

食細胞の NBT 還元能に及ぼす 2,3 の抗生剤, ハイドロコチゾン ならびに Tuftsin の *in vitro* における影響

井 口 博 史・中 沢 昭 三

京都薬科大学微生物学教室

(昭和 51 年 1 月 5 日受付)

緒 言

食細胞の主要な機能の 1 つに、食した細菌の殺菌作用がある。この殺菌作用の機構については、未だ解決されるには到っていないが、食細胞が殺菌能を発揮するためには、 H_2O_2 とハロゲン (I_2) および MPO (Myeloperoxidase) が必要であると言われている。^{2,3)} この H_2O_2 の産生はその大半が NADH oxidase によるものと考えられており⁴⁾、実際、殺菌能が著しく低下している慢性肉芽腫症患者の好中球において、この酵素の賦活障害があると言われている¹⁾。この NADH oxidase の活性は、食細胞による Nitroblue tetrazolium (NBT) の還元によっても知ることができ、従って食細胞の殺菌能はこの NBT の還元能の測定によって、ある程度は知ることが可能であると考えられている。最近、食細胞によるこの NBT の還元は、NADH oxidase によって生じる H_2O_2 への中間産物である Superoxide (O_2^-) に依存しているという報告¹⁵⁾やこの O_2^- が殺菌作用 (*in vitro*) に寄与しているという報告¹⁶⁾がある。

ヒトの白血球の NBT 還元については、NBT テストとして臨床検査上にも応用されているが⁵⁾、制癌剤や化学療法剤の大量の使用によって生体の感染防御能が少なからず影響を受けていると言われる今日、生体の食細胞の機能状態を知る上で、このような NBT の還元試験は意義深いものがあると思われる。抗生物質が食細胞の機能に及ぼす影響については、すでにいくつかの研究がなされている⁶⁻⁹⁾。

今回、我々の実験では各種化学療法剤および Tuftsin の幅広い濃度について、モルモットのマクロファージおよび好中球の NBT 還元能に及ぼす *in vitro* での影響を測定し、これら薬剤が食細胞の機能に及ぼす効果を考察した。

実験材料および方法

各種薬剤ならびに化学療法剤

本実験に供した化学療法剤は、Sulbenicillin (SBPC), Chloramphenicol (CP), Cephalothin (CET), Tetracycline (TC), Colistin (COL) であり、食食促進物質の Tuftsin および副腎皮質ホルモンの Hydrocortisone

(Hydrocortisone-2,1-sodiumsuccinate, Sigma 製) を使用した。また、Nitrobluetetrazolium (NBT) は Sigma 製の、NADH は Boehringer Mannheim 製のそれぞれ市販品を使用、子牛血清は阪大微研供給のものを使用した。モルモット血清は教室で採血して調整した。また $56^\circ C$ に 30 分保って非動化血清とした。

食細胞の採取

モルモット (300 g, ♂) 腹腔内に生理食塩水 12.5 ml を注射後、マクロファージの場合は 4 日目に、好中球の場合は 10 時間後にそれぞれ EAGLE's MEM (ヘパリン約 15 IU/ml を含む) で腹腔内洗浄により食細胞液、約 15 ml/匹を採取する (なお EAGLE's MEM は GIBCO 製で PC, SM を含んでない)。これによりマクロファージ: $1 \sim 2 \times 10^5$ cells/ml, 好中球: $8 \sim 10 \times 10^5$ cells/ml の食細胞液を得る。さらに EAGLE's MEM (ヘパリンを含まず) を用いて 2 回の遠心洗浄の後、細胞数を適当に調整し、以下の実験に供した。

食細胞の Preincubation

NBT 反応定量的方法においては、洗浄食細胞液 (2×10^5 cells/ml) の 0.4 ml を小試験管に分取し、所定濃度の 5 倍濃度の各種化学療法剤、0.15 M リン酸緩衝液 0.1 ml を加え、 CO_2 incubator にて $37^\circ C$ で 1 時間静置する。

NBT 反応定性的方法においては、洗浄食細胞液 (2×10^5 cells/ml) の 0.5 ml をティッシュカルチャーチェンバースライド® (ラプテック製) に分注し、 CO_2 incubator にて $37^\circ C$ で 20 分間静置する。これにより、このスライドガラスの上にマクロファージを着床させる。その後チェンバー内を軽く EAGLE's MEM で洗浄後、所定濃度の各種化学療法剤の EAGLE's MEM 溶液 0.5 ml を加え、 CO_2 incubator にて $37^\circ C$ で 1 時間静置する。

NBT 反応

定量的方法: BAEHNER 等の方法¹⁰⁾に準じて行なった。小試験管内で各種化学療法剤と 1 時間 Preincubate した食細胞液をパスツールキャピラリー管にて静かによく攪拌した後、0.01 M KCN 0.1 ml および EAGLE's

MEM 0.1 ml を加え、最後に NBT 溶液 0.5 ml を加えて 37°C, 30 分間静置して NBT 反応を行なう。好中球の場合は反応時間を 20 分とした。また EAGLE's MEM 0.1 ml の代わりに、*E. coli* NIHJC-2 の加熱死菌体 (EAGLE's MEM で洗浄, 4×10^9 cells/ml) の 0.1 ml を加えることにより貪食時の NBT 反応を行なう。次に、0.75 N 塩酸 5 ml を加え、NBT 反応停止後、遠心分離 (1,000 g, 10 分) を行なって上清を捨てて次いでピリジン 2.5 ml を加え、沸騰水中 15~20 分間加熱する。これにより細胞内に生じた Formazan を完全に抽出し、次いで冷却後、遠心分離 (1,000 g, 10 分) を行なって上清の吸光度を 515 nm にて測定する。

定性的方法：チェンバースライドにて、各種化学療法剤と 1 時間 preincubate したマクロファージを EAGLE's MEM で 2 回洗浄した後、EAGLE's MEM 0.24 ml, 0.01 M KCN 0.06 ml および NBT 溶液 0.3 ml を加え、パスツールキャピラリー管で静かに攪拌後 CO₂ incubator にて 37°C, 15 分間静置して NBT 反応を行なう。また、EAGLE's MEM を 0.19 ml とし、*E. coli* の加熱死菌体の 0.05 ml を加えることにより、貪食時の NBT 反応を行なう。次にチェンバースライド内の溶液を 3 滴余り残す程度に取り除き、またチェンバースライドの仕切りを取りはずして、直ちにホルマリンを充満させた容器内 (37°C) にて 10 分間、固定を行なう。水洗後乾燥させ、ギムザ染色をほどこす。顕微鏡観察により 200 個のマクロファージのうち、細胞内に formazan の沈着顆粒の認められる NBT 反応陽性の細胞数をカウントし NBT 反応陽性細胞の割合を算出する。

好中球無細胞抽出液の NBT 反応

NATHAN 等の方法に準じて行なった¹¹⁾。EAGLE's MEM 洗浄好中球、約 5×10^7 cells に 0.34 M sucrose の PBS (pH 7.2) 溶液 10 ml を加え超音波破碎した無細胞抽出液の 1 ml に各種化学療法剤 (所定濃度の 5 倍濃度) 0.2 ml あるいは子牛およびモルモットのそれぞれ非動化した血清と、しない血清の 0.2 ml を加え、さらに 0.01 M KCN 0.2 ml, 10 mM NADH 0.1 ml, 0.1 % NBT 溶液 0.5 ml を順次加え、37°C で 15 分間静置し、NBT 反応を行なう。次に 0.75 N 塩酸を 2 ml, 次いでピリジンを 2 ml 加え充分攪拌後 515 nm にて O.D. を測定する。いっぽう Blank として無細胞抽出液の代わりに 0.34 M sucrose PBS 溶液 1 ml を加え、その他まったく同様に NBT 反応を行ない、515 nm の O.D. を測定する。

Preincubate した好中球の無細胞抽出液の NBT 反応

EAGLE's MEM 洗浄好中球 (5×10^6 cells/ml) の 0.8 ml を小試験管に分取し、各種化学療法剤 (所定濃度の 5

倍濃度) 0.2 ml, あるいは子牛およびヒルモットのそれぞれ非動化した血清と、しない血清の 0.2 ml を加え、CO₂ incubator にて 37°C で 1 時間静置する。この Preincubate した好中球を EAGLE's MEM で遠心洗浄し、0.34 M sucrose の PBS (pH 7.2) 溶液 2 ml を加え、超音波破碎する。この無細胞抽出液全量について NBT 反応を行なう。すなわち 0.01 M KCN 0.3 ml, 10 mM NADH 0.1 ml および 0.1 % NBT 0.5 ml を順次加え、37°C で 15 分間静置する。次に 0.75 N 塩酸 2 ml およびピリジン 2 ml を加え充分攪拌後、515 nm にて O.D. を測定する。

NBT 溶液の調整

NBT 50 mg を 0.15 M PBS (pH 7.2) 25 ml に溶解し (約 45°C に加温溶解)、さらに生理食塩水 25 ml を加え、充分溶解させた後、ミリポアフィルター (pore size 0.45 μ) にて濾過し、0.1 % 溶液とする。

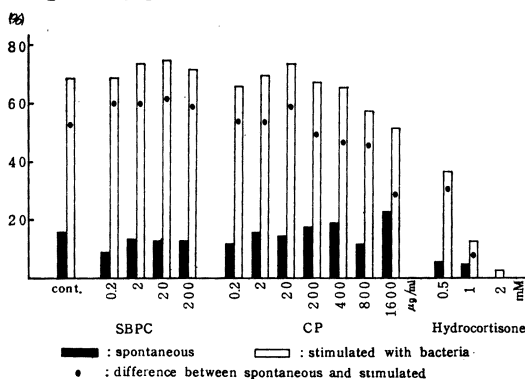
食細胞中のマクロファージ、好中球、リンパ球の割合 今回の実験に供した食細胞中のマクロファージ、好中球、およびリンパ球の割合の概略を示すと、生食注射後 10 時間後の細胞は 90~95 % が好中球で、残りは大部分がリンパ球であり、また生食注射後 4 日後の細胞は、マクロファージと思われる巨大単核球は 80~85 % を占め、残りは単球少しを含むリンパ球であった。

実験結果

I. マクロファージについて

化学療法剤の SBPC, CP, CET, TC, COL および Tuftsin, Hydrocortisone のマクロファージ NBT 還元能に及ぼす影響を、定性的方法によって測定した結果を Fig. 1, Fig. 2 に示した。縦軸に NBT 反応陽性細胞数の割合を示している。非貪食時の NBT 還元能は、Hydrocortisone および CP の高濃度を除いて、いずれも control に比してほとんど差が無く、また一定の傾向を

Fig. 1 Effect of SBPC, CP and hydrocortisone on NBT reduction in peritoneal macrophage of guinea pig



持った影響は受けていないと思われる。いっぽう、食食時の NBT 還元能は SBPC, CP, および CET のいずれも 2~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度域において、また COL の 0.2

Fig. 2 Effect of CET, TC, COL and tuftsins on NBT reduction in peritoneal macrophage of guinea pig

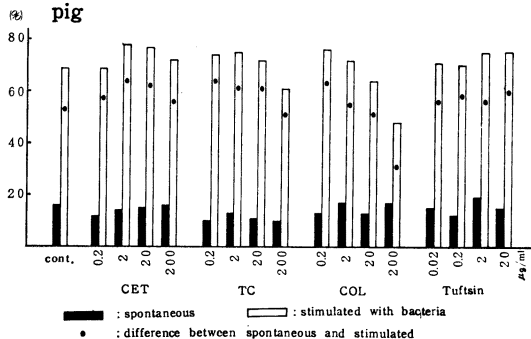


Fig. 3 Time course of NBT reduction in phagocytes

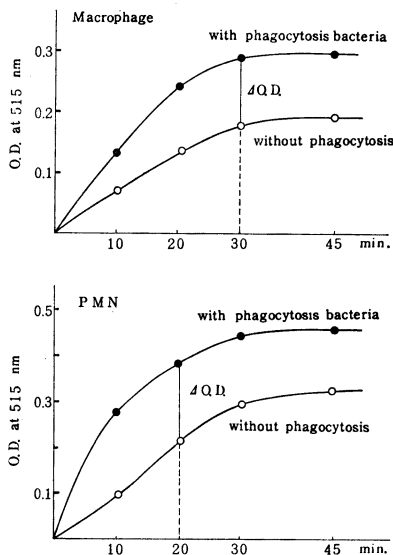
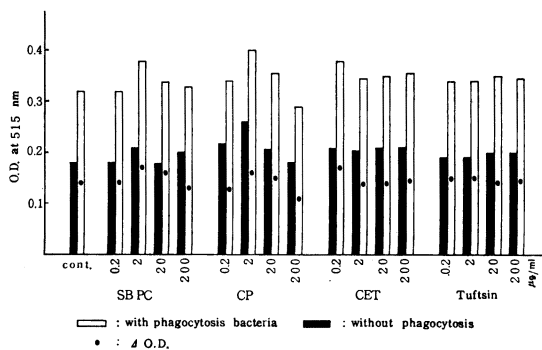


Fig. 4 Effect of SBPC, CP, CET and tuftsins on NBT reduction in peritoneal macrophage of guinea pig



$\mu\text{g}/\text{ml}$, Tuftsins の 2~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で若干ではあるが還元能を増大させる影響のあることが窺われる。しかし、CP, COL, TC の高濃度においては、明らかに還元能を低下させる影響のあることがわかる。

次に定量的方法によって測定した結果を示す。予め食食時、非食食時の NBT 還元能の経時変化を測定した結果を Fig. 3 に示した。この結果から、NBT 反応時間として 30 分を採用した。Fig. 4 は、各種化学療法剤および Tuftsins による影響を測定した結果である。SBPC と CP の 2~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および CET の 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ において $\Delta\text{O.D.}$ 値、すなわち非食食時と食食時との還元能の差の増大が見られる。しかし CP 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では $\Delta\text{O.D.}$ 値の減少が見られる。また Tuftsins についてはほとんど影響は認められない。

II. 好中球について

各種化学療法剤および Tuftsins, Hydrocortisone が好中球の NBT 還元能に及ぼす影響を定量的方法によって測定した結果を Fig. 5, Fig. 6 に示した。マクロファージの場合と同様、SBPC の 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ において

Fig. 5 Effect of SBPC, CP and hydrocortisone on NBT reduction in peritoneal PMN of guinea pig

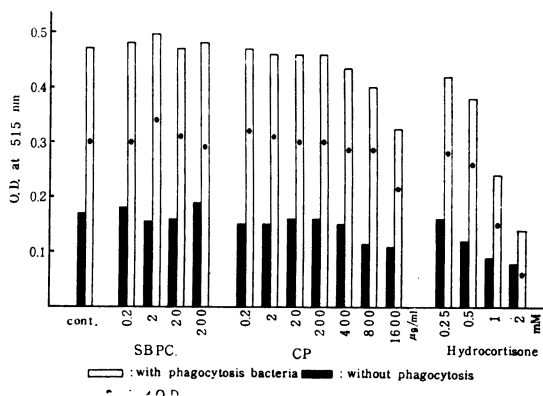
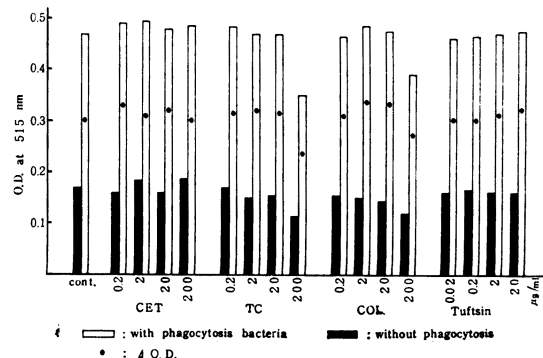


Fig. 6 Effect of CET, TC, COL and tuftsins on NBT reduction in peritoneal PMN of guinea pig



Δ O.D. 値の若干の増大が認められる。また CP の 400 μ g/ml 以上および TC の 200 μ g/ml, COL の 200 μ g/ml の高濃度においては, NBT 還元能の減少が明瞭に認められる。とくに食食時の還元能の低下が明らかである。しかし, Hydrocortisone を除けば, これらの薬剤の他の濃度, および他の薬剤については, いずれも control に比べて明らかな差は認められない。Hydrocortisone については, 周知のとおり顕著な抑制効果が見られるが, 0.25 mM 以下の濃度では影響はかなり小さいようである。

III. 食細胞の NBT 還元能力及び血清の影響

NBT 反応, 定量的方法による測定において子牛血清およびモルモット血清をそれぞれ 20% に添加した場合の, 血清による影響を測定した結果を Fig. 7, Fig. 8 に示した。図のように好中球においては, 子牛, モルモットいずれの血清によっても非食食時には影響は認められないが, 食食時の NBT 還元能は顕著な抑制が見られる。マクロファージにおいては, 子牛血清による影響は食食時, 非食食時ともに, 顕著であるが, モルモット血清による影響はあまり認められない。血清はすべて非動化し, pH 7 に調整したものを使用した。なお, 好中球については, 非動化しない血清についても同じ測定を行ったが, これとはほぼ同一の結果を得ている。

IV. 好中球, 無細胞抽出液の NBT 還元能力及び,

Fig. 7 Effect of serum on NBT reduction in peritoneal PMN of guinea pig

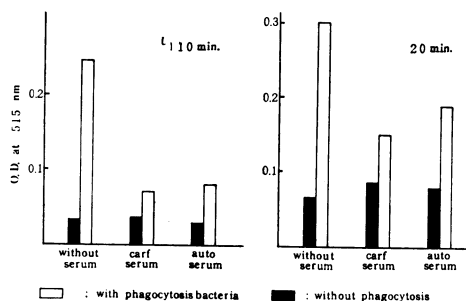
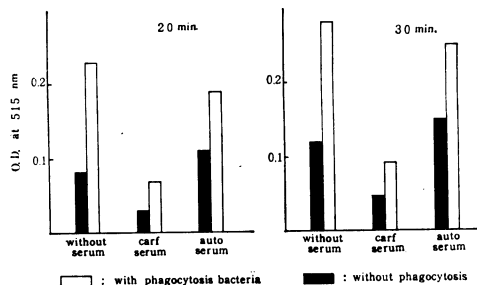


Fig. 8 Effect of serum on NBT reduction in peritoneal macrophage of guinea pig



各種化学療法剤および血清の影響

予め無細胞抽出液について NBT 反応の Time course を測定した結果を Fig. 9 に示した。反応時間約 30 分まではほぼ直線的であることがわかる。次に, 好中球を予め各種化学療法剤または血清と preincubate し, その後薬剤, 血清を洗浄し, 無細胞抽出液としたものの NBT 還元能を測定した結果を Table 1 に示した。この表のとおり, いずれの薬剤または血清についても, control に比してほとんど差が認められない。すなわち, 薬剤または血清との preincubate によって好中球の NBT 還元に関与する酵素は影響を受けなかったことを示す。

次に, 正常な好中球の無細胞抽出液について, その NBT 反応に及ぼす各種化学療法剤または血清の影響を測定した結果を Table 2 に示した。無細胞抽出液についての測定値から Blank を差し引いた値を Δ O.D. 値として NBT 還元能を示した。Hydrocortisone につい

Fig. 9 Time course of NBT reduction with cell free extract of PMN of guinea pig

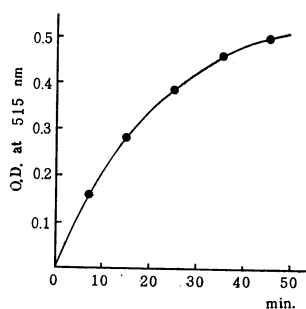


Table 1 Effects of several drugs and sera on NBT reduction with cell free extract from PMN of guinea pig

PMN: washed after preincubation with drugs for 60 min. at 37°C

		Δ O.D. at 515 nm
cont.		0.240
CP	1,600 μ g/ml	0.245
	800	0.235
TC	400 μ g/ml	0.250
	200	0.245
COL	400 μ g/ml	0.240
	200	0.240
SBPC	20 μ g/ml	0.230
	2	0.235
Hydrocortisone	2 mM	0.235
	1	0.240
Carf serum	active	0.240
	inactive	0.250
Auto serum	active	0.230
	inactive	0.250

Table 2 Effects of several drugs and sera on NBT reduction with cell free extract from PMN of guinea pig
PMN: without preincubation

		Δ O. D. at 515 nm
cont.		0.310
CP	1,600 μ g/ml	0.295
	800	0.310
TC	400 μ g/ml	0.305
	200	0.300
COL	400 μ g/ml	0.300
	200	0.305
SBPC	20 μ g/ml	0.310
	2	0.300
Hydrocortisone	2 mM	0.150
	1	0.235
Carf serum	active	0.350
	inactive	0.310
Auto serum	active	0.340
	inactive	0.300

では 2 mM および 1 mM でそれぞれ control の約 50 %, 75 % と明らかな還元能の低下が認められる。しかし CP をはじめ他の薬剤については、いずれも control に比してほとんど差が認められず、NBT 還元能に及ぼすこれら薬剤の影響は無いことがわかる。血清についてもほとんど影響は認められないが、若干、非動化しない血清について活性が高い。

考 察

マクロファージや好中球等、食細胞の NBT 還元能は緒言でも述べたように、捕食したものの処理能力に関係が深いと考えられ、細菌の場合には、殺菌能力の程度を知る 1 手段とも考えられている。もっとも NBT 還元能即殺菌能とは言えないまでも、NBT 還元能の低下した状態では少なくとも充分な細菌処理能力を有しているとは考えられないと言えよう。

今回の我々の実験では、すでに広く使用されている化学療法剤のいくつかを選んで、モルモットのマクロファージおよび好中球の NBT 還元能が *in vitro* においてどのように影響を受けるものかを検討した。今回の実験においてはすべて 1 mM の KCN を添加しているが、すでに、食食中の食細胞においては KCN に insensitive な NADH oxidase の活性が増大していることが知られ¹²⁾、これが H_2O_2 産生に大きく寄与していると考えられている。そこでこの KCN に insensitive な NADH oxidase が食食時にいかに増大するかを測定することが、より殺菌能を推測するのに適当と考えられている。我々の実験結果における非食食時と食食時との NBT 還元能の差、いわゆる Δ O. D. 値として示した値がそれ

を意味している。この点から見て、今回の我々の結果ではマクロファージにおける SBPC, CP および CET のそれぞれある濃度域において control に比して Δ O. D. 値の増大が見られたことは、その程度においては僅かなものではあるが、殺菌能を増大させる影響のあることが窺われる。Tuftsin については最近、細菌の endotoxin と同程度に Δ O. D. 値を増大させるという報告があるが¹³⁾、KCN を添加していないのですぐには比較できない。また、我々の実験での被食食物は大腸菌の加熱死菌体を使用しているの、EAGLE's MEM で洗浄して使用してはいるものの、endotoxin の影響も少なからず含まれているものと考えられる。

ところで、TC および COL の 200 μ g/ml そして CP の 1,600 μ g/ml さらに Hydrocortisone の 1 mM, 2 mM ではこの Δ O. D. 値は明らかな減少が見られ、殺菌能がかなり低下していることが予想される。しかし、これらの薬剤で同様に preincubate した好中球の無細胞抽出液は正常な NBT 還元能を有していることが Table 1 に示されている。すなわち preincubate 中に食細胞内にこれらの薬剤が取り込まれなかったのかどうかは別としても、少なくとも食細胞内の NBT 還元酵素はこれらの薬剤による影響は受けていなかった訳で、この NBT 還元能の低下は、NBT 反応時の加熱死菌体および NBT 試薬の phagocytosis (pinocytosis) が低下したことによるのではないかと考えられる。すなわち、当然のことながら、食細胞の示す NBT 還元能は NBT 試薬自体の取り込みと、NBT 還元酵素の活性との総合的な結果として現われるものであることが、この結果からも窺われる。しかし、いずれにしてもこれらの抗生剤の通常血中および組織内濃度の範囲内においては、食細胞の NBT 還元能は若干増大こそすれ、減少することは無いと思われる。

ところでまた、この NBT 還元酵素はほとんど NADH oxidase であろうと思われるが、この酵素活性に及ぼす各種化学療法剤の影響としては、Table 2 に示したように Hydrocortisone において明瞭な阻害が認められる以外には、ほとんど影響は見られない。Hydrocortisone による NADH oxidase 活性の阻害は、すでに MANDELL 等¹⁴⁾によっても報告されている。

仔牛およびモルモット血清添加により、とくに食食時の NBT 還元能の低下が認められたが、これについては、強いて言えば lysosome 膜の安定化による lysosomal enzyme の放出抑制に血清が寄与しているとも考えられるが、今のところ明らかな原因が考えられない。またあるいは、血清中の自然抗体による菌体凝集が生じ、菌体が食食され難くなったとも考えられるが、被食食物としてラテックス粒子を使用した場合もほぼ同様

の結果を得ている。なお、血清は予め 0.05 N 酢酸で pH 7 に調整して使用している。

食細胞の殺菌能力を知るには、実際に生菌を食菌させ、残存生菌数を測定して行なうのが最も適当であり、また確実な訳であるが、食細胞自体の機能状態の異常を探るには、NBT 還元能測定による方法は、操作も簡単で便利な方法だと思われる。

結 語

モルモット腹腔内のマクロファージおよび好中球を用いて、これら食細胞の NBT 還元能に及ぼす 2, 3 の抗生物質ならびに Tuftsin の *in vitro* における影響を測定した。

1. マクロファージについて、SBPC と CP との 2 ~ 20 $\mu\text{g/ml}$ および CET の 0.2 $\mu\text{g/ml}$ において 1 時間 preincubate することにより NBT 還元能の増大が僅かながら認められた。

2. TC と COL との 200 $\mu\text{g/ml}$ 以上および CP の 400 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高濃度、および Hydrocortisone の 1 mM 以上の濃度において NBT 還元能の低下が見られたが、食細胞内の NBT 還元酵素に対する影響は認められなかった。

3. Tuftsin の NBT 還元能に対する影響は認められなかった。

4. 子牛血清およびモルモット血清は、とくに加熱死菌体貪食時の NBT 還元能を顕著に低下させることが観察された。

謝 辞

本研究に際し、貴重な御助言をいただいた徳島大学医学部第三内科 螺良英郎教授を始め同研究室 河野通昭、滝下佳寛、後東俊博、香西勝人の諸先生方に深く感謝致します。

文 献

- 1) 臼井朋包, 清水凡生, 天野大輔: 慢性肉芽腫症を中心とした貪食細胞機能不全症について。日本臨牀 31: 1051~1075, 1973
- 2) KLEBANOFF, S. J.: A peroxidase-mediated antimicrobial system in leukocytes. J. Clin. Invest. 46: 1078, 1967
- 3) KLEBANOFF, S. J.: Myeloperoxidase-Halide-Hydrogen Peroxide. Antibacterial System.

J. Bact. 95: 2131~2138, 1968

- 4) BAEHNER, R. L.; D. G. NATHAN & M. L. KARNOVSKY: Correction of metabolic deficiencies in the leukocytes of patients with chronic granulomatous disease. J. Clin. Invest. 49: 865~870, 1970
- 5) 螺良英郎, 後東俊博, 香西勝人: NBT テスト。臨床と細菌 1: 92~99, 1974
- 6) 堀 誠, 国分義行: 抗生物質が免疫に及ぼす影響。慈医誌 88: 815~829, 1973
- 7) PIONS, D. A. & P. HAWLEY: Effect of antibiotics on respiration in human cells. Pediat. Res. 6: 687~692, 1972
- 8) LEHRER, R. I.: Inhibition by sulfonamides of the candidacidal activity of human neutrophils. J. Clin. Invest. 50: 2498~2505, 1971
- 9) 志摩 清, 安藤正幸, 徳永勝正, 樋口定信: 抗生物質のマクロファージ lysosomal enzyme 活性に及ぼす影響。医学のあゆみ 91: 202~203, 1974
- 10) BAEHNER, R. L. & D. G. NATHAN: Quantitative NBT test in chronic granulomatous disease. New Engl. J. Med. 278: 971~976, 1968
- 11) NATHAN, D. G.; R. L. BAEHNER & D. K. WEAVER: Failure of nitro blue tetrazolium reduction in the phagocytic vacuoles of leukocytes in chronic granulomatous disease. J. Clin. Invest. 48: 1895~1904, 1969
- 12) CAGAN, R. H. & M. L. KARNOVSKY: Enzymatic basis of the respiratory stimulation during phagocytosis. Nature 204: 255~257, 1964
- 13) SPIRER, Z.; V. ZAKUTH & M. FRIDKIN: The effect of tuftsin on the NBT reduction of normal human polymorphonuclear leukocytes. J. Clin. Invest. 55: 198~200, 1975
- 14) MANDELL, G. L.; W. RUBIN & E. W. HOOK: The effect of an NADH oxidase inhibitor (hydrocortisone) on polymorphonuclear leukocyte bactericidal activity. J. Clin. Invest. 49: 1381~1388, 1970
- 15) BAEHNER, R. L.; S. K. MURRMANN, J. DAVIS & R. B. JHONSTON: The role of superoxide anion and hydrogen peroxide in phagocytosis-associated oxidative metabolic reactions. J. Clin. Invest. 56: 571~576, 1975
- 16) 木谷信行, 堀 誠, 河野三郎: 好中球殺菌能における Superoxide の役割。医学のあゆみ 92: 156~157, 1975

THE EFFECTS OF SOME ANTIBIOTICS AND TUFTSIN ON THE NBT REDUCTION BY PHAGOCYTES

HIROSHI IGUCHI and SHŌZŌ NAKAZAWA

Department of Microbiology, Kyōto College of Pharmacy

Influences of some antibiotics, hydrocortisone and tuftsin on the NBT reduction activities of phagocytes, macrophages and polymorphonucleocytes (PMN), which were isolated from an peritoneal cavity of a guinea pig have been studied *in vitro*.

1. The preincubation of the macrophage with sulbenicillin (SBPC), chloramphenicol (CP) and cephalothin (CET) for one hour showed slight increases of the NET reduction. These increases were observed at the concentrations of 2~20 $\mu\text{g/ml}$ of SBPC and CP, and 0.2 $\mu\text{g/ml}$ of CET, respectively.

2. The NBT reduction activity of the macrophage and the PMN was decreased by the preincubation for one hour with tetracycline (TC) and colistin (COL) at the concentrations of more than 200 $\mu\text{g/ml}$, CP, more than 400 $\mu\text{g/ml}$, and hydrocortisone, more than 1 mM, respectively. Nevertheless, there were no influences of these antibiotics on the activity of NBT reducing enzyme from the phagocytes.

3. Tuftsin did not give any influence on the NBT reduction activity of the phagocytes.

4. The sera of calf and guinea pig decreased the NBT reduction by the phagocytes. This effect was observed especially in phagocytizing the heat-killed bacterial cells.