

マウスにおける実験的慢性結核症に及ぼす  
ステロイドホルモンの作用に関する研究

大 塚 英 司

東京医科歯科大学第二内科学教室 (指導 大淵重敬教授)

受付 昭和 40 年 12 月 20 日

STUDIES ON THE EFFECTS OF STEROID-HORMONE FOR  
EXPERIMENTAL CHRONIC TUBERCULOSIS IN MICE

Eiji OTSUKA

(Received for publication December 20, 1965)

The effect of chemotherapy for pulmonary tuberculosis lesions is supposed to exist in developing a temporary stable state of the lesion surrounded by connective tissue, although a partially active state remains inside. This is usually the case unless chemotherapeutics are used at a very early stage of exsudative process.

Consequently an idea of stimulation therapy has been developed that by inducing an acute inflammation to these temporary stable lesions by means of steroid hormone and by using combinedly antituberculous drugs, a more effective healing would be brought about.

For the purpose of giving support to the clinical application of this idea, the following study was performed.

152 male mice of ICR-JCL strain, highly resistant to tuberculosis were employed. These mice were infected intraperitoneally with a comparatively small amount of weakly virulent strain of tubercle bacilli. Ten weeks thereafter, treatment with SM was continued for 14 weeks, resulting in a successful development of many, highly chronic, and small productive tuberculous lesions.

The mice were divided into four groups; one group for the control, one for treatment with 1314 Th, one for treatment with prednine, and one for treatment with 1314 Th and prednine together.

During about four months of successive treatment with the drugs as mentioned above, the mice were killed one after another and macroscopic and pathohistological findings at autopsy, distribution of tubercle bacilli in the lungs, and enzymatic change in the lungs and liver were studied and quantitative culture of tubercle bacilli of the lungs was conducted. Consequently the following results were obtained.

1. The amount of 1314 Th and the term of its application which are considered as sufficient for an acute case was not sufficient for these chronic lesions.
2. A marked pathohistological and bacteriological effect was observed in the combined treatment with 1314 Th and prednine.
3. Prednine treatment followed by additional application of 1314 Th is of some value as a stimulation therapy, but there remain many questions regarding its clinical use.
4. These findings suggest the possibility of clinical application of stimulation therapy with steroid hormone for chronic productive tuberculous lesion.

\* From Second Department of Internal Medicine, Tokyo Medical and Dental University, School of Medicine, 1-Chome, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan.

## I. 緒 言

結核菌に対する Streptomycin の発見 (Waksman, 1943) を始めとして, Viomycin (Bartz, 1951), Kanamycin (梅沢, 1957), Cycloserine (Harned, Kropp, 1954) などの抗生物質の相つぐ登場と、一方 Promin の研究から始まった各種サルファ剤から発展して, PAS (Lehmann, 1946), Tibione (Domagk, 1946), INH (Selikoff, et al., 1952), PZA (Kushner, 1952)<sup>1)</sup>, さらに 1314 Th (Liebermann, 1956)<sup>2)</sup>, また最近では Ethambutol (Wilkinson & Shepherd, 1961)<sup>3)</sup> へと進んできた一連の合成化学物質を生み出した人類の血みどろの努力は、結核征服の偉大な武器となつて結核死亡率の急激な減少をもたらした、一応一段落の様相を呈するにいたつたが、しかしまなお新しい結核患者の発生は止まず、また一時的に安定した病巣の再燃をみる例がいまだに少なくないことも事実といわねばならない。

INH を最先端とする優秀な化学療法剤を駆使してもなおこの現状であるが、その原因を考えてみると、結核性病巣に対する化学療法の効果は、きわめて早期のごく滲出性機転の強い時期に使つた場合以外は、ほとんど中に一部活動性の状態を被包したまま全体に結合織で囲まれて一時的安定状態を保つているということが、十分な化学療法後の切除肺の所見でもしばしば認められるところであつて、この点が重要な問題である。

すなわち Pagel (1953)<sup>4)</sup> のように、臨床的には Healing であつても、組織学のおよび細菌学的な Cure ではない。

結核症治療の最終目標は、急性感染症における場合と同様に、細菌学的にも組織学的にも、完全な Cure を目指すべきであり、それが完成してはじめて結核患者の絶滅が可能となるはずである。その目標達成のためには、早期発見、早期治療の他に、新しい抗結核剤の開拓ももちろん重要であるが、しかしいかに有効な抗結核菌剤であつても、結核性炎症が、慢性炎症であること、また結核菌毒素に由来する特異性炎症としての組織学的な特長をもつことのために、生菌や活動性病巣を内臓したままの被包化治療に終わることがきわめて多いのである。

そこで、この特殊性炎症反応を抑制し、または破壊して、薬剤の浸透性を高めるようななんらかの手段を求めべきだとする考え方が生まれるわけである。

結核症に対するステロイドホルモン療法はこのような考え方のもとに始まつた治療法である。

ところで、以前には、結核症にステロイドホルモンの使用は禁忌とされていた。

すなわち Hench (1949)<sup>5)</sup> がリウマチ性疾患に対する Cortisone 療法を発表して以来、流行のように各種疾患にステロイドホルモン療法が行なわれたが、本療法中

に、潜在性の結核症の悪化が相ついで発表<sup>6)~12)</sup> され、動物実験でも結核感染動物にステロイドホルモンは悪影響を及ぼすと主張<sup>13)~18)</sup> された。

たとえば Popp (1952)<sup>7)</sup> は重症肺結核と関節ロイマの合併症例に Cortisone 単独投与でその悪化を報告しており、また American Trudeau Society (1952)<sup>19)</sup> の総合的研究でも、Cortisone や ACTH で活動性病変を悪化させ、停止性病変の再燃を報告し、“副腎皮質ホルモンは結核性疾患に対し禁忌である”と声明した。

しかしその後、抗結核剤の急速な開発に伴つて、有効な抗結核剤とステロイドホルモンの併用が、抗結核剤単独より著効を奏するとの臨床報告<sup>20)~29)</sup> や動物実験成績<sup>30)~34)</sup> が多数発表され、結核に対するステロイドホルモン療法が再検討されるようになった。

ところでこれらの臨床報告から、その有効性を検討すると、結核性疾患に対するステロイドホルモンの絶対的適応としては、(1) 滲出性漿膜炎急性期(髄膜炎、胸膜炎、腹膜炎、心膜炎)、(2) 急性粟粒結核であり、また比較的適応としては、(1) 肺結核急性期(学研分類 A 型ないし BB 型)、(2) 重症肺結核の副腎皮質機能低下の補償療法、また(3) 対症療法として、肺水腫、大量喀痰排泄による呼吸困難、頑固な咯血、血痰の持続時など、(4) 抗結核剤によるアレルギーの脱感作、(5) その他、気管支結核、結核性関節炎、結節性紅斑などがあげられる。

これらは、いずれもかなり急性期のものであつて、始めに述べたような、一見慢性の安定性病巣にいたつた場合のステロイドホルモン投与では、従来の諸家の成績では効果は認められないという報告<sup>35)~38)</sup> が多い。

しかし著者の教室<sup>39)</sup> においては、あえてこのような病巣にステロイドホルモンを投与し、一時的な局所性病巣悪化を誘発することによつて病巣全体を急性炎症化に導き、増殖性組織を破壊させ、そこにステロイドホルモンと、有効な抗結核剤との併用によつて、細菌学的にも組織学的にもより Cure に近づけたいという、いわゆる“刺激療法”の考え方に基ついて、臨床的にも検討中であるが、著者は同じ目的で、まずマウスに1年以上にわたるきわめて慢性の結核性病巣を作ることに成功し、これを応用して、そのような慢性病巣に対するステロイドホルモンの作用を、細菌学的、病理学的、また一部は酵素学的に検討したので報告する。

## II. 実験方法

### 1. 実験動物

均一系マウスとして ICR-JCL 系の生後 29 日ないし 34 日の雄 152 匹を用い、実験開始時の平均体重は 35g であつた。

飼育は小麦と固型飼料を混ぜて用い飼料も水も制限せ

ず十分に与えた。

2. 接種菌株および感染方法

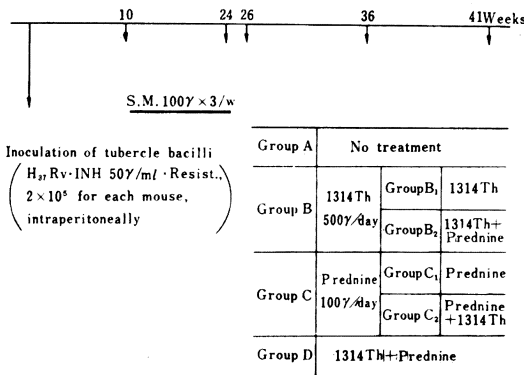
接種菌株としては H<sub>87</sub>Rv 株 INH 高度耐性菌を用いた。菌液の調整はまず小川培地に3週培養したものから、生理食塩水約 4ml に 12 白金耳の結核菌を溶解せしめグラスホモジナイザーにて均等化し、これを生理食塩水で Optical Density が 610mμ で 0.1 になるように希釈しその 0.2ml ずつを対照群を除いた全マウスの腹腔内に接種した。なおこの調整された菌液 0.2ml 中には定量培養により 2×10<sup>6</sup> の生菌数を確認した。

なお結核菌接種に先立ち前処置として水性ペニシリン 300 単位ずつを背部皮下に注射した。

3. 慢性増殖性肺結核小病巣作製法

慢性増殖性肺結核小病巣形成については大貫ら<sup>40)</sup>の方法にならぬ表1に示したごとく菌接種後 10 週間放置

Table 1. Method for Making Small Focus of Chronic Productive Lung Tuberculosis and Groups of Medication



してから、SM 100γ ずつを隔日に注射し 14 週間続けた。菌接種後経時的に屠殺し病理組織学的に確かめながら 24 週で満足のいく病巣を作りえたものと考えた。

4. 薬剤投与方法

菌接種後 26 週より、92 匹のマウスを表 1 のごとく 4 群に分け薬剤投与を行なった。

まず無処置の A 群、1314 Th のみの B 群、Prednine のみの C 群、始めから 1314 Th と Prednine 併用の D 群とし、10 週治療後に B 群の一部には Prednine を追加し、また C 群の一部には 1314 Th を追加して 6 群とした。

1314 Th は 500γ を腹腔内に、また Prednine は 100 γ を背部皮下に毎週 6 日ずつ注射した。

5. 観察方法

表 2 のごとく屠殺し次の項目について群別に比較観察した。

(1) 体重および一般状態

体重は実験開始後 1 カ月 1 度計測した。

Table 2. Number of Autopsied Animals in Each Stage and Each Group

Group	Week						Total
	26	30	36	39	41		
Control	3				5	8	
A	6	3	2		3	5	19
B		8	2	B <sub>1</sub>	3	4	17
				B <sub>2</sub>	3	4	7
C		11	2	C <sub>1</sub>	3	5	21
				C <sub>2</sub>	4	5	9
D		3	2		3	3	11
Total	9	25	8		19	31	92

(2) 剖検時肉眼的所見

全身各臓器について行なつた。

(3) 肺内結核菌定量培養

マウス屠殺時その左肺を用いトージョンバランスにて mg 単位まで重量を測定し、グラスホモジナイザーに入れて 19 倍量の 1% NaOH を加え 20 倍に希釈し十分均等に磨滅せしめ、この臓器 20 倍希釈液からさらに 1% NaOH にて 200 倍、2000 倍希釈まで作りこの 3 段階に希釈された臓器均等液をおのおの 3 本ずつ合計 9 本の 3% 小川培地にマイクロペットを用いて 0.1 ml ずつ定量培養した。しかしともつとも 100 コロニーに近い希釈段階を採用してその 3 本の平均値から臓器 10 mg 中の生菌数を算出した。

(4) 病理組織学的検索

肺臓・肝臓・脾臓・心臓・腎臓およびその他特に結節形成部位についてヘマトキシリン・エオジン染色を行なつた。

(5) 肺内結核菌分布状態

肺臓についてアニリン・フクシン法により結核菌染色を行なつた。

(6) 肺および肝における酵素系の変動

各種酵素中 LDH, MDH および Aldorase の 3 種について各期における変動を検索した。なお LDH は Hill 法(μg DPNH oxidized/min/mg prot.), MDH は Ochoa 法(0.01 Decrease in OD 340/min/mg prot.), Aldorase は Sibley 法(dioxyacetone units/mg prot.) を用いた。

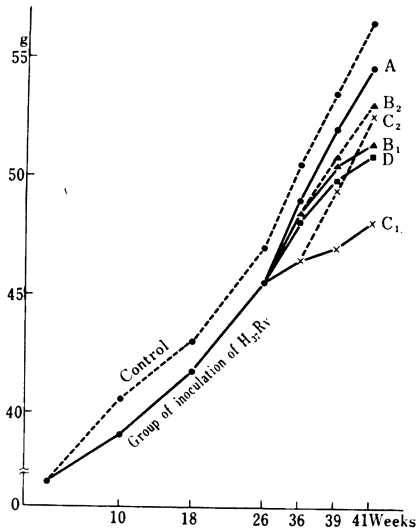
III. 実験成績

1. 体重および一般状態

体重の変動は図 1 に示したごとくである。対照群に対して結核菌接種群は菌接種後 1 カ月間は体重増加が少なかったがその後はほとんど平行して増加した。

1314 Th で治療した B<sub>1</sub> 群よりも無処置の A 群のほうが体重増加が著明であつた。

Fig. 1. Body Weight (means)



次に Prednine 投与群である C<sub>1</sub> 群は予期したとおり体重増加は著明に抑制された。

化学療法と Prednine を同時に開始した D 群は比較的体重増加が抑えられた。

他方 1314 Th 治療後 Prednine を投与した B<sub>2</sub> 群と Prednine 投与後 1314 Th で治療した C<sub>2</sub> 群は3カ月後ほぼ体重は一致した。

以上の成績のように、抗結核剤や、ステロイドホルモンを用いた場合には、病巣に対する直接作用のほかに、全身の代謝に及ぼす影響もあるために、体重の増減は必ずしも病理組織学的な治療効果を表わす指標とはならないものと思われた。

一般状態については食欲・皮膚状態等を観察した。食欲は B 群と C 群では比較的旺盛であり D 群でもつとも著明であつた。皮膚状態は Prednine 投与群でしばしば発疹がみられ、それが最後の屠殺時まで悪化し全身の 1/2 以上に及ぶものすらあつた。

## 2. 剖検時肉眼的所見

### (A) 腹腔内臓器

#### (1) 脾臓

結核菌接種後脾臓の腫脹および濾胞肥大は早期からみられ、SM 治療中もその状態が続いた。1314 Th および Prednine 治療開始後は無処置群と化学療法のみ群は濾胞肥大の傾向がつよく Prednine 投与群ではその傾向は消失した。またただ1例 C<sub>1</sub> 群で脾臓に大きさ約 6 mm (直径) の結核結節形成をみた。

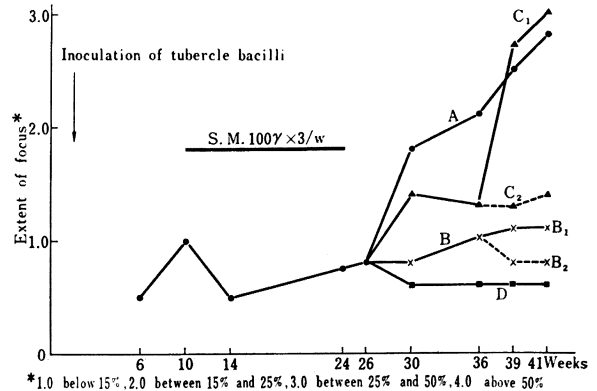
#### (2) 肝臓

全経過を通じて著明な変化をみなかつた。D 群2例と B 群1例に小指頭大の結核結節をみとめた。

#### (3) 腎臓

腎臓に変化をみたのは C 群に3例であつた。いずれも

Fig. 2 Extent of Focus



結核病巣であつた。

#### (4) その他

C 群に1例小腸部に結核結節を認め肝臓とつよく癒着していた。大量の腹水を認めたものは B 群に2例あつた。また B 群1例に性器付近に結核結節を認めた。

### (B) 胸腔内臓器

#### (1) 肺臓

結核菌接種後26週すなわち慢性増殖性肺結核小病巣形成期間中は病巣の増減は著しくなくその拡りはほぼ25%以下の状態が続いた。それぞれの病巣の大きさはほとんど粟粒大以下であつた。

各群各時期における病巣範囲は図2に示した。病巣の拡りは15%以下を1, 25%以下を2, 50%以下を3としそれ以上を4として縦軸とした。

A 群の病巣は漸次増加していつた。

B 群では病巣の範囲はほとんど増加せず後から Prednine を加えた B<sub>2</sub> 群はやや病巣縮小の傾向を認めた。

C 群では36週後著明に増加し C<sub>1</sub> 群と C<sub>2</sub> 群の間には著明な差が認められ、後から 1314 Th を加えた C<sub>2</sub> 群の病巣の拡大はよく抑えられた。

D 群では病巣の拡りはいちばん抑制されていた。

#### (2) 胸腺

D 群の1例に小指頭大の結核結節を認めた。

#### (3) その他

慢性小病巣形成中縦隔内リンパ腺に高度の腫脹を認めたものがあつた。これは A 群および B 群に1例ずつ認められた。

### 3. 肺内結核菌定量培養

左肺について結核菌定量培養を行なつたがその結果は表3, 図3に示した。

A 群の菌数は比較的増加の傾向にあつた。

B 群では A 群に比べ減少の傾向にあつたが B<sub>1</sub> 群と B<sub>2</sub> 群の間に差はなかつた。

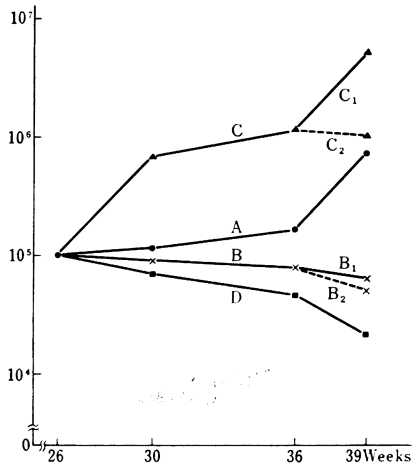
Prednine のみの C 群では著明な菌量増加がみられたが後から 1314 Th を加えた C<sub>2</sub> 群では生菌数が減少し

Table 3. Number of Viable TB-Bacilli in 10 mg of the Lungs

Week		26	30	36		39
A	Mean ± SD Sig. diff.*	$(93 \pm 17) \times 10^4$	$(124 \pm 14) \times 10^4$ C	$(188 \pm 6) \times 10^4$ C, D	A	$(576 \pm 53) \times 10^4$ B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , D
B	Mean ± SD Sig. diff.		$(88 \pm 6) \times 10^4$ C	$(144 \pm 6) \times 10^4$ C, D	B <sub>1</sub>	$(56 \pm 18) \times 10^4$ A, C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , D
					B <sub>2</sub>	$(52 \pm 16) \times 10^4$ A, C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , D
C	Mean ± SD Sig. diff.		$(672 \pm 128) \times 10^4$ A, B, D	$(1710 \pm 130) \times 10^4$ A, B, D	C <sub>1</sub>	$(4083 \pm 205) \times 10^4$ A, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C <sub>2</sub> , D
					C <sub>2</sub>	$(930 \pm 146) \times 10^4$ A, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C <sub>1</sub> , D
D	Mean ± SD Sig. diff.		$(76 \pm 8) \times 10^4$ C	$(68 \pm 10) \times 10^4$ A, B, C	D	$(24 \pm 4) \times 10^4$ A, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub>

\* Represents the group in which there is a statistically significant difference by the test: p value is 0.01.

Fig. 3. Means of the Number of Viable TB-Bacilli in 10 mg of the Lungs



ていくのを認めた。

D群では生菌数はもつとも減少していた。

これらの各群の間には、表3の注に示したような有意差を認めた。

4. 病理組織学的所見

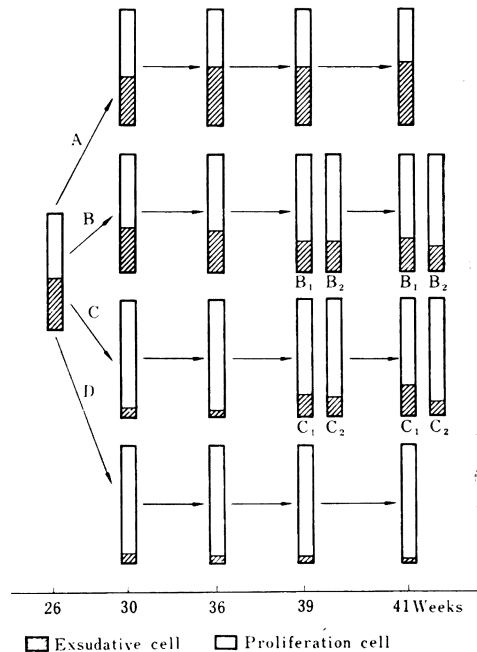
(1) 肺 臓

結核菌接種後経時的に屠殺したマウスの肺内病巣はその数および範囲は拡大したが比較的少量の SM 治療とともにその滲出傾向は抑制され繁殖細胞が増加した。26週には病巣の拡りのほか、滲出および増殖性病変の割合はほぼ固定されてきた。その間の病理組織学的変化を写真1, 2, 3, 4に示した。

写真1および2は菌接種後10週目の病理組織像で、ほとんど滲出細胞でうめられている。

写真3は、菌接種後24週目にみられた粟粒大の結核結節の肉眼像で、その組織像は写真4にみるごとく、繁殖細胞を主とし、一部滲出細胞をまじえた状態で、増殖

Fig. 4. Ratio of Proliferation Cell and Exsudative Cell in Lung Focus



傾向の強い慢性小病巣の散在が認められた。

次に4群に分け化学療法とステロイドホルモン療法時の各時期の繁殖細胞と滲出細胞の比率を図4に示した。

A群ではいくらか滲出傾向が増強し病巣も拡大していった。写真5は3カ月放置後の組織像である。これによれば他の群に比べて周囲肺胞組織への瀰漫性の浸潤を認めるところが多かった。

写真6は慢性小病巣形成後1314 Th 500 r で3カ月間治療した B<sub>1</sub> 群の組織像である。滲出傾向はかなり抑えられ病巣の吸収を認めるが、急性病巣に対する大貫の報告<sup>4)</sup>に比べると化学療法の効果は不十分であつた。

1314 Th 治療を行なつて後から Prednine を追加した

B<sub>2</sub> 群では、写真7にみるように比較的増殖傾向の強い状態を保っていた。

Prednine 単独の C<sub>1</sub> 群では病巣は大きく、また数も多くなり病巣内には、一部滲出細胞の増加が再びみられていた。しかしこれらの周囲の肺胞は比較的正常に近い状態を保っていた(写真 8, 9)。なお後述のように、この群では、組織内の結核菌染色によつて、そのような病巣周囲の一見正常に近い肺胞内に結核菌が散在していることが確認されたのは興味ある所見であつた。

このような Prednine の病巣に対する作用のあとに 1314 Th を追加した C<sub>2</sub> 群は写真 10, 11 に示したように、病巣自体も滲出傾向が少なくなつて増殖性になり、また周囲肺胞もきわめてよく吸収されていた。

始めから Prednine と 1314 Th を併用した D 群では写真に示したように、病巣も小さくかつ繁殖細胞のみの病巣に抑えられていた。

以上の諸所見の中で B<sub>1</sub> 群と B<sub>2</sub> 群の間には組織学的に著明な変化を認めなかつたのは次の2つのことが考えられる。1つはステロイドホルモンを加えてからの期間が短かつたこと、他の一つは十分に化学療法が行なわれるとあとのステロイドホルモン併用の意味が少ないことである。

一方 C<sub>1</sub> 群と C<sub>2</sub> 群の間に組織学および細菌学のかんりの相違を認めた。すなわち後から化学療法の加わつた C<sub>2</sub> 群では C<sub>1</sub> 群に比べて生菌数は明らかに減少していたが、組織学的にも C<sub>1</sub> 群では治療開始前に一度抑えられていた滲出傾向がまたいくらか増加してきており、その後化学療法を加えた C<sub>2</sub> 群は再び滲出傾向が抑えられていることが図4からもよく分かる。

組織学的観点からすれば Prednine と 1314 Th を同時に併用した D 群がこの実験期間中においては最良の成績を示し C<sub>2</sub> 群がこれについて良い成績であつた。

## (2) その他の臓器

肉眼的所見の項で述べたごとく、ごく一部のマウスに肺以外の臓器に結核結節を認め、組織学的にも結核性病巣であることを確かめた。

### 5. 肺内結核菌分布状態

全経過を通じて、A, B, D 群には、アニリン・フクシン法により、病巣内に結核菌を認めたものはごく少数で、また菌数もわずかであつた。Prednine を投与した C 群においては、1カ月目からすでに、病巣内の菌数も増加していたが、さらに病巣周囲の比較的正常な肺胞内にも結核菌の散在を認めた。

### 6. 肺および肝における酵素系の変動

図5は肺および肝における LDH の変動である。LDH は肺においても肝においても各群の間に有意の差は認められなかつた。

図6は肺および肝における MDH の変動である。慢

Fig. 5. LDH ( $\mu\text{g DPNH oxidized/min/mg prot.}$ )

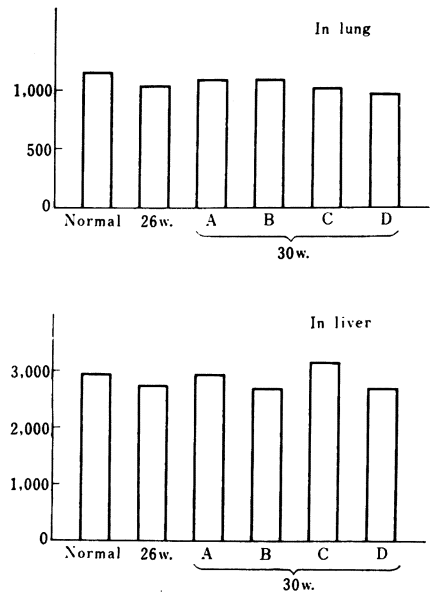
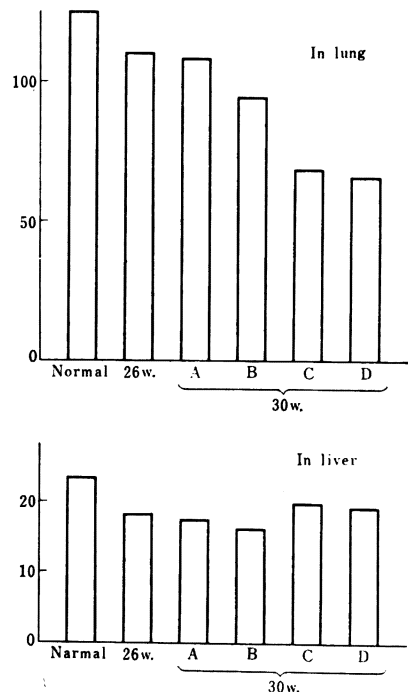


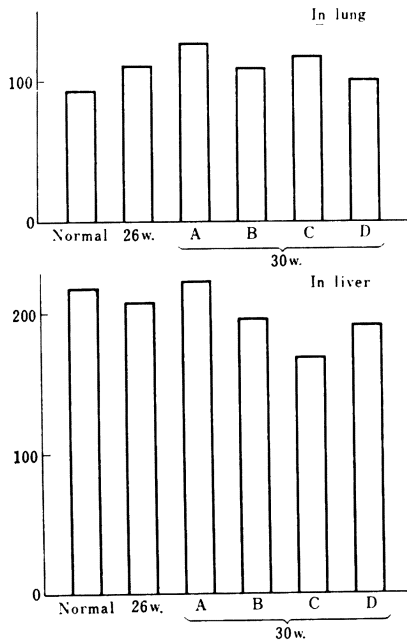
Fig. 6. MDH (0.01 Decrease in OD 340/min/mg prot.)



性肺結核病巣の進展とともに MDH は肺においても肝においても減少の傾向にあつた。各種薬剤による影響では肺においては Prednine を投与した C 群, D 群で著明に減少した。肝においては逆に軽度上昇の傾向にあつた。B 群は、正常マウスに対しては有意に低値を示したが、結核感染の各群との間には有意差は示さなかつた。

図7は肺および肝における Aldorase の変動である。

Fig. 7. Aldorase (dioxycetone units/mg prot.)



肺においては慢性の肺結核病巣の進展とともに上昇の傾向を示した。各種薬剤による影響についてはB群, D群においてその活性がやや減少した。これは 1314 Th の治療効果によるものと考えられる。他方肝においては慢性肺結核病巣の進展によつて影響を受けていない。各種薬剤による影響については, Prednine 投与のC群において減少した。

なおこれらをまとめて表4に示した。

IV. 考 察

副腎皮質ホルモンは生体内において, それ自身の作用のみならず体液性因子および神経性因子と複雑なる相互関係をもっている。

これを結核症に用いた場合, 生体と菌との2者の間に生じた反応の場に, ホルモンという一つの要素が加わつただけでなく, ホルモンによつて生体それ自身が多様に

変化してまつたく新しい反応の場を形成する。この点が結核症にステロイドホルモンを用いる場合に抗結核剤と本質的に異なるところであり, 病巣に対する影響の複雑性が増加する。

それゆえ, 実験的結核症に対するステロイドホルモンの影響を研究する場合, その条件づけを慎重にし, かつ詳細に記載しなければならない。

まず実験動物の種類と系統の選定である。かつては個体差が多いために結核の実験にマウスは不適當と考えられていたが, Raleigh and Youmans<sup>(42), (43)</sup>らのマウスによる実験成績を始め, 染谷<sup>(44)</sup>も系統を選べば十分実験的結核症の研究に応用しうることを強調した。岩崎, 小川<sup>(45)</sup>のごとく, マウスのほうが人間より近い成績を示す場合もあると主張しているものもみられる。

実験的結核症に用いられるマウスはもちろん均一系でなければならないが, 結核に対する感受性の高い SM, CF# 1, C<sub>3</sub>H, C<sub>57</sub>BL/6, dd, 系などは, 急性結核性病巣に対する化学療法剤のスクリーニングテストには適當であるが, 今回の著者の実験は, きわめてゆつくり進行する慢性の増殖性病巣を作る必要があるため, ICR-JCL 系を採用した。この系統に対する結核感染の成績については従来まつたく文献がなかつたが, 教室の大貫<sup>(40)</sup>が, この系統はきわめて抵抗力が強く, 慢性結核性病巣の作製に適した系統であることを報告している。

同様な意味で, 接種菌株としては, 毒力の弱い H<sub>37</sub>Rv-INH 50 r 耐性菌を選んだ。また INH 耐性菌に対するステロイドホルモンと二次抗結核剤である 1314 Th との併用効果をみることは臨床応用における場合との類似を求める意味も付加されている。

菌接種部位として腹腔内感染法を選んだのは, 一般的に静脈感染は急性実験に適しており, 慢性病巣を作るには, 大貫<sup>(39), (40)</sup>, 加藤<sup>(46)</sup>, 野崎<sup>(48)</sup>らのマウスにおける腹腔内感染についての詳細な報告からみてこの方法が良いと判断されたからである。

接種菌量に関しては, 大貫<sup>(39)</sup>によれば, Screening Test の場合, SM 系マウスに INH 感性の強毒菌を1匹当り 98×10<sup>4</sup> および 68×10<sup>4</sup> の生菌数ずつ腹腔内に

Table 4. L. D. H, M. D. H and Aldorase in Lung and Liver

( ) Number of Mice

	L. D. H.		M. D. H.		Aldorase		
	Lung	Liver	Lung	Liver	Lung	Liver	
Normal	1440 ± 166 (3)	2816 ± 280 (3)	125 ± 7 (3)	**23.5 ± 2.5 (3)	94 ± 13 (3)	217 ± 28 (3)	
26 W	1102 ± 96 (4)	2430 ± 193 (4)	83 ± 15 (4)	18.7 ± 2.1 (4)	112 ± 16 (4)	206 ± 22 (4)	
30W	A	1268 ± 22 (2)	2835 ± 75 (2)	108 ± 12 (2)	17.3 ± 0.9 (2)	127 ± 5 (2)	*223 ± 22 (2)
	B	1234 ± 51 (4)	2366 ± 204 (4)	94 ± 16 (4)	**16.4 ± 1.3 (4)	110 ± 13 (4)	195 ± 22 (4)
	C	1117 ± 128 (4)	3246 ± 157 (4)	68 ± 7 (4)	20.0 ± 1.6 (4)	117 ± 3 (4)	*168 ± 4 (4)
	D	1138 ± 24 (3)	2340 ± 193 (3)	66 ± 6 (3)	19.2 ± 0.7 (3)	100 ± 4 (3)	191 ± 23 (3)

\*, \*\* There is a statistically significant difference by the t test : p value is 0.05.

感染させて満足な急性病巣を作っており、また野崎<sup>47)</sup>は H<sub>37</sub>Rv-INH 耐性菌を  $46 \times 10^4$  の生菌数ずつ CF# 1 系マウスに接種して耐性菌でもかなりの進行性肺病巣のできることを報告している。以上の成績を参考にし、著者の実験はより緩慢な病巣形成でありたいこと、また ICR-JCL 系がきわめて抵抗力の強い系統であることから菌量は  $2 \times 10^5$  が適当量と判断した。

次に SM 投与量に関しては、まず十分な治療効果をあげるための量として、Karlson & Feldman (1948)<sup>48)</sup>, Grunberg (1953)<sup>49)</sup> を始めとして、ほぼ 200~300 r/50 g/day が大部分であるが、著者の実験においては、慢性病変の進行をなるべく停止させ、増殖性機転を促進させることが目的であつたので、100 r/day でかつ週3回という比較的少量を用いた。SM を使用した理由は、ステロイドホルモン使用前までは一次抗結核剤のみによる実験条件の設定を行なつて、臨床の場合に近い状態を作り出したためであつた。

以上のような実験条件によつて、著者は目的とした慢性増殖性結核性小病巣をマウス肺内に多数散在せしめることに成功した。

そこで刺激療法としてのステロイドホルモン療法に入つたわけであるが、そのさい、ステロイドホルモンと併用する抗結核剤としては、十分有効な種類と投与量が要求されるわけであるが、その意味で二次抗結核剤である 1314 Th 500 r/day を用いた。この量に関しては、Rist<sup>50), 51)</sup>, Brouet<sup>52), 53)</sup> らによつても 300~700 r/50 g/day で十分な治療効果をみており、またとくに H<sub>37</sub>Rv-INH 耐性菌に対する 1314 Th 500 r/day の有効性についてはすでに野崎<sup>47)</sup>の実験成績がある。

さて刺激療法の意味で用いたステロイドホルモンの種類の選択であるが、表5に示したごとく、Cortisone で始まつた合成ステロイドの発展はめざましいものがある。

今回の実験においては、期待する作用の大きいこと、文献的にもいちばん多く用いられていること、臨床的に

ももつともよく検索されていることから、Prednine を選んだ。その使用量についてはマウスに対する Prednine の成績は少なく、徳久<sup>54)</sup>は 25~40 r/50 g/day を使用しているが、今回の目的が単なる治療ではなく慢性の安定病巣に対する刺激療法という意味から 100 r/day という比較的少量に決めた。

以上のごとき条件設定の下に実験を行なつた成績から、次のようなことが考察される。

#### (1) 体重および一般状態

Prednine 投与による体重増加の抑制については次の2つの要因が考えられる。すなわち蛋白質異化作用と、感染症増悪による体重増加の抑制である。これは Prednine 投与後に有効な抗結核剤を併用した C<sub>2</sub> 群でまた体重増加が著明になつた点からも十分考えられる。

次に 1314 Th 単独群よりも、1314 Th 投与後に Prednine を追加した B<sub>2</sub> 群のほうが体重増加率が大きであつたが、これはより安定した病巣に対しては組織所見でも示したように感染症増悪の機会をもちがたく、またステロイドの投与量が蛋白質異化作用を示す以前の、全身状態改善の範囲に止まる短期間であつたということも考えられる。

しかし 1314 Th と Prednine を併用した D 群の体重増加率が著明でなかつたこともあり体重の変動は、その治療効果を現わす指標とはならなかつた。

また Prednine 投与群に湿疹様の発疹が現われてきたのは、一般菌による感染増悪も考えられる。

#### (2) 肺内生菌数と肺病理学的所見について

ステロイドは菌に直接働くのではなく、Glucocorticoid → Antiphlogistic Action → Barrier 形成不全という一連の生体反応の結果として、細菌学および病理学的に特長的な反応を示すことを大貫<sup>55)</sup>が指摘している。菌それ自身に関しては、むしろ発育促進の効果をもつわけである。Prednine 単独群で、菌数が著明に増加していたにもかかわらず、病巣と正常部との境界が比較的鮮明であつたのは、ステロイドホルモンの抗滲出作用の結果であろう。

一般的にいつて、増殖性病巣に対する抗結核剤の透過性は、周囲からの血管の新生にかかつている。ステロイドホルモンを投与した場合、初期には前述のごとき反応によつて、滲出機転や肉芽形成の抑制による病巣の隔絶化と、菌数の増加があり、これが中心部乾酪化を促進することもあり、また一定の限界を越えると、Host-parasite-drug 3 者の均衡を失つて、慢性病巣の急性炎症化を来たすようになる。このさいステロイドホルモン長期使用によるホルモン効果の減弱ということも考えなければならぬ。

とにかく急性化した病巣における病巣の軟化と血管の新生が、抗結核剤の病巣内への浸透性を左右し有効性を

Table 5. Kind of Corticosteroids and its Biological Effects

	Anti-inflammatory effect	Carbohydrate-metabolic effect.	Na-retaining effect
Cortisol	1. 25	1. 25	1. 25
Cortisone	1	1	1
Prednisone	3~5	3~5	0
Prednisolone	3~5	3~5	0
Methyl prednisolone	3~8	4~6	0
Triamcinolone	3~5	4~6	0
Dexamethasone	25	25	0
Bethamethasone	25	25	0
Paramethasone	7~10		0



決めることになる。これが刺激療法の基本的な考え方である。

さて今回の実験では、菌量および組織学的所見からは、1314 Th とステロイドホルモンを始めから併用した群がもつとも良い成績を示した。これは前述の増殖性病変に対するステロイドホルモンの刺激効果と有効な化学療法が合併したものと思われる。始めに 1314 Th を投与しておき、より安定病巣に変化したものに対して後からステロイドホルモンの併用は効果が少なかったが、このことは抗結核剤を長期に投与して安定した病巣になればなるほど、ステロイドホルモンによる刺激効果が少なくなることを推測させる。別ないい方をすれば、血管新生による薬剤の滲透性が、刺激療法の大きな因子ともいえる。

一方 Prednine を加えておいてから、1314 Th を追加して治療した群では、生菌数は化学療法によつてよく抑えられてきたが、病巣の範囲はなお大きかった。もしさらに有効な化学療法を続けければ、菌の所見および組織像からみても一層病巣の吸収縮小に導く可能性があり、そうならば刺激療法として、この組合せは優れた方法といえるのであるが、今回の実験期間ではそこまで追求しえなかつた。

ここで臨床的応用の面から考察を加えてみたい。われわれがそうぐうする慢性散在性結核症の多くは、その中心部に乾酪巣（ときに一部石灰化巣）を内臓し、それを類上皮細胞、ラングハンス氏巨細胞、線維芽細胞、リンパ球等の細胞層と結合織の層で囲み、その間に毛細血管が侵入している。そして外層部は、局所的な増悪機転と治癒機転を繰り返している。しかも長期の化学療法により一部の薬剤に対して耐性を獲得した生菌が、比較的血管の連絡の悪い部分に内在しているはずである。

今回の実験結果から、このような増殖性病変の外縁をステロイドホルモンによる刺激療法で急性炎症化し、破壊する可能性は十分考えられ、徐々に急性炎症を中心部乾酪巣にまで波及させて軟化融解に導き抗結核剤の浸透性を高めることも考えられるところである。

Hart<sup>55)</sup>(1954) も、早くから cortisone や ACTH で慢性肺結核病巣を攪乱し、増殖遊離した菌を併用化学療法で処理する可能性について論じている。

しかし臨床的にステロイドホルモンを応用する場合には、下垂体副腎皮質機能不全、消化性潰瘍、重篤感染症の発生その他の副作用を常に注意しなければならないが、これらを十分検索しながら刺激療法を行なう必要がある。その使用方法にしてもステロイドホルモンと同時に強力な抗結核剤を併用するよりは、もし病巣の再燃を確実に観察しうるのであれば、まずステロイドホルモン単独投与後に強力な化学療法を長期に行なうことが理想的と思われるが、実際には危険性を伴ない慎重を要する

方法で、現在著者の教室においては、これらの点を臨床的に種々検討中である。

### (3) その他の臓器の病理学的所見

マウスの実験的結核症においては、静脈感染の場合、全身に結核菌が散布されても、2~3 週間には肺以外の臓器の結核菌はほとんど消失して、結核性病巣を形成するのはほとんど肺のみであるといわれていた。しかし大貫<sup>41)</sup>は、SM 系マウスの腹腔内感染後の全身各臓器の肉眼像、組織像を検討して、肺以外の臓器にもときには結核性の小病巣や小結節を残すことを示したが、今回の実験においても同様に、成績の項で述べたように、肝、脾、腎、小腸、性器等に一部結核結節を認めた。しかし少数例のため治療法別による差異を検討するまでにいたらなかつた。

### (4) 酵素学的変動

今回の実験においては、Emden-Meyerhof Pathway から Aldorase と L. D. H. また TCA-Cycle から MDH を選んだ。また肺結核病巣の変化をみる目的で肺組織を、さらに全身性変化の中心として肝の組織酵素を測定した。

Aldorase は慢性病巣の進展と共に肺における活性が上昇した。これは病巣における酸素不足が嫌気性解糖を促進させたことも推定させる。1314 Th またはステロイド療法による病巣の縮小に伴なつてその活性は抑えられた。他方肝の Aldorase はステロイドホルモン投与によりその活性が低下した。

MDH では Aldorase の活性と逆に、肺においては慢性病巣の進展とともにその活性は低下したが、これは病巣における呼吸の回転が悪くなった結果を現わすものであり、それはステロイドホルモン投与によつてさらに著明であつた。また結核菌は好気性解糖によつてそのエネルギーを得ているといわれているので、これらの変化は菌量によるものではなく、結核病巣による変化と考えられる。

## V. 結 語

抵抗力の強い ICR-JCL 系マウスの雄 152 匹を用い、毒力の弱い H<sub>37</sub>Rv-INH 高度耐性菌の比較的少量を腹腔内に感染せしめ、10 週経過後から比較的低濃度の SM による治療を 14 週行なうという方法の総合によつて、多数のきわめて慢性の増殖性小結核病巣の実験的作製に成功した。

その病巣に対して、ステロイドホルモンと 1314 Th を用いて、ステロイドホルモンによる刺激療法としての効果を検討して次の結果を得た。

(1) 各群の体重の変動は、その治療効果を現わす指標とはならなかつた。

(2) 急性病変では十分有効な量と期間の 1314 Th

療法でも、この慢性病巣には十分な効果を示さなかつた。

(3) しかるに、その同じ量の 1314 Th と Prednine を併用した群では、病理組織学的にも、細菌学的にも著明な効果を認めた。

(4) 慢性増殖性病巣に対し、Prednine 単独投与は、病巣内結核菌の繁殖を促し、病巣周囲の肺胞内に結核菌を遊出せしめることを認めた。

(5) Prednine を投与した後に、1314 Th を追加併用する方法は、刺激療法としての価値が十分考えられることを知つたが、その臨床的応用にはまだ検討すべき問題が多い。

(6) 1314 Th で治療した後に Prednine を追加併用した群は、その併用効果が少なかつた。

(7) これらの所見は、ステロイドホルモンによる慢性増殖性結核病巣に対する刺激療法としてその臨床的応用への可能性を十分示唆しているものと考ええる。

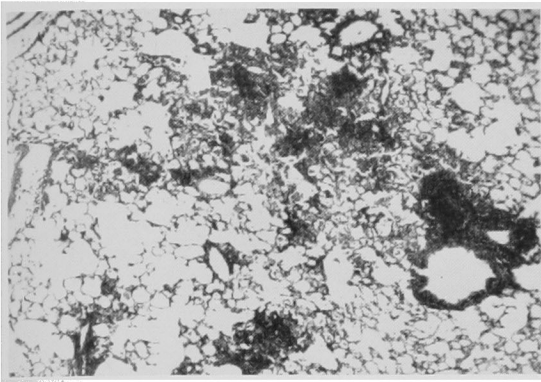
(8) なお酵素系については病巣の拡りに比例する活性変化を示した。

終りに臨み、終始ご指導ご校閲を賜つた恩師大淵重敬教授、大貫稔講師に深甚なる謝意を表します。また本研究にご協力いただいた第二内科医局諸先生および、研究室諸氏に感謝いたします。

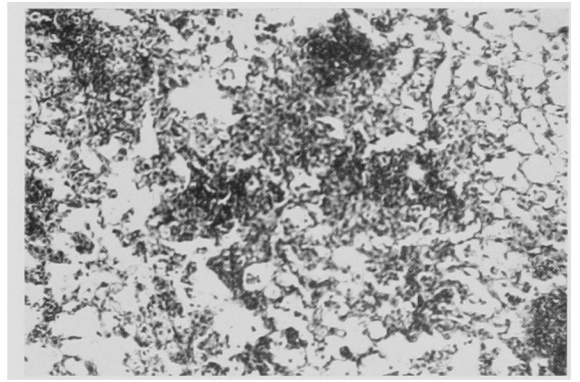
#### 文 献

- 1) Kushner, S. et al.: J. A. Chem. Soc., 74 : 3617, 1952.
- 2) Liebecmann, D. et al. : Compt. Rend. Acad. Sci., 242 : 2187, 1956.
- 3) Wilkinson, R.G. et al. : J.A. Chem. Soc., 83 : 2212, 1961.
- 4) Pagel, T. et al. : Pulmonary Tuberculosis. Oxford Medical Publication, p. 417, 1953.
- 5) Hench, P.S. et al. : Proc Staff. Meet. Mayo Clin., 24 : 181, 1949.
- 6) King, E. Q. et al. : J. A. M. A., 147 : 3, 1952.
- 7) Popp, C. G. et al. : J. A. M. A., 147 : 3, 1952.
- 8) 児玉 : 臨床内児科, 8 : 9, 1953.
- 9) 早瀬 : 日本臨床, 14 : 1, 1956.
- 10) Regan, F. D. et al. : Am. Rev. Tbc., 64 : 5, 1951.
- 11) Johnson, J. R. et al. : Am. Rev. Tbc., 70 : 4, 1954.
- 12) 吉利ら : 内科, 15 : 728, 1965.
- 13) Spain, D.M. & Molomut, N. : Am. Rev. Tbc., 62 : 337, 1950.
- 14) Bloch, R.G. et al. : J. Lab & Clin. Med., 38 : 133, 1951.
- 15) Karlson, A. G. et al. : Dis of Chest, 20 : 469, 1951.
- 16) Cummings, M. M. et al. : Am. Rev. Tbc., 65 : 596, 1952.
- 17) Pierre-Bourgeois et al.: Rev. de la Tbc., 16 : 912, 1952.
- 18) Molomut, N. & Spain, D. M. : Am. Rev. Tbc. 67 : 101, 1953.
- 19) American Trudeau Society : Am. Rev. Tbc., 66 : 254, 1952.
- 20) Even, R. et al : Rev. de la Tbc., 19 : 1249, 1955.
- 21) 鈴木 : 通信医学, 7 : 49, 1955
- 22) 篠原 : 日本医師会雑誌, 37 : 157, 1957.
- 23) 島本 : 診療, 7 : 1954.
- 24) Barré, E. et al. : Rev. de la Tbc., 19 : 698, 1955.
- 25) Even, R.: Prob. Tuberk. 1956-2, 65, 1956.
- 26) Baldamusu et al.: Dtsch. Med. Wschr., 84 : 1625, 1959.
- 27) 北本ら (文部省科学研究費総合研究班) : 最新医学, 15 : 2660, 1960.
- 28) Krukowska, H.: Beitr. Klin. Tbc., 121 : 523, 1960.
- 29) Yoo, O. H.: Am. Rev. Resp. Dis., 88 : 55, 1963.
- 30) 今泉 : 日本臨床結核, 15 : 865, 1956.
- 31) Baudot, J. et al.: Rev. de la Tbc., 17 : 254, 1953.
- 32) Bacos, J.M. et al.: Am. Rev. Tbc., 67 : 201, 1953.
- 33) Morgan, T. E. et al.: J. Bact., 67 : 257, 1954.
- 34) 山口 : 最新医学, 10 : 1065, 1955.
- 35) A preliminary report by the Research Committee of the Tuberculosis Society of Scotland. Brit M. J., 5054, 1131, 1957.
- 36) 学研「感染と副腎皮質ホルモン」班 : 最新医学, 14 : 2237, 1959.
- 37) 河盛 : 診療, 11 : 517, 1958.
- 38) 徳臣 : 第 11 回日本結核病学会九州地方学会, 1959 : 臨牀と研究, 37 : 128, 1960.
- 39) 大貫ら : 医学のあゆみ, 53 : 395, 1965.
- 40) 大貫ら : 第 39 回日本結核病学会総会, 1964.
- 41) 大貫 : 結核研究の進歩, 28 : 183, 1960.
- 42) Raleigh, G.W. & Youmans, G.P.: J. Inf. Dis., 82 : 197, 1948.
- 43) Raleigh, G. W. & Youmans, G. P.: J. Inf. Dis., 92 : 205, 1948.
- 44) 染谷ら : 日本臨床結核, 17 : 580, 1958.
- 45) 岩崎・小川ら : 結核, 24 : 173, 1949.
- 46) 加藤 : 医学と生物学, 32 : 314, 1954.
- 47) 野崎 : 結核, 39 : 217, 1964.
- 48) Karlson, A. G. & Feldman, W. H.: Am. Rev. Tbc., 58 : 129, 1948.
- 49) Grunberg, E. et al.: Am. Rev. Tbc., 68 : 277, 1953.
- 50) Rist, N. et al.: Am. Rev. Tbc., 79 : 1, 1959.
- 51) Rist, N. et al.: Bull. Intern. Tbc., 28 : 208, 1958.
- 52) Brouet, G. et al.: Am. Rev. Tbc., 79 : 6, 1959.
- 53) Brouet, G. et al.: Bull. Intern. Tbc., 28 : 216, 1958.
- 54) 徳久ら : 日本臨床結核, 17 : 580, 1958.
- 55) Hart, P. D. A.: Brit. M. J., 4891 : 717, 1954.

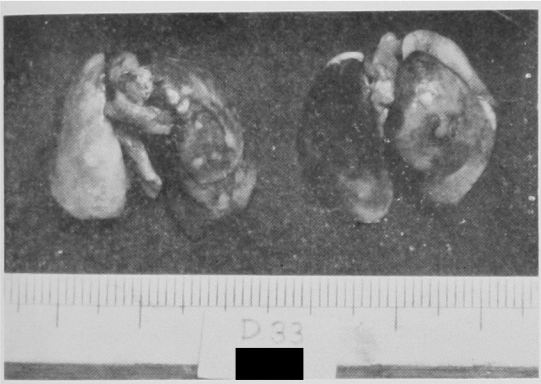
(Eiji OTSUKA)



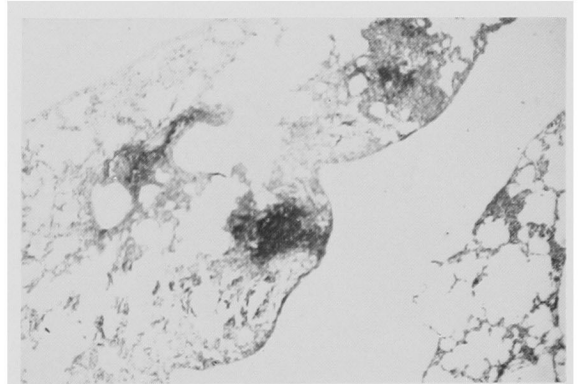
1. 10 W. after inoculation of  $H_{37}Rv \cdot INH$  50  $\gamma$ /ml Resist  
( $\times 4$ )



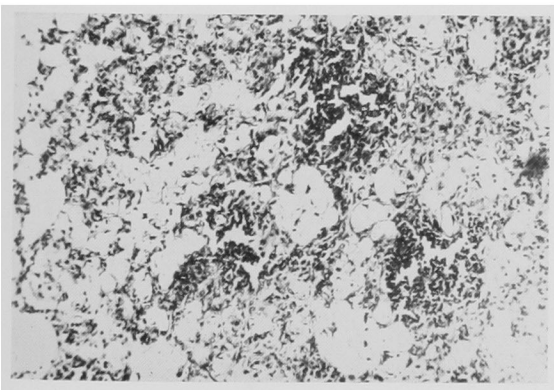
2. Same with No. 1  
( $\times 10$ )



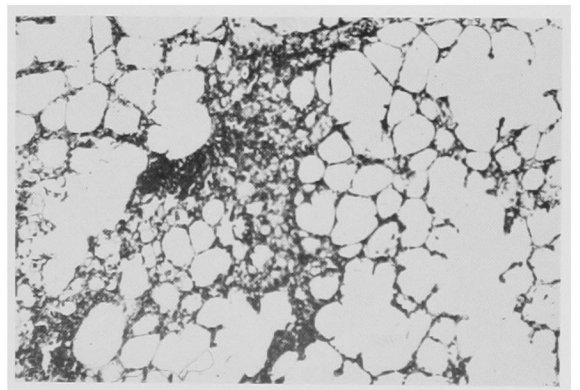
3. 6 M. after inoculation, just before treatment



4. Same with No. 3  
( $\times 4$ )

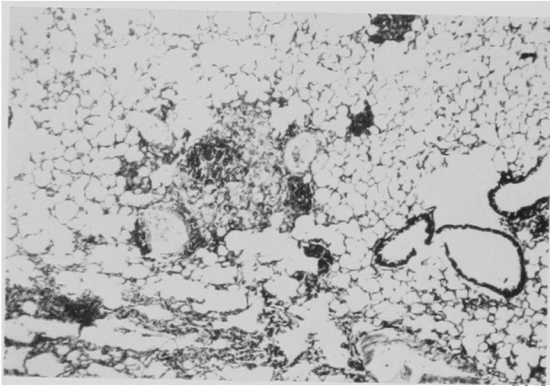


5. A : 9 M. after inoculation  
( $\times 10$ )



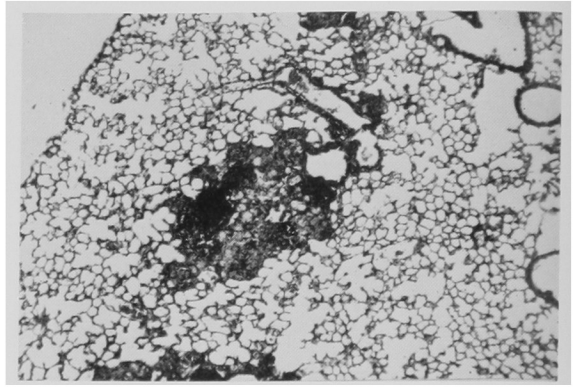
6.  $B_1$  : 1314 Th 13 W.  
( $\times 10$ )

(Eiji OTSUKA)



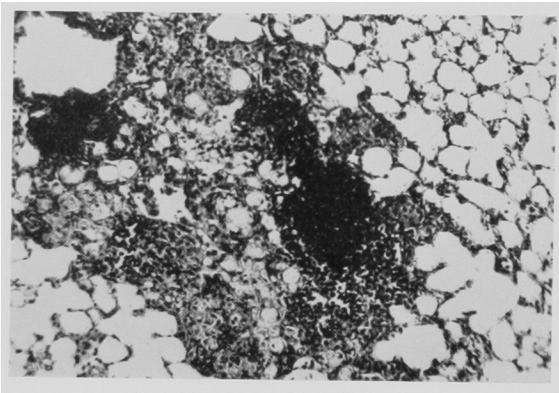
7. B<sub>2</sub> : 1314 Th 13 W. Prednine 7 W.

(×4)



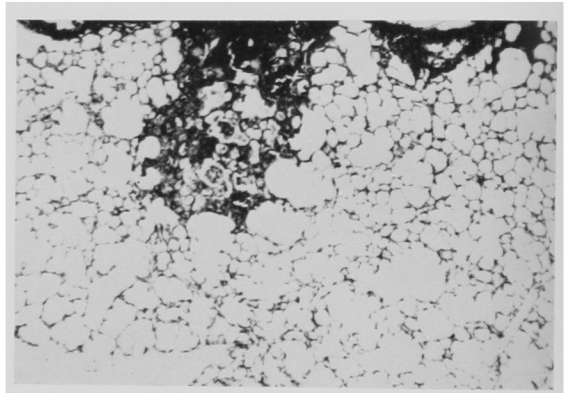
8. C<sub>1</sub> : Prednine 13 W.

(×4)



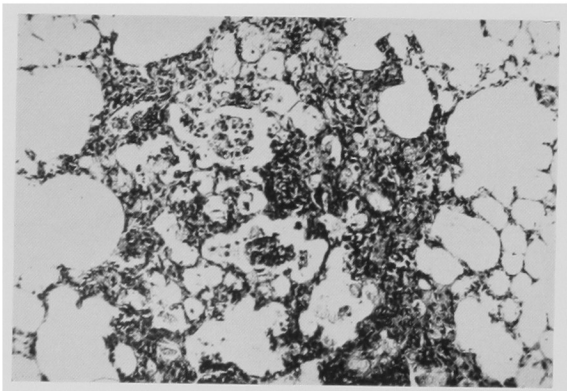
9. C<sub>1</sub> : Same with No. 8

(×10)



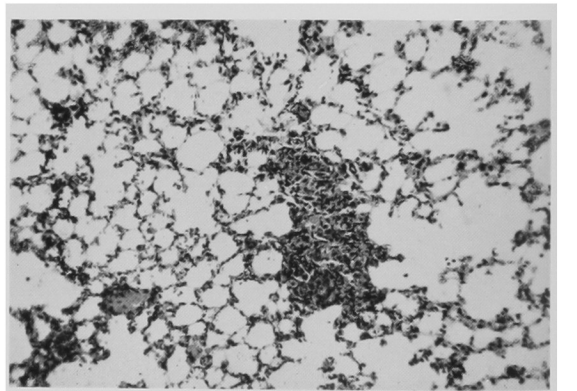
10. C<sub>2</sub> : Prednine 13 W. 1314 Th 7 W.

(×4)



11. C<sub>2</sub> : Same with No. 10

(×10)



12. D : Prednine 13 W. 1314 Th 13 W.

(×10)