

結核化学療法における各種併用療法の施行 順序による効果の比較に関する実験的研究

〔第2篇〕 Streptomycin ・ Paraaminosalicylic acid
併用療法と Isonicotinic acid hydrazide ・
Pyrazinamide 併用療法とについて

京都大学結核研究所化学療法部（教授 内藤益一）

近 藤 勉 夫

【内 容 抄 録】

海猿の実験的前眼部結核症を対象として、Streptomycin (SM) 週2日、Paraaminosalicylic acid (PAS) 毎日投与 (S₂ P 毎) の併用と、Isonicotinic acid hydrazide (INH) 毎日、Pyrazinamide (PZA) 毎日投与 (I 毎 PZA 毎) の併用との2種併用化学療法を順序を変えて施行し効果を比較検討した結果、I 毎 PZA 毎併用を先に、S₂ P 毎併用を後に施行した群の治療効果が、逆の順序で行った群のそれよりすぐれて居り、更に INH 週2日投与の3者併用 (S₂ I₂ P 毎) よりもまさっている事を認めた。投与量は Per kg SM 20 mg. PAS 200 mg INH 6 mg. PZA 40 mg で、それぞれ15週目に治療を交替させ全治療期間は30週とした。

第1章 緒 言

近時結核化学療法の発展は、真に目覚ましく、相次ぐ抗結核剤の発見に伴ない、之等薬剤の効果と副作用防止及び結核菌薬剤耐性発現遅延への幾多の実験的、或は臨床的な研究のもとに、間歇療法、併用療法なる投与形式が工夫され具体化してきた事は第1篇に於いても述べた通りであるが、一方 INH に関してはその特性が明らかになるにつれて PAS のみならず、Sulfisoxazole (SI) 又は Pyrazinamide (PZA) とも併用され、特に結核病変の速効的な治効が注目される様になつてきている。第1篇において著者は SM-PAS 及 INH-SI の2つの併用療法について、その施行順序を交替させた場合の動物実験的な治効の比較を行なつたのであるが、本

篇では SM-PAS 併用と INH-PZA 併用とに関して第1篇におけると同様な検討を行つたのでその成績を述べる事にする。PZA は周知の如く Kushner¹⁾ 等により合成されたが、実験的結核症に対しては Dessau²⁾ 等が海猿の結核症に対する抗結核性を検討し、PZA 投与群は無処置群に比べ T 50 は延長したと報告している。又 Malone³⁾ 等はマウスを用いて実験し PZA の抗結核性は SM と PAS との中間位の成績であつたと報告している。臨床的には或る程度の治療効果を発揮するが、極く短期間にその効果が失われる点から、PZA は耐性獲得が早い薬剤⁴⁾であるとして、殆んど同時に見出された INH の名声にかくれ一時忘れられていた感があつた。所が1953年 Schwartz & Moyer⁵⁾ 等が PZA に INH を併用すると非常に良い成績が見られると述べ、Phillips⁶⁾ 等及び Campagna⁷⁾ 等も同じ併用療法にて比較的著明なる治効を収め、且つ副作用も少ないと主張し、更に1954年 Mc Cune 及び Tompsett⁸⁾ がマウスに PZA-INH 併用治療実験を行い、その脾臓組織中より結核菌を完全に絶滅し得たと発表して以来、再び注目をあつめるに至つたのである。その後 Phillips, Horton⁹⁾ 等は臨床上 INH-PZA と INH-PAS との療法を長期にわたり比較して INH-PZA 療法はより早く菌陰性化する事を認め、INH 耐性菌の出現をも PAS の場合よりよく抑える事を報告している。Wanner¹⁰⁾ 等も本法は最良化学療法の1つであると報告している。本邦においては厚生省結核療法研究協議会¹¹⁾ の共同研究により、INH-PZA 併用はすぐれた効果を発揮

する事が認められた他に、島本¹²⁾は本療法を S M. PAS. INH を用いても尚菌陰転化せず、その他病的所見を長期に亘り改善しなかつた患者に、本療法を施行し比較的早期に臨床所見の改善が見られたと報告し、その他諸家¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾の追試によりその効果が認められる様になつた。

本篇に於いては第1篇に述べたと同様な考えから従来の SM 週2日, PAS 毎日 (S₂ P 毎) 投与と INH-PZA 毎日投与 (I 毎 PZA 毎) に於て、その施行順序をかえて途中にて治療を交替せしめ、S₂ I₂ P 毎投与を一貫して行つた群と無処置の群を対照として、海猿の前眼部結核症の生体観察により、その経過を追つて観察する方法で、優劣を比較する実験を第1篇と同じ条件で行つた成績について述べたい。

第2章 実験材料及び実験方法

A) 実験材料

1) 実験動物 体重 400 g 前後の成熟した健康な白色赤眼の海猿を選び、一定期間実験条件に飼育した。全動物に予め Römer 反応を試み陰性なることを確かめた後に実験に供した。

2) 接種結核菌株 当教室にて継代保存している有毒性人型結核菌 H37R_v 株を Sauton 培地に培養し、植継ぎ後約3週間の發育良好な菌膜を釣取使用した。尚、この菌について SM. PAS. INH に対する耐性検査を施行し、耐性の無いことを確かめた。

B) 実験方法

1) 感作接種 上述の H37 R_v 株の菌膜を採取し、1 cc 中に 2 mg の乾燥菌量を含む様な生理的食塩水浮遊液を調製した。この 0.1 cc すなわち 0.2 mg を実験海猿の左大腿外側部の皮下に接種し、3週間後に接種動物の Römer 反応陽転したことを確かめた後、前房内結核菌接種を行つた。

2) 前房内結核菌接種 H37 R_v 株の 0.04 mg/cc 生理的食塩水浮遊液の 0.05 cc すなわち大体菌量 1/500 mg を海猿の右前房内に接種した。左眼は対照のため無処置とした。前房内の菌接種の手技は既に述べられているので省略する。

3) 観察方法 第1篇に述べたと同様に前眼部結核性病変は襄谷¹⁶⁾が改良したものに従っている。検査方法、観察期間等についても全く同様である。

4) 剖検及び臓器内結核菌定量培養 30週間の観察終了後、投薬は定量培養にそなえるために1週間中止して剖検した。そして各臓器内の肉眼的所見を検討し、柳沢¹⁷⁾氏の方法に従つて、各臓器の中脾、肝、病眼の結核性病変のある部位、又は疑わしき部位を 0.5 g 分割採取し、乳鉢で良く磨碎し 2% NaOH 液を 4.5 cc 加えて10倍稀釈とし、直ちに1%小川培地にその 0.1 cc を注入して各2本宛培養した。

5) 実験群の編成及び投薬方法 充分に実験条件に馴らした接種海猿で、前眼部病変を反覆観察し病変指数値が、概ね3度~3.5度の程度

表 1 実験群の編成

群	匹	投 与 の 方 法		略 記
		前 期 (15 週)	後 期 (15 週)	
第 1 群	8	SM 週 2 日, PAS 毎日	INH 毎日, PZA 毎日	S ₂ P毎→I毎 PZA 毎
第 2 群	8	INH 毎日, PZA 毎日	SM 週 2 日, PAS 毎日	I 毎 PZA 毎→S ₂ P毎
第 3 群	9	SM 週 2 日, INH 週 2 日, PAS 毎日		S ₂ I ₂ P 毎
第 4 群	11	無 処 置		Control
		SM 20 mg/kg	皮下注射	
		PAS 200 mg/kg	経口投与	
		INH 6 mg/kg	経口投与	
		PZA 40 mg/kg	経口投与	

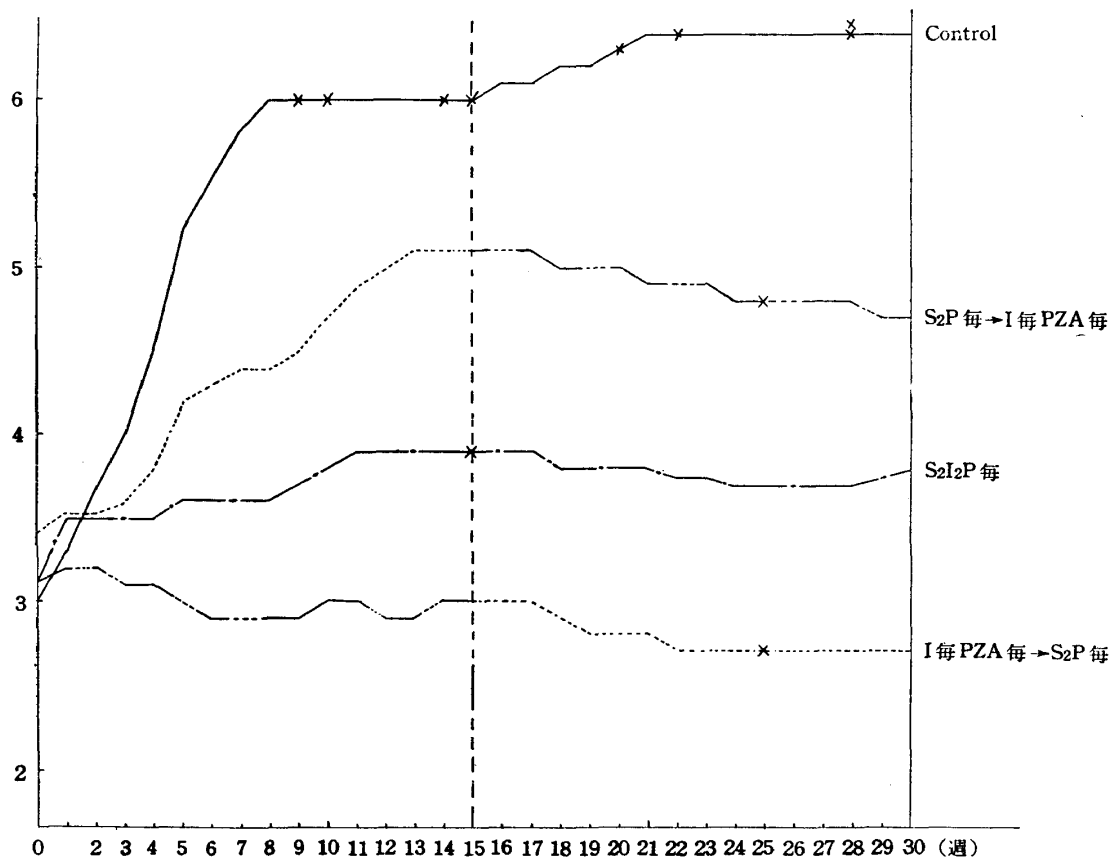
6) 斃死動物 第1篇に述べたと同様に治療の途中にて斃死の動物が出た場合には、その度に直ちに剖検し知見を記録し、各臓器について結核菌定量培養を施行して成績を判定し、更に前期15週の終了時に各群より前眼部病変の最軽度及び最高度の病変をもつ動物を、各1匹ずつ取出し屠殺して肉眼的及び定量培養を行ない参考とした。

1. 前眼部結核性病變經過

I 毎 PZA 毎→S₂ P 毎群は治療開始 2～3 週にて結核性病變の進行抑制を現わし始め、3～15 週に至る期間に病變は著明な輕快を示し、角膜新生血管の縮小、角膜溷濁の一部消褪、毛様充血の輕減、虹彩の充血、腫脹の減褪及び結核結節の縮小消失等が觀察されて、急速なる結核病變の進行抑制を思惟させたが、後半 S₂ P 毎に交替してよりは一段と改善される傾向を現わし、結膜浮腫は消失し、毛様充血も全く認められず、角膜溷濁も一部分を残す程度で前房、虹彩等も輕度の炎症のみ残し、結核結節は全例に認められず、反應もほとんど正常に復し、22 週以後は

[illegible]

図 1 前眼部結核性病変指数値経過 (各群平均)



(注) ×印のある所は動物の斃死した事を示す。

病変は全く停止した様であつた。S₂I₂P 毎群は I 毎 PZA 毎→S₂P 毎群程の積極的な病変の進行を阻止する力は示さなかつたが、しかし S₂P 毎→I 毎 PZA 毎群より優れた成績を示し、両者の中間に位した。即ち治療開始後 4～11 週間において緩慢な速度で病変の悪化が見られたが、S₂P 毎程には増悪せず、前房の沈降物の黄色膿瘍化を呈する例はあつても、著しい全眼球炎及び眼球癆の状態になつた例は少く、又他方角膜も全面に渾濁を認めたが、なお内部の眼構造は比較的良く見える程度であつた。後半にても其の眼病変は進行も改善もしない不変の状態で実験終了時迄持続を示した。

無処置群では明らかに急激なる病変悪化の経過をたどり、治療群とはすでに 3 週目頃より病変の差が著明に現われ始め、以後病変は止まることなく進行し、8 週目には全眼球炎、角膜穿孔、膿汁の流出等をきたし、斃死する動物を見るに至つた。治療群間においては、略々 3～4 週もするとすでにそれぞれ治効の差を現わし始

めるが、前半 15 週の成績では S₂P 毎群は最も悪く、I 毎 PZA 毎群が最も優れ、S₂I₂P 毎群はその中間であつた。15 週目には各治療群間の差はかなり大きく開いたが、特に I 毎 PZA 毎群の前眼部病変は軽度で病変指数値が 4 度を越した動物は 1 例も見なかつた。後半治療法を交替した 2 群ではそれ迄より更に病変の進行が阻止され好転する傾向を示した。終始 S₂I₂P 毎治療を行つた群は、後半ほとんど変化はなかつた。

以上治療群を比較すれば、治療開始当初にて I 毎 PZA 毎群は著明な効果を示し、S₂I₂P 毎群これに次ぎ、S₂P 毎群は最も劣り、それぞれ 13 週前後にて病変の進行は殆んど停止した様であつた。後半に於て I 毎 PZA 毎療法につづく S₂P 毎はよく前半の成績を持続して一層の好転を認め、S₂I₂P 毎群はこれに次ぐよい成績を示し、S₂P 毎群は I 毎 PZA 毎法に交替してから漸次段階的に好転傾向を発揮したが、尚成績は最も劣つていた。

2. 体重の経過

病変の全身に及ぼす影響を窺う資料として、実験終了迄にわたる体重経過を観察した成績は表3、図2の如くであるが、前篇にのべた如く種々の因子による体重増減を考慮に入れなければならない。表示の如くに対照群を除く各治療

群において体重の増加傾向を認めた。対照群は治療群より明らかに悪く、後半に至り体重減少の傾向を示すと共に、10週前後より栄養障害、羸瘦等の症状を現わし斃死するものが見られた。

表 3 体 重 の 経 過 (各 群 平 均)

群	週	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
S ₂ P毎→I毎PZA毎		370	400	420	440	420	420	420	410	430	430	410	430	440	430	450	460
I毎PZA毎→S ₂ P毎		380	410	420	450	400	410	410	410	420	430	420	430	420	450	470	490
S ₂ I ₂ P 毎		340	380	420	420	400	390	410	410	430	400	410	400	420	420	440	470
Control		350	390	390	400	370	400	390	390	380	370	380	390	380	370	370	360

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
470	500	500	540	550	540	570	560	540	510	530	550	520	520	510
460	540	520	550	570	560	570	560	570	530	530	540	560	560	550
440	450	450	500	500	500	540	530	540	520	520	510	520	500	480
370	390	380	370	360	380	380	380	370	360	370	350	340	350	360

図 2 体 重 の 経 過 (各 群 平 均)

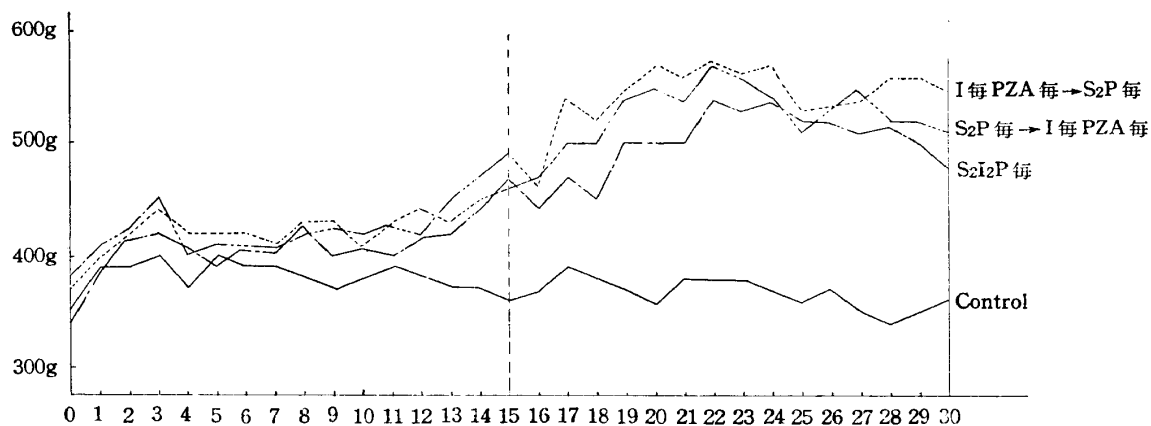
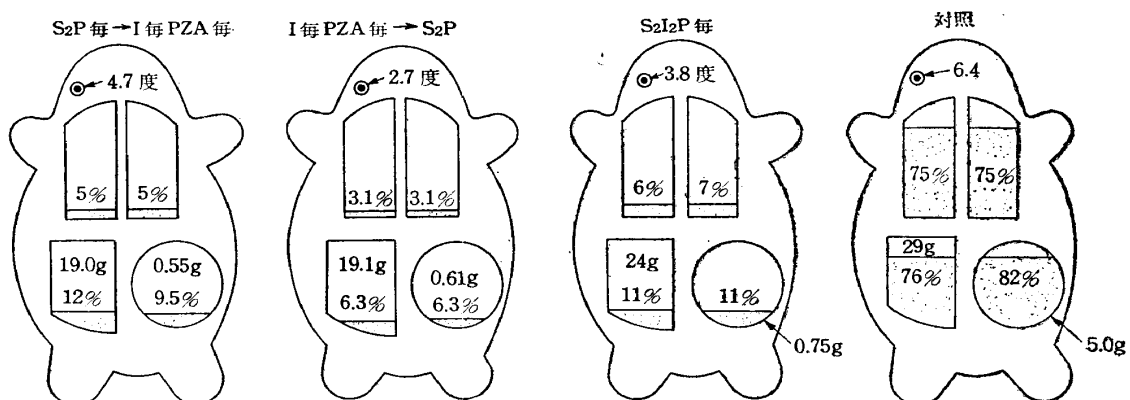


図 3 臓 器 病 変 所 見



(注) 各臓器病変度はその器官に対しての%で表わす。

3. 剖検成績

投薬終了後1週間目に、各群の生存動物を一斉に剖検し、脾、肝、肺及び淋巴腺の各臓器の肉眼的所見を出来るだけ詳細に調べた。実験途上にて斃死した動物はその都度剖検し定量培養を施行した。対照群では著明な結核性病変を各臓器に認め、死亡の原因は明らかに結核性病変の増悪したによると考えられ、治療群と比べて著明に高度であつた。治療を完了した動物における剖検所見で結核性病変の陽性率は、S₂ P 毎→I 毎 PZA 毎群は6匹中5匹(83%)、I 毎 PZA 毎→S₂ P 毎群は7匹中5匹(71.4%)、S₂ I₂ P 毎群は8匹中6匹(75%)であり、対照群は全例強陽性(100%)であつた。更に治療群及び対照群の各臓器の病変をまとめて図3に示した。治療群の剖検成績は対照群に比べて著明に病変は軽く、各治療群間にも大体近似の成績であるが、多少 S₂ P 毎→I 毎 PZA 毎群は劣

り、I 毎 PZA 毎→S₂ P 毎群は最も良好で、前眼部病変経過によく一致していた。

4. 臓器内結核菌定量培養成績

観察途上にて死亡した者は前項に述べた如く其の都度剖検、定量培養した。生存動物は投薬終了後1週目に剖検し、第1篇に述べた如くに柳沢氏¹⁷⁾の方法に従つて培養し、8週目に成績

図4 生菌量による比較

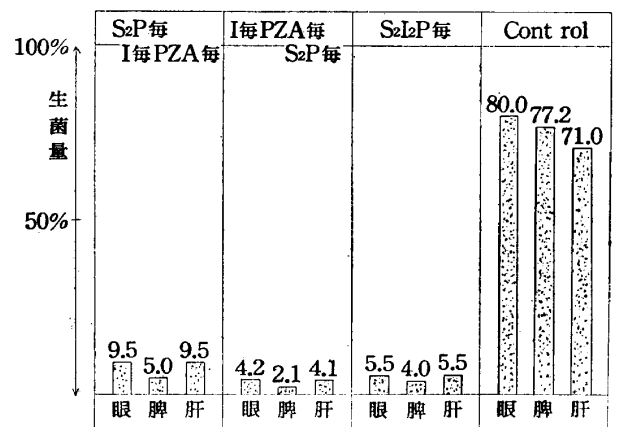


表 4 前期15週間後に2匹づつ剖検及び定量培養した成績

	No.	眼 病変 指数	剖 検 成 績						培 養		
			最終 重量	脾		肝		肺		腺	
				重量	病変	重量	病変	右	左	右上 右下	左上 左下
S ₂ P 毎	97	5.5	470	0.7 (±)		16.2 (—)		(—)	(—)	(—) (—)	(—) (—)
	98	2.0	450	0.5 (±)		16.0 (±)		(+)	(—)	(—) (—)	(—) (—)
I 毎 PZA 毎	12	4.0	500	0.9 (—)		15.0 (+)		(—)	(—)	(+) (—)	(—) (—)
	33	2.0	540	1.0 (—)		18.5 (—)		(—)	(—)	(—) (—)	(—) (—)
S ₂ I ₂ P 毎	29	5.0	520	0.9 (—)		21 (—)		(—)	(—)	(—) (—)	(+) (—)
	13	2.0	520	0.7 (±)		14 (±)		(—)	(—)	(—) (—)	(+) (—)
Control	83	5.0	410	9.0 (卅)		29 (卅)		(卅)	(卅)	(卅) (卅)	(卅) (卅)
	98	6.5	480	1.5 (卅)		18 (卅)		(卅)	(卅)	(+) (+)	(卅) (卅)

を判定した。基準は厚生省結核療法研究協議会細菌学研究科会に定められた様式に準じた。

治療完了例について培養陽性を示した動物は、 S_2 P 毎→I 毎 PZA 毎群は 6 匹中 2 匹 (33.3 %), I 毎 PZA 毎→ S_2 P 毎群は 7 匹中 1 匹 (16.6 %), S_2 I_2 P 毎群は 8 匹中 3 匹 (37.0 %) でこれ等は剖検成績では大差はなかつたが、定量培養の陽性率においては明らかに I 毎 PZA 毎→ S_2 P 毎群がすぐれ、治効上他の併用法に比べ有利の様であつた。又定量培養による菌発育の度合、いわゆる生菌量より比較した成績は図 4 の通りである。各治療群間に著明な差違は認めなかつた。尚前期 15 週終了時に各群より 2 匹ずつ剖検及び定量培養を施行した成績は表 4 に示した通りである。

すなわち剖検所見にては各治療群共に大差なきも、定量培養にては幾分 I 毎 PZA 毎群が優れた成績を示していた。

第 4 章 総括並びに考按

上記の実験成績の如く、著者は現在用いられている抗結核剤の中で、SM-PAS 及び INH-PZA の 2 剤併用による結核化学療法の効果に就いて、 S_2 P 毎の併用投与を先に其の後、I 毎 PZA 毎併用投与を行なうのが有利か、或いはその逆の順序の投与を行なうのが治効の上で得策かに就て、海猿の前眼部結核症を対象として 30 週間にわたり、 S_2 I_2 P 毎の 3 者併用群及び無処置対照群と比較しながら検討したのである。本実験の薬剤投与量の範囲における前眼部病変観察の成績からは、前半に於ては I 毎 PZA 毎投与群の成績は S_2 P 毎群は勿論、 S_2 I_2 P 毎のそれに比べても明らかにすぐれた治効を示し、後半治療方式を交替させて観察した結果でも、I 毎 PZA 毎→ S_2 P 毎群は尚よくそのすぐれた治効を継続し、 S_2 P 毎→I 毎 PZA 毎群は後半になつてからかなり病変の軽快好転を来すのが観察された。 S_2 I_2 P 毎群は終始様な病変進行阻止力を示し、治効は両者の中間にある様であつた。但しこれらの各治療群間の治効の差は、剖検所見、定量培養の成績に於ては、非常に大きな差は認められなかつた。

前半 S_2 P 毎法より I 毎 PZA 毎法が優れた効果を示したことは、動物実験的にはこれ迄にも諸家により認められているが、特に Mc Cune⁸⁾等は I 毎 PZA 毎併用をマウスの動物実験を行なつて、脾より全く結核菌を見出さなかつたと述べ、ほとんど *eradicated* であると言つている。本邦にても岩崎¹⁸⁾は海猿に I 毎 PZA 毎法を行つて、INH-PZA 群は INH 単独群より臓器中に培養可能な結核菌がやや減少している。すなわち PZA-INH 併用は INH 単独より僅に有効のようであると言つた。高階¹⁹⁾等もマウスを用いて I 毎 PZA 毎法を実験し、肺臓よりほとんど菌は検出できなかつたと述べた。三富²⁰⁾等もマウスに S_2 P 毎、I 毎 PZA 毎、 S_2 I_2 P 毎の各療法を 30 週間にわたり加療し、I 毎 PZA 毎群が最も顕著な成績であつたと報告した。著者の実験に於いて、前半 SM-PAS 併用療法よりも INH-PZA 併用療法がはるかに治効の面ですぐれていたのは、第 1 篇にも述べた如き SM 及び INH の結核病巣組織に対する作用機序の相違によるとも考えられるが、尚其他の因子が関係しているかも知れぬ。

他方本邦において最も長期化学療法に適し、特に耐性菌の出現阻止及び空洞閉鎖も良好であると言われる INH 週 2 日投与の 3 者併用法²¹⁾²²⁾ (S_2 I_2 P 毎) と、I 毎 PZA 毎→ S_2 P 毎法につき比較すると、本実験にては S_2 I_2 P 毎法は前眼部病変経過にて、幾分 I 毎 PZA 毎→ S_2 P 毎法に劣つていたのであるが、之は主として INH 毎日投与と INH 週 2 日投与即ち INH 間歇法の治療効果に及ぼす差であると考えられる。

S_2 P 毎→I 毎 PZA 毎群については、SM-PAS 併用療法はその治効は INH-PZA 併用法に比べて、比較的遅効性であるとされ²³⁾²⁴⁾、本実験成績にてもその前眼部病変に対する治効は比較的劣り、後半 I 毎 PZA 毎法に交替して漸く病変の進行阻止が見られたのであるが、すでに S_2 P 毎法により或る程度の病変が形成されてしまつた為か、INH-PZA 併用の著明な効果は見られなかつた。

剖検成績においては各治療群とも、ほとんど近似的な成績であり著明な差を見出さなかつた。

のである。しかしながらこれは比較的巨視的なものであり且つ、実験終末時の断片的な成績である。之に反して前眼部病変は少なからず微細な変化を見ることが可能で、しかも経過を追って観察されたものであり、そのために著明な差を呈したのであらうと考えられる。他方定量培養にても治療群間の差は少ないながら、I 毎 PZA 毎先行群が最も有効であつた。S₂ P 毎先行群でも後半 I 毎 PZA 毎によりかなり病変の好転を見たのと平行して菌発育の度は著明に少なかつた。併し Mc Cune⁹⁾ の言う如き *eradivative* でなく明らかに菌発育を見たのである。

以上の成績から第1篇に述べたと同様に、INH-PZA 併用の効果もまた SM-PAS 併用のそれに比べて、著者の実験条件に於いては、はるかにすぐれた成績を示したと言えよう。勿論、本実験の成績が直ちにすべての臨床例にあてはまるものではなく、結核化学療法の臨床に於ける研究の1つの基礎資料となり得れば幸である。

第5章 結 論

海狸の実験的前眼部結核症を対象として、30週間にわたり前半15週間は SM 週2日、PAS 毎日、後半15週は INH 毎日、PZA 毎日に交替治療した群、及びその反対の順序で投与した群とをそれぞれ、SM、INH 週2日、PAS 毎日の3者併用療法及び無処置群の各群の治効と比較検討すると共に、各臓器の肉眼的所見並に結核菌定量培養を検索した。前眼部病変経過では INH-PZA 毎日併用後 SM 週2日、PAS 毎日法に移行した群が最も優れて居た。

剖検所見、定量培養では各治療群間に著明な差はなかつたが、やはり INH-PZA 毎日先行群が勝っていた。3者併用群は両者の中間に位していた。

(稿を終るに臨み、終始御指導御援助を戴いた前川助教授、簗谷先生に深謝を表し、合わせて実験推進に何かと御便宜を戴いた晴風園院長今井米喜博士に深謝する。

尚本論文の要旨は第6回日本化学療法学会総会に於いて発表した。)

文 献

- 1) Kushner S., Dalalian H., Sanjurjo J. L., Bach F. L., Safir S. R., Smith V. K., Jr., & Williams J. H., : J. Am. Chem., Soc. 74, 3617, 1952.
- 2) Frederick I. Dessau., Robert L. Yeager. et al : Amer. Rev. Tub., 65, 1519, 1952.
- 3) Malone L., et al. : Amer. Rev. Tub., 65, 511, 1952.
- 4) Yeager, Monroe & Dessau, : Amer. Rev. Tub., 65, 523, 1952.
- 5) Schwartz W. S., & Moyer R. E., : Tr. 12th. Conf. Chemo. Tub. Vet. Adm. Feb., 296, 1953.
- 6) Phillips S. et al. : Transactions of 13th. V.A. Army Navy Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis., 187, 1954.
- 7) Canpagna M., et al. : Amer. Rev. Tub., 69, 334, 1954.
- 8) Mc Cune R., & Tomposett R., : Tr. 13th. Conf. Chemo. Tuber. Vet. Adm., 168, 1954.
- 9) Phillips S., G. E. Horton., : Amer. Rev. Tub., 73, 704, 1956.
- 10) Wanner & Kaufmann., : Schweiz. Med. Wschr., 85 (61), 370, 1955.
- 11) 厚生省結核療法研究協議会 : 日本医事新報, No. 1646, 3. 昭30. 11. 12.
- 12) 島本多喜雄 : 日本医事新報, No. 1613, 1435. 昭30. 3. 26.
- 13) 三上次郎他 : 日本臨床結核, 16—3, 203, 1957.
- 14) 堂野前維摩郷他 : 日本臨床結核, 15—1, 59, 1956.
- 15) 神頭勝太 : 胸部疾患, 1—9, 373, 昭32. 12.
- 16) 簗谷健比古 : 胸部疾患, 2—6, 270, 昭33. 6.
- 17) 柳沢 謙 : 結核, 29, 196, 1954.
- 18) 岩崎竜郎 : 日本臨床結核, 16—11, 821, 1957.
- 19) 高階二郎他 : 綜合医学, 12, 631, 昭30.
- 20) 三富和郎他 : 結核増刊号, 32, 132, 1957.
- 21) 熊谷岱蔵 : 日本医事新報, No. 1607, 719. 昭30. 2. 12.
- 22) 熊谷岱蔵 : 日本医事新報, No. 1625, 2699. 昭30. 6. 18.
- 23) 中院孝圓他 : 胸部疾患, 1—2, 53, 昭32. 5.
- 24) 結核予防会化学療法研究班 : 結核, 32—8, 431, 1957.