

# 海狸の結核性皮膚潰瘍を対象とする化学療法実験

## 〔第2篇〕 基礎的な検討としての SM, INH の治療効果

京都大学結核研究所化学療法部（主任教授 内藤益一）

松 田 好 和

### 第1章 緒 論

1953年 Sydney Rubbo 等<sup>1)</sup>は「海狸に依る screening test」の一迅速法として海狸の実験的皮膚潰瘍を利用する方法に就て報告し、活動性結核性病変の治療傾向を測定し得るのみでなく、実験に要する動物、薬剤及び日数に非常に経済的である事を強調したが、教室の神頭<sup>2)</sup>は Rubbo 等の実験を追試して抗結核剤の動物実験に於ける screening test として其の価値を認め、皮膚病変の作製の為の結核菌の皮内接種に当つて可及的毒力の強い菌株を相当大量に接種する事が必要であり皮膚病変の経過の判定には痂皮、硬結及び潰瘍を測定した結果、痂皮のみの測定で充分であると述べて居る。又松本等<sup>3)</sup>は感作家兎に結核菌 Frankfurt 株を皮内注射し結核性膿瘍を作り之に結核菌体抽出物による局所療法を行い、其の結果対照に於けるよりも治療膿瘍は良効を示した事を報告して居り抗結核剤の screening test として利用し得る事を示唆している。

神頭<sup>2)</sup>の方法は感作動物を実験に用い且つ接種菌として H37Rv 株を用いて居るが、著者は種々追試を行つた結果潰瘍の大きさが小さく測定に困難を来す場合に遭遇した。著者は第1篇に於いて、之等の欠点を補う目的で実験動物として感作及び未感作の影響並びに接種菌種の影響に就いて検索を試み、未感作動物に黒野株を接種する方法が screening test として、より正確な結果が得られる事を知り報告した。そこで本篇に於ては種々の抗結核剤の中特に Streptomycin（以下 SM）及び Isonicotinic Acid Hydrazide（以下 INH）を選んで本法の使用価値を吟味したので、其の成績に就いてのべる。

### 第2章 実験方法

#### 1. 実験材料

##### A. 実験動物

体重 450~500g 内外の Römer 反応陰性の成熟せる健康な白色赤眼の雄性海狸を一定期間実験条件に飼育した後に実験に供した。

##### B. 接種結核菌液

当教室に於いて継代培養し保存している人型菌黒野株を Sauton 培地に培養し、移植後3週間目の発育良好な菌集落を釣取し、化学天秤にてその乾燥菌量を秤量せる後、小川氏硝子玉入コルベンに移して充分菌塊を磨砕し、生理的食塩水を加えて攪拌混和し、所要の濃度とした。

#### 2. 実験方法

##### A) 皮膚病変の作製

Rubbo 等及び神頭の方法に準じて、予め剃毛消毒せる海狸背部の皮膚の4個所に滅菌ツベルクリン注射器にて 1mg の菌量を 0.1cc の浮游液とし皮内注射して皮膚病変を作製した。

##### B. 観察方法

以上の如くにして生じた結核性皮膚病変の経過の観察は、カリパーにてその痂皮の長径と短径とを測定してその平均値を算出し病変の大きさとした。測定は週1回乃至2回行い、測定に際し Rubbo 等は局所の皮膚をアルコールで湿して潰瘍面を明瞭ならしめたが、アルコールの刺激が病変経過に悪影響する事を恐れて生理的食塩水を浸した綿花片を用いた。

##### C) 薬剤の投与方法

薬剤の投与方法は SM は皮下注射、INH は経口投与により連日施行した。

### 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12匹の海獣を選び、各4匹を1群として3群を編成し、第1群はINH 15mg/kg 群、第2群はSM 45mg/kg 群、第3群は無処置対照群とした。編成に際しては治療開始時に於ける皮膚病変の指数値が可及的近似の値を取る様留意した。実験群を表示すれば第1表の如くである。

第1表 実験方法及び編成

| 実験群 | 治療の種類及び投与量  | 使用動物数 |
|-----|-------------|-------|
| 第1群 | INH 15mg/kg | 4     |
| 第2群 | SM 45mg/kg  | 4     |
| 第3群 | 対 照         | 4     |

潰瘍は接種後1週目には注射部周辺の硬結様腫脹と共に測定するに充分明瞭な境界を有するかなり厚い茶褐色の痂皮として見られた。

## 2. 実験成績

### 1) 実験的皮膚潰瘍病変経過

治療実験は菌接種後1週目より開始したが、治療群に於ては週を追って痂皮が小さくなり、且つその周辺より求心性に白色の健康上皮が拡大し治療開始後3週間に於ては痂皮が不整形となり、小点状となるのも見られた。無処置群に於ては全然治癒の傾向を示さず、依然として大きな痂皮が存在した。

SM 45mg/kg 群に於いては3～4週に於いて16病変中8病変が直径1mm程度の痂皮となり、5週に於いて16病変の平均直径群が1.2mmとなった。

INH 15mg/kg 治療群に於いては3～4週に於いて16病変中半数が小点状の痂皮となり5週にして平均直径群が0.6mmとなった。

以上の病変経過は第2表及び第1図の如くである。

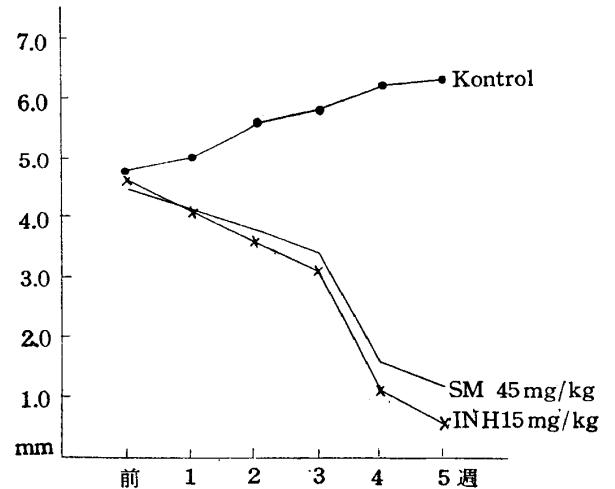
第2表 実験的皮膚潰瘍病変経過(各群平均単位mm)

| 群 | 週           | 前   | 1   | 2   | 3   | 5   | 5   |
|---|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1 | INH 15mg/kg | 4.6 | 4.1 | 3.6 | 3.1 | 1.1 | 0.6 |
| 2 | SM 45mg/kg  | 4.5 | 4.1 | 3.8 | 3.4 | 1.6 | 1.2 |
| 3 | 対 照         | 4.8 | 5.0 | 5.6 | 5.8 | 6.2 | 6.3 |

### 2) 体重の経過

次で全身状態を窺う一つの資料として観察した体重経過は第3表及び第2図に示す如く対照群は減少の傾向を示したが夫々体重の増加を認めた。治療を加えた群の間では有為の差を認めなかった。

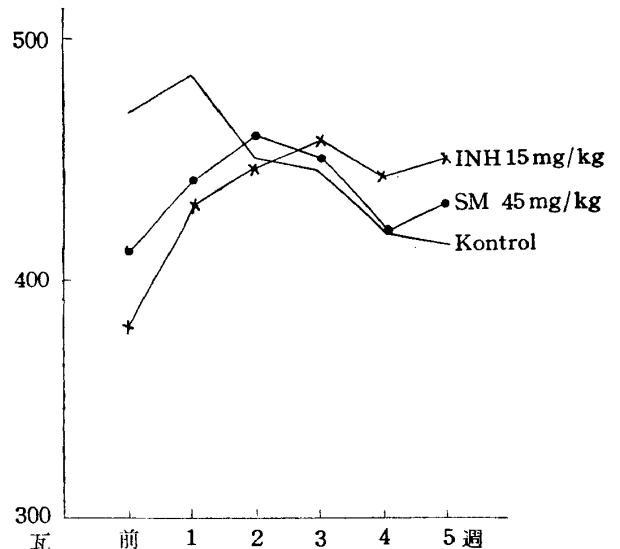
第1図 実験的皮膚潰瘍病変の経過(各群平均, 単位mm)



第3表 体重経過 (各群平均, 単位g)

| 群 | 週           | 前   | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   |
|---|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1 | INH 15mg/kg | 380 | 430 | 446 | 458 | 443 | 450 |
| 2 | SM 45mg/kg  | 413 | 440 | 460 | 450 | 420 | 430 |
| 3 | 対 照         | 470 | 485 | 450 | 446 | 420 | 416 |

第2図 体重経過 (各群平均)



### 3) 各臓器の肉眼的結核性病変並びに結核菌定量培養成績

5週にわたり結核性皮膚病変の経過を観察した後、薬剤投与を中止して1週間放置した上で各群より2匹を任意に選び一斉に剖検して肺

第 4 表 各臓器の肉眼的及び結核作定量培養成績

| 群 |             | 動物<br>番号 | 肺  |    |        | 肝      |        |        | 脾      |        |        | 淋 巴 腺 (剖見) |         |         |         |
|---|-------------|----------|----|----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------------|---------|---------|---------|
|   |             |          | 左  | 右  | 培<br>養 | 重<br>量 | 剖<br>検 | 培<br>養 | 重<br>量 | 剖<br>検 | 培<br>養 | 右<br>腋窩    | 右<br>鼠蹊 | 左<br>腋窩 | 左<br>鼠蹊 |
| 1 | INH 15mg/kg | C 45     | +  | —  | —      | 22.1   | +      | +      | 1.0    | +      | +      | —          | —       | —       | —       |
|   |             | C 47     | —  | —  | —      | 12.0   | —      | —      | 0.9    | —      | —      | —          | —       | —       | —       |
| 2 | SM 45mg/kg  | C 43     | —  | —  | —      | 17.3   | +      | +      | 0.5    | —      | —      | —          | —       | —       | —       |
|   |             | C 46     | —  | +  | —      | 14.0   | +      | +      | 0.4    | —      | —      | —          | —       | —       | —       |
| 3 | 対 照         | C 42     | +  | +  | +      | 24.0   | ++     | +      | 0.9    | +      | +      | +          | +       | —       | —       |
|   |             | C 48     | ++ | ++ | +      | 19.0   | ++     | +      | 1.2    | +      | +      | —          | +       | —       | —       |

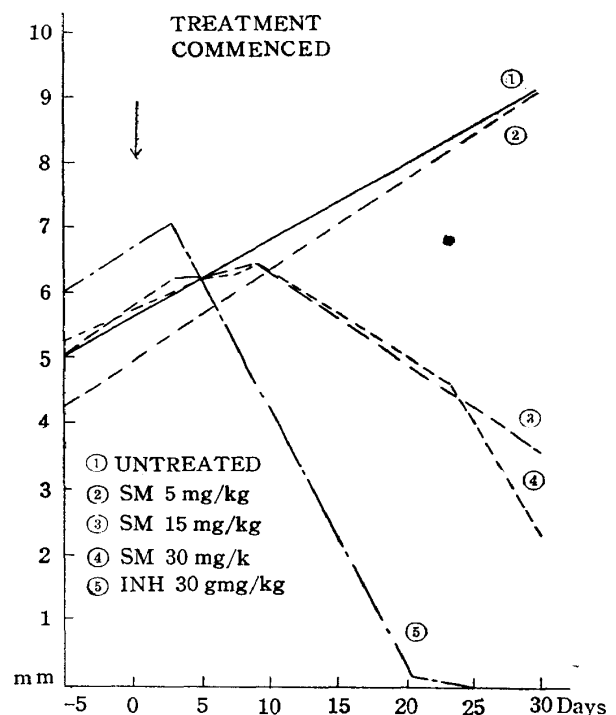
臓、脾臓、肝臓、淋巴腺等について可及的詳細に肉眼的結核性所見を検索した。又観察後柳沢氏法により結核菌定量培養を施行し、その成績を示せば第4表の如くである。即ち肝臓の剖検並に培養成績では INH 投与群の方が良好な成績を示して居るが、脾臓の剖見及び培養成績では SM 投与群が優れている。対照群に於いては各臓器共に治療群に比して菌発育が著明である。

#### 第 4 章 総括並びに考按

以上実験的皮膚潰瘍を対象とした各群4匹の海狸について INH 15mg/kg 及び SM 45mg/kg 投与による治療実験を行つた結果、治療群の間では著明な相違は認められなかったが、強いて言えば INH 15mg/kg 群の方が SM 45mg/kg 群よりは治療効果がすぐれて居た。

以上の著者の実験成績を Sydney Rubbo 等による成績即ち H37Rv 株より毒力が強いと思われた分離株の $10^6$ 生菌数を含む菌液 0.05cc を海狸背部に対し4個の皮膚潰瘍を作り痂皮の直径を測定し、治療動物の平均直径が無処置群の2分の1になつた時を  $HR_{50}$  (50 per cent healing response) で表し、 $HR_{50}$  に達する迄の日数を以て比較した成績を第3図と比較すると使用薬剤の量、使用菌株の差等の相違はあるが治療効果の傾向、治療効果が發揮される時期等においてよく類似している。即ち Rubbo 等の成績を見ると無処置群においては痂皮の平均直径は次第に増大するに反して治療群では INH 30mg/kg 接種時では速やかな治効を示し、24

第 3 図 Rubbo 等の実験成績



日で完全治癒に達し SM 45mg/kg 投与群で約27日で治癒している。

著者の実験に於て肉眼的結核性所見並に結核菌定量培養では対照群においては各臓器共に菌発育が著明に認められるが、治療群の間では INH 投与群では肝臓の病変は SM 投与群に比して良好な結果を示しているが、脾臓の所見では SM 投与群が優れた成績を得ており、淋巴腺の剖検的所見は両群共全然病変を認めておらず皮膚潰瘍の病変経過の如き差は認められなかった。

著者は第1篇における基礎実験の成績から株本篇における如き正常海狸の皮内に直接黒野、

を注射して皮膚病変を作成する方法を定式化しようとして本篇の治療実験を行つた結果、略々抗結核剤の **screening test** に利用出来ると考えられる成績を得たので以下の諸篇に於てこの方法で行つた実験の成績を相次いで報告したい。

## 第5章 結 論

海猿の背部の4個の結核性皮膚病変を対象として **SM** 及び **INH** 投与による治療効果を検索し、併せて臓器内肉眼的所見及び結核菌定量培養を行つた結果、**SM** 投与群に比較して **INH** 投与群の方が治療効果が優り、**SM** は

**INH** に比較すると3倍量を使用しても尚、その効果がやゝ下廻る程度である事を認めた。即ち本法は抗結核剤の治療効果を検討する動物実験の一方法たり得ることを確認したのである。

(擱筆に臨み前川助教授の御援助に深甚の謝意を捧げる)

## 文 献

- 1) Rubbo and Pierson ; *Am. Rev. Tub.*, 68, 48, 1953,
- 2) 神頭勝太 ; 胸部疾患, 1, 295 (昭和32年)
- 3) 松本他 ; 天理大結研紀要, 7, 1, 28 (昭和31年)