

二次抗結核薬の治療効果に関する実験的研究

(その 1)

多 賀 誠

結核予防会結核研究所 (所長 岩崎 竜郎)

名古屋大学医学部日比野内科 (教授 日比野 進)

受付 昭和 39 年 7 月 27 日

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE EFFECT OF SO-CALLED SECONDARY ANTITUBERCULOSIS DRUGS

(1) Combination Effects of SM-INH-PAS, SM-INH-TH and
KM-TH-CS on Experimental Tuberculosis in Mice

Makoto TAGA*

(Received for publication July 27, 1964)

This experiment was carried out 1) to examine the difference in therapeutic effects between the so-called primary and secondary combined antituberculosis drugs, and 2) to establish the method clarifying the difference in the effect of the combined therapy.

Young ddY female mice, intravenously infected with $H_{37}Rv$ (v. u. 8.5×10^6) and left untreated for 3 weeks, were divided into 4 groups according to the treatment received: SM-INH-PAS, SM-INH-TH, KM-TH-CS and untreated control. Each of the groups was necropsied at the end of any one of the following periods: 3-week chemotherapy, 4-week non-treatment period following 3-week chemotherapy, 6-week chemotherapy, and 6-week non-treatment period following 6-week chemotherapy. SM 10 mg/kg and KM 20 mg/kg were administered twice weekly subcutaneously, and INH 2 mg/kg, TH 4 mg/kg, PAS 200 mg/kg, and CS 10 mg/kg orally once daily for six days weekly.

Each mouse was examined for body weight, macroscopic changes of lung lesions, lung weight, spleen weight, and amount of viable tubercle bacilli in the lung and the liver at necropsy.

Results: 1. In comparison of the effect of antituberculosis drugs on experimental tuberculosis in mice, it was thought suitable to necropsy the animals at the end of the 6 week treatment starting at the beginning of the 4th week of the infection, and to compare the degree of macroscopic involvement of the lung, lung weight, and the amount of viable tubercle bacilli in the lung.

2. Spleen weight, the amount of tubercle bacilli in the liver and the change in body weight during chemotherapy were unrelated to the evaluation of the effect of chemotherapy. When mice were left untreated after the cessation of chemotherapy, the difference of the involvement between the treated and untreated animals became obscure.

3. The effect of combined chemotherapy of SM-INH-PAS and SM-INH-TH were superior to that of KM-TH-CS. Comparing SM-INH-PAS with SM-INH-TH, the latter tended to be superior to the former, judging from the lung weight and the amount of viable tubercle bacilli in the total lung.

* From 1st Department of Internal Medicine, Nagoya University School of Medicine.

緒 言

1次抗結核薬に対して耐性を獲得した肺結核症例に対する2次抗結核薬の治療は、現在もつとも興味ある問題の一つであり、多くの臨床的研究が行なわれている。しかしそれらの症例は過去の病歴が多種多様で、各群の背景をそろえることが困難であり、各種の成績の比較検討が容易ではない。初回治療例における化学療法の効果については、動物実験においてある程度の模型実験ができるが、2次抗結核薬を取扱う場合の動物実験は、まず第1に人体例における再治療例に類する治療困難病変の実験的作製が困難なこと、および1次抗結核薬に耐性を有する菌ことにINH耐性菌の感染それ自身が必ずしも容易ではないというような条件に阻まれて適当な模型実験が困難である。

著者は1次抗結核薬の各種併用の治療効果を1次抗結核薬のそれと比較し、一方1次抗結核薬耐性菌感染における治療の問題を検討した。

実験 1: マウス実験的結核症に対する SM・INH・PAS, SM・INH・TH, KM・INH・CS の治療効果の比較

目 的

1次および2次抗結核薬各種併用の治療効果の比較を目的とし、また一方効果の差を明らかにするための実験

方法の確立をも一つの目的とした。

方 法

幼若 ddY 系雌性マウスに Sauton 培地 2週間培養の H_3R_v 0.5 mg (v.u. 8.5×10^6) を尾静脈内接種し、3週後から4群に分けて治療を開始した。I群は SM・INH・PAS, II群は SM・INH・TH, III群は KM・TH・CS, IV群は無治療対照とし、おのおの3週間治療後5匹剖検、3週間治療し、次いで4週間放置後5匹剖検、6週間治療後10匹剖検、6週間治療し、次いで6週間放置後10匹剖検した。薬剤投与量は強力な治療効果が予想される SM, KM, INH, TH は人間に通常使用する量の半量 (SM 10 mg/kg, KM 20 mg/kg, INH 2 mg/kg, TH 4 mg/kg) を使用し、一方治療効果の劣ると考えられる PAS, CS は人間に通常使用する量 (PAS 200 mg/kg, CS 10 mg/kg) を使用した。なお SM, KM は週2回皮下注射し、他は週6回経口投与を行なった。

治療効果の判定には青木らの考案した0度から5度までの肉眼病変判定基準¹⁾を用い、さらに平均体重、肺・脾の重量、肺・肝内生菌数を測定した。

成 績 (表 1)

毎週各群の平均体重を測定したところ (表略)、各群の平均体重は菌接種時 17~18 g, 3週後 18~22 g, 7週後 21~24 g, 9週後 23~27 g, 15週後 27~30 g と各群一様の体重増加を示し、その間に差はみられなかつ

Fig. 1. The Mean Value Indicating the Degree of Macroscopic Changes of Lung Lesions

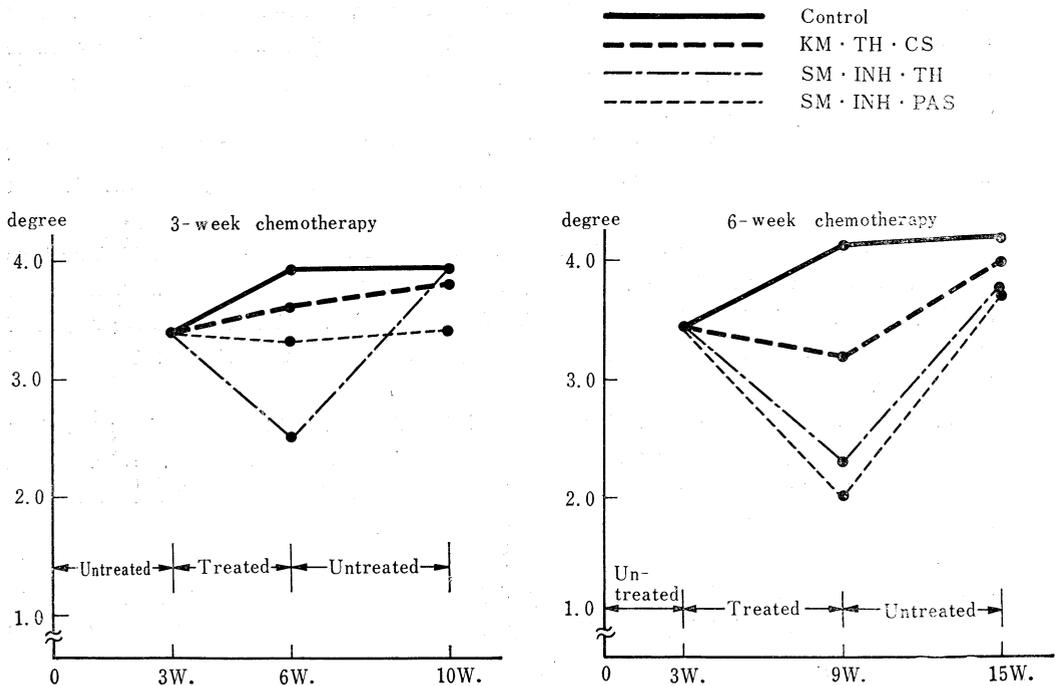


Fig. 2. Average Weight of the Lungs

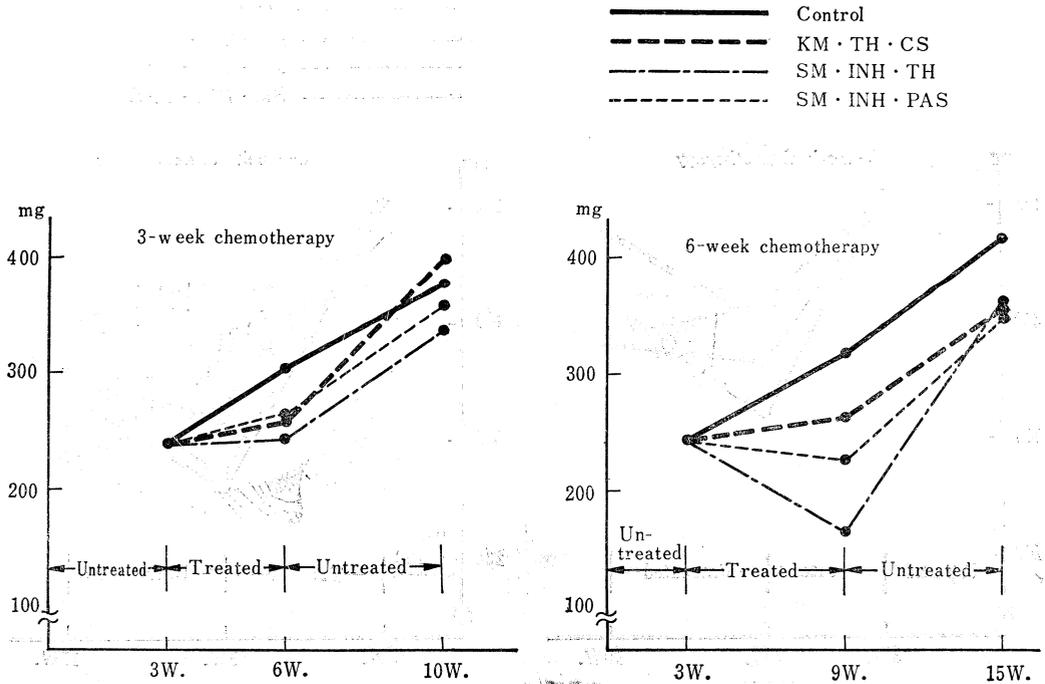


Table 1. Mean Value with Standard Deviation of the Degree of Macroscopic Changes in Lung Lesions, Weight of the Lungs and Spleen, and Logarithmic Number of Viable Tb-Bacilli in the Lungs and the Liver

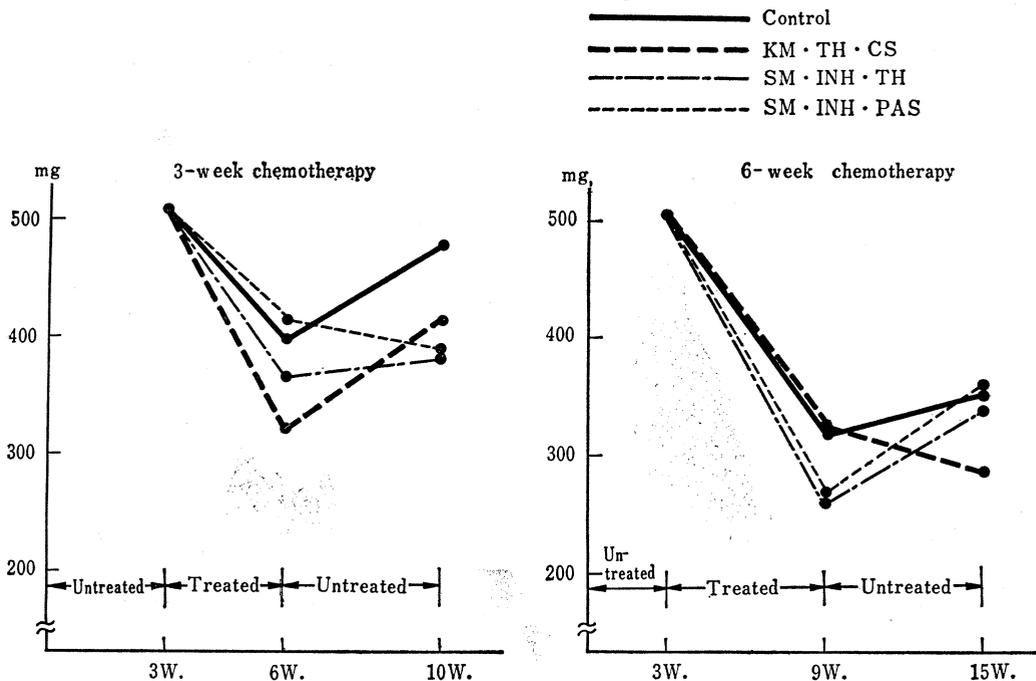
Groups		Degree of lung lesions	Lung weight	Spleen weight	Log. number of viable tb-bacilli in 10 mg lung	Log. number of viable tb-bacilli in total lung	Log. number of viable tb-bacilli in 10 mg lung
Pretreatment control (5)		3.4±0.7	246±21	510±188	4.53±0.27	5.92±0.32	4-††
3-w. chemotherapy	control (5)	3.9±0.2	306±34	397±92	4.61±0.24	6.10±0.25	3.40±0.15
	SM·INH·PAS (5)	3.3±0.8	264±17	414±115	3.88±0.43	5.29±0.50	3.52±0.15
	SM·INH·TH (5)	2.5±1.0	248±51	322±142	4.36±0.32	5.72±0.32	3.61±0.32
	KM·TH·CS (5)	3.6±0.3	260±23	369±119	4.88±0.29	6.18±0.28	3.75±0.18
4-w. nontreatment following 3-w. chemotherapy	control (5)	3.9±0.7	279±58	483±92	4.55±0.21	6.14±0.25	0.93±0.22
	SM·INH·PAS [†] (4)	3.4±0.7	361±57	393±89	4.18±0.08	5.76±0.13	2.88±0.19
	SM·INH·TH [†] (4)	3.9±0.5	338±94	389±70	4.68±0.24	6.20±0.27	3.08±0.25
	KM·TH·CS [†] (4)	3.8±1.0	401±128	416±173	4.74±0.15	6.37±0.19	3.10±0.11
6-w. chemotherapy	control (10)	4.1±0.4	322±45	319±85	4.77±0.31	6.18±0.26	3.03±0.43
	SM·INH·PAS (10)	2.0±1.0	229±52	269±77	4.10±0.55	5.45±0.55	2.86±0.45
	SM·INH·TH (10)	2.3±0.9	167±39	266±73	3.99±0.37	5.23±0.42	3.12±0.26
	KM·TH·CS (10)	3.2±0.8	264±66	326±88	4.53±0.51	5.95±0.61	3.08±0.17
6-w. nontreatment following 6-w. chemotherapy	control (10)	4.2±0.6	423±94	353±85	4.25±0.69	5.86±0.71	2.81±0.39
	SM·INH·PAS [†] (9)	3.7±0.4	360±62	357±114	4.58±0.62	6.08±0.61	3.05±0.51
	SM·INH·TH [†] (9)	3.8±0.5	365±36	339±81	4.23±0.34	5.79±0.33	2.71±0.27
	KM·TH·CS [†] (9)	4.0±0.6	356±71	286±82	4.53±0.43	6.18±0.44	2.90±0.24

() Numbers of mice.

† One mouse was excluded because of accidental death.

†† Number was roughly estimated because colonies could not be counted.

Fig. 3. Average Weight of the Spleen



た。
 肺の肉眼的病変度をみると (図 1), 3 週間治療群では, 無治療対照群に比べて SM·INH·TH 群は病変の軽いものが含まれたが, 治療中止 4 週間後には無治療群とほぼ同程度の病変を示した。KM·TH·CS 群, SM·INH·PAS 群は一部に軽い病変を示すものが含まれたが, 無治療群に比べてみるべき差はなかつた。6 週間治療群では, 各群間に優劣の差が現われた。対照群に平均 4.1 ともつとも重く, KM·TH·CS 群は平均 3.2 と病変の軽いものが含まれた。SM·INH·PAS 群と SM·INH·TH 群は平均 2.0, 2.3 とほぼ同程度にかつとも軽い病変を示した。しかし治療を中止して 6 週間放置しておいたところ, 各治療群ともに病変の増大, 増加を来たして無治療対照群と差がなくなつた。

脾重量はマウスの発育および病変の増大によつて増加を示すが, それをみると (図 2), 3 週間治療群では, 治療群は無治療群に比べて脾重量は少ないが, 各群間に差はなく, 治療中止によつて無治療対照群と同様の増加を来たした。6 週間治療群では各群間に優劣の差が現われた。無治療群は平均 322 mg ともつとも重く, KM·TH·CS 群は平均 264 mg で治療開始時と同程度または軽度増加を示し, SM·INH·PAS 群は平均 229 mg で治療開始時と同程度または軽度減少を示した。SM·INH·TH 群は平均 167 mg を示し, 治療開始時に比べてかなり軽くなつていた。治療中止後 6 週間放置して脾重量をみると, 治療群は無治療対照群とほぼ同じ傾向で脾重量

の増加をみたが, 無治療群よりは軽い値を保つていた。しかし各治療群の間に差はなくなつていた。

脾の重量をみると (図 3), 感染 3 週目 (治療開始時) では平均 510 mg を示した。3 週間治療群では治療開始時に比べて無治療群を含めた各群に脾重量の減少がみられたが, 各マウス間のバラツキが大で一定の傾向は求めえなかつた。治療中止して放置しても同様であつた。6 週間治療群では脾重量のバラツキは小さくなつたが, 治療の有無に関係なく各群とも治療開始時の平均 510 mg に比べて 266~326 mg と著明な脾重量の減少を認めたと各群間に差はなかつた。治療中止 6 週間放置した群では, 6 週間治療群に比べて脾重量の減少は認められず, 平均 286~357 mg とほぼ平衡していた。

10 mg 肺内生菌数の対数をみると (図 4), 3 週間治療群では, 無治療群に比べて SM·INH·PAS 群と SM·INH·TH 群とはやや減少傾向を示したが, KM·TH·CS 群はかなり菌量の多いマウスが含まれていた。治療中止して 4 週間放置してみると, 菌量は各治療群とも無治療対照群に近くなつた。6 週間治療群では, 無治療群は平均 4.77 と, 治療開始時の 4.53 より菌量の増加を示したが, KM·TH·CS 群は平均 4.53 を示して治療開始時の菌量とほぼ変わらなかつた。SM·INH·PAS 群と SM·INH·TH 群は平均 4.10, 3.99 を示して菌量のかなりな減少を示した。治療中止後 6 週間放置すると, 各治療群ともに菌量は無治療対照群に近くなつた。

全肺生菌数の対数をみても (図 5), 3 週間治療群,

Fig. 4. The Mean Value of Logarithmic Number of Viable Tb-Bacilli per 10 mg Lung

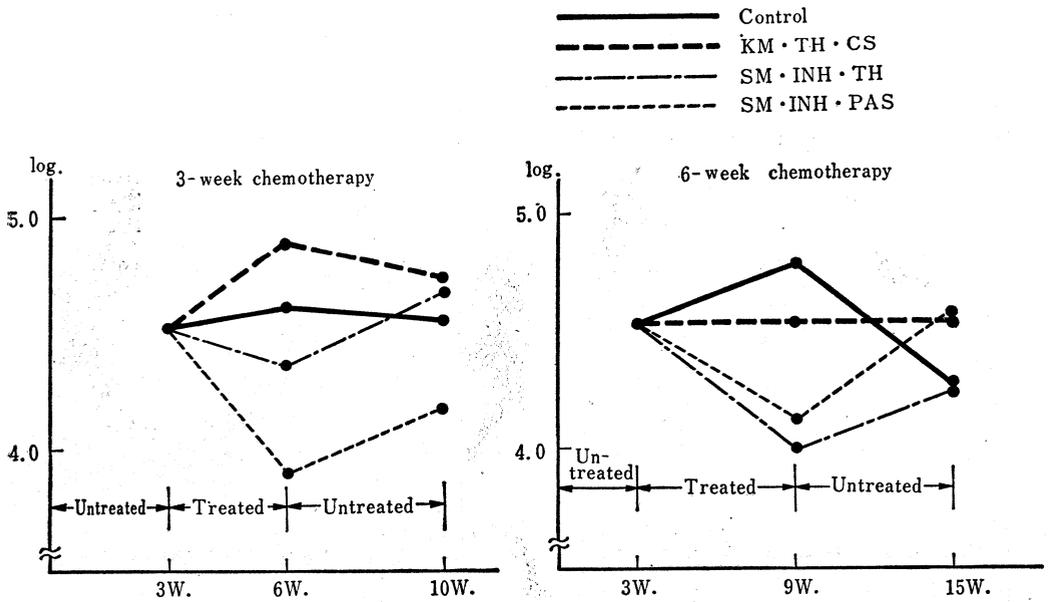
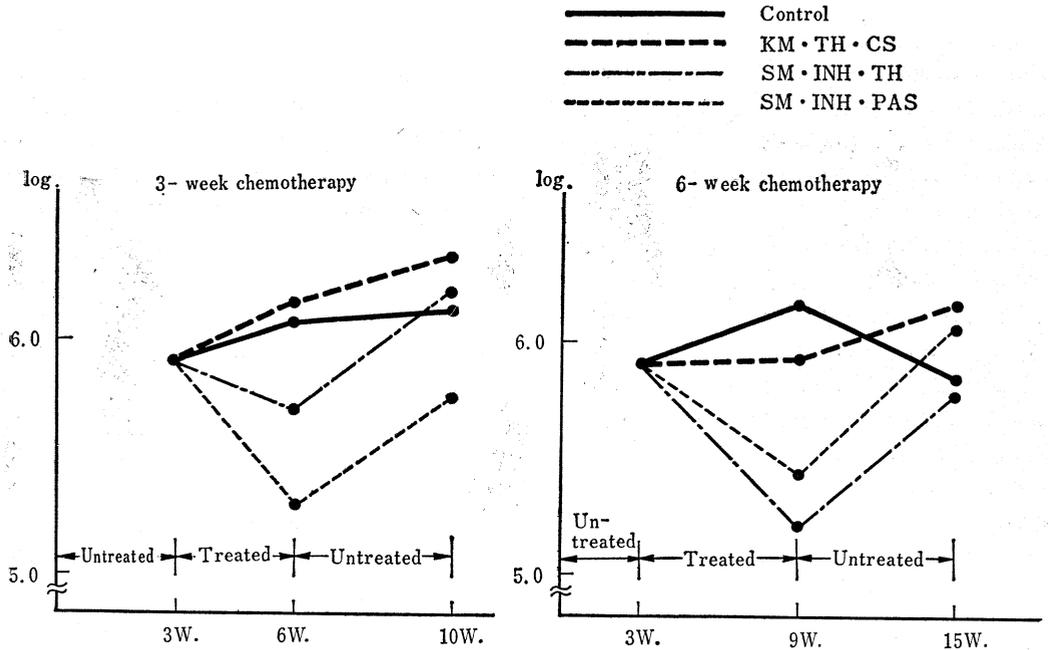


Fig. 5. The Mean Value of Logarithmic Number of Viable Tb-Bacilli in Total Lung

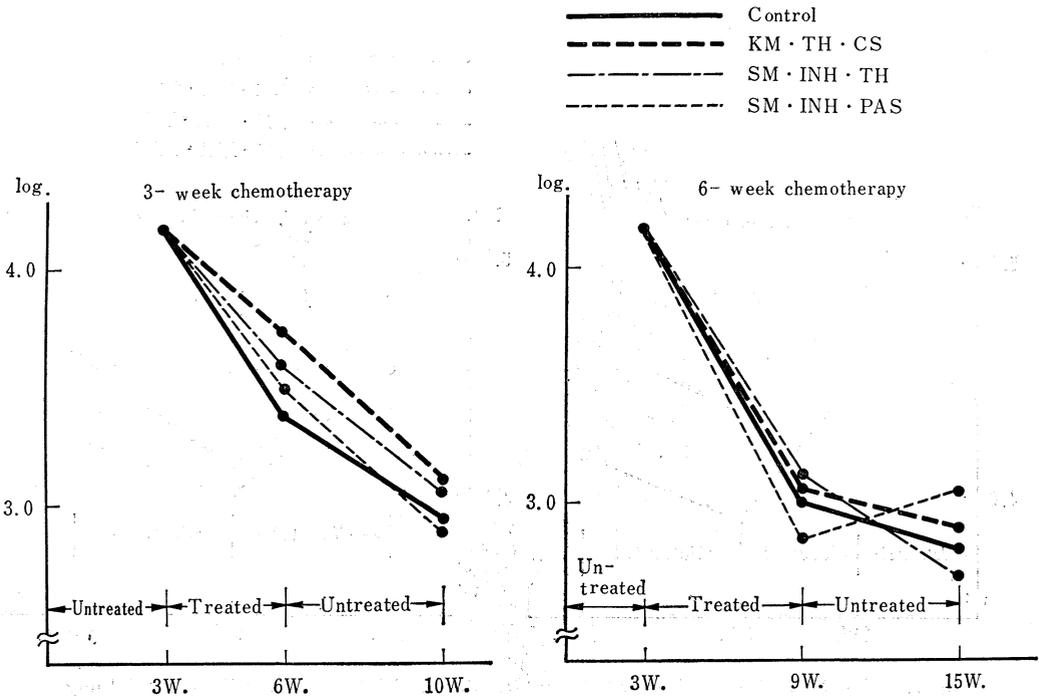


6週間治療群ともに10mg肺生菌数と同様の傾向を示したが、ただ6週間治療群でSM·INH·PAS群は平均5.45、SM·INH·TH群は平均5.23を示して後者にやや優れる傾向が現われた。

10mg肝内生菌数をみると(図6)、治療開始時の平均約 10^4 に比べて3週間治療群は、その対数の平均値

が3.40~3.75、6週間治療群は平均値が2.86~3.12を示して、ともに対照群の菌の減少と同様に著しい菌量の減少を認め、かつ各群間の差はきわめて少なかった。菌接種9週間後から15週間後までの間は、菌量の減少の程度は少なくなっていた。

Fig. 6. The Mean Value of Logarithmic Number of Tb-Bacilli per 10 mg Lung



考 察

1948年 Youmans & Raleigh²⁾はそれまでのマウス実験的結核症に関する文献を列挙紹介し、結核症に対する治療実験にマウスを用いる理論的な基礎として静脈内接種によるマウス実験的結核症の病理および病理発生に関して詳細に述べたあと、治療効果の判定には生存期間、体重変動、肉眼的・組織学的肺病変（ことに「壊死-滲出性」か、「繁殖性」か）、組織学的肺内菌量などを参考にすればよいと述べた。翌1949年岩崎³⁾らは抗結核薬のスクリーニング・テストとしてマウスを採用し、マウスの単純な組織反応から薬剤の効果を判定するのは難しいと判断して、肺内結核菌の定量培養を行ない、肺内生菌数が治療効果判定に意味があると述べた。

そのころから短期間に成績が得られること、個体差が少ないこと、一時に沢山扱えて実験に要する操作および費用が少ないこと、実験的結核症の主病変がほぼ肺に限局する傾向があることなどの利点から、抗結核薬の治療実験にマウスが採用されることが多くなった。

現在、実験的マウス結核症に対する各種抗結核薬の治療効果の優劣の判定には、①生存率曲線を描く方法、②感染直後より治療を行なつて剖検する方法、③肺病巣を作製してのち治療を行なつて剖検する方法などが行なわれている。

著者は結核菌に対するマウスの細胞・組織・体液の反応性や免疫性、環境・年齢・性の影響、さらに抗結核

薬のマウス体内吸収、排泄、組織・細胞内浸透性、組織内不活化の問題などの複雑な宿主-結核菌-抗結核薬の相互関係を考慮して、菌の存在および菌の増殖に対するマウス生体の反応が少しく起こつてから治療を開始するのが人間の結核症に対する治療により近似ではないかと考えて③の方法を採用した。

1961年青木⁴⁾らは、顕微鏡的所見、細菌学的所見と相関を示す肺の肉眼的病変を0度から5度に分類し、この判定基準に従えば肉眼的所見のみでマウス実験的結核症の病変度の傾向を知りうると報告した。著者らはこの肺病変判定基準を採用して上記の治療実験を行なつたが、その結果、抗結核薬の治療効果の判定には dd 系雌性マウスに $H_{37}Rv$ を接種した場合、接種後3週間放置してのち6週間治療を行ない剖検すればよいことが分かった。そのさい青木らの肉眼的肺病変度、肺病変の強さに平行すると考えられる肺の重量、肺内結核菌生菌数が抗結核薬の治療効果判定に参考となると考えられ、一方脾の重量、肝内生菌数、体重の推移は治療効果の判定に参考とはならないと考えられた。

1961年から1963年にかけて、1次抗結核薬に対して耐性を獲得した難治肺結核症例に KM·TH·CS の3者併用療法が菌陰性化率の点から優れていると厚生省結核化学療法協議会より報告されて来たが^{4)~6)}、著者らの $H_{37}Rv$ 感染による実験的マウス結核症に対する治療成績では、SM·INH·PAS 群、SM·INH·TH 群にかなり良い治療効果がみられたが、KM·TH·CS 群の治療効果は前

2群に比べて劣っていた。SM・INH・PAS 群と SM・INH・TH 群との間では、肺重量、全肺生菌数でわずかに後者に優れる傾向がみられた。

SM, INH, KM, TH などの強力と考えられる抗結核薬の併用効果をみるに当たつて SM 10 mg/kg 週2回, KM 20 mg/kg 週2回, INH 2 mg/kg 毎日, TH 4 mg/kg 毎日といういわゆる subeffective と考えられる量を使用して併用による効果増強をみようとしたが、その結果 KM・TH・CS 群の低い治療効果は通常量を使用した CS の効果によるのか、subeffective と考えられる量を使用した KM・TH の併用効果が関与しているのかは決められなかつた。また SM・INH・PAS 群, SM・INH・TH 群ではほぼ同様の優れた治療効果を見たが、これは文献上、今回使用した SM, KM, TH の量は subeffective dosis であつたのに比べ、INH の量は effective dosis であつたと考えられ、そのために INH 使用群にのみ著しい治療効果が得られたのであろうと考えられた。それゆえ、薬剤の併用効果を検討する場合、人間に effective と考えられている量を基準にして治療実験を行なうのが簡明であらうと考えた。

ま と め

① 抗結核薬のマウス実験的結核症に対する治療効果を比較するには、H₃₇Rv 感染後3週間放置してのち6週間治療を行なつて判定するのが適当であり、かつ肺の肉眼的病変度、肺の重量、肺内生菌数を参考にするのが良いと考えられた。一方治療終了後放置することによつて各治療群の差は少なくなり、無治療対照群の値に近くなつた。

脾の重量、肝内生菌数および体重の推移は治療実験の成績判定に意味が少なかつた。

② SM・INH・PAS 治療および SM・INH・TH 治療は、KM・TH・CS 治療より有効であつた。SM・INH・PAS 治療と SM・INH・TH 治療との優劣は決しがたかつたが、わずかに後者に優れる傾向がみられた。

文 献

- 1) 青木正和他：結核, 36 : 355, 1961.
- 2) Youmans, G. P. et al. : J. Inf. Dis. 82 : 197, 1948.
- 3) 岩崎竜郎他：結核, 24 : 173, 1949.
- 4) 岡治道他：日本医事新報, No. 1953 : 3, 1961.
- 5) 岡治道他：日本医事新報, No. 1997 : 3, 1962.
- 6) 岡治道他：日本医事新報, No. 2061 : 10, 1963.