

# 肺結核症における化学療法に関する 臨床的並びに実験的研究

## 第四編

### 薬剤耐性結核菌の毒力 (Virulence) に関する 実験的並びに臨床統計的研究 一二重耐性結核菌の毒力について一

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

沼 田 尚 典

〔昭和 34 年 5 月 13 日受稿〕

## 内 容 目 次

第1章 緒 言	第2項 実験成績
第2章 試験管内で分離した二重耐性結核菌の 毒力	第2節 患者より分離した所謂二重耐性菌の 毒力
第1節 実験方法	第1項 実験方法
第2節 実験成績	第2項 実験成績
第1項 SM+INH 二重耐性結核菌	第3節 小 括
第2項 PAS+INH 二重耐性結核菌	第4章 二重耐性結核菌の毒力とカタラーゼ活 性
第3節 小 括	第5章 臨床統計的観察
第3章 患者の所謂二重耐性株より二重耐性菌 の分離並びにその毒力	第6章 総括並びに考按
第1節 患者の所謂二重耐性株より二重耐性 菌の分離	第7章 結 論
第1項 実験方法	附. 全編の総括
第1章 緒 言	第三編及び第四編の主要参考文献

SM 発見以来相次いで多くの抗結核剤が登場し、結核症に対する化学療法は著しい進歩を遂げるに至つた。併し複雑な病理学的現象を伴つて、慢性の経過をたどる結核症において、これらの化学療法剤は未だ治療の全域を担当し完全なる治癒を期待するまでには至つていない。近時結核症に対する化学療法は“長期併用”により強力に行う事が常識化されている所以も、実にこの臨床的特性に基くものであるが、一方これに伴つて所謂二重乃至三重耐性の問題が新たに浮び上り、耐性問題は更にその深刻の度を加えて来るに至つた。事実、小川<sup>13</sup> や北本<sup>19</sup> 等の統計をみても逐年的に二者或いは三者の薬剤に耐性

を示すものが増加しており、特に INH を含む二重及び三重耐性が漸次増加の傾向にある事は、今日の結核治療の趨勢よりして当然の事であろう。

併しながらこの二重、三重耐性に関する報告は極めて少く、僅かに臨床的観察が報告されているに過ぎず<sup>18)19)20)23)27)28)</sup>、二重乃至三重耐性結核菌の性状、就中その毒力については全く報告が無く、未だ知見を得るに至つていない現状である。

又通常臨床的に行つてゐる耐性測定法で、ある菌株が SM, INH, PAS の二者又は三者に耐性を示した場合 (即ち広義の所謂二重～三重耐性)，それはその菌株中のある菌は SM に、ある菌は INH に、又ある菌は PAS に夫々単独に、二者又は三者に耐性を示している場合 (即ち二者～三者耐性) と、菌

株中の個々の菌が二者又は三者に重複して耐性を獲得している場合（即ち真の二重～三重耐性）とがある筈であり、実際的にはこの二者～三者耐性菌と真の二重～三重耐性菌が種々の割合で混在しているものと考えられるが、従来の耐性測定法を以てしては真の二重～三重耐性菌の存在を確かめる事は全く不可能である。

併し患者喀痰の所謂二重～三重耐性株の中に、真の二重～三重耐性菌がどの程度含まれているかを明確に知る事は、直接爾後の化学療法の効果にも関連する重要な問題であり、北本等<sup>19)</sup>は真の重複耐性菌を含まぬ場合もかなりあると述べているが、慎重に検討を要する問題である。

私は先に SM, INH, PAS の各薬剤耐性結核菌の毒力について、モルモットによる実験を行い、報告した<sup>15)</sup>ところであるが、更に二重耐性結核菌の毒力について同様の実験を行い、又患者より分離した所謂二重耐性株の中に、真の二重耐性菌がいかほど含まれているかについて交叉培養試験を創意して検討し、数々の新知見を得る事が出来た。

更に又、所謂二重～三重耐性例における臨床経過と、化学療法の効果について臨床統計的に観察し、動物実験及び試験管内実験の成績を併せ検討する事により、今日最も解決困難な命題とされている人体内における毒力、ひいてはその予後、治療といった問題について臨床医学的に考察を加えんとした。

## 第2章 試験管内で分離した二重耐性結核菌の毒力

### 第1節 実験方法

前編の実験に供使し、その毒力を確定した Population 均一なる  $H_{37}Rv \cdot R$  - SM 100 $\gamma$ /cc 及び  $H_{37}Rv \cdot R$  - PAS 10 $\gamma$ /cc の菌株を INH 1 $\gamma$ /cc 及び 10 $\gamma$ /cc を含む小川培地に継代培養し、完全なる  $H_{37}Rv \cdot R$  -

第1表 実験方法

#### 使用菌株

対照(感性菌)  $H_{37}Rv$

二重耐性菌  $H_{37}Rv \cdot R$  - (SM 100 $\gamma$  + INH 1 $\gamma$ )  
 $H_{37}Rv \cdot R$  - (SM 100 $\gamma$  + INH 10 $\gamma$ )  
 $H_{37}Rv \cdot R$  - (PAS 10 $\gamma$  + INH 1 $\gamma$ )  
 $H_{37}Rv \cdot R$  - (PAS 10 $\gamma$  + INH 10 $\gamma$ )

#### 実験動物

モルモット

#### 接種菌量

0.1mg, 1.0mg, 5.0mg

#### 接種方法

下腹部皮下注入

接種 8 週間後

第2表 剖検所見判定法

#### I. 接種局所所見

潰瘍形成 ..... (G)  
 滋瘍形成 ..... (A)  
 瘢痕形成 ..... (N)

#### II. 淋巴腺所見

腫脹の無いもの ..... (-)  
 米粒大腫脹 ..... (+)  
 小豆大 " ..... (++)  
 豌豆大 " ..... (+++)  
 それ以上の腫脹 ..... (++++)

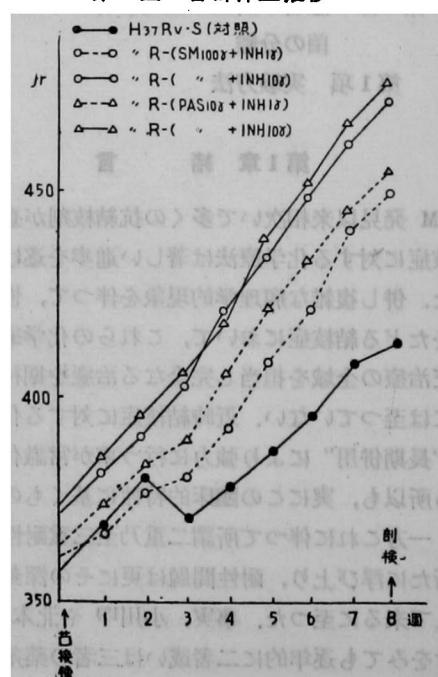
#### III. 内臓臓器所見

結核結節を認めないもの ..... (-)  
 結核結節 10ヶ以下 ..... (+)  
 " 10~20ヶ ..... (++)  
 " 20ヶ以上 ..... (+++)  
 " 極めて多数 ..... (++++)

(SM 100 $\gamma$ /cc + INH 1 $\gamma$ /cc),  $H_{37}Rv \cdot R$  - (SM 100 $\gamma$ /cc + INH 10 $\gamma$ /cc) 及び  $H_{37}Rv \cdot R$  - (PAS 10 $\gamma$ /cc + INH 1 $\gamma$ /cc),  $H_{37}Rv \cdot R$  - (PAS 10 $\gamma$ /cc + INH 10 $\gamma$ /cc) の各二重耐性菌を分離し実験に供した。

夫々 3 週間培養して得た発育旺盛なる菌を秤量し、水晶球入りコルベン用い手振法により、蒸溜水を以て均等なる菌浮遊液を作り、菌 1 mg 及び 5 mg を 0.1 cc に含めて調製後直ちに動物に接種し、同時に薬剤感受性を検査した。

第1図 各群体重推移



実験動物は 350~400 g の成熟健康モルモットを用い、予め Römer の法で「ツ」反応陰性を確かめた後、上記菌液を夫々右下腹部皮下に注入接種した。接種後 3~4 週目に「ツ」反応の陽性転化した事を確かめ、8 週間放置後全例を屠殺剖検した。なお経過中常に体重測定、接種局所及び局所淋巴巴腺の変化を観察した。

剖検動物については菌接種局所、各淋巴巴群、内臓々器の肉眼的病変を観察し、脾の重量を測定し、同時に脾より結核菌定量培養を小川の方法<sup>10)11)</sup>に準じて行い、又耐性菌接種群については分離菌の耐

性検査を行つた。実験方法の概略及び剖検所見の判定法は夫々第1表及び第2表に示す通りである。

## 第2節 実験成績

### 第1項 SM+INH 二重耐性結核菌

1) 体重の変化： R-(SM+INH) 株接種群は順調な体重の増加を示し、第1図の如く対照の感性菌群との間に明らかな差が認められた。

2) 菌接種局所の変化： 第3表に示す如く、R-(SM100γ/cc+INH 1γ/cc) 及び R-(SM 100γ/cc+INH 10γ/cc) 群は共に 1 mg 接種群では菌接種後 7 日目頃に僅かに小硬結を触知するが、漸次時日

第3表 各群接種局所の変化

接種菌株及菌量	接種後日数	7日	14日	20日	30日	45日	56日
H <sub>37</sub> Rv・S (対照)		I	P	A	G	G	G
〃・R-(SM 100γ+INH 1γ) 1mg		I	(I)	(I)	(I)	(I)	(I)
〃・R-( " ) 5mg		I	I	I. P.	(P. A)	(A)	(A)
〃・R-(SM 100γ+INH 10γ) 1mg		I	(I)	(I)	(I)	(I)	(I)
〃・R-( " ) 5mg		I	I	(I. P)	(P. A)	(P. A)	(A)
〃・R-(PAS 10γ+INH 1γ) 1mg		I	I	I. P.	(P. A)	(P. A)	(A)
〃・R-( " ) 5mg		I	I	I. P.	(P. A)	(A)	(A)
〃・R-(PAS 10γ+INH 10γ) 1mg		I	(I)	(I)	(I)	(I)	(I)
〃・R-( " ) 5mg		I	I	(I)	(I)	(I)	(I)

注： I：硬結， P：丘疹， A：膿瘍， G：潰瘍

( ) はその変化の軽微なる事を示す。

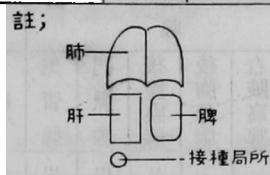
第4表 各種単剤耐性菌接種群の剖検所見

接種菌株	動物番号	接種菌量	接種局所	淋 巴 腺								内 脏						
				左膝 髄腺	左 鼠蹊腺	右 膝髄腺	右 鼠蹊腺	左 腋窩腺	右 腋窩腺	後 胸骨腺	後 腹膜腺	門 脈腺	氣 管 腺	肺	肝	脾	脾の重量	腎
H <sub>37</sub> Rv S (対照)	1	0.1 mg	G	-	-	++	+	-	-	+	++	++	++	++	++	++	2.0	-
	2		G	-	-	++	+	-	-	+	+	+	+	++	+	+	1.1	-
	3		G	-	-	++	++	-	-	+	+	++	++	++	++	++	1.6	-
	4		G	+	-	++	+	-	-	+	++	++	++	++	++	++	2.5	-
	5		G	-	-	++	+	-	+	+	++	++	++	++	++	++	2.8	-
H <sub>37</sub> Rv R SM 100γ	24	0.1 mg	G	-	-	++	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.8	-
	25		A	-	-	++	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	1.0	-
	26		G	+	-	++	+	-	-	+	++	++	++	++	++	++	1.5	-
H <sub>37</sub> Rv R INH 10γ	27	0.1 mg	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-
	28		N	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-
	29		N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-
H <sub>37</sub> Rv R PAS 10γ	30	0.1 mg	A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-
	31		A	-	-	++	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	0.7	-
	32		A	+	-	++	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	0.8	-

第2図 各種単剤耐性菌接種群の剖検所見

H <sub>37</sub> Rv S (对照)	苔量	0.1 mg			
		剖検所見			
		脾重量			
		定量培養			
H <sub>37</sub> Rv R I SM 100 $\gamma$	苔量	0.1 mg			
		剖検所見			
		脾重量			
		定量培養			
H <sub>37</sub> Rv R I INH 10 $\gamma$	苔量	0.1 mg			
		剖検所見			
		脾重量			
		定量培養			
H <sub>37</sub> Rv R I PAS 10 $\gamma$	苔量	0.1 mg			
		剖検所見			
		脾重量			
		定量培養			

註；



■ 極めて多数の結節及び高度びまん性変化  
 ▨ 多数の結節  
 □ 散在する結節性変化  
 □ 結節を認めない

の経過と共に縮小し、剖検時には殆んど認める事が出来なくなつた。5 mg 接種群では共に20日目頃より丘疹を生じ、これが30日目頃より漸次膿瘍となり、剖検時には全例に小膿瘍の形成をみた。何れも感性菌群の如く潰瘍を形成するものは1例も認められなかつた。

3) 局所淋巴巴腺の触診： R-(SM 100 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc) 群では米粒大～小豆大の腫脹を認め、その程度は1 mg 接種群より5 mg 接種群に強い傾向を示した。R-(SM 100 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc) 群では1例にのみ米粒大腫脹を認めるにすぎなかつた。

4) 剖検所見： 第5表及び第3図に示す如く、R-(SM 100 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc) 群では局所淋巴巴腺

の米粒大～小豆大腫脹の他、5 mg 接種群の少數に右鼠蹊腺及び後腹膜腺の米粒大腫脹を認め、1例に少数の結核結節を脾臓に認めるに過ぎず、顕著に毒力が低下している所見を得た。

R-(SM 100 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc) 群に至つては1例に局所淋巴巴腺の米粒大腫脅を認めるのみで、1 mg 接種群も5 mg 接種群も共に各淋巴巴腺、内臓々器に全く変化無く、極めて顕著な毒力の低下を示した。

5) 臓器定量培養成績及び耐性検査成績： 第6表に示した如く、脾臓よりの定量培養において R-(SM 100 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc) 群の1例にのみ少數

第5表 SM+INH 二重耐性結核菌 (H<sub>37</sub>Rv) 接種群の剖検所見

接種菌株	動物番号	接種菌量	接種局所	淋 巴 腺										内臓				
				左膝脛腺	左鼠蹊腺	右膝脛腺	右鼠蹊腺	左腋窩腺	右腋窩腺	後胸骨腺	後腹膜腺	門脈腺	気管腺	肺	肝	脾	脾の重量	腎
H <sub>37</sub> Rv • S (対照)	1	0.1 mg	G	—	—	++	+	—	—	—	++	++	++	++	++	++	2.0	—
	2		G	—	—	++	+	—	—	—	+	+	+	++	++	++	1.1	—
	3		G	—	—	++	+	—	—	+	+	++	++	++	++	++	1.6	—
	4		G	+	—	++	+	—	—	+	++	++	++	++	++	++	2.5	—
	5		G	—	—	++	+	—	+	+	++	++	++	++	++	++	2.8	—
H <sub>37</sub> Rv • R	48	1.0 mg	N	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6	—
	49		N	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7	—
	50		N	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.0	—
	51		N	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.8	—
SM 1007 + INH 1γ	52	5.0 mg	A	—	—	++	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	0.9	—
	53		A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	—
	54		A	—	—	++	+	—	—	—	+	—	—	—	—	+	0.7	—
	55		A	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7	—
	56		A	—	—	++	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	0.7	—
H <sub>37</sub> Rv • R	72	1.0 mg	N	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	—
	73		N	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6	—
	74		N	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6	—
	75		N	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	—
SM 1007 + INH 10γ	76	5.0 mg	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	—
	77		A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4	—
	78		A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4	—
	79		A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	—
	80		A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	—

のコロニーの発育をみたに過ぎない。又脾臓及び接種局所より分離したコロニーについて耐性検査を行つた結果接種菌の耐性度を維持しており、動物を1代通過しても安定であつた。

## 第2項 PAS+INH 二重耐性結核菌

1) 体重の変化: R-(PAS+INH) 群の体重増加曲線を第1図によりみると、すべて順調なカーブをえがいて増加しており、対照の感性菌群と比べ明らかな差を示している。

2) 菌接種局所の変化: 第3表に示す如く、R-(PAS 10γ/cc+INH 1γ/cc) 群では 1 mg 接種群も 5 mg 接種群も共に20日目頃より丘疹を生じ、30~45日目頃にこれが漸次膿瘍化し、剖検時には全例に小膿瘍の形成をみた。R-(PAS 10γ/cc+INH 10γ/cc) 群では7日目頃にみられた小硬結は漸次縮小し、接種菌量の如何にかかわらず、剖検時には殆ん

ど触知する事が出来なくなつた。

3) 局所淋巴腺の触診: R-(PAS 10γ/cc+INH 1γ/cc) 群では局所淋巴腺の米粒大~小豆大腫脹を認めるものがかなりあつたが、R-(PAS 10γ/cc+INH 10γ/cc) 群では、 1 mg 接種群においても 5 mg 接種群においても共に局所淋巴腺の腫脹を認めるものは1例も無かつた。

4) 剖検所見: 第7表及び第4図により明らかに如く、R-(PAS 10γ/cc+INH 1γ/cc) 群では局所淋巴腺の軽度腫脹の他、少數例に後腹膜腺及び門脈腺の米粒大~小豆大腫脹を認めるに過ぎず、内臓々器には全く所見が得られなかつた。

又 R-(PAS 10γ/cc+INH 10γ/cc) 群では接種局所も瘢痕化し、局所淋巴腺を初め各淋巴腺群、内臓々器に全く所見無く、毒力が消失している成績を示した。

第3図 SM+INH 二重耐性結核菌 ( $H_37Rv$ ) 接種群の剖検所見

$H_37Rv$ S (対照)	苔量	0.1 mg				
	剖 検 所 見					
	脾重量	2.0	1.1	1.6	2.5	2.8
$H_37Rv$ R I SM100 $\gamma$ + INH10 $\gamma$	苔量	1.0 mg				
	剖 検 所 見					
	脾重量	0.6	0.7	1.0	0.8	
$H_37Rv$ R I SMH100 $\gamma$ + INH100 $\gamma$	苔量	5.0 mg				
	剖 検 所 見					
	脾重量	0.9	0.5	0.7	0.7	0.7
$H_37Rv$ R I SMH100 $\gamma$ + INH100 $\gamma$	苔量	1.0 mg				
	剖 検 所 見					
	脾重量	0.3	0.6	0.6	0.3	
$H_37Rv$ R I SMH100 $\gamma$ + INH100 $\gamma$	苔量	5.0 mg				
	剖 検 所 見					
	脾重量	0.3	0.4	0.4	0.5	0.3
	定量培養	—	—	—	—	—

## 5) 臨器定量培養成績及び耐性検査成績 第8

表に示した如く、脾臓よりの定量培養において2例にコロニーの発育をみたが、その数は極めて少く、又 R-(PAS 10 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc) 群では全例陰性の成績を得た。又脾臓及び接種局所より分離したコロニーについて耐性検査を行つた結果、R-(PAS 10 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc), (PAS 1 $\gamma$ /cc+INH 0.5 $\gamma$ /cc) と夫々耐性度が低下しているものが1例宛みられた。

## 第3節 小 括

以上の成績を通覧するに、前編の毒力実験において、第4表及び第2図の如き強毒を示した  $H_37Rv$ ·R-SM 株の菌を INH に接触せしめ、試験管内で R-(SM+INH) 二重耐性菌を分離すると、その毒力は前述の如く極めて顕著に低下しており、 $H_37Rv$ ·R-PAS についても、前編の実験により第4表及び第2図の如く、毒力が低下しているとはいえ、なお且つある程度の毒力を示している菌が、INH と接触して R-(PAS+INH) 二重耐性菌となると、更

第 6 表 脾臓定量培養及耐性検査成績 (SM+INH 二重耐性菌)

接種菌株	動 物 番 号	脾臓定 量培養	耐 性 検 査					摘 要	
			薬 剤	0.5γ/cc	1γ/cc	10γ/cc	100γ/cc		
H <sub>37</sub> Rv・S (対照)	1～5	卅～卅	S M INH PAS	すべて感性					
H <sub>37</sub> Rv R SM 100γ + INH 1γ	48	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	脾より	
	49	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	50	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	51	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	52	0	S M INH	/ +	+ 13	+ 0	+ /	接種局所より	
	53	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	脾より	
	54	11	S M INH	/ 14	9 3	11 0	8 /	脾より	
	55	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	56	0	S M INH	/ 11	21 2	24 0	21 /	接種局所より	
H <sub>37</sub> Rv R SM 100γ + INH 10γ	72	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	脾より	
	73	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	74	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	75	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	76	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	77	0	S M INH	/ 5	3 1	8 2	6 /	接種局所より	
	78	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	脾より	
	79	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	
	80	0	S M INH	/ 0	0 0	0 0	0 /	"	

に毒力が顕著に低下乃至消失しており、その程度は  
何れも H<sub>37</sub>Rv・R-INH のそれによく匹敵している  
事からして、INH を含む二重耐性菌の毒力は、  
INH の毒力が前景に現われてこれを支配している

ものと考えられ、注目すべき知見と云うべきである。

第 7 表 PAS+INH 二重耐性結核菌 ( $H_37Rv$ ) 接種群の剖検所見

第4図 PAS+INH二重耐性結核菌 ( $H_{37}Rv$ ) 接種群の剖検所見

	苔量	0.1 mg				
		剖 檢 所 見				
<i>H37Rv</i> S (对照)	剖 檢 所 見					
	脾重量	2.0	1.1	1.6	2.5	2.8
<i>H37Rv</i> R PAS 10 $\delta$ + INH 10 $\delta$	苔量	1.0 mg				
	剖 檢 所 見					
<i>H37Rv</i> R PAS 10 $\delta$ + INH 10 $\delta$	脾重量	0.3	0.3	0.6	0.4	0.4
	定量培養	—	—	9	—	4
<i>H37Rv</i> R PAS 10 $\delta$ + INH 10 $\delta$	苔量	1.0 mg				
	剖 檢 所 見					
<i>H37Rv</i> R PAS 10 $\delta$ + INH 10 $\delta$	脾重量	0.5	0.3	0.3	0.3	0.4
	定量培養	—	—	—	—	—

第8表 脾臓定量培養及耐性検査成績  
(PAS+INH 二重耐性菌)

接種菌株	動物番号	脾量 臓培定養	耐性検査						摘要
			薬剤	0.5 γ/cc	1 γ/cc	10 γ/cc	100 γ/cc		
H <sub>37</sub> Rv S (対照)	1	++	SM						
	2	++	INH						すべて感性
	3	++							
	4	++	PAS						
	5	++							
H <sub>37</sub> Rv R PAS 10 <sup>7</sup> + INH 10 <sup>7</sup>	36	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	脾より
	37	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"
	38	9	PAS INH	/8	5 1	0	0	/	"
	39	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"
	40	0	PAS INH	/17	3 0	0	0	/	接種局所より
	41	4	PAS INH	/5	1 0	0	0	/	脾より
	42	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"
H <sub>37</sub> Rv R PAS 10 <sup>7</sup> + INH 10 <sup>7</sup>	43	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"
	44	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"
	45	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"
	46	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"
	47	0	PAS INH	/0	0	0	0	/	"

### 第3章 患者の所謂二重耐性株より二重耐性菌の分離並びにその毒力

#### 第1節 患者の所謂二重耐性株より二重耐性菌の分離

通常臨床検査として行つてゐる耐性測定法で SM, INH, PAS の二者又は三者に耐性を示した場合, その菌株中には (1) 感性菌 (sensitive-bacilli), (2) SM のみに耐性の菌, (3) INHのみに耐性の菌, (4) PAS のみに耐性の菌 (即ち single resistant-bacilli) 及び (5) SM+INH に耐性の菌, (6) PAS

+INH に耐性の菌, (7) SM+PAS に耐性の菌 (即ち真の二重耐性菌, double resistant-bacilli) 或いは (8) SM+INH+PAS に耐性の菌 (真の三重耐性菌, triple resistant bacilli) が種々の割合で混在している可能性が考えられる。

従つて従来の耐性測定法を以てしては, 異つた薬剤に対する夫々の single resistant が二種又は三種存在している場合 (即ち二者~三者耐性) と個々の菌が二種又は三種の薬剤に対して二重又は三重に重複して耐性を担つてゐる場合 (即ち真の二重~三重耐性) とを明確に判別する事は全く不可能である。

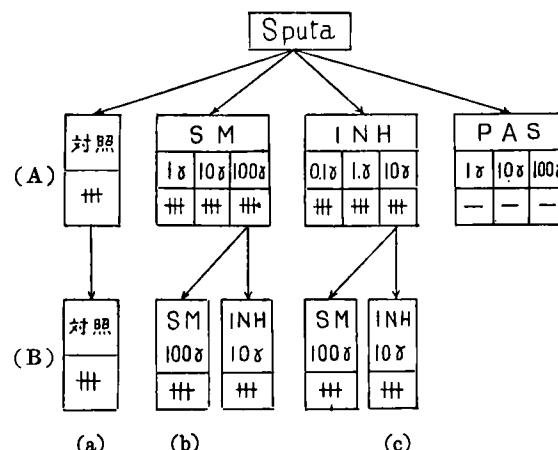
併し, 結核治療の面からみると, 前者即ち二者~三者耐性の場合には, まだ化学療法によりその効果を期待する事が出来るであろうし, 後者の如く真の二重~三重耐性を獲得している場合は化学療法の効果を左程期待する事はもはや困難であり, 従つて患者の所謂二重耐性株の中に果してどの程度真の二重~三重耐性菌が含まれているかを検討する事は, 臨床上極めて重要な問題である。

かかる観点より, 私は交叉培養試験を創意し, この問題を解明すべく次の如き実験を行つた。

#### 第1項 実験方法

実験の方法を患者より分離した浦上株に例をとつてみると, 第5図に示す如くである。即ち, 咳痰を

#### 第5図 患者の所謂二重耐性株より二重耐性菌の分離



一般臨床検査として行つてゐる耐性測定法により第5図 (A) の如く, 対照培地及び SM, INH, PAS の各系列耐性培地 (3% 小川培地) に培養し, 5週間後 SM 100γ/cc, INH 10γ/cc の所謂二重完全耐性の菌株を分離した。これを更に第5図 (B) の如く, SM 100γ/cc 培地上に生えたコロニーを

INH 10 $\gamma$ /cc を含む培地にうえ、同様 INH 10 $\gamma$ /cc 培地上のコロニーを SM 100 $\gamma$ /cc を含む培地にうえ（即ち私の言う交叉培養試験）、その発育の程度を対照培地のそれと比較し、所謂二重耐性株の中にも含まれている真の二重耐性菌の割合について検討した。

## 第2項 実験成績

実験に供使した菌株は9例で、これを耐性別に分類すると (SM + INH) 5例、(SM + PAS) 3例、(PAS + INH) 1例である。

これらの菌株について前記の如く夫々交叉培養試験を行った結果、9例とも第5図 (B) に例示した如く、対照と同程度或いはこれに近い程度にコロニーの発育をみた。

即ち、通常臨床検査として行っている耐性測定法即ち SM, INH, PAS の各単剤を含む系列耐性培地に喀痰を培養し、その二者（又は三者）に菌が発育し、所謂二重（又は三重）耐性と判定された場合、その菌株の中には真の二重（或いは三重）耐性菌が、かなり高率に含まれている事を示唆するものであり、臨床注目すべきである。

### 第2節 患者より分離した所謂二重耐性菌の毒力

患者より分離した所謂 SM+INH 二重耐性株の毒力が、前述の試験管内で分離した H<sub>37</sub>Rv・R-(SM+INH) 株のそれの如く、果して低下しているか否かは臨床上極めて興味ある問題である。又若し毒力が低下しているならば、その毒力低下の現象を指標として、前節で述べた交叉培養試験の結果をよ

り明確に究明する事が出来るであろう。

私はかかる目的を以て次の如き動物実験を行つた。

### 第1項 実験方法

本実験に供試した菌株は患者より分離した (SM 100 $\gamma$ /cc + INH 10 $\gamma$ /cc) 二重耐性浦上株である。第5図の如く4週間培養後得た対照培地上の菌 (a) 及び SM 100 $\gamma$ /cc 培地上の菌 (b), 並びに INH 10 $\gamma$ /cc 培地上の菌 (c) を夫々蒸溜水を以て均等なる菌浮遊液とし、菌 1.0 mg を 0.5 cc に含めてモルモットの右下腹部皮下に接種し、第2章で述べたと同じ方法により実験を行い観察した。

### 第2項 実験成績

第9表及び第6図に示す如く、各群とも接種局所は小膿瘍を形成し、所属淋巴腺も小豆大～豌豆大腫脹を示した。対照培地上の菌接種群では更に後腹膜腺、後胸骨腺も軽度の腫脹を認め、内臓々器にも少數ながら全例に結核結節の散在を認めたが、脾臓の腫脹は殆んど無く、その重量もほぼ正常範囲にとどまっていた。又 SM 100 $\gamma$ /cc 培地上の菌接種群及び INH 10 $\gamma$ /cc 培地上の菌接種群では共に各淋巴腺の腫脹は更に軽微で、内臓々器の結核結節も半数に認めたのみで、脾重量はすべて正常値を示した。

即ち、患者より分離した (SM 100 $\gamma$ /cc + INH 10 $\gamma$ /cc) 二重耐性菌の毒力は、かなり著しい低下を示しており、対照培地上の菌には感性菌の混在が当然考えられるので別としても、SM 100 $\gamma$ /cc 培地上の菌接種群の毒力は INH 10 $\gamma$ /cc 培地上の菌接種群のそれと全く同程度の毒力を示し、何れも明らかに低下している所見を得る事が出来た。

第9表 患者の所謂二重耐性株より分離した二重耐性菌接種群の剖検所見

接種菌株	動物番号	接種カ量及セ	接種局所	淋 巴 腺										内 脏				
				左膝髄腺	左鼠蹊腺	右膝髄腺	右鼠蹊腺	左腋窩腺	右腋窩腺	後胸骨腺	後腹膜腺	門脈腺	気管腺	肺	肝	脾	脾の重量	腎
浦上株	対照培地上の菌	90 91 (±) 92	1.0mg A A A	— — — —	— — — —	卅 卅 卅 卅	卅 卅 卅 卅	— — — —	— — — —	+	+	+	—	+	+	+	0.9 0.7 0.6 —	
	SM 100 $\gamma$ /cc 培地上の菌	93 94 (—) 95	1.0mg A A A	— — — —	— — — —	卅 卅 卅 卅	卅 卅 卅 卅	— — — —	0.4 0.5 0.6 —									
	INH 10 $\gamma$ /cc 培地上の菌	96 97 (—) 98	1.0mg A A A	— — — —	— — — —	卅 卅 卅 卅	卅 卅 卅 卅	— — — —	0.4 0.4 0.5 —									

## 第3節 小括

以上の実験により明らかな如く、患者より分離した所謂 SM+INH 二重耐性菌の毒力は  $H_37Rv \cdot R$ -(SM+INH) 株のそれの如く（第5表及び第3図参照）顕著な毒力の低下はみられないが、感性菌株のそれ（第4表及び第2図参照）に比べ、かなり著しい毒力の低下を示している。而して SM 培地上の菌も INH 培地上の菌と同様毒力低下をみている事から、本実験における毒力低下の主体は、その菌株中の真の SM+INH 二重耐性菌に基くものと考えられ、換言すれば  $H_37Rv \cdot R$ -(SM+INH) 株のそれと同様、INH の毒力により支配表現されているものと考えられ、前述の交叉培養試験における成績、即ち所謂二重耐性株の中には真の二重耐性菌が高率に含まれている事を動物実験的に裏書きするものと考えられる。

## 第4章 二重耐性結核菌の毒力とカタラーゼ活性

局方  $H_2O$  液の1滴をスライドグラス上に置き、これに菌塊を加え、泡沫が2分以内に発生するものを陽性とし（発泡の程度により更に（+）、（++）、（+++）に分けた）、発生しないものを陰性とした。

その結果は第10表に示す如く、「カ」強陽性の  $H_37Rv \cdot R$ -SM 及び R-PAS の菌株を試験管内で INH に接触せしめ、完全なる二重耐性菌 SM+INH 及び PAS+INH を分離し、「カ」活性をみると著しく減弱乃至消失しており、その程度は INH の耐性度によく一致し（SM 100 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc）、（PAS 10 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc）では弱陽性を示し（SM 100 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc）、（PAS 10 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc）では陰性を示した。

又「カ」活性とモルモットに対する毒力との関係をみると、「カ」弱陽性の（SM 100 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc）及び（PAS 10 $\gamma$ /cc+INH 1 $\gamma$ /cc）では共に毒力が著しく減弱しており、「カ」陰性の（SM 100 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc）及び（PAS 10 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc）では毒力が殆んど消失しており、「カ」活性と毒力との間に一定の相関性を示した。

第6図 患者の所謂二重耐性株より分離した二重耐性菌接種群の剖検所見

浦上株	対照 培地上 の 菌	苔 量	1.0 mg		
			剖 檢 所 見	肺	脾
		脾重量	0.9	0.7	0.6
SM100 $\gamma$ + INH10 $\gamma$	SM100 $\gamma$ 培地上 の 菌	苔 量	1.0 mg		
		剖 檢 所 見	肺	脾	脾
		脾重量	0.4	0.5	0.6
INH10 $\gamma$	INH10 $\gamma$ 培地上 の 菌	苔 量	1.0 mg		
		剖 檢 所 見	肺	脾	脾
		脾重量	0.4	0.4	0.5

第10表 二重耐性菌の Virulence と Catalase活性

菌 ( $H_37Rv$ )	株	カ タ ラ ゼ	動 物 例 数	モルモットに 對 する Virulence			
				++	+	+	±
S M	10 $\gamma$	++	3	3	—	—	—
	100 $\gamma$	++	3	3	—	—	—
INH	1 $\gamma$	+	3	—	—	—	1 2
	10 $\gamma$	—	3	—	—	—	3
PAS	10 $\gamma$	++	3	—	1	1	1
	100 $\gamma$	++	3	—	1	1	1
SM 100 $\gamma$ + INH 1 $\gamma$		+	9	—	—	1	2 6
SM 100 $\gamma$ + INH10 $\gamma$		—	9	—	—	—	9
PAS 10 $\gamma$ + INH 1 $\gamma$		+	6	—	—	—	2 4
PAS 10 $\gamma$ + INH10 $\gamma$		—	6	—	—	—	6
SM 100 $\gamma$ + PAS10 $\gamma$		++					

患者より分離した（SM 100 $\gamma$ /cc+INH 10 $\gamma$ /cc）二重耐性菌も亦  $H_37Rv$  株におけると同様「カ」活性は陰性を示し、毒力との間に一定の関係を認める事が出来た。

要するに INH を含む二重耐性菌の「カ」活性は INH 耐性菌の性状により支配され、毒力との間に密接な相関性があるという事が出来る。

## 第5章 臨床統計的観察

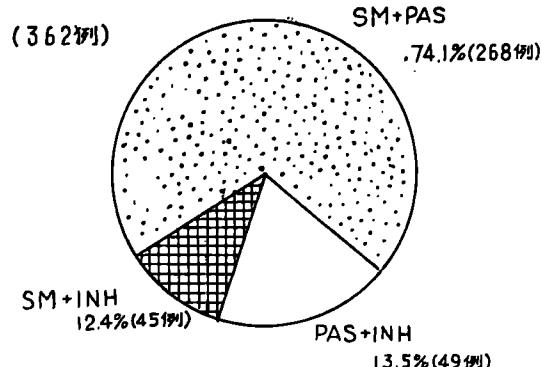
SM, INH, PAS の二者又は三者に耐性を示した者の臨床経過を観察し、これに対する化学療法の効果を検討する事により、人体内における毒力の一端をうかがうべく、国立岡山療養所を初めとする教室関係病院より耐性例を集計し、臨床統計的に考察を加えた。

集計した耐性例は1,024例で、これを SM 10 $\gamma$ /cc, PAS 1 $\gamma$ /cc, INH 1 $\gamma$ /cc の各々不完全耐性以上を以て耐性ありとすれば、第11表に示す如く、二重耐性は35.3% (362例) であり、三重耐性は21.0% (214例) である。二重耐性例を更に各耐性別に分類すると第7図の如く、SM+PAS 二重耐性が最も多く74.1%を占め、PAS+INH, SM+INH は夫々 13.5%, 12.4%を占めている。

第11表 耐性獲得例の分類

耐性	例数	百分率	薬剤	例数	百分率
単 独	448	43.7	SM	183	40.8
			INH	47	10.6
			PAS	218	48.6
二 重	362	35.3	S. P.	268	74.1
			S. H.	45	12.4
			P. H.	49	13.5
三 重	214	21.0	註. SM-10 $\gamma$ /cc 以上 INH > 1 $\gamma$ /cc 以上 PAS > 1 $\gamma$ /cc 以上		
計	1024	100.0			

第7図 二重耐性例の分類



先づ 208 例の耐性例について耐性獲得後の臨床経過をみると第12表及び第8図の如く、SM+INH, SM+PAS の各二重耐性では好転例が約半数にみられ、SM 単独耐性に比べ遙かにその症状推移が良好である。

第12表 各耐性別にみた耐性獲得後の臨床経過

耐性別	例数	臨床経過		
		増悪	不变	好転
単	SM	33 (36)	12 (36)	12 (28)
	INH	31 (29)	9 (29)	13 (42)
	PAS	46 (26)	12 (37)	17 (37)
二	SM+INH	14 (35)	5 (15)	2 (50)
	SM+PAS	41 (12)	5 (48)	16 (40)
	INH+PAS	24 (33)	8 (37)	9 (30)
三重	SM+PAS+INH	19 (42)	8 (42)	7 (36)

( ) 内は%を示す

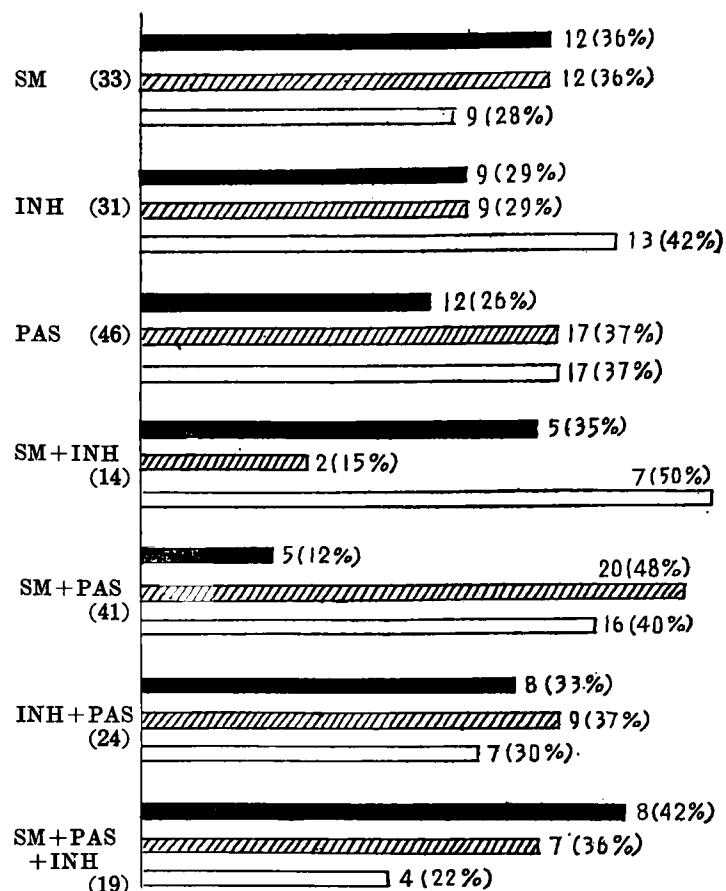
この事はさきの交叉培養試験及び動物実験の成績の如く、その菌株中に高率に含まれている真の二重耐性菌の毒力低下に基くものと考えられ、従つて人体内においても真の二重耐性菌の毒力は、或る程度低下している事を推定せしむるものであり、臨床上興味深い事である。

これに対し、三重耐性では症状が固定乃至悪化するものが大部分を占めているが、これは結核症そのものの病状が極めて重い症例に三重耐性がみられるという臨床的事実より当然の事であろう。

次に二重耐性者に対する化学療法の効果を、計画的に追跡し得た55例について、治療薬剤別に検討してみると第13, 14, 15表の如くである。先づ最も多い SM+PAS 二重耐性者に各種の治療を加えてみると、全般的には症状不变例が最も多いが、増悪と好転の割合を比較すると、好転例が多数を占めている。治療薬剤別に効果をみると第13表の如く、三者併用がある程度効果的であり、耐性を獲得していない異種薬剤併用の PAS+INH 療法もかなりの効果がみられ、耐性を示した同種薬剤併用の SM+PAS 投与は無効であり、又 INH 単独療法も効果が期待出来なかつた。

次に PAS+INH 二重耐性者に対する治療では、第14表の如く、同種薬剤併用の PAS+INH 投与では好転例が1例も無く、排菌増加も6例中4例にみられ、全く無効であつた。併し異種薬剤併用の

第8図 各耐性別にみた耐性獲得後の臨床経過  
 増悪 ■ 不変 ▹ 好転 □



第13表 SM+PAS 耐性者に対する各種化学療法の効果

治療薬剤	耐性 推移 例 数	症 状			菌			赤 沈			X 線 所 見						一般症状		
											空 洞			病巣の拡り					
		増 加	不 変	減 少	促 進	不 変	遅 延	拡 大	不 変	縮 小	増 大	不 変	縮 小	悪 化	不 変	好 転			
SM+PAS	上昇	1		1			1			1					1		1		
	不变																		
	低下	1	1			1			1					1				1	
PAS+INH	上昇	3	1	2	2	1			3		1	1	1			3			
	不变	8	1	6	1	1	7	1	6	1	1	6	1			7	1		
	低下	6		4	2		5	1	3	3	1	2	3			4	2		
SM+PAS+INH	上昇	1		1		1			1			1			1		1		
	不变	1		1		1			1			1			1		1		
	低下	3		2	1	2	1		2	1		1	2			2	1		
INH+TB <sub>1</sub>	不变	1		1		1			1			1			1		1		
	低下	1		1			1		1			1			1		1		
INH 及 IHMS	上昇	2	1	1	1	1			2			1	1	1		1		1	
	不变	6	1	4	1	1	5		6		1	4	1		6				
	低下	4	1	2	1	2	1	1	3		1	3		1	2	1			
計		38	6	25	7	9	25	4	2	31	5	5	23	10	2	27	9		

第14表 PAS+INH 耐性者に対する各種化学療法の効果

治療薬剤	耐性 推移	症 状	菌			赤 沈			X 線 所 見			一搬症状					
			増加	不変	減少	促進	不变	遅延	拡大	不变	縮小	増大	不变	縮小	悪化	不变	好転
			例 数														
SM+PAS	低 下	2		1	1			2		2			1	1		1	1
PAS+INH	上 升	2	1	1		1	1			2			2		1	1	
	不 变	1		1			1		1			1			1	1	
	低 下	3	3				3		3			3			2	1	
計		8	4	3	1	1	5	2	1	7		1	6	1	3	4	1

第15表 SM+INH 耐性者に対する各種化学療法の効果

治療薬剤	耐性 推移	症 状	菌			赤 沈			X 線 所 見			一搬症状					
			増加	不変	減少	促進	不变	遅延	拡大	不变	縮小	増大	不变	縮小	悪化	不变	好転
			例 数														
PAS+INH	上 升	1			1	1				1			1			1	1
INH 及 IHMS	低 下	3		2	1		3			3			3			2	1
	上 升	0															
	不 变	4	1	3		2	2		1	2	1		2	2		3	1
INH 及 IHMS	低 下	1		1		1			1			1			1		
	計		9	1	6	2	4	5		2	5	2		6	3	7	2

SM+PAS投与では、少數例ながら多少の効果をみて  
いる。又 SM+INH 二重耐性者に対しても異種薬  
剤併用の PAS+INH 療法で多少の効果をみている。

以上の成績を総合して、同種並びに異種薬剤併用療法の効果を比較すると第16表の如く、同種薬剤併

第16表 二重耐性者に対する同種並びに異種合  
併療法の効果

治療 薬剤	症 状	菌			赤 沈			X 線 所 見			一搬 症 状					
		増 加	不 変	減 少	促 進	不 変	遅 延	拡 大	不 変	縮 小	增 大	不 変	縮 小	悪 化	不 変	好 転
		例 数														
同種合併	8 5 3 0 2 6 0 1 7 0 1 6 1 3 4 1															
異種合併	25 2 17 6 5 16 4 1 19 5 3 15 7 0 19 6															
計	33 7 20 6 7 22 4 2 26 5 4 21 8 3 23 7															

用では排菌の増加が多く、殆んど無効であるが、異種薬剤併用では排菌、X線所見等に好転がかなりみられており、二重耐性者に対する化学療法は耐性を獲得していない異種薬剤併用療法が明らかに優れて  
いる。

又二重耐性者に対する同種薬剤併用療法の効果は、所謂二重耐性株の中に含まれている真の二重耐性菌の割合により左右されるはずであり、その効果が殆んど見られなかつた上記の成績よりして、真の二重耐性菌がかなり高率に含まれている事を臨床的に裏書きするものと考えられ、結核治療上注意すべきである。

ともあれ、二重耐性者に対する化学療法は三者併用乃至異種薬剤併用によりある程度効果を期待する事が出来、同種薬剤併用や、単独療法では治療効果が少いという事が出来る。

## 第6章 総括並びに考按

SMに続いて抗結核剤として PAS が登場し、Temple<sup>72</sup> 等により、SM+PAS 併用療法がその効果の面からも、又耐性阻止の面からも極めて有効であると報告されて以来、結核症に対する化学療法は二者併用療法が一般の常識となり、更に INH が加わるに及んで SM+INH 併用、或いは INH+PAS 併用、更には SM+INH+PAS 三者併用療法が広く適用され、結核症に対する化学療法は益々多彩を

極めるに至つた。確かに抗結核剤を併用する事により抗菌力が相加的乃至相乗的に増強される事が、試験管内で実験されているが<sup>8)27)40)41)68)</sup>、併用の意義はむしろ耐性阻止が第一義的であり、次いで夫々作用機序が異なると考えられている抗結核剤の併用により、治療効果の向上を図ろうとするにある事はいうまでも無い。併し、米国の Public Health Service の共同研究<sup>68)</sup>や、我が国における厚生省の結核療法研究協議会の報告<sup>20)</sup>を初めとする臨床的報告をみても、投与期間が 6 ヶ月以上に亘ると排菌が陰性化しない限り、耐性菌の出現は阻止出来ず、更に長期に亘つて併用すると二者或いは三者に耐性を獲得するに至つてゐる。私の臨床的統計においても SM+PAS を筆頭に二重耐性例が 35% に、又三重耐性例が 21% にも達している事は結核治療上ゆるがせに出来ない問題である。

併しながらこの二重乃至三重耐性に関する報告は非常に乏しく、僅かに臨床的観察がみられるのみで<sup>3)13)19)20)23)27)28)</sup>、二重乃至三重耐性結核菌の毒力に関しては全くその報告が無く、未だ知見を得るに至つていない現状である。

勿論、最近 Cycloserine, Viomycin, Kanamycin 等数種の新薬の登場をみ、耐性獲得者に対する化学療法に一縷の望みをもつ事が出来るようになつたが、併し既存抗結核剤に対する耐性問題の解決こそ、当面の急務であり、従つて耐性防止のみならず、耐性獲得後の諸問題は日常結核治療に携つてゐる臨床家にとつて切実なる問題というべきであろう。

私はかかる観点より薬剤耐性結核菌の毒力に関する諸問題は直接臨床にかかわる重要な問題であると考え、先に SM, INH, PAS の各薬剤耐性菌の毒力に関する一連の動物実験を行い、SM 耐性菌は毒力の低下無く、これに対して、INH 耐性菌は生化学的性状を介して極めて顕著な毒力の低下を示し、PAS 耐性菌も亦毒力が低下している事を報告<sup>15)</sup>したが、更に二重耐性結核菌の毒力についてモルモットを用いて同様の実験を行い、注目すべき新知見を得る事が出来たのでここにその成績を総括しつつ考察を加えたい。

先づ、前編の実験によりモルモットに対して強毒を示した  $H_{37}Rv \cdot R$ -SM 100  $\gamma/cc$  の菌を試験管内で INH に接触せしめ、完全なる  $H_{37}Rv \cdot R$ - $(SM 100 \gamma/cc + INH 1 \gamma/cc)$  及び  $R$ - $(SM 100 \gamma/cc + INH 10 \gamma/cc)$  の各二重耐性菌を分離し、モルモットの皮下接種によりその毒力をみた結果、極めて顕

著な毒力の低下を示した。即ち  $R$ - $(SM 100 \gamma/cc + INH 1 \gamma/cc)$  群では局所淋巴腺に軽度の腫脹を認めたが、その他の各淋巴腺及び内臓器に著見なく、僅かに 5 mg 接種群の 1 例に、少数の結核結節を脾臓に認めたに過ぎなかつた。 $R$ - $(SM 100 \gamma/cc + INH 10 \gamma/cc)$  群に至つては 1 例に局所淋巴腺の米粒大腫脹を認めたのみで、他に全く所見を得る事が出来ず、脾臓定量培養もすべて陰性であつた。

又同様に前編の実験で毒力の低下はみられたがなおかなりの毒力を維持している  $H_{37}Rv \cdot R$ -PAS 10  $\gamma/cc$  の菌を INH を含む培地に培養して、完全なる  $H_{37}Rv \cdot R$ - $(PAS 10 \gamma/cc + INH 1 \gamma/cc)$  及び  $R$ - $(PAS 10 \gamma/cc + INH 10 \gamma/cc)$  の各二重耐性菌を分離し、前者と同じ方法によつて実験した結果、更に顕著な毒力の低下を示しており、 $R$ - $(PAS 10 \gamma/cc + INH 1 \gamma/cc)$  群では接種局所に小膿瘍の形成をみたが、局所淋巴腺の腫脹も軽く、内臓器には全く所見を認め得ず、 $R$ - $(PAS 10 \gamma/cc + INH 10 \gamma/cc)$  群に至つては接種局所も瘢痕化し、局所淋巴腺を初め各淋巴腺群、内臓器に全く所見を認める事が出来なかつた。

即ち、毒力を保持している SM 耐性結核菌も、又毒力の低下はみられるがなおかなりの毒力を維持している PAS 耐性結核菌も、INH に触れて SM+INH 及び PAS+INH の各二重耐性菌となると、何れもその毒力は更に顕著な低下を示し、而も INH 耐性度と逆相関的に、その耐性度の高いほど毒力が減弱乃至消失している事を知つた。

又カタラーゼ活性との関係をみると、「カ」強陽性である SM 及び PAS 耐性菌が夫々更に INH の耐性を担つて二重耐性菌となると、あたかも INH 単独耐性菌のそれの如く、INH の耐性度に応じて「カ」活性が減弱乃至消失するに至つており、 $R$ - $(SM 100 \gamma/cc + INH 1 \gamma/cc)$ ,  $R$ - $(PAS 10 \gamma/cc + INH 1 \gamma/cc)$  では弱陽性を示し、 $R$ - $(SM 100 \gamma/cc + INH 10 \gamma/cc)$ ,  $R$ - $(PAS 10 \gamma/cc + INH 10 \gamma/cc)$  では陰性を示し、従つて毒力との間にも密接な相関性を認める事が出来た。

これらを要するに、INH を含む二重耐性菌の毒力は、INH 耐性菌の性状が前景に現われてこれを支配し、「カ」活性の減弱乃至消失を伴つて、極めて顕著な低下を示しているものと考えられ、注目に値する知見といふべきである。

さて次に、患者より分離した二重耐性菌の毒力が、上述の試験管内で分離した二重耐性菌のそれの如く、

果して低下しているか否かは臨床上極めて興味ある問題である。かかる見地より臨床検査で得られた SM 100  $\gamma$ /cc + INH 10  $\gamma$ /cc の所謂二重耐性株について実験を試み、先づ患者喀痰を通常の耐性測定法にならつて、対照培地及び SM, INH, PAS の各系列耐性培地に培養し、対照培地上の菌及びこれと同程度の発育をみた SM 100  $\gamma$ /cc 培地上の菌、INH 10  $\gamma$ /cc 培地上の菌を夫々モルモットの皮下に接種して毒力をみた。その結果、H<sub>37</sub>Rv・R-(SM 100  $\gamma$ /cc + INH 10  $\gamma$ /cc) のそれの如く顕著な毒力の低下はみられなかつたが、何れの群においても各淋巴腺の腫脹は軽微で、内臓々器の結核結節も極めて少く、かなり明らかな毒力の低下がみられ、又「カ」活性もこれに伴つて消失していた。

即ち患者より分離した所謂 SM+INH 二重耐性株の毒力も、H<sub>37</sub>Rv・R-(SM+INH) 株のそれとよく平行して明らかな低下を示しており、而も SM 培地上の菌も INH 培地上の菌と同様、毒力の低下を示し、且つ「カ」活性も消失している事から、その菌株中に当然含まれている可能性が考えられる、毒力の強い感性菌及び SM 単独耐性菌の影響は極めてうすく、従つて本実験における毒力低下は前に考察した如く、INH 耐性菌の性状により支配表現されている真の SM+INH 二重耐性菌に基くものが、その主役を演じているものと考えられる。この事は又、後述する如き患者の所謂二重耐性株の中には真の二重耐性菌がかなり高率に含まれる可能性のある事を動物実験的に示唆したものともいえる。

更に臨床統計的に耐性獲得後の臨床経過を検討すると、SM+INH, SM+PAS の各二重耐性例では病状の好転が約半数にみられ、SM 単独耐性例に比べ遙かに良好な症状経過を示しており、上述の動物実験における所謂二重耐性株の毒力低下の成績を考え合せると、この症状推移はその菌株中に高率に含まれている真の二重耐性菌に基くものと考えられ、従つて人体内においても真の二重耐性菌の毒力は、或る程度低下してい事が推定せられるもので臨床上興味ある事である。

何れにしても、これらの成績より考えると、患者の所謂二重耐性株の毒力は、その菌株中に含まれている真の二重耐性菌によって支配されるものと考えられる。従つてある菌株が SM, INH, PAS の二者（又は三者）に耐性を示した場合、その菌株中に含まれている真の二重（三重）耐性菌の存在を明確に知る事は、臨床上極めて重要な意義をもつもので

あるが、今日一般に行われている耐性測定法では、その菌株が総体として二種（又は三種）の薬剤に対して耐性を獲得している事を知るのみで、個々の菌が二重（又は三重）に重複して耐性を担つているか否かは全く知る術もない。最近、北本等<sup>19)</sup>は二剤又は三剤を組合せた培地で測定する耐性、即ち“総合耐性”なるものを提唱し、小川<sup>14)</sup>、伊藤<sup>3)</sup>、高橋<sup>32)</sup>により検討されている。これによれば、およその臨床的耐性を知る事が出来、又病巣に到達する二種又は三種の薬剤の共同の影響が、菌にいかように現われるかを類推する事が出来、臨床上興味ある方法であるが、従来の測定法より更に繁雑さが加わる事は別としても、薬剤の濃度と組合せの種類及び生体内における耐性と平行するか否か等今後更に検討を要する問題を含んでいる。私はこの問題に関して“交叉培養試験”を創意し検討を加えた。即ち通常行つてある耐性測定法により二者又は三者に对照と同様菌の発育をみた場合、その一方の耐性培地上に生えた菌を他方の薬剤を含む培地にうえ、相互に所謂交叉培養を行い、菌の発育の程度を観察する事により、真の二重乃至三重耐性菌の存在或いはその程度を知ろうとするものである。9例の各種二重耐性例について、この交叉培養試験を行つた結果、全例に对照と同程度又はそれに近い程度に菌の発育をみており、この事は患者の所謂二重耐性株の中には真の二重耐性菌が高率に含まれている事を実証するものであり、北本等<sup>19)</sup>の全然含まぬ場合もかなりあるとする説と相反するところである。

更に又、この事は結核治療にも関連する極めて重要な問題で、事実真の二重耐性菌が高率に含まれているならば、耐性を示した同種薬剤による化学療法の効果はもはや期待する事が出来ないはずである。この関係をみるために所謂二重耐性例に種々の化学療法を計画的に行つて、その効果を観察すると、耐性を示していない異種薬剤を併用した症例では、排菌、X線所見等に好転がかなりみられ、或る程度効果を期待する事が出来たが、耐性を示した同種薬剤を更に継続投与した症例では、排菌が却つて増加し、X線所見も好転をみず、無効に終るものが多かつた事は、さきの動物実験及び交叉培養試験における、真の二重耐性菌が高率に含まれている成績とよく符合するところであり、臨床上留意すべきである。

さてひるがえつて考えるに、二重乃至三重耐性の問題が学界の関心を集めて来たのは極く最近の事であり、従つてこれに関する報告も非常に乏しく、殆

んどすべての領域において余りにも未解決の点が多い事を今更ながら痛感せざるを得ない。私は二重耐性結核菌の毒力について系統的に実験を行い、前述の如き数々の新知見を得る事が出来たが、これを以て直ちに人の結核症にあてはめようとするものではない。併し、INH を含む二重耐性菌の毒力が、カタラーゼ活性の減弱乃至消失という生化学的性状を介して、極めて顕著に低下しているという実験的事実は、化学療法の投与方式に有力な示唆を与えるものであり、又耐性の測定に際し、その菌株中に含まれている真の二重～三重耐性菌の割合を確かめる事は爾後の結核治療上極めて重要な意義をもつものであるといえよう。

## 第7章 結 論

私は二重耐性結核菌の毒力に関する一連の動物実験並びに試験管内実験を行い、併せて臨床統計的観察を行つた結果、次の結論を得た。

1) モルモットの皮下接種による毒力試験の結果、H<sub>37</sub> Rv 株における SM+INH, PAS+INH の各二重耐性結核菌の毒力は、INH 耐性菌の毒力により支配表現され、極めて顕著な毒力の低下を示した。且つその毒力低下の程度は INH 耐性度と一定の相関性を示した。

2) 患者より分離した所謂 SM+INH 二重耐性株の毒力も H<sub>37</sub> Rv·R-(SM+INH) 株のそれとよく平行して明らかな低下がみられ、又 SM 培地上で分離した菌でも同様の結果を得た。この事はその菌株中に真の二重耐性菌が高率に含まれている事を示唆し、この真の二重耐性菌の毒力が主役を演じて毒力低下を来しているものと考えられる。

3) カタラーゼ活性は INH を含む二重耐性菌では、INH の耐性度に応じて減弱乃至消失しており、

従つて毒力との間に密接な相関性がみられた。

4) 臨床統計的に二重耐性例の症状推移をみると、一般に SM 単独耐性例に比べ遙かに良好な臨床経過を示しており、これは上述の動物実験の成績の如く、その菌株中に高率に含まれている真の二重耐性菌に基くものと考えられ、換言すれば人体内においても真の二重耐性菌の毒力はある程度低下している事を推定せしむるものである。

5) 従つて患者の所謂二重耐性株の中に含まれている真の二重耐性菌の存在を明確に知る事は、臨床上極めて重要な意義を有するものであり、私の創意に基く“交叉培養試験”はよくこの目的を達せしめるものである事を提唱した。

6) この交叉培養試験により、患者の所謂二重耐性株の中には、真の二重耐性菌が高率に含まれている事を実証し、注意を喚起した。

7) 所謂二重耐性例に種々の化学療法を計画的に行つた結果、耐性を示していない異種薬剤併用ではある程度の効果を期待する事が出来たが、耐性を獲得している同種薬剤併用では無効に終るもの多かつた。この事は真の二重耐性菌が高率に含まれている事を臨床的に裏書きするものであり、さきの動物実験及び交叉培養試験の成績とよく符合するところで、臨床上留意すべきである事を述べた。

擱筆に当り終始御懇意なる御指導、御校閲を賜わつた恩師平木潔教授、大藤真助教授に深甚なる謝意を表する。又絶えざる御指導、御鞭撻を賜わつた国立岡山療養所長市村丑雄博士に深謝する。

(本論文の要旨は昭和33年5月第33回日本結核病学会総会においてシンポジウム“耐性菌の毒力”で発表した)

## 附. 全 編 の 総 括

現在の結核治療において化学療法の占める位置は極めて大きく、SM の発見以来 PAS, INH, PZA と相次いで優れた抗結核剤が登場し、実に目覚ましい進歩をとげるに至つた。併しながら一面これらの抗結核剤は生体に対して種々なる副作用を及ぼし、又同時に結核菌がこれら薬剤に対して耐性を獲得するに至る等、看過出来ない重大なる障礙を伴い、慢性の経過をたどる複雑な病理学的特性と相俟つて、

化学療法の行く手を阻み、臨床医学的に極めて深刻な問題となつて來た。私はかかる観点より今日における結核化学療法の最も大きな障礙であり、且つ臨床医学に極めて重要な関連を有する二つの問題、即ち化学療法の肝臓機能に及ぼす影響と薬剤耐性結核菌の毒力について明確を欠く諸問題を究明し、化学療法の投与方式に有力な示唆を与えるべく臨床的並びに実験的に検討を加えた。

先づ第一編及び第二編において、肺結核症における化学療法の肝臓機能に及ぼす影響について検討した。これに先だち、その基礎的研究として肺結核症一般における肝臓機能を明らかにすべく先づ第一編において肺結核患者 126 例に対して十数種の臨床生化学的肝臓機能検査を行つた結果、血清蛋白像の変動、殊に Alb. の減少と、A/G の低下が著明にみられ、グロス反応、高田反応、C. C. F., Ch. -E., T. T. T. 等の諸検査と共に病状に応じて病的値を示す率が高く、肺結核臨床像との間に有意な相関々係を認めた。而して、これらの成績を総合的に検討すると、肺結核症の 23.8% に肝臓機能障害がみられ、軽症では 12.7%，中等症では 29.2%，重症では 45.5% に障害を認め、病状、病型により大きく影響される結果を得た。併し、黄疸徵候を初め、重大なる肝臓機能障害を示唆するが如き症例は認められず、すべて軽微であつた。かかる成績より、肺結核症における肝臓機能障害は蛋白代謝の障害を主体とする軽度の障害であると考察される。

次いで第二編において、かかる肺結核患者に種々なる化学療法を長期に亘つて行う場合、肝臓機能にいかなる影響を及ぼすかという本論について検討を加えた。即ち *Background factor* を可及的に統一した肺結核患者に対して、SM, PAS, INH の各単独療法、SM+PAS, PAS+INH 及び SM+PAS+INH の各併用療法並びに PZA+INH 併用療法を概ね 6 ヶ月間継続し、逐次肝臓機能の推移を観察した。SM, PAS, INH の各単独及び二者、三者併用療法においては、何れの治療群においても治療前一般に異常をみた血清蛋白像は、治療効果の発現と共に早期より改善の徵を示し、Alb. の有意な増加と A/G の著明な上昇がみられ、3~6 ヶ月後には健常正常値に接近或いは到達した。又各種肝臓機能検査においても、治療前病的値を示したものは肺結核病状の好転軽快に伴つて漸次正常化を示したが、PAS 及び INH は単独療法においても又、併用療法においても、経過中時に肝臓機能に障害を与える場合がみられた。併しその程度は軽微であり、且つ可逆的で治療終了時に障害を残すものはみられなかつた。一方 PZA+INH 併用療法においては優れた治療効果にも拘わらず、血清蛋白像の改善は他の治療群にみられた如く顕著でなく、又各種肝臓機能検査においても、治療前障害をみたものは病状の好転と共に漸次正常化する場合もみられるが、反面治療期間の長期化に伴つて障害の発現をみる傾向が認

められ、PZA は肝臓に悪影響を及ぼす事のある事を示唆する結果を得た。併し、黄疸等の重大な障害の発生はなく、本療法の有用性を妨げるものではないと考える。

要するに、肺結核患者においては、軽微とはいえ病状に応じてかなり高率に肝臓機能障害が認められる事は、経過、予後の判定上留意すべきであり、化学療法に際して、PZA 及び PAS, INH の直接的影響と考えられる障害が時にみられる事は治療上注意すべきである事を明らかにし、肺結核患者における肝臓機能検査の Routine Work についても検討を加えた。

次に、第三編及び第四編において、薬剤耐性結核菌の毒力について一連の動物実験を行い、併せて臨床統計的観察を行つた。先づ第三編において、H<sub>37</sub> Rv 感性株を対照として、Population 均一なる H<sub>37</sub> Rv 株の SM, PAS, INH の各単独耐性菌の毒力をモルモットの皮下接種により比較検討した結果、SM 耐性菌の毒力は感性菌と同程度に強力であつたが、INH 耐性菌は顕著な毒力の低下を示し、又 PAS 耐性菌も INH 耐性菌ほど顕著ではないが、かなり明らかに毒力が低下している注目すべき知見を得た。又耐性度と毒力との関係をみると、SM, PAS では一定の関係がみられないが、INH 耐性菌では明らかな逆相関々係を示し、10 γ/cc では殆んど毒力が消失しており、カタラーゼ活性も INH 耐性菌では減弱乃至消失し、耐性度との間に一定の相関々係が認められた。更に臨床統計的に耐性の推移と耐性獲得後の臨床経過を観察した結果も、これらの動物実験とよく符合する成績を得た。

次いで第四編において、Population 均一なる SM+INH, PAS+INH の各二重耐性菌 (H<sub>37</sub> Rv 株) を試験管内で分離し、前編と同様の動物実験を行つた結果、何れもその毒力は顕著な低下を示し、而も INH 耐性度と逆相関的に毒力が減弱乃至消失している事より、INH を含む二重耐性菌の毒力は、INH 耐性菌の毒力により支配表現される事を解明した。又これら二重耐性菌のカタラーゼ活性も INH 耐性菌の性状により支配される知見を得た。次に患者より分離した所謂二重耐性株の中に真の二重耐性菌がどの程度含まれているかをみる事は、爾後の化学療法上極めて重要な問題であるが、交叉培養試験を創意し試験管内実験を行つた結果、極めて高率に真の二重耐性菌が存在している事を知り、更にモルモットに対する毒力試験によりこの事を確証した。一方、

臨床統計的に二者又は三者耐性例の臨床経過を観察して、人体内における毒力について考察し、又これら耐性例に種々なる化学療法を計画的に行つて治療効果を検討し、真の二重耐性菌が高率に含まれている事を臨床的に裏書きし、治療上の注意を喚起した。

以上の如く、肺結核症における化学療法の重大なる障礙である副作用就中肝臓機能に及ぼす影響と、薬剤耐性殊に耐性菌の毒力について知見を新たにし、今日における化学療法の投与方式に有力な示唆を与えた。

### 第三編及び第四編の主要参考文献

- 1) 岡治道他：日結，7，47（昭23）。
- 2) 池田 弘：九大結研紀要，1，172（昭29）。
- 3) 伊藤忠雄他：結核，32，（増刊号），180（昭32）。
- 4) Ushiba, D. et al: Keio J. Med., 1, 81 (1952).
- 5) 牛場大藏：結核の臨床，3，129（昭30）。
- 6) 牛場大藏：結核研究の進歩，14，69（昭31）。
- 7) 牛場大藏：日本結核全書第2巻，31（昭32）。
- 8) 占部 薫：最新医学，6，870（昭26）。
- 9) 江頭靖之：結核研究の進歩，14，85（昭31）。
- 10) 小川辰次：結核，24，19（昭24）。
- 11) 小川辰次他：結核，24，25（昭24）。
- 12) 小川辰次他：結核，24，97（昭24）。
- 13) 小川政敏：臨床病理，4，341（昭31）。
- 14) 小川政敏：結核，32，（増刊号），180（昭32）。
- 15) 大藤真他：第33回日本結核病学会総会演説より。
- 16) 金井興美他：結核，27，42（昭27）。
- 17) 金井興美：医学と生物学，34，154（昭30）。
- 18) 金井興美：医学と生物学，35，105（昭30）。
- 19) 北本治他：結核，32，（増刊号），51（昭32）。
- 20) 熊谷岱藏他：日本医事新報，1607，719（昭30）。
- 21) 古賀行雄：九大結研紀要，2，60（昭30）。
- 22) 小酒井望他：医学と生物学，19，93（昭26）。
- 23) 小酒井望他：最新医学，12，2991（昭32）。
- 24) 佐藤直行：医学と生物学，29，14，昭28）。
- 25) 佐藤直行：結核，30，247（昭30）。
- 26) 佐藤直行：結核，30，455（昭30）。
- 27) 島村喜久治他：日結，12，173（昭28）。
- 28) 砂原茂一：治療，38，1（昭31）。
- 29) 染谷四郎他：結核，24，11（昭24）。
- 30) 染谷四郎他：結核，26，24（昭26）。
- 31) 染谷四郎他：結核，26，74（昭26）。
- 32) 高橋金弥：化療研彙報，10（1,2,3,4），1（昭31）。
- 33) 高村長司：北里実験医学，25，29（昭27）。
- 34) 田中多聞：九大結研紀要，2（1），83（昭30）。
- 35) 中山英一：九大結研紀要，2（1），1（昭30）。
- 36) 橋本達一郎：結核，26，238（昭26）。
- 37) 橋本達一郎：結核，30，237（昭30）。
- 38) 橋本達一郎他：医学と生物学，31，115（昭29）。
- 39) 堀三津夫：日本結核全書，第2巻，53（昭32）。
- 40) 松島六郎：結核，28，86，793（昭28）。
- 41) 水野謹：結核，27，658（昭27）。
- 42) 村田太郎：結核，28，453（昭28）。
- 43) 米山英子：九大結研紀要，2（2），179，183，191（昭30）。
- 44) 渡辺喜海：結核，18，101（昭15）。
- 45) Barnett, M. et al: Brit. J. Exp. Path., 34, 568 (1953).
- 46) Barnett, M. et al: Lancet, 264, 314 (1953).
- 47) Barry, V. C. et al: Lancet, 264, 978 (1953).
- 48) Bloch, H.: Acid-fast Bacteria, Ann. Rev. Microbiol., 7, 19 (1953).
- 49) Bloch, H. et al: Am. Rev. Tub., 68, 734 (1953).
- 50) Cohn, M. L. et al: Am. Rev. Tub., 70, 465 (1954).
- 51) Czanik, et al: Beitr. Klin. Tb., 114, 304 (1955).
- 52) Doane, et al: Ibid., 64, 191 (1951).
- 53) Doane, et al: Am. Rev. Tub., 64, 191 (1951).
- 54) Dubos, R. J.: The Bacterial Cell., Harvard Univ. Press., 1949.
- 55) Ehrlich, P.: Berl. Dtsch. Chem. Ges., 42, 17, 1909.
- 56) Ehrlich, P.: Berl. Klin. Wschr., 44, 233, 280, 310, 341 (1907).
- 57) Frank, E. Z. et al: Berl. Klin. Wschr., 44, 323 (1907).
- 58) Hobby, et al: Am. Rev. Tub., 60, 808 (1949).
- 59) Karlson, A. G. et al: Brit. M. J., 1009, (1948).
- 60) Karlson, A. G.: Am. Rev. Tub., 70, 531 (1954).

- 61) Karlson, A. G. et al. Proc. Staff. Meet, Mayo Klin., 29, 119, 1954.
- 62) Middlebrook, G. & Chohn, M. L. : Science, 118, 297 (1953).
- 63) Middlebrook, G. : Am. Rev. Tub., 69, 471 (1954).
- 64) Miller, C. P. et al : J. Bact. 54, 467 (1947).
- 65) Mitchison, D. A. : Brit. Med. J., 4854, 128 (1954).
- 66) Nitt, et al. : Arch. Tisiol., 7, 974, 1952.
- 67) Peizer, L. R. et al. : Am. Rev. Tub., 68, 290 (1953).
- 68) Public Health Service : Am. Rev. Tub., 66, 632 (1952)., 67, 108, 539, 553 (1953). 69, 1 (1953)., 70, 521 (1954).
- 69) Rich A. R. : The Pathogenesis of Tub., 2nd. Ed., (1951).
- 70) Spendlove, et al. : Publ. Health. Rep., 63, 1177 (1948).
- 71) Steenken, W. et al. : Am. Rev. Tub., 68, 548 (1953).
- 72) Temple, C. W. et al. : Am. Int. Med., 39, 61 (1953).

---

### Clinical and Experimental Studies on the Chemotherapy in Lung Tuberculosis

#### Part 4. Experimental, clinical, and statistical studies on the virulency of drug-resistant tubercle bacilli — the virulency of double-resistant tubercle bacilli—

By

Kanesuke Numata

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School  
(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

In a series of animal and *in vitro* experiments on the virulency of double-resistant tubercle bacilli and in clinical and statistical observations concerning the virulency, the author obtained the following results.

1. In the virulency tests of tubercle bacilli by subcutaneous injection to guinea pigs the virulency of each double-resistant tubercle bacilli of  $H_{37}Rv$  strain for SM plus INH and PAS plus INH, the effect is represented by the virulency of INH-resistant bacilli, showing a marked diminution of the virulency. Moreover, the degree of such a decrease is in a proportion to the resistance against INH.

2. Likewise the virulency of SH plus INH-tow drug resistant bacilli isolated from patient, resembling closely to that of  $H_{37}Rv$ -(SM + INH resistant) strain, is markedly diminished. Similar result is obtained by the bacilli isolated from those cultured in the medium containing SM. This suggests the existence of a high proportion of true-double-resistant bacilli, and the virulency of this true double-resistant bacilli seems to play a main role in the diminution of the virulency.

3. The catalase activity of the double-resistant bacilli, including the INH-resistant, is weakened or obliterated according to the degree of the resistance against INH, and consequently a close correlation can be recognized between the activity and the virulency.

4. Viewing the changes of symptoms in the so-called two-drug resistant cases clinically

and statistically, their clinical progress is far better than that of SM-single resistant cases, and just as in the case of animal experiments this seems to be due to a high proportion of the true double-resistant bacilli being contained in the strain. In other words, it suggests that the virulence of the double-resistant bacilli is also somewhat diminished even in the human body.

5. Therefore, it is clinically quite important to know accurately the existence of the true double-resistant bacilli that may be contained in the so-called two-drug resistant strain of patients, and the author advocates that the "crossculture test" devised by himself is well suited for such a purpose.

6. The author has been able to verify the existence of a high proportion of the true double-resistant bacilli in the so-called two-drug resistant strain of patients by his "crossculture test", and he calls attention to this method of approach.

7. As the results of treatment attempted systematically on the so-called two-drug resistant cases using various drugs, some satisfactory result can be expected in the treatment with different drugs to which no resistance has been shown, but the majority of cases with the concurrent use of the drug to which the resistance is already acquired fail to be effective. This fact clinically corroborates the inclusion of a high percentage of the true double-resistant bacilli, and this agrees well with the result of previous animal experiments. The author points out that this point has a clinical significance worthy of attention.

---