

アゾトメトリーによるイソニコチン酸ヒドラゼド (INAH) の生体内運命に関する研究

第2報 INAHの代謝と肝機能

那 須 義 則

大阪大学医学部第三内科学教室 (主任 堂野前維摩郷教授)
大阪府立羽曳野病院

受付 昭和31年7月16日

結 言

前報¹⁾において報告した如く、INAHは尿中排泄量の約90%がアセチル化物として排泄される。このアセチル化現象は解毒機能の一種で、その機能は主として肝臓において行われるものと考えられる。第1報において報告したのは肝機能正常者における成績であるが、今回は更に肝機能障害時のINAH代謝状況について検し、併せてINAH大量投与時の代謝状況についても実験を行ったのでその成績を報告する。

実験材料および実験方法

肺結核患者36名(重症9名, 中等症11名, 軽症17名)につきINAHを200mg経口投与し, 24時間蓄尿を行い, この尿につきフェリチアンカリならびに重クロム酸カリアゾトメトリー(それぞれFe AZMならびにCr AZM)を施行してその排泄状況を検した。両AZMの定量法は前報に述べた如くである。同時に該患者につき肝機能検査として, C.C.F試験およびB.S.P試験を施行した。

動物実験は2.5~3.0kgの雄性家兎を用い, INAH投与は大腿内側に皮下注射した。実験的肝障害は四塩化炭素3.5g/kgをカテーテルを用いて胃内注入して惹起せしめ, 注入後38~48時間の間で実験した。実験後剖見により肝臓に中心性壊死が存するも, 腎臓は組織学的に変化をみとめないことを確かめた。

濾紙クロマトグラフィーは東洋濾紙No. 50およびNo. 51を用い上昇法によつた。

実験成績

肺結核患者36名にINAHを200mg経口投与して, その24時間尿中排泄状況を, Fe AZMならびにCr AZMで検したものを表1に示した。松田によればFe AZM値はINAHならびにその代謝産物の総量を表し, Cr AZM値は総量からアセチル化物を差引いた量を表わす。しかして排泄量の90%はアセチル化されるからCr/Fe値は0.1であると松田^{2,3)}は報告し, 著者の第1報における諸

種投与法における実験でもINAH 200mg投与時には, 0.15~0.05の間を示した。本実験でも表1に示す如く, 0.15以下を示すものが36名中30名を占めたが, 6名は0.16以上の値を示した。表2にINAH排泄と肝機能検査成績との関係を示したが, Cr/Fe値の高い例は肝機能特にC.C.F試験陽性者に多い傾向を示した。特にB.S.Pな

表1 肺結核患者におけるINAH排泄状況 (200mg経口投与時, 24時間尿中排泄)

病状		重症	中等症	軽症	計	
		例数	8	11		17
AZM発生N ₂ 量 平均値 (mm ³)	Fe 値	26750	24501	23650	24842	
	Cr 値	4465	2405	2025	2533	
INAH換算値 (mg)	Fe 値	164	150	147	155	
	Cr 値	33	15	13	15	
平均値		0.21	0.10	0.09	0.09	
Cr/Fe 値	例	0.10 以下	3	9	12	24
		0.11~0.15	3	0	3	6
	数	0.16 以上	2	2	2	6

(INAH 200mgは32700mm³ 0°C 760mmHgに当る)

表2 肺結核患者におけるINAH排泄状況と肝機能

肝機能検査		C. C. F試験		B. S. P試験		
		+	-	+	-	
例数		14	22	6	30	
AZM発生N ₂ 平均値 (mm ³)	Fe 値	24750	24280	23850	25040	
	Cr 値	3103	1360	3745	2050	
INAH換算値 (mg)	Fe 値	151	148	146	153	
	Cr 値	19	8	23	16	
平均値		0.12	0.06	0.16	0.08	
Cr/Fe 値	例	0.10 以下	5	19	3	21
		0.11~0.14	4	2	2	4
	数	0.15 以上	5	1	1	5

らびに C.C.F. の両試験陽性の 1 例は特に高い値, 0.72 を示した。本例は Cr AZM 値が特に高い上に Fe AZM 値が低く代謝異常が予測された。

本例に INAH 200mg を経口投与し 2 時間毎に尿を集め, 24 時間までの尿につき, Fe AZM ならびに Cr AZM を施行したものを表 3, 図 1 に示した。本例は重症肺結核患者で INAH 200mg, Pyrazinamide 3g, 併用投与療法を施行したが, Pyrazinamide 内服時胸内苦悶を訴えたため投薬を中止した。この Pyrazinamide, INAH

併用時における時間毎の INAH 尿中排泄状況を検したものが表 4, 図 2 である。図 1 でも Cr AZM 値が非常に高く Fe 値の 1/2 を越えるのが見られるが, 図 2 では初期の 6 時間では Cr AZM 値が Fe 値を上廻る値を示した。このような現象は今までに見られなかつたもので, Fe AZM 値が INAH 代謝産物の総量を示すとの概念では説明できず, このような異常代謝の際には Cr AZM で N₂ を発生し, Fe AZM では N₂ を発生しない物質が排泄されていることが予測された。

表 3 肝障害患者 INAH 200mg 内服, 時間別排泄量

内服後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)								INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	10~12	12~24	計			
Fe AZM 値	4704	2622	2417	2240	2592	416	1924	17115	108	54.0	0.72
Cr AZM 値	4032	2448	1798	1560	1661	104	676	12279	75	37.5	

表 4 肝障害患者 INAH 200mg, Pyrazinamide 3g 併用, 時間別排泄量

投与後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)								INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	10~12	12~24	計			
Fe AZM 値	1995	2139	3840	2940	2700	887	1695	16196	99	49.5	0.95
Cr AZM 値	2625	2691	4000	2730	1740	475	744	15005	92	45.9	

図 1 肝障害患者 INAH 200mg 内服

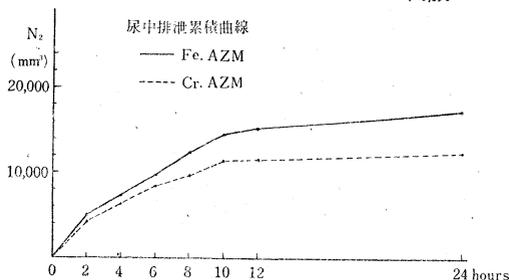
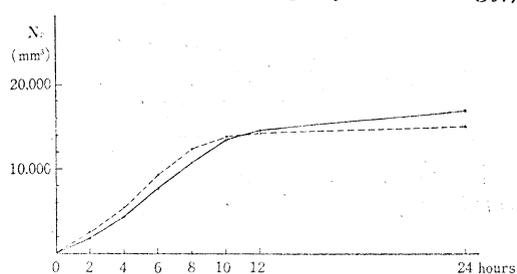


図 2 肝障害患者 INAH 200mg, Pyrazinamide 3g 併用



同様な現象がときどき強い上腹部痛を訴え, 貧血症があり, 左側肺上部に空洞を認めた結核患者に INAH 650mg (午前 9 時 350mg 投与し以後 3 時間毎に 150mg を 2 回投与) を投与した際にも見られた。(表 5, 図 3)

なお本患者は肝機能検査は C.C.F. 試験陽性であり, 後に肺切除手術を施行したが術後強度の黄疸を併発した。

上述の異常代謝を示す 2 例はいずれも肝機能障害があ

るものと認められるので, 著者は家兎を用いて肝障害時の INAH 代謝を追求すべく, 次の如き実験を行った。

まず健康家兎を仰臥固定して尿道にカテーテルを挿入後 4mg/kg の INAH を皮下注射し, 2 時間毎に尿を集め, 10 時間までの尿につき Fe AZM ならびに Cr AZM を施行した。結果は表 6, 図 4 に示す如くで 10 時間までで Cr AZM 値は Fe AZM 値の 21% で, ほぼ第 1 報で報

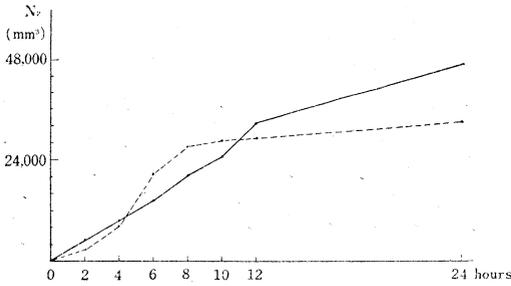
表 5 肝障害患者 INAH 650mg 経口投与, 時間別排泄量

投与後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)								INAH 換算値 (mg)	投与量に対する比率 (%)	Cr/Fe
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	10~12	12~24	計			
Fe AZM 値	4914	4290	5586	5612	4722	7389	14514	47027	288	44.4	0.68
Cr AZM 値	2700	5343	11879	6902	241	859	3153	32147	196	30.2	

表6 健常家兎 Pro kg 4mg 投与, 時間別排泄量

投与後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)						INAH 換算値 (mg)	Cr Fe 値
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	計		
Fe AZM 値	66	351	117	85	64	683	4.2	21.5
Cr AZM 値	36	68	36	11	0	148	0.9	

図3 肝障害患者INAH 650mg(Pro kg 50mg)経口投与



告した正常人における INAH代謝に近い成績を示した。この家兎に四塩化炭素3.5g/kg をカテーテルを用いて胃内注入し, 注入後38~48時間の間で同様 INAH 4mg/kg 投与してその排泄状況を検したところ表7, 図5に見る ように, 投与後2~4時間の尿は Cr AZM値が Fe AZM 値に比し遥かに高く, 肝障害肺結核患者にみられたと 全く同様の現象を示した。

同様な実験を更に INAH 20mg/kg 投与して行つた成績を表8, 図6および表9, 図7に示した。大量投与す れば Cr/Fe値が高くなるのが見られるが, 四塩化炭素注 入後ではやはり Cr値が Fe値を上廻るのを認めた。

図4 健常家兎 4mg/kg 投与

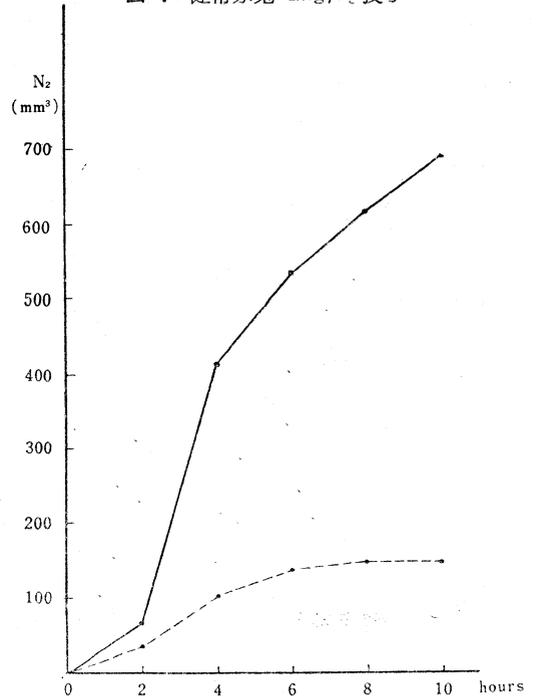


表7 肝障害家兎 INAH 4mg/kg 投与, 時間別排泄量

投与後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)						INAH 換算値 (mg)	Cr Fe 値
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	計		
Fe AZM 値	72	101	105	92	11	381	2.3	1.0
Cr AZM 値	60	215	90	22	8	395	2.4	

表8 健常家兎 INAH 20mg/kg 投与, 時間別排泄量

投与後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)						INAH 換算値 (mg)	Cr Fe 値
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	計		
Fe AZM 値	1250	1300	899	330	165	3944	24.1	0.28
Cr AZM 値	851	625	186	105	30	1797	10.9	

表9 肝障害家兎 INAH 20mg/kg 投与, 時間別排泄量

投与後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)						INAH 換算値 (mg)	Cr Fe 値
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	計		
Fe AZM 値	241	1254	847	403	282	3007	18.3	0.94
Cr AZM 値	222	1729	651	143	90	2835	17.2	

表10 健常家兎 INAH 40mg/kg 投与, 時間別排泄量

投与後の時間	発 生 N ₂ 量 (mm ³)						INAH 換算値 (mg)	Cr Fe 値
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~10	計		
Fe AZM 値	1860	1690	1285	576	324	5113	51.5	1.44
Cr AZM 値	3270	2340	1085	360	120	7375	45.0	

図5 肝障害家兎 INAH 4mg/kg 投与

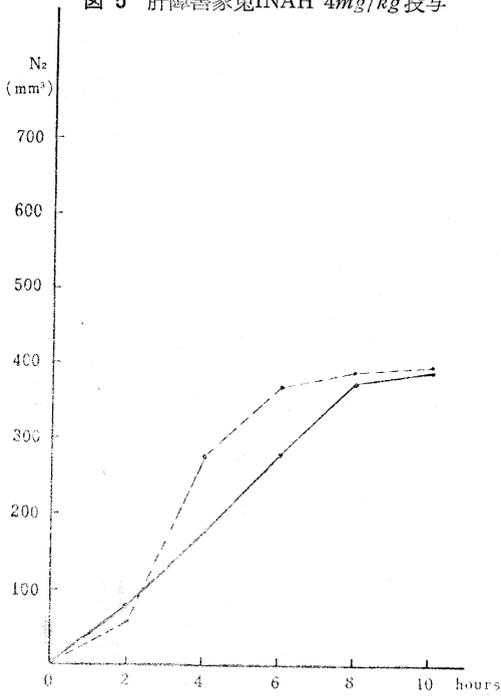


図7 肝障害家兎 INAH 20mg/kg 投与

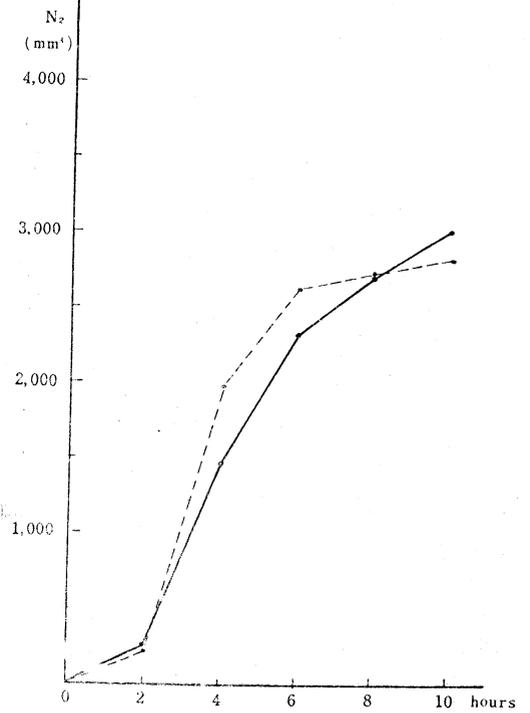


図6 健常家兎 INAH 20mg/kg 投与

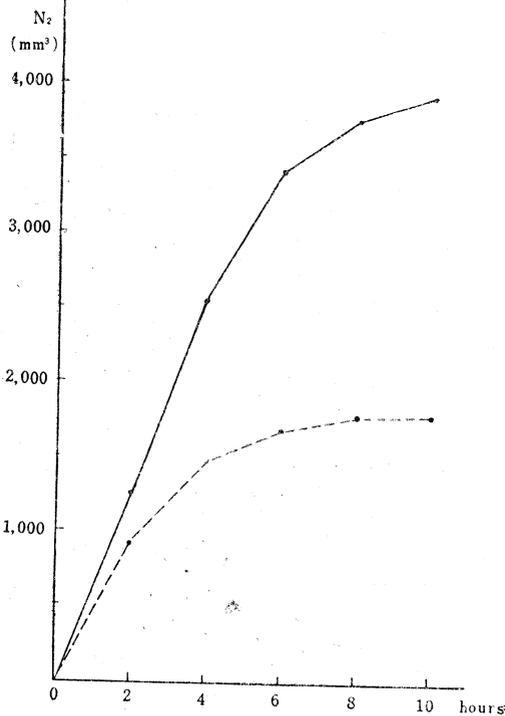


図8 健常家兎 40mg/kg 投与

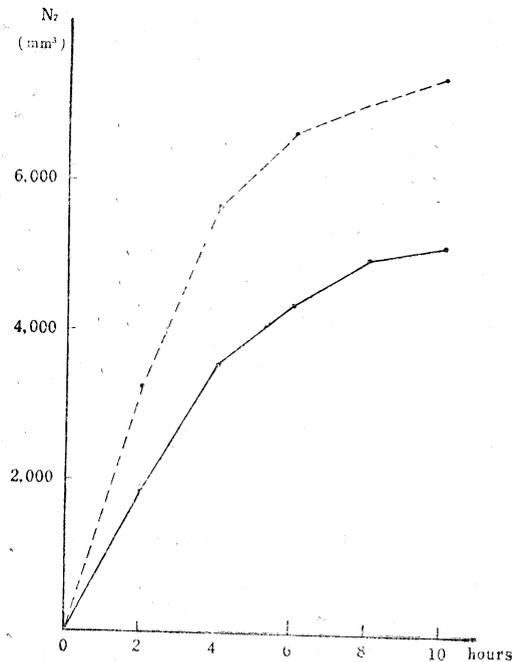


表10, 図8は健康家兎に40mg/kgの INAH を投与したものであるが, この実験でも投与後4時間目までの尿では Cr AZM値が Fe AZM値より高い値を示した。

以上の実験成績より家兎において四塩化炭素肝障害時ならびに極端に大量の INAH 投与時には, 正常家兎に4mg/kg程度の INAH投与時とは異なつた代謝の起つていることが推測せられた。

この異状代謝の本態を解明するために, 家兎に INAH の大量40mg/kgを投与して得られた Cr AZM値が Fe AZM 値を上廻る現象を示す尿につき80%エタノールを溶媒として, 東洋濾紙No. 51にて濾紙クロマトグラフィーで展開し, その紫外線吸収帯を溶出して, その化学的性質を検するとともに, 一方表10に示したごとく INAH とその各種代謝産物と考えられる物質の濾紙クロマトグラフィーを行つた結果, INAH と焦性葡萄糖ならびに α ケトグルタル酸とのヒドラゾーンが Cr AZMで N_2 を発生し, Fe AZM では N_2 を発生し難く, 酸性処理で容易に両 AZM で N_2 を発生するようになり, 酸性で β -ナフトキノンスルホン酸ソーダで固定され, さらにその溶

図9 AZM的性質の比較

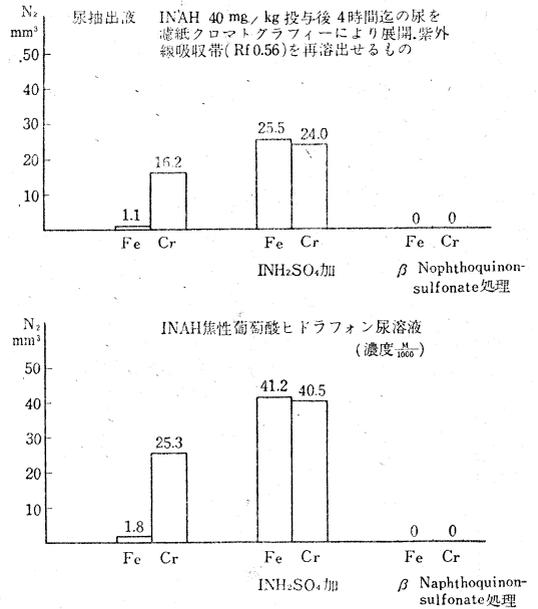


表11 INAHおよびその代謝産物の濾紙クロマトグラフィー Rf 値

物質名	溶媒		ブタノール, 醋酸, 水 (4:1:2)		ピリジン, ブタノール, 水 (3:5:5)	
	80% エタノール					
東洋濾紙 No. 51	N. 50	N. 51	N. 50	No. 51	No. 50	No. 51
INAH ¹⁾	0.57	0.65		0.70	0.48	0.58
INAH Gl ²⁾	0.48				0.55	
INAH Pyr ³⁾	0.56	0.62, 0.73	0.44	0.51	0.44	0.51, 0.21
INAH α kg ⁴⁾		0.64		0.44		0.37
INAH Ac ⁵⁾	0.68	0.80			0.69	0.68
INA ⁶⁾	0.55	0.62	0.58	0.60	0.44	0.51
尿 ⁷⁾	0.56	0.75, 0.62	0.58, 0.44	0.60, 0.51	0.44	0.51, 0.55

1) Isonicotinic acid hydrazide. 2) 1-isonicotinyl-2-glucosyl hydrazine. 3) 1-isonicotinyl-2- α -carboxyethyliden hydrazine. 4) 1-isonicotinyl-2- α, γ -dicarboxypropyliden hydrazine. 5) 1-isonicotinyl-2-acetyl hydrazine. 6) Isonicotinic acid. 7) INAH Pro kg 40mg 投与家兎の4時間までのカテーテル尿

液を室温で放置すれば漸次両 AZM で N_2 を発生するようになる等, その化学的性質が全く尿中未知物質に一致し, しかもこの未知物質と INAH 焦性葡萄糖ヒドラゾーンは濾紙クロマトグラフィーで同じ Rf を有することを認めた。

すなわち肝障害時や極端に大量の INAH を投与した際には INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゾーンが非常に大量に排泄せられるために, 前記のごとく Cr AZM値が Fe AZM 値を上廻る成績を示すものと解釈しうる。

総括および考察

以上のごとく肝機能正常時に4mg/kg程度の INAH を投与した際には排泄量のほとんどがアセチル化物として尿中に排泄されるのであるが, 肝機能障害時や極端に大量の INAH が投与された場合にはその代謝状況は一変す

る。すなわちその場合にはアセチル化物の排泄が極端に少なくなり, INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゾーンが高率に排泄せられることが認められた。

肝機能障害時にみられる本現象は肝障害のためにアセチル化機能が充分に行われず, 一方において肝障害のために増量した焦性葡萄糖とヒドラゾーンを形成するためと考えられる。

極端に大量の INAH を投与した場合のアセチル化比率の低下はアセチル化機能が大量の INAH を処理しえないためと考えられるが, 焦性葡萄糖とのヒドラゾーンが多量に排泄されるのは, 中間代謝産物たる焦性葡萄糖を INAH が捕捉するためか, あるいは INAH が糖の代謝障害を起して焦性葡萄糖の蓄積を起すためであるかは目下不明であるが, この点についてはなお研究続行中である。いずれにせよ大量の INAH が投与されれば, その代

謝は正常の場合とは全く異なつた様相を示すものである。したがつて大量の INAH を投与した尿につきその代謝産物を追求し、その成績を以て一般的な代謝状況を論ずることは危険であるといわねばならない。

結 論

四塩化炭素胃内注入により肝障害を起した家兎に 4 mg/kg 程度の INAH を投与した際あるいは正常家兎に 40mg/kg 以上の大量の INAH を投与した際には、尿中へのアセチル INAH の排泄率は少なくなり、INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゾンが高率に排泄せられる。

同様な現象を重症肺結核患者で肝機能障害の高度なも

の 2 例においても認めた。

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。

文 献

- 1) 那須：印刷中。
- 2) 松田：生化学，26：420，1954。
- 3) 松田：生化学，27：366，1955。