

Streptomycin 依存性結核菌を用いた増殖休止菌に対する 抗結核剤の効果に関する研究

第2編 動物実験

太 田 令 子

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第1

受付 昭和46年8月21日

STUDIES ON THE EFFECTS OF ANTITUBERCULOSIS AGENTS AGAINST TUBERCLE BACILLI IN THE RESTING STATE, USING STREPTOMYCIN-DEPENDENT STRAIN (18-b)*

II. Studies *in vivo*

Yoshiko OHTA

(Received for publication August 21, 1971)

To evaluate the chemotherapeutic effects of antituberculosis agents against tubercle bacilli in the resting state, the author made *in vivo* experiment by using streptomycin (SM)-dependent strain of tubercle bacilli (18-b), cultivated under SM-starving condition.

Mice of dd-strain, infected intravenously by 18-b, are treated with isoniazid (INH) alone or in combination with kanamycin (KM) and ethambutol (EB) for eight weeks. After treatment, colonies of tubercle bacilli recovered from lung and spleen of treated mice are recorded and compared with those of untreated mice and with mice infected with tubercle bacilli in normally growing state.

According to the results of this experiment, chemotherapeutic effects of antituberculosis agents such as INH, KM and EB were hardly observed against SM-dependent strain of tubercle bacilli (18-b) in the resting state under SM-starving condition of mice.

第1章 緒 言

化学療法の究極の目的は、化学療法剤による生体内殺菌であることはいままでもないが、結核症に対する化学療法ではこのことはきわめて困難であつて、多くの場合臨床的治癒の段階にとどまり、程度の差こそあつても再発の危険性のあることは周知の事実である。

臨床的には生体内の結核菌量あるいはその動態を推定しうるような方法がないこと、とくに極微量の菌をも確実に証明しうる方法に乏しいこと等が大きな障壁の一つ

となつていのであるが、実験的にはこれに関するアプローチとして McCune, Feldman, Lambert および McDermott ら¹⁾²⁾は、マウスの結核症に強力な化学療法を行ふことによつて、臓器内から結核菌を絶滅しうるかどうかを検討した。すなわち pyrazinamide (PZA) と isoniazid (INH) を併用して12週間治療したところ、ほとんどすべてのマウスの肺、脾内の結核菌を培養陰性にする事ができたが、その後放置すると再び培養陽性となつた。しかもその菌は PZA にも INH にも耐性を持たなかつたこと、および治療期間を26週間に延

* From the First Department of Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University, 53, Kawaracho, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

長したところ、その後放置しても肺、脾内の結核菌は再び培養陽性にはならなかつたことを報告している。これらのことから、McCuneらは、*in vivo*の結核菌が化学療法の強化により“生えない状態”に変化すること、およびその状態にあつてもなお化学療法に反応することを示唆した。

本邦では金井ら⁹⁾によつて、Streptomycin(SM)依存性人型結核菌 18b株⁴⁾を用いて増殖休止状態の結核菌に対する化学療法の効果の検討がなされた。これによると、SMを含まない培地に継代して増殖休止状態とした18b株を接種したマウスに、SMを投与しないでINH, Kanamycin(KM), Ethambutol(EB)のおのおの単独投与を4週間継続したが、脾、肝内の生菌数は対照の治療しなかつた群と比較してほとんど差を認めなかつた。このことは、生体内の分裂増殖を停止した結核菌に対する化学療法効果があまり期待できないことを示唆している。

著者は第1編⁶⁾において、18b株を用いて試験管内で、増殖休止状態にある結核菌に対する抗結核剤の殺菌効果を検討したところ、わずかながらINHの殺菌効果および薬剤の併用効果を認める成績を得ている。

第2章 増殖休止菌の生体内での消長

第1節 実験材料および実験方法

1. 実験動物：マウスは体重23~25gの市販dd系の雄を使用し、モルモットは体重600g前後の白色のものを使用した。

2. 菌株：予研より分与されたSM依存性人型結核菌18b株を18日間SM飢餓状態で培養して残余発育を停止させた菌膜⁹⁾を使用し、別に対照として有毒人型結核菌黒野株を使用した。

18b株および黒野株から別々に約4mg/mlの菌液を作製した。また、別に18b株菌から蒸気滅菌した同濃度の死菌液をも作製した。

3. 臓器内生菌数：マウスでは肺および脾を被検臓器とした。肺と脾とを別々に3~5匹分まとめて蒸留水を加え、Teflon-homogenizerにより7倍のhomogenate

Fig. 1. Viable Units of 18-b Strain in the Resting State in the Lung and Spleen of Mice

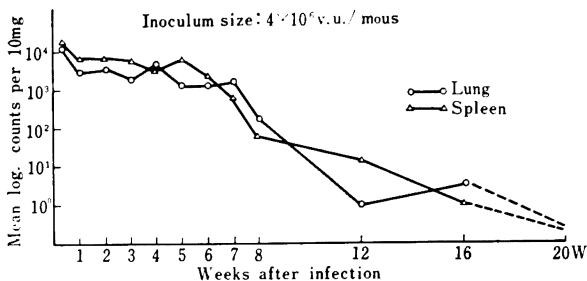


Table. Tuberculin Skin Reaction of Mice Infected with 18-b in the Resting State

		4	6	8	10	12	20W
Group1	-	±	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	+	+	+
Group2	-	±	±	±	±	±	-
	-	±	±	±	±	±	±
	-	±	±	±	±	±	±
Group3	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	±	-
Group4	-	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	+	+	+
Group5	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
Group6	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-

- : Erythema 0~4 mm
 ± : Erythema 5~9 mm
 + : Erythema over 10 mm
 + : Erythema over 10 mm with induration
 # : Erythema over 10 mm with vesicle or necrosis

とし、これに3% NaOHを加えて10倍液とし、SM 100 mcg/ml 添加1%小川培地に接種し、6週間培養後、発生集落数を肉眼的に判定し、臓器10mg中の生菌数を算出した。

第2節 実験成績

実験1：マウス70匹に増殖休止18b株0.4mgずつ尾静脈内接種した。接種3日目以後8週間後までは毎週、その後は3カ月後、4カ月後、5カ月後、6カ月後まで毎回5匹ずつ屠殺し、肺および脾内生菌数を追求した。

図1にみられる通り、6週後から臓器内の培養可能な菌数は急速に減少した。また5カ月後からは上述の培養方法では培養不可能となつた。ゆえに、この方法で化学療剤の生体内殺菌効果を判定するためには投薬期間は、生体内で菌の増減のほとんどないと考えられる感染後6週間以内がよいと思われる。

また7カ月後より1カ月間SM 10mg毎日投与後、3匹を屠殺して1匹ずつの肺、脾内生菌数を測定したところ、肺では10mg中におのおの5.5×10⁴、4、1生菌単位、脾10mg中にはおのおの1.2×10¹、1、3生菌単位が認め

られた。

実験2: モルモット18匹を3匹ずつ6群に分け、第1群には18b株菌液0.4mgを、第2群には0.04mgを、第3群には0.004mgをおのおの右大腿皮下に接種して感染した。第4群には黒野株菌液0.004mgを接種し、第5群には18b株死菌液0.8mgを同じく右大腿部皮下に接種した。第6群は対照群として結核菌接種は行なわなかつた。モルモットは、菌接種を行なう前および菌接種4週間後より2週ごとに、ツベルクリン皮内反応検査を行なつた。

判定基準は、2,000倍旧ツベルクリン液0.1mlを皮下注射し、48時間後に発赤および硬結の直径を測定した。発赤の直径が10mm以上を陽性とし、ツベルクリンアレルギーありと判定した。発赤の直径が5~9mmのものは疑陽性、4mm以下は陰性とした。

実験成績は表に示した通り、1群、2群、3群を比較すれば、菌量の多い第1群では菌接種4~6週間後よりツベルクリン反応の陽転を示し、2群、3群では陰性のままであつた。このことから増殖休止菌といえども菌量によつてはツベルクリンアレルギーの抗原として作用しうることがわかつた。著者が実験1で、マウスに接種した増殖休止状態の18b株の1匹当りの菌量は、本実験で第1群のモルモット1匹当りの菌量とほぼ等しくなつている。また死菌ではツベルクリン反応は陰性であり、黒野株では、18b株の菌量の約1/100量接種により4週間後からツベルクリン反応が陽性になつている。

第3章 増殖休止菌に対する抗結核剤の殺菌効果

第1節 実験材料ならびに実験方法

実験動物、菌株、臓器内生菌数は第2章の実験1に準じた。

実験1: 被検薬剤はINH, KM, EBを使用した。接種菌液は、第2章の実験1とほぼ同じであるが、SMを含まないSauton合成培地上に移してから10日間SM飢餓状態で培養し、完全には増殖が休止してないと思われる菌膜から第2章と同様にして作製した。

接種菌量は1匹当り 4×10^6 生菌単位で、尾静脈内に注射した。

マウス185匹を8群に分けた。第1群を対照群として45匹、第2群から第8群までを治療群として各群20匹とした。薬剤投与方法は、薬剤を生理的食塩水溶液とし、週6日、1日1回腹腔内注射した。第1群は対照群として生理的食塩水、第2群はマウス1匹当りINH 0.2mg、第3群はINH 0.5mg、第4群はINH 1.0mg、第5群はKM 0.5mg、第6群はEB 0.5mg、第7群はINH 0.2mg+KM 0.5mg+EB 0.5mg、第8群はKM 0.5mg+EB 0.5mgを投与した。治療は感染翌日から開始した。

実験2: 実験条件は実験1とだいたい同じであるが、異なる点は、接種菌液作製法で、SMを含まないSauton合成培地に移してから18日間SM飢餓状態で培養し、完全に残余発育が停止して増殖休止状態にあると考えられる18b株を用いたことである。接種菌量は 3.8×10^6 生菌単位とした。

マウス104匹を5群に分けた。第1群は対照群で32匹とし、感染翌日から1日1回週6日、生理的食塩水0.2mlを腹腔内投与した。第2群および第3群は各21匹とし、感染翌日から治療を開始した。第2群はINH 0.5mg、第3群はINH 0.5mg+KM 0.5mg+EB 0.5mgを生食水0.2mlに溶解し、1日1回週6日腹腔内投与した。第4群および第5群は各15匹とし、感染後2週間放置してから第4群は第2群と同じ治療を、第5群は第3群と同じ治療を行なつた。

18b株接種後、第4群、第5群で2週間放置したのは、接種18b株菌中に、万一増殖中の結核菌が残つていたとしても、マウス生体内で2週間SM飢餓状態にあれば完全に増殖休止状態になると考えたからである。

実験3: 被検薬剤としてINHを使用した。接種菌液は実験1と同様で、接種生菌数は1匹当り 3.9×10^6 とした。

マウス65匹を3群に分けた。第1群は対照群として

Fig. 2. Viable Units of Tubercle Bacilli in the Lung of SM-starving Mice (I)

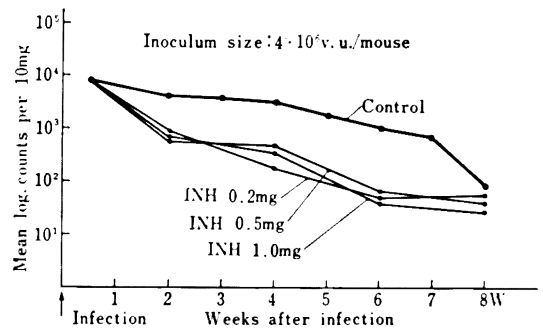


Fig. 3. Viable Units of Tubercle Bacilli in the Lung of SM-starving Mice (II)

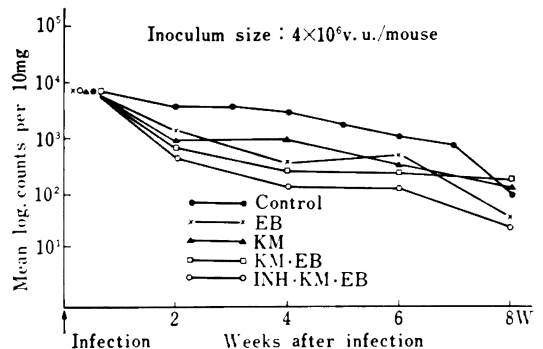
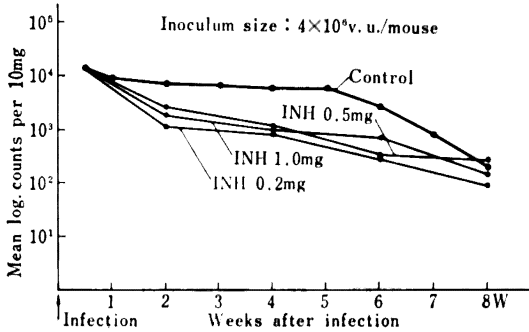


Fig. 4. Viable Units of Tubercle Bacilli in the Spleen of SM-starving Mice (I)



25匹, 第2群, 第3群は治療群として各20匹とした。全群とも週6日1日1回 SM 10mg を腹腔内投与した。第1群には対照として生理的食塩水を, 第2群には INH 0.2mg, 第3群には INH 1.0mg を生理的食塩水溶液として週6日1日1回腹腔内注射により投与した。治療は感染翌日から8週間継続した。

第2節 実験成績

実験1の成績は図2~5に示した。INH 単独治療群では INH 投与量と関係なく, 肺内生菌数は対照群に比

Fig. 5. Viable Units of Tubercle Bacilli in the Spleen of SM-starving Mice (II)

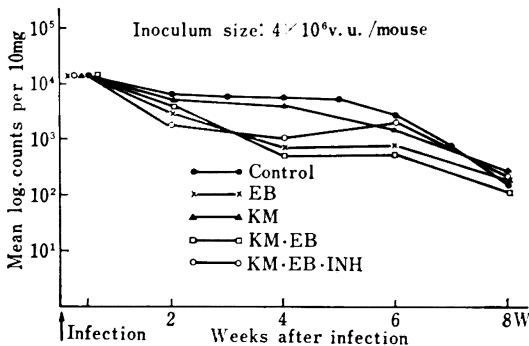


Fig. 6. Viable Units of 18-b in the Lung of Mice (SM-starving)

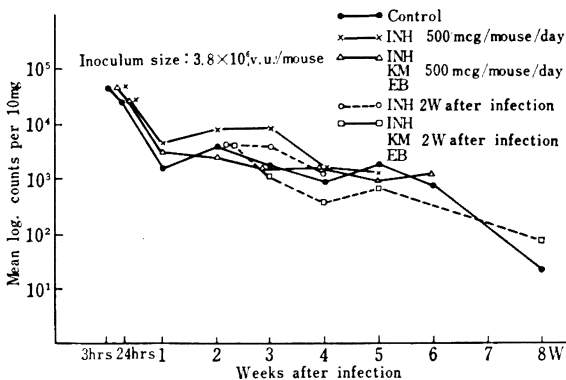
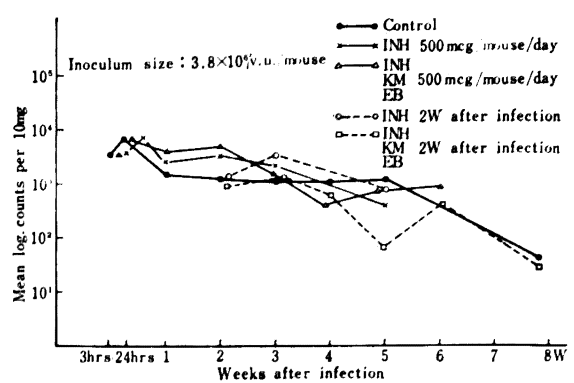


Fig. 7. Viable Units of 18-b in the Spleen of Mice (SM-starving)



して2週間後には約1/5に, 4週間後には約1/6に, 6週間後には約1/10に減少しているが, 8週間後になると対照群にも生菌数減少がみられ, 治療群とほとんど差がなくなる。また INH, KM, EB 併用群でも INH 単独治療群とはほぼ同様の肺内生菌数の変化を示している。KM 単独投与, EB 単独投与および KM, EB 併用群では INH 投与群よりも対照群との差は少ないが, やはり治療開始後2週間までに治療効果がみられる。

脾内生菌数は, KM 単独投与群では8週間後まで対照群とほとんど差が認められず, 治療効果はみられなかつた。INH 単独投与群および INH, KM, EB 併用群では2週間後までに脾内生菌数は対照群の約1/2~1/4に減少し, 4週後には約1/5~1/10に減少し, その後は差が少なくなり, 8週後には対照群との差は全く認められなくなつた。またEB 単独投与群および KM, EB 併用群では, 2週後には対照との差はわずかであるが, 4週後, 6週後には生菌数は約1/2~1/5に減少していた。

これらのことを総合すると, 投薬による治療効果は INH を用いた群, すなわち第2群, 第3群, 第4群, 第7群の肺内生菌数の減少曲線に表われている。他の群すなわち第5群, 第6群, 第8群の肺内生菌数および全群の脾内生菌数は対照群とあまり差が認められなかつた。

実験2の成績は図6, 7に示した。INH 単独投与群でも INH, KM, EB 併用群でも治療効果はほとんど認められなかつた。また2週間放置してから治療を開始した群すなわち第4群および第5群でも, 菌接種の翌日から治療を開始した第2群および第3群との差は認められなかつた。このことから, 接種した 18b 株は18日間 SM 飢餓状態で培養したことにより, 残余発育⁹⁾は完全に停止し, 増殖休止状態になつていたものと思われる。

実験3の成績は図8, 9に示した。肺内生菌数は, INH 治療群では投与量に無関係に, 対照群に比較

Fig. 8. Viable Units of 18-b in the Lung of Mice (SM-administered)

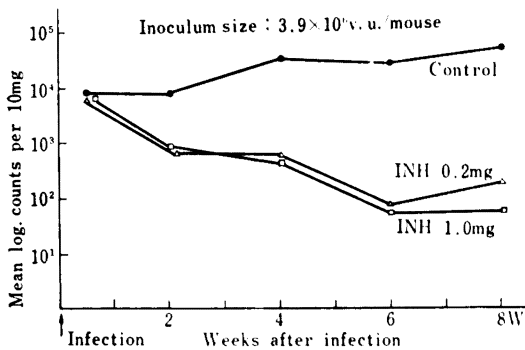
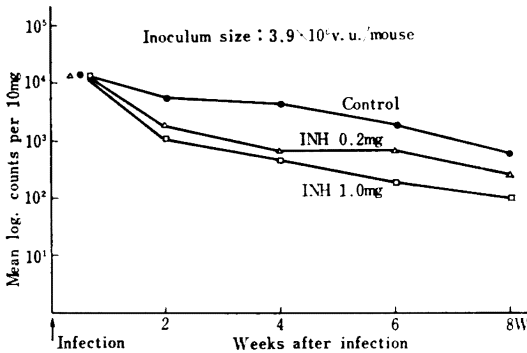


Fig. 9. Viable Units of 18-b in the Spleen of Mice (SM-administered)



して著明に減少しており、治療効果を示している。脾内生菌数も、わずかながら INH の治療効果を示している。

第4章 治療群の薬剤耐性獲得について

第1節 実験材料ならびに実験方法

1. 培地：SM 100 mcg/ml 添加 1% 小川培地を使用した。
2. 菌株：第3章の実験 1~3 で動物臓器より分離培養した菌集落を、再び SM 100 mcg/ml 添加 1% 小川培地に植えて4週間培養したものを用いた。
3. 被検薬剤：第3章の動物治療に用いた薬剤、すなわち INH, KM, EB について検査した。
4. 耐性検査培地の薬剤濃度：INH は 5.0, 1.0, 0.1 mcg/ml, KM は 100, 10, 5 mcg/ml, EB は 25, 10, 5 mcg/ml とした。
5. 菌液および接種方法：上述の菌集落に、約 2ml の石油ベンジンを加え、振盪することにより全集落より石油ベンジン菌液を作製し、硫酸バリウム標準液と比濁することによって約 1.0 mcg/ml の濃度とした。これを上述の薬剤の濃度に調整した SM 100 mcg/ml 含有 1% 小川培地に約 0.1 ml ずつ流し、4週間 37°C で培養し

た後肉眼的に発育集落を判定した。

第2節 実験成績

増殖休止状態か、あるいはこれに近い状態の 18b 株を接種したマウスに SM を投与しないで抗結核剤を投与した、実験1および実験2のマウスの肺および脾から分離培養した菌では、すべて使用した薬剤に対する耐性上昇は認められなかった。

実験3の、SM 10 mg 週6日投与して、マウス生体内とくに肺内の 18b 株を増殖させながら、同時に INH で治療した群では8週間治療群では INH 5 mcg/ml に不完全耐性獲得が認められた。脾から分離培養した菌では耐性上昇は認められなかった。また治療期間6週以下の群の肺、脾から分離培養された菌では耐性上昇は認められなかった。

第5章 考 案

第1節 実験方法に関する考察

結核症においては、多くの場合化学療法を強化しても体内の結核菌を絶滅することはきわめて困難である。この原因として薬剤耐性獲得、病巣内結核菌に薬剤が到達しにくいこと、そして結核菌の代謝が低下して増殖休止状態になること等が考えられる。本論文では、この最後の場合、すなわち薬剤が生体内で結核菌に到達しているにもかかわらず、その薬剤に感受性のままで生き残る菌について検討した。

増殖休止菌としては、SM 飢餓状態においたために増殖休止状態となつた SM 依存性人型結核菌 18b 株⁴⁾⁵⁾を用いた。この菌は再び SM を供給することによって速やかに増殖を開始するので検出に便利である。というのは、McCune ら²⁾によると、一般の結核菌、たとえば H37Rv 株を増殖休止状態にするためには、動物に接種した後長期間経過しなければならず、また一度増殖休止状態になれば、その菌を増殖可能な環境に移しても、容易に増殖を開始しないので、*in vitro* での培養とか、動物接種等の菌の増殖能力を利用する検出方法では検出困難となり、また染色して顕微鏡によつて発見したとしても、それが結核菌であるかどうかを同定することができないため、増殖休止状態の結核菌を証明する方法は、その動物を長期間放置するか、あるいは cortison の大量投与等によつて生体内での増殖を待つことだけであるという。

本論文第1編⁶⁾において、18b 株が SM 依存性を持つ点を除けば、諸種抗結核剤に対して H37Rv 株と同様の感受性を持つこと、および SM 供給中止後約2週間増殖休止状態となることが分かつた。

そこで本編ではまず増殖休止状態の 18b 株のマウス体内での消長をみたところ菌接種後6週間までは肺および脾内の生菌数はほぼ不変であつたが、7週間以後急速

に減少し、8週後には接種時の約1/100に、12週後には1/1,000~1/10,000になり、20週後より後は検出不可能となつた。

以上のことを考慮して増殖休止状態の結核菌に対する化学療法強化実験を行なつた。使用薬剤としてINH, KM, EBを併用したのは、18b株がSM依存性菌であるためSMを用いることができないこと、INH, KM, EBは殺菌効果がとくに優れた薬剤であり副作用が少ないため、3剤とも1日0.5mgずつ併用投与した。この量は体重60kgの人間で1日にINH 1.2g, KM 1.2g, EB 1.2gの併用となり、しかも3剤とも経口投与でなく注射であるからかなり強力な治療と考えられる。その結果、完全に増殖休止状態にはなっていないと考えられる18b株を接種したマウスでは、治療開始2週後までに治療群の肺内の生菌数は約1/5に減少しており、脾内生菌数もこの期間に約1/2~1/4に減少している。この治療効果は残余発育⁹⁾がまだ停止していない菌に対する殺菌効果によるものと考えられる。完全に増殖休止状態になつていると考えられる18b株を接種したマウスでは、治療効果は全く認められなかつた。一方、同じ18b株を用いてSMを投与しながらINH 0.2mg投与により8週間治療したマウスでは、対照群に比較して肺では生菌数は約1/1,000に減少していた。このことから、INH 0.2mg腹腔内投与は増殖中の肺内の18b株菌に対して有効であつたと考えられる。

以上のことから、増殖休止中の生体内結核菌に対しては、化学療法を強化しても殺菌効果を望むことはできないと思われる。また化学療法を受けたマウスの臓器内から分離培養された18b株の耐性検査を行なつたところ、INH 0.1mcg/ml, KM 5mcg/ml, EB 5mcg/mlに対して全く感受性であつた。しかし同じ18b株を接種したマウスにSM 10mg投与しながらINH投与により8週間治療した肺から分離培養した菌では、INH 5mcg/mlに不完全耐性獲得がみられた。このことは、第1編の*in vitro*の成績と同様に生体内でも増殖休止状態の菌は増殖中の状態に比較して耐性獲得しにくいことを示すものであり、また逆に増殖休止状態にある結核菌は薬剤に感受性のまま、薬剤の殺菌作用を受けることなく生き残つたものと考えられる。

第2節 諸家の報告との比較考察

結核症では強力な化学療法にもかかわらず、生体内の結核菌を絶滅することが困難で、慢性経過をとるのは、薬剤に対する耐性上昇、薬剤投与量の不足、病巣への薬剤浸透の障害、薬剤に対し拮抗する物質の存在等が考えられてきた⁷⁾。しかしながら、その他にmicrobial persistence, すなわち細菌が生体内で薬剤の攻撃に抗して、その薬剤に感受性のまま生き残る能力のあることが、1958年McDermott⁹⁾により報告されて以来、このこと

に関して種々の細菌や薬剤を用いた実験が報告されている。

増殖休止状態の結核菌に対する化学療法剤の効果に関する動物実験は、菌量の一定した慢性結核症をつくることが困難なことにより^{9)~13)}、報告はわずかである。McCune¹⁴⁾による報告では、H37Rv株を用いて尾静脈内接種感染したマウスに、PZAとINHの併用治療を12週間継続し、肺、脾内に生菌を検出することが不可能となつた後、2~3カ月間放置し、cortisone 1.0mgを20~28日間投与することにより増殖休止状態の、しかも投与した薬剤に感受性の結核菌をほとんどすべてのマウスの臓器内から検出している。そこで次いで同様の方法によつて治療を12週間行ない、増殖休止状態になつたと考えられる結核菌に対してさらに14週間同じ治療を継続したところ、治療終了時すなわち、26週間の治療後には臓器内から結核菌を培養することはできなかつた。その後6カ月間follow-upしたが、cortisone投与の有無にかかわらず培養によつて結核菌を検出することはできなかつた。このことから、増殖休止状態の結核菌にも化学療法剤が殺菌作用を示すのではないかと言つている。しかしこの26週間の治療は薬剤の殺菌効果の他に、長期間結核菌の発育を阻止することにより、結核菌を自然死させるかあるいは増殖能力を失なわせて再び増殖可能な環境に変わつても増殖することができないためにやがては自然死するにいたるのかもしれないとも言つている。

本論文では、増殖休止状態の18b株をマウスに接種し、約5カ月間以上放置したところ、肺、脾内結核菌の分離培養はできなかつた。しかし菌接種7カ月後から1カ月間SM投与し、肺、脾内より菌を検出した。このことはMcCuneらのcortisone投与実験と対比して興味深く思われる。すなわち結核菌は長期間増殖休止状態に置かれると、死滅または永久に増殖能力を失うものもあるが、一部の菌は生き残り、再び増殖可能な環境に置かれた場合、その増殖能力ははじめは低い徐々に増殖を開始するのではないかとと思われる。

一方金井ら⁹⁾によると、SM依存性人型結核菌18b株を用いた実験では、SM飢餓状態にして増殖を休止させた18b株をマウスに接種し、SM飢餓状態のままINH, KM, EBの各単独投与を4週間行ない、肝、脾をhomogenizeしてSM含有培地で菌量を測定した。その結果ほとんど治療効果を認めなかつたことが報告されている。

本論文の実験でも、SM投与を中止して増殖休止状態にあると考えられる18b株菌を接種したマウスに、INH単独およびINH, KM, EB併用によるかなり強力と考えられる治療を8週間継続したが、治療効果はほとんど認められなかつた。また投与薬剤に対する耐性獲得

もみられなかつた。

第3節 臨床への応用に関する考察

いわゆる慢性結核症に対し、化学療法を強化することによつて臓器内結核菌を減少または絶滅に導くことはきわめて困難である。その原因の1つとして、生体内で生きてはいるが増殖休止状態にある菌に対しては、化学療法剤が作用しがたいことが考えられる^{14)~24)}。

マウスの実験的慢性結核症において、感染臓器内の菌は増殖休止状態にあることが Rees と Hart¹⁵⁾ により示されており、ヒトの慢性結核症においても、おそらく同様の状態にあると考えられる。そこで本論文において、18b 株を用いて SM 投与を中止することにより増殖休止状態の結核菌とし、これをマウスに接種してかなり強力と考えられる化学療法を行なつたのであるが、治療効果すなわち、生体内殺菌効果を認めることはできなかつた。しかも臓器から分離培養された 18b 株は、投与された薬剤に感受性のままであつた。このことから、増殖休止中の結核菌に対する化学療法の強化は、直接的な殺菌効果を求めるという意味では無効と考えられる。

一般に新鮮病巣や、空洞内の結核菌は盛んに増殖し、陳旧病巣や被包乾酪巣の結核菌は緩徐な発育か、ほとんど発育休止状態にあるものと想像されるが、抗結核剤の効果は発育の盛んな結核菌には高く、増殖休止菌には低いか全くないと考えられるので、抗結核剤の効果は新鮮病巣や空洞の菌には高く、陳旧病巣や被包乾酪巣の菌では低いものと推測される。

では増殖休止菌に対する化学療法、換言すれば被包乾酪巣や陳旧病巣に対する化学療法は無意味なのであろうか。

本論文における実験の、SM 投与中止によつて増殖休止状態となつた結核菌が生体内で6週間後から急速に SM 含有培地上における増殖能力を失うことから、このような現象が一般の人間結核菌にもみられるのではないかと考えられる。すなわち強力な化学療法に抗して生き残つた結核菌がそのまま化学療法を継続することにより長期間増殖休止状態におかれるときには、その結核菌は再び増殖可能な環境になつても増殖能力を失つた状態のままになる可能性がある。つまり菌の自然死にいたるわけである。

それでは排菌することなく何年も経過した患者の悪化、再発はなぜ起こるのであろうか。その理由としては、検査方法の不備は別として、薬剤耐性獲得、病巣内結核菌に到達する薬剤濃度の不足等により、遅い速度ながらも分裂増殖が行なわれており、そのために薬剤投与の中止、生体免疫力の低下等の生体内環境の変化により結核菌の増殖が再び活発になり、悪化、再発するものとも考えられる。

もしこのような推論が許されるならば、感染した菌が

ほとんど増殖休止状態になつたと考えられる慢性結核症に対しても、発育阻止の目的で、耐性を持たないと思われる薬剤の投与をできるだけ長期間継続することが望ましい。これによりわずかながらも増殖している菌は殺菌されるかまたは増殖休止状態となる。そして増殖休止状態の菌は化学療法剤により長期間発育休止状態を強いられ、再び増殖可能な環境になつても増殖することのできない菌となり、ついには死滅するにいたるかもしれない。

しかし現実的に考えると、結核感染初期に比較すると、慢性化した結核症では薬剤が病巣内結核菌に到達しにくいこと、薬剤耐性獲得等により、薬剤投与による生体内での発育阻止効果を求めることはより困難である。また抗結核剤には副作用を持つものが多く、長期の強力な投薬は望めない場合が多い。また増殖中の菌は、増殖休止菌よりも速やかに耐性獲得することが実験的に証明されている。それゆえ、結核の化学療法は、やはり感染初期に、殺菌を目的として多剤を、大量に投与することが重要であらう。

第6章 結 語

Streptomycin 依存性人型結核菌 18b 株を用いて、増殖休止状態の結核菌に対する isoniazid, kanamycin および ethambutol の併用による化学療法強化を試みたが、8週間の薬剤投与によるマウス生体内殺菌効果はほとんど認められなかつた。また投与薬剤に対する耐性上昇もみられなかつた。

本論文では streptomycin 依存性人型結核菌 18b 株⁴⁾ を SM のない環境に移すことにより増殖休止状態の菌とし、これに対して *in vitro* および *in vivo* における強力な抗結核剤投与を試みた。*in vitro* では Silicone-Coated Slide 培養法により、isoniazid, kanamycin, ethambutol および ethionamide を併用作用させた。その結果、増殖中の 18b 株に対するよりはかなり弱いですが、薬剤の濃度効果および併用効果が認められた。

in vivo ではマウスに増殖休止 18b 株を接種し、isoniazid, kanamycin および ethambutol を1日 0.5 mg ずつ併用して8週間腹腔内投与して肺、脾内より 18b 株を分離培養し、定量的に投薬の効果を検討した。その結果薬剤の殺菌効果は認められず、また投与された薬剤に対する耐性上昇もみられなかつた。

これらのことから、増殖休止状態の結核菌に対する抗結核剤の治療効果はあまり期待できないといえる。それゆえ結核の化学療法は、菌の分裂増殖の盛んな感染初期に、殺菌効果の強い薬剤を数多く大量に用いることが望ましいものと思う。

文 献

- 1) McCune, R. M., Feldman, F. M., Lambert, H. P. & McDermott, W. : J. Exp. Med., 123 : 445, 1966.
- 2) McCune, R. M., Feldman, F. M., Lambert, H. P. & McDermott, W. : J. Exp. Med., 123 : 469, 1966.
- 3) 金井興美他 : 結核, 39 : 537, 昭 39.
- 4) 橋本達一郎 : 結核, 30 : 707, 昭 30.
- 5) 金井興美 : 医学と生物学, 64 : 147, 昭 37.
- 6) 太田令子 : 結核, 46 : 295, 昭 46.
- 7) Bloch, H. : Bibl. Microbiol. Fasc., 4 : 95, 1964.
- 8) McDermott, W. : Yale J. Biol. Med., 30 : 257, 1958.
- 9) Hart, P. D. & Rees, R. J. W. : Brit. J. Exp. Path., 41 : 414, 1960.
- 10) McCune, R. M. & Tompsett, R. : J. Exp. Med., 104 : 737, 1956.
- 11) McCune, R. M., Tompsett, R. & McDermott, W. : J. Exp. Med., 104 : 763, 1956.
- 12) Sever, J. L. & Youmans, G. P. : Amer. Rev. Tuberc., 76 : 616, 1957.
- 13) Rees, R. J. W. & Hart, P. D. : Brit. J. Exp. Path., 42 : 83, 1961.
- 14) Hobby, G. L. et al. : Amer. Rev. Tuberc., 74 : 109, 1956.
- 15) Mitchison, D. A. et al. : Amer. Rev. Tuberc., 74 : 109, 1956.
- 16) 森下昭三 : 胸部疾患, 4 : 585, 昭 35.
- 17) 稲津舜介 : 鹿児島大学医学雑誌, 11 : 2732, 昭 35.
- 18) 稲津舜介 : 鹿児島大学医学雑誌, 12 : 161, 昭 35.
- 19) Forbes, M. et al. : J. Bact., 84 : 1099, 1962.
- 20) 鈴木鏝三郎他 : 結核, 30 : 567, 昭 30.
- 21) Horai, Z. et al. : Med. J. Osaka Univ., 7 : 795, 1957.
- 22) Kanai, K. : Jap. J. Med. Sci. Biol., 8 : 63, 1955.
- 23) Ueno, T. : Rep. Med. Res. Probl. Jap. Anti-Tbc. Ass., 3 : 311, 昭 30.
- 24) Wagner, W. H. : Beitr. Klin. Tub., 110 : 236, 1953.