

抗生物質の体内活動機転に関する研究

黒田善雄

東京大学田坂内科(主任 田坂定孝教授)

(昭和33年3月17日受付)

目次

- I. 緒言
- II. 抗生物質の血液内分布について
 - A. 抗生物質の赤血球吸着性について
 - B. 抗生物質の血清蛋白結合性について
 - C. 抗生物質の血中濃度測定に関する2, 3の吟味
- III. 抗生物質の臓器による不活性化について
- IV. 総括
- V. 結論

I. 緒言

化学療法剤の生体内における作用機序については、その出現とともにすでに多数の業績がある。しかし化学療法剤の生体内作用機序という概念にふくまれる内容はきわめて広く、必ずしも一定していない。VON KLAUS SOEHRING¹⁾はこの体内作用機転に関する論議がつぎのごとく発展したと述べている。すなわち、EHRlichの薬物の病原体に対する直接作用という概念よりはじまり、SCHLOSSBERGER²⁾はさらに薬物作用に対する生体の協力作用に注目、これを強調したが、ついで AXMACHER³⁾の3期に分ける考え方、すなわち(1)薬物の生体内侵入より病巣、病原体への固着にいたる時期、(2)薬物ならびにその変化物質が病原体に作用する時期、(3)病原体の薬物による破壊、生体反応により病原体の処理される時期の3期に分ける考え方に進展したと述べている。今日化学療法剤ないし抗生物質剤の生体内作用機序を論ずる場合にも AXMACHERの説は適当と思われる。抗生物質の吸収、排泄、体内分布等の薬理学的諸問題は AXMACHERの第1期に相当し、第2期は抗生物質の病原体に対する狭義のまたは真の作用機序の問題であり、第3期は免疫等の生体諸反応の関与した病原体処理の問題を意味している。

臨床上化学療法を行い、その効果を期待する際にもつとも重要な1因子として病巣における薬剤の活性濃度がある。これに関係する薬剤の体内機転としては、薬剤の吸収、排泄、移行、不活性化等が重要であるが、これらの諸機転を左右する因子として薬剤の生体内における吸着、結合はきわめて大切であり、また体内諸器官における分解、抱合等による不活性化も同様な意味で大きな意義を有している。今日までに抗生物質諸剤についてこれ

らの諸問題を系統的に追求した報告はまだ見られない。著者は現在一般に使用されている抗生物質諸剤の赤血球吸着性、血清蛋白結合性、臓器による不活性化等につき系統的に比較検討し、これらの諸性質が抗生物質の体内活動機転において有する意義について考察を加え、抗生物質療法の理論的根拠を解明せんとした。

実験に供した抗生物質は

- (1) Penicillin G (PC)
- (2) Dihydrostreptomycin (SM)
- (3) Chloramphenicol (CM)
- (4) Chlortetracycline (AM)
- (5) Oxytetracycline (TM)
- (6) Tetracycline (TC)
- (7) Erythromycin (EM)
- (8) Carbomycin (MM)
- (9) Novobiocin (NB)

の諸剤である。

II. 抗生物質の血液内分布について

A. 抗生物質の赤血球吸着性について

化学療法剤の血液内分布は薬剤により著しい差があることはすでに、抗マラリア剤、サルファ剤等についての報告がある。抗マラリア剤⁴⁾のあるものは赤血球に強い親和性を有し、これが抗マラリア原虫性と密接な関連を有すると考えられ、また STRAUSS⁵⁾、HANSEN⁶⁾、SIZE⁷⁾、真下⁸⁾等はサルファ各剤が赤血球に対し異つた吸着性を有し、これが各剤の体内移行に関係すると述べている。抗生物質に関しては RAMMELKAMP⁹⁾、VAN DYKE¹⁰⁾、H. EAGLE¹¹⁾等は PCの赤血球吸着性はほとんど認められぬとし、SMについては ADOCK¹²⁾、KORNEGAY¹³⁾、BOXER¹⁴⁾等の同様な報告がみられる。著者は PC, SM, CM, AM, TM, TC, EM, MMにつき試験管内実験により赤血球吸着性を比較検討し、これが抗生物質諸剤の血液内分布、体内分布あるいは血液中濃度測定法等において有する意義を明らかにせんとした。

実験方法

(1) 赤血球浮遊液作成法 二重修酸塩加健康人血液を遠心し血漿を除き、得られた赤血球を生理食塩水にて数回洗滌し、最後に濃厚赤血球生理食塩水浮遊原液を作る。この濃厚赤血球浮遊原液に生理食塩水を表1のご

表 1. 赤血球浮遊液作成法

濃厚赤血球浮遊原液 (cc)	0	0.25	0.5	0.75	1.0
生理食塩水 (cc)	1.5	0.75	0.5	0.25	0
抗生物質溶液*(cc)	0.5	0.50	0.5	0.50	0.5

* 抗生物質濃度は3段階

とくに加え、各濃度の赤血球浮遊液を作る。さらに、各赤血球浮遊液にそれぞれ各濃度の抗生物質生理食塩水溶液を表1のごとくに加え、抗生物質濃度3段階と赤血球濃度5段階とを組合せ実験を行った。

(3) 上清抗生物質濃度測定法：赤血球浮遊液に抗生物質を加え十分に混和し、30分間室温に放置した後遠

表 2. 各抗生物質上清濃度測定値 (1) ならびに赤血球側濃度計算値 (2)

PC-(1)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	16	31	47	63	
16.7	20.0	23.8	26.0	36.0	
9.3	11.4	11.8	14.0	16.7	
6.3	6.6	8.0	8.3	12.6	

SM-(1)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	15	30	45	61	
35.0	42.0	44.0	55.0	81.0	
17.5	21.5	26.5	30.0	40.0	
7.4	10.0	11.5	16.0	21.5	

PC-(2)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	16	31	47	63	
-0.5	1.3	6.3	5.2		
-2.1	3.1	3.9	4.8		
4.6	2.6	3.9	2.4		

SM-(2)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	15	30	45	61	
-3.5	14.0	10.9	5.2		
-4.4	-3.3	2.5	3.0		
-3.9	-2.2	-2.9	-1.8		

TM-(1)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	15	31	47	62	
28.2	27.1	24.3	23.5	15.0	
14.6		12.2	11.7	10.8	
8.0		7.4	6.2	6.6	

TC-(1)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	11.3	22.5	34.0	45.0	
18.7	17.0	14.5	14.0	12.0	
8.0	7.8	7.3	6.7	6.0	
4.1	3.8	3.6	3.4	3.2	

TM-(2)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	15	31	47	62	
34.4	36.6	33.6	36.2		
	20.0	17.9	16.9		
	9.4	10.0	8.8		

TC-(2)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	11.3	22.5	34.0	45.0	
32.3	33.2	27.8	26.9		
9.4	10.3	10.6	10.4		
6.5	5.9	5.5	5.3		

EM-(1)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	12	25	37	50	
23.5	22.5	22.5	17.0	14.0	
11.5	11.0	9.6	9.2	8.8	
5.2	5.0	4.6	4.8	4.4	

MM-(1)

赤血球 %	対照				
	I	II	III	IV	
0	15	30	45	60	
17.5	15.2	14.3	13.4	12.5	
8.6	7.6	7.1	6.7	6.0	
4.3	3.6	3.4	3.4	3.3	

EM-(2)

赤血球 %	対照				
	0	12	25	37	50
抗生物質濃度 mcg/cc					
A		30.0	29.0	34.3	32.0
B		15.0	17.6	15.5	14.3
C		6.3	7.1	5.9	6.0

MM-(2)

赤血球 %	対照				
	0	15	30	45	60
抗生物質濃度 mcg/cc					
A		25.6	24.9	22.6	20.3
B		14.1	12.1	10.9	10.3
C		8.3	6.4	5.4	5.0

CM-(1)

赤血球 %	対照					
	0	16	32	49	65	
抗生物質濃度 mcg/cc						
A		35.5	26.3	21.7	20.0	15.9
B		17.8	14.0	13.3	9.6	7.5
C		8.6	7.5	5.0	4.4	3.5

AM-(1)

赤血球 %	対照					
	0	16	32	47	63	
抗生物質濃度 mcg/cc						
A		20.0	13.6	11.4	7.9	7.3
B		10.2	7.9	6.6	4.9	4.9
C		6.0	4.7	3.8	3.1	2.9

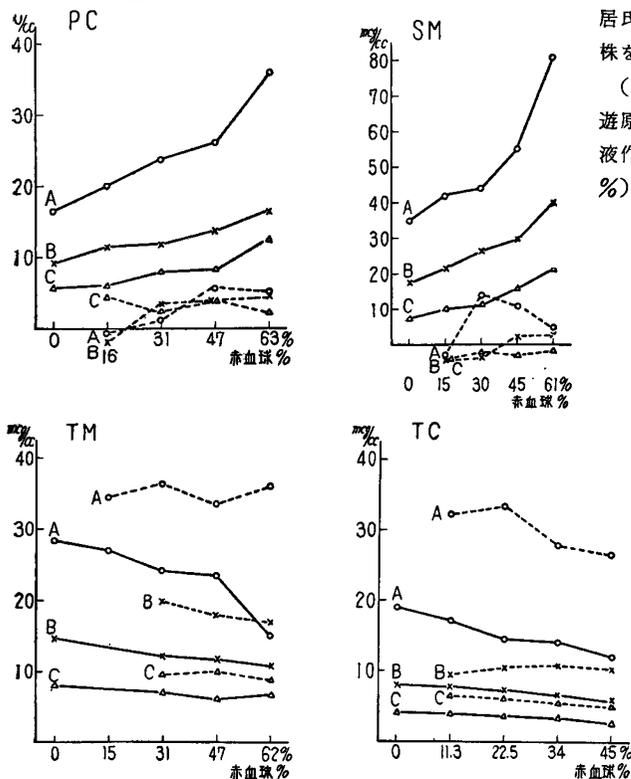
CM-(2)

赤血球 %	対照				
	0	16	32	49	65
抗生物質濃度 mcg/cc					
A		83.5	64.8	51.9	46.3
B		39.6	27.2	26.4	23.6
C		14.2	16.3	13.0	11.3

AM-(2)

赤血球 %	対照				
	0	16	32	47	63
抗生物質濃度 mcg/cc					
A		53.7	38.4	33.5	27.4
B		22.1	17.9	16.1	13.6
C		12.9	8.5	9.2	7.8

図1. 各抗生物質の上清濃度(実線)と赤血球濃度(破線) I



心し、上清中抗生物質濃度を溶連菌 COOK 株を用いた鳥居氏重層法により測定した。但し SM は枯草菌 PCI 219 株を用いた重層法により測定した。

(3) 赤血球側抗生物質濃度計算法 濃厚赤血球浮遊原液のヘコトリット値と表1に示された赤血球浮遊液作成法とにより各赤血球浮遊液の赤血球濃度(容量%)が得られるので、次式により算出した。

$$\text{赤血球側抗生物質濃度} = \frac{aV - b(V - v)}{v}$$

a: 対照赤血球濃度0%における抗生物質濃度

b: 赤血球浮遊液上清の抗生物質濃度

V: 赤血球浮遊液全容積

v: 赤血球浮遊液の赤血球容積

(4) 赤血球吸着率計算法: 対照赤血球濃度0%における抗生物質濃度と赤血球側抗生物質濃度との比を以つて吸着率とした。よつて吸着率は次式により算出した。

$$\text{赤血球吸着率} = \frac{aV - b(V - v)}{av}$$

実験成績

(1) 抗生物質上清濃度と赤血球側濃度: (表2, 図1~2) PC, SM の上清濃度はすべて対照赤血球濃度0%に比し高く、赤血球濃度が大きなるにつれ上昇した。これに反し、赤血球側濃度はきわめて低

図2. 各抗生物質の上清濃度(実線)と赤血球側濃度(破線) II

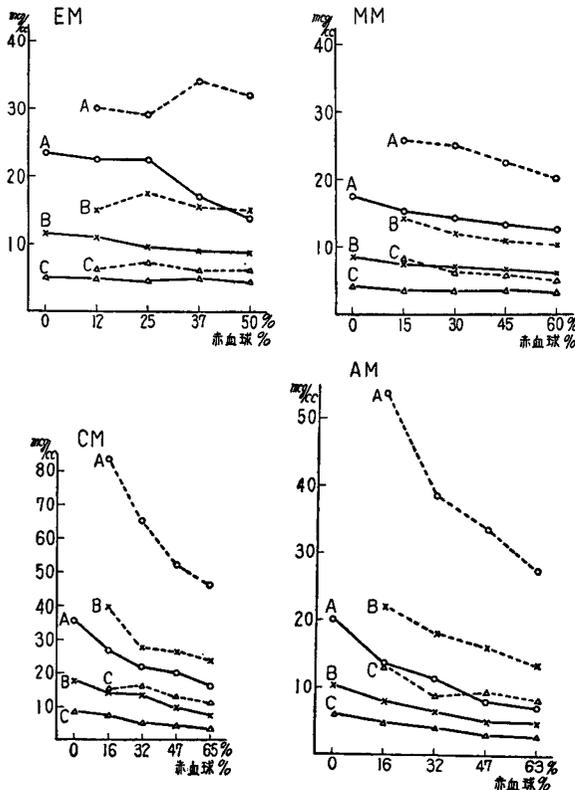


表3 各抗生物質の赤血球吸着率

PC		赤血球 %			
対照抗生物質濃度 u/cc	赤血球 %	I	II	III	IV
		16	31	47	63
16.7		-0.1	0.1	0.4	0.3
9.3		-0.2	0.4	0.4	0.5
6.3		0.7	0.4	0.6	0.4

TM		赤血球 %			
対照抗生物質濃度 mcg/cc	赤血球 %	I	II	III	IV
		15	31	47	62
28.2		1.2	1.3	1.2	1.3
14.6			1.4	1.2	1.2
8.0			1.2	1.1	1.1

TC		赤血球 %			
対照抗生物質濃度 mcg/cc	赤血球 %	I	II	III	IV
		11.3	22.5	34.0	45.0
18.7		1.7	1.8	1.5	1.4
8.0		1.2	1.3	1.3	1.3
4.1		1.6	1.4	1.3	1.3

く、とくに SM は PC よりさらに低値を示した。

TM, TC, EM, MM は前2者と異り上清濃度はいずれも対照よりやや低く、赤血球濃度が増すにつれ軽度の下降傾向を示した。赤血球側濃度はすべて上清濃度よりも高かつた。

CM, AM の上清濃度は対照より著しく低く、しかも赤血球濃度が増すにつれ低下する傾向が著明であつた。赤血球側濃度は上清濃度に比しきわめて高く、かつ赤血球濃度増加による下降も明らかであつた。

(2) 抗生物質赤血球吸着率 : (表3)

前記計算法により求めた赤血球吸着率は、PC, SM はそれぞれ -0.2~0.7, -0.5~0.4 であり両者は赤血球にほとんど吸着されぬことを示した。

TM, EM, TC, MM の吸着率はそれぞれ 1.1~1.4, 1.1~1.5, 1.2~1.8, 1.2~1.9 であり中等度の吸着性を認めた。

CM, AM の吸着率は 1.3~2.4, 1.3~2.7 であり高度の吸着性を示した。

(3) 赤血球吸着率と抗生物質濃度との関係 :

(図3) 吸着率が0に近いSMでは抗生物質濃度が大となるにつれ吸着率も大になる傾向を認めたが、PCでは逆に吸着率の下降する傾向を示した。

中等度の吸着率を有する TM, EM, TC, MM では、吸

SM		赤血球 %			
対照抗生物質濃度 mcg/cc	赤血球 %	I	II	III	IV
		15	30	45	61
35.0		-0.1	0.4	0.3	0.2
17.5		-0.3	-0.2	0.1	0.2
7.4		-0.5	-0.3	-0.4	-0.2

EM		赤血球 %			
対照抗生物質濃度 mcg/cc	赤血球 %	I	II	III	IV
		12	25	37	50
23.5		1.3	1.2	1.5	1.4
11.5		1.3	1.5	1.4	1.3
5.2		1.2	1.4	1.1	1.2

MM		赤血球 %			
対照抗生物質濃度 mcg/cc	赤血球 %	I	II	III	IV
		15	30	45	60
17.5		1.5	1.4	1.3	1.2
8.6		1.6	1.4	1.3	1.2
4.3		1.9	1.5	1.3	1.2

CM		I	II	III	IV
対照抗生物質濃度 mcg/cc	赤血球 %	16	32	49	65
	35.5		2.4	1.8	1.5
17.8		2.2	1.5	1.5	1.3
8.6		1.7	1.9	1.5	1.3

AM		I	II	III	IV
対照抗生物質濃度 mcg/cc	赤血球 %	16	32	47	63
	20.0		2.7	2.0	1.7
10.2		2.2	1.8	1.6	1.3
6.0		2.2	1.4	1.5	1.3

着率は抗生物質濃度の増大により変化しないか、あるいは軽度の上昇傾向を認めた。

吸着率の大なる CM, AM では赤血球濃度が大なる場合には抗生物質濃度増大により吸着率は著しく上昇したが、赤血球濃度が小なる場合には軽度の上昇を示すのみであった。

(4) 赤血球吸着率と赤血球濃度との関係：(図 4) SM, PC では赤血球濃度が大になるにつれ吸着率の上昇傾向が認められた。

TM, EM では赤血球濃度による吸着率の変化はほとんど認められなかった。

TC, MM の吸着率は TM, EM よりやや大であるが、赤血球濃度が増すにつれ吸着率は下降する傾向を示した。

CM, AM では赤血球濃度の増加により吸着率は著明

に下降した。

考 按

抗生物質の赤血球吸着性：薬剤の赤血球吸着の本態は未だ明らかではないが、HANSEN⁶⁾ はサルファ剤の赤血球吸着は赤血球内の何物か、あるいは赤血球細胞膜との弱結合によると述べている。抗生物質の赤血球吸着もおそらく同様な機序によるものであろう。本実験により得られた抗生物質 8 剤の赤血球吸着率の順位は 0=SM, PC>1=TM, EM>TC, MM>CM, AM である。

赤血球吸着率と抗生物質濃度との関係 吸着率が 1 に近い抗生物質、すなわち赤血球側抗生物質濃度が対照の抗生物質濃度とほぼ等しい場合には抗生物質濃度の変化による吸着率の変化は認められない。このことは赤血球と周囲の生理食塩水との間における抗生物質の分布率

図3. 各抗生物質の赤血球吸着率と抗生物質濃度との関係

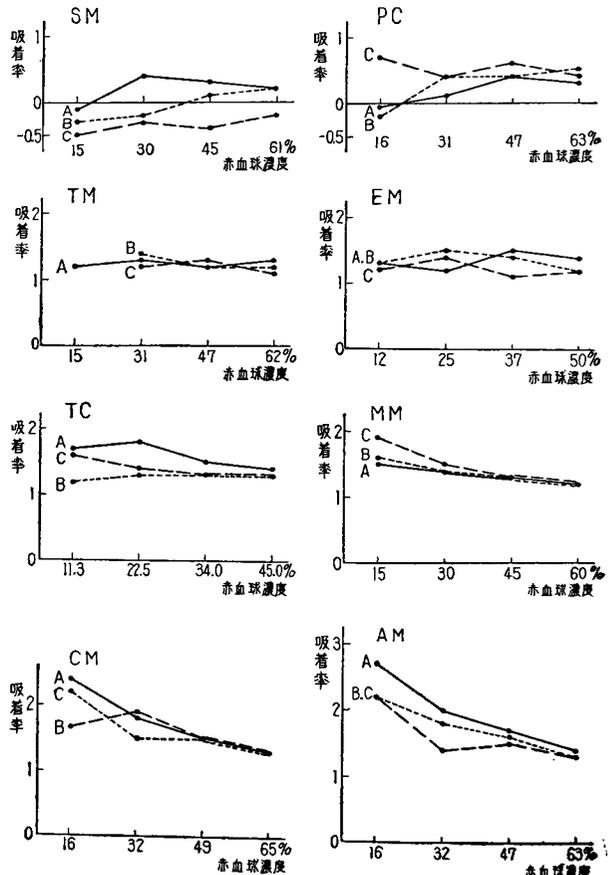
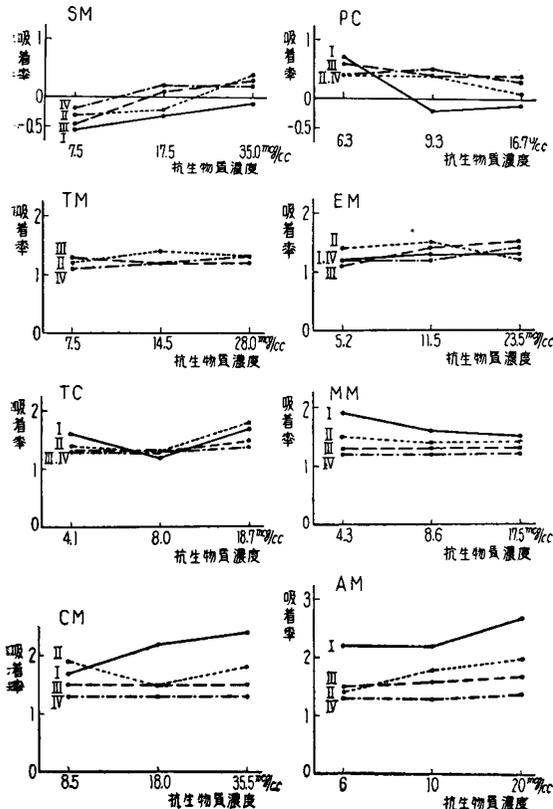
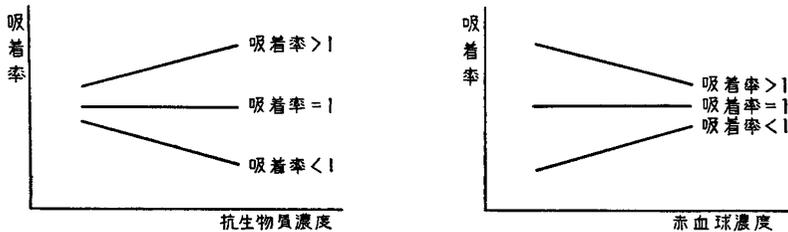


図5. 赤血球吸着率と抗生物質濃度(左図) 赤血球濃度(右図)との関係



が等しいことから当然である。吸着率が1より大なる抗生物質では一般に抗生物質濃度が大になるにつれ吸着率も上昇する。この関係はとくに吸着の著明である AM, CM で赤血球濃度が大なる場合に明らかである。これは赤血球濃度が大なる場合抗生物質濃度が低ければ赤血球による吸着が飽和に達せず、抗生物質濃度の増大により吸着率が上昇するものと考えられる。吸着率の小なる PC, SM については吸着率と抗生物質濃度あるいは赤血球濃度との関係を論ずることに大なる意義が認められない。

赤血球吸着率と赤血球濃度との関係 吸着率の大なる抗生物質では赤血球濃度の減少により吸着率は上昇する。これは赤血球単位当りの抗生物質が増加することによると考えられる。吸着率が1に近い抗生物質ではかかる変化は認められない。

以上の抗生物質赤血球吸着率と抗生物質濃度ならびに赤血球濃度との関係を模型化すると、図5のごとくである。

抗生物質赤血球吸着性の意義 抗生物質各剤がそれぞれ異つた程度に赤血球吸着性を有することを実験的に明らかにしたが、これらの抗生物質は血清蛋白との結合性をも有しているので生体内における抗生物質と赤血球との関係が以上の成績と全く同様であるとは考えられない。しかし真下⁸⁾はサルファ各剤の血漿蛋白結合性はそれぞれ異なるが、赤血球吸着性の強さの順位は赤血球の生理食塩水浮遊の場合と血漿浮遊の場合とで変らぬと述べており、KREBS¹⁶⁾はサルファ各剤の吸着性、結合性の差は薬剤の解離性によるとしている。したがって、著者が実験的に明らかにした各抗生物質の赤血球吸着性により、生体内における赤血球吸着性を推定することも可能であると思われる。

BENHOLD¹⁶⁾は血漿蛋白の結合による物質運搬能を認めているが、赤血球についても同様にその吸着性により抗生物質その他の物質運搬体ないし生体内貯溜の場としての機能を有するものと考えられる。この意味において抗生物質の赤血球吸着性は抗生物質の体内分布、移行等に重要な関係を有するとともに、また後章において述べることく抗生物質の血中濃度測定上にも大なる意義を有

している。さらに抗生物質の赤血球吸着性は細胞内移行性とも関連し、細胞内病原体に有効な化学療法剤の性質として考慮されるべき問題である。

小 括

(1) ヒト赤血球生理食塩水浮遊液により抗生物質の赤血球

吸着率を測定した。

(2) 抗生物質各剤の吸着率は PC -0.2~0.7, SM -0.5~0.4, CM 1.3~2.4, AM 1.3~2.7, TM 1.1~1.4, TC 1.2~1.8, EM 1.1~1.5, MM 1.2~1.9 であり、その順位は SM > PC > TM, EM > TC, MM > CM, AM である。

(3) 赤血球吸着率と抗生物質濃度との関係は吸着率 > 1 の時は抗生物質濃度が増すにつれ吸着率上昇し、吸着率 = 1 の時はほぼ一定して変化なく、吸着率 < 1 の時は吸着率は下降する。

吸着率と赤血球濃度との関係は吸着率 > 1 の時は赤血球濃度が増すにつれ吸着率は下降し、吸着率 = 1 の時は変化せず、吸着率 < 1 の時は上昇する。

B. 抗生物質の血清蛋白結合性について

多くの化学療法剤が血清の存在により効力の一部ないし大部分を失う事実はすでに多数の人々により認められており、その理由は主として化学療法剤の血清蛋白結合によると考えられている。BENHOLD¹⁶⁾は水溶性色素剤が血清アルブミンと結合すると述べ、SCHÖNHOLZER¹⁷⁾は電気泳動法によりプロントジールが血清アルブミンに結合することを示した。DAVIS¹⁸⁾、真下¹⁹⁾はサルファ各剤の髄液内濃度がサルファ剤の血清蛋白結合度に関係することを認め、化学療法剤の血清蛋白結合性が薬剤の体内活動機転に密接に関連することを明らかにした。

抗生物質剤の血清蛋白結合に関する業績としては、PCにはCHOW²⁰⁾、RICHARDSON²¹⁾、TOMPSETT²²⁾、OEFF²³⁾等、SMにはKORNEGAY¹³⁾、MARSHALL²⁴⁾、BOXER²⁵⁾、CM, AM, TC にはそれぞれ SMITH²⁶⁾、BLISS²⁷⁾、ENGLISH²⁸⁾、MM には ENGLISH²⁹⁾、FINLAND³⁰⁾等の報告があり、すでに多くの抗生物質につき種々論じられているが、これらはいずれも個々の抗生物質につき異つた方法を用いてなされている。

薬剤の蛋白結合性を検する方法としては透析法、超遠心法、電気泳動法、寒天層浸透法、細菌活性比較法等があるが、DAVIS³²⁾も述べるごとく薬剤間の比較をするには同一方法同一条件で検討をする事が必要である。著者はこの点に留意し実験操作がもつとも簡単であり、また抗生物質と蛋白との結合状態に変化を与えず、しかも

抗生物質の生物学的測定法にもつとも適したと思われる透析法により PC, SM, CM, AM, TM, TC, EM, MM, および NB につき血清ならびに血清アルブミンに対する結合性を比較検討し、さらに PC, CM について蛋白結合度と抗生物質濃度および蛋白濃度との関係をも検討した。

実験方法

(1) 透析法：透析膜としてセロファン膜を用い、内液は健康人血清またはアルブミン溶液 5cc とし、外液は一定濃度の抗生物質を添加した pH 7.4 1/15 M 磷酸緩衝液 10cc として 48 時間以上冷室内 (約 3°C) にて透析を行った。さらに PC, CM については外液中抗生物質濃度を 3 段階とし、また内液の血清も緩衝液にて 1, 2, 4 倍に稀釈したものを用いて実験を行った。ただしこの際血清の稀釈による pH の差を除くため緩衝液は pH 8.0 とした。

(2) ヒト血清ならびにアルブミン：血清は表 4 のごとく採血分離後 pH が変化するので、実験には数日間冷室内に保存し pH の安定した血清を用いた。アルブミン (COHN 分割法、東京大学医学部生化学教室より分与を受く) は緩衝液にて 5% 溶液として使用した。使用血清ならびにアルブミンの電気泳動法による蛋白分割は表 5 のごとくである。

(3) 抗生物質濃度測定法 前章同様重層法を用いた。ただし NB はブドウ球菌 209 P 株によるカップ法を使用した。

濃度測定の際、標準稀釈系列と被検透析外液との pH 等の条件を同じにするため、標準系列は抗生物質を添加せずに血清またはアルブミンに対して上記実験と同時に透析を行った外液を溶媒として作成した。透析終了後外液についてズルフォサルチル酸法により蛋白陰性を確めた。

(4) 蛋白結合率計算法 透析外液中の抗生物質濃

度の減少率を以つて結合率とした。すなわち

$$\text{蛋白結合率} = \frac{(a-b)V}{aV} \times 100\%$$

- a: 内液を緩衝液とし透析した場合の外液中抗生物質濃度
- b: 内液を血清、アルブミンとし透析した場合の外液中抗生物質濃度
- V: 内外全液量

(附) 予備実験として内外両液を緩衝液として抗生物質を外液に添加し 48 時間透析した後、内外両液の抗生物質濃度を測定した結果、同一濃度となり、48 時間の透析により抗生物質が均等化することを認めた。

実験成績

(1) 血清蛋白結合率 抗生物質各剤の透析外液中濃度測定値ならびに結合率は表 6 のごとくである。結合率は NB がもつとも高く、ついで AM, PC, CM であり、SM はやや低く、さらに MM, TC, TM, EM の順に軽度となつた。血清結合率とアルブミン結合率はほぼ同程度であつた。

表 6. 各抗生物質対血清、対アルブミン透析外液中濃度測定値ならびに結合率

抗生物質	対緩衝液外液中濃度	対血清外液中濃度	結合率 %	対アルブミン外液中濃度	結合率 %
NB mcg/cc	82.0	10.8	87	10.4	87
AM "	10.0	3.4	66	3.1	69
PC u/cc	10.0	4.2	58	4.4	56
CM mcg/cc	10.0	4.3	57	4.8	52
SM "	10.0	7.6	24	7.6	24
MM "	10.0	8.1	19	8.4	16
TM "	10.0	8.3	17	8.5	15
TC "	10.0	8.2	18	8.7	13
EM "	10.0	8.9	11	9.1	9

表 4. 低温保存ヒト血清 pH の時間的变化

間時	1.5時	3	6	24	2日	4	6	8	10
pH	7.8	7.9	8.1	8.3	8.4	8.5	8.5	8.5	8.6

表 5. 使用したヒト血清の蛋白分割

Total protein	Alb.	α	β	φ	γ
7.3 g/dl	57	10	9	10	14

使用したヒトアルブミンの蛋白分割

Total protein	Alb.	α	β	φ	γ
5.0 g/dl	82	10	7	0	4

図 6. 血清結合率と抗生物質濃度(左図) 血清濃度(右図)との関係

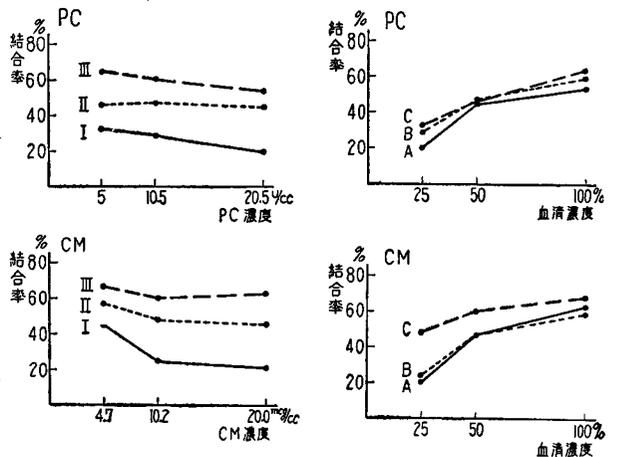


表 7. PC, CM の対血清透析外液中濃度と血清結合率

濃度 : PC					結合率 PC					
抗生物質濃度 u/cc	血清 %	対照	I	II	III	抗生物質濃度 u/cc	血清 %	I	II	III
		0	25	50	100			25	50	100
A	u/cc 20.5		16.5	11.4	9.4	20.5	% 20		45	54
B	10.5		7.5	5.6	4.2	10.5	29		47	60
C	5.0		3.5	2.7	1.8	5.0	32		46	64

CM					CM					
抗生物質濃度 mcg/cc	血清 %	対照	I	II	III	抗生物質濃度 mcg/cc	血清 %	I	II	III
		0	25	50	100			25	50	100
A	mcg/cc 20.0		15.8	10.8	7.4	20.0	% 21		46	63
B	10.2		7.6	5.3	4.1	10.2	25		48	60
C	4.7		2.6	2.0	1.6	4.7	45		57	66

(2) 蛋白結合率と抗生物質濃度, 蛋白濃度との関係: PC, CM について行つた血清, 抗生物質各 3 濃度段階の組合せ実験における透析外液抗生物質濃度測定値ならびに結合率は表 7 のごとくである。結合率は抗生物質濃度が大になるにつれ下降する。とくに CM の抗生物質低濃度における結合率上昇は著明であつた。

また結合率は蛋白濃度の増大につれ上昇を認めた。(図 6)

考 按

血清蛋白結合率とアルブミン結合率 抗生物質 9 剤の血清蛋白結合率と血清アルブミンとはほぼ同量の 5% アルブミン結合率はほぼ一致し, 抗生物質の血清蛋白結合は主としてアルブミンによることが明らかである。DAVIS¹⁸⁾, TOMPSETT²²⁾, CHOW²⁰⁾, DOLKART⁸¹⁾ はサルファ剤, PC について同様な結果を報告している。

蛋白結合率と抗生物質濃度, 蛋白濃度との関係 DAVIS²²⁾ はサルファ剤の蛋白結合率は蛋白濃度に比例し, 薬剤濃度に反比例すると述べているが, 著者が PC, CM について得た結果も全く同様である。SMITH²⁶⁾, BOXER²⁵⁾ は CM, SM について同様な成績を報告している。

抗生物質各剤の血清蛋白結合率 著者の得た抗生物質各剤の血清蛋白結合率とすでに TOMPSETT²²⁾, ANDERSON³⁸⁾, BOXER²⁵⁾, SMITH²⁶⁾, BLISS²⁷⁾, FINLAND²⁰⁾, ENGLISH^{28,29)}, LUBASH³⁴⁾, SIMSON³⁵⁾ 等が個々の抗生物質について報告または論及した結合率とは, 実験方法, 実験条件が異なるので直接比較することはできないが, 大体において一致するものと認められる。

血清蛋白結合率と赤血球吸着率との関係: 抗生物質各剤の赤血球吸着順位は AM, CM > TC, MM, EM, TM

> PC, SM であり, 血清蛋白結合順位は NB > AM, CM, PC > SM, MM, TC, TM > EM である。AM, CM, TC, MM, TM では両者の順位がほぼ一致するが, PC, SM, EM では相当異り, 赤血球吸着には蛋白結合とはさらに別の因子が関係すると考えられる。

抗生物質血清蛋白結合の意義 抗生物質の血清蛋白結合性はすでに TOMPSETT²²⁾, RICHARDSON²¹⁾ が PC について明らかにしたごとく抗生物質の血中濃度, 排泄速度, 試験管内抗菌力と生体における有効度との関係^{36, 37, 38)} 等に説明を与えるものである。また, 健常髄液にはほとんど認められない抗生物質が髄膜炎では認められ^{39,40)}, 炎症眼前房水への PC 移行濃度は正常眼より高く, しかもその維持の永いこと^{41,42,46)}等より抗生物質の血清蛋白結合性により血清蛋白が運搬体として薬剤の炎症巣への移行に関与することは明らかである。また, 血清蛋白が貯溜体として腎よりの排泄等^{38,43,44,56)}に関係し抗生物質の血中濃度, 組織濃度の維持に有利な影響を及ぼすと考えられる⁴⁷⁾。さらに, 血清蛋白結合性は赤血球吸着性とともに抗生物質の血液内分布を左右しその血中濃度測定上に重大なる意義を有している。

小 括

(1) セロファンバッグ透析法により抗生物質 9 剤のヒト全血清ならびに 5% アルブミン溶液に対する結合率を検討した。

(2) 抗生物質各剤の血清結合率は PC 58%, SM 24%, CM 57%, AM 66%, TM 17%, TC 18%, EM 11%, MM 19%, NB 87% であり, 5% アルブミン結合率は PC 56%, SM 24%, CM 52%, AM 69%, TM 15%, TC 13%, EM 9%, MM 16%, NB 87% であり, 結合順位は NB >> AM > PC, CM >> SM > MM, TM,

TC>EM である。

(3) 抗生物質各剤の全血清結合率と5%アルブミン結合率はほぼ等しく、血清による結合は主としてアルブミンによるものである。

(4) PC, CM の血清蛋白結合率は血清濃度増大につれ上昇し、抗生物質濃度増大につれ下降する。

C. 抗生物質血中濃度測定に関する 2, 3 の吟味

抗生物質各剤がそれぞれ赤血球吸着率、血清蛋白結合率を異にし、これらの性質が抗生物質の体内活動機転に関与することを述べたが、さらに血液内あるいは体液内分布にも直接的な影響を及ぼし、その濃度測定上大なる意義を有している。本章では抗生物質の赤血球吸着性、蛋白結合性による抗生物質抗菌力の低下に関して

(1) 重層法による血清の TC 阻止帯長におよぼす影響

(2) 倍数稀釈法による血清のテトラサイクリン系 3 剤抗菌力におよぼす影響

(3) 重層法、カップ法による PC, SM, CM, EM の阻止帯長の血液、血清、緩衝液による比較の 3 実験を行い、抗生物質濃度測定における意義を検討した。

実験方法

実験(1): 健康ヒト血清にて 100 mcg/cc より 0.2 mcg/cc にいたる TC 倍数稀釈系列を作り、これを pH 8.0 磷酸塩緩衝液にてそれぞれ 2.5, 5, 10 倍に稀釈し、溶連菌 COOK 株を用いた鳥居氏重層法によりこれらの阻止帯長と pH 8.0 緩衝液 TC 標準稀釈系列の阻止帯長とを比較した。また同一実験を pH 6.0 緩衝液によつて行つた。

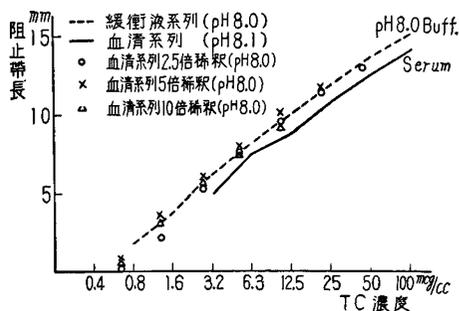
実験(2): 普通ブイオンに健康ヒト血清を 5, 10, 20, 40% に加え、これにより AM, TM, TC 3 剤の倍数稀釈系列を作り菌発育阻止最少濃度の比較を行つた。接種菌ならびに菌量はブドウ球菌 209P 株 24 時間ブイオン培養液 10 倍稀釈 1 滴とし、37°C 18 時間培養後肉眼的に判定した。

実験(3): 健康ヒト脱線維血液、血清、pH 8.0 磷酸塩緩衝液に、それぞれ特徴的赤血球吸着性、血清蛋白結合性を有する PC, SM, CM, EM の一定濃度を添加し、その阻止帯長を 3 液間で比較した。測定法は PC, CM, EM は鳥居氏重層法、SM はブドウ球菌 209P 株使用カップ法を用い、血液は遠心しその上清を重層した。

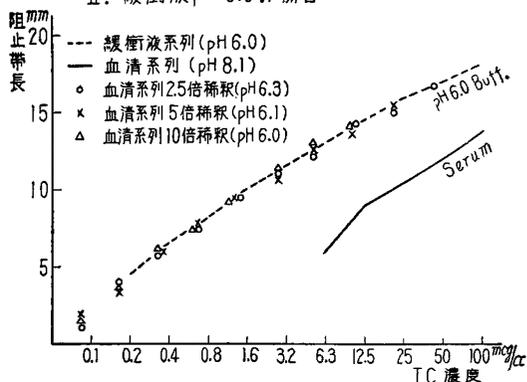
実験成績

(1) 血清の TC 阻止帯長におよぼす影響: pH 8.0 緩衝液系列の阻止帯長と血清系列のそれとは明らかに差が認められた。血清系列を 2.5 倍ないし 10 倍稀釈した

図7. TC 抗菌力におよぼす血清の影響(重層法)
I. 緩衝液 pH 8.0 の場合



II. 緩衝液 pH 6.0 の場合



ものの阻止帯長はすべてほぼ緩衝液系列の阻止帯線上にプロットされた。(図 7)。pH 6.0 緩衝液による実験では、緩衝液系列と血清系列の阻止帯長の差は pH 8.0 の場合に比し著明であるが、血清系列を稀釈した結果は全く同様であつた。(図 7) 両実験において血清系列では阻止帯を認めなかつた TC 低濃度 (3.2~6.3 mcg/cc) において、これを稀釈することにより阻止帯を認め得るようになった。

(2) 血清のテトラサイクリン系 3 剤抗菌力におよぼす影響: AM は血清 5% で最少発育阻止濃度は対照と同じであつたが、10% で 2 倍、20% で 4 倍、40% で 8 倍となつた。TM の最少阻止濃度は血清 10% で対照の 2 倍弱、20%, 40% で 2 倍であつた。TC は血清 10% ないし 40% で対照の 2 倍であつた。(表 8)

実験(3) PC, SM, CM, EM の阻止帯長の血液、血清、緩衝液による比較: PC の阻止帯は血液上清と緩衝液がほぼ同長で、血清は著しく短縮した。SM は血清、緩衝液がほぼ同長で、血液上清が著しく延長した。CM は緩衝液が最も長く、血清、血液上清の順に短縮した。EM は緩衝液、血清、血液上清の順に短縮したがその差はきわめて僅かであつた。(図 8)

考 按

抗生物質抗菌力の血清による不活性化: 実験(1)に

表 8. テトラサイクリン系 3 剤の抗菌力におよぼす血清の影響 (倍数稀釈法)

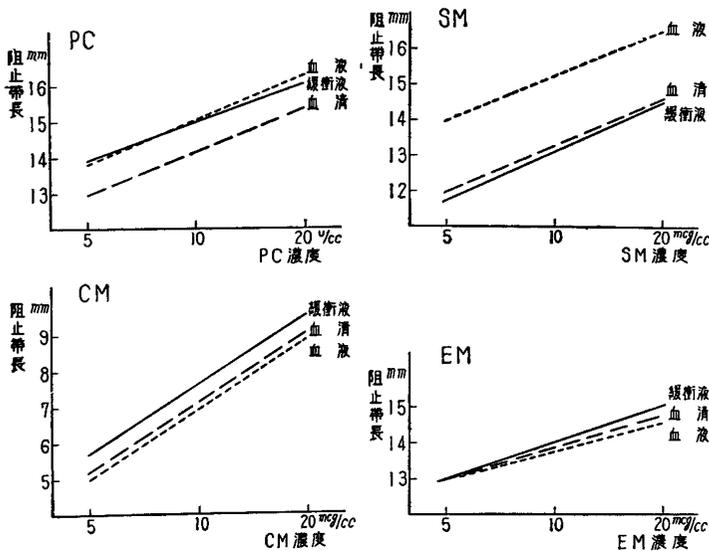
Chlortetracycline										
血清 %	AM mcg/cc	100	50	25	12.5	6.3	3.2	1.6	0.8	0.4
0		-	-	-	-	-	-	+	+	+
5		-	-	-	-	-	-	+	+	+
10		-	-	-	-	-	+	+	+	+
20		-	-	-	-	+	+	+	+	+
40		-	-	-	+	+	+	+	+	+

Oxytetracycline										
血清 %	TM mcg/cc	100	50	25	12.5	6.3	3.2	1.6	0.8	0.4
0		-	-	-	-	-	+	+	+	+
5		-	-	-	-	-	+	+	+	+
10		-	-	-	-	±	+	+	+	+
20		-	-	-	-	+	+	+	+	+
40		-	-	-	-	+	+	+	+	+

Tetracycline										
血清 %	TC mcg/cc	100	50	25	12.5	6.3	3.2	1.6	0.8	0.4
0		-	-	-	-	-	+	+	+	+
5		-	-	-	-	-	+	+	+	+
10		-	-	-	-	+	+	+	+	+
20		-	-	-	-	+	+	+	+	+
40		-	-	-	-	+	+	+	+	+

注 : 1) 使用菌: ブドウ球菌 209 P 株
 2) 血清加ブイオンの pH
 血清 0% 7.2, 5% 7.2, 10% 7.2,
 20% 7.3, 40% 7.6

図 8. 各抗生物質の血液, 血清, 緩衝液による阻止帯長の比較



おいて TC 血清系列は緩衝液系列より阻止帯長が短縮し, 血清による TC 抗菌力の低下が認められた。血清系列と緩衝液系列との阻止帯長の差は緩衝液の pH 8.0 より pH 6.0 において著明であつたが, これは真下⁴⁸⁾等が報告せるごとく TC 抗菌力は酸性側でより大になるためと考えられる。血清系列を 2.5~10 倍稀釈せるもの阻止帯長は緩衝液系列と同長になり, 血清稀釈により低下した抗菌力が回復することを認めた。また, 血清系列では阻止帯を示さない TC 低濃度においても, 稀釈により阻止帯を発現せしめた。これらの事実は TC 抗菌力が血清により低下すること, すなわち不活性化されること, この不活性化は破壊等による不可逆的变化でなく, 可逆的であることを示す。

抗生物質抗菌力の血清による低下と血清蛋白結合率との関係 : 実験 (2) において AM, TM, TC の血清 40% 系列における最少阻止濃度はそれぞれ対照の 8, 2, 2 倍である。血清 40% における抗生物質の有効率を

$$\text{有効率} = \frac{\text{対照系列における最少阻止濃度}}{\text{血清40\%系列における最少阻止濃度}} \times 100\%$$

とすれば, AM 12.5%, TC, TM 50% となる。透析法による 3 剤の血清蛋白結合率は 66%, 18%, 13% であり, AM は 37°C 24 時間で抗菌力の自然低下があり, 倍数稀釈法では最少阻止濃度 1 本の動きにより有効率は 50% になる等の点を考慮すれば AM, TM, TC の血清蛋白結合率と有効率とはよく平行するものと考えられる。TOMPSETT²²⁾ が PC-X, G, F, K 4 剤について述べたと同様なことがテトラサイクリン 3 剤においても認められ, 一般に抗生物質の血清による可逆的抗菌力の低下は抗生物質と血清蛋白の結合が主体と思われる。

赤血球吸着性, 血清蛋白結合性の抗生物質血液内分布におよぼす影響 実験 (3) において全体としては同量の抗生物質を含有しているにもかかわらず, 血液上清, 血清, 緩衝液の阻止帯長に種々なる差異を認め, しかもその差は抗生物質により異つている。これらの差異は抗生物質の赤血球吸着性, 血清蛋白結合性により説明される。すなわち, PC は赤血球吸着性が低いので赤血球の存在により赤血球周囲の PC 濃度は上昇し, 一方血清蛋白とは相当度の結合率を有するので血清では阻止帯が短縮する。血液上清では両者の影響が相殺し合うので緩衝液とはほぼ同じ阻止帯長を示すと考えられる。SM は赤血球にはほとんど吸着せず, 血清結合も軽度なので血液上清の阻

止帯は延長し、血清と緩衝液とが同長になる。CMは赤血球吸着、蛋白結合ともに高度なので阻止帯は緩衝液に比し、血清、血液上清の順に短縮している。その差は吸着率、結合率の割に小であるが、これは別の原因によるものと考えられる。EMの赤血球吸着率は1に近く、赤血球による周囲濃度の変化は生じないし、血清結合率も低いので3液間にはほとんど阻止帯長の差がないと考えられる。かくのごとく各抗生物質の血液内分布はその赤血球吸着率、血清蛋白結合率によりほぼ説明できる。

抗生物質血中濃度測定法に関する考察：臨床抗生物質の血中濃度等の測定は稀釈法、カップ法、重層法等の生物学的方法が使用される。これは被検材料中の抗生物質抗菌力の強さを測定するのである。抗生物質は血液内において、一部は赤血球、血清蛋白等と吸着あるいは結合し、一部は遊離状態にあり、その吸着、結合の度は抗生物質により異なることはすでに明らかにしたごとくである。また、吸着、結合状態にある抗生物質は不活性であり遊離状態のもののみが抗菌力を発揮し得るのである。RICHARDSON²¹⁾は血漿中PC-Kの測定値が測定法により大きく異なることを指摘した。一般に稀釈法により血清中の抗生物質濃度を測定するときは、100%に近い回収率が得られる。しかし血清中の抗生物質濃度が最少阻止濃度より余り高くない場合には蛋白による影響が除外しえず血清中の全濃度を正しく測定することはできない。TOMPSETT⁴⁹⁾の改良法によればつねに抗生物質全濃度を測定しうるが、この場合にも蛋白結合度が大きければ、血清添加によりその測定可能最低限界が高くなる。また稀釈法では血清中の抗生物質遊離濃度のみを測定することはできない。一方、カップ法、重層法の測定値は遊離状態の抗生物質濃度を示す。この方法でも標準系列を被検血清の血清濃度と同一にするか、被検血清を稀釈し蛋白結合による影響を除けば、全濃度あるいはそれに近い濃度が得られる。とくに重層法、カップ法では被検血清を稀釈することにより原血清で測定できない低濃度を測定しうる場合がある。

一般に血中濃度測定を行う場合には、血液より血清を分離し血清中の濃度測定を行うので赤血球に吸着した抗生物質は測定されていない。すなわち、抗生物質の血中、体液中等の濃度測定に際して(1)測定法……稀釈法、重層法、(2)測定条件……標準系列の種類、被検材料の種類、稀釈等の処置等々により得られる測定値が異なる。(pH等の条件は別とする)。その相異は主として抗生物質の赤血球吸着性、血清蛋白結合性による。したがって、測定された抗生物質血中濃度なるものが(1)血液中全濃度、(2)血清中全濃度、(3)血液中遊離濃度、のいずれであるかを常に考慮する必要がある。胸水、腹水等、蛋白含

有体液についても同様である。

小 括

(1) 重層法によりTCの血清稀釈系列と緩衝液稀釈系列との阻止帯長を比較した結果、血清系列で阻止帯長の短縮を認めた。しかし血清系列を2.5倍ないし10倍稀釈したものはほぼ緩衝液系列と同じ阻止帯長を示した。すなわち血清はTC抗菌力を一部不活性化するが、この不活化は可逆的である。

(2) 稀釈法によりテトラサイクリン系3剤の抗菌力におよぼす血清の影響をみた結果、40%血清加ブイオンにて菌発育阻止最少濃度は対照に比しAM8倍、TM、TC2倍であつた。3剤の40%血清における有効率は血清蛋白結合率とほぼ平行し、血清添加による抗菌力低下は主として蛋白結合によるものと考えられる。

(3) 重層法によりPC、SM、CM、EMの阻止帯長を血液、血清、緩衝液にて比較した結果、PCでは血液、緩衝液が同長、血清は短縮、SMでは血清、緩衝液がほぼ同長、血液が延長、CMでは緩衝液が最長、血清、血液と短縮、EMでは緩衝液、血清、血液の順に短縮したがその差は僅少であつた。これらの成績は各抗生物質の赤血球吸着率、血清蛋白結合率にてよく説明される。

III. 抗生物質の臓器による不活性化について

抗生物質の体内活動機転を考える時、臓器内分布とくに臓器における不活性化が体内における抗生物質の運命に重大な意義を有することは明らかである。抗生物質の臓器分布に関する報告は大久保⁴⁹⁾等をはじめとして内外に多数見られるが、これらはすべて抗生物質の臓器内濃度に関するものである。化学療法剤の臓器における抱合、分解等の代謝による不活性化ないし破壊作用については、MARSHALL⁵⁰⁾、KLEIN⁵¹⁾等のサルファ剤の肝におけるアセチル化に関する報告があり、抗生物質としてはPCについてTEPPERMAN⁵²⁾、RAKIETEN⁵³⁾、SMについては大村⁵⁴⁾、CMについてLEY⁵⁵⁾、SMITH²⁶⁾、EMについてはLEE⁵⁶⁾、⁵⁷⁾、TAMBURINO⁵⁸⁾、TCについてMAZZEO⁵⁹⁾等の報告がみられるが、未だ同一方法により抗生物質各剤について比較検討した報告はない。

著者はウサギ臓器エマルジョンによるPC、SM、CM、AM、TM、TC、EM、MMの不活性化について試験管内実験を行い、抗生物質の体内活動機転の一面を明らかにせんとした。

また、最近真下⁶⁰⁾等は健康犬と四塩化炭素処置犬により抗生物質の胆汁内排泄濃度を比較し、TCは両者ほぼ同濃度であるが、CMは後者に高濃度なることを認めたので、CM、TCに対する肝エマルジョンの不活化作用を健康ウサギおよび四塩化炭素処置ウサギの肝により比較検討した。

実験方法

一定量の抗生物質を臓器エマルジョンに添加し、その一部は対照として臓器酵素活性の抑制されると思われる -2°C に保ち、残部は 37°C に保ち抗生物質濃度の変化を時間的に追求して臓器による抗生物質の不活化を検討した。

(1) 臓器エマルジョン作用法：健康ウサギの耳静脈に空気を注入し空気栓塞により屠殺、ただちに脳、肺、肝、脾、腎を取り出し緩衝生理食塩水(pH 7.3 1/15 M 磷酸塩緩衝液、生理食塩水等量混和)を加え氷片にて冷却しつつガラスホモジナイザーにより10倍の臓器エマルジョンを作った。

(2) 臓器エマルジョンの抗生物質不活化作用測定法：低温下において一定量の臓器エマルジョンに一定量の抗生物質を添加し十分混和、一部を対照として -2°C に保存し、残部は恒温槽にて 37°C に保ち、5, 10, 30, 60, 120分ごとにその一部を取り出し再び -2°C に

冷却した。しかる後各試料を低温下において遠心し、上清中抗生物質濃度を測定した。対照として -2°C に保存せる試料の抗生物質濃度を100%とし 37°C に保つた各試料の濃度と比較し、臓器による抗生物質各剤の不活化を検討した。また、はじめに臓器エマルジョンを遠心しその上清液について同様の実験を行った。

(3) 四塩化炭素処置ウサギ肝エマルジョン：四塩化炭素体重1kg当0.3ccを健康ウサギに筋注し24時間後屠殺、肝をとり出し前記方法

図9. AM溶液(pH 7.3) 37°C における力価の時間的変化(平均値)

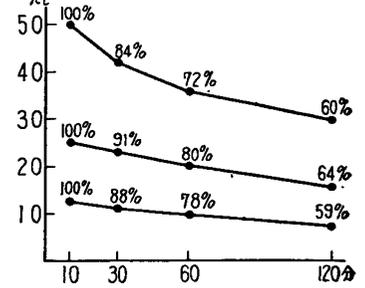


図10. 臓器エマルジョンによる抗菌力の変化 I

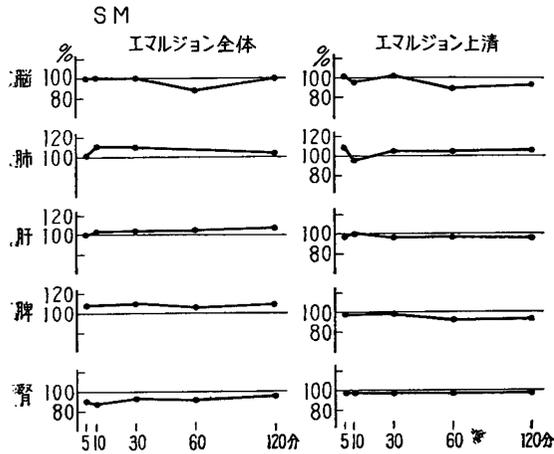


図11. 臓器エマルジョンによる抗菌力の変化 II

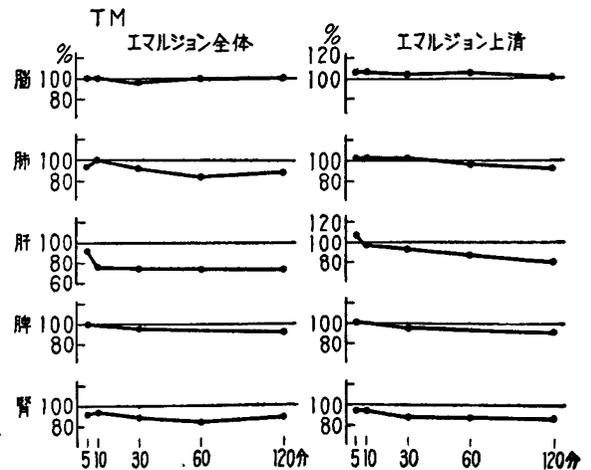
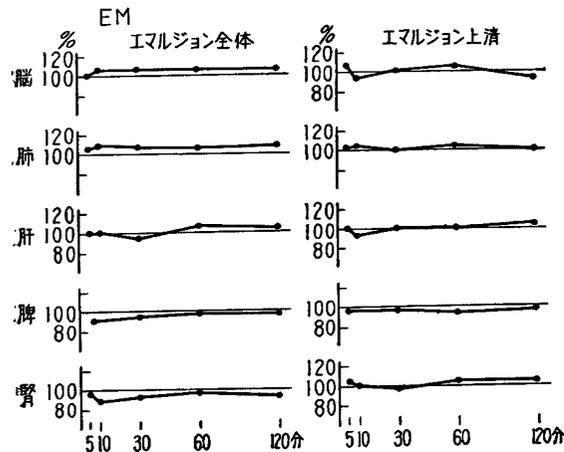
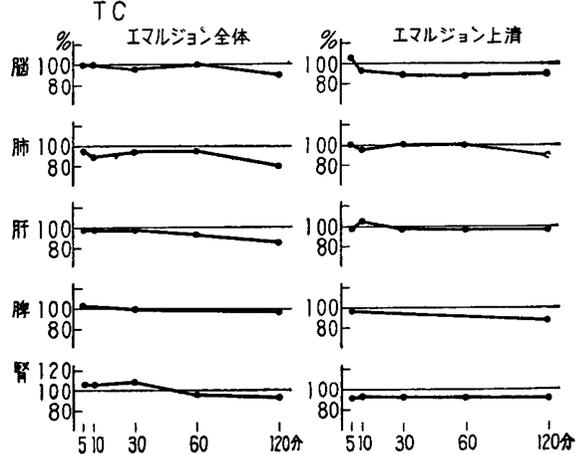


表 9. 各抗生物質の抗菌力におよぼす臓器エマルジョンの影響 (37°C)
(A: エマルジョン全体, B: エマルジョン上清)

PC

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	u/cc 27.0	26.0	26.0	26.0	24.0	26.0
	B	36.0	36.0	36.0	32.0	34.0	36.0
肺	A	26.0	28.0	24.0	24.0	25.0	26.0
	B	32.0	32.0	34.0	34.0	31.0	32.0
肝	A	19.0	19.0	18.0	16.0	14.0	19.0
	B	25.0	25.0	20.0	17.0	16.0	26.5
脾	A	27.0	28.0	27.0	27.0	24.0	24.0
	B	28.0	27.0	27.0	24.0	24.0	25.0
腎	A	25.0	25.0	25.0	24.0	23.0	24.0
	B	27.0	24.0	24.0	25.0	24.0	24.0

SM

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	mcc/cc 15.0	15.0	15.0	13.0	15.0	15.0
	B	25.5	24.0	25.5	23.0	24.0	25.5
肺	A	25.5	27.5	27.5	—	26.0	25.0
	B	27.5	24.5	26.5	24.5	24.5	25.5
肝	A	24.5	25.0	25.5	25.5	25.0	24.5
	B	29.0	30.0	29.0	29.0	29.0	30.0
脾	A	20.5	—	21.0	20.0	21.0	19.0
	B	22.5	—	22.5	21.5	21.5	23.0
腎	A	22.5	22.0	23.0	23.0	24.0	25.0
	B	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	28.0

CM

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	mcc/cc 19.5	19.0	18.0	18.5	17.0	21.5
	B	20.5	21.5	21.0	21.0	19.5	21.0
肺	A	17.0	17.5	16.5	18.5	17.0	19.0
	B	19.5	18.5	17.0	17.0	17.0	20.0
肝	A	11.5	10.5	9.5	8.5	7.0	16.0
	B	19.0	16.5	17.5	16.5	16.5	21.5
脾	A	22.0	21.0	21.0	20.0	18.0	21.0
	B	21.0	21.5	20.0	20.0	21.0	20.0
腎	A	17.0	16.5	16.5	17.0	17.0	16.5
	B	20.0	20.5	21.0	18.0	18.0	20.5

AM

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	mcc/cc 28.0	28.0	26.4	31.0	33.0	30.0
	B	33.0	33.0	33.0	33.0	35.0	33.0
肺	A	33.0	33.0	36.0	33.0	31.0	35.0
	B	19.0	18.0	18.0	19.5	22.1	18.0
肝	A	16.5	19.0	19.0	19.5	21.0	16.5
	B	23.0	23.0	33.0	21.5	24.0	19.0
脾	A	15.0	14.0	13.0	15.5	17.0	14.0
	B	9.4	9.4	10.0	—	11.5	10.5
腎	A	11.0	12.0	10.0	9.3	12.6	12.0
	B	12.0	12.0	11.5	13.0	12.9	10.5

TM

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	mcc/cc 18.5	18.5	17.5	18.5	18.5	18.5
	B	18.5	18.5	18.0	18.0	17.5	17.5
肺	A	22.0	23.0	21.0	19.5	20.0	23.0
	B	24.5	24.5	24.5	23.0	22.0	24.0
肝	A	21.0	17.5	17.0	17.0	17.0	23.0
	B	22.0	20.5	19.5	18.5	17.0	21.0
脾	A	19.0	—	18.0	—	17.5	19.0
	B	20.0	—	19.0	—	18.5	20.0
腎	A	22.0	22.5	21.5	20.0	21.5	24.0
	B	22.5	22.5	21.5	21.5	21.5	24.0

TC

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	mcc/cc 36.0	36.0	34.0	36.0	32.0	36.0
	B	36.0	33.0	31.0	31.0	32.0	35.0
肺	A	36.0	34.0	36.0	36.0	30.0	38.0
	B	31.0	30.0	31.0	31.0	28.0	31.0
肝	A	37.0	37.0	37.0	35.0	33.0	38.0
	B	37.0	39.0	37.0	36.0	37.0	38.0
脾	A	32.0	—	31.0	—	29.0	31.0
	B	33.0	—	—	—	30.0	34.0
腎	A	34.0	34.0	35.0	31.0	30.0	32.0
	B	30.0	31.0	30.0	30.0	30.0	33.0

EM

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	mcc/cc 32.0	34.0	34.0	34.0	34.0	32.0
	B	34.0	30.0	32.0	34.0	30.0	32.0
肺	A	34.0	35.0	34.0	34.0	33.0	32.0
	B	34.0	34.0	33.0	34.0	33.0	33.0
肝	A	32.0	32.0	30.0	34.0	30.0	32.0
	B	32.0	30.0	32.0	32.0	33.0	32.0
脾	A	31.0	—	32.0	33.0	33.0	34.0
	B	32.0	—	32.0	31.0	32.0	33.0
腎	A	34.0	31.0	32.0	34.0	32.0	35.0
	B	34.0	33.0	32.0	34.0	34.0	33.0

MM

臓器	時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
脳	A	mcc/cc 13.0	13.0	11.0	8.0	6.3	13.5
	B	15.5	15.0	14.5	13.0	11.5	15.5
肺	A	13.5	12.0	8.1	7.1	6.7	13.5
	B	13.0	13.0	8.5	7.6	8.1	13.5
肝	A	7.6	7.5	6.3	3.9	2.2	7.6
	B	11.5	9.0	7.1	5.9	4.5	11.5
脾	A	10.5	—	7.1	5.2	3.7	11.5
	B	13.0	—	9.8	7.1	4.9	13.0
腎	A	9.3	8.8	7.1	4.4	2.5	8.0
	B	11.5	11.5	8.4	6.9	4.0	11.5

によりその抗生物質不活化作用を健康ウサギ肝と比較した。

(4) 抗生物質濃度測定法 溶連菌 Cook 株使用鳥居氏重層法によつた。SM は枯草菌 PCI 219 株を用いて重層法を行つた。各試料重層後 6 時間以上冷室内に保存し抗生物質の寒天層への滲透を十分行つた後 37°C に保つた。

附：予備実験

(1) 抗生物質各剤溶液の 37°C における抗菌力の変化について：抗生物質各剤の各濃度の緩衝生理食塩水溶液を -2°C および 37°C に保ち 2 時間後の抗菌力を比較した結果 AM 以外は抗菌力の 37°C における低下は認めなかつた。AM についてはその変化を時間的に追求し図 9 のごとき結果を得たので、本章における AM の測定値はこれにより補正を行つた。

(2) 臓器エマルジョンの 37°C における pH の変化について：37°C における脳、肺、肝、脾、腎エマル

ジョンの pH をガラス電極 pH メーターにて経時的に測定し、-2°C に保てるものと比較した結果、37°C においても 6 時間迄 pH の変化は全く認めなかつた。

実験成績

(1) 各臓器の抗生物質不活化作用 各臓器エマルジョンに添加した抗生物質の 37°C において経時的に測定した濃度は表 9 のごとくである。対照として -2°C に保つたエマルジョンの抗生物質濃度を 100% とし 37°C における濃度の時間的変化をみると図 10~13 のごとくである。SM, EM はいずれの臓器によつても抗菌力の低下を認めなかつた。TC は脳、脾、上清、肺、肝全体により軽度の抗菌力低下を認めたが、いずれも全体あるいは上清の一方のみであつた。TM は肝により軽度の抗菌力低下を認めたが、他臓器ではほとんど変化しなかつた。PC は肝により中等度、脾および腎上清により極めて軽度の低下を認めた。CM は肝において中等度の、肺、腎上清において軽度の低下を示した。MM は全臓器によ

図 12. 臓器エマルジョンによる抗菌力の変化 III

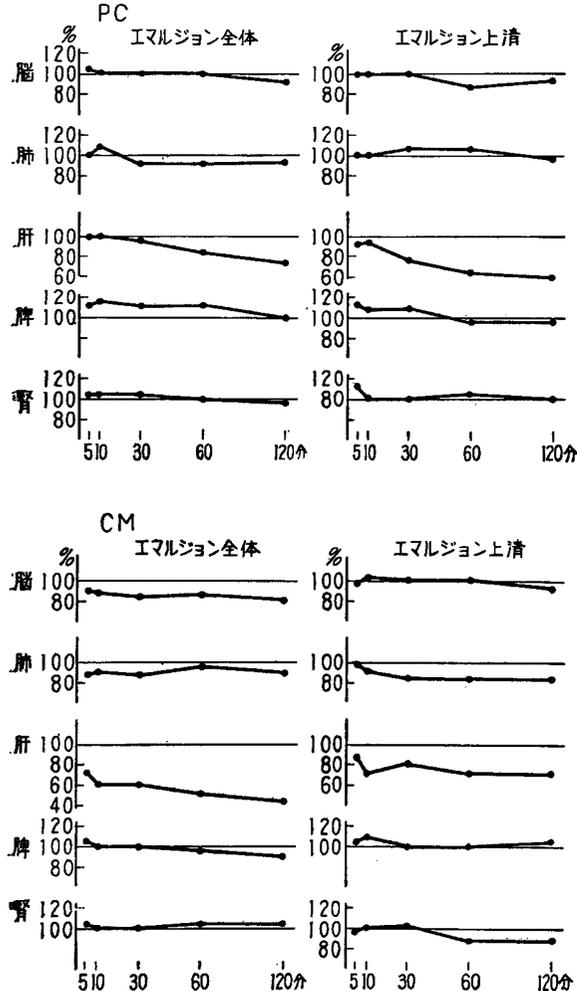


図 13. 臓器エマルジョンによる抗菌力の変化 IV

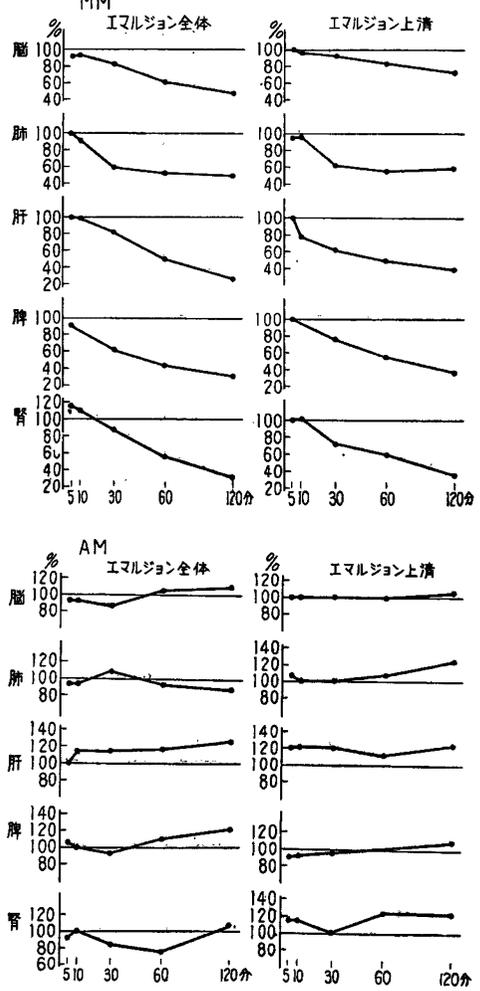
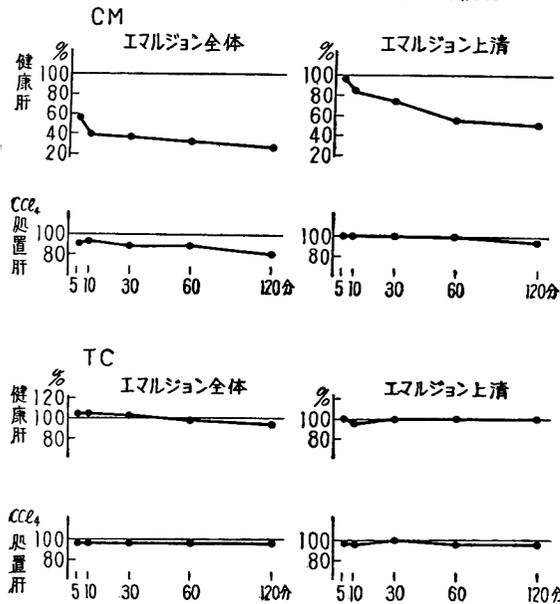


表 10. 抗菌力におよぼす四塩化炭素処置ウサギ肝の影響

CM		時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
健康肝	エマルジョン全体		7.6	5.2	4.8	4.4	8.9	13.3
	エマルジョン上清		17.5	15.2	13.3	10.1	9.4	18.0
CCl ₄ 肝	エマルジョン全体		13.3	13.6	12.8	12.8	11.7	14.7
	エマルジョン上清		18.6	18.6	18.6	18.4	18.0	18.6

TC		時間(分)	5	10	30	60	120	対照 -2°C
健康肝	エマルジョン全体		28.0	28.0	27.5	26.5	25.5	27.0
	エマルジョン上清		27.0	26.0	27.0	27.0	27.0	27.0
CCl ₄ 肝	エマルジョン全体		25.5	25.5	25.5	25.5	25.4	26.5
	エマルジョン上清		26.0	25.5	26.5	25.5	25.5	26.5

図 14. 四塩化炭素処置ウサギ肝による抗菌力の変化



り高度の低下を認めた。AM は測定値では各臓器とも低下を認めるが、これを補正すると明らかな低下は認められなかつた。

(2) 四塩化炭素処置肝の CM, TC 不活化作用：
 (表 10, 図 14) CM は健康ウサギ肝により中等度の抗菌力低下を来たすが、四塩化炭素肝ではほとんど低下を認めなかつた。TC は四塩化炭素肝によつても健康肝同様低下はほとんど認めなかつた。なお、本実験に使用した四塩化炭素処置ウサギの肝病理組織学的所見は肝小葉構造の破壊著明であり、細胞索開離断裂し、肝細胞の壊死変性高度にして小葉周辺部に僅かの正常肝細胞を残すのみであり、かつ脂肪の増加が著明であつた(写真 1, 2)。

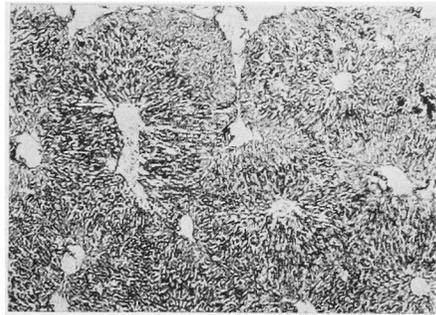


写真 1 四塩化炭素処置ウサギ肝組織標本 (弱拡大)

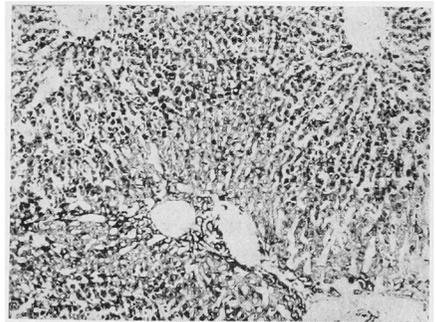


写真 2 四塩化炭素処置ウサギ肝組織標本 (強拡大)

考 按

抗生物質各剤の臓器による不活性化：PC については ABRAHAM⁶¹⁾ は臓器により不活化されぬと述べたが、その後 RAMMELKAMP⁶²⁾, WELCH⁶³⁾ は体組織とくに肝における不活化を推論し、TEPPERMAN⁵²⁾, RAKIETEN⁵⁸⁾, LOCKER⁶⁴⁾, SPITZY⁶⁵⁾ は肝による不活化を実証した。SM については大村⁶⁴⁾ が肝による抗菌力の低下を述べているが実験方法に検討を要する点があると思われる。CM については GLAZKO⁶⁶⁾ はが尿中に抗菌力を失つた CM の分解、抱合産物を化学的に証明しているが、著者の成績によればこれら分解、抱合等は主として肝で行われると考えられる。AM は溶液自体が不安定であり、その抗菌力低下度も毎常必ずしも一定でないので実験成績も不安定であり確定的結論は下せないが、臓器による不活性化はほとんど認められない。AM 自体の不安定性にもかかわらず AM 投与後比較的長時間体内に滞留すること^{44, 45, 67)} は、その高度な赤血球吸着性、血清蛋白結合とともに臓器により不活化されないことも 1 因と考えられる。TM については未だ報告をみないが、TC, EM についてはそれぞれ MAZZEO⁵⁹⁾, TAMBURINO⁵⁸⁾ が全く同じ方法で各種臓器による不活化を認めているが、実験方法に検討さるべき点が多い。しかし EM については LEE^{56, 57)}, WELLES⁵⁸⁾ は胆汁中に抗菌力を有する EM 代謝産物を認めている。MM は全臓器において高度に不活化され

たが、すでに多数の人々により MM の血中濃度の低いこと、尿、尿等からの回収率のきわめて少いことが報告されており^{69,70,71,72,73}、これらの原因として腸管内における不活化、体内臓器による不活化が大きな関係を有すると思われる。

臓器別にみた抗生物質不活化作用：脳では MM のみが不活化され、肺では MM は相等度の不活化をうけたが、CM, TM, TC はエマルジョン全体あるいは上清のいずれか一方において軽度不活化された。肝では MM をはじめ PC, CM, TM 等が明らかに不活化され、肝の生理的機能から当然の事と思われる。脾では MM が高度に PC が軽度不活化された。腎では MM が高度に PC, CM がエマルジョン上清で軽度不活化された。

不活化の時間的経過：不活化は一般に5分ないし10分まで急速に進み、その後の進行は著明でない。ただし MM については120分まで同様に行進した。

臓器エマルジョン全体と上清との不活化作用：明らかな不活化を認める場合にはエマルジョン全体、上清の両者において同程度に不活化を認めるが、いずれか一方のみに不活化をみるときは常に軽度であった。

四塩化炭素処置肝の不活化作用 四塩化炭素処置により組織学的に高度の傷害を認め、酵素活性の消失ないし低下が考えられる肝によつては CM の不活化はあきらかに抑制された。これは真下⁶⁰の知見をよく説明するとともに、肝エマルジョンによる CM の不活化が肝細胞酵素系の作用によるものであることを示すと考えられる。

小 括

- (1) 抗生物質各剤についてウサギ脳、肺、肝、脾、腎エマルジョンによる不活化について検討した。
- (2) MM は全臓器により高度の不活化をうけ、PC, CM, TM は肝により軽度ないし中等度の不活化をうけた。また PC は脾、腎により、CM は肺、腎により、TM は肺により、TC は脳、肺、肝、脾により、やや不活化される傾向をみた。SM, AM, EM はいずれの臓器にも不活化されなかつた。

(3) 四塩化炭素処置ウサギ肝では、健康ウサギ肝で認められた CM 不活化作用がほとんど認められなかつた。

IV. 総 括

臨床上化学療法を行う場合、その成否を決定する鍵は、病巣において病原体を死滅ないし増殖阻止せしめるに必要な薬剤濃度が得られるか否かにある。しかして薬剤の病巣濃度は、その吸収、排泄、体内移行、体内不活性化等の諸因子が関連して決定されるものである。著者が以上の諸実験において明らかにした抗生物質各剤の赤血球

吸着性、血清蛋白結合性、臓器による不活性化等は抗生物質の体内移行、体内不活性化等のいわゆる体内活動機転について基礎的解明を与えるものである。すなわち抗生物質の赤血球吸着性、血清蛋白結合性は第1に抗生物質の血液内分布を決定する。抗生物質は血液内において一部は血球、血清蛋白と結合し、一部は遊離状態にある。しかも結合状態にある抗生物質は可逆的ではあるが不活性であり、遊離状態の抗生物質のみが活性を有している。第2に血管より組織への抗生物質移行は遊離状態のものによつて行われる。しかし炎症等の病巣においては血漿遊出あるいは出血等により結合状態のものも移行する。したがつて抗生物質の血球、血清蛋白、臓器蛋白等との吸着あるいは結合性は組織間の抗生物質の移行に対して抑制的——薬剤貯溜的に作用するとともに、場合によつては促進的——薬剤運搬的に作用する。第3に病巣においても蛋白結合の問題は存在し、ここにおいて抗菌力を発揮し得るのはやはり遊離状態にある抗生物質である。さらに抗生物質の臓器における抱合、分解等による不活性化が、抗生物質の体内濃度に直接的影響を有することは明らかである。

また、臨床上しばしば行われる抗生物質の血中濃度測定は、抗生物質の吸収、排泄、体内分布、組織内濃度等を推定するために重要な意義を有するものであるが、これを生物学的に測定する場合には抗生物質の赤血球吸着性、血清蛋白結合性が関連して、測定法如何により得られる血中濃度は種々異つた値を示す。したがつて、抗生物質血中濃度測定を行う場合、つねにこの点に留意し得られた測定値に対する意味づけをせねばならない。

以上、著者は抗生物質各剤につき赤血球吸着性、血清蛋白結合性、これらによる抗菌力の可逆的不活性化、さらに臓器による不活性化等を明らかにした。しかしてこれらの諸現象により抗生物質剤の血液内分布、組織、炎症巣への移行、貯溜、体内における不活性化等に関連して抗生物質剤の生体内活動機転の一部を説明し、その臨床応用上の基礎的知見を加えたものと信ずる。

V. 結 論

抗生物質各剤につき試験管内実験により赤血球吸着性、血清蛋白結合性、臓器による不活性化を検討し、つぎの結論を得た。

1) 赤血球吸着率は PC 0.2~0.7, SM 0.5~0.4, CM 1.3~2.4, AM 1.3~2.7, TM 1.1~1.4, TC 1.2~1.8, EM 1.1~1.5, MM 1.2~1.9 である。

2) 赤血球吸着率と抗生物質濃度との関係は吸着率、 >1 なる抗生物質では抗生物質濃度が高まるにつれ吸着率は大きくなり、吸着率 ≈ 1 の場合はほぼ一定し、吸着率 <1 なる場合は逆に小となる。

3) 赤血球吸着率と赤血球濃度との関係は、吸着率 >1 なる抗生物質では赤血球濃度が高まるにつれ吸着率は小となり、吸着率 $=1$ の場合は変化せず、吸着率 <1 の場合は大となる。

4) 血清蛋白結合率は PC 58%, SM 24%, CM 57%, AM 66%, TM 17%, TC 18%, EM 11%, MM 19%, NB 87% であり、5% アルブミン結合率は PC 56%, SM 24%, CM 52%, AM 69%, TM 15%, TC 13%, EM 19%, MM 16%, NB 87% である。

5) 血清結合率とアルブミン結合率はほぼ一致し、血清による結合は主としてアルブミンによるものである。

6) 血清蛋白結合率は血清濃度上昇につれ増大し、抗生物質濃度上昇につれ減少する。

7) 抗生物質抗菌力は血清により不活性化され、不活性化の度は血清蛋白結合率と平行する。すなわち血清蛋白との結合により抗生物質は不活性化する。しかしこの不活性化は可逆的なものである。

8) 抗生物質の血液内分布は主として赤血球吸着率、血清蛋白結合率により決定される。

9) 脳、肺、肝、脾、腎の諸臓器による不活性化は、MM は全臓器で高度に不活性化され、PC、CM は肝で中等度に不活性化され、また TM は肝で、PC は脾で軽度に不活性化される。SM、AM、TC、EM は全臓器によりほとんど不活性化されない。

10) 四塩化炭素処置肝では、健康肝が示す CM 不活性化作用はほとんど認められない。

摺筆に当り、本研究に終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師 田坂教授に深甚なる感謝の意を捧げる。また、種々御助言をいただいた東大田坂内科 真下博士に感謝の意を表す。

本論文の要旨は、昭和 29 年 5 月第 2 回日本化学療法学会総会、昭和 30 年 4 月同学会第 3 回総会、昭和 31 年 5 月同学会第 4 回総会において発表した。

文 献

- 1) SOEHRING, K. : Biochem. Z., 295, 265, 1938.
- 2) SCHLOSSBERGER, H. : Klin. Wschr., 1, 73, 1937.
- 3) AXMACHER, F. : Arch. Exp. Path. Pharm., 180, 142, 1936.
- 4) GOODMAN, L. S. . The Pharmacological Basis of Therapeutics, 1161.
- 5) STRAUSS, *et al.* : Annals Int. Med., 14, 1360, 1941.
- 6) HANSEN. J. Lab. Clin. Med., 25, 669, 1940.
- 7) SIZE : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 40, 151, 1939.
- 8) 真下: 日新医学, 36, 401, 1949.
- 9) RAMMELKAMP, C. H., *et al.* : J. Clin. Invest., 22, 425, 1943.
- 10) VAN DYKE, H. B. . Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 56, 212, 1944.
- 11) EAGLE, H. : J. Exp. Med., 85, 141, 1947.
- 12) ADOCK, J. D., *et al.* : Arch. Int. Med., 77, 179, 1946.
- 13) KORNEGAY, G. B., *et al.* . J. Lab. Clin. Med., 31, 523, 1946.
- 14) BOXER, G. E., *et al.* : J. Biol. Chem., 170, 491, 1947.
- 15) KREBS, *et al.* : Brit. Med. J. 12, 1946.
- 16) BENHOLD, H. : Erg. Inn. Med. Kind., 42, 273, 1932.
- 17) SCHÖNHOLZER : Klin. Wschr. 19, 790, 1940.
- 18) DAVIS, B. D. . Science, 95, 78, 1942.
- 19) 真下: 日新医学, 36, 456, 1949.
- 20) CHOW, B. F., *et al.* : Science, 101, 67, 1945.
- 21) RICHARDSON, A. P., *et al.* : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 68, 514, 1946.
- 22) TOMPSETT, R., *et al.* . J. Bact., 53, 581, 1947.
- 23) OEFF, K., *et al.* : Klin. Wschr., 33, 419, 1955.
- 24) MARSHALL, E. K. : J. Pharm. Exp. Therap., 92, 43, 1948.
- 25) BOXER, G. E., *et al.* : Fedr. Proc., 8, 276, 1949.
- 26) SMITH, R. M., *et al.* : J. Bact., 55, 425, 1948.
- 27) BLISS, E. A., *et al.* : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 69, 467, 1948.
- 28) ENGLISH, A. R., *et al.* . Antibio. Chemo., 4, 411, 1954.
- 29) ENGLISH, A. R., *et al.* : Antibio. Chemo., 2, 678, 1952.
- 30) FINLAND : New Eng. J. Med., 249, 310, 1953.
- 31) DOLKART, R. E., *et al.* . J. Lab. Clin. Med., 33, 1608, 1948.
- 32) DAVIS, B. O. : J. Clin. Invest., 22, 753, 1943.
- 33) ANDERSON, R. C., *et al.* : Antib. Annual, 1955-1956, 540.
- 34) LUBASH, G., *et al.* : Antib. Med. 2, 233, 1956.
- 35) SIMSON, H. J., *et al.* : Antib. Med. 2, 205, 1956.
- 36) COGHIL, R. D., *et al.* : Science, 103, 709, 1946.
- 37) HOBBS, G. L., *et al.* . Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 296, 1946.
- 38) EAGLE, W. F., *et al.* : Science, 103, 618, 1946.
- 39) HEILMAN, D. H., *et al.* : Am. J. Med. Sc., 210, 576, 1945.
- 40) BUGGS, C. W., *et al.* : J. Clin. Invest., 25, 94, 1946.
- 41) 桐沢, 他: Chemotherapy 1, 46, 1953.
- 42) UNGAR, J. . Lancet, 1, 56, 1950.
- 43) TOMPSETT, R., *et al.* : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 65, 163, 1947.
- 44) HERRELL, W. E., *et al.* : Proc. Staff. Met. Mayo Clin., 24, 157, 1949.
- 45) GOCKE, T. M., *et al.* : J. Lab. Clin. Med., 36,

- 100, 1950.
- 46) 真下: 日新医学, 37, 91, 1950.
- 47) GOLDSTEIN, A. Pharm. Rev., 1, 102, 1949.
- 48) 真下, 他: Chemotherapy, 3, 97, 1955.
- 49) 大久保, 他: 日本内科学会雑誌, 43, 518, 1954.
- 50) MARSHALL, E. K., *et al.*: Science, 85, 202, 1937.
- 51) KLEIN, J. R., *et al.*: J. Biol. Chem., 124, 613, 1938.
- 52) TEPPERMAN, J., *et al.*: Science, 105, 18, 1947.
- 53) RAKIETEN, N., *et al.*: Antib. Chemo. 1, 113, 1951.
- 54) 大村, 他: Chemotherapy, 2, 120, 1954.
- 55) LEY, H. L., *et al.*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 68, 9, 1949.
- 56) LEE, C. C., *et al.*: Antib. Annual, 1953-1954, 485.
- 57) LEE, C. C., *et al.*: Antib. Annual, 1953-1954, 493.
- 58) TAMBURINO, G., *et al.*: Klin. Wschr., 43, 142, 1955.
- 59) MAZZEO, M., *et al.*: Deut. Med. Wschr., 80, 355, 1954.
- 60) 真下, 他: 臨床の日本, 3, 111, 1957.
- 61) ABRAHAM, E. P., *et al.*: Lancet., 2, 178, 1941.
- 62) RAMMELKAMP, C. H., *et al.*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 53, 30, 1943.
- 63) WELCH, H., *et al.*: J. Am. Pharm. Assoc., 36, 23, 1947.
- 64) LOCKER, A., *et al.*: Zeitschr. Ges. Exp. Med., 125, 100, 1955.
- 65) SPITZY, K. H.: Antib. Annual, 1955-1956, 549.
- 66) GLAZKO, A. J., *et al.*: J. Biol. Chem., 183, 679, 1950.
- 67) BRAINERD, H. D., *et al.*: Antib. Chemo., 1, 447, 1951.
- 68) WELLES, J. S., *et al.*: Antib. Annual., 1954-1955, 219.
- 69) 真下, 他: 綜合臨床, 4, 375, 1955.
- 70) HEWITT, W. L., *et al.*: New Eng. J. Med., 249, 261, 1953.
- 71) ENGLISH, A. R., *et al.*: Antib. Chemo., 3, 307, 1953.
- 72) BRANNICK, T. L., *et al.*: Antib. Med., 1, 131, 1955.
- 73) BRAINERD, H. D., *et al.*: Antib. Chemo., 3, 925, 1953.