

モルモットの実験的結核症に対して 4,4'-Diisoamyloxythiocarbanilide (Isoxyl®) を用いた治療実験

金井 興美・岡本 茂広・室橋 豊穂

国立予防衛生研究所結核部 (部長 室橋豊穂)

受付 昭和38年6月8日

新しい抗結核剤として最近欧米で検討されている、チオウレアの二重置換誘導体 4,4'-Diisoamyloxythiocarbanilide (Isoxyl®) について、本研究室は試験管内実験、マウスでの治療実験によつてその有効性を確認した¹⁾²⁾。ことにマウスの致死感染に対してこの物質はきわめて顕著な延命効果を示し、その成績は試験管内での発育阻止効果からの期待をはるかに上回るものであつた。このような経験のもとに著者らはモルモットの実験結核症に対する Isoxyl の治療効果の検討を計画し、ストレプトマイシン (SM と略)、カナマイシン (KM と略)、イソニアジッド (INH と略) との比較、あるいはそれらとの併用効果についても実験を行なつたので報告する。

実験材料と方法

実験は体重 450 g 前後の白色健常モルモットの雄を使用した。これらの動物に対し牛型結核菌 Ravenel 株の小川培地上発育 0.1 mg をもつて、右下腹部において一様に皮下感染を行なつた。感染後 6 週間、体重変化を観察しつつ飼育し、ここで表 1 に示したように、10 群に群別して対照群と治療群とした。そして対照群のうち 3 匹を剖検し、感染の進展状態を確認してから治療を開始した。Isoxyl については 1 日量を 100 mg, 50 mg, 25 mg とする 3 群とし、別に SM 10 mg, KM 20 mg, INH 2 mg のそれぞれ単独投与群を設

置し、さらに Isoxyl 25 mg と上述の 3 剤との併用群をもうけた。投与方法は Isoxyl については経口的に行ない、250 mg の治験用錠剤をさらにメリケン粉で稀釈錠剤として用い、これを指頭をもつて動物の食道口に確実に挿入した。他の薬剤は腋下部に皮下注射で投与した。治療は日曜を除いて毎日行ない、5 週間継続した。ここで投与を中止して 3 日後に解剖して、各群の結核罹患度を比較検討した。観察は肺、肝、脾における結核病巣の拡がり、脾重量、リンパ腺の腫脹の 3 つの面を比較して行なつた。

実験結果

はじめに体重変化について比較してみると、図 1 に示

Table 1. Design of Experiment

Group	Number of guinea pigs	Treatment		
		Drug used	Daily dose	Administration route
1	7	None		
2	5	Isoxyl*	100 mg	Per os
3	4	Isoxyl	50 mg	Per os
4	5	Isoxyl	25 mg	Per os
5	4	Streptomycin	10 mg	subcutaneously
6	4	Kanamycin	20 mg	Subcutaneously
7	4	Isoniazid	2 mg	Subcutaneously
8	5	Isoxyl Streptomycin	25 mg 10 mg	Per os Subcutaneously
9	5	Isoxyl Kanamycin	25 mg 20 mg	Per os Subcutaneously
10	4	Isoxyl Isoniazide	25 mg 2 mg	Per os Subcutaneously

Note: *4,4'-Diisoamyloxythiocarbanilide

Koomi KANAI, Shigehiro OKAMOTO and Toyoho MUROHASHI (Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Kamiosaki-Chojamaru, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan): Treatment of Experimental Tuberculosis of Guinea Pigs with 4,4'-Diisoamyloxythiocarbanilide (Isoxyl®)-Kekka-ku, 38 (11): 470~473, 1963

したように、治療開始までの6週間の体重増加曲線(全動物の平均値)はきわめてゆるやかであつて、これが正常でないことは破線で示された非感染健康動物の体重曲線と比較すれば明瞭であろう。また、治療開始とともに SM, INH, KM 3群, あるいはそれらと Isoxyl の併用

Fig. 1. Average Body Weight Change of Each Experimental Group

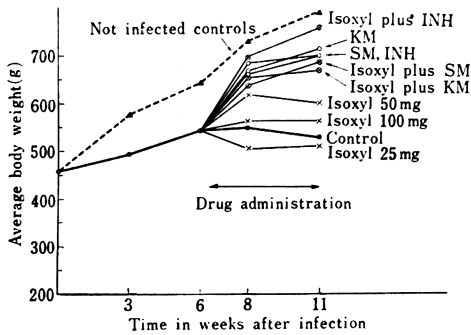
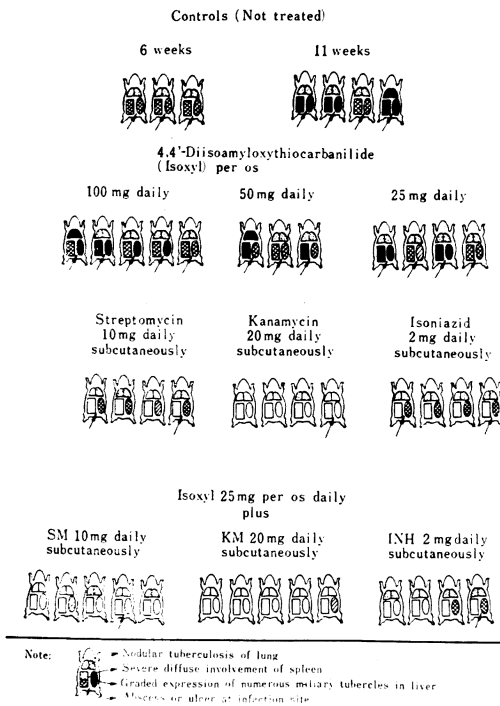


Fig. 2. Results of Therapy



群は急激な体重増加を示したが、Isoxyl 3群においては非治療群と大差はなかつた。この体重変化の傾向差は剖検所見よりみた薬剤効果の程度をほぼ正しく示唆している。図2には肺、肝、脾における病変と接種局所の変化を比較して示した。ただし、Isoxyl 25 mg, 50 mg 群の

それぞれ1匹は実験中に事故死したので除いた。すなわち、この図からも SM, KM, INH のすぐれた治療効果が認められるが、Isoxyl については治療効果がみられなかつたばかりでなく、3週における対照群の病変より考えれば、Isoxyl の投与にもかかわらず感染はさら

Table 2. Spleen Weight of Guinea Pigs of Each Experimental Group

Group	Treatment	Spleen weight (g)				(mean)
1	Not-treated	23.0	12.5	3.8	1.7	(8.2)
2	Isoxyl 100 mg	6.25	5.5	5.35	4.7	2.8 (4.91)
3	Isoxyl 50 mg	3.9	2.9	2.8		(3.2)
4	Isoxyl 25 mg	15.8	5.9	2.75	2.6	(6.76)
5	SM 10 mg	2.75	2.3	1.5	1.2	(2.58)
6	KM 20 mg	1.3	1.3	1.1	1.05	(1.19)
7	INH 2 mg	2.95	2.4	2.2	1.8	(2.34)
8	Isoxyl 25 mg SM 10 mg	1.9	1.3	1.4	1.2	1.0 (1.36)
9	Isoxyl 25 mg KM 20 mg	2.1	1.9	1.8	1.3	1.25 (1.67)
10	Isoxyl 25 mg INH 2 mg	2.1	2.1	1.8	1.35	(1.84)

Table 3. Tuberculous Involvement (Swelling) in the Lymphnodes of Guinea Pigs of Each Experimental Group

Group	Treatment	Index* of tuberculous involvement				(mean)
1	Not-treated	23	20	19	16	(19.5)
2	Isoxyl 100 mg	22	22	20	18	(20.4)
3	Isoxyl 50 mg	21	19	11		(17.0)
4	Isoxyl 25 mg	22	20	19	17	(19.5)
5	SM 10 mg	10	7	5	2	(6.0)
6	KM 20 mg	5	5	2	0	(4.0)
7	INH 2 mg	11	10	8	3	(8.0)
8	Isoxyl 25 mg SM 10 mg	7	2	2	2	2 (1.36)
9	Isoxyl 25 mg KM 20 mg	4	3	2	2	1 (2.0)
10	Isoxyl 25 mg INH 2 mg	6	5	4	2	(4.25)

Note: *Swelling of the lymphnodes (kneefold, inguinal axillary, retroperitoneal, portal, tracheal and retrosternal) was described by the symbols one plus, two plus, and three plus, representing grain-sized, bean-sized, and still more enlarged swelling respectively. Then, the summed numbers of "plus" of all the lymphnodes was calculated, and this is the index.

に進展したことが分かる。KM の投与量は SM の2倍、INH の10倍ではあるが、もつともすぐれた効果を発揮した。ところで SM, KM, INH に対して Isoxyl 25 mg がはたして併用効果を示したかという点になると、その

判定はこの剖検所見からはきわめて困難である。しかし併用効果があつたとしてもその程度はごくわずかであろう。脾重量、リンパ腺腫脹の比較を示した表 2, 3 からみても、よく図 2 の傾向と一致し、ことにリンパ腺腫脹の程度からみると、Isoxyl の併用効果もある程度は認められる。

考 察

上述のごとく、この実験においては Isoxyl の抗結核性が証明されなかつたが、これは本研究室が前に経験したマウス実験結核症に対するすぐれた有効性²⁾からみて、いささか意外であつた。マウスでの実験にはやはり強毒牛型株 Ravenel 株を使用しており、また感染の強さも 3 週間後で死亡する強いものであつた。また投与量もマウス 1 匹 1 日量 1 mg で有効であつたので、per kg でいえばモルモット 1 匹 1 日量の 25, 50, 100 mg は満足すべき量であろう。投与期間もまたマウスでの 2 週間に比較して 5 週間の長きにわたつた。そこで強いて無効であつた理由を求めれば、それはモルモットでのこの実験においては、治療開始までの 6 週間に感染が進展し、ある程度病巣が確立していたという点にあるかもしれない。これに対してマウスでの実験においては Isoxyl 投与は感染翌日から始められているのである。

Isoxyl を用いたモルモットの実験結核症の治療実験について、Tacquet ら³⁾の報告があるが、彼らは皮内に H₃₇R_v 株を接種して発生した潰瘍の縮小をみて、Isoxyl の有効性を表現しており、われわれの場合と方法を異にしている。しかしいずれにせよ、われわれの実験条件に

おいても SM, KM, INH はきわめて顕著な効果を發揮しているので、Isoxyl の抗結核剤としての価値にはおのずから制約があるであろう。

新しい抗結核剤と期待されるものの効果を動物実験で検討する場合、現在では主としてマウスが用いられるが、最終的な価値評価の手段として、モルモットの確立病巣に対する治療効果をみることは、いまだ捨てられぬ行き方であると著者らは考えているが、本報告はこの立場を支持する一例であろう。

結 論

モルモットの進展せる実験的結核症に対して、4,4'-Diisoamyloxythiocarbanilide (Isoxyl) の 1 日量、25, 50, 100 mg を用いて 5 週間治療を行なつたが、有効性を認めることができなかつた。他方 SM 10 mg, KM 20 mg, あるいは INH 2 mg の投与はきわめて顕著な治療効果を發揮した。これら 3 剤に対する Isoxyl 25 mg の併用効果も、著明ではなかつた。以前に本研究室が行なつたマウス実験結核症に対する Isoxyl 投与の著明な効果をも併慮すれば²⁾、Isoxyl の臨床効果は感染早期の症例において求められるべきであろう。

文 献

- 1) 小関勇一・賀来隆二：結核，38：62，昭 38。
- 2) 賀来隆二：結核，38：67，昭 38。
- 3) Tacquet, A., Macquet, V., Buu-Hoi, N. P., et Dat-Xuong, N.: Ann. L'institut Pasteur Lille, 40: 43, 1958~9.

Treatment of Experimental Tuberculosis of Guinea Pigs with 4,4'-Diisoamyloxythiocarbanilide (Isoxyl®).

Our laboratory has already confirmed the effectiveness of Isoxyl, a di-substituted derivative of thiourea recently investigated in western countries as a new antituberculous agent, by *in vitro* and in mouse experiments^{1),2)} Particularly, this drug showed a marked prolongation effect of survival time against fatal tuberculous infection of mice. The effect was more than our expectation derived from the *in vitro* growth-inhibitory effect of the drug against tubercle bacilli. Basing upon these experiences, a guinea pig experiment was designed by us to examine the therapeutic effect of Isoxyl against advanced tuberculosis of guinea pigs, especially in comparison with streptomycin, kanamycin, and

isoniazid. The combination effect of isoxyl with the above three drugs was also planned.

White male guinea pigs weighing about 450 g were used, and they were subcutaneously infected with 0.1 mg of the growth of *M. bovis* (Ravenel strain) on Ogawa glycerol egg medium. The infection was conducted at the right side of the under abdominal wall. For six weeks after infection, they were nourished with occasional checking of body weight. Then, they were divided into 10 groups as shown in Table 1, and 3 animals of the control group were necropsied to confirm the expected advanced state of tuberculous infection. At the sametime, the drug administration was started against the remaining 9 groups. As for Isoxyl, the daily dose was 100 mg, 50 mg, or 25 mg. In other 3 groups, streptomycin (10 mg), kanamycin (20 mg) or isoniazid

(2 mg) was given respectively. In the remaining 3 groups, the above 3 drugs were administered in combination with isoxyl of 25 mg respectively. The drug administration was conducted *per os* for Isoxyl, and subcutaneously for other drugs, everyday except Sunday for 5 weeks. Three days after the cessation of treatment, all the animals were sacrificed to observe the grade of tuberculous involvement. Observation was made especially concerning the extension of tuberculous lesion in the lungs, liver and spleen, and also concerning spleen weight and swelling of the lymphnodes.

The results are shown in Fig. 1, Fig. 2, Table 2 and Table 3. In every aspect, the remarkable effectiveness of streptomycin, kanamycin and isoniazid was revealed, but no significant effect was demonstrated concerning Isoxyl. The combination effect of Isoxyl with the other 3 drugs was only slight. These results are unexpected in view of our previous experiences on mice. The comparison of experimental conditions between our mouse and guinea pig experiments suggests, however, that Isoxyl might be effective only when the drug administration is initiated soon after infection.