

第 17 回 日本化学療法学会総会

期 日：昭和 44 年 4 月 24～26 日
 会 場：大阪市 大阪厚生年金会館
 会 長：大久保 澁 (関西医大教授)

会 長 講 演

抗生物質の体内分布

大久保 澁
 関西医科大学内科

感染症の化学療法における化学療法剤の選択、投与法、投与量の決定は、一般に起炎菌の感受性と化学療法剤の血中濃度とからなされている。しかし、それによつて行なわれた化学療法は必ずしも成功するとは限らない。そういう不成功の原因は 1 つには起炎菌の決定あるいは感受性測定にあるが、それだけではない。

化学療法が成功するか否かは、窮極のところ、病巣局所における化学療法剤の活性と、起炎菌の感受性との相互関係に帰せられる。ここに化学療法剤の体内分布を検討する必要が生ずる。

化学療法剤の体内分布を検討するには、1) 血液、尿、胆汁、リンパ液、滲出液など、体液中の濃度を測定する方法と、2) 直接、組織内の濃度を測定する方法と 2 つの方法がある。このうち、体内濃度については、すでに本総会で宿題シンポジウムとして検討されたのでここには触れない。いつぼう、組織内濃度は、とくに実質臓器の感染症については、これが化学療法剤の成否を決するものであることは当然のことと考えられ、近年その重要性が認められてきたが、なお、種々の問題点があり、今後の検討に俟つべきところが少なくない。

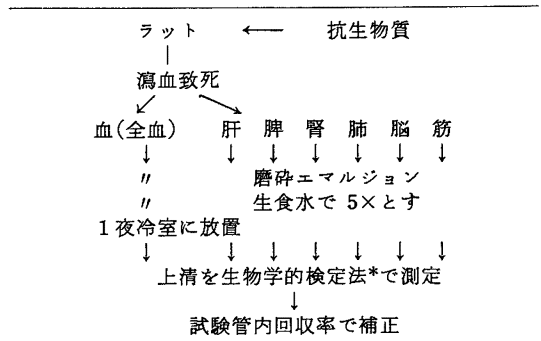
私は昭和 24 年、いま座長をお願いしている菊池名誉教授から抗生物質の研究を命ぜられて以来、昭和 29 年関西医科大学に移つてからも、引続き抗生物質の体内分布を主要なテーマとして研究をつづけてきた。Tab. 1 はこの間の、この方面における研究協力者の氏名である。私共は諸種体液中濃度を検討するとともに、組織内濃度についても藤本安男助教授を中心として系統的な研究をつづけてきたが、とくに、多数の抗生物質について、同じ方法で、同じ人の手で測定した成績を相互に比較できることは私のもつとも喜びとするところである。

なお、組織内濃度という語についてであるが、われわれが知りたいのは臓器の実質内の濃度である。しかし、実際問題としてこの測定はきわめて困難であり、これまでのわれわれの方法は瀉血した動物の臓器全体について

Tab. 1 研究協力者

藤 本 安 男	古 川 牧 一
岡 本 緩 子	東 田 二 郎

Tab. 2 臓器内濃度測定法



* 帯培養法 Band Culture Method (大久保, 古川)

測定している。したがつて、われわれは組織内濃度と云わず、“臓器内濃度”と称している。

方法：われわれの臓器内濃度の測定法は、Tab. 2 の如くである。すなわち、ラットに抗生物質を投与後、時間を逐つて順次瀉血致死させ、直ちに諸臓器(肝, 脾, 腎, 肺, 脳, 筋)をとり出して磨砕エマルジョン(生食水で 5 倍としたもの)とし、1 夜冷室に放置後、上清を生物学的検定法で測定した。瀉血によつて得た血液(全血)をも同様に処置して測定に供し、また別に、無処置ラットの各臓器エマルジョンに既知量の抗生物質を添加して同様 1 夜放置後上清について測定して、試験管内回収率を算出し、この回収率で、投与後の臓器エマルジョン上清の測定値を補正した。

ここで用いた生物学的検定法は、私が昭和 25 年に当時の協同研究者 古川牧一君とともに開発し、帯培養法(Band Culture Method)と命名した方法である。この方法は、われわれが開発当時から、すべての抗生物質の測定に用いてきたもので、Fig. 1 に示す特殊な測定板と Puncher とさえあれば、微量の試料で簡便に測定できる方法である。Fig. 2 は Penicillin-G を測定したばあいの Plate であり、Fig. 3 は半対数座標に描いた標準線である。この方法は、被験抗生物質が水平方向に拡散するために、被験液からの沈降物に妨げられることが少な

Fig. 1

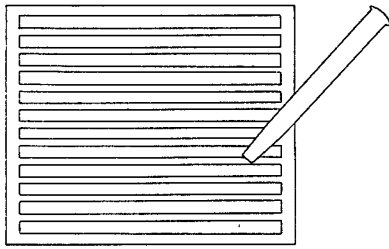


Fig. 2

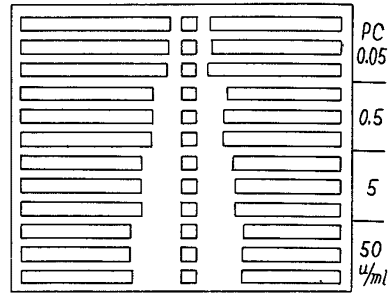


Fig. 3 PENICILLIN-G

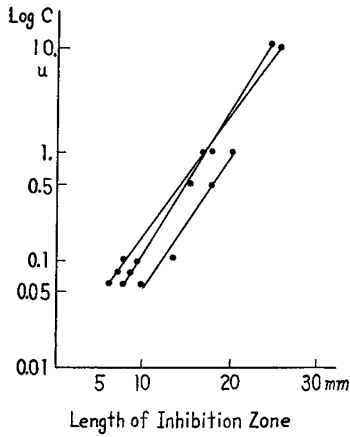


Fig. 4 Recovery from Tissue Emulsions (5X)

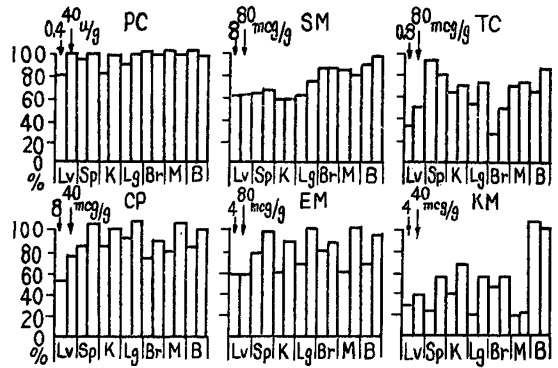


Fig. 5

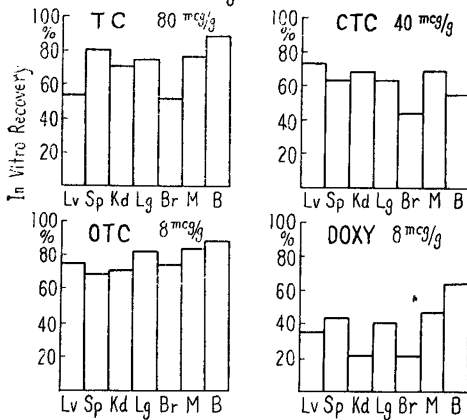


Fig. 6

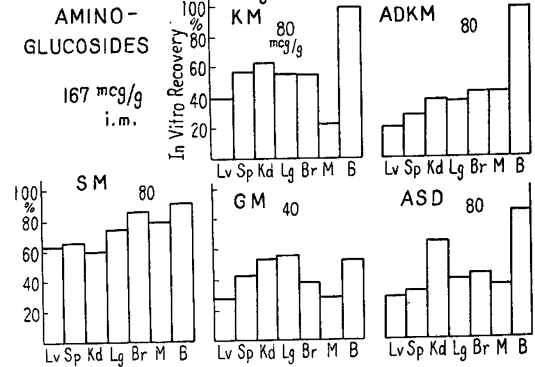


Fig. 7

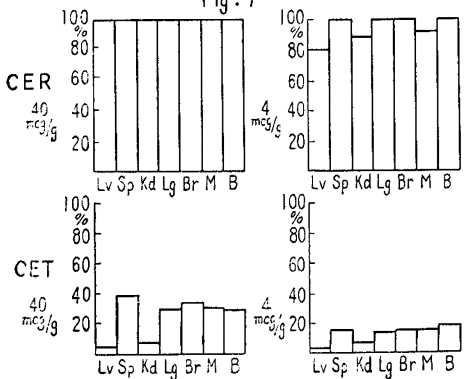


Fig. 8

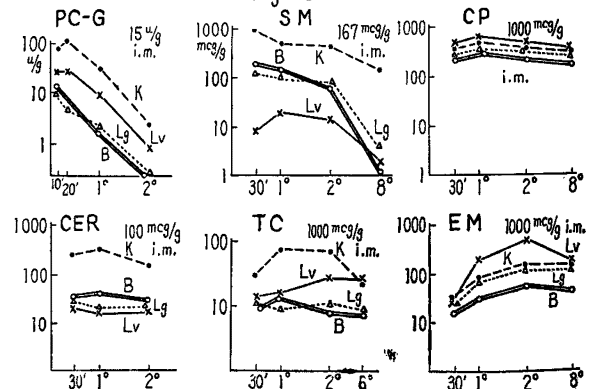


Fig. 9
AB-PC

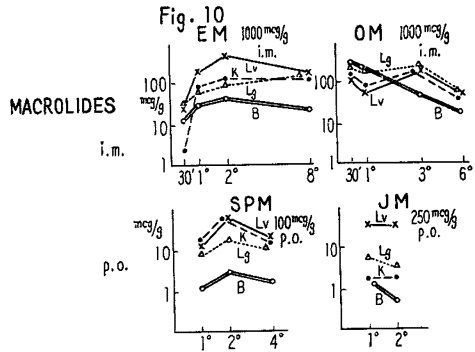
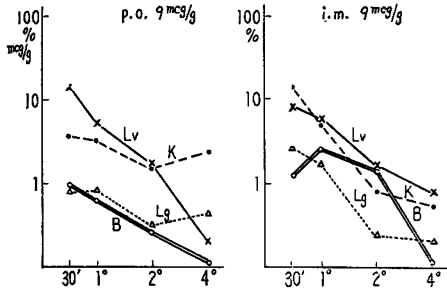


Fig. 11

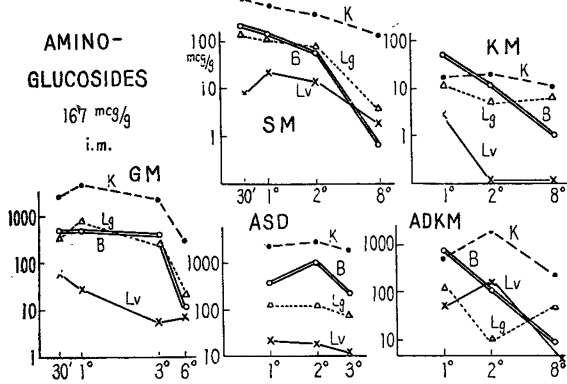


Fig. 12 Schematic Pattern of Antibiotics' Excretion into the Cholodochus Bile
(SM, KM 50 mg/kg CP, TC, EM, 25 mg/kg, CER 2.5 mg/kg, i. v.)

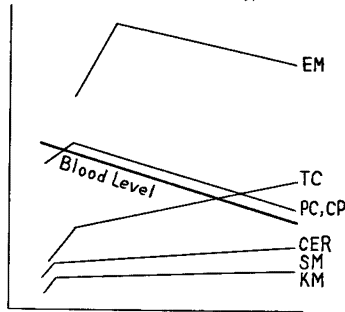


Fig. 13

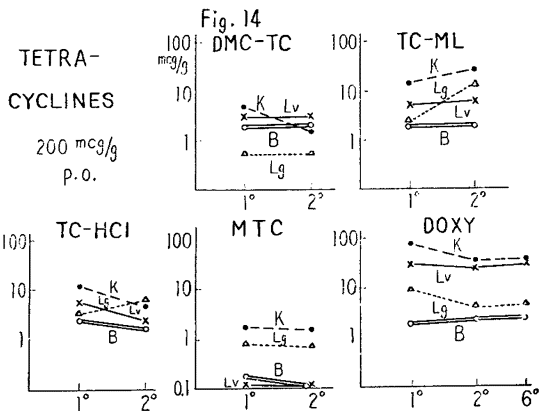
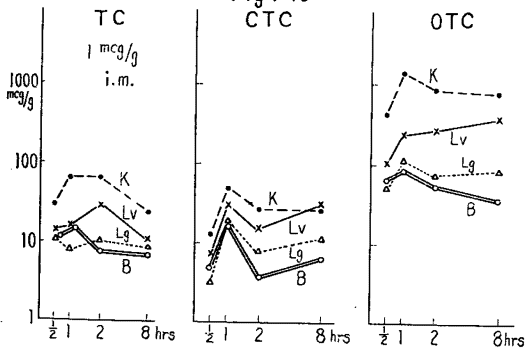


Fig. 15

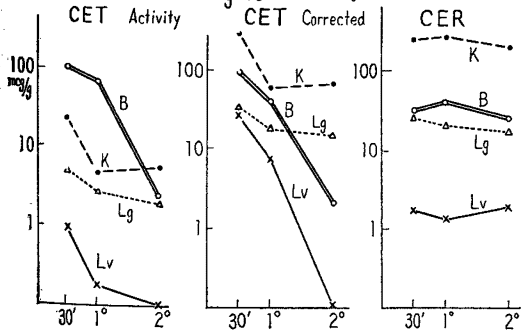
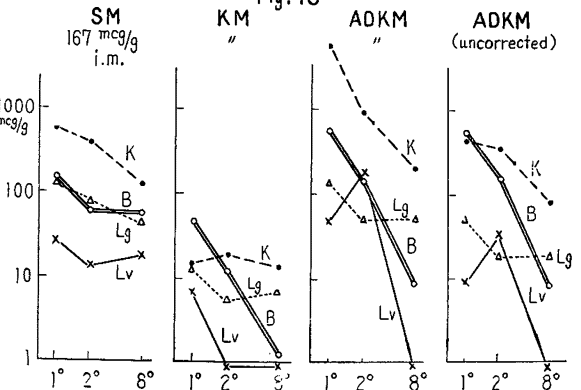


Fig. 16



く、この点、とくに臓器内濃度の測定に適している。

I. 抗生物質の試験管内回収率

Fig. 4 に主要抗生物質の試験管内回収率を示す(略号は PC: Penicillin, SM: Streptomycin, TC: Tetracycline, CP: Chloramphenicol, EM: Erythromycin, KM: Kanamycin, Lv: Liver, Sp: Spleen, K: Kidney, Lg: Lung, Br: Brain, M: Muscle, B: Blood(whole)。それぞれ、添加量 40 または 80 mcg/g のばあいと、その 1/10, すなわち 4 または 8 mcg/g のばあいとを並べて比較してある。図のように、試験管内回収率には抗生物質によつてかなりの差があり、また、臓器による差もみられる。一般的に回収率の高い順にならべると、PC>CP>SM, EM>TC>KM となるが、臓器別では肝からの回収率は一般に低く、血液からの回収は良好である。大量添加のばあいと、小量添加のばあいとをくらべると、小量の方が回収率は低い。

次に同系統の抗生物質について試験管内回収率を比較すると、Fig. 5 は Tetracycline 系で OTC²⁾>TC>CTC³⁾>DOXY³⁾ の順にかなり著明な差がみられ、Fig. 6 の Aminogluco-side 系でも SM>KM>GM⁴⁾, ADKM⁵⁾, ASC⁶⁾ とある程度の差がある。Fig. 7 の Cephalosporin-C 系抗生物質である CER⁷⁾ と CET⁸⁾ との間にははなはだしい差がある。

このように、同系統の抗生物質の間にもその試験管内回収率に著明な差がある。

こういう *in vitro* の不活性化の機序としては次のようなものが考えられる。すなわち、1) 抗生物質が臓器成分によつて代謝ないしは破壊されること、2) 抗生物質が臓器成分に吸着され、または結合すること、3) 臓器成分が測定の過程で影響すること、などの可能性が考えられる。このうち、代謝、破壊については、抗生物質を添加したエマルジョンを冷室内においてるので、その可能性は少ないと思われ、主として 2) と 3)、すなわち、吸着、結合と、測定過程への影響とが主要なものと考えられ、しかもこれら 2つの機序は密接に関連していると思われる。いづれにせよ、こういう不活性化の一部は可逆的 reversible な、あるいは見せかけの活性低下と考えられるので、われわれはこれまで、抗生物質の臓器内濃度を表わすのに、実測値を試験管内回収率で補正するという方法をとつている。

1) Oxytetracycline 2) Chlortetracycline 3) Doxycycline 4) Gentamicin 5) Aminodeoxykanamycin 6) Aminosidine 7) Cephaloridine 8) Cephalothin 9) Aminobenzyl penicillin 10) Spiramycin 11) Josamycin 12) Demethylchlortetracycline 13) Methacycline 14) Tetracycline 1-methylenlysine

II. 臓器別抗生物質分布

Fig. 8 は主要抗生物質をラットに筋注した後の臓器内濃度の時間的推移を示す。図を簡単にするために、腎、肝、肺、血液のみを示してある。一般に、主要排泄臓器である腎、ついで肝にもつとも濃濃が高いが、EM では肝の方が高い。SM と CER では肝の濃度が特に低い。肺の濃度はおおむね血中濃度に近い。図には省略したが、脳は濃度はもつとも低く、Blood Brain Barrier の機能を示している。そのほか、PC-G は経過が早く、CP は臓器間の濃度の差が少ないことが注目される。

臓器別分布には、また投与方法による差があると考えられるが、事実、Fig. 9 に示すように AB-PC⁹⁾ の経口投与のばあい筋注時よりも初期に肝の濃度が高い。

次に、同系統の抗生物質について臓器別分布を比較してみると、Fig. 10 の Macrolide 系^{10), 11)}では上段の筋注、下段の経口投与のいづれのばあいにも肝の濃度が高く、腎の濃度を上廻るか、少なくともそれに近いという共通性がある。Fig. 11 は Aminogluco-side 系で、腎の濃度に比べて肝のそれが著しく低いのが共通している。

これら肝濃度の特性、すなわち Macrolide 系は高く、Aminogluco-side 系は低いという成績は、これら抗生物質の胆汁内排泄の良否と平行する。Fig. 12 は家兎総胆管内胆汁の抗生物質濃度の時間的推移を、同時に測定した血中濃度と対比して模型的に描いたものである。

Fig. 13 は TC 系の TC, CTC, OTC である。腎の濃度をもつとも高く、その他は相前後しているが、濃度の Level は各剤の間にかかなりの差がある。Fig. 14 はその他の TC 系のもの^{12), 13), 14)}を TC と比較した図である。これも順位は同様であるが、Level にはかなり差がある。

Fig. 15 は Cephalosporin-C 誘導体の CET と CER である。前述のように CER は試験管内回収率がほとんど 100% であるが CET は回収率が低い。図の左端は CET の実測値で、血液>腎>肺>肝の順になつていますが、本剤はとくに肝、腎による不活性化が強いので、回収率による補正を行なうと、中央の図のように、腎の濃度は血液より高くなる。しかし、肝の濃度は補正してもなおかつもつとも低い。補正したばあいの臓器濃度順位とその Level とは、右端の図に示す CER のそれとよく一致する。しかし、CER の方が濃度の持続はよい。

Fig. 16 は Aminogluco-side 系のうち SM, KM, ADKM の比較である。ADKM は前述のように SM, KM より試験管内回収率は悪いが、その回収率で補正しなくても(右端の図)その臓器内濃度は KM よりも高い。

以上のように、抗生物質の臓器内濃度は、その時間的経過の高さ、臓器間の濃度差、臓器の濃度順位などにつ

いて、各抗生物質にかなりの特徴がある。そして、同系統の抗生物質は類似の態度を示すばあいが多い。試験管内回収率による補正を行なうべきか否かについてはなお問題があり、これは試験管内不活性化の本態の究明に俟たねばならないが、それまでは必要に応じ補正前の値と補正後の値と両者について検討するのがよからう。少なくとも、各抗生物質の体内分布の特性を抗生物質選択のばあいに考慮する必要があると考える。

抗生物質の体内分布の研究について今後に残された問題としては次のようなものが考えられる。

- 1) 臓器による不活性化の本態
- 2) 動物種属間、あるいはヒトのばあいとの相違
- 3) 病的状態(全身性、局所性)における変化
- 4) 臨床例による裏付け

これらの問題についての研究はすでにその一部は本邦をはじめとして一部の研究者によつて手がつけられているものもあり、本総会でもいくつかの報告がみられた。今後、これらの問題が漸次解明されるにつれ、臨床例についての抗生物質の選択、投与方法、投与量の決定が、さらに十分な根拠の上に行なわれるようになるであろう。

特別講演

化学療法剤の作用機序 a) 抗菌剤

田中 信男

東大・応微研

化学療法の基礎は寄生体と寄主とに対する薬剤の選択毒性にある。抗生物質の微生物に対する直接作用を考えると、抗生物質が細胞内に入る機構、1次作用、2次的変化、細胞が死滅するまでの過程がある。これらの作用機序の研究は分子生物学の進歩と相まつて最近急速に進歩しつつある。抗生物質の抗菌スペクトルは薬剤が細菌の中に入る機構に由来する場合が多いが、寄生体と宿主とに対する選択毒性は抗生物質の1次作用点に起因する場合が多い。本日は選択毒性を中心として、1次作用点に関する研究の最近の進歩について、私どもの研究を中心として述べる。

I. 細胞壁合成阻害

動物細胞の表層はリボ蛋白を主成分とする細胞質膜より成るが、微生物ではさらにその外側に細胞壁という硬い構造がある。細菌の細胞壁の基本構造であるグリコペプチドの生合成を阻害する抗生物質は細菌には作用するが、細胞壁を欠く動物細胞には一般には作用しないので、すぐれた選択毒性を示すものがある。Penicillin-cephalosporin C 類は細胞壁グリコペプチド合成系の最

終段階である glycopeptide transpeptidase および D-alanine carboxypeptidase 反応を阻害する。Bacitracin は lipid pyrophosphate の脱リン酸反応に作用する。Cycloserine の作用点は alanine racemase および D-alanyl-D-alanine synthetase 反応である。

II. 蛋白合成阻害

蛋白合成系は複雑であるが、便宜上いくつかの過程に分けることができる。初期段階であるアミノアシル tRNA の合成反応に作用することが確かな抗生物質は未だ知られていない。リボソームにおける蛋白合成の機構も複雑であり、これに関与する因子や酵素の性質や機能についても十分な知見が得られているとはいえないが、initiation, peptide chain elongation, termination の3つに分けて考えることができる。Streptomycin 類が initiation に作用するという考えが最近提出されているが、実験的根拠は不十分で、現在のところでは、ほとんどの抗菌剤はペプチド鎖の延長 (elongation) に作用するものと考えられる。この過程も複雑なものであるが、(1) アミノアシル tRNA とリボソーム メッセンジャーとの結合、(2) peptidyl transferase 反応、および (3) ペプチジル tRNA の転位反応、の3つの過程がくりかえされることによつて進行すると考えることができる。細胞内でも無細胞系でもこの3つの過程は連続して進行してしまうので、この3つを別々に観察するには、リボソーム、T因子、G因子などを高度に精製し、puromycin 反応なども使つて、いろいろな実験系を組立てることが必要である。

(1) アミノアシル tRNA とリボソームとの結合には非酵素的結合と、T因子と GTP の関与する酵素的結合とがあるが、両者とも tetracycline 類、mikamycin A アミノ配糖体類によつて阻害される。アミノ配糖体類は 30S リボソームに作用し、そのうち streptomycin も kanamycin もともに、23S core のタン白に作用するが、streptomycin の作用するタン白と kanamycin の作用するタン白とは異なることが最近私どもの研究室で明らかにされた。アミノ配糖体類のうち、streptomycin, kanamycin, neomycin, gentamicin は miscoding をおこすが kasugamycin や spectinomycin は miscoding をおこさない。その理由は、前の群は分子中に streptomine あるいは deoxystreptomine をふくむのに対し、後の群はふくまないことにあり、miscoding 活性は deoxystreptomine あるいは streptomine に由来することを私どもは明らかにした。

(2) Peptidyl transferase 反応に作用する抗生物質には chloramphenicol 類、erythromycin 類、mikamycin A および B, puromycin, blasticidin S などが

ある。

(3) ペプチジル tRNA の転位反応はリボソームの A 位に結合しているペプチジル tRNA は puromycin と反応しないが、P 位に結合しているペプチジル tRNA は puromycin と反応することを利用して、G 因子と GTP の存在の有無による puromycin 反応の差を利用してペプチジル tRNA の転位反応を観察する方法を私どもは確立し、fusidic acid 類と bottrömycin がペプチジル tRNA の転位反応に選択的に作用することを明らかにした。また、私どもは fusidic acid 類は G 因子の特異的阻害剤で、リボソーム依存性の G 因子の GTPase 活性を阻害することを見出し、G 因子がペプチジル tRNA の転位反応に関与することを証明した。

Chloramphenicol 類, tetracycline 類, erythromycin 類, streptomycin 類, mikamycin 類などは細菌のリボソームに作用するが、動物のリボソームに対する作用は弱い。動物のリボソームは 80 S であり、細菌のそれは 70 S である。大きさの差異から考えても、両者の構造に相異のあることが推定される。Tetracycline 類や streptomycin 類は 30 S リボソームに作用し、erythromycin 類, chloramphenicol 類, mikamycin 類などは 50 S リボソームに作用する。従がつて、30 S にも 50 S にも選択毒性の場となるタン白があると考えられる。しかしながら、細菌のリボソームに作用するものがすべて優れた選択毒性を示すとはかぎらない。例えば、puromycin や blasticidin S などの aminoacyl nucleoside 類は細菌のリボソームにも動物のリボソームにも作用する。また、phenomycin のように、逆に動物のリボソームに作用し、細菌のリボソームに作用しにくいものもある。

III. 核 酸 合 成 系

Rifamycin 類は DNA をテンプレートとする RNA polymerase 反応に作用し、RNA 合成の initiation を阻止する。細菌の polymerase に作用するが、動物由来の polymerase には作用しないことにその選択毒性の本質が求められる。

IV. 葉 酸 合 成 系

ヒトは葉酸を食物から摂取しているのに対して、多くの細菌は外部の葉酸を利用できないで、自ら合成している。Sulfonamide 剤はパラアミノ安息香酸の拮抗物質として、葉酸合成系に作用するので、多くの細菌の発育を阻害するが、ヒトの細胞には一般には作用しない。

以上、抗菌剤の選択毒性を中心として、1 次作用点について述べたが、この方面の研究は分子生物学の進歩と相まって、今後ますます進歩し、化学療法の基礎が定まると期待される。

特 別 講 演

化学療法剤の作用機序 b) 制がん剤

三 浦 義 彰

千大生化学

制がん剤として用いられている薬剤は、主として次のような作用点をもつものが多い。

- 1) ヌクレオチド合成の阻害剤
- 2) DNA 合成の阻害剤
- 3) RNA 合成の阻害剤
- 4) たんぱく合成の阻害剤

このうちヌクレオチド合成を阻害する抗生物質としては次のものが知られている。

コルジセピン：ATP と拮抗して、R-5-P から PRPP のできる反応を阻害する。

アザセリン, DON：グルタミンと拮抗し FGAM の生成反応を主として阻害する。

ハダジン：アスパラギン酸と拮抗しアデニロサクシネート生成反応を阻害する。

アングストマイシン：GMP 生成反応を阻害する。

ツベルジジン, トヨカマイシン：GDP から dGDPADP から dADP の生成する反応を阻害する。

シヨウドマイシン：ウリジン代謝を阻害する。

DNA の合成を阻害するものは大別して、次のような 2 種に分けられる。

鋳型 DNA に結合して DNA ポリメラーゼの作用を阻害するもの：マイトマイシン, ネオカルチノスタチン, カルチノフィリン, フレオマイシン, プレオマイシン

鋳型 DNA に結合しない阻害剤：サルコマイシン, ハイドロキシウレア, サルコマイシンは-SH 基依存性反応の阻害剤、ハイドロキシウレアはリボヌクレオシドジリン酸レダクターゼの阻害 RNA 合成の阻害剤もまた RNA ポリメラーゼの鋳型 DNA に結合して阻害するものとそうでないものに 2 大別される。

DNA に結合するものはアクリジン色素類, アクチノマイシン, クロモマイシン, エチジウムブロマイドなど、DNA に結合しないものにはストレプトヴァリジンがあり、これは RNA 合成の開始を阻害する。

たんぱく合成の阻害剤としてはペプチジルトランスフェラーゼの阻害剤としてピューロマイシン, スバルソマイシンなどがあり、トランスロカーゼの阻害剤としてシクロヘキシミドがある。またリボソームからペプチドを離すのを阻害するものにはテスアゾニクアジドなどがある。

一般に抗菌剤はテトラサイクリン, クロロアンフェニ