

INH誘導体の生体内運命ならびにそれらの抗結核作用の機作について

第2報 INH誘導体の抗結核作用について

下 村 康 夫

大阪大学医学部第三内科学教室 (主任 堂野前維摩郷教授)

受付 昭和32年3月15日

緒 言

さきに著者¹⁾は Azotometry を用いて I NH誘導体の生体内運命を追求し, Isonicotinic acid hydrazide Na methansulfonate (IHMS) は皮下注射しても, 経口投与しても生体内で I NHを遊離するのに対し, 著者の使用したその他の誘導体は皮下注射時には, そのままの形で尿中に排泄されるが, 経口投与時にはおそらく消化管内で I NHとなつて吸収されるものであることを報告した。

これら誘導体の抗結核作用については, 多くの基礎的および臨床的研究が報告せられ, 臨床的にも有効かつ副作用の少ないことが認められているが, 動物実験における投与量は著しく大なるため, これらの成績から臨床的価値ならびに作用機作を正確に判断することは困難と思われる。ここにおいて著者は投与方法による生体内運命と, 動物実験におけるそれらの抗結核作用との関係を検し, これら誘導体の抗結核作用の機作を明らかにすると共に, その臨床的意義を考察する目的をもつて本研究を行い, 興味ある成績を得たので報告する。

実験材料および方法

使用に供した薬剤は次の如くである。

Isonicotinic acid hydrazide Na-glucuronate (INH-GI)

N-Isonicotinyl-N'-glucosyl hydrazine (GI)

N-Isonicotinyl-N'-O-carboxybenzylidene hydrazine (INH-CBA)

N-Isonicotinyl-N'- α -carboxyethylidene hydrazine INH-pyruvate hydrazone (IP)

Isonicotinic acid hydrazide Na-methansulfonate (IHMS)

マウスは NA₂-Nishida 系の体重16~18gmのものを用い, 1群10匹としこれに人型結核菌黒野株グリセリン・ブイヨン2~3週間培養の菌浮遊液(湿菌量5mg/ml) 0.1mlを尾静脈に注射感染せしめ, 感染翌日より1週6日間皮下注射または経口投与により薬剤を投与し, 死亡時まで継続した。生存マウスは5週間観察後屠殺した。死亡または屠殺マウスは剖検, 肺病変の程度を観察する一方, 肺の定量培養を法の如くに行つた。肺病変の程度

は肉眼的に次の如く分類した。

- 0 肺に結核結節を全く認めないもの
- 1 全肺に1~数コの結核結節のあるもの
- 2 全肺に10数コの結核結節のあるもの
- 3 全肺の半分以下に結核結節のあるもの
- 4 全肺の大部分に結核結節のあるもの

各薬剤の投与量はマウス体重g当の γ 数をもつて表わし, 各誘導体の量は分子量から計算した含有 I NH量で記載した。図において「注」は皮下注射, 「内」は経口投与の場合を示した。

実験成績

図1~5は結核感染マウスの生存率を示した成績である。本実験は2回に亘つて行つたものであるが, 非治療群マウスは大体18日前後で全部斃死する。一方治療群においては I NHは皮下注射, 経口投与共に1 γ /gmですでに著明な生存期間の延長を認め, 2および4 γ /gmでは観察5週間の期間中全例生存した。

各誘導体での治療成績は先に記述した Azotometry による尿中排泄の成績から推論した I NHの生成率と極めてよく平行した成績を示した。すなわち生体内で I NHになる場合には効果を発揮するが, そのままの形で尿中に排泄される場合には効果を示さない。

図1は INH-GIの成績であるが, 皮下注射では1, 2, 4 γ /gmで無効, 経口投与では1 γ /gmではわずかに生存期間の延長を認め, 2, 4 γ /gmでは全例生存した。

図1 INH-GIによる実験的マウス結核症に対する治療実験

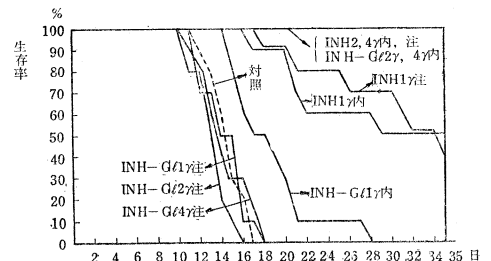
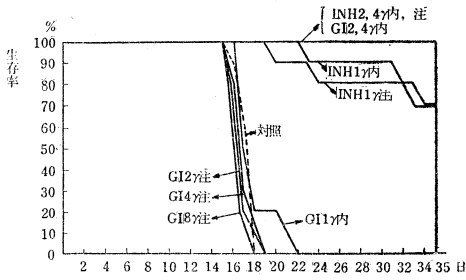


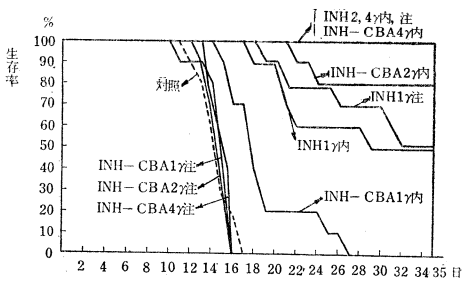
図2はGIの成績であるが, 皮下注射では2, 4, 8 γ /gmで無効, 経口投与でも1 γ /gmで無効, 2, 4 γ /gmでは全例生存した。

図2 GIによる実験的マウス結核症に対する治療実験



INH-CBA(図3)の場合も皮下注射では1, 2, 4γ/gmで無効, 内服では1γ/gmでわずかに, 4γ/gmでは全例生存した。

図3 INH-CBAによる実験的マウス結核症に対する治療実験



IP(図4)の場合には皮下注射にても2, 4, 8γ/gmでそれぞれわずかながら生存期間の延長を認めた。この現象は注射までに水溶液中で一部遊離しているINHによるものと解釈している。経口投与では誘導体中最も効力が強い。

図4 IPによる実験的マウス結核症に対する治療実験

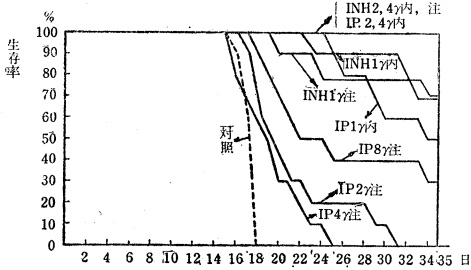
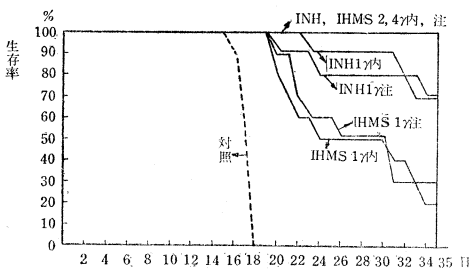


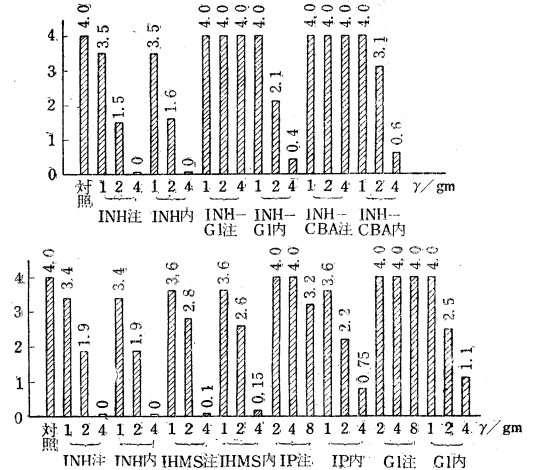
図5 IHMSによる実験的マウス結核症に対する治療実験



IHMS(図5)の場合は皮下注射, 経口投与時共に同程度の効力を認め, 1γ/gmでは中等度の生存期間の延長を認め, 2, 4γ/gmでは全例生存した。

死亡したマウスの肺臓の肉眼的所見は既述の如く分類し, 各群における病変をヒストグラムで示すと図6の如くである。生存マウスは5週間後屠殺剖検した。非治療

図6 実験マウス各群の肉眼的肺病変のヒストグラム



群は全肺野の大部分に結核結節を認めるも, INH 1γ, 2γ/gmと増加するにしたがい, 注射群内服群共に病変の程度も減少し, INH 4γ/gm投与群では注射群, 内服群共に全く肉眼的には結核結節を認めない。IHMSも大体INHと大差はなかつた。INH-GI, GI, INH-CBAでは注射群はいずれも非治療群と同程度の肉眼的所見を認め, 内服群の2γ, 4γ/gmではかなり病変は減少している。IPも2γ, 4γ/gm注射群では非治療群と変わりなく, 8γ/gm注射群はやや減少, 内服群においては1γ, 2γ, 4γ/gmと増量するにしたがいはるかに減少を示している。

臓器の定量培養はマウスの死亡時および生存マウスでは5週間後屠殺し, 各群10匹中任意に選んだ2匹ずつの肺, 脾, 肝の各臓器の10mg/mlのホモジェネイトを作り, その0.1mlを1%KH₂PO₄培地を用いて定量培養を行い8週間後に判定した。その成績は表1に示した如くで, 生存期間と肺病変の程度とがほぼ平行する成績が得られた。

考案

以上の動物実験の成績はさきに報告した Azotometry による成績から推定したINH生成率と極めてよく平行した成績を示した。すなわちINHの生成され易いものほど強い抗結核作用が認められた。このことは少なくとも生体内での有効型は遊離のINHのみであることを示している。すなわちAcetyl-INHはもとより, 試験管内で強い結核菌発育阻止作用を示す諸種のhydrazone型

表1 実験マウス肺脾肝の定量培養成績

群別	区分		生存日数	肺	脾	肝	群別	区分		生存日数	肺	脾	肝
	マウス No.							マウス No.					
INH 1γ 注	15		29	420	500	100	INH 1γ 内	55		26	480	320	200
	18		屠殺	360	100	15		49		屠殺	310	200	50
INH 2γ 注	28		屠殺	100	35	8	INH 2γ 内	66		屠殺	100	40	15
	34		屠殺	150	40	10		69		屠殺	120	45	14
INH 4γ 注	41		屠殺	80	20	5	INH 4γ 内	78		屠殺	58	19	8
	46		屠殺	70	18	6		81		屠殺	64	23	5
INH-GI 1γ 注	89		12	850	450	200	INH-GI 1γ 内	121		18	450	330	200
	95		16	600	470	170		126		28	380	300	100
INH-GI 2γ 注	98		15	880	520	250	INH-GI 2γ 内	137		屠殺	350	200	50
	103		16	650	380	150		142		屠殺	390	150	35
INH-GI 4γ 注	111		15	650	320	200	INH-GI 4γ 内	149		屠殺	200	35	10
	113		18	660	400	100		153		屠殺	80	30	8
INH-CBA 1γ 注	157		15	710	440	230	INH-CBA 1γ 内	195		19	390	270	130
	161		16	850	690	150		199		27	330	290	200
INH-CBA 2γ 注	170		15	650	380	180	INH-CBA 2γ 内	209		24	360	200	35
	176		16	780	590	200		214		屠殺	280	150	28
INH-CBA 4γ 注	181		15	790	410	200	INH-CBA 4γ 内	221		屠殺	100	50	12
	186		16	680	390	160		226		屠殺	120	35	7
非治療群	1		13	810	580	200							
	5		17	690	450	150							

群別	区分		生存日数	肺	脾	肝	群別	区分		生存日数	肺	脾	肝
	マウス No.							マウス No.					
INH 1γ 注	242		24	410	510	150	INH 1γ 内	272		21	460	270	180
	248		屠殺	380	100	12		276		屠殺	320	150	60
INH 2γ 注	251		屠殺	100	30	6	INH 2γ 内	283		屠殺	150	60	12
	259		屠殺	120	40	15		285		屠殺	80	35	6
INH 4γ 注	265		屠殺	55	13	7	INH 4γ 内	291		屠殺	70	15	6
	268		屠殺	45	19	8		298		屠殺	55	11	3
IHMS 1γ 注	303		26	520	320	150	IHMS 1γ 内	331		屠殺	480	230	100
	308		屠殺	420	150	35		338		24	530	390	200
IHMS 2γ 注	312		屠殺	200	55	18	IHMS 2γ 内	345		屠殺	150	70	18
	316		屠殺	150	40	7		349		屠殺	120	55	16
IHMS 4γ 注	325		屠殺	100	65	10	IHMS 4γ 内	352		屠殺	100	30	10
	329		屠殺	120	32	8		356		屠殺	75	25	8
IP 2γ 注	362		21	520	390	100	IP 1γ 内	392		屠殺	230	100	35
	368		31	460	380	200		398		30	290	150	70
IP 4γ 注	371		20	490	320	200	IP 2γ 内	401		屠殺	200	60	15
	378		25	370	200	150		406		屠殺	100	45	12
IP 8γ 注	383		25	410	260	100	IP 4γ 内	413		屠殺	75	20	7
	386		屠殺	310	150	80		419		屠殺	50	25	6
GI 2γ 注	422		19	680	590	150	GI 1γ 内	452		22	420	390	200
	428		16	880	660	210		455		18	530	380	100
GI 4γ 注	433		16	760	650	200	GI 2γ 内	462		屠殺	150	75	19
	439		19	680	510	150		468		屠殺	140	60	25
GI 8γ 注	441		18	730	650	200	GI 4γ 内	475		屠殺	85	28	10
	445		17	810	630	150		479		屠殺	70	35	18
非治療群	233		17	840	660	200							
	237		13	950	770	180							

表中「注」は皮下注射, 「内」は経口投与を示す

の代謝産物も生体内においては無効型であると考えなければならない。堂野前、伊藤ら²⁾が早くより指摘した如く、INH誘導体がそのままの形で抗結核作用を発揮するものとすれば、Acetyl化が防止され、INHの効果をより大ならしめうるものと考えたが、かかる考えは妥当でないことを知った。かくの如く有効なのは遊離のINHのみであるということになると、血中あるいは組織中の遊離INHの濃度を如何にして高くかつ長く持続せしめるかということが重要な問題となるが、現在までの定量法では遊離INHのみを特異的に定量することはできない現状である。

以上の如くINH誘導体はINHになつて効くものとすれば、これらINH誘導体は如何なる臨床的意義を有するのであろうか。

INH誘導体が仮令そのままの形で効果を発揮するものとしても、INHと交叉耐性が存する以上、新抗結核剤とはいえない。ましてやINHになつてはじめて効果を発揮するものであるとすれば、その意味ではINHを投与するのとなんら変りがないわけである。しかしながらINH誘導体はINHに比し毒性が遥かに弱いという長所がある。したがつてINH投与による副作用の強い患者にはINH誘導体を使用すべきである。また著者らの臨床経験によれば、普通量のINHでは効果が少なく、大量投与によつて初めて奏効を見る場合が少くない。このような症例に対しては、毒性の少ない誘導体の方がより安全にその大量を投与しうる利点があると思われるのであるが、この問題については目下多数症例につき系統的な検討を実施中である。いずれにせよ現在のところ、著者らは以上2つの場合がINH誘導体の適応であり、この点に本剤の臨床的価値を認めうると考えている。ただしINH誘導体は一時にその全部が遊離のIN

Hになるものではなく、動物実験においても、誘導体の効果は分子量比で換算した相当量のINHよりもかなり劣ることが認められた。したがつてこれら誘導体を實際臨床的に使用してその効果を期待するためには、分子量比からのINH換算量よりも大量を使用する必要があると思われる。

結 論

マウスでの治療実験によれば、誘導体そのままの形で生体内を循環すると考えられる場合には効果なく、分解してINHになると考えられる場合には強い抗結核作用を示す。すなわちこれら誘導体の抗結核作用は一にかつてINHへの分解の難易によつて決定されるものと考えられる。以上の実験成績より、少なくとも生体内では遊離INHのみが抗結核作用を発揮するものであると考えなければならない。

(本研究に対して終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師堂野前教授ならびに御指導御鞭撻を戴きました河盛助教授、伊藤文雄博士に深甚なる謝意を表します。なお終始御協力を戴きました那須義則、井上幾之進諸氏に深謝し、併せて動物実験につき御教示を戴きました塩野義研究室西村博士らに感謝いたします。なお本研究費の一部は文部省科学研究費によつた。記して謝意を表します。)

文 献

- 1) 下村：結核，32：481，1957.
- 2) 堂野前・河盛・伊藤・山本^他：最新医学，8：235，1953.