

組織培養法による HeLa 細胞内結核菌におよぼす 抗結核剤の効果に関する研究

〔第4篇〕 SM および INH 耐性菌の菌力に関する実験なら
びに各耐性菌におよぼす抗結核剤の効果

京都大学結核研究所小児特異性研究部（主任 教授 佐川一郎）

張 良 治

（昭和34年6月26日受付）

内 容 抄 録

SM および INH 耐性結核菌の HeLa 細胞内における発育を H₃₇Rv 株, BCG 株, H₃₇Ra 株, 鳥型菌調株および患者株と比較検討することによつて各耐性菌の菌力に関する考察を行い, 併せて各耐性菌に対する SM, PAS, INH, PZA, KM の効果について実験を行い次の結果を得た。

1) H₃₇Rv 株, BCG 株, H₃₇Ra 株および鳥型菌の発育を比較すると H₃₇Rv 株が最も著明であり, BCG 株はかなりの遅延を示した。H₃₇Ra 株, 鳥型菌は全く発育を認めず, 培養中細胞内から消失した。

これらのことから強毒株, 弱毒株および無毒株の HeLa 細胞内における発育とその菌力とは相関があると考えられる。

2) INH 10 γ /cc 耐性を示す1株を含む患者株5株は H₃₇Rv 株と大差を認めなかつた。

3) SM 1000 γ /cc 耐性株の発育は親株である H₃₇Rv 株と大差なく, INH 100 γ /cc 耐性株は H₃₇Rv 株より遅く BCG 株より迅速であつた。

4) SM および INH 耐性株の他剤に対する感受性は原感受性株と大差を認めなかつた。また交叉耐性は認められなかつた。

I 結 言

抗結核剤投与による耐性菌の出現は結核化学療法にとつて最大の障碍であり, 殊に SM, INH は速やかに耐性菌が生じやすいといわれている。一つの薬剤に対する耐性菌の他剤に対する感受性は感受性菌と大差ないとするものが多い。また菌力については幾多の報告があり見解が区々であるが, SM 耐性菌に関しては原感

受性株と比較して大差ないとするもの¹⁾⁻²⁾, または不定とするもの³⁾⁻⁵⁾ など耐性獲得と菌力との間に一定した関係がないようである。これに反して INH 耐性菌については菌力の著しい低下が諸家⁶⁾⁻¹⁴⁾ により報告されているが, これらはモルモットにおける皮下接種の場合であり, マウスの静脈内接種においては菌力の低下を認めないとするものが多く¹⁵⁾⁻¹⁸⁾, この問題は今後の課題として残されている。Rich¹⁹⁾ は結核菌の菌力は宿主体内における菌の増殖力であり, 結核菌の菌力の差は単に量的な差にすぎないことを強調した。かかる観点より結核菌の菌力を検討するに際しては宿主における菌の生存, 増殖の動態を把握することが重大な課題であると考ええる。私は今までの実験より H₃₇Rv 株の HL 内における増殖が極めて旺盛であつて遂には細胞を破壊することを認め, 体内における菌の消長をうかがう一手段として HL の組織培養法による結核菌の検索を利用しようのではないかと考えたので, 菌力を異にする数種の菌株および SM ならびに INH 耐性菌の HL 内における発育を比較検討し, 併せて各耐性株の抗結核剤に対する感受性について実験を行った。

II 実験材料および方法

使用菌株

1) H₃₇Rv 株 当教室にて代々継代培養したもので第2篇において各薬剤に対して感受性を有することを確認した。

2) BCG 株 当研究所細菌血清学部より分与を受け Dubos 培地に継代した株である。

3) H₃₇Ra 株 当研究所病態生理学部より分与を受け Dubos 培地に継代した株である。

4) 鳥型菌獣鳥株 BCG 株に同じ。

5) 患者株 患者喀痰より1%小川培地に4週間培養した結核菌を Dubos 培地に移し、2~3代継代培養を行つた株である。この中 No. 1 は INH 10 r/cc に、No. 2 は PAS 10 r/cc に耐性を示した。その他の菌株は使用した薬剤に感受性を保持していた。

以上の各菌株は鳥型菌のみ3日間、その他は7日間 Dubos 培地に培養したものを実験に供した。

6) SM 耐性株 H₃₇Rv 株を SM 含有 Dubos 培地にて増量継代培養法により継代培養し、5代目に SM 1000 r/cc 含有 Dubos 培地に発育した耐性株である。

7) INH 耐性株 SM 耐性株と同様に H₃₇Rv 株を増量継代し、6代目に INH 50 r/cc 含有 Dubos 培地に発育した耐性株である。

SM および INH 耐性株はそれぞれ SM 1000 r/cc, INH 50 r/cc を含む Dubos 培地に7日間培養し、薬剤無添加の対照と同程度の発育を示すことを認め実験に供した。この際の耐性度を Dubos 培地を用いて検した成績は第1表および第2表に示した通りで、SM 耐性株は1000 r/cc に、INH 耐性株は100 r/cc に耐性を示した。

結核菌浮遊液

各菌株を第1篇に述べた如く処理し、0.1 mg

第1表 H₃₇Rv-RSM 株の耐性度

SM 濃度 r/cc	0	125	250	500	1000	2000	4000
使用株							
H ₃₇ Rv-RSM	++	++	++	++	++	-	-

接種菌量 0.01 mg 1週判定

第2表 H₃₇Rv-RINH 株の耐性度

INH 濃度 r/cc	0	6.25	12.5	25	50	100	200	400
使用株								
H ₃₇ Rv-RINH	++	++	++	++	++	++	-	-

接種菌量 0.01 mg 1週判定

/cc の菌液を作製し使用したが、INH 耐性菌については 0.5 mg/cc の菌液をも作製した。

判定方法

判定は実験Aでは菌液添加の日より1, 3, 5, 7日後に、実験Bでは第2篇実験Aと同様にして3, 5, 7日後に喰菌細胞100ヶについて結核菌の分布を求めて行つた。

その他の実験材料および方法は第1篇および第2篇実験Aにて述べた通りである。

Ⅲ 実験成績

実験A HL 内における各菌株の発育

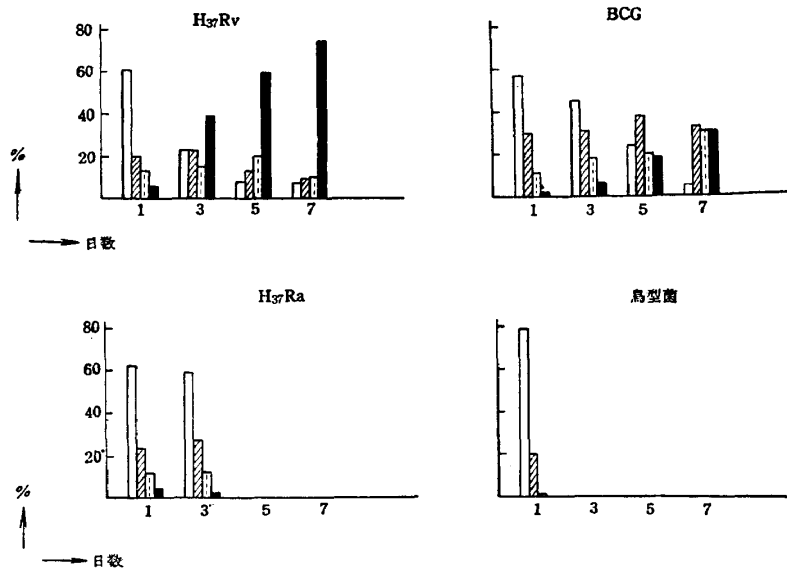
H₃₇Rv 株, BCG 株, H₃₇Ra 株, 鳥型菌獣調株についての成績は第3表, 第1図に示した。H₃₇Rv 株は既に認めたと同様5日後より HL の軽度の破壊を来した。BCG 株は H₃₇Rv 株に比して明らかに発育が緩徐であり、菌含有細胞の破壊、変性は認められなかつた。H₃₇Ra

第3表 H₃₇Rv 株, BCG 株, H₃₇Ra 株, 鳥型菌の発育

使用株 菌数	H ₃₇ Rv				BCG				H ₃₇ Ra				鳥 型 菌			
	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7
1~2	61	23	8	7	57	45	24	5	62	59	※	※	79	※	※	※
3~5	20	23	13	9	30	31	38	33	23	27			20			
6~10	13	15	20	10	11	18	20	31	11	12			1			
>10	6	39	59	74	2	6	18	31	4	2			0			

(※ 細胞内菌消失)

第1図 H₃₇Rv 株, BCG 株, H₃₇Ra 株, 鳥型菌の発育

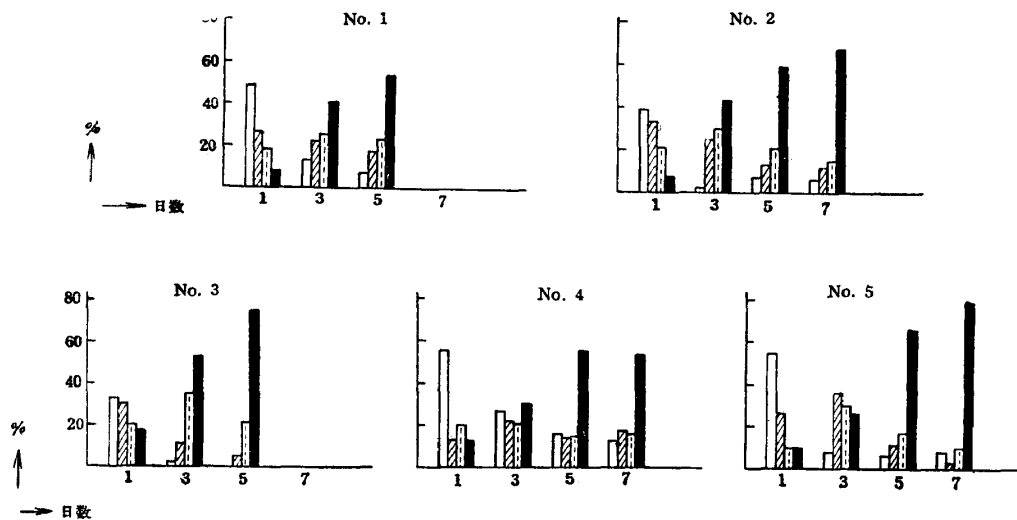


第4表 患者株の発育

使用患者株 菌数	No. 1 (INH10r/cc 耐性)				No. 2 (PAS10r/cc 耐性)				No. 3				No. 4				No. 5			
	日数				日数				日数				日数				日数			
	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7
1~2	48	13	7	+	39	2	7	6	33	2	0	+	55	27	16	13	54	8	6	8
3~5	26	22	17		33	25	13	12	30	11	5		13	22	14	18	26	36	11	3
6~10	18	25	23		21	30	21	15	20	35	21		20	21	15	16	10	30	17	10
>10	8	40	53		7	43	59	67	17	52	74		12	30	55	53	10	26	66	79

(+ 細胞破壊著明)

第2図 患者株の発育



株, 鳥型菌は発育が全くみられず, 前者では5日以後, 後者では3日以後細胞内に菌を認めなくなった。

患者株の発育は第4表, 第2図に示した。すなわち No. 1, No. 3 は著しい細胞の破壊, 変性を来したため, 7日後には正常細胞について

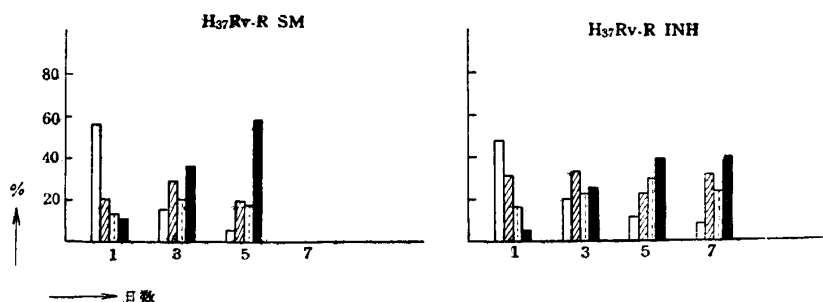
第5表 H₃₇Rv-RSM, H₃₇Rv-RINH 株の發育

使用株 日数 菌数	H ₃₇ Rv-RSM				H ₃₇ Rv-RINH			
	1	3	5	7	1	3	5	7
1~2	56	15	5	+	48	20	11	6
3~5	20	29	19		31	33	22	31
6~10	13	20	18		16	22	29	23
>10	11	36	58		5	25	38	40

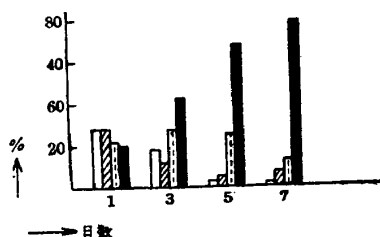
(+) 細胞崩壊著明)

菌の分布を得ることができなかった。No. 2, No. 5 は H₃₇Rv 株とほぼ等しく, No. 4 は全体にやや發育の遅延を認めたが, H₃₇Rv 株と同様5日以後に軽度の細胞の崩壊を認めた。

SM 耐性株および INH 耐性株の發育は第5表, 第3図に示した。SM耐性株の發育は極めて旺盛であつて, 7日後には菌の過剰増殖による細胞の破壊が著明であり細胞外に著しい増殖を示し, 正常細胞について細胞内における菌分布が得られなかつたのに対して, INH 耐性株の發育は明らかに遅延し, 細胞に対する影響は

第3図 H₃₇Rv-RSM, H₃₇Rv-RINH 株の發育第6表 大量感染時の H₃₇Rv-RINH の發育
(0.5 mg/cc 菌液使用)

日数 菌数	1	3	5	7
1~2	29	19	3	2
3~5	29	12	5	7
6~10	22	27	25	13
>10	20	42	67	78

第4図 大量感染時の H₃₇Rv-RINH の發育
(0.5 mg/cc 菌液使用)

認められなかつた。

次に INH 耐性菌の菌液を 0.5 mg/cc に増

量した成績は第6表, 第4図に示したが, 發育は極めて旺盛であり, 7日後の成績では親株である H₃₇Rv 株の少量感染とほぼ等しい發育を示し, 細胞破壊による細胞外における増殖を認めた。

実験B HL 内 SM および INH 耐性菌におよぼす抗結核剤の効果

1) SM 耐性菌におよぼす SM, KM, PAS INH, PZA の効果

成績は第7表第5図に示した。SM 100 r/cc, 1000 r/cc では対照と大差なく5日以後には細胞外に菌の増殖を認めた。5000 r/cc ではある程度發育の抑制を認めたが, その効果は第2篇における感性菌の実験成績に比し明らかに差を認めた。KM は 5000 r/cc, PAS は 100 r/cc で不完全阻止を示し, INH は 0.06 r/cc で, PZA は 250 r/cc で完全阻止を認めた。KM 以下の成績は第2篇実験Aにおける成績とほぼ一致した。

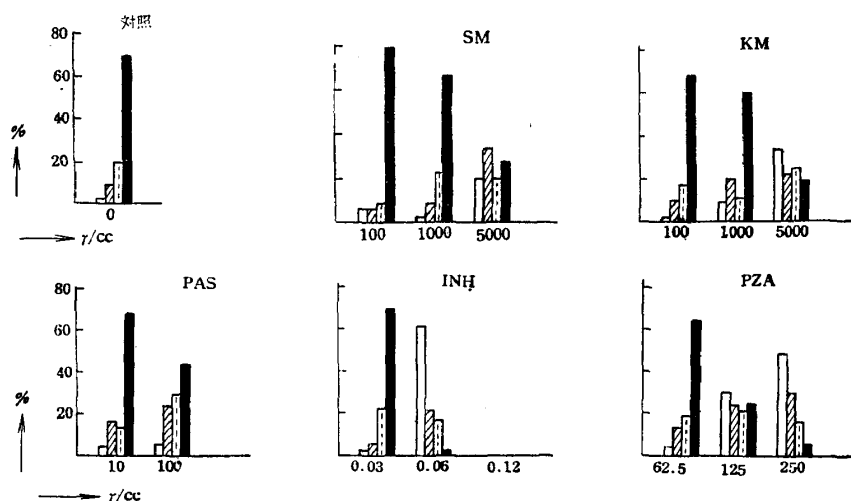
第7表 HL 内 H₉₇RV-RSM におよぼす SM, KM, PAS, INH, PZA の効果

薬剤 濃度 (r/cc)	対 照	S				M				K				M				PAS				INH				PZA																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
		0				100				1000				5000				100				10				100				0.03				0.06				0.12				62.5				125				250																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
		0	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7

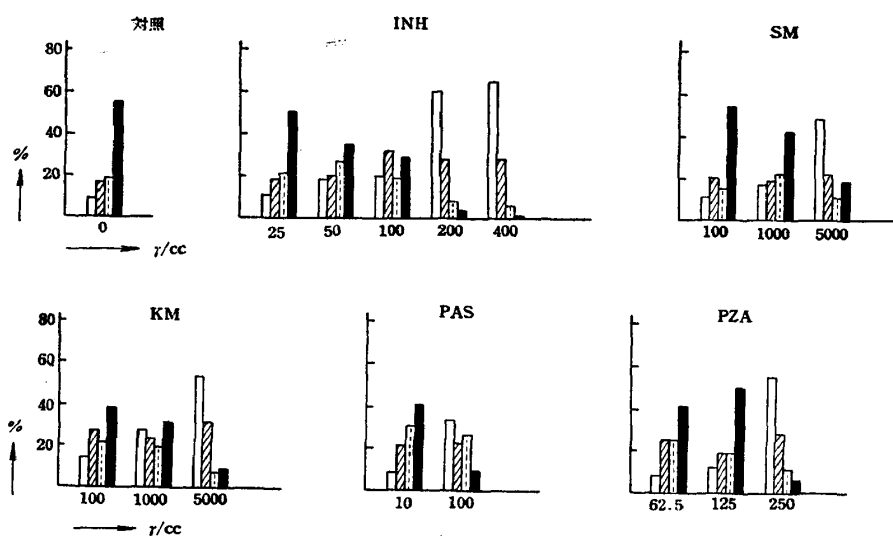
第8表 HL 内 H₉₇RV-RINH におよぼす INH, SM, KM, PAS, PZA の効果

薬剤 濃度 (r/cc)	対 照	I N H												S M						K M			P A S			P Z A																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
		0			25			50			100			200			400			100			1000			5000			100			1000			5000			10			100			62.5			125			250																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																		
		0	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7

第5図 HL 内 $H_{37}Rv$ -RSM におよぼす SM, KM, PAS, INH, PZA の効果
(7日後の成績)



第6図 HL 内 $H_{37}Rv$ -RINH におよぼす INH, SM, KM, PAS, PZA の効果
(7日後の成績)



2) INH 耐性菌におよぼす INH, SM, KM, PAS, PZA の効果

成績は第8表、第6図に示した。INH は 25 r/cc で既に不完全阻止を認め、200 r/cc で完全に発育を抑制した。SM は 5000 r/cc でも完全阻止濃度は得られず、KM はほぼ SM の成績と似たが 5000 r/cc で完全阻止を示し、PAS は 100 r/cc で不完全阻止、PZA は 250 r/cc で完全阻止を認めた。この成績では SM の効果がやや劣って表現されたが判定方法の誤差範囲と考えられる。その他の薬剤については、第2篇実験Aにおける感性菌に対する成績とはほぼ一致した。

IV 総括および考按

結核菌の菌力と宿主体内における菌の消長との関係についてはいくつかの報告がある。Pierce ら²⁰⁾は菌力を異にする結核菌のマウスの臓器における消長を観察し、 $H_{37}Ra$ 株は増殖を認めず、BCG 株は感染の初期には増殖をみるがその後次第に生菌数が減少することを認め、個体に対する菌力と臓器内における菌の増殖能力とが併行することを指摘した。Mackness²¹⁾は同様にマウスを用いた実験で肝、脾における生菌数は $H_{37}Rv$ が最も多く、 R_1Rv , $H_{37}Ra$, BCG の順に減少し、 $H_{37}Rv$ 株と他株との間に著しい差を認め、結核菌の菌力は細胞

内において生存し増殖する能力であると考えた。また佐藤²²⁾、加藤²³⁾はマウスの臓器において、加藤²³⁾、三木²⁴⁾、深津²⁵⁾はマウスの全身ホモゲナイズ法による全身生菌単位数の推移を比較し、H₃₇Rv 株と H₃₇Ra 株または BCG 株との間に著明な差を認めている。単球を用いた実験では、Mackness は先に述べたマウスにおける成績と併行するといひ、Suter²⁶⁾ は H₃₇Rv 株と R₁Rv, BCG 株との間には発育の差を認めなかつたが、H₃₇Ra 株の発育は全く認めていない。Shepard²⁷⁾ は HL を用いた実験で H₃₇Rv 株の発育が最も速く、H₃₇Ra 株と BCG 株とは同程度であるが H₃₇Rv 株よりかなりの遅延を認めている。以上諸家の報告をみると H₃₇Ra 株の宿主における増殖に関して意見の相違があるが、強毒菌と無毒菌の動態の変化に著明な差を認めることにおいて一致している。本実験では成績に示した如く、H₃₇Rv 株が最も著しい発育を示し、BCG 株は発育が緩徐であつた。H₃₇Ra 株、鳥型菌獣調株は全く発育が認められず、それぞれ3日後および5日後に細胞内から消失したが、これは発育に不適当な環境において HL により消化されたためであろう。以上の成績は Pierce らの述べた如く H₃₇Rv 株、BCG 株、H₃₇Ra 株の菌力と相関を示すものと考えられる。患者から分離した5株の成績はいずれも著明な発育を示した。次にこれら菌株の発育を対照として SM 耐性株および INH 耐性株の発育様式を比較検討し、その菌力に対する考察を加えてみよう。SM 耐性株の発育は親株である H₃₇Rv 株との間に大差を認めず、これに反して INH 耐性株は H₃₇Rv 株に比し明らかに発育が緩徐であり、BCG 株より速やかであつた。菌力と HL 内における発育との間に相関があるとの観点から推論すると、これら発育様式の相違は恐らく SM 耐性菌の菌力が感性菌と大差がないのに対し、INH 耐性菌の菌力は著しい減弱を示すものであり、かつ H₃₇Rv 株と BCG 株との中間に位するものであらうと考えられる。しかし INH 10 γ /cc 耐性を示した患者株 (No. 1) は極めて著しい発育を示し、細胞に対する影響も H₃₇Rv 株と

の間に大差を認めなかつた。Shepard²⁷⁾ は INH 耐性結核患者株と H₃₇Rv 株の HL 内における発育は同程度であることを報告し、小野²⁸⁾はモルモット腹腔内単球を用いて INH 50 γ /cc 耐性菌の発育を H₂ 株と比較したが両者間に差を認めていない。また本実験において INH 耐性菌の大量を感染させた成績では著しい発育を認めた如く、実験条件の差異による成績の不一致も当然考えられる。しかし H₃₇Rv 株と比較して試験管内で作製した INH 高度耐性株の発育が遅延したのに対し、患者株では大差を認めなかつたことは耐性度の相違もあらうが、患者株中に強毒菌の混在することを示唆するものであらうか。INH 耐性菌の耐性度と菌力との関係については相関々係を認めるもの¹⁷⁾、または関係がないとするもの^{7) 8) 16) 30)} など見解の一致をみず結論が得られていないようであるが、この問題は実験に用いられた菌の耐性度の相違、耐性菌の Population の不均一、動物差などの諸条件の関与が考えられ、なお慎重に考慮すべき必要があらう。Middlebrook¹⁰⁾ らのモルモットに対して無毒である INH 耐性菌が人間の体内においても無毒であらうとする推定は余りにも飛躍しすぎているのではなからうか。

INH 耐性菌のもう一つの特徴としえあげられている感性復帰の現象^{31) - 33)} は本実験にて認めた如く耐性菌と感性菌との発育の差に起因し、bacterial population の不均一を物語るものかも知れない。

最近臨床面において INH 耐性が軽視される趣もあるが、既に述べた如く INH 耐性菌の毒力に関してはなお多く検討の余地があり、他剤と同様できるだけ耐性出現を少なくするような対策が必要であらう。

SM および INH 耐性菌の他剤に対する感受性は諸家の報告によると感性菌の場合と大差がないようである^{34) - 39)}。本実験の成績は第2篇に述べた H₃₇Rv 株の成績とほぼ一致したことから、使用した薬剤については感性菌とほぼ同程度の感受性を維持していることが考えられ、また交叉耐性は認められなかつた。

全篇に対する総括

適当な馬血清を使用することによつて HL に結核菌を喰菌させ、細胞内結核菌についての検索を行つた。細胞内における強毒株 $H_{37}Rv$ および患者喀痰より分離した菌株は極めて旺盛な発育を示したが、弱毒株 BCG は明らかに遅延し、無毒株 $H_{37}Ra$ はほとんど発育をみなかつた。これらのことは動物実験とほぼ一致するものであり、結核菌の人体に対する病原性と HL 内における発育との間の相関を示すものと考えられる。 $H_{37}Rv$ 株に対する抗結核剤の効果に関して最も注目されたことは INH の卓越した作用であり、細胞内においても細胞外と同濃度で顕著な抗菌作用を示した。PZA は抗菌力は弱いが INH と同様の傾向を示した。SM, KM, VM および PAS は細胞内菌の発育阻止には細胞外におけるより極めて高濃度を必要としたが、これはこれら薬剤が細胞膜を透過しがたいためと考えられる。このように INH は他剤にみられない特徴を有し、SM に代つて結核化学療法の主体となつた感がある。特に初感染結核症より進展する血行撒布の防止に認められる INH の効果は、その滲透性と何らかの關聯が考えられ、小児結核の領域に欠くことのできない薬剤とされている。近年 INH を大量に投与して治効作用の増強を得ようとする試みがあり、INH による中毒作用の発現防止の面から INH 誘導体の研究が進められる一方、代謝拮抗に関して Vit. B₆, NA の併用が唱えられている。これについては INH 誘導体の効果より、誘導体の作用は遊離 INH によるであろうことおよび INH と Vit. B₆, NA の併用は拮抗を認めず、副作用防止の面から併用には支障ないであろうことが考えられる。併用効果については SM, PAS, INH の併用はいずれも協同効果を示し、3 者併用において最もすぐれた結果を得た。PZA, INH 併用にて明らかな効果を認めたが、両剤が共に細胞膜を透過しやすいことと相まつて興味深いことである。INH は SM と同様耐性菌が出現しやすいことがいわれているが、特に INH 耐性菌については他の耐性菌にみられない菌力の減弱が知られている。本実験においては試験管内で $H_{37}Rv$ 株よ

り作製した INH 耐性株の HL 内における発育の速度は、原株と BCG 株の中間にあり、この耐性株の菌力はこれに併行するであろうことを推定した。一方 INH 10 γ/cc 耐性患者株が $H_{37}Rv$ 株とほぼ同等の発育を示したことは、耐性菌の中には感性菌と同程度の毒力を維持するものがあることを示唆する。耐性菌の耐性度と菌力との関係は本実験からは明らかにし得なかつたが、耐性菌即ち弱毒菌であるとする推論は臨床面においても公衆衛生の面からも多大の危険性を有するものと思われる。INH および SM 耐性菌に対する他剤の効果は感受性菌に対する場合と大差なく、交叉耐性は認められなかつた。

V 結 論

SM および INH 耐性結核菌の HL 内における発育を $H_{37}Rv$ 株, BCG 株, $H_{37}Ra$ 株, 鳥型菌調株および患者株と比較検討することによつて各耐性菌の菌力に関して考察を行い、併せて各耐性菌の SM, PAS, INH, PZA, KM に対する感受性について検討し、次の結果を得た。

- 1) $H_{37}Rv$ 株, BCG 株, $H_{37}Ra$ 株および鳥型菌の発育を比較すると $H_{37}Rv$ 株が最も著明であり、BCG 株はかなりの遅延を示した。 $H_{37}Ra$ 株、鳥型菌の発育は全く認められなかつた。
- 2) INH 10 γ/cc 耐性を示す 1 株を含む患者株 5 株は $H_{37}Rv$ 株と大差を認めなかつた。
- 3) SM 耐性株の発育は原株 $H_{37}Rv$ とほぼ等しく、INH 高度耐性株の発育は原株 $H_{37}Rv$ より遅く BCG 株より速やかであつた。
- 4) SM および INH 耐性株の他剤に対する感受性は原感受性株と大差を認めず、また交叉耐性は認められなかつた。

(終りに臨み終始懇篤なる御指導と御校閲の労を賜つた恩師佐川一郎教授に深い感謝の意を表します。)

参 考 文 献

- 1) 小酒井：医学と生物学，19，93 (昭26)
- 2) 工藤：結核，32，551 (昭32)

- 3) 村田：結核，29，14（昭29）
- 4) 橋本：医学と生物学，31，115（昭29）
- 5) 橋本：結核，29，383（昭29）
- 6) Middlebrook, G. : Science, 118, 297 (1953)
- 7) Peizer, L.R. : Amer. Rev. Tuberc., 68, 290 (1953)
- 8) Steenken, W. : Amer. Rev. Tuberc., 68, 548 (1953)
- 9) Middlebrook, G. : Amer. Rev. Tuberc., 69, 471 (1954)
- 10) Middlebrook, G. : Amer. Rev. Tuberc., 70, 852 (1954)
- 11) Karlson, A. G. : Amer. Rev. Tuberc., 70, 531 (1954)
- 12) Stewart, S. M. : Amer. Rev. Tuberc., 69, 641 (1954)
- 13) 平野：東京医事新誌，70，371（昭28）
- 15) Morse, W. C. : Amer. Rev. Tuberc., 69, 464 (1954)
- 16) Bloch, H. : Amer. Rev. Tuberc., 68, 734 (1953)
- 17) Mitchison, D. A. : Amer. Rev. Tuberc., 69, 640 (1954)
- 18) Cohn, M. L. : Amer. Rev. Tuberc., 70, 641 (1954)
- 19) Rich, A. R. : The Pathogenesis of Tuberculosis, Charles C. Thomas, Springfield (1951)
- 20) Pierce, C. H. : J. Exp. Med., 97, 189 (1953)
- 21) Mackaness, G. B. : Amer. Rev. Tuberc., 69, 479 (1954)
- 22) 佐藤：結核，30，455（昭30）
- 23) 加藤：結核，30，638（昭30）
- 24) 三木：結核，33，568（昭33）
- 25) 深津：結核，33，634（昭33）
- 26) Suter, E. : J. Exp. Med., 96, 137 (1952)
- 27) Shepard, C. C. : J. Exp. Med., 105, 39 (1957)
- 28) 小野：呼吸器診療，13，691（昭33）
- 29) 小川：日本臨牀結核，14，564（昭30）
- 30) 柴田：結核研究の進歩，22，69（昭33）
- 31) 熊谷：日本臨牀結核，12，609（昭28）
- 32) Johnston, R.N. : Amer. Rev. Tuberc., 70, 442 (1954)
- 33) 石川：結核，30，183（昭30）
- 34) 柳沢：日本医事新報，9，158（昭29）
- 35) 河盛：診療，7，904（昭29）
- 36) 高階：抗酸菌病研究雑誌，10，108（昭29）
- 37) Hobby, G. L. : Amer. Rev. Tuberc., 65, 771 (1952)
- 38) Middlebrook G. : Amer. Rev. Tuberc., 65, 765 (1952)
- 39) 石上：京都大学結核研究所紀要，6，233（昭33）