

第 14 回 日本化学療法学会 総会 一般講演 I

主題 1 化学療法の基礎的問題

第 1 群

(1) 腸内細菌のアミノ酸脱炭酸酵素に及ぼす抗生物質の影響

岸川基明・後藤幸夫・伊藤勝介
小沼 賢・伊藤 誠・辻 重春
堤 泰昭

名古屋市立大学岸川内科

森 田 繁 二

名古屋大学青山内科

肝性昏睡に対する抗生物質の治療的意義を検討する目的で、有害アミンの酸化解毒に関与する臓器モノアミン酸化酵素に及ぼす抗生物質の影響については前回の本学会において報告したが、今回は有害アミンの産生に関与する腸内細菌のアミノ酸脱炭酸酵素に及ぼす抗生物質の影響を観察した結果を報告する。

腸内細菌は *E. coli* 10 株, *Proteus vulgaris*, *Aerobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia*, *Cloaca*, *Streptococcus faecalis* の計 16 の標準株を用い、適応培地として 0.5% アミノ酸を添加した普通ブイヨンに 20 時間培養し、3 回洗浄後の菌浮遊液についてワールブルグ検圧法によつて適応産生されたアミノ酸脱炭酸酵素活性を測定した。基質としては、Arginine, Lysine 或は Tyrosine を使用し、それぞれのアミノ酸に著明な活性を示す菌株について各種抗生物質の添加による活性の変動を観察した。

更に、菌の発育に影響を与えない濃度の抗生物質を適応培地に添加し、アミノ酸脱炭酸酵素の適応産生に及ぼす抗生物質の影響についても観察した。

腸内細菌 16 株のアミノ酸脱炭酸酵素活性は Arginine では主として *E. coli* に、Lysine では数株を除いた大部分の腸内細菌に、Tyrosine では *Streptococcus faecalis* のみに活性がみられた。

腸内細菌のアミノ酸脱炭酸酵素活性に及ぼす抗生物質の影響では Tetracycline, Chloramphenicol によつてかなりの変動がみられ、Arginine, Lysine では活性の増加を、Tyrosine では活性の低下を示した。Streptomycin, Neomycin, Penicillin による変動は著明でない。

腸内細菌のアミノ酸脱炭酸酵素の適応産生においても Tetracycline, Chloramphenicol によつて変動がみられ、その傾向はほぼ同様であつた。以上の成績と菌の発

育および呼吸に及ぼす抗生物質の影響との間に直接の相関は認められない。

アミノ酸脱炭酸酵素に及ぼす抗生物質の影響の相違は基質特異性に基づくものか菌体を介しての影響と考えられるがその機作については不明であり、今後の検討を要する。

(2) 各種化学療法剤と血清蛋白との結合の研究に超遠心分離法を応用した成績について

三方一沢・五味二郎・青柳昭雄
熊谷 敬・小穴正治・栗田棟夫
南波明光・山田淑一・山田幸寛

慶応大学三方内科

伊藤 信 也・安村恵津子

明治薬科大学

化学療法剤と血清蛋白との結合は、薬剤の抗菌力に影響を及ぼした生体側においては薬剤アレルギーの抗原因子となり得ることなどにより薬剤の生体内代謝のなかでも重要な問題である。従来薬剤と血清蛋白との結合状況を検査する方法は種々存するが、これらの方法は生体内における薬剤と蛋白の結合率を正確に表現しているとは言い難い。そこでわれわれは血清そのものを超遠心することによつて薬剤と血清蛋白との結合率を測定する試みを数種の化学療法剤についておこなつたのでこの成績について報告する。

超遠心の条件は今回は 55,000 回転、遠心加速度 223,200 g、回転時間は 5 時間、温度 6~8°C である。超遠心直後に Tube 中の血清を一定の条件のもとに 5 分画に分別吸引し、上清より No. 1, No. 2, No. 3, No. 4, No. 5 分画とし各分画中の蛋白濃度をビウレット法により測定すると、それぞれ 0.02, 0.24, 3.86, 6.93, 18.23 g/dl であり分画 1 中の蛋白濃度は原血清の 1/300 の微量に過ぎず、分画 1 中の蛋白濃度は無視し得るものと思われる。従つて分画 1 溶液中の薬剤は蛋白に結合しない遊離の状態にあるものとして、

$$\frac{\text{原血清中薬剤濃度} - \text{分画 1 中薬剤濃度}}{\text{原血清中薬剤濃度}} \times 100$$

の計算により薬剤と血清蛋白との結合率を算定した。薬剤の血中濃度測定法は、PAS は BRATTON-MARSHALL 変法による化学的定量法をおこない、SM, KM は普通寒天培地、枯草菌を用いる Paper disc 法、INH, VM

は DUBOS-Albumin 寒天培地, H-7 株を用いる Paper disc 法をおこない、生物学的定量法に際しては各分画を 5 倍稀釈水溶液にして定量をおこなった。

1. PAS 家兎に 200 mg/kg の PAS-Na を約 10 cc の水に溶解して経口投与ならびに筋肉内投与して 1.5 時間後ならびに 1 時間後に全採血してその血清そのままについて超遠心をおこなった際の PAS と蛋白との結合率は、経口投与の際は 2 匹平均 86.4%、筋肉内投与の際は 65.6% であり、血中濃度が低濃度の際にその結合率は高率であることを認めた。更に同原清を 10 倍量の pH 7.2 磷酸緩衝液を外液として透析法をおこなって結合率を算定すると両投与群ともに平均 64% 前後の値を示した。

2. SM 60 mg/kg, 100 mg/kg (力価) を筋注し 1 時間後に採血した際の結合率は 3 匹平均 36.2% の値を示した。

3. KM 60 mg/kg 筋注 1 時間後の 2 例平均結合率は 52.6% であつた。

4. VM 60 mg/kg 筋注 1 時間後の 3 例平均結合率は 67.2% であつた。

5. INH 20 mg/kg 投与後 1 時間又は 1.5 時間後に採血した際の結合率は経口投与の際は 42.7%、筋肉内投与の際は 28.1% であつた。

以上われわれは超遠心法を使用して 5 種の薬剤の血清蛋白の結合率を算定した。

本法は従来の方法に比してより正確に生体内における血清蛋白と薬剤との結合率を測定し得るものと考え、実験装作のうで更に改良を加えて検討する予定である。

〔質問〕 川 俣 順 一 (阪大)

経口投与と静注投与との差をどう考えているか。

〔答え〕 青 柳 昭 雄 (慶大五味内科)

投与方法による結合率の差という考えではなく、血中濃度の高い場合には低い場合にくらべて結合率が低率であるということである。

例えば PAS が静脈内投与の際に経口投与の際に比し臨床的に効果を示すことは、静脈内投与の際に血中濃度が極めて高く、血清蛋白との結合率も低率であることによると考えておる。

(3) 細菌の組織内動態よりみた抗生剤の治療効果 続報

上 田 泰・田 所 博 之

山 県 正 夫・嶋 田 甚 五 郎

慈恵医大上田内科

抗生剤の感染症に対する治療効果を判定するには致死

率、臓器内細菌数の推移、或は感受性試験など種々検討されているがわれわれは以下の諸実験より 2, 3 の知見を得たので報告する。実験方法: PC-G 耐性 CER 感受性病原性ブ菌を Wister 系ラットを用い、直穿法により実験的肺感染症を作製し、PC-G 5,000 単位/2×7 日の群、CER 5 mg/2×7 日の群および末治療群の 3 群とし以後経時的に組織変化を H-E 染色, Masson 染色, 組織内細菌の動態をグラム染色, 蛍光抗体法(間接法), 対比蛍光処理法ならびに臓器内細菌数を定量培養法により観察した。結果: 抗生剤治療により組織改善は control 群より早期に始るが、PC-G と CER との間ではやや CER 治療群の方が遅れた。また感染後 15 日では全群に再燃がみられた。次に抗生剤治療と組織内細菌の動態を見るとある程度治療群と末治療群、および抗生剤に対する感受性の有無との間に有意の差が出る。しかし全群に感染後 15 日で再燃を見た。また治療による組織内細菌数の減少率は定量培養法では高いが諸種染色法による鏡検ではそれほど高くない。以上の諸実験からでは適確な抗生剤の治療効果は判定できない。また鏡検でみられた菌が端的に言えば生きてるか死んでいるかも判然としなない。抗生剤の作用機序から考えると PC, CER は菌の細胞壁の合成を阻止する薬剤であり、Protoplast を形成させる。従つて Protoplast の直接証明はこの種の抗生剤の効果判定には意義があると考え以下の実験をおこなつた。一般のブ菌は Acridine-orange で染色すると赤い蛍光を発し、細胞壁のない Protoplast は緑の蛍光を発する。一定時間最低発育阻止濃度以上に PC-G, CER を混入した中で培養したブ菌を Acridine-orange で生体染色すると赤い蛍光を発するブ菌と緑の蛍光を発する Protoplast の 2 種が混在する。しかも CER を作用させた群の方が Protoplast の出現率が高い。次にこれら抗生剤を作用させた群をグラム染色してみると Acridine-orange 染色での Protoplast の出現率に一致してグラム陰性菌が出現する。すなわちグラム陽性菌は Acridine-orange 染色で赤い蛍光を、Protoplast はグラム染色で陰性に、Acridine-orange で緑の蛍光を発する。この Acridine-orange 染色法を組織内細菌の観察に適用すると末治療では赤い蛍光を発する菌を認め、CER で治療したものでは緑の蛍光を発する Protoplast を認める。

結 語

グラム陽性菌感染症に対するこの種の薬剤の治療効果を判定する場合 Protoplast を証明することは有意義であると考えらる。

(4) 感作血球凝集(溶血)反応を抑制する物質

—特に抗生物質の影響について

藤田 浩・向島 達・中山 昇
国立がんセンター病院臨床検査部

細菌抗原は血球に吸着させる前に、ある種の物質と先に混合させると、血球への感作力を失う。この血球感作抑制物質に関して、*E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Myc. tuberculosis*, *Coryne. liquefaciens*, *Lacto. casei*, *St. aureus* より抽出した多糖体性の抗原を用い検討した。

1) 各種動物からの正常血清を血球へ感作する前の抗原と接触させると、その抗原は血球感作能を消失する。この抑制作用は血清の種類により、多少の強弱があり、たとえばモルモット血清は比較的抑制能が弱い。

2) 脂質ではコレステリン、レンチン等に抑制作用が認められるが、その抑制力は弱く、長時間の接触あるいは加熱下の接触を要する。卵白に抑制能はないが、卵黄に認められた。

3) 塩基性蛋白のプロタミン、ヒストンは、大腸菌、緑膿菌、乳酸菌、ブドウ球菌抗原に対し抑制作用を示したが、結核菌とコリネバクテリウム抗原の抑制を示さなかつた。

4) 抗生物質の中で、PL-B, CL, NMなどは、大腸菌と緑膿菌抗原の血球感作を抑制したが、その他の抗原に対しては、抑制が弱いか或は全く抑制しなかつた。KM, SMも大量接触させると同様の効果があつた。TC, EM, LM, SP, OM, PC, CMは何れの抗原をも抑制しなかつた。

5) 細菌多糖体抗原はお互いに抑制効果が無い。したがって同一赤血球に多数の抗原を同時に或いは連続的に感作することができた。

次に抑制の作用機作について述べる。

A) 抑制物質の凝集反応の抑制に要する量と、溶血の抑制に要する量を、定量的にしらべた。

その結果、正常血清でも抗生物質でも、凝集反応はこれらの少量で抑制され陰性となるが、溶血反応の抑制には、はるかに大量の抑制物質が必要であつた。

B) 抑制物質は抗原と結合し、その血球感作能を消失せしめるが、抗原と抗血清との間の免疫反応の中の、沈降反応及び抗体中和能は消失せしめなかつた。即ち抑制物質は抗原の血球への付着活性のみを抑制し、抗原と抗体との結合は障碍しない。

C) 血球感作抑制の作用点についての実験的検討から、抑制物質は血球や抗体に作用しないで、抗原とのみ

作用し、「抗原-抑制物質結合物」を作るため、血球への結合力を失うことが判明した。

D) 抗原-抑制物質結合物は抗体との反応性を失っていないため、各種の物理、化学的操作を加え、抑制物質のみを変性させることにより、抗原の血球感作力の復活が期待され得る。抗原-正常血清結合物では、100°C 60分或は N/4 NaOH を加え 56°C 30分加熱しても感作力の復活はみられなかつたが、トリプシンで血清蛋白を消化させると、再び抗原の血球感作能があらわれた。

(5) 持続性サルファ剤の体温降下作用

石田竹二・入交敏勝・輪島健治
東京医科歯科大学医学部皮膚科学教室

サルファ剤の体温降下作用については、少数の臨床報告例以外、基礎的研究の報告はみあたらなかつた。演者等は、これは生体に対する代謝機能に影響を与えるものでありと考へ、この点から次の実験を行なつてその作用機序の解明を求めた。

実験：1. 家兎の皮下にサルファ剤、Sulfisomezole, Sulfadimethoxine, Sulfamonomethoxine を 0.5 g~1.0 g/kg を与えて、体温の推移を観察した。

2. 組織ならびに細胞に対するサルファ剤の作用の検討。これについては、家兎の肝、心筋、皮膚組織を本法によりホモジネートし、これにサルファ剤を加えて組織呼吸をワールブルグ検圧法を用いて酸素消費量を測定した。更に、家兎、肝、心筋よりミトコンドリアを本法により分離し、このものについても、ワールブルグ検圧法により、サルファ剤を加えて、その酸素消費量を測定した。

3. 体温降下作用に拮抗する方法の検討。このことについては Dinitrophenol を家兎に 10 mg~30 mg/kg 皮下に与え、30分後にサルファ剤 1 g/kg を皮下に併せて投与し、体温の推移を測定した。更に Cytochrome C 15 mg~20 mg を家兎に 15分~20分毎に静脈内に投与しつつ、サルファ剤 1 g/kg を皮下に投与して体温の推移を測定した。

4. サルファ剤の種類による体温降下作用の比較。これは、各々のサルファ剤の 0.3 N 水溶液を、家兎に 10 cc/kg の割合に皮下に与えて、体温の推移を測定した。

実験成績：実験 1 については、実験に用いた家兎は、サルファ剤投与後 2 時間から 5 時間の間 1°C~2°C の体温降下を示し、その後快復を示し、24 時間後には全く平常の体温を示した。

実験 2 の成績は、組織ホモジネード、分離したミトコンドリアについて、測定値に多少の差異はあつたが、総

括的に酸素消費抑制の傾向を示したと判断した。

実験 3: サルファ剤投与実験家兎の体温線グラフは、どんぶり型を示すが、サルファ剤と Dinitrophenol を併せ投与したものは血型体温線を示し、Cytochrome C を併せ投与したものは殆んど平常体温と差異がなかった。何れもサルファ剤体温降下作用に拮抗したことを示した。

実験 4: 0.3N のサルファ剤を家兎に投与したものは、体温降下作用の強い方から、Sulfadimethoxine, Sulfamonomethoxine, Sulfisomezole の順を示した。

結 論

上に示した実験成績より、持続性サルファ剤は顕著な家兎体温降下作用を示し、生体の代謝機能に相当の影響を与えるものとする。

家兎体温降下作用は、強い方から Sulfadimethoxine, Sulfamonomethoxine, Sulfisomezole である。

体温降下の作用機序については更に検討を続ける。

(6) ヒト血清殺菌力の基礎的研究

西浦常雄・田原達雄

水谷栄之・河田幸道

東大分院泌尿科

吾々の行なつた血清殺菌力測定法は、ブイオンに一定濃度に血清と標準菌液を加えて、一定時間培養し、培養前後の生菌数を算え、生存率をもつて血清殺菌力を表示しようとするものである。

したがつて、数値が低いものほど高い殺菌力をもつ血清ということになる。

標準菌株として、大腸菌 NIHJ を用いた。

血清濃度、及び培養時間をきめるために、次のごとき予備実験を行なつた。

まず、培養時間を 90 分と一定にして、血清濃度を調べて見ると、血清濃度 50% と 20% では、殆んどが生存率 0 となる。5% では、6 例中 4 例が 0 となり、2% では、3 から 65% とかなりの個人差があるが平均 22.4%、血清濃度 1% では平均 123.3% と菌数が増える。

一方血清のかわりに生理的食塩水を加えた対照は、平均 238.5% の菌数増加を示した。

吾々は、生存率が 0 とならない最低濃度をもつて、殺菌力の測定を行なおうと考え、血清濃度を 5% とし、培養時間を短縮することにした。

培養時間を定めるため、2 例について、培養後 30 分、60 分、90 分の生存率を測定すると、漸次菌数の減少が見られる。

以上予備実験の結果、吾々は、血清濃度 5%、培養時

間 60 分とするのが適当と考え、以後この方法にしたがうことにした。

尚、試みに、培養時間 60 分で、血清濃度を 20% にして見ると、全例生存率 0 となつた。

実際の実験手順は、血清、及び標準菌液各々 0.1cc をブイオン 1.8cc に加え、全量が 2cc となるようにした。

この方法で 22 例の健康成人血清の殺菌力を測定すると、生存率は、0 から 11.8% で、13 例 59% は生存率 1% 以下、20 例 91% が生存率 10% 以下となる。この結果から吾々は 5% 60 分法での正常血清殺菌力は 10 ないしそれ以下と定めた。

22 例中 7 例について再現性を見たが、正常範囲をこえるものはない。

血清非働化と血清の低温保存の影響を調べたところ、共にかんりの殺菌力低下が認められる。

12 例の急性膀胱炎患者の血清殺菌力は、平均 5.1 で、1 例に 36.7 と低下が認められる外は、いずれも正常範囲内にあつた。

球菌は、血清殺菌力に抵抗すると言われているが、標準菌液の代りに、ブドウ球菌 226 株の菌液を用いて正常血清の殺菌力を見ると、4 例の平均生存率は 95% で、かなりの抵抗を示すことが明らかとなつた。

尿路に病原性ありと考えられる大腸菌 3 株に対する正常血清の殺菌力を調べると、対照にくらべて、多少の増菌抑制は認められるようであるが、3 例の平均生存率は 189.3%、118.3%、151.3% と著明な抵抗を示した。

3 株の尿路から分離した緑膿菌は、いずれも血清殺菌力に抵抗し、生存率の平均は、111.2%、92%、133.3% である。

2 株の変形菌では、*Mirabilis* では、生存率平均 281.3% で、対照の 187.3% 以上となつた。

Vulgaris の平均生存率は 112.2% であつた。

総 括

以上、吾々は、血清殺菌力の測定方法と、表示方法に対する私案を述べ、この方法での正常血清殺菌力は 10 以下と考えられること、急性膀胱炎患者の血清殺菌力は殆んどが正常範囲内にあること、及び、黄色ブドウ球菌、尿路感染症患者から分離した大腸菌、緑膿菌、変形菌などが正常血清殺菌力に抵抗を示すことを述べた。

〔質問〕 桑原章吾(東邦大微生物)

1) *E. coli* NIHJ を test organism にえらんだ根拠は。

2) NIHJ 株はきわめて sensitive な菌と思われ、血清殺菌力の微妙な変動を知るには好適であるが、尿路疾患の分離菌が resistant というには、他の origin から

の菌の態度の比較がないのではないか。できれば NIHJ 株のほか比較的 resistant な test strain をえらんで、併行して試験を行なうことが望ましいのではないかと思う。

〔答え〕 田原達雄（東大分院）

1) 色々な薬剤に対する MIC が低いこと、素性の知れた桿菌であることなどによった。

2) 尿路から出た大腸菌、その他多くの細菌について現在測定例をふやしつつある。

(7) 各種人血清の嫌気性、コリネバクテリウムに対する抗体の分布について

向島 達・藤田 浩
長沼恵子・青木光子

国立がんセンター病院

我々は、癌化学療法に骨髓移植を行なっている。骨髓の無菌試験の目的で、Thioglycollate 培地 BHI, Brucella agar 平板培地で、培養を行なつて来た。その間、我々は、4~5 日で発育して来る、嫌気性、無芽胞性、G(+) 桿菌を、頻回に分離する事に気付き、その同定と実験を試み、又人血清の本菌に対する抗体の分布について検討し、2, 3 の知見を得たので、報告する。

培養は、Thioglycollate 培地、BHI 培地、Brucella agar 平板培地を使用し、嫌気性条件は、Steel wool 法に従つた。その結果、Thioglycollate 培地では 4~5 日白色顆粒状のコロニーが認められた。好気性条件下の Brucella agar, BHI 培地には、コロニーは生じなかつた。本菌は、生化学的性状、血清学的性状から PREVOT 等の云う *Corynebacterium liquefaciens* と同定した。本菌の骨髓からの分離成績は、Donor で 39 例中 30 例陽性であり、Patient では、51 例中 9 例に陽性であった。生菌数は測定した 13 例の結果では、1,000~2,000/ml の範囲にあつた。しかし、本菌は皮膚常在菌でもあり、これとの関連を調べる目的で、2, 3 の実験を行なつた。皮膚と骨髓血との間では骨髓血 4 例中 3 例に *Cory. liquefaciens* を証明したのに反し、皮膚は *Micrococcus* を証明し、その 1 例に *Cory. liquefaciens* を証明したにすぎなかつた。手術的摘出した骨からは、3 例中 1 例に証明した。動物接種では、6 例中 2 例に骨髓より証明した。以上の事から、本菌が骨髓に存在すると考える。本菌が Donor の骨髓に存在する事は、はなはだ興味深い事である。そこで我々は、本菌が、如何なる疾患に関係するかを検討するために、血清中の抗体価を測定してみた。Follow up 出来た 436 例についてみると、一般に

癌患者が非癌患者より高く 8× 以上では、癌患者の方が多くなっている。64× 以上の高凝集価を示すものは骨肉腫、直腸癌、白血病とその類縁疾患、胃癌に頻度が高く、これらの平均凝集価を調べると、直腸癌、乳癌、白血病の順序となり、いずれも、健康人よりも高かつた。しかし、本菌に対する抗体は、非癌、健康人にも存在し、64× 以上を示す例もあるからして、本菌の感染が、健康、非癌、癌患者にわたつて存在するものであると考える。又癌患者においては、その感染の頻度が著しく多いのではないかと考える。

第 2 群

(8) 生物学的抗生物質微量測定法の検討 第 2 報

柴田清人・伊藤忠夫
名古屋市立大学第一外科
(主任：柴田清人教授)

第 13 回日本化学療法学会中日本支部総会に於いて抗生物質微量定量法(藤井-紺野氏法)を基礎にした主として培地の組成(特に低濃度の寒天使用)の変化にもとずく我々の測定法に就いて既に検討を加え報告した。今回は従来の藤井-紺野氏法並びに鳥居-川上氏重層法との間に臨床データの比較検討を行なうと共に更に他の試験菌及び基礎培地の組成に就いて基礎的検討を加え 2, 3 の知見を得たので報告する。我々の測定法の基礎培地の組成は特に寒天濃度として藤井氏法の 1.5% にくらべて 0.5% のものを使用し標準菌は COOK 株で 5% 血清加 Brain-Heart Infusion Bouillon にこれを 24 時間培養したもの 10~20 倍稀釈液、培地 10 ml に対し 0.2 ml を加えている。この測定の特徴は低濃度寒天なるが故に操作手技の簡便、拡散透過性が大きて試験菌の発育も良好となり培地に付加する菌量が少なくてすみ、阻止帯が延長し判定し易い等が挙げられる。この方法を Thiophenicol (以下、TP と略) 標準曲線に於いて重層法、藤井氏法と比較してみるとこれ等の測定法の何れの阻止帯よりも延長をみ、臨床データにて TP 250 mg 内服時血中濃度に就いての比較では重層法に比してやや低値を示す。検定菌及び基礎培地の組成の変化に基づく測定法を検討すると、ポリペプトン寒天培地を基礎培地とし検定菌を黄色ブドウ菌 209 P, 指示薬メチレン青、付加物質硫酸ソーダを用いた場合寒天の %、菌量及び付加血清の変化に依る阻止帯の態度をみると、藤井氏法の 1% 寒天濃度で菌液の原液を使用する場合では阻止帯はやや不明瞭で control でもメチレン青が脱色されない。この場合血清を少量加え寒天濃度を下げるとほぼ測定可能となつた。

基礎培地を普通寒天とし検定菌を黄色ブ菌 209 P とした場合も同様の結果が得られた。Heart-Infusion 寒天培地では黄色ブ菌 209 P は概ね発育が良く 1.5% 寒天で血清を加えなくても大体測定可能であり、0.5% 寒天で血清を少量加えた場合では鮮明な阻止帯が見られる。検定菌（大腸菌）基礎培地普通寒天では 1.5% 寒天で血清を加えないと阻止帯は不明瞭で付加の時は充分測定可能となる 0.5% 寒天では血清を加えなくても比較的明瞭な阻止帯がみられる。以上の実験成績からほぼ測定可能な基礎培地の組成による測定法と重層法とを TP 標準曲線に於いて対比すると、後者にくらべてやや低濃度まで測定可能であり、高濃度になるに従い逆に阻止帯は短縮する。Chloramphenicol 標準曲線でも大体同じ結果が得られ、最低 1.6 mcg/ml 迄測定可能であった。臨床例に就いても我々の測定法（検定菌・溶連菌）の測定値と殆んど一致せる成績を得た。以上、検定菌として溶連菌を使用した我々の測定法では大体重層法、藤井氏法を臨床的に一致せる満足すべき測定結果が得られた。メチレン青を指示薬とする測定法で検定菌として大腸菌 (*E. coli*, *Communior*, NIHJ) 黄色ブ菌 209 P を使用した場合でも培地に血清付加或いは低濃度寒天にすればほぼ測定可能であるが、溶連菌の場合にくらべやや阻止帯が短く判定に困難な場合がある。それ故に更に低濃度測定を求めらば培地の組成改善及び検定菌選択におお考慮する必要がある。

(9) 抗生物質生物学的定量法(重層法)の基礎培地と試験菌の検討に関する研究(続報)

新井 蔵 吉

昭和大学病院中央研究検査所細菌部

抗生物質化学療法剤の生物学的定量法には薬剤に適した試験菌の選択が重要であるが薬剤に依つては適当な試験菌の無いものも多い。今回は *Chromobacterium prodigiosum* (霊菌) を試験菌とし検討を行なつた報告をする。霊菌は栄養要求が低いので簡単な合成培地に良く発育し蛋白質等の栄養素は必要とせず、メチレン青の還元力が葡萄球菌より強い等の利点がある。本実験に使用の菌株は東京医科歯科大学医学部微生物学教室分与の 25 株、本学分離の 20 株、合計 45 株中より性状の安定したものを試験菌とした。

1) 基礎培地 酵母エキス 10 g, 食塩 5 g, 寒天 10 g (Difco), 蒸留水 1,000 ml, pH 6.5~6.6, この培地 100 ml に 1% NaNO₃ 2 ml, 0.1% メチレン青 5 ml, 霊菌培養液 10 倍 0.5 ml を加え、前回同様測定用試験管に

分注する。

2) 測定方法 測定培養基に薬剤及び検体の重層……10°C 冷蔵庫 10 時間程度の拡散……37°C 6 時間~7 時間培養……10°C 冷蔵庫 1 夜放置後阻止帯を測定、この測定法に依り Nalidixic acid (以下、NA と略す) は 0.39 mcg/ml まで測定でき Sulfisomezole (以下、SIM と略す) も同濃度まで測定できる。測定方法に示す 10°C の冷蔵庫に 1 夜放置することは試験菌を静に、薬剤を動に活用する目的であり、SIM 測定の場合は冷蔵庫放置の時間を長く行なつた方がはつきり阻止帯が見られる。

3) NA 血中及び尿中濃度の測定、成人 5 例朝食後 2 g 経口投与 1, 3, 6, 24 時間の血中濃度の平均値は 1 時間 6 mcg/ml, 3 時間 9.5 mcg/ml, 6 時間 3.8 mcg/ml, 24 時間 0.8 mcg/ml を示し、尿中回収率平均値は 1 時間 0.33%, 3 時間 1.5%, 6 時間 3.8%, 24 時間 0.18% であり、mcg/ml に換算すると血中の 10 倍~50 倍であった。

4) SIM 血中及び尿中濃度の測定、NA と同様 5 例 2 g 経口投与 1, 3, 6, 24 時間血中濃度の平均値は 1 時間 7.6 mcg/ml, 3 時間 11.2 mcg/ml, 6 時間 13.5 mcg/ml, 24 時間 3 mcg/ml で本剤の尿中の回収率は 1 時間 1.5%, 3 時間 2.8%, 6 時間 2.6%, 24 時間 0.4% である。mcg/ml に換算すると血中の約 20 倍であり、NA に比較すると 12 時間程度まで SIM は一定の濃度に排泄される点が異なっている。

結 論

NA の生物学的測定に関しては *Pasteurella* 属を試験菌として清水・生亀等の研究、又金沢の薄層平板法等多くの報告はあるが、発育温度域の広い霊菌を使用、静菌的に作用する薬剤の測定に試験菌を静にし、薬剤を動に活用する重層定量法は複雑な操作ではなく Sulfa 剤の如く蛋白質等に結合の多いとされている薬剤の活性濃度の測定に実際に利用出来ることを実験した。又 Chloramphenicol 等の測定も可能であり、基礎培地として DEWEY & POE, QUASTEL 等の霊菌の性状を研究した合成培地の応用方法も今後検討したい。

(10) 抗生剤の体液内濃度測定に関する研究

(重層法と採血用紙法との比較)

三方一沢・長谷川弥人・本間光夫
富岡 一・吉村幸高・鳥飼勝隆
山田淑几

慶大内科

我々は第 14 回日本伝染病学会東日本地方会以来数回

にわたつて採血用濾紙1型（濾紙頭部のみを培地上に接置）を用いた体液内濃度測定法として、被検材料が微量でしかも耳朶採血によつても可能な濾紙薄層平板法を報告して来た。その術式の詳細はすでにのべたが、培地量、培地のpH、種類、菌量のみならず、PCI-219芽胞を用いる場合には37°C 120分加温後、更に4°C 20時間放置後に著しい菌量の減少をみることから、培地の乾燥時間は15分以内に止めるべきと思われた。なお本法ではカップ法で指摘されているpHの影響は5~8の生理的範囲内では認められていない。そこでまず以上方法によりPC-G、DMCTの基準曲線をpH7.0のPBS稀釈液により作製検討してみた。その結果、PC-Gでは0.01 unit/mlより、DMCTでは0.1 mcg/mlより測定可能であり、両薬剤とも毎常の各検体間に差違なく再現性のある成績を示した。しかも薬剤の含有濃度に伴う阻止径の増大は重層法にくらべて一層著明であり、判定に際し本法が測定誤差を僅少に止めうることを示唆する成績を得た。しかし本法より体液内濃度を算定する上に種々の被検材料における濾紙頭部含有量が問題となるとの考慮から、諸材料についてアイソトープを用いた法(C¹⁴でラベルしたCPを使用)、重量法、光電比色法を用いて濾紙頭部含有量を検討してみた。その結果、PBSでは0.054 ml、人血清では0.065 ml、正常尿300 mg/dlの蛋白尿では0.053 ml、黄疸指数108のA胆汁では0.057 ml、黄疸指数210のB胆汁では0.064 mlが濾紙頭部に含有されることを数回の検討により明らかにできた。又重層法で測定した全血での濾紙頭部含有量は約0.1 mlであつた。これらの成績は本法においては体液内濃度測定上各検体による換算係数の必要なことを示唆している。しかしヘマトクリットを考慮する時、全血を用いた時の濾紙頭部内の血清量は約0.06 mlであり、血清単独時の濾紙頭部含有量と大凡一致することを知つた。なおC¹⁴ラベルのCP 0.01 μ Cを含むPBS稀釈液を用いて濾紙内の検体含有分布を観察したところ、上端1/3には21.3%、中部1/3には19.8%、下端1/3には16.8%が含有されることを知り、たとえ接置濾紙量による換算を行なつたとしても、濾紙の一部を切断使用することは適当でないと思われた。さらに上記考察を行なつた上で、重層法、濾紙法の比較、並びに濾紙法での血清、全血の実測値について検討してみたところ、血清を被検材料とした場合濾紙法での成績は重層法とほぼ一致する成績をえた。又全血での成績も濾紙法で若干高値を示したとはいえ大凡一致し、濾紙法の有用性を確かめる成績を得た。さらに濾紙法での血中濃度の推移を重層法と比較検討したところ、TC単独群に加えて線維素溶解酵素、Nat. Bica、牛乳各併用群ともその推移は重層法と濾紙法

とで差違なく、牛乳併用による血中濃度の低下も両測定法で共に確認出来た。従つて検体含有量を一定化し難い従来の濾紙法を改善した本法が重層法に比肩しうる体液内濃度測定法であることを確かめ、ここに報告した。

〔追加〕 佐藤史朗・比江島睦典（名市大1外）

我々も各種抗生物質の体液内濃度に関して検討しているが、抄録に記載されている如く、バリダーゼを併用しても抗生物質の血中濃度はほとんど変化は認められない。

例えば、脳脊髄液中へは高濃度にPC-Gが移行しているが、血中濃度には臨床例、実験例共に有意の差を認めていない。要するに蛋白分解酵素によって抗生物質の血中濃度の亢進を期待することは無理で、膿汁中その他体液液中への抗生物質の滲透性は充分に期待出来ると思われる。

(11) サルファ剤血中濃度の生物学的定量法

長崎泉吉・関口洋子・大島康夫
第一製薬株式会社中央研究所

目的 優れた新規サルファ剤(S剤)を得るための検索には、試験管内における諸種の抗菌態度、急性毒性、血中濃度などを感染治療実験前に検討することが必要であり、特に血中濃度の検討は、感染治療効果との関係において重要であり、しかもその定量は生物学的活性濃度を示す方法によることが、より实际的であろう。S剤血中濃度の生物学的定量法は、一応確立されているが、スクリーニングで取扱うS剤では、一般に使用している*E. coli*: K-12や*Sta. aureus*では、定量出来ないものがあるので、感受性の高い*Sal. typhosa*: H 901を用いる薄層カップ法による生物学的定量法についても検討した。

成績 その結果、*Sal. typhosa*による定量は、glucose-SIMMONS培地にグルタミン酸ソーダ(1 g/dl)、L-シスチン(30 mg/dl)を添加した培地に、OD₆₁₀=0.1の菌液を培地に対して0.05%接種し、薄層カップ法で37°C 18時間培養で行なえることがあきらかになった。そこで市販のS剤を含む8種類のS剤を用い*in vitro*で、ラット血漿中の最少定量可能濃度を、*E. coli*: K-12、*Sal. typhosa*: H 901について検討した結果、*Sal. typhosa*は*E. coli*より低濃度まで定量出来る傾向を示した。ついでラットに各S剤を250 mg/kg 1回経口投与した後、血中濃度の時間的推移を化学的ならびに生物学的定量法で検討した。化学的定量は遊離型をBRATTON-MARSHALL変法で定量したが、すべてのS剤について定量す

ることができた。しかし *E. coli* と *Sal. typhosa* を用いる生物学的定量では、前記化学的定量値より、(i) 両菌株によつて定量可能な Sulfamonomethoxine, Sulfadimethoxine, 4-Sulfanilamide-5, 6-dimethoxypyrimidine (Compound 1), (ii) *Sal. typhosa* で定量可能な 4-Sulfanilamido-2-methyl-6-chloropyrimidine (Compound 6), (iii) 両定量菌によつても定量できないと推定される S 剤の 3 群に分けられた。

In vitro における S 剤のラット血漿中最少定量可能濃度よりみると、*Sal. typhosa* の値は *E. coli* よりすぐれており、生物学的定量には *E. coli* より適しているようであるが、第 2, 3 群に属する 5 種類の S 剤中、*Sal. typhosa* で実測できたものは、1 種類 (Compound 6) にとどまった。しかし化学的定量法である程度の、血中濃度をゆうしておきながら、生物学的には定量できないと推定された、第 3 群に属するような S 剤の、生物学的定量法については今後定量菌株、定量条件などについて検討することが必要である。なお超持続性 S 剤として知られている Compound 1 の血中濃度は、化学的定量法で 5 日、*E. coli* による定量法で 1 日後まで持続し、しかも両定量法による測定値の一致性がみられた。

第 3 群

(12) 抗生物質の生体内代謝 (第 2 報)

— 諸種抗生物質の肝への影響 —

吉利 和・清水喜八郎・島田 馨
奥村有史・畠山正巳・山中正巳
山下亀次郎

東大吉利内科
志方俊夫
東大病理

最近ある種の薬剤とビリルビンの肝における競合が注目されている。BILLING らは RM が Bilirubin と強い競合作用のあることを報告している。今回は諸種抗生物質でかかる作用があるか、否かを検討し、ついで 2, 3 の抗生物質について形態学的な面から検討したので報告する。

各種抗生物質を臨床使用例の約 10~20 倍をラッテに BSP とともに静注、BSP の血中濃度を測定してみると、BSP 値は RM, NB では、注射時著明な停滞をしめし、PC, EM, OM は、停滞は中等度、CP, CL, CER は殆んど血中停滞を認めなかつた。

これら抗生物質の胆汁内濃度と BSP 停滞との間に関係があるかに思われる。

BSP は肝細胞に摂取、主にグルタチオン抱合され、転

送、排泄されるが、ビリルビンが主にグルクロン抱合をうける点以外機序は同じである。そこで、BSP 血中停滞の強い NB と停滞作用の弱い PC、殆どない CER をえらんで、Free のビリルビンを負荷して同様の実験をおこなつた。

血清ビリルビン値は、NB 静注群では 8.0 mg/dl と対照に比し遙かに高く、CER, PC では殆んど差がない。肝内ビリルビンも NB 高く、PC, CER は低く、胆汁内ビリルビンはその逆になる。

NB でつよい胆汁ウツ滞がみられる。

この問題については、次の演題で報告する。

EM-propionate, Triacetyl-OM は水に難溶性のため、TC, SM, KM は 50~100 mg/kg 静注で死亡する場合が多く、これら薬剤 200 mg/kg 筋注では対照と有意の差が認められなかつた。

以上、抗生物質投与により、BSP、ビリルビンの貯溜をおこす薬剤が認められ、これらの抗生物質と EM-propionate, Triacetyl-OM について、形態学的変化をしらべてみた。

Triacetyl-OM, EM-propionate については、2% アルコール溶液とし、200 mg/kg ラットに 1 週間筋注、OM, CER を同様、対照としてアルコール溶液 2 cc を 1 週間筋注したラット肝について検討した。Triacetyl-OM, OM, CER, EM-propionate, アルコール注射群の肝は、いずれも光学顕微鏡で異常所見なく、電顕像でもアルコール, OM, CER 注射ラットの肝では、異常を認めない。Triacetyl-OM 注射ラットでは、細胞境界の Disse 腔化、Bile canaliculi がわからなくなる。

このような変化の際に胆汁が Bile canaliculi から Disse 腔化したところに流れこむか、あるいは、肝細胞より胆汁が直接 Disse 腔化したところに排泄され、リンパ系に入る可能性が考えられる。

Disse 腔化していない部分でも、ところにより、Bile canaliculi の拡大と増生、Golgi の増生がみられた。

この際の Al-ptase 活性を組織化学的に検討すると、OM では正常肝と同じく、肝小葉周辺の Bile canaliculi に弱い活性を認めるにすぎないが、Triacetyl-OM では小葉周辺の活性は上昇する。Triacetyl-OM を 50 mg/kg 3 週筋注ラットでは正常と変わらないが、電顕像では、細胞間隙に軽い Disse 腔化の傾向があつた。EM-propionate でも Triacetyl-OM と同様の変化が認められた。

以上の所見より、Triacetyl-OM, Erythromycin-propionate 投与時 Bile canaliculi への胆汁の排泄障害が考えられる。