

結核菌発見100周年記念総説

結核化学療法の基礎研究100年の展望

(その2) 後臨床基礎研究

金井興美・近藤瑩子

国立予防衛生研究所細菌第1部

受付 昭和58年1月13日

はじめに

本総説(その1)¹⁾において、抗結核剤開発の100年史をごく要約した形で述べた。

この(その2)においては、ストレプトマイシン(SM)発見以来、臨床に用いられるに至った数々の抗結核剤について、その臨床使用の過程で発生してきた諸問題を検討した基礎研究を展望したい。抗結核剤の開発研究を前臨床試験と呼ぶならば、上記のような研究に対しては、ここで仮に後臨床試験と名付けることにした。また検討諸問題として、薬剤の併用効果などに関するレジメン、非定型抗酸菌症への使用薬剤効果の病理学、感染菌の生残、耐性菌の発生などを取り上げた。薬剤作用機序については、戸井田の総説²⁾「結核菌の基礎研究」にゆずり、薬理作用、副作用などの基礎的研究はむしろ臨床部門で論じた方が適切であると判断した。

さて、戦後しばらくは、世界各国いずこにおいても結核が死亡率の上位を占めており、それ故、結核化学療法の研究は、それぞれの国の立場で活発にすすめられた。しかし、国際的な情報レベルでみた場合、基礎研究の面で先導的な役割を果たした研究室は必ずしも多くはなかった。

英国においては Mitchison と Dickinson のグループがあり、また伝統のある Brompton 病院の Batten なども挙げられる。フランスにおいてはパスツール研究所の Canetti, Rist, Grumbach, Grosset の研究グループが長年極めて精力的な研究活動を続けた。米国においては歴史的なトルドー研究所の Steenken と Wolinsky, Mayo Clinic の Feldman, Karlson ら、シカゴの Youmans ら、McKeen と Mc Dermott のコーネルグループ、ロックヘラー研究所からデンバー時代にかけての Middlebrook ら、そして Hobby らの研究がわが国の基礎研究者の主たる関心の的であった。しかしその米国も全体としてみた場合、後臨床的結核化学療法研究を組織だつて推進したものは、Conference on Chemotherapy of Tubercu-

losis, VA-Army and Navy³⁾であつたように思われる。わが国においても、厚生省の研究費による結核療法研究協議会(療研)が26年に結成され、また、文部省科学研究費による総合研究結核班が化学療法の分科会を結成し、一方、全国の国立療養所も共同研究組織として化学療法研究班をもち、いずれも基礎研究を含めてわが国の結核化学療法研究推進の母体となつた。この(その2)の内容も、結局はそうした各国における中心的な場での研究活動の流れを追うことになる。

後臨床試験、ことにレジメン検討としての動物実験

病理学的見地からすれば、ヒトの結核症と小動物での実験結核症とはかなり違つたものである。しかし、その実験結核における治療試験によつて多くの抗結核剤が開発されてきたこれまでの実績を考え、また、*in vitro* に対して単に *in vivo* での薬剤効果を強調する限りにおいて、私たちは動物実験の意義を高く評価しうる。そして、数多くの被検物質をスクリーニングするという要請から、伝統的なモルモット実験結核症にかわつてマウスの使用が開発されたことも(その1)で述べた。Youmans らが導入したマウスでの抗結核剤スクリーニングテスト法は、大菌量接種による致死感染マウスの延命効果をみるもので、成績は数量化が容易でしかも統計処理が可能となり、短時日のうちに判定ができるという利点があつた。Rist(1948)⁴⁾と Von Wagner(1958)⁵⁾によつて書かれた総説は、そうした欧米での開発と発展の経過をまとめてある。マウスの化学療法研究への利用はわが国においては戦後に岩崎・小川⁶⁾、柳沢ら⁷⁾によつて開始され、Youmans らと同じく生存日数を指標とする方法がとられた。

しかし、同じくマウスを実験結核症に用い始めた Fenner ら⁸⁾、Pierce ら⁹⁾は感染臓器内の菌数を段階希釈培養によつて定量培養し、それを経時的に実施して感染菌数の消長を追求する実験方法を導入した。この方法は上記の生存日数を記載するものと比較するならば、時間と手間と材料を要し、抗結核剤のスクリーニングには一

般的ではない。しかし小菌量感染によつて、本来慢性感染であるヒトの結核症を再現するモデルとしては適切であつた。殊に化学療法剤使用のきめこまかな検討を目的とする後臨床試験においては、この方法を採用して、投与薬剤が感染菌の消長を修飾する実態を捉えることができた。Fenner や Pierce らは化学療法の研究にはすすまなかつたが、パリのパスツール研究所の Canetti, Grumbach, Grosset らのグループは、1950年初頭からこの菌数消長追求方法によつて結核化学療法の後臨床試験を展開し、1960年代中期までの膨大な研究成果は Grumbach の総説¹⁰⁾によつて概観できる。米国でこの実験方法を最も効果的に用いたのは McDermott, McCune らであつて、Microbial persistence の現象を見事に浮き彫りにし、また Pyrazinamide (PZA) の特異な作用を示した。これについては別項を設けて論ずる。

さらに近年、リファンピシン (RFP) の登場によつて化学療法が一段と進歩し、PZA の再認識も含めて、短期強化化学療法が先進国においても、開発途上国においても主流となりつつあるが、その基礎研究としては上記のパスツール研究グループ、ならびに Mitchison・Dickinson¹¹⁾ の英国研究グループのあることはよく知られている。

マウスはモルモットに比べれば化学療法によつて菌を根絶することの大変困難な動物である。したがつて、Canetti¹²⁾ のいうようにマウスで強い治療効果を発揮するレジメンは、臨床でも期待できるという点では筆者たちも同じ見解である¹³⁾。

Grumbach, Canetti ら¹⁴⁾は、マウスモデルで得られる成績を臨床に参考にする場合、薬剤投与中の出来事のみに関し、それ以後の問題については必ずしも適用できないと述べているが、上述のことを裏返して表現したものであろう。いずれにせよ、結核化学療法効果の後臨床試験においては、感染菌数の消長を比較することによつてレジメンの優劣を検討することになるが、その代表的な実験方法として Grumbach らの常法を紹介する。

彼らは、結核菌はマウスの肺でよく増殖し、肉眼的な病巣(肉芽腫)をつくり、病巣内での菌数はヒトの肺結核空洞内の菌数に匹敵しうるレベルに達するので、このマウス肺を治療効果をみる指標とするのが適当と考えた。標準結核菌株 H₃₇Rv を Dubos 液体培地で6~8日に発育せしめ、比濁法で湿潤菌量 0.1 mg 相当のものをマウスの尾静脈に接種する。菌は肺で増殖し、一般に感染3週間後で死亡するが、薬剤投与は感染がすでに充分進展した2週から開始する。この時点、肺全体では10⁸レベルの菌が存在する。薬剤投与はゾンデを用いて経口的に投与するか、皮下注射による。経時的に(長期実験では3, 6, 9, 12カ月など)各治療群から6~10匹ずつを無作為に選んで肺を取り出す。肺は4%の硫酸で10分間乳

鉢中で乳剤とし、アルカリで中和後10倍希釈系列をつくつて、それらの 0.1 ml ずつをレーヴェンシュタイン・ジェンセン培地に接種する。できるだけ少量の菌をも検出するためには一つの希釈乳剤について10~20本の培地を用いるとする。

この方法は基本的には、欧米各国やわが国で用いられるものと同じであるが、生存日数の観察による実験法と比較するならば、はるかに多くの人手と労力を要するものであり、その実験体制を常時用意している研究室以外では実施しがたい。

また、Grumbach によれば、薬剤耐性の基準を INH については 0.1 μg, SM については 2 μg, エチオナミド 10 μg とするならば、マウスの治療中に耐性菌が増加し、それら単剤によつては治療効果が無効になつてくる事実がみられている。これはわが国ではあまり報告されなかつたことである。

Grumbach は1950年初頭からマウスによる結核化学療法研究の方法について INH, SM の単剤使用によつて検討を始め、その方法に基づいて1950年後半から Canetti, Grosset と協力して薬剤併用レジメンの検討を開始し、また Rist のエチオナミド開発研究にも参加した。したがつて、エチオナミドを中心とする併用療法の基礎研究が、彼らのパスツール研究所の特色ともいえる。この間、McCune らによつて報告された併用薬として、ピラジナミド (PZA) について、その再評価につながる仕事も発展した。

このようなマウスでの治療実験の成績が、すべて臨床に還元しうるのは前述のように判断のむずかしい面もあるが、彼らは常により有効なレジメン開発を求めて実験を行ない、それが現在の短期強化化学療法を導く基礎実験に発展していつたことを考えるならば、マウスの実験モデルの果たした役割は、やはり大きいものといわざるをえない。マウスでの研究が臨床の局面をすべて代弁しえないと同時に、臨床では分析しえない局面を、マウスモデルでは観察しえたのである。1例をあげるならば、1968年における Canetti ら¹⁵⁾の報告は、流血中の薬剤効果の検討から RFP が通常の投与量において、臨床的には INH にまさりうるかもしれないことを予測しているが、1969年、Batten¹⁶⁾が行なつた感染菌消長をみたマウス治療実験はその可能性を支持するに充分であつた。このように、最も有効な2つの抗結核剤の効果を比較し、さらにその投与量までを検討するためには、感染菌の消長を比較するマウス治療実験は不可欠である。

さらに同年、Grumbach は¹⁷⁾そうしたマウス治療実験によつてカブレオマイシン、エタンブトール (EB), RFP の効果を比較し、RFP の発見によつて結核化学療法は新しい時代を迎えることにならうと予言し、さらに RFP と INH との併用によつて感染菌の根絶もないう

ることを示唆した。

しかしながら、英国の Dickinson と Mitchison は 1976年の報告¹⁸⁾において、彼らの試験管内実験、そしてモルモットの治療実験の結果として、RFP に上述のような価値を認めておらず、短期化学療法に採用するとしても一時的な処方にとどめるべきであると述べている。また、彼らの翌年の報告¹⁹⁾においても、試験管内実験で INH と RFP の併用の効果を評価していない。むしろ結果は Fox²⁰⁾が開発途上国で行なっている PZA を含めたレジメンを支持する傾向のものであるが、その後の先進国における RFP の評価は Batten¹⁶⁾、Grumbach¹⁷⁾の予言を実証したように思われる。

一方わが国においては、この間、療研、日結研、そして国際化研を連合組織として、結核化学療法の研究が推進され、情報交換の場として機能した。そこでは新薬が評価され、レジメンが検討され、化学療法のガイドラインというべきものの設定も考慮された。臨床研究が主ではあつたが、実験的基礎研究もなされ、多くの場合相互に支持的な形で経過してきたといえよう。

SM, PAS, TB1 の時代に始まり、INH 出現以後の 1950年に最もはなばなしい活動がなされ²¹⁾、各種二次抗結核剤の出現した 1960年代を経て、RFP を中心とする 1970年以後の時代に至つた。そのひとつの帰結として短期強化療法の世界的な流れの中にまきこまれていつたということもできよう。その長年の研究の詳細に触れる紙面はないので、以下ごく最近のトピック的な課題についてのみ述べることにする。

特に実験的な研究中心としては、東北大の抗酸菌病研究所、東大医学研究所、結核予防会結核研究所、京大結核胸部疾患研究所、阪大微生物病研究所、大阪府立羽曳野病院、長崎大、国立予防衛生研究所等であつた。それら研究室において、Grumbach のような広範な、そして本格的な後臨床的基礎研究が実施されたとはいいがたいが、最近の例を挙げれば、INH にも匹敵しうる RFP の治療効果について、1970年にはすでに山本ら²²⁾、Konno ら²³⁾、豊原ら²⁴⁾²⁵⁾、Hakoma ら²⁶⁾によつて報告され、RFP 間欠投与の有効性や SM+INH+RFP、EB+RFP 等併用の卓越した効果についても Konno²³⁾、豊原²⁴⁾²⁵⁾、Hakoma ら²⁶⁾、筆者ら²⁷⁾²⁸⁾、その他によつて証明された。また、RFP に関する薬理学的研究も秋本ら²⁹⁾、北本ら³⁰⁾、豊原³¹⁾、Yokosawa ら³²⁾、荒谷ら³³⁾によつて 1970年早々になされている。

以上の実験的研究から得られる共通の結論があるとなれば、それは RFP と INH 併用の優秀性であり、これに SM か EB を加えることによつて、短期化学療法の基幹レジメンが示されたことであろう。

したがつて、Fox らによつて開発途上国で検討された PZA を含む短期化学療法は、わが国を含めた先進国に

おいては、SM+INH+RFP あるいは EB+INH+RFP の形で臨床治療がすすめられた。同時にマウスを用いた実験的検討も新しい視点を得て始められたが、治療期間の長短の意味を、臨床との比較において考えることは至難のことであるし、結局はできるだけ短期間に、再発のない感染菌の根絶状態をもたらす上記 3 剤の投与法の検討を目標とすることになつた。

このような実験は Grumbach ら³⁴⁾³⁵⁾、そしてわが国では豊原³⁶⁾、小田³⁷⁾、馬淵³⁸⁾、近藤³⁹⁾によつて試みられた。Grumbach の成績を要約すれば、マウスでの再発なき感染菌根絶療法は INH+RFP の 9 カ月投与を必要としている。近藤³⁹⁾の実験では、6 カ月投与では INH+RFP+EB が最も結果がよく、投与中止 6 カ月後においても再発率は 25% であつた。豊原³⁶⁾は SM+INH+RFP+PZA の 4 剤併用の 3 カ月投与で、コーチゾンによる再発をもみない程の治療効果を挙げた。小田³⁷⁾の成績も、INH+RFP+SM、あるいは INH+RFP+EB による 6 カ月投与が、再発なき感染菌根絶効果を挙げうることを示した。馬淵³⁸⁾のマウス実験も、治療終了時におけるいわゆる *persisters* の数をできるだけ少なくし、できれば根絶をしうるレジメンが、結局は短期強化療法の指標であることを報告した。

動物実験に比べて試験管内実験は実施が容易であるだけに、関連論文は数多いが、既に述べた Mitchison と Dickinson のグループや Jenne と Beggs ら⁴⁰⁾は *in vitro* において薬剤と菌との接触におけるカイネティックスを検討し、薬剤の作用濃度、時間の影響に解析を加えた。わが国では内藤・前川を中心とする京大胸研グループが薬剤効果と作用環境について長年の観察を蓄積しており⁴¹⁾、ことに silicone を被覆したスライドに菌を接着せしめる方法を導入しての研究はユニークな業績である。

結核化学療法の病理学的評価

(その 1) で述べたように、結核化学療法剤の開発が、実験結核症を効果観察の場として実施されてきたが、かつては欧米においてもわが国においても、治療効果の指標は非治療群と病巣のひろがりを目眼的に比較し、組織切片で質的差異を確認するものであつた。サノクリジンの効果を検討するにあつて、佐藤・渡辺の提案した動物実験法が評価委員会で採用され、わが国での最初の標準的な基準となつた。化学療法の本来の意味が菌に対する直接効果であるにもかかわらず、そうした方法に依存したのは、感染菌の消長を定量的に追求する手法がまだ確立していなかつたためである。これ故、被検薬剤の評価を誤つたこともあつた。ある薬剤は明らかに病巣形成を阻止したが、その際必ずしも感染菌の増殖抑制を伴うものではなかつた。このことはセハランチンの場合のように、感染菌の存在部位における細胞集積を抑制し、あるいは上皮様細胞への成熟を阻害する場合などに起こりう

る。フェニルヒドラジンのように貧血を惹起する物質も、病巣形成を阻止し、一見有効のようにうけとられたこともあつた。

SM の発見以後、結核菌の培養技術がすすみ、組織からの定量的な感染菌培養法が一般普及すると、菌数消長を比較するか、動物の生存日数を比較することが抗結核剤探索の一般的方法となつた。この目的に関する限り、病理学的所見の記載は副次的なものとなつて、動物実験は *in vitro* に対する *in vivo* という薬剤作用の場としてのみ意味を与えられた。そもそも臨床結核と実験結核とは、感染の出発点から病理学的内容が違つている。事実 Steenken と Wolinsky⁴²⁾ の例のように、動物に実験的肺空洞をつくつて化学療法を実施しても、その結果は臨床のそれとかなり違つたものであつた。

こうした事情にもかかわらず、動物と人体での病理を含めて、化学療法効果と病理形態学との関係を基礎と臨床とが共有しうる最も重要な領域として研究してきた数少ない研究者がいる。その代表的な例として、Rist⁴³⁾、Canetti⁴⁴⁾⁴⁵⁾ などパスツール研究所の人達、ドイツの Von Nassan と Pagel⁴⁶⁾、そしてわが国の岩崎⁴⁷⁾、岩井⁴⁸⁾であつた。ことに切除肺を用いての研究は、それまで不可能であつた初期の病巣の観察もなしうる利点もあつて、多くの研究者の関心を呼んだ。そうした研究は各病巣に対する化学療法の効果を分析し、薬の効き方を知る手段にもなり、さらには病巣内の菌と化学療法⁴⁹⁾という問題を扱う手段ともなつた。

観察の中心は乾酪病巣、その軟化、空洞といった病理形態における化学療法の効果である。わが国では昭和30年の結核病学会総会において、岩崎⁴⁷⁾が「肺結核症の化学療法に関する臨床的ならびに病理形態学的研究」と題して特別講演を行なつて、治療開始時の病巣の状態が治療効果を左右するという事実を、動物実験までも含めて総合的に示した。この研究成果は昭和32年に梅沢ら⁵⁰⁾によつてカナマイシンが発見され、その効果を検討する過程の中でも確認された(岩崎, 1960⁵¹⁾)。なお岩崎の研究は、その後岩井らによつて更に拡大された。また、病巣内のいわゆる染色陽性培養陰性菌の問題、乾酪巣の生化学的条件なども検討され、化学療法剤の病巣内への浸透性など、切除肺ならではの観察もなされている。以上のような基礎観察を踏まえて、各病巣に対する化学療法の効果が全国的な研究協議会の組織だつた共同研究でなされたことは、わが国の結核病学会の大きな業績と評価できよう。特定病巣に焦点をあてた化学療法については、まず堂野前・山本⁵²⁾、そして藤田⁵³⁾によつて内外の業績がまとめられ、その後の大要については岩井⁵⁴⁾の総説によつて展望できる。RFP が登場し、強化化学療法が一般化した時点において、それが空洞の組織所見に及ぼす影響などは特に関心をよんだが、田中・岩井⁵⁵⁾によれば

乾酪壊死部分へのマクロファージや毛細血管の侵入が著明で、乾酪物質の濃縮・脱水の一層顕著なことが認められている。

化学療法下における薬剤感受性菌の persistence

McDermott⁵⁶⁾によれば“Microbial persistence”とは、投与薬剤の作用を免れて薬剤感受性菌が宿主個体の中で生残することである。特に薬剤投与期間が長い結核感染⁵⁶⁾、れんさ球菌⁵⁷⁾感染において注目されてきた。

臨床における結核化学療法の治療効果判定は、患者が排菌者であれば喀痰培養陰性化がまず指標となる。しかし、喀痰培養陰性はその個体の感染菌を根絶したことを意味するものではない。閉鎖乾酪病巣等には薬剤感受性菌が使用薬剤の作用を免れてなお生残し、その時点では増殖せず、また病状に関与しないまでも、将来に再増殖の機会を得て再発の原因になりうる。このことは、化学療法以前の問題として、成人結核症の成立が治癒初感染巣の再発であるという一般の機序と共通した面である。ここに結核化学療法の限界のひとつがあり、また疫学的にも今日の結核症が高年層における再発例によつて占められていく理由ともなつている。

結核症が化学療法によつて臨床的に治癒し、しかし細菌学的にはなお感受性菌を残して休眠感染、あるいは潜在感染に移行する実態は、マウス実験結核症をモデルとして McCune ら⁵⁸⁾⁵⁹⁾によつて再現された。薬剤投与下に感受性菌が生残する機構は、有効濃度が菌の周辺に及びにくいという病理組織学的条件もひとつの可能性であるが、筆者らは病巣内に存在するであろう分裂速度の遅い、あるいは静止した代謝不活発な菌が、本来有効であるべき薬剤に不感受性となつて生残する可能性を推定し、*in vitro* ならびにマウス実験結核症でそれを証明した。この現象の背景には、菌と宿主と薬剤の3者間の微妙な関係があり、その詳細については私たちはすでに本誌に総説⁶¹⁾を寄稿したことがあるので、ここでは繰り返すことは避けたい。ただひとつ強調したいことは、分裂速度の遅い代謝不活発な菌とは、言葉をかえれば弱毒菌である。遺伝的な背景のある本質的な弱毒菌ではなく、おそらく宿主要因に誘導された適応的な弱毒型であり、それによつて宿主と平衡状態、あるいは共生関係を保持しているものと解される。こうした菌に化学療法が作用しがたいとすれば、日和見感染菌(平素無害菌)が化学療法に感受性が弱いことと共通的な側面をもつている。

また私たちは、SM に依存して発育する結核菌変異株を、SM のない培地で残余増殖せしめて得た分裂休止菌を用いて実験し⁶²⁾、他の抗結核剤が無効であるが、RFP のみがこれに殺菌効果を発揮することを見出だした⁶³⁾。この事実と RFP の臨床的評価との関係は今後の研究に値する。

Persisters の発生部位として酸素分圧の低い閉鎖乾酪

病巣などが想定されるが、山鳥⁶⁴⁾は試験管内実験で検討し、そうしたガス環境では一般に化学療法剤の殺菌効果は減少するが、RFPの効果はよく維持されることをみている。この観察も結局は、菌の代謝活性や分裂活動と薬剤効果が密接にかかわっていることを示唆し、それ以前の前川ら⁶⁵⁾⁶⁶⁾の研究と同じ基盤での現象であろう。

なお、化学療法を強化し、persistersを根絶できないまでもできるだけ減少せしめることは、再発の可能性を抑え、また治療期間を短縮しうることにもなる。このような意味で、別章のような短期強化化学療法の基礎実験が、後臨床試験としてすすめられたことを再度強調したい。

耐性上昇機序の遺伝学的・分子生物学的研究

一般に病原菌が使用薬剤に対して耐性を獲得する事實は、Ehrlichによるヒ素剤の研究以来知られた事実であった。ペニシリンが開発されると、遺伝学者のDemerec⁶⁷⁾はブドウ球菌のペニシリン耐性出現機序を研究し、自然発生的な突然変異菌が環境における薬剤によつて特異的に選択される結果であると説明した。SMが発見されると、Venneslandら⁶⁸⁾は実験室保存結核菌株であるH₃₇Rvの中に、自然発生的な耐性菌がすでにわずかの頻度で混在することを示した。また、HsieとBryson⁶⁹⁾はDemerecの方法⁷⁰⁾を用い、*Mycobacterium ranae* (当時の種名)の耐性上昇が、突然変異と選択によることを報告した。これ以後、わが国においても諸外国においても、*in vitro*におけるSM耐性上昇形式から、その遺伝的背景を考察する研究^{71)~75)}が相次いだ。しかし当初は、選択説によつて必ずしも説明のすつきりしない面もあつたので、適応説も同時に唱えられ、その間の論争は牛場、渡辺によつて詳細に紹介されている。SMに続いて抗結核剤が開発されるに依りて、それぞれの薬剤に対する耐性上昇パターンも検討された。なかでも東村らはほとんどすべての抗結核剤に関して検討を加え、耐性表現の数(耐性度の数)という概念で捉え、その結果としての耐性上昇形式をsingle-step pattern,あるいはtwo-step patternといった区別で報告してきた。その膨大な業績をここに網羅することはできないので、論旨を伝える総説を挙げるにとどめる⁷⁶⁾⁷⁹⁾⁸⁰⁾。

一方、動物における実験もなされた。しかし多くの場合、感染動物の治療によつて耐性菌は分離されなかつた。ただGrumbach⁸¹⁾によれば、SM, INH, PZA, 1314THなどの耐性菌が、それぞれの単独投与を3カ月以上うけたマウスから分離されている。また、わが国の研究者によつて特殊な条件下にそれが成功した例がある。あらかじめ*in vitro*において低濃度耐性とした菌液を感染に用いるか⁸²⁾⁸³⁾、あるいは流動パラフィンや寒天に比較的大量の菌を包埋して直接肺に接種し、組織の壊死や、空洞をつくつておいてから薬剤投与する場合⁸⁴⁾にのみINH

耐性菌の出現をみている。いずれにせよ、菌株差、薬剤差、投与量、動物個体差によつて左右され、それだけに臨床における耐性菌発生が、薬剤と菌との間のみではなく、宿主の病理的条件が大きく関与することを示唆する。

上述のように耐性菌の起源と出現パターンを、現象論から論じている間に、1950年前後から主として大腸菌を用いての微生物遺伝学が急速に発展し、遺伝子そのものを解析することが可能になつた。それらは形質転換、有性生殖(接合)、形質導入、そしてR因子(プラスミド)によるものである。ことに多剤耐性因子としてのR因子は、大腸菌のみならず赤痢菌、ブドウ球菌などの臨床における耐性菌発現の主役であるので、その重要性はことさら大きい。しかし同様に多剤耐性菌の出現が頻繁な結核菌において、R因子はこれまでみつかつておらず、また、新しい遺伝学的手法も結核菌には適用しがたいので、この面での研究は他の菌種に比べて大きく遅れている。ただ、ごく最近になつて、SM耐性の*M. smegmatis*にプラスミド様の小閉鎖環状DNAが存在することが、福士⁸⁵⁾によつて報告され、一方、水口⁸⁶⁾も各種抗酸菌において様々な分子量のプラスミドが存在しうることを遺伝学的に証明し、薬剤耐性との関連もみている。したがつて今後は結核菌の薬剤耐性も新しい立場で説明されうる可能性がでてきた。

山田ら⁸⁷⁾は*M. smegmatis*におけるVM耐性機構を大腸菌での研究経験から発展せしめて、リボソームの変異として捉え、更に他の塩基性ペプチド抗生物質であるツベラクチノマイシン(TUM)、カプレオマイシン(GPM)や、アミノ配糖体のKM, SMとの交叉耐性についても、リボソームにおける分子生物学として広範な研究をすすめてきた。その詳細にはふれないが、この研究は徳永ら⁸⁸⁾の*M. smegmatis*における接合現象を利用した遺伝子座位の研究と連関して、抗酸菌の薬剤耐性研究の先端的な仕事となつている。以上のような分子レベルの仕事は、既知の抗生物質の構造を修飾して、その耐性菌に有効な新しい抗結核剤を開発していく基礎になりうるものであり、今後の発展が期待される。

なお上述の交叉耐性に関して結核菌を用いて行なつた研究として、東村ら⁸⁹⁾、斎藤・福原⁹⁰⁾そして稲掛ら⁹¹⁾の報告のあることをつけ加えたい。

生化学的側面からみた薬剤の作用機序と耐性機構については、本総説シリーズのひとつ「結核菌の基礎的研究」において戸井田によつて論ぜられているので割愛する。ただこの項を終えるにあつて、各種抗結核剤の作用機序を超微細構造と生化学的活性の両面から、結核菌までを含めて検討した今野一門の業績⁹²⁾を高く評価したい。

非定型抗酸菌に対する実験的薬療法

古来、抗酸雑菌として病因的にはあまり関心をよばなかつた菌種のあるものが、1950年代に入り、米国におい

てその起病性を示す臨床例が報告され始めると、以後世界各国において、非定型抗酸菌症の名のもとに知見が拡大し、それに応じて抗酸菌の分類学もまた大いに発展した。それには今野のナイアシンテスト⁹³⁾をはじめ数多くの生化学的分類法の開発が貢献し、Runyon たちを中心に抗酸菌分類の体系ができあがった⁹⁴⁾。

非定型抗酸菌症の当初からの問題点は、既存の抗結核剤が必ずしも効果を発揮せず、*in vitro* の薬剤感受性試験においても、大部分の菌種は感受性の弱い事実であった。それに加え、結核菌における H₃₇Rv 株のような標準株というものは、それぞれの抗酸菌種にはなく、株間の差がしばしば問題となる。さらには、各菌種の発育速度、発育至適温度などにも違いがあるので、感受性試験の結果の普遍的評価についても困難がある。

一方、*in vivo* の試験に関しては、まず適当な動物モデルが必要であるが、その標準法はいまだ確率されておらず、現在いまだその努力が続いている。

この困難にはやくも遭遇した Steenken, Wolinsky のグループ⁹⁵⁾⁹⁶⁾⁹⁷⁾は、患者由来の photochromogen (原著の表現に従う)の数株で、マウスを静注感染して腎に進行性の病変をつくることに成功し、この系を用いて抗結核剤の効果を検討した。この方法はその後 Shronts ら (1971)⁹⁸⁾によつても用いられている。また、Tacquet と Tison⁹⁹⁾ はあらかじめ炭末やシリカ末に曝露したマウスやモルモットを *M. kansasii* で感染して治療実験を行なった。しかし、*M. kansasii* に代表される photochromogen は、病原性や薬剤感受性において結核菌に近い非定型抗酸菌であり¹⁰⁰⁾、一方、日本で最も臨床的意義の高い *M. avium-intracellulare* complex 感染の動物モデルはその設定が一層困難である¹⁰¹⁾。

上記 Shronts ら⁹⁸⁾もマウスでの感染実験において、*M. avium-intracellulare* complex は、腎においても肺においても菌は persist するのみで、RFP に対してすら感受性を示さないことを報告した。わが国においては同じく化学療法剤開発を目的とした動物モデルの確立が志向され、気道感染を含めて久世ら¹⁰²⁾、李ら¹⁰³⁾の京大グループによつて精力的に検討が続けられた。また、後藤ら¹⁰⁴⁾¹⁰⁵⁾は感染菌の毒力を維持し、感受性の高い系統のマウスを用いることによつて、進行性の感染を作ることができた。この系における抗結核剤の効果については今後の研究が期待される。

上述のような状況であるから、非定型抗酸菌症の化学療法はすでに前臨床試験の段階において評価が困難であったが、1970年に至る各国の研究報告は集約されて Burjonová と Urbanick¹⁰⁶⁾の総説で概観できる。この総説ならびにそれ以後の文献を総覧したところ、新しい抗結核剤が登場すると、それを非定型抗酸菌について検討し、また結核治療のレジメンについて知見の進展がある

と、それを非定型抗酸菌症に適用するといった結核のあと追いの形で研究がなされてきたことがわかる。また、当然のことではあるが抗レプラ剤の検討もそれに追加されている。方法論はしばらくおくとしても、*M. kansasii* を例外として、一般に非定型抗酸菌が抗結核剤に感受性が低く、したがって動物での治療効果も結核感染におけるような顕著な効果がみられなかつたことはまぎれもない事実である。このことは臨床観察とも矛盾せず、非定型抗酸菌症をひろく日和見感染症の一部として考えるならば、むしろ一般感染症の範疇内のことかもしれない。そして *M. avium-intracellulare* complex が土壌由来の可能性が高いとすれば、すでにその土壤中において antibiosis という生態現象を経ているだけに、抗生物質の作用をうけないことは説明がつくわけである。

In vitro の抗菌試験の成績についてみれば、薬剤感受性の程度は Runyon Group I, II, III, そしてIVの順に低くなるといえる。ただ、各研究者の成績間には実験条件の違いもあつて一致しない点も多く、また一次抗結核剤が二次抗結核剤より必ずしも抗菌効果がよいというわけでもない。ある程度評価された二次抗結核剤の中にはエチオナミド、サイクロセリン、エタンプトール、チオレア誘導体、チオアセタゾン等があり、一般抗生物質としてエリスロマイシン、テトラサイクリン、アミセチン等、その他ではフェナジン誘導体 B663、トリアジン、サルファダイアジンなどの検討報告がある¹⁰⁶⁾。

動物実験についても、*M. kansasii* 感染動物に対して、一次抗結核剤、二次抗結核剤が単独あるいは併用投与によつて効果をあげることが示した報告は少なくない。一方、*M. avium-intracellulare* 感染動物に対しては、抗結核剤が治療効果を観察しえた報告は少なく、Karlson¹⁰⁷⁾が抗レプラ剤の DDS で効果をあげた成績は注目に値する。また、のちに RFP が登場して結核症に対するすぐれた効果が認められると、*M. avium-intracellulare* complex 治療に対する新たな期待が高まつたが、Shronts⁹⁸⁾の実験系においては単独での効果は認められず、RFP と INH の併用で多少の効果をみたにすぎなかつた。しかし、実際臨床においては、中村¹⁰⁸⁾は抗結核剤投与後の患者の血清総合抗菌力を測定し、KM を含む併用、ことに KM・EB・INH, KM・EB・TH の効果を期待した。田村ら¹⁰⁹⁾も *M. intracellulare* 症患者に対する KM+TH+EB の併用療法方式の価値を認めている。また東村ら¹¹⁰⁾¹¹¹⁾は、同じく *M. intracellulare* 症患者にミノサイクリンをエンビオマイシン(EVM)-RFP、または EVM-RFP-EB と併用投与し、菌の陰性化を認めており、KM や EB として抗生物質等の併用がこの菌群の治療に効果をあげることが期待される。

その他、各種非定型抗酸菌に対する治療薬の研究として数多くの報告があるが、わが国では合田・阪本¹¹²⁾¹¹³⁾、

豊原¹¹⁴⁾、115)、外間¹¹⁶⁾、新井ら¹¹⁷⁾の仕事、また最近では久世ら、李ら¹¹⁸⁾、123)の一連の研究のあることを付記するにとどめる。なお、1979年の Wolinsky¹²⁴⁾の総説には、IWGMT によって人に病原性をもつと分類された抗酸菌の個々について特徴が示されており、それぞれの薬剤感受性についてもわかりやすく概観されている¹²⁴⁾。

まとめ(免疫と化学療法)

実験結核症の化学療法は、本来は、新しい治療薬を探索し、開発する研究の最終段階としての前臨床試験であった。実験結核症と臨床結核とはその病態像において大差があるにしても、本総説(その1)で述べたように、今日私達が手にしている数多くの抗結核剤が、この動物実験によってまず評価されたという意味で、ここに実験科学の勝利があつたといえる。

また、すでに臨床使用に入った薬剤のレジメン検討においてすら、動物実験での観察が臨床上の問題に貢献する例をも、本稿の中で指摘した。

さて、話題を転ずるが、急性の細菌性伝染病が化学療法剤の進歩によって制圧された結果として、日和見感染症、院内感染症が招来された。集発レベルの公衆衛生的問題としての伝染病が解決されたあとに、個体レベルの条件のみで成立する感染症への対応が残されたともいえる。

結核症においても事情は同じである。化学療法は菌の根絶ではなく、閉鎖病巣内に多少なりとも菌を閉じ込め、潜在感染の形で患者に治癒をもたらした。潜在感染の再発は、常在菌による日和見感染と共通の側面をもつし、非定型抗酸菌症のあるものは、平素無害菌による感染成立といえるだろう。島村¹²⁵⁾は指摘する、「莫大な感染数に比べて発病数がむしろ少なすぎた往時から、結核症はもともと opportunistic な感染症ではなかつたのか」と。以上は結核化学療法の前夜においてすでに免疫の関与の極めて大きいことを示すものである。

結核化学療法はとりわけ host-parasite-drug relationship の視野で捉えるべきであるが、臨床効果に及ぼすこれら3者の相対的比重は、治療の開始からその完了に至る期間、絶えず変動しているはずである。治療完了時は、宿主要因に主役を任せうるに至った時点ともいえよう。宿主要因とは病理解剖学的要因と、免疫学的要因とに大別できる。

砂原¹²⁶⁾は、かつて述べた。「結局わかりきった話であるが、化学療法の効きやすい病巣、患者と、そうでないものがある。」効きにくい病巣にはそれ故に菌が生残り、治療後においてもそれだけ再発の可能性は高いと考えられる。このことは病理解剖・組織学的要因が、薬剤投与開始当初から大きな宿主要因であることを意味しているが⁴⁷⁾、一方、免疫学的要因は投与中止後において、治療の遠隔成績の主要な影響因子である。以上のような問題

を実験結核症で検討することは技術的に困難な面が多く、文献も乏しいが、私達¹²⁷⁾は多少の努力を試み、真菌由来の多糖体(グルカン)の投与によつて、マウスモデルにおける治療後の再発を抑制しうることを示した。同様な免疫増強剤と化学療法剤の併用は、小松ら¹²⁸⁾、松宮ら¹²⁹⁾によつてもなされ、いずれもある程度の成功をおさめている。臨床への応用は、まだ検討すべき多くの問題をかかえてはいるが、これらの研究も、結核化学療法における免疫の介在の重要性を示唆することは確かである。

また、結核免疫の前提となつている細胞内感染の面で化学療法を考えると、菌の食胞内所在、ライソゾームの融合現象、菌と細胞食胞膜との相互作用などを考えざるをえない¹³⁰⁾、¹³¹⁾。こうした局面と薬剤効果との関係も研究テーマとしては興味をひくものである。食胞内の酸性環境、水解酵素の関与、宿主細胞膜の脂質組成など、微妙な形で薬剤効果に影響を与えるに違なく、また、*in vitro* の発育菌と *in vivo* の発育菌とでは、代謝と菌体構造に多少とも差異はある¹³²⁾。これらも薬剤効果に作用する要因であろう。PZA の再評価とも一部連関しているが、細胞内、食胞内への薬剤の選択的分布を考慮するアプローチもこれからの化学療法の目標でありえよう。

文 献

- 1) 金井興美: 結核化学療法基礎研究100年の展望(その1) 結核化学療法剤開発のあゆみ, 結核, 57: 643, 1982.
- 2) 戸井田一郎: 結核菌の基礎研究, 結核, 57: 409, 1982.
- 3) Tucker, W. B.: The evolution of the comparative studies on the chemotherapy of tuberculosis of the Veterans Administration and Armed Forces of the U.S.A.—An account of the evolving education of the physician in clinical pharmacology, Adv Tuberc Res, 10: 1, 1960.
- 4) Rist, N.: Pathologic et therapeutique experimentales de la tuberculose, Adv Tuberc Res, 1—2: 55, 1948.
- 5) von Wagner, W. H.: Methoden der Prüfung chemotherapeutischer und antibiotischer Substanzen bei der experimentellen Tuberkulose der Maus, Adv Tuberc Res, 9: 104, 1958.
- 6) 岩崎龍郎・小川辰次: 結核化学治療薬の screening test としての廿日鼠実験的結核症に就て, 結核, 24: 173, 1948.
- 7) 柳沢 謙・金井興美・佐藤直行: 実験結核症の化学療法, 結核の化学療法(北本 治・藤田真之助編), 医学書院, 東京・大阪, p. 85, 1959.
- 8) Fenner, F., Martin, S. P. and Pierce, C. H.: Enumeration of viable tubercle bacilli in cultures of infected tissues, Ann NY Acad Sci, 52: 751, 1949.
- 9) Pierce, G., Dubos, R. J. and Schaefer, W. B.: Multiplication and survival of tubercle bacilli in the organs of mice, J Exptl Med, 97: 189, 1953.
- 10) Grumbach, F.: Etudes chimiothérapiques sur la tuberculose avancée de la souris, Adv Tuberc

- Res, 14: 31, 1965.
- 11) Mitchison, D. A.: Bacteriological mechanisms in recent controlled chemotherapy, Bull Intern Uni against Tuberc, 43: 322, 1970.
 - 12) Canetti, G.: Experiments on long-term intermittent chemotherapy in advanced tuberculosis in mice, Tubercle Lond, 49: 70, 1968.
 - 13) 近藤瑩子・金井興美: 実験的観察よりみた短期化学療法, 治療学, 2: 721, 1979.
 - 14) Grumbach, F. et al.: Late results of long-term, intermittent chemotherapy of advanced, murine tuberculosis: Limits of the murine model, Tubercle Lond, 48: 11, 1967.
 - 15) Canetti, G. et al.: Some comparative aspects of rifampicin and isoniazid, Tubercle Lond, 49: 367, 1968.
 - 16) Batten, J.: Rifampicin in treatment of experimental tuberculosis in mice, Tubercle Lond, 50: 294, 1969.
 - 17) Grumbach, F.: Experimental "in vivo" studies of new antituberculosis drugs: capreomycin, ethambutol and rifampicin, Tubercle Lond, 50: 12, 1969.
 - 18) Dickinson, J.M. and Mitchison, D. A.: Bactericidal activity *in vitro* and in the guinea pig of isoniazid, rifampicin and ethambutol, Tubercle, 57: 251, 1976.
 - 19) Dickinson, J. M., Aber, V. R. and Mitchison, D. A.: Bactericidal activity of streptomycin, isoniazid, rifampicin, ethambutol, and pyrazinamide alone and in combination against *Mycobacterium tuberculosis*, Amer Rev Resp Dis, 116: 627, 1977.
 - 20) Fox, W. and Mitchison, D. A.: State of the art, Short-course chemotherapy for pulmonary tuberculosis, Amer Rev Resp Dis, 111: 325, 1975.
 - 21) 北本 治・藤田真之助編: 結核の化学療法, 医学書院, 東京, 1959.
 - 22) 山本和男他: Rifampicin の抗結核作用について, 診療, 23: 1292, 1970.
 - 23) Konno, K. et al.: Experimental and clinical studies of rifampicin in tuberculosis, Sci Rep Res Inst Tohoku Univ, 17: 110, 1970.
 - 24) 豊原希一: モルモット実験結核症に対するRFPの抗結核作用, 結核, 45: 375, 1970.
 - 25) 豊原希一・岩崎龍郎: マウス実験結核症に対するRFPの抗結核作用に関する研究, 結核, 46: 19, 1971.
 - 26) Hakoma, S.: An experimental attempt of intensified chemotherapy with rifampicin combined with other drugs, J J Tubercul Chest Dis, 17: 57, 1971.
 - 27) 近藤瑩子・金井興美: 抗結核剤投与効果に関する実験的研究, I. 単独あるいは併用による間欠投与, 結核, 52: 339, 1977.
 - 28) 近藤瑩子・金井興美: 抗結核剤投与効果に関する実験的研究II, 薬剤交替と併用間欠投与による長期治療実験, 結核, 52: 373, 1977.
 - 29) 秋本 健他: RFP のラットにおける吸収, 分布, 代謝, および排泄について, Jap J Antibiotics, 23: 250, 1970.
 - 30) 北本 治他: RFP に関する2, 3の補足的検討, Jap J Antibiotics, 23: 273, 1970.
 - 31) 豊原希一: RFP の抗結核作用に関する基礎的研究, 結核, 46: 211, 1971.
 - 32) Yokosawa, A. et al.: Experimental and clinical studies on the metabolic fate of rifampicin in animals and in humans, Sci Rep Res Inst Tohoku Univ, 19: 177, 1972.
 - 33) 荒谷春恵他: Rifampicin に関する薬理学的研究, I. 一般薬理作用, Jap J Antibiotics, 23: 242, 1970.
 - 34) Grumbach, F. and Grosse, J.: Le pyrazinamide dans le traitement de courte durée de la tuberculose murine, Rev Fr Mal Resp, 3: 5, 1975.
 - 35) Grumbach, F.: Traitement de la tuberculose de la souris par l'association isoniazide-rifampicine, Rev Fr Mal Resp, 3: 1027, 1975.
 - 36) 豊原希一: マウス実験結核症を用いての短期化学療法のモデル実験, 結核, 54: 369, 1979.
 - 37) 小田敏郎: 肺結核の短期化学療法, 第2報 実験結核症による短期療法モデル実験の成績, 結核, 56: 17, 1981.
 - 38) 馬淵尚克: マウス実験症を用いた強化化学療法の研究, 結核, 57: 73, 1982.
 - 39) 近藤瑩子: 短期強化化学療法に関する実験的検討, 結核, 53: 590, 1978.
 - 40) Jenne, J. W. and Beggs, W. H.: Correlation of *in vitro* and *in vivo* kinetics with clinical use of isoniazid, ethambutol, and rifampicin, Amer Rev Resp Dis, 107: 1013, 1973.
 - 41) 内藤益一: 結核化学療法と作用環境, 結核の化学療法, 北本 治・藤田真之助編, 医学書院, 東京, p. 37, 1959.
 - 42) Steenken, W., Jr. and Wolinsky, E.: Formation of bullae or cystlike cavities during chemotherapy in rabbits with pulmonary tuberculosis, Amer Rev Tuberc Pul Dis, 75: 965, 1957.
 - 43) Rist, N.: Pathologie et thérapeutique expérimentales de la tuberculose, Adv Tuberc Res, 1-2: 55, 1948.
 - 44) Canetti, G.: The tubercle bacillus in the pulmonary lesions of men, Springer publishing Co., New York, NY, 1954.
 - 45) Canetti, G.: Pathogenesis of tuberculosis in man, Annals of the New York Academy Sciences, 154: 13, 1968.
 - 46) Von Nassan, P. and Pagel, W.: Heilungsvorgänge bei der Lungentuberkulose gestern und heute, Adv Tuberc Res, VII: 212, 1956.
 - 47) 岩崎龍郎: 肺結核症の化学療法に関する臨床的ならびに病理形態学的研究, 結核, 30(増刊号): 1, 1955.
 - 48) 岩井和郎他: 化学療法下の結核性空洞についての病理・細菌・臨床学的研究(その2), 結核, 39: 481, 1964.
 - 49) 亀田和彦: 肺結核病巣培養の成績からみた化学療法の問題点, 結核, 42: 197, 1967.
 - 50) Umezawa, H. et al.: Production and isolation of a new antibiotic, kanamycin, J Antibiotics, Ser A, 10: 181, 1957.

- 51) Iwasaki, T.: Experimental pathologic study on the effects of kanamycin on tuberculosis, *Ann Resp Jap Soc Tuberc*, 5: 27, 1960.
- 52) 堂野前維摩郷・山本和男: 空洞の化学療法. 結核の化学療法, 北本 治・藤田真之助編, 医学書院, 東京・大阪, p. 214, 1959.
- 53) 藤田真之助: 乾酪巣の化学療法. 結核の化学療法, 北本 治・藤田真之助編, 医学書院, 東京・大阪, p. 245, 1959.
- 54) 岩井和郎: 切除肺の病理学, 細菌学, 結核研究五十年, 砂原茂一編, 日本結核病学会, 東京, p. 143, 1975.
- 55) 田中一成・岩井和郎: RFP 使用下の結核性空洞の組織所見—一次剤使用例との対比, 結核, 56: 355, 1981.
- 56) McDermott, W.: Microbial persistence, *Yale J Biol Med*, 30: 257, 1958.
- 57) McDermott, W.: The J Burns Amberson Lecture, The Chemotherapy of Tuberculosis, *Amer Rev Resp Dis*, 86: 323, 1962.
- 58) McCune, R. M., Jr. et al.: Microbial persistence, I. The capacity of tubercle bacilli to survive sterilization in mouse, *J Exptl Med*, 123: 445, 1966.
- 59) McCune, R. M., Jr. et al.: Fate of *Mycobacterium tuberculosis* in mouse tissues as determined by microbial enumeration technique, I. The persistence of drug-susceptible tubercle bacilli in the tissues despite prolonged antimicrobial therapy, *J Exptl Med*, 104: 737, 1956.
- 60) Chabbert, Y. A. et al.: Role of deficient mutants in microbial persistence, Bayer-Symposium III: 189, 1971.
- 61) 金井興美: 結核感染における persisters (持続生残菌) と化学療法, 結核, 53: 557, 1978.
- 62) 近藤瑩子・金井興美: 感染菌の増殖度と結核化学療法効果, I. ストレプトマイシン依存株を用いたマウス実験モデル, 結核, 52: 411, 1977.
- 63) 金井興美・近藤瑩子: 分裂休止結核菌に対する RFP の試験管内殺菌効果, 結核, 54: 89, 1979.
- 64) 山鳥英世: ガス曝露下における結核化学療法剤の効果に関する実験的研究, 第2編 殺菌効果について, 結核, 56: 465, 1981.
- 65) 前川暢夫他: 結核菌の発育に不適当な条件と化学療法IV, INH と PAS の併用効果, 結核, 47: 1, 1972.
- 66) 前川暢夫他: 結核菌の発育に不適当な条件と化学療法V, 培養温度と化学療法剤の効果(2), 結核, 48: 913, 1973.
- 67) Demerec, M.: Production of staphylococcus strains resistant to various concentrations of penicillin, *Proc Nat Acad Sci*, 31: 16, 1945.
- 68) Vennesland, K. et al.: The demonstration of naturally occurring streptomycin resistant variant in the human strain of tubercle bacillus H₃₇Rv, *Science*, 106: 476, 1947.
- 69) Hsie, J. Y. and Bryson, V.: Genetic studies on the development of resistance to neomycin and dihydrostreptomycin in *Mycobacterium ranae*, *Amer Rev Tuberc*, 62: 286, 1950.
- 70) Demerec, M.: Origin of bacterial resistance to antibiotics, *J Bacteriol*, 56: 63, 1948.
- 71) Yegian, D. and Vanderlinle, R. J.: The resistance of tubercle bacilli to chemotherapeutic agents, *Amer Rev Tuberc*, 61: 483, 1950.
- 72) Mitchison, D. A.: The behaviour of mixtures of streptomycin-sensitive and -resistant tubercle bacilli in liquid medium sensitivity test, *Thorax*, 5: 162, 1950.
- 73) Yanagisawa, K. et al.: Studies of the streptomycin-resistance developed in tubercle bacilli (BCG), *Japan Med J*, 4: 99, 1951.
- 74) Kanai, K. et al.: Origin of streptomycin-resistant variants of tubercle bacilli, *Japan J Med Sci Biol*, 8: 425, 1955.
- 75) Ushiba, D. et al.: Spontaneity of the gradual increase of streptomycin resistance in mycobacterium 607, *Amer Rev Tuberc*, 75: 841, 1957.
- 76) 牛場大蔵: 結核菌薬剤耐性の出現機序. 結核の化学療法, 北本 治・藤田真之助編, 医学書院, 東京・大阪, p. 367, 1959.
- 77) 渡辺 力: 化学療法と耐性菌, 朝倉書店, 東京, p. 179, 1969.
- 78) 東村道雄: 総説(展望), 結核菌の交叉耐性(第1編), 結核, 52: 17, 1977.
- 79) 東村道雄: 総説(展望), 結核菌の交叉耐性(第2編), 結核, 52: 47, 1977.
- 80) 東村道雄: 総説(展望), 結核菌の交叉耐性(第3編), 結核, 52: 171, 1977.
- 81) Grumbach, F.: Etudes chimiothérapiques sur la tuberculose avancée de la souris, *Adv Tuberc Res*, 14: 31, 1965.
- 82) 木村 仁: 薬剤耐性上昇に関する *in vivo* の実験的研究, 第1報 マウス実験的結核症におけるヒドラジッドならびにストレプトマイシン耐性上昇について, 結核, 40: 49, 1965.
- 83) 木村 仁: 薬剤耐性上昇に関する *in vivo* の実験的研究, 第2報 マウス実験的結核症におけるカナマイシンならびにエチオナミド耐性上昇について, 結核, 40: 95, 1965.
- 84) 山之内孝尚他: 動物の実験的結核症における薬剤耐性菌の出現に関する研究, 結核, 48: 277, 1973.
- 85) 福土主計: 抗酸菌の微細構造—核と細胞壁を中心に—, 結核, 54: 133, 1979.
- 86) 水口康雄: 抗酸菌の遺伝とその周辺, 結核, 57: 141, 1982.
- 87) 山田 毅・増田国次: 抗酸菌における薬剤耐性, 結核, 51: 399, 1976.
- 88) 徳永 徹・水口康雄: 遺伝, 結核研究五十年, 砂原茂一編, 日本結核病学会, 東京, p. 52, 1975.
- 89) 東村道雄他: 人型結核菌の Capreomycin 耐性, Kanamycin 耐性, Viomycin 耐性および Streptomycin 耐性間の関係, 結核, 42: 399, 1967.
- 90) 斉藤健利・福原徳光: 人型結核菌の KM, VM, CPM, LVM, TUM に対する交叉耐性に関する研究, 第2報 試験管内分離各薬剤耐性株の他の薬剤に対する感受性, 結核, 49: 91, 1974.
- 91) 稲掛英雄他: 結核菌におけるアミノグルコシドおよびポリペプチド系薬剤相互間の交叉耐性につ

- いて, 結核, 55: 281, 1980.
- 92) 今野 淳: 結核化学療法的作用機序, 結核, 52: 661, 1977.
- 93) Konno, K.: New chemical method of differentiate human tubercle bacilli from other mycobacteria, Science, 124: 985, 1956.
- 94) Runyon, E. H., Wayne, L. G. and Kubica, G. P.: In "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 8th edition, edited by Buchanan et al., p. 686, The Williams and Wilkins, Baltimore, 1974.
- 95) Wolinsky, E. et al.: Drug susceptibilities of 20 "atypical" as compared with 19 selected strains of mycobacteria, Amer Rev Resp Dis, 76: 497, 1957.
- 96) Steenken, W., Jr. et al.: *In vitro* and *in vivo* effect of antimicrobial agents on atypical mycobacteria, Amer Rev Resp Dis, 78: 454, 1958.
- 97) Wolinsky, E.: Chemotherapy and pathology of experimental photochromogenic mycobacterial infections, Amer Rev Resp Dis, 80: 522, 1959.
- 98) Shronts, J. S. et al.: Rifampin alone and combined with other drugs in *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium intracellulare* infections of mice, Amer Rev Resp Dis, 104: 728, 1971.
- 99) Tacquet, A. and Tison, F.: *In vitro* and *in vivo* activity of ethambutol used alone or in combination against atypical mycobacteria, Rev Tuberc Paris, 27: 431, 1963; Abstract: Amer Rev Resp Dis, 90: 339, 1964.
- 100) Karlson, A. G.: The *in vitro* activity of ethambutol (dextro-2, 2'-[ethylenediamino]-di-1-butanol) against tubercle bacilli and other microorganisms, Amer Rev Resp Dis, 84: 905, 1961.
- 101) Moehling, J. M. et al.: Relationship of colonial morphology to virulence for chickens of *Mycobacterium avium* and the nonphotochromogens, Amer Rev Resp Dis, 92: 704, 1965.
- 102) 久世文幸他: 実験的非定型抗酸菌症に関する研究, 1. 非定型抗酸菌症のマウスに対する病原性について, 結核, 53: 39, 1978.
- 103) 李 英徹他: 実験的非定型抗酸菌症に関する研究, 3. マウスを対象とした *Mycobacterium intracellulare* 吸入感染の試み, 結核, 56: 513, 1981.
- 104) 後藤義孝他: *M. intracellulare* 感染症の実験的研究, (1) Tween 添加培地による発育促進と CF₁ マウスに対する病原性について, 結核, 57: 519, 1982.
- 105) 後藤義孝他: *M. intracellulare* 感染症の実験的研究, (2) マウス系統間にみられる感受性差, 結核, 57: 573, 1982.
- 106) Burjonová, B. and Urbanick, R.: Experimental chemotherapy of mycobacteriosis provoked by atypical mycobacteria, Adv Tuberc Res, 17: 154, 1970.
- 107) Karlson, A. G.: Diaminodiphenyl sulfone: Preliminary observation on its effect *in vitro* and in mice infected with various species of *Mycobacterium*, Trans 18th Conf Chemoth Tuberc VA-AF, p. 247, 1959.
- 108) 中村善紀: 非定型抗酸菌症の化学療法のための血清総合抗菌力, 結核, 39: 494, 1964.
- 109) 田村昌敏他: *Mycobacteria intracellulare* 症に対する化学療法, 結核, 54: 75, 1979.
- 110) Tsukamura, M.: *In vitro* antimycobacterial action of minocycline, Tubercle, 61: 37, 1980.
- 111) 東村道雄他: *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* による肺感染症に対する Minocycline を含む化学療法の臨床効果, 結核, 56: 57, 1981.
- 112) 合田 忠・阪本龍夫: Ethambutol の非定型抗酸菌に対する抗菌作用について, 結核, 40: 154, 1965.
- 113) 阪本龍夫・合田 忠: 実験的非定型抗酸菌症に対する ethambutol の効果について, 結核, 41: 233, 1966.
- 114) 豊原希一: Enviomycin (Tuberactinomycin) の非定型抗酸菌に対する抗菌力, その1 試験管内抗菌力, 結核, 53: 255, 1978.
- 115) 豊原希一: Enviomycin (Tuberactinomycin) の非定型抗酸菌に対する抗菌力, その2 動物実験, 結核, 54: 461, 1979.
- 116) 外間政哲: 非定型抗酸菌に対するサルファ剤の抗菌作用, 結核, 51: 287, 1976.
- 117) 新井俊彦他: 臨床分離非定型抗酸菌株の主要抗生物質感受性, 結核, 57: 239, 1982.
- 118) 久世文幸他: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性, I. 抗結核剤に対する感受性, 結核, 49: 151, 1974.
- 119) 久世文幸他: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性, II. 一般抗生物質, 抗腫瘍剤, 抗レプラ剤 (B663) 等に対する感受性, 結核, 49: 189, 1974.
- 120) 久世文幸他: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性, III. *Mycobacterium intracellulare* に対する抗結核剤の併用効果について, 結核, 52: 331, 1977.
- 121) 久世文幸他: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性, IV. 抗結核剤の試験管内併用効果について (米国株についての検討), 結核, 52: 505, 1982.
- 122) 李 英徹他: 実験的非定型抗酸菌症に関する研究, 4. *Mycobacterium kansasii* 感染マウスに対する抗結核薬の単剤治療効果, 結核, 57: 343, 1982.
- 123) 李 英徹他: 実験的非定型抗酸菌症に関する研究, 5. *Mycobacterium kansasii* 感染マウスに対する抗結核薬の併用治療効果, 結核, 57: 369, 1982.
- 124) Wolinsky, E.: Nontuberculous Mycobacteria and associated diseases, Am Resp Dis, 119: 107, 1979.
- 125) 島村喜久治: 結核研究の今昔—臨床面—, 結核, 55: 383, 1980.
- 126) 砂原茂一: 化学療法の終るところ, 外科療法の始まるころ, 結核の化学療法 (北本 治・藤田真之助編), 医学書院, 東京・大阪, p. 457, 1959.
- 127) Kanai, K., Kondo, E. et al.: Immunopotentiating effect of fungal glucans as revealed by frequency limitation of post-chemotherapy relapse in experimental mouse tuberculosis, Japan J Med Sci Biol, 33: 283, 1980.
- 128) 小松信彦他: 結核感染マウスの病理組織学的変化に及ぼす Schizophyllan, Streptomycin および Rifampicin の影響, Japan J Antibiotics, 28: 549, 1975.
- 129) 松宮恒夫・斉藤健利: シゾフィランのマウス実験的結核症に対する抗結核効果, 結核, 52: 269,

- 1977.
- 130) Kanai, K. and Kondo, E.: Review: Subcellular and intercellular aspects of tuberculous infection in reference to protection and sensitization, *Japan J Med Sci Biol*, 25: 133, 1972.
- 131) Kanai, K. and Kondo, E.: Review: Antibacterial and cytotoxic aspects of long-chain fatty acids as cell surface events: selected topics, *Japan J Med Sci Biol*, 32: 135, 1979.
- 132) Kanai, K. and Kondo, E.: Review: Chemistry and biology of mycobacteria grown in vivo, *Japan J Med Sci Biol*, 27: 135, 1974.