

テンジクネズミの実験的結核性髄膜炎について

4. Kanamycin 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 9 月 29 日

新抗結核性剤 Kanamycin (KM) については、すでに多くの基礎実験^{1)~4)}によつて Streptomycin (SM) に匹敵しうる顕著な効果のあることが証明され、さらに現在の主要な抗結核剤 (SM, INH, PAS) に耐性をもつ菌の感染⁵⁾に対しても、この物質が著明な治療効果を示すことが実験的結核症の治療実験によつて示されている。

また、臨床的^{6) 7)}にも広く用いられて、SM, INH, PAS の 1 ないし 3 薬剤耐性菌をもつ症例に対して十分治療効果を示すことが報告されている。

著者⁸⁾は、さきにテンジクネズミにおける実験的結核性髄膜炎の治療実験の成績を報告し、感染後早期に治療を始めれば、SM群、INH群ともに著明な効果がみられ、両者間にはほとんど差を認めがたいが、治療開始の時期を遅らせて後肢麻痺が出現してからでは、INH は SM より著しく劣る成績を示した事、さらにまたもつとも良好な成績をあげた SM-INH-PAS 3 者併用療法をもつても長期間の遠隔成績からすれば、髄膜炎の根絶的治療はきわめて困難であり、したがつてこれら 3 剤以外の強力な治療剤の出現が望ましいことなどを述べた。この意味から毒性⁹⁾の比較的少なく、しかも治療効果において SM に匹敵する KM を用い

て、前報告と同じような方法で惹起された感受性菌感染、あるいは耐性菌感染による実験的髄膜炎の治療を SM, INH と比較しながら行なつた。

〔実験 I〕 人型菌 H₂ 感性株感染動物における KM, SM および INH の治療効果

1) 実験方法および材料

薬剤感性 H₂ 株の凍結乾燥菌 1 mg/ml 菌液 0.1 ml (接種生菌数 20.0×10⁵) をテンジクネズミの脳内に接種した。使用動物の体重は 400~700 g で Römer 反応陰性の健康動物である。

実験群の編成：感染後治療開始までの日数を異にする 3 群に分けた。

A 群；感染 1 日後から 1 日 KM 20 mg で治療する。
B 群；感染 12 日後 (後肢麻痺出現前) から KM, SM INH の 1 日量 20 mg をもつて単独治療する。C 群；感染 13~14 日後 (後肢麻痺出現後) から KM, SM の各 1 日量 50 mg をもつて単独治療する。以上 3 群のすべてにおける治療期間は 45 日で、所定量の薬剤を蒸溜水 1 ml 中に含ませ、1 日 1 回腋窩筋肉内に注射し、45 日間連日投与を行なつたのち治療をうち切り、以後は症状の消長を観察した。なお、治療に用いた KM

表 1 H₂ 感性株感染動物における KM, SM および INH の各治療動物の生存日数

実験群	感染から治療までの日数	治療薬剤と 1 日投与量	治療期間中の死亡		治療終了後の死亡	平均生存日数
			実験群中の死亡数	感染後の生存日数	感染後の生存日数	
対 照	/	非 治 療	4/4	16, 16, 19, 22		18.2
A	1	KM 20	2/5	32, 42	80, 83, 114	70.2
B	12	KM 20	3/10	23, 30, 35	80, 84, 97, 114, 124, 124, 128	83.9
		SM 20	0/9		119, 135, 148, 171, 171, 182, 201, 221, 221	175.4
		INH 20	6/9	20, 20, 20, 24, 29, 30	118, 128, 135	48.2
C	13~14 後肢麻痺出現後	KM 50	8/15	17, 18, 29, 32, 35, 35, 42, 55	109, 128, 128, 128, 134, 134, 135	77.2
		SM 50	3/9	33, 36, 42	167, 171, 231, 240, 240, 240	155.5

注：*感染後240日の実験終了時に後肢麻痺が消失した状態で生存した動物

はカナマイシン硫酸塩 Lot 15 で製造当初¹⁾のものよりさらに精製され、756mcg/1,000mcg の純度のものでは

る。動物への投与量は free base に換算した値である。また、SM は DHSM を KM 同様 free base に換算

して使用した。

感染後は体重の増減、後肢麻痺発現を観察し、治療終了後も同様の観察を続けた。死亡した場合にはただちに体内生菌数を培養によって調べて成績の参考にした。

2) 実験成績

各治療動物の生存日数は表1に示すごとくである。感染1日後から KM で治療した A 群は、非治療対照群の平均生存日数が 18.2 日であるのに対して 70.2 日で著しい延命効果が認められた。しかし治療中全例に後肢麻痺が出現して5例中2例が死亡し、残る3例も治療中止後比較的早い時期(35~69日)に死亡した。この点は、先に報告⁹⁾した感染1日後から SM あるいは INH をもって単独治療した成績において、両群とも治療中の後肢麻痺あるいは死亡例がなく、治療中止後相当長期間生存したのと明らかに異なる成績である。また、この KM 治療群の死亡時の体内生菌数は表2に示すごとくで、感染後同じ日数で屠殺培養した SM および INH 各治療動物の成績に比べて非常に多くの菌が全臓器から分離された。

表2 感染1日後から治療した動物の死亡時の体内生菌数

実験群	感染後 日数	臓器 10 mg 中の結核生菌数				
		脳	脊髄	頸部 リンパ	肺	脾
対照	△ 22	2,300	800	6,000	20	750
KM 治療群	△ 32	780	230	500	1	180
	△ 42	63	300	610	0	170
	△ 80	1,600	—	—	—	—
	△ 114	1,700	200	240	8	12
※ SM 治療群	46	22	—	—	0	0
	46	14	—	—	0	1
	70	1	—	—	—	0
	70	0	—	—	—	0
△ 109	8	—	—	2,800	—	1
	8	—	—	—	—	—
※ INH 治療群	46	24	—	—	0	0
	46	38	—	—	0	0
	70	27	—	—	—	1
	70	310	—	11	—	0

注：※ 前の実験において感染1日後から SM, INH で治療した動物の成績

△ 観察中に死亡のため、剖検培養したもの、その他の動物は屠殺培養したものである。

次に、感染12日後から治療した B 群における治療効果をまず平均生存日数からみると、表1のごとく、感染後 SM 治療群 (175.4 日)、KM 治療群 (83.9日) INH 治療群 (48.2 日) の日数で死亡している。また各治療群の動物の死亡時期についてみると、図1のごとく、治療中に SM 治療群 9 例中 0、KM 治療群 10

例中 3 例、INH 治療群 9 例中 6 例がそれぞれ死亡して、KM 治療は同一投与量においては SM に劣ることが明らかに示された。後肢麻痺の出現は、治療動物では非治療対照群より多少遅れる程度で全動物に出現した。

治療期間内生存を続けた各治療群のうち、SM, INH 治療動物では治療中に後肢麻痺がほとんど消失したのに対し、KM 治療動物では多少軽減された程度に止まり、その結果治療中止後の死亡が早くからみられる。

後肢麻痺が出現してから治療を開始した C 群では、1日 50 mg の大量投与にもかかわらず、SM 治療でも 9 例中 3 例が治療中に死亡した。KM 治療群では一層死亡率が高く半数以上 (15 例中 8 例) が死亡した。KM 50 mg の大量投与によって治療期間中生存を続けた動物は、体重が増加し一時後肢麻痺も消失したが、SM 群の動物が死亡する以前に全例死亡した。

〔実験II〕 人型菌 H₂ 株から分離した SM 耐性菌および KM 耐性菌感染に対する KM, SM および INH の治療効果

1) 実験方法および材料

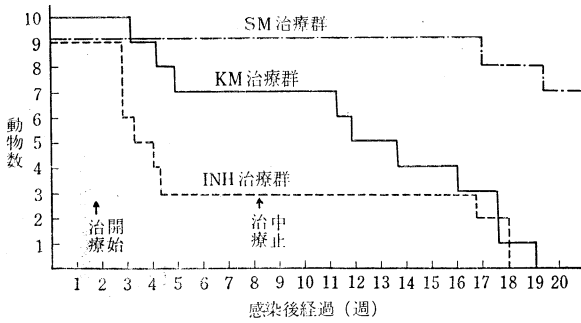
薬剤に全く曝されたことのない H₂ 感性株を薬剤含有培地に数代継代培養して、SM あるいは KM100 γ/ml 含有培地に発育する SM 100 γ 耐性菌、および KM 100 γ 耐性菌を分離した。この耐性菌をそれぞれの薬剤含有培地に 2 代継代後、薬剤を含まぬ小川培地で増菌して、2 代目の 8 日培養菌をとり水晶球入りコルベンで 1 mg/ml の菌液を作り、その 0.1 ml ずつをテンジクネズミの脳内に接種した。使用動物の体重は 400~620 g で治療群別の体重を大体等しいように組合せに注意した。

実験群の編成は次の表のごとくである。薬剤投与はいずれも注射によって 45 日間連日投与を行なつて治療を

〔実験II〕 実験群の編成

感染菌	感染後治療までの日数	薬剤および投与量 (mg)	動物数
SM 耐性菌	10	対照	5
		KM 20	6
		KM 40	6
		SM 20	5
		INH 20	5
SM 耐性菌	12~14 (後肢麻痺 出現後)	KM 60	5
		SM 30	5
		INH 30	5
KM 耐性菌	10	対照	5
		KM 40	5
		SM 20	5
		INH 20	5
		INH 20	5

図1 感染12日後からKM, SMおよびINHで治療した動物の死亡時期



うち切り, 以後 69 日まで観察を続けたのち全生存動物を屠殺剖検して実験を終了した。

2) 実験成績

感染菌の接種生菌数はそれぞれ R-SM 株 $31 \times 10^5 / 0.1 \text{ mg}$, R-KM 株 $51 \times 10^5 / 0.1 \text{ mg}$ で, SM, KM に対する耐性菌の純度は表3 (a, b) に示すごとくで

表 3-a H₂R-SM 株の SM, KM 耐性純度

薬剤濃度 (γ/ml)	接種菌量 (mg)					
	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	
対 照 (0)	∞	∞	卅	卅	31	
SM	1	∞	∞	卅	卅	30
	10	∞	∞	卅	卅	29
	100	∞	∞	卅	卅	15
	1,000	∞	∞	卅	卅	23
KM	1	+	3	0	0	0
	10	0	0	0	0	0

Kirchner 寒天培地使用

表 3-b H₂R-KM 株の KM, SM 耐性純度

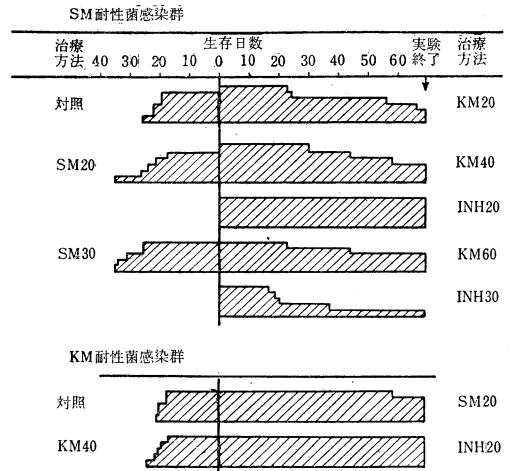
薬剤濃度 (γ/ml)	接種菌量 (mg)					
	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	
対 照 (0)	∞	∞	卅	卅	51	
KM	1	∞	∞	卅	卅	46
	10	∞	∞	卅	卅	41
	100	∞	∞	卅	卅	10
	1,000	∞	∞	卅	卅	9
SM	1	∞	∞	卅	卅	25
	10	卅	0	0	0	0

Kirchner 寒天培地使用

ある。R-SM 株は SM 100γ および $1,000 \gamma$ の高濃度含有培地にもほぼ完全耐性を示したが, R-KM 株は KM 100γ および $1,000 \gamma$ の高濃度には不完全耐性を示した。かつ SM 1γ 含有培地にも 50% 程度に発育する不完全耐性菌群であつた。

各治療群の生存日数は図2のごとくである。すなわち, R-SM 感染群の場合対照群の平均生存日数が 21.6 日であるのに対して, SM 治療群では 24.6 日と大差ない。KM 治療群ではこれに対して相当の治療効果がみられた。

図 2 H₂R-SM, R-KM 株感染群の KM, SM, INH 治療動物の生存動物



すなわち, 実験終了まで生存した動物数は KM 投与量 20 mg では 6 例中 2 例, 40 mg 群では 6 例中 3 例で, このうち後肢麻痺の消失した状態で生存していたものが 1 例ずつあつた。INH 治療群では 5 例とも全部最後まで生存し, 後肢麻痺も消失して著しい治療効果が認められた。

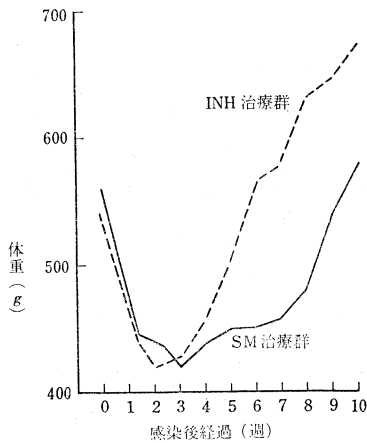
しかし, 治療開始を遅らせて後肢麻痺が出現してから始めた場合には, SM 治療群は 30.6 日と対照群に比べて多少長く生存したにすぎないが, KM 治療群では 5 例中 3 例までが実験終了まで生存した。INH 治療群は治療を遅らせることによって治療成績は悪くなり, 5 例中 1 例が最後まで生存したに止まった。

R-KM 感染群の成績は, R-SM 感染群の場合とは全く逆である。すなわち, 対照群の平均生存日数が 20.0 日であるのに対して, KM 治療群は 21.2 日でほとんど差がない。これに対して, INH 治療群は実験終了時には後肢麻痺が消失し全例 (5 例) が生存したのに比べて, SM 治療群では 1 例が感染 58 日目に後肢麻痺を発症して死亡し, 残る 4 例では後肢麻痺が消失して最

後まで生存した。

SM, INH 両治療群の感染後の平均体重を図示すると図3のごとくで、SM治療群の体重の増加がINH治療群に比べて著しく劣っていることが分かる。この点からみると、SM治療群中の1匹の死亡は偶然のことではないように思われる。その理由は、感染に用いたR-KM株が同時にSM 1 γ 不完全耐性菌であったことがあげられてよいのではあるまいか。

図3 H₂R-KM株感染動物のSMあるいはINH治療に伴う体重の経過



考 察

SM, INHのごとき強力な薬剤を用いて長期治療^{10)~12)}を行なっても、実験的結核症ことに髄膜炎¹³⁾¹⁴⁾に対しては、細菌学的ならびに組織学的意味における根絶的治療効果をあげないことがすでに報告されている。これは、病巣の複雑性によるものであろうし、したがって化学療法にも限界を考えないわけにはゆかない。

薬剤投与後の治癒過程は、薬剤によつてまず菌の増殖が阻止され、ついで宿主の防御機構(免疫力)の増強に伴う宿主側の優位の程度によつて左右されると考えられるが、脳内感染という特殊な臓器への感染実験においては、感染局所臓器における宿主側の免疫力に多くを期待できないために、たとえ少数菌感染¹⁵⁾の場合でも、あるいは感染後長期間治療¹⁴⁾した場合でも遂には致命的な結果に終わってしまうものであろう。したがって、本実験におけるような脳内接種の場合には他の感染方法による実験的結核症における場合に比べて、抗結核剤の治療効果が常に最少限度に評価されるのはやむをえないと思う。たとえば、静脈内¹⁶⁾に弱い感染を行なつた動物にはある程度治療効果を認めうるPASも、Steenken¹³⁾らが脳内に強く感染した場合に全く治療効果が認められなかつたように、一般にその薬剤の抗菌力が弱い場合には感染方法ないし条件の選び方によつて、治療効果が認められなくなる場合が起こりうるわけである。しか

し、PAS以上の抗菌力³⁾⁴⁾¹⁷⁾をもつ薬剤においても、強力に感染した場合には治療効果がある程度減殺されて表現されるが、それでも対照とする非治療あるいは他薬剤群との比較から相対的に知ることができる。

本実験においては実験的髄膜炎に対するKMの効果を検討する目的で2つの実験を行なつた。まず薬剤感受性菌を脳内に感染した動物に対してKM治療を行ないSM, INHの治療効果と比較したところ、感染1日後から治療を行なつてもKM治療では5例中2例が死亡し、感染12日後からの治療では、治療中死亡はINH群より少ないが治療中止後短期間に死亡し、同一投与量ではSM治療より明らかに治療成績は劣ることが分かつた。ところがR-SM感染動物に対しての治療成績をみると、感染10日後すなわち後肢麻痺出現直前から治療した場合には、KM治療群で半数が実験終了まで生存したが、対照としてのINH治療群では成績ははるかによく、全例に著明な治療効果を示していた。これは治療開始が多少早かつたためであろう。治療開始を遅らせて後肢麻痺が出現してから治療した場合には、KM群では5例中3例が、これに対してINH群では5例中1例がそれぞれ実験終了まで生存し、SM, INH, KM治療群中KMがもつとも優れていた。すなわち、SM耐性菌に対してはKMは明確な治療効果を示すことが分かる。しかし、KM耐性菌感染実験では、SMは必ずしも予想通りの成績を示さなかつた。すなわち、過去における治療実験成績からすれば感性菌脳内接種の場合に、感染後早期に治療を開始さえすれば、45日間の治療期間内に動物は死亡することなくSM, INHの両者とも同程度の治療効果を期待しえたわけである。しかるに、本実験においてはR-KM感染動物に対して、SMは明らかにINHより劣る成績を示した。その理由は、おそらくは感染した100 γ KM耐性菌が同時にSMに対しては1 γ 不完全ながら耐性であつたということが、SMの治療効果を妨げたのではないかと思う。

結 論

人型結核菌H₂株をテンジクネズミ脳内に接種して実験的結核性髄膜炎を惹起させ、KMの治療効果をSM, INHと比較した。

薬剤感受性菌感染後早期に治療を開始した場合、KMはSM, INHよりも同一投与量では劣つていた。しかし、SM耐性菌感染動物に対しては、治療効果は相当良好で、とくに後肢麻痺が出現してから治療した場合にもINHに勝りKMの有用性を示した。また、KM耐性菌感染動物に対しては、もちろんKMは治療効果を示さず、これに対してINHは著しい治療効果を示したが、SMはINHよりやや劣つていた。これは

KM 耐性菌が同時に SM 17 耐性を示す 菌群であつたためであらう。

本成績のうち実験 I は、The New York Academy of Sciences の Kanamycin シンポジウム (1958. VII) において、柳沢¹⁸⁾ 前部長によつて報告された。

擲筆にのぞみ御懇篤な御指導、御校閲を頂いた前部長柳沢博士、現部長室橋博士、ならびに室主任橋本博士に深甚なる謝意を表する。

文 献

- 1) 柳沢謙・佐藤直行：日本細菌学誌，12：857，昭32.
- 2) 柳沢謙・金井興美・立花暉夫：日本細菌学誌，12：919，昭32.
- 3) 金井興美・柳沢謙：日本細菌学誌，13：1，昭33.
- 4) 柳沢謙・金井興美・中島誠・勝山茂・前田徹：日本細菌学誌，13：714，昭33.
- 5) 柳沢謙・金井興美：日本細菌学誌，13：95，昭33.
- 6) 宝来善次：第34回結核病学会報告，昭34.
- 7) 五味二郎：第34回結核病学会報告，昭34.
- 8) 高橋宏：結核，34：607，昭34.
- 9) Takeuchi, T., Hikiji, T., Nitta, K., Yamazaki, S., Abe, S., Takayama, H., & Umezawa, H. : J. Antibiotics, 10 : 107, 昭32.
- 10) 岩崎龍郎・橋本芳郎・村瀬貞男・工藤祐是・石崎政明・高井鎌二：日本臨牀結核，12：413，昭28.
- 11) Steenken, W. Jr., Wolinsky, J.E., Pratt, P.C., & Smith, M.M. : Am. Rev. Tbc., 66 : 194, 1952.
- 12) 宮本泰・三浦馨・山崎久治：結核，28：19，昭28.
- 13) Steenken, W. Jr., Wolinsky, J.E., & Pratt, P.C. : Am. Rev. Tbc., 64 : 87, 1951.
- 14) Wolinsky, J.E., Pratt, P.C., & Steenken, W. Jr. : Am. Rev. Tbc., 70 : 714, 1954.
- 15) 高橋宏：結核，31：212，昭31.
- 16) 宮本泰：臨床，4：307，昭26.
- 17) Steenken, W. Jr., Montalbino, V., & Thurston, J.R. : Ann. N.Y. Acad. Sci., 76 : 103, 1958.
- 18) Yanagisawa, K., Kanai, K., Sato, N., Hashimoto, T., & Takahashi, H. : Ann. N.Y. Acad. Sci., 76 : 88, 1958.