

Tetrazole 基を有する cephem 系抗生物質の disulfiram-like reaction について

—特に肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性の検討—

中畑 久・平井 裕一・熊坂 義裕・宮沢 正
中村 光男・今村 憲市・牧野 勲・武部 和夫
弘前大学第三内科

(昭和 60 年 6 月 17 日受付)

分子構造上 tetrazole 基を有する cephem 系抗生物質の disulfiram-like reaction の発現機序を解明するため、ラットに抗生物質を 3 日間投与、翌日絶食にて 20% ethanol (2 g/kg) を胃内投与し、経時的に血中 ethanol, acetaldehyde 両濃度を、また肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性を測定した。500 mg/kg 投与では、tetrazole 基を有する Latamoxef, Cefoperazone 投与群で血中 acetaldehyde 濃度の著明な上昇が認められ、同時に測定した肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性は有意に抑制され、その程度は acetaldehyde 酸化の主酵素である Enzyme 1 型に著明であった。一方 tetrazole 基を有しない Cefprozime には、disulfiram-like reaction を認めなかった。また 50 mg/kg 投与でも 500 mg/kg 投与に比べ軽度ではあるが、Latamoxef, Cefoperazone と同様の傾向にあった。以上のことより tetrazole 基を有する抗生物質の disulfiram-like reaction の発現は、肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性の抑制、特に Enzyme 1 型の抑制に起因することが実証された。

Cefoperazone (CPZ), Latamoxef (LMOX) など分子構造上 tetrazole 基を有する cephem 系抗生物質の臨床使用にともない、アルコールとの相互作用としての disulfiram-like reaction が注目されている¹⁻⁷⁾。本副作用は血中 ethanol の酸化には影響がないものの血中 acetaldehyde 濃度を選択的に上昇させることが原因と理解されている。また本現象の発現機序は、disulfiram (Antabuse®) と同様に肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性を阻害し血中 acetaldehyde 濃度の異常上昇を引き起こすものと推論されているが、肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性を実測した報告は、意外にも少ない。

今回ラットに CPZ, LMOX を投与後、ethanol 負荷を行ない、血中 ethanol および acetaldehyde 濃度に加えて肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性を測定し、両抗生物質による disulfiram-like reaction の発現機序を一層明確にすることを目的として、検討を加えた。

I. 対象および方法

ラットは、ウイスター系雄 (320 g) を用い、抗生物質は、tetrazole 基を有する CPZ, LMOX と tetrazole 基を有しない Cefprozime (CZX) を用いた。ラットは対照群, LMOX 群, CPZ 群, CZX 群の 4 群に大別した。実験操作は、LMOX, CPZ を各々 50 mg/kg, 500 mg/

kg, CZX は 500 mg/kg を 3 日間連続腹腔内投与し、翌日絶食にて、20% ethanol (2 g/kg) をゾンデにて胃内投与した。また対照群には抗生物質の代りに同量の生理食塩水を与え、上記と同様に ethanol を投与した。血液試料は、ethanol 負荷後 1, 2, 4 時間目に尾静脈より採血し、血中 ethanol 濃度は COOPER らの方法⁹⁾ (内部標準として *n*-propanol) にて、血中 acetaldehyde 濃度は、ERIKSSON らの方法¹⁰⁾ (内部標準として *n*-propanol) に従い迅速に、gas chromatography にて測定した。また肝組織は、採血後断頭脱血し、開腹にて一部採取し、-70°C にて凍結し、後日肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性を測定した。その測定手順は、肝 1 g に 0.25 M Sucrose-5 mM Tris HCl-0.5 mM EDTA (Ph 7.2 Sucrose medium) 4 ml を加え、800 rpm, 2 分間 homogenize し、次いでこれを二重にした晒にて濾過した後、Sucrose medium にて 10 ml に調整したものを試料として、TOTTMAR らの方法¹¹⁾ により Enzyme 1, 2 型の活性を測定した。また肝タンパクは LOWRY 法にて定量した。

II. 結 果

1. 血中 ethanol 濃度

対照群, CZX 群 (500 mg/kg), LMOX 群 (50 mg/

Table 1 Changes of blood ethanol levels during oral ethanol loading test(2 g/kg) in rats, after the treatment of each antibiotics for 3 days

Groups	Sampling time (hours)		
	1	2	4
500mg/kg			
CPZ (N=5)	148.0±29.8	192.0±33.7	138.3±28.5
LMOX (N=5)	208.5±66.9	211.0±48.0	151.5±81.7
CZX (N=5)	152.5±51.3	136.4±63.8	83.7±50.9
50mg/kg			
CPZ (N=5)	175.0±79.1	172.7±76.9	98.2±58.0
LMOX (N=5)	240.3±56.2	228.0±42.2*	165.9±56.4
Control (N=5)	188.9±30.2	167.1±26.7	115.2±12.7

(Mean±S.D., mg/dl)

*P<0.05(significantly different from control)

Table 2 Changes of blood acetaldehyde levels during oral ethanol loading test(2 g/kg) in rats, after the treatment of each antibiotics for 3 days

Groups	Sampling time (hours)		
	1	2	4
500mg/kg			
CPZ (N=5)	2.41±0.74*	2.77±0.61*	1.57±0.84 ^d
LMOX (N=5)	1.68±0.53*	1.75±0.67 ^b	1.43±0.63 ^b
CZX (N=5)	0.53±0.27	0.57±0.28	0.31±0.09
50mg/kg			
CPZ (N=5)	0.65±0.09 ^d	0.74±0.38	0.46±0.19
LMOX (N=5)	0.82±0.19 ^b	0.87±0.23 ^c	0.67±0.19 ^d
Control (N=5)	0.31±0.26	0.47±0.19	0.40±0.12

(Mean±S.D., μg/ml)

*P<0.001, ^bP<0.01, ^cP<0.02, ^dP<0.05(significantly different from control)

kg, 500 mg/kg), CPZ 群 (50 mg/kg, 500 mg/kg) に ethanol を負荷した後の血中 ethanol 濃度を Table 1 に示した。500 mg/kg 投与群の場合、対照群では血中 ethanol 濃度が、1 時間値 188.9±30.2 mg/dl (Mean±S.D.), 2 時間値 167.1±26.7 mg/dl, 4 時間値 115.2±12.7 mg/dl であるのに比べ、CZX 群では各々 152.5±51.3 mg/dl, 136.4±63.8 mg/dl, 83.7±50.9 mg/dl, LMOX 群では、各々 208.5±66.9 mg/dl, 211.0±48.0 mg/dl, 151.5±81.7 mg/dl, CPZ 群では、各々 148.0±29.8 mg/dl, 192.0±33.7 mg/dl, 138.3±28.5 mg/dl と各時間において有意差は認めなかった。次に抗生物質 50 mg/kg 投与の場合でも対照群に比べ、LMOX 群では、1 時間値 240.3±56.2 mg/dl, 2 時間値 228.0±42.2 mg/dl, 4 時間値 165.9±56.4 mg/dl と 2 時間値のみ有意な上昇 (P<0.05) を認めたものの他の時間では、有意差は認めなかった。CPZ 群では、各々 175.0±79.1 mg/dl, 172.7±76.9 mg/dl, 98.2±58.0 mg/dl と各時間

で有意差は認められなかった。

2. 血中 acetaldehyde 濃度

対照群, CZX 群, LMOX 群, CPZ 群における ethanol を負荷した後の血中 acetaldehyde 濃度を Table 2 に示した。抗生物質 500 mg/kg 投与群の場合、対照群で血中 acetaldehyde 濃度が、1 時間値 0.31±0.26 μg/ml, 2 時間値 0.47±0.19 μg/ml, 4 時間値 0.40±0.12 μg/ml であるのに比べ、CZX 群では、各々 0.53±0.27 μg/ml, 0.57±0.28 μg/ml, 0.31±0.09 μg/ml と両群間に各時間で有意差は認めなかった。一方 LMOX 群では各々 1.68±0.53 μg/ml, 1.75±0.67 μg/ml, 1.43±0.63 μg/ml, また CPZ 群でも各々 2.41±0.74 μg/ml, 2.77±0.61 μg/ml, 1.57±0.84 μg/ml と対照群に比べ、各時間で 3~8 倍の有意な上昇 (LMOX 群: 1 時間値 P<0.001, 2, 4 時間値 P<0.01, CPZ 群: 1, 2 時間値 P<0.001, 4 時間値 P<0.05) を認めた。次に抗生物質 50 mg/kg 投与群の場合でも、LMOX 群では、1 時間値 0.82±

Table 3 Specific activity of rat liver acetaldehyde dehydrogenase

Groups	Aldehyde dehydrogenase	
	Enzyme 1	Enzyme 2
500mg/kg		
CPZ (N=5)	3.6±0.3 ^a	14.1±0.5 ^b
LMOX (N=5)	3.1±1.0 ^a	11.2±1.9 ^a
50mg/kg		
CPZ (N=5)	5.7±2.5 ^a	11.9±1.8 ^b
LMOX (N=5)	4.6±2.5 ^b	10.9±1.8 ^a
Control (N=5)	9.1±0.5	15.5±0.7

(Mean±S.D., Specific activity is n mol NADH formed/min./mg protein)

^aP<0.001, ^bP<0.01, ^cP<0.02(significantly different from control)

0.19 µg/ml, 2時間値 0.87±0.23 µg/ml, 4時間値 0.67±0.19 µg/ml と各時間で 1.5~2.5 倍の有意な上昇 (1時間値 P<0.01, 2時間値 P<0.02, 4時間値 P<0.05) を認めた。また CPZ 群では, 各々 0.65±0.09 µg/ml, 0.74±0.38 µg/ml, 0.46±0.09 µg/ml と 1時間値で有意な上昇 (P<0.05) を認めた。

3. 肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性

対照群, LMOX 群, CPZ 群の肝 acetaldehyde dehydrogenase Enzyme 1, 2 型の活性値を Table 3 に示した。抗生物質 500 mg/kg 投与群の場合, acetaldehyde 代謝の主酵素である Enzyme 1 型活性値 (Mean±S. D., n mol NADH formed/min./mg protein) は, 対照群で 9.1±0.5 であるのに比べ, LMOX 群 3.1±1.0 (対照群に比べ 64% 減, 以下同様), CPZ 群 3.6±0.3 (60% 減) と著明な低下 (LMOX 群: P<0.001, CPZ 群: P<0.001) を認め, Enzyme 2 型活性値 (Mean±S. D., n mol NADH formed/min./mg protein) も対照群 15.5±0.7 であるのに比べ, LMOX 群 11.2±1.9% (28% 減), CPZ 群 14.1±0.5 (9% 減) と有意な低下 (LMOX 群: P<0.001, CPZ 群: P<0.01) を認めた。

次に抗生物質 50 mg/kg 投与群の場合でも, Enzyme 1 型活性値は対照群に比べ, LMOX 群 4.6±2.5 (50% 減), CPZ 群 5.7±2.5 (37% 減) と有意な低下 (LMOX 群: P<0.01, CPZ 群: P<0.02) を認め, Enzyme 2 型活性値も, LMOX 群 10.9±1.8 (30% 減), CPZ 群 11.9±1.8 (23% 減) と有意な低下 (LMOX 群: P<0.001, CPZ 群: P<0.01) を認めた。

III. 考 案

disulfiram は嫌酒薬としてアルコール中毒患者の治療

薬に使用され, その作用機序は, 肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性の選択的抑制により, 血中 acetaldehyde 濃度が上昇して中毒症状を呈するが, 最近分子構造上 methyltetrazoethiol を有する cephem 系抗生物質も投与後飲酒すると, 悪心, 嘔吐, 発汗などの中毒症状を来し, disulfiram-like reaction を有することが報告されている。Foster ら⁸⁾は, CPZ, LMOX による disulfiram-like reaction に関し disulfiram と同様な作用機序によると推論しているが, これら薬剤投与時の肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性を実際に測定した報告はこれまで乏しい。

今回ラットにおける LMOX, CPZ 投与後の ethanol 負荷実験で, 血中 ethanol 濃度は, 対照群と薬剤投与群で差がないものの, 血中 acetaldehyde 濃度は, LMOX, CPZ 500 mg/kg 投与時に対照群の 3~8 倍に上昇し, 一方 methyltetrazoethiol を有しない CZX 投与時には, 対照群と有意差がないことを観察したが, これらの成績は柳原¹²⁾, BUEHNING¹³⁾ らの報告に合致するものであった。また血中での変化を裏づけるために同時に測定した肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性値は, LMOX, CPZ の 500 mg/kg 投与群で有意に低下し, その程度は ethanol 負荷時 acetaldehyde 代謝の主酵素である Enzyme 1 型 (LMOX 64% 減, CPZ 60% 減) に著明であった。また血中 acetaldehyde 濃度の上昇と肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性低下は, 50 mg/kg 投与群でも 500 mg/kg 投与群に比べ軽度 (血中 acetaldehyde 濃度: LMOX 1.5~2.5 倍, CPZ 1.1~2 倍, 肝 acetaldehyde dehydrogenase Enzyme 1 型活性値: LMOX 50% 減, CPZ 37% 減) ではあるが認められ, 薬物投与量にある程度依存することが確認された。一方これら薬剤の disulfiram-like reaction の発現機序は, 主に, TOTTMAR ら¹¹⁾のいうラット肝細胞 mitochondria 内に存在する Low K_m 値の Enzyme 1 型活性の抑制にあり, von WARTBURG ら¹⁴⁾の報告している disulfiram の作用機序と同一であることも確認された。

また最近山中ら¹⁵⁾が, これら抗生物質による肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性の抑制に関して報告しているが, 抗生物質 1,000 mg/kg という薬理学的投与量での検討であり, 今回の結果は, disulfiram-like reaction が, LMOX, CPZ の投与によりある程度用量依存性に肝 acetaldehyde dehydrogenase 活性特に Enzyme 1 型活性を抑制するのに起因すること, および 50 mg/kg という臨床常用量でも起こりうることを, 初めて明確に実証するものであった。

文 献

- 1) REEVES, D. S. & A. J. DABIES: Antabuse effect with cephalosporins. *Lancet* 2: 540, 1980
- 2) PORTIER, H.; J. M. CHALOPIN, M. FREYSZ, et al.: Interaction between cephalosporins and alcohol. *Lancet* 2: 263, 1980
- 3) NEU, H. C. & A. S. PRINCE: Interaction between moxalactam and alcohol. *Lancet* 1: 1422, 1980
- 4) MCMAHON, F. G.: Disulfiram-like reaction to a cephalosporine. *JAMA* 243: 2397, 1980
- 5) KEMMERICH, B. & H. LODE: Another cephalosporin associated with a disulfiram type alcohol incompatibility. *Infection* 9: 110, 1981
- 6) ELENBAAS, R. M.; J. L. RYAN, W. A. ROBINSON, et al.: On the disulfiram-like activity of moxalactam. *Clin. Pharmacol. Ther.* 32: 347~355, 1983
- 7) BROWN, K. R.; B. J. GUGLIEMO, V. G. PONS, et al.: Theophylline elixir, moxalactam, and a disulfiram reaction. *Ann. Intern. Med.* 97: 621~622, 1982
- 8) FOSTER, T. S.; C. L. RAEHL & H. D. WILSON: Disulfiram-like reaction associated with a parenteral cephalosporins. *An. J. Hosp. Pharm.* 37: 858~859, 1980
- 9) COOPER, J. D. H.: Determination of blood ethanol by gas chromatography. *Clin. Chim. Acta.* 33: 483~485, 1971
- 10) ERIKSSON, C. J. P.; H. W. SIPPLE & O. A. FORSANDER: The determination of acetaldehyde in biological samples by head-space gas chromatography. *Anal. Biochem.* 80: 116-124, 1977
- 11) TOTTMAR, S. O. C.; H. PETTERSON & K. H. KIESLING: The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenases in rat liver. *Biochem. J.* 135: 577~586, 1973
- 12) 柳原雅良, 岡田謙司, 野崎正勝, 他: Cephem系抗生物質のアルコール代謝系におよぼす影響(第1報)—Cephem系抗生物質静注時における Disulfiram-like reaction—. *日薬理誌* 79: 551~560, 1982
- 13) BUENING, M. K.; J. S. WOLD, K. S. ISRAEL, et al.: Disulfiram-like reaction to β -lactams. *JAMA* 245: 2027~2028, 1981
- 14) VON WARTBURG, J. P. & R. BUHLER: Biology of Disease. Alcoholism and Aldehydism: New Biomedical Concepts. Laboratory Investigation. Vol. 50, No. 1: 5~15, 1984
- 15) YAMAMOTO, Y.; T. YAMAMOTO & T. EGASHIRA: Effect of cephem antibiotics on rat liver aldehyde dehydrogenases. *Japan. J. Pharmacol.* Vol. 33: 717~723, 1983

DISULFIRAM-LIKE REACTIONS RESULTING FROM ADMINISTRATION OF CEPHEMS WITH METHYLTETRAZOLETHIOL

—AN ANALYSIS OF LIVER ACETALDEHYDE DEHYDROGENASE ACTIVITY—

HISASHI NAKAHATA, YUICHI HIRAI, YOSHIHIRO KUMASAKA,
TADASHI MIYAZAWA, TERUO NAKAMURA, KENICHI IMAMURA,
ISAO MAKINO and KAZUO TAKEBE

The Third Department of Internal Medicine, Hirosaki Univ. Schl. (Hirosaki)

The mechanism of disulfiram-like reactions due to cephems with methyltetrazaolethiol (LMOX and CPZ) was studied.

Rats were intraperitoneally injected with these cephems (500 mg/kg) for three days.

After overnight fasting, blood samples were obtained following administration of 20% ethanol (2 g/kg). Then, the blood ethanol, acetaldehyde concentration, and liver acetaldehyde dehydrogenase activity (Enzyme 1, 2) were determined.

In both groups of LMOX and CPZ blood ethanol concentration was not changed, but blood acetaldehyde concentration was markedly increased.

Additionally, strong inhibition of acetaldehyde dehydrogenase activity was observed. And the activity of enzyme 1 which mainly metabolized acetaldehyde was reduced more strongly than that of enzyme 2.

Therefore, it is concluded that disulfiram-like reactions due to cephems with methyltetrazaolethiol could be caused by inhibition of liver acetaldehyde dehydrogenase activity, especially enzyme 1.