

細菌の薬剤耐性に関する研究

第 9 報

薬剤耐性結核菌感染マウスの治療実験

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

石 野 俊 和
荒 井 正 宏
柳 下 鞆 男
毛 利 正

（受付：昭和32年12月2日）

緒 言

結核化学療法 of 進歩と普及に伴ない、薬剤耐性結核菌の出現は重要な研究課題となつて来た。

この問題につきさきに当教室の松田¹⁾、三枝²⁾は患者より分離せる薬剤耐性結核菌を使用した実験的結核モルモット及びマウスに対する抗結

核剤の治療効果を検討し、或程度の効果を期待しうると報告しているが、今回私達は SM 耐性結核菌 (10,000 γ /ml 耐性) [SM-R] 及び INH 耐性結核菌 (100 γ /ml 耐性) [INH-R] で感染したマウスに対し当該薬剤の効果を追究しいさゝか知見を得たので報告する。

実験材料並びに方法

1) 実験動物は体重20gm前後の雑系マウスを用い、使用菌株は当教室保存の人型結核菌 H₂ 株より得られた SM 耐性株 (10,000 γ /ml SM-R) INH 耐性株 (100 γ /ml INH-R) で、マウスへの接種はソートン培地に発育した3週間目の菌苔を吸湿、秤量、磨砕し、生理的食塩水で 1mg/0.1ml の菌液を作りその 0.1ml の腹腔内注射によつた。

2) 治療方法：供試マウス 20匹ずつに SM-R 又は INH-R を接種し、各感染マウスのうち14匹を治療群とし、残りの 6 匹を非治療群の対照とした。治療は腹腔内接種後15日目より4週間行つた。薬剤は SM-R 感染マウスには SM、INH-R 感染マウスには INH のそれぞれ10mg/kgを週 6 回背部皮下に注射した。

治療群の半数は治療終了翌日（早期剖検群とする）残り半数は治療終了2週間後（後期剖検群とする）エーテル麻酔にて殺し実験に供した。（第1表参照）

3) 観察方法：実験動物は各週毎に体重の測定を行い、剖検時には肺、肝、脾及びリンパ腺の肉眼的病変度を観察した。

又実験群ごとにマウスの各臓器ごとに 0.1gm あて集めてすりませ、これを 1%苛性ソーダ液をもつて 1:10又は1:100に稀釈しその 0.1ml ずつを 1%小川培地 4 本にうえ菌定量培養を行つた。（又一部は10%フォルマリン水で固定し、病理組織標本を作製したがその成績については別に報告する）

実験成績

1) SM-R 感染マウスにおける成績

a) 体重の増減 (第1図参照)

一般に治療群, 非治療群共に体重の増加が見られ両群の増加度に著差は認められなかつた。

b) 剖検時肉眼的所見

i) 肺の所見 (第2図参照)

両群において共に結節を認め早期に剖検したものでは両群の間に病変度の差異はほとんど認められなかつたが後期においては非治療群の病変は強く治療群との間に差異が認められた。

ii) 脾の所見

脾の病変は肉眼的には発赤並びに腫脹あるいは実質性肥大 ($\times 1.2 \sim \times 3.0$) であるが治療群の1例 (No. 18) を除く全例において変化を認めたが両群間に差異は見られなかつた。

iii) 肝の所見

病変は脾と同様であるが程度は遙かに軽い。両群の間に差異は見られなかつた。

iv) 淋巴腺所見

肺門腺, 肝門腺, 鼠蹊腺: 非治療群の全例に腫脹を認めたが両者間の差は明かでなかつた。

c) 臓器内結核菌の定量培養成績 (第2表参照)

SM-R感染群の臓器内生菌数は肺>脾>肝の順であり, 早期剖検群ではSM治療群>対照群の関係にあつたが後期ではSM治療群=対照群となつた。

小 括 1

以上の実験成績を要約すれば, 早期剖検群においては, 治療群と対照群との間に所見の差は認められぬ様であつたが, 後期剖検群では対照

群の肺の病変度は治療群よりやや強かつたが定量培養の成績は早期ではSM群>対照群で後期においてはSM治療群=対照群であつた。

2) INH-R感染マウスの成績

a) 体重の増減

一般に治療群, 非治療群の両群共に体重の増加が見られたがその増加度に差異はなかつた。

b) 剖検時肉眼的所見

i) 肺の所見 (第2図参照)

両群共に病変はSM-R接種群に比し軽く, 結核結節は両肺に数個認められる程度で両群の間にほとんど差異は認められなかつた。

ii) 脾, 肝の所見

腫脹発赤を認め, 両群間に差はなかつた。

iii) 淋巴腺所見

肺門腺, 肝門腺, 鼠蹊腺: 殆ど全例に腫脹を見たが両群の間に程度の差異は見られなかつた。

c) 臓器内結核菌の定量培養成績 (第2表参照)

INH-R感染群における集落数は肺>肝=脾であつたが非治療群と治療群の間に差は認められなかつた。

小 括 2

以上の実験成績を要約すると INH-R 接種群では治療群と対照群との間に肉眼的病変の差は認められなかつた。しかしその肺の病変はSM-R感染群に比し軽度なものが多かつた。各臓器の定量培養成績も治療群と対照群との間に大差は認められなかつた。

考 按

薬剤耐性結核菌による実験的結核症に対する

治療に関してはいまだ定説がないが松田¹⁾註1)

註: 1) 患者荒永の喀痰より分離せる菌株で荒永株といわれ SM 10,000r/ml, P A S 400r/ml に完全耐性を示した。

註: 2) 患者米谷の喀痰より分離せる菌株で米谷株といわれ SM 1,000r/ml, P A S並びに I N H 10r/ml に完全耐性を示した。

岡田²⁾、三枝^{3)註2)}は SM 耐性菌に対する SM 治療の効果が或程度期待されると報告しているし又、SM は一般的な生体防衛機能を昂進させると報告⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾するものもある。

しかし一方には動物実験で無効であると主張するものも少なくない⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。

最近小酒井等¹¹⁾は臨床的に SM・PAS 併用の場合は SM 10 γ /ml, PAS 1 γ /ml の双方に耐性の場合、PAS・INH 併用の場合は PAS 1 γ /ml, INH 1 γ /ml の双方に耐性の場合、SM・PAS・INH 併用の場合は SM 10 γ /ml, PAS 1 γ /ml, INH 1 γ /ml のいづれにも耐性の場合に臨床効果が期待出来ないと報告している。

結 論

私達は人型結核菌 H₂ より分離した SM 耐性株並びに INH 耐性株を腹腔内に感染したマウスに対し当該薬剤による治療を行い次の如き結果を得た。

SM 耐性菌並びに INH 耐性菌感染群にそれ

本実験では SM 耐性菌感染マウスに対する SM 治療を病変より見れば剖検の時期によつてはやや有効のごとくであつたが、臓器内菌数では殆ど無効と推定された。

INH 耐性菌に対する INH 治療の効果に関しては三枝³⁾により重複耐性結核菌感染マウスに対する INH 治療は有効であつたと報告しているが、その INH 耐性度はわれわれの使用菌株に比べ低いものであつた。

本実験では INH 耐性菌感染 INH 治療マウスにおいても病変度、定量培養成績共に対照群とほとんど差が見られなかつた。

それ当該薬剤をもつて治療終了後病変度並びに臓器内結核菌の定量培養成績を非治療群と比較するにほとんど差を認めなかつた。

よつて高度薬剤耐性菌の感染に対しては当該薬剤の治効は期待出来ない。

文 献

- 1) 松田知夫：金大結研年報，12 (下)，17，1954.
- 2) 岡田景俊：金大結研年報，13 (中)，37，1955.
- 3) 三枝慶一郎：金大結研年報，15 (上)，53，1957. 三枝慶一郎：東京医事新誌，74(12)，21，1957.
- 4) 野中 宏：日本病理学会々誌，39 (地方会)，16，1950.
- 5) 尾関一郎：結核，27 (5)，5，1952；27(6)，1，1952；27 (7)，22，1952.
- 6) 生垣賢：日

- 7) 塩谷一雄：金大結研年報，13 (中)，145，1955.
- 8) 手塚孝：結核，31，17，1956.
- 9) Youmans, G. P., et al. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 63, 131, 1946.
- 10) Feldman, W. H., et al. : Am. Rev. Tbc., 57, 163, 1948.
- 11) 小酒井 望，他：最新医学，12 (12)，129，1957.

第 1 表 実 験 方 法

群 別		治療後(週)		0	1	2	3	4		
		SM-R又はINH-R感染後(日)	SM-R又はINH-R感染後(日)	↓						
				0	15			43	58	
SM-R 感染群又は INH-R 感染群	早期剖検群	非治療		↓					x	
		治療		↓	←.....→					x
	後期剖検群	非治療		↓						x
		治療		↓	←.....→					x

↓ 感 染 ←.....← 投 薬 期 間 × 剖 検

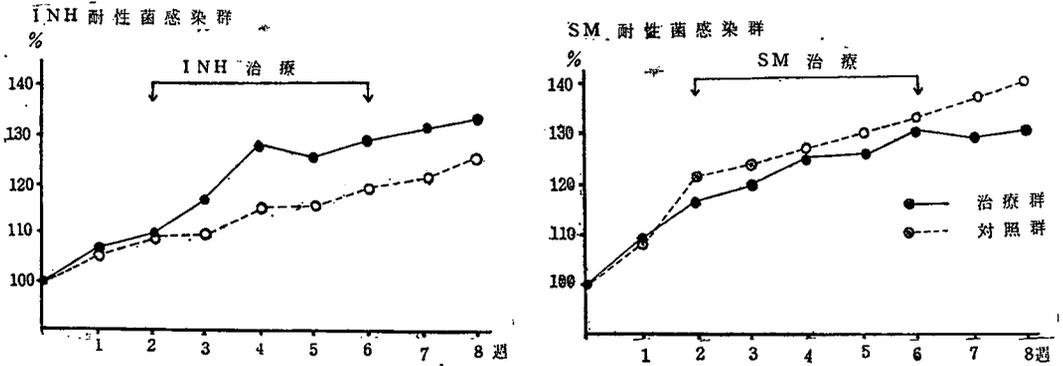
第 2 表 臓器内結核菌の定量培養成績

群 別		臓 器 別		肺		肝		脾	
		臓器稀釈倍数	マウス数	×10	×100	×10	×100	×10	×100
SM-R 感 染 群	SM 治 療	早剖検群	6	卍	458	610	58	1,105	223
		後剖検群	6	920	216	130	15	297	179
	非 治 療	早剖検群	3	156	15	173	11	345	54
		後剖検群	3	卍	660	149	38	93	23
INH-R 感 染 群	INH 治 療	早剖検群	5	492	75	335	41	455	39
		後剖検群	5	671	109	131	56	185	58
	非 治 療	早剖検群	2	505	56	442	34	108	6
		後剖検群	2	471	162	268	92	72	27

註：1) 各数値はマウス1頭よりの臓器 0.1gm あて集めてすり混ぜ、その10倍又は100倍稀釈したもの 0.1ml より発育した集落数にして、培地 4 本の集落平均値である。卍……集落数1,000個以上

2) 培養日数……… 5 週間

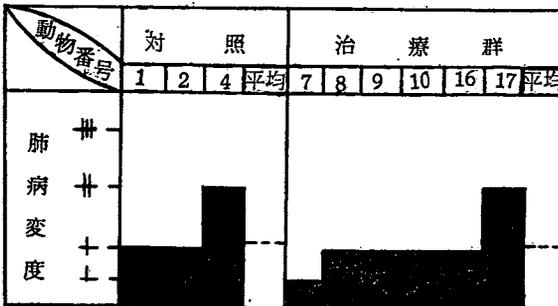
第1図 体重増加曲線(%)



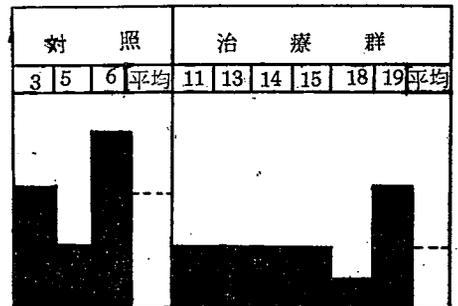
第2図 治療実験における肺剖検所見

1) SM 治療群

治療終了直後剖検 (早期剖検群)

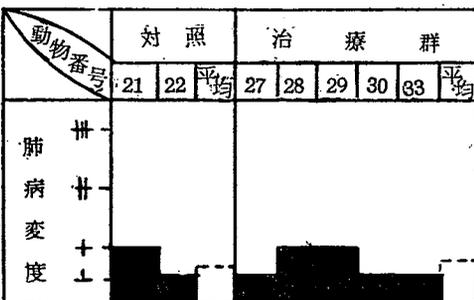


治療終了2週後剖検 (後期剖検群)

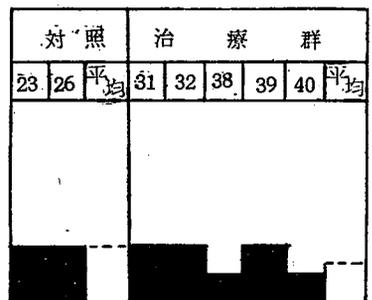


2) INH 治療群

治療終了直後剖検 (早期剖検群)



治療終了2週後剖検 (後期剖検群)



- 肉眼的変化のないもの
- + かろうじて結節を認めるもの
- ++ 結節10ヶ以内

- ++ 結節10ヶ以上
- +++ 結節多数にて全肺表面の半分に及ぶもの
- ++++ それ以上のもの