



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	いわゆる抗アレルギー剤，消炎剤および特に代謝阻害物質の実験的結核アレルギーにおよぼす影響
Author(s)	前田，和夫； MAEDA, Kazuo
Citation	結核の研究， 23-24， 1-14
Issue Date	1966-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26761
Type	departmental bulletin paper
File Information	23_24_P1-14.pdf



いわゆる抗アレルギー剤、消炎剤および特に 代謝阻害物質の実験的結核アレルギーにおよぼす影響

前 田 和 夫

(北海道大学結核研究所予防部 教授 高橋 義夫)
(国立札幌療養所 所長 宮城 行雄)
(昭和40年8月28日受付)

緒 言

1921年に Hektoen ら⁷⁾によって、mustard gas が抗体の産生を抑制することが報告されて以来、種々の化学物質が免疫反応抑制作用を有することが知られてきている^{22), 23)}。それら物質の多くは、細胞毒として働いいわゆる代謝阻害物質である。そしてそれらは、免疫反応に与かる化学的過程の分析や、抗体産生の場における種々な細胞の果す役割の解明などに役立ち、免疫学の基礎的分野の研究に光明を投げかけている。と同時に、実際のな面でも自己免疫疾患の治療や同種臓器移植の際に使用されて効果を挙げつつあり、今後ますますこのような物質に関する研究は盛んになるものと予想される。

また、代謝阻害物質の実験的結核症におよぼす影響については、Prichard ら¹⁸⁾、Friedman ら^{5), 6)}、Hoyer ら^{9), 10)}の報告があり、いずれもツベルクリン(以下ツ・)アレルギー抑制作用のあることを観察しているが、その作用機序はあまり深くは追究されていないようである。

一方著者は、結核アレルギー発生の機序をうかがう一助として、ここ数年来抗アレルギー剤、消炎剤および代謝阻害物質など、数種の薬物の結核感作動物に対する影響を検討してきた。すなわち Glycirrhzin, Acidomycin, Sodium ethylenediaminetetraacetate (以下 EDTA), Oxyphenbutazon (以下 Tanderil), 8-Azaguanin, Aminopterin (以下 Amp), A-methopterin (以下 Methotrexate) および 6-Mercaptopurine (以下 6-MP) などである。この中ツ・アレルギー抑制作用がみられたのは Amp と 6-MP のみであるが、著者はさらに結核血中抗体や結核脱感作におよぼす影響および感作細胞融解現象に対する態度なども検討して、該薬物の作用機序の一端を明かにした。

実験材料および実験方法

(ここには Amp. および 6-MP に関する実験についてのみ記し、他の薬物に関する実験の概要はそれぞれの実験例においてのべる。)

1. 使用動物：体重 450~650g の白色モルモットならびに体重 2.4~3.0 kg の白色ウサギ。

2. 感作方法：ヒト型結核菌仲野株および BCG の小川培地 2 ないし 3 週培養の菌苔を、型の如く蒸溜水浮遊液として 100°C 30 分間加熱後、Adjuvant として Arlachel, Drackeol 1 : 9 の混合液を等量加え、10 mg/ml の乳剤とし、モルモットには仲野株 4 ないし 5 mg あて右そけい部皮下に注射、ウサギには BCG 10 mg を 1 週間隔で 2 回ずつ後肢筋肉内に注射した。

3. 薬物の投与方法：Amp ならびに 6-MP の化学構造は図 1 に示した。Amp は水に不溶性の褐色結晶性粉末で、弱アルカリに溶解後タイロッド液で希釈し、3 mg/kg の割合で隔日にモルモットの腹腔内に注射した。又、6-MP は水に難溶性の淡黄色結晶性粉末で、その 100mg を 1 N 苛性ソーダ 1 ml の割合で溶解後生理的食塩水で希釈し、ウサギには 4 ないし 10mg/kg、モルモットには 40 ないし 70mg/kg * の割合で、背部筋肉内に毎日注射した。なお 6-MP の溶液は pH 11.0 の強アルカリで刺激性が強いため、注射の都度部位を変えるよう心がけた。

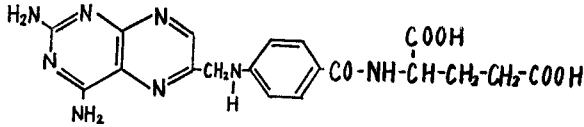
4. ツ・反応検査：モルモットでは 100 倍、ウサギでは 50 倍の旧ツ・希釈液 0.1ml を皮内に注射、24 時間後に発赤の縦横の直径を測定して、ツ・反応の大きさとした。

5. 一般検査：体重の測定は毎週行なった。白血球数の算定および血液像の検査は、耳朶血ないしは心穿刺血

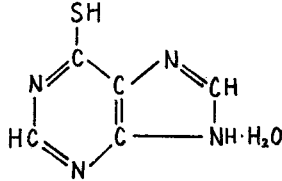
* 著者が行なった予備実験で、結核感作モルモットに 6-MP 5mg/kg 毎日注射しても、ツ・アレルギー抑制効果が得られなかったこと、および Hoyer ら¹⁰⁾の実験成績を参考としてモルモットに対する投与量を決定した。

図1 使用薬剤の化学構造

(1) Aminopterin
(4-Aminopteroylglutamic acid)



2) 6-Mercaptopurine



液を用いて、臨床検査法に準じて実施した。又、食欲や毛並みなど全身状態については常時観察した。

6. 脱感作処置：有馬ら¹⁾の方法に従い、ツ・反応陽性のモルモットならびにウサギに対して、予研より分与された PPDs を生理的食塩水に溶解して、それぞれ 200 r および 1 mg ずつ静注した。

7. 血中抗体の測定：心穿刺により採血、型の如く分離したウサギ血清について、Middlebrook-Dubos 反応(以下 MD 反応)¹⁴⁾、Boyden 反応³⁾ および高橋反応²⁴⁾ の3種の赤血球凝集反応を実施し、それぞれ抗多糖体抗体(以下 Ps 抗体)；抗蛋白抗体(以下 Pr 抗体)および抗磷脂質抗体(以下 Pd 抗体)を測定した。なお反応用抗原としては、北大結核研究所予防部で精製された Lps (BCG 脱脂菌体の 0.5 N 三塩化酢酸抽出残渣を 50% フェノール水で抽出、その水層をアセトンで落したものである。P : 0.07, G : 93%), TR-1a (H37Rv ツ・蛋白で、pH 3.2 で沈澱したもの。N : 13.2, P : 0.33, G : 3.5%) および Pd. ha (H37Rv, 青山 B 株のソートン培養アセトン致死菌体の混合物から高橋法²⁵⁾によって抽出。N : 0.35, P : 2.8, G : 16.9%) を使用した。

8. ツ・感作細胞融解現象：山本ら²⁶⁾の方法に従って実施した。すなわち、結核感作モルモットの脾細胞浮遊液を作製し、これを小試験管内で 37°C 48 時間培養後、クエン酸クリスタル紫液によって脾細胞の核染色を行ない、血球計算盤上で核数を算定した。これに細胞融解抗原として、北大結核研究所予防部で精製された菌体蛋白画分 R⑩ (H37Rv の脱脂菌体を 10% 尿素で抽出、三塩化酢酸で沈澱させたもの。N : 8.4, G : 9.7%) 100 r を加えた場合、更にこの反応系に Amp 100 r を添加した場合などについて、対照に対する核数の百分率を求めて

細胞融解率とした。

実験例

実験 I Glycyrhizin, Tanderil, EDTA の実験的結核症におよぼす影響

ヒト型結核菌仲野株 1/500 mg 皮下感染モルモット 7 匹ずつ 7 群を作製、それぞれ対照群、Glycyrhizin 8, 40 mg/kg 群、Tanderil 4, 20 mg/kg 群、EDTA 8, 40 mg/kg 群として、感染と同時に各薬剤を連日 8 週間皮下に投与、この間のツ・反応の推移、剖検時の肉眼的病変の観察と脾内生菌数の測定によって、その影響を検討した。

成績：Glycyrhizin 40 mg/kg 群のツ・反応が、対照群に比して若干減弱する傾向がみられた以外には、これら薬剤の影響はほとんどみられなかった。

実験 II Methotrexate, 8-Azaguanin の実験的結核症におよぼす影響

ヒト型結核菌仲野株 1/200 mg 皮下感染モルモット 4 匹ずつ 3 群を作り、それぞれ対照群、Methotrexate 群 (Methotrexate 2.5 mg/kg 隔日腹腔内注射)、8-Azaguanin 群 (8-Azaguanin 5 mg/kg 毎日皮下注射) として、感染と同時に薬剤投与開始、3 週、4 週にツ・反応検査実施、終了後剖検して肉眼的病変の観察と脾内生菌数の測定により各薬剤の影響を検討した。

成績：この実験条件下では、Methotrexate, 8-Azaguanin の影響は全くみられなかった。

実験 III 8-Azaguanin, Acidomycin の結核死菌感作モルモットにおよぼす影響

仲野株の加熱死菌 5 mg を Adjuvant と共に皮下注射したモルモット 6 群 (各群 5 匹あて) を作り、それぞれ対照群、8-Azaguanin 1, 2, 3, 5 mg/kg 投与群、Acidomycin 8 mg/kg 投与群として、感作と同時に薬剤投与開始、連日 3 週間皮下注射、この間 2 週、3 週目にツ・反応検査を実施した。

成績：この実験条件下では、8-Azaguanin, Acidomycin のツ・アレルギーに対する影響は全くみられなかった。

実験 IV Amp の結核死菌感作モルモットにおよぼす影響

(a) 感作成立前より Amp を投与した場合

ツ・反応陰性のモルモット 8 匹を 4 匹ずつ 2 群に分け、Amp 投与群と対照群とした。全動物を結核死菌によ

表1 Amp のツ・アレルギーおよび感作局所におよぼす影響 (モルモット)

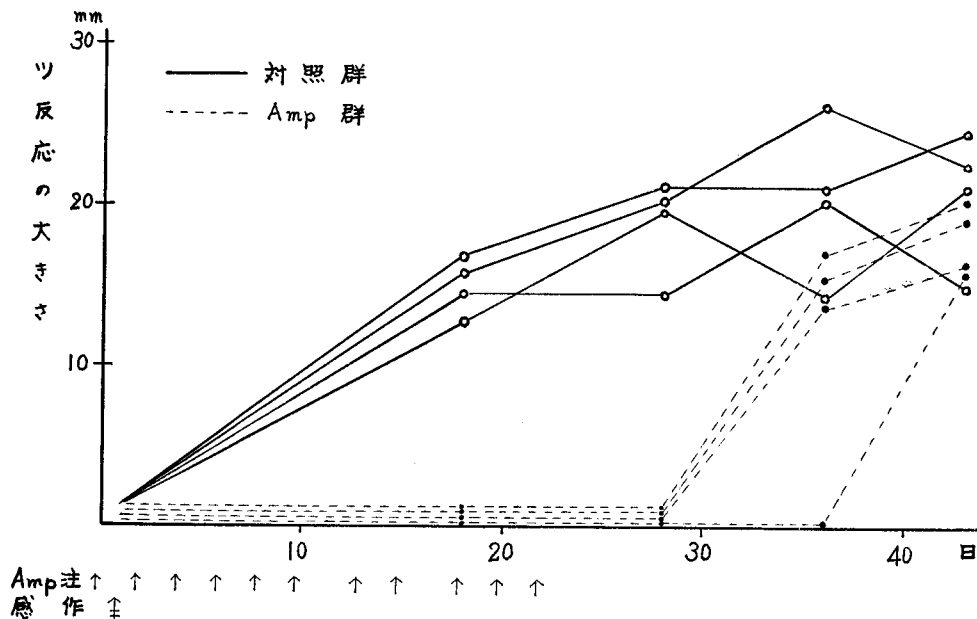
動物群	動物 No.	週		2~3 週		4 週		5 週		6 週	
		ツ 反 応	局 所	ツ 反 応	局 所	ツ 反 応	局 所	ツ 反 応	局 所		
対 照 群	101	15×18*	** 冊	17×25	冊	18×24	冊	22×27	冊		
	102	12×14	冊	15×25	冊	11×18	冊	20×22	冊		
	103	12×17	冊	12×17	冊	18×23	冊	14×16	冊		
	104	14×17	冊	15×25	冊	22×31	冊	22×23	冊		
A m p 群	105	0×0	+	0×0	†	12×22	†	17×24	冊		
	106	0×0	+	0×0	+	10×18	†	15×18	†		
	107	0×0	±	0×0	±	0×0	+	15×18	†		
	108	0×0	±	0×0	±	13×18	+	17×22	†		

* ツ反応の大きさは縦横の直径を mm. で表わした。

** 局所における膿・潰瘍の程度を下記の基準により判定した。

± ~5 mm. + 5~10 mm. † 10~15 mm. 冊 15~20 mm. 冊 20 mm~.

図2 Amp のツアレルギーにおよぼす影響 (モルモット)



て感作し、Amp 投与群は死菌感作の前日より Amp 3 mg/kg ずつ隔日11回腹腔内に注射した。死菌注射後17日、4週、5週、6週目に、全動物に対してツ・反応検査を実施した。

成績：表1および図2に示したように、Amp 投与群においてはツ・アレルギーの出現は完全に抑制された。しかし Amp 投与を中止すると、その後2週間でツ・アレルギーは出現してきたが反応は弱く、対照と同程度の

強さになるには中止後約3週を要した。この間、死菌注射局所は表に示したように対照群では漸次増大してついに潰瘍形成に至ったものがみられたのに対して、Amp 投与群では局所反応はいちじるしく軽微であった。しかしこれも、Amp 中止後は次第に増大した。又、Amp 投与による体重ならびに白血球の変化を図3、表2に示したが、これらに明かなように、体重には著明な影響はみられず、白血球では死菌注射後の白血球増多が比較的

図3 Ampの体重におよぼす影響(モルモット)

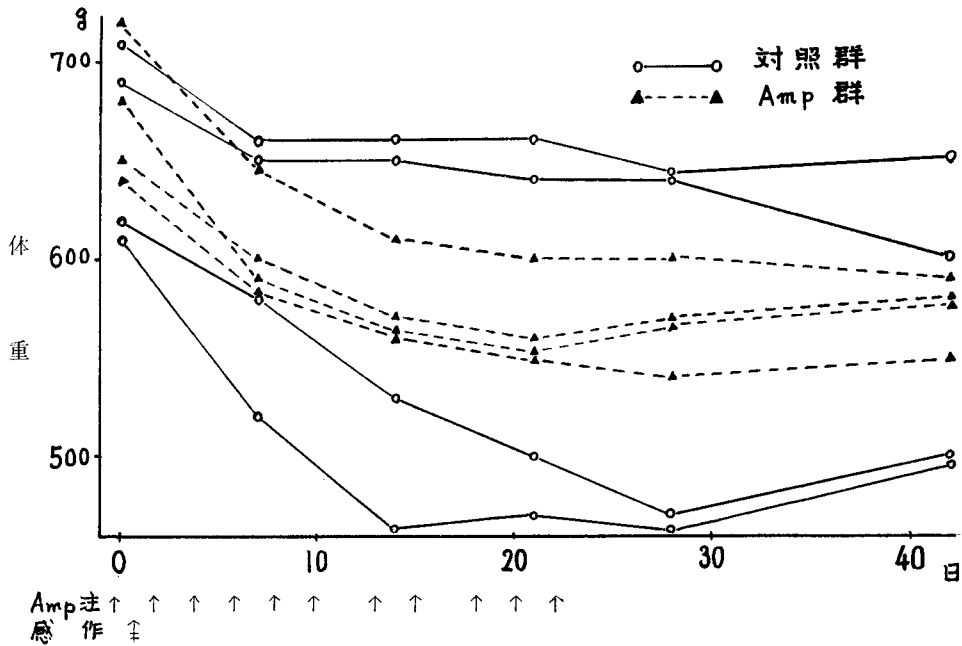


表2 Ampの白血球におよぼす影響(モルモット)

群	動物No.	前			2 週			4 週			5 週		
		W	Seg	Lym	W	Seg	Lym	W	Seg	Lym	W	Seg	Lym
対 照 群	101	6.7*	14**	75***	11.4	45	43	10.1	58	25	10.6	61	25
	102	8.2	24	69	11.2	54	35	11.8	39	54	7.6	17	75
	103	4.7	16	59	10.9	49	48	11.8	50	43	11.1	45	43
	104	6.1	40	54	9.7	32	57	11.1	57	32	9.8	57	36
A m p 群	105	7.3	20	58	7.0	52	38	14.0	61	13	4.8	37	52
	106	7.1	26	61	7.2	7	86	18.6	52	30	13.2	31	59
	107	9.3	10	86	4.6	52	44	5.9	61	25	9.3	6	90
	108	5.9	28	69	6.8	62	33	30.0	58	29	6.5	30	64

* Wは $\frac{\text{全白血球数}}{1,000}$
 ** Seg は多核白血球数に対する%
 *** Amp はリンパ球の //

軽度であったにすぎなかった。

(b) 感作成立後に Amp を投与した場合

結核死菌感作後数週を経て、ツ・反応が陽性に転化したモルモット4匹に対して、Amp 3 mg/kg を7日間連日腹腔内に注射して、その前後におけるツ・反応の変動をみた。

成績：表3に示したように、Amp 3 mg/kg 7日間の投与では、一旦出現したツ・アレルギーを減弱ないし消失せしめることはできなかった。

(c) 感作成立後に Amp 投与と PPDs 静注とを併用した場合

実験(b)と同じ条件のツ・反応陽性モルモット11匹を3

表 3 Amp の既感作モルモットにおよぼす影響

動物No.	前	処置	後
132	16 × 18 *	Amp 投 与	15 × 17
133	15 × 15		15 × 20
134	10 × 12		8 × 10
135	20 × 22		18 × 20

* ツ・反応の縦横の直径を mm で表わした。

群に分け、この中2群に対して PPDs 200 r 静注による脱感作処置を行ない、他の1群は対照群として生理的食塩水 1 ml を静注した。又、脱感作処置をした2群中1群には、脱感作の前後にわたって Amp 3 mg/kg ずつを隔日腹腔内に注射した。全群に対して、静注前、静注後4時間目および5日目にツ反応検査を実施した。

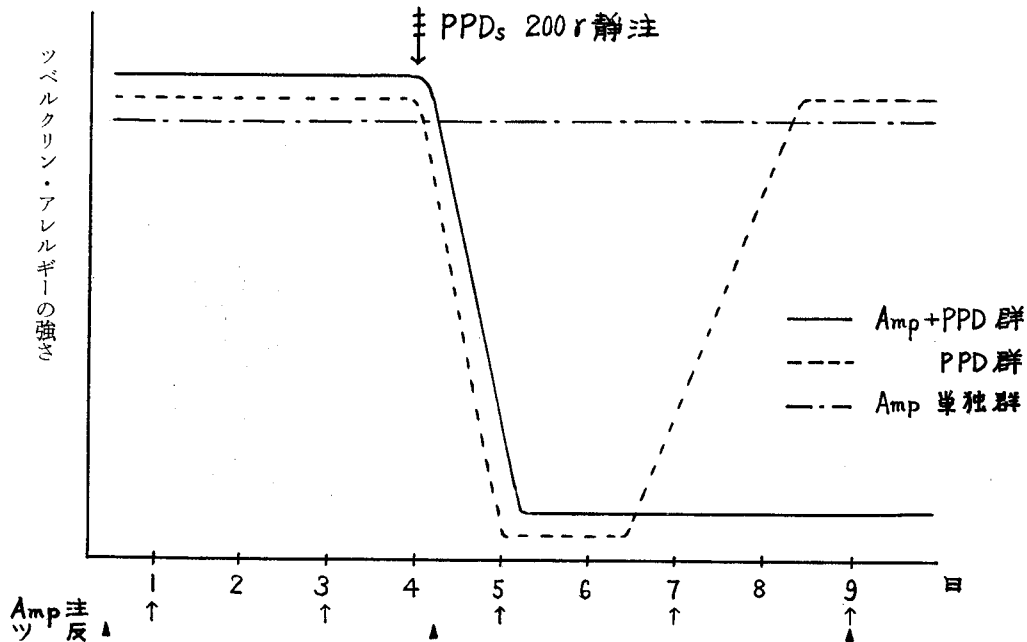
成績：表4に示したように、PPDs 単独静注群の脱感作状態が一過性であるのに対して、Amp 併用群では脱感作状態が持続性となることがわかった。図4は以上の成績をまとめて模式図として示したものである。

表 4 Amp の PPD 静注脱感作におよぼす影響 (モルモット)

時間 動物 群	動物 No.	前	処 置	4時間目	5日目
PPD + Amp 群	121	12 × 25 *	P P D s 200	0 × 0	0 × 0
	122	11 × 15		0 × 0	0 × 0
	123	18 × 20		0 × 0	0 × 0
	124	16 × 22		0 × 0	0 × 0
PPD 単 独 群	125	17 × 26	r 静 注	0 × 0	15 × 15
	126	20 × 20		0 × 0	18 × 20
	127	12 × 18		0 × 0	15 × 17
	128	18 × 20		0 × 0	10 × 15
非 処 理 群	129	16 × 23	生 食 水 1 ml 静 注	15 × 20	15 × 25
	130	17 × 20		20 × 22	12 × 18
	131	20 × 25		20 × 20	21 × 27

* ツ・反応の縦横の直径を mm で表わした。

図 4 Amp の PPD 静注脱感作におよぼす影響 (模式図) (モルモット)



実験 V Amp の抗アレルギー作用および結核菌に対する抗菌力の検討

(a) Amp のツ・感作細胞融解におよぼす影響

Amp が in vitro の抗原抗体反応に、抑制的に作用するかどうかを検討するため、実験方法でのべた如き反応

系に、Amp 100 r を添加して細胞融解率の測定を行なった。

成績：表5に示したように、Amp は結核蛋白抗原 R ⑩の細胞融解率には、全く影響をおよぼさなかった。すなわち Amp はツ・アレルギーに基づくと考えられる細胞

表 5 Amp の結核感作脾細胞融解におよぼす影響

添 加 物 質	細胞融解率
対 照	100 %
R ⑩ 100 r	67 *
Amp 100 r	99
Amp 100 r + R ⑩ 100 r	64

* 対照 (Tyrode 液添加) を 100 % とした場合の細胞融解

R ⑩ : H37Rv 菌体蛋白画分

融解現象に阻止効果を示さなかった。

(b) Amp の結核菌に対する抗菌力

牛血清加 Kirchner 培地に Amp を 2r, 10r, 20r, 50r, 100r/ml ずつ加え、これに毒力結核菌 H37Rv 0.3 mg あてを接種後、37°C 3 週間培養して、菌の増殖状態を対照と比較した。

成績 : Amp は 100 r/ml の濃度でも、結核菌に対する抗菌力は全く認められなかった。

実験 VI 6-MP の結核死菌感作ウサギにおよぼす影響

(a) 感作成立前より 6-MP を投与した場合

ツ・反応陰性のウサギ 12 匹を 3 群に分け、全動物を

BCG 加熱死菌で感作した。この中 2 群は 6-MP 投与群とし、死菌注射の前日より 6-MP をそれぞれ 10mg/kg, 4 mg/kg あて、連日 20 日間注射した。なお他の 1 群は、対照群として pH 約 11.0 のアルカリ液 0.5 ml ずつを注射した。ツ・反応検査は実験開始 3 週目より、血中抗体の測定は 2 週目より、その他体重、白血球測定などを毎週あるいは隔週に実施した。

成績 :

① 体重におよぼす影響 図 5 に示すように、6-MP 投与群ではいちじるしい体重減少がみられた。特に 6-MP 投与 10 日を過ぎる頃から、動物は極端な食欲不振におちいり、そのため 6-MP 4mg/kg 群では 2 匹が衰弱死した。なお対照群の 1 匹は、原因不明の疾病で次に衰弱して第 6 週に死亡、又 6-MP 4mg/kg 群の 1 匹は、採血時の事故により第 2 週に死亡した。

② 白血球におよぼす影響 表 6 および図 6 に示したように、6-MP 投与群では、2 週から 3 週にかけて著明な白血球減少がみられた。又、血液像においては、多核白血球の減少がいちじるしいため (実験前平均 40 % が 6-MP 使用により 17 % に減少) 相対的リンパ球増多を示した。

以上①、②の所見は、6-MP 4 mg/kg 群よりも 10 mg/kg 群の方に顕著であった。これらの所見は、6-MP 投与を中止すると急速に改善された。

図 5 6-MP の体重におよぼす影響 (ウサギ)

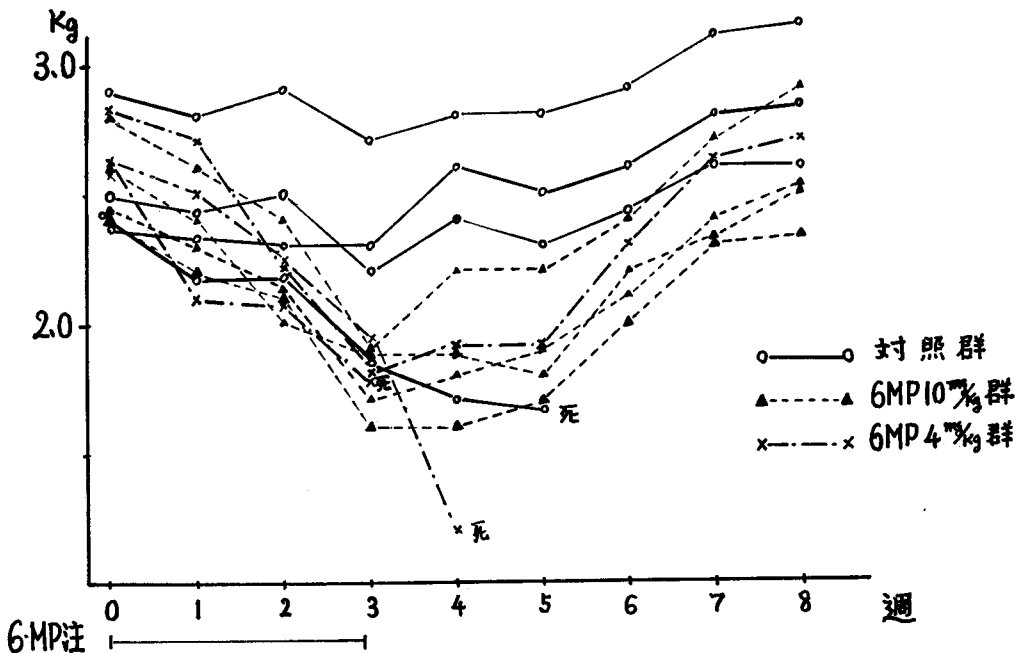


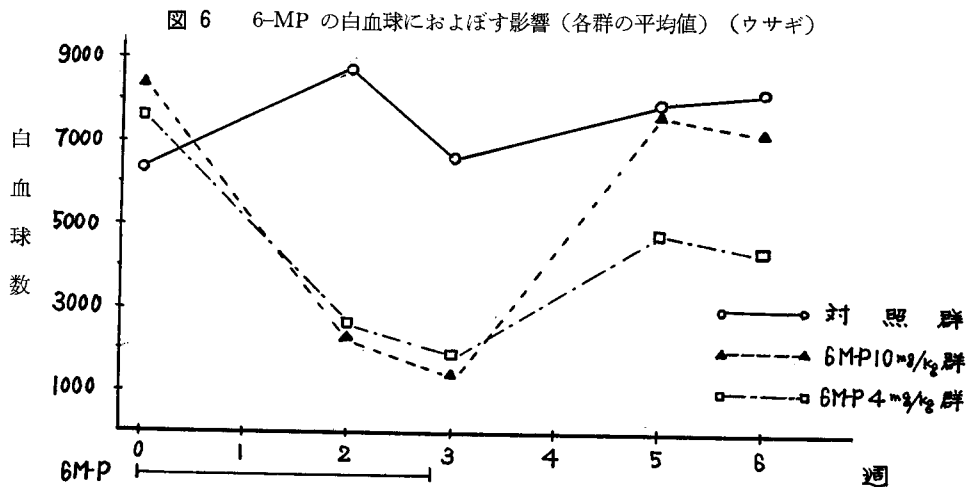
表6 6-MPの白血球におよぼす影響(ウサギ)

動物 群	週 No.	実 験 前			2 週			3 週			5 週			6 週		
		W	Seg	Lym	W	Seg	Lym	W	Seg	Lym	W	Seg	Lym	W	Seg	Lym
6-MP 10mg/kg 群	1	7,700*	40**	55***	2,000	55	45	1,000	20	76	7,300	72	26	4,700	46	52
	2	9,400	34	62	2,900	20	80	1,100	13	87	7,000	54	28	5,600	48	50
	3	6,700	36	54	1,900	11	89	1,800	14	80	10,000	50	36	11,000	62	32
	4	10,100	50	47	2,400	45	55	1,500	22	78	6,000	60	34	7,500	44	50
6-MP 4 mg/kg 群	5	6,900	38	54	1,500	50	50	900	80	20	死 亡					
	6	6,400	34	59	3,400	60	40	2,000	32	60	4,900	40	48	4,300	42	58
	7	6,800	29	68	死 亡											
	3	10,600	48	45	2,900	30	70	3,000	20	80	死 亡					
対 照 群	9	4,100	32	59	3,800	80	20	3,400	70	25	4,600	90	6	死 亡		
	10	6,900	40	56	9,000	52	40	6,100	70	25	7,300	76	16	5,300	38	60
	11	8,800	39	54	9,700	34	56	7,600	75	25	9,300	74	24	8,000	40	60
	12	5,600	35	60	12,500	74	20	9,300	62	32	10,600	78	22	11,100	66	30

* Wは全白血球数

** Seg は多核白血球の全白血球数に対する%

*** Lym はリンパ球の //



③ ツ・アレルギーに対する影響: 表7に示すように, 6-MP投与中はツ・アレルギーの出現は完全に抑制され, 6-MP投与中止後2週目に一部の動物に弱い反応が出現しはじめ, 中止後3週ではほぼ対照群と同程度の強さになった。

④ 結核血中抗体に対する影響: 表7に示すように, Ps抗体, Pd抗体およびPr抗体はともに, 6-MP投与中は出現せず, 6-MP投与中止後は時間とともに抗体価

は次第に上昇した。

以上③, ④の成績を図7, 図8に示したが, 6-MP 4mg/kg群は4匹中3匹が死亡したため省略した。

(b) 感作成立後に6-MPを投与した場合

結核菌感作後約5週を経て, ツ・アレルギーおよび血中抗体が十分に出現したウサギ8匹を2群に分け, 1群は6-MP投与群として, 6-MP 5mg/kgずつ, 他は対照群として, アルカリ溶液0.5mlずつ, それぞれ10日間

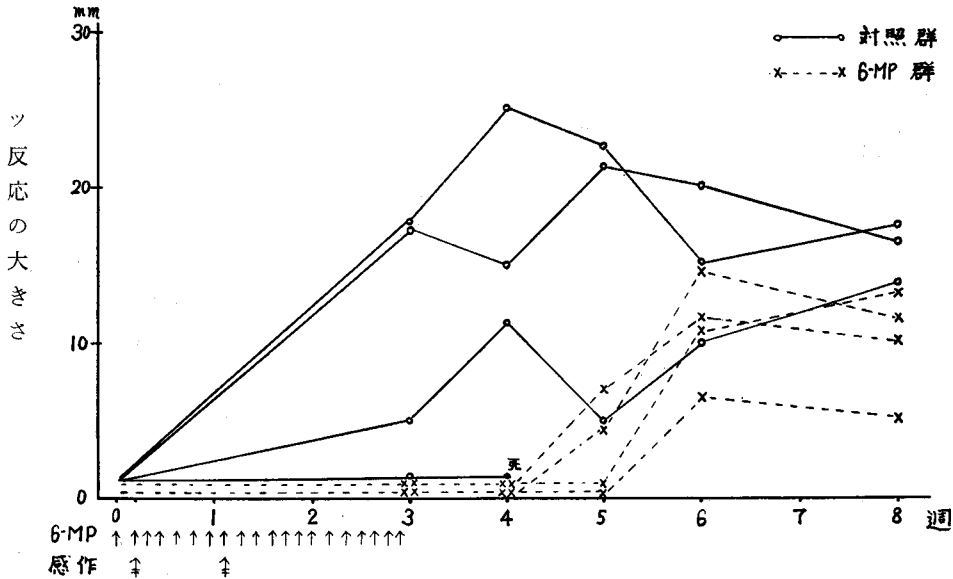
表7 6-MP のツ・アレルギーならびに血中抗体におよぼす影響 (ウサギ)

動物群	No.	週		2 週			3 週			4 週			5 週			6 週			7 週	
		ツ反応・抗体	Ps	Pd	Pr	ツ反	血中抗体			ツ反	ツ反	血中抗体			ツ反	血中抗体			ツ反	血抗
							Ps	Pd	Pr			Ps	Pd	Pr		Ps	Pd	Pr		
6-MP 10mg/kg 群	1	**	0	0	0	0×0*	0	0	0	0×0	0×0	80	0	5	10×12	80	80	160	10×17	320
	2	0	0	0	0	0×0	0	0	0	0×0	0×0	160	10	5	5×8	320	160	320	5×5	320
	3	0	0	0	0	0×0	0	0	0	0×0	6×8	80	160	20	10×12	640	1280	640	10×10	1280
	4	0	0	0	0	0×0	0	0	0	0×0	5×5	160	160	320	15×15	640	640	640	10×12	1280
6-MP 4 mg/kg 群	5	0	0	0	死亡															
	6	0	0	0	0×0	0	0	0	0×0	0×0	160	20	5	10×10	1280	80	160	5×5	160	
	7	死	亡																	
	8	0	0	0	0×0	0	0	0	死亡											
対 照 群	9	10	0	10	0×0	40	20	0	0×0	0×0	40	0	0	死亡						
	10	160	160	320	15×20	160	160	160	15×15	20×23	640	320	640	20×20	640	640	1280	15×17	640	
	11	40	0	80	5×5	160	80	40	10×13	5×5	640	320	640	10×10	640	320	1280	12×15	640	
	12	40	0	40	15×20	640	40	0	20×30	20×25	640	40	40	15×15	160	80	160	15×20	320	

* ツ・反応の縦横の直径を mm で表わした。

** Ps は抗多糖体抗体, Pd は抗磷脂質抗体, Pr は抗蛋白抗体の抗体価を表わした。

図7 6-MP のツ・アレルギーにおよぼす影響 (ウサギ)



連日筋注し, 注射前後におけるツ・反応ならびに血中抗体の変動をみた。

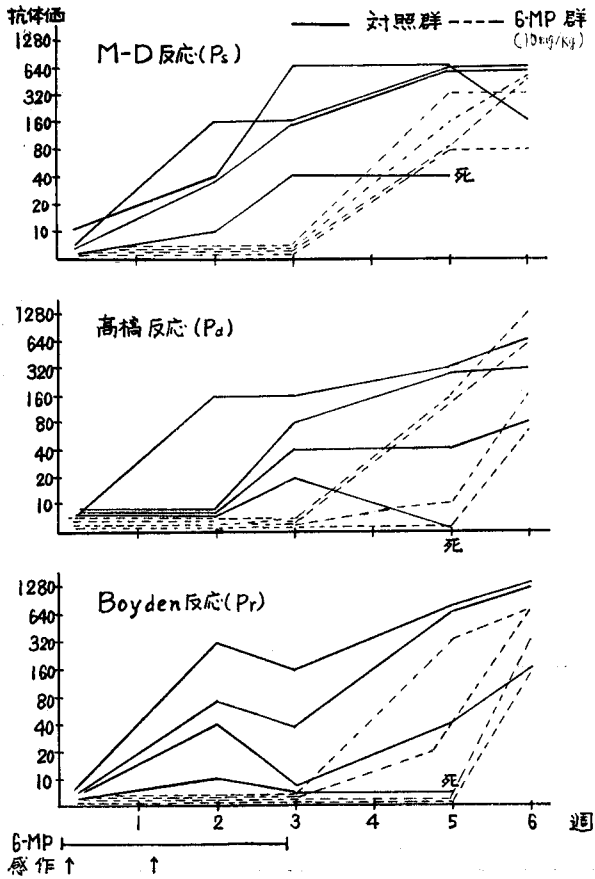
成績: 表8に示したように, 6-MP 5mg/kg 10日間の投与では, 一旦出現したツ・アレルギーならびに血中抗

体は全く影響されなかった。

(c) 感作成立後に 6-MP 投与と PPDs 静注とを併用した場合

実験(b)と同じ条件のウサギ 8 匹を 2 群に分け, 6-MP

図 8 6-MP の結核血中抗体におよぼす影響 (ウサギ)



投与群と対照群とし、それぞれ 6-MP 10 mg/kg、アルカリ液 0.5ml ずつを、12日間連日注射した。この間3日目に、両群に対して PPDs 1mg ずつ静注して脱感作を行ない、実験前、PPDs 静注後 3時間目、5日目、12日目、19日目および26日目にツ・反応検査を、実験前、PPDs 静注後5日目および19日目に血中抗体測定を行なった。

成績：表9に示したように、対照群では脱感作状態が5日目にほぼ回復を示したのに対し、6-MP 投与群では脱感作状態が持続し、薬剤投与中止後約2週間でようやく回復した。しかしこの間 Ps, Pd, Pr の3つの血中抗体価には、いちじるしい変動はみられなかった。図9は、以上の成績をまとめて模式図として示したものである。

実験 VII 6-MP の結核死菌感作モルモットにおよぼす影響

ツ・反応陰性モルモット 24 匹を3群に分け、1群を対照群とし、他の2群を6-MP 投与群とした。6-MP 投与群には、6-MP をそれぞれ 70 mg/kg, 40 mg/kg ずつ、対照群には pH 約 11.0 のアルカリ液 0.5ml を連日15日間注射した。この間、2日目に Adjuvant 浮遊結核死菌皮下注射で感作し、15日目にツ・反検査を実施した。

成績：表10に示したように、ツ・反応は対照群では全部の動物が陽性反応を示したが、6-MP 40

表 8 6-MP の既感作ウサギにおよぼす影響

動物群	時間 ツ 反応・ 動物 No. 抗体	前			処 置	後					
		ツ 反応	血 中 抗 体			ツ 反応	血 中 抗 体				
			Ps	Pd			Pr	Ps	Pd	Pr	
6-MP 投 与 群	13	20×24*	**	160	160	320	6-MP 5 mg/kg 10 日 間	16×22	160	160	320
	14	20×25	320	320	1280	20×25		320	80	640	
	15	10×15	320	160	640	17×20		320	160	320	
	16	20×22	320	1280	1280	20×23		640	1280	320	
対 照 群	17	15×15	320	640	320	アル カリ 溶 液 事 故 死 10日間	20×20	320	320	160	
	18	20×23	6480	2560	1280		20×20	2560	2560	640	
	19	20×20	320	320	160		事故死				
	20	10×20	320	640	320		18×22	640	640	640	

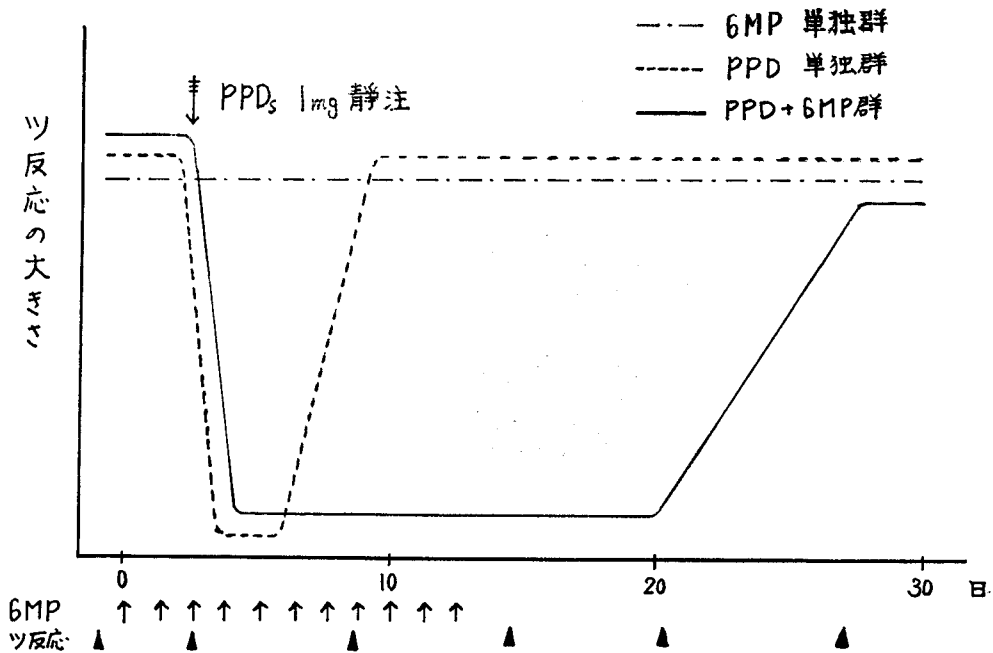
* } 表7に同じ。
** }

表 9 6-MP の PPD 静注脱感作におよぼす影響 (ウサギ)

群	日 ツ 反 応 ・ 抗 体 動 物 No.	開 始 前			処 置	3 時 間 目	5 日 目			12 日 目	19 日 目			26 日 目			
		ツ 反 応	血 中 抗 体			ツ 反 応	ツ 反 応	血 中 抗 体			ツ 反 応	ツ 反 応	血 中 抗 体			ツ 反 応	
			Ps	Pd				Pr	Ps	Pd			Pr	Ps	Pd		Pr
6-MP 投 与 群	21	17×20*	512**	1024	2048	0×0	0×0	512	1024	2048	0×0	0×0	64	512	1024	0×0	
	22	20×20	64	512	1024	0×0	0×0	128	512	1024	0×0	0×0	128	256	512	15×20	
	23	18×20	128	1024	1024	0×0	0×0	124	512	1024	0×0	0×0	128	512	512	15×20	
	24	15×17	512	512	2048	0×0	0×0	1024	512	2048	0×0	5×5	1024	512	2048	12×13	
対 照 群	25	20×23	256	512	2048	0×0	20×20	512	1024	2048	17×20	21×22	512	512	2048	16×18	
	26	18×20	256	128	2048	0×0	16×20	1024	512	2048	17×19	15×15	2048	512	2048	15×20	
	27	22×22	512	256	1024	0×0	0×0	1024	1024	2048	20×20	20×20	512	1024	2048	15×15	
	28	20×22	256	512	2048	0×0	15×17	512	1024	2048	18×20	18×20	1024	1024	2048	18×20	

* } 表7に同じ。
** }

図 9 6-MP の PPD 静注脱感作におよぼす影響 (模式図)



mg/kg 群では5匹中3匹, 70 mg/kg 群でも7匹中2匹が, 依然として陽性反応を示した。しかもこの間, 6-MP 投与動物の4分の1が死亡し, 残った動物もかな

り衰弱しており, 中には著明な皮下出血を伴うために皮膚反応の判定に困難を感じるものもあった。

表10 6-MP の結核感作モルモットにおよぼす影響

対 照 群		6-MP 70mg/kg 群		6-MP 40mg/kg 群	
No.	ツ 反 応	No.	ツ 反 応	No.	ツ 反 応
1	15×15*	9	0×0	17	15×15
2	15×20	10	0×0	18	15×15
3	18×22	11	12×12	19	死 亡
4	15×18	12	8×9	20	死 亡
5	13×15	13	死 亡	21	15×17
6	16×22	14	5×5	22	死 亡
7	17×20	15	0×0	23	5×5
8	13×15	16	14×17	24	0×0

* ツ・反応の大きさは発赤の縦横の直径を mm で表した。

考 案

今回の著者の実験において、ツ・アレルギー抑制作用を示したのは、代謝阻害物質の中の葉酸拮抗剤といわれる Amp と、核酸代謝阻害剤といわれる 6-MP の 2 つの薬剤であった。

葉酸拮抗剤のモルモットの遅延型過敏症に対する影響に関しては、2つの研究グループによる報告がある。その1つは、Prichard ら¹⁸⁾の結核感染モルモットに Amp を投与した実験の報告で、彼らは感染と同時に Amp を 2 mg/kg ずつ毎日皮下注射して、ツ・反応の出現が阻止され、結核性肉芽組織中の乾酪化が起らず、しかも病巣中には対照よりもはるかに多数の結核菌が認められると報告している。彼らはその原因を、Amp の遅延型過敏症抑制作用に帰している。第2に挙げられるのは、Friedman ら⁴⁾の Adjuvant 加ジフテリア・トキシイド又は卵白アルブミンによる遅延型過敏症ならびに抗体産生に対する葉酸拮抗剤の効果を報じたもので、彼らによればこれら抗原と同時に Methotrexate を投与すると、遅延型皮膚反応と抗体産生が抑制されるという。なお又、最近彼ら^{5), 6)}は、BCG 死菌接種後ツ・反応陽性となったモルモットに Methotrexate の大量を長期間投与して、ツ・反応の陰性化に成功し、その際、抗原注射局所にみられる潰瘍が治癒することも観察し、ツ・アレルギー抑制と潰瘍の消失との間に因果関係を認めている。

著者は今回の実験で、Amp を結核死菌注射の前日より投与し始め、隔日 11 回継続して、ツ・アレルギーの発現が抑えられること、死菌注射局所の腫脹の程度が対照に比してはるかに弱いままにとどまること、Amp 投与を中止すれば、その後 2 週間でツ・アレルギーが出現し

始め、同時に局所の腫脹も次第に増大することを知った。なお著者は、実験 V(b)において、Amp には結核菌に対する抗菌力は全く認めなかった。従って Prichard らの所見は、Amp の結核菌に対する直接作用によるものでないことは明らかである。

次に、既感作モルモットに対する Amp のツ・アレルギー抑制効果については、著者の Amp 3 mg/kg 7 日間連日腹腔内投与ではツ・反応は減弱せず、この点 Friedman らの実験成績と異なるが、彼らは Methotrexate を pro kg 10 mg 以上 25 日間連日投与しており、従って彼らの成績の差違は、Amp と Methotrexate の化学構造上の差違よりも、むしろ投与量、投与時間の差違に基づくものと考えられ、Amp を更に大量且つ長期間投与すると抑制効果が期待できるのかもしれない。

さて、上に述べた今回の実験成績と Friedman ら⁴⁾の成績から推して、Amp の結核における抗アレルギー作用は、ツ・アレルギー抗体の産生阻止であることが十分考えられる。著者はこの点をさらに確かめるべく、結核感作モルモットを用いて、PPDs 静注と Amp 併用投与の実験を行なったのであるが、通常一過性にすぎない PPDs 静注脱感作状態が、Amp の併用投与により持続性となる成績を得た。すなわちこのことは、既成のツ・アレルギー抗体が、静注された PPDs によって一時的に全部消費され、同時に併用投与された Amp によって、新たな抗体産生が妨げられるものと考えられる。

葉酸の欠乏が抗体産生を抑制することは、Little ら¹⁹⁾の報告するところである。そもそも葉酸は、代謝過程に非常に重要な働きをもつ folinic acid (又は citrovorum factor) の前駆物質であって、葉酸拮抗剤は、還元作用に与かる dihydrofolic reductase の活性を阻止して、葉酸から folinic acid の生成されるのを妨げるといふ¹⁵⁾。従って、葉酸拮抗剤は、結核におけるツ・アレルギー抗体の産生を抑制することは十分考えられるのである。

その他、Amp のツ・アレルギー抑制の機序としては、一応薬剤の非特異的抗炎症作用についても考えねばならない。この点 Friedman ら⁵⁾は、テルベンティンによる局所炎症が、Methotrexate の大量長期間投与によっても抑制されないことを報じており、著者も又、Amp の単独投与によってツ・反応の減弱は全く認め得なかったことから、Amp の抗アレルギー作用の発現には、非特異的抗炎症作用は関与していないものと考えられる。

更に著者は、Amp の抗アレルギー作用の機序を詳しく検討するため、in vitro で、ツ・感作細胞融解現象に対する Amp の影響をしらべたのであるが、結核蛋白添加によるアレルギー反応の結果としての in vitro の感作

細胞融解現象は、Amp によって阻止されないことを知った。一方山本ら²⁶⁾の報告によれば、抗アレルギー作用を有する Acidomycin, Glycyrhizin および Prednisolon には、細胞融解現象阻止作用があるというが、Amp はこれら薬剤と異って抗原抗体反応そのものには、何ら影響しないものと考えられる。ちなみに、実験 I および III において、Glycyrhizin および Acidomycin は、実験的結核アレルギーを阻止しえなかった。

つぎに、6-MP の抗体産生抑制作用について最初に報告したのは Schwartz ら^{19), 20), 21)} であり、抗原注射と 6-MP 投与開始までの時間の長短によって効果に差のあること、一次免疫反応には有効であるが二次免疫反応には無効であること、抗原の量が一定の場合、産生される抗体の量は 6-MP の投与量に逆比例することなどが報告されている。その後さらに多くの研究者により、6-MP が種々の抗原に対して抗体産生抑制作用をもっていることが報告されている^{22), 23)}。

一方、6-MP の遅延型過敏症に対する影響については諸家の報告がある。まず、Hoyer ら¹¹⁾ はウサギおよびモルモットの実験的アレルギー性脳脊髄炎の実験において、感作と同時に又は感作前より 6-MP を投与した動物では麻痺症状が起らず、投与を中止すると一定の潜伏期を経て非処置群と全く同じ症状を呈してくること、潜伏期間は薬剤投与期間の長短に関係なく一定であることなどを報告している。

また Hoyer ら^{9), 10)} は、BCG 感染モルモットおよびウサギに対して 6-MP を筋注して、ツ・反応が抑制されること、感染後 5 日目から 6-MP を投与したのでは効果のないこと、6-MP の低用量や腹腔内注射では効果のないことなどを報告している。さらに Borel ら²⁴⁾ は、ウサギに Adjuvant 加牛血清 γ -グロブリンを注射し、これに 6-MP を投与して遅延型皮膚反応と血中抗体に対する影響を検し、抗原注射と同時に 6-MP を投与すれば、両者ともに抑制され、6-MP を中止すれば 10 日間で両者とも出現してくること、抗原注射後 3 日目から投与すれば、皮膚反応は抑制されるが血中抗体は出現すること、6 日目から投与すれば、一旦成立した感作状態が減弱することなどを報告している。

今回の著者の実験では、ウサギに抗原注射直前より 6-MP 10 mg/kg を投与したところ、ツ・アレルギーおよび結核血中抗体の出現が完全に抑えられ、6-MP 中止後 2 週目から両者ともに増強して来た。同様な傾向は、不確実ながら 4 mg/kg の投与でも認められた。

また、結核既感作ウサギに 6-MP 5 mg/kg 連日 10 日

間投与しても、ツ・反応、血中抗体何れも影響されなかった。しかしこれに PPDs を静注すると、ツ・反応のみ持続的に陰性化し、6-MP を中止すると再び陽性反応が現われたが、薬剤投与中止後 2 ないし 3 週を要した。これは、先にのべた Amp の場合と同様、既成のツ・アレルギー抗体が PPDs によって全部消費され、同時に 6-MP によって新たな抗体産生が阻止されるためと解釈してよいであろう。又この場合、血中抗体の産生も抑制されるものと思われるが、既成の血中抗体は、一過性の脱感作を起こす程度の PPDs の静注によっては消費されないことが有馬ら¹⁾ 西谷¹⁶⁾ によって確かめられているので、血清反応は陽性を持続したものと思われる。La Plante ら¹²⁾、Hoyer ら⁹⁾ は、ウサギに 18 mg/kg という大量の 6-MP を投与して、既成免疫反応の抑制効果を認めており、Schwartz らが二次免疫反応抑制に失敗したのは、6-MP の使用量が少なかったか、あるいは不活化された 6-MP を使用したことによるのではないかと述べている。著者の既感作ウサギの実験においても、6-MP の使用量が少なかったように思われ、この点については再検討を要する。

6-MP は、細胞の核酸合成における purine の利用を阻害し、その結果蛋白質合成を抑制するという⁸⁾。従って 6-MP が、代謝の非常に盛んな抗体産生組織により強く作用して、抗体の産生を抑制することは十分考えられる。又、6-MP の抗体産生抑制作用が、網内系のブロックや生体内に導入された抗原の破壊、その他生体の衰弱などに原因するものでないことは、既に諸家の報告するところである²²⁾。

また 6-MP の皮膚反応抑制作用が、抗炎症作用によることが考えられ、事実 Page ら¹⁷⁾ は、6-MP 投与をうけたウサギで、卵白の皮下注射に対する炎症反応の減弱することを報告している。しかし、今回の著者の実験対象は結核アレルギー反応であること、ツ・既感作動物に 6-MP 5 mg/kg 投与してもツ・反応は全く減弱を示さないこと、未感作動物に 6-MP を投与しながら結核感作を行なうと、ツ・アレルギーと同時に血中抗体の産生も抑制されることなどから、抗炎症作用の影響は、たとえあったとしても問題にならないと思われる。

最後に、モルモットに対する 6-MP の影響であるが、40 mg ないし 70 mg/kg という大量の投与にもかかわらず、ツ・アレルギーの出現が完全には抑制されなかったこと、動物の消耗がいちじるしかったこと、また著明な皮下出血が出現したことなどからみて、モルモットは 6-MP に対し、ウサギとは異った態度をとるものと考えられる。

このように、モルモットの結核アレルギーに対しては有効に抑制作用を発揮する Amp が、ウサギのそれに対しては殆んど効果なしといわれ、これと反対に、ウサギに有効な 6-MP が、モルモットに対してはあまり効果を現わさないことは、興味ある問題である。これはおそらく、動物の種類による酵素系の差違が、これら薬剤に対する感受性を左右するものと考えられる。

結 論

いわゆる抗アレルギー剤、消炎剤および代謝阻害物質について、結核感動物に対する影響を検討して、次の成績を得た。

1) Glycirrhisin 40mg/kg, Oxyphenbutazon 20mg/kg, Sodium ethylenediamine tetraacetate 40 mg/kg, Acidomycin 8 mg/kg を連日投与しても、実験的結核アレルギーは阻止しえない。

2) 8-Azaguanin 5 mg/kg, Methotrexate 2.5 mg/kg を結核感染モルモットに投与しても、ツ・アレルギーや結核性病変には影響をおよぼさない。

3) Aminopterin 3 mg/kg を、結核死菌感作直前よりモルモットに投与すると、ツ・アレルギーの出現は著明に抑制される。しかし、投与を中止すれば、中止後約2週間でツ・アレルギーは出現する。

4) 既感作モルモットに対しては、Aminopterin 3 mg/kg 連日7日間投与では、ツ・アレルギーの減弱効果はみられない。しかし PPDs 静注による一過性脱感作は、Aminopterin の併用によって持続性となる。

5) Aminopterin は、in vitro の結核感作細胞融解現象に対して阻止作用を示さない。又、結核菌に対する抗菌作用は認められない。

6) 6-Mercaptopurine 10 mg/kg を、結核死菌感作直前よりウサギに投与すると、ツ・アレルギーおよび結核血中抗体の出現は完全に抑制される。しかし、投与を中止すれば、両者とも一定期間(約2週)後出現する。

7) 既感作ウサギに対しては、6-Mercaptopurine 5 mg/kg を連日10日間投与しても、ツ・アレルギーおよび血中抗体価は影響されない。しかし、PPDs 静注による一過性脱感作は、6-Mercaptopurine の併用によって持続性となる。この間、血中抗体はほとんど影響をうけないようである。なおこの場合も、6-Mercaptopurine の投与を中止すると、一定期間(約2週)後ツ・アレルギーは回復する。

8) 結核死菌感作モルモットに、感作直前より大量の6-Mercaptopurine を投与しても、ツ・アレルギーの出現

は完全には抑えられない。

擧筆するに当り、終始御懇篤な御指導ならびに御校閲をいただいた、北大結核研究所高橋義夫教授、有馬純助教授ならびに種々御指導ならびに御援助いただいた、国立札幌療養所宮城行雄所長、北大結核研究所山本健一助教授に対し、衷心より謝意を表します。

なお貴重な薬剤を分与下された、日本レダリー株式会社、武田製薬株式会社、田辺製薬株式会社に対し、厚く御礼を申し上げます。

(本論文の要旨の一部は、昭和38年11月の日本結核病学会第14回北海道地方会および昭和39年4月の日本結核病学会第49回総会において発表した。)

文 献

- 1) Arima, J. et al : C. R. Soc. Biol., **156**, 195, 1962.
- 2) Borel, Y. et al : J. Immunol. **92**, 754, 1964.
- 3) Boyden, S. : Ibid. **93**, 107, 1951.
- 4) Friedman, R. M. et al : J. Exp. Med., **114**, 173, 1961.
- 5) Friedman, R. M. et al : J. Immunol. **91**, 846, 1963.
- 6) Friedman, R. M. et al : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **116**, 471, 1964.
- 7) Hektoen, L. et al : J. Infect. Dis., **28**, 279, 1921.
- 8) Hitchings, G. H. et al : J. Biol. Chem., **185**, 651, 1950.
- 9) Hoyer, J. R. et al : Fed. Proc., **21**, 272, 1962.
- 10) Hoyer, J. R. et al : J. Exp. Med., **116**, 679, 1962.
- 11) Hoyer, L. W. et al : J. Exp. Med., **116**, 311, 1962.
- 12) La Plante, E. S. et al : Fed. Proc., **19**, 138, 1960.
- 13) Little, P. A. et al : J. Immunol., **65**, 491, 1950.
- 14) Middlebrook, G. et al : J. Exp. Med., **88**, 521, 1948.
- 15) Nichol, C. A. et al : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. **74**, 403, 1950.

- 16) 西谷 暹 : 結核の研究, **19**, 24, 1963
- 17) Page, A. R. et al : Fed. Proc., **20**, 160, 1961.
- 18) Prichard, R. W. et al : Amer. J. Path., 38, 325, 1961.
- 19) Schwartz, R. et al. : Proc. Soc. Exp. Biol & Med. **99**, 164, 1958.
- 20) Scbwartz, R. et al : J. Clin. Invest., **38**, 1394, 1959.
- 21) Schwartz, R. et al. : Clin. Res., **7**, 39, 1959.
- 22) Schwartz, R. et al : Mechanisms of Cell and Tissue Damage Produced by Immune Reactions, IInd Int. Sympos. on Immunopathol. p. 385, Schwabe Co., Basel 1962.
- 23) Schwartz, R. : Progr. Allergy, **9**, p. 246, Karger, Basel / New York, 1965
- 24) 高橋義夫 他 : 結核の研究, **7**, 1, 1957.
- 25) Takahashi, Y. : Amer. Rev. Resp. Dis., **85**, 708, 1962.
- 26) 山本健一 他 : 結核の研究. **18**, 1, 1963.