

第 15 回日本化学療法学会総会 一般講演 I

期 日 昭和 42 年 6 月 1~3 日

会 場 名古屋 文化講堂, 県美術館, 中区役所

会 長 柴田清人 (名古屋市大教授)

主題 A-1 化学療法の基礎的研究

第 1 群

(1) 2-[2-(5-Nitro-2-furyl)vinyl]-6-pyridinemethanol N-oxide "P-7323" の抗菌効果

高瀬善行・清水当尚

大日本製薬中央研究所

(5-Nitro-2-furyl)vinyl heterocyclic type の化合物はその含窒素異項環の窒素を oxide 化することにより *in vivo* における治療効果が増すことを認めたことはすでに報告した。

今回はこれら N-oxide type のニトロフラン誘導体の中から強い抗菌効果を示すものとして P-7323 を選択し抗菌化学療法的検討を行なった。その結果は次のごとくであった。

1) *In vitro* の抗菌効果は *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* 等 22 種類の供試菌株の大半に対して 1~0.01 mcg/ml の低濃度で抑制効果を示し, 広い抗菌スペクトルを有することを認めた。しかし真菌類に対する作用は弱いものであったが, 陰トリコモナス原虫に対しては 0.3 mcg/ml の MIC を示した。

2) P-7323 は Chloramphenicol, Tetracycline および Streptomycin に高度耐性の赤痢菌類に対しても, 0.1~0.8 mcg/ml の MIC を示した。

培地に牛血清を 40%, 牛胆汁末を 5% に添加した際にも P-7323 の抗菌力に著変を認めなかつた。

3) *Staphylococcus aureus* 並びに *Salmonella typhimurium* による実験的マウス感染症に対して, IP, PO 何れの投薬法でも Chloramphenicol および Tetracycline に劣らない有効性を示した。とりわけ *Salmonella typhimurium* 感染実験において, P-7323 の ED₅₀ は経口投与時 8.8 mg/kg, 腹腔内投与時 1.6 mg/kg と少量投与で有効性を示し, Chloramphenicol 並びに Tetracycline よりも優れた治療効果がみられた。

4) *Bacillus subtilis* を用いた Cup-plate 法により, P-7323 の 100 mg/kg を経口投与後の血中濃度, 胆汁中濃度, および尿中濃度について検討した結果, 血中には, マウス, ラットおよび家兎の何れにおいても投薬後 1 時

間をピークとして約 6 時間後に至るまで活性が存在することを検出した。なおラットにおけるピーク時の血中濃度は 4.0 mcg/ml であった。

胆汁中には, 投薬後 2 時間をピークとして (59.1 mcg/ml), 24 時間後もかなり高い濃度 (30 mcg/ml) を維持することを認めた。24 時間までの Total recovery は投与量の 1.81% であった。

尿中濃度についてはラットおよび家兎について検討したところ, ラットにおけるピークタイムは投薬後 6~10 時間であったが, 家兎では 2 時間をピークとして (82 mcg/ml), 総排出量の約半量を排出し, 尿中への移行は比較的速やかであった。

5) マウス, 家兎および犬を用いて毒性面の検討を行なったが, Furacin にくらべ毒性は弱かつた。

(2) 7-Acetyl cephalosporanic acid 誘導体 (7-ACA) の側鎖構造と細菌による分解

西田 実・松原忠雄・奥井正雄

峯 靖弘・横田好子

藤沢薬品中央研究所第 3 部

Cephalosporin の酵素的分解の様式としては amidase, acylesterase, β -lactamase の 3 つが知られ, 特に β -lactamase は Penicillin の Penicillinase に対応する Cephalosporinase として関心を持たれている。演者らは 7 位側鎖構造の異なる種々の Cephalosporin 誘導体の微生物による分解を検討中, 7 位側鎖の構造の差によつて患者分離 *Staph. aureus* および *E. coli* による失活の度合いが異なること, および化合物によつて分解率が逆転することを発見した。こうした事実を解明するため, 以下の実験を行なった。

まず, ¹⁴C-m-Cl-phenylacetamido cephalosporanic acid を患者分離 *E. coli* と incubate し autoradiography の結果, 3 位脱アセチル体, ラクトン体および β -lactam 環開裂によると思われる代謝産物が存在することを確認した。さらにこの化合物と構造的に酷似している m-Br-phenyl-acetoamido-7-ACA (I) と α -phenyl-phenoxacetamido-7-ACA (II) を患者分離 *Staph. aureus* および *E. coli* と incubate し, Iodometry によ

り β -lactam 環の分解率を、Bioassay により全体の不活性化率を検討した。化合物 (I) は *Staph. aureus* によつてはあまり分解されず、*E. coli* では非常によく分解され、この際失活率と β -lactam 環の分解率はかなり並行する。一方、化合物 (II) は *Staph. aureus* でよく分解され、逆に *E. coli* ではあまり分解されず、 β -lactam 環は両方ともほとんど分解を受けないので、この不活性化は β -lactamase 以外の酵素すなわち amidase もしくは acylesterase が主として作用していることを示している。これによつて化合物 (I) と (II) では β -lactamase とそれ以外の酵素 (acylesterase または amidase) に対する親和性が全く異なつてることが判明した。この事実が両化合物の bacteria cell 中への透過性の差によるものかどうかを明確にする目的で SALTON の方法によつて *Staph. aureus* および *E. coli* から cell free extract, 細胞質, 細胞壁などを分画し、これら各分画による両化合物の不活性化率を比較検討した。化合物 (I) は *Staph. aureus* ではあまり分解されないが *E. coli* の各分画では非常によく分解され、逆に化合物 (II) は *Staph. aureus* の各分画で非常によく分解されるが *E. coli* ではあまり分解されないという bacteria cell suspension の実験と同じ結果が得られたことから両薬剤の cell 内への透過性とは無関係であることが明らかになった。

以上の実験結果から *Staph. aureus* と *E. coli* には 2 種以上の Cephalosporin 不活性化酵素が存在し、その酵素活性が *Staph. aureus* と *E. coli* では異なること、かつ 7 位構造の相違によつて薬剤の各酵素に対する親和性に差異があることが判明した。

(3) Cephalosporinase に関する研究

中沢昭三・小野尚子・金森政人
渡部純子・辻本節子

京都薬科大学微生物学教室
山本郁夫・辻明良
東京大学伝染病研究所

第 13 回日本化学療法学会総会においてすでに報告したごとく、合成 Cephalosporin C 系抗生物質 Cephaloridine (CER), Cephalothin (CET) の中で、特に CET が *in vitro* において速かに耐性を獲得するという知見より、このことと Cephalosporinase 産生能との関係を、主に *E. coli* NIH を用いて検討した。その結果、CET 耐性-*E. coli* NIH は inducer の必要なく原株に比して著しく高い酵素産生能を有し、同時にこの培養液に対する CET, CER, PC-G の態度を検討したが、CER は CET, PC-G に比して安定であつた。また、PC-G 耐性 *E. coli* NIH を同様につくり、その培養液に対する上記 3 剤

の態度を検討したが、CET 耐性菌の場合と同じく CER が最も安定であり、続いて CET, PC-G の順となる。

次に臨床分離 PC-G 耐性ブドウ球菌の培養液に対しては、予想されたごとく PC-G は容易に不活化されるが CET, CER は全く安定である。

そこでこれら基質特異性の異なる *in vitro* での耐性 *E. coli* NIH の産生する酵素と Penicillinase との異同を検討するために精製を試みた。CET 耐性 *E. coli* NIH および臨床分離ブドウ球菌を glucose ブイヨンに培養後、その菌体抽出物を酵素原液とし、続いて塩析すると Cephalosporinase は 0.6~1.0 飽和の分画に、Penicillinase は 0.3~0.6 飽和の分画に活性を有する。

これらの分画をでんぶんを担体とするゾーン電気泳動にかけると 3 剤を分解する Cephalosporinase は原点から一より活性部分は移動し CET を分解する部分と PC-G を分解する活性の peak は一致する。また、このピークは CM-cellulose を用いてのカラムクロマトによつても分離できない。

Penicillinase は原点より + 側に移動し、電気泳動の移動像からも異なつている。

Cephalosporinase の至適 pH は 7.2~8.3 の弱アルカリ性域に Penicillinase は 5.3~6.2 の弱酸性域にある。至適温度は共に 45°C 付近にある。

最後に Cephalosporinase 濃縮液、Penicillinase 濃縮液の PC-G, CEP 系抗生物質の母核である 7-ACA および CEP-C, CET, CER に対する作用態度を検討した。Cephalosporinase は CET, CEP-C, PC-G を容易に不活化するが 7-ACA, CER はそれらに比して安定である。

Penicillinase 濃縮液の場合は PC-G は容易に不活化されるが Cephalosporin 系抗生物質は全く安定である。

(4) スルフォニアミド剤の生体組織におよぼす影響について

石田竹二・入交敏勝
東京医科歯科大学医学部皮膚科学教室
小椋秀亮
同上歯学部薬理学教室

スルフォニアミド剤を治療の目的で患者に投与した場合、生体を通じて細菌にその作用を発揮せしめるものであるが、この際、スルフォニアミド剤を投与された生体の組織細胞も細菌と同様に、スルフォニアミド剤の影響下におかれるはずである。しかし、このようなスルフォニアミド剤の生体組織に対する作用についての詳細な研究はあまりなされていない。われわれは、前回の総会において、家兎にスルフォニアミド剤を投与した場合、正

常体温が、1時間半～8時間にわたって著しく低下することを報告した。今回はスルフォニアミド剤の生体組織におよぼす影響を検査する目的で、生体におよぼす代謝変動を検査するのに好都合である家兎の切歯象牙質を実験対象に選び、醋酸鉛注射による硬組織内時刻描記法を応用して、組織学的検査を行なった。

実験は約3kgの成熟家兎にスルフォニアミド剤を1g/kg皮下注射したが、その24時間前、直前、24時間後および48時間後に醋酸鉛を2mg/kg静脈内に注射し、スルフォニアミド剤皮下注射2週間後に動物を殺して、組織標本を作製した。使用した薬物は sulfisoxazole, sulfisomezole, sulfadimethoxine および sulfamonomethoxine である。

家兎切歯横断象牙質組織像において、各々のスルフォニアミド剤注射後から24時間の間に形成された象牙質には、ヘマトキシリン不染層が出現し、その幅はスルフォニアミド剤投与前24時間に形成された象牙質に較べて狭い。このことはスルフォニアミド剤注射は、発育中の家兎切歯の形成を障害することを示すもので、このような状態は使用したスルフォニアミド剤全部に共通して観察された。

兎の切歯象牙質におけるヘマトキシリン不染層は、一般に石灰化が悪い部分であることが確かめられているので、スルフォニアミド剤の大量投与は成長しつつある骨、歯などの硬組織の石灰化を阻害する作用があることを示唆している。一方、象牙質の形成が抑制されたことは象牙質の有機成分を構成する基質の生産が阻害されたことを意味している。この象牙質基質はおもに象牙芽細胞という間葉性の細胞によつて形成されることが確かめられており、象牙質の形成が抑制されたことは、象牙芽細胞の機能が阻害されたことを意味するものである。

象牙質を実験対象とした理由は、象牙質は広い意味では結合組織の1種であり、象牙質に影響が与えられるということは、基本的には、結合組織全般に共通するものと考えられるからである。しかも象牙質の形成は、骨におけるような吸収がないので、一たび象牙質に起された変化は、長期にわたって、象牙質中に記録・保存されるので、後に容易に組織像に検出することが可能であるからである。われわれのこの実験によつて、スルフォニアミド剤の生体組織に対する影響の一面が象牙質組織像の上にもみられたことを報告した。

(5) 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 (第3報)

新井 蔵 吉

昭和大学病院中央研究検査所細菌部

第14回本学会総会において Sulfisomezol の生物学的重層定量法を発表した。本法の特質とする試験菌霊菌は37°Cにおいて増殖速度を高めるので10～15°Cの増殖遅滞温度にかえる事により測定薬剤の感受度を高め静菌的薬剤の低温重層定量法として考案した測定法であり、この方法により種々の持続性 Sulfa 剤定量の比較検討を行なった。

1) 持続性 Sulfa 剤測定と比較: Sulfisomezole [(SIM)以下各薬剤とも略号とする], Sulfamonomethoxine(SMMX), Sulfadimethoxine(SDM), Sulfamethoxy-pyridazine (SMP), Sulfamethomidine (SMM), 対照—Sulfisoxazole(SIX), この6剤の100mcg/ml生理食塩水2倍稀釈系列をつくり測定した結果、阻止帯を明確に認めるものは(SIM)(SMMX)の2剤でその最低測定濃度は(SIM)0.78～1.56mcg/ml, (SMMX)3.12mcg/mlであつた。その他の薬剤は12.5mcg/ml程度でかつ不安定なばらつきの多い阻止帯であるため活性濃度の基準とするには不可能であつた。しかるに各薬剤とも経口経後の血中および尿中に鮮明な阻止帯を認めたため6剤を成人5例2g経口投与し、1, 3, 6, 24時間に採血し阻止帯の長さをmmで計り比較した。その結果は次のごとし。(SIM)-1時間5.3mm, 3時間8.5mm, 6時間8.0mm, 24時間4.0mm, (SMMX)-1時間4.7mm, 3時間8.0mm, 6時間7.5mm, 24時間5.0mm, (SDM)-1時間4.0mm, 3時間6.0mm, 6時間5.7mm, 24時間3.3mm, (SMP)-1時間6.2mm, 3時間10.0mm, 6時間7.5mm, 24時間6.0mm, (SMM)-1時間4.0mm, 3時間4.8mm, 6時間5.6mm, 24時間3.5mm, (SIX)-1時間3.8mm, 3時間4.5mm, 6時間6.0mm, 24時間3.0mmであり、また尿中濃度は、原尿を生理食塩水10倍の稀釈液として測定したところ各時間とも血中に比較して原尿ml中活性濃度は血中の10倍程度であつた。

2) 生体内および試験管内における Sulfa 剤の特質: 前記のごとく生理食塩水の稀釈系列に阻止帯を確めたSIMも、人血清原液、血清の5倍10倍稀釈を溶媒とした各系列では阻止帯を認めない。すなわち Sulfa 剤内服後の血清に抗菌活性力があり、試験管内血清稀釈に抗菌力を示さない特質を明かにした。

3) 合成培地による定量: QUASTEL等の合成培地も

定量用としては適さず好気的条件下を好む霊菌の嫌気性定量用合成培地を考案し低温測定法には、なおかつ研究を要するため殺菌的に作用する薬剤の測定には適する。培地処方：Lアスパラギン 10g, ブドウ糖 5g, グルタミン酸ソーダ 2g, 寒天(棒状) 10g, 蒸溜水 1L, pH 7.2, この基礎培地 100ml に 3% フマル酸ソーダ 2ml, 0.1% メチレン青 4ml, 霊菌培養液 5倍希釈 1ml を加え, 試験管に分注, 測定方法, 5°C 氷室に 10 時間程度の拡散, 37°C の孵卵器 7~8 時間培養後阻止帯の測定。この法により Kanamycin, Gentamicin は 0.19 mcg/ml, Aminocyclitol は 0.39 mcg/ml の程度まで測定可能であった。

総括

重層定量法に関して、鳥居重層定量法に用いる血液は馬血が最も良く、また考案すれば *Corynebacterium* 属も試験として応用できる霊菌を試験菌とし酵母エキス培地を使用の場合は少量の NaNO_3 が嫌気的発育の促進に効果がありブドウ球菌を試験菌とする川上氏法においても同様である。霊菌使用の合成培地測定の場合はフマル酸塩が嫌気的発育の促進剤となりメチレン青は菌の発育抑制を考慮して加えることにより阻止帯の明確化に役立つ持続性 Sulfa 剤の生物学的定量法により試験管内より生体内における抗菌力の強いことを立証した。

(6) Staphylomycin に関する基礎的研究

中沢昭三・横田芳武
上田至宏・白石喜一郎
京都薬科大学微生物
秋葉朝一郎
中外製薬総合研究所

Staphylomycin (STM) について類似抗生物質である Mikamycin (MKM), Pristinamycin (PRM) と比較検討したので報告する。

1) 教室保存の標準菌株に対する STM, MKM および PRM の抗菌力ならびに抗菌スペクトラムは、3 剤間には全く差は認められなかつた。STM について代表すると、グラム陽性菌群であるブドウ球菌 (MIC, 0.04~3.12 mcg/ml), 連鎖球菌 (0.195~3.12 mcg/ml), 肺炎双球菌 (0.78 mcg/ml) と高い抗菌力を示すが、グラム陰性菌群に対してはリン菌 (0.05 mcg/ml), ゼイ膜炎菌 (0.4 mcg/ml) を例外として全く抗菌力を示さない。

2) 昨年分離された病原ブドウ球菌に対する STM, MKM の感受性分布を 100 株について検討した結果、STM は 89 株, MKM は 76 株まで感受性の範囲 (3.12

mcg/ml 以下) に存在し、残りは 6.25~12.5 mcg/ml の範囲であった。また多剤耐性ブドウ球菌に対して STM は高い感受性を示した。

3) STM, MKM, PRM 3 剤間には弱いながら交叉耐性を示した。

4) STM 1 mg/ml 溶液の安定性を 5°, 室温, 37°C について約 70 日間検討した結果, 5°, 室温では安定であるが 37°C では放置日数の経過につれて力価の減少をみた。

5) 抗菌作用に及ぼす pH, 人血清, 接種菌量の影響は, pH では酸性側に傾くにしたがい抗菌力の増強を認めた。

人血清の添加の量を増すごとに力価の減少が認められた。また接種菌量の影響も認められた。

6) STM の試験管内耐性獲得は遅く 20 世代継代培養で原株の感受性の 2 倍で MKM に比して耐性化の遅い物質と思われる。

7) レンサ球菌およびブドウ球菌実験的感染症に対する効果を検討した。

被検菌をマウス腹腔内感染後 STM, MKM, PRM をそれぞれ 2 時間後に経口投与し, 生存日数を観察した。レンサ球菌を用いた群では 3 剤間に差は認められなかつた。

ブドウ球菌群では 5 mg/mouse 投与では 3 剤とも 80% の生存率で差は認められなかつた。が 2.5 mg/mouse 投与群では STM 50%, MKM, PRM 20% の生存率で STM が MKM, PRM に比して, 良い治療効果を認めた。

以上の事より, *in vitro* では 3 剤間に差はなく, *in vivo* の感染実験で特にブドウ球菌に対してわずかながら STM が MKM, PRM より優れた効果を認めた。

第2群

(7) コリスチンの作用機構

中島久二瑛・川俣順一
阪大微研化学療法
菅沼 惇・原 一仁・岸田綱太郎
京府医大微生物

Colistin (以下 Col) は塩基性、環状ペプチド抗生物質で、成分的に Polymyxin E₁ および E₂ をふくんでいる。

われわれは Col の作用機構を解明することにより, Gram 陰性菌感染症に対する化学療法の手がかりを得るために, 本実験を行なつた。

今回は大腸菌の表面構造におよぼす Col の作用を生

化学的に追求すると共に、その微細構造の形態学的変化を電子顕微鏡で観察した。

大腸菌 B 株に $5 \mu\text{g/ml}$ の Col を 37°C 30 分間作用せしめ、Osmium 酸固定による超薄切片を作製し電顕で観察すると、作用菌の Cell wall の Outer layer に袋状の二重膜構造をもつ特異な膨隆 (“Bleb”) が観察された。なおこの “Bleb” は 2°C の低温では形成されなかつた。また 37°C でも 5 分間以内ではその形成はみとめられにくい。

さらに高濃度の Col を 37°C で作用せしめると、“Bleb” の数が増加すると共に、Cytoplasmic membrane と Cell wall の間に、間げきが生じ、細胞内の Ribosome particles が less dense になることが観察された。

また Mechanical disintegration により、大腸菌 B 株の Cell wall preparation を調製し、*In vitro* で Col を作用せしめ Platinum-Paradium で Shadowing したのち、電顕で観察すると、Cell wall の表面が Rough になり、隆起がみとめられた。この現象は 37°C で観察されたが、 2°C ではみとめられなかつた。

また Col が大腸菌の Cytoplasmic membrane に作用することは、大腸菌 ML 308 株 (i^- , z^+ , y^+ , a^+) より EDTA-Lysozyme 法で “Spheroplasts” を調製し、 0.5 M Sucrose Medium 中で Col を 30°C で作用せしめると、 $1 \mu\text{g/ml}$ のような低濃度下でも、短時間内に “Spheroplasts” の Lysis が顕著にみとめられ、Cytoplasmic membrane の Damage により、菌体内の β -Galactosidase が著しく菌体外の Sucrose medium へ遊出したことにより、容易に説明される。

このような形態学的観察から、Col が低濃度でしかも短時間内に細菌表面構造に作用し、その構造を Disorganize するとすれば、Cell wall と Cytoplasmic membrane の間に局在するような酵素活性の変化を測定することにより、容易に生化学的にも観察しうるはずである。

そこで大腸菌の表層部に局在するといわれている代表的な酵素 Alkaline phosphatase (APase) ならびに Ribonuclease (RNase) 活性を測定した。その結果、 $1-10 \mu\text{g/ml}$ の Col を 37°C で 30 分間大腸菌 C_{90} 株 (P^+ , R_1^+ , R_2^-) に作用し、その菌体内外の酵素活性を測定すると、Surface enzyme である APase ならびに RNase が短時間内に、しかもその大部分が菌体外の Medium 中へ遊出した。しかしこの条件下では、Methyl- β -thiogalactopyranoside で菌体内に Induce される β -Galactosidase はほとんど遊出しなかつた。なおこのような酵素の遊出は 2°C ではみとめられなかつた。

このようなことから、Col による大腸菌表面構造の変化は一定の温度を必要とする Biological process によるものと考えられる。

(8) Thiophenicol の作用機序に関する生化学的研究

西村敏男・田中信男・梅沢浜夫

東京大学応用微生物研究所

Thiophenicol (TP) の抗菌作用の機序、細菌による不活化、および動物細胞のタン白合成におよぼす影響について行なつた実験成績を報告する。

大腸菌の生細胞による ^{14}C -アミノ酸のタン白へのとりこみは TP によつて強く阻害された。

また lysozyme を用いてつくつた protoplasts によるタン白合成も生細胞と同程度に阻害された。

大腸菌のリボソーム系におけるタン白合成で native mRNA による ^{14}C -leu, ^{14}C -phe および ^{14}C -pro のタン白へのとりこみは、いずれも TP によつて著明に阻害され、 $2.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ の濃度で約 50% の阻害を認めた。また poly U による polyphenylalanine 合成、poly A による poly lysine 合成および poly C による polyproline 合成も著明に阻害された。Polypeptide 合成に対する TP の作用は poly C を用いた場合が最も強く、ついで poly A を用いた場合で、poly U を用いた場合が最も軽度であつた。

以上の成績から TP の抗菌作用のメカニズムは細菌の蛋白合成系に 1 次的に作用するものと考えられ、また TP の作用は mRNA の塩基組成に強く依存し、 $\text{C} > \text{A} > \text{U}$ の順に TP の作用が認められることが明かとなつた。さらに TP がタン白合成系のどの過程に作用するかを検討した結果、TP は sRNA の aminoacyl 化を阻害せず、リボソーム系で aminoacyl-sRNA からタン白へのアミノ酸の転移反応を阻害することを認めた。すなわち、大腸菌リボソーム系で、poly C による prolyl-sRNA から polypeptide への転移は遊離の proline のとりこみと同程度に TP によつて阻害されることを観察した。

多剤耐性大腸菌および赤痢菌の生菌および菌体より抽出した可溶性酵素によつて TP は不活化されることを認めた。

ラット肝、家兎の網状赤血球、マウスの Ehrlich 癌細胞の生細胞、lysates、リボソーム系によるタン白合成は TP によつてほとんど影響をうけず、高濃度の場合に、軽度の阻害を認めるにすぎなかつた。リボソーム系における poly U による polyphenylalanine 合成および poly A による polylysine 合成に対しても TP はほとんど影響を与えなかつた。このことから、TP の化学療

法剤としての選択毒性は細菌のリボソームと動物細胞のリボソーム系との感受性の差にあると思われる。

これらの動物細胞と異なり、家兎のコウ丸のミクロソーム系およびリボソーム系における native mRNA による ^{14}C -leu のタン白へのとりこみは TP によつて著明に阻害された。TP が動物細胞の中で、コウ丸のリボソーム系によるタン白合成を選択的に阻害することは抗生物質の生物活性のメカニズムの上からも、またタン白合成それ自体の機構の解明の上から考えても、興味あることと思われ、この点について今後さらに研究をつづけてゆきたいと考えている。

(9) ポリミキシンの作用機作に関する 電子顕微鏡的研究

小池聖淳・飯田恭子・松尾達也
九州大学医学部細菌学教室

ポリミキシン類抗生物質は殺菌的に作用し、その作用点は細菌表層部であり、細菌細胞膜の透過性の変化を与えることが知られている。吾々はそれらの点に関し、電子顕微鏡を中心として、より微細な構造上の変化を追求した。

A. 実験方法：用いた菌は *Ps. aeruginosa* P 29 (東大・伝研・本間教授より分与)、*E. coli* B, *Vibrio cholerae* H 218 (バンコック型)、Sa 5 (Eltor 型) を tris-buffer に生菌数 $10^8/\text{ml}$ に suspend し、ポリミキシン B (PLB)、コリスチン (CL-sulfonate, CL-methane sulfonate) をそれぞれ sublethal dose より lethal dose ($0.25\sim 250\ \mu\text{g}/\text{ml}$) に接触させ、 $10\sim 60$ 分後に生菌数を測定すると同時に電顕資料として作製した。細胞壁標品作製には french press を用い、spheroplast 標品作製には Sucrose-EDTA-Lysozyme 溶液を用い、MIC 測定には通常行なわれている方法を用いた。

B. 実験結果

i) PLB $25\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 接触後 5 分以内に生菌数は 10^{-4} に低下し、細胞壁外層に径 $100\ \text{\AA}$ の突起がイガ栗状に生じ、その数は PLB 濃度が低下するに比例して減少すると共に生菌数は上昇する。 $0.25\ \mu\text{g}/\text{ml}$ では生菌数は低下せず、突起も生じていない。 $2.5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上では細菌細胞内容が突起の間から流出している像、及び原形質膜の断裂像を明らかに認めた。これらの作用は Mg^{++} イオン $10^{-2}\sim 10^{-3}\ \text{M}$ で阻害されると同時に、細胞壁の突起は消失し、生菌数は回復するが、クエン酸添加により再び PLB 作用は再現する。以上の事実は用いた菌すべてに通用する現象であり、特にコレラ菌のエルトール型とバンコック型との PLB 感受性の差も、この現象の差で認識される。要約すると、細胞壁の突起出現が菌の死を意

味すると思われる。なお突起の形態は菌の種類によつて相異なる。これの所見は CL の場合も同様であるが、CL-methane-sulfonate の作用は極めて弱い。

ii) この PL の作用を細胞壁標品、spheroplast 標品に分けて観察した結果、細胞壁外層に無数の突起を生じると共に、細胞壁に crack を生じることが見いだされ、spheroplast については、spheroplast 外膜に突起を生じると共に、溶菌現象が観察され、sucrose による滲透圧調整にも拘らず、O.D は急激に減少する。これは Mg^{++} イオンで或る程度回復する。この事実は PL の作用機作は先づ細胞壁を破壊し、その crack から内部に侵入し、原形質膜に断裂を与え、菌を死に至らしめることが明らかになった。

iii) PL は細胞壁を変性し、透過性を高めることから、lysozyme, PC-G, SM, CP, TC, OL の相強作用の有無を検した。Lysozyme では PLB の lethal dose ($25\ \mu\text{g}/\text{ml}$) で、PLB 単独よりなお $1/100\sim 1/1,000$ の生菌数の低下を示し、その他の抗生剤では PLB の sublethal dose $1\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 存在下で、MIC は $1/5\sim 1/10$ に低下せしめることに成功した。

(10) 化学療法剤の細菌形態に及ぼす変 化と薬剤の phage による溶解現 象との関連性について

松前昭広・昆野留意子
大岩 勇・秦 藤樹
北里研究所

我々は抗菌物質及び抗癌物質を含めて種々の化学療法剤の screening 法についての研究を行なつている。その 1 方法として「薬剤の作用機作は各々異なつてはらずである。」という点に着眼して次の事柄に関して実験を行なつた。1) *E. coli* B の形態変化、2) *E. coli* K-12(λ) からの prophage 誘発、3) 遊離 λ -phage, $T_1\sim T_7$ phage に対する作用、4) *E. coli* E 102-MS-2 phage に対する作用。

以上の結果を述べると、大腸菌を糸状化させる物質のうち、 λ -phage を誘発する物質はほとんどが抗癌物質であつた。この中で λ -phage, $T_1\sim T_7$ phage 等に直接作用し phage を不活化する物質、例えば iyomycin B_1 , actinomycin, nitromin, chartreusin 等はその作用度こそ異なるが、核酸と蛋白に作用する。更に DNA phage に作用しない物質には mitomycin 群物質, azaserine, 4NQO amethopterin 等の代表的な抗癌、発癌物質があり、これ等は DNA 合成を阻害する物質である。また atypical に phage を誘発し、*E. coli* E 102-MS-2 phage

に作用する物質として PAS, Sulfa 剤, INAH 等があるが、これらは葉酸に拮抗作用を示し、DNA 合成には間接的に影響を及ぼすと考えられる。これ等の物質と極めて良く似た作用を示す薬剤として、Macrolide 群物質、Tetracycline 群物質があげられ、これらは大腸菌の形態を連珠状に変化させ、prophage をわずかに誘発し、*E. coli* E 102-MS-2 phage に作用する。Phage-tRNA が ribosome から解離するには Mg イオン濃度の低下が関係し、解離した t-RNA は DNA と二重螺旋を形成し、その結果、DNA の分子構造に変化が起るといふ。これらの物質の Mg イオンのキレート作用を有することを大腸菌に対する作用及び phage の誘発という現象の原因と考えることはさほど困難ではないだろう。また、別の実験結果からこれらの物質の DNA phage, RNA phage に対する作用は、phage 自体に作用せず、菌に作用し、結果として phage の活性化は認められなかつた。大腸菌を糸状化させるが、phage を誘発しない薬剤として penicillin 等の抗菌作用を有し cell wall 合成を阻害する物質と、高分子抗癌、抗ウィルス物質である iyomycin A, melanomycin, cephalomycin らの抗菌力を持たない物質が含まれている。それらはいずれも高分子物質が DNA と結合するために大腸菌を糸状化させるが DNA 自体に何ら損傷を起さないため phage の誘発が認められないのもであろう。大腸菌を凝集化させる薬剤のほとんどは蛋白合成を阻害し、DNA には作用しない。そのため、菌体の伸長と phage の誘発は認められないのであろう。宿主の DNA 合成系と無関係に感染した RNA は、phage RNA を template として新しい RNA 及び蛋白を合成させることが知られている。このことから streptomycin, puromycin, chloramphenicol 等の薬剤は細菌体内に入り増殖中の RNA-phage に作用を及ぼし、その結果、活性化 phage が認められないのであろう。

(11) 諸条件下に於ける抗生物質の生体内動態について

岩崎 峻・東 朋嗣・杉山浩士
尾崎達郎・赤尾 満・三木文雄
大阪市大第一内科

昨年報告した肝障害による諸種抗生物質の血中濃度及び臓器内濃度の差がいかなる因子により引き起されるものであるかを検討する目的で、正常家兎及び肝障害家兎に抗生物質の静脈内投与を行ない、その後の血中濃度の推移

を筋注時の成績と比較することにより肝障害に伴ない抗生物質投与局所よりの吸収に影響が現われるか否かを検討し、同時に吸収の因子を除外した静注時の血中抗生物質濃度の半減期と部分肝機能との関連性についての検討を行なつた。尿中排泄の速かな PC-G, MPI-PC と遅い TC を検討の対象とした。静注時の投与量は PC-G, MPI-PC は筋注時の半量、TC は 1/5 量とした。検体の定量は全て枯草菌 PCI-219 を検定菌とした重層法である。

PC-G に於ては筋注時は正常群に比して CCl_4 結紮群とも高血中濃度を持続するが、静注の場合は CCl_4 群に於て高濃度を維持するに反し、結紮群は正常群と 30' まで差なく 30' 以後は正常より高濃度を持続した。MPI-PC では筋注時は PC-G と同傾向であるが、静注時で正常群 CCl_4 群の間には血中濃度の推移に差なく、結紮群は 30' より 2 時間に高濃度を示すが PC-G ほど血中停滞を示さない。

TC は筋注時結紮群で高血中濃度を示し、注射後数時間血中濃度の動揺を示すが静注時では正常、 CCl_4 結紮の 3 群の間で血中濃度の推移に差を認めない。

以上の如く 3 抗生物質の静脈内負荷の場合、筋注時に見られたような肝障害の有無による血中濃度推移の差異が、MPI-PC では少なくなり、TC では全く認められないのに反し、PC-G では筋注時と同様の肝障害の影響を認めた。

次に静注時の抗生物質血中濃度半減期とその家兎の部分肝機能との間の相関について検討した。PC-G の半減期は正常群に対し CCl_4 群さらに結紮群と半減期が延長し GOT, GPT, II, AL-P と半減期の間に相関が見られるが、MPI-PC, TC では相関がみられない。

以上の成績から肝機能異常に伴なう抗生物質の血中濃度の推移の変化は PC-G に於ては肝細胞障害自体により、MPI-PC では肝細胞障害よりむしろ胆汁内への排泄と関連性がみられ、TC ではその両者ともあまり影響がないように見うけられる。

次に PC-G 及び MPI-PC 溶液に正常、 CCl_4 及び結紮家兎の肝 slice を添加 37°C に incubate して抗生物質力価の変化を検討したところ、MPI-PC と PC-G に於て正常肝 slice の添加の影響が異なり、また PC-G に於て正常肝 slice 添加で力価の低下がみられず、 CCl_4 肝さらに結紮肝添加で力価の低下が現われることを認めた。この成績は静脈内負荷時に肝障害家兎に於て長時間血中停滞を示す成績と相反するので肝障害に伴ない肝臓内にうづ滞した胆汁による抗菌力の変化等と共にさらに検討を重ねたい。

第3群

(12) 新生児における Chloramphenicol
の代謝

徳田源市・湯浅充雄・今村元彦
京都府立医科大学産婦人科教室

Chloramphenicol の過剰投与による gray syndrome は新生児の肝 glucuron 酸抱合能と腎機能の未熟性によると考えられている。

我々は 2,900 g 以上の正期産健康男子を対象として、日令1日、4日、7日、14日、40日の各々に C-P を 20 mg/kg 1回筋注し、各尿を pool して、active C-P, aromatic nitro compounds, aromatic amines を測定した。これより C-P/aromatic nitro compounds+aromatic amines の日令推移をみると、日令1日 93.2%、日令4日 42.2%、日令7日 34% となつた。

次に Rat を用い、fetus 日令1日、4日、7日、14日および adult の liver homogenate の 37°C、2時間 incubation し、C-P の Recovery を測定し、日令の進むにつれ recovery 率の低下をみとめた。

これらの尿および肝 homogenate を paperchromatography に展開し、さらに bioautography を行なつた。

以上より新生時および新生仔の肝 glucuron 酸抱合能の未熟性と日令の進むに従いがい、glucuron 酸抱合機能の上昇を推測できた。

(13) Chloramphenicol に対する血中
抗体の研究

清水喜八郎・島田 馨・奥村有史
十字猛夫・鈴木秀郎
東京大学吉内内科

クロラムフェニコール(以下 CP と略)を投与した感染症患者で、CP に対するアレルギーと思われる症状を呈する症例にしばしば遭遇する。しかし臨床的に、アレルギーと診断しても、アレルギー抗体の検出が困難な場合が多かつた。そこで、非常に感度の高いといわれている間接赤血球凝集法、PCA(受身皮膚アナフィラキシー)法を応用して、CP に特異的な抗体を測定する方法を考案し、臨床例および CP で免疫した動物の血中抗体価の変動、抗体の性質等を検討したので、ここに報告する。

(方法) CP のベンゼン核にあるニトロ基をアミノ基に環元し、これをジアゾ化してタンパク質に作用させると、CP をタンパク質に化学的に結合することができる。この結合方法を用いて、ウサギ血清、BSA、人 O 型赤血球、ウサギ血球等に CP を結合し、免疫用および反応用

抗原をつくつた。実験動物は3群のウサギを用い、第1群は CP を Adjuvant ととも皮内筋肉内に、第2群は自己血清に CP を結合したものを静脈内に、第3群は同種血清に CP を結合したものを、静脈内、または Adjuvant とともに皮内に免疫した。

(結果) CP を血清に結合したもので免疫した第2群、第3群は、免疫後1~2週で抗体価が上昇し、carrier に用いた血清の自己、同種による差を認めなかつた。第1群の CP のみによる免疫でも、高い抗体価を示した。これらの動物を同じ方法で隔週に免疫をつづけたところ、抗体価は両者ともに上昇した。2ME(2-カプトエタノール)で処理後、これらの抗体価を測定すると、第2群の抗体活注は初期を除き、ほとんど失活されないのに、第1群では著しくかつ長期にわたり失活されており、前者の抗体が主として γG 、後者の抗体が主として γG 以外の抗体 (γM , γA) によるものと考えられる。第1群、第2群を PCA 法で比較すると後者が 1,000× まで陽性、前者は原液でのみ陽性であつた。そのほか第1群の所見で気づいたことは、その部位に皮内出血がみられたことである。次にゲル内沈降反応では、第2群、第3群の1側にかなりはつきりした沈降線を見とめ、これは CP の添加により完全に消失したので、CP に特異的な沈降線と考えられる。

(臨床例) 各種疾患 320 例について間接赤血球凝集反応で、血中抗体価を測定したところ、8倍以上 21%、32倍以上 3%、128倍以上 1% であつた。この 128倍の3例はいずれも、2、3週間前に CP を投与されたものであつた。次に CP 投与例 6 例について、投与中、投与後の抗体価を1週間毎に測定したところ、6例中3例が 16 倍以上であつた。前記3例を含めて、すべて CP 投与中止後、3、4週間抗体価が低下する傾向にあることが観察された。さらに過去において、CP による薬疹、肝炎その他アレルギー反応を呈したと思われるもの4例の抗体価は、8倍以下1例、32倍1例、64倍1例、128倍1例であつた。このような症例においては、CP 投与中止後、数カ月後においても、高い抗体価を示すもののある点興味深い。

(14) 消炎剤と化学療法剤の併用に関する研究 第2報

真下啓明・加藤康道・斎藤 玲
富沢磨須美・古川 博・桜庭喬匠
田中一志

北海道大学真下内科

消炎剤により炎症機転が修飾を受ける場合化学療法を

どのように行なつたらよいかを検討するため、先に Oxyphenbutazone について報告した。今回更に BCP, Indomethacin, TSP について報告する。〔実験方法〕体重 150~200 g の Wister 系雌ラッテに SELYE の方法により、1% クロトン油を用いて Granuloma pouch を作製した。消炎剤は前述の3種を用い、抗生物質は PC-G を用いた。投与方法は BCP 300 mg/kg を、Indomethacin は 6 mg/kg を、TSP は 30 mg/kg を各々1回投与および Pouch 作製後7日間の連続投与の2群に分けた。Pouch 作製後8日目に、BCP 群は投与後2時間、Indomethacin 群は 60 分、TSP 群は 90 分と、それぞれの薬剤が最高血中濃度を示す時間に PC-G Na を 30 mg/kg 股静脈より静注し、30, 60, 90, 120 分の各時点を3匹1群とした。ラッテを放血致死させ、血漿、滲出液、肝、腎、肺、脾、膿瘍壁を摘出して溶連菌 S-8 株を用いて鳥居川上の重層法にて PC-G 濃度を測定した。〔実験成績〕BCP 1回投与群では、全体の level up がみられた。滲出液の実測値は見かけ上高濃度でも血漿との比では低く、血漿よりの移行は低下している。また滲出液が血漿を越えて交叉する時間は control の 50 分に比し 67 分と遅延している。BCP 連続投与群では腎の低下が1回投与群より急激である。交叉時間は 68 分と1回投与と同程度の遅延を示した。Indomethacin 1回投与群では交叉時間 51 分と control との差を殆んど認めない。なお腎の高濃度傾向を認める。Indomethacin 連続投与群では交叉時間は 104 分と最も遅延しており、滲出液の血漿との比も、control が 30, 60, 90, 120 分の各時点で 0.7, 1.3, 3.1, 11.6 であるのに対し 0.14, 0.51, 0.66, 1.66 と最も低値を示した。滲出液量も control の 4.56 ml に対し 3.42 ml と最も少ない。また血漿濃度の高値が著明で腎と逆転しているのが目立つ。TSP 1回投与群では交叉時間 70 分と遅延し、脾がやや高濃度を示す。TSP 連続投与群では交叉時間は 56 分とやや遅延し、1回投与群より腎の低下が急であつた。〔考案〕交叉時間は Indomethacin 1回投与群以外は遅延しており、特に Indomethacin 連続投与群では control の 50 分に比し 104 分と著明であつた。また滲出液と血漿との比では BCP 連続投与群および Indomethacin 1回投与群の一部時点を除いて control より低下しており、特に Indomethacin 連続投与群で著明であつた。滲出液濃度は実測上 control より高値の傾向であつても、積極的に血漿より移行しておらず先の報告と一致した。平均滲出液量では control の 4.56 ml に対し Indomethacin 連続投与群で 3.42 ml と低く Granuloma pouch に何らかの変化を与えていると思われる。滲出液以外の他の臓器の変化において目立つことは、血漿濃度

に対する腎濃度の態度である。即ち各群において1回投与群では腎濃度が血漿濃度より比較的高く、連続投与群では血漿レベルより低い傾向を認めた。このことは腎からの排泄または代謝に何らかの変化を来している可能性が考えられる。

(15) 化学療法剤局所応用に関する基礎的研究

真泉平治

日本歯科大学薬理学教室

歯科口腔科領域では、化学療法剤の局所投与の行なわれる場合が多い。化学療法剤の局所作用は、在来のいわゆる消毒剤にくらべて、極めて軽微ではあるが、臨床効果を一層たかめるために、より秀れた薬物の探求が必要であることは、いうまでもない。

この目的のために、我々は組織培養法を採用し、まずホモスルファミン（マルファニール）の価値を再検討して、これに代わるべきサルファ剤を見つけることから、研究を開始した。

鶏胎児心臓片を、回転培養法により培養し、ホモスルファミンを培養液に溶解させたものと、然らざるもの（対照）について比較をおこなつたところ、ホモスルファミン 0.1% では、線維芽細胞の発育を完全に阻止し、0.01% ですでに、培養細胞にかなりの異常がみとめられた。

しかるに、0.1% の濃度で、線維芽細胞の発育を許容するサルファ剤は、決して少なくなかつた。

さらに、*in vitro* で、臨床の場面を再現する目的で、次のような実験をおこなつた。

孵化9日目の鶏胎児の心臓をとり出し、心室を適当の大きさ(1 mm×1 mm の移植片が約20個得られる程度)に切り、これを各濃度の薬液に一定時間浸漬し、のち塩類溶液でよく洗つてから、1 mm×1 mm の細片に切り、内径 30 mm のペトリ皿中で培養した。

72 時間培養してから、各移植片の周囲に生じた、線維芽細胞の面積をはかつた。

この場合、浸漬しても、組織片が全く障害をこうむらないときは、すべての移植片において、対照と同じ発育が認められた。

また、表層の細胞は障害をうけるが、深層の細胞にまで被害がおよんでいない場合には、いろいろの程度の発育がみとめられる。

すなわち、こういふときには、成長度のばらつきが大きく、そして、このばらつきの度は組織片のうけた障害の大きさに比例するから、ばらつきの程度を数値(変異

係数)であらわすことによつて、薬物の局所作用の強さを、数量的にあらわすことができる。

本法によつて、各サルファ剤の作用の強さを比較すると、次の如くなる。

Sulfathiazole	}	Sulfadimethoxine	}	Sulfisomidine
Sulfisoxazole		Sulfisomezole		Sulfamerazine
Homosulfamine		Sulfadiazine		

別に抗菌力との関係を見るために、凝固鶏血漿の中央に、薬液を浸した濾紙(濾紙法用円形ディスク)を置き、そのまわりに移植片を4個植えつけてから、さらに細菌(*E. coli* NIHJ または *Staph. aur.* 209 P) を接種した。

かくして、薬物、培養細胞および細菌の3者の間の関係を観察したが、Sulfisomezole および Sulfadimethoxine (いずれもナトリウム塩) がすぐれた成績をあげ、Sulfisomidine と Sulfamerazine は、先の2者にくらべて、抗菌力の点で、明らかに劣つていた。

(16) 肝障害の感染に及ぼす影響について 第2報

杉山浩士・東 朋嗣・岩崎 峭
赤尾 満・尾崎達郎・三木文雄
大阪市立大学第一内科

昨年の本総会で、マウス実験の感染症およびそれに対する抗生物質の延命効果に対して、菌の種類、量および抗生物質の種類により程度の差はあるが、肝障害の影響がかなり認められることを報告したが、このような肝障害の存在による感染防禦力の差が、いかなる因子によるかを究明するため、今回、正常家兎および CCl₄ 肝障害家兎に肺炎球菌敗血症およびブドウ球菌皮下膿瘍を作製し、感染時の網内系機能が、肝障害の有無によりどのような差を示すかを検討した。

網内系機能測定には翁氏鶏血球法を用いた。急性肝障害家兎の作製には、CCl₄ 0.5 cc/kg を連日2日間家兎大腿部に筋注し、慢性肝障害家兎の作製には、CCl₄ 0.3 cc/kg を週2回、4週間にわたつて筋注した。肺炎球菌敗血症は0.5白金耳の肺炎球菌を生食水5ccに浮遊し、耳静脈より注入することにより、またブドウ球菌皮下膿瘍はHIB 16時間培養ブドウ球菌菌液0.3ccを腹壁皮下に注射することにより作製した。

網内系機能の検査は、感染24時間後に施行した。

まず、肝障害の鶏血球処理能におよぼす影響を検討した。急性肝障害作製時、2回目のCCl₄筋注24時間後の鶏血球処理能は、正常コントロールと同様の成績を示すもの、処理能の低下を示すものの両者が認められる。

また慢性肝障害でも網内系機能の低下を示すものもあるが、コントロールと著明な差を示さないものも存在す

る。なお、CCl₄注射2週間後では、肝機能の正常化に伴ない、全例正常範囲に戻る。

肝機能正常家兎に肺炎球菌敗血症を惹起させた場合の網内系機能は全例亢進が認められる。これに対して急性肝障害家兎に敗血症を惹起させた場合、軽度の亢進を認める例もあるが、多くは網内系機能の亢進が現われない。敗血症慢性肝障害家兎では敗血症に伴なう網内系機能の亢進が全く認められない。

次に、敗血症家兎にTC 50 mg/kg を2回筋注した後においては、正常、肝障害両群とも、血液培養陰性化しTCの効果は認められるが、鶏血球処理能にはTC非投与時と差が認められない。ブドウ球菌皮下膿瘍家兎の鶏血球処理能は、肝正常肝障害両群とも非感染時の成績と差を認めず、局所感染の網内系機能に対する局所感染の影響は認められなかつた。

以上、肝障害の存在により鶏血球処理能よりみた網内系機能はやや低下するのを認め、肝正常家兎において敗血症に際して現われる網内系機能の亢進が肝障害、殊に慢性肝障害家兎においては現われないことを認めた。また、TCの投与は肝正常および肝障害敗血症家兎の鶏血球処理能に特に影響を示さないようである。

次に、CCl₄肝障害家兎のブドウ球菌209Pに対する血清抗菌力を正常家兎の成績と比較したところ、肝障害家兎において血清抗菌力の低下傾向を認めたので、今後更に例数を重ね、肝障害患者の成績と比較して検討を加えたい。

(17) 肝疾患および腎疾患における抗生物質療法の研究 第3報

真下啓明・加藤康道・斎藤 玲
千秋 肇・古川 博・桜庭喬匠
田中一志・松本義孝
北海道大学真下内科

感染症の化学療法をおこなう場合、ことに重症例においては腎障害あるいは肝障害が併存することが多く、これら臓器の機能低下によつて体内に薬剤の蓄積がおこる危険がある。

そこで我々は正常犬および実験的腎障害犬を用いて今回は第2報にひきつづき、さらにGentamicin (GNT) を追加して、これまでの成績を総括し各抗生物質相互間の比較検討をおこなつた。

すなわち正常犬およびHgCl₂処理腎障害犬を用いて抗生物質投与後、前報のごとく股静脈血、胆汁および尿を採取し一部例では肝静脈血を採取して、それぞれの抗生物質活性濃度を測定し、肝および腎における抗生物質

の排泄および処理機能とそのさいに肝のしめる役割について実験的考察をおこない、この結果から腎機能障害時における抗生物質療法をどのようにおこなつたらよいかの検討を試みた。

PC-G では正常犬にて $T/2$ は平均 0.7 時間であるが腎障害犬にては平均 3.2 時間に延長した。クリアランス値から求めた減少率にて、それぞれ比較検討をおこなうと、腎臓からの減少率 K_r は 0.7 から腎障害時 0.03 と減少し、肝臓からの減少率 K_h は 0.3 から 0.1 とやや低下し、また胆汁からの減少率 K_b は 0.03 から 0.005 となつた。それゆえ血清からの減少率 K_s に対する各減少率の比をとると K_r/K_s は 0.7 から 0.1 に低下するが、 K_b/K_s は 0.03 から 0.02 となり、 K_h/K_s も両者にて 0.3 で大きい変化はない。

TC では $T/2$ は 1.9 時間から腎障害時 2.2 時間となり、 K_s は 0.4 から 0.3 に、 K_r は 0.02 から 0.001 と激減するが、 K_h は 0.05 から 0.2 へと増大した。しかし K_b には大差はなかつた。それゆえ、 K_r/K_s は 0.04 から 0.003 に、 K_b/K_s は 0.01 から 0.003 となるが、 K_h/K_s は 0.1 から 0.7 へと増大した。

EM では $T/2$ は 1.18 時間から腎障害時 1.84 時間となり、正常時にて分布容積が 710% と大きくこのため血清からのクリアランス C_s は 682.2 ml/min. と著明に大きく、 K_s は 0.6 で、腎障害時には分布容積の縮少のため C_s は正常時の 1/5 となる。 K_s は 0.4 と大差ない。また K_r は 0.04 から 0.007 と低下し、 K_b は 0.01 から 0.02 となつた。したがつて K_r/K_s は 0.07 から 0.02 へと低下するが、 K_b/K_s は 0.02 から 0.05 へと増大した。

KM では $T/2$ は 2.35 時間から 4.03 時間に延長し、 K_s は 0.41 と小さく腎障害時には 0.18 とさらに減少し、 K_r は 0.1 と小さいが K_b も 0 に近く、腎障害時には K_r, K_b は一層減少をしめた。したがつて K_r/K_s は 0.23 から 0.005 に、 K_b/K_s は 0.02 から 0.001 に変化する。

GNT では $T/2$ は 1.7 時間から 2.8 時間に延長し、 K_s は 0.4 と小さく腎障害時には 0.3 となつた。 K_r も 0.1 と小さいが腎障害時には 0.009 に激減し、 K_b も 0 に近くなる。したがつて K_r/K_s は 0.3 から 0.04 に低下し、 K_b/K_s はいずれも 0.002 で無視し得る。

ま と め

PC-G では K_s の変化はその大部分が腎からの排泄によつてしめられ、肝内代謝は正常時、腎障害時において大きな変化はなく、したがつて腎障害時には腎からの排泄の低下と共に薬剤蓄積がおこってくるが、PC-G 自体の毒性は大きくないので生体に大きな影響はないと考え

る。

TC では腎障害時には肝での代償作用が働らくが元来 K_s は小さく $T/2$ は長い。特に K_r は低値をしめし、腎障害によつて K_r が一層低下した場合には肝によつても充分代償されず、蓄積のおこる可能性がある。とくに TC 自体蛋白合成阻害作用があるので薬剤蓄積による危険が考慮される。

EM では腎障害時にも肝での処理をうける部分が大きい比重をしめ、腎障害によつて K_r が低下しても薬剤蓄積はおこりにくいと考える。

KM, GNT では腎からの排泄機構が大きく、腎障害時には腎での減少率は激減し $T/2$ は延長する。 K_b は両者にて無視し得る値で、 K_r の減少につれ通常の投与量では蓄積をおこし、KM, GNT は本来毒性が高く、したがつて腎障害時における使用には蓄積を考え投与量を減少するなどの注意が必要である。

(18) 腎機能不全時の抗生剤の動態 第 1 報 Hetacillin および Aminobenzylpenicillin

木下康民・山作房之輔・土田 亮

武田 元・鈴木啓元

新潟大学木下内科

腎疾患患者の抗生剤使用法について AB-PC および Hetacillin につき検討した。

1. 500 mg 静注時の血中濃度半減期は腎機能正常例では 0.8 時間、軽度障害例では 1~1.3 時間、高度障害例は 8.5~38.5 時間と腎機能障害の程度に応じて延長した。

2. 透析液に毎回 125 mg 宛添加し、10 回交換の腹膜灌流例の血中濃度は初回交換時は 5 mcg/ml 以下、5 回目交換時には 5 mcg/ml 以上、灌流終了時には 10 mcg/ml 以上のものが多く、一方透析液中の残存率は 39~90% で、個人差が大きく、残存率が少く見掛け上腹膜から多く吸収された如く見えるものの血中濃度が高いことはなかつた。また長期間腹膜灌流を行なっている例でも血中濃度はよく上昇した。

3. 500 mg 静注、1 時間後から 10 回交換の腹膜灌流を行なつた際の灌流終了時の血中濃度は 10~20 mcg/ml のものが多く、半減期は大部分 5, 6 時間であつた。透析液中へは 5 回目交換時まで 6~15%、灌流終了までに 10~35% 移行したが、移行率の大きいものの半減期が短い傾向はなかつた。

4. Kolff 型人工腎により血液透析中の患者に 500 mg 静注した際の透析終了時の血中濃度は 10~20 mcg/ml

のものが多く、半減期は大部分 3~6 時間であつた。透析液中へは透析液交換時には 15~39% が、終了までには 21~67% が移行した。

AB-PC と Hetacillin の血中濃度推移、透析液中からの吸収、透析液への移行の状態はほぼ同様であつたので、一括して各時間毎の平均値により血中濃度推移を求めると、平均半減期は腎機能正常例の 0.8 時間、軽度障害例の 1.2 時間、人工腎例の 3.1 時間、腹膜灌流例の 4.6 時間、高度障害例の 15.4 時間の順に延長した。一方、回収率は正常例と軽度障害例の尿中回収率は 24 時間後には 60% 前後ではほぼ等しかつたが、軽度障害例は 3 時間後まで、排泄遅延が見られた。高度障害例の尿中回収率は 24 時間後に 12% の低率であつた。人工腎例と腹膜灌流例の血中濃度推移には大差なかつたが、透析液中への回収率は人工腎例は軽度障害例に近く、腹膜灌流例は高度障害例に近い曲線となり著明な差を認めた。

総括 腎機能障害例に AB-PC 或いは Hetacillin を用いる場合、軽度障害例では腎機能正常例と同様に使用し、高度障害例は 1 日 500 mg 1 回の注射で充分と思われ、人工腎例および腹膜灌流例では人工透析を行なつた日に特に抗生剤を増量する必要はなく、高度障害例に準じて使用するか、あるいは腹膜灌流当日には全身的使用を止めて、透析液中に毎回 125 mg 宛添加して局所的に用いた際にも血中濃度が上昇するので、1 法と思われる。

(19) 腎不全時における抗生物質療法の研究

小田完五・藤村 伸・村田庄平
京都府立医科大学泌尿科学教室
水谷昭夫・鷲津良道・久世拓己
同臨床検査部細菌検査室

腎不全時における化学療法剤の投与規準を確立する目的で実験を行なつている。

10 kg 前後の犬を用いて両側腎動脈結さつによる急性腎不全を起さしめ、24 時間後に薬剤投与を行ない、経時的に血中濃度を測定した。腎不全群、対照群共に各 4 匹の犬を用い、薬剤として今回は Sulfisomezole (シノミン) をえらび 50 mg/kg 筋注を行なつた。

対照無処置群においては 2 時間後平均値 10 mg/dl をピークとし、以後、急激に減少して、48 時間後には平均 2.0 mg/dl となる。これに反し、腎不全群にあつては直線的に上昇を続けるが、10 mg/dl に達するには 6 時間を要し、48 時間後には更に増加し、12 mg/dl の高値を示した。即ち、腎不全群においてはサルファ剤の蓄

積がおこるが、吸収は対照群にくらべ遅れていることを認めた。今後、薬剤の種類、投与方法、腎不全の種類、程度など条件を変えて検討する予定である。

(20) 抗生剤の腎毒性にかんする研究

上田 泰・中村 昇・松本文夫
斎藤 篤・野田一雄・大森雅久
古屋千鶴子・中村喜典
東京慈恵会医科大学上田内科

抗生剤の腎毒性は今日重要な問題である。今回はラットを用いて腎機能、腎組織の面から各抗生剤の腎毒性を比較検討した。

実験方法：体重 120 g 前後のウイスター系ラットを 1 群 10 匹とし、AMPH, PL-B, KSM, CL, AMD, CER, CET, KM, GM をそれぞれ 1 日 1 回、21 日間連続筋注投与した。投与量はすべて人の常用投与量の約 10 倍とし、投与期間中の電解質 Balance, 体重, 尿量, 尿滲透圧, 尿蛋白を測定し、21 日間投与後の尿素窒素、腎組織所見などを検討した。

1) 尿量：尿量の増加は尿細管の濃縮障害がうたがわれるが、KSM 投与群が最も著明な尿量増加を示し、以下、AMPH, PL-B, AMD, CL, CER 投与群の順で、CET, KM, GM 投与群の尿量増加は軽度である。

2) 尿滲透圧：この低下も尿濃縮障害を示すが、KSM 投与群が最も著明に低下し、AMPH, PL-B 投与群でも約 60%, CL, AMD 投与群では約 25% 程度の低下を認めるが、CER, CET, KM, GM 投与群での低下は 15% 以下である。

3) 尿蛋白：AMPH, PL-B 投与群は 15 日頃より陽性化し、21 日後には AMPH 投与群で(++)、PL-B, KSM, CL, AMD 投与群は(+)であつた。CER, CET, KM, GM 投与群では陰性であつた。

4) 尿素窒素：AMPH, PL-B, KSM, CL, AMD 投与群において 30 mg/dl 前後の軽度上昇を示した。

5) 腎組織所見：AMPH, PL-B, KSM 投与群では、尿細管の変化が著明で、間質反応も認め、糸球体にも軽度の変化を認めている。CL 投与群にも中等度の尿細管変化を認めるが、AMD, CER, CET, KM, GM の尿細管変化は軽度であつた。

6) TC の蛍光性を利用した腎障害の診断法の成績：21 日間各種抗生剤を連続投与したラットに対して、と殺 24 時間前に OTC を静注し、蛍光顕微鏡的に検討すると、AMPH, PL-B 投与群の尿細管周囲には TC の蛍光を認め、同部の障害を確認した。KSM, CL, CER, CET 投与群でも中等度の蛍光を認めたが、AMD, KM, GM 投与群では軽度であつた。