

## 第18回日本化学療法学会総会 一般演題 I

期 日 昭和 45 年 6 月 5~7 日

会 場 岡 山 市

会 長 谷 奥 喜 平 (岡大教授)

### ④-1~15 一般化学療法の基本 I

#### ④-1 化学療法剤, 色素剤等の光毒作用の研究

小 西 宏 明

ピアス研究所, 信大皮膚科

徳 田 安 章

信大皮膚科

我々は化学療法剤, 色素類, とくに Rose Bengal 等の xanthene 系色素の光毒性について, 家兎, 黄色ブ菌等を材料にして研究を行なってきた。そして黄色ブ菌に対して Rose Bengal, Eosine Y, Erythrosine B が各色素の蛍光励起波長ではなく可視部最大吸光波長の光線照射で最も強い光毒性を発現すること, および Rose Bengal を人皮内に注射後同様光線照射により, 発赤, 膨疹等を惹起することを証明し発表してきた。本報告では主に人皮膚培養細胞株を用い, 光源として 3 KW Xenon Lamp と回折格子分光器による強力モノクロメーターを用いて行なつた実験結果を発表する。

##### 1) 細胞 1 世代中での紫外線感受性の変動

細胞を同調培養し, 一定時間毎に 250 m $\mu$ , 290 m $\mu$  (半値幅 10 m $\mu$ ) の紫外線を照射してコロニー形成による Dose-Survival を求めた。その結果, 正常人皮膚由来の XX-male, ターナー症人皮膚由来細胞, CHANG'S liver cell 共に両波長紫外線に対して全く同様に, Gap 1 から DNA 合成期 (S 期) への移行期に於いてのみ感受性が高まり, 他の M 期, G<sub>1</sub> 前期および S 期ピーク直前から G<sub>2</sub> 期に於いてはほぼ同程度の低い感受性を示した。この結果は HeLa-S 3 に対する X 線照射の報告とよく一致する。いつぼう, B. DJORDJEVIC 等による同じ HeLa-S 3 に対する紫外線光源として殺菌灯を用いた報告では, S 期ピーク付近が最も感受性の高い時期であるとしており, 我々の結果とは少しずれがある。

##### 2) Xanthene 系色素細胞に対する光毒性実験

Xanthene 系色素は蛋白質, その他高分子とよく結合し, とくに血清と混合するとそのアルブミンに選択的に結合する。細胞に色素を吸着させる場合は塩溶液で培養液を充分洗滌することが必要である。いつぼう, 8-MOP, Proto-porphyrin 等はこの必要はない。カバーガラスに

培養した XX-male を色素の塩溶液に浸漬し, モノクロメーターからその色素の可視部最大吸光波長の光線を照射しながら位相差顕微鏡で観察すると, 光毒性を有する色素では先ず細胞周辺から微小な突起が出現し, それが次第に膨隆して巨大な球状突出物となる。吸着色素量の多い程この突出物の成長は速く, わずか数秒のこともある。突出物の成長と共に細胞が弛緩し, 空胞が目立ち始め, 細胞間結合, ガラス壁への結合も緩んで剥離し易くなる。これを電顕でみると, 突出部周辺に色素の強い吸着と二重膜構造がみられ, 細胞膜が吸着した色素と光線の作用で弱まつて細胞内から突出してきたと言えそうな所見である。

XX-male を  $5 \times 10^{-5}$  M-Rose Bengal 溶液と 10 分間 incubate 後, 547 m $\mu$  光線を 700 erg/mm<sup>2</sup> 照射で完全に細胞は死滅した。テストした 10 種 xanthene 系色素のうち, Rose Bengal, Erythrosine B, Phloxine B, Eosine Y<sub>a</sub> BI が強い光毒性を示し, 2,7-Di-Chloro-fluorescene Na が弱い光毒性を示した。化学構造による光毒性の強さの差異は蛋白質に対する結合力の差によるものと我々は考えており, 目下検討中である。

[追加] 徳田安章 (信大皮)

従来, 光毒作用の本体は DNA 阻害 (Thymidin Dimer 形成), Lysosome 障害が報告されているが, 形質膜障害が認められたことから, これを第 3 の機序として報告した次第である。

#### ④-2 緑膿菌の産生する Dihydrostreptomycin 不活化酵素の性状と精製

小坂富二男・佐藤順子

興和(株) 東京研

山口正人・三橋進

群馬大学・医・微生物

薬剤耐性機構の 1 つとして, 細菌による薬剤不活化作用が知られている。

我々は患者分離の緑膿菌 10 株について, cell free 系における Dihydrostreptomycin (DHSM) 不活化作用を検討した。その結果, 8 株は DHSM の不活化をほとんどしなかつたが, 2 株には, DHSM を強力に不活化する

作用がみられた。そこでその1株 T1-3 について、酵素の性状の検討と精製を試みた。

DHSM 不活化酵素は、0.3% glucose broth で振盪培養して得られた菌体を、超音波破壊した後、105,000 ×g で60分間遠心した上清液中に存在する。この T1-3 株から得られた S-105 fraction の熱安定性については、52°C 5分間の加熱では失活しないが、70°C 5分間の加熱で完全に失活した。

本酵素は M/10 glycine-NaOH buffer (pH 9.0) で調整した S-105 fraction を 1/3, 2/3 および 90% の硫酸飽和により塩析を行なうと、2/3 飽和の沈澱物に最も高い活性がみられた。この部分を M/100 glycine-NaOH buffer (pH 9.0) に溶解し、透析した後、DEAE-Sephadex で分画すると、0.1~0.2 M, KCl 濃度で活性部分が得られ、この活性部分を Sephadex G-50 でゲル濾過することによつて、蛋白は活性と平行した1つのピークに精製された。この部分精製された酵素による DHSM 不活化は、ATP と Mg<sup>++</sup> を必要とし、一方が欠けても反応は全く進行しない。また、不活化率は、基質濃度および ATP 濃度に依存し、7.7 μM の DHSM を 100% 不活化するためには、3 倍量の ATP を必要とした。反応至適 pH は 10.0 で、土井らが緑膿菌 H-9 株から得た SM 不活化酵素の pH 8.5 より、はるかにアルカリ側であり、きわめて特徴的であると思われる。また本酵素の各種抗生物質に対する基質特異性を調べると、DHSM 以外の Kanamycin, Paromomycin, Neomycin, Gentamicin, Aminodeoxy Kanamycin は全く不活化されなかつた。DHSM 不活化物については現在検討中である。

#### ④-3 *Proteus* の不安定なクロラムフェニコール耐性について

河野 恵・小原康治  
東京薬科大学微生物  
三橋 進  
群馬大学医学部微生物

*Proteus* のクロラムフェニコール (CP) 感受性株は CP と前培養することにより容易に CP 耐性が上昇し、この CP free 耐性は培地での継代により再び感受性化する。群馬衛研 原田博士により分与された *P. mirabilis*, *P. morgani*, *P. rettgeri*, *P. vulgaris* などの希釈寒天平板法による耐性テストの結果、3.12~6.25 mcg/ml 耐性の株はほとんどの例で CP 5.0 mcg/ml ブロスで1夜前培養することにより 50~100 mcg/ml CP 耐性になる。これら CP 耐性株は薄層クロマト法により R 因子由来の CP

耐性遺伝子による Chloramphenicol acetyltransferase と同じく不活化産物として 3-Acetyl-CP および 1,3-Diacetoxy-CP を検出し得る。CP 前処理により上昇した CP 耐性は CP free 培地に継代することにより、元株と同じ CP 感受性に戻る。CP 前処理により得た培養から単個コロニーを分離し、50 コロニーについて継代培養による感受性化をみると、1代で元株に戻るものと、数代の継代により初めて元株の感受性に戻るものなどがある。この両者について、再び、CP 前処理による CP 耐性の上昇、CP free 培地での継代による CP 感受性化をみると、ほとんどその傾向に差異を認めない。

以上のことから本菌株に於ける CP 耐性の上昇は元株の CP 耐性変異株の選択的増殖とのみ結論することは出来ない。このような *Proteus* CP の前培養による CP 耐性上昇はかなり本菌株の一定した遺伝的性質と考えられ、CP 耐性の上昇は Chloramphenicol acetyltransferase 活性の増量を伴うが、*Staphylococcus aureus* に於ける CP 耐性の誘導とは今のところ明らかに異なる現象と思われる。とくに、*Proteus* の場合における CP 前処理 (培養) に要する CP 量は本菌株の発育をかなり阻害する濃度であり、かつ数時間以上を要する点で通常の耐性誘導機作とも異なる。

このような *Proteus* の不安定な CP 耐性化の機構として遺伝子の動的な factor を考慮する必要があるであろうと考える。

#### ④-4 ブドウ球菌のマクロライド系抗生物質及びリンコマイシンに対する交叉耐性

大島 洋・斎藤 哲・三橋 進  
群馬大学微生物

1967年および68年度にブドウ球菌研究会で分離した1,173株中マクロライドおよびリンコマイシン(LcM)耐性株は316株であつた。そのうちEM1剤耐性株は30株で、EM, OM, LM, Sp, LcMのすべてに耐性な株は259株で、その他の耐性型(EM・OM, EM・OM・LM)を示す株が27株であつた。そこでこれらの株の関係を調べた結果、EM1剤耐性株を0.1 mcg/mlのEMで30分処理後EM存在下(3.1 mcg/ml, 6.2 mcg/ml)平板で各MacおよびLcMに対する耐性を測定すると、いずれもEMで耐性を誘導の株であつた。とくに平板に共存させるEM濃度が高い場合は、各薬剤の50 mcg/mlに生育可能であつた。これらの株からLM平板上で10<sup>-9</sup>の頻度で生育可能な変異株が得られ、いずれもEM, OM, LM, Sp, LcM耐性(A群菌)を示した。また、その他の

耐性型を示す株も同様に低濃度の EM で処理後、EM 存在下の耐性を調べると 1 株をのぞきすべてマクロライドおよびリンコマイシンに耐性であった。また、上記の株と同様 LM 平板上で A 群の耐性型を示す株が 1 株をのぞき得られた。この 1 株は誘導後も EM 存在下の LcM 50 mcg/ml に生育不能で、また LcM 耐性の変異株を得ることができなかつた。我々はすでに EM 1 剤耐性で Mac 耐性を誘導可能な株 C 群の MS 537 より、A 群型耐性型を示す変異株および EM, OM 耐性、EM, OM, LM 耐性型を示す株を得ている。MS 537 から得た A 群型耐性株は EM 0.1 mcg/ml 前処理後 LM を含む培地での生育曲線を比較すると、処理したほうが 1 時間ほどはやく立ちあがり、EM, OM, 耐性株においてはさらにその差が大きい。そこで臨床分離株の A 群型の株で EM 前処理の効果を高濃度の各薬剤 (200 mcg/ml) を用いてしらべると、大部分は前処理したほうが高い耐性値を示した。以上の結果をまとめると、1) 臨床分離の EM 1 剤耐性株は (C 群) すべて EM で Mac および LcM に耐性を誘導可能な株であった。2) すべてのマクロライドおよび LcM に耐性を示す (A 株) 群の大部分は EM 前処理によりなお耐性が上昇した。3) EM, OM 耐性および EM, OM, LM 耐性を示す株も 1 株を除いては C 群と同様の結果が得られた。以上のことから、以前に報告した Mac 耐性で LcM 感受性の株をのぞき臨床分離の Mac 耐性株の大部分は EM 1 剤耐性の (C 群) 誘導能が変化した株として解釈が可能と考えられる。

#### ④-5 Metronidazole (Flagyl) の嫌気性菌に対する抗菌作用について

上野一恵・二宮敏字・鈴木祥一郎  
岐阜大学医学部微生物学教室

Metronidazole は *Trichomonas vaginalis* に対する強い抗原虫剤である。ところが本剤はトリコモナス膣炎の随伴症状である帯下の悪臭除去、また婦人科、耳鼻咽喉科、歯科などの各科領域の癌患者、慢性副鼻腔炎、歯周疾患、ワンサン感染症などに随伴する悪臭除去にも著効を奏することが報告されている。これらの疾患に於ける悪臭には嫌気性菌の関与が大きい。したがって Metronidazole で悪臭が除去されるのは、原疾患の病巣に存在する嫌気性菌が死滅ないしは減少したものと考えられる。そこで演者らは Metronidazole の嫌気性菌に対する抗菌作用を検討したので報告する。

Metronidazole の嫌気性菌に対する MIC は次のとおりである。*Peptococcus* (12 株) は 3.1~6.2 mcg/ml, *Veillonella* (4 株) は 3.1~6.2 mcg/ml, *Bacteroides* (15

株) は 0.7~6.2 mcg/ml, *Sphaerophorus* (27 株) は 0.7 mcg/ml 以下, *Fusobacterium* (4 株) は 0.7 mcg/ml 以下, *Clostridium* (5 株) は 0.7 mcg/ml であった。*Peptostreptococcus* (8 株) は 50~100 mcg/ml であった。好気性菌である *Staphylococcus aureus* 209 P 株は 100 mcg/ml 以上であった。

接種菌量と MIC との関係をも *Peptostreptococcus* と *Sphaerophorus* の 2 株について検討した。*Peptostreptococcus* では  $10^8$  コ/ml の接種では MIC は 50 mcg/ml であるが、 $10^7$  コ/ml では 25 mcg/ml,  $10^6$  コ/ml では 12.5 mcg/ml となつた。*Sphaerophorus* では  $10^7$  コ/ml の接種では MIC は 12.5 mcg/ml,  $10^6$  コ/ml では 15.6 mcg/ml,  $10^5$  コ/ml では 0.78 mcg/ml となつた。MIC に及ぼす培地 pH の影響は pH 5, 6, 7, 8 について検討したが、pH の影響はみられなかつた。

*Sphaerophorus necrophorus* 感染マウスにおける治療効果を検討したが、200 mg/マウスの経口投与群では強い治療効果がみとめられた。

#### ④-6 Acriflavine のブドウ球菌に対する作用 (第 2 報) Acid-phosphatase 産生能について

横田芳武・菅沼 惇・原 一仁  
京都府立医科大学微生物学教室

第 17 回本総会において我々は Acriflavine (ACF) の作用によるブドウ球菌の Cell wall の著明な変化を観察し、同時に ACF 人工耐性菌による Penicillinase, Acid-phosphatase (AP-ase) 産生能の減少を報告した。

今回は特に ACF 人工耐性菌の AP-ase 産生能について、化学的定量と電子顕微鏡の観察を行なつた。

1) 使用した菌株は黄色ブドウ菌 209-P 株、臨床分離黄色ブドウ菌 4 株、白色ブドウ菌 2 株の計 7 株を用いた。7 株の ACF, PC-G, CP, TC および SM の 5 剤に対する感受性は、5 剤耐性 1 株 (No. 110), 4 剤耐性 (ACF 感性), 1 株 (No. 85: 白色ブドウ菌), 2 剤耐性 (CP, TC), 1 株 (No. 107: 白色ブドウ菌), ACF 1 剤耐性 3 株 (No. 102, 103, 104), および全て感性 (209-P) である。

2) 常法の増量的継代法により ACF 耐性獲得を 15 代行なつた。耐性化の状態は 209-P のみ比較的ゆるやかであるが、他 6 株はすみやかに耐性を獲得し、中でも No. 85, 107 の白色ブドウ菌は 5 代で原株の 32~128 倍の感受性 (耐性) を獲得した。

3) 5, 10, 15 代 ACF 耐性菌と原株について 1 intact cell 当りの AP-ase 産生能を P-nitrophenylphosphate を基質とし、pH 4.8 の Citrate buffer 中で菌破壊生食

上澄と反応し、比色定量した。

4) AP-ase 産生能は継代日数が多いほど減少した。とくに原株の産生能の高い3株(No. 85, 104, 110)は著しく減少した。いつぼう、原株自身が低い他の4株は緩徐に減少した。

5) 電顕による AP-ase 活性の観察は教室の沢重らが行なつた方法に従がい GOMORI の変法による  $\beta$ -glycerphosphate を基質として Lead nitrate と反応し、常法により電顕試料とした。

AP-ase 活性の反応産物はひじょうに電子密度の高い aggregate として plasma membrane を含み, plasma membrane に連続する cytoplasma 内に沈着する。

6) Aggregate の出現頻度は原株が各菌株ともに最も強く、以下 ACF 5, 10, 15 代耐性の順に弱くなり、とくに 15 代耐性では aggregate の出現はひじょうに少なくなつている。これは化学的定量値とほぼ一致している。

また前回報告したとおり Cell wall は耐性化が進むにつれてより肥厚した。

7) 以上の結果が ACF の作用によつて病原性と関係あると言われている AP-ase 産生能低下と、形態的变化が ACF と特異的な関係があるのかについてはさらに検討を進めて行きたい。

#### ④-7 Methicillin および Oxacillin 系 PC の $\beta$ -Lactamase 阻害効果について (第2報)

石山 俊次・高橋右一・長崎祥祐  
川上 郁・中山一誠・西岡伸也  
岩本 英男・岩井重富・大島聡彦  
鷹取 睦美・川辺隆道・鈴木邦夫  
村上不二哉

日本大学石山外科

$\beta$ -Lactamase inhibitor 理論を導入し、Agar plate dilution method により、CER, PC-G を基質として、Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin を inhibitor とし、測定した。PC-G を基質とした成績では Methicillin を作用させた場合、*Staphylo.  $\beta$ -Lactamase* および *E. coli  $\beta$ -Lactamase* に対して著明な作用を認めなかつた。Oxacillin, Cloxacillin を inhibitor とした場合には、黄色ブ菌に対しては、2 mcg/ml で著明な効果を認め、大腸菌に対しては 25 mcg/ml で軽度の効果をみた。CER を基質とすると Methicillin を inhibitor とした場合、黄色ブ菌では 2 mcg/ml、大腸菌に対しては 25 mcg/ml を必要とする。Oxacillin を inhibitor とした

場合、黄色ブ菌では 0.5 mcg/ml、大腸菌に対しては 5 mcg/ml 必要であり、Cloxacillin を inhibitor とした場合、黄色ブ菌では 0.1 mcg/ml、大腸菌に対しては、5 mcg/ml の inhibitor により著明な作用が認められた。Iodometric assay により Kinetic を検討した。PC-G を基質に Methicillin を inhibitor をした場合、*Staphylo- $\beta$ -Lactamase* では Km は  $11 \times 10^{-6}$  M, Ki は  $2.3 \times 10^{-6}$  /2分30秒であり、*E. coli  $\beta$ -lactamase* の場合は Km  $1.6 \times 10^{-5}$  M Ki は  $5.7 \times 10^{-7}$  で、*Staphylo  $\beta$ -lactamase* に対するより、*E. coli  $\beta$ -lactamase* に対しての方が Methicillin の inhibitor 作用は効果が強い。CER を基質とし、Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin を inhibitor とした場合、*E. coli  $\beta$ -lactamase* に対する、Km は  $6 \times 10^{-6}$  M であるが、いつぼう阻害定数 Ki は Methicillin は  $4.76 \times 10^{-7}$  M, Oxacillin の Ki は  $2.9 \times 10^{-7}$  M, Cloxacillin の Ki は  $1.4 \times 10^{-7}$  M であつた。

〔追加〕 鈴木 恵三 (平塚市民病院泌尿器科)

私も cephaloridine (CER) および ampicillin (AB-PC) 耐性のグラム陰性桿菌から得た owde な enzyme を用いて協力作用に関する enzymological study を行なつている。Inhibitor としては methicillin (DMP-PC) のみについて調べたが CER と DMP-PC とは協力作用をよく認めるが AB-PC と DMP-PC とでは相加的效果とみなされる結果であつた。この差は enzyme と substrate との affinity の差によるものと考えられた。

〔質問〕 名出 頼男 (慶大泌尿器科)

使用された *E. coli* strains の MIC 値を詳しく教えて頂き度い。値の高いものは 800  $\mu$ g/ml かあるいは 800  $\mu$ g/ml 以上か。

また耐性菌が R 因子耐性のもも含まれているかどうか調べられていたら教えて頂き度い。

〔答〕 中山一誠 (日大石山外科)

1) CER の大腸菌に対する MIC は一番低いものが 50 mcg/ml、一番高いものが 800 mcg/ml である。

2) R 因子に関しては検討していない。

#### ④-8 Cephalexin に関する薬理学的研究 第1報 一般薬理作用

荒谷 春恵・大西 黎子  
河野 静子・建石 英樹  
広島大学薬理

Cephalexin (CEX) の薬理学的検索を 2, 3 行ない次の結果を得た。

抽出モルモット心房標本に対し、 $10^{-4}$  g/ml およびそ

れ以下の濃度ではほとんど影響を与えなかつたが、 $2 \times 10^{-4}$  g/ml およびそれ以上の濃度では一過性軽度の抑制作用をみとめた。

無麻酔ウサギ心電図 (第II誘導) に対し、棘波の性状にほとんど影響を与えなかつたが、5 mg/kg およびそれ以上の量では一過性軽度の RR 間隔の延長がみられた。

摘出腸管に対して、 $2 \times 10^{-4}$  g/ml で亢進 (ウサギ) および  $2 \times 10^{-3}$  g/ml で抑制 (モルモット) 作用をみとめたが、その度はきわめて軽度であつた。CEX- $4$  g/ml はウサギ腸管 (モルモットにおいても同様) の Ad- $10^{-7}$  g/ml, Ach- $10^{-8}$  g/ml, Hist- $10^{-8}$  g/ml および Ba- $5 \times 10^{-5}$  に対する感受性にほとんど影響を与えなかつた。

耳殻血管 (ウサギ) に対し、 $10^{-3}$  g/ml でやや拡張の傾向がみられた。

腹部皮膚血管 (ウサギ) に対し、100 mcg 以上およびそれ以下の量で透過性を亢進しなかつた。

Urethane 麻酔ウサギの呼吸に対し、50 mg/kg およびそれ以下の量ではほとんど影響を与えなかつたが、100 mg/kg では軽度の呼吸速搏がみられたが、迷走神経遮断によつても除去されなかつた。

Urethane 麻酔ウサギの血圧に対し、100 mg/kg でもほとんど影響はなかつた。

また、腸管と同様 Ad-5 mcg/kg および Ach-1 mcg/kg に対する血圧の感受性に対して、CEX 100 mg/kg はほとんど影響を与えなかつた。

つぎに、CEX 50~200 mg/kg 連続適用 (7日間ラット) 時の腎機能 (尿量 Na, K および体重) ならびに尿所見においては、尿量および Na 量に若干の減少がみられた。

#### ①-9 Cephalosporin 系薬剤の溶菌作用に関する研究

徐慶一郎

関東通信病院第一臨床検査科

三辺武右衛門

同耳鼻科

Cephalosporin 系薬剤 CET, CER, CEX, CEZ の4種につき、*Staph. aureus* 209 P 株および *E. coli* NIHJ 株に対する溶菌作用を Biophotometer により自動記録した増殖曲線から比較検討した。

両菌株の増殖対数期に、これらの薬剤を最終濃度 *Staph. aureus* に対し 10 mcg/ml, *E. coli* に対し 50 mcg/ml になるように添加すると、CEX を除き、直ちに著明な溶菌による濁度曲線の低下が認められた。いつばう、*E. coli* に対し CEX では、いつたん曲線の上昇

後下降が認められ、この間、菌の長大化、連鎖形成が観察された。以上から、新抗生剤 CEZ (Cefazolin) は、CET, CER と同じ様式の強い溶菌作用を示すことが明らかにされた。

次に、CEZ 500 mg を筋注し、筋注前、および30分、60分、3時間、6時間後の血清の抗菌力を前述と同様に *Staph. aureus* 209 P 株および *E. coli* NIHJ 株の増殖曲線に及ぼす影響から検討した処、*Staph. aureus* 209 P 株に対しては、完全な増殖阻止、*E. coli* NIHJ 株に対しては、30分、1時間、3時間、6時間の順に抑制効果が認められた。

この間 *E. coli* に対して、増殖対数期の中間 (およそ  $10^7$  個/ml) の菌に血清を作用させたところ、薬剤投与前の血清にも、強い溶菌作用のあることが、濃度曲線の急速な降下から観察された。

このような正常血清の大腸菌に対する殺菌因子は、56°C 30分の加熱で不活化され、いつたん不活化されると、補体や、リゾチームの添加によつても活性化されないことが、明らかにされた。

〔質問〕 桑原章吾 (東邦大微生物)

正常血清の *E. coli* に対する殺菌作用には補体の関与が必要であるか。

〔答〕 徐慶一郎 (関東通信)

正常血清の殺菌作用には補体は必要成分とは考えられる。しかし、いつたん 56°C 30分非働化した血清の作用を新鮮補体の添加によつても恢復することは出来なかつた。また、リゾチームの添加によつても同様その作用が恢復しないことを経験している。

#### ①-10 Penicillin 系, Cephalosporin-C 系薬剤の Penicillin-G 耐性ブドウ球菌に対する作用の差について

藤井良知・紺野昌俊・生方公子

東大分院・小児科

私達は昨年の本学会に於いて、PC 系および Cephalosporin-C 系薬剤の中でも、薬剤によつてはその作用態度に差のあることを、大腸菌を用いた形態変化としてとらえて来た。

いつばう Penicillinase 耐性 Penicillin はブドウ球菌に対してはすぐれた MIC を示すが殺菌作用は従来の Penicillin-G よりも弱く、臨床使用上注意せねばならないことも報告している。

この点から、私達は PC-G 耐性菌、PC-G 感性菌を使用して、各種 Penicillin 薬剤、Cephalosporin-C 薬

剤の殺菌作用を菌数の変化から考察した。その結果、CERを除いて、薬剤処理後の生菌数の減少傾向はゆるやかで、MICがよいのにもかかわらず、PC-G耐性菌に対しては溶菌作用が弱いことがわかった。

薬剤処理後の菌の形態的变化を見ると、PC-G軽度耐性菌では、薬剤濃度によつて、やや膨潤した像や、グラム陰性に染まる像もみられるが、その出現の薬剤濃度の幅が異なるのみで、膨潤の程度に差は見られなかった。

PC-G耐性菌ではMPI-PCやCEZで処理した際には巨大膨潤が認められ、PC-Gや、CER処理では膨潤像のみがみられた。この巨大膨潤像はMIC以下の濃度のところで、著明にみられ、これら薬剤のPC-G耐性菌に対する作用態度には差があるのではないかと推察された。

さらに、形態変化を電子顕微鏡を用いて観察したところでは、PC-G軽度耐性菌に対してはPC-GやCERではMPI-PC、CEZとほぼ同じく、菌の膨潤の他、cross wallの肥厚、cell wall表面の凹凸、分裂阻害、なかには細胞質の変性したような菌も見受けられた。

PC-G耐性菌をMPI-PC、CEZで処理した際には、著明な膨潤が見られ、その他、Cross wallの肥厚とみだれ、分裂阻害、Cell wall表面の凹凸が目立ち、なかにはCell wallにキ裂を生じ、細胞質が流出したと思われる像も見られた。

以上、同じPenicillin系、Cephalosporin-C系薬剤でも、薬剤によつては、ブドウ球菌に対する作用は異なっており、ことにPC-G耐性菌に対する作用には大きなちがいがあつたことを報告した。

ことに、MPI-PC、CEZでみられた巨大膨潤像は、細胞壁にキ裂部分が生じるとそこからlysisに進むものと考えられるが、大部分の菌が細胞質の変性があまりみられないこと、MIC以下で多いこと、増殖曲線の上から見ても菌が死滅していないこと等から考えると、薬剤除去後には再び活性を有する菌もあるだろうと考えられ、臨床使用上留意すべきであることを報告した。

#### ④-11 合成セファロスポリンCephalexinによる細菌の形態変化

(第1報) 位相差顕微鏡観察(映画)

中沢昭三・西野武志

京都薬科大学微生物教室

小林米作

ヨネプロダクション研究室

Cephalexin (CEX) は多くのペニシリンあるいはセファロスポリン系抗生物質と同様に細菌のCell wall合成

阻害の作用機序を有する抗生物質である。そしてこれらの抗生物質の細菌形態に及ぼす影響については光学顕微鏡により古く1940年代ペニシリンについての観察がまたセファロスポリン系抗生物質については1964年セフロキシンの報告が最初に見られる。今回私どもはグラム陽性菌ならびにグラム陰性菌群に対してほぼ同程度の抗菌力を有するCEXを用いて生体内維持濃度によるブドウ球菌、大腸菌、肺炎桿菌に対する*in vitro*での形態的变化を位相差顕微鏡により経時的に生観察し、その抗菌作用の様子を映画に撮ることができた。その成績はブドウ球菌の場合明らかな分裂異常ないし分裂停止を認めプロトプラストを形成ついに溶菌する経過が写し出される。

いつぼう、桿菌である大腸菌、肺炎桿菌では著明な異常分裂像、フィラメント像およびスフェロプラストの形成つづいて溶菌などの過程を観察することができた。

なおこの場合CEXの添加濃度が高い尿中濃度とそのフィラメント像は短かく一挙に溶菌する状態が観察され抗生物質の作用型式である静菌的作用Bacteriostatic action、殺菌的作用Bactericidal action、溶菌現象Bacteriolysisを観察することが出来た。

#### ④-12 合成セファロスポリンCephalexinによる細菌の形態変化

(第2報) 電子顕微鏡的観察

中沢昭三・西野武志

京都薬科大学微生物教室

位相差顕微鏡による研究と平行して、Cephalexin(以下CEXと略す)の作用によるブドウ球菌、大腸菌および肺炎桿菌の形態変化を電子顕微鏡を用いて観察し、既知のペニシリン系、セファロスポリン系抗生物質で報告されているのと、ほぼ同様の所見がえられた。

試料作製法はいずれもKELLENBERGERらの方法に従がつて固定、エタノール系列で脱水、duft法によりEpon 812に包埋後、IKB社製ミクロトームを用いて超薄切片を作製して観察をおこなつた。

1) ブドウ球菌の場合、正常なブドウ球菌のちようど分裂しかけている菌体では、中央部に明瞭な3本線のCross septaが見られ、またメソゾームも認めた。つぎにCEXのMIC附近の濃度を作用すると、正常細胞とくらべて、とくに生長点におけるCross septaの膨化が明瞭であつた。位相差顕微鏡で中央が膨化して溶菌する現像を観察することができたが、これがそれに相当するものと思われる。また種々様々のCross septaの膨化をとらえた異常分裂像も観察することができた。さらに

CEX を高濃度作用すると cell wall がはがれてきて、unit membrane よりなる plasma membrane を明瞭に認めることができ、メソゾームを持った完全な protoplast を観察することができた。そして時間の経過とともに、細胞質の内容物が溶け出し plasma membrane あるいは cell wall だけが残っている像も見られた。

2) 肺炎桿菌の場合、正常な肺炎桿菌では菌体の周囲にはほぼ同心円的に莢膜様構造を観察することができたが、位相差顕微鏡による映画の中で、大腸菌は整然と密に分裂していくのに対し、肺炎桿菌は間隔をおいて分裂していく様子を観察することができたが、これはこの莢膜様構造が存在するためと思われる。つぎに CEX の MIC 附近の濃度を作用すると、plasma membrane からなる明瞭な spheroplast を観察できた。また細胞質の萎縮したような filament 像や電子密度のない構造など種々様々な spheroplast を認めた。

3) 大腸菌の場合、まず正常の大腸菌では明瞭な cell wall, plasma membrane および nucleus を認めた。

これに対して位相差顕微鏡で CEX を作用した場合、著明な filament 像を観察できたが、電顕でも 8~9 μ に達する像を認めることができ、その内部構造は隔壁がなく核分裂は正常におこなわれており、何の変化もないようであったが、filament 構造の内部には明瞭なメソゾームを認めた。

以上述べた成績により、CEX は既知セファロスポリン系抗生物質とほとんど同様その細菌に対する形態学的観察においてもその作用機作は cell wall 合成阻害によるものと思われる。

〔質問〕 河野 恵 (東京薬大)

Cephalexin 処理した大腸菌細胞の電顕像でメソゾームの存在を明示されたが、正常細胞でも同様に容易に認められるか。

〔答〕 西野 武志 (京都薬大)

正常の大腸菌の内部構造にもメソゾームらしい構造が見つかつており、Cephalexin を作用した結果の elongation した菌体内に見られるメソゾームが Cephalexin の作用によりできるかどうかは疑問である。また大腸菌のメソゾームに関しては従来疑問視されてきたが 1967 年 SCHNAITMAN らにより大腸菌でもメソゾームを持つ株があるということが判つて以来、大腸菌ではメソゾームを持つ株と持たない株があるということが通説となつている。またメソゾームの出現には菌の生理的条件、とくに phospholipid の代謝に関係があるといわれている。

〔追加〕 紺野 昌俊 (東大分院)

昨年、私たちはこの学会で大腸菌に PC 系, Cephalosporin C 系薬剤を作用させたときの電顕像を発表した

が、その際にもメソゾーム構造を認めている。ただし、その際、京都府大菅沼先生からもご指摘のあつたように、文献によればメソゾーム構造は特殊な菌にみられるのでこの際はメソゾーム様構造と表現したかどうかということもあり、私たちがそれに同一意見であり、メソゾーム様構造と表現して発表している。しかし、種々の大腸菌でしらべると、どうもどの菌でもメソゾーム様構造がみられるように思う。ことにそれは薬剤で処理しなくても菌が増殖する立ち上りの極めて初期にみられ、また薬剤処理の際には菌の増殖とはちようど逆の菌の死滅していく直前にみられるようである。

### ①-13 緑膿菌による腎盂腎炎の患者の尿中にみられたフィラメント像について

藤井 良知・紺野 昌俊  
岡田 一穂・生方 公子  
東大分院小児科

大腸菌による腎盂腎炎の患者に、細胞壁合成阻害剤であると言われている Penicillin 系薬剤および Cephalosporin-C 系薬剤を使用すると、これらの薬剤のあるものでは、尿中に著明なフィラメント像やスフェロプラスト像がみられること、およびその成因や電子顕微鏡学的考察を第 17 回日本化学療法学会等で発表して来た。

今回、緑膿菌による腎盂腎炎の患児に、Carbencillin を使用し、その尿中に緑膿菌による著明なフィラメント像とスフェロプラスト像がみられ、臨床経過と併せて、尿中緑膿菌の形態変化を追求し得たので報告したい。

患児は 1 年 10 月の男児で、生後 2 カ月頃から尿路感染を繰り返していたと思われる、高度の腎障害を伴っていた症例で、入院当初、尿中から大腸菌を証明、Cefazolin を使用し、尿中の大腸菌は消失した。ところが Cefazolin 使用開始 8 日目頃から、尿中に緑膿菌を検出し始め、さらに 2 日後には、尿中の緑膿菌は 10<sup>8</sup>/ml、発熱を伴ない、Carbencillin 100 mg/kg/日分 4 で 6 時間毎に投与を開始した。

尿中の緑膿菌は、Carbencillin 投与開始後 2 時間目頃からフィラメント像を呈し始め、3 時間 30 分では異常に長くなつたフィラメント像とともにスフェロプラストと思われる像が多数出現し、6 時間後では 1 mm 以上に達すると思われるフィラメント像がみられたが、スフェロプラスト像は見られず、さらに Carbencillin の 6 時間毎の 2 回目の筋注後は、これらのフィラメント像も急速に消失している。

このように尿中のフィラメント像やスフェロプラスト

の成因としては、尿中に排泄される Carbenicillin の濃度および滲透圧が問題となる。

このために、Carbenicillin を種々の濃度で含有する液体培地中に緑膿菌を接種し、時間の経過とともにその形態変化を観察したところ、緑膿菌は Carbenicillin の濃度 12.5 mcg/ml 以上の濃度で、処理 1 時間後からフィラメント像を呈し始め、6 時間処理では 12.5 mcg/ml から 1,600 mcg/ml までの間でフィラメント像を呈する。スフェロプラストは 3,200 mcg/ml でもなお認められ、低濃度ではフィラメント像と共存する。つまり、緑膿菌のスフェロプラストは、普通培地程度の滲透圧中でも存続し得ることが判つた。

Carbenicillin 投与開始後 2 時間目の尿沈渣の電子顕微鏡下に於ける観察を行なつた。尿中のフィラメント化した緑膿菌は、長くなつていることと、cell wall の僅かの解離がみられる他は、正常な菌とほとんど変化はないが、最も興味あることは、緑膿菌の白血球への貪喰のされ方であり、緑膿菌を捉えるのに貪喰細胞は、あたかも、キャベツの葉の巻き込み、またはイソギンチャクの触手様とでも表現できるような膜状の物質（偽足）を何本も出しており、極めて特異的な像を呈している。このような像は、緑膿菌感染の際の解析に重要であると考えられるので報告した。

#### ⑭-14 セファロスポリン剤による直接 クームス試験陽性に関する基礎的 研究

宮川千恵子  
順天堂大中検  
小酒井望  
順天堂大臨床病理

セファロスポリン剤投与により直接クームス試験が陽性になると MOLTHAN らは報告し、とくに試験管内における CET による直接クームス試験が陽性になる濃度、その他の基礎的実験を行なつている。私達は CEX を中心として数種類のセファロスポリン剤を用いて、直接クームス試験が陽性になる最低濃度について、基礎的実験を行なつた。セファロスポリン剤により直接クームス試験が陽性になるのは、セファロスポリン剤が赤血球に吸着したところに血漿蛋白が結合し、これに抗ヒトグロブリン血清を加えると凝集を起こすと考えられる。実験方法は採取した血液を Alsever 溶液に加えたものに、別に作製したセファロスポリン剤各種希釈溶液をよく混合し、37°C 3 時間水浴中におき、生理食塩液で赤血球を洗浄後、クームス試験を型通り行なつた。多数の正常

人で実験を行なつた結果、CEX によりクームス試験が陽性になる最低濃度は 3.33~7.5 mg/ml であり、多少個人差がみられる。また使用する抗ヒトグロブリン血清の種類によりかなりの差がみられた。たとえば Ortho の抗ヒトグロブリン血清では 5.0 mg/ml がミドリ十字では 0.333 mg/ml であつた。また 5 種類のセファロスポリン剤 (CEX, CET, CER, CEG, CEZ) を用い、4 種類の市販抗ヒトグロブリン血清により直接クームス試験が陽性になる最低濃度について繰返し実験した。

その結果、同一抗ヒトグロブリン血清を用いた場合、5 種類のセファロスポリン剤の直接クームス試験を陽性にする最低濃度は、CEX, CET, CER, CEG では近似した値であるが、CEZ のみ他のセファロスポリン剤より最低濃度が高かつた。これらの傾向は抗ヒトグロブリン血清の種類にかかわらず同じであつた。ただ抗ヒトグロブリン血清の種類により最低濃度に差がみられ、CEX, CET, CER, CEG では Ortho 1.67~7.5 mg/ml, Pfizer 0.333~6.66 mg/ml, 東京標準血清 0.167~3.33 mg/ml, ミドリ十字 0.167~0.666 mg/ml であつた。

この 4 種類の抗ヒトグロブリン血清について検討したところ、総蛋白量は Ortho が 0.8 g/dl で、他はほとんど 0 であつた。これを Diaflo Ultrafiltration によりおよそ 20 倍に濃縮したところ、Ortho, Pfizer の総蛋白量は 12 g/dl であるが、ミドリ十字、東京標準血清は 1 g/dl で外国製品と日本製品の間かなりの差がみられた。生物学的製剤規準により力価を測定したところ、規準力価 1:16 以上のものは、Ortho Pfizer, ミドリ十字であつたが、東京標準血清は規準に達していなかつた。

〔質問〕 名出頼男 (慶大泌尿器科)

観察された Coomb's test positive という反応結果が immunological specificity を持つた反応が non-specific な反応かは反応液中に抗生物質を加え inhibition reaction を行なつてみないと決められないと思うが、その点の検討は行なつておられるか。

〔質問〕 吉岡一 (北大小児科)

赤血球にガンマグロブリンの吸着される機序はどう考えるべきか。もし免疫学的機序によつて吸着されその結果クームス陽性となるとすれば、赤血球は溶血しやすい状況にあると考えてよいか。またはこのクームス陽性は免疫学的には false positive と解釈すべきか。

〔答〕 宮川千恵子 (順大中検)

1) 直接クームス試験が陽性になる機序。赤血球に吸着したセファロスポリン剤に血漿蛋白が結合し、これに抗人グロブリン血清を加えると凝集を起こすため、溶血とは関係ない。なぜ吸着するのは検討していないが、免疫電気泳動法、電気泳動法により、血清中の蛋白成分

の減少をセファロsporin剤感作前、後について認めておる。

2) False positive と考えられる。

#### ①-15 併用抗生物質の協力作用（特に AB-PC と MCI-PC の併用効果について）

石山 俊次・高橋右一・長崎祥祐  
川上 郁・中山一誠・西岡伸也  
岩本 英男・岩井重富・大島聡彦  
鷹取 睦美・川辺隆道・鈴木邦夫  
村上不二哉

日大石山外科

抗生物質の併用療法研究の一端として、Bioassay による、併用抗生物質の分離定量については、第 11 回および第 13 回東日本化学療法学会において発表し、さらに第 16 回東日本化学療法学会においては、Ampicillin と Cloxacillin との分離定量法に関し Bioassay および Thin layer chromatography で分離後、Bioautogram により測定した成績について発表した。今回は、併用抗生物質の協力作用について、とくに Ampicillin と Cloxacillin の Synergistic action に関し、病巣由来の高度耐性黄色ブドウ菌、および大腸菌について Plate dilution method による成績では AB-PC MCI-PC それぞれ単独よりも、AB-PC・MCI-PC 1:1 併用の場合が優れた成績をしめし、MCI-PC の  $\beta$ -Lactamase inhibitor の作用のあることを証明し得た。また、病巣由来大腸菌の AB-PC・MCI-PC、それぞれ MIC 200 mcg/ml, 800 mcg/ml の Strain についての Viable cell count および OD による成績についても MCI-PC 5 mcg/ml 以上存在すれば inhibitor として作用することを認めた。さらに、上記の病巣由来の大腸菌から分離した  $\beta$ -Lactamase を使用して MCI-PC の inhibitor 作用について Iodometric assay をもちいた成績についてもあわせて発表した。

〔追加〕 名出 頼男（慶大泌尿器科）

$\beta$ -Lactamase inhibitor と penicillin あるいは cephalosporin C derivative との併用による臨床治療実験は尿路感染症においても有効であるとの報告は、3 年前 Boston City Hospital の group と慶大泌尿器科 group のものを最初としてすでに提出されている。

〔質問〕 鈴木 恵三（平塚市民病院泌尿器科）

実験に用いた enzyme は  $\beta$ -lactamase が penicillinase であるのか cephalosporinase であるのか。その enzyme activity は、

〔答〕 岩井 重富（日大石山外科）

この  $\beta$ -lactamase は 80 分で 100 mcg の AB-PC を完全に破壊するものである。

〔質問〕 星野 保夫（東洋醸造研）

2 剤併用により MIC その他 PC 活性を受ける割合が変ってくることは理論的にどのように考えたらよいか。併用剤の代謝に関する検討があつたら教えて頂きたい。

〔答〕 中山 一誠（日大石山外科）

現在のところ  $\beta$ -lactamase inhibitor 理論については定説はないが、 $\beta$ -lactamase の competitive すなわち競り合いの概念が一般的である。本演題に関しては AB-PC および MCI-PC が  $\beta$ -lactamase を competitive に作用すると考える。

#### ①-16~27 一般化学療法法の基礎 II

#### ①-16 臨床分離グラム陰性桿菌の耐性分布

（その 5）1969 年度分離大腸菌の調査成績

青河 寛次・山路 邦彦・松山 敏子

近畿母児感染症センター

臨床分離 GNB の耐性分布に関しては、毎年度、同一条件で諸種抗生物質につき測定結果を本学会で発表してきた。今回は、1969 年度分離大腸菌 300 株の測定成績を Agar-plate 法で前回同様調査したので報告する。

a) 感受性分布の概況

CP 感受性分布は、ひきつづき 1.56 mcg/ml に大きな山があり、 $\leq 12.5$  mcg/ml が 75.3% を占めるが、 $>100$  mcg/ml にも小さな山がある。TC には 0.78~1.56 mcg/ml と  $100 \sim >100$  mcg/ml に 2 相性の分布を示し、感性側と耐性側とに大きく分れている。

SM には  $>100$  mcg/ml 株が 43% 相当の大きな山を示し、1.56 mcg/ml に小さな山がある。これに対し、KM には 3.13 mcg/ml を中心に 1.56~6.25 mcg/ml 株が全体の 82.0% に達し、典型的な 1 相性を呈した。

CL 感受性分布も 3.13 mcg/ml を中心に 1.56~6.25 mcg/ml 株が 78% を占め、AB-PC には 1.56~6.25 mcg/ml に 71.3% が存した。いつぼう、NA には 3.13 mcg/ml を中心に 1.56~12.5 mcg/ml に及ぶなどかな丘状分布を呈した。

CER に対しては、3.13 mcg/ml を中心に 1.56~6.25 mcg/ml にするどい peak を示し、全体の 83.3% が集中したが、 $\geq 100$  mcg/ml が 2.7% もあつた。

b) 若干の新抗生剤に対する感受性分布

最近吾々が検討した新抗生剤のうち、CEZ, CEX, KDM,

VSM に対する感受性分布を、分離 100 株につき追求した。

CEZ には 3.13 mcg/ml, CEX には 12.5 mcg/ml, VSM には 12.5 mcg/ml, KDM には 0.78 mcg/ml 濃度にそれぞれ分布の山をみとめた。そして、諸種の Cephalosporin C系中では、CEZ>CER>CET>CEX, Aminoglycoside 系中では KDM>KM>VSM>SM の順に感受性分布の peak が存在した。

#### c) 耐性菌出現率

耐性判定基準を CP, TC, SM, KM, CL, CER >12.5 mcg/ml, AB-PC, NA >6.25 mcg/ml を耐性株とし、また、すべての抗生剤につき >50 mcg/ml を高度耐性株と仮定した。

これによると、1969 年度の大腸菌耐性株は CP 24.7%, TC 42.0%, SM 59.3%, KM 6.3%, CL 13.3%, AB-PC 21.7%, NA 23.7%, CRE 6.0% である。そして SM は測定開始以来最も低率であり、いつぼう、KM, CL, NA, CER は前年度より増加傾向を示し、ことに、1968 年度の KM 1.0%, NA 17% に比し顕著であつた。

また、大腸菌の高度耐性株は CP 22.0%, TC 38.7%, SM 51.3%, KM 1.0%, CL 6.0%, AB-PC 10.3%, NA 1.0%, CER 2.7% であつた。

### ④-17 種々臨床材料よりの *Klebsiella-Enterobacter* の分離情況と薬剤感受性

小林 章 男

千葉大医学部中央検査部

ブドウ球菌や緑膿菌は院内感染菌として重視されているが、*Klebsiella-Enterobacter* はあまり注目されていないように思われる。病院内感染として重要と思われる臨床材料、血液、尿、創面、非開放性膿、痰において、この菌がどのような分布を示しているか、また薬剤感受性の特長について検討した。

昭和 43, 44 年当院中央検査部で扱つた材料を対象とし、同一患者から数回同じ菌が分離されたときは、すべて第 1 回目分離菌のみを採用した。*Klebsiella* と *Enterobacter* の区別は運動性の有無のみによつた。薬剤感受性は栄研 3 濃度ディスクを用い、卅, 卅を示した株を感受性株とした。

血液から分離された菌株はすべて入院患者からで 73 あり、このうち *Klebsiella-Enterobacter* が最も多く分離され 18 株(うち *Enterobacter* 3 株) で主に内科、外科、泌尿科由来であつた。2 位は *E. coli* で 17 株、次

いで Coagulase negative *Staphylococcus*, *St. viridans* と次いでいた。

尿から最も多く分離された菌は *E. coli* で、外来患者から 154, 入院より 137 と外来から多く分離されていた。これに反し次に多く分離された *Klebsiella-Enterobacter* は外来から 57 株、入院から 102 と、入院でより多く分離されていた。以下 *Proteus*, *Pseudomonas* の順に分離された。尿分離の *E. coli*, *Klebsiella* の薬剤感受性を比較すると、*E. coli* に対しては SX, SM, TC, CP, AB-PC, FT, NA, CER, KM, CL, GM の順に感受性率が高くなつており、外来由来株のほうが入院のそれよりすべての薬剤で感受性率が高かつた。*Klebsiella* は AB-PC に感受性のものが特に少なく、SX, SM, TC, CP, FT に感受性のものが *E. coli* にくらべ特に少なかつた。他の薬剤も *E. coli* にくらべ一段と感受性株が少なかつた。創、非開放性膿から分離された菌は Coagulase positive *Staphylococcus* が最も多く外来 96, 入院 161 であつた。次いで *E. coli* と *Klebsiella-Enterobacter* がほとんど同数分離され外来各々 13, 15, 入院各々 122, 117 であつた。次いで *Pseudomonas* が多く分離された。入院患者の創、非開放性膿から分離された *E. coli* (99 株), *Klebsiella* (83 株), *Enterobacter* (35 株) の薬剤感受性を比較すると、*E. coli* は前述の尿の場合と同様 SX から GM の順に感受性率がましていた。*Klebsiella* は AB-PC にとくに感受性のものが少なく、*E. coli* より感受性率が一般的に低かつた。*Enterobacter* は AB-PC と CER に特に感受性が少ないものが多く、SM, TC, CP では *E. coli* より感受性株が多く、KM, CL では *E. coli* より感受性株が少なかつた。検査された株はすべて GM には感受性であつた。

痰からの分離菌は *Klebsiella-Enterobacter* が最も多く、ついで *Pseudomonas*, *Hemophilus influenzae* と次いでいた。

*Klebsiella-Enterobacter* は各材料を通じて高頻度に分離され、とくに入院患者からしばしば分離されることを示し、薬剤感受性率も *E. coli* より一段と低いことを示した。

### ①-18 各種抗生物質に対するブ菌、大腸菌の感受性調査報告 (第8報)

1965~1968 4年間の膿汁分離ブ菌の  
多剤耐性について

御旅屋寛一・岡本三郎・足立義昭  
町原 英・井上恵美子  
塩野義製薬株式会社

私共は 1965 年以来夏, 冬季の 2 回全国の約 300 の診療機関の協力により主としてブ菌, 大腸菌の感受性検査を行なっており, その結果はすでに第 7 報まで報告している。今回はブ菌の多剤耐性について検討した結果を報告する。

ブ菌の過去 4 年間の分離材料別にみた菌株数をみると, 最多材料は膿汁で各年度共約 70% を占めている。本報告で今回は膿汁分離菌株をとりあげて報告した。被検査薬剤およびその耐性区分は下記のように, 1968 年度分離菌株について報告する。

PC-G, AB-PC .....MIC 3.13  $\mu\text{g/ml}$  以上  
TC, CP, SM, KM .....MIC 12.5  $\mu\text{g/ml}$  以上  
EM .....MIC 3.13  $\mu\text{g/ml}$  以上  
CET, CER .....MIC 12.5  $\mu\text{g/ml}$  以上  
SA .....MIC 12.5  $\mu\text{g/ml}$  以上

膿汁分離株 710 株について 8 薬剤の感受性, 耐性株とその割合についてしらべ, さらに薬剤別に検討した。それらの薬剤の組合せの面から組み合わせの計算した種類と実際に出現した種類, そしてそれぞれの菌株数の構成率を見た。

その結果, 必ずしも計算数と実出現数としては相関性がなかった。同様組み合わせの種類と菌株数としても相関性が少ない。

各薬剤のもつとも多く出現する組み合わせ型は 4, 5, 6 剤と多剤耐性になるにつれ出現する組み合わせ型が定まったものに集中する傾向を示す。以上, 膿汁分離ブ菌の 8 剤耐性について私共の知見を報告したが, ここで CP, KM を除いて PC-G, AB-PC, SM, TC, EM, SA には同様の傾向があることを知った。

### ①-19 薬剤感受性からみた感染症の現況

(その 1) 昭和 40 年以降の現況について

小林 稔・高見寿夫  
三原克之・沼野征子  
神戸大学附属病院中央検査部微生物

我々はさきにブドウ球菌の薬剤感受性について年次の変動の観察を行なつて来たが, 今回昭和 40 年から 44 年末までの 5 カ年の薬剤感受性を中心とした臨床材料(以下, 検体という)からの全検出菌株の変動を観察した。5 カ年の検体総数は 32,753 で, うち原因菌検出率は 41.3% で昭和 40 年の 27% から 44 年の 50.5% と著明な上昇をみた。これは一つには 43 年頃から 1 検体に 2 種, 3 種, 稀に 4 種以上の混合感染例が多くみられるためである。

検体別菌検出率は尿が検体として著しく増加し, 尿 15,000 件中 54% に菌をみとめ, 喀痰 (17%), 血液 (10%) がこれに次いでいる。また検体を材料別に分けると尿が最高で次いで喀痰, 膿汁, 分泌物, 血液の順であり, とくに尿はその大半をしめている。検出した菌種は 39 種に及び, とくに少数例ながら, 嫌気性菌, 発育要約の複雑な菌, その他特殊な菌種が検出された。しかも *E. coli* を筆頭に *Klebsiella*, *Str. fecalis*, *Pseudomonas*, *Staph. aureus et epidermidis* および *Proteus-Providencia* 群でその頻度を全検出菌に対する % でみると一般に 41~42 年を底に再び上昇し *E. coli* は 22%, *Str. fecalis* 12%, *Pseudomonas* および *Staphylococcus* はそれぞれ 10% である。しかもこれから, いわゆるグラム陰性桿菌弱毒菌は全検出株の 60% に及んでいる。また薬剤感受性については昭和 1 濃度ディスクを用い 1 夜培養で (+) および (-) を示すものを耐性であるとし用いた薬剤は比較上グラム陽性群では PC-G, SM, CP, TC, EM, KM および Sulfisomezol, グラム陰性群では SM, CP, TC, KM, Cl, AB-PC および Sulfisomezol のそれぞれ 7 剤とした。耐性の年次変動の観察には前述の検出率の高いもののうち, *Staph. aureus*, *Str. fecalis*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* および *Proteus mirabilis* の 6 種に限定した。すなわち *Staph. aureus* では KM 耐性が 7.1→10.4% と徐々に上昇し CP では 21→29% とほぼ同様の成績である。いつぼう, PC-G では 87→66%, TC では 58→48%, Sulfisomezol では 81→66% と徐々に感受性が高まりつつあり同様の傾向は *Str. fecalis* にもみられた。*E. coli*, *Klebsiella* では KM に 10→25%, Cl に 1→3% と徐々に耐性化しながらなお

感受性は高く、*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* は一般に高い耐性を示しながらもゆるやかな下降を示す点は注目される。また上述の各菌種について7薬剤中、そのいずれかに耐性を示すものを全検出株に対する%で見ると、*Staph. aureus* は22→19%、*E. coli* は24→21%、*Proteus* は7→7%とゆるやかに下降し、*Str. fecalis* は6→12%、*Klebsiella* は11→14%、*Ps.* は9→10%と僅かに上昇し、さらに耐性株を検体別に尿、喀痰、膿汁からの3大別するとグラム陽性群は43→50%、グラム陰性群では61→73%と尿から検出される菌株が著しく耐性化しつつあることがわかる。いつぼう、TC耐性溶連菌も40年2例、41年8例、42年9例、43年9例、44年18例と増加し、5剤以上多剤耐性と5剤以上多剤感性の率を*E. coli*等多検出菌種についてみると、*Staph. aureus*では多剤耐性率は58.2→34%と低下し、また多剤感性率は37.9→62.9%と上昇し、*Str. fecalis*では多剤耐性71.3→76.8%、多剤感性8.4→18.5%、*E. coli*では多剤耐性64.6→33.0%、多剤感性8.4→33.6%、*Ps.*では多剤耐性73.0→39.9%、多剤感性3.8→18.1%、*Klebsiella*では多剤耐性73.0→38.9%、多剤感性8.1→18.7%と徐々に両極端の感受性の様相を示しつつある。また真菌については今回の検討から除外したが検体は徐々に増加しつつあるが同定した真菌の全真菌検査材料に占める割合をみると33.7%、40.7%、41.3%、36.8%ととくに有意の増加はみられない。

### ①-20 合成 Cephalosporin C 及び合成 Penicillin の抗菌力について

斎藤 武志

大原綜合病院泌尿器科

私は大原病院検査室にて分離されたPG耐性ブドウ球菌、大腸菌に対するCephalosporin C、合成Penicillin製剤、Aminosidine、Kanendomycin、Colistin等の抗菌力について観察した。

栄研ディスク3濃度法を用いブドウ球菌129株のPG感受性テストを行なった。その成績は感性ブドウ球菌が41株、耐性ブドウ球菌が88株にみられた。

PG耐性白色ブドウ球菌に対しMCI-PC、Cephalosporin Cの感受性分布は0.3 mcg/mlにピークがあり、感受性がみられ、次いでAminosidine、Kanendomycin、CB-PC、AB-PCの順であつた。

PG耐性黄色ブドウ球菌に対してはMCI-PC、Cephalosporin CがMICが0.3~1.2 mcg/mlで感受性がみられたが、Aminosidine、Kanendomycinは感性菌と耐性菌が約半数にみられ、さらにAB-PC、CB-PCの

MICは30 mcg/ml以上が多く、ペニシラーゼに不安定な成績がえられた。

大腸菌に対する薬剤の抗菌力

AB-PC、CB-PCは3~6 mcg/mlにピークがみられたが約1/3の菌株に耐性菌がみられ、Colistin、KanendomycinのMICは3~12 mcg/mlにピークがみられ、優れた抗菌力がみられていたAminosidineは7~12 mcg/mlであつた。

次にPG耐性ブドウ球菌と大腸菌の混合菌液に対する抗生物質の合剤の抗菌力について検索した。まずAB-PCとMCI-PCの合剤であるVicillinsの抗菌力についてみると60~120 mcg/mlの高濃度を必要とし、この濃度におけるColonyはFilament化した大腸菌であつた。いつぼう、いつしよに培養したブドウ球菌はMCI-PCにより低濃度で発育阻止されていた。CB-PCとMCI-PCと合剤の抗菌力を検索したところ、6~12 mcg/mlにピークがあり、ブドウ球菌に対し、MCI-PCが優れた抗菌作用をしめしていた。さらにKanendomycinとMCI-PCとの合剤の抗菌力についてもブドウ球菌に対しMCI-PCが有効に作用していた。AB-PCとMCI-PCの合剤の際、高濃度培地のFilament化した大腸菌は抗生物質を含まない培地に1晩培養することにより従来の桿菌にもどり、またAB-PCのMICも3~6 mcg/mlと感性化していた。

次に、ブドウ球菌、大腸菌に対するPenicillin製剤の作用機構を電顕的に観察した。ブドウ球菌に対しては、細胞壁の代謝異常による隔壁の膨隆がみられ、時間の経過とともにMesosomも不鮮明になつていた。また、大腸菌に対するVicillin Sの作用は細胞壁に無数の突起を生じたり、壁構造が破壊され、Lockerになり細胞壁と細胞質膜との間隙が広くなり、細胞質の萎縮、空胞形成等がみられている。さらにFilament化した大腸菌は、細胞壁には破壊像にみられず核領域の増大がみられていた。しかし、分裂時の隔壁形成はみられていないのでAB-PCは不完全な形で壁合成に異常をもたらしていると推定された。

### ①-21 臨床材料から分離した各種細菌の Rifampicin 感受性

中村 正夫・森 耕一

国立東京第一病院

臨床材料から分離された各種細菌についてRifampicin(RFP)感受性を測定すると同時に、試験管内抗菌価と臨床効果との関係、ならびに菌の耐性獲得について検討した。

臨床効果との関係は、主として尿路感染症を対象とし

て行なわれたので、用いられた菌は、グラム陰性桿菌、とくに *E. coli* が多く (症例総数 77 例中 44 例)、その他 *Proteus*, *Citrobacter*, *Pseudomonas* および *Mycobacterium tuberculosis*, 球菌として *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus*, *Neisseria gonorrhoeae* などである。RFP のグラム陰性桿菌に対する MIC は大部分 12.5~50 mcg/ml を示し、試験管内の抗菌価は必ずしも高くないが、対象となった 49 症例についてみると、5 例が再発、3 例が無効であった以外は、臨床的に有効と考えられる成績であった。これは RFP の尿中排泄濃度にも関係するものと思われる。

再発をみた症例は、いずれも *E. coli* が原因と考えられるもので、これらの症例について、治療前と再発後に分離された菌の MIC を測定した結果、治療前 12.5~25 mcg/ml のものが、再発後 1,000 mcg/ml に上昇する例もみられ、しかも 4~5 日間の短期間にこのような高度耐性を獲得したと思われる成績をえた。なお、この時の薬剤使用量は 1 日 600 mg である。

球菌についても *Staphylococcus epidermidis* 感染と思われる 1 例に再発がみられ、治療前および 4 日後の再発時の菌について MIC を測定した結果、 $<0.025$  mcg/ml から  $>100$  mcg/ml に上昇がみられた。

このような耐性獲得について、分離菌株中の自然耐性細胞の存在を検討したが、*Staphylococcus* については 50 mcg/ml 以上に発育する高度耐性細胞が存在することを認め、これが耐性上昇の原因とも考えられる。また、試験管内耐性獲得実験においても、再発例から分離された菌は、短期間に高度耐性を示すようになることも認められた。しかし、*E. coli* については、今回の実験では 500 mcg/ml 以上の耐性細胞の存在は証明できなかった。

結核菌については 16 株の耐性をキルヒネル培地を用いて測定したが、ほとんどの株が 0.1 mcg/ml まで発育が認められた。RFP 治療が行なわれた 7 例中、1 例が無効、1 例は再発をみたが、この患者からの菌は 0.1 mcg/ml 完全耐性 0.5 mcg/ml 不完全耐性の成績を示し、他の株に比し、やや耐性の傾向を示した。この症例の再発後分離株についての耐性を現在測定中である。

#### ①-22 乳児腸管感染症に Rifampicin を使用した際にみられる腸内細菌の変動

藤井良知・紺野昌俊・八森 啓  
東大分院小児科

Rifampicin で 4 例について、使用前、使用開始 24 時

間、1 週間の使用後、さらにその 1 週間後と 4 回について調べ、さらに 3 例については、3 カ月後についても調べた。

各種細菌叢の変化は、全例についてほとんど変動はないと言つてもよいと思われた。ここで興味深く思われたことは、投与前の大腸菌はすべて Rifampicin の MIC が 12.5 mcg/ml から投与後の 24 時間以後で 400 mcg/ml になつたことである。これは使用後 1 週間でもまだ 400 mcg/ml であつた。1 例 [TS 例] では 3 カ月でも  $10^7$ /ml 程度で高度耐性を保持していた。

クレブシエラでは 1 例で使用耐性になつたが、使用中止後のものでは、耐性は使用前のものとならず、脱落したものとする。

Coagulase 陽性ブ菌は 2 例で検出されたが RFP は 2 株とも高度に耐性化していた。

このように、Rifampicin の投与によつて、便中の大腸菌が、速やかに RFP 耐性となるかについて、TS 例にて、使用前の大腸菌、クレブシエラ各 1 株について、RFP 25 mcg/ml プイオン中での、生菌数、耐性菌の出現状態について調べた。大腸菌については、5~6 時間でその菌数は一番減少し、耐性菌は 6 時間目から  $10^2$ /ml で出現した。クレブシエラについてもほぼ同様であつた。これらの耐性菌はすべて 400 mcg/ml 以上の MIC を示した。

TS 例で使用前 (大腸菌) 株で抗血清を作り、凝集反応を、四囲の時点での大腸菌の血清反応を試みたところ、使用終了時と、終了後 3 カ月の時点で凝集反応陽性であつた。この 3 カ月後のところで 10:1 の割合で凝集反応陰性のものが多く存在していた。他の時点で陰性であつたのはこの凝集しないほうの菌株を保存したものと思われ、最初から耐性型の同一で、Type の異なる菌が存在していたと考える。

以上結論として、

1. 大腸菌は Rifampicin の投与で RFP すべて耐性となるものと思われる。
2. 3 カ月後でもなお RFP 耐性が続いているものがあつた。
3. Rifampicin を使用する際に他の薬剤との併用が望ましい。
4. 同一患者で、同一の耐性パターンを示しても、抗血清で分類すると単一な type でないことがわかり、かつ耐性獲得は type が異なつても同一傾向を持つことが認められた。

[追加] 中沢昭三 (京都薬大)

Rifampicin (RFP) 自然耐性菌 (Mutant) の出現に関しては一昨年の東日本、中日本支部総会ならびに昨年の

第 17 回総会 (パネルディスカッション) などで報告し、その原著は J. Antibiotics 22(4), 1969 に掲載されているし、また海外での仕事も出て来た。また耐性伝達や誘導についても群大の三橋教授や私どもも発表している。このような RFP の基礎的な研究を充分理解した上で臨床的耐性菌出現の観察をされたい。

〔答〕 八 森 啓 (東大分院)

臨床的な意味での研究であり、*in vitro* では分つていたが *in vivo* ではいわれていない。また耐性が 3 カ月までも続くということはいわれていない。

### ①-23 臨床材料から分離した嫌気性菌の Gentamicin に対する感受性

中 村 功

山口県立中央病院内科

林 愛・餅田親子・猿渡勝彦

高平好美・井上和義

長崎大学検査部細菌室

Gentamicin (GM) が好気性菌に関しては黄色ブ菌以下緑膿菌をも含めた Gram 陰性桿菌に及ぶ広い抗菌スペクトルを有することは周知の事実である。ところが嫌気性菌の GM に対する感受性についての Data は余り見当たらない。我々は嫌気性菌は概して GM に感受性が低く、他の Aminoglycoside 系抗生物質と同様に GM も嫌気性菌に関しては広域スペクトルの抗生物質とは称し難いという成績を得たので報告する。

材料と方法：最近 2 年間に膿、分泌液などの臨床材料から分離した嫌気性菌 369 株の中から無作為に選んだ 174 株を検索の対象とした。感受性試験は 3 濃度 Disk 法により、培地は 5% 羊血液加 Liver Veal 寒天平板を用い、嫌気環境は Gaspak Anaerobic Jar によつてつくり、37°C、24~48 時間培養後に判定した。

成績：Peptococcus, Peptostreptococcus 34 株は SM, KM, GM, CL および Nalidixic acid (NA) には感受性が低く、Macrolide 系, Penicillin 系, Cephalosporin 系, CP, TC および Furatridine には感受性が高い。Veillonella 36 株は SM, KM および GM 感性株が比較的多い反面、Macrolide 系に感受性が低いものが過半数あり、NA にはほとんどの株が耐性である。Clostridium 18 株は Penicillin 系と Cephalosporin 系には感受性が高いが、SM, KM, GM および CL には完全に耐性である。無孢子 Gram 陽性桿菌 25 株は SM と GM に感受性を有する株が約半数あるが、KM に対してはほとんどが耐性である。また CL と NA にはすべて耐性である。Bacteroides-Sphaerophorus-Fusobacterium 61 株は

Macrolide 系, CP, TC および Furatridine には感受性が高いが、SM, KM, GM, CL および NA には大多数の株が耐性である。

考案と結語：嫌気性菌は菌種の如何を問わずすべて GM には感受性が低い。Peptococcus-Peptostreptococcus の GM 感受性率は 27%, Veillonella 67%, Clostridium 6%, 無孢子 Gram 陽性桿菌 48%, Bacteroides-Sphaerophorus-Fusobacterium 15% である。このように臨床材料からの検出頻度が高く、しかも起炎菌としての役割が大きいと考えられる Peptostreptococcus や Bacteroides 或いは Clostridium が GM をはじめとした Aminoglycoside 系の抗生物質には感受性がほとんどない点は臨床とくに注意を要する。

他方、すでに本学会、第 16 回総会で発表したとおり、好気性菌に関してはスペクトルが狭い Lincomycin が、あらゆる種類の嫌気性菌に対してかなり強い抗菌力を有し、嫌気性菌に関しては Lincomycin は広域スペクトルの抗生物質と言える事実がある。

従がつて化学療法剤のスペクトルの広狭を好気性菌と嫌気性菌とで一律に論ずるのは妥当でないと思われる。

おな、Aminoglycoside 系の中で GM の嫌気性菌に対する抗菌力は SM よりも一段と弱く、KM に近似している。

〔追加〕 大西哲夫 (名市大 1 外)

我々は臨床材料で直接塗抹ディスク法で好気および嫌気培養を行なつてみると KM が嫌気培養では感受性がひじょうに悪いように思われた。文献的にも SM, KM などのアミノ配糖体抗生物質は好気的条件下のみ菌体内にとりこまれるが嫌気的条件下ではとりこまれにくいといわれている。

そこで我々は SM, KM, GM, CP, CER, TC, EM, PL の 8 種抗生物質につき病巣分離の大腸菌, 変形菌, 肺炎桿菌に対する感受性を平板希釈法により好気および嫌気培養に分けて各々の感受性について検討してみた。その結果、SM, KM, GM のアミノ配糖体抗生物質においては好気および嫌気培養希釈法の 3 段階の感受性の差がみられ、嫌気培養では感受性がひじょうに悪かつた。すなわち SM, KM, GM のアミノ配糖体抗生物質は嫌気性菌だけでなく適性菌である大腸菌, 変形菌, 肺炎桿菌に対しても嫌気的条件下ではその感受性の低下する現象は臨床興味ある問題で病巣部位での Anoxia の改善につとめることは抗生剤抗菌力の増強の意味も加味するものと思われる。

〔質問〕 馬場駿吉 (名市大耳鼻咽喉科)

嫌気性菌の感受性測定の判定時間は 24 時間と 48 時間で data に差異を生じないか。

[答] 中村 功 (山口県立中央病内科)

24 時間培養後に判定したものは *Clostridium* のみである。本菌は発育迅速なので 24 時間培養で充分と思う。

#### ④-24 Thiophenicol および Sulfamethopyrazine の嫌気性菌に対する抗菌力について

二宮 敬宇・上野 一恵  
向坂 孝・鈴木 祥一郎  
岐阜大学微生物

Thiophenicol, Sulfamethopyrazine の嫌気性菌に対する抗菌作用を *in vitro* ならびに *in vivo* で検討したので報告する。

##### 1. Thiophenicol の抗菌作用について

*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Bacteroides*, *Sphaerophorus*, *Fusobacterium*, *Corynebacterium*, *Cillobacterium*, *Clostridium* など嫌気性菌は、いずれも強い感受性を示した。MIC は菌種、菌株によつて若干異なるが 0.78~3.1 mcg/ml であった。いつぼう *Sphaerophorus necrophorus* の実験的感染症に対しても著しい感染防禦効果を認めた。また膿瘍形成マウスに対する治療効果は 0.9 mg/マウス治療群では 10 匹中 8 匹に治療効果を認めた。

##### 2. Sulfamethopyrazine の抗菌作用について

*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Bacteroides*, *Sphaerophorus*, *Fusobacterium*, *Corynebacterium*, *Cillobacterium*, *Clostridium* など嫌気性菌は、菌種、菌株によつて若干異なるが、2.2~62.5 mcg/ml に感受性であった。

いつぼう、*Sphaerophorus necrophorus* の実験的マウス感染症に対しても強い感染防禦効果を認め、膿瘍形成マウスに対しても治療効果がみとめられた。

#### ④-25 寒天平板希釈法による感受性試験における塗布接種と滴下接種の MIC 値に及ぼす影響について ——CEX, AB-PC, AC-PC を用いて——

一色 義人・野藤 隆夫・五島 瑳智子  
東邦大学医学部微生物学教室

当教室で考案した 1 平板上に 1 度に 21 個の菌株を滴下接種する方法で寒天平板希釈法により CEX の感受性値を測定したところ、いくつかの検討すべき点が認められたので、さらに AB-PC, AC-PC を加えて比較検討を

行ない、以下の成績を得た。

(1) *Staph. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Pr. mirabilis* に対する 3 薬剤の MIC を日本化学療法学会標準法で採用している Tryptosoy broth, HI agar を組み合わせた方法 (標準培地法) と Nutrient broth, 同 agar を組み合わせた方法 (普通培地法) で滴下法により測定し比較検討した。その結果、CEX では高接種菌量を接種して測定した場合、両培地法で MIC に大きな相違を示す場合が認められ、普通培地法では感受性値を標準培地法では耐性値を示す例が *E. coli* や *Klebsiella* で認められた。しかし、これら耐性を示す株も接種菌量を減ずるとすべて感受性を示した。いつぼう、AB-PC, AC-PC では両培地法間で MIC にほとんど相違を認めず、接種菌量による MIC の変動も認められなかつた。また、高接種菌量で測定し、いずれの培地法でも感受性を示した菌株では接種菌量による影響をほとんど認めなかつた。

(2) Tryptosoy broth, Nutrient broth その他の液体培地中での菌の増殖度の比較を *Staph. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* 等で検討すると同時にこれらの菌の接種生菌数と MIC の関係について CEX, AB-PC を用いて検討した。その結果、Nutrient broth と他の液体培地とでは 1 ml あたりの生菌数において相違を認め、この相違が MIC に変動を与えたが、培地の種類(質)によつて生菌数と MIC の関係が異なることはなかつた。この関係については、MIC の変動に関して (a) 一定の生菌数を境にして急激に変動する (b) 生菌数に比例して変動する (c) 生菌数によつて変動しない、の 3 種に区別され、*E. coli*, *Klebsiella* に対する CEX の MIC は (a) の例に相当し、AB-PC では (b) または (c) に相当する例がみられた。

(3) 塗抹接種法と滴下接種法での接種生菌数および MIC の異同について *Staph. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* の各菌株を用いて CEX, AB-PC で検討した。その結果 1 接種量あたりの生菌数には両接種法の間で相違を認めなかつたが、単位面積あたりの生菌数 (菌密度) には両法の間で相違が認められ、滴下接種のほうが塗抹接種より 3~4 倍高い菌密度を示した。また MIC においても両接種法間に相違を示す場合が認められ、とくに CEX でこの傾向が強かつたが、これは菌密度と生菌数の一定の関係により生ずるものであることが確認された。

(4) 上述のとおり、菌密度が MIC に大きな影響を与える場合があることが確認されたが、この菌密度は接種の方法、培地の種類その他によつて変動することがあるので、より再現性の高い MIC を得るためには接種菌液として培養液の 10~100 倍希釈液を使用することが適当であろう。

〔追加〕 金 沢 裕 (新潟鉄道病院)

私がかねがね臨床的観点から感受性シケンに適当な接種菌量を検討報告してきた。すなわち接種菌量でその成績が左右される事項として、1) サルファ剤の臨床的に有効な株をみおとさないように、2) PC-ase 産生菌は菌量が多ければ耐性に、少なければ感性に傾くが、*in vivo* で PC がある程度有効なことが証明されているので感性、耐性の中間程度を示すように、3) 腸チフスに最も有効の CP が菌に対する MIC とその体液中薬剤濃度から臨床の有効性を推定できるように。以上の目的にはほぼ適するには平板培地上  $10^3 \sim 10^4/\text{cm}^2$  が適当との成績がえられている。これはブイオン液培養 100 倍キシヤク液トマツ接種にはほぼ近い成績である。

〔質問〕 紺野昌俊 (東大分院)

治療基準案は塗抹法を規定してあるが、臨床家にとって塗抹法でやることはかなり労力があることであり、どうしても滴下法に頼ることになるが、滴下法を塗抹法にいかにか近づけるかということが問題なのであつて、私達は菌では 10 倍、G(-) 桿菌では 100 倍に希釈している。お話によると、菌におけるブレがかなり激しいようであり、菌でも 100 倍にする必要があるのであろうか。薬剤による変動もあるということであるが、それを考慮しても 10 倍ないし 100 倍でよいということなのであろうか。

〔答〕 一色義人 (東邦大微生物)

1) 培養菌液の希釈は培養液中の菌数によるが Gram 陰陽の区別せず、ほとんどの場合 10 倍の希釈液の接種で充分であると考ええる。しかし安全性を考えると  $100 \times$  希釈液も必要であろう。

2) 薬剤間で接種菌量と MIC の関係は異なり、CEX が最も接種菌量によつて影響を受けやすい。安定であることが認められた AC-PC でもその後他の *Staph. aureus* 30 株で測定したところでは CEX と同様の態度を示す場合がある。従がつて、薬剤の種類によらず、培養液の希釈液を接種することが適当ではないかと考える。

〔追加〕 桑原章吾 (東邦大微生物)

一色らの研究は、MIC の変動が主として接種菌量、とくに面積密度によつて左右されていることを確認した段階で、再現性が高いのはブイオン 1 夜培養の  $10 \sim 100 \times$  希釈液を用いる場合であつたが、それが臨床効果を反映するかどうかは *in vivo* test, 臨床試験との関連性を追及する必要がある。

CEX については、培養濾液中の薬剤の不活化は認められず、接種菌量と MIC の変動の関係はこの面からは説明できない。

## ①-26 感受性ディスク法に関する研究 (第 39 報)

(とくに本法の精度管理, R 因子簡易検出法について)

金 沢 裕

新潟鉄道病院内科

倉 又 利 夫

同 薬 剤 科

1) Cephalixin, Rifampicin について 1 濃度法の成立することをみとめたが、他の発表の場があるので省略する。

2) ディスク法 (1 濃度法) の精度管理の試みとして標準菌株による方法を取り上げた。*Staph. 209 P* 株はオリジナルが同一でも保存株によりかなり異なる MIC を示す (とくに PC, SM, KM に最大 8 倍) ので、化学療法学会分与株 *Staph. 209 P*, *E. coli* NIHJ のみを取り上げることにした。ついで藤井、桑原教授 (1968) により或る程度実験条件を規定して、国内一流研究機関での同一菌株についての 2 倍希釈法による値集計の際の MIC 値変動の幅の最小値 (棄却限界 3.4~0.29, 標本標準偏差 1.85~0.54) を検査室レベルでの 2 倍希釈法の変動の幅として、生化学検査におけるいわゆる  $\bar{X} \pm 26$  の値を各薬剤ごとに作製し、それより外れた場合は誤つた実験 (方法, 資材, 標準曲線などを含めて) が行なわれたと考え、精度管理を行なうことが出来ると思われる。手始めに CP について 209 P 株をナリジキシクアシッドについて NIHJ 株を用いて繰返し実験結果から  $\bar{X}$  としての MIC 値を求め、 $\pm 6, 26$  の値を確定することが出来たが他の薬剤にも及ぶ予定である。

3) ディスク法による R 因子の検出法: ディスク法の応用としてつぎのような方法で G(-) 桿菌の R 因子のスクリーニングが行なえることを知つた。Donor と Recipient の培養液を同時に Recipient の選択培地平板に接種し、各種ディスクをおき、3~4 日培養後 Recipient 単独接種平板にみられない耐性パターンを観察し、耐性伝達の有無を判定する。またはディスクを選択培地中心におき Donor, Recipient を単独または重ねて放射状劃線塗抹して培養後観察し、Recipient 単独に比し耐性パターンを示したものは R 因子 (+) と判定する。実際に Recipient としての *E. coli* には酢酸ナトリウム寒天培地を、*Shigella* には SS 培地を、*Salmonella enteritidis* にはシモンズ・クエン酸ナトリウム培地をそれぞれ選択培地として耐性 *Shigella*, 耐性 *E. coli* の R 因子の存在を証明することができた。

### ①-27 結核耐性培地の力価検定法に関する検討(統報)

金 沢 裕  
新潟鉄道病院内科  
倉 又 利 夫  
同 薬 剤 科

われわれは結核耐性培地の力価測定法としては、抗生物質製剤基準による検定法は、検定菌がマラヒットグリーンに感受性を示すことがあるのでそのまま適用しえないことをしり、迅速発育型の非病原性の抗酸菌(M. H-7, M. 238)を検定菌とする平板拡散法を用い、PASを除く、INH, EB, TH, SF, SM, KM, VM, CS, CPMの培地力価(活性濃度)を短時日に測定しうることを明らかにし、本法を用いてこれら薬剤の耐性培地の保存条件による安定性の差を検討、第12回本学会で報告した。

今回は新抗結核剤としての Rifampicin, Prothionamide 耐性培地としての1%小川培地、キルヒナー半流動培地について検討した。その測定域は M. H-7 株で Rifampicin 0.1  $\mu\text{g/ml}$  (キルヒナー), 1  $\mu\text{g/ml}$  (小川), M. 238 株で Prothionamid 5  $\mu\text{g/ml}$  (キルヒナー), 12.5  $\mu\text{g/ml}$  (小川) であった。保存による安定性は共に不安定の傾向がみられ、Rifampicin は氷室保存でキルヒナー、小川ともに3カ月以上で明らかな力価の低下があり、37°C では小川では1/2月、キルヒナーでは1カ月以内に力価低下がみられた。室温ではこの中間に位した。また Prothionamide では氷室保存でも、キルヒナー、小川ともに3カ月以上で、37°C ではいずれも1カ月以上で力価の低下がみられた。以上のことからこれら耐性培地は作製後速やかに使用する。いつぼう、保存、輸送に充分注意する必要があると考えられる。

つぎに耐性培地の力価を速やかにチェックするために、標準株としての M. H-7, M. 238 株を現行の検査指針による1%小川、キルヒナー半流動による INH, SM, KM, Prothionamide, CS, VM, CPM, EB 耐性培地に 0.1 mg ずつ接種すると薬剤含有培地、キルヒナーでは24時間以内に、小川では48時間以内に菌発育がみられた。薬剤含有培地では Prothionamide (キルヒナー) 5  $\mu\text{g/ml}$ , (小川) 12.5  $\mu\text{g/ml}$  に菌発育がみられたが、その他の薬剤培地では発育はみられなかつた。このような成績を参考にある程度短期間に耐性培地の力価を大要チェックしうる可能性があると考えられた。

### ①-28~38 一般化学療法の基本 III

### ①-28 抗生物質生物学的定量法(全血微量重層法)の考案とその応用に関する研究

新 井 蔵 吉  
昭和大学医学部臨床病理学教室  
川 原 隆 一  
昭和大学病院中央研究検査所  
国 保 喜 寛  
昭和大学医学部小児科学教室

抗生物質の開発に伴ないそれに適する生物学的測定法が考案されることが望ましい。研究者の1人新井はこれらについて数回にわたり本学会で報告した。今回我々は重層定量法を改良して全血を用いる微量定量法を考案し、いちおうの成果を得たのでここに報告する。

培地：基礎培地は肉エキス 5g, 酵母エキス 10g, ペプトン 10g, NaCl 5g, 寒天(Difco) 10g, 清水 1,000 ml, pH 6.6 である。

この基礎培地 100 ml に 1% NaNO<sub>3</sub> 2 ml, 0.1% メチレン青 3 ml, 試験菌 *Staph. aureus* FDA 209 P, Heart infusion broth 20時間培養 10倍希釈液 0.5 ml を加え測定用試験管(内径 4 mm, 長さ 80 mm) に分注する。

測定法：耳朶、手指、足蹠などを穿刺し、自然に流出する血液を約 0.5×0.5 cm の滅菌ガーゼまたは脱脂綿に吸収させ、これを重層する。すなわち血液を吸収させたら直ちに測定培地の上面に完全に密着するように重層する。

測定結果：薬剤希釈液につき本法(かりにガーゼ法とする)と従来からの重層法とによる結果を比較したところ、阻止帯の長さをはじめ総べて同一の成績を得た。

そこで Aminobenzyl Penicillin (AB-PC), Acetyl Spiramycin (AC-SPM), Cephaloridine (CER), Cefazolin (CEZ) につき全血濃度を測定し、次のような結果を得た。

1. AB-PC の全血濃度：成人5例に500 mg 筋注後、1, 3, 6時間の血中濃度平均値は1時間 4 mcg/ml, 3時間 1.57 mcg/ml, 6時間 0.17 mcg/ml で血清を重層する従来の方法と比較し45%の活性力価を認めた。新生児に AB-PC 30 mg/kg 筋注後は1時間 9 mcg/ml, 3時間 4.5 mcg/ml, 6時間 2.2 mcg/ml であった。

2. AC-SPM の全血濃度：成人5例に朝食後 600 mg 経口投与、その後 1, 3, 6時間の測定平均値は1時間 0.75 mcg/ml, 3時間 1.15 mcg/ml, 6時間 0.56 mcg/ml

で、血清による測定値に比較し 60% の活性力価を示した。

3. CER の全血濃度：成人 5 例に 500 mg 筋注後の 1, 3, 6 時間値を測定した。その平均値は 1 時間 3.95 mcg/ml, 3 時間 2.3 mcg/ml, 6 時間 0.65 mcg/ml で血清重層法に比較し 40% の活性力価を示し、前 2 剤よりやや低値であった。

4. CEZ の全血濃度：新生児に 50 mg/kg 筋注後、1, 3, 5, 7 時間目の値はそれぞれ 28 mcg/ml, 11.2 mcg/ml, 5.8 mcg/ml, 2.4 mcg/ml であった。

#### 結論

ガーゼ法による全血濃度測定値は従来の鳥居・川上原法による測定値よりも一般に低値を示した。その比率も薬剤によつて多少異なる。この原因については真下、黒田、畠山、北本、深谷等の報告のとおり、血球成分との吸着、拡散の相違などが考えられるが、さらに検討を要する。

いずれにせよ本法によれば 0.1 ml 以下の血液で充分測定することが可能で、さらに藤井・紺野の測定法のように血清を分離して実施すれば 0.1 ml 以下の量で従来の方法と一致した成績を得ることができる良法であることを認めた。

〔質問〕 金 沢 裕 (新潟鉄道病院)

私どもは昨年の本学会総会で全血微量濾紙法による抗生剤濃度測定法 (平板拡散法) について報告したので、それに関連してつぎの点をお伺いする。1) 標準系列はどのようにして調製したか。2) 全血または臓器滲出液がメチレン青の還元に影響して阻止帯と脱色帯が分離不一致となることはないか。3) 検体が微量の場合はその検体量により阻止帯が異なることが理論的にも実験的にも考えられるが、検体量を一定にする方法はどうか。

〔答〕 国保喜寛 (昭大)

1) 標準薬剤希釈液は生理的食塩水を用いた。ガーゼ法でも変化を認めなかつた。

2) 全血と重層した場合はメチレンブルーには影響はない。

3) 重層法においては重層する検体の量によつて阻止帯に変化は認められないのが原則である。

〔質問〕 三木文雄 (大阪市大)

1) ガーゼまたは脱脂綿に吸収させる血液量はどれほどか。吸収血液量を変えた場合に発育阻止帯長に差は認められないか。

2) ガーゼまたは脱脂綿に吸収させた血液は溶血を起こしているかどうか。得られた成績を判読する際に考慮に入れねばならない問題と考えるが。

〔答〕 新井蔵吉 (昭大)

1) 重層する量には重層法の原則として阻止帯には変化はない。

2) ガーゼに吸収する血液量は 0.03~0.05 ml である。

〔追加〕 清水喜八郎 (東大)

血中濃度の測定法に関しては、2 つにわけて考えなくてはならない。つまり、生体内動態を詳細にしらべる研究用のものと、臨床的に簡易にできる方法の 2 つにわけて考える必要がある。

問題な測定値として低くでてくることの解析が必要であり、その上でその意義について考えなくてはならない。

#### ④-29 体液内濃度測定に関する再検討 (特に isoxazolyl 系 PC の血中濃度について)

石山俊次・坂部 孝・古橋雅一  
高橋右一・長崎 祥祐・川上 郁  
中山一誠・西岡 伸也・岩本英男  
岩井重富・鷹取 睦美・川辺隆道  
鈴木邦夫・村上不二哉

日本大学石山外科

爾来、人体内における抗生剤と血清蛋白、とくに Albumin との結合について多くの研究がなされてきており、各種抗生剤について、その血清蛋白結合態と抗菌力との関係は興味深い問題である。その中で、抗生剤の体液内濃度、とくに高度血清蛋白結合性抗生剤の血中濃度についても、その測定法および測定値の意義について種々の見解がある。

今回われわれは、血清蛋白結合性の高い isoxazolyl 系 PC について、血中濃度を Cup 法を用い測定して、比較検討した。

例えば、MFI-PC (結合率 90% 以上) 500 mg 内服後の血中濃度を検定菌 *Sarcina lutea* ATCC 9341 を用いて測定すると、Buffer 希釈 (pH 6.0) 標準曲線で測定 (検体は人血清希釈) すると、30 分後 1.13 mcg/ml (平均)、1 時間後 4.38 mcg/ml, 2 時間後 1.02 mcg/ml であるが、人血清希釈標準曲線で測定すると、30 分後 3.84 mcg/ml, 1 時間後 8.08 mcg/ml, 2 時間後 5.09 mcg/ml であつて、約 2 倍以上の差がある。すなわち、いちおう、total と free の差と考えられるが、色々問題がある。

その他の抗生剤についても、Protein-binding との関係に比例し、それぞれ異なつた値を示すようである。

④-30 Aminobenzyl-Penicillin, Methylphenylisoxazolyl-Penicillin 合剤の分離定量法及び本法を使用した基礎的小実験

樋口正士・薬師寺道則  
江藤耕作・重松俊  
久留米大学泌尿器科

AB-PC, MPI-PC 分離定量を行なう目的で、薄層クロマトグラフィー法を応用した。すなわち、シリカゲルを担体とし、TLC 用吸着プレートに引き、*n*-ブチルアルコール・酢酸・水(4:1:1)を溶媒とし、検出には 0.5% KMnO<sub>4</sub> 溶液噴霧法で行なつた。

Bioautography においては、1方法として、展開した標準試薬の R<sub>f</sub> 値と同等の部分のシリカゲルを直径約 2 cm の円形をかき取り、滅菌 pH 7.0 1/15 M Phosphate buffer 約 0.5 ml で混和し、これを BHI 培地に *Sarcina lutea* PCI 1001 株を加え、カップを置いた検定培地に接種し、4°C 4時間拡散後 37°C 18時間培養後判定した。他法 BHI 培地(平板)に展開済みシリカゲルプレートを置き、これに BHI agar を高圧滅菌後 50°C に冷却した後 *Sarcina lutea* 18時間培養したブイオンを 1% の割に加えたものを駒込ピペットをプレートと同じ高さになるように加え測定した。

同法を用い、標準試薬で標準曲線を描き、これに体重 3 kg 前後の雑兎を用い、AB-PC, MPI-PC 合剤の血中濃度、尿中濃度、臓器内濃度、肝細胞による活性化の変動を観察した。

血液、臓器内濃度、肝細胞乳濁液に対しては、3倍量のメタノールで混和後、3,000回転5分遠沈、上清をシリカゲル原点にスポットし展開させ標準曲線に照らして判定した。尿はあらかじめ phosphate buffer で希釈した後、水分が 25% 以下になるようにメタノールで希釈した後測定した。

血中濃度は、AB-PC においては 30分後に最高値 7.63 mcg/ml を示したのに対し、MPI-PC は 1.76 mcg/ml であつた。

尿中濃度は、両剤ともに 1~2時間で最高値を示した。家兎臓器内濃度においては、肝>腎>脾>肺>脳の順であつた。

肝細胞における活性化の変動においては、5 mcg/ml, 0.5 mcg/ml, 0.05 mcg/ml の3濃度で検討し、ともに高濃度の添加がより多く活性を失なうことを認めた。

④-31 新生児血中濃度測定法について、特に分離定量法及び Disk 法の検討

佐野慎一  
順天堂大学産婦人科

われわれはすでに種々薬剤の新生児における体内消長につき、主としてその活性型濃度を FUJII-GROSSMAN の微量定量法を用いて測定して来たが、今回は Disk 法および Thinlayer chromatography (TLC) 応用の分離定量法につき基礎的検討を加え、かつ合成 Penicillin の単剤および合剤につきこれら測定法を応用、薬剤の体内での活性型、不活性型の態度を検討したので報告した。

1. 使用薬剤：AB-PC, MCI-PC, MPI-PC および AB-PC+MCI-PC 合剤, AB-PC+MPI-PC 合剤。

2. Disk 法、とくに新生児へ応用した薄い Disk 法についての検討：従来の市販の Disk はその飽和量が 0.04 ml と新生児へ応用するには、Material の量が多い(以下、Disk I)ため、東洋の No. 50, Paper chromatography 用濾紙を直径 8 mm にカッティング使用した(以下、Disk II)。

Cup 法, Disk I 法, Disk II 法の3法を比較するため、AB-PC, MCI-PC, MPI-PC の3薬剤を Serum 希釈, P. buffer 希釈の阻止円径から次に示すような計算式を作り蛋白結合による不活性化率を算出した。

不活性化率 =

$$\frac{[\text{P. buffer 希釈深度}] - \left[ \frac{\text{Serum 希釈による阻止円径の P. buffer 希釈に相当する濃度}}{\text{P. buffer 希釈濃度}} \right]}{\text{P. buffer 希釈濃度}}$$

その結果、AB-PC は各測定法によつても不活性化率は 0 であつたが MCI-PC, MPI-PC については、Disk II 法が一番低く、蛋白結合率の影響が少ない結果を得た。これは MCI-PC 250 mg を成人に 1 回筋注後の濃度についての 3 方法の比較でも証明し得た。

3. TLC 応用の分離定量法の検討

抗菌性の違いによる分別定量法の比較では AB-PC 耐性菌の感度が低く、低濃度測定が困難であつた。

4. 成績、新生児血中濃度：AB-PC+MCI-PC 合剤を主として測定したが、1回投与、12時間毎連続3回投与とも MCI-PC が AB-PC に比較し高い値であつた。これは採血後の Material の保存方法にも問題があると思うが MCI-PC のうち蛋白結合したものが排泄が遅れ血管内保留時間が長くなりやすく、また除蛋白により 100% 近く free な状態の活性型にもどしたことに起因していると思われた。

尿中排泄率：尿中の AB-PC および MCI-PC ともす

べて活性型で分離定量で活性型濃度を測定でき、血中濃度に比し問題は少なかった。

臍帯血移行率：分娩前産婦に投与後の臍帯血中では AB-PC および MCI-PC とも尿中に於けるように胎盤の濾過的作用によりすべて活性型で蛋白結合した不活性型 MCI-PC は胎児の移行しないことを、移行率からも証明し得た。

〔質問〕 紺野昌俊（東大分院小児科）

この方法は TLC で展開しなければならないところに多少の問題を含んでおり、そのためには除蛋白しないとテーリングをおこすところに1つの隘路がある。そのためエタノールまたはメタノールを使用しなければならないが、エタノールまたはメタノールで本当に蛋白結合部分が全部はずれてきているのかどうかについては当事者の私が多少の疑問を感じている。どなたか教示を願いたい。

〔答〕 佐野慎一（順大産婦人科）

エタノールで除蛋白した際の蛋白結合した MCI-PC の Free な状態への回収率は、Standard を P. Buffer および血清で希釈してそれぞれの阻止半径で比較すると、100% 近くの回収率が得られた。

〔討論〕 村川武雄（藤沢薬品）

TLC-Bioautography 法による血清中濃度の測定にあたっては、除蛋白剤としてエタノールが適当であると考ええる。血清中の結合型の抗生物質（PC または Cephalosporin 類）はエタノール処理によりほとんど完全に遊離型になり、いわゆる total 値が測定できる。

〔質問〕 中山一誠（日大石山外科）

1) Bioautography による分離定量と抗菌力の差による Bioassay の場合 AB-PC の尿中回収率に差はあるか。

2) AB-PC を *E. coli* NIHJ により測定すると MCI-PC が  $\beta$ -Lactamase inhibitor として作用し実際値より高い成績が出るので我々は *E. coli* B で検討している。

3) Solvent については前の演者のブタノール・酢酸・水 4:1:1 より先生の酢酸エチル・酢酸・水 8:1:1 のほうが展開が早いことを経験している。

〔答〕 佐野慎一（順大産婦人科）

抗菌性の違いによる分別定量法と TLC による分離定量法での AB-PC 排泄率はそれぞれ 18.7%, 28.6% といくぶん後者が多いようであった。

### ①-32 Gas chromatography (ECD-GC) による組織内 Griseofulvin 濃度の再検討

北村公一・安田 勝・末永義則  
安川典宏・松本忠彦

九州大学医学部皮膚科教室

小 嶋 亨

九州大学医学部法医学教室

Griseofulvin の体内分布を ECD-GC で定量した。7匹のモルモットに 30 mg/kg を経口投与した場合、8時間目では血清は 0.91~0.25 mcg, 皮膚は 0.95~0.45 mcg, 肺は 0.74~0.06 mcg, 脳は 1.41~0.10 mcg, 腎臓は 1.36~0.07 mcg, 肝臓は 8.04~3.53 mcg であった。各モルモットについて血清を1として各臓器濃度を比較すると、皮膚、肺は 0.2~0.8 と血清より低く、脳では 0.1~1.5 とばらつき、腎臓では1例 0.15 を除き 1.1~2.0 と高く、肝臓では 5.6~14.5 とひじょうに高い値を示した。

### ①-33 AB-PC 剤の Trihydrate type と Anhydrous type との血中濃度 および尿中排泄の比較検討

（誌上発表）

岩 沢 武 彦

札幌通信病院耳鼻咽喉科

半合成 PC 剤 AB-PC には、Trihydrate type と Anhydrous type との2剤が発表されている。両剤の吸収排泄の相違について重層法による bioassay で測定し比較検討した結果、健康成人5例の Trihydrate type 500 mg 内服の場合、30分後に 0.17 mcg/ml となり、内服2時間後 3.4 mcg/ml と peak に達し、8時間後には痕跡程度となつた。また Anhydrous type 500 mg 内服の場合、10例平均で30分後 0.17 mcg/ml となり、内服2時間後 5.13 mcg/ml と最高値がみられ、8時間後には 0.38 mcg/ml と活性値を測定した。両剤の比較では、明らかに Anhydrous type のほうが高く、内服8時間後まで測定し、吸収が良好であつた。尿中排泄は、健康成人3例 500 mg 内服では、両剤とも6時間までほとんど尿中に排泄されており、内服8時間までの尿中総回収率は、Trihydrate type が約 23%, Anhydrous type が約 27% で、やや後者が上まわつた成績がえられ、排泄がよかつた。

### ①-34 Aminobenzyl-Penicillin (AB-PC) の新しい metabolite について

西田 実・峰 靖弘  
村川 武雄・深田志計実  
藤沢薬品・中央研究所

AB-PC の生体内における代謝産物については、今日までほとんど報告されていない。われわれは、AB-PC を筋注した各種の動物の血清および尿中に未知の代謝産物が存在することを認めた。この物質は抗菌活性をもち、従来 AB-PC を動物に投与した場合の生体内濃度は、AB-PC とこの代謝産物の混合濃度と評価されてきた。この活性をもつ未知代謝産物の血清中濃度および尿中濃度の消長を概算した結果、AB-PC の投与後、血清中および尿中に存在する AB-PC に対して 2~3% 程度のものが測定された。また *in vitro* でラットの生体成分(肝、腎ホモジネート)、血清および尿と AB-PC の接触によつても未知物質が生成する。この未知物質の生成条件を、ラットの腎ホモジネートについて検討したところ、ホモジネートの遠心上清に活性が存在するが、上清の各硫酸分画には活性がない。限外濾過では macromolecule が除かれた濾液中にも活性が存在した。この未知物質生成の至適 pH は、7~8 で、比較的耐熱性である。すなわちホモジネート上清を 100°C 5 分の処理では安定で、120°C、10 分では生成量が低下することが判明した。

以上の結果から次のとおり結論できる。AB-PC の筋注によつて、AB-PC の代謝産物と考えられる抗菌活性をもつた物質が血清および尿中に検出される。この物質は *in vitro* で血清、尿、および組織ホモジネートと AB-PC との接触によつても生成される。耐熱性であること、尿および限外濾液との反応性から、この反応は非酵素的なもので、生体に広く分布する低分子物質と AB-PC との反応生成体であると推定される。この物質の単離と同定は次の機会に報告する。

### ①-35 Rifampicin とその代謝物の呈色反応

中川 英雄・砂原 茂一  
国立療養所東京病院

Rifampicin の代謝を調べるに際し、実際に取扱う諸検体の Rifampicin とその代謝をよりよい方法で検出、かつ定量的に調べ得る 2, 3 の呈色反応を見出し、またその各反応呈色物の特異な溶媒親和性を明らかにしたの

で報告する。

(1) 酸化による呈色反応: Rifampicin は比較的酸化され易く、FOLIN の phosphotungstate 試薬は Rifampicin および Desacetyl-Rifampicin を速やかに酸化し、それぞれを紫色の quinone 体 (吸収極大 535 m $\mu$ ) にする。Isoamylalcohol や chloroform はこの両 quinone 体を完全抽出するが、benzene と hexane の等量混合溶媒は Rifampicin-quinone のみを抽出し、Desacetyl-Rifampicin の quinone をほとんど抽出しないので、この溶媒親和性の相違を利用すると両者の分離定量が可能である。また両 quinone 体の chloroform 抽出物を TLC で chloroform と methanol の 9:1 混合溶媒で展開すると両者は完全に分離する。Rifampicin と Desacetyl-Rifampicin の 3-formyl 体は phosphotungstate 試薬で quinone 体を作らず、colourless compound に変化する。胆汁中の Rifampicin は未だ適切な化学的定量法で検討されていないが、dichloroethane は胆汁色素をほとんど抽出せず、quinone 体のみをよく抽出することを見出したので、Rifampicin の胆汁排泄の問題を検討するにより適切な定量値が提供できる。

(2) Diazo coupling による呈色反応: 私達は Rifampicin および Desacetyl-Rifampicin が sulfanilic diazo 試薬と反応し 505 m $\mu$  に吸収極大をもつ Azopigment を作ることを見出した。この diazo 反応は piperazine 基のない Rifampicin-SV や 3-formyl-Rifampicin-SV で起らず、また piperazine も陰性であることから Rifampicin の形で起こるものと考えられる。Isoamylalcohol や chloroform は両 diazotide を完全抽出するが、dichloroethane は Desacetyl-Rifampicin の diazotide を抽出せず、Rifampicin の diazotide のみを抽出するので両者の分離定量が可能である。実際に尿および尿中の Rifampicin と Desacetyl-Rifampicin はこの diazo 反応で定量され、また両者の分離定量も可能とするが、この反応による胆汁中 Rifampicin の定量には困難が伴う。

(3) Metal complex による呈色反応: Rifampicin-SV はアルカリ条件で銅および亜鉛と metal complex を作り、isoamylalcohol は独特な赤紫の色素としてこれを完全に抽出する。このような呈色反応は Rifampicin Desacetyl-Rifampicin およびその quinone 体では起らず、3-Formyl-Rifampicin-SV もまた陰性である。調べた 2 つの metal 反応で推奨されるのは銅による方法で、これは CuSO<sub>4</sub> 添加で isoamylalcohol 抽出性の Rifampicins が非抽出性に変化し、isoamylalcohol に移行しなくなるのを利点とする。この際銅が Rifampicin の自

酸化を促進するので、この酸化を抑制する citrate 添加が  $\text{CuSO}_4$  の添加に必ず先行することに留意しなければならない。もしその添加の順序が逆になり quinone 体ができると、これは isoamylalcohol に完全に抽出される。人生体内で Rifampicin から Rifamycin-SV ができるかどうか未だ不明であるが、もし実際に産生され代謝物として尿中等に出てくるとすれば、この呈色反応はこの検出に役立ち、さらにその生成機構の追求にも利用できる。

〔質問〕 清水喜八郎（東大第1内科）

Rifampicin, Desacetyl rifampicin のキノン体フォルミール酸は血中に存在する可能性があるか。それにアルカリにすると着色する可能性があるのか。BSP 試験との関係について教えて頂きたい。

〔答〕 中川英雄（国立療養所東京病院）

血清中の Rifampicin およびその metabolites を Isoamylalcohol で抽出し、これを TLC で展開すると Rifampicin 以外に Quinone 体と思われる紫色素が分離される。尿中に比較的大量に検出される 3-formyl 体はこれをアルカリで処理すると BSP で見られるような紫がかつた赤色色素に変化する。

#### ①-37 Antivirin の抗ウイルス・スペクトル、特にインフルエンザウイルスに対する効果について

瀬戸淑子・豊島 滋

慶応義塾大学薬化学研究所・二研

Antivirin(以下、AV)は我々により見出されたウイルス阻止因子で、次の点がインターフェロンと異なる。すなわち、(1) AV の生産のためには、ウイルスはもちろん、どんなインターフェロン誘導因子の添加を必要としない。(2) インターフェロンと異なりその効果の発現には宿主種属特異性を有していない。(3) AV の活性はタンパク分解酵素処理や熱分解によつて失活されない。(4) その効果の発現は Actinomycin-D 処理によつて阻止を受けないが、インターフェロンは阻害される。

AV は以上のような、むしろ抗ウイルス剤として考えるとき、インターフェロンより有利な性質を有しているが、インターフェロンと同様、その抗ウイルス・スペクトルは広いものである。

実験に使用したウイルスは Polio 1 型 Mahoney, 2 型 MEF<sub>1</sub>, 3 型 Saukett, Rhino ウイルス, Adeno type 1 ~ type 7, Vaccinia ウイルスと Influenza ウイルスである。AV はこれらウイルスの増殖を 90~99% 阻害す

る。AV の抗 Influenza 作用を明らかにする目的で chick embryo fibroblast cells を使用した組織培養とマウスでの感染症を用いて実験を行なった。AV は chick embryo fibroblast cells に於ける Influenza A 型 PR-8 株, CAM 株, 足立株および B 型 Lee 株の増殖を著明に抑制した。また、A-21 足立株ウイルスをマウスに経鼻感染させ、AV を 1 日 1 回腹腔内投与するときは、肺内ウイルス量の増加および充血肺の出現、死亡率の減少とともに有意の抑制を示した。

〔質問〕 松本慶蔵（東北大第1内科）

1) マウスの血中抗体の上昇を抑えるのか(Antivirus 処理マウス)。

2) マウスの survival rate でみた場合、Antivirin ではどうか。

3) Amantadine と Antivirin の急性毒性の比較は。

〔答〕 豊島 滋（慶大薬化研）

1) HA 測定時 3 日にはもちろん抗体はできていない。

2) 14 日以後の抗体生産はみていない。

3) 生存率も Consolidation Scre 同様 Amantadine と同じくらい抑制している。

#### ①-38 Benzamidine 誘導体のインフルエンザウイルスに対する効果

藤田晴久・豊島 滋

慶応義塾大学薬化学研究所・二研

我々はさきに約 230 の Amidine 誘導体のマウスインフルエンザ症に対する効果を検討し、N, N'-di-n-hexyl phenylacetamidine と N-cyclohexyl-N-n-butyl benzamidine が充血肺の抑制、死亡率の低下の点ですぐれていることを見出した。次いで我々は、さらに検討を進めて、N-Cyclohexyl-N'-n-propylbenzamidine および N-Cyclohexyl-N'-n-Octylbenzamidine を見出した。我々は前者を T-276、後者を T-279 とよんでいる。Chick Embryo fibroblast Cells を用いた組織培養において、T-276 および T-279 とともに A-21 足立株ウイルスと B/Lee 株ウイルスに対して増殖抑制作用ならびに plaque 発現抑制を示すが、T-276 のほうが T-279 より強いようである。マウスに B/Lee 株ウイルスを接種し、3日後から 7 日 1 回腹腔内投与し連続 5 日間薬物投与を行なった。Standard reference Control には Adamantanamine を用いた。

Adamantanamine はもちろん、B 型ウイルス感染症に有意の効果を示めさなかつたが、T-276 は、死亡率を約 50% 低下させた。T-279 は有意の効果を示さなかつた。

## ①-39~51 一般化学療法の基本 III

①-39 Cephalexin に関する薬理学的  
研究 第2報 体内消長

荒谷春恵・河野静子  
建石英樹・大西黎子  
広島大学医学部薬理学教室

Cephalexin(CEX) の体内消長について Mouse および Rat を用いて、蛋白結合および体内分布を中心に検討した。

なお、供試菌として *Bacillus subtilis* 217 株を用い、薬物濃度を平板 Cup 法で測定した。

CEX のウサギ血清および肝マイクロソームとの結合率を限外濾過法により、4°C で検討した。血清蛋白とはほぼ半量の 44.89% が結合し、そのうち 10.49% が不活性化され、ほとんどが活性をもつものに対し、肝-マイクロソームとは大部分の 81.68% が結合し、そのうち 67.43% が不活性化されていた。血清蛋白との結合を CEX 近縁の Cephaloridine, Penicillin-G と比較すると、CEX では結合率および不活性化率が低く、結合活性率は高い。

つぎに、mouse に 200 mg/kg を皮下適用した場合の血清および臓器内濃度について、適用後 30 分から 4 時間の経時的変化を検討した。血清内濃度は 30 分が peak であり、その際の臓器内濃度は腎臓、肝臓、腸管では血清内濃度よりもやや低く、その他の臓器では明らかに低い値を示した。つぎに血清内濃度は時間の経過とともに漸次下降するが、臓器内濃度は 4 時間後には肝臓を除き血清内濃度よりも高い値を示した。50~200 mg/kg を皮下適用した際に peak を示す 30 分後の血清および臓器内濃度は、適用量の増加にほぼ比例し、とくに血清、肝臓、腸管でその傾向が著明であつた。Mouse および Rat における体内分布は 200 mg/kg 皮下適用、2 時間値で比較すると 1, 2 臓器で差はあるが概して同一傾向であつた。

妊娠 21 日目の Rat に 200 mg/kg を皮下適用、2 時間後の胎仔内移行率は母体血清内濃度にくらべると、胎仔全体で 2.68%、胎仔血清で 5.21%、羊水で 6.14%、胎盤で 16.28% であつた。したがって CEX は胎盤を通過しにくく、近縁の抗生物質である Cephaloridine よりも低く、Penicillin-G と同程度であつた。その際の胎仔臓器内濃度は概して母体のそれにくらべて低いが、しかし、心臓および脳では高く、このことはひじょうに興味あることと思う。つぎに、母体および胎仔の体内分布について、母体では血清にくらべ、腸管、腎臓はほぼ同

程度で、他の臓器では低く、これに対し、胎仔では血清の約 2~30 倍でいずれも血清内濃度よりはるかに高い値を示した。

## ①-40 各種化学療法剤投与後血清の殺菌作用

河盛勇造・西沢夏生  
国立泉北病院

我々は、各種抗生物質投与後患者血清の殺菌作用について検討し、昨年の本総会においては、RFP の抗ブドウ球菌殺菌作用に関して報告した。

今回は、AKM, CEZ, AB-PC 各単独および併用投与後患者血清について、ブドウ球菌および大腸菌に対する殺菌作用について検討を試みた。

測定方法は、投与後 1 時間および 2 時間血清をピジョンで 5~40 倍希釈し、これにブドウ球菌および大腸菌のピジョン 24 時間培養 100 倍希釈液 0.1 ml を接種し、2, 4, 8, 24 時間後に、その 0.1 ml をとって希釈し、寒天平板培地上で定量的に培養した。また同時に、血清中濃度を枯草菌 ATCC-6633 株を指示菌とした薄層平板法により、pH 7.1 緩衝液による希釈液を対照として測定した。

その結果、ブドウ球菌 209-P 株に対しては、各単独投与後血清において、すでに強力な殺菌作用を示し、併用による効果の増強をみるためには適当でないことが分つたので、PC G 100 mcg 耐性のブドウ球菌生田株を用いて実験を行なつた。ブドウ球菌生田株に対しては、AKM, CEZ 併用および AKM, AB PC 併用において協力作用が認められ、大腸菌 NIHJ 株に対しては、CEZ, AB-PC 併用において、またわずかではあるが、AKM, CEZ 併用において協力作用が認められた。

## ①-41 Penicillin 類および他の抗生物質の蛋白結合とゲル親和性の関連性について (第2報)

西田 実・村川武雄・刈米和夫  
藤沢薬品中央研究所

私達はさきに蛋白結合性の異なる種々のペニシリンおよびセファロスポリンを、セファデックスゲルのカラムを通すと、各々の抗生物質が溶出されるのに要した液量、すなわち  $V_e$  値と蛋白結合との間に相関関係があることを報告した。これら抗生物質の結合率を血清を用いることなく推定できるが、同時に抗生物質の蛋白結合の様式がゲルとの結合様式に類似していると考えられる。

ゲル濾過において、関与する要因として、分子ふるいの効果と、aromatic sorption の2つが考えられる。

今回、私達はゲル濾過の代りに、ゲル suspension に抗生物質を直接加え、その際の抗生物質のゲルへの結合率を測定し、2, 3 の考察を加えたのでこれについて報告する。

1) パッチ法でセファデックス G-10 への結合率を求めると、ペニシリンの場合、ゲル濃度 26% くらいの時、1% ヒナアルブミンへの蛋白結合率に近い値を得た。

2) 1)と同様の実験をセファロスポリンについて行なうと、ゲルへの結合率が高いほど蛋白結合率が高い傾向は得られたが、よい相関関係は得られなかった。

3) セファデックスの G-10, 15, 25, 50 についてペニシリンの結合率を求めると、G-25 以下で相関関係が認められ、G-50 ではほとんど差異はなかった。

4) ゲルとの結合は、血清蛋白との結合と同様に、可逆的であり、一定の条件において平衡関係 (結合型 $\rightleftharpoons$ free 型) がみられる。

5) ゲルへの結合速度は蛋白結合同様に速い。

6) ゲルへの結合率は、ゲル濃度によつてかわり、この様子は、蛋白結合率が蛋白濃度により変化すると類似する。

7) 蛋白結合の紫外吸収 スペクトルに与える影響は Penicillin よりも、セファロスポリンのほうが大きい。

これらの結果から蛋白結合はゲルへの結合とその挙動において非常に類似しており、この様式は、aromatic sorption によると考えられる。

セファゾリンにおいては MDI-PC よりゲルへの結合率が低いにもかかわらず、蛋白結合率は同等であるが、紫外吸収差スペクトルへの影響が大きいことから、aromatic sorption の他に、差スペクトルに影響を与える因子が関与していると思われる。

蛋白結合に関与する因子は1つでなく、大きな要因の1つとして aromatic sorption があり、他の因子、例えば差スペクトル等がありこれらを数値化し、比較することによつて同一結合率でも、その結合の特性を知ることができるのではないかと考える。

#### ①-42 各種病態ラット臓器による抗生剤の不活化について

堤 泰昭・花木英和・春日井将夫  
岡田和彦・岡本 靖・小 沼 賢  
山本俊幸・後藤幸夫・岸川基明  
名古屋市立大学第一内科

私共は第 17 回本学会総会において各種病態ラットを

用い、抗生剤を経口投与した場合の血中濃度および臓器内濃度の推移について報告したが、今回、同様の病態を作成したラットの臓器による抗生剤の不活化について正常のそれと比較した結果を報告する。

実験動物は Wistar 系雄性ラットを用い、急性および慢性の四塩化炭素肝障害、アロキサン糖尿、低蛋白食飼育、ビタミン B<sub>2</sub> 欠乏食飼育などの病態を作成し、抗生剤としては Tetracycline (TC), Phenoxyethyl penicillin (PC), Erythromycin estolate (EM), Chloramphenicol (CP) の4種を用いた。

肝、腎、肺の各臓器に既知量の抗生剤を加え、生理的食塩水で5倍希釈のエマルジョンを作成し、室温に1時間放置した後、遠沈してその上清中の抗生物質濃度を測定した。

測定方法は *B. subtilis* PCI 219 株を検定菌とする濾紙法を用いた。

PC, TC, CP などの抗生剤は正常ラットの各臓器エマルジョンおよび血清によつて、抗菌活性の低下傾向を認めたが、各病態による著しい差異は観察されなかった。いつぼう、EM では正常ラットの各臓器エマルジョンおよび血清による抗菌活性の低下は認められないが、急性肝障害およびアロキサン糖尿ラットの各臓器エマルジョンおよび血清によつて著しい抗菌活性の低下を認めた。なお、その機序については不明であり、今後の検討を要するものとする。

#### ①-43 新生児、末熟児の Cephalosporin 系製剤の吸収と排泄に就いて

(誌上発表)

渡辺 修・国保喜寛・佐藤 肇  
中沢 進・海老原勉  
昭和大学小児科  
深田守克・斎藤忠明・張 南薫  
同 産婦人科  
村田 文也  
都立母子保健院小児科

新生児においては肝、腎機能の未熟性が原因して抗生剤投与時の血中濃度が高く、それに比較して尿中排泄率が悪いのが一般的傾向とされている。

今回は新邦製 Cephalosporin 系誘導体 Cefazolin 筋注時の末熟児、新生児、乳児の全血濃度の消長ならびに尿中排泄態度について報告する。

#### ①-44 トリチウム標識 KM, CER, TC の体内分布に関する研究

松本 慶蔵・横山 絃一  
荒井 澄夫・中村 隆  
東北大学第一内科

感染症の化学療法に際しては、薬剤の血中濃度、臓器内濃度はもちろん、近時、炎症巣内の濃度を知ることが最も重要であると私共は考えている。また、それに加えて、炎症組織内に於ける薬剤の分布ならびにその動態を知ることが、化学療法上極めて有用な示唆が得られるものであろう。この意味に於いて、私共は組織内の薬剤動態を直視下に知るため、トリチウム標識抗生剤を用いて研究をすすめて来た。

今回は、トリチウム標識 KM, CER, TC の 3 薬剤について、①液体シンチレーションによるマウス臓器内濃度の測定と Bioassay との比較検討、②ラジオオートグラフによる正常マウス肺組織内の動態、について報告した。

結果：

##### ① マウス臓器内濃度

(i) 全般についてみると、筋注後 30 分から 90 分に至る濃度落差は KM で最も大きく、次で CER, TC は最も小さい。すなわち、KM は吸収、排泄が速やかであるが、TC は緩徐である。

(ii) 液体シンチレーションについてみると、KM は 30 分、90 分ともに血液、腎に於いて高濃度で、CER は腎に高く、TC は血液、肺に比し肝濃度が高く腎とほぼ同値を示した。かつ肝に於ける 30 分、90 分の濃度差は小さい。すなわち TC の肝内残存率が高い。

(iii) 同一 sample による Bioassay についてみると、3 薬剤に共通して、肝内濃度は液体シンチレーション測定値に比し小である。ことに KM に於いて著明である。

##### ② ミクロラジオオートグラフによる正常マウス肺組織内動態

(i) 3 薬剤は水溶性物質であるため、標本作製上種種の困難がある。溶出を出来るだけ防ぐ目的で、固定液はジオキサソを使用し、感光乳剤塗布は Celloidin coating 後 Dipping 法を行なった他、Wire-loop 法によつた。

(ii) KM-<sup>3</sup>H は吸収・排泄が速やかであり、筋注後 15 分ですでに肺間質から肺胞、気管支腔内に分布する。

(iii) CER-<sup>3</sup>H では、注射後 10 分で Grain は血管周囲に多く、気管支上皮細胞あるいは気管支腔内には認

められない。90 分になると、肺間質内に多少の Grain が残存するが、肺胞腔内に多く認められ、間質への移行は速やかであるが、肺胞、気管支腔内への分布は KM に比し緩徐であることが知られた。

(iv) TC-<sup>3</sup>H に於いては、30 分では血管壁内に多くの Grain が存在し、90 分で肺胞腔内に多少の Grain を認める。すなわち、血管より間質への分布が KM, CER に比し緩徐であることが知られた。

#### ①-45 抗生物質の体内分布に関する研究 マクロライド系抗生物質の鶏体内分布と消長について

米沢 昭一・畦地 速見・中村 久  
寺門 誠致・鈴木 勝夫・二宮 幾代治  
農林省動物医薬品検査所

ロイコマイシンおよびタイロシン(いずれも酒石酸塩)の鶏体内における分布と消長についてはすでに報告したが、引続きエリスロマイシン(筋注: EM-塩基, 経口: EM-チオシアン酸塩), ジョサマイシン(JM-酒石酸塩), スピラマイシン(SP-アジピン酸塩)およびオレアンドマイシン(OM-リン酸塩)について試験をおこない、成績を得た。

供試鶏は体重約 1 kg の白色レグホーン(♀)で、各時間あたり 2 羽を 1 組とし、1 群 8 組、× 8 群について各薬剤を 300 mg 力価/kg(体重)あたり筋肉内注射ならびに強制経口投与し、10 分から 48 時間にわたつて一定時間ごとに放血致死させ、採材した。臓器内抗生物質濃度の定量は *Sarcina lutea* PCI 2001 を試験菌とする平板円筒法によつておこなつた。

血中濃度: 筋注、経口ともに血中への移行は良好であつたが、一般的にその分布濃度、持続時間は、筋注のほうがまさつていた。筋注における最高値、ならびに、それに到達する時間は、OM (50.3 μg, 1 時間), SP (25.8 μg, 2 時間), JM (9.6 μg, 30 分), EM (8.5 μg, 2 時間)の順で、経口では OM (34.2 μg, 2 時間), JM (8.4 μg, 2 時間), SP (6.3 μg, 6 時間), EM (1.5 μg, 12 時間)の順であつた。

臓器内濃度: いずれの投与ルートによるものも、胆汁中の定量値が最も高く、ついで肝、肺、腎などに高い傾向が認められた。またその分布濃度と持続時間から各薬剤を比較すると、筋注では SP, OM, EM, JM, 経口では OM, SP, EM, JM の順であつた。いずれの薬剤、投与ルートにおいても、血中濃度より臓器内濃度のほうが高く、筋肉(胸部諸筋)ではそれを下まわる分布値を示す傾向が認められた。

呼吸器系器官への分布濃度：肺，気管，喉頭への分布は，いずれの薬剤，投与ルートにおいても良好で，筋注におけるこれら部位の最高値ならびにそれに到達する時間は，EM(72.5  $\mu\text{g}$  : 2時間，20.5  $\mu\text{g}$  : 6時間，12.5  $\mu\text{g}$  : 2時間)，JM(55.0  $\mu\text{g}$  : 30分，20.0  $\mu\text{g}$  : 30分，12.0  $\mu\text{g}$  : 30分)，SP(180.0  $\mu\text{g}$  : 2時間，46.0  $\mu\text{g}$  : 2時間，43.5  $\mu\text{g}$  : 2時間)，OM(112.5  $\mu\text{g}$  : 30分，50.0  $\mu\text{g}$  : 1時間，47.5  $\mu\text{g}$  : 1時間)であり，経口投与ではEM(6.5  $\mu\text{g}$  : 12時間，15.0  $\mu\text{g}$  : 1時間，18.5  $\mu\text{g}$  : 12時間)，JM(12.0  $\mu\text{g}$  : 2時間，9.0  $\mu\text{g}$  : 6時間，10.0  $\mu\text{g}$  : 6時間)，SP(55.0  $\mu\text{g}$  : 6時間，150.0  $\mu\text{g}$  : 12時間，105.0  $\mu\text{g}$  : 12時間)，OM(95.0  $\mu\text{g}$  : 2時間，77.5  $\mu\text{g}$  : 2時間， $\mu\text{g}$  : 62.5  $\mu\text{g}$  : 2時間)であった。

脳への分布：SPの筋注例で2時間目に痕跡が認められたほか，EMとOMにおいては筋注，経口投与とも微量ながら確実に分布するのが認められた。

#### ①-46 抗生物質の体内消長と分配係数との関係について 第1報

荒谷 春恵・橋本 孝夫  
広島大学医学部薬理学教室

先に私どもは抗生物質の体内消長を左右する因子の1つとして，薬物の物理化学的性状質を中心に，生体成分との結合（不活性，再生，結合活性），1，2有機溶剤と水に対する分配係数などを検討した。

すなわち，結合画分のうち結合解離し遊離型となる再生画分は，体内消長における輸送のcarrierおよび生体内lipid等脂質の種類および量が，臓器内濃度の差の因子の1つであることなどから，Penicillin G他32種類の抗生物質の，体内消長における分配係数の意義について，臓器移行度，半減期および結合率を中心に相関係数を求めた。

1) *n*-Butanol, octanol および chloroform 対水系に対する抗生物質の分配係数は，水溶性抗生物質群では概して1.0以下であり，Penicillin群とGlycoside群では*n*-butanol/水(B/W)系で差がみられた。

つぎに，脂溶性抗生物質群では1.0以上であり，macrolide群ではいずれの系でも高値をしめし，chloroform/水(C/W)系では，macrolides>tetracyclines>chloramphenicolsの順となった。

2) 臓器内移行度-最高濃度における肝/血清(L/S)は水溶性抗生物質群では1.0以下であり，脂溶性抗生物質群ではmacrolidesを除き1.0以上であった。

3) L/Sを中心とした分配係数とhalf-lifeとの相関係数は，全抗生物質で0.464であり，したがって，L/Sは抗生物質の体内消長を知る指標となり得るが，とくに，

Glycosides および Tetracyclines で有意の相関がみられた。

いつぼう，L/Sと分配係数との間にはPenicillins-C/W, Glycosides-B/W, Octanol/水(O/W), Macrolides-O/W, C/W, Tetracyclines および Chloramphenicols-B/Wでそれぞれ有意の相関をしめしたが，全抗生物質では全くみられなかった。

したがって，各群で特異的であることがうかがえた。

4) 結合率における肝臓/血清と臓器内移行度との間には，不活性化0.703および再生率0.585でいずれも有意の相関をしめした。

したがって，抗生物質の体内消長において，臓器内移行度と，half-life, 結合分配との間には不可分の関係がみられた。

5) C/W系分配係数と結合分配との間には全抗生物質では不活性化0.464，水溶性抗生物質群では結合活性0.502，脂溶性抗生物質群では不活性化0.707で有意の相関をしめした。

以上の諸点から，分配係数はlipidに対する抗生物質の溶解度ともつとも深い関係があるものとする。

#### ①-47 腭液中 AB-PC の消長に関する実験的研究 (第2報)

高山 宏夫・入江 邦夫・飯島 恒司  
中田 幸之介・下山田 弘明  
昭和大学外科

第15回日本化学療法学会，東日本支部総会に於いて，雑種成犬を用い，副腭管に直接カニューレーションし，実験的に腭液中KMの消長を測定，報告した。今回我々は前回の報告と同様の目的で，実験方法を一部改良し，AB-PCの腭液中移行濃度を血中濃度と対比しながら経時的に測定した。

測定方法は腭液採取量が少量のため，枯草菌(PCI株)を用いた寒天平板使用のろ紙法で行なった。AB-PC投与後1~3時間で腭液中AB-PCの移行濃度は最高値を示した。これはKMの腭液中最高移行濃度に至る時間より早期であった。また，その最高濃度は血中最高濃度とほぼ同一の値を示した。

SM, CERについては現在検討中である。

### ①-48 抗生剤の腸液内分泌に関する研究

北本 治・深谷 一太  
友利 玄一・鈴木 敏弘  
東大医科研内科

従来腸管内での抗生剤の動態にかんしては主として便中濃度という型で把握されていた。私共はコレラトキシンを腸管内に注入すると、多量の腸液を採取しえたので、この方法を用いて抗生剤の腸液中への分泌の状況を観察し血中濃度と比較した。

犬に Thirty-Vella の糞を作製しておき、コレラトキシンを注入し、先ず CP 1g を静注した。分泌される腸液を経時的に採取し、血中濃度とともにそのものの濃度を測定した。1頭の犬では腸液中濃度は血中濃度を越えて高値を示し、他の1頭では僅か血中濃度より下廻った。同じく TC 500 mg を静注したときの血中および腸液中濃度の比較では、CP の場合と異なり、2頭の犬とも腸液中濃度は血中濃度に比してはるかに低い値に止まった。同様の実験を CET 1g 静注で行なつた成績も、TC 投与時と類似した傾向を示し、腸液中濃度は血中濃度に比してかなり低い値に止まった。また EM 100 mg を静注したときには、腸液中濃度は血中濃度よりはるか高値に達するのを認めた。

家兎を用いた実験では、絶食家兎の腸管の数箇所を結紮して、その中へコレラトキシンを注入し、腸液の分泌貯溜を起こさせて検体とした。抗生剤投与を適当な時間に行なつて血中濃度の推移を観察したのち、動物を屠殺して腸液を採取し、濃度を測定した。CP 静注の2羽の家兎では、腸液中濃度は屠殺時の血中濃度よりやや低い程度であつた。TC 静注後では腸液中濃度は血中濃度に比して著しく低値を示した。また対照結紮腸管洗滌液ではさらに低値を示した。JM 静注のさいには、腸液中濃度は血中濃度をかなり上廻り、EM と同様の傾向を示した。結紮腸管最口側部は胆汁などを含み、さらに高濃度をもとめた。CET 静注では、犬の場合と同様に腸液中濃度は血中濃度に比して著しく低値を示した。また MCI-PC 筋注のさいも腸液中濃度は比較的 low であつた。逆に RFP 筋注では、マクロライド系抗生剤の場合と似て、腸液中濃度ははるかに血中濃度を上廻つた。

今回の実験はコレラトキシンを用いて腸液分泌を促すという正常の状態でない条件下ではあるが、腸液を採取して抗生剤濃度を測定し、直接腸管内における抗生剤の動態をうかがうことができ、各抗生剤により異なるパターンを示すことを認めた。

〔追加〕 北本 治 (東大医科研)

従来われわれは KM 注射後、糞便内かなりの濃度をもとめたが、この場合それに腸液由来と胆汁由来の2つの可能性が残されていた。今回の Thirty-verra の腸瘻によつて胆汁由来を除外しうるので、これにより抗生物質の腸液移行を観察し易いのである。

コレラトキシンを用いたのは、近年の研究でコレラの下痢脱水の厚因として一時唱えられた Na-ポンプ抑制による吸収阻害よりもむしろ過剰分泌によることが、トキシンの腸瘻内投与実験から考察されている事実に基づいたものである。これにより実験的に腸液の分泌を著しく高めることができるのを応用した。なおヒリッピンにおける日比共同コレラ研究でわれわれが症例について観察したところでも、CP の静性のみで経口よりむしろ速やかに菌消失がみられ、糞便内にもかなりの量の CP が証明されるという所見も出されており、その解釈にも役立つのではないかと思う。

〔質問〕 塩田 憲三 (大阪市大内科)

コレラトキシンを腸壁に作用させた場合の腸壁の変化、とくに肉眼的に充血などが高度ではなかつたか。

〔答〕 深谷 一太 (東大医科研内科)

コレラトキシンの腸粘膜に対する直接作用として腸液の分泌が亢進するものとされているが、詳しい機構は不明である。腸粘膜の充血なども著明ではない。

### ①-49 抗生物質の髄液移行についての検討

徳臣晴比古・副島林造・賀来隆二  
野津手晴男・福田安嗣  
熊本大学徳臣内科

抗生物質の髄液内移行は、健康者の場合一般にはなほ低く、その移行の程度は血中濃度、血漿アルブミンとの結合、あるいは髄膜の炎症の有無および程度など、多くの因子に影響されるものと考えられる。

演者らは、計 16 例の結核性髄膜炎患者、各種神経疾患患者および非神経疾患患者を対象として、CP, DOTC, EM, KM, CER, RFP および AB-PC の髄液内移行について検討を行なつた。

方法：抗生物質を投与後 4 時間後に採血および腰椎穿刺により髄液を採り、その各々について枯草菌 219 株を指示菌として薄層平板カップ法により、血中濃度および髄液内濃度を測定した。

成 績

I. 1) CP : 500 mg 経口投与 4 時間後の血中濃度が各々 2.2~2.5 mcg/ml であつた時、髄液内濃度は各々

2.2 mcg/ml, 2.7 mcg/ml および 2.9 mcg/ml と、血中濃度とはほぼ等しい濃度を示し、髄液内移行はきわめて良好であつた。

2) DOTC: 200 mg 経口投与により血中濃度が各々 0.18, 0.46, 0.67 および 1.7 mcg/ml のとき、髄液内濃度は 0.15, 0.15, 0.18 および 0.2 mcg/ml であり、DOTC の *in vitro* での抗菌力よりみて、臨床的効果は期待が薄いと考えられる。

3) EM: 300 mg 経口投与時、髄液内濃度は 0.03 および 0.3 mcg/ml (血中濃度の約 1/10~1/5) と低いものであつた。

4) KM: 1 g 筋注時、正常髄液所見者の髄液への移行はきわめて低いものであつたが、結核性髄膜炎患者の急性期では、血中濃度が 27.5 mcg/ml のとき 8.0 mcg/ml にも達していた。

5) CER: 髄液への移行は比較的良好で、血中濃度の 1/2~1/3 の移行度を認めた。

6) RFP: 300 mg 1 回投与時の髄液内濃度は極めて低いが、600 mg 3 日間投与後の髄液内濃度は 0.3~1.1 mcg/ml にもなり、充分治療効果が期待し得る濃度が認められた。

7) AB-PC: 500 mg 経口投与時の髄液内濃度は 0.1, 0.7 および 2.2 mcg/ml で、血中濃度の 1/5~1/50 であつた。

II. KM, AB-PC および RFP は、髄液に炎症性変化が認められるものでは、正常者に比し移行は良好となり、臨床的に期待し得る濃度に達していた。また CP は、髄液所見の正常者でも、髄液への移行は良好であつた。

#### ④-50 抗生剤の眼内移行に関する研究 (第1報) 炎症眼における眼内移行について

三国政吉・大石正夫・周田茂雄  
今井正雄・高橋篁子  
新潟大学眼科

従来、私共は正常家兎眼を用いて、各種抗生剤の眼内移行について検討し、その成績を報告してきた。

今回は実験的化膿性ブドウ膜炎に対する治療成績の裏付けのため炎症眼の眼内移行について以下のような実験を行なつた。

##### 1. 実験方法

*Staph. aureus* 209 P 株をブイヨンで培養し、菌数  $10^9$ /ml の菌液となし、この 0.05 ml を家兎前房内に接種、化膿性ブドウ膜炎を発症させ、他眼は菌接種を行なわず

対照とした。

菌接種 1 時間後に抗生剤を投与し、1/2, 1, 3 時間後の眼組織内濃度を測定した。投与薬剤は Penicillin (PC), Tetracycline (TC), Kanamycin (KM), Lincomycin (LCM) の 4 剤、投与方法は点眼、結膜下注射および筋注の 3 通りである。

濃度測定は *Bac. subtilis* PCI 219 を検定菌とする薄層平板カップ法により、炎症眼、対照眼とも前房水、虹彩毛様体、硝子体について行なつた。

##### 2. 実験成績

炎症眼と対照眼の抗生剤眼内移行を比較すると、前房水へは KM の点眼を除き、程度の差はみられるが、すべて炎症眼のほうに良い移行がみられた。

虹彩毛様体へは筋注によつて炎症眼により多くの移行がみられるが、局所投与 (点眼、結膜下注射) では対照眼のほうにすぐれた移行濃度を示している。

硝子体への移行は PC の結膜下注射群を除いて、炎症眼のほうにすぐれているか、または対照眼とはほぼ同程度である。

本実験の対照眼は厳密には非炎症眼となし得ないが、一般に炎症眼各組織への移行は健常組織への移行よりすぐれているといえる。とくに抗生剤を筋注投与した際にこれが明らかである。KM, LCM はもちろん、従来 poor penetrator とされている PC, TC の全身投与も臨床的に眼内炎に用いて効果の期待できることがわかつた。

点眼、結膜下注射による虹彩毛様体への移行では逆に対照眼のほうに炎症眼への移行よりすぐれている結果が得られた。この点について、さらに実験検討したい。

なお、投与薬剤によつての差異は明らかでなかつた。

[追加] 周田茂雄 (新大眼)

KDM に限らず抗生剤一般の炎症眼についていうなら今回の実験のとおり菌接種 1 時間後の抗生剤投与では barrier の透過性は増して全身投与による眼内移行に便になつている。しかし発症の極期になれば渗出物等により barrier 通過が反つて難かしくなることもあると思う。

#### ④-51 Kanandomycin の眼内移行に関する研究

三国政吉・大石正夫・周田茂雄  
今井正雄・高橋篁子・中枝武豊  
新潟大学眼科教室

Kanandomycin (KDM) を家兎眼に局所投与 (点眼、結膜下注射、球後注射) および全身投与 (筋注、静注) して、その眼内移行について実験し、これを KM の成

績と比較検討して報告した。

1%点眼により、前眼部組織へは角膜に最も高濃度移行し、次いで強膜、球結膜、外眼筋の順であつた。眼内部組織へは、水晶体には認められないが、虹彩毛様体に相当量の移行を認め、次いで網脈絡膜、硝子体の順であつた。KMと比較すると全般的にKDMのほうが良好な移行を示すが、とくに角膜において著しく良い成績で、また眼球内部組織へはKMは全く移行を認めないが、KDMでは移行していた。

結膜下注射では、前眼部へは球結膜、外眼筋、強膜、角膜、前房水の順で全般的に良好な移行状態であつた。

眼球内部組織へは網脈絡膜、虹彩毛様体、硝子体、水晶体の順であつた。KMと比較すると全組織を通じてKDMのほうが良好で、前房水内濃度はKDMはKMの約3倍であつた。

球後注射では、球結膜、外眼筋、強膜、網脈絡膜、角膜、虹彩毛様体、前房水、水晶体の順でpeakはほとんどが1/2時間後であつた。KMと比較すると前房水へはKDMはKMの約2倍の移行量であり、全組織を通じて早くpeakに達し良好な移行を示した。

筋注ではほとんどの組織内濃度が1時間後でpeakに

達し、前眼部へは球結膜、強膜、前房水、外眼筋の順であり、虹彩毛様体、硝子体等、眼内部組織へも良好な移行を示した。

静注による眼内濃度は1/2時間後がpeakで、6時間後はほとんど認められない。前眼部へは外眼筋、前房水、球結膜の順に良好で、網脈絡膜、虹彩毛様体、硝子体等、眼内部組織にも認められた。

静注と筋注を比較すると、静注では速かにpeakに達するが持続が短かく、筋注では遅れて最高濃度に達して長時間持続する傾向であつた。

以上、各種投与方法による成績を比較すると、前房水へは局所投与よりも全身投与のほうが良好であつた。眼組織内への移行は、結膜下注射が最も良好で、次いで球後注射、静注、筋注、点眼、の順であつたが、球結膜、強膜へは筋注時も相当量移行していた。

〔追加〕 大石正夫(新大眼)

眼局所に抗生剤を投与する場合には炎症眼組織に対する障害度に充分注意しなければならないと考える。局所投与による眼障害度が臨床効果を上まわるべきであるならば全身投与を重視すべきものと思う。