

抗結核剤および抗アレルギー剤の結核アレルギーに およぼす影響に関する実験的研究

第1編 抗結核剤による実験

第2報 PAS および TB-1

新大医学部病理学教室 (主任 伊藤辰治教授・指導 藤巻茂夫教授)

高橋文雄

(受付 昭和30年2月18日)

緒言

著者は結核感作海狼脾の体外培養における増殖細胞に対するツの壊死作用を利用し、これに抗結核剤をそれぞれ培地に添加する事により之等薬剤の結核アレルギーにおよぼす影響を観察し、あわせてこれらの作用機序の一端を知らんとするのが本研究の目的である。第1報ではSM および INAH について報告したが、今回は引続きPAS および TB-1 について行つた実験の結果を報告する。

第1部 流バラ結核死菌による実験

I 実験方法

実験方法は第1報と全く等しい。PAS は田辺製薬の10%のパスナル、TB-1 は大日本製薬のテベソンの5%の生理的食塩水浮游液を使用した。

II 実験成績

(1) PAS の場合 PAS 液添加により細胞の増殖は強度に抑制せられる。又遊走細胞は淋巴球が大部分で多形核白血球がこれにつぎ、その他少数の細網細胞で線維芽球および多核巨細胞はほとんど見られない。只健在と思われる淋巴球も何となく膨化しているような感を与える。壊死細胞数はツ液を添加した群では12時間で35.8%、24時間で41.5%であるに比し、PAS とツ液を添加した群ではそれぞれ15.9%、23.2%と低率を示している。しかるにツ液にPAS を3日間作用せしめた液を添加した群のそれはそれぞれ22.9%、21.8%であつて、PAS とツ液を同時に添加した群と大差は見られない。

(2) TB-1 の場合 TB-1 添加により細胞の増殖はやはりかなり抑制されるが、PAS 程ではない。遊走細胞はやはり淋巴球がもつとも多く、その他多核白血

球、細網細胞、線維芽球および多核巨細胞も見られる。壊死細胞数はツ添加により6時間で34.5%、12時間で44.7%であり高度であるのに比し、これにTB-1 とツ液を加えた群では12時間で39.0%を示し前者よりやや低率である。又予め両液を混和しておいた液を添加した群では32.9%、37.1%を示し同時添加群と大差は見られない。只あらかじめTB-1 を添加し6時間培養後にTB-1 を添加した群では12時間で28.6%を示しや

第1表 PAS 添加によるツ壊死作用の影響
(流バラ結核死菌実験)

培養より固定 までの時間	成績	12 時 間			24 時 間		
		A. 壊死 細胞数	B. 全細 胞数	$\frac{A}{B} \times 100$ 百分比(%)	A. 壊死 細胞数	B. 全細 胞数	$\frac{A}{B} \times 100$ 百分比(%)
	対 照	51	326	15.4	67	411	16.3
	1:60 旧 ツ 液	127	355	35.8	157	473	41.5
	10% PAS 液	42	384	10.9	45	272	16.5
	10% PAS と ツ 液	57	359	15.9	56	241	23.2
	10% PAS 添加 12 時 間培養後 ツ 液 添加 更 に 12 時間培養				46	235	19.6
	10% PAS と ツ 液等 量混和し 3 日間室温 放置液	104	455	22.9	51	235	21.8

注 (イ) A 及び B の細胞数は各群とも 3-6 コの組織片毎に 2-3 回 200-500 コ宛数え、その各平均細胞数である

(ロ) 流バラ死菌 10 mg/cc; 接種後 78 日目に実験

第2表 TB-1 生理的食塩水浮游液添加によるツ壊死作用の影響
(流バラ結核死菌実験)

培養より固定 までの時間	成績	6 時 間			12 時 間		
		A. 壊死 細胞数	B. 全細 胞数	$\frac{A}{B} \times 100$ 百分比(%)	A. 壊死 細胞数	B. 全細 胞数	$\frac{A}{B} \times 100$ 百分比(%)
	対 照	14	281	5.0	19	249	7.7
	1:60 旧 ツ 液	91	261	34.5	90	201	44.7
	5% TB-1 液	40	256	15.2	49	221	22.2
	5% TB-1 と 旧 ツ 液				78	200	39.0
	5% TB-1 添加 6 時 間培養後 ツ 液 添加 更 に 6 時間培養				68	238	28.6
	5% TB-1 ツ 液等量混 和 3 日間室温に放置 せる液	71	215	32.9	96	256	37.1

注 (イ) A および B は各群とも 3-6 コの組織片毎に 2-3 回 200-300 コ宛数え、その各平均細胞数である

(ロ) 流バラ死菌 5 mg/cc; 接種後 43 日目に実験

や低率を示している。

III. 小 括

流動パラフィンに包埋した結核加熱死菌を羂丸内に接種せる海狸脾の体外培養を行い、これにツ液を添加することにより、第1報に報告したと全く同様に、増殖する細胞が高度に壊死に陥ることを観察した。これに抗結核剤たる PAS および TB-1 をそれぞれ 10~5% の液としてツ液と同時に添加した場合、前者の場合はかなり壊死細胞数は低率を示し、後者の場合は若干低率を示した。なおこれ等薬剤の作用機序がツ液を直接中和するものであるかを知る為め、予めツ液とこれら薬剤を混和し3日間室温に放置した液を作製し、これを添加した。この際の細胞の壊死は同時に添加した群と等しいかむしろ高率を示している。又これら薬剤を添加した際における脾臓細胞の増殖は相当高度に抑制せられた。しかし PAS においては壊死に陥つた細胞は対照とほとんど変わらないが、TB-1 の場合にはかなり高率である。

第2部 結核菌を接種した海狸による実験

第1報と同様、流バラ結核死菌法による結核感作と結核菌による感作状態の間に差異があるかを検討して見た。

I 実験方法

第1報の場合と全く同じ(第1報参照)

II 実験成績

(1) PAS の場合

10% PAS 添加により細胞の増殖は強く抑制される。しかし壊死細胞数は対照とほとんど差はない。この群に見られる遊走細胞は淋巴球が大部分であり、ついで多形核白血球、その他少数の細網細胞で、線維芽球および多

第3表 PAS および TB-1 添加によるツ壊死作用の影響(生菌実験)

添 加 液	6 時 間			12 時 間		
	A. 壊死細胞数	B. 全細胞数	$\frac{A}{B} \times 100$ 百分比(%)	A. 壊死細胞数	B. 全細胞数	$\frac{A}{B} \times 100$ 百分比(%)
対 照	16	258	6.1	34	336	10.1
1:60 旧 ツ 液	115	291	39.6	161	311	51.6
10% PAS	15	237	6.3	30	274	10.9
10% PAS と ツ 液	67	347	19.3	83	322	25.8
10% PAS 添加6時間培養後ツ液添加更に6時間培養				94	342	27.4
10% PAS と ツ 液等量混和3日間室温に放置した液	80	340	23.5	75	302	24.8
5% TB-1 液	89	339	26.3	115	381	30.2
5% TB-1 と ツ 液	147	402	36.5	175	398	44.0
5% TB-1 添加6時間培養後ツ液添加更に6時間培養				146	376	38.9
5% TB-1 と ツ 液等量混和3日間室温に放置した液	139	391	35.3	156	381	40.9

注 (イ) A および B は各群とも 3~6 コ組織片毎に 2~3 回 200~500 コ宛数え、その各平均細胞数である

(ロ) 0.1 mg/cc 人型結核菌接種、接種後 119 日目に実験

核巨細胞はほとんど見られない。なお此処で注目すべきは極めて多数の赤血球が見られることである。かかる所見は第1部における PAS 添加群には見られなかつたところのものである。ツ液添加群の壊死細胞数が6時間で 39.6%、12 時間で 51.6% であるに比し、PAS とツ液添加群ではそれぞれ 19.3%、25.8% であり極めて低率を示す。しかるに予め3日間両液を混和した液を添加した群では 23.5、24.8% を示し前者とほとんど差は見られない。

(2) TB-1 の場合

5% TB-1 液を添加した場合は細胞の増殖はやや抑制されるが PAS 程ではない。しかし壊死細胞数は 23.3%、30.2% を示しており、対照群および PAS 添加群より著しく高率である。遊走細胞も PAS 添加群と著しい差はない。しかして壊死に陥っている細胞は淋巴球がもつとも多くその他のすべての種類の細胞も多かれすくなかれ壊死が見られる。TB-1 とツ液を添加した群の壊死細胞数は6時間 36.5%、12 時間 44.0% でツ液のみを添加した群の 39.6%、51.6% に比し若干低率を示すに過ぎない。また両液を混和し3日間放置せる液を添加した群との間にも差は見られない。

III 小 括

結核菌で感作した海狸脾を体外培養し、これに旧ツ液を添加することにより、増殖細胞が高度に壊死に陥ることを観察した。壊死に陥る細胞は第1報と全く同じである。これに抗結核剤たる PAS および TB-1 をツ液と添加した場合は第1部と同様 PAS の場合にはかなり壊死細胞数は低率を示し、後者の場合には若干低率を示した。しかし両液を予め3日間混和した液を添加した場合は両薬剤ともツ液と同時に添加した群とその壊死細胞数に大差なく、この点 PAS および TB-1 は第1報の SM, INAH と異なる作用を有することが推察される。10% PAS および 5% TB-1 を添加した際の脾細胞の増殖は相当高度に抑制せられ、ことに PAS において著しい。しかし壊死に陥る細胞は PAS ではすくなく、TB-1 ではかなり多い。なお PAS を添加した際、相当数の赤血球が増殖しているのは特異の所見である。また一般に壊死細胞数は時間の経過と共に増加することは第1報の場合と全く同一である。

文 献 的 概 観

(1) PAS について

Wetterwald¹⁾は PAS には SM にみられるようなツ・アに対する効力は極め

てすくないとしている。すなわち結核患者に PAS を投与した場合、ツ反応の減弱したもの 10 名中 3 名、増強したもの 3 名、不変 4 名で結局不定であるとしている。Korb²⁾は同じく結核患者に PAS を投与し、ツ反応の減弱を見たという。しかし PAS を SM の場合と同様に、PAS をツ液と混和した液でツ反応を検したが、SM 同様何等対照と変るところがなかつたといっている。なお Heilmeyer³⁾、Wessing⁴⁾等はいずれも PAS 投与結核患者のツ反応は不変であつたといっている。Madigan⁵⁾は結核感染海狸に PPD を腹腔内に注射して起るツ・シヨックを利用して PAS にこれを抑制する力がないことを認めている。なお PAS には解熱作用があるが、これは末梢血管拡張作用の爲めであらうと附言している。

(2) TB-1 について

第 1 報および上に述べた如く、結核ツ・アの SM、INAH および PAS による影響については極めて区々の成績を示している。しかしここに特筆すべきことは、大部分の者が TB-1 投与によりツ反応の減弱を認めている点である。すなわち Korb²⁾、Klee⁶⁾、Aue⁷⁾、Brandtner⁸⁾、Wessing⁴⁾、中山⁹⁾、および松下等¹⁰⁾がそれであり、Voigt¹¹⁾のみが不定であるといっている。Korb²⁾は 100 倍のツ液と生理的食塩水を 1:9 の割合に混じた液およびツ液と 1% TB-VI (TB-1 は水に不溶性であるので効力は弱い、TB-VI を使用したといっている)を同じく 1:9 の割合に混じた液を用いてツ反応を行つたところ、TB-VI を混和したツ液による反応は対照に比して著明に減弱したといい、又 Moro のツ軟膏に TB-VI を混和したものでも、反応は明らかに減弱したと述べている。なお結核患者にも TB-1 を投与した場合は、ツ反応は最初 1 過性に上昇するが、漸次減弱して来ることを認め、TB-1 には抗ア性要素が存在することを想像しており、SM、PAS とは本質的に異なるものであらうとしている。Klee⁶⁾は肺結核、腸結核および結核性髄膜炎に、Aue⁷⁾は骨結核にそれぞれ TB-1 を投与し、いずれもツ反応の減弱を認めている。Brandtner⁸⁾は TB-1 を含有したツ軟膏で反応が著明に減少し、これは TB-1 がツ毒素と化学的に結び付くことにより、ツを中和するかまたは組織自体に影響をおよぼして炎症を来さないようにするの、か現在のところ不明であるとしている。Wessing⁴⁾も結核患者に TB-1 を投与することにより大部分にツ感受性が低下したが、症状の経過とは無関係なりといい、また中山⁹⁾も Wessing と同じ成績であるが、TB-1 の作用機序については、これを抗アレルギー性に帰していることは Korb と同じである。松下等¹⁰⁾も TB-1 はツの抗原性を減弱せしめると共に個体のツ感受性をも低下せしめツ・アの発現を減殺するものであるとしている。これに反し Voigt¹¹⁾は結核患者に TB-1 を数カ月投与したがツ反応は不変であり、TB-1 は結核

症のアレルギーに関しては無関係なりとしている。

総括および考案

(1) PAS、TB-1 のツに対する壊死作用を抑制する能力について

PAS については第 1 表および第 3 表に示したごとく、流バラ死菌群においても、生菌群でも、PAS とツ液を添加した際は、ツ液のみを添加した群より壊死は強く抑制されている。しかるに PAS とツ液を予め 3 日間混和せるものを添加した場合は、第 1 報に述べた SM および INAH の場合と異なる成績が見られ、流バラ死菌群および生菌群にても PAS とツ液を同時に添加した群とほとんど差はない。このことは PAS が生体に対して SM および INAH と異なつた作用機序を示すものであり、結局 PAS はむしろ組織に結び付くものであつて、ツの抗原性を中和しその作用を抑制する能がないとみなければならない。すなわち PAS は SM、INAH と等しくツの壊死作用に対して抑制作用を有するが、その作用機序は異なることを知つたのである。結核治療としての併用療法ことに SM と PAS 又は INAH と PAS の併用は耐性菌の面から極めて優秀であることが知られているが本実験は SM、INAH と PAS の個体側の作用因子も異なり、両者の併用により協力的作用が得られ、両者の併用が良いという理由の一半を実験的に証明したことになると思う。

TB-1 については第 2 表および第 3 表に示すように流バラ死菌感作群および生菌群における壊死細胞はツ液のみを添加した群に比し、TB-1 ツ液を同時に添加した群では他の抗結核剤程顕著なツの壊死作用の抑制を示していない。また予め 3 日間混和した液を添加した場合、流バラ死菌および生菌群とも対照群とあまり顕著な差がない。TB-1 のツ・ア抑制力については上述せる如く Korb 等他多数の報告者が等しく認めているところである。しかるに著者の実験ではこれを肯定し兼ねる如き結果を得たことは、第 1 に考慮すべきは薬剤の濃度である。5% TB-1 液のみを添加した場合、流バラ死菌、生菌両群共対照より壊死細胞数ははるかに多いのである。したがつて細胞毒として働いたのか、第 2 に TB-1 が水に不溶性である為鏡頭により無数の TB-1 結晶が組織および標本一杯に満ちている為め、何等かの物理学的障害の爲であるのかについてはさらに今後の研究にまらたい。

(2) 培養組織の増殖帯に対する PAS、TB-1 の影響

PAS を添加した場合の培養組織片の増殖は極めて悪い。しかし壊死細胞数は第 1、第 3 表に示す如く両群ともほとんど差がないということは PAS が組織の増殖は抑制するが本質的な細胞毒ではないといえる。

TB-1 を添加した場合もかなり増殖は抑制されている。この場合の壊死細胞については上述せるところである。

(3) 脾組織片を体外培養した際の増殖細胞について PAS を添加した場合の遊走細胞の種類はリンパ球がもつとも多くついで多核白血球であることは特筆すべき所見である。さらに SM, INAH を添加した場合はリンパ球について多いのは細網細胞であつたが PAS 群では細網細胞は極めて少数でしかない点、注意すべきことと思う。なお生菌群で異なる点はこれら白血球とほとんど同程度あるいは白血球を凌駕する位赤血球が遊走している点であり、これは流バラ死菌群で見られず著者の行つた他のすべてのものでも見られない特異的所見であり、その本態は不明であるが今後の追究をまたねばならない。

(4) 流バラ結核死菌感作と結核生菌感作によるアレルギー性反応

結核死菌に油脂を附加し、動物に注射する場合強いツ・アが持続的に発生するということは Coulaud¹²⁾, Saenz¹³⁾, 岡¹⁴⁾, 山田¹⁵⁾ および河内¹⁶⁾等多数のものが認めているところである。Coulaud¹²⁾ は 1 年間観察しその間ツ・アの状態で少なくとも数年は持続するであろうと想像している。著者の実験でも第 1 報および第 2 報を通じ、流バラ結核死菌ワクチンを接種した海狸では最短 24 日、最長 106 日であり、いずれも皮膚ツ反応は強陽性であり、又海狸脾の体外培養にツ液を添加することにより起る壊死作用から見てもこの事を実証出来たと考えられる。又さらに流バラ結核死菌によるアレルギーと生菌のそれとの間の差についても著明な差は見出せない。しかし両群におけるアレルギーの強さはほとんど同じである。換言すれば、流バラに包埋された結核死菌による結核アレルギーは少なくとも生菌による感作と同程度であるといえる。なお両群の抗結核剤に対する態度にも本質的な差はないといえる。

(5) SM, INAH, PAS および TB-1 の作用機序について

これら薬剤の有する抗菌力は別として、第 1 報および第 2 報を通じ述べたように、SM, INAH および PAS は TB-1 に比し、組織アレルギー性反応を抑制する力が強く、殊に SM, INAH の二者においては、予めこれが 3 日間ツに作用することにより、ツがたとえ完全抗原でないとしても、抗原としてのツに対し抑制的に働くとい得る。この点 Oekonopoulos¹⁷⁾, Segarra¹⁸⁾, Korb²⁾, Heilmeyer³⁾, 疋田¹⁹⁾ および阿部²⁰⁾ 等のいう、抗原中和説又は抗原力拮抗説のいずれ共断定出来ないとしても、抗原力を弱める何等かの作用を有していると考えられ、SM, INAH の試験管内抗菌力が優れている点と併せ考え興味ある所である。PAS については、前述せる如く、SM, INAH が抗原に対して強く作用するに比し、むしろ組織ないし細胞性に働くと思われるが、この点臨床上前二者の劇的に奏効するのに対し、PAS の効果はやや

緩慢型に属するという感を抱かせる点を想起する時これまた興味あるところであろう。TB-1 については前述した如く Korb 他多数の報告者は一様に抗アレルギー性を認めておるのである。特に Korb²⁾ は結核症治療の場合、TB-1 がある特種成分の他に抗アレルギー性要素を有するであろうといっているが、著者は TB-1 の壊死作用抑制力が他の 3 剤に比し弱いという結果を得たのである。ただ第 2 表に示すように TB-1 を添加して 6 時間後にツ液を加えた群が同時にこれを添加した群および予め 3 日間混和した液を添加したものよりかなり低率である事実よりすれば、TB-1 は PAS と似た細胞性作用機序を有するのではなかろうかと推察される。以上は著者の実験を通じての推論であり、人体の場合にそのまま適用出来るとは考えられない。人体の場合には一般に増殖性の者はツ・アは弱く、滲出性病巣を有する例ではそれが強く、さらに重症に入るとこれが陰性化することは周知の事実である。Rich²¹⁾ は人体結核症における病変の拡がりや破壊性は、菌数と毒性および過敏症と併行し、抵抗に逆比例するといっており、相互因子が交錯している場合が一般であるので、1 つの因子だけを取り上げて論ずることは出来ないと述べている。又前述したように結核患者におけるツ反応と抗結核剤との関係は多様多様であつて、勿論実験方法も、対照患者も、あるいはツ反応の測定方法自身についても旧ツ液を用いたり、PPD を用い、又その使用量も区々であり、判定方法も亦多様である。換言すれば多因子性の人体に多原性の抗原を用い、その他さらに種々な検査方法が加わるならば結論の多様性もまた当然であろう。これを要するに、人体結核症は大小のシューブが繰り返えし起るのであるから、人体における結核の感染より過敏症、免疫への関係は Letterer²²⁾ のいう如く、過敏症期、陰性期等の山や谷は複雑に交錯して来るものと考えられ、抗結核剤による治療に際しても同様、ある時期にはツ・アが増強することもあれば、又逆に低下することも考えられる。そこで著者は Schaich 等²³⁾ の TB-1 治療によりツ過敏性のもは次第に低下し、またこれが減弱しているものは次第に強くなり、ついには中等度のアレルギー状態になつて来るであろうとする考えを支持し、さらにこれを他の抗結核剤にも適用するのが妥当ではないかと考えるのである。

結 論

1) 抗結核剤たる SM, PAS, INAH および TB-1 が結核アレルギーに如何なる影響をおよぼすかを知らんがため、流動パラフィンに包埋した人型結核死菌ワクチンおよび人型結核生菌で接種した海狸脾の体外培養を行い、これにツ液および上記 4 剤を添加し、その壊死細胞を数え比較観察した。

2) 10% SM 液, 1~10% INAH 液, 10% PAS 液及び 5% TB-1 の生理的食塩水浮游液は, 培養組織の増殖を阻止するが, TB-1 を除いては細胞毒ではない。

3) 4種抗結核剤はいずれも結核組織における抗原抗体反応に阻制的に働く能力を有すると共に, SM および INAH は抗原に特に親和能力があり, その抗原性を弱める能力を持つている。これに反し PAS および TB-1 にはかかる能力はなく, 何か細胞性に働くものと考えられる。

4) 流バラ結核死菌ワクチンおよび結核生菌を接種することにより起る組織のツ感受性, すなわち組織ツ・アレギーには本質的な差はないと同時に同一抗結核剤に対する態度も両者の間に本質的な差は見出し得ない。

5) 結核感作海狸脾組織の体外培養に際し遊走して来る細胞は, 大多数がリン巴球であり, ついで細網細胞が多く, その他少数の多形核白血球, 単球, 内被細胞, 線維芽球および多核巨細胞も見られる。

6) ツ液添加により壊死に陥る細胞は多くは白血球であるが, 細網細胞および単球も少数において壊死が見られた。

7) 一般に培養時間が長びくにつれて壊死細胞数も増加する。

8) 抗結核剤添加により特異的に多く出現して来る細胞は見られなかった。ただ結核生菌接種海狸脾に PAS を添加した群のみに赤血球が相当多数培地に遊走している。しかしその本態は不明である。

9) 水に不溶性である TB-1 の生理的食塩水浮游液を添加した際は相当多くの細胞が壊死に陥っているが, これが TB-1 の化学的作用のためかあるいは物理的作用によるものか判然せず今後の研究に俟ちたい。

文 献

- 1) Wetterwald, O.: Beitr. Klin. Tbk., 105. 301, 1951.
- 2) Korb, G.: Beitr. Klin. Tbk., 104. 295, 1950.
- 3) Heilmeyer, L.: Beitr. Klin. Tbk., 102. 583, 1950.
- 4) Wessing, L.: Beitr. Klin. Tbk., 106. 66, 1951/52.
- 5) Madigan, D. G. et al: Lancet, 258. 239, 1950.
- 6) Klee: Klin. Wschr.: 27. 718, 1949.
- 7) Aue, H., Saame, H.: Dtsch. med. Wschr., 74. 215, 1945.
- 8) Brandtner: Zitr. Beitr. Klin. Tbk., 102. 583, 1950.
- 9) 中山富之: 福岡医学誌, 44. 524. 1953.
- 10) 松下嘉和および齊藤昌司: 医学, 13. 247. 1952.
- 11) Voigt, G.: Beitr. Klin. Tbk., 103. 329. 1950.
- 12) Coulaud, E.: C. r. Soc. Biol., 119. 368. 1935.
- 13) Saenz, A.: C. r. Soc. Biol., 120. 870. 1935.
- 14) 岡 捨巳: 抗研誌, 1. 25. 昭 21 および 2. 1 昭 22.
- 15) 山田俊一郎: 抗研誌, 5. 25. 昭 24 および 6. 106. 昭 25.
- 16) 河内重三: 新潟医学会誌, 68. 38. 1954.
- 17) Oekonomopoulos: Beitr. Klin. Tbk., 102. 1. 1949/50.
- 18) Segarra, J. G. et al: Rev. Clin. Esp. Mad., 47. 235. 1952. Zitr. J. A. M. A. 152. 287. 1953.
- 19) 疋田善平・清水増子: 医学と生物学, 18. 36. 1951.
- 20) 阿部清博および富田治海: 医療, 4. 547. 1950.
- 21) Rich. A. R.: The Pathogenesis of Tuberc., IIed. 1950 Illinois.
- 22) Letterer, E.: Dtsch. Med. Wschr., 78. 759. 1953.
- 23) Schaich, W. et al: Beitr. Klin. Tbk., 104. 455. 1950/51.