



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	抗結核製剤の研究(第8報) : 1-イソニコチノイル-2-イソニコチニデンヒドラチンの抗菌試験
Author(s)	山本, 健一; 森川, 和雄; 柿本, 七郎
Description	
Citation	結核の研究, 2, 116-118
Issue Date	1955-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26569
Type	departmental bulletin paper
File Information	2_P116-118.pdf

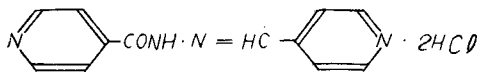


抗結核製劑の研究(第8報)*

1-イソニコチノイル-2-イソニコチニデン
ヒドラチンの抗菌試験山本健一 森川和雄 柿本七郎
(北海道大學結核研究所)

1-イソニコチノイル-2-パニリデン ヒドラチンより發展し、1-イソニコチノイル-2-イソニコチニデン ヒドラチン(以下IIH)を見出し、且つその試験管内に於てイソニコチン酸ヒドラチッド(以下INAH)より遙かに有効なる事を第4報りに於て既に発表した。これの動物実験を行つた結果を報告する。

先ずIIHは比較的水に難溶なるため、これを塩酸塩、白色針状結晶、融点283°(分解)となし動物実験に使用した。



そこでこのものについて一応試験管内の抗結核菌作用を検しINAHよりも優る事を確かめた。

LD₅₀はIIHでは水に難溶で正確な数値を決定し得なかつたので矢張りIIH·2HClについて行つた所LD₅₀=1084 mg/kgであつた。

又結核海猿に於ける治療実験に於ても、同様に投与上、水に可溶の塩酸塩の使用が好都合なので、之を用いて行つた。しかし、この場合、治療効果はINAHに比し遙かに劣

る成績を得た。

以下各項に就いて精細に報告する。

1-イソニコチノイル-2-イソニコチニデンヒドラチン鹽酸鹽 第4報りに於けるIIHの製造の際イソニコチンアルデヒドをつくつた場合に一度エーテルに転溶せしめて、縮合反応を行うと好収量となる。得たるIIHを稀塩酸にとき真空乾燥したる後、含水酒精より再結晶すると白色針状結晶となる。融点283°(分解)、分析値C₁₂H₁₀ON₄·2HClとしての計算値C, 48.17; H, 4.04, 実験値C, 48.43; H, 4.19。

IIH 鹽酸鹽の試験管内抗菌試験 Kirchner 10% 牛血清培地 4.9 cc に IIH 鹽酸塩を最終濃度が夫々 100, 25, 10, 1, 0.5 及び 0.1 となる如く 0.1 cc の蒸留水に含ませて加えた。この試験管列に小川培地 3 週培養の H37Rv, H37Rv R-SM (SM 耐性株) 及び向井株 (INAH 耐性人型菌) の 3 mg/cc の蒸留水菌浮遊液を 0.1 cc 即ち 0.3 mg 宛接種。37°C 3 週間培養後、試験管を振り全く菌塊の發育を認めないものを(-), 又、發育の程度により(+)(++)と判定記載した。結果は表1に示す如く INAH に優る抗菌力を示した。しかし INAH 耐性菌には無効であつた。

第1表 IIH·2HCl の試験管内抗菌試験

薬劑	菌株	濃度						
		100 r/cc	25 r/cc	10 r/cc	1 r/cc	0.5 r/cc	0.1 r/cc	cont
IIH	H37Rv	-	-	-	-	+	++	++
	向井 (R-INAH)	++	++	++	++	++	++	++
	H37Rv R-SM	-	-	-	-	+	++	++
INAH	H37Rv	-	-	-	+	++	++	++
	向井 (R-INAH)	++	++	++	++	++	++	++

IIH 鹽酸鹽の LD₅₀ の決定 IIH 鹽酸塩を各群 5 匹の体重 15 g 前後のスイス系マウスに夫々 40 mg, 20 mg, 10 mg 及び 5 mg 宛 0.5 cc の蒸留水に溶かして腹腔内に投与した。第2表に示された投与4時間後のマウスの生存数から Behrens-Karber²⁾法によつて LD₅₀ を求めた。

IIH 鹽酸鹽の結核海猿に對する治療試験 Römer 反

第2表 IIH·2HCl の急性毒性試験

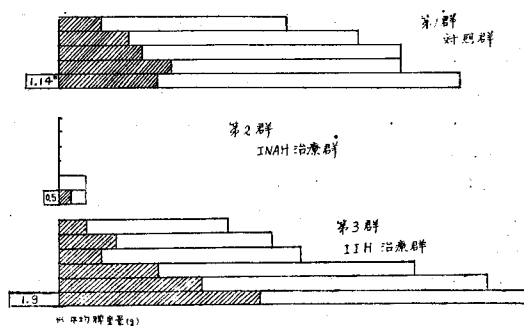
IIH 投與量	40 mg	20 mg	10 mg	5 mg
投與動物數	5	5	5	5
死亡動物數	5	4	0	0

応陰性な体重 350~500 g の 18 頭の海真に人型毒力結核菌 仲野株 1/100 mg 宛右下腹部皮下に接種。接種後 3 週目に旧ツベルクリン 100 倍液にてツ反応陽転せる事を確かめ、6 頭ずつ 3 群に分け、第 1 群は無処置対照群とし、第 2 群には INAH 第 3 群には IIH 塩酸塩を夫々 pro kg 5 mg 宛 0.5 cc の蒸留水に溶解して毎日 (日旺を除く) 皮下に投与した投与開始 2 週で IIH の注射個所に硬結を来した。それで吸収の充分でない事を考慮し以後 INAH も共に経口投与として治療を続行した。

治療は 7 週間行い、終了 3 日目に剖検、内臓々器及び各リンパ腺における結核病変を肉眼的、病理組織学的に検索し、同時に脾臓の定量培養を小川培地で行った。

A) 内臓々器およびリンパ腺の肉眼的剖検所見：成績は、ヒストグラムで第 1 図に示したが、IIH 治療群では INAH 治療群に比して病変が強く、対照群と殆んど差が見られなかった。

B) 脾臓内の生菌数：表 3 にその成績を示した。この場合も生菌数は IIH 治療群と対照群とでは余り差は見られず、之に反して INAH 治療群では脾臓 10^{-2} g の培養によつて殆んど生菌数を認めなかった。



第 1 圖 肉眼的内臓及びリンパ腺病變のヒストグラム

第 3 表 脾臓内生菌数

群 別	生菌数 (g 當り平均)
對 照 群	62,752
INAH 治療群	3
IIH 治療群	86,820

第 4 表 動物治療實驗； 病理組織學的検査成績

群 別	動物 番 號	脾			右膝囊リンパ節		腋下リンパ節		肺		肝		副 腎	
		結 節 形 成	乾 酪 變 性	反 應 性 病 變	病 變 程 度	乾 酪 化 軟 化	病 變 程 度	乾 酪 化 軟 化	病 變 程 度	乾 酪 變 性	病 變 程 度	乾 酪 變 性	可 染 脂 肪	重 量 体 重 比 ($\times 10^{-2}$)
對照群	1	++	-	++	+++	+++	++	++	+	-	+	-	++	1.09
	2	+	-	++	+++	+++	+	-	+	-	±	-	++	1.09
	3	+++	++	++	+++	+++	++	++	++	-	++	+	++	1.68
	4	++	-	++	+++	+++	++	+	+	-	++	-	++	1.22
	5	++	±	++	+++	+++	++	++	++	-	++	-	++	1.90
INAH 治療群	7	±	-	+	++	++	-	-	+	-	-	-	++	1.33
	8	±	-	±	++	+	-	-	±	-	-	-	++	1.10
	9	±	-	±	++	±	-	-	-	-	-	-	++	0.44
	10	±	-	±	++	+	-	-	±	-	-	-	++	0.82
	11	±	-	±	+	+	±	-	-	-	-	-	+++	0.87
	12	±	-	±	+	+	-	-	+	-	-	-	++	0.87
IIH 治療群	13	+++	+++	++	+++	+++	-	-	++	+	++	++	++	1.07
	14	+++	++	++	+++	+++	+	±	++	++	++	-	++	0.30
	15	++	-	++	++	+	+	+	+	-	±	-	+++	0.17
	16	++	-	++	++	++	+	-	-	-	+	-	+++	0.19
	17	+++	++	++	+++	+++	++	++	++	±	++	+	+++	0.78
	18	+	-	++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	+++	0.16

C) 病理組織学的所見：病理組織学的検査は脾、所属右腋窩リンパ節、腋下リンパ節、肺、肝、腎及び副腎について行つた。

便宜上所見をその病変程度により数的に表はすと第4表の如くなる。なほ腎には結節形成等の結核性病変を認めなかつた。

脾：非治療群においては、その病変程度に相当の差異が各例に見られる。即ち No. 3 の如く高度の乾酪化を伴つた大結節形成が見られるに反し No. 2 においては脾髓の増殖を主なる変化とし、結核性病変はごく微弱である。しかし何れも類上皮細胞性結節を見せ、しかも粗性化の程度強く被染色性の低下を示している。濾胞の發育は一般に弱く、芽中心形成もごく少数列にしかも弱くしか認められない。第2群の INAH 治療群においては表で一見しても判る通り、病変は非常に弱く、濾胞の發育は殆んど正常と変わらない。芽中心も高度に形成せられ、活潑な分裂像を示している。しかし一般に脾髓に結合織の増加が幾分認められる。第3の IIIH 治療群では第1群同様、病変程度は各例多様であつて、病変の強い例における変化は第1群より遙かに強烈に既に No. 13, 17 では乾酪塊の形成が始められている。一方弱いものでは INAH 治療群には及ばないが第1群よりも弱い病変を示している。又興味あることは、この群における粗性の類上皮細胞結節には結合織の侵入が強く渦巻状にこの結節を分断している像が多く認められ、又巨細胞を多数認める例が多いことである。更に結節以外の所における反応性病変も一般にどの群よりも強く認められた。

右腋窩リンパ節：病変程度は表に見る如く第1, 3群における変化は、ほぼ同様に強烈なものが多いが、第3群の一部には比較的病変の軽い例も見られる。之に反し INAH 治療群における変化は一般に遙かに弱く、一部には壊死巣を欠く例も見られた。

腋下リンパ節：IIIH 治療群における変化は一般に第1群より軽く、殆んど病変を認め得ない例も見られた。又第2群では全例結核性病変を呈していない。

肺：第1群は第3群と同様病変の見られる例ではごく少数の結節を見せるにすぎないが、第3群には病変を示さない例が見られた。しかし病変の強い例では、第1群の何れよりも強烈な変化を呈していた。一方第2群では散発性にごく少数の小さな結節を少数例に認めるにすぎない。

肝：第1群では大体同程度の変化を各例に見たが、第3群の所見はまちまちで、強い乾酪化を伴つた大きな類上皮細胞結節を見せる例があるとえば他方殆んど病変を認めえない例も見られた。しかし、第2群では全例に殆んど病変を認めなかつた。

副腎：結核結節の形成は全例に認めないが、Sudan III 染色による可染性脂肪の量は一般に第3群例に特に多く、第2群例が之に次ぎ、第1群例が一番少ない。副腎重

量の体重比を求めると、平均第1群 1.396×10^{-3} 、第2群 0.905×10^{-3} ；第3群 0.880×10^{-3} となり、第3群の副腎が最も軽いことになつた。

以上の病理学的所見を通覧すると、IIIH 治療群に見られる病変は著明な各例間の差を示すことが先ず認められる。勿論対照である非治療群においてもそれに類した事實は認められているが、IIIH 治療群ではその差が非常に拡大せられた感を与える。この様な現象を直ちに本薬剤の作用に帰することは危険であろう。しかし考えられることは、本薬剤による治療が不十分であつたと云うことである。即ち各臓器について云えることであるが、その病変の非常に軽かつた例は、対照群の何れよりも遙かに弱いか或いは全く病変を欠く事實が認められたことで、かかる例においては多くの例に INAH 治療群に見ると同様の旺盛な治療過程の像を認めることが出来た事実より、以上の現象を動物の単なる個体差に持つて行くことは無理であろう。つまり治療の不充分さに帰せしめるのが妥当な考えに思はれる。

次に脾病変でのべた巨細胞に関する事実であるが、古来人間の結核病変に巨細胞が多いのに此の動物実験においては、それ程多く認められないと云われている。又一部の学者は巨細胞の出現を旺盛な治療現象と結びつけ、経過良好な例に見られると云つている。我々の例について見ると一般に乾酪化の高度な例で、しかも軟化を起し始めている例に多く本細胞を認めたわけで、之を以て病変の性質を云々することは出来ない。巨細胞の食能に関する報告も区々で定説を見ない今日、本細胞の出現を意味付けすることは困難である。又副腎について考えよう。副腎の体重比の多いこと、及び可染脂肪の量の少ないことを全体的病変程度の示度にする説が見られる。最近副腎皮質の持つ重要性が叫ばれて以来、色々な疾患の病変示度として追試されているが、我々の例において IIIH 治療群が体重比も一番少なく、又脂質の量も最も多いと云ふ事實は、色々な意味において本薬剤研究に示唆を与える。

むすび

我々は1-イソニコチノイル-2-イソニコチニデンヒドドラチンを見出し、この塩酸塩について試験管内の抗結核菌作用がイソニコチン酸ヒドラチッドのそれより大きく、且つマウスの急性中毒試験により LD₅₀ も遙かに大なることを知つた。そこで、これの結核海狸に対する治療実験を行つたが予期に反して効果のない事を知りえた。この点に関しては本薬剤の投与量、投与方法、吸収の難易、吸収後の運命などの検討によつて究明すべく目下研究中である。

文 献

- 1) 柿本七郎・山本健一：薬学雑誌。74, 997 (1954)。
- 2) 傳染病研究所學友會編：細菌學實習提要。509, 丸善出版社 (1951)。