

Cefamandole の抗原性

原 田 稔・竹内 三津男・江 幡 光 雄・新 家 泰 子

塩野義製薬株式会社研究所

Cefamandole の抗原性を、抗体産生能、反応誘発抗原性および他の β -ラクタム系抗生物質との交叉反応性の観点から検討した。

Cefamandole の抗体産生能をマウス、モルモット、ウサギで検討したが、どの動物においても抗体産生を認めることはできなかった。対照薬剤として用いた Cephalothin や Penicillin G ではある頻度をもって抗体産生がみられることから、Cefamandole の抗体産生能はこれら対照薬剤よりも弱いといえる。また、Cefamandole の Bovine γ -globulin (BGG) 結合物で感作した場合の抗 Cefamandole 抗体産生も、他剤の BGG 結合物による感作の場合よりも弱いことが多かった。Cefamandole・BGG 結合物の感作で得られた抗 Cefamandole 抗体に対し、誘発抗原として Cefamandole を用いた PCA では反応は生じず、むしろ、PCA を特異的に抑制することが観察されたことから、Cefamandole 自体は誘発抗原とはなり得ないと考えられる。また、Cefamandole と他の β -ラクタム系抗生物質との免疫学的交叉反応性は、使用する抗体や検定方法により若干の相違はあるものの、一般的に極めて弱いことが観察された。これらの実験動物レベルでの検討結果では、Cefamandole の抗原性は、対照として用いた他の β -ラクタム系抗生物質よりも低いものと考えられる。

緒 言

新しい注射用抗生物質 Cefamandole (CMD) の抗原性を、(1)抗体産生能、(2)反応誘発抗原性、および、(3)他の β -ラクタム抗生物質との交叉反応性の3つの観点から検討した。従来、この種の研究においてはウサギの高度免疫血清を使用するのが一般的であるが、本報では、モルモットやマウスの Homocytotropic antibody (IgG₁ および IgE 抗体)を用いた *in vivo* 反応を中心とし、それに他の血清反応を加えて検定を行なった。

材料および方法

1. 実験動物

感作のための動物としては、ウサギ (白色、2.5~3.0 kg, ♀), モルモット (白色、300~350 g, ♀), いくつかの近交系マウス (C₃H/He, C₅₇BL/6, A/J, BALB/c, DS; いずれも塩野義油日ラボで維持、6~8 週令, ♀), および Closed colony マウス (JCL:ICR, 6~8 週令, ♀) を使用した。また、PCA のレシピエントとしては、近交系 Wistar ラット (塩野義油日ラボ, 8~9 週令, ♀), JCL:ICR マウス (6~8 週令, ♀) ならびにモルモット (白色、300~350 g, ♀) を用いた。

2. 薬物と蛋白質の結合物の調製

CMD ならびに対照薬物とキャリアー蛋白質との結合物は、LEVINE, *et al.*¹⁾ の方法を若干修正して調製した。調製法の詳細、およびハプテン結合数の算定法は EBATA, *et al.* の報告²⁾ に記載してあるので、ここでは調製法の概略を記すことにする。薬剤約 4.8 g を水に

溶かし、蛋白質 1 g を加え、室温にて、pH を 8.8 に調整しながら 24 時間インキュベートする。その後、pH 8.0 の phosphate buffer (PB) 中で、4°C にて 7 日間透析したあと、内液を凍結乾燥した。対照薬物としては、Penicillin G (PCG, 明治製薬), Ampicillin (ABPC, 万有製薬ベントレックス®), Cephalothin (CET, 塩野義製薬ケフリン) および Cafazolin (CEZ, 藤沢薬品セファメジン®) を使用した。キャリアー蛋白質としては、Bovine γ -globulin (BGG, NBC) と、Bovine serum albumin (BSA, Armour) を使った。なお、調製されたハプテン・キャリアー結合物の組成は、CMD₂₁・BGG, CMD₁₉・BSA, PCG₁₇・BGG, PCG₆・BSA, ABPC₁₇・BGG, ABPC₁₂・BSA, CET₂₆・BGG, CET₁₇・BSA, CEZ₁₇・BGG, CEZ₇・BSA であった。

3. 感作方法

(1) 薬物・蛋白質結合物を免疫原とする場合：上記の BGG 結合物を pH 6.8 の PBS に溶かし、FREUND'S complete adjuvant (FCA) を加えてエマルジョンとし、腹腔内 (マウス、モルモット) あるいは筋肉内 (ウサギ) に注射した。通常、マウスは 1 回注射により、モルモットとウサギでは週 1 回で 3 回注射して感作した。免疫原の 1 回量はマウスとモルモットでは 1 mg とし、ウサギでは 10 mg とした。いずれの場合も、最終回注射の 2 週間後、またはそれ以降の適当な時期に採血し、抗血清を得た。ただし、マウスの抗 ABPC・並に抗 CEZ-IgE 抗体は、FCA エマルジョンでは上昇してこなか

ったので、この場合は $\text{Al}(\text{OH})_3$ 1 mg に吸着した ABPC BGG あるいは $\text{CEZ} \cdot \text{BGG}$ 1 μg を、週 1 回の割で 3 回腹腔内注射して感作し、最終回の注射の 2 週後に採血した。

(2) 薬物そのものを免疫原とした場合：CMD の水溶液に FCA を加えてエマルジョンとし、6 回（週 2 回 $\times$ 3 週）注射した。その後 4 週を経て採血し、血清を得た。動物としては、数系統のマウス、モルモット、それにウサギを使用した。CET, PCG, CEZ を対照薬として用い、これらの薬剤についても全く同じ方法で感作した。薬物の 1 回量は、マウスとモルモットでは 1 mg とし、ウサギでは 10 mg とした。

4. 抗体検定法

抗血清の抗体価は次の方法で検定した。反応誘発抗原としては各薬物の BSA 結合物を使用し、Negative control の系では BSA を使用した。

(1) ゲル内沈降反応：Immunoplate® (Pattern, C; Hyland) を用い、抗原濃度を色々に変えて沈降反応を行なった。

(2) 間接赤血球凝集反応：西岡⁹⁾の方法に準じ、タンニン酸処理ヒツジ赤血球の表面を各 BSA 結合物で被覆し、型通り、ミクロタイターによって間接凝集反応を行なった。対照として、タンニン酸処理のみを行なった赤血球、および BSA (キャリア部分) で被覆した血球と抗血清の組み合わせを置いた。

(3) Passive cutaneous anaphylaxis (PCA) :

(i) マウスの IgE 抗体の検定は、Mota¹⁰⁾の方法に準じ、ラット PCA で行なった。ただ、感作時間は短時間よりも、24 時間とするのが最適であったので、本実験ではこの条件を採った。IgG₁ 抗体は、JCL:ICR マウスにおける 1 時間感作 PCA によって検定した。

(ii) モルモット IgG₁ 抗体の検定は、Ovary¹¹⁾の方法に準じ、モルモットにおける PCA (通常 4 時間感作) で行なった。

(iii) ウサギの IgG 抗体も、モルモットをレシピエントとした 4 時間感作 PCA によって検定した。

(iv) PCA のハプテン阻害：CMD ハプテンと抗 CMD 抗体とによる PCA の特異性を吟味する目的で、ハプテン阻害を試みた。すなわち、受動感作成立後、誘発抗原と色素 (エバンス青) の混合物を静注する直前に CMD 10 mg を静注し、PBS 静注の対照群と比較して PCA 阻害率 (次項参照) を求めた。

(v) PCA 抗体活性の表現法：PCA は、すべて Duplicate test で行なった。多くの場合、直径 5 mm の青色斑が 2 例のレシピエントのどちらにも生じるのを終末点として抗体価を示したが、ハプテン阻害実験では、

皮内漏出色素を Harada ら⁹⁾の方法により抽出定量して PCA の強さを表現した。なお、実験条件の細部については各実験毎に記載した。

5. マウスおよびモルモットの抗 Egg albumin (EA) 抗体の調製

一部の実験で β -ラクタム抗生物質の実験系とは全く関係のない抗原抗体系として、EA-抗 EA 抗体の反応系を用いた。この場合の抗体として、EA 1 mg を含む FCA エマルジョンを、それぞれ 1 回、あるいは 3 回注射された A/J マウス (♀) とモルモットの抗血清を使用した。前者の IgE 抗体価は 1:512 であり、後者の IgG₁ 抗体価は 1:1,000 であった。

実験結果

1. 抗 CMD 抗体の産生

(1) マウスにおける抗体産生

CMD-BGG の FCA エマルジョンの注射 2 週後に採った血清の IgE および IgG₁ 抗体価をしらべたところ、予想外に抗体産生が低いことが示された (Table 1)。すなわち、テストしたどの系統のマウスでも、明らかな、IgG₁ 抗体活性がみとめられなかったし、IgE 抗体活性も確実に検出されるのは C₃H/He マウスの抗血清のみであった。これは CET や PCG の BGG 結合物を免疫原とした場合と異なる。因みに、PCG ハプテンに対する抗体産生の様相を Table 1 に併記したが、どの系統のマウスでも、若干の高低はあるものの、IgE, IgG₁ 両抗体活性を観察することができた。CET ハプテンに対しても類似の結果が得られている。

次に、CMD そのものを免疫原とした場合の抗体産生を数系統のマウスでしらべ、PCG や CET に対する抗体産生と比較した。Table 2 に示したように、CET や PCG に対しては、ある頻度をもって抗体産生がみとめられる条件で、CMD に対しては、マウスの系統に関係なく抗体活性を見出すことができなかった。また、FCA を使用せず、薬剤の水溶液を注射した場合には、CMD に対するのみでなく、CET に対する抗体産生も起こらなかった。

(2) モルモットにおける抗体産生

3 頭のモルモットを CMD-BGG の FCA エマルジョンの 3 回注射によって感作するとき、3 頭とも IgG₁ 型 PCA 抗体は陽性で、その抗体価は 1:100~1:1,000 であった。この値は、他の β -ラクタム抗生物質の BGG 結合物に対して感作した場合と比べて、さほど遜色はないように思われる。この抗 CMD-BGG 血清について、8 日間感作の PCA を試みたところ、弱いながらも (抗体価 1:8) 陽性反応を得た。この PCA は、血清を 56

Table 1 Production of antibodies to CMD- and PCG-haptenic groups in the mouse

Antiserum*		Antibody titer	
Immunogen	Mouse strain (Lot No.)	IgE	IgG ₁
CMD • BGG	JCL : ICR	Neg.	Neg.
	BALB/c	Neg.	Neg.
	C ₅₇ BL/6	Neg.	Neg.
	DS	Neg.	Neg.
	A/J (# 1) (# 2) (# 3)	1 : 4 Neg. Neg.	Trace Neg. Neg.
	C ₃ H/He (# 1) (# 2) (# 3)	1 : 32 1 : 16 1 : 8	Trace Trace Trace
PCG • BGG	JCL : ICR	1 : 2	1 : 128
	BALB/c	1 : 4	1 : 128
	C ₅₇ BL/6	1 : 16	1 : 128
	DS	1 : 8	1 : 512
	A/J (# 1) (# 2)	1 : 16 1 : 16	1 : 128 1 : 256
	C ₃ H/He (# 1) (# 2) (# 3)	1 : 32 1 : 16 1 : 16	1 : 256 1 : 256 1 : 128

* : Pooled serum of a group containing 5 animals

Intradermal injection: 0.05 ml of the diluted serum

Eliciting antigen: Antibiotic-BSA conjugate homologous to the antiserum, 1 mg/animal (mouse) and 2 mg/animal (rat)

Dye leakage: Half an hour (mouse) and 1 hr. (rat)

Table 2 Antibody production to simple antibiotics in the mouse and guinea pig

Immunogen	Animals	Ab (Positive/total)	
		IgE Ab	IgG ₁ Ab
CMD	C ₅₇ BL/6	0/9	0/9
	DS	0/6	0/6
	C ₃ H/He	0/8	0/8
	Guinea pig	NT	1/12
CET	C ₅₇ BL/6	18/34	17/34
	C ₃ H/He	0/16	6/16
	Guinea pig	NT	7/14
PCG	C ₅₇ BL/6	2/12	3/12
	C ₃ H/He	2/6	4/6
CEZ	Guinea pig	NT	0/6

Eliciting antigen: Antibiotic-BSA conjugate homologous to the immunogen, 1 mg/animal (mouse) or 2 mg/animal (rat and guinea pig)

Dye leakage: 30 minutes (mouse and guinea pig) or 1 hr. (rat)

NT: Not tested

"Positive" indicates the provocation of blue areas with diameters of 5 mm or more with the undiluted serum.

°C にて 4 時間処理することにより完全に消失した。したがって、抗血清中には、IgG₁ のみならず、微量ながら、IgE 抗体も含まれているといえる（文献 7 を参照）。

CMD のエマルジョンで感作した場合、ただ 1 例にかすかな PCA 活性が見られた外、抗体は認められなかった。同じ条件で、CEZ に対しても抗体産生はもとめられなかったが、CET に対してはテスト動物の半数に IgG₁ 抗体が検出された（Table 2）。抗 CET 抗体価は、たかだか 1:16 で余り高くないが、明確であった。なお、この実験において、感作は 24 時間とした。これは 4 時間感作でみるよりも、24 時間の方が反応が著明であったからである。

(3) ウサギにおける抗体産生

ウサギに CMD・BGG のエマルジョンを反覆注射した場合、同条件で他剤の BGG 結合物に対しては高い PCA 抗体価が得られるにも拘らず、モルモットに PCA を起こし得るだけの抗 CMD・IgG 抗体が産生されなかった。このことは、前述のマウスにおける IgG₁ 抗体産生の欠如と類似している。また、3羽のウサギに、CMD の FCA エマルジョンを反覆注射した場合、どの個体においても、PCA でしらべる限り、抗体は全く検出されなかった。

2. 他の β-ラクタム抗生物質との免疫学的交叉反応性

他剤との交叉反応性をしらべるには、ある程度高い抗体価をもった血清を使用することが必要であるので、各薬剤の BGG 結合物で感作した動物の血清を用いることにした。他剤との交叉反応性の検定に入る前に、抗 CMD 抗体と CMD・BSA とによる PCA の特異性について、次の 2 つの吟味実験を行なった。その 1 つは、誘発抗原のキャリアー部分 BSA のみで PCA が誘発されないかどうかである。しらべてみた結果、大部分の抗血

清の場合、BSA 自体をチャレンジしても PCA は陰性であるが、少数例（Alum 吸着抗原で感作された動物の血清）では、BSA でも多少 PCA が誘起されることがわかった。しかし、この場合、レシピエントのラットに、抗体の皮内注射の直前に、BSA 2 mg を静脈内に注射しておく、抗ハプテン抗体の力価には影響を与えることなく、キャリアーによる反応を完全に消去することができた。もう 1 つの問題は、CMD はアルカリ性において不安定であるとされ、pH 8.0 にて蛋白質とインキュベートしている間に、目的とするラクタム環の開裂以外にも分解その他の化学変化が生じ、蛋白結合物中の CMD 基の立体構造が、CMD そのものの構造とは相違してしまっているのではないかという疑問である。この可能性を排除する目的で、PCA が CMD により特異的に阻害されるかどうかを検討した。受動感作の成立後、レシピエントのラット、あるいはモルモットに CMD 10 mg を静注し、ただちに誘発抗原とエバンス青の混合物をチャレンジし、30 分間の色素漏出量をしらべ、対照（CMD の代わりに PBS を静注）のそれと比べて阻害率を求めた。

Table 3 に示したように、C₃H/He マウスの抗 CMD・IgE 抗体の PCA は、CMD 10 mg によって顕著に抑制された。阻害は、抗体濃度がある程度低い方が著明であった。一方、特異性を全く異にする抗 EA・IgE 抗体の PCA は、CMD によりほとんど影響されなかった。モルモット PCA の場合も同様であった。このように、CMD の PCA 阻害は、CMD の反応系に特異的であった。この結果は、CMD・蛋白質結合体の中の CMD 基の立体構造は、CMD 本来の形を損ねていないこと、さらには、抗 CMD 抗体のハプテン結合部位の輪廓が、CMD の立体構造と相補的であることを強く示唆している。

以上のような予備検討に立脚して、他剤との交叉反応

Table 3 Hapten inhibition of PCA

PCA	Antiserum (dilution)	Intensity of PCA		Inhibition (%)
		Without CMD	With CMD	
Rat PCA mediated by mouse IgE Ab	C ₃ H mouse anti-CMD	1: 8	126 ± 16*	33
		1: 16	77 ± 3	23
		1: 32	57 ± 13	54
		1: 64	29 ± 9	79
	A/J mouse anti-EA	1: 80	46 ± 5	16
		1: 160	27 ± 2	15
		1: 320	119 ± 5	-1
Guinea pig PCA mediated by homologous IgG ₁ Ab	Guinea pig anti-CMD	1: 1	64 ± 2	70
		1: 10	22 ± 1	50
		1: 100	16 ± 7	81
	Guinea pig anti-EA	1: 1	108 ± 9	14
		1: 10	50 ± 6	12
		1: 100	33 ± 15	18

*: Amount (μg) of the leaked dye expressed in terms of the average and the difference from the average of the two determinations in the duplicate test.

Table 4 Immunological cross-reactivity of CMD and other antibiotics

Antibodies		Elicitor					
		BSA conjugate of					BSA
		CMD	PCG	ABPC	CET	CEZ	
C ₃ H/He mouse IgE Ab	Anti-CMD	1 : 32*	Neg. 1 : 32	Neg.	1 : 16	Neg. 1 : 32	Neg. Neg. Neg. Neg. Neg.
	Anti-PCG	Neg.		1 : 16			
	Anti-ABPC	Neg.					
	Anti-CET	Neg.					
	Anti-CEZ	Neg.					
Guinea pig IgG ₁ Ab	Anti-CMD	1 : 1,000	1 : 100 ~ 1 : 1,000 1 : 10,000	Neg.	1 : 100 ~ 1 : 1,000	Neg. 1 : 100	Neg. Neg. Neg. Neg. Neg.
	Anti-PCG	Neg.		1 : 100			
	Anti-ABPC	Neg.					
	Anti-CET	Neg.					
	Anti-CEZ	Neg.					
Rabbit IgE Ab	Anti-PCG	Neg. Neg. Neg. Neg.	1 : 10,000	1 : 100	1 : 1,000	1 : 1,000	Neg. Neg. Neg. Neg.
	Anti-ABPC						
	Anti-CET						
	Anti-CEZ						

*: Antibody titer

性を検定した。

(1) PCA による検定

抗体として、C₃H/He マウスの IgE 抗体、モルモットの IgG₁ 抗体、ウサギの IgG 抗体を使用し、PCA によって検討した結果を Table 4 に示した。

C₃H/He マウスの抗体の場合、他剤に対する抗体は、それぞれ対応抗原との間に PCA を起こすが、CMD・BSA とは反応を起こさなかった。一方、抗 CMD 抗体は対応抗原 CMD・BSA と反応するばかりでなく、CET・BSA をチャレンジした場合にも PCA を誘起した。この場合の交叉反応性はかなり高かった。

モルモット由来のものも、ウサギ由来のものも、マウス抗体の場合と同様に他剤に対する抗体は、CMD・BSA をチャレンジしても PCA を起こさなかった。モルモットの抗 CMD・IgG₁ 抗体は、CMD・BSA のみならず、CET・BSA とも、PCG・BSA とも反応した。この場合の交叉反応も、マウスの結果と同様、かなり高かった。前述のように、モルモットの抗 CMD 血清には IgE 抗体も含まれているが、微量に過ぎ、交叉反応の検定に用いることはできなかった。また、ウサギは PCA を起こすに足るだけの抗 CMD 抗体を産生しなかったため、抗

CMD 抗体と他剤との交叉反応性をしらべることは不可能であった。

(2) ゲル内沈降反応による検定

ウサギとモルモットの抗血清を使用して、PCG、CET と CMD の交叉反応性をしらべた。反応誘発抗原は最高濃度を 500 μg/ml とし、63 μg/ml まで 2 倍希薄を行なった。Table 5 に示したように、ウサギのものもモルモットのものも、PCG や CET に対する抗血清は CMD・BSA とは沈降反応を起こさなかった。ただし、抗 CMD 血清は、対応抗原である CMD・BSA を作用させても沈降線を形成し得なかったため、他剤の BSA 結合物との間の交叉反応を論ずることはできない。

(3) 間接赤血球凝集反応による検定

PCG、CET、CMD の BSA 結合物をタンニン酸処理ヒツジ赤血球に被覆し、ウサギ抗血清の間接凝集反応を行なった。BSA 被覆赤血球に対する凝集価をバックグラウンドとして、結果を判定した。抗 PCG 血清は CMD ハプテンとは全く反応しなかった。このことは、上述の PCA や沈降反応での検定結果と一致する。抗 CET 血清は CET と反応するのみでなく、CMD ハプテンとも反応を起こした。これは、PCA や沈降反応で得た

Table 5 Immunological cross-reactivity of CMD, PCG and CET in the precipitin reaction

Antiserum*		Elicitor			
		CMD・BSA	PCG・BSA	CET・BSA	BSA
Guinea pig	Anti-CMD	—	—	—	—
	Anti-PCG	—	+	—	—
	Anti-CET	—	—	+	—
Rabbit	Anti-CMD	—	—	—	—
	Anti-PCG	—	+	+	—
	Anti-CET	—	+	+	—

*: Undiluted serum

Table 6 Immunological cross-reactivity of CMD against PCG and CET in the passive hemagglutination test using rabbit antibody

Antiserum	Tanned SRBC coated with				
	CMD · BSA	PCG · BSA	CET · BSA	BSA	None
Anti-CMD	1 : 256*	1 : 16	1 : 128	1 : 16	1 : 16
Anti-PCG	1 : 16	1 : 1024		1 : 16	1 : 16
Anti-CET	1 : 256		1 : 1024	1 : 32	1 : 16

*: Hemagglutinin titer

結果とくいちがう。また、CMD に対する抗血清は、PCA を誘起することも、沈降線を形成することもできなかったが、凝集反応ではバックグラウンドを上廻る特異凝集を起こすことが見出された。しかも、特異凝集は対応抗原ばかりでなく、CET·BSA との間にも観察された (Table 6)。

考 察

一般に、薬物を異種蛋白質に結合させて動物を感作すると、抗薬剤抗体が産生されて当然である。したがって、薬剤の免疫原性をしらべるには、薬剤の蛋白結合体を免疫原として使用するのではなく、薬剤そのものの注射に対して免疫応答が成立するかどうかを見るのが本筋である。しかも、なるべく薬剤の臨床使用法に近い形でしらべるのが最も望ましい検定法になるであろう。

しかし、周知のように、一般に、低分子の薬剤に対して、免疫応答は成立し難い。そこで、本報では、CMD の FCA エマルジョンを反覆注射するという、臨床使用よりかなり強い条件で動物を免疫した場合の抗体産生の様相をしらべ、対照薬との比較の上で相対的な評価をくだすことにした。その結果、CET や PCG に対してはある頻度で抗体産生がみとめられる条件で、CMD に対する抗体産性がほとんどみられないことが示された。あらゆる動物の中でヒトがもっとも感作され易い傾向をもつということ⁸⁾を考慮すると、マウスやモルモットにおいて抗体が産生されなかったからといって、ヒトでも産生されないと断定することはできないが、少なくとも、対照薬物に比べて安全性はより高いと推定してよからう。

また、CMD の BGG の結合物で感作したマウスやウサギにおける抗 CMD 抗体の産生が弱いという現象も、CMD 自体の抗体産生能が低いことと関連して興味深い。ウサギでは CMD·BGG の FCA エマルジョンを 3 回注射したとき、CMD に対する抗体は間接赤血球凝集反応では検出することができたが、モルモットにおける PCA では検出することはできなかった。このくいちがいの原因は明らかではない。あるいは、IgM 抗体のような、凝集活性は強いが皮膚感作性を欠く抗体が産生され

ていたことによるのかもしれない。マウスでも IgG₁ 抗体の産生が特に不良であった。ウサギと同様、CMD·BGG のエマルジョンを 3 回くり返し注射した場合でも、booster 効果はみとめられなかった。IgE 抗体も C₃H/He マウス以外の系統では産生されなかった。IgE 抗体の産生が何故 C₃H/He 系に限って起こるのかについては明らかではない。この系統が、免疫原のキャリアー部分 (BGG) に対して high responder であるということ⁹⁾も何らかの関連性をもつかもしいないが、他の要因も絡んでいると考えられる。というのは、C₃H/He 系と同様に、BGG に対する高応答系とされている A/J マウス⁹⁾でも抗 CMD·IgE 抗体の産生は明確でなかったからである。モルモットでは CMD·BGG 感作により、他剤の場合とはほぼ比肩される抗体価を得られたから、抗体産生の良否が動物の応答性にも依存していることは間違いなからうが、むしろ、CMD がハプテンとして BGG と共有結合の状態にあっても、何らかの理由で抗体産生系の刺激を起こし難いではなからうか。

次に、CMD の反応誘発抗原性について論議する。PCG 製剤に関しては誘発抗原性が報告され¹⁰⁻¹²⁾、その原因として、製剤中に含まれる PCG のポリマー¹⁰⁾や Benzylpenicilloyl (BPO) · 蛋白質結合物¹¹⁾等が挙げられている。CET 製剤についても同様のことが見出されている¹²⁾。そこで、CMD·BGG で感作した C₃H/He マウスやモルモットの血清で受動感作したラットあるいはモルモットに CMD をチャレンジしてみたが、CMD の用量に関係なく PCA は陰性であった。CMD の静注はむしろ、CMD·BSA のチャレンジによって誘発される PCA に対し阻害作用を与えた。これらの実験結果から、CMD は過敏症誘発抗原とはならないと考えられる。

最後の問題は、CMD と他の β -ラクタム抗生物質との交叉反応性であるが、この実験では免疫原として各薬剤の BGG 結合物を用い、反応誘発抗原として BSA 結合物を使用した。上述のように、交叉反応性は多くの抗原抗体組み合わせにおいてみとめられない。PCA で検定する場合、ウサギ、モルモット、マウスのどの動物の抗体を用いても、他剤に対する抗体は CMD·BSA と反

応を起こさなかった。交叉反応がみとめられたのは、マウスの抗 CMD-IgE 抗体と CET-BSA, モルモットの抗 CMD-IgG₁ 抗体と CET-BSA および PCG-BSA の3つの組み合わせに限られていた。これらの交叉反応は顕著で、抗体に対応した CMD-BSA を抗原とした場合と近似の PCA を得た。抗 CMD 抗体と PCG-BSA との反応がマウスの抗体とモルモットの抗体で異なっているのは、それぞれの抗体のクラスの相違によるという可能性も考えられるが、どちらかといえば、動物種のちがいに基づくところがより大きいと推定される。というのは、我々の研究によれば、抗 PCG 抗体の ABPC ハプテンとの交叉反応性が、抗体のクラスよりも、抗体を産生する動物によって規定される（未発表）からである。しかし、抗体のクラスによる交叉反応性の相違という可能性も、一概に排除することはできない。ウサギの抗 CET 血清と CMD-BSA の間の交叉反応が、間接凝集反応では陽性となったのに PCA では陰性であった。この場合、抗血清中には IgM や IgA など、PCA 誘発能をもたない抗体も含まれており、しかも、これらの抗体は IgG 抗体と異なり交叉反応性が高いということも考えられないわけではないからである。

以上のように、CMD の抗原性は、抗体産生能、反応誘発抗原性、および、他剤との交叉反応性の3つの項目のいずれにおいても、少なくとも実験動物レベルでは、対照薬より低く、余り問題視する必要はなからうと思われる。ただし、これらの動物実験の結果から、ヒトにおいても過敏症の恐れはないと速断することはできない。臨床使用面からのフィードバックを通して動物基礎実験の精度をより一層高くする努力が続けられなければならない。

謝 辞

本研究において、薬物の蛋白結合体調製は小池昌子氏（塩野義研究所）の、また動物実験は松本光央氏（塩野義研究所）の御尽力によるところが大きい。ここに深甚の謝意を表したい。

引用文献

- 1) LEVINE, B. B. & Z. OVARY: Studies on the mechanism of the formation of the penicillin antigen. III. The N-(D- α -benzyl-penicilloyl) group as an antigenic determinant responsible for the hypersensitivity to penicillin G. *J. Exp. Med.* 114: 875~904, 1961
- 2) EBATA, M.; Y. MIYAKE & J. UCHIDA: A quantitative assay of covalently bound cephalosporin derivatives in cephalosporin-protein conjugates. *J. Antibiot.* 29: 665~666, 1976
- 3) 西岡久寿弥, 岡田英親: 凝集反応。蛋白質・核酸・酵素 11: 1506~1508, 1966
- 4) MOTA, I. & D. WONG: Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse anti-*E. coli* during the course of immunization. *Life Sciences* 8: 813~820, 1969
- 5) OVARY, Z.: Immunological methods. Blackwell Scientific Publications 1964: 259~283
- 6) HARADA, M.; M. TAKEUCHI, T. FUKAO & K. KATAGIRI: A simple method for the quantitative extraction of dye extravasated into the skin. *J. Pharm. Pharmac.* 23: 218~219, 1971
- 7) LEVINE, B. B.; H. CHANG & N. M. VAZ: The production of hapten-specific reaginic antibodies in the guinea pigs. *J. Immunol.* 106: 29~33, 1971
- 8) 村中正治: 免疫学からみた薬剤アレルギーの基本問題。臨床免疫 6: 89~96, 1974
- 9) SHREFFLER, D. C. & C. S. DAVID: The H-2 major histocompatibility complex and the I immune response region: Genetic Variation, function, and organization. *Adv. Immunol.* 20: 125~195, 1975
- 10) 竹内良夫: 薬剤アレルギーに関する基礎的研究 (2) Procaine PCG suspension 中に存在する PCG polymer の検出。アレルギー 26: 504~510, 1977
- 11) BATCHELOR, F. R.; J. M. DEWDNEY, J. G. FEINBERG & R. D. WESTEN: A penicilloylated protein impurity as a source of allergy to benzylpenicillin and 6-aminopenicillanic acid. *Lancet* 1: 1175~1177, 1967
- 12) MURANAKA, M.; H. IGARASHI, K. KOIZUMI, H. OKUMURA, K. TAKEDA & S. SUZUKI: Elicitation of homologous passive cutaneous anaphylactic reactions by a benzylpenicillin preparation. *J. Allergy and Clin. Immunol.* 54: 329~338, 1974
- 13) 竹内三津男, 原田 稔: セファロシン製剤に対するモルモットの抗体産生。アレルギー 27: 177~178, 1978

ANTIGENICITY OF CEFAMANDOLE

MINORU HARADA, MITSUO TAKEUCHI, MITSUO EBATA and YASUKO SHINKE
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Antigenicity of cefamandole (CMD) was assayed principally in the PCA test using the mouse, guinea-pig and rabbit antisera.

(1) Antibody production to plain CMD was negative in almost all of the animals tested, while antibodies to simple cephalothin (CET) or penicillin G (PCG) were detected in some animals at the same immunizing condition. Therefore, it is safe to state that the immunogenicity of CMD is lower than those of the other two antibiotics.

(2) Simple CMD was not able to elicit PCA in the rat and guinea pig presensitized with mouse anti-CMD·BGG IgE and guinea-pig anti-CMD·BGG IgG₁ antibody respectively, but rather capable of suppressing the PCA reaction elicited by the challenge with the multivalent antigen, CMD·BSA.

(3) Immunological cross-reactivity of CMD and other β -lactam antibiotics was extremely low in general, though some discrepancies were observed depending on the origin of antibody and assay method. The potent crossreactivity of anti-CMD antibody against CET hapten and also against PCG hapten in some cases must be noticed.