Therapeutic Effect of Rifampicin (RFP) on Leprosy

III. Histopathological Investigation

Co-operative Research Team on Chemotherapy of Leprosy
among National Leprosaria in Japan
(Chairman : Dr. Yoshikazu Yazima)

NORISUKE SASAKI and KUNIO KAWATSU

(*National Institute for Leprosy Research*)

We have investigated histopathologically a therapeutic effect of rifampicin on biopsies sent from ten leprosaria in Japan. The number of specimens in pretreatment was 70 cases, but it decreased to 40 and 42 cases respectively at sixth month and one year after treatment. Because it was caused by side-effect including the reaction in early stage (see Report 1). Specimens of C-1 group (resistant or incurable case to DDS) were overwhelming majority (65.7%) compared with other group (see table 1 & 2) in pretreatment. Accordingly, the evaluation of the effect of rifampicin was principally carried out on C-1 group rather than comparison with non-treated control group.

As the size of leproma in the pretreatment stage differs in each specimen, it was conveniently divided in five types histopathologically according to the shape, extent and size, i.e. large-nodular type, diffuse-infiltrated type, scattered-infiltrated type, slight-infiltrated type and minimal-infiltrated type.

It was found that these types transformed rapidly toward a smaller one during treatment of RFP+DDS, and the number of *Mycobact. leprae* in the leproma decreased rapidly and form of bacilli changed to granular, and finally they disappeared completely in some cases. So it was considered that effective rate of rifampicin was high (75%), and it went far over the limit of sulfone therapy.

Concerning to the healing process it was noticed that a scar formation or remarkable fibrosis with remnant foci consisted of a few epithelioid cells and/or foamy cells in the corium were observed at the short period considerably (one year after treatment), and in some cases foci enlarged temporally with proliferation of epithelioid cells, lymphocytic infiltration and appearance of giant cells, that is, so-called "epithelioid cell reaction" after six months (Fig. 2).

However, a few case was thought to be resistant to rifampicin from the results of ineffective or worse cases. Therefore in future more strict attention have to be paid to them.

らいに対するリファンピシンの効果

III. 病理組織学的検討

国立らい療養所化学療法協同研究班
(班長 矢嶋良一)

佐々木 紀典 川津 邦雄
(国立多摩研究所)

(受付 1973年11月27日)

臨床側との共同で行なわれた Rifampicin (RFP) の治療効果に関し、われわれはその基礎として病理組織学的検索を行ない、検討を加えた結果、らいに対する RFP の有効性を確認したので報告する。RFP の治療効果を判定する場合、RFP を単独使用して新発生患者と再発性および難治性患者適用例の比較を行ない、また RFP 単独治療と DDS 治療との対比を求めることが妥当な方法として考えられるが、現在新発生患者の適応例がほとんど求められず、大部分は DDS を長期使用しても治療効果があがらず、または再発、再燃をくり返している難治性の症例が圧倒的に多い実情であるので、組織学的に RFP の治療効果を検討して行く場合にも、後述するような各群間の比較は困難であり、再発または難治性 (C-1 群) の検索に主眼が置かれた。また本研究では RFP の単独治療ではなく、DDS と併用している点も若干問題が残るが、DDS では臨床的治療の限界に來ている症例についていえば、RFP が DDS の耐性を越えてさらに治療効果を発揮することが出来るか否かを検討することは、それ自体意義があると考ええる。

検索方法

検索対象：臨床側より提起された治療対象の症例群は第1報に述べられている通りである。すなわち、A群、(未治療L型) B群 (再発L型) C群、(いわゆる難治性L型) (C-1 群およびC-2 群) さらにD群の5群である¹⁾。

RFP の治療前および治療後に採取され送付された生検材料数は表1および表2に示したごとくであり、すなわち RFP 治療前では総数70例で、そのうち46例 (65.7 %) がC-1 群で圧倒的に多い。対照群は僅か3例であ

り、対照としての意味がうすい。治療3カ月では26例 (これは予定では3カ月が指定されていないため)、6カ月では40例、治療1年後では42例の総数で、対照がそれぞれ1例ずつ含まれるが、僅か1例ずつでは到底対照としての意味をなさない。

病理組織学的検索方法：採取された結節の大きさを肉眼的に計測し、その形状を記載した。染色法としては、Fite-Faraco 法抗酸菌染色、H-E 染色、Masson トリクローム、Azan-Mallory 膠原線維染色などを施し、一部については電顕的観察も行なった。

組織学的観察指標：組織学的に治療効果を判定するため、次の変化を指標とした。

1. らい腫の大きさ (範囲) の推移
2. らい細胞の形態、配列およびらい細胞内の空胞形成 (らい性泡沫細胞) の性状
3. らい菌の形態および数の推移
4. グロビーの有無および数の多少
5. リンパ球および形質細胞の浸潤の有無および程度
6. らい病巣およびその周辺における間質性反応の強弱を認識するため、血管の増生、結合組織線維の増生の程度
7. 類上皮細胞および巨細胞の出現とその数

成績

らい病巣 (らい腫) の分類について。らい病巣を大きさの上から、次の5型に分類し、C-1 群について各型の頻度およびらい菌の形態の推移を、治療前より1年後までの経過をまとめ、表3および図1に示した。

結節型 (large-nodular type)

広汎びまん性浸潤型 (diffuse-infiltrated type)

Table 1 Number of biopsy specimens sent from each leprosarium (before treatment)

Group Leprosarium	Case Number	A	B	C-1	C-2	D	Control	
							A	B
Kikuchi-Keihu-en	13	3	4	3	1		1	1
Tama-Zensho-en	12			9	2		1	
Nagashima-Aisei-en	11	1		6	3	1		
Kuryu-Rakusen-en	10			10				
Matsugaoka-Hoyo-en	6			6				
Suruga	5		1	4				
Tohoku-Sinsei-en	5			5				
Oshima-Seisho-en	3			3				
Okinawa-Airaku-en	3	3						
Hoshizuka-Keiai	2		2					
Total	70	7	7	46	6	1	2	1

Table 2 Number of biopsy specimens sent from each leprosarium (3~12 months)

Group Leprosarium	Case Number			A			B			C-1			C-2			D			A Control			B Control		
	3 M	6 M	12 M	3	6	12	3	6	12	3	6	12	3	6	12	3	6	12	3	6	12	3	6	12
Kikuchi-Keihu-en	12	10	10	2	1	1	4	3	3	3	3	3	1	1	1				1	1	1	1	1	1
Tama-Zensho-en	7		7							6		6	1		1									
Nagashima-Aisei-en		9	9							6	6		3	2		1								
Kuryu-Rakusen-en		8	9							8	9													
Matsugaoka-Hoyo-en		4	2							4	2													
Suruga	4	6	2				1	1		3	5	2												
Oshima-Seisho-en	3	3	3							3	3	3												
Total	26	40	42	2	1	1	5	4	3	15	29	31	2	4	4	1			1	1	1	1	1	1

撒布浸潤型 (scattered-infiltrated type)

軽度浸潤型 (slight-infiltrated type)

微小浸潤型 (minimal-infiltrated type)

これらの表および図に示す如く、らい病巣の縮小とらい菌の顆粒状化ないし消失の過程が明らかで、この成績からも RFP の治療効果を示す1つの規準となり得るように思われる。

中間治療成績について。6 カ月までの中間治療成績を、C-1 群についてみると、組織学的に治癒傾向に向っていると判定されるものは38例中22例 (57.9%) であり、とくに増悪傾向を示した例はなかった。

途中治療中止例について。6 カ月以後治療を中止している6例について、その6カ月の組織学的所見からみると、C-1 群4例、C-2 群1例、B 群1例の計6例のうち、C-1 群2例は病巣の縮小とらい菌の顆粒状化が示

されており、B 群の1例は病巣の縮小はないが、類上皮細胞性反応を呈し、リンパ球の浸潤とらい性巨細胞の出現が著明であった。また他の3例についてもとくに増悪しているとは考えられない。従ってその後の治療状況をさらに検討せねばならぬが、副作用をうまく切り抜けられ、これらの治療中止例の中にも、治療を再開することにより、一層治癒傾向を促進することが可能な例が含まれているように思われる。

治療1年後の治療成績。まずC-1 群31例についてみると、治癒傾向を示すもの23例 (74.2%)、治癒の遅延しているもの5例 (16.1%)、増悪傾向にあるもの3例 (9.7%) であった。6 カ月までの中間治療成績と比較し、より高率に治癒傾向を示すものが現われている。また全群40例について総合してみると、治癒傾向を示すもの30例 (75.0%)、治癒の遅延しているもの7例 (17.5%)、

Table 3 Case number and bacillary character observed various type of leproma during treatment of RFP for one year (C-1 group)

Duration	Before treatment			3 Months			6 Months			12 Months				
	Case	Rod	Gran.	Case	Rod	Gran.	Case	Rod	Gran.	a few	neg.	Case	Rod	Gran.
Type														
Large-nodular	17	17	0	1	1	0	3	1	2	0	0	1	0	1
Diffuse-infilt.	8	6	2	2	2	0	6	2	3	1	0	4	3	1
Scattered-infilt.	6	4	2	4	2	2	15	6	6	3	0	5	2	2
Slight-infilt.	5	5	0	5	3	2	3	1	1	1	0	5	0	4
Minimal-infilt.	5	0	5	4	0	4	2	0	0	2	10	16	0	5
Total of case	41			16			29					31		

Note :
Gran. : granulated
neg. : almost negative

Fig. 1 Appearance rate and the progress on extent of various lepromas in C-1 group

増悪傾向にあるもの3例(7.5%)であった。

次に治癒傾向を示す30例と治癒の遅延している7例について、治療1年間の組織学的な経過観察から、治癒型式を5型に分類して明らかにし(図2)、その頻度を表4に示した。以下治癒型式の5型について説明する。

I型——I A型: RFP 治療前に結節型または広汎びまん性浸潤型であったものが、治療6カ月で病巣の縮小および結合組織の増殖等の間質性反応を起こし、治療1年後には瘢痕化、あるいは僅かな類上皮細胞化巣を残し、高度の線維増殖を示す。(同様にI B型は治療前に撒布浸潤型、I C型は軽度浸潤型であったもの)、(12例30%)。

II型——II A型: 治療前に結節型または広汎びまん性浸潤型であったもの、II B型は撒布浸潤型であったものが、いずれも治療1年後軽度の類上皮細胞化巣または泡沫化巣(らい性泡沫細胞性病巣)を示す。(9例20.5%)。

III型——治療前に撒布浸潤型であったものが、中間期(治療3~6カ月)に類上皮細胞性肉芽腫の出現をみる反応を示し、病巣はやや拡大傾向を示すが、類上皮細胞の増加、リンパ球の浸潤、毛細血管の増生等の間質性反応とらい菌の減少顆粒状化がみられる。またこの型ではラングハンス氏巨細胞やその他巨細胞の出現をみることが多い。治療1年後に再び病巣は縮小し、軽度の類上皮細胞化巣を残すのみとなる(3例7.5%)。

以上のI型よりIII型までを合せ治癒傾向の著明なものは24例(60.0%)である。

IV型——治療前に撒布浸潤型であったものが、本型では治療1年でも病巣の縮小が余り著明でなく、顆粒状の菌もかなり残存している。治癒の遅延として考えられる。(3例、7.5%)。

Type		Before	Middle stage(6 Months)	After 1 year	Explanation of final lesion
I conspicuous course	A				Scar-formed only a few foci without bacilli
	B				
	C				
II marked course	A				minimal localized foci with lymphocytes and a few bacilli
	B				
III reactional course			reaction 		minimal localized foci after reaction with epithelioid cells
IV rather delay					slight infiltrated foci with granulated bacilli
V delay				A B	decrease of focal extent, still remain persistence

Fig. 2 Histopathological healing process on each type treated with RFP

Table 4 Appearance rate in five types of healing process

Type	I			III	IV	V	
	A	B	C			A	B
Case	5	5	2	3	3	9	1
	12					10	
%	30					25	

V型——治療前に結節型または広汎びまん性浸潤型で、その範囲は他型に比較し極めて大きく、その後の縮小が著明であるにもかかわらず、治療1年後なおI～III型に比較し、治癒状況が不十分なものと、明らかに治癒の遅延と考えられるものがあり、それは本型10例中4例であった。

なお全例において、いわゆる ENL としての壊死ないし類壊死病巣はみられなかった。

考 察

RFP の投与を週2日法としても週6日法としても両者間に著差はないと臨床側は述べているが、組織学的観察においても同様なことがうかがえた。これは DDS を base に用いていることにも問題があるのかも知れない。いずれにしても両者を区別せず、一応同様に扱い効果判

定の評価を行なった。

他の抗生物質より RFP の効果が勝っていることについては、各方面からの報告がなされているが、ことに結核に関しては、長期重症肺結核において優秀な成績が得られており^{2,3,4)}、実験的にもモルモット結核症において確められている⁹⁾。勿論結核とらいとは治療効果の判定の評価が相違しており、一概に同様に論ずることは危険であるが、有効性という一面から考察すれば、やはり結核に対する有効性が非常に参考となる。

らいに対する RFP の治療効果を検討する場合、まず問題になるのは資料の選択であるが、表3図1に示すように、治療前において決して同程度の病巣範囲とほぼ同数の桿状菌を保有しているものでなく、かなりバラツキがあり、らいの長い臨床経過を辿った後の個体側の諸因子が重なった様相を呈し、治療開始前の病巣の大きさを揃えたと云う作業は出来なかった。そこで組織学的検索に当っては判定基準をもうける必要性から、前述のような指標をもって、治療により変化してくる状況をとらえるようにした。指標を大別すると、①病巣範囲の縮小(結節型あるいは広汎びまん性浸潤型より撒布型へ、さらに軽度ないし微小浸潤型へ)、②らい菌の形態の変化(桿状より顆粒状へ)と菌数の減少、③間質性反応の出現(毛細血管の増生侵入、結合組織線維の増生、リンパ球および形質球の浸潤増加)を挙げることが出来る。そし

て一般に治癒傾向があるという判断は①と②、ないしは三者が出揃って観察された場合である。従って病巣の範囲が治療前より治療後にたとえ若干減少しても、菌の形態が桿状で増加するような場合には、治癒傾向にあるとは言えない。本研究を通じそのような例はまことに僅少であった。上述のような評価判定に基づき、治療1年後において治癒傾向が認められたのは40例中30例(75.0%)であり、これをC-1群のみに限ってみると31例中23例(74.2%)であった。この中には著効、有効例が含まれており、瘢痕化あるいは僅かな類上皮細胞化巣をとり囲み、高度の線維増殖を示した著効例および軽微のらい性泡沫化巣を残す著効例が観察された(全例中50.5%)。また僅かではあるが中間期(治療3~6カ月)に類上皮細胞性の反応を示し、かえって一時病巣の拡大を示したが、治療1年では縮小傾向を示した。以上の組織学的検索に基づく評価により、RFPのらいに対する有効率は75%と高率であると言える。この有効率は結核におけるRFPの治療効果に近いものと思われる。

C-1群について治療6カ月の中間治療成績をみると、治癒傾向にあると判定されるのは38例中22例(57.9%)であり、とくに増悪例は認められていない。従って治療1年でさらに治療効果が増強されたが、反面少数例ではあるが増悪例を出現させている。

治療1年で僅か3例(7.5%)であったが増悪傾向がみられ、かかる例では病巣の拡大傾向はそれほどでないが、桿状菌の増殖と細胞および間質性の反応の減弱が観察され、治療前よりむしろ増悪していることが明らかであった。これらを直ちに菌の耐性獲得と結びつけて考えるのは飛躍的という謗りをまねがれぬかも知れぬが、結核については菌の耐性が早い時期に、しかも高率にみられるとの報告もあり⁶⁷⁾、らいにおいてもかかる増悪例については、耐性の問題を考慮に入れ、今後の経過を慎重に観察検討して行くことが必要である。

次に治療前70例であったものが、治療6カ月で40例と30例も採物件数が減少しているが、その多くは早期に副作用あるいは反応激化が現れ、継続不可能となったものである。反応の出現は、6カ月の組織学的観察から考えられるものとして、ENLの潜在あるいは顕在があり、

RFPが直接間接的に影響している点が重要視される。かかる症例について早期のRFPの投与量の慎重な配慮に加え、反応状態を緩和する方法が考慮されねばならない、途中中止の例にも組織学的にみて、治癒傾向にあるものが含まれているので、反応を抑制しながらRFPを継続して行くことで、一層の治癒傾向が期待し得るようになる。

結 語

Rifampicinの治療効果は組織学的にみても秀れており、RFPとDDS併用1年間の有効率は75%で高率であり、DDSの治療限界にある症例についてもその限界を越えて有効に作用すると云える。また治癒の遅延と考えられる例も、今後さらに治療を継続して行けば、なお一層治癒の促進が期待される。しかし一方少数例ではあるが増悪傾向が認められ、明らかにらい菌の増殖が治療前より盛んであったことより、RFPに対するらい菌の耐性獲得の問題についても慎重に考慮して行かねばならない。

本論文の要旨の一部は昭和47年第27回国立病院療養所総合医学会および昭和48年第46回日本癩学会総会で報告した。

文 献

- 1) 国立らい療養所化学療法協同研究班：らいに対するリファンピシンの効果I臨床編レプラ掲載。
- 2) 山本和男他5名：Rifampicinの抗結核作用について、診療、23, 1292-1299 (1970)。
- 3) 五味二郎：肺結核再治療例に対するRifampicinの治療効果、結核、45, 229-235 (1970)。
- 4) 堂野前維摩郷他17名：Rifampicinによる肺結核治療の臨床的研究、第1報予備的研究、重症耐性肺結核に対する治療成績、結核、45, 251-256 (1970)。
- 5) 豊原希一：モルモット実験結核症に対するRifampicinの抗結核作用について、結核、45, 375-378 (1970)。
- 6) 桜井宏他2名：Rifampicin耐性に関する臨床的研究、結核、47, 475-479 (1972)。
- 7) 遠藤浩一他3名：肺結核患者から分離された結核菌のRifampicin耐性について、診療、23, 1300-1304 (1970)。

Explanation of photos:

- Fig. 3 A large-nodular type leproma developed up to the thick layer of the corium before treatment of RFP (C-1 group, I A type), HE stain, $\times 32$
- Fig. 4 High magnification of a large number of solid (rod-shaped) bacilli. More definite bacillary shape is indicated at the left lower corner. Fite-Faraco stain, $\times 320$ & $\times 1000$
- Fig. 5 After 6 months a lobulated and decreased leproma of the same case, HE stain, $\times 32$
- Fig. 6 High magnification of a part of Fig. 5.
Foamy cells contain a number of granulated bacilli. More definite bacillary shape is indicated at the left lower corner. Fite-Faraco stain, $\times 320$ & $\times 1000$
- Fig. 7 After one year the leproma changed to almost fibrosis except for only few epithelioid cell foci without bacilli, HE stain, $\times 32$
- Fig. 8 High magnification of a part of Fig. 7.
Few minimal epithelioid cell granulomas exist in the subepidermis with slight infiltration of lymphocytes, Fite-Faraco stain, $\times 320$
- Fig. 9 A diffuse-infiltrated type leproma developed very widely in the corium (C-1 group, I A type), HE stain, $\times 32$
- Fig. 10 High magnification of a part of Fig. 9.
Reticular type lepra cells contain a number of rod-shaped bacilli, Fite-Faraco stain, $\times 320$ & $\times 1000$
- Fig. 11 After 6 months extremely decreased foamy cell foci near the subepidermal layer of the same case, HE stain, $\times 32$
- Fig. 12 High magnification of Fig. 11.
Foamy cells contain a number of granulated bacilli, Fite-Faraco stain, $\times 320$ & $\times 1000$
- Fig. 13 After one year it changes to almost a scar formation except for only few minimal epithelioid cell foci without bacilli HE stain, $\times 32$
- Fig. 14 The same area as Fig. 13.
This shows remarkable fibrosis, Azan-Mallory stain, $\times 32$
- Fig. 15 In the pretreatment stage a small localized leproma is seen. This is III type of healing process (epithelioid cell reaction occurs in the middle stage), HE stain, $\times 32$
- Fig. 16 The small localized leproma contains a few lepra cells involving granulated bacilli and accompanies with moderate lymphocytes and few giant cells, Fite-Faraco stain, $\times 80$
- Fig. 17 Temporarily enlarged epithelioid cell granuloma after 6 months, HE stain, $\times 32$
- Fig. 18 The enlarged epithelioid cell granuloma contains especially lymphocytic infiltration and proliferation of capillaries, that is, "epithelioid cell reaction" occurs, HE stain, $\times 80$
- Fig. 19 After one year the same case shows remarkable fibrosis around a few minimal epithelioid cell foci, HE stain, $\times 32$
- Fig. 20 The same remnant foci as Fig. 19. Fite-Faraco stain, $\times 200$