

## Ampicillin の肺胞腔内移行に及ぼす炎症の影響について

—ラットにおける気管支肺胞洗浄法による検討—

加藤政仁・多代友紀・吉友和夫・林 嘉光・都筑瑞夫  
伊藤 剛・宇佐美郁治・松浦 徹・黒木秀明・山本和英  
足立 暁・岸本明比古・武内 俊彦  
名古屋市立大学第一内科

(昭和62年1月30日受付)

正常ラットおよび肺炎ラットに対し、Ampicillin (ABPC), 100 mg/kg 筋注, 30 分後に気管支肺胞洗浄 Bronchoalveolar lavage (以下 BAL と略す) を行ない回収される ABPC 濃度を測定した。

- 1) 経気管的に投与した ABPC は3回の BAL によりほとんど回収された。
- 2) 筋注により投与した ABPC の BAL 液中濃度は BAL 4 回目以降にも比較的高い濃度が持続し、繰り返す BAL による濃度の低下は徐々にであった。
- 3) 肺炎ラット (*P. aeruginosa* IFO 3445  $10^9$ /ml を 20 ml 噴霧) では 10 回の BAL による ABPC 総回収量は  $32.2 \pm 6.7 \mu\text{g}$  であり、正常群  $16.7 \pm 5.6 \mu\text{g}$  よりも高値であった ( $P < 0.01$ )。
- 4) 肺炎ラットでの BAL 液中 ABPC 濃度の上昇は、炎症により毛細血管の透過性が亢進したためと考えた。

感染症に対する治療の基本は、原因菌に対して抗菌力を示す抗生剤が炎症巣に有効濃度以上移行することである。呼吸器系においては喀痰内濃度の測定により炎症巣移行を検討した報告が多いが<sup>1)2)</sup>、正常時と炎症時とを比較した報告はほとんどみあたらない。今回、私どもは Ampicillin (ABPC) の気管支肺胞腔内移行を正常時と感染時と比較検討するため、ラットを用い気管支肺胞洗浄 bronchoalveolar lavage (以下 BAL と略す) を行ない、回収される ABPC 濃度を測定し若干の知見を得たので報告する。

## I. 方 法

## 1. 実験動物

specific pathogen free の SD 系ラット (体重 250~270 g) を用い、1 群 5 匹とした。なおラットは購入後飼育室に最低 2 週間飼育し、健康を確認後実験に供した。

## 2. BAL の方法

エーテル麻酔下に腹部大動脈より脱血し屠殺。気管切開にて挿管し BAL を施行した。BAL の方法は、pH 7.0, 1/15 M の生食加リン酸バッファー (PBS) を 15 cm 水柱圧で自然落下により肺内に注入し、落下終了後直ちに 15 cm 水柱圧の自然落下により回収した (Fig. 1)。BAL は 10 回行ないそれぞれ個々に BAL 液中の ABPC 濃度を測定した。PBS の注入量および回収量は Fig. 2 のごとく、1 回目は 8.5 ml が注入され、6 ml

回収、2 回目以降は 8 ml 注入、8 ml 回収であり、10 回目は死腔部分も回収し、回収量は 10.5 ml となった。

## 3. ABPC 投与方法および投与量

大腿部に 100 mg/kg 筋注し、30 分後の BAL 液中濃度を測定した。対照として ABPC を経気管的に投与した際の BAL 液中濃度を検討した。すなわちラットを脱血屠殺後気管内に上記の方法により 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  濃度の ABPC を 15 cm 水柱圧で 1 回注入、直ちに死腔部分も含めて全量を排液し、その後 10 回 BAL を施行し BAL 液中の ABPC 濃度を測定した。

## 4. 肺臓器内総 ABPC 量

肺臓器内 ABPC 濃度を正常群、肺炎群ともに BAL を施行していない別の群で測定し、肺の重量から肺内総 ABPC 量を計算した。

## 5. ABPC 濃度測定法

*M. luteus* ATCC 9341 を検定菌とする薄層カップ法で行なった。標準希釈液の調整には血清中濃度はコンセーラを、肺組織内濃度には PBS を使用した。

## 6. 肺炎ラットの作製

噴霧感染装置を用い *P. aeruginosa* IFO 3445  $10^9$ /ml を 20 ml 噴霧し、18~24 時間後に実験に供した<sup>3)</sup>。

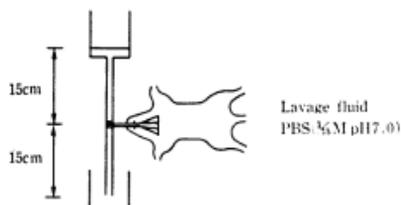
## II. 結 果

- 1) 経気管的に投与した際の ABPC の回収  
BAL 1 回目の濃度は  $2.1 \pm 0.7 \mu\text{g}/\text{ml}$  であるが、その

後 BAL 液中濃度は急速に減少し、4 回目以降は非常に低値であった (Fig. 3)。すなわち 3 回の BAL により気管支肺胞腔内に存在する ABPC はほとんど回収された

#### Fig. 1 Method of bronchoalveolar lavage

Each tracheostomized rat received incubation after exsanguination. Buffer was poured into respiratory tract at a pressure of 15 cm H<sub>2</sub>O and was recovered immediately at a pressure of -15 cm H<sub>2</sub>O. This procedure was repeated 10 times.



#### Fig. 2 Recovery of lavage fluids

About 8.5 ml of buffer was poured in and about 6 ml was recovered in the first lavage. In the 2nd to 9th lavages the recovered volume was almost equal to the poured volume. The recovered volume in the last lavage was about 10.5 ml because of recovery from the dead space in the lungs and the apparatus tubes.

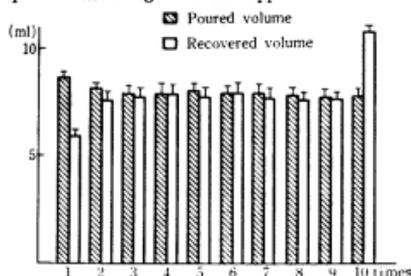


Table 1 Correlation between amount of recovered ABPC by 10 lavages, serum concentration of ABPC and amount of ABPC in lungs

	A amount of recovered ABPC by 10 lavages ( $\mu\text{g}$ )	B serum concentration of ABPC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	C amount of ABPC in lungs ( $\mu\text{g}$ )	A/B	A/C
Normal rats (n = 5)	16.7 $\pm$ 5.6*	61.1 $\pm$ 25.3	20.0 $\pm$ 11.2	0.27 $\pm$ 0.09**	0.84 $\pm$ 0.28
Infected rats (n = 5)	32.2 $\pm$ 6.7*	77.0 $\pm$ 15.6	35.8 $\pm$ 15.9	0.42 $\pm$ 0.08**	0.90 $\pm$ 0.19

Data is expressed in mean  $\pm$  SD

\* P < 0.01, \*\* P < 0.05.

ことになる。

2) 100 mg/kg 筋注 30 分後の ABPC の回収

a) BAL による回収濃度の推移

Fig. 3 The progress of ABPC concentration with each lavage after ABPC solution (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) was poured into the respiratory tract at a pressure of 15 cm H<sub>2</sub>O and was poured out immediately

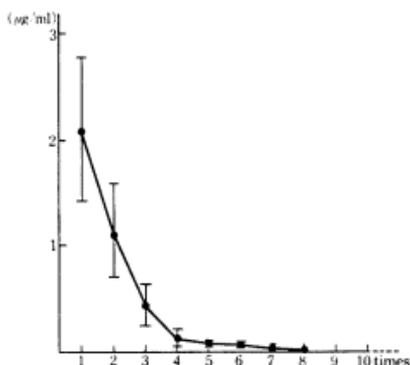
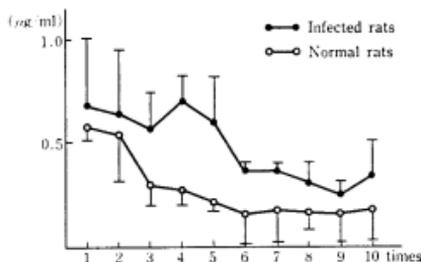


Fig. 4 The progress of ABPC concentration with each lavage at 0.5 hr after administration of ABPC 100 mg/kg



正常群では、BAL 1 回目の濃度は  $0.58 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$  であり、その後 BAL 液中濃度の低下は徐々であり、経気管的投与の推移と異なつた。肺炎群では BAL 1 回目の濃度は  $0.68 \pm 0.33 \mu\text{g/ml}$  であり、その後 BAL 5 回目までは同程度の濃度が持続し、BAL 6 回目以降になり徐々に濃度が低下した (Fig. 4)。

#### b) BAL による ABPC の総回収量 (Table 1)

それぞれの BAL による回収液量とその ABPC 濃度の成績から、10 回の BAL による ABPC の総回収量を計算すると、正常群  $16.7 \pm 5.6 \mu\text{g}$ 、肺炎群  $32.2 \pm 6.7 \mu\text{g}$  であり、肺炎群が高値を示した ( $P < 0.01$ )。

#### c) 血清中 ABPC 濃度 (Table 1)

正常群  $61.1 \pm 25.3 \mu\text{g/ml}$ 、肺炎群  $77.0 \pm 15.6 \mu\text{g/ml}$  であり、両者間に差はみられなかった。

#### d) 肺内総 ABPC 量 (Table 1)

別の群で測定した BAL をしない群での肺内総 ABPC 量は正常群  $20.0 \pm 11.2 \mu\text{g}$ 、肺炎群  $35.8 \pm 15.9 \mu\text{g}$  であり、肺炎群が若干高値を示したが有意差はみられなかった。なお、肺炎群の肺の重量は正常群に比して 1.2~1.3 倍であった。

#### e) BAL による ABPC の総回収量と血清中濃度との比 (Table 1)

ABPC の血液から BAL 液中への移行性を BAL による ABPC の総回収量と血清中濃度との比として表わすと、正常群  $0.27 \pm 0.09$ 、肺炎群  $0.42 \pm 0.08$  であり、肺炎群が高値を示した ( $P < 0.05$ )。

#### f) BAL による ABPC の総回収量と肺臓器内濃度との比

ABPC の肺間質から BAL 液中への移行性を BAL による ABPC の総回収量と肺臓器内濃度との比として表わすと、正常群  $0.84 \pm 0.28$ 、肺炎群  $0.90 \pm 0.19$  であり両者間に差はみられなかった。

### III. 考 察

肺炎は肺実質である肺胞腔内に炎症の主座があり、そのため同部への抗生剤の移行の良否は肺炎治療に重要な意味をもっている。抗生剤の気管支肺胞腔内移行は一般的には喀痰濃度の測定により検討した報告が多いが<sup>4)</sup>、喀痰での検討には次のような問題がある。すなわち、1) 炎症巣からの分泌液が喀痰として喀出されるまでの時間的ずれ、2) 気道分泌液からの再吸収、3) 患者個々の喀痰喀出能力の差、4) 充分量の喀痰を得るためには対象症例が慢性気道感染症に限定される、5) 呼吸器系基礎疾患の内容および程度による差、6) 炎症の程度による差、7) 喀痰内の  $\beta$ -lactamase などの抗生剤不活化酵素の存在、などである。

気管支肺胞洗浄 (BAL) は気管支肺胞腔内に存在する

物質を洗い出すため、BAL 液中の各種成分の測定は気管支肺胞腔内の情報を得るのに適している<sup>4-6)</sup>。そこで私どもは、抗生剤の気管支肺胞腔内移行を検討する目的で ABPC を代表薬として選択し、ラットを用いて BAL を行ない、回収された BAL 液中の ABPC 濃度を測定した。なお注入圧を 15 cm 水柱圧とし、できるだけ末梢を洗浄したので次に述べる理由で回収される ABPC は肺胞レベルが主体と考えた。すなわち気管支レベルの抗生剤濃度は肺胞レベルよりも低く<sup>9)</sup>、また気道系の体積は肺胞系の体積よりもはるかに小さいからである。

ABPC を経気道的に肺胞レベルにまで投与し、間質には存在せず肺胞腔内のみ ABPC が存在する状態を作製し、BAL を行なうと、3 回の BAL により ABPC はほとんど回収された。一方、筋注により投与された ABPC は 4 回目以降の BAL 液にも比較的高い濃度が検出されたことから、BAL により回収される ABPC は肺胞腔内に存在するもののみでなく、BAL の際に間質から拡散により BAL 液中に移行したものも含まれると考えた。したがって厳密な意味では肺胞腔内のみ量を反映していないが、肺炎という病態が肺胞腔内に炎症性浸出液が充満した状態であり、BAL 液で満たされた肺胞と似た状態であると考えられることができるため、肺胞腔内のみ情報よりも BAL 液中移行のほうがより臨床で意味があると考えた。

肺には Blood-bronchoalveolar-barrier があり、そのため抗生剤の気管支肺胞腔内移行は障害され、炎症時にはその barrier が破壊されるため移行が増加するとされている<sup>9)</sup>。これを証明すべく肺炎ラットを作製し、以上の実験を行なった。肺炎の作製には、1) 安定した  $\beta$ -lactamase が行なえる程度の軽い肺炎であること、2) 感染菌に  $\beta$ -lactamase により抗生剤が分解されないこと、3) 肺炎の作製に再現性があること、などを考慮して *P. aeruginosa* IFO 3445 を選択し、噴霧菌量を  $10^9/\text{ml}$  に設定した<sup>9)</sup>。

血管内から BAL 液中への物質の移行は、血液→毛細血管上皮→間質→肺胞上皮→BAL 液の段階を経る。肺炎ラットでは BAL による回収 ABPC 量は正常群に比して有意に高値を示したが、この原因の可能性として考えられるものは、1) 感染による血中濃度の上昇、2) 感染による毛細血管上皮の透過性が亢進して肺間質内濃度が上昇、3) 感染による肺胞上皮の透過性が亢進して間質から BAL 液中への移行が亢進、などが考えられる。今回の成績は、血中濃度は正常群と感染群で差がない、肺組織 (間質) 内 ABPC 量は有意ではないが感染群が若干高い、BAL による ABPC 回収量と血中濃度との比は肺炎群が有意に高い、BAL による ABPC 回収量と肺

臓器内濃度との比は正常群と感染群とで差がないことから、炎症による毛細血管の透過性の亢進が BAL 液中濃度の上昇をきたす主な原因と考えた。しかし、これは ABPC の肺胞レベルでの成績であり、気管支レベルまたは他の抗生剤では異なる結果がでる可能性もあり今後検討しなければならない。

#### 文 献

- 1) 力富直人, 宇塚良夫, 永武 毅, 松本慶蔵: 細菌性呼吸器感染症治療における抗生物質の体液濃度測定の意義— $\beta$ -ラクタム剤について—。Chemotherapy 34: 250~260, 1986
- 2) 深谷一太, 早川道夫, 北本 治: 抗生剤の喀痰中および血中濃度の呼吸器感染症治療における意義にかんする研究。Chemotherapy 18: 252~258, 1970
- 3) SAGGERS, B. A. & D. LAWSON: *In vivo* penetration of antibiotics into sputum in cystic fibrosis. Arch. Dis. Child. 43: 404~409, 1968
- 4) MARLIN, G. E.; K. R. BURGESS, J. BURGOYNE,

- G. R. FUNNELL & M. D. G. GUINNESS: Penetration of piperacillin into bronchial mucosa and sputum. Thorax 36: 774~780, 1981
- 5) 岸本明比古, 都筑瑞夫, 林 嘉光, 多代友紀, 加藤鋭一, 加藤政仁, 山本俊幸, 武内俊彦: ラット噴霧感染における初期細胞反応に対するエタノールの影響。感染症誌 60: 745, 1986
  - 6) 安岡 勲, 坂本 崇, 大串文隆, 土居裕幸, 福嶋和文, 中山耕二, 河野知弘, 島田久夫, 堀良英郎: 気管支—肺胞洗浄液と気管支洗浄液に含まれる成分の比較分析。日本胸部疾患学会雑誌 21: 340~348, 1983
  - 7) 加藤政仁, 服部素子, 都筑瑞夫, 加藤鋭一, 林嘉光, 吉友和夫, 多代友紀, 南條邦夫, 宇佐美郁治, 黒木秀明, 岸本明比古, 早川富博, 鈴木幹三, 山本俊幸, 武内俊彦: 正常気道における抗生剤の気管支肺胞腔内移行について—気管支肺洗浄法による Cefotiam と Sulbenicillin との比較—。日本胸部疾患学会雑誌 23: 888~894, 1985
  - 8) 後藤 純, 田代隆良, 後藤陽一郎, 那須 勝: 気管支肺胞洗浄液による抗生物質の肺内移行に関する研究。Chemotherapy 32: 692~697, 1984

## EFFECTS OF INFLAMMATION ON THE PENETRATION OF AMPICILLIN INTO THE BRONCHOALVEOLAR SPACES: EVALUATION WITH BRONCHOALVEOLAR LAVAGE IN RATS

MASAHITO KATO, TOMONORI TASHIRO, KAZUO YOSHITOMO  
YOSHIMITSU HAYASHI, MIZUO TSUZUKI, GO ITO, IKUJI USAMI  
TOORU MATSUURA, HIDEAKI KUROKI, KAZUHIDE YAMAMOTO  
AKIRA ADACHI, AKIHIKO KISHIMOTO and TOSHIHIKO TAKEUCHI  
The First Department of Internal Medicine,  
Nagoya City University, School of Medicine

Ampicillin (ABPC), 100 mg/kg, was injected intramuscularly in normal and pneumonic rats. Thirty minutes thereafter bronchoalveolar lavage (BAL) was carried out and the concentration of ABPC recovered in the BAL fluids was measured

1. Transtracheally administered ABPC was almost completely recovered by the end of the third BAL procedure.

2. The concentration of intramuscularly administered ABPC in the BAL fluid remained relatively high even after a fourth lavage, and the reduction in concentration with repeated BAL was gradual.

3. In the pneumonic rats (20 ml solution containing *P. aeruginosa* IFO 3445  $10^9$ /ml was sprayed), the total recovery of ABPC following ten BAL procedures was  $32.2 \pm 6.7 \mu\text{g}$ , and this was much greater than that in the normal group ( $16.7 \pm 5.6 \mu\text{g}$ ), and the difference was significant ( $P < 0.01$ ).

4. The increased ABPC concentration in the BAL fluid in the pneumonic rats were thought to be due to the augmented permeability of the capillary vessels caused by inflammation.