

結核の TB1・CAH 併用療法に関する研究

〔第2篇〕 海猿の前眼部結核症の経過に及ぼす TB1・CAH 併用投与の影響

京都大学結核研究所化学療法部（主任 教授 内藤益一）

藤 井 義 明

（昭和34年6月30日受付）

第1章 緒 論

著者は第1篇に於いて、Valdecasas 等¹⁾によつて研究された Cyanacetie Acid Hydrazide (CAH) と TB1 とを併用すると、TB1 の試験管内結核菌発育阻止力がかなり増強される事を認めた点について報告したのであるが、本編に於いてはこの TB1・CAH の併用投与が海猿の前眼部結核症の経過に及ぼす影響を観察したのでその成績を報告する。

海猿の前眼部結核症を対象とする化学療法実験の方法については既に教室の前川²⁾、日根野³⁾、河崎⁴⁾、神頭⁵⁾等の報告があるので詳細は略する。この実験方法によつて各種抗結核剤の治療効果を検討した蓑谷⁶⁾、岡村⁷⁾、近藤⁸⁾等の報告によつても、この方法が抗結核剤の *in vivo* に於ける *screening test* の一つの方法として有用なものであると言えるのである。TB1 は Sulfathiazole の抗結核性に基づいて Domagk⁹⁾ が見出した薬剤であつて、以来その抗結核性は多くの研究者により認められているが動物実験的に検索した研究としては、Levaditi¹⁰⁾、Domagk¹¹⁾、Spain 等¹²⁾ 及び Spain and Childress¹³⁾ 等の業績をあげる事が出来る。然し乍ら TB1 を含む併用化学療法については Domagk¹¹⁾、Spain 等¹²⁾ によつて Streptomycin (SM) 或は Dihydrostreptomycin (DHS) との併用がすぐれた効果を發揮すると報告されている程度である。殊に Spain 等¹²⁾ は TB1 と DHS との併用療法が海猿の実験的結核症に対して、DHS と PAS との併用療法に比べて彼等の実験条件では明らかにすぐれた治療効果を収めたと報告している。

一方、CAH に関してその抗結核性を動物実験的に検討しているのは Hartl¹⁴⁾、Bavin 等¹⁵⁾、Barnett 等¹⁶⁾、Jones 等¹⁷⁾ 及び教室の河崎⁴⁾ であるが、これらの検討は何れも INH と比較した場合の CAH 単独の抗結核性の範囲に止まり、他剤との併用効果に関しては追究されていない。

元来、TB1 は試験管内実験に於ける結核菌発育阻止力が相当認められるにかかわらず、臨床的に胃腸障碍、肝障碍、Agranulocytose 等の副作用がある為十分な効果を發揮する程の量が使用出来ない憾があつた。勿論この点については TB1 の抗菌力を少なくとも低下させずに毒性の軽減をはかる為種々の Thiosemicarbazone 系誘導体の研究もなされてはいるが、

TB1 を何等か他の薬剤と併用する事によつて結核化学療法の臨床に於ける在来の併用方法の上に一つの新しい方法を加える事が出来ればというのが著者の希望であり、第1篇に報告した試験管内実験の成績を基礎として TB1・CAH 併用療法の効果を実験的結核症について検討しようとしたのが本編の研究の主旨である。

第2章 実験材料及び実験方法

1 実験材料

A) 実験動物

体重 400 g 乃至 500 g 程度の成熟健康海猿で白色赤眼のものを選び、Römer 反応陰性なることを確かめた後に供試した。

B) 接種結核菌株

当研究室に於いて継代培養している有毒性人型結核菌 H37Rv 株を Sauton 培地に移植し、

植継ぎ後3週間の発育良好な菌膜を釣取使用した。

C) 臓器の定量培養に使用せる培地

実験Ⅱに於いて治療実験終了後行なつた臓器内結核菌の定量培養に使用した培地は1%小川培地である。

2 実験方法

A) 感作接種

前述の有毒性人型結核菌 H37Rv 株の菌体を採取し、滅菌濾紙に挟み 37°C にて約30分間乾燥した後化学天秤にて秤量し滅菌せる硝子玉入り小川氏コルベンに移し手振り法で 1 cc 中に 1 mg の菌量を含む様な滅菌生理的食塩水浮游液を調製した。この 0.1cc 即ち凡そ菌量 0.1mg を実験海猿の大腿皮下に接種し約4週後 Röm-er 反応の陽転を確かめてから、次に述べる要領で前房内結核菌接種を行なつた。

B) 前房内結核菌接種

上に述べたと同様な要領で 0.04 mg/cc となる如く調製した H37Rv 株浮游液の 0.05cc 即ち菌量凡そ 0.002 mg を感作海猿の右眼前房内に接種したが、前房内接種の方法の詳細については既に教室の多くの同僚の報告があり、特に神頭⁵⁾の報告に詳しく述べられているので茲には略する。

C) 観察方法

前房内に結核菌を接種された海猿眼は急性の反応性炎症を起し、数日後次第に消褪し始めると共に徐々に特異的な結核性病変が進展するのであるが、その観察に当つて著者は内藤式手持角膜細隙燈にて可及的詳細な検眼を行なうと共に、主として虹彩の所見を基礎として極めて軽度の炎症性変化から眼球穿孔又は眼球萎縮に到る迄を6段階に分けた神頭⁵⁾案の前眼部病変指数に従つて記録しながら病変の経過を観察した。(第1表)

前房内結核菌接種後次第に病変が進行して病変指数が約Ⅲ度に達した時に各実験群の指数の平均値が略等しくなる如く実験群を編成して治療実験を開始した。

実験は薬剤の投与量を変えて2回行なつたが

第1表 前眼部結核病変指数(神頭)

病変指数		I	II	III	IV	V	VI
病的所見	毛様充血	÷	+	++	+++	+++	
	浮腫	—	—	÷	+	++	
角膜	膨隆	—	—	—	—	—	
	濁濁	—	÷	+	++	+++	眼
	血管新生	—	÷	+	++	+++	
前房	深淺度	正	種々	種々	種々	不明	球
	濁濁	—	÷	+	++	+++	
	膿性物	—	÷	+	++	+++	
虹彩	紋理不整	+	++	+++	+++		孔
	充血腫	+	++	+++	+++	不	
	血管拡張	—	+ 軽度	数え得る程度	+++ 無数	明	
	結節	—	種々	種々	種々		
瞳孔	形状	ほぼ円	種々	種々	種々	不	球
	結節	—	種々	種々	種々		
	反応	正	種々	種々	種々	明	
備考		極めて僅かの病変	軽度の病変	中等度の病変	高度の病変(虹彩精検不能)	極めて高度の病変(虹彩透見不能)	病

備考：—：所見なし ÷：極めて軽度の病変 +：軽度の病変 ++：中等度の病変 +++：高度の病変 ++++：極めて高度の病変 眼球膨隆及び軽度の眼球瘻は指数を 5.5度とした

何れも観察期間は8週で、治療実験終了後1週間投薬を休止した後全動物を剖検し、肉眼的結核性病変を各臓器について検索したが、実験Ⅱに於いては更に各臓器内結核菌の定量培養を行なつた。

第3章 実験成績

〔実験Ⅰ〕TB1 10mg/kg, CAH 50mg/kg 併用投与の影響

1 実験群の編成

既述の実験条件に適した海猿28匹を選び各7匹を1群として4群を編成し、第2表に示す如

第2表 実験群の編成〔実験Ⅰ〕

群 別	治 療 方 式	動物数
第Ⅰ群	TB1 10 mg/kg 毎日経口投与	7
第Ⅱ群	CAH 50 mg/kg //	7
第Ⅲ群	TB1 10 mg/kg CAH 50 mg/kg 併用 //	7
第Ⅳ群	対 照 (無処置)	7

く第Ⅰ群は TB1 10 mg/kg 毎日経口投与群，第Ⅱ群は CAH 50mg/kg 毎日経口投与群，第Ⅲ群は TB1 10mg/kg と CAH 50 mg/kg とを毎日併用投与する群とし，第Ⅳ群は無処置の対照群とした。

2 実 験 成 績

A) 実験海猿の体重経過

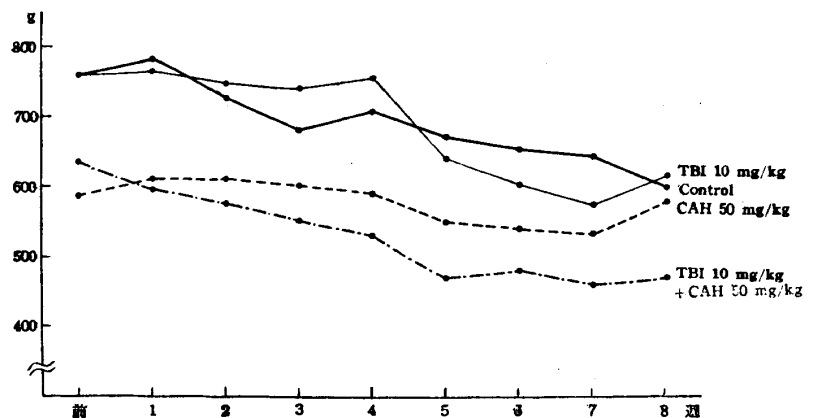
第3表 実験海猿の体重経過 (各群平均, 単位 g)〔実験Ⅰ〕

群		前	1	2	3	4	5	6	7	8週
I	TB1 10 mg/kg	757	763	745	740	752	642	603	575	617
II	CAH 50 mg/kg	584	612	608	600	590	548	542	534	580
III	TB1 10 mg/kg+CAH 50 mg/kg	636	596	576	552	530	470	476	460	466
IV	Control	757	783	723	677	703	672	653	640	600

実験海猿の全身状態を知るために，毎週1回定期的に海猿の体重を測定したがその経過を示すと第3表及び第1図に見られる通りである。この実験Ⅰに於いては特に薬剤の毒性を考慮に加えて体重の多い海猿を使用したのが，対照群の体重が漸減したのは当然としても，治療を加えた群の体重も経過と共に減少の傾向を示した。殊に併用投与を行なった第Ⅲ群にその傾向が少々強く見られたので，これは或る程度投与された薬剤が有毒性に作用したものかと考えられる。然し，少なくとも観察期間中に死亡したものはなく，全身状態に著明に悪影響を及ぼしたとは考えられない。

B) 前眼部結核性病変の経過

第1図 実験海猿の体重経過 (各群平均)〔実験Ⅰ〕

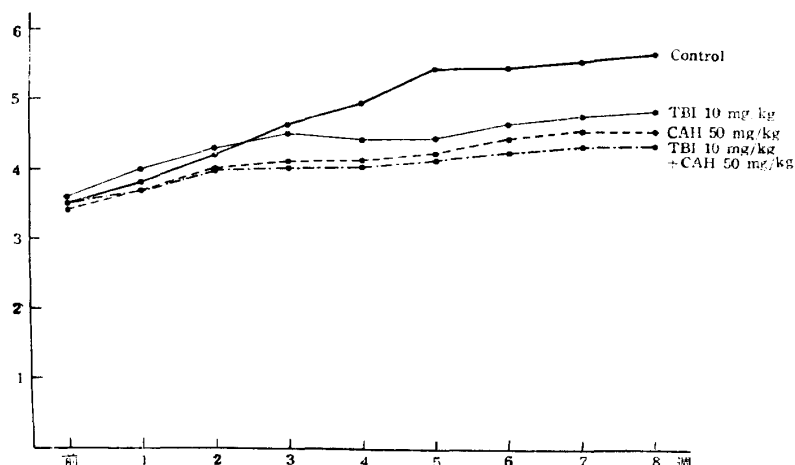


前房内結核菌接種後約10日して反応性炎症が消褪するのを待つて実験群を編成し，治療実験を開始したが，この時の病変指数は各群内の動物のそれを平均すると，3.4~3.6度であつた。病変の経過は第4表及び第2図に示す如くで第

第4表 前眼部病変指数値の経過 (各群平均)〔実験Ⅰ〕

群		前	1週	2週	3週	4週	5週	6週	7週	8週
I	TB1 10 mg/kg	3.6	4.0	4.3	4.5	4.4	4.4	4.6	4.7	4.8
II	CAH 50 mg/kg	3.4	3.7	4.0	4.1	4.1	4.2	4.4	4.5	4.5
III	TB1 10 mg/kg+CAH 50 mg/kg	3.5	3.7	4.0	4.0	4.0	4.1	4.2	4.3	4.3
IV	Control	3.5	3.8	4.2	4.6	4.9	5.4	5.4	5.5	5.6

第2図前眼部病変の経過（各群平均，病変指数値）〔実験Ⅰ〕



3週の終り頃迄治療群も対照群も次第に悪化し，虹彩の血管拡張は増強し，角膜の実質性濁濁も拡大し，前房濁濁もその度を強め虹彩は透見し難くなつて来た。第4週以後対照群は更に悪化し眼球の膨隆，穿孔，眼球癆という経過をとつたのに対して，治療を加えた群の病変は何れも病勢の進行が遅らされ，略々病変は停止性に傾く様に観察された。然しながら治療を加えた

第5表 剖検所見（実験Ⅰ）

群	動物 番号	肺		肝		脾	
		右	左	重量	病変	重量	病変
TB1 10mg/kg	E 6	+	+	22.3	+	4.7	卅
	D14	+	+	23.6	+	1.0	+
	D44	++	++	36.0	卅	2.0	+
	D92	++	++	23.5	++	1.3	++
CAH 50mg/kg	A93	+	+	25.2	+	1.3	++
	D50	+	+	20.7	+	1.1	+
	D59	++	++	19.2	+	1.0	+
	D35	+	+	21.0	+	1.0	++
TB1 10mg/kg + CAH 50mg/kg	D80	+	+	23.3	+	0.7	+
	D58	++	++	23.0	+	1.0	+
	E26	+	+	17.4	±	0.8	+
	A22	+	+	20.0	+	1.0	+
Control	D93	卅	卅	27.8	卅	3.0	卅
	D91	卅	卅	28.2	++	3.3	卅
	D21	卅	卅	35.0	卅	3.0	卅
	D68	++	++	17.0	+	1.0	++

備考 +：軽度乍ら明瞭に病変の認められるもの
++：可成り広範囲に病変のあるもの
卅：臓器殆んど全部に病変あるもの
表中重量の数値は何れもg単位である

3群の間には著明な差は認められずTB1・CAH併用群，CAH単独群，TB1単独群の順に僅かな差で良い効果が認められた程度で明らかに併用効果が発揮されたとは言い難かつた。

C) 各臓器の肉眼的結核性病変

8週間にわたる治療実験の後，各実験群より任意に抽出した4匹宛の海猿について屠殺剖検して肺，肝，脾における肉眼的結核性病変を検索し，肝，脾については重量（g単位）

をも測定したがその成績は第5表に示す如くで，何れの所見においても対照群は各治療群に比べて悪い成績であつたが，各治療群の間ではTB1・CAH併用群が僅かにすぐれていると考えられる程度で，前眼部病変の経過に見られたと同様に著明な差は認められなかつた。

〔実験Ⅱ〕TB1 20mg/kg，CAH 50mg/kg併用投与の影響

1 実験群の編成

実験Ⅰに於いては投与した各薬剤の治療効果がそれ程著明ではなく，又その併用効果も著明には観察されなかつたので，実験Ⅱにおいては実験Ⅰにくらべて2倍の薬剤量を投与し，他の条件は実験Ⅰに略揃えて再検討を加えた次第である。

即ち，第6表に示す如き実験群を編成して第Ⅰ群はTB1 20mg/kg 毎日経口投与群，第Ⅱ群はCAH 100mg/kg 毎日経口投与群，第Ⅲ群はTB1 20mg/kg とCAH 100mg/kg とを併用投与する群とし，第Ⅳ群は無処置の対照群としたが各群共動物数は8匹宛とした。

第6表 実験群の編成〔実験Ⅱ〕

群別	治療方式	動物数
第Ⅰ群	TB1 20mg/kg 毎日経口投与	8
第Ⅱ群	CAH 100mg/kg //	8
第Ⅲ群	TB1 20mg/kg 併用 CAH 100mg/kg //	8
第Ⅳ群	対 照（無処置）	8

2 実験成績

A) 実験海猿の体重経過

今回の実験に使用した海猿は、実験Ⅰに使用

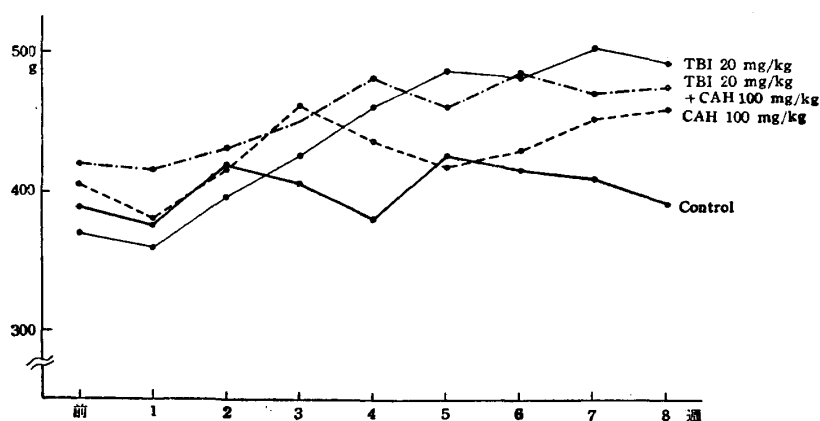
したものよりもやや体重が少なかったのであるが、毎週1回定期的に測定した体重の経過は第7表及び第3図に示す如くで、治療を加えた各

第7表 実験海猿の体重経過（各群平均，単位g）〔実験Ⅱ〕

群		前	1	2	3	4	5	6	7	8週
I	TBI 20mg/kg	372	363	394	426	457	485	481	501	493
Ⅱ	CAH 100mg/kg	406	381	413	460	435	417	428	452	458
Ⅲ	TBI 20mg/kg+CAH 100mg/kg	419	413	428	449	481	460	483	469	475
IV	Control	388	376	416	405	381	425	414	408	392

群の海猿は次第に体重を増す傾向を認め対照群のみがやや体重の減少を来した。従つて実験Ⅰに於いて薬剤投与群の方にむしろ体重の減少が目立つた点から投与薬剤が多少有毒性に作用したのではないかと想像したが、実験Ⅱでは前回の2倍量の薬剤を投与しても却つて体重の漸増するのが観察されたので、此点についての顧慮は本実験の範囲

第3図 実験海猿の体重経過（各群平均，単位g）〔実験Ⅱ〕



第8表 前眼部病変指数値の経過（各群平均，実験Ⅱ）

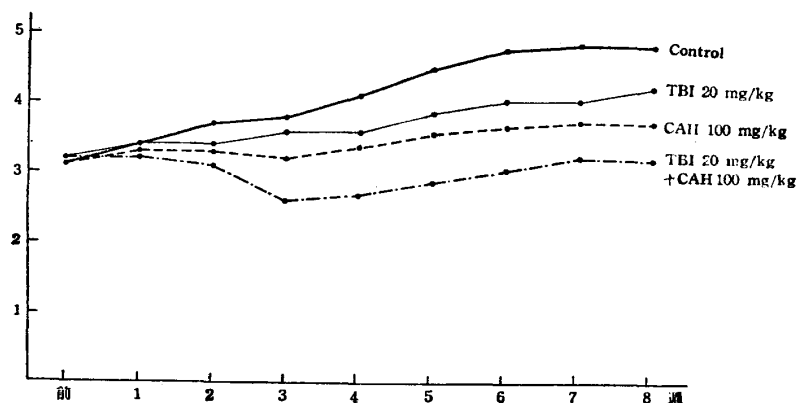
群		前	1	2	3	4	5	6	7	8週
I	TBI 20mg/kg	3.2	3.4	3.4	3.6	3.6	3.9	4.1	4.1	4.3
Ⅱ	CAH 100mg/kg	3.1	3.3	3.3	3.2	3.4	3.6	3.7	3.8	3.8
Ⅲ	TBI 20mg/kg+CAH 100mg/kg	3.2	3.2	3.1	2.6	2.7	2.9	3.1	3.3	3.3
IV	Control	3.1	3.4	3.7	3.8	4.1	4.5	4.8	4.9	4.9

では殆んど不要と言える様である。勿論、これに関しては供試海猿の生後日数、性別、季節の差による気温、飼料の変化等を考慮に加えねばならない。

B) 前眼部結核性病変の経過

前房内結核菌接種後約10日で実験群を編成した時の各群平均の前眼部病変指数は3.1~3.2で実験Ⅰよりはやや病変の程度が

第4図 前眼部病変の経過（各群平均，病変指数値）〔実験Ⅱ〕



軽かつた。実験Ⅱの前眼部病変の経過は第8表及び第4図に示す如くで、対照群は第4週頃から急速な悪化を示したが、治療群は第3週頃から病変の進行が抑制され、次第に停止性のもとなるのが認められた。TB1 20mg/kg 単独投与群よりは CAH 100mg/kg 単独投与群の方が経過は良好であり、更に両者を併用投与した第Ⅲ群が最もすぐれた効果を収めた。従つて実験Ⅰにおけるよりは実験Ⅱにおいて、有らかな TB1・CAH の併用効果を認めたと言える。

C) 各臓器の肉眼的結核性病変及び臓器内結核菌定量培養の成績

8週間にわたつて治療を続けながら前眼部病変の経過を観察したあとで、1週間治療を中止し各実験動物を屠殺剖検して肺、肝、脾等の肉眼的結核性病変を検索すると共に、実験Ⅱにおいては各群より予め任意に抽出した3匹宛の海狸について臓器内結核菌の定量培養を行つた。これら培養を行つた海狸について剖検所見、臓器の重量、培養成績を一括して表示すると第9

第9表 剖検時の肉眼的結核性病変及び定量培養の成績〔実験Ⅱ〕

	動物 番 号	眼			肺				肝				脾			
		重量	培	養	右	左	培	養	剖	重	量	培	養	剖	重量	培
TB1 20mg/kg	No. 100	0.6	卅	卅	卅	卅	+	+	卅	40.0	+26	+45	卅	2.1	卅	卅
	No. 93	0.5	+	卅	卅	卅	卅	+	卅	40.5	+6	+	卅	5.5	+	卅
	No. 78	0.7	卅	卅	+	+	+	+	卅	33.8	卅	卅	卅	1.5	卅	卅
CAH 100mg/kg	No. 70	1.4	卅	卅	+	+	—	—	—	21.8	—	—	+	1.8	—	—
	No. 63	0.5	卅	卅	±	±	+	+	±	27.5	—	—	卅	1.8	+24	+
	No. 79	0.5	卅	+	+	+	+1	—	卅	39.0	+	卅	卅	2.7	+	卅
TB1 20mg/kg + CAH 100mg/kg	No. 90	0.5	卅	卅	+	+	+	—	±	29.0	+	+	+	1.5	—	+5
	No. 99	0.7	+	卅	+	+	+10	—	+	22.5	+	—	+	2.0	—	+
	No. 87	0.5	+	+	+	+	—	—	±	28.5	—	—	+	2.0	—	—
Control	No. 73	1.3	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	26.0	+	卅	卅	3.0	+7	卅
	No. 71	0.6	卅	卅	卅	卅	+	+	卅	29.3	卅	卅	+	1.5	卅	卅
	No. 59	0.7	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	29.0	+	卅	卅	2.5	卅	卅

備考：剖検所見の基準は第5表に同じ。培養欄の数字は集落数を示す。重量はg単位

表の如くである。

剖検所見では対照群の各臓器に肉眼的結核性病変が多かつたのであるが、これに比べて各治療群では比較的的病変が少なかつた。然しながら TB1 単独投与群には相当の病変が認められ TB1・CAH 併用投与群に最も少なく、CAH 単独投与群ではその中間であつて、前眼部病変の経過に見たと略同様な傾向が観察された様である。眼球(右)、及び脾の重量には各群の間に著明な差は認めなかつたが、肝の重量では TB1 単

独投与群で最も大きな値を示した。定量培養の成績は略々各臓器の肉眼的結核性病変の所見と平行している様で、対照群では各治療群に比して明らかに多くの集落を認め、治療群の中では TB1・CAH 併用投与群に最も集落の發育が少なかつた。殊に併用群の脾においては他の群に比べて著明に結核菌集落が少なかつた。これはやはり TB1・CAH 併用投与が好い影響を及ぼしたものである。

第4章 総括並びに考按

以上の2回にわたる実験を総括すると、TB1・CAHの併用投与は著者の実験条件において海猿の前眼部結核症の経過に対して各薬剤単独投与の場合に比べて、明らかに良好な治療効果を収める事を認めたのであるが、緒論にも述べた如くこの組合せによる併用効果を検討した実験成績は著者の調べた範囲では見当たらないために他と比較して論じる事は出来ない。

実験Ⅰにおいては TB1 10mg/kg と CAH 50mg/kg との併用効果を、実験Ⅱではその2倍量、TB1 20mg/kg と CAH 100mg/kg との併用効果を検討したのであるが、実験Ⅰにおけるよりも実験Ⅱにおける方が明らかな併用効果を収める事が出来た。薬剤の連続投与による慢性の毒性を勿論考慮に加える要はあるが、実験Ⅱでの投与量の範囲では海猿の体重経過その他から考えて特に心配はないと考えられたので、或は更に投与量を増して実験すれば尙すぐれた併用効果が見られるかも知れない。又、治療実験終了後行なつた剖検（実験Ⅰ及びⅡ）の所見及び臓器内結核菌定量培養（実験Ⅱのみ）の成績からも前眼部結核症の経過と同じ様に、TB1・CAH併用投与が各薬剤単独の効果よりもすぐれている事が認められた。

TB1 も CAH も夫々に毒性の点で留意する要のある薬剤であるから、殊に臨床的な投与量は何れ慎重に決定されるべきであろうが、著者の2回の実験においても、投与量の少ない実験Ⅰに却つて実験海猿の体重減少が認められ、2倍量の薬剤を投与した実験Ⅱではその様な事を見なかつたので、海猿では均一系の個体が得難いこと及び実験季節の差等を考慮に加えても尙、検討を要する点があろう。

第5章 結 論

著者は、海猿の前眼部結核症を対象としてTB1・CAHの併用投与がその経過に及ぼす影響を観察するため2回にわたり治療実験を行なつた。其結果、TB1 10mg/kg と CAH 50mg/kg の併用を行なつた第Ⅰ実験では明らかな併用効

果を認める事は出来なかつたが、その2倍量のTB1 20mg/kg と CAH 100mg/kg とを併用投与した第2実験では、各薬剤単独投与の場合に比べて明らかに併用投与群に治療効果がすぐれている事を認めた。実験終了後海猿を剖検して肉眼的結核性病変を検索し、又臓器内結核菌の定量培養をも施行したがその成績でも略々同様な傾向を認めた。投与量と毒性との相関については臨床試験の際更に慎重な検討を要するものとする。

以上の成績から、TB1・CAH併用療法は更に臨床的に検討を加え、一つの新しい組合せによる併用方法として結核化学療法の臨床面に役立たせ得るものとする次第である。

（欄筆に臨み御懇切なる御指導を賜つた前川助教授並に研究室各位に深甚の謝意を捧げる）

文 献

- 1) Valdecasas et al: Med. Clin. (Barcelona) 4 ; 275 (1952)
- 2) 前川: 京大結研紀要 1 ; 29 (昭. 28)
- 3) 日根野: 京大結研紀要 4 ; 130 (昭. 30)
- 4) 河崎: 京大結研紀要 5 ; 139 (昭. 32)
- 5) 神頭: 胸部疾患 1 ; 250 (昭. 32)
- 6) 養谷: 胸部疾患 2 ; 270 (昭. 33)
- 7) 岡村: 京大結研紀要 7 ; 3 (増1) 404, (昭. 34)
- 8) 近藤: 京大結研紀要 7 ; 3 (増1) 351 (昭. 34)
- 9) Domagk: Naturwiss. 33 ; 319 (1946)
- 10) Levaditi: Am. Rev. Tuberc. 60 ; Abst 74 (1949)
- 11) Domagk: Am. Rev. Tuberc. 61 ; 8 (1950)
- 12) Spain et al: Am. Rev. Tuberc. 62 ; 144 (1951)
- 13) Spain and Childress: Am. Rev. Tuberc. 63 ; 339 (1951)
- 14) Hartl: Schweiz. Z. Tuberk. 11 ; 65 (1954)
- 15) Bavin et al: Lancet, ii ; 388 (1954)
- 16) Barnett et al: Brit. Med. J. ii, 647 (1955)
- 17) Jones et al: Am. Rev. Tuberc. 74 ; 417 (1956)