

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5篇 結核マウスの生存日数に及ぼす TBI と Cyanacetic acid hydrazide 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 TBI と CAH との併用効果について検討した。TBI 単独で可成りの効果を認める 20 γ /g とその5倍量の CAH とを併用すれば可成りの併用効果を認めた。

第1章 緒 論

既に著者は SM, INH 及び PAS 等の既存の抗結核剤と交叉耐性を有しない2, 3の薬剤の単独投与による治療効果並びに夫等の薬剤と他種の種々な抗結核剤との併用効果について、マウスの実験的結核症を対象として比較検討して之を報告したが、本篇に於ては之又 SM, INH 及び PAS 等と交叉耐性を有しない既存の抗結核剤であり其の試験管内抗菌力並びに動物実験成績では可成りすぐれた効果を認められ乍ら、臨床的には副作用、殊に少量服用であるに拘らず、相当な頻度に胃腸障碍其他の副作用を起す事により余り使用されない様になつた p-Amino-acetylbenzaldehyde thiosemicarbazone (TBI) をとり上げ、特に之との併用効果に於て可成りすぐれた試験管内実験成績を有する Cyanacetic acid hydrazide (CAH) との併用効果について検討してみたい。TBI は西独 Bayer 研究所の Behnisch, Miezsch 並に Schmidt¹⁾ の共同研究により創製され、結核菌に対する試験管内及び動物実験を担当したのは G. Domagk²⁾ である。

TBI の臨床的研究は Moncorps, Kalkoff, Kuhlmann³⁾ 等によつて初めて行われ可成りすぐれた臨床的成績をおさめている。動物実験的研究については Domagk のモルモットについ

て行つた実験では SM, PAS との効果と比較しているがそのうち SM が最も有効で TBI は之に次ぎ PAS の効力は極めて弱いと述べている。そして PAS と TBI との併用は PAS 単独療法より有効であるが TBI 単独療法よりも却つて効果が劣ると云う成績を得ている。マウスの実験的結核症を対象とする実験成績でも C. Levaditi,⁴⁾ Hoggarth, Martin 等⁵⁾ 並びに神津⁶⁾ は何れも TBI は SM に劣り PAS にまさるといふ成績を報告している。

TBI と他種抗結核剤との併用効果については SM, PAS 及び INH と併用しても、PAS の SM 或いは INH に於ける様な併用効果は認め難く殆んど相加的效果程度に止まる様である。^{7) 8) 9) 10) 11) 12) 13)} ところが当教室の藤井¹⁴⁾ が TBI に CAH を併用しての試験管内実験を行つた処、著明なる併用効果を認めることが判明した。更に当教室の細木¹⁵⁾ は此の成績を TBI と CAH 併用投与時の家兎血中に於ける血中抗菌力の消長を検討して立証している。

CAH はスペインの Valdecasas¹⁶⁾ により研究されたもので当教室に於ても河崎¹⁷⁾ が之に関する詳細な基礎的並びに臨床的な研究報告を行つている。それによれば CAH の結核菌 H₃₇Rv 株に対する抗菌力は 10%血清加 Kirchner 培地で 50 γ /cc~100 γ /cc で INH との間に軽度の交叉耐性を認め、モルモットの前眼部結核症を対象とする動物実験成績では CAH は INH の2倍量での効果は極く軽度であつたが、INH の4倍量では INH にまさるとも劣らぬ成績を得ている。其他動物実験的研究に於ける CAH の効果については既に Bavin 及び Seymour¹⁸⁾

が H₃₇Rv に対し INH よりは劣ると報告し、Barnett¹⁹⁾ はマウスの実験的結核症に於て普通用いている INH の量と同量即ち 1 日量 0.3mg で抑制効果を認めなかつたと述べている。なお Hartl²⁰⁾ はモルモットで CAH 50 mg/kg 106 日間の投与で明らかに *in vivo* で強い抗結核性を認めたと報告している。

そこで TBI・CAH の併用効果をマウスの実験的結核症を対象として検討するに当り TBI 自身が可成りの抗結核作用を示す薬剤である以上、先づ TBI 単独での治療効果を發揮する最少の量を其の実験条件に於て決定して置くことが必要である。Karlson and Feldman²¹⁾ は此の“sub-effective dose”を INH について検討する目的でモルモットの実験的結核症を対象として行つた実験で INH の量を色々変へて実験をすると或る量より少ない量では勿論効かないが、又或る有効な量の範圍よりよけいにやつてもあまり変はらないという成績を得て、この事柄は殊に他の薬剤の併用効果を検討する上に重要であると述べている。そこで著者は TBI 単独の場合の治療効果の現われ方について其の量を変へて検討し、更に TBI 単独のみならず TBI・CAH の併用効果が TBI の投与量を変えた場合どの様に發揮されるかを本篇に於て検討した次第である。

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 篇に述べた如き飼料並びに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

当教室にて継氏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之に適当量の生理的食塩水を加え 1cc 中に 5mg 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 回経口投与した。TBI は難溶性のためアラビアゴムで乳剤とし CAH は水溶液として投与した。経口投与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。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。薬剤投与は治療群の中の 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かめた。体重は毎週 1 回測定し記録した。

第 3 章 実験成績

第 1 節 TBI 単独の種々の投与量での治療効果の比較実験

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 TBI 25r/g 毎日経口投与、第 2 群は TBI 5r/g 毎日経口投与、第 3 群は TBI 10r/g 毎日経口投与とし第 4 群を非治療対照群とした。実験群を表示すれば第 1 表の通りである。

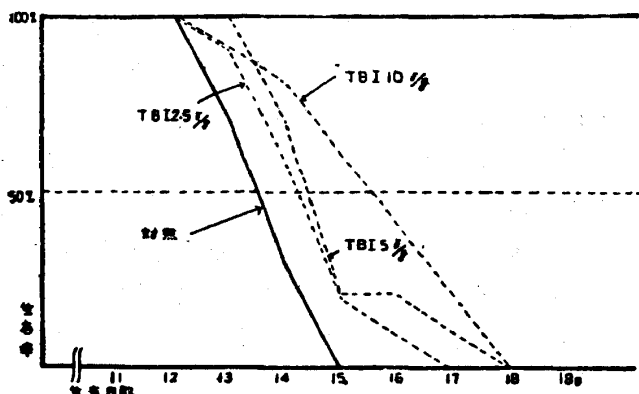
第 1 表 実験群の編成

	動物数	治療の種類及び投与量
第 1 群	10	TBI 25r/g 毎日経口投与
第 2 群	10	TBI 5r/g 毎日経口投与
第 3 群	10	TBI 10r/g 毎日経口投与
第 4 群	10	対 照

2) 実験成績

成績は第1図並びに第2表に示す如く何れも対照群に比し軽度の延命効果を示し、平均生存日数の延長は TBI 2.5r/g 治療群では0.8日、TBI 5r/g 治療群では1.2日、TBI 10r/g 治療群では 1.9日であつた。

第1図 TBI 単独投与による生存率



第2表 平均生存日数

対 照	TBI 25r/g	TBI 5r/g	TBI 10r/g
13.0日	13.8日	14.2日	14.9日

第2節 TBI・CAH の併用効果

A. TBI 5r/g と CAH 25r/g との併用効果

上記実験成績より考えて、先ず TBI 5r/g と CAH 25r/g との併用効果を検討した。CAH の投与量は臨床投与量より換算して TBI に対し5倍量とした次第である。

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 CAH 25r/g 毎日経口投与、第2群は TBI 5r/g 毎日経口投与、第3群は TBI 5r/g 並びに CAH 25r/g 毎日経口投与とし第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。

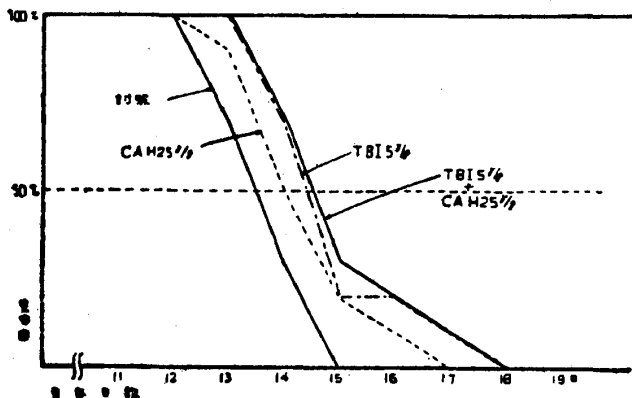
第3表 実験群の編成

	動物数	治療の種類及び投与量
第1群	10	CAH 25r/g 毎日経口投与
第2群	10	TBI 5r/g 毎日経口投与
第3群	10	TBI 5r/g + CAH 25r/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 TBI 5r/g 単独治療群、CAH 25r/g 単独治療群の延命効果は共に軽度であり、更に之を TBI 5r/g・CAH 25r/g 併用治療群の効果を比較すると之等三者の間には大差を認めず従つて此の量では TBI・CAH の併用効果は認め難い。そこで次に著者は単独で可成りの効果を期待し得る TBI 20r/g に5倍量の CAH 100r/g を併用して治療効果を検討した。

第2図 TBI, CAH 併用投与による生存率



第4表 平均生存日数

対 照	TBI 5r/g	CAH 25r/g	TBI 5r/g + CAH 25r/g
13.8日	14.2日	13.7日	14.3日

B. TBI 20r/g と CAH 100r/g との併用効果

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 CAH 100r/g 毎日経口投与、第2群は TBI 20r/g 毎日経口投与、第3群は TBI 20r/g と CAH 100r/g との毎日経口投与とし第4群は非治療対照群とした。実験群を表示すれば第5表の通りである

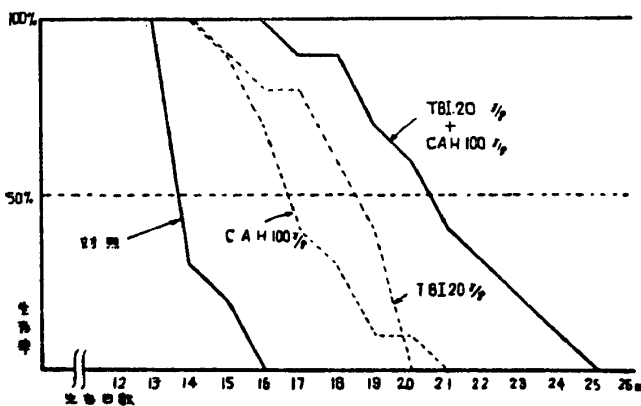
第5表 実験群の編成

	動物数	治療の種類及び投与量
第1群	10	CAH 100r/g 毎日経口投与
第2群	10	TBI 20r/g 毎日経口投与
第3群	10	TBI 20r/g + CAH 100r/g 毎日経口投与
第4群	10	対 照

2) 実験成績

成績は第3図並びに第6表に示す如く、何れの治療群も非治療対照群に比し可成りの延命効果を示し、CAH 100r/g 単独治療群は TBI 単独治療群にはやや劣るが、TBI 20r/g・CAH 100r/g 併用治療群は TBI 20r/g 単独治療群より優れ、平均生存日数で見ても 2.6日の延長を示し、TBI と CAH との併用効果を明らかに観察した。

第3図 TBI, CAH の併用投与による生存率



第6表 平均生存日数

対照	TBI 20r/g	CAH 100r/g	TBI 20r/g + CAH 100r/g
13.5日	12.5日	16.4日	20.1日

第4章 総括及び考按

TBI・CAH の併用効果が TBI の量を変えた場合、どの様な現われ方をするか、之をマウスの実験的結核症を対象とする第1篇に述べたと同様な方法で比較検討したのが本篇に於ける TBI・CAH の併用効果に関する実験の主旨である。

Karlson and Feldman²¹⁾ が実験的に INH に他の薬剤を併用して其の併用効果を發揮する為 INH 単独で治療効果を發揮し得る最少の量“subeffective dose of isoniazid”を見出して置くが必要であるとして行つた一連の実験を参照にして、TBI 単独使用の場合、2.5r/g, 5r/g 及び 10r/g の3段階に分けての効果を比較検討し、其の成績から軽度の治療効果を認め中間の量 5r/g に対し CAH を臨床投与量の比で 25 r/g 使用してその併用効果を検討した

所、此の量では TBI による治療効果が軽度に過ぎた為か其の結果併用効果も認められなかつた。次に TBI を前述の実験成績から可成りの効果を期待し得る 20 r/g とし、之に臨床投与量の比で CAH を5倍量即ち 100 r/g を併用投与して、同様な観察を試みた所、此の場合には著明な併用効果が認められる事を知つた。動物実験的研究に於いて TBI と CAH との併用効果に関する実験成績は余り見当らない様であるので、他と比較する事が出来ないのは残念である。

本篇に於ける実験成績が TBI を適当な併用剤と共に、或いは副作用の少ない誘導体の形で結核化学療法臨床面に再登場させ、肺結核治療に対する小さいながらも一つの武器として活用する為の基礎的な資料となれば幸いである。

第5章 結 論

TBI に CAH を併用した場合の治療効果の現われ方をマウスの実験的結核症を対象として TBI を 5r/g, 20r/g とし之に臨床投与量の比で CAH を夫々 25r/g, 100r/g を併用して検討した結果、TBI 20r/g と CAH 100r/g とを併用した場合其の併用効果が著明に観察された。

(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長間島博士、内科医長瀧谷博士、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。)

(尚、本実験に使用した CAH は住友化学工業株式会社にて合成、供試されたものである。記して謝意を表する。)

文 献

- 1) Behnisch, Miezsck and Schmidt : Am. Rev. Tbc., 61, 1, 1, 1950
- 2) Domagk : Am. Rev. Tbc., 61, 1, 8, 1950
- 3) Moncorps, Kalkaff, Kuhlmann : Am. Rev. Tbc., 61, 1, 20, 1950
- 4) C. Levaditi : La Presse Medicale, 38, 1949
- 5) Hoggarth Martin, Story & Young : Brit. J. pharmacol. 1949-9

- 6) 神津克己・吉田則武・石原尚：医療5，2，124，昭26
- 7) 後藤：診療室6，11，701，昭29
- 8) 海老名：結核研究の進歩1，119，昭28
- 9) 高橋：結核と臨床2，3，344，昭29
- 10) 花崎：東京慈恵医大雑誌69，9，925，昭29
- 11) Z. Weisbecker：Dtsch. Med. Wschr.，79，49，1843，1954
- 12) TL. Meese：Z. Tuberk.，106，405，272，1955
- 13) 大田：京大結核研紀要3，2，162，昭30
- 14) 藤井：未発表
- 15) 細木：京大結研紀要6，1，43，昭32
- 16) Valdecasas, Caluete and Musset. Brit. Med. J.，2，1229，1954
- 17) 河崎：京大結研紀要5，1，111，昭31
京大結研紀要5，2，129，昭32
- 18) Bavin, E.M. & Seymour, D.E.：Lancet ii，388，1954
- 19) Barnett, M, Bushby, S. S. M, Goulding, R., & Knox, R.：Brit. Med. J.：ii，647，1955
- 20) Hartl, W.：Solweiz. Z. Tuberk.：11，65，1954
- 21) Karlson and Feldman：Am. Rev. Tbc.，68，75，1953