

実験的結核症の INAH 誘導体による治療実験

第一編

Isonicotyl hydrazone glycuronolactone のマウスによる

急性毒性試験並びに実験的結核症の治療実験

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

山下三代吉

〔昭和33年7月26日受稿〕

内容目次

第1章 緒言	第1項 INHG
第2章 実験材料	1. 第一実験
第3章 実験方法及び実験成績	2. 第二実験
第1節 急性毒性試験	第2項 IHMS
第1項 実験方法	第4章 総括並びに考按
第2項 実験成績	第5章 結語
第3項 急性中毒症状	文献
第2節 実験的結核症に対する治療	

第1章 緒言

結核治療剤の過去の歴史を顧みるとコッホがツベリクリンを特効薬として発表して以来、幾多の無機及び有機物質が特効薬として発表されたが、いづれもその中に使用されなくなった。

その理由は単に効果が無かつたというだけではなく、種々の副作用が経験されたからでもある。

近時 Streptomycin (SM) が抗結核剤として、輝しく登場し、次で Paraaminosalicylic acid (Pas), Thioacetazone (TB₁) が発見され、更に 1912 年 Isonicotinic acid hydrazide (INAH) が Meyer¹⁾ によつて合成された。以来 INAH を中心とした広範な研究によつて 1-isonicotinyl-2-isopropyl hydrazine (Marsild), 1-isonicotinyl-2-glucosyl hydrazine, Isonicotinsäure benzahl hydrazid (Isoteben), P-oxybenzähl isonicotinsäure hydrazone (Flavoteben), M-oxybenzähl isonicotinsäure hydrazon (Acrotoben), P-chlorbenzähl isonicotinsäure hydrazon 等、続々と INAH 誘導体が出現し、又最近 Peter¹⁸⁾ 等は D-galactonic acid isonicotinyl hydrazone が抗菌価が高く動物に対す

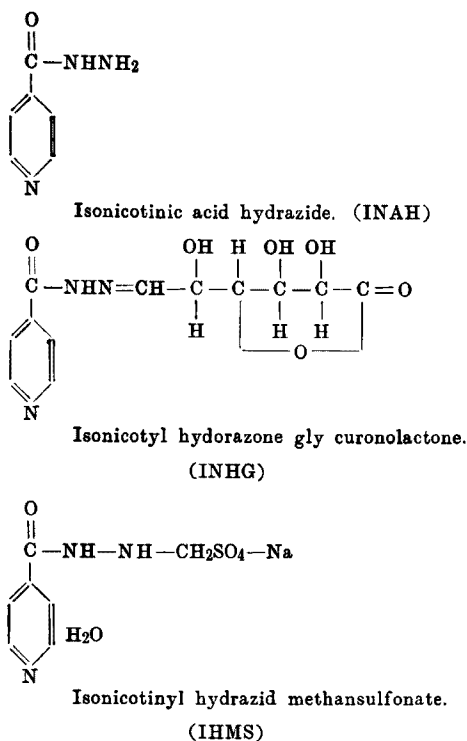
る毒性は INAH より少いと紹介している。茲に私は最も新しい INAH 誘導体の毒性試験並びに実験的結核症の治療実験を行う機会を得たのでその成績を報告する。

本研究の対象である Isonicotyl hydrazone de la glycuronolactone (INHG) は 1952 年フランスの Passedouet¹⁷⁾ 等によつて INAH とグルクロン酸 (ラクトン型) との縮合物として合成され、引続き Brouet³⁾ 等によりラッテ、モルモットの実験的結核症に対する治療実験が行われ、その進展を阻止するといわれているが、之は単に剖検所見に基くものであつて、斯かる治療実験に必要な不可欠の臓器結核菌定量培養実験を欠いているので、直ちにその効力の正確さを云々する事は出来ない。

そこで私は今回本邦に於て製造せられた本薬剤を使用し、改めてマウスによる毒性試験及びマウス実験的結核症に対する厳密なる定量培養実験による治療効果を検討した。

なお本研究に於ては対照として INAH 及びその誘導体である IHMS についても実験し、INHG と比較検討した。

第 1 図



第2章 実験材料

i) 薬剤： 両薬剤の化学構造は図に示す通りで両者とも無臭の白色乃至類白色の結晶性粉末である。INHG は1モルの中に INAH が44.62%含まれており、水には溶け難く、熱すれば溶解する。

IHMS は INAH が54.1%含まれ水によく溶解し、アルコールには僅かに溶け、エーテルには極めて難溶で、水溶液は殆んど中性である。融解点は INHG 169~170°C、IHMS は166~168°Cで INHG が僅かに高い。

ii) 実験動物： INHG、IHMS の基礎実験、即ち急性毒性試験及び抗結核剤としての効力判定に夫々 10.g 及び 12 g 前後のマウスを使用した。

第3章 実験方法及び実験成績

第1節 急性毒性試験

第1項 実験方法

体重 10 g のマウスを選び、その150匹を25群に分け、INHG、IHMS は水溶液とし 60°C 30分 3回滅菌後、夫々の所要量を総て 0.2 cc 中に含ませるようにして使用した。

薬物投与量の決定： 先づ予備実験として3匹宛の4群を作り、INHG、IHMS が夫々500 mg/kg、2000 mg/kg の量を皮下注射した処、500 mg/kg 群は全部生存、2000 mg/kg 群は全て死亡する事を確認したので、之を上下の薬量として本実験の使用量を500 mg/kg、1000 mg/kg、1500 mg/kg、2000mg/kg と定めた。なお経口投与の場合は本実験の成績によつて 2500 mg/kg を追加した。

本実験： 前記水溶液 0.2 cc をマウスの大腿皮下に注射し、又手製マウス経口投与針で確実に食道に薬液が入るようにして経口投与した。比較の意味で INAH も同様に実施した。

第2項 実験成績

判定は5時間後とし第1表は各濃度に於けるマウスの死亡数を示しこもので、皮下注射の場合 500 mg/kg では全部生存し、濃度が増すに従い死

第1表 INAH 平均致死量

方法	量	1mg	1.5mg	2mg	2.5mg	Ld (50)
皮下		0/6	4/6	6/6		141 mg/kg
経口		0/6	2/6	5/6	6/6	167 mg/kg

INHG 平均致死量

方法	量	5mg	10mg	15mg	20mg	25mg	Ld (50)
皮下		0/6	2/6	5/6	6/6		1167mg/kg
経口		0/6	1/6	3/6	5/6	6/6	1500mg/kg

IHMS 平均致死量

方法	量	5mg	10mg	15mg	20mg	25mg	Ld (50)
皮下		0/6	3/6	5/6	6/6		1083mg/kg
経口		0/6	2/6	4/6	5/6	6/6	1333mg/kg

註. 使用動物：10瓦のマウス

判定：5時間

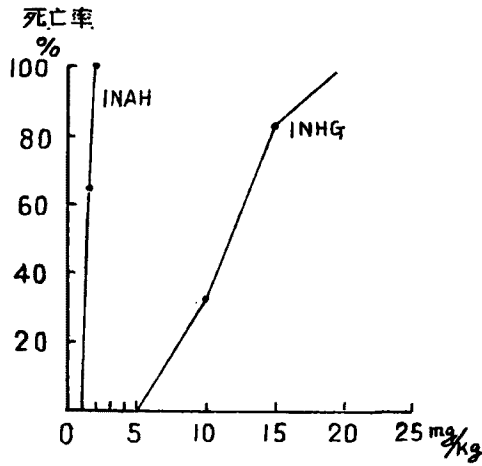
計算：面積法

分子：死亡数

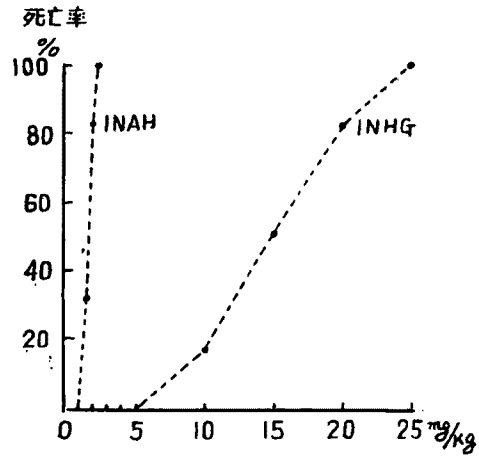
分母：使用マウス数

亡数も増大し、2000 mg/kg では全部死亡し、経口投与も同様に 2500 mg/kg で全部死亡した。之を毒性曲線で示すと第2図の如くなり、之より面積法で算定すると平均致死量は INHG 皮下注射 1167 mg/kg、経口投与 1500 mg/kg、IHMS 皮下 1083 mg/kg、経口 1333 mg/kg であつた。同時に行つた INAH Ld (50) 皮下 141 mg/kg、経口

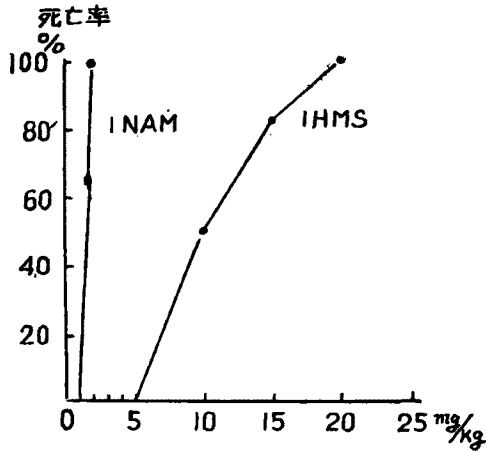
第 2 図



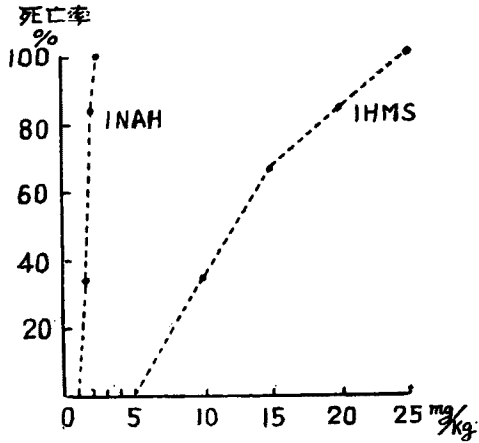
INHG, INAH 皮注毒性曲線



INHG, INAH 経口毒性曲線



IHMS, INAH 皮注毒性曲線



IHMS, INAH 経口毒性曲線

167 mg/kg に比較すると INHG, IHMS 共 7~8 倍になり、従つて毒性は INAH の 1/7~1/8 である。

第3項 急性中毒症状

INHG・INAH の症状に似ており早いもので 30分、遅いものでも 4 時間以内に疾走、跳躍等の運動過敏乃至は興奮状を示し、次で四肢の間代性強直性の痙攣を起し、呼吸麻痺と思われる状態で死亡した。その内、興奮状から回復したマウスは死亡を免れた。

IHMS: 注射後興奮(中には促進せる大呼吸をなすもの等ありて、間代性の痙攣を起し、強直性の状態になると間もなくマウスは死亡した。

INHG, IHMS 共に注射後 2 時間以内に死亡するもの多く、それ以後は 5 時間までに少数死亡し、次後死亡なく、24 時間後には外観的に摂食普通、運動活潑で変化しないようであつた。

第2節 実験的結核症に対する治療

第1項 INHG

未だ正確な動物実験の行われてない INHG が有効か否か、又 INAH との比較についてマウスを結核に感染せしめて第一、第二実験を行つた。

1. 第一実験

1) 実験方法

マウスは体重 12 g 前後の雌性 84 匹を使用し、1 群を 6 匹宛とした。接種菌は人型結核菌 H₃₇ Rv

を用い、3%小川培地で2週間培養した集落を取り、ガラス玉入り硬質コルベンで手振法により15 mg/ccの菌浮遊液を作り、その0.15 mg菌量をマウスの右下腹部腹腔内に接種した。使用薬剤は INHG 1 mg (83 mg/kg), 3 mg (250 mg/kg), 7 mg (583 mg/kg) であり、実験群としては之等の各群と対照の非治療群共で4群を編成した。治療は菌接種翌日より連日投与とし、期間は3週及び6週間とした。薬剤の投与に当つては水溶液とし、所要量を0.1 cc 中に含ましめるようにし、毎日1回マウスの大腿皮下に注射した。

治療開始3週後各群より3匹宛を屠殺し肺、肝、

脾の肉眼的病変の程度及び結核結節の多少を検し、その内各群2匹宛については肺、肝、脾の臓器結核菌定量培養を行った。臓器結核菌定量培養は各臓器をガラスホモゲナイザーで磨碎し、平等乳剤となし4%苛性ソーダで50, 500, 5000倍に稀釈し、その0.1 cc を3%小川培地に夫々3本づつ培養し、週1回孵卵器より取り出して生じた集落数を算定し6週間観察したが、判定は4週目に行った。

治療6週後も残り半数を同様に剖検し処理した。

2) 実験成績

肉眼的剖検所見 治療開始3週後に屠殺したマウスの各臓器の剖検所見は第2表に示した通りで肉

第2表 INHGにより3週間治療せるマウスの肉眼的剖検所見

No.	臓器	1 mg			3 mg			7 mg			対 照		
		肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾
3 の 1		-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
3 の 2		±	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+
3 の 3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+

眼的病変をヒストグラム法で記載した。即ち、対照群には著明な結核性病変が認められ、特に脾に於て著しく、INHG 1 mg 治療群には軽度の病変が認められ、3 mg, 7 mg 治療群には殆んど認められな

かつた。

治療開始6週後に屠殺した剖検所見は表の如くで、7 mg 治療群以外には病変を認めたが、3 mg, 1 mg 治療群は極めて僅かであった。

第3表 INHGにより6週間治療せるマウスの肉眼的剖検所見

No.	臓器	1 mg			3 mg			7 mg			対 照		
		肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾
3 の 4		-	-	±	-	-	-	-	-	-	+	±	+
3 の 5		-	+	-	-	-	±	-	-	-	+	-	+
3 の 6		±	±	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+

臓器結核菌定量培養成績 小川氏¹⁴⁾¹⁵⁾による方法で臓器1 mg の生菌数を数字で表わしたのが第4表である。1 mg, 3 mg 治療群共それぞれ対照に比して臓器1 mg 中の菌量少く、7 mg 治療群は肺、肝、脾とも全て陰性であり、次で3 mg 治療群、

1 mg 治療群の順で有効である。又3週よりは6週の方がより有効な数値を示している。以上の事柄より実験的マウス結核症に INHG は充分の抗菌力を表わしている事が分る。

第4表 INHG 3週, 6週間治療せる臓器結核菌定量培養成績

臓 器	1 mg			3 mg			7 mg			対 照		
	肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾
3 週	0	雑	60	0	3.3	38	0	0	0	35	431	626
6 週	0	0	1.5	0.8	0.4	0.4	0	0	0	141	17	227

(臓器1mg 中コロニー数)

2. 第二実験

1) 実験方法

第一実験で INHG の有効なる事を立証し得たので、INHG と INAH の投与量を種々変える事により INAH と効果の比較を見んとして本実験を行った。投与量は第 5 表の如くにし、1 群 6 匹の 10 群に編成を行い、動物、菌、薬剤等は第一実験と同様にした。

第 5 表 INHG, INAH 皮下注射量

INHG	第 1 群	5 mg	417 mg/kg
	第 2 群	1 mg	83 mg/kg
	第 3 群	0.5 mg	42 mg/kg
	第 4 群	0.1 mg	8 mg/kg
	第 5 群	0.05mg	4 mg/kg
INAH	第 6 群	1 mg	83 mg/kg
	第 7 群	0.5 mg	42 mg/kg
	第 8 群	0.1 mg	8 mg/kg
	第 9 群	0.05mg	4 mg/kg
対 照	第 10 群		

註. 各群 6 匹体重 12 瓦の マウス

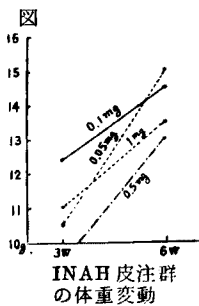
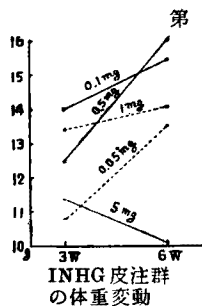
2) 実験成績

体重の変動: 第 6 表及び第 3 図は各群の 3 週及

第 6 表 INHG, INAH で 3 週, 6 週間

治療せるマウスの体重の推移

	薬 量	3 週	6 週
INHG	5 mg	- 0.66g	- 2.0g
	1 mg	+ 1.4 g	+ 2.0g
	0.5 mg	+ 0.6 g	+ 4.0g
	0.1 mg	+ 2.0 g	+ 3.5g
	0.05mg	- 1.33g	+ 1.5g
INAH	1 mg	- 1.0 g	+ 1.5g
	0.5 mg	- 2.74g	+ 1.0g
	0.1 mg	+ 0.33g	+ 2.5g
	0.05mg	- 1.5 g	+ 3.0g
対 照		+ 0.5 g	+ 2.66g



び 6 週の平均体重より当初の体重を差引いた数値である。治療 3 週目に於て INHG 群は既に体重増加が認められ、特に INHG 1 mg 投与群が著しく、6 週目に於ては 0.5 mg 投与群(+4.0 g), 0.1 mg 投与群(+3.5 g), 1 mg 投与群(+2.0 g), 0.05mg 投与群(+1.5 g)の順に夫々体重増加が認められる。一方 INAH 群は 3 週目には体重増加は顕著でなく 6 週目に於て INAH 0.05 mg 投与群(+3.0 g), 0.1 mg 投与群(+2.5 g), 1 mg 投与群(+1.5 g), 0.5 mg 投与群(+1.0 g) と増加を見ている。なお INHG 5 mg 投与群に 3 週で(-0.7 g), 6 週で(-2.0 g) の体重減少を認めるが、之は大量投与による慢性中毒のためではないかと思われる。INHG 群と INAH 群では前者の方が体重増加は明らかに勝つているといえる。

脾重の変動: 静注接種マウスの脾に於ては感染後次第に腫脹し、3 週前後で 2~3 倍の大きさになり、以後次第に減退すると岩崎⁸⁾等はいつている。このように脾が結核感染が重篤なるにつれて、正確

第 7 表 脾重の比較

薬 名	薬 量	3 週	6 週
INHG	5 mg	80mg	95mg
	1 mg	110mg	150mg
	0.5 mg	60mg	35mg
	0.1 mg	60mg	100mg
	0.05mg	135mg	83mg
INAH	1 mg	90mg	82mg
	0.5 mg	52mg	75mg
	0.1 mg	44mg	95mg
	0.05mg	35mg	95mg
対 照		70mg	87mg

に増量するものであり、同時にマウス個体差の問題が無ければ、治療薬の種類、投与量の多寡、治療期間の長短等と脾重との間に何らかの関聯性がある訳であろう。而し本実験では腹腔内接種のためか、各薬量間の差が僅かなためか不明であるが、一定の傾向がこの場合現われなかつた。

臓器結核菌定量培養: 小川氏法⁽⁴⁾⁽⁵⁾により行った成績は第 8 表の如くで、数値は各群夫々 2 匹の平均値である。INHG では 0.1 mg 群, 0.05 mg 群の肝、脾より集落発育を認められるも 6 週治療後には殆んど発育せず、0.05 mg 群の脾に僅かに認められるに過ぎない。一方 INAH は 0.1 mg 群,

第 8 表 INHG, INAH で3週, 6週間治療せる結核菌定量培養成績

薬名	薬量		5 mg			1 mg			0.5 mg			0.1 mg			0.05 mg		
	臓器		肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾	肺	肝	脾
INHG	3週	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	50	0	0	116	
	6週	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.2	
INAH	3週					0	0	0	0	0.26	0	0	14	0	0	0.3	40
	6週					0	0	0	0	0	0.6	0	0	0	0	0	0

第 10 表 INHG 6週治療後の培養成績

対照	臓器		肺	肝	脾	対照	培地中 INHG 含量 1cc		
	3週	6週	0	0.17	107		1γ	10γ	100γ
	3週	0	0.17	107		+	-	-	-
	6週	0	2.5	40.2		-	-	-	-

0.05 mg 群の肝, 脾に認められるも, INHG 群より程度は少く, 6週後には認め難い. INHG と INAH の成績を比較すると 0.1 mg, 0.05 mg 群共明らかに同量では INHG が少く劣る事が分る.

マウスの死亡数: 本実験に於ては表の如くで INHG は 5 mg 群に 2 匹, 他の群では 1 匹宛 6 週の実験完了までに死亡し, INAH は 1 mg, 0.5 mg 群は夫々 2 匹宛, 残りの群は 1 匹宛死亡し, 対照群

第 9 表 6週までのマウス死亡数

群	量	5mg	1mg	0.5mg	0.1mg	0.05mg
INHG	3	1	1	0	1	
INAH		2	2	1	1	
対照				0		

には死亡を見なかつた. INHG 5 mg 投与群の死亡は大量投与である故別として, INHG の同一量の群と比較して INHG の少い事は, 之も本剤の毒性の小なる事的一端を示しているのである.

薬剤耐性: 6週治療後に於ける耐性菌出現の有無は INHG 1, 10, 100 γ/cc 添加小川培地に 0.1 mg 群, 0.05 mg 群の脾乳剤を接種培養したが, 短期間治療及び薬量の少いたためか, 耐性菌の出現をみるに至らなかつた.

第 11 表 IHMS で3週, 6週間治療せる結核菌定量培養成績

群	1mg INAH			1mg IHMS			3mg IHMS			7mg IHMS					
	皮下			経口			皮下			経口					
臓器	脾	肝	肺	脾	肝	肺	脾	肝	肺	脾	肝	肺	脾	肝	肺
3週	0	0	0	0	0	0	17.9	8.4	0.4	0	0	0	0	0	0
6週	0	0	0	0	0	0	2.0	0.6	0	0	0	0	0	0	0

註. 材料 脾エムルチオン
培地 小川耐性培地

第 2 項 IHMS

1) 実験方法

体重 12 g 前後のマウスに人型結核菌 H₃₇ Rv 0.15 mg を腹腔内に接種し, 翌日より皮下及び経口投与を開始した. マウスは各群 6 匹宛 9 群に編成し第 I, II 群は IHMS 皮下及び経口夫々 1 mg, 第 VII, VIII 群は INAH 皮下及び経口夫々 1 mg, 第 IX 群は非治療対照群とした. 治療は連日投与とし, 期間は 3 及び 6 週間とした. なお 3 週間後より各群とも投薬量を半減した. 又 3 週と 6 週に夫々半数づつ剖検定量培養を行つた.

2) 実験成績

肉眼的剖検所見: (表略) 3 匹宛の 3 週及び 6 週の剖検に於て, 各臓器の病変は対照群の顕著な事は勿論で, 治療群の内 IHMS 1 mg 群, INAH 1 mg 経口群に軽度の病変が見られ, IHMS 3 mg 群, IHMS 7 mg 群には病変は認められなかつた.

臓器結核菌定量培養: 3 週及び 6 週後の肺, 肝, 脾の培養成績は第 11 表の如く, 各群とも 3 週及び 6 週後何れも培養陰性であるが, 唯 IHMS 1 mg 経口

群 方 法		対 照		
		脾	肝	肺
3 週		∞	∞	35
6 週		∞	16.9	卅

投与群に臓器 1mg 当り表の如き価が出るも 6 週後には著明に減少している。即ち、IHMS は同一量に於て INAH に比しやや劣る点もあるが大体に於ては近似の効果を示している。

第 4 章 総括並びに考按

或る種の薬剤から種々の誘導体が改良合成される事により新製品が元の性状より、より安定で副作用も減じ、薬理作用も増強されて来た例は古今その例が多々ある。本実験の INHG はそのような意味で作られた INAH の新誘導体であるが、その基礎実験が未だ確立されていないので、私はマウスを用い、はじめて系統的基礎実験を行い同時に INAH、IHMS との比較検討をも行つた。

INHG は緒言で述べた如く、ラクトン型のグルクロン酸でイリニコチール・ヒドラゾンを縮合したものである。なおグルクロン酸は 1878 年 Jaffe⁹⁾ によつて報告され、現在抱合解毒剤として広く宣伝されている事は衆知の事である。

さて 1952 年 Passedouet¹⁷⁾ 等は INHG を合成し、引続いて Brouet³⁴⁾ 等によつてラッテ、モルモットの試験を行い、本剤が実験的結核症を阻止する力を有すといひ、その作用は単にその中に含有する INAH を遊離するのみでなくグルクロン酸成分が作用する事によつて、INAH の菌被膜の貫通が容易になる事及びヒドラジンがヒドラゾンに変つた事等にもよるものであらうと述べているが、氏等の実験は実は剖検所見のみによるもので、斯かる治療実験に最も重要な極手である臓器結核菌定量培養を怠つていたので、果して確実に本剤が有効か否やを直ちに決める事は出来ない。即ち実験的結核症に対する治療効果の判定については、岡等¹⁶⁾が述べている如く、組織又は臓器に肉眼的に見得る結核性病変の量とその中に含まれている生きた結核菌の数とは必ずしも並行しない。又化学療法である以上、体内で結核菌を直ちに死滅せしめないとしても、少なくとも比較的短期間に菌の繁殖が阻止される事が証明されないと有効とはいえない。特に結核病変は自然

後退の傾向が大きいから、培養によつて生菌の検索を行う事は効果の判定上非常に大切な事となる。

そこで私はマウス実験的結核症に対する INHG の治療効果を臓器結核菌定量培養により厳密に検討せんと企てた。

又本剤の毒性については Brouet³⁾ 等は 20 g のマウスの平均致死量を求めているが、現今一般に用いられている 10 g のマウスに対する平均致死量は全々求められていないので、私は本研究に於て之も併せ検討した。

先づ毒性試験について総括するに、私は 10 g のマウスの平均致死量は INHG 皮下注射 1167 mg/kg、経口投与 1500 mg/kg である事を認めた。先に述べた如く Brouet³⁾ 等は 20 g のマウスについて平均致死量を求め、経腹膜 1500 mg/kg、経胃 1250 mg/kg といつているが、10 g のマウスについては行つていない。次に対照として行つた INAH の平均致死量は皮下注射 141 mg/kg、経口投与 167 mg/kg であるが、之は Benson²⁾ 等の皮下 160 mg/kg、経口 142 mg/kg、静注 157 mg/kg、Rubin¹⁹⁾ 等の皮下 170 mg/kg、経口 190 mg/kg という報告、又邦製 INAH 16 種類についての柳沢²²⁾ の皮下 142~187 mg/kg という報告(厚生省結核療法研究協議会報告のまとめ)と大差がない。

次に同じく対照として行つた IHMS の平均致死量は皮下注射 1083 mg/kg、経口投与 1333 mg/kg であり、坂本²⁰⁾ の皮下 1106 mg/kg という報告とほぼ一致した。

このようにして私の実験では INHG のマウス平均致死量は IHMS の夫れより少し高いが、いづれも INAH のほぼ 6~8 倍に及び、従つて毒性は INAH の 1/6~1/8 であるといひ得る。

なお INAH 急性中毒症状として Benson²⁾ はマウスが間代性の痙攣、次で強直性に四肢を痙攣して死亡すると述べ、同様に Rubin¹⁹⁾ も興奮、衰弱、疾走運動、痙攣が見られ、呼吸麻痺で死亡したと述べており、このように一般に INAH には中枢神経⁵⁾⁶⁾⁷⁾²¹⁾ 及び末梢神経¹⁾¹²⁾ に対する作用がある事が知られているが、私の観察した INHG、IHMS の急性中毒症状が前述の如く INAH のそれと似ているのは縮合物としての中毒というよりも INAH 中毒症状が主となるためであらう。

さて次にマウス結核症に対する治療実験を総括するに先づ第一実験では INHG 1mg、3mg、7mg 投与群とも、剖検所見では結核性病変が対照に比し

極めて少なく、又臓器定量培養でも対照に比し菌の発育は極めてわずかであつた。即ち INHG のマウス実験的結核症に対する治療効果は極めて著明である事が判明した。

次に第二実験では、投与量を一層減少して INAH の効果と比較したのであるが、INHG 5 mg, 1 mg, 0.5 mg 投与群ともそれぞれ3週において臓器定量培養上、各臓器とも全て陰性であり、6週には 0.1 mg 投与群も陰性となつた。これに対して INAH 投与群も殆んど同様な成績であるが、培養陽性の部分を比較するならば、INAH 治療群の方が幾分発現集落数が少なかつた。従つて本実験では INHG 投与群が INAH 投与群に僅かに劣るといい得る。しかし之は INHG に含まれる INAH は 44.62%である事を思えばもとより当然で、むしろこのように INAH に接近した成績の得られる事は、INHG の効力が単に INAH のみによるもので無い事を示しているといえよう。

なおマウスでは血沈、体温等に対する影響を見るべくもないが、体重に対し INHG は INAH より良好な影響を及ぼした。即ちこの事は前述の如く本剤の毒性が INAH に比し極めて低い（マウスで $1/6 \sim 1/8$ ）事によるものであろう。これらの事を思えば本剤のかなりの大量投与が可能と思われ、従つて実際的には以上の定量培養の成績はさらに高く期待されてよいものと思われる。但しもとより動物実験の成績をもつてそのまま臨床にあてはめる事は危険で、その間に充分なる考慮を要する事が必要である。

次に耐性発現の問題であるが INAH の新誘導体である INHG は当然、耐性獲得の点でも恐らく INAH と同様な態度を示すであろうと思われる。この点については教室吉川²³⁾、景山¹⁰⁾の研究があり教室大藤¹³⁾等は臨床的に INHG 耐性菌の出現を認めている。而し本実験では6週の治療期間であり、使用薬剤の総量も1匹当り、最高 0.2 g 程度であつたので耐性菌の出現を認める事は出来なかつた。

最後に INHG の効力を IHMS のそれと比較するために IHMS についてもマウスを使用して経口及び皮下投与により治療したが、先に述べた如く剖検所見並びに定量培養によつて、INAH にはやや劣るがほぼ近い抗結核作用を認めた。即ち以上の実験成績から両者を比較検討するに、まず Ld (50)

は前述の如く共に INAH の $1/7$ 程度であり、動物実験については培養所見を比較すると、多少 IHMS の方がよいようであるが、著明な差ではない。

以上から結論的にいつて INHG は実験的結核症に対して IHMS とほぼ同等の効力があり、又 INAH と同一薬量を用いた時は定量培養成績がやや劣るが、毒性が INAH の $1/7$ であるので大量投与が可能であり、臨床的にはさらに強力な効果が期待され得るものと考えられる。

第5章 結 語

INAH の新誘導体である INHG について、これまで行われていない所の実験的結核症に対する確実なる治療効果を検討し、併せて毒性をも再吟味し、次のような結果を得た。なお INAH, IHMS を対照として使用し比較検討した。

1) INHGの10 g のマウス皮下注射 Ld (50) は 1167 mg/kg, 経口投与 1500 mg/kg であり、IHMS の皮下注射 Ld (50) は 1083 mg/kg, 経口投与 1333 mg/kg であつて、共に INAH の約6~8倍に相当し、毒性が著しく少い。

2) 結核罹患マウスに対し、INHG を 1 mg, 3 mg, 7 mg それぞれ連日投与すると、臓器内結核菌は対照に比し著しく少くなり、本剤の抗結核作用の著明な事が確認された。

3) INHG と INAH のマウス実験的結核症に対する効果を比較検討すると、INHG は INAH を 44.62%含有するのみであるにもかかわらず臓器結核菌定量培養上、同一薬量で INAH にやや劣るのみで大差なく、しかも体重増加作用は INAH より強い。更に又 INHG は、前述の如くその毒性が極めて小さいので大量投与が可能であり、臨床に更に著しい効果が期待出来る。

4) INHG と IHMS のマウス実験的結核症に対する効果を比較検討すると、両者の間には著明な差はなかつた。

拙筆に臨み御指導御校閲を賜つた恩師平木教授並びに大藤助教授に衷心より感謝の念を捧げます。

(本論文の要旨は昭和30年4月第30回日本結核病学会総会に於て発表した)

文 献

1) Benger : Dtsch. med. Wschr., 78, 1459, 1953.

2) Benson . Am. Rev. Tbc., 65, 376, 1952.

- 3) Brouet, et al : *Revue de la Tbc.*, **17**, 789, 1953.
- 4) Brouet, et al : *Presse. med.*, **61**, 863, 1953.
- 5) Conrad : *Dtsch. med. Wschr.*, **78**, 604, 1953.
- 6) Hunter : *Lancet*, XIII-6742, 960, 1953.
- 7) Irving : *Am. Rev. Tbc.*, **67**, 212, 1953.
- 8) 岩崎竜郎他 : *日本臨床結核*, **11**, 430, 昭27.
- 9) Jaffe : *グロンサン文献集 (基礎及び臨床篇)* より引用, 中外製薬学術課.
- 10) 景山統二郎 : *岡山医学会雑誌*, 近刊.
- 11) Meyer : *ヒドラシドの臨床 (砂原茂一, 小山善之共著)* より引用, 中外医学社, 昭27.
- 12) Narid : *Am. Rev. Tbc.*, **68**, 458, 1953.
- 13) 大藤貞他 : *結核*, 増刊, 198, 昭30.
- 14) 小川辰次 : *結核*, **24**, 45, 昭24.
- 15) 小川辰次 : *結核*, **24**, 403, 昭24.
- 16) 岡治道他 : *日本臨床結核*, **7**, 47, 昭23.
- 17) Passedonet, et al : *Revue de la Tbc.*, **17**, 789, 1953.
- 18) Peter, et al : *J. Am. pharma. Assoc.*, **10**, 612, 1953.
- 19) Rubin : *Am. Rev. Tbc.*, **65**, 392, 1952.
- 20) 坂本立身 : *結核*, **30**, 24, 昭30.
- 21) Stadler : *Dtsch. med. Wschr.*, **78**, 612, 1952.
- 22) 柳沢謙 : *日本医事新報*, 1516, 1887, 昭28.
- 23) 吉川潔 : *岡山医学会雑誌*, 近刊.

Treatment of Experimental Tuberculosis with INAH Derivatives

Part 1. Acute Toxicity of Isonicotyl Hydrazone Glycuronolactone (INHG) on Mice, and Treatment of Experimental Tuberculosis

By

Miyokichi YAMASHITA

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director; Prof. Kiyoshi Hiraki)

In the study on the definitive therapeutic effects of INHG, a new derivative of INAH, on experimental tuberculosis, hitherto no attempt has ever been made, and also in the reappraisal of toxicity of INHG, the author obtained the following results. INAH and IHMS (isonicotyl hydrazid methansulfonate) were used as the control for comparative study:

1. LD₅₀ of INHG, when subcutaneously injected, is 1,167 mg/kg, and when orally administered, 1,500 mg/kg; while LD₅₀ of IHMS, by subcutaneous injection, is 1,083 mg/kg, and by oral administration, 1,333 mg/kg. Each of these amounts to 6—8 times LD₅₀ of INAH, proving the toxicity of the two to be markedly lower than INAH.

2. When 1mg, 3 mg, or 7 mg of INHG a day is administered successively to mice with tuberculosis, tuberculous bacilli in the viscera of these mice decrease far more markedly than the same in the control, proving a striking anti-tuberculous action of this drug.

3. On comparing the effectiveness of INHG on experimental tuberculosis with that of INAH, in tuberculous bacilli culture of internal organ, even though INHG contains only 44.62 per cent of INAH, an equal volume of this drug is only slightly inferior to INAH but shows no great difference, while its weight-increasing action is stronger than INAH. In addition, the toxicity of INHG being extremely weak as already mentioned, a large dose of

administration is possible, and hence clinically the application of this drug offers a promising future.

4. In comparing the effectiveness of INHG on the experimental tubereulosis with that of IHMS, no marked difference can be found between the two drugs.
