

二次抗結核薬の治療効果に関する実験的研究

(その 2)

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 (2)*

Makoto TAGA

(Received for publication July 27, 1964)

The following two experiments were carried out to study 1) the difference in therapeutic effects between the combined regimens with primary antituberculosis drugs and those with secondary drugs, and 2) single and combination effects of secondary drugs.

Experiment 1: Young CF₁ male mice, intravenously infected with H₃₇Rv (v. u. 3.6×10^6) and left untreated for 3 weeks, were divided into 12 groups; SM, KM, INH, TH, SM·INH, KM·TH, SN·INH·PAS, SM·INH·ISOXYL, KM·TH·CS, KM·TH·ISOXYL, KM·TH·SF, and untreated control. After the treatment with these drugs for 7 weeks, they were necropsied at the end of each chemotherapy. SM 20 mg/kg and KM 40 mg/kg were administered twice weekly subcutaneously, and INH 4 mg/kg, TH 12 mg/kg, PAS 200 mg/kg, ISOXYL 100 mg/kg, CS 10 mg/kg and SF (Sulfisoxazole) 40 mg/kg orally once daily for six days weekly. Each mouse was examined for body weight, macroscopic changes of lung lesions, lung weight and the average number of viable tubercle bacilli in the lung at necropsy.

Results: 1. Combination effect of primary antituberculosis drugs containing INH on experimental tuberculosis in mice was due mainly to the effect of the administration of INH daily, and similarly combination effect of secondary drugs containing TH was due mainly to that of TH daily. Combination effect of secondary drugs containing TH was distinct, but much inferior to the effect of primary drugs containing INH.

2. Effects of SM semi-weekly and KM semi-weekly were found to be the same and found to be much inferior to the effect of TH daily.

3. Any effect of SM semi-weekly, KM semi-weekly, PAS daily, ISOXYL daily, CS daily, and SF daily, when added to INH daily or TH daily, was not observed.

Experiment 2: Young ddY female mice, infected with H₃₇Rv (v. u. 1.5×10^6) which had been preserved by the freeze-drying method since 1957, and left untreated for 2 weeks, were divided into 12 groups: -KM, TH, CS, PZA, KM·CS, KM·TH, TH·CS, KM·TH·CS, KM·TH·PZA, KM·CS·PZA, TH·CS·PZA and untreated control. They were necropsied at the end of each chemotherapy for 5.5 weeks. PZA 40 mg/kg was administered six times weekly orally, and the other three drugs were given as previously mentioned. Each mouse which was killed

* From Research Institute of Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose, Kitatama, Tokyo, Japan.

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

at necropsy or died of lung tuberculosis during the treatment was examined for body weight, macroscopic changes in lung lesions, lung weight and amount of viable tubercle bacilli in the lung.

Results : 1. Marked therapeutic effects were observed in the groups treated with TH alone and also in the groups treated with TH in combination with other secondary drugs, but the difference among those groups was not found.

2. Effects of KM semi-weekly and CS daily were almost the same, and both were inferior to that of TH daily. Combined therapy of KM and CS was slightly more effective than single drug regimen.

3. PZA was not effective in single regimen; it did not show any increase in the effectiveness of the companion drug.

第1報において実験的マウス結核症に対する抗結核薬の治療実験の方式を考案し、合わせて SM・INH・PAS, SM・INH・TH, KM・TH・CS の H₃₇Rv 感染マウスに対する治療効果の比較を行なった。今回は一次抗結核薬と二次抗結核薬の各種組合せの比較と、二次抗結核薬相互間の治療効果の比較をしようとして次の2実験を行なった。

実験 1: マウス実験的結核症に対する一次抗結核薬の組合せと、二次抗結核薬の組合せとの治療効果の比較

目 的

標準感性結核菌感染マウスに対して SM, INH を中心とする一次抗結核薬の併用と、KM, TH を中心とする二次抗結核薬の併用との治療効果を比較して、一次抗結核薬の組合せに対する二次抗結核薬の組合せの治療効果上の位置を知ろうとした。

方法

生後 34~44 日目の CF₁ 雌性マウスに Sauton 培地 2 週間培養の H₃₇Rv 0.2 mg (v. u. 3.6×10⁶) を各群 8~10 匹宛尾静脈内接種し、3 週間放置後下記のように 7 週間治療を行なった。

群分けは SM, KM, INH, TH の各単独群, SM・INH, KM・TH の 2 者併用群, SM・INH・PAS, SM・INH・ISOXYL, KM・TH・CS, KM・TH・ISOXYL, KM・TH・SF (Sulfisoxazole: Six と略) の各 3 者併用群の 11 群とし、無治療対照群と比較した。薬剤投与量は人に使用するのと同じ方法を用い、SM 20 mg/kg, KM 40 mg/kg, おのおの週 2 回皮下注、INH 4 mg/kg, TH 12 mg/kg, PAS 200 mg/kg, ISOXYL 100 mg/kg, CS 10 mg/kg, Six 40 mg/kg おのおの週 6 回経口投与とした。

治療効果の判定には、菌接種後 1 週目ごとに測定した平均体重、治療終了時の肺の肉眼的病変度、肺重量、1 群の肺を 2 つに分けて培養を行なった平均肺内生菌数を参考にした。

成 績 (表 1)

各群の平均体重を毎週測定してみると(表略)、菌接種時 16~18 g, 3 週間後(治療開始時) 19~23 g, 10 週間後(治療終了時) 23~29 g と各群ともに一様の体重増加を示して各群間に差はみられなかった。

肉眼的肺病変度をみると、対照群は平均 4.0, KM 群は 3.9, 次いで SM 群は 3.6 を示し、治療開始時に比べて肺病変の著しい増大、増加を示した。TH 群および TH 併用群は、肺病変度の平均が 2.7~3.4 を示して治療開始時に比べて肺病変の量的な増加はみられず、また

Table 1. Mean Value with Standard Deviation of the Degree of Macroscopic Changes in Lung Lesions, Weight of the Lungs and Logarithmic Number of Viable Tb-Bacilli in 10 mg of the Lungs

Groups	Degree of lung lesions	Lung weight (mg)	Log. no. of viable tb-bacilli in 10 mg lung**
Pretreatment control (7)	2.6±0.6	221±33	3.29
Control (10)	4.0±0.3	300±70	4.66
SM (8)	3.6±0.6	234±31	4.40
KM (8)	3.9±0.4	250±45	4.23
INH* (7)	1.9±0.7	165±25	2.78
SM・INH* (8)	1.0±0.8	165±22	3.12
SM・INH・PAS* (8)	0.9±0.4	180±15	3.14
SM・INH・ISOXYL* (9)	0.9±0.8	163±23	3.07
TH (8)	3.1±0.3	200±23	3.65
KM・TH* (9)	2.9±1.1	183±26	4.25
KM・TH・CS* (7)	3.4±0.4	227±31	4.48
KM・TH・ISOXYL (10)	2.7±0.5	181±26	4.21
KM・TH・SF (10)	2.9±0.7	207±28	4.53

() Numbers of mice

*: 1~3 mice were excluded because of accidental death.

** : Average value of the 2 groups of lungs separately cultured.

TH 併用群相互間に優劣の差はみられなかつた。INH 群は平均 1.9 を示してかなり肺の病変は少なくなつており、INH 併用群は平均が 0.9~1.0 を示してもつとも軽く、また病変のみられないものもあつた。INH 併用群間にも差はみられなかつた。

肺重量をみると、対照群は平均 300 mg ともつとも重く、SM 群、KM 群は平均 234 mg、251 mg とやや軽く、TH 群および TH 併用群はその平均が 181~227 mg とさらに軽くなつていたが、TH 併用群相互間に優劣の差はみられなかつた。INH 群および INH 併用群はその平均が 163~180 mg を示してもつとも軽く、また治療開始時に比べて著しく軽くなつていた。しかし INH 併用群相互間にも差はみられなかつた。

平均 10 mg 肺生菌数の対数をみると、対照群は 4.66 でもつとも多く、SM 群、KM 群は 4.40、4.23、TH 併用群は 4.21~4.53 と、ともに治療開始時に比べ著明な菌量の増加を示した。TH 群は 3.65 で治療開始時と同程度の菌量を示した。INH 群および INH 併用群は 2.78~3.14 ともつとも低値を示し、また治療開始時に比べて著しい菌量の減少がみられた。

なお 1% 小川培地を用いて disc 法による TH の耐性検査を、TH 併用群と無処置対照群計 6 群に対して治療終了後に行なつたが、耐性上昇は 1 群にもみられなかつた。

考 察

TH を含む二次抗結核薬の併用治療の効果は、INH を含む一次抗結核薬の併用治療の効果に劣つたが、SM 週 2 回、KM 週 2 回各単独投与よりは優れていた。

肺の生菌数を測定するに当たっては、各治療群のマウスを 4~5 匹ずつ 2 つに分け、それらの肺の平均 10 mg 生菌数をみたため正確な意味で生菌数の対数の平均値はだしえなかつた。したがつて TH 併用群に平均肺内生菌数が著しく多かつた理由としては、その群に生菌数のバラツキが大であつたためと考えられ、その場合 1 匹でも肺内生菌数の著しく多いマウスがおれば、平均生菌数はそのマウスの生菌数に大きく影響を受け、そのため 2 群の平均をみても著しい高値を示したものと考えられた。

TH 単独群は生菌数が低値を示したが、それは個々のマウスのバラツキが小さかつたためと考えられた。このことは INH 群と INH 併用群の間でも観察された。

Grumbach¹⁾はマウスの実験的結核症に対して TH 単独治療を行ない、治療 35 日後肺生菌数はもつとも低値を示したが、以後漸増した現象を認めて、結核菌の TH 耐性化が治療 35 日前後を境として容易に起こると指摘したが、著者らが念のために行なつた TH 併用群の結核菌に対する TH の耐性検査では全例に耐性上昇はみられなかつた。

TH 併用群相互間および INH 併用群相互間にもみるべき治療効果の差がなかつたことは、その効果が主として INH、TH によるものであることを考えさせた。

SM 20 mg/kg、KM 40 mg/kg 週 2 回法は人やモルモットの結核に対して有効である²⁾とされているが、マウスに対しては余り効果を示さなかつた。この点に関して小河ら³⁾は、モルモットの結核症に対して SM は有効であるのに、マウスの結核症に対して SM は明らかに劣つていたと報告し、その差は結核菌に対して反応する細胞が、モルモットの場合変性、崩壊が反復するために結核菌と薬剤と接触する機会が多いが、マウスの場合変性、崩壊が起こらず、またはきわめて少ないので、結核菌が細胞内に留まる傾向が多く、したがつて菌と薬剤と接触する機会が少ないからと述べている。この論文に従えば、細胞内透過性の不良な SM、KM の治療効果はモルモットとマウスで差が生じ、細胞内透過性の良好な INH、TH、CS の治療効果はモルモットとマウスで差がないことの説明にもなるだろう。

ま と め

① マウス実験的結核症に対する INH を含む一次抗結核薬の各種併用の治療効果は、INH 毎日投与が主役を演じ、また TH を含む二次抗結核薬の各種併用の治療効果は、TH 毎日投与の効果が表面に現われたためと考えられる。

② TH を含む二次抗結核薬の併用治療の効果はかなり認められたが、INH を含む一次抗結核薬の併用治療の効果に比べて劣つていた。

③ SM 20 mg/kg 週 2 回投与と KM 40 mg/kg 週 2 回投与とはほぼ同程度の治療効果をわずかに認めたが、TH 12 mg/kg 毎日投与に比べてかなり劣つていた。

④ INH 4 mg/kg、TH 12 mg/kg 毎日投与に併用する SM 20 mg/kg、KM 40 mg/kg おのおの週 2 回、PAS 200 mg/kg、ISOXYL 100 mg/kg、CS 10 mg/kg、Six 40 mg/kg おのおの毎日投与の治療効果はほとんど認められなかつた。

実験 3: マウス実験的結核症に対する二次抗結核薬相互間の治療効果の比較

目 的

KM、TH、CS、PZA 相互間およびそれらの各種組合せの治療効果を比較し、もつとも優れた組合せを知ろうとした。

方法

昭和 32 年に凍結乾燥して保存してあつた H₃₇Rv をグリセリン馬鈴薯培地に還元培養して実験を行なつた。Sauton 培地に 2 週間培養した上記 H₃₇Rv 0.2 mg (v. u.

1.5×10⁶)を幼若 ddY 系雌性マウス(体重 13~15 g)に各群 10 匹宛尾静脈内接種して2週間放置後、下記のように5.5週間治療を行なった。

群分けは KM, TH, CS, PZA の各単独群, KM·TH, KM·CS, TH·CS の各2者併用群, KM·TH·CS, KM·TH·PZA, KM·CS·PZA, TH·CS·PZA の各3者併用群の11群とし、無治療対照群と比較した。薬剤投与量は人に使用するのと同じ方法を用い、KM 40 mg/kg 週2回皮下注、TH 12 mg/kg, CS 10 mg/kg, PZA 40 mg/kg おおの週6回経口投与とした。治療効果の判定には、治療終了時の肺の肉眼的病変度、肺重量、肺内生菌数を参考にした。

成績 (表 2)

昭和 32 年に凍結乾燥して保存してあつた H₃₇Rv を使用したため、それまで使用してきた H₃₇Rv に比べて毒力が強く、対照群および治療効果の劣る薬剤投与群に結核死亡マウスが続出した。

治療終了時までの結核死亡マウスをみると、対照群と PZA 群は各 10 匹中7匹、KM 群、CS 群、KM·CS·PZA 群は各 10 匹中3匹、KM·CS 群は9匹中1匹が結核死しており、TH を含む治療群で結核死をみたのは少なく TH·CS·PZA 群1匹のみであつた。

結核死亡マウスを含めて各群の肺肉眼的病変度をみると、無治療対照群と PZA 群はともに平均 5.0 ともつとも高い値を示した。KM 群、CS 群は同じく平均 4.5, KM·CS·PZA 群は 4.6, KM·CS 群は 4.3 と、ともに対照群に比べて低い値を示したが、各群相互間には差はなかつた。TH 群および TH 併用群はその平均値が 3.4~3.8 で一様に低い値を示したが、各群間には差はなかつた。

肺重量をみると、その平均値は対照群 603 mg, PZA 群 726 mg ともつとも重い値を示した。KM 群は 537 mg, CS 群は 524 mg とやや低い値を示し、KM·CS 群はさらに 400 mg と軽い値を示した。しかし KM·CS·PZA 群は 565 mg と KM·CS 群より高い値を示した。TH 群および TH 併用群は 262~347 mg と低い値を示したが、その併用相互間には差はみられなかつた。

10 mg 肺生菌数の対数の平均値をみると、対照群は 7.0, PZA 群は 6.7 でもつとも多く、KM 群、CS 群は 5.8, 5.9 とやや少ない値を示した。しかし KM·CS·

Table 2. Mean Value with Standard Deviation of Body weight, the Degree of Macroscopic Changes in Lung Lesions, Weight of the Lungs and Logarithmic Number of Viable Tb-Bacilli in 10 mg of the Lungs

Groups	Body weight (g)	Degree of lung lesions	Lung weight (mg)	Log. no. of viable tb-bacilli in 10 mg lung
Pretreatment control (8)	17.6±1.7	0.2±0.3	149±29	5**
Untreated control (10: 7 died of tbc)	14.4±5.1	5.0±0.1	603±137	7.02±0.87
KM (10: 3 died of tbc)	18.3±4.3	4.5±0.4	537±233	5.83±0.38
TH* (9)	20.1±1.8	3.5±0.8	262±103	5.03±0.34
CS (10: 3 died of tbc)	17.8±4.4	4.5±0.6	524±176	5.97±0.82
PZA (10: 7 died of tbc)	14.1±4.3	5.0±0.1	726±223	6.73±0.88
KM·CS* (9: 1 died of tbc)	18.6±4.4	4.3±0.3	400±130	5.72±0.78
KM·CS·PZA (10: 3 died of tbc)	18.3±4.4	4.6±0.4	565±237	5.98±0.96
KM·TH (10)	20.5±1.7	3.7±0.5	280±70	4.82±0.50
TH·CS* (9)	18.8±2.4	3.4±0.6	284±75	4.88±0.38
KM·TH·CS* (9)	21.2±1.2	3.5±0.7	319±43	4.83±0.45
KM·TH·PZA* (9)	18.9±2.6	3.4±1.0	287±85	4.93±0.55
TH·CS·PZA (10: 1 died of tbc)	18.7±3.3	3.8±0.6	347±169	5.20±1.00

() Numbers of mice

*: One mouse in each group was excluded because of accidental death.

** : Number was roughly estimated because colonies could not be counted.

PZA 群は 5.9, KM·CS 群は 5.7 を示して KM, CS 単独投与時とはほぼ同じ値であつた。TH 群および TH 併用群はもつとも少なく、4.8~5.2 を示したがその併用相互間にはみるべき差はなかつた。

考 察

この実験に用いた H₃₇Rv は米国より分与されて時日の経過しない間に凍結乾燥して保存しておいたのをグリセリン馬鈴薯培地上で還元培養し、さらに Sauton 培地上で培養した H₃₇Rv であるが、いままでの実験で使用した H₃₇Rv よりは明らかにマウスに対する毒力が強く、そのため一部に生存率曲線を描きえた。

この実験では、PZA 群の治療は無効で、無治療対照群と変わらず、一方 TH 使用群がもつとも治療効果に優れていた。KM 40 mg/kg 週2回投与と CS 10 mg/kg 毎日投与はほぼ同程度の治療効果を示したが、TH 使用群の成績と比較すると劣つていた。KM·CS 併用は有意ではないがわずかに併用効果と思われる所見がみられた。

1961 年第 6 回胸部疾患国際会議の「新しい抗結核薬談話会⁴⁾」では CS は KM に匹敵すると報告され、また内藤ら⁵⁾は試験管内および家兎とマウスの実験的結核症

に対する治療実験から、KM と CS の併用による効果増強が認められたと報告している。さらに松宮⁶⁾は臨床的に再治療例の化療方法を大きく TH 使用群、TH 非使用 KM 使用群、TH・KM 非使用その他群と分けて長期に観察して菌陰性化率をみたところ、TH 使用群がもつとも良く、TH・KM 非使用その他群がもつとも悪く、TH 非使用 KM 使用群がその中間であつたと報告している。これらの成績は著者のマウスを用いた動物実験の成績とよく一致している。

このように TH 使用群間にみるべき差が認められなかつたのは、TH 毎日の効果が強力に表面に現われ、それに併用する KM 週2回皮下注、CS 毎日経口投与の効果が比較的低いいため、併用することによつて治療効果の増強をみるにはいたらなかつたと考えられる。河西⁷⁾もマウス実験的結核症に対する同様の治療成績を報告している。

ま と め

① TH 群および TH 併用群に著しい治療効果がみられたが、その相互間に優劣の差はみられなかつた。すなわち TH に併用する KM 40 mg/kg 週2回、CS 10 mg/

kg 毎日、PZA 40 mg/kg 毎日の併用効果は認められなかつた。したがつてはじめの目的である、TH 使用群間のもつとも良い組合せを知ることはできなかつた。

② KM 週2回投与と CS 毎日投与はほぼ同程度の治療効果を有していたが TH 毎日投与に比べてかなり劣つていた。KM・CS 併用はわずかにその治療効果の増強がみられた。

③ PZA の治療効果は単独治療にも、併用治療にも認められなかつた。

文 献

- 1) Et. Bernard (司会) : Poumon, 15 : 10, 1085, 1959.
- 2) Karlson, A. G. 他 : Am. Rev. Resp. Dis., 84 : 1, 50, 1961.
- 3) 小河秀正他 : 実験動物彙報, 5 : 5, 55, 1956.
- 4) Wiedermann, O. : Dis. Chest, 40 : 1, 50, 1961.
- 5) 内藤益一他 : Acta Tuberc. Jap., 12 : 1, 34, 1962.
- 6) 松宮恒夫他 : 第 39 回日本結核病学会報告, 演題 110, 1964.
- 7) 河西浩一他 : 第 39 回日本結核病学会報告, 演題 98, 1964.