

INH 代謝型と尿中 INH 代謝物排泄ならびに Sulfa 剤代謝との関係

向山弘茂*・砂原茂一**
小川政敏**・川井和夫**

* 長野県岡谷塩嶺病院

** 国立療養所東京病院

受付 昭和 37 年 9 月 1 日

はじめに

1952 年 INH が登場してより、幾多の研究を経て現在の結核治療において INH の占める位置はいよいよ高く、現状では INH を含む 2 剤ないし 3 剤の併用が結核治療の主役を演じている。しかしなおいかに適正なる治療を各個人に行なうかということに関しては未解決の問題が残っている。

INH の代謝の問題においても、かずかずの研究にもかかわらず不明の点もまた多い。INH の血中ならびに尿中濃度に関しては Kelly & Poet¹⁾, Peukert²⁾ による p-dimethyl amino benzaldehyde を用いる法、Rubin et al³⁾ による cyanogen bromide を用いる法、掛見他⁴⁾、堂野前他⁵⁾ および Schort⁶⁾ による β -naphthoquinone sulfonate を用いる法、Scott⁷⁾ による 1-chloro-2,4, dinitrobenzene を用いる法等多数あるが、これらの測定値の間にはかなりの開きがあつた。Morse⁸⁾ は生物学的方法で INH を測定しこれが化学的測定値との間に開きのあるのは後者において free-INH 以外の不活性代謝産物をも含むことがその原因であると認めた。伊藤⁹⁾ も azotometry にて尿中 free-INH および代謝産物を測定して詳細な報告をし、上記化学的定量法による測定値との間に著明な差があるのは free-INH を主として測定するものと、結合型を含め測定しているものがあるためであることを示唆した。今泉¹⁰⁾ は Scott の方法により INH 代謝 pattern に関する報告をした。また吉田¹¹⁾ はわれわれの病院の小川¹²⁾ の発表した直立拡散培地を用いて、INH 血中濃度を測定し血中濃度を支配する種々の条件について観察した。

われわれは直立拡散法による INH 血中濃度をすでに測定した結核患者について INH 血中濃度と尿中排泄量

との関係、INH 代謝 pattern と Sulfisoxazole の代謝 pattern との関連性等について研究し 2~3 の知見を得たのでここに報告する。

実験方法

被験者：当所入所中の軽症、中等症、重症を含む肺結核患者について直立拡散法により血中 INH 濃度を測定したのち本実験を行なつた。

方法：INH 4 mg/kg 投与時尿中排泄量に関しては 42 例について、INH 16 mg/kg 投与時に関しては 10 例について尿中および血中 INH 量を測定した。free-INH (以下 F 型) および isonicotinyldiazide (以下 H 型) の測定は Short 法⁶⁾ の Hughes による修飾法¹³⁾、total-INH (以下 T 型) は田山¹⁴⁾ による Kelly, Poets 法¹⁾ の変法により測定し前者との差を acetyl-INH (以下 A 型) とした。Sulfisoxazole (以下 SIX) 測定は Bratton-Marshall の法¹⁵⁾ によつた。また INH 不活性型別による分類—rapid inactivator (以下 R 群), intermediate inactivator (以下 I 群) および slow inactivator (以下 S 群) は INH 4 mg/kg 投与後 6 時間の血中濃度それぞれ R 群 $< 0.2 \text{ r/ml}$, I 群 $0.2 \leq < 0.8 \text{ r/ml}$, S 群 $\geq 0.8 \text{ r/ml}$ とした。SIX は 76 例について 1.0 g 経口投与後 3, 6, 9 時間の血中濃度を測定した。

実験成績

1) INH 代謝型別の尿中排泄 INH

F 型 (図 1), H 型 (図 2) の排泄については R 群と I 群は相似て低く S 群は高く A 型排泄 (図 3) については逆である。平均値の時間的経過 (図 4 および表 1) をみてもこの傾向は明らかである。6 時間の排泄量を百分率で表わす (図 5, 表 2) と R, I, S の順序に F 型

Table 1. Cumulative Urinary Excretion of INH and Its Metabolites Classified by Patterns of INH Inactivation (mg)

Patterns of INH		R (means of 16 cases)			I (means of 20 cases)			S (means of 6 cases)		
Hours	Urine	F mg/ml	F+H mg/ml	T mg/ml	F mg/ml	F+H mg/ml	T mg/ml	F mg/ml	F+H mg/ml	T mg/ml
2		6.5	9.1	48.6	6.7	9.3	32.8	8.7	13.0	34.5
4		9.7	13.8	95.1	10.3	14.8	82.9	15.0	22.8	71.1
6		11.2	16.2	128.2	11.8	17.8	114.2	18.8	28.3	102.6
24		13.4	21.1	223.3	13.8	21.1	198.4	20.5	32.5	214.0

R : Rapid inactivator, I : Intermediate inactivator, S : Slow inactivator, F : Free INH, H : Hydrazone A : Acetyl INH T : Total INH

Table 2. Percentage of INH and Its Metabolite in Urine

Hours	Pattern	R				I				S			
		F	H	A	T	F	H	A	T	F	H	A	T
2		13.4	5.2	81.4	100.0	20.4	8.0	71.6	100.0	25.0	12.7	62.3	100.0
4		10.2	4.3	85.6	100.0	12.4	5.4	82.2	100.0	21.0	11.9	67.9	100.0
6		8.7	4.0	87.3	100.0	10.3	5.2	84.5	100.0	18.3	9.5	72.3	100.0
24		6.0	3.4	90.6	100.0	6.9	3.7	89.5	100.0	12.2	5.7	82.0	100.0

Fig. 1. Free INH in Urine after Dose of 4 mg/kg of INH

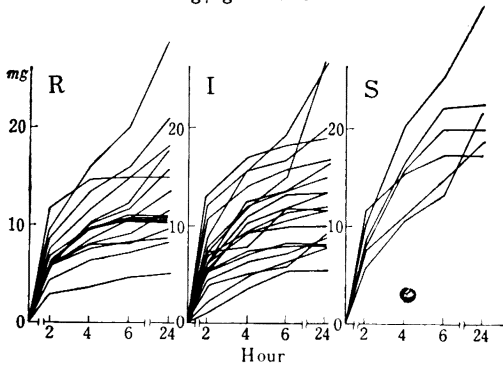


Fig. 2. Hydrazone in Urine after Dose of 4 mg/kg of INH

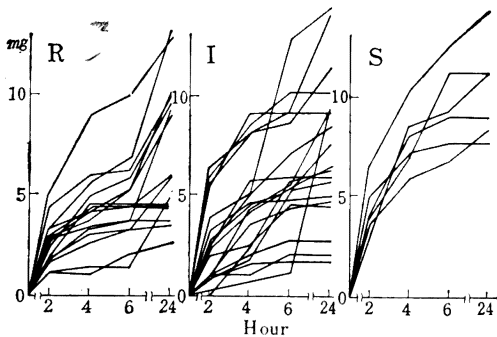


Fig. 3. Acetyl INH in Urine after Dose of 4 mg/kg of INH

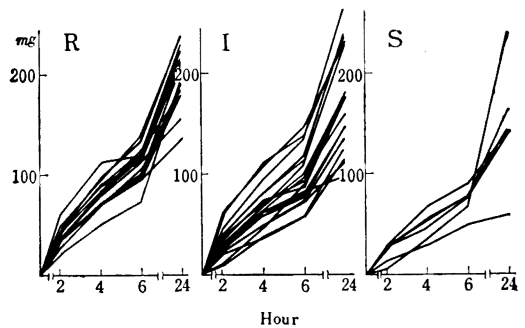
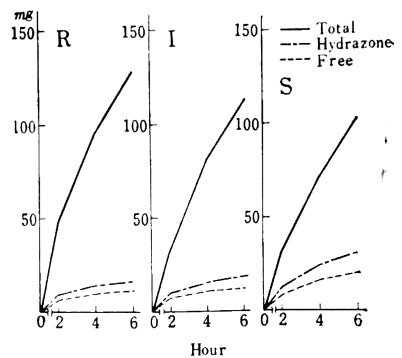


Fig. 4. Excretion of INH and Its Metabolites in Urine (mean value)



が増し A 型が減っているが、注目すべきはH型がこの順序に増していることである。Acetyl 化能の不足で hydrazone 形成でおぎなっているようにみえる。

2) 血中濃度と尿中排泄との相関
生物学的測定による血中濃度 6 時間値と尿中 6 および

24 時間 F 型排泄量を比較すると (図 6) 明らかな相関が見出され、また尿中全排泄量に対する A 型の比 (A/T)

Fig. 5. Percentage of INH and Its Metabolites in Urine, 6 Hours after Dose of 4 mg/kg of INH

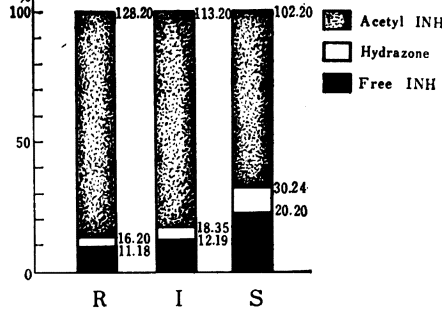
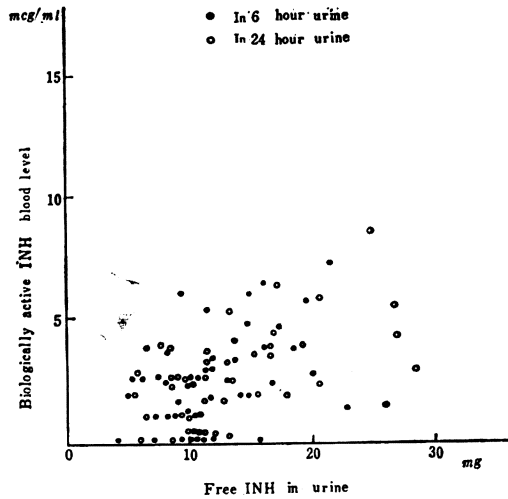


Fig. 6. Relationship between Biologically Active Blood Level and Free INH in Urine



は逆相関する (図7)。血中濃度で分類した代謝型別の尿中F型百分率を算出すると6時間尿ではR型 (27例平均) 9.08, I型 (23例平均) 10.92, S型 (6例平均) 18.56%, 24時間尿の場合はそれぞれ 6.10, 7.64 および13.43%で期待どおりの傾向を認めることができた (表3)。しかし尿中遊離 INH 排泄量からの分類は血中濃度による分類と完全に一致せず, 相当なズレが認められるから尿分析をもって血中濃度測定を代用することは困難なようである。

3) INH 投与量増加の影響

R型の血中濃度を増加し, 治療効果を増進しようとする企てがしばしば行なわれている。確かに INH 量を2倍にし, 4倍にすると血中活性濃度は上昇し, ことにR型の6時間

Fig. 7. Relationship between biologically Active INH in Blood and A/T of Urine

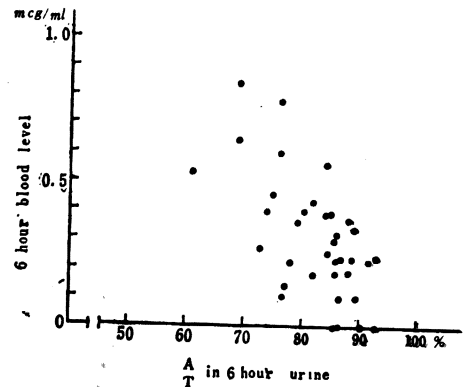


Table 3. Relationship Between the Biologically Active INH Blood Level and Free INH in Urine (Number of cases)

Patterns of blood levels		R	I	S
Free INH in 6 hour urine mg/ml	<10	17	8	0
	<15	14	9	2
	>15	6	6	4
Free INH of Total INH 6 hour urine (%) (average)		9.08	10.92	18.56

値においてこの傾向が著しい (図8)。しかし Armstrong の成績と対比すると日本人の場合の増量効果はエスキモーよりも大きい白人に比し小さい (図9)。尿中のF型の排泄量も当然増加するが百分率で表わすとほとんど動かず, むしろA型の減少, H型の相対的増加が目立つ (図10)。大量の INH をアセチル化によって処理しがた

Fig. 8. Effect of Increased Doses on Blood Levels

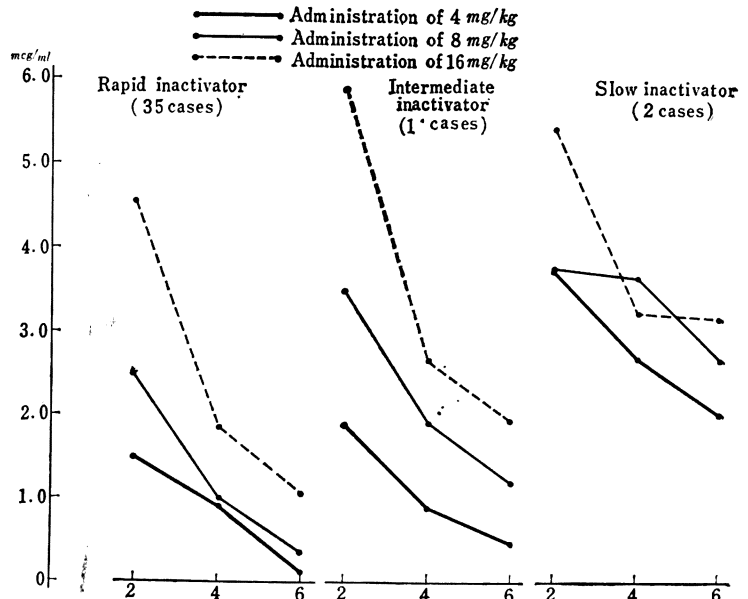
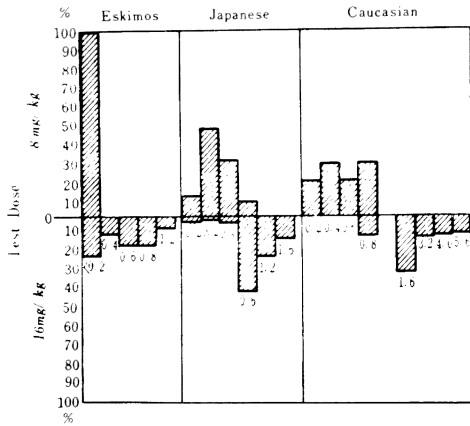


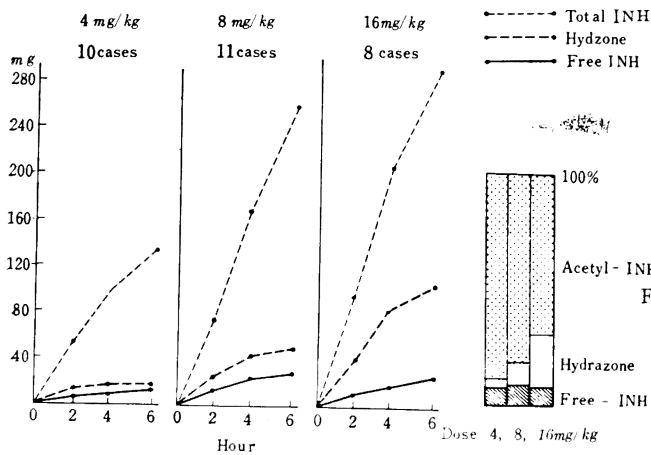
Fig. 9. Racial Difference in Effect of Increased Doses of INH on Blood Levels of Rapid Inactivators



For instance, 0.4 means the concentrations less than 0.4 mg/ml of the biologically active INH in blood plasma 6 hour after the dose of INH.

くなつた生体がH型生成によつてこれを代償しているように見える。

Fig. 10 Effect of Increased Doses of INH on Excretion of Free INH and Its Derivatives in Rapid Inactivators' Urine



4) INH 血中濃度と Sulfa 剤血中濃度

76 例の肺結核患者に Sulfisoxazole (SIX) 1.0g を経口投与し血中遊離型 SIX (SF) および全 SIX (ST) を測定した。アセチル化能を表わすため SA/ST (ST に対する acetyl 型の百分率) を用いることにする (表 4)。SA/ST の時間的経過をみると 6 時間以後に上昇しているから SIX の場合はアセチル化の進行がおそいことが分かる (図 11)。INH 代謝型別に SF の時間的推移をみる (図 12) と INH 代謝の R, I, S の順位に応じた順位がほぼ推測されるがこれを平均値で表わすと傾向が一層明らかである (図 13, 表 5)。また INH の 4 時間値と SIX の 9 時間値の間にはいくらかの相関関係が認めら

れる (図 14) が INH 2 時間値と SIX 3~4 時間値の間には認められなかつた (図略)。

Table 4. Free and Total Sulfisoxazole (SIX) in Bloodplasma and Ratio of Acetyl-Sulfisoxazole to Total Drug (Mean of 76 subjects)

Hours	SIX	F mcg/ml	T mcg/ml	A/T
3		78.0	92.4	15.6
6		76.7	92.5	17.0
9		57.4	76.2	24.6

F : free SIX, T : total SIX, A : acetyl SIX

Fig. 11 SA/ST in Blood after Dose of 1g of SIX

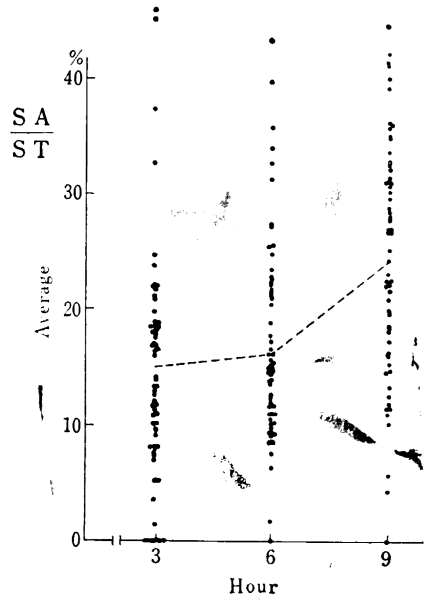


Fig. 12 Free SIX in Blood in Rapid, Intermediate and Slow Inactivators of INH

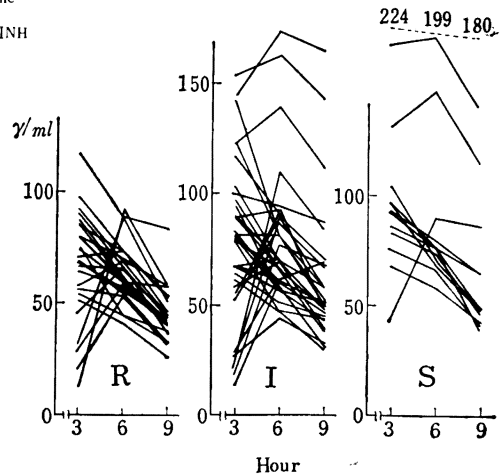


Fig. 13 Total and Free SIX in Rapid, Intermediate and Slow Inactivators of INH

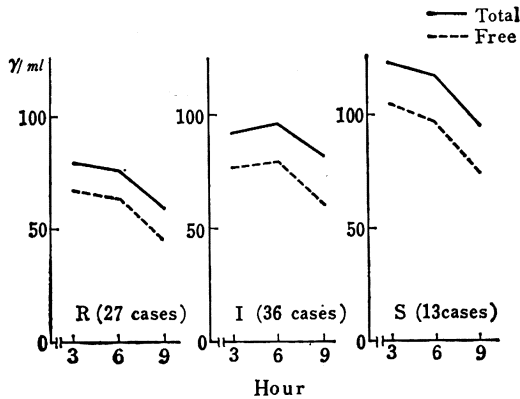
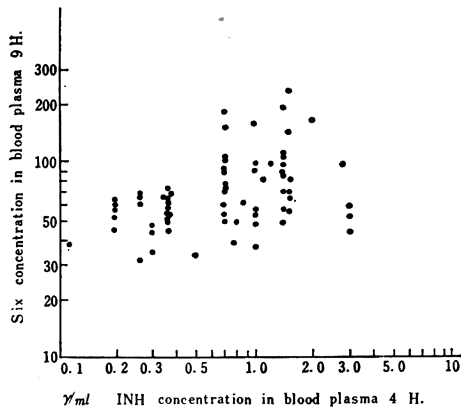


Fig. 14 Relationship between Free SIX Blood Level (9Hours) and Biologically Active INH Level (4Hours)



考 案

INH 活性型別にみると尿中F型INH量はR群とI群は近く、S群はこれらよりはるかに高い。すなわち血中6時間の活性INH濃度は尿中F型INH排泄量に相関する。尿中INH排泄量については著者と同じくHughes¹⁸⁾の方法を用いたPeters¹⁶⁾をはじめとし、松崎¹⁷⁾、伊藤ら⁹⁾(azotometryを用いる)、山口¹⁸⁾、堂野前⁵⁾、五味¹⁹⁾等の報告があるが血中濃度と尿中各分画との相違を直接比較したものは少ない。われわれの成績ではF型排泄量が多ければ多いほどA型排泄量およびA/T比が

減少し、H型は増加しておりS群のようにacetyl化能の不十分な場合はH型増加により代償されているとも考えられる。このことはINH 4mg/kg投与と16mg/kg投与後の比較成績でも明らかに認められる傾向であつてR、I、Sの各群を通じ大量投与によりF型排泄の絶対量は増すが百分率はかわらず、A型の%は却つて減少し、逆にH型が増している。Peters¹⁶⁾もINH増量してもF型の比率が増さないことを述べている。

なお尿中INH代謝物の割合からみたacetyl化能は血中活性INH6時間値とが明らかに逆相関するけれども、たとえばR群(血中濃度に基づいて分類された)の全例の尿中F型INH量が必ずしもI型より少なく、A/T比が大きいはかぎらないから、たとえば遺伝学的研究の目的で個体を分類する場合に血中濃度にかうるに測定しやすい尿中排泄物をもつてするというわけにはいきがたいように思われる。

血中SIX濃度をINH代謝型別に分けてみると比較的良好に相関することが見出された。Williams²⁰⁾やLipmann²¹⁾²²⁾によりsulfa剤を中心とするacetyl化能の研究が積み重ねられて以来この方面にはおびたしい報告がある^{23)~27)}。またJohnson²⁸⁾²⁹⁾によつてハト肝組織によるINH AcetylationがSulfanilamideやPASによつて拮抗的に抑えられることも報告された。Bell³⁰⁾、Morse³¹⁾、今泉¹⁰⁾、吉用¹¹⁾の人体における研究も全面的あるいは部分的にこの関係を認めている。しかし同一人についてINH代謝型とSIX代謝の関連を調べたものはあまりない。今泉¹⁰⁾はSIXはINHに比べacetyl化が少なくと報告したが今回の成績でもSIXのacetyl化はINHのものは1/3~1/4でかつ時間的にズレている。SIXはSulfa剤中acetyl化されにくい種類の化合物だからであろう。したがつて他のSulfa剤を用いて改めて同じような実験を行なう必要があるように思われる。しかし、いずれにしろSulfa剤のacetyl化はある程度INHの代謝型に平行することが見出されたが第2報で報告するようにPABAやPASについては相関が認められなかつたのである。

Bönicke³²⁾や吉田ら³³⁾の双生児研究でも明らかのようにINH代謝型は遺伝形質でありわれわれの見出した遺伝法則に従うものである。^{34)~36)}つまり個体ごとに異なりしかも一個体ではほとんど動くことがないのである。

Table 5. Sulfisoxazole and Its Metabolites in Blood Plasma Classified by Patterns of INH Inactivation

Hours	Patterns of INH			R (Mean of 27 subjects)			I (Mean of 36 subjects)			S (mean of 13 subjects)		
	Metabolites of SIX			F mcg/ml	T mcg/ml	A/T	F mcg/ml	T mcg/ml	A/T	F mcg/ml	T mcg/ml	A/T
3				67.3	79.2	15.1	76.3	91.6	16.8	104.8	122.5	14.5
6				63.8	75.8	15.8	79.3	96.0	17.4	96.5	117.4	17.8
9				44.7	57.0	24.2	60.9	82.1	25.8	74.1	95.5	22.4

Williams³⁷⁾ のいわゆる biochemical individuality の一典型とみなすことができる。どのような原因によつてこのような遺伝形質の選択が行なわれたかは今後の研究にまたなくてはならないことだが、INH だけがこのような特異な個性性を示すとは考えにくいので acetylation 一般についての考察をすすめなくてはなるまいと思われる。本研究はその手はじめとして企てられたものである。

総 括

私たちは国立東京療養所入所患者について INH の生物学的活性濃度、Sulfisoxazole の血中濃度、INH 代謝物の尿中排泄などを測定して次の成績を得た。

① 尿中遊離 INH 排泄量は血中濃度によつて分類した代謝型 R 群 (迅速型), I 群 (中間型), および S 群 (遅延型) の順に高い。全排泄量に対する acetyl 型の割合 (A/T) は逆の順序である。

② 血中活性濃度は尿中遊離 INH 量とほぼ直線的に相関し、A/T とは逆相関する。

③ S 群では acetyl 化が少ない代りに hydrazone 型の排泄が多く、また INH 投与量を 4 倍に増加した場合も尿中遊離 INH の百分率はほとんど変わらず、acetyl INH のそれは減少し hydrazone 型のそれは増加する。hydrozone 型は acetyl 化能の不足を代償しているようにみえる。

④ Sulfisoxazole 経口投与後の血中遊離 Sulfisoxazole 濃度は INH 代謝型の R 群, I 群, S 群の順に高くなっている。また INH 6 時間血中濃度と Sulfisoxazole 9 時間血中濃度との間に一応の相関を認める。

付記：本報告の内容の一部は砂原によつて第 36 回日本結核病学会 (1961) および第 16 回国際結核学会 (Toronto 1961) において発表された。なお今泉真澄、沼田至、吉田清一、横田英夫、その他の諸氏の援助と研究室助手諸氏の協力を謝す。

文 献

- 1) Kelly, J. M. & Poet, R. B.: Am. Rev. Tbc., 65: 484, 1952.
- 2) Peukert, D.: Arzneim. Forsch., 7: 304, 1957.
- 3) Rubin, S. H. et al.: Dis. of Chest., 21: 439, 1952.
- 4) 掛見他: 診断と治療, 40: 755, 1952.
- 5) 堂野前他: 最新医学, 7: 955, 1952.
- 6) Short, E. I. S.: Lancet, No. 6813: 656, 1954.
- 7) Scott, P. G. W.: J. Pharm. & Pharmacol., 4: 681, 1952.
- 8) Morse, W. C. et al.: Tr. of 15th Veterans Administration Armed Forces Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis, 283, 1956.
- 9) 伊藤他: 最新医学, 12: 1434, 1957.
- 10) 今泉: 呼吸器診療, 12: 409, 1957.
- 11) 吉田他: 最新医学, 15: 1, 1960.
- 12) 小川 (政): 日本臨床結核, 16: 417, 1957.
- 13) Hughes, M. B.: Tr. 15th Conf. Chemotherapy of Tuberculosis, 574, 1956.
- 14) 田山他, 抗酸菌病研究雑誌, 11: 30, 1953.
- 15) Bratton, C. A. and Marshall, E. K.: J. Biol. Chem., 128: 537, 1939.
- 16) Peters, J. H.: Tr. of 18th Veterans Administration Armed Forces Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis, 37, 1959.
- 17) 松崎他: 結核, 36: 43, 1961.
- 18) 山口: 日薬理誌, 51: 631, 1955.
- 19) 五味: a) 最新医学, 12: 1149, 1957.
b) 結核第32回結核病学会学会号, 1957.
- 20) Williams, R. T. et al.: J. Am. Chem. Soc., 55: 2912, 1933.
- 21) Lipmann, F.: J. Biol. Chem., 160: 173, 1945.
- 22) Lipmann, F.: J. Biol. Chem., 196: 89, 1952.
- 23) Winkle, W. V. et al.: J. Pharm., 69: 40, 1940.
- 24) Garrott, J. et al.: Surgery., 5: 232, 1939.
- 25) Gershberg, B. et al.: J. Clin. Inv., 29: 1625, 1950.
- 26) Klein, J. C. et al.: J. B. C., 124: 613, 1938.
- 27) Goto, Y.: New. Engl. J. of Med., 261: 440, 1959.
- 28) Johnson, W. J.: Nature, 174: 744, 1954.
- 29) Johnson, W. J. et al.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 92: 446, 1956.
- 30) Bell, J. C. et al.: Am. Rev. Tuberc., 76: 152, 1957.
- 31) Morse, W. C.: 結核, 33巻増刊号: 258, 1958.
- 32) Bönicke, R. & Lisboa, B. P.: Nature, 44: 314, 1957.
- 33) 沖中, 吉田, 三上, 吉良: 結核, 36: 27, 1961.
- 34) 砂原: 結核, 36: 521, 1961.
- 35) Sunahara, S., Urano, M. & Ogawa, M.: Science, 134: 1530, 1961.
- 36) Sunahara, S.: Bulletin of International Union Against Tuberculosis, 32: 513, 1962.
- 37) Williams, R. J.: Biochemical Individuality, New York, 1956.

Urinary Excretion of Metabolites of INH and Inactivation of Sulfonamide in Rapid, Intermediate and Slow Inactivators of INH

1. The biologically active plasma levels of INH after the oral administration of 4 mg/kg of INH were determined by means of the Vertical Diffusion method, and classified on the following criteria :

6 hour level

Rapid Inactivator (R):

Equal to or less than 0.15 mcg/ml

Intermediate Inactivator (I):

Between 0.15 and 0.8 mcg/ml

Slow Inactivator (S):

Equal to or more than 0.8 mcg/ml

2. The amount of free isoniazid excreted in urine measured by the Hughe's Method increases in the order of R, I and S. (Table 1 & 2, and Fig. 1, 2, 3 & 4) If we express three groups of metabolites excreted in 6 hour urine in percentage, the amounts of free INH and hydrazone are the largest in slow inactivators, showing that slow inactivators can not acetylate INH to the full extent and are obliged to compensate the insufficient acetylation by the increased formation of hydrazone. (Fig. 5)

3. The simultaneous determination of the biologically active INH in blood plasma and the free INH in urine reveals that there is a direct but not very close correlation between them. (Table 3, and Fig.

6 & 7) The average values of the percentages of the free INH in 6 hour urine for rapid, intermediate and slow inactivators are 9.08, 10.92 and 18.56 respectively. But it does not seem possible to have the same classification of rapid, intermediate and slow inactivators on the basis of urine analysis as on the 6 hour blood level.

4. The influence of the increased doses of INH upon the biologically active INH blood levels in rapid inactivators in the case of Japanese is less remarkable than in the Caucasians, but more marked than in the Esquimos. (Fig. 8 & 9) If the test doses are raised, both free and acetyl INH in urine increase to some extent, but the increase of hydrazone is the most remarkable, and if we express the relative amount of respective metabolites in percentage, free INH remains almost unchanged, acetyl INH decreases and hydrazone increases markedly. (Fig. 10) Hydrazone seems to play a role of buffer also under these circumstances.

5. The relationship between the concentration of the free sulfonamide in blood plasma 9 hours after the oral dose of 1 g of sulfisoxazole measured by means of Bratton-Marshall's technique and the biologically active blood level of INH 4 hours after the administration of INH is demonstrated to a certain extent. (Table 3 & 4, and Fig. 11, 12, 13 & 14)