

## 結核マウスの生存日数を指標とせる 化学療法剤の効果

### 第3篇 結核マウスの生存日数に及ぼす Cycloserine と Streptomycin, Isonicotinic acid hydrazide 並に Viomycin との併用効果に関する研究

京都大学結核研究所化学療法部 (主任 教授 内藤益一)

浜 田 浩 司

(受付 昭和33年12月20日)

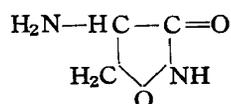
#### 【内容抄録】

結核マウスの生存日数を指標として CS と SM, INH 並に VM との併用効果について検討した。CS は単独でも対照に比し僅か乍ら抗結核作用が観察され SM, INH 並びに VM の夫れと軽度の併用効果の存することが観察された。

#### 第1章 緒 論

Cycloserine (CS) は1953年に Commercial Solvent Corporation の Harned 及び Kropp 等<sup>1)</sup> が *Streptomyces orchidaceus* の培養液から抽出した抗生物質で、広い抗菌スペクトルを有し、とくに抗結核作用をも有する特徴を持つている。之と殆んど時を同じくして我が国に於ても1952年に東北大学細菌学教室に於て黒沢<sup>2)</sup> が放線菌 K-300 株から得た物質を黒尾が Orientmycin と命名したが、之が CS と同一物質であることが判明した。尙 CS は D-4-Amino-3 isoxazolidone なる化学構造式を有する物質である。

#### 化学構造式



人型結核菌に対する試験管内抗菌力は Cumings,<sup>3)</sup> Renzetti,<sup>4)</sup> Barclay,<sup>5)</sup> Hudgings<sup>6)</sup> 等によれば Dubos の培地で 5~10 r/cc 程度の成績を得ている。そして注目すべき事実は Streptomycin (SM), Isonicotinic acid hydrazide (INH) 及び p-Aminosalicylic acid (PAS) の何れの耐性菌に対しても有効である

事である。従つて CS は現在の結核化学療法の要望にこたえ得る一つの重要な新抗生物質であると思われる。

CS の動物実験的研究には数多くの報告が見られるが、Cuckler<sup>7)</sup> はマウスに H<sub>37</sub>R<sub>V</sub> 株を静脈内に接種し CS 10mg を毎日経口又は皮下注射により感染翌日から投与し治療を対照群の T<sub>50</sub> (50% 死亡日) 迄続行して治療効果を検討しているが CS 単独では多少の効果を認めるも統計的に有意の差を認めなかつた。しかし CS を DHSM と併用した場合 DHSM 単独の約3倍の効果を認めている。Steenken 及び Wolinsky<sup>8)</sup> はマウスの実験的結核症に CS 40r/g 及び 200r/g を毎日皮下注射して治療した成績及びモルモットの実験的結核症に CS 200r/g を毎日皮下注射した成績で何れも無効であつたと述べている。又 Patnode<sup>9)</sup> もモルモットを用いた実験的結核症に CS を大量投与した例にのみ僅かな効果を認めたが INH の効果より著しく劣つていたと報告している。Yeager 等<sup>10)</sup> は CS はマウス、モルモットには効果がないが家兎や猿の実験的結核症には或る程度有効であつて、此の使用動物の種類による効果の差は他の化学療法剤より著明であると述べている。本邦でも古田<sup>11)</sup> は SM 系マウス、H<sub>37</sub>R<sub>V</sub> 人型結核菌を用い、実験的結核症に対する CS の効果を SM, INH の効果と比較しているが、此の実験では INH, SM は著しい効果を示したのに反し CS は1日量 1mg でも 3mg でも治療効果が認められなかつたと述べている。海老名他<sup>12)</sup>

もマウスの実験的結核症に対して効果は顕著でなかつたと報告している。

五味他<sup>13)</sup>は dd 系マウスに黒野株 0.1mg を静注感染させての実験で DHSM, INH と夫々併用効果を検討しているが CS 単独では或程度有効であることは明らかであるがその作用は強力とは云えない、又 DHSM との間に軽度の併用効果を認めたと述べている。此の実験成績を見ると INH との併用効果については此の場合投与した INH 単独の効果が強過ぎて CS との併用効果は判定し難い成績の様に思われる。

堂野前等<sup>14)</sup>は dd 系マウス、黒野株を用いて CS の実験的結核症に於ける治療効果を検討しているが 60r/g, 300r/g で全く無効、Dihydrostreptomycin (DHSM) 或いは INH と併用しても協同作用は全く見られなかつたと報告している。しかし Schmidt<sup>15)</sup> は猿を用いての実験では有効で INH との間に併用効果のあることを報告している。

以上の様にマウス、モルモットの実験的結核症に対しては無効であるという報告が多い様であるが、之について堂野前<sup>14)</sup>は実験動物の種類、感染菌株、観察方法に問題があるとしている。しかし Karlson<sup>16)</sup> は H<sup>37</sup>Rv 株 0.1mg の腹腔内注射によるモルモットの実験的結核症に於て感染後17日目に一部を殺して結核性病変の存在することを確認してから、1日量 CS 100 mg 皮下注射による投与で連日治療を続け、50日後に其の量を 200mg 迄増量して治療し感染後147日目(治療開始後130日目)に非治療対照群の半数が斃死するのを待つて全実験動物を剖検して治療効果を見ているが、CS 治療群は明らかに非治療対照群に比して病変が少く、従つて治療効果が明らかに観察されたと報告している。そして他の多くの報告で動物実験的研究に於ける CS の効果について否定的であるのは CS の投与量が少く、また投与期間が短いためではなかろうかと述べている。

之に対し臨床報告としては人体に最初に抗結核剤として CS を投与した Epstein<sup>17)</sup> に始まる多数の研究者によつて CS は SM, INH 程ではないが可成り有効なこと及び SM, INH 或は

PAS に耐性を生じた多くの症例にも有効であつたことが報告されている。殊に INH との併用が効果的であつたとの報告は注目に値する。<sup>1) 3) 4) 5) 7) 8) 9) 18) 19) 20) 21) 22) 23)</sup>

そこで著者はマウスの実験的結核症を対象として第1篇に於て述べた方法を用いて、CS と SM, INH 並に Viomycin (VM) との併用効果について比較検討したので以下其成績について報告する。

## 第2章 実験材料及び実験方法

### 第1節 実験材料

#### 1) 実験動物

実験動物としては均一 dd 系マウスを予め第1篇に述べた如き実験条件にて飼育し体重が16~18g になるのを待つて実験に供した。

#### 2) 接種結核菌株

当教室にて継代培養して保存している有毒人型結核菌黒野株を3~4週間グリセリン・ブイヨン培地に培養し其の菌膜を釣取使用した。

### 第2節 実験方法

#### 1) 接種方法

上述の有毒人型結核菌黒野株の菌膜を採取し滅菌濾紙で水分を除去した後秤量して、めのうの乳鉢で磨碎して適量の生理的食塩水を加え1 cc 中に 5 mg の菌量が浮遊する様に調製した。之の 0.1cc (0.5 mg) を実験用マウスの尾静脈内に注射した。

#### 2) 供試検体投与方法

供試検体はすべて体重に比例した投与量を1日1回経口又は皮下注射によつて投与した。供試検体はすべて水溶液とし、経口投与の場合は注射針の太いものの尖端を切断し適当な長さとしたものを注射筒にはめ強制的に胃内に注入した。皮下注射は背部皮下に行つた。なお非治療対照群には治療群と同じ方法で生理的食塩水を投与した。薬剤投与は治療群中の1群の半数が死亡する迄行つた。

#### 3) 治療効果の判定

判定は生存率曲線と平均生存日数との総合判定によつた。観察期間は全動物が死亡する迄とし、毎日1回生死を調べ斃死マウスは毎回剖検して結核性病変の有無を確めた。体重は毎週1回測定し記録した。

### 第3章 実験成績

#### 第1節 CS と SM 並びに INH との併用効果

##### 実験群の編成

前述の実験条件に適したマウス各12匹を1群として6群を編成し第1群は SM 10 r/g 毎日皮下注射，第2群は INH 1 r/g 毎日経口投与，第3群は CS 10 r/g 毎日経口投与，以上各単独群に対し第4群は SM 10 r/g 毎日皮下注射及びCS 10 r/g 毎日経口投与，第5群は INH 1 r/g 及び CS 10 r/g 毎日経口投与の併用群とし第6群を非治療対照群とした。実験群を表示すれば第1表の通りである。

第1表 実験群の編成

群	動物数	治療の種類及び投与量
第1群	10	SM 10 r/g 毎日皮下注射
第2群	10	INH 1 r/g 毎日経口に投与
第3群	10	CS 10 r/g 毎日経口に投与
第4群	10	SM 10 r/g 毎日皮下注射 CS 10 r/g 毎日経口投与
第5群	10	INH 1 r/g 毎日経口投与 CS 10 r/g
第6群	10	対 照

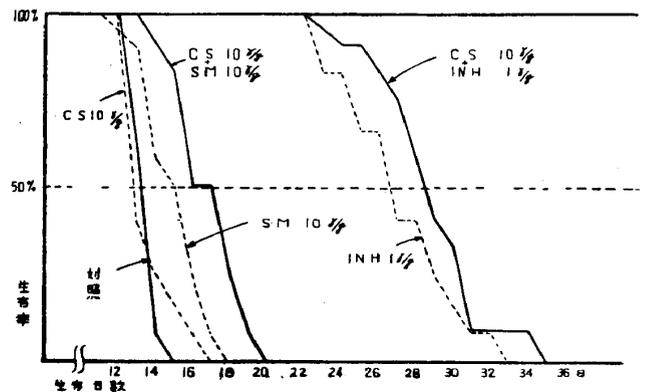
##### 2) 実験成績

成績は第1図並びに第2表に示す如く CS 10 r/g 単独治療群には全く延命効果を認められないが，SM 10 r/g と CS 10 r/g 併用治療群では平均生存日数で見ても SM 10 r/g 単独群に比し2.0日の延命効果が観察され又 INH 1 r/g と CS 10 r/g 併用治療群で平均生存日数で見ても INH 1 r/g 単独治療群に比し1.6日の延命効果が観察された。従つて CS は此の量では SM 並びに INH と併用して軽度の併用効果がある様に思われる。

第2表 平均生存日数

対 照	SM 10 r/g	INH 1 r/g	CS 10 r/g	SM 10 r/g CS 10 r/g	INH 1 r/g CS 10 r/g
12.6日	14.1日	26.3日	12.9日	16.1日	27.8日

第1図 CS と SM 並びに INH との併用投与による生存率



#### 第2節 VM・CS の併用効果

##### 1) 実験群の編成

前述の実験条件に適したマウス各10匹を1群として4群を編成し第1群は VM 60 r/g 毎日皮下注射，第2群は CS 30 r/g 毎日経口投与，以上各単独群に対し第3群は VM 60 r/g 毎日皮下注射及び CS 30 r/g 毎日経口投与の併用群とし第4群を非治療対照群とした。実験群を表示すれば第3表の通りである。

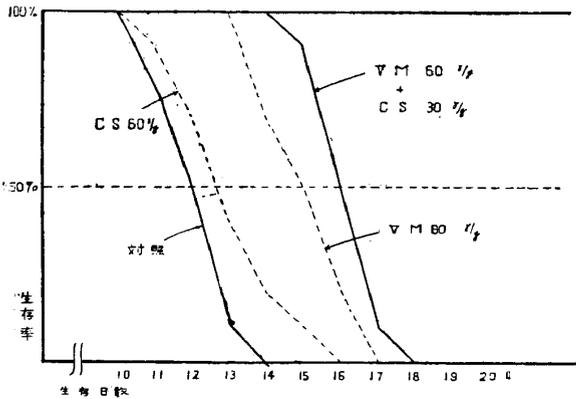
第3表 実験群の編成

群	動物数	治療の種類及び投与量
第1群	10	VM 60 r/g 毎日皮下注射
第2群	10	CS 30 r/g 毎日経口投与
第3群	10	VM 60 r/g 毎日皮下注射 CS 30 r/g 毎日経口投与
第4群	10	対 照

##### 2) 実験成績

成績は第2図並びに第4表に示す如く，CS 30 r/g 単独治療群では非治療対照群に比し，平均生存日数では 0.8日の延長で治療効果はごく僅かではあるが観察された。VM 60 r/g 単独治療群は可成りの延命効果を示し，VM 60 r/g 及び CS 30 r/g の併用治療群は之に勝り平均生

第2図 VM と CS の併用投与による生存率



第4表 平均生存日数

対照	VM 60 r/g	CS 30 r/g	VM 60 r/g + CS 30 r/g
11.4日	14.4日	12.2日	16.3日

存日数の延長は 0.9日ではあるが軽度の併用効果ありと判定出来る成績を得た。

第4章 総括及び考按

SM 10r/g, INH 1r/g とを CS 10r/g と併用して夫々単独投与群の治療効果と比較検討したのが第3章第1節の成績である。CS は毎回使用直前に蒸留水で水溶液としたものを用いた。之は CS の *in vitro* の安定性について Conzelman<sup>24)</sup> が報告している成績, 即ち水溶液として室温に放置した場合20時間で68%が分解したとの事実による。又 Renzetti<sup>4)</sup> の報告では家兎体内では CS を経口的に投与しても非経口的に用いても吸収, 組織への拡散, 尿中排泄等はほとんど差違はないと述べているので, 外国文献では投与法に比較的皮下注射法多く, 国内文献では比較的経口投与法が多いけれども著者は経口投与法を用いた。成績は CS は10r/g では全く無効であつたが, SM 10r/g・CS 10r/g 併用治療群, INH 1r/g・CS 10r/g 併用治療群と夫々の単独群を比較して見ると SM 10r/g・CS 10r/g 併用治療群は SM 10r/g 単独治療群にやや優り, INH 1r/g・CS 10r/g 併用治療群は INH 1r/g 単独治療群にやや優る成績を得, 夫々 SM, INH とCS との併用効果が軽度に存在することが観察された。

次に VM 60r/g と CS 30r/g とを併用して

夫々単独治療群と比較したのが第3章第2節の実験成績である。CS 30r/g 単独治療群も此の量ならば CS にはやや延命効果があることが観察され, VM 60 r/g と併用すると軽度の併用効果が存在するとの成績が得られた。

第5章 結 論

SM, INH 及び PAS の何れとも交叉耐性を有しない新抗結核剤 CS を, マウスの実験的結核症を対象として, SM, INH 及び VM との併用効果について検討した結果, CS は単独でも量によつてはごく僅か乍ら抗結核作用の存在が観察され, SM, INH 並びに VM の夫々と軽度の併用効果の存することが観察された。

(欄筆に臨み終始懇切な御援助を戴いた前川助教授, 種々便宜を与えられた済生会中津病院院長間島博士, 内科医長隴谷博士, 清水博士並びに同僚各位, 実験推進に御協力を戴いた塩野義研究所西村博士並びに中島清氏に深く感謝する。)

文 献

- 1) R. L. Harned and E. Kropp : *Antib. & chem.*, 5, 204 (1955)
- 2) 黒沢英夫 : *J. of Antib.*, 5, 683 (1952)
- 3) M. M. Cummings et al : *Antib. & Chem.*, 5, 198 (1956)
- 4) A.D. Renzetti et al : *Am. Rev. Tbc.*, 74, 128 (1956)
- 5) W. R. Barclay and E. Russe : *Am. Rev. Tbc.*, 72, 236 (1955)
- 6) P. C. Hudgings et al : *Am. Rev. Tbc.*, 72, 685 (1955)
- 7) A. G. Cuckler et al : *Antib. & Chem.* 5, 191 (1955)
- 8) W. Steenken, Jr., and E. Wolinsky : *Am. Rev. Tbc.*, 73, 4, 539 (1956)
- 9) R. A. Patnode : *Am. Rev. Tbc.*, 72, 177 (1955)
- 10) R. L. Yeager et al : *Am. Rev. Tbc.* 75, 1016 (1957)
- 11) 古田守 : *抗酸菌病研究雑誌*, 11, 3, 250, 昭30
- 12) 海老名敏明他 : *日本臨床結核*, 16, 1, 30 (1957)

- 13) 五味二郎他：綜合臨床, 7, 1, 243, 昭33
- 14) 堂野前維摩郷, 伊藤文雄：内科, 1, 3, 昭33
- 15) L. H. Schmidt : 15th VA-Army-Navy Conf. on Chemoth. of Tbc., (1956)
- 16) A. G. Karlson : Proceedings of the Staff Meetings of the Mayo Clinic, 31, 20, 531 (1956)
- 17) I. G. Epstein, K.G.S. Nair and L.J. Boyd : Dis. of Chest. 29, 3, 241 (1956)
- 18) D. H. Haris, et al : Antibiot. Med., 4, 183 (1955)
- 19) H. Welch, L. E. Putnam, and W.A. Randall : Antibiot. Med., 1, 72 (1955)
- 20) W. Lester et al : Am. Rev. Tbc., 74, 1, 121 (1956)
- 21) P. H. S. : Am. Rev. Tbc., 74, 2, (1956)
- 22) 島本他：診断と治療44, 11, 1139, 昭31
- 23) 五味他：文部省科学研究費綜合研究結核研究班報告, 昭31, 6
- 24) G. M. Conzelman, Jr. : Antib. & Chem., 5, 444 (1955)