

マウス実験結核症に対する Rifampicin の抗結核作用に関する研究

豊原 希一・岩崎 龍郎

結核予防会結核研究所 (所長 岩崎龍郎)

受付 昭和 45 年 10 月 12 日

ANTI-TUBERCULOSIS ACTIVITY OF RIFAMPICIN FOR EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS OF MICE*

Mareichi TOYOHARA and Tatsuro IWASAKI

(Received for publication October 12, 1970)

Some reports have been presented on the effect of Rifampicin (RFP) for the experimental tuberculosis of mice, but few has been reported on Rifamycin-SV and desacetyl rifampicin (Da-RFP).

As the significant blood concentration of RFP is kept for a relatively long time, it is expected that RFP might be used on intermittent basis.

In the present study, the survival rate of tuberculous mice was compared among groups receiving oral administration of each drug (RFP, Da-RFP, Rifamycin-SV), and the effect of intermittent treatment by RFP was studied in comparison with that by INH.

In the first experiment, the effect of RFP, Da-RFP and Rifamycin-SV was compared. Male mice of dd strain weighing about 25 g were used, and 0.1 ml (1 mg) of bacillary suspension (10 mg/ml) prepared from Sauton culture of Kurono strain was inoculated into tail vein of each mouse.

Mice were divided into the following four groups. Each group consists of 9 or 10 mice.

Group 1: Non-treated control

Group 2: Treated with RFP, 0.5 mg every day orally

Group 3: Treated with Da-RFP, 0.5 mg every day orally

Group 4: Treated with Rifamycin-SV, 0.5 mg every day orally

Treatment was begun from sixth day after challenge, and was continued for twenty days. Thereafter, no treatment was given and they were observed till forty-eighth day to know the survival rate of each group.

Result is shown in Fig. All mice were dead till 25th day in non-treated group and till 27th day in Rifamycin-SV group, while 37% of mice survival till 48th day in Da-RFP treated group, and all mice treated with RFP were alive till 48th day.

In the second experiment, the intermittent treatment of RFP was compared with that of INH. Male mice of dd strain weighing about 25 g were used, and 0.01 mg of bacillary suspension prepared from lyophilized bacilli of Kurono strain was inoculated in tail vein of mice.

Mice were divided into nine groups.

Group 1: Non-treated control

* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose-shi, Tokyo 180-04 Japan.

- Group 2: RFP 0.33 mg (17 mg/kg) every day orally
- Group 3: RFP 1 mg (50 mg/kg) twice a week orally
- Group 4: RFP 1 mg (50 mg/kg) once a week orally
- Group 5: RFP 2 mg (100 mg/kg) once a week orally
- Group 6: INH 0.2 mg (10 mg/kg) every day orally
- Group 7: INH 0.6 mg (30 mg/kg) twice a week orally
- Group 8: INH 0.6 mg (30 mg/kg) once a week orally
- Group 9: INH 1.2 mg (60 mg/kg) once a week orally

Treatment was begun one week after challenge and was continued for six weeks. All mice were killed one week after finishing treatment, and lung weight, $\sqrt{S.L.W.}$, macroscopic changes of lungs and viable units in lungs were observed.

Table 1 shows the degree of macroscopic lesions of lungs. Table 2 shows the average lung weight, $\sqrt{S.L.W.}$ and viable bacilli in 1 mg of lung of each group.

As seen in tables, both RFP and INH showed the remarkable effect in comparison with non-treated control group. The effect of RFP 1 mg once a week, INH 0.6 mg once a week and INH 1.2 mg once a week was slightly inferior to the other treated groups. On the whole, the intermittent treatment of INH seemed to be inferior to that of RFP.

It is concluded as follows:

- (1) Survival days of mice after challenge of tubercle bacilli were prolonged significantly only by RFP but not by desacetyl rifampicin and Rifamycin-SV.
- (2) The intermittent treatment of RFP and INH was compared in the experimental tuberculosis of mice. INH was more effective than RFP in the daily treatment, but RFP was better than INH in the intermittent treatment. The results might be explained by the fact the concentration of RFP in blood and tissue remains rather high for a significantly long time.

1. ま え が き

Rifampicin (RFP) がマウス結核症に対し有効であることについてはすでにいくつかの報告^{1)~6)}があるが RFP の母体である Rifamycin-SV および体内で脱アセチルされて生ずる Desacetyl rifampicin (Da-RFP) のマウスに対する抗結核作用についての報告は少ない。

また RFP は経口投与により有効血中濃度が比較的長時間持続するという報告⁶⁾や in vitro で結核菌との接触時間が比較的短くとも菌の再増殖がかなりおくれるという報告⁷⁾もあり、間欠治療も効果的であることが期待される⁸⁾⁹⁾。

以上のごとき見地から、まず Rifamycin-SV, RFP, Da-RFP のマウス結核症における延命効果をみるとともに RFP の間欠投与の効果をも INH と比較し知見を得たので報告する。

2. RFP, Da-RFP, Rifamycin-SV のマウス実験結核症に対する延命効果

1) 材料ならびに方法

a) 動物

体重 25 g 前後の dd 系♂マウス。

b) 接種菌株と菌量

結核菌、黒野株の Sauton 培地培養 10 日菌から摩砕コルベンにより 10 mg/ml の菌液を作製し、その 0.1 ml (1 mg) をマウス尾静脈に接種する。接種菌の生菌数は 5.5×10^6 /mg。

c) 方法

マウスを次の 4 群に分かつ。各群 9~10 匹。

- 1 群: 無治療対照群
- 2 群: RFP 治療群
- 3 群: Da-RFP 治療群
- 4 群: Rifamycin-SV 治療群

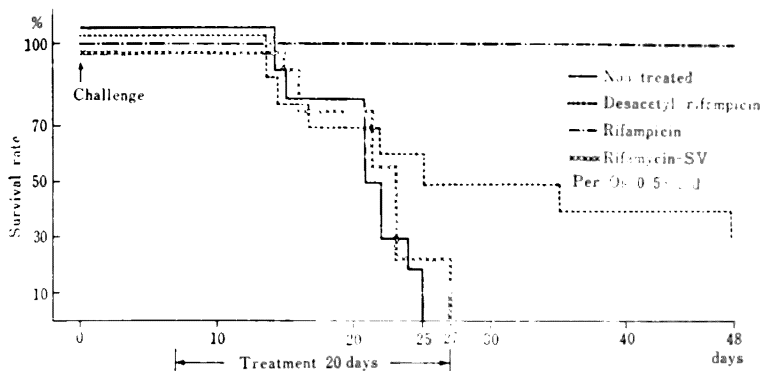
治療は感染 6 日後から始め各薬剤とも 1 日 0.5 mg サラダ油に懸濁し経口的に 20 日間投与し、その後放置し 48 日まで観察し各群の生残率をみた。

2) 結果

図に示す。

無治療対照群は 25 日、Rifamycin-SV 群も 27 日までに全部死亡。Da-RFP は 48 日目まで 30% 生残した。これに対し RFP 治療群は生残率 100% であった。

Fig. Effect of Rifamycin Derivatives on Experimental Tuberculosis of Mice



生菌数は 7×10^6 /mg。

c) 方法

マウスを次の9群に分かつ。

- 1群: 無処置対照群
- 2群: RFP 0.33 mg (17 mg/kg) 毎日経口投与, 日曜除く
- 3群: RFP 1 mg (50 mg/kg) 1週2回経口投与
- 4群: RFP 1 mg (50 mg/kg) 1週1回経口投与
- 5群: RFP 2mg (100mg/kg) 1週1回経口投与
- 6群: INH 0.2 mg (10 mg/kg) 毎日経口投与, 日曜除く
- 7群: INH 0.6 mg (30 mg/kg) 1週2回経口投与
- 8群: INH 0.6 mg (30 mg/kg) 1週1回経口投与
- 9群: INH 1.2 mg (60 mg/kg) 1週1回経口投与

3. マウス実験結核症に対する RFP および INH の間欠治療

1) 材料ならびに方法

a) 動物

体重 25 g 前後の dd 系8 マウス, 1群9~11匹。

b) 使用菌株と菌量

黒野株の凍結乾燥菌で 0.1 mg/ml の菌液をつくり, その 0.1 ml すなわち 0.01 mg を尾静脈内に接種した。

感染1週後より治療を開始し6週間続ける。終了1週後に殺し肺重, $\sqrt{\text{比肺重}}$, 肺の肉眼所見¹⁰⁾, 肺の生菌数をみる。

2) 結果

Table 1. Macroscopic Changes of Lung

No. of mice	Non-treated	RFP 0.33mg daily	RFP 1mg twice a week	RFP 1mg once a week	RFP 2mg once a week	INH 0.2mg daily	INH 0.6mg twice a week	INH 0.6mg once a week	INH 1.2mg once a week
1	4	0	0	0	1	0	1	2	2
2	4	0	0	0	1	0	0	2	1
3	2	0	0	1	0	0	0	2	1
4	4	0	0	2	0	0	1	2	0
5	4	0	0	1	0	0	1	3	0
6	4	0	0	1	0	0	1	3	1
7	3	0	0	2	0	0	0	2	2
8	4	0	0	1	0	0	0	2	1
9	3	0	0	2	0	0	0	3	1
10	4	0	0	1	0		1	2	
11	4	0	0						
Mean	3.6	0	0	1.1	0.2	0	0.5	2.3	1

Number indicates degree of lesions of lungs. (According to Aoki's method)

Table 2. Effect of the Intermittent Treatment with RFP and INH for Experimental Tuberculosis of Mice

Groups	Non-treated	RFP 0.33mg daily	RFP 1mg twice a week	RFP 1mg once a week	RFP 2mg once a week	INH 0.2mg daily	INH 0.6mg twice a week	INH 0.6mg once a week	INH 1.2mg once a week
Lung weight (mg)	465 ±67.1	190.0 ±42.9	233.0 ±67.5	237.1 ±83.7	253 ±37.4	237.2 ±30.6	248.3 ±35.7	300 ±59.0	277.8 ±45.5
$\sqrt{\text{S.L.W.}}$	12.5	8.2	8.8	9.6	9.3	9.0	8.2	9.9	9.3
Viable units in 1 mg of lung	16400	2	0.4	1710	800	0.4	510	1400	970

$\sqrt{\text{S.L.W.}} = \sqrt{\text{Specific lung weight}} = \sqrt{\frac{\text{Lung weight (mg)}}{\text{Body weight (g)}}}$

表1にマウス肺の肉眼的病変度、表2に肺重、 $\sqrt{\text{比肺重}}$ 、肺1mg中の生菌数の平均値を示す。表から分かるようにRFP、INHともに治療群は対照群に比べると優れた治療効果を示している。ただRFP 1mg 1週1回群とINH 0.6mg 1週1回群、INH 1.2mg 1週1回群の効果はやや劣る。概してINHの間欠投与はRFPの間欠投与に比べ効果が劣るようであるが、これらの点については考察の項でふれることにする。

4. 考 察

まずRFP、Da-RFP、Rifamycin-SVのマウス結核症に対する延命効果からみると有効なものはRFPのみといえよう。Rifamycin SVは発見当時からin vitroでは強い抗結核菌作用を示すがin vivoでは認むべき効果を示さないといわれた¹¹⁾。おそらく腸壁からの吸収が悪く有効な血中濃度に達しないということと吸収されてもただちに肝から排泄されるためであろう。RFPはRifamycin-SVにpiperazine化合物を化学結合させることにより腸管吸収が良好となり高い血中濃度が得られ腸肝循環を行ない比較的長時間有効臓器内濃度を保つためと思われる。これは¹⁴C-RFPを用いたマクロオートラジオグラフィからも推測することができる¹²⁾。

RFPは肝で脱アセチルされるが本実験ではDa-RFPも多少有効であった。RFPの間欠投与がINHに比べより効果的であるのはin vitroでは強い抗結核菌作用をもつDa-RFP¹²⁾が肝に蓄積し、これが体内を比較的長く循環することもあずかっているのかもしれない。

いずれにしろ実験に供したRifamycin誘導体の中ではRFPのみが有効であったので第2実験でRFPとINHの効果と比較した。ことにRFPは血中濃度やマクロオートラジオグラフィの成績から、その効果に持続性があるようなので間欠投与についての検討を行なった。RFP 0.33mg 毎日と、その3倍量であるRFP 1mgを1週2回投与した群の効果はほぼ等しい。6倍量のRFP 2mgを1週1回のみ投与した群の効果は前2者法に比べやや劣る。またRFP 1mg 1週1回投与群の効果はRFP 2mg 1週1回より劣る。すなわちRFP 0.33mg 毎日=RFP 1mg 1週2回>RFP 2mg 1週1回>RFP 1mg 1週1回>>無処置対照群となる。INHについてみると間欠投与法は毎日投与法より効果が劣る。すなわちINH 0.2mg 毎日>INH 0.6mg 1週2回>INH 1.2mg 1週1回>INH 0.6mg 1週1回>>無処置対照群となつた。INH 1週1回でも対照よりははるかに菌の増殖を阻止している。

RFPとINHの投与法別効果の比較をすると下のよう

になる。

	RFP	INH
毎日	0.33 mg	< 0.2 mg
1週2回	1 mg	> 0.6 mg
1週1回	1 mg	> 0.6 mg
1週1回	2 mg	> 1.2 mg

このことはRFPの効果の持続期間がINHより長いことを示している。

5. む す び

(1) RFP、Desacetyl rifampicin、Rifamycin-SVのうちマウス実験結核症にはRFPのみが優れた延命効果を示した。

(2) マウス実験結核症に対し間欠投与法を含めてRFP、INHの効果と比較した。

RFP、INHともに1回投与量を増加すれば間欠投与により相当の効果を期待しうる。ことにRFPの場合はこの傾向が強く毎日投与法ではINHのほうがより有効であつたが、それぞれ対応する間欠投与法ではRFPがINHより優れた治療効果を示した。

本実験遂行にあたり望月テル技師、波谷道夫君の勞が多かつた。記して謝意を表する。なお、本論文の要旨は第45回結核病学会総会において発表した。

文 献

- 1) Verbist, L., Gyselen, A.: Amer. Rev. Resp. Dis., 98: 923, 1968.
- 2) 鈴木敏弘・福原徳光・北本治: 結核, 45: 41, 昭45 (第45回結核病学会総会講演).
- 3) 吉田文香・Rosenfeld, M. and Freeksen, E.: 結核, 44: 292, 昭44.
- 4) 桜井宏・井上幾之進・山口亘・杉本潤: 結核, 44: 294, 昭44.
- 5) 岡捨己・今野淳・大泉耕太郎・林泉: 結核, 44: 295, 昭44.
- 6) Furez, S. Scotti, R. et al.: Arznei mittel-forsch., 17: 534, 1967.
- 7) Dickinson, J. M. and Mitchison, D. A.: Tubercle, 51: 82, 1970.
- 8) Grumbach, F., Canetti, G. and Le Lirzin, M.: Tubercle, 50: 280, 1969.
- 9) Batten, J.: Tubercle, 50: 294, 1969.
- 10) 青木正和・工藤賢治・統木正大: 結核, 36: 355, 昭36.
- 11) Curci, G. and Ninni, A.: Arch. Tisil. App. Resp., 16: 1079, 1961.
- 12) 豊原希一: 結核, 45: 40, 昭45 (第45回結核病学会総会講演).