

INH, INH 誘導体及び之を中心とする併用療法 に就てのマウスの治療実験

第4編 マウス結核症に於ける INH 及び INH 誘導体の投与方法による治療効果の比較

京都大学結核研究所化学療法部 (主任 教授 内藤益一)

辻 野 博 之

(受付 昭和33年12月20日)

〔内 容 抄 録〕

結核マウスの生存日数を指標とする方法によつて、INH 及び INH 誘導体の治療効果を、経口投与した場合と皮下注射した場合とについて、INH の投与量を 1 γ /g, INH 誘導体の投与量を INH の分子量比の換算量として検討して次の結果を得た。

1) INH は経口投与、皮下注射の何れに於ても、かなりすぐれた効果がみられるが、INH 誘導体の中 IHMS, IPN, INHG-Na は経口投与の場合には INH には劣るが有効であるのに反し、皮下注射の場合には IHMS に若干の効果が認められたが、IPN, INHG-Na には殆んど効果がみられなかつた。

2) Sulfoniazid は経口投与、皮下注射の何れに於ても INH に比べてかなり劣る治療効果を示し、投与方法による治療効果の差はみられなかつたが、No. 217 は経口投与では INH に匹敵する効果を示した程度であるのに注射では INH に比べてはるかに勝る効果が観察された。

第1章 結 論

Isoniazid (INH) はその優れた抗結核作用により今日広く使用されている薬剤であるが、その毒性を低減せしめ、抗結核作用を減弱する事なく大量投与を可能ならしめ、或は INH 以上の抗結核菌力を得るために、INH 誘導体の研究は近時盛に行われている。^{1) 2) 3) 4) 5) 6) 7) 8)} これと共に INH 及び INH 誘導体の生体内変化を追求する事によつて、その生体内に於ける抗結核作用の機序を解明しようとする試みも色々と行われているが^{5) 6)}、実験的結核症に対する之

等薬剤の治療効果を詳細に検討することは、これ等の研究の裏付けともなるものであり、又、一方に於てこれ等の薬剤を臨床的に使用する場合にひとつの目標を提供するであろう。

著者はこれ等 INH 誘導体の中、第1表に示される Isonicotinic Acid Hydrazide Methanesulfonate (IHMS), Isonicotinyl Hydrazinopyruvinate (IPN), Sodium Glucuronate Isonicotinyl Hydrazine (INHG-Na), Sulfoniazide (SNH)。





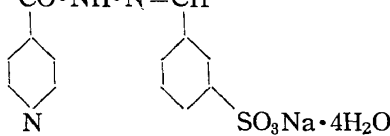

α -Isonicotinoyl- β -carbo-n-decyloxyhydrazine mono-Hydrochloride (No. 217) の5種について実験的マウス結核症に対する治療効果を INH と比較検討した。之等の薬剤の中、No. 217 の抗結核菌作用に関しては、阪大微研堀教授は試験管内実験に於て優れた効果を認めている。

扱て、実験に際しては上記の点に留意し、INH 誘導体の投与量を INH の分子量比による換算量とし、経口投与による場合と皮下注射による場合とについて検討したのでその成績を報告する。尙分子量比による INH 誘導体の投与量は INH を 1 とすれば IHMS は 2.0, IPN は 2.7, INHG は 2.7, SNH は 3.0, No. 217 は 2.6 となる。

第2章 実験方法

実験方法は第1編に於て述べたと同様の手技

第1表 薬品名, 化学構造, 分子量, INH 含有量

| | 薬品名 | 化学構造 | 分子量 | INH含有量 |
|---|-------------|--|--------|--------|
| 1 | IHMS | $\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{NH}\cdot\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}\cdot\text{H}_2\text{O}$  | 271.23 | 50.6% |
| 2 | IPN | $\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{N}=\text{C}-\text{CH}_3$ COONa $\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  | 301.23 | 45.6% |
| 3 | INHG-Na | $\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{N}=\text{CH}(\text{CHOH})_4\text{COONa}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  | 71.26 | 36.9% |
| 4 | No. 217 | $\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{NH}\cdot\text{COOCH}_2(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3\cdot\text{HCl}$  | 357.87 | 38.3% |
| 5 | Sulfoniazid | $\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{N}=\text{CH}$  | 399.36 | 34.1% |
| 6 | INH | $\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{NH}_2$  | 137.14 | 100% |

により結核マウスの生存日数を指標として観察する方法を採つた。

1. 実験材料

A. 実験動物

体重17g前後の dd 系雌マウスを予め一定期間実験条件の下に飼育した後実験に供した。

B. 接種結核菌株

当教室に於いて継代培養して保存している有毒性人型結核菌黒野株を3~4週間グリセリンブイヨン培地に培養し, その菌膜を釣取使用した。

2. 実験術式

A. 接種菌量及び方法

第1編に於て述べたと同様の手技により黒野株の菌膜を採取し 5 mg/cc の菌浮遊液を作製し, その 0.1cc 即ち 0.5mg を実験マウスの尾静脈内に接種した。

B. 供試検体投与方法

各投与薬剤溶液は毎日新に作製したものを其都度投与したが, No. 217 は 0.4%アルコール水に, 他の薬剤はすべて生理的食塩水に溶解した。投与は感染翌日より1日1回経口及び皮下注射によつて行つた。投与薬剤の量は総て体重に比例して与え, 無処置群は対照として生理的食塩水と同じ割合で経口投与及び皮下注射した。薬剤の投与期間は治療群中の1群の半数以

上が死亡する迄とした。

C. 成績判定

平均生存日数, T_{50} 及び生存率曲線について総合判定を行い, 週1回体重を測定して体重経過を判定の参考にした。

第3章 実験成績

実験 I

結核マウスに IHMS, IPN 及び INHG-Na の INH 換算量を投与した時の治療効果の現れ方を, 経口投与による場合と皮下注射による場合とについて, INH と比較対照して検討した。

A. 実験群の編成

前述の実験条件に適したマウス 100匹を選び第2表に示す如く各群10匹宛の10群とし, 2群を対照群として生理的食塩水の経口投与群と皮下注射群とし, 残りの8群を INH 1r/g, IHMS 2r/g, IPN 2.2r/g, INHG-Na 2.7r/g の経口投与群と皮下注射群とにあて, 前述の方法により投薬を行い, 治療効果の現れ方を比較検討した。

第2表 実験群編成 (実験 I)

| 実験群 | 治療方法及び投与量 | 動物数 |
|------|--------------------|-----|
| I | INH 1r/g 経口 | 10 |
| II | INH 1r/g 注射 | 10 |
| III | IHMS 2r/g 経口 | 10 |
| IV | INH 2r/g 注射 | 10 |
| V | IPN 2.2r/g 経口 | 10 |
| VI | IPN 2.2r/g 注射 | 10 |
| VII | INH-G-Na 2.7r/g 経口 | 10 |
| VIII | INH-G-Na 2.7r/g 注射 | 10 |
| IX | 対照 (経口) | 10 |
| X | 対照 (注射) | 10 |

B. 実験成績

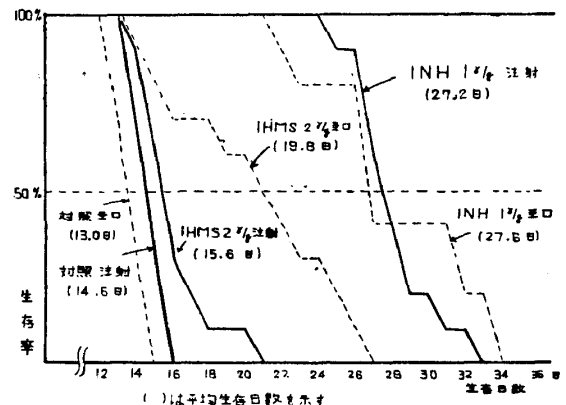
第1~3図に示される如く, 生理的食塩水を投与した対照群のマウスは, 菌接種後, 経口投

与群は15日, 皮下注射群は16日迄に全数が死亡し, 平均生存日数は経口投与群は13.0日, 皮下注射群は14.0日であり, 投与方法による差は見られなかつた。

INH 1r/g 投与群は経口投与でも注射の場合でもかなりすぐれた延命効果が見られているが平均生存日数は経口投与群は27.6日, 皮下注射群は27.2日であり, 投与方法による差は見られなかつた。

第1図に示される如く, IHMS 2r/g 投与群は経口投与群は19.8日, 皮下注射群は15.6日の平均生存日数を示し, 経口投与の場合には対照群に比べてかなりの延命効果が見られるが, それでも INH 1r/g の場合よりはやや劣る成績である。IHMS を注射した場合は対照に比べてやや勝る成績であるが, 延命効果は経口投与に比べて劣る事を認めた。

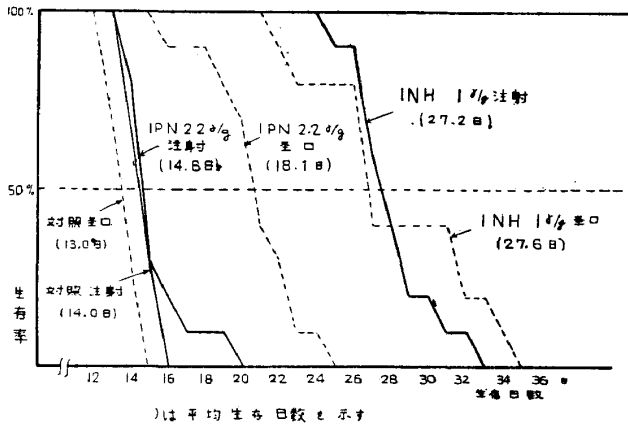
第1図 IHMS 投与による結核マウスの生存率



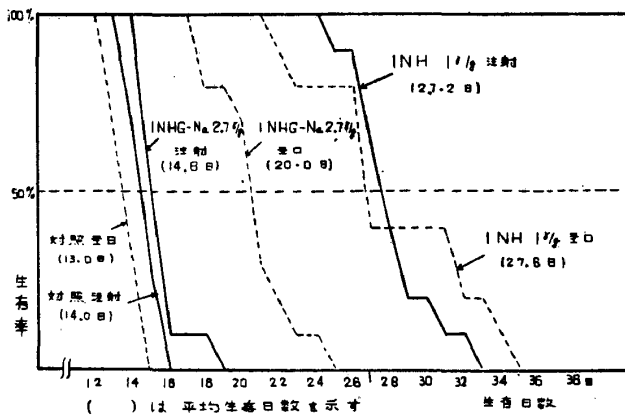
第2図に示される IPN 2.2r/g 投与群は, 経口投与群は18.1日, 皮下注射群は14.6日の平均生存日数を示し, 経口投与群は対照群に比べてかなりの延命効果が見られるが, INH 1r/g の場合よりはやや劣る成績である。IPN を注射した場合はむしろ対照群と大差のない死の方を見せている。

第3図に示される INHG-Na 2.7r/g 投与群は, 経口投与群は20.0日, 皮下注射群は14.8日の平均生存日数を示し, 経口投与の場合には対照群に比べてかなりの延命効果が見られるが, INH 1r/g の場合よりはやや劣る成績であり, 注射した場合は対照群と大差のない死亡をみせている。体重経過は第3表に示す如くであるが

第2図 IPN 投与による結核マウスの生存率



第3図 INHG-Na 投与による結核マウスの生存率



第3表 体重経過(IHMS, IPN, INHG-Na)

| 実験群 | 週 | 前 1 2 3 4 | | | | |
|------|--------------------|-----------|------|------|------|------|
| | | 前 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| I | INH 1γ/g 経口 | 16.7 | 16.5 | 16.0 | 14.3 | 12.8 |
| II | INH 1γ/g 注射 | 16.4 | 17.1 | 17.5 | 16.0 | 12.5 |
| III | IHMS 2γ/g 経口 | 16.7 | 16.5 | 15.6 | 13.2 | |
| IV | IHMS 2γ/g 注射 | 16.4 | 14.9 | 12.7 | 11.0 | |
| V | IPN 2.2γ/g 経口 | 16.5 | 15.9 | 14.0 | 12.3 | |
| VI | IPN 2.2γ/g 注射 | 16.5 | 16.3 | 13.3 | | |
| VII | INH-G-Na 2.7γ/g 経口 | 16.4 | 16.2 | 14.3 | 13.0 | |
| VIII | INH-G-Na 2.7γ/g 注射 | 16.4 | 15.8 | 11.6 | | |
| XI | 対照 経口 | 16.4 | 16.0 | 11.0 | | |
| X | 対照 注射 | 16.6 | 16.1 | 11.0 | | |

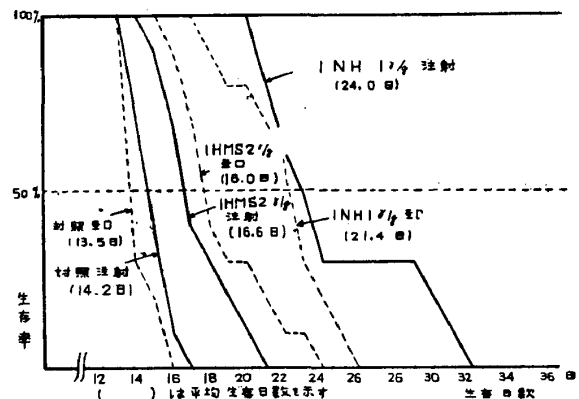
略々生存率の成績に一致している。

以上の実験成績より、IHMS, IPN, INHG-Na は INH と分子量の割合で投与すれば、経口投与では INH には劣るが、かなりの延命効

果が得られるのに反し、皮下注射の場合には、延命効果が非常に劣るものと云いうる。

併し、IHMS 2γ/g の皮下注射群は対照群に比べて稍々勝る成績を示したので再び同様の手技によつて再実験を行つた。その実験成績は第4図に示される如くである。これを見ると生理的食塩水を経口ないし注射で投与した対照群のマウスは、菌接種後13日から17日の間にほとんど一齊に死亡してをり、INH 1γ/g 投与群が経口投与の場合でも皮下注射の場合でもかなりすぐれた延命効果が見られるのは前回の実験成績と略々同様であるが、IHMS 2γ/g 投与群に於て経口投与と皮下注射との延命効果の差が前回の実験における程著明でなく IHMS は皮下注射しても或程度の延命効果がみられる事を観察した。

第4図 IHMS 投与による結核マウスの生存率



実験 II

結核マウスに Sulfoniazid (SNH) の INH 換算量を投与した時の治療効果の現われ方を経口投与による場合と皮下注射による場合とについて、INH と比較して検討した。

A. 実験群の編成

前述の実験条件に適したマウス60匹を選び第4表に示す如く各群10匹宛の6群とし、2群を対照群として生理的食塩水の経口投与群と皮下注射群とし、残りの4群を INH 1γ/g, SNH 3γ/ の経口投与群と皮下注射群とにあて、前述の方法により投薬し、治療効果の現われ方を検討した。

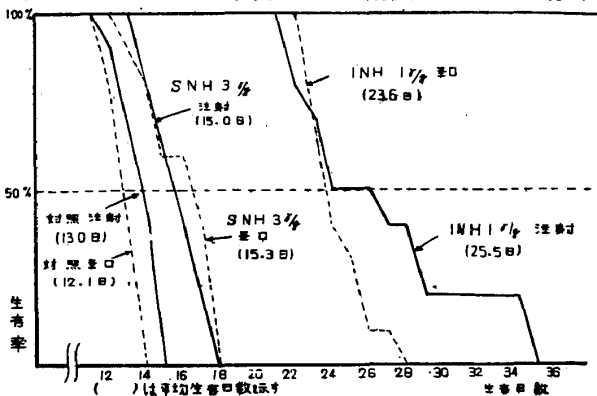
第4表 実験群編成 (実験Ⅱ)

| 実験群 | 治療方法及び投与量 | 動物数 |
|-----|---------------------|-----|
| I | Sulfoniazid 3γ/g 経口 | 10 |
| II | Sulfoniazid 3γ/g 注射 | 10 |
| III | INH 1γ/g 経口 | 10 |
| IV | INH 1γ/g 注射 | 10 |
| V | 対照 (経口) | 10 |
| VI | 対照 (注射) | 10 |

B 実験成績

第5図に見られる如く、生理的食塩水を投与した対照群のマウスは菌接種後、経口投与群は14日、皮下注射群は15日迄に全数が死亡し、平均生存日数は経口投与群は12.1日、皮下注射群は13.0日であり、投与方法による差は見られなかった。

第5図 Sulfoniazid 投与による結核マウスの生存率



INH 1γ/g 投与群は経口投与でも皮下注射の場合でもかなりすぐれた延命効果が見られてをり、平均生存日数は経口投与群が23.6日、皮下注射群が25.5日であり、皮下注射群は稍々延命効果が勝れている。

SNH 3γ/g 投与群は経口投与群は15.3日、皮下注射群は15.0日の平均生存日数を示し、経口投与でも皮下注射の場合でも対照群に比べてやや勝る成績ではあるが、INH 1γ/g 投与の場合よりはかなり劣る成績である。

体重経過は第5表に示される如くであるが、生存率に於ける成績と略々一致しているようで

ある。

第5表 体重経過 (Sulfoniazid)

| 実験群 | 治療方法及び投与量 | 治療期間 | | | | |
|-----|---------------------|------|------|------|------|------|
| | | 前 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| I | INH 1γ/g 経口 | 18.2 | 18.9 | 17.8 | 14.7 | |
| II | INH 1γ/g 注射 | 18.0 | 18.7 | 18.1 | 16.6 | 14.0 |
| III | Sulfoniazid 3γ/g 経口 | 18.2 | 17.4 | 13.8 | | |
| IV | Sulfoniazid 3γ/g 注射 | 17.9 | 17.1 | 13.0 | | |
| V | 対照 (経口) | 18.0 | 16.7 | | | |
| VI | 対照 (注射) | 18.0 | 16.8 | 11.8 | | |

実験 III

実験 I 及び II と同様の方法で No. 217 の INH 換算量及びその 2分の1量を投与した時の治療効果の現われ方を検討した。

A. 実験群の編成

第6表に示す如く、実験条件に適したマウス80匹を選び、各群10匹宛の8群とし、INH 1γ/g, No. 217 2.6γ/g, No. 217 1.3γ/g の経口投与群と皮下注射群及び生理的食塩水を経口ないし注射で投与する対照群にあて、前述の方法により治療を行い、治療効果の現われ方を検討した。

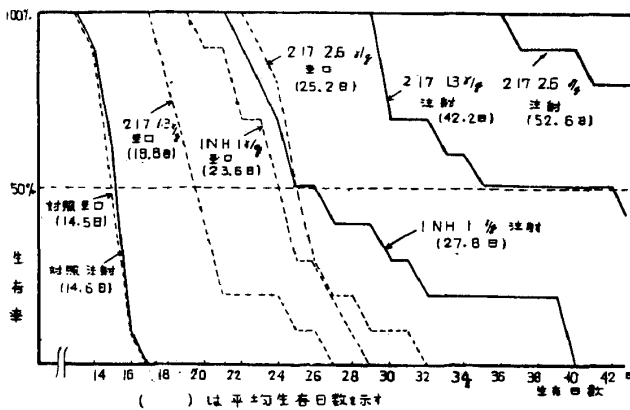
第6表 実験群編成 (実験III)

| 実験群 | 治療方法及び投与量 | 動物数 |
|------|-------------------|-----|
| I | INH 1γ/g 経口 | 10 |
| II | INH 1γ/g 注射 | 10 |
| III | No. 217 1.3γ/g 経口 | 10 |
| IV | No. 217 1.3γ/g 注射 | 10 |
| V | No. 217 2.6γ/g 経口 | 10 |
| VI | No. 217 2.6γ/g 注射 | 10 |
| VII | 対照 (経口) | 10 |
| VIII | 対照 (注射) | 10 |

B. 実験成績

第6図に見られる如く、対照群のマウスは菌接種後13日から17日の間にほとんど一齊に死亡

第6図 No. 217 投与による結核マウスの生存率



しているが、INH 1r/g 投与群はかなりすぐれた延命効果が見られ、経口投与群は23.6日、皮下注射群は 27.8 日の平均生存日数を示している。

No.217 2.6r/g 投与群は、経口投与群は25.2 日の平均生存日数を示し、INH 1r/g 投与群に

劣らない成績であるが、皮下注射群は52.6日の平均生存日数を示し、非常にすぐれた延命効果が見られている。

No. 217 1.3r/g. 3r/g 投与群においては、経口投与群の平均生存日数は19.8日であり、INH 1r/g に比べると少々劣る成績であるが、対照群に比べて可成りの延命効果が見られている。一方、No. 217 1.3r/g 1r/g 皮下注射群は平均生存日数は 42.2日であつてINH 換算量の2分の1の投与に於ても INH 投与に遙かにまさる延命効果を示した。

体重経過は第7表に示される如くであるが、生存率に於ける成績と略々平行しているようである。

この実験に於ては No. 217 は経口投与するとかかなりの延命効果を示すが、注射すると更にすぐれた延命効果が見られる事が観察された。

第7表 体重経過 (No. 217)

| 実験群 | 治療方法及び投与量 | 治療期間 (週) | | | | | | |
|------|-------------------|----------|------|------|------|------|------|------|
| | | 前 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| I | INH 1r/g 経口 | 18.1 | 17.7 | 16.8 | 13.7 | 10.0 | | |
| II | INH 1r/g 注射 | 18.1 | 18.7 | 18.6 | 16.8 | 15.7 | 14.0 | 12.5 |
| III | No. 217 1.3r/g 経口 | 18.1 | 18.3 | 16.0 | 14.5 | | | |
| IV | No. 217 1.3r/g 注射 | 18.0 | 19.1 | 18.6 | 18.3 | 16.6 | 14.8 | 12.8 |
| V | No. 217 2.6r/g 経口 | 18.1 | 18.9 | 17.9 | 16.0 | 13.2 | | |
| VI | No. 217 2.6r/g 注射 | 18.0 | 19.7 | 19.7 | 19.4 | 19.8 | 18.2 | 17.5 |
| VII | 対照 経口 | 18.1 | 18.2 | 13.0 | | | | |
| VIII | 対照 注射 | 18.1 | 18.0 | 13.0 | | | | |

第4章 総括並に考按

著者は本編に於て、マウスの実験的結核症に対する INH 及び INH 誘導体の経口投与並に皮下注射による治療効果を主として生存率を観察する方法によつて検討した。その実験成績を総括すると、著者の実験条件に於ては、INH は経口投与、皮下注射の何れに於ても同じ程度のかかなりすぐれた効果がみられるが、INH 誘導体は INH 換算量の投与では、IHMS, IPN, INHG-Na は経口投与の場合には INH には劣る

が有効であるのに反し、皮下注射の場合には IHMS に若干の効果が認められたが、IPN, INHG-Na には殆んど治療効果が観察されなかつた。SNH は INH 換算量の投与では経口投与においても皮下注射においても INH に比べてかなり劣る治療効果を示したが、No. 217 は INH に対して分子量の割合で 2.6r/g を投与すると、経口投与した場合は INH に匹敵する効果を認め、皮下注射の場合には INH よりはるかに勝る効果が観察された。又、INH 換

算量の2分の1量(1.3r/g)の投与でも、皮下注射の場合はINHにまさる効果がみられたが経口投与に於てはINHよりかなり劣る効果を示した。

実験的結核症に対するINH及びその誘導体の経口投与並に注射による治療効果を検討した成績については、既に五味⁵⁾、伊藤等⁶⁾、小川等⁹⁾、貝田等¹⁰⁾、佐川等¹¹⁾のINH, IHMS, IPN, INHG-Naに関する報告があるが、マウスの実験的結核症について行なつた五味⁵⁾、伊藤等⁶⁾、小川等⁹⁾の実験成績と比較すれば、著者の実験成績と五味⁵⁾の夫れとは略々一致して居り、伊藤⁶⁾の成績とはIHMSの注射において僅かの相違があるが略々一致している。小川⁹⁾はINHとIHMSについて実験を行なつたのであるが、INH及びIHMSの経口と皮下投与との間に治療効果の差を認めず、伊藤⁶⁾の成績に似た結果を得ている。

著者の実験に於てIHMSの注射による治療効果は第1回目に比べて第2回目にややすぐれた成績が観察されたが、いづれにしてもIHMSの注射が或程度有効である点に関しては一致した成績を認めたと云つてよいであろう。

IHMSが注射の場合にIPN, INHG-Na等の他のINH誘導体にまさる治療効果が認められる理由として、五味⁵⁾、伊藤等⁶⁾はIHMSが生体内に於て容易にINHを遊離することをあげているが、INHとその誘導体を生体内に於て識別する方法が確立されていない今日では、

INH誘導体の生体内での作用機転を断定する事は困難である。併しながら、著者の実験成績は、五味⁵⁾、伊藤等⁶⁾の考えと矛盾しないようである。SNHの動物実験については、A. Lutz⁷⁾が海狸に於て結核病変の程度を比較する方法により検討して、SNH 5r/g及び8r/gの経口投与では対照群にまさる効果を認めるのに反し、注射による治療効果は著明ではないと報告している。北本等¹²⁾はマウスの実験的結核症について、SNH 40r/gの皮下注射ではINH 20r/gの皮下注射の場合よりも治療効果が劣る事を観察しているが、著者の実験成績に於ては、SNH 3r/gの投与では、経口投与でも皮

下注射の場合でも著明な治療効果は観察し得なかつた。SNHの投与方法による治療効果の相違については、更にSNHの投与量を多くして検討すべきであろう。

No. 217の実験的マウス結核症に対する治療効果は著者の実験成績に於ては可成りすぐれた結果がみられているが、特に皮下注射した場合に著明な治療効果が観察された事は前述の4つのINH誘導体に比べて甚だ異なるところであつて、INH誘導体の効果はそれに含まれるINHによる効果であるとする五味⁵⁾、伊藤等⁶⁾の考とNo. 217に関する著者の成績とは矛盾しているような印象をうけるのである。この点に関しては著者はNo. 217の結核菌への作用機転並に生体内変化について十分な資料が得られないので批判は差控えたいが、No. 217が水に溶けにくい性質をもっていることも投与方法による治療効果の差を検討する場合には無視出来ないものであると思われる。

即ちNo. 217を注射する場合0.4%アルコールに溶解したとは言ふものの、完全に溶液とはなつて居らないので、注射部位から徐々に吸収されるのではないかと考えられる。

扱て、INH誘導体の生体内変化については色々議論されているが、決め手となる様な実験方法がいまだ見出されない現在、不明な点が非常に多く、従つて個々の誘導体の特性についても、具体的に知り得ない面が多いのであるが、実験的結核症に対する治療効果が投与方法によつて異なる成績を示すことは、これ等のINH誘導体の特性のある一面を示していると思つてよいであろう。

第5章 結 論

実験的マウス結核症の生存日数を指標とする方法によつて、INH及びINH誘導体の治療効果を、経口投与した場合と皮下注射した場合とについて、INHの投与量を1r/g、INH誘導体の投与量はINH換算量として検討した。

その結果、INHは経口投与、皮下注射の何れに於ても、かなりすぐれた効果が見られるが、INH誘導体の中、IHMS, IPN, INHG-Na

は経口投与の場合は INH には劣るが有効であるのに反し、皮下注射の場合には IHMS に若干の効果が認められたが、IPN, INHG-Na には殆んど効果がみられなかつた。SNH は経口投与、皮下注射の何れに於ても INH に比べてかなり劣る治療効果を示し、投与方法による治療効果の差は見られなかつたが、No. 217 は経口投与では INH に匹敵する効果を示した程度であるのに注射では INH に比べてはるかに勝る効果が観察された。

(欄筆に臨み終始懇切な御援助を戴いた前川助教授、種々便宜を与えられた済生会中津病院院長間島博士、内科医長隴谷博士、清水博士並に同僚各位、実験推進に御協力を戴いた塩野義研究所西村博士並びに中島清氏に深く感謝する。)

文 献

- 1) Passedouet et al : Rev, de la Tuberc., 17, 784, (1953)
- 2) Brouet et al : Ilid, 17, 789, (1953)
- 3) 北本他 : 日本化学療法学会雑誌, 1, 36, 昭28
- 4) 中院他 : 総合臨床, 5, 1568, (昭31)
- 5) 五味 : 最新医学, 12, 1149 (昭32)
- 6) 伊藤他 : 同, 12, 1434 (昭32)
- 7) A. Lutz : Ann. Inst. Pasteur, 90, 34(1956)
- 8) Rist. N : La Presse médical 65, 615 (1957)
- 9) 小川他 : 文部省科学研究費結核研究化学療法班報告 (昭31. 11)
- 10) 貝田他 : 第 6 回日本化学療法学会総会発表 (昭33)
- 11) 佐川他 : 結核, 33特別号, 75 (昭33)
- 12) 北本他 : 第 6 回日本化学療法学会総会発表 (昭33)