

原 著

マウス実験結核症におけるリファンピシン とイソニアジッドの治療効果の比較

近藤 瑩子・金井 興美

国立予防衛生研究所結核部・細菌第1部

受付 昭和52年9月10日

COMPARATIVE STUDIES ON THERAPEUTIC EFFECT OF RIFAMPICIN AND ISONIAZID ON EXPERIMENTAL MOUSE TUBERCULOSIS

Eiko KONDO* and Koomi KANAI

(Received for publication September 10, 1977)

There is an increasing amount of information to consider that rifampicin is one of the most powerful chemotherapeutics against tuberculosis. An experiment was then carried out to compare the therapeutic effect of rifampicin with that of isoniazid on experimental mouse tuberculosis. Evaluation of the effect was made by following the fate of infecting tubercle bacilli in the treated mice as revealed by enumeration of spleen and lung viable units with one or two week intervals. Particular concern was placed on the effect of rifampicin on the bacilli which were introduced as an inoculum for the secondary infection as shown in Fig. 1.

The results are demonstrated in Figs. 2 and 3. The oral administration of rifampicin in the daily dose of 0.75 mg was proved to be more effective than the intraperitoneal injection with 0.5 mg isoniazid 6 times per week. This superior effect of rifampicin to isoniazid was expressed most evidently on the bacilli of the secondary inoculum whose multiplication was inhibited in the spleen.

結核治療におけるリファンピシン(RFP)の有効性については、その評価は一般にかなり高いものといえる¹⁾²⁾。おそらく、イソニアジッド(INH)とならんで10指にあまる抗結核剤の最上位を占めるといつても過言ではないであろう。私たちもマウス実験結核症において、RFP使用の経験を重ねるごとに、この感を深くしているが、本報告においてはとくに再感染実験において、RFPとINHの単独投与効果を比較し、RFPの特徴的な抗菌効果を示したい。

実験材料と方法

感染菌株としては *Mycobacterium bovis* (Ravenel)

およびカナマイシン耐性の *M. tuberculosis* (H37RvR-KM) のそれぞれのソートン培養菌である。この耐性株は *in vitro* において one step で分離され、100 μ g/ml以上の濃度に耐性である。感染にあたっては、いずれも蒸留水浮遊液として使用した。

動物は市販の ddY 系マウスの雄、実験開始時において体重18g前後のものを使用した。感染動物組織からの菌の定量的分離培養法はこれまでの報告³⁾とかわりない。薬剤投与はINHは腹腔内注射、RFPは150mgを30mlのプロピレングリコールで加温して溶かし、これを飲料水で1lに希釈し、経口的に投与した。マウスは1日に平均5mlを吸飲したので、0.75mgを一応投与量とみ

* From the Department of Tuberculosis and the First Department of Bacteriology, National Institute of Health, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

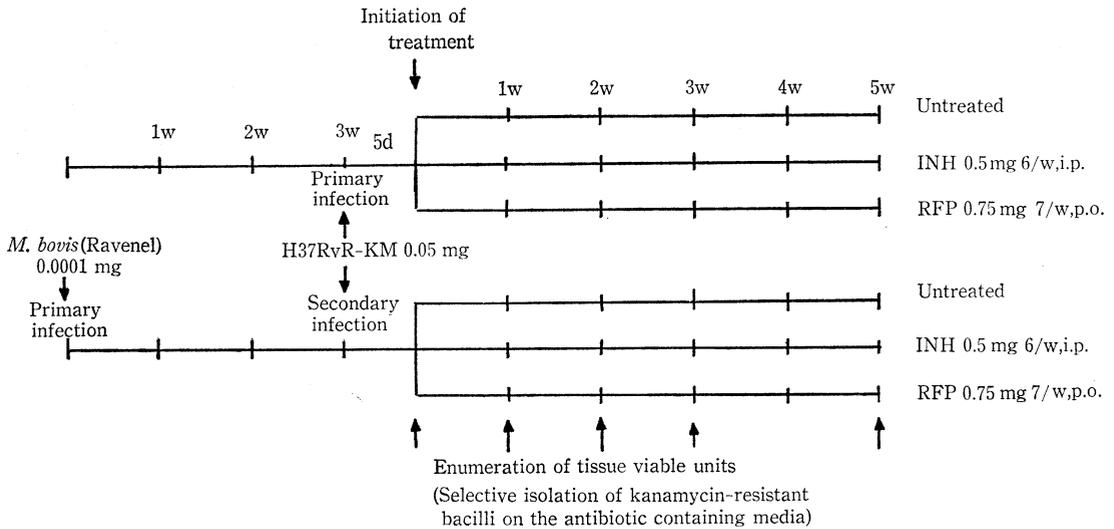


Fig. 1. Experimental design.

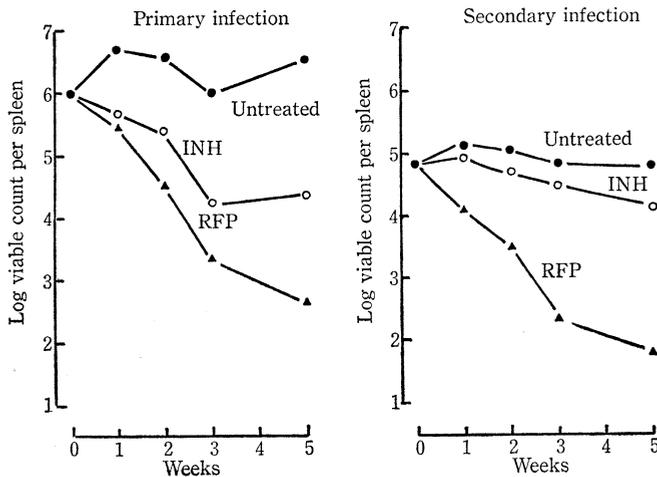


Fig. 2. Effects of isoniazid (INH)- and rifampicin (RFP)-administration, daily with 0.5 mg and 0.75 mg respectively, on the fate of tubercle bacilli introduced as an inoculum for the primary or secondary infection in mice (Evaluation by spleen viable counts).

なした。

実験成績

78匹の動物を39匹ずつの2群に分ち、その一方の群を *M. bovis* (Ravenel) の 0.0001 mg をもつて一様に静注感染した。3週後には両群ともに、H37RvR-KM 株の 0.05 mg による静注感染をうけた。したがって、この感染菌は一方の群では再感染菌として接種され、他方の群においては初感染菌として接種されたことになる。その5日後に、両群とも15, 12, 12匹よりなる3つの小群に分け、それぞれ Fig. 1 に示したようなレジメンによつて治療を開始した。

治療開始時に15匹よりなる第1小群より3匹、以後1、

2, 3, 5 週目に各小群より3匹ずつを殺して肺と脾とを摘出した。臓器重量を測定したあと、ホモジネイトの10倍希釈系列を調製し、感染菌数測定のための培養材料とした。治療期間中における菌数消長の推移を比較して薬剤投与効果を比較した。菌分離のためには、KM を 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に含む小川培地を使用しているの、H37RvR-KM の菌数のみを選択的に追求していることになる。

成績は脾に関しては Fig. 2 に、肺に関しては Fig. 3 に図示した。各図とも、左半は H37RvR-KM が初感染菌として用いられたときの消長を示し、右半は、再感染菌として宿主に接種された場合の消長を示している。

Fig. 2 をみると、再感染時から5日経つた治療開始時において、脾における再感染のレベルは、初感染菌とし

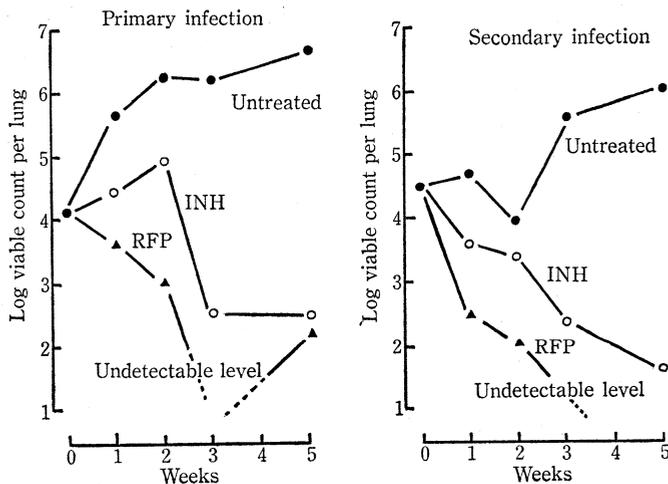


Fig. 3. Effects of isoniazid (INH)- and rifampicin (RFP)- administration, daily with 0.5 mg and 0.75 mg respectively, on the fate of tubercle bacilli introduced as an inoculum for the primary or secondary infection in mice (Evaluation by lung viable counts).

ての場合の1/10であり、その後5週間、非治療群においてはほとんどこのレベルは変化することなく終始している。換言すれば、初感染によって成立していた免疫力によつて、再感染菌の脾における菌数増加はほとんど完全に抑制されていた。この場合、INH投与の効果は、非治療群の菌数消長曲線をわずかに下まわる菌数レベルで表現されているが、5週時においても1/10にはなっていない。他方、RFPの効果は極めて顕著であり、週を追つて菌数は下降し、5週時においては非治療群の1/1,000の菌数に減少した。これは私たちの方法では培養検出可能な限界に近い。

他方、この同じH37RvR-KM株が初感染菌としてマウスに接種された場合のINHとRFPの投与効果は、いずれも前述の再感染としての場合より顕著であり、菌数上昇を示した非治療群の消長曲線に対し、1週後から菌数減少が始まつた。5週時には、INHの場合は対照群の1/100の菌数、RFPの場合は1/10,000の菌数レベルに到達している。

肺における菌数消長をFig. 3にみると、初感染菌としての場合の菌数上昇は非常に顕著で、5週間で治療出発時の1,000倍に近づいているが、これに及ばずINH、RFPの投与効果も一層めざましく、5週後にはそれぞれ非治療群の1/10,000以下の菌数におちている。ただ、その菌数消長の途中経過をみれば、RFPがINHに勝る効果を挙げていることは推察できる。

同じ菌が再感染に用いられた場合、初感染による再感染菌増殖抑制効果は、再感染後2週間の間のみ維持され、その後は増殖傾向に移つている。この最初の2週間、INHの投与効果は比較的弱いのが、再感染菌が増殖傾向を強めるに及んで逆にINH投与による菌数減少は強ま

つた。この場合は前述の脾における場合と全く逆である点で非常に興味がある。しかし、この場合もRFPの効果はINHに勝っており、3週以後は検出限界以下になつた。

以上のように、RFPは使用条件によつてはINHに勝る治療効果を挙げることが示された。

考 察

マウス実験結核症においては、感染菌を根絶、あるいは検出限界以下に減少せしめることは、モルモットの場合と違つてかなり困難な仕事である⁴⁾。Mitchison⁵⁾の説明によれば、マウスにおいては感染菌のほとんどすべてが細胞内に存在するためであるという。しかも感染が慢性化して菌が“persist”する時期になると、INHをもつてしても効果はあまり期待できない⁴⁾。

私たちはこの点を多少なりとも克服するためには、RFPの適切な使用法が有望でありうることをこれまでの報告で示してきた³⁾。

私たちは現在ひき続いて、RFPを中心薬剤として短期強力療法の基本実験を実施しているが、その前段階として本報告では、INH 0.5mgとRFP 0.75mgの連日投与の効果を比較した。結果としては、初感染、再感染のいずれの菌においても、また、肺においても脾においても、RFPの投与効果が優れていた。しかし、飲料水に入れてのRFPの投与は、消費量からの平均値であり、また吸飲操作中のlossと、吸飲時間の不規則性なども考慮せざるをえない。INHに関しては、正確な量が確実に腹腔内に注射される利点はあるが、臨床の現実と直ちには比較できないうらみはのこる。

しかし、この実験で私たちが特に意図した目的は、再

感染菌の脾における消長に対して、RFP が INH にはるかに勝る効果を示した点によつて達せられている。つまり、初感染によつて成立している宿主の免疫力により、再感染菌が特に脾においてその増殖が抑制されている場合に、INH はほとんど効果がないにもかかわらず、RFP は優れた効果を示したことである。この現象は、私たちが以前に報告³⁾したように、ストレプトマイシン (SM) 依存株を用いたモデル実験において、INH は分裂静止菌にあまり有効でないが、RFP はその場合にも有効であつた事実と合致するといえる。癩菌のように分裂速度の極めて遅い、代謝の緩慢な抗酸菌に RFP が有効である⁶⁾こともまた、私たちの主張と矛盾しない。

このような観察は、RFP が短期強化療法における中心的な薬剤としての資格において充分であることを示す

と同時に、宿主と菌との関係が平衡状態となり、菌の代謝のおちた慢性期においても利用価値の高いことを示唆している。

文 献

- 1) 砂原茂一：結核，51：123，1976.
- 2) 結核療法研究協議会：結核，52：353，1977.
- 3) 近藤瑩子・金井興美：結核，52：411，1977.
- 4) McCune, R. M., Jr., Tompsett, R. and McDermott, W.: J. Exptl. Med., 104：763, 1956.
- 5) Mitchison, D. A.: Bull. Internat. Union Tuberc., 43：322, 1970.
- 6) Rees, R. J. W., Pearson, J. M. H. and Waters, M. F. R.: Brit. Med. J., 1：89, 1970.