

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) の抗原性について

織田 実・猪 好孝・藤田 允信・吉田 泰久・青山 卓夫

鳥居薬品株式会社研究所

能勢 尚志

鐘紡株式会社薬品研究所

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585, LAPC) の免疫学的性状を ABPC を対照にして検討した。

KBT-1585 および ABPC 溶液を complete FREUND'S adjuvant による乳化液としてウサギを免疫、あるいはこれらと keyhole limpet hemocyanin との結合体を水酸化アルミニウムゲルとともにマウスに免疫すると、特異的な抗体 (IgM, IgG, IgE 型) を産生した。

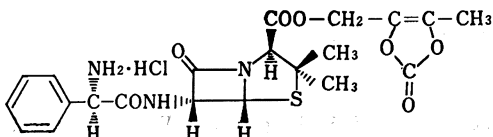
KBT-1585 によるこれらの抗体の産生は ABPC に比べ弱い傾向が認められた。さらに、両者の間には明らかな交叉性が認められた。

これらの事実より、KBT-1585 の抗原性は、ほとんどがその構造中に含まれる ABPC によってもたらされるものと考えられた。

(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl) methyl D- α -aminobenzylpenicillinate hydrochloride (Lenampicillin hydrochloride, KBT-1585) は鐘紡 (株) 薬品研究所で開発された Ampicillin (ABPC) のエステル誘導体であり、Fig. 1 に示すような構造式を有している。臨床的には経口投与により用いられ、吸収の過程で加水分解され、血液中では ABPC として存在する¹⁾。

Penicillin 系の抗生物質の抗体産生能についてはよく知られており^{2,3)}、臨床的にも薬物アレルギーの誘発が報告されているので、我々は、ABPC を比較対照薬に用い、KBT-1585 の抗原性について、モルモット、ウサギおよびマウスを用いて検討した。

Fig. 1 Chemical structure of KBT-1585



KBT-1585: (5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl) methyl D- α -aminobenzylpenicillinate hydrochloride
M. W.: 497.95

I. 実験材料および実験方法

1. 実験材料

(1) 被験物質

抗生物質としては、KBT-1585 (鐘紡), sodium ampicillin (ABPC, 明治製薬), potassium benzyl penicillin (PCG, 萬有製薬) を用いた。また、その他、用いた薬物は下記のとおりであった。すなわち、bovine gamma globulin (BGG, Fraction II, Sigma), bovine serum albumin (BSA, Fraction V, Sigma), keyhole limpet

hemocyanin (KLH Difco), complete FREUND'S adjuvant (CFA, Difco), sheep red blood cell (SRBC, ファルマシア)。

(2) 使用動物

雄性日本白色在来種ウサギ (体重 2.5~3.0kg, 高杉実験動物), 雄性 Hartley 系モルモット (体重 250~350g, 松本実験動物), 雄性 BALB/c マウス (体重 25~35g, 日本チャールス・リパー) および雄性 SD 系ラット (体重 200~250g, 日本チャールス・リパー) を用いた。

2. 実験方法

(1) 抗生物質・蛋白結合物の調製

BGG, BSA または KLH 500mg を 50ml の 0.07 M Veronal buffer (pH 8.5) に溶解し、被験抗生物質 2g を加えた。この溶液を 1N NaOH で pH 11 前後に保ちながら、37°C で 1hr 放置した。この液を 4°C, pH 8 に調製した 0.15M NaCl 液に対し、3日間透析し、内液を凍結乾燥した。結合モル数は LEVINE⁴⁾ による Penamaldate 法により測定して求めた。その結果、1モルの BGG, BSA および KLH に対し、KBT-1585 はそれぞれ、0.8, 28.8 および 1.5 モル、ABPC はそれぞれ、7.2, 67.2 および 13.1 モル結合していた。

(2) 免疫方法

1) モルモットの場合

1群 8~9 匹のモルモットを用いて下記のように免疫した。KBT-1585 129mg/ml (ABPC と等モル), ABPC 100mg/ml 生理食塩液溶液を調製し、各液と等容の CFA に混じて W/O 型エマルジョンとし、モルモットの左右臀部に 0.25ml ずつ計 0.5ml 投与し、初回免疫

とした。その後、1 wk に1回、計3回 KBT-1585 65 mg/ml, ABPC 50mg/ml の生理食塩液溶液 0.5ml を皮下投与し追加免疫を行ない、最終免疫より 10~14日目に実験に用いた。また、OA は10mg/ml の生理食塩液溶液を1wk に1回、計4回左右臀筋に0.25 ml ずつ計 0.5 ml 投与して免疫した。

2) ウサギの場合

1群5~8匹のウサギを下記のように免疫した。KB T-1585 204 mg/ml (ABPC と等モル) および ABPC 156mg/ml の生理食塩液溶液を調製し、各液1容と CF A 1.5 容を混じ、W/O 型エマルジョンを調製した。免疫は左右臀筋の4か所にエマルジョンを0.5ml ずつ計2ml を1wk に1回、計5~7回注射して行ない、最終免疫から10日後に採血し、血清を分離した。なお、血清は実験に使用するまで、 -20°C に保存した。

3) マウスの場合

1群10匹のマウスを用いて、下記のように免疫した。Al (OH)₃ ゲル3 mg を含む生理食塩液溶液 0.5ml に被験薬物 (KBT-1585 および ABPC をそれぞれ 0.1, 1, 10 および 100 μg) を溶解して抗原液とし、マウスの腹腔内に投与した。さらに、3 wk に1回、計3回追加免疫し、最終免疫から10日後に採血し、その血清を分離し各群ごとにプールして実験に使用するまで、 -20°C に保存した。また、KBT-1585・KLH および ABPC・KLH 結合物は蛋白量1 μg として、OA については1 μg を上記のように免疫した。

(3) 反応惹起

1) モルモットの場合

(i) 能動性全身アナフィラキシー (ASA) 反応: 1群3匹の感作モルモットを用い、対応する抗原を静脈内投与し、全身性アナフィラキシー反応の有無を観察した。抗原の投与量は KBT-1585 26 mg/ml/animal, ABPC 20 mg/ml/animal および KBT-1585・BGG, ABPC・BGG を蛋白量として 10mg/ml/animal とした。なお、OA の惹起抗原量は 3 mg/ml/animal とした。反応の観察は江田の方法⁵⁾ に従って行なった。

(ii) SCHULTZ-DALE 反応: 1群2~4匹の感作モルモットより摘出した回腸片を用いて行なった。回腸片を95% O₂-5% CO₂ 混合ガス通気下で、液温 $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の Tyrode 液槽 (10ml) に懸垂し、KBT-1585, ABPC および OA をそれぞれ 10^{-4} g/ml 適用して回腸片の反応を観察した。

2) ウサギの場合

(i) 赤血球凝集反応: Boyden らの方法⁶⁾ により、2%ホルマリン・タンニン酸処理羊赤血球、0.05M PBS (pH 7.4) 浮遊液にそれぞれ KBT-1585・BSA 5 mg/

ml, ABPC・BSA 5 mg/ml の溶液を等量加え、 37°C , 15 min incubate して羊赤血球を感作した。その後、 56°C , 30min 非働化した0.5% ウサギ血清-0.05M PBS (pH 7.4) で感作羊赤血球を3回洗浄し、同 buffer に感作血球を2%になるように浮遊させた。被験抗血清は同 buffer で2倍系列希釈し、マイクロタイター法により、反応2hr後に凝集価を測定した。

(ii) 4hr受動性アナフィラキシー (PCA) 反応: 1群3匹のモルモットの背部皮内に5倍希釈した抗被験薬ウサギ血清0.1mlを投与した。4hr後にKBT-1585 26mg/kg, ABPC 20 mg/kg および蛋白量として KBT-1585・BSA 20mg/kg, ABPC・BSA 20 mg/kg と Evans blue 30 mg/kg になるように調製した混合液を0.1 ml/100g 静脈内に投与して PCA 反応を惹起させた。30 min 後に皮内に出現する色素斑の径を測定し、以下の基準で観察、判定した。すなわち、-: 反応なし、±: $0 \sim 5 \times 5 \text{mm}^2$, +: $5 \times 5 \sim 10 \times 10 \text{mm}^2$, ++: $10 \times 10 \sim 15 \times 15 \text{mm}^2$, +++: $15 \times 15 \sim 20 \times 20 \text{mm}^2$ 。

3) マウスの場合

(i) 48hr PCA 反応: 1群3匹のラット背部皮内に抗 KBT-1585 および抗 ABPC マウス血清をそれぞれ3および15倍希釈して0.1 ml ずつ投与した。48hr後に KB T-1585 26 mg/kg, ABPC 20 mg/kg および蛋白量として KBT-1585・BSA 20 mg/kg および ABPC・BSA 20 mg/kg と Evans blue 30 mg/kg になるように調製した混合液を0.1 ml/100g 静脈内投与し、30 min 後に皮内に出現する色素斑を観察した。

また、抗ABPC・KLH および抗 KBT-1585・KLH マウス血清については、3および15倍希釈液をラット皮内に0.1ml ずつ投与して上記と同様に PCA 反応を惹起させた。なお、OA の反応惹起量は 25 mg/kg とした。

4) ハプテン阻止反応

(i) 赤血球凝集ハプテン阻止反応: Ley らの方法⁷⁾ により抗生物質の感作血球を作製した。すなわち、ABPC 120mg を含む Alserver 溶液4 ml に等容のウサギ血球を加え、 37°C , 2hr incubate した。その後、生理食塩液にて2回洗浄し、この感作血球を生理食塩液に2%の割合で浮遊させ抗原とした。

被験抗生物質 (ハプテン) を 20 mM になるように生理食塩液に溶解し、0.05ml ずつの2倍希釈液を作った。その各々に4単位の抗血清0.05mlを加え、 37°C , 2hr incubate した。その後、感作血球浮遊液を0.05ml 加え、 4°C で一夜静置した。これを鏡検して凝集の有無を観察し、凝集反応を100% 阻止するのに必要な最小ハプテン量を求めた。

Table 1 Active systemic anaphylaxis reaction by KBT-1585 in guinea pigs

Sensitizing antigen	Challenging antigen	Animal No.	Symptom												Overall evaluation
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
KBT-1585	KBT-1585	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	KBT-1585·BGG	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ABPC	ABPC	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ABPC·BGG	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
OA	OA	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	卅	
		2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	卅	
		3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	卅	

Symptom: A; licking nose, rubbing nose, B; ruffling fur, C; weakness, diminished tone, D; labored breathing, E; sneezing, coughing, F; retching, G; rales, H; evacuation of feces, I; micturition, J; convulsion, K; prostration, L; death

Criteria of overall evaluation in as follows: -, no symptom, +; +(1-3), 卅; +(4-7), 卅卅; +(more than 8) or death

(ii) 定量沈降ハプテン阻止反応: 予め, 本反応に用いる当量域の抗原量を定量沈降反応によって求めた。抗血清 0.5ml と 0.05M PBS (pH 7.8) に溶解した抗原の2倍系列希釈液の各 0.5ml を混和し, 37°C, 1hr incubate し, さらに 4°C で 24hr 静置した。これを 3,000 r. p. m. 20 min 遠心し, 沈降物を氷冷した PBS で2回遠心洗浄し, 沈降蛋白量を FOLIN-LOWRY 法⁸⁾ で測定し抗原量を求めた。

定量沈降ハプテン阻止反応では, 被験抗生物質を最終濃度 30 mM になるように PBS に溶解し, 0.1 ml ずつの3倍系列希釈液を作り 0.5ml の抗血清を加え, 37°C, 1hr incubate した。これに先に求めた量の抗原を加え, 37°C, 1hr incubate し, さらに, 4°C, 24hr 静置した。その後, 上記の操作で沈降蛋白量を測定し, 沈降反応を50% 阻止するハプテン量 (mM) を求めた。

II. 実験結果

1. モルモットの場合

(1) ASA 反応

KBT-1585 および ABPC で免疫したモルモットに対し, KBT-1585, ABPC, KBT-1585·BGG および ABPC·BGG は何らアナフィラキシー様作用を示さなかった。一方, OA は OA 免疫モルモットの全例にアナフ

ィラキシー様作用を示し, 死亡させた (Table 1)。

(2) SCHULTZ-DALE 反応

KBT-1585 および ABPC は KBT-1585 および ABPC で免疫したモルモットの摘出回腸片に対し, 何ら作用を示さなかった。一方, OA は OA で免疫したモルモット回腸を収縮させた (Fig. 2)。

Fig. 2 SCHULTZ-DALE reaction in ileum isolated from guinea pig treated with OA, ABPC and KBT-1585

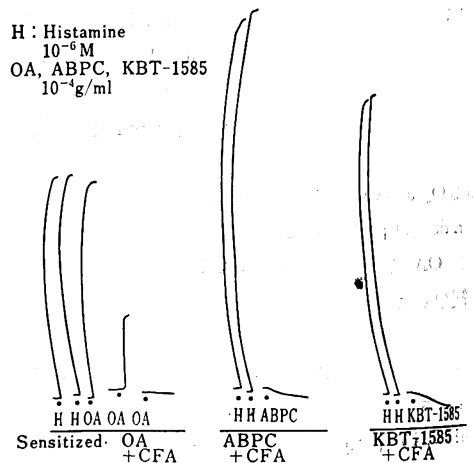


Table 2 Passive hemagglutination by KBT-1585 and ABPC-coated SRBC

Sensitizing antigen	Antiserum dilution	Coated SRBC No. of positive / No. of antisera	
		KBT-1585·BSA	ABPC·BSA
KBT-1585	× 4	8/8	8/8
	8	7/8	8/8
	16	4/8	5/8
	32	3/8	5/8
	64	2/8	5/8
	128	1/8	5/8
	256	0/8	2/8
	512	0/8	0/8
	ABPC	× 4	5/5
8		5/5	5/5
16		4/5	3/5
32		3/5	3/5
64		3/5	3/5
128		3/5	3/5
256		1/5	1/5
512		0/5	1/5
1,024		0/5	0/5

2. ウサギの場合

(1) 赤血球凝集反応

KBT-1585・BSA 感作血球に対し、抗 KBT-1585 および抗 ABPC ウサギ血清はいずれも凝集反応を示した。すなわち、抗 KBT-1585 血清は 4 倍希釈液で 8 例全例が、128 倍で 8 例中 1 例が陽性であった。また、抗 ABPC 血清は 4 および 8 倍希釈液で 5 例全例が、256 倍で 5 例中 1 例が陽性であった。一方、ABPC・BSA 感作血球に対しても両者の抗血清はいずれも凝集反応を示した。すなわち、抗 KBT-1585 血清は 4 および 8 倍で 8 例全例が、256 倍で 8 例中 2 例が陽性であった。抗 ABPC 血清は 4 および 8 倍で 5 例全例が、512 倍で 5 例中 1 例が陽性を示した (Table 2)。

(2) 4hr PCA 反応

抗 KBT-1585 および抗 ABPC ウサギ血清によるモット の 4hr PCA 反応において、KBT-1585 および ABPC を惹起抗原に用いた場合、反応は陰性であった。また、抗 KBT-1585 血清に対し、KBT-1585・BSA および ABPC・BSA を惹起抗原に用いた場合、それぞ

れ、8 例中 2 例が陽性を示した。一方、抗 ABPC 血清に対し、KBT-1585・BSA では 5 例中 4 例が PCA 反応陽性を示し、ABPC・BSA では 5 例全例が陽性を示した (Table 4)。

3. マウスの場合

(1) 48hr PCA 反応

KBT-1585, ABPC およびそれぞれの BSA 結合物は、抗 KBT-1585 および抗 ABPC マウス血清に対する reaginic な PCA 反応を惹起せしめなかった。しかし、抗 KBT-1585・KLH マウス血清の 3 倍希釈液に対して KBT-1585・BSA は痕跡程度の陽性反応を示し、ABPC・BSA は明らかな反応を惹起せしめたが、15 倍希釈液ではそれぞれ陰性であった。また、抗 ABPC・KLH マウス血清に対しては 3 および 15 倍希釈液において、KBT-1585・BSA および ABPC・BSA は明らかな陽性の反応を示した。一方、OA は 486 倍希釈液の抗 OA 血清に対し明らかな PCA 反応を惹起させた (Table 4)。

4. ハブテン阻止反応

(1) 赤血球凝集ハブテン阻止反応

Table 3 Antigenicity test of KBT-1585 by 4hr PCA in rabbit to guinea pig system

Sensitizing antigen*	Challenging antigen			
	KBT-1585	ABPC	KBT-1585·BSA	ABPC·BSA
KBT-1585 No. 1	—	—	—	—
	—	—	—	—
	—	—	—	—
	—	—	‡	‡
	—	—	—	—
	—	—	‡	‡‡
	—	—	—	—
	—	—	—	—
ABPC No. 1	—	—	‡	‡‡
	—	—	‡	‡‡
	—	—	‡	‡‡
	—	—	‡	‡‡
	—	—	—	+

—: 0×0, ±: 5×5, +: 10×10, ‡: 15×15, ‡‡: 20×20mm²

*: Antiserum dilution × 5

Table 4 Antigenicity test of KBT-1585 by 48hr PCA in mouse to rat system

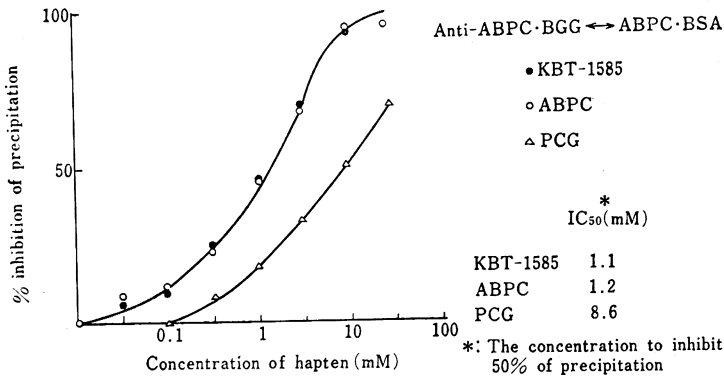
Sensitizing antigen	Dose (μg/mouse, i.p.)	Antiserum dilution	Challenging antigen				
			KBT-1585	ABPC	KBT-1585·BSA	ABPC·BSA	OA
KBT-1585	0.1	× 3	—	—	—	—	
	1	3	—	—	—	—	
	10	3	—	—	—	—	
	100	3	—	—	—	—	
ABPC	0.1	× 3	—	—	—	—	
	1	3	—	—	—	—	
	10	3	—	—	—	—	
	100	3	—	—	—	—	
KBT-1585·KLH	1	× 3	—	—	±	+	
		15	—	—	—	—	
ABPC·KLH	1	× 3	—	—	‡	‡‡	
		15	—	—	‡	‡‡	
OA	1	×486					‡‡‡

Table 5 Hapten inhibition test by passive hemagglutination

Hapten*	KBT-1585	ABPC	PCG
Ag-Ab system			
ABPC treated cells-Anti KBT-1585 serum	0.16	0.12	1.25
ABPC treated cells-Anti ABPC serum	0.94	0.08	1.25

* mM to inhibit 100% of passive hemagglutination

Fig. 3 Hapten inhibition on precipitation with penicillin derivatives



KBT-1585 はウサギ血球との混合で凝血および溶血をおこし、KBT-1585 感作血球の調製は不可能であった。そこで、下記のように ABPC 感作赤血球を用いて実験を行なった。

ABPC 感作赤血球に対する抗 KBT-1585 ウサギ血清の反応系で KBT-1585 および ABPC は、それぞれ 0.16 および 0.12mM とほぼ同程度の阻止活性を示した。しかし、抗 ABPC ウサギ血清の反応系においては KBT-1585 および ABPC はそれぞれ 0.94 および 0.08 mM の阻止活性を示した。また、PCG はそれぞれの抗血清の反応系において、1.25mM で阻止活性を示し、KBT-1585 および ABPC の阻止濃度より高濃度であった (Table 5)。

(2) 定量沈降ハプテン阻止作用

抗 ABPC・BGG ウサギ血清と ABPC・BSA の抗原抗体反応系において、沈降反応を 50% 阻止する濃度は KBT-1585 が 1.1, ABPC が 1.2mM とほぼ等しく、PCG では 8.6mM と高濃度であった (Fig. 3)。

III. 考 察

KBT-1585 は ABPC の経口吸収の改善と副作用の軽減を目的として開発された ABPC の dioxolene 誘導体である。ABPC は β -ラクタム環を有し、penicilloyl-

protein 結合物を形成し、抗体の産生を促すことが知られている^{2,3)}。我々は KBT-1585 の抗原性についてモルモットおよびウサギを用いて IgM, IgG さらに、マウスを用いて IgE 抗体産生を指標にして検討した。

モルモットにおける能動性全身アナフィラキシーおよび SCHULTZ-DALE 反応において KBT-1585 と ABPC は反応を惹起しなかった。ウサギにおいて KBT-1585 は ABPC と同様明らかな抗体産生を示した。すなわち、抗 KBT-1585 ウサギ血清あるいは抗 ABPC ウサギ血清を用いて行なった赤血球凝集反応において抗 KBT-1585 ウサギ血清は KBT-1585・BSA に対し陽性の反応を示すとともに、ABPC・BSA に対しても陽性の反応を示した。抗 ABPC ウサギ血清も同様に KBT-1585・BSA との間に交叉性を示したが、その凝集価は抗 KBT-1585 ウサギ血清よりやや高かった。同じ血清を用いて行なったモルモットでの 4hr PCA 反応においても赤血球凝集反応とほぼ同様な結果が得られ、陽性例の発現頻度および反応の強さの点で抗 KBT-1585 血清は抗 ABPC 血清に比べ、やや弱い傾向にあった。

マウス-ラット系での 48hr PCA 反応においては KBT-1585 あるいは ABPC で免疫したマウスの血清はいずれも陰性であった。しかし、KBT-1585・KLH あ

るいは ABPC・KLH で免疫したマウスの血清はいずれも KBT-1585・BSA および ABPC・BSA に対して PCA 反応陽性であり, IgE 抗体の産生が示されるとともに KBT-1585 と ABPC の間の交叉性も明らかとなった。

さらに, 交叉性を確認するために行なった赤血球凝集ハプテン阻止反応および定量沈降ハプテン阻止反応においては, 抗 KBT-1585 および 抗 ABPC ウサギ血清のいずれの反応系に対しても KBT-1585 および ABPC は明らかな阻止活性を示し, PCG に比べ, より強い交叉性を有していると思われた。

以上の結果から, KBT-1585 はウサギに筋肉内投与した場合, 抗原性を有すること, マウスにおいては KLH との結合物を腹腔内投与した場合に抗体を産生させること, これらの抗原性は ABPC に比べやや弱いこと, および ABPC との間に交叉性を有することなどが明らかとなったが, KBT-1585 の抗原性のほとんどがその構造中に含まれる ABPC によってもたらされるものであると考察される。

今回の実験で, KBT-1585 の抗原性が ABPC に比べ弱い傾向が認められたが, これは免疫あるいは惹起のために用いた蛋白結合物中の KBT-1585 の結合モル数が ABPC に比べ, 少なかったためと考えられる。

文 献

1) 栗田則男, 植村佳孝, 外村幹雄, 青山卓夫: Le-

nampicillin hydrochloride のラットおよびイヌにおける吸収, 分布および排泄. *Chemotherapy* 投稿中

- 2) KOIZUMI, K.; S. SUZUKI, S. FUKUDA, K. TADOKORO, K. HIRAI & M. MURANAKA: Antigenicity of semisynthetic penicillin preparations to evoke systemic anaphylactic reaction in animal model *Allergy* 35: 657~664, 1980
- 3) BRANDRISS, M. W.: Common antigenic determinants of penicillin G, cephalothin and 6-aminopenicillanic acid in rabbit. *J. Immunol.* 94: 690~704, 1965
- 4) LEVINE, B. B.: N (α -D-penicilloyl) amines as univalent hapten inhibitors of antibody-dependent allergic reactions to penicillin, *J. Med. Pharm. Chem.* 5: 1025~1034, 1962
- 5) 江田昭英: 薬物アレルギー試験“薬効の評価(2)”181, 地人書院, 東京, 1973
- 6) BOYDEN, S. V.: The absorption of proteins on erythrocyte treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by anti-protein sera, *J. Exptl. Med.* 93 (2): 107~120, 1951
- 7) LEY, A. B.: J. P. HARRIS M. BRINKLEY, B. LILES & J. A. JACK: Circulating antibody directed against penicillin, *Science* 127: 118~119, 1958
- 8) LOWRY, O. H.; N. J. ROSENBOUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL: Protein measurement with the Folin-phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193: 265~275, 1951

ANTIGENICITY TESTS OF LENAMPICILLIN HYDROCHLORIDE (KBT-1585)

MINORU ODA, YOSHITAKA INO, MITSUNOBU FUJITA,
YASUHISA YOSHIDA and TAKUO AOYAMA
Research Laboratories, Torii & Co., Ltd.
TAKASHI NOSE
Pharmaceuticals Research Center, Kanebo, Ltd.

The immunological properties of Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) were compared with ABPC. Rabbits were immunized by each KBT-1585 and ABPC with complete Freund's adjuvant, mice by each KBT-1585- and ABPC-keyhole limpet hemocyanin conjugate with Al(OH)₃ gel, specific antibodies (IgM, IgG and IgE) were found in sera. Antibody-producing activity of KBT-1585 was slightly weaker than that of ABPC, and KBT-1585 had cross-reactivity with ABPC.

From these results, it is suggested that antigenicity of KBT-1585 is attributed to ABPC moiety in its molecule.