

# 双生児におけるイソニコチン酸ヒドラジッド代謝に関する研究

沖中重雄・吉田清一・三上理一郎  
吉良枝郎

東京大学医学部沖中内科教室

受付 昭和 35 年 9 月 30 日

## I 緒 言

イソニコチン酸ヒドラジッド (以下 INH と略す) の代謝に関する研究の沿革については吉田がすでに詳述したが<sup>1)</sup>, Hughes<sup>2)</sup> により示された個人差の問題, また Morse<sup>3)</sup> により明らかにされた日本人と欧米人の民族の違いによる INH 代謝位相の差の問題は, さらに Harris<sup>4)</sup> により米国在住の日本人二世と欧米人との間に差のあることより, 食事, 環境等の因子を除外しうると思われる実験条件において明瞭に示され, したがってこれら以外の体質的要因にその原因を求め, 非活性化の迅速型と遅延型とはそれぞれ異なつた母集団に属するものであるとの仮説をたてられるにいたつた。一方動物の種類によつても INH 代謝の異なることはよく知られており, 五味<sup>5)</sup> はマウスでは acetyl 化がきわめて少ないのに反し, 海獺, 兎ではマウスよりも acetyl 化率の高いことを報告しており, また中園<sup>6)</sup> によると犬では acetyl 化は行なわれず, Hydrazon 型, Isonicotin 酸への分解が主であると述べている。これら個人差, 種属差の問題の解明に関して 1959 年 Knight & Harris<sup>7)</sup> は遺伝的観点から家系調査法によつて INH 代謝の研究を行ない, INH 血中濃度が遺伝により支配されている事実を米国における第 18 回結核化学療法討議会に発表した。

一方著者らの 1 人吉田は国立東京療養所において 1958 年来肺結核患者について INH 血中濃度の測定を行ないすでに発表した<sup>8)</sup>が, その 154 例の肺結核患者の血中濃度を検討したい, たまたま 3 組の同胞の活性 INH 血中濃度が同胞相互間でかなり類似することを認めこの成績より INH 代謝が個体の素質的因子により影響される可能性が予測された。沖中内科においてはすでに昭和 25 年来双生児に関する内科的研究を続けてきているので, 遺伝学的研究方法の 1 つである双生児法によつてこの仮定を実証しようとして次の実験を行なつた。

## II 研究方法

前報と同じく特殊試験管に PABA 20  $\gamma$ /cc 添加した 1%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  培地を含む直立拡散法を用いた。

菌液も 3 週間培養の人型結核菌  $\text{H}_{37}\text{Rv}$  株の 0.01 mg per 0.1 cc の蒸溜水浮遊液を使用した。双生児は都内某中学校の 1 年, 2 年, 3 年生で 12 才より 14 才にわたる男女 54 組 108 例で, 一卵性は男 21 組, 女 22 組, 二卵性は 11 組で, 体重は 22 kg より 54 kg とかなりの巾を示した。なお双生児の卵性診断は東大脳研式方法により東大附属脳研究所および東大医学教室にてなされたものである。

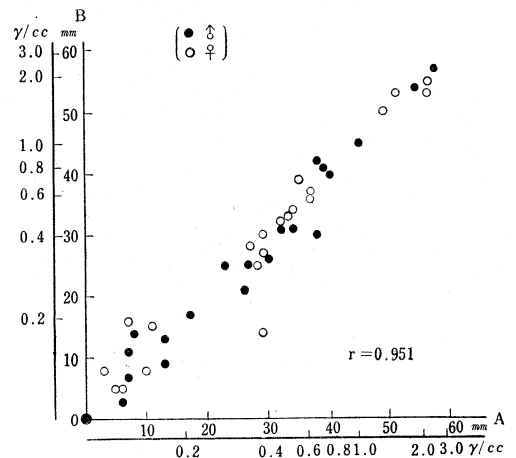
薬剤の投与方法は INH 結晶 4 mg per kg を午前 8 時に服用し, 4 時間後の午前 12 時に二重蔭酸入りの試験管に採血後血漿を分離し, その 1 cc 宛をあらかじめ結核菌を接種した試験管底に注入し, 37°C 孵卵器内に直立させ 2 週間後に判定し阻止帯の長さを測定した。また 20 組においては PAS による INH acetyl 化抑制の機構解明を目的として前記実験の翌日 PAS-Cal 1.5 g を INH 4 mg per kg に併用投与して同じく 4 時間後に採血した。

## III 実験成績

### (A) INH 4 mg per kg 投与時について

図 1 一卵性双生児相互間における活性 INH 血中濃度の比較

INH 4 mg/kg per os



mm は阻止帯の長さ,  $\gamma$ /c は活性 INH 濃度 (以下同じ)

INH 4 mg per kg 投与後 4 時間目における活性 I NH 血中濃度は最高 2.4  $\gamma/cc$ , 最低 0  $\gamma/cc$ , 平均 0.56  $\gamma/cc$  である。これを男女別にみると前者では平均 0.54  $\gamma/cc$ , 後者では平均 0.58  $\gamma/cc$  で男女間に有意差は認められない。

卵性別については双生児の両者 (A, B とす) 間において血中濃度の値について相関関係を検討すると, 図 1のごとく一卵性双生児 (MZ) では密な相関関係を認めた ( $r=0.951, P < 0.01$ )。

二卵性双生児 (DZ) については図 2のごとくで密な相関は認められないが ( $r=0.254, P > 0.1$ ) AB 相互間の血中濃度のよく類似せるものとしからざるものとの 2 群が明瞭に区別され, 11 組中 7 組は前者に属し, 4 組は後者に属した。しかして MZ と DZ との間には 1% 以下の危険率で有意差を認めた。さらに双生児両者間の血中濃度値の差について検討すると, 図 3にみられるごとく, AB間の差が  $\pm 0.3 \gamma/cc$  以内のものは MZ では 42 組中 41 組 97.6% で一致率の高いのに反し DZ では 11 組中 7 組 63.6% に認めたにすぎ

図 2 二卵性双生児相互間における活性 I NH 血中濃度の比較

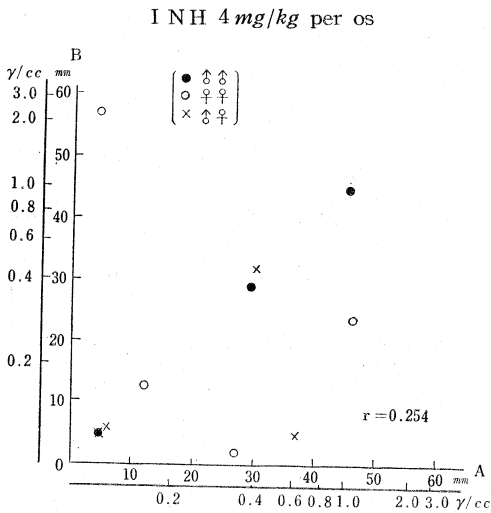


図 3 双生児相互間における活性 I NH 濃度差よりみた一卵性双生児と二卵性双生児との比較

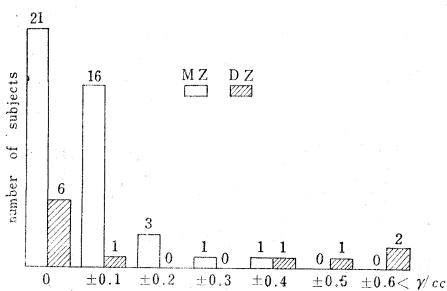
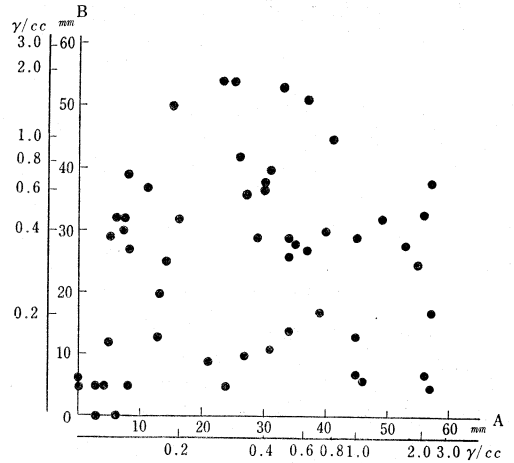


図 4 対照例



ず, 残り 4 組はそれぞれ  $\pm 0.4 \gamma/cc, \pm 0.5 \gamma/cc, \pm 0.8 \gamma/cc, \pm 2.4 \gamma/cc$  の相違を示した。ちなみにこれら 108 例の中より AB それぞれの群のうちで無選択的に 1 組ずつ組合せを作つてこれを対照としてそれぞれの AB の相関関係を検討したのが図 4 であるが, 均等に分布されなんら一定の傾向は認められなかつた。

(B) INH 4 mg per kg と PAS-Cal 1.5 g との併用投与時について

MZ 16 組 32 例について INH 4 mg per kg と PAS-Cal 1.5 g を併用投与し, 4 時間後の活性 I NH 血中濃度を測定した結果図 5のごとく一部には PAS を併用することにより血中濃度の増加を認めるが (32 例中 7 例) 大部分の例ではほとんど変動を示さない。しかし図 6 にみられるごとく MZ ではこの場合にも密な相関を認めた ( $r=0.916, P < 0.01$ )。

このことは AB いずれか一方が PAS 併用により I NH 血中濃度が上昇するさいには他の一方も同様にしかも同程度に増加し, また逆に PAS 併用により大して変動を示さない例では AB 揃つて変動しないことを示している。

(C) 各個人における I NH 代謝型の分類について次に 108 例の値について histogram を作ると図 7のごとく 0.25  $\gamma/cc$  および 0.9  $\gamma/cc$  付近を谷とする三峰性の曲線を描き 0.3  $\gamma/cc$  未満は 108 例中 45 例 (41.6%) で平均値は 0.12  $\gamma/cc \pm SD 0.03 \gamma/cc, 0.3 \gamma/cc$  以上 1.0  $\gamma/cc$  未満は 45 例 (41.6%) で平均値は 0.50  $\gamma/cc \pm SD 0.22 \gamma/cc, 1.0 \gamma/cc$  以上は 18 例 (16.8%) で平均値は 1.68  $\gamma/cc \pm SD 0.38 \gamma/cc$  でこの 3 群の平均値の間には有意差を認めた。これら 3 群はそれぞれ rapid-, intermediate-, slow inactivator に相当するものと考えられる。また別に 41 例の肺結核患者における INH 4 mg per kg 投与 6 時間後の値についての histogram でも図 8のごとく三

図5 I NH单独投与時とPAS併用時との活性INH血中濃度の比較

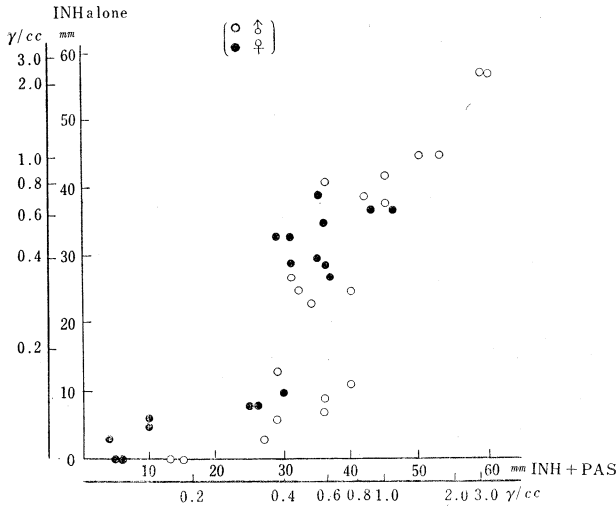


図6 一卵性双生児相互間におけるPAS併用時の活性INH血中濃度の比較

INH 4 mg/kg + PAS 1.5 g

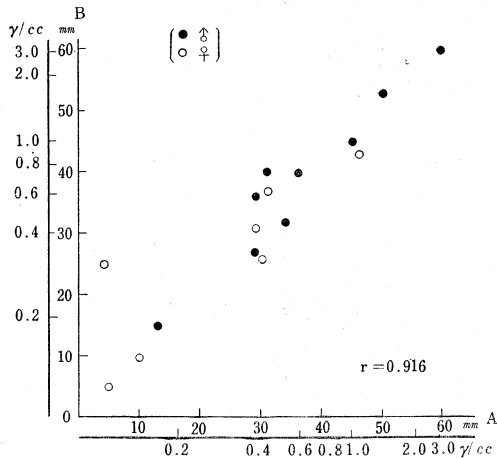
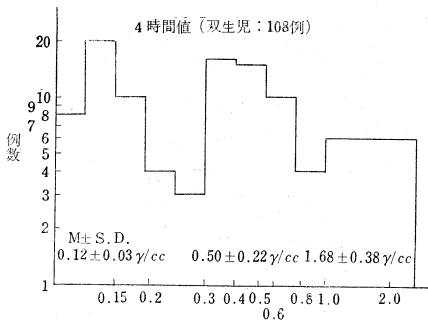
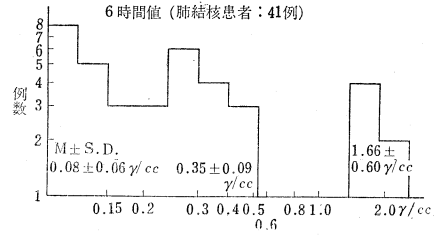


図7 I NH 4 mg/kg 経口投与後4時間目の活性INH血中濃度の分布



峰性の曲線を得、0.15~0.2 γ/cc および 0.6 γ/cc 付近に谷を認めた。0.125 γ/cc 以下に山をもつ一群は 16 例

図8 I NH 4 mg/kg 経口投与後6時間目の活性INH血中濃度の分布



(39%) で平均値は 0.08 ± SD 0.06 γ/cc, 0.3 γ/cc に山をもつ一群は 17 例 (41.5%) で平均値は 0.35 ± SD 0.09 γ/cc, また 1.5 γ/cc に山をもつ一群は 8 例 (19.5%) で平均値は 1.66 ± SD 0.60 γ/cc で各群に属する分布割合は双生児における 4 時間値の場合とかなりよく類似し各群平均値についても相互間に推計学的に有意の差を認めた。

考 察

臨床上の問題に結び付いた概念として Mitchell<sup>8)</sup> により提唱された rapid-, intermediate-, slow inactivator の 3 つの異なる I NH 代謝型は Harris の個体の素因の差ではないかという仮説以来個体差の問題の解明に努力が払われてきた。すなわち Mandel<sup>9)</sup> は 254 例の入院患者の検索でその 55% は 1.2~1.6 γ/cc に peak を有する 0.6 γ/cc 以上の群に、また 45% は 0.2 γ/cc に peak を有する 0.6 γ/cc 以下の群に属し全体として 0.6 γ/cc に谷を有する明快な二峰性の曲線のみられることを示した。また Knight and Harris<sup>7)</sup> は I NH 4 mg/kg 服用後 2, 4, 6 時間の活性 I NH 血中濃度を測定した結果、2 時間値では釣鐘型の分布曲線を示し、4 時間値では二峰性の傾向を示すが軽度で、6 時間値においては 0.4 γ/cc に谷を有する典型的な二峰性曲線を認め、rapid inactivator と slow inactivator のそれぞれの平均値は統計的に有意差のあることを認め、このことは遺伝形質によるものであることを暗示していると報告している。われわれの 108 例の内服後 4 時間目の活性 I NH 血中濃度値についての検索では明瞭な三峰性曲線を認めた。一方肺結核患者 41 例の 6 時間値についても同様の傾向を示した。小川<sup>10)</sup> も 4 mg/kg の I NH 投与後の 6 時間値では 0.15~0.2 γ/cc および 0.6~0.8 γ/cc に谷をもつ trimodal の分布を認めておりわれわれのそれとよく一致している。

以上より日本人においては rapid-, intermediate-, slow inactivator の判定基準として表 1 のごとく分けられるのではないかと考えている。

本報においてわれわれが内服後 4 時間値を採用した理由としては 6 時間値を採用すると、前報に明らかな

表 1 日本人における rapid-, intermediate-, & slow inactivator の判定基準への試案

	4 hr.	6 hr.
rapid inact.	< 0.3 $\gamma$ /cc	< 0.2 $\gamma$ /cc
intermediate inact.	0.3 < 1.0 $\gamma$ /cc	0.2 < 1.0 $\gamma$ /cc
slow inact.	1.0 $\gamma$ /cc <	0.8 $\gamma$ /cc <

ようにすでに測定不能の低濃度あるいは 0 にまで減少してしまっている例があり、2 被検者についての pattern の一断面を比較するには不適當と考えたからにはかならない。

MZ と DZ との血中濃度の相関係数では統計的に有意差を認められたが、後者の例数が少なく問題はあつたが、前者では 1 組の値に明瞭な類似性を示し、rapid inactivator は rapid inactivator と、slow inactivator は slow inactivator と対をなすに反し、後者ではそれぞれ類似性を示す組と全く類似性の認められない組とが存在することが明らかである。また INH と PAS の併用時における INH 血中濃度の変化についても上昇例と非上昇例に分けられ、上昇例では A、B とともに同程度の上昇を示し、非上昇例では A、B とともに上昇を示さず、したがつて図 6 のごとき相関を示した。以上のことより INH 代謝機構において活性 INH 濃度を指標としてその代謝過程をみた場合、MZ においてはその pattern は類似性を示すものと考えられ、また PAS 併用時にみられた MZ における類似性も PAS による INH の acetyl 化の抑制の機構の相似性を物語るものと考えられる。

さて双生児法は遺伝研究の 1 つの方法であつて周知のとおり MZ と DZ との比較対照から出発して人間における種々の個体差の原因として、遺伝的素因と環境とのいずれかが関与しているかを決定するに役立つ方法である。今、ある現象について相当組数の双生児を集めて 2 人が類似した現象を呈する場合、その割合（類似率）を MZ と DZ の間で比較して、もし両者に差がなければその現象は個体の受精後の環境因子の結果であると結論し、もし MZ の類似率が DZ のそれより大きく推計学的に有意差があれば、その現象の個体差の原因として遺伝的素因の関与を考える必要があることになる。われわれは双生児における INH 血中濃度の成績を推計学的に検討し MZ と DZ の間に 1% 以下の危険率で有意差を認めたことより個体における INH 代謝には遺伝的素因が関与していることが結論できるのである。

Knight and Harris の 20 家系についての研究はこの遺伝関係を一層明らかにしている。すなわち slow inactivator と slow inactivator の 5 組の両親より生

まれた 19 例の子供は全例 slow inactivator であるが、rapid inactivator と rapid inactivator との組合せからの 19 例の子供では rapid inactivator が 11 例、slow inactivator が 8 例、また slow inact. と rapid inact. との 10 組の両親からの 36 例の子供では rapid inact. は 17 例、slow inact. は 19 例であつた。

以上より slow inact. はメンデル法則の劣性形質であり、rapid inact. は優性形質と考えられるとしている。

生体の物質代謝を遺伝学的観点より研究した報告はまだ少ない。Berry<sup>11)</sup>、Grouchy<sup>12)</sup> は双生児等の尿中のアミノ酸を chromatography によつて分析し、 $\beta$ -amino-isobutyric acid の排泄が遺伝的影響を受けている事実を明らかにした。田坂らは双生児の脂質代謝について研究を行なつている。INH 代謝の遺伝に関してわれわれおよび Knight らにより示された事実は負荷試験による成績であるだけに方法論的に従来の研究から一歩前進したものであり、この INH 血中濃度測定試験は結核臨床の場合のみならず人間の遺伝体質学の研究に有用な検査法に発展するであろうと考えられる。

一方治療医学において薬剤に対する生体の反応性——解毒機構としての acetylation 等——に関して遺伝的個体差の問題が明るみに出されたことになる。また沖中・三上<sup>13) 14)</sup> は双生児研究から結核症の生体防禦機構を検討し遺伝および年齢に規制された自然抵抗力が結核症において関与することを述べている。ここに INH という結核治療薬の治療機序が遺伝的素質によりなんらかの影響を受けるかもしれない事実は示された現在、結核患者の臨床において発生病理の面のほかに治療の面においても個体の遺伝体質を常に考慮にいれなければならないと考える。すなわち、host-parasite relationship よりさらに host-parasite-drug-relationship が問題となる訳である。ともあれこの双生児における INH 活性血中濃度の測定によつて得られた知見は今後さらに多くの分野に興味ある研究課題を提供するであろうと考えられる。

## 結 論

生体における INH 代謝の個体差の本体を解明する目的で双生児 (MZ 43 組, DZ 11 組) を対象として実験を行なつた。INH 4 mg per kg を内服させ 4 時間後の活性 INH 血中濃度を小川氏の直立拡散法で測定した。また MZ 16 組についてはさらに PAS による INH acetyl 化抑制機構を検討する目的で INH 4 mg per kg と PAS-Cal 1.5 g を併用内服して同様の実験を行なつた。

血中濃度の値について双生児間で相関関係を検討すると、MZ では密な相関関係を認めるが、DZ では有意の相関は認められない。しかし血中濃度の類似せる群と

しからざる群の2群が存在する。またPAS併用時にもINH血中濃度はMZで有意な相関を認めPAS併用により双生児の一方が上昇する例では他方も同程度に上昇し、上昇のみられない例では2人ともほとんど変動を示さなかつた。

以上の成績を双生児理論により検討した結果、INHの血中濃度値は遺伝に影響されており、したがって個体におけるINH代謝は遺伝的素因が関与しているといふことができる。

なお108例の4時間値についての分布曲線では0.3  $\gamma/cc$  および0.9  $\gamma/cc$  付近に谷を有する三峰性曲線を、また41例の肺結核患者における6時間値についても0.2  $\gamma/cc$ 、0.6  $\gamma/cc$  付近に谷をもつ三峰性曲線を認めた。これより、日本人においてはrapid inactivatorは4時間値が0.3  $\gamma/cc$  未満、6時間値が0.2  $\gamma/cc$  未満、slow inactivatorは4時間値が1.0  $\gamma/cc$  以上、6時間値が0.8  $\gamma/cc$  以上、intermediate inactivatorはその中間と考えるのが妥当と思われる。

終りにINH血中濃度測定法等について種々御助言を頂いた、国立東京療養所砂原茂一所長、小川政敏博士、結核予防会島尾忠男博士および研究の実際にあたって理解ある御協力を頂いた東大附属学校沢田校長始め諸先生に感謝します。

要旨は第35回日本結核病学会に発表した。

## 文 献

- 1) 吉田 他：最新医学，15：214，昭35.
- 2) Hughes H.B. et al. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 266, 1954.
- 3) Morse W. C. : 結核，33 (増刊号) : 258, 昭33.
- 4) Harris H.W.M. et al. : Am. Rev. Tuberc., 78 : 944, 1958.
- 5) 五味：最新医学，12：141，昭32.
- 6) 中園：結核，34：101，昭34.
- 7) Knight R.A. & Harris H.W. : Tr. 18th V.A. A. F. Conf. Chemotherapy Tbc., 52, 1959.
- 8) Mitchell R.S. : Tr. 17th V. A. A. F. Conf. Chemotherapy Tbc., 77, 1958.
- 9) Mandel W. : J. Clin. Invest., 38 : 1356, 1959.
- 10) 小川(政) : 第35回日本結核病学会総会，昭35.
- 11) Berry S.M. : Am. J. Human Genet., 7 : 93, 1955.
- 12) Grouchy J. D. : Am. J. Human Genet., 9 : 76, 1957.
- 13) 三上：結核研究の進歩，14：133，昭31.
- 14) 三上：第15回日本医学会総会学術集会記録，I：416，昭34.
- 15) 田坂・内藤他：双生児の研究 第II集，137，日本学術振興会，昭31.