

実験結核症にあらわれる病理学的基本形態と化学療法による修飾

第1報 諸種化学療法剤および数種の Benzothiazole

誘導体の抗結核作用について (その1)

佐々木正道

神戸医科大学病理学第一講座 (指導 家森武夫教授)

受付 昭和31年10月24日

1 緒言

結核症の病理学的基本形態に対し、種々な化学療法剤のおよぼす影響については、Streptomycin の治療界への出現以来、多くの学者によつて論議されてきたが、まだ全般的な意見の一致を見ないまに今日に至っている。しかもこのことは病巣治癒の形態学的本質を探り、薬剤治療効果の真の姿を把握する上に是非とも解決しなければならない問題である。私は本論文において、数種の新しい合成剤の海狸結核に対する治療効果を、既成の抗結核剤と比較検討すると同時に、上記未解決の問題に対して考察のメスを加えたいと思う。

さて、20世紀初頭、Ehrlich によつて病原微生物に対する化学療法の道がひらかれて以来、結核菌に対する特効的な薬物を見つけ出すことは長い間人類の夢であった。しかも1935年から1940年にかけて、化膿菌に対する Sulfonamide および Penicillin のやつぎばやな発見は、この夢が現実となる日の近いことを思わせたが、ついに1944年、Waksmann によつて、結核症に対する劃期的な特効薬 Streptomycin が発見された。ついで1946年には Lehmann の p-Aminosalicylic acid および Domagk の Thiosemicarbazone の出現を見、さらに1950年、結核菌発育抑制濃度実に1000万倍に達する Isonicotinic acid hydrazide の発見に遭うに至つて、ここに長年の人類の夢は達成されたかの感があつた。

しかし、このように華やかな脚光を浴びて治療界へデビューしたスター達のかけには、星屑にも例うべき無数の尊い研究が淡い光の尾を引いて消えて行つた。今はその墓碑名の一々を読み上げる煩しきは避けるが、細菌に対する化学療法の宿命的な欠陥である抵抗獲得菌の問題におもいをいたすとき、私達は勇を鼓して新しい薬剤の発見に前進せざるをえないのである。

わが国においてもこの方面の研究は早くより盛で、特に O-aminophenol を基幹とした各種誘導体、また多数の感光色素の研究等は、動物実験においても或程度の効果を収めたが、いまだに決定的な段階には達していないようである。

1949年以来、京都大学医学部薬学科高橋教室において種々の複素環式化合物が合成され、京大結核研究所稲葉、小沢によつて、その試験管内結核菌発育抑制実験がなされてきたが、そのうち Benzothiazole の誘導体については、薬学科岡田の合成によつて、現在までに試験管内実験の行われたものは138の多数に上つている^{1)~3)}。この系統の誘導体については、すでに1940年 E.L. Everitt および F.X. Sullivan⁴⁾ によつて数種の報告がなされているが、1947年 B.L. Freedlander および F.A. French⁵⁾ が約30種の誘導体についての研究を発表し、そのうち、6-amino-2-(n)butoxybenzothiazole, 6, 2-Diaminobenzothiazole および6-amino-2-chlor-benzothiazole の有効性を強調している。

私は稲葉、小沢の実験結果から有効と思われる数種を選んで、結核感染海狸に対する治療効果判定のため、4回にわたつて実験を行つたが、その第一実験についてここに報告する。なおその際、既成の治療剤も効果判定の参考とするために一緒に実験を行つたが、便宜上4回の実験に使用した薬品名と、その化学構造式および試験管内菌発育抑制濃度を表1に示し、あわせて、以下論文中に用いる薬品の略称を付記しておく。

2. 第1実験 2-Allylmercapto-6-aminobenzothiazole (BT-a) と Streptomycin (SM) との結核感染海狸に対する治療効果の比較

(1) 実験方法

(a) 使用薬品の致死量について

使用薬品量を決定する前に、その50%致死量 (LD₅₀) を次の方法によつて求めた。

実験動物は大体10g 前後の雄性廿日鼠を1群6匹ずつ10群使用した。

薬品は、BT-aをトラガカントを用いて懸濁液となし、カテーテルによつて胃内に注入した。LD₅₀は24時間目の死亡数から Behrens-Kärber法によつて算出し、体重1kg当りのmg量に換算した。成績は表2の通りである。

なおSMの皮下投与によるLD₅₀mg/kgは970である。(Grunberg⁶⁾による)

(b) 使用薬品の溶媒について

表 1 使用薬品

使用薬品名	薬品構造式	試験管内発育抑制濃度	略称
2-Allylmercapto-6-aminobenzothiazole		16万倍～1万倍 (稲葉)	BT-a
2-Allylmercapto-6-acetaminobenzothiazole		16万倍～2万倍 (稲葉)	BT-b
2-Allylmercapto-(O-oxybenzylidenamino)-benzothiazole		1万倍 (稲葉)	BT-c
2-6-Diaminobenzothiazole		40万倍～100万倍 (Freedlander) 1万倍 (稲葉)	DABT
2-Chlor-6-aminobenzothiazole		400万倍～4000万倍 (Free lander) 8万倍 (稲葉)	CABT
p-Acetylaminobenzaldehyde thiosemicarbazone		20万倍 (Domagk) 1万倍 (稲葉)	TB-1
p-Aminosalicyclic acid		30万倍 (稲葉)	PAS
Isonicotinic acid hydrazide		1000万倍 (稲葉)	INAH
Dihydrostreptomycin	省 畧	60万倍 (稲葉)	SM

表 2 2-Allylmercapto-6-aminobenzothiazole の LD₅₀

薬品量 (mg/10g)	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	LD ₅₀ (mg/kg)
1群6匹中死亡数	0	0	1	2	2	4	4	5	5	6	1067

BT-aは水に不溶なので、その溶媒として、Propylen-glykol を用いた。Propylen-glykol は毒性が比較的少なく、溶解能が高い点で他の溶剤に優っていた。しかし、軽度の毒性を否定し難いので、廿日鼠を用いて20日間連続皮下投与による影響を見た結果、0.1cc/10g では全身的にも局所的にも見るべき影響のないことを知った。この結果は中沢ら⁷⁾の報告とほぼ一致している。

(c) 使用薬品量および投与方法

実験動物には 400g 前後の海豚を用いたが、薬品の使用量は、BT-aは LD₅₀の約 $\frac{1}{10}$ に当る50mg 経口投与と25mg 皮下投与との2群とし、SMは6mgとした。このSMの量は先人の研究結果より⁸⁾、海豚の肉眼的結核病巣が完全に消失してしまうに少し不足な量で、SMによる結核の治療状態を観察するに便利と思われる量である。

投与方法は、前述の通りBT-aが水に不溶なため、Propylen-glykol に溶解して投与したが、経口投与に際しては、1ccの水にBT-a 50mgを懸濁液とし、ネラトンのカテーテルを用いて胃内に直接注入した。この際、薬品の懸濁状態が悪く注射器の口を通り難い場合は Propylen-glykol 少量を加えたが、もちろん0.1cc/10gよりはるかに少量であり、その影響は否定できる。また皮下投与群には、BT-a 25mgを Propylen-glykol 0.3ccに溶かして投与し、SMは水溶液の皮下注射を行った。

(d) 実験概況

実験動物には400g前後の Römer 反応陰性の海豚を用いた。各群11匹ずつの4群に分ち、そのうち2群をそれぞれ経口投与と皮下投与のBT-a治療群とし、他の1群はSM皮下投与群、残りを無処置対照群とした。

感染は人型結核菌 Frankfurt 株 0.05mg を動物の皮下に接種し、感染後5週目より治療を開始した。薬品の投与方法については前述した通りである。ただし BT-a 皮下注射群は注射局所に拇指頭大の膿瘍ないし潰瘍を形成して衰弱し、注射の続行が不可能となつたので、3週目で実験を中止せざるをえなかつた。残りの2群には毎日1回、10週間薬品の投与を継続したが、実験中各群ともに1匹ずつ死亡した。死亡原因は非結核性の肺炎によるものである。

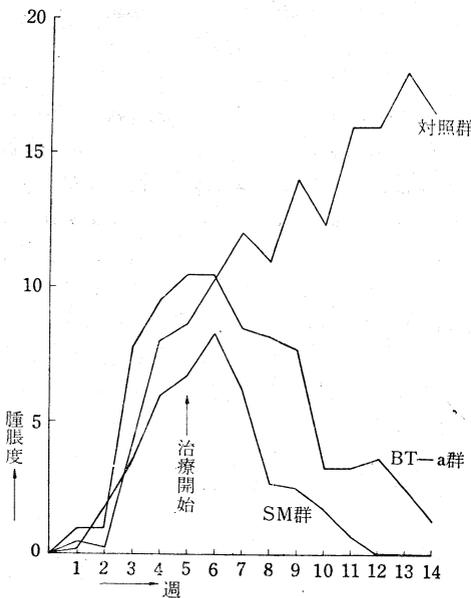
実験期間中は毎週1回ずつ体重の測定と感染局所の変化およびそれに対応する所属リンパ腺腫脹の程度とを観察した。

(2) 実験結果

(a) 体重の変動は各群ともに有意義な差を見出だせなかつた。

(b) 初感染群リンパ腺(鼠径部リンパ腺)腫脹の変遷各群の平均についてグラフで示すと図1の通りである。グラフの作製方法は、米粒大の腫脹を1とし、小豆大を2、大豆大を3、豌豆大を4、蚕豆大以上を5として、各群の平均値を縦軸に、経過日数を横軸に取つたものである。

図1 第1実験 初感染群リンパ腺腫脹の変遷



すなわち、SM群がもつとも治癒傾向が著明で、12週目には全く外部からはリンパ腺の腫脹を触知することができなかつた。BT-a はSMに比べるとやや劣るが、その治癒傾向は対照群に比しきわめて顕著で、14週目には米粒大のリンパ腺数個を触知したにすぎない。

(c) 剖検時肉眼的所見について

治療10週目に全動物を撲殺して解剖した。その際得た肉眼的観察の結果を表3に示す。

表3 第1実験 各臓器の肉眼的所見

		S M 群									
		動物番号									
臓器		1	2	3	5	6	7	8	9	10	11
鼠径部リンパ腺		-	-	-	-	±	-	-	-	±	±
腸骨部リンパ腺		+	-	±	-	+	-	-	-	-	-
門脈部リンパ腺		+	+	+	-	±	+	-	+	+	-
右気管分岐部リンパ腺		±	±	±	+	+	±	+	+	+	-
左気管分岐部リンパ腺		±	±	-	+	-	+	-	+	+	+
脾臓		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肝臓		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肺臓		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

		BT-a 群										
		動物番号										
臓器		23	24	25	26	27	28	29	30	32	33	
鼠径部リンパ腺		-	±	±	-	±	+	-	-	-	-	
腸骨部リンパ腺		-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	
門脈部リンパ腺		+	-	-	-	±	+	-	-	-	+	
右気管分岐部リンパ腺		±	+	+	+	±	±	±	+	+	±	
左気管分岐部リンパ腺		±	+	±	+	+	±	+	+	+	±	
脾臓		-	-	-	-	+	-	-	±	-	-	
肝臓		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
肺臓		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

		対照群											
		動物番号											
臓器		35	36	37	38	39	40	41	42	43	44		
鼠径部リンパ腺		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
腸骨部リンパ腺		+	+	+	+	+	+	+	+	±	-		
門脈部リンパ腺		±	±	±	±	±	±	+	±	±	±		
右気管分岐部リンパ腺		±	±	±	±	+	±	±	±	+	±		
左気管分岐部リンパ腺		±	±	±	-	-	±	+	±	+	±		
脾臓		±	-	+	+	±	+	±	±	-	±		
肝臓		-	-	±	-	-	-	±	±	-	-		
肺臓		-	-	±	-	-	-	-	+	-	-		

注 リンパ腺の変化は腫脹の程度により、他の臓器は結核菌の数の多少による。

リンパ腺腫脹 軽度腫脹±, 米粒大+, 小豆大±, 大豆大±, 豌豆大±, 蚕豆大±

臓器変化(病巣の数) 5個以下+, 10個以外±, 10個以上数えうる程度±, 相当多数±, 極めて多数±

すなわち主な病変部はリンパ腺であつて、他の臓器では、脾臓にやや顕著な病変が見られたのみで、肺臓、肝臓、腎臓にはほとんど病変が見られなかつた。脾臓の病変もそのほとんどが無処置対照群に見られたものであり、小さな粟粒結節から、小豆大の大きな病変まで見られたが、そのようなものには乾酪性の壊死も見られた。肝臓、肺臓に見られたものは、いずれも壊死を伴わない小結節である。

(d) 脾臓からの結核菌定量培養について

解剖の際、脾臓の約半分を無菌的に取り出して秤量し、それを滅菌乳鉢で細挫後、2%の硫酸水を加えて10倍稀釈乳剤を作り、その0.5ccを岡、片倉培地4本に流注して定量培養を行つた。その第7週目における判定の結果を表4に示す。なお参考のために、脾臓の重量も併記する。

表4 第1実験 脾臓よりの菌培養成績

		S M 群										
動物番号 試験管												
	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11		
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
II	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	
III	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	
IV	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	
脾臓重量	770	740	790	770	600	670	610	970	650	750		

		BT-a 群										
動物番号 試験管												
	23	24	25	26	27	28	29	30	32	33		
I	2	0	1	0	16	0	0	0	0	0	0	
II	0	0	1	0	1	0	0	8	0	0	0	
III	9	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	
IV	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
脾臓重量	620	790	950	840	1000	650	975	855	870	970		

		対 照 群											
動物番号 試験管													
	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44			
I	17	1	0	8	0	0	102	15	13	1			
II	4	1	4	1	7	42	11	1	1	0			
III	0	25	38	0	4	7	124	0	4	1			
IV	6	0	10	3	7	0	1	40	2	75			
脾臓重量	900	650	950	900	950	1170	2250	4500	820	1050			

注 数字は集落数

無処置対照群は他の2群に比し、断然集落の数が多し。大体において、病変の強いもの、重量の多いものに集落も多く数えられるが、SM群、BT-a群では必ずしもそうでない。これは手技上の誤りもありうるが、またこの2群では、病巣および菌数が少ないためにこのような不一致が生じたものとも思われる。

なお各群動物1匹の平均集落数はSM群2.9、BT-a群4.1、対照群57.6で、脾臓平均重量はSM群736.0mg、BT-a群852.0mg、無処置群1376.4mgであった。

(e) 病理組織学的所見について

病理組織学的所見については、第2篇および第3篇で詳しい考察を行うつもりなので、ここでは簡単に触れて

おくに止める。

リンパ腺の病変は一般に治癒性であった。すなわち、病巣を取り囲む膠原線維反応が比較的強く見られたが、腫脹程度の高度なものほどこのような病巣が多い。ただ対照群では、中心部に空隙を持った結節が多く、また数例に比較的大きな壊死巣を認めた。他の2群の病巣も本質的には同じ性格のものであるが、大きな壊死巣は見られなかった。ただBT-a群動物番号30の腸骨リンパ腺に類上皮細胞のみからなる繁殖型の組織反応ともいべき病巣を認めた。硝子様化巣はどの群にも見られなかった。

肝臓病変は対照群にのみ見られたが、壊死巣はなく、悪化傾向は見られなかった。その実質内病巣には膠原線維反応が少ないが、これは肝臓の臓器的な特徴と思われる。第2篇で検討を加える。

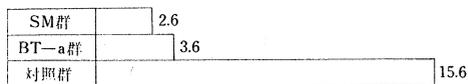
脾臓の病変は濾胞に一致した類上皮細胞からなる病巣が多いが、膠原線維反応は比較的少なく、対照群では乾酪性壊死も見られた。SM群の脾臓は組織学的に病巣は皆無であったが、BT-a群では、肉眼的に変化がないと思われた例(30)に、類上皮細胞性の結核結節が少数見られた。ちなみに、この脾臓は結核菌培養が陽性であった。

腎臓には全例に変化を認めなかった。

(3) 小括

以上の実験結果を総括して見ると、所属リンパ腺腫脹の変遷からしても、剖検時肉眼的病変の程度、あるいは脾臓よりの定量培養の成績からしても、BT-aよりSMの方が治療効果の優つていることは否み難い事実である。しかし、対照群と比較して見ると、BT-aも所属リンパ腺の腫脹は治療開始以来急激に下降線をたどり、むしろSMに近い曲線を描いている。また定量培養の結果も陽性数がSMより2匹多いが、対照群に較べれば非常に少数でかなりの治療効果があつたことを思わせる。次に肉眼的解剖所見の表3よりヒストグラムを作製して示すと図2の通りである。なおその作製方法は、表3より、+1、++2、+++3、++++4、+++++5として各群の平均を出したものである。

図2 第1実験 各群病変度の比較



この図からも、BT-aに相当な治療効果のあることを否定することはできない。

なお組織学的には、各群ともに、その所見に本質的な差を見出すことはできなかつたが、対照群には比較的大きな壊死巣の見られたのが印象的だつた。

文 献

1) 家森・稲葉：京大結研年報，2：171，昭26。

- 2) 稲葉：京大結研年報，3：148，昭27.
- 3) 稲葉：京大結研紀要，2：82，86，昭28.
- 4) E.L. Everitt：J. Wash. Acad. Soc., 30：125, 1940.
- 5) B.L. Freedlander：Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 66：362，1942.
- 6) E. Grunberg：J. Tbc. Chr. Pul. Dis., 13：1952.
- 7) 中沢：京大薬理業績集，25：477，昭17.
- 8) W.H. Feldman：Am. Rev. Tbc., 58：494，1948.