

原 著

結核化学療法終了後における再発防止を目的
とした免疫増強剤使用の検討

近藤 瑩子・金井 興美

国立予防衛生研究所結核部・細菌1部

受付 昭和55年5月8日

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE USE OF AN IMMUNOADJUVANT
(β -1,3 GLUCAN) TO PREVENT RELAPSE AFTER TERMINATION
OF CHEMOTHERAPY IN MOUSE MODEL

Eiko KONDO* and Koomi KANAI

(Received for publication May 8, 1980)

Experimentally infected tuberculous mice were treated by intensive chemotherapy with three drug combinations (SM+INH+RFP, EB+INH+RFP or SM+INH+PZA) for 5 months so that viable counts from the spleen and lung were decreased down below the undetectable level.

After termination of chemotherapy, the mice of each group were divided into two groups, which subsequently received or did not receive intravenous administration of β -1,3 glucan, 0.5 mg once a week, for 4 weeks and again 4 weeks after one month interval.

During this period and the succeeding 5 months, the mice were subjected to occasional sacrifice at random for cultivation of the two organs to detect the reincrease of latent tubercle bacilli therein. The results indicated that the regimens with SM+INH+RFP or with EB+INH+RFP was highly efficient in eradicating infecting tubercle bacilli in mice, if not perfectly, and the use of β -1,3 glucan as an immunoadjuvant was effective in preventing the reincrease of latent bacilli.

緒 言

結核化学療法の実験的研究においては、一般にマウスが使用されているが、この動物では感染菌の根絶は非常に困難であり、また培養陰性になった場合でも、薬剤投与を中止すると、残存菌の再増殖が観察されるのがむしろ普通である。このゆえに Canetti¹⁾ は、マウスにおいて再発をみないような優れたレジメンが開発されるならば、それは臨床結核において一層期待がもてると述べている。

この理想にむかっつての大きな前進は RFP の登場によつて実現し、RFP と INH, SM, EB との組合せによる 3

者併用は感染菌根絶の達成にかなり接近したように思われる²⁾³⁾。そしてこれらのレジメンに対する高い臨床的評価とよく符合している。しかしなお感染菌の根絶は 100% を期し難く、投与中止後の菌再増殖は皆無ではないことを私たちは実験的に認めざるをえない。

ところで、宿主個体において抗菌免疫が成立しているならば、潜在的に多少の生残菌があつたとしても、その増殖は抑制されうるはずであり、それが結核感染本来の姿であつて、すくなくとも臨床的治癒というものは、そうした宿主個体の防御力と菌との平衡状態と考えられる。

したがつて、マウス治療実験において薬剤投与終了後

* From the Department of Tuberculosis and the First Department of Bacteriology, 2-10-35, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

に菌の再増殖があつたとすれば、治療中に十分な感染免疫が用意されなかつたと考えられる。また、治療終了後コーチゾンを投与することによつて、再発頻度の更に高まることも、この現象における免疫力の関与を示唆している⁴⁾⁵⁾。

以上のような理由から私たちは化学療法を補強する意味での免疫増強剤の使用の意義に注目し、さしあたり β -1,3 グルカン⁶⁾を用いた再発防止の実験的研究を計画した。

前報告⁶⁾で述べたように、私たちの予備実験はこの物質がマウス実験結核感染を明瞭に抑制することを示した。それにひき続き本報告は強化化学療法終了後にこのイーストグルカンを一定期間投与し、残存感染菌の再増殖に対する阻止効果を観察したものである。

材料と方法

動物：市販の ddY マウスの雄を使用した。感染時の体重は平均 27 g である。

感染： $H_{37}RvR$ -KM 株のソートン培養菌の 0.5 mg/ml 水浮遊液をつくり、この 0.1 ml を静注感染した。

化学療法：145 匹のマウスを用意して、23 匹を未処置対照群とし、残りを 3 群に分け、感染 19 日後より SM-INH-RFP, EB-INH-RFP, SM-INH-PZA のレジメンでそれぞれ治療した。薬剤投与は SM, INH, EB はそれぞれ 1 mg を皮下に、RFP は 0.5 mg, PZA は 5 mg を経口的に、いずれも日曜日を除いて連日行なつた。RFP と PZA については 0.5% 寒天を加熱滅菌し、かたまる前にこれら薬剤を 5 mg/ml または 50 mg/ml の量に加えてスターラーで攪拌しながら徐々に冷却してほぼ均等な状態となし、この 0.1 ml をゾンデで投与した。

治療期間は 5 カ月間とした。

免疫増強剤とその投与方法：化学療法終了後に各治療群を更に 2 小群に分け、その一方を免疫増強剤投与群とした。この群のマウスは β -1,3 グルカン⁶⁾ 5 mg/ml の生理食塩水浮遊液の 0.1 ml を週 1 回の割合で 4 回静注投与した。1 カ月放置ののち再び同量のグルカン投与を週 1 回で 4 回行なつた。

肺および脾における感染菌数については、組織乳剤の連続 10 倍希釈液をカナマイシン 100 μ g/ml 含有小川培地に接種し、発生集落数より臓器内総菌数を計算した。

成績

化学療法の効果： $H_{37}RvR$ -KM 株感染により、非治療対照群は肺においても脾においてもいつたん菌数は増加するが、その後肺では 10^6 , 脾では 10^5 個のレベルで残存し、持続感染の状態が続いている (図 1, 2, 3)。またうち 3 匹は感染 6 カ月から 9 カ月の間に結核死した。一方、感染 19 日目より SM-INH-RFP または EB-INH-RFP の強力なレジメンによる治療によつて、2.5 カ月後には肺および脾内の生菌数は全例検出限界以下となつた。SM-INH-PZA 群においては 5 カ月で 4 匹中 1 匹の肺に 10^2 個の菌を認めたほかは検出限界以下となつた。

β -1,3 グルカン投与による再発防止の効果：化学療法中止後における再発は、SM-INH-RFP, EB-INH-RFP いずれの群も、特に脾において高率にみられ (表 1)、7 カ月間に 17 匹中 10 匹または 17 匹中 9 匹であつたが、これに対する β -1,3 グルカン投与は効果を発揮し、17 匹中 1 匹または 17 匹中 3 匹の再発におさえられた。また再発例はすべて非治療群の生菌数以下であつた (図 1, 2)。一方肺においては SM-INH-RFP 群は 17 匹中 6 匹の再発

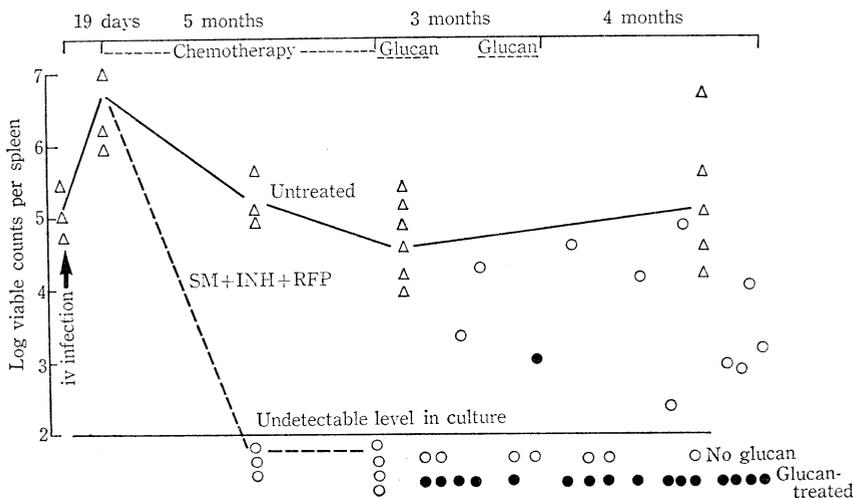


Fig. 1. The relapse-preventive effect of an immunoadjuvant (β -1,3 glucan) administered after termination of chemotherapy with SM+INH+RFP in experimentally infected tuberculous mice.

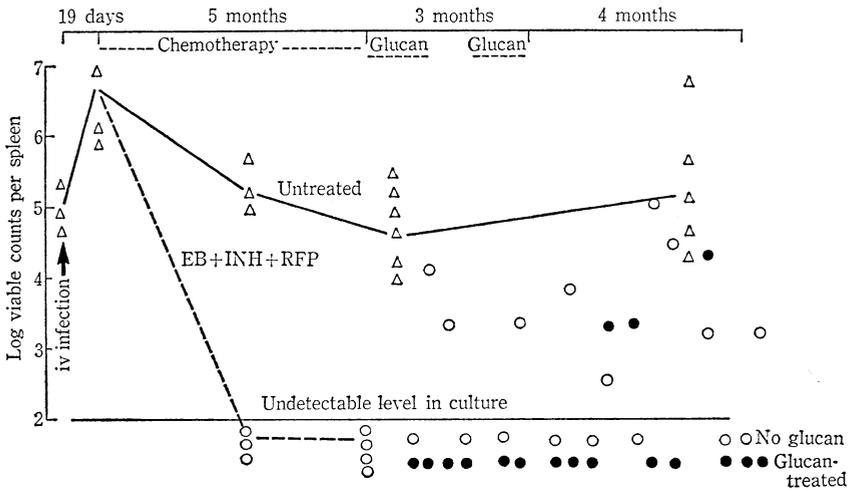


Fig. 2. The relapse-preventive effect of an immunoadjuvant (β -1,3 glucan) administered after termination of chemotherapy with EB+INH+RFP in experimentally infected tuberculous mice.

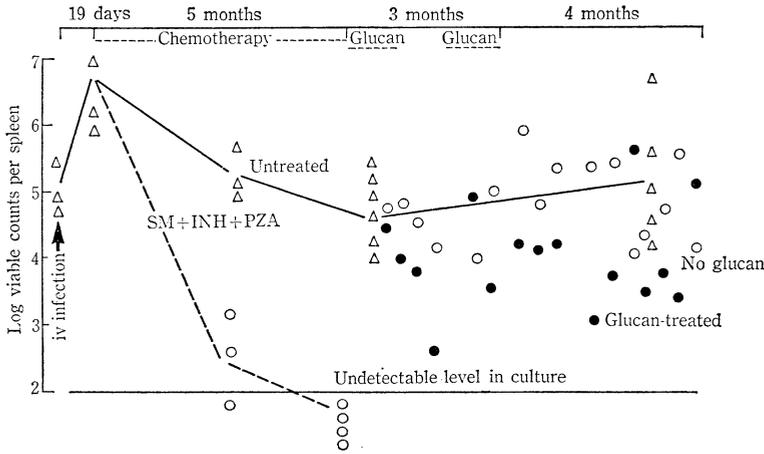


Fig. 3. The relapse-preventive effect of an immunoadjuvant (β -1,3 glucan) administered after termination of chemotherapy with SM+INH+PZA in experimentally infected tuberculous mice.

に対し、グルカン投与で17匹中4匹、EB-INH-RFP 群は17匹中8匹の再発に対し、グルカン投与で17匹中6匹と、いずれもグルカン投与群の再発率は下回っているが、その効果は脾臓の場合のようにめざましいものではなかつた(表1)。肺の成績は図示していないが、再発菌数レベルはいずれも非治療群より低かつた。これらに比べてSM-INH-PZA 群では、化学療法中止後、肺および脾の全例に再発を認めた。これに対するグルカン投与の効果は脾臓の場合、再発を防止するまでに至らなかつたが再増殖の菌数レベルはおさえられていた(図3)。しかし肺における再増殖菌数は非治療対照群のレベルにまで達し、グルカンの投与も効を奏さなかつた。

考 察

以上の実験によつて、SM-INH-RFP あるいはEB-INH-RFP の3剤併用が極めて顕著な治療効果を挙げうることを再確認できた。臨床においては培養陰性とは喀痰中の菌についての観察であるが、動物実験においては組織中の菌を対象としており、それだけ治療効果の評価がきびしくなるともいえる。しかし菌の生存ということとは現時点において可能な細菌培養手技の範囲内でのことであるから、培養陰性ということがそのまま感染菌の根絶を意味しない。そして検出限界以下の菌数レベルにおいてもある幅があり、それに応じて生残菌再増殖の状況が左右されるはずである。しかし薬剤投与終了後数カ月においてなお培養陰性動物があることは、上述のレジメ

Table 1. Summary of the Relapse Rates in Experimentally Infected Tuberculous Mice Administered with or without β -1,3 glucan after Termination of Chemotherapy: Remultiplication of the Latent Tubercle Bacilli in the Spleen

Organ	Chemotherapy	Glucan	Culture-positive mice/Mice examined		Culture-positive mice/Mice examined	
			After chemotherapy of 2.5 m	5 m	During glucan-treatment (3 m)	After glucan-treatment (4 m)
Spleen	SM+INH+RFP	-	0/3	0/4	2/6	8/11
		+			1/6	0/11
	EB+INH+RFP	-	0/3	0/4	3/6	6/11
		+			0/6	3/11
	SM+INH+PZA	-	2/3	0/4	6/6	10/10
		+			6/6	10/10
Lung	SM+INH+RFP	-	0/3	0/4	1/6	5/11
		+			2/6	2/11
	EB+INH+RFP	-	0/3	0/4	2/6	6/11
		+			1/6	5/11
	SM+INH+PZA	-	3/3	1/4	6/6	10/10
		+			6/6	10/10

ンが極めて強力なものであり、根絶的効果に近いことを示すものであろう。

またそのような動物群における免疫増強剤の使用は、再発率をまぎれもなく低下せしめた。再発率としては低下しなかつた SM-INH-PZA 群においても、菌数レベルはグルカン投与群の方が一般的に低く、効果がなかつたわけではない。この群においても治療中止時には剖検動物の3匹は培養陰性であつたが、投与開始後2.5カ月時ではいまだ感染菌が検出されている。したがつて治療効果において他の治療2群に劣り、検出限界以下の菌数も相対的にはより高いレベルであつたと推定される。

以上のことより、化学療法によつてできうる限り感染菌数を減少せしめることが再発防止の第一条件であり、免疫増強剤の効果もその場合に一層発揮されやすいことが期待できると結論されよう。

脾の生残菌に対して増殖抑制効果をもつグルカンが、肺のそれに対しては効果のはつきりしなかつたことは、免疫効果の局所性とも関係していると考えられ、マウス

を用いた結核感染免疫実験でしばしばみられる傾向である⁷⁾。

グルカンの静注投与は実用的な立場からみると難点であるが、この研究の主旨はイーストグルカンの実用性の検討というよりむしろ、再発防止における免疫増強剤使用の基本概念を模索し、また逆にそれによつて再発における宿主防御力の関与の状況を分析することにある。この意味において本実験は、将来臨床的に利用できる免疫増強剤の開発を支持するものであろう。

文 献

- 1) Canetti, G.: Tubercle, 49 : 70, 1968.
- 2) Grumbach, F. and Grosse, J.: Rev. Fr. Mal. Resp., 3 : 5, 1975.
- 3) 近藤瑩子・金井興美: 治療学, 2 : 721, 1979.
- 4) 豊原希一: 結核, 53 : 592, 1978.
- 5) Grumbach, F.: Rev. Fr. Mal. Resp., 3 : 1027, 1975.
- 6) 金井興美・近藤瑩子: 結核, 55 : 371, 1980.
- 7) McCune, R.M. and Tompsett, R.: J. Exp. Med., 104 : 737, 1956.