

今村賞受賞記念講演

肺 *Mycobacterium avium* complex (MAC) 感染症
成立機序に関する基礎的・臨床的研究

鈴木 克 洋

京都大学胸部疾患研究所感染・炎症学

Commemorative Lecture of Receiving Imamura Memorial Prize

BASIC AND CLINICAL STUDIES ON PATHOGENESIS OF
PULMONARY *MYCOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX DISEASE

Katsuhiro SUZUKI*

I have studied pathogenesis of pulmonary *Mycobacterium avium* complex disease (PMAC), using mouse and human alveolar macrophage (PAM) model of the infection as well as clinical evaluations.

The mouse model revealed no relation between natural resistance against the bacteria and the activation of macrophages which was evaluated on the basis of releasing capacities of prostaglandin E2 and superoxide anion. The PAM model suggested that TNF- α and GM-CSF could activate PAM to restrict the intracellular growth of the bacteria, probably not through the superoxide anion release, but through the myeloperoxidase-halide system.

It was also found that rifamycins in combination with clarithromycin could have a good bactericidal effect in the PAM-model of the infection. Clinical evaluations suggested that defect in local pulmonary defense, such as healed pulmonary tuberculous lesions, pneumoconiosis, and COPD was more important predisposing factor than defect in systemic defense in the development of PMAC.

Most patients having PMAC without predisposing factors are elderly women, the reason of which is the most important question to be answered in the future studies.

Key words : Pulmonary *M. avium* complex disease, Natural resistance, Cytokine, Chemotherapy

キーワード : 肺 *M. avium* complex 症, 自然抵抗性, サイトカイン, 化学療法

はじめに

結核菌の感染防御は、マクロファージをエフェクター

細胞とする細胞性免疫で行われる。マクロファージ中で結核菌は当初宿主の殺菌機序に抵抗し増殖するが、やがてマクロファージから抗原提示を受けた結核菌特異的 T

別刷り請求先 :

鈴木 克洋

京都大学胸部疾患研究所感染・炎症学

〒606 京都市左京区

* From the Department of Infection and Inflammation, Chest Disease Research Institute, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

(Received 4 Aug. 1997)

リンパ球が増殖を開始し活発にリンホカインを分泌する。リンホカインにより活性化されたマクロファージは細胞内の結核菌を殺菌できるようになり、結核症の発病は大部分が阻止される。以上が結核菌感染防御における従来からのドグマである。それでは肺 *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症の感染防御機序も同じドグマで説明できるのだろうか？これが著者が抗酸菌とマクロファージとのかかわりに関する実験を開始した当初の疑問であった。その後、答えを求めて研究をしてきたが、実態はこの疑問の周辺をうろついていただけであった。以下これまでの研究の概要を述べるが、先の疑問に対する答えにはもとよりなっていない。最後に、今後の研究の方向性を示すことで、現在までの研究成果の乏しさの幾分かの穴埋めが出来ればと願っている。

マウス自然抵抗性とマクロファージ機能

従来 MAC の感染防御においては、何らかの機序で細胞性免疫の発動が抑制されマクロファージが十分活性化されないため、MAC を殺菌できず慢性持続性の感染を招くとの見方が有力であった。著者がマクロファージの抗酸菌殺菌機序に手を染め出した1987年当時、細胞性免疫の抑制機序として抑制性マクロファージの存在が特に主張されていた。Edwards らはマウスモデルを用い、MAC 感染 3-4 週目に細胞性免疫を阻害する抑制性マクロファージが出現し、旺盛にプロスタグランジン E₂ (PGE₂) を分泌することでリンパ球のリンホカイン分泌を減らし、最終的にエフェクター細胞でもあるマクロファージの活性酸素産生能を低下させることが慢性持続性 MAC 感染成立の原因であると *Journal of Immunology* に報告した¹⁾。一方、後藤らは、マウスに MAC 感染抵抗性の異なる 2 系統が存在し、第 1 染色体上にある BCG 遺伝子により抵抗性が規定されていると報告した²⁾。われわれはこの 2 つの論文を結びつけ、

感染抵抗性の異なる 2 系統のマウスに MAC を静注感染し、経時的に肺内・脾臓内生菌数を検索するとともに、腹腔・脾臓内マクロファージの活性酸素の一種であるスーパーオキシドアニオン (O₂⁻) の分泌能と PGE₂ 分泌能を検討した。肺内・脾臓内生菌数は従来の報告通り感受性マウスで経時的に増加し、一方抵抗性マウスでは増加を認めなかった (図 1)。ところが Edwards らの結果と異なり、感受性マウスのマクロファージは抵抗性マウスのマクロファージと比べて、PGE₂ 産生能が増加するだけではなく、それと比例して O₂⁻ 産生能も有意に増加していた (図 2)。これは生菌数の増加に伴い感受性マウスのマクロファージが、PGE₂ と O₂⁻ 産生能で見ると、十分に活性化を受けていることを示唆している。組織像の検討でも感受性マウスでむしろ肉芽腫反応が強く発現しており、一方抵抗性マウスでは肉芽腫はほとんど見られなかった。

以上の結果は、少なくとも感受性マウスにおいて、細胞性免疫の発動と活性化マクロファージの成立が必ずしも MAC の殺菌に結び付かないのではないかとの疑問を抱かせた。

ヒト肺胞マクロファージの MAC 増殖抑制作用に及ぼす各種サイトカインの影響

以後よりヒトの病態に近づくために、ヒト肺胞マクロファージ (PAM) を用いて実験を継続した。作業仮説は「各種サイトカインで活性化した PAM は MAC を殺菌出来るのか？」である。図 3 のように MAC は非活性化 PAM 内で細胞外と比べ約 6 倍の増殖を示した。そこで各種サイトカインを用い PAM を活性化したところ、IL-2・IFN- γ による活性化は MAC の増殖に有意な影響を与えなかったが、TNF- α ・GM-CSF による活性化では有意な生菌数の低下が認められ、増殖抑制作用の亢進が観察された³⁾ (図 4)。この増殖抑制作用は

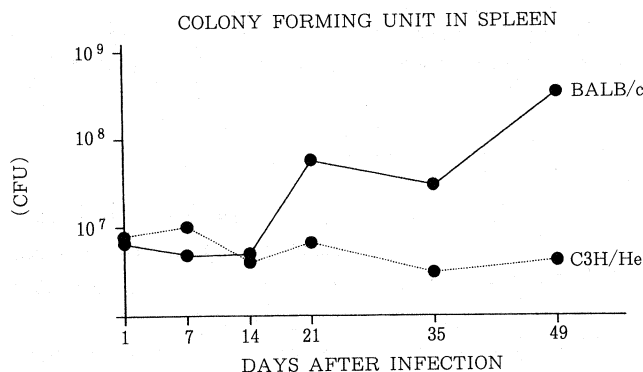


図 1 感受性マウス (BALB/c), 抵抗性マウス (C3H/He) の脾臓内生菌数の推移

PGE2 SECRETION FROM PERITONEAL MACROPHAGES STIMULATED WITH PMA

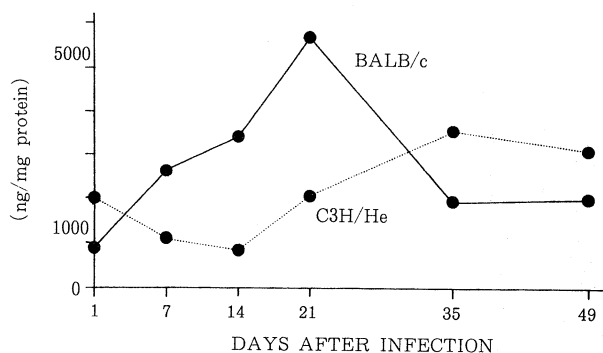
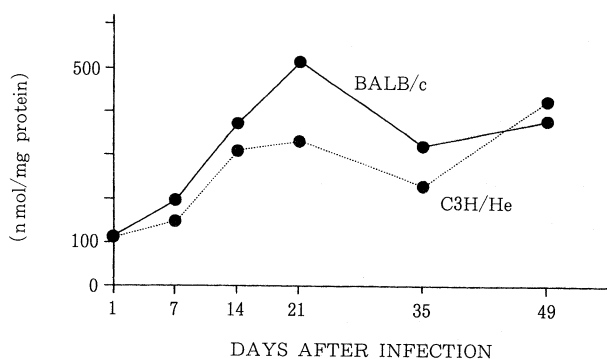
O₂⁻ SECRETION FROM PERITONEAL MACROPHAGES STIMULATED WITH PMA

図2 感受性マウス (BALB/c), 抵抗性マウス (C3H/He) 腹腔内マクロファージのプロスタグランジン E2 (上图), スーパーオキシドアニオン(下图) 分泌能の推移

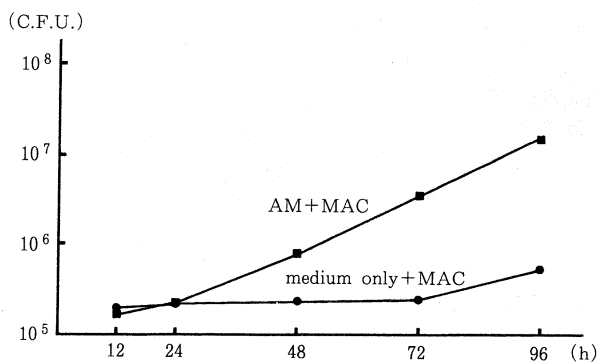
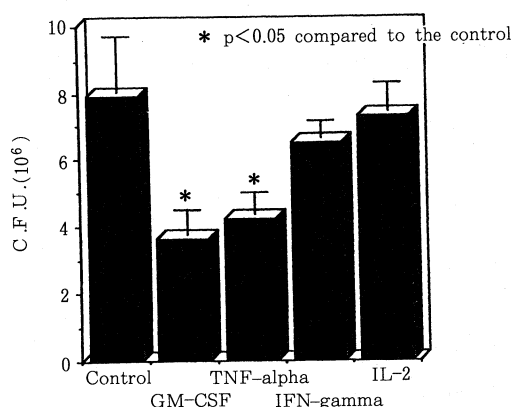


図3 ヒト肺胞マクロファージ内での *M. avium* complex の増殖
AM+MAC=ヒト肺胞マクロファージ中での菌の増殖
medium only+MAC=細胞のない培地のみの時の菌の増殖

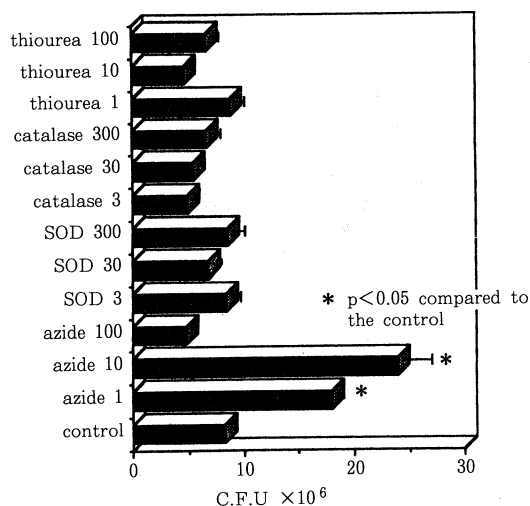
O₂-分泌能の増加とは関連せず, 各種 antioxidant による阻害実験では, superoxide dismutase, catalase, thiourea は細胞内生菌数に有意な影響を与えず, 少量の azide のみがあり有意に生菌数を増加させた (図5)。これ

は上記増殖抑制作用に myeloperoxidase (MPO)-halide 系が関与している可能性を示唆している⁴⁾。PAM を用いたこの実験系では, MAC は高々増殖抑制されただけで殺菌は認めなかった。一方, 報告されてい

Effect of cytokines on anti-MAC activity of PAM

図4 ヒト肺胞マクロファージ内での *M. avium* complex 増殖に及ぼす各種サイトカイン投与の影響

EFFECT OF ANTIOXIDANT OR AZIDE ON ANTI-MAC ACTIVITY OF PAM

図5 ヒト肺胞マクロファージ内での *M. avium* complex 増殖に及ぼす各種 antioxidant 添加の影響

る単球由来マクロファージの系では MAC は殺菌されており⁵⁾, 上記の実験結果と併せて考えると, MPO に乏しい PAM が MAC の格好の聖域となっている可能性が考えられた。

ヒト肺胞マクロファージ内の MAC に対する各種薬剤の効果

抗酸菌の治療は化学療法が主体であるが, 肺 MAC

表1 各薬剤の各菌株に対する MIC

	strain			
	31F093T	Mino	KMC3117	31F049T
KRM	0.059	0.32	0.94	3.1
RBT	0.63	2.5	2.5	5.0
CAM	0.63	20	5.0	10

値は3回の実験の平均値

KRM=KRM1648, RBT=rifabutin, CAM=clarithromycin

症に関しては臨床的に有益な薬剤感受性試験も有効な治療薬剤の組合せもないのが現状である。著者らは上述してきた実験的観察と非 AIDS 例の MAC 感染症が肺内に限局しているという臨床的事実より, PAM 内で増殖している MAC に対する薬剤効果の検討が臨床効果を最も反映する試験管内の方法であると考えた。そこで現在アメリカで多用されている rifamycin 系薬剤である Rifabutin (RBT) と本邦で開発され試験管内では最強の抗 MAC 作用を持つ rifamycin 系薬剤である KRM 1648 (KRM) のヒト肺胞マクロファージ内での効果を, 単独使用と現在最も有効と考えられている Clarithromycin (CAM) との併用で検討した⁶⁾。使用した4菌株に対する MIC を表1に示す。

次に各薬剤の PAM 内への24時間後の濃縮度を検討したところ, RBT と KRM は約70倍, CAM は約32倍細胞外と比べて濃い薬剤濃度となっていた。細胞内での薬剤の濃縮も考慮すると, 3薬剤ともに $2.0 \mu\text{g/ml}$ の量を投与すれば, 細胞内ではゆうにすべての菌株の MIC を越えており, 理論的には十分な殺菌効果を示すと考えられる。しかし実際は, 表2のごとく, $2.0 \mu\text{g/ml}$ の薬剤の投与で殺菌効果を示した薬剤と菌株の組み合わせは認められなかった。一方, 表3に示したように, CAM との併用を行うと $2.0 \mu\text{g/ml}$ の薬剤濃度で一部の菌株ではあるが殺菌効果が表れてくる。以上の結果は, 薬剤効果の面でも PAM が MAC の聖域となっている可能性と, MAC 症の治療における多剤併用療法の必要性を示していると思われる。

肺結核と肺 MAC 症の臨床像の比較

これまでの実験結果より, MAC の感染防御機序は結核症で考えられているドグマでは説明しきれないと思われた。そこで肺結核と肺 MAC 症の臨床像を再検討し, そこから両疾患の防御機序の違いの一端を垣間みることにした^{7) 8)}。

過去8年間の肺結核と肺 MAC 症での入院患者, 各々89症例と51症例を基礎疾患の有無により3群に分類する

表2 各種薬剤の肺胞マクロファージ内抗 MAC 効果

		Bacteria			
		31F093T	Mino	KMC3117	31F049T
<u>Drug</u>	<u>Dose($\mu\text{g/ml}$)</u>				
Early control ⁺		3600 $\pm$ 700	6000 $\pm$ 620	5900 $\pm$ 520	6600 $\pm$ 720
Late control ⁺⁺		2.8 $\times 10^6 \pm 2.7 \times 10^5$	4.0 $\times 10^5 \pm 3.1 \times 10^4$	1.8 $\times 10^4 \pm 2100$	7.4 $\times 10^4 \pm 1.4 \times 10^4$
KRM	0.2	3.4 $\times 10^4 \pm 5200$	1.6 $\times 10^4 \pm 4100$	6500 $\pm$ 560	3700 $\pm$ 1200
	2.0	4500 $\pm$ 5300	1100 $\pm$ 301	560 $\pm$ 65	1000 $\pm$ 135
	20	<u>250$\pm$65**</u>	<u>8.0$\pm$0.65</u>	<u>130$\pm$36</u>	<u>150$\pm$69</u>
RBT	0.2	7.0 $\times 10^4 \pm 6300$	3.1 $\times 10^5 \pm 2.4 \times 10^4$	5900 $\pm$ 1300	2100 $\pm$ 480
	2.0	7500 $\pm$ 1700	7000 $\pm$ 1200	3200 $\pm$ 340	550 $\pm$ 120
	20	900 $\pm$ 150	2000 $\pm$ 360	700 $\pm$ 76	<u>56$\pm$15</u>
CAM	0.2	6.7 $\times 10^4 \pm 5200$	2.3 $\times 10^4 \pm 4500$	9100 $\pm$ 1400	2.7 $\times 10^4 \pm 6700$
	2.0	5400 $\pm$ 1000	4700 $\pm$ 870	1600 $\pm$ 150	4500 $\pm$ 920
	20	1100 $\pm$ 80	<u>240$\pm$15</u>	590 $\pm$ 44	1000 $\pm$ 80

* 各々の値は平均 CFU $\pm$ 標準誤差 (n=4)。late control 以外のすべての値は対応する late control と比べて有意に少ない (p<0.05)。

+ Early control はマクロファージの感染成立直後の CFU を示す。

++ Late control は薬剤を含まない培地で 7 日間培養後のマクロファージ内 CFU を示す。

** 下線は bactericidal effect を示す。

KRM=KRM1648, RBT=rifabutin, CAM=clarithromycin

表3 薬剤組み合わせの肺胞マクロファージ内抗 MAC 効果

		Bacteria			
		31F093T	Mino	KMC3117	31F049T
<u>Drug</u>	<u>Dose($\mu\text{g/ml}$)</u>				
Early control ⁺		3600 $\pm$ 700	6000 $\pm$ 620	5900 $\pm$ 520	6600 $\pm$ 720
Late control ⁺⁺		2.8 $\times 10^6 \pm 2.7 \times 10^5$	4.0 $\times 10^5 \pm 3.1 \times 10^4$	1.8 $\times 10^4 \pm 2100$	7.4 $\times 10^4 \pm 1.4 \times 10^4$
KRM+CAM	0.2 [#]	<u>59$\pm$20**</u> (98.9%) [@]	850 $\pm$ 240 (81.9%)	3100 $\pm$ 610(-93.0%)	<u>130$\pm$37</u> (96.4%)
	2.0	<u>24$\pm$3.8</u> (99.5%)	<u>240$\pm$94</u> (78.2%)	540 $\pm$ 55 (4.00%)	<u>18$\pm$4.8</u> (98.2%)
	20	<u>2.0$\pm$0.8</u> (99.2%)	<u>4.0$\pm$1.2</u> (50.0%)	<u>170$\pm$14</u> (-37.0%)	<u>4.3$\pm$1.5</u> (97.1%)
RBT+CAM	0.2	<u>290$\pm$51</u> (94.6%)	1400 $\pm$ 350 (70.2%)	6500 $\pm$ 230(-306%)	<u>42$\pm$13</u> (98.0%)
	2.0	<u>77$\pm$26</u> (98.6%)	640 $\pm$ 300 (86.4%)	2100 $\pm$ 330(-31%)	<u>12$\pm$2.1</u> (97.8%)
	20	<u>14$\pm$7.4</u> (98.4%)	<u>210$\pm$50</u> (89.5%)	580 $\pm$ 85 (17.0%)	<u>7.0$\pm$1.3</u> (87.5%)

* 各々の値は平均 CFU $\pm$ 標準誤差 (n=4)。late control 以外のすべての値は対応する late control と比べて有意に少ない (p<0.05)。

+ Early control はマクロファージの感染成立直後の CFU を示す。

++ Late control は薬剤を含まない培地で 7 日間培養後のマクロファージ内 CFU を示す。

** 下線は bactericidal effect を示す。

[#] 2 $\mu\text{g/ml}$ の CAM と組み合わせる KRM・RBT の濃度。

[@] % increase = |1-薬剤組み合わせの CFU/各々の薬剤の単独使用時の少ない方の CFU| $\times 100$

KRM=KRM1648, RBT=rifabutin, CAM=clarithromycin

表4 肺結核と肺 MAC 症の基礎疾患による分類*

	結核	MAC
1 群	49 (男32 女17) 55%	24 (男 4 女20) 48%
2 群	27 (男22 女 5) 30%	7 (男 3 女 4) 14%
3 群	13 (男10 女 3) 15%	20 (男16 女 4) 38%
計	89 (男64 女25) 名	51 (男23 女28) 名

*1 群：基礎疾患なし，2 群：全身の基礎疾患，3 群：肺局所の基礎疾患

と表4のようになる。つまり肺結核では全身の基礎疾患のある患者が多く，一方，肺 MAC 症では肺局所に基礎疾患を持つ患者が多い傾向にあった。発症年齢と性別を基礎疾患のない症例で検討すると，表4のごとく肺結核が比較的若年者の男性に多いのに対して，肺 MAC 症は中年以降の女性が大部分を占めていた。

画像上の病変分布の検討では，肺結核の病変が S^{1,2,6} に集中していたのに対して，肺 MAC 症では中葉・舌区中心に比較的均等に病変が分布していた。肺結核の初感染から連続して発病するいわゆる一次結核症の肺内病変が比較的均等に分布し，一方，いったん発病が抑えられていた病変が細胞性免疫の低下等で年余を経て発病するいわゆる二次結核症の肺内病変が S^{1,2,6} に集中する点から考えると，成人肺結核の大部分が二次結核症であること，一方，肺 MAC 症では感染・発病・進展が連続して生じていることが推測される。

HIV 陽性患者では結核は比較的初期に合併し，一方，MAC は末期に合併することも併せ考えると，MAC は比較的毒力は弱いがいったん感染が成立すると慢性・持続性の肺病変を形成しやすく，その感染・発病には肺局所の防御力の低下が比較的重要であると考えられた。基礎疾患のない肺 MAC 症に関しては，中年以降の女性であることが最大の危険因子であるが，その詳細は現在のところ不明である。

今後の肺 MAC 症研究の方向

以下，現在までの研究から考えられる今後の肺 MAC 症研究の方向に関して，思いつくままに挙げておく。この小文を終わりたいと思う。

1) 基礎疾患のない中年以降の女性に，気管支拡張と結節性病変を主体とした肺 MAC 症が急増しているが，その発症のメカニズムは何か？：生活環境からの感染の機会が多いとか，慎重深く咳・痰を抑制するためとか，女性ホルモンの急激な低下等が考えられているが，いまだはっきりした理由は不明である。生活環境・菌側の因子・中年以降の女性であるという医学上の理由等を多面的に検討する必要があると思われる。

的に検討する必要があると思われる。

2) 肺 MAC 症では本当に細胞性免疫の発動が抑制されているのか？：AIDS 末期の全身播種型と異なり，非 AIDS 例では病変は最後まで肺に局限している。全身感染を防ぐという意味では，免疫は部分的には成功している。抗原である MAC が肺内で慢性持続的に存在するため，長期的に細胞性免疫を主体とする防御反応が生じ，その結果として20-30年の経過で肺が徐々に破壊されるようにみえる。先述したマウスのモデルの結果も考慮すると，細胞性免疫は十分成立しているにもかかわらず，MAC を殺菌しきれない印象がある。このような持続感染を生じさせる肺という場の特殊性を研究する必要がある。

3) MAC の感染防御はマクロファージとサイトカインだけでは説明できない：気道上皮，粘液線毛系，肺胞上皮，線維芽細胞，NK 細胞， $\gamma \cdot \delta$ T リンパ球，細胞障害性 T リンパ球等のかかわりを検討していく必要がある。生体内ではこれらの細胞が直接接触し肉芽腫を形成したり，空洞や気管支拡張の形成にダイナミックに働いているものと考えられる。

4) マクロファージの MAC 殺菌のエフェクター分子は何か？ また MAC はマクロファージ内の殺菌機構からどのように逃れて細胞外よりもより速く増殖することが可能となるのか？：この点が根本であるが，いまだ明確な答えが得られていない。マウスにおいては活性窒素代謝産物が有力な分子であるが，ヒトマクロファージから分泌されるという明確な証拠はまだない。活性酸素は必要ではあるが十分ではないことが知られている。MAC の殺菌機構からの逃避のメカニズムの一つとして，phagosome-lysosome fusion の阻害が従来から言われているが，その明確なメカニズムはいまだ不明である。

謝 辞

肺 MAC 症の臨床・実験に関して終始指導していただきかつ今村賞に推薦していただいた久世文幸教授に深謝いたします。名誉ある賞をいただき，発表の機会を与えていただいた会長の東市郎先生並びに露口泉夫先生をはじめとする今村賞選考委員の先生方に感謝いたします。

文 献

- 1) Edwards CK, Hedegaard HB, Zlotnik A, et al.: Chronic infection due to *Mycobacterium intracellulare* in mice: association with macrophage release of prostaglandin E2 and reversal by injection of indomethacin, muramyl dipeptide, or interferon- γ . J Immunol. 1986; 136: 1820-1827.

- 2) Goto Y, Nakamura RM, Takahashi H, and Tokunaga T: Genetic control of resistance to *Mycobacterium intracellulare* infection in mice. *Infect Immun.* 1984; 46: 135-140.
- 3) Suzuki K, Lee WJ, Hashimoto T, et al.: Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) or tumor necrosis factor- α activate human alveolar macrophage to inhibit growth of *Mycobacterium avium* complex. *Clin Exp Immunol.* 1994; 98: 169-173.
- 4) 鈴木克洋, 村山尚子, 久世文幸: ヒト肺胞マクロファージ機能と呼吸器疾患. 日本網内系学会雑誌. 1993; 33: 235-243.
- 5) Bermudez LEM and Young LS: Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activates human macrophages to inhibit growth or kill *Mycobacterium avium* complex. *J Leukocyte Biol.* 1990; 48: 67-73.
- 6) Suzuki K, Tsuyuguchi K, Matsumoto H, et al.: Activity of KRM 1648 or rifabutin alone or in combination with clarithromycin against *Mycobacterium avium* complex in human alveolar macrophages. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 1997. in press.
- 7) 鈴木克洋: 結核の発症進展に関する一考察—*M. avium* complex 感染症との対比から—. 結核. 1995; 70: 659-663.
- 8) Tanaka E, Amitani R, Niimi A, et al.: Yield of computed tomography and bronchoscopy for the diagnosis of *M. avium* complex pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997. in press.

第72回総会教育講演

pyrazinamide を加えた初期強化短期化学療法

和田 雅子

結核予防会結核研究所

The 72nd Annual Meeting Education Lecture

PYRAZINAMIDE-CONTAINING INITIAL INTENSIVE SHORT COURSE
CHEMOTHERAPY OF PULMONARY TUBERCULOSIS

Masako WADA*

Six-month short course regimen had been accepted all over the world since early 1980s. In Japan this short course regimen had not been accepted as a standard regimen for treatment of pulmonary tuberculosis until April 1996. The reason why this was not accepted is resumably due to hepatotoxicity of pyrazinamide. The situation around tuberculosis were changing in Japan especially in urban areas. Incidence of tuberculosis in younger generations is higher in urban areas than in rural areas. More effective and shorter course regimen were needed. Efficacy of pyrazinamide were briefly described first, then results of six-month regimen with pyrazinamide in Fukuji Hospital since 1991 January were discussed.

Pyrazinamide can kill tubercle bacilli in acidic environment. It works bactericidally during the early treatment phase. It can kill not only replicating bacilli but also semi-dormant ones. The results of many six-month regimens showed that only pyrazinamide containing regimens were acceptable for standard regimen in pulmonary tuberculosis with less than a few percent of relapse. Newly accepted standard chemotherapy included 2HRZ with or without S or E/4HRE, 6HRS or E/3HR, and 6HR. Among 429 tuberculosis patients treated at Fukuji Hospital with pyrazinamide-containing regimens, the negative conversion rate after two months of chemotherapy was 95 percent and similar to those of Western, African and Asian tuberculosis trials. Six of 290 evaluable cases have relapsed. (relapse rate; 2%) Noticeably all relapsed cases were complicated with diabetes mellitus. The higher percent of patients, 8.2 had elevated serum transaminase levels 5 times of upper limit of normal level or more compared with that of patients without pyrazinamide, 6.6 percents, but this difference is not statistically significant. One patient whose pretreatment liver function was abnormal with unknown origin died from hepatotoxicity of anti-tuberculous drugs. The risk factors of hepatotoxicity included HCV carrier, elderly more than 80 years old, but HB carrier, alcohol drinking and hepatic diseases were not risk factors. Less patients, 5.6% defaulted from regimen compared with that with 9-month regimen without pyrazinamide (8.6%), but this difference is not

別刷り請求先:

和田 雅子

結核予防会結核研究所

〒204 東京都清瀬市松山3-1-24

* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan
Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24, Matsuyama,
Kiyose-shi, Tokyo 204 Japan.

(Received 12 Aug. 1997)

statistically significant. The efficacy of the regimen was 90.3% higher than that of 9-month regimen, 86.0%.

In summary, six-month regimen containing pyrazinamide is highly effective. The incidence and severity of hepatotoxicity must be further studied in Japan.

Key words : Pulmonary tuberculosis, Short course chemotherapy, Pyrazinamide, Hepatotoxicity

キーワード：肺結核症，短期化学療法，ピラジナミド，肝毒性

はじめに

pyrazinamide (PZA) は1952年に臨床応用されたが肝毒性のために高い評価は得られなかったが¹⁾，Grosset や Mitchison らの動物実験や British Medical Research Council (BMRC) の Hong Kong や Singapore における臨床試験によって pyrazinamide (PZA) を初期に2カ月間加えることによって，治療期間を短縮可能であることが証明され，1979年に2HRZ/4HRの治療方式(2カ月間Z+H+R, 4カ月H+, R)が使用薬剤も少なく，治療期間も6カ月で有効であると報告された²⁾。1986年ATS, CDCが，88年にIUATLDが，91年にWHOが標準化学療法として推奨し世界的に国家結核対策プログラムとして採用されてきた。しかし日本では長い間内外の優れた成績にもかかわらず，その副作用のために標準治療には採用されなかったが，20年にわたり結核罹患率の減少の鈍化していることと，大都市では地方に比較すると，若年齢層の占める割合が高いこと，ホームレス，アルコール中毒者，土木現業従事者など検診の機会に恵まれない層に結核が多発していることなどの結核疫学の変化に鑑み，より強力であり短期治療が必要とされ，PZAを含む短期化学療法が1996年4月から結核医療の基準に採用された³⁾。

A. pyrazinamide の特異な作用と薬剤感受性試験

PZA は *in vitro* では pH5.6 で *M. tuberculosis* に対して弱い静菌的作用しか持たないが，*in vivo* では強力な殺菌作用を持っており，結核菌の細胞内の pyrazinamidase (PZase) によって pyrazinoic acid となって殺菌の効果を示す。また盛んに分裂増殖している菌に対しては弱い静菌的作用しか示さないが，ほとんど分裂増殖しないが，時折分裂増殖する菌 (semidormant bacilli) に対しては滅菌的作用を持っている⁴⁾。また他の薬剤が無効である酸性の環境下の菌に有効であり，最も低い MIC99 は pH5.5~5.6 で，16 μ g/ml であるとの報告がある。治療初期においてのみ貪食された菌や炎症初期の組織内の菌に，有効であるといわれているが，

これは耐性の獲得が起こることや，炎症が修復され組織内の pH が中性になるためとされている。これらのことは Grosset⁵⁾ や Mitchison⁶⁾ らの動物実験や BMRC の一連の臨床成績や国療中野病院の成績からも示されている^{2), 7)~9)}。

また PZA は酸性の環境で有効であるので，酸性の培地に結核菌は増殖し難いため薬剤感受性試験は従来の方法では信頼できる成績は得られない。近年 PZA 耐性菌の PZase 遺伝子に変異が報告され，近い将来には遺伝子学的手法で薬剤感受性試験が可能となるであろう¹⁰⁾。

B. 新しく採用された治療法³⁾

1986年に改定された医療基準では，治療開始時の喀痰塗抹検査と，X線学会病型による重症度によって治療方法を選択するように推奨されていたが，今回の改定では中等症以上には以下に示す①あるいは②で治療することが求められているが，軽症例はいずれの治療でも選択できる。

a. 初回治療肺結核症：① 2HRZ(S)(E)/4HR(E)，② 6HRS(E)/3~6HR，③ 6HR

b. 再治療：薬剤感受性試験の結果で感受性薬剤3~4剤を選んで排菌停止するまで治療を弱めないで，菌陰性化後は2~3剤を併用して治療する。

C. PZA を含む化学療法の効果

現在で短期化学療法は6カ月以内の治療法をさしているもので，ここでは6カ月治療について述べる。

1. 治療開始2カ月後の菌陰性化率(表1)

複十字病院での成績(2HRZS(E)/4HRE)ではPZAの使用量は一律1.2g/日としたが，2カ月目の菌陰性化率は429例中92.5%であり，PZAを含まないINH+RFP+SM(EB)では菌陽性241例中84.6%であり，PZAを含む治療の方が菌陰性化率は高く，71~95%^{11)12)~17)}と報告されている国内外の成績と同様であった。上記4剤の週3回間欠療法では90%，PZAを含まないHRSE毎日法では73%，週3回では

表1 2カ月目の菌陰性化率

治療方式	症例数	陰性化率(%)	研究者	文献No
a. 4剤併用療法				
HRZS	421-439	82-87	1978 Third East Africa	12
同上	82	71	1981 BTA	15
同上	179	87	1978 Third East Africa	12
同上	169	95	1978 Hong Kong	19
HRZE	170	70-87	1981 BTA	15
HRSE	171	81	1978 Hong Kong	19
HRZS(E)	140	95.4	1994 複十字病院	16
HRZS(E)	429	92.5	1997 複十字病院	
HRZS3	145	90	1982 Hong Kong	18
HRZE3	164	90	同上	同上
HRSE3	153	76	同上	同上
HRZSE3	153	88	同上	同上
b. 3剤併用				
HRS	99	73	1972 East Africa	
HRE	89-93	63-75	1980 Ziersky	23
HSZ2	126	72	1975 Hong Kong	

76%と低くなる¹⁸⁾。またHRZSEの5剤を週3回投与する方法では88%で5剤投与しても菌陰性化率を改善させることはできない¹⁸⁾。

2. 治療終了後の再発率(薬剤感受性結核症・6カ月治療)

表2に主なPZAを含む治療の治療終了後の再排菌率を示した。

a. 初期強化期間にHRZを含む4剤併用療法：維持期にHRが含まれた治療方法では今回の複十字病院の成績では290例中6例(2.1%)が再排菌しており、諸外国の0~3%と同様であった^{7) 9) 11)}。維持期にRを使用しないSHZ週2回使用例では6カ月までの観察では再発率3%であるが、24カ月後では7%となる^{7) 19)}。またさらに弱い組み合わせのthiacetazone(T)とINHのみでは30カ月までに13%の再発が見られている¹³⁾。また維持期のPZAは再発率に影響を与えないことが報告されている^{2) ~ 7) 8)}。今回再排菌の要因について検討した結果、治療開始時の排菌量が塗抹ガフキー3号以上、糖尿合併例が危険因子であった。X線学会病型は再排菌と関連は見られなかった。

b. 初期強化期間にPZAを含まない4剤併用療法：2HRSE/4S₂H₂E₂では治療終了6カ月後では再発率3%であるが、24カ月後では23%と高率に再発しており、また治療終了後6年で73例中8.2%が再排菌していた報告もあり⁹⁾、初期強化期間にPZAを加えて初めて6カ月治療が可能となった^{11) 19)}。

c. 初期強化期間にHRZを含む3剤併用療法：いずれも維持期間にHRを含んだ治療において再発率は1

から3.9%であった^{20) 21)}。したがって初期にHRZを含み、維持期にHRが使用されれば再発率4%以下となり、標準化療方式として有効である。日本において維持期にINH+RFPのみで6カ月治療はまだ試みられていない。

d. 初期強化期間にHRを含みZを含まない3剤併用療法：いずれも再発率4%以上となり、標準化療法として容認されない^{19) 22) 23)}。

e. 全期間間欠投与法・その他の治療法：全期間一律週3回投与法ではHRZを含んだ治療法であればいずれも再発率3%以下であるが²⁴⁾、PZAを含まないHRSE週3回投与法において再発率は8%にもおよぶ。また週3回間欠投与で4剤併用の強化療法と3剤併用の維持療法を組み合わせた治療法では治療終了後の再発率は3から9%であった¹⁴⁾。

3. 薬剤耐性結核への効果(H, S, H+Sに耐性結核)

初期強化療法をINH, RFP, PZA, SMまたはEBの4剤併用した場合の治療失敗率は0~3.6%^{2) 22)}、治療終了後の再発率は0~8.7%であった^{2) 11) 25)}。このように初期にINH, RFP, PZA, SMを含み、維持期にINH, RFPの両剤を含む治療方法では、INHまたはSMまたはINH+SM耐性結核に対しても有効であることが示されている。複十字病院では治療開始時INHまたはRFPまたはその両剤に耐性例は研究の対象から除外したためその有用性は不明であるが、全例耐性が判明してから治療変更しているが、PZAを使用した例はPZAを使用しなかった例よりも短期間に終了することができていた。

表2 再発率(6カ月治療)

治療方式*	症例数	治療終了後の 観察期間**	再発例(%)	研究者	文献No
A. 初期強化期間に2カ月間HRZを含む4剤併用療法					
2HRZS/4HR	84	30M	2(2)	1981 Singapore	
2HRZS/4HR	119	36M	1(0.8)	1984 BTS	28
2HRZS/4H ₂ R ₂	56-37	24M	1(1.8)	1984 Snider	20
2HRZS/4HR	80	7-8Y	2(3)	1986 Singapore	8
2HRZS(E)	290	18M	6(2.1)	1997 複十字病院	
2HRZS/4S ₂ H ₂ Z ₂	90	6M	3(3)	1978 Hong Kong	19
2HRZS/4S ₂ H ₂ Z ₂	87	24M	6(7)	1979 Hong Kong	22
2HRZS/4HRZ	84	6M	0(0)	1979 Singapore	2
2HRZS/4TH	75	30M	10(13)	1980 Third East Africa	13
2HRZS/4HRZ	85	30M	0(0)	1981 Singapore	7
2HRZS/4HRZ	78	7-8Y	1(1)	1986 Singapore	8
2HRZE/4HR	127	36M	3(2.3)	1984 BTS	28
2HRZE/4HR	131	18M	4(3.0)	1984 Algeria	27
B. 初期強化期間に2カ月間Zを含まない4剤併用療法					
2HRSE/4S ₂ H ₂ E ₂	86	6M	3(3)	1978 Hong Kong	19
	84	24M	19(23)	1979 Hong Kong	22
C. 初期強化期間に2カ月HRZを含む3剤併用療法					
2HRZ/4HR	80	6M	1(1)	1979 Singapore	2
2HRZ/4H ₂ R ₂	116-81	24M	4(3.9)	1984 Snider	20
2HRZ/4HR	375	12-96WK	13(3.5)	1991 Combs	
D. 初期強化期間に2カ月間HRを含みZを含まない3剤併用療法					
6HRS	150	6M	6(4)	1978 Hong Kong	19
同上	143	24M	8(6)	1979 Hong Kong	22
2HRS/4TH	82	30M	15(18)	1980 Third East Africa	13
2HRE/4H ₂ R ₂ E ₂	91	18M	6(7)	1980 Ziersky	23
同上		30M	7(8.3)	1981 同上	
2HRE/4H ₂ R ₂	90	18M	15(17)	1980 同上	23
同上	89	30M	16(18.6)	1981 同上	
2HRE/4H ₁ R ₁ E ₁	89	18M	18(20.0)	1980 同上	23
同上		30M	19(22.9)	1981 同上	
6HRE	93	18M	11(12)	1980 同上	23
同上	87	30M	12(13)	1981 同上	
E. 全期間間欠投与療法					
HRZSE ₃	153	18M	1(1)	1982 Hong Kong	18
HRZS ₃	145	18M	2(1)	同上	同上
HRSE ₃	153	18M	13(8)	同上	同上
HRZE ₃	164	18M	4(2)	同上	同上
HRZE ₇	146	18M	2(1)	同上	同上
2HRZS ₃ /2HRS ₃ / 2HR ₃	71	30M	2(3)	1991 Hong Kong	24
4HRZS ₃ /2HR ₃	72	30M	2(3)	同上	
4HRZS ₃ /2HRZ ₃	66	30M	4(6)	同上	
6HRZ ₃	64	30M	6(9)	同上	

*:ローマ字の前の数字は月数, 後の1週間の投与回数

**:Y年, M月, WK週を示す。

4. 治療効果

従来化学療法の効果は治療開始2カ月後の菌陰性化率と治療終了後の再発率を中心に議論されてきたが, このような評価方法では結核撲滅のために有効な対策を立て

るために有用でないとし, 診断された結核患者全例を対象に治療効果を論じなければならないとして, 化学療法の結果を1. 治癒 2. 治療完了 3. 死亡 4. 治療失敗 5. 治療中断・脱落 6. 転医・転出の6つのカテゴリーに分

表3 肝機能障害（治療開始前肝機能正常例）

GOT 値 または GPT 値 (IU/ml)	PZA あり (N=496)			PZA なし (N=428)		
	例 数	自覚症状 あり 例	PZA 中止例	症 例 数	自覚症状 あり 例	中止薬剤 あり 例
150-299	15	5	10	14	7	1
300-	17	11	16	8	4	3
計	32 (6.5%)	16 (3.2%)	26 (5.2%)	22 (5.1%)	11 (2.6%)	4 (0.9%)

類し評価する試みが WHO から提唱されている。しかしながら各カテゴリーの定義が研究者によって異なるため一律に比較して論じることは困難であり、今後研究されなければならない課題であろう。複十字病院の治療有効率を、転医した例と結核以外の原因で死亡した例を除外して、治療失敗例を菌陰性化失敗例、結核死例、再排菌例、治療中断例として、治療成功例を菌陰性化が得られ治療指示終了例として計算すると、PZA 使用例では576例中治療成功率90.3%、PZA 非使用標準化療例では86.0%であった。

5. 治療中断脱落率

治療中断の定義は研究者によって異なるが、多くの研究では初期強化期間中に2週間以上または全期間4週間以上服薬中断した場合に中断としている。治療の継続性をチェックする方法として、自己申告、尿でのINHやRFPの代謝産物の測定、患者が規則的に薬剤を取り出したかどうか分かる容器の使用などが用いられている。臨床試験の多くは全例全期間直接監視下投与が行われており、治療中断脱落率は0.5%から6.2%と低い^{25) 26)}、直接監視下投与と自己投与の組み合わせたアルジェリアの成績では6カ月投与と12カ月投与を比較し、治療期間が6カ月では8%、12カ月治療では10%と高くなっている²⁷⁾。全期間自己投与の研究では6カ月療法では16.8%、9カ月投与では29.2%で6カ月療法の率と比較すると有意に中断脱落率も高くなる²⁰⁾。今回の複十字病院でのPZAを含む6カ月短期化学療法での中断率は5.6%、9カ月の化学療法での中断率8.6%で、有意の差ではなかったがPZAを含む短期化学療法での中断率の方が低い傾向が見られた。

D. 副作用

副作用の定義も研究者間で一致していないが、7日以上以上の休薬を要し、治療変更または中止を必要とした好ましくない作用を副作用と定義している場合が多い。多くの研究において副作用は大多数が初期強化期間中に出現していると報告されている。抗結核薬の副作用には肝機能障害、発疹、発熱などのアレルギー症状、末梢神経炎、

視神経炎、関節痛、前庭機能障害、血清尿酸値の上昇、胃腸障害、血小板減少症、インフルエンザ様症状などがある。

上記の副作用のいずれかが起こる頻度は1%から35%まで幅広く分布しているが、多くの報告では1から5%までである。治療方式による頻度の差は見られないとする報告が多いが、肝機能障害以外の副作用はPZAを含む治療で有意に高く出現するとの報告もある²⁸⁾。複十字病院での成績では、血清トランスアミナーゼが正常値の5倍以上に上昇したのは576例中47例8.7%、発熱・アレルギー症状は1.0%、関節痛は0.5%に、胃腸障害が0.2%に認められた。

1. 肝機能障害

種々の6カ月短期化学療法での成績では0.3~3.8%に治療変更を要する肝機能障害が出現したことが報告されている^{2) 7) 18) ~ 20) 23) 25)}。肝機能障害出現後休薬し、肝機能が正常に回復した後に再投与して問題なく治療終了できた例が多い。また治療開始時肝機能正常で治療開始後1回以上異常値を示した例は22から31%との報告もある¹⁸⁾。PZAは肝機能障害の頻度を増加させるかどうかは議論のあるところであるが、肝機能障害の頻度は変わらないとする報告が多いが^{15) 29)}、PZAを含む治療の方が有意に肝機能障害が多いとの報告もある^{18) 30) 31)}。複十字病院の成績では治療開始時、肝機能正常例においてPZAを含む標準化学療法では496例中32例(6.5%)が、PZAを含まない標準治療では428例中22例(5.1%)において血清トランスアミナーゼ値が正常値の5倍以上となり、その頻度に差は見られなかった(表3)。しかしPZA使用例で治療開始時肝機能障害があった1例が急性肝不全のために死亡した。

Mitchelは抗結核薬によって4例の急性劇症肝炎のうち3例に肝移植を行い2例が救命できたことを報告し、肝機能障害時の対応について述べている³²⁾。またDurandらは劇症肝炎と亜劇症肝炎の症例を比較検討し、肝障害の程度は同様であってもPZAを使用していた群は生命の予後が悪いことから、PZA使用中は毎週肝機能検査を行うこと、血清トランスアミナーゼ値が正

表 4 致死の肝機能障害
(1987年1月から96年12月までの集計)

アンケート回答率: 68/111 (61.3%)
致死の肝機能障害ある施設: 21病院
致死の肝機能障害症例数: 34 例

使用薬剤または原因薬剤	例数	使用薬剤または原因薬剤	例数
HR+Z±X	10	TH	1
HR+X	12	R+IHMS+S	1
Z+TH	4	K+TH+PAS	1
R	1		

X: INH, RFP, TH, PZA 以外の抗結核薬

常値の3倍以上となった場合にはPZAを中止すること、治療開始前に肝機能検査を行い異常があればPZAを使用しないことなどを提唱している³¹⁾。肝機能障害の頻度について、Steelによるmeta-analysisではINH+RFPの治療で2.55%、INH単独投与時に見られる肝機能障害の頻度1.6%に比較すると高く、また子どもの肝炎の頻度はおとなよりも高くINH+RFPで4.7%と分析した³³⁾。今回の成績ではPZAの有無にかかわらず血清トランスアミナーゼ値が正常の5倍以上に上昇する頻度は諸外国と比較して高い印象であった。

1996年4月からPZAを含む治療が標準治療として採用されてからPZAを含む治療を受けた例で死亡例が散見されているために、今回結核病床をもつ全国の国公私立病院へアンケート調査をした結果、表4に示すように111病院中68病院(61.3%)から回答が寄せられた。その結果抗結核薬使用中に致死の肝機能障害を起こした例は71,800例中33例0.046%にみられた。1992年にSniderが報告したINHの予防内服で死亡した0.0023%に比較すると約20倍多い³⁴⁾が、今回の調査では致死の肝機能障害例を経験した施設からの回答が多かった可能性もあり、全国的な調査が望まれる。

また使用中の薬剤について回答があった病院について分析すると、INH, RFP, PZAを含む治療で10例、INH, RFPは含むがPZAは含まない治療では12例、にみられた。PZAを含んだ治療で30例中14例(46.7%)、PZAを含まない治療で16例(53.3%)であり、PZAを含まない治療でも同数致死の肝機能障害を起こしていたことがわかった。薬剤性肝炎の危険因子については高齢者^{35)~37)}、女性³⁷⁾、PZAの使用³⁰⁾³¹⁾、低栄養³⁰⁾、slow acetylator³⁸⁾、HBVキャリア³⁹⁾などが報告されている。インドからの報告では8~50%と他の先進工業国の2~3%に比較すると薬剤性肝炎の頻度が高いが、開発途上国で抗結核薬使用時に見られる肝炎をすべて薬剤性肝炎とすることには問題があり、同時に合併している可能性のある感染性肝炎を除外しなければならないとしてい

る⁴⁰⁾。今回、肝機能障害の危険因子を分析した結果、HCV抗体陽性例は陰性例に比較すると10.5倍肝機能障害を起こしやすいこと、また年齢が80歳以上では4.7倍肝機能障害の起こす頻度が高いことが分かった。HbsAg陽性、飲酒習慣、既往肝疾患などは危険因子ではなかった。

2. 肝機能障害以外の副作用

肝機能障害以外の副作用の中で注意を要する副作用として、RFPによる血小板減少症やStevens-Johnson症候群⁴¹⁾、INHによる間質性肺炎など頻度は少ないが、致死の副作用であるので注意を要する。その他の副作用については簡単にその頻度を述べる。嘔気・嘔吐・食思不振など胃腸障害は1~1.3%に、薬疹は0.3~5.3%に、アレルギー症状は0.5~1.3%に、関節痛は0.5~2%に、高尿酸血症は52~64%に上昇が見られていると報告されている。末梢神経炎は0.3~1.1%に認められ、血小板減少症は0.2~1.4%に報告されていた。

E. 問題点など

PZAを加えた初期短期化学療法について、その効果と問題点を述べた。PZAを加えた6カ月短期療法は、2カ月目の菌陰性化率、再発率、治療中断率、耐性結核に対する有用性などの点からみて、その効果については異論のないと思われる。問題は副作用であるが、抗結核薬の肝毒性はINHの予防内服においても致死の肝機能障害が報告され、またINH+RFPの併用によって肝機能障害の頻度は高くなることも報告されている。多くの研究ではPZAを使用することで肝機能障害の頻度は高くないと報告しているが、日本の臨床家の間にはPZAの肝機能障害に対する危惧は強いと思われる。今後日本でPZAを含む6カ月短期化学療法を普及させるためには、PZAの肝機能障害への影響について全国的な前向き研究を行い、西欧において試みられているような抗結核薬使用時の肝機能障害に対するガイドラインを作る

必要があるだろう³⁷⁾。最終的には費用効果を考慮してPZAをどのように使用するかを決定することが重要であろう。

謝 辞

発表の機会を与えてくださいました本学会長の東市郎先生と研究のご指導をいただき座長の労をとっていただきました結核予防会大阪府支部の亀田和彦先生に、また致死的肝機能障害のアンケートにご協力下さいました全国の諸先生方に深謝いたします。

共同研究者：伊藤邦彦・尾形英雄・水谷清二・杉田博宣（結核予防会複十字病院）
野内秀樹・吉山 崇・大菅克知（結核予防会結核研究所）

文 献

- 1) Yeager RL, Munroe WGC and Dessau FI: Pyrazinamide (Aldinamide) in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Tubercul.* 1952; 65: 523-46.
- 2) Singapore Tuberculosis Service/British Medical Research Council: Clinical trial of six-month and four-month regimens of chemotherapy in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1979; 119 (4): 579-85.
- 3) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課監修：「結核医療基準とその解説」, 結核予防会, 東京, 1996, 153-4.
- 4) Heifets L, Lindholm-Levy P: Pyrazinamide sterilizing activity in vitro against semidormant. *Mycobacterium tuberculosis* bacterial populations. *Am Rev Respir Dis.* 1992; 145 (5): 1223-5.
- 5) Grosset J: Short course chemotherapy in experimental tuberculosis. *Selected Papers of the Royal Netherlands Association.* 1978; 18: 5-31.
- 6) Mitchison DA, Dickinson JM: Bactericidal mechanisms in short-course chemotherapy. *Bull Int Union Tuberc.* 1978; 53 (4): 270-5.
- 7) Singapore Tuberculosis Service/British Medical Research Council: Clinical trial of six-month and four-month regimens of chemotherapy in the treatment of pulmonary tuberculosis: the results up to 30 months. *Tubercle.* 1981; 62 (2): 95-102.
- 8) Singapore Tuberculosis Service/British Medical Research Council: Long-term follow-up of a clinical trial of six-month and four-month regimens of chemotherapy in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1986; 133 (5): 779-83.
- 9) 馬場治賢, 新海明彦, 吾妻 洋: RFPを含む3方式による肺結核6ヵ月化療の対照試験 (第1報). *結核.* 1978; 53: 287-94.
- 10) Scorpio A, Zhang Y: Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. *Nature Med.* 1996; 2 (6): 662-7.
- 11) Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council: Controlled trial of 6-month and 9-month regimens of daily and intermittent streptomycin plus isoniazid plus pyrazinamide for pulmonary tuberculosis in Hong Kong. Results up to 30 month. *Am Rev Respir Dis.* 1977; 115: 727-735.
- 12) Third East African/British Medical: Controlled clinical trial of four short-course regimens of chemotherapy for two duration in the treatment of pulmonary tuberculosis: First report: Research Councils study. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118 (1): 39-48.
- 13) Third East African/British Medical Research Council Study: Controlled clinical trial of four short-course regimens of chemotherapy for two duration in the treatment of pulmonary tuberculosis. Second report. *Tubercle* 1980; 61 (2): 59-69.
- 14) 鈴木孝司, 島田正廣, 山口 亘, 他: 肺結核の短期化学療法に関する研究 (第3報) —Pyrazinamideを加えた初期強化療法—. *結核.* 1983; 58: 459-64.
- 15) British Thoracic Association: A controlled of six months chemotherapy in pulmonary tuberculosis. *Br J Dis Chest.* 1981; 75: 141-153.
- 16) 和田雅子, 吉山 崇, 吉川正洋, 他: 初回治療肺結核症に対するPyrazinamideを含んだ6ヵ月短期化学療法. *結核.* 1994; 69: 671-80.
- 17) 国療化学療法共同研究会: PZAを加えた初期強化化学療法. *結核.* 1986; 61: 363-369.
- 18) Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council: Controlled trial of 4 three

- times-weekly regimens and a daily regimen all given for 6 months for pulmonary tuberculosis. Second report: the results up to 24 months. *Tubercle*. 1982; 63 (2): 89-98.
- 19) Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council: Controlled trial of 6-month and 8-month regimens in the treatment of pulmonary tuberculosis. First report. *Am Rev Respir Dis*. 1978; 118 (2): 219-28.
 - 20) Snider DE, Graczyk J, and Rogousky J: Supervised six-months treatment of newly diagnosis pulmonary tuberculosis using isoniazid, rifampicin, and pyrazinamide with and without streptomycin. *Am Rev Respir Dis*. 1984; 130: 1091-1094.
 - 21) Combs DL, O'Brien RJ, Geiter LJ: USPHS Tuberculosis Short-Course Chemotherapy Trial 21: effectiveness, toxicity, and acceptability. The report of final results. *Ann Intern Med*. 1990; 112 (6): 397-406.
 - 22) Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council: Controlled trial of 6-month and 8-month regimens in the treatment of pulmonary tuberculosis: the results up to 24 months. *Tubercle*. 1979; 60 (4): 201-10.
 - 23) Ziersky M, Bek E, Long MW, et al.: Short-course (6 month) cooperative tuberculosis study in Poland: Results 18 months after completion of treatment. *Am Rev Respir Dis*. 1980; 122: 879-889.
 - 24) Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council. Controlled trial of 2, 4, and 6 months of pyrazinamide in 6-month, three-times-weekly regimens for smear-positive pulmonary tuberculosis, including an assessment of a combined preparation of isoniazid, rifampin, and pyrazinamide. Results at 30 months. *Am Rev Respir Dis*. 1991; 143 (4 Pt 1): 700-6.
 - 25) Cohn DL, Catlin BJ, Peterson KL, et al.: A 62-dose, 6-month therapy for pulmonary and extrapulmonary tuberculosis. A twice-weekly, directly observed, and cost-effective regimen. *Ann Intern Med*. 1990; 112 (6): 407-15.
 - 26) East African and British Medical Research Councils: Controlled clinical trial of five short-course (4-month) chemotherapy regimens in pulmonary tuberculosis. First report of 4th study. *Lancet*. 1978; 2 (8085): 334-8.
 - 27) Algerian working group/British Medical Research Council cooperative study: Controlled clinical trial comparing a 6-month and a 12-month regimen in the treatment of pulmonary tuberculosis in the Algerian Sahara. *Am Rev Respir Dis*. 1984; 129 (6): 921-8.
 - 28) British Thoracic Society: A controlled trials of 6 months chemotherapy in pulmonary tuberculosis. Final report: Results during the 36 months after the end of chemotherapy and beyond. *Br J Dis Chest*. 1984; 78: 330-336.
 - 29) O'Brien: Hepatotoxic reaction to antituberculous drugs: adjustments to therapeutic regimen. *JAMA*. 1991; 265: 3323.
 - 30) Singh J, Garg PK, Pande JN, et al.: Antituberculosis treatment-induced hepatotoxicity: role of predictive factors. *Postgrad Med J*. 1995; 71: 359-362.
 - 31) Durand F, Bernuau J, Pessayre D, et al.: Detection influence of pyrazinamide on the outcome of patients with fulminant or subfulminant liver failure during antituberculous treatment including isoniazid. *Hepatology*. 1995; 21: 929-932.
 - 32) Mitchel I, Wendon J, Fitt S, et al.: Antituberculous therapy and acute liver failure. *Lancet*. 1995; 345: 555-556.
 - 33) Steel MA, Burk RF, DesPrez R: Toxic hepatitis with isoniazid and rifampicin. A meta-analysis. *Chest*. 1991; 99: 465-471.
 - 34) Snider D, Caras GJ: Isoniazid-associated hepatitis deaths: A review of available information. *Am Rev Respir Dis*. 1992; 145: 494-497.
 - 35) Brande PV, Steenbergen WV, Vervoort G, et al.: Aging and hepatotoxicity of isoniazid and rifampin in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 152: 1705-8.

- 36) Pande JN, Singh SPN, Khilnani GC, et al. : Risk factors for hepatotoxicity from antituberculosis drugs : A case-control study. *Thorax* 1996 ; 132-136.
- 37) Dossing M, Wilcke JTR, Askgaard DS, et al. : Liver injury during antituberculosis treatment : an 11-year study. *Tubercle Lung Dis.* 1996 ; 77 : 335-340.
- 38) Parthasarathy R, Sarma GR, Janardhanam B, et al. : Hepatic toxicity in south indian patients during treatment of tuberculosis with short-course regimens containing isoniazid, rifampicin and pyrazinamide. *Tubercle.* 1986 ; 67 : 99-108.
- 39) Wu J-C, Lee S-D, Yeh P-F, et al. : Isoniazid-rifampicin-induced hepatitis in hepatitis B carriers. *Gastroenterology.* 1990 ; 98 : 502-504.
- 40) Kumar A, Misra PK, Mehotra R, et al. : Hepatotoxicity of rifampin and isoniazid. 1991 *Am Rev Respir Dis.* 1991 ; 143 : 1350-1352.
- 41) Nunn P, Kibuca D, Gatha S, et al. : Cutaneous hypersensitivity reactions due to thiacetazone in HIV-1 seropositive patients treated for tuberculosis. *Lancet.* 1991 ; 337 : 627-630.

結核菌の薬剤感受性試験，特に試験濃度改変と比率法導入への提案

平成9年9月

日本結核病学会薬剤耐性検査検討委員会

委員長 斎藤 肇
 委員 阿部 千代治, 一山 智, 鎌田 有珠
 重藤 えり子, 四元 秀毅, 鈴木 克洋
 高本 正祇, 渡辺 彰, 和田 光一
 臨時委員 河原 伸, 久世 文幸, 山岸 文雄

はじめに

現在わが国で行われている結核菌の薬剤感受性（“耐性”）検査は1%小川培地を基礎培地とし，これに2濃度（または3濃度）の各試験薬剤を含ませた培地を用いた固定濃度法が用いられている^{1)~3)}が，多くの諸外国では1濃度の各試験薬剤を含ませた Löwenstein-Jensen 培地や Middlebrook 寒天培地を用いた比率法（proportion method）^{4)~7)}が用いられている。

結核病学会薬剤耐性検査検討委員会の今回の討議は，1%小川培地を用いる普通法（試験管法）による結核菌の薬剤感受性試験に限ったものであり，特に薬剤の試験濃度と現行法の改正点を中心になされた。

1. 試験の名称

薬剤“耐性”試験の呼び名は結核菌に限って用いられ，他の微生物では薬剤“感受性”試験の呼び名が用いられている。結核菌についても紛らわしさを避け，用語の統一を図ることと，この濃度で菌の発育がみられ

ない場合は効果的であるという意味から，薬剤感受性試験と呼ぶよう提案することとした。

2. 試験濃度

現在わが国で用いられている1薬剤につき低濃度と高濃度の2～3濃度試験法について，その意味，検査室業務量，経済性，国際性などの見地から，1濃度で十分であるというのが大方の意見であったが，一部の委員からは主要薬剤については2濃度にすべきであるとの意見が出され，INHのみは2濃度，その他の薬剤は1濃度とすることで意見の一致を見た。

現状では単剤による臨床試験を行うことは不可能である。したがって，諸外国で用いられている試験濃度，血中・組織内到達濃度，試験管内感受性と臨床効果との相関性についての過去の報告を参考にして試験濃度について討議した。その結果，委員会としては表に示すような濃度を用いることを提案することとした。INHについては試験薬剤濃度を2濃度（0.2, 1 μ g/ml）とし，0.2 μ g/mlを基準値とするが，多剤耐性結核では1 μ g/ml

表 結核菌の薬剤感受性試験濃度

抗結核薬	略号	試験薬濃度 (μ g/ml)	
		従来法	委員会提案
イソニアジド	INH	0.1, 1*, 5	0.2*, 1
リファンピシン	RFP	10, 50*	40
ピラジナミド	PZA		
ストレプトマイシン	SM	20*, 200	10
エタンブトール	EB	2.5, 5*	2.5
カナマイシン	KM	25, 100*	20
カプレオマイシン	CPM	25, 100*	20
エンビオマイシン	EVM	25, 100*	20
エチオナミド	TH	25*, 50	20
サイクロセリン	CS	20, 40*	30
パラアミノサリチル酸	PAS	1*, 10	0.5
レボフロキサシ	LVFX		1

*基準濃度

の成績を参考とする。PZAについてはまだ研究データが不十分であることから試験法の提案を見送り、今後の検討に待つことになった。

3. 菌液の調製と培地への接種

(1) 試験菌

通常、小川培地上の初代分離菌について試験するが、その際培養4週までの出来るだけ若い菌を用いる。古い培養菌には死菌が多く含まれ、正しい成績を得ることが出来ないで、このときは卵培地（例：1%小川培地）または液体培地（例：Middlebrook 7H9）で継代培養した菌を用いる。

(2) 菌液の調製法

氷冷したガラスホモジナイザーかガラスビーズ入り試験管と蒸留水を用いて菌液を作る。調製菌浮遊液は約5分間静置して大きな菌塊が沈むのを待った後、その上清を注意深く中試験管に移し、濁度を McFarland No.1 (OD=0.2) に調整したものを接種菌原液とする。

〔注意事項〕

- ①菌液調製時はエロゾール発生の危険が大きいため十分な注意を払う。
- ②ガラスビーズを用いて菌を分散させる場合には過剰な振盪による菌の破壊を避ける。
- ③容器や蒸留水は氷冷したものを、菌の再凝集を可及的に防ぐ。

(3) 培地への接種

冷蒸留水で菌原液の100倍および10,000倍希釈液を作る。薬剤含有培地には100倍希釈液の0.1mlを接種する。対照として薬剤を含まない培地（薬剤含有培地と同時に調製したもの）を2本用意し、1本には100倍希釈液、他の1本には10,000倍希釈液の各0.1mlを接種する。

4. 培養期間

培養4週間以内で100倍希釈菌液接種対照培地上の菌の発育が十分（++ ~ +++）にみられた時点で判定する。発育が遅く、4週以降に判定可能となった場合には、その成績は参考程度にとどめ、直ちに再試験をする。これは、培養期間の延長に伴うさらなる薬剤の力価の低下が考えられるからである。

5. 結果の判定

薬剤含有培地上の集落数が10,000倍希釈菌液接種対照培地上の集落数よりも多ければ耐性菌の割合が1%以上と判定し、また10倍以上であれば10%以上と判定し、この両者を記載する。耐性菌の割合が1%以上になれば治療経過中に間もなく大多数の菌が耐性菌で占められるようになるとの考えから、耐性菌の割合が1%未満を感受

性（S）、1%以上を耐性（R）と判定する。多剤耐性菌の場合には10%の成績を参考にする。

6. 普通法と簡便法

委員会としては簡便法については十分な討議が行われなかったが、別途検討することが必要であろう。簡便法では培地量に比して大量の菌を接種するため所定の判定日数を越えると感受性菌を耐性菌と誤って判定することがある。簡便法を用いている施設では精度管理のため、感受性成績が既知の試験菌数株を凍結保存しておき、それらについて少なくとも半年毎に普通法と簡便法で試験して各自の試験の精度を管理すべきである。

文 献

- 1) 工藤祐是, 斎藤 肇, 高橋 宏: 薬剤感受性試験。結核菌。「微生物検査必携 細菌・真菌検査」, 第3版, 厚生省監修, 財団法人日本公衆衛生協会, 東京, 1987, F118-F125.
- 2) 阿部千代治: 薬剤感受性試験。「抗酸菌の検査」, 第1版, 財団法人結核予防会, 東京, 1993, 59-70.
- 3) 網谷良一, 久世文幸: 薬剤感受性検査法。「抗酸菌検査法 遺伝子技術による迅速診断」, 第1版, 斎藤 肇, 阿部千代治監修, 医歯薬出版, 東京, 1997, 101-117.
- 4) Canetti G, Froman S, Grosset J, et al.: Mycobacteria: laboratory methods for testing drug sensitivity and resistance. Bull World Health Organization. 1963; 29: 565-578.
- 5) Canetti G, Fox W, Khomenko A, et al.: Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity tests in tuberculosis programmes. Bull World Health Organization. 1969; 41: 21-43.
- 6) Kent PT and Kubica GP: Antituberculosis chemotherapy and drug susceptibility testing. In: Public health mycobacteriology. A guide for the level III laboratory, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, Atlanta, 1985, 159-184.
- 7) Heifets LB: Drug susceptibility tests in the management of chemotherapy of tuberculosis. In: Drug susceptibility in the chemotherapy of mycobacterial infections, Heifets LB ed. CRC Press, Boca Raton, 1991, 89-121.

通 信

Tuberculosis, past, present, and future (学会報告)

菅 原 勇

結核予防会結核研究所分子病理学科

受付 平成9年8月7日

本年7月8-12日、米国コロラド州 Copper Mountain においてアメリカ微生物学会主催の標記会議に参加したが、最近の米国における結核基礎研究分野の流れやさまざまな貴重な情報を得たので概要をご紹介します。紙面の都合で特に印象に残った発表を中心に記述する。表にプログラムをまとめた。

(1日目) 結核病学の過去についての話があった。Collins が Trudeau Institute 建設の経緯を話したが、特に Trudeau の rabbit island の話に感銘を受けた。(2日目) Cole, Fleischman が *M. tuberculosis* の全ゲノム構造が明らかにされたことを報告した。ゲノム構造は次のホームページから得られる。<http://www.sanger.ac.uk> または <http://www.tigr.org>。世界的に9細菌のゲノム構造が明らかにされている。*H. influenzae*, *H. pylori*, *M. pneumoniae*, *M. leprae* である。*M. avium* は本年中に全構造が解明されるとの見通しが語られた。一般演題で two-component response regulator gene 11 がクローニングされた。TcrA は *M. tuberculosis* にあり *M. avium* にない。(3日目) 新しい遺伝子が報告された。主なものは secreted macrophage-induced antigen gene, *M. tuberculosis* latency gene である。結核症の病態に関して3題発表があった。Cooper は IL-12 knockout mouse を用いて肉芽腫ができないことを示した。詳しい内容は J. E. M. に記載されている。Chan は肉芽腫形成と No synthetase との関係を報告した。私は Specific granuloma in IFN- γ gene knockout mice is inducible by avirulent *mycobacterium*, but not by virulent *mycobacterium* と題して発表した。弱毒結核菌で肉芽腫を誘導できるので IFN- γ はマクロファージの活性化に関係することを示した。(4日目) Immunity and vaccine, diagnosis, drug and drug resistance がトピックスであった。Young はワクチン開発の現状を述べ、85A 抗原を用いた DNA vaccine の共同研究がイギリス、アメリカ、ベルギーで行われていることを報告した。Stover は mouse luciferase *in vivo* expression assay を開発して

表 プログラム

-
- 7月8日 opening session として4題講演
 7月9日 Mycobacterial genomics (S. Cole), Microbial genome projects (R. Fleischman), TB and virulence (G. Hatfull), Application of molecular methods to epidemiology of tuberculosis (J. Crawford), Molecular epidemiology of tuberculosis (Jan van Embden), The mycobacterial response to DNA damage (M. Colston). Keynote lectures 2. 一般演説9題。ポスター展示と議論。
 7月10日 Immunopathogenesis of TB (J. Ellner), Pathogenesis: From *M. tuberculosis*'s point of view (L. Riley), Physiologic and molecular approaches to *in vitro* shutdown of *M. tuberculosis* to nonreplicating persistence (L. Wayne). Keynote lectures 2. 一般演説13題。ポスター展示と議論。
 7月11日 Role of CTL in tuberculosis (R. Modlin), Prospects for TB vaccine development (D. Young), The diagnostic dilemma: TB or not TB? (T. Schnnick), TB antibiotic therapies in clinical trials (C. Stover). 一般演説17題。ポスター展示と議論。
 7月12日 Drug resistance genes: Time for a body count (A. Telenti), The cell wall of *M. tuberculosis* and its relevance to disease pathogenesis and new drug discovery (P. Brennan), Progress towards novel therapies for TB (K. Duncan). 一般演説13題。バーベキューパーティー。
-

nitroimidazopyran という新しい抗結核薬を見つけた。なかなか有望な薬物と思われる。Isoniazid の作用機構に関して Barry と Sacchettini の論争は聞き応えがあった。Isoniazid を阻害する機構は2つあり、*kat G*, *inh A* が関係するらしい。阻害機構が完全に明らかになっているかと思っただけに、予想外であった。その他 ethionamide, 5-chloropyrazinamide, fluoroquinolone, cycloserine 耐性の仕事が発表された。(5日目) Colston は calixarene macrocyclon が結核菌の増殖を *in vivo* で抑制しサイトカイン活性を上げないことを報告した。さらに興味ある方は菅原まで連絡ください。詳細をお知らせできる: e-mail: sugawara@jata.or.jp.