

原 著

## Tuberactinomycin-N に関する研究

第3報 実験的マウス結核症に対する TUM-N および INH の効果

清水辰典・横山道夫・吉田宇角  
大沼廣明・成田昭彦

札幌医科大学第3内科(主任 立野誠吾教授)

奥 山 富 三

札幌医科大学病理学教室

受付 昭和 51 年 10 月 28 日

## STUDIES ON TUBERACTINOMYCIN-N

Report 3. Comparison of the Effects of TUM-N and INH on  
Experimental Mouse TuberculosisTatsunori SHIMIZU\*, Michio YOKOYAMA, Usumi YOSHIDA,  
Hiroaki ONUMA, Akihiko NARITA and Tomizo OKUYAMA

(Received for publication October 28, 1976)

There have been several reports on the antituberculous activity of Tuberactinomycin-N(TUM-N). The present report discusses the therapeutic effect of TUM-N on lung lesion of experimental mouse tuberculosis.

To DD strain mice weighing 20 grams, Ravenel strain of *Mycobacterium bovis* was intravenously inoculated and from one week after the challenge 0.1 ml of 8 mg/ml INH solution and 20 mg/ml TUM-N solution was subcutaneously administered every day. Experiments were made for 5 weeks by killing 5 mice every week, respectively, for INH and TUM-N groups.

The homogenized spleens were cultured on 1% Ogawa's media for 8 weeks, and thereafter the comparison was made among INH, TUM-N and the control groups by counting the bacterial colonies. The growth of bacteria in the groups treated with INH and TUM-N was apparently smaller than that of the control group (Table 1).

The lung lesions were histopathologically examined after macroscopic observation. The INH and TUM-N groups showed much weaker tubercle formation, exudative inflammation and caseous pneumonia than the control group (Table 2 and Photo.1~12).

The histopathological examination of the liver revealed weaker lesions in the treated groups (Table 3).

The antituberculous activity of TUM-N and INH was confirmed by the quantitative culturing of the spleen and the histopathological examination of the lung, but TUM-N had weaker antituberculous activity than INH. The present experiment indicated no adverse effect of TUM-N on the kidney.

\* From the 3rd Department of Internal Medicine, Sapporo Medical College, Nishi 16-Chome, Minami 1-Jo, Chuo-ku, Sapporo 060 Japan.

Tuberactinomycin-N(以下 TUM-N と略す)の抗結核作用に関する報告は少なくない<sup>1)~5)</sup>。著者らもその抗菌力<sup>6)</sup>、2~3種の動物における体内動態<sup>7)</sup>については報告した。しかしながら、実験的動物結核症の肺病変に対する TUM-N の治療効果に関する病理組織学的検索についての報告に接する機会は少ない。本報においては、マウス実験結核症に INH および TUM-N をそれぞれ投与し、その効果を検討したので報告する。

### 実験材料

1. TUM-N(東洋醸造)
2. INH(第一製薬)
3. マウス: DD 系, ♂, ♀, 体重 20g 前後
4. 結核菌: 牛型 Ravenel 株
5. 培地: 1% 小川培地

### 実験方法

牛型 Ravenel 株を硝子玉法にて湿菌量 1 mg/ml の生食水均等浮遊液を作製、その 0.1 ml(菌量 0.1 mg)をマウス尾静脈より注射した。マウスは1群5匹とし、菌接種後1週間放置して薬剤の投与を開始した。

INH は 8 mg/ml, TUM-N は 20 mg/ml の割に局方蒸留水に溶解、その 0.1 ml を連日マウス背部皮下に注射した。この量は成人1日使用量より体重換算し、5倍量に相当する。対照群には生食水 0.1 ml を同様に注射した。注射後1週間隔で各群5匹ずつ頸動脈切断により屠殺し5週目まで観察した。

観察は脾の定量培養による結核菌の推移、肺の病理組織学的検索に重点をおいたが、肝および腎についても検索した。

脾の定量培養は、脾の重量を測定後4%苛性ソーダ水を加えて10倍量とし、ガラスホモジナイザーにて均等浮遊液とし、生食水にて1,000倍、10,000倍液を作製、10倍(原)液とこの0.1 ml を1%小川培地に2本ずつ培養し、菌の発育状態を観察し8週後に最終判定した。

肺病変などの病理学的検索は、肉眼的観察後型のごとくホルマリン固定し、主として H・E 切片で組織学的検索を行なった。

### 実験成績

#### I. 脾の定量培養(表 1)

1週目: 10倍では、対照群の No.5 が 卍 で他の対照群はすべて 卍 である。INH 群は No.4 が 卍 で他は 卍, TUM-N 群では No.1 が 卍 で他は 卍 である。1,000倍では対照群はすべて +, INH 群では No.1 が -, No.2~No.4 が 1~2C(コロニー), No.5 が + である。TUM-N 群では No.5 が 卍 で他は + である。10,000倍では、対照群は 2~15C, INH 群では No.5 が 10C

で他は -, TUM-N 群では 1~21C である。

2週目: 対照群では No.10 が死亡した。10倍ではすべて 卍, INH 群では No.9 が 卍 で他は 卍, TUM-N 群では No.8, 10 が 卍 で他は 卍 である。1,000倍では、対照群はすべて 卍, INH 群では No.8 が - で他は 1~2C であるがコロニーは大きい。TUM-N では No.6 が 卍, 他は 10~20C であるがコロニーは幾分大きい。10,000倍では対照群は No.6 が +, 他は 10~20C である。INH 群では全例 - であり、TUM-N 群では No.7, 10 が - で他は 1C である。

3週目: 対照群では No.14, 15 が死亡、10倍ではすべて 卍, INH 群では No.11 が 卍, No.12 が 6C で他は +, TUM-N 群では No.15 が実験中ホモジナイザーの破損により測定不能、No.11, 13 が 卍, No.12, 14 は 卍 である。1,000倍では対照群 No.11, 12 が 卍, No.13 が +, INH 群では No.11 が 1C で他は -, TUM-N 群では 1~3C である。10,000倍では対照群 No.11 が +, No.12 は - で No.13 が 1C である。INH 群は全例 -, TUM-N 群では No.13 が 1C で他は - である。

4週目: 対照群 No.18, 19 および 20 の3匹が死亡した。10倍では対照群は 卍, INH 群ではすべて +, TUM-N 群では No.17, 18 が 卍 で他は 卍 である。10,000倍では対照群 No.16 は 13C, No.17 が 卍, INH 群ではすべて -, TUM-N 群でもすべて - である。

5週目: 対照群3匹が死亡した。10倍では対照群はすべて 卍, INH 群で 3~4C であるが、1匹死亡したが、この死因は明らかではない。TUM-N 群では No.23 が 卍 で他は 卍 である。1,000倍では、対照群は +, INH 群ではすべて -, TUM-N 群では No.21 が 1C, No.23 が 6C で他は - である。10,000倍では、対照群、治療群のいずれにも菌の発育はみられなかった。

#### II. 肺病変の病理学的所見

##### 1. 肉眼的所見

###### 1) 対照群

1週目で散在性に小結節の形成がみられ、2週目で小結節の増大、粟粒大以上の結節がみられ、3~4週目で病変は融合、時に出血を伴っている。2~5週目の間に激しい肺病変で死亡するものがみられた。5週目になるとかなり融合しているが、3~4週目よりは幾分軽減の傾向がみられた。

###### 2) INH 群

1週目で小結節を認めるものもある。2週目、3週目でも1週目とほぼ同様である。4週目ではやや大きい結節をみるものもあるが、病変のみられないものもある。5週目では病変はほとんどみられない。この群での死亡例はない。

表1 脾の定量培養(1%小川培地)

	対 照			I N H				T U M - N				
	動物No.	10×	1,000×	10,000×	動物No.	10×	1,000×	10,000×	動物No.	10×	1,000×	10,000×
1W	1	冊	+	3C	1	冊	—	—	1	冊	+	1C
	2	冊	+	9C	2	冊	1C	—	2	冊	+	8C
	3	冊	+	2C	3	冊	2C	—	3	冊	+	3C
	4	冊	+	15C	4	冊	1C	—	4	冊	+	4C
	5	冊	+	15C	5	冊	+	10C	5	冊	冊	21C
2W	6	冊	冊	+	6	冊	1C(大)	—	6	冊	冊	1C(大)
	7	冊	冊	20C(大)	7	冊	1C(大)	—	7	冊	20C(大)	—
	8	冊	冊	10C	8	冊	—	—	8	冊	15C(大)	1C
	9	冊	冊	30C(大)	9	冊	2C(大)	—	9	冊	16C(大)	1C
	10		死	亡	10	冊	1C(大)	—	10	冊	10C	—
3W	11	冊	冊	+	11	冊	1C	—	11	冊	1C	—
	12	冊	冊	—	12	6C(大)	—	—	12	冊	2C	—
	13	冊	冊	1C	13	冊	—	—	13	冊	1C	1C
	14	}	死	亡	14	冊	—	—	14	冊	3C	—
	15				冊	—	—	15	冊	N.D.	—	
4W	16	冊	冊	13C	16	冊	—	—	16	冊	—	—
	17	冊	冊	冊	17	冊	—	—	17	冊	20C	—
	18	}	死	亡	18	冊	—	—	18	冊	—	—
	19				冊	—	—	19	冊	4C	—	
	20				冊	—	—	20	冊	冊	+	—
5W	21	冊	冊	—	21	冊	3C	—	21	冊	1C	—
	22	冊	冊	—	22	冊	4C	—	22	冊	—	—
	23	}	死	亡	23	冊	3C	—	23	冊	6C	—
	24				冊	4C	—	24	冊	冊	—	—
	25				冊	死	亡	25	冊	冊	—	—

注: Cは冊

表2 肺病変の病理組織学的所見

	肉 眼 的 所 見 結 節 形 成			組 織 学 的 所 見								
				結 節 形 成			滲 出 炎			乾 酪 化		
	対 照	INH	TUM-N	対 照	INH	TUM-N	対 照	INH	TUM-N	対 照	INH	TUM-N
1W	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊
2W	冊(B)	冊~冊	冊~冊	冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊
3W	冊~冊(B)	冊~冊	冊~冊	冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊
4W	冊(B)	冊~冊	冊	冊	冊~冊	冊	冊~冊	冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊
5W	冊	冊~冊	冊~冊	冊	冊~冊	冊	冊	冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊	冊~冊

注: (B)は出血

3) TUM-N 群

病変はINH群と同様に経過するが、INH群より結節数が多く、病変の消退も遅い。この群でも死亡例はない。

2. 組織学的所見

1) 対照群

1 週目: 限局性の胞隔肥厚(単核細胞浸潤による)、胞隔炎(一部核崩壊の単核細胞)からなる小型の結節形成がみられ、この結節が小血管に接しているものもある。

2 週目: 結節は増大し、単核細胞は類上皮細胞の形態をとり、巨細胞も散見される。滲出液、滲出細胞、少数

の好中球を含む滲出病変もみられ、結節病変と滲出病変が混在している。また乾酪壊死もみられる。

3~4 週目：2 週より病像は進展、この期間に死亡した例では滲出性病変が高度で乾酪性肺炎の像もみられ、結節病変とみえる所も高度の細胞核崩壊がみられる。

5 週目：病変はなお広汎で結節病変と滲出病変からなっている。胞隔の肥厚、小結節病変と滲出病変とが混在しており、肺胞内滲出細胞の変性がみられるが、乾酪性肺炎像ではなく、むしろ類上皮細胞に移行している。結節内の乾酪変性も軽減しているが病変程度はなお高度である。

## 2) INH 群

全経過を通じて病変を認めたものはあつても軽度である。胞隔の限局性肥厚、小結節形成、軽度の肺胞内滲出液と滲出細胞の滲出病変が 1~3 週目にみられる。2 週目の病変がやや強くみられる傾向がみられる。この例では、胞隔に連続的に肥厚と結節の小融合像がみられるが、滲出病変は軽度である。INH 群では滲出病変は 4~5 週目の例ではみられず、また乾酪化あるいは乾酪化肺炎像を示す例もみられなかつた。

## 3) TUM-N 群

1~3 週目で胞隔の肥厚、結節型病変の形成がみられ、程度は対照群より若干弱いが中等度の病変である。滲出病変は軽度で結節病変と混在しているところがあるが、乾酪化および乾酪化肺炎はみられない。4~5 週目になると結節病変は軽度になり、特に滲出病変は消退するが、結節病変は散在性にかなりみられる。なお乾酪化および乾酪化肺炎はみられない。

## Ⅲ. 肝および腎の病理組織学的所見

肝の組織学的所見を表 3 に示す。対照群では結節形成、類洞内単球浸潤が 1 週目よりみられるが、その後次第に増強し 4 週目まで持続する。しかし 5 週目になると病変は軽減する。加療群では病変は 3 週以後軽減するが、TUM-N 群では単球浸潤が 4 週まで持続しているのがみられる。

腎では病変および特記すべき所見は認められなかつた。

## 総括ならびに考案

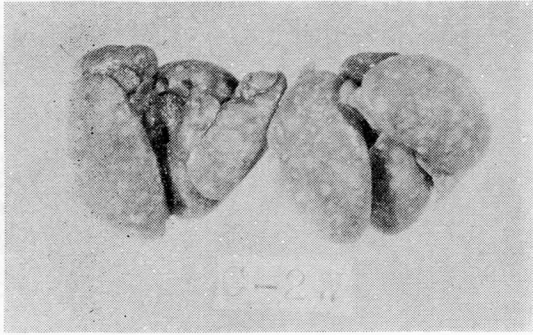
実験経過中のマウスの死亡状況は、対照群では 2 週目までに 1 匹、3 週目までに 2 匹、4 週目までに 3 匹、5 週目までに 3 匹と、実験終了時までには 25 匹中 9 匹が死亡した。この死亡の原因は高度な乾酪性肺炎で、中には出血を伴う例もみられた。INH 群では 5 週目までに 1 匹のみ死亡したが死因は不明である。TUM-N 群での死亡例はみられなかつた。

脾の定量培養をみると、加療群は対照群に比べ、明らかに菌の発育は少なかつた。10 培の培養では、対照群では一部を除いてほとんどが卍の発育を示したのに対し、INH 群では 2 週目までは卍が 2 例、他は 卍、3~4 週目では +、5 週目では数コロニーである。TUM-N 群ではほとんどが 卍~卍 であるが、4 週目以後は 卍 が多くなる。1,000 倍では、対照群はほとんどが +~卍 であるが 4 週目は 卍 である。INH 群では 2 週目までは一応菌の発育を認めたが、3 週目以後は 1 例を除いて菌の発育を認めない。TUM-N では 1 週目が +、2 週目以後は若干のコロニーを数えるだけとなり、3 週目以後はコロニー数も減少、4~5 週目では発育の認められない例もある。10,000 倍では、対照群は 4 週目まで若干の発育を認めるが、INH 群では 1 週目に 1 例のみであり、TUM-N 群では 3 週目まで若干の発育を示したが、対照群に比べると少ない。このような結果から、INH は勿論 TUM-N にも抗結核作用のあることがはつきりしたが、TUM-N は INH に比べると相当に弱い。

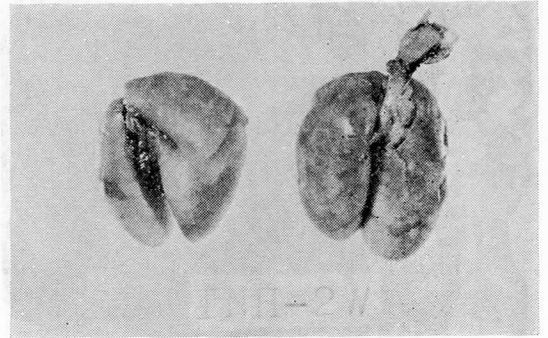
肺病変の病理組織学的所見をみると、肉眼的所見での結節形成は、対照群では高度で、中には出血を伴うものもみられ、乾酪性肺炎に移行して多数例が死亡した。INH、TUM-N 群での結節形成は少なく、特に INH 群では少なかつた。組織学的所見での結節形成は、肉眼的所見とほぼ同様の傾向を示した。滲出炎は、対照群では強く、かつ経時的に増強の傾向がみられた。INH 群では炎症の程度も弱く、その上 4 週目以降には消退して認められなくなつた。TUM-N 群では 1 週目では認められず、2 週目以後にみられたが対照群よりは弱く、また 5 週目で

表 3 肝の組織学的所見

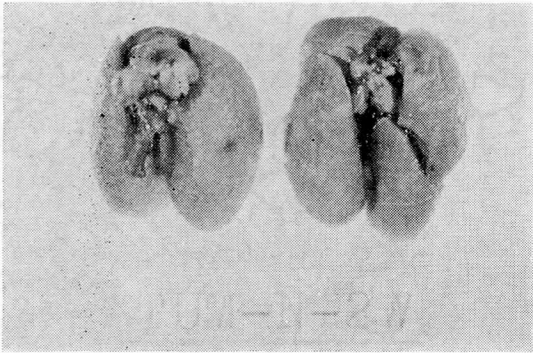
	結 節 形 成			単 球 浸 潤		
	対 照	INH	TUM-N	対 照	INH	TUM-N
1 W	±~+	±~卍	+	卍	±~卍	+
2 W	+~卍	+~卍	+~卍	卍~卍	卍	+~卍
3 W	±~卍	-~±	-~+	卍~卍	±~+	卍
4 W	±~卍	-	-~±	卍~卍	-	卍
5 W	+	-~±	-~±	卍	-~±	+



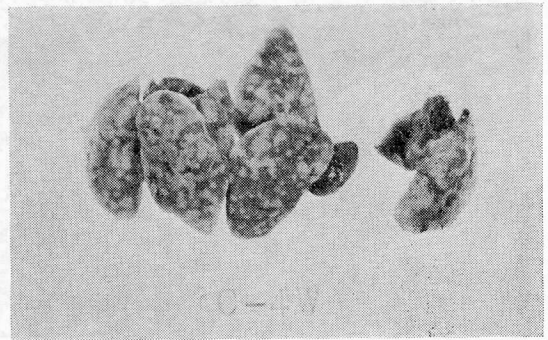
**写真 1. 対照群 2週目**  
 小結節，粟粒大以上の結節がみられ，一部融合して  
 いる所もみられる。



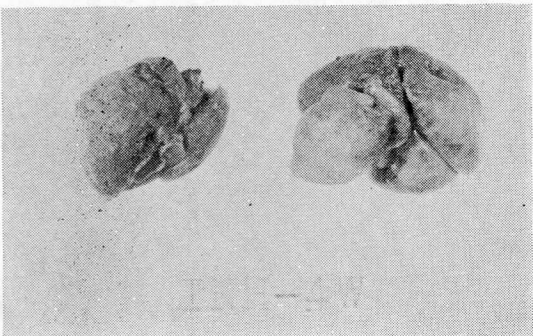
**写真 2. INH 群 2週目**  
 小結節が点在性に僅かにみられるにすぎない。



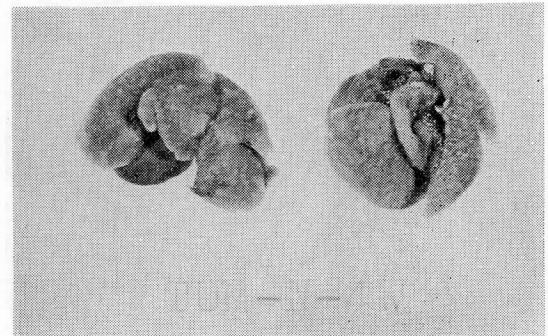
**写真 3. TUM-N 群 2週目**  
 小結節が INH 群より多く散在性にみられる。



**写真 4. 対照群 4週目**  
 病変は融合，出血のみられる所もある。



**写真 5. INH 群 4週目**  
 2週目とほとんど同じである。



**写真 6. TUM-N 4週目**  
 小結節が散在性にみられる。2週目より結節は幾分  
 大きい。

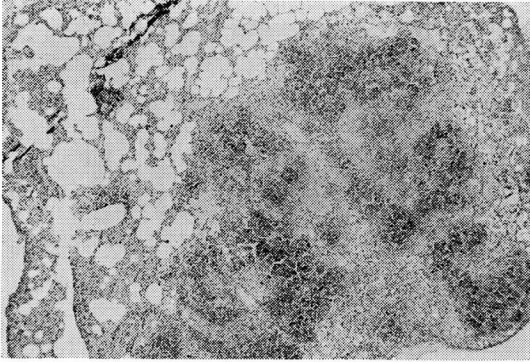


写真 7. 対照群 2 週目

融合した大結節形成，その中心部は核崩壊が強く乾酪化し，その周辺に滲出病変と胞隔肥厚，小結節形成がみられる。

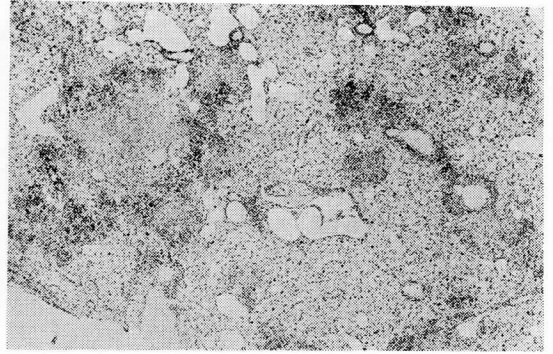


写真 8. 対照群 3 週目

ほとんどが滲出病変で占められる。一部乾酪性肺炎像を示している。

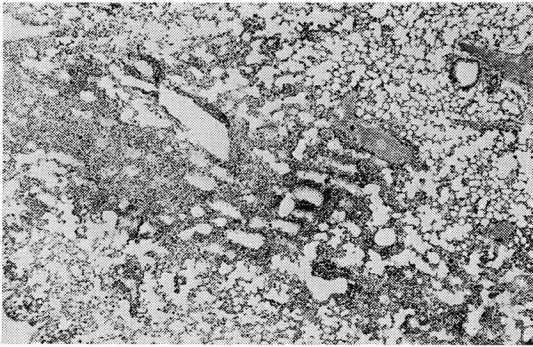


写真 9. INH 群 2 週目

連続的な胞隔肥厚と小結節形成がみられるが，肺胞内滲出病変はほとんどみられない。

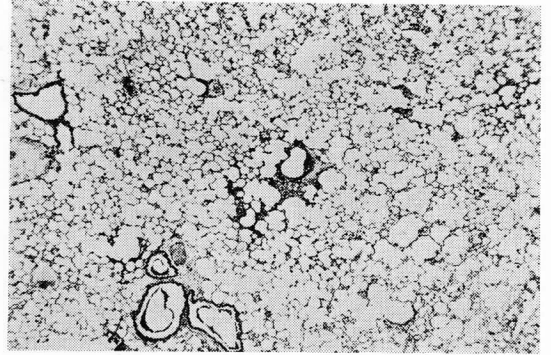


写真 10. INH 群 4 週目

滲出病変はもちろん，結節病変も全くみられない。ただ若干の胞隔の肥厚が残っている。

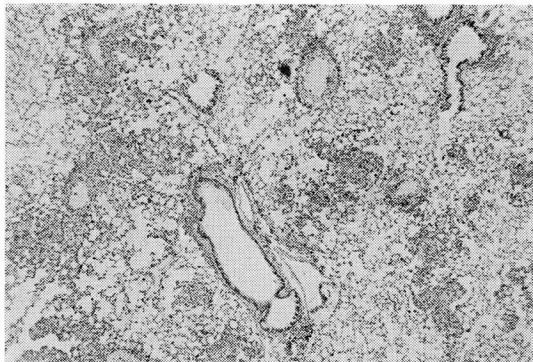


写真 11. TUM-N 群 2 週目

小結節がみられ，一部融合している。胞隔の細胞増生が目立つが，滲出病変は軽度である。

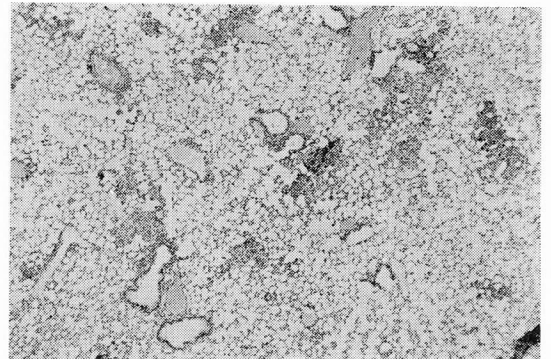


写真 12. TUM-N 群 5 週目

小結節形成が散在性にみられるにすぎず，その周囲性滲出病変および胞隔細胞増生はほとんどみられない。

は非常に弱くなった。乾酪化は対照群では中等度にみられたが、INH 群ではみられず、TUM-N 群では2週目に極めて軽度に見られた。

肝においても、対照群の病変が強く、加療群の病変、特に INH 群の病変は弱く、TUM-N 群の病変の消退は INH 群より幾分遅れる傾向を示した。

腎においては特記すべき病変および所見を認めなかった。

動物の実験的結核症に対する TUM-N の抗結核作用に関する報告<sup>2)6)</sup>は非常に少なく、肺病変についての詳細な病理組織学的検索に基づく報告はみられない。この点を解明すべく、著者らは既知抗結核剤の中で最も抗結核性の強い INH を対照薬として本実験を行ない、既述のような結果を得た。これによると、脾の定量培養の成績、肺病変の病理組織学的検索においても、INH には及ばないが、対照群に比べ有意に抗結核作用の発揮された所見を見出した。本剤が Viomycin とほぼ等しい作用を示し、Kanamycin 耐性菌感染マウス結核症にも優れた治療効果を示し<sup>2)</sup>、その聴器毒性については、Capreomycin, Kanamycin よりはるかに弱いことが報告<sup>3)</sup>されている。一方、臨床面においては、従来の抗結核剤の無効例についての検討が行なわれ、その有効性と副作用の少ないことが報告されている<sup>4)5)</sup>。Rifampicin の出現により排菌症例の減少は著しいが、これによつてもなお排菌の持続がみられる症例の排菌停止、排菌の微量化が本剤に望まれ現在臨床検討中である。

また Viomycin との比較検討を行なつているので次報で報告したい。

## 結 論

実験的マウス結核症に対し、TUM-N および INH を使用してその抗結核作用を検討し、次のような結果を得た。

1. 脾の定量培養、肺病変の病理組織学的検索より、TUM-N の抗結核作用を確認した。
2. TUM-N の抗結核作用は INH より弱い。
3. 本実験の範囲内においては、腎には特記すべき所見を認めなかった。

本論文の要旨は第49回日本結核病学会総会(東京)において発表した。

終りに臨みご校閲を賜つた立野誠吾教授、TUM-N を提供された東洋醸造株式会社にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Ando, T., Matsuura, K., Izumi, R., Noda, T., Take, T., Nagata, A. and Abe, J.: J. Antibiotics, 24: 680, 1971.
- 2) 豊原希一: 結核, 47: 181, 1972.
- 3) 秋吉正豊・佐藤喜一・吉沢宗敏・早野和夫: Audio-logy Japan, 15: 69, 1972.
- 4) 大里敏雄・豊原希一: 結核, 47: 177, 1972.
- 5) 山本和男・相沢春海・藤田一誠・直江弘昭・津田定成: 結核, 48: 23, 1973.
- 6) 小関勇一・岡本茂広・室橋豊穂: 結核, 48: 189, 1973.
- 7) Shimizu, T.: J. J. Antibiotics, 27: 463, 1974.
- 8) 清水辰典・石川浩明・鈴木忠清・安藤拓司: J. J. Antibiotics, 27: 279, 1974.