

家兎肺結核症のTB1による治療実験

財団法人東京社会保険協会

健康保険療養所松籟荘(荘長 久貝貞治)

千葉大学医学部病理学教室(教授 石橋豊彦)

神山英明・北沢幸夫・太田茂男

(昭和27年8月22日受付)

(本論文の要旨は第41回日本病理学会総会において発表した)

緒言

結核症に対するTB1の効果については種々の報告がなされていて、臨床方面では余り顕著ではないが一応の効力を認めている。動物実験の報告はそれ程多くはなく、その成績は必ずしも良好ではない。臨床的效果の判定は多くの症例と、一定の期間を要するは勿論であるが、結核症そのものの自然治癒傾向の有無を厳密に検討することは絶対に必要である。それ故余程明瞭な効果を現わさない限り、その判定は困難なものである。元来TB1は溶解しにくいので、その使用に当つては吸収され難く、又濃度の測定も比較的困難であるという問題が前提とされる。従つて動物実験成績でも仲々決定的な成績が得られないものと思われる。

われわれは以前から実験的家兎肺結核症の研究を行っているが、先にこれに対するPASの効果についても報告した²⁾。今回はTB1の肺結核症に対する作用、特に投与法の種々相を実験的に検討したのでその成績について報告する。

実験方法

成熟家兎66匹を用い、従来通りに初代人型結核菌(K-1株)5mgを5ccの生理的食塩水に浮遊させて、観血的経気道的に一侧を下にして注入した。

TB1は1日量を連日、1日2回に分割投与し治療期間は5週間であつた。治療終了後はその翌日屠殺した。すなわち実験期間は感染直後より投与したものは35日で、10日後より投与開始したものは45日であつた。而してそれぞれの実験期間に応じて対照をもつた。

レ線撮影：結核菌感染前は勿論、陰影出現時及びその後の陰影の経過を追つて適時行つた。撮影条件は0.1 sec. 48~52Kv 50mA 160cmであつた。

屠殺後は病変の最も高度な肺の一片を定量培養し、又各臓器につき病理組織学的に検索した。効果の判定はレ線陰影出現時期及び大きさや性状の変化、剖検所見として肺臓の結核病変の程度と菌の状態及び肋膜並びに所属淋巴腺の変化を検し、又全肺葉結核病変の拡がりをグラメーターにて測定し、全肺葉面積に対して%で表わしたものを病変度として比較した。さらにその他の臓器における病的変化を調べ、肺組織の定量培養の成績と体重の

推移を参考にした。

実験成績

〔I〕群 皮下乃至筋肉注射群

a) 群 2匹 TB1, 1日量20mg及び80mgを生理的食塩水に懸濁液として、感染直後より1匹宛に皮下注射、対照1匹

以下まず肺病変について述べる。

レ線陰影は、対照では4週後に出現したに対して、投与例では5週後で、その程度も対照より軽度であつた。剖検所見ではいずれも大単核細胞、組織球及び淋巴球を主とした小葉性乃至ほ大葉性の浸潤巣に処々乾酪巣を伴い、乾酪巣の周囲はやはり主として上記の細胞と白血球の軽度の浸潤があるが、未だ明らかな増殖性機転は認められなかつた。病巣には勿論多くの結核菌を認め、肺門部淋巴腺にも結核菌を認めた。しかし肋膜肥厚は認めなかつた。而してかかる変化は対照において、より顕著で、病変度は対照の94に対して投与群の平均は30であつたが極く少数例の為適確な効果の断定はし難い。TB1注射部位には皮下組織に白血球、淋巴球の浸潤を認め、少量のTB1沈着を認めた。

b) 群 8匹 20mgを20%アンチピリン溶液2ccに加熱溶解し、筋肉内注射、対照4匹、この群は特に感染直後、10日後、レ線陰影出現時及び空洞出現時を選んで投与を開始した。

成績：陰影は18~24日後に出現し、各例とも病変は極めて高度でa)群における如き変化にさらに高度の乾酪化を伴い、全例に肺門部淋巴腺結核と、多くの例に線維性肋膜炎を伴つた。而して投与群と対照群及び投与時期による各群の間に病変度からしても治療効果を認め得なかつた。筋肉注射部位にはTB1の沈着と筋線維の変性・細胞浸潤・肉芽組織形成及び異物巨細胞を認めた。

c) 群 2匹 20mgをプロピレングリコール(以下ブ.グ.と略称する)2ccに溶解して皮下注射。

d) 群 3匹 200mgをブ.グ.4ccに溶解して皮下注射、以上2群の対照6匹、内2匹はブ.グ.のみ4cc皮下注射

TB1は他の溶剤よりもブ.グ.に最もよく溶解し

た。注射開始はいずれも直後からであった。

成績：レ線陰影は全例、16~17日後に出現したが対照及びc)群では一側全肺野を蔽う陰影となつたに比し、d)群では限局性の陰影に止まり、浸潤巣、乾酪巣も少なく、結核菌も対照より少なかった。対照では新鮮な空洞形成をみた例もあつた。乾酪巣における銀線維はいずれも多くは消滅していたが、病巣周囲では投与群においては病変が軽度の為か、その増殖は対照よりむしろ軽度であつた。病変度は対照の92に対してd)群では40であつたがc)群では差がなかつた。又肺病変にはTB1による特異な組織所見は認められなかつた。注射部位にはTB1の沈着があり、又b)群におけるが如き変化を生じていた。

さらに対照としてブ.グ.のみ4ccを皮下注射した群では、レ線陰影及び病変において他の対照例との差を認めなかつた。すなわちブ.グ.による抗菌作用は除外し得ると考える。注射部位は皮下組織で膠原線維の膨化、筋線維の変性、細胞浸潤及び出血が認められた。

〔I〕群 経口投与群

- a) 群, 11匹 20mg の錠剤を麦粒餌子によつて投与、対照4匹
- b) 群, 10匹 100mg~400mg を飼料に混じて投与、対照9匹
- a) 群は〔I〕のb)群の如く感染直後、10日後レ線陰影出現時、及び空洞出現時を選んで投与を開始し、b)群は感染直後及び1~7日後より開始した。

成績：a)群では、レ線陰影は13~19日後に出現し以後拡大して遂には空洞を形成した例もあり、病変度その他において〔I〕のb)群の如く治療効果を認めず、投与開始時期による差も認め得なかつた。

b)群：感染直後より200mg及び400mg宛投与した4例及び1日後より150mg宛投与した2例は全例2日以内に死亡した。1日後及び3日、4日、7日後より100mg宛投与した各例は投与1週目より2週目にかけ食慾が相当害される模様であつたが、兎も角5週間の実験を遂行し得た。而して同時感染させた対照9例及び正常家兎にTB1のみ200mg宛投与した例はいずれも実験期間中生存した。よつて以上の早期死は結核菌感染とTB1大量投与によるものと判断する。これ等早期死亡例の剖検所見では1例を除いて他は全部両側肋膜腔に約30cc宛のほぼ清澄な髄液を認めたが、腹腔には異常がなかつた。組織学的には肺臓に高度の浮腫、髄血及び細胞浸潤を認め、内2例の気管枝は上皮の剝離片と血液で満たされていた。又心臓には右心室の拡張が認められた。1日後より100mgの投与を続行し得た例ではレ線陰影は対照と同様10日後に出現したがその後の増強は対照よりも軽度であり、剖検所見でも病変度は対照の100に対して70であつて他の変化もこれに平行した。しか

し3日乃至7日後より投与を開始した例はいずれも対照に近い変化を示し、又肋膜腔には髄液を認めなかつた。〔III〕群：4匹、水溶性MTB-4(TBV)を感染直後より10mg及び200mg皮下注射、対照2匹
構造式 $\text{NaOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CONH}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{NNH}\cdot\text{CS}\cdot\text{NH}_2$

成績：レ線陰影は全例15日後に発現し、病変度は96:100であつて全然効果はなかつた。

結局〔I〕のd)群及び〔II〕のb)群において一定の効果を認めた。又各群を通じて実験期間が短い為特に病巣の増殖性変化という所見は得られなかつた。

定量培養成績：

肺組織の最も病変高度な部分の一定量を乳鉢乃至ホモゲナイザーを用いて磨砕し、小川氏培地に培養して5週目の集落数を比較した。

〔I〕のa)群では5週目の対照の集落数 $10^{10}/g$ に対して投与群では平均 $10^9/g$ で一応の差があつた。

〔I〕のb)群は5週目では対照群平均 $10^{10}/g$ に対し、投与群平均 $10^{5.6}/g$ という数を示している。

〔I〕のc)及びd)群では対照群 $10^{10}/g$ に対し、c)群 $10^{5.3}/g$ 、d)群 $10^{0.6}/g$ で病変の程度と平行した。

〔II〕のa)群及び〔III〕群では対照との間に差を認めなかつた。以上により培養成績は大体病変の程度と平行した。

末梢血液所見：

〔I〕のb) c)群及び〔II〕のb)群の一部について実験の前後に血球数及び血液像を検したが、一般に対照例を含めて白血球の増加は認められたがその他の決定的所見は得られなかつた。

体重の推移：

各群について実験前後の体重を測定したが〔I〕のd)群においては平均7.5%の減少を見たに対して、c)群及び対照群は平均21%減少して病変の程度と平行しているのを認めた。

〔II〕のa)群においては投与群で平均5%の増加であるのに対照群ではむしろさらに19%増加した。他の群では一定の成績は得られなかつた。すなわち病変の少なかった〔I〕のd)群において対照より体重の減少は軽く、〔II〕のa)群ではTB1投与による食慾不振が原因したのではないかと考えられる。

他臓器における結核病巣：

5週間の実験期間で他臓器における明瞭な結核病巣としては、〔I〕のa)群中の一例において脾臓に見出したのみで投与効果に対する意義は認められない。

以上を総合すると次表の如くである。

考 按

1) 動物実験における効果について：

いう迄もなくTB1の使用はDomagkの報告³⁾に始

TB1 の投与法と効果

群別	TB1の投与法		TB1の効果								
			レ線陰影	浸潤巣	乾酪巣	病変度	淋巴腺膜の変化	定量培養	体重	効果判の綜定	副作用
I	a	20~80mgを懸濁液として皮下注射	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(±)	(±)
	b	20mgをアンチピリン溶液として筋注	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(±)
	c	20mgをプロピレングリコール溶液として皮下注	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(±)
	d	200mgをプロピレングリコール溶液として皮下注	(++)	(++)	(++)	(++)	(+)	(++)	(+)	(+)	(+)
II	a	20mgを経口投与	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(±)
	b	100~400mgを経口投与	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(-)	(+)	(++)
III		MTB-4 10~200mgを皮下注射	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(±)

註：表中対照に比し TB1 の効果を認めたものを (+) 又は (++)、認めないものを (-) とした
 体重は対照に比し増加を認めたものを (+) とした
 副作用についてはこれを認めたものを (+) 又は (++) とした

まがるが、その動物実験の成績では人型結核菌 1mg 皮下接種海溼に 1 日量 50mg~100mg を 40~70 日に亘つて皮下注射して相当の効果をあげ、スト・マイよりも効ありとしている。次で動物実験による幾つかの報告がなされたが、その主なものは全て海溼を用いてなされたものであつて、感染方法は又すべて皮下接種であり、接種結核菌も 1mg 以下であつて、われわれの如く家兎に肺内感染を起させてその変化を追求した報告は見当らない。

他の主な報告例をあげれば Moeschlin 等⁴⁾ はスト・マイ、PAS、TB1 の各人体適用量に並行した量を用い、TB1 毎錠 4mg を 81 日間経口投与した成績によると、TB1 投与群では対照と余り差はなく、スト・マイ、PAS より効果は相当劣つている。Spain 等⁵⁾ によれば 28 日間の投与で TB1 50mg の注射はスト・マイ、10mg よりも効果があり、又 TB1 50mg とスト・マイ 2mg の併用或いは PAS 100mg とスト・マイ 2mg の併用は TB1 単独よりも効果があつたと報告している。わが国においては光井等⁶⁾ が TB1 2mg~10mg を 50 日間経口投与、PAS、100mg~300mg スト・マイ 10mg~30mg を同様に投与してスト・マイが最も効果があり、PAS はこれに次ぎ、TB1 は対照と差がなく、TB1 は 25mg 以上投与すれば対照に比べて病変は遙かに軽度であつたと報告している。

堀等⁷⁾ は TB1 15mg~30mg を 9 週間、ブ・グ. に溶かして皮下注射、及び 50mg~100mg 経口投与して、後者においてやや効果を認めたようである。山下等⁸⁾ は 50mg 以上投与すればスト・マイと同様に著効を認めたとしている。

われわれの場合は家兎に毎錠 50mg~100mg 投与して、最も効果のあつた群で対照との病変度の比は 92:40 であり、投与量を人体適用量と比べると 25~50 倍という大量である。又既に行つた PAS による実験では同様に対照との病変度の比は 34:5 であつて、この場合の投与量は人体適用量の 5 倍にすぎなかつた。すなわち TB1 は人体適用量からいつて、PAS より遙かに大量を用いてもなおその効果は PAS よりも劣つた。上述の報告例中で明らかな効果を認め得たのは毎錠 75mg~150mg 投与した場合であつた。

2) 試験管内結核菌発育阻止濃度からの検討：

Russel 等⁹⁾ によれば液体培地で 0.01%cc、固形培地で 5%cc であり、Domagk は 3~5%cc 占部¹⁰⁾ は液体培地で 200%cc 堀等は 10~20%cc 後藤等¹¹⁾ は 5~10%cc としている。われわれの用いたアンターベンについては慈恵大、林内科では SCC 法で 1.25~2.5%cc 堂野前内科では液体培地で 2.5~3%cc としている。以上の成績は勿論、使用培地、結核菌及び培養日数について検討した上でなければ密なことは論じられないが、同時にスト・マイ、PAS との比較を行つた 3 つの報告においては、Domagk 以外では TB1 の方が高い濃度を要している。すなわち理論的にいつて動物に用いる場合には、少なくとも同等の効果あげる為にはスト・マイ、PAS 以上の量を用いなければならないように考えられる。事実海溼及びわれわれの家兎に用いた実験でも大量を要したのであつて、人間に用うる適量の 5 倍すなわち毎錠 10mg に止まつた群では何等効果を認め得なかつた。このことは人間にも或程度あてはまることと考える。

3) 投与方法について :

内外の報告では経口投与又は皮下注射の二法をとつている。そもそも TB1 は難溶な物質であつて、投与方法によつて体内への吸収の様相が異なることが想像される。しかも血中濃度¹²⁾の測定も仰々困難な仕事であるようで TB1 の効力の本質というものについて未だ不明な点を残している。われわれが種々の投与方法を試みたのはかかる関係についても少しでも明らかにし度いと願つたからである。而して注射法をとつた堀等はブ.グ.に溶解して用いた。Domagk の行つた注射法の詳細については未だ知らないが大量を用いさえすれば一定の効果を認めたようである。

われわれの実験ではやはりブ.グ.に一番よく溶解し¹³⁾その効果も大量を用いた場合に最も大きかつた。

しかしⅡ)の b) 群の結果及びⅠ)の c) 及び d) 群でも皮下注射部位にかなり TB1 が残つていたことを考えると、経口投与による場合において最もよく吸収されたように思われる。その点から現在の経口投与による一般使用法は妥当であると云える。

4) 人体における効果について :

臨床効果の報告は多くなされているが、それ等の報告を検討し、併せてわれわれの経験した臨床例について考えると TB1 の効果は、スト・マイ、PAS のそれに及ばないように思われる。このことは動物実験成績と試験管内成績から考えると、大量ならば充分な効果をあげるに拘らず、現在の適用量が他の二剤に比べて少量である為の当然の結果であろう。

5) 副作用 :

後藤等、光井等、楠等¹⁴⁾千葉¹⁵⁾遠藤等¹⁶⁾をはじめ多くの報告がなされているがこれ等は胃腸症状・皮膚症状・中枢神経障碍・結膜炎・造血器障碍・肝臓障碍について副作用を認めたものである。特に楠等は健康家兎に TB1 を投与して肝臓障碍を証明しているが他は人体例であつた。しかし武田等¹⁷⁾は健康家兎に 1 日量 50mg ~ 250mg の TB1 を投与して 7 週以後に、特に大量の場合には心臓において筋線維の変性・壊死・毛細管出血・癩痕化等を認めている。しかし骨髓及び血液には殆んど変化を認めていない。われわれの実験ではⅡ)の b) 群の早期死例において肝、腎の細胞変性を認め、又心臓には特に右心室の拡張はあるが器質的変化はなかつた。而して肺臓には鬱血、浮腫及び細胞浸潤を認めた。これは小循環系における障碍と考えられ、その原因としては前記の如く、結核菌感染に加ふるに TB1 の大量投与という二つの要因によると思われる。

造血臓器及び末梢血液には明瞭な病変は認められなかつた。胃腸障碍としてⅡ)の b) 群には投与開始後 1~2 週目に食欲不振を認めた。又 TB1 のみ 200mg 投与した例では肝、腎の細胞変性のみであつた。

6) 水溶性誘導体について :

Aeylamino 系の Thiosemicarbazone である MTB-4 は全然無効であつた。

結 論

1) …66匹の家兎を用いて肺内感染を起させ、種々の方法で TB1 を投与してその成績を検討した。

2) …Ⅰ)の d) 群即ち TB1 200mg をプロピレングリコールに溶解して皮下注射した群とⅡ)の b) 群即ち 100mg 経口投与した群において一定の効果を認めた。

3) …人体適用量を基準として前回の PAS の効果と比較すると TB1 は遙かに劣つた。

4) …Ⅱ)の b) 群の内 150mg 以上経口投与した例はすべて投与後 2 日以内に死亡し、これ等には小循環系の障碍が認められ TB1 の毒作用によると考えられる。又肝、腎の細胞変性も認められた。

5) …TB1 の比較的よく吸収されるのは経口投与であつた。

6) …TB1 は理論的に吸収され得る形で大量用いれば相当の効果があることは証明されるが、実際にはこの量は人体適量を遙かに凌駕する。而も量に比例してかなりの毒作用も伴うので、われわれは水溶性、易吸収性にして毒作用もなく、効力も大きな新誘導体を期待するものである。(写真巻頭参照)

稿を終るに当り、御指導並びに御校閲を賜つた松籟在長久員貞治博士及び千葉大学石橋豊彦教授並びに松籟在医局員各位の御協力に対し深く感謝します。又 TB1 製剤(アンターベン)の提供及び多大の御援助を戴いた三井化学工業株式会社の御厚意に対しても深く謝意を表します。

主要文献

- 1) 神山・北沢; 結核, 26-8, 384~390, 昭26.
- 2) 北沢・神山・太田; 日病会誌, 40, 368~370, 昭26.
- 3) G. Domagk; Am. Rev. Tbc. vol 61, No.1, 1950.
- 4) S. Moeschlin u. B. Demiral; Schweiz. Med Wschr. No 15, 373, 1950.
- 5) D. M. Spain, W. G. Childress a. J. S. Fischer; Am. Rev. Tbc. vol 62, No.2, 1950.
- 6) 光井他; 結核, 26, 544~545, 昭26.
- 7) 堀他; 結核, 26, 557, 昭26.
- 8) 山下他; 福岡医誌, 42—11, 989, 昭26.
- 9) M. Russel, D. Bush, a. C. Hurwitz; Am. Rev. Tbc. vol 62, No. 6, 1950.
- 10) 占部; 最新医学, 6巻, 9号, 昭26.
- 11) 後藤他; 日・内・会・誌 40巻, 5号, 昭26.
- 12) 光井・山崎・掛井; 日・内・会・誌, 40巻, 4号, 昭26.
- 13) 掛見; 治療薬報, No. 476, 昭26.
- 14) 楠他; 最新医学, 6巻, 10号, 昭26.
- 15) 千葉; 最新医学, 7巻, 1号, 昭27.
- 16) 遠藤他; 最新医学, 7巻, 1号, 昭27.
- 17) 武田他; 日病会誌, 15, 91~92, 昭26.