

肝吸虫症の実験的治療

Diisothiocyanate 誘導体の肝吸虫に対する治療効果およびこれらと 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) との併用効果について

横川宗雄 吉村裕之*
小島荘明 時田賢

千葉大学医学部寄生虫学教室

(昭和47年5月31日 受領)

はじめに

著者らは、さきに鉤虫、蛔虫などの腸管寄生線虫類に対して有効な広域駆虫剤として、最近ドイツ、ヘキスト社で開発された Phenylen-diisothiocyanate 1,4 (Jonit) が、ラット肝吸虫に対しても有効であることを予報として報告した(横川他1970)。

本剤に関しては、ドイツで Mohr and Merkle (1969)、韓国で Cho and Soh (1970) は著者らの実験とは無関係に、人の肝吸虫症に用いて有効であったと報告しているが謝 (1970) および徐 (1970) によると、人の肝吸虫症に対しては、ほとんど効果は認められなかったと云う。

そこで、著者らは本剤の肝吸虫に対する治療効果を再確認する目的で、ラット肝吸虫に対し、種々の薬用量を試みその最小有効量を検討すると共に、本剤と同じくカラシ油の成分の1つである Toluene-diisothiocyanate (MS-43) についても同様の実験を行なった。その結果は Jonit および MS-43 のいずれにも肝吸虫に対し強力な殺虫作用のあることが明らかにされた。

さらに、著者らが既に肝吸虫症に対し有効な治療剤として報告した 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) とこれら薬剤との併用を試みたところ、MS-43 と Hetol の組合せでは、それぞれ単独使用ではほとんど効果のみられなかつた量でもこれらを併用することにより、著しい効果が発現すると云うきわめて興味ある成績が得られた。

以下にその成績について報告する。

* 秋田大学医学部寄生虫学教室

実験材料と実験方法

使用薬剤：

Phenylen-diisothiocyanate 1,4 (Jonit)：

本剤は Fig. 1 の A に示した如き構造式をもつカラシ油の成分として知られている diisothiocyanate の誘導体の1つで、鉤虫の駆虫剤として広く各地で試みられている (O'Holohan *et al.* 1971, Holz *et al.* 1972, Thongkon and Kamolsin, 1972)。本実験に用いたものは、その製造元であるドイツ・ヘキスト社から提供を受けたものである。本剤は1カプセル当り、その有効成分 50mg の他にトウモロコシ粉末68mg および珪酸 2mg が混合されていたが、以下に示す投与量はすべて、その有効成分の量を示したものである。

Toluene-diisothiocyanate 2,4 (MS-43)：

本剤は Fig. 2 の B に示した如き構造式をもつ、Jonit と同様 Diisothiocyanate の誘導体の1つで、日本新薬からその純粋粉末の提供を受けた。

1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol)：

本剤については既にしばしば報告してきたが (Yokogawa *et al.* 1965, 1969)、その構造式は Fig. 3 の C に示す如きものである。

本実験に使用したものは純粋の粉末で、その製造元であるヘキスト社より提供を受けた。

使用動物：

本実験に用いた動物は、体重 150g 前後のウィスター系ラット約 200 匹で、これらはすべて同一の時期に同一の材料より分離採集した肝吸虫メタセルカリアを一匹当り 30 個ずつ経口感染させた。

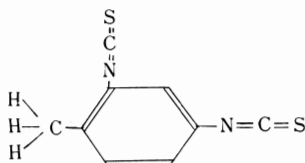
感染に用いた肝吸虫メタセルカリアは、韓国慶尚南道

A. JONIT



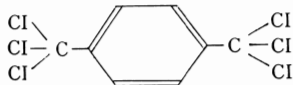
PHENYLEN-DIISOTHIOCYANATE 1,4

B. MS-43



TOLUEN-DIISOTHIOCYANATE 2,4

C. HETOL



1,4-BIS-TRICHLOROMETHYLBENZOL

Fig. 1 Chemical structures of Jonit, MS-43 and Hetol

絡東江岸の肝吸虫症流行地産のモツゴ (*Pseudorasbora parva*) の筋肉より型の如く、ペプシン消化法により分離蒐集したもので、モツゴ一匹当りの肝吸虫メタセルカリアの寄生数は1,000個以上であつた。

ラットの感染に当つては、あらかじめ解剖顕微鏡下で運動活発なメタセルカリアのみを選んでおき、その30個ずつをピペットで少量の水と共にラットの口腔深く注入し、これが確実に嚥下されるのを確認した。

治療法および治療計画：

治療法は、すべて経口投与とし、1日1回、5日間連日一定の時間にこれを行なつた。

薬剤投与に当つては、1人がラットを片手で保持し乍ら他の手で摂子を用いて口腔を大きく開かせ、他の1人が粉末の薬剤を少量ずつ口腔内におくり込み確実に嚥下されることを確認した。

なお、治療実験に用いたラットはすべて肝吸虫メタセルカリア投与後2カ月～6カ月の期間のものとし、感染後間もないものあるいは感染後長期間を経過したものの使用はさけた。

治療群は Table 1 に示した如く、上記3種薬剤の種類、投与量別あるいは2種薬剤の組合せにより10の実験

群よりなり、対照群はその剖検時期により2群に分けた。各群は10～25匹よりなつている。

これらの実験はその数から云つて同時に行なうことは困難であつたので3～4群ずつに分けて3回に亘つて行なつたが、実験期間は前述した如く、ラットに肝吸虫感染後2カ月～6カ月の間、すなわち4カ月間であつた。

なお、Jonit および MS-43 の投与量は6.3mg/kg あるいは3.2mg/kg の如く半端な数字となつているが、これは出発点の投与量を50mg/kg～25mg/kg とし、漸次半減していつたためである。

治療効果判定法：

治療開始3～5日前に AMSⅢ 法遠心沈澱集卵法により検便(0.5g ずつ2回)を実施し、全沈渣中の肝吸虫卵を算え、これより糞便1gr 中の虫卵数(EPG)を算定し、EPGの著しく少いもの、あるいは著しく多いものは治療群から除外した。5日間の治療終了日より1, 2, 3, および4週後に前検便と同様の方法でそのEPGを算定すると共に、各治療群毎の平均EPGをも算定した。4週後の検便を終つたものは直ちに剖検し、特にその肝臓を精密に検査し、肝吸虫虫体の寄生の有無を調べた。一虫も虫体が検出されなかつたのを治癒とみなした。検出された虫体はその形態および運動状況を観察した後、カルノワ液で固定後カルミン染色をほどこした。

また、効果判定の参考にするために各群毎に治癒率の他に平均虫体回収率(投与メタセルカリア総数に対する検出虫体数の比)および平均減卵率(治療前および治療4週後の平均EPGから算出した)を算出した。

実験成績

全実験群の治療成績を総括して示したのが Table 1 である。

以下に、この表の順にしたがつて各治療群毎の成績について簡単に説明を加える。

1) Jonit による治療成績

Jonit の場合、6.3mg/kg および3.2mg/kg 投与群のいずれも100%の治癒率が得られているので、ここには6.3mg/kg 投与群の個々の成績は省略し、Jonit 3.2mg/kg 投与群について説明する。

Table 2 のAにみられる如く、10例全例が剖検の結果治癒と認められた。治療終了後虫卵の陰性となる時期もかなり速かで、治療終了1週後に1例、2週後に7例、3週後に1例の計9例が虫卵陰性となつている。Rat

Table 1 Efficacy of various doses of Jonit, MS-43 and Hetol, or combinations, in the chemotherapy of *Clonorchis* infection in rats.

Drugs used	Group No.	Doses (mg/kg × days)	No. rats treated	Eggs per Gram feces (EPG)					No. rats cured (%)	Egg reduct. rate (%)	No. worms recovered	Worm recovery rate (%)
				Pre-treatment	1w.	Post-treatment						
Jonit	1	6.3×5	10	183	120	14	7	0	10(100)	100	0	0
	2	3.2×5	10	213	135	13	4	0.2	10(100)	99.9	0	0
	3	1.6×5	10	183	106	98	32	118	0	35.5	11.7	42.3
MS-43	4	6.3×5	10	122	84	21	2	0.2	10(100)	100	0	0
	5	3.2×5	10	206	76	9	0.2	0	10(100)	100	0	0
	6	1.6×5	10	189	69	36	14	9	0	95.2	6.8	22.6
Hetol	7	50.0×5	15	246	126	128	101	67	1(6.6)	72.7	8.0	26.6
Jonit Hetol	8	1.6×5 50.0×5	25	211	162	117	61	44	1(4.0)	79.1	8.4	28.0
MS-43 Hetol	9	1.6×5 50.0×5	20	246	39	3	0	0	10(100)	0	0	0
MS-43 Hetol	10	0.8×5 25.0×5	10	264	37	35	15	9	2**(20)	96.5	6.4	21.3
I. Control			10	206	148	182	184	219			12.1	40.3
II. "			10	187	240	269	254	248			12.4	41.3

I. autopsied at 3 months after infection.

* cure rate.

II. "

6 "

" "

" "

" "

** only degenerated worms recovered.

Table 2 Efficacy of Jonit in chemotherapy of *Clonorchis* infection in rats.

A. Jonit : 3.2mg/kg × 5days							B. Jonit : 1.6mg/kg × 5days						
Group-2 Rat No.	Pre-treatment	EPG				No. worms recovered	Group-3 Rat No.	Pre-treatment	EPG				No. worms recovered
		1w.	2w.	3w.	4w.				1w.	2w.	3w.	4w.	
2~1.	120	264	0	0	0	0	3~1.	102	196	116	74	98	14
2.	120	30	0	0	0	0	2.	496	122	68	16	76	12
3.	212	628	0	0	0	0	3.	104	100	192	36	408	13
4.	208	12	0	0	0	0	4.	192	64	40	18	18	10
5.	200	14	0	0	0	0	5.	142	108	114	42	100	12
6.	160	24	0	0	0	0	6.	102	140	101	30	26	10
7.	132	52	90	36	2	0	7.	218	148	74	48	174	13
8.	658	64	0	0	0	0	8.	160	62	104	26	62	7
9.	146	158	36	0	0	0	9.	216	46	80	16	108	10
10.	174	0	0	0	0	0	10.	102	60	86	14	111	16
Average		213	135	13	4	0.2	0	183	106	98	32	118	11.7

No. 2~7 では4週後にもなお2個の虫卵が証明されたが、剖検時には虫体は1虫も見出されなかつた。おそらく本例にみられた虫卵は虫体の死滅前に産卵されていたものがどこかに残存していたものと思われる。

なお、本実験群においては治療開始後から連日剖検時迄 EPG を追求したが、その結果は Hetol の実験においてみられたのと全く同様に、治療開始後4日目頃には全例において一時的に EPG の増加がみられたが、その後は急激に減少する傾向が認められた。

Jonit 1.6mg/kg 投与群では Table 2 の B にみられる

如く、治療4週後迄に虫卵陰性となつたものはなく、剖検時にも平均11.7虫が見出され、平均検出虫体数では対照と全く差はみられなかつた。治療後の EPG の変化をみても、治療3週後の EPG は治療前の平均 EPG 183 に対し32と著しい低下を示しているが、4週後には平均 EPG は118と再び急激に増加の傾向を示している。このことは Jonit 1.6 mg/kg では一時的に虫体の産卵能力を抑制するが、これを死滅させるには不十分で、再び虫体が回復したことを示すものである。

Table 3 Efficacy of MS-43 in chemotherapy of *Clonorchis* infection in rats

A. MS-43: 3.2mg/kg×5days							B. MS-43: 1.6mg/kg×5days						
Group-5 Pat No.	Pre-treatment	EPG Post-treatment				No. worms recovered	Group-6 Rat No.	Pre-treatment	EPG Post-treatment				No. worms recovered
		1w.	2w.	3w.	4w.				1w.	2w.	3w.	4w.	
5~ 1.	128	86	10	0	0	0	6~ 1.	116	52	60	10	12	9
2.	300	16	12	0	0	0	2.	140	76	54	16	8	5
3.	160	192	30	0	0	0	3.	190	44	34	12	16	13
4.	226	80	12	0	0	0	4.	156	10	4	0	4	1
5.	344	16	4	0	0	0	5.	182	38	40	34	12	11
6.	230	84	2	0	0	0	6.	108	32	40	30	8	7
7.	152	4	0	2	0	0	7.	126	20	8	6	6	4
8.	226	72	12	0	0	0	8.	280	230	64	6	8	7
9.	140	122	8	0	0	0	9.	454	172	20	22	6	5
10.	152	88	0	0	0	0	10.	144	22	42	8	10	6
Average	206	76	9	0.2	0	0		189	69	36	14	9	6.8

2) MS-43による治療成績:

ここには MS-43: 3.2mg/kg および MS-43: 1.6mg/kg 投与群の成績を Table 3 の A および B に示した。MS-43: 3.2mg/kg 投与群では、治療終了1週後に虫卵陰性となったものは一例もなかったが、2週後には2例、3週後には9例、4週後に全例虫卵が陰性となった。剖検の結果も虫体の見出された例は1例もなく全例治癒とみなされた。

MS-43: 1.6mg/kg 投与群では治療終了後の平均 EPG の減少はかなり著明ではあつたが、陰転例は1例もな

Table 4 Efficacy of Hetol in chemotherapy of *Clonorchis* infection in rats.

Hetol: 50mg/kg×5days						
Group-7 Rat No.	Pre-treatment	EPG Post-treatment				No. worms recovered
		1w.	2w.	3w.	4w.	
7~ 1.	230	50	32	15	40	7
2.	541	50	124	58	38	4
3.	282	108	78	40	0	0
4.	198	56	160	102	72	10
5.	190	78	84	62	80	10
6.	400	168	132	120	42	3
7.	116	58	30	58	30	3
8.	288	180	50	32	32	5
9.	104	164	40	106	80	15
10.	478	132	78	62	40	5
11.	156	636	628	642	122	12
12.	110	132	40	16	36	12
13.	130	20	22	30	146	12
14.	268	18	76	22	84	8
15.	228	50	350	154	174	14
Average	246	126	128	101	67	8.0

く、剖検の結果も完全治癒例は1例も認められなかつた。しかし、平均検出虫体数は6.8虫で、対照のそれと比較し有意の差が認められたが、個々の例をみると検出虫体数は1~13虫と、ばらつきが大きかつた。

3) Hetol 50mg/kg 治療群

本実験の成績は Table 4 に示した通りで、治療後虫卵が陰性となり、剖検の結果治癒と認められたのは15例中1例(6.7%)にすぎなかつた。治療後の EPG の変動状況をみると、平均 EPG は治療前の279から治療1週後:126; 2週後:128; 3週後:101; 4週後:67(減卵率72.7%)と全体としては漸減の傾向を示していた。

然し、個々の例をみると、治療前のそれと治療後のそ

Table 5 Efficacy of Jonit combined with Hetol in chemotherapy of *Clonorchis* infection in rats

Jonit: 1.6mg/kg×5days Hetol: 50.0mg/kg×5days						
Group-8 Rat No.	Pre-treatment	EPG Post-treatment				No. worms recovered
		1w.	2w.	3w.	4w.	
8~ 1.	220	354	110	8	40	9
2.	118	54	20	0	90	5
3.	224	72	8	0	10	2
4.	254	98	50	6	44	7
5.	124	90	16	0	18	13
6.	340	32	44	0	16	10
7.	362	90	34	24	12	11
8.	298	112	46	0	18	11
9.	126	32	20	6	22	7
10.	148	60	70	10	10	9
Average	221	99	41	5	28	8.4

Table 6 Efficacy of MS-43 combined with Hetol in chemotherapy of *Clonorchis* infection in rats.

A. MS-43: 1.6mg/kg×5days Hetol: 50.0mg/kg×5days							B. MS-43: 0.8mg/kg×5days Hetol: 25.0mg/kg×5days						
Group-9 Rat No.	Pre-treatment	EPG Post-treatment				No. worms recovered	Group-10 Rat No.	Pre-treatment	EPG Post-treatment				No. worms recovered
		1w.	2w.	3w.	4w.				1w.	2w.	3w.	4w.	
9~ 1.	148	6	0	0	0	0	10~ 1.	272	6	26	4	1	0(2)*
2.	222	32	0	0	0	0	2.	124	6	4	0	0	0(1)
3.	118	4	0	0	0	0	3.	508	26	60	4	4	3(2)
4.	172	12	0	0	0	0	4.	224	32	32	6	30	11
5.	408	10	0	0	0	0	5.	216	12	106	64	26	11
6.	240	38	0	0	0	0	6.	600	22	12	0	1	11
7.	202	10	0	0	0	0	7.	140	60	2	2	2	2(2)
8.	156	18	0	0	0	0	8.	156	20	14	44	16	10
9.	448	64	0	0	0	0	9.	280	48	46	10	2	6(2)
10.	448	70	32	0	0	0	10.	120	54	44	12	10	10
Average	256	26	3	0	0	0		264	37	35	15	9	6.4(0.9)

* () ……showing the number of worms which were degenerated but still alive.

Table 7 EPG and number of worms recovered at autopsy in control groups.

A. Autopsied at 3 months after infection							B. Autopsied at 6 months after infection						
Group-10 Rat No.	0	EPG				No. worms recovered	Group-12 Rat No.	0	EPG				No. worms recovered
		1w.	2w.	3w.	4w.				1w.	2w.	3w.	4w.	
10~ 1.	176	178	340	348	582	14	12~ 1.	164	166	174	108	242	16
2.	128	156	172	158	376	13	2.	126	162	178	300	182	11
3.	152	142	146	140	138	11	3.	128	118	100	182	110	15
4.	176	158	206	192	186	13	4.	200	124	160	188	326	10
5.	162	120	164	174	192	12	5.	176	482	468	216	168	16
6.	168	146	168	170	160	11	6.	202	310	382	394	560	10
7.	230	172	188	194	104	16	7.	188	204	378	248	416	11
8.	580	104	160	178	180	10	8.	150	140	146	176	106	10
9.	180	118	102	110	116	9	9.	416	522	518	548	214	14
10.	114	188	180	178	160	12	10.	120	176	188	206	162	11
Average	206	148	182	184	219	12.1		187	240	269	256	248	12.4

れと全く変化のないもの、あるいは著しい減少を示しているものなどまちまちであった。剖検の結果も、平均検出虫体数は8.0で、対照のそれと比較し、有意の差が認められたが、個々のそれは0~15虫と大きなばらつきがみられた。なお、検出虫体はすべて形態学的には異常は認められなかった。

4) Jonit と Hetol の併用治療群:

Jonit 1.6mg/kg および Hetol 50mg/kg 併用投与群では用いたラットの数は25匹で、10匹と15匹の2群に分けて別々に行なったものであるがその結果は両群の成績には全く差は認められなかったため、Table 1には25匹の総合成績を示した。然し、ここでは初回実験群の10匹

のラットについての成績について説明することとした。すなわち、Table 5に示した如く本群では治療終了後から EPG は全例に著明な減少の傾向がみられ、3週後には10例中5例が虫卵陰性となり、平均 EPG も治療前の221に比べ5と急激な減少を示した。然し、4週後には、3週後に虫卵陰性となつた5例もすべて虫卵陽性となつた。剖検の結果は全例から虫体が見出されたが、平均検出虫体数は8.4虫で、対照のそれと比較し有意の差が認められた。

然し、前例と同様個々のそれは2~11虫と大きなばらつきを示していた。なおこの成績は、Hetol 50mg/kg 単独投与群の平均検出虫体数 8.0と比較して有意の差は認

められなかつた。このことは Hetol と Jonit との併用効果は全くなかつたことを示していると思われる。

5) MS-43と Hetol の併用治療群

MS-43 : 1.6mg/kg と Hetol : 50 mg/kg 投与群では Table 6 の A に示した如く、治療終了1週後から全例に EPG の著しい減少がみられ、平均 EPG は治療前の256に比べてその約 $1/10$ の26を示した。2週後には10例中9例が虫卵陰性となり、他の1例も3週後には虫卵陰性となつた。剖検時に虫体の検出されたものは1例もなく、全例が治癒と認められた。この成績は MS-43 : 1.6mg/kg あるいは Hetol : 50mg/kg による単独治療群の成績と比較してきわめて顕著な差と云えよう。そこでさらにそれぞれの投与量を半減し、MS-43 : 0.8 mg/kg と Hetol : 25mg/kg の併用治療を試みた。その結果は Table 6 の B に示した如く、本実験でも治療1週後から全例に EPG の著しい減少傾向が見られ、4週後には治療前の平均 EPG 264に対し僅か9個(減卵率96.5%)となつた。剖検の結果は平均検出虫体数は6.4虫であつた。これは対照のそれとは有意の差が認められたが、MS-43 : 1.6mg/kg あるいは Hetol : 50mg/kg それぞれ単独使用の場合の平均検出虫体数6.8および8.0の間には有意の差は認められなかつた。なお Hetol 25mg/kg あるいは MS-43 : 0.8mg/kg それぞれ単独使用の場合は治療後も EPG の減少の傾向は全く認められず、治療効果は全く認められなかつた。本実験で注目すべき点は剖検時に見出された虫体のなかに変性萎縮虫体と称すべきものが含まれていたことである。この変性萎縮虫体と云うのは、その大きさは正常虫体の $1/3 \sim 1/4$ で、運動不活発、染色標本では辜丸、子宮などの生殖器管が変性崩壊過程の像を示していたものである。このような変性萎縮虫体は、Hetol, Jonit, MS-43などの十分量を用いた場合、治療終了後1~2週の早期にはしばしばみられるが、4週後には既に死滅崩壊し体外に排出されてしまつてゐる。本実験の如く4週後にもなおみられたのは興味ある点である。

6) 対照群 :

他の治療群と同時に感染させたラットのうちから20匹を選び、これを2群に分けて治療を行わず、EPG の変動状況および剖検時の虫体検出状況を調べた。その結果は Table 7 の A, B に示した如くで、感染後3カ月後に剖検したA群と、6カ月後に剖検したB群の平均検出虫体数はそれぞれ12.1および12.4で両者の間には全く差は認められなかつた。個々の例をみても、最少9虫、最多16虫で、個体間における差も小さく、20匹の平均検

出虫体数は 12.3 ± 2.6 虫であつた。また3カ月後の虫体と6カ月後の虫体の間には大きさその他の形態学的差異もほとんどなく、またラットの肝臓における病変も3カ月と6カ月の間では著しい相違はみられなかつた。このことはラットの治療実験を行なう際に、その実施期間を一定にしておけばその効果を判定するのに、剖検時の検出虫体数を比較するのが最適であることを示していると考えられる。

考 察

以上報告した通りカラシ油の抽出成分の1つである diisothiocyanate の誘導體である Jonit と MS-43 はいずれもラット肝吸虫に対し有効であつたが、MS-43の方が Jonit よりさらに強力な殺虫作用のあることが明らかにされた。Jonit は蛔虫、鉤虫などの腸管寄生線虫類に対する応域駆虫剤として開発されたものであるが、本剤が肝吸虫に対しても殺虫作用を有すると云うことは甚だ興味深い。Jonit に関しては、Mohr and Merkle (1969)が2例の肝吸虫症患者に100 mg を12時間おきに3回服用させたところ、1例は虫卵陰性となり、他の1例でも虫卵数の減少を認めたと報告している。然し、謝ら (1970) および徐ら (1970) は上記の量では多数の肝吸虫症患者に試みたが全く無効であつたと報告している。しかもその際副作用として大多数の服用者に、悪心嘔吐、下痢、頭痛などのかなり激しい症状がみられたと云う。著者らの今回の実験では3.2 mg/kg 5日間連用ではラット肝吸虫に対し完全な治療効果を認めたが、1.6mg/kg ではほとんど効果は認められなかつたことを考えると、人体肝吸虫症に対し、100 mg 3回連用は平均体重50kg とすれば1回投与量2 mg/kg にすぎず服用量が不十分であつたものと想像される。然し、毒性の点からこれ以上の投与は不可能であろう。

次に、Jonit と Hetol あるいは MS-43 と Hetol の併用効果についてふれてみたい。Jonit 1.6mg/kg と Hetol 50mg/kg の併用群ではそれぞれの量を単独で用いた場合の成績と同様で、その併用による効果は全くみられなかつたが、MS-43 : 1.6mg/kg と Hetol : 50mg/kg の併用群では、100%の治癒率が得られ、さらにその半量づつすなわち、MS-43 : 0.8mg/kg と Hetol : 25mg/kg の併用においても、これらの量を単独使用した場合と比較して、明らかに治療効果が認められた。このようにそれぞれ単独に使用した場合には、全く効果のなかつた量でもこれを併用することにより著しい効果の増強がみられたことはきわめて興味深い。しかも、この現象が類似構

造式を有する Jonit には全くみられず、MS-43 のみ、みられたことは特異なことと云わねばならない。その理由についてはなお明らかではないが、今後さらに検討を加えてみたい。

MS-43の毒性については、藤本ら(1971)によると、MS-43とJonitとを用いてラットに対する急性毒性を比較検討した結果LD₅₀はラットの雌雄に差は認めなかったが雄ラットに対してMS-43は750mg/kg(580~980)、Jonitでは2,500mg/kg(1,780~3,520)で、MS-43はJonitの約3倍の致死作用を示したと云う。また両種薬剤の臓器におよぼす影響は質的には全く等しく、肝においては重量増加、限局性壊死、胆管増生および結合織増生、胃においては浸出性炎症、壊死性炎症および潰瘍形成、さらに胸腺においてその萎縮が認められたと云う。

したがって上記のようなMS-43の毒性から云つて、Hetolとの併用法が直ちに臨床面へ応用されるとは考えられないが、その作用機序を解明することは寄生学的にも薬理的にも興味深い点で、また今後の肝吸虫症の治療剤の開発に一つの大きな手がかりをあたえるものと考えられる。なお、Hetolに関しては既にしばしば報告した通り、人肝吸虫症に対し50mg~70mg/kgを5日連用することにより67.7~87.0%の治癒率があげられ、副作用もほとんどみられていない。本剤のラットに対する最大許容量は2,800mg/kg(Lammler, 1964)であり、その慢性毒性試験の結果では100mg/kg 12週間連続投与では諸臓器に何らの病変も認められなかった。然し、200mg/kgでは11匹中3匹に肝・腎に軽度の病変が認められた(Yokogawa et al. 1969 a, b)。

また、ヘキスト研究所の報告では、イヌに180mg/kg、ラットには250~630mg/kgをそれぞれ30日間投与した場合、肝、腎に著明な変化が認められたと云う。本剤の肝吸虫症に対する有効量が50~70mg/kgであることを考えると、その投与期間は僅か5日間とは云え慢性毒性の試験結果から必ずしも本剤の安全性は高いとは云えない。本剤の実用化が未だ実現されないのも、上記の安全性の問題がその障害の一つとなっている。然し、肝吸虫症の治療に対し信頼すべき薬剤はないので、その早急な開発が強く望まれているところであり、本研究がその手がかりとなることを期待したい。

むすび

著者らは多数の肝吸虫感染ラットを用いて種々の肝吸虫症治療剤の効果を検討して来たが、本実験で以下のこ

とが明らかにされた。

1) カラシ油の抽出成分の1つで、蛔虫、鉤虫などに効果のある phenylendiisothiocyanate 1,4 (Jonit) は、動物実験の結果、肝吸虫に対して著しい殺虫作用をすることが明らかにされた。然し、肝吸虫症に対しては蛔虫や鉤虫の治療に用いる程度の量では不十分であるが、副作用の点からこれ以上の増量はむずかしいと思われる。

2) Jonit と類似の構造式をもつ Toluene diisothiocyanate 2,4 (MS-43) は、肝吸虫に対し Jonit と同等あるいはそれ以上の強力な殺虫作用を有することが明らかにされた。

3) 肝吸虫に対する Jonit と 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) との併用効果は認められなかったが、MS-43とHetolとでは、きわめて著明な併用効果が認められた。すなわち、それぞれ単独使用ではほとんど効果のみられない量でも両者の併用により著しい効果がみられた。然し、MS-43の毒性はJonitよりさらに約3倍強いので、このことが直ちに臨床治療への応用には連がらないが、この事実は今後の治療面への手がかりとなると考えられる。

4) MS-43とHetolの併用効果の機序を解明することは、今後の寄生虫の治療剤の研究に大きな進歩をもたらすものと考えられる。

5) 肝吸虫に対する治療剤の効果判定あるいはスクリーニングには肝吸虫感染ラットを用いるのがきわめて有効な信頼性の高い方法であることが明らかにされた。

本研究は昭和46年度文部省科学研究費の補助を受けたことを印し、謝意を表す。

終りに望み、肝吸虫感染モグゴの採集に協力頂いた韓国慶尚南道医薬課長宜明勲博士に深甚の謝意を表したい。また、本実験に用いた薬剤およびそれに関する資料の提供を頂いたヘキスト研究所および日本新薬研究所に対し感謝の意を表したい。

文 献

- 1) Cho, K. M. and Soh, C. T. (1970): Clinical trial of phenylene-diisothiocyanate (Jonit) to *Clonorchis sinensis* infected cases. Korean J. of Parasitology. 8, suppl. 14-15.
- 2) Farbwerke Hoechst A. G. (1968): Symposium on Jonit. Compound 16842. April. 1968.
- 3) 藤本正次・丸山民子・藤田知良・田 孝子・長沢久充(1971): MS-43およびMS-45 (Phenylene-1,4-diisothiocyanate) のラットにおける急

- 性毒性. 日本新薬技術報告書. C-70-248. (未発表)
- 4) Holz, J., Adhman, D., Gunarli, A. T., Murad, S., Sadeli, O. R. and Wuisan (1972) : A single dose of Jonit in the treatment of human ancylostomiasis. *Southeast Asian Jour. Trop. Med. & Pub. Health*, 3 : 99-102.
- 5) 謝 献臣(1970) : 未発表. 私信による.
- 6) Mohr, M. and Merkle, F. (1970) : Clonorchiasis und deren Behandlung mit einem neuen Anthelmintikum. *Med. Klin.*, 65 : 515-518.
- 7) O'Holohan, D. R., Hugoe-Mattews, J. and Kanagasabai, K. (1971) : Clinical trial of Phenylene di-iso-thiocyanate (1,4), Jonit, in the treatment of hookworm disease in Malaysia. *South-east Asian Jour. Trop. Med. & Pub. Health*, 2 : 51-55.
- 8) 徐 丙窩(1970) : 未発表. 私信による.
- 9) Thongkong, M. and Kamolsin, C. (1972) : A single dose of Phenylene-di-iso-thiocyanate (1,4), Jonit in the treatment of adult patients with hookworm infection in Sawan-Pracharai Hospital, Thailand. *South-east Asian J. Trop. Med. & Pub. Health*, 3 : 103-105.
- 10) Yokogawa, M., Tsuji, M., Araki, K. and Nomoto, T. (1965) : Clinical observation on the treatment of clonorchiasis sinensis with 1,4-bis-trichloromethylbenzol. *Jap. J. Parasitology*, 14 : 526-533.
- 11) Yokogawa, M., Koyama, H., Araki, K., Kojima, S., Ozu, S., Aida, C., Ogino, Y. and Tsumura, D. (1969a) : Mass Treatment of clonorchiasis sinensis with 1,4-bis-trichloromethylbenzol. II. Minimal Effective Dose. *Zeitsch. für Trop.-Med. u. Parasitol.*, 20 : 494-503.
- 12) Yokogawa, M., Yoshimura, H., Koyama, H., Furusawa, A. and Yoshida, T. (1969b) : Studies on subacute and chronic Toxicity of 1,4-bis-trichloromethylbenzol. *Zeitsch. für Trop.-Med. u. Parasit.*, 20, 353-364.
- 13) 横川宗雄・吉村裕之・古沢 明(1970) : 肝吸虫症の実験的治療. Phenylene-diisothiocyanate 1, 4 (Jonit), Hoechst 44-193および42-891による治療成績. *寄生虫学雑誌*, 19 : 355.

Abstract

EFFICACY OF DIISOTHIOCYANATE DERIVATIVES AND
1,4-BIS-TRICHLOROMETHYLBENZOL OR, COMBINA
TIONS, IN CHEMOTHERAPY OF *CLONORCHIS*
INFECTION IN RATS

MUNEO YOKOGAWA, HIROYUKI YOSHIMURA,
SOMEI KOJIMA and KEN TOKITA
Department of Parasitology, School of Medicine
Chiba University, Chiba, Japan

The experimental study was carried out to evaluate the efficacy of diisothiocyanate derivatives, phenylen-diisothiocyanate 1,4 (Jonit) and toluen-diisothiocyanate 2,4(MS-43), against *Clonorchis* infection in rats.

Jonit is a drug lately developed as a broad spectrum anthelmintic against intestinal nematodes as *Ascaris*, hookworm, etc. and MS-43 is an extract from mustard oil which has a similar chemical structure to that of Jonit.

The study on the effects of the combination of Jonit and 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) or MS-43 and Hetol was also made.

Each experimental group consisted of 10 to 25 rats experimentally infected with 30 metacercariae of *Clonorchis sinensis*.

The effects of the drugs were evaluated by cure rate, average reduction rate of EPG and the average number of worms recovered at autopsy 4 weeks after the completion of treatment. The results obtained were as follows ;

With oral administration of a daily dose of 3.2 mg/kg of Jonit or MS-43 for 5 consecutive days, all rats treated were found to be cured. With 1.6 mg/kg of Jonit or MS-43 for 5 days, no rats treated were cured. With administration of 50 mg/kg of Hetol, only one rat among 15 rats (6.6%) were found to be cured.

With combined treatment of a daily dose of 1.6 mg/kg of Jonit with 50 mg/kg of Hetol, no rats were cured. However, with combined administration of 1.6 mg/kg of MS-43 with 50 mg/kg of Hetol, all 20 rats treated were cured.

This result seemed to be very remarkable, when compared with those results obtained from the use of 1.6 mg/kg of MS-43 or the use of 50 mg/kg of Hetol alone. This fact shows that, even an insufficient dose of MS-43 and Hetol, when they were combined, could obtain very promising result. It might be considered that this phenomenon was caused by additional effect of the two drugs.

The actual mechanism of the action of each drug is not clear, however, the discovery of the effect of combined use of MS-43 and Hetol would be considered a great step forward to the successful treatment of human clonorchiasis.