

INH 血中濃度の分布について

古泉桂四郎・岡本亨吉

国立療養所村松晴嵐荘

受付 昭和 36 年 7 月 28 日

われわれは Kirchner 寒天高層培地においては、結核菌は一般にその上層にだけ発育するが、抗結核剤耐性菌株のうち INH 耐性菌株のあるものは上層には発育せず、ある程度の中層にだけ発育し集落層を形成すること等を観察した。1)

ついで、菌株により集落を形成する層が異なるゆえんを追求するために、培養環境について諸実験を試みたところ、主として、培養環境の酸素分圧との関係により、または、高層上に諸種薬剤等を重畳することにより集落層が移動すること等を観察した。2) このさい INH 溶液を重畳して培養すると、集落の層は INH の濃度に比例して高層の深部に、また、供試菌株の INH 耐性の程度に比例して浅い部分に現われること等が観察された。したがって、結核菌の Kirchner 寒天高層混濁培養上に INH 溶液を重畳して INH 濃度を測定しようことを確かめ、さらに INH 感性結核菌を用いて、日常臨床期待される微量の INH 血中濃度の測定のために使用できるように考案実験を試みた結果、所期の成績を得たので、本法が臨床検査のために使用することができることを提唱した。3)

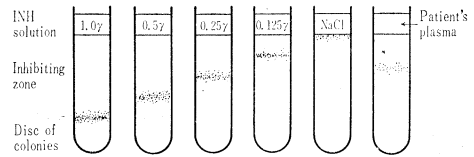
今回は肺結核患者 188 例について、上記の方法により INH の血中濃度を測定して、おのおの INH 代謝型とその臨床所見とを考えあわせて得るところがあつたと考えるので要件を報告する。

I 研究方法

a) INH の定量法：INH 感性結核菌の Dubos 液体培地 2～3 週培養を、Kirchner 培地の各組成が 2 倍のものに混和して菌液となし、Widal 試験管に分注して、これを別に準備した寒天で賦形する。この上に INH 含有供試材料を重畳して、37°C で培養し対照と比較測定する。(2) 3) 参照) (図 1)

b) 検査対象：対象は国立療養所村松晴嵐荘で治療中の結核患者 188 例で、そのうち開放性症例は 153 例

Fig. 1. Effect of INH Which was Placed on the Top of the Medium on Growth of the Tubercle Bacilli in Kirchner's Medium with 0.25% Agar



Growth shown in this Fig. is 6 days after inoculation. One may titrate INH concentration in plasma comparing with the control.

である。症例の構成は男子が多くなっている。病型は NTA 分類に従えば、Far advanced 型は 86 例で約半数を占め、菌陰性のものは 7 例である。これに対し、Minimal 型は 33 例で解放性例はわずか 13 例である。(表 1)

Table 1. Extent of the Disease (NTA-Classification)

	Male	Female	Total cases
Minimal	21 (9)	12 (4)	33 (13)
Moderately advanced	41 (39)	28 (22)	69 (61)
Far advanced	57 (54)	29 (25)	86 (153)
Total	119 (102)	69 (51)	188 (153)

() Positive case.

c) 被検血漿：採血の前日から抗結核剤投与を中止し、当日朝食前 (午前 8 時) に INH 4 mg/kg を内服せしめ、4 時間後 (昼食前) および 6 時間後 (食後) に約 3 ml ずつ採血した。血液はヘパリン塗布スピッツグラスに移し、遠心沈澱により血漿を分離した。血漿は生理的食塩水で 2 倍に稀釈したもの、および 4 倍に稀

積したものを被検液として、上記測定法のとおり 1 ml ずつ重量した。

d) 付記：本法は INH 濃度が 1 γ/ml から 0.1 γ/ml の間の定量に都合よく考案されており、1.0 γ/ml 以上の定量には別の考案を要する。2)

内服 4 時間後の血漿中 INH 濃度は、1.0 γ/ml 以上の例も多かった。したがって、被検血漿（または血清）は、2 倍または 4 倍に稀釈して重量するのが適当であった。

e) 測定値：上記のとおり、被検血漿は、2 倍および 4 倍稀釈のものについて定量し、その平均値を用いた。

II 研究成績

1) 基礎的事項

a) 測定方法：今回の研究に用いた菌株は、INH 0.1 γ/ml ないし、1.0 γ/ml の定量に適した。（図 1）

すなわち、この間の INH 濃度による阻止帯の幅の差は十分明瞭に認められた。1.0 γ/ml 液重量では、集落は小さく、数も減少し、集落層の明瞭さは減少する。2.0 γ/ml 重量では、集落層の形成はみられなかった。測定にもつとも適した INH 濃度は、0.125 ~ 0.5 γ/ml であった。前述のように被検血漿を生理的食塩水で 2 倍および 4 倍に稀釈して INH 濃度を測定したが、4 倍稀釈血漿中 INH 濃度は、2 倍稀釈血漿中 INH 濃度のほぼ 1/2 の値を示し、とくに稀釈による INH の不活化を示唆する例は認められなかった。本法は、発育阻止物質を化学的に同定しているのではないから、本法によつて表現される発育阻止が INH によるものであることの傍証が必要である。被検血漿を 2 倍稀釈すれば阻止帯の幅が 1/2 になることは、阻止物質が単一であることを示唆する一要件である。

b) 測定値：INH 4 mg/kg 内服 4 時間後および 6 時間後の血中濃度は、それぞれ (4.0 ~ 0 γ/ml) (2.8 ~ 0 γ/ml) の間にあり、個人差が著しい。小川に従つて⁴⁾、6 時間値 0.2 γ/ml 未満を、Rapid inactivator, 0.2 ~ 0.8 γ/ml を Intermediate inactivator 0.8 γ/ml 以上を Slow inactivator と分類した。（以下それぞれ rapid, intermediate, slow と略称する。）

これらの 4 時間値の平均は rapid は 0.47 γ/ml , intermediate は 0.94 γ/ml , slow は 1.94 γ/ml であった。rapid で 4 時間値が 1.0 γ/ml 以上を示した例はなかった。これに対して slow では 4 時間値が 1.0 γ/ml 以下の例はなかった。

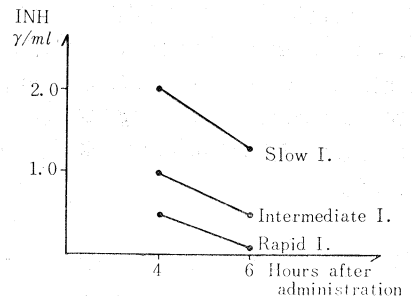
6 時間値は 4 時間値よりも、平均すると rapid で 0.46 γ/ml , intermediate で 0.50 γ/ml , slow で 0.70 γ/ml それぞれ減少していた。すなわち、4 時間値と 6 時間値の間の減少の勾配は、slow のほうが rapid よりもかえつて著しいけれども、これらの減少率（減少量/4

時間値）をみると、rapid 98%, intermediate 53%, slow 36% であり、slow に比し rapid は著しく大きくなっている。（表 2, 図 2）

Table 2. The Decrease in Average of Active INH in Plasma between 4 and 6 Hours after Administration

	Cases	A: 4 hour level	B: 4 hour level - 6 hour level	A/B (%)
Rapid I.	66	0.47	0.46	98%
Intermediate I.	92	0.94	0.50	53%
Slow I.	30	1.94	0.70	36%

Fig. 2. Decrease of INH-conc. in Plasma after Administration of INH (4 mg/kg)



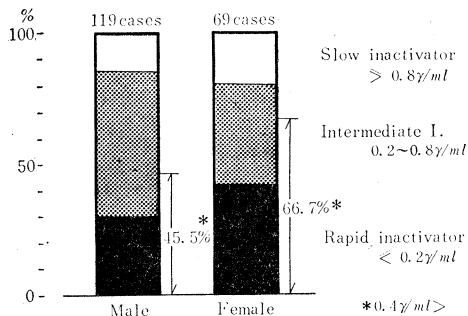
2) 臨床的事項

a) INH 代謝型の分布：INH 代謝型の分類法は数多くの人によつて提唱されているけれども、われわれは、かりに小川ら⁴⁾の分類によつて考察を試みた。188 例中 rapid は 66 例 (35.1%), intermediate は 92 例 (48.9%), slow は 30 例 (16.0%) であった。約半数は intermediate であり、rapid は約 1/3, slow は rapid の約半数ということが出来る。

b) INH 代謝型の性別分布（図 3）：女子では rapid が 43.5%, intermediate が 37.7%, slow が 18.8% であり、男子では rapid が 30.3%, intermediate が 55.5%, slow が 14.2% であった。女子には rapid が多く男子には intermediate が多い傾向がみられる。Middlebrook⁵⁾は INH 4 mg/kg 内服 6 時間後の血中濃度が 0.4 γ/ml 以下を rapid と分類した。この分類に従えば、女子では rapid が 66.7% で、男子では 45.5% となり、女子のほうが低い血中濃度を示す例が多い。

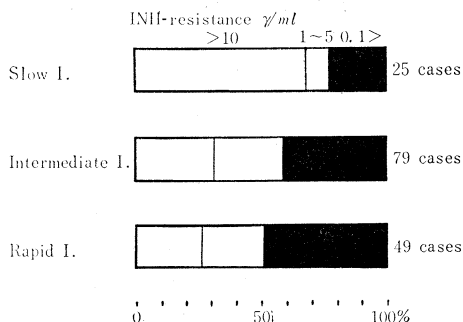
c) INH 代謝型と喀痰中結核菌の INH 耐性（図 4）：排菌者 153 例について INH 代謝型と喀痰中結核菌の INH 耐性ととの関係を考察した。耐性は、耐性検査用小川培地を用いる日常法により、過去 1 年間に得られた検査成績中、最高の不完全耐性値をもつて示し

Fig. 3. INH-concentration in Plasma 6 Hours after Administration of INH(4mg/kg)



た。slow 25 例中 INH 感性または耐性 0.1 γ 以下のもの 6 例 (24.0%)，耐性 1~5 γ のもの 2 例 (8.0%)，耐性 10 γ 以上のもの 17 例 (68.0%) であり，slow では菌が高度耐性を示した例が多い。これに対し，rapid では INH 感性または耐性 0.1 γ 以下のもの 49.0%，耐性 1~5 γ のもの 24.5%，耐性 10 γ 以上のもの 26.5% であり，rapid では菌が感性ないし低耐性を示す例が多い。intermediate では両者の中間の様相がみられた。

Fig. 4. Correlation between INH-conc. in Plasma and INH-resistance of Tubercle Bacilli



d) INH 代謝型と化学療法施行期間と INH 耐性 (表 3) : さらに INH 内服期間を考慮に入れて考察した。INH 単独内服例はなく全被検者は他の抗結核剤との 2 者または 3 者併用療法を受けている。少数例を除いて，INH 連日投与法を受けている。INH 内服期間は最低 3 カ月であり，1 年未満のものが 153 例中 40 例 (26.1%) である。3 年以上 INH 内服を続けているものが 54 例 (35.3%) である。重症例が多いので化学療法施行期間の長い例が多くなっている。表 3 の

Table 3. INH-concentration in Plasma, Duration of INH-therapy, and INH-resistance of Tubercle Bacilli

Duration of INH-therapy		Shorter than one year			1~2 years			2~3 years			Longer than three years		
		0.1>	1~5	10<	0.1>	1~5	10<	0.1>	1~5	10<	0.1>	1~5	10<
INH-conc.	Rapid I.	11	2	3	8	3	3	2	1	2	3	6	5
	Intermediate I.	12	3	6	4	5	8	5	4	2	11	10	9
	Slow I.	2	0	1	3	0	4	0	1	4	1	1	8

ように，INH 内服期間に比例して INH 耐性例が増加している。INH 内服期間が 1 年未満の例では INH 耐性出現に関して，rapid, intermediate, slow の 3 群の間に著しい相違はみられない。INH 内服期間が長くなると高度耐性例が増加するが，rapid および intermediate にはなお感性例も多い，slow では高度耐性例に比し感性例は著しく少ない。

総括および考察

1) INH 生物学的測定法について

従来，血清中 INH 濃度の生物学的測定法としては，Mandel⁶⁾，河盛⁷⁾ の INH による結核菌の抗酸性消失の程度によりその濃度を測定する方法，および小川⁸⁾，Schmiedel⁹⁾ の直立拡散法等が発表されている。前者

は判定までの所要日数が短い (3~5 日) 手技的熟練を必要とする。

これに対し直立拡散法の手技は前者に比してはるかに簡便であり，routine work として一般に用いられようとしている。しかしながら判定までに約 2 週間を必要とする不便さがある。われわれの方法も手技は簡便であり，通常 5~6 日で判定可能である。直立拡散法においては菌液の塗抹が均等になさなければならない。不均等な塗抹が行なわれた場合には阻止帯の境界線は凹凸を生じ，判定の困難な場合が起こることがある。混釈培養法においては各管均等な培養を得ることは容易である。しかし，本法においては次の諸条件に注意しなければならない。すなわち，Dubos 液体培地 10~21 日間培養の増殖著しい結核菌を用い菌量をほぼ一定にするこ

とであり、菌液は可及的速やかに寒天で固めて菌の凝集および沈降を避け、なるべく早く重畳培養しなければならない。また、試験管の太さ、高層の高さまたは培地の量に関しては厳密を要しない点は便利である。

2) INH 血中濃度の分布について

INH 血中濃度についてはすでに多くの報告があり、人種による差も認められている。エスキモーには rapid が著しく多く¹²⁾、日本人においては欧系人種に比し rapid が多いことも報告されている。^{4) 11) 18)}

われわれの測定成績によれば、INH 4 mg/kg 内服 6 時間後における活性 INH 濃度が 0.4 γ/ml 未満の例が 53% を占め、0.8 γ/ml 以上は 16% にすぎない。

すなわち、Middlebrook らの白人についての測定成績に比し rapid が多く slow が少ない、そして砂原らの成績¹⁷⁾と近似している。

男女による差異については、貝田ら¹³⁾が女子に rapid が多いことを指摘したが、また男女の差異を認めない報告もあり^{4) 7)}、われわれの成績によれば女子には rapid が多く、男子には intermediate が多い傾向がみられた。

付記：測定方法の相違による測定値の相違は考慮にいれられなければならない。本法と他の方法による異同の詳細は検討されてないが、本法による測定値の分布は他法によるそれと著しい差異がないと思惟されるので比較を試みた次第である。

3) 結核菌の INH 耐性と INH 血中濃度について

INH 耐性と血中濃度および INH 投与期間との関係をみると、slow では INH 投与期間が長くなると結核菌が高度耐性を示す例が著明に増加するが、rapid ではなお感性例もみられる。これは切除肺病巣内結核菌の耐性と血中濃度に関する Canetti¹⁵⁾の報告や、吉田¹⁴⁾の報告でも認められている。INH と PAS, SI, PZA との併用は INH の血中濃度を上昇せしめるが^{5) 7) 13) 16)}、個々の症例により異なり一定していない。五味ら¹⁶⁾は PZA との併用が INH のアセチル化阻止にもつとも優れていることを認めているが、伊藤¹⁰⁾は各種抱合体の尿中排泄率は併用療法を行なった場合にも変わらないと報告している。われわれの例においても、slow で INH を 1 年以上使用した例では高耐性になった例が多く、rapid では少なく、とくに他剤による影響は認められないようである。INH の耐性獲得については、INH の投与方法、併用剤の使用法により異なるが、INH の血中濃度との関係も無視できないものと考えらる。

結 論

結核菌の Kirchner 寒天高層混懸培養法により、肺結核患者 188 例について INH 血中濃度を測定し次の結論を得た。

- 1) Slow inactivator 16.0%, Intermediate inactivator 48.9%, Rapid inactivator 35.1%.
- 2) 男女間では女子のほうが低い血中濃度を示す例が多い。
- 3) Slow inactivator 群においては、菌が高度耐性を示す例が多い。
- 4) Rapid inactivator 群においては、菌が感性ないし低耐性を示す例が多い。
- 5) Slow inactivator 群は化学療法期間が 1 年以上になると感性例に比し高度耐性例が著しく多い。

稿を終るのにぞみ御指導、御鞭撻を頂いた加納保之教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 宇都宮利善 他：衛生検査，8：25，昭34.
- 2) 宇都宮利善 他：結核，35：173，昭35.
- 3) 岡本亨吉 他：結核，35：543，昭35.
- 4) 小川政敏 他：第34，35回結核病学会総会.
- 5) G. Middlebrook & 宮本昭正：日結，17：451，昭33.
- 6) Mandel, W. et al. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91：409，1956.
- 7) 河盛勇造 他：結進，24：51，昭34.
- 8) 小川政敏：日結，16：417，昭32.
- 9) Schmiedel, A : Zeitschr. f. Tbk., 112：48，1958.
- 10) 伊藤文雄：結進，24：104，昭34.
- 11) H. Wm. Happs et al. : Am. Rev. Tuberc., 78：944，1958.
- 12) A. Riley, Armstrong. : Am. Rev. Resp. Dis., 81：498，1960.
- 13) 貝田勝美 他：第33回結核病学会シンポジウム.
- 14) 吉田精一 他：第34回結核病学会シンポジウム.
- 15) G. Canetti et al. : Rev. de la tuberc., 22：778，1958.
- 16) 五味二郎 他：結進，24：94，昭34.
- 17) 砂原茂一 他：第36回結核病学会シンポジウム.
- 18) W. C. Morce et al. : 第33回結核病学会シンポジウム.

A Study on the Distribution of the Plasma Concentration of Active INH in Pulmonary Tuberculous Patients.

We have found that tubercle bacilli do not grow homogenously in the whole tube of Kirchner's medium containing 0.25% agar, but in general, growth occurs only at the top layer of the tube to form a disc of colonies. When the culture was carried out in oxygen environment or when the culture was maintained with INH solution on the top of the medium, the disc of colonies submerged below the surface. the distances between the surface of the medium and the submerged disc varied in relation to the concentration of INH solution which was placed on the top of the medium, furthermore in relation to the grade of INH-resistance of the tubercle bacilli. Measuring the distances which appear in tubes of medium with INH containing plasma on the top of the medium, and comparing with the control, one may titrate the INH concentration in the plasma.

We measured the plasma concentration of active INH after administration of INH in 188 cases of pulmonary tuberculosis by the following method: 4 mg per kg of INH was orally given at 8:00 a. m., and blood sample was taken at 12:00 a. m. and 2:00 p. m..

The tube containing 0.25% agar Kirchner's medium, homogenously inoculated with 0.5% of Dubos' liquid medium in which INH-susceptible strains of the tubercle bacilli were cultured for 2~3 weeks at 37.0°C, was used. As the tubercle bacilli grow into a visible colony usually in 5~6 days in the Kirchner's medium, the titration may be conducted at this period.

It has been known that the plasma level of active INH after administration of INH varies from case to case. All the cases were classified into three groups, rapid inactivators, intermediate inactivators, and slow inactivators.

Rapid inactivator: The case whose concentration of active INH was less than 0.2 γ per ml at 6 hour after administration of INH 4 mg per kg.

Intermediate inactivator: The case whose concentration of active INH ranged from 0.2~0.8 γ per ml.

Slow inactivator: The case whose concentration of active INH was over than 0.8 γ per ml.

Results obtained are as follows:

1) In each investigated case, the 6-hour level of active INH was lower than the 4-hour level.

2) The 6-hour levels of active INH of the all cases showed a trimodal curve. 16.0% of all cases were slow inactivators, 48.9% were intermediate inactivators, and 35.1% were rapid inactivators.

3) The plasma levels of active INH in female cases were generally lower than those in male cases.

4) It was found that the group of slow inactivators often had highly INH-resistant tubercle bacilli.

5) It was found that the group of rapid inactivators often had INH-sensitive or INH-lowerly resistant tubercle bacilli.

6) The rate of highly INH-resistant tubercle bacilli became definitely higher in the cases treated by INH for more than one year in the group of slow inactivators.