

実験結核症に対する Capreomycin の治療効果

中村 玲子・金井 興美・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 39 年 2 月 12 日

EFFECTIVENESS OF CAPREOMYCIN AGAINST EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS OF MICE AND GUINEA PIGS

Reiko Mamo NAKAMURA, koomi KANAI and Toyoho MUROHASHI*

(Received for publication February 12, 1964)

For the purpose to examine the antituberculous activity of capreomycin, two types of animal experiment were conducted. In the first experiment, the effectiveness of capreomycin was evaluated by comparing the survival days of treated mice with those of control mice under the fatal course of infection. Seventy-five male albino mice of commercial dd strain were divided into 5 groups of equal 15. All the animals were intravenously infected with 0.5 mg of a bovine strain of tubercle bacilli (Ravenel) grown on Sauton synthetic liquid medium. Intraperitoneal drug administration to 4 groups was started 3 days after infection with 1 mg, 2 mg, 4 mg daily dose of capreomycin, or with 2 mg of kanamycin, respectively. Drug administration was conducted every day during the period of 19 days except 2 Sundays. Then, the mice were kept nourished until 68 days after infection, and the survival day of each animal was checked. The result is presented in Fig. 1. As shown in this figure, all the untreated mice died during the period from 20 to 27 days after infection, but the survival days of the treated mice were prolonged more or less. Particularly, all the animals administered with 4 mg of capreomycin or 2 mg of kanamycin survived the entire experimental period.

In the second experiment, 65 male white guinea pigs were subcutaneously injected in the right side of the under abdomen with 0.01 mg of Ravenel strain of the same culture as that used in the mouse experiment. Then, they were left nourished expecting the establishment of advanced tuberculosis. Four weeks after infection, 5 of them were sacrificed to confirm the grade of tuberculous involvement by macroscopic observation and bacillary culture of the lungs, liver and spleen. At the same time, the animals were divided into 4 groups of 10 animals and 4 groups of 5. One group of 10 animals was further left untreated, and 3 other groups of 10 animals were treated with 10 mg, 20 mg, or 40 mg daily dose of capreomycin respectively. Against 4 groups of 5 animals, 10 mg of streptomycin, 10 mg of kanamycin, 2 mg of INH or 10 mg of TBI was administered. Subcutaneous route of administration was employed for capreomycin, streptomycin, and kanamycin, but INH and TBI were given orally. Daily administration was continued for 5 weeks. Three days after the termination of treatment, all the animals were sacrificed, and the comparative observation of tuberculous involvement and the bacillary culture of the spleen and the lungs were conducted. The figures as presented in the text indicate that capreomycin is effective against established tuberculous infection in guinea pigs, particularly in almost the same grade as streptomycin and kanamycin, if the dose is twice as much as the latter drugs or more.

* From Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Kamiosaki-Chojamaru, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan.

Capreomycin は1961年 Eli Lilly & Co. の Herr ら¹⁾によつて *Streptomyces capreolus* の培養濾液より分離された新抗生物質であるが、抗酸菌に有効であること、また Streptomycin, Viomycin とは交叉耐性がないとの記載によつて注目された。引き続き翌年、マウスの実験的結核症に対して、Streptomycin, PAS と同等の治療効果のあることが同じく Herr ら²⁾によつて追加報告され、また同年はやくも Miller ら³⁾, Popplewell ら⁴⁾によつて多数の結核患者における Capreomycin 投与成績が発表された。すなわち有効投与量において急性毒性がないこと、慢性毒性もまれであることが示され、進展している結核症に対するこの抗生物質と PAS との併用投与は、INH・PAS 併用に匹敵する治療効果をあげたと報告された。これらの研究者⁵⁾⁶⁾はその後さらに症例を増し、観察期間を延長して、Capreomycin の有効性を確認している。

本研究室の小関、岡本⁷⁾は保存菌株 H37R_v, *M. phlei* を用いて Capreomycin と Viomycin, Kanamycin, Neomycin, Streptomycin, INH との間の交叉耐性を検討し、Capreomycin と Viomycin とは高度および中等度耐性の場合完全に交叉し、Capreomycin と Kanamycin, Neomycin との間には部分的に耐性交叉のみられることを報告した。Capreomycin は一種のペプチドであり、その構成アミノ酸の種類は、同じくペプチド抗生物質である Viomycin の構成アミノ酸とかなり類似することから、上述の所見は理解しやすいであろう。

わが国においては、この抗生物質は臨床試験の段階に入つたばかりであるが、本研究室はマウス・モルモットの実験的結核症に対する Capreomycin の投与効果を他の抗結核剤と比較検討し、その有効性の相対的な関係について知見を得たので報告する。

実験 1. マウス実験的結核症に対する効果

実験材料と方法

使用動物：体重約 15g の市販 dd 系マウスの♂を使用した。

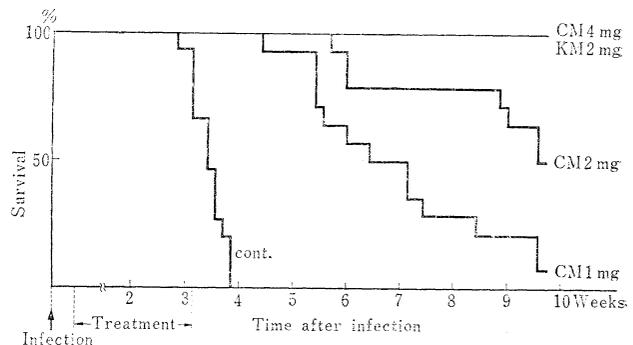
感染に使用した結核菌株：牛型結核菌 Ravenel 株。菌は2%に Alubumin (栄研) 溶液を添加した Sauton 培地に8日間培養し、菌膜を濾紙吸湿後、水晶球入丸コルベンで 2.5 mg/ml の蒸留水菌液とした。この菌液を各マウスに 0.2 ml ずつ静脈内感染した。感染後マウスを15匹ずつの5群に分け、各群にそれぞれ Capreomycin (以下 CM と略) 1 mg, 2 mg, 4 mg, あるいは Kanamycin (KM と略) 2 mg を腹腔内に注射して治療し、残り1群を無処置対照とした。CM, KM はともに水溶液として投与量を 0.2 ml に含有せしめて注射し

た。治療は感染の3日後から始めて3週間、日曜を除き毎日行なつた。その後は投薬を中止し、各群の生存日数を記録した。

実験結果

図1に示したように、無処置対照群のマウスは感染後20日から死亡しはじめ、27日までに全部死亡した。その平均生存日数は24.1日であつた。これに対し CM 1 mg 群のマウスは感染後30日から死亡しはじめ、68日までに93%が死亡したがまだ7%の生存が認められた。また、その死亡曲線は対照群に比較して、ずつとゆるやかな勾配を示している。この群の平均生存日数は47.6日以上となり、対照群に比べて23.5日以上の延命効果があつた。また CM 2 mg 群では最初の死亡が感染後39日にみられ、68日においてなお50%が生存してい

Fig. 1. Effects of Capreomycin and Kanamycin on the Survival Days of Fatally-Infected Tuberculous Mice



た。CM 4 mg, KM 2 mg の両群では、感染後68日までに100%が生存していた。

この結果からみて、Capreomycin はマウスの実験的結核症に対して延命効果があることが明らかである。この実験の場合は、Kanamycin の2倍量の投与で Capreomycin は Kanamycin と同等の効果を表わした。このときの投与量は 150~200 mg/kg (体重) である。

実験 2. モルモット実験的結核症に対する効果

実験材料と方法

使用動物：体重約 330g の白色健全♂モルモット。

感染に用いた結核菌株：牛型結核菌 Ravenel 株。

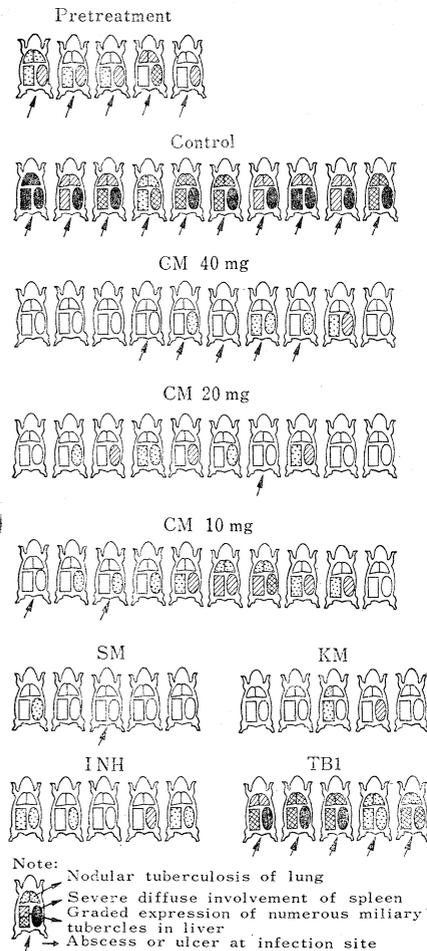
菌液の作り方は実験1の場合と同じで、実験1で用いた菌と同じ培養から作つた。菌 0.01 mg を各動物の右下腹部に皮下感染した。

感染後4週間全動物を飼育し、ここで表1のように9群に分け、その1群5匹を感染の進展状況を確認するために剖検し、肺、肝、脾臓を培養して生菌数を調べた。

Table 1. Design of Experiment

Subcutaneous infection with <i>M. bovis</i> Ravenel strain 0.01 mg		→ 4 W →	Necropsy of group 1 to confirm tuberculosis development, and initiation of treatment		→ 5 W →	Termination of treatment	→ 3 days →	Necropsy
Group	Number of guinea pigs	Treatment						
		Drug used	Daily dose	Administration route				
1	5	None						
2	10	None						
3	10	Capreomycin	40 mg	Subcutaneously				
4	10	Capreomycin	20 mg	Subcutaneously				
5	10	Capreomycin	10 mg	Subcutaneously				
6	5	Streptomycin	10 mg	Subcutaneously				
7	5	Kanamycin	10 mg	Subcutaneously				
8	5	INH	2 mg	Orally				
9	5	TB1	10 mg	Orally				

Fig. 2. Results of Therapy as Evaluated from Comparative Tuberculous Involvement in Viscera



残りの8群のうち1群を無処置対照とし、他の群を表1のように Capreomycin (CM と略)、Streptomycin (SM)、Kanamycin (KM)、Isoniazid (INH)、4-acetylaminobenzaldehyde thiosemicarbazone (TB1) で治療した。CM, SM, KM は水溶液として 0.5 ml を腋下部に皮下注射し、INH, TB1 は小麦粉で投与量を含んだ錠剤とし、これを経口投与した。5週間、日曜を除き毎日治療を続けたのち投薬を中止し、3日後に全動物を解剖して各群の結核罹患度を比較検討した。同時に各群より3~5匹を選んで、肺、脾臓の培養により臓器内の生菌数を調べた。

実験結果

体重の測定は、感染前、感染後4週、および9週にそ

Fig. 3. Results of Therapy as Evaluated from Comparative Lymphnode Swelling

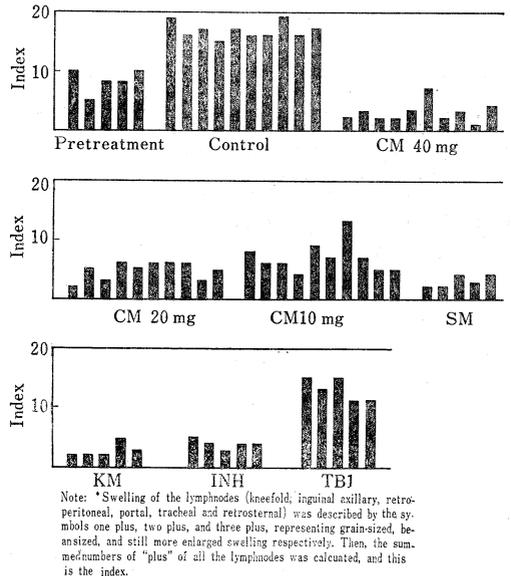
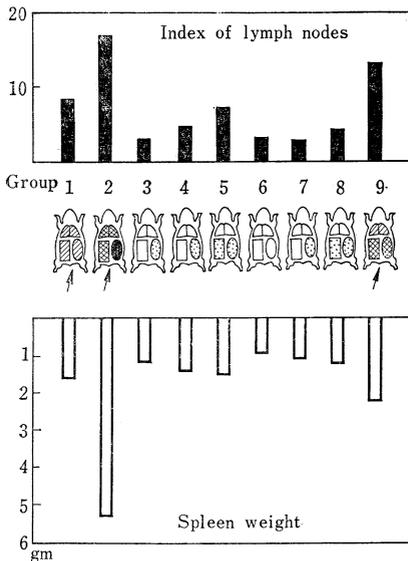


Table 2. Spleen Weight of Guinea Pigs of Each Experimental Groups

Group	Treatment	Spleen weight (gm)										mean	
1	Pretreatment	2.05	1.85	1.55	1.45	1.15							(1.6)
2	Not treated	11.3	8.2	6.8	5.2	4.8	4.8	4.3	3.3	2.3	2.1		(5.3)
3	CM 40 mg	1.7	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1	1.1	1.0	0.8	0.8		(1.16)
4	CM 20 mg	1.8	1.8	1.6	1.6	1.4	1.4	1.3	1.3	1.0	0.8		(1.4)
5	CM 10 mg	2.2	1.5	1.5	1.4	1.3	1.3	1.2	1.1	1.1	1.0		(1.5)
6	SM 10 mg	1.1	1.1	0.9	0.9	0.8							(0.96)
7	KM 10 mg	1.4	1.3	1.0	1.0	0.9							(1.1)
8	INH 2 mg	1.7	1.1	1.1	1.0	0.8							(1.2)
9	TB1 10 mg	2.8	2.5	2.4	1.7	1.5							(2.2)

Fig. 4. Condensed Presentation of the Results of Therapy against Experimental Guinea Pig Tuberculosis

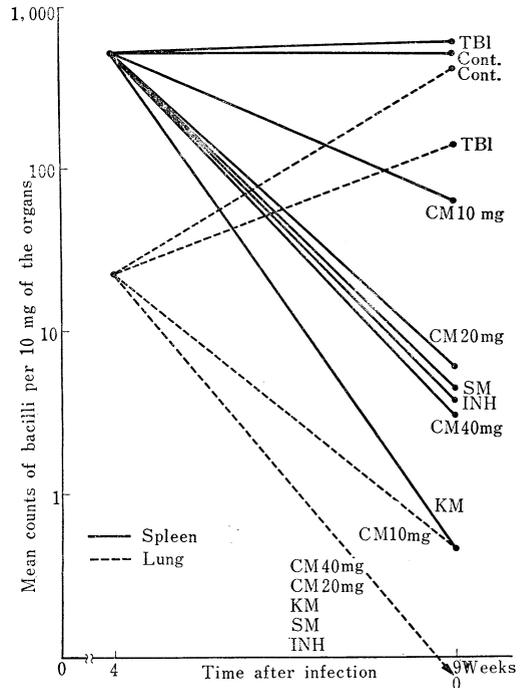


れぞれ行なつたが、各群とも常に体重は増加しており、著しい差がみられなかつた。ただ、対照群と TB1 群が他の群よりもやや増加の程度が低いことが認められた。

臓器の病巣の拡りにおいては、各群間に顕著な差がみられた。図2に示すように、感染後4週では第1群(Pretreatment)の程度に感染の進展がみられたものが、5週間の治療によつて、CM 40 mg, SM, KM, INH の各群ではほとんど病巣は吸収されていた。CM 20 mg はこれらに比較してやや劣り、CM 10 mg の効果はさらに弱い、それでも治療前より良くなつてゐる。これらに対して、TB1 で治療した群と無処置対照群においては著しく感染が進展しており、TB1 の治療効果はあまり認められない。

脾臓の重量は表2のようになり、治療した群の重量はTB1 群を除き、治療前より少なくなつてゐる。TB1 群の

Fig. 5. Effects of Capreomycin, Streptomycin, Kanamycin, Isoniazid, and TB1 on the Bacillary-Multiplication in the Spleen and Lungs



重量も対照群の重量に比べればかなり少ない。

リンパ腺の腫脹については、図3のような結果になつた。この数値は調べた全リンパ腺の腫脹度を+1から+3までの指数で表わし、その指数を1個体について総計したものである。この結果も、臓器の感染度や脾重量と同じ傾向を示している。すなわち、CM 40 mg, SM, KM, INH は同程度の治療効果を示し、CM 20 mg, CM 10 mg がこれに続き、TB1 は治療効果においてもつとも劣るが、対照群よりはやや良い。

図4は各群について、臓器の結核罹患度、脾重量、淋

巴腺の腫脹度の平均をまとめたものである。

各群の臓器培養の結果は、図5に示したとおりである。CM 40 mg は SM, KM, INH に匹敵する治療効果を示し、肺では全く菌が認められず、脾臓でもきわめて少数の菌を認めるにすぎない。CM 20 mg, CM 10 mg の効果はこれにやや劣るが、TB1 よりはるかに優れている。TB1 群の肺では無処置対照群と同等あるいはそれ以上の生菌数が認められた。

考 察

新しい抗結核剤が見出された場合、これを既知治療薬と比較してその有効性の相対的な関係を決めることは必ずしも容易でない。ことに臨床的な立場においては、適当な症例選択の問題、また、治療目的からして単独投与を行ないかねる等の制約もあつて、純粋な比較実験投与は実際には行ないがたいのが現実である。Miller, Popplewell ら^{3)~6)}にしても、Capreomycin・PAS 併用が INH・PAS 併用と治療効果において匹敵すると述べているのであつて、Capreomycin が INH と同等の効力を発揮することを示しているわけではない。したがつて、新抗結核剤の効力の既知治療薬との比較検討は、動物の実験的結核症においてのみ決めうるものと考えられるが、Herr ら²⁾のマウスにおける実験によつて Capreomycin は Streptomycin, PAS と同等の効果が指摘された。しかし、彼らの成績を詳細に検討すれば、Streptomycin に匹敵する効果を得るには、Capreomycin の投与量は Streptomycin の投与量を上まわつている。彼らはまた Capreomycin, Streptomycin, Kanamycin, Viomycin の4つの抗生物質は、実験結核症における治療効果において同等であると付言しているが、具体的な Data については記載がない。他方、モルモット実験的結核症に対して Capreomycin を用いた治療実験については、いまだに報告がないようである。

われわれのマウスおよびモルモットでの実験においては、上述のごとく Capreomycin は Kanamycin, Streptomycin, INH に匹敵する治療効果を示したのであるが、投与量の点から考慮すれば、Capreomycin はこれら3剤より効力が少ないといえるのではなからうか。しかし、いずれにせよ TB1 よりはるかにすぐれた効果を示し、有望な新抗結核剤として認めうるであろう。ただ、小関、岡本⁷⁾によつて観察されているような Viomycin との交叉耐性が臨床的のどの程度まで普遍的であるかが、現在関心の的である。

Youmans ら⁸⁾や Karlson ら⁹⁾の Viomycin についての報告から推察すれば、実験的には Capreomycin と

Viomycin とは治療効果においてもきわめて近接しているので、この両剤の耐性交叉の関係と、毒性においていずれがより低いかという点に、今後の問題が残されているであろう。

結 論

Capreomycin はマウスの実験的結核症およびモルモットの進展した実験的結核症に対して確実な治療効果を示した。マウスに対しては1日 4 mg の投与で Kanamycin の1日 2 mg 投与と同等の効果を示し、モルモットでは1日 20~40 mg の投与で、Streptomycin 10 mg, Kanamycin 10 mg, または INH 2 mg (いずれも1日投与量) とほぼ同等の治療効果を示した。

報告を終わるにあたり、実験に使用した Capreomycin を分与された大阪府立病院の堂野前維摩郷博士に深謝する。また、感染、薬剤投与等における田村恵子氏の御援助に深謝する。

文 献

- 1) Herr, E. B., Jr., Hancy, M. E., Jr., and Pittenger, G. E.: Am. Chem. Soc., 140th Meeting, 49 C, 1961.
- 2) Herr, E. B., Jr., Sutton, W. B. and Stark, W. M.: Trans. 21st Conf. on Pulm. Dis., VA-Armed Forces: 367, 1962.
- 3) Miller, J. D., Landwehr, A., Greene, M. E. and Popplewell, A. G.: Trans. 21st Conf. on Pulm. Dis., VA-Armed Forces: 370, 1962.
- 4) Popplewell, A. G., Miller, J. D., Landwehr, A. and Greene, M. E.: Trans. 21st Conf. on Pulm. Dis., VA-Armed Forces: 375, 1962.
- 5) Popplewell, A. G., Miller, J. D., Landwehr, A. and Greene, M. E.: Trans. 22nd Conf. on Pulm. Dis., VA-Armed Forces: 275, 1963.
- 6) Popplewell, A. G., Miller, J. D., Landwehr, A. and Greene, M. E.: Trans. 22nd Conf. on Pulm. Dis., VA-Armed Forces: 281, 1963.
- 7) Koseki, Y. and Okamoto, S.: Jap. J. of M. Sc. & Biol., 16: 31, 1963.
- 8) Youmans, G. P. and Youmans, A. S.: Am. Rev. Tuberc., 63: 25, 1951.
- 9) Karlson, A. G. and Gainer, J.: Am. Rev. Tuberc., 63: 36, 1951.