

Doxycycline (α -6-Deoxy-5-oxytetracycline) の基礎および臨床的研究

真下啓明 加藤康道 富沢磨須美 斎藤 玲 桜庭喬匠

松本義孝・田中一志 松井克彦 小島愛司 近 祐弘

北海道大学医学部第二内科

一 島 喜 明

伊達日赤病院内科

あたらしく合成された α -6-Deoxy-5-oxytetracycline (Doxycycline, 以下 DOTC と略) について以下の検討をおこなったので報告する。

I. 実験方法ならびに実験成績

1) 黄色ブドウ球菌に対する抗菌力

当科保存の患者より分離された黄色ブドウ球菌 60 株をもちい、Heart infusion agar による平板希釈法で Doxycycline (DOTC), Demethylchlortetracycline (DMCT) および Tetracycline (TC) の最小阻止濃度を検討した。各抗生剤の濃度段階は 100 mcg/ml より 2 倍希釈で 0.1 mcg/ml までとし、菌液は Trypto soy broth 18 時間培養のものを 1 白金耳接種し、16~18 時間 37°C に放置して肉眼的集落発生の有無で判定した。結果は Table 1 のように、いずれも 2 峰性の感受性分布をしめすが、DOTC では 0.8 mcg/ml と 25~50 mcg/ml の部分にピークが認められる。しかし、DMCT および TC では 0.8~1.6 mcg/ml に 1 つのピークがあるが、高い部分のピークは 100 mcg/ml 以上の部分にあると考えられる。100 mcg/ml でも阻止されない株は DOTC, DMCT および TC ではそれぞれ 1/60, 29/60 および 21/60 であった。

この結果をもちいて、相関図で交叉耐性の有無を検討した。Fig. 1, 2 のように DOTC と TC の間、DOTC と DMCT の間には $r = 0.950$ ($P < 0.01$) および $r = 0.953$ ($P < 0.01$) で相関があり、したがって交叉耐性が成立する。

Table 1 Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to three tetracyclines (60 strains)

	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.3	12.5	25	50	mcg/ml	
										100	>100
DOTC		5	13	6	1	1	4	12	15	2	1
DMCT			8	13	2	1			1	6	29
TC		7	7	8	3				2	12	21

2) 吸収、排泄および体内分布

i) 測定法の相違による差

ヒトに 200 mg 経口投与した場合の血中濃度を溶連菌 S-8 株を用いる重層法と、*Bacillus cereus var. mycoides* 株を用いる薄層カップ法により別々に測定した。この場合試料は希釈せずそのまま測定した。またカップ法での接種菌量は標準法の約 4 倍を用いた以外、すべて標準法に準じておこなった。標準曲線は pH 7.2 の BSS に溶解したものを同様に測定して作製した。結果は Table 2, Fig. 3 のとおり両者の測定値はほぼ平行している。しかしながら一般にカップ法での測定値は重層法でのそれに較べ低かった。

ii) ヒトに 200 mg 経口投与後の血中濃度と尿中排泄

腎障害のない 7 症例に DOTC 200 mg 経口投与後 24 時間まで採血し、また蓄尿してその一部を測定した。抗菌力の測定は以下すべて溶連菌による重層法でおこなった。Table 3 のように血中濃度のピークは 4 時間目にあつて平均 2.5 mcg/ml、以後次第に低下するが 24 時間目にも 0.4 mcg/ml をしめた。しかし症例によりかなり数値のばらつきがみられた。尿中排泄量も同様に個人差が大きいが、平均して 24 時間内に 30 mg が排泄された。これは投与量の 15% にあたる。

iii) イヌに静注後の血中濃度、尿中および胆汁中排泄

チオペンタール Na 麻酔下に開腹し、総胆管と膀胱にカテーテルを挿入したイヌに、5 mg/kg の DOTC 静注後 8 時間まで採血し、同時に尿および胆汁を採取して BSS で 10 倍に希釈し、測定した。なお胆汁中濃度の測定には BSS で 10 倍に希釈したイヌ胆汁で標準曲線を作製した。結果は血中濃度は平均 1 時間目 3.0, 2 時間目 2.4, 4 時間目 1.8, 8 時間目 1.1 mcg/ml であり、尿中濃度は 20~80 mcg/ml、胆汁中濃度は 5~14 mcg/ml 程度である。これらの

Fig. 1 Correlogram between susceptibility of *staphylococci* to DOTC and those to DMCT ($r=0.953$) ($P<0.01$)

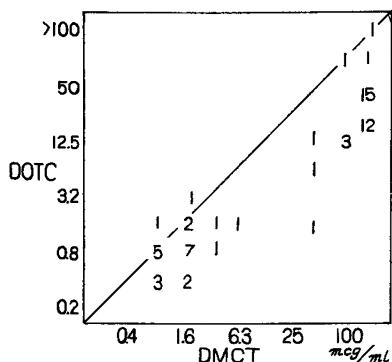
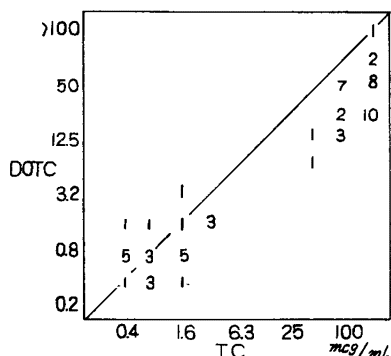


Fig. 2 Correlogram between susceptibility of *staphylococci* to DOTC and those to tetracycline ($r=0.950$) ($P<0.01$)



結果から Table 4 のように血中濃度曲線の各因子を求め、尿中胆汁中回収量を計算した。さらに血中半減時間、血清、腎および胆汁クリアランス値ならびに各減少率をもとめ¹⁾、PRM-TC²⁾と比較した (Table 5)。血中半減時間は平均 7 時間で著しい延長をしめす。血清クリアランス値も PRM-TC の約 1/4 であるが、腎クリアランス値はやや大きく、胆汁からのそれは PRM-TC が大きい。これを減少率であらわすと、腎からのそれは両者ともほぼ等しく、胆汁からの減少率は PRM-TC の約 1/10 である。血清からの減少率 K_s から腎および胆汁からの減少率 K_r , K_b を差引いた値 ($K_s - K_r - K_b$) は体内で代謝その他によって不活化される率をしめすと考えられるが、DOTC ではその値は約 7%, PRM-TC では約 37% であり、これは DOTC が体内で比較的安定であ

Table 2 Blood level of doxycycline in human subjects (200 mg p.o.)

Cup plate method

Test organism: *B. cereus* var. *mycoides*

Case	2	4	6	8	12	24 hr
1	1.4	3.0	1.2	1.0	0.6	(mcg/ml)
2	2.2	3.6	1.2	1.0	1.2	0.8
3	2.5	1.4	1.0	1.0	0.6	0.4

Vertical method

Test organism: *Str. hemolyticus* S-8

Case	2	4	6	8	12	24 hr
1	2.8	4.0	2.2	1.2	1.0	(mcg/ml)
2	2.4	4.2	2.5	2.2	2.0	1.0
3	3.0	2.0	1.3	1.6	1.2	0.2

Fig. 3 Difference between vertical method and cup plate method

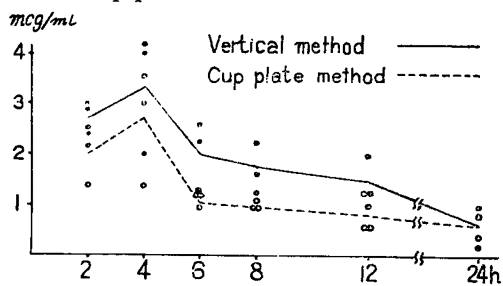


Table 3 Blood level and urinary recovery of doxycycline following single 200 mg oral dose (7 subjects)

Blood level	2	4	6	8	12	24 hr
	2.10	2.49	1.59	1.40	0.98	0.44
	(3.0~ 0.7)	(4.2~ 1.0)	(2.5~ 0.7)	(2.2~ 0.7)	(2.0~ 0.4)	(1.0~ 0.2)
Urinary recovery in 24 hours	30.01 mg		15.0%			
	(67.6~8.6)					

ることをしめす。したがって DOTC の血中半減期が長いのは体内で不活性化される割合が少なく、しかも腎および胆汁からの排泄率が小さいためであると考えられる。分布容積は両者とも約 2 L/kg であり、組織内移行率の高いことをしめす。

3) 血清蛋白との結合および金属イオンによる影響

- i) セロファン嚢による透析法で内液を BSS (pH 7.2) 稀釈 50% ウシ血清、外液を DOTC, DMCT

Table 4

Dog No	B. W.	femoral vein Co m		Volume of distribution	Urinary recovery	Biliary recovery
	(kg)	(mcg/ml)		(L)	(mg)	(mg)
1	8.0	2.5	0.05	2.0	8.2 (20%)	0.09
2	9.0	2.6	0.035	1.9	6.3 (19%)	0.06

Table 5

	Half-life (hr)	Cs (ml/min)	Cr	Cb	Ks (per cent)	Kr	Kb	D.V. (L)
DOTC	7.0	28.6	9.2	0.08	11	3.0	0.04	2.0
PRM-TC	2.0	102	5.0	0.2	40	2.0	0.4	1.8

および TC の 100 mcg/ml, および 10 mcg/ml BSS 溶液 (pH 7.2) とし, 4°C で 96 時間透析したのち, 外液の抗生剤濃度を測定した。この値から各結合率を求めた。結果は Table 6 のように, 抗生剤濃度の低い場合に結合率が高かったが, DOTC では 40~31%, DMCT 38~35%, TC では 30~25% の値をしめした。

ii) 数種類の金属塩溶液中の DOTC, DMCT および TC の力価の減少をしらべた。AlCl₃, FeCl₃, FeSO₄, CaCl₂, MgSO₄ の各 1 mM 溶液と, DOTC, DMCT および TC の各 1 mM 溶液を等量混合し, 37°C 1 時間放置後, その上清の抗菌力を測定した。予備実験としてこれら金属塩の 1 mM 溶液が阻止帯におよぼす影響をしらべたが, 阻止帯は生じなかった。

結果は Table 7 のように, TC および DMCT ではとくに Fe⁺⁺⁺ および Fe⁺⁺ で力価の減少がみられたが, DOTC では力価の減少が少なかった。

4) 各種感染症に対する治療効果

31 例の感染症に DOTC を投与してその効果をしらべた。症例のうちわけは呼吸器感染症 15 例, 尿路感染症 9 例, 胆道感染症 4 例, その他 4 例である。投与量は原則として初回 200 mg, 以後 24 時間ごとに 100 mg を食後に投与したが, 200 mg を 24 時間ごとに投与した例もある。呼吸器感染症では肺炎 7 例, 肺化膿症 3 例, 気管支炎 5 例であり, 原因菌としては疑問のある菌の検出された症例もあるが, 他の検査所見を参考にして効果を判定した。また尿路感染症および胆のう炎ではいずれも 10⁶/ml 以上に菌を証明し, またその他の疾患も原因菌と考えられる菌を検出した。結果は Table 8, 9 にしめすごとくである。肺炎では有効 4/7, 軽快 1/7, 無効 2/7 であった。この無効例は Y. K. 例, K. O. 例のように悪性腫瘍などの基礎疾患のためと考えられる。気管支炎に対しては有効例が多かった。呼吸器感染症全例では 11/15

Table 6 Protein binding of tetracyclines to bovine serum (50% Bovine serum)

	TC	DMCT	DOTC
10 mcg/ml	30%	38%	40%
100 mcg/ml	25%	35%	31%

Cellophane bag dialysis, 4°C, 96 hours

Table 7 Influence of metal ions on antibacterial activity of tetracyclines (1.0 mM + metal 1.0 mM, 1 hr incubation)

	DOTC	DMCT	TC
Al ⁺⁺⁺	0.7	1.0	0.8
Fe ⁺⁺	0.8	0.5	0.4
Fe ⁺⁺⁺	0.8	0.5	0.5
Ca ⁺⁺	0.9	1.0	0.7
Mg ⁺⁺	0.9	0.7	0.7
Control	1.0	1.0	1.0

が有効で, 軽快 2/15, 無効 2/15 であった。尿路感染症に対しても, 腎盂腎炎ではいずれも有効であったが, 糖尿病, 半身麻痺などに合併した尿路感染症では他の抗生剤と同様に効果は劣るとの印象をうけた。尿路感染症の効果は有効 6/9, 軽快 2/9, 無効 1/9 である。また 4 例の胆道感染症に対しては有効 3/4, 軽快 1/4 であった。

全症例を通じて有効 23/31, 軽快 5/31, 無効 3/31 となり, 無効例は少なく, 有効率は 74% となった。副作用としては, 肝および腎障害は認められていないが, 200 mg 連日投与で嘔気を訴えたものが 2/8, 初回 200 mg, 以後 100 mg 投与で食思不振のみられたものが 2/23 であった。このうち K. I. 例は投与を中止し, T. S. 例は 100 mg に減量後自覚症状は消失した。

II. 考案と総括

DOTC の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力はすぐれており, とくに TC および DMCT 高度耐性菌に対しても DOTC は抗菌力がやや強いと考えられる。しかし, この両者に対しては交叉耐性が成立すると考えられる。大腸菌, 赤痢菌などに対してはしかしながらその抗菌力は TC と大差がないとのことである。また吸収, 排泄をヒトで検討すると, 200 mg 経口投与では血中濃度は 4 時間目にピークがあり, また半減時間はいちじるしく長い。しかし尿中排泄量は少ない。報告でも 24 時間までの回収率は 33.7% 程度とのことである。この場合, 重層法ではカップ法にくらべ, 高目の血中濃度が測定された。

Table 8 Respiratory infection

	Age Sex	Diagnosis	Bacteriol. findings	Days	Effect		
F. Y.	44 ♀	Chr. bronchitis	<i>γ-Strepto., Neisseria</i>	18	±	with KM	
K. K.	20 ♂	Broncho-pneumonia	<i>α-Strepto., G (+) cocci</i>	14	++		
K. N.	51 ♀	Chr. bronchitis	<i>α-Strepto., Neisseria</i>	28	+		
Y. K.	65 ♂	Pneumonia (Lung cancer)	<i>α-Strepto., E. coli</i>	8	-		
S. T.	58 ♂	Lung abscess	G (-) cocci	14	++		
N. Y.	32 ♀	Infection of lung		200 mg ×26	+		
T. Y.	54 ♀	Lung abscess		23	+		
K. O.	52 ♀	Pneumonia (HODGKINS d.)	<i>Cloaca</i>	200 mg ×14	-		
T. O.	81 ♂	Acute pneumonia	<i>Pneumococ., Staph. aur.</i>	12	±		
T. Y.	34 ♂	Bronchitis	<i>Neisseria</i>	10	+		
T. M.	40 ♀	"	<i>α-Strepto., Neisseria</i>	12	++		
H. T.	25 ♂	Acute bronchitis		6	++		
M. T.	14 ♂	Acute pneumonia	<i>Strepto., Neisseria</i>	8	+		anorexia
T. S.	38 ♂	Broncho-pneumonia		200mg×5 100mg×9	++		nausea
F. K.	43 ♀	"		200mg×2 100mg×14	++		

Table 9 U. T. I. and other infections

	Age Sex	Diagnosis	Bacteriol. findings	Days	Effect		
K. W.	24 ♀	U. T. I. (D. M.)	<i>Citrobacter, E. coli</i>	8 12	-	nausea	
Y. O.	54 ♂	U. T. I.	<i>E. coli</i>	200mg×7	+		
S. S.	77 ♂	U. T. I.	<i>E. coli</i>	200mg×18	±		
H. S.	57 ♀	Pyelonephritis	G (-) rod	200mg×14	++		
K. I.	21 ♀	Acute cystitis	G (-) rod	200mg×4	+		
H. O.	60 ♀	U. T. I.	<i>E. coli</i>	7	+		
K. K.	44 ♀	Pyelonephritis	<i>E. coli</i>	19	++		
J. U.	17 ♀	Cholecystitis	G (-) rod	22	+		
Y. I.	33 ♂	Pericarditis		19	+		
Y. U.	24 ♀	Acute tonsillitis	<i>Strepto., Staphylo.</i>	11	++		
T. O.	32 ♂	"	<i>α-Strepto.</i>	6	++		anorexia
H. O.	68 ♀	Acute cystitis	<i>E. coli</i>	10	+		
T. K.	54 ♀	Pyelonephritis, Sepsis ?	<i>Proteus</i>	5	±		
H. F.	22 ♀	Cholecystitis chronica	G (-) rod	14 7	±		
M. S.	53 ♀	Cholecystitis acuta	no B in bile	28	++		
F. O.	26 ♀	Cholecystitis acuta	G (-) rod	9	+		

イヌに静注した場合その血中半減時間は長く、尿および胆汁への排泄率は低い。また体内で比較的安定であると考えられる。これは投与回数を減少し、また投与量を減らしうると共に、排泄臓器の障害がある場合には体内に蓄積をおこしやすいと考えられる。分布容積も大きく、組織移行率が大きであると考えられる。

蛋白との結合率はセロファン囊による透析法では40~31%程度であり、TCおよびDMCTにくらべやや高い値をしめした。

Tetracycline 諸剤は金属イオンとの結合により、その抗菌力に影響をうけることが知られている。数種の金属イオンによる抗菌力の低下を測定したところ、DMCT

および TC ではとくに Fe^{++} , Fe^{+++} で影響がみられたが, DOTC ではこの傾向が少なかった。この抗菌力に対する影響が, 抗菌作用機序といかなる関係にあるかは今後検討を要する。

31 例の各種感染例に対する効果をみたところ, 有効 23/31, 軽快 5/31, 無効 3/31 の成績をえた。

この無効例は悪性腫瘍などの基礎疾患をもつた肺炎, 糖尿病に合併した尿路感染であり, 他の抗生剤によつても治療困難な症例であると考え。副作用として嘔気, 食思不振などが少数例にみとめられた。200 mg 連日投与のほうが副作用発現率が高く, しかも 100 mg 投与にくらべて有効率は増加しないとのことであり³⁾, 本研究でも初日 200 mg, 以後 100 mg 投与で充分であるとの印象をうけた。

III. 結 語

1) DOTC はブドウ球菌に対して TC, DMCT より抗菌力がすぐれているが, これらと交叉耐性をしめす。

2) ヒトに 200 mg 経口投与後, 血中濃度は平均 2.5 mcg/ml のピークをしめし, 長時間持続する。尿中回収率は低い。測定法によりやや差がみられる。

3) イヌに静注した場合, 血中半減期は 7 時間で, 尿および胆汁への排泄率は低い。分布容積は大きく, 体内で安定であると考えられる。

4) 蛋白結合率は TC, DMCT と同程度であり, 金属イオンによる影響は少ない。

5) 31 例の感染症に対し有効率 74% の成績をえた。少数例に胃腸症状などの副作用がみとめられた。

〔付〕

上記研究に引きつづき, Doxycycline の肝および腎機能, さらに造血器に対する影響を検討した。11 例の各種感染症に DOTC を初日 200 mg, 以後 10 日間以上連続投与し, 投与前後および投与中の肝機能 (S-GOT, GPT, AL-P, ビリルビン値), 腎機能 (尿蛋白, 糖, ウロビリノーゲン, 沈渣, 血清尿素窒素およびクレアチニン値), 血球検査 (赤白血球数, ヘモグロビン値, 白血球分類) を施行した。その結果, 血球検査および尿検査では投与前後を通じ全症例に特記すべき異常はみとめられなかった。肝機能検査では, 胆のう炎の 1 例で投与中 S-GOT, GPT 値の軽度上昇をみとめたが, この例では投与時黄疸増強中であり, 同時に AL-P の著明な上昇をもみているので, おそらく原疾患の増悪によるものではないかと考える。また急性肝炎の経過中に扁桃炎を併発した例では, DOTC 投与前の肝機能では S-GOT, GPT, AL-P の著明な上昇を認めていたが, 投与中むしろ正常化をしめし, 投与後トランスアミナーゼ値は全く正常となつた。

その他に認むべき副作用はみられなかった。以上 11 例を通じ, 直接 DOTC に帰する副作用はなかつたと考える。

文 献

- 1) 加藤康道, 他: Chemotherapy 12 (6): 469~470, 1964
- 2) 千秋 肇: Chemotherapy 15 (5): 593~601, 1967
- 3) 第 16 回日本化学療法学会総会シンポジウム ドキシサイクリン, 1968

CLINICAL AND LABORATORY STUDIES ON DOXYCYCLINE

KEIMEI MASHIMO, YASUMICHI KATO, MASUMI TOMIZAWA,
AKIRA SAITO, TAKANORI SAKURABA, YOSHITAKA MATSUMOTO,
KAZUSHI TANAKA, KATSUHIKO MATSUI, AII KOJIMA & SUKEHIRO KON
Second Department of Medicine, Hokkaido University School of Medicine

KAZUAKI ICHISHIMA

Department of Medicine, Date Red Cross Hospital

1) In the susceptibility test of 60 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from patients using plate dilution method, 24 strains were inhibited by 1.6 mcg/ml of doxycycline and 57 strains by 50 mcg/ml. Doxycycline was found to be more active for the strains resistant to tetracycline and demethylchlortetracycline. These tetracyclines were found to have cross-resistance with each other.

2) In absorption and excretion study in human subjects, following 200 mg oral administration a sustained blood level and low urinary output (15 % of dose in 24 hours) were observed. Cup plate method produced lower values than those with vertical method in the determination of blood concentration.

3) Urinary and biliary excretion and distribution study following 5 mg/kg intravascular dose in dogs were carried out. Biliary excretion was much less than urinary excretion. Values calculated from the study are as follows: half-life 7.0 hours, renal and biliary clearance 1.1 and 0.01 ml/min/kg, volume of distribution 2.0 L/kg, and rates of removal from kidney and bile 3 % and 0.04 % respectively.

The data seems to indicate a slower removal and/or inactivation of doxycycline in body tissue.

4) In protein binding study with bovine serum, the binding rate of doxycycline, tetracycline and demethylchlortetracycline were found to be 40~31 %, 30~25 % and 38~35 % respectively.

5) The study on the chelating action of tetracyclines with Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{++} , Fe^{+++} and Al^{+++} ions were carried out. The activity of doxycycline seems to be less influenced by these metals than other tetracyclines.

6) In clinical observation of 31 cases with respiratory and other infections, treatment with doxycycline (initial 200 mg, successive 100 mg daily dose in most of patients) showed excellent or good results for 23 cases, fair for 5, and poor for 3. The side-effects of 2 cases with nausea and 2 cases with anorexia were observed.