

## テングクネズミの実験的結核性髄膜炎について

### 3. Streptomycin (SM), Isoniazid (INH), および SM-INH-PAS (Para-aminosalicylic acid) 併用の治療効果

高 橋 宏

国立予防衛生研究所結核部 (部長 室橋豊穂)

受付 昭和34年3月2日

かつては致命的な疾患であつた結核性髄膜炎も、SMやINHが治療に用いられて以来、臨床的に画期的な成果をもたらすようになった。しかし、現在においてもその治療効果には限度があり、再発をみる場合も少なくないようである。

一方、実験的にはStevens<sup>1)</sup>らは椎腔内接種で、Steenken<sup>2)3)</sup>らは脳内接種でテングクネズミに実験的結核性髄膜炎を惹起させて、約6カ月間の長期治療と治療終了後の長い観察を行つた結果、治療終了後比較的短期間に再発、死亡がみられさらに長期治療の必要を認めている。

著者は、テングクネズミの実験的結核性髄膜炎の惹起には、技術的に容易でかつ確実な脳内接種法を用い、その基礎実験をさき<sup>4)5)</sup>に報告した。ただし、感染菌量が少なければ、動物の個体差が大きくなり、死亡日数や症状発現の期間にバラツキが大きくなり、効果判定がむずかしくなるので、本実験では比較的大量感染を行うことにした。その場合には動物に与える影響は大きく、感染後髄膜炎症状の発現から死亡までの日数が短くなるので薬剤がもし有効であるとすればその効果を判定するには便利なわけである。そこで、感染から治療開始までの期間を変えて実験を行い、SM、INHおよびSM-INH-PAS併用による治療効果に興味ある知見をえたので報告する。

#### 実験材料および方法

##### 1) 感染方法

感染に用いた結核菌は人型H<sub>2</sub>株の凍結乾燥菌Lot 11で、感染後3週間後で発症死亡するように0.5 mgを1 mlに含ませた菌液0.1 mlをテングクネズミの脳内に接種した。実験I, II, IIIの接種生菌数はそれぞれ $25.4 \times 10^5$ ,  $23.2 \times 10^5$ ,  $16.8 \times 10^5$ 、また、動物の体重はそれぞれ410~510 g, 580~780 g, 440~560 gである。動物は各治療群別に大小のないように組合せに注意し、実験前にすべてR mer 反応陰性であることを確かめた。

##### 2) 実験群の編成と治療方法

薬剤投与量および感染から治療開始までの期間をいろいろ変えるために次のように実験群を編成した。

実験I: 感染1日および8日後に治療を開始するA, Bの2群に分け、これをさらに使用薬剤別にSM 30 mg, INH 10 mgの各治療群に分けた。

実験II: 感染12日後(後肢麻痺出現前)に治療開始するC群、後肢片側に麻痺が出現した日(感染後14~16日)から治療開始するD群、後肢麻痺の出現をおくらせるために感染菌量を1/100、すなわち0.0005 mgに減じ麻痺が出現した日(19~22日)から治療開始するE群の3群とし、いずれも1日量SM 20 mg, INH 20 mgをもって治療を行つた。

実験III: 感染後治療までの期間をさらにおくらせて、感染後14日において後肢麻痺を認められない動物と、14~16日に麻痺を認めた動物の2群に対して、SM, INH, PASの各20 mgの3者併用治療を行い、治療終了後約10週目からさらに同一方法で再治療を行つた。

治療は全て注射により、いずれの薬剤も蒸溜水1 mlに含ませて腋窩筋肉内に1日1回ずつ45日間連日行つた。

##### 3) 治療効果の判定

前報告に述べたように、脳内接種の場合には他の感染方法の場合に比べて、接種局所である頭蓋内から臓器、リンパ腺に転移する菌がきわめて少なく、臓器、リンパ腺等に肉眼的病変が認められる以前に動物が死亡するのが常である。死亡に先立つ顕著な所見は、体重の減少、衰弱、後肢の片側、ついで両側麻痺である。そこで治療効果の判定には、第1に生存日数に主眼点をおき、体重の増減、後肢麻痺の有無を調べて参考にし、第2には動物体内の結核生菌数を臓器培養を行つて調べ、さらに若干の組織学的検索を行つた。

#### 実験成績

##### 1) 生存日数と症状

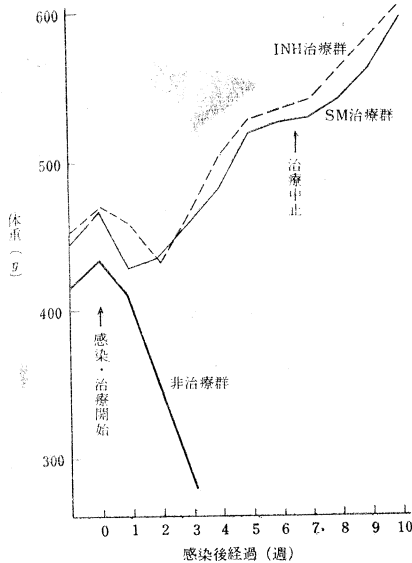
実験I: 体重曲線は図1に示すごとくである。治療群と対照群との間には著明な差がみられ、後者では平均生存日数22日までに体重は減少の一途を辿り、感染後150 gも減少したのに対して、前者では、治療開始の時

表 1 実験群の編成と各動物の生存日数

実験群	感染から治療開始までの日数	治療薬剤 (mg)	動物数	感染後の生存日数		感染後殺処分日数
				治療期間中の死亡	治療後の死亡	
I	A	対 照 SM 30 INH 10	4 8 6	18, 23, 23, 24	109, 248, 248, 276 158, 220	46, 46, 70, 70 46, 46, 70, 70
	B	SM 30 INH 10	5 6		197, 276 119, 176	53, 53, 70 53, 53, 70, 70
II	C	対 照 SM 20 INH 20	4 5 5	16, 19, 20, 22 16, 19, 21, 21	176, 178, 237, 266, 295 ※595	
	D	SM 20 INH 20	5 5	18, 19, 32 18, 19, 21, 22, 22	169, 167	
	E	対 照 SM 20 INH 20	2 5 5	34, 64 25, 26, 28	176, 297, 466, 518, 548 98, 361	
III	F	対 照 SM・INH・PAS	4 8	22, 27, 27, 28	132, 336	66, 66, 436, 436, 436, 436
	G	SM・INH・PAS	12	32	112, 137, 137, 323, 336, 373	66, 436, 436, 436, 436

注：感染後後肢麻痺が出現してから治療を開始したのは D, E, G 群である  
※数字の下に線のついているのは実験IIでは感染後 354 日、実験IIIでは 132 日から再治療を行った動物である

図 1 動物体重の変動と治療中止の時期



期 (1日あるいは 8 日目), あるいは治療薬剤にかかわりなく減少は 2 週でとまり, 以後順調に増加し, 感染後 3~4 週には感染時の体重を上まわつた。また, 後肢麻痺についてみると, 後者では感染後 12~14 日から出現し, 18~24 日に死亡したが, 前者では 45 日間の治療期間に後肢麻痺は出現せず, また死亡するものもなく

著しい治療効果を認めた。ところが治療終了後 8 週間は体重も順調に増加したが, やがて減少しはじめ, 表 1 に示すごとく治療終了後 9 週ころから後肢麻痺を呈して死亡しはじめた。

実験II：治療開始の時期をおくらせて, 感染後 12 日から治療を開始した C 群についてみると, 治療期間中生存をつづけたものは, SM 群の 5 例中 5 例に対し, INH 群では 5 例中 1 例である。さらに後肢麻痺が発症してから治療を開始した D 群についてみると, SM 群では 5 例中 2 例, INH 群では 5 例中 0 である。このように, 治療開始の時期をおくらせると治療成績は悪くなり, しかも SM, INH の治療効果に差異が認められる。感染後 12 日, すなわち麻痺出現直前に治療を開始した群においては後肢麻痺の発現状況は実験 I の場合と異なり, 非治療対照群に比べて, その出現がわずかに 1~2 日おくれる程度で全例に認められるが, 治療を続けていると次第に体重が増加し, 麻痺も次第に軽度となり, 治療終了時には全例ともほとんど麻痺は消失した。治療終了後の麻痺の再発は, 実験 I の場合と同じく 9 週ころから認められ, 体重は減少して全例死亡した。次に後肢麻痺が発症してから治療した D 群では, その多くが治療期間中に死亡したが, 接種菌量を 1/100 に減じて, 後肢麻痺の出現をおくらせた E 群においては, SM 群は 5 例中 5 例, INH 群では 5 例中 2

例が生存し、同じく45日間の治療期間中における死亡数は大菌量接種のD群の場合よりも少なくなった。

実験Ⅲ：感染後ほぼ14~16日に後肢麻痺を出現するような対象について、SM, INH, PASの3者併用治療を行った。これらの治療期間中の死亡は、後肢麻痺の出現直前から治療したF群では8例中0であり、後肢麻痺発症直後から治療したG群では12例中1例であった。3者併用治療にもかかわらず、治療終了

後9週ころには体重の減少が全例にみられたので、治療終了後約10週目からただちに再治療を同じく3者併用法で行い、同時に実験ⅡのSMあるいはINH単独治療でなお生存していた5例についても始めと同じく単独治療法で再治療を行った。しかし、長期観察の結果をみると、いずれも一時的な好転に留まったにすぎない。この3者併用群の実験終了まで生存していた8例の動物について、感染後の体重の変動を画けば、図2

図2 治療動物の体重曲線と3者併用治療群の死亡時期

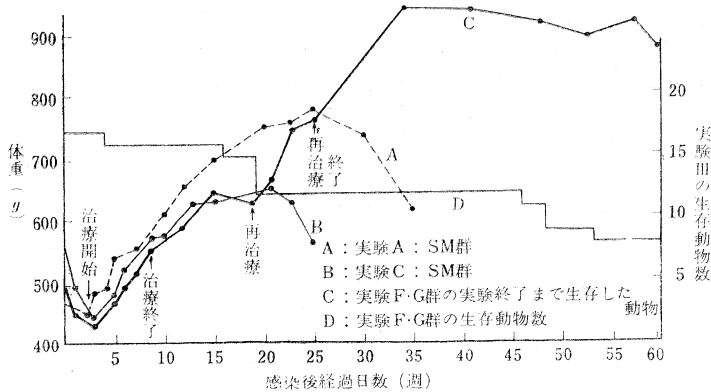


表2 治療終了後屠殺した動物の生体内菌数

実験群	感染後治療開始までの日数	治療薬剤	感染後日数	各臓器 10 mg 中の生菌数					
				脳	頸部リンパ腺	門脈リンパ腺	肺	脾	
I	対照	-	24	55,000	770	-	80	3,200	
			SM	46	12	-	-	0	0
				46	13	-	-	0	1
				70	1	10	78	-	0
	70	0		-	-	-	1		
	INH	46	24	-	-	0	0		
		46	38	-	-	0	0		
		70	24	-	-	-	1		
		70	※310	11	1	-	0		
	8	SM	53	69	-	-	0	0	
			53	0	-	-	0	0	
			70	7	140	10	-	0	
		INH	53	2	-	-	0	0	
			53	7	-	-	0	0	
			70	25	500	500	0	13	
			70	30	0	-	0	0	
III		14	SM	66	10	0	-	0	0
	INH		66	4	0	-	0	0	
	PAS		66	3	0	-	0	0	

注：※この動物の各臓器から分離された菌はいずれもINH 10γ完全耐性であった

(曲線 C)のごとく、また 3 者併用群全動物の死亡時期は同図(曲線 D)のごとくである。すなわち、治療効果のみられた 8 例についても体重の減少期から全動物の死亡例がみられている。治療成績のよかつた実験 I II の SM 治療群の体重の変動と比較すれば、感染後減少した体重は早期治療群ほど早く回復し、かつ増量も多い。しかし、これも比較的問題にすぎず、治療終了後一定期間内にすべて再発しているところをみると、上述のいずれの治療方法および治療量も十分とはいえない。

2) 細菌学的所見

感染後早期に治療した実験 I, ならびに後肢麻痺発現前後から治療した実験 III のうち一部を治療終了時および後肢麻痺出現前に屠殺して臓器内菌数を調べた。表 2のごとく、肺からは全く、脾からは少数しか菌が分離されず、脳からはやや多く検出された程度で 45 日間の治療で SM, I NH の区別なく著明な効果が認められるが、しかもなお頭蓋内の結核菌の完全消滅は困難であることがわかる。

表 3 治療期間内に死亡した動物の生体内生菌数

実験群	感染後治療開始までの日数	治療薬剤	感染後日数	各臓器 10 mg 中の生菌数				
				脳	頸部リンパ腺	門脈リンパ腺	肺	脾
II	対 照	—	19	4,200	30,000	600	—	2,100
			22	18,000	5,300	550	—	900
	12	I NH	21	4,900	4,400	—	0	1
			21	1,300	5	—	—	0
	14 ~ 16	I NH	19	77,000	4,700	2	—	1
			22	3,800	4,400	1	—	6
		SM	18	5,200	1,400	—	—	25
			19	2,900	2,700	150	—	230
			32	1,100	400	—	0	8
III	対 照	—	28	3,500	610	—	54	800
	14	SM I NH P A S	32	45	—	—	0	0

しかし、治療開始時期をおくらせたために治療期間中の早期に死亡した実験 II, III についてみると、表 3 に示すごとく脾では著しく減少しているが、脳およびリンパ腺では非常に多くの菌が認められ、非治療群と大差がない。このことは、薬剤の滲透しやすい臓器には数日の治療でその反応がみられることを示すものであろう。

ところで、治療終了後長期間生存した動物の臓器内菌数は治療期間中に死亡した群と非常に異なっている。すなわち、表 4 に示すごとく、各臓器からの分離菌数は、例外を除けばきわめて少ないことである。とくに死因にもつとも関係のある脳についてみても、10 mg 中の菌数が 0 である例が 2, 3 みられるごとくで、肺、脾ではさらに少ない。しかしその反面、長期間生存した動物中にはリンパ腺、とくに頸部リンパ腺の重量が 500~2,000mg と非治療群の 10~40 倍くらいに腫大するものがみられ、かつ多数の菌が認められた。これは脳内とともにリンパ腺は治療薬剤の影響をうけにくいと推察される。なお、培養にあたっては常に薬剤含有培地にも同時に培養して分離菌の薬剤感受性を調べたが、実験 I の感染 1 日後に I NH で治療した動物に I NH 10 $\gamma$  耐性の

1 例を認めたにすぎない。他は再治療中に死亡した動物も含めていずれも薬剤感受性であった。

3) 病理学的所見

SM, I NH および 3 者併用の治療効果は組織学的にも著明に認められた。感染後治療をおくらせ非治療群と大差ない時日に死亡した動物においては、非治療群と同じく脳膜および脳室上皮に類上皮細胞、リンパ球、巨大細胞ならびに多数の結核菌を含んだ結核性肉芽組織の形成がみられる。ところにより実質内に破壊性に侵入して結核結節を形成している像もみられるがわずかである。

一方、感染 1 日後から治療した群では、SM, I NH のいずれの治療群も治療終了時には脳室上皮および脳底部の脳膜に細胞浸潤が多少認められるが、脳以外の肺、脾等の臓器には非治療群にみるごとく結核結節は認められなかった。

ところが、治療後長く生存した動物では、軟脳膜の結核性肉芽組織は非常に少ないが、脳室上皮に近接する部位に結核結節が認められる。また接種局所の脳から転移した少数の菌の増殖によって脾には肉眼的にみえる結核結節を形成したり、あるいは腫大したリンパ腺には硝子化

表 4 治療終了後長期間生存した動物の生体内生菌数

実験群	感染後治療開始 までの日数	治療薬剤	感染後 日数	各臓器 10 mg 中の生菌数				
				脳	頸部リンパ腺	門脈リンパ腺	肺	脾
I	1	SM	109	8	2,800	-	-	1
			248	32	180	35	-	260
			248	1	1,100	-	-	4
			276	0	190	-	-	3
	8	SM	276	18	31	-	-	0
			INH	119	11,500	0	15	0
				176	1,500	15	23	0
II	12	SM	178	0	63	-	0	0
			237	4	1	-	0	0
			266	5	88	-	0	0
			295	430	550	190	0	21
		INH	393	370	30	1	-	5
III	14	SM   INH   PAS	132	230	0	1,500	0	1,300
			336	0	1	-	0	1
			*436	0	230	0	0	0
			*436	0	-	-	0	0
			*436	9	25	-	0	3
			*436	31	100	270	0	15
	14 ~ 16	SM   INH   PAS	137	19	5	-	0	0
			137	0	0	-	0	0
			323	24	160	-	0	0
			336	560	590	-	0	0
			373	190	1,300	-	8	0
			*436	170	90	-	0	27
			*436	0	3	10	0	0
			*436	4	640	340	0	7

注：※は実験終了時まで生存した動物で、その他はいずれも死亡後培養したものである

した厚い結合組織繊維で包まれた類上皮細胞結節が認められる。この長期間生存した動物と比較的早く死亡した動物とにおいて全く異なる特異的な変化は、前者においては SM, INH 単独群および 3 者併用のいずれをとわず、脳室の拡張が認められ、脳室中には多くの場合脳水腫漿液が溜っていたことである。

4) ツベルクリン・アレルギー

感染後 3 週間後に死亡した非治療群では、衰弱のため 100 倍の OT に対して弱い反応しか示さなかつた。これに対して、治療群中、SM 群では 3 週から強い陽性反応を呈した。また、INH 群では、感染後 1 日目から投与開始したものでは治療中止後 2 週まで陽転を認めなかつたが、8 日目から開始したものでは SM 群よりおくれて 5 週目から 10 mm 以上の反応を示した (表 5)。このことは、INH を早期に用いるとツ・ア

レルギーの出現に著しい影響のあることを示している。

考 察

従来報告されている試験管内発育阻止実験<sup>6)~8)</sup>、あるいはマウス<sup>9)</sup>、テンジクネズミ<sup>10) 11)</sup>などの静脈内、あるいは皮下感染による実験的結核症の治療実験においては、INH には SM よりもむしろ優れた治療効果が認められている。一方臨床的<sup>12) 13)</sup>には、結核性髄膜炎についても、SM に比べて副作用も少なく優れているといわれている。このことは、in vitro においてみられる SM にもまさる INH の抗菌作用に加えて、Mackness<sup>14)</sup>らその他<sup>7) 15) 16)</sup>が述べているように、細胞内結核菌への抗菌作用が、SM では細胞内浸透が妨げられるために高濃度を必要とするのに対し、INH は細胞内でも細胞外と同じく低濃度で十分な抗菌

表 5 ツベルクリン・アレルギーの大きさの推移  
(mm)

実験群	感染後治療開始 までの日数(日)	動物 番号	感染後の経過日数 (週)				
			3	5	8		
SM 治 療 群	1	1	18	22	/		
		2	3	15	/		
		3	20	18	18		
		4	11	20	26		
		5	19	22	18		
		6	6	16	17		
		7	11	16	18		
		8	16	25	20		
	8	1	24	30	/		
		2	12	25	/		
		3	22	25	21		
		4	21	26	19		
		5	12	18	18		
		INH 治 療 群	1	1	3	0	/
				2	3	0	/
				3	7	3	15
4	0			0	20		
5	0			10	25		
6	3			8	19		
8	1	11	10	/			
	2	7	14	/			
	3	4	15	22			
	4	14	20	20			
	5	0	4	10			
	6	5	20	24			

注：斜線は治療終了直後に殺処分

作用が認められるためと思われる。したがって本実験においては、INHにはSMにまさる治療効果を期待した。しかし、感染後早い時期に治療した群(実験I)では、ほぼ同等であったが、治療開始時期をおくらせた群(実験II)では、同一投与量においてはINHはSMよりも明らかに劣っていた。

薬剤の投与を経口的、静脈内あるいは筋肉内に行った場合に血中のINHがSMと同様に脊髄液内に移行することが認められている<sup>6) 17)</sup>のであるから、頭蓋内病巣部への薬剤の到達においてもSMに比べて劣るとも考えられない。そう考えると、INHに劣っていたのは治療開始時期がおくられて軟脳膜の結核性肉芽組織形成が著明になつてからなので、病巣内部の菌に作用する力がとくに妨げられるような状態にあつたのではないかと考えられる。

他方、感染局所(脳)から内臓に転移した菌についてみると、INHはSMよりも強い抗菌作用を示して

いる。すなわち、感染1日後から治療したSM群とINH群とのツ・アレルギーをみると、治療期間中にSM群では全例陽転したのに対し、INH群ではほとんど陰性であった。このことは、頭蓋内から転移した菌に対しては、SMよりも少ない投与量でINHはむしろbacteriocidalに働いて、ツ・アレルギーを出現せしめなかつたのであろうと推察される。

本実験においては、いずれの治療群も45日間の治療で感染後減少した体重が増加し、後肢麻痺も一応消退する程度にまで治療効果が認められた。しかし、治療を中止するとその後一定期間内に再び発症して死亡した。これは培養および病理所見に述べたように、完全に治癒していない時期に治療を打切つてしまつたことによるからであろうが、これはSteenken<sup>2) 3)</sup>らが、6ヵ月もの長期間治療したにもかかわらず死亡した成績と結果において同じである。

皮下感染による実験的結核において、Steenken<sup>18)</sup>ら、あるいは岩崎<sup>19)</sup>らが300日におよぶ長期治療にもかかわらず肺、脾、淋巴腺の病巣に薬剤の作用しえない部分を認めているが、肺、脾よりも薬剤の滲透しにくい脳においては、一層その可能性は強いであろう。そして、治療後その病巣部に残存した菌数がたとえ0に近い少数であつても、脳自体には肺、脾におけるごとき免疫力に期待しえないために、やがて菌数を増加して後肢麻痺を惹起し、致命的に働さうものと考えられる。また、長期間生存した動物に特異的に認められる、脳室の拡張、脳水腫は、治療後この脳内に残存した病巣および結核菌によるものにほかならない。したがって治療効果の改善を望むには、長期間治療よりも、むしろSM、INHにまさる強力な抗結核剤の出現にまたねばならない。

## 結 論

テンジクネズミの脳内に人型結核菌を接種して実験的結核性髄膜炎を惹起せしめ、SM、INH単独あるいはSM-INH-PAS3者併用治療を行つた。

感染後、早期に治療した場合にはSM、INHのいずれの治療群も著明な効果を認めた。しかし、感染後後肢麻痺が出現する前後から治療を始めた群においては、同一投与量でINHはSMに劣る成績であつた。

感染1日後から治療した動物のツベルクリン・アレルギーは、SM群は治療期間中に全例陽転したのに対し、INH群では治療終了後2週目にいたつて陽転した。

SM-INH-PASの3者併用治療による成績は、単独治療に比べてよかつたが、治療終了後単独治療群と同様に約9週後に再発症がみられ、根絶的治療は困難であつた。

治療終了後、長期間生存した動物の脳内の菌数は非治療群に比べて、非常に少ないが、しかし、後肢麻痺を惹

起せしめ死にいたらしめている。これらの動物においては軟脳膜の結核性肉芽組織はきわめて軽度であるが、脳室の拡張、脳水腫が認められる。

撰筆に臨み御懇篤な御指導をいただいた前部長柳沢博士、現部長室橋博士、ならびに主任橋本博士に深甚なる謝意を表す。

#### 文 献

- 1) Stevens, R.P., Karlson, A.G. & Feldman, W.H. : Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 28 : 599, 1953.
- 2) Steenken, W.Jr., Wolinsky, E. & Pratt, P.C. : Am. Rev. Tuberc., 64 : 87, 1951.
- 3) Wolinsky, E., Pratt, P. & Steenken, W.Jr. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 714, 1954.
- 4) 高橋宏 : 結核, 31 : 212, 昭31.
- 5) 高橋宏 : 結核, 34 : 549, 昭34.
- 6) 日比野進・磯江驥一郎 : 結核の化学療法, 176, 医学書院, 昭28.
- 7) Dissmann, E. & Iglauer, E. : Beitr. Klin. Tuberk., 109 : 8, 1953.
- 8) Hobby, G.L., Lenert, T.F., Rivoire, Z.C., Donikian, M. & Pikula, D. : Am. Rev. Tuberc., 67 : 808, 1953.
- 9) 岩崎龍郎・橋本芳郎・工藤祐是・石崎政明・高瀬照・長田進 : 日本臨牀結核, 11 : 430, 昭27.
- 10) 岩崎龍郎・石崎政明・橋本芳郎・工藤祐是・村瀬貞男 : 日本臨牀結核, 12 : 107, 昭28.
- 11) 宮本泰・三浦馨・山崎久治 : 結核, 28 : 379, 昭28.
- 12) Anderson, T. : Lancet, 6999 : 756, 1957.
- 13) Appelbaum, E. & Anderson, T.A. : J.A.M.A., 156 : 673, 1954.
- 14) Mackaness, G.B. & Smith, N. : Am. Rev. Tuberc., 67 : 322, 1953.
- 15) Suter, E. : J. Exper. Med., 96 : 137, 1952.
- 16) 吉武洋海 : 結核, 31 : 228, 昭31.
- 17) 佐川一郎 : 結核, 31 (増刊号) : 44, 昭31.
- 18) Steenken, W. Jr., Wolinsky, J.E., Pratt, P.C. & Smith, M.M. : Am. Rev. Tuberc., 66 : 194, 1952.
- 19) 岩崎龍郎・橋本芳郎・村瀬貞男・工藤祐是・石崎政明・高井銀二 : 日本臨牀結核, 12 : 413, 昭28.