

PAS 及び TB 1 投与時の肋膜腔滲出液中 濃度を中心とした研究

第2報 TB 1 について

国立中野療養所 (所長 春木秀次郎博士)

河 合 潔

(昭和 27 年 1 月 9 日受付)

I 諸 言

TB 1 (コンターベン) による結核性膿胸の治療に関しては、既に幾多の報告が見られるが、その膿胸腔内注入に際して問題となる TB 1 の膿に対する溶解度、TB 1 の膿中濃度、血中移行及び尿中排泄量等に関しては未だ検討不十分で Heilmeyer¹⁾ の報告例があるのみである。

TB 1 の尿中濃度の測定法に関しては、R. Benisch 等²⁾ が 1950 年 1 月に、2 方法すなわちジアゾ化合物とのカップリングによりて比色定量する方法と、クロロアセトフェノンと TB 1 の縮合を移用する方法を發表した。私はまずクロロアセトフェノンを用いる方法を追試せんとしたが、縮合に際して用うべき Bose 氏反応が文献入手不能のため結局失敗に帰した。

1950 年 11 月、能勢³⁾ の尿中 TB 1 の定量に芳香族第 1 級アミン定量試薬である津田試薬を用いた報告ありしを知り、再び膿上清及び尿中の TB 1 濃度を津田試薬にて測定せんとしたが、津田原法 (市販品に附随せる説明書による) では TB 1 含否の尿、膿上清に常に 1~3γ/cc の類似の発色あり実地上の使用は不可能であつた。ただし全装作は津田原法によつたのであつて、これを改変した能勢変法を用いたわけではない。

1951 年 1 月 Simmons 等⁴⁾ は内服時の尿及び血液中の TB 1 測定に関し、紫外線スペクトル光度法と Bratton and Marshall 氏法⁵⁾ を用いた結果を發表した。しかし Bratton and Marshall 試薬は入手不能であつた。

1951 年 2 月私は津田原法による際の際、対照尿、膿の呈色の一原因に、過剰の亜硝酸ソーダの尿素による処理が関係しているのではないかと考え、これを Bratton and Marshall 氏法の如くスルファミン酸アンモニウムを用いる方法に改め、発色自体は従来の津田試薬を用いたところ、対照の尿、膿上清に発色なく、かつ 1γ/cc までの測定が可能となつた。従つて 1951 年 2 月以降自己の変法に基き 11 名の結核性膿胸患者に TB 1 を直接膿胸腔内に注入又は内服せしめ、主として膿中 TB 1 濃度の測定をなし、併せて血液及び尿中濃度を測定した。又膿胸を有しない肺結核患者 3 名に、TB 1 の経口投与をなし、その尿中排泄量を測定し、膿胸例と比較検

討した。

II 検査材料、測定法並びに基礎実験

1) 検査材料:

検査の対称となつた結核性膿胸患者は次の 11 名で、TB 1 療法開始までの経過は第 1 表の通りである。なお非膿胸患者として別に 3 名を検査の対称に選んだ。

肋膜腔内注入には、あらかじめ滅菌した TB 1 粉末 (中部製薬製) を、注入直前、生理的食塩水又は蒸溜水に浮遊して用いた。

2) 測定方法:

津田氏法は市販の試薬に附随せる文献によると次の通りである。

(註) クエン酸ソーダ加血液 1cc に蒸溜水 7cc を加え、これに 15% トリクロール醋酸 2cc を加え乾燥濾紙にて濾過、濾液 4cc に 15% 塩酸 0.5cc を加え、0.2% 亜硝酸ソーダ 4 滴を滴下し 3 分間ジアゾ化する。その後 25% 尿素 6 滴を加え 25~30°C で 10 分間放置す。次に 0.2% 津田試薬 5 滴を加え発色せしめ、標準液と比色定量す。なお以上の方法による色素溶液は 5 分後には最高濃度に達し 30 分以上同一色調を保持す。

私の行つた変法は以下の通りである。

すなわち膿濾液、血清又は 10 倍乃至 20 倍稀釈尿の 1cc に蒸溜水 7cc を加え、これに 15% トリクロール醋酸 2cc を加え、乾燥濾紙で濾過 (尿では通常除蛋白の要なし)、濾液 4cc に 15% 塩酸 0.5cc を加え沸湯温浴に 1 時間半おき脱アセチル化する。その後蒸発分は蒸溜水にて補い、試液の温度を 25°C となし、これに当日調製の 0.2% 亜硝酸ソーダ 0.2cc を加え 25°C にて 3 分間放置、次に 0.5% スルファミン酸アンモニウム 0.5cc を加え、時々振盪しながら 10 分間放置、その後津田試薬 5 滴を加えて発色せしめ、30 分後同時に発色せしめた標準溶液とデューボスク比色計により比色した。

3) TB 1 濃度と吸光係数との関係

以上の変法による発色が、その濃度と一定の比例的関係にあるか否かを検討するため、基準液各濃度の吸光係数を特にプルフリツヒ比色計により測定した結果は次の通りである (第 2 表及び第 1 図)。

図の如く濃度とその吸光係数との間にはほぼ直線的関

第1表 実験患者(膿胸)のTB1療法開始までの経過

症例番号	気胸期間	肋膜炎期間	膿胸期間
例1	1年	2年	1年
2	1年	2年	1年
3	1年	2年	1年
4	1年	2年	1年
5	1年	2年	1年
6	1年	2年	1年
7	1年	2年	1年
8	1年	2年	1年
9	1年	2年	1年
10	1年	2年	1年
11	1年	2年	1年

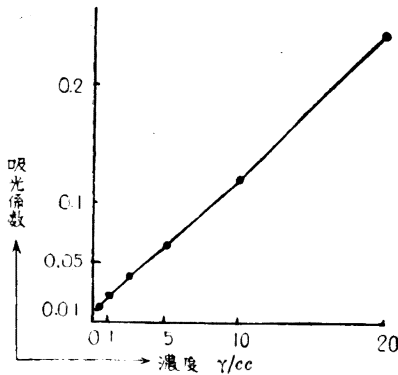
註 (1) 気胸・肋膜炎・膿胸は連続的に起つてゐるが、表においてはそれぞれの期間を別々に記入した。例えば例1においては気胸10ヶ月後肋膜炎となり、更に半月後膿胸となり、膿胸1年4ヶ月よりTB1を使用した
 (2) 肋膜炎期間の不明例は湿性肋膜炎より膿胸に移行した例で、膿胸発見からの期間を示した

第2表

濃度 (γ/cc)	0.5	1.0	2.5	5.0	10.0	20.0
吸光係数	0.012	0.012	0.037	0.064	0.120	0.245

註 Filter S.53, Cuvette 1cm の条件である

第1図



係が成立する。又一般比色法による際も1γ/ccの吸光係数より見て1γ/cc内外迄測定可能である。

4) 脱アセチル化について

TB1は脱アセチル化が困難といわれるが、私はBratton and Marshall 氏法⁵⁾ にならい塩酸により行つた。すなわち原法の検液 10cc に 4N-HCl 0.5cc を加え煮沸1時間とあるを、検液 4cc に対し 15% HCl 0.5cc を加え煮沸1時間半とした。又所要時間を1時間半としたのは、第3表の如くそれ以上の時間の延長は、必ずしも発

色度を増すものでなく、又1時間では、時に発色不十分の場合があるを認めた結果である。

5) 測定誤差について

誤差の原因としては、ピペット操作によるもの、チアソ化時及び比色時の液温の影響の、比色自体の誤差等が考えられるが、以下同一試料につき、同一条件下に10回発色せしめて測定した各数値の平均値(近似値)に対する各測定値の変動を誤差の限界として、更にその百分比誤差を求めてみた(第4表)。

その結果 ±1.6~2.0% の誤差を生ずることが判明した。

III 研究成績

1) TB1の溶解性に関する実験

TB1の膿及び蒸溜水に対する溶解度を知る

第3表 脱アセチレン化時間と発色度との関係

試料	1時間	1時間半	2時間	2時間半
1γ/cc 基準液	100	100*	82	77
10γ/cc 基準液	92	100	96	89
例2 (尿)	89	100	96	変色
例1 (膿)	82	100	91	94

註 * 1時間半値を100とした

ため、次の如き実験を行つた。

37°C の三角コルペン中の膿及び蒸溜水 100cc 中に、TB1 粉末 0.2g, 0.4g, 0.8g を正確に加え、1分間軽く振盪後、37°C の孵卵器中に密栓静置し、一定時間後に上清の一部を東洋濾紙 No.2 にて濾過し、濾液中のTB1濃度を測定した(第5表及び第2図)。

第5表の如く、膿と蒸溜水との間には、その溶解度に大差を認めたが、加えた各互間には殆んど濃度に差がない。かつ最高濃度に達するに3~5日を要する等、いずれもTB1の難溶性を立証している。

2) 肋膜滲出液中濃度について

(1) 治療の目的にてTB1 0.2g 及び 0.4g を生理的食塩水又は蒸溜水約 10cc に浮遊、膿胸腔内に注入した場合に、その膿中濃度の推移を試験的穿刺後10分以内に濾過した膿濾液につき測定した(第6表及び第3図)。

第4表 測定誤差について

回数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均	誤差の限界	百分比誤差
膿 (例 4)	25.2	25.4	25.2	25.7	25.8	25.1	25.9	25.9	25.1	25.1	25.4	±0.5	±2.0%
尿 (")	39.1	38.5	38.2	38.3	38.6	39.0	39.0	38.2	38.3	38.5	38.5	±0.6	±1.6%

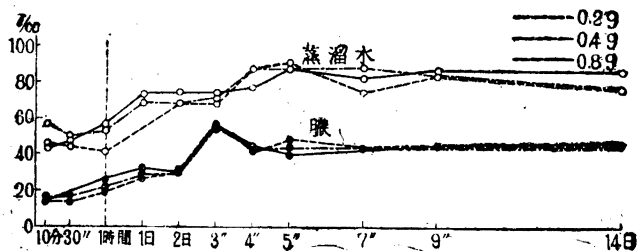
註 (1) 単位: γ/cc 註 (2) 小数点2位以下4捨5入

第 5 表

		10分	30分	1時間	1日	2日	3日	4日	5日	7日	9日	14日
		膿	0.2g	14	14	19	27	32	57	42	49	45
	0.4g	15	17	22	28	30	54	43	44	45	45	46
	0.8g	16		26	32	32	56	44	40	45	45	47
蒸溜水	0.2g	46	44	41		68	68	87	91	74	84	78
	0.4g	57	50	53	68	68	71	87	87	88	84	78
	0.8g	44	47	56	73	74	74	77	87	82	86	86

註 単位 γ/cc

第 2 図 TB 1 の膿と蒸溜水への溶解度

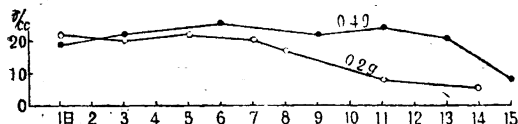


第 6 表 TB 1 粉末注入時の膿中濃度(症例 2 につき測定)

日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0.4g	19		22			25			21		24		21		8
0.2	22		20		23		20	16			7			5	

註 単位： γ/cc

第 3 図 TB 1 粉末注入時の膿中濃度 (症例 2 につき測定)



第 7 表 膿中 TB 1 の体外での溶解進行について

症例番号	濾過 (+)		濾過(-)
	10 分 後	3 時間 後	3 時間 後
例 2	21	25	38
4	20	28	34
7	21	28	50

註 単位： γ/cc

又穿刺後 10分 以内に濾過するように努めた理由は、第 6 表の如く、膿胸腔内での TB 1 濃度は、三角コルペン内における TB 1 溶解度 (第 5 表) よりも低く、

膿の放置により、膿中の未溶解 TB 1 が溶解し、膿中濃度が次第に上昇するためである (第 7 表)。

このように TB 1 の難溶性に関連し、1 回の注入にて長期膿中濃度が一定に保たれること、及び 0.4g と 0.2g との間には最高膿中濃度に関しては大差のないことが判る。しかしその持続期間は注入量に関係し、0.2g では 0.4g よりも短かく 10 γ/cc 以上の濃度を保つたのは約 1 週間である。

以上は症例 2 につき特に膿中濃度の推移を追求した結果であるが、他の例では第 8 表に示す通りである。いずれも一定期間後に排膿、洗滌、TB 1 注入を反覆した例である。

このように結局他の膿胸例においても第 6 表の場合と大差を示していない。

(v) TB 1 溶液を注入せし場合の膿中濃度曲線は第 9 表及び第 4 図に示した通りで、溶液の場合には、当然のことながら粉末とは異なり膿中濃度の急激な低下を特徴とする。

(vi) 内服時における BT1 の肋膜滲出液への移行に関しては、2 例において TB 1 0.1g を 1 日のみ 3 回に分服せしめ、一定の間隔にて滲出液中濃度を測定した(第 10 表) 第 10 表の如く 2 例とも

第 8 表 3 例における各期間後の膿中濃度

症例	注入量	注入間隔	膿 中 濃 度				
			1 回目*	2	3	4	平均
例 7	0.4g	2 日	28 γ/cc	25	28		27 γ/cc
4	0.2g	3	28	19	25	14	22
1	0.4g	13	12	12			12

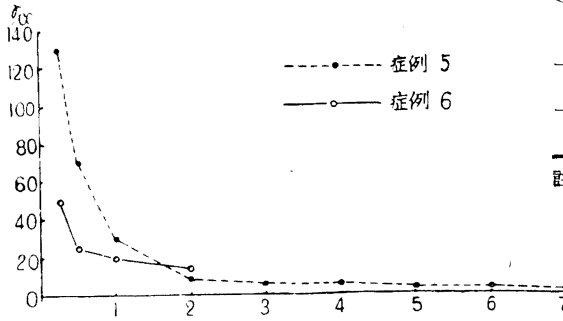
註 *何回目とは TB 1 療法開始後における定期の排膿回数を示す

第 9 表 TB 1 溶液 0.04g (40mg) 注入時の膿中濃度

		6 時 間	12 時 間	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日
		例 5		131	71	30	8	5	5	4
例 6		50	25	20	14					

註 単位： γ/cc

第4図 TB1 溶液 40 mg 注入時の濃中濃度



服用開始後6時間より24時間に至る間に、1γ/cc 内外及び0.8γ/cc の滲出液中濃度をそれぞれ証明し得た。

3) TB1 の尿中排泄について

第10表 TB1 0.1g 内服(3回分服)時の滲出液中濃度

症例	時間	3	6	12	24	36
例 8		(-)	(+)	0.7	1.1	(-)
例 9		(-)	0.8	(±)	(±)	(-)

註 (1) 単位: γ/cc

(2) (±)とあるは 0.7γ/cc 以下にて測定不能の場合

(3) (-)とは痕跡をも認めない場合

7日 治療の目的にて0.4gを注入した3例と、0.2gを注入した1例及び溶液として40mg(0.04g)を注入した1例につき、次回注入日迄の尿中TB1 排泄量と、同時にその際の穿刺によりて得た膿及び洗滌液中の全TB1

第11表 TB1 注入時の尿中排泄について

症例	注入量	日数	日後															排泄総量 mg	膿中 残存量 mg
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
例 1	0.4g	尿中濃度	44	46	44	38	38	(-)	6	6	6	6	38	34	39	40	40	487.5	3.6
		尿量(24時間)	1,100	1,100	1,100	1,100	1,250	1,150	1,150	1,100	1,100	1,200	1,300	1,300	1,100	1,200			
		尿中排泄量	48	51	48	42	48	(-)	7	7	7	7	48	44	43	44	44		
例 2	0.4g	尿中濃度	50	19	24	28	28	33	33	58	325.5	6.2							
		尿量(24時間)	1,200	1,200	1,100	1,000	1,200	1,000	1,100	1,300									
		尿中排泄量	60	33	26	28	34	33	36	75									
例 3	0.4g	尿中濃度	42	23	26	23	16	18	24	167.3	148.3								
		尿量(24時間)	900	800	1,000	1,000	1,000	1,000	1,100										
		尿中排泄量	38	18	26	23	16	18	28										
例 4	0.2g	尿中濃度	80	41	68	26	24	30	323.5	14.2									
		尿量(24時間)	1,200	1,150	1,200	1,250	1,250	1,250											
		尿中排泄量	96	45	82	32	31	37											
例 6	0.04g (40mg) 溶液	尿中濃度	40	48.0	3.1														
		尿量(24時間)	1,200																
		尿中排泄量	48																

註 (1) 尿中濃度の単位は γ/cc, 排泄量の単位は mg

(2) 各症例とも TB1 療法開始後3ヵ月以上を経過した時期に測定したものである

含有量(すなわち膿中残存量)を検討した(第11表)。

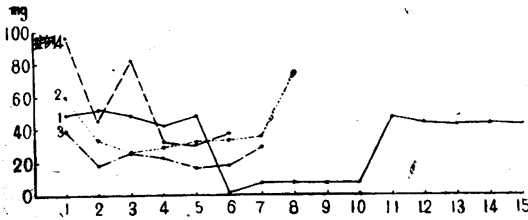
更に第11表の4例につき尿中排泄の時間的経過を第5図に示した。

すなわち、第11表の如くTB1は1回の投与により非常な長期に亘り排泄される。又全例において膿中にTB1の残存を認めた。他方その尿中排泄曲線は一定の経

過を示さず、投与量の多寡による尿中濃度の相違に認められない。又総排泄量については、症例1,4,6においてはそれぞれの投与量を凌駕する結果となつた。

上記のような肋膜腔内注入例、殊に投与量に比し注入間隔の長い例における尿中排泄総量の投与量を越える増大を、更に検討せんがために、非膿胸患者にTB1を連

第 5 図 TB 1 の尿中排泄曲線



第 12 表 TB 1 内服者の尿中排泄について

患者名	1日量	内服開始日	測定	値	平均	
■	50mg	20	内服開始後の期間	22日後	26 27	
			尿中濃度	60γ/cc	74 58	64
			尿中排泄量	60mg	111 81	84
■	50mg	19	内服開始後の期間	1日後	2 3	
			尿中濃度	18γ/cc	25 40	28
			尿中排泄量	20mg	28 44	31
■	80mg	14	内服開始後の期間	30日後	33 34	
			尿中濃度	136γ/cc	114 138	129
			尿中排泄量	122mg	91 110	108

続内服せしめ、その尿中排泄量を測定した(第12表)。すなわち内服者においても内服開始後の日数の多いものでは、内服量よりも排泄量が大きくなった点は注目される。

IV 考按並びに総括

TB 1 の化学的性状に関し報告した Behnisch 等²⁾によれば、TB 1 の蒸留水に対する溶解性は、20°Cにて 88γ/cc、37°C で 172γ/cc であること、及び溶解度は PH に関連するといわれるが、私の実験では 37°C にて 88γ/cc (三列平均) が最高であつた。この相違には種々な原因殊に製剤の差が考えられるが、真の原因は明らかでない。

又第 5 表の如く膿に対する溶解度は更に低く、56γ/cc (三列平均) が最高であつた。このような両溶媒の差によりて生ずる溶解度の相違に関しては今後更に検討する予定である。

粉末注入時の滲出液中濃度は 20γ/cc 乃至 28γ/cc である。すなわち上述の如く膿に対しては難溶性であり、しかも一方で徐々に溶解すると同時に他方吸収、排泄せられるためである。又第 1 報所報の PAS-Na の場合と異なり 1 回僅か 0.2g の注入により、1 週間も 20γ/cc 程度の濃度が見られた点も、この難溶性より容易に説明されると思う。

TB 1 溶液の注入時には、濃度の急激な低下を来すの

は当然である。

内服の場合にも、膿胸腔滲出液中への移行を認めたと、TB 1 の試験管内抗菌力より考案すれば、このような微量では治療的価値は不十分だと思ふ。又 Heilmeyer¹⁾の報告でも 0.3g 1 回及び 0.1g 宛 3 回分服により滲出液中濃度は 1γ/cc であつた。

尿中排泄曲線は 4 例とも不規則で PAS-Na のような定型的曲線は認められない。又尿中排泄の著明に遷延するのも特徴である。

尿中排泄総量は注入例 5 例中、1, 4, 6 例においては投与量を凌駕した(第 11 表)。又内服者においても、内服開始後の日数の多いものに投与量よりも大となつた(第 12 表)。

一方 Simmons⁴⁾等とは同じく第一級アミン測定法である Bratton and Marshall 氏法により、血中 TB 1 の定量をなす時は、紫外線スペクトル光度法により得られた数値よりも高い数値を示すと指摘し、その原因としては体内においてはチオセミカルパゾンが芳香族アミン類に変化するのではないかと考へている。

しかし現在のところ、この原因についての実験は行われておらず、従つて真の原因は未だ明らかでない。

V 結 論

1) 三角コルベン内にて TB 1 の蒸留水中の溶解度は 88γ/cc、膿中では 56γ/cc である(但し 37°C)。

2) TB 1 0.2g の膿胸腔内注入により 1 週間、0.4g 注入により 13 日間は約 20γ/cc の濃度を平行的に保つた。故に治療上 PAS-Na の場合のような頻回の投与は必要でなく、かつ頻回の投与によつても膿中濃度の上昇は望めない。

3) 膿胸腔内注入 TB 1 の尿中排泄は、不規則な曲線にて遷延し、0.4g 注入 15 日後においても TB 1 の尿中排泄並びに膿胸腔内残存を認めた。

(本論文の一部は、第 26 回結核病学会総会にて「結核性膿胸患者の治療に関する研究」と題する宿題報告において、馬場治賢技官により発表された。)

終りに臨み御指導を賜つた春木所長並びに馬場治賢技官に深き感謝の意を捧ぐ。

文 献

- 1) I. Heilmeyer und L. Heilmeyer; Zentralbl. f.d. geram. Tuberk. 58; 351, 1951.
- 2) R. Behnisch, F. Mietzsch and H. Schmidt; Am. Rev. Tuberc. 61; 5, 1950.
- 3) 能勢勇一: 薬理学会第 3 回関東部会演説, 昭 25.
- 4) G. Simmons, L. B. Hobron, A. Resnick, R. Denicola and R. Bennett; Am. Rev. Tuberc. 62; 136, 1950.
- 5) Bratton and Marshall; J. Biol. Chem., 128; 539, 1939.
- 6) 下沢 剛・吉田謙一: 化学の領域 2: 29, 昭 23.
- 7) A. Mertens and R. Bunge; Am. Rev. Tuberc. 61; 23, 1950.