

原 著

R F P の 耐 性

後編 臨床例の検討. 耐性出現と復帰

馬 場 治 賢・吾 妻 洋

国立療養所中野病院

受付 昭和 50 年 9 月 4 日

THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE CRITICAL DRUG
CONCENTRATION OF RIFAMPICIN

Report 2. Clinical Investigation: The Emergence and Reversion of Resistance

Harukata BABA* and Yo AZUMA

(Received for publication September 4, 1975)

Following the study mentioned in Report 1, clinical investigations were made on the emergence and reversion of resistance to rifampicin (RFP), and the results were summarized as follows:

1) The previous study showed that the bacillary growth of 1 to 10% on 10 mcg RFP medium was 112 cases (6.9%) among 1,779 cases, the growth of 11 to 50% was 5 cases (0.3%) and only 1 case (0.06%) grew over 50%. During the course of RFP treatment for 366 cases, 97 cases became resistant to RFP, and all these cases except 2 showed growth of 1% or more on 10 mcg as well as on 50 mcg RFP medium (Table 1). This fact leads us to believe that the error might be less to take the bacillary growth of either over 50% on 10 mcg or 1% or more on 50 mcg RFP medium for the clinical significance of RFP resistance than the criteria mentioned in the previous report.

2) The following characteristics were found when bacilli became resistant to RFP.

a) The amount of bacilli decreased or disappeared rapidly after starting RFP treatment, and the appearance of resistance to RFP coincided with the reappearance of bacilli or increase of bacilli amount (Fig. 1).

b) Among cases became resistant, 65% appeared within the first 3 months after starting RFP treatment, and if once it became resistant, it reached to the high grade of resistance at once (Table 1).

c) The appearance of resistance to the combined drugs was usually delayed except EB (Fig. 2). The emergence of resistance to RFP and EB among cases treated by the combination of RFP and EB, the number of cases showing resistance to RFP faster than to EB was 4 times more than that showing resistance to EB faster than to RFP. There were no other drugs except INH which became resistant faster than RFP. In the case of INH, all INH-sensitive cases converted to negative by the combined therapy with RFP until now.

d) The combined drugs remained sensitive for a long period after RFP became resistant.

* From the National Nakano Chest Hospital, Egota, Nakano-ku, Tokyo 165 Japan.

This indicates that RFP inhibits the growth of bacilli stronger than other drugs, and the rank of efficacy of other combined drugs can be determined by the length of time during which combined drugs remain sensitive.

3) There were 7 cases which remained bacilli positive and sensitive to RFP. Detailed analysis was made on 3 of them, and the above fact might be explained partly by the lower dose of drugs, as some cases like No.3 continuously discharging bacilli under RFP 0.3 g and EB 1.0 g twice weekly regimen converted to negative after changing the regimen to RFP 0.45 g and EB 1.0 g daily.

4) There were 4 cases in which resistance to 50 mcg RFP returned to sensitive to 10 mcg RFP. The frequency of this reversion of resistance was 4.2% among 95 bacteriologically relapsed cases and 9.3% among 43 cases in which bacilli were examined 6 months after the suspension of RFP. One example was shown in Fig.3, and it was difficult to explain the reason of this reversion, as the number of cases was too small. These 4 cases were treated for the second time by RFP after RFP resistance reverted to sensitive, but all failed to convert to negative and became resistant again. This might be explained by the lack of sufficiently intensive combined drugs.

われわれは前編¹⁾で 1% 小川培地における RFP の菌発育最低阻止濃度について、1970 年 1 月から 1975 年 6 月までに当院入院の RFP 未使用肺結核患者菌株 1,779 例を対象に検討した。菌発育最低阻止濃度は間接法では 10 mcg 10%, 直接法で 10 mcg 50% であったことから臨床耐性限界は全体として 10 mcg 50% 以上と結論した。更に直接法は間接法よりも RFP の限界濃度でより多く菌の発育をみた事実および 1974 年 6 月以後検査の例に 10 mcg の培地に 1% 以上の菌の発育が多い理由は、M 型栓の使用、すなわち菌の発育条件の改善が原因であると考察した。

本編では当院入院中に RFP を臨床使用した症例の RFP 耐性出現の様相ならびに一旦 RFP 耐性の出現した症例の感性への復帰について報告する。

対象症例ならびに検査法

1969 年 4 月から 1973 年 12 月までに当院に入院中に RFP で治療を開始したのは 435 例であるが、このうち RFP 開始前菌 (-)36 例、非定型抗酸菌 2 例、開始時すでに RFP 耐性 2 例 (共に RFP 再治療例)、開始後 3 カ月以内 (ほとんどが 2 カ月) に死亡または中止 16 例、開始後 3 カ月以内に手術追加 9 例、更に再排菌がありながら耐性検査をもらった 4 例 (うち 2 例は 1 回のみ再排菌) の計 69 例を除外した 366 例を対象とした。

RFP 使用例の菌検査は痰または胃液培養を、RFP 開始後 3 カ月間は毎週、以後は毎月 1 回行い、菌陽性であれば毎月 1 回耐性を検査した。耐性検査法は前編で詳記したのでここでは省略する。なお前編で RFP の臨床耐

Fig. 1. Pattern of Negative Conversion and Emergence of Resistance

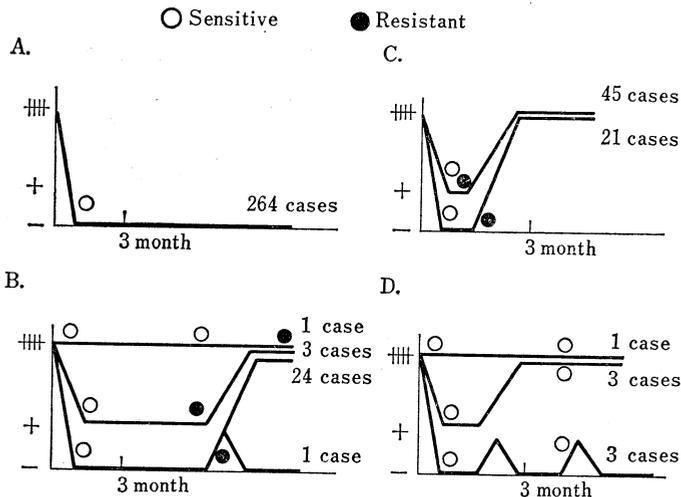


Fig.2. The Time of Emergence of Resistance to Combined Drugs

A. 0 is the time of the appearance of EB resistance
 B. 0 is the time of the appearance of Rifampicin resistance
 ● Resistant ○ Sensitive

[A]

Month	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	20
RFP	○	●			●○	●										

[B]

Month	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	20
EB	●●●●●●●● ○	●● ○		●	●●	●	●●●				●	○	●	●○		●
CPM	●			○○			○○	○○	○	○						
KM	●●●○			○○												
SM	●	●	●				●									
VM	●								●							
PAS	●●●						○						○			
CS	●○															
TH	●							○					○			

Notice: ● in the column of 0 month indicates the associated drug becomes resistant at the same time.

性限界を 10 mcg 50% 以上としたが、本編では検討の都合上 10 mcg 1% 以上を一応 RFP 耐性として取扱った。

RFP 耐性出現の様相

1) 菌の消長と耐性出現の関係

図1は菌の経過と耐性出現の状況を模式的に示したものである。RFP 治療によつて菌量の減少を示さなかつた2例(2回治療した同一例、症例1)以外は全例開始1カ月以内(ほとんどが1~3週)に菌量の著明な減少を示し、大部分はそのまま菌消失した。菌量著減例にRFP 耐性が出現すると急速に菌量は増加する。また菌消失例では再排菌と同時にRFP 耐性の出現を認めた。これははなはだ特長的でいわゆる“Fall and Rise”の現象²⁾を示している。例外的な経過をとつたのは7例(図1D)であつたが、このうちの3例についてはその経過を後記した。逆にRFP に耐性出現しながら菌(-)化したのは1例(図1B, R221)だけである。この例はRFP・EB・KM(共に感性)併用で開始、4カ月目にRFP 50 mcg 100%と耐性になつたが、併用剤は共に感性のまま5カ月目から菌(-)化した。併用剤による菌(-)化例である。

RFP 開始から耐性出現までの期間ははなはだ短期間のことが多い。われわれの症例で最も早いものではRFP 開始から26日以内に耐性出現した。再排菌102例中66例(65%)は3カ月以内の耐性出現であつた(図1C)。

症例1。(図1D, R051), 35歳女

菌量不変例である。第1回目は1969年4月RFP・INH・

SF で開始し8カ月で無効中止した。RFP 開始5カ月目と6カ月目に RFP 50 mcg に 1.5% と 2% となつたが7カ月目以後再び 10 mcg にも感性となつた。INH は初めから 0.2 mcg 完全耐性であつたが INH 内服中も 1 mcg には感性であつた。この第1回目の耐性経過は以前の報告³⁾で感性と耐性の区別のつきにくい症例として例1, 表7で詳記した。第2回目治療は第1回中止21カ月後の1971年9月に RFP・KM・PAS(3剤共感性)で開始、開始時 RFP は 10mcg 感性であつた。しかし第2回目も菌量は減少せず(図1B), 7カ月後 RFP は 10 mcg 67%, 50 mcg 37% と耐性になり以後1973年2月死亡まで耐性のままであつた。併用の2剤は菌無効でありながら共に感性(KM 20 mcg, PAS 0.5 mcg で共に菌(-))のままで経過した。

症例2。(図1D, R01), 57歳男

この例も前報告³⁾で記載した例2, 表8である。1970年3月RFP・EB 開始, 10週間後EBに耐性(4 mcg 43%)出現, 4カ月半後菌量増加し, 6カ月で無効中止した。RFP 中止14日前の耐性検査では 10 mcg で感性であつたが, 中止19カ月後に施行した検査で 10 mcg 100%, 50 mcg 5% と耐性になつていた症例である。

症例3。(図1D, R097), 73歳, 男

1959年発病, 1971年2月入院, 4月RFP 0.3g・EB 1.0g 共に週2回法で開始, 1週で菌量減少し3週目に一旦消失したが8週以後再出現してそのまま菌陽性が続いた。この間RFP, EB 共に11回耐性検査を行つたが常に両者共に感性で経過した。開始から1年後の1972年

Table 1. Resistance to 50 mcg when Bacilli Grew 1% or More on 10 mcg Rifampicin Medium Using 1% Ogawa Medium by Proportion Method

		50 mcg					Total
		0~0.9%	1~10	11~50	51~75	76~100	
10 mcg	1~10%	4	6				10
	11~50	3	2	8		1	14
	51~75	1		2	4		7
	76~100%		3	9	5	49	66
Total		8* (8.24%)	11	19	9	50	97

* 6 among these 8 cases became resistant to 50 mcg later.

3月 RFP 0.45g に増量し EB 1.0g と併用で共に毎日内服に変更したら、その1週目から菌(-)化した。

2) 併用剤の耐性出現

併用剤の耐性出現は RFP よりもかなり遅れることが多い。図2Bは RFP の耐性出現を0カ月としてそれ以後の月数で併用剤の耐性出現状況を示した。RFP 開始時に感性的併用剤についてその薬剤使用期間中の耐性出現時期をとつたが最後の検査で感性的のときは感性和標示した。図2Aは EB の耐性出現を0カ月として RFP の遅れて耐性出現する月数を示した。併用剤の耐性限界は今回は EB 3mcg 1%, SM 10mcg 1%, PAS 0.5mcg 1%, KM 20mcg 20%, TH 10mcg 10%, CS 30mcg 1%, VM 20mcg 1%, CPM 50mcg 1% として集計した。

RFP・EB 併用で再排菌した32例では両者同時に耐性になったのは6例、RFP が先に耐性になったのは21例、EB が先は5例であった。すなわち RFP の方が先に耐性出現したのは EB が先よりも約4倍多かつた。われわれの再排菌例には感性的の INH を併用した例がないが、この他の併用薬剤で RFP よりも早く耐性になったものは認めなかつた。しかも図2のごとくほとんどが RFP 耐性出現後菌無効の状態でかなりの長期間感性的のままであった。

3) RFP 10 mcg に1%以上菌出現時の50 mcg 耐性

RFP 治療開始後10mcg 培地に対照の1%以上の菌が初めて出現したときの50mcg 培地の菌出現状況をみたのが表1である。97例中89例は10mcg に1%以上の菌が出現したとき同時に50mcg にも1%以上の菌出現を認めた。残りの10mcg だけが1%以上出現した8例のうち6例はそのすぐ後に50mcg にも1%以上の菌出現を認めた。残る2例のうち1例(R029)は RFP・EB・PZA で3剤共週2回法で開始、5週目に菌(-)化、16カ月後1コロニーの排菌ありEB 3mcg 40%, RFP 10mcg 56%, 50mcg 0.06% で、その後4回排菌があつたが耐性不検のまま化療変更し菌消失した症例である。もう1例(R321)は初めから耐性剤の EB と併用、

4週目に一旦菌消失し、7週以後出沒した。5カ月目 RFP 10mcg 5%, 50mcg 0%, 6カ月目 10mcg 0%, 8カ月目 10mcg, 50mcg 共に0.7%, 9カ月目 10mcg 10%, 50mcg 0.7% で、10mcg はやや不安定の感があるが、50mcg には1%以上にはならなかつた。

次に50mcg に1%以上であつて10mcg に50%以下の症例は17例であるが、これらの症例は全例その後も菌無効であつた。

耐性の感性的復帰

前記のように RFP 耐性の出現は10mcg に出現すればほとんどは同時に50mcg にも出現している。したがつて耐性例の感性的復帰の検討は検査誤差を考慮して RFP 50mcg に確実に耐性になつた後、10mcg にも感性的になつたものだけとした。ただし RFP 使用中2回だけ50mcg に耐性出現した後10mcg 感性的となつた症例1および RFP 使用中50mcg 耐性出現後1回だけ10mcg 0%になつた1例(R68)の2例は復帰とみなさなかつた。

以上の条件で一旦耐性になりながら再び感性的に復帰したのは95例中4例(4.2%)であつた。いずれも RFP 中止後の復帰であつて、共に高度進展例である。男女各2例、年齢も特に特徴はなく、併用剤は CPM 2例、EB 1例、RFP 単独1例である。RFP 開始から耐性出現までの期間は4週、9週、13週、11カ月であり、耐性出現から RFP 中止までの期間は3~16カ月、更に RFP 中止から感性的への復帰までの期間も6、15、31、52カ月と一定していなかつた(表2)。症例が4例に過ぎないため耐性の復帰への条件を見出すに至らなかつたが、再排菌95例の4%を占めており、しかも RFP 中止後もつとも短いものでも6カ月以後に復帰しているから、RFP 中止の6カ月以後に RFP の耐性検査を行つた症例43例だけについてみると復帰は9.3%に達する高率となる。またこの他に10mcg は感性的になつていないが、50mcg だけが復帰した症例が2例(R099, R31)認められている。

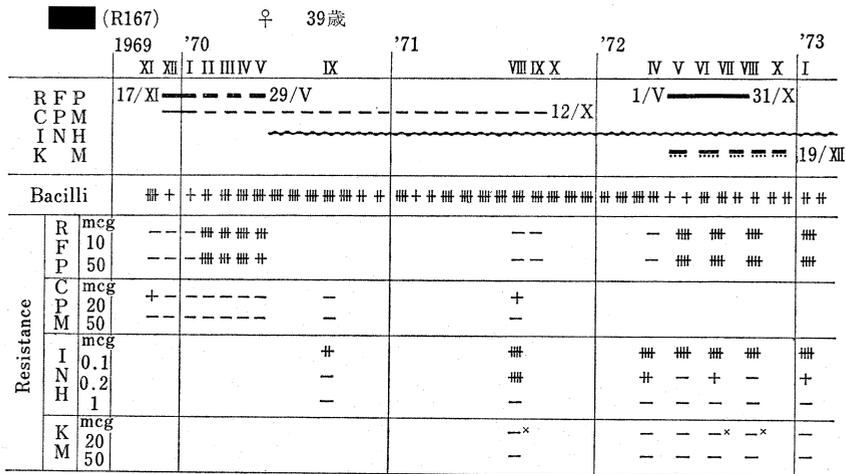
以上われわれの症例からみる限り RFP の耐性の復帰は割合に多いもののように思われる。

Table 2. Cases in which Resistance Returned to Sensitive

	Sex, age	NTA class	Com-bined drug	Time of appearance, of resistance	Suspended time of Rifampicin after appearance of resistance	Returned to sensitive after suspension
R167	♀ 39	F A	CPM	9 wks	3 mons	1 yr 3 mons
R278	♂ 58	F A	CPM	13 wks	4 mons	2 yrs 7 mons
R397	♀ 31	F A	—	4 wks	4 mons	4 yrs 4 mons
R121	♂ 46	F A	EB	11 mons	16 mons	6 mons

Notes: 4 cases (4.2%) out of 95 cases who had been resistant to 50 mcg, returned to sensitive and taking cases examined 6 months after the suspension of Rifampicin, the rate was 9.3% (4 out of 43 cases).

Fig. 3



Notes: × Indicates the bacillary growth of 4%, 11% and 6% on 20 mcg Kanamycin medium. The growth under 20% on 20 mcg medium was evaluated as negative because they are sensitive according to our criteria.

なおこの4例はそれぞれ RFP による再治療を行つたが、うち3例はその4週, 11週, 10カ月後に RFP 50 mcg に再び耐性出現した。また残りの1例は3カ月目の RFP 耐性は 10 mcg 0% であるが、現在再治療開始後6カ月でなお排菌が続いている。いずれも強力な感性の併用剤が得られなかつたためと思われる。

次に耐性の復帰した1例(症例4)を図3に示した。

症例 4. (R167), 39 歳女

1952年11月発病, 1965年11月入院, RFP 開始までに SM, PAS, INH, KM, CS, TH, EB をおのおの10カ月から7年半の長期間にわたつて使用したが無効の高度進展例である。1969年11月と1972年5月の2回 RFP 治療を行つた。2回共 RFP 開始と共に菌量が著減し, 耐性の出現と同時に急激に増加している。第1回目は9週, 第2回目は4週で耐性出現, 第1回の耐性出現後3カ月に RFP 中止, この間4回 50 mcg に 80, 50, 92, 46% であつた。中止1年3カ月後 RFP 感性化(2 mcg 3%, 10 mcg 0%)を認め, 以後8カ月半のうちに4回 10 mcg 感性が確かめられた。第2回目治療開始後3週目

は 10 mcg 感性であつたが、4週目 10 mcg 67%, 50 mcg 21% と再び耐性となり、以後現在まで3年間に8回検査したが共に 50 mcg 耐性であつた。この症例は2回共耐性出現時は 50 mcg まで一度に耐性を認め、また併用の KM は図のごとく RFP 耐性出現後菌無効の状態でありながらかなりの長期間感性のままであり、INH は 0.2 mcg に感性であつたり耐性になつたりした。RFP 耐性の特徴が全部そろつている症例である。

総括ならびに考案

RFP の耐性が出現するときは一度に高濃度まで耐性になつている。耐性の出現した97例では2例を除いて 10 mcg, 50 mcg ほとんど同時に 1% 以上の菌出現をみた。一方われわれは前編で RFP 未使用肺結核患者菌株 1,779 例の検討で、1% 小川培地における RFP の菌発育最低阻止濃度からみた臨床耐性限界は1例の例外(誤差 0.06%)はあるが 10 mcg 50% 以上とした。しかし RFP 使用例で耐性出現した97例では 10 mcg に 50% 以下の菌が初めて出現したときに 50 mcg に 1% 以上

の菌が同時に認めた症例が 17 例あり、これらの症例はいずれも菌無効であったことから、もう一つの示標として 50 mcg 1% 以上を追加して臨床耐性限界を「10 mcg 50% 以上または 50 mcg 1% 以上」とした方がよいと考えた。

RFP で治療した 366 例では 2 例（2 回治療の同一例）を除いて RFP 開始と共に菌量が著減または消失し、再排菌あるいは菌量が急激に増加すると同時に耐性の出現を認めた。われわれの症例のこの Fall and Rise 現象²⁾は非常に特徴的であった。しかも RFP 開始から 3 カ月以内の耐性出現が 65% を占めている。この耐性の出現の状況は「体内で RFP と接触する菌のうち感性の部分は全部陰性化し、自然耐性菌だけが残る」とする Canetti の仮説⁵⁾を説明するのにはなほ都合であった。また併用剤の耐性出現の時期は EB 以外で RFP よりも早く耐性の出現した薬剤はなく、RFP・EB 併用例では RFP の方が先に耐性になったのが、EB が先のもよりも約 4 倍多かつた。また併用剤は RFP が耐性になったからかなり長期間感性のままであるものが多かつた。これは各薬剤の菌阻止力の強さの順位を示唆する 1 つの現象と考えられた。すなわち RFP>EB>SM というような順になるように思われる（ただし INH は感性の INH を併用した再排菌例がないので不明）。

しかし排菌がありながら RFP が耐性にならない症例があるのはなぜだろうか、少なくとも菌と接触する RFP の濃度が 10 mcg/ml に達しなければ RFP 耐性にならないはずである。症例 3 で RFP の投与量を増したと同時に毎日法にした後菌の陰性化をみたのはこのことを示唆しているように思われる。すなわち症例 1 の第 1 回目治療と症例 3 の経過からみて、併用薬剤を含めた体内に入る有効薬量の強さの不足も耐性にならない原因の 1 つになると考えられる。しかし RFP の単独治療例ではすぐに耐性になるからこの場合併用剤の影響は無視できないのは当然だが、同じような治療をしていても耐性になる症例が多いのにこれらの症例だけが耐性にならないのは、この他にもなにかの要因の存在を考えたい。また症例 2 は RFP 使用中の最後の検査から後 14 日間 RFP を服用してから中止しているのでこの間に耐性出現したものと疑うべきだが、現実には中止後に耐性出現したようにみえる、もしこれが中止後の耐性出現であればその理由も今後検討を要する 1 つの問題であろう。

一旦耐性になった後感性に復帰した症例についての文献は現在見当たらないが、われわれの症例からみる限りかなりの高率に出現するようである。わずか 4 例であったため一定の出現条件を認めるに至らなかったが、強力な薬剤ほど感性への復帰が多い可能性が菌への作用機序の面からも推測されるだけに今後も注目したい興味ある現象と思われる。

結 語

1) 前編で RFP 未使用菌株 1,779 例の 1% 小川培地における菌発育最低阻止濃度を検討して、RFP 10 mcg に対照の 1~10% の菌出現は 122 例 6.9%、11~50% 5 例 0.3%、51% 以上 1 例 0.06% であった。今回は RFP 使用した 366 例を検討し、耐性出現した 97 例では 2 例を除いて 10 mcg、50 mcg 両方同時に 1% 以上の菌出現をみたことからわれわれは RFP の臨床耐性限界を前編で記載した菌発育最低阻止濃度による基準と共にもう一つの示標として 50 mcg 1% 以上を追加して「10 mcg 51% 以上または 50 mcg 1% 以上」とした方がよいと思われた。

2) RFP 使用症例の耐性出現には次の特徴があることを認めた。RFP 開始と共に急速に菌量減少または消失する、菌量減少例に耐性出現すると急激に菌量は増加する、菌消失例では再排菌と同時に耐性が出現する。耐性の出現は RFP 開始 3 カ月以内に 65% を占め、耐性は出現するときは一度に高濃度まで菌の出現がみられた。併用薬剤の耐性出現は RFP よりかなり遅れる。EB が先に耐性出現するよりも RFP が先の方が 4 倍多い。EB 以外の併用薬（感性の INH との併用で再排菌例は未経験）には RFP より先に耐性が出現した薬剤はなかつた。他の併用剤の耐性は菌陽性のままかなりの長期間感性であることが多い。これは RFP の菌阻止力の強さを示すと共に他の薬剤の菌阻止力の強さの順位を示すものと思われる。

3) 特別な経過をとつた 3 例を検討し、RFP 耐性になりにくい例は併用剤を含めた有効薬量の不足も原因の 1 つであると考えられる。

4) 一旦 RFP 50 mcg に耐性になった後 10 mcg にも感性に復帰した 4 例を認めた。わずか 4 例でその復帰の条件を見出すに至らなかったが、再排菌 95 例では 4.2%、RFP 中止 6 カ月以後に耐性検査をした 43 例では 9.3% に達する高率であった。なお耐性の復帰した RFP で再治療したが 4 例共に失敗した、充分な感性の強力な併用剤が得られなかったためと思われる。

稿を終るに当たり長年面倒な耐性検査を一手に引きうけていただいた当院検査室の斎藤千別技官に深謝いたします。

文 献

- 1) 馬場治賢 他: 結核, 51: 1, 1976.
- 2) Crofton, J.: Bull. int. Union against Tub., 27: 220, 1957.
- 3) 馬場治賢 他: 結核, 46: 429, 1971.
- 4) 馬場治賢 他: 結核, 46: 481, 1971.
- 5) Canetti, G.: Poumon et Coeur, 15: 1035, 1959.