

結核化学療法の基礎的研究

第 69 報

INAH およびその誘導体を用いての発病阻止効果について

(第 1 編)

金沢大学結核研究所細菌免疫部 (主任： 柿下正道教授)

西 村 博 顕

(受付： 昭和34年7月21日)

緒 言

従来、結核の発病予防対策は、未感染者に対する BCG 接種と、自然感染者の養護という方針のもとに実施されてきた。しかるに近年優秀なる結核化学療法剤の登場は、これら薬物を発病予防の方面に用いんとする意欲にもゆる多くの研究者を輩出せしめ、既に幾多の臨床的ないし実験的企図がなされている現況である。ことに Isonicotinyl hydrazide (INAH) は抗菌力、副作用その他経済的観点からこの目的のために広く使用されて、数多くの報告がみられるに至った。すなわち人体においては岡田¹⁾、千葉²⁾、

戸島³⁾、戸塚⁴⁾、宇留野⁵⁾等、実験的結核症については、Ferebee⁶⁾、Dubos⁷⁾、大西⁸⁾、江頭⁹⁾、柳沢¹⁰⁾、佐川¹¹⁾、堀¹²⁾等によるすぐれた報告に接しているが、その効果については必ずしもすべての研究者の見解が一致しているわけではない。しかもその後あいついで登場せる数種の INAH 誘導体についてその発病予防効果を検討したものはまだない。そこで私は INAH について追試を試みるとともに、これら INAH 誘導体の発病阻止効果を INAH のそれと比較検討した。以下はその成績の概要である。

実験材料ならびに実験方法 (表 1, 2 参照)

1) 実験動物： 体重 500g 内外の Römer 反応陰性なる健康モルモット 72 匹を実験に供した。

2) 感染方法： Sauton 液体培地 15 日間培養のヒト型菌 H₂ 株を使用し、その 0.1mg (生菌数はおよそ 7×10^5) を左大腿内側に皮下注射した。

3) 使用薬剤

I Isonicotinyl hydrazide (INAH)

II Sodium isonicotinyl hydrazide methansulfonate (IHMS)

III Sodium glucuronate isonicotinyl hydrazone (INHG-Na)

IV Isonicotinyl hydrazino pyrvic acid calcium (IPC)

以上 4 種である。それぞれの投与量は成人常用量より換算し、6, 20, 20, 20mg/kg 体重とした。これら水溶液または懸濁液として、ピペットを用い、各 H₂ 株感染モルモットに毎日経口の投与を一定期間持続した。

4) 実験方法： H₂ 株感染モルモット 72 匹を 5 群に分ち、1 群は非治療群 (対照群) とし、他 4 群はそれぞれ INAH, IHMS, INHG-Na, IPC 治療群とした。各治療群は更に感染同日治療開始群 (治療期間 6 週、

以下“**A群**”と仮称)と感染2週後治療開始群(治療期間4週, 以下“**B群**”と仮称)の2亜群に分ち, 各亜群は, いずれも更に感染6週後剖検群(前半剖検群, 投与薬剤の影響をさけるため投薬中止72時間後に剖検)と, 感染10週後剖検群(後半剖検群, 投薬中止後4週目剖検)とに区別した。なお対照群は2群に分け感染後それぞれ6週目および10週目に剖検した。

5) 検査事項: 各動物について2週ごとに体重測定を行い, 感染局所および所属淋巴腺の触知状況を観察するとともに, 10倍希釈 OT 液を用いて, ツベルク

リン皮膚反応を行う一方, 心臓穿刺により得た血清について, Middlebrook-Dubos 反応を実施した。剖検時には感染局所, 所属淋巴腺, 肺, 肝, 脾の肉眼的病変を検索すると同時に, 脾重量を測定し, かつこれら臓器について1%小川培地を用い結核菌の定量培養を行うとともに型のごとく病理組織標本を作製し, Haematoxylin-Eosin 重染色の外, Vangieson 染色, 好銀線維染色(岡田氏変法鍍銀法), 結核菌染色(Carbol-fuchsin-Haematoxylin-Eosin 染色)を行った。

実 験 成 績

1) 体重の消長(第1, 2図参照)

図は感染前各群の平均体重を100%とし, その後の体重の消長を示したものである。感染後2週までは投薬の有無にかかわらず減少の認められるものがあつたが, 各群いずれにおいても最終剖検時には増加が認められた。しかして対照群に比し治療群では一般に増加率は, はるかに高かつた。なかには IHMS 治療群のようにその A 群では最初から漸次増加を示し, B 群では治療開始までに平均 6.9% もの減少を示したのもあつたが, 最終的体重増加率には, 両群の間で有意の差が認められなかつた。

2) ツベルクリン皮膚反応(第3表参照)

毎回接種部位を変えて10倍希釈 OT 液 0.1ml を皮内注射した。測定は注射24時間後に実施した。対照群においては感染2週後全例(8例)の陽転が認められたが, これに対し治療群においては興味ある事実が観察された。すなわち A 群では2週後, IPC 治療群中の1例を除き他はすべて(-)~(±)にとどまり, 以後も IPC 治療群中に陽転例が認められた以外は, ほとんど疑陽性以下のまま経過した。B 群では投薬開始までに全例陽転することは対照群と同様であるが, 投薬とともに反応は弱くなり, 投薬中止によりまた反応が強くなるという結果が得られた。なお A 群中 IPC 群でみられた 11~14mm の弱陽性のももの硬結の程度は明らかに対照群のそれより弱かつた。また A 群の 4 群について

全期間を通じて(-)に比し(±)のあらわれる率を比較すると, IHMS<INAH<INHG-Na<IPC 群の順に多くなつていくことがうかがえる。

3) OT 感作血球凝集反応(第3, 4図参照)

各群における各時期の平均凝集価を図示したものである。個々の症例についてみると, 必ずしもツベルクリン皮膚反応値と凝集価とは並行関係にあるとはいえないが, A 群では対照群に比し全経過を通じて明らかに凝集価は低い。しかも INHG-Na 治療群を除き他の3剤治療群では第2週になお陰性である。しかも4群とも第6週(すなわち治療中止の時期)を頂点として低下を示している。これに対し B 群では治療開始前に陽性となり, A 群とは明らかに高い凝集価をもつて4, 6, 8週を経過し, 対照群との差も A 群と対照群との差ほど著明ではない。また治療開始により一時的ではあるが, 凝集価の低下, または上昇度の減退を INAH 群を除く他の3薬剤群に認めたことは治療開始後のツベルクリン皮膚反応の弱化傾向とあわせ考えて興味あるところである。

4) 剖検結果

I) 脾重量の比較(第4表参照)

各群の平均脾重量およびその平均体重に対する百分比を表示した。両剖検時期においてともに各治療群の体重比が対照群のそれよりも明らかに小さく, かつ A 群と B 群とでは前者が小さ

かつた。また薬剤群別にみると、B群においてのみIPC治療群の体重比が他3剤治療群に比し大きく対照群に近かつた。

II) 各臓器中の結核菌定量培養成績(第5表参照)

各臓器中の結核菌定量培養の成績を第5表に示した。表中の数字は平均値である。この表から明らかのように各治療群における臓器内生菌数は対照群に比し、いずれも明瞭に少なく、かつ各薬剤群別にA群とB群とをそれぞれ比較すると、両剖検時期において、ともに前者の方の臓器内生菌数が明らかに少なかつた。しかして前半剖検時には全例培養陰性であつたA群において、後半剖検時にはINAH群(1例、肺のみ)およびIPC群(1例、肺、肝、脾)の各1例において菌陽性であつた。一方、B群では両剖検時期においてともに培養陽性の例が多く、ことにIPC群の後半剖検群では各臓器内生菌数は対照群にははるかに及ばないとはいえ他3剤群よりかなり多かつた。以上培養成績よりみると、4薬剤の治療効果はIPC<INAH<INHG-Na \approx IHMSの関係にあるごとく考えられる。

III) 主要臓器肉眼的所見(第5図参照)

a) A群の前半剖検例における所見

対照群の全例にみられるような感染局所の結核性膿瘍は4薬剤投与群には1例も認められなかつた。また対照群では全例において明らかに黄色乾酪化せる小豆大～米粒大の所属淋巴腺が見出されたが、治療群では1～2例に帽針頭大、半透明の淋巴腺1個あてが証明される程度であつた。肝および脾では数例に小白斑を証明する程度で、対照群におけるような明瞭な特異的結核結節はみられなかつた。ただ、肺において生菌を証明し得なかつたにもかかわらずIHMS群を除いた3薬剤群に1～3個の極小結節を認めたが、培養陰性であることより考えて、感染後きわめて早期に肺に及んだ病変が感染と同時に開始された治療によつて直ちに治癒機転への経過をとつたものと推定される。(後述病理組織所見参照)

b) B群の前半剖検例における所見

局所膿瘍は15例中13例に存在し、その大きさは各薬剤投与群の間で明瞭な差異が認められなかつた。一方、所属淋巴腺についてみると帽針頭大～米粒大、半透明の淋巴腺が、IHMS群の2例を除いてほとんどの症例に証明されたが、乾酪化せるものは1例もなく、局所所見が対照群のそれに近いにもかかわらず、所属淋巴腺の所見は対照群と明瞭な差異を呈した。肺、肝、脾の肉眼的所見も対照群との間に顕著な差を示し、病変の進展は明らかに抑制されていたが、各薬剤投与群の間ではほとんど有意義な差がなかつた。なお肺5例、脾1例において肉眼的に微小結節が認められながら培養陰性であつてA群でみられたと同様な現象を示した。

c) A群の後半剖検例における所見

感染局所の結核性膿瘍はINAH群およびIPC群それぞれに1例ずつ認められたが、いずれもきわめて小さいものであつた。また所属淋巴腺の乾酪化は皆無で上記2例とINHG-Na群の1例に不透明米粒大腫脹が認められるにすぎなかつた。しかして肺、肝、脾についてみると上記2例では結節が中等度に認められかつ培養陽性で、他の2例では明瞭な結節を有しながら培養陰性、その他に肉眼的に結核性とは断じ難い微少有所見例が数例に認められた。以上の所見を総合するとA群の前半剖検例における所見に比し、やや劣るところがあると考えられる。

d) B群の後半剖検例における所見

局所膿瘍は16例中14例に認められ、淋巴腺についてみると5例において乾酪化、全例において米粒大またはそれ以上の大きさの白色不透明腫脹が認められた。肺、肝、脾ではIPC群の全例に結核結節が明瞭に認められ、培養は陽性、他3薬剤群でも有所見例は他の3剖検例に比し多く、病変程度も強かつた。ただし肺に結節を有しながら培養陰性なるものも認められた。

IV) 病理組織学的所見(図6, 7, 8参照)

概して組織学的にみると肉眼的所見と一致せ

る例が多かつた。これを剖検時別治療群別、臓器別、病巣所見別に示したものが図6, 7, 8である。

全般的所見：各臓器共、治療群の病変程度は対照群のそれより軽度で、特に肝、脾においてその傾向が大であつた。すなわち肝についてみるとGlison氏鞘における病変は両剖検時を通じて対照群に最も強く、実質においても同様の傾向がみられた。治療群間を比較するとき、A群ではGlison氏鞘を除き実質にはほとんど病変がみられなかつたものが、B群ではGlison氏鞘とともに実質外層より中、内層にかけて軽度の病変を呈しているのが認められた。各薬剤別効果を比較することは困難ではあるが、両治療時期群とも、前半剖検時にはINAH群に病変多く、後半剖検ではIHMS群に概して病変少なく、IPC群に多いようであつた。

脾についてみると、淋巴ろ胞における主要病変は対照群に最も強く、髄質においても対照群全例に軽度ながら変化が認められた。治療群では髄質に病変を認めないものの方が多かつた。個々の症例についてみるとIPC群中には対照群に近い質的病変を呈するものが2~3例存在した。

肺の病変についてみると、血管周囲および気管支周囲の病変が対照群と治療群との間で明らかな差を示しているが、治療群では両群間およびその剖検時期別にも明瞭な差が認められなかつた。しかしA群中にはB群に比較して概して病変が軽度と思われるものが2~3例あつた。薬剤別治療効果は各群の間に全く差が認められなかつた。

結核結節：類上皮細胞増殖は対照群に比し治療群では軽度であり、治療群中、A群では一般に最も軽度で、これに反しB群中IPC群ではやや強かつた。同細胞の変性に関しては各群間で有意義な差を認めることは困難であつた。

小円形細胞浸潤は治療群および対照群の各臓

器においてともに強く、両剖検時、各薬剤群相互間で有意義な差は見出し難いが、INAH群ではいずれもやや強い傾向が認められた。

線維芽細胞増殖および膠原線維増殖はいずれもA群およびB群においても後半剖検時群にやや強い傾向が認められた。

好銀線維増殖は各臓器を通じて対照群に最も多くIPC群がこれに次ぎ、IHMS群、INHG-Na群に比較的少ない傾向が看取された。剖検時期別にみると肝の好銀線維はA群に比しB群において明らかに多い関係にあつたが、肺および脾ではこのような関係は明瞭には認められなかつた。

ラ氏巨細胞は対照群の全例に多少とも証明されたが、A群では前半剖検時には1例にも証明されず、後半剖検時に1例の肺に認められたのみであつた。B群では肝に全例、肺および脾には2~3例に証明されたが、投与薬剤との間に特定の関係は認められなかつた。

乾酪変性は、A群では前半剖検時に1例もなく、後半剖検時に1例の脾(IPC群)に認められたのみであつた。B群では前半剖検時に肺、脾においては各治療群とともに証明されず、肝においてIHMS群を除く他3薬剤群に少数例あて証明された。後半剖検時には脾にIPC群の1例、肝にはINHG-Na群を除いた3薬剤群に1例あて証明された。結核菌は対照群の全例に多少とも証明することができたが、治療群ではA群の前半剖検時において1例(IPC群)の脾に、その後半剖検時の4例(3例はIPC群、1例はINAH群)の肝に証明された。B群においてはA群に比しその証明率は多くなつていた。

以上、病理組織所見を通覧すると、治療群では対照群よりも、またA群ではB群よりも病変は軽微で、病巣の治癒傾向大であつた。使用薬剤別にはIPCが他3剤に比し治療効果が劣るようであつた。

考 案

以上の実験結果を総合すると、感染と同時に治療を開始した場合、INAHまたはその誘導体による発病阻止効果はいずれも有効であり、感染2週後に治療開始せる場合は、前者より劣ることが認められた。このことは柳沢¹⁰⁾、佐川¹¹⁾等によつて述べられたところと大体一致する事柄である。

「ツ」アレルギーに対するINAHの影響については、柳沢¹⁰⁾は「ツ」反応がINAH投与によつて一時的にその強さを減ずると、およそ著者と同様な成績を報告し、橋本¹⁶⁾は人体におけるINAHの予防内服でも「ツ」反応を減弱せしめ、内服中止後には再び強度を増すことを観察している。しかるに大西⁹⁾は感染と同時に治療を開始しても4週後にはすべて「ツ」反応陽性を示し、治療の有無は反応度の推移に無影響であつたと報告している。更にJ. Desbordes¹⁷⁾は抗結核剤の使用期間が問題となるが、Streptomycinは「ツ」アレルギーを減弱し、INAHは逆に増強せしめると報告しているが、これらはいずれも感染方法、投薬方法、投薬量の相違によるものであろう。

INAHによる発病阻止効果の検討に際して、OT感作血球凝集反応について観察された文献には未だ接しない。著者は該反応の経過観察の結果、感染同時治療群では血中抗体の発現は対照群のそれより遅れ、かつ程度も弱いことを確認した。他方、感染2週後治療開始群では、治療開始による血中抗体産生の一時的減弱を観察することができた。これらは「ツ」皮膚反応のINAH投与による影響と考え合わせうなずけるところであらう。

次にINAH誘導体相互の関係について考察すると、著者の実験では各使用薬剤が一様に20mg/kg投与されたため、一見、IPCによる成績が他の2剤に比べわずかに劣っているごとく

ある。しかしながらこれは薬剤そのものに由来するものでなく、その1分子量中のINAH含有量に関係するものではないかと考えられる(第1表参照)。すなわちIPC、INHG-Na、IHMSをそれぞれ20mg/kgの割に投与したが、これらのINAH換算量はそれぞれ、4.7mg、7.4mg、11.2mgとなり実験結果もその量に相当し、多いものほど高い効果を示している。このことは堂野前¹³⁾、下村¹⁴⁾、佐川¹⁵⁾等によつてINAH誘導体の効果が生化学的にみた場合、生体内で遊離されるINAH量によつて決定されると指摘されていることと一致するものである。換言すれば私の行つた実験における発病阻止効果に有効なINAH量を推測せしめるところではないかと考えられる。

また、Ferebee⁹⁾ & Palmerはモルモットの実験的結核症において5mg/kgのINAHを感染前より投与することが発病予防に効あるとともに、二次感染後の生存日数よりみてBCG同様の免疫効果を有すると報告し、これに反しDubos⁷⁾は感染同時治療の場合、感染菌量が少量では免疫力を生じないが、大量の場合は重感染に対し免疫を生ずることを生存日数の延長より証明している。著者の実験では感染同時治療開始群でもINAH換算量の少ないIPC群で「ツ」アレルギーは他群より強く、INAH換算量の多いIHMS群では「ツ」アレルギーは最も弱かつた。この「ツ」アレルギーの強弱がDubosのいうごとく免疫力と直接関係があるかいは、著者の実験からは推論し得ないが、少なくとも「ツ」アレルギーの発現を抑制する状態が発病予防に有効であつたと考えられる。しかして発病を予防するとともに、免疫を獲得せしめるINAH量の決定には更に詳細な検討が必要であらう。

小 括

1) 感染と同時に INAH またはその誘導体を投与したモルモットの実験的結核症においては「ツ」アレルギーの発現はきわめて弱く, なかには陰性にとどまつたものも存在した. また血中抗体の産生も強く抑制された. その発病予防効果については感染と同時に治療を開始し, 投与 INAH 量が一定量以上 (私の場合は 6mg/kg 体重, 連日 6 週) の場合, ほぼ完全に有効であることが示された.

2) 感染 2 週間までに発現した「ツ」アレルギーはその時より開始した INAH 投与によつて減弱し, 投与の中止により再び強くなる. かつ血中抗体産生も一時的に抑制されることが判明した. 一方, 発病予防効果については, 感染同時治療開始の場合に比し, きわめて劣るものであることが判明した.

(文献は第 2 篇に一括記載)

第4表 各群別脾重量(平均)およびその体重比

(A群) 同時治療開始群				
群	前半剖検群		後半剖検群	
	脾重量	体重比	脾重量	体重比
I N A H	0.97	0.15	1.20	0.20
I H M S	1.05	0.18	1.10	0.17
INHG-Na	1.41	0.21	1.30	0.19
I P C	1.03	0.18	1.10	0.20
平均	1.15	0.18	1.17	0.19
(B群) 2週後治療開始群				
I N A H	1.03	0.18	1.40	0.21
I H M S	1.00	0.17	1.31	0.21
INHG-Na	1.03	0.18	1.21	0.19
I P C	1.21	0.25	1.51	0.25
平均	1.06	0.19	1.35	0.21
対照	1.61	0.28	1.41	0.24

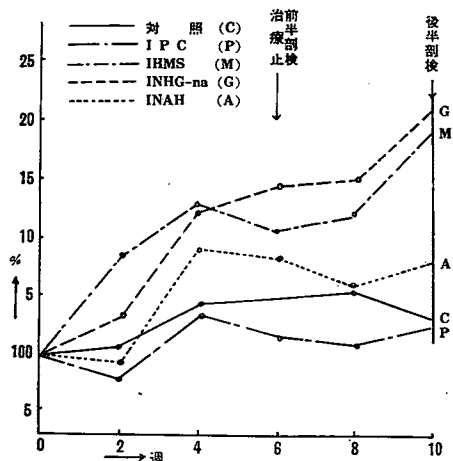
第5表 結核菌定量培養成績(各群平均)

(A群) 同時治療開始群						
群	前半剖検群			後半剖検群		
	肺	肝	脾	肺	肝	脾
I N A H	0	0	0	0.5	0	0
I H M S	0	0	0	0	0	0
INHG-Na	0	0	0	0	0	0
I P C	0	0	0	3.25	4.5	0.25
(B群) 2週後治療開始群						
I N A H	1.75	7.75	0	0.25	4.2	0.2
I H M S	0	1.0	0	0	6	3.2
INHG-Na	0.5	5.6	0	2.5	1.25	0.25
I P C	0.25	3.75	0	9.7	15.5	7.2
対照	30.0	87.5	75.2	38.5	72.7	196.5

臓器 0.1gm中より発生したコロニー数 (6週判定)

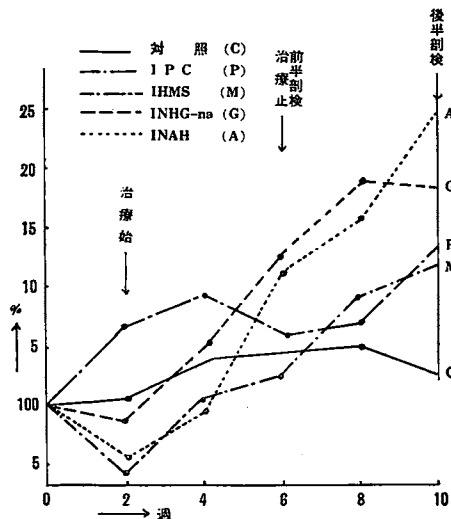
第1図 体重の変遷

同時治療開始群(A群)



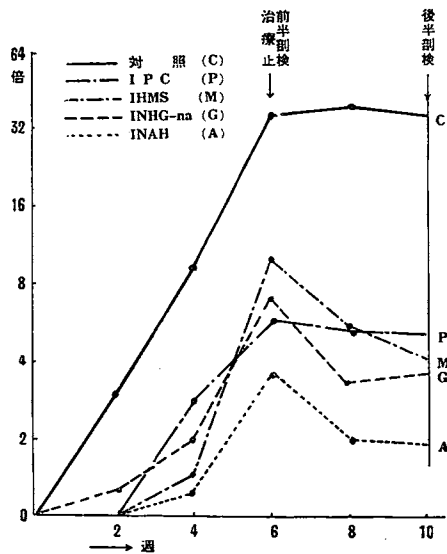
第2図 体重の変遷

2週後治療開始群(B群)



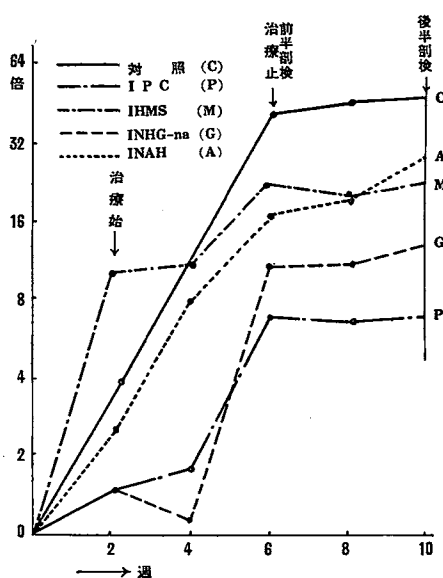
第3図 血球凝集反応の成績

同時治療開始群(A群)

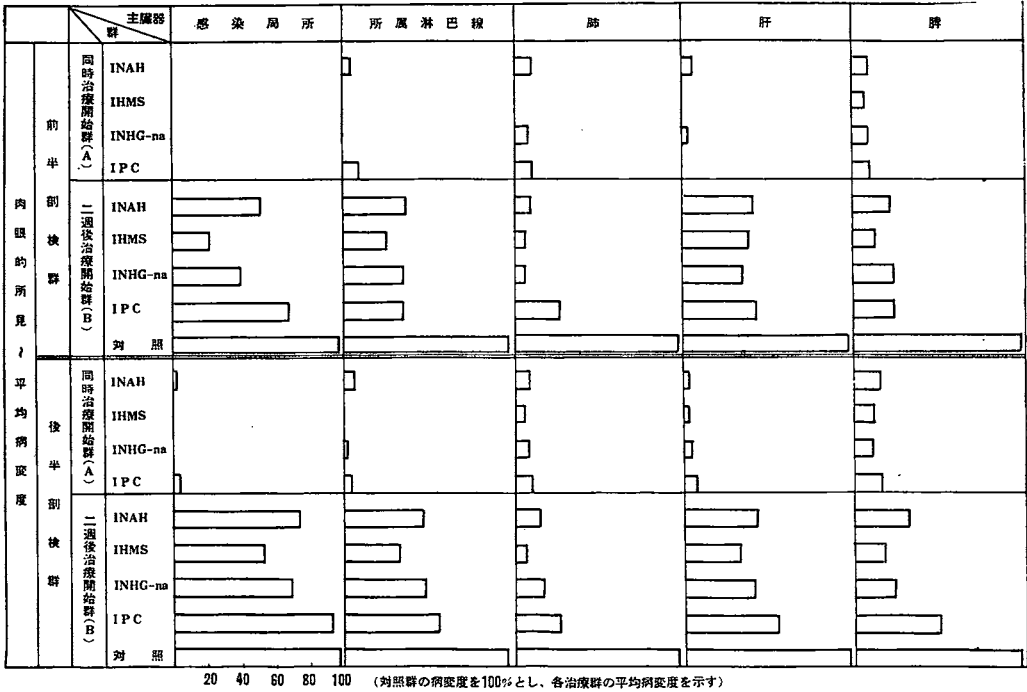


第4図 血球凝集反応の成績

2週後治療開始群(B群)



第5図 主要臓器肉眼的所見



第6図 肺臓病理組織学的所見

