

## AT-2266 の抗原性試験

宗村庚修・松井幸春・高瀬善行

大日本製薬株式会社 総合研究所

合成抗菌剤 AT-2266 の抗原性（免疫原性と誘発原性）をウサギ、モルモットおよびマウスを用いて検討した。(1) 間接赤血球凝集反応および PCA 反応により抗体を調べたとき、AT-2266 を Freund's complete adjuvant (FCA) や水酸化アルミニウムゲルなどの免疫補助剤と共に免疫しても、AT-2266 ハブテンに対する IgG 型（ウサギおよびモルモット）および IgE 型（マウス）抗体はいずれも産生されなかった。(2) AT-2266 のウシ血清アルブミン(BSA)あるいは卵白アルブミン(OVA)との結合物で免疫すると、ウサギおよびモルモットでは主として IgG 型の、マウスでは IgE 型の抗 AT-2266 ハブテン特異抗体が産生されたが、このような抗体で PCA 反応を行ったとき、AT-2266 を静注チャレンジしても全く反応は惹起されなかった。(3) AT-2266-BSA を FCA と共に免疫したモルモットに、AT-2266-OVA をチャレンジすると即時型の全身アナフィラキシー反応あるいは遅延型の皮膚反応が惹起されたが、このような動物に AT-2266 をチャレンジしても両反応とも全く惹起されなかった。また、AT-2266 と FCA で免疫した場合、AT-2266-OVA をチャレンジしても両反応ともすべて陰性であった。

以上の成績から、AT-2266 は化学的に蛋白などの高分子担体と結合させた状態で投与しない限り、通常の投与方法では抗体産生惹起能（免疫原性）およびアレルギー反応誘発能（誘発原性）が発現されることはないと思われる。

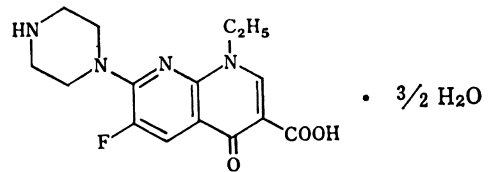
AT-2266 は大日本製薬株式会社で開発された新しい合成抗菌剤で、Fig. 1 に示す化学構造を有する<sup>1)</sup>。類似の化学構造を有する合成抗菌剤として Nalidixic acid (NA), Pipemidic acid (PPA), Piromidic acid (PA), Cinoxacin (CINX) などがある。このような低分子化合物は通常ハブテンと呼ばれ、蛋白などの高分子担体と非可逆的に結合しない限りそれ自身では抗原性を発現しない<sup>2)</sup>。しかし、臨床において時としてアレルギー反応による副作用を誘発することがある。上記抗菌剤のアレルギーに関する副作用としては、皮疹、掻痒、蕁麻疹などの皮膚症状に関するものが主である<sup>3-6)</sup>。前臨床試験の一環として AT-2266 の抗原性を、ウサギ、モルモットおよびマウスを用いて検討したので報告する。

## I. 材料および方法

## 1. 実験動物

免疫用動物として、ウサギ（日本白色種，雄，体重 2.7~2.9kg，株式会社ケアリー），モルモット（Hartley 系，雌，体重約 300g，静岡実験動物農業協同組合）およびマウス（BALB/c 系および C<sub>57</sub>H/He 系，雄，8 週齢，静岡実験動物農業協同組合）を使用した。また、抗体検出用動物としては、モルモット（Hartley 系，雌，体重約 300g，静岡実験動物農業協同組合）およびラット（Jcl-SD 系，雌，10 週齢，株式会社クレア）を使用した。

Fig. 1 Chemical structure of AT-2266



## 2. 被験物質および試薬

被験物質である AT-2266 は自社合成し、純度・安定性などの試験により品質確認済のものを使用した。担体蛋白としてウシ血清アルブミン (BSA, Sigma 社) および卵白アルブミン (OVA, Sigma 社) を、また、免疫補助剤として Freund's complete adjuvant (FCA, Difco 社) および水酸化アルミニウムゲル(アラム，自家調製)を使用した。間接赤血球凝集反応用の羊赤血球 (SRBC) は日研動物血液センターより購入した。

## 3. 動物飼育

ウサギは温度 20~25°C，照明 6:00~18:00 に設定した動物室内で自動洗滌ケージに個別に飼育した。モルモットは温度 24±2°C，湿度 55±5%，照明 6:00~18:00 に設定した conventional system の動物室内で、マウスおよびラットは同条件の barrier system の動物室内で飼育した。モルモットおよびラットはアルマイト製ケージ

に個別に、マウスはプラスチック製ケージに6匹/ケージで群別に飼育し、床敷の交換はいずれも週2回行った。飼料はオリエンタル酵母社製の固型飼料（ウサギおよびモルモットはRC-4、マウスおよびラットはCE-2）を与え、飲料水はウサギは自動給水装置でその他はポリカーボネイト製給水ビンで与え、いずれも自由に摂取させた。各動物は入荷・検疫後1～3週間にわたり一般症状の観察を行い異常のないことを確認したのち実験に供した。ウサギ、モルモットおよびラットは各飼育ケージにカードをつけて個体を識別し、マウスはビクリン酸塗布により個体を、また各ケージにカードをつけて群を識別した。

#### 4. 蛋白結合物の調製

AT-2266のBSAおよびOVAとの結合物の調製は、AT-2266のカルボキシル基に蛋白の遊離アミノ基を結合させることにより行った。AT-2266にはピペラジン環にアミノ基が遊離の形で存在するため、あらかじめトリフルオロアセチル基でそのアミノ基を保護したのち、常法にしたがってN-ヒドロキシスクシンイミドとの活性エステルを合成した。すなわち、AT-2266のN-トリフルオロアセチル誘導体に、ジクロルエチレン中で当量のクロル炭酸エチルおよびトリエチルアミンを加えて氷冷下30分間攪拌し、ついで、これに当量のN-ヒドロキシスクシンイミドを加え、同温度にて1時間反応させて活性エステルを得た。この活性エステルと蛋白との反応はつぎのようにした。すなわち、30mg/mlのBSAあるいはOVA水溶液10ml（少量の1N NaOHでpH10に調整）に、10mg/mlの活性エステルジオキサン溶液10mlを、攪拌しながら少しずつ滴下した。氷冷下で30分間、ついで室温で1時間攪拌しながら反応させたのち、60mlの水を加え、1N HClでpH 4.2にして蛋白を沈澱させ遠心後上清を捨てた。沈澱物を再び適当量の水と少量の1N NaOHで溶解させるという操作を3回繰り返して未結合のハプテンを取り除いた。ついで、沈澱物に10mlの水と3N NaOHを加えてpH13以上の条件下で3時間攪拌することによりトリフルオロアセチル基を切断したのち、70mlの水を加え、1N HClで蛋白結合物を沈澱させた。沈澱物を10mlの水と少量の1N NaOHで溶解し、大量の脱イオン水で十分に透析したのち、遠心操作により不溶物を除去し、蛋白結合物の凍結乾燥末を作成した。

ハプテン-蛋白結合物中の蛋白量に比べハプテン量ははるかに少いため、この凍結乾燥末の重量を蛋白量として測定用溶液を調製し、347nmにおける蛋白のみの吸光度とハプテン-蛋白結合物の吸光度との差より結合ハ

プテン数を算出した。AT-2266の紫外部における最大吸収波長は268nmであるが、この波長では蛋白にも強い吸収があるため、蛋白にはほとんど認められないもう1つの吸収ピークである347nmの波長で測定した。なお、AT-2266の波長347nmにおける分子吸光係数は18300である。その結果、調製したハプテン-蛋白結合物の蛋白1分子当りのハプテン結合分子数は、AT-2266-BSA結合物では13.8分子、AT-2266-OVA結合物では6.5分子であった。なお、一部の実験（モルモットにおける全身アナフィラキシー試験）では結合ハプテン数が18.0分子のBSA結合物と8.2分子のOVA結合物を用いた。

#### 5. 免疫方法および採血

##### 1) ウサギおよびモルモットの免疫

10mg/mlのAT-2266あるいは2mg/mlのAT-2266-BSA溶液に等容量のFCAを加え、ワーリングブレンダーでエマルジョンを調製し、このエマルジョンを隔週1回、計4回にわたりウサギには2ml、モルモットには1mlを皮下数ヶ所に分けて投与した。なお、全身アナフィラキシー試験用のモルモットの場合には4mg/mlのAT-2266-BSA溶液を用いてエマルジョンを調製した。

##### 2) マウスの免疫

10 $\mu$ g/mlのAT-2266あるいはAT-2266-OVA溶液と20mg/mlのアラムとを等容量混合し、マウス1匹当り0.2mlを腹腔内に1回投与して免疫した。

##### 3) 採血

ウサギは初回免疫後3週目より7週目まで週1回耳静脈より、またモルモットは最終免疫後7日目に心臓よりいずれも約2ml採血した。マウスは初回免疫後7、14および21日目に眼底静脈叢より約0.2ml採血した。分離した血清はいずれも抗体測定時まで-20 $^{\circ}$ Cに凍結保存した。

#### 6. 抗体の検出

##### 1) 間接赤血球凝集 (PHA) 反応

Bingらの方法<sup>7)</sup>に準じて行った。グルタルアルデヒドで固定したSRBCをbis-diazotized benzidineの存在下でAT-2266-OVAと混合し、37 $^{\circ}$ Cで15分間反応させた。反応後生理食塩水で2回遠心洗滌し、さらに0.5%正常ウサギ血清を含むリン酸緩衝生理食塩水(NRS-PBS)、pH 6.4、で1回洗滌したのち、同緩衝液で0.5%の血球浮遊液を調製し凝集反応に用いた。凝集反応はV型マイクロプレート(Linbro社)を用いた。すなわち、マイクロプレートのすべてのウェルにNRS-PBS 0.025mlを入れ、第1列目のウェルに被験血清0.025mlを加えダイリューター(Flow社)で2倍列希釈を行ったのち、先に

Table 1 PHA antibody formation to AT-2266 in rabbits

Immunogen	Animal No.	PHA titer at				
		3W*	4W	5W	6W	7W
AT-2266	1	<8	<8	<8	<8	<8
	2	<8	<8	<8	<8	<8
	3	<8	<8	<8	<8	<8
	4	<8	<8	<8	<8	<8
	Mean	<8	<8	<8	<8	<8
AT-2266-BSA	5	128	128	128	1024	1024
	6	128	128	128	512	512
	7	64	128	256	512	512
	8	128	256	512	512	512
	Mean	112	160	256	640	640

\*Week

調製した0.5%感作血球浮遊液0.025 mlをすべてのウェルに加えた。37°Cで1時間放置後、さらに室温で1晩放置し翌日凝集像を観察した。陽性凝集像を示す最高希釈倍数をPHA抗体価として表わした。

## 2) PCA 反応

IgG型ウサギおよびモルモット抗血清に関してはOvaryの方法<sup>9)</sup>に、また、IgE型マウス抗血清に関してはMotaらの方法<sup>9)</sup>に準じて行った。なお、各被験抗血清は滅菌生理食塩水であらかじめ8倍希釈してから2倍列希釈を行った。ウサギおよびモルモットの被験希釈血清0.1mlを前日剃毛しておいた正常モルモット背部皮内に

注射し、その3時間後にAT-2266あるいはAT-2266-OVA 2.5mgを含む0.5%エバンスブルー溶液1 mlを前肢静脈より惹起注射した。一方、マウスの被験血清はネプタールによる麻酔下で剃毛したラットの背部皮内に0.05 ml注射し、72時間後にAT-2266あるいはAT-2266-BSA 2.5 mgを含む0.5%エバンスブルー溶液1 mlを尾静脈より注射した。いずれの場合にも惹起注射の30分後に被験血清注射部位を観察し、色素斑の直径が5mm以上を示す血清の最高希釈倍数をその血清のPCA力価として表わした。

## 3) 即時型(能動)全身アナフィラキシー反応

最終免疫後8日目のモルモットに、5 mg/mlのAT-2266あるいはAT-2266-OVA溶液1 mlを前肢静脈より注射しアナフィラキシー反応を惹起した。注射直後よりアナフィラキシー反応によるショック症状の発現を2時間にわたり観察した。

## 4) 遅延型皮膚反応

最終免疫後8日目のモルモットの背部を剃毛し、10, 100, 1000 μg/mlのAT-2266あるいはAT-2266-OVAの各溶液0.1 mlを皮内注射した。注射24時間後に注射部位を観察し、以下の基準に従って反応の程度を判定した。

- : 肉眼的に変化なし

± : 極めて軽度またはまばらな紅斑

+ : 軽度の紅斑

++ : 中程度の紅斑

+++ : 強度の紅斑および腫脹を伴うもの

Table 2 PCA antibody formation to AT-2266 in rabbits

Immunogen	Animal No.	PCA titer at									
		3W**		4W		5W		6W		7W	
		H*	HC*	H	HC	H	HC	H	HC	H	HC
AT-2266	1	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8
	2	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8
	3	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8
	4	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8
	Mean	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8
AT-2266-BSA	5	<8	512	<8	1024	<8	2048	<8	2048	<8	2048
	6	<8	1024	<8	1024	<8	1024	<8	1024	<8	2048
	7	<8	1024	<8	1024	<8	1024	<8	2048	<8	2048
	8	<8	1024	<8	2048	<8	2048	<8	2048	<8	2048
	Mean	<8	896	<8	1280	<8	1536	<8	1792	<8	2048

\* Eliciting antigen: H, AT-2266; HC, AT-2266-OVA

\*\* Week

## II. 実験結果

### 1. ウサギにおける抗体産生

AT-2266の免疫原性を知るためにウサギにおけるIgG型抗体産生をみた。すなわち、初回免疫後3週目より7週目まで毎週採血して得た血清中のAT-2266ハプテンに対する抗体価をPHA反応およびモルモットにおけるPCA反応により調べた。

まず、PHA反応では、Table 1に示したように、AT-2266で免疫した群ではすべてのウサギがいずれの週においても8以下の抗体価を示し、AT-2266ハプテンに対する抗体産生は認められなかった。一方、陽性対照としたAT-2266-BSA免疫群では3週目より抗体産生が認められ、3, 4, 5, 6および7週目の平均抗体価はそれぞれ112, 160, 256, 640および640であった。つぎに、同じ血清について調べたPCA反応の結果は、Table 2に示したように、AT-2266免疫群では惹起抗原にAT-2266-OVAあるいはAT-2266のいずれを用いてもすべて8以下の抗体価を示し、PHA反応の場合と同様にAT-2266ハプテンに対する抗体産生は認められなかった。すなわち、AT-2266のみではFCAと共に免疫しても抗体はまったく産生されなかった。一方、AT-2266-BSA免疫群ではPHA抗体価よりやや高い抗体価が認められ、3, 4, 5, 6および7週目の平均PCA抗体価は、それぞれ896, 1280, 1536, 1792および2048となり、PHA抗体価の場合と同様に追加免疫と共に経日的に増加した。しかし、このような抗AT-2266抗体でも、惹起抗原がAT-2266単独の場合にはまったくPCA反応は惹起されなかった。すなわち、AT-2266にはPCA反応のようなアレルギーを誘発する能力はないと思われる。

### 2. モルモットにおける抗体産生

ウサギの場合と同様にAT-2266の免疫原性の有無をモルモットにおけるIgG型抗体産生で調べた。すなわち、5mgのAT-2266あるいは1mgのAT-2266-BSAをFCAと共に隔週に4回免疫したモルモットの最終免疫7日後の血中抗体価は、Table 3に示したように、陽性対照としたAT-2266-BSA免疫群では、6匹の平均PCA抗体価が1024、PHA抗体価が363であったが、AT-2266免疫群では両抗体価ともいずれの動物においても8以下であった。また、PCA反応において惹起抗原をAT-2266単独にした場合には、いずれのモルモット血清においてもPCA反応はまったく惹起されなかった。

### 3. モルモットにおける全身アナフィラキシー反応

AT-2266のアレルギー反応誘発能を知るために、能動的に感作したモルモットにおける即時型の全身アナフ

Table 3 Antibody formation to AT-2266 in guinea pigs

Immunogen	Animal No.	PCA titer to		PHA titer
		AT-2266	AT-2266-OVA	
AT-2266	1	<8	<8	<8
	2	<8	<8	<8
	3	<8	<8	<8
	4	<8	<8	<8
	5	<8	<8	<8
	6	<8	<8	<8
	Mean	<8	<8	<8
AT-2266-BSA	7	<8	1024	256
	8	<8	1024	256
	9	<8	1024	512
	10	<8	1024	128
	11	<8	1024	512
	12	<8	1024	512
	Mean	<8	1024	363

Table 4 Active systemic anaphylaxis to AT-2266 in guinea pigs

Immunogen	No. of animals	Eliciting antigen	
		AT-2266	AT-2266-OVA
AT-2266	20	0/10*	0/10
AT-2266-BSA	20	0/10	10/10 (All dead)

\* Number of animals: positive/total

ィラキシー反応を調べた。すなわち、5mgのAT-2266あるいは2mgのAT-2266-BSAをFCAと共に隔週4回免疫したモルモットに、最終免疫の8日後に、AT-2266あるいはAT-2266-OVAを静注しアナフィラキシー反応を惹起した。その結果、Table 4に示したように、AT-2266-BSAで免疫した抗体陽性群では、免疫時に用いた担体蛋白であるBSAとは免疫学的に交差反応しないOVAにAT-2266を結合させたAT-2266-OVAの静注により全例がアナフィラキシー・ショック死したが、AT-2266静注ではいずれの動物においてもまったくアナフィラキシー反応は惹起されなかった。一方、AT-2266免疫群ではAT-2266静注でも、AT-2266-OVA静注でもすべてアナフィラキシー反応陰性であった。以上の結果は、先のウサギおよびモルモットにおける抗体産生の場合と同様にAT-2266には免疫原性およびアナフィラキシー誘発原性共にないことを示唆している。

## 4. モルモットにおける遅延型皮膚反応

AT-2266 の細胞性免疫に関する抗原性を知るために、感作モルモットにおける遅延型皮膚反応を調べた。すなわち、5 mg の AT-2266 あるいは 1 mg の AT-2266-BSA を FCA と共に隔週 4 回免疫したモルモットに、最終免疫の 8 日後に、1, 10 および 100 $\mu$ g の AT-2266 および AT-2266-OVA を皮内注射し 24 時間後の皮膚反応をみた。その結果、Table 5 に示したように、惹起抗原として AT-2266 を注射した場合には、非免疫群および AT-2266 あるいは AT-2266-BSA 免疫群いずれにおいてもまったく皮膚反応は認められなかった。一方、AT-2266-OVA で惹起注射した場合、AT-2266-BSA

免疫群において 10 および 100 $\mu$ g 注射でそれぞれ 4 例および 6 例と、非免疫群の正常モルモットにおいて 100 $\mu$ g 注射で 1 例に、明瞭な紅斑が認められたが、AT-2266 免疫群では 1 例も認められなかった。なお、100 $\mu$ g 注射で正常モルモットにみられた紅斑はおそらく非特異的なものと思われる。以上の結果より、AT-2266 には遅延型の皮膚反応を惹起する能力はないものと思われる。

## 5. マウスにおける IgE 型抗体産生

AT-2266 の IgE 型抗体産生惹起能を 2 系統のマウスを用いて<sup>10)</sup>検討した。すなわち、OVA に高応答性の BALB/c マウスと低応答性の C<sub>3</sub>H/He マウスに 1 $\mu$ g の AT-2266 あるいは AT-2266-OVA を、IgE 型抗体産生

Table 5 Delayed-type skin reaction to AT-2266 in guinea pigs

Immunogen	No. of animals	Dose of eliciting antigen ( $\mu$ g/site)	Eliciting antigen							
			AT-2266				AT-2266-OVA			
			-	±	+	‡*	-	±	+	‡
None	2	1	2**	0	0	0	2	0	0	0
		10	2	0	0	0	2	0	0	0
		100	2	0	0	0	0	1	1	0
AT-2266	5	1	5	0	0	0	5	0	0	0
		10	5	0	0	0	4	1	0	0
		100	5	0	0	0	4	1	0	0
AT-2266-BSA	6	1	6	0	0	0	5	1	0	0
		10	6	0	0	0	0	2	4	0
		100	6	0	0	0	0	0	6	0

\* Grade of skin reaction 24 hr after elicitation:

-, no reaction; ±, trace; +, mild; ‡, moderate; ‡‡, intense

\*\* Number of animals

Table 6 IgE antibody formation to AT-2266 in mice

Immunogen	Strain	Eliciting antigen	No. of mice	PCA titer on		
				Day 7	Day 14	Day 21
AT-2266	BALB/c	AT-2266	6	<8	<8	<8
		AT-2266-BSA	6	<8	<8	<8
	C <sub>3</sub> H/He	AT-2266	6	<8	<8	<8
		AT-2266-BSA	6	<8	<8	<8
AT-2266-OVA	BALB/c	AT-2266	6	<8	<8	<8
		AT-2266-BSA	6	<8	13±4*	7±13
	C <sub>3</sub> H/He	AT-2266	6	<8	<8	<8
		AT-2266-BSA	6	<8	<8	<8

\* Mean ± SD

増強作用を有するアラムと共に投与し、7、14および21日目のAT-2266に対するIgE型抗体価をラットにおけるPCA反応によりみた。その結果、Table 6に示したように、BALB/cマウスのAT-2266-OVA免疫群において、14および21日目にそれぞれ13および7という低い平均抗体価が認められたのみで、それ以外はまったく抗体の産生は認められなかった。この結果からAT-2266のIgE型抗体産生惹起能はないものと思われる。

### III. 考 察

一般に、AT-2266のような低分子化合物はハプテンと呼ばれ、蛋白などの高分子物質と非可逆的に結合したハプテン-担体結合物の状態にしない限り、それ自身では免疫反応を惹起することはないと考えられている<sup>2)</sup>。また、高分子物質で抗原性があると判明しているものでも、経口投与された場合には抗体が産生され難いことはよく知られている事実である。しかし、臨床において低分子化合物である薬剤を経口投与したとき、時として種々のアレルギー反応による副作用が生じていることも事実である<sup>3-6)</sup>。それゆえ、AT-2266についてもアレルギー反応を惹起する可能性があるかどうかを知るために、ウサギ、モルモットおよびマウスを用いて抗原性試験を行った。ここでいう抗原性とは体液性抗体を産生させたり、細胞性免疫を成立させたりする能力すなわち、「免疫原性」と、このような免疫状態にある動物に種々のアレルギー反応を惹起する能力すなわち「誘発原性」とを意味する。

本実験において、免疫原性発現に関してはウサギおよびモルモットにおけるIgG型抗体産生とマウスにおけるIgE型抗体産生、さらにはモルモットにおける即時型のI型アレルギーおよび遅延型のIV型アレルギーを誘導する状態に得るかどうかにについて検討した。その結果、いずれの試験系においても、AT-2266単独で免疫した場合には、FCAやアラムなどの免疫補助剤と共に免疫してもまったく免疫原性の発現は認められなかった。陽性対照としたAT-2266-BSA結合物で免疫した場合には、確かに抗体も検出され動物も感作状態になっていることから判断すると、抗体検出系に問題はなく、もし抗体が産生されていれば確実に検出されているはずである。なお、抗体検出時の抗原として、免疫時に用いた担体蛋白とは免疫学的に交差反応しない蛋白を担体として用いているゆえ、検出された抗体はAT-2266ハプテンに特異的なものと考えられる。それゆえ、臨床使用時のようにアジュバントを使わずにAT-2266のみを投与する条件下では免疫原性が発現される可能性はほとんどないものと推察される。

一方、アレルギー誘発原性に関しては、モルモットにおける即時型の全身アナフィラキシー反応系において、AT-2266-BSAで十分に感作し抗体陽性となった個体にAT-2266を静注してもアナフィラキシー反応はまったく惹起されなかったことや、AT-2266の蛋白結合物で免疫して得たウサギおよびモルモットの主としてIgG型あるいはマウスのIgE型抗AT-2266抗体を用いて、それぞれモルモットあるいはラットでPCA反応をみた場合、AT-2266のみをチャレンジしてもまったくPCA反応が惹起されなかったことから考えると、AT-2266には誘発現性もないものと推察される。さらに、モルモットにおける遅延型皮膚反応系においても、AT-2266単独チャレンジではすべて陰性反応であり、この結果からも同様のことが類推される。

なお、構造類似の他薬剤との免疫学的交差反応性に関しては、本試験系においてAT-2266にまったく抗原性が認められなかったゆえ実施しなかった。この問題はハプテンのどの部位に担体蛋白を結合させるか、すなわち、ハプテンと担体との結合の仕方あるいは産生された抗ハプテン抗体の特異性の厳密性やavidityなどとも関連しかなり難しい問題である。しかし、CINXとNAとの間に免疫学的交差反応性があること<sup>11)</sup>や以前われわれがNA、PAおよびPPAのカルボキシル基に担体蛋白を結合させて作成した抗体を用いて検討した結果、各薬剤間にいずれも免疫学的交差性が認められたこと<sup>12)</sup>から類推すると、AT-2266についてもその基本骨格の構造上の類似性からおそらく同様の交差性があるものと思われる。したがって、このような構造類似の薬剤に何等かのアレルギー性副作用を示す患者には、AT-2266を慎重に投与することが必要であろう。

以上本試験成績を総合して考えると、ウサギ、モルモットおよびマウスの動物系においては、AT-2266の抗原性すなわち免疫原性および誘発原性はどちらも陰性であったと結論される。しかし、この結果がそのままヒトに適用され得るかどうかは断定できないが、おそらく通常の投与方法に準ずる限りAT-2266がアレルギー反応による重篤な副作用を多発するとは考え難いであろう。

試験期間：昭和56年9月～昭和56年12月  
昭和57年6月～昭和57年9月

### 文 献

- 1) 中村信一, 他: AT-2266の*in vitro*および*in vivo*抗菌作用. *Chemotherapy* 32(S-3): 70~85, 1984
- 2) LANDSTEINER, K.: *The Specificity of Serological Reactions*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1945
- 3) 厚生省医薬品副作用情報 No. 9, 1974

- 4) 厚生省医薬品副作用情報 No. 36, 1979
- 5) Pipemidic acid (PPA) 論文特集号。Chemotherapy 23(9) : 2771~3140, 1975
- 6) 熊沢浄一 : Cinoxacin の副作用—各種尿路感染症 906 例の検討。Chemotherapy 28(S-4) : 368~375, 1980
- 7) BING, D.H., J.G.M. WEYAND & A.B. STAVITSKY : Hemagglutination with aldehyde-fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124 : 1166~1170, 1967
- 8) OVARY, Z. : Immediate reactions in the skin of experimental animals provoked by antigen-antibody interaction. Progr. in Allergy 5 : 495~508, 1958
- 9) MOTA, I. & D. Wong : Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antisera during the course of immunization. Life Sciences 8(II) : 813~820, 1969
- 10) 萩田忠厚, 水島裕 : 薬物の抗原性—とくに IgE 型抗体産生検討のための動物モデルについて。医学のあゆみ 100 : 812~814, 1977
- 11) 長谷川隆司, 常盤知宜, 仲吉洋, 原田稔 : Cinoxacin の免疫学的研究。Chemotherapy 28 : 516~522, 1980
- 12) 未発表

## ANTIGENICITY STUDY OF AT-2266

YASUNOBU SOHMURA, YUKIHARU MATSUI and YOSHIYUKI TAKASE

Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd.

Antigenicity (immunogenicity and allergenicity) of AT-2266 was examined in rabbits, guinea pigs and mice. (1) Production of the antibody specific to AT-2266 hapten in rabbits and guinea pigs (mainly IgG type) or in mice (IgE type) was observed when animals were immunized with AT-2266 conjugated to bovine serum albumin (BSA) or ovalbumin (OVA), but was not observed when immunized with AT-2266. (2) PCA reaction could not be elicited by a challenge of AT-2266 in animals sensitized with both types of the antibody. (3) In guinea pigs immunized with AT-2266-BSA, both immediate type of systemic anaphylaxis and delayed type of skin reaction were elicited by a challenge of AT-2266-OVA, but could not be elicited by that of AT-2266.

From these results, it could be concluded that AT-2266 lacks the antigenicity as far as it is given in a form of free hapten.