

肺結核治療における PAS, INH と合成蛋白 同化ステロイド併用の意義

山 本 博 治

和歌山県立医科大学第一内科学教室 (指導 溝口輝彦 教授)

受付昭和 40 年 2 月 27 日

CLINICAL AND EXPERIMENTAL STUDIES ON THE TREATMENT OF PULMONARY TUBERCULOSIS WITH SYNTHETIC ANABOLIC STEROID (HMD) COMBINEDLY USED WITH PAS AND INH*

Hiroharu YAMAMOTO

(Received for publication February 27, 1950)

Clinical effects of synthetic protein anabolic steroid (HMD) upon advanced cases of pulmonary tuberculosis positive of resistant acid fast bacilli were studied from the pharmacological aspect.

1) 15 cases of advanced pulmonary tuberculosis with positive resistant strain of acid fast bacilli but without complication were continued of the basic medication with PAS and INH, and in addition, they were administered with 15 mg/day of HMD for more than a year for the purpose of studying its effect on body weight, sedimentation rate of erythrocyte, liver function, findings of the blood, pulmonary lesions and bacteriological findings.

2) In the humans administered with HMD, acetylating capacity for sulfa preparation, and NEFA (nonesterified fatty acid) of the serum obtained while fasting were measured.

3) In the healthy rabbit administered with HMD, the decrease of blood sugar by the administration of BZ 55 and the effect of HMD on the acetylation capacity of BZ 55 were examined. Also NEFA uptake of the heart muscle in vitro was estimated from its change in the medium.

4) Normal male rats or those treated with HMD, thyroxine or estradiol were investigated of the isocitrate dehydrogenase activity of the 40% ammonium sulfate fraction of liver homogenate with the addition of DPN, TPN or TPN plus DPN. The estimation was made from the increase of the absorption spectrum at 340 m μ .

Results

1) No roentgenological and bacteriological aggravation (according to the "Gakken" classification of pulmonary tuberculosis) was observed. Gain in body weight and improvement in sedimentation rate were seen in some cases.

2) The number of red blood cells tended to increase but hemoglobin was not changed.

3) BSP showed a transient retention but returned to the normal state in the course of the observation.

4) Acetylation capacity for sulfa preparation was decreased.

5) NEFA in the serum obtained while fasting was decreased.

6) NEFA uptake of the heart muscle of rabbit was accelerated.

7) As to the liver isocitrate dehydrogenase, DPN specific ICDH activity showed a tendency

* From Ist Clinic, Department of Medicine, Wakayama Medical College, 1 Banchi, 7 Bancho, Wakayama City, Japan.

of elevation by treating with thyroxine, but no apparent difference of activity from the control was seen by treating with estradiol. By the treatment with HMD, both TPN specific ICDH activity and DPN specific ICDH activity were observed to decrease, and also there was seen some effect on the transdehydrogenase activity.

Conclusion

The combined use of HMD has its significance both in suppressing the acetylation and in keeping PAS and INH longer in effective form in the body possibly resulting in better anti-bacterial action.

The suppressive effect of the acetylating capacity of the drug does not seem to be caused by liver disturbance but by the changes in the matabolic patterns related to the enzymatic activities of the liver.

緒 言

1935年 Kochakian および Murlin¹⁾は、男子尿中から取り出した男尿エキスを去勢犬に注射して、尿窒素排泄が減少することを認め、さらに1944年には Kenyon²⁾らは人間を対象として実験をすすめ、去勢した男に Testosteroneあるいは methyl testosteroneを投与して、犬の場合と同様、窒素の蓄積と体重の増加をみている。そのほか、体重の増加に関しては多くの報告^{3),4),5),6)}があり、窒素の Positive balance からただちに Testosterone には蛋白同化作用があると考えた学者も多い。このような考えから、Testosterone, Testosterone Propionateのごとき男性ホルモンを治療に用いる試みが多く行なわれたが、とくに小児や女子に投与した場合、その男性化作用が妨害になつて蛋白同化という目的を達することができなかつた。そこでかかる性作用と蛋白同化作用を分離する目的で多くの Steroid の合成が行なわれた結果、この目的にいくぶんかでも近いすなわち性作用の少ない、しかも蛋白同化作用の強力な Steroid がぞくぞく発見され、臨床的に使用されるようになった。

感染症において治療の主要な武器となるものは、抗生物質をはじめとする一連の抗菌剤であることはいうまでもないが、感染症を成立させる host-parasite relationship から考えるならば、parasite に対する抗生物質の意義と同様に host 側の因子も当然重視されなければならない。ここにおいて生体の条件を整え、抵抗力を高め抗菌剤の作用を有効に発揮させるような場を生体内にもたらすことを目的として、Anabolic Steroid の応用が考えら

れてよいわけである。ここに著者は、難治型耐性菌排出重症肺結核患者の治療にさいして、合成蛋白同化ステロイドの持つ臨床的意義、ならびにその Mechanism を本剤の薬理作用より究明せんとした。

第1章 臨床成績よりみた HMD の PAS, INH との併用療法

著者はまず難治型耐性菌排出重症肺結核患者の治療にさいして合成蛋白同化ステロイドの抗結核剤との併用による臨床的意義を検討した。

1. 実験対象および方法

入院中のいわゆる難治型肺結核患者であり、数年来抗結核剤に抵抗を示し、病状はほとんど変化せず、排菌、菌の耐性も増加こそはすれ、まったく改善傾向のみられなかつた例を選んだ。なお肝障害、腎障害、糖尿病等の合併症を有するものを除外した。男性9例、女性6例、計15例であり、年齢は最低37才から最高73才にわ

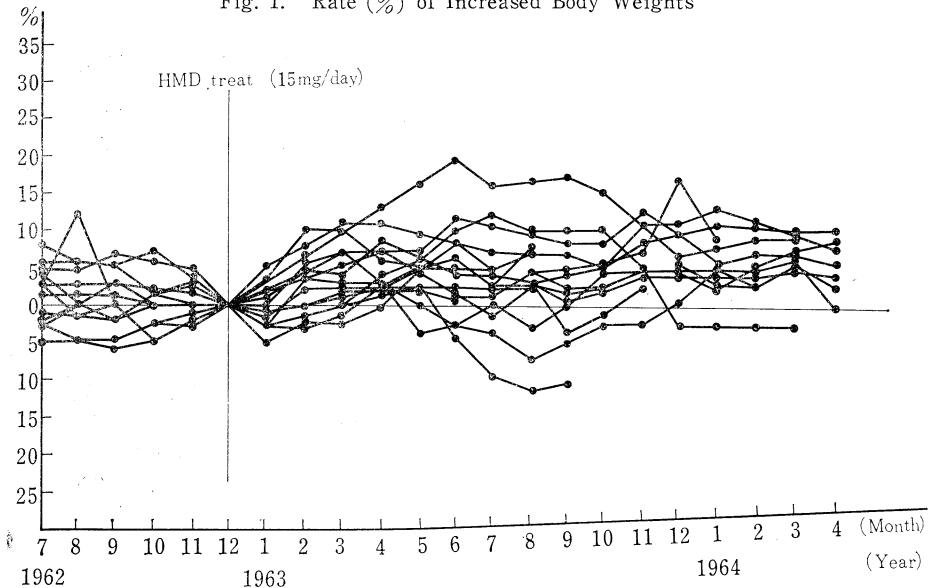
Table 1. Type by X-Ray (Gakken, Japan.) and Past Chemotherapy

Name	Age	Sex	T	SM (g)	PAS (g)	INH(g)	PZA (g)	SI (g)	CS (g)	KM (g)
■	44	M	F	150	4500	236	620	1100		
■	56	F	F	150	7200	230	366	1000	60	
■	63	F	F	90	3500	30				
■	58	M	F	200	3800	250		1400		
■	40	F	F	200	7200	100				
■	72	M	F	150	5400	200	360	540		
■	38	F	F	200	7000	2396	360	540	120	120
■	43	M	F	200	7200	200		540	60	
■	38	F	F	102	5400	281	360	2160	60	50
■	39	M	F	120	4000	50				
■	69	M	F	39	1800	1733	302	1080	193	
■	72	M	F	196	5510	216		1620		
■	39	F	Fth	200	8000	200		2000	60	
■	47	M	Cky	100	1800	70				
■	58	M	E ₃	30	1000	12				

Table 2. Body Weights (kg)

Name	性別	'627	8	9	10	11	12	'631	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	'641	2	3	4	
■	M	55.5	57	56	58	57	57	57	57	58	58	58	57.5	58.5	58.5	57.5	58	59	59	59	59			
■	F	37.5	37.5	37.5	38		35.5				38		36	36	37		37.5	38	41.5	38.5				
■	F	40	40	40	41	41	42	41	43.5	43	43	40.5	41	40.5	39	40	41	41	42	44	43			
■	M	46.5	46.5	46	47	47	47	48	49	49	51	50	49	49	48.5	49	50.5	52	52	53	52			
■	F	42	41	40.5	41	42	43	42.5	44	44	44	45	45	45	45	44	44	45	45	45	45			
■	M	46	44	44	42	43.5	44	44	44	44.5	45	45	42	40	39	39.5								
■	F	41	41	41	40.5		40.5						48.5	47		47.5	46.5		43	43.5	44	44		
■	M	37	35.5	36	36.5	37	36	36	38	38.5	37	36	35	36	35	36	37.5	37.5	35	37	35	35		
■	F	41	45	40		41	40	41.5	44	44	42.5	42	40.5	39.5	41	38.5	39.5	41	42	41	41	42	41	
■	M	49	50	51.5	51	51	50	49.5	50	50	52	53	55	56	55	55	55	55	52.5	52	51	52.5	53.5	54
■	M	46.5	45.5	45.5	43.5	44	43	42	42.5	43	43.5	44	44	44	44	43.5	54							
■	M	44	44	43	41	39.5	39	38	38	38.5	40	41	41.5	40	42									
■	F	38	38	38	37	37	37	39	40	41	41	40.5	40	39.5	39.5	39.5	39	40	40.5	39	39.5	39.5	39	
■	M	45	45	46	45.5	45	43	43.5	45	46	46	46	48	47.5	47	46.5	46.5	48.5	47	47.5	47.5	47	46	
■	M				41		42	40	41	41	42	44	45.5	44	45									

Fig. 1. Rate (%) of Increased Body Weights



たる。SM, PAS, INH 等の基礎治療はそのままで、2 hydroxy-methylene-17- α -methyl-dihydrotestosterone (以下 HMD と略す) を一日 15 mg を経口投与し、年余にわたり観察した (Table 1)。

2. 実験成績

1) 体重の増減

体重増減の成績は Table 2, Fig. 1 のごとくで、前者は体重の推移を、後者は使用開始前月の体重をもととして体重の増減を百分率で表わしたものである。HMD 使用 6 カ月前ころより、大部分の症例において体重減少の傾向にあったが、HMD 投与後は、ほとんどの例において体重は増加をみるようになった。体重の増加傾向として使用開始後 6 カ月くらいは、ある勾配をもった増加を

示し、もつとも著明な例では 8 kg の増加を示した。大多数の例においてピークに達した後、すなわち 5~6 カ月後には増加が緩慢か、横ばいになる。HMD 継続投与にもかかわらず体重の漸減したものもあるが、ごく少数例にすぎない。性別による差異としては、女性はその効果がやや早く出現する傾向があり、またもつとも著明に増加したのはやはり女性であり、その体重増加は 8 kg にも達した。

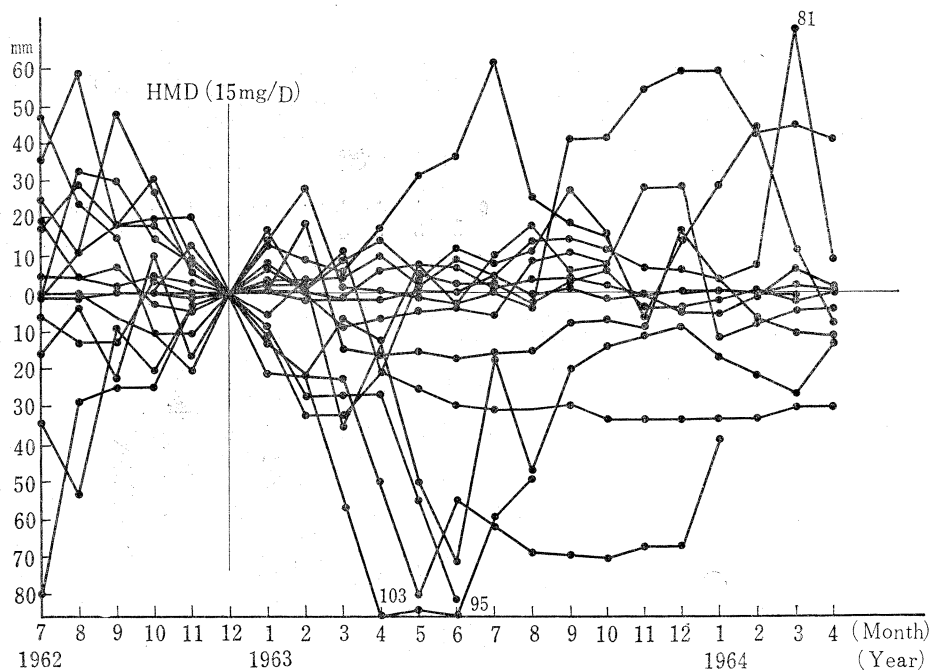
2) 赤沈

改善が過半数例にみられた (Table 3, Fig. 2)。HMD 投与観察中促進を来たしたものは 4 例で、そのうち 1 例は使用後 6 カ月前ころより悪化を来たしたが 8 カ月目には正常化する傾向を示した。

Table 3. Sedimentation Rate of Erythrocytes (mm. an hour)

Name	性	年齢	'62 7	8	9	10	11	12	'63 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	'64 1	2	3	4
■	M		6	6	4	6	4	2	8	2	1	8	9	9	3	5	5	3	1	1	2	1	3	2
■	F		100	100	100	118	118	107	86	84	84	50	26	52		38		36	39	39	68			
■	F		43	68	26	28	28	8	15	8	16	22	12	10	10	5	10	13	3	3	5	7	7	
■	M		20	31	20	20	9	2	5	5	6	11	4	10	6	15	16	13	7	6	4	8	83	10
■	F		35	20	28	40	19	10	26	10	1	3	5	6	4	18	20	18	8	4	3	8	15	10
■	M		45	96	100	100	121	125	113			22	38	30	16	81	104	110	10	115	106	88	98	111
■	F		98	75	66	40	30	51	45	53	62	29	54	62	58	62	78	65	44	64	40	94	62	42
■	M		69	103	100	84		70		97	81	70		67	70	66	110	110	124	128	128	112	114	110
■	F		96	100	100	116	113	113	100	90	96	100	120	110	122	120	118	120	130	130	100	104	108	108
■	M		38	23	26	16	14	19	19	37	4	2	3	1	2	3	10	11	9	35	21	11	8	7
■	M		9	21	58	38	15	10	23	18	15	27	41	46	72	35	28	28						
■	M		58	39	82	72	89	93	95	94	58	80	42	21	75	45								
■	F		20	32	14	46	19	36	24	4	3	15	10	6	5	5	6	2	2	2	2	2	5	5
■	M		5	5	4	4	3	4	4	2	2	2	4	4	8	3	5	2	2	4	3	3	1	3
■	M					90	100	89	80	61	62	62	33	7										

Fig. 2. Sedimentation Rate of Erythrocytes (mm, 1 Hour)



3) 排菌および胸部レントゲン像の推移

学研病状経過判定基準による (Table 4)。排菌についてみるに、HMD 投与中 13 例中 7 例 (53.8%) の塗抹陰性化をみ 12 例中 5 例 (41.6%) に培養陰性化をみた。患者喀痰中結核菌薬剤耐性に関しては Table 5 に示すようであった。

胸部レントゲン像においては、基本病変については 15 例中 5 例 (33%) に改善をみ、10 例 (66%) は不変であった。空洞は 2 例 (13%) に軽度改善、10 例 (66%) は不変、2 例 (13%) において軽度拡大をみた。以

上排菌および胸部レントゲン像からは排菌の増加や基本病変の増悪等はみられなかった。

4) 肝機能、血液検査所見

① BSP test

HMD 投与開始後 6 カ月前後を頂点として多少のずれはあるが、停滞をみるが、それも HMD 継続投与にもかかわらず次第に回復し、1 年前後にはほとんどの例において正常値に近い値にまで回復した (Fig. 3)。

② グロス反応

15 例中 2 例に中等度陽性化をみたほかは著変を認め

Table 4. X-ray Findings According to the "Gakken" Classification of Pulmonary Tuberculosis

Name	Sex	Tubercle bacilli in sputum		X-ray photograph	
		Smear	Culture	Course of pulmonary lesions by x-ray	Cavity
■	M	1	1	2 b	3
■	F	1	1	3	3
■	F	1	1	2 b	3
■	M	3	3	2 b	2 b
■	F	0	0	3	3
■	M	3	3	3	4
■	F	0	0	3	3
■	M	3	3	3	4
■	F	3	3	3	3
■	M	3	3	3	3
■	M	1	3	3	2 b
■	M	3	3	3	3
■	F	1	1	3	3
■	M	1	1	2 b	3
■	M	1	0	2 b	0

Fig. 3. B. S. P. (45')

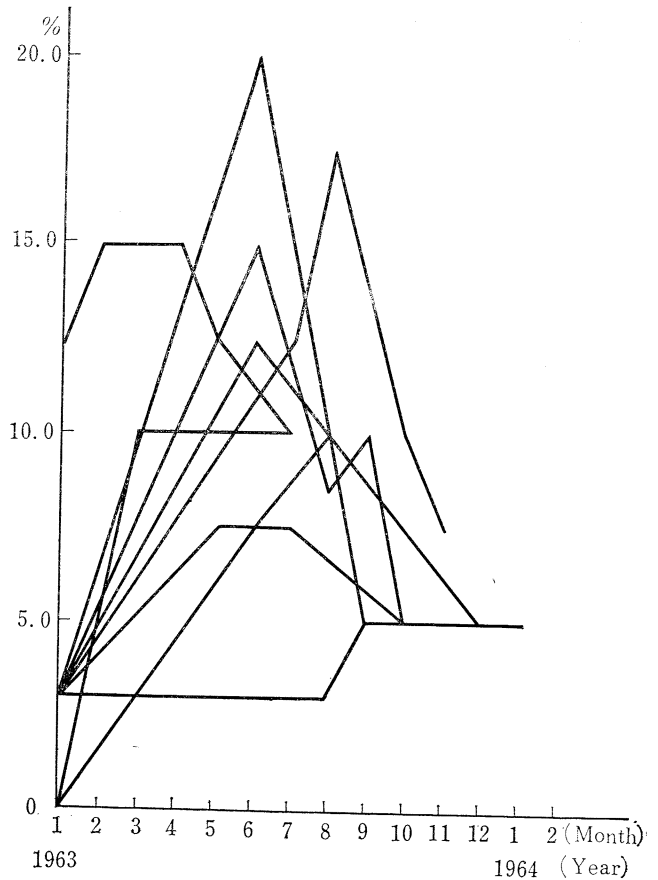


Table 5. Drug Resistance

Case	Age	Sex	r/ml	Before					After									
				0	1	5	10	100	0	1	5	10	100	0	1	5	10	100
1	44	M	SM	###	+	+		-	T. B. Bacillus					(-)				
			PAS	###	+	+	+	+										
			INH	###	+	10												
2	55	F	SM	###	##	##	###	+	T. B. Bacillus					### + + + -				
			PAS	###	+	+	+	+										
			INH	##	3	2		### - -										
3	63	F	SM	###	-	-	-	-	T. B. Bacillus					(-)				
			PAS	###	-	-	-	-										
			INH	###	-	-												
4	58	M	SM	###	##	##	###	-	T. B. Bacillus					### - - - -				
			PAS	###	+	+	+	-										
			INH	###	1	1		### + -										
5	40	F		T. B. Bacillus (-)					T. B. Bacillus (-)									
6	72	M	SM	###	##	##	###	-	T. B. Bacillus					### ## ## ## +				
			PAS	###	##	##	###	-										
			INH	###	+	+		### - -										

Table 7. Erythrocytes ($\times 10^4$)

Name	'63 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	'64 1	2	3	4
■		445	496	540	466	430	469	419	437	443	365		494		414	412
■	364	397	437	397	374	433	447	382	460							
■			405	346								379	349	358	417	
■		461	475	454	488	415	449	402	490	393	472	455	396	402	448	488
■		446	500	440	452	476	447	491	483		447	479	464	440	465	
■		304	408	349	327	350										
■	449		368	513	514	498	467			415						
■	392		344	389	405	346	409			384	350	324	359	385	354	
■	370				470	486	406			399	460	369	417		438	
■							427	499					517	429	478	481
■	437	363	386	318	398	416		381	322	470						
■	416	325	393	451	437	463	421	393								
■		384	467	431	437	425	473	384	417	467						
■			337	504	450	375		433								
■			374	480	510	528	500	503								

Table 8. Leucocytes

Name	'63 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	'64 1	2	3	4
■		6400	9000	7100	7400	11200	8900	10900	5600	4200	5400		5400		6200	5200
■		6500	6800	6900	5700	5400	10800	8600	6800	6200	6700					
■			4300	4600								4400	4400	4700	5600	
■		6300	5400	5000	6000	4600	5400	5600	5100	4300	5400	5500	5500	6300	7000	6400
■		7300	5200	4400	6200	5800	3800	6500	5800		4600	5800	5300	9100	5900	
■		8400	8200	6500	4800	6500										
■	8000		11100	7400	7100	9300	9500		11000	5600	6900	10500	5600	8100	10200	
■	5500		5500	4000	6700	7200	2600			6400	5600	7100	9300	5600	5800	
■	5700				9600	8700	14900			9900	7100	8400	8700		9000	
■							5900	7200					5200	8300	6300	5100
■	5500	6300	4100	4300	4500	4700		4600	4700	4700						
■	5000	5300	5100	6200	5500	4300	6000	6200								
■		8200	9400	6600	6600	5500	4800	7200	4000	4600						
■			3600	6500	4900	6000		4200		3200						
■			10000	7800	6900	7600	7200	7000								

ない (Table 6)。

③ 血清蛋白, A/G

血清蛋白は, HMD 投与により投与当初に比し軽度の増加あるいは減少があり, 一定の傾向はみなかつたが, 正常以下に減少した例はなかつた。A/G も HMD 投与期間中著変はなかつた。

④ 血液所見

赤血球数は明らかに増加したものは 15 例中 9 例 (60%), 他の 6 例 (40%) も増加傾向がうかがわれた。白血球数, 血色素量は一定の傾向をみなかつた (Table 7, 8, 9)。

5) 副作用

閉経期前女性 4 例に服用開始翌月から無月経がみられ

た。他は Table 10 のごとくである。浮腫は全例にみられず, 血圧にも変動はなかつた。なお 1 例に投与中一過性の尿糖発現があつたが, 以後の検査ではすべて尿糖は陰性であつた。

3. 小括ならびに考案

蛋白同化ホルモンに関して各種疾患への応用ならびに治療効果, あるいは諸種の代謝に及ぼす影響については多くの研究がなされている。著者の本研究に使用した HMD は, Androgenic の作用が非常に少なく, 主として Anabolic の作用が強いといわれている。HMD を服用し始めると食欲の増進をほとんど全例に経験したが, 体重増加の勾配も漸増の症例が大多数で, 漸次頂点に達するようである。増加の頂点に達するには, 増加例にお

Table 9. Haemoglobin (%)

Name	'63 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	'64 1	2	3	4
■		80	87	92	97	80	80	78	76	90	100		111		82	83
■		77	79	76	79	80	85	87	76	84	87		90			
■			78	75								66	73	80	88	
■		80	86	84	77	90	85	82	91	65	80	85	75	80	90	70
■		85	81	85	90	82	88	86	82		95	82	85	81	94	
■		67	69	66	60	65										
■	78		75	72	72	72	82			80	80	70	84	72	68	
■	79		73	90	75	73	70			70	70	65	65	77	68	
■	72				80	70	75			65	69	71	71		75	
■							100	105					95	80	100	90
■	77	73	72	67	78	81		87	71	90						
■	69	63	80	87	80	85	80	72								
■	70	60	80	75	72	65	65	58	70	65						
■			70	105	95	83		91		93						
■			115	100	110	115	98	95								

Table 10. Side Effects (15 cases)

Symptoms	Cases
Amenorrhea	4
Acne	4
Hypertrichosis	3
Hoarse Voice	3
Cheek Flush	2
Head Ache	1

いては5~7カ月でほぼピークに達する。使用例中7例は3カ月前後横ばい、一時軽度減少、のち漸増等種々であった。蛋白同化ステロイドの体重増加作用機作に関する報告は多い。アイソトープを用いた実験^{7),8)}でアミノ酸の蛋白への取り込みの増加から積極的な蛋白同化作用ありとするもの、あるいはそのエネルギー源として脂肪酸の酸化を強調するもの⁹⁾、あるいはすべての代謝活性を抑制し、消極的な Storing action によるもの等々である。本剤が電解質、ことに Na, K, P, Ca 等の体内貯溜を生来せしめ、ことに Na の停滞は水の生体貯溜を招き、体重増加の主因はこの水分の増加にあるとする学者^{1),10),11)}もある。動物実験では、Testosterone による筋肥大は動物差もあるが、主として M. levator ani, interscapular muscle, cervical muscle 等に限られ、全身の筋肥大をみたとの報告には接していない。また Vagomimetic action を思わせる胃酸の増加や食欲の増進を生来し、多食することも体重増加の一因と考えられる。さらに合成同化ステロイドは、末梢ことに肝での Glucocorticoids の代謝を抑制し、活性型の Glucocorticoids の relative な血中増加、尿中排泄の低下をみたとの報告¹²⁾もあり、本剤による肥満が単一な因子によるものではなく、生体のきわめて多岐にわたる諸変化の総

合した表現であろうと思われる。教室の胡桃¹³⁾は、牛下垂体より得た成長ホルモン(以下 GH と略す)の研究で rat epididymal fat pads よりの NEFA release に関し、GH は Insulin ようであり、HMD は GH あるいは Insulin と拮抗する事実をみている。また教室の野本¹⁴⁾は、赤血球を用いた糖代謝実験より、HMD の投与は、Hexose monophosphate shunt pathway の代謝活性も、また Meyerhof pathway の代謝活性をも低下させると述べている。これらの教室の研究からすれば、蛋白同化ステロイドによる体重増加が、積極的な同化による結果とは考えがたい。Spencer¹⁵⁾によれば最近の蛋白同化ステロイド剤には水、Na の貯溜作用は少ないといわれている。しかし大量長期にわたり使用する場合、この事実も考慮に入れる必要はあろう。また雌雄差については、Overbeek¹⁶⁾はラットの実験で、19-Nortestosterone phenyl propionate が Hydrocortisone による体重減少を防ぐ作用は雌のほうが著明であったという。著者の症例でも女性のほうに体重増加がやや早く出現する傾向があり、もつとも著明に増加したのも女性であった。肥満の様態も筋肉質か脂肪性かは特別には決定しにくいように思われる。本剤による BSP の停滞¹⁷⁾⁻²²⁾一般に知られているが、HMD 投与後約6カ月で最高になり、投与継続にもかかわらず1年前後には、ほぼ正常値に復する事実を知った。このような可逆的な BSP の停滞は肝の器質的不可逆的变化よりは説明しにくく、事実、鈴木¹⁷⁾は HMD, Methandrostenolone, Methyltestosterone 投与時の肝生検所見より、BSP 停滞に一致するとき、肝細胞障害像、炎症所見等はみられないとしている。BSP 停滞理由解明のため、多くの実験結果が報告されているが、結論は得られていない。停滞した

BSPの大部分は抱合型であり、したがって抱合障害によるのではなく、抱合されたBSPの排泄障害²³⁾にその停滞の一因があるとされるが、最近Mullerら²⁴⁾(1960)、熊谷ら²⁵⁾(1960)等により、Anabolic steroid投与時に肝における副腎皮質ステロイド代謝、とくにグルクロン酸抱合抑制が証明され、またHMDが血球のGalactoseの代謝を抑制する事実²⁶⁾等から考えて、GluthathionあるいはGlucuronideの低下もなお再検討する余地があるのではないかと想像される。また教室の御前²⁷⁾は、Chemical biopsyとしての意義をもつ赤血球の糖代謝より推定してHMDによる糖代謝変動は一般の肝障害時とはまったく逆にHexose monophosphate shunt pathwayの代謝活性低下を生来すると述べている。いずれにせよHMDのBSP停滞は、肝実質障害に由来するものではなく、本剤の生体殊に肝に及ぼす酵素levelでの代謝変動がその一つのFactorになつていゝるものと思われる。事実HMD継続投与中に一過性にBSPの停滞があつても、やがて正常に復することは、肝におけるAdapting enzymeの考えからすればある程度解釈ができる。すなわちGynecomastiaはTestosterone投与によつても、Estrogen投与によつても起こるのであり、ことに副腎、卵巣剔除女性にTestosteroneを投与し、その尿よりきわめて大量の女性ホルモンを証明したWestの実験事実²⁷⁾は、このあたりのことを示唆する報告として興味深い。血清蛋白に関しては、岡本ら²⁹⁾は、血清蛋白量の増加、ことにアルブミンの増量がみられるとし、また熊谷³⁰⁾、王子ら³¹⁾も同様の結果を報告し、低下したA/G比の改善が得られたと述べている。著者の実験例では、血清蛋白量、A/Gには一定の傾向をみなかつたが、血清蛋白では少なくとも正常以下に低下した例はなかつた。本剤による赤血球の増加を認める報告^{32)~35)}は多く、著者の実験例にもそれがうかがわれたが、この赤血球の増加は、そのMechanismがAnoxiaの場合に類似していることを教室の野本ら³⁶⁾はみている。すなわち本剤による赤血球が増加しても赤血球1コ当りの糖代謝活性はむしろ低下していることが分かつていゝるからである。

本実験の対象とした症例は結核治療剤に抵抗を示し、数年来症状は固定または悪化を示し菌の陰性化はもちろん菌の耐性獲得も著明ないわゆる難治型重症肺結核患者であるにもかかわらず、HMD使用により咳痰中菌の陰性化を多数例に認めたことは、赤沈値の改善傾向と相俟つて、本症例のような難治型肺結核の治療に一つの光明を与えると同時に、結核治療にさいし、PAS、INH等と本剤との併用が新しい治療方式の一つとして意味をもつものであると考えていゝる。以上結核患者にPAS、INH等の基礎治療とともにHMDを併用、以下の結果を得た。

(1) 体重の増加：HMD使用6カ月前ころより、大

部分の症例において体重減少の傾向にあつたが、HMD投与後は、ほとんどの例において体重は増加をみるようになった。

(2) BSP：HMD投与開始後6カ月前後を頂点として多少のずれはあるが、停滞をみていたが、HMD継続投与にもかかわらず次第に回復し、1年前後においてほとんどの例において正常値近くまで回復した。

(3) 赤沈にて改善が過半数にみられ、Gros反応、血清蛋白、A/Gには一定の傾向をみなかつたが赤血球数は増加の傾向をみた。

(4) 排菌にて塗抹陽性13例中7例に、培養にては陽性12例中5例に陰性化をみ、胸部X像上基本病変の増悪はみられなかつた。

第2章 HMD作用機作に関する実験的研究

著者は前章において、重症肺結核患者に対する合成蛋白同化ステロイドのPAS、INHとの併用療法が食思の増進等全身状態の改善にもその意義はあるが、菌の排出陰性化に関して有用な手段であり、同時にHMDの持つ薬理作用を臨床面より検討した。本剤のこれらの作用、ことにPAS、INHとの併用の意義、体重増加のMechanism等を解明すべく以下のような実験を行なつた。

第1節 アセチル化能よりみた結核に対するHMD、PAS、INH併用の意義

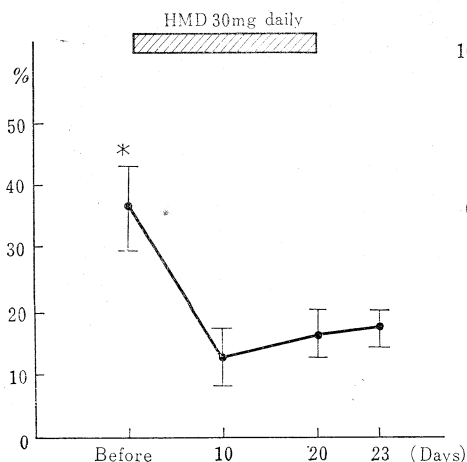
肺結核症は慢性疾患として代表的な疾患であり、ことに治療においては長期にわたりしかも大量の化学療法剤が使用される。すなわちストレプトマイシン(SM)、パラアミノサルチル酸(PAS)、イソニコチン酸ヒドラジド(INH)、およびその誘導体、サルファ剤は結核治療剤としてよく用いられるものであり、そのうちPAS、INH、サルファ剤等はともによくアセチル化を受ける物質である。一般にアセチル化を受ける化学療法剤、すなわちPAS、INH、サルファ剤等はアセチル化されることによりその抗菌性を減弱、ないしは消失することが知られていゝる。アセチル化能と結核化学療法との関係について考えてみると、アセチル化能の低下は化学療法剤の抗菌性の消失を抑制することとなり、PAS、INH、サルファ剤等の効果を期待する面では有利な条件になると考えられる。事実PAS、INHの併用の意義は、そのアセチル化の抑制にある³⁷⁾ともいわれている。従来推奨せられた結核に対する高脂肪食もあるいはこのアセチル化に関係があるのかも知れない。すなわち高脂肪食、ことに飽和脂肪酸を多く含んだ高脂肪食がアセチル化を抑制する³⁷⁾ことが知られていゝるからである。HMDのPAS、INHとの併用が、PAS、INHをそのまま投与してゝいゝるにもかかわらずそれらに耐性をもつ重症結核患者の排菌を陰性化したことは、HMDがあるいはPAS、INHの抗菌力に変化

を、すなわちアセチル化率に変化を与えた可能性がある。しかし一般に Acetylation の低下は病的状態の場合にみられることが多い。たとえば糖尿病、肥満、饑餓、肝障害、腎障害等である。そこで物質代謝の面、および化学療法剤の抗菌性の点から、健康人、および雄性家兎のアセチル化能を測定し、HMD 使用による変動を検討してみた。

1. 実験方法

実験対象は、健康人および白色雄性家兎(体重 2.5 kg 前後)で、健康人 5 例(男 4 例、女 1 例)に HMD を毎日 30 mg 内服させ、内服前、内服 10 日後、20 日後、および中止後 3 日の計 4 回にわたりアセチル化能を測定した。なお検査前 3 日間は一切の薬物の使用を禁止した。アセチル化測定には、スルフィソキサゾール(サキソジン)を使用した。検査 24 時間前に本剤 0.5 g を内服させ、のち 24 時間尿の一部をアセチル化率測定に供した。なおその間できる限り安静を保たしめた。白色雄性家兎においては HMD 2 mg を 20 日間筋肉内注射し、対照群は生理的食塩水を同日数筋肉内注射をした。なおののについて処置前および 20 日後の 2 回 15 時間絶食後、BZ 55 Na 塩 100 mg を蒸留水 5 cc に溶解、一側の耳静脈に注入して、血糖および Carbutamide 血中濃度を測定した。アセチル化能は遊離型 Carbutamide 濃度と総 Carbutamide 濃度より型のごとく算出した。

Fig. 4. Acetylation Rate of Sulfisoxazole Excreted in Urine (From 5 healthy adults)



*Mean value of sample ± standard deviation.

Fig. 5. Carbutamide Concentration in Blood (Injected intravenously)

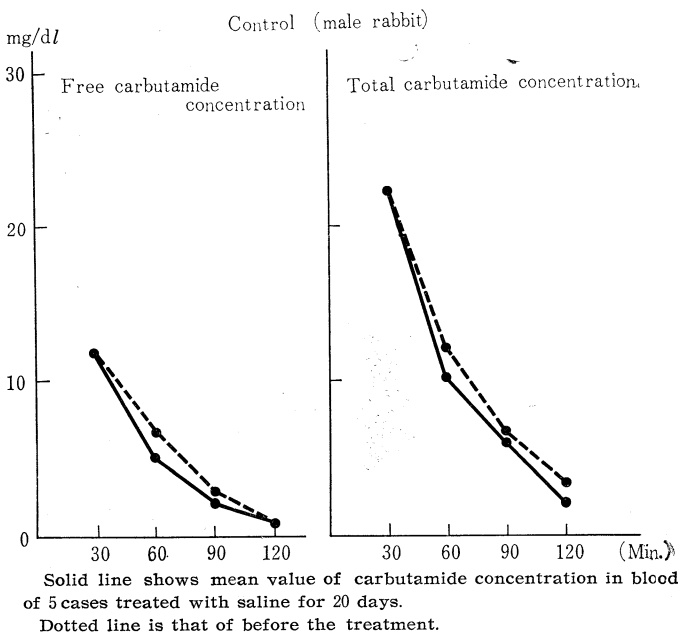
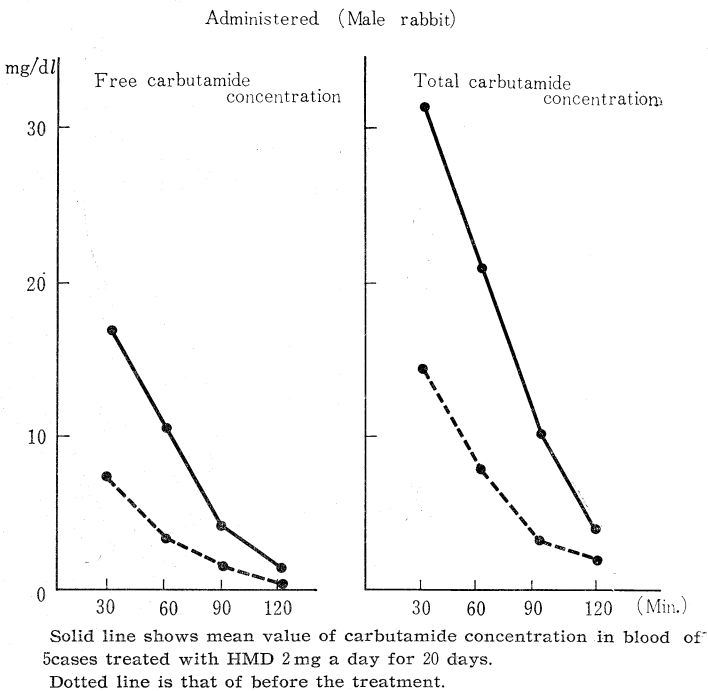


Fig. 6. Carbutamide Concentration in Blood (Injected intravenously)



サルファ剤および Carbutamide のアセチル化能測定は Bratton, Marshall 法³⁸⁾によつた。血糖は Somogyi-Nelson 法によつた。

2. 実験成績

1) 健康人のスルフィソキサゾールのアセチル化率.

は、Fig. 4のごとく投与前 $36.28 \pm 14.31\%$ ($M \pm SD$),
 で HMD 投与後 10 日目には $12.8 \pm 9.68\%$ ($M \pm SD$)
 と著明に低下し、中止後 3 日目でも $17.44 \pm 6.01\%$ ($M \pm SD$)
 となおアセチル化率の低下を認め、投与前の値に
 復しない。

2) BZ 55 Na 塩 100 mg 静注による
 Carbutamide 血中濃度およびアセチル化
 率の変動 (健常雄性家兎)。

健常雄性家兎 15 時間絶食後、BZ 55 Na
 塩 100 mg を耳静脈に注入し、HMD 処置
 群と対照として生理的食塩水注射群の
 Carbutamide 血中濃度とアセチル化率の
 時間的推移は Fig. 5, Fig. 6 に示した。
 すなわち Carbutamide 血中濃度は対照群
 では、注射前と 20 日間注射後には 30 分、
 60 分、90 分、120 分の各時間の遊離型、
 結合型ともにほとんど変化はないが、HMD
 処置群の処置前と処置後を比べると、遊離
 型は処置前群で 30 分 7.4 mg/dl, 60 分
 3.38 mg/dl, 90 分 1.52 mg/dl, 120 分 0.46
 mg/dl であつたが、HMD 20 日間処置群
 では 30 分 17.22 mg/dl, 60 分 11.6 mg/
 dl, 90 分 4.62 mg/dl, 120 分 2.02 mg/dl
 と著明に Carbutamide の血中濃度が高く、
 HMD 処置により投与した Carbutamide
 が長時間高濃度で血中で停滞することを知
 った。Carbutamide のアセチル化率も
 HMD 処置前に比し、HMD 処置により著
 明に低下し、120 分において推計学上有意
 である ($p < 0.01$) (Fig. 7)。

3) Carbutamide Sensitivity

Carbutamide 静注による血糖の降下度
 は、Fig. 8のごとくで、HMD 処置前に比
 し HMD 処置後には感性の低下傾向がみ
 られるが著明でない。

第2節 HMDの Nonesterified Fatty
 acid(NEFA) におよぼす影響

蛋白同化ステロイドの作用機作を脂質代
 謝面より検討した報告も多い。ことに貯蔵
 脂肪よりの NEFA release に関しては、
 あるいはそれを抑制する¹³⁾とし、あるいは
 蛋白同化ステロイドの処置は、空腹時血清
 中の NEFA 増加を促進する³⁹⁾という。本
 剤が脂酸をエネルギー源として、その酸化
 を促進せしめるであろうとする考えもあり
 あり、事実蛋白同化ステロイドの投与により
 貯蔵脂肪が減少した¹⁷⁾とも報告されてい
 る。HMD 投与時の体重増加およびアセチ

ル化と関連して、脂質代謝との関係を脂酸の酸化の面より
 検討する目的で、脂酸をエネルギー源としてもつとも
 良く利用する筋組織^{40),41)}を選び以下の実験を行なつ
 た。なお本剤による空腹時血清中 NEFA 値についても
 検討した。

Fig. 7. Acetylation Rate of Carbutamide (Male rabbit)

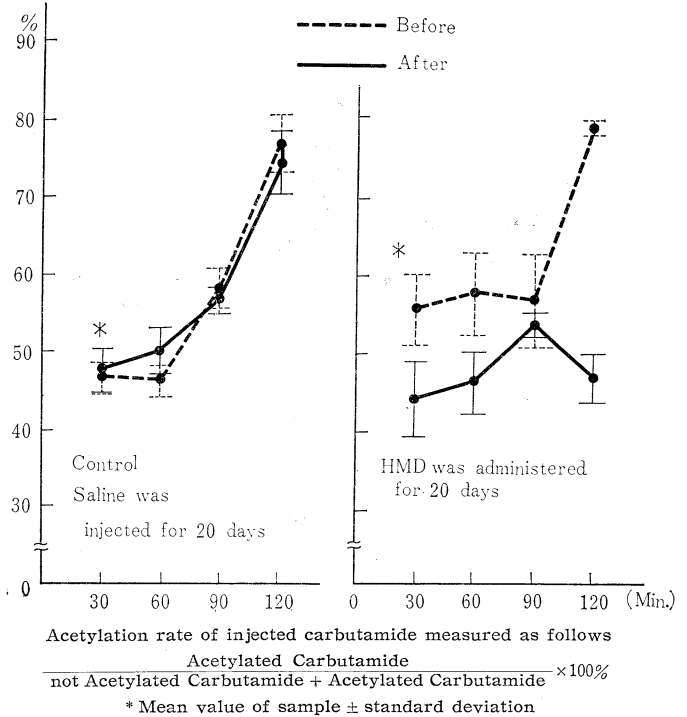
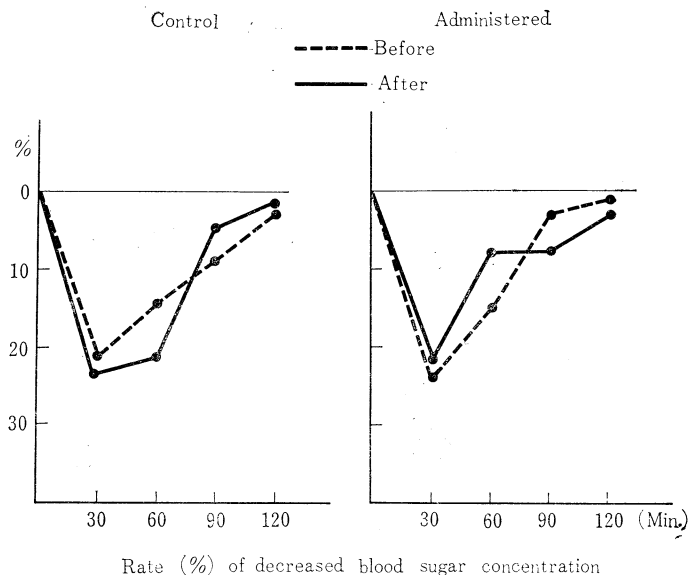


Fig. 8. Carbutamide Sensitivity (Mean value from 5 cases)



1. 実験方法

A) 健常人

1) 空腹時 (15 時間) 血清中 NEFA 濃度の時間的推移。

2) 空腹時 (15 時間) 19-Norandrostenolone phenyl propionate (19 NAPP) 筋注による血清中 NEFA 濃度の時間的推移。

3) HMD 30 mg 経口投与例において、投与前、投与後 10 日、投与後 20 日、中止後 3 日目における血清中 NEFA の推移。

対象とした健常人は男 4 例、女 1 例の計 5 例である。

B) 白色雄性家兎 (体重 2.5 kg 前後)

実験群 6 羽には HMD を毎日 2 mg 筋注 20 日間、対照群は生理的食塩水注射 20 日 (6 羽) とした。

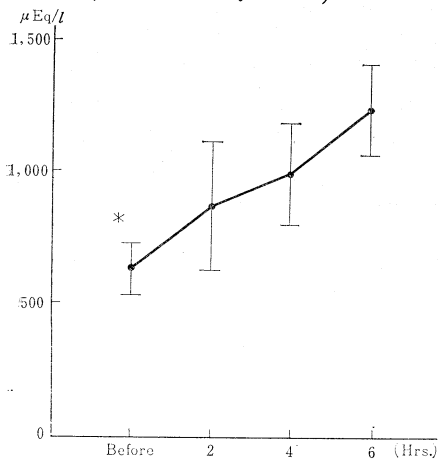
Krebs-Ringer bicarbonate buffer を pH 7.4 に調整し、卵白アルブミンを 2% の割合に添加した。これを Incubation medium とした。家兎を脱血、屠殺しただちに開胸して心筋を取り出し、氷冷して乱切り、その 100 mg を上記 medium 15 cc 中に浮遊させ 37°C で Incubate して medium 中の NEFA 量を経時的に測定した。なお Incubation 開始後 3 分における medium 中 NEFA 濃度を前値とした。以後 10 分、20 分、30 分、40 分、50 分、60 分後に同様に medium 中 NEFA 濃度を測定し、その減少をもつて Heart muscle への NEFA uptake と考えた。

なお血清中、medium 中の NEFA 濃度の測定は Dole の方法^{42), 49)}によつた。

2. 実験成績

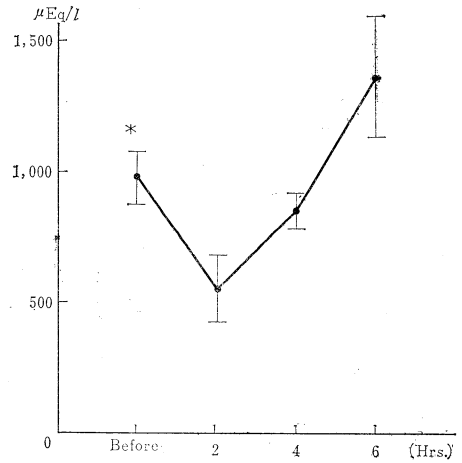
1) 健常人空腹時血清中 NEFA 濃度は、対照群および 19 NAPP 注射群に分けて経時的に全経過 6 時間、2 時間ごとに測定した。対照群においては、経時的に血清

Fig. 9. Fasting NEFA Concentration of Plasma in Every Two Hours (From 5 healthy adults)



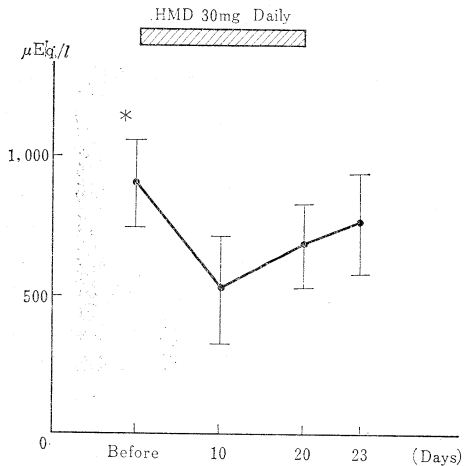
* Mean value of sample ± standard deviation

Fig. 10. Effect of 19 NAPP on the Fasting NEFA Concentration of Plasma in Every Two Hours



* Mean value of sample ± standard deviation

Fig. 11. NEFA Concentration of Plasma (From 5 healthy adults)

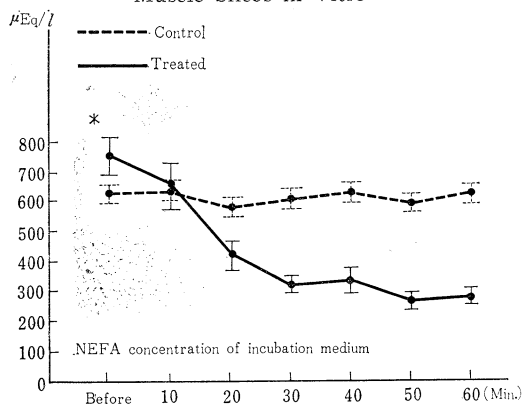


* Mean value of sample ± standard deviation

中 NEFA 値漸増するが、19 NAPP 25 mg 筋注群では、注射前 $974.5 \pm 232.1 \mu\text{Eq/l}$ ($M \pm SD$) が注射 2 時間後 $545.4 \pm 268.9 \mu\text{Eq/l}$ ($M \pm SD$) と減少し、その後は漸増したが、6 時間までの経過では対照群に比し明らかに低値を示した (Fig. 9, Fig. 10)。HMD 20 日間 30 mg/day 経口投与による実験群では、空腹時血清中 NEFA 値は 5 例中 1 例を除き投与後 10 日で最低値をとり、その後は HMD 投与前の値に復する傾向を認めた (Fig. 11)。

2) 家兎心筋の in vitro での NEFA uptake は対照群に比し、HMD 処置群では明らかにその亢進がみられ、前値 $762.8 \pm 311.05 \mu\text{Eq/l}$ ($M \pm SD$) が 50 分後 $274.6 \pm 118.1 \mu\text{Eq/l}$ ($M \pm SD$) と最低を示した (Fig. 12)。

Fig. 12. NEFA uptake of male Rabbit Heart Muscle Slices in Vitro



Heart muscle slices from Rabbit either treated with HMD 2mg a day for 20 days or not were incubated in Krebs-Ringer Bicarbonate Buffer (pH 7.4) containing Albumin 2g/dl at 37C for 60 minutes.

* Mean value of sample ± standard error

対照群においては、medium中のNEFA濃度にほとんど変動を認めず、推計学上両者の間には、Incubation 30分、40分、50分、60分において有意の変化を示した ($p < 0.01$)。

第3節 HMDの肝 Isocitrate dehydrogenase (ICDH) 活性に及ぼす影響

HMDが脂質および糖質代謝に影響するところが大きいことは多くの学者の認めるところであるが、その精細にわたってはまだ不明の点が多い。脂酸の de novo synthesisにはTPNH, ATPを必要とするし、また Testosteroneが肝で代謝せられるさいにもTPNHを必要とする。生体にとってかくことのできないTPNHが産生せられる生体代謝機構には、G-6-p dehydrogenaseを介するHexose monophosphate shunt pathway代謝活性とIsocitrate dehydrogenaseを介するものがある。脂酸の合成のみならず酸化をも反映する可能性のあるのは、ICDHを介し、Transhydrogenaseを介するCytochromeへの水素伝達系であろう。事実Transhydrogenaseが脂酸の酸化、合成をregulateするとされている。脂酸がβ酸化を受けるさいに必要なLβ-hydroxy acyl CoA dehydrogenaseはDPN specificであり、このことから脂酸の動態が、Transhydrogenaseに反映せられることは想像に難くない。HMD使用時の肝ICDH活性を測定し、Transhydrogenaseの様相から脂酸の動行と脂酸と糖代謝との相関をある程度推察できるのではないかと考え以下の実験を行なった。

1. 実験方法

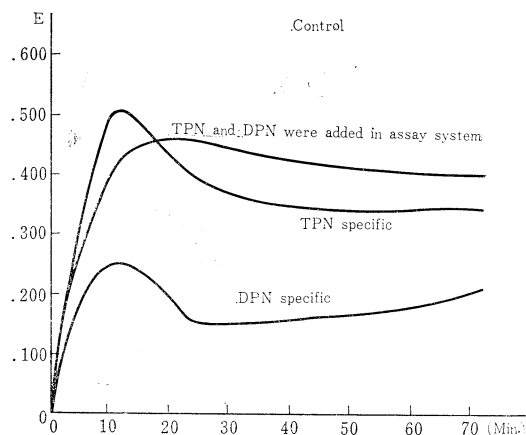
- 1) 実験動物: Wistar系雄性rat(体重150g前後)。
- 2) 組織: 肝臓。

24時間絶食後、屠殺、肝を剔出して氷冷したHomogenizerに肝切片を入れm/10 Trisbuffer (pH 7.4)を加えて10% liver homogenateを作った。このHomogenateを遠心して細胞膜、核、結合織を除き、Trisbufferでさらに10倍稀釈した。このliver homogenateの40%硫酸分割をとり粗酵素として以下のAssay systemに加え340mμにおける吸光度の増加より産生せられるDPNHあるいはTPNHの増加を知り、その増加によつてICDH活性を推定した。Assay systemは粗酵素液、Mg⁺⁺ 10 μmoles, DPN 1.5 μmoles,あるいはTPN 1.5 μmoles,あるいはDPNとTPN両者、dl-isocitrate 6 μmolesを含み、pHは7.4に調整した。

2. 実験成績

- 1) 肝ICDHは、(Fig. 13)のごとく、DPN specific ICDHとTPN specific ICDHが存在し、DPN specific ICDH活性は、TPN specificのそれに比し活性が低い。
- 2) Assay systemにDPNとTPNを共存せしめると、Control群ではその活性はTPN specific ICDH活性と同程度またはそれを凌駕するが、HMD投与群で

Fig. 13. Isocitrate Dehydrogenase Activity



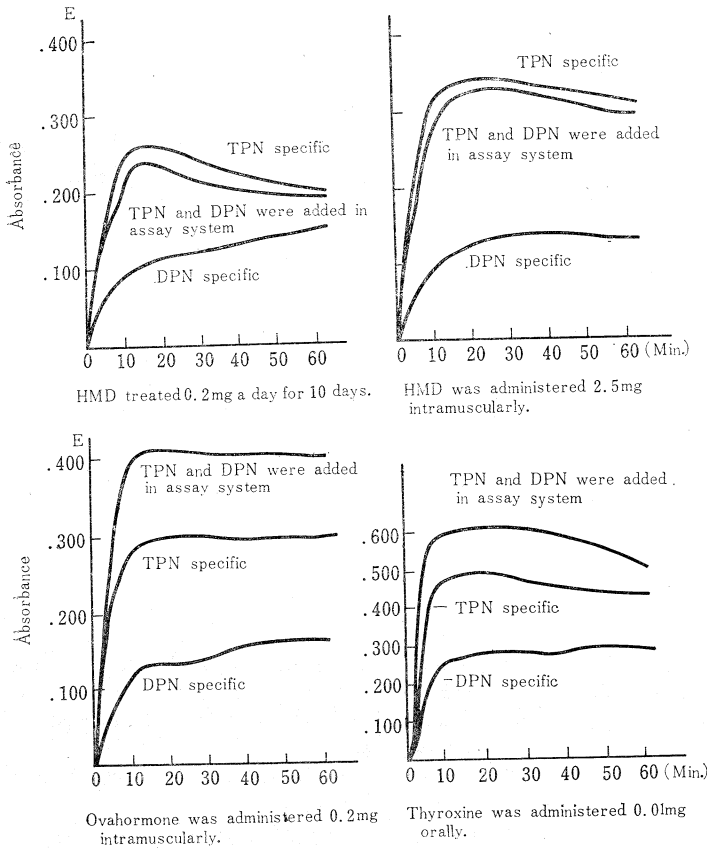
Enzyme solution from male rat (Wistar's Strain) liver homogenate with m/10 Tris buffer prepared with Ammonium sulfate 40% saturation was added to assay system containing 1.5 μmoles of TPN (or 1.5 μmoles of DPN), 10 μmoles of Mg⁺⁺ and 6 μmoles of dl isocitrate, and pH was corrected to pH 7.4.

Enzyme Activity was observed by increase of Absorbance at 340 mμ.

はむしろ低下する (Fig. 14)。

- 3) HMD投与により、TPN specific ICDH活性もDPN specificのそれとともに低下する。
- 4) Thyroxine投与群では、DPN specific ICDH活性の増強傾向がみられる。
- 5) 女性ホルモン投与群のICDH活性は、Control群と大差はないが、HMD投与群がDPNとTPNを共存

Fig. 14. Isocitrate Dehydrogenase Activity



せしめた Assay system で TPN specific ICDH 活性を下まわるにもかかわらず女性ホルモン投与群はむしろ上まわっている。

第4節 小括ならびに考案

HMD 投与により、サルファ剤のアセチル化能は低下し、Carbutamide の実験からも分かるように、Non acetylated sulfa 剤が高濃度に長時間血中に停滞することが分かった。一般にアセチル化体は尿細管での再吸収が悪く、遊離型は良いとされている。このアセチル化能の低下は、結核患者に PAS, INH 等と HMD を併用するさい当然 PAS, あるいは INH のアセチル化の抑制が推測され、有効な遊離型の PAS, INH が高濃度にしかも長時間血中に停滞し、より強い抗菌作用を発揮する可能性を示唆するものである。Jenn⁴⁴⁾ によればアセチル化能には個人差があるとされ、砂原⁴⁵⁾ の指摘するごとく欧米人に比し日本人のアセチル化能がよい可能性もあり、このことが INH の結核に対する外人と日本人との効果の差を生来しているのかも知れない。一方教室の高原³⁷⁾ は、高脂食ことに飽和脂酸を多く含む脂質の摂取は PABA のアセチル化を低下させるが多価不飽和脂酸を多く含む植物油にはこの作用がなく含水炭素摂取はアセチル化率を上昇させる。また肥満型の人一般にアセチ

ル化能が低いと報告している。このような点から考えると、INH の効果の人種差があるいはその不断の生活様式ことに食生活様式の差に由来するアセチル化能の差異にその解明の糸口があるのかも知れない。したがって脂酸の酸化が促進されているような生体状況では、アセチル化能の低下のみられる可能性がある。また同時に糖代謝の抑制もアセチル化能を低下せしめることは、糖尿病でのアセチル化の低いことから推測せられる。このような事実から HMD によるアセチル化能の低下がいかなる機作で生ずるかを検討する目的で、本剤の NEFA に対する影響を調べた結果、空腹血清中 NEFA 値の低下と心筋への NEFA uptake の亢進する事実を知った。血清中 NEFA 濃度低下に影響すると考えられる Factor (1) は貯蔵脂肪よりの NEFA release の低下、(2) 脂酸の酸化促進が考えられる。教室の胡桃¹³⁾ は、Rat epididymal fat pads よりの NEFA release を in vitro で検討し、そのさい添加した Insulin も HMD も同様に NEFA release を抑制したが、両

者を共存せしめると、HMD は Insulin 作用に拮抗することをみている。Insulin の脂肪組織よりの NEFA release の抑制は、糖代謝を介して行なわれることが知られている。すなわち Insulin により糖の代謝が増強せられ、NEFA と結合して、Triglyceride を形成する L- α -Glycerol-3-p が増加して脂肪組織内の NEFA が Triglyceride にどんどん合成せられていくために NEFA release が抑制せられる。HMD の NEFA release 抑制が Insulin と拮抗すること、ひいては糖代謝を抑制することによる二次的脂酸の酸化促進にその NEFA release 抑制の一因があるように思われる。事実心筋による NEFA uptake を in vitro で検した成績は、HMD の投与が心筋の NEFA uptake を促進、換言すれば、心筋は NEFA を Energy 源として良く利用する組織であることから、NEFA の酸化促進を推定せしめるものである。したがって HMD によるアセチル化能の低下は肝障害によるものではなく、糖代謝の抑制、ひいては脂酸の酸化の亢進にその一因があるものと考えられる。このことはさらに肝 ICDH 活性を測定した実験結果からも推測せられる。すなわち ICDH 活性の全般的な低下は HMD の糖代謝の低下を、さらに DPN, TPN を共存せしめた Assay system における吸光度の増加が

TPN specific ICDH 活性を下まわつたことから、脂酸の酸化の亢進をうかがうことができる。というのは、 β 酸化の促進は DPNH を増加せしめ、したがつて Transhydrogenase による水素伝達は、 $TPN \rightleftharpoons DPN$ が抑制せられ生体適応現象として、Transhydrogenase による水素伝達が $DPN \rightarrow TPN$ にかたよる可能性があるからである。事実教室村田⁴⁶⁾は、肝脂酸合成の極度に亢進するといわれるアルコール脂肪肝のさい、Transhydrogenase の水素伝達が明らかに $DPN \rightarrow TPN$ にかたよつていることをみている。DPN specific ICDH の意義に関して教室の栗生ら⁴⁷⁾は、その酵素の細胞局在が Mitochondria にあり、Cytochrome と共存している点より酸化に関係が深いとしている。著者の実験で Thyroxine の投与が DPN specific ICDH 活性を増強したことも、酸化の促進を生来する本ホルモンの作用として当然と考えられる。以上 HMD は、Acetylation を低下させ遊離型のサルファ剤を高濃度に長時間血中に停滞せしめることを知り、結核治療のさい、PAS, あるいは INH と HMD の併用がそれらのアセチル化を抑制し、有効な形で長時間血中に停滞せしめる可能性のある点から、臨床上併用療法のきわめて有効であつた理由の一つと考えている。また HMD によるアセチル化能の低下の理由は、教室の諸成績と考え合わせ、本剤による糖代謝の抑制、ひいては脂酸の酸化促進によるものと思われ、このことは肝 ICDH 活性からもうかがえる。

第3章 総括

著者は合成蛋白同化ステロイドの1種である HMD をいわゆる難治型重症肺結核に PAS, INH 等の基本治療と併用し、以下の事実をみ、さらに実験により、その作用機作を推定した。

1) HMD 15 mg/day を PAS, INH 等と併用することにより数年来各種抗結核剤に抵抗を示していた 15 例中、排菌にては塗抹にて 13 例中 7 例に、培養にて 12 例中 5 例に陰性化をみ、臨床上、HMD の抗結核剤との併用をさらに多数症例について試みてみる意義のあることを知つた。

2) 体重の増加、全身症状の改善もその一因と考えられるが、HMD によるアセチル化能の低下作用が併用した PAS, あるいは INH のアセチル化を抑制し、有効な形で長時間血中に停滞するためであろうと推定した。

3) HMD のアセチル化能低下作用は本剤による肝障害に由来するとは考えにくく、HMD の酵素レベルでの糖質および脂質代謝への影響の結果であると考えられる事実を知つた。

本論文の要旨は、第 29 回日本結核病学会近畿地方会、第 4 回胸部疾患学会総会において発表した。

稿を終るに臨み、ご指導ご校閲をいただいた溝口輝彦教授、ならびに直接ご指導いただいた野本拓講師に衷心より感謝いたします。さらにご鞭撻ご指導いただいた和歌山市医師会成人病センター院長辰見康夫博士、野上厚生総合病院長千田桂二博士、またご教示いただいたの場清文、北山久雄両助教授、宮村敬講師、井本裕美博士に謝意を表します。なお種々ご便宜をいただきました塩野義製薬株式会社関係各位に厚く感謝致します。

参考文献

- 1) Kochakian, C. D., and Murlin, J. D.: J. Nutrition, 10: 437, 1935.
- 2) Kenyon, A. T., et al.: Ann. Internal Med., 20: 632, 1944.
- 3) 日野貞雄: 最新医学, 16: 1567, 1961.
- 4) 佐藤靖夫他: 最新医学, 16: 1578, 1961.
- 5) 梅原千治他: 最新医学, 17: 1852, 1962.
- 6) Wilkins, L., and Fleischmann, W.: J. Clin. Endocrinol., 6: 383, 1946.
- 7) Bartlett, P. D.: Endocrinology, 52: 272, 1953.
- 8) 三宅儀他: 最新医学, 17: 1772, 1962.
- 9) Nathan, D. G., et al.: Metabolism, 12: 850, 1963.
- 10) Werner, M., et al.: Klin. Wochschr., 39: 998, 1961.
- 11) Hamwi, G. J., and Urbach, S.: Metabolism, 2: 391, 1953.
- 12) Vermeulen, A., and Ferin, J.: Acta Endocrinol., 39: 22, 1962.
- 13) 胡桃彰: 日本内分泌学会誌, 39: 1040, 1964.
- 14) 野本拓: 未発表.
- 15) Spencer, H., et al.: J. Clin. Endocrinol. and Metabolism, 17: 975, 1957.
- 16) Overbeek, G. A., and de Visser, J.: Acta Endocrinol., 24: 209, 1957.
- 17) 鈴木秀郎他: 最新医学, 17: 1821, 1962.
- 18) 勝木司馬之助他: 最新医学, 16: 1614, 1961.
- 19) 熊谷朗他: 最新医学, 17: 1810, 1962.
- 20) Leevy, C. M., et al.: J. Lab. Clin. Med., 57: 918, 1961.
- 21) Marquardt, G. H., et al.: J. A. M. A., 175: 851, 1961.
- 22) Carmichael, R. H., et al.: Proc. Soc. Exp. Biol and Med., 13: 1006, 1963.
- 23) Heaney, R. P., and Whedon, G. D.: J. Lab. Clin. Med., 52: 169, 1958.
- 24) Muller, A. F., et al.: Helv. Med. Act., 27: 678, 1960.
- 25) 熊谷朗他: 総合臨牀, 10: 189, 1961.
- 26) 石田一哉: 未発表.
- 27) 御前千鶴子: 未発表.
- 28) West, C. D., et al.: J. Biol Chem., 218: 409, 1956.
- 29) 岡本健治他: 小児科臨床, 13: 878, 1960.
- 30) 熊谷朗: 矢野三郎: 内科, 6: 691, 1960.
- 31) 王子喜一他: 最新医学, 15: 2122, 1960.
- 32) McCullagh, E. P., and Jones, R.: J. Clin.

- Endocrinol., 2 : 243, 1942.
- 33) Finkelstein, G., et al. : Endocrinology, 35 : 267, 1944.
- 34) Gardner, F.H., and Pringle, J.C., JR. : New Engl. J. Med., 264 : 103, 1961.
- 35) 平元嘉光他 : 日独医報, 9 : 171, 1964.
- 36) 野本拓 : 未発表.
- 37) 高原弘明 : 日本内科学会誌, 49 : 653, 1960.
- 38) Bratton, A.C., and Marshall. E.K., JR. : J. Biol. Chem., 128 : 537, 1939.
- 39) Laron, Z., and Kowadlo, A. : Metabolism, 12 : 558, 1963.
- 40) Bing, R.J., et al. : Am. J. Med., 16 : 504, 1954.
- 41) Gordon, R.S., JR. : J. Clin. Invest., 36 : 810, 1957.
- 42) Dole, V.P. : J. Clin. Invest., 35 : 150, 1956.
- 43) Dole, V.P., and Meinertz, H. : J. Biol. Chem., 235 : 2592, 1960.
- 44) Jenne, J.W. : Antibiotica et Chemotherapia, Advances, 12 : 407, 1964.
- 45) 砂原茂一他 : 日本人類遺伝学会第9回総会, 106, 1964.
- 46) 村田禎章 : 未発表.
- 47) 栗生進 : 未発表.