薬剤耐性上昇に関する *in vivo* の実験的研究

第二報

マウス実験的結核症におけるカナマイシン
ならびにエチオナミド耐性上昇について

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 2. Studies on the Developement of Kanamycin (KM) and Ethionamide (TH)
Resistance in Experimental Tuberculosis in Mice

Hitoshi KIMURA

(Received for publication October 2, 1964)

It was previously reported that a marked development of INH- and SM-resistance was observed in experimental tuberculosis in mice infected with low resistant tubercle bacilli obtained *in vitro*.

In the present paper, studies on the development of KM- and TH-resistance *in vivo* was carried out under the same condition as that previously reported.

H₂ strain of tubercle bacilli was inoculated to Dubos medium containing 1 γ /ml of KM or 1 γ /ml of Th, and after 10 days' incubation in the former and 2 weeks' incubation in the latter the resultant bacilli which became incompletely resistant to 1 γ /ml of KM or to 5 γ /ml of Th were injected intravenously to mice in 0.1 mg amount. Two weeks after the infection, the treatment of these animals were started by administering relatively small dose of KM (0.8 mg daily) or Th (0.2 mg daily) for 3 (KM) and 2 (Th) months at the longest.

The resistance of isolated bacilli was measured by Youmans medium for KM and by Youmans medium and modified Kirchner agar medium for Th.

The results obtained were as follows.

- 1) The strains isolated from the mice infected with sensitive H₂-strain and treated with KM or TH, showed no resistance to these drugs.
- 2) The strains isolated from the mice infected with KM-low resistant H₂-strain and treated with KM alone, KM combined with cycloserine (CS), and KM combined with sulfisoxazole (SI), showed partial resistance to 10 γ of KM. Combined use of CS and SI presented no inhibitory effect to the resistance development of KM.
- 3) The strains isolated from the mice infected with TH-low resistant H₂-strain and treated with TH alone, showed partial resistance to 20 γ of TH.

The strains isolated from the animals received combined treatments with Th+CS, Th+SI, Th+KM and Th+KM+CS, revealed the resistance to 20 γ of Th in spite of the marked decrease of the viable counts from the lungs.

The combined use of CS, SI, KM, KM+CS with Th effected only a slight retardation of

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

resistance development to Th.

These results suggests that also in the use of secondary drugs the negative conversion of tubercle bacilli in the early stage should be an important aim and that sufficient cares must be paid to the appearance of low resistant bacilli.

緒 言

前報¹⁾において私は、人型結核菌 H₂ 株を in vitro で短時日 INH または SM と接触させて得た低感受性菌をマウスに接種し、感染2週間後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実施して、in vivo のINH 耐性ならびに SM 耐性上昇の状況を検討し報告した。

今回は同様の実験を二次抗結核薬であるカナマイシン(KM)ならびにエチオナミド(TH)について実施し、in vitro で得た低耐性菌の in vivo の KM 耐性ならびに TH 耐性の上昇の状況を観察するとともに、これに対し他種抗結核薬を併用した場合の影響について、とくに TH 耐性上昇については TH+KM+CS 併用を中心に検討を加えた。

実験材料

使用菌株(表1)

1) KM 低感受性菌(H₂-KM-Low R 株)として人型結核菌 H₂ 株の大量を 1γ/ml KM 加 Dubos 培地に接種し 10 日間均等培養したものを用いた。その動物接種前の KM 感受性は表1のごとくで、Youmans 培地に

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

Strain	KM (γ/ml)				Viable count of infecting dose
	0	1	2	5	
H ₂	6+	0	0	0	7.8×10 ⁵
	6+	0	0	0	
H ₂ -KM-Low R	6+	1+	0	0	4.0×10 ⁵
	6+	1+	0	0	

H₂-KM-Low R: H₂ strain cultured 10 days in Dubos' medium containing 1γ/ml of KM.

Strain	TH (γ/ml)							Viable count of infecting dose
	0	1	2	5	10	20	50	
H ₂	8+	4+	0	0	0	0	0	5.5×10 ⁵
	8+	4+	0	0	0	0	0	
H ₂ -TH-Low R	8+	8+	8+	2+	0	0	0	4.1×10 ⁵
	8+	8+	8+	2+	0	0	0	

H₂-TH-Low R: H₂ strain cultured 2 weeks successively in Dubos medium containing 1γ/ml of TH.

1+~10+: denotes the degrees of proliferation in Youmans medium.

において 1γ/ml 不完全耐性を示している。

2) TH 低感受性菌(H₂-TH-Low R 株)としては H₂ 株の大量を 1γ/ml TH 加 Dubos 培地に接種し 2 週継代恒量均等培養したものを用い、その動物接種前の TH 感受性は表1のごとく Youmans 培地において 5γ/ml 不完全耐性を示している。

3) 対照として H₂ 株の Dubos 培地に均等培養したものを用いた。

使用動物

前報¹⁾と同じく、dd 系マウスの生後 4 週、雄性、体重 15g ないし 17g のものを用いた。

使用抗結核薬

KM, TH のほかに併用剤としてスルフイソキサゾール(SI), サイクロセリン(CS)を用い、KM および CS は蒸溜水にとかし、SI および TH は難溶性のために 1% に Carboxyl-methyl-cellulose を加えて乳剤とし、KM のみ筋注とし、他はゾンデを用い経口投与した。

薬剤投与量は前報¹⁾に準じて人間投与量の pro. kg よりマウス体重に換算して、KM 0.8 mg, TH 0.2 mg, CS 0.2 mg, SI 0.8 mg 毎日とした。

実験方法

1) KM 耐性上昇に関する実験方法

H₂ 株および H₂-KM-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週間後より治療を開始した。

マウスの編成は H₂ 接種群では KM 単独治療を行ない、H₂-KM-Low R 株接種群では 1) KM 治療群、2) KM-CS 併用治療群、3) KM-SI 併用治療群の 3 群とした。

感染2週間後より治療を開始し、42日、55日、70日、91日後に屠殺剖検し、肺、肝、脾の腫脹および結節形成の程度を観察するとともに、肺乳剤から 1% 小川培地に分離培養された菌集落をさらに Dubos 培地で均等増殖し、その 0.01 mg 相当菌量を、0, 1, 2, 5, 10, 20γ/ml KM 加 Youmans 培地に接種して感受性試験を行なった。判定は2週間におれわれの研究室で定めてある 0 より 10+ にいたる 11 段階の菌増殖度の基準によつた。

2) TH 耐性上昇に関する実験方法

H₂ 株および H₂-TH-Low R 株を用い、H₂ 接種群では放置群および TH 単独治療群をおき、H₂-TH-Low R

株接種群では 1) 放置群, 2) TH 治療群, 3) TH·SI 併用治療群, 4) TH·CS 併用治療群, 5) TH·KM 併用治療群, 6) TH·KM·CS 3 者併用治療群の 6 群を編成した。

感染 2 週後より治療を開始し, 25 日, 43 日, 60 日に屠殺剖検し, 肺, 肝, 脾の重量を測定したのち, 前報に準じて, 肺についてさらに全肺を生理的食塩水 5 ml とともにホモジナイザーで乳剤とし 1% NaOH 液で 10 倍に稀釈した。

25 日治療群についてはその 0.1 ml を 1% 小川培地に接種して培養し 5 週後にその集落数を算定するととも

に, 感受性試験はこの Dubos 培地に均等増殖したものに付き, 0, 1, 2, 5, 10, 20, 50 γ /ml TH 加 Youmans 培地に接種して型のごとくに施行した。43 日治療群および 60 日治療群では 1% NaOH 液のかわりに 3% NaOH 液で 10 倍に稀釈したのちその 0.1 ml を小川²⁾らの Kirchner 寒天変法培地 (Kirchner 寒天培地の第一磷酸カリウムの規定量, すなわち基礎液 100 ml に対して 0.4 g の量を増加して 1.0 g にして作つたもの) に接種し直接法により 5 週後に集落数を算定した。

実験成績

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

Strain	Treatment	Days of treatment	macroscopic findings			KM-resistance (γ /ml)						
			Lung	Liver	Spleen	0	1	2	5	10	20	
H ₂	KM	42	++	+-	##	10+	0	0	0	0	0	
		42	+±	+-	##	10+	0	0	0	0	0	
		55	##	--	--	10+	0	0	0	0	0	
		55	-±	--	##	10+	0	0	0	0	0	
		70	+ -	--	--	10+	0	0	0	0	0	
		70	++	+-	+-	8+	0	0	0	0	0	
		91	++	--	+-	8+	6+	0	0	0	0	
		91	##±	+-	--	8+	6+	0	0	0	0	
H ₂ -KM-Low R	KM	42	++	--	--	10+	7+	6+	5+	0	0	
		42	++	+-	--	10+	7+	7+	4+	3+	0	
		55	++	+-	+-	10+	7+	7+	5+	5+	0	
		55	++	--	+-	10+	7+	7+	4+	1+	0	
		70	++	--	--	5+	5+	5+	0	0	0	
		70	++	--	--	8+	8+	7+	5+	3+	0	
		91	++	+-	--	8+	5+	0	0	0	0	
		91	++	+-	+-	8+	8+	8+	6+	0	0	
		91	++	+-	--	8+	8+	8+	8+	8+	0	
	KM+CS	42	+±	--	±±	10+	8+	8+	3+	0	0	
		42	##	--	? ?	10+	8+	7+	4+	1+	0	
		55	+ -	+-	+-	10+	8+	8+	6+	3+	0	
		55	- +	+-	+-	10+	8+	7+	7+	4+	0	
		70	++	--	+-	8+	8+	6+	0	0	0	
		70	++	+-	+-	8+	8+	8+	0	0	0	
		KM+SI	42	++	+-	##	10+	7+	7+	4+	3+	0
			42	++	--	##	10+	8+	6+	6+	5+	0
			55	+ ±	--	--	10+	8+	8+	4+	1+	0
55	--		--	--	10+	7+	7+	5+	1+	0		
70	++		--	--	8+	8+	6+	0	0	0		
70	++		--	--	8+	8+	8+	0	0	0		
91	++		--	--	8+	8+	3+	3+	3+	0		
91	++		--	--	8+	8+	8+	5+	0	0		
91	++		--	--	8+	8+	8+	8+	8+	0		

1) Macroscopic findings: -, ±, +, ##, ### right denotes the degrees of swelling. left denotes the degrees of tubercle formation.
 2) Youmans medium was employed for the measurement of KM. resistance.
 3) 1+~10+: denotes the degrees of Proliferation in Youmans medium.

1) KM 耐性上昇に関する実験成績 (表 2)

感受性 H_2 株を接種し KM で治療した群では、91 日治療の 1 例のみ 1γ のところで菌増殖がみられたが、他に 1γ 以上の耐性菌の出現はみられなかつた。

低感受性 H_2 -KM-Low R 株を接種した群では、KM 単独、KM $\cdot$ CS 併用、KM $\cdot$ SI 併用のいずれの群においてもかなり顕著な耐性上昇がみられた。すなわち 5~10 γ 不完全ないし完全耐性を示したものは KM 群 9 例中 7 例、KM+CS 群 6 例中 4 例、KM+SI 群 9 例中 7 例であつた。またこの耐性上昇は 42 日治療のものからすでに認められたが、20 γ/ml 以上の高度耐性菌の出現はみられなかつた。

単独治療と併用治療の間に、CS または SI 併用では KM 耐性菌の出現に関して有意の差は認められなかつた。

また臓器の肉眼的所見として腫脹および結節形成を観察したが、これらの所見と耐性上昇との間にもとくに関連性は認められなかつた。

2) TH 耐性上昇に関する実験成績 (表 3, 4)

感受性 H_2 株を接種し TH で治療した群では 60 日治療例でも Kirchner 寒天変法培地上で 10 γ 以上に集落の発生をみず、全く耐性上昇を認めなかつた。

低感受性 H_2 -TH-Row R 株を接種し TH で治療した群ではほとんど全例に 10 γ/ml 以上の不完全あるいは完全耐性が観察された。すなわち、

(1) 25 日治療の場合:

TH 単独治療の 2 例はいずれも 20 γ/ml 不完全耐性を示した。TH+SI, TH+CS, TH+KM, TH+KM+CS 群では 20 γ/ml のところに耐性菌の出現をみなかつたが、TH+CS 群の 1 例を除きいずれも 10 γ/ml 不完全耐性を示し、単独治療と併用治療の間にわずかの差を生じている。

(2) 43 日以上治療の場合:

TH 単独治療群はもちろん、TH+SI, TH+CS, TH+KM, TH+KM+CS 併用群にも 20 γ/ml 耐性菌の出現がみられた。

各併用群間の耐性菌の出現状況はとくに顕著な差を示さなかつた。併用群とくに TH+KM+CS 群は肺内菌数が著明に少なかつたが、しかもなお、20 γ/ml のところに集落の発生をみ、25 日治療のさいにみられた単独治療群と併用治療群の間のわずかな差はなくなつている。

総括ならびに考案

前報¹⁾では、第一次抗結核薬のなかで代表的な INH と SM をとりあげ、これらに対する耐性上昇を *in vivo* で観察した成績を報告したが、今回は現在ひろく使用されている第二次抗結核薬のなかでもとくに強力とされている KM と TH を選び、従来の感性菌より出発する諸実験とは趣きを異にするが、前回と同様な方法で、これら二次抗結核薬に対する *in vivo* の耐性上昇を高率に

Table 3. Appearance of TH-Resistant Bacilli in the Lungs of Mice after 25 Days of Treatment

Strain	Treatment	weight (mg)			Quantitative culture	TH-Resistance (γ/ml)						
		Lung	Liver	Spleen		0	1	2	5	10	20	50
H_2	No Treatment	210	1,620	420	++	8+	0	0	0	0	0	0
		270	1,310	300	++	8+	0	0	0	0	0	0
	TH	250	3,080	51	46	8+	0	0	0	0	0	0
		220	3,400	610	48	8+	1+	0	0	0	0	0
H_2 -TH-Low R	No Treatment	270	2,110	540	168	8+	8+	8+	0	0	0	0
		400	1,850	520	119	8+	8+	8+	5+	0	0	0
	TH	300	1,880	480	104	8+	8+	8+	8+	6+	3+	0
		300	3,310	790	144	8+	8+	8+	6+	5+	3+	0
	TH $\cdot$ SI	290	1,490	520	46	8+	8+	8+	5+	2+	0	0
		310	3,060	600	73	8+	8+	8+	6+	2+	0	0
	TH $\cdot$ CS	540	3,290	670	112	8+	8+	8+	6+	2+	0	0
		340	3,610	800	122	8+	8+	8+	3+	0	0	0
	TH $\cdot$ KM	220	1,890	340	22	8+	8+	8+	6+	5+	0	0
		180	1,270	190	13	8+	8+	8+	3+	3+	0	0
	TH $\cdot$ KM $\cdot$ CS	240	1,430	250	41	8+	8+	8+	7+	4+	0	0
		260	1,850	360	66	8+	8+	8+	6+	3+	0	0

1) #: over 200 to 500 colonies.

2) Youmans medium was employed for the measurement of TH resistance.

3) 1+~10+ : denotes the degrees of proliferation in Youmans medium.

観察するとともに、低耐性菌の役割を追求せんとした。

これら KM, TH の耐性に関しては、第一次抗結核薬と比べると現段階では臨床的にもまた実験的にも必ずしも深く研究が進展しているとはいえない。耐性検査法一つをとりあげてもいまだにこれが確立されていないのが現状である。以下、関連文献を眺めながら、今回の実験成績について考察を加える。

In vitro においては比較的容易に KM および TH 耐性上昇がみられる。たとえば前田³⁾は 1 γ /ml 恒量継代法によつて H₂ 株は 6 代目で 100 γ /ml KM 完全耐性と

なると報告し、土持⁴⁾は増量継代法により H₃₇Rv 株は 8 代で 100 γ /ml TH 耐性を、H₂ 株では 9 代で 50 γ /ml TH 耐性の出現を認めている。

マウスおよびモルモットの実験的結核症における耐性上昇は、INH ならびに SM の場合には前報にとり上げたごとくかなりの数の報告がみられるが、二次抗結核薬についての報告はわずかである。KM 耐性上昇について桜井⁵⁾はモルモットの大腿皮下に人型結核菌 H₂ 株を 0.1 mg 接種し、2 カ月後より最長 2 カ月間 KM 10 mg 毎日をはじめ、INH, SM, PAS を含む併用治療を試み、

Table 4. Appearance of TH-Resistant Bacilli in the Lungs of Mice After 43 and 60 Days of Treatment

Strain	Treatment	Days of Treatment	Weight (mg)			Quantitative Culture	TH-resistance (γ /ml)						
			Lung	Liver	Spleen		0	1	2	5	10	20	50
H ₂	No Treatment	43	250	2,560	400	†	†	†	108	97	0	0	0
		43	300	2,900	490	55	55	55	23	7	0	0	0
		60	200	1,050	100	82	82	17	24	5	0	0	0
		60	370	1,710	400	29	29	18	84	91	0	0	0
	TH	43	220	1,590	210	36	36	23	17	10	0	0	0
		43	600	1,450	320	32	32	17	14	2	0	0	0
		60	320	1,200	150	27	27	20	10	0	0	0	0
		60	260	1,350	340	28	28	0	0	2	0	0	0
H ₂ -TH-Low R	No Treatment	43	290	1,450	460	134	134	87	91	69	0	0	0
		43	210	1,340	290	148	148	134	114	93	0	0	0
		60	260	850	250	39	39	27	18	11	0	0	0
		60	320	1,050	320	42	42	13	7	21	0	0	0
	TH	43	260	1,650	300	45	45	43	32	33	28	0	0
		43	250	2,260	320	46	46	46	44	38	38	0	0
		60	300	1,600	310	23	23	10	10	14	12	20	0
		60	270	1,400	280	37	37	14	7	19	21	8	0
	TH·SI	43	310	2,250	260	30	30	32	30	32	24	0	0
		43	280	1,620	150	29	29	15	15	19	2	0	0
		60	300	1,250	320	17	17	41	17	22	17	0	0
		60	230	1,250	260	12	12	17	15	20	9	4	0
	TH·CS	43	350	1,400	270	63	63	62	44	43	45	24	0
		43	290	2,310	510	77	77	65	65	69	36	11	0
		60	280	850	110	10	10	7	11	13	0	2	0
		60	350	1,500	300	14	14	11	7	13	3	1	0
	TH·KM	43	250	1,320	260	26	26	26	26	25	15	1	0
		43	270	1,480	340	26	26	25	26	21	6	0	0
		60	250	1,270	150	18	18	7	3	8	0	1	0
		60	250	1,290	300	10	10	9	0	1	13	4	0
TH·KM·CS	43	260	2,210	350	8	8	3	0	1	4	0	0	
	43	330	1,250	160	12	12	10	14	5	5	1	0	
	60	250	1,550	220	7	7	0	3	2	0	1	0	
	60	300	930	100	10	10	7	10	19	5	2	0	

1) †: over 200 to 500 colonies.

2) Modified Kirchner agar medium was employed for the measurement of TH resistance.

KM 単独治療群よりの分離菌が 10 γ KM 耐性を示したに反し、KM・PAS 併用群では 5 γ 耐性菌を得たに止り、モルモットにおける KM 耐性上昇の可能性と PAS 併用による耐性上昇阻止を示唆する成績を報告している。TH 耐性上昇については Rist⁶⁾らはマウスに感染 2 週後より最長 100 日に及ぶ治療を行ない肺よりの分離菌で 20 γ TH 耐性菌を得たとしている。

私は、前報¹⁾においてマウス実験の結核症における INH 耐性ならびに SM 耐性上昇について報告したさい、薬剤耐性結核菌を恒常的にしかも高率に得るための条件として、菌側の条件、生体側の条件、病巣・菌・薬剤相互のバランスの 3 点より考察し、菌側の条件として、従来の感性菌より出発する諸実験とは異なるが、in vitro で短時日薬剤と接触させ若干感受性を低下させた菌株を使用し、また病巣・菌・薬剤のバランスに対する考慮として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こととし、さらに肺病変の形成を待つために感染と治療開始との間に 2 週間の放置期間をおいた。

今回の KM 耐性ならびに TH 耐性上昇に関する実験方法についても前報と同様の見地にたち、さらにその耐性測定方法には特別の考慮を払った。

二次抗結核薬の耐性測定方法については現在なお種々論議の対象とされている。すなわち KM 耐性について梅沢⁷⁾は 1% 小川培地で卵黄による吸着の結果 KM 耐性値は高くなることを報告し、工藤⁸⁾は KM は小川培地で培地への吸着により 1,000 γ /ml で 1/2, 100 γ /ml で 1/10 に抗菌力が低下するとし、小川(政)も小川培地で 50~100 γ /ml で寒天培地の 1/10 に阻止力が低下するとしている。小川⁹⁾(辰)は KM 未投与の患者よりの分離菌株および保存菌株について大部分が 1 γ /ml 以下の耐性値であり、かつ接種菌量による耐性値の変動も比較的少ない点から Kirchner 寒天培地の使用を提唱している。また北本¹⁰⁾らは Youmans 培地を用いた場合は Kirchner 寒天培地による耐性度よりさらにやや低い値となると述べており、液体培地であることより吸着の考慮は不必要となり、真の価を知るに適している。以上から、私は KM 耐性測定には Youmans 培地を用い間接法により実施した。TH 耐性について堂野前¹¹⁾は小川培地と Kirchner 寒天培地を比較し、小川培地の 10 γ 耐性は Kirchner 寒天培地の 1 γ 耐性に、25 γ 耐性は 5 γ 耐性に、50 γ 耐性は 10 γ 耐性にそれぞれ匹敵するとし、高橋¹²⁾も両培地で発育可能濃度は H₂ 株で観察すると Kirchner 寒天培地では 1 γ /ml、小川培地では 10 γ /ml であり、完全耐性度は前者は 0.5 γ /ml、後者は 2.5 γ /ml であつたとしている。工藤⁸⁾は TH の培地への吸着により 50~200 γ /ml で小川培地で 1/3, Kirchner 寒天培地で 1/2 に抗菌力が低下するという。私は TH 耐性についてはこれらの諸点を考慮し、力価の減弱の少ない You-

mans 培地を用い、あわせて Kirchner 寒天培地を用いた。

KM 耐性上昇に関する私の実験成績では感受性 H₂ 株接種群では最長 91 日治療でも耐性上昇はほとんどみられずわずかに 1 株に 1 γ /ml のところに菌増殖を認めたと止まるが、低感受性 H₂-KM-Low R 株接種群では KM 単独および KM・SI, KM・CS 併用群ともに耐性上昇を認め 10 γ /ml 不完全ないし完全耐性を示した。しかし、併用による耐性上昇阻止は CS および SI という抗菌力の低い薬剤を用いたためか認められなかつた。すなわち私の実験条件により、KM についても in vivo で SM に観察された程度にかなりはつきりした耐性上昇をみる事ができ、感性株→低耐性株なる変化よりは容易に低耐性株の耐性上昇がみられることを明らかにしたが、臨床でしばしば遭遇するような 100 γ /ml とか 1,000 γ /ml 以上という高度耐性菌を得ることはできなかつた。この点については、併用薬剤の種類を変えた耐性阻止の問題とともに今後さらに検討に価する課題であると思う。

TH 耐性上昇に関する実験成績では感受性 H₂ 株接種群では最長 60 日に及ぶ治療で耐性上昇は全くみられなかつたが、低感受性 H₂-TH-Low R 株接種群では単独治療および TH・CS, TH・SI, TH・KM, TH・KM・CS の各併用治療群を通じ 45 日治療以上では 20 γ /ml の耐性菌の出現をみた。しかも併用により肺内菌数は減少しても耐性上昇を阻止する効果は認められず、25 日治療群にみられた程度の耐性上昇の遅延効果があつたのみである。

この耐性度は TH の血中抗菌活性などからみて臨床上は TH がほとんど無効とみなされる値と考えられる。この耐性上昇を他の薬剤の併用で阻止されるかどうかは興味のある問題であるが、私の実験では第二次抗結核薬中でことに強力な併用レジメンの一つと考えられている TH+KM+CS 併用^{13)~15)}をもつてしても、肺内菌数の減少をもたらし、また 25 日治療と 45 日以上治療群との間にみられたわずかの耐性上昇の遅延はあつたが、残存した菌は 10~20 γ /ml の耐性を担っているという結果であつた。

なおこの TH 耐性上昇阻止に関しては、Schütz¹⁶⁾は CS 併用は TH 耐性上昇を阻止しえずとし、Rist¹⁷⁾は SM または INH の併用が TH 耐性の出現を遅延させるといい、多賀¹⁸⁾は INH, PAS は TH 耐性出現を抑制するという。また土持⁹⁾は in vitro で H₃₇Rv 株, H₂ 株, 吹田株の 3 株につき INH 併用は TH 耐性出現を阻止しえず、SM, KM, SI にはいずれの菌株にも TH 耐性阻止効果を認め、PAS は H₃₇Rv 株には無効、H₂ 株および吹田株では阻止効果がみられたといい、堂野前¹¹⁾は臨床的に TH に KM, CS, PAS, SI を併用したさい、2 カ月および 4 カ月では TH 単独治療群に比しやや低い

TH 耐性菌出現率を示したが、6ヵ月では大差を認めなかつたと報告している。これら併用薬剤の種類と耐性阻止の問題については今後さらに検討されなければならないようである。

Allan¹⁹⁾らはいかなる薬剤と併用しても菌陰転化が起こらないかぎり早期に耐性菌が出現することは免れがたいと述べているが、私が前報¹⁾においてINH耐性ならびにSM耐性について考察したごとく、KM耐性およびTH耐性についても、生菌数が減少しても、一たび感受性の低下がみられ低耐性菌が生ずると残存した菌はさらに耐性が上昇する可能性が大であり、このことから臨床面で初期の化学療法を強力にすること、および不完全低耐性菌の出現にも十分に注意する必要があるのではないかと考える。

以上、私は前報と同じ条件でKM耐性およびTH耐性上昇について感受性H₂株では耐性菌の出現を認めなかつたが、1γ/ml KM不完全耐性菌ならびに5γ/ml TH不完全耐性菌を接種した場合には以後の耐性上昇は感受性株の場合に比して著明であり、他剤併用による治療効果がみられた場合にも不完全低耐性菌存在下では以後の耐性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した。

結 語

人型結核菌H₂株をin vitroでKMまたはTHと短時日低濃度で接触させて得た1γ KM不完全低耐性菌(H₂-KM-Low R株)および5γ TH不完全低耐性菌(H₂-TH-Low R株)をマウスに接種し、2週後から比較的少量の抗結核薬でKMについては最長3ヵ月、THについては最長2ヵ月の化学療法を施行して、in vivoのKM耐性ならびにTH耐性上昇の状況を検討して以下の結論を得た。

1) 感受性H₂株を接種し、KMまたはTHで治療した群ではこれらに対する耐性上昇をほとんど認めなかつた。

2) KM不完全低耐性株(H₂-KM-Low R株)を接種した群ではKM単独、KM・CS併用およびKM・SI併用のいずれの場合にもKM 10γに及ぶ耐性上昇を認めた。しかしCSまたはSI併用による耐性上昇の阻止はみられなかつた。

3) TH不完全低耐性株(H₂-TH-Low R株)を接種した群ではTH単独治療によりTH 20γ耐性菌を認めた。またTH・CS、TH・SI、TH・KM、TH・KM・CSの各併用治療でも若干のTH耐性上昇の遅延をみたが、最終的には肺内菌数の減少にかかわらずTH 20γ耐性菌を認めた。

すなわちin vivoで不完全低耐性菌より出発してかなり高率にKMおよびTH耐性上昇を観察することができ、また、不完全低耐性菌の役割を追求しえたが、今回の成績から二次抗結核薬による化学療法にさいしても、とくに早期に菌陰転化するように努めること、および低耐性菌の出現にも十分に注意する必要があることなどを推論した。

稿を終るに臨み、ご懇切なるご指導とご校閲を賜っ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36年、37年日本結核化学療法研究会(日結研)に発表した。

文 献

- 1) 木村：結核，40：49，1965.
- 2) 小川(辰)他：結核，33：749，1958.
- 3) 前田：結核，35：92，1960.
- 4) 土持：結核，38：230，1963.
- 5) 桜井他：結核，38：820，1958.
- 6) Rist, N. et al : Am. Rev. Tbc., 79 : 1, 1959.
- 7) 梅沢：文部省科学研究費“化学療法による結核治療機転の研究班”報告，1958-6.
- 8) 工藤他：結核，38(増刊号)：78，1963.
- 9) 小川(政)：結核，37：565，1962.
- 10) 北本他：診断と治療，46：7，1958.
- 11) 堂野前：結核，37：349，1962.
- 12) 高橋：結核，37：442，1962.
- 13) 河西他：結核，39(増刊号)：71，1964.
- 14) 岡他：日本医事新報，No. 1993：3，1962.
- 15) 岡他：日本医事新報，No. 2061：14，1963.
- 16) Schütz, I : Dtsch. Med. Wschr., 86 : 133, 1961.
- 17) Rist, N. et al : Presse Méd., 67 : 1597, 1959.
- 18) 多賀：結核，38：230，1963.
- 19) Allan, G. W. et al., : Brit. J. Dis. Chest, 55 : 91, 1961.