

原 著

短期強化化学療法の検討を目的とする マウス結核症の治療実験 (I)

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11月4日

AN ATTEMPT TO WORK OUT HIGHLY EFFICIENT SHORT-COURSE REGIMENS BY MODEL EXPERIMENTS IN MOUSE TUBERCULOSIS

Eiko KONDO* and Koomi KANAI

(Received for publication November 4, 1977)

With a basic idea that elimination of persistent bacilli to the minimum level, if not eradication, is the best way to reduce the possibilities of relapse in later years, an attempt was made to work out highly efficient short-course regimens through experimental model in mouse tuberculosis.

The experiment was designed as shown in Fig.1 and the results are demonstrated in Figs.2 and 3. The daily administration of three drugs, e.g. INH+RFP+SM or INH+RFP+EB, in an appropriate dose was found to be capable of eliminating infecting bacilli down to the undetectable level in a month or so. Even after cessation of the treatment, this "sterilized" condition was kept for some weeks, and then the bacilli began to make irregular appearance in the lung within a limited level of viable counts. In the spleen the reappearance of the bacilli was more consistent than in the lung. Nevertheless, the therapeutic effect as obtained here was so remarkable as never been experienced by us before the time when rifampicin became available.

Further experiments are now under way to improve the regimen, particularly by adjusting the period of treatment.

新しい特徴をもつた抗結核剤が次第にその数を増し、また一般医療体制と社会環境、社会通念が変化するに伴って、結核化学療法の基本的な考え方にもおのずから再考慮がなされてきた¹⁾²⁾。

短期強化化学療法の提案も³⁾⁴⁾、そうした動きの一つであろうと考えられるが、具体的には、この数年、日本のみならず諸外国の多くの臨床家⁵⁾によつて、その目的に沿つたさまざまなレジメンが試みられてきた。結核症対策は、国の社会経済的基盤を無視しては成立しえないので、現実採択しうるレジメンは、先進国と開発途上国とでは必ずしも同一ではありえないが、わが国におい

てはリファンピシン (RFP) が使用薬剤の中核に目されてきたことは疑問の余地はない²⁾³⁾。

RFP を含めた3剤、例えば RFP, イソニアジッド (INH), ストレプトマイシン (SM) あるいは RFP, INH, エタンブトール (EB) が一般にもつとも高い臨床的評価を得ているとみられるが、このことは少なくとも喀痰からの菌陰転率と陰転速度の面からも理解できる^{6)~8)}。しかし喀痰からの菌陰転化が必ずしも組織からの菌の根絶を意味しないとすれば、短期強化療法レジメンの最終的な評価は再発例の少ないことを目安とすることになる。

再発をできうる限り抑えるには、化学療法終了時点で

* From the Department of Tuberculosis and the First Department of Bacteriology, National Institute of Health, Kamiosaki 2-10-35, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

において、感染菌の根絶とまでいかなくとも、組織内残存菌数を最小限にとどめることが望まれる^{9)~11)}。私たちはRFPが他の抗結核剤と異なつて、分裂増殖中の菌のみならず、分裂速度の落ちたあるいは静止した代謝不活性の感染菌にも有効であるという実験経験¹⁰⁾の上に立つて、RFPの使用を重視したマウス実験結核症の治療実験を試みた。短期強化療法の一つのモデルであり、臨床を基礎が後追いつる形であるが、何らかの実験の根拠を提供しうることを期待しての試みである。

実験材料と方法

マウスは ddY 系、感染時の体重は平均 30 g のものを使用した。飼料および飼育法はこれまでの報告¹²⁾と変わりはない。

実験方法の概要は Fig. 1 に示してある。120 匹のマウスを用意し、一様に牛型結核菌のラベル株の 0.01 mg をもつて尾静脈より感染した。11 日目に群別を行なつて、その 45 匹を対照群とし、残りを治療群としてまず SM 1 mg, INH 0.5 mg をそれぞれ腹腔内注射, RFP 0.75 mg は経口投与によつて治療を開始した。RFP はその 150 mg を 30 ml のプロピレングリコールに加温して溶かし、これを 1 l の飲料水で希釈したもので、マウスの 1 日の吸引量を 5 ml として概算したものである。SM は週 2 回の間欠, INH は週 6 回, RFP は毎日投与とした。28 日目に SM を EB に切り換えて, INH, RFP とともに 24 日間投与した。ここで各薬剤を間欠とし、それぞれの 1 回量は INH 0.5 mg, EB 1.5 mg, RFP は 1.5 mg とした。これで 14 日間治療を継続したのち、治療群のみを更に 2 群に分け、その一方は治療を停止して放置し、他方は INH の 0.5 mg 週 2 回の投与とした。これは再発防止を目的としたものであ。

治療開始後 2 週あるいは 3 週ごとに各群より 3 ~ 4 匹

ずつ殺して、肺および脾内の生菌数を測定した。その方法は前報¹²⁾に従つた。

成績

肺については Fig. 2 に、脾については Fig. 3 に、それぞれの生菌数の消長を非治療対照群と比較してある。感染後 21 日目において、対照群では肺の生菌数は定着菌数の 100 倍の 10^7 近くまで達してこのレベルを維持し、80 日目から 100 日目にかけては、更に 10^8 まで菌増殖がみられた。この時期に 50% は死亡している。残存したマウスは肺においては 10^7 の菌数を更に維持し続けた。一方治療群では SM, INH, RFP の強化併用療法によつて、3 週間で生菌数は検出限界以下となつた。しかし SM 1 mg の腹腔内注射は、マウスに与える一過性の刺激が強いようにみえたので、このレジメンで 6 週間継続の予定を変更し、SM を EB 1.5 mg の間欠投与に切り替えた。こうして RFP, INH, EB による治療を 24 日間続けている間は、菌は検出限界以下であつた。次いで 3 剤とも週 2 回の間欠投与とし、2 週後これを 2 群に分けて一方は治療を中止して放置し、他方は INH のみの間欠として 1 カ月経つと両群とも時として菌の再出現をみた。しかし 10^3 または 10^4 レベルと検出限界以下との間を上下する菌数であり、この状態が 2 カ月以上維持された。対照群の脾内では、感染後 11 日目においてすでに定着菌数の 100 倍以上 10^6 にまで増殖し、その後 3 週はこの菌数レベルであつたが、次第に減少した。しかし感染後 90 日前後のマウス死亡率の高いころにはいつたん菌数の上昇があつたが、再び菌数は下降した。SM, INH, RFP, また EB, INH, RFP の投与によつて、3 週以後 7 週目までは菌数は検出限界以下に置き換えられたが、3 剤を中止することにより 10^4 まで菌の再出現をみた。この間、INH を間欠投与した群では 10^3 のレベルが維

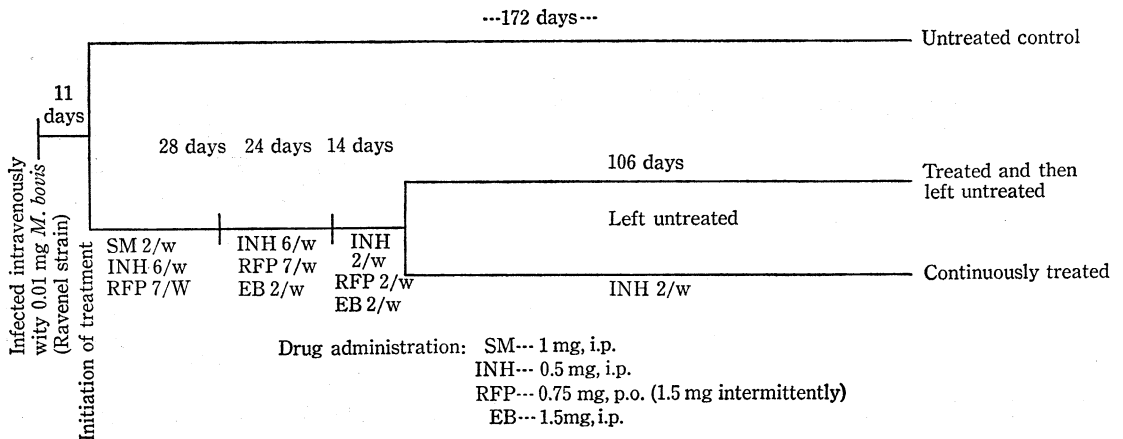


Fig. 1. Experimental design to examine the therapeutic effect of a pattern of drug administration expected to be highly efficient short-course regimen.

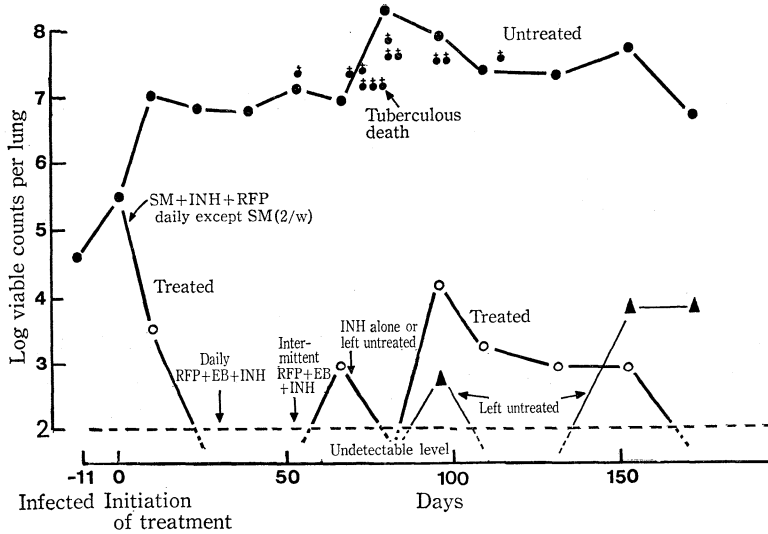


Fig.2. The fate of infecting bacilli in the lung of the tuberculous mice untreated or treated by a pattern of short-course regimen.

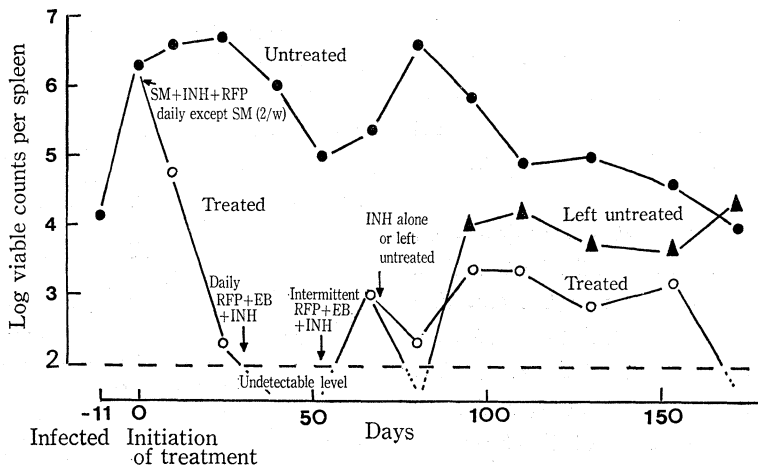


Fig.3. The fate of infecting bacilli in the spleen of the tuberculous mice untreated or treated by a pattern of short-course regimen.

持された。いずれにせよ、これら治療実施群のマウスの体重は40gから50gに達していた。なお、つけ加えれば、実験最終時において、治療後放置群からの菌分離に際して行なつた直接法による耐性検査では、INH, SM, RFPのすべてに感性であつた。また、この治療後放置群から分離された菌をソートン培養し、その0.5mgをもつて新たにマウスを感染してoriginalの菌とその毒力について比較したところ、6週で100%死亡し、両者とも変わるところはなかつた。

考 察

非治療対照群における肺の感染菌数消長(Fig.2)は、感染3週で菌が肺当り 10^7 のレベルに達すると、以後この高菌数を保持して残存し、典型的な結核感染像を形成

している。しかし、70~80日前後において菌数が更に上昇傾向を示して 10^8 に達しているが、この病相時期にあつて集中的に死亡マウスが続出している。生残した対照マウスは、おそらくこうした悪化の時期をまぬがれたものなのであろうが解剖所見ではいずれも肺は結節で充満し、その重量は1g近くに及んでいた。いずれにせよ、この感染は長期観察実験としてはかなりの重症感染とみてよいものである。ただ脾においては(Fig.3)、80日前後に再度菌数上昇のピークが肺同様にみられるが、それ以後は次第に減少の一途を辿っている。菌数レベルが一般に肺よりは終始低く消長している点は、マウスにおける結核感染の特徴で、これまでと変わらない。

このような肺、脾における感染菌に対して、薬剤投与の効果はまさに劇的なものであつた。SM(1mg) + INH

(0.5mg)+RFP(0.75mg)という強力なレジメンは、30日後には感染菌数を検出限界以下に減少せしめ、しかもその状態はINH+EB+RFPの使用によつて更に30日間維持できた。マウスにおいてこのような成績を得ることは、これまでかなり困難なこととされ、INHとPZAの併用によつてのみ可能と報告された¹³⁾。しかし、これは私たちの経験では必ずしも成功していない¹²⁾。したがつて私たちの成績のみならず、豊原の成績¹⁴⁾にもみられるように、SM+INH+RFPの組合せは、殺菌効果においてまさに注目し得るものであり、すでに臨床的にも高く評価されている³⁾⁻⁵⁾のも故なしとしない。この3剤併用は短期強化療法の中核的レジメンと考えてまず問題はないであろう。RFPの登場が結核化学療法に一期限を画したというべきである。

RFPの特徴的な抗菌作用として、私たちのこれまでの研究¹²⁾は、この薬剤が他の抗結核剤と異なり、分裂頻度の低下した代謝不活性の菌にも有効であることを指摘してきた。モルモットを用いたDickinsonとMitchison¹⁵⁾、マウスを用いた豊原¹⁴⁾そして大泉ら¹⁶⁾の研究がある。DickinsonとMitchisonの仕事はさまざまなレジメンを用いているが、菌を検出限界以下に減少せしめるほどにはいかなかった。しかし、そのなかには、SMを含めたレジメンのなかつたことは、大泉らの場合と同様であつた。

大泉ら¹⁶⁾はINH(0.5mg)+EB(2mg)+RFP(0.5mg)による10週治療を試みているが、肺内感染菌数を検出限界以下に落とすことはできなかつた。そしてまた、治療中止・放置後においては菌数増加を経験した。彼らの感染量はH37Rv株1mgという大菌量であり、そのため宿主内での菌増殖率はむしろ低かつたものと推定され、このことも薬剤効果の弱かつたことと関係があろう。

さて検出限界以下に抑えられていた菌数も、治療中止後、あるいはINH単独投与に切り替えられると、肺においても脾においても再増殖を示した。しかしその出現は肺においては極めて不規則で、菌数レベルも低いものであり、いまだINH感受性菌であるにもかかわらず、INH投与に反応が少なかつた。また、これによつてマウスの全身状態には何らの変化もなく、体重は40g以上、なかには50gを越えるものもあつた。したがつて、この時期においては、少なくとも肺においては、菌数消長は宿主と寄生体との関係において表現されているものであり、化学療法はこの2者の関係に介入するところが少ないように見受けられる。また、このような時期においてはむしろ、RFP投与によつてその効果を求めるべきであつたかもしれない。

豊原¹⁴⁾もSM(1mg)+INH(0.3mg)+RFP(0.3mg)の8週投与によつて肺内生菌数を0にすることができたが、投与中止後4週で、やはり菌の再出現をみている。

一方、私たちの実験の脾においては、INHの週2回の間欠投与によつて感染菌数レベルはある程度低くおさえられている。

以上要約するならば、SM+INH+RFPの適当量を用いることによつて、感染菌数を急速に検出限界以下に減少せしめえたが、いまだその根絶には成功しなかつたという結果である。問題は、上記3剤の投与を更に続けることによつて、一層“eradication”に近づきうるものか否かである。一方、Batten¹⁷⁾が行なつたように、マウス体重kg当りRFP40mg単独、あるいはそれとINH25mg/kgとの併用によつて4カ月間毎日投与した場合には、菌の根絶とみてよい結果が得られている。事実コートソン1日1mgの投与によつても菌増殖が観察されなかつた。しかし、このレジメンは臨床用量をはるかに上回る投与量であることに注目すべきである。臨床における菌陰転化は喀痰中の菌を指標にしてのことであり、動物実験におけるそれは、組織内生菌数についての目標である。私たちの実験でみられた限られた範囲内での菌再増殖が、臨床上の“再発”に相当するものであるか否かはともかくとして、私たちは組織内感染菌数の根絶を期して、更に検討を加えたいと考えている。

文 献

- 1) 砂原茂一: 結核, 50: 528, 1975.
- 2) 新海明彦: 内科, 39: 944, 1977.
- 3) 国立療養所化学療法共同研究班(班長: 砂原茂一): 結核, 52: 345, 1977.
- 4) 亀田和彦・木野智慧光: 結核, 49: 387, 1974.
- 5) Fox, W. and Mitchison, D. A.: Am. Rev. Resp. Dis., 111: 325, 1975.
- 6) 結核療法研究協議会(委員長: 五味二郎): 結核, 47: 457, 1972.
- 7) 樽松三郎他: 結核, 52: 166, 1977.
- 8) 小西池穰他: 結核, 52: 166, 1977.
- 9) 岩井和郎他: 日胸臨, 34: 890, 1975.
- 10) 佐藤瑞枝: 結核, 51: 329, 427, 1976.
- 11) 結核療法研究協議会(委員長: 五味二郎, 外科療法研究科会長: 塩沢正俊): 結核, 52: 353, 1977.
- 12) 近藤瑩子・金井興美: 結核, 52: 411, 1977.
- 13) McCune, R. M., Jr. et al.: J. Exptl. Med., 104: 763, 1956.
- 14) 豊原希一: 結核, 52: 162, 1977.
- 15) Dickinson, J. M. and Mitchison, D. A.: Tubercle, 57: 251, 1976.
- 16) 大泉耕太郎他: 結核, 52: 161, 1977.
- 17) Batten, J.: Tubercle, 51: 95, 1970.