

実験的結核症に対する Pyrazinamide の効果

京都大学結核研究所小児特異性研究部（指導 教授 佐川 一郎）

木 口 尙 好

（昭和34年6月30日受付）

〔内 容 抄 録〕

淋巴腺の結核性病変に対する Pyrazinamide (PZA) の影響をみるために、モルモットの後肢に人型 H₃₇Rv 株 0.1mg を接種し、菌接種と同時に又は3週後より PZA 1日量 per kg 100mg, INH は 10mg をそれぞれ連日投与、6週後に投与を中止し、1週後或いは直ちに屠殺して淋巴腺、肺、肝、脾の結核菌定量培養及び病理組織学的検査を試みた。その結果、病変の発現に効果を認め、経口投与は、注射よりもすぐれており、菌量を比較すると同様に経口投与群が注射群よりもすぐれていた。しかし INH 治療群、両者併用群と比較した場合、PZA 単独群は病変発現抑制、菌量の点、ともに遙かに劣っていた。また INH 単独群と両者併用群とでは僅かに併用群がまさっていた。

1 結 言

Pyrazinamide（以下 PZA と略す）は、Isoniazid（以下 INH と略す）が登場した1952年初頭にはKushner¹⁾らにより合成され抗結核性を有することが明らかにされた。Yeager,²⁾ Moyer & Schwartz³⁾ ら 一部学者により臨床実験が試みられていたが、最初は PZA 単独で行われ、所期の効果が得られなかつたのみならず副作用として肝機能障害を起すため一時は INH の声名に 圧倒され 蔭にかくれてしまっていた。

1953年に至り Schwarz & Mayer⁴⁾ により PZA と INH との併用により 著効を奏すること、肝機能障害も少ないことが報告され、1954年 Mc Cune et al⁵⁾ は実験結核症に対し、PZA-INH 併用療法の 効果を検討し 本療法により生体内の結核菌は激減ないし絶滅されると報じ、本療法は従来の抗結核剤療法の常識を越え、滅菌療法だともいうべきものと述べて再び注目の的となつた。

リンパ腺結核症に対する治療は髄膜炎治療と

ともに、小児結核症の重要な問題である。私は先に INH-SM について報告したが⁶⁾、今回は PZA の効果に関して リンパ腺を主目標とし、病理組織学的検査と臓器内結核菌の定量培養を行い、これと関連し、肝組織像、INH-PZA 併用治療の組織像等 2, 3 の問題について報告したい。

2 実験方法

体重 300 g 前後の AD 系モルモットを用いた。

これにソートン培地2週培養の人型結核菌 H₃₇Rv 株の生食水浮游液 0.1mg/cc を 1cc 左後肢皮下に接種した。

動物は次の3群に大別した。1) 接種同時治療群 2) 接種3週後治療群 3) 対照群とし、治療群をさらに 1) PZA 注射群 2) PZA 経口投与群 3) INH 注射群 4) PZA, INH 注射群 5) PZA 経口投与 INH 注射群の5群に分けた。

接種同時治療群は接種当日より治療を開始した。

INH は 10mg/kg を左腋下部に毎日注射し、PZA は 50% Propylene Glycol に 30mg/cc となるよう懸濁し皮下注射用とし、また 5% 澱粉液に 60mg/cc となるよう懸濁したものを経口投与用とし、いずれも 100mg/kg を毎日投与した。

治療6週間後に投薬を中止し、1週間後、対照と共にクロロホルムで屠殺した。

接種3週後治療群は接種後3週目より治療を開始し、開始後6週目にエーテルで屠殺した。

屠殺した動物の接種側膝リンパ腺、肺、肝、脾の各組織を 1% 小川培地に組織乳剤の稀釈定量培養法によつて結核菌の分離培養を行い、一方リンパ腺および各臓器の病理組織学的検索を行った。

実験方法の概要は第1表に示す如く肉眼的病変は、リンパ腺では、そら豆大あるいはそれ以上大豆大から豌豆大位、米粒大位の3程度に分け、臓器では、結核結節極めて多数のもの、10～30個程度のもの、数個発見しうるものの3程度に分けて観察した。これとともにヘマトキシリン・エオジン染色、ワンギーソン染色により組織学的検索を行つた。また体重と脾臓の重量を測定した。なお定量培養は4週後に判定した。組織学的所見は結核性病変高度・中等度・軽度の3程度に分けて観察した。

3 実験成績

1) 肉眼的病変

接種後直ちに治療6週間

成績は第1図に示す通りで、PZA注射群は対照群よりも軽度ではあるが、かなりの病変がみられ、経口投与群では、それよりも一層軽度の病変を認めた。他の3群では、肉眼的にはほとんど病変を認めなかつた。

第1図 肉眼的病変(1)
(接種後直ちに治療6週間)

		No.	K 1	K 2	K 3
			310 g	600	520
対 照	注 射				
			5.0	2.2	2.2
		No.	P 1	P 2	P 3
			380	230	380
			3.2	1.7	1.2
PZA	注 射	No.	P 4	P 5	P 6
			460	570	580
			1.2	1.2	0.8
		No.	H 1	H 2	H 3
			400	420	470
INH	注 射				
			0.6	0.7	1.0
		No.	Z 1	Z 2	Z 3
			440	460	510
			0.8	0.8	0.7
PZA +	注 射	No.	Z 4	Z 5	Z 6
			500	540	540
			0.7	0.6	0.7
		No.	K 4		

接種3週後より治療6週間

病変所見は第2図に示すごとく接種後61日目死亡した対照にくらべ、治療群は接種同時治療の場合と大体同様な差異を示し、PZA注射群と経口投与群とは、対照よりは軽度であるがかなりの病変を呈し、他の3群はリンパ腺腫脹を除いては病変は僅かであつた。

2) 臓器内の結核菌定量培養成績

接種後直ちに治療6週間

成績は第3図にある如くで縦軸に菌数を対数で示した。PZA注射群は対照群にくらべて生菌数少なく、PZA経口投与群はINH群及びPZA-INH併用群と同様0であつた。

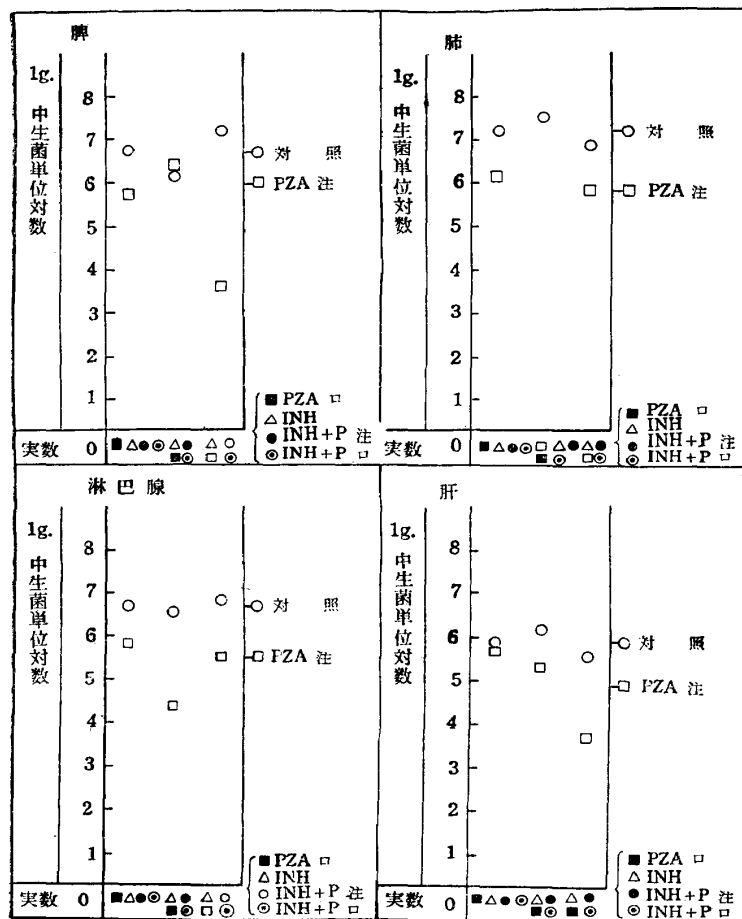
接種3週後より治療6週間

第4図のごとくリンパ腺においてはPZA経口投与群、PZA-INH注射群、INH注射群、PZA経口投与INH注射群の順で菌数が少なくなつており、他臓器ではPZA経口投与群、PZA-INH注射群、PZA経口投与INH注射

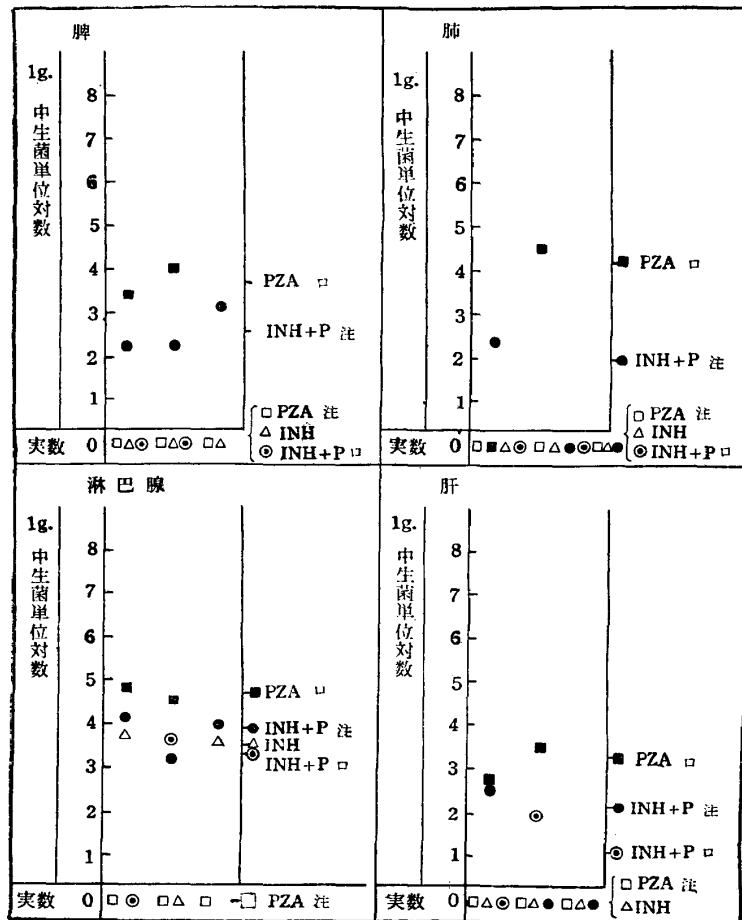
第2図 肉眼的病変(2)
(接種3週後より治療6週間)

		No.	P 7	P 8	P 9
			470 g	350	450
PZA	注 射				
			0.8	3.5	4.7
		No.	P 10	P 11	P 12
			500	390	
			1.3	2.9	
INH	注 射	No.	H 4	H 5	H 6
			480	470	630
			0.6	0.8	1.1
		No.	Z 7	Z 8	Z 9
			330	440	540
PZA +	注 射				
			0.3	0.6	0.7
		No.	Z 10	Z 11	
			500	470	
			0.8	0.7	
対 照	注 射	No.	K 4		

第3図 定量培養(1) (接種後直ちに治療6週間)



第4図 定量培養(2) (接種3週後より治療6週間)



群, INH 注射群の順となり, PZA 注射群ではすべてが0であつた。(PZA 注射群は病変とあわせ考えるとき, やや不合理な成績となつた)。

3) 病理組織学的所見

接種後直ちに治療6週間

所見の概要は第5図に示す通りであり, PZA 注射群は対照との間に著明な差を認めなかつたが, 病巣の数および程度が軽少のものもあり, 軽度の線維化傾向を認めた。PZA 経口投与群, INH 注射群, PZA-INH 併用群では病巣少なく, 程度も軽く, ことに肝, 脾の病巣が対照群より少数であつた。

接種3週後より治療6週間

第6図に示す如く結核性病変は肉眼的所見とほぼ比例し, リンパ腺を除いては, 治療各群とも接種同時治療の場合と大体同様な病巣数および程度であつた。PZA 注射群の病巣の少ない例は主に類上皮細胞のみからなる結節があり, 病巣の多い例は個々の病巣そのものも大きく, 乾酪化を伴う定型的なものもあつた。なお線維化の傾向が認められた。INH 注射群, PZA-INH 併用群では病巣はほとんどみられなかつた。

なお本実験については対照も, リンパ球以外の細胞浸潤は全般に少なかつた。

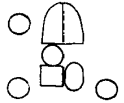
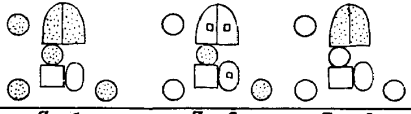
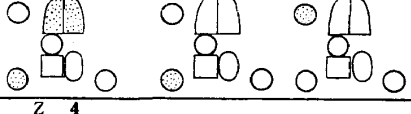
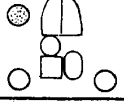
4) 肝臓の組織像

前述した通り本実験では全般に細胞浸潤が少なかつた。

接種同時治療6週間

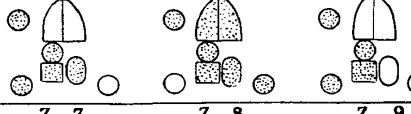
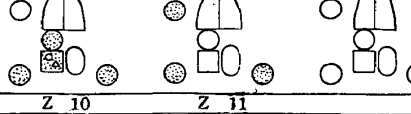
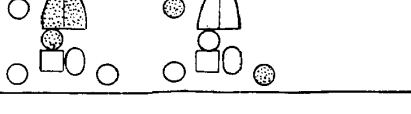
組織学的所見に就いては第7図に示す通り対照は病変程度強く大きな乾酪巣を有し, 類上皮細胞も多かつた。PZA 注射群の病変は対照とほとんど変りなく乾酪巣の数, 大きさ等の点が, 対照よりやや軽く類上皮細胞の存在も多く見受けられ, またこの群では

第5図 病理組織学的所見(1) (接種後直に治療6週間)

対 照	No.	K 1
		
PZA	No.	P 1 P 2 P 3
	注 射	
	No.	P 4
	経 口	
INH	No.	H 1 H 2 H 3
	注 射	
PZA + INH	No.	Z 1 Z 2 Z 3
	PZA 注 射	
	No.	Z 4
	PZA 経 口	

註  肺の結核性病変高度 ○ 乾酪化
 肝の結核性病変中等度 □ 非特異性病変
 脾の結核性病変軽度 △ 線維化

第6図 病理組織学的所見(2) (接種3週後より治療6週間)

PZA	No.	P 7 P 8 P 9
	注 射	
	No.	P 10 P 11
	経 口	
INH	No.	H 4 H 5 H 6
	注 射	
PZA + INH	No.	Z 7 Z 8 Z 9
	PZA 注 射	
	No.	Z 10 Z 11
	PZA 経 口	

註  肺の結核性病変高度 ○ 乾酪化
 肝の結核性病変中等度 □ 非特異性病変
 脾の結核性病変軽度 △ 線維化

出血像，淋巴球の浸出などがあり，軽度の治癒傾向を認めた。PZA 経口投与群では，中心性脂肪変性の像を殊に輪胆管にそつた肝静脈の周囲に存在し，次第にその周辺になるにつれて軽度となり，正常の肝細胞部へ移行する所見であつた。淋巴球の浸出は注射群よりも一層多く認められ，治療傾向が強く一般に線維形成傾向があつた。INH 注射群では軽度の出血像，併用のPZA注射群で，極く小さい乾酪巣を認めた以外は，病変はほとんど認められなかつた。

接種3週後より治療6週間

第8図のごとくPZA注射群の病変はやや高度で，乾酪巣と中心脂肪変性，非特異性病変，また類上皮細胞，淋巴球の浸出等あり，PZA 経口投与群も出血を主として同様な所見を呈したが線維化の傾向もみられた。INH注射群では中心脂肪変性が主な所見であつた。PZA-INH 併用群は鬱血，出血を主とし乾酪巣の治療像が認められ淋巴球の浸出のあるものもあつたが病変は最も軽微であつた。

全般的にみて肝臓における組織学的所見は脂肪変性と出血が多くその他の変化はなかつた。

5) PZA-INH 併用初回治療の組織像

PZA-INH 併用群は，全般的に病変は軽度であつた。

接種同時治療6週間

第9図に示す通り，接種他側の膝淋巴腺に若干の病変があり，淋巴腺は小さく軟化巣は見当らず，多数の間隙を認め，中に大浸出細胞の游出するものもあり，結節は非定型的で，正常淋巴腺構造が大部に認められた。PZA 単独群は対照とはほぼ同様な所見であつたが，対照が線維形成不著明なるに対し，やや，その傾向があつた。

第7図 肝臓の組織学的所見(1)
(接種後直に治療6週間)

対 照	No.	K 1
PZA	No.	P 1 P 2 P 3
	注 射	
	No.	P 4
	経 口	
INH	No.	H 1 H 2 H 3
	注 射	
PZA +	No.	Z 1 Z 2 Z 3
	PZA 注 射	
	No.	Z 4
	PZA 経 口	

第9図 PZA + INH 初回治療の組織学的所見(1)
(接種後直に治療6週間)

動 物 No.	Z 1	Z 2	Z 3	Z 4
淋 巴 腺	接種側 膝			
	他 側 膝			
	肺 門			
	肝 門			
肺				
肝				
脾				
	PZA 注 射			PZA 経 口

第8図 肝臓の組織学的所見(2)
(接種3週後より治療6週間)

PZA	No.	P 7 P 8 P 9
	注 射	
INH	No.	P 10 P 11
	経 口	
PZA +	No.	H 4 H 5 H 6
	注 射	
INH	No.	Z 7 Z 8 Z 9
	FZA 注 射	
	No.	Z 10 Z 11
	PZA 経 口	

注 乾酪巣 淋巴球
 類上皮細胞 × 出血
 中心性脂肪変性 線維形成

接種3週後より治療6週間

第10図のごとく、淋巴腺病変は接種側、他側膝、肺門、肝門各淋巴腺とも軽度に認められたが、淋巴腺は小さく、軟化巣を殆んど認めず、結核結節は萎縮し、小淋巴球と少量の類上皮細胞とが島嶼状に集合し、その間隙広く、その中に大浸出細胞を認めるものもあつた。これは PZA 注射群にみられた所見すなわち増殖性反応強く、類上皮細胞結節を主とし、線維形成著明で、また繁殖性結節もあつて、大きい軟化巣も認めたのに対し、著しい相違であつた。

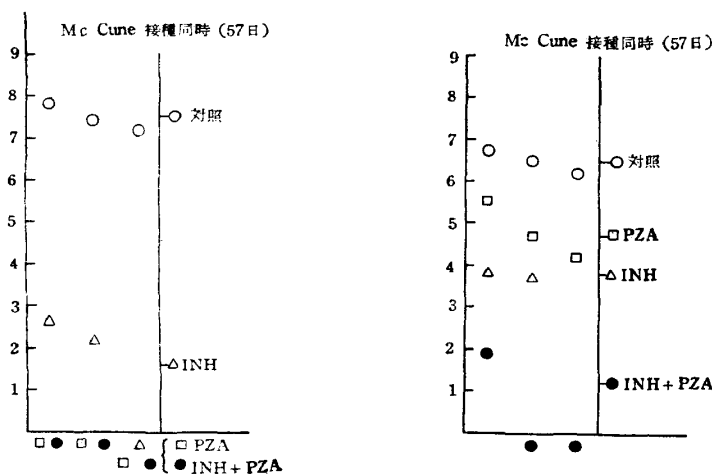
4 総括及び考按

PZA について1952年 Malone⁷⁾らはマウスによる実験で、PZA 2.5mg を毎日注射すると結核マウスの生存期間を著明に延長したと報告し、Dessau⁸⁾らもモルモットの結核症に対する PZA の効果を検討し、SM より効果は劣るが PAS, ニコチンアミドよりはまさるといつている。Soltorovsky⁹⁾ のマウスに

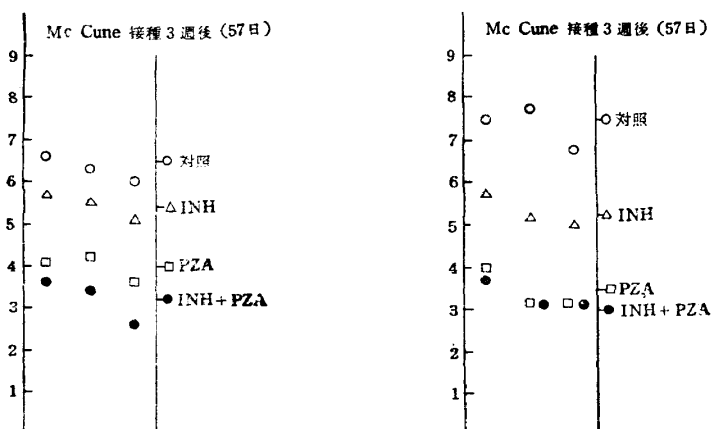
第10図 PZA + INH初回治療の組織学的所見 (2)
(接種3週後より治療6週間)

動物 No.	Z 7	Z 8	Z 9	Z 10	Z 11
淋 巴 腺	接種側 腺				
	他側 腺				
	肺門				
	肝門				
肺					
肝					
脾					
		PZA 注 射		PZA 経 口	

第11図 (1) Mc Cune らの実験成績 (定量培養) 1
肺 脾



第11図 (2) Mc Cune らの実験成績 (定量培養) 2
脾 肺



よる実験成績でも PAS よりすぐれていると述べている。しかし1954年 Steenken¹⁰⁾らは モルモット における実験で 毎日 145mg/kg の投与では著るしい効果がなかつたと報告している。

Mc Cune, Tompset^{11) 12)} らの実験によると PZA 単独では動物の結核症に対し特にすぐれた効果はないが, PZA を INH と併用する時は著効があり **eradivative** の作用を發揮することが明らかにされた。すなわちマウスの実験的結核症における脾臓内の結核菌は SM, PAS, INH 各単独, 二者又は三者の併用, 更に PZA 単独, 又はこれと SM, PAS との併用でも組織中の生菌を絶滅できなかつたにかかわらず, PZA, INH 併用により結核菌は連続的に減少して行き完全に絶滅したと報告している。Mc Dermott¹³⁾らもマウスの実験的結核症に PZA, INH 併用が優れた効果をあげ得ることを述べている。

わが国では昭和28~29年に島本¹⁴⁾ 北本¹⁵⁾, 三友¹⁶⁾らによつて PZA についての紹介が行われ, 昭和30年に至り島本^{17) 18) 19)}らにより, PZA は INH との併用により, SM-PAS 併用時にみられない滅菌効果が認められ, しかも肝障害もなかつたと述べられた。実験的結核症に対するPZA の治療効果に関しその他長沢他²⁰⁾, 高階他²¹⁾, 高橋²²⁾, 宮本他²³⁾, 内藤他²⁴⁾, 染谷他²⁵⁾ 等多くの報告がある。

しかしてこれら多くの報告は, すべて著効ありと一致しているわけではない。

私の実験では治療期間6週間であつて, Mc Cune らの8週以上13週にわたる実験に及ぶべくもないが,

Mc Cune らの実験成績のうち、私の実験期間に相当する部分の定量培養の成績と比較してみると、Mc Cune らの成績では第11図のごとく、接種後直ちに治療を開始した群で、肺においては、対照は菌数の対数は7～8の間にあり、脾では6～7の間にあつて第3図に示した私の実験と同様な値を示している。また接種後3週目より治療を開始した群では、Mc Cune らの成績は脾で PZA 単独が対数4前後を示し、肺でも4前後を示して、私の実験の PZA 単独経口投与とはほぼ同様である。

全般的に私の実験で INH 単独がやや低い値を示したが PZA, PZA-INH 併用の値は、ほぼ似かよつたものがあり、我が国の他の実験報告の多くが、Mc Cune の実験に否定的な成績であるのに対し私の実験は肯定的な成績となつた。もちろん Mc Cune らのいう *eradivative chemotherapy* かどうかは長期間の治療実験の結果を待たなければならないと考える。

次に組織学的所見に関しては、PZA 使用群に軽度の線維化傾向を認めたのであるが、モルモットに於いては、被包乾酪巣が早いものは7日間で形成され、20～30日には既に軟化融解がみられ線維形成が著明である²⁶⁾との報告もあり、その点を考慮に入れなければならないと考える。更に肝臓においては、結締組織から正常でも線維が小葉内に侵入するものであるから考慮を要するものと思われる。PZA の肝に対する副作用は、組織学的にみると成績の項でも述べたごとく、脂肪変性と出血があつた他は肝細胞そのものには変化がみられなかつた。なお PZA-INH 併用治療により吸収による軟化巣の縮小或いは消失、リンパ腺全体の縮小、残存軟化巣に対し増殖性機転による被包化を来し、INH 単独の被包化欠点を補い、また吸収作用を促進させるのでないかと考えられる。

リンパ腺において肉眼的所見、定量培養、組織学的所見いずれも、接種3週後より治療した場合、接種同時治療の治療群と比べて劣り、リンパ腺結核症に対しては早期の治療が必要なることが感ぜられ、PZA-INH 併用治療では6週間の治療期間でも、相当の効果を示したが、な

お病変があり、Mc Cune らのいうごとく少くとも8週以上の使用を要するものと思われ、病型的には、浸出、増殖型など各型に使用して差支えないと考えられ、又、リンパ腺結核に対しても、INH 単独よりもやや有効であるように考える。

PZA に就いては染谷²⁷⁾と同様に注射よりも経口投与の方がよい結果を得た。

5) 結 論

PZA の効果について AD 系モルモットを使用して実験を行つて次のような結果を得た。

- 1) PZA 単独は INH 単独より劣る。
- 2) PZA-INH 併用は INH 単独より僅かにまさる。
- 3) PZA は経口投与が注射よりも有効である。
- 4) PZA 使用の組織学的所見として線維化傾向を認めた。
- 5) PZA-INH 併用療法はリンパ腺結核に対して有効であり、ことに早期に使用することが望ましい。

本論文の要旨は第32回日本結核病学会総会において発表した。

擲筆するに当り御指導御校閲を賜つた佐川教授に謝意を表し、御指導御協力下さつた齊藤・江見両博士に感謝する。

主 要 文 献

- 1) Kushner et al. : J. A. C. S. 74, 36 17 (1952).
- 2) Yeager, Monroe & Dessau : Amer. Rev. Tuberc. 65, 523 (1952).
- 3) Schwartz & Moyer : Tr. 11th Conf. Chemo. Tuberc. Vet. Administ. 302 (1952).
- 4) Schwartz & Moyer : Tr. 12th Conf. Chemo. Tuberc. Vet. Administ. 296 (1953).
- 5) Mc Cune & Tompsett : Tr. 13th Conf. Chemo. Tuberc. Vet. Administ. 168 (1958).
- 6) 木口 : 京大結研紀要. 8, 2, 734 (昭34)
- 7) Malone et al. : Amer. Rev. Tuberc. 65, 511 (1952).

- 8) Dessau et al. : Amer. Rev. Tuberc. 65, 519 (1952).
- 9) Sotolovsky et al. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 79, 563 (1952).
- 10) Steenken & Wolinsky : Amer. Rev. Tuberc. 10, 367 (1954).
- 11) Mc Cune : Amer. Rev. Tuberc. 69, 334 (1954).
- 12) Mc Cune et al. : J. Exp. Med. 104, 737 (1956).
- 13) Mc Dermott et al. : Amer. Rev. Tuberc. 69, 319 (1954).
- 14) 島本 : 日本医事新報. 1541, 4307 (昭28) .
- 15) 北本 : 最新医学. 9, 436 (昭29) .
- 16) 三友 : 日本臨床結核. 13, 793 (昭29)
- 17) 島本他 : 最新医学. 10, 115 (昭30) .
- 18) 島本 : 日本医事新報. 1609, 1085 (昭30) .
- 19) 島本 : 日本医事新報. 1613, 1435 (昭30) .
- 20) 長沢他 : 最新医学. 10, 897 (昭30) .
- 21) 高階他 : 綜合医学. 12, 631 (昭30) .
- 22) 高橋 : 日結. 14, 910 (昭30) .
- 23) 宮本他 : 結核. 31, 674 (昭31) .
- 24) 内藤他 : 綜合臨床. 6, 963 (昭32) .
- 25) 染谷他 : 結核. 32, 増刊134 (昭32) .
- 26) 高他 : 結核. 32, 増刊326 (昭32) .
- 27) 染谷他 : 第32回結核病学会総会発表.