Studies of the Chemotherapy of Leprosy
(XXIV) Effect of Ethambutol, Capreomycin sulfate on the
Development of Murine Leprosy

JYUNG MYUNG KIM*, KENJI KOHSAKA**, MIYOKO YAMAGUCHI**
and SHINJI NISHIMURA**

* *Department of Clinical Pathology, Medical School
Kyungpook University ROK*

** *Department of Leprology, Research Institute for
Microbial Diseases, Osaka University, Japan*

The effect of anti-tubercular agents Ethambutol (d-2, 2'- (ethylene diimino)-di-1-butanol 2HCl; Ebutol, Kaken) and Capreomycin sulfate (Capastat, Shionogi) on the development of murine leprosy was investigated.

Method: A total of 100 female mice (ddO) were inoculated subcutaneously with a suspension of Hawaiian strain, and Ethambutol(10 mg, oral) or Capreomycin sulfate(0.5 mg, intramuscular) given by the 6 days per week method. The control was left untreated or give INH, or Streptomycin. The inhibitory effect was evaluated by both of the Nishimura-Iwasa's method and the observation of spread tissue specimens from the subcutaneous connective tissue where the bacilli had been inoculated, at weekly intervals up to 5 weeks after the inoculation.

Results: Both examination methods showed that Ethambutol and Capreomycin sulfate not suppressed murine leprosy. The spread tissue method gave highly accurate results and were well coincident with the results by the Nishimura-Iwasa's method suggesting that this is a useful method for screening using murine leprosy.

癩の化学療法に関する研究

(第24報) Ethambutol, Capreomycin sulfate の鼠癩発症に及ぼす影響

金 重 明

(韓国, 慶北大学校医科大学臨床病理学教室)

高坂 健二・山口美代子・西村 真二

(大阪大学微生物病研究所 癩部門)

(受付 1968年4月20日)

緒 言

Shepard 法による癩菌の foot-pad 接種を応用した新しい癩治療剤の Screening 法は癩菌に対する薬剤の影響を調べる方法として極めて有望な方法であるが, この方法が一般に簡易におこなわれ, その成績が常に正確に判定し得るようになるまでには, なお幾多の検討すべき問題が残されている。

一方, 鼠らい菌を対象とした癩化学療法剤のモデル実験は, その成績が直接に患者の治療効果と一致しない限り, 一見何の意義もないようにさえ思われる。しかしわれらが従来おこなってきた鼠らいによる癩化学療法剤の実験は, 鼠らいとらいに共通した有効な薬剤を発見し, これを手がかりとして, 薬理学的研究を進展せしめて新しい分野における癩化学療法剤の開発を期待したためである。

今回報告する実験も, 上記一連の研究として, 最近, 抗結核剤として使用されている Ethambutol (Ebutol) および Capreomycin sulfate (Capastat) が実験的鼠らい発症におよぼす影響を INH, SM. とともに比較観察し, 若干の成績を得たので報告する。

供 試 薬 剤

Ethambutol は 1961 年 R. G. Wilkinson らによって合成された N, N'-dialkylethylene diamine 系の誘導体である 2,2'-(ethylenediimino)-di-1-butanol 塩酸塩の右旋性物質で, 細菌学的には J. P. Thomas らが, 薬理学的には D. A. Buyske らの協力で開発されたもので, 実験に供したものは科研製の Ebutol というものである。これは *in vitro*, *in vivo* とともに強い抗結核作用を有し, さらに非定型抗酸菌にもかなり有効であるという¹⁾²⁾。

Capreomycin sulfate は Herr らによって 1960 年

Streptomyces の新株, *Streptomyces capreolus* より単離された polypeptide 系の抗生物質で, 結核菌に対し試験管内ならびに動物の実験的結核症において有効であることが明らかにされ, 化学的には従来使用されたどの抗結核剤とも異っているという。これは抗結核作用を有する2つの成分, すなわち Capreomycin I およびII からなるもので, chromatography により分離されている。構成 amino 酸は serine, alanine, β -lysine および α, β -diaminopropionic acid と従来知られていない α -(2-iminohexahydro-4-pyrimidyl) glycine であるという。

実験方法

供試鼠らい菌は mouse 継代の Hawaii 株の leprom から型のように 1,000 倍稀釈菌液を作りその 0.2 ml を接種に用いた。(この場合 0.2 ml 中の菌数は 1.7×10^7)

供試 mouse は ddO 系, 4 週の♀, 100 匹を用いた。これを 50 匹ずつ 2 団に大別し, その 1 団には下腹部皮下, 他の 1 団には背部皮下に各々接種し, 各団をさらに 10 匹づつ 5 群に分けそれぞれを Ethambutol, Capreomycin, INH, SM および無処置対照群とした。

薬剤の投与は 1 週 6 日法で, Ethambutol は 10.0 mg INH は 0.5 mg をそれぞれ経口により, Capreomycin, SM は各々 0.5 mg を筋内に注射した。

観察は背部皮下注射をした 1 団 (50 匹) は接種局所の皮下組織伸展標本による早期確認法をおこなった。すなわち菌接種翌日から 5 週迄, 1 週毎に各群から 2 匹ずつの mouse を殺し剖検して伸展標本を作り染色鏡検した。

下腹部皮下注射をした他の 1 団は従来行ってきた西村一岩佐の Screening test, すなわち接種局所に生じる leprom の拡がりを 2 週毎に gauge で測定, index に換算, 群毎に histogram を作ってした。INH, SM および無処置対照群とともにそれぞれ 16 週迄観察した。

実験成績

伸展標本による所見：大体において INH を除いてはいずれもあまり変りは無かった。すなわち無処置対照群では既に接種翌日、大部分の菌体が細胞内に取込まれているのが見られ、接種1週には細胞内の菌体はかなり伸長増殖しているような像を認め、接種2週にはさらに増菌、明確に伸長増殖した菌体が細胞内にぎっしりつまっているのが見られた。3週以降になるとこれはさらに一層増菌して microlepoma を形成するようになり漸次増大していく傾向が見られた。Ethambutol および Capreomycin sulfate は以上のような無処置対照群と変りは無く2～3週にして早くも効果のないことが予想された。独り INH においては接種2週から5週まで、ほとんど菌体は短いままであり菌数の増加も認められず接種当初の菌と較べて明らかな相違は見られなかったがわずかに degeneration の像を示したものもあった。SM は接種後2週から3週迄菌体の伸長は無処置対照群と同じように見られたが菌数増加は若干少なかった。

西村一岩佐法による所見：無処置対照群は接種局所に生じた硬結が4～5週頃で指数1～2を示し、それが漸次増大して8週頃よりは最高の4に達した。それに対し Ethambutol 投与群は無処置対照群との間に差が見られず、また Capreomycin sulfate 投与群では発症に約2週のおくれを示したがその後の経過は前二者と較べてほぼ同様であり、両者とも伸展標本による所見から予想されたように発症抑制効果はまったく見られなかった。INH では最高0.7を示した。これは比較的早い時期から1匹の mouse に1+ 程度のものがみられ、これが

Fig. 1 The suppressive effects of Ethambutol & Capreomycin

ずっと続きかつ少し硬結が見られたためである。しかしこれは漸次縮小した。SM は約2週間ほど発症が遅れ、全経過を通じて無処置対照よりは僅かに発症が抑制された (Fig. 1)。

総括ならびに考察

最近の抗結核剤 Ethambutol および Capreomycin sulfate が鼠らい発症を抑制するかどうかを見るために100匹の ddO 系 mouse (♀) を用いて鼠らい菌液を接種し、16週間 (50匹は5週間) 投与を行いその効果は無処置対照群、INH 及び SM の投与群とを伸展標本ならびに西村一岩佐法で評価した。

結果は Ethambutol 10.0 mg/day/head, Capreomycin sulfate 0.5 mg/day/head 投与したが効果は無かった。INH においては西村、河野ら^{3) 4)}、西村、増田ら⁵⁾、Barnett, Bushby⁶⁾、Chang⁷⁾、Cruickshank⁸⁾、Lew, Carpenter⁹⁾ らの報告と同じくかなりの有効性が認められたが、SM においては今回の実験では発症抑制効果はさほど見られなかった。SM に対しては、佐藤、真山¹⁰⁾、北山、谷奥¹²⁾、Hobby, Hanks¹³⁾、Chang⁷⁾ らの有効であるとの報告と Grunberg, Schnitzer¹⁴⁾、Carpenter¹⁵⁾ ら、無効であるとの報告があるがその詳細は明らかでない。投与量、投与方法および供試実験動物等の実験方法の差によるのではないと思われるが多少有効であった。

結 論

1. Ethambutol および Capreomycin sulfate は鼠らい発症抑制効果は無かった。
2. INH の発症抑制効果は顕著であったが、SM の効果ははなはだ僅かに認められた。
3. 伸展標本による早期確認法は、西村一岩佐法による成績判定よりも一層早期に予想されることを示唆した。

文 献

- 1) 合田、坂本：Ebutol (Ethambutol) の非定型抗酸菌に対する抗菌作用について、エブトル文献集 (科研) 66-69
- 2) 坂本、合田：実験的非定型抗酸菌症に対する Ebutol (Ethambutol) の効果について、同上。
- 3) 西村、河野等：ヒドラゼットの鼠らいに対する効果、最新医学, 7, 1262-1207 (昭27)
- 4) 西村、河野ら：鼠らいに対するイソニコチン酸ヒドラゼットの影響、レブラ, 22, 250-255, (昭28)

- 5) 西村, 増田等: INAH 及び DDS の鼠らい治療実験, 特に大量投与試験, *Ibid.*, **24**, 402-404, (昭 30)
- 6) Barnett, M. and S. R. M. Bushby, : The acting of isonicotinic acid hydrazine in murine leprosy, *Leprosy Rev.*, **24**, 19-26 (1953)
- 7) Chang, Y. T. : Chemotherapy of murine leprosy. II The effects of streptomycin, sulfones and isonicotinylhydrazines on mouse leprosy, *Ibid.*, **21**, 57-71 (1953)
- 8) Cruickshank, J. C. : A trial of isoniazid in rat leprosy, *Ibid.*, **22**, 373-Abs. (1954)
- 9) Lew, J. and C. M. Carpenter ; The suppressive effect of isoniazid in murine leprosy, *International Congress of leprosy*, read by title, *Ibid.*, **21**, 571 (1953)
- 10) 西村, 河野ら: 癩の化学療法に関する研究。鼠らいに対する抗生物質の影響, レブラ, **23**, 74-80, (昭 29)
- 11) 佐藤, 真山: 同上, (続報), 同誌, **20**, 54 学会抄, (昭 26)
- 12) 北村, 谷奥: 各種化学療法剤の鼠癩に対する効果, 同誌, **20**, 55, (昭 26)
- 13) Hobby, G. L., Hanks, J. H. et al. : An evolution of chemotherapeutic agents in the control of experimental infection due to *Mycobacterium*, *Amer. Rev. Tuberc.*, **16**, 173-191 (1954)
- 14) Grunberg, E. and R. J. Schniter, : Chemotherapy of murine leprosy, *Ann. New York Acad. Sci.*, **54**, 107-114 (1951)
- 15) Carpenter, G. M., Stokinger, H. E. et al. : Chemotherapy of murine leprosy, *Amer. Rev. Tuberc.* **60**, 359-365 (1949)