

実験的結核症に対する Isonicotinic acid hydrazide の治療効果 殊にその遠隔治療成績について

国立予防衛生研究所結核部

宮本 泰・三浦 馨・山崎 久治

(昭和 28 年 4 月 24 日受付)

まえがき

天竺ネズミの実験的結核症に対する Isonicotinic acid hydrazide (Isoniazid) の治療効果について治療 6 週迄の詳細¹⁾²⁾はすでに発表を行った。その後の成績については速報的に報告³⁾⁴⁾を行ったにすぎず、本報告においては、殊に遠隔成績をも含めたそれ以後の部分についての成績を報告する。Isoniazid に関する動物実験例としては欧米並びにわが国における数例を挙げ得るが、遠隔治療成績に言及しているものは一例⁵⁾に過ぎない。

実験の概要

Römer 反応陰性の雄性健康天竺ネズミ 80 匹を結核に罹患せしめて 4 週経過後より治療を開始し、治療を 15 週間継続し、一部を剖検し、諸検索を行い、残りの一群はそれ以後治療を中止してさらに 8 週間経過後に剖検を行い、実験を完結せしめた。その間に治療期間 1 週並びに 6 週の両時期に一部を剖検、治療効果を検討した。治療期間 7 日後の剖検においては Isoniazid 治療群と(無処置)対照群を、治療 6 週後の剖検には Isoniazid 及び Streptomycin (SM) の両治療群と対照群とを、又治療 15 週剖検時には再び Isoniazid 治療群と対照群を、而して最後に治療中止後 8 週の剖検時には Isoniazid と SM 両治療群のみをそれぞれ剖検し、治療効果を比較検討した。

実験方法

動物群の編成：Römer 反応陰性、体重 350~400g の雄性健康天竺ネズミ 80 匹を選び、各 1 頭当り有毒人型結核菌 H₃₇RV 株の 0.1mg (viable unit 11,200 個)を右下腹部に皮下接種し、結核に罹患せしめて 4 週を経過してから全群を 3 群に分つた。すなわち第 I 群 Isoniazid 治療群、第 II 群 Streptomycin 治療群、第 III 群無処置対照群、以上の 3 群である。而して治療を 1 週間行つた後に第 I、第 III 両群の 5 匹宛総計 10 匹を剖検比較し、さらに治療 6 週経過後に各群 10 匹宛総計 30 匹の剖検比較を行った。残りの治療群に対しては治療をさらに 9 週間行い、総計 15 週間の治療期間の後に、Isoniazid 群の 8 匹と対照群の 10 匹の剖検比較を行った。而して治療はそれ以後中止し、8 週間放置後に残余の動物全部を剖検し、27 週にわたる実験を完結せしめた。治療 15 週後

の剖検時に対照群の全部を剖検し終つているので、次の剖検においては両治療群のみの比較を行った。

投与薬物：Isoniazid は田辺製薬の製品を用い、体重 kg 当り 50mg を日量として、また SM は Merck 社製塩化カルシウム複塩を 1 頭につき 8,000 単位を日量とし、以上いずれも朝夕 2 回に分けて、生理食塩水溶液として腋窩皮下注射を行った。

観察事項：毎週 1 回、体重の測定、栄養状態の観察を行い、初感染巣、初期変化群淋巴腺の病変の経過を追跡した。前後 4 回にわたる剖検に際しては、肉眼的剖検所見の記載、肺・脾内結核菌の定量培養、各主要臓器についての病理組織学的検査等を行った。肉眼的所見のうち、淋巴腺についてはその大きさと病変の程度に従つて米粒大よりそら豆大に至る迄を + より 卍迄の段階に分ち、主要臓器については、その病変の程度、主として結核結節の数と大きさの増すに従つて、+ より 卍迄の階級づけを行った。

結核菌の定量培養：1%苛性ソーダ水溶液により前処理調製した肺・脾の 10 倍乳剤を 1 本の第 1 磷酸加里培地(小川培地)に 0.1ml ずつ、計 5 本ずつを培養した。

病理組織学的検査：菌接種局所・初期変化群淋巴腺・肺・肝・脾・腎等について検査を行った。型通り 7 倍稀釈フォルマリン、一部は Orth 及び Zenker 固定、Paraffin 包埋法により、切片は Haematoxylin-Eosin 染色・van Gieson 染色・Mallory 染色・弾性繊維染色・鍍銀法を行った。

検出菌の薬物耐性試験：両治療群より分離された集落について分離後 1 回増菌せる集落につき薬物含有小川培地に塗抹する方法により、第 1 次の耐性検査を行い、次で Kirehner 培地による深部培養により第 2 次の耐性検査を行った。固型培地及び液体培地のいずれにおいても薬物濃度は培地 1ml 当り 100%, 10%, 1%, 0.5%, 0% の 5 階級になるように調製した。

Isoniazid の血中濃度測定法：本治療実験と類似の実験条件の下にある天竺ネズミについて Plasma 中に移行する Isoniazid の定量を行った。測定法は Squibb Institute の Kelly 及び Poet⁶⁾らの採用している方法によつて行つた。すなわち 21 匹の天竺ネズミに対して日

量 50mg/kg の Isoniazid を朝夕2回に分けて連続皮下注射を5日間行い最後の注射(25mg/kg)施行後1, 2, 3, 5, 8, 12, 24時間の各時間毎に3匹ずつの天竺ネズミより採血を行い Plasma を分離し, 3匹分の Plasma を1つにプールして Spectrophotometer を使用して血中濃度の測定を行った。

実験成績

体重の推移及び栄養状態: 各群の体重の平均値の推移

を第1図に示したが, 治療開始時における3群の平均値はいずれも等しい値を示したものが, 次第に群間に差を生じ, 対照群が概して最も良好の如く, 次で SM 群が位し, Isoniazid 群は体重の増加率が最も低く, 栄養状態も明らかに劣つて見えた。すなわちこの投与量において多少なりとも毒性の徴候を考えさせられたが, 治療中止後には回復して, 少数例の平均値の比較ではあるが, Isoniazid 群の体重曲線が SM 群のそれよりも上位に

Fig 1 Weekly Change of Body Weight in each experimental Group

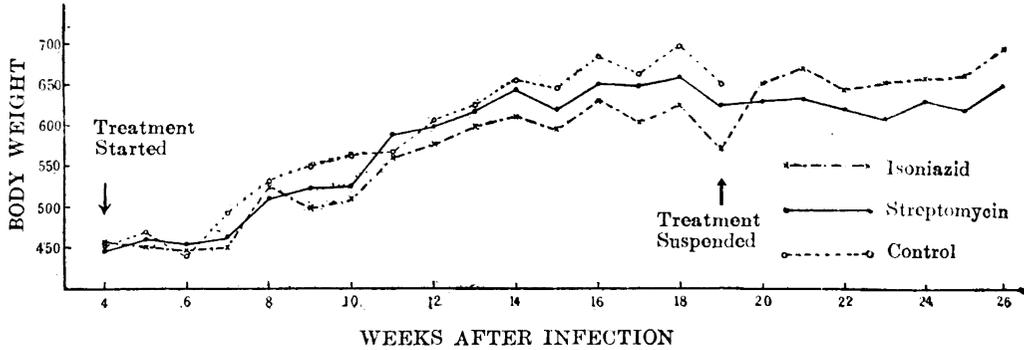


Table 1 Macroscopic Findings observed at the End of 15 Weeks' Treatment

	No. of Animal	Lymph node						Viscera				Local Lesion	Weight of Spleen	
		Kn	In	Ax	Rp	Rt	Po	Br	Lu	Li	Sp			Ky
Isoniazid	550	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	1.1 ^g
	555	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	A	1.2
	556	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.2
	559	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1.0
	561	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9
	569	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.2
	570	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0.9
	576	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1.7
Untreated Control	602	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	1.3
	603	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	A	1.3
	604	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	10.5
	607	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	1.0
	608	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	A	1.7
	610	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	A	12.5
	611	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	0.9
	614	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	A	0.9
	615	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	U	2.2
616	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	5.0	

Kn: Kneefold, In: Inguinal, Ax: Axillary, Rp: Retroperitoneal
 Rt: Retrothoracal, Po: Portal, Br: Bronchial
 Lu: Lung, Li: Liver, Sp: Spleen, Ky: Kidney
 ⊕.....+ with caseation
 A.....Abscess U.....Ulcer

位するに至つた。

肉眼的剖検所見並びに結核菌定量培養成績: 既に報告したように, 組織学的には既に7日間の治療によつて軽度, 又肉眼的には治療6週後に著明に, Isoniazid 治療群において治療の像を認められたが, 15週間の治療を継続せる Isoniazid 群ではさらに治癒の傾向が著しく, 第1表の如く, 淋巴腺においては気管腺を除いて全く腫脹を認めず, 内臓においても肉眼的に指摘し得る病変を見ない。又この所見に対応して定量培養の成績も極めて良好で, 第2表の如く遂にこの時期の8匹の肺・脾からは結核菌集落を1個も検出しなかつた。対照群のこれらの所見は, これに反して著しく進行性であつた。もつとも表に示す如く, 自然治癒乃至個体の抵抗性に起因する軽症例を中に若干混えている。

第1次剖検に際して Isoniazid と SM との治療効果のある程度の差が示されたので, 第2次剖検に際しては SM 群の剖検を行わず, 治療中止後の遠隔成績の点に

Table 2 Quantitative Culture of Tubercle Bacillus performed at the End of 15 Weeks' Treatment

	No. of Animal	Lung					Spleen				
		No. of culture medium					No. of culture medium				
		I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Isoniazid	550	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	555	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	556	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	559	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	561	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	569	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	570	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	576	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Untreated Control	602	1	2	0	0	2	0	0	1	2	3
	603	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	604	>300	>400	>300	>300	>300	>400	>400	>400	>400	>400
	607	0	0	0	2	0	2	1	2	1	0
	608	17	7	20	17	16	0	0	0	0	0
	610	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300
	611	0	0	0	0	0	258	266	213	200	240
	614	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	615	9	4	8	9	5	5	2	3	3	2
616	10	15	22	12	19	>400	357	342	400	350	

numerical figures represent number of colonies

Table 3 Macroscopic Findings observed 8 Weeks after Suspension of Treatment

	No. of Animal	Lymph node						Viscera				Local Lesion	Weight of Spleen ^g	
		Kn	In	Ax	Rp	Rt	Po	Br	Lu	Li	Sp			Ky
Isoniazid	562	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8
	565	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7
	566	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
	567	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0.7
	568	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7
	572	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	0.7
Untreated Control	540	⊕	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	0.9
	543	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7
	544	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	0.7
	545	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	0.9
	546	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0.9
	547	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0.7
	548	⊕	-	-	+	-	⊕	+	-	+	-	-	-	0.9

Kn: Kneefold, In: Inguinal, Ax: Axillary, Rp: Retroperitoneal, Rt: Retrothoracal, Po: Portal, Br: Bronchial, Lu: Lung, Li: Liver, Sp: Spleen, Ky: Kidney, ⊕.....+ with caseation
 A.....Abscess U.....Ulcer

おける両治療剤の優劣を見極めるために、この時期すなわち治療中止後8週の剖検時において両群を比較した。その所見は第3表と第4表の如くである。すなわち両群ともに肉眼的結核病変は軽度であるが、SM群ではリンパ腺に肉眼的にも乾酪化せる病変を散見するに反して、Isoniazid群では全く結核性病変の所見を見出し得なかつた。又定量培養の上でもSM群は7匹のうちの2匹の脾から集落を若干検出したが、Isoniazid群6匹の肺・脾の材料からは一個の集落をも検出し得なかつた。すなわちIsoniazid治療群では、治療中止時の所見と比べて、治療中止後に結核病変の進行、増悪を認めず、菌の増殖がなかつたことも明らかになつた。

病理組織学的検査成績：治療15週経過時のIsoniazid治療群の内臓の切片には、検索の範囲内では、顕微鏡的にも結核結節の痕跡にすら遭遇せず、そのために所見を得なかつた。すでに治療1週の時期に結核結節形成に与る類上皮細胞において対照群との間にある種の差異を認めたことはすでに報告したところである。Isoniazidによる毒性の軽度のものとしては、治療6週時の腎臓細尿管上皮に見られた病変を挙げることができ、その後、治療15週及び治療中止後8週の両時期の腎臓の材料には最早同様の所見は認められなかつた。治療6週時の腎における毒性の所見とは細尿管主部特にその移行部に認められる塊状又は粗大鱗片状の尿円柱と、時に主部の細尿管上皮に見られる硝子様変性、上皮剝離及び萎縮の像、並びにヘンレ氏係蹄の萎縮像などがそれである。腎以外の臓器には毒性の徴候は認めなかつた。

治療中止後8週の材料にはIsoniazid治療群の1例(No 566)の肝臓に極めて小さな類上皮細胞よ

Table 4 Quantitative Culture of Tubercle Bacillus performed 8 Weeks after Suspension of Treatment

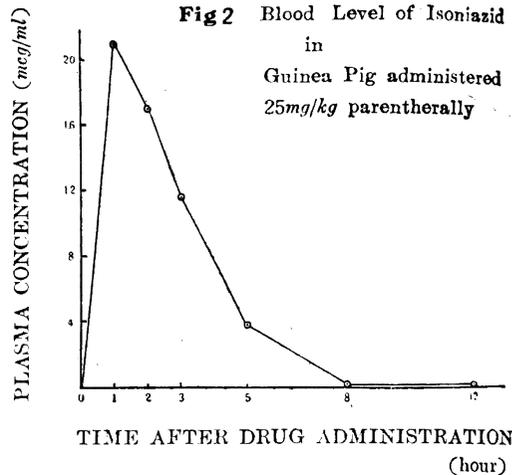
Isoniazid	No. of Animal	Lung					Spleen				
		No. of culture medium					No. of culture medium				
		I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
567	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
565	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
566	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
572	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
562	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Untreated Control	540	0	0	0	0	0	3	3	8	6	4
	543	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	544	0	0	0	0	0	38	31	75	39	47
	545	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	546	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	547	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	548	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

numerical figures represent number of colonies

りなる結核結節1個を認め、その性状はかなり新しいものと解せられた。SM治療群の1例(No 546)にも類上皮細胞を主とする新生の小結核結節1個を認めた。

検出菌の薬物耐性検査成績：治療6週及びそれ以後の全期間を通じて治療群の動物から検出された H₃₇ RV 株についてそれぞれの使用薬物に対する感受性を検査した。Isoniazid 治療群からは全期間を通じて治療6週の群の No. 580 から僅かに2個の集落を得たのみで他のいずれの時期のいずれの個体からも菌を検出しなかつたが、この2個の集落について Isoniazid に対する耐性の検査を行つた。2個の集落は全く同程度の耐性を示し、対照の H₃₇ RV 株(感染に用いた原保存菌株)の発育に比べて 100% 含有小川培地に数え得る程度の集落発生を認め、一応抵抗性を 100% と見なしたが、第2次検査の深部培養の成績は、3週判定において H₃₇ RV 保存株に対する最低発育阻止濃度(M.I.C.)が 1.0% の値を示した条件の下で、この2個の集落の M.I.C. は 5.0% であつた。もつとも保存菌株は 5.0% において又分離菌は 10% においてともに管底に数え得る程度の塊状の発生集落を認めるので、この点まで含めれば分離菌株は原菌株に比して2倍の抵抗性を示す程度であることが判つた。SM治療群からの分離菌集落については、SM 含有小川培地による1次検査のみを行つたが、この場合はいずれの集落も 10% においては完全に発育阻止され、1% において対照の小川培地におけるよりも少ない発育を示した。

Isoniazid の血中濃度測定成績：第Ⅱ図に示す如き曲線となり、注射後1時間目において最高値 21% を示し、以後で減して8時間目にはすでに 0% に下降した。



考 按

治療中止時は勿論、治療中止後の遠隔成績においても、Isoniazid の治療効果が SM を凌駕していることが明らかにされたが、体重 kg 当りの投与量が、Isoniazid の 50mg に対して SM はおよそ 20mg であり、この差が効果の上に現れているのではないかとの疑いもある。しかし Isoniazid を SM よりも少なく用いた実験例においても Isoniazid の方が SM よりも良好な治療効果を示している。例えば、当研究所病理部江頭⁷⁾が行つた実験は、静脈感染天然ネズミに対する治療実験であるが、Isoniazid 5~50mg/kg と SM 20mg/kg (今回の私達の実験の日量8,000単位にほぼ匹敵する)との皮下投与の比較で、前者が結核結節をより速かに消失せしめると述べており、結核予防会結研の岩崎⁸⁾の成績も、治療効果の点で Isoniazid 1mg と SM 10mg とがほぼ匹敵する相当量のような結果を示している。また、人体使用量に近い比較的少量投与の実験例として Grunberg⁹⁾等はマウスにおける治療実験で日量 5mg/kg 以上経口投与で明らかに効果を証し、Bernstein¹⁰⁾等も 2mg/kg 以上経口投与で同様に効果を認めている。天然ネズミに対する経口投与例としては又 Steenken¹¹⁾らが 35~25mg/kg 1日1回を 50日間与えて結核罹患指数が0を示す良好な成績を得ている。また Uehlinger¹²⁾らは感染6週後より 20mg/kg 皮下注射法で治療を開始し、同時に編成した SM, PAS, TB1 等それぞれ単独及び SM-PAS 併用の各治療群の治療成績との比較を行つているが、それによると Rimison 群の成績は SM-PAS 併用群の成績と同程度で最上位に位する。前述の如く、Isoniazid 治療群からの分離菌は原感染菌株に比して2倍乃至5倍程度の薬物感受性の低下を示してはいたが、本実験並びに前述の諸家の成績から、殊に遠隔成績をも含めた効果の点でも、Isoniazid が SM を凌駕することが明らかに示された。

なお、治療6週経過時の腎細尿管に認められた毒性の

徴候を思わしめる所見は、その後さらに治療を継続せる後のいずれの時期の剖検材料にも最早認められず、生体の本薬剤に対する Gewohnung “慣れ” の成立の可能性が考えられたが、このことに関連しては別に病理部において研究¹³⁾が進められている。

総 括

動物における実験的結核症に対する Isoniazid の治療効果、殊にその遠隔成績の上に現れた効果を Streptomycin のそれと比較検討した。

従来の結核化学療法剤、就中化学合成剤による単独投与の動物実験の成績においては、程度の差はあるが、いずれも投薬中止後に比較的急速に菌の増殖を見るのが常であつたのに反して、今回の Isoniazid の場合は、投薬中止後にも治療中の良好な状態をよく保ち得て、病巣の進展乃至菌の増殖を見るに至らなかつた。すなわち動物実験に関しては、遠隔成績をも含めて、Isoniazid は本治療実験の条件の下に明らかに Streptomycin 以上の治療効果を示した。

文 献

1) 柳沢 謙他：臨床，5：682—693，1952。

- 2) 柳沢 謙他：結核研究の進歩，1：42—50，1953。
- 3) 宮本 泰：医学と生物学，25：45—48，1952。
- 4) 宮本 泰：医学と生物学，26：25—27，1953。
- 5) 青木貞章他：第28回日本結核病学会発表。
- 6) J.M. Kelly and R. J. Poet：Am. Rev. Tuberc.，65：484—485，1952。
- 7) 江頭靖之：日本病理学会誌地方会号，41：293—295，1952。
- 8) 岩崎竜郎他：日本臨床結核，12：107—111，1953。
- 9) E. Grunberg and R. J. Schnitzer：Quart. Bull. Sea View Hosp.，13：1952。
- 10) J. Bernstein, W. A. Lott, B. A. Steinberg and H. L. Yale：Am Rev Tuberc.，65：357—364，1952。
- 11) W. Steenken Jr. and E. Wolinsky：Am Rev Tuberc.，65：365—375，1952。
- 12) E. Uehlinger, R. Siebenmann und H. Frei：Schweiz. med. Wochschr.，13：335—338，1952。
- 13) 内田信之・桜林武成：第42回日本病理学会誌総会号印刷中。

東大教授 医学博士 詫摩武人著

主な小児疾患とその臨牀 第2集

A5判 360頁
上製函入
定価 400円
千実費

本書の第1集を昭和25年に上梓したところ絶賛を博し早速諸方面の方々が主要疾患の追加を出版するよう要望されたので第1集と同様第2集も一般医師・インターン・医学生諸君の参考になるよう斯界の権威が可及的新知見を紹介したものである。

本書内容

- | | | |
|----------------|--------------------|--------------|
| 第1章 赤痢 | 第2章 疫痢 | 第3章 猩紅熱 |
| 第4章 泉熱 | 第5章 原発性非定型肺炎 | 第6章 かぜ |
| 第7章 脳炎 | 第8章 早産児 | 第9章 脳性小児麻痺 |
| 第10章 粘液白痴・粘液水腫 | 第11章 精神薄弱症及び蒙古人様痴呆 | 第12章 先天性胆道異常 |

第1集内容

- | | | |
|-----------------|-----------|------------------|
| 第1章 乳幼児肺炎 | 第2章 乳児下痢症 | 第3章 乳児栄養失調症及び消耗症 |
| 第4章 メルラー・バルロー氏病 | 第5章 佝僂病 | 第6章 先天性心臓疾患 |
| 第7章 先天性肥厚性幽門狭窄症 | 第8章 自家中毒症 | 第9章 化膿性髄膜炎 |
| 第10章 麻疹 | 第11章 百日咳 | 第12章 ゴフテリア |
| 第13章 ハイネ・メデン氏病 | 第14章 小児結核 | 第15章 小児梅毒 |

定価 450円 千実費

発行所 株式会社 東西医学社 東京都中央区(京橋局区内)銀座西7の1
電話銀座(57)2126~2129番 振替口座東京2818番