

杉浦 衛, 田中英郎, 加藤精宏, 道家三季:

抗結核剤の薬剤学的研究（第6報）体内酵素に及ぼす抗結核剤の影響

Mamoru Sugiura, Hideto Tanaka, Seiko Kato, and Miki Doke

Pharmaceutical Studies of the Antituberculous Drugs. (6)

The Effects of Antituberculous Drugs on the Entosomatic Enzymes.

The effects of various antituberculous drugs (sodium *p*-aminosalicylate, thioacetazone, pyrazinamide, isoniazid, sodium glucronate isoniazone, calcium pyruvate isoniazone, sodium methansulfonate isoniazid, dihydrostreptomycin sulfate) to the protease, α -amylase, β -amylase in rat liver and kidney which had been injected with antituberculous drugs into an abdominal cavity once a day for 60 days without a break, were studied by measuring the activities of these enzymes.

As a result of this study, it was made evident that the various antituberculous drugs to these hydrolase indicated the effect of the activation of enzymes activity in the rat liver but the inhibition of it in the kidney. The most insensitive enzyme for the antituberculous drugs was β -amylase and then came protease.

As a activity of these hydrolases to antituberculous drugs, isoniazid, sodium *p*-aminosalicylate, Thioacetazone presented a strong effect; and dihydrostreptomycin sulfate, sodium methansulfonate isoniazid affected them weakly.

抗結核剤は著しい進歩をとげ、臨床的にも大きな効果をあげ、今日なお多く利用されている。抗結核剤は対象とする病気が慢性病であるため、常に長期の投与が行なわれている。ことに生体にとって異物であり、長期にわたって投与される抗結核剤が体内の酵素群に多少の影響をおよぼすのではなかろうかとの疑念も生ずる。

先に岡崎らは消化酵素剤に関する報文中において、INAH 誘導体はアミラーゼ剤を賦活するが、プロテアーゼ剤には余り影響がなく¹⁾、その理由はアミラーゼ作用を阻害する生体内重金属イオン(例えば Cu^{++})がINAH 等とキレート化合物、あるいは錯塩を形成し、アミラーゼ作用の失活を保護するためであろう²⁾と述べている。また吉岡らは各種サルファ剤はカゼイン分解酵素に対して、肝では阻害的な、また腎では賦活的な作用態度を示す³⁾ことを明らかにした。⁴⁾ そしてまた、R. W. Brosmer, W. J. Rutter 等⁵⁾は肝アミラーゼは塩素イオンで活性化され、EDTA で可逆的に阻害をうけ、 Cu^{++} で賦活されると報告をしている。しかし、各種抗結核剤が体内臓器の酵素に如何なる影響をおよぼすかについては未だ報告がない。

そこで、われわれは抗結核剤が各種の体内酵素群におよぼす影響を知りいとぐちとして、著者らが行って来た「抗結核剤の薬剤学的研究」の一環として、本実験を行った。即ち、凡用されている8種類の抗結核剤を選び、これらをラットに投与し、投与後体内解毒に関する肝ならびに代謝産物の排泄をつかさどる腎、この両臓器細胞群内のプロテアーゼ作用、 α -および β -アミラーゼ作用を測定し、その影響を観察した。

実験方法

1) 実験動物: 体重 150 g 前後の雄の Wistar 系ラットを使用した。4匹を一群とし、Table 1 に示した。各種抗結核剤につき成人(体重 60kg) 1 日常用量をラットに換算し、その2倍量を 0.5ml の水にとかして1日1回、連続 60 日間腹腔内に注射した。ただし、チオアセタゾンは 1.2% の CMC 水溶液に懸濁して用いた。また、精製水を 0.5ml づつ実験群と同様に投与し、これを対照群とした。

2) 酵素液の調製: 各種抗結核剤の最終投与、24時間後ラットの肝臓および腎臓を摘出し、細切してグリセ

Table 1.

Antituberculous Drugs	Administration (mg/day)	Sign
Sodium p-Aminosalicylate	50.00	PAS
Thioacetazone	0.25	TB
Pyrazinamide	8.00	PCA
Isoniazid	1.50	INAH
Sodium glucuronate isoniazone	4.00	IHG
Calcium pyruvate isoniazone	4.00	IHP
Sodium methansulfonate isoniazid	4.00	IHMS
Dihydrostreptomycin sulfate	0.83	SM

リン水（1→2）を臓器の3倍量加えて、ガラス製ホモジナイザーでよく研磨し、10分間、3,000r.p.m.で遠沈分離し、その上澄液を酵素液とした。

3) 酵素活性：プロテアーゼ作用活性測定には1.0ml、 α -、 β -アミラーゼ作用活性測定には0.5mlの酵素液を用いて各々の酵素活性を測定した。同時に酵素液中の窒素量を測定し、窒素単位重量当りの酵素活性を算出した。

i) プロテアーゼ作用活性測定法: Anson 変法⁷⁾を用いた。pH 5.0 にて尿素変性ヘモグロビン液に酵素液を37°、60分間作用させ、反応の結果生じた1.2M-トリクロル酢酸可溶のホリン試薬呈色物と同じ呈色度を示すチロシン量に換算し、酵素活性を測定した。

ii) α -アミラーゼ作用: Blue-value 法⁸⁾を用いた。可溶化した澱粉の溶液に酵素賦活剤塩化カルシウムの存在下、pH 7.0において酵素液を37°、30分間作用させ、未反応の澱粉をヨード・デンプン反応による青色の呈色を利用して比色定量し、逆に消化された澱粉量を算出した。

iii) β -アミラーゼ作用: Fehling-Lehrman-Schoorl 変法⁹⁾を用いた。可溶化した澱粉の溶液に酵素液をpH 7.0にて37°、30分間作用させ、これにフェーリング試薬を加えて煮沸し、反応により生じた還元糖に対応する硫酸銅を亜酸化銅に変え、硫酸及びヨウ化カリウムの存在下に過剰の硫酸銅に対応するヨウ素を遊離させ、このヨウ素をチオ硫酸ナトリウム液にて滴定し、生成した還元糖を定量して酵素の活性を測定した。

iv) 窒素量の測定: Micro Kjeldahl 法¹⁰⁾を用いた。

実験結果

プロテアーゼ作用について

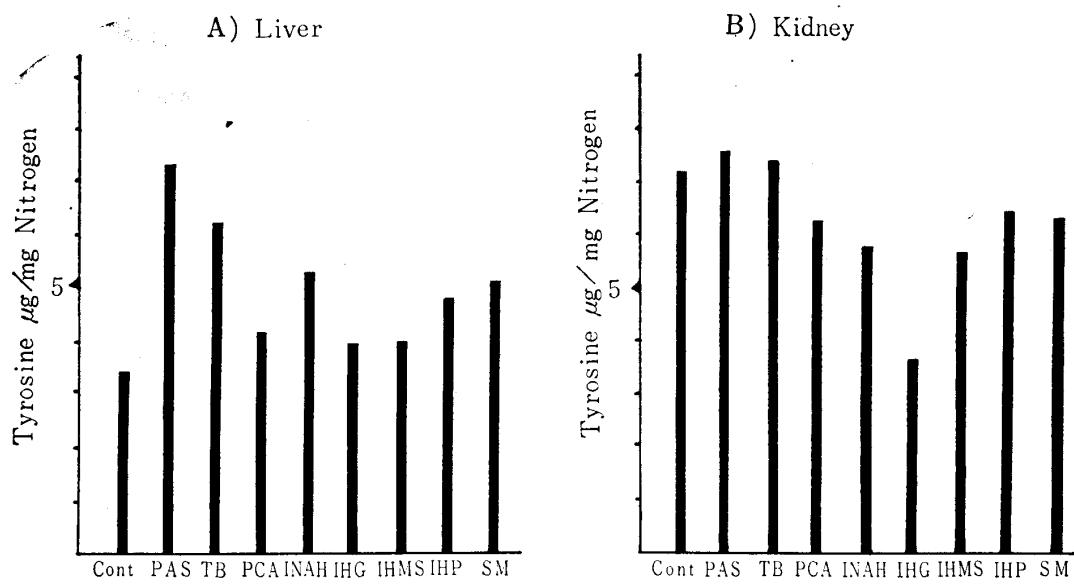
実験成績は Table 2, Fig. 1 A), B) に示した。肝臓については、対照に比して抗結核剤投与群は全て活性が増大しており、PAS の2倍をはじめ、TB, INAH が目立って大きく、次いで SM, IHP と続き、PCA, IHG,

Table 2. Protease activity in Rat liver and kidney by Antituberculous-Drugs.

(Tyrosine $\mu\text{g}/\text{mg}$ Nitrogen) Average of 4 Rats.

Organ \ Group	Control	P A S	T B	P C A	I N A H	I H G	I H M S	I H P	S M
Liver	3.36	7.25	6.42	4.11	5.28	3.87	4.01	4.78	5.08
Kidney	7.18	7.56	7.41	6.25	5.78	3.69	5.77	6.49	6.36

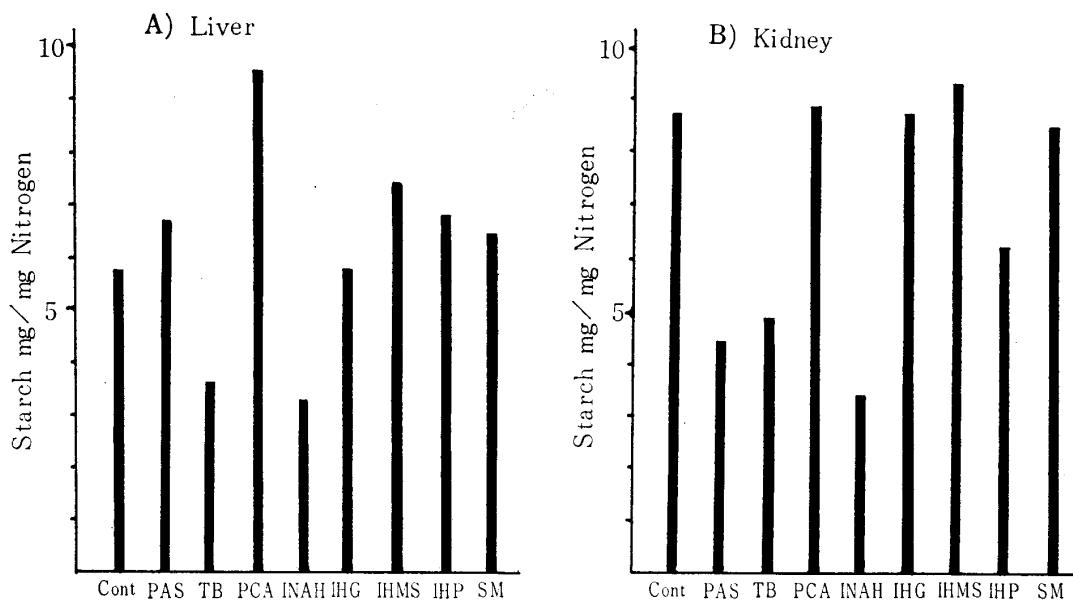
Fig 1. Protease activity in Rat liver and kidney by Antituberculous-Drugs.



IHMS はほぼ同じ程度である。また腎臓内プロテアーゼ作用では、PAS, TB が対照とよく似た活性を示し、他はいずれも活性に阻害の傾向を見せ、特に IHG は対照の $\frac{1}{2}$ の値である。PCA, IHP, SM の三者および INAH, IHMS の 2 者はいずれも大差なく、対照よりやや低い活性である。

Table 3. α -Amylase activity in Rat liver and kidney by Antituberculous-Drugs.
(Starch mg/mg Nitrogen) Average of 4 Rats.

Organ \ Group	Control	PAS	TB	PCA	INAH	IHG	IHMS	IHP	SM
Liver	5.72	6.69	3.61	9.62	3.26	5.80	7.44	6.82	6.51
Kidney	8.73	4.49	4.85	8.89	3.43	8.82	9.41	6.31	8.16

Fig 2. α -Amylase activity in Rat liver and kidney by Antituberculos Drugs.

α -アミラーゼ作用について

実験成績を Table 3 および Fig. 2 A), B) に示した。 α -アミラーゼ作用活性を対照と比較すると活性の増大、減少まちまちであるが、肝臓ではPCAが活性を大きく強めており、IHMS, PAS, IHP, SM がともに対照より活性増大をきたしている。TB, INAH はいずれも活性低く、IHG のみが対照とほぼ等しい値を示す。腎臓においては IHMS の活性が対照よりもやや高く、PCA, IHG, SM と対照の活性とは殆んど同じである。また IHP, TB, PAS, INAH はいずれも対照よりも順次低い活性を示す。肝、腎両臓器において IHG は対照と殆んど同じ活性を示し、TB, INAH の両者はともに活性の減少を示している。

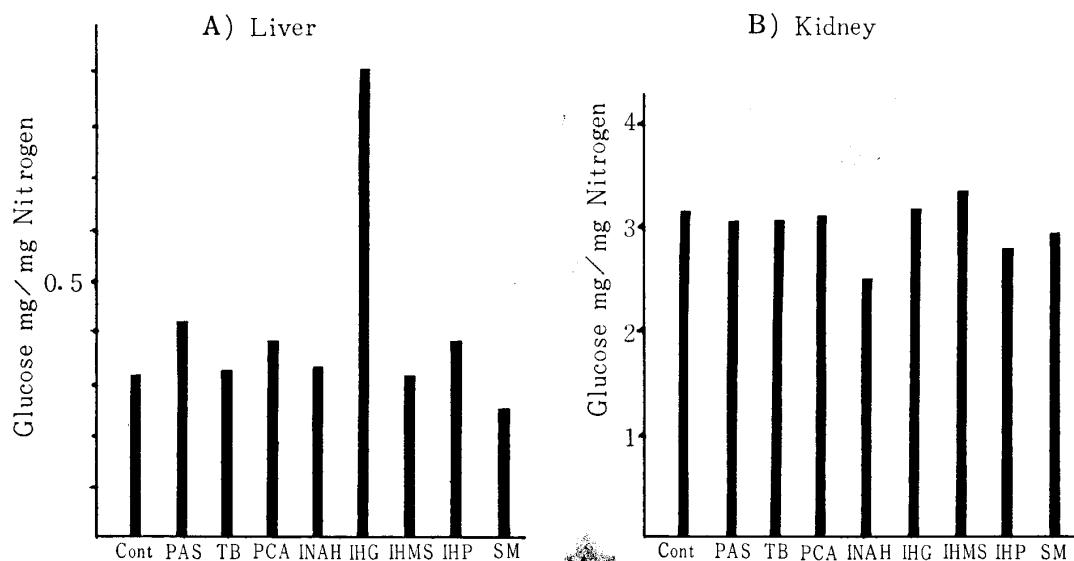
 β -アミラーゼについて

実験成績を Table 4 および Fig. 3 A), B) に示めた。肝臓では、IHG が対照に比して 3 倍の活性を示し、他は、SM がやや低く、PAS, PCA, IHP がやや高く、TB, INAH, IHMS はともに近似した値を示しているが、いずれも対照と大きな差はない。腎においては IHMS がわずかに高く、INAH, IHP, SM がやや低い活性を示し、他は対照とほぼ同じ活性値である。TB, IHMS が肝臓内、腎臓内ともに対照とほぼ同じ酵素活性を見せ、SM はいずれの臓器においてもわずかながら低い活性を示している。

Table 4. β -Amylase activity in Rat liver and kidney by Antituberculous-Drugs.
(Glucose mg/mg Nitrogen) Average of 4 Rats.

Organ	Group	Control	PAS	TB	PCA	INAH	IHG	IHMS	IHP	SM
Liver		0.30	0.42	0.31	0.37	0.33	0.90	0.31	0.37	0.25
Kidney		3.15	3.03	3.03	3.08	2.48	3.13	3.31	2.78	2.91

Fig 3. β -Amylase activity in Rat liver and kidney by Antituberculous-Drugs.

**総括**

抗結核剤の肝腎両臓器中の各酵素に対する作用を比較すると、肝臓内酵素は α -アミラーゼ作用に対し TB, INAH が大きな活性低下を示すこと、および β -アミラーゼ作用に対し SM がやや低下を示す以外はすべて対照と同じか、または活性賦活をきたし、殊にプロテアーゼ作用に対する PAS, TB, α -アミラーゼ作用に対す

る PCA, β -アミラーゼ作用に対する IHG は著しい活性の増強をみせ, 一般に肝臓内酵素の抗結核剤による影響は活性賦活の傾向が見られる。一方, 腎臓内酵素は抗結核剤投与によりみるべき活性賦活を示すものはない, 対照と同じかまたは減少のいずれかで, プロテアーゼ作用に対する PAS, TB, INAH は著しい活性低下を見せ, 肝とは逆に影響は阻害的であった。

各酵素間では, プロテアーゼ作用は肝で活性賦活, 腎では減少の傾向があり, α -アミラーゼ作用活性は肝において賦活, 阻害の度合もまちまちで抗結核剤の影響を受けやすく, 腎臓では活性の阻害的な作用が強く見られる。また β -アミラーゼ作用は肝では活性増強, 腎では阻害の傾向があるが, IHG の特異的な活性賦活をのぞけば, その度合は小さく抗結核剤の影響はうけにくいと考えられる。各種の抗結核剤については PAS, PCA, INAH, IHG, IHP が肝で活性賦活, 腎で活性阻害的に働き, 他の TB, IHMS, SM にはこの傾向は少ない。また各酵素に対する影響は SM が最も少なく, 次いで IHMS である。PCA は肝臓内の α -アミラーゼ作用に対し活性賦活作用があるが, 他の酵素に対しては影響力が少なかった。IHP の腎臓内 α -アミラーゼ作用, IHG の腎プロテアーゼ作用, 肝 β -アミラーゼ作用に対しても賦活作用が大であったが, 他の酵素活性への影響も少なく, 最も影響をおよぼし易いものは INAH, 次いで PAS, TB の順であった。

結論

人体投与量の2倍の各種抗結核剤をラットに1日1回, 連続60日間ラットの腹腔内に注射した後, 肝臓, 腎臓両臓器内のプロテアーゼ作用(pH5.0), α -アミラーゼ作用(pH7.0), β -アミラーゼ作用(pH7.0)の活性を測定して, 各種抗結核剤のそれら加水分解酵素に対する影響を観察した結果, 次の如き知見を得た。

- 1) 各種抗結核剤は肝臓内のプロテアーゼ作用, α -アミラーゼ作用, β -アミラーゼ作用に対して活性促進的に作用し, 腎臓内の酵素に対しては活性阻害の傾向が強く見られた。
- 2) 肝, 腎両臓器内のこれ等3種の酵素のうち最も抗結核剤の影響をうけやすいのは β -アミラーゼ作用で, 次いでプロテアーゼ作用であった。最も影響をうけにくいものは α -アミラーゼ作用であった。
- 3) 8種類の抗結核剤のうち臓器内酵素活性へ強い影響を与えるものは isoniazid, sodium *p*-aminosalicylate, thioacetazone であった。また dihydrostreptomycin sulfate および sodium methansulfonate isoniazid は臓器内のプロテアーゼ作用, α -アミラーゼ作用, β -アミラーゼ作用の活性に対しての影響はわずかであった。

文 献

- 1) 岡崎: 薬剤学 **17**, 33 (1957).
- 2) 岡崎: 薬剤学 **22**, 98 (1962).
- 3) 吉岡: 京都薬科大学学報 **6**, 39 (1958).
- 4) 吉岡: 京都薬科大学学報 **7**, 33, 37 (1959).
- 5) R. W. Brosmer, W. J. Rutter: J. Biol. Chem. **236**, 1253 (1961).
- 6) 杉浦: 薬学研究 **323**, 607 (1959),
杉浦: 岐阜薬科大学紀要 **12**, 59, 63 (1962).
杉浦: 岐阜薬科大学紀要 **9**, 66 (1960).
杉浦: 薬剤学 **24**, 79 (1964).
- 7) Anson: J. Gen. Physiol. **22**, 79 (1938).
- 8) R. M. McCread, W. T. Hassid: J. Am. Chem. Soc. **65**, 1154 (1943).
- 9) 駒居: 濃粉糖技術研究会報 **23**, 88 (1961).
- 10) E. Pregel, H. Roth: "Die Quantitative Organische Mikroanalyse" (1949).