

# 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2 Cepharanthin, PAS, Tibione, Streptomycin 及び Vitamin K<sub>3</sub> 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 28 年 1 月 29 日受付)

(この研究は文部省科学研究費によつた。占部)

#### 緒 言

先に私は抗結核剤として Streptomycin (以下 SM), Sodium P-Aminosalicylate (以下 PAS), Tibione (以下 Tb1), Cepharanthin (以下 CP) 及び Vitamin K<sub>3</sub> (以下 VK<sub>3</sub>) をとりあげこれらの薬剤の併用による相互作用について、その試験管内実験については第1編<sup>1)</sup>に、又 SM, CP, VK<sub>3</sub>, Tb1 の併用治効に関する動物実験については第2編のその1<sup>2)</sup>にそれぞれ述べたが、今回は引続きさらに PAS を追加して PAS, SM, Tb1, VK<sub>3</sub>, CP の各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。

#### 実験方法

1) モルモット群別並びに投薬法：すべて第2編その1<sup>2)</sup>に述べた方法に従い、柳沢等<sup>3)</sup>の結核の動物実験体系に準じて実験をすすめた。すなわち人型結核菌 Frankfurt 株の  $1/100mg$  を体重 350~500g, Römer 反応陰性モルモットの右膝ベキ皮下に接種し3週後に Römer 反応の強陽転を確めてから各薬剤を第Ⅲ実験では12週間第Ⅳ実験では8週間投与をつづけ投薬終了後は直ちに各群ともその半数を屠殺し剖検と臓器よりの結核菌の定量培養を行い残りの半数はさらに8週間投薬中止のままで放置し前と同様の諸検索を行つた。

なお以上の両実験における動物の群別、投薬の量、期間については第1表にまとめて示した。

#### 2) 経過の観察並びに実験成績の判定

動物は経過を追つて体重を測り Römer 反応を検し接種局所と所属リンパ腺の触診的变化を観察し屠殺後は肉眼的剖検観察、臓器内結核菌定量培養及び病理組織学的検査等凡て第2編その1<sup>2)</sup>に準じて行つた。

#### 実験成績

1) 体重及び栄養状態の推移(表略)：(1) 実験Ⅲ(CP, PAS, Tb1 単独及びそれらの併用投与実験)表は略すが平均体重増加は12週投薬終了直後(実験Ⅲ-a)では

第1表 モルモット群別並びに投薬法

実験別	結核モルモット		投 薬		
	群 別	数	方 法	量	期間
単 独 実 験	CP 群	各 10	CP 1週2回皮下注 PAS 1日1回経口 Tb1 1日1回経口	CP 2mg	12週
	PAS 群			PAS 200mg	
	Tb1 群			Tb1 20mg	
併 用 Ⅲ	CP+PAS 群 CP+Tb1 群	各 10	同 上	同 上	
	対 照 群	各 10			
単 独 実 験	SM 群	各 10	SM 1日1回筋注 PAS 1日1回経口 Tb1 1日1回経口 VK <sub>3</sub> 1日1回皮下	SM 5mg	8週
	PAS 群			PAS 200mg	
	Tb1 群			Tb1 20mg	
併 用 Ⅳ	SM+PAS 群 PAS+VK <sub>3</sub> 群 SM+Tb1 群 PAS+Tb1 群	各 10	同 上	同 上	
	対 照 群	各 10			

PAS 群と CP・PAS 併用群が優位にあつたが、さらに投薬を中止したままで8週間放置すると(実験Ⅲ-b) CP・PAS, CP・Tb1 各併用群は他の実験群に比し著しい増加を示した。

(2) 実験Ⅳ(SM, PAS, Tb1, VK<sub>3</sub> 単独及びそれらの併用投与実験)平均体重が投薬終了直後(実験Ⅳ-a)及び投薬終了後さらに8週間放置後(実験Ⅳ-b)を通じて著しく増加していたものは SM・PAS 併用群であつたが、一般に投薬終了直後では各投薬群は対照群に比し平均体重増加は低かつたがさらに8週間投薬を中止したままで放置すると体重は目立つて増加した。このような傾向は SM・Tb1 併用群において殊に著しかつた。

Ⅱ) 感染局所及び所属リンパ腺の変化: 右膝ベキ部の菌接種局所の変化では、「表」は省略するが、実験Ⅲでは対照群ではその治癒が遷延し剖検時迄潰瘍を残したもののさえあつたのに対し CP・Tb1 併用群では速かに治癒した。実験Ⅳでは SM・PAS, SM・Tb1, PAS・Tb1 各併用群が比較的速度に治癒傾向を示した。所属リンパ腺の触診的变化(腫脹)は実験Ⅲ, Ⅳともに各投薬群は対照群に比し投薬回数進むに従い漸次減少するように思われたが投薬群相互間には特にいべき差はなかつた。

Ⅲ) Römer 反応の消長(表略): 投薬開始直前には殆んどすべてにおいて Römer 反応は強陽転していたが剖検時には実験Ⅲにおいて CP・PAS, CP・Tb1 各併用群が、実験Ⅳでは SM・PAS, SM・Tb1, PAS・Tb1 各併用群がそれぞれ他群に比して反応の減弱度がより著明のようであつた。

Ⅳ) 肉眼的剖検所見: (1) 実験Ⅲの成績—〔a〕感染より 16 週後すなわち投薬中止直後の剖検時(実験Ⅲ-a)の肉眼的所見についてみるに(表略)リンパ腺の乾酪

化乃至腫脹の程度は CP・Tb1, CP・PAS 各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。内臓における結核性変化は一般に対照群においては脾が最も強かつたが CP・PAS, CP・Tb1 各併用群においては脾には全く病変が認められず肺には全例ともに極く軽微な病変(±程度)を示した。

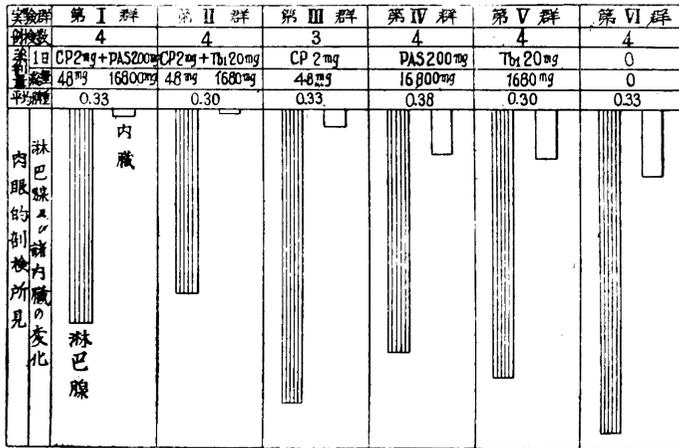
いまこれらの所見を総括してヒストグラムの形にまとめると第1図のようになる。これで判るように病変の程度の順はリンパ腺については CP・Tb1 併用群 < CP・PAS 併用群 < PAS 群 < Tb1 群 < CP 群 < 対照群であり内臓については CP・Tb1 併用群 < CP・PAS 併用群 < CP 群 < PAS 群 < Tb1 群 < 対照群であつた。なお以上の所見は次の実験Ⅲ-b における所見と著しく異つた様相を示している。

(b) 投薬中止後 8 週放置して剖検したもの(実験Ⅲ-b)では前出の実験Ⅲ-a におけるものに比して一般に病変の進行が強く対照群でも一層増悪の傾向がみられた。そして CP・PAS, CP・Tb1 各併用群では肺・肝・脾に比較的多くの結核結節が認められ CP, PAS, Tb1 各単独群におけるそれらの方が結核性病変がむしろ軽微であつた。リンパ腺でも実験Ⅲ-a の場合よりも病変はより進行していたが各投薬群相互間には著しい差はみられなかつた。ただ CP・PAS 併用群のリンパ腺では他群に比して乾酪化を伴つた病巣も少なく病変も軽微であつた。

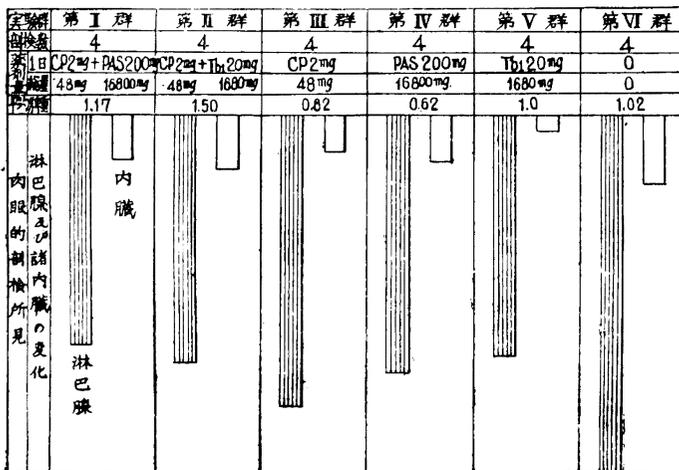
以上の所見を総括したものが第2図であるがこれで明らかなように結核性病変の程度は内臓では Tb1 群 < CP 群 < CP・PAS 併用群 ≒ PAS 群 < CP・Tb1 併用群 < 対照群でありリンパ腺では CP・PAS 併用群 < Tb1 群 < CP・Tb1 併用群 < PAS 群 < CP 群 < 対照群の順であつた。

(2) 実験Ⅳの成績—〔a〕感染より 12 週後投薬中止直後の剖検時(実験Ⅳ-a)の肉眼的剖検所見(表略)では内臓の結核性変化は対照群では肺が最強であつたが、SM・PAS, SM・Tb1 各併用群では病変最も少なくただ 1 匹ずつの肺, 肝に±程度の病変を示したにすぎず PAS・Tb1 併用群においても 1 匹のみの肺に+程度の病変がみられたのに対し PAS・VK<sub>3</sub> 併用群においては PAS, VK<sub>3</sub> 各単独群よりもむしろ病変が強いようであつた。SM 群では肝において 2 匹に軽微な結核結節を認めた。次にリンパ腺の乾酪化乃至腫脹の程度は SM・Tb1 併用群及び SM 群が軽微であつた。

第1図 肉眼的剖検所見総括(実験Ⅲ-a)

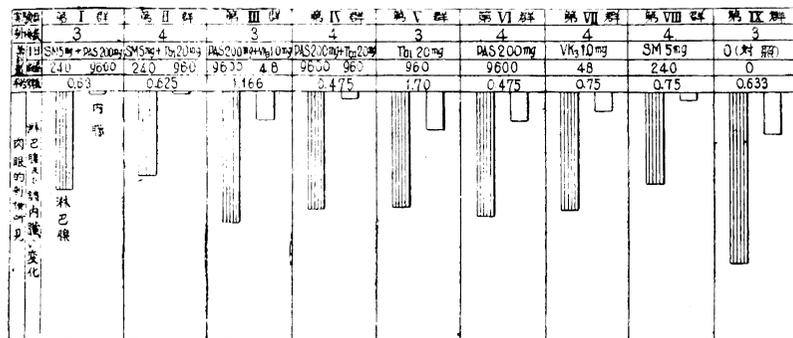


第2図 肉眼的剖検所見総括(実験Ⅲ-b)



これらの所見を総括すると第3図のようになる。これに判るように病変の程度は内臓では SM・PAS 併用群 ≒ SM・Tb1 併用群 < PAS・Tb1 併用群 < SM 群 < VK<sub>3</sub> 群 < PAS 群 < PAS・VK<sub>3</sub> 併用群 < Tb1 群 < 対照群 であり、リンパ腺では SM・Tb1 併用群 < SM 群 < SM・PAS 併用群 < Tb1 群 < VK<sub>3</sub> 群 ≒ PAS・Tb1 併用群 < PAS 群 < PAS・VK<sub>3</sub> 併用群 < 対照群の順であつた。

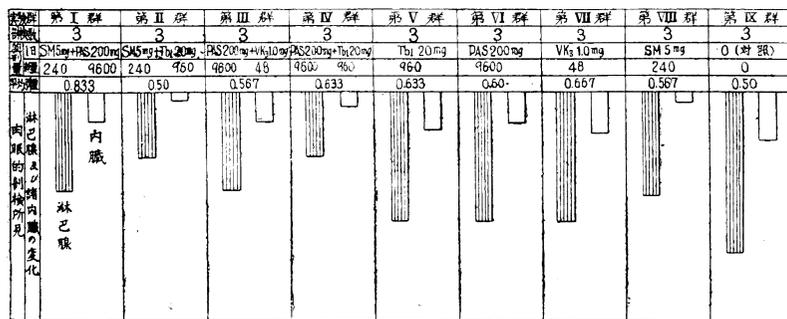
第3図 肉眼的剖検所見総括 (実験 IV-a)



〔b〕感染より8週投薬し投薬中止後8週にして剖検したものの(実験 IV-b)では内臓の結核性変化はさきの実験 IV-a においては殆んど病変のみられなかつた SM・PAS, SM・Tb1, PAS・Tb1 各併用群においてさえも発現したものもあり一般に著しい病変の進行がみられたが、しかしこの際の SM・Tb1, PAS・Tb1, PAS・VK<sub>3</sub> 各併用群においてはそれぞれ SM, Tb1, PAS, VK<sub>3</sub> 各単独群よりも病変の程度がより軽微であつた。

以上の所見を総括したものが第4図でありこれに判るように病変の程度は内臓では SM・Tb1 併用群 < SM 群 < PAS・Tb1 併用群 < SM・PAS 併用群 < PAS・VK<sub>3</sub> 併用群 < PAS 群 < Tb1 群 < VK<sub>3</sub> 群 < 対照群 であり、リンパ腺では SM・Tb1 併用群 < PAS・Tb1 併用群 < PAS・VK<sub>3</sub> 併用群 < SM・PAS 併用群 < SM 群 < VK<sub>3</sub> 群 < PAS 群 < Tb1 群 < 対照群の順であつた。

第4図 肉眼的剖検所見総括 (実験 IV-b)



IV) 直接鏡検による結核菌の分布(表略): 10 個所のリンパ腺及び肺・肝・脾・腎よりの直接塗抹染色標本鏡検の結果では、「表」は略すが、実験 III-a においては各投薬群は対照群に比し結核菌の分布が少なく殊に CP・

PAS, CP・Tb1 各併用群においては著明に僅少であつたが、実験 III-b では CP・PAS, CP・Tb1 各併用群とも殆んどみるべき併用効果を示さず肉眼的剖検所見と同じような傾向を示した。

次に実験 IV-a においては対照群では著しく菌の分布が多かつたが、SM・PAS, PAS・VK<sub>3</sub>, PAS・Tb1 各併用群では内臓に全く菌がみられなかつたことは注目に価する。

以上の内臓及びリンパ腺における結核菌の分布程度を総括したものについて相互に比較した結果 SM・PAS, SM・Tb1, PAS・VK<sub>3</sub>, PAS・Tb1 各併用群ではともにそれぞれかなりの協力作用が認められたようである。ところがこれらの所見を実験 IV-b における結核

菌の分布相と比較したところ、実験 IV-b では著しく異つた様相を呈しておりその際の供試薬剤併用各群において特に菌の分布が各剤単独投与群におけるそれより軽減していなかつたところよりすると供試薬剤間の協力作用の効果が投薬中止後永くは持続しなかつたのではないかと思われる。

V) リンパ腺及び内臓よりの結核菌定量培養成績〔表及びヒストグラム略〕

感染部の所属リンパ腺及び肺・肝・脾よりの結核菌定量培養成績の詳細な表及びそのヒストグラムは割愛するが実験 III-a では生結核菌の播布度は内臓では CP・Tb1 併用群 < CP・PAS 併用群 < CP 群 < PAS 群 < Tb1 群 < 対照群の順であり、リンパ腺では CP・Tb1 併用群 < PAS 群 < CP 群 < CP・PAS 併用群 < 対照群 < Tb1 群の順を示し、内臓リンパ腺の平均では CP・Tb1 併用群 < CP・

PAS 併用群 < CP 群 < PAS 群 < 対照群 < Tb1 群のようになつたが、投薬中止後8週放置の実験 III-b ではこれと著しく異つて内臓では CP 群 < PAS 群 < CP・PAS 併用群 < Tb1 群 < CP・Tb1 併用群 < 対照群の順を又リンパ腺では CP・PAS 併用群 < CP・Tb1 併用群 < PAS 群 < CP 群 < Tb1 群 < 対照群の順を示し内臓リンパ腺の平均では CP・PAS 併用群 < CP 群 < PAS 群 < CP・Tb1 併用群 < Tb1 群 < 対照群の順になつていた。

実験 IV-a での生結核菌の播布度は内臓では SM・PAS,



SM・Tb1, PAS・Tb1 各併用群ではともに全く集落発生陰性であり、その他の群ではSM群<VK<sub>3</sub>群<PAS・VK<sub>3</sub>併用群<PAS群<対照群<Tb1群の順となり、リンパ腺ではSM・PAS, SM・Tb1各併用群及びSM群ではともに集落発生陰性、その他の群ではPAS・VK<sub>3</sub>併用群<PAS・Tb1併用群<Tb1群≡VK<sub>3</sub>群≡対照群<PAS群となり又内臓リンパ腺平均ではSM・PAS, SM・Tb1各併用群ではともに集落発生陰性その他の群ではSM群<PAS・Tb1併用群<PAS・VK<sub>3</sub>併用群<VK<sub>3</sub>群<Tb1群≡対照群<PAS群の順を示した。実験IV-bにおいては内臓では生結核菌の播布度はSM群<SM・Tb1併用群≡PAS・VK<sub>3</sub>併用群≡SM・PAS併用群<VK<sub>3</sub>群<Tb1群<PAS・Tb1併用群<対照群<PAS群となり、リンパ腺ではSM群<SM・Tb1併用群≡PAS・Tb1併用群≡PAS・VK<sub>3</sub>併用群<PAS群<VK<sub>3</sub>群<SM・PAS併用群<Tb1群<対照群の順を示し内臓リンパ腺平均ではSM群<SM・Tb1併用群≡PAS・VK<sub>3</sub>併用群<PAS・Tb1併用群<PAS群<VK<sub>3</sub>群<SM・PAS併用群≡Tb1群<対照群の順となつた。

#### VI) 病理組織学的所見

所属リンパ腺並びに各内臓の病理組織学的所見の程度についての個々の成績(表略)から総括して弓削<sup>5)</sup>にならつて各群毎に病変の程度の平均値を出してみると第2表のようになる。

なお群別毎に各内臓及びリンパ腺における病理組織学的所見の主要点について概括的に述べれば次のようである。

##### 1) a. 実験 III-a の所見

対照群：肺—結核結節は形不規則にして類上皮細胞を主とし定型的 Langhans 巨細胞陰性。中心部は往々壊死に陥り多形核白血球とその核崩壊物が集簇する。肝・脾—一般に周囲との境界明瞭の多数の類上皮細胞結節よりなる小結核結節の集団がみられる。リンパ腺—全例に多形核白血球や核崩壊物を含んだ壊死巣又は類上皮細胞を主とする結節があり投薬群相互間に著しい差はみられない。

Tb1群：肺・肝—殆んど結核結節陰性。脾—淋巴濾胞周囲に類上皮細胞結節があり、その周囲は結合織性の被包化がある。

PAS群：各内臓に定型的結核結節は殆んど陰性であり類上皮細胞は少なく結合織の増生が比較的目的立つ。ただしそれらよりの結核菌の培養はすべて陽性。

CP群：肺—乾酪化のある結核結節が3例中2例に陽性。ただしそのいずれも線維化著明。

CP・Tb1, CP・PAS各併用群：各々全例において結核病巣は殆んど又は全くみられなかつたが、1部に軽微なリンパ球浸潤がみられた。その他に肺動脈壁に沿つて結合織性線維の増殖したのものもある。

##### b. 実験 III-b の所見

対照群：肺・肝—結核病変は類上皮細胞を主とし一般に周囲との境界は明瞭。但し範囲は実験 III-a より拡大。脾—如上の傾向が特に強く全例とも明瞭な結核結節陽性。その中心部はすべて凝固壊死となる。又病巣内に不定型 Langhans 巨細胞数個を含むものもあり、乾酪化巣の周囲に数個の類上皮細胞結節を伴うものもあつた。リンパ腺—全例とも乾酪化の程度も強く実験 III-a に比して類上皮細胞結節も多くなる。線維化の程度も強く古い結核病巣に嗜銀線維が周囲性に走行するのがみられる。

Tb1群：肺・脾—結核病変は類上皮細胞を主とし、うち1例では数個の Langhans 巨細胞を含み中心部は凝固壊死に陥る。対照群に比して線維化の程度は一般に大差ないが、リンパ球の浸潤はより著明。

PAS群：脾—60μ程度の類上皮細胞結節があり病変の程度はむしろ軽微。肺—全例とも病変度強く殆んど凝固壊死に陥つておるが類上皮細胞は少ない。

CP群：肺—結核病変の程度軽微。脾・肝—多数の類上皮細胞結節がみられ1部は不定型 Langhans 巨細胞を含み中心部は相当広く乾酪化のものもある。

CP・Tb1併用群：類上皮細胞結節は肺・肝・脾の各内臓のいずれかにおいて4例中各1例ずつ陽性。殊に脾では著明な乾酪化がみられる。そのうち古い結核病巣の周囲に数個の小結節を伴うものもある。リンパ腺—多形核白血球や核崩壊物を多数含む壊死巣又は類上皮細胞を主とする結節の形成があり、他の試験群と著しい差はない。

CP・PAS併用群：類上皮細胞結節は肝では4例中2例に、脾では同3例にみられたがいずれも新生結節と考えられ著明な乾酪化巣はない。1部に Necrobiosis がある。線維化の程度は最も強い。

##### 2) a. 実験 IV-a の所見

SM, PAS, VK<sub>3</sub>, Tb1 各単独群についてはすでに述べたところ<sup>2)</sup>と著しい差はみられなかつたので紙面の都合以上各併用群のみの記述にとどめる。

SM・PAS併用群：各臓器中1例の肺のみに類上皮細胞結節があり Eosin 嗜好白血球の浸潤も強く線維化も著明。

SM・Tb1併用群：1例の肝のみに類上皮細胞結節があり、その大きさ及び病変の程度も SM・PAS 併用群のそれと同じ位(120μ)。

PAS・VK<sub>3</sub>併用群：肝・脾—各1例ずつに類上皮細胞結節があり病巣周囲に円形細胞の分布がかなり多い。

PAS・Tb1併用群：1例の肺のみに軽微な類上皮細胞結節があり、周囲との境界は不明瞭であるが、線維化の程度はかなり著明。

## b. 実験 IV-b の所見

SM・PAS 併用群：肝・脾—各1例ずつ結核病変があり、そのいずれも類上皮細胞を主とする新生結節と考えられ殊に肝では不定型 Langhans 巨細胞を含む小結節が集簇し線維化も比較的著明。

SM・Tb1 併用群：投薬終了後の新生結節が1例肺にみられたほかかなりリンパ球の浸潤が強い。

PAS・VK<sub>3</sub> 併用群：各臓器中1例の脾に類上皮細胞を主とする50μ程度の小結節が数個それぞれ独立してみられ嗜銀線維の増生も目立つ。

PAS・Tb1 併用群：肺・肝—各1例ずつ類上皮細胞を主とする結核病変があり不定型 Langhans 巨細胞も散見し嗜銀線維の増生も強い。

## 総括並びに考按

実験モルモット結核に及ぼす抗結核剤 SM, PAS, Tb1 及び CP 並びに VK<sub>3</sub> の影響についての成績の1部は既に報告した<sup>2)</sup>が、試験管内では CP と Tb1 との併用の場合 CP は2倍に、Tb1 は10倍に、CP と PAS との併用の場合 CP は16倍に PAS は6.3倍以上に各剤単独の抗結核菌価が相互に増強されたが、今回の生体内実験においては CP と Tb1 又は CP と PAS の各併用投与は投薬終了直後剖検した際の肉眼的病理所見、結核菌定量培養成績及び病理組織学的所見より見て、モルモット結核治効上 CP, Tb1, PAS 各単独投与に比してかなり優位にあることが認められた。このことは上記管内成績と揆を一にするとみてよからう。山口<sup>6)</sup>は CP に Vitamin B 又は Ca 剤を併用してその結核治効上有効なることを報告しているが、これは私の今回の如上の成績と比較して興味深い。

ところが投薬中止後その儘で8週間放置すると前記と全く様相を異にし古い病巣の周囲に多数の融合結節がみられるようになり殊に CP・Tb1 併用群においては病変の程度も強く中心壊死に陥るものも多く殆んど臓器から結核菌集落の発生をみた。勿論これとても対照群の所見と比較するさいにはなおかなり良好の所見であるにはあつたが、CP, PAS, Tb1 各単独群よりはむしろ病変の程度は強いようであつた。すなわちこのことから両剤間の協力作用の効果は投薬中止後は永くは続かないものと見てよいのではなからうか。

次に SM と他剤との併用については Bloch, Vennessland 等<sup>7)</sup>、Bogen 等<sup>8)</sup>、江頭等<sup>9)</sup>は SM と PAS との併用はその効果の優秀であることを認め又 Grassele 等<sup>10)</sup>その他の多くの人にはそれが SM 耐性結核菌の出現を抑制することを述べている。私の試験管内実験<sup>1)</sup>では SM と

PAS 又は Tb1 と及び PAS と VK<sub>3</sub> 又は Tb1 との各併用は抗結核菌効果上それぞれかなり協力作用を示したが、今回の生体内実験では8週間併用投薬後直ちに屠殺剖検したものにあつては PAS・VK<sub>3</sub> 併用群を除いてその他の各併用群とも全臓器に殆んど結核病変がなく、僅かにみられた類上皮細胞結節も嗜銀線維の増生や被包性結合線維の増殖もみられて、強く破壊性病変の進行は阻止されており、それらよりの結核菌の培養も全例陰性であつたことからすれば如上の併用投与は各供試剤の単独投与に比してかなり優れた実験結核に対する治効を示したものとみてよからう。

ところがこれらをさらに8週間投薬を止めてそのまま放置すると臓器内の生結核菌播布度(平均)は前記のものに比してかなり高くなり組織学的にも一般により著しく臓器の病変が進行していることがみられたがそれでも生菌分布度及び病理組織学的所見ともに各剤単独投与群におけるよりは依然として多かれ少なかれより軽微であつたところからするとこの場合には前回とやや趣を異にして薬剤併用投与の効果はその投薬中止後もかなりの期間多少とも続いたものと考えられる。

## 結 論

1) CP と PAS, CP と Tb1, SM と PAS, SM と Tb1 及び PAS と Tb1 との間には試験管内実験と同様に生体内においても投薬中は協力作用が期待できた。

2) ところが投薬中止した儘で放置すると CP に PAS 又は Tb1 を併用したものは全く協力作用を示さなかつたのに対し、SM に PAS 又は Tb1 を併用したものは依然としてなおかなりの期間薬剤併用投与の効果があつたようであつた。

〔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，27，658，昭 27.
- 2) 水野：結核，28巻，132，昭 28.
- 3) 岡外：日結，2，47，昭 23.
- 4) 柳沢外：臨床，7，419，昭 24.
- 5) 弓削：久留米医学会雑誌，13，505，昭 25.
- 6) 山口：化学療法研究所彙報，3，41，昭 24.
- 7) Bloch, Vennessland et al: Am. Rev. Tbc., 59, 554, 1949.
- 8) Bogen et al: Am. Rev. Tbc., 61, 226, 1950.
- 9) 江頭外：日本病理学病誌，40，46，昭 26.
- 10) Grassele et al: Jour. Bact., 57, 459, 1949.