

総 説

結核感染における persisters (持続生残菌) と化学療法

金 井 興 美

国立予防衛生研究所

受付 昭和 53 年 6 月 28 日

PERSISTERS AND CHEMOTHERAPY IN
TUBERCULOUS INFECTION

Koomi KANAI*

(Received for publication June 28, 1978)

In the chronic stage of tuberculous infection, the bacilli reside in host tissue keeping an almost constant level of viable counts for a long period of time. This interpreted to be due to the static equilibrium between host and parasite, which means that resting (or dormant) tubercle bacilli survive in the lesions without appreciable multiplication.

This physiological state of the bacilli make them insensitive to most of antituberculous drugs, thus producing so-called "microbial persistence". The literatures so far available suggest that such persisters have the altered metabolic pattern and sometimes even a morphological change. They will take the glycolytic pathway rather than the oxidative ones to obtain energy in the tissue environment of low oxygen tension. The conversion to L-forms in the lesions is also suggested as a particular morphology of persisters, by which they can escape from the attack of chemotherapy.

It is a general rule that the bactericidal activity of chemotherapeutic agents works only against the bacilli in multiplication. *In vitro* and *in vivo* experiments show that this is also the case with SM, KM, and INH, but RFP is rather exceptional. RFP is active in killing the resting bacilli, though the degree of activity is a little lower than that against the multiplying bacilli. In view of this fact, regimens containing RFP are recommended as an improved chemotherapy to eliminate persistent bacilli, or to sterilize them.

1. はじめに

過去30年、近代医学によつて結核対策が大きな成功を取め、罹患率、死亡率の顕著な減少を来した。しかし、他の一般伝染病も同じく激減した中であつて、結核症による死亡率は感染症中いまだ1位であり、また、すべての疾患を含めた死因順位の中では10位を維持している。このことは先進社会の保健において、結核症のもつ相対

的な重要性が、必ずしも低くないことを物語る。

殊に結核制圧の実態が、顕在(活動)型から潜在型への感染様式の転換であるため、再発という現象を通して問題が後の世代にもちこされる可能性が指摘される。

結核症における獲得免疫が、感染菌の根絶による絶対効果をもたらさず、また、INHを含めたこれまでの化学療法も、必ずしも細菌学的治療を意味するものではなかつた。根絶されえない菌があり、壮年、高年層におけ

* From the First Department of Bacteriology and Department of Tuberculosis, National Institute of Health, 2-10-35, Kamiyosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

る再発が、結核疫学の今日的な姿であるならば、その再発の原因となる生残菌の性格こそ、私たちの大きな関心の的である。

著者らも、こうした観点に立つて、*in vivo* で発育した菌の性状を研究し²⁾³⁾、また、感染菌を根絶しうる化学療法の理想に向かって、実験的な検討を続けてきた⁴⁾⁵⁾。

McCune⁶⁾は、化学療法下の慢性感染個体において、薬剤感受性菌が生残し続ける現象をマウス実験結核症で観察し、これを Microbial persistence と呼んだ。また、こうした菌を persisters と称するが、この総説においては持続生残菌と訳することにしたい。持続生残菌と化学療法との関係については McCune^{6)~9)}の詳細な研究があり、現在の私たちの知識も基本的にはそれを一歩も出していない。また Canetti¹⁰⁾、McDermott¹¹⁾、Smadel¹²⁾の優れた総説がこの問題について啓蒙的な役割を果たしたこともよく知られている。

しかし近年、RFP の登場によつて結核化学療法が一段と強化され、その臨床的評価はますます高まりつつある。また私たち自身の実験的研究も、persisters と関連して、RFP の特徴を示唆するところがあるので、この機会にこれまでと多少趣を異にした総説を試み、今後の研究の一つの出発点としたい。私たちの専門からして、実験的観察が主体となる。

2. 感染菌の持続生残の実態

1) 感染菌数の消長曲線：マウスあるいはモルモットに有毒菌を均一に静注感染し、その後、経時的に動物をサンプリングして、肺、脾など臓器中の生菌数消長を定量培養によつて追求すると、一つの定型的なパターンが得られる。ヒトの結核症の単純なモデルにすぎないが、その消長曲線は慢性感染症としての全体像をよく表現し、対数グラフを用いて模式的に描くと図1のようである。

はじめに直線的な菌数上昇の段階があり、その傾斜が緩やかになりつつピークを形成すると、その後多少の菌数減少がみられることもあるが、ひき続き菌数はほぼ同一レベルを維持して水平カーブを形成する。こうした観察は無数にあつて、個々の文献をとりあげるまでもないが⁶⁾¹³⁾、殊にマウスにおいては、化学療法下においてもこの基本的パターンの変らないことが多く^{6)~9)}、前述のごとく microbial persistence の表現が用いられるようになった。

しかし、ある時点での感染菌数が、菌増殖と死滅との差引きである可能性をも考慮するとき、persistence という言葉の内容にもう少し立入つてみる必要がある。

2) 感染菌数レベルにおける動的平衡と静的平衡……分裂静止菌：この問題について定量的な解析を試みた例として、Rees と Hart¹⁴⁾の研究を挙げよう。彼らは実験結核マウスの感染 60~138 日における慢性時において、肺組織ホモジネイト中の生菌数と、抗酸性染色による総菌数とを同時に追求し、その双方の消長曲線が平行して水平カーブを示すことを見出した。このことは、死んだ菌が肺から除去されず、また抗酸性を消失しないという前提のもとに、この期間において感染菌は増殖もせず、また死滅もしないことを表現している。つまり少なくとも慢性感染時における恒常的な生菌数は、分裂静止菌の生残（静的平衡）であることを示唆している。INH はこのような分裂静止菌には無効であつたが、INH・PZA の併用によつて生菌数の急傾斜な減少がみられたことは、McCune^{6)~9)}の報告と同じであつた。

この Rees と Hart の成績は、Wallace¹⁵⁾によつて別の面から支持されている。彼は感染慢性期における肺組織中結核菌が、*in vitro* の定常期発育菌と同様に、53°C の加熱に抵抗性があり、この温度に感受性の高い対数期発育菌と大きく異なることを観察した。このこと

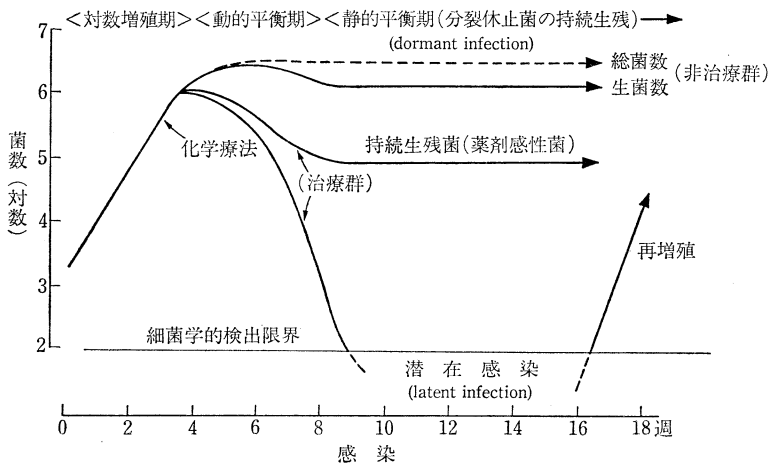


図1 感染菌数消長からみた結核感染の実態(マウスモデル)

注: 本図は McCune^{6)~9)}、Rees & Hart¹⁴⁾の報告に基づく模式図である。

も、慢性感染菌が、分裂静止菌に近いことを示唆するものであろう。

しかしながら私たちは、*in vivo* におけるはじめの対数増殖期と、安定した慢性期との間には一つの移行期があり、この時期の生菌数はむしろ動的平衡によつて成立する可能性を考えている。図1はそうした説明をも加えた模式図であるが、理由は次の項で述べる。

3) 獲得免疫との関係: 図1に示された感染菌数消長曲線は、獲得免疫の成立とその経過との関係で説明される。

感受性のある個体に定着した菌が、はじめに直線的な対数上昇を示すのは、宿主からの抵抗がないためと考えられる。しかし上昇が次第に傾斜をゆるめて頭打ちとなる時点では、獲得免疫による防御機構が菌の増殖度(毒力)とバランスをとつたと説明される。その例として、LarsonとWicht¹⁶⁾のマウスを用いた気道感染実験も挙げうるが、その後、細胞免疫学的解析を加えた多くの研究^{17)~20)}が確固たる実証を与えている。したがつて菌数上昇率の低下は、おそらく感染菌の分裂速度の低下のみならず、死滅菌数の増加によつて差引きされるためであろう。つまり、ここにおいて菌数レベルを決定する機構は動的平衡といえる。前述のように、この状況は慢性化が進むにつれて静的平衡に移行することになりうるが、その要因としては免疫学的なものばかりではなく、成立した病巣の物理化学的条件と菌それ自体の性状変化がありうることは、後述の通りである。

Kanai²¹⁾は発育にSMを要求する変異株を利用し、この菌を*in vitro*であらかじめSM欠乏として分裂をとめ、ワクチンあるいは攻撃菌として用いて、マウスでの防御実験を行なつた。その結果、生菌であるにもかかわらず*in vivo*で分裂しない菌は、ワクチンとして防御効果をもたず、また逆に、生菌ワクチンによつて既に防御力を獲得している個体に接種しても、その影響をうけずに持続生残することを認めた。この意味で、分裂休止菌と宿主とは、相互不関性ともいふべき寄生関係を示している。慢性感染時の宿主寄生体関係がすべてこのような機構で成立するとはいえないであろうが、一つの可能性を示唆している。LeffordとMcGregor²²⁾は、BCG接種ラットをRFPとINHとで9カ月治療して体内BCGを“eradicate”し、これを有毒結核菌で感染した。その成績から彼らは、防御力の維持に持続生残菌の必要でないことを結論した。この観察も、一面において、持続生残菌自体は宿主に対して免疫学的刺激とならない可能性を示唆している。

しかしステロイドホルモンによつて慢性結核症が再発する事例は、persistersの存在が、持続的な免疫力の圧力下に成立していることを示唆するようでもあり、この問題は単一な説明では律しきれない面がある。

4) Dormant infection(休眠感染)とLatent infection(潜在感染): 感染菌の生死を論ずる場合、それは現在の細菌学的技術の可能性と限界の範囲にとどまらざるをえない。Persistersが病巣内で分裂静止状態であつたとしてもこれを人工培地上に移して集落形成を見たときには、菌は病巣内で生きていたと判定している。McCune²³⁾らは、こうした感染をDormant infection(休眠感染)と呼んでいる。しかし、あらゆる細菌学的検索手段によつても、組織中に感染菌を発見できず、しかし、後に再発をみるることによつてはじめて菌が生残していたことを知るような場合、感染はlatent(潜在)であつたと呼ぶ。この二つの感染の違いが、persistersの数の大小によるものか、性状の違いによるものかは判断しがたい。しかし実験材料についても、また臨床材料についても、組織内に永く存在した菌ほど、培地に移されたときに集落形成に時間を要するという日常経験は、*in vivo*に適応しきつた菌が、たとえ“生菌”であつても人工培地上に生育しがたい可能性をも示唆する。これについては更に後述する。化学療法下において、感染がdormantとなるか、latentになるかは、薬剤の種類によつても左右され、その例としてMcCuneら²³⁾は、A群れんさ球菌による咽頭炎の治療にあつて、サルファ剤はdormant infectionを、ペニシリンはlatent infectionをもたらしことを挙げている。

いずれにせよ、持続生残菌が宿主免疫力、あるいは化学療法剤の作用下に、休眠菌として、または潜在菌として、あるいは休眠菌から潜在菌へと移行しつつ存在する可能性を考えてよいだろう。McCuneら²³⁾のPZAとINHとの併用による菌の消失は、感染を潜在性に導くことによると主張する。RFPの優れた治療効果についても、この面での説明が欲しいところである。

3. 持続生残菌の性状

持続生残菌をその感染の場で直接的に観察し、その性状をしらべるといつた研究は技術的に困難が多く、文献もほとんど見当たらない。しかし間接的な情報からある程度の予測は可能である。それらはモデルとしての*in vitro*実験での所見、感染組織から機械的に分離精製した抗酸菌、いわゆる*in vivo*菌の性状などを含んでいる。

1) 毒力: 結核菌の毒力の定着として、感受性のある宿主個体での増殖力という概念が一般に受け入れられている²³⁾。しかし実際の増殖度は宿主の獲得免疫との関係で規定されることになるので、実験的な観察においては、正常動物に菌を接種して、その初期の増殖率がさしあつての目安とされることが多い。しかし分裂休止菌としての持続生残菌の毒力を考える場合、果たして毒力が強いために獲得免疫と拮抗して生残しうるという問題に置

き換わつてくる。

動物を通すことによつて、毒力の強い菌が選択されるという一般的な理解によれば、persisters はそうした機構でえらばれた強毒菌とみなされる。しかし前に述べたように、持続生残という現象が、分裂休止状態となることによつて菌が宿主防御機構を刺激せず、また既成の免疫力からも免れる相互不関性の寄生関係で成立する可能性もある。

事実、Pierce ら²⁴⁾、Fauve ら²⁵⁾ は *C. kutscheri* を用いた実験の結果から、この菌がマウス体内で persist するのは、無毒菌となつて宿主防御機構に抵抗するためであると示唆した。

感染個体におけるのみならず、疫学的な evolution を考えてみても、強毒菌から弱毒菌への交替によつて特定の感染症が社会に残存する場合が多く、赤痢の原因菌が *Shigella dysentery* から *S. flexneri* を経て *S. sonnei* に流行菌種が変遷し、この弱毒型がかろうじて日本の社会に生残している現状は、その代表的な例であろう。本来フローラであるべき共棲菌種が、院内感染症の原因菌となつて治療に抵抗する例も、持続生残という現象における弱毒菌の優位を示唆するものではなからうか。

さて持続生残の機構を考えると、そうした菌の形態、代謝、そしてその菌を取り巻く感染組織の物理化学的条件が検討されなければならない。

2) 代謝: 持続生残菌に関して最も興味深いのはその代謝の実態で、これは化学療法剤の作用機序と密接にかかわりあう。殊に、慢性結核症患者の閉鎖性乾酪壊死病巣中の菌を考えると、血流分布の乏しく、酸素分圧の低いこのような環境において、菌が生残するに必要な代謝様式はどのようなものであろうか。

Hanks と Gray²⁶⁾ は種々な基質に対する抗酸菌の酸化的反応をしらべ、非寄生性のものが最も強く、そらい菌が最も弱いことを認めた。同様な実験において、Geronimus と Birkeland²⁷⁾ は、H₃₇Rv, RIRv, BCG, H₃₇Ra, *M. phlei*, *M. smegmatis* の順に, formate, acetate, propionate, butyrate と lactate を基質とした場合の酸素消費の上昇することを報告した。また Bloch ら²⁸⁾、Patnode ら²⁹⁾ は、各種の酸化還元色素を用いて、結核菌株間の相対的な毒力差を検討し、色素に対する反応性の強いほど、毒力の弱いことを観察した。

Heplar ら³⁰⁾、Guy ら³¹⁾ は、有毒結核菌株は無毒株に比べ、酸素消費率が低いのみならず、その呼吸は、環境の酸素分圧の低下によつても、無毒株ほど阻害をうけないことを見出した。結核菌は好気性菌ではあるが、至適酸素分圧に関しては微妙な点もあり、過剰な酸素はむしろ発育阻害に働くことが古くから知られている^{32)~37)}。

実際、結核菌には機能している解糖系があり³⁸⁾³⁹⁾、酸化的代謝系と解糖系の双方でグルコースを代謝するが、

しかし有毒株 H₃₇Rv の方が無毒株 H₃₇Ra よりも解糖系がよく開通し、発達している。

以上の報告は、結核菌が酸素分圧の低い環境で persist する可能性を支持している。この事実は他の菌種でも知られており、ペスト菌がブドウ糖の代謝に解糖系と酸化的系路の双方をもち、分裂休止状態においては前者が機能することは興味深い^{40)~42)}。

はじめ好気的環境において、効率的な酸化的系路によつて旺盛な対数発育した菌が、免疫力発動によつて酸素分圧の低い閉鎖性乾酪病巣にとじこめられたとき、エネルギー獲得の道を解糖系に切り替えて生残する可能性は否定できないであろう。非寄生性の抗酸菌である *M. phlei* や *M. smegmatis* においてすら、嫌気的条件下で働く ATP 生成系(フマル酸還元)のあることは、環境変化に対する抗酸菌の強い抵抗性を示している⁴³⁾。

また感染マウスの肺から機械的に分離精製したいわゆる *in vivo* 結核菌は、*in vitro* 結核菌と異なり、酸素消費と水素伝達系の活性が極端に貧弱であり^{44)~46)}、この点でそらい菌に近いことが知られている。森⁴⁷⁾によれば、生体内増殖の抗酸菌はそらい菌同様の終末電子伝達系をもつており、*in vitro* に移されると、適応的に Cytochrome c (cyt c) と cyt a が産生され、好気的な培地上の発育に好適な酵素系に切り替わるものと考えた。そらい菌は、cyt c と cyt a を適応的に作る能力の乏しい菌と解釈している。

Kanai²¹⁾ は SM 依存性結核菌株を SM 欠乏状態とし、こうして分裂休止せしめた菌をマウスに接種し、持続生残菌の一つのモデルを示した。この分裂休止菌の酵素系についてははまだ検討がなされていないが、少なくとも大腸菌の SM 依存変異株の SM 欠乏菌については解糖系の活性化、呼吸の低下、チトクローム酸化酵素の活性消失がみられている。そして、残余の呼吸能は自動酸化の cyt b とフラビン系によつてなされることが示された⁴⁸⁾⁴⁹⁾。

以上を総合すると、慢性結核症の閉鎖性乾酪壊死病巣中の持続生残菌が、その場における低い酸素分圧に適応し、増殖はせずとも自己を維持するに足る代謝様式に切り替わっている可能性が示唆される⁵⁰⁾⁵¹⁾。とすれば、このような菌に対する効果的な化学療法が、新しい発想で検討されてよいのではなからうか⁷⁾¹⁰⁾⁵²⁾。

3) 形態: 持続感染が細胞壁に欠損のある L 型菌によるものではないかという想定が、McDermott¹¹⁾ や Smadel¹²⁾ によつてなされたのは、こうした菌相が、液性因子や化学療法剤に対して本来の菌型より抵抗力があるという観察に由来している。

いろいろな感染症に関して、この L 型菌の病原的意義が報告されている^{53)~55)} が、乾酪壊死病巣内の結核菌の形態の一つとして、L 型菌の存在が多くの研究者の関心の

的であつた。高橋⁵⁶⁾は切除肺の乾酪巣中に、ギムザ染色でアズール好性を示す大小の球形顆粒を認め、これにL型結核菌との相似を求めた。また *in vitro* で結核菌のL相をつくつた報告は、高橋のみならず、Mattman⁵⁷⁾⁵⁸⁾、Thacore と Willett⁵⁹⁾⁶⁰⁾、Ratnam と Chandrasekhar⁶¹⁾ などによつてなされ、それぞれ抗生物質やリゾチームを用いている。しかし、こうした人為的方法によらずとも、菌が満足すべき生育条件が与えられないため細胞壁の合成が阻害されれば、L相の発生は可能と考えられる。彼らの報告に共通な点は、L型菌が動物にツベルクリン感作を与える力の弱いことである。この事実は、結核菌細胞壁にツ感作原性の存在を示す報告⁶²⁾と矛盾しないと同時に、L型菌が結核菌としての重要な特徴を消失し、それによつて宿主と共存する可能性を示唆する。Ratnam と Chandrasekhar⁶¹⁾ の実験は、L型菌が結核菌本来の病原性を発揮せずに、宿主体内に永く生残しうことを示した。

以上の実験的観察のみならず、Bondarev ら⁶³⁾は空洞内INH-RFP注入治療患者の空洞洗浄液から、L型結核菌の集落を得、走査電顕を用いてその形態学的特徴を観察している。

また、L型菌が抗酸性を消失しているという報告⁵⁷⁾⁵⁹⁾もあり、チール-ネルゼン染色で抗酸菌のあまり見当たらない乾酪巣において、Nyka の染色が無数の“結核菌”を染出すという事実は⁶⁴⁾⁷⁰⁾、乾酪巣における菌の特異形態を示唆している。Consden ら⁶⁵⁾⁶⁶⁾は、肺結核患者の病巣から、細菌細胞壁の特徴的なアミノ酸であるジアミノピメリン酸を相当量検出したと報告したが、これは病巣における細胞壁の崩壊を示すものであろう。

In vivo で発育した抗酸菌は、クロロホルム可溶の硬口成分が *in vitro* 発育より少ないことが見出されているが⁶⁷⁾⁶⁹⁾、このことも感染組織内の菌の特徴の主要な部分が細胞壁にあることを示唆している。

以上のように、細胞壁の欠損を来して抗酸性を失い、それによつて持続生残する菌型の可能性がある一方で、菌の死滅後も、抗酸性や細胞壁の輪郭がながく維持される観察も少なくない。

低酸素状態の乾酪巣の一つのモデルとして、ソートン培養の菌膜上に流動パラフィンを厚く重層し、37°C で12年間保存されたH₃₇Rv株について、岩井⁷⁰⁾は電顕をも含めたさまざまな手段で形態観察を行なつた。その結果は、こうした長年月の保存に耐えて、菌細胞壁の形態と輪郭が比較的良好に維持され、むしろ内部構造を失つたゴーストの形の多いことを見出した。

In vivo と *in vitro* とでは、宿主の酵素系の有無ということを含めて、条件に大きな違いがあるであろう。

4) 食細胞、病巣における物理的条件との関係：細胞内寄生菌である結核菌は、マクロファージに取り込まれ

てその食胞内で増殖を開始し、ここに感染が成立する。菌の増殖、マクロファージの崩壊、再食菌を繰り返してこの細胞の動員数が上昇し、更に感作リンパ球の関与が加わつて類上皮細胞肉芽腫が形成され、乾酪化を経て多様な病理形態に進むとされる⁷¹⁾⁷²⁾。ところで、persistersがこの間どの環境で発生してその居を定めるかは重要な興味深い問題である。

感作リンパ球からの mediator によつて活性化されたマクロファージ内の結核菌は、殺菌されあるいは分裂増殖が抑制されるといふ一般に認められた事実によれば⁷³⁾、persisters はまず活性化マクロファージ内でその出発が用意されると考へてよいのではなからうか。また、実験結核症の観察において、菌増殖の頭打ちになるのは、上皮様細胞がほぼ完成する時点でもあるので、この点でも persisters はマクロファージの質的変化と関連して発生するとみられる。しかし活性化マクロファージの抗菌力は結核菌に特異的なものではないので、その細胞内におけるどのような物質的、物理化学的要因が、非特異的に菌の増殖を静止せしめるのかという問題が残つてくる。食菌空胞内のpHは5.6前後であるという間接的所見と⁷⁴⁾、この空間にライソゾーム由来の各種水解酵素が放出されるという普遍的現象は認められるが、抗菌現象との直接的な証明はいまだ確立していない^{75)~77)}。しかし岩井⁷⁰⁾も述べているように、菌が安定したdormantの状態になるのは、おそらく上皮様肉芽腫が凝固壊死に陥つた乾酪巣内であらう。酸素供給の乏しいこの環境がもつともその可能性が高いことは、これまで述べてきたところからも理解が容易である。そしてまた、この乾酪巣が軟化して好气的条件を獲得すると、そこに急激な菌の増殖をみる事実は、乾酪巣内の persisters が dormant あるいは latency の状態であつたことを裏書きしている。

4. 持続生残菌と化学療法

1) 分裂増殖度と薬剤効果：結核化学療法の効果発現を阻害する因子として、図2に示したようないくつかの項目が挙げられる。本総説はそのうちの項目3)を論じている。一般に化学療法剤は旺盛な分裂増殖菌によくその抗菌効果を発揮することが知られている。ペニシリンを用いて、突然変異株による栄養要求株を選択濃縮する微生物遺伝学上の技術は、この抗生物質が分裂する菌のみを殺す性質を利用したものである。

Mackness と Smith⁷⁸⁾ は、INH 発見後はやくも、この物質が分裂中の結核菌にのみ有効であることを臨床的所見と実験観察から推察したが、このことは Schaefer⁷⁹⁾ の試験管内実験によつて確認された。SM に関しては、Kanai ら⁸⁰⁾ がソートン培地あるいは Dubos 培地発育中の結核菌にこれを作用せしめ、対数期の菌に対して顕

- 1) 耐性菌の発生
- 2) 薬剤有効濃度の低下
 - a) 感染菌の細胞内所在
 - b) 乾酪物質の干渉
 - c) 空洞周辺など、血管に乏しい線維病巣
 - d) 薬剤不活化
- 3) 慢性病巣における分裂静止菌
(代謝不活性な“persisters”の存在)

図 2 結核化学療法における阻害因子

著な殺菌効果があるが、定常期の菌に対しては効果のほとんどないことを報告した。上述の Schaefer⁷⁹⁾ は、Dubos の培地からグルコースをぬき、NH₄Cl を唯一の N 源とした環境中に菌を生残せしめ、これを 0.5μg/ml の INH に 7 日間暴露せしめたが、生菌数は 1/3 ほどにおちたにすぎなかつた。一方完全培地での旺盛発育菌は同一濃度の INH によつて 1/1,000 以下に減少した。前川ら⁸¹⁾ は温度変化によつて結核菌の増殖を制御し、分裂の旺盛なときに薬剤効果のよいことをみている。

ごく最近金井ら⁸²⁾ は、SM を含まぬ Dubos 培地中で SM 依存性結核菌を生残せしめ、これに対して INH (2/mg), EB(5/mg), KM(5/mg), RFP(1/mg) を作用せしめたが、7 日間の暴露で殺菌効果を示したものは RFP のみであつた。しかし SM を加えて菌の分裂を促した場合には、EB の静菌効果を別として、他の 3 剤はいずれも強い殺菌効果を発揮した。RFP はこのような分裂静止菌に対しても殺菌効果があることで大変ユニークであるが、分裂菌の方により効果があることもまた事実である⁸³⁾。Dickinson ら⁸⁴⁾ は、Dubos 培地中の対数発育菌に対し、SM>RFP>INH の順に殺菌効果の強いことをみている。

それ以前において金井ら^{85)~87)} は、前述の SM 依存株でマウスを感染せしめた後、SM 投与の有無によつてその *in vivo* での増殖を調節し、これに対して INH と RFP の治療効果の比較を行なつたが、INH は分裂休止菌には効果はなく、RFP は増殖菌、休止菌のいずれにも顕著な効果のあることを示した。

また岡本ら⁸⁸⁾⁸⁹⁾ はキルヒナー半流動寒天や、高層寒天での混積培養を利用して、低酸素分圧と菌の発育との関係に化学療法剤の効果をからませて検討した。その結果、酸素分圧の低い高層寒天深部における菌は分裂をとめ、SM や INH の殺菌効果を免れて、14 日間生残することが明らかにされた。一方、半流動寒天中で発育抑制を発揮した INH 境界濃度においては、菌は次第に深部に発育する傾向を示した。これらの実験は、すでに論じたような閉鎖乾酪壊死巣中の低酸素分圧、菌の分裂静止、その代謝活性の解糖系変換などを考慮するとき、一つのモデル実験としての価値が少なくないと思われる(図 3)。

減鉄培地における SM 効果の減弱も、菌の呼吸抑制による分裂阻止と抗菌活性との関係を示すものである⁸⁵⁾。

さて RFP がこのような persisters に対し、少なくともこれまでの抗結核剤よりも有効であるということはすでに述べたが、それにしても、菌が全く代謝を止めている場合には、おそらく RFP もその効果を発揮しえないであろう。ここにつけ加えるならば、著者たちが分裂休止菌に対する RFP の効果を期待したのは、この物質がらいに有効であるという 1970 年の Rees, Pearson, Waters⁹⁰⁾ の報告に由来している。分裂増殖の極端に遅いらい菌に対し、RFP がこれまでの抗らい剤と異なり殺菌的に働くという彼らの報告は、RFP の分裂休止菌

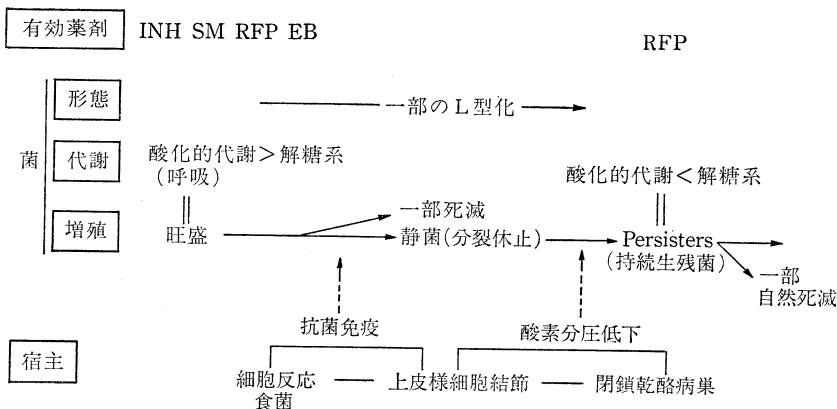


図 3 菌増殖・病巣形成・薬剤効果の関係についての一つの発想

に対する効果を私たちに推察せしめるに充分であつた。そしてこの間、らい菌に対する RFP の殺菌効果は、更に Holmes⁹¹⁾, Holmes と Hilson⁹²⁾ によつて追認されている。これに関連して、抗らい剤の中心である DDS と INH, TH の合剤であるイソプロディアンが、結核症に対して INH・EB・RFP の組合せに匹敵する効果を示すという報告が注目される⁹³⁾⁹⁴⁾。

2) 宿主・寄生体・薬剤関係(Host-Parasite-Drug Relationship): 前項においては、菌の分裂増殖度と薬剤効果との関係を論じたが、感染個体において菌の分裂増殖度を支配するものは獲得免疫による抗菌機構であり、その機構の末端には非特異的な組織の物理化学的要因まで含まれてくる。したがつて *in vivo* においては、薬剤効果は常に宿主・寄生体・薬剤の3者関係の中で決定されると考えてよいであろう。この関係を、そこに関与する代表的な要因を加えて模式的に示したのが図4であるが、いまここでは菌の増殖力(毒力)、防御力、そして薬剤の抗菌活性の三つの関係のみを取り上げたい。

端的にいえば、宿主の抗菌免疫によつて菌の分裂増殖が抑制されれば、それだけ薬剤効果が減弱するという論理がある一方、感染治療の最後の拠り所は、やはり個体の獲得免疫でなければならないという二律背反的な実態がある。

McCune ら^{6)~9)} の一連の報告における多数のマウス実験感染例をみると、肺における結核菌増殖は常に脾におけるそれを上回つて旺盛であるが、化学療法効果はむしろその肺においてより効果的であり、菌の持続生残は脾の方で顕著である。この現象は、マウスでは獲得免疫が脾においてより速やかに、そしてより強力に発展するため、そこでの分裂増殖が制御され、薬剤効果にはむしろマイナスの条件が成立するためと考えられる。この傾向は多くの研究者の成績においても同様で、私たちが同一の観察を得ていると同時に、BCG 免疫あるいは感染免疫によつて増殖阻止をうけている再感染菌が、INH

の投与効果に反応の弱いことを認め^{95)~97)}、またコーチソン投与によつて脾内感染菌数の増殖を促進すると、INH の治療効果の上昇することも観察した⁹⁷⁾。

ところで、宿主・寄生体・薬剤間の力関係というものは、感染の発展段階に応じて変動する。感染直後における菌の対数増殖期においては、菌と薬剤間の相互作用が最も強く、また獲得免疫の発展に応じて宿主と菌との相互作用が強まると、菌・薬剤関係は弱まると考えられる。そして、この関係は安定した感染慢性期に入るとますます希薄となり、既述のような不関性というべき関係となるのかもしれない。

ここで留意したいのは、以上のマウス感染実験においては、感染菌は組織各所に比較的平等に散布され、その局所局所での細菌学的、病理学的状況は近似しているとみられる。しかし臨床結核においては、発展段階を異にしてその大きさと性状の同じでない病巣があり、そして、その中で菌の生育状況もまた異なる場合も多いであろう。とすれば現実の化学療法は、宿主・寄生体・薬剤関係に対する考慮に幅をもたせることも必要であろう。

3) 切除肺中の結核菌: 臨床においては、一般に喀痰培養によつて治療の細菌学的評価がなされるが、これは肺組織内の菌状況の一部しか表現していない不安が残る。殊に、閉鎖乾酪巣における菌についての情報は、喀痰培養によつては得られにくい場合が多いであろうし、この点で切除肺の細菌学的検索は、日常的な検査作業とはなりえなくても、貴重な参考資料を提供することになる。

1950年代から60年前半にかけて、こうした研究は多数発表されたが、それは D'Esopo ら⁹⁸⁾⁹⁹⁾ の観察、つまり閉鎖壊死病巣中の結核菌は人工培地上では非常に生育しがたいという事実を追試確認するものであつた。そしてまた、塗抹陽性、培養陰性菌の生死に関して限りない論議をひき起こすことになつた。これについて通覧することはこの総説の目的ではないが、1例として Hurford と Valentine¹⁰⁰⁾ の成績を挙げよう。空洞のない、過去6カ月喀痰培養陰性の軽症患者50例について、その切除肺閉鎖病巣から82サンプルを集め、染色、培養、動物(モルモット)接種試験を実施した。80%の患者で染色陽性であり、38%の患者で培養、動物、あるいは双方が陽性であり、82のサンプル中26(31.7%)に生菌を認めたことになつた。患者は主要3剤(SM, INH, PAS)で治療されていたが、耐性菌の発生は、2例においてそれぞれ1剤耐性にすぎなかつた。

山下・松井¹⁰¹⁾、中西¹⁰²⁾、亀田¹⁰³⁾、高橋¹⁰⁴⁾の報告は、空洞例をも含めた切除肺を扱つているため、培養陽性率は高いが、術前排菌陰性期間の永い症例ほど、切除肺の培養陽性の可能性は少ない傾向は顕著である。1975年の岩井ら¹⁰⁵⁾、1976年の佐藤¹⁰⁶⁾¹⁰⁷⁾の報告は、より最近の成績として興味深い。ことに後者は Hurford と同じ

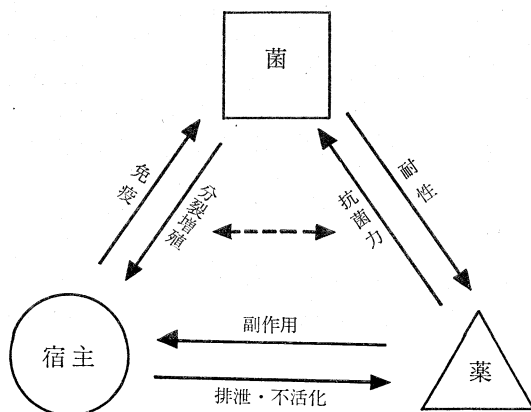


図4 宿主・菌・薬剤関係

条件の切除肺非空洞病巣を取り扱つて、培養陽性率は2.8%にとどまつている。同時に、塗抹陽性・培養陰性の症例率は50%に達した。ただ喀痰菌陰性期間5カ月以内の例を集めると、培養陽性率は25.5%に上昇している。これらの患者にはSM, INH, PAS, EBなどが使用されている。一方、RFPを加えた治療例を扱つた岩井¹⁰⁵⁾の集計では、その切除肺病巣培養陽性率は、RFPを含めない一次薬、二次薬のみの場合に比較して、圧倒的に低く、新海¹⁰⁸⁾の経験とともにRFPの効果を高く評価するものとなつている。

このような切除肺での成績は、RFPが閉鎖病巣中の菌にもある程度有効ではないかという可能性を支持し、これまで述べてきた実験的事実とも矛盾していないように思われる。それと同時に、塗抹陽性・培養陰性例の高率である事実は、結核死菌が病巣中でその菌体構造の完全性を容易に失わないことを意味している。

多くの細菌が食細胞内に取り込まれて10~15分で死滅¹⁰⁹⁾し、マクロファージ中のリステリアやチフス菌の菌体崩壊が3時間以内で起こりうるにもかかわらず¹¹⁰⁾、抗菌薬は非病原性の *M. smegmatis* ですらはるかに長期にわたつて形態学的突然性を維持することが電頭的に知られている¹¹¹⁾。

4) 持続生残菌の根絶の可能性: 結核化学療法の実験は感染菌の eradication であり、それによつて再発のおそれを皆無にすることであるが、こうした細菌学的治療を阻害する因子の一つとして、薬剤感性菌の分裂静止による持続生残を論じてきた。

この持続生残菌を減少せしめ、出来れば根絶せしめるレジメンを実験的に検討するにあつて、一般にマウスが用いられてきた。この動物においては、菌はほとんどすべてマクロファージ内に所在するため、細胞内に透過しにくい SM, KM 等アミノ配糖体抗生物質に感度が弱く、また宿主免疫力が強まると、その圧力のもとに分裂静止して INH の殺菌力を免れる。したがつて、Canetti¹¹²⁾の述べたように治療終了後の再発を根絶せしめるレジメンのテストとしては、マウスは極めてきびしい条件のものであり、もし、これを用いて満足すべき成績であつた場合、臨床にもかなり期待できるとみてよいだろう。

マウスにおける感染菌の eradication の指標としては、培養による菌陰性のみならず、治療中止後の cortisone 処理によつて菌の再増殖をみないことが要求される。1例として、INH と RFP をそれぞれ 25 mg/kg/日あるいはそれ以上の投与量で併用し、3カ月¹¹³⁾あるいは9カ月間²²⁾治療して上述の条件を充たした根絶成績が得られるようになった。ここで用いられている投与量は、臨床的な量をかなり上回つており、投与開始も感染後 2~3 週ではあるが、しかし、このような完全な成績は RFP

の登場前には得られなかつたものだけに、persists に対する RFP の作用を示唆するものであろう。Byalik と Klimentko¹¹⁴⁾ のマウス実験例報告では、RFP 単独で 25 mg/kg により 2 カ月、50 mg/kg で 1~2 カ月という短期投与の優れた殺菌効果を示した。

最近、豊原¹¹⁵⁾ はヌードマウスを用いて化学療法による菌の根絶を検討しているが、この動物で再発をみないレジメンは高く評価されてよいはずである。近藤¹¹⁶⁾ はマウスの致死感染に対し、投与量をそれぞれ 0.5 mg/マウス/日とする SM・RFP・INH あるいは EB・RFP・INH での 3 者併用で 6 カ月治療し、大多数において組織からの菌陰転を確認した。しかし治療中止後 2 カ月ごとに菌の再増殖を追求したところ、再発をみるもの、みないものの個体差のあること、また再発はごく限られた孤立病巣における菌増殖であることが観察された。

私たち^{82)85)~87)} は人為的なモデル実験ではあるが、その結果から RFP が分裂静止菌にもある範囲有効であろうと報告し、この点で、INH のもたない優れた特徴を見出した。このことと、RFP に対してますます高まりつつある臨床的評価^{117)~127)} とが、直接的な因果関係で結ばれているか否かは即断しがたい。そのためには、適切な条件をもつた長期観察臨床例や切除肺での所見が今後ふえることを期して待つべきであろう。

結核菌に対する RFP の作用機序は Konno ら¹²⁸⁾ によつて DNA 依存性の RNA polymerase の活性阻害であり、電頭的にも細胞質、殊に ribosome の消失が注目されている¹²⁹⁾¹³⁰⁾。この RFP の作用機序が、分裂静止中の結核菌にも働いて殺菌的な効果をもたらすか否かは、今後の興味ある研究課題であろう。また酸素供給の乏しい病巣内で、菌が呼吸による酸化的代謝から解糖系への転換を行なつた場合、上述の RNA polymerase の活性がどのような変化を示すかも、RFP の作用機序との関連で興味がある。

換言すれば、RFP が分裂静止菌に有効であるという意味は、分裂静止の中であつても、自己を維持するに必要な代謝は残存しているはずで、これに対して RFP が作用するということである。したがつて、そうした代謝すら消失した状態においては、RFP はもはや効果を発揮しえないと考えられ、ここに RFP の可能性と限界のあることを知るべきであろう。

5. まとめ

化学療法下における薬剤感性菌の持続生残は、宿主・寄生体・薬剤 3 者間の微妙な力関係の結果であり、分裂静止菌による宿主との静的平衡として捉えられる。また、そうした菌の生化学的、形態学的性状について主として実験的な研究成績から論じた。

上述の観点からするならば、持続生残菌を減少せしめ

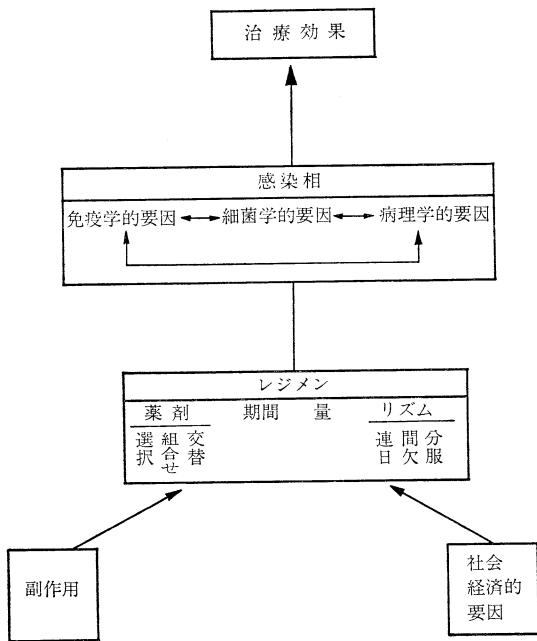


図5 結核症の化学療法

る手段としては、分裂静止菌にも有効な薬剤が期待されるが、RFP がその期待にある程度答える可能性が示唆された。

砂原¹³¹⁾は RFP, EB の登場が結核化学療法の哲学と体系に変革をもたらしつつあると述べ、自由な発想の回復を説いている。三輪¹³²⁾は、今後の結核化学療法は RFP を中心にして考えるべきことと述べているが、いづれにせよ、一次薬、二次薬といういささか固定した既成概念にとらわれず、個々の薬剤の可能性と限界を見極めつつ、その選択とレジメンを工夫すべきではなからうか(図5)。

そうした新しい発想として初期強化療法が注目をあびているが、そのねらいの一つは、治療終了時における persisters の数をできるだけ少なくすることにあると考へたい。

この総説は、すでに確立した事実の年次的なそして網羅的な記録といった形をとらなかつたが、これによつて何らかの新鮮な発想、論議、そして実験構想が誘導されるならば幸いである。

文 献

- 1) Dubos, R. J.: Amer. Rev. Resp. Dis., 90 : 505, 1964.
- 2) Kanai, K. and Kondo, E.: Japan. J. Med. Sci. Biol., 27 : 135, 1974.
- 3) 金井興美: 結核, 51 : 489, 1976.
- 4) 近藤瑩子・金井興美: 結核, 52 : 411, 1977.
- 5) 近藤瑩子・金井興美: 結核, 52 : 475, 1977.

- 6) McCune, R.M. and Tompsett, R.: J. Exptl. Med., 104 : 737, 1956.
- 7) McCune, R. M. et al.: J. Exptl. Med., 104 : 763, 1956.
- 8) McCune, et al.: J. Exptl. Med., 123 : 445, 1966.
- 9) McCune, et al.: J. Exptl. Med., 123 : 469, 1966.
- 10) Canetti, G.: The tubercle bacilli in the pulmonary lesion in man. Springer, N. Y., 1955.
- 11) McDermott, W.: Amer. Rev. Resp. Dis., 86 : 323, 1962.
- 12) Smadel, J.E.: Bull. N. Y. Acad. Med., 89 : 159, 1963.
- 13) Kanai, K. and Yanagisawa, K.: Japan. J. Med. Sci. Biol., 8 : 115, 1955.
- 14) Rees, R. J. W. and Hart, D. P.: Brit. J. Exptl. Pathol., 42 : 83, 1961.
- 15) Wallace, J. G.: Amer. Rev. Resp. Dis., 83 : 866, 1961.
- 16) Larson, C. L. and Wicht, W. C.: Amer. Rev. Resp. Dis., 85 : 833, 1962.
- 17) Lefford, M. J. et al.: Infect. Immun., 8 : 182, 1973.
- 18) North, R. J.: Infect. Immun., 10 : 66, 1974.
- 19) Collins, F. M.: Amer. Rev. Resp. Dis., 107 : 1030, 1973.
- 20) Collins, F. M.: Infect. Immun., 11 : 57, 1975.
- 21) Kanai, K.: Japan. J. Med. Sci. Biol., 19 : 181, 1966.
- 22) Lefford, M. J. and McGregor, D. D.: Cellular Immunol., 14 : 417, 1974.
- 23) Rich, A. R.: The pathogenesis of tuberculosis, C. C. Thomas, Pub., Springfield, Ill., 1951.
- 24) Pierce-Chase, C. H. et al.: J. Exptl. Med., 120 : 267, 1964.
- 25) Fauve, R. M. et al.: J. Exptl. Med., 120 : 283, 1964.
- 26) Hanks, J. H. and Gray, C. T.: Adv. Tuberc. Res., 7 : 1, 1956.
- 27) Geronimus, L. H. and Birkeland, J. M.: Amer. Rev. Tuberc., 64 : 520, 1951.
- 28) Bloch, H.: Amer. Rev. Tuberc., 61 : 207, 1950.
- 29) Patnode, R. A. et al.: Amer. Rev. Tuberc., 69 : 599, 1954.
- 30) Heplar, J. Q. et al.: J. Infect. Dis., 64 : 90, 1954.
- 31) Guy, L. R. et al.: J. Infect. Dis., 64 : 99, 1954.
- 32) Novy, G. F. and Soule, M. H.: J. Infect. Dis., 36 : 168, 1925.
- 33) Knox, R. et al.: Guy's Hosp. Rept., 110 : 174, 1961.
- 34) Gottlieb, S. F. et al.: J. Bacteriol., 87 : 838, 1964.
- 35) Lebek, G.: Zentr. Bakteriolog., I. Orig. : 176 & 530, 1959.
- 36) 金井興美: 結核, 32 : 224, 1963.
- 37) Wayne, L. G.: Amer. Rev. Resp. Dis., 114 : 807, 1976.
- 38) Bastrachea, F. et al.: J. Bacteriol., 82 : 94, 1961.
- 39) Indira, M. and Ramakrishnan, T.: Amer. Rev. Resp. Dis., 88 : 509, 1963.
- 40) Santer, M. and Aji, S.: J. Bacteriol., 69 : 298, 1955.

- 41) Santer, M. and Ajl, S.: *J. Bacteriol.*, 69 : 713, 1955.
- 42) Issaly, I. M. et al.: *Nature*, 191, 727, 1961.
- 43) 楠瀬正道他: *結核*, 28 : 34, 1953.
- 44) Segal, W. and Bloch, H.: *J. Bacteriol.*, 72 : 132, 1956.
- 45) Bekierkunst, A. and Artman, M.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 105 : 605, 1960.
- 46) Kanai, K. and Kondo, E.: *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 23 : 303, 1970.
- 47) 森竜男: *結核*, 51 : 495, 1976.
- 48) Engelberg, H. and Artman, M.: *Biochem. Biophys. Acta*, 47 : 553, 1961.
- 49) Bragg, P. D. and Polglase, W. J.: *J. Bacteriol.*, 88 : 1399, 1964.
- 50) Wayne, L. G. and Diaz, G. A.: *J. Bacteriol.*, 93 : 1374, 1967.
- 51) Wayne, L. G.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 114 : 807, 1976.
- 52) Vandiviere, H. M. et al.: *Amer. J. Med. Sci.*, 232 : 30, 1956.
- 53) Feingold, D. S.: *N. Engl. J. Med.*, 281 : 1159, 1969.
- 54) Clasener, H.: *Ann. Rev. Microbiol.*, 26 : 55, 1972.
- 55) Fernandes, P. B. and Panos, C.: *Infect. Immun.*, 14 : 1228, 1976.
- 56) 高橋昭三: *結核*, 51 : 497, 1976.
- 57) Mattman, L. H. et al.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 82 : 202, 1960.
- 58) Mattman, L. H.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 174 : 852, 1970.
- 59) Thacore, H. and Willett, H. P.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 114 : 43, 1963.
- 60) Thacore, H. and Willett, H. P.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 93 : 786, 1966.
- 61) Ratnam, S. and Chandrasekhar, S.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 114 : 549, 1976.
- 62) Kanai, K. and Youmans, G. P.: *J. Bacteriol.*, 80 : 607, 1960.
- 63) Bondarev, I. M. et al.: *Probl. tub.*, -12 : 55, 1976.
- 64) Nyka, W.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 88 : 670, 1963.
- 65) Consden, R. and Glynn, L. E.: *Lancet*, No. 1 : 943, 1955.
- 66) Consden, R. and Howard, A.: *J. Clin. Pathol.*, 10 : 178, 1957.
- 67) Segal, W. and Miller, W. T.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 118 : 613, 1965.
- 68) Kondo, E. and Kanai, K.: *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 25 : 249, 1972.
- 69) Azuma, I. et al.: *Proc. 7th Japan-U. S. Medical Co-operation Tuberculosis Panel*, 1972.
- 70) 岩井和郎: *結核*, 51 : 499, 1976.
- 71) Dannenberg, A. M., Jr.: *Bacteriol. Rev.*, 32 : 85, 1968.
- 72) 岩井和郎: *結核*, 51 : 293, 1976.
- 73) Mackaness, G. B.: *Ann. Inst. Pasteur*, 120 : 428, 1971.
- 74) Sprick, M. G.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 74 : 552, 1956.
- 75) Kanai, K. and Kondo, E.: *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 25 : 133, 1972.
- 76) Ginsburg, I. and Sela, M. N.: *Crit. Rev. Microbiol.*, 4 : 249, 1976.
- 77) Goren, M. B.: *Ann. Rev. Microbiol.*, 31 : 507, 1977.
- 78) Mackaness, G. B. and Smith, N.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 67 : 322, 1953.
- 79) Schaefer, W. B.: *Amer. Rev. Tuberc.*, 68 : 125, 1953.
- 80) Kanai, K. and Yanagisawa, K.: *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 8 : 63, 1955.
- 81) 前川暢夫他: *結核*, 46 : 235, 1971.
- 82) 金井興美・近藤肇子: *結核*, 投稿中.
- 83) 前川暢夫他: *結核*, 48 : 913, 1973.
- 84) Dickinson, J. M. et al.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 116 : 627, 1977.
- 85) 金井興美・近藤肇子: *結核*, 44 : 379, 1969.
- 86) 金井興美: *結核*, 49 : 267, 1974.
- 87) 近藤肇子・金井興美: *結核*, 52 : 411, 1977.
- 88) 岡本茂広他: *結核*, 38 : 551, 1963.
- 89) 岡本亨吉: *日胸誌*, 12 : 552, 1963.
- 90) Rees, R. J. W., Pearson, J. M. H. and Waters, M. F. R.: *Brit. Med. J.*, 1 : 89, 1970.
- 91) Holmes, I. B.: *Intern. J. Lepr.*, 42 : 289, 1974.
- 92) Holmes, I. B. and Hilson, G. R. F.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 145 : 1395, 1974.
- 93) Orłowski, E. H.: *Prax. Pneumol.*, 30 : 224, 1976.
- 94) Pereira, V.: *Prax. Pneumol.*, 30 : 584, 1977.
- 95) 近藤肇子・金井興美: *結核*, 52 : 411, 1977.
- 96) 近藤肇子・金井興美: *結核*, 52 : 475, 1977.
- 97) 近藤肇子・金井興美: *結核*, 53 : 261, 1978.
- 98) D'Esopo, N. D. et al.: *Transactions of the 12th Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis*, p. 229, Veterans Administration, Army and Navy, Washington, 1953.
- 99) D'Esopo, N. D. et al.: *Transactions of the 12th Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis*, p. 78, Veterans Administration, Army and Navy, Washington, 1951.
- 100) Hurford, J. V. and Valentine, W. H.: *Tubercle*, 38 : 194, 1957.
- 101) 山下英秋・松井晃一: *結核*, 44 : 383, 1969.
- 102) 中西通泰: *結核*, 44 : 392, 1969.
- 103) 亀田和彦: *結核*, 42 : 197, 1967.
- 104) 高橋智広: *結核*, 47 : 491, 1972.
- 105) 岩井和郎: *日胸臨*, 34 : 891, 1975.
- 106) 佐藤瑞枝: *結核*, 51 : 329, 1976.
- 107) 佐藤瑞枝: *結核*, 51 : 427, 1976.
- 108) 新海明彦: *内科*, 39 : 944, 1977.
- 109) Rowley, D.: *Adv. Immunol.*, 2 : 241, 1962.
- 110) Leake, E. S. et al.: *J. Reticuloendothel. Soc.*, 9 : 174, 1971.
- 111) Leake, E. S. and Myrvik, Q. N.: *J. Reticuloendothel. Soc.*, 8 : 407, 1970.
- 112) Canetti, G.: *Tubercle*, 49 : 70, 1968.
- 113) Batten, J.: *Tubercle*, 51 : 95, 1970.
- 114) Byalik, I. B. and Klimenko, M. T.: *Probl. tub.*, -9 : 74, 1976.
- 115) 豊原希一: *結核*, 53, 177, 1978.
- 116) 近藤肇子: *結核*, 投稿中.

- 117) 山本正彦他：結核，47：393，1972.
- 118) 結核療法研究協議会(五味二郎他)：結核，47：457，1972.
- 119) 山本和男他：結核，47：467，1972.
- 120) 国療化学療法共同研究班：結核，48：235，1973.
- 121) 浦上栄一・長沢誠司：結核，48：411，1973.
- 122) 亀田和彦他：結核，50：185，1975.
- 123) 亀田和彦・本野智慧光：49：387，1974.
- 124) Oka, S. et al.: Sci. Rep. Rest. Inst. Tohoku Univ.-C., 19：84，1972.
- 125) Freerksen, E. et al.: Beit. klin. Tuberk., 141：273，1970.
- 126) 2nd East Africa/B. M. R. C. S.: Amer. Rev. Resp. Dis., 114：471，1976.
- 127) Drabkina, R. O. and Ginzburg, T. S.: Probl. tub., -3：69，1975.
- 128) Konno, K. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 107：1006，1973.
- 129) Konno, K. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 107：1002，1973.
- 130) Culuskaya, S. A. and Milovanova, E. V.: Probl. tub., -5：67，1977.
- 131) 砂原茂一：結核，51：123，1976.
- 132) 三輪太郎：現代医学，24：145，1976.