

原 著

非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性

1. 抗結核剤に対する感受性

久世文幸・武田貞夫・前川暢夫

京都大学結核胸部疾患研究所内科学1

受付 昭和49年2月14日

SENSITIVITIES OF ATYPICAL MYCOBACTERIA
TO VARIOUS DRUGS

I. Sensitivities to Antituberculous Drugs

Fumiyuki KUZE, Sadao TAKEDA and Nobuo MAEKAWA*

(Received for publication February 14, 1974)

The sensitivity of 36 atypical mycobacterial strains to various antituberculous drugs was studied *in vitro* using Dubos Tween Albumin liquid medium. The drugs tested were SM, PAS, INH, KM, 1314 TH, CS, VM, EB, DAT and RFP. The atypical mycobacterial strains were made up as follows: 5 strains of photochromogens (*M. kansasii*), 8 strains of scotochromogens and 23 strains of nonphotochromogens (*M. intracellulare*). One strain of *Mycobacterium tuberculosis*, H₃₇Rv, was also tested in the same conditions as a control.

Any drug was evaluated tentatively as sensitive to these strains, if its Minimal Inhibitory Concentration (MIC) was 0.78 mcg/ml or less, or within four times of the MIC against *M. tuberculosis* H₃₇Rv.

On the basis of these criteria, over fifty per cent of the photochromogenic strains (*M. kansasii*) were sensitive to SM (60), INH (80), 1314 TH (100), CS (100), VM (100), EB (100), DAT (100) and RFP (80). (The numbers in the parentheses are the percentages of the sensitive strains.)

Likewise, over fifty per cent of the scotochromogens were sensitive to CS (100), VM (75), EB (100) and RFP (75), and over fifty per cent of the nonphotochromogens (*M. intracellulare*) were sensitive to CS (100), EB (83) and RFP (57).

序 論

非定型抗酸菌 (以下 AM と略す) の試験管内での各種抗結核剤に対する感受性については数多くの報告^{1)~12)}があるが, 使用培地, 接種菌量がそれぞれ異なることもあつて, それらの成績は必ずしも一致しない。しかしな

がらほぼ共通してみられることは, ヒト型結核菌 (*M. tuberculosis*) に比較して感受性が低く, Runyon の分類による Group 別に言えば, Group I に属する菌に対しては比較的的感受性のある薬剤が多いが, Group II および Group III に属する菌 (以下 II 群菌, III 群菌等と呼ぶ) はほとんどの抗結核剤に多かれ少なかれ抵抗を示

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

し、Group IV に属する菌 (N 群菌) には感受性のある抗結核剤がまず見当たらないということである。このことは非定型抗酸菌症 (以下 AM 症と略す) の治療を考へるとき極めて憂慮すべきことであつて、實際上、AM 症に対する化学療法の効果は、全般的に結核症に比較すると *M. kansasii* 症を除くと極めて悪い。更に結核症に対するごとく、一定した化学療法の術式も確立されていない。早急に効果のある新しい化学療法剤の開発が望まれるところであるが、それと同時にできるだけ条件を一定にした試験管内での感受性の再検討を行い、AM 症に対する抗結核剤の意義を再評価することが必要であろうと思われる。われわれは比較的條件を一定にし易い液体培地 (Dubos Tween Albumin 培地) を用いて、AM 保存株の諸種薬剤に対する感受性を検討しているが、本編では抗結核剤に対する感受性について報告する。

I. 実験材料ならびに方法

1) 使用菌株

研究室で 1% 小川培地で継代保存している AM 36 株* (I 群菌 5 株, II 群菌 8 株, III 群菌 23 株) を用い実験に供した。対照として *M. tuberculosis* H₃₇Rv 株の感受性も同時に検討した。

2) 実験方法

1% 小川培地に 3 週間 37°C で培養した菌を Dubos Tween Albumin 液体培地に移し、2 代継代の 1 週間培養菌液を用い、肉眼的な比濁で (硫酸バリウム溶液を使用) 1.0 mg/ml の菌液を作成し、その 10 倍希釈液の 0.1 ml (ca. 0.01 mg) を接種した。感受性判定培地にも同様 Dubos Tween Albumin 液体培地を用い、判定は 37°C 培養 2 週間後に行つた。薬剤は、初管で 100 mcg/ml の濃度を含有する倍数希釈列を 9 管作成し、第 10 管は薬剤を含まない対照培地とした。

感受性の成績は、それぞれの薬剤の Minimal Inhibitory Concentration (MIC) をもつて示した。今回検討した薬剤は、SM, PAS, INH, KM, TH, CS, VM, EB, DAT および RFP の 10 種類である。

II. 実験成績

表 1 に各 MIC を示した菌株数を薬剤別に記載してあ

* 研究室保存の AM 株

I 群菌: *M. kansasii* 5 株 (P8, P18, ATCC 12478 の 3 株の他、米国患者からの分離株 2 株を含む)

II 群菌: *M. scrofulaceum* 2 株 (P6 および ATCC 19981) Tap-water scotochromogen 6 株 (本邦患者よりの分離株)

III 群菌: *M. intracellulare* 23 株 (P39, P44, P45, P47, P48, P49, 100616, 121326 の諸株の他米国患者分離株 4 株と本邦患者よりの分離株 11 株を含む)

Fig. 1. Cumulative Percentage of the Nonphotochromogens Inhibited by Antituberculous Drugs (1)

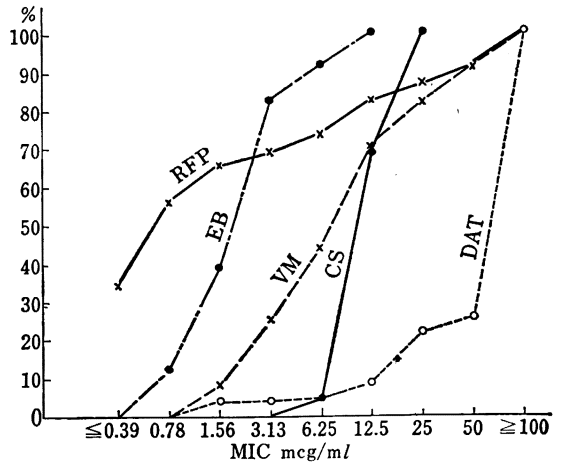
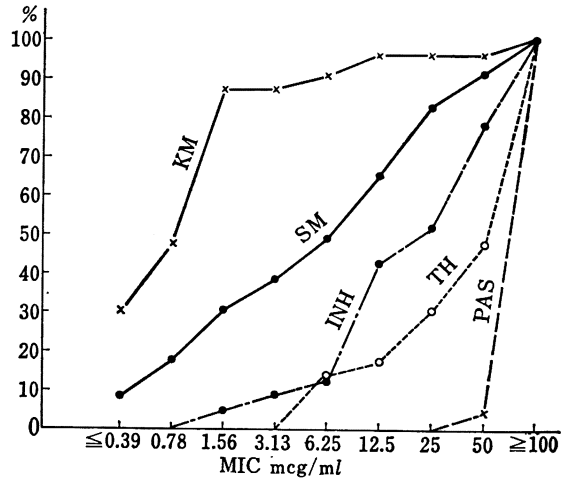


Fig. 2. Cumulative Percentage of the Nonphotochromogens Inhibited by Antituberculous Drugs (2)



り、表 2 および図 1, 2 には III 群菌のみについて、各薬剤濃度で感受性を示す菌株数の総検査菌株数に対する% および累積%を示した。以下薬剤別に成績を報告する。

1) SM

I 群菌 (*M. kansasii*) では、5 株共 0.78 mcg/ml から 1.56 mcg/ml を示し、比較的感受性は一定している。

II 群菌では、I 群菌に比べるとより感受性は低く、1.56 mcg/ml ないし 3.13 mcg/ml に 6 株が集中している。

III 群菌 (*M. intracellulare*) では MIC は 0.39 mcg/ml 以下から 100 mcg/ml 以上にもわたつており、極めて感受性は不揃で、表 2 および図 1 のごとく、0.78 mcg/ml 以下を示したものは、全検査菌株の約 17% しかない。まずほとんどの III 群菌は SM に対して感受性を持

Table 1. Sensitivities of the Atypical Mycobacteria to Antituberculous Drugs (*in vitro*)

Drugs	Group (Runyon)	No. of strain	MIC mcg/ml								
			≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥100
SM	I	5		3	2						
	II	8	1		2						
	III	23	2		3	4			1		
	H ₃₇ Rv	1	1(0.156*)	2	3	2	3		3	4	2
PAS	I	5								1	
	II	8									5
	III	23									7
	H ₃₇ Rv	1		1						1	22
INH	I	5		4		1					
	II	8				2					
	III	23			1	1	1		7		
	H ₃₇ Rv	1	1(0.05)							2	6
KM	I	5				5					
	II	8				4					
	III	23			2				1		
	H ₃₇ Rv	1	7	4	9	1	1	1			1
TH	I	5				3					
	II	8						2			
	III	23						2		3	
	H ₃₇ Rv	1			1			3	1	3	2
CS	I	5									
	II	8						2	5		
	III	23						1	2	4	
	H ₃₇ Rv	1						1	15	7	
VM	I	5			4	1					
	II	8		3	1	2					
	III	23			2	4			2		
	H ₃₇ Rv	1		1			4	4	6	3	2
EB	I	5			1	4					
	II	8			5	3					
	III	23		3	6	10					
	H ₃₇ Rv	1		1			2	2			
DAT	I	5	1	3	1						
	II	8								1	
	III	23			1				1	3	
	H ₃₇ Rv	1		1							1
RFP	I	5		4	1						
	II	8		2	1						
	III	23		5	2		1	1	2	1	
	H ₃₇ Rv	1	4								2

* The numbers in the parentheses denote the MIC against H₃₇Rv.

たないようである。

2) PAS

表1に示すごとく、検討したすべての菌株が、25 mcg/ml またはそれ以上の MIC を示した。

3) INH

MIC で 0.78 mcg/ml 以下の感受性を示したものは、I 群菌の4株のみで、II 群菌、III 群菌共にほとんどの菌株が、12.5 mcg/ml 以上の MIC を示している。

4) KM

I 群菌は5株共 3.13 mcg/ml を示し、II 群菌も、8株中4株が 3.13 mcg/ml を示している。III 群菌の中には

KM に対してかなり感受性のある菌株も多く、表2および図1に示すごとく、約48% が 0.78 mcg/ml またはそれ以下の MIC を示した。

5) TH

I 群菌では、すべて 3.13 mcg/ml ないし 6.25 mcg/ml の MIC を示し、H₃₇Rv 株の 1.56 mcg/ml に近い。II 群菌、III 群菌ではほとんどの菌株が 25 mcg/ml 以上の MIC を示した。

6) CS

CS に対する MIC はすべての菌株が 6.25 mcg/ml から 25 mcg/ml の値を示し、H₃₇Rv 株の 6.25 mcg/ml

Table 2. Sensitivities of the Nonphotochromogens to Antituberculous Drugs (*in vitro*)
—Cumulative percentage of strains inhibited—

Drugs	No. of strain		MIC mcg/ml								
			≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥100
S M	23	No. of strain	2	2	3	2	3	3	4	2	2
		% cumulative %	8.7 8.7	8.7 17.4	13.0 30.4	8.7 39.1	13.0 52.1	13.0 65.1	17.4 82.5	8.7 91.2	8.7 100
P A S	23	No. of strain								1	22
		% cumulative %								4.3 4.3	95.7 100
I N H	23	No. of strain			1	1	1	7	2	6	5
		% cumulative %			4.3 4.3	4.3 8.6	4.3 12.9	30.4 43.3	8.7 52.0	26.1 78.1	21.7 100
K M	23	No. of strain	7	4	9		1	1			1
		% cumulative %	30.4 30.4	17.4 47.8	39.1 86.9	86.9	4.3 91.2	4.3 95.5	95.5	95.5	4.3 100
T H	23	No. of strain					3	1	3	4	12
		% cumulative %					13.0 13.0	4.3 17.3	13.0 30.3	17.4 47.7	52.2 100
C S	23	No. of strain					1	15	7		
		% cumulative %					4.3 4.3	65.2 69.5	30.4 100		
V M	23	No. of strain			2	4	4	6	3	2	2
		% cumulative %			8.7 8.7	17.4 26.1	17.4 43.5	26.1 69.6	13.0 82.6	8.7 91.3	8.7 100
E B	23	No. of strain		3	6	10	2	2			
		% cumulative %		13.0 13.0	26.1 39.1	43.5 82.6	8.7 91.3	8.7 100			
D A T	23	No. of strain			1			1	3	1	17
		% cumulative %			4.3 4.3	4.3	4.3	4.3 8.6	13.0 21.6	4.3 25.9	73.9 100
R F P	23	No. of strain	8	5	2	1	1	2	1	1	2
		% cumulative %	34.8 34.8	21.7 56.5	8.7 65.2	4.3 69.5	4.3 73.8	8.7 82.5	4.3 86.8	4.3 91.1	8.7 100

と大差はなかつた。

7) VM

I群菌の4株が1.56 mcg/mlのMICを示し、H₃₇Rv株の0.78 mcg/mlに近く、またII群菌の3株が0.78 mcg/mlを示し、これもH₃₇Rv株のMICと同じ値を示した。III群菌は、SMに似て感受性は不均等で、MICは1.56 mcg/mlから100 mcg/ml以上に分布している。

8) EB

I群菌は、H₃₇Rv株が0.78 mcg/mlを示しているのに比べると、かなり感受性は低いが、4株が3.13 mcg/mlのMICを示している。II群菌はもかなり感受性はあるようで、5株が1.56 mcg/mlのMICを示した。

III群菌は、上記の菌に比べるとやや感受性は低く、3.13 mcg/ml以下のMICを示す菌株は約83%であつた。

9) DAT

I群菌はDATに対してはH₃₇Rv株とほぼ同様な感受性を持つている。II群菌とIII群菌はほとんどの菌株が12.5 mcg/ml以上のMICを示した。

10) RFP (Rifampicin)

I群菌は0.78 mcg/mlないし1.56 mcg/mlのMICを示し、II群菌は6株が0.78 mcg/ml以下を示した。III群菌では、MICは0.39 mcg/ml以下から100 mcg/ml以上にわたつて感受性は不均等であるが、0.78 mcg/ml以下のMICを示したものが約57%にみられたのが注目された。

以上各薬剤別に成績を述べたが、*in vitro*での感受性を論ずる際にはMICの絶対値のみでなく、加えてM. tuberculosisのMICとの比較検討を加えることが実際的と思われる。そこで1つの基準を設け、H₃₇Rv株のMICが0.78 mcg/ml以下の場合には、0.78 mcg/mlまたはそれ以下のMICを示したAMを、仮にその薬剤に感受性があるとし、また当薬剤のH₃₇Rv株に対する

MIC が 0.78 mcg/ml 以上を示した場合は、その MIC の 4 倍の MIC を示す AM 株まで一応感受性のある株として、概略 AM の抗結核剤に対する感受性を論ずると次のごとくである。

SM では、I 群菌の 60%、II 群菌の 15%、III 群菌の 17.4% が *in vitro* の感受性を持つ。PAS に対しては全菌株が感受性を持たない。INH に関しては、I 群菌の 80% のみが感受性を持ち、II 群菌、III 群菌は感受性がない。KM では III 群菌の 47.8% に感受性がみられるのみで、I 群菌、II 群菌は感受性がない。

TH には I 群菌の 100%、II 群菌の 25%、III 群菌の 13% が感受性を示す。

CS には I 群菌、II 群菌、III 群菌共に 100% 感受性を示している。VM に対しては、I 群菌の 100%、II 群菌の 75%、III 群菌の 26.1% が感受性を示す。

EB には I 群菌、II 群菌のすべてが、また III 群菌の 82.6% が感受性を示し、DAT では I 群菌が 100% 感受性を示すのみで、II 群菌、III 群菌は感受性がない。

RFP に関しては、I 群菌の 80%、II 群菌の 75%、III 群の 56.5% が感受性を持つ。

以上の成績を、菌の Group 別に観察し、上に述べた基準で、各 Group の菌株の 50% 以上が感受性を持つと判定された薬剤を列挙すると次のごとくである。すなわち I 群菌には、SM, INH, TH, CS, VM, EB, DAT, RFP の PAS および KM を除いた 8 種の薬剤が感受性を示し、II 群菌には CS, VM, EB および RFP の 4 薬剤が、また同様に III 群菌には、CS, EB および RFP が一応感受性を持つていた。

III. 考 案

AM の抗結核剤に対する感受性に関する断片的な報告は極めて多いが、臨床的な症例検討の中で述べられているものが多く、それぞれ用いた培地とか耐性の基準が異なり、正確に比較することは困難である。本邦以外の AM の感受性に関する報告を広範囲にわたつてまとめたものに Burjanová と Urbancik¹³⁾ の総説がある。これを参照して Runyon の Group 別に AM の感受性についての諸家の報告をまとめると次のごとくである。

1) I 群菌 (*M. kansasii*) の感受性

SM, INH, PAS に関しては、ヒト型結核菌と比較するとかなり感受性が低く⁴⁾、ことに PAS に対してはほとんどの菌株が高度耐性を示している。これに反して、二次抗結核剤である TH, CS, EB および Isoxyl には良好な感受性を持つものが多く¹⁴⁾、ヒト型結核菌とほぼ同じ感受性を持つものが多い。Isoxyl に対する *M. kansasii* の感受性はなにかんづく高く、同定検査に使用しうるとの意見もある。

2) II 群菌の感受性

II 群菌の感受性に関しては報告はかなり統一を欠いているが、SM, PAS, INH に関してはほとんどの報告者が高度の耐性を持つと報告している。Virtanen の報告⁷⁾ では KM と VM に対しては明らかに感受性があるとしている。その他 CS に対して感受性があるとの報告も散見する。

3) III 群菌の感受性

概してほとんどの抗結核剤に対して耐性を示している。2, 3 の報告⁹⁾ では VM, CS, SM に対してある程度の感受性を認めている。いくらかの菌株は EB に対して感受性があつたとの報告もある。

新抗結核剤 Rifampicin に関しては、特に AM の感受性を検討した Ryneerson¹⁵⁾ の報告があり 7H10 agar を用いたその成績をみると、I 群菌の *M. kansasii* が AM の中では最も感受性があり、0.64 mcg/ml で阻止している。同様 I 群菌に属する *M. marinum* には、1.25 mcg/ml から 2.5 mcg/ml の MIC を示している。Group II に属する菌では、病原性のあるといわれる *M. scrofulaceum* では多くの菌株が 10 mcg/ml 前後で、また病原性がないと言われる *M. gordonae* では 0.64 mcg/ml 前後で阻止されている。したがって明らかに *M. scrofulaceum* と *M. gordonae* の両菌種間には、RFP に対する感受性の面で有意の差があると報告している。Group III に属する菌種は、いずれも MIC は 10 mcg/ml を示し、感受性は低いという。

以上は諸外国の報告を概観したものであるが、本邦での報告をみると、中村¹¹⁾ は 6 株の scotochromogen と 5 株の nonphotochromogen について、一次抗結核剤の SM, PAS, INH に関しては感受性が低く、二次抗結核剤の KM, EB 等には化学療法の効果期待できる印象を持つていることを報告している。名草¹²⁾ は *in vitro* で主として 2 剤併用の効果を検討し、photochromogen に対しては、INH・VM, INH・1314 TH の併用が、scotochromogen に対しては、INH・VM, INH・CS, INH・KM の併用が、また nonphotochromogen に対しては、INH・EB, EB・VM の併用方式が有効であつたとしている。下出¹⁶⁾ は Group I 4 株、Group II 約 40 株、Group III 約 100 株の、いずれも未治療例から分離されたか、もしくは偶発的な微量分離株を用い、これらの感受性を検討しているが、Group I では TH, CS に感受性が認められ、Group II では CS に、また Group III に関しては、ほとんどすべての抗結核剤に耐性を示すが、CS に感受性もしくは低耐性のものが多いことを報告している。またこれらの成績は、大量頻回排菌の既治療例の菌株と大差がないとしている。

以上、本邦および諸外国の報告と、今回のわれわれの成績とを比較してみると、Group I の *M. kansasii* に関しては、われわれの成績では、SM, INH, TH, CS, VM,

EB, DAT, RFP にかんりの感受性が認められ, PAS に高度の耐性を有していること, DAT にヒト型結核菌に劣らない感受性を持つていること, 更に RFP に 0.78 mcg/ml から 1.56 mcg/ml の MIC を持つていることは, すべて諸家の報告に一致している。M. kansasii 症の治療に関して, SM・PAS・INH 併用でも 80% 近くの有効性を認めている Fischer らの報告¹⁷⁾をはじめとして, 一次抗結核剤でも M. kansasii 症に対してはかんりの有効率があることは一般に認められている。また二次抗結核剤のうちでもなかならず RFP の有効性は本邦においても山本ら¹⁸⁾によつて明らかにされつつある。以上のことより, Group I の M. kansasii 症に関しては有効な薬剤がかんりあるようであり, 化学療法にも十分な期待が持てる。

Group II に属する菌株の感受性については, われわれの成績では, CS, VM, EB, RFP に一応の感受性が認められたが, SM, PAS, INH に関しては感受性のないことは多くの報告と一致する。

Group III に属する菌株については, われわれは CS, EB, RFP に一応の感受性を認めているが, KM, CS および EB に関しては有効性を示唆する報告⁶⁾⁷⁾¹¹⁾もあるが, RFP に関しては, Ryneerson らの報告¹⁶⁾では, MIC は 10 mcg/ml 前後で, 培地の差はあろうが, われわれの成績と少しく差があるように思われる。臨床に関して山本ら¹⁸⁾の報告では, RFP は Group III の M. intracellulare 症については, 効果は乏しく, 投与開始後, 1~2 カ月後に一時的な排菌減少, または陰性化をみたにすぎないとしている。ただしわれわれの成績でも, 23 株中 13 株は 0.78 mcg/ml またはそれ以下の MIC を示したが, 他の株は, 1.56 mcg/ml の MIC をも示すものから 100 mcg/ml 以上の MIC を示すものまで極めて広範囲に分布していたことを指摘したい。また今回対照として検討した H₉₇Rv 株の MIC は 0.02 mcg/ml であり, 0.78 mcg/ml またはそれ以下の MIC を示す菌株を一応感受性としたわれわれの基準が, 特に RFP に関して緩やかであつたことも見逃がせない。菌株数を増して再度検討を要すると思われる。

IV. 結 論

36 株の AM (I 群菌 5 株, II 群菌 8 株, III 群菌 23 株) を用い, *in vitro* における抗結核剤に対する感受性を検討した。今回使用した Dubos Tween Albumin 液体培地における感受性は次のごとくである。

I 群菌 (M. kansasii) は, SM, INH, TH, CS, VM, EB, DAT, RFP に, II 群菌は CS, VM, EB, RFP に, また III 群菌 (M. intracellulare) は, CS, EB, RFP にそれぞれ 50% 以上の菌株が感受性を示した。

ただし, これらの成績は, SM, PAS, INH, KM および RFP に関しては 0.78 mcg/ml またはそれ以下の MIC を示す菌株を, TH では 6.25 mcg/ml またはそれ以下, CS では 25 mcg/ml またはそれ以下, VM, DAT, EB では, 3.13 mcg/ml またはそれ以下の MIC を示す菌株を一応感受性のあるものとして判定したものである。

本論文の要旨は, 第 46 回日本結核病学会総会 (昭和 46 年 4 月) において発表した。

文 献

- 1) Crow, H. E. et al.: Amer. Rev. Tuberc. Pul. Dis., 75 : 199, 1957.
- 2) Runyon, E. H.: Med. Clin. N. Amer., 43 : 273, 1959.
- 3) Marks, J. and Trollope, D. R.: Tubercle, 41 : 127, 1960.
- 4) Wolinsky, E. et al.: Amer. Rev. Tuberc. Pul. Dis., 75 : 180, 1957.
- 5) Johanson, W. G. and Nicholson, D. P.: Amer. Rev. Resp. Dis., 99 : 73, 1969.
- 6) Steenken, W. et al.: Amer. Rev. Tuberc., 78 : 454, 1958.
- 7) Virtanen, S.: Acta Tuberc. Scand., 40 : 182, 1961.
- 8) Guy, L. R. and Chapman, J. S.: Amer. Rev. Resp. Dis., 84 : 746, 1961.
- 9) Hartwing, E. C. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 85 : 84, 1962.
- 10) Hobby, G. L. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 91 : 240, 1965.
- 11) 中村善紀: 日医事新報, 2117 : 13, 1964.
- 12) 名草芳博: 広島大医誌, 16 : 819, 1968.
- 13) Burjanová, B. and Urbancik, R.: Adv. Tuberc. Res., 17 : 154 (Karger, Basel/New York), 1970.
- 14) Hobby, G. L. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 95 : 954, 1967.
- 15) Ryneerson, T. K. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 104 : 272, 1971.
- 16) 下出久雄: 日胸, 29 : 106, 1970.
- 17) Fischer, D. A. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 98 : 29, 1968.
- 18) 山本正彦 他: 結核, 47 : 399, 1972.