

Carfecillin (Carbenicillin phenyl ester) に関する研究

3. Carfecillin の抗原性および CBPC, PC G との免疫学的交差性について

野々山重男・峯 靖弘・西田 実

藤沢薬品工業株式会社中央研究所

五 島 瑳 智 子

東邦大学医学部微生物学教室

Carbenicillin の phenyl ester, Carfecillin の *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性, 加水分解¹⁾, 吸収排泄, 代謝²⁾ などについては前報において報告したとおりである。引き続き, この抗生物質の免疫学的性状について検討したので報告する。

実験材料および方法

1) 使用抗生物質

Carfecillin (P-CBPC, Lot. 238 T Beecham 社)

Carbenicillin (CBPC, Lot. 146 T Beecham 社)

Potassium benzyl penicillin (PC G 万有製薬)

2) 使用動物

正常家兎 (♂, 日本白色在来種, 2.0~2.5 kg)

モルモット (♂, Harthlay 系, 250~300 g)

3) CBPC および PC G のタンパク結合物の作成法

CBPC および PC G の 200mg とウサギ血清アルブミン(RSA)または Armour 製のウシ血清 γ -グロブリン(BGG)の 50mg を, それぞれ 5ml の Veronal buffer (pH 8.5) 中で 37°C, 24時間反応させる。これを上記の Buffer で 7 日間透析し, 未反応の抗生物質を完全に除去したものをタンパク結合物とした。

4) 免疫方法および抗血清の作成

i) CBPC および PC G の場合

抗原 (RSA 結合物) と FREUND's complete adjuvant の等量を混合し, Emulsion としたものを 1 群 3 羽のウサギの背部皮下の約 10カ所に 0.1~0.2ml ずつ感作し, 週 1 回, 4~8 週間感作した。最終免疫から 1 週間目の血清をブールして抗血清とした。

ii) P-CBPC の場合

a) 皮下免疫: 生理食塩水に溶解した P-CBPC 40 mg/ml 溶液と FREUND's complete adjuvant を等量加え, Emulsion としたものを抗原として使用した。免疫方法は RSA 結合物に準じて行なった。

b) 経口免疫: P-CBPC の 0.5%メチルセルロース浮遊液を 50 mg/kg, 30日間, 隔日に経口投与を行ない,

経時的に採血し, 赤血球凝集抗体価のチェックを行なった。

なお, 赤血球凝集反応は LEY らの方法³⁾, 赤血球凝集ハプテン阻止反応は峯らの方法⁴⁾, 定量沈降ハプテン阻止反応は KABAT らの方法⁵⁾, Passive cutaneous anaphylaxis (PCA) 反応は OVARY の方法⁶⁾にしたがって行なった。

実験結果

1) 赤血球凝集反応

P-CBPC を経口投与し, 血球凝集抗体価を測定した。

前述の条件下では P-CBPC に対する赤血球凝集抗体の産生は認められなかった (Fig. 1a)。しかし, 皮下免疫では P-CBPC に対する赤血球凝集抗体の産生が認められた (Fig. 1b)。

交差性は Table 1 に示すように, 抗 P-CBPC 血清に対し, P-CBPC, CBPC および PC G の感作血球はそれぞれ 128 倍, 512 倍, 32 倍の凝集力価を示した。すなわち, P-CBPC に比較して CBPC は 4 倍, PC G は 1/4 の凝集力価を示した。いっぽう, 抗 CBPC 血清に対しては, CBPC にくらべ, P-CBPC, PC G はそれぞれ 1/2, 1/16 の凝集力価を示した。また, 抗 PC G 血清に対し, P-CBPC は PC G の 1/8, CBPC は 1/4 の凝集力価を示した。

以上の成績から, 赤血球凝集抗原抗体系で P-CBPC 抗体に対し, CBPC は P-CBPC より強い交差性を示したが, PC G は比較的交差性が弱かった。たほう, CBPC 抗体に対し, P-CBPC, PC G とともに CBPC にくらべ弱い交差性を示し, PC G 抗体に対しては PC G にくらべ P-CBPC のほうが CBPC より弱い交差性を示した。

2) 赤血球凝集ハプテン阻止反応

P-CBPC 抗原抗体系の赤血球凝集反応を 100%阻止するのに必要な P-CBPC, CBPC および PC G の各ハプテン量 (mM 数) は, それぞれ 1.25 mM, 1.56 mM, 1.56 mM であった。すなわち, P-CBPC 抗体に対し,

CBPC および PC G は P-CBPC とほぼ同程度の交差性を示した。いっぽう、CBPC 抗原抗体系でこの反応を100%阻止するのに必要なCBPC, P-CBPC および PC G の量 (mM 数)は、それぞれ1.56 mM, 2.5 mM, 6.25 mM であった。すなわち、CBPC 抗体に対し、P-CBPC は CBPC とほぼ同程度の交差性を示し、PC G は CBPC にくらべ交差性は1/4 であった。つぎに、PC G 抗原抗体系においては、PC G, P-CBPC, CBPC の濃度はそれぞれ0.39 mM,

Fig.1 Antigenicity of carfecillin

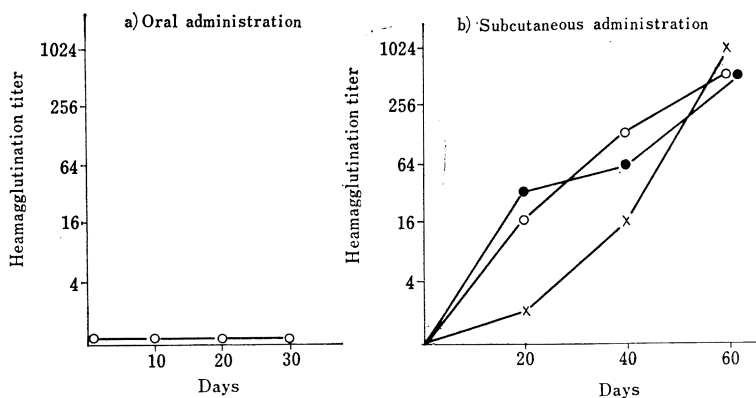


Table 1 Extent of cross-reactions obtained between carfecillin, CBPC and PC G in passive hemagglutination reactions

Antiserum to	HA titers			
	Normal cells	Carfecillin : treated cells	CBPC : treated cells	PC G : treated cells
Carfecillin	0	128	512	32
CBPC : RSA	0	256	512	32
PC G : RSA	0	32	64	256

Table 2 Hapten concentrations required for 100% inhibition on passive hemagglutination reactions

Hapten	Carfecillin	CBPC	PC G
Ag-Ab system			
Carfecillin : Treated cells-Anti-carfecillin serum	1.25 mM	1.56mM	1.56mM
CBPC : Treated cells-Anti-CBPC serum	2.5 mM	1.56mM	6.25mM
PCG : Treated cells-Anti-PC G serum	2.5 mM	1.56mM	0.39mM

2.5mM, 1.56 mM となった。すなわち、PC G 抗体に対し、P-CBPC および CBPC は PC G にくらべ、それぞれ約 1/6, 1/4 の交差性を示した (Table 2)。

以上の成績から、赤血球凝集抗体に対し、P-CBPC, CBPC, PC G の交差性はそれぞれ homologous なハプテンにくらべ 1 ~ 1/6 であった。

3) 定量沈降ハプテン阻止反応

沈降抗体に対する交差性の程度を homologous な抗原抗体系の沈降反応を50%阻止するのに必要な P-CBPC, CBPC および PC G 各ハプテン量 (mM) で求めた

Table 3 Hapten concentrations required for 50% inhibition on quantitative precipitin reactions

Hapten	Carfecillin	CBPC	PC G
Ag-Ab system			
CBPC : BGG-Anti-carfecillin	17.7 mM	28.5mM	67.0mM
CBPC : BGG-Anti-CBPC : RSA	3.1 mM	1.0mM	2.5mM
PC G : BGG-Anti-PC G : RSA	0.32 mM	0.34mM	0.084mM

(Table 3)。

P-CBPC 抗原抗体系で50%阻止するのに必要な P-CBPC ハプテン量は17.7 mM, CBPC は28.5 mM, また PC G は67.0 mM であった。すなわち、P-CBPC 沈降抗体に対し、CBPC, PC G は P-CBPC にくらべ、それぞれ約 3/5, 1/4 の交差性を示した。いっぽう、CBPC 抗原抗体系で CBPC ハプテンは1.0 mM, P-CBPC は3.1 mM, PC G は2.5 mM が必要であった。すなわち、CBPC 沈降抗体に対し、P-CBPC および PC G はそれぞれ CBPC の約 1/3 および 2/5 の交差性を示した。ま

た、PC G 抗原抗体系では、PC G ハプテンは 0.084 mM、P-CBPC は 0.32 mM および CBPC は 0.34 mM 必要であった。すなわち、PC G 沈降抗体に対し、P-CBPC および CBPC は PC G の約 1/4 の交差性を示した。

これらの成績から、P-CBPC、CBPC および PC G の沈降抗体に対して、それぞれの homologous なハプテンにくらべて 3/5~1/4 の交差性を示すことが明らかとなった。

4) PCA 反応

P-CBPC、CBPC および PC G の PCA 抗体に対する交差性の程度を、モルモットを用いる PCA 反応力価で比較した (Table 4)。

Table 4 Cross-reaction of passive cutaneous anaphylaxis of rabbit antisera against carfecillin, CBPC : RSA and PC G : RSA

Antigen	PCA titer (Antiserum dilution)	
	CBPC : BGG	PC G : BGG
Antibody		
Anti-carfecillin	192	128
Anti-CBPC : RSA	256	128
Anti-PC G : RSA	256	512

P-CBPC 抗体に対し、CBPC 抗原は 192 倍の力価を示すのに対し、PC G 抗原は 128 倍であった。すなわち、P-CBPC の PCA 抗体に対し、PC G は CBPC とほぼ同程度の交差性を示す。また、CBPC 抗体に対し、CBPC 抗原は 256 倍、PC G 抗原は 128 倍の力価を示した。すなわち、PC G は CBPC にくらべ 1/2 の交差性を示す。たほう、PC G 抗体に対し PC G 抗原は 512 倍の力価を示すのに対し、CBPC 抗原は 256 倍であった。すなわち、PC G の PCA 抗体に対し、CBPC は PC G にくらべ 1/2 の交差性を示す。

以上の成績から、PCA 抗体に対して CBPC と PC G の間には強い交差性が認められた。

考 察

P-CBPC は CBPC の新しい誘導体で、構造的には CBPC のアシル側鎖のカルボン酸をフェニルエステルにしたものである。ペニシリン誘導体はいずれも β -ラクタム環を有し、Penicilloyl-Protein 結合物を形成するため、とうぜん抗体の産生が認められる。ペニシリン抗体は母核に対する抗体、アシル側鎖に対する抗体および carrier タンパクを含めたペニシリン全分子に対する抗体に分類できる。共通の母核を有する PC G、CBPC

および P-CBPC の交差性の程度はそのアシル側鎖の免疫学的特性によって影響をうける。

ここで得られた成績から、P-CBPC、CBPC と PC G との交差性を定量的に比較すると、必ずしも完全な交差が認められず、約 1/2~1/16 弱いことが判明した。これは 3 種のペニシリン類がそれぞれ固有の側鎖をもつこと、すなわち CBPC のカルボキシル基および P-CBPC のフェノキシカルボニル基の存在により、免疫学的挙動に若干の相違が生じたものと解される。

また、抗 P-CBPC 血清に対し、P-CBPC と CBPC との間に強い交差性が認められた。この事実は P-CBPC が生体内で速やかに加水分解を受け、CBPC となるため、CBPC に対する抗体が産生されたものと考えられる。したがって、臨床におけるペニシリン・アレルギーに対する P-CBPC の交差性は、CBPC と同程度と考えられる。

要 約

- 1) P-CBPC はウサギに 50 mg/kg, 30日間, 隔日に経口投与しても、抗体の産生が認められない。
- 2) P-CBPC は非経口的に投与すると血球凝集抗体、沈降抗体および PCA 抗体の産生が認められた。
- 3) P-CBPC と CBPC との間には、強い交差性が認められた。
- 4) P-CBPC、CBPC は PC G と、いくらか弱い交差性が認められた。

文 献

- 1) 西田実, 他 : Carfecillin (Carbenicillin phenyl ester) に関する研究。1. 試験管内抗菌作用, 加水分解, 感染防御効果について。Chemotherapy 23(7) : 2210~2219, 1975
- 2) 西田実, 他 : Carfecillin (Carbenicillin phenyl ester) に関する研究。2. 吸収排泄, 代謝について。Chemotherapy 23(7) : 2220~2228, 1975
- 3) LEY, A. B.; *et al.* : Circulating antibody directed against penicillin. Science 127 : 1118~1119, 1958
- 4) 峯靖弘 : セファロsporin C 抗生物質の免疫学的研究。アレルギー 20(10) : 798~808, 1971
- 5) KABAT, E. A.; *et al.* : Experimental immunology. 2nd Ed. 22~96 (Chap. 2) Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, U. S. A. 1961
- 6) OVARY, Z. : Progress in allergy. 5 : 459, 1958 (S. Karger, Basel and New York)

CARFECILLIN; ANTIGENICITY AND ITS CROSS-REACTION WITH CARBENICILLIN AND BENZYL PENICILLIN

MINORU NISHIDA, SHIGEO NONOYAMA and YASUHIRO MINE
Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

SACHIKO GOTO
Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine

The antigenicity of carfecillin and its cross reactivity with carbenicillin and benzylpenicillin were studied, and the results were as follows.

1. Carfecillin was shown to have no sensitizing activity in rabbits after oral administration for a long period as 30 times every other day.
2. When injected into rabbits, carfecillin produced hemagglutinin, precipitin antibodies and PCA antibodies.
3. Strong cross-reaction existed between carfecillin and carbenicillin.
4. Carfecillin and carbenicillin had relatively weak cross reactivity with benzylpenicillin.