

第 51 回 総 会 特 別 講 演

結 核 菌 の 薬 剤 耐 性

—臨床面を加味して—

福 原 徳 光

東京大学医科学研究所内科

受付 昭和 51 年 9 月 9 日

The 51th Annual Meeting Special Lecture

DRUG RESISTANCE OF TUBERCLE BACILLI

—From the Clinical Point of View—

Yoshimitsu FUKUHARA*

(Received for publication September 9, 1976)

Among various problems in relation to the drug resistance of tubercle bacilli, four topics which have a close connection with clinics were discussed. These are summarized as follows.

I) Primary drug resistance in Japan.

According to the investigation conducted by the Tuberculosis Research Committee (Ryoken) during the year 1972, 14.6 per cent of newly detected previously untreated patients with pulmonary tuberculosis showed resistance to one or more of the standard drugs. The prevalence was considerably higher than that reported from those in western countries (1971~1973). If low grade resistance which is lower than that of the Japanese clinical criteria but not susceptible is added, the prevalence rate rose to 34.2 per cent. It was stated that this was a noteworthy actual status in Japan, and based on this fact, it was emphasized that original treatment for pulmonary tuberculosis should be started with regimens including RFP or EB in place of PAS.

II) The cross resistance among the five antibiotics; Kanamycin (KM), Viomycin (VM), Capreomycin (CPM), Lividomycin (LVM) and Enviomycin (TUM).

The sensitivities to the five antibiotics were examined with the antibiotic-resistant strains obtained from the original strain H₃₇Rv or Schacht *in vitro* showing rather low resistance to each of the antibiotics. On the basis of the data examined under various conditions, a diagram of the cross resistance among the five antibiotics was drawn up.

According to the experiments on the sensitivity tests to TUM or KM with the strains isolated from patients who were treated with KM or TUM, the obvious cross resistance between these two antibiotics has not been proved. In view of these facts, for patients became resistant to KM in the routine retreatment, TUM is indicated in a next phase of treatment. It might also be possible to use TUM first, and then if necessary KM.

III) Antituberculous activity of PZA and combined effectiveness with other antituberculous drugs.

From the results of experiments obtained both *in vitro* and *in vivo*, it was recognized that

* From the Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-6-1, Shirokanedai, Minatoku, Tokyo, 108 Japan.

PZA had a rather weak antituberculous activity, enhanced more or less efficacy of other drugs such as RFP, INH and TH, and furthermore inhibited slightly the emergence of RFP-resistant tubercle bacilli. In view of these experimental results together with rather high incidence of side effects of the drug, it is presumed that the combined use of PZA in the chemotherapy of tuberculosis is recommended only for cases with multiple drug resistance.

IV) Drug-susceptibility test; its simplification and speed up of the procedure.

Drug-susceptibility tests by the direct test method, using the Kirchner semiliquid-agar medium, were presented. By this method, it is not only possible to detect mycobacterial growth from specimens faster but also to confirm the existence and grade of primary drug resistance.

はじめに

結核菌の薬剤耐性に関しては、これを臨床面のみから眺めても、数多くの問題が含まれている。その中で私は、まず「初回治療における耐性」としていわゆる初回耐性の問題、次に「再治療における耐性」として KM, VM, CPM, LVM, EVM 5 剤間の交叉耐性、および多剤耐性菌喀出患者の治療のうち特に PZA の評価について、そして最後に耐性検査法に関連した問題、以上の4点にしばって述べる。

私の述べる問題、特に初回耐性の問題の中では、療研の資料を数多く引用させて頂く。あらかじめ療研五味委員長はじめ委員の諸先生および同僚の幹事諸兄の理解を得たつもりであるが、ここで改めて、皆様のご理解を得ておきたい。

I. 初回耐性

このいわゆる初回耐性 primary drug resistance の問題は、疫学上のみならず、化学療法分野でも最も重大な問題の一つと考える。これに関する療研の大々的な調査は、1957年から始まり、1972年まで7回にわたり行なわれている。この度、私はこの成績を参考とし、これを、最近の欧米における状況と対比しながら、これに対し如何に考え、如何に対処すべきか、などについて考察を加えたい。

(1) 初回耐性の頻度

表1に初回耐性の頻度について、日、米、英、独の最

表1 初回耐性頻度(日、米、英、独の比較)

	療研 (1972)	米-Hobby (1973)	英-BMRC (1971)	独-Lukas (1972)
SM	8.0	3.2	2.6	1.6
INH	5.6	2.8	1.9	2.2
PAS	7.1	4.4	3.0	1.0
総合耐性	14.6	8.1	5.4	?
検査例数	1,939	248	467	773

も新しい成績をまとめた。療研¹⁾の1972年の頻度を薬剤別にみると、SM 耐性は 8.0%, INH 5.6%, PAS 7.1% である。これを別の見方で、すなわち、1剤以上に耐性を示したもの、あるいは「総合耐性」としてみると 14.6% となる。これを年次別に眺めると(図略)、最低は1957年の11.9%、最高は1961年の19.3%となるが、大体において横ばい状態である。この平均十数%という値は、欧米のいわゆる先進国の平均数%に比べると遙かに高い値であることにまず注目する必要がある。これが常識的なわが国の現状である。表の米²⁾、英³⁾、独⁴⁾のSMの初回耐性頻度をみても、それぞれ3.2、2.6、1.6%という低い値であり、INH耐性もそれぞれ2.8、1.9、2.2%という低い値で、わが国とははつきり差がついている。

このような諸外国の成績との比較に際しては、もちろん耐性検査方法や耐性規準が不統一である点を考慮して批判する必要がある。表2に各報告者ないしその国の新しい耐性規準を表示する。英、独⁵⁾はいわゆる absolute concentration method に proportion method を若干導入しているが、耐性の境界としては、殊にSM, INHについては、大体においてわが国より低い濃度をとつているところが多い。すなわち、彼らの規準に当てはめると、わが国の初回耐性の頻度は更に高率になるろうか、と考えられる。

(2) いわゆる低耐性頻度

上記耐性の境界に関連して、療研の1972年の初回耐性の頻度を「低耐性」の見地から眺める。表1に示された頻度は、いわゆる医療基準に耐性ととりきめられた濃度(表2)についての成績である。ここで特に問題にした

表2 耐性の境界($\mu\text{g/ml}$)

	日本 医療基準	米-Hobby (1973)	英-BMRC (1973)	独-DZBT* (1973)
SM	20	2	32	4
INH	1	0.5	0.2	0.25
PAS	1	4	4	0.5

* Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose.

いのは、SM 10r (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 不完全耐性)、INH 1r、0.1 R (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 完全耐性)、0.1r、PAS 1r を示したものの、これらは臨床的耐性としては取り扱われていない点である。これらの値を示したものはしばしば低耐性と表現されるが、これらを薬剤別にみると(表略)、SM 低耐性は 8.5%、INH 低耐性は 18.9%、PAS 低耐性は 11.0% にみられている。これを 1 剤以上に低耐性を示したものの頻度として総合的にみると⁶⁾ 19.6% もみられる。この低耐性を含めると、例えば 1972 年の初回耐性全体の頻度は実に 34.2% と驚くべき数になる。

(3) 低耐性の臨床的意義

私どもの実験では、SM、INH、PAS は、感性菌に対し、小川培地では SM 1、INH 0.05、PAS 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で完全阻止するが、これに対し全血中⁷⁾ では SM 2.5、INH 0.5、PAS 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度を、細胞内⁸⁾ では SM 5、INH 0.5~1、PAS 50~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度を要する(表略)。これら環境による阻止力の低下は PAS が最も顕著で、次は SM である。INH は全血中においても細胞内においてもかなり強力であるが、普通の *in vitro* の成績に比べると若干弱いようである。感受性が若干でも落ちた菌に対しては、全血中や細胞内ではその阻止に更に高濃度を要する。低耐性菌ないし低感受性菌の重要性はこのことからもうかがうことができるわけである。

低耐性を重視する根拠のもう一つは耐性上昇の面からである。元来、動物の治療実験ではなかなか耐性がつきにくいものであるが、あらかじめ試験管内で短時日抗結核薬と接触させて感受性を少しばかり落とした菌すなわち低耐性菌をつくり、これをマウスに接種して治療するとかかなり早く耐性がつくことを私ども⁹⁾ は経験している(図略)。これらの事実から、臨床上也、一度低耐性菌が若干でも出現すれば、以後は急速に耐性上昇がみられるであろうと推測される。

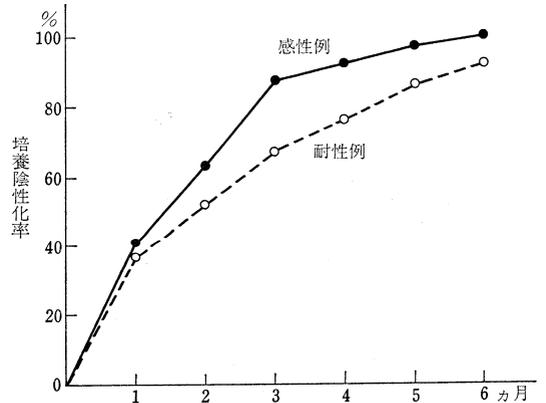
臨床の場合においても、SM 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 完全耐性以上でしかも INH 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 完全耐性のもものでは普通 3 者併用で菌陰性化率が極めて低いことが経験され、また INH 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 不完全という軽度の低耐性が再発に関係したとみられる印象的な例を報告した。殊に複数に耐性の場合、それが低耐性でも、要注意であるように思われた。

(4) 初回耐性患者の治療経過

初回耐性患者に従来の標準的 3 者併用を施行した場合に、その効果が劣ることは療研の以下の成績に示されている。これらの多くは年齢、病型、排菌などの諸因子が類似し、耐性の有無だけが異なる例を組み合わせてペアをつくり、かくして耐性群と感性群(matched pairs)に対する治療効果の比較がなされている。すなわち 1959 年¹⁰⁾ の 36 ペアについても、1966 年¹¹⁾ の 50 ペアについても、培養陰性化率において耐性群が劣った成績が示されている。

1973 年には 37 ペアについて、このうち耐性群中に低

図 1 初回耐性患者に対し SM・INH・PAS で開始した場合の培養陰性化率 (37 ペアについて、療研、1973)



耐性を示したもの (SM 10r 5 例、INH 1r または 0.1 R または 0.1r 計 19 例、PAS 1r 1 例) 25 例を含めて、新たにしらべてみた。このペアは全例 SM・INH・PAS で開始されていたが、その 6 カ月の培養陰性化率は、図 1 のごとく、やはり耐性群(破線)が劣っていた。

以上に関連して、ここで、BMRC¹²⁾ の東アフリカにおける短期強化治療に関する最近の研究の中から「初回耐性例の治療開始後 1 年間の不成功率 (治療 6 カ月の失敗例と治療終了後 6 カ月の再排菌例を加えたもの)」の部分引用したい。すなわち、SM 初回耐性 19 例中 5% が、INH 初回耐性 65 例中 22% が、更に SM と INH 両者に耐性の 19 例については 52% が不成功であった、ということである。初回耐性の中には 2 者に耐性のもの、また 3 者に耐性のものもありうるわけである。複数に耐性であれば、その治療の果ては極めて深刻である。これが、低耐性菌による場合も当然考えられることは先述述べた通りである。

(5) 初回耐性からみた初回治療心がまえ

先ほども触れたごとく、初回の治療を強化して治療期間を短縮させよう、という研究が国際的に盛んである。ここで現在療研で進行中の初期強化治療の症例中から初回耐性例を除外しないでしらべさせて頂いた成績を示す。この研究のスタートの治療方式は SM・INH・EB・RFP の 4 者併用 (103 例) と SM・INH・EB の 3 者併用 (99 例) で、これらのうち低耐性を含めた初回耐性例は 4 者の群で 35 例 (34.0%)、3 者の群で 33 例 (33.3%) であった。これははじめに述べた 1972 年の療研の低耐性を含めた初回耐性頻度とよく似た数である。これに対して行なわれた治療 12 カ月の培養陰性化率をみると、4 者の場合 (図 2) も 3 者の場合 (図 3) も耐性例群は感性例群と同等に良好な成績をおさめていた。すなわち初回耐性に対しては RFP または EB を加えた治療を行なうことにより優秀な成績をあげることができる、と考えてよい

図 2 SM・INH・EB・RFP 4 者併用で開始した群の培養陰性化率(療研, 1975)

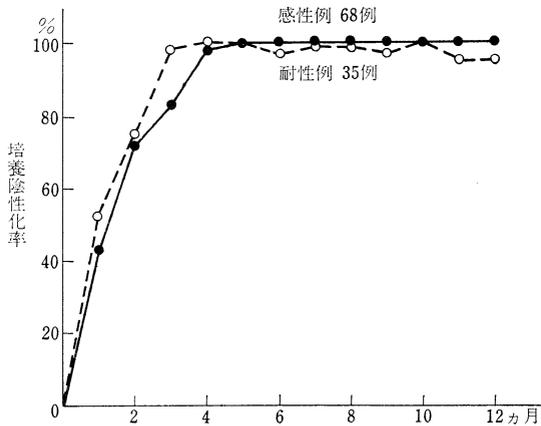
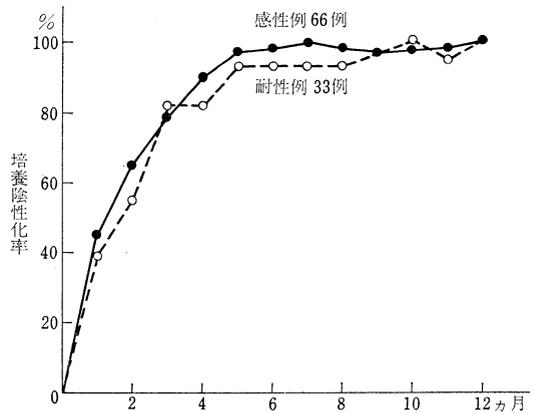


図 3 SM・INH・EB 3 者併用で開始した群の培養陰性化率(療研, 1975)



と思われる。

初回治療の患者に接した場合は、初回耐性患者でありうる可能性を考えて治療方針を樹てる必要がある。すなわち、従来の標準 3 者併用であった SM・INH・PAS 併用は、初回耐性の頻度から考えると、もはや標準的とはいえない。少なくとも、SM・INH・RFP 併用または SM・INH・EB 併用の 3 者でスタートすべきである。有空洞例はもちろん、また空洞の認められない排菌例ももちろんであるが、更に空洞が認められず排菌も証明されない場合でも活動性結核が疑われる場合の治療は、この新しい 3 者併用のいずれかを採用すべきである。初期強化短期治療の意味からも有意義と考える。これはまた、結核性髄膜炎や胸膜炎の治療にも当然当てはまることである。

なお、これらの初回治療を開始後、SM, INH につい

ての初回耐性が判明次第、これらを適宜他の二次薬に切替えるのはもちろんである。

II. KM, VM, CPM, LVM, EVM (今回は TUM と仮称) 5 剤間の交叉耐性

再治療における耐性の問題のうち、普通注射で用いられるこれら 5 剤、すなわち KM, LVM (以上アミノグリコサイド系)、VM, CPM, EVM (以上ポリペプチド系)、これらの間の交叉耐性の状況を明らかにすることは重要である。

(1) 静菌作用の違い¹³⁾

培地により若干の違いがある。小川培地では多くの菌株が 25 $\mu\text{g/ml}$ のところで阻止されるが、この濃度で発育するものも若干みられる。既往に 5 剤がいずれも未使用の患者から分離した 44 菌株についてしらべたところ

表 3 Kirchner 半流動寒天培地における 5 剤の阻止作用(KM 未使用14株)

菌株	$\mu\text{g/ml}$	KM				VM			CPM			LVM			TUM		
		0	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10
1 藤○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅱ	Ⅱ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 中○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	Ⅱ	+5	+2	-	-	-	-	Ⅲ	-	-	-
3 桧○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅱ	+8	+50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 有○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 松○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 神○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	+100	-	-	-	-	-	-	Ⅱ	-	-	Ⅲ
7 佐○	Ⅲ	-	-	-	+	-	-	+26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8 菊○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	Ⅱ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 渡○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅱ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 石○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	Ⅱ	Ⅱ	+30	-	-	-	-	Ⅲ	Ⅱ	+30	-
11 上○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	+50	+10	-	-	-	-	-	Ⅲ	-	-	-
12 宮○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅱ	-	+3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13 草○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	+10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14 中○	Ⅲ	-	-	-	Ⅲ	Ⅲ	Ⅱ	+20	-	-	-	-	-	Ⅱ	-	-	-

Ⅲ～- : 菌発育度, Kirchner 半流動寒天培地

によると(表略), 25 $\mu\text{g/ml}$ で発育した菌株数の比較では, LVM(43.2%), CPM(36.4%), KM(25.0%) がやや多くこれに対し VM(11.4%), TUM(13.6%) は比較的少なかつた。

小川培地ではこの程度の違いであるに反し, 卵を含まない培地では5剤の間にその阻止力にかなりはつきりした違いがある。表3は患者分離菌14株の Kirchner 半流動寒天培地における成績である。この培地における5剤の濃度段階は 2, 5, 10 $\mu\text{g/ml}$ の3段階であるが, 各濃度における菌増殖度をみると, KM と LVM 含有培地ではすべての菌株が 2 $\mu\text{g/ml}$ でも完全に発育が抑えられており, CPM と TUM に対しては感受性の弱い菌株が若干(それぞれ7株と5株)みられる。VM 含有培地ではほとんどすべての菌株が 5 $\mu\text{g/ml}$ で, 菌株によつては 10 $\mu\text{g/ml}$ でも発育しているものが多くみられる。すなわち Kirchner 培地では KM と LVM の阻止力が殊に

図4 KM, VM, CPM, LVM, TUM 相互の交叉耐性

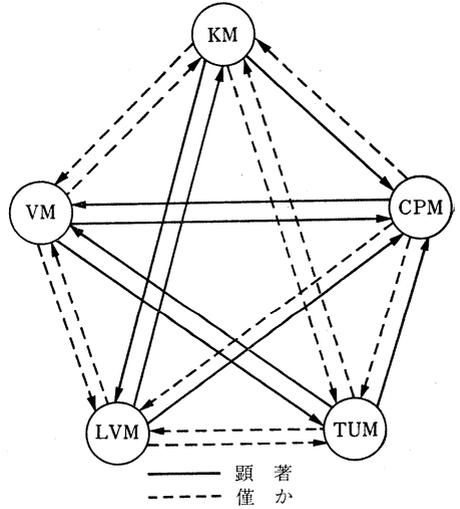


図5 KM 50 $\mu\text{g/ml}$ 不完全耐性13株の他の薬剤に対する感受性

KM		VM		CPM		LVM		TUM	
25	50	25	50	25	50	25	50	25	50
斜線	斜線	S	S	斜線	斜線	斜線	斜線	S	S
斜線	斜線	斜線	S	斜線	S	斜線	斜線	S	S
斜線	斜線	斜線	S	黒	斜線	斜線	S	斜線	S
斜線	斜線	斜線	S	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	S
斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線
斜線	斜線	S	S	黒	斜線	斜線	斜線	S	S
斜線	斜線	S	S	斜線	S	斜線	S	S	S
斜線	斜線	S	S	斜線	S	斜線	S	S	S
斜線	斜線	S	S	斜線	斜線	斜線	斜線	S	S
斜線	斜線	S	S	斜線	斜線	斜線	斜線	S	S
斜線	斜線	S	S	斜線	斜線	斜線	斜線	S	S
斜線	斜線	S	S	斜線	斜線	斜線	斜線	S	S
斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線	S

S 感性
 不完全耐性
 完全耐性

強く表現され、しかも VM の阻止力が極めて弱いことが注目される。

(2) 5 剤間の交叉耐性図¹⁴⁾

この実験には、常道に従い、まず試験管内で 5 剤のおのの耐性の菌をつくりこれらが他の 4 剤に対していかなる感受性を示すかをしらべた。耐性菌株のものは H₃₇Rv 株と Schacht 株で、これから出発し、臨床上の必要性との関連から、耐性度の比較的低いものをつくつて各耐性菌株とした。培地は小川培地のほか、Dubos 培地や Kirchner 培地などを使用して、感受性試験を繰り返す、この際 5 剤の阻止力に前述したように培地によりかなりの幅があることを参考にして検討、判定した。

かくして、図 4 のごとく 5 剤の「交叉耐性図」を作製した。すなわち KM と LVM, VM と CPM, VM と TUM は両方向に顕著な交叉耐性、また KM, LVM, TUM 各耐性株は CPM にも耐性すなわち一方方向のみ交叉耐性を顕著に示すことが多い、ことが示されている。これはあくまで大体の傾向である。今回はどちらかといえば耐性度が比較的低い菌株に条件を揃えて検討したのであるが、現在感じていることは、交叉耐性の面からこれら 5 剤は親戚関係にありその間には関係が密なものも粗なものがあること、更に破線で示された方向のもので一方が更に高度の耐性となれば他の薬剤に対しても交叉耐性が顕著になるものもありうる、と考えた方が

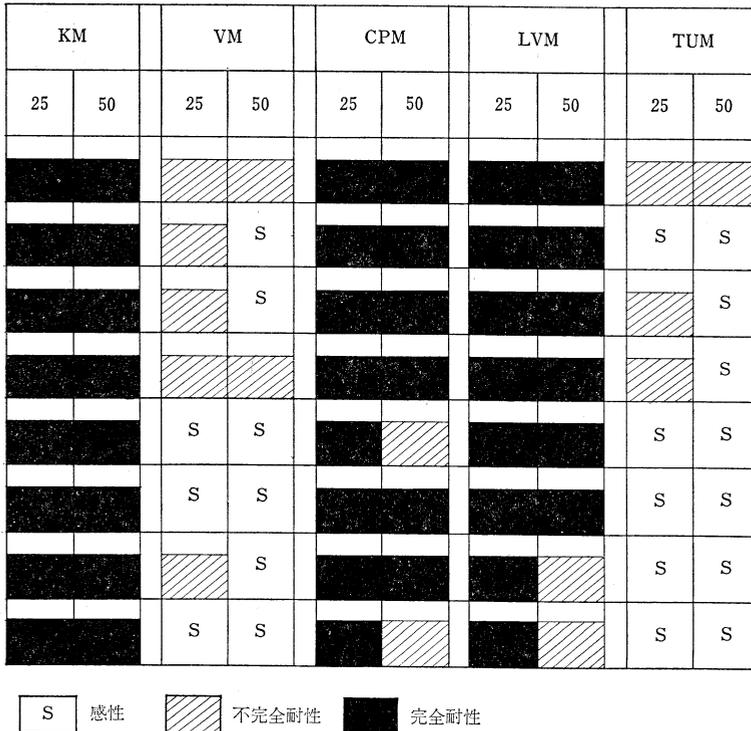
よいように思われる。

(3) 患者から分離した KM 耐性菌について

上述の交叉耐性図を臨床の材料から眺め直してみる。既往にこれら 5 剤のうちでは KM だけが使用されている患者分離株 49 株について、小川培地を使用し、培地中薬剤濃度段階は 25 および 50 $\mu\text{g/ml}$ として感受性検査を行なった。これら 49 菌株の分離前の KM 使用期間は種々であつたので KM に対する感受性も種々の程度のもが含まれており、a) 25 $\mu\text{g/ml}$ 感性のもの 18 株、b) 25 $\mu\text{g/ml}$ 不完全耐性のもの 10 株、c) 50 $\mu\text{g/ml}$ 不完全耐性のもの 13 株、d) 50 $\mu\text{g/ml}$ 完全耐性のもの 8 株に 4 区分された。これら 4 区分した菌株群別に他の 4 剤に対する感受性を眺めると、a 群ではもちろん b 群でも他剤に対する耐性ははつきりせず(図略)、他方 c 群(図 5)ではかなり多くの菌株が、d 群(図 6)では全株が CPM と LVM の 50 $\mu\text{g/ml}$ のところでも顕著な菌発育を示した。すなわち小川培地で、KM 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上に耐性になつてくると、CPM と LVM に対し交叉耐性が顕著になつてくるとみなしてよい、ような成績であつた。

この患者から分離した KM 耐性菌についての成績がやはり前記交叉耐性図に当てはまる。すなわち臨床で KM を使用して KM 耐性となつた場合は、次の段階では実線の矢印で示された CPM と LVM は交叉耐性の

図 6 KM 50 $\mu\text{g/ml}$ 完全耐性 8 株の他の 4 剤に対する感受性(小川培地)



関係で使用できず破線で示された VM か TUM が使用可能である、ことが示されたわけである。それでは VM と TUM とどちらを選ぶかとなると、副作用の少ない方をとることになるかと思う。

(4) TUM 耐性菌の KM 感受性

KM が未使用で、しかも TUM がこれより先に使用されて TUM 耐性となった患者がいると仮定した場合に、次の段階で KM の使用が考えられるが、この際、この TUM 耐性菌が KM に対しすでに感受性が低下してはいないかどうかを臨床材料についても調べてみようとした。これには TUM 治療効果に関する療研の研究で、TUM 治療前および治療後に分離された菌株を使用させて頂いた。

これらの菌株はすでに KM 既使用の患者からとなっていたが、表4のごとく TUM 使用前に KM 25 $\mu\text{g/ml}$ 感性のもの(表の上段の)2株、KM 100 $\mu\text{g/ml}$ 感性のもの(表の下段の)3株を選び出すことができた。これらが TUM を使用して TUM 耐性となった後の KM 感受性の変化を調べてみたが、上段の伊○株および林○株で TUM 治療後 KM 25 $\mu\text{g/ml}$ のところに低感受性菌の発育が少しみられるという程度で、全体としては TUM 治療前と比べほとんど変化がないといった方がよいような成績であった。

すなわち TUM を使用して TUM 耐性となった場合は、多くのものが TUM 50 ないし 100 $\mu\text{g/ml}$ 不完全程度の耐性度であるが、この程度の TUM 耐性度では、今回の観察から、KM の感受性低下にはほとんど影響がないものと推測された。ただし、これに対してはなお臨床の多数例についての観察が必要と考える。

表4 TUM 治療後 TUM 耐性となった菌の KM 感受性

患者名	TUM 治療	TUM 耐性	KM ($\mu\text{g/ml}$)			
			0	25	50	100
■	前後	25 r	冊	—	—	—
		100 r	冊	冊	—	—
■	前後	25 r	冊	—	—	—
		50 r	冊	+	—	—
■	前後	25 s	冊	冊	+	—
		50 r	冊	冊	+	—
■	前後	25 s	冊	冊	+	—
		50 r	冊	冊	冊	—
■	前後	25 s	冊	冊	+	—
		50 r	冊	冊	冊	—

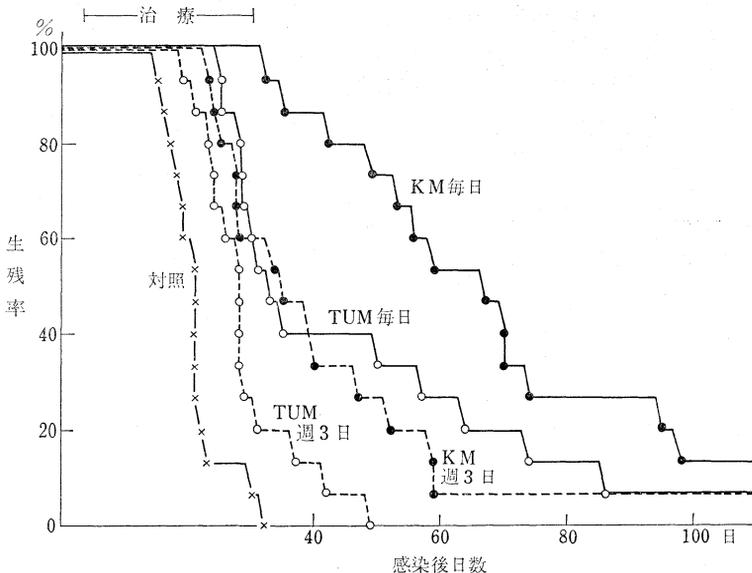
s: 感性, r: 不完全耐性 冊~+: 菌発育度, 小川増地

(5) KM と TUM のどちらを優先するか

以上の試験管内で得られた KM, あるいは TUM 各耐性菌を使った実験および臨床材料から得られた KM, あるいは TUM 耐性菌を使った実験から、臨床で普通みられる程度の耐性度では、この両者の間の交叉耐性は顕著でない、とみなしてよいようである。そこで临床上、これら両者が未使用として残されている場合(もちろん VM も LVM も未使用)に、KM と TUM とどちらを優先して用いるべきかの問題が起こってくる。临床上は各 1g 宛を注射する場合に、副作用を考慮して KM は週3日、TUM は毎日使用される。この際の抗結核作用の優劣を知る目的で、マウス実験的結核症に対する治療実験を行なった。

図7は Schacht 株感染マウスに対し4週間治療(いづれも筋注)した成績である。KM 毎日使用群(この治療

図7 マウス実験的結核症に対する KM と TUM の治療効果の比較 (各薬剤投与量: 40 mg/kg)



方式は非实际的であるが)は最も長期間延命しており、これに対し TUM 週3日群は治療群中最も成績が劣っている。問題の、臨床上普通の使用法に準じた TUM 毎日と KM 週3日の群は互いに交叉しながらよく似た死亡曲線をたどっている。すなわちこの実験からは、TUM 毎日と KM 週3日の優劣をつけることは困難であつた。

以上を要約すると、普通注射で用いられる薬としては、わが国では SM の次には KM の使用が普通の順序であり、その次がしばしば問題である。以上の交叉耐性の検討からは、これに副作用の重みを加味して、SM から KM、その次に TUM のコースが妥当の線と考えられる。更に患者の状況によつては TUM を先にまわして、SM から TUM、その次に KM というコースも考えられるということである。

III. PZA の抗結核作用と PZA を含む併用方式

「多剤耐性菌」を喀出している患者の治療に際して、残された薬剤の組み合わせを考える場合には PZA が一応頭に浮んでくるものの一つである。というのは、わが国ではすでに種々の薬剤が使用されているにかかわらず PZA が未使用のまま残されている患者がかなり多いからである。PZA は元来、抗結核作用は弱くしかも副作用は強く現れることで知られている。それを承知で、有効な併用薬が残りに少なくなつた耐性患者の治療に資する目的で、ここに PZA の抗結核作用と PZA を含む併用方式について再検討を企図した。

(1) PZA 単独の阻止力

結核菌に対する PZA の阻止力は元来極めて弱いとされている。ところが酸性の環境では比較的強い阻止力を発揮することが特異的であり衆知の事実である。したがつてその感受性試験には外国やまたわが国でも特別の場合に pH5.6 の酸性培地が用いられている。

今回私は、酸性の環境ではなく普通一般の環境で、す

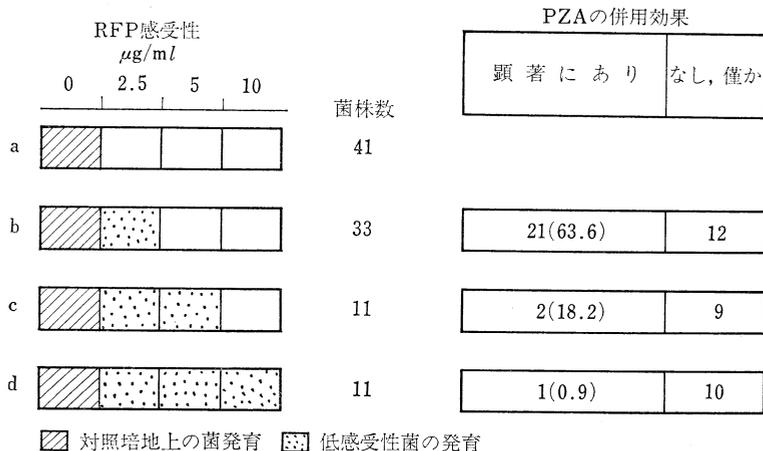
なわち1%小川培地を用いて、PZA の濃度を 20 µg/ml に限定して、この濃度での菌増殖の程度を4段階に分けて対照培地と比較してみた。96株についての成績(表略)は、PZA の阻止作用が「特に顕著(20 µg/ml で菌増殖をみず)」が4例(4.2%),「顕著にあり(対照培地の20%以下の菌増殖)」が18例(18.7%),「顕著ではないが有り(対照の50%以下20%以上の菌増殖)」が50例(52.0%),「なし(対照と同等または50%以上の菌増殖)」が24例(25.0%)であつた。すなわち70%以上の菌株が1%の小川培地でも、PZA に対しその 20 µg/ml のところで、これは PZA の最高血中濃度に近い濃度と考えられるが、強いとはいえないがある程度感受性を示したといえる。これは私どもとしては予想外の成績であつた。

(2) RFP・PZA の試験管内併用実験

RFP の1%小川培地内濃度段階を図8のごとく2.5, 5, 10 µg/ml として使用菌株の RFP 感受性をみると、a群のように2.5 µg/ml で完全に抑えられるものから、b, c, d群のように各濃度で種々発育するものがみられた。これらの中には RFP 既使用例も含まれている。これらに PZA 20 µg/ml を併用したのであるが、a群を除いて、b, c, d群に属する菌株について点をちりばめた部分(低感受性菌群)が併用により完全になくなるかどうかをみて、なくなれば「併用効果顕著にあり」とした。これはb群33例中21例(63.6%)にみられ、他の群は極めて少数であつた。すなわちb群のように RFP に対しあまり感受性の落ちていない菌株に併用効果が顕著であり、また表示しなかつたが、これらはまた PZA 単独の阻止効果がやや強く現れた菌株であつた。この試験管内併用実験から、RFP を PZA と併用して使うとすれば、初回から併用した方が、つまり感受性の落ちていない時期から使用した方が効果的であるように思われた。

(3) RFP・PZA のマウス実験的結核症に対する併用実験

図8 RFP・PZA の試験管内併用実験(1%小川培地)



実験1: H₃₇Rv株により感染されたマウスに対し感染11日目より RFP 20 mg/kg を週1回計4回投与した場合¹⁵⁾ の生命の延長は顕著であつたが、これに PZA 40 mg/kg を週1回併用した場合その死亡曲線には特に差を認めなかつた(図略)。すなわち、この程度の短期間欠の治療では PZA の併用効果は認められなかつた、ということができる。

実験2: Schacht 株感染マウスに対し RFP の投与量を前実験の半量の 10 mg/kg とし、これを長期投与した。この治療実験では、RFP 治療による RFP 耐性の上昇を PZA が抑えるかどうかを主な観察目標とした。この目的から感染後のはじめの2カ月は RFP 週2日で治療し、途中で休薬期間を設け、その後の2カ月はやはり週2日で RFP 単独群と RFP+PZA(40 mg/kg) 併用群に分けて治療(いずれも経口投与)を継続した。最終的には表5のような成績がまとまつた。すなわち各群7匹についての肺定量培養の成績は、まず 0 μg/ml の列を比較すると、RFP 単独治療群に肺内生菌数の多いものが多く、併用群に少なく、耐性菌の出現も RFP 単独群では 5 μg/ml 以上に4例殊に No.2 と No.6 では 50 μg/ml にも発育するものがみられた。これに比べると、PZA 併用群では感受性の低下をみたものは No.8 の1例のみであつた。

以上の実験成績から、RFP と PZA の併用効果が、顕著とはいえないが認められた、ということができるように思われる。

(4) INH・TH・PZA 方式の検討

私どもはこの併用方式についても幾らか検討してみ

表5 RFP 10 mg/kg+PZA 40 mg/kg, 週2日, 2カ月治療, における RFP 耐性菌出現状況 (マウス実験的結核症)

		(μg/ml)			
治療	No.	0	5	10	50
RFP	1	+7	+2	—	—
	2	≡	≡	≡	≡
	3	+5	—	—	—
	4	≡	—	—	—
	5	+3	—	—	—
	6	≡	≡	≡	+
	7	≡	≡	—	—
RFP + PZA	8	≡	≡	+3	—
	9	+3	—	—	—
	10	—	—	—	—
	11	—	—	—	—
	12	—	—	—	—
	13	+30	—	—	—
	14	+4	—	—	—

≡～: 菌発育度, 小川培地

た。どちらかといえば副作用の強い TH と PZA を組み合わせ、これに更に既使用の INH を加えたいきさつは次のごとくである: この併用方式に似た方式として CS・TH・PZA 方式がある。RFP の登場以前にヨーロッパで広く臨床共同研究が行なわれ、第19回 IUAT 会議で Bignall¹⁶⁾ により副作用の発現頻度は高いがその抗結核作用は強力である、と報告されている。この組み合わせの中で、余り強力でなくしかも深刻な副作用を有する CS を除きこれを INH に代えたわけである。すなわち INH・PZA の有効性は早くから認められており、更に INH・TH は INH 耐性の場合も有効であるという事実¹⁷⁾ からである。

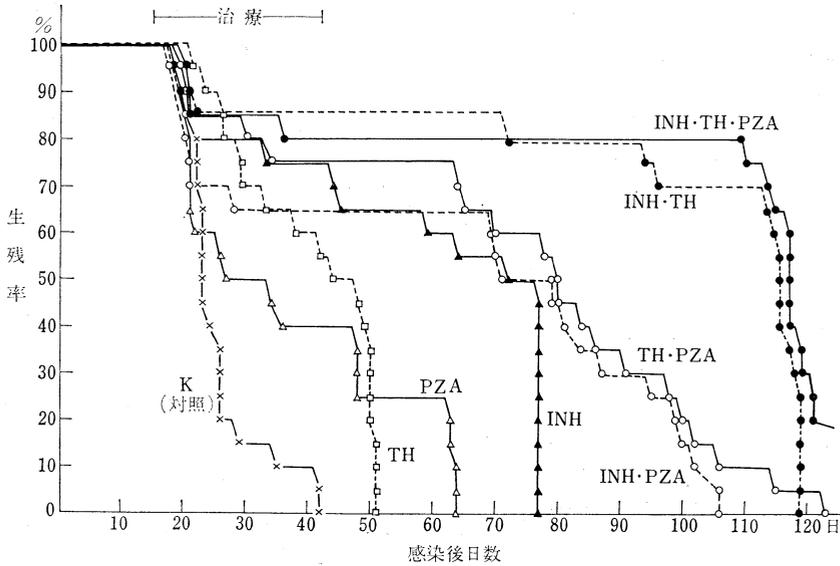
試験管内併用実験: 1% 小川培地を用い、INH および TH の各種濃度に PZA 20 μg/ml を併用した。40株の患者分離菌について検したもののうち比較判定できたものをまとめると次のごとくである(表略)。すなわち INH・PZA 培地や TH・PZA 培地ではこれら単独培地に比し併用効果の認められたものが約30%、更に INH・TH 培地では併用効果を示したものが 60% 以上になっている。これに PZA を加えた3者併用培地では 45% が PZA の併用効果を示していた。

マウス実験的結核症に対する併用実験: H₃₇Rv 株感染マウスに対する治療実験を INH(1 mg/kg), TH(10 mg/kg), PZA(40 mg/kg), いずれも経口投与、各単独およびこれらの2者および3者併用各群について4週間行なつた成績(感染後4カ月の経過)をマウス死亡曲線で図9に示した。無治療対照(K)の死亡は急速である。この対照に次いで速やかな死亡は TH 単独, PZA 単独で、次いで INH 単独の順である。次いで INH・PZA 併用と TH・PZA 併用はよく似た死亡曲線を描いている。最も延命効果を示したのが INH・TH 併用とこれに PZA を加えた3者併用群でこの両者はあまり差がないようであつた。しかしこれを体重曲線(図略)でみると3者併用の方が明らかに優つており PZA の若干の併用効果を感じさせた。なお Schacht 株感染マウスに対する治療実験でも同様な成績で、INH・TH の併用効果は顕著でこれに PZA を加えることにより若干効果が増強されるがごとくであつた。

(5) PZA の臨床上の有用性

排菌のなかなか止まらない例に RFP に PZA を加えたり、INH・TH に更に PZA を組み入れたり、この場合副作用軽減のため PZA の量を少なくしたり、あるいは間欠にしたりいろいろ工夫しながら私どもも臨床的に若干の経験を積んできている。経験的に、PZA の追加がよかつたように思われる例もあるが、限られた私どもの症例数では残念ながら結論を引き出すまでには至っていない。ここで代表的臨床研究として療研¹⁹⁾の最近の成績を引用させて頂いて、この項の小括としたい。すなわ

図9 マウス実験的結核症に対するINH(1 mg/kg), TH(10 mg/kg), PZA(40 mg/kg)の単独, 2者併用および3者併用の効果



ちRFP・EB・PZAの併用に関する研究である。6カ月の培養陰性化率をみると、PZAを併用しないRFP₂・EB₂(いずれも週2日)群の61%に対しPZA併用群、すなわちRFP₂・EB₂・PZA₂(いずれも週2日)またはRFP₂・EB₂・PZA₇(PZAのみ毎日)の群はそれぞれ70%、72%でPZA併用群が優る傾向である。ただしこの研究で、14ないし20%に副作用による脱落例がみられたことが強調されている。この療研の報告だけでなく、わが国でもPZAの併用は有効という臨床報告はいくつかある。しかし発現する副作用を考慮してその臨床的評価はかなり低いようである。

要するに、PZAについては、*in vitro*, *in vivo*, 更に臨床で、確かにある程度の抗結核作用は証明される。しかしその割に臨床副作用が強く現れる。したがって実際上は、多剤耐性結核患者の治療にまたは排菌がなかなか止まらない場合に、副作用に十分注意しながら適当な有効薬との組み合わせで適当な投与量で試みてもよい、という程度の評価を与えてよいのではないかと考えている。

IV. 耐性検査法に関連して

耐性検査法に関しては、培地中の薬剤の力価の減弱などの諸問題のほかに、検査法の簡略化ないし迅速化などの問題も重要である。ここではこのうち特に後者の問題に重点をおいて触れることにする。

(1) 耐性検査の現状

まず療研の「耐性検査の現状に関するアンケート調査」報告書²⁰⁾、これは239施設の実情をまとめられたものであるが、その一部をここに引用させて頂く。

耐性検査の方法ではいわゆる普通法が67.8%で主流をなしているが、その耐性検査用培地としては、自家製のものを使っている所は案外少なく、79%もの施設がメーカー製品すなわち市販されている培地を用いており、このことは誠に注目すべき事実である。培地中の薬剤の力価の減弱に対する心配がまずここに存するわけである。

次に問題にしたいのが、耐性検査の成績の報告までの期間である。このアンケート調査によると、分離培養開始から1.5カ月との回答が6.3%と少なく、2カ月が30.1%、2.5カ月が23.8%、3カ月が26.4%となっており更に長くかかるものもある。この分野では、「長くかかる」ということが当然のようにあきらめムードが支配的である。しかし、どうにかしてこの期間を短縮しようとする努力が続けられていることも事実である。この際、直接法で結果が出ればこの期間はかなり短縮されることになる。アンケート調査では65%の施設が直接法を利用している実情が示されている。私もこの直接法を、殊に初回治療患者の場合に、菌の有無の早期発見と、初回耐性の有無・程度の早期確認とを兼ねて利用してきているので、その経験の一端を以下に述べる。

(2) Kirchner 半流動寒天培地を耐性培地として用いる直接法

検査の手順を以下に示す。

- ①検査材料：喀痰ほか。同時に塗抹標本もつくる。
- ②1% NaOH液を適当量(喀痰の5倍量)加える。
- ③かくはん均等化する。
- ④37°C 孵卵器内に30分放置
- ⑤中和：フェノールレッド加15%硫酸を用いる。こ

の中和以外は一般の前処理方法と変わらないが、この中和処理方法が重要で慎重を要する（注：適宜希釈硫酸液を別に用意しておくとう便利である）。

⑥ 0.1 ml ずつ半流動寒天培地に流し込む。耐性培地としては、殊に初回治療に際しては薬を含ませぬ対照の他は簡略を旨として INH (0.1, 1 $\mu\text{g/ml}$) および SM (1, 10 $\mu\text{g/ml}$) 培地のみで十分と考える。なお別に薬を含ませぬ 1% 小川培地 2 本を併用しているが、これは非定型抗酸菌の場合の確認などのためである。

⑦ 培養と集落の観察は型のごとく行なう。陽性の場合には大体 2 週間で菌の発育が認められるようになる。かなり大きなものから微小のものまで顆粒の集まりとして認められるもののみを陽性としてとると確実である。はつきりしない場合は 0.5~1% STC を加えて集落の赤変をみることにしている。

なお私どもは RFP と EB の耐性培地も試みている。Kirchner 半流動寒天培地中の濃度は、RFP は 1 と 5 $\mu\text{g/ml}$ 、EB は 2.5 と 5 $\mu\text{g/ml}$ としている。アメリカやヨーロッパでさえ、最近では初回治療患者の分離菌について RFP と EB の初回耐性を、例数は極めて少ないとはいえ重視しているかのごとき傾向である。わが国でも近い将来、初回耐性用にこれら 2 剤の検査も必要となるかもしれない。

この Kirchner 半流動寒天培地では前述のごとく多くのものが培養 2 週で判定可能である。私どもは 1 週、2 週、3 週で判定しているが、このうち 1 週後から毎日とり出して観察した 6 例についてみると（表略）、7 日、8 日は全例陰性、9 日で（±）が 2 例、10 日でこれは（+）となり別に（±）が 2 例出ている。14 日では 5 例がはつきり陽性であるが他の 1 例は 14 日で（-）、17 日で漸く（+）となつている。この程度のバラツキがあるようである。

本法は、直接法と Kirchner 半流動寒天培地を組み合わせただけで特に目新しい方法ではなく、すでに経験された方もあると思う。検査の結果が早く判明することは何よりも優ることである。雑菌の混入もわずかの注意で防止できる。培地中の薬の力価の減弱も極めて少ないようである。

近頃、結核と鑑別を要する疾患が多くなつてきている。結核菌が陽性か陰性か結果を早く知りたい場合がしばしばである。それが判明するまでの日数が本法によれば極めて短縮され、結核であれば同時に初回耐性の有無およびその程度まで判明する。すなわち一石二鳥を狙つてい

る。この意味で種々検討を続けている次第である。

おわりに

以上私は初回耐性、特にその低耐性を含めた「頻度」を重視し、それに基づき、初回治療を強化すべきことをとりあげ、また再治療における耐性の問題としては KM、TUM などの交叉耐性からみた化学療法法の順序、および PZA の再評価について、最後に初回耐性を考慮して Kirchner 半流動寒天培地を用いる直接法検査の有用性などについて所感ならびに検討中の諸点を述べた。

謝辞

今回の特別講演の機会を与えられしかも座長の労をとつて頂いた立野誠吾会長に心からお礼申し上げるとともに、療研の貴重な資料の引用を許可された五味二郎委員長ほか療研関係の諸先生に深く感謝する。

なお今回の研究室の仕事の大半は同僚の斉藤健利君の協力によるものであることを申し添えさせて頂き、ここで同君に謝意を表する。

文 献

- 療研：結核，50：1，1975.
- Hobby, G. L.: Amer. Rev. Resp. Dis., 110：95, 1974.
- B. M. R. C.: Tubercle, 54：99, 1973.
- Lukas, W.: 23. International Tuberc. Conf., Mexico, 1975.
- D. Z. B. T.: Empfehlungen zur Methodik und Bewertung von Empfindlichkeitsprüfungen von Mykobakterien, Hamburg, 1973.
- 療研：昭和 48 年度研究報告書，p. 59.
- 小林和夫：結核，34：139, 1959.
- 小野みどり：呼吸器診療，13：691, 1958.
- 木村仁：結核，40：49, 1965.
- 療研：日医新報，No. 2202：124, 1962.
- 療研：Tubercle, 51：152, 1970.
- Fox, W. and Mitchison, D. A.: Amer. Rev. Resp. Dis., 111：325, 1975.
- 斉藤健利・福原徳光：結核，49：57, 1974.
- 斉藤健利・福原徳光：結核，49：91, 1974.
- 鈴木敏弘：結核，46：153, 1971.
- Bignall, J. R.: 19. International Tuberc. Conf., Amsterdam, 1968.
- Freerksen, E. et al.: Praxis Pneumologie, 23：450, 1969.
- 福原徳光：結核，46：35, 1971.
- 療研：結核，47：457, 1972.
- 療研：耐性検査現状に関するアンケート調査報告書，1974.