

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2篇 結核マウスの生存日数に及ぼす Kanamycin の 治療効果に関する研究

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 KM の抗結核性を検討した。KM 週2回投与時と毎日投与時について VM, SM のそれと比較検討した結果、3剤共週2回投与法は連日投与法に劣るが対照に比べると可成りの治療効果を示した。KM と SM は同量、VM は SM の2倍量使用したが、KM, VM は SM に劣るも両者の間には著明な差を認めなかつた。連日投与法に於て KM を SM の3倍量投与すると SM よりやや良好な治効作用を示した。

第1章 緒 論

Kanamycin (KM) は梅沢¹⁾ とその共同研究者が水溶性、塩基性で且つ遅延毒性を示さぬような物質を系統的に探求した結果の所産として発見した *Streptomyces Kanamyceticus* から分離された、グラム陽性菌、陰性菌、抗酸菌等の発育を阻止する新抗性物質である。KM の発見並にその研究経過は既に詳細に梅沢¹⁾ が記載している。上記の3条件に適合している既知の抗生物質には *Streptomyces* (SM), *Viomycin* (VM), *Fradiomycin* がある。そしてこれらの物質においてはその *in vitro* における細菌発育阻止作用の結果から *in vitro* における作用もまた同様に示されるものとの予想が事実立証されたのである。竹内、梅沢等²⁾ の報告に記載されている様に KM はマウス、ラット、家兎等に極めて毒性低く、同様な結果は Dickinson 等³⁾ Robinson 等⁴⁾ によつても報告されている。KM の実験的結核症に対する治療効果については柳沢、佐藤⁵⁾ はマウスの実験的結核症に対する治療効果として、体重 15 ± 1 g の均一

SM 系マウスに牛型結核菌 Ravenel 株の Dubos 培地内7日間培養菌を静注感染させ Dihydrostreptomycin (DHSM) 1mg, KM 2mg 及 KM 4mg を毎日1回皮下注射によつて投与し肺、脾の定量培養を行つて判定し KM 2mg と DHSM 1mg の投与が畧々匹敵し KM 4mg の投与は之等にまさる治療効果を示すと云う成績を報告している。更に柳沢他⁶⁾ はモルモットの実験的結核症に対する治療実験で1匹1日量 10mg 宛投与して重症結核菌感染に対する極めて顕著な延命効果及び体内感染菌に対する同量 SM に近い増殖阻止効果を認めている。又、金井、柳沢⁷⁾ はモルモットの重症実験結核症に対し KM 及 SM 各 10mg を1日量として投与し投与開始を感染1日後及び2週後に行い、いずれも顕著な効果を認めたと報告している。伊藤等⁸⁾ もマウスの実験的結核症に対する治療実験で KM 100mg/kg 投与で SM 50mg/kg 投与に匹敵する効果を認め、同様の成績がモルモットの実験的結核症における治療実験でも得られたと述べている。又、Robinson 等⁴⁾ は KM の有毒人型結核菌 H₃₇Rv 株及びその SM 耐性菌のマウス感染に対する感染防禦効果を調べた実験で、KM 並びに SM で各7日間治療を行い、生存日数の非治療対照群に対する延長と体重の増加率とを夫々比較して KM は SM と同等或いは稍強い感染防禦効果を有することを観察している。以上 KM の動物実験的研究の成績を通覧して KM は可成りの抗結核作用を有する様であるので、著者は第1篇に述べた結核マウスの生存率を指標とする screening test の

1 方法を用いて SM 並びに VM の効果と比較検討した。其の投与量については KM, SM は同量とし, VM は Steenken⁹⁾, Karlson¹⁰⁾ 等の実験的結核症に対する治療実験の際 VM は SM の 2~4 倍量で SM に匹敵する効果を認めたとの報告があるので, SM の倍量を投与することとした。又, 投与回数については臨床上此種薬剤で行われている週 2 回投与法と連日投与法とを比較検討した。マウスの実験的結核症を対象とする実験で此の問題について各種抗結核剤について実験を行つて報告しているものに Hobby 等¹¹⁾ の報告があるが, その中で週 2 回投与と毎週連日 5 日投与との成績を比較して前者は後者の 3.7~6.4 倍の投与量が必要であると報告している。

次に行つた実験は KM を SM と同量及び 3 倍量投与して夫々の効果を比較した実験で之は柳沢他⁶⁾ の報告でも当教室¹²⁾での成績でも *in vitro* に於ける KM の結核菌発育阻止作用を調べた実験で Kirchner 培地を使用した時 KM の人型結核菌に対する発育阻止最低濃度は DHSM の約 2 倍であるとの成績を得ているので之を参考にして夫々の量を決定したのである。

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 篇に述べた如き実験条件にて飼育し, 体重が 16~18 g になるのを待つて実験に供した。

2) 接種結核菌株

・当教室にて継代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, 適当量の生理的食塩水を加え 1

cc 中に 5 mg の菌量が浮遊する様に調製し, 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) 供試検体投与法

供試検体はすべて体重に比例した投与量を 1 日 1 回皮下注射によつて投与した。供試検体はすべて水溶液とし, 皮下注射は背部皮下に行つた。なほ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 SM, KM 及び VM の連日及び週 2 回投与による治療効果

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 7 群を編成し第 1 群は KM 30 γ /g, 第 2 群は VM 60 γ /g, 第 3 群は SM 30 γ /g を夫々週 2 回皮下注射により, 第 4 群は KM 30 γ /g, 第 5 群は VM 60 γ /g, 第 6 群は SM 30 γ /g を夫々毎日皮下注射により投与し, 第 7 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。

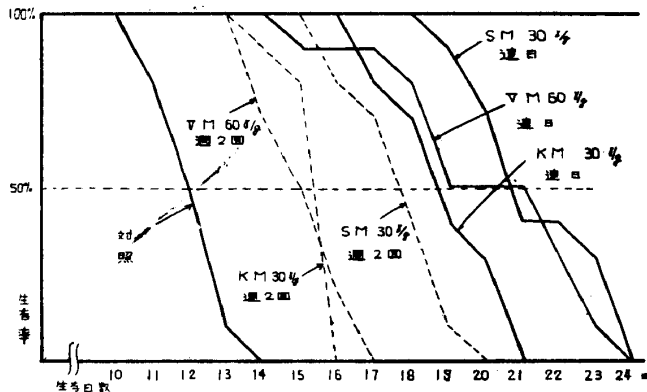
第 1 表 実験群の編成

	動物数	治療の種数及び投与量
第 1 群	10	KM 30 γ /g 週 2 回皮下注射
第 2 群	10	VM 60 γ /g 週 2 回皮下注射
第 3 群	10	SM 30 γ /g 週 2 回皮下注射
第 4 群	10	KM 30 γ /g 毎日皮下注射
第 5 群	10	TM 60 γ /g 毎日皮下注射
第 6 群	10	SM 30 γ /g 毎日皮下注射
第 7 群	10	対 照

第2表 平均生存日数

対 照	KM 30r/g 週2回	VM 60r/g 週2回	SM 30r/g 週2回	KM 30r/g 毎日	VM 60r/g 毎日	SM 30r/g 毎日
11.4日	14.7日	14.4日	17.0日	18.2日	19.4日	22.4日

第1図 SM, KM 及び VM の週2日及び連日投与による生存率



2) 実験成績

成績は第1図並びに第2表に示す如く、週2回投与は3剤共連日投与に劣るが対照群に比べ可成りの延命効果を示している。週2回投与でも連日投与でも SM は KM 及び VM の何れよりも此の量では優れた効果を認めた。更に VM 及 KM の間には週2回投与に於ても連日投与に於ても此の量では共に殆ど差が認められなかつた。又3剤共連日投与した場合と週2日投与の場合との延命効果の差は殆ど同程度であった。

第2節 KM を SM と同量及び3倍量投与しての治療効果

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 KM 20r/g, 第2群は KM 60r/g, 第3群は SM 20r/g を夫々毎日皮下注射により投与し第4群は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。

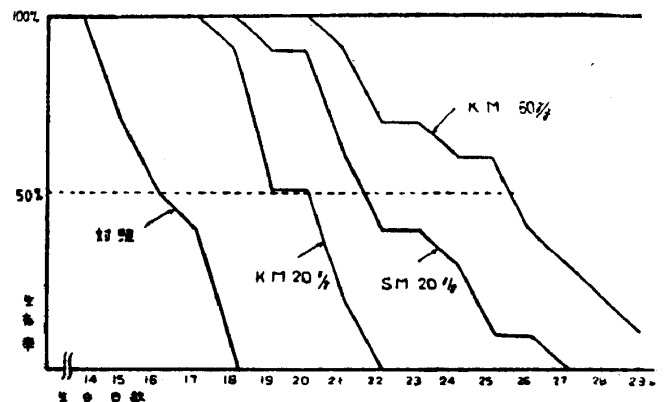
第3表 実験群の編成

	動物数	治療の種類及投与量
第1群	10	KM 20r/g 毎日皮下注射
第2群	10	KM 60r/g 毎日皮下注射
第3群	10	SM 20r/g
第4群	10	対 照

2) 実験成績

成績は第2図並びに第4表に示す如くで KM 20r/g 治療群に平均生存日数で見ても対照群より 4.3日の延長が見られ相当優れた治療効果が見られるが、SM 20r/g 治療群即ち SM 同量投与群の 7.5日に比較するとやや劣っている。KM の3倍量投与群即ち KM 60r/g 治療群は平均生存日数で見ても対照群より 9.9日の延長を認め、SM 20r/g 治療群よりもやや優れていると云う結果が観察された。

第2図 KM の SM と同量及び3倍量投与による生存率



第4表 平均生存日数

対 照	KM 20r/g	KM 60r/g	SM 20r/g
14.6日	18.9日	24.5日	22.1日

第4章 総括及び考按

結核マウスの生存日数を指標とする以上の治療実験成績を総括すると、KM 30r/g 及び VM 60r/g を夫々連日及び週2回投与し SM 30r/g と比較検討した成績は週2回投与群は何れも対照群に比べて著明な延命効果を示しているが連日投与群に比べると3剤共劣り各薬剤間の関係では SM 30r/g 治療群は週2回投与群でも連日投与群でも他の2剤より此の量ではまさり、KM 30r/g 治療群と VM 60r/g 治療群との間には何れの投与方法によつても著明な差は認められなかつた。斯様に之等3種の抗生物質は何れも週2回投与法でも著明な治療効果を示すことが観察されたが KM, VM 共此の量では SM よりやや劣ると云う結果を得た。

次に KM を SM と同量(20r/g)並びに 3 倍量(60 r/g) 投与しての比較実験では KM は SM と同量(20r/g)では治効上 SM にやや劣り, 又 SM の 3 倍量投与(60r/g)では SM にまさる成績を得た。此の成績は KM 及び SM についての柳沢等^{5) 6) 7)}, 伊藤等⁸⁾ の成績と略々一致し, KM の抗結核性は SM に比べてやや劣るが, かなりすぐれたものである言えよう。

第 5 章 結 論

マウスの実験的結核症を対象として KM の化学療法的効果を週 2 回投与時と連日投与について VM, SM のそれと比較検討した。3 剤共週 2 回投与法の治療効果は連日投与の場合に劣るが, 対照に比べると可成りの効果を示した。各薬剤間では SM, KM は同量, VM はその 2 倍量投与したが, 其結果 KM, VM は SM よりも治効上何れの投与方法でもやや劣り, KM, VM の間には著明な差を認めなかつた。しかし KM, VM 共連日投与では SM 週 2 回投与にまさる成績を得た。又, 連日投与法に於て KM は SM と同量投与して SM にやや劣るが, 3 倍量投与すると SM よりやや良好な治効を示す成績を得た。しかし何れの実験でも KM は可成りの延命効果を示し, 新しい抗結核剤として優れた価値があるものと考えられる。

(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院長間島博士,

内科医長臈谷博士, 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。)

文 献

- 1) 梅柳浜夫: 総合医学, 第14巻 第12号 (1957)
- 2) Takeuchi, T., Hikiji, T., Nitla, K., Yamazaki, S., Abe, S., Takayama, H., and Umezawa, H.: J. Antibiotics, 10 (A) (1957)
- 3) Basic Laboratory and Clinical Data on Kanamycin. Department of Clinical Investigation Bristol Laboratories, Syracuse, N. Y. (1957)
- 4) Robinson et al, Merck Research Laboratories. Studies on Kanamycin. Personal Letter Report. (1957)
- 5) 柳沢謙, 佐藤直行: 12, 11, 日本細菌学雑誌, 昭32
- 6) 柳沢他: 12, 12日本細菌学雑誌, 昭32
- 7) 金井, 柳沢: 13, 1 日本細菌学雑誌 昭33
- 8) 伊藤等: 第 6 回日本化学療法学会総会報告, 昭33
- 9) W. Steenken et al.: Am. Rev. Tbc. Vol. 63, No. 1, (1951)
- 10) A. G. Karlson et al.: Am. Rev. Tbc. Vol. 63 No. 1, (1951)
- 11) Hobby, G. L. and T. F. Lenert: Am. Rev. Tbc. 68, 192~294 (1953)
- 12) 内藤益一他: 第 6 回日本化学療法学会総会報告, 昭33