

抗結核剤投与による発病防止に関する研究

第Ⅲ報 INAH 間歇投与の $H_{97}R_v$ 感染海猿の免疫勢力
に及ぼす影響について

昭和34年8月13日 受付

信州大学医学部 戸塚内科教室 (指導: 戸塚忠政教授)

原 正 剛

Studies on Prevention of Experimental Tuberculosis
with Antituberculous DrugsReport III. On the Influence of Intermittent Isoniazid
Regimen upon the Several Immunological Factors
Produced by Tubercle Bacilli $H_{97}R_v$

Masatake Hara

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. T. Tozuka)

緒 言

近年抗結核剤を用いて結核初感染者の発病防止を実施しようとする試みが多数の研究者によつてなされ、臨床実験^{①-③}、動物実験^{④-⑯}の報告が多い。著者は先に動物実験によつて有毒人型結核菌感染海猿に対する INAH 投与の発病防止効果を検討し INAH 2 mg/kg 週2回投与で相当の発病阻止効果を期待出来ることを報告し、又 BCG 接種后有毒人型結核菌を感染して INAH を投与し INAH 投与が BCG 免疫と共に強力に発病阻止に作用することを報告した。又有毒人型結核菌感染に対して BCG 接種による病変の進展阻止効果即ち免疫効果は INAH 2mg/kg 週2回投与で影響を殆ど与えることがなく、この程度の間歇投与ならば BCG 接種により発現する結核免疫に対して INAH 投与の影響を殆ど考慮しなくてもよいと考えられると報告した。

有毒人型結核菌の初感染に際し、結核発病防止の為に INAH 投与を行うことが結核免疫力の発現に如何に影響を及ぼすかは重要な問題である。結核初感染時 INAH を投与すると初感染病巣に対して病変の進展並びに治癒機転に著しい変化を与える結果として初感染によつて成立する個体の結核免疫力に如何なる影響があるか、殊に免疫力の低下を来すことはないか等が問題となる。之に関する研究は外国では Bartmann^⑱、Palmer^⑲、Sher^⑳等により、わが国では堀^㉑により報告されているが、感染菌量と投与薬剤量との相対比によつてその成績は種々であつて、殊に INAH の投与量及び投与方式の差異による詳細な検討を行つたも

のは殆どない。

著者は今回 $H_{97}R_v$ 人型結核菌を海猿に感染せしめて初感染後一定時期より INAH の投与を開始して投与中止后再び $H_{97}R_v$ 人型結核菌を経気道性に感染せしめて初感染によつて成立する免疫が INAH 投与によつて如何に影響されるかを検討したので報告する。

実 験 方 法

動物は購入後4週間にわたつて観察飼育し、Römer 反応陰性であることを確かめた健康な雌性、体重300~400g、白色毛の海猿33匹を実験に供した。実験動物の編成は第1表の通りである。

1) 初感染菌、重感染菌の感染量及び感染方法

初感染は人型結核菌 $H_{97}R_v$ 株小川固形培地18日培養菌の 0.002mg/cc 生理的食塩水浮游液 0.5cc (菌量 0.001mg) を右下肢皮下に感染した。重感染は同様 $H_{97}R_v$ 株小川固形培地14日培養菌の 0.004mg/cc 生理的食塩水浮游液 0.5cc (菌量 0.002mg) を海猿の頸部正中切開で気管を露出し、1/4 針を気管内に挿入し点滴注入によつて経気道性に感染せしめた。重感染は初感染12週后に行つた。

2) 使用薬剤及び投与方法

実験に供した INAH の使用量及び使用方法は第1表の通りで、INAH 2mg/kg 週2回投与 (2mg 間歇投与と略す)、2mg/kg 毎日投与 (2mg 毎日投与)、10 mg/kg 週2回投与 (10mg 間歇投与) とした。薬剤はすべて生理的食塩水に溶解し、下肢外側皮下に注射した。INAH 投与は初感染4週后より開始し8週間投与

第 1 表 実 験 方 法

感 染 群	初 感 染 後		0	4	8	12	18週	動 物 数		
	重 感 染 後								6 週	
H ₃₇ Rv 0.001mg 初 感 染	非 投 与	A)	初感染 ↓			剖検 X		3		
		B)	初感染 ↓			剖検 X	48時間	3		
		C)	初感染 ↓			重感染時	剖検 X	3		
	2mg 間歇	D)	初感染 ↓		生理的塩食水		剖検 X	48時間	2	
		E)	初感染 ↓		生理的塩食水		重感染時	剖検 X	2	
	2mg 毎日	F)	初感染 ↓		生理的塩食水		剖検 X	48時間	2	
		G)	初感染 ↓		生理的塩食水		重感染時	剖検 X	2	
	10mg 間歇	H)	初感染 ↓		生理的塩食水		剖検 X	48時間	2	
		I)	初感染 ↓		生理的塩食水		重感染時	剖検 X	2	
	H ₃₇ Rv 0.002mg 重 感 染	重感染対照	J)	初感染時			重感染時	剖検 X	4	
非 投 与		K)	初感染 ↓			重感染 ↓	剖検 X	48時間	2	
2mg 間歇		L)	初感染 ↓		生理的塩食水		重感染 ↓	剖検 X	48時間	2
2mg 毎日		M)	初感染 ↓		生理的塩食水		重感染 ↓	剖検 X	48時間	2
10mg 間歇		N)	初感染 ↓		生理的塩食水		重感染 ↓	剖検 X	48時間	2

////// INAH □ 生理的塩食水

して重感染48時間前に中止した。対照群には生理的食塩水を週2回下肢外側の皮下に注射した。

観察事項

① 体重及び生存期間

毎週1回可及的一定時間に体重の測定を行い同時に生存期間を観察した。

② ツベルクリン反応

北里研究所製旧ツベルクリン原液より調製した10倍

稀釈液0.1ccを海狸背部皮内に毎回部位を変えて実験前、初感染後4, 6, 9, 12週、重感染後2, 6週に注射し、48時間後に判定した。

③ 剖検時肉眼的所見

実験中途にて斃死したものはその時に、初感染後4週(投与開始時)、12週(重感染時)、18週(実験終了時)にエーテル麻酔で殺し、右膝淋巴腺、肺門淋巴腺、肺、肝、脾、腎の肉眼的結核性病変を検索した。淋巴腺はその大きさにより全く触知されないものを(-)、漸く触知出来るものを(±)、米粒大を(+)、小豆大を(++)、大豆大を(+++)、豌豆大以上のものを(####)とし、臓器の病変は結核結節数個発見を(+), 10個程度を(++), 20~30個程度を(+++), 極めて多数のものを(####)として記載した。別表には肉眼的所見の総括として淋巴腺については右膝淋巴腺、肺門淋巴腺について上記の如く判定した(+)の数を、又内臓については肺、肝、脾、腎の(+)の数を各動物毎に合計した値を图表にあらわした。

④ 臓器内結核菌定量培養

右膝淋巴腺、肺門淋巴腺、肺、脾の約0.2gの臓器切片を無菌的にとり小川の方法⁴⁹⁾により秤量、10⁴、10³倍1% NaOH溶液稀釈組織粥0.1cc宛を各3本の1%小川培地に流注し、6週後の集落数の平均値を臓器1mgに換算して成績を判定した。

⑤ Slide Cell Culture (S.C.C.と略す)

結核菌発育阻止力の測定は実験前、初感染4週後、投与中止48時間後、実験終了時に行い、心臓穿刺により採血してS.C.C.法(Wrightの変法)⁴⁹⁾により人型結核菌H₃₇Rv株3~4週培養菌を用いて血液内増殖阻止力を検した。判定基準は波川⁴⁹⁾により次の通りにした。

判定規準

菌体個々に散在し集落しないもの(参照と同じ) :	(-)
菌体2~4コ集まつて集落をなすもの :	(±)
多数の集落が5~10コの菌からなるもの :	(+)
11~30コの菌からなるもの :	(++)
31~50コの菌からなるもの :	(+++)
51コ以上の菌からなるもの :	(####)

実験成績

1) 体重の推移 (第2表参照)

初感染後より12週迄即ち重感染時迄の体重の推移をみると、INAH投与を行わない非投与群(B・C・K)の体重は8週以後減少するものが少なく、特にNo. 67, 81が著明に減少して来て12週迄に死亡している。INAH投与を行った群に於ける2mg間歇投与(D・F・

L), 2mg毎日投与(F・G・M)の体重は初感染後8週迄増加して来るが、それ以後は増加が停止するもの(No. 77, 83, 56; No. 71, 72, 53), と幾分減少するもの(No. 76, 81; No. 73, 79, 51)とがある。10mg間歇投与(H・I・N)は8週以後も漸次増加するものが多く、特にNo. 116, 121, 124は著明に増加している。その後6週間放置することによつて非投与群(C)のNo. 68, 99は14, 16週に死亡している。投与群の2mg間歇投与(E), 2mg毎日投与(G), 10mg間歇投与(I)は何れも12週時と同程度にとまづているもの(No. 77; 79; 116)と、稍々増加しているもの(No. 83; 72; 64)とがある。

重感染を行ったもの、体重の推移をみると、INAH投与を行わない非投与群の重感染群(K), 初感染を行うことなく重感染菌量に感染した重感染対照群(J)の体重は共に漸次減少するのがみられ、特にNo. 48, 4, 89, 92は著明である。INAH投与を行った各投与群の重感染群(L・M・N)は共に重感染時体重と同程度にとまづているもの(No. 56; 51; 121)と、稍々増加しているもの(No. 55; 53; 124)とがある。

2) ツベルクリン反応の推移 (第3表参照)

初感染後12週迄のツ反応の推移をみると、初感染後INAH投与を行わない非投与群(B・C・K)のツ反応は6~9週迄全例漸次増強し、その後は同程度の強さで経過する。INAH投与を行った群に於ける2mg間歇投与(D・E・L)は非投与群と略々同程度の強さで経過するが、投与前に比して稍々増加するもの(No. 76, 77, 55)がある。2mg毎日投与(F・G・M), 10mg間歇投与(H・I・N)は6週迄に増強して来たものがそれ以後は同程度にとまざるもの(No. 79, 53; 61, 64, 116)と、稍々減弱するもの(No. 71, 72, 51; 85, 121, 124)とがあり、非投与群に比して稍々弱いようであるが著明な差はない。その後6週間放置して18週迄の推移をみると、投与を行わなかつたものも、投与を行ったものも12週時の強さと略々同程度の強さで経過している。

重感染を行った群に於ける重感染後の推移をみると、非投与群(K), 2mg間歇投与(L), 2mg毎日投与(M)は12週時と略々同程度に経過し、10mg間歇投与(N)は12週時10.5, 11mmが18週時15.5, 22mmとなり稍々増強しているが、これ等の群は何れも重感染対照群(J)の6週時の強さと略々同程度であり明らかな差異はみられない。

3) 肉眼的所見 (第4表参照)

初感染海狸のINAH投与を行わない非投与群の結核病変を観察すると、初感染4週後の病変(A)は内

第 2 表 体 重 の 推 移

感染群	動物No.	初感染后							生存期間 (週)
		4 週	8 週	12 週	14 週	16 週	18 週		
		重感染后							
				0 週	2 週	4 週	6 週		
初 感 染	非 (A)	75	+ 60						4
		95	- 10						4
		123	+ 32						4
	投 与 (B)	67	+ 112	+ 196	-66/11週				11½
		81	+ 108	+ 196	+50/11週				11½
		100	+ 34	+ 124	+ 110				12
	(C)	68	+ 58	+ 106	- 36	-53/13週	／	／	14
		99	+ 88	+ 138	+ 98	+ 84	+56/15週	／	16
		101	+ 34	+ 114	+ 220	+ 212	+ 225	+ 248	18
	2mg 間歇 (D)	76	+ 159	+ 244	+ 74				12
		84	+ 76	+ 140	+ 100				12
	(E)	77	+ 130	+ 220	+ 194	+ 180	+ 190	+ 202	18
83		+ 114	+ 176	+ 174	+ 210	+ 232	+ 212	18	
2mg 毎日 (F)	71	+ 96	+ 126	+ 102				12	
	73	+ 65	+ 177	+ 51				12	
(G)	72	+ 116	+ 168	+ 158	+ 178	+ 224	+ 242	18	
	79	+ 124	+ 194	+ 100	+ 124	+ 188	+ 114	18	
10mg 間歇 (H)	61	+ 112	+ 271	+ 24				12	
	85	+ 84	+ 186	+ 24				12	
(I)	64	+ 102	+ 208	+ 210	+ 242	+ 264	+ 282	18	
	116	+ 76	+ 172	+ 220	+ 164	+ 208	+ 240	18	
重 感 染	重感染 (J)	4	+ 3	+ 116	+ 148	+ 108	+ 86	+ 32	6
		89	+ 84	+ 112	+ 110	+ 120	+ 66	+ 28	6
		91	+ 90	+ 190	+ 206	+ 258	+ 249	+ 230	6
		92	+ 72	+ 64	+ 140	+ 114	+ 86	+ 78	6
	非投与(K)	48	+ 104	+ 148	+ 102	+ 56	+ 36	+ 38	18
		103	+ 110	+ 218	+ 226	+ 138	+ 258	+ 216	18
	2mg 間歇 (L)	55	+ 129	+ 201	+ 221	+ 195	+ 217	+ 275	18
		56	+ 119	+ 199	+ 197	+ 174	+ 189	+ 183	18
	2mg 毎日 (M)	51	+ 91	+ 102	+ 60	+ 52	+ 38	+ 60	18
		53	+ 100	+ 168	+ 160	+ 188	+ 222	+ 244	18
	10mg 間歇 (N)	121	+ 39	+ 164	+ 212	+ 234	+ 254	+ 252	18
		124	+ 102	+ 230	+ 296	+ 262	+ 386	+ 374	18

表中の数字は実験開始時と各週の体重との増減量を示す

臓に相当進展した病変 3.5, 0.5, 5.0 を認め、淋巴腺 7, 7, 7 で著しい病変を認め、脾の重量は 1.2, 0.6, 0.7g で脾重量の増加がみられる。初感染12週後の病変(B)は内臓病変が 6, 5, 8 で一層進展し、脾の重

量が 1.2, 0.8, 2.2g で脾重量の増加が著しくなっている。初感染18週後の病変(C)は12週のそれと大差がなく12週以降病変の急速な進展がないことを示している。

第3表 ツベルクリン反応の推移

感染群	動物No.	初感染後		4週	6週	9週	12週	14週	18週
		初感染時	重感染後	(投与開始)			(投与中止)	2週	6週
初 感 染	非 (A)	75	—	10					
		95	—	15					
		123	—	13					
	投 (B)	67	—	12	12	18	///		
		81	—	7	13	14.5	///		
		100	—	11.5	18.5	15.5	16		
	与 (C)	68	—	14	16.5	22	19	///	///
		69	—	15.5	19	16.5	19	21	///
		101	—	10	18	12.5	15	17	16.5
	2mg 間歇 (D)	76	—	12	13.5	12	17		
		84	—	13	14	12	13.5		
	(E)	77	—	10	11	11	14	15	14
83		—	15	15	14	14.5	14.5	16	
2mg 毎日 (F)	71	—	12	11	11.5	7.5			
	73	—	9	10	11	15			
(G)	72	—	12	11.5	17	11	9	12	
	79	—	13	14.5	13	12	11	13.5	
10mg 間歇 (H)	61	—	10	11	10.5	12			
	85	—	14	12.5	8	9			
(I)	64	—	14.5	15	11.5	13	9	10	
	116	—	12	16.5	14	14.5	12	17.5	
重 感 染	重感染 (J)	4	—				—	13	17
		89	—				—	5	7
	対照	91	—				—	9.5	17
		92	—				—	4	16
非投与 (K)	48	—	12	15	17	20	14	21.5	
	103	—	13	16	15.5	15	16.5	19	
2mg 間歇 (L)	55	—	12	8	22	22	20.5	17.5	
	56	—	12	12.5	11	13	16	10	
2mg 毎日 (M)	51	—	13	13.5	9	8.5	8	6	
	53	—	13.5	10	11.5	10	15	14	
10mg 間歇 (N)	121	—	13.5	16	10.5	10.5	11	15.5	
	124	—	12	17	10.5	11	11	22	

表中の数字はツ液注射48時間後の発赤の縦横径の平均値 (mm) を示す

初感染4週後より INAH 投与を開始し8週間投与した時の病変は、2mg 間歇投与 (D) の病変は内臓 1, 1.5, 淋巴腺 4, 7, 脾重量 0.8, 1.3g であり、2mg 毎日投与 (F) の病変は内臓 0, 0.5, 淋巴腺 6, 5, 脾

重量 0.8, 0.6g であり共に投与しないものゝ12週の病変 (B) 内臓 6, 5, 8, 淋巴腺 8, 6, 8, 脾重量 1.2, 0.8, 2.2g に比して病変が著しく軽く、特に 10mg 間歇投与 (H) は内臓病変 0, 0 で軽く淋巴腺病変も 3,

6で軽く、投与群中病変が最も軽い。その後6週間放置することによつて2mg 間歇投与(E)の淋巴腺病変, 2mg 毎日投与(G)の内臓病変, 10mg 間歇投与(I)の淋巴腺及び内臓病変は再び僅かに進展する。

重感染を行つたものについて重感染6週後の病変を観察すると、初感染後投与をすることなく重感染を行つたものゝ病変(K)は内臓病変9, 10で、淋巴腺病変8, 8でもとに高度で脾重量が2.2, 1.3gと非常に大きいこれは初感染後投与をすることなく18週放置したもの(C)の内臓病変7.5, 4, 5より稍々強いが、淋巴腺病変は差がない。初感染を行うことなく重感染菌量

を感染せしめたもの(J)の6週後の病変も内臓12, 9, 10, 9, 淋巴腺8, 7, 7, 7, 脾重量2.7, 0.7, 2.1, 1.0gで病変が強く、初感染に重感染を行つたもの(K)と同等である。初感染後 INAH 投与を行つて重感染を行つた群の病変は比較的軽く、2mg 間歇投与(L), 2mg 毎日投与(M)は淋巴腺病変が8, 7; 8, 7と相当強いが、内臓病変が3, 2.5; 2.5, 4と軽度で脾重量が0.9, 0.7; 0.8, 1.0gで著しくない。10mg 間歇投与(N)は内臓病変が7.5, 6と重く、2mg 間歇投与(L), 2mg 毎日投与(M)より結核病変の進展が強いと云えるが、然し重感染対照群(J)より病変の

第4表 肉 眼 的 所 見

感染 時期	臓 器	淋巴腺所見	内臓所見	脾重量(g)	観察 期間		
初感染	非投与	75	7	3.5	1.2	4週	
		95	7	0.5	0.6	4	
		123	7	5	0.7	4	
	B)	67	8	6	1.2	11½	
		81	6	5	0.8	11½	
		100	8	8	2.2	12	
	C)	68	7	7.5	0.7	14	
		69	8	4	0.8	16	
		101	7	5	1.4	18	
	2mg 間歇	D)	76	4	1	0.8	12
		84	7	1.5	1.3	12	
		E)	77	8	1	0.6	18
	2mg 毎日	F)	71	6	0	0.8	12
		73	5	0.5	0.6	12	
		G)	72	7	1	1.1	18
	10mg 間歇	H)	79	6	1	0.9	18
		81	3	0	0.5	12	
		I)	85	6	0	0.7	12
重感染	対照	J)	4	12	2.7	6	
		89	7	9	0.7	6	
		91	7	10	2.1	6	
		92	7	9	1.0	6	
	非投与	K)	48	8	9	2.2	18
		103	8	10	1.3	18	
	2mg 間歇	L)	55	8	3	0.9	18
		56	7	2.5	0.7	18	
	2mg 毎日	M)	51	8	2.5	0.8	18
		53	7	4	1.0	18	
	10mg 間歇	N)	121	7	7.5	0.7	18
		124	8	6	1.0	18	

程度が軽い。

初感染後 INAH を投与して放置した群 (E・G・I) と、初感染後 INAH を投与して重感染を行った群 (L・M・N) に於て INAH 投与量の同じものについて病変を比較すると、2mg 間歇投与 (E・L)、2mg 毎日投与 (G・M) は重感染のものの方が内臓病変が (E) 1.0, 0.5→(L) 3, 2.5; (G) 1.0, 1.0→(M) 2.5, 4.0 と少々強いが淋腺病変は差がない。10mg 間歇投与 (I・N) では淋腺病変、脾重量は差がないが、内臓病変が初感染後 INAH 投与をして放置した群 (I) で 0, 0.5 と非常に軽いのに対して初感染後 INAH 投与をして重感染を行った群 (N) では 7.5, 6.0 と著しく重い。

以上より菌量 0.001mg を以て初感染した海狸の結核病変は漸次進展するが、INAH を投与することにより病変の進展が抑制される。菌量を 0.002mg を以て海狸に感染せしめれば 6 週後に病変が強く進展し内臓、淋腺に強い病変をおこし脾が強く腫大する。初感染を行つて後 INAH を投与せず重感染を行った海狸の病変も初感染を行わずに重感染菌感染を行ったものと同様に高度の病変を示す。之の病変は INAH を投与することなく放置した群と略々同程度である。初感染後 INAH を投与して後重感染を行った場合重感染後の病変の進展が抑制せられているのを見る。抑制の状況は 2mg 間歇投与、2mg 毎日投与で著明で、10mg 間歇投与の方が劣っているのが認められる。

4) 臓器内結核菌定量培養成績

(第5表参照)

初感染海狸の INAH 投与を行わない非投与群の臓器内結核菌数について観察すれば、初感染後 4 週 (A) の臓器内結核菌は肺に 1.73, 0, 4.3 と少数の集落を証明し、肺門淋腺に 185.0, 0, 199.6, 右膝淋腺に 400 以上, 150.5, 400 以上, 脾に 119.0, 0.6, 240.3 と多数の集落を証明する。初感染後 12 週 (B) の臓器内結核菌は肺に 41.0, 1.9, 22.8, 肺門淋腺に 33.0, 6.5, 96.8, 右膝淋腺に 72.5, 250.0, 109.3, 脾に 61.0, 60.5, 94.7 と少々多数の集落を証明する。4 週後より肺内菌が少々増加している。初感染後 18 週 (C) の臓器内結核菌は肺に 0.5, 5.0, 10.0 と少数の、肺門淋腺に最高数 91.0, 脾に最高数 158.5 と少々多数の結核菌を証明する。

初感染 4 週後より INAH 投与を開始し 8 週間投与した時の臓器内結核菌は、2mg 間歇投与 (D) No. 76 の淋腺、肺、No. 84 の右膝淋腺に、2mg 毎日投与 (F) No. 71 の右膝淋腺、No. 73 の肺に、10mg 間歇投与 (H) No. 85 の右膝淋腺に 0.1~4.9 と少数の集落を証明することとまる。その後 6 週間放置したもの

は 2mg 毎日投与 (G)、10mg 間歇投与 (I) は肺及び脾に集落を証明せず、No. 72 の肺門淋腺、No. 116 の右膝淋腺に 2.4, 0.4 と少数の菌を証明することとまるが、2mg 間歇投与 (E) では No. 77, 83 の右膝淋腺中に 11.9, 360.0 と比較的多数の集落を証明する。

重感染を行ったものについて重感染 6 週後の臓器内結核菌を検索すると、初感染後投与することなく重感染を行ったもの (K) の臓器内結核菌は肺に 188.0, 25.0, 淋腺に 130.0, 142.5, 脾に 84.8, 69.5 と多数の集落を証明し、殊に肺、肺門淋腺内菌集落の多いことが注目される。初感染を行うことなく重感染菌量を感染せしめた重感染対照群 (J) の臓器内結核菌は肺に 400 以上、淋腺に 400 以上と甚だ多数であり、初感染非投与重感染群 (K) よりも多く、全群中各臓器に最も多数の集落が証明される。初感染後 INAH 投与をして重感染を行った群の結核菌は 2mg 間歇投与 (L)、2mg 毎日投与 (M) では肺に 26.0, 0; 57.5, 0, 淋腺に 0~8.5; 0.05~10.7 と少数の集落を証明し、脾には 2mg 毎日投与の No. 53 に 1.9 と少数証明せられることとまり、10mg 間歇投与 (N) では肺に 122.2, 35.0, 淋腺に 42.0~175.5 と多数の集落を証明する。脾には No. 124 に 4.5 と少数証明されるのみである。

初感染後 INAH を投与して放置した海狸と、初感染後 INAH を投与して後重感染を行った海狸に於て、INAH 同量投与のものについて菌数を比較すると 2mg 間歇投与、2mg 毎日投与は肺、淋腺ともに重感染を行ったものの方が菌数が多いが、その差は少ないのに対して、10mg 間歇投与では重感染の方が多く明らかな差を示している。

以上より小量菌 0.001mg 初感染海狸の 4 週後の臓器内に結核菌が多数に証明されるが、INAH を投与することにより菌数は少なくなる。然し投与中止後 2mg 間歇投与は再び僅かに増加するのが認められる。初感染を行うことなく直ちに比較的小量菌 0.002mg を感染した海狸の臓器内結核菌数は甚だ多数であり、初感染後 INAH 投与を行わなくて重感染を行ったものの方が菌数が少なく、初感染後 INAH 投与を行つて後に重感染を行ったものは著明に菌数が少ないことが認められ、投与量及び投与方式との関係では 2mg 間歇投与、2mg 毎日投与が少なく、10mg 間歇投与が少々多いことが認められる。

5) Slide Cell Culture 値の推移

(第6表参照)

実験前すべての海狸の S.C.C. 値は (卅)~(卅) 程度であり、海狸の血液内で H₃₇Rv 人型結核菌がよく

第 5 表 臓器内結核菌定量培養成績

感染	動物 Na 群	臓器					観 察 期 間
		右膝淋巴腺	肺門淋巴腺	肺	脾		
初 感 染	非 (A)	75	400 <	185.00	1.73	119.00	4週
		95	150.50	0	0	0.60	4
		123	400 <	199.60	4.30	240.30	4
	投 与 (B)	67	72.50	33.00	41.00	61.00	11½
		81	250.00	6.50	1.90	60.50	11½
		100	109.30	96.80	22.80	94.70	12
	与 (C)	68	235.00	91.00	0.50	158.50	14
		69	81.50	6.50	5.00	0.50	16
		101	190.50	4.50	10.00	10.00	18
	2mg (D)	76	2.00	2.26	0.20	0	12
		84	3.57	0	0	0	12
	間歇 (E)	77	11.90	10.00	0	0.30	18
84		360.00	0	0	0	18	
2mg (F)	71	1.00	0	0	0	12	
	73	0	0	0.10	0	12	
毎日 (G)	72	0	2.40	0	0	18	
	79	0	0	0	0	18	
10mg (H)	61	0	0	0	0	12	
	85	4.93	0	0	0	12	
間歇 (I)	64	0	0	0	0	18	
	116	0.40	0	0	0	18	
重 感 染	重感染 (J)	4	400 <	400 <	400 <	400 <	6
		89	400 <	300.66	400 <	256.00	6
	対 照	91	169.55	400 <	400 <	277.33	6
		92	400 <	385.00	400 <	226.50	6
非投与 (K)	48	52.90	130.00	188.00	84.80	18	
	103	53.50	142.50	25.00	69.50	18	
2mg 間歇 (L)	55	2.40	8.50	26.00	0	18	
	56	0	1.60	0	0	18	
2mg 毎日 (M)	51	0.05	7.80	0	0	18	
	53	1.20	10.70	57.50	1.90	18	
10mg 間歇 (N)	121	175.50	59.30	122.20	0	18	
	124	104.50	42.00	35.00	4.50	18	

表中の数字は臓器 1.0mg 中の結核菌集落数を示す培養は 6 週後迄観察して判定した

増殖している。初感染後 4 週即ち INAH 投与開始時の S.C.C. 値は (±) 程度にて菌発育阻止力の稍々増強しているのが認められる。重感染時のそれは INAH

投与群中 2mg 間歇投与 (D・E・L), 2mg 毎日投与 (F・G・M), は非投与 (B・C・K) と略々同程度の (±)~ (+) に増強しているが, 10mg 間歇投与 (H・I・N) は

第6表 S.C.C. 値の推移

感染群	初感染後		初感染時		4 週 (投与開始)	12 週 (投与中止)	18 週
	重感染後 動物No.					重感染時	6 週
初 感 染	非 (A)	75	58	卅	18	卅	／
		95	44	卅	11	卅	／
		123	35	卅	／	／	／
	投 (B)	67	43	卅	18	卅	／
		81	60	卅	／	／	／
		100	48	卅	16	卅	7 +
	与 (C)	68	39	卅	／	／	3 ±
		69	36	卅	11	卅	4 ±
		101	54	卅	22	卅	6 + 4 ±
2mg 間歇 (D)	76	56	卅	／	／	4 ±	
	84	52	卅	／	／	5 +	
	77	44	卅	／	／	5 + 2 ±	
2mg 毎日 (E)	83	45	卅	／	／	4 ±	
	71	31	卅	／	／	6 +	
	73	51	卅	／	／	7 +	
2mg 毎日 (F)	72	31	卅	／	／	6 + 2 ±	
	79	38	卅	／	／	5 + 4 ±	
	61	47	卅	20	卅	13 卅	
10mg 間歇 (G)	85	52	卅	／	／	14 卅	
	64	43	卅	22	卅	14 卅	
	116	52	卅	20	卅	16 卅	
重 感 染	重 感 染 对 照 (J)	4	38	卅	32	卅	／
		89	46	卅	38	卅	46 卅
		91	35	卅	38	卅	42 卅
		92	43	卅	36	卅	32 卅
	非 投 与 (K)	48	43	卅	18	卅	9 +
		103	36	卅	16	卅	9 + 6 + 2 ±
	2mg 間歇 (L)	55	51	卅	22	卅	8 +
		56	44	卅	6	+	4 ± 2 ± 3 ±
	2mg 毎日 (M)	51	56	卅	14	卅	12 卅
		53	69	卅	12	卅	8 + 2 ±
	10mg 間歇 (N)	121	38	卅	18	卅	14 卅
		124	28	卅	18	卅	12 卅

投与開始時と略々同程度の(卅)の菌発育阻止力を示しており、その増強して来るのが認められず明らかに非投与、2mg 間歇投与、2mg 毎日投与の群より弱いことが認められる。実験終了時の成績は初感染後重感染を行わない群(C・E・G・I)、初感染後重感染を行つ

た群(K・L・M・N)、初感染を行わず重感染菌量を感染した群(J)各群共に(±)~(+)程度の強い菌発育阻止力を示している。

以上の成績より初感染によつて生ずる菌発育阻止力は初感染後12週即ち INAH 投与中止時 2mg 間歇及び

2 mg 毎日投与は非投与と同程度にて阻止力の低下はみられなく、10mg 間歇投与に於て明らかに阻害せられているのが認められる。

総括及び考按

有毒人型結核菌 $H_{n7}Rv$ 株を海猿の皮下に感染せしめて或程度結核病変の進展してより INAH の投与を開始し、投与中止後再び有毒人型結核菌 $H_{n7}Rv$ 株を経気道性に重感染して初感染によつて生じた免疫力が INAH の投与によつて如何に影響されるかを検討して次の成績を得た。

初感染後非投与の重感染群は臓器病変が著しく進展し、臓器内結核菌数も多く、初感染後非投与の重感染を行わない群より内臓病変がやゝ重く、肺、肺門淋巴腺内結核菌集落数も多く、重感染によつて臓器病変が少々進展しているのがみられる。然し初感染を行わない重感染対照群は病変が更に甚しく重く、臓器内結核菌数も各臓器共最も多い。初感染後 INAH を投与してその治療効果により或程度病変の進展が頓座せしめられた群に於ては重感染後の病変は軽く、臓器内結核菌数は少なく、投与中止時 S.C.C.法による結核菌発育阻止力は強く、明らかに初感染による免疫効果があらわれている。INAH の投与量及び投与方式と初感染によつて生ずる免疫勢力との関係では 2mg/kg 週 2 回投与、2mg/kg 毎日投与では重感染後の内臓病変が最も軽く、臓器内結核菌数が少なく、投与中止時 S.C.C.法による結核菌発育阻止力が強く著明な免疫勢力の存在を認めるが、10mg/kg 週 2 回投与では重感染後内臓病変が前者より重く、臓器内結核菌数も少々多く、投与中止時 S.C.C.法による結核菌発育阻止力も弱いことが認められ、免疫勢力は 2mg/kg 間歇及び毎日投与の場合に比して少々低い然し尚可成り残存していることが認められる。

Palmer^①、Sher^②等は海猿に人型結核菌 $H_{n7}Rv$ 株を大量に初感染せしめて INAH を投与し、その後再び $H_{n7}Rv$ 株大量の重感染を行つて初感染によつて生ずる免疫が INAH 投与によつて如何に影響されるかを海猿の体重の推移及び生存率より観察し、Palmer^①等は初感染 48 時間前より INAH 3~20mg/kg を種々なる投与方式によつて 4 週間投与して後重感染を行い INAH の各投与群間は同等の生存率と体重の増加を示しており、之は正常群に劣るが重感染のみした対照群に比すると明らかに勝つていたと報告し、又 Sher^②等は初感染 7 日目より INAH 10mg 毎日 60 日間投与して後重感染を行い重感染後 16 週の生存率を観察し、之は INAH 投与後重感染しない群に比し略

々同等であり、重感染のみした対照群より明らかに勝つていたことより、初感染によつて生じた免疫が重感染による結核の進展を阻止するものと考えられると述べている。著者の実験に於ける INAH 2mg/kg 週 2 回投与、2mg/kg 毎日投与は 10mg/kg 週 2 回投与に比し重感染前の体重の増加は少々劣っているが、重感染後は各投与群共に略々同等の体重増加を示しており INAH 投与量による差異はみられなく、重感染のみした対照群に比し明らかに勝っている。之は彼等の成績と一致している。然し Ferebee^③等は海猿に $H_{n7}Rv$ 株大量を初感染せしめ、初感染前 4¹/₂ 週より INAH 5mg/kg、25mg/kg 毎日 10 週間投与して後再び $H_{n7}Rv$ 株大量を重感染し、重感染後約 21 週迄観察して 5mg/kg、25mg/kg 投与は重感染のみした対照群に比して生存率は明らかに高く、体重の増加は正常群と同等であるが、5mg/kg 投与の動物は 25mg/kg 投与の動物より生存率は明らかに勝つていたと注目すべき成績を述べている。之は初感染菌量が大量であるとわいえ INAH の投与量が 25mg/kg と云う非常に大量であるために初感染によつて生ずる免疫の低下を来し、重感染に対する抵抗力の減弱したのに因するものと推察せられる。Bartmann^④は肉眼的所見より INAH 10 mg/kg 週 2 回投与は少量の初感染に投与して最も重感染に対する抵抗力を阻害し、大量の初感染に投与してはその免疫力は BCG の強力な接種の次に位置するものであり、同じ大量の初感染に 10mg/kg 週 6 回投与は免疫力が弱く、無治療の極少量感染の場合と同程度であり、初感染菌量と投与方法によつてその免疫に及ぼす影響の差異のあることを述べており、著者の少量初感染に 10mg/kg 週 2 回投与は初感染免疫力が最も阻害されているのと同じ成績である。又堀^⑤は海猿に初感染後 INAH 10mg を投与して初感染菌量の多寡、投与開始時期、投与期間の長短による免疫効果の変動の差を肉眼的所見、臓器内結核菌数より検討して、初感染菌量 $H_{n7}Rv$ 0.01mg、投与開始を初感染 8 週後より 6 週間投与して免疫作用に顕著な減弱はなく、初感染菌量 0.001mg、5 週後から 8 週間投与及び 0.0001mg、5 週後から約 7 週間投与して両者共に重感染に対する INAH 投与による減弱を明らかに認めている。此の実験の如く抗結核剤として著しい効果をもつ INAH を此の様に大量毎日而も初感染免疫の末に完全に成立しない時期より投与すれば従来結核免疫が感染免疫と云われこの免疫力は生体内の結核菌の生存、繁殖あるいわ消滅、病巣の進展あるいわ治療によつて変動することより考えれば、初感染免疫の減弱はむしろ当然のこの様に思われ、著者の 10mg/kg

週2回投与にても或程度減弱するのがみられるのは初感染後未だ免疫の完成しない4週後より8週間投与して重感染時には臓器内に結核菌が極く僅かしか証明出来ず又内臓病変も殆ど治癒しているのに対応して免疫力の出来方も小規模であるためと考えられる。従つてこの様な大量の INAH 投与は初感染の自働免疫を減弱せしめてその後の重感染に対する抵抗力を阻害するものと思われる。

結核菌感染後 INAH 投与によるツ反応の推移に関して柳沢²⁰⁾は $H_{n7}Rv$ 0.02mg 感染後3, 10, 21日目より INAH 4mg/kg 毎日1ヶ月投与して投与期間中一時減弱したと述べ、又 Palmer²¹⁾は海狸に $H_{n7}Rv$ (7.5×10^5 per cc) 0.5cc 感染して48時間前より22週間投与して10mg/kg 週1回, 5mg/kg 週3回, 3mg/kg 週7回, 10mg/kg 週2回, 20mg/kg 週1回の順に減弱が強いと述べており、菅原²²⁾, Steenken²³⁾等も同様減弱すると述べている。一方大西²⁴⁾はツ液10倍稀釈にては減弱はみられなかつたが100倍液にすると減弱が認められたと述べ、三村²⁵⁾は海狸に $H_{n7}Rv$ 0.02 mg 感染し4週後より1mg/kg 8週間投与して減弱を認めず、遠藤²⁶⁾も10mg 8週間投与して同様に減弱する傾向を認めなかつた。即ちツ反応は INAH の投与量と或程度は関係するものと思われるが、其の他種々の要件によつて左右されるものと考えられ、著者の実験に於ても前報に於けると同様に明らかな減弱は認められない。

次に結核菌感染後の S.C.C. 法による結核菌発育阻止力は、佐藤²⁷⁾, 伊藤²⁸⁾等、宝来²⁹⁾は菌感染2~4週後に阻止作用の発現を認め、その阻止力は接種菌量の多寡、菌力の強弱によつて左右され、阻止作用の発現時期阻止力の強弱及び持続期間が異ると云つており、遠藤²⁶⁾は INAH 10mg 毎日8週間投与は投与中止時感染前の菌阻止力と全く同程度にてその増強を認めず明らかに免疫力の発現を抑制していたと述べているが、著者の実験に於ては菌感染4週後には感染前に比し或程度の増強がみられ、12週後には著明に増強して完全な菌阻止力を示し、之は18週迄持続し諸家の報告と一致している。一方 INAH 投与により2mg/kg 週2回投与, 2mg/kg 毎日投与はこれと略々一致した経過を示しているが、10mg/kg 週2回投与は投与中止後の菌発育阻止力が投与前と略々同等にてその増強がみられず感染4週後の程度であつて、その後の免疫の発現が抑制されている。然し感染前に比しては或程度菌阻止力が強い状態を示している。教室の前沢³⁰⁾³¹⁾は人体に於ける結核初感染者の S.C.C. 値をツ反応陽転前より経過を追つて測定して、ツ反応陽転後約2~

4ヶ月は不完全な菌阻止力を示すが、それ以後は略々完成した状態となつて経過しツ反応陽転後 INAH 2~4mg/kg, 6~8ヶ月投与によつて此の状態は影響されず初感染結核発病防止に此の程度の投与量と投与期間は適當のものであつたと述べているが、著者の実験の成績によつてもこれをうらざけることが出来るものと思う。

以上要するに動物実験の成績を直ちに人体の場合にあてはめる事は困難としても、人体に結核の自然感染が起つた場合、ツ反応の陽転した時期即ち初感染による免疫の未だ不完全な時期に INAH を投与して結核の発病を阻止するに際しては INAH の投与量として2mg/kg 程度の少量投与を間歇的に用いる方法は結核の発病を阻止すると共に、初感染によつて獲得される免疫を抑制しない最も適當なる投与方法と思われる。

結 論

人型結核菌 $H_{n7}Rv$ 株 0.001mg を海狸に初感染せしめて、4週後より INAH 2mg/kg 週2回, 2mg/kg 毎日, 10mg/kg 週2回を夫々8週間投与して投与中止後(初感染後12週時) $H_{n7}Rv$ 株 0.002mg を経気道性に重感染してその病変を観察し、INAH 投与の結核免疫への影響を検討して次の結果を得た。

- 1) 初感染後の体重の推移は8週迄は対照と同様に推移するが、爾後減少するものが多く、重感染後体重は著明に減少する。初感染後 INAH を投与し重感染を行つたものは重感染後の体重の減少するものが少ない。而して INAH の投与量、投与方式と重感染後の体重の推移との間には明らかな関係が認められない。
- 2) 「ツ」反応は初感染後6~9週迄漸次増強しその後それと同程度の強さで経過する。重感染後のツ反応は初感染後 INAH を投与しないものも、投与したのも初感染後12週時と略々同程度に経過し、INAH 投与の影響は殆ど認められない。
- 3) 初感染後 INAH を投与せず重感染を行つたものと、初感染を行わず重感染菌量に感染したものの病変の進展は高度で兩者同等である。初感染後 INAH を投与し重感染を行つたものの重感染後の病変は進展が抑制されていることが明かに認められる。この抑制の程度は2mg/kg 週2回投与, 2mg/kg 毎日投与で最も著明で、之に比し10mg/kg 週2回投与では劣る。
- 4) 初感染を行うことなく重感染菌量に感染したものの臓器内結核菌数は甚だ多数であり、初感染後重感染したものの菌数はそれよりも少ない。初感染後 INAH を投与し重感染を行つたものの菌数は更に著明に少ない。投与量、投与方式との関係は2mg/kg 週2回投

与, 2mg/kg 毎日投与の場合が最も菌数が少なく, 之に比し10mg/kg 週2回投与では稍々多い。

5) 血液内結核菌発育阻止力は初感染後増強する。

而して初感染後 INAH を投与したものの阻止力は非投与のものに比し2mg/kg 週2回投与, 2mg/kg 毎日投与の場合非投与と同等の阻止力を維持するが, 10mg/kg 週2回投与では阻止力が低下する。

稿を終るに当り, 本研究の御指導並びに御校閲を賜った恩師戸塚忠政教授に深甚なる感謝の意を捧げ, 終始御援助下さいました松岡正俊助教授に感謝致します。

文 献

- ①戸塚忠政・他：結核診療 6：214, 昭和29. ②戸塚忠政・他：呼吸器診療 11：129, 昭和31. ③Tozuka, T. et al: Med. Schinshu. Univ. 2: 61, 1957.
- ④植竹久雄：総合医学 7：578, 昭和25. ⑤岡田藤助：小児科臨床 6：657, 昭和28. ⑥千葉保之・他：結核 30：増刊号, 200, 昭和30. ⑦千葉保之・他：日本臨床結核 15：34, 昭和31. ⑧戸嶋寛年・他：総合臨床 4：40, 昭和30. ⑨宇留野勝正：小児科診療 18：971, 昭和30. ⑩九鬼信正・他：小児科診療 19：722, 昭和31. ⑪Preizler, J.: 日本臨床結核 13：711, 1954. ⑫Waring, J. J.: Dis. of Chest., 25: 361, 1954. ⑬Meyer, M. et al: J. Ped. 46: 398, 1955. ⑭Zorini, A. O. et al: Riv. Tuber. App. Resp. 4: 511, 1956. ⑮Ferebee, S. H. et al: Am. Rev. Tuberc. 76: 942, 1957. ⑯佐川一郎：呼吸器診療 12：385, 昭和32. ⑰伊藤和彦：呼吸器診療 12：506, 昭和32. ⑱吉岡武雄・他：呼吸器診療 12：503, 昭和32. ⑲高橋文雄・他：結核 33：特別号, 80, 昭和33. ⑳山田善郎：結核 33：特別号, 81, 昭和33. ㉑村上忠美：結核 33：特別号, 81, 昭和33. ㉒千葉保之・他：結核 29：増刊号, 280, 昭和29. ㉓岡田 博：日本公衆衛生雑誌 2：増刊号, 444, 昭和30. ㉔大西積守：結核 30：64, 昭和30. ㉕大西積守：結核 30：105, 昭和30. ㉖大西積守：結核 31：145, 昭和31. ㉗三村大八郎：信州医学雑誌 5：392, 昭和31. ㉘柳沢謙・他：日本公衆衛生雑誌 2：増刊号, 446, 昭和30. ㉙江頭靖之：結核診療 6：150, 昭和29. ㉚柳沢謙・他：結核の臨床 3：321, 昭和30. ㉛堀三津夫：最新医学 13：93, 昭和33. ㉜菅原庸雄：抗酸菌病研究雑誌 11：24, 昭和30. ㉝海老名昭昌：抗酸菌病研究雑誌 12：244, 昭和31. ㉞Siebenmann, C. O.: J. Immunol. 67: 137, 1951. ㉟Bartmann, K. et al: Beitr. Klin. Tub. 115: 79, 1955. ㊱Bartmann, K. et al: Beitr. Kien. Tub. 115: 269, 1956. ㊲Bartmann, K. et al: Beitr. Klin. Tub. 116: 687, 1957. ㊳Bartmann, K. et al: Beitr. Klin. Tub. 117: 344, 1957. ㊴Bartmann, K. et al: Beitr. Klin. Tub. 118: 87, 1958. ㊵Ferebee, S. H. et al: Am. Rev. Tuberc. 73: 1, 1956. ㊶Palmer, C. E.: Am. Rev. Tuberc. 74: 919, 1956. ㊷Sher, B. C. et al: Am. Rev. Tuberc. 75: 295, 1957. ㊸Dubos, R. J. et al: J. Exp. Med. 97: 207, 1953. ㊹Canetti: Am. Rev. Tuberc. 75: 650, 1957. ㊺小川辰次：結核菌検索の基礎と応用, 保健同人社, 195, 昭和25. ㊻伊藤種次郎：結核 8：291, 昭和5. ㊼波川隆曹：結核 11：63, 昭和8. ㊽Steenken, W. J. R. et al: Am. Rev. Tuberc. 65: 363, 1952. ㊾遠藤勝三：大阪大学医学雑誌 9：969, 昭和32. ㊿佐藤理太郎：実験医学雑誌 10：871, 大正15. ㉀伊藤種次郎・他：大阪医事新誌 1：513, 昭和5. ㉁宝来善次：結核 17：621, 昭和14. ㉂前沢正久：結核 33：829, 昭和33. ㉃前沢正久：信州医学雑誌 8：517, 昭和34. ㉄前沢正久：信州医学雑誌 8：525, 昭和34.