HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	INH耐性菌の菌Population及びCatalase活性の臨床的意義に関する研究
Author(s)	小野寺, 忠純; 桑島, 核; 深江, 肇 他
Description	
Citation	結核の研究, 10, 9-15
Issue Date	1959-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26664
Type	departmental bulletin paper
File Information	10_P9-15.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

INH 耐性菌の菌 Population 及び Catalase 活性の臨床的意義に関する研究

小野寺忠純　桑島　核　深江　肇
漆原　勇　小野英夫　坂井英一
（北海道大学結核研究所予防部　主任　高橋義夫教授）
（国立療養所旭川病院　院長　小野英夫）

（昭和 34 年 1 月 20 日受付）

緒　言

感染症の治療に於いて最大の障碍は耐性菌の出現である。特に結核症の如く慢性に経過する疾患にあつてはこの耐性菌出現が最も治療を困難にする。化学療法及び外科的治療によつて結核症の治療は近年頓に進歩したが，然し尚以上の方法では救済し得ない多重耐性を獲得した高度に進展型の肺結核症が残つている。1954 年 Middlebrook[1] 等によつて INH 耐性菌の弱毒化の問題がとりあげられた。INH 耐性菌の毒力の変化はその後引続き多くの学者によつて検討され[2)3)4)5)6)7)8)9)]，現在は INH 耐性菌はモルモットに対して毒力が弱いとの意見に略一致しているように考えられる。

INH 耐性菌の動物に対する毒力の問題は更に人体に対する毒力の変化に議論が発展するわけであるが，この問題の究明は専ら INH 耐性菌排泄患者の臨床経過の観察[7)9)12)]，或は INH 耐性菌による感染例の細菌学的検索[11)]によつてなされているが，現在迄の諸家の意見は INH 耐性菌が人体に対して弱毒化するという事に否定的のものが多く[11)14)]，INH 耐性菌の出現は治療上危険であると見る向が多い。

他方，INH 耐性菌は耐性上昇と共に Catalase 活性を消失し，同時に，大体において，動物に対する毒力を低下するという現象が認められているが，此現象が実際の臨床において如何なる意義をもつて来るかが問題になる。そこで我々は本問題を追及する目的で本院入院患者の喀痰より分離した結核菌について INH 耐性を検べ，臨床所見と比較研究した。

実　験　方　法

Ⅰ．本院入院加療中の肺結核患者 250 名中持続的に排菌する 97 名に就て昭和 32 年 8 月より昭和 33 年 2 月に至る 7 ケ月間毎月喀痰より分離した結核菌について Middlebrook の発泡法を行い Catalase の消長を観察した。

Ⅱ．Middlebrnok の発泡法は 30％ 過酸化水素水と 0.1％ Tween 80 水溶液の等量混和液を小川培地 2 ケ月培養のコロニー上に注加してその発泡の状態を 10 分間観察した。発泡の状態により次の如く四段階に区分した。即ち 10 分後も気泡形成の見られないものを陰性（−）とし，わずかに肉眼で見得る程度の微細の気泡をつくるものを弱陽性（±），明らかに気泡をつくるものを陽性（+），著明に発泡したものを強陽性（卄）と判定した。

Ⅲ．綜合判定

各患者につき 7 ケ月間に 10 乃至 12 回の発泡法を行つたが，その期間中反応が常に一定した結果を示すとは限らず大多数は反応の一時的減弱或は増強を示した。全回陰性であつたものは 8 名，陽性であつたものは 20 名で他は多少共反応に動揺があつた。それで綜合的に以下の如く区別した。

1．陰性（−）：全回陰性の者，及び 2 回以内弱陽性を呈したが他は全部陰性を示した者。
2．弱陽性（±）：弱陽性が 3 回以上で他は陰性を示した者。
3．陽性（+）：半数回以上陽性を示したもの。
4．強陽性（卄）：半数回以上強陽性を示したもの。

Ⅳ．98 名の対象患者より 45 名を選んでその喀痰中結核菌の INH 耐性菌 population を早朝喀出痰に就て検査した。

Ⅴ．更に 10γ 耐性例 11 名に就て 5 乃至 6 ケ月間に亘り毎月 1 回早朝喀出全痰を用いてその INH 耐性菌 population の変動を追求した。

VI. 前述の諸検査実施一年後の各患者の臨床経過を調査し前記所見と比較検討した。

成　　績

I. INH 使用量と耐性の関係に就て

抗結核剤の長期使用にも拘わらず持続的に排菌する症例は線維乾酪型及び重症混合型が多く，発病は現在の長期化学療法確立以前のもの或は不充分な治療による再発例であつて，その化学療法歴は甚だ不規則なものである。従つて INH の使用方法も一律でないが，ここでは INH の使用量のみをとりあげて耐性との関係を調べた。

INH 使用量と耐性の関係は図1に示すごとく INH 使用量の増加と共に高度耐性例が増加してゆくが，耐性度と使用量との間には必ずしも併行関係はみられない。比較的少量で高度耐性を得る症例がある反面，大量使用に拘わらず 0.1γ という低い耐性に止るものが多数見られた。

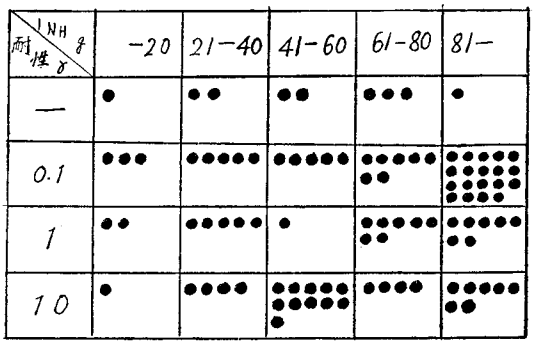

図 1　INH 服用量と耐性との関係

II. INH 使用量と菌 Catalase activity との関係

次に INH 使用量と菌の Catalase activity との関係を比較してみたが（図2）両者の間には殆んど関係が認められず，使用量 20 g 以上の各段階に於て略半数宛が Catalase 陰性乃至弱陽性菌を排泄しており，使用量の増加と共に菌の Catalase activity の減弱する傾向は認められない。

III. INH 耐性と Catalase activity との関係（図3）

耐性の認められない 9 例中 8 例は明らかに Catalase activity を保有するが 0.1γ 耐性を示した 39 例中 12 例（31%），1γ 耐性を示した 22 例中 14 例（64%）は Catalase activity を減弱乃至消失していた。10γ 耐性例では 27 例中 22 例（81%）が Catalase activity を減弱消失しており INH 耐性の上昇と共に Catalase activity が消失する傾向が大となるのが認められた。然し乍ら少数には耐性度と Catalase activity の間に関係の認められない症例も存在する。

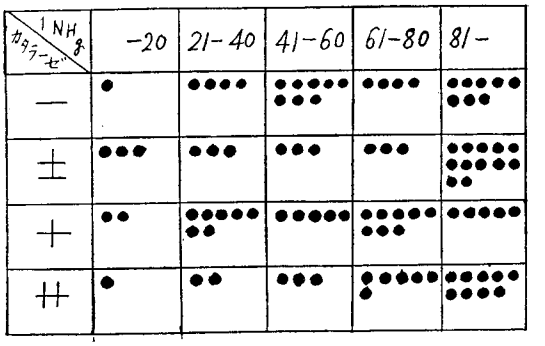

図 2　INH 使用量とカタラーゼ活性との関係

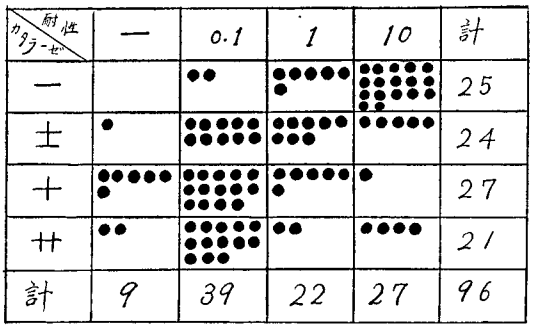

図 3　耐性とカタラーゼ活性との関係

IV. INH 耐性菌 population と Catalase activity との関係

INH 耐性菌株の性状として耐性度の不均性が知られている。それで INH 耐性菌 population と Catalase activity との関係を比較してみた。対象患者より 45 名を選び早朝喀出痰に就いて INH 耐性菌 population を喀痰の直接希釈によつて検査した。45 名中 0.1γ 耐性例は 17 名，1γ 耐性は 14 名，10γ 耐性は 14 名であつた。

図4以下 INH 耐性菌 population を棒グラフに示した。縦軸に耐性をとり横軸に population の % をとつた。点線は 100% を示す。

INH 耐性菌は大多数が不完全耐性を示し完全耐性を示したものは 0.1γ 耐性例で 1 名，1γ 耐性例では 2 名，10γ 耐性で 2 名に過ぎなかつた。

以下耐性度別に Catalase activity と耐性菌 population の関係をみるに 0.1γ 耐性例は図4にみられるように，Catalase 陽性のものに 0.1γ 耐性菌 population の著明に少いものが存在するが一部には 80% にも達するものもあつて併行関係は認められない。

1γ 耐性菌の場合は（図5）0.1γ の濃度まではかな

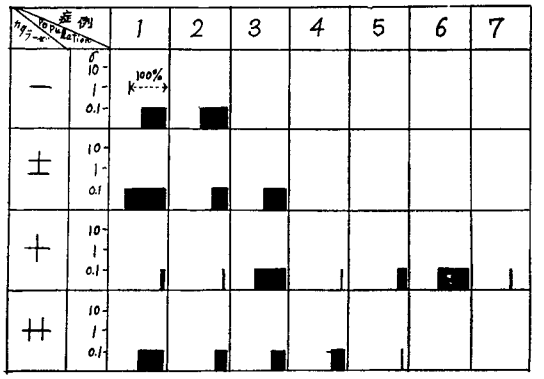

図 4 カタラーゼ活性と 0.1γ 耐性菌 Population の関係（17 例）

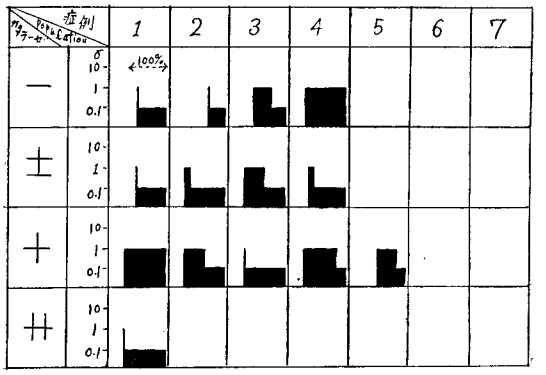

図 5 カタラーゼ活性と 1γ 耐性菌 Population（14 例）

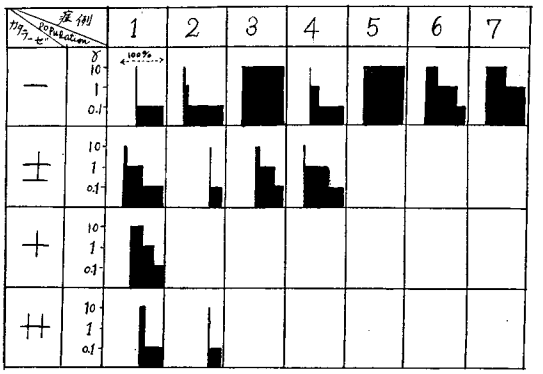

図 6 カタラーゼ活性と 10γ 耐性菌 Population（14例）

り 100% に近く耐性を得ているが 1γ の濃度では population 構成は著明に減少しており之と Catalase activity の間には関係が認められない。

10γ 耐性菌の場合は（図 6）Catalase 陰性のものが多く陽性のものは 1 例にすぎなかつたが耐性菌 population は Catalase 陰性者で均一化する傾向が認められた。

以上を通覧して INH 耐性菌が population として 100% 耐性化することは甚だ少いものであることがわかつた。又低度耐性菌では Catalase と耐性菌 population の間に関係が認められず 10γ 耐性に至つて漸く Catalase activity と菌 population との間に関係が認められるようになる。

V. INH 耐性菌 population の消長

次は 10γ 耐性の者 11 名に就てその早朝喀出全痰を以て月 1 回 5 ケ月間に亘つて INH 耐性菌 population の変化を調べてみた。結果は図 7 に示す如く常時 100% 耐性菌を排出する者は一例に過ぎず，他に 2 例（第 2 例，第 3 例）が略それに近い構成を示した。大部分の者の耐性菌 population 構成は常に不完全なものであつた。11 例の既往 INH 使用量は表に示す如く全て 50 g 以上でこの期間中第 3 例を除く他は全て INH 治療を継続した。それにも拘わらず 10γ 耐性菌 population 構成は常に不完全で容易に均一化しなかつた。この 11 例の検査終了後約 1 年を経た現在までの臨床経過中第 6，第 7，第 10 例の 3 名は衰弱増強して死亡した。

以上に加えて第 1 例が現在徐々に衰弱を加えつつある。これら 4 名は耐性菌 population は比較的不均一を示すものである。第 4 例はその後胸成術を施行し咳嗽喀痰の減少等一般症状の改善をみたが排菌は停止するに至らない。第 8 例は一側に肋膜外気胸術を行つたが病状は全く不変である。

第 2，第 3，第 11 例の如く 100% 耐性菌を示した者の臨床経過は X 線所見及び排菌状態共全く不変であるが所謂中毒症状を欠き一般状態の比較的良好な患者に属する。以上の事実は INH 高度耐性 Catalase 陰性菌は人体にも毒力を減弱している如き印象を与えるが第 5，第 9 例の如く不完全耐性を示す者も一般状態良好であるので早急に結論は引きだし得ない。

10γ 耐性例に限定して観察した場合以上の結論であつたが，次は耐性度は除外して Catalase 反応のみで陰性者と陽性者に区別して同様に臨床経過を観察した場合は次の如くであつた。

VI. Catalase 反応からみた 1 年後の経過

前記検査で Catalase 陰性であつた 25 名と強陽性の 21 名に就て 1 年後の状態を観察した。図 8，図 9 にみられる如く両群共 F 型 C 型が多く病勢による区別はしがたく又化学療法歴にも差違は認められない。検査後約 1 年間の治療は少数に SM を含む治療が行われているが大部分は INH の併用療法が行われている。両群の 1 年間の経過を X 線，一般状態，痰中結核菌の 3 者で判断すると Catalase activity 有無による差は殆んどみられ

症例	化学療法(前)μg	耐性 γ	病型	ポピロレーションの推移 8月	9月	10月	11月	12月	その後一年間の治療	現在
1 板O	INH 120 SM 50 PAS 8500	INH 10 SM 100 P 10	F	+ ←100%→	+	+	+		INH. Pas INH Pas 併用	菌 不変 X-P 不変 一般 悪化
2 下O	INH 60 SM 60 P 2500	INH 10 SM 100 P 10	F	−	−	−	−	−	INH+Pas INH Pas 併用	菌 不変 X-P 不変 一般 衰弱
3 O地	INH 60 SM 60 P 7230	INH 10 SM 10 P 10	F	−	−	−	−	−	32.7 →INH単独 33.3 より Th なし	菌 不変 X-P 不変 一般 不変
4 毛O	INH 70 SM 85 P 9000	INH 10 SM 100 P 1	F	−	−	−	−	−	INH+Pas INH. Pas 併用 32.12 胸成術	菌 不変 X-P 不変 一般 軽快
5 O坂	INH 50 SM 50 Pas 3600	INH 01 SM 10 P 10	C3	+	+	++	+		Thiasin+INH. SM. PAS 併用	菌 不変 X-P 不変 一般 不変
6 長O	INH 70 SM 65 P 2000	INH 10 SM 100 P 1	C2	−	−	+	−		期間中 INH+P INH. Pas 併用	33.3 死亡
7 栗O	INH 120 SM 100 P 4500	INH 10 SM 100 P 10	F	+	+	±	+	+	INH、P. INH Pas 併用	33.4 死亡
8 高O	INH 20 SM 30 P 100	INH 10 SM 0 PAS 1	F	+	+	++	±		32.12 → SM. Pas. 33.6 → INH. Pas	菌 不変 X-P 不変 一般 不変
9 吉O	INH 70 SM 50 P 4800	INH 10 SM 100 P 100	F		−	−	−	−	INH+P 33.2 → INH 単独	菌 不変 X-P 不変 一般 不変
10 大O	INH 50 SM 20 P 500	INH 10 SM 10下 P 10	F	−	−	−	±	−	INH. P. SM → INH	33.4 死亡
11 福O	INH 50 SM 65 P 6000	INH 10 SM 10 P 1	F						INH. Pas	菌 不変 X-P 不変 一般 不変

図 7　INH 治療継続中の耐性菌 Population の推移（11 例）

	病型	INH 使用量	INH 耐性	最近1年間の治療	1年後の状態 X線	一般	結核菌	註
1	B_2Kb_2Th	90	0.1	1+P 6ヶ月 INH 6ヶ月	悪	不	不	
2	C_2Ky_3	100	0.1	1+Z 6ヶ月 1+P 6ヶ月	不	不	不	
3	F	65	1	1+P	不	不	不	
4	F	110	0.1	1+P	不	不	不	
5	F	150	0.1	1+P	悪	不	不	
6	C_2Kc	5	0	1+P	不	不	不	
7	C_3Kx_1	70	10	1+P	不	不	不	
8	C_2Ky_3Th	80	0.1	1+P	悪	不	不	
9	C_2Ky_1	50	0.1	1+P	不	不	不	
10	B_2Ka_2	20	10不	1+P	軽	不	軽	
11	B_2Ka_1	75	0.1	1+P 6ヶ月 1+Z 6ヶ月	軽	不	不	
12	C_3Ky_2	100	10	1+P 6ヶ月 1+Z 6ヶ月	不	不	不	
13	C_2Ky_3	80	10不	1+P	不	不	不	
14	F	45	0	1+P	不	不	不	
15	F Th	180	1	1+P	不	不	不	
16	F	25	0.1	1+P	軽	不	不	
17	C_3Kx_2	80	10	1+P	悪	不	不	
18	F	70	0.1	1+P 6ヶ月 1+S 6ヶ月	不	不	不	
19	F	60	0.1	1+P	悪	不	不	
20	Re	50	0.1	1+P	不	不	不	肺切後気管支瘻
21	Re	110	0.1	1+P	不	不	軽	肺切後気管支瘻

1+P: INH·PAS 併用，1+Z: INH·PZA 併用，S+P: SM·PAS 併用，不: 不変，悪: 悪化，軽: 軽快

図 8 Catalase 強陽性者の臨床経過（21 例）

	病型	INH 使用量	INH 耐性	最近1年間の治療	1年後の状態 X線	一般	結核菌	註
1	F	50	10	1＋P 三者	不	不	不	
2	F	50	10	1＋Z 三者	軽	軽	軽	肺切除施行
3	F	75	10	S＋P 1＋P	不	不	不	
4	C_2Kb_2	50	10	1＋P	軽	不	不	
5	B_2Ka_1	30	1	1＋P	不	悪	不	
6	C_2Kx_1	15	10	1＋P	不	不	不	
7	B_2Kb_2	15	10	1＋P 1＋Z	不	不	不	
8	Re	60	10	1＋P 1＋P＋VM	不	不	不	肺切除後断端潰瘍
9	C_3Ky_2	45	10	1＋Z 1＋P	不	不	不	
10	F	70	0.1	1＋P 1＋Z	不	不	不	
11	C_3Ky_3	90	0.1	1＋Z 1＋P	軽	不	不	
12	C_3Ky_3	130	10	1＋P	不	不	不	
13	F	30	0.1	1＋P	不	不	不	
14	F	60	1	1＋P	悪	不	悪	
15	F	50	10	1＋P	不	不	不	
16	F	130	10	INH 1＋P	不	不	不	
17	F	70	10	INH 1＋P	不	不	不	
18	F	80	10	INH	不	不	不	
19	F	80	10	1＋P 1＋Z				喀血死
20	C_3Kb_1	50	0.1	1＋P	不	不	不	
21	B_2Kx_2	20	10	三者 1＋P	軽	不	不	肺切除後断端潰瘍
22	B_2Ka_1	35	0.1	1＋P	不	不	不	
23	C_2Ky_3	50	0.1	1＋Z 1＋P	不	不	不	
24	C_2Ky_2	90	10	1＋P		軽	不	胸成術施行
25	F	70	0.1	1＋P S＋P	不	不	不	

図 9 Catalase 陰性者の臨床経過（25 例）

ない。即ち Catalase 反応のみでは患者の予後は推定し得ないようである。10γ 耐性例では菌 population の均一化した者が不均一の者に比してやや良好な状態を維持する者が多いようである。

考　按

1954 年 Middlebrook 等が INH 耐性菌の代謝を研究中結核菌は INH 耐性の上昇すると共に Catalase activity を減少し，高度耐性株 Catalase は陰性となり同時にモルモットに対して極めて弱毒化する事を報告した[1]。その後多くの学者によつてこの問題がとりあげられ，現在は INH 耐性菌の動物に対する毒力の減弱と Catalase activity の消失は略併行するという意見に一致しているようである[2)~5)8)12)13)]。

又 INH 耐性菌は in vivo 及び in vitro に於て屢々耐性の低下することも知られた[9)13)]。この現象は INH

耐性菌株の不均一性と耐性菌の発育速度の遅延で説明されている[4)5)]。臨床上 INH 高度耐性を得た例で治療を他の薬剤に変更した場合或は INH の治療を中止した時は屢々耐性の低下をみる。この事を実際に応用せんとする向きもある[16)]が，INH 耐性菌が感受性菌よりも増殖能力が減退しているという説明は多少共 INH 耐性菌の人体内での毒力の減弱を肯定する考え方であろう。この考えを多重耐性を有する重症混合型の治療にまで拡げた時 INH 耐性菌の毒力低下を利用して耐性発現後も INH 治療を継続して病巣内結核菌を全部耐性化することによつて病変の進行を減じようという意図も生まれてくるわけである。我々は本研究の結果斯かる考え方は実際臨床的には望み得ないという結論に達した。INH 治療を長く継続しても耐性上昇と共に Catalase activity を消失する例は少く，即ち今回の実験で 97 名の患者中排菌の Catalase activity を略完全に消失している者は 8 名に過ぎず，又 100 % population の高度耐性化は我々の例で 3 名に過ぎなかつた。INH の長期投与にも拘わらず約半数が低耐性に止り且 Catalase 陽性に止まるという事から，たとえ INH 耐性菌が人体に弱毒化するという仮定にたつても現実には上記の考えは応用し難いものになる。このように INH 耐性が容易に上昇を示さないという事に就て先に我々は考察[15)]を試み既に報告したがこの耐性発現の問題は今後更に検討を要するものと考えられる。

他方 INH 耐性菌の毒力減退に対する反証として INH 耐性菌による新しい感染例の報告或は臨床的研究がある[7)11)]。この事と上記の我々の実験成績から考えれば，結核患者の治療に当つては矢張り INH 耐性菌の発現を阻止するような治療方針で行くのが正しい方法であるといえよう。

我々の臨床例で 10γ に 100 % 耐性の名の 1 年間の経過が，X線学的に細菌学的に全く不変であつたこと，及び動物実験上家兎の人工的空洞内に於ては INH 耐性菌も長く生存するという成績も考え併せて，人体の結核症の本質的特徴である空洞内に於ては INH 耐性菌は充分増殖能力を有すると考える。この INH 耐性菌の人体内での病変拡大能力に就いては現在の所未だ明確にし得ないが，病変の成立が常に host-parasite-relationship に立つものであることを考えると弱毒菌でも大量接種されれば新しい感染が成立する事が当然考えられる。

結　　論

Ⅰ. INH 耐性の程度と INH 使用量は併行を示さない。少量の使用で高度の耐性を得る例の存在する反面大量の使用でも約半数は低度耐性に止る。

Ⅱ. INH 耐性菌の Catalase activity は INH の使用量と関係が認められない。

Ⅲ. INH 感受性菌は略常時 Catalase 陽性で耐性上昇と共に Catalase activity が減弱する。即ち 0.1γ 耐性菌では 31 % に，1γ 耐性菌では 64 % に，10γ 耐性菌では 81 % に Catalase activity が減弱乃至消失した。

Ⅳ. Catalase activity と INH 耐性菌 population の関係に就ては 0.1γ, 1γ の低度耐性菌では余り関係を認められぬが，高度耐性菌では Catalase 陰性のものに菌 population が均一化する傾向が認められた。

Ⅴ. 臨床的に INH 耐性例の大部分は不均一な菌 population を示し 100 % 耐性になる者は極く少数である。且 INH 治療中 INH 耐性菌 population は個人に就てやや一定の傾向を示す。

Ⅵ. 10γ 耐性患者で均一な菌 population を示した者は不均一のものよりも比較的良好な経過をたどつたが Catalase 反応のみでは予後を推定し得ない。

本研究を行うに当り御指導御校閲を賜わつた北大結核研究所高橋義夫教授に感謝致します。

本論文の要旨は昭和 33 年 10 月結核病学会北海道地方会に於て発表した。

参 考 文 献

1) Middlebrook, G.: Am. Rev. Tuberc., **69**, 471, 1954.
2) Morse, W. C., et al: Am. Rev. Tuberc., **69**, 464-468, 1954.
3) Cohn, M. L. et al: Am. Rev. Tuberc., **70**, 465, 1954.
4) 佐藤直行: 結核, **30**, 310-314, 1955.
5) 佐藤直行: 結核, **30**, 247-251, 1955.
6) 徳久: 呼吸器診療, 12(4), 1957.
7) Rist, N. et al: Am. Rev. Tuberc., **74**, 75-89, 1956.
8) Peizer, L. R. et al: Am. Rev. Tuberc., **70**, 728-733, 1954.
9) Gierhake, F. W.: Beitr. Klin. Tuberk, 112-(4), 283-292, 1954.
10) 小川辰次: 日本臨床結核, 14-(7), 564-568 (30 年 7 月).
11) 平沢: 日本臨床結核, 16-(8), 585 (32 年 8 月).
12) Heilmeyer, L.: Dtsch. Med. Wschr., **6**, 1957.
13) 小酒井: 日本臨床結核, **16**, 573, 1957.
14) Et. Bernard: Am. Rev. Tbc., **21** (4, 5), 429-445.
15) 小野寺: 結核の研究, 第 9 集, **6**, 1958.
16) 鈴木千賀志: 日本胸部外科学会雑誌, **6**-(6), 679-690, 1958.