

抗癌剤 (MMC, DM, CA, 6 MP, 6 MP-R) の CET と CER の血中濃度測定におよぼす影響

舟 田 久・服 部 絢 一

金沢大学第3内科

(昭和 49 年 2 月 18 日受付)

緒 言

白血病に合併する敗血症の治療の際、起炎菌の MIC を測定し、それに見合う抗生剤の血中濃度を維持するように努めても、不幸の転帰をたどることがしばしばある。

この時、目的とする抗生剤だけの濃度を測定しているのか、それとも、血中に含まれている何かある物質と抗生剤の相互作用の結果の濃度を測定しているのか、問題の山積するところである。

白血病患者では、抗白血病剤による治療を受けるため、今回、まず、抗癌剤の影響に注目してみた。抗生剤としては、CET と CER を対象に検討を加えた。

実験材料および方法

1) 使用薬剤とその略号

抗生剤 (Antibacterial drugs)

Cephalothin sodium : CET (塩野義製薬)

Cephaloridine : CER (鳥居薬品)

抗癌剤 (Antitumor drugs)

A) 抗癌抗生物質 (Antitumor antibiotics)

Mitomycin C : MMC (三共製薬)

Daunomycin : DM (明治製薬)

B) 代謝拮抗剤 (Antimetabolites)

Cytosine arabinoside : CA (日本新薬)

6-Mercaptopurine : 6 MP (武田薬品)

6-Mercaptopurine riboside : 6 MP-R (森下製薬)

なお、CA と 6 MP-R は、市販の注射薬を使用した。

2) 抗菌力測定：日本化学療法学会標準法に従がつて MIC を測定した。

3) 濾紙による寒天平板拡散法による薬剤の相互作用の検討：

重層寒天平板

検定菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633

培地 Trypticase Soy Agar BBL (pH 7.4)

基層 20 ml

種層 4 ml (1.0×10^6 spores/ml of agar)

薬剤溶液：0.1 M pH 7.0 phosphate buffer にて調製した。

a) 2 枚の正方形濾紙片による寒天拡散法

抗生剤と抗癌剤をそれぞれ浸み込ませた 1 辺 1.0 cm

の正方形濾紙片を各剤 1 枚ずつ用意し、上記平板上に一定の間隔をおいて並べる。

b) Crossed paper strip method

抗生剤と抗癌剤をそれぞれ浸み込ませた幅 0.4 cm、長さ 4 cm の帯状の濾紙を各剤 2 枚ずつ用意し、上記平板上に正方形となるように置く。その際、抗生剤の濾紙 2 枚、抗癌剤の濾紙 2 枚を隣接する辺上において、抗生剤と抗癌剤の接する角は 2 ヶ所のできるようにする。

以上、a) と b) においては、4°C で 2 時間予備拡散を行ない、37°C 1 夜培養後、濾紙周囲の阻止帯により、相互作用の検討を行なった。

4) カップ法による薬剤の相互作用の検討：

標準曲線は、健康人プール血清に各種濃度の抗生剤や抗癌剤を含む 0.1 M pH 7.0 phosphate buffer を 9 : 1 の割合 (90% 血清となる) に混じたものを用い、上記重層平板で、4°C で 2 時間、予備拡散を行ない、37°C 12 時間培養後、カップ周囲の阻止円の直径を測定し、作成した。

抗生剤と抗癌剤の併用効果の検討には、血清中に各種濃度の抗癌剤を加え、また、抗生剤を最終的に 5 mcg/ml になるようにした 90% 血清を用いた。

実測値 observed concentration：抗生剤と抗癌剤の併用効果を、阻止円直径から、CET あるいは、CER に換算した。

予測値 expected concentration：両者の間に単なる

Fig. 1. Schema of conversion of a concentration of an antitumor drug to that of CET or CER

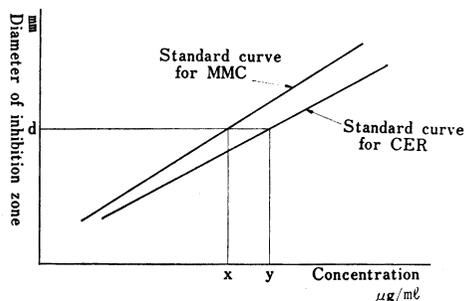
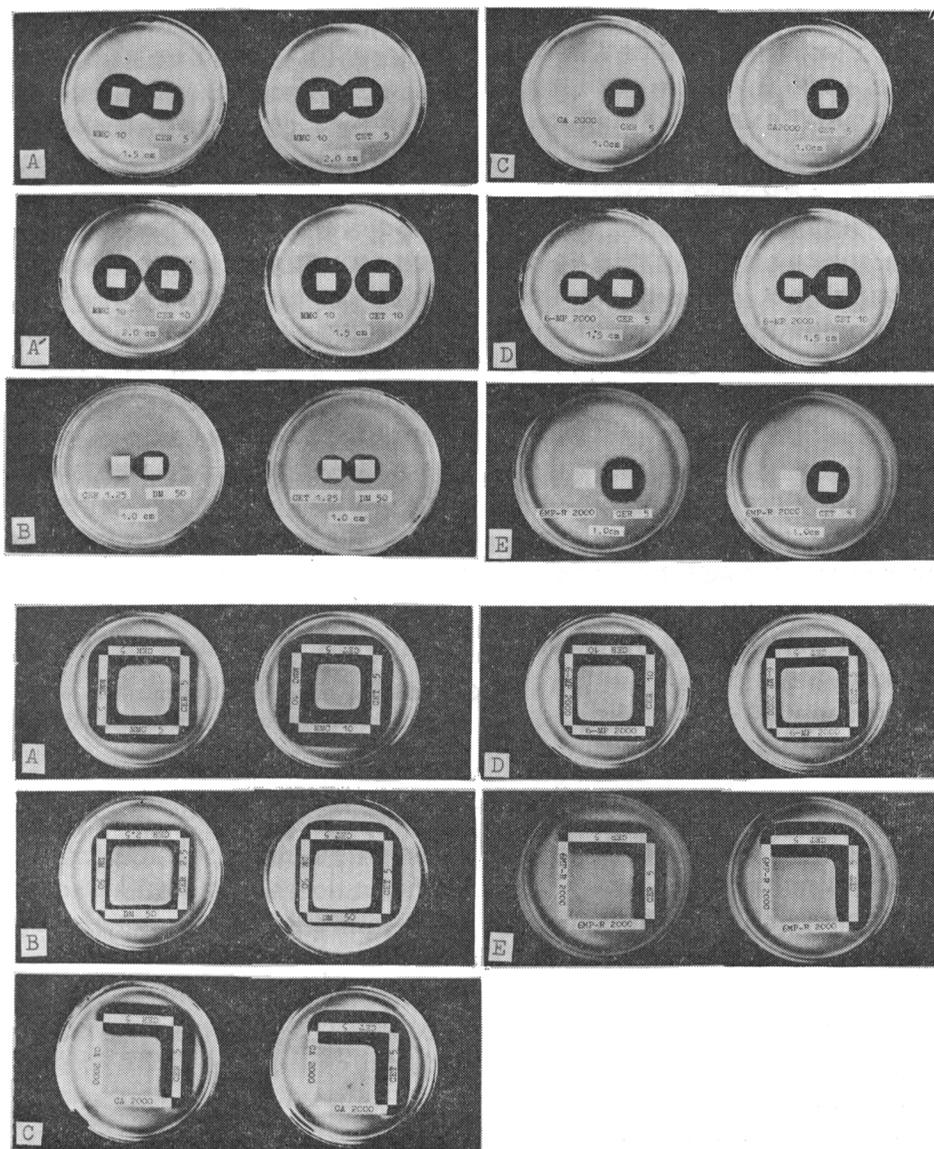


Table 1 Comparison of MIC of antibacterial and antitumor drugs against *Bacillus subtilis* ATCC 6633

	CET	CER	MMC	DM	CA	6 MP	6 MP-R
MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0.025	0.25	0.05	1.56	>100	>100	>100

MICs were determined using agar-plate dilution method recommended by Japan Society of Chemotherapy.

Fig. 2. Agar diffusion tests for combined effect of antibacterial and antitumor drugs against *B. subtilis* ATCC 6633



Figures following an abbreviated name of an antibacterial or antitumor drug indicate its concentration, $\mu\text{g/ml}$, in the system and the under figure indicates the distance between two discs.

相加の関係がみられると仮定した場合の値で、両者の標準曲線から算出した。

Fig. 1 のように、抗生剤と抗癌剤の標準曲線を作製したあと、最終濃度 $5 \mu\text{g/ml}$ の抗生剤とともに添加してある抗癌剤の最終濃度 $x \mu\text{g/ml}$ に対して予想される阻止円直径 $d \text{ mm}$ を抗癌剤の標準曲線から読みとり、次いで、この直径に対応する抗生剤の濃度 $y \mu\text{g/ml}$ を抗生剤の標準曲線から読みとることにより、 $(5+y) \mu\text{g/ml}$ を予測値とした。

実験結果

1) *Bacillus subtilis* ATCC 6633 に対する抗菌作用

Table 1 に示すように、抗癌抗生物質である MMC と DM に対して、*B. subtilis* は、CET や CER と同様、良好な感受性を示したが、6 MP, CA, 6 MP-R には、 $100 \mu\text{g/ml}$ 以上で耐性であった。

2) 寒天拡散法による薬剤の相互作用の検討

a) 2枚の正方形濾紙片による寒天拡散法 (Fig. 2 a)

濾紙片の周囲に形成される阻止帯が相互に向き合つて延長し、融合が起こる場合が、synergistic action である。阻止帯の相互の関係が無関係に見える場合が independent action である。さらに、濾紙片の相対する辺の阻止帯に縮小の見られる場合が antagonistic action である。

Fig. 2 a-A, B, D に示すように、MMC, DM, そして、6 MP では、CER および CET との間に synergistic action が見られ、A' に示すように、MMC と CER あるいは、CET で互いに阻止帯が延長するところが見られる。また、B に示すように DM と CER との間では、DM の阻止帯が CER の阻止帯に食い込むように突出しているのが著明にみられる。

CA と CER あるいは、CET の間には、Fig. 2 a-C に示すように、independent action が観察される。

6 MP-R と CER との間には、Fig. 2 a-E に示すように CER の阻止帯のうち 6 MP-R の濾紙片に隣接する部分が直線状に縮小し、antagonistic action が観察される。しかし、6 MP-R と CET の間には、CER と違い、どちらかと言えば、independent な関係がみられる。

b) Crossed paper strip method による相互作用の検討 (Fig. 2 b)

抗癌剤濾紙片と抗生剤濾紙片との接触部分の阻止帯の状態により、薬剤の相互作用を上記のように3種に分類する。つまり、接触部分の阻止帯の増大がみられる場合が synergistic action であり、相互に無関係な阻止帯を形成す

れば、independent action である。さらに、接触部分の阻止帯に縮小やくい込みが見られれば、antagonistic action である。

この場合の結果も上記の a) の場合とほぼ同様の傾向が観察されたが、6 MP-R と CER との間は、Fig. 2 b-E に示すように、a) の場合ほど、著明な拮抗の像は得られず、どちらかと言えば、independent であるようである。

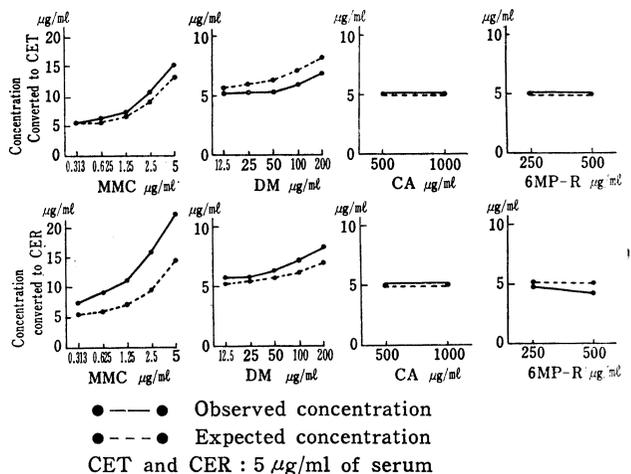
3) カップ法による薬剤の相互作用の検討 (Fig. 3)

血清中に、種々の濃度の抗癌剤を加え、また、CER あるいは、CET を最終的に $5 \mu\text{g/ml}$ の濃度になるようにして、それらを総合した血清中の抗菌活性を CER あるいは、CET に換算し、plot したもの (実線: 実測値) が、Fig. 3 である。点線は、両者の間に相加の関係がみられると仮定した場合の予測値を plot したものである。

Fig. 2 で synergism の見られたものでは、Fig. 3 でも同様の傾向が見られ、抗癌剤の濃度の増大とともに、その協力作用が増大する傾向を示した。しかし、DM と CET との関係において、相加と仮定した場合の値よりも実測値が小さくても、総和としての血清抗菌活性は、DM の濃度の増大とともに CET 換算による実測値が増大して $5 \mu\text{g/ml}$ 以上となつているので、協力作用があらわれたと判断してよいと考える。

CA と 6 MP-R では、Fig. 2 と同じ傾向で、CA は、CET と CER の血清抗菌活性に影響をおよぼさなかつた。6 MP-R では、CET の濃度に影響はないが、CER では、6 MP-R の濃度増大により拮抗が著明にみられた。

Fig. 3. Effect of increasing concentration of various antitumor drugs on serum levels of CET and CER



考 察

白血病に合併する敗血症の治療の際、起炎菌の MIC を測定し、それに見合う血中濃度を維持するのが理想とされる。敗血症とは、簡単には、血中で細菌が増殖し、それにより中毒症状が出現する状態であるから、当然のことである。

抗生剤は、大量投与されれば、それだけ効果があると言うものでもないようである。大量の β -lactam 系抗生剤と黄色ブドウ球菌を接触させると却つて殺菌されにくくなり、溶菌しにくくなるという現象¹⁾ (paradoxically reduced activity²⁾) が見い出されている。

しかし、SBE における PC-G の大量療法 (最低血中濃度を MIC の 5~10 倍に維持する) の合理性については、富岡の秀れた研究がある³⁾。

また、小沢ら⁴⁾は、*in vivo* における化学療法剤の効果に対する基礎実験に連続流動培養法を使用して、*in vivo* に近い状態における抗生剤投与中の菌数の動態を観察した。*E. coli* では、CET に対する MIC の 1.3~1.5 倍濃度と 5 倍濃度とでは、ほぼ同程度の菌数減少をみ、*S. aureus* では、CET の MIC 濃度よりも 3 倍濃度のほうが菌数減少の良かったことを報告している。

つまり、現在の段階では、敗血症の治療に関し、抗生剤を何倍の MIC 濃度に血中濃度を保てばよいのかに定説を見出し得ないが、むやみな大量投与は、副作用が少なくても、生体にとって抗生物質が異物であることを考えれば、避けるのが望ましい。

最近、深谷⁵⁾は、CET の血中濃度の予測値を数式にて算出しようことを報告している。

B. subtilis ATCC 6633 を用いて、カップ法で血中濃度を測定しながら、できるだけ少ない有効量で治療する場合、血中濃度測定の際、目的とする抗生剤の作用に影響をおよぼす因子が血中に存在すれば、治療困難な事態に遭遇することになる。実際、白血病患者での測定時、抗生剤を全く投与していないにもかかわらず、投与前血清に阻止帯をみることがある。この影響をおよぼす因子には、種々のものが考えられるが、本研究では白血病患者で必ずといってよいくらい使用される抗癌剤に注目したわけである。

現在使用されている抗癌剤には、抗癌作用と同時に抗菌作用を有するものと、抗癌作用はあつても、ほとんど、ないしは、全く抗菌作用を有しないものの 2 種類に大別される。本研究に用いた MMC と DM は、それぞれ、*Streptomyces peuceiius* と *Streptomyces caespitosus* の培養濾液から分離された抗癌抗生物質で、前者の group に属する。MMC と DM は、作用機序に違いはあれ、ともに核酸の合成過程にはたらいってこれを阻害す

ることが知られている。また、CA, 6 MP, 6 MP-R は、後者の group に属し、自然界に存在する物質の類似合成物質で代謝拮抗性に核酸合成を阻害し、抗癌作用を示すとされている。

CET や CER は、*Cephalosporium* により産生される Cephalosporin-C の誘導体で細菌の細胞壁合成阻害をおこして抗菌作用を発揮する。

結果の項で述べたように、MMC と DM といった抗癌抗生物質と CER あるいは、CET との間に協力作用による換算値の増大が見られた。しかし、DM と CET との関係において、相加と仮定した場合の値よりも実測値が小さく出た理由として、DM と CET を混合した場合に何らかの不活性化が起こるのか、両薬剤の *Bacillus subtilis* に対する感受性に、そうとう大きな違いがあるため、両者の標準曲線より予測値を推定することに無理があるのか、また、両薬剤の寒天拡散に違いがあるためなのか、といったことが考えられよう。しかし、血清抗菌活性は、5 μ g/ml 以上で、DM の濃度増大とともに CET 換算による実測値も増大しているので、寒天拡散法と同様、協力作用があらわれたと判断してよいと考える。

代謝拮抗剤の中で弱い抗菌活性を示した 6 MP の場合に協力作用がみられたものの、他の CA や 6 MP-R では、血清抗菌活性にほとんど影響をおよぼさなかつた。6 MP-R と CER の間には、逆に拮抗作用がみられた。6 MP-R は、6 MP の誘導体で、簡単には、6 MP に riboside が結合したものであるが、CER に対して全く逆の拮抗作用を示したことは、興味のあるところである。しかし、本実験では、6 MP をリン酸緩衝液に懸濁したものを使用し、6 MP-R は、市販の注射液を使用しているため、比較する際には、注意を要する点である。

なお、CER の血清抗菌活性は、CET の場合より抗癌剤の影響を受けやすい傾向にあることが観察された。

本研究に用いた抗癌剤濃度は、実際の臨床や実験動物などで測定された MMC⁶⁾ や DM⁷⁾ の値より高濃度であるため、そのまま臨床に結びつくとは考えにくい。また、協力作用が発揮される機構の詳細についても不明であるが、実際の治療に関し、抗菌性抗癌剤使用時の CET や CER の血中濃度の解釈には、とくに注意を要する。

結 語

抗癌剤の Cephalosporin-C 系抗生剤の血中濃度測定におよぼす影響について報告した。

一般に、MMC, DM といった抗癌抗生物質は、CET や CER と協力作用を示したが、代謝拮抗剤の CA, 6 MP, 6 MP-R は、6 MP が CET や CER と協力作用を示し、6 MP-R が CER と拮抗した以外に、ほとんど血

清抗菌活性に影響はなかつた。

また、CER は、CET に比較して、抗癌剤の影響を受けやすい傾向にあつた。

抗菌活性を示す抗癌剤使用時の CET や CER の血中濃度の解釈には、とくに注意を要することが指摘された。

本稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜つた順天堂大学医学部臨床病理学教室 小酒井望教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 西野武志, 中沢昭三: β -lactam 系抗生質物大量投与の問題点, 1. ブドウ球菌の増殖曲線に及ぼす影響。Chemotherapy 21: 1317~1318, 1973
- 2) EAGLE, H. & A. D. MUSSELMAN: The rate of bactericidal action of penicillin *in vitro* as a function of its concentration, and its para-

doxically reduced activity at high concentrations against certain organisms. J. Exp. Med. 86: 99~131, 1948

- 3) 富岡 一: 第 16 回日本化学療法学会東日本支部総会 シンポジウム 難治感染症の臨床——敗血症を中心に。抄録集 25~29
- 4) 小沢 敦, 後藤甚作, 御旅屋寛一: *In vivo* における化学療法剤の効果にたいする基礎実験 (第 1 報)。臨床病理 21 (補冊): 49, 1973
- 5) 深谷一太: 第 20 回日本化学療法学会東日本支部総会 シンポジウム 抗生剤大量投与の適応と限界 口演
- 6) 芝 茂, 田口鉄男編集: マイトマイシンの基礎と臨床 医学書院 1967, pp. 20~32
- 7) 藤田 浩, 沢部孝昭, 塙嘉之, 木村禮代二: Daunomycin, Acetyl Kidamycin, Actinomycin D, Chromomycin A₃ の生体内動態。癌の臨床 17: 196~204, 1971

EFFECT OF ANTITUMOR DRUGS ON SERUM LEVELS OF CEPHALOTHIN (CET) AND CEPHALORIDINE (CER)

HISASHI FUNADA and KENICHI HATTORI

Third Department of Medicine,
Kanazawa University School of Medicine

The effect of administration of antitumor drugs on serum levels of CET and CER was examined by both filter-paper disc agar diffusion method and cup plate method.

When antitumor drugs having both antitumor and antibacterial activity, such as MMC and DM, were combined with either CET or CER, synergism was observed.

In combinations of antimetabolic drugs, such as CA and 6 MP-R, with either CET or CER, the combined effect was either independent or antagonistic. For instance, independent action was seen in CA plus CET or CER, and in 6 MP-R plus CET, and antagonistic action was seen in 6 MP-R plus CER.

6 MP, another antimetabolite, in combination with CET or CER showed a synergistic action when tested by the filter-paper disc agar diffusion method, thus suggesting the presence of a low-grade antibacterial activity against *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

The serum level of CER seems to be more strongly influenced by antitumor drugs than does that of CET. On the basis of the results obtained here, caution should be paid in the interpretation of serum levels of CET and CER when antitumor drugs are used simultaneously.