

Chamber 法による各種抗結核剤の検討

〔第4篇〕 薬剤耐性上昇について

京都大学結核研究所病態生理学部（主任 教授 辻 周介）

伊 藤 澄 子

第I章 緒 言

我々が化学療法を行つてゆくに際して常に留意すべき点に耐性の問題がある。耐性上昇の抑制は化学療法の普及と共に益々重要な意義を持つて来ている。

従来、耐性上昇の問題に関しては試験管内又は動物実験或は臨牀的に多くの研究が行われ報告されている^{1),2),3),4)}。

Wolinsky⁵⁾等はマウス、モルモット及び家兎で実験を行つて、耐性発現の稀であることを述べ動物実験で試験管内の様に耐性菌の発現が認め難いことの理由として宿主たる生体に於ける或る特別な因子が大きな役割を演ずるのであると結論している。

又 Steenken⁶⁾は結核モルモットに125日間のSM治療を行つたが1例も耐性を獲得しなかつたと報告し、動物では菌の変異を抑えるのではないかと云つている。

一方牛場⁷⁾等はマウスに感染後2週目から少量のSMを注射して行くと大多数が治療後2～4週で死亡し、その病巢中からは高度の耐性菌が検出されたが、モルモットでは治療効果が著明に認められSM、INAH共に耐性の上昇は全く認められなかつたと述べている。

その他北本⁸⁾、Feldmann⁹⁾、Youmans¹⁰⁾、Williston¹¹⁾はマウス或はモルモットを用いて種々の薬剤投与方法によりSM又はINAHの高度耐性菌を得ているが一般にマウスに於てモルモットより耐性の上昇が著しい傾向が見られている。然しモルモットに於ては勿論、マウスに於ても動物体内では人体に比して概して耐性が発現し難いことは事実であるが、動物体内でも人体と本質的に異つた因子が働いているとは考え

難く、何か共通の因子により耐性菌の発現を阻止したり促している様に見える。

人体に於ても動物実験に於ても尤も高率に耐性菌が発現するのは空洞である。空洞が薬剤耐性獲得に対して持つ意義については空洞に於ける旺盛な菌の増殖の他に何か別の因子が働いている事も考えられる。Howard¹²⁾は薬剤が高濃度には空洞内に達し難いこと、空洞内容が液状又は半液状であることなどを挙げ、Schmiedel¹³⁾は拡散により薬剤濃度の差を生ずることも重要な因子であると考えている。

要するに耐性の上昇には投与薬剤の種類、量、投与方法等による他に特に病巢の性状による因子の大きな意義を持つていたのである。

私は臨牀的に最も問題となる空洞又は乾酪巣は結核菌が貪食細胞等の活発な影響を受け難い場所であること及びその中での薬剤濃度の特別な消長等が非壊死巣と異なる特殊な点であると考えるので、かかる病巢の Model として一定の条件のものが容易に作られる Chamber O 及び L を利用し塗抹菌の耐性上昇に関する実験を行つてみた。

第II章 実験方法

家兎に H37Rv 又は607号菌を塗抹した Chamber O 及び L を挿入して各種抗結核剤を投与し、1ヶ月後に Chamber を取り出し第3篇に於けると同様にその時計ガラスを取り出して2分し、一方で Chamber 内での塗抹菌の発育状態を調べ、他の1片はキルヒナー培地中に投入して培養し、発育して来たコロニーを用いて薬剤添加キルヒナー培地による SCM でその耐性を測定した。Chamber L の場合は時計ガラスでなくて菌塗抹の濾過膜により行つた。使用

した保存菌株の SM, INAH に対する耐性は次の如くである。

第 1 表

菌株 薬剤の種類	H37Rv		607	
	SM	INAH	SM	INAH
対 照	卍	卍	卍	卍
0.1γ	卍	卍	卍	卍
0.2γ	卍	十	卍	卍
0.5γ	十	士	十	十
1.0γ	十	—	十	十
5.0γ	—	—	—	—
10.0γ	—	—	—	—
100.0γ	—	—	—	—

第III章 実験成績

第 1 節 単なる動物通過のみによる耐性上昇的現象

抗結核剤投与の対照実験として、薬剤無投与健全家兎に上記のソートン継代培養 H37Rv 菌、及び 607 号菌を塗抹した Chamber O を 1 ヶ月間挿入し、Chamber 内で良く発育した H37Rv 菌及び殆ど発育を見なかつた 607 号菌の耐性を検査してみた。

第 2 表

菌株 薬剤の種類	H37Rv		607	
	SM	INAH	SM	INAH
対 照	卍	卍	卍	卍
0.1γ	卍	卍	卍	卍
0.2γ	卍	十	卍	卍
0.5γ	卍	士	卍	十
1.0γ	卍	—	—	—
5.0γ	十	—	—	—
10.0γ	—	—	—	—
100.0γ	—	—	—	—

第 2 表の如く、H37Rv 菌が SM に対してのみ少々耐性上昇せるかの結果を得たが今後尚検討を要しよう。

第 2 節 SM 20mg/kg 単独使用に関する実験

1 ヶ月間 Chamber O 塗抹菌の耐性は第 3 表の通りであつた。即ち、週 2 回間歇投与に於て明らかな耐性上昇を認める。毎日投与法では対照動物と大差がない。

第 3 表

家 兎	SM 20mg/kg 週 2 回投与家兎		SM 20mg/kg 毎日投与家兎	
	H37Rv	607	H37Rv	607
塗 抹 菌 株	H37Rv	607	H37Rv	607
Chamber 内での発育の有無	第一例 第二例 十弱一	—	十弱	—
SM 濃 度	0.1γ	卍 卍	卍	卍 卍
	0.2γ	卍 卍	卍	卍 卍
	0.5γ	卍 卍	卍	卍 卍
	1.0γ	卍 卍	卍	卍 卍
	5.0γ	卍 十	十	十 一
	10.0γ	十 十	—	— 一
	100.0γ	— 一	—	— 一
	0γ	卍 卍	卍	卍 卍

第 3 節 INAH 6mg/kg 単独毎日投与の場合

1 ヶ月間挿入した Chamber O 塗抹菌の耐性

第 4 表

家 兎	第 1 例体重 2.6kg		第 2 例体重 2.8kg	
	H37Rv	607	H37Rv	607
塗 抹 菌 株	H37Rv	607	H37Rv	607
Chamber 内での発育の有無	—	—	—	—
INAH 濃 度	0.1γ	卍	卍	卍 卍
	0.2γ	卍	卍	卍 卍
	0.5γ	卍	十	十 十
	1.0γ	十	十	十 十
	5.0γ	—	—	— 一
	10.0γ	—	—	— 一
	100.0γ	—	—	— 一
	0γ	卍	卍	卍 卍

は第4表に示す如くである。即ち、対照に比して軽度ではあるが耐性の上昇を認める。

第4節 INAH 6mg/kg 及び PZA 40mg/kg 毎日併用投与40日の場合

Chamber O 内での塗抹菌の INAH 耐性の上昇は第5表の通りである。使用菌株は H37Rv のみである。

第5表

家 兔	第1例 体重2.9kg	第2例 体重2.6kg	第3例 体重2.5kg
Chamber内での発育の有無	十弱	—	—
濃度	0.1γ	卅	卅
	0.2γ	卅	十
	0.5γ	卅	十
	1.0γ	十	—
	5.0γ	—	—
	10.0γ	—	—
	100.0γ	—	—
	0γ	卅	卅

INAH に対する耐性は、第1例の Chamber 内で弱発育を示した場合には相当の上昇が認められたが、第2例第3例では耐性の上昇は低く INAH に PZA を併用することにより INAH に対する耐性の上昇を抑え得る傾向が認められた。

第6表

家 兔	第1例	第2例
Chamber内での発育の有無	—	—
濃度	0.1γ	卅
	0.2γ	卅
	0.5γ	卅
	1.0γ	卅
	5.0γ	十
	10.0γ	—
	100.0γ	—
	0γ	卅

第5節 SM に PZA を併用した場合の Chamber O 塗抹菌の SM 耐性の上昇

使用菌株は H37Rv 菌を用いた。薬剤投与は、SM 20mg/kg に PZA 40mg/kg を毎日併用40日間行つた。

この場合は第6表の如く SM 単独投与と余り大差はない。

第6節 Chamber L による実験

空洞の結核菌は空洞壁の壊死物質或はそこに滲み出る体液を栄養とし空気に包まれて旺盛な発育を営み耐性獲得も容易で結核治療の一大障壁となつている。かかる空洞の Model の意味で Chamber L を使用して塗抹菌の耐性上昇を調べてみた。Chamber L は粗製硫酸紙上に滲み出る体液に潤おされ、Chamber 内の空気に包まれて結核菌が発育する点が肺に於ける空洞とよく似ているからである。

薬剤として、INAH 6mg/kg 毎日使用した同一家兔の腹腔中に H37Rv 菌を塗抹した Chamber L と O を1ヶ月間挿入した。

第7表

家 兔	第1例	第2例
Chamber	O	L
Chamber内での発育の有無	—	十
濃度	0.1γ	卅
	0.2γ	卅
	0.5γ	卅
	1.0γ	十
	5.0γ	十
	10.0γ	—
	100.0γ	—
	0γ	卅

第7表に示す如く今回の実験では両 Chamber に於て余り差異を認めなかつた。

第IV章 考按並に総括

各種の抗結核剤を使用すると in vivo の Chamber 塗抹の結核菌の耐性が上昇する傾向にあ

ることを明らかにした。殊に SM 週 2 回の間歇法が耐性発生を防止すると云われている臨牀的な知見にも拘らず、却て毎日法よりも上昇の度が著しかつたことは興味ある事実である。この様に *in vivo* で体液中では薬剤耐性の上昇がかなり速かである事と Wolinsky⁵⁾ 等がマウス、モルモット、兎を用いて 6 ヶ月から 1 ヶ年以上の長期間の SM 治療を行つても中等度乃至高度の耐性菌は稀にしか見られなかつたと云う成績と比較すると、細胞の働きが耐性の上昇を妨げる一因となつている様に考えられる。

又 Chamber 内では形態的に発育の気配を示さなかつた場合即ち、休止菌 (resting cell) の状態にあると思われる場合に於ても、幾分か耐性上昇の傾向が認められているのは興味がある。この場合比較的数個ずつの菌塊になる様に石油ベンチン法で塗抹した菌を検鏡して新しい増殖像を認めない場合を Chamber 内発育(一)と判定しているのであるから極く微かな菌の発育分裂は見逃される可能性は否み難いが、反面定量培養による如く増殖と菌の死滅が釣合つて増殖は明らかにしているのであるが、見かけ上の結果として分裂増殖しないと判定される誤りは避けられるのである。

本章に於てはまだ例数が少いので決定的な結論は避けたいが、休止菌に於ても *in vivo* で薬剤耐性は誘導される様に見える。これは SM と INAH に於て同じ傾向が見られた。

次に同様な薬剤投与によつても、動物の個体差等の状態によつて塗抹菌が微かでも発育を見た場合には、発育を見なかつた場合に比較して

明らかにより著明な耐性の上昇を認めた。又、INAH に PZA を併用した場合には、矢張りその併用により INAH に対する耐性の上昇を幾分妨げ得ることを認めた。

Chamber O と Chamber L との比較実験は尚今後の問題である。

擧筆するに当り終始御指導と御鞭撻を賜りました恩師京都大学結核研究所辻周介教授に深甚の感謝と敬意を捧げます。

文 献

- 1) Youmans, G.P., Williston, E.H. & Osborne, R.R. ; Proc. Soc. Exp. & Med., 70, 36 (1949)
- 2) Williston, E.H. & Youmans, G.P. ; Am. Rev. Tbc. 62, 156 (1950)
- 3) 安田; 結核, 第30巻, 第2号, 89 (1954)
- 4) 岩下; 結核, 第32巻, 第9号, 489 (1957)
- 5) Wolinsky, E. S., Steenken, W. ; J. Bact. 66, 229 (1953)
- 6) Steenken, W. ; Am., Rev. Tbc. 56, 382 (1947)
- 7) 牛場; 結核, 第30巻, 第3号, 114 (昭和30年)
- 8) 北本他; 結核, 第29巻, 増刊号, 133 (1954)
- 9) Feldmann, W.H. et al ; Am. Rev. Tbc. 56, 346, (1947)
- 10) Youmans, G.P. et al ; Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 70, 36 (1949)
- 11) Williston, E.H. et al ; Am. Rev. Tbc. 62, 56, (1950)
- 12) Howard, W.L. et al ; Am. Rev. Tbc. 59, 391 (1949)
- 13) Schmiedel, A. ; Z.F. Tbk. 102, 184 (1953)