

Chamber 法による各種抗結核剤の検討

〔第2篇〕 有効因子の大きさについて

京都大学結核研究所病態生理学部（主任 教授 辻 周介）

伊 藤 澄 子

第I章 緒 言

INAH と SM の組織透過性の大きな差については Mackaness¹⁾ や伊藤²⁾ は *in vitro* に取り出した貪食細胞中での結核菌の発育状態から、SM に比して INAH が容易に細胞膜を通過することを指摘している。

然し生体から分離して *in vitro* で培養した細胞は浸透圧、PH 等の調整を行つても矢張り細胞膜の変性や損傷や培養期間内に於ける細胞生死の判別等幾多疑問の点がある。又 *in vitro* で培地に添加される薬剤と、*in vivo* に於て実際に菌に働く薬剤の有効因子の形とは全く同じものであるとの保障はない。更に病巣への透過性は必ずしも細胞膜透過性にのみ平行するとは断定出来ないであろう。

一方投与された薬剤の有効因子が生体内でどのような形をとつて作用しているかを知る事は其の薬剤の透過性に関与するのみでなく、結核菌に対する直接の作用機序の解明にも関係する重要な問題である。問題は益々複雑困難であつて今後多数の物理化学的な研究の結果をまたねばならないが、この点に関する第一歩として私は Chamber 法を利用して各薬剤の有効因子がセロファン透過性を指標とした場合、低分子の大きさのままで作用するのか将又、体蛋白と結合して高分子の大きさに変化して作用するかを観察し得たのでここに報告する。

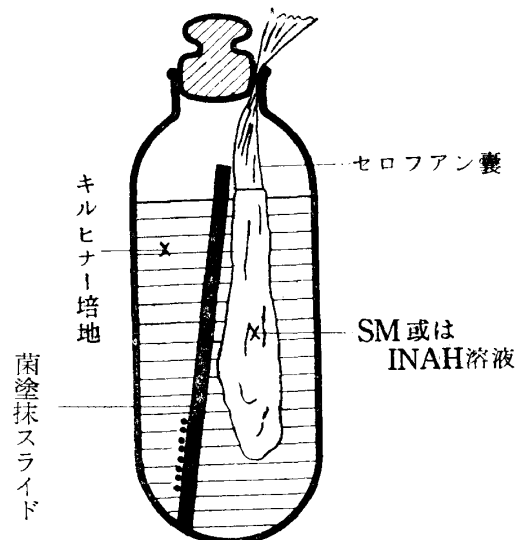
第II章 実験方法

第1節 予備実験として *in vitro* の実験

10%及び50%山羊血清加キルヒナー培地を作製、太い共栓試験管に各 10cc を入れ次に Koch 蒸気釜で滅菌した透析用セロファン 300 番のも

のに SM 0.5g 又は INAH 100mg を 2cc 蒸溜水に溶解した液を駒込ピペットを利用して包み込み試験管中の培地に浸す。対照としては 2cc の蒸溜水を包んだものを用いる。

これらの試験管に H37Rv 菌或は牛 RM 菌を塗抹したスライドガラスを投入してスライド培養法を行うと、SM や INAH 溶液を包み込んだ場合には全く発育せず対照としての蒸溜水を包み込んだ場合にのみ 10% 及び 50% 山羊血清加キルヒナー培地でよく発育する。



かかる *in vitro* の操作ではこのセロファン膜はこれらの抗結核剤を通過させて培地中に移行せしめ、塗抹結核菌の発育を全く阻止する事が判つたのである。

第2節 *in vivo* の実験方法

第1節で予備実験を済ました透析用セロファンを濾過膜として使用して Chamber 内外の高分子成分の交流が全く阻止されている Chamber K 及び全透膜を持った Chamber O を併用して用いた。

健常動物腹腔中に挿入した場合、Chamber K に於ては607号菌等の非病原性菌は良く発育し、毒力結核菌は極く僅かの発育を許すのである。Chamber O では 607 号菌等は極く初期にのみ少し発育し、毒力菌は連続的に良く発育するわけである。

Chamber K 及び O に薬剤耐性既知(第1篇)の H37Rv 菌或は牛 RM 菌及び 607 号菌を塗抹して家兎腹腔中に挿入し 1 ヶ月間各種薬剤を投与した後 Chamber 塗抹菌の発育の有無を両 Chamber で比較し、使用薬剤が *in vivo* に於てセロフェンを通る形で働いているか否かを判定した。

第III章 Chamber 法による *in vivo* の実験成績

実験 1. SM に関して

(i) 20mg/kg を毎日筋肉注射した場合

第 1 表

家 兎	体 重 (kg)	Chamber の種類	塗 抹 菌		
			H37Rv	牛 RM	607号菌
第1例	2.6	O	— —	— —	— —
		K	— —	士 士	— —
第2例	2.5	O	士 士	— —	— —
		K	— —	— —	— —
第3例	2.5	O	— —	— —	— —
		K	— —	— —	士 —
第4例	2.6	O	— —	— +	— —
		K	— —	— —	— —
第5例	2.8	O	— —	— —	— —
		K	— —	— —	— —
第6例	2.7	O	— 弱+	— —	— —
		K	— —	— —	— —
第7例	2.9	O	— 士	— —	— —
		K	— 弱+	— —	— —
対 照 無処置	3.0	O	十 十	十 十	— —
		K	士 弱+	十 十	— —
対 照 無処置	3.1	O	十 十	— —	— —
		K	— 士	— —	十 十
対 照 無処置	3.2	O	十 十	— —	— —
		K	士 十	— —	十 十

1 ヶ月後 Chamber O 及び K 内での塗抹菌の発育状態は第1表に示す如くである。

各菌株共両種の Chamber 内での発育が阻止されている。

(ii) 20mg/kg を週 2 回筋肉注射の場合

第 2 表

家 兎	体 重 (kg)	Chamber の種類	H37Rv
第 1 例	2.6	O	士 士
		K	士 士
第 2 例	2.7	O	士 士
		K	士 士
対照無処置	2.9	O	十 十
		K	十 十

607号菌は対照を含めて全て発育しなかつたので表には載せない。

第2表の如く、この場合も SM は両種 Chamber 内で同様に塗抹結核菌の発育を略々阻止している。

実験 2. INAH に関して

(i) 6mg/kg 毎日筋肉注射の場合の 1 ヶ月後各 Chamber 内塗抹菌の発育

第 3 表

家 兎	体 重 (kg)	Chamber の種類	塗 抹 菌		
			H37Rv	牛 RM	607号菌
第1例	3.0	O	— —	— —	— —
		K	— —	— —	士 十
第2例	2.6	O	— 十	— —	— 士
		K	— 士	— —	十 十
第3例	3.3	O	— —	— —	— —
		K	— —	— —	— —
第4例	2.9	O	十 十	— —	— —
		K	士 士	— —	— —
対 照 無処置	2.8	O	十 十	十 十	士 士
		K	十 十	十 十	十 十
"	3.0	O	十 十	— —	士 士
		K	十 十	— —	十 十

第3表の如く、両種 Chamber で各菌株共阻止されている。

(ii) 10mg/kg 毎日筋肉注射の場合の Chamber 内塗抹菌の発育

第 4 表

家 兎	体 重 Chamber		塗 抹 菌		
	(kg)	の 種 類	H37Rv	牛 RM	607号菌
第 1 例	2.5	O	— —	— —	— —
		K	— —	— —	± ±
第 2 例	2.7	O	— —	— —	± ±
		K	— —	— —	± ±
第 3 例	2.6	O	— —	— —	— ±
		K	— —	— —	± ±
対 照 無処置	2.7	O	++ ++	++ ++	± ±
		K	++ ++	++ ++	++ ++
対 照 無処置	3.0	O	++ ++	++ ++	± ±
		K	++ ++	± ±	++ ++

この場合も INAH は兩種 Chamber で同様に塗抹菌の發育を阻止している。

実験 3. PZA に関して

- (i) 50mg/kg 毎日投与した場合の Chamber 内塗抹菌の發育

第 5 表

家 兎	体 重 Chamber		塗 抹 菌		
	(kg)	の 種 類	H37Rv	牛 RM	607号菌
第 1 例	3.0	O	++ ++	++ ++	± ±
		K	— ±	± ±	++ ++
第 2 例	2.6	O	++ ++	++ ++	± ±
		K	— —	— ±	— ±
対 照 無処置	3.0	O	++ ++	++ ++	— ±
		K	— —	— ±	++ ++

第 5 表の如く、この場合には PZA の菌發育阻止効果は兩 Chamber で認められなかった。

- (ii) 500mg/kg 毎日投与した場合の Chamber 内塗抹菌の發育

第 6 表

家 兎	体 重 (kg)	Chamber の 種 類	H37Rv			
500mg/kg 投 与 例	3.0	O	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
		K	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
対照無処置	2.7	O	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++
		K	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++

1 例のみの成績ではあるが矢張り大量の PZA 投与の菌發育阻止的效果に兩 Chamber で明らかな差は認め得なかつた。

第IV章 考按並に総括

SM, INAH は生体内に於て各々全透膜の粗製硫酸紙と同様に透析用セロファンを通過して Chamber 内の塗抹菌に作用してその發育を阻止している。従つて生体に投与された SM, INAH 等が体蛋白質と結合して、高分子の形でのみ結核菌に作用することはないと考えられる。

SM が INAH に比較して細胞や病巣又は髄膜内に侵入し難いのは SM が生体内で蛋白と結合して高分子の形で働く為ではなくて、矢張り本来の分子量が INAH より大きいこと又、病巣組織への親和性等の差によるものであろう。

PZA に就ては今回の実験のみでは結論が得られない。

擱筆するに当り終始御指導と御鞭撻を賜りました恩師京都大学結核研究所辻周介教授に深甚の感謝と敬意を捧げます。

文 献

- 1) Mackaness, G.B. and Smith, N.; Am. Rev. Tbc. 66, 771 (1952)
- 2) 伊藤俊吉郎; 京大結研紀要, 第 3 卷, 第 2 号, 117 (昭和30年)