

肺結核初回治療における SM・EB・INH 併用療法の評価

第2報 実験結核症における SM・EB・INH と SM・PAS・INH

組合せによる効果の比較

牧 山 弘 孝

長崎大学医学部内科学第二教室 (指導 篠島四郎教授)

受付 昭和 46 年 4 月 1 日

EVALUATION OF INITIAL COMBINED CHEMOTHERAPY
WITH SM, INH AND EB FOR PULMONARY
TUBERCULOSIS*Report 2. Comparison of SM, EB and INH Regimen with
that of SM, PAS and INH for Experimental
Tuberculosis of Mice

Hirotaka MAKIYAMA

(Received for publication April 1, 1971)

It was previously reported that the treatment for newly found pulmonary tuberculous patients with SM・INH・EB was clinically more effective than SM・INH・PAS regimen in respect of the negative conversion rate of tubercle bacilli in sputum and roentgenological improvement. To confirm these findings, the therapeutic effect of various regimens including SM, PAS, INH and EB were compared in experimental tuberculosis of mice.

The results obtained were as follows :

1) Albino dd/y male mice about 20 g body weight were infected intravenously with H₃₇Rv (3.8×10⁵/ml) strain. On the fourth day of infection, the mice were divided into the following 8 groups ; SM・EB・INH, EB・INH, SM・PAS・INH, PAS・INH, INH, EB, PAS, and untreated control. SM (20 mg/kg) was given intramuscularly twice a week, and PAS (200 mg/kg), INH (4 mg/kg) and EB (30 mg/kg) were given orally once a day. The treatment was continued for 2 weeks in the half of these groups and for 3 weeks in the remaining. After two weeks treatment, the therapeutic effects were evaluated by comparing the viable unit of tubercle bacilli in the lungs and spleen of the mice in each group. The viable unit of bacilli among groups treated for 2 weeks was less in SM・EB・INH and EB・INH group than in SM・PAS・INH and PAS・INH groups. Same result was observed in the groups treated for three weeks.

2) Pathological investigations were simultaneously performed on the specimens taken from the lungs. Findings were divided into the following 3 categories ; (+), (−), and (±) : (+) represents the peribronchial monocytes infiltration, grouping of epitheloid cells and the lymphocytes infiltration in every parts of the lung, (−) indicates normal finding, and (±) indicates the one between (+) and (−). Among groups treated with PAS and untreated control, many tuberculous lesions were found in the lungs after two and three weeks treatment and the finding was classified as (+). On the other hand, most of mice were

* From the Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, Sakamoto-cho, Nagasaki-shi, Nagasaki-ken 852 Japan.

classified as (—) or (±) among the groups treated with SM·EB·INH, SM·PAS·INH, EB·INH, PAS·INH, EB alone, and INH alone.

3) Albino dd/y male mice were infected intravenously with Kurono (6.6×10^6 /ml) strain and treated for ten days with the same combination of drugs as described above. Survival time was observed in these 9 groups. The antituberculous agents were administered as follows; SM (20 mg/kg) intramuscularly twice weekly, INH (0.05 mg/kg), PAS (200 mg/kg) and EB (30 mg/kg) orally once daily.

All animals of the SM treated and control groups died soon after the cessation of treatment, and a similar but slightly better result was seen in PAS treated group. INH group survived for a comparatively longer period in spite of minimal dose of INH. Combined and single therapy of SM·EB·INH, EB·INH and EB was found to be more effective than that of SM·PAS·INH and PAS·INH. The dose of EB evaluated on body weight base was higher than that of PAS, and it might be one of the reasons for better results with EB.

In summary, it may be concluded that EB is more valuable than PAS when it is combined with INH.

I. 結 言

肺結核の初回治療強化の意味から、SM·PAS·INHのうち、副作用が多く、抗菌力が *in vivo* では十分期待できないPASに代えて、EBを使用してみる試みがある。臨床的に日結研¹⁾の報告では、SM·EB·INHによる治療は従来のSM·PAS·INHによる治療と大差がないとの結論に達し、PASによる副作用出現例にEBを代用しようと考えている。私の成績²⁾でも両者の治療の間には統計学的には有意の差を認めることができなかったが、SM·EB·INHによる治療群は、SM·PAS·INHによる治療群より、菌陰性化、胸部X線改善度の両面でその率において優れ、副作用の発現も前者において少なかったもので、EBを一次薬として、PASに代えて十分使用する価値はあると考えた。

今回、私はこの成績をさらに検討すべく、マウスの実験結核症を作成し、両者の組合せによる治療で経過を観察したので、その成績について報告する。

II. 実験方法および成績

実験結核症に対する抗結核剤の効果判定には、種々の方法が用いられる。私はまずマウスの実験結核症に対し、EB、PASを基盤とする幾つかの組合せで治療を行ない、その後経時的に臓器内生菌数と病理所見をみる方法と、生存日数を観察する方法とで効果を比較した。

A. 臓器内生菌数による治療効果の比較

実験方法

1. 実験動物および菌接種法：体重20g前後のdd系雄マウスを用い、1%小川培地培養2週目のH₃₇Rv株を滅菌生理的食塩水で希釈し、その0.1mg/0.1ml

(3.8×10^6 /ml 生菌単位)を尾静脈内に接種した。

2. 治療薬剤の組合せ：上記の方法で接種した感染マウスを8群に分け、各群次のような組合せで治療を行なった。

第1群：SM·EB·INH

第2群：SM·PAS·INH

第3群：EB·INH

第4群：PAS·INH

第5群：INH

第6群：EB

第7群：PAS

第8群：対照（無治療群）

3. 投与量および投与期間：各薬剤は、SM 20 mg/kgを週2回筋注し、INHは4 mg/kg、PASは200 mg/kg、EBは30 mg/kgを毎日経口的に投与したが、これはほぼ結核患者の通常投与量（kg当りに換算したもの）に相当する。菌接種後2日間放置し、3日目より治療を開始した。対照群およびSM·EB·INH、SM·PAS·INH治療群では各群20匹ずつ、その他の群では10匹ずつに分けて治療を行ない、その半数ずつについて、2週目、3週目に治療を中止し、薬剤の影響を除くために、治療終了後1日において屠殺した。

4. 臓器内生菌数の算定：屠殺マウスは無菌的に肺、脾を取り出し、肺の一部を切除し病理学的検索に供した。残存臓器は、正確に秤量し、10倍量の1%苛性ソーダ液を加えてホモゲナイズし、これを10倍法で希釈してその0.1mlを1%小川培地に接種し、各週ごとに菌数を数え、その最大値をもつて単位当りの菌数と算定した。

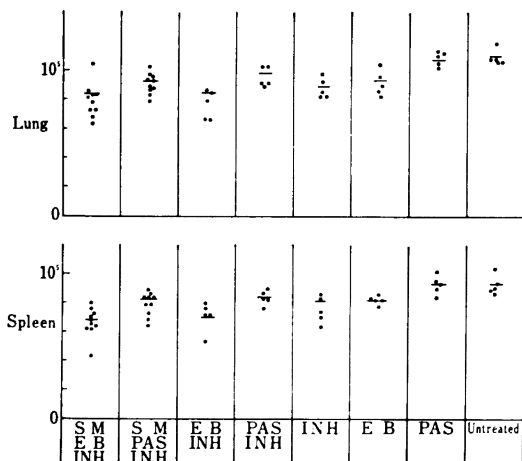
実験成績

2週および3週治療後の肺内、脾内の生菌数を別表、

Table 1. Number of Viable TB-bacilli and Microscopic Findings of the Lung (after 2 weeks treatment)

No. of mice	SM·EB·INH		SM·PAS·INH		EB·INH		PAS·INH		INH		EB		PAS		Controls	
	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic
1	6.9×10^3	—	8.2×10^4	—	2.0×10^4	+	1.5×10^4	—	6.1×10^4	—	3.2×10^4	+	6.7×10^5	+	4.2×10^5	+
2	1.5×10^4	+	9.1×10^3	±	9.8×10^3	—	5.0×10^4	—	2.3×10^4	—	7.4×10^4	±	1.3×10^5	±	3.7×10^5	±
3	1.4×10^5	+	6.0×10^4	—	1.8×10^4	—	5.7×10^4	—	2.0×10^4	±	1.5×10^5	±	6.2×10^5	+	3.8×10^5	+
4	1.4×10^4	±	1.1×10^5	+	2.9×10^3	±	1.3×10^5	+	1.2×10^4	±	1.7×10^4	±	5.4×10^5	+	9.3×10^5	+
5	1.0×10^4	+	3.4×10^4	—	2.9×10^3	—	5.4×10^4	+	9.0×10^4	—	4.5×10^4	—	3.3×10^5	+	4.5×10^5	+
6	9.1×10^3	—	4.5×10^4	—												
7	2.2×10^4	—	3.2×10^4	—												
8	3.7×10^3	±	5.8×10^4	—												
9	2.7×10^3	—	8.1×10^4	—												
10	6.4×10^4	±	2.4×10^4	+												
Mean	2.8×10^4		5.3×10^4		1.1×10^4		8.8×10^4		4.1×10^4		6.3×10^4		4.6×10^5		5.1×10^5	

Fig. 1. Number of Viable TB-bacilli in the Lung and Spleen (after 2 weeks treatment)



別図に示した。表1は2週間治療した場合の各治療群の肺内生菌数と平均値を示したものであり、参考までに行なつた脾内生菌数とともに、これを図1にプロットしてみた。まず2週治療後の各群の肺内生菌数をみると、対照群、PAS治療群ではいずれも 10^5 代の菌数を示した。これに対しその他の治療群では 10^4 代の菌数に減じ、とくにSM·EB·INH、EB·INH治療群では 10^3 代の菌数のものが多くみられた。すなわち私の実験成績からは、個体差が大きく、かつ臓器内生菌数の各治療群間の差が僅少であつたため、優劣はつけにくかつたが、肺内および脾内生菌数ともにその平均からみると、SM·EB·INHおよびEB·INH治療群がSM·PAS·INH、PAS·INH治療群より優れていると思われる効果を示した。同様の傾向

は、3週間治療を続行した表2、図2でもうかがわれ、EBを含む組合せによる治療群が、PASを含む組合せによる治療群より優れているように思われた。ただしこの場合には、SM·EB·INHおよびEB·INH治療群で 10^3 代の菌数を示すものはわずかとなり、かつINH単独およびEB単独による治療だけでも、かなり臓器内生菌に對し抑制効果があることを認めた。

B. 病理組織学的検索による治療効果の比較

実験方法

上記の実験過程で一部切除した肺切片について、結核性病変の有無を主とする病理学的検索を行なつた。所見を均一にするため、切除は屠殺ナンバーに従つて左右交互に行ない、ホルマリン固定後、ヘマトキシリンエオジン染色を行なつて検査に供した。

病理学的所見の判定は、次のような基準でこれを(+), (±), (—)の3段階に分けた。

(+) : 気管支周囲の単核球を中心とした細胞浸潤が著明で、巣状に類上皮細胞からなる集団が諸所にみられ、リンパ球を中心とした細胞浸潤が著明なもの。

(±) : 上記の(+)の所見と(—)の中間の所見を示したもの(少なくとも今回の実験では、壊死巣やラングハンス型の巨細胞はみられなかつた)。

(—) : 正常マウス肺と変わらないもの。

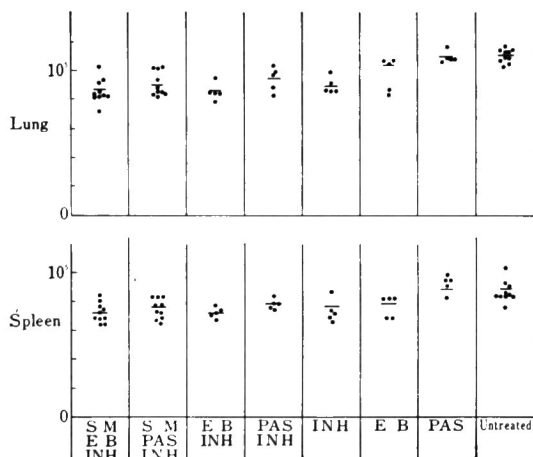
実験成績

その成績を表1および表2の後欄に示した。2週目のものでも、3週目のものでも、対照(無治療)群では、PAS投与群とともに(+)の所見をみるものが多く、これに対し、その他の治療群では、(+)の所見が減り、

Table 2. Number of Viable TB-bacilli and Microscopic Findings of the Lung (after 3 weeks treatment)

No. of mice	SM·EB·INH		SM·PAS·INH		EB·INH		PAS·INH		INH		EB		PAS		Controls	
	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic	No. of TB-bacilli	Microscopic
1	1.5×10^4	—	6.0×10^4	—	2.4×10^4	—	4.7×10^4	+	3.2×10^4	—	1.3×10^5	+	4.2×10^5	+	1.6×10^5	+
2	3.0×10^4	±	1.0×10^5	+	9.0×10^3	±	1.0×10^5	—	4.6×10^4	±	2.3×10^5	±	7.9×10^5	+	7.2×10^5	+
3	1.5×10^4	±	4.3×10^4	±	2.1×10^4	±	8.7×10^4	—	3.6×10^4	—	2.9×10^4	±	4.4×10^5	+	4.1×10^5	±
4	5.7×10^4	—	1.0×10^5	—	2.9×10^4	—	1.4×10^4	±	9.4×10^4	—	2.4×10^5	—	3.8×10^5	+	5.7×10^5	+
5	7.0×10^4	—	1.6×10^4	—	7.2×10^4	±	9.8×10^4	+	3.3×10^4	+	1.9×10^5	—	4.0×10^5	+	5.7×10^5	+
6	2.3×10^4	±	1.2×10^5	±											6.9×10^5	+
7	1.3×10^4	—	2.2×10^4	—											2.7×10^5	+
8	6.2×10^3	—	1.9×10^4	—											6.9×10^4	+
9	1.3×10^5	±	3.1×10^4	—											6.2×10^5	—
10	1.7×10^4	+	2.8×10^4	—											4.0×10^4	+
Mean	3.7×10^4		5.3×10^4		3.2×10^4		6.9×10^4		4.8×10^4		1.4×10^5		4.8×10^5		5.2×10^5	

Fig. 2. Number of Viable TB-bacilli in the Lung and Spleen (after 3 weeks treatment)



(一) ないしは(±)の所見を示すものが多くなつたが、各治療群の間にみるべき差異を示したものはなかつた。

前回の臓器内生菌数による治療効果の判定で、EBを含む治療群が、PASを含む治療群に比べいくぶん効果があると思われる所見を得たのに反し、病理所見ではこの間にはほとんど差異を認めなかつたことは注目すべきかと思われる。

C. 生存日数による治療効果の比較

実験方法

1. 実験動物および接種菌：体重 20 g 前後の dd 系雄マウスを用いた。接種菌は、黒野株の 1% 小川培地培養 3 週目の菌で、5 mg/1 ml になるよう菌液を作成し、その 0.1 ml (6.6×10^5 /ml 生菌単位)を尾静脈内に接種

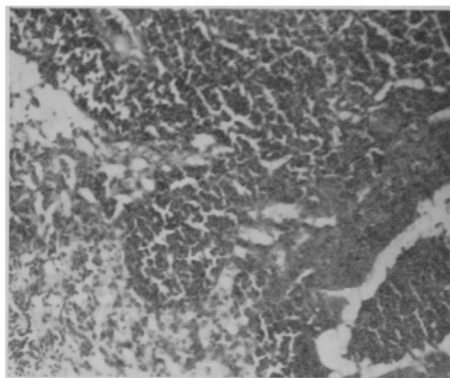


Photo. 1. Category (+) : Pathological findings showing tuberculous lesions in the lungs.

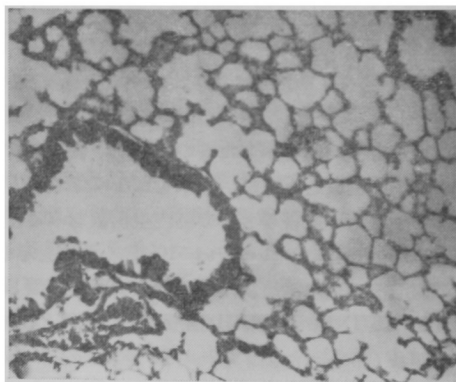
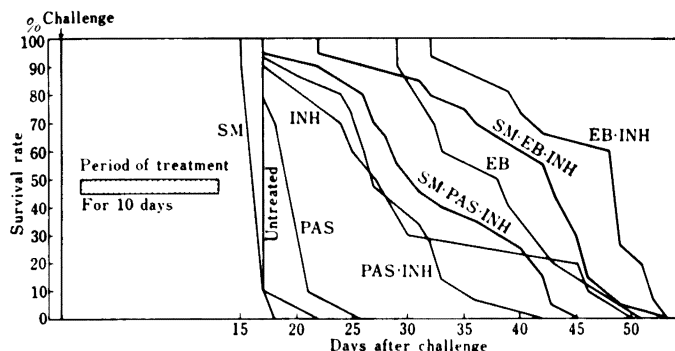


Photo. 2. Category (-) : Almost normal finding.

した。

2. 治療薬剤の組合せ：SM·EB·INH, SM·PAS·INH, EB·INH, PAS·INH, INH, EB, PAS, SM, 無治療の

Fig. 3. Therapeutic Effect of SM, INH, PAS and EB used singly or Combined for Experimental Tuberculosis of Mice



9群で治療を行なった。SM・EB・INH, SM・PAS・INH, 無治療の3群では20匹を, その他の群では10匹を実験に用いた。

3. 投与量および投与期間: 前回と同様の投与量で実験を行なったところ, INHの効果があまりに強く, 他剤との併用効果が判然としなかつたので, SM 20 mg/kg 週2回筋注, INH 0.05 mg/kg, PAS 200 mg/kg, EB 30 mg/kg 毎日経口の投与量で実験を行なった。

尾静脈内菌接種後3日目より10日間治療を行ない, 治療終了後はこれを放置して生存日数を観察した。

実験成績

成績を図3に示した。無治療対照群およびSM治療群では, 治療終了後2~9日の間にその全例が死亡した。当然のことながら, SMの週2回の筋注では生体内で抗菌力が弱かつたものと思われる。次いでPAS治療群の死亡例が多く, この3群が, 他剤の治療群より一段と劣る成績であつた。これに対しINH治療群は, きわめて少量の投与にかかわらず, SM・PAS治療群よりもかなり長い生存曲線を示した。

EB単独を含めてSM・EB・INHやEB・INH治療群は, SM・PAS・INHおよびPAS・INH治療群より優れた効果を示したが, これはEBの投与量がPASの投与量よりいくぶん多かつたことにもよるのであろう(体重当り人体投与量から考えて)。

III. 考 案

肺結核の初回治療の強化を目指して, 現在行なわれているSM・PAS・INH3者併用療法のうち, PASに代えてEBを使用する試みがなされている。牧山²⁾, 国療化研³⁾, 日結研¹⁾, 副島ら⁴⁾はSM・PAS・INH3者, Bobrowitz⁵⁾, 堂野前ら⁶⁾はPAS・INH2者のうちのPASをEBに代えて試用し, その多くのものが菌陰性化, 胸部X線改善の両面より, EB使用群で優れた成績を報告している。これら臨床例についての検討は前報²⁾で行なつ

たが, その結果, 私はEBを一次薬として, PASに代えて十分使用する価値があると考えた。

今回, 私はマウスの実験結核症に対し, SM, EB, PAS, INHを基盤とする種々の組合せで治療を行ない, 終局的にはSM・EB・INHとSM・PAS・INHの治療効果を比較することを試みた。実験結核症に対するEBの治療効果はいずれもINHに劣り⁷⁾⁻¹⁸⁾, その効力からみるとEBはINHの10~20倍量⁹⁾⁻¹⁰⁾, 30倍量¹¹⁾ないしは50倍量¹²⁾⁻¹³⁾投与でほぼ同一の成績が得られるとの成績が多い。金井¹⁴⁾はEBがSMに劣るとし, Thomas¹⁵⁾

はSMに優ると述べているが, INHとEBとの併用効果は, とくに生体内実験において著明に認められている。森山¹⁶⁾は, EBはINHと試験管内では著明な協合作用を示さなかつたにもかかわらず, 生体内(マウスの実験結核症)では併用効果を認めたといい, Karlson¹⁷⁾は, EB 25 mgとINH 0.2 mgの併用効果は, それぞれ単独の投与より優れていたと述べ, 前田¹⁰⁾はINH耐性菌感染のマウス実験結核症で, INHとEBの併用が, EB単独使用より有効で, かつ再現性のある成績が得られたと述べている。Grumbach⁸⁾はマウスの実験結核症に対し, INH 5 mg, 25 mgと, EBの50, 100, 200 mgを組み合わせて併用しているが, その効果はINH単独, EB単独よりINH・EB併用群で優っている成績を示している。EBの量を増すほどに菌数は減少しているが, INHの投与量による差が著明であるほどには, EBの投与量の差は現われていない。

私の実験では, 目的とした実験結核症に対する一次剤併用としてのPASとEBとの優劣を解明しうるほどの成績を得ることはできなかった。私の実験の生存曲線による判定の場合は, INHの人体投与に匹敵する量では, INHの効力があまりに強すぎて効果が定めにくく, これより1/80に減じて初めてEBとPASとの併用効果の差を認めることができた。INHのような強力な抗結核剤を併用した場合は, 二次的な意味のPASをEBに代えたときの効果を判定するのは困難といわざるをえない(このことは, 臨床的な両者の組合せの治療効果の比較にも考慮されなければならない)。私の行なつた実験のEBの投与量は, 人体投与量に換算すれば, PASよりも多めであり, これもEBがPASよりもやや優れているという結果を得た原因と思われる。

以上, 私の実験結果からは, EB併用治療群(SM・EB・INHおよびEB・INH治療群)は, PAS併用治療群(SM・PAS・INH, PAS・INH治療群)より臓器内生菌数の面でも, 生存率からでも, いくぶん優れたと思われる

成績を得たが、病理学的には両群の間に大差を認めることはできず、病像の修復過程に与える抗結核剤の影響はいずれの薬剤においても強いものと考えられた。

IV. 結 語

マウスの実験結核症に対し、人体投与量に相当する量で、SM, EB, PAS, INH を基盤とし、SM·EB·INH, SM·PAS·INH, EB·INH, PAS·INH の組合せについてその治療効果を、臓器内生菌数、生存率、病理学的所見の面より追求し、次のような結果を得た。

1) 臓器内生菌数からみて、SM·EB·INH および EB·INH 治療群は、SM·PAS·INH, PAS·INH 治療群よりやや優れたと思われる成績を得た。

2) INH の効力が明らかに現われにくい形で、SM·EB·INH および EB·INH と、SM·PAS·INH および PAS·INH との効果を生存率で比較したところ、EB 併用群で優る成績が得られた。

3) 病理学的には、無治療群、PAS 治療群では病変の強いものが多かった（すなわち無効）が、SM·EB·INH, EB·INH, SM·PAS·INH, PAS·INH, INH, EB, 治療群の間ではほとんど同じ程度に、病変を示すものは少なかった（有効）。

以上のことから、EB と INH との併用はその各単独投与より優れ、PAS と INH との併用もその各単独投与より優れる成績を得た。

しかして、INH を基とする EB 併用群と PAS 併用群とでは前者においてやや優る成績が得られた。

稿を終るに当たり、ご指導、ご校閲を賜った篠島四郎教授および原耕平助教授に、深く感謝の意を表する。

V. 文 献

- 1) 日結研：結核，45：55，昭 45.
- 2) 牧山弘孝：結核，44：181，昭 44.
- 3) 国療化研：結核，44：457，昭 44.
- 4) 副島林造 他：結核，44：458，昭 44.
- 5) Bobrowitz, I. D. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 135: 921, 1966.
- 6) 堂野前維摩郷 他：日胸，25：747，昭 41.
- 7) Lal, H. M. and Robson, J. M. : Amer. Rev. Resp. Dis., 87：870, 1963.
- 8) Grumbach, F. : Ann. Ist. Pasteur, 110：69, 1966.
- 9) 山本和男 他：日胸，22：797，昭 38.
- 10) 前田徹 他：日胸会誌，2：14，昭 39.
- 11) Lucches, H., Zubiani, M. and Rossi, P. : Ann. Ist. Forlanini, 26：54, 1966.
- 12) 森山英五郎：結核，39：155，昭 39.
- 13) 伊藤文夫 他：日胸，22：36，昭 38.
- 14) 金井興美 他：結核，39：69，昭 38.
- 15) Thomas, J. P. : Amer. Rev. Resp. Dis., 83：891, 1961.
- 16) 森山英五郎：結核，39：191，昭 39.
- 17) Karlson, A. G. : Amer. Rev. Resp. Dis., 86：439, 1961.