかに併用剤としてスルフィソキサゾール (以下 SI), サイクロセリン (以下 CS), Disoxyl (以

Table 1. Drug Sensitivities and Viable Counts of the Strains Used

Strain	INH (γ /ml)						Viable count of infecting dose
	0	0.1	0.5	1	2	5	
H_2	##	0	0	0	0	0	3.0×10^5
	##	0	0	0	0	0	
H_2 -INH-Low R	##	1	1	0	0	0	3.3×10^5
	##	1	0	0	0	0	

: over 500 to 1,000 colonies

H_2 -INH-Low R : H_2 -strain cultured 2 weeks successively in Dubos medium containing 0.05 γ /ml of INH.

Strain	SM (γ /ml)					Viable count of infecting dose
	0	1	10	50	100	
H_2	++	0	0	0	0	3.3×10^5
	++	0	0	0	0	
H_2 -SM-Low R	++	+	0	0	0	3.3×10^5
	++	+	0	0	0	

++ : over 200 to 500 colonies

H_2 -SM-Low R : H_2 strain cultured 10 days in Dubos medium containing 1 γ /ml of SM.

1% Ogawa medium was employed for the mesurement of INH-and SM-resistance.

下 DAT) を用い、SM, INH, CS は蒸留水に溶かし、SI および DAT は難溶性のために 1% に Carboxyl-methyl-cellulose を加えて乳剤とし、SM のみ筋注とし、他はゾンデを用い経口投与した。

薬剤投与量は人間投与量の pro kg よりマウス体重に換算して、INH 0.2 mg, SM 0.4 mg, SI 0.8 mg, CS 0.2 mg, DAT 2 mg 毎日とした。

実験方法

I. INH 耐性上昇に関する実験方法

H₂ 株および H₂-INH-Low R 株の Dubos 培地均等培養したもの 0.1 mg をそれぞれマウス尾静脈内に接種し、感染 2 週間より治療を開始した。

マウスの編成は、H₂ 接種そのまま放置群、および INH 治療群の 2 群をおき、H₂-INH-Low R 接種では 1) 放置群、2) INH 治療群、3) INH·SI 併用治療群、4) INH·CS 併用治療群の 4 群とした。

治療開始後 25 日、50 日、71 日に屠殺剖検し、肺、肝、脾の重量を測定し、肺についてさらに全肺を 5 ml の生理的食塩水とともにホモジナイザーで乳剤とし、1% NaOH 液で 10 倍に希釈しその 0.1 ml を 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 γ /ml INH 加 1% 小川培地に接種して培養し 5 週後に集落数を算定した。

II. SM 耐性上昇に関する実験方法

H₂ 株および H₂-SM-Low R 株を用い、H₂ 接種群では SM 治療を行ない、H₂-SM-Low R 接種群では、1) SM 治療群、2) SM·INH 併用治療群、3) SM·INH·SI 併用治療群、4) SM·INH·DAT 併用治療群の 4 群を編成した。感染 2 週間より治療を開始し、20 日、38 日、52 日、65 日後に屠殺剖検し、肺、肝、脾の重量測定を行なうとともに、I. の方法に準じて肺について 0, 1, 10, 50, 100 γ /ml SM 加 1% 小川培地で型のごとく直接法により耐性を測定した。

実験成績

I. INH 耐性上昇に関する実験成績 (表 2)

感性 H₂ 株を接種し INH で治療した群では最長 71 日治療したものでも全く耐性菌の出現を認めなかつた。

低感受性 H₂-INH-Low R 株を接種した群では、INH 単独、INH·SI 併用、INH·CS 併用のいずれの群においても 50 日治療で 5 γ /ml の耐性菌が出現し、71 日治療の全例に近く 5 γ /ml 不完全ないし完全耐性菌の出現がみられた。

単独治療と併用治療の間に INH 耐性菌の出現に関して有意の差が認められなかつた。

耐性上昇に伴い肺内菌数の増加が認められる例が多かつたが、一部に肺内菌数の減少にかかわらず耐性上昇がみられたものがある。

II. SM 耐性上昇に関する実験成績 (表 3)

感性 H₂ 株を接種し SM で治療した群では 65 日治療例で 1 γ /ml のところに 1 ないし 2 コの集落を認めたとに止まり、ほとんど耐性上昇を認めなかつた。

低感受性 H₂-SM-Low R 株を接種し SM 単独で治療した群では 38 日治療例ですでに 10 ないし 50 γ /ml 不完全耐性菌の出現を認めた。しかし最長 65 日治療でも 100 γ /ml 以上の高度耐性菌はみられなかつた。

SM·INH, SM·INH·SI, SM·INH·DAT の各併用群では治療効果として肺内菌数は著明に減少していたにもかかわらず 10 γ /ml のところに集落の出現がかなりの例にみられた。しかし併用群では 50 γ /ml 耐性菌はみられず、耐性上昇阻止効果が認められた。

総括ならびに考案

マウスやモルモットの実験的結核症において薬剤耐性結核菌を恒常的にしかも高率に得ることは、緒言に述べたごとく、従来きわめて困難とされている。

文献上の各種の試みや私どもの研究室における経験から、このさい、次の 3 大条件はとくに考慮されなければならない条件であると思われる。すなわち、

1) 菌側の条件：強毒菌を使用、接種菌量を大量にする、あるいは耐性菌を少量混じて接種する……等。

2) 生体側の条件：結核に抵抗の弱い動物を使用する。また副腎皮質ホルモンを使用したり、人工空洞をつくって試みる……等。

3) 病巣・菌・薬剤相互のバランス：感染一定期間後病巣の進展を待つて治療開始、薬の投与量を比較的少量にする。治療期間は長期にする……等である。

以上の諸条件のうち、今回の私の実験では、菌側の条件として、*in vitro* で短時日低濃度薬剤と接触させて若干感受性を低下させた菌株を使用したこと、また、病巣・菌・薬剤のバランスに対する考慮として、感染後病巣の形成を待つて治療を開始し、かつ、人の場合に近い血中濃度を得よう比較的少量の薬剤を投与するという 3 つの点に重点をおいたことが特徴である。

かくして、INH および SM 耐性上昇を、マウス実験的結核症につき、かなり高率に認めることができた。以下、私の実験方法および成績を、文献上の諸条件、諸成績と対比しながらさらに考察を加えることにする。

マウス実験的結核症における耐性上昇については Youmans ら¹⁾は Strong A 株マウスに H₃₇Rv 0.1 mg を接種し SM 3 mg 毎日で 35 日間治療後、肺よりの分離菌につき検討したさい耐性菌の出現はみられなかつたが、N₂ 株マウス²⁾に No. 24 株 0.1 mg を接種し SM 9 mg 毎日、155 日間治療後、肺よりの分離菌に耐性菌の出現をみた。Williston⁶⁾らは雑系マウスに H₃₇Rv 株 0.1 mg を接種し SM 1.5 mg 毎日、6 ヶ月間治療で肺

に耐性菌をみとめ、Wollinsky ら¹⁰⁾は Albinos 株マウスに H₃₇Rv 0.1 mg を接種し SM 1.5 mg 毎日, 42 日間治療後, 肺および脾よりの分離菌に耐性菌を認めなかつたが, C₃₇ Black 株マウスに H₃₇Rv 株, Campbell 株または Erdman 株を接種した場合については耐性菌の出現を認めている。Karlson⁹⁾らは C 株マウスに H₃₇Rv 株 2.0 mg を接種し INH を 0.02% に食餌にまぜて 55 日間投与したが耐性菌の出現をみなかつた。神津¹¹⁾

は雑系マウスに陸 F 株または青山株を接種し SM 3 mg 毎日, 49 日間の治療, または INH 0.15 ないし 0.75 mg 毎日, 2 ないし 4 カ月間の治療により SM 耐性および INH 耐性菌の出現をわずかながら観察している。北本ら¹³⁾は H₃₇Rv 株 0.1 mg を雑系マウスに接種し感染 2 週間より SM は 0.75 ないし 1.5 mg 毎日, 2 ないし 4 カ月間治療により肺, 肝, 脾よりの分離菌 31 株中 1 株に SM 0.75 γ 不完全耐性を認め, INH は 0.15 ないし

Table 2. Appearance of INH-Resistant Bacilli in the Lungs of Mice

Strain	Treatment	Days of Treatment	Weight (mg)			INH-resistance (γ /ml)					
			Lung	Liver	Spleen	0	0.1	0.5	1	2	5
H ₂	no treatment	25	240	1,400	230	†	0	0	0	0	0
		25	210	1,260	400	†	0	0	0	0	0
		50	450	1,200	660	†	0	0	0	0	0
		50	440	1,760	390	†	0	0	0	0	0
		71	390	1,560	250	†	0	0	0	0	0
		71	540	1,900	240	†	0	0	0	0	0
	INH	25	180	1,540	160	24	0	0	0	0	0
		25	210	1,560	320	29	0	0	0	0	0
		50	280	1,980	250	15	0	0	0	0	0
		50	360	1,660	200	2	0	0	0	0	0
		71	360	2,050	240	2.5	0	0	0	0	0
H ₂ -INH-Low R	no treatment	25	220	1,230	250	183.5	2.5	0	0	0	0
		25	260	1,300	470	105	0.5	0	0	0	0
		50	410	2,230	450	†	0.5	0	0	0	0
		50	360	2,580	390	†	1	1.5	0	0	0
		71	500	1,470	500	187.5	0	0	0	0	0
		71	390	2,020	410	137	0	0	0	0	0
	INH	25	250	1,390	230	26.5	0	0	0	0	0
		25	220	1,560	330	12.5	0.5	0	0	0	0
		50	560	1,670	240	12	0	10	25	0	1
		50	230	2,350	500	0.5	0	0	0	0	1
		71	390	1,600	450	14.5	0	17.5	0.5	4.5	1
		71	420	2,740	900	11	1	0	0	1	0
		71	300	1,480	320	153	11.5	10	42	0	10.5
	INH+SI	25	250	1,370	220	10.5	0	0	0	0	0
		25	310	1,400	250	26	0	0	0	0	0
		50	420	2,250	250	†	†	†	†	178.5	112.5
		50	380	2,100	190	†	†	114.5	25	65	0
		71	390	2,450	430	†	†	12.5	7.5	10	17
		71	270	2,400	390	†	†	12.5	9.5	3	10
	INH+CS	25	300	1,430	180	45	0	0	0	0	0
		25	190	1,110	170	12	0	0	0	0	0
		50	250	2,120	290	10.5	18	4	0	1.5	0
		50	290	2,150	170	9	0	7	1	0.5	0
71		480	1,560	410	†	117	132	127	28	60.5	
71		390	2,450	450	†	†	137.5	†	†	99	

†: over 200 to 500 colonies

1% Ogawa medium was employed for the measurement of INH-resistance.

いし0.75 mg 毎日, 2 ないし4カ月の治療により, INH 0.1 γ 完全, 10 γ 不完全耐性の出現を27 株中2 株に認めた。

牛場ら¹⁶⁾は雑系マウスに黒野株 0.1 mg を接種し感染2 週後より SM 0.1 mg 毎日, 14 ないし25 日治療に

より肺, 肝, 脾および淋巴節よりの分離菌に SM 耐性菌の出現を認め, 安田¹⁵⁾は雑系マウスに F 株 1.0 mg を接種し, 感染翌日より SM 0.5 mg 毎日または INH 0.02 mg 毎日を動物継代を行ないつつ治療し SM 耐性ならびに INH 耐性を高率に認めた。手塚¹⁷⁾は CFW 株マウス

Table 3. Appearance of SM-Resistant Bacilli in the Lungs of Mice

Strain	Treatment	Days of treatment	Weight (mg)			SM-resistance (γ /ml)				
			Lung	Liver	Spleen	0	1	10	50	100
H ₂	SM	20	260	1,400	210	18.5	0	0	0	0
		20	200	980	150	70	0	0	0	0
		38	410	990	250	17.5	0	0	0	0
		38	380	1,060	310	23	0	0	0	0
		52	260	1,240	150	18.5	0	0	0	0
		52	260	1,020	160	25	0	0	0	0
		65	250	1,400	330	18	1	0	0	0
		65	330	1,150	160	40.5	2	0	0	0
H ₂ -SM-Low R	SM	20	190	1,730	190	17.5	8	0.5	0	0
		20	200	1,650	260	10	12	0	0	0
		38	440	1,350	550	14	12.5	4.5	0	0
		38	540	1,310	250	7.5	10	2.5	0.5	0
		52	210	1,110	150	73	63	74	3	0
		52	210	1,450	160	84	97	65	1	0
		65	310	1,400	180	84	56	74	0.5	0
		65	440	1,630	220	36	28	28.5	1	0
	SM+INH	20	250	3,600	1,300	8.5	7	0	0	0
		20	320	1,760	340	6	8.5	0	0	0
		38	320	1,300	280	4	8	0.5	0	0
		38	520	1,690	200	11	14	7	0	0
		52	750	1,450	90	0	1	0.5	0	0
		52	140	1,190	120	0	0.5	0.5	0	0
		65	400	1,480	140	0	0	0	0	0
		65	330	990	100	0.5	0	0	0	0
	SM+INH+SI	20	240	1,800	200	14	16.5	0	0	0
		20	200	800	100	7	0.5	0	0	0
		38	760	1,010	130	11	14	7	0	0
		38	400	1,190	200	9.5	7	13	0	0
		52	250	1,470	110	1	0	1	0	0
		52	250	1,110	110	2	0	0.5	0	0
		65	310	1,120	210	1.5	1	0	0	0
		65	310	1,250	240	0	0	0	0	0
	SM+INH+DAT	20	250	1,050	170	7	9	0	0	0
		20	260	1,360	240	4.5	3	0	0	0
		38	410	1,160	150	1.5	1	1	0	0
		38	350	1,720	200	2	2	0.5	0	0
52		240	1,470	100	0	1	0	0	0	
52		220	900	90	1	1	0.5	0	0	
65		300	1,160	100	0	0	0	0	0	
65		310	1,060	210	0	0	0	0	0	

1% Ogawa medium was employed for the measurement of SM-resistance.

に黒野株 0.01 mg または 0.1 mg 接種し感染翌日より SM 1 ないし 3 mg 毎日, 2 ないし 4 カ月間の治療により高率の耐性菌出現を認め, 岩下¹⁸⁾も ddN 系マウスに黒野株 0.1 mg を接種し感染翌日より INH 0.25 mg 毎日を 21 日ないし 35 日間投与し肺よりの分離菌に INH 耐性菌を認めており, 堀²⁰⁾らも CF₁ 株マウスに黒野株を接種し INH 0.5 mg 毎日, 62 日ないし 110 日治療により 10 γ ないし 20 γ INH 耐性菌を高率に認めた。染谷^{22)~24)}は CF# 1 系マウスに牛型 TC 50 株を接種し感染翌日より INH を固形飼料に 0.03% にまぜ, 経口投与し, さらに SM または KM を併用し, INH 単独治療群より INH 10 γ 完全耐性菌を得たに反し, 併用群では 1 γ 感性菌に止まつた点より, in vivo の INH 耐性出現と, KM および SM の併用による INH 耐性阻止について報告している。小川^{19), 20)}および渡辺²¹⁾は H₃₇Rv 株, 三輪株および黒野株の 3 菌株について検討し両者とも黒野株接種例にのみ INH 耐性の出現をみ, 使用菌株による耐性出現の差異を指摘した。

マウス以外に, モルモットについては Feldmann ら³⁾, Steenken ら⁵⁾, Karlson ら⁹⁾の報告があり, Feldmann ならびに Steenken はわずかに SM 耐性菌の出現をみ, 牛場¹⁶⁾はモルモットの腹腔に合成樹脂球を入れ, 体内に空隙を生ぜしめて SM 耐性上昇をわずかながら認めた。鈴木¹⁴⁾は家兎の肺内に 10% ゼラチン浮游液を注射し空洞をつくり INH 治療を行ない 10 γ 耐性菌を分離した。

以上のように各研究者の成績は必ずしも一致せず, またその実験条件もまちまちであるが, 総括して検討すると使用動物, とくにマウスの系統については, Strong A 系, C₅₇ black 系, CFW 系, CF 1 系, C 系, ddN 系ならびに雑系が用いられており理論的には結核菌に対する感受性の高い純系ないし均一系に耐性を生じやすく考えられるが必ずしもそうした成績ではないようである。私は比較的入手しやすく繁殖の容易な dd 系マウスを用いたが, CF 1 その他結核に抗抗の弱い系統を用いた場合はどうなるであろうか, 今後検討に値する問題であると考えられる。

マウスの系統よりも感染に用いる菌株の影響は大きいようであり黒野株ならびに No. 24 株および TC 50 株は耐性を生じやすく, 陸 F 株, F 株ならびに三輪株は耐性を生じにくいごとくである。H₃₇Rv 株はときに耐性を生ずるが, 全く耐性を出てこないという報告もあり, これはマウスに対する菌力が盛んであるか否かの問題と考えられる。私の使用した人型結核菌 H₂ 株については INH または SM 耐性上昇に関する報告は見当たらないようであるがマウスに対する菌力はほぼ H₃₇Rv 株に匹敵するものと考えられる。感性 H₂ 株を接種した例では INH ならびに SM とも耐性菌の出現はみられなかつたが, in vitro で H₂ 株を短時日低濃度薬剤と接触させて

得た菌株では, 動物接種時に比して著明に耐性上昇を認めた。

感染菌量については, 0.01 mg ないし 1.0 mg に及んでいるが, 渡辺²¹⁾が比較検討しているごとく菌量の異なるほど耐性を生じやすいかと思われる。

私の実験においては従来からの研究室における in vivo の実験と同じ条件で 0.1 mg とし, とくにこの点についての考慮を払わなかつた。

多くの報告では感染後ただちに翌日より治療を開始しており, 北本¹³⁾ならびに牛場¹⁶⁾は感染 2 週後より治療を開始している。私の実験では感染 2 週後より治療を開始したが, 感染後一定期間をおくことにより肺病変が形成されてから治療を開始したほうがよいのではないかと考える。

薬剤投与量については, INH は 0.04 mg ないし 0.75 mg 毎日に及び, 多くは 0.2 mg 前後であり, SM については 0.1 mg ないし 9 mg 毎日で 2 ないし 3 mg 投与の報告が多くみられる。私は人間投与量よりマウス体重に換算した INH は 0.2 mg 毎日, SM は 0.4 mg 毎日とした。この投与量により, ヒトの場合に近い血中濃度が得られる。私の実験では, この投与量において, やや感受性の低下した結核菌に作用させるべく試みたわけである。結核菌の増殖をある程度と許し, しかも動物の生存を長く保持しう量が望ましく, 多量を投与した場合は治療効果は明らかであるが耐性は生じにくくなるものとする。

動物臓器における耐性菌出現の差異については, 阿部²⁷⁾はマウスにおいて菌増殖のもつとも著しいのは肺であると述べ, 牛場¹⁶⁾は耐性菌の出現は肺にもつとも多く, 脾, 肝, 腎, 淋巴腺の順であり, 手塚¹⁷⁾も肺, 脾, 肝, 腎の順であるとしている。私はこれらを参考としもつばら肺について耐性上昇を検討した。

耐性菌の出現の様式に関しては, 一般に適応説と突然変異説とに大別され, 後者はさらに突然変異選択説と誘導変異説に分けられるものであるが, 私の実験成績では感性菌→低耐性菌の変化は in vivo で起こりにくく, 低耐性菌→高耐性菌の変化は比較的容易に認められるという結果になつた。簗野²⁹⁾は SM について 1 γ 低耐性菌と 100 γ 高耐性菌に分け, 低耐性菌はすべて突然変異で起こり, 高耐性菌の一部は突然変異により, 他の一部は低耐性菌よりの誘導変異によるとし, また SM 使用中の高耐性菌の出現が主に誘導変異によると述べているが, 牛場は突然変異選択説を強く主張している。INH 耐性についても, たとえば堀²⁰⁾は 0.1 γ と 10~20 γ 耐性菌の 2 種を推定しているが, Demerc²⁸⁾が述べている耐性遺伝子間における Potency の差異という考えも以上の事実の説明に役立つと考える。

耐性度上昇と肺内菌数の関係についてみると, INH 耐

性上昇に関する実験成績では、耐性上昇に伴い肺内菌数の増加が認められ、また併用例でも CS および SI という抗菌力の低い薬剤を用いたため、単独治療との間に差異がみられなかつた。SM 耐性上昇については、SM 単独治療では耐性上昇に伴ない肺内菌数の増加の傾向がみられ、併用例では SM+INH, SM+INH+SI, SM+INH+DAT といずれも INH を含むため単独治療に比し併用効果による肺内菌数の減少がみられるが、そのさい 10 γ 程度ではあるが耐性上昇がみられる。しかし併用例で 50 γ 耐性はなく、この点若干の耐性上昇阻止を認める。以上から菌の若干の感受性の低下ないし低耐性菌が存在するさいは、化学療法による治療効果として生菌数が減少しても生存菌では耐性度の上昇する可能性がある。臨床的には初期の化学療法で菌陰転に努めるべきであるとともに、空洞のない症例でも低耐性菌をもつ病巣には十分注意しなければならないと考える。

以上、私は、今回の実験条件では感性 H₂ 株では耐性菌の出現を認めなかつたが、0.1 ないし 0.5 γ INH 不完全耐性菌および 1 γ SM 完全耐性菌を接種した場合には以後の耐性上昇は感性株の場合に比して著明であることを明らかにし、ひと度若干でも感受性の低下ないし低耐性菌が存在するさいは他剤併用による治療効果がみられるさいにもなおかつ耐性の上昇がみられることを示すとともに、これらの所見と臨床の関連性について考察を加えた。

結 語

人型結核菌 H₂ 株を *in vitro* で INH または SM と短時日低濃度で接触させて得た 0.5 γ INH 不完全低耐性 H₂-INH-Low R 株および 1 γ SM 完全低耐性 H₂-SM-Low R 株をマウスに接種し、2 週間から、比較的少量の抗結核薬で最長 2 カ月に及ぶ化学療法を施行して、*in vivo* の INH 耐性ならびに SM 耐性上昇の状況を検討し以下の結論を得た。

1) 感受性 H₂ 株を接種し、INH または SM で治療した群ではこれらに対する耐性上昇を認めなかつた。

2) INH 不完全低耐性 H₂ 株 (H₂-INH-Low R 株) を接種した群では INH 単独、INH-SI 併用および INH-CS 併用のいずれの場合にも INH 5 γ に及ぶ耐性上昇を認めた。しかし SI または CS 併用による耐性上昇の阻止はみられなかつた。

3) SM 完全低耐性 H₂ 株 (H₂-SM-Low R 株) を接種した群では SM 単独治療により SM 50 γ 耐性菌を認めた。

また、SM·INH, SM·INH·SI, SM·INH·DAT 各併用治療群でも肺内菌数の著減にかかわらず SM 10 γ 耐性菌を認めたが、50 γ 耐性菌はなく耐性上昇をわずかに阻止した。

すなわち、以上の実験条件で、人型 H₂ 株でも *in vivo* でかなり高率に INH および SM 耐性上昇を認めること、および不完全低耐性菌の役割を追求しえたが、今回の成績から、化学療法により生菌数が減少しても低耐性菌が存在する場合には生存菌の耐性上昇の危険性があること、したがって初期に出来るだけ強力な化学療法で菌陰転化に努めるべきであること、さらに空洞のない病巣でも低耐性菌を持つている場合に慢然と同じ化学療法を続行することには慎重でなければならないこと、などを推論した。

稿を終わるに臨み、ご懇切なるご指導とご校閲を賜わつた北本教授に深謝し、ご援助、ご協力をいただいた福原博士に感謝の意を表します。

本論文の要旨ならびに一部は第 37 回日本結核病学会総会および昭和 37 年日本結核化学療法研究会 (日結研) に発表した。

文 献

- 1) Youmans, G. P. et al.: Proc. Soc. Exp. & Med., 63 : 131, 1946.
- 2) Youmans, G. P. et al.: Proc. Soc. Exp. & Med., 70 : 36, 1949.
- 3) Feldmann, W. H. et al.: Am. Rev. Tbc., 56 : 346, 1947.
- 4) Steenken, W. et al.: Am. Rev. Tbc., 58 : 344, 1948.
- 5) Steenken, W. et al.: Am. Rev. Tbc., 66 : 194, 1952.
- 6) Williston, E. H. et al.: Am. Rev. Tbc., 62 : 156, 1950.
- 7) Karlson, A. G. et al.: Am. Rev. Tbc., 62 : 149, 1950.
- 8) Karlson, A. G. et al.: Proc. Staff. Meet. Mayo-clinic, 27 : 373, 1952.
- 9) Karlson, A. G. et al.: Am. Rev. Tbc., 68 : 575, 1953.
- 10) Wollinsky, E. et al.: J. Bact., 66 : 229, 1953.
- 11) 神津他: 医療, 7 : 436, 1953.
- 12) 宮本他: 結核, 28 : 379, 1953.
- 13) 北本他: 結核, 29(増刊号): 133, 1954.
- 14) 鈴木: 結核, 29(増刊号): 270, 1954.
- 15) 安田: 結核, 30 : 89, 1955.
- 16) 牛場他: 結核, 30 : 114, 1955.
- 17) 手塚: 結核, 31 : 17, 1956.
- 18) 岩下: 結核, 32 : 439, 1957.
- 19) 小川他: 文部省科学研究費結核研究班報告, 1957-5.
- 20) 小川他: 文部省科学研究費結核研究班報告, 1957-10.
- 21) 渡辺: 結核, 34 : 503, 1959.
- 22) 染谷: 結核, 34 : 78, 1959.
- 23) 染谷: 結核, 35(特別号): 31, 1960.
- 24) 染谷: 胸部疾患, 4 : 605, 1960.
- 25) 岩崎他: 結核, 34(増刊号): 217, 1960.
- 26) 堀他: 結核, 38(増刊号): 195, 1963.
- 27) 阿部: 結核, 28 : 423, 1953.
- 28) Demerc, M.: J. Bact., 56 : 63, 1948.
- 29) 旗野: 結核, 31 : 678, 1956.
- 30) 三浦: 結核, 32 : 567, 1957.