

結核性肺病巣に及ぼす INH の効果とその作用機序

京都大学結核胸部疾患研究所胸部外科学部（指導：教授 長石忠三・助教授 寺松 孝）

呉 海 竜

目 次

緒 論

第1章 切除肺からえた結核性肺病巣についての病理組織学的検討

第1節 検討対象ならびに検討方法

第2節 検討成績

第1項 INH 初回単独治療例

第2項 SM 初回単独治療例

第3項 SM, PAS, INH の初回3者併用治療例

第3節 小 括

第2章 実験的結核性肺病巣についての病理組織学的検討

第1節 実験目的ならびに検討方法

第2節 検討成績

第1項 生菌により作成した病巣

(a) 対照群

(b) SM 生菌群

(c) INH 生菌群

(d) あらかじめ INH を作用せしめてえた菌を用いた群—INH 処理菌群

第2項 死菌により作成した病巣

(a) 対照群

(b) SM 群

(c) INH 群

(d) 脱脂菌体群

第3節 小 括

第3章 INH を作用せしめた際の結核菌の菌体脂質量の変動

第1節 実験方法

第2節 実験成績

第3節 小 括

第4章 綜括ならびに考按

結 論

緒 論

INH が SM などの他の抗結核剤に比べて、結核性病巣の吸収癥痕化をより著明に促進せしめることは、臨床経験的にすでにほぼ明らかにされているところである¹⁻⁴⁾。

その作用機序についての報告をみると、細菌学的ならびに酵素化学的観点からするものが多く、病理組織学的立場からするものは極めて少ない。

寺松らは、乾酪性病巣の安定化や吸収癥痕化は、病巣被膜の性状や形成の程度によって左右されるとしており、さらに実験的に動物に作成された乾酪性病巣における被膜の形成程度と使用した結核菌の菌体脂質の量との間には密接な関係があることを明らかにしている⁵⁾。

また、寺松らは、この知見を基にして病巣被膜の性状との関連についても考察し、INH の作用機序について推論している⁶⁾。

しかしながら、寺松らの考え方の根拠となる所見のうちには、なお検討を要する点やいまだ確実とはいえない点がある。本研究の目的はそれらを補足し、かつより確実に立証することにある。

そこで、寺松らの考え方のうち、再検討を要する点やいまだ確実には立証されていない点を指摘し、それらに対応した著者の検討方針について説明することにする。

寺松らは、(1)乾酪性物質が濃染性脂質層、メタクロマシア陽性層および膠原線維層からなる被膜、すなわち、寺松のいう外廓層状組織により被包されている病巣では、乾酪巣の内外の物

質の交流はほとんどみられず、病巣は被包性治癒を営む傾向が強い、(2)その反対に、外廓層状組織の形成が充分でない乾酪性病巣では、乾酪性物質が軟化融解しやすく、病巣は悪化するか、ないしは吸収せられ、癰痕性治癒を営む傾向が強いと述べている⁹⁾。

一方、常盤は、種々の化学療法後に切除された結核性肺病巣を病理組織学的に検討し、INHを使用した場合には、SMのそれに比して、寺松のいう外廓層状組織の形成が抑制される傾向が強く、したがって、病巣は吸収癰痕化されることが多いと報告している⁷⁾。

しかしながら、3層からなる外廓層状組織のうち、どの層が病巣の安定化や吸収癰痕化に最も大きく寄与しているか、さらに、その被膜層の形成はINHの投与に伴ないどのような影響を蒙るかなどについては、なお検討の余地が残されている。

この点について山崎は、彼の検討成績から臨床的に明らかに安定化していると思われた乾酪性病巣の被膜の最も内側にあって乾酪性物質に接してみられる、山崎のいわゆる内側線維層が病巣の安定化に最も大きく寄与しているとしている^{8,9)}。

そこで、もし仮りにINHが乾酪性病巣の吸収癰痕化を促進するとするならば、この山崎の所見と寺松の考え方とから、INHが投与されてきた病巣では、その内側線維層の形成は不良ないしは欠如していなければならない。

そこで、著者は、第1章では、INH、SMのそれぞれの初回単独治療例およびSM、PAS、INHの3者初回併用治療例の切除肺からえた病巣について、病巣被膜、とくに内側線維層を中心に病理組織学的に検討した。

つぎに、青木は、動物に乾酪性病巣を作成する実験において、結核菌の菌体脂質のうちのロウ様物質が病巣被膜の形成を促すことを報告している¹⁰⁾。

寺松は、この知見と前述の常盤の成績とから、INHは結核菌に作用して、その発育を阻止するのみならず、個々の菌の脂質量を減少せしめる結果、SMなどに比べて、病巣内の菌体由来の

脂質量が大巾に減少するために、病巣被膜の形成がより抑制せられ、病巣は吸収ないしは癰痕化されやすいものとなるのであろうと述べている¹⁰⁾。

しかしながら、この寺松の主張はいわば傍証的な知見をその根拠としており、直接的な証明は欠けているといつてよい。

そこで、第2章では、青木らの実験とは反対に、病巣内の菌体の脂質量が減少した場合、どのような病巣が出来るかを知る目的で、脱脂菌体を用いて結核性病巣を作成し、これとINHを投与した実験的結核性病巣とについて病理組織学的に比較検討した。

その際、生菌あるいは死菌による病巣やそれにINHやSMなどを投与したものなどを対照群として作成した。

第3章では、INHが結核菌に作用して菌体の脂質量を減少せしめることを直接的に確実に立証するために、INHを作用せしめた結核菌の菌体脂質量をその作用前と作用後においてFolchの方法¹¹⁾に準じて、定量的に測定した。

第4章は、以上の検討成績にもとづいてINHの作用機序について考察したものである。

第1章 切除肺からえた結核性肺病巣 についての病理組織学的検討

第1節 検討材料ならびに検討方法

検討材料は7例のSM初回単独治療例(以下SM例と略す)12例のINH初回単独治療例(INH例と略す)ならびに20例のSM、PAS、INHの初回3者併用治療例(以下3者例と略す)の切除肺から得たそれぞれの病巣188個、288個および161個である。

これらの病巣の大きさは何れも直径1cm大以下であり、若干の空洞を除き、大部分は被包性乾酪巣からなっている。

検討材料として直径1cm大以下の小病巣を選んだ理由は、このような小病巣は被包化されることが多く、しかも灌注気管支を通じての細菌の汚染などの影響が少ないので、病巣とくにその被膜形成に及ぼす薬剤の効果をより純粹に知りうるからである。

なお、これらの症例の術前の化学療法の期間は最短6月から最長14か月までのものである。

検討方法は切除肺を10%ホルマリン液で固定し、3～5ミクロンの厚さのパラフィン切片とし、型の如く

ヘマトキシリン・エオジン染色と vanGieson 染色を施し、病巣被膜とくにその内側線維層の形成状態を中心として検討した。

第2節 検討成績

第1項 SM 例の病巣

一般に、写真1のように、内側線維層が乾酪性物質の全周にわたり形成されている病巣では、山崎のいうように、肉芽組織が内側線維層を越えて乾酪巣内に侵入している所見はみられず、被包化の傾向が強いといえる。

第1表は、SM 例の病巣 185個を内側線維層とその外側にみられる非特異性肉芽層の発達の程度とにより分類したものである。

第1表 SM 例188個の病巣

←内側線維層の形成程度

↑肉芽組織の発達程度		全周にわたる	部分的	ほぼみられず	計
	良好	10	15	54	79 (42.0)
	やや良好	18	14	11	43 (22.9)
	不良	36	30	0	68 (36.2)
	計	64 (34.6)	59 (30.9)	65 (34.6)	188 (100)

() 内は総病巣数に対する%を示す

この表から明らかなように、内側線維層が乾酪性物質の全周にわたり形成されている病巣は188個中64個で34.6%、部分的に形成されている病巣は59個、30.9%を占めている。

つぎに、内側線維層の形成が、全周にわたるもの、部分的なものおよびほぼみられないもののうち、非特異性肉芽組織の発達の良好な病巣はそれぞれ10/64、15.6%、15/59、25.4%および54/65、83.1%となっている。

すなわち、内側線維層の形成が著明となるに随って、非特異性肉芽組織の発達が不良になることを示している。

SM 例の病巣では一般に病巣被膜はよく発達しており、とくに山崎のいわゆる内側線維層が形成されているものが多い。

第2項 INH 例の病巣

第2表は、第1表と同様に、INH 例の病巣288個を内側線維層と非特異性肉芽層の発達の程度とにより分類したものである。

第2表 INH 例288個の病巣

←内側線維層の形成程度

↑肉芽組織の発達程度		全周にわたる	部分的	ほぼみられず	計
	良好	0	4	185	189 (65.6)
	やや良好	0	30	18	48 (16.7)
	不良	6	38	7	51 (17.7)
	計	6 (2.1)	72 (25.0)	210 (72.9)	288 (100)

() 内は総病巣数に対する%を示す

この表から明らかなように、内側線維層が全周にわたってみられるものは6個、2.1%を占めるにすぎない。

内側線維層の形成が部分的なものは72個で25.0%であり、ほぼみられないものは185個で64.2%にも達する。

つぎに、内側線維層の形成が全周にわたるもの、部分的なものおよびほぼみられないもののうち、非特異性肉芽組織の発達の良好な病巣はそれぞれ0/6、0%、4/72、5.6%および185/210、88.1%となっている。

このようにINH 例の病巣においても、SM 例のそれと同様に内側線維層の形成が良好なものでは、非特異性肉芽組織の発達は不良である。

INH 例の病巣では、膠原線維性の被膜は一般に薄く、乾酪性物質の全周にわたり内側線維層が形成されている病巣は極めて少ない。

また、被膜のうち、特異性肉芽組織がみられるべき部分において、豊富な毛細血管を伴った非特異性肉芽組織がよく発達している。

しかも、この肉芽組織は、SM 例のそれと比べて、より非特異性肉芽組織に近いものとなっており、しばしばその一部は乾酪巣内に侵入している〔写真2、写真3〕。

また、乾酪巣内には、肉芽層から侵入した好

中球や多核球などの破壊された核の破片が多数認められることが多く、このような部位の乾酪性物質は粗鬆になっている。

これらの所見はいずれも病巣の吸収癰痕化が進行していることを示す。

第3項 3者例の病巣

第3表は、3者例の病巣161個を第1表、第2表と同様に、病巣の内側線維層と特異性肉芽組織の発達の程度により分類したものである。

第3表 3者例161個の病巣

←内側線維層の形成程度					
↑肉芽組織の発達程度		全周にわたる	部分的	ほぼみられず	計
	良好	1	17	79	97 (60.2)
	やや良好	5	15	10	30 (18.7)
	不良	5	28	1	34 (21.1)
	計	11 (6.8)	60 (37.3)	90 (55.9)	161 (100)

() 内は総病巣数に対する%を示す

表から明らかなように、内側線維層の形成が全周にわたるもの、部分的なものおよびほとんどみられないものは、それぞれ、11個、7%、59個、37%および90個、56%となっている。

しかも、それぞれの病巣のうち、非特異性肉芽組織の発達の良好なものはそれぞれ1/11、9.1%、17/59、28.8%および79/90、87.8%となっている。

すなわち、3者例の病巣においても、内側線維層の形成が良好なものでは非特異性肉芽組織の発達は不良である。

3者例の病巣では、INHの病巣に近いものやSM例の病巣に近いものが混在してみられるが、前者に近い病巣の方が多い。

第3節 小 括

(1) 乾酪性病巣における寺松の所謂外廓層状組織の発達の程度は山崎のいわゆる内側線維層のそれとよく対応しており、このことから、内側線維層の発達の程度から乾酪性病巣の被包安

定化の程度や吸収癰痕化の可能性の大小を推定して大過ないものと思われた。

このことは、内側線維層の形成が良好な病巣では、被膜における非特異性肉芽組織の発達は不良であることから裏書きされている。

(2) SM例の病巣では、一般に内側線維層が発達しているものが多く、特異性被膜の非特異化の傾向も比較的に少ない。すなわち、SM例の病巣は被包化される傾向が強いとしてよい。

(3) INH例の病巣では、一般に内側線維層が乾酪性物質の全周にわたり形成されているものは、SM例のそれに比べて極めて少い。

また、特異性被膜の非特異化傾向が著明で、豊富な毛細血管を伴った非特異性肉芽組織がよく発達している。

これらの肉芽組織は、しばしば乾酪巣内に侵入しており、しかも、乾酪巣内には、乾酪巣外から侵入したと思われる多核白血球やリンパ球などが多数みられる。

これらのことは、INHの投与に伴ない、病巣の吸収癰痕化が進行しつつあることを示している。

(4) 3者例の病巣では、INH例の病巣に近いものが多い。

(5) これらから、INHの投与に伴ない病巣の被膜とくに内側線維層の形成は抑制せられ、そのために、病巣は吸収癰痕化の傾向を強めるといえる。

これに対して、少なくともSMのみの投与では、内側線維層の形成は抑制されず、病巣はむしろ被包化の傾向を強める。

第2章 実験的肺病巣についての病理組織学的検討

第1節 実験目的ならびに検討方法

前章においては、人の結核性肺病巣を検討材料として、SM例とINH例とについて病理組織学的に比較検討し、INHの作用機序を知ろうとした。

本章では動物実験的に同様のことについて検討した成績について述べる。

著者が実験的に結核菌を用いて作成した病巣をその作成方法から分類すると次のようになる。すなわち、

- (1) 生菌により作成した病巣（以下生菌群とする），
 - (a) 対照生菌群，感染後無処置のまま放置したもの，
 - (b) SM 生菌群，感染後 SM を投与したもの，
 - (c) INH 生菌群，感染後 INH を投与したもの，
 - (d) INH 処理菌群，あらかじめ 0.1 γ の濃度の INH を作用せしめて得た菌を用いて病巣を作成し，以後無処置のまま放置したもの
- (2) 死菌により作成した病巣（以下死菌群とする），
 - (a) 対照死菌群，病巣作成後無処置のまま放置したもの，
 - (b) SM 死菌群，病巣作成後 SM を投与したもの，
 - (c) INH 死菌群，病巣作成後 INH を投与したもの，
 - (d) 脱脂菌体群，煮沸により死菌としたものを脱脂し，これにより病巣を作成，無処置で放置したもの，

の計 8 群である。

これらの諸実験における第 1 の目的は，著者が第 1 章の人の切除肺結核病巣についての病理組織学的所見からえた INH の効果を動物実験により確認することにある。

第 2 の目的は，INH の作用機序についての寺松の考え方，すなわち，INH は結核菌に作用して菌体の脂質量を減少せしめ，その結果病巣の被膜の形成が阻害せられ，病巣の吸収癰痕化傾向が促進されるという仮説を完結的に確証することにある。

実験動物としては各群ともに成熟モルモット 6～9 匹を用い，病巣作成には Sauton の培地に 3 週間培養した H₃₇R_v を使用した。

病巣作成方法は山村氏の方法に準じた。

薬剤の投与は感染直後より SM ならば 50 mg を週 2 回，INH ならば 10 mg を毎日，両者とも筋注という方法により行なった。

なお，あらかじめ INH を作用せしめて得た菌とは，Sauton の培地に 2 週間培養した菌に 0.1 γ /cc の濃度の INH を 7 日間作用させて得たものであり，脱脂菌体としては，クロロフォルム，メタノール液により脂質を抽出除去した残渣を使用した。

検討時期は，対照死菌群，INH 死菌群ならびに SM 死菌群では，感染後 4 週目で，その他ではいずれも感染後 2 週目および 4 週目である。

剔出した肺病巣は 10%ホルマリン液に固定して 3～5 ミクロンの厚さのパラフィン切片とし，型の如くヘマトキシリン・エオジン染色と vanGieson 染色を施し，鏡検，観察した。

第 2 節 検討成績

前記の方法で動物に実験的に作成した結核性肺病巣においては，内側線維層の形成は全く認められなかった。

しかしながら，それぞれの群においては興味ある知見がえられており，以下それらについて記述する。

第 1 項 生 菌 群

(a) 対照生菌群

感染後無処置のまま放置した対照生菌群の病巣では，著明な壊死形成と周焦炎がみられるものが多い。

しかも，この傾向は 2 週目の病巣より 4 週目の病巣においてより著明であり，病勢が進行していることを示している〔写真 4〕。

また，4 週目の病巣のうちには，少数ながら，壊死組織を被包するように線維の増殖がみられ，被包性の治癒傾向を示す病巣や，肉芽組織の形成が著しく，吸収癰痕化の傾向を示す病巣なども認められる。

(b) SM 生菌群

SM を投与した 2 週目の病巣では，対照生菌群の病巣と同様に，著明な壊死形成と周焦炎が見られるが，4 週目の病巣では周焦炎が著しく抑制せられ，病巣は限局化されている。

病巣の被膜部は，対照病巣に比べて，線維成分の増加が著しく，病巣は被包化の傾向が強い〔写真 5〕。

(c) INH 生菌群

INH を投与した 2 週目の病巣では，対照群のそれとはほぼ同様に著明な壊死形成がみられるが，4 週目の病巣では，壊死組織の大きさはかなりの程度に小さくなっている。

病巣の被膜部には，対照生菌群のそれに比べて，線維成分は少なく，類上皮細胞を含んだ肉芽組織がみられ，病巣は吸収癰痕化の傾向が強い〔写真 6〕。

(d) INH 処理菌群

0.1 γ /cc の INH を 7 日間作用せしめた菌を用いて作成した 2 週目の病巣では，INH 生菌群のそれに比べて，壊死組織はさらに小さく，ま

たその数も少なくなっており、類上皮細胞の増殖はより著しくなっている。

また、被膜部における線維成分は非常に少ない〔写真7〕。

これに対して、4週目の病巣では、著明な壊死形成と周焦炎がみられるようになり、病巣は、対照生菌群のそれに近いものになっている〔写真8〕。

第2項 死菌群

(a) 対照死菌群

死菌を用いて病巣を作り、無処置のまま放置した対照群では、かなりの程度の壊死巣と軽度の周焦炎とがみられる〔写真9〕。

概して滲出性傾向は強くない。

病巣被膜部には、線維成分の増加がみられるものや肉芽組織の形成の良好なものなどがみられ、病巣は、被包化の傾向を示すものと吸収癰痕化の傾向を示すものとが混在している。

(b) SM 死菌群および (c) INH 死菌群

これら両群の病巣では、何れも死菌群の対照病巣とほぼ同様の所見がみられる。

すなわち第1項の生菌群の病巣でみられたような、SM または INH の投与に伴う特異な所見はみられない。

(d) 脱脂菌体群

脱脂菌体を用いて作成した病巣では、壊死形成が全くみられないことが特色で、病巣は類上皮細胞の集団といってよい。

壊死巣が招来されていないため、病巣被膜の形成は全くみられない〔写真10〕,〔写真11〕。

第3節 小 括

(1) 対照生菌群の病巣では、著明な壊死形成と周焦炎がみられ、これらは経時的に増悪の傾向を示す。

このことは、結核菌 H₃₇R_v 株がモルモットに対して強い病原性を有することから当然である。

反面、増悪傾向を示す多数の病巣とならんで、被包化や吸収癰痕化の傾向を示す病巣も稀ではない。

(2) SM 生菌群の病巣では、周焦炎が著しく抑制せられ、病巣は限局化し、被包化の傾向が

強いが、これに対して INH 生菌群の病巣では、壊死巣が少なく、かつ肉芽組織の発達が著明で、多くの病巣において吸収癰痕化の傾向がみられる。

(3) 一方、INH 処理菌群の病巣では、少なくとも投与開始後2週目においては、INH 生菌群の病巣とほぼ同じ所見を呈する。

(4) しかしながら、(1), (2)および(3)のいずれの病巣においても、人の安定した乾酪性病巣の被膜部にみられたような内側線維層や成熟した層状の膠原線維の形成は認められない。

したがって、著者の行なった動物実験の条件の下では、INH と SM の治療効果の相違は一応みとめられはしたが、人の病巣の場合にみられる程著明ではなかったといいうる。

(5) INH 死菌群および SM 死菌群の病巣では、いずれにおいても対照死菌群のそれと全く同様の所見がみられた。

このことから、田中らのいうように、INH や SM は病巣に対して直接的に、あるいは生体を介して間接的に、作用するものではなく、当然ではあるが、INH や SM は病巣内の生菌に作用して、それぞれに特異な病理組織学的所見をもたらすものと考えられる。

(6) 脱脂菌体群の病巣では、壊死巣は全くみられず、病巣は類上皮細胞結節の所見を呈している。

(7) INH 生菌群、INH 処理菌群、および脱脂死菌体群の病巣における共通した所見として、壊死形成の減弱と壊死巣の数の減少とを指摘しうる。

さらに壊死巣は形成されている場合においても、その被膜の性状からみて、壊死巣の吸収癰痕化傾向が顕著となっていることは注目すべきである。

この傾向は、菌体脂質量が最も少なくなっている脱脂菌体群の病巣において最も顕著にみられる。

(8) 以上の所見は、INH が生菌に作用して菌体の脂質量を減少せしめ、その結果、病巣の吸収癰痕化傾向を促がすことを示唆している。

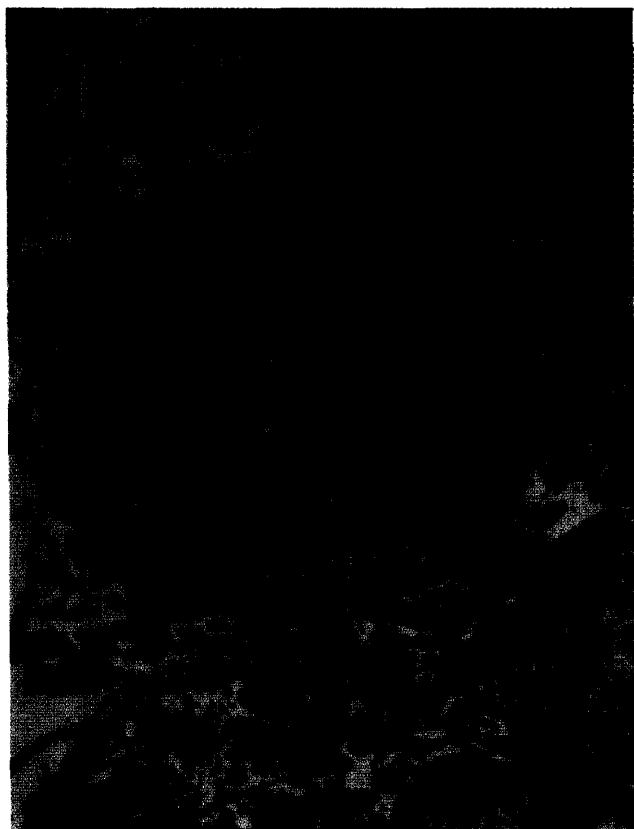


写真1 SM 単独治療例
乾酪性物質の全周にわたり内側線維層の
形成がみられる。



写真3 INH 単独治療例
非特異化した肉芽組織が乾酪巣内に侵入
している。

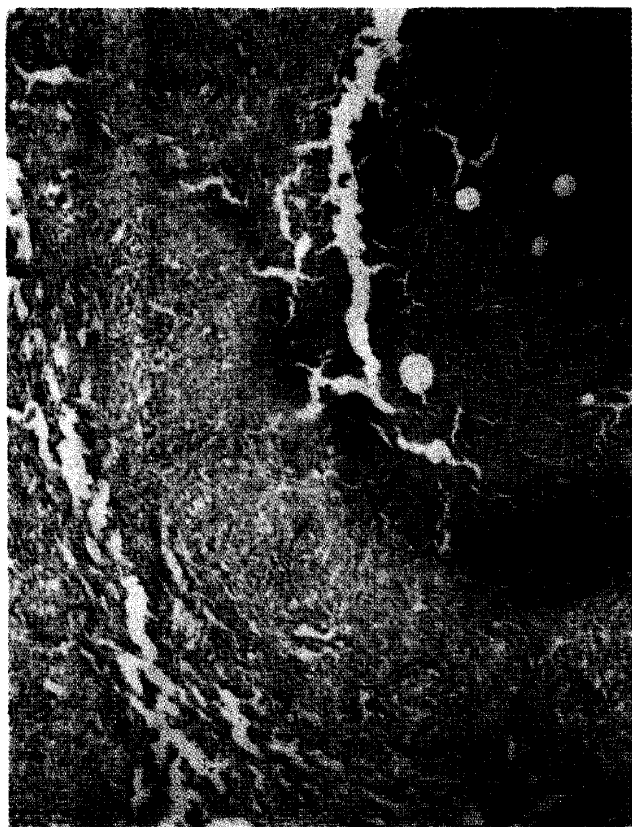


写真4 対照例のモルモットの病巣(4週目)
著明な壊死巣と周焦炎がみられる。



写真5 SM 治療例のモルモットの病巣(4週間)
周焦炎が抑制され、被包化の傾向が強い。

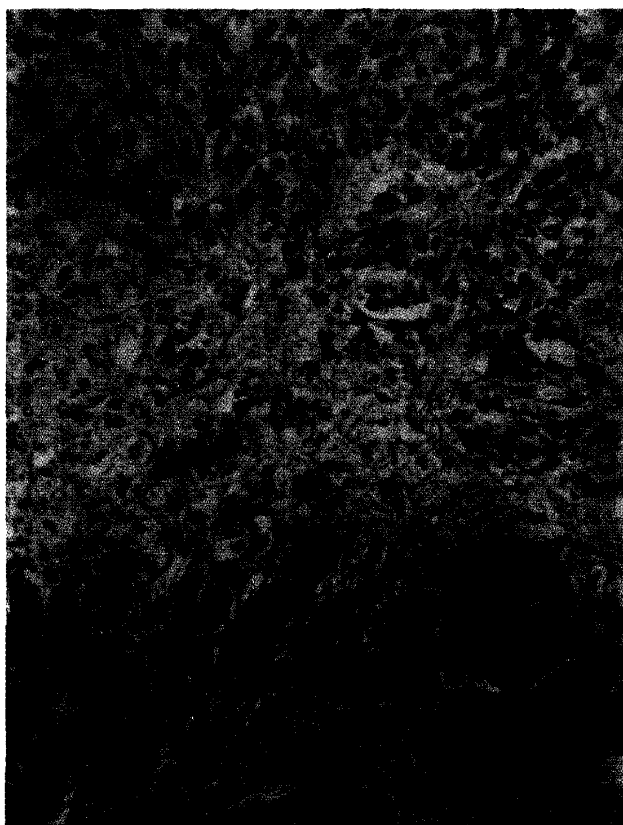


写真6 INH 治療例のモルモットの病巣(4週目)
類上皮細胞を含んだ肉芽組織の増殖が著
名で吸収瘢痕化の傾向が強い。



写真7 INH 処理菌によるモルモットの病巣
(2週目)
INH 治療例の病巣と同じ傾向を示す。

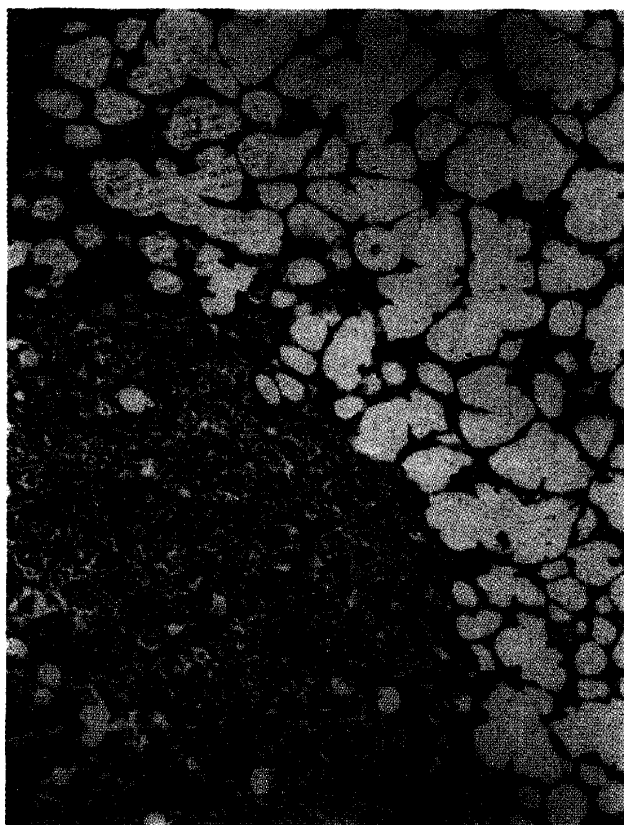


写真10 脱脂菌体による4週目の病巣(弱拡大)
壊死巣が全くみられず、従って病巣被膜
の形成もみられない。

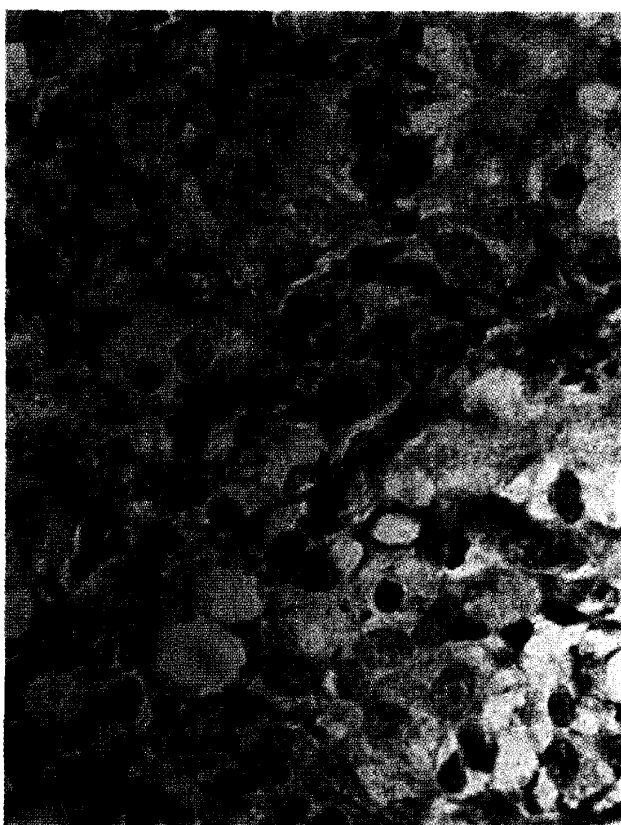


写真11 脱脂菌体による4週目の病巣(強拡大)
類上皮細胞の増殖著明。



写真2 INH 単独治療例
内側線維層はみられず，肉芽組織の発達が
著明である。

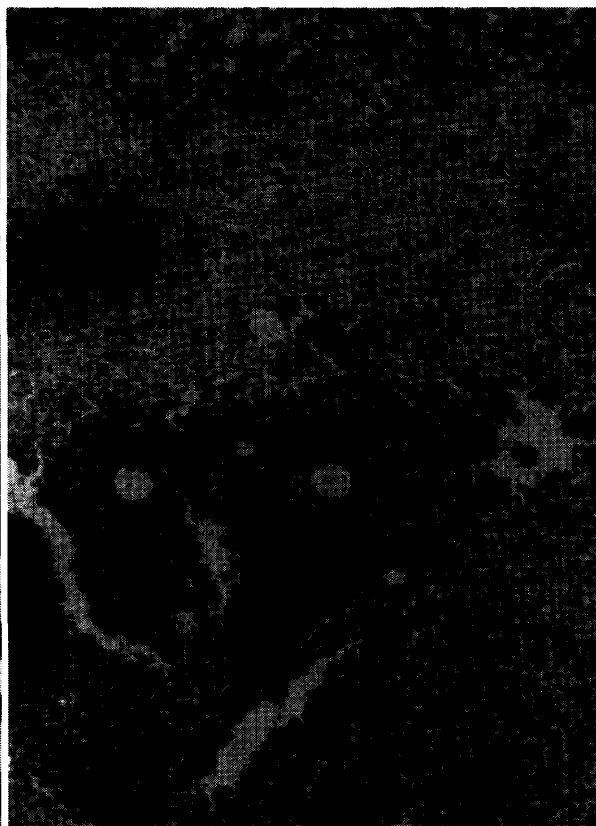


写真8 INH 処理菌によるモルモットの病巣
（4 週目）
著明な壊死巣と周焦炎がみられる。



写真9 死菌によるモルモットの病巣（4 週目）
壊死巣はみられるが周焦炎が軽度である。

第3章 INH を作用せしめた際の結核菌の菌体脂質量の変動

INH が結核菌に作用してその菌体の脂質を減少せしめることをより確実に立証するために、INH を作用せしめた結核菌の菌体脂質量を Folch の方法¹⁾ に準じて定量した。

第1節 検討対象菌の作成方法と脂質の抽出方法

検討対象菌の作成方法は次のとおりである。すなわち、500 ml のコルベン40本に Sauton の培地をそれぞれ 200 ml 宛注入する。

各培地の表面に 1 cm² 大の H₃₇R_v 株の菌膜を沈めないように浮かべる。

この H₃₇R_v 株は、抗結核剤に耐性がみられず、しかも Sauton の培地に慣らされている。

2週間増菌せしめると、菌膜は各培地液面のほぼ2/3の広さを占めるに至る。

この時期に、5個ずつのコルベン中に、それぞれ第4表に示したような種々の濃度になるように INH を加える。

1週間培養をつづけた後、菌体を取り出し加熱により殺菌する。

対照菌は薬剤を加えないままに3週間培養しておき、加熱殺菌したものである。

型の如くろ過して集めた菌をデシケーターに入れ、水流ポンプで減圧しながら2日間乾燥せしめた。

抽出方法は Folch の方法に準じた。すなわち、溶媒は中性に精製されたクロロフォルムとメタノールの2:1の混合溶液と0.6%の塩酸を含んでいるクロロフ

ォルムとメタノールの2:1の混合液の2種類である。

抽出操作は、小フラスコに乾燥菌体 500 mg と溶媒 10 cc を混和せしめ、マグネティックスターラーを用いて自動攪拌せしめながら大気中で2時間抽出した。

抽出回数は、第1の溶媒すなわちクロロフォルム、メタノール液での2回、塩酸加クロロフォルム、メタノール液での4回、計6回である。

抽出溶液中の溶媒はエヴァポレーターにより溜去した。

第1の溶媒で抽出した脂質中には不純物は含まれていないが、第2の溶媒すなわち塩酸加クロロフォルム、メタノール溶液で抽出した脂質は親脂質といわれ、脂質以外の不純物が含まれている。

これらの不純物は Folch の水洗法によって除去した。

第2節 実験成績

第4表は、各濃度の INH に浸漬しながら培養した結核菌の菌体脂質量をそれぞれ3回繰返して定量し、その平均値を示したものである。

表から明らかなように、対照菌体の脂質量は乾燥菌体重量の約26%弱を占めている。

0.01 γ/cc から 20 γ/cc までの種々の濃度の INH を作用せしめた結核菌の菌体脂質量はそれぞれ減少しているが、その際の減少の程度は作用せしめた INH の濃度によって異なっている。

最も大きく減少している試料の INH の濃度は 0.1 γ/cc で対照菌体の脂質量に比べて 11.91 % の減少となっている。

第4表 種々の濃度の INH, SM を作用させたときの脂質量

対象菌種 溶 媒	対 照	I N H の 濃 度				
		0.01γ/cc	0.05	0.1	5	20
C + M	73.98mg (57.27%)	69.55mg (56.21)	65.02mg (55.93)	60.04mg (57.83)	68.98mg (58.53)	67.01mg (54.54)
C + M + HCl	55.23 (42.73%)	54.19 (43.79)	51.25 (44.07)	43.78 (42.17)	48.87 (42.47)	55.86 (45.46)
計	129.21	123.74	116.27	103.82	117.85	122.87
減 少 度	0	[4.23%]	[10.01]	[11.91]	[8.79]	[4.13]

C = クロロホルム M = メタノール

() は各群の総脂質量に対する溶媒別の脂質量比

[] は対照菌の脂質量に対する各群の脂質量の減少率

また、表で明らかなように、対照菌からクロロフォルム、メタノール液で抽出される脂質の量は、菌体総脂質量の 57.27%であり、従って塩酸加クロロフォルム、メタノール液で抽出される脂質の量は総脂質量の 42.73%となる。

この菌体総脂質のうち、塩酸加クロロフォルム、メタノールにより抽出される脂質画分は、対照菌あるいは INH を作用させた菌の何れにおいても、ほぼ同じ割合で含まれていた。

第3節 小 括

INH が結核菌の菌体脂質量を減少せしめることを明らかにする目的で、*in vitro* で各種の濃度の INH を作用させた菌の菌体脂質量を Folch の方法に準じて定量した。

その成績をまとめてみると、次のようになる。

(1) 各種の濃度の INH を作用させた菌の菌体脂質量はそれぞれ減少しているが、その減少の程度は INH の濃度により異なり、0.1 γ /cc の濃度の場合、11.91%と最大であり、INH の濃度がそれよりも濃い場合にも、薄い場合にも脂質量の減少度は小となる。

(2) クロロフォルム、メタノール画分の量と塩酸加クロロフォルム、メタノール画分の量との割合は、INH を作用させたものの何れにおいてもほぼ同じであり、またこの割合は対照菌においても同様である。

このことは、INH を作用させた場合、菌体脂質の特定の画分が減少するのではなく、同じ割合で全体として減少していることを思わせる。

第4章 綜括ならびに考按

本章では、これまで記述した処をまとめながら考按を加え、INH の作用機序についての著者の見解をまとめてみたい。

人の切除肺についての検討成績から、INH を投与した場合には、SM の場合に比べて、乾酪性病巣の吸収癰痕化が促進されているといえる。

INH 例の結核性肺病巣のうち、内側線維層が乾酪性物質の全周にわたってみられる病巣の数は、SM 例のその約1/16に過ぎない。

このことは、INH を投与した病巣では、SM を投与した場合に比べて、内側線維層が全周にわたって形成されているものがはるかに少ないことを示している。

著者のえた所見によると、SM 例に多い内側線維層が全周にわたってみられる病巣では、乾酪巣内へ炎症細胞が浸潤している所見は全くみられないのに対して、INH 例に多い内側線維層が全くみられない病巣やみられても部分的のみである病巣では被膜部を越えて豊富な毛細血管を伴った肉芽組織がしばしば乾酪巣内に侵入しており、また、好中球などの細胞浸潤やそれらの細胞の崩壊した核の破片などが乾酪性物質中にみられることが多い。

さらに、INH 例の病巣では、被膜部のうちの肉芽組織は SM 例のそれに比べて、一般炎症の際のそれに近くなっている。

これらの所見から、INH 例の病巣では、SM 例のそれに比べて、吸収癰痕化傾向がより強いといえる。

周知のように、乾酪性病巣が吸収ないしは癰痕化されるためには、まずその内容である乾酪性物質の軟化融解が始まらねばならない。

しかしながら、乾酪性物質中においては、自家融解をきたすに充分な各種の分解酵素は、乾酪化の過程においてすでにほとんど失われており、これに加うるに、乾酪性物質中に大量に含まれている脂質は蛋白酵素に対して阻害作用を示す^{10,12)}。

それであるから、乾酪性病巣の内容の軟化融解は、気管支炎や周焦炎その他に際して乾酪巣外から巣内へ各種の分解酵素が新たに進入して初めて招来されるのである。

Rich¹³⁾、Weiss¹⁴⁾ らは、乾酪性物質中の各種の分解酵素は、巣外から浸潤してくる白血球に由来するとしているが、このことから考えても、乾酪性病巣が癰痕性に治癒するかあるいは被包安定化されるかは、主として乾酪巣内への白血球の進入の程度により規定されるといい得る。

一方、寺松らは、各種の検討成績から、乾酪巣の内外からする物質の交流の程度は、病巣被膜における外廓層状組織の形成状態から推定し

うとしている。

すなわち、乾酪性物質が彼のいう外廓層状組織により完全に被包されている病巣では、その被膜の透過性は著明に低下しており、細胞はもちろん、高分子化合物である酵素などもまたこの被膜を透過しえないとしているのである。

したがって、このような病巣は、内容の軟化融解をきたしがたく、安定化しているとしてよい。

これに対して、外廓層状組織が全く形成されていない乾酪性病巣では、病巣の内外からする物質の交流は障害されていないので、その内容である乾酪性物質は軟化融解しやすく、このような病巣が治癒に向っている場合には、吸収ないしは癒着化されやすいということになる。

さらに、常盤は、種々の化学療法を行なった症例の切除肺病巣について病理組織学的に検討し、INHは外廓層状組織の形成を抑制することにより、病巣の吸収癒着化を促がすが、SMはむしろ外廓層状組織の形成を促がして、病巣の被包安定化を強めるとしている⁷⁾。

著者の成績からは、INHはSMに比べて、外廓層状組織のうちでもとくに内側線維層の形成を抑制することにより、乾酪巣内への各種の分解酵素ならびに肉芽組織の進入を容易ならしめ、その結果、病巣は吸収癒着化の傾向を強めるといえる。

山崎も、病巣被膜を構成している膠原線維層のうち、内側線維層が蛋白分解酵素に対する抵抗性が最も強いことから、この線維層の形成が肉芽組織の進入を阻止する最も重要な因子であろうとしている⁸⁾。

したがって、著者の知見と山崎のそれとを併せ考えるならば、形態的にも機能的にも、乾酪性病巣の安定化を保持する組織は内側線維層であるといえるのである。

なお、山崎のいう内側線維層とは寺松のいう外廓層状組織のうち、メタクロマジア陽性層を含み、さらに、それよりもやや広いものと思われる。何れにせよ、これは若干変質した膠原線維層であろう。

第2章における諸実験は、このような切除肺

での所見を動物実験的にも確認しようと試みたものであるが、この著者の意図は完全に果していない。

すなわち、INH生菌群とSM生菌群とについて比較検討した結果、人の場合と同様に、一応、前者においては吸収癒着化の傾向を、後者においては被包化の傾向をみとめたが、内側線維層の形成は動物実験において作成した病巣においてはほとんど認めえなかったのである。

その主たる原因は、著者の実験では、死菌を用いた実験群と対照する必要もあって感染から屠殺までの期間が4週間と比較的短かったことによるとと思われる。

これは人の乾酪性病巣にみられる内側線維層や密な層状の膠原線維は、発病後かなりの長期間を経過した後にようやく形成されるものであり、動物実験においても、著者の場合よりもより長期の観察が必要であるからである。

事実、宮林¹⁵⁾は家兎に実験的に作成した結核病巣に対して、また、Curci¹⁶⁾、神式¹⁷⁾らはモルモットの皮下に乾酪性物質を挿入し、作成した病巣に対して、長期間にわたりINHまたはSMを投与し、それぞれの薬剤の治療効果の差異を確認している。

とくに、宮林は家兎においても外廓層状構造の形成の程度から、INHによる乾酪性病巣の吸収癒着化の促進を明らかにしたしている。

しかしながら、著者が行なった動物実験の主な目的は、脱脂菌体群(死菌)をINH生菌群あるいはINH処理群と比較することにより、そのために脱脂菌体により作成された病巣が早期の結核性炎症の形で終始し、乾酪化の傾向を示さないことを考慮して、観察期間を4週間で折ち切ったのである。

これが内側線維層なる観点より動物実験の成績について検討し得なかった原因であると思われる。

しかしながら、宮林が長期にわたって観察することによりえた病巣においても、外廓層状構造は人の場合ほど明らかにみられず、とくに内側線維層はほとんど形成されていないように思われる。

このことは神武の場合にも同様であり、結核性病巣における動物と人との間の本質的な差異がこの辺りにあるともいいうるようである。

さて、病理組織学的観点より INH の効果を論ずる上で無視しえないのは田中の成績である。

田中によると、INH には、結核菌に対するその静菌作用のほかに、局所の間葉系を賦活する作用があるとしており、これが乾酪巣の軟化融解に参与しているということである¹⁸⁾。

橋村もまた、異物性炎において、INH のこの作用を認めている¹⁹⁾。

著者の INH 死菌群と SM 死菌群との病巣を比較検討したところによると、両群ともに対照死菌群と同様な所見を示し、血管の新生や充血等の間葉系の賦活に伴うべき所見が著明に認められるのは、INH 生菌群においてのみである。

それであるから、著者の実験成績から考察すると、田中らの見解は誤りであり、INH の投与時にみられる病巣周辺の血管の新生や充血などの所見は、INH が間葉系に作用した結果ではなく、生菌に直接作用した結果としてもたらされたものと考えられる。

一方、INH 生菌群と脱脂菌体群との病巣では全期を通じて、また、INH 処理群ではその2週目において、それらに共通した特徴のある所見が認められている。

すなわち、壊死巣の数が少なく、しかもそのうちの壊死組織の量も僅かであるためにこれを被包する被膜の形成は貧で、類上皮細胞の増殖が著明となっていることである。

しかも、これらの所見は、前記の3群のうち、化学的な方法で脱脂した脱脂菌体群の病巣において最も顕著に認められ、病巣はあたかも類上皮細胞結節を思わせる。

これらの所見は、INH が結核菌に作用して菌体の脂質量の減少をもたらす方向に働いていることを示唆する。

なお、INH 処理菌群の4週目の病巣では、生菌群のうちの対照群の2週目の病巣に近い所見がみられたが、この理由は次のように考えられる。

0.17/cc の濃度の INH を7日間作用せしめた直後の菌と2週目の病巣より検出された菌とは、何れも Ziel-Toda 法により淡紅色に染色されるものが大部分であるが、4週目の病巣からは真紅に染色される正常の抗酸性菌が無数に検出されている。

このことから、2週目の病巣の特異な所見は INH の影響を受けた抗酸性の低下した、脱脂菌に近い菌によりもたらされたものであるが、4週目の病巣の所見は、すでに INH の影響から脱し、病巣内で新たに増殖したと思われる正常の抗酸性菌によって招来されたものと考えられるのである。

これらの成績から、病巣内の結核菌の抗酸性が低下するに伴って、すなわち、菌体中の脂質量が減少するに伴って、病巣内の壊死組織あるいは乾酪性物質が少なくなり、極端な場合には、類上皮細胞結節となるといいうる。

そして、INH 生菌群と INH 処理菌群との病巣においては、脱脂菌体群のそれと病理組織学的に相似した所見がみられたのである。

病理組織学的観点から得られたこのような諸知見よりすると、INH は、試験管内でも病巣内でも、結核菌に作用してその脂質量を減少せしめるとしてよいと考えられるが、さらにこれをより端的に立証するために、第3章においては、あらかじめ種々の濃度の INH を作用せしめた結核菌における菌体脂質量の変動を化学的に定量したのである。

これによると、培養液中に INH を添加することにより、菌体脂質量が最も減少するのは、培養液中の INH の濃度が 0.17/cc のときである。Armstrong によるとこの濃度の INH では、結核菌はかなりの程度の静菌作用をうけるが、殺菌作用は軽度である。

それであるから、この辺りの INH の濃度では、かなりの量の結核菌が INH の影響を受けながらもなお若干の発育をつづけているものと思われる。

INH による脂質合成の阻害は、結核菌が増殖する過程においてみられるものと考えられるならば、その阻害作用を示すに充分で、しかも菌の発育

を大巾には阻止しない濃度において、菌体脂質量の減少率は最大となると思われる。

著者の実験結果よりみると、そのような INH の濃度は 0.1 γ /cc ということになり、これよりも INH の濃度が濃くなっても薄くなっても脂質量の減少率は低下している。

H, Russe らは、10 γ /cc の濃度の INH を作用させた結核菌の菌体脂質量を定量している。

その結果、対照菌の菌体脂質量は乾燥菌体重量の 16.47% を占めているが、INH を作用させた菌のそれは 11.59% であり、対照菌の脂質量に比べて約 30% の減少を示したと報告している²⁴⁾。

この成績は最大 11.91% 減少という著者のそれと大きな差異がみられるが、これは、使用した培地、菌株、培養期間、作用させた INH の濃度ならびに脂質の抽出方法などが全て異なっていることによると思われ、単純に比較することは出来ない。

とくに、著者は、培養した菌膜が培養液面の約 2/3 の広さに達したときに INH を作用させており、そのために、INH を作用させるまでに増殖していた抗酸性菌は、そのまま定量対象菌のうちに含まれたままで定量されていることによる。

すなわち、著者の定量対象となった結核菌のうちの少なくとも 2/3 は定量前に既に抗酸性菌になってしまっていたものであり、残りの 1/3 のみが INH を作用せしめた後に増殖した菌である。

一般に INH を 1 週間作用せしめた時、すなわち培養開始後 3 週目では、対照群の場合にはほぼ液面を満す程度の菌の増殖がみられ、INH を作用せしめたものではその程度に応じて発育の減少がみられるのが常である。

たとえば、20 γ の濃度に INH を添加したものでは、菌膜は 1 週後も添加時の広さのままに止まっている。それであるから、この群における脂質量の減少が軽微であったのは当然と思われる。

また、Russel らのえた減少率は著者の場合の約 3 倍となっているが、前記のように、著者

の場合、少なくとも 2/3 は通常の抗酸菌であったことから考えると、Russel と著者とはほぼ同じ減少率をえたとしてよいようである。

このような成績から、INH による脂質合成阻害は、発育途上の、すなわち、未だ抗酸性の不十分な若い菌にみられると結論してよい。

INH による結核菌の抗酸性の低下なる現象は、文献的にみても、藤原がすでに電子顕微鏡的に菌体被膜構造の破壊や消失として報告している処であり、量的な問題を除けば問題はないと思われる。

問題は、この程度の脂質量の減少により、臨床的に切除肺でみられたような病巣の病理組織学的変化が招来されるか否かであろう。

著者の成績によると、0.1 γ /cc の INH に浸漬した結核菌は 10% 程度の脂質量の減少をみるが、この程度の菌によって作成された病巣においても、病理組織学的には、その病巣の炎症型式は一般炎症のそれに近くなっており、とくに、2 週目の所見では、脱脂菌体を用いた場合とほぼ同様の所見がみられている。

このような知見から、著者は INH を投与することにより招来される。病巣内結核菌の脂質量の減少は、病巣の病理組織学的構造を変革せしめるに足るものと考えている。

臨床的にも、病巣内の INH の濃度が、脂質合成を十分に阻害するに足るものであることは明らかである。

処で、病巣内の結核菌由来の脂質量が INH の投与に伴ない減少するにあたっては、病巣内の結核菌が INH によって、脂質合成の阻害を受けることの他に、静菌的ないし殺菌的作用を受け、菌数が減少することによっても招来される。

前者は INH に特異的にみられるものであるが、後者は INH 以外の抗結核剤においてもみられるものであることはいうまでもない。

それであるから、INH 以外の抗結核剤、とくに SM や KM などのように、強大な静菌的作用を有する薬剤が投与された場合においても、病巣内結核菌の脂質量の減少をきたし、病巣の吸収癥痕化が促進されてもよいわけである。

事実、臨床的には、INH を使用することなく、SM その他のみによっても、症例によっては乾酪性病巣の吸収癰痕化が招来されるものが少なくないが、これは、病巣内の結核菌数が減少したことに伴う脂質量の減少によって招来されたものと思われる。

しかしながら、INH による乾酪性病巣の吸収癰痕化率が SM などに比べて高いのは、INH には病巣内の結核菌の数を減少せしめるとともにその脂質合成を阻害する傾向があるためであると説明しうるのである。

結 論

以上から以下のようにいうことが出来る。

(1) 山崎のいわゆる内側線維層は、乾酪巣の被膜の一部、とくにその内側の部分を形成しているものである。山崎は、この線維層の発達程度から乾酪性病巣の被包安定化の程度や吸収癰痕化の可能性を推定しうるとしているが、著者は、INH あるいは SM の初回単独治療例や3者併用初回治療例よりえた切除結核性肺病巣について病理組織学的に検討し、山崎の見解を裏付ける所見をえた。

(2) INH 例においては、病巣被膜に内側線維層を認めうるものは極めて少ない。被膜における炎症型式も非特異的であり、血管新生も著明で、これが白血球の浸潤を伴って巣内に侵入している像がみられるものが多い。

このような所見から、著者は、臨床経験的にいわれているように、INH の投与により病巣の吸収癰痕化の傾向が大となると考えた。

(3) SM 例では、内側線維層が巣の全周にわたり明瞭にみられるものが3割以上あり、それらの例では、被膜における炎症型式も特異的で、病巣は被包安定化傾向の大なものが多い。

しかしながら、SM 例の病巣においても、約3割は吸収癰痕化傾向を示す。

(4) 3者例では、病巣は INH 例と SM 例の中間にあると思われる所見がえられた。

(5) モルモットを用い、動物実験的に作成した結核性病巣に対して、それぞれ INH あるいは SM を投与した場合、臨床例よりの知見をほ

ぼ裏書する所見がえられる。

しかし、動物実験的には内側線維層を有する乾酪性病巣はえがたいようで、これは、著者の場合、観察期間が短かったということもあるが、動物においては人のように安定化した乾酪性病巣はほとんどみられないということからも判るように、主としては種の違いによるものと思われる。

(6) 注目すべきは、INH 生菌群、INH 処理菌群および脱脂菌体群の3群ともに共通した特異な所見がみられたことである。

すなわち、壊死形成が抑制されていることで、この傾向は脱脂菌体群で最も著明である。

壊死形成が抑制されるために、これら3群では病巣の吸収癰痕化傾向が顕著となっている。

それであるから、INH の投与に伴ない、病巣は脱脂菌体群のそれに近くなるといえる。

(7) 死菌を用いて作成した乾酪巣に対して INH を投与しても前記のような INH の効果はみられない。

このことは、INH の効果は全て結核菌に直接的に作用した結果であり、生体に作用して血管新生を促進するなどの間接的なものではないとしてよい。

(8) 以上から、INH は結核菌に作用し、その脂質量を減少せしめ、病巣内の結核菌を脱脂菌に近いものにすることにより、病巣の吸収癰痕化を促進すると考えられた。

(9) そこで、試験管内で結核菌に各種の濃度の INH を作用せしめ、菌体脂質量の変動を化学的に定量したのであるが、それによると、菌体脂質量の減少度は、0.1 γ /cc の INH 濃度をピークとした山型の曲線を示した。

このことと、INH 濃度が高くなるに伴ない、菌体脂質量の減少率が低下することとを併せ考えるならば、INH による菌体脂質量の減少が直接的な化学的なものではなくして、結核菌の増殖過程における脂質合成での酵素学的な障害によるものとしてよい。

(9) それであるから、INH は結核菌に作用してその脂質の合成を阻害し、その結果として病巣の吸収癰痕化を促進すると結論しうる。

その際、人のように、慢性の経過を辿り、特有の乾酪性病巣を形成する場合には、病理組織学的に内側線維層の形成の抑制という形を示す。

引用文献

- 1) Duggeli, O. and Trendelenburg, F.: Die klinischen Ergebnisse mit Isonicotinsäurehydracid bei Lungentuberkulose. Beitr. Klin. Tbk., 108: 326-352, 1953.
- 2) Freese, H.: Über die Behandlung der Lungentuberkulose mit Isonicotinsäurehydrazid (INH). Beitr. Klin. Tbk., 108: 515-537, 1953.
- 3) Denst, J.: The surgical pathology of isoniazid-treated pulmonary tuberculosis. Am. Rev. Tuberc., 68: 144-149, 1953.
- 4) Pagel, W. and Simmonds, F.A.H.: Chemotherapy and cavity wall. Histological observations. Tubercle., 36: 2-15, 1955.
- 5) 寺松孝他: 乾酪巣の軟化融解機転, 特に其生化学的並に組織化学的検討. 肺, 3: 207-223, 1956.
- 6) 寺松孝他: INH による乾酪巣の軟化融解機転および吸収癆痕化機転の研究. 肺, 5: 44-57, 1958.
- 7) 常盤太助: 肺結核化学療法の効果に関する臨床的ならびに病理組織学的研究, 特に乾酪性病巣の吸収癆痕化を目標とした INH 初回単独投与法の検討. 第1篇: INH 初回単独投与群とSMを中心とする在来の化学療法群との臨床成績の比較. 第2篇: INH 初回単独投与群およびSMを中心とする在来の化学療法群から得た切除肺の病理組織学的所見の比較. 京大結研紀要 8: 22-39, 40-54, 1959.
- 8) 山崎昇, 木下修二郎, 吉田要, 鳥渡誠: 肺の結核性病巣被膜に於ける膠原線維の研究. 京大結研紀要 8: 152-159, 1960.
- 9) 山崎昇: 結合組織の病理組織学的並びに組織化学的研究. 京大結研紀要, 14: 34-64, 1965.
- 10) 青木幸平: 肺結核病巣の乾酪化並びに吸収癆痕化に関する研究. 京大結研紀要 7: 383-395, 1959.
- 11) Folch, J. et al: Preparation of Lipide Extracts from Brain Tissue. J. Biol. Chem. 188: 833-841, 1951.
- 12) Wells & Long: The Chemistry of Tuberculosis, Williams & Willkins Comp., 1932.
- 13) Rich, A.R.: The Pathogenesis of Tuberculosis. 2nd ed. 1951 (隈部英雄訳 岩波書店より)
- 14) Weiss, C. and Boyar-Manstein, M.L.: On the mechanism of liquefaction of tubercles. I. The behavior of endocellular proteinases in tubercles developing in the lungs of rabbits. Am. Rev. Tuberc. 63: 694-705, 1951.
- 15) 宮林美福: 肺結核化学療法に関する実験的研究. 特に乾酪性肺病巣の外部構造からみたSMおよびINAHの作用機序について. 京大結研紀要 8: 222-237, 1959.
- 16) Curci, G.: Azione del trattamento con idrazide isonicotinica e con streptomicina sul potere colliquativo della sostanza. Arch. di Tisiol. 8: 206-209, 1953.
- 17) 神武壮: 乾酪物質の融解機序に関する実験的研究. 九大胸研紀要, 7: 28-52, 1960.
- 18) 田中健蔵: 肺結核病巣の融解排除並びに吸収に関する組織学的生化学的研究. 4: 77-87, 1958.
- 19) 橋村敏: 抗結核剤の作用機序に関する実験的研究—異物性炎ならびにこれに及ぼす抗結核剤の影響に関する病理組織学的研究. 九大胸研紀要 5: 563-600, 1959.