

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4篇 結核マウスの生存日数に及ぼす Kanamycin と他種抗結核剤との併用効果に関する研究

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 と他種抗結核剤との併用効果について比較検討し次の結論を得た。

- 1) KM は VM 及び PAS と明らかな併用効果が観察された。
- 2) KM は PZA 及び TC と軽度の併用効果が見られた。
- 3) KM は CS, OTC, SI 及び SIOM との間にごく僅かの併用効果を認めた。
- 4) KM と CAH との間には併用効果は認められない様であった。

第1章 緒 論

1944年 Streptomycin (SM) の出現に引続き p-Aminosalicylic acid (PAS), p-Acetoaminobenzaldehyde thiosemicarbazone (TBI), 更に 1952年 Isonicotinic acid hydrazide (INH) の抗結核剤としての効果が発表され、結核の化学療法は一段と進歩を見せたのであるが、其の後 SM, INH に匹敵する様な優秀な抗結核剤は発見されず、其他の数多くの抗結核剤は SM, INH との併用剤としての意義が大部分であり、結核の化学療法は SM, 或は INH を中心とする併用療法として進んで来た。しかし SM, INH とて所詮、化学療法剤の宿命とも言ふべき耐性獲得は避けられず、又各薬剤に特有な副作用の出現等もあつて無制限に長期にわたつて使用する事が出来ないのは当然であり、之等に匹敵する抗結核性を有し且つ之等の薬剤と交叉耐性を有しない更に多くの新しい抗結核剤の出現が望まれ、各国にてその方面の研究が

進められて来た。かかる情勢のもとに 1957 年 Kanamycin (KM) が全く新しい抗結核剤として梅沢とその共同研究者によつて発見された。その発見並びに研究経過については梅沢¹⁾ が詳細に発表している。第2篇に於て著者は KM 単独投与による各方面の動物実験的研究の概要についてふれ、著者の行つたマウスの実験的結核症を対象とする実験方法に於ける治療効果の成績について報告したが、著者は KM の抗結核剤としての価値を更に高める為には臨床的に KM と協力し得る併用剤を発見する事が必要であると考え、その点を動物に検討するために先づ現在迄に抗結核剤として知られている諸種薬剤との併用効果をしらべたので其成績を本篇に於て報告したい。

さきに柳沢²⁾, 佐藤³⁾ は試験管内実験で KM は SM 耐性菌にも PAS 耐性菌にもそれらの感受性菌と同様に発育を阻止することを立証した。之を換言すれば KM は SM または PAS の何れもと交叉耐性を有しないと述べている。ここで、KM は化学的に INH を含まないことが既に立証されているので、INH 耐性菌に対する試験は行つていない。又その他従来発見された何れの抗結核剤ともその耐性が交叉しないと述べている。Lein 等⁴⁾ は有毒性人型結核菌 H₃₇Rv 株及びその SM 耐性菌を KM は 2~4 r/cc で阻止することを観察したと述べている更に Robinson 等⁵⁾ も Dubos 培地で H₃₇Rv 株は 0.078 r/cc でその発育が阻止され、その 2~4 倍の濃度で死滅し、また SM 耐性菌及び INH 耐性菌が感受性菌と同様に阻止された

と報告している。動物実験的研究では柳沢、金井⁶⁾がモルモットの実験的結核症を対象としての実験で、KM は SM, PAS, INH に耐性を有する結核菌を感染させたモルモットに極めて顕著な効果を示し、宿主体内での菌増殖を阻止することを観察している。

従つて第2篇に述べた様な KM 単独治療の成績からも、SM, IMH 其他従来発見されたいずれの抗結核剤に対しても交叉耐性を有しないと云う事実からも、当然 SM, INH に代つて用いて充分其の効果を期待し得るのであるが、其の場合、相乗的の効果を期待し、又 KM 自体の耐性発現阻止を考慮して、KM と他種抗結核剤との併用療法が浮び上つて来たのである。そこで、当教室⁷⁾での試験管内実験での KM と他種抗結核剤との併用効果の成績によれば、KM は *in vitro* では TBI, Pyrazinamide (PZA), Cycloserine (CS), Sulfisoxazole (SI), Tetracycline (TC), SM, Viomycin (VM), INH 及び PAS と軽度ながら併用効果が見られている。

著者はマウスの実験的結核症を対象として KM と PAS, PZA, CS, Oxytetracycline (OTC), SI, Cyanacetic acid hydrazide (CAH) 並びに Sulfisomidine (SIOM) との併用効果について比較検討したので以下其成績について報告する。

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16～18g 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性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

上述の有毒性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、1cc 中に 5mg 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) 供試検体投与方法

供試検体はすべて体重に比例した投与量を1日1回経口又は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経口投与の場合は注射針の太いものの尖端を切断し適当な長さとしたものを注射筒にはめ、強制的に胃内に注入した。皮下注射は背部皮下に行つた。なお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めた。体重は毎週1回測定し記録した。

第3章 実験成績

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15群を編成し、併用治療群は以下述べる薬剤投与と別に KM 30r/g を週2回皮下注射によつて投与した。併用治療群は第1群は VM 60r/g 週2回皮下注射により投与し、第2群は PAS 300r/g、第3群は PZA 60r/g、第4群は CS 30 r/g、第5群は TC 30 r/g、第6群は OTC 30r/g、第7群は SI 90r/g、第8群は CAH 15r/g、第9群は SIOM 90r/g を夫々毎日経口投与により投与した。単独治療群は次の通りである。即ち第10群は VM 60r/g を週2回皮下注射により投与し、第11群は PAS 300 r/g、第12群は PZA 60r/g、第13群は CS 30 r/g を夫々毎日経口投与により投与した。第14群には KM 30r/g 単独を週2回皮下注射に

より投与し、第15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。

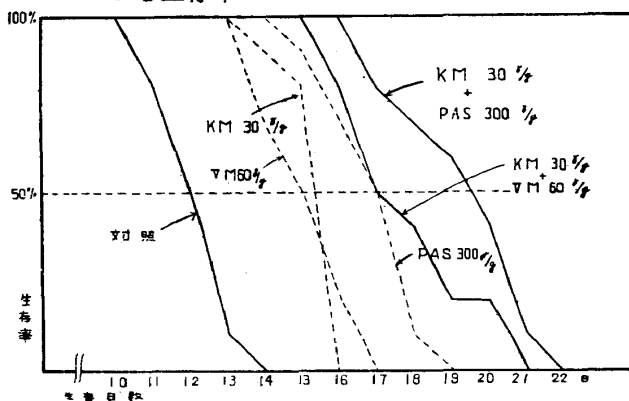
第1表 実験群の編成

	動物数	治療の種類及び投与量	
第1群	10	VM 60 γ /g 週2回皮下注射	KM 30 γ /g 週二回 皮下注射併用
第2群	10	PAS 300 γ /g 毎日経口投与	
第3群	10	PAZ 60 γ /g //	
第4群	10	CS 30 γ /g //	
第5群	10	TC30 γ /g //	
第6群	10	OTC 30 γ /g //	
第7群	10	SI 90 γ /g //	
第8群	10	CAH 15 γ /g //	
第9群	10	SIOM 90 γ /g //	
第10群	10	VM 60 γ /g 週2回皮下注射	
第11群	10	PAS 300 γ /g 毎日経口投与	
第12群	10	PZA 60 γ /g //	
第13群	10	CS 30 γ /g //	
第14群	10	KM 30 γ /g 週2回皮下注射	
第15群	10	対 照	

2) 実験成績

成績は第1図、第2図、第3図、第4図、第2表、第3表、第4表及び第5表に示す如くである。

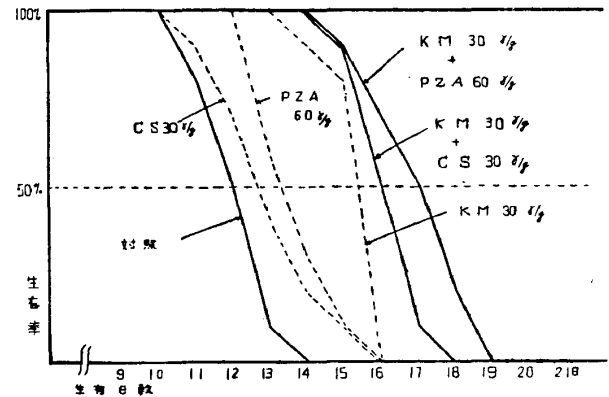
第1図 KM と VM, KM と PAS との併用投与による生存率



第2表 平均生存日数

対照	KM 30 γ /g	VM 60 γ /g	PAS 300 γ /g	KM 30 γ /g + VM 60 γ /g	KM 30 γ /g + PAS 300 γ /g
11.4日	14.7日	14.4日	16.2日	17.1日	18.6日

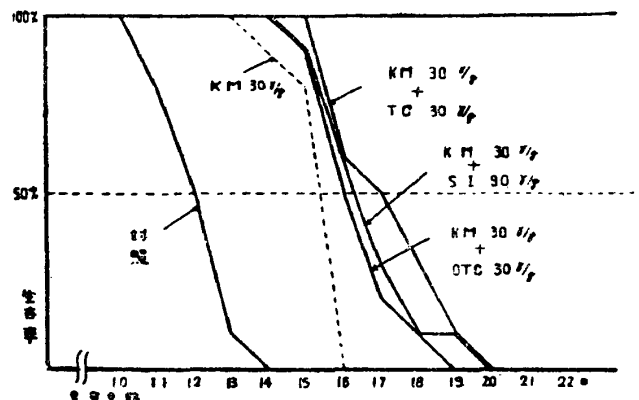
第2図 KM と PZA, KM と CS との併用投与による生存率



第3表 平均生存日数

対照	KM 30 γ /g	CS 30 γ /g	PZA 60 γ /g	KM 30 γ /g + CS 30 γ /g	KM 30 γ /g + PZA 60 γ /g
11.4日	14.7日	12.2日	13.0日	15.5日	16.3日

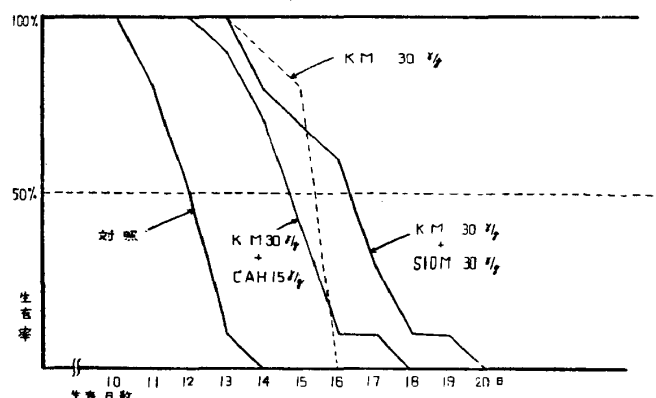
第3図 KM と SI, KM と TC 及び KM と OT との併用投与による生存率



第4表 平均生存日数

対照	KM 30 γ /g	KM 30 γ /g + SI 90 γ /g	KM 30 γ /g + TC 30 γ /g	KM 30 γ /g + OTC 30 γ /g
11.4日	14.7日	16.0日	16.5日	15.7日

第4図 KM と CAH, KM と SIOM との併用投与による生存率



第5表 平均生存日数

対 照	KM 30r/g	KM 30r/g + CAH 5%	KM 30r/g + SIOM 30%
11.4日	14.7日	14.1日	15.6日

a) KM 30r/g と VM 60r/g 各々週2日投与による併用治療群と KM 30r/g 単独治療群 VM 60 r/g 単独治療群とを比べると平均生存日数でもそれぞれ2.4日, 2.7日の延長が見られ可成りの併用効果を認めた。

b) KM 30r/g 週2日と PAS 300r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30r/g 単独治療群, PAS 300r/g 単独治療群とを比べると平均生存日数でもそれぞれ 3.9日, 2.4日の延長が見られ, 明らかに併用効果が観察された。KM PAS の併用治療群と KM, VM の併用治療群とを KM 単独治療群を対照にして比較すると平均生存日数の延長で見ても KM, PAS は3.9日, KM, VM は2.4日であり, KM, PAS の併用は KM, VM にまさる成績を示した。

c) KM 30r/g 週2日と PZA 60 r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30 r/g 単独治療群とを比べると平均生存日数の延長は 1.6日で軽度の併用効果が観察された。

d) KM 30r/g 週2日と CS 30 r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30r/g 単独治療群とを比較して平均生存日数で見ても其の延長は 0.8日 にすぎず併用治療群と単独治療群との間には大差なく, 強いて云えばごく僅かの併用効果を認める成績を得た。

e) KM 30r/g 週2日と TC 30r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30 r/g 単独治療群とを比べると軽度の併用効果があると判定出来る。平均生存日数の延長は 1.8日である。

f) KM 30r/g 週2日と OTC 30r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30r/g 単独治療群とを比べると平均生存日数の延長は 1.0日であるが併用効果はごく僅かである。

g) KM 30r/g 週2日と SI 90 r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30r/g 単独治療群とを比べると平均生存日数の延長は 1.3日であるが併用効果は KM, OTC と同程度かと思われる。

h) KM 30r/g 週2日と CAH 15 r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30 r/g 単独治療群とを比較すると併用治療群は単独治療群よりも早くより死亡を始め平均生存日数で見ても併用群は単独群よりむしろ短く, 併用効果は全く見られなかつた。

i) KM 30r/g 週2日と SIOM 30r/g 毎日投与による併用治療群と KM 30r/g 単独治療群とを比べると平均生存日数の延長は 0.9日にすぎないが, ごく僅かの併用効果はあるものと判定出来る。

第4章 総括及び考按

KM は第2篇で報告した如くマウスの実験的結核症を対象とした治療実験で1日量 30 r/g 週2回投与で可成りの効果を示すので, 之に臨床投与量の比で各種抗結核剤を併用投与して夫々併用効果を比較検討した。其の結果KM・VM KM・PAS 各併用治療群は KM 単独治療群との間に可成りの差を認め, 従つて併用効果が明らかに観察された。之に次いで併用効果が軽度に認められたのが KM・PZA, KM・TC 各併用治療群である。KM・CS, KM・OTC, KM・SI, KM・SIOM各併用治療群には併用効果がごく僅かありと判定したに過ぎなかつた。KM・CAH 併用治療群には全く併用効果が見られなかつた。

現在迄の所, KM と他の抗結核剤乃至は結核化学療法に於て併用剤として利用される薬剤との併用治療の効果に関する実験成績は余り見当らない様であるので, 直接比較する事が出来ないのは残念である。然し著者は KM に組合せる併用剤の探求が結核化学療法の臨床に非常に大切な研究であると思うので, 試験管内実験に於けると共に動物実験の分野に於ても広くこれに関する研究が推進される事を期待している。

第5章 結 論

従来結核の化学療法の主役を演じて来た SM, INH に肩を並べ得ると考えられる KM について, 他種抗結核剤との併用効果をマウスの実験的結核症を対象とする著者の実験方法によつて

比較検討した核果，次の結論を得た。

1) KM は VM 及び PAS と明らかな併用効果が見られ，可成りの延命効果の増強が観察された。

2) KM は PZA 及び TC と軽度の併用効果が見られた。

3) KM は CS, OTC, SI 及び SIOM との間にごく僅かの併用効果を示した。

4) KM は CAH との間には併用効果は認められない様であつた。

(摺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，内科医長隴谷博士，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並びに中島清氏に深く感謝する。)

文 献

- 1) 梅沢浜夫：綜合医学，第14巻第12号（1957）
- 2) 柳沢謙：内科，第1巻第3号（1958）
- 3) 柳沢謙，佐藤直行：12, 11 日本細菌学雑誌，昭32
- 4) Basic Laboratory and Clinical Data on Kanamycin. Department of Clinical Investigation Bristol Laboratories, Syracuse, N. Y. (1957)
- 5) Robinson et al, Merck Research Laboratories. Studies on Kanamycin. Personal Letter Report. (1957)
- 6) 柳沢謙・金井興美：13, 2 日本細菌学会雑誌，昭33
- 7) 内藤益一他：第6回日本化学療法学会総会発表，昭33