

海狸実験による新結核化学治療剤の探究

第1編 Quinoxaline 系化合物に就いて

京都大学結核研究所化学療法部 (主任：教授 内藤益一)

岡 村 景 隆

(昭和33年12月20日)

第1章 緒 論

1944年 Waksman に依る Streptomycin 発見は、新しい抗結核剤の探究に大きな希望を与え、次々と新化学治療剤が発見されるに至った。然し何れの薬剤にも宿命的に伴なう耐性菌の出現は、限りなく多数の新治療剤の出現を要求して居る。さて INH 及 SB1 の化学構造を見ると、何れもその構造中に $YC=N-N=(Y=O \text{ 又は } S)$ の基を持つて居る。我々の研究室の川合¹⁾はその様な基を有して然も未だ抗結核剤として殆んど研究されて居ないものの1つとして Quinoxaline 系統の物質を対象として試験管内実験を試みて、次の様な結果を得て居る。

即ち、10%血清加 Kirchner 培地に於ける結核菌発育阻止最低濃度は次の如くである。

- 1,4-Dicarboethoxy-2,3-dimercapto-quinoxaline (No. 304 と呼称), 3.13 γ /cc
- 2-mercapto-3-hydrazino-quinoxaline (No. 374), 1.56 γ /cc
- 2-mercapto-3-acetone quinoxalyl-hydrazone (No. 396), 3.13 γ /cc
- 2,3-Dimethyl-mercapto-quinoxaline (No. 180), $>50 \gamma$ /cc
- 1,4-Dicarboxymethyl-2,3-dimercapto-quinoxaline (No. 240), 25 γ /cc
- 2-Hydroxy-3-methyl-quinoxaline (No. 258), 50 γ /cc
- 2,3-Dimercapto-quinoxaline (No. 173), 3.13 γ /cc

著者は之等7種の物質を動物実験的に検索し

ようと企図した次第である。

さて、動物による Screening Test には種々の方法がある。その中で比較的広く用いられる Feldman 及び Hinschaw²⁾ 岡 柳沢³⁾等の方法は多数の海狸を要し、且つ長期にわたる実験継続の後剖検を行ない始めて其の成績を知るという方法であり、化学療法剤探究の実際面に於いては、資材、手数、時間を考慮するならば Screening Test としては大規模となり過ぎるきらいがある。従つて比較的小規模且短期間で被検物質の抗結核性を判定するという構想のもとに種々の Screening Test が考案されるに到つて居る。其内で著者の研究は次の2方法を採用した。

其の1は Steenken, Wolinsky 及び Heise⁴⁾, G.B. Bietti⁵⁾ 及び教室の前川⁶⁾, 日根野⁷⁾等が提唱した感作海狸の前眼部結核症の治療である。但し我々の研究室の河崎⁸⁾, 神頭⁹⁾が其の病変指数に若干の修正を加えたものを利用した。本法は抗結核剤の Screening Test の簡便法として次の様な特長を具備している。

1) 治療開始時に各群共に病変の程度を略々同様に揃えて置く事が出来る。

2) 病変の経過従つて治療効果を生態で観察出来る。

3) 治療終了後放置して其後の病変の進展如何を観察する事も出来る。

4) 実験動物が比較的少数で済む。

5) 観察データにより任意に必要な観察期間を定める事が出来る。

其の2は Sydney Rubbo 等¹⁰⁾ が海狸による Screening Test の一迅速法として報告し、我が研究室の神頭¹¹⁾, 松田¹²⁾により追試され、その

価値が認められた結核性皮膚潰瘍の治療である。神頭に依れば、

1) 皮膚病変の作製の為の皮内接種に当つては可及的に毒力の強い菌株を相当大量に接種することが必要であり、H37R_v株では乾燥菌量1mg, その菌液量0.1乃至0.2ccが最も適量である。

2) 皮膚病変の経過の判定には痂皮、硬結及び潰瘍を測定したがその中では痂皮のみの測定で充分である。

3) 治療実験を行つた結果、無処置群に比して治療群は何れも可成り顕著な効果を示し、ほぼRubbo等の実験結果と一致した。

以上の点から本法は抗結核剤の効果を検討する為の動物実験でのScreening Testとして価値ありといっている。実際に教室の松田¹²⁾はこの方法を用いて諸種薬剤の単独及び併用投与時に於ける抗結核性を検討し報告した。

又同様な業績として松本等¹³⁾は感作家兎に結核菌Frankfurt株を皮内注射して結核性潰瘍を作り之に結核菌抽出物による灌注療法を行い、その結果対照に於けるよりも治療膿瘍は良効を示した事を報告して居り抗結核剤のScreening Testとして利用し得ることを示唆して居る。

以上により著者は海狸の実験的皮膚潰瘍をも利用した。本法は活動性結核性病変の治療傾向を測定し得るのみでなく、動物数、薬剤量及び日数等の点で非常に経済的である。

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450g前後のRömer反応陰性の成熟せる健康な白色赤眼の海狸を一定期間実験条件に飼育した後に実験に供した。

B) 接種結核菌株：当教室に於て継代培養して保存している人型菌H37R_v株をSauton培地に培養し、植継後3週間目の発育良好な菌膜を釣取使用した。

2. 実験方法

I. 前眼部結核症を対照とした場合

A) 感作接種：前述せるH37R_v株の菌体を採取し滅菌濾紙に挟み孵卵器中37°Cにて約1

時間乾燥した後化学天秤にて秤量し、滅菌硝子玉入り小川氏肉厚丸底コルペンに移し、手振り法にて可及的に菌塊を磨砕し滅菌生理的食塩水を加えて1cc中に1mgの乾燥菌量が浮遊する様に調製した。之の0.1cc即ち0.1mgを実験海狸の大腿外側皮下に感作接種し凡そ3週後Römer氏反応陽転を確めた後に、次に述べる要領で前房内に結核菌接種を行つた。

B) 前房内結核菌接種：前述の如く処置した実験海狸の右眼前房内に同じH37R_v株を0.02mg/ccとなる如く調製した生理的食塩水菌浮游液の0.05cc即ち菌量凡そ0.001mgを接種し左眼は対照の為無処置とした。

前房内接種に際しては当研究室で考案した海狸固定器を使用し最大限に開瞼して0.3% Na-rcain液を数回点眼し充分局所麻酔を行つた後、滅菌生理的食塩水で洗眼し予かじめ結核菌浮游液を吸引した「ツベルクリン」用注射器(1/5 Mantoux 針)にて角膜輪部に接して眼軸と直角の方向に前房内に刺入し菌浮游液を可及的全量(0.05cc)注入する。注入後は直ちに注射針を抜き湿綿にて穿刺部位を軽く圧して置く。この際、眼球固定用鑷子にて確実に眼球を固定し虹彩其他の前房内組織を損傷しない様にした。

C) 観察方法：前房内に結核菌を接種された海狸の眼は一時急性の反応性炎症を起し、其後数日にして反応性炎症が消退し始めると共に真の前眼部結核性病変が始まり次第に悪化するのであるが、著者はその経過を化学療法を行なうと共に内藤式手持角膜細隙灯にて可及的詳細に観察した。観察に当つては緒論に於いて述べた如く1946年Steenken, Wolinsky及びHeise⁴⁾, 又1950年Biatti⁵⁾が用いた前眼部結核性病変指数を当研究室の河崎⁸⁾, 神頭⁹⁾が修正した指数を用いた。(表1)

前房内結核菌接種後、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治療を開始した。その理由は病変程度がⅡ度位では無処置の対照眼でも全然悪化を示さない事があるからである。観察期間は約10週で毎週1～2回観察を行ないその都度各動物に対して前眼部病変像のスケッチ

表1 前眼部病変指数

病変指数	I	II	III	IV	V	VI
病的所見						
結毛様充血	÷	+	++	+++	++	
膜浮腫	—	—	÷	+	++	
角膜膨隆	—	—	—	—	—	
膜潤濁	—	÷	+	++	+++	
血管新生	—	÷	+	++	+++	
前房深淺度	正	種々	種々	種々	不明	
膜潤濁	—	÷	+	++	+++	
膿性物	—	÷	+	++	+++	
虹彩紋理不整	+	++	+++	+++		
虹彩充血・腫脹	+	++	+++	+++		
虹彩血管拡張	—	十 軽度	十 数え得る	十 無数		
虹彩結節	—	種々	種々	種々		
瞳孔形状	ほぼ円	種々	種々	種々		
瞳孔結節	—	種々	種々	種々		
瞳孔反応	正	種々	種々	種々		
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)	

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瘡は指数を5.5度とした。

をなし病変指数を決定し経過を記録した。其他に動物の全身状態を窺う指標として週1回体重を測定した。

D) 剖検及び臓器の結核菌定量培養

実験的治療終了後各実験動物を一定の日数無処置にて放置し、然る後各群共屠殺し、剖検して肺、肝、脾及び腋窩部並に鼠蹊部淋巴腺を摘出してその肉眼的結核性病変を観察した。次で眼球及び脾、肝の一組織片(約0.5g)を滅菌せる乳鉢内で磨碎し2%苛性ソーダ液を加え充分混和して作製せる臓器の10倍稀釈液の0.1ccを1%小川培地に各2本宛注ぎ、37℃の孵卵器に納め8週後その結核菌の發育状態を肉眼的

に観察して成績を判定した。之等の操作は勿論可及的無菌的に行つた。

II. 実験的皮膚潰瘍を対象とした場合

A) 皮膚病変の作製：Rubbo等の方法に準じて予かじめ剃毛消毒せる海狸背部の皮膚の4個所に滅菌ツベルクリン注射器にて各々前眼部結核症を対象とした場合の感作接種の項で述べたると同様な方法でH37Rv株を10mg/ccとなる如く調製した、生理的食塩水菌浮游液の0.1cc即ち菌量1mgを皮内注射して皮膚病変を作製した。

B) 観察方法：以上の如くして生じた結核性皮膚病変の経過の観察はカリパーにてその痂皮、潰瘍又は硬結の長径と短径とを測定しその平均値を算出して病変の大きさとした。測定は週1乃至2回行い、測定に際してRubbo等はアルコールで湿して潰瘍縁を明瞭ならしめたが、著者はアルコールの刺戟が病変の経過に影響することを恐れて生理的食塩水に浸した綿花片を用いた。其他に動物の全身状態を窺う指標として週1回体重を測定した。

C) 剖検及び臓器肉眼的結核性病変の観察実験的治療終了後各実験動物を一定の日数無処置にて放置し、然る後各群共屠殺し、解剖を行い肺、肝、脾及び腋窩部並に鼠蹊部淋巴腺を摘出してその肉眼的結核性病変を観察した。

実験的皮膚潰瘍に依る場合は結核菌定量培養は行なわなかつた。

3. 薬物投与法

No. 240は5%重曹水にて溶解し、其他は7%アラビヤゴム液にてSuspensionとし、何れもゾンデを用いて経口投与した。

第3章 実験成績

I No. 304, No. 396, No. 347 及びINHの単独投与並びにNo. 304及びNo. 396の各々とINHとの併用投与の、前眼部結核症を主対象とした動物実験。

1) 実験群の編成

前述の実験条件に適した海狸を選び各5～8匹を1群として13群を編成した。実験群を表示すれば表2の通りである。尚編成に際しては各

表2 実験動物の編成

実験群	治療の種類及び投与量	使用動物数
第1群	No. 304 25 mg/kg	6
第2群	No. 304 10 mg/kg	5
第3群	No. 396 50 mg/kg	6
第4群	No. 396 25 mg/kg	6
第5群	No. 396 12.5 mg/kg	6
第6群	No. 374 50 mg/kg	9
第7群	No. 374 25 mg/kg	7
第8群	No. 374 12.5 mg/kg	7
第9群	INAH 15 mg/kg	6
第10群	INAH 5 mg/kg	8
第11群	No. 304 10 mg/kg +INAH 5 mg/kg	8
第12群	No. 396 12.5 mg/kg +INAH 5 mg/kg	8
第13群	無処置 (対照)	8

群の治療開始時に於ける前眼部病変指数の平均値が可及的近似の値を取る様に留意した。対照として無処置群を置いた。

又治療方法は毎日経口投与とした。投与量の決定は試験管内結核菌発育阻止力の成績とLD₅₀の値とを参考に定めた。

2) 実験成績

A) 前眼部結核性病変の経過

前房内に結核菌を接種して2週後より薬剤投与を開始したが其の時に於ける各群の前眼部病変は表1の病変指数値に従がつて凡そ3度であり、角膜周擁充血、角膜辺縁よりの血管増生を認め角膜の濁濁もやゝ強くなり、虹彩は充血、浮腫を来たして紋理不整、瞳孔縁或は腹部に小結節も見られた。

之等の病変は無処置群に於ては経過と共に悪化し、治療群と次第に明らかな差違を生じ、漸次病変は進行して遂には高度の実質性角膜炎を来し、中には壊死、穿孔を来たしたものもある。

これに反してINH単独群では明らかに結核性病変の抑制が認められ、新生血管の吸収減少、角膜濁濁の部分的消褪、角膜周擁充血の軽減、虹彩に於ては充血の軽減、結節の縮少等が

見られ週を経るに従がつてやゝ階段的であるが治癒傾向が観察された。

Quinoxaline系薬物に就いては304, 10 mg/kg及び25 mg/kg, No. 396, 25 mg/kg, No. 374, 25 mg/kg群に於いて比較的結核性病変の抑制が認められた。他の群に於いては無処置群に比

図1 病変指数値の経過 (各群平均)

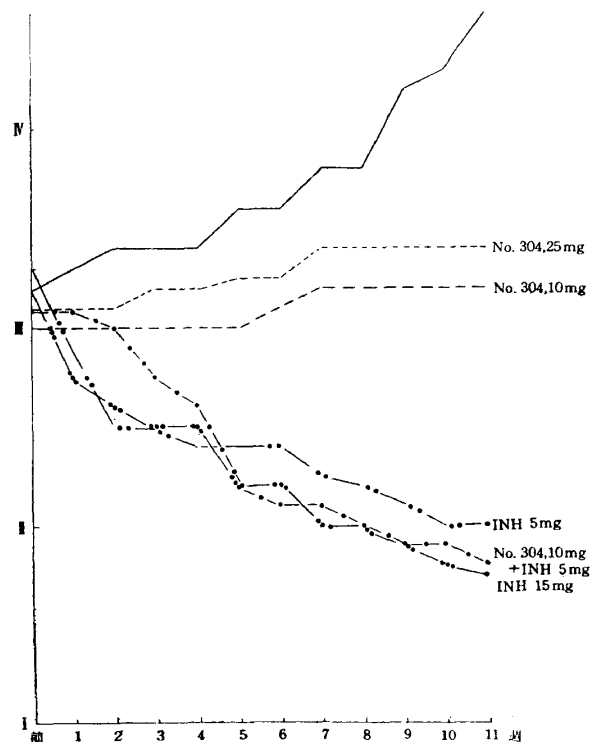


図2 病変指数値の経過 (各群平均)

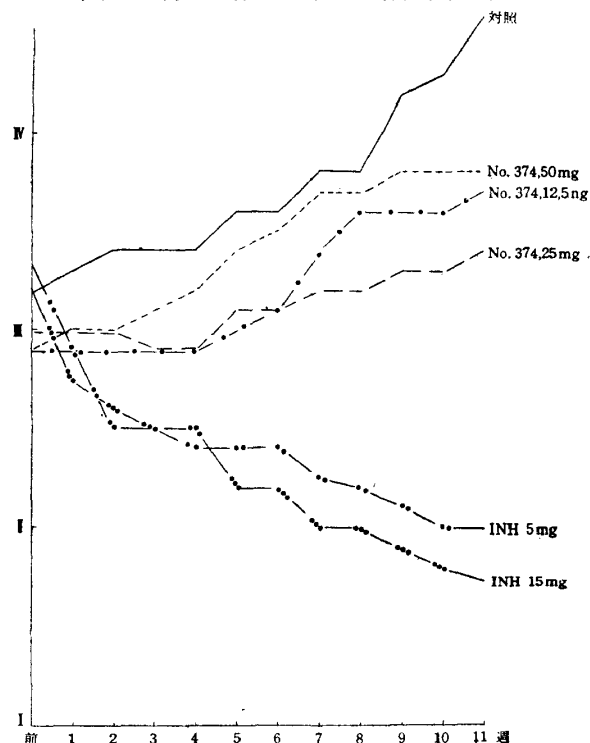


図3 病変指数値の経過 (各群平均)

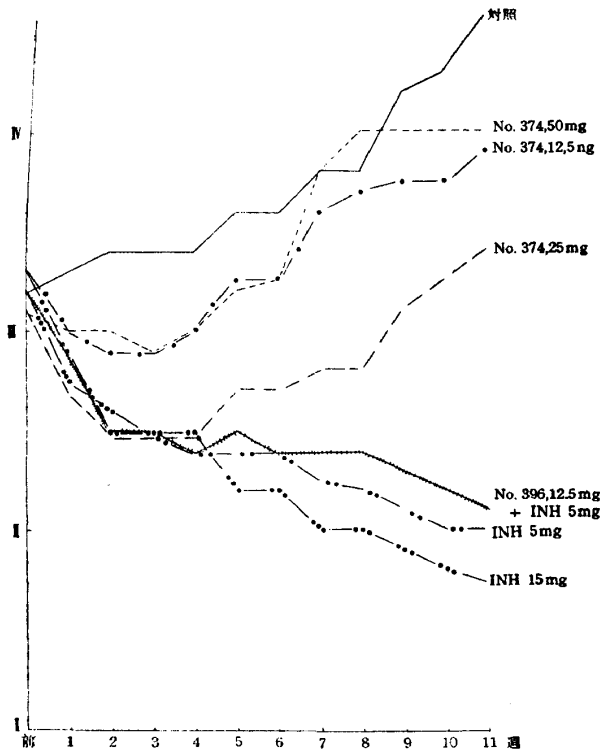
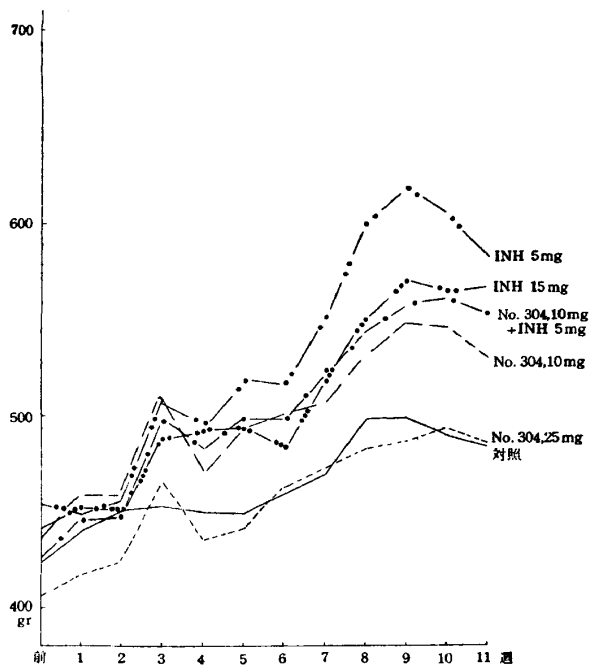


図4 体重経過 (各群平均)



較すれば軽度の治療効果を示したが、左程顕著ではなく、各群間の優劣はつけ難い。

尚 INH に対する No. 304 並に No. 396 の併用効果は見出されなかつた。

以上を図示すると図1, 2, 3の如くである。

B) 体重の経過

全身状態を窺う1つの資料として観察した体重の経過は図4, 5, 6に示す通りである。即

図5 体重経過 (各群平均)

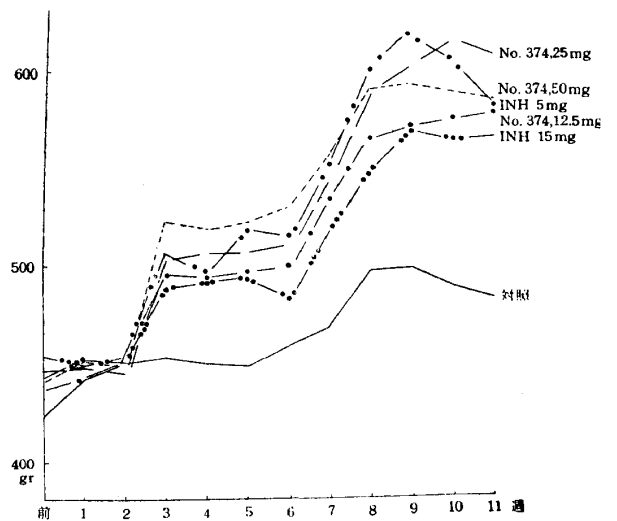
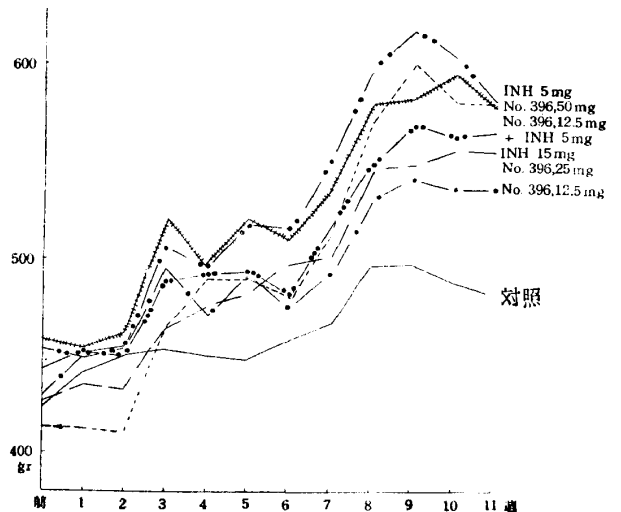


図6 体重経過 (各群平均)



ち各群共に動揺を示しつつも増加し以後稍減少の傾向を示した。然し何れの治療群もその間に大差を認め得なかつたが、無処置群のそれとは明らかに差が認められた。

C) 剖検及び臓器肉眼的所見

11週目の前眼部病変判定、体重測定後3日後に各群より任意に選んだ5匹宛を剖検し、肝、脾の重量測定とともに、肺、肝、脾、淋巴腺の各臓器に就て肉眼的所見を可及的詳細に調べた。対照である無処置群は肺、肝、脾に於て結核結節等を伴うかなり高度の結核性病変を認めたのに比し、Quinoxaline系治療群ではINH治療群に比較すれば、相当劣るけれども何れもある程度病変が軽度であつた。然しQuinoxaline系薬物相互間には大差は認めなかつた。INHとNo. 304並にNo. 396との併用効果

表3 各臓器の肉眼的結核性病変

実 験 群	動物番号	肺		肝		脾		淋 巴 腺							
		右	左	重	量	割	検	重	量	割	検	右腋窩	右鼠蹊	左腋窩	左鼠蹊
No. 304	25mg/kg	28	卅	卅	25.0	卅	8.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
		231	卅	卅	30.0	卅	2.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
		64	+	+	35.0	卅	7.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		7	+	+	24.0	÷	4.0	卅	—	—	—	—	—	—	+
		26	—	—	42.0	÷	2.5	—	—	—	—	—	—	—	—
No. 304	10mg/kg	259	+	+	19.0	—	1.0	+	—	—	—	—	—	—	—
		49	卅	卅	48.0	卅	29.0	卅	—	+	—	—	—	—	—
		42	+	+	38.0	卅	3.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		29	÷	÷	37.0	÷	2.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
		33	—	—	25.0	+	1.0	卅	—	—	—	—	—	—	+
No. 304	10mg/kg +INAH 5mg/kg	55	—	—	21.5	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		10	—	—	27.0	—	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		31	÷	÷	21.0	—	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		79	—	—	22.0	—	1.2	—	—	—	—	—	—	—	—
		27	—	—	19.0	—	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—
No. 374	50mg/kg	99	+	+	41.0	÷	1.5	—	—	—	+	—	—	—	—
		74	—	—	32.0	—	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		235	卅	卅	46.0	卅	15.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		18	—	—	27.5	—	1.5	+	—	—	—	—	—	—	—
		87	—	—	17.0	+	2.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
No. 374	25mg/kg	60	+	+	34.0	÷	2.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
		77	+	+	40.0	—	2.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		228	+	+	34.0	+	4.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		84	÷	÷	37.0	+	3.0	+	—	—	—	—	—	—	—
		239	+	+	24.0	—	2.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
No. 374	12.5mg/kg	58	—	—	28.0	÷	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		247	卅	卅	32.0	卅	5.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
		80	+	+	38.5	+	2.2	—	—	—	—	—	—	—	—
		4	—	—	48.0	卅	9.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		62	+	+	27.0	+	1.5	+	—	—	—	—	—	—	—
No. 396	50mg/kg	225	—	—	28.0	—	1.5	+	—	—	—	—	—	—	—
		46	+	+	55.0	卅	15.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		241	÷	÷	36.0	卅	3.5	+	—	—	—	—	—	—	—
		92	卅	卅	52.0	+	3.0	+	—	—	—	—	—	—	—
		210	—	—	28.0	+	1.0	+	—	—	—	—	—	—	—
No. 396	25mg/kg	59	—	—	28.0	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		94	—	—	30.0	—	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		229	卅	卅	44.0	卅	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		234	卅	卅	50.0	卅	11.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		81	卅	卅	25.0	卅	3.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
No. 396	12.5mg/kg	251	—	—	31.0	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		56	+	+	34.0	卅	6.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		40	卅	卅	43.0	卅	8.5	卅	+	—	—	—	—	—	—
		204	卅	卅	37.0	+	6.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
		89	+	+	48.0	÷	3.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
No. 396	12.5mg/kg +INAH 5mg/kg	51	—	—	22.0	—	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		242	—	—	24.0	—	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		30	—	—	25.0	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		250	—	—	19.0	—	0.6	+	—	—	—	—	—	—	—
		86	—	—	17.0	—	1.6	—	—	—	—	—	—	—	—
INAH	5mg/kg	222	—	—	27.0	÷	1.5	+	—	—	—	—	—	—	—
		213	—	—	26.0	—	1.5	+	+	—	—	+	—	—	—
		69	—	—	21.0	—	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		63	—	—	26.0	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		66	—	—	25.0	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
INAH	15mg/kg	16	—	—	33.0	—	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		90	—	—	31.0	—	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		203	—	—	27.5	—	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—
		21	—	—	23.0	—	2.5	—	—	—	—	—	—	—	—
		17	—	—	30.0	—	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—
無 処 置 (対 照)		256	卅	卅	2.35	卅	1.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		218	卅	卅	38.0	卅	3.5	卅	—	—	—	—	—	—	—
		244	卅	卅	46.5	卅	3.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		253	卅	卅	55.0	卅	2.0	卅	—	—	—	—	—	—	—
		98	+	+	47.0	卅	4.0	+	—	—	—	—	—	—	—

備考： —：肉眼的に病変のないもの

+：軽度乍ら明瞭に病変の認められるもの

卅：臓器殆ど全部に病変のあるもの

÷：結核性病変と思われるが明瞭でないもの

卅：可成り広範囲に病変のあるもの

表中重量の数値は何れも瓦単位である

表4 各臓器内結核菌定量培養成績

実 験 部	動物 番号	眼	球	肝		脾	
No. 304 25mg/kg	231	—	—	—	—	++	++
	64	++	++	8	+	++	++
	26	++	++	—	—	+	++
No. 304 19mg/kg	42	+	+	—	—	++	++
	29	+	—	+	+	+	+
	33	—	—	+	+	4	6
No. 303 10mg/kg +INAH 5mg/kg	31	+	+	—	—	—	—
	76	—	—	+	+	—	+
	27	—	—	+	—	—	—
No. 374 50mg/kg	221	++	++	+	+	+	+
	39	++	++	2	+	2	2
	2	++	+	+	++	+	+
No. 374 25mg/kg	84	++	++	+	+	+	++
	239	+	+	—	—	+	+
	79	—	+	+	+	+	+
No. 374 12.5mg/kg	62	—	++	4	3	+	4
	23	+	—	+	+	++	+
	73	+	+	—	++	++	++
No. 396 50mg/kg	210	+	++	—	+	+	+
	224	+	+	+	+	—	+
No. 396 25mg/kg	234	++	++	+	+	+	++
	81	—	—	+	+	++	+
	233	+	—	+	+	+	+
No. 396 12.5mg/kg	204	+	—	3	—	+	+
	89	+	—	++	++	++	++
	207	+	—	++	++	+	++
No. 396 12.5mg/kg +INH 5mg/kg	250	1	—	—	—	1	—
	86	—	—	—	—	—	—
	19	+	—	—	—	—	—
INH 5mg/kg	69	1	+	1	1	—	—
	63	—	—	—	—	—	1
	66	—	—	—	—	—	—
INH 15mg/kg	17	—	—	—	—	—	—
	254	12	+	—	—	—	—
無 処 置 (対照)	253	++	++	++	++	++	++
	98	++	++	++	++	++	+
	237	++	++	++	++	++	++

備考一：菌発育を認めず

＋：培地 $\frac{1}{4}$ 以内に菌発育を認めるもの

++：培地面 $\frac{1}{2}$ 以上 $\frac{3}{4}$ 以内に菌発育を認めるもの

+++：培地全面に菌発育を認めるもの

表中の数値は集落数を示す

は脾に於いて僅かながら現われて居る様に見えるけれど著明なものとは言いかねる。

その成績を表示すると表3の通りである。

D) 臓器の結核菌定量培養

各臓器の肉眼的結核性病変を検した後、各群より任意に選んだ2～3匹宛に就き眼球、肝及び脾に就て前述の方法に依り臓器内結核菌定量培養を行ない8週後その成績を判定した。この判定は厚生省結核療法研究協議会細菌学的研究科会に於いて定められた基準に従がつた。その結果は表4に示す如く各臓器共無処置の対照群に於いては可成り著明な結核菌発育を見たのに比し、Quinoxaline 系治療群ではINHを投与した治療群に比較すればかなり差はあるが、何れもある程度無処置群よりは良効な成績を得た。然しQuinoxaline 系薬物相互間には大きな差違を認めなかつた。

尚 No. 304 はINHとの間に併用効果を認めず、No. 396 は僅少の併用効果を持つとも見えるが、著明なものではない。

II. No. 304, IHMS 単独及び No. 304-IHMS 併用投与の、前眼部結核症を主対象とした動物実験。

1) 実験群の編成

前述の実験条件に適した海狸を選び各群7～8匹を1群とし、第I群はNo. 304, 50 mg/kg, 第II群はNo. 304, 25 mg/kg, 第III群はNo. 304, 7 mg/kg とIHMS, 7 mg/kg, 第IV群 IHMS, 7mg/kg を何れも連日経口投与を行なう治療群とし、第V群は対照として無処置とした。以上を表示すると表5の如くである。即ち今回は No. 304 に就き IHMS との比較並に併用効果を検討せんと試みた。

表5 実験動物の編成

実 験 群	治療の種類及び投与量	使用動物数
第 I 群	No. 304 50mg/kg	8
第 II 群	No. 304 25mg/kg	7
第 III 群	No. 304 +IHMS 7mg/kg	7
第 IV 群	IHMS 7mg/kg	7
第 V 群	無 処 置 (対 照)	7

2) 実験成績

A) 前眼部結核性病変の経過

前房内に結核菌を接種後2週後より薬剤投与を開始したが、其の時に於ける各群の前眼部病変は表1の病変指数値に従がつて平均2.9度であり大多数の例に於いて極く軽度の角膜濁濁、中等度毛様充血、虹彩の紋理不整、充血、腫脹及び血管拡張を中等度認めた。病変の経過を述べると無処置群に於いては、病変の悪化の稍緩慢な例も見られたが、大半に於いては漸次悪化し眼球癆及び穿孔に至るものもあつたが、治療群では No. 304 50 mg/kg 群に於いてのみ稍悪化を示したが、他の治療群に於いては何れも次第に快軽の向傾を示した。即ち虹彩の充血、腫脹や血管拡張の軽快減少を認め角膜の濁濁、新生血管の部分的消褪或は前房濁濁の吸収を見る等、週を経るにつれて軽度乍ら治癒傾向が認められ、殊に No. 304 25 mg/kg 群がかなり良好な成績を示した。

IHMS と No. 304 との間には僅かながら併用効果が見出される様である。

以上を図示すると図7の如くである。

B) 体重の経過

全身状態を窺う1つの資料として観察した体重の経過は図8に示す通りである。即ち No. 304, 50 mg/kg は次第に増加を示し、他の群は共に動揺を示しつつ増加し以後稍減少の傾向を示した。然し何れの群もその間に大差を認め得なかつた。

C) 剖検及び臓器肉眼的所見

7週目の前眼部病変判定、体重測定後3日目に各群一斉に剖検し、肝、脾の重量測定と共に肺、肝、脾、淋巴腺の各臓器に就いて肉眼的所見を可及的詳細に調べた。対照である無処置群は肺、肝、脾に於いて結核結節等を伴うかなり高度の結核性病変を認めたのに比し、No. 304 治療群ではIHMS治療群に比較すれば稍劣るけれども或る程度病変が軽度であつた。No. 304, 7 mg/kg と IHMS, 7 mg/kg との併用の効果は僅かに見られる様であるが、著明ではない。

淋巴腺に於ては各群ともに大差は認めなかつた。その成績を表示すると表6の如くである。

III. No. 180, INH, TB1 単独投与の、前眼

図7 病変指数値の経過 (各群平均)

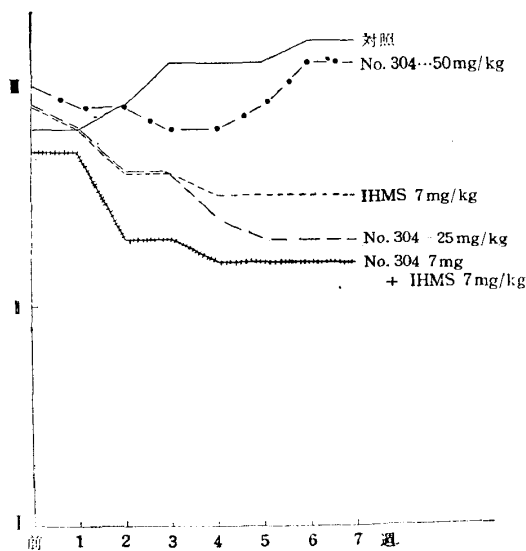
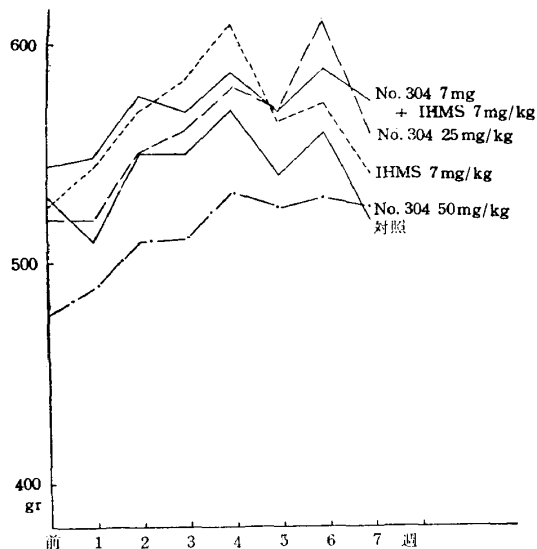


図8 体重経過 (各群平均)



部結核症を主対象とした動物実験。

1) 実験群の編成

前述の実験に適した海狸を選び各群4~7匹を1群とし、第I群は No. 180, 50mg/kg, 第II群は TB1, 30 mg/kg, 第III群 INH, 30 mg/kg を何れも連日経口投与を行なう治療群とし第IV群は対照として無処置とした。以上を表示すると表7の如し。即ち本実験は No. 180 に就き INH, TB1 との比較検討を試みた。

2) 実験成績

A) 前眼部結核性病変の経過

前房内に結核菌を接種後2週後より薬剤投与を開始したが、其の時に於ける各群の前眼部病

表6 各臓器の肉眼的結核性病変

実 験 群	動物番号	肺		肝		脾		淋 巴 腺			
		右	左	重 量	剖 検	重 量	剖 検	右腋窩	右鼠蹊	左腋窩	左鼠蹊
No. 304 50mg/kg	74	+	+	56.0	卅	6.0	卅	+	+	+	卅
	88	+	+	33.0	+	1.0	+	—	—	+	+
	38	+	+	32.0	卅	5.0	卅	÷	+	÷	卅
	70	+	+	30.0	+	2.0	+	—	+	—	+
	76	卅	卅	35.0	卅	3.0	卅	÷	+	+	+
	81	卅	卅	32.0	+	5.0	卅	+	卅	+	+
	75	+	+	50.0	卅	8.0	卅	+	+	+	+
	35	+	+	25.0	卅	2.0	+	+	+	+	+
No. 304 25mg/kg	85	+	+	43.0	卅	2.0	+	÷	—	÷	÷
	53	卅	卅	50.0	卅	9.0	卅	+	+	+	+
	71	+	+	24.0	卅	3.0	+	+	+	+	—
	36	+	+	52.0	卅	3.0	卅	+	+	+	+
	62	卅	卅	30.0	卅	3.0	+	卅	+	÷	+
	91	+	+	29.0	+	2.0	+	+	—	+	÷
	40	卅	卅	36.0	卅	8.0	卅	+	卅	+	÷
No. 304 +IHMS 7mg/kg	44	+	+	15.0	+	2.0	—	—	—	—	—
	73	÷	÷	25.0	÷	2.0	÷	+	—	÷	+
	51	+	+	30.0	+	2.0	+	÷	+	÷	+
	87	+	+	30.0	+	2.0	+	÷	÷	—	+
	58	+	+	27.0	÷	2.0	+	+	+	÷	+
	33	+	+	26.0	+	1.0	+	÷	卅	÷	+
	66	+	+	23.0	÷	2.0	+	÷	÷	÷	+
IHMS 7mg/kg	63	+	+	31.0	+	2.0	+	÷	÷	÷	÷
	84	+	+	25.0	+	2.0	+	÷	÷	÷	÷
	80	+	+	20.0	÷	2.0	+	÷	÷	÷	÷
	78	÷	÷	23.0	+	1.0	+	+	÷	—	÷
	59	+	+	32.0	÷	2.0	÷	÷	÷	÷	+
	77	+	+	32.0	+	1.0	+	÷	+	—	+
	83	卅	卅	20.0	卅	2.0	卅	÷	+	÷	+
無 処 置 (対 照)	42	卅	卅	22.0	卅	1.0	+	÷	÷	÷	+
	55	卅	卅	25.0	卅	5.0	卅	÷	+	÷	+
	32	+	+	26.0	+	2.0	+	÷	+	÷	+
	39	卅	卅	38.0	卅	2.0	卅	÷	卅	÷	+
	41	卅	卅	40.0	卅	8.0	卅	÷	卅	÷	+
	97	卅	卅	42.0	卅	2.0	卅	+	÷	—	÷
	47	+	+	87.0	卅	15.0	卅	÷	卅	+	÷

変は表1の病変指数値に従って平均3.5度であった。病変の経過を述べると無処置群に於いては病変の悪化の稍緩慢な例も見られたが、大半に於いては漸次悪化し眼球瘻及び穿孔を来たすに至った。治療群間ではその効果はINH, TB1, No. 180の順となり No. 180治療群も無処置

群に比較すれば或程度の効果が認められた。

以上を図示すると図9の如くである。

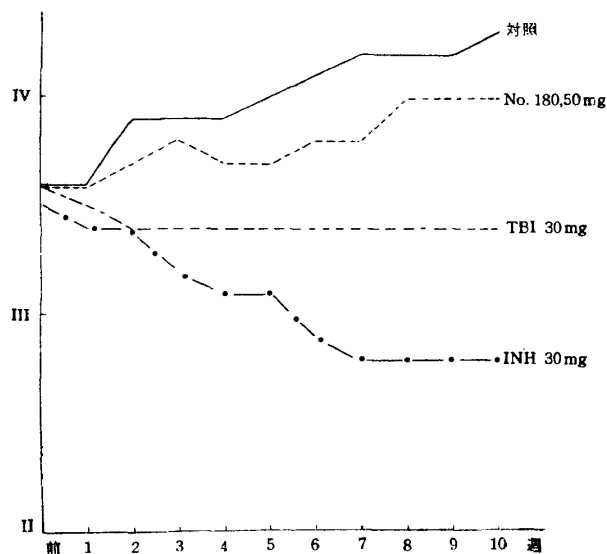
B) 体重の経過

体重の経過は図10に示す通りである。即ち各群共に次第に体重の増加が見られた。INHと無処置群との間には殆んど差を認めず平行して

表7 実験動物の編成

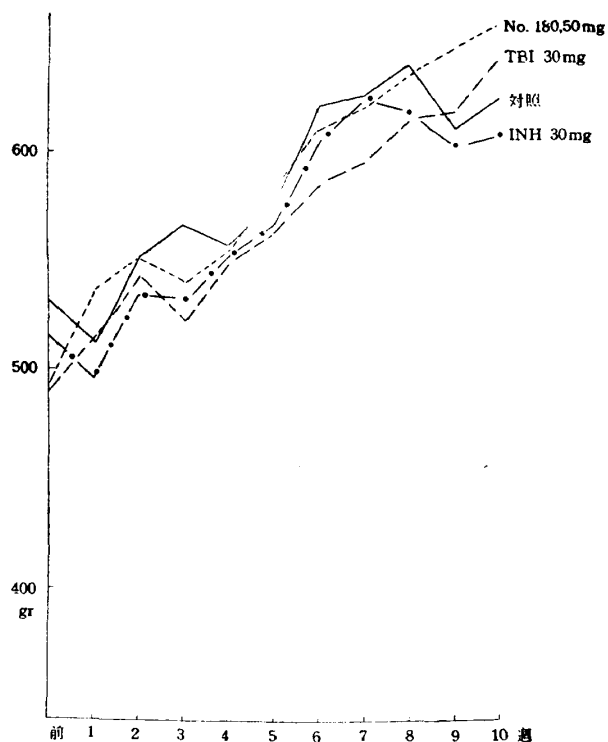
実験群	治療の種類及び投与量	使用動物数
第Ⅰ群	No. 180 5mg/kg	4
第Ⅱ群	NB1 30mg/kg	7
第Ⅲ群	INH 30mg/kg	7
第Ⅳ群	無処置 (対 照)	6

図9 病変指数値の経過 (各群平均)



体重の増加が見られ、これ等2者に比較し No. 180, TB1 の2群の方がかなりの体重の増加を

図10 体重経過 (各群平均)



来した。

C) 剖検及び臓器肉眼的所見

10週間にわたる治療終了後3日放置した後に各群より任意に選んだ4匹宛に就て肺、肝、脾及び腋窩部並に鼠蹊部淋巴腺の肉眼的所見を観

表8 各臓器の肉眼的結核性病変

実験群	動物番号	肺		肝		脾		淋 巴 腺			
		右	左	重量	剖検	重量	剖検	右腋窩	右鼠蹊	左腋窩	左鼠蹊
No. 180 50mg/kg	41	+	+	34.0	+	1.2	+	—	—	—	—
	56	+	+	38.0	+	2.0	+	—	—	—	—
	105	+	+	34.0	+	1.0	+	—	—	—	—
	49	+	+	33.0	+	1.6	+	—	+	—	+
TB1 30mg/kg	200	+	+	34.0	+	1.5	—	—	—	—	—
	73	+	+	55.0	+	10.0	+	—	—	—	—
	79	+	+	42.0	+	1.5	+	—	—	—	—
	85	+	+	23.0	+	1.5	—	—	—	—	—
INH 30mg/kg	17	+	+	29.0	+	1.5	+	—	—	—	—
	131	+	+	20.0	+	1.5	+	—	—	—	—
	36	+	+	23.0	+	1.5	—	—	—	—	—
	37	+	+	19.0	+	1.0	+	—	—	—	—
無処置 (対 照)	58	+	+	26.0	+	1.0	+	—	—	—	—
	85	+	+	32.0	+	1.0	+	—	—	—	—
	81	+	+	36.0	+	1.5	+	—	+	—	+
	70	+	+	37.0	+	2.5	+	—	+	—	—

察した。その結果は表8に示す通りである。即ち無処置群は肺、肝、脾に於いて高度の結核性病変を認めたのに比し、各治療群では何れも病変が軽度であつた。各治療群に於いては特に大差は認められなかつたが、精細に比較すればINHに於いて最も病変が軽く、以下TB1, No. 180の順となつた。

D) 臓器の結核菌定量培養

前述の方法により各実験群より任意に選んだ3匹宛に就いて眼球、肝及び脾の定量培養を行ない8週後その結果を判定し、その成績を表9に示した。無処置群では各臓器に於いて平均して相当多数の菌発生を認めたのに比し、治療群では明らかに菌発育は少なかつた。

治療群の間では各臓器ともにINH群が最も菌発育が少く、No. 180, TB1群はこれに比し発育が高度であつた。又この両群間には大差がなかつた。

表9 各臓器内結核菌定量培養成績

実験群	動物番号	眼 球	肝	脾
No. 180 50mg/kg	56	+	++	+
	41	+	+	+
	105	1	+	1
TB1 30mg/kg	95	—	+	—
	79	+	+	5
	73	+	++	+
INH 30mg/kg	37	+	—	+
	80	—	—	—
	36	—	—	—
無処置 (対 照)	81	++	+	8
	70	++	20	20
	58	++	+	10

IV No. 258, No. 173, No. 240 及 IHMS 各々の単独及び No. 258・IHMS 併用投与の、皮膚潰瘍を主対象とした動物実験。

1) 実験群の編成

前述の実験に適した海猿を選び各動物共に菌量 1mg 菌液量 0.1cc の菌液を背部4個所(左右各2個所)に皮内接種して2週後の痂皮が概ね 5mm 以上の平均直径を示してより各群5~6匹を1群とし、第I群は No. 240, 100 mg/

kg, 第II群 No. 173, 50 mg/kg, 第III群 No. 258, 100 mg/kg, 第IV群 No. 258, 50 mg/kg, 第V群は No. 258, 50 mg/kg と IHMS, 20 mg/kg 併用, 第VI群 IHMS, 20 mg/kg を何れも連日経口投与を行なう治療群とし第VII群は対照として無処置とした。以上を表示すると表10の如し。

表10 実験動物の編成

実験群	治療の種類及び投与量	使用動物数
第 I 群	No. 240 100mg/kg	6
第 II 群	No. 173 50mg/kg	5
第 III 群	No. 258 100m/kg	5
第 IV 群	No. 258 50mg/kg	5
第 V 群	No. 258 +IHMS 50mg/kg 20mg/kg	5
第 VI 群	IHMS 2mg/kg	5
第 VII 群	無 処 置 (対 照)	6

群編成に際しては各群の痂皮の平均直径値が可及的近似の値となる様にした。尚病変の観察方法は Rubbo 等の方法により痂皮のみ測定してその平均直径を算出し、経過を追つて薬剤投与による影響を追求した。

2) 実験成績

A) 実験的皮膚潰瘍の経過

治療実験は菌接種後3週目より開始したが、治療群に於いては週を追つて痂皮が小さくなり且つその周辺より求心性に白色健康上皮が拡大し痂皮が甚しく不整形となり小点状となるものも見られた。即ち最も良好な成績を示した IHMS 並びに No. 258+IHMS 投与群に於いては4週にして20病変中17病変は直径 1mm 程度或いはそれ以下の小点状の痂皮となり、5週では半数以上は痂皮を認めず桃赤色の肉芽組織となり全治に至つた。併用効果は僅かにあるかとも見られるが、著明ではない。その他の治療群に於いても何れも軽快を示し各群間に大差はなかつた。之等に反して無処置群は治癒傾向は認められず依然として大きな痂皮が続いた。

以上の経過を平均直径値を以て示せば表11、図11の如し。

B) 体重の経過

表11 実験的皮膚病変の経過（各群平均痂皮の平均直径値）

治療期間 (週)		前	1	2	3	4	5
実験群							
No. 240	100mg/kg	4.8	6.4	6.4	6.0	5.4	5.1
No. 173	50mg/kg	4.6	6.1	6.1	6.6	6.2	5.4
No. 258	100mg/kg	4.0	6.2	6.0	5.6	5.5	4.3
No. 258	50mg/kg	5.1	7.1	7.4	7.2	6.7	5.8
No. 258 +IHMS	50mg/kg 20mg/kg	4.9	7.1	5.2	2.9	0.5	0.2
IHMS	20mg/kg	5.3	7.0	5.4	3.8	1.3	0.6
無処置 (対 照)		4.8	6.8	7.3	7.7	8.1	8.2

全身状態を窺う1つの資料として観察した体重の経過は図12に示す通りである。即ち各群共に次第に体重増加が見られた。中でも No. 258 単独並びに併用群はともに良好な成績を得た。その他の群に於いてはその間に大差は認め得なかつた。

C) 剖検及び臓器肉眼的所見

5週の治療終了後4日目に各群より任意に選んだ4匹宛に就いて肝, 脾の重量測定とともに肺, 肝, 脾及び腋窩並びに鼠蹊淋巴腺の肉眼的所見を観察した。その結果は表12に示す通りである。即ち無処置群は肺, 肝, 脾, 淋巴腺に於いて極

表12 各臓器の肉眼的結核性病変

実 験 群	動物番号	肺		肝		脾		淋 巴 腺			
		右	左	重 量	剖 検	重 量	剖 検	右腋窩	右鼠蹊	左腋窩	左鼠蹊
No. 240	100mg/kg	271	+	+	29.0	+	1.5	+	—	—	+
		185	+	+	32.0	+	7.0	+	—	—	+
		220	+	+	17.0	+	1.5	+	—	+	—
		256	+	+	36.0	+	4.0	+	+	+	+
No. 173	50mg/kg	295	+	+	24.0	+	2.0	+	—	—	+
		199	+	+	24.0	+	7.0	+	+	+	+
		298	+	+	23.0	+	2.5	+	—	+	—
		237	+	+	30.0	+	2.0	+	—	+	—
No. 258	100mg/kg	166	+	+	33.0	+	6.0	+	—	+	—
		270	+	+	31.0	+	1.5	+	+	+	+
		297	+	+	32.0	+	6.0	+	—	—	—
		281	+	—	28.0	+	2.5	—	—	—	—
No. 258	50mg/kg	204	+	+	32.0	+	2.0	+	+	—	—
		275	+	+	35.0	+	2.5	+	+	—	+
		242	+	+	28.0	+	13.0	+	+	+	+
		300	+	+	37.0	+	2.0	—	+	—	+
No. 258 +IHMS	50mg/kg 20mg/kg	221	+	+	26.0	+	1.5	+	—	—	—
		214	+	+	20.0	+	1.0	—	+	—	+
		180	+	+	25.0	+	1.5	—	—	—	—
		164	+	+	24.0	+	1.0	—	—	—	—
IHMS	20mg/kg	198	+	+	18.0	+	0.7	—	—	—	—
		239	+	+	21.0	+	1.0	+	—	—	—
		243	+	+	21.0	+	1.1	—	—	—	—
		287	—	—	23.0	+	1.3	+	—	—	—
無処置 (対 照)		236	+	+	30.0	+	6.0	+	+	+	+
		178	+	+	38.0	+	13.0	+	+	+	+
		207	+	+	36.0	+	10.0	+	+	+	+
		296	+	+	35.0	+	9.0	+	+	+	+

図11 痲皮の平均直径値経過

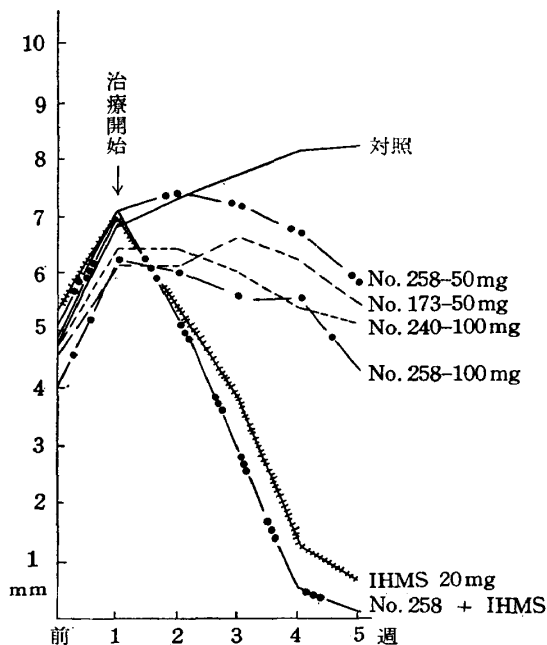
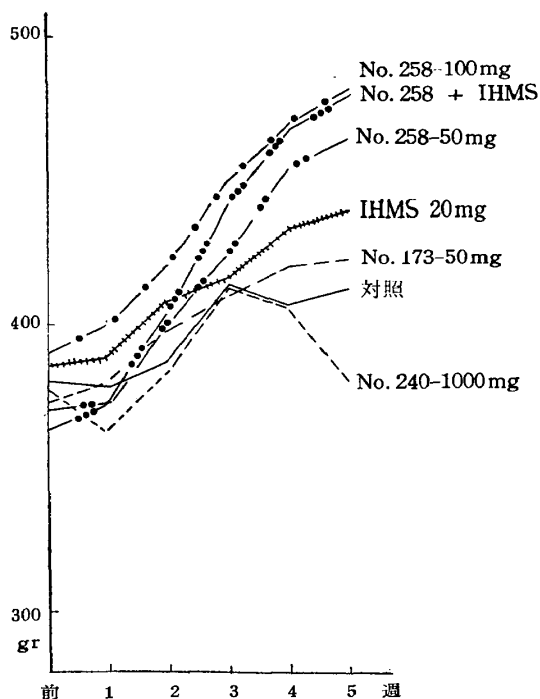


図12 体重経過 (各群平均)



めて高度の結核性病変を認めた。治療群に於いては IPMS 単独群, No. 258・IHMS 併用群が最も良効な成績を示し, 両者を比較するに殆んど差はないが, IHMS 単独群の方が僅か乍ら良効であつた。その他の治療群は無処置群に比較すれば明らかに良効な成績を示しているが各群間には大差は認め得なかつた。

第4章 総括及び考按

先ず実験に供した Quinoxaline 系薬剤7種の単独投与の効果に就いて述べる。前眼部結核性病変の経過, 剖検所見及び定量培養又は実験的皮膚潰瘍の病変経過, 剖検所見の成績に於いて何れも INH 単独群並びに IHMS 単独群には劣るが無処置の対照群に比しては軽度乍ら一応の治療効果を認めた。之等各群の間では No. 305, 10 mg 及び 25 mg, No. 396, 25 mg, No. 374, 25mg, No. 240, 100mg, No. 258 100mg 並びに No. 173, 50 mg の投与群がかなり良好な成績を示し他の群は余程劣つて居た。

又体重の経過に於いては実験全群何れも大差はなかつた。これを第13表の試験管内成績と較べて見ると, 一応一致して居る様である。次に用効果に就て述べると, 前眼部病変経過に関併しては第Iの実験に於いては No. 304, 10mg + INH, 5 mg, No. 396, 12.5 mg + INH, 5 mg の併用投与よりむしろ僅か乍ら INH 単独投与の方が良好な結果を示した。従つてこの実験の範囲では少く共明らかな併用効果があるとは認められなかつた。

第2の実験に於いては No. 304, 7mg + IHMS, 7mg 併用群の方が IHMS 単独群より僅かに勝るという成績を得た。即ちこの場合は僅少な併用効果が存在すると言える様である。

又皮膚病変の経過に関しては第4の実験に於ける No. 258, 50 mg + IHMS, 20 mg 併用群と IHMS, 20 mg 単独群の間には差は認められなかつた。又臓器の肉眼的剖検所見及び定量培養の成績では大差は認められず, 強いて言えば第1の実験に於いては剖検では併用群が, 培養では単独群が良好であり, 第2の実験に於いては併用群, 第4の実験に於いては単独群の方が僅か乍ら良好な成績を示した。

以上の実験効果より之等 Quinoxaline 系薬剤の或る者が, 強力なものではないけれども一応の抗結核作用を持つ事を知つたのである。その作用機序及び副作用の探究と共に其れ等の適正量の決定並びに他の抗結核剤との併用の場合の効果が今後に検討されるべき問題と考えられる

表 13 実験に供した Quinoxaline 系薬剤

被 検 薬 物 名	化 学 構 造 式	分 子 式 量	融 点	毒 性 (LD ₅₀)	発育阻止 最低濃度	性 状
1,4-Dicarboethoxy-2,3-dimercapto-quinoxaline (No. 304)		C ₁₄ H ₁₄ N ₂ S ₂ 338.32	101°	260 mg/kg	8.13γ/cc	淡黄色針状晶。水 塩酸不溶。ベンゾ オール, エーテル, アセトン溶解。熱 アルコール可溶。 冷時難溶
2-Mercapto-3-hydrazinoquinoxaline (No. 374)		C ₈ N ₄ S 192.24	α-Form 254° (dec) β-Form >300°	235 mg/kg	1.56	黄色針状晶(α型) 黄色粉末(β型) 水—難溶, アルカ リ塩酸可溶。 熱時 DioXane 溶 解
2-Mercapto-3-acetone-quinoxalyl-hydrazone (No. 396)		C ₁₁ H ₁₂ N ₄ S 232.27	269~ 270° (dec)	1550 mg/kg	3.13	黄色針状晶。水— 難溶, 塩酸不溶。 アルカリ, 熱, ア ルコール溶解
2,3-Dimethyl mercapto quinoxaline (No. 180)		C ₁₀ H ₁₀ N ₂ S 228.06	133~ 135°	>1g/kg	>50	無色針状晶。水可 溶, 酸, アルカリ 不溶。熱, アルコ ール可溶。冷時難 溶
1,4-Dicarboxy methyl- 2,3-dimercapto quinoxaline (No. 240)		C ₁₂ H ₁₀ O ₄ N ₂ S ₂ 311.08	291~ 221° (dec)	>1g/kg	25	殆んど無色針状 晶。重曹, アルカ リ溶解。エタノ ール溶解。水不溶
2-Hydroxy-3-methyl- quinoxaline (No. 258)		C ₉ H ₈ ON ₂ 160.18	248~ 250°	700 mg/kg	50	無色針状晶。水難 溶, 熱湯に溶解, アルカリ可溶
2,3-Dimercapto- quinoxaline (No. 173)		C ₈ H ₆ N ₂ S ₂ 194.28	>300°	500 mg/kg	3.13	赤褐色粉末。アル カリ可溶。水, 塩 酸不溶殆んど有 機溶媒に不溶

表中の LD₅₀ は第一製薬研究部に於て行なわれた実験より引用した。

第 5 章 結 語

海獣の前眼部結核症並に皮膚潰瘍病変を主対象として Quinoxaline 系薬剤の単独及び INH 又は IHMS との併用投与の化学療法効果を検索し,併せて体重測定,臓器肉眼的所見及び結核菌定量培養を行なった結果 Quinoxaline 系単独群は一般に前眼部並びに皮膚病変経過及び臓器剖検所見並びに定量培養の成績に於いては INH, IHMS 単独群には劣るけれども, 対照群に比較して軽度乍ら良好な治療効果を示したものがあつた。INH 或は IHMS との併用効果に関してはあまり顕著な成績が得られなかつた。体重の経過は単独群, 併用群ともに実験全群間には大差はなかつた。

尚実験期間中明らかに毒性によると思われる死亡例は見なかつた。

(擧筆に臨み前川助教授並びに研究員各位の御援助に
対し深甚の謝意を表する。

尚被検薬物は第一製薬より提供を受けた事を附記する。)

文 献

- 1) 川合：未発表
- 2) Feldman and Hinshaw : Amer. Rev. Tub., 51, 582, 1949.
- 3) 岡・柳沢等：日本臨牀, 4, 11, 674, 昭21.
- 4) Steenken, Wolinsky and Heise : Amer. Rev. Tub., 53, 175, 1946.
- 5) G.B. Bietti : Arch. Oph., 43, 431, 1950.

- 6) 前川：京大結研紀要, 1, 1, 1953.
- 7) 日根野：京大結研紀要, 4, 1, 1955.
- 8) 河崎：京大結研紀要, 5, 2, 昭32.
- 9) 神頭：胸部疾患, 1, 250, 昭32.
- 10) Rubbo and Pierson : Am. Rev. Tub. 68, 48, 1953.
- 11) 神頭：胸部疾患, 1, 295, 昭32.
- 12) 松田：京大研究紀要
- 13) 松本他：天理大結研紀要, 7, 1, 28, 昭31.