

マクロライド系抗生物質，とくにエリスロマイシンの 抗炎症作用にかんする実験的研究

鶴 見 介 登・藤 村 一

岐阜大学医学部薬理学教室

水 谷 明

愛知県立看護短期大学内科

(昭和 49 年 8 月 22 日受付)

緒 言

従来、マクロライド系抗生物質は気管支喘息の気道感染除去に役立つばかりでなく、咳嗽発作や喘鳴を軽減し、副腎皮質ステロイド剤の必要量を減じる作用のあることが知られている。著者らの1人水谷¹⁾はこの点を明らかにするため種々検討を試み、マクロライド系抗生物質はレアギン抗体の産生を抑制し、また mast cell に直接働いてその数を減少させることにより喘息症状の緩解をもたらす可能性のあることを示唆した。このことは喘息患者における発症原因を減少させるだけでなく、気道の炎症々状を改善して病状を好転させることを考えさせる。そこで、著者らはマクロライド系抗生物質の代表的薬物であるエリスロマイシンについて、その抗炎症作用を検討した。

実験材料

抗炎症作用は種々な要因によつて影響されるので、投与方法としては経口投与によつて試験するのが最も好ましい。そこで被検薬は経口用の Erythromycin estolate (Ilosone, 塩野義, EM と略) を用い、他に比較薬としてセファロsporin系抗生物質の Cephalixin (Keflex, 塩野義, CEX と略) およびテトラサイクリン系抗生物質の Oxytetracycline (Terramycin, 台糖ファイザー, TM と略) を、また抗炎症薬として Phenylbutazone (Butazolidine, 藤沢, PB と略) を用いた。これら被検薬はいずれも使用直前にアラビアゴムで懸濁液とし、胃ゾンデにより経口投与した。なお、参考のために carrageenin 足浮腫に対してだけ筋肉内投与でも試験した。この場合は注射用製剤を用い、Erythromycin lactobionate (大日本), Cephalothin sodium (Keflin, 塩野義, CET と略) および Oxytetracycline (Terramycin, 台糖ファイザー) を臀部に筋注した。

実験方法

I. 血管透過性亢進抑制作用

体重 130 g 前後の Wistar 系(W系と略) 雌ラットを1群8匹として被検薬を経口投与し、1時間後に起炎物

質として塩酸ヒスタミン (100 μ g, 0.1 ml) を腹部皮内に2カ所注射し、直ちに 4% pontamine sky blue 溶液 0.1 ml/100 g を静注した。その後 15 分に動物を殺して皮膚を剥離し、起炎物質を注射した青染部位の面積を内側から測定し、対照群と比較した。

II. 急性ラット後肢足蹠浮腫抑制作用

前記同様のラットを1群5匹とし、右側の足の容積を測定した後、被検薬を経口投与した。その後1時間に起炎物質として carrageenin (1%, 0.1 ml) あるいは dextran (3%, 0.1 ml) を右足蹠皮下に注射し、以後1時間毎に足の容積を測定して起炎物質投与前の値から浮腫率を算出した。実験は2回繰り返し、計 10 匹の平均値で対照群と比較した。なお、筋肉内投与の場合は起炎物質投与前 30 分に筋注した。ついで副腎の影響を検するため両側副腎を摘出したラットを用いて、手術3日後に被検薬経口投与による作用を前記同様に試験した。

III. 紫外線紅斑抑制作用

WINDER²⁾の方法により、300 g 前後の Hartley 系モルモットの腹側部を前日に脱毛し、実験時に1群5匹として3つの小孔をあけた絆創膏を脱毛部にあて、紫外線(東芝 H-400 P 光化学用水銀ランプ)を 20 cm の距離から 40 秒間照射した。被検薬は照射1時間前に半量を、照射直後に残り半量を腹腔内投与した。判定は照射後2および5時間に行ない、照射部位が明瞭な境界をもつた紅斑を1、境界不明瞭な紅斑を0.5、ほとんど紅斑の認められないものを0とし、3点の合計が2以上のものは無効、1.5 以下のものは抑制作用があると判定した。

IV. 肉芽増殖抑制作用

MEIER³⁾の方法により、体重 140 g 前後の W 系雌ラットを1群8匹とし、hexobarbital-Na 麻酔下に正中線に沿つて背部皮膚を小さく切開し、両側肩胛部皮下に予じめ秤量、滅菌した 30 $\pm$ 1 mg の綿球を挿入した。被検薬は綿球挿入直後から1日1回9日間経口投与し、10日目に殺して綿球をとりまいて増殖した肉芽組織を注意

深く摘出し、70°C で1晩乾燥後、重量を測定し、増殖した肉芽重量を比較した。

V. Adjuvant 関節炎抑制作用

体重 160g 前後のW系雌ラットを1群8匹とし、右後肢足蹠皮内に流動パラフィンに懸濁した *Mycobacterium butylicum* (Difco) 0.6 mg/ml を注射した。処置前および処置後 1, 3, 5, 7, 14, 21 日に両後肢容積を測定し腫張率を求めるとともに、14日および21日目における secondary lesion (左足、両前肢、両耳および尾) の炎症強度を常法に従がつてスコアした。被検薬は処置日から21日間連続経口投与し、最終投与翌日に胸腺、脾、腸骨リンパ結節および副腎の重量を測定した。

VI. 試験管内試験

A 蛋白熱変性抑制作用

水島⁴⁾の方法により牛血清アルブミンの熱凝固に対する抑制作用を検した。すなわち、pH 5.3 の磷酸緩衝液で1% アルブミン溶液および被検体の各 Mol 濃度溶液を作成し、その各々 2.5 ml ずつを加えて 60°C, 10 分の加温後冷却し、その濁度を 645 mμ における吸光度として測定し、対照と比較して蛋白変性の抑制率を算出した。

B 溶血阻止作用

GLENN⁵⁾の方法によりヘパリン処理したラット血液を遠沈し、0.15 M 磷酸緩衝液 (pH 7.4) で数回洗浄後 2% 血球浮遊液を作成した。この血球浮遊液 3.0 ml に各 Mol 濃度の被検薬を溶解した緩衝液を 3.0 ml 加え、53°C, 20 分の加熱後冷却した。溶血の度合は上清におけるヘモグロビン濃度として 540 mμ における吸光度を測定し、対照に対する抑制率を算出した。

Table 1 Effect of erythromycin and reference compounds on dye leakage of intradermal histamine-injected site in rats

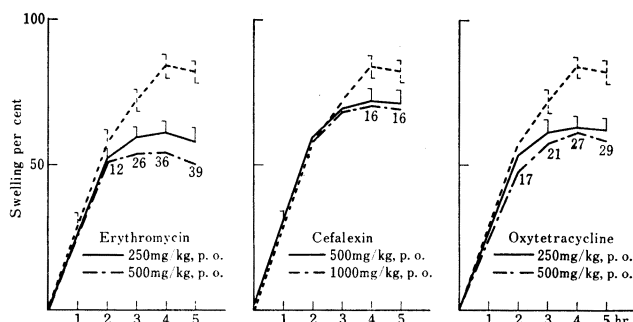
Compounds	Dose (mg/kg, p.o.)	Mean blueing area (mm ² ± S.E.)	Inhibitory (%)
Control		184 ± 9.2	
Erythromycin	250	162 ± 5.1	12.0
	500	157 ± 6.0	14.7
Cefalexin	500	176 ± 9.3	4.3*
	1000	166 ± 6.6	9.8*
Oxytetracycline	250	155 ± 6.7	15.8
	500	146 ± 5.6	20.7
Phenylbutazone	100	154 ± 8.7	16.3
	200	139 ± 7.7	24.6

Histamine=100 μg/0.05ml/site

* indicates no significant difference (p>0.05).

Fig. 1 Inhibitory effect of erythromycin, cefalexin and oxytetracycline on the swelling of rat hind paw induced by carrageenin (1%, 0.1 ml)

Average of 10 female rats, Small numbers : Inhibitory %, : Control



VII. 鎮痛作用

RANDALL & SELITTO 法⁶⁾により検した。すなわち、体重 90~100 g のW系雄ラットの両側後肢の疼痛閾値を圧刺激法によつて検し、正常に反応するものだけを選んで1群5匹とし、被検薬を経口投与した1時間後、右側後肢足蹠皮下に10% ビール酵母 0.1 ml を注射した。以後、30 分毎に両側後肢の疼痛閾値を測定し、同一実験を2回繰り返し計 10 匹の平均値と比較した。

実験成績

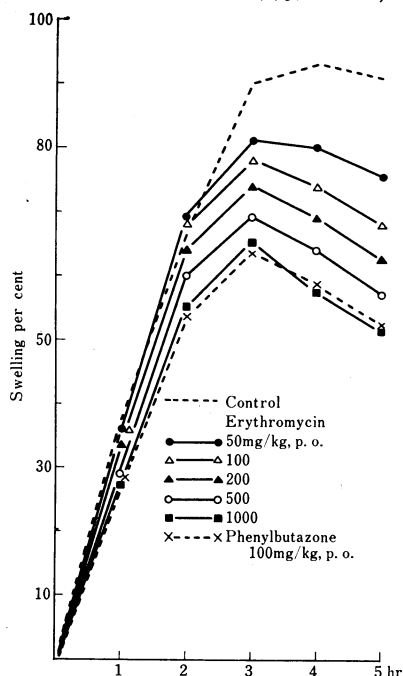
I. 血管透過性亢進抑制作用

ヒスタミンによつて惹起した血管透過性亢進に対して EM は 100 mg/kg までの経口投与では抑制作用を示さなかつた。250 mg/kg では Table 1 に示したように、軽度ながら有意な抑制作用を示し、500 mg/kg に増量してもそれほど効果は強くならず、抗炎症薬の PB に比較すれば 1/5 以下の軽度な効力であつた。しかし、CEX が 1,000 mg/kg の大量投与でも有意な効果を示さなかつたのに比較すれば、EM は弱いながら血管透過性亢進の抑制作用を有するに思われた。また、TM にも同用量で EM と同等か僅かに強い抑制作用が認められた。

II. 急性ラット後肢足蹠浮腫抑制作用

Carrageenin によつて惹起された足浮腫に対しては Fig. 1 のように、EM は 250 mg/kg の経口投与で2時間目までは有意な抑制作用を示さなかつたが、3時間目以後は中等度の抑制効果を示し、500 mg/kg ではさらに強い抗浮腫作用が認められた。CEX は 500~1,000 mg/kg で 4~5 時間目にごく弱い抑制作用を示したにすぎず、前記血管透過性亢進の場合と同様に EM に軽度ながら抗浮腫作用が認められた。なお、この場合も TM は EM と同等かやや弱い抗浮腫作用を示した。そこで、次に EM の抗浮腫作用における用量作用関係および既知抗炎症薬との比較において検したのが Fig. 2

Fig. 2 Inhibitory effect of erythromycin and phenylbutazone on the swelling of rat hind paw induced by carrageenin (1%, 0.1 ml)



である。EM は 50 mg/kg ですでに軽度ながら Carrageenin 浮腫を抑制し、投与量の増加とともに作用も増強し明らかな用量依存性の抗浮腫作用が認められた。しかしその効力は PB に比較して 1/5~1/10 程度の弱いものであった。ただ両者とも初期には作用が弱く 2 時間目以後に強い抑制作用を示し、類似した抑制パターンが認められた。注射用製剤を筋注して検した場合は Fig. 3 のように、経口投与の場合と同様な効果が認められ、

Fig. 3 Inhibitory effect of erythromycin, cephalothin and oxytetracycline on the swelling of rat hind paw induced by carrageenin (1%, 0.1 ml)

Average of 10 female rats, Small numbers: Inhibitory %,: Control, Erythromycin (Erythromycin lactobionate), Cephalosporin (Sodium cephalothin), Oxytetracycline (Terramycin)

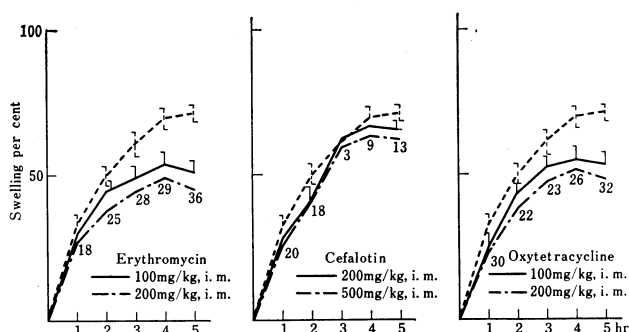


Fig. 4 Inhibitory effect of erythromycin on the swelling of hind paw induced by carrageenin (1%, 0.1 ml) in normal and adrenalectomized rats. Average of 10 female rats, Small numbers: Inhibitory %,: Control, —: Erythromycin 500 mg/kg, po.

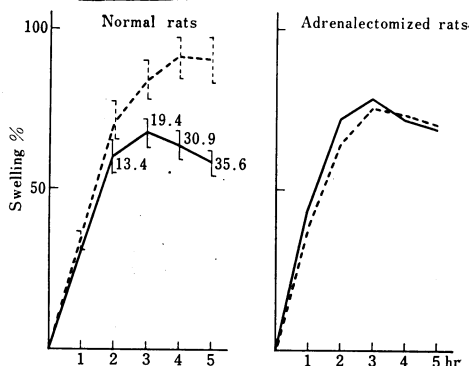
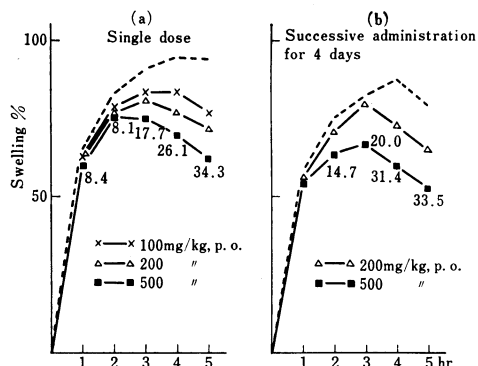


Fig. 5 Inhibitory effect of erythromycin on the swelling of rat hind paw induced by dextran (3%, 0.1 ml) Average of 10 female rats, Small numbers: Inhibitory %,: Control



CET には全く抑制作用なく、EM および TM に中等度の抗浮腫作用が認められた。

次に両側副腎を摘出したラットで検したのが Fig. 4 である。同時に検した正常動物では EM の 500 mg/kg 経口投与により前記同様の明らかな抗浮腫作用が認められたが、副腎摘出動物では同用量で抑制効果は全く認められなかった。

Dextran によつて惹起された足浮腫に対しては Fig. 5 に示したように、EM の 1 回投与の場合、100 mg/kg の経口投与ではごく弱い作用であつたが、200 および 500 mg/kg では 3 時間目以降に有意な抗浮腫作用が認められた。次に同用量を 3 日間前投与し、4 日目の投与後 1 時間に dextran を注射して検したのが Fig. 5 b である。4 日間の連投により 1 回投与の場合に比較して僅かに強い抗浮腫作用が認められ

Table 2 Effect of erythromycin and reference compounds on ultraviolet erythema in guinea pig

Compounds	Dose (mg/kg,i.p.)	Score at 2 hr after exposure	Total score	No. of effective	Score at 5 hr after exposure	Total score	No. of effective
				No. of used			No. of used
Control		2.5, 3, 3, 3, 3	14.5	0/5	2.5, 3, 3, 3, 3	14.5	0/5
Erythromycin	200	3, 2.5, 3, 3, 3	14.5	0/5	3, 3, 3, 3, 3	15.0	0/5
	500	2.5, 2, 2, 2.5, 0.5	9.0	1/5	3, 2, 3, 3, 0.5	11.5	1/5
Cefalexin	500	3, 3, 2, 2, 3	13.0	0/5	3, 3, 3, 3, 3	15.0	0/5
Phenylbutazone	10	0, 3, 3, 2.5, 0.5	9.0	2/5	3, 3, 3, 3, 2	14.0	0/5
	20	1.5, 0, 2, 1.5, 2	6.0	3/5	3, 2, 3, 3, 3	14.0	0/5
	50	0, 1.5, 1, 1, 0	3.5	5/5	0, 2.5, 2, 3, 1	8.5	2/5

Effective ≤ 1.5

Table 3 Effect of erythromycin and reference compounds on granulation tissue formation by means of cotton pellet method in rats

Compound	Daily dose (mg/kg, p.o.)	Body wt (g)			Granulation Dry wt. (mg $\pm$ S.E.)	Inhibitory (%)	Organ wt (mg/100g body wt.)		
		Initial	Final	Gain			Thymus	Adrenal	Spleen
Control		143.3	175.6	32.2	44.2 $\pm$ 1.84		266.8 $\pm$ 29.1	29.0 $\pm$ 2.2	455.6 $\pm$ 15.6
Erythromycin	100	143.5	172.3	28.8	43.5 $\pm$ 2.23	1.6	254.4 $\pm$ 28.1	29.5 $\pm$ 2.3	509.0 $\pm$ 32.9
	200	143.0	164.0	21.0	40.9 $\pm$ 2.44	7.5	220.5 $\pm$ 29.2	27.6 $\pm$ 1.4	422.6 $\pm$ 24.8
	500	142.4	160.4	18.0	38.2 $\pm$ 2.12	13.6*	192.6 $\pm$ 27.9	32.7 $\pm$ 2.2	472.5 $\pm$ 34.6
Cefalexin	250	140.3	171.0	30.7	46.1 $\pm$ 1.57	—	290.1 $\pm$ 24.6	35.6 $\pm$ 2.6	425.1 $\pm$ 13.0
	500	140.5	171.0	30.5	40.6 $\pm$ 1.87	8.1	281.4 $\pm$ 26.7	30.9 $\pm$ 1.4	413.1 $\pm$ 18.6
Phenylbutazone	50	140.0	170.8	30.8	37.7 $\pm$ 2.18	14.7*	246.7 $\pm$ 34.5	27.8 $\pm$ 1.6	507.1 $\pm$ 56.8

* indicates significant difference ($p < 0.01$).

たが、両者に有意な差はなかつた。

III. 紫外線紅斑抑制作用

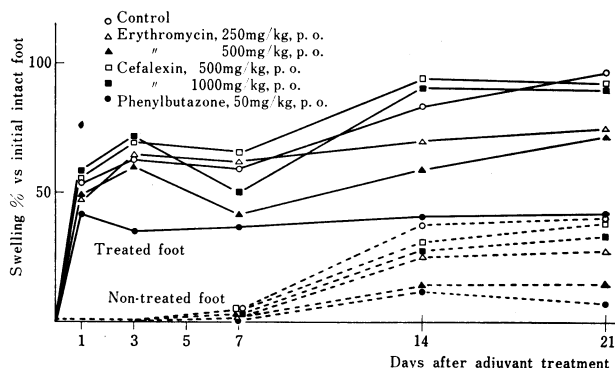
成績は Table 2 に示したように、2 時間目の判定において EM の 200 mg/kg では対照群と同等で全く抑制作用なく、500 mg/kg でも 5 匹中 1 匹に抑制効果が認められたにすぎなかつた。そしてスコアからみても PB の 10 mg/kg と同等で EM は抑制作用を有するとは言えない程度のものであつた。5 時間後には PB の効果が減弱しスコアが上昇したが、EM では 2 時間後と同様 1 匹には紅斑が現われず、これは全身的な影響で特異的な紅斑抑制作用とは思われなかつた。なお、CEX には 2 時間後の判定で抑制作用は全く認められなかつた。

IV. 肉芽増殖抑制作用

綿球法で試験した肉芽増殖に対しては Table 3 に示したように、EM は 1 日量 100 および 200 mg/kg では有意な抑制作用を示さなかつた。500 mg/kg では軽度な抑制を示し、PB の 50 mg/kg と同程度の効果が認められた。体重増加に対しては顕著ではなかつたが高用量の場

合わずかに増加が抑制された。なお、臓器重量に対しては EM の高用量の場合、胸腺重量が減少し、副腎重量がやや増加する傾向が認められ、この胸腺重量の減少がみられる場合に肉芽増殖の抑制作用も認められるように思われた。CEX は 500 mg/kg までの投与量で肉芽増殖を抑制せず、体重増加および臓器重量にも影響しなかつた。

Fig. 6 Inhibitory effect of erythromycin and reference compounds on the swelling of rat hind paw induced by adjuvant

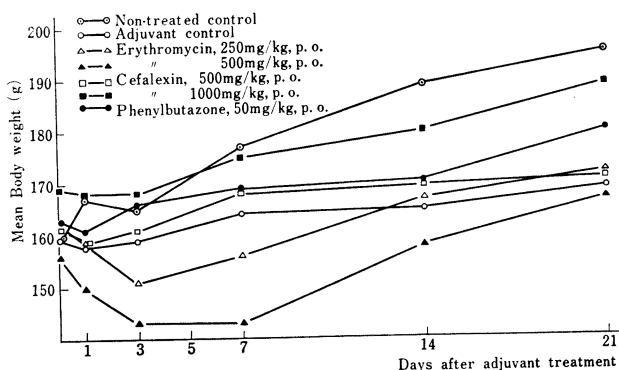


つた。PB も 50 mg/kg で体重臓器重量に影響しなかった。

V. Adjuvant 関節炎抑制作用

Adjuvant による足の腫脹に対しては Fig. 6 のように、EM は 1 日量 250 および 500 mg/kg の経口投与で処置足に対しては第 1 日目の腫脹を僅かに抑制したが、3 日目には抑制効果が認められず、第 1 次炎症に対する効果は弱いものであつた。しかし 7 日目以後の第 2 次炎症に対しては中等度ではあるが明らかな腫脹抑制作用を示し、非処置足に対しても同様な抑制効果が認められた。この効果は PB の 50 mg/kg には及ばなかつたが、EM の 500 mg/kg ではそれに近い効果が認められた。従がつて、Table 4 の炎症スコア

Fig. 7 Changes in body weight in adjuvant arthritic rats



ーからみても EM には有意な抑制効果が認められた。他方、CEX は 1 日量 500 および 1,000 mg/kg の投与

Table 4 Effect of erythromycin and reference compounds on body weight, inflammatory score and organ weight in adjuvant arthritis rats

Compound	Daily dose (mg/kg, p.o.)	Body wt (g)			Inflammatory score		Organ wt mg/100g body wt			
		Initial	Final	Gain	14th day	21st day	Thymus	Iliac lymph node	Spleen	Adrenal
Intact		160	195	35			245 ± 19	26 ± 3.2	339 ± 26	25 ± 1.3
Adjuvant control		160	169	9	6.6 ± 1.5	8.6 ± 2.0	179 ± 16	85 ± 8.6	504 ± 44	35 ± 2.6
Erythromycin	250	163	172	9	3.4 ± 1.4	4.6 ± 1.7	164 ± 26	61 ± 5.7	482 ± 51	37 ± 2.6
	500	156	167	11	1.4 ± 0.6	2.9 ± 1.1	130 ± 16	50 ± 7.5	382 ± 20	31 ± 1.3
Cefalexin	500	162	171	9	5.6 ± 1.2	7.9 ± 1.4	174 ± 8.6	68 ± 5.0	592 ± 76	40 ± 2.3
	1000	169	179	10	5.3 ± 1.4	7.0 ± 2.1	160 ± 22	80 ± 11.7	583 ± 48	46 ± 4.2
Phenylbutazone	50	163	180	17	2.4 ± 0.9	2.7 ± 0.7	199 ± 19	80 ± 6.2	515 ± 44	28 ± 1.3

Table 5 Inhibitory effect of erythromycin and reference compounds on heat denaturation of bovine serum albumin

Compounds	Final concent. (M)	Inhibitory (%)					
		5×10^{-4}	2.5×10^{-4}	10^{-4}	5×10^{-5}	2.5×10^{-5}	10^{-5}
Erythromycin		30	20	7	0	0	
Novobiocin		80	75	51	40	20	0
Phenylbutazone		99	88	56	37	5	0

Bovine serum albumin (Fraction V powder, Avmour.)

Table 6 Inhibitory effect of erythromycin and reference compounds on heat-induced lysis in rat erythrocyte

Compounds	Final concent. (M)	Inhibitory (%)								
		5×10^{-4}	2.5×10^{-4}	10^{-4}	5×10^{-5}	2.5×10^{-5}	10^{-5}	5×10^{-6}	10^{-6}	5×10^{-7}
Erythromycin			31	57	60	65	63	62	60	61
Novobiocin	18	18	18	17	12	10	9	4	0	0
Phenylbutazone		-20		0	11	15	8	0	0	

量で処置足の腫脹を全く抑制せず、非処置足の腫脹を14日目に僅かに抑制したが21日目ではほとんど抑制効果なく、また炎症スコアからみても抑制作用は認められなかった。体重変化に対しては Fig. 7 に示したように、CEX 投与群は対照群とほぼ同等の増加を示し、PB はむしろ対照群以上に体重を増加させ、それだけ炎症の抑制効果が強いものと思われた。しかし、EM 投与群では初期に体重が減少し、14 日目以降はほぼ対照群の体重に近づいた。なお、臓器重量に対しては CEX および PB はほとんど影響しなかったが、EM ではやはり胸腺および腸骨リンパ結節の重量が減少し、副腎重量がやや増加する傾向が認められた。

VI. 試験管内試験

A 蛋白熱変性抑制作用

牛血清アルブミンの熱変性に対しては Table 5 のように、PB は強い変性抑制作用を示し、蛋白結合の強いと言われている抗生物質 Novobiocin にも同程度の抑制効果が認められた。いつぼう、EM は高濃度でもごく軽度の抑制作用を示したにすぎなかった。

B 溶血阻止作用

ラット赤血球の加熱溶血に対しては Table 6 のように、PB は高濃度の場合、溶血促進を、低濃度で僅かな抑制を認めたが、それらの作用は弱くほとんど影響のない程度のものであった。Novobiocin は高濃度でも溶血促進はみられず、各濃度とも抑制傾向を示したがこれも弱いものであった。これに反して、EM は 10^{-4} ~ 10^{-7} M の測定範囲濃度全体を通じて約 60% の抑制効果を示し、ラット赤血球に対する膜安定化作用があるように思われた。

VII. 鎮痛作用

RANDALL & SELITTO 法により正常足ならびに炎症足の疼痛閾値変化を経時的に測定したのが Fig. 8 であ

る。EM は 200 mg/kg の経口投与で正常足には全く影響しなかったが、炎症足に対しては軽度な閾値上昇効果が認められた。PB の 100 mg/kg でも正常足には影響せず、炎症足の閾値だけを上昇させたが、その効果は EM よりは強かった。

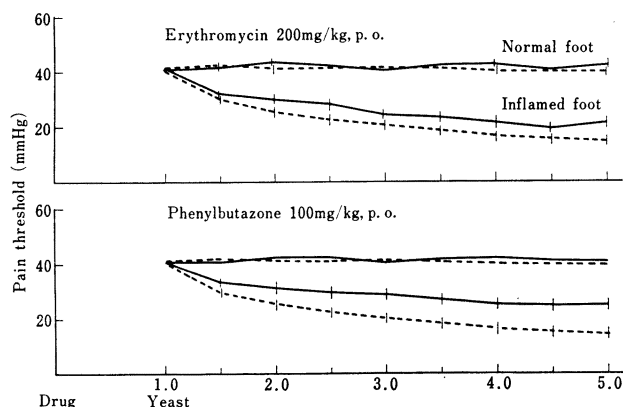
考 按

EM はラットにおける homocytotropic antibody の産生を抑制し、また直接 mast cell に働いてその数を減少させる事実から、気管支喘息に対するその効果に関連して EM の抗炎症作用について試験を行なった。

まず、血管透過性亢進に対して EM は量的にはかなり大量を必要としたが有意な抑制作用が認められた。その効力は抗炎症薬の PB に比較すれば 1/5 程度の弱いものではあつたが、CEX が 1,000 mg/kg でも抑制作用を呈さなかったことからすれば、抗菌作用とは関係なく EM 自身血管透過性亢進抑制作用を有するものと考えられる。従がつて続いて起こる急性浮腫に対しても、それぞれ抑制作用を示し、carrageenin 浮腫に対して1時間目の作用は弱かつたが、それ以後を強く抑制する抗炎症薬としての作用態度に似た抗浮腫効果が認められた。そしてこの場合は EM の 50 mg/kg 経口投与ですでに軽度ながら抑制効果を呈し、用量依存性の抗浮腫作用が認められた。PB に比較すれば量的に多いが臨床用量から考えてもこの量で毒性を示すことはなく、毒性による全身の反応性低下からくる抑制効果ではなかろう。また筋肉内投与でも同等の抗浮腫作用が認められ、EM は急性炎症反応に対して抑制作用を有することは確かなことと思われる。ただその抗力は PB の 1/5~1/10 程度の弱いものであつた。RANDALL & SELITTO 法により疼痛閾値の変化を検した場合、EM は正常足には全く影響せず狭義な意味での鎮痛作用は認められなかったが、炎症足の閾値を軽度上昇させ PB などの抗炎症薬に似た効果が認められた。SILVESTRINI⁷⁾によれば、この炎症足だけの閾値上昇作用は選択的な抗炎症作用を意味すると言われ、この点からも EM がそれ自身抗炎症作用を有することがうかがわれた。

他方、正常動物で認められたこの EM の抗浮腫作用は副腎摘出動物では全く認められず、EM の抗浮腫作用は副腎を介しての間接的效果と思われた。EM はじめマクロライド系抗生物質は下垂体-副腎系を刺激する作用があると言われている。従がつて副腎刺激によつて副腎から分泌される物質が抗炎症作用を呈するものであろう。副腎皮質ステロイド、とくに糖質コルチコイドはリンパ組織の融解を生じ、その1つである胸腺退縮作用は副腎皮質活性の増大、すな

Fig. 8 Analgesic effect of erythromycin and phenylbutazone in rats by means of RANDALL and SELITTO's method
..... : Control, Average of 10 male rats.



わち副腎皮質ホルモンの分泌亢進を間接的に示すものと言われている⁸⁻¹⁰⁾。抗生物質にはこのような作用を示すものが多く、Tetracycline 系¹¹⁻¹²⁾、Streptomycin¹³⁾および Actinomycin¹⁴⁻¹⁶⁾についても報告されている。しかし、著者ら¹⁷⁾の実験によれば、副腎摘出ラットにおいても EM 投与により胸腺の重量低下を認めており、EM が副腎へと同様、胸腺にも臓器集中性と蓄積性を示すことから、この胸腺退縮は下垂体-副腎系を介しての作用のほか EM による直接刺激によつても起こり得ると考えている。いずれにせよ、EM は視床下部-下垂体-副腎系の刺激を通じて副腎皮質ホルモンの分泌亢進をひき起こすものと考えられる。また、この実験で認められた TM の抗炎症作用も、たぶん EM と同様な機序による間接的效果と思われる。

EM の抗炎症作用が副腎刺激による間接的效果とすれば、EM の作用は糖質コルチコイドに似た性質を示すはずである。糖質コルチコイドは顕著な抗炎症作用を有するが、いくつかの点で非ステロイド性抗炎症薬とは趣を異にしている。すなわち、急性炎症に対するよりはむしろ亜急性慢性炎症に対する抑制作用のほうが強く、とくに肉芽増殖の抑制効果などが優れている。また、注目すべきは紫外線紅斑に対する抑制作用を持たないことである。EM は 500 mg/kg の大量投与でも紫外線紅斑をほとんど抑制せず、糖質コルチコイドに似た性質が認められた。肉芽増殖に対しても EM は抑制作用を示したが、その効果は同時に胸腺重量を減少する場合に認められ、胸腺重量に影響しない用量では肉芽増殖を抑制しなかつた。さらに adjuvant 関節炎に対しても EM は第1次炎症に対する抑制作用は弱く、第2次炎症を強く抑制し、また初期には体重増加を抑制したが後期には対照群と同等の体重となり、糖質コルチコイドに似た作用態度が認められたことなどから、EM の間接的抗炎症作用が裏付けられる。

EM の抗菌作用機序としては蛋白合成の抑制作用が考えられているが、この作用は反面、線維芽細胞の増殖を抑制したり、あるいは抗体産生の抑制から adjuvant 腫脹を減弱したりする効果が考えられる。しかし、微生物と生体細胞では異なっており、抗菌作用機序がそのまま生体細胞に同じ効果をもたらすとは限らず、また蛋白合成の抑制作用と慢性炎症の抑制作用とは必ずしも関係はない。例えば、免疫抑制剤の Azathiopurine でも毒性の現われない用量では肉芽増殖や Adjuvant 関節炎を抑制しないところから、EM のこの作用が抗炎症作用に結びつく可能性はなく、やはり副腎刺激効果によるものと考えるべきであろう。

最後に蛋白との相互作用であるが、水島は蛋白熱変性

の抑制作用と抗炎症作用とは関連性のあることを報告している。しかし、著者らが数多くの抗炎症薬ならびにその他の薬物について検討した結果では両者には直接の関係はないものと考えられた。ただ酸性の非ステロイド性抗炎症薬にはその傾向が認められることは事実である。EM の場合、その抗炎症作用は直接的なものではなく間接効果である以上、副腎が関与しない *in vitro* の実験では抗炎症作用とは関係なく EM 自身の性質を検討した結果となつた。EM は PB と異なり牛血清アルブミンの熱変性をほとんど抑制せず、反対にラット赤血球の熱溶血に対して PB が影響しないのに EM は強い抑制作用を示し、この点からも EM は非ステロイド性抗炎症薬とは異なつたものであることが認められた。EM はじめマクロライド系抗生物質は以前には蛋白との結合能は弱いといわれていたが、最近の研究¹⁸⁻²⁰⁾によれば患者血清中にみられるような濃度範囲では EM と人血清蛋白との結合率はひじょうに大きく、70~80% 以上の結合率が報告されている。著者らの実験では牛血清アルブミンを用いており、血清そのものではなくまた種属差により蛋白結合が少なく熱変性の抑制作用が弱かつたのかもしれない。なお、ラット赤血球の熱溶血に対しては濃度作用関係がなく、いずれの濃度でも比較的強い同程度の抑制作用を示したことは理解しにくく、より低濃度まで試験する必要があるかもしれない。いずれにせよ EM は血清蛋白よりも赤血球に対する親和性が強く、赤血球により多く結合するように思われたが、この作用と抗炎症作用との関係は不明である。しかし溶血阻止作用は膜安定化とも関連し、mast cell あるいは lysosome 膜の安定化作用が推定されるかもしれない。EM は dextran 浮腫に対しても carrageenin 浮腫と同程度の抑制作用を示した。一般に非ステロイド抗炎症薬は dextran 浮腫の抑制作用が弱く、この点からも EM は既知の非ステロイド抗炎症薬とは作用態度を異にし、むしろステロイド剤に似た性質が認められた。Dextran は mast cell から histamine あるいは 5-HT を放出することにより浮腫を惹起するといわれている。従がつて mast cell の膜安定化作用があれば dextran 浮腫を抑制するが、EM の抑制作用は初期には認められず3時間目以降に作用が認められるもので必ずしも mast cell の安定化とも考えにくい。また抗 histamine や抗 5-HT 作用を有するものも初期を強く抑制するので、EM はこのような mediators に対する拮抗作用もないと思われる。なお、水谷らは EM の連投により mast cell の数が減少すると述べているので、3日間の連投により検したが 500 mg/kg の経口投与では dextran 浮腫の抑制が連投によつて増強されることはなかつた。Mast cell の

数が有意に減少すれば、dextran による浮腫は初期から全体を通じて抑制されると考えられるが EM の連投によつても初期の抑制は認められなかつた。それゆえ、EM による dextran 浮腫の抑制はやはり非特異的な抗炎症作用であろう。この mast cell と EM との関連については、目下さらに研究中である。

結 語

EM はレアギン抗体の産生を抑制し、また直接 mast cell の数を減少させることなどにより喘息症状の好転をはかるのではないかと推論にもとづき、EM の気道の炎症症状に対する効果を検討する目的でその抗炎症作用について実験を行なつた。

1) ヒスタミンにより惹起された血管透過性亢進に対して、EM は軽度ながら抑制作用を示し、対照薬の CEX が大量投与によつても抑制作用を示さなかつたことから、抗菌作用とは関係なく EM は血管透過性亢進抑制作用を有するものと考えられた。

2) Carrageenin 足浮腫に対して、EM は2時間目までは抑制作用をみせなかつたがそれ以後は中等度の抑制作用を示し、CEX ではそのような作用はみられなかつた。また、この抗浮腫作用は EM の 50 mg/kg 経口投与で軽度ながら出現し、用量依存性であつた。いづばう、両側副腎摘出動物ではこの抗浮腫作用は全く認められず、EM の抗浮腫効果は副腎刺激を介しての間接的作用と考えられた。

3) EM は大量でも紫外線紅斑に対する抑制作用はほとんどなく、また綿球法で試験した肉芽増殖に対して EM は弱い抑制作用を示したがその効果は同時に胸腺重量の低下する場合によく認められた。さらに Adjuvant による足の腫脹に対して、EM は第1次炎症には弱い効果しか示さなかつたが第2次炎症を強く抑制し、また EM 投与により実験動物で初期には体重減少がみられたが後期にはほぼ対照群の体重に近くなる現象がみられた。これらの成績は、急性炎症に対するよりむしろ亜急性慢性炎症に対する抑制作用の強い糖質コルチコイドの抗炎症作用に似た作用態度であつた。

4) 牛血清アルブミンの熱変性に対して、EM は高濃度でもごく軽度な抑制作用を示しただけであつた。また、ラット赤血球の加熱溶血に対しては、濃度に関係なく比較的強い抑制作用がみられ、EM は血清蛋白よりも赤血球に対する親和性が強いように思われた。

5) RANDALL & SELITTO 法により疼痛閾値の変化を経時的に測定すると、EM は正常足には全く影響しなかつたが炎症足の閾値を軽度上昇させた。

以上から、マクロライド系抗生物質、ことに EM はその抗菌作用とは別に副腎刺激作用にもとづく間接的効

果により、副腎皮質ステロイド剤類似の抗炎症作用を有することを明らかにした。

文 献

- 1) 水谷 明, 堀場通明, 高木健三: 閉塞性肺疾患に対する化学療法の問題点 (第2報) 気管支喘息の治療を中心として。Chemotherapy 21: 1904, 1973
- 2) WINDER, C. V.; J. WAX, V. BURN, M. BEEN & C. E. ROSIERE: A study of pharmacological influences of ultraviolet erythema in guinea pigs. Arch. Inter. Pharmacodyn. 166: 261, 1958
- 3) MEIER, R.; W. SCHULER & P. DESAULLE: Zur Frage des Mechanismus der Hemmung des Bindegewebswachstums durch Cortisone. Experientia 6: 469, 1950
- 4) 水島 裕: 炎症と抗炎症剤。p.127, 南江堂, 東京, 1967
- 5) GLEEN, E. M.; B. J. BOWMAN & J. C. KOSLOW-SKE: The systemic response to inflammation. Biochem. Pharmacol., suppl.: 27, 1968
- 6) RANDALL, L. O. & J. J. SELITTO: A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch. Inter. Pharmacodyn. 111: 409, 1957
- 7) SILVESTRINI, B.: Non-steroidal anti-inflammatory drugs. Int. Cong. Ser. No. 82, p.180 Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1965
- 8) DOUGHERTY, T. F.: Effect of hormones on lymphatic tissue. Physiol. Rev. 32: 379, 1952
- 9) RINGLER, I. & R. BROWNFIELD: The thymolytic activities of 162, 172 ketals of triamcinolone. Endocrinology 66: 900, 1960
- 10) SELYE, H.: The stress of life. New York, 1956
- 11) POPENENKOVA, Z. A.: Effect of tetracyclines on the adrenals in rabbits. Antibiotiki 5: 44, 1960
- 12) SOBEK, V.; I. JANKU, Z. LOJDA, *et al.*: Adrenal cortex inactivation after prolonged administration of chlortetracycline in rats. Arch. Intern. Pharmacodyn. 115: 397, 1958
- 13) MOSONYI, L.; T. CSIKY & G. RETSAGI: Effect of antibiotic therapy on immuno-biological conditions of the organism. Magy. Belorv. Arch. 13: 69, 1960
- 14) VERTOGRADOVA, T. P. & M. S. STANISLAVSKAYA: Effect of antibiotic 6270 on peripheral blood in animals. Antibiotiki 6: 73, 1959
- 15) PHILIPS, F. S.; H. S. SCHWARTZ, S. S. STERNBERG, *et al.*: The toxicity of actinomycin D. Ann. N. Y. Acad. Sci. 89: 348, 1960
- 16) DIPAOLO, J. A.; G. E. MOORE & T. F. NIEDEBALA: Experimental studies with actinomycin D. Cancer Res. 17: 127, 1957

- 17) 水谷 明, 堀場通明, 高木健三, 小林瑞穂: 気管支喘息患者に対するマクロライド系抗生物質の免疫学的効果について。アレルギー 23: 236, 1974
- 18) WIEGAND, R. G. & A. H. C. CHUN: Serum protein binding of erythromycin and erythromycin 2'-propionate ester. J. Pharm. Sci. 61: 425, 1972
- 19) KUNIN, C. M.: A guide to use of antibiotics in patients with renal disease. A table of recommended doses and factors governing serum levels. Ann. Intern. Med. 67: 151, 1967
- 20) GORDON, R. C.; C. REGAMEY & W. M. M. KIRBY: Serum protein binding of erythromycin, lincomycin and clindamycin. J. Pharm. Sci. 62: 1074, 1973

EXPERIMENTAL STUDY ON THE ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF ANTIBIOTICS OF THE MACROLIDE GROUP, ESPECIALLY THAT OF ERYTHROMYCIN

KAITO TSURUMI and HAJIME FUJIMURA

Department of Pharmacology, Gifu University School of Medicine

AKIRA MIZUTANI

Department of Internal Medicine, Aichi Nursing Junior College

A study was made on the anti-inflammatory action of erythromycin (EM).

1) EM exerted a slight inhibitory effect on increased vascular permeability induced by histamine in rats. Cephalixin (CEX) was used as the reference drug, and even when used of high doses, it exerted no inhibitory effect. EM was, therefore, considered to have an action to inhibit increased vascular permeability irrespective of its antimicrobial action.

2) EM exerted a moderate inhibitory effect on the paw edema by carrageenin and dextran, while CEX exerted no inhibitory effect. This antiedematous action was dose-dependant. On the other hand, this action was not manifested in the adrenalectomized rats. The anti-edematous action of EM was, therefore, considered an indirect action resulting from the increased adrenocortical activity.

3) EM was not inhibitory to ultraviolet erythema in guinea pigs.

4) EM was slightly inhibitory to the granuloma proliferation in rats when tested by the cotton pellet method.

5) EM exerted only a slight inhibitory effect on the primary swelling of treated foot in the adjuvant arthritis after tested for 3 weeks, whereas a potent inhibitory effect on the secondary inflammation.

6) EM exerted only a slight inhibitory effect on the heat denaturation of bovine serum albumin. The antibiotic, however, proved to exert a fairly potent inhibitory effect on the heat-induced lysis in rat erythrocytes.

7) By RANDALL and SELITTO's method in rats, EM did not raise the pain threshold in normal foot at all, but slightly raised that in inflammatory foot.

These experimental findings disclosed that antibiotics of the macrolide group—especially erythromycin—exert a slight anti-inflammatory action and the mode of action of EM is similar rather to that of steroidal anti-inflammatory agents than non-steroidal one. It may be considered that the anti-inflammatory action of EM is exerted through the indirect effect due to adrenal stimulation, apart from their antimicrobial activity.