

## 喀痰中結核菌薬剤耐性の定量的分析 第5報 耐性形式の比較

東村道雄・河西栄文

国立療養所大府荘（荘長 勝沼六郎博士）

（昭和27年4月15日受付）

東村、三浦<sup>1)</sup>は前に実験室で multiple steps of selection により分離された人型結核菌青山B株の SM, INAH, PAS 耐性株の population 構成（総生菌数当りの耐性菌含有率）を検して、SM 耐性株は最も均一（含有率大）、INAH 耐性株は相当不均一、PAS 耐性株は最も不均一（含有率小）であることを報告した。この際に用いた均一とか不均一と言う言葉は次のように用いた。例えば、SM 100 mcg で one step mutant をえらび、これから更に SM 100 mcg で selection を繰返す。こうして SM 100 mcg で3代 select された株の population 構成を検査すると、株を構成する殆んど全部の菌が SM 100 mcg に耐性である。換言すれば総生菌単位の殆んど100%が SM 100 mcg 耐性菌である。この場合 population 構成が均一であると言う。次に PAS 100 mcg で同じように10代 selection を繰返した株の population 構成をしらべてみると、PAS 100 mcg 培地で生育可能な菌の数は総生菌単位の90%を越さない。この場合個々の菌の耐性度が同一でないと考えられるので、population 構成が不均一であると言う。

Population 構成は同一株でも、薬剤の種類によつて異なるし、また selection に用いる薬剤の濃度によつても異なることがあり得よう。

このような薬剤別にみた population 構成の特徴は喀痰中の結核菌についても同じ傾向がみ出される<sup>2)</sup>。ただし *in vivo* では PAS と INAH の差は著明ではなかつた。しかし喀痰中の population 構成をしらべた症例が少なかつたので、今回は検査回数をまして更に検討を加えた。

### 実験方法および材料

国立療養所大府荘入院中の患者で、病変が2葉以上にわたつて、陳旧な空洞を有する患者28名を検査対照とした。これらの患者は常時排菌者で1cc当り  $10^5 \sim 10^7$  生菌単位を含む喀痰を排泄していた。早朝痰109個について population 分析を行つた。患者は過去に受けた化学療法との量と期間を異にするが、いずれも SM, PAS, INAH の3つとも投与を受けていた。以下にのべるように、ここでは耐性の形式を問題としたので、過去の化学療法の量的差異は直接的な影響を結果に及ぼさないと思

われる。

検査方法は、喀痰に等量の5% KOH を加えて15分間前処理して、1% 小川培地に接種する方法によつた（小川政敏の提唱による）。KOH で液化した喀痰を生食水で10倍稀釈して、 $10^0 \sim 10^{-4}$  の5段階の稀釈液を作り、0.02 cc 容量の渦巻白金耳で各種各濃度の耐性培地（8cc 宛分注）に等量接種し、37°C 6週後に集落数の算定をした。そして対照培地と耐性培地の集落数の比から総生菌単位当りの耐性菌含有率を算定した。検査濃度は SM, PAS, INAH 各々 1, 10, 100 mcg である。従つて喀痰1個について50本の培地を1組とした。

### 実験成績

上述のように耐性菌含有率が大きければ、population が比較的均一であり、小であれば、比較的不均一と言える。そこで先ず、耐性菌含有率50%のところを線ひいて、SM, PAS, INAH の各濃度について比較を試みた。

#### (A)

SM 1 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……102/107=95.3%.

SM 10 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……76/108=70.3%.

SM 100 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……40/109=36.7%.

#### (B)

PAS 1 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……78/109=71.6%.

PAS 10 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……37/108=34.3%.

PAS 100 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……9/109=8.3%.

#### (C)

INAH 1 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……17/109=15.6%.

INAH 10 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……2/109=1.9%.

INAH 100 mcg 耐性菌を総生菌単位の50%以上含有する例……0/109=0%.

記述の便宜のために、各耐性菌含有率50%以上をそ

の濃度における耐性と仮称することにすれば、SM 耐性では、SM 1 mcg 耐性と SM 10 mcg 耐性と SM 100 mcg 耐性の比は、1 : 0.737 : 0.386。

PAS 耐性では、PAS 1 mcg 耐性と PAS 10 mcg 耐性と PAS 100 mcg 耐性の比は、1 : 0.480 : 0.116。

INAH 耐性では、INAH 1 mcg 耐性と INAH 10 mcg 耐性と INAH 100 mcg 耐性ととの比は、1 : 0.122 : 0。

すなわち、SM 耐性では濃度が増加しても耐性例の減少は緩徐であるのに、PAS 耐性および INAH 耐性では減少の傾向が著明である。減少の傾向は特に INAH 耐性でより著明である。

### 討 論

一体これらの SM 耐性を検査する場合に、前に *in vitro* で行つたように、一定濃度の耐性含有率を比較してみても意味はない。SM, PAS, INAH 各々の血中濃度が異なっているのに、病巣中の結核菌にたいする selection 濃度も異なっていると考えられる。従つて、これら3者の耐性菌含有率に差が生じても当然のことである。

それで、ここでは SM, PAS, INAH の各々の中で、濃度差 10 倍にたいする耐性例の増減率を比較した。この率は selection の濃度に一応無関係で、薬剤別の特徴を示すものと考えたからである。そして実際に前述のような差がみられた。

SM 耐性と PAS 耐性または INAH 耐性では、濃度と耐性分布の関係に差がある。SM 耐性で各濃度の差が小さいことは、population を構成する菌の耐性度が比較的そろっていることを意味するので、比較的均一であると言える。また PAS 耐性および INAH 耐性で差が大きいことは、population を構成する菌の耐性度が比較的ふぞろいであることを意味するので、比較的不均一であると言える。INAH 耐性と PAS 耐性とは、不均一性は INAH の方に著明である。

この結果では、前に *in vitro* で得た結果<sup>1)</sup>と比較して、PAS と INAH の不均一性の順序が逆になっている。この原因としては、*in vivo* における菌の反応 (mutation の頻度も含めて) の差および selection 濃度の差が考えられる。Selection 濃度の差は必ずしも血中濃度乃至病巣内濃度の比だけでなく、病巣内および細胞内における拮抗物質による比較的な活性低下も考えられる。これを考慮すると、この研究にも INAH 0.1 mcg の濃度を挿入すべきであつたと思われる。

INAH 耐性について稍詳しく述べると、INAH 耐性菌の含有率が 50% 以上のものが少ないこと、例えば INAH 1 mcg 耐性菌を 50% 以上含有する例でも、15~16% 位しかない。INAH 1 mcg 耐性菌含有率が 10% 以上の例をとつてみても、24/109=22.1% にすぎない。

INAH 10 mcg 耐性菌含有率が 10% 以上のものは、8/109=7.3% しかない。

[INAH 1 mcg 培地に喀痰の原液を塗抹した場合に、多少とも発育集落を示す例は 67/109=61.3% にのぼる。それにもかかわらず、定量的に生菌単位当りの INAH 1 mcg 耐性菌含有率をしらべると、50% 以上の例は 17/109=15.6%、11% 以上の例をとつても、24/109=22.1% である。一方、INAH 1 mcg 耐性菌含有率 10% 以下のものは 43/109=39.4% である。

換言すれば、原液接種で INAH 1 mcg に多少とも耐性の結果を示すもの 67 例中、43 例すなわち約三分の二は、INAH 1 mcg 耐性菌含有率が 10% 以下のものである。このように INAH 耐性菌含有率が意外に少ないことは、routine method での INAH 耐性の判定が菌数の差によつて動揺し易いことを示している。SM 耐性株のように population 構成が比較的均一であれば、routine method と定量的分析の結果は比較的よく一致すると思われるが、INAH 耐性株や PAS 耐性株のように population 構成が比較的不均一であると、routine method では同じ含有率 0.1% の population を検しても、培地当り接種菌数が  $10^6$  の場合は 1,000 個の集落が殆んど融合状態で発育するのに、 $10^8$  であれば、培地に 1 個生えるか生えない結果となつて、同じ population でも耐性の減弱と誤断されることがあり得ると思われる。

### 結 論

喀痰中結核菌の SM, PAS, INAH 耐性についての population 分析を 28 名の患者からの 109 個の喀痰について行つた。各々の薬剤について、総生菌単位当りの耐性菌含有率が 50% 以上である例を仮に耐性と定義すると、SM の場合は、1, 10, 100 mcg への耐性の出現の差が少く、喀痰中結核菌の SM 耐性度が比較的そろっているのにたいして、PAS および INAH、特に INAH の場合は、1, 10, 100 mcg への耐性出現の差が大きく、喀痰中結核菌の PAS 及び INAH 耐性度が比較的揃っていないであつた。

従つて、喀痰中結核菌でも、population 構成は SM 耐性に関して比較的均一で、PAS 耐性および INAH 耐性、特に INAH 耐性に関しては、比較的不均一であると認められた。

御指導を受けた勝沼六郎荘長ならびに名大 日比野進教授に感謝の意を表する。

### 文 献

- 1) 東村道雄, 三浦幸二: Annual Report of the Japanese Association for Tuberculosis, 2:1~5, 1957.
- 2) 東村道雄, 河西栄文: Chemotherapy, 4:232~235, 1956.