赤痢流行株中の耐性株に対する Kanamycin 刺戟による耐性度の変化に関する研究

日本医科大学衛生学教室 (指導 八田貞義教授)

横 田 貞 男
Sadao Yokota

まえがき

流行赤痢菌株中に抗生物質耐性株の存在することの報告¹⁾²⁾³⁾は、こゝ 2~3 年のことで、すでに同門の一人神谷⁴⁾も昭和 33 年度の夏より秋にかけての流行赤痢菌株の全国抽出株 1500 余の中から、8 % 前後の抗生物質耐性株の存在を報告している。

実験的に、サルファ剤及び抗生物質に対する耐性現象の出現は証明されており⁵⁾⁶⁾⁷⁾、如何なる理由の下に、この出現をみるかについては、突然変異説或は誘導変異説等があるが、臨床家による赤痢患者糞便の経日検査に於て感受性株のみの連続検出中に突然に耐性株の出現をみたり⁸⁾、再びそれが感受性に変化したりする現象が相当精査された成績からもうかがえることから、流行株の耐性獲得現象は、案外簡単などころにあるのではなからうかとも考えられる。

同門の一人酒寄⁹⁾は Kanamycin の耐性獲得の機序の観察中に、実験室内にて作り得た耐性株は事後の耐性度に非常に不安定な結果をもたらすことを認めている。又、その実験の途中で突然、耐性株の出現をみたりして、その一連の実験を乱している。

この様な現象は、実際の流行株の伝播中にもおこり得るところであることは想像され今後の流行株中の耐性株の増加或いは逆に減少等の事象に関与する一方式とも考えられる。

著者は、酒寄が、Streptomycin, Chloramphenicol, Tetracycline, Kanamycin の 4 者耐性株を実験的に作成しようと試み、失敗したことを再び取り上げ、四者耐性の問題に関連する事象を検討してみた。

1. 使用菌株

酒寄が、四者耐性の作成に失敗した理由の一つは、赤痢菌株の基礎現象を感受性株にとつたことによる。そして、そのすべての抗生物質に対する方法が誘導耐性であつたので、一つの抗生物質に耐性になつた株が、他の抗生物質の刺戟によつて、再び元の感受性株に復元する現象が生じたわけと考える。

酒寄⁹⁾はこの現象をもつて誘導株と突然変異株とが

区別可能ではないかと考えた。

著者は、その為、先ずその出発点を一者或いは三者耐性株をもつて行つた。

即ち、本教室に保存の流行赤痢菌株中の耐性株を取上げた¹⁰⁾。第 1 表にその使用菌株の菌型及び、Streptomycin(SM) Chloramphenicol(CM) Tetracycline(TC) Kanamycin(KM) に対する耐性度を示す。即

第 1 表 使用菌株 (SM,CM,TC 三者耐性株
並 TC 耐性株) (r/cc)

番 号	菌 型	SM	CM	TC	KM
H- 1	Sh. flex. 2 a	100	100	100	1.56
H- 2	Sh. flex. 2 b	100	100	100	1.56
H- 3	Sh. flex. 2 b	100	100	100	1.56
H- 4	Sh. flex. 2 b	100	100	100	1.56
H- 5	Sh. flex. 2 b	100	100	100	1.56
H- 6	Sh. flex. 2 b	100	100	100	1.56
H- 7	Sh. flex. 3 a	100	100	100	1.56
H- 8	Sh. flex. 4 a	100	100	100	1.56
H- 9	Sh. sonnei	100	100	100	1.56
H-10	Sh. sonnei	100	100	100	1.56
H-11	Sh. sonnei	100	100	100	1.56
H-12	Sh. sonnei	100	100	100	1.56
H-13	Sh. flex. 2 a	1.56	0.78	100	1.56
H-14	Sh. flex. 2 a	3.12	0.78	100	1.56
H-15	Sh. flex. 2 a	3.12	0.78	100	1.56
H-16	Sh. flex. 2 a	3.12	0.39	100	1.56
H-17	Sh. flex. 2 a	3.12	0.78	100	1.56
H-18	Sh. flex. 3 a	1.56	0.78	100	1.56
H-19	Sh. sonnei	1.56	0.78	100	1.56
H-20	Sh. sonnei	6.25	12.5	100	1.56
H-21	Sh. sonnei	3.12	0.78	100	1.56

対照は夫々の株→pepton→O₁ ハートインフュージオンにて実施

ち、SM,CM,TC の三者耐性株 12 株、TC の一者耐性株 9 株を取上げたわけである。

2. Kanamycin 加培地による Kanamycin 耐性度の誘導実験

TC に 25 r/cc, 50 r/cc の耐性を示す菌株が出現するが、殆んどは 100 r/cc の耐性を保っている。

即ち、この結果は、一応 3 株の三者耐性が出来たことになる。

ロ) TC 耐性株について

第 5 表 TC 耐性株を KM 加培地に継代培養した際の KM 耐性度の変化 (r/cc)
対照は夫々各代を通じて最高 KM 耐性度

番号	菌 型	初代	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	対照
H-13	Sh. flex. 2 a	1.56	1.56	3.12	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	25	1.56
H-14	Sh. flex. 2 a	1.56	1.56	1.56	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	25	25	25	25	25	1.56
H-15	Sh. flex. 2 a	1.56	1.56	3.12	3.12	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5	25	25	25	50	1.56
H-16	Sh. flex. 2 a	1.56	6.25	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	25	25	25	25	50	50	3.12
H-17	Sh. flex. 2 a	1.56	3.12	3.12	6.25	6.25	12.5	12.5	25	25	25	25	50	50	3.12
H-18	Sh. flex. 3 a	1.56	3.12	3.12	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5	25	25	50	25	1.56
H-19	Sh. sonnei	1.56	3.12	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	25	25	25	25	25	3.12
H-20	Sh. sonnei	1.56	1.56	3.12	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	25	25	25	50	50	1.56
H-21	Sh. sonnei	1.56	3.12	3.12	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	25	50	1.56

第 6 表 TC 耐性株を KM 加培地継代培養中の SM, CM, TC の夫々の耐性度 (r/cc)

番号	菌 型	初 代			4 代			8 代			10 代			12 代		
		SM CM TC			SM CM TC			SM CM TC			SM CM TC			SM CM TC		
		SM	CM	TC	SM	CM	TC	SM	CM	TC	SM	CM	TC	SM	CM	TC
H-13	Sh. flex. 2 a	1.56	0.78	100	3.12	0.78	25	3.12	0.78	25	12.5	0.78	50	12.5	0.78	50
H-14	Sh. flex. 2 a	3.12	0.78	100	6.25	0.78	100	6.25	0.78	100	12.5	0.78	100	12.5	0.78	100
H-15	Sh. flex. 2 a	3.12	0.78	100	3.12	0.78	100	3.12	0.78	100	12.5	0.78	100	12.5	0.78	100
H-16	Sh. flex. 2 a	3.12	0.39	100	3.12	0.78	100	6.25	0.78	100	12.5	0.39	50	12.5	0.39	100
H-17	Sh. flex. 2 a	3.12	0.78	100	6.25	0.78	100	12.5	0.78	25	12.5	0.78	50	25	0.78	50
H-18	Sh. flex. 3 a	1.56	0.78	100	3.12	0.78	100	6.25	0.78	100	12.5	0.78	100	12.5	0.78	100
H-19	Sh. sonnei	1.56	0.78	100	6.25	0.78	50	12.5	0.78	50	12.5	0.78	100	50	0.78	100
H-20	Sh. sonnei	6.25	12.5	100	6.25	12.5	25	12.5	6.25	25	12.5	6.25	50	50	6.25	50
H-21	Sh. sonnei	3.12	0.39	100	3.12	0.39	100	3.12	0.39	100	6.25	0.39	100	12.5	0.39	100

SM に於て、12 代で 1.56 r/cc が 50 r/cc に、6.25 r/cc が 50 r/cc の耐性度に上昇した。これは SM と KM の化学構造の類似点にあると考える。CM においては変化を認めなかつた。

(3) 小 括

以上をみると三者耐性株は一般に TC 一者耐性株よりも、KM の誘導耐性をもち易いことがわかつた。現在一者耐性の赤痢菌株より三者耐性の赤痢菌の流行の多い現象は、一者耐性が他に耐性を獲得することより、三者耐性が他に耐性を獲得する方がより簡単に行われるのではないとも考える。又、一方に一者耐性或いは三者耐性の内にも時には他の薬剤の刺戟によつ

第 5 表にその結果を示す。13 代においても、KM 100 r/cc 耐性株は出現していない。9 株中 5 株が 12 代 13 代にようやく 50 r/cc 耐性を認めただけである。第 6 表に、途中に於ける SM, CM, TC 耐性度を示す。本株は TC 耐性株であつたが 12 代目では 3 株が 50 r/cc 耐性となつた。

てその耐性度が減少するものも存在することがわかつた。

3. KM 刺戟によつて得た株の他の抗性物質刺戟による変化

耐性株の安定度の検査として、他の抗生物質刺戟によつても低減現象をみないことが一つの条件であることは、酒寄の報告でも認められるところで、著者は、この検討を実施した。即ち、第 7 表の如く、SM, CM, TC の耐性度を検査し、その量の刺戟を平板方法で順次継代を繰返したわけである。

第 8 表にそれを示す。即ち、他の薬剤刺戟により低減あるものは、早期に低減現象を見る様で、特に TC

第7表 実験方法

第8表 KM 耐性株に一定濃度抗生物質刺戟した際の KM 耐性度の変化 (r/cc)

番 号	菌 型	出 発 時 の KM 耐性度	抗生物質	出 発 時 の 耐 性 度	抗生物質 刺戟濃度	継 代			
						初 代	2	3	4
H-17	Sh. flex. 2 a	25	SM	25	25	25	25	25	50
			CM	0.7	0.7	25	25	25	25
			TC	50	50	25	25	12.5	25
			KM	25	—	25	25	25	25
H- 2	Sh. flex. 2 b	50	SM	100	100	50	50	50	50
			CM	100	100	50	50	25	50
			TC	100	100	50	50	12.5	12.5
			KM	50	—	50	50	50	50
H- 5	Sh. flex. 2 b	100	SM	100	100	100	100	50	100
			CM	100	100	100	100	100	100
			TC	100	100	100	100	100	50
			KM	100	—	100	100	100	100
H-18	Sh. flex. 3 a	50	SM	12.5	12.5	50	50	100	25
			CM	0.7	0.7	50	50	0.7	25
			TC	100	100	50	50	12.5	25
			KM	50	—	50	50	50	50
H- 8	Sh. flex. 4 a	50	SM	100	100	50	50	50	25
			CM	100	100	50	50	50	25
			TC	100	100	50	50	50	50
			KM	50	—	50	50	50	25
H- 9	Sh. sonnei	50	SM	100	100	50	50	50	100
			CM	100	100	50	50	12.5	12.5
			TC	100	100	50	50	25	25
			KM	50	—	50	50	50	25
H-11	Sh. sonnei	100	SM	100	100	100	100	100	100
			CM	100	100	100	100	50	100
			TC	100	100	100	100	100	100
			KM	100	—	100	100	100	100
H-12	Sh. sonnei	50	SM	100	100	50	50	50	25
			CM	100	100	50	50	50	25
			TC	100	100	50	50	25	25
			KM	50	—	50	50	50	25

刺戟による低減度はいちぢるしい。

たゞ、H-5(Sh. flex. 2 b) H-11(Sh. sonnei)の2株

のみが、第9表に示す様に、何れの刺戟にも安定であつた。

第9表 H-5 (Sh. flex. 2b) 及 H-11 (Sh. sonnei)の安定度 (r/cc)

番 号	菌 型	抗 生 物 質							対 照
		SM	CM	TC	KM		KM		
		刺 戟 抗 生 物 質							
						SM	CM	TC	
H-5	Sh. flex. 2 b	100	100	100	100	100	100	100	100
H-11	Sh. sonnei	100	100	100	100	100	100	100	100

4. 100 r/cc 耐性度の吟味

現在の抗生物質に 100 r/cc 以上の耐性度を有するものを耐性株と一括して取扱っているが、上述の如く、その誘導の経過に於て、又他の抗生物質刺戟による結果に於て、何等かの異りがある様である。耐性株には、理論的に突然変異による耐性獲得現象と、誘導

変異による耐性獲得現象とを考えると、耐性株群の中には、此の2者が存在すると思われる。そして、誘導変異株は容易に感受性株へと移動するが、突然変異株は移動し難いとの考えも成立する。

著者はそれ故、更に 100 r/cc 以上の濃度に於ける耐性度を検討してみた。第 10 表にそれを示す。これに

第10表 三者耐性株の KM 刺戟による始と終との耐性度 (r/cc)

番 号	菌 型	出 発 時				13 代			
		SM	CM	TC	KM	SM	CM	TC	KM
H-1	Sh. flex. 2a	400	100	100	1.56	400	100	100	50
H-2	Sh. flex. 2b	400	100	100	1.56	100	100	100	50
H-3	Sh. flex. 2b	400	200	100	1.56	400	100	100	50
H-4	Sh. flex. 2b	400	200	100	1.56	400	100	100	50
H-5	Sh. flex. 2b	400	400	100	1.56	400	400	100	100
H-6	Sh. flex. 2b	400	400	100	1.56	400	200	100	50
H-7	Sh. flex. 3a	200	200	100	1.56	200	200	100	50
H-8	Sh. flex. 4a	400	200	100	1.56	400	100	100	50
H-9	Sh. sonnei	400	200	100	1.56	400	100	100	50
H-10	Sh. sonnei	200	200	100	1.56	200	200	100	50
H-11	Sh. sonnei	400	400	200	1.56	400	400	200	100
H-12	Sh. sonnei	200	400	100	1.56	100	200	100	50

よると、SM は 400 r/cc の耐性度を示すものが多く、CM は 100 r/cc 2 株、200 r/cc 7 株、400 r/cc 4 株と認められ、TC に於ても 200 r/cc を一株検出出来た。そしてそれ等は KM 刺戟によつて減少するものではないものがある。25 r/cc 50 r/cc の耐性度をもつて所謂中間耐性度と云う言葉があるならば、この群は 1.56 r/cc 或は 3.12 r/cc と云う低耐性株が何等かの誘導によつて出来上つたものであり、この場合は 25 r/cc 50 r/cc と云う連続点の耐性度出現も許されその頂点に 100 r/cc 或は 200 r/cc が存在することになる。即ちこの場合は感受性群中の最高度耐性を示す株であつて、耐性群中の株とは区別されていゝだろう。そしてこの株は依然として感受性群中に存在するので不安定である。

総括並びに結論

赤痢の耐性株の出現は、赤痢の疫学臨床及び細菌に¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾対して新しい事象を与えた。著者は耐性獲得の状況を観察するために、先に、酒寄が実施して行い得なかつた四者耐性獲得の実験を行うと共に、耐性株について吟味を行つた。

1) 三者耐性株、即ち SM, CM, TC に対する耐性度を有する株は KM 刺戟によつて一者耐性 (TC 耐性) より容易に 100 r/cc 耐性となる。

2) KM 刺戟により他の抗生物質に対する耐性度は不安定になり、時には 25 r/cc 程度まで低下することがある。特に TC 一者耐性に於てはなほだしい。

3) KM 刺戟によつて耐性度を上昇した株に SM, CM, TC 刺戟を行うと簡単に KM 耐性度が減少するものと 100 r/cc に保っているものがある。

4) 三者耐性株に KM 刺戟を行い、安定した四者

耐性株を実験的に得ることが出来た。

5) 100 r/cc 耐性度を更に 200 r/cc 400 r/cc と検討すると 100 r/cc 以上の耐性株とするものの中には 2 つの型が存在することがわかった。

6) 若し、誘導変異株と突然変異株との区別が可能であるならば、他の薬剤により容易に低減する株は誘導変異株と考えられ、これは感受性群の最高耐性度を示すものとして、取扱つた方がよく、当然この一連した変動として 25 r/cc 50 r/cc 中間耐性の存在も可能になつて来る。

以上の結果から、臨床に於てしばしばみとめられる突然の耐性株の出現は、耐性群としての耐性株ではなく、誘導変異としての感受性群に尚含まれる耐性株であると想像した。

著者はこの方面の詳しい検討から 25 r/cc 50 r/cc の耐性度の存在を認めることが出来ると予測したい。

稿を終るに臨み、御指導御校閲を賜つた八田貞義教授に深謝し、終始直接御指導頂いた乗木秀夫助教授に

感謝致します。

文 献

- 1) 長岐佐武郎：日本医事新報，第1735号，14(1957)
- 2) 落合国太郎： “ 第1727号，12(1957)
- 3) 齊藤 誠：日本伝染病学会雑誌，**32**(4)，233(1958)
- 4) 神谷 利和：日医大誌，掲載予定
- 5) 小張 一峰：日本医事新報，第1783号(1958)
- 6) 小酒井 望：日本伝染病学会雑誌，**29**(4)，167(1955)
- 7) 御簾納孝次郎：赤痢，東京都衛生局発行，92頁(1954)
- 8) 小張 一峰：第15回日本医学会総会主題71，赤痢口演(1959)
- 9) 酒寄 盛：日医大誌，**26**(9)，(1959)
- 10) 高倉 剛二他： “ **26**(10)，(1959)
- 11) 福見 秀雄：モダンメディア，**5**(2)，81(1959)
- 12) 川嶋 明：日本医事新報，第1735号，22(1957)
- 13) 小酒井 望：公衆衛生，**22**(7)，357(1958)
- 14) 曾田 長宗： “ **22**(7)，351(1958)
- 15) 小張 一峰：最新医学，**12**(7)，1617(1957)

日 医 大 誌 第 27 卷 10 号

正 誤 表

		誤	正
1069 頁	右側上から 7 行目	照対胃	対照胃
1070 頁	左側下から 16 行目	部位 3	部位 2
1071 頁	左側下から 17 行目	No. 35 しは	し No. 35 は
1075 頁	左側下から 3 行目	固有粘膜	固有粘膜
“ 頁	右側上の表のすぐ下	49 ミリ	4.9 ミリ
1077 頁	右側上表冊の下	19	16
1081 頁	左側上から 3 行目	が 2	2 が
1082 頁	左側上から 4 行目	9 例	8 例
1085 頁	左側上から 1 行目	36	3.6
1087 頁	左側上から 3 行目	Eroson	Erosion
1089 頁	右側上から 4 行目	Gastroenterolgy	Gastroenterology