

Title	イソニコチン酸ヒドラジット耐性結核菌の生体内での消長について
Author(s)	山之内, 孝尚
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28200
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	山之内 孝尚 やまの うち たか ひき
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 81 号
学位授与の日付	昭和 35 年 3 月 21 日
学位授与の要件	医学研究科病理系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	イソニコチン酸ヒドラジッド耐性結核菌の 生体内での消長について
	(主査) (副査)
論文審査委員	教授 堀 三津夫 教授 堂野前維摩郷 教授 藤野恒三郎

論文内容の要旨

研究目的

イソニコチン酸ヒドラジッド (INH) に強い耐性を示す結核菌はモルモットに対する毒力が低下し、INH 投与肺結核患者喀痰中に出現した INH 耐性菌は INH 投与の継続の有無にかかわらず、耐性菌の Population (Pop) が動揺し、高耐性菌が減少あるいは消失する場合の多いことが明らかにされており、これらのことから INH 高耐性菌は人に対する毒力もまた弱いと想定している人々が多い。

著者は INH 高耐性菌の毒力をいろいろな実験条件で検討し、その結果から INH 高耐性菌の人に対する毒力の類推に資したいと考えて、数株の INH 耐性人型結核菌、その親株の薬剤感性菌、並びに BCG 型弱毒結核菌、などを用い、これら菌株のウサギ、モルモット、マウスに対する毒力を比較し、またウサギの肺に実験的に作成した空洞あるいは壊死巣などの結核病巣における薬剤感性菌、INH 耐性菌、BCG 型弱毒菌等の消長を追求することによって、モルモットに対する毒力の減弱した INH 耐性菌は BCG と同様に人に対してもきわめて弱毒であると想定しうるか否かを検討した。

〔実験 I〕

実験方法

使用菌株：強毒人型菌 H37Rv 株 H37Rv (INH0.02r/ml 感性) とその INH 耐性株、H37Rv-INH・R (INH50r/ml 耐性)；ならびに H37Rv-INH・R の SM 耐性株、H37Rv-INH・SM・R (INH50r/ml, SM100r/ml 耐性)；強毒人型菌戸田—K 株戸田—K (INH0.02r/ml 感性) とその INH 耐性株戸田 K-INH・R, (INH50r/ml 耐性)；INH 耐性人型菌 GB 株、GB (INH50r/ml 耐性) の 6 菌株である。このうち GB 株は INH 投与患者から分離された菌株であるが、その他の薬剤耐性株は感受性菌を試験管内で薬剤に耐性としたものである。

空洞の作成と実験群：結核加熱死菌で感作したウサギの右肺内に上記の菌を次のように組合せて

Adjuvant に懸濁して注射し（菌量 2.0mg/0.1ml）空洞あるいは壊死巣を作成した。

(I) A 群：H37Rv+H37Rv-INH・R（混合比，95.8：4.2;71：29;2.5：97.5）

B 群：戸田-K+戸田-K-INH・R（混合比，97.8：2.2;83：17;4.8：95.2）

C 群：H37Rv+GB（混合比，99.75：0.25;98：2;33：66）

(II) D 群：(a) 単独 H37Rv-INH・SM・R 単独

(b)H37Rv+H37Rv-INH・SM・R(混合比 95：5)

病巣内の耐性菌の Pop の検査：前後 3 回にわたって上記実験群の動物から 2～3 匹宛を屠殺剖検し、肺の主病巣、その他の臓器から結核菌を薬剤添加及び非添加 2%KH₂PO₄ 小川培地に定量的に培養し、5～6 週後に発生集落数を算えて耐性菌の Pop を算出した。

ウサギに対する毒力の検査：前記各菌株の菌液 1mg/ml をウサギの耳静脈に接種し、感染後 2 カ月を経て動物を屠殺剖検、各臓器から結核菌を定量的に培養し、肉眼的病変の多寡、菌培養成績より毒力を判定した。

実験成績

上記の菌株を肺内注射の場合と同様に 4 種に組合せて Dubos 培地に継代したところ、H37Rv+GB の組合せを除き、他の 3 種の組合せでは INH 耐性菌の Pop は継代 2 代目ですでに顕著に減少した。

ウサギに対する毒力：上記の 6 菌株のウサギに対する毒力は H37Rv 株、戸田-K 株は強毒、GB 株は中等度の毒力を示し、H37Rv-INH・R 株、戸田-K-INH・R 株、H37Rv-INH・SM・R 株はきわめて弱毒であった。感染側肺の主病巣中の INH 耐性菌の Pop の変動：ウサギの肺に作成した感染側肺の病巣は各実験群を通じて空洞を形成しているものから相当大きな壊死巣、あるいは乾酪化の僅少な結核結節と種々であり、病巣 1mg 中の菌数も変動しており、したがって病巣中の INH 耐性菌の Pop も個々のウサギについて動揺をまぬがれないが、

(I) の A, B, C 3 群では耐性菌に比し感性菌のきわめて多い混合菌液を肺内注射した群では時日の経過とともに INH 耐性菌の Pop は漸減の傾向が認められたが、感染後 6 カ月を経ても INH 耐性菌は容易に消滅せず病巣 10mg 中にも耐性菌を検出しえなくなったのは 63 例中 2 例に過ぎない。また上記と逆の混合比の菌液を注射した場合は感染後 6 カ月を経ても INH 耐性菌を高率に証明しえた。

(II) の D(a) 群では感染後 14 週、24 週を経ても感染菌の INH 及び SM 耐性度の Pop は変化せず、INH 耐性という性質のみが特に不安定であるとは考えられない。(II) の D(b) 群では INH を投与しない場合は INH 耐性菌の Pop は感染後 24 週でやや減少しているが、INH を投与した場合は INH 及び SM 耐性菌の Pop はむしろ増加しており SM 耐性菌の Pop と INH 耐性菌のそれとがほぼ等しいことは INH の投与によって感性菌の増殖が抑制されたことを示している。

〔実験 II〕

実験方法

使用菌株：H37Rv, H37Rv-INH・R 株、戸田-K-INH・R 株、及び SM 耐性 BCG, BCG-SM・R (SM100r/ml 耐性) ならびに BCG 型弱毒菌戸田-G 株の SM 耐性株、戸田-G-SM・R (SM100r/ml 耐性) の 6 菌株である。これらの SM 耐性株は *in vitro* で耐性化したものである。

空洞の作成と実験群：卵白アルブミン (EA) で強力に感作したウサギの肺内に上記の菌を以下の ように組合せて EA と共に経気道的に注入し (感染菌量 2 mg/0.5ml) 空洞を作成した。

A₁群：H37Rv+H37Rv-INH・R+BCG-SM・R+EA (混合比, 77:13:10, EA15mg)

B₁群：戸田-K+戸田-K-INH・R+戸田-G-SM・R+EA (混合比49:25:26, EA15mg)

病巣内の耐性菌の Pop の検査：実験 I に同じ

モルモット, マウスに対する毒力の検査：前記各菌株の菌液をそれぞれモルモットあるいはマウスに静脈感染し, 感染後日を追ってそれぞれ数匹宛の動物を屠殺剖検し, 脾, 肝, 肺より結核菌を定量的に培養し, マウスに対する毒力は各臓器内の生菌数の消長により, またモルモットに対する毒力はこれに加えるに各臓器の肉眼的結核病変の多寡によって判定した。

実 験 成 績

モルモット, マウスに対する毒力：これらの 6 菌株のモルモットに対する毒力は H37Rv 株, 戸田-K 株は強毒, H37Rv-INH・R 株, 戸田-K-INH・R 株, BCG-SM・R 株, 戸田-G-SM・R 株はいづれもきわめて弱毒であった。またマウスに対しては, BCG-SM・R 株はきわめて弱毒で, 戸田-G-SM・R 株の毒力がこれについて弱く, H37Rv 株, 戸田-K 株, H37Rv-INH・R, 戸田-K-INH・R 株はいづれも強毒であり 4 菌株の毒力には著差を認めえない。

感染側肺の主病巣中の INH 耐性菌, SM 耐性菌の Pop の変動：感染側の肺の病変は結核性変化を伴う小壊死巣から一葉全体が空洞化したものまで種々であり, 主病巣 1 mg. 中の菌数もかなり広範囲に動揺しているが, A₁ 群では BCG-SM・R の Pop は感染後 7 週ですでに激減して 0.02% 以下を示し, 18 週では病巣 100mg 中にも検出しえなかったのに反して, H37Rv-INH・R の Pop は感染後 7 週でやや減少し, 以後漸減の傾向を示すが 18 週にいたっても 0.5~6% に証明された。また B₁ 群の場合の成績も上記と同様の傾向を示し, 戸田-G-SM・R の Pop は感染後 18 週に 0.01% 以下となったが, 戸田-K-INH・R は 18 週にいたってもなお 2~15% に証明された。

すなわち, このモルモットに対する毒力が BCG 型弱毒菌と同程度にまで顕著に減弱した INH 耐性菌でも上述の条件で作成したウサギの肺の結核病巣中では BCG 型弱毒菌よりもはるかに高率かつ長期にわたって検出される。

〔考 按〕

以上の成績は結核性空洞あるいは壊死巣内では毒力の低下した, また感性菌よりはるかに増殖のおそい INH 耐性菌が, 毒力の強い感性菌のなかにわずかに混在していても, INH 投与の有無にかかわらず容易に消滅しないこと, ならびに BCG 型弱毒菌は実験条件を変化させてもその毒力の表現はほとんど変動しないのに反して, INH 耐性菌ではその毒力の表現がかなり大きく動揺することを示しており, これらの事実は INH 耐性菌の毒力はその増殖環境によって左右されることを示唆している。以上の成績と Meissner その他の人々が INH 高耐性菌による人体の初感染あるいは外因性再 (重) 感染例が無視できない率に存在するとの報告, ならびに Coates et al, その他による臨床的に INH 耐性菌の出現と共に症状がかえって悪化した症例の報告, などを考え合せると, INH 耐性菌はその人体に対する伝達性がたとえ減弱しているとしても, 空洞, 乾酪巣などを有する結核患者では耐性菌が病巣内で増殖しうることが

推定され、したがって INH 高耐性菌は人体に対してもほとんど毒力がないとして、これを放任することは危険であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

インニコチン酸ヒドラジッド (INH) に強い耐性を示す結核菌はモルモットに対する毒力が低下し、INH 投与結核患者喀痰中に出現したINH耐性菌は INH 投与の継続の有無にかかわらず耐性菌の Population が動揺し、高耐性菌が減少あるいは消失する場合の多いことが明らかにされており、これらのことから INH 高耐性菌の人に対する毒力もまた弱いと想定している人々が多い。

著者はまず第1に臨床的に注目されている INH 高耐性菌の Population の動揺が、何に起因するかを探究しようとして、実験Ⅰにおいて数株の INH 感性強毒人型結核菌と INH 高耐性人型結核菌とを種々の比率に混合した菌液を以てウサギの肺に実験的結核性空洞ないし乾酪巣を作成して、病巣中の INH 高耐性菌の Population の変動を追及した。次に実験Ⅱにおいて INH 高耐性菌の毒力を種々の条件の下で検討し、その結果から INH 高耐性菌の人に対する毒力の類推に資するために、INH 高耐性人型結核菌 2 株、それぞれの親株の薬剤感性強毒人型結核菌 2 株ならびに BCG 型弱毒結核菌 2 株を用い、ウサギ、モルモット、マウスに対するこれら菌株の毒力を比較し、またウサギの肺の実験的結核病巣における薬剤感性菌、INH 耐性菌、BCG 型弱毒菌の消長を追及し以下の成績をあげている。

1) INH感性菌と INH 高耐性菌を種々の比率にふくむ混合菌液の肺内注射によってウサギの肺に作成した結核性空洞あるいは乾酪巣内では接種後時日の経過とともに耐性菌の Population の漸減傾向が認められたが、接種菌液中の耐性菌の比率が高い場合には、接種後 6 カ月を経ても耐性菌が高率に証明された。このような結核病巣内での感性菌と耐性菌の消長に対しては、感性菌と耐性菌との試験管内での増殖速度の差異、あるいは静脈内接種法によって判定されたウサギに対する耐性菌の毒力の強弱は大きい影響をあたえない。

2) 結核菌の INH耐性という性質が SM 耐性という性質に比較して特に不安定で、生体内で容易に感性化されるか否かを検索するために、INH-SM 2 重耐性菌を使用して 1) と同様の実験を行なった結果、各時期に剖検した動物の肺病巣中の耐性菌のそれぞれの薬剤に対する Population 構成には著差はみられない。この成績は INH-SM 2 重耐性菌の INH 耐性という性質は SM 耐性という性質と同様に安定であることを示している。

3) INH 感性菌はモルモット、ウサギ及びマウスのいづれにも強い毒力を示し、また SM 耐性 BCG 型弱毒菌は上記のすべての動物に弱毒であった。他方 INH 高耐性菌はモルモット、ウサギに対しては BCG 型弱毒菌とほぼ同程度に弱毒であったが、マウスに対しては親株の感性強毒菌と大差のない毒力を示した。

4) INH 感性菌と高耐性菌及び SM 耐性 BCG 型弱毒菌の 3 種混合菌液を経気道的に肺に接種してウサギの肺に作成した結核性空洞ないし乾酪巣では BCG 型弱毒菌は 5～7 週後に激減し、18 週後には証明しえなくなったのに反して、INH 高耐性菌は 18 週後も比較的高率に検出された。

著者のあげた以上の成績は、臨床的に観察されている INH 高耐性結核菌の Population の減少に、高耐性菌の毒力の減弱、発育速度の遅延、あるいは耐性という性質そのものの安定性、などは大きくは関与していないこと、またモルモットなどの実験動物に対する毒力の減弱した INH 高耐性菌でも BCG のような弱毒結核菌とはことなつて結核性空洞あるいは乾酪巣内ではよく増殖しうる可能性があり、したがつて INH 高耐性菌は人体に対しても BCG と同様に弱毒で危険性がないとは断定しえないことを示しており、結核化学療法に際しての INH 耐性菌の特性についての実験的批判として高い意義をもつものと考えられる。