

結核化学療法における各種併用療法の施行順序による効果の比較に関する実験的研究

〔第4篇〕 結核菌の薬剤耐性獲得に及ぼす各種併用療法の施行順序の影響に関する実験的研究

京都大学結核研究所化学療法部（教授 内藤益一）

近 藤 勉 夫

【内 容 抄 録】

海狸の実験的前眼部結核症を対象として、30週間にわたって SM-PAS, INH-SI, INH-PZA, INH-PAS の2者併用療法を施行し順序を交替して投与したのと、終始一貫、SM-INH 週2日—PAS 毎日の3者併用療法を施行し、その効果を比較検討したことに就いては既に報告したが、本篇においては各臓器の定量培養により検出された結核菌に就いて、SM, PAS 及び INH に対する耐性検査を行なった。其の結果2者併用療法を交替させた群では耐性の発現は軽度であつた。しかし SM-PAS→INH-PAS と言う風に PAS を終始使用した例では、主剤を交替しても比較的耐性の発現は高度であつた。3者併用 (S_2I_2P 毎)を行なった群ではその中間の成績であつた。併し INH に対する耐性獲得はすべての治療群に殆んど認める事が出来なかつた。

第1章 緒 言

結核化学療法が長期にわたる程結核菌の薬剤に対する耐性が上昇する事は申す迄もない。これ等の耐性の発現を防止する為に薬剤の各種の組合せによる併用療法が用いられてきたのである。併用療法にて耐性出現が阻止されることに就て、Demerec¹⁾ は2種の薬剤で各々が病原菌に作用し、しかも作用機転の異なる時には、その耐性出現率は夫々の耐性出現の割合の積となるので小さくなると述べている。更に内藤²⁾ は今井³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾の実験成績に基いて、耐性の出現は単に結核菌と薬剤とが共存する期間によるのみではなくて、結核菌が薬剤の侵襲を受けながらそれに負けてしまわないで、どんどんと発育す

るとき耐性は急速に上昇するのであらうと述べた。結核菌の耐性獲得に関しては試験管内実験及び臨床試験に於いて各方面からの検討が行われ、種々の議論が活潑であるが、結核菌の薬剤耐性獲得に関する動物実験的研究に関する文献を見ると、殊に長期にわたる実験は比較的少ない様である。其の主なものあげると T. Zerbrowski⁷⁾ は INH に関して海狸を用いて91日間、連日法と3日目投与法とを比較し、培養された結核菌に就いて耐性検査を行い、耐性の程度を経過を追つて検討しているが、治療終了後100日、175日、247日ではそれぞれ13%、32%、83%と感性を示したと述べ、INH の感性復帰の割合が大なることを示し、耐性検査は先ず間接法で決定されるべきものと結論している。更に三富⁸⁾等はマウス結核症に各種併用化学療法を施行した場合の耐性獲得について、 S_2I_2P 毎の3者併用例にては、20週治療では2例に SM に $1\gamma/cc$, INH は1例に $1\gamma/cc$ の耐性を見たにすぎないが、30週迄治療をつづけたものでは、すべて SM に $10\gamma/cc \sim 100\gamma/cc$ の耐性獲得を認め INH にも $10\gamma/cc$ の耐性獲得を示したと述べ、 S_2P 毎併用例にては同様20週で SM $1\gamma/cc$. 30週では $10\gamma/cc$ となり、I 毎 PZA 毎併用例にては INH に20週では $1\gamma/cc$ 乃至 $10\gamma/cc$, 30週では3例に $10\gamma/cc$ の耐性を示したと報告した。教室の蓑谷⁹⁾は海狸の前眼部結核症を対象として、1年間の長期にわたる各種併用を行つた後、臓器から培養された結核菌につき、各薬剤に対する耐性をしらべた結果 SM-PAS 併用に関しては、 S_2P 毎法の方が S 毎 P 毎法よりむしろ SM の耐性発現の度合は強い

様であるとし、INH-PAS 併用では I_2P 毎法と I 毎 P 毎法の間に有意義なる耐性獲得の差はみられず、3 者併用法では $S_2 I_2 P$ 毎の間歇投与例に SM, PAS に対する軽度の耐性を認めたにすぎず、INH には殆んど耐性を認めなかつたと述べている。一般に動物に於ける結核菌の薬剤耐性の獲得は殆んど見られないか或いは極く軽度であるという報告が多い様であるが、著者は本篇において海狸の実験的結核症に対して、各種の 2 者併用療法を順序を交替して施行した場合と、終始一貫 3 者併用法 ($S_2 I_2 P$ 毎) で治療した場合とを無処置群と比較しながら、30 週にわたり観察した後、各臓器内結核菌の定量培養に依り結核菌集落の発生を認めた例において、その主剤たる SM, PAS, INH につき耐性獲得の有無及び程度を検討したので其の成績を報告する。

第2章 実験材料及び実験方法

1) 実験材料

既報の第1, 第2及び第3篇において報告した治療実験終了後、一斉に施行した臓器内結核菌定量培養により検出された結核菌株で、特にこの場合結核菌の発育が旺盛な2例ずつを選んで検査の対象とした。又対照として無処置群から検出された結核菌をあてた。尚第1篇に於い

て述べた如く治療開始前に、供試菌株である $H37Rv$ 株の耐性検査を行ない、 SM, INH 及び PAS の何れにも感受性である事を確かめている。

2) 検査方法

上記の結核菌を更に1%小川培地を用いて増菌し、3~4週目の発育良好なる菌を出来るだけ全部釣取して、滅菌せるメノウ乳鉢にて充分に磨砕し、滅菌蒸溜水を混和して、それを更に滅菌ガラス玉入りコルベンに移し、凡そ1mg% cc 菌液となる様に調製し、手振りにて充分振盪し菌浮游液が均一となる様にした。この菌液の0.1 cc 宛を1%小川培地にて作られた各薬剤の耐性培地に接種し、孵温にて培養4週後に判定した。尚増菌にあつては感性菌、耐性菌の割合が耐性検査の上で問題となるので、定量培養にて検出された菌は、すべて充分丁寧にかきとり増菌した。耐性培地の含有薬剤の濃度はすべて0.1 γ /cc, 0.5 γ /cc, 1 γ /cc, 10 γ /cc, 50 γ /cc とした。

第3章 検査成績

1) $SM-PAS$ 先行後 $INH-SI$ に交替した例及びその逆の順序の投与例並びに3者併用例に於ける比較。固型培地における判定の基準は、厚生省結核療法研究協議会細菌学研究会の基準に従った。成績は表1, 図1に示す通りである。無処

表1 SM, PAS 先行 INH, SI 及びその逆の投与と3者併用例の臓器内結核菌の耐性成績

	No.	S M						P A S						I N H					
		K	0.1 γ	0.5 γ	1 γ	10 γ	50 γ	K	0.1 γ	0.5 γ	1 γ	10 γ	50 γ	K	0.1 γ	0.5 γ	1 γ	10 γ	50 γ
$S_2 I_2 P$ 毎	27	(+++)	(+++)	(+++)	(+)	(-)	(-)	(+++)	(+)	(+ ₂)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	14	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+ ₁)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
$S_2 P$ 毎→ I 毎 SI 毎	91	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	31	(+++)	(+++)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+++)	(+ ₅)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
I 毎 SI 毎→ $S_2 P$ 毎	41	(+++)	(+++)	(+)	(+ ₁)	(-)	(-)	(+++)	(+ ₃)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	32	(+++)	(+++)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(+ ₁₀)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Control	69	(+)	(+ ₉)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	23	(+)	(+ ₃)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(注) (-) 菌発育を認めず

(+₁₀) 10 ケのコロニーを認めるもの

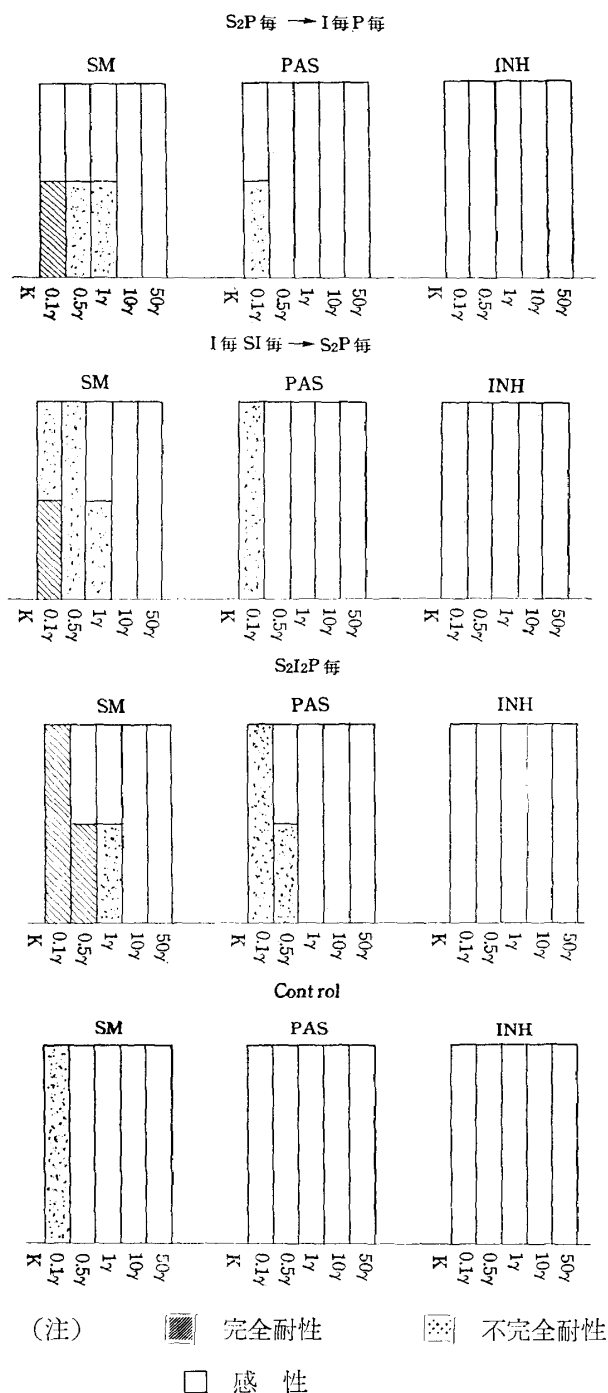
(+) 培地面 $\frac{1}{4}$ 以内に菌層育を認めるもの
(コロニ数で約100ケ以内)

(++) 培地面 $\frac{1}{2}$ 程度の菌発育を認めるもの

(コロニ数で約200ケ以内)

(++) 培地面 $\frac{3}{4}$ ~ 全面の程度に菌発育を認めるもの

図1 SM. PAS 先行 INH. SI 及その逆の投与と
3者併用例の結核菌耐性成績



置対照群の検出菌は SM に対してのみ 0.1γ/cc の軽度の耐性を示したが, PAS, INH は共に 0.1γ/cc に感性であつた。治療群においては S M, PAS に耐性獲得を認めたのである。更に S M の耐性獲得につき各群を比較すれば, 3者併用例において幾分耐性獲得の度合が他の2者併用例より強い傾向で, SM 0.5γ/cc 迄完全耐性, SM 1γ/cc 不完全耐性を示したが, しかし有意の差は有ると思われなかつた。PAS の耐性に就ては, 各治療群ともに軽度であり僅かに3者併用例において, PAS 0.5γ/cc 不完全耐性を示し他は 0.1γ/cc 不完全耐性を呈したのみだつた。INH に関しては各治療群とも全例感受性であり, 併用方法の相違による差違を認めることは出来なかつた。

2) SM-PAS 先行後 INH-PZA に交替した例及びその逆の順序の投与例並びに3者併用例の比較 小川耐性培地を使用して行つた耐性検査の成績は表2, 図2の如くであつて, これも耐性獲得を呈したのは SM, PAS のみであつた。両治療群の間には SM に対しては共に 1γ/cc 迄に不完全耐性を認めたが, 耐性獲得上有意の差は見られず, PAS においても共に 0.1γ/cc 不完全耐性を認めたに過ぎない。強いて言えば, I 毎 PZA 毎→S₂P 毎群に SM 及び PAS の耐性獲得の度合が僅かに高度であると思われる成績であつた。INH に関しては両治療群共に耐性培地に菌発育を認めず全例感性であつた。3者併用例(表1, 図1参照)と比較すれば, 両治療群ともやや SM 耐性獲得の度合は少ない様であつた。

3) SM-PAS 先行後 INH-PAS に交替した例及び其の逆の順序の投与例並びに3者併用例の比較 小川培地に依る耐性の成績は表3, 図3に示

表2 SM. PAS 先行 INH. PZA 及びその逆の投与例の臓器内結核菌の耐性成績

	No.	S M						P A S						I N H					
		K	0.1γ	0.5γ	1γ	10γ	50γ	K	0.1γ	0.5γ	1γ	10γ	50γ	K	0.1γ	0.5γ	1γ	10γ	50γ
S ₂ P 毎→I 毎 PZA 毎	2	(++)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(++)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	22	(+++)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
I 毎 PZA 毎→S ₂ P 毎	87	(+++)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+++)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	88	(+++)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+++)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

図2 SM, PAS 先行 INH, PZA 及其の逆の投与例の結核菌耐性成績

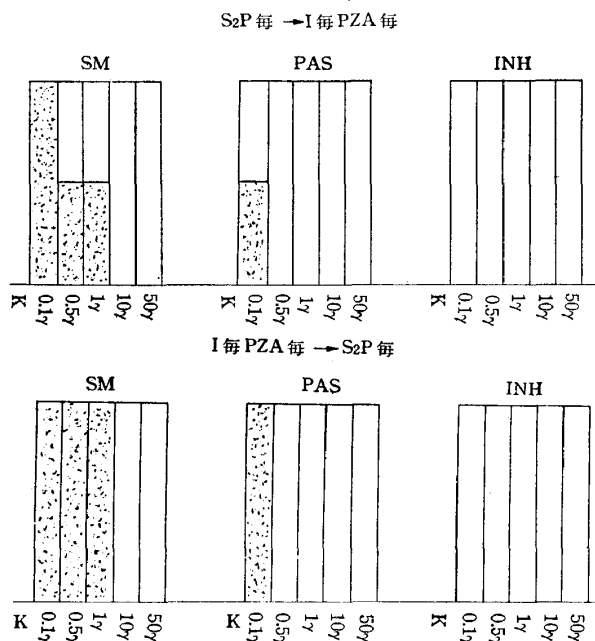


図3 SM, PAS 先行 INH, PAS 及びその逆の投与例の結核菌耐性成績

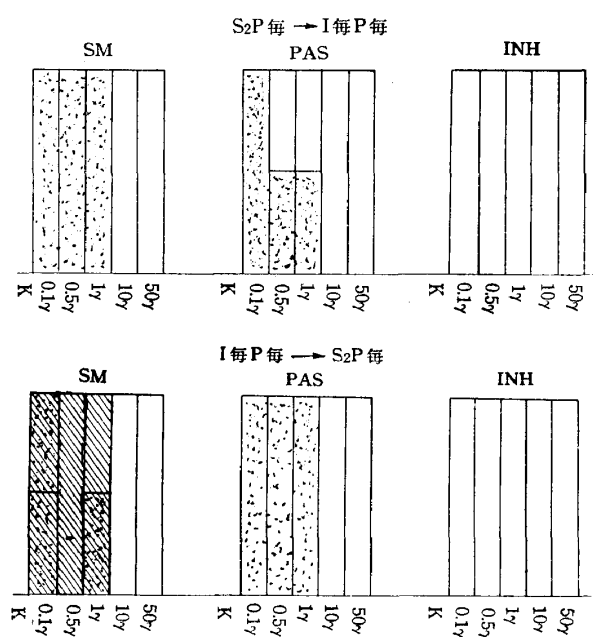


表3 SM, PAS 先行 INH, PAS 及びその逆の投与例の臓器内結核菌の耐性成績

	No.	S M						P A S						I N H					
		K	0.1γ	0.5γ	1γ	10γ	50γ	K	0.1γ	0.5γ	1γ	10γ	50γ	K	0.1γ	0.5γ	1γ	10γ	50γ
S ₂ P 毎→I 毎 P 毎	8	(++)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(++)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	68	(+++)	(++)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+++)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+++)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
I 毎 P 毎→S ₂ P 毎	3	(+ ₃₁)	(+ ₃₁)	(+ ₁₁)	(+ ₇)	(-)	(-)	(+ ₃₁)	(+ ₃₁)	(+ ₁₀)	(+ ₂)	(-)	(-)	(+ ₃₁)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	76	(+ ₄₄)	(+ ₂₅)	(+ ₁₆)	(+ ₆)	(-)	(-)	(+ ₄₄)	(+ ₄₀)	(+ ₂₀)	(+ ₁₀)	(-)	(-)	(+ ₄₄)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

した如くであるが、これも耐性獲得を認めたのは SM, PAS のみで INH に対する耐性は証明出来なかつた。SM の耐性獲得は両治療群ともに 1γ/cc 迄みとめたが、S₂P 毎→I 毎 P 毎群においては SM 1γ/cc 迄不完全耐性なるに反して、I 毎 P 毎→S₂P 毎群にては 1γ/cc 迄完全耐性を示し、やや耐性獲得の度合いが高いのを認めた。PAS も 1γ/cc 程度の軽い耐性を示したが、共に不完全耐性であり有意の差が有ると思われなかつた。INH に関しては既に述べた如く、全例に感性であり比較検討することは不可能であつた。3 者併用例(表1, 図1参照)と比べると I 毎 P 毎→S₂P 毎群において SM の耐性獲得は高度であつたが、これにしても SM 1γ/cc の完全耐性を呈したに過ぎない。PAS に関しては 2 者併用例は 3 者併用例と比較してやや歩が

悪い成績を認めた程度であつた。

第4章 総括並びに考按

著者は海狸の実験的前眼部結核症を対象として、30週にわたり SM, PAS, INH, SI, PZA の5種の抗結核剤に依る各種併用療法を試み、S M 及び INH を主剤とした各種併用療法の施行順序を交替した投与法につき、終始 SM, INH 週2日, PAS 毎日の3者併用法及び無処置群と比較検討した後、臓器内結核菌の定量培養により検出された結核菌株につき、夫々使用薬剤である SM, PAS, INH につき耐性検査を施行しその成績を見た次第である。

その概略を述べると、各種2者併用法はいずれを先に、いずれを後に施行するも其の薬剤に対する耐性獲得の上で、著明な差は認め得なか

つた。SM に関しては前期、後期共に PAS を併用した I 毎 P 毎→S₂ P 毎群に SM 1γ/cc の完全耐性を認め、SM の最も高い耐性獲得を呈した。PAS に関しては SM の場合と同様に、PAS を前、後期共に使用した群に多少の耐性獲得を認めた。然しながら INH の耐性獲得は 1 例も認める事は出来なかつた。

養谷⁹⁾は SM-PAS 併用群においては、3 者併用群に比べ比較的著明な耐性獲得が見られると述べたが、本実験においては、SM-PAS 併用を行つてもその前期或は後期に全く新しい薬剤たる SI、又は PZA に INH を併用する治療を加えた場合には、むしろ SM 及び PAS の耐性獲得は 3 者併用群よりもよく阻止される様であつた。これは 3 者併用にては終始 SM、PAS を併用して使用するのに比べて、前者は SM、PAS の使用期間が短期間であつた故であろう。或いはまたその前或いは後に行つた INH-SI 又は INH-PZA の併用によつて、かなりの治療効果があげられた事が原因しているかも知れない。しかしながら一貫して PAS を併用した第 3 篇の SM-PAS→INH-PAS の場合には、たとえ主剤をかえてもなお SM、PAS に対する耐性獲得は、3 者併用群よりも度合が大きい印象を受けた。かくの如く本実験成績よりは、明らかに 2 者併用療法をそれと交叉耐性を有しない、全く新たな薬剤による 2 者併用に交替させて治療した場合には、むしろ 3 者併用療法 (S₂ I₂ P 毎) を終始一貫して使用する場合より、その耐性獲得の度合は少なかつたのである。しかも前記養谷⁹⁾が 3 者併用又は 2 者併用にては、INH を含む組合せの場合は、INH に対する耐性発現が少ないと述べている。更に三富⁸⁾も各種併用療法の動物実験にて、20 週より 30 週目において明らかに耐性獲得の上昇を認めているが、この事実よりも途中で薬剤を全く交替さすことは、終始一貫同一治療を継続するよりも理論的にも耐性獲得の度合が少なく有利であろうと考えられるし、実際に著者の実験成績からもその事が言える様である。勿論、本篇に於ける如き動物実験的な検討は試験管内実験と、臨床試験との中間的な位置を占め、臨床的な耐性獲得を究明す

る為の 1 つのより所となるにすぎないものと考えられる。現在結核化学療法は治効の増強及び耐性獲得の防止の両面から、2 者併用或いは 3 者併用等の併用療法が用いられているが、尚全く耐性を異にした薬剤による 2 者併用療法の施行順序を変える事が、耐性獲得に及ぼす得失については明らかになつていない状態である。著者は海狸を用いて各種併用化学療法の施行順序を変えた場合の耐性発現の度合を比較検討したのであるが、更に臨床面においてこの点が追究され、どの様な併用療法をどの様な順序で、更にどの様な病型、病症に対して施行するのが最も有利であるかと言う複雑な問題が解明される日が来れば、新抗結核剤の発見にも劣らず結核化学療法を大いに豊かにするであろうと考える。

第 5 章 結 論

以上 30 週間にわたり動物実験の成績につき結論すれば、前眼部病変の経過に及ぼす効果については、INH 先行 2 者併用群は各群とも、3 者併用群及び SM 先行群より勝り、3 者併用群はその中間の成績であつた。しかし PAS を終始使用した群は、明らかに後半主剤を変更するもなお終末には悪化の傾向を認めると共に、耐性獲得の阻止面よりも最も劣つたのであつた。2 者併用法の順序の交替による耐性阻止面における差は認めず、この点についてはいずれを先にするかが有利とは言えなかつた。しかし、全く新しい薬剤で交替さす事は明らかに他の終始一貫同じ組合せの薬剤を投与した群に比べ有利の様だつた。

(摺筆に臨み、終始御指導御援助を戴いた前川助教授、養谷先生に深甚の謝意を表し、合わせ実験推進に何かと御便宜を戴いた晴風園院長今井米喜博士に深謝する。)

文 献

- 1) Demerec, M., : J. Bact. 56, 63, (1948)
- 2) 内藤益一：日本医事新報, No. 1698, 8. (昭 31. 11. 10)
- 3) 今井節朗：胸部疾患, 1—1, 25, (昭 32. 4)
- 4) 今井節朗：胸部疾患, 1—2, 68, (昭 32. 5)
- 5) 今井節朗：胸部疾患, 1—3, 124, (昭 32. 6)
- 6) 今井節朗：胸部疾患, 1—4, 164, (昭 32. 7)
- 7) T. Zerbrowski, et al., : Beiter, Klin, Tuberk., 111-4, 4, (1954.)
- 8) 三富和郎他：結核, 32 卷増刊号, 132, (1957)
- 9) 養谷健比古：胸部疾患, 2—10, 456, (昭 33. 10)