

Flucloxacillin の臓器内濃度を中心とした基礎的研究と、 Lysozyme との併用効果について

松本慶蔵・横山紘一・荒井一男・西岡きよ・中村 隆

東北大学医学部中村内科

病原菌が耐性化するにつれ、種々の合成 PC が開発され、isoxazolyl penicillin が臨床的にも次第に応用されつつある。Isoxazolyl penicillin 系の中で、Dicloxacillin に類似で、一個の Cl が F と置換された化学的構造をもつ Methylchloro-fluoro-phenyl-isoxazolyl penicillin が英国の Beecham の研究陣により開発されたが、本剤の特徴は isoxazolyl penicillin 中、高い血中濃度を得ることにあるとされている。

私どもは、本剤（以後 MFI-PC と略記）につき、従来、重要でありながらも十分な検討が行なわれていない臓器内濃度について、第 1 に探究し、第 2 に、本剤と Lysozyme との併用による効果増強を *in vivo* のレベルにて探究することを中心に実験し、将来考慮すべき幾つかの知見を得、今後の問題提起をも加えて報告する。

なお、臨床的にも応用し、血中濃度と臨床効果についてもいささか検討を加えたので、あわせて報告する。

実験方法

(I) 喀痰由来菌の MFI-PC に対する感受性分布の測定

1968年2～6月、中村内科に入院した患者と外来患者の中、呼吸器感染症の喀痰より分離した病原菌（コアグラゼ陽性）23株につき、日本化学療法学会法により、最小発育阻止濃度を測定して検討した。

(II) 臓器内濃度および血中濃度の測定

動物：ラット80～120g（血液のみ人も含む）

臓器：血液、肺、肝、腎

材料の作製法：ラットに 200 mg/kg になるように MFI-PC を経口的に、確実に、注射針を円くした長針を用いて投与した。ラットは前日夜より絶食しておいた。

薬剤投与後、経時的にラットをエーテルにて麻酔後断頭し、血液を体を絞って充分採取した後、別々のはさみにて肺、肝、腎の順にとり、各臓器表面のよごれをガーゼにて出来るだけいねいにふきとり、ポリシャーレに、臓器別に入れた。

実験は4～6匹のラットを1群とし、ブールして行なつた。

臓器重量を測定し、等量の buffer（磷酸緩衝液）を

加え、ホモジナイザーにて乳剤とした。

以後の検体の作製は以下に示す（表1）。

すなわち、i) 臓器乳剤を直接検体とする。ii) 冷凍遠心器により臓器乳剤を高速遠心し、その上清を検体とする。iii) 沈渣に buffer 液を加え、良く混釈し 37°C 2時間放置し、遠心上清を検体とする。iv) start の臓器乳剤に PCA（60%）を加えて遠心し、上清に KOH を加え中和し、その上清を検体とする。v) 沈渣に buffer 液を加え、良く混釈し 37°C 2時間放置し、遠心上清を検体とする。

標準曲線は次の方法により作製した。

i) 磷酸 buffer 液を用いて MFI-PC を溶解して作製した。

ii) 100%家兎血清を用いて MFI-PC を溶解して作製した。

付) 臓器による MFI-PC の不活化実験

無処理のラットを6匹、エーテルにて麻酔してのち、断頭し充分放血し、血液を採取してのち、肺、肝、腎各臓器重量を測定し、等量の buffer 液を加えて Waring blender にて乳剤とし、これに最終濃度 5, 50 mcg/ml になるように MFI-PC を添加し、充分混和し 37°C 2時間放置し、これを検体とした。ただし、本実験は (II) の (i) と同時に行なつた。

付) 血中濃度は人およびラット血清を検体とし、標準曲線作製は薬剤の buffer 液によるものと、50%あるいは100%家兎血清によるものの2種により作製した。

付) 検定法

検定菌：Bacillus subtilis PCI 219株

検定法：カップ法

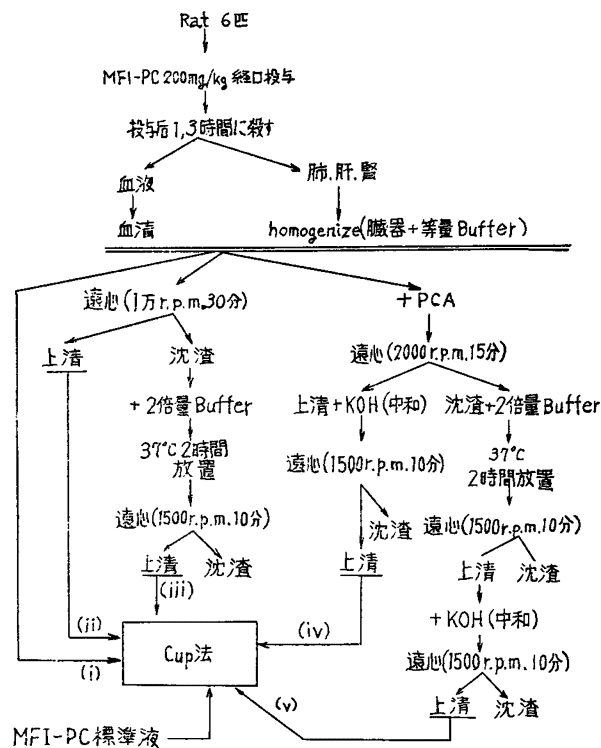
用いた菌は全実験共に同一のものである。

カップ法は次のように行なつた。すなわち径 9 cm のポリシャーレに、Heart infusion 寒天を 6 ml 流し固めたのち、その上に B. sub. 加寒天 4 ml を流し常温にて固めた。

カップに検体を 0.25 ml 入れ、4°C に 18時間おき、その後 37°C に 6時間放置し判定した。

(III) 細菌感染マウス治療実験と Lysozyme の併用実験

表 1



中村内科教室に継代していた *Staphylococcus aureus* Smith 株を寒天斜面にて一夜 37°C にて培養後、この 1 ユーゼをブイオン 1 ml の割に加え、これに 2% ムチン加ブイオンで 10 倍に稀釈する。この菌液 0.5 ml をマウス腹腔内に注射した。用いたマウスは dd 系で 10 g のものとした。ただちに MFI-PC を経口的に投与した (1 日 1 回投与)。

実験各群は 6 匹で、薬剤を投与せぬ対照群をおいた。

Lysozyme 併用はマウスに Lysozyme を 500 mg/kg になるように、筋注する群と腹腔に注射する群の 2 群よりなる。効果は生死および死亡の時刻にて判定した。この実験は 3 回行なつたが、第 1 回と第 2~3 回は菌株が異なる (Smith 株は同一であるが、継代は別教室)。すなわち、第 2~3 回使用株は他機関より、供与を新しくうけた菌株である。

実験成績

(I) 喀痰由来病原菌の 18 種抗生物質に対する感受性分布成績 (表 2, 表 3)

対象菌中、PC-G 中等度ないし高度耐性菌 (MIC, 25 ~ >100 mcg/ml) は 23 株中 15 株 (65.2%) あるが、

PE-PC 耐性菌 (MIC, 6.2 ~ >100 mcg/ml) は 13 株 (56.5%) 存する。MFI-PC に対する感受性は、MCI-PC に対すると同様 0.4~1.6 mcg/ml にすべて属し、0.8 mcg/ml にピークをもつ 1 つの山として分布するにすぎず、東北大学中村内科では 1 株の耐性菌も存在していない。このような分布は抗菌剤中、他には Gentamicin でみられる。

(II) 臓器内濃度と臓器による不活化成績

臓器内濃度を測定するにあたり、次の点につき、とくに留意検討した。

i) Isoxazolyl PC は血清蛋白結合率が高いとされているが、どうか。

ii) 臓器乳剤に本剤を添加した場合、活性は臓器によりいかに変るか。

iii) 臓器内濃度のこれまでの一般的方法論に改善の余地はないか。

すなわち、臓器での特異的活性低下を伴う変化は可逆的か否か。しかも、臓器毎にどれだけ差があるのか。

iv) 以上の諸点から臓器内濃度はいかに評価すべきか。

i)~iv) までの諸点の解析を目的に検討した。

た。

i) 血清蛋白結合率推定のための実験成績

MFI-PC の標準曲線を、buffer 液と 50% 家兎血清によるものを比較することにより検討した。表 4 にみられるように、第 1 に、血清稀釈液により本剤の抗菌活性の低下がみとめられた。

第 2 に、buffer 液と血清との関係を見ると、低濃度において抗菌活性の低下が大きく、高濃度では抗菌活性の差異は小となる。この成績は 2 回の実験で確認された。

この成績は、ある sample の濃度を測定する場合、buffer、血清の標準曲線のいずれをとるかにより濃度の表示が異なるが、しかも、低濃度でその差が大なることを示す。

このメカニズムは本剤と血清蛋白、殊にアルブミンとの結合によると、これまでの報告から推定されるが、薬剤と蛋白結合率の関係を検討する場合、本剤では、薬剤濃度を明示する要があると考ええる。

ii) 臓器乳剤に MFI-PC を添加した際の抗菌力の低下について

成績を表 5, 図 1 に示す。

すなわち、阻止円直径により比較したが、臓器乳剤に既知濃度薬剤を添加した場合、肺、肝、腎、ラッテ血清とも

表2 咯痰由来ブ菌の感受性 I

	PC-G	PE-PC	MCI-PC	MFI-PC	CB-PC	CER	CEX	SM	CP	TC	DOTC	KM	KDM	LCM	CLM	EM	SPM	GM
1	25	6.2	0.4	0.4	6.2	0.2	3.1	1.6	3.1	0.8	0.2	1.6	0.2	0.4	0.2	0.2	1.6	0.2
2	>100	>100	0.8	0.8	>100	12.5	6.2	>100	12.5	>100	6.2	0.8	0.2	100	100	>100	>100	0.2
3	3.1	1.6	0.4	0.4	3.1	0.2	3.1	0.8	3.1	0.4	0.2	0.8	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
4	>100	100	0.8	0.8	12.5	6.2	6.2	3.1	6.2	0.8	0.2	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.8	0.2
5	25	1.6	0.4	0.4	3.1	0.2	3.1	1.6	6.2	0.8	0.2	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.2
6	>100	100	0.8	0.8	12.5	0.8	6.2	0.8	6.2	100	6.2	0.4	0.2	>100	>100	100	>100	0.2
7	12.5	3.2	0.4	0.4	6.2	0.4	6.2	3.1	6.2	0.8	0.4	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	0.2	0.2
8	>100	50	0.4	0.8	50	0.8	6.2	25	6.2	50	12.5	25	50	100	>100	100	>100	0.2
9	12.5	12.5	0.4	0.8	25	0.8	6.2	3.1	6.2	0.4	0.2	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	0.8	0.2
10	>100	12.5	0.4	0.8	12.5	6.2	6.2	1.6	1.6	0.4	0.2	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	0.8	0.2
11	1.6	0.4	0.4	0.4	6.2	0.2	3.1	1.6	1.6	0.4	0.2	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	0.8	0.2
12	1.6	6.2	0.4	0.8	12.5	0.2	6.2	50	1.6	0.4	0.2	0.4	0.2	0.4	0.2	0.2	1.6	0.2
13	100	1.6	0.8	0.8	6.2	0.8	1.6	6.2	50	25	3.1	0.2	0.2	50	0.2	25	1.6	0.2

(mcg/ml)

表3 咯痰由来ブ菌の感受性 II

	PC-G	PE-PC	MCI-PC	MFI-PC	CB-PC	CER	CEX	SM	CP	TC	DOTC	KM	KDM	LCM	CLM	EM	SPM	GM
14	50	12.5	0.4	0.8	6.2	0.2	6.2	1.6	6.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	6.2	0.2
15	50	1.25	0.4	0.8	25	0.4	6.2	1.6	6.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.2	1.6	0.2
16	25	1.6	0.8	0.8	12.5	0.2	3.1	1.6	6.2	>100	12.5	0.8	0.4	0.4	0.2	3.1	25	0.2
17	>100	>100	0.4	1.6	50	1.6	12.5	0.8	6.2	>100	12.5	0.8	0.2	>100	>100	>100	>100	0.2
18	25	3.1	0.8	0.8	6.2	0.4	3.1	1.6	6.2	0.8	0.4	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	25	0.2
19	0.2	0.2	0.8	0.8	1.6	0.2	3.1	1.6	6.2	0.8	0.4	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	1.6	0.2
20	0.2	0.2	0.4	0.4	1.6	0.2	3.1	3.1	6.2	0.8	0.4	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	1.6	0.2
21	50	100	0.8	0.8	50	1.6	6.2	3.1	6.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	6.2	0.2
22	6.2	3.1	0.4	0.8	6.2	0.2	6.2	1.6	6.2	0.4	0.2	0.8	0.2	0.4	0.2	0.2	0.8	0.2
23	50	12.5	0.8	0.8	25	0.8	6.2	3.1	25	6.2	3.1	0.8	0.2	0.4	0.2	25	6.2	0.2
209P			0.8	0.4	6.2	0.8	0.8	0.8	6.2	0.4	0.2	0.8	0.4	0.8	0.8	0.2	1.6	0.2

(mcg/ml)

表4 Buffer液と家兎血清(50%)液による標準曲線作製時のCup法測定値(阻止円直径)

mcg/ml	0.5	1	5	10	50	100
Buffer	20.9	22.4	30.5	33.9	40.6	44.4
50%家兎血清	10	14.9	26.7	30.8	38.2	42.3
差(mm)	10.9	7.5	3.8	3.1	2.4	2.1

に抗菌力の低下を示した。添加薬剤の抗菌力の低下を臓器別に、高低の順にならべると、肝>腎>血清(ラット=家兎)>肺となり、肝、腎が肺よりも明らかに高度の抗菌力低下を認めた。この事実には、添加濃度が5mcg/mlの時著明で、50mcg/mlでは、肝=腎>血清>肺と前記の結果に同じであるが、肝と腎が等しいことだけが知られた。肺による抗菌力低下が少ないことと、肝、腎殊に肝に強いことは注目に値する。

ただし、臓器乳剤に薬剤を添加して、その抗菌力が低下し、その程度を検討して得た成績が、薬剤が経口的に投与され血中などを経て臓器に分布し、その際に抗菌力低下が起こる場合を反映しているとは即断しがたい。すなわち、この実験はあくまでも単純なモデル実験の一つであると考えらるべきものであろう。

iii) 臓器内濃度

3回実験を行ない次のような各実験毎の成績を得た。

(A) 第1回成績(図2)

実験方法はIIの(ii)を被検体としたものであり、この時の標準曲線はbuffer液によつた。薬剤は100mg/kgになるよう経口的に投与したが、臓器内濃度は、肺>腎>血液>肝の順であつたが、肺のピーク値は1時間で8mcg/mlであり、腎のピーク値は3時間、血液は2時間がピークであり、肝はこの実験の場合には測定不能であつた。

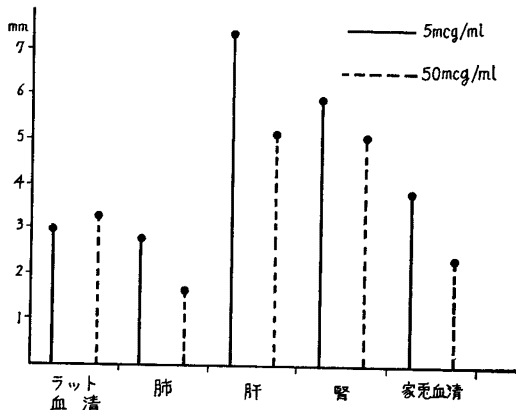


図2 Cup法測定値差(阻止円直径)(Buffer値-臓器値)

表5 MFI-PC添加SampleのCup法測定値(阻止円直径)

添加濃度	(mm)					
	Buffer	ラット血清 100%	肺	肝	腎	家兎血清 (50%)
5 mcg/ml	30.5	27.5	27.7	23.1	24.6	26.7
50 mcg/ml	40.6	37.3	39.0	35.5	35.5	38.2

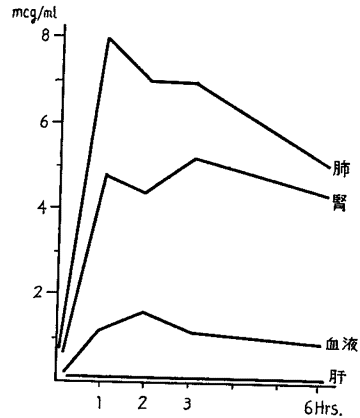


図3 MFI-PC臓器内濃度Rat(平均体重100g) 100mg/kg 経口投与

(B) 第2回成績: 本実験は臓器乳剤による薬剤の不活化実験と同時に進められた。

実験はIIの(i)を被検体として行ない、表6と図3にその成績を示す。薬剤は200mg/kg経口投与したが、標準曲線は50%家兎血清とbuffer液の両者で対比した。検討は薬剤投与後1, 3時間の両者で、実験は即日施行した。

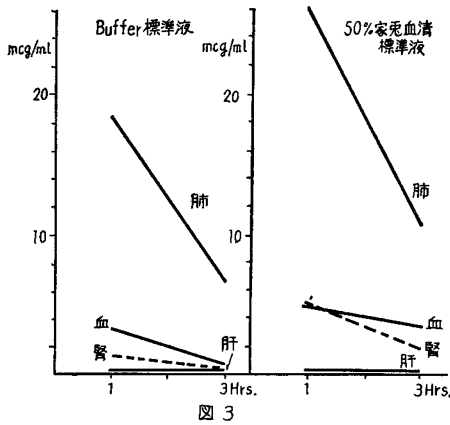
すなわち、第1回の成績と傾向は同様で、肺>腎>肝の順であり、一時間値はいずれも3時間値より高く、血清使用標準曲線によると、肺は1時間26.0mcg/mlと最高で、血液4.9mcg/ml、腎5.2mcg/mlで、肝は第1回同様に測定不能であつた。

表6 MFI-PC臓器内濃度 Rat(平均体重100g) 200mg/kg 経口投与

		血液	肺	肝	腎
1 H	Buff.	3.4	18.4	測定不能	<1.0
	血	4.9	26.0	測定不能	5.2
3 H	Buff.	0.8	7.0	測定不能	<1.0
	血	3.5	10.8	測定不能	1.92

(mcg/ml)

sample { 血液→血清
肺, 肝, 腎→等量 buffer を加えて homogenize したもの。



つきに、48時間4°Cに保存していた標品につき、(Ⅱ)の実験方法の(ii)と(iii)につき検討した。これは、遠心によつて、活性が変化を受けるか否かを検討すること、沈渣部分に水分を加えることにより、活性部分の回収ないしは遊離が起こるか否かを検討した。後者は別の言葉でいえば、結合の可逆性の検討ということになる。この成績を表7、図4に示す。すなわち、10,000 r. p. m. 30分の遠心により、上清部分の活性は、乳剤より減少を認めるが、肺での低下は高度であるに比し、腎ではむしろ高値を示したことが留意された。沈渣よりの活性部分の再遊出は、腎、肺はほぼ同様に認められたが、肝のみ初めて1.0~1.4 mcg/mlの再遊出が認められた点に注目したい。

表7 遠心による抗菌活性の変化および回収実験

	時間	乳液(原)	遠心上清	沈渣+buffer
血液	1	3.4		
	3	0.8		
肺	1	18.4	7.2	1.9
	3	7.0	6.4	1.5
肝	1	測定不能	測定不能	1.0
	3	測定不能	測定不能	1.4
腎	1	<1.0	6.8	2.3
	3	<1.0	5.8	2.6

(mcg/ml)

(C) 第3回実験

これまでの成績より、薬剤経口投与後1時間値は各臓器ともに高いことが知られたことと、すべての実験計画を即日に行なうため、MFI-PC投与1時間群のみに絞つて検討した。この成績を総括し、表8に示す。この実験の

臓器内濃度を高低の順にならべると、血液>肝>腎>肺の順になり、PCA処理後の上清〔Ⅱの(iv)〕では、すべての臓器で濃度の上昇を認めたが、特に血液での上昇が著明であつた。また10,000 i. p. m. 30分遠心の上清はいずれも、臓器乳剤や未処理血清より抗菌活性が低値である点は同様であるが、とくに著明な減少を示したのは血液であつたことに注目したい。

つきに、沈渣よりの活性部分の遊出は、傾向として前回同様肝に高く、肺、腎ではほぼ等しいが、肝では上清部分や乳剤原よりも高い値を得ている点は、肝では本剤の結合力も高いが遊離力も高いことを示すものであり、肺、腎は肝と異なるが、遊離する率はほぼ同様であることを示している。

表8 MFI-PC 臓器内濃度

	血液	肺	肝	腎
血清およびHomogenate	8.0	0.6	1.9	1.58
PCA 加 上 清	13.0	0.62	3.0	1.75
10,000 i. p. m. 30分遠心 上 清	4.8	0.52	1.42	1.52
遠心 沈 渣 + Buffer (2倍量)	—	0.48	2.94	1.32

(注) Standard : Buffer 稀釈 (mcg/ml)

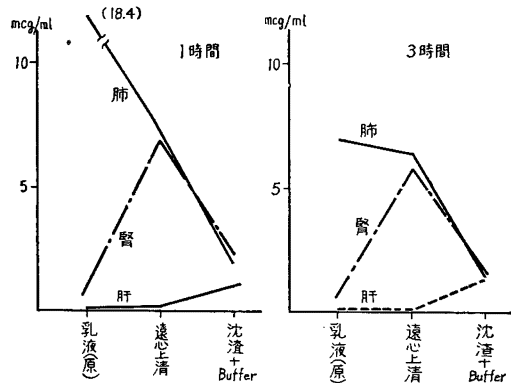


図4 遠心による抗菌活性の変化及び回収実験

iv) 小括と臓器内濃度評価に関する問題

以上3回各実験毎の成績を示しながら臓器内での濃度と、その活性部分の処理による変動を追求した。

3回の実験中最も大きな差を示した臓器は肺、肝であるが、その後の同一材料での処理でも、同様傾向の値を示した事実から、それぞれ真実の値であつたと考えたい。

ことに、本剤がアルブミンとの結合が強いことが他の人々によつても指摘されているが、血液、肝ではアルブ

ミン臓器含有量が高いことが、臓器内濃度のある程度の振幅を知らしめるものであろう。

本剤が臓器に送られ、なんらかの知られざる affinity の結果、臓器内に分布し、ある濃度を示すが、これまでの臓器内濃度は、従来の bioassay 法を応用している限り、ある限界が存在する。私どもの行なつたように、同一材料より出発し、これを種種処理することによつてのみ、抗生物質の存在と移行を推定することができる。

肺において、なぜ3回の実験の中、

2回は高い値が得られ、1回のみ著しく低値に出たのかは明瞭ではないが、実験の際、薬剤投与後1時間のみにしぼつた点に、その理由の1つを求めようかも知れない。

(III) ブ菌感染マウス治療実験成績と Lysozyme の併用効果

この成績を図5、図6に示すが、前者は第1回の成績で、後者は第3回の成績である。

すなわち、本剤の第1回の ED₅₀ は 250~500 mg/kg で、第3回の ED₅₀ は <50 mg/kg である。この差異は、使用菌の差異によるものである。前者の場合の薬剤

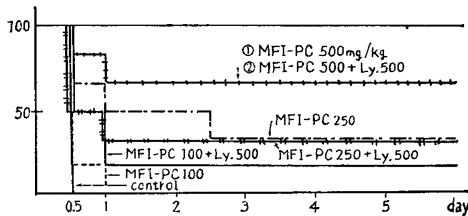


図5 ブ菌感染マウス + MFI-PC p.o. MFI-PC p.o. + Ly. i.m.

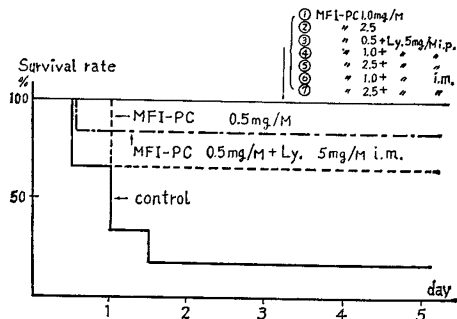


図6 MFI-PCの治療効果-Lysozyme併用スタヒD感染マウス

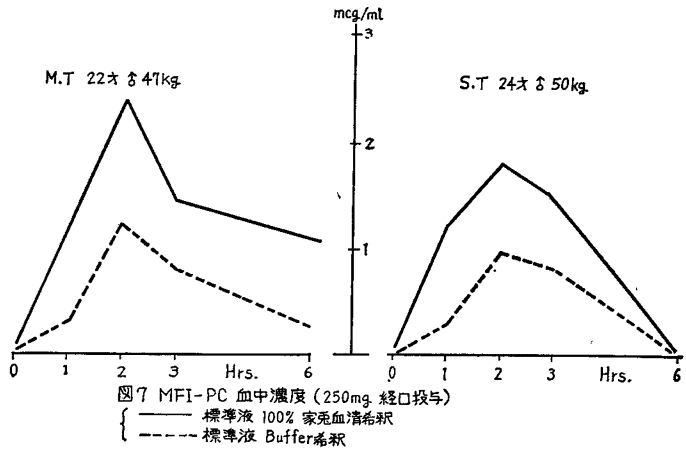


図7 MFI-PC 血中濃度 (250mg. 経口投与) 標準液 100% 家兎血清希釈 標準液 Buffer 希釈

の非使用群における生存日数は0.5日以内であるのに、後者の場合の同様群では6匹中1匹は生存し、死亡5匹の平均生存日数は0.85日であつて、後者の致死率、すなわち病原性が前者より低い。

前者、後者ともに平行して Lysozyme の併用実験を行なつたが、第1回の Lysozyme 筋注では併用効果は認められず、第3回の Lysozyme 腹腔内投与での有効性が推定された。

以上の成績を小括すると、私どもの実験系を用いる限り、次のようにいへよう。

- i) 治療実験の ED₅₀ は使用菌株が同一であつても、継代歴の異なるものでは大きな差を生ずる。
- ii) MFI-PC と Lysozyme の併用効果は、菌の接種部位と薬剤の投与部位が同一の場合に認められた。ただし、薬剤の投与回数と投与量をかえることにより、明瞭な併用効果を期待しようと推定された。

臨床実験成績

(I) 血中濃度：250 mg 1回経口投与を行なつた2症例における成績を図7に示す。標準曲線は buffer 液と 100% 家兎血清の両者を用いて比較した。ピークは両例ともに2時間値であり、血清標準曲線によると2~2.5 mcg/ml を示した。

(II) 臨床成績

6症例につき検討したが、その成績をまとめて表9に示す。いずれも慢性呼吸器感染症で判定の困難な症例であつた。1日量は 0.75 g 5例、1.0 g 1例で総計4.5~10 g にわたる。有効3例、無効3例で、1例は胸やけを訴えたが、服用続行は可能であつた。

肝機能などに異常なく、腎に副作用を認めたものはなかつた。臨床応用に関しては、向後、適応症を選び、そ

表9 MFI-PC の臨床検討

No.	氏名	年齢, 性	体重	病名	分離菌	投与法	効果	備考
1	S. T.	24 ♂	50 kg	気管支拡張症	肺炎球菌	0.75 g×8 日 (計 6g)	有効	ラ音↓ 痰量↓
2	T. H.	49 ♂	69	肺結核 混合感染	黄ブ菌	0.75 × 6 (4.5)	有効	痰量↓
3	Y. I.	76 ♂	57	気管支喘息 慢性肺気腫	緑連菌 緑膿菌	0.75 × 8 (6)	有効	ラ音↓
4	M. S.	60 ♂	45	気管支喘息 塵肺症	黄ブ菌 G(-)桿菌	1.0 × 10 (10)	無効	胸やけ
5	K. H.	30 ♂	54	慢性気管支炎 (多発性膿瘍)	肺炎球菌	0.75 × 10 (7.5)	無効	
6	M. T.	22 ♂	47	慢性気管支 気管支梢炎	黄ブ菌 緑膿菌	0.75 × 8 (6)	無効	

の有効性につき検討してゆきたいと考えている。

考 察

Isoxazolyl PC は Penicillinase 産生菌に対して有効であることはすでに周知のことであり、このことは、中村内科患者の喀痰由来菌の最小発育阻止濃度の成績によつても示された。この成績は中村内科では2~3年来同一傾向にある。しかも、isoxazolyl PC 系薬剤は通常耐酸性強く、経口投与にもたえ、ブ菌以外のグラム陽性菌に対し、AB-PC にはほぼ等しい抗菌力を有していることから、臨床的に使用し易い薬剤の一つといえよう。

Isoxazolyl PC 中、最も最近開発された Flucloxacillin (MFI-PC) についても Dicloxacillin とほぼ同様の抗菌力や性質が推定されたが、私どもは、本剤につき検討するにあたり、次の点を実験上で明らかにしたいと考えた。

第1に本剤の臓器内濃度の検討であり、第2に Lysozyme との併用をめぐる問題である。MFI-PC の血中濃度を測定するに際し、標準曲線を得るために、燐酸緩衝液と家兎血清を対比して検討したところ、阻止帯が家兎血清使用群で小さいことから、血清による不活化、そして、これは isoxazolyl PC の共通な性質として蛋白結合率の高いことを示唆すると考えた。近年、多くの研究者が指摘しているように、血清蛋白結合の意義は、従来の概念とは異なつた角度から考慮すべきであるとの意見と私どもも一致した見解をもっている。しかし、いつぼり、臓器内濃度に関しては、まだまだ未解決の諸問題が残されたままになっている現状にある。具体的にいうならば、共通した方法での議論もなく、比較そのものがはなはだ困難となつており、とくに臓器内濃度測定法が明記されていない報告では、相互の研究成績と比較することもできない。

しかも、本剤が血清蛋白結合が高いながらも、その結合する力が、解離する力といかなる関係にあるかは、ここではいちおう別として、測定に用いる標品によつて臓

器内濃度はいかに変るかを知ることに第1の力点をおいた。すなわち、臓器をできるだけ変化させないで測定する場合、高速遠心を行ないその上清を用いた場合、遠心沈渣を buffer にて混和後遠心した場合に、上清にどのように抗菌活性が再遊離するか、さらに、蛋白をおとすために常用される perchloric acid (PCA) を用いた場合はどうかについて検討した。

この結果、得られた実験成績では、本剤の臓器内濃度の特性として高度遠心で臓器乳剤より力価の低下を来たすこと、沈渣部分よりの回収が良いこと、PCA 処理ではむしろ逆に抗菌活性が前記三者のいずれよりも高いとの共通的成绩を得た。(もちろんこれらの場合の標準曲線は実験毎に施行し、方法もカップ法で、使用菌株も寒天や菌含有量も一定しておいた。)

この成績を評価するにあたり、まだ不明確な点は臓器を PCA で処理した場合、抗菌活性が最も高く出ることの解釈であるが、1つの説明として PCA 処理、KCH 中等で臓器稀釈度が高まることも考慮の要があろう。ただし、肝においては、最も遠心や結合で力価のおちる活性が、buffer 混和により極めて良く回収される、つまり遊離し易いことが見出された。このことは肝にアルブミン濃度の高いこと、さらに本剤は結合が肝でつよく、ある条件下では遊離しやすい二面性を有するものと考えられる。

臓器内濃度の3回の実験でみる限り、肺、血液に高く、腎がこれにつき、肝が低いとの成績であつたが、1回のみ、肝で高いとの結果を得た。この実験の差は time factor を無視できないが、それだけでも説明できない。これらの成績が測定方法による誤りでなかつたことは、原材料が種々の異なつた方法で測定されても同様傾向の値を示したことにより確認された。

つぎに臓器乳剤に添加した薬剤が、いかなる活性の変化をうけるかについて検討した。この方法は単純なモデ

ル実験ではあるが、これをもつて臓器内分布した薬剤の実態を知ることになると考えるには多少の難点があるが、肝、腎がともに不活化力つよく、肺は少ないとの成績を得た。

以上、上記の方法の確実さや、実験成績のふれを評価するにあたり、必然的に絶対的抗生物質分布と抗菌活性でみる bioassay にふれなければならないであろう。

著者の一人、松本は Kanamycin の絶対的臓器濃度を測定するため、KM-H³ を応用し、さらに組織内分布を把握するため、radioautography を応用し、組織学的分布を検討したり。抗菌活性の測定は、組織内分布をみることはできないが、種々の方法を組合せることによつて、抗生物質の結合、遊離などの臓器毎の特性も知りうる利点をもっているが、上記の方法による絶対的濃度と比較した場合に、これまで不明の点がますます明らかにされようし、この意味での絶対的抗生物質濃度の測定の意義を強調したい。

本研究の第2の力点を、MFI-PC と Lysozyme の併用効果においた。Lysozyme の溶菌効果は、Flemming により発見され、PC と併用した場合、効果が増強されることはすでに報告されているが、本邦でも中沢などの研究²⁾が、*in vivo* レベルでも、その証明を行なっている。

私どもは近年続々と開発されつつある Cephalosporin C 系抗生剤や他の新抗生剤と Lysozyme の併用効果の検討の一環として MFI-PC と Lysozyme の併用を検討した。今日までのところ Lysozyme と Cephalexin の併用効果は高度であるが、本剤との併用によつても効果増強が確認された。ただし、この実験は菌種により相対的に成績が異なることを知り得た。これまでの種々の実験成績より総括したところ、細胞壁作用物質たる PC 系抗生物質や Cephalosporin C 系抗生物質と Lysozyme の併用は、すぐれた併用効果をもたらすと結論できるが、この併用効果は同一のものではなく、かなりの差を認める。

本剤の臨床応用については、必ずしも適応とはいえず、今後の検討にまつ他はないが、特に留意すべき副作用なく用いるとの成績を得た。

結 論

(I) MFI-PC に対する喀痰由来病原ブ菌 23 株の感受性分布は、MIC 0.4~1.6 mcg/ml にすべて属し 0.8

mcg/ml にピークをもつ、1つの山としてみられる。この点 MCI-PC とほぼ一致する。ただし、23株の菌中 PE-PC 耐性菌は56.5%であり、PC-G 耐性菌は65.2%であった。

(II) MFI-PC は血清蛋白結合率が高いと推定される。ただし、薬剤濃度により、結合程度は異なり、低濃度ほど結合は高い。

(III) ラッテ臓器乳剤に MFI-PC を添加したところ、肝>腎>血清>肺の順に抗菌活性の低下を認めた。

(IV) ラッテに MFI-PC を経口投与し臓器内濃度を測定した。

i) 各臓器ともピークは1~3時間値にあり、ほぼ1時間値が多い。

ii) 3回の実験中、2回の臓器内濃度順は、肺>血>腎>肝であり、1回の順は、血>肝>腎>肺であった。

iii) 臓器乳剤を10,000 r. p. m. 30分遠心により、上清部分の抗菌力は臓器乳剤のそれより低下する。

iv) 沈渣よりの抗菌活性の回収は肝が最も高く、肺、腎はほぼ同様である。

v) PCA 処理により、すべて抗菌活性は臓器乳剤より上昇する。

以上の成績から本剤の臓器内濃度は、一種の材料のみで正しく把握されず、多面的な検討から、かなり正しく把握されることが示され、臓器内濃度に関し将来考慮すべき問題が提起された。

(V) ブ菌感染マウスを場とし、MFI-PC と Lysozyme の併用により、MFI-PC の効果増強を認め得た。ただし、本実験は使用菌の継代歴によつても差が認められた。

(VI) 臨床的に血中濃度と治療効果を検討した。とくに留意すべき副作用はなかつた。対象症例は必ずしも本剤の適応とはいえず、さらに向後の検討を要する。

文 献

- 1) 松本慶藏：日本医師会雑誌，58，12号：1345，1967
- 2) 中沢昭三ら：J. Antibiotics, Ser. B 19 (1) : 34, Feb, 1966
- 3) 中沢昭三ら：J. Antibiotics, Ser. B 21 (1) : 10, Feb, 1968

BASIC AND CLINICAL STUDIES WITH FLUCLOXACILLIN

KEIZO MATSUMOTO, KOICHI YOKOYAMA, KAZUO ARAI,
KIYO NISHIOKA & TAKASHI NAKAMURA,
The First Department of Internal Medicine,
Tohoku University, School of Medicine

Flucloxacillin (MFI-PC), a new semi-synthetic penicillin active against gram positive bacteria, was tested mainly for its possible inactivation by tissue homogenates of rats, distribution in tissues of rats, possible potentiating activity with the addition of lysozyme against *Staphylococcal* infection in mice and clinical effect.

1) Antimicrobial activity of MFI-PC added to each organ homogenate of rats was decreased in order of the liver, kidney, serum, and lung.

2) Tissue concentrations of MFI-PC was studied in rats after oral administration with the following results obtained.

i) The concentration in each organ, showing the peak mostly at one hour, was the highest in lung decreasing in order of the serum, kidney and liver in two of the three determinations, but the highest in blood decreasing in order of the liver, kidney and lung in the rest.

ii) Following ultracentrifuge of each organ homogenate mentioned above, antimicrobial activities of MFI-PC in the supernatants were lower than those in the homogenates, and the recovery rate of antimicrobial activity of MFI-PC in the residues was the highest in liver by adding buffer solution.

iii) Antimicrobial activities of MFI-PC in the serum and homogenates of each organ treated with PCA was higher than those untreated.

3) Effectiveness of MFI-PC against *Staphylococcal* infection in mice was potentiated with lysozyme.

4) MFI-PC was tried in six patients with the effectiveness rate of 50% obtained.

No noticeable side effect was encountered.