

Doxycycline にかんする研究

上田 泰・松本文夫 中村 昇・斎藤 篤 野田 一雄
 嶋田甚五郎 大森 雅久・古屋千鶴子・鈴木 孝雄 橋本 隆男
 山縣 正夫 中村 喜典
 東京慈恵会医科大学上田内科

I. はじめに

Doxycycline(α -6-Deoxyoxytetracycline, 以下 DOTC と略)は, 1962年 SCHACH VON WITTENAU らによつて Methacycline (以下 MOTC と略)の hydrogenation に より合成された Tetracycline 剤である。

今回, われわれはこの DOTC について 基礎的ならびに臨床的検討を行なつたので, その成績を報告する。

II. 病巣分離菌の DOTC に対する感受性

1) 測定法

病巣由来 Coagulase 陽性ブドウ球菌 および大腸菌 各 32 株の DOTC に対する感受性分布を平板稀釈法により測定した。すなわち Trypto-soy broth で 24 時間 増菌培養した原液 1 白金耳 (内径 1.0 mm) を pH 7.2 の 普通寒天平板培地上に 画線塗抹にて 接種した。同時に MOTC, Tetracycline (以下 TC と略) に対する感受性測定も併せて行ない比較検討した。

2) 成績

Coagulase 陽性ブドウ球菌の感受性分布は表 1, 図 1 に示すごとくで, 0.8 mcg/ml(31.3%), 25 mcg/ml(21.9%) に peak を有し他の TC 系薬剤と同様 2 峯性を示すが, 50 mcg/ml またはそれ以下で全株の発育を阻止し, 特に MOTC, TC 高度耐性株 に対しても 稀釈系列で 2 段階程度すぐれた感受性を示した。

大腸菌の感受性分布は表 2, 図 2 のごとくで, 0.8~100 mcg/ml またはそれ以上にあり, MOTC, TC と類似の pattern を示した。

図 1 Susceptibility of coagulase-positive staphylococci to doxycycline

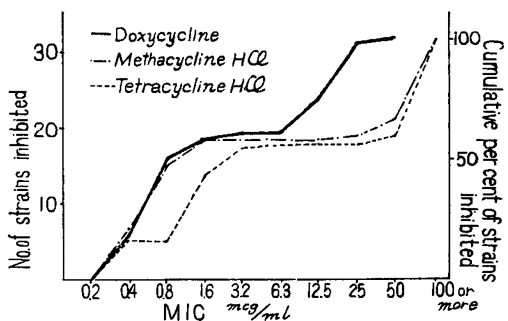


図 2 Susceptibility of Escherichia coli to doxycycline

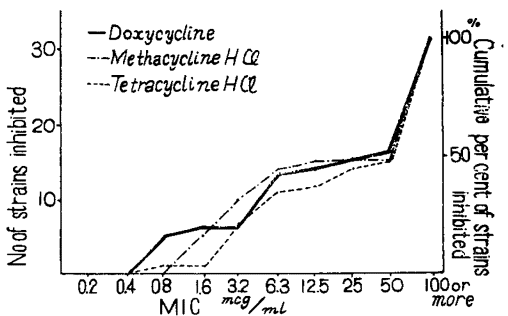


表 1 Susceptibility of coagulase-positive staphylococci to doxycycline (32 strains)

	MIC (mcg/ml)									
	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.3	12.5	25	50	100 or more
Doxycycline		6	10	2	1		5	7	1	
Methacycline HCl		7	8	3				1	2	11
Tetracycline HCl		5		9	3	1			1	13

表2 Susceptibility of *Escherichia coli* to doxycycline

(32 strains)

	MIC (mcg/ml)									
	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.3	12.5	25	50	100 or more
Doxycycline			5	1		7	1	1	1	16
Methacycline HCl				5	5	4	1			17
Tetracycline HCl			1		6	4	1	2	1	17

III. 血 中 濃 度

1) 測定法

(1) 健常成人の場合

5例を対象に DOTC 200 mg, 1回 経口投与後 1, 2, 4, 8 および 24 時間の血中濃度を測定した。ついで 4例に本剤を初日 200 mg, 第2日目以降 100 mg を, それぞれ 1日 1回 経口投与した際の血中濃度を, 初回投与後 6, 24, 30, 48, 54 および 96 時間にわたり測定した。測定は検定菌に溶連菌 S 8 株を用いた重層法によった。

(2) 腎障害患者の場合

GFR 10 ml/min 以下の慢性腎不全患者に本剤 200 mg を 1回 経口投与し, 投与後 1, 6, 12, 24 および 48 時間後に採血して健常成人におけると同様な方法で血中濃度を測定した。

2) 成績

(1) 健常成人の場合

本剤 200 mg, 1回投与による血中濃度の平均は図3に示すごとくで, 投与後6時間で peak 値 1.13 mcg/ml に達し, 以後漸減しながらも 24 時間後に 0.33 mcg/ml と比較的高値を示した。なお, 本剤の half-life は 13.4 時間である。

連続投与時の血中濃度の平均は 図4 のごとくで, 1日 1回の投与で低いところの値でも少なくとも 0.30 mcg

図3 Serum levels of doxycycline in healthy adults (single dose study)

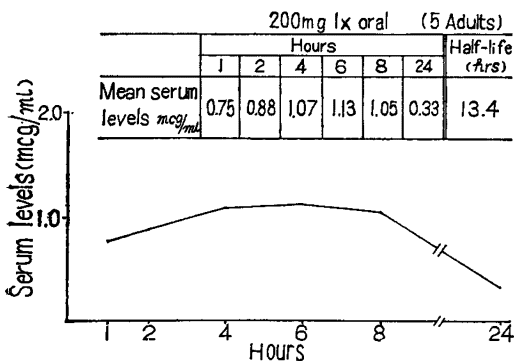


図4 Serum levels of doxycycline in healthy adults (multiple dose study)

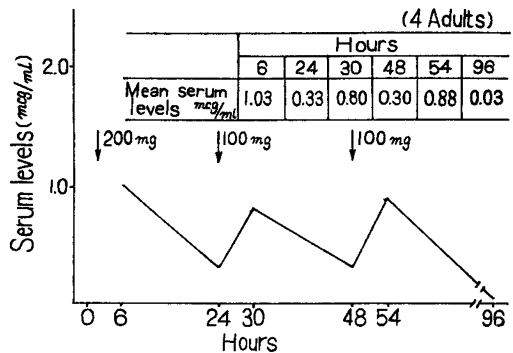
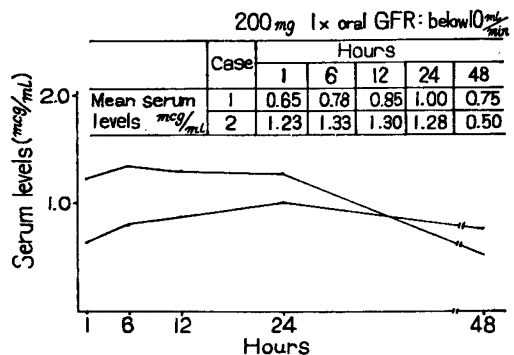


図5 Serum levels of doxycycline in uremic patients (single dose study)



/ml はえられた。一方, 本剤には蓄積作用の傾向は認められなかった。

(2) 腎障害患者の場合

図5に示すごとく, 投与後 48 時間でも 0.50, 0.75 mcg/ml が血中に証明され, 健常人と比較して明らかに長時間高濃度を維持した。この成績は連続投与によつて本剤が蓄積することを示唆する。

IV. 臓器内濃度

1) 測定法

体重 20 g 前後の dd 系 mouse に DOTC および Oxy-tetracycline (以下 OTC と略) 各 30 mg/kg を 1回 静脈

内投与し、注射後 30 分, 1, 2, 4 および 8 時間 (但し, OTC では 4 時間まで) に、それぞれ 3 匹を 1 群として断頭瀉血後、肺、肝、腎、脾、心、腸の 6 臓器を実験に用いた。

測定は各臓器に 4 倍量の pH 7.2 磷酸緩衝液を加えて homogenize し、その上清を用いて血中濃度と同じ生物学的方法で測定を行なった。

2) 成績

図 6, 7 に示すごとく、両剤ともに肝、腎は他臓器にくらべ遙かに高濃度を示したが、その程度は DOTC で特に著明であつた。両剤の比較では、DOTC は OTC に比して peak までの時間が遅延し、かつ消失時間の延長が著明に認められた。

図 6 Tissue levels of doxycycline

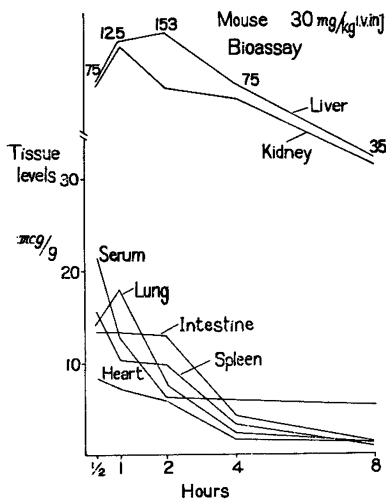
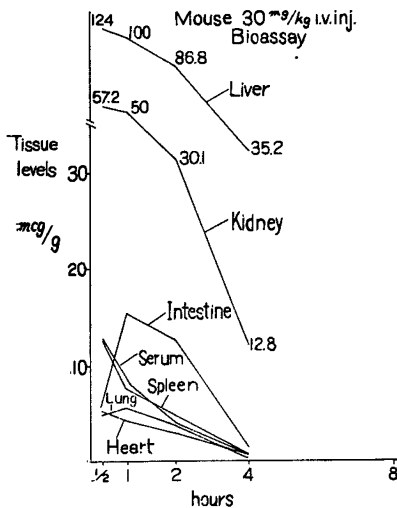


図 7 Tissue levels of oxytetracycline



V. 発蛍光能を応用した DOTC の体内分布

従来より TC 系薬剤には発蛍光能が認められており、この特性が TC 系薬剤の定量、体内分布、癌細胞の検出、変性組織の認知ならびに骨代謝の検討などに広く応用されている。

DOTC もある条件下で黄緑色の蛍光を発するので、われわれはこの発蛍光能を tracer として本剤の体内動態を検討した。この検討方法は生物学的方法などでは測定しにくい臓器や組織への分布ならびに局在が具体的に把握できる利点がある。

1) *In vitro* における DOTC の蛍光特性

(1) 最大吸収波長の測定

(i) 測定法

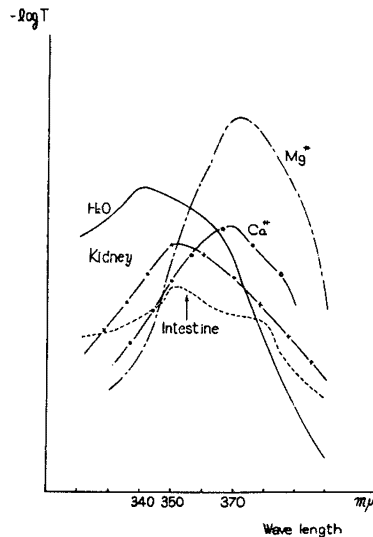
DOTC の最大吸収波長を分光光度計 (日立) を用いて下記溶液について測定した。

① DOTC 20 mcg/ml の水溶液, ② pH 8.0 の 0.1% CaCl₂ および 0.1% MgCl₂ 溶液に DOTC を加え、その濃度を 20 mcg/ml とした溶液, ③ 腎、肝および小腸の各臓器を homogenize し、これに 20 mcg/ml の割合で DOTC を加え、混和後 30 分に 3000 回転、10 分間遠沈した上清。

(ii) 成績

図 8 に示すごとく、DOTC の最大吸収波長は水溶液で 340 mμ であるが、陽 ion の存在、臓器 homogenate の上清によつて移動がみられた。

図 8 Absorbance spectrum of doxycycline



(2) 螢光の強さの測定

(i) 測定法

DOTCの螢光の強さを Uranin 1 ppm を standard とし、530 m μ の螢光波長を螢光分光光度計(東京光電)を用いて下記条件下で測定した。

① pH 4.0~8.0におけるDOTC 50 mcg/mlの水溶液,
② pH 4.0~8.0におけるDOTC 50 mcg/mlの0.1% CaCl₂, 0.1% MgCl₂溶液, ③ pH 6.0~9.0におけるDOTC 50 mcg/mlの磷酸緩衝溶液。

(ii) 成績

図9にみられるように、pHの変化および各種陽ionの存在でかなりの影響を受ける。

すなわちCa⁺⁺およびMg⁺⁺の存在について強い螢光が発現し、磷酸緩衝液中ではalkali領域で螢光が増強される。水溶液中では、いかなるpH領域でも螢光が殆んど認められない。

2) *In vivo* (mouse) によるDOTCの体内分布

(1) 実験法

日令40~60日で体重20g前後のdd系mouseの雄を使い、DOTC 30 mg/kgを1回静脈内および経口投与し、両群とも投与後30分、1, 2, 4, 8および16時間と経時的にULLBERGの方法に準じてwhole body sectionを、また断頭瀉血後各臓器を摘出し、dry ice acetoneで凍結後cryostat中で凍結切片を作製して螢光法で観察した。

図9 Fluorescent intensity of doxycycline 50 mcg/ml

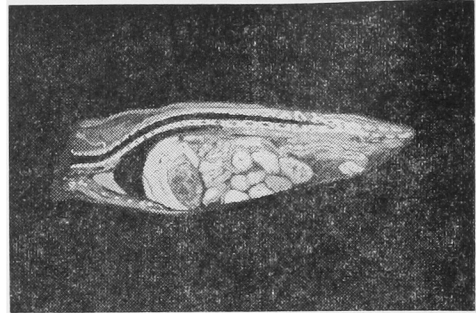
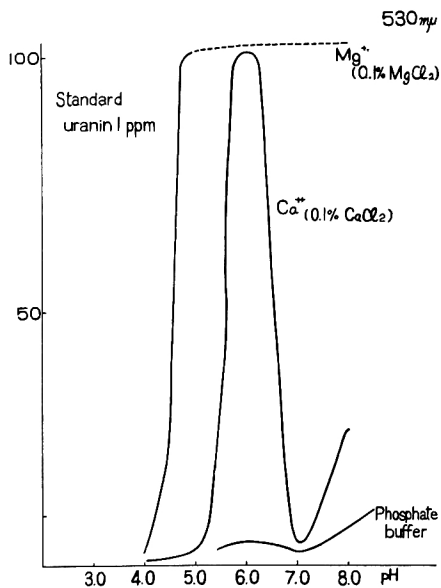


写真1 Mouse, whole body sectionの螢光写真 (DOTC 30 mg/kg 1回 静注後30分) 脊椎, 肝および消化管粘膜に特異螢光が認められる。

(2) 成績

DOTCの静脈内投与後30分のmouseのwhole body sectionを観察すると腎では皮髄境界部、肝では臓器全般に、胃、小腸、大腸、盲腸などの各消化管では粘膜に黄緑色の特異螢光を認め、4時間後まで同様の観察ができた。以後その特異螢光は次第に消退し、8時間後には上記部位から消失した。

なお肺、心筋、脳、脊髄、骨格筋には終始特異螢光は認められなかつた。骨Caとのchelateと考えられる骨での特異螢光は投与後30分ですでに鮮明に観察され、16時間後も全く消退せずに持続しており、本剤の骨沈着は無視できない。

本剤の局在をmicro sectionにて観察すると、腎では尿管管上皮に特異螢光が認められる。

肝では実質細胞に、消化管では各腺上皮に特異螢光が認められ、特に胃腺上皮でのそれは強く、経口投与群でも投与後30分より1~2時間後にその所見が強かつた。この所見から本剤は胃腺からの分泌が考えられる。

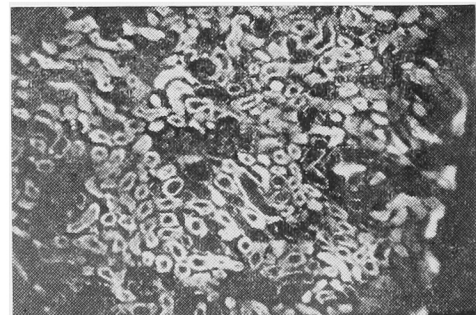


写真2 Mouse 腎皮質部の螢光顕微鏡所見 (DOTC 30 mg/kg 1回 静注後30分) 尿管管上皮に特異螢光がみられるが糸球体の陰影は欠損している。

表3 Clinical effects of doxycycline

Group I

(less than 200 mg/day)

Case	Age, Sex	Clinical diagnosis	Organisms	Administration			Results	Side effects
				Dose mg/day	Duration	Total		
1. S. A.	42 ♀	Angina lacunar	<i>Strept. virid.</i>	第1日 200 第2日以降100	5 days	600mg	+	-
2. N. T.	46 ♂	"	<i>Staph. aureus</i>	"	4	500	++	-
3. M. K.	48 ♀	"	"	"	4	500	+	+
4. A. N.	23 ♀	Acute bronchitis	<i>Strept. virid.</i>	"	4	500	+	-
5. Y. O.	13 ♀	"	"	"	4	500	+	-
6. T. N.	64 ♀	"	"	"	4	500	+	-
7. H. S.	32 ♂	"	<i>Strept. virid.</i>	"	3	400	+	+
8. T. O.	32 ♂	"	"	"	4	500	++	+
9. S. A.	47 ♀	"	"	"	4	500	+	-
10. Y. N.	24 ♂	"	"	"	3	400	-	-
11. Y. A.	39 ♀	"	"	"	3	400	+	+
12. H. H.	27 ♂	"	"	"	2	300	-	-
13. K. I.	42 ♂	"	"	"	4	500	+	-
14. Y. O.	31 ♂	Lymphadenitis	"	200 or 100	7	800	+	-
15. E. K.	32 ♂	Chronic bronchitis	<i>Strept. virid.</i>	"	7	800	-	-
16. T. H.	68 ♂	Acute colitis	"	"	3	600	++	-
17. Y. N.	23 ♂	Chronic cholangitis	<i>Klebsiella</i>	"	35	6500	++	-

表4 Clinical effects of doxycycline

Group II

(more than 200 mg/day)

Case	Age, Sex	Clinical diagnosis	Organisms	Administration			Results	Side effects
				Dose mg/day	Duration	Total		
1. T. N.	21 ♀	Angina lacunar	<i>Strept. virid.</i>	400	5	2000mg	++	+
2. I. A.	31 ♂	Acute bronchitis	"	600	5	3000	+	+
3. A. K.	52 ♂	Angina lacunar	<i>Staph. aureus</i>	400	5	2000	+	-
4. K. M.	21 ♀	PAP	"	600	10	6000	-	-
5. T. T.	42 ♂	Acute parotitis	"	600	7	4200	+	-
6. H. M.	71 ♀	Broncho-pneumonia	"	600	5	3000	-	-
7. H. F.	24 ♂	Angina lacunar	<i>Strept. virid.</i>	400	5	2000	-	-
8. C. H.	32 ♂	"	<i>Staph. aureus</i>	400	5	2000	+	+

上記の成績のうち腎尿管上皮にみられる特異蛍光について更に検討した。Stop flow 法で腎からの排泄機序を観察した成績では本剤は、糸球体濾過、近位および遠位細管からの再吸収が主であるので、この尿管上皮に認められた特異蛍光は本剤の尿管再吸収を示すものと考えられる。

VI. 臨床成績

投与量によつて臨床成績に差異があるか否かを知る目的で、1日投与量が200mg以下の症例(第1群)と200mg以上の症例(第2群)に分けて検討した。効果判定は

治療開始後24時間以内に自、他覚症状の改善が認められたものを著効(++), 3日以内に症状が改善したものを有効(+), 症状の不変ないし悪化したものを無効(-)とした。

1) 成績

表3, 4に示すごとく、第1群では17例に2~35日間、総量300~6500mgを使用し、著効4例、有効10例、無効3例の成績を得た。第2群では8例に5~10日間、総2000~6000mg使用し、著効1例、有効4例、無効3例の成績を得た。これら少数例の検討からは投与量と有効率の間には、密な関連は認められなかつた。

表5 Side effects of doxycycline

(liver and renal function, RBC, WBC)

	Transaminase		A.P.	Bilirubin	Urine protein	BUN	RBC	WBC
	SGOT	SGPT						
No. of cases studied	5	5	5	5	5	5	5	5
Abnormal values before DOTC	0	0	1	1	1	1	0	0
Abnormal values after DOTC	0	0	1	0	1	0	1	0
Abnormal values before DOTC and normal after	0	0	0	1	0	1	0	0
Normal values before DOTC and abnormal after	0	0	0	0	0	0	1	0

副作用は25例中7例に悪心、心窩部痛その他の消化器症状を認め、うち4例では嘔吐をみた。これら消化器症状は投与量が、増すに従いがい、その程度の強まる傾向がみられた。また、肝および腎機能、血液検査を施行した5例では表5に示すごとく、1例において本剤投与後に赤血球数の軽度の減少を認めたが、それ以外には異常はなかつた。

以下、著効例のうち興味ある経過をたどつた1例について略述する。

〔症例〕 Y. N. 23才、男性、慢性胆道炎 (図10)

昭和42年6月中旬に心窩部痛を覚え、その後弛張熱、右季肋部痛を伴うようになったので同年9月12日当内科に入院した。諸検査の結果、胆のう症の疑いがあり開腹手術を受けたが胆石は認められず、病理組織学的所見も加えて慢性胆道炎と診断された。術前および術中の胆汁培養ではいずれも、純培養に肺炎桿菌を検出したので感受性検査の結果から Kanamycin, Gentamicin, Aminobenzyl-PC, Nalidixic acidなどを投与したが、これらの *in vitro*での好感受性薬剤は本症では臨床的に全く効果が認められなかつた。そこで DOTC 1日200

mgを投与すると、翌日より分利性下熱をみ、臨床症状も明らかに改善した。以後 DOTCのみの単独投与では効果を認めうるが、他剤に変更すると直ちに発熱、右季肋部痛など一般状態の悪化を招いた。本症例は DOTC以外の抗生剤には全く臨床効果のみられなかつた症例である。原因菌である肺炎桿菌の DOTCに対する MICは 25 mcg/mlであるのに、本剤 200 mgを連続投与している際の患者血中濃度は 1~3 mcg/mlであつた。抗生剤の臓器集中性が菌感受性より優先して臨床効果を増した興味ある症例である。

VII. 考按ならびに結語

1) 感受性

DOTCの抗菌 spectrum は TC類似であるが、TCに 100 mcg/ml以上の MICを示したブドウ球菌 10株についての ENGLISHの検討成績では、本剤のこれら菌株に対する MICは 22.4 mcg/mlであり、また WILLIAMSONも同様にブドウ球菌については DOTCは TCより稀釈系列で2段階すぐれていると報告している。KIRBYらもほぼ同じ成績である。しかし、大腸菌については WILLIAMSON, KIRBYらは DOTCと TCの感受性態度が同じであると述べている。

われわれのブドウ球菌についての検討では、DOTC, TC高度耐性株に対して2倍稀釈系列で2段階程度すぐれた感受性分布を示し、WILLIAMSONの成績と一致していた。一方、大腸菌については他の報告者の成績と同様に3剤の間に有意の差は認められなかつた。

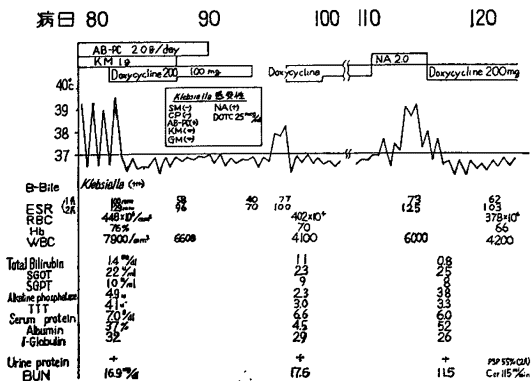
すなわち、ブドウ球菌の抗菌力からみて本剤は従来の Tetracycline 剤より一步前進したものと考えられる。

2) 血中濃度

本剤の血中濃度は長時間持続する特徴を有し、half-lifeは文献上 15.1~22.2時間となつていて他の TC系抗生剤に比して長い。

KIRBYらによれば本剤の half-lifeは TCのそれより

図10 [Case] Y. N. 23 yrs, male, chronic cholangitis



7時間も長く、これは本剤の、腎 Clearance 値の低いことに起因するであろうと推論している。

われわれの成績では血中濃度の peak は、他の成績にくらべ、やや低値ではあるが half-life は 13.4 時間で、KIRBY らの 15.1 時間に大差のない成績を得た。

GFR 10 ml/min 以下の腎不全患者では健常者に比して本剤の消失時間の遅延が認められ、蓄積を来たすので本剤の連続投与時には充分な注意が必要である。

血中における長い滞留も本剤の特徴の 1 つと考えられる。

3) 臓器内濃度

WILLIAMSON, VIRIEUX らは本剤の重要臓器への集中性の良好なことを指摘している。

われわれの成績でも特に肝、腎に高濃度移行が認められ、また OTC に比して peak までの時間が遅延し、かつ消失時間の延長が著明である。このことは本剤のもう 1 つの特徴といえることができる。

4) 発蛍光能を応用した DOTC の体内分布

TC 系薬剤は一般に両性塩であり、1 つの分子内に弱い酸基と塩基をもち、pH の変化、各種 ion の存在で発蛍光能に影響を受けやすい。

DOTC も同様の所見がみられ、各条件下で最大吸収波長の移動、蛍光の強さの増減がみられるので、発蛍光能を用いての体内分布の観察にはこれらの点も充分考慮されなければならない。さらに各臓器や組織による消光作用があり、whole body section による本剤の体内分布の観察では静注後 30 分において、腎では皮髄境界部、肝では臓器全般に、胃、小腸、大腸、盲腸などでは、その粘膜に特異蛍光を認めこの蛍光は 4 時間後まで観察されたが、8 時間後にはいずれの部位からも消失した。これを micro section でみると腎尿細管上皮細胞、肝実質細胞、胃腺上皮細胞に特異蛍光がよく認められるので、これらの部位に本剤の高濃度移行が考えられる。

また本剤には骨 Ca との chelate の所見が強くみられ、16 時間後においても消失しないので、本剤の骨沈着は無視できないものとする。

5) 臨床成績

FABRE らは諸内科系感染症 138 例に本剤を使用した結果、呼吸器感染症には 82%、尿路感染症には 54% の有効率を認め、特に呼吸器感染症に良好な成績を得たと報告している。本剤が Gram 陽性球菌に好感受性を示し、かつ肺内移行が比較的良好的なことなどからこの成績は当然であろう。一方、尿路感染症では原因菌が Gram 陰性菌のことが多く、また、尿流障害を来たす症例も多いので、呼吸器感染症よりは成績は劣る。

われわれは本剤を内科系感染症に使用した結果、1 日投与量が 200 mg 以下の第 1 群では 17 例中 14 例 (82.4%)、200 mg 以上の第 2 群では 8 例中 5 例 (71.3%) を有効と認めた。第 2 群の有効率が第 1 群のそれより低いのは、治療開始時に比較的重症例が多かったことも一因と考えられる。これらの事実から、適応疾患に本剤を用いる場合には 1 日 200 mg 以下の投与量でも十分に治療目的が達せられることが考えられる。もしこの量で無効の場合には、増量しても臨床効果はあまり期待できないことも考えられる。疾患別の有効率は経験症例がまだ少ないため、ここでは言及をさけない。

本剤の胆汁内移行の良好なことは VIRIEUX, Pfizer 研究所の成績からも明らかであり、われわれの慢性胆道炎症例で著効を呈した理由もある程度理解できる。

副作用は全症例 25 例中 7 例に軽度の消化器症状を認めたが、投薬を中止するまでには至らなかった。投与量と消化器症状の出現率の関係は投与量が増すに従って高まる傾向を示し、第 1 群では 17 例中 4 例であつたのに対して第 2 群では 8 例中 3 例に認められた。本剤の投与前後で肝および腎機能、血液検査を施行した 5 例では 4 例に全く異常を認めず、FABRE, ROTBERG の成績と同様である。本剤を長期間 (35 日間、総量 6500 mg) 使用したわれわれの症例では貧血がやや進行したが、慢性疾患々者のためこの貧血が本剤の副作用とは断定し難い。

参 考 文 献

- 1) SCHACH VON WITTENAU, M. & YEARY, R.: The excretion and distribution in body fluids of tetracyclines after intravenous administration to dogs. *J. Pharm. Exper. Med.* 140: 258, 1963
- 2) ENGLISH, A. R.: α -6-Deoxyoxytetracycline, I. Some biological properties. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 122: 1107, 1966
- 3) WILLIAMSON, G. M.: Laboratory studies on Vibramycin (doxycycline). Personal communication, 1967
- 4) ROSENBLATT, J. E., BARRETT, J. E., BRODIE, J. L. & KIRBY, W. M. M.: Comparison of *in vitro* activity and clinical pharmacology of doxycycline with other tetracyclines. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1966: 134, 1967
- 5) FABRE, J., PITTON, J. S. & KUNZ, J. P.: Distribution and excretion of doxycycline in man. *Chemotherapia* 11: 73, 1966
- 6) HANG, A., FABRE, J., PITTON, J. S. & VIRIEUX, C.: Doxycycline, a new tetracycline with long term activity behaviour in the human organism. clinical experiences. Presented at the 5th International Congress of Chemotherapy,

- Vienna, June 1967
- 7) FABRE, J. & HANG, A.: Clinical use of doxycycline. International symposium: "New resource in antibiotic therapy, doxycycline." Buenos Aires, June 1967
- 8) ROTBERG, A.: Recurrent and resistant pyodermitis treated with doxycycline. Personal Communication, 1967
- 9) ULLBERG, S.: Acta Radiol. Suppl. 118, 1954

STUDIES ON DOXYCYCLINE

YASUSHI UEDA, FUMIO MATSUMOTO, NOBORU NAKAMURA,
ATSUSHI SAITO, KAZUO NODA, JINGORO SHIMADA,
MASAHISA OMORI, CHIZUKO FURUYA, TAKAO SUZUKI,
TAKAO HASHIMOTO, MASAO YAMAGATA & YOSHINORI NAKAMURA
Department of Medicine, Tokyo Jikeikai University
School of Medicine

The results obtained are as follows:

1. Sensitivity

The sensitivity of coagulase-positive *Staphylococcus* which was highly resistant to methacycline and tetracycline was excellent.

There was no significant difference of sensitivity of *Escherichia coli* for doxycycline, methacycline and tetracycline.

2. Blood level

With oral administration of doxycycline in a dose of 200 mg the blood concentration reached to the maximum level of 1.13 mcg/ml after 6 hours in normal subjects. Blood level was 0.33 mcg/ml after 24 hours. Half-life was 134 hours. In chronic renal failure higher blood concentration was maintained for long time. Continuous administration was thought to be dangerous in such case.

3. Tissue concentration

With intravenous administration of drug in a dose of 30 mg/kg to mouse the tissue concentration was found to be high in liver and kidney. In comparison with oxytetracycline the time for maximum concentration and disappearance was longer.

4. Distribution of doxycycline in mouse

The distribution of doxycycline was observed by the method of fluorescence. Specific fluorescence was found on renal tubular epithelia, hepatic cell and glandular epithelia of stomach. Chelate phenomenon with calcium was observed. The possibility of deposition of drug was discussed.

5. Clinical data

Nineteen cases were effective among 25 cases. Minimal gastro-intestinal disturbance was observed in 7 cases.