

PAS 耐性結核菌の菌力と耐性度との関係

東村道雄・三浦幸二・林 光男

国立療養所大府荘

(昭和 33 年 11 月 15 日受付)

PAS 耐性菌の菌力が減弱していることは既に INAH 耐性菌の菌力減弱の報告の前年に、イタリヤの NITTI e TALIERCIO (1952)¹⁾ によつてなされていたにもかかわらず、一般の関心が INAH 耐性菌に集中されたため PAS 耐性菌の菌力問題はその後僅かの実験者^{2,3,4)}によつて追試されたのみであつた。

一般に PAS 耐性菌といつても種々の耐性度の段階があるので、PAS 耐性度と菌力減弱の間に如何なる関係があるかということが問題となる。上述の著者たちによつて使用された PAS 耐性株は高耐性株である故、低耐性菌の菌力が果して減弱しているかどうか特に問題となる。この問題は、PAS を長期間使用した重症肺結核患者の喀痰中の結核菌 population の構成をしらべると、population の大部分を占めるのは PAS 1 mcg 耐性菌の如き低耐性菌であつて、PAS 10 mcg 及び 100 mcg 耐性菌の如き高耐性菌は意外に低率にしか含まれていないと言ふ吾々の報告⁵⁾と関連して重要であると思われる。何となれば、もし PAS 1 mcg 耐性菌の如き低耐性菌の菌力も低下しているのであれば、PAS 耐性株を有する大抵の結核患者で既に菌力減弱が期待できるし、一方もし菌力減弱が高耐性菌のみに限られているものであれば、このような期待は可能性は少ないので、場合によつては PAS 高耐性菌を撰択する臨床の手段が考慮されてよいことにならう。本報では PAS 耐性度と菌力との関係について基礎的検討を行なつた。

実験材料及び方法

使用菌株は人型結核菌 H₃₇Rv 株の原株及びそれから分離した PAS 耐性株を使用した。

菌力の検討は、加藤、三木、松永⁶⁾のマウス全身 homogenize 法によつた。マウスは当研究室で飼育した体重約 15 g の雄性マウスを用いた。H₃₇Rv 株及び PAS 耐性株をマウス腰部皮下に注射し、以後日数を追つて、加藤らの方法によつてマウス全身の生菌単位数を算え、3 匹の平均値を以つてマウス 1 匹当りの平均生菌単位数を図に打点した。生菌単位の測定は 1% 小川培地と渦巻白金耳接種法により、37°C 4 週後の集落数を算えて生菌単位数を算出した⁷⁾。使用した PAS 耐性株の耐性度は population 構成分析値で示した。Population 構成分析の方法は既報⁷⁾の通りである。

実験成績

一般に PAS 耐性株と称しても普通は種々の耐性度を示す菌の集合体であるから、PAS 耐性度と菌力との関係を検討するには PAS 耐性度に関して均一な population 構成の株を用いることが望ましい。ところが吾々の研究⁸⁾によれば、単一細胞に由来する population、すなわち遺伝的に均一ないわば純系の population と言へども、高耐性株では均一な耐性度の population を得ることができない。すなわち、PAS 耐性株の population 構成の不均一性は PAS 耐性菌そのものの性質に由来し、表現型発現の変動によると考えられるに到つた。従つて、吾々が耐性度の均一な population を実験に使用することは不可能と考えられるので、ここでは被検株の population 構成と菌力との関係を検討することにした。被検 PAS 耐性株は遺伝的に均一であることが望ましいのは勿論であるが、吾々の被検株は PAS 培地継代法⁹⁾によつても population change を起さないもので、遺伝的に均一であると認められた。使用した菌株は次の 3 種である。

- (1) 原株 (感性株)
- (2) PAS 低耐性株 (P1R)

原株から PAS 1 mcg の one-step selection によつて得た株であり、P1R と名づける。PAS 1 mcg 耐性菌は原株中に約 10⁻⁹ の割合に見出されるにすぎず、且薬剤なし培地に継代してもその性質を変えないので、明かに突然変異菌 (mutants) と考えられる。

- (3) PAS 高耐性株 (P100R)

P1R 株から PAS 100 mcg の one-step selection によつて得た菌の集団で P1R 中に約 10⁻⁶~10⁻⁷ の割合で見出された。この株を P100R と名づける。

以上の株は遺伝的に均一であることが認められたが、これらの株の低耐性遺伝子型及び高耐性遺伝子型以外の遺伝子型があれば、更にそれらの遺伝子型をもつ population の菌力を検討する必要があるのであるが、幸いにし吾々の研究結果⁸⁾によれば人型結核菌の PAS 耐性に関する遺伝子型は、感性、低耐性、高耐性の 3 遺伝子型にすぎないことが見出されている {文献 (8) は人型結核菌青山 B 株に関するものであるが、H₃₇Rv 株でも同様である (別報)}。従つて、遺伝子型に関しては、ここに使

用する感性, PAS 低耐性, PAS 高耐性の3型しかないわけで, この3型の各々をもつ上記3株の菌力を検討すれば, 各遺伝子型をもつ population の菌力が全部検討されることになる。

使用した P1R (位耐性遺伝子型をもつ population) 及び P100R (高耐性遺伝子型をもつ population) の population 構成は表の通りであつて, P1R は PAS 1

mcg に耐性であり, 且つ PAS 1mcg に関しては population 構成は均一であるが PAS 10 mcg には発育し得ない。

P100R は PAS 100 mcg のみならず PAS 1,000 mcg にすら耐性を示す菌を相当数含むが population 構成は不均一である。

これらの原株, P1R 株, P100R 株のマウスにたいする菌力をマウス全身 homogenize 法によつて検討した結果は, 図1の通りである。

加藤などの原著にも示される通り (但しピークの日数は異なるが), H₃₇Rv 株の原株は注射後 5~8 日の間に生菌単位増加の山を示した。P1R 株も略類似の経過を辿つたので, 原株と略同程度のマウスにたいする菌力を保持していると考えられる。しかるに, P100R 株は生菌単位増加の山を示すことなく, 生菌単位総数の曲線はなだらかな下降を示した。この曲線は加藤などが無毒の H₃₇Ra 株について示している曲線と類似のものであり, 従つて P100R 株の菌力は著明に減弱しているものと考えられる。

考 察

上述の成績から PAS 低耐性遺伝子型をもつ population (P1R 株) の菌力は感性遺伝子型をもつ原株の菌力と変わらないが, PAS 高耐性遺伝子型をもつ population (P100R 株) の菌力は原株に比して減弱していると考えられる。

この菌力減弱の原因が PAS 高耐性遺伝子そのものの manifold effect¹⁰⁾ によるものか, 或いは他の遺伝子の simultaneous mutation^{11,12,13)} によるものかは向後の遺伝学的検討を必要とする。

また以上の結果は次の如き臨床的考慮を暗示している。マウスにたいする菌力と人間にたいする菌力とが並行するかどうかは尙検討の余地があるが, もしそうであれば, 結核患者喀痰中結核菌 population の大部分を占める PAS 低耐性菌の菌力が減弱していることは, あまり期待できないので, 臨床的には PAS 耐性株が出現しても, 尙 PAS 投与を続行することにより, PAS 低耐性菌の発育速度を遅延して (PAS 低耐性菌の発育速度は高耐性菌のそれより同一量の PAS によつてより著明に遅延される^{8,14)}), PAS 高耐性菌を選択するように努めることが望ましいと考えられる。

本報の実験では, 使用した PAS 耐性株の遺伝学的性質については先ず十分な考慮を払い, 遺伝的に均一と考えられる株を使用した, 遺憾ながらマウスについては経済的理由から純系マウスを使用することができなかった。しかしながら, 図に示される曲線から, 吾々の菌力に関する結論が多くは誤っていないと信じて本報を記し

Fig. 1

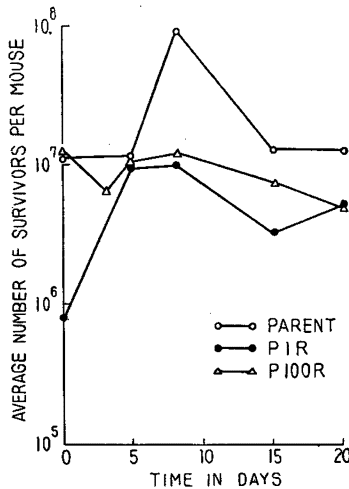


Table 1. Population structure of PAS-resistant strains of *M. tuberculosis* var. *hominis* (strain H₃₇Rv) used for testing the virulence for mice.

PAS Concentration mcg/ml	No. of Survivors ^(*)	
	Strain P1R ^(**)	Strain P100R ^(**)
0	47.8 ± 18.7 (100%)	19.4 ± 8.75 (100%)
1	48.7 ± 18.2 (102%)	15.5 ± 2.49 (80%)
10	0.0	6.6 ± 2.49 (34%)
100	0.0	4.7 ± 2.56 (24%)
500	0.0	5.0 ± 2.49 (26%)
1,000	0.0	2.9 ± 2.29 (15%)

(*1) (Mean of Ten Replicates) ± (Standard Deviation).

(*2) Obtained by one-step selection of the parent strain with 1mcg of PAS. Appearance rate of mutants resistant to 1mcg of PAS in the parent strain was approximately 10⁻⁹ per total viable cells.

(*3) Obtained by one-step selection of the strain P1R with 100mcg of PAS. Appearance rate of mutants resistant to 100mcg of PAS in the strain P1R was approximately 10⁻⁶ to 10⁻⁷ per total viable cells.

た次第である。

結 論

人型結核菌 H₃₇R_v 株の原株及び PAS 耐性株の耐性とマウスにたいする菌力との関係をマウス全身 homogenize 法によつて検討した。その結果、PAS 低耐性遺伝子型をもつ population は原株と比較して略同じ菌力をもつが、PAS 高耐性遺伝子型をもつ population は菌力減弱を示すことが分つた。

文 献

- 1) NITTI, V., e TALIERCIO, E. . Sulla virulenza dei micobatteri tubercolari P. A. S.-resistenti. Arch. di Tisiol., 7 : 974~980, 1952.
- 2) KREBS, A. : Beitrag zur Frage der Virulenz chemoresistenter Tuberkelbakterien. Beitr. Klin. Tuberk., 115 : 460~470, 1956.
- 3) CZANIK, P., SZABÓ, I., und VINCZE, E. : Virulenzuntersuchungen bei künstlich zur Hochresistenz gezüchteten Mykobakterium tuberculosis-Stämmen. Beitr. Klin. Tuberk., 114 : 304~308, 1955.
- 4) 中山秀三 抗結核剤耐性結核菌の毒力に関する研究。第3報。耐性結核菌の毒力について。熊本医学会雑誌, 31 : 400~414, 1957.
- 5) 東村道雄, 河西栄文 咯痰中結核菌薬剤耐性の定量的分析。第5報。Chemotherapy, 5 : 105~106, 1957.
- 6) 加藤允彦, 三木勝治, 松永清輝 : ハツカネヅミ 全身 homogenize 法による結核菌菌力に関する研究。第1報。結核, 30 : 638~642, 1955.
- 7) 東村道雄, 野田用, 中村栄一 小川培地斜面と渦巻白金耳接種法を用いる結核菌生菌数の測定。結核, 32 : 639~642, 1957 ; 33 : 43~46, 1958.
- 8) 東村道雄, 野田用, 山本昌邦, 林光男 : 人型結核菌の PAS 耐性系の遺伝学的研究。日本結核病学会演説 (33年5月)。
- 9) 東村道雄 : *Mycobacterium tuberculosis* の PAS 耐性系の細菌遺伝学的研究。その3 (ある bacterial population が任意の遺伝子型について均一か不均一かを検定する方法)。医学と生物学, 48 : 38~41, 1958.
- 10) DOBZHANSKY, TH. : Genetics and the Origin of Species. Columbia Univ. Press, New York, 1951 (駒井卓 高橋降平訳, 培風館, p. 29)。
- 11) 木原均 : X線処理による一粒小麦の複突然変異。遺伝学雑誌, 19 : 136~138, 1943.
- 12) 東村道雄 *Mycobacterium avium* の R 型変異と薬剤耐性との関係についての細菌遺伝学的考察。結核, 32 : 414~417, 1957.
- 13) 東村道雄, 安保孝 : 燐 Isotope 持続照射の mutagenic effect と bacterial growth phase との関係。日本細菌学雑誌, 13 : 314~318, 1958.
- 14) 東村道雄 The properties of para-aminosalicylic acid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*. Amer. Rev. Tuberc., 75 : 608~617, 1957.