

抗結核剤併用効果に関する基礎的研究

第Ⅱ編 実験モルモット結核に及ぼす抗結核剤の併用治効について

その1 Streptomycin, Tibione, Cepharanthin 及び Vitamin K₃の単独並びに併用投与について

広島医科大学細菌学教室(主任 占部教授)

水 野 護

(昭和 27 年 8 月 24 日受付)

(この研究は文部省科学研究費によつた。占部)

緒 言

先に私¹⁾は結核化学療法剤として認められている Streptomycin (以下 SM), Sodium p-Aminosalicilate (以下 PAS) 及び Tibione (以下 Tb1) に Cepharanthin (以下 CP) 及び Vitamin K₃ (以下 VK₃) を追加してこれら薬剤の試験管内併用効果について報告した。今回はさらに進んで Smith ら^{2) 3)} 以来多くの学者によつて研究されている抗結核剤の併用治効の問題に歩を進めることとし、まずその第1歩として SM, Tb1 及び CP, VK₃ をとりあげそれら各2剤ずつ併用の実験モルモット結核に及ぼす治療効果について検討したので以下報告する。

実験方法

1) モルモット群別並びに投薬法

Römer 反応陰性体重 300g 前後のモルモットの膝ベキ皮下へ人型結核菌 Frankfurt 株の 1/100mg ずつを接種感染せしめそれより3週後 Römer 反応陽転をたしかめてから第1表に示すような群別並びに投薬法に従つて8週間投薬をつづけ投薬終了後は実験Ⅰでは2週間放置後に、実験Ⅱでは5週間放置後にそれぞれ法に従い屠殺剖検と臓器よりの結核菌の定量培養とを行つた。なお供試した SM, Tb1 CP 及び VK₃ は凡て第1編に述べたものと同じである。

第1表 モルモット群別並びに投薬法

実験	投薬別	結核モルモット		投薬	
		群別	数	方法	量
実験Ⅰ	単独	SM群, VK ₃ 群, CP群	各10	SM 1日1回筋注 VK ₃ 1日1回皮下注 CP 1週2回皮下注	SM 3mg VK ₃ 1mg CP 5~2mg
	併用	SM+CP群, CP+VK ₃ 群	各10	同上	同上
	対照	群	10		
実験Ⅱ	単独	Tb1群	7	Tb1 1日1回経口	Tb1 20~10mg
	併用	Tb1+VK ₃ 群	7	Tb1 1日1回経口 VK ₃ 1日1回皮下注	Tb1 20~10mg VK ₃ 1mg
	対照	群	7		

2) 経過の観察

毎週1回体重・栄養状態・感染局所々見及び所属リンパ腺の腫脹の程度を詳細に観察した。なお感染3週後 Römer 反応は投薬期間中 2~3 週毎に検してその消長を追求した。

3) 実験成績の判定方法

i) 剖検並びに肉眼的検査：まず感染局所の結核性

変化の有無乃至程度を検し次で初期変化群にあたる膝ベキ腺より他側ベキ腺・両側鼠蹊腺・両側腋カ腺・気管支腺・門脈腺及び腸間膜腺の結核性変化の程度を検し岡⁴⁾、柳沢⁵⁾、弓削⁶⁾等の行つたようにそれぞれその大いさ乃至病変度に応じて+より卍迄の段階に区別した。さらに肺、肝、脾、腎の結核結節の多寡及びそれらの重量をよみとり脾についてはさらにその大いさをも測定した。

ii) 臓器内結核菌の定量培養検査：肺，肝，脾及び右膝ベキ腺より少量の組織片を採り細挫後1%硫酸水で処置後法に従つて岡・片倉培地に培養し8週後の集落発生数をよみとり，組織片0.1gに対する平均集落数を算出しその数に従い+より卍迄の段階を区別して記載した。

iii) 病理組織学的検査：所属リンパ腺及び各内臓よりのParaffin包埋切片にHaematoxylin Eosin染色とPap氏鍍銀法とを施して観察しその病理組織学的所見による成績の判定規準は忠実に弓削⁶⁾のそれ(紙幅の関係で再録は敢て割愛する)に従つた。

実験成績

〔I〕 体重及び栄養状態の推移(表略)

1) 実験I (CP, VK₃, SM単独及びその併用投与実験)：表は略すが平均体重増加は対照群が最下位にありVK₃群が最高位にあつた。しかし投薬各群相互間には特にうべき著明な差異はなかつた。なおCPは5mg皮下投与では注射局所の障碍甚しく体重も減少したので投薬3週目よりは2mg投与に減少した。

2) 実験II (Tb1単独投与及びTb1とVK₃との併用実験)：Tb1, 20mg投与では最初の2週間は対照に比し体重の減少率が比較的著しく食欲も不振で毛並の光沢もなくなり終にそのうち2匹が斃死したのでTb1投与量を投薬3週目より10mgに減少したがTb1とVK₃併用群ではこのような変化はみられなかつた。

〔II〕 感染局所及び所属リンパ腺の変化

右側膝ベキ部の菌接種局所の変化は「表」は省略するが実験IにおいてはSM・CP併用群及びSM群が速に治癒的傾向を示したがCP・VK₃併用群及び対照群においては治癒が遅延し剖検時迄潰瘍を残したものとさ

あつた。実験IIにおいてはTb1群及び対照群において時日の経過とともに膿瘍，潰瘍となりその治癒が遅延したがTb1・VK₃併用群では速に治癒的傾向を示すものが多かつた。

所属リンパ腺の触診的变化(腫脹)も実験IにおいてはSM・CP併用群において又実験IIにおいてはTb1・VK₃併用群において投薬回数進むに従い漸次減少した。

〔III〕 Römer反応の消長(表略)

Römer反応の消長についても紙幅の都合上「表」は省略するが投薬開始直前(接種感染3週後)には殆んど凡てにおいてRömer反応は強く陽転していたが剖検時には投薬群では殆んどのものにおいてその反応度が多少に拘わらず減弱し実験IにおいてはSMとCP，実験IIにおいてはTb1とVK₃，各併用群が他群に比して反応減弱度がより著明なようであつた。

〔IV〕 肉眼的剖検所見

1) 実験Iの成績：剖検時に生残つた動物数はCP群6匹，VK₃群6匹，CP・VK₃併用群6匹，SM群7匹，SM・CP併用群7匹，対照群5匹であつた。

リンパ腺—乾酪化乃至腫脹の程度はSM群殊にSM・CP併用群において対照群に比しては無論のこと他の投薬群に比してもより軽微であつた(表略)。

内臓—結核性変化は各群を通じて脾が最も強かつたがSM・CP併用群では7匹中2匹の脾には全く病変が認められず，肺には7匹ともにごく軽微な病変(±程度)を示すにすぎなかつた。これに反してCP・VK₃併用群では各内臓を通じて+程度の病変を示したものは僅かに1匹のみであり，他の5匹は凡て肺，肝，脾のいずれかに卍~卍程度の強い病変を示しており，この点CP，VK₃各単独群における所見よりもむしろ重篤であつた(表略)。

第2表 実験Iにおける肉眼的剖検所見総括

実験群	第I群	第II群	第III群	第IV群	第V群	第VI群
剖検数	6	6	7	7	7	5
薬剤	CP 5~2mg	VK ₃ 1mg	CP 5~2mg VK ₃ 1mg	SM 3mg	SM 3mg CP 5~2mg	0
投薬総量	50mg	56mg	50mg 56mg	168mg	168mg 50mg	0
脾の重さ	1.41g	3.45g	4.4g	0.8g	0.71g	6.12g
肉眼的剖検所見	リンパ腺及び諸内臓の変化	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺
	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺
	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺
	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺
	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺
	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺	リンパ腺

以上の所見を総括してヒストグラム[△]の形にまとめたものが第2表であるがこの表において非特異的腫脹の如きものあることの考えられるリンパ腺の変化度については姑く措き内臓の病変の程度のみについて見るにその順はほぼSM・CP併用群<SM群<CP群<VK₃群<CP・VK₃併用群<対照群ということになつてゐることが判つた。

2) 実験IIの成績：

剖検時に生残つた動物数はTb1群4匹，Tb1・VK₃併用群6匹，対照群5匹であつたがこれらの肉眼的剖検所見についてみるにリンパ腺の結核性変化はTb1・VK₃併用群において最も少く次でTb1群であり

内臓でも Tb1・VK₃ 併用群が病変の程度最も軽微であり而も肺に全く病変を認めないものが6例中5例あつた(表略)。

いまこれらの所見を総括すると第3表のようになり、これによつて肉眼的病変度は内臓にあつてもリンパ腺においても Tb1・VK₃ 併用群<Tb1 群<対照群の順であることがわかつた。

上記の「実験方法」3)の iii) で述べたように弓削⁶⁾の判定規準に忠実に従つて判定した各投薬群における所属リンパ腺並びに各内臓の結核性病変の病理組織学的所見の程度についての個々の成績(表略)から総括して各群毎に病変の程度の平均値を出してみると第4表のようになつた。

なお群別毎に各内臓及びリンパ腺における病理組織学

第3表 実験Ⅱにおける肉眼的剖検所見総括

実験群	第I群 Tb1-10 ⁸	第II群 Tb1-10 ⁸ +VK ₃ 10 ⁸	第III群 対照
例数	4	6	5
薬剤日	20-10 ⁸	Tb1-10 ⁸ VK ₃ 10 ⁸	0
照射時間	700ms	700ms 56ms	0
照射率	5.2s	0.7s	3.48

第4表 各臓器及びリンパ腺における病巣所見総括

実験群	肺 臓					肝 臓					脾 臓					腎 臓					リンパ腺														
	類上皮細胞化	乾酪死	壊死	空洞	リンパ球浸潤	ラッセル巨細胞	石灰沈着	結合組織増殖	出血	類上皮細胞化	乾酪死	壊死	リンパ球浸潤	ラッセル巨細胞	石灰沈着	結合組織増殖	出血	類上皮細胞化	乾酪死	壊死	リンパ球浸潤	ラッセル巨細胞	石灰沈着	結合組織増殖	出血	類上皮細胞化	乾酪死	壊死	リンパ球浸潤	ラッセル巨細胞	石灰沈着	結合組織増殖	出血		
CP	±	±	+	-	冊	±	-	±	±	±	±	+	±	+	冊	±	+	±	±	±	+	±	+	冊	±	+	±	±	±	+	±	±	+	±	
VK ₃	+	+	+	-	冊	+	-	冊	+	+	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+
CP+VK ₃	+	+	冊	-	冊	+	-	±	+	+	+	+	±	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	+	冊	+	
SM	-	-	+	-	-	-	-	-	±	+	-	±	+	-	±	±	+	±	±	+	-	±	±	+	-	±	±	±	+	-	±	±	±	±	
SM+CP	-	-	±	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	±	+	±	±	-	±	±	±	-	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
I 対照	±	+	冊	-	冊	±	-	冊	+	±	冊	+	冊	+	±	±	+	±	±	+	-	±	±	+	-	±	±	±	+	-	±	±	±	冊	±
II Tb1	+	±	冊	-	冊	+	±	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+	冊	+
Tb1+VK ₃	+	-	+	-	冊	±	±	冊	±	+	±	±	冊	±	-	±	±	冊	±	±	冊	±	-	±	-	±	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
II 対照	冊	±	+	-	冊	+	-	±	±	±	±	冊	+	-	±	±	冊	+	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

註：結核病変の判定規準により各試獣の病変度に従いそれぞれ±を0.5, +を1.0, 冊を2.0等として各実験群の平均値を算定しその平均値をそれぞれ 0: -, 0.1~0.4: ±, 0.5~0.9: +, 1.0~1.4: 冊, 1.5以上: 冊で示した

的所見の主要点について概括的に述べれば以下のようである。

1) 実験Ⅰの所見

対照群：肺,脾の結核病巣はその形極めて不規則且つ範囲の比較的広いものが多く, Langhans 氏巨細胞は少く, 膠原線維が不規則に見られたが, 肝の病巣では周囲の境界が明瞭となりほぼ定型的な増殖性変化を示した。リンパ腺では病変の程度も強く乾酪化の程度も著しかったが古い結核病巣に嗜銀線維が相当深く侵入しているものもみられた。

SM・CP 併用群：肺,脾には殆んど結核病変がみられずただ僅かに肝に類上皮細胞結節を主とする小結節がありその周囲に周回性に膠原線維の走行がみられた。すなわち Haematoxylin Eosin 標本では次の SM 単独群と著しい差はみられなかつたが, 鍍銀標本では結節周囲に膠原線維がより多くみられた。

SM群：肺,肝の結核病変は極めて軽微でありSM・CP 併用群のそれとの間に著しい差異はみられなかつたが脾の結核結節は7例中3例に乾酪性変化を示した。リンパ腺では一般に滲出性変化が強く他の投薬群との間に明

確な差異はみられなかつたが、一部硝子様しているものもあつた。

CP・VK₃ 併用群：この結節は類上皮細胞を多数含み且つ限局性であり、典型的な Langhans 氏巨態細胞もみられた。線維化の程度は前記対照群、SM 群、SM・CP 併用群よりも幾分強いようであつた。又各臓器を通じ多数の Langhans 氏巨態細胞を含む限局性結核結節多数を認めた。

VK₃ 群：結節は他のいずれの投薬群に比しても最大であり核崩壊物や多形核白血球を含んだ壊死巣を伴うものが多くさらにその一部は硝子様変性に陥つたものもさへあつた。

線維化の程度は概してCP・VK₃ 併用群と同程度であつた。

CP 群：肺では類上皮細胞結節が6例中2例に、肝では同4例に認められ乾酪化に陥つたものも少数あつたが、脾では病変の程度が強く著明な乾酪化巣を形成するものが多かつた。又細かな嗜銀線維がより少く周囲の膠原線維の割合は各投薬群中最大であつた。リンパ腺の所見は他の投薬群とえらぶところがなかつたが病巣中の一部に軽度の石灰沈着を示したものが6例中3例あつた。

2) 実験Ⅱの成績

対照群：実験Ⅰのものとはほぼ同じような像がみられたが、肺の病変は一般に形が不規則で限界がはつきりせず、多くの壊死巣を伴いやや滲出性の傾向が強いようであつた。

Tb1 群：肺の結核病変は比較的大きく類上皮細胞結節が多数みられ、又乾酪化に陥つているものもあつた。結核病巣の周囲には結合織性の強い被包化がみられたほかには対照群に比しとくに著しい治癒傾向はみられなかつた。

Tb1・VK₃ 併用群：結核病変は殆んど古い線維性の類上皮細胞結節であり、そのうち全内臓を通じ乾酪化巣を残しているものはただ一例にすぎなかつた。又鏡銀標

本によれば線維化の程度は結節の内部に迄強く透過していた。

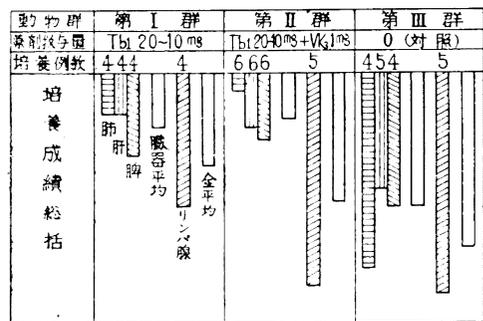
〔Ⅵ〕直接鏡検による結核菌の分布度

10 個所のリンパ腺及び肺・肝・脾・腎よりの塗抹染色標本について直接鏡検を行つた結果では(表略)各投薬群では対照群に比して結核菌の分布が少く殊に SM・CP, Tb1・VK₃ 各併用群においては著明に僅少であり一般的にいつて塗抹標本における結核菌の分布の程度は前述の肉眼的剖検所見の程度とほぼ平行していた。

〔Ⅶ〕リンパ腺並びに内臓よりの結核菌定量培養成績

感染側の所属リンパ腺すなわち右膝ベキ腺及び肺・肝・脾よりの結核菌定量培養成績の詳細を表の形で示すことは割愛してそれを総括してヒストグラムの形で示すと第5及び6表のようであつて、これでわかるように生結核菌の播布度は実験Ⅰでは SM・CP 併用群 < SM 群 < CP 群 < VK₃ 群 < CP・VK₃ 併用群 < 対照群の順であり実験Ⅱでは Tb1・VK₃ 併用群 < Tb1 群 < 対照群の順であつた。すなわち各投薬群のリンパ腺及び内臓の生結核菌の播布度は前述のそれらにおける肉眼的病変程度と殆んど例外なく一致したことがわかつた。

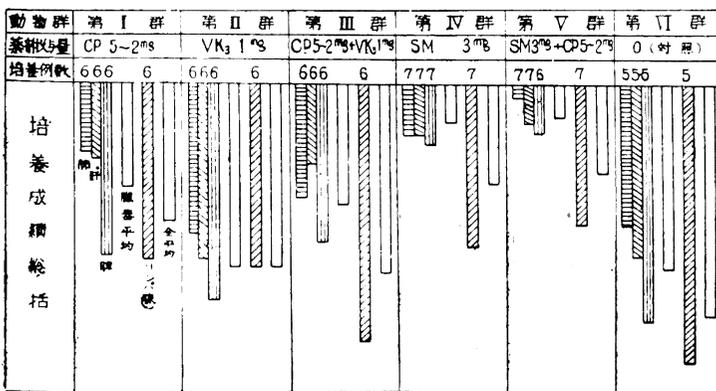
第6表 実験Ⅱにおける内臓及びリンパ腺よりの結核菌定量培養成績



総括並びに考按

抗結核剤の実験モルモット結核に及ぼす治療効果を検するに当り、考慮されべき実験条件に従い且つは効果判定の規準に従いそれぞれ区々な時としては互いに相反するような諸学者の業績がみられる。私の今回供用した抗結核剤の投与量を先人の報告について検討してみるにたとえば SM については弓削⁶⁾は 6 mg を柳沢等⁷⁾は 8 mg をそれぞれ使用し、又 VK₃ については占部⁸⁾弓削⁶⁾猪野⁹⁾等は 2.5 mg を供試していずれもかなりの治療効果をおさめており、CP については岡崎¹⁰⁾は体重

第5表 実験Ⅰにおける内臓及びリンパ腺よりの結核菌定量培養成績



1kg 当り 10mg を、又岡¹¹⁾ は同 5mg を使用して著明な結核結節形成阻止作用を認めた。Tb1 については Domagk¹²⁾ は 5mg を使用することにより臓器内結核菌の減少、結核病変の改善をみとめたが、矢追等¹³⁾ は体重 1kg 当り 2mg を使用してもなお対照に比し結核菌の減少はみられなかつたと報告している。そこで私は今回の実験に用うべきこれら各薬剤における Spain 等¹⁶⁾ のいわゆる Subeffective dose として SM は 3mg, VK₃ は 1mg, CP は 5mg (但しこれでは注射局所の障害が甚しいことを認めたので後には 2mg 投与に変更した), Tb1 は 20mg (後に 10mg に変更) という量をえらぶに至つた。その結果によれば SM については単独 3mg 投与でもなお充分な効果をあげることができたのに反して Tb1 については 20~10mg 投与でも期待した程の効果はみられなかつたがこれは楠¹⁴⁾ や Domagk¹⁵⁾ のいうように或いは投与量を漸次増量し、より長期間連用すべきであつたかも知れない。なお Tb1 20mg 単独投与では最初の 2 週間以内にモルモットは食欲も不振となり終には斃死するものも現れた (但し向井等¹⁷⁾ の述べたような肺、肝、脾等の出血は陰性) が Tb1 に VK₃ を併用したさいにはこのようなことは全く見られなかつた点は後述の両剤間に見るべき生体内協力作用とともに興味深いところと思われる。

次に CP と他の抗結核剤との併用効果についてであるが試験管内では既報りのように CP と SM 併用の場合には CP は 8 倍に SM は 20 倍以上に又 CP と VK₃ 併用では CP は 16 倍以上に VK₃ は 25 倍にそれぞれ各剤単独抗菌価が相互に増強されたのであつたが、今回の生体内実験においては CP と SM との併用投与が肉眼的剖検所見、結核菌定量培養成績及び殊に病理組織学的所見よりみてモルモット結核治効上 SM 又は CP 各単独投与群に比してかなり優つていることが認められたことは上記管内成績と揆を一にするとともにみてもよからう。

但し CP と VK₃ との併用投与の場合には前記のような諸所見よりすればこれら両剤間には該治効上見るべき協力作用は期待できないようであつたことは管内成績と一致しないところであつた。

次に Tb1 と VK₃ との併用効果については試験管内では Tb1 は 2 倍に、VK₃ は 12.5 倍にそれぞれの抗菌価が増強されたこと既報りのようであるが今回の動物実験においてもこれら両剤間に協力作用を呈し肉眼的剖検所見、病理組織学的所見のみならず結核菌定量培養成績においても両剤各単独投与のさいに比して優れていたことを認め得た。これは或いは両剤の攻撃点を異にしていることに負うものかも知れない。最後に SM 単独投与モルモット 7 例中 2 例において、CP 単独投与モルモット 6 例中 4 例において又 CP・VK₃ 併用モルモット 6 例中

1 例においてそれぞれ明かに結核結節が認められるにかかわらず内臓よりの定量培養が陰性に終つていようなことも経験しえたが、その他の大多数の例 (最も治効の著しかつた SM・CP 及び Tb1・VK₃ 各併用群をも含む) にあつては結核結節陽性臓器よりは無論のこと病理組織学的にそれが殆んど全く証明されなかつたような臓器からでも結核菌の集落が発生してきた。このことよりすれば Tb1 にしても Domagk¹²⁾ の所説とは異り前記の抗結核剤にあつても Stüper-Essen, Koch¹⁸⁾ のいうように生体内においては殺菌的ではなくて静菌的に働くものと思われ、最も治効の著しかつた SM・CP 及び Tb1・VK₃ 各併用群においてもこれと揆を一にしていたものと考えられる。

結 論

- 1) SM と CP と及び Tb1 と VK₃ との間にははとも生体内においても協力作用が期待できる。
- 2) CP と VK₃ との間には試験管内の場合と異り生体内では見るべき程の協力作用は証明されない。

〔擱筆するに当り御懇篤なる御指導を賜つた恩師占部教授に深謝する〕

主 要 文 献

- 1) 水野：結核，27巻，昭27に掲載予定
- 2) Smith, McClosky：Pub. Health. Rep., 60(11), 29, 1945.
- 3) Smith, McClosky, Emmarth：Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 64(2), 261, 1947.
- 4) 岡・柳沢：日本臨床，4(11), 674, 昭22.
- 5) 柳沢：日本臨床，6(4), 205, 昭23.
- 6) 弓削：久留米医学会雑誌，13(9~10), 347, 昭25.
- 7) 柳沢：第26回日本結核病学会演説要旨，昭26.
- 8) 占部：綜合医学，8, 313, 昭26.
- 9) 猪野：新潟衛生試験所報告，13, 昭26.
- 10) 阿崎：化学療法研究所彙報，1(2), 60, 1947.
- 11) 岡：日結，7(2), 47, 1947.
- 12) Domagk：Am. Rev. Tub., 61(1), 8, 1950.
- 13) 矢追等：綜合医学，8(5), 158, 昭26.
- 14) 楠：最新医学，6(10), 26, 昭26.
- 15) Domagk：同上による。
- 16) Spain et al：Am. Rev. Tub., 63(3), 339, 1951.
- 17) 向井：最新医学，6(5), 43, 昭26.
- 18) Stüper-Essen, Koch：Beit. Klin. Tub., 106(3), 210, 1951.