

抗生物質の血球内移行に関する基礎的研究

前編 マウスにおける実験 (*in vivo*)

広 実 利 夫

広島大学医学部薬理学教室

(前主任: 中塚正行教授)*

(現主任: 竹屋範英教授)

(昭和 46 年 12 月 28 日受付)

はじめに

FLEMING¹⁾ により Penicillin が発見されて以来、数多くの抗生物質が報告され、難治とされていた感染症の多くが容易に治癒されるようになって来た。

いつぼう、抗生物質の普及にしたがい、幾つかの問題²⁻²⁶⁾が提起され、その1つである体内消長と薬効との関連性は重要な問題であるにもかかわらず、等閑視されているとの感がないでもない。しかしながら抗生物質療法において血中濃度とその半減期および MIC(最少発育阻止濃度)は比較的広範囲に検討されている。

そこで著者は抗生物質の体内動態の一端として血球内への移行の問題をとりあげた。ところで、赤血球は生体膜標本としてもつとも取り扱い易いものとして、多くの研究対照となっており、また、近時電子顕微鏡学²¹⁾の発展により多くの面で他の生体膜と共通した構造を有していることがわかって来た。いつぼう、他の細胞にくらべ mitochondria などの成分のないなどは、膜を中心とした研究に用いられる所以でもある。

著者は前編では生体位における血流での血清から血球内への移行を、後編では *in vitro* での血球内移行を中心に検討した。

I. 緒 言

化学療法剤の体内動態について Sulfonamides や抗生物質の体内消長が数多く報告²²⁻²⁴⁾されており、なかでも血清内濃度と MIC との関係が重要視されている。すなわち、薬物が血流を介して標的臓器や組織に移行し、さらに血流を介して排出されるものであつてみれば、血清内濃度が体内動態のうちでも一義的に重視され、加えて標的臓器での薬物濃度が MIC 以上に達するための基礎として検討されている。

いつぼう、赤血球は膜透過性を検討するための標本として広く応用されている。

著者は抗生物質の血流中での動態の1つとして血球内移行を検討することとしたが、このことは他の生体膜透

過性をうかがう一助となるものと考える。

ところで抗生物質の血球内移行については、北本、深谷ら^{2,8,9-10)}の報告がある他は、系統的な成績には寡聞にして接しない現状である。Penicillin G 他 7 種類の抗生物質の生体位の血球内移行を投与路および投与量を統一し、1 および 4 時間値を中心に検討し、以下に述べる成績を得た。

II. 実験材料および実験方法

1. 供試動物: 体重 18 g 前後の雄性 dd 系マウスを実験に先立ち数日間同一条件のもとに飼育した。なお各群は 5~10 匹とした。

2. 供試薬物: Penicillin G(PCG)(日本化薬), Amino-benzyl Penicillin (AB-PC)(明治製菓), Streptomycin (SM), Kanamycin (KM)(明治製菓), Tetracycline (TC)(日本レダリー), Chloramphenicol (CP)(パークデイビス), Chlorabulin (CB)(山之内) および Erythromycin (EM)(シオノギ) の 8 種類の抗生物質を要にのぞみ蒸留水で溶解または懸濁液とし、調製後 6 時間を経過したものは用いなかった。

3. 抗菌価測定用材料

a 培地: 1.5% 寒天加ブイヨン培地を用い、pH は 6.0 (PCG, TC), 6.5 (AB-PC), 7.0 (CP, CB) および 7.5 (SM, KM, EM) とした。

b 供試菌: 枯草菌 PCI-217 の芽胞浮遊液を用いた。

c 磷酸緩衝液: M/15 NaH₂PO₄ と M/15 K₂HPO₄ により、それぞれ pH 6.5, 6.5, 7.0 および 7.5 の磷酸緩衝液を調製し、標準抗生物質溶液調製用とした。

d その他: 内径 8.5 cm 硝子製ペトリ皿および直径 8.0 mm、長さ 10.0 mm および重量 1.53 g のステンレス製カップを用いた。

4. 抗生物質適用方法および採血方法: 早朝マウスの体重測定後、各抗生物質を 50, 100 および 200 mg/kg を背部皮下に注射し、注射量は 0.4 ml を超えないようにした。薬物適用後水だけを自由に摂取させ、飼料は全く与えなかった。薬物適用後 1 および 4 時間後にマウス

* 広島大学名誉教授、長崎大学長

を背位に固定し、頸動脈を切開しスピググラスに採血し、その重量を測定した。

5. 血液各分画：上記のようにして得られた全血液を1,500 rpm-15 分間遠心分離して得られた血清、沈渣と同量の生塩水を加えて室温に 30 分間時々振盪しながら放置したものを1,500 rpm-15 分遠心分離して得られた上清および沈渣と同量の蒸留水を加え、室温に1時間時々振盪しながら放置し充分溶血が終つたことを肉眼的に確かめた後1,500 rpm-15 分間遠心分離して上清を分離し、それぞれ血清内濃度、血球膜濃度および血球内濃度とした。なお後編に述べる *in vitro* の実験から、いちおうそれぞれの血液分画濃度と推測される結果を得た。また、全血液中の抗生物質量は少ないので、いろいろの抽出操作による減少も考慮し全血液と同量の生塩水および蒸留水をもつて操作し、それぞれの濃度で比較した。

6. 抗菌価測定方法²⁵⁻²⁷⁾：厚生省抗生物質使用基準に準拠して行ない、枯草菌芽胞浮遊液を0.05~0.1%とし、37°Cに培養に先立ち室温または氷室に2~4時間静置した。

III. 実験成績

1. Penicillin G

健常マウスに PCG 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は、表1および図1に示すように、1時間値では血球内濃度は50 mg/kg-1.01 u/ml, 100 mg/kg-7.37 u/ml および 200 mg/kg-9.6 u/ml であり、適用量にほぼ比例して増加した。その際の血球膜濃度は2.22~16.0 u/ml および血清内濃度は7.38~27.11 u/ml で、適用量にほぼ比例しそれぞれ増加し、血清>血球膜>血球濃度の順であつた。

つぎに、4時間値では血球内濃度は50 mg/kg-0.39 u/ml, 100 mg/kg-0.30 u/ml および 200 mg/kg-1.0 u/ml で、各適用群ではほぼ同一程度であつた。その際の血球膜濃度は0.38~1.18 u/ml および血清内濃度は0.39~0.51 u/ml で微量、同一程度であつた。

血清内濃度と血球内濃度の比を血球内移行率とすると、1時間値では50 mg/kg-13.68%, 100 mg/kg-45.4% および 200 mg/kg-35.4% で、いずれも50%以下であり、また血球膜濃度よりも血球内濃度が低値である点から、PCGの血球膜透過は単純拡散によるものと考えられる。

つぎに、血清内濃度があきらかに低下している4時間値では血球内濃度もあきらかに低下してい

るが、その際の移行率は93.7~196%であつた。また、血球膜濃度に対する血球内濃度との比は、1時間値では45.5~94.61% および4時間値では84.75~102.36%で

表1 Penicillin G のマウス血球内移行について(皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単 位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	u/ml %	7.38 69.56	2.22 20.92	1.01 9.52	10.61 100	13.68	45.40
	4	u/ml %	0.39 33.62	0.38 32.76	0.39 33.62	1.16 100	100.0	102.36
100	1	u/ml %	16.23 51.69	7.79 24.81	7.37 23.50	31.39 100	45.40	94.61
	4	u/ml %	0.32 34.78	0.30 32.61	0.30 32.61	0.92 100	93.40	100.0
200	1	u/ml %	27.11 51.44	16.0 30.36	9.60 18.20	52.71 100	35.40	60.0
	4	u/ml %	0.51 18.96	1.18 43.87	1.0 37.10	2.69 100	196.0	84.75

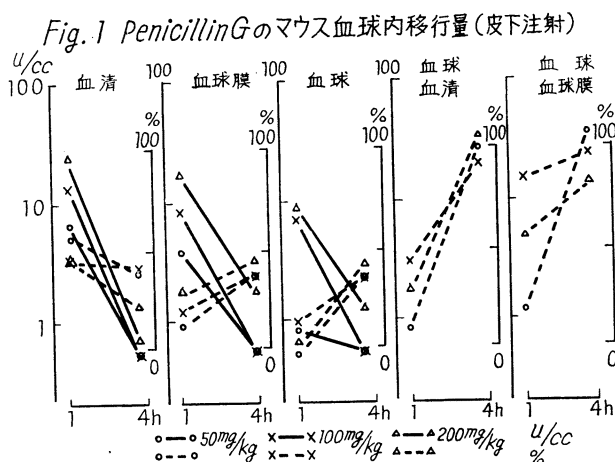


表2 Aminobenzylpenicillin のマウス血球内移行について(皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単 位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	mcg/ml %	3.15 75.0	0.79 18.81	0.26 6.19	4.20 100	8.25	32.91
	4	mcg/ml %	0.08 15.68	0.08 15.68	0.35 68.64	0.51 100	437.50	437.5
100	1	mcg/ml %	9.60 79.87	1.91 15.89	0.51 4.24	12.02 100	5.31	27.60
	4	mcg/ml %	0.08 21.05	0.08 21.05	0.22 59.90	0.38 100	275.0	275.0
200	1	mcg/ml %	17.16 70.82	5.92 24.43	1.15 4.75	24.23 100	6.70	19.20
	4	mcg/ml %	0.08 25.0	0.08 25.0	0.16 50.0	0.32 100	200.0	200.0

あり、したがって、血清内濃度の低下により、血球内と血清内の PC-G 濃度勾配に差が生じると、血球内から血清内に移行することがうかがわれる。

2. Aminobenzylpenicillin

Fig. 2 Aminobenzylpenicillin のマウス血球内移行量(皮下注射)

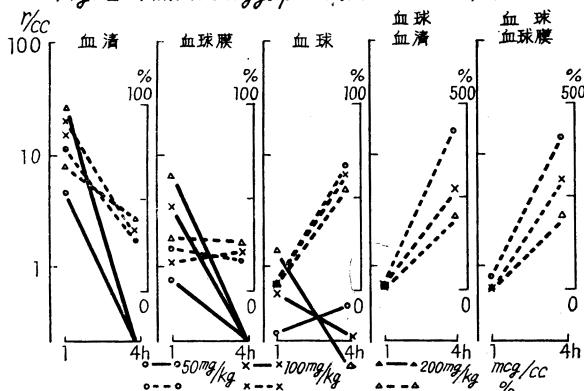
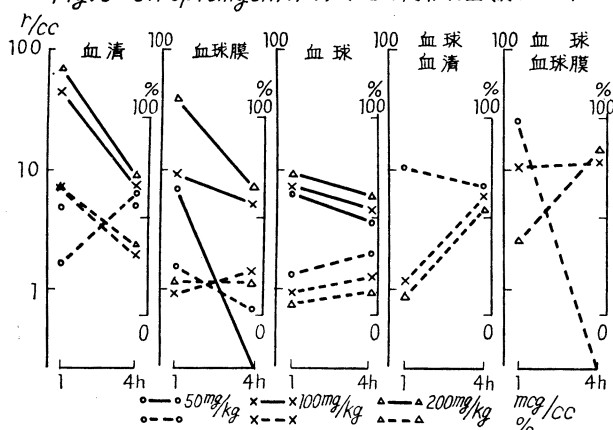


表 3 Streptomycin のマウス血球内移行について (皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	mcg/ml	6.16	5.34	5.10	16.60	82.7	95.57
		%	37.11	32.17	30.72	100		
	4	mcg/ml	4.96	0	3.11	8.07	62.70	—
		%	61.46	0	38.54	100		
100	1	mcg/ml	34.28	8.90	5.56	48.76	16.21	62.33
		%	70.30	18.29	11.41	100		
	4	mcg/ml	6.34	5.05	3.88	15.27	61.15	76.83
		%	41.52	33.07	25.41	100		
200	1	mcg/ml	87.10	31.11	7.52	125.73	8.63	23.81
		%	69.27	24.74	5.99	100		
	4	mcg/ml	7.73	5.25	4.48	17.46	57.90	85.33
		%	44.27	30.17	25.66	100		

Fig. 3 Streptomycin のマウス血球内移行量(皮下注射)



健常マウスに AB-PC 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は、表 2 および図 2 にしめすように、1 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-0.26 mcg/ml, 100 mg/kg-0.51 mcg/ml および 200 mg/kg-1.15 mcg/ml

で適用量にほぼ比例して増加した。その際の血球膜濃度は 0.79~5.92 mcg/ml および血清内濃度は 3.15~17.16 mcg/ml で適用量にほぼ比例して増加し、血清>血球膜>血球の濃度順であつた。

つぎに、4 時間値では血球内濃度は 0.16~0.35 mcg/ml, 血球膜濃度および血清内濃度 0.08 mcg/ml であり、1 時間値にくらべ低下していた。血球内移行率は 1 時間値では 50 mg/kg-8.25%, 100 mg/kg-5.31% および 200 mg/kg-6.70% でいずれも 10% 以下および 4 間値では 200~487.5% であつた。また血球膜濃度と血球内濃度との比は 1 時間値では 19.26~32.91% および 4 時間値では 200~437.5% であり、したがって、AB-PC の血球膜透過は PC-G と同様に単純拡散によるものと考えられる。

以上のように、PC-G および AB-PC 50~200 mg/kg 適用時、血球内濃度は血清内濃度と同様に適用量にほぼ比例して増加し、血球内移行率は 1 時間値で PC-G-13.68~45.4% および AB-PC-5.31~8.23% であり、血球膜濃度と血球内濃度の比は 1 時間値で PC-G-45.5~100% および AB-PC-19.26~32.9% であり、したがって血清>血球膜>血球の濃度順となり、その移行は単純拡散によるものと推測される。

3. Streptomycin

健常マウスに SM 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は、表 3 および図 3 にしめすように、1 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-5.10 mcg/ml, 100 mg/kg-5.56 mcg/ml および 200 mg/kg-7.52 mcg/ml で適用量にほぼ比例して増加した。その際の血球膜濃度は 5.34~31.11 mcg/ml および血清内濃度は 6.16~87.10 mcg/ml で適用量に概して比例し増加し、血清>血球膜>血球の濃度順であつた。

つぎに、4 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-3.11 mcg/ml, 100 mg/kg-3.38 mcg/ml および 200 mg/kg-4.48 mcg/ml で 1 時間値にくらべ低下している。血球内移行率は 1 時間値では 50 mg/kg-82.7%, 100 mg/kg-16.21% および 200 mg/kg-8.63% であり、血清内濃度の増加にともない血球内濃度は増加するが、移行率は低下した。血球膜濃度と血球内濃度との比は 1 時間値では

表 4 Kanamycin のマウス血球内移行について (皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単 位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	mcg/ml	6.23	3.10	4.65	13.98	74.63	150.0
		%	44.56	22.17	33.27	100		
	4	mcg/ml	2.18	1.13	2.88	6.19	132.11	2.106
		%	35.22	18.26	46.52	100		
100	1	mcg/ml	6.23	6.45	5.57	18.25	89.41	86.37
		%	34.13	35.34	30.52	100		
	4	mcg/ml	2.46	0.77	5.63	8.86	229.85	731.17
		%	27.77	8.69	63.54	100		
200	1	mcg/ml	44.58	15.62	5.85	66.02	13.13	37.52
		%	67.48	23.66	8.86	100		
	4	mcg/ml	4.0	1.63	7.06	12.69	176.5	433.13
		%	31.58	12.84	55.63	100		

Fig. 4 Kanamycin のマウス血球内移行量 (皮下注射)

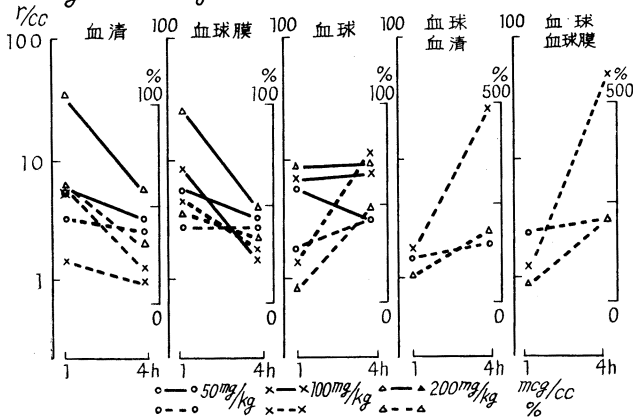


表 5 Tetracycline のマウス血球内移行について (皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単 位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	mcg/ml	5.88	5.99	6.01	17.88	102.21	103.33
		%	32.89	33.50	33.61	100		
	4	mcg/ml	5.44	4.60	3.07	13.11	56.93	67.17
		%	41.49	35.09	23.42	100		
100	1	mcg/ml	13.21	6.48	9.25	28.94	70.02	142.75
		%	45.65	22.39	31.96	100		
	4	mcg/ml	5.90	4.11	4.18	14.19	70.84	101.70
		%	41.58	28.96	29.46	100		
200	1	mcg/ml	18.33	6.37	9.40	34.10	51.55	148.51
		%	53.63	18.67	27.70	100		
	4	mcg/ml	15.26	6.40	6.19	27.85	40.56	96.72
		%	54.79	20.98	12.23	100		

23.81~95.57%, 4時間値では 76.83~85.33% であり, したがって血清>血球膜>血球の濃度順となり, その移行は単純拡散によるものと考えられるが, 上述の抗生物質にくらべ血球膜濃度と血球内濃度の差が少ないことか

ら, その透過性にはやや異なる因子も介入しているものと考えられる。

4. Kanamycin

健常マウスに KM 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は, 表4および図4に示すように, 1時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-4.65 mcg/ml, 100 mg/kg-5.57 mcg/ml および 200 mg/kg-5.85 mcg/ml であり適用量にほぼ比例して増加した。その際の血球膜濃度は 3.10~15.62 mcg/ml および血清内濃度は 6.23~44.58 mcg/ml で適用量にほぼ比例してそれぞれ増加し, 概して血清>血球膜>血球の濃度順であつた。

つぎに, 4時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-2.88 mcg/ml, 100 mg/kg-5.63 mcg/ml および 200 mg/kg-7.06 mcg/ml で1時間値にくらべ低下している。

その際の血球膜濃度は 1.13~1.63 mcg/ml および血清内濃度は 2.18~4.0 mcg/ml であり, 血球内濃度は血球膜濃度および血清内濃度にくらべ高値であつた。血球内移行率は1時間値では 50 mg/kg-74.63%, 100 mg/kg-89.41% および 200 mg/kg-13.13% であり, SM と同様に血清内濃度の増加にともない血球内濃度は増加するが, 血球内移行率は低下した。いつぼう, 4時間値では 132.11~229.85% であり, 血清内濃度よりも高いことがうかがえる。

血球膜濃度と血球内濃度との比は1時間値では 50 mg/kg-150%, 100 mg/kg-86.37% および 200 mg/kg-37.52% で, 移行率と同一傾向であり, 4時間値では 201.06~731.17% で1時間値よりも高値であつた。

したがって KM は血清から血球内に移行するが, 血清内濃度の低下により血球内濃度は低下するが, その度は緩徐であることがうかがわれた。

以上のように, SM および KM 50~200 mg/kg 適用時, 血球内濃度は適用量に概して比例して増加するが, 血球内移行率は血清内濃度の増加によりむしろ減少した。血球膜濃度と血球内濃度との比は1時間値で SM-23.81~95.57% および KM で 37.52~150% であり血球内移行率よりも大きい値をしめした。血清>血球膜>血球内の濃度順となり, その血球内移行は拡散によるものが主役

であることがうかがわれた。

5. Tetracycline

健常マウスに TC 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は, 表5および図5に示すように, 1時間

Fig. 5 Tetracyclineの Maus 血球内移行量(皮下注射)

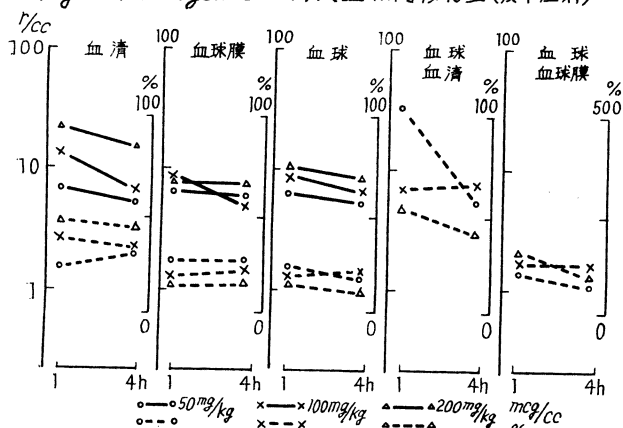
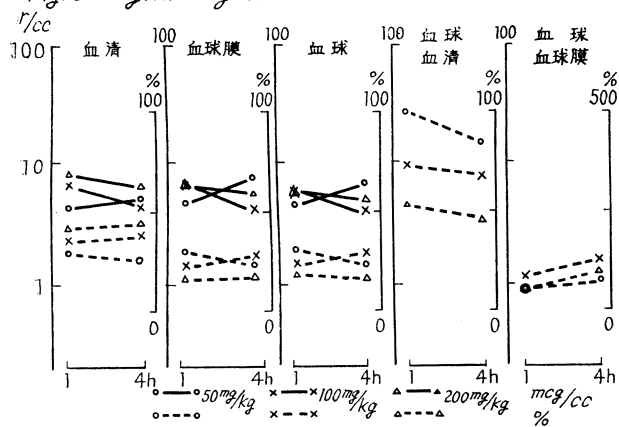


表 6 Erythromycin の Maus 血球内移行について(皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	mcg/ml %	3.44 34.40	3.07 30.70	3.49 34.90	10.0 100	101.40	82.45
	4	mcg/ml %	4.51 34.32	4.73 36.0	3.90 29.67	13.14 100	86.47	82.24
100	1	mcg/ml %	5.29 38.06	4.54 32.66	4.07 29.28	13.90 100	76.93	90.04
	4	mcg/ml %	4.0 43.48	2.34 25.42	2.86 31.09	9.20 100	71.0	122.22
200	1	mcg/ml %	7.20 44.86	4.66 29.03	4.19 26.11	16.05 100	58.19	89.91
	4	mcg/ml %	6.34 51.92	2.77 22.69	3.10 25.39	12.21 100	48.89	111.91

Fig. 6 Erythromycinの Maus 血球内移行量(皮下注射)



値では血球内濃度は 50 mg/kg-6.01 mcg/ml, 100 mg/kg-9.25 mcg/ml および 200 mg/kg-9.40 mcg/ml であり, 適用量の増加によりやや増加した。その際の血球膜濃度は 5.99~6.48 mcg/ml および血清内濃度は 5.88~

18.33 mcg/ml で, 血球内, 血球膜および血清内濃度は上述の抗生物質にくらべ差が少なかった。

つぎに, 4 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-3.07 mcg/ml, 100 mg/kg-4.18 mcg/ml および 200 mg/kg-6.19 mcg/ml であり, 血球膜濃度は 4.11~6.4 mcg/ml および血清内濃度は 5.44~15.26 mcg/ml であり, 1 時間値にくらべやや低下している。

血球内移行率は 1 時間値では 50 mg/kg-102.21 %, 100 mg/kg-70.02 % および 200 mg/kg-51.55 % でいずれも 50 % 以上であり, 4 時間値では 40.56~70.84 % であり 1 時間よりやや低値であるが, 上述の抗生物質にくらべ, 1 時間値と 4 時間値とが近似していることが特徴的であつた。血球膜濃度と血球内濃度との比は 1 時間値では 50 mg/kg-103.33 %, 100 mg/kg-142.75 % および 200 mg/kg-148.51 % で, 4 時間値では 67.17%~101.70 % であり移行率よりも高値であり, 4 時間値は 1 時間よりも低値であり, PC-G や SM などと態度が異なつていた。

以上のように, TC 50~200 mg/kg 適用時, 血球内濃度は概して適用量に比例して増加し, 血球内移行率は 50 % 以上であり, また血球膜濃度と血球内濃度との比はほぼ一定であつた。したがつて, 血清>血球内=血球膜の濃度順となり, その移行は拡散に加えて, lipid などの膜構成成分が一役を荷つているものと考えられる。

6. Erythromycin

健常マウスに EM 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は, 表 6 および図 6 にしめすように, 1 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-3.49 mcg/ml, 100 mg/kg-4.07 mcg/ml および 200 mg/kg-4.19 mcg/ml で概して適用量に比例して増加した。その際の血球膜濃度は 3.07~4.66 mcg/ml および血清内濃度は 3.44~7.20 mcg/ml であり, 血清>血球膜>血球内の濃度順となるが濃度差は著明でない。

つぎに, 4 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-3.9 mcg/ml, 100 mg/kg-2.86 mcg/ml および 200 mg/kg-3.10 mcg/ml で 1 時間値とほぼ同一程度であつた。その際の血球膜濃度は 2.34~4.73 mcg/ml および血球内濃度は 4.0~6.34 mcg/ml

で 1 時間値とほぼ同一程度であつた。血球内移行率は 1 時間値では 50 mg/kg-101.40 %, 100 mg/kg-76.93 % および 200 mg/kg-58.19 % でいずれも 50 % 以上であり, 4 時間値では 48.89~86.47 % で 1 時間値とほぼ同

表 7 Chloramphenicol のマウス血球内移行について (皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	mcg/ml	7.30	5.96	20.07	33.33		
		%	21.90	17.89	60.23	100	274.89	336.91
	4	mcg/ml	6.47	6.03	20.94	33.44		
		%	19.36	18.03	62.61	100	323.64	342.26
100	1	mcg/ml	16.16	7.60	18.26	42.02		
		%	38.45	18.09	43.46	100	112.99	240.26
	4	mcg/ml	5.45	5.74	17.69	28.88		
		%	18.87	19.88	61.25	100	324.58	308.19
200	1	mcg/ml	47.67	15.01	19.78	82.46		
		%	57.81	18.20	23.99	100	41.49	118.45
	4	mcg/ml	6.11	5.25	24.13	35.49		
		%	17.22	14.79	67.99	100	394.92	459.64

Fig. 7 Chloramphenicol のマウス血球内移行量 (皮下注射)

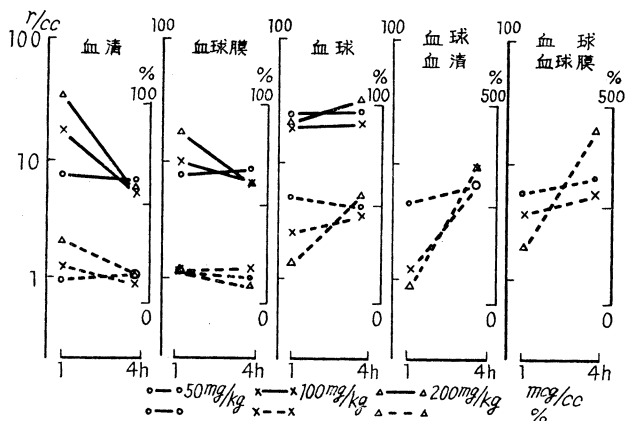


表 8 Chlorabulin のマウス血球内移行について (皮下適用)

dose (mg/kg)	time (hrs)	単位	血清	血球膜	血球内	総量	血球内血清	血球内血球膜
50	1	mcg/ml	10.46	9.46	38.30	58.22		
		%	17.97	16.25	65.78	100	366.15	404.89
	4	mcg/ml	8.50	9.50	34.76	52.76		
		%	16.11	18.01	65.88	100	408.94	365.89
100	1	mcg/ml	14.85	11.23	36.0	62.08		
		%	23.92	18.09	57.99	100	242.42	320.57
	4	mcg/ml	8.55	8.81	37.07	54.43		
		%	15.71	16.19	68.10	100	433.56	420.77
200	1	mcg/ml	15.58	12.33	24.91	52.82		
		%	29.50	23.34	46.16	100	159.88	202.03
	4	mcg/ml	8.29	10.83	28.70	44.02		
		%	17.63	21.33	61.04	100	346.20	263.32

一程度であり、TC と同一傾向であつた。血球膜濃度と血球内濃度との比は 1 時間値では 50 mg/kg-82.45%, 100 mg/kg-90.04% および 200 mg/kg-89.91% で 4 時

間値では 82.24~122.22% で 1 時間値よりやや高値をしめした。

以上のように、EM 50~200 mg/kg 適用時、血球内濃度は概して適用量の増加にともない増加するが、移行率は 50% 以上であり、血球膜濃度と血球内濃度との比はほぼ一定であつた。したがって、血清>血球膜=血球内の濃度順となり、その移行は拡散に加え、lipid などの介入もあるものと考えられる。

7. Chloramphenicol

健常マウスに CP 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は、表 7 および図 7 にしめすように、1 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-20.07 mcg/ml, 100 mg/kg-18.26 mcg/ml および 200 mg/kg-19.78 mcg/ml でありほぼ同一程度であつた。その際の血球膜濃度は 5.96~15.01 mcg/ml および血清内濃度は 7.30~47.67 mcg/ml で適用量にほぼ比例して増加し、概して血球内>血清>血球膜の濃度順であつた。

つぎに、4 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-20.94 mcg/ml, 100 mg/kg-17.69 mcg/ml および 200 mg/kg-24.13 mcg/ml で 1 時間値よりも高値であつた。その際の血球膜濃度は 5.25~6.03 mcg/ml および血清内濃度は 5.45~6.47 mcg/ml であり 1 時間値にくらべ低下した。血球内移行率は 1 時間値では 50 mg/kg-274.89%, 100 mg/kg-112.99% および 200 mg/kg-41.49% でいずれも約 50% 以上であり、4 時間値では 323.64~394.92% であり、血清内濃度の低下にもかかわらず血球内濃度はむしろ増加していた。血球膜濃度と血球内濃度との比は 1 時間値では 50 mg/kg-336.91%, 100 mg/kg-240.26% および 200 mg/kg-118.45% で、4 時間値では 308.19~459.64% で 1 時間にくらべ 4 時間はさらに高値をしめした。

以上のように、CP 50~200 mg/kg 適用時、血球内濃度は血球膜濃度よりも概して高値であり、4 時間値ではさらにその傾向があきらかであつた。したがって CP の血球膜透過は TC などと同じように主として拡散であると考えられるが、膜の lipid との関連性も見逃し難いものと推測される。

8. Chlorabulin

健常マウスに CB 50~200 mg/kg 皮下適用した際の血球内移行は、表 8 および図 8 にしめすように、1 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-38.30 mcg/ml, 100 mg/

Fig. 8 Chlorabulin のマウス血球内移行量 (皮下注射)

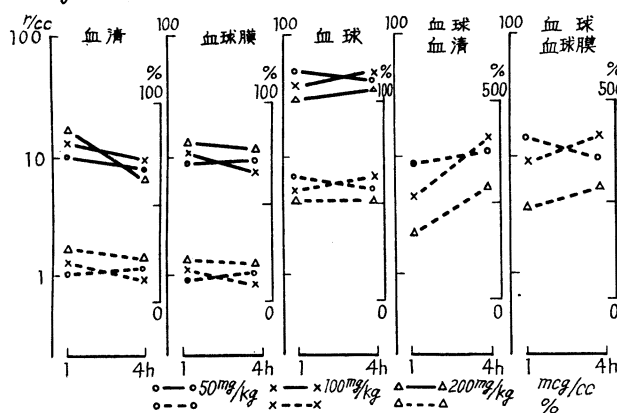


表 9 抗生物質のマウス血球内移行について (100 mg/kg 皮下適用) (4 時間/1 時間) (%)

Antibiotics	血清	血球膜	血球内	血球内 血清	血球内 血球膜
Penicillin G	1.97	4.62	4.07	206.38	87.84
Aminobenzylpenicillin	0.83	4.20	43.13	5178.91	93.63
Streptomycin	18.49	56.62	69.78	377.24	123.26
Kanamycin	39.67	11.93	101.08	255.96	846.65
Tetracycline	44.66	63.42	45.19	101.17	71.24
Erythromycin	75.01	51.54	70.27	92.29	136.33
Chloramphenicol	33.72	75.53	96.98	287.26	128.27
Chlorabulin	57.57	78.45	102.97	178.84	131.26

kg-36.0 mcg/ml および 200 mg/kg-24.91 mcg/ml でありほぼ同一程度であつた。その際の血球膜濃度は 9.46~12.33 mcg/ml および血清内濃度は 10.46~15.58 mcg/ml で適用量にほぼ比例して増加し、血球内>血清>血球膜の濃度順であつた。

つぎに、4 時間値では血球内濃度は 50 mg/kg-34.76 mcg/ml, 100 mg/kg-37.07 mcg/ml および 200 mg/kg-28.70 mcg/ml で 1 時間値と同一程度であつた。その際の血球膜濃度は 8.81~10.83 mcg/ml および血清内濃度は 8.29~8.55 mcg/ml で 1 時間値にくらべ、やや低下した。血球内移行率は 1 時間値では 50 mg/kg-366.15%, 100 mg/kg-242.42% および 200 mg/kg-159.88% および 4 時間では 346.2~433.56% であり、血球膜濃度と血清内濃度との比は 1 時間値では 50 mg/kg-404.89%, 100 mg/kg-320.57% および 200 mg/kg-202.03% で 4 時間値は 263.32~420.77% で同一程度であつた。

以上のように、CB 50~200 mg/kg 適用時、血球内濃度はもつとも高く、したがつて、CB の血球膜透にお過ける拡散に加え、 γ -globulin などの添加も意義あるも

ののように推測される。

PC-G 他 7 種類の抗生物質の健常マウスに皮下適用時の血球内移行を 100 mg/kg 適用群について時間的経過を 4 時間/1 時間で検討すると、表 9 にしめすように、血球内濃度では KM, CP および CB ではほぼ 100% であり、血球内移行率はいずれも 100% 以上であり、また、血球内/血球膜では KM を除き、ほぼ 100% であつた。

IV. 総括ならびに考察

抗生物質の生体内動態の 1 つである血球内移行について、生体位での実験を行ない、上述の成績を得た。抗生物質は PC-G など常用 8 種類を選び、適用路については吸収による因子を出来るだけ同一にしたいとの意図のもとに皮下適用とした。また適用は各抗生物質 50~200 mg/kg の 3 段階のそれぞれ 1 および 4 時間値について検討を加えた。

まず 1 時間値からみると、水溶性で pKa が酸性側の PC-G および合成 PC では、血清内濃度および血球内濃度はほぼ薬物量に比例して増加し、血清内濃度は PC-G-7.38~47.11 u/ml (全血に対する比: 51.44~69.56%) および AB-PC-3.15~17.16 mcg/ml (70.82~79.87%) で過半量をしめし、血球内濃度は PC-G-1.01~9.6 u/ml (9.52~23.50%) および AB-PC-0.26~1.15 mcg/ml (4.24~6.19%) で、血清>血球膜>血球の濃度順であつた。

つぎに水溶性で pKa がアルカリ側の SM および KM でも上述の PC-G などと同様に薬物量に比例して血清内濃度などは増加したが、血球内濃度には著明な差はみられなかつた。その際の血清内濃度は SM-6.16~87.10 mcg/ml (37.11~70.30%) および KM-6.23~44.55 mcg/ml (34.13~67.48%) で過半量をしめし、血球内濃度は SM-5.10~7.52 mcg/ml (5.99~30.72%) および KM-4.65~5.85 mcg/ml (8.86~33.27%) で、おおむね血清>血球膜>血球の濃度であつた。

いつぼう、脂溶性で pKa が酸性側の TC では血清内濃度は 5.88~18.33 mcg/ml (32.89~53.63%) で薬物量にほぼ比例して増加するが、その他のものではその傾向が少なく濃度差は上述の抗生物質にくらべ少なく、血球内濃度は 6.01~9.40 mcg/ml (27.7~3.61%) で、大量適用の場合、血清>血球>血球膜の濃度順となつた。

つぎに脂溶性で pKa がアルカリ側にある EM では血清内濃度は 3.44~7.20 mcg/ml (34.4~44.86%) でほぼ薬物量に比例して増加し、上述のそれと同様に各分画での濃度差は少なく、血球内濃度は 3.49~4.19 mcg/ml

(26.11~34.90%)で、大量適用の場合、血清>血球膜>血球の濃度順となつた。

また脂溶性で中性の CP および CB では、血清内濃度は CP-7.30~47.67 mcg/ml(21.90~57.81%) および CB-10.46~15.58 mcg/ml(17.97~27.50%) であり、ほぼ薬物量に比例して増加し、血球内濃度は CP-20.07~19.78 mcg/ml(23.99~60.23%) および CB-24.91~38.3 mcg/ml(46.16~65.78%) で、他の分画にくらべ高値をしめす場合が多く、上述の抗生物質にくらべ特異的である。

血球内移行率(血球内濃度/血清内濃度)は PC-G-13.68~45.4%, AB-PC-5.31~8.25%, SM-8.63~82.7%, KM-13.13~89.41%, TC-51.55~102.21%, EM-58.19~101.40%, CP-41.49~274.89% および CB-159.88~366.15% であつた。

以上のように、薬物適用1時間後(血中濃度がほぼ最高となり、排出などの比較的少ない時期)での血球内濃度は CB>CP>TC>KM=SM>PCG>EM>AB-PC の順となり、血球内移行率は CB>CP>TC>EM>KM>SM>PCG>AB-PC の順となり、両者はほぼ同一傾向であつた。すなわち、脂溶性抗生物質では水溶性抗生物質にくらべ血球内移行が高いことがうかがわれる。

その際の血球膜濃度は血球内濃度と近似の場合が多く、しかも前者は後者よりも高い値をしめし、血球膜濃度は血球内濃度を支配する因子の1つであることがうかがわれる。

ついで血中濃度が低下する4時間値について検討した。

100 mg/kg 適用例の血球内濃度の4時間/1時間を中心にみると、PC-G では4.07% であきらかに低下し、AB-PC-43.13%, SM-69.78%, TC-45.19% および EM-70.27% とほぼ半減し、KM-101.08%, CP-96.98% および CB-102.97% とほぼ同一程度であつた。その際の血球内移行率は4時間値が1時間値よりも高値であつた。したがつて血球内に移行した抗生物質は血清内濃度の下降にともない低下するが、その度は血清内濃度のそれにくらべ緩徐であり、このことは拡散により抗生物質が血球膜を透つて血球内に移行し、血清内濃度の低下にともない拡散により血球内から血清へと移行すると考えられるが、いつぱう、1, 2 抗生物質では血清内濃度および血球膜濃度が低下するにもかかわらず、ほとんど低下しないことは、血球内から血清への拡散が血清から血球内への拡散にくらべ緩徐であると考えられるが、しかしながらそれら抗生物質での血球内移行が高いことを思うとき、拡散により移行した抗生物質が血球内で結合状態にあることが推測される。

さて、抗生物質の血球内移行についての生体位での実験は、深谷^{3,5-10)}等の1, 2の報告があるに過ぎず、そのほとんどは *in vitro* での実験である。著者は血流中での血球内移行および血球から血流への再移行の両者を中心に検討し、上述の結果を得た。すなわち、血球内濃度は適用量に比例して増加し、水溶性抗生物質では血清>血球膜>血球の濃度順であり血球内移行率は50% 以下であるのに対し、脂溶性抗生物質では血清>血球膜=血球の濃度順のものが多く、しかも濃度差は著明ではなく、したがつて抗生物質の血球内移行は拡散によるものであるが、脂溶性抗生物質では PC などよりもその移行にやや複雑であることをうかがい得た。

SCHANKER³⁰⁾ は薬物の膜透過性に関する総説においてその機構を分類し、薬物のほとんどが受動輸送され、また膜の種類により差のあることを報告している。つぎに生体位での透過について、消化管粘膜からの吸収、血液-脳関門からの脳内移行、胎盤を通過しての胎児内移行および唾液腺などからの排出について検討されている。また赤血球内移行は lipid/水系の分配係数と深い関係があると述べており、抗生物質の場合も同一見解であつた。有機酸ではその脂溶性に比例しているが、有機酸である PC-G と AB-PC では必ずしも一致し難い点もあつた。さらに、SM や KM など glycoside 群抗生物質は pKa がアルカリ側であり、lipid/水系分配係数が PC-G などよりも小さいにもかかわらず血球内移行率が KM では PC-G よりも大きいことはその膜透過機序に差のあることが推測される。

V. 結 言

抗生物質の血球内移行をマウス背部皮下適用後、1時間および4時間値を中心に検討し、つぎの結論を得た。

1. PC-G 他7種類の抗生物質の血球内移行はほぼ適用量に比例した。
2. 水溶性で等電点が酸性側にある PC-G および AB-PC では血清>血球膜>血球内の濃度順となつた。
3. 水溶性で等電点がアルカリ側にある SM および KM では血清>血球膜>血球内の濃度順となるが、適用量の少ない場合には血球膜と血球内との差は著明でなかつた。
4. 脂溶性で等電点が酸性側にある TC では血清>血球内>血球膜の濃度順となつた。
5. 脂溶性で等電点がアルカリ側にある EM では血清、血球膜および血球内濃度間の差は著明でなかつた。
6. 脂溶性で等電点が中性である CP および CP と γ -globulin の合剤 CB では血球内>血清>血球膜または血清>血球内>血球膜の濃度順となつた。
7. 100 mg/kg 適用例の移行率は CB>CP>TC=

KM=SM>PCG>EM>AB-PC の順となつた。

8. 4時間値での血球内濃度は血清内濃度にくらべ低下の度は軽度であつた。

(稿を終るに臨み、御懇篤な御指導および御校閲を賜つた恩師 中塚教授ならびに御懇切な御助言を頂いた荒谷助教授に衷心より感謝の意を表します。)

引用文献

- 1) FLEMING A.: Brit. J. Exper. Path. 10: 226, 1929
- 2) 黒田善雄: 抗生物質の体内活動に関する研究。Chemotherapy 6: 343~360, 1958
- 3) 北本 治, 深谷一太: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究。スピラマイシンについて。Chemotherapy 11: 57~60, 1963
- 4) 加藤康道, 富沢麻須美, 千葉 享, 千秋 肇, 小島愛司, 松本義孝, 佐藤幹弥, 齊藤 玲, 中山一朗: Methyl-chlorophenylisoxazolyl-penicillin の研究。Chemotherapy 13: 89~93, 1965
- 5) 深谷一太: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究。Tetracycline-1-methylenelysine について。Chemotherapy 13: 99, 1965
- 6) 深谷一太, 輪島豊子: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究 (spectinomycin について)。Chemotherapy 14: 367~371, 1966
- 7) 北本 治, 深谷一太, 輪島豊子: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究。Thiophenicol および glycinate について -chloramphenicol との比較。Chemotherapy 14: 372~376, 1966
- 8) 北本 治, 深谷一太: Gentamicin に関する基礎的, 臨床的研究。Chemotherapy 15: 329~334, 1967
- 9) 北本 治, 深谷一太, 友利玄一: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究。Enduracidin に関する研究。Chemotherapy 16: 496~500, 1968
- 10) 北本 治, 深谷一太: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究。Acetylspiramycin に関する検討。Chemotherapy 16: 762~764, 1968
- 11) 木村 元, 萩間勇, 真部雅, 原義雄: ストレプトマイシンの体液内分布。J. Antibiotics 3: 53~56, 1950
- 12) 小林良彦: Streptomycin の生体内分布並びにその消長に関する実験的研究。筋肉内投与の場合。J. Antibiotics 4: 339~341, 1951
- 13) 酒井克治, 吉友睦彦: 体液中オーレオマイシンの定量について。J. Antibiotics 5: 300~301, 1952
- 14) 大久保 滉, 藤本安男, 星崎車明: テトラサイクリン (アクロマイシン) の臓器内分布並びに胆汁内排泄について。J. Antibiotics 7: 287~289, 1954
- 15) 佐々木正五, 市橋保雄: 動物実験からみた penicillin の作用機序, 特にその生体内分布と消長について。J. Antibiotics 3: 380~386, 1956
- 16) 清水喜八郎, 大管正明, 久米章司, 島田 馨, 奥村有史: 抗生物質の胆汁内排泄。日本臨床 24: 28~34, 1966
- 17) 石井良治, 依田圭司, 川瀬達也: ペニシリンの臓器内分布に関する研究。J. Antibiotics 4: 39~40, 1953
- 18) 真下啓明, 加藤康道, 斎藤玲, 富沢麻須美, 古川博, 中山一朗: Aminosalicylic acid の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 16: 148~151, 1968
- 19) 小島碩夫, 小沢永憲, 大竹喜彦, 鳥居敏雄: 抗菌物質の吸収, 排泄及び体内分布に関する定量的研究, 第1報, ペニシリンの血中濃度, 臓器内濃度, 発泡液内濃度及び尿中排泄速度。J. Antibiotics 4: 131~134, 1951
- 20) 大久保 滉, 古川牧一, 藤本安男: 抗生物質の臓器内分布。J. Antibiotics 6: 40~42, 1953
- 21) WEINSTEIN R. S.: Red cell membrane structure and function-electron microscopy of surfaces of red cell membranes. 36082. 1969. Ed. JAMICSON, G. A. & GREENWALT, T. J.
- 22) 中垣正幸: 薬物の体内移行。南江堂, 1968
- 23) 赤木満州雄: 薬物代謝の生化学。南山堂, 1965
- 24) 加藤隆一: 薬物代謝と薬効。中外医学双書, 1965
- 25) SCHMIDT, W. H. & MOYER, A. J.: Penicillin. Methods of assay. J. Bact. 47: 199~208, 1944
- 26) FOSTER, J. W. & WOODRUFF, H. B.: Microbiological aspects of penicillin. VI. Procedure for the cup assay for penicillin. J. Bact. 47: 43~58, 1944
- 27) ABRAHAM, E. P., GARDNER, A. B., CHAIN, E., HEATLY, N. G., FIETCHER, C. M., JENNIARCS, M. A. & FLOREY, H. W.: Further observations on penicillin. Lancet 177~189, 1941(11)
- 28) GOLDSTEIN, A.: Principles of drug action the basis of pharmacology. Passage of drug across biological membranes.
- 29) PAPPENHEIMER, J. M.: Passage of molecules through capillary walls. Physiol. Rev. 33: 387, 1953
- 30) SCHANKER, L. S.: Passage of drugs body membranes. Pharmacological Rev. 14: 501~530, 1962

FUNDAMENTAL STUDIES ON TRANSFER OF ANTIBIOTICS INTO ERYTHROCYTES. PART 1 THE *IN VIVO* EXPERIMENT IN MICE

TOSHIO HIROZANE

Department of Pharmacology, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima

(Former director : Prof. MASAYUKI NAKATSUKA)*

(Director : Prof. NORIHIDE TAKEYA)

Distribution of penicillin G and other 7 antibiotics to the erythrocytes of male mice was investigated 1 and 4 hours after subcutaneous injections.

Their transfer into the erythrocytes was almost proportional to their concentrations and the drugs used were arranged in order of decreasing transfer : chlorabulin, chloramphenicol, tetracycline, streptomycin, penicillin G, erythromycin and aminobenzylpenicillin.

Concentrations of penicillin G and aminobenzylpenicillin which are water-soluble and weak acids in plasma, red cell membranes and intracellular materials of red cells were decreased in order of that in plasma, membranes and intracellular materials.

Concentrations of streptomycin and kanamycin which are water-soluble and weakly alkaline were decreased in order of that in plasma, membranes and intracellular materials. However, concentration in the membranes was almost equal to that in intracellular materials in the case of application of a small dose.

Concentrations of tetracycline which is fat-soluble and a weakly acidic were decreased in order of that in plasma, intracellular materials and membranes.

Concentrations of erythromycin which is fat-soluble and a weakly alkaline were almost equal in plasma, membranes and intracellular materials.

Concentrations of chloramphenicol and chlorabulin which are fat-soluble and neutral were decreased in order of that in intracellular materials, plasma and membranes or in order of that in plasma, intracellular materials and membranes.

Although blood levels after 4 hours were lower than those after 1 hour, concentrations in red blood cells after 4 hours fell only slightly.

* Present address : Professor Emeritus of Hiroshima University and President of Nagasaki University, Nagasaki.