

モルモットの実験的結核症に対する
4, 4'-Diisoamyloxythiocarbanilide (Isoxyl®) の効果

中村 玲子・小関 勇一・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 40 年 5 月 29 日

EFFECT OF 4, 4'-DIISOAMYLOXYTHIOCARBANILIDE (ISOXYL®)
IN THE EXPERIMENTAL GUINEA PIG TUBERCULOSIS*

Reiko M. NAKAMURA, Yuichi KOSEKI and Toyoho MUROHASHI

(Received for publication May 29, 1965)

Effect of Isoxyl (or Disoxyl®) on the guinea pig tuberculosis was reinvestigated by 2 experiments employing per oral administration of the drug homogeneously suspended in camellia oil.

White, male guinea pigs weighing 300~400 g were infected subcutaneously each with 0.01 mg of *M. bovis* (Ravenel strain) prepared from 9 day old pellicle on Sauton liquid medium. Then, the animals were divided into 11 groups as shown in Table 1.

Isoxyl powder in the purity of 99.9% (Meiji Seika, Co. Ltd.) was suspended in camellia oil and 0.5 ml of it was administered orally for 5 weeks, 6 times weekly employing a silver tube.

No difference was observed in the body weight curves among the groups in Exp. I as shown in Fig. 1. Contrary to this, marked decrease was observed in the non-treated control in Exp. II from 9th to 11th week after infection. In Exp. I, induration formed at the infection site one week after infection disappeared completely in the treated groups (3~6), whereas in the control group it developed into ulcer. In Exp. II, ulcer formed on the infection site healed completely in the groups of 8, 9 and 11 as early as 3 weeks after the initiation of treatment, and 80% in the group 10 (50 mg Isoxyl) after 5 weeks drug administration. Autopsy findings and the bacterial number recovered from viscera are shown in Fig. 2, 3 and 4.

In the experiment in which drug administration was started shortly after infection, 100~125 mg/kg of Isoxyl was very effective. Even in the case of advanced tuberculosis, 200~400 mg Isoxyl per kg was also effective without accompanying any unfavourable side effect such as body weight decrease etc. These results suggest that Isoxyl, which is insoluble in water, can be administered in the form of oil suspension with better effect in the treatment of experimental tuberculosis.

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

4, 4'-Diisoamyloxythiocarbanilide (Isoxyl®, Disoxyl®) は 1953 年 Buu-Hoi¹⁾ によつて合成されたチオ尿素誘導体で、融点 139~140°C, 水に不溶の白色粉末である。Tacquet²⁾ はこの薬剤が in vitro において人型結核菌 H₃₇Rv 株や牛型結核菌 Ravenel 株に強い抗菌

力を示すことを報告しているが、小関³⁾ の同様の実験の結果では、Isoxyl の in vitro における抗菌力はごく弱いものであつた。賀来⁴⁾ はマウスの実験結核症に対して、ゼラチン溶液に懸濁した Isoxyl の経口投与が INH に匹敵する治療効果を有することを示した。しかし金井

ら⁵⁾ のモルモットを用いた実験では、メリケン粉で希釈錠剤とした Isoxyl 25~100 mg/day/g. p. の経口投与は、進展した結核症に対してまったく治療効果を示さなかつた。この相違について金井らは、Isoxylは感染早期において有効で、進展した結核症に対しては効力がないのであろうと考察している。一方 Crowle⁶⁾ はマウスの実験的結核症に対して Isoxyl を Corn oil に懸濁して経口投与し、9日間の治療の後肺の比重を測定した結果、Isoxyl 62.5 mg/kg で治療効果があることを認めている。本研究室で報告した前述の動物における治療効果の差は、投与方法、すなわち薬剤の懸濁方法の相違、および投与時期の相違によることが考えられるので、これらの点を明らかにするため本実験を行なつた。

材料および方法

使用した動物：市販白色健常雄モルモット、体重300~400 g, 55 匹。

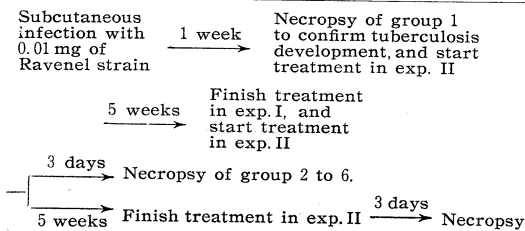
使用した結核菌：牛型結核菌 Ravenel 株。ソートン液体合成培地 9 日間培養の菌膜から、手振法で作つた菌液を 0.01 mg/g. p. ずつ右下腹部に皮下感染した。

薬剤：4,4'-Diisoamlyoxythiocarbanilide (以下 Isoxyl と略称)。純度 99.9% の白色粉末を乳鉢で磨砕しながら日本薬局方椿油に懸濁し、ゾンデにて経口投与した。椿油の量は 1 日 1 匹当たり 0.5 ml とした。対照薬剤としてイソニアジド (INH) を用い、蒸留水に溶かして経口的に投与した。

実験は感染後 1 週より治療を開始する実験 I と、感染

Table 1. Design of the Experiments

Exp.	Group	Number of guinea pigs	Drugs & daily doses (per os)	Drug administration for 5 weeks from
I	1. pretreatment	5	none	1 week after infection
	2. control	5	none	
	3. Isox. 200	5	Isoxyl 200mg	
	4. Isox. 100	5	Isoxyl 100mg	
	5. Isox. 50	5	Isoxyl 50mg	
	6. INH	5	INH 2mg	
II	7. control	5	none	6 weeks after infection
	8. Isox. 200	5	Isoxyl 200mg	
	9. Isox. 100	5	Isoxyl 100mg	
	10. Isox. 50	5	Isoxyl 50mg	
	11. INH	5	INH 2mg	



後 6 週より治療を始める実験 II とに分け、いずれの場合も 1 週 6 回、5 週間連続して治療を行なつた。治療終了後数日以内に動物を剖検し、臓器培養により臓器内生菌数をしらべた。両実験とも対照として無処置群と INH 2 mg 投与群をおいた。

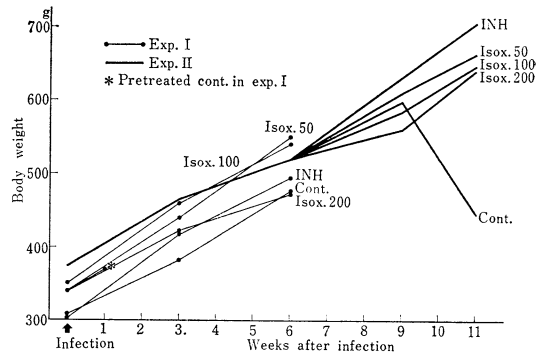
実験 I においてはモルモットを 5 匹ずつの 6 群に分け、1 群は感染後 1 週間で感染の程度をみるために殺し、臓器の肉眼的所見と、肺・脾臓内生菌数をしらべた。残り 5 群をそれぞれ表 1 の計画に従つて Isoxyl 200 mg, Isoxyl 100 mg, Isoxyl 50 mg, INH 2 mg 投与群と無処置対照群とした。実験 II においてはモルモットを 5 匹ずつの 5 群に分け、それぞれ Isoxyl 200, 100, 50 mg, INH 2 mg 投与群、ならびに無処置対照群とした。実験 I の無処置対照群は同時に実験 II の治療開始前対照群となる。体重は、感染前および感染後 1, 3, 6, 9, 11 週に測定した。

成績

1) 体重

実験 I, II の各群の平均体重の推移は図 1 に示したとおりである。実験 I の各群間に有意の差は認められな

Fig. 1. Body Weight Curve



い。実験 II では、無処置群の体重が 9 週と 11 週の間で急激に減少しているのに対し、治療群ではすべて順調に増加している。

2) 感染局所

実験 I：感染後 1 週で局所に硬結がみられた。6 週では無処置群の動物の局所がすべて潰瘍となつたのに対し、治療群では完全に治癒した。

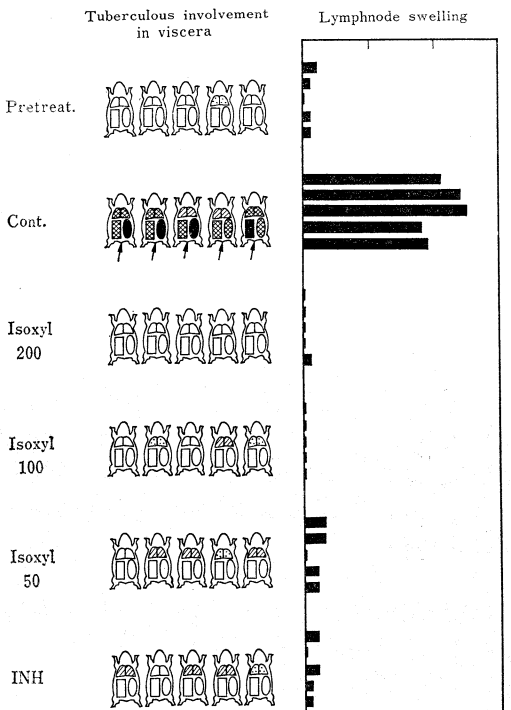
実験 II：治療開始前における局所はすべて潰瘍となつていた。治療開始後 3 週で、Isoxyl 200 mg, 100 mg, INH 投与群では潰瘍の治癒がみられ、Isoxyl 50 mg 群でも 5 週間の投与で 5 例中 4 例まで潰瘍が治癒した。無処置対照群では局所は潰瘍の状態を保つていた。

3) 剖検所見

実験 I：図 2 に示すように、感染後 1 週では、肺・肝・脾臓、およびリンパ腺の異常は肉眼的にほとんど認めら

れない。5週間の治療終了後は、どの治療群においても病変はほとんど認められず、とくに肝・脾臓はすべて正常であつた。リンパ腺の肥大も微小であつた。これらに対し無処置群では感染後6週で著しく病巣が進展し、脾臓、リンパ腺の肥大が顕著であつた。この結果は薬剤が病状の進行を抑えたことを示す。

Fig. 2. Tuberculous Involvement in Viscera and Lymphnode Swelling in Exp. I



Note 1: Nodular tuberculosis of lung
Severe diffuse involvement of spleen
Graded expression of numerous miliary tubercles in liver
Abscess or ulcer at infection site

Note 2: Swelling of lymphnodes were indicated by +, ++, +++, etc, representing their size. Then, number of all the lymphnodes were summed up as the index.

実験II：図3に示すように、Isoxyl 200mg 投与群では治療前に比して著しい病巣の縮小が認められた。これはINH 2mg 群に匹敵するかまたはより優れた治療効果を示すものである。Isoxyl 100mg 群はINH にはやや劣るが明らかな治療効果が認められ、Isoxyl 50mg 群にも1例を除き治療効果が認められた。これらに対し、無処置対照群では病巣が進展し、臓器の結節数、リンパ腺肥大度などが増大している。

表2は実験I, IIの各群の脾重量である。この表においても治療群と非治療群の差が明らかである。

4) 臓器内生菌数

肺臓と脾臓を一部摘出してホモジナイザーで乳剤とし、適宜希釈して1%小川培地に接種、3週後に判定して組織10mg中の生菌数を推定した。(図4)

実験I：感染後1週では、肺・脾臓ともごく少数の菌

Fig. 3. Tuberculous Involvement in Viscera and Lymphnode Swelling in Exp. II

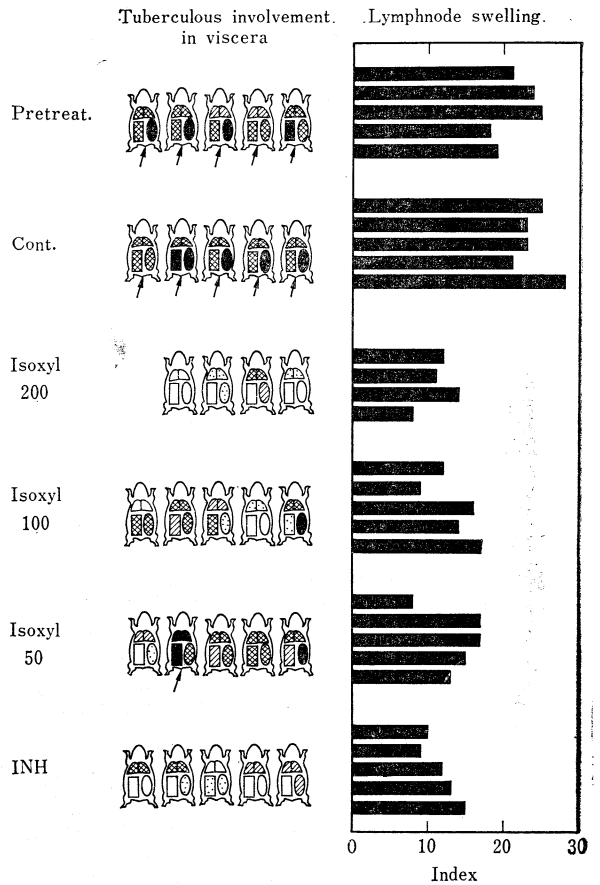


Table 2. Spleen Weight of Guinea Pigs in Exp. I and II

Exp.	Group	Spleen weight (g)						Spleen index**
		1	2	3	4	5	Mean	
I	Pretreatment	0.9	0.8	0.6	0.5	0.5	0.66	0.17
	control*	4.5	3.5	3.0	2.5	1.9	3.08	0.68
	Isox. 200	1.0	0.9	0.8	0.6	0.5	0.76	0.16
	Isox. 100	0.9	0.9	0.9	0.9	0.6	0.84	0.16
	Isox. 50	0.6	0.6	0.6	0.5	0.4	0.54	0.10
	INH 2	0.6	0.6	0.6	0.5	0.4	0.54	0.11
II	Pretreatment*	4.5	3.5	3.0	2.5	1.9	3.08	0.68
	control	7.3	6.4	6.0	5.3	2.7	5.14	1.15
	Isox. 200	1.5	1.2	1.1	1.0	—	1.20	0.19
	Isox. 100	3.5	1.8	1.4	1.3	1.2	1.80	0.28
	Isox. 50	2.5	2.0	1.3	1.3	1.1	1.64	0.25
	INH 2	1.5	1.2	1.1	1.1	1.1	1.20	0.17

* The non-treated control group in exp. I serves as the pretreatment group in exp. II.

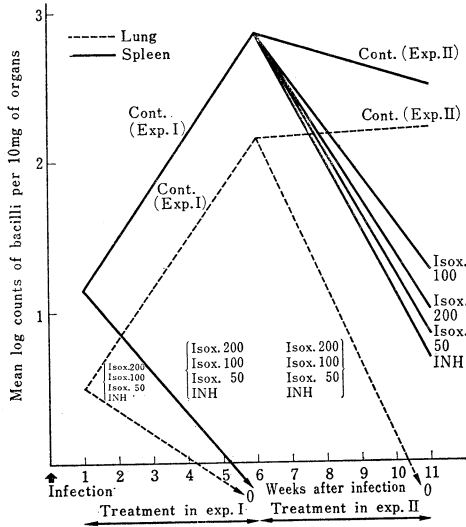
** Spleen index : spleen weight/body weight × 100

しか検出されなかつた。感染後6週後の培養では、無処置群の肺・脾からは1週後の培養の10倍以上の菌数を検

出したのに対し、治療群ではすべて組織 10 mg 中にまったく生菌を検出できなかつた。

実験Ⅱ：感染後6週の治療前対照群と、感染後11週の無処置対照群を比較すると、臓器内生菌数にほとんど

Fig. 4. Number of Viable Units Recovered from Lung and Spleen



差がない。一方治療群では、いずれも治療前より著しく生菌数が減少した。

考 察

Isoxyl の in vivo における抗菌作用を発揮させるためには、投与方法が重要な問題となると思われる。本研究室がかつて報告したマウスおよびモルモットの実験的結核症における Isoxyl の効果と、今回の実験の結果とを総括して考察すると、水に不溶の Isoxyl を錠剤の形で投与してもほとんど体内に吸収されず、したがって無効である。これに対しゼラチンあるいは油に懸濁して乳剤として投与すれば効果を発揮すると考えられる。この機作についてはさらに検討を要しよう。なお実験の手技の面からみるとゼラチンよりも椿油のほうがより粒子の細かい均一な乳剤を作りうる点で優れている。今回の実験では、Isoxyl は感染早期に投与すれば 100~125 mg/kg、進展した結核症に対しても 200~400mg/kg の連続投与できわめて優れた抗菌力を示した。これは INH の 1/100~1/50 に相当するが、実験Ⅰの場合はより低い濃度でも十分抗菌力を示すことが予想される。

Freerksen ら⁷⁾は Isoxyl を錠剤や granulate の形でウサギ、ヒトなどに投与してその血中濃度を測定し、薬剤の形は血中濃度には関係せず、むしろ個体差により差を生じると報告した。また臓器内の Isoxyl の濃度は血中より高いと述べている。かれらはウサギにおいて 200 mg/kg の投与が結核症に対して十分な抗菌作用を示すと述べている。これはわれわれの実験Ⅱにおける結果とほぼ一致する。

本実験を通じて Isoxyl の毒性は認められなかつた。現在までのところ、Isoxyl に毒性があるという報告はない。

椿油を単独投与しても実験的結核症の治療には無効であることは、その後の実験において確かめられた。この点ならびに Isoxyl と他の抗結核薬剤との併用効果については次報に述べるであろう。

結 論

Isoxyl を椿油に懸濁して投与すると、モルモットの実験的結核症においては感染早期に治療を始めれば 100~125 mg/kg ではほとんど完全な治療効果を示し、また進展した結核症(感染6週後)に対しても 200~400mg/kg の投与できわめて有効であることが示された。この実験結果が前回報告したモルモットの実験結果と大きな差を示した原因は、Isoxyl 投与のさいの薬剤懸濁方法にあると思われる。

実験における田村恵子氏のご協力に深謝する。また実験に使用した Isoxyl は明治製菓から分与されたものであり、記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) Buu-Hoi, N. P. et Xuong, N. D. : Compt. Rend. Acad. Sci., 237 : 498, 1953.
- 2) Tacquet, A., Macquet, V., Buu-Hoi, N. et Xuong, N. D. : Ann. Inst. Pasteur de Lille, 10 : 43, 1958~1959.
- 3) 小関勇一・賀来隆二 : 結核, 38 : 62, 1963.
- 4) 賀来隆二 : 結核, 38 : 67, 1963.
- 5) 金井興美・岡本茂広・室橋豊穂 : 結核, 38 : 470, 1963.
- 6) Crowle, A. J., Mitchell, R. S. and Petty, T. L. : Am. Rev. Resp. Dis., 88 : 716, 1963.
- 7) Freerksen, E., Meissner, G., and Meissner, J. : Trans. 24 th Conf. VA-Armed Forces, 1965