



|                  |   |
|------------------|---|
| Title            | 化学療法剤耐性結核菌の検索：人体の各種結核臓器より分離した菌の薬剤耐性について   |
| Author(s)        | 山本, 健一; 久世, 彰彦  |
| Description      |   |
| Citation         | 結核の研究, 2, 43-46   |
| Issue Date       | 1955-03   |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/26558">https://hdl.handle.net/2115/26558</a> |
| Type             | departmental bulletin paper   |
| File Information | 2_P43-46.pdf  |



## 原 著

# 化 学 療 法 劑 耐 性 結 核 菌 の 檢 索

— 人体の各種結核臓器より分離した菌の  
薬剤耐性について —

山 本 健 一

北海道大學結核研究所豫防部 (主任 高橋義夫教授)

久 世 彰 彦

北海道大學醫學部第一内科教室 (主任 山田豊治教授)

### 緒 論

肺内及びその他の病巣から分離された結核菌は、其の病巣が属していた臓器更に臓器内の部位によつて抗結核剤に対する抵抗性に差異を呈するのではないかと云うことは一応結核関係の研究者の脳裡をかすめる疑問であろう。この点を明らかにしておくことは、単に生体内における結核菌の薬剤抵抗性の成立機序の算明に役立つばかりでなく更に結核化学療法剤の効果と菌の抵抗性ととの関係を考察する上に興味深い問題である。この点に関して、従来結核屍の剖検材料より分離した結核菌の薬剤耐性を、生前使用されていた薬剤について検索した報告例は余り多くはない<sup>1)~3)</sup>。我々の今回の研究は主として病巣の位置によつて結核菌の薬剤耐性に差があるかどうかを追求する目的で行われた。

### 実験材料及び方法

今回の報告は今迄に得られた結核屍7例である。これらの剖検材料から総計54個所の病巣を取り出し、それについて結核菌の有無及び其の耐性の程度を検した。患者は生前ストレプトマイシン (SM)、パス (PAS) 及びイソニコチン酸ヒドラゼッド (INAH) の中、少なくとも2種以上の薬剤で治療を受けていたものである。

先ず剖検によつて肉眼的に病変の認められた肺、肝、脾、腎、脳及びリンパ腺の選択部位を、滅菌した器具で切除し、その切除片約1~0.5gを乳鉢で磨碎し、これに1%苛性ソーダー約10倍量加えて稀釈攪拌し、その0.1ccを小川培地に培養した。ついで培養1箇月後に生じたコロニーを出来るだけ多く集め、之を常法に従つて水晶玉入りコルペンで磨碎し、3 mg per cc の蒸溜水菌浮遊液を作り、この

0.1 cc 即ち菌量として 0.3 mg を一連の薬剤加抵抗性測定用培地に接種した。

使用培地は 10% 牛血清加 Kirchner 培地で、SM は per cc 当り 1000, 100, 50, 10 及び 1r, INAH 及び PAS は夫々 50, 25, 10 及び 1r の割合に含有したものである。判定は培養3週間目に行い、菌が発育して来た試験管の最大薬剤濃度 (r であらわす) をもつて其の菌の耐性度とした。

### 実験成績

表に示してあるように、各症例によつて耐性の出現と病変部位及び性状とに一定した相関は認め難いが、第5例を除き耐性は部位及び性状によりかなりの差を示した。殊に第2例では肺、脾及び腎から分離した菌と、脳及び肝より得られた菌との間には SM 耐性に著しい差異が認められた。此の際興味深いことは、この例における SM 耐性菌は分離当時やや発育悪く、且つ耐性検査の際には SM を含まない対照試験管よりも SM 1000 r/cc を含む試験管の方に於て菌の発育が遙かにより所謂 SM 増強株の様相を呈したことである。

### 考 察

この研究によつて得られた成績の意義を考察するのに先ず必要なのは結核菌薬剤耐性の判定法の吟味である。

Wolinsky<sup>4)</sup>らは SM 耐性菌と感受性菌とを種々の割合に混合して耐性試験を行つたところ、接種菌数 700 万個に対し 0.1% の割合に耐性菌が含まれている場合でさえも、その菌の有する耐性度を示す結果が得られるとの結論に到達している。本研究においては耐性検査に用いられた接種菌量は 0.3 mg で、菌数としてはかなりの大量で上述の

各種臓器より分離せる結核菌の投與薬劑に對する抵抗力

| 症例                 | 臓器      | SM                   |                       | INAH             |        | PAS              |        |     |
|--------------------|---------|----------------------|-----------------------|------------------|--------|------------------|--------|-----|
|                    |         | 發育最高濃度<br>(r/cc)     | 投與量                   | 發育最高濃度<br>(r/cc) | 投與量    | 發育最高濃度<br>(r/cc) | 投與量    |     |
| 1                  | 腎       | >1000                | 36 g                  | 10               | 45.6 g | 10               | 400 g  |     |
|                    | 肝       | >1000                |                       | 10               |        | 20               |        |     |
|                    | 脾       | >1000                |                       | 10               |        | 10               |        |     |
|                    | 肺 {     | 左 上 葉                |                       | >1000            |        | 1                |        | <1  |
|                    |         | 左上葉空洞壁               |                       | >1000            |        | 1                |        | 1   |
|                    |         | 右 上 葉                |                       | >1000            |        | 1                |        | 10  |
|                    |         | 右上葉空洞壁               |                       | >1000            |        | 10               |        | 10  |
|                    |         | 右 中 葉                |                       | >1000            |        | >50              |        | >20 |
|                    |         | 右中葉空洞壁               |                       | >1000            |        | 1                |        | 1   |
|                    |         | 右 下 葉                |                       | >1000            |        | 1                |        | 1   |
|                    |         | 右下葉空洞壁               |                       | >1000            |        | 10               |        | 10  |
| 旁氣管淋巴腺             | >1000   | 1                    | 1                     |                  |        |                  |        |     |
| 腸間膜淋巴腺             | 100     | <1                   | 1                     |                  |        |                  |        |     |
| 2                  | 肺 右 上 葉 | >1000                | 50 g<br>(内5gは<br>髓腔内) | 1                | 20 g   |                  |        |     |
|                    | 脾       | >1000                |                       | 1                |        |                  |        |     |
|                    | 肝       | <1                   |                       | 10               |        |                  |        |     |
|                    | 腎 空 洞 壁 | >1000                |                       | 10               |        |                  |        |     |
|                    | 腦 {     | 腦 底 部                |                       | <1               |        | 10               |        |     |
| 第 四 腦 室            |         | <1                   | 10                    |                  |        |                  |        |     |
| 3                  | 肺 {     | 右 上 葉                | 100 g                 | >50              | 11 g   | 1                | 680 g  |     |
|                    |         | 右上葉空洞壁               |                       | 10               |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右 中 葉 <sup>(1)</sup> |                       | >50              |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右 中 葉 <sup>(2)</sup> |                       | >50              |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右中葉空洞壁               |                       | >50              |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右 下 葉                |                       | >50              |        | 1                |        |     |
| 4                  | 肺 {     | 右 上 葉                | 100 g                 | 10               | 10 g   | 1                | 1300 g |     |
|                    |         | 右上葉乾酪巢               |                       | 10               |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右 中 葉 <sub>1</sub>   |                       | 10               |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右 中 葉 <sub>2</sub>   |                       | 10               |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右 下 葉 <sub>1</sub>   |                       | 10               |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右 下 葉 <sub>2</sub>   |                       | 10               |        | 1                |        |     |
|                    |         | 右肺門淋巴腺               |                       | 10               |        | 10               |        |     |
|                    |         | 左 上 葉                |                       | >50              |        | 1                |        |     |
|                    |         | 左上葉空洞壁               |                       | >50              |        | 1                |        |     |
|                    |         | 左 下 葉 <sub>1</sub>   |                       | 10               |        | 1                |        |     |
| 左 下 葉 <sub>2</sub> | 10      | 10                   |                       |                  |        |                  |        |     |
| 5                  | 肺 {     | 右 下 葉                |                       | >50              |        | 10               |        |     |
|                    |         | 左上葉空洞壁               |                       | <1               |        | >50              |        | 10  |

| 症例 | 臓器               | SM               |       | INAH             |     | PAS              |     |        |
|----|------------------|------------------|-------|------------------|-----|------------------|-----|--------|
|    |                  | 發育最高濃度<br>(r/cc) | 投與量   | 發育最高濃度<br>(r/cc) | 投與量 | 發育最高濃度<br>(r/cc) | 投與量 |        |
| 6  | 肺                | 右中葉空洞壁(内)        | >1000 | 40 g             | >50 | 12 g             | >50 | 500 g  |
|    |                  | 右上葉空洞壁(肋)        | >1000 |                  | 10  |                  | >50 |        |
|    |                  | 右空洞内容            | >1000 |                  | 10  |                  | >50 |        |
|    |                  | 右上葉空洞壁(内)        | >1000 |                  | >50 |                  | >50 |        |
|    |                  | 右下葉 <sub>2</sub> | >1000 |                  | 10  |                  | >50 |        |
|    |                  | 左上葉 <sub>1</sub> | >1000 |                  | 10  |                  | >50 |        |
|    |                  | 左上葉 <sub>2</sub> | >1000 |                  | 10  |                  | >50 |        |
|    |                  | 右下葉 <sub>1</sub> | >1000 |                  | 10  |                  | >50 |        |
|    |                  | 左下葉 <sub>1</sub> | >1000 |                  | 10  |                  | 10  |        |
|    | 左下葉 <sub>2</sub> | >1000            | 10    | 10               |     |                  |     |        |
| 7  | 肺                | 左下葉              | >100  | 106 g            | 10  | 24 g             | >50 | 1250 g |
|    |                  | 左上葉              | >100  |                  | 10  |                  | >50 |        |
|    |                  | 右下葉              | >100  |                  | >50 |                  | >50 |        |
|    |                  | 右上葉空洞壁           | >100  |                  | 1   |                  | 10  |        |
|    |                  | 右上葉内容            | 10    |                  | 10  |                  | 1   |        |

Wolinsky らの夫々はほぼ近い。又、使用培地は Kirchner 培地で、Wolinsky らの使用した Youmans の培地に大差ないと考えてよい。従つて上述の実験事実を考慮して我々の得た結果を検討すると、被検病巣の結核菌が殆んだすべて耐性菌である場合には問題はないが、病巣中に存在する自然耐性菌が結果を左右しはしないかどうかの懸念がある。著者の 1 人、久世<sup>9)</sup> は INAH 未使用肺結核患者の喀痰中から多数例について結核菌を分離し、その中に含まれる INAH 自然耐性菌の割合を検したところ、その率は最高のものでさえ 0.01% であつた。喀痰と病巣とは同一に考えられないにしても、自然耐性菌の含まれる率は 0.1% を超えるとは思われない。従つて自然耐性菌の存在が我々の試験の結果を左右することはないとして差支えないのでなからうか。又、病巣中に耐性菌が少数な場合の試験結果については Canetti<sup>2)</sup> らは「被検病巣中の耐性菌の割合が非常に小さい場合には、その検査成績により多くの偶然性が関与することは否定し得ない。このような場合には、同一患者で病巣の異なつた部位から耐性度の異なる菌株が分離されたとしても、其の結果を全面的に信ずるわけにゆかない」と云つてゐるが、一応うなずける言葉である。

次に異なつた菌株の耐性度を相互に比較する際、差があるかどうかを認め得るには、その差がどの程度であればよいかと云うことが問題になる。この点に関して、Youmans<sup>6)</sup> らは多数例につき反覆して同一菌株の SM 耐性を

測定したところ、その差は SM 2 倍稀釈試験管列に於て 1 本を超えなかつたと云つてゐる。又 Canetti<sup>2)</sup> らは SM の稀釈列 0.5, 1, 2, 5, 10, 50, 100, 500 及び 1000 r/cc で試験し、その差が 3 本以上であれば確実に差があると認め得るとしてゐる。

以上の点から考えると、本実験では第 5 例を除き耐性の差を認め得たとしてよいと思う。

さて、我々の得た第 2 例は甚だ興味深い。即ち、脳及び肝より分離された菌は SM に全く耐性を示さず、之に反し、肺及び腎より得られた菌は SM 耐性で、所謂 SM 増強株なることである。

結核菌の SM 耐性獲得の機序については、種々の議論があるが、Yegian 及び Vanderlinde<sup>7)</sup> は mutation をその主役と考えてゐる。そして、Saenz<sup>1)</sup> によると、Mutation によつて生じた SM 耐性菌は投与された SM の selection によつて、その耐性を増大するとされている。selection をこの際の重要な因子と考えると、耐性に差を有する耐性菌を生ずるためには、SM の分布が病変部によつて差異を来すことが必要となる。結核患者に於ける SM 投与の際、肺の SM 分布に関して、Steenken<sup>8)</sup> らは空洞にも SM は十分に浸透するといひ、又、Levin<sup>9)</sup> によると血中濃度程ではないが、脳脊髄液中においても SM はかなり高濃度に達することが確かめられている。しかし、Freedlander<sup>10)</sup> によると SM は類脂質に不溶であるため、高度に

類脂質を含む脳の病変ではSMは無効であるといっている。之らの事実を照して、第2例を考えると、肺及び腎では菌がSMに高度の耐性を有するのに反し、類脂肪の多い脳及び肝にSMの有効濃度が浸透し難く、従つて、之らの臓器から得られた菌が耐性を有しない事実は一応肯首される。更に結核性脳膜炎を起した菌について、Dubos<sup>11)</sup>は、之らの菌が耐性を得難いのは、脳の病巣中で fibrinous wall 或いは matrix の内部に囲まれて存在しているため、SMは之らの壁を容易に通過し得ないためであると述べている。この事は我々の第2例の脳膜炎病巣からの分離菌が耐性を獲得していない事を説明するであろう。

Medlar<sup>12)</sup>, Beck<sup>13)</sup>及びDubos<sup>11)</sup>らは閉鎖性乾酪性病変部では、塗抹標本で抗酸性菌が認められるにもかかわらず培養陰性なる点を近時注意している。我々の実験では、塗抹標本を作っていないが、全例に於て培養により結核菌を得ているので、上に指摘された如き事を見出し得なかつたわけである。しかし、実験は続行中であるから今後此の点を追求したい。

#### 総 括

SM, PAS 及び INAH で治療を受けた結核患者7例の屍体に於ける肺その他の臓器総計54箇所につき、上記薬剤の耐性結核菌を検索した。その結果、病巣部位によるかなりの耐性の差異を認めた。特に1例では脳及び肝から得

られた菌と肺及び腎からのそれとはSM耐性に著しい差異が認められた。

#### 文 献

- 1) A. Saenz et G. Canetti: Rev. Tuberc. 1949, 13, 746-761.
- 2) G. Canetti et A. Saenz: Ann. Inst. Pasteur, 1951, 80, 238-254.
- 3) E. M. Medlar et al.: Amer. Rev. Tuberc. 1951, 63, 449-458.
- 4) E. Wolinsky et al.: Amer. Rev. Tuberc. 1948, 58, 335-343.
- 5) 久世彰彦: 結核の研究. 2 號 (1954) に發表の豫定.
- 6) P. G. Youmans and A. G. Karlson: Amer. Rev. Tuberc. 1947, 55, 529-535.
- 7) D. Yegian and R. J. Vanderlinde: Amer. Rev. Tuberc. 1950, 61, 483-507.
- 8) W. Steenken et al.: Amer. Rev. Tuberc. 1947, 56, 403-404.
- 9) L. Levin et al.: Amer. Rev. Tuberc. 1948, 58, 531-536.
- 10) B. L. Freedlender and F. A. French: Amer. Rev. Tuberc. 1947, 56, 373-375.
- 11) R. J. Dubos: Amer. Rev. Tuberc. 1952, 65, 637-640.
- 12) E. M. Medlar et al.: Amer. Rev. Tuberc. 1952, 66, 36-43.
- 13) F. Beck and D. Yegian: Amer. Rev. Tuberc. 1952, 66, 44-51.