

Isodiazol と Para-Aminosalicylic Acid とを結合 せしめた薬剤の抗結核作用について

東京女子医科大学細菌学教室 (主任 平野憲正教授)

須 藤 昭 子
ス ド アキ コ

(受付 昭和 34 年 3 月 5 日)

前報¹⁾において著者は Isodiazol (以下 Isod. と略) がモルモット結核症に対して Isonicotinic acid hydrazide (INH) よりも優れた成績を示したことを主に病理組織学的所見から述べた。今回著者は Isod. に Para-Aminosalicylic Acid (以下 PAS と略) を結合せしめた化合物 (No. 15)* について実験する機会を得たので、それについて報告する。

* 本化合物は三共高峰研究所吉田茂氏によって合成された。

実験方法

- 1) No. 15 の試験管内における結核菌発育阻止作用。
キルヒナー培地 (pH 7.0) を 4.0 ml ずつ分注し、0.5 ml 馬血清を加え、これに薬品を滅菌蒸溜水で種々の濃度に稀釈し、各稀釈を 0.5 ml ずつ加えた。これらに H₃₇Rv 株の小川培地における 2 週間培養を菌液 (v.u. 37×10^5 /mg) とし、その 0.1 ml ずつを上記の培地へ移植し、37°C に 4 週間培養し発育の様相を検討した。なお対照のため、同様に Isod, INH, PAS の結核菌に対する発育阻止作用を検討した。
- 2) 動物実験
実験方法: d. d 系マウス 39 匹 (体重 15 g \pm 5 g) に尾静脈より上記と同様にして作った H₃₇Rv 株の 2 週間培養の菌液 (v.u. 48×10^5 /mg) 0.1 ml を接種し、4 群に分ち、翌日より次の如く治療を開始した。即ち第 1 群 (9 匹) は無処置対照群として放置し、第 2 群 (10 匹) は INH 2 mg 単独、第 3 群 (10 匹) は Isod. 2 mg 単独、第 4 群 (10 匹) は No. 15 2 mg 単独を何れも毎日 (日曜を除く) 経口的に授与した。治療期間中には毎週 1 回体重を測定し、途中で死亡したマウスについては、でき得る限り結核死か否かを確かめた。治療開始後 5 週間に各治療群のマウスの半数の治療を

中止して、1 週間後に剖検し、残りの半数は 9 週間治療し、10 週目に剖検した。剖検したマウス全例につき肺臓及び脾臓における結核菌の定量培養を行った。また 6 週及び 10 週の 2 回共各群より 2 匹ずつ肺、肝、脾臓の組織標本を作成した。これら臓器はホルマリン固定をなし、ヘマトキシリン・エオジン染色、アザン染色、鍍銀染色を施し、結核菌染色にはアニリン水フクシン染色 (隈部氏法) を用いた。

3) 結核菌定量培養

2 回剖検時に被検動物の肺臓及び脾臓の組織片を無菌的に秤量し、ホモジナイザーで乳剤とし、小川法によって定量培養を行い、37°C に 5 週間培養し判定した。治療群の臓器は 10^{-2} , 10^{-3} , 無処置対照群の臓器は 10^{-4} , 10^{-5} 迄稀釈して培養した。

実験成績

1) 試験管内実験成績

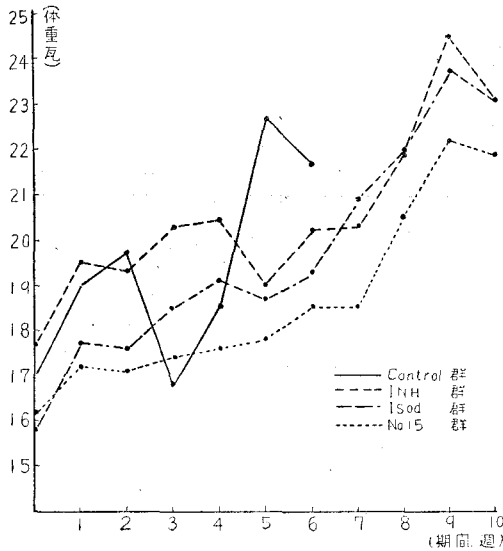
表 I に示すごとく、INH, No. 15, PAS は 2 γ で完全発育阻止が認められ、Isod. は 5 γ では肉眼的に 2 箇の菌塊が認められ、10 r で完全阻止がみとめられる。PAS は 1 r で一本の試験管は不完全阻止のようであつた。

2) 体重の推移

結核菌接種直前および治療期間中剖検まで毎週 1 回体重を測定しその推移を観察した。体重の変化はグラフ I に示す通りで、各群の動物の平均体重をもつて示した。無処置対照群では 3 週目の体重減少が目立っているが、これは死亡前のマウスには急激に著明な体重減少がみられたため、第 4 週には後述するが、4 匹も死亡している故である。これに反して 5 週目には体重増加を示す曲線の上昇がみられる

Akiko SUDO (Department of Bacteriology, Tokyo Women's Medical College): Antituberculous effects of isodiazol combined with para-aminosalicylic acid.

が、これは6週まで生存した2匹のマウスだけの



グラフ 1

表 I 試験管内における結核菌 (H₃₇RV 株) 発育阻止作用

	100 r	10 r	5 r	2 r	1 r	0.5 r	0.25 r	0.125 r	0 r
I NH	--	--	--	--	++	++	++	++	
Isod	--	--	++	++	++	++	+++	+++	
No. 15	--	--	--	--	++	++	++	+++	
PAS	--	--	--	--	- ±	++	++	++	
Control									+++

註) ±肉眼的に判定し難いもの
 +管底に少数の発育を認めたもの
 ++管底に多くの発育を認めたもの
 +++管底及び管壁にも発育を認めたもの

体重であつて、これら2匹のマウスの体重が重かつたのは、後記する肺臓および脾臓の重量をみて分るごとく、非常に重量増加しているためであろうと考えられる。I NH群、No. 15群は順調な発育を示し、Isod群は前2群に比べてやや劣つていようであつた。

3) 死亡率

無処置対照群では、9匹中第1回剖検時まで生存したのは2匹だけで7匹は全部結核のため死亡した。菌接種後3週間目に1匹、4週目に4匹、5週目に2匹死亡し、何れの動物の肺臓にも肉眼的に高度な結核性病変が認められた。I NH群は9週目に1匹、Isod. 群は1週目に1匹、5週目

に1匹、いずれも事故死あるいは不明の原因によつて死亡している。したがつて第1回の剖検時には、I NH, No. 15 両群の5匹ずつと、Isod. 群の4匹、無処置対照群の2匹の計16匹を剖検し、第2回剖検時には、I NH, Isod. 群の4匹宛及び、No. 15群の5匹、計13匹を剖検した。したがつて以下述べるのは16匹および13匹について行つた諸検索の結果である。

4) 剖検所見

a) 肺重および脾重

第1, 2回何れの剖検時にも肺臓及び脾臓の重量を測定した。無処置対照群では平均肺重は910 mg, 平均脾重は455 mg で治療群に比べると肺重は約4倍, 脾重は約3倍である。各治療群では余り差はみられなかつた。

b) 肉眼的所見

主に肺臓における結核(結節)病変を観察した。

第1回剖検時無処置対照群の2匹は高度な病変を呈し、肉眼的に融合した多数の結節が認められた。I NH, Isod., No. 15 群には肉眼的に病変は認められなかつた。

第2回剖検では、無処置対照群は全部実験終了までに強度の結核病変のため死亡したので他の群との比較はできなかつたが、治療群では Isod. 群の1匹に充血がみられたのみであつた。

5) 定量培養成績

定量培養成績の内、治療5週のもの表IIIに示すように、無処置対照群は特に稀釈を高くしたにもかかわらず肺臓からは極めて多数のコロニーの発生がみられた。治療群では、今まで述べてきた

表II

第 1, 2 回 剖 検 時 の 各 動 物 の 肺 重 及 び 脾 重

動物番号	第 1 回 剖 検					第 2 回 剖 検					平 均	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Control	肺 重	900mg	920								6 W	910
	脾 重	500mg	410								6 W	455
I N H	肺 重	150	200	150	180	190	250	300	280	240	6 W	174
	脾 重	50	160	310	170	100	240	230	220	300	10W	267.5
Isod	肺 重	200	240	260	250		220	290	220	260	6 W	158
	脾 重	160	180	170	230		220	190	120	140	10W	247.5
No. 15	肺 重	120	200	160	220	230	230	250	270	260	6 W	186
	脾 重	80	400	110	200	130	180	150	140	250	10W	248
											6 W	184
											10W	174

表III 各臓器の培養成績 (集落数)

剖 検	薬 剤	動 物 No.	肺 脾	臓 週
6 週 目	I N H	1	7	57
		2	62	57
		3*	10	7
		4*	0	7
		5	55	+
	Isod.	1*	75	7
		2	0	73
		3	3	35
		4*	3	57
	No. 15	1	+	++
		2*	29	++
		3	+	+
		4*	63	++
		5	85	++
	Control	1*	卍	卍
		2*	卍	卍

* 印は組織標本を作成せし動物番号を示す。

諸検索によつても余りはずきりした差異がつけにくかつた各群も定量培養成績により幾らか差異が認められるように思われる。すなわち, I N H, Isod. 群では肺, 脾臓ともほとんど差が認められ

表IV 各臓器の培養成績 (集落数)

剖 検	薬 剤	動 物 No.	肺 臓	脾 臓
10 週 目	I N H	6*	0	3
		7	7	7
		8	0	13
		9*	3	29
	Isod.	6*	0	10
		7	0	17
		8*	3	19
		9	3	27
No. 15	6	3	+	
	7*	0	17	
	8*	10	+	
	9	3	80	
	10	0	79	

+ $10^3 \sim 10^4$
 ++ $10^4 \sim 10^5$
 +++ $10^5 \sim 10^6$
 卍 10^6 以上

ないが, No. 15 群では脾臓からは特に多くのコロニーの発育がみられ, 肺臓からは, 脾臓程ではないが, 他群に比べると多くのコロニーが発生している。

治療9週の成績は表IVに示したが、対照動物は前述のように、実験終了までに全部結核で死亡した。治療群のINH, Isod. 群では各々2例づつ (INH 6, 8, Isod. 6, 7) 肺臓から結核菌の発育はみられなかつたが、脾臓からは全例に少数づつのコロニーの発生がみとめられた。No. 15 群は肺臓からは2例 (No. 15-7, 10) に陰性(ただしNo. 15-10 は一本雑菌発生)であつたが、脾臓の成績は前2群よりも劣つた成績を示した。

6) 病理組織学所見

無処置対照群：肺臓には、主として繁殖性病変が認められ、泡状細胞内にはアニリン水フクシン染色により多数の結核菌が証明された。肝臓には、グリソン氏鞘の血管の側および肝小葉内に単核細胞、リンパ球、細網細胞および類上皮細胞化した少数の細胞を交えた小巣が散在し、その部に少数の結核菌を認めた。脾臓には著明な細網細胞の増生がみられた。

治療群：5週間治療の肺臓には、各治療群とも一部の肺胞腔に少数の白血球、リンパ球および単核細胞が認められ、また限局性に肺胞壁の肥厚があつた。9週治療群では全群にほとんど差がなく、多くの例において気管支周囲性にリンパ球および細網細胞の軽度の増生を認めた。肝臓では、治療5週および9週とも治療群間に殆んど差がなく、主としてグリソン氏鞘の血管の周辺に小巣を認めた。脾臓では、治療5週および9週とも細網細胞の増生がみられた。その程度は治療9週のものより軽度であつた。

考 按

Isod. の結核菌 ($H_{37}Rv$ 株) に対する抗菌作用は試験管内においてINHより劣つていた。この点についてはBrodhage等²⁾平野等³⁾堀等⁴⁾の結果も同様であつた。ただしその最小阻止濃度は実験方法その他色々の条件により幾分の差がみられる。すなわち平野等は1.5 r, 堀等は2 r Brodhage等はINH 400万倍に対しIsod. 236万倍と報告している。

著者の実験の場合は5 rでもなお完全阻止はみられず、10 rで完全阻止されている。また今回の実験において意外なのはPASがINHとほとんど等しい最小阻止濃度を示していることである。しかし、よく観察すると、INHでは0.125 rまで(+)であるのに対してPASでは0.5 rですでに

(+)となつている。No. 15 は前述のごとくIsodにPASを結合せしめたものであるが2 rで完全阻止がみられており、PASの相加作用効果が試験管内では幾らかみられるようである。しかし0.5 rではすでに(+)であり、Isod., No. 15, PASは0.5 rではほとんど同じ位の発育阻止を示している。

マウスの実験的結核の治療実験によると、無処置対照群では、肉眼的にも病理組織学的にも著明な結核性変化が認められたけれども、治療群では先づINH単独治療群およびIsod 単独治療群はほとんど同等の成績で一番良好な治療効果が認められた。No. 15 は試験管内ではIsod よりも優れた抗菌作用を示したのにもかかわらず組織学的検索では脾臓に病変が強く定量培養成績でも脾内生菌数は一番多く、肺臓では組織学的には特に目立つた変化はみとめられなかつたが前2群に比べて定量培養により肺内生菌を多数認めた。

臓器内の結核菌の陽性率が高かつたこと、およびIsod の効果がモルモットではINHよりも優れていたが、マウスではほとんど同様であつたことは宿主側の感受性の差異によるものと解釈される。マウスの結核の特徴は典型的な結核結節をみず、ラ氏型巨細胞、乾酪化、空洞形成等がみられない。病巣形成をなすのは主に大単核細胞でこれを一種の類上皮細胞とみなしている。このような差異は当然動物の種属による結核菌に対する感受性の相違によるもので、形成される病巣に差異があれば、また化学療法剤に対する反応の相違も生ずるものと思われる。

結 論

1) Isod の試験管内における $H_{37}Rv$ 株の発育阻止濃度はINHより劣り、10 rで完全阻止、5 rでは不完全阻止を示した。No. 15 はIsod. よりやや優れ2 rで完全阻止を示した。

2) マウスの結核症に対するIsod. の効果はINHと同程度であつた。No. 15 は試験管内でIsod より優れた抗菌作用を示したが動物実験では、Isod より劣つていた。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜つた平野憲正教授に深く感謝の意を表し、また御親切に病理組織学的諸点について御指導下さいました病理学教室今井三喜教授に厚く感謝申し上げ、色々と御助力下さいました細菌学教室の皆様にも厚く御礼申し上げ

げます。

文 献

- 1) 須藤昭子：東京女医大誌 29 9~19 (昭 34)
- 2) Brodhage, H. and Wilder-Smith, A. E. :
Brit. J. Tbc. & Dis. Chest. 49 185~197
- 3) 平野憲正・須子田キヨ：日本結核病学会第32回
総会発表 (昭 32)
- 4) 堀三津夫・他：結核 31 近畿地方学会 325
(昭 31)