

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の血液凝固系 および血小板凝集能に対する作用についての実験的研究

内田清久・高瀬治登・野村泰治・嘉久志寿人
四家 勉・岡林 直・三原伸一
塩野義製薬株式会社研究所

6315-S (Flomoxef) の血液凝固系および血小板凝集能に対する作用を検討し以下の成績を得た。

1) 6315-S (300 mg/kg/日) およびその3位側鎖である1-(2-hydroxyethyl)-1H-tetrazole-5-thiol (HTT, Na 塩として 97 mg/kg/日) を1日1回, 1週間連続静脈内注射したが, ラット肝の γ -glutamylcarboxylase を阻害しなかった。*In vitro* では Latamoxef や Cefotaxime は3~10 mM の濃度で上記酵素活性を抑制したが, 6315-S は10 mM でもほとんど抑制を示さなかった。

2) 6315-S は通常飼料飼育ラットではプロトロンビン時間 (PT) に影響を与えなかったが, ビタミン K 欠乏飼料飼育ラットでは PT を延長した。これは3位側鎖に N-methyltetrazolethiol (NMTT) を持つ抗生物質にも共通して認められた。この PT の延長はビタミン K 投与により正常化した。

3) 6315-S は1週間連続投与しても *In vivo* ではラット血小板の adenosine diphosphate (ADP) および collagen による凝集を抑制しなかった。*In vitro* では2,700 または 8,100 μ g/ml といった高濃度でモルモット, ヒト血小板の ADP による二次凝集を抑制したが, Latamoxef や Cefotaxime に較べて弱かった。すなわち, 6315-S は ADP による一次凝集の抑制作用は極めて弱いが高濃度で二次凝集を抑制した。これに対し, Latamoxef や Cefotaxime は一次凝集をも阻害した。ヒト血小板の collagen 凝集に対しては 6315-S は Latamoxef や Cefotaxime より強い抑制作用を示した。この作用も aspirin と比較するとモル濃度比で約1/80であった。

4) Collagen または ADP 添加後に認められるラット, ウサギ, ヒト血小板の *In vitro* の thromboxane A_2 (TXA₂) 合成を 6315-S は高濃度で抑制した。これは Latamoxef や Cefotaxime についても同程度に認められた。Aspirin の TXA₂ 合成抑制作用と 6315-S のそれとを比較すると, モル濃度比で1/300以下であった。

抗生物質投与時に出血傾向もしくは血液凝固異常が認められる場合のあることが報告されている^{1~21)}。これらの報告の指摘する問題点は大きく2つに分けられる。第一はビタミン K 代謝に関連する血液凝固系の異常であり, 第二は血小板機能の低下である。

第一の問題点はビタミン K の欠乏に原因するもので, ビタミン K の投与により回復させ得る^{2, 4, 15, 17, 18, 21)}。ビタミン K は主として緑色野菜に含まれるが, *Bacteroides fragilis* や *Clostridium septicum* など一部の腸内細菌もこれを産生するので, 食事を十分に摂取出来ない患者に抗生剤を投与した場合などは, 腸内のビタミン K 産生菌も死滅する結果, ビタミン K の欠乏が発症すると考えられていた。しかしながら, 腸内細菌により生成される

ビタミン K が果して吸収され利用されているか否か, については疑義のあるところである。HOLLANDER^{24, 25)} はラットを用いてビタミン K₂ (menaquinone) が大腸から受動的吸収機構により吸収され得ることを報告しているが, 腸内細菌の存在するラットを絶食させたり, またはビタミン K 欠乏飼料で飼育したりすると, 腸内もしくは糞便中に menaquinones が存在するにもかかわらずビタミン K 欠乏状態が招来されるので^{26, 27)} 仮に一部吸収されるにしてもその量は微量であり, 生理的に必要とされる量に満たないと考えられる。

一方, 多くの cephem 系抗生物質, Cefamandole, Cefoperazone, Cefmenoxime, Cefpiramide, Cefmetazole, Cefotetane, および, oxacephem の Latamoxef

などは、3位側鎖にN-methyltetrazaolethiol (NMTT)を部分構造として持つ。この置換基は抗菌作用を増強するために有利なものであるが、最近、このNMTTがビタミンK依存性凝固因子の生合成を抑制するのではないかとする仮説が提起された。LIPSKY^{24, 25)}はNMTTが上記のビタミンK依存性凝固因子生合成に必須の過程である γ -グルタミルカルボキシ化を抑制するとしたが、 γ -glutamylcarboxylaseに対する阻害作用は認められなかった²⁶⁾。しかし、Vitamin K epoxide reductaseは阻害されるので^{31~33)}、NMTTはビタミンKのサイクルを阻害する結果、ビタミンK欠乏状態においてはビタミンK欠乏を助長し、ビタミンK依存性凝固因子の生合成を抑制すると考えられる。しかし、これはビタミンK投与により容易に回復させ得るものである。

第二の問題点は血小板機能の低下である。一部の抗生物質が血小板機能異常を招来することはすでに以前から指摘されていた。Penicillin GやCarbenicillinはadenosine diphosphate (ADP)による血小板凝集を阻害し^{24~26)}、構造が類似するSulbenicillinについても同様の成績が報告されている²⁷⁾。Latamoxefについては、ADP凝集は阻害するもののthrombin凝集には変化なく、collagenやepinephrine凝集に対しては抑制傾向を示すが有意の変化でないことが報告されている^{6, 11, 12)}。抗生物質による血小板凝集阻害の機構は未だ十分に解明されていないが、Latamoxef⁶⁾、Carbenicillin、Penicillin G²⁶⁾は血小板膜のADP-receptorを拮抗的には阻害しないが、血小板膜に非特異的に結合し、結果的にADPの血小板膜への結合を阻害するのではないかと考えられている。Thromboxane A₂(TXA₂)生合成の変動も重要であるがmalondialdehydeの生成に阻害は認められない⁶⁾と報告されている。

抗生物質の血液凝固系および血小板凝集能に対する作用については上述のごとき背景があるので、今回新たに合成された6315-S (Flomoxef: FMOX)について、ビタミンK依存性凝固因子に対する作用および血小板凝集能に対する作用について、主にLatamoxefおよびCefotaximeと比較しつつ検討した。

I. 実験材料および方法

1. 血液凝固系に関する実験

実験には11~13週齢のJcl-SD系雄ラットを用い、食餌には通常のラット用固型飼料 (Jcl-CA-1, 日本クレア, 東京), および自家調製したビタミンK欠乏飼料を用いた。一部の実験では、腸内細菌により産出され

Table 1 Composition of vitamin K-deficient diet

Vitamin K free casein	18.0%
Sucrose	67.6%
Mixture of rapeseed and soybean oils	8.0%
Salt mixture (Hegsted salt)	4.0%
Fibers	1.5%
Vitamin mixture ^{a)}	Adequate

a) Vitamin K is not included.

るビタミンK₂の影響を除外して実験を行うために、自家繁殖させた成熟Wistar系無菌ラットを用いた。ビタミンK欠乏飼料の組成はTable 1に示す如くであるが、調製後に測定すると30~50 ng/gのビタミンK₁を含有していた。なお、通常飼料のビタミンK₁含量は約500 ng/gであった。In vivoの実験では、6315-S, Latamoxef, Cefotaximeを1日量300 mg/kg, 6315-Sの3位側鎖である1-(2-hydroxyethyl)-1H-tetrazole-5-thiol (HTT), およびLatamoxefの3位側鎖であるN-methyltetrazaolethiol (NMTT)はNa塩として、それぞれ97 mg/kg, 93 mg/kg (分子量として6315-SおよびLatamoxefの300 mg/kgに相当する量)を1日1回、1週間連続して静脈内注射した。ビタミンK欠乏ラットに対しては、ビタミンK欠乏飼料の投与開始と同一日から薬剤の投与を開始した。

最終投与後24時間絶食を行ない、断頭屠殺後、肝を摘出し直ちにSUTTIE^ら²⁸⁾の方法に準じて肝ミクロソームを調製した。調製した肝ミクロソーム画分は-70°Cで凍結保存した。凍結試料はほぼ一カ月間は活性の低下は認められないが、今回は1週間以内に測定を完了した。

γ -Glutamylcarboxylaseの活性は還元型ビタミンK₁もしくは還元型ビタミンK₂ (還元型menaquinone-4)を用いてSUTTIE^ら²⁸⁾の方法に準じて測定したが、詳細は既報²⁹⁾のごとくである。すなわち、可溶化したミクロソーム標品400 μ lに50 μ lの5 mM濃度の基質 (Phe-Leu-Glu-Glu-Leu)を加え、30 μ lの緩衝液 (0.25 M sucrose, 0.025 M imidazole, 0.5 M KCl, 1 mM dithiothreitolを含むpH 7.2の緩衝液)を加え、さらに10 μ lの還元型ビタミンK (5 mg/ml, エタノール溶液), および、10 μ lの1.0 mCi/mlのNaH¹⁴C₃溶液を加え、17°Cで30分間振盪した。次いで、2 mlの冷10% trichloroacetic acid (TCA)溶液を加え、30分間以上氷中に放置した後、1,000 \times gで10分間遠心分離した。未反応の基質および反応生成物は上清に存在し、

ミクロソームに含まれる凝固因子蛋白などは沈澱する。上清と沈澱を分け、上清には CO_2 ガスを5分間通気して未反応の $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ を除去した後、基質の penta-peptide に取り込まれた放射能を測定した。沈澱には内因性蛋白が基質となって生成された凝固因子が存在するが、0.2 M の Na_2CO_3 溶液に溶解後、ふたたび冷 TCA で沈澱させる洗滌操作を2回繰り返したのち、1 ml の NCS (Amersham) に溶解し取り込まれた放射能を測定した。ミクロソーム蛋白含量は LOWREY の方法³¹⁾ で測定し、酵素活性は1 mg ミクロソーム蛋白当り30分間に取り込まれた放射能で表現した。In vitro の実験では、通常およびビタミン K 欠乏飼料で飼育したラットから調製したミクロソームを用いて、反応系に 6315-S, Latamoxef, Cefotaxime, HTT, NMTT など種々の濃度で緩衝液に溶解して添加し、その作用を検討した。

プロトロンビン時間 (PT) は、通常ラットのみならず腸内細菌の産生するビタミン K の影響を除外する為に無菌ラット (Wistar 系雄ラット, 10~15 週齢) についても検討した。PT は血液凝固時間自動測定器 (クロテック, Hyland, 三光純薬) を用い、プロトロンビテスト・キット (Hyland, 三光純薬) を用いて測定した。一部の実験では試薬にシンプラスチン (Warner-Lambert, 小野薬品) を用いた。

2. 血小板凝集に関する実験

実験には Jcl-Wistar 系雄ラット (体重 240~280 g), NIBS-JW 雄ウサギ (体重 2.0~2.3 kg), Slc-Hartley 系雄モルモット (体重 420~560 g) を用いた。動物は Na-pentobarbital (Somnopentyl; Pitman-Moore) 麻酔下 (ラット 50 mg/kg, i. p.; ウサギ 20~25 mg/kg, i. v.; モルモット 30 mg/kg, i. p.) に、通常は 1/10 容の 3.8% クエン酸ソーダー溶液を抗凝固剤として採血し、20°C で $180 \sim 210 \times g$ で 7~10 分間遠心分離して多血小板血漿 (PRP) を得た。PRP を分取した残りの血液をさらに $1,800 \times g$ で 10 分間遠心分離して乏血小板血漿 (PPP) を得た。PRP 中の血小板数はコールターカウンターを用いて計測し、必要であれば PPP を用いて血小板数が $50 \sim 60 \times 10^4 / \mu\text{l}$ になるように希釈した。また、早朝空腹時に健康成人男子より採血し、ヒト PRP を調整し in vitro の実験に供した。

血小板凝集反応は BORN の方法⁴⁰⁾ に準じ、アグリゴメーター (理化電機工業, Model AUTO RAM-61) を用いて測定した。PRP 400 μl (ラット, ウサギ) または 230 μl (ヒト, モルモット) を測定用キューベットに入れ、37°C で 1 分間予備加温したのち、50 μl (前者)

または 10 μl (後者) の被検薬剤溶液または対照として生理食塩液を加え、2 分間 37°C で攪拌 (1,200 rpm) 後、凝集惹起物質 50 μl (前者) または 10 μl (後者) を加え、凝集により生じた透光度の変化を経時的に記録した。血小板の凝集率は、PRP および PPP の透光度をそれぞれ 0% および 100% とし、凝集剤添加後の PRP の最大透光度を最大凝集率とした。対照群の最大凝集率を新する薬剤添加群の最大凝集率の割合から凝集阻害率 (%) を算出した。また、collagen 凝集の場合には薬剤添加後、凝集が開始するまでの時間 (lag time) も算出した。

ATP 放出能の測定には Lumi-aggregometer (Chrono-Log) を用いた。前記の方法により調製した PRP 205 μl にスターラーで攪拌しつつ被検溶液 10 μl を添加し、1 分後に Luciferin-Luciferase 溶液 (LL; Chrono-Lume #395, 50 mg/1.25 ml) 25 μl を加え、37°C の保温下で 1 分後に凝集惹起物質 10 μl を添加し、凝集および放出曲線を記録した。LL は氷冷下に保存し、ATP の放出量に応じてその用量を調節した。標準品の ATP (Sigma) を PPP に添加し、標準曲線を作成した。

Ex vivo の実験では、通常食餌で飼育しているラットに 1 日当り 300 mg/kg の 6315-S, Latamoxef, Cefotaxime および Carbenicillin を 1 日 1 回の割合で 8 日間連続して静脈内注射し、最終投与 3 時間後に Na-pentobarbital 麻酔下 (50 mg/kg, i. p.) に採血して PRP を調製した。この場合は三方栓を用い、PT の測定には 1/10 容の 3.8%, そして血小板凝集測定には 1.9% のクエン酸ナトリウム溶液を抗凝固剤として用いた。

Thromboxane A_2 (TXA₂) の測定は TXA₂ の分解によって出来た TXB₂ を TXB₂ [³H] RIA キット (NEN) を用いて測定した。すなわち、アグリゴメーターを用いて血小板凝集を測定した試料 10 μl を、あらかじめ用意した反応停止液 (30 μM の indomethacin と 5 mM の EDTA を含む溶液) に加え、すばやく攪拌した。当日あるいは -20°C で一夜放置した後に TXB₂ を測定した。

II. 実験成績

1. ラット肝ミクロソームの γ -glutamylcarboxylase に対する作用

6315-S および関連化合物を一週間連続投与した時の活性は Table 2 および Table 3 に示すごとくである。Table 2 は通常食餌飼育ラットの成績であり、Table 3 はビタミン K 欠乏飼料飼育ラットの成績であるが、いずれも有意の変化は認められなかった。したがって、6315-S は 300 mg/kg の用量で一週間連続投与した場

Table 2 *In vivo* effects of 6315-S, latamoxef, cefotaxime and their side chains on γ -glutamylcarboxylase activity of rat liver microsomes (ordinary diet)

Groups ^{a)}	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Substrates	
			Pentapeptide	Endogenous protein
($\times 10^3$ dpm/mg protein/30 min)				
Control		6	6.75 \pm 0.41 ^{b)} (100%)	1.68 \pm 0.10 (100%)
6315-S	300	6	7.28 \pm 0.21 (108%)	2.02 \pm 0.12 (120%)
Control		3	6.54 \pm 0.98 (100%)	1.60 \pm 0.23 (100%)
HTT-Na	97	3	6.06 \pm 0.12 (93%)	1.42 \pm 0.03 (89%)
Latamoxef	300	3	6.99 \pm 0.19 (107%)	1.77 \pm 0.04 (111%)
Cefotaxime	300	3	5.94 \pm 0.30 (91%)	1.51 \pm 0.03 (94%)
NMTT-Na	93	3	6.10 \pm 0.42 (93%)	1.59 \pm 0.11 (99%)

a) Compounds were injected iv once a day for one week.

b) Mean \pm S.E.

Table 3 *In vivo* effects of 6315-S, latamoxef, cefotaxime and their side chains on γ -glutamylcarboxylase activity of rat liver microsomes (vitamin K deficient diet)

Groups ^{a)}	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Substrates	
			Pentapeptide	Endogenous protein
($\times 10^3$ dpm/mg protein/30 min)				
Control		3	8.83 \pm 0.33 ^{b)} (100%)	2.75 \pm 0.26 (100%)
6315-S	300	3	7.93 \pm 0.55 (90%)	2.73 \pm 0.15 (99%)
HTT-Na	97	3	8.75 \pm 0.10 (99%)	3.19 \pm 0.54 (116%)
Control		3	9.05 \pm 0.35 (100%)	2.76 \pm 0.25 (100%)
Latamoxef	300	3	9.94 \pm 0.22 (110%)	3.49 \pm 0.06 (127%)
Cefotaxime	300	3	8.34 \pm 0.24 (92%)	2.79 \pm 0.08 (101%)
Control		3	10.85 \pm 1.14 (100%)	3.08 \pm 0.46 (100%)
NMTT-Na	93	3	10.69 \pm 0.47 (98%)	3.24 \pm 0.19 (105%)

a) Compounds were injected iv once a day for one week. Vitamin K deficient diet was fed for one week ad libitum.

b) Mean \pm S.E.

合、 γ -glutamylcarboxylase 活性に阻害作用は示さないと考えられる。

γ -Glutamylcarboxylase 活性に対する *In vitro* の作用は Table 4 および Table 5 に示すごとくである。

Table 4 は正常ラット肝の、Table 5 はビタミン K 欠

乏ラット肝のミクロソームを用いて行なった時の成績である。Latamoxef や Cefotaxime は終濃度が 10 mM では阻害を示したが、6315-S, HTT, NMTT などはほとんど阻害を示さず、6315-S はビタミン K 欠乏食ラットでは高濃度で阻害したがその程度は Latamoxef,

Table 4 *In vitro* effects of 6315-S, latamoxef, cefotaxime and their side chains on γ -glutamylcarboxylase activity of rat liver microsomes (ordinary diet)

Groups	Final concentration			
	0 mM	1 mM	3 mM	10 mM
	($\times 10^3$ dpm/mg protein/30 min)			
6315-S	3.77 \pm 0.02 ^{a)} (100%)	4.02 \pm 0.11 (107%)	3.78 \pm 0.17 (100%)	3.70 \pm 0.14 (98%)
HTT-Na	3.77 \pm 0.02 (100%)	3.90 \pm 0.08 (104%)	3.78 \pm 0.11 (100%)	3.72 \pm 0.03 (99%)
Latamoxef	4.88 \pm 0.04 (100%)	5.07 \pm 0.16 (104%)	4.56 \pm 0.05* (93%)	3.62 \pm 0.19* (74%)
Cefotaxime	4.88 \pm 0.04 (100%)	4.56 \pm 0.16 (93%)	3.86 \pm 0.08* (79%)	2.99 \pm 0.13* (61%)
NMTT-Na	3.77 \pm 0.02 (100%)	3.64 \pm 0.06 (97%)	3.55 \pm 0.03* (94%)	3.58 \pm 0.14 (95%)

a) Mean \pm S.E. in 3 determinations.

* Statistically significant ($P < 0.05$).

Table 5 *In vitro* effects of 6315-S, latamoxef, cefotaxime and their side chains on γ -glutamylcarboxylase activity of rat liver microsomes (vitamin K deficient diet)

Groups	Final concentration			
	0 mM	1 mM	3 mM	10 mM
	($\times 10^3$ dpm/mg protein/30 min)			
6315-S	8.88 \pm 0.49 ^{a)} (100%)	8.99 \pm 0.44 (101%)	8.42 \pm 0.27 (95%)	7.03 \pm 0.03 (79%)
HTT-Na	8.88 \pm 0.49 (100%)	9.41 \pm 0.10 (106%)	8.67 \pm 0.17 (98%)	9.01 \pm 0.06 (101%)
Latamoxef	12.76 \pm 0.42 (100%)	12.12 \pm 0.36 (95%)	11.58 \pm 0.37 (91%)	8.65 \pm 0.12* (68%)
Cefotaxime	12.76 \pm 0.42 (100%)	11.94 \pm 0.34 (94%)	9.67 \pm 0.34* (76%)	6.69 \pm 0.20* (52%)
NMTT-Na	8.88 \pm 0.49 (100%)	9.15 \pm 0.06 (103%)	8.37 \pm 0.50 (94%)	8.20 \pm 0.08 (92%)

a) Mean \pm S.E. in 3 determinations.

* Statistically significant ($P < 0.05$).

Cefotaxime より著明に弱かった。

2. ラットのプロトロンビン時間 (PT) に対する作用

Table 6 は通常のラットおよび無菌ラットをビタミン K 欠乏飼料で飼育し、各種抗生物質の PT に対する作用を比較した成績である。Latamoxef, Cefamandole, Cefoperazone, Cefmetazole, Cefotetane など 3 位側鎖に NMTT を持つ化合物はいずれも PT の延長を招来し、6315-S も同様に PT の延長を示した。また、表には省略したが、3 位側鎖の NMTT や HTT もビタミン K 欠乏ラットに対して PT の延長を示した。しかし、

上記化合物はいずれも通常飼料で飼育している動物に対しては作用を示さなかった。したがって、6315-S および HTT は NMTT もしくは NMTT を含む抗生物質と同じようにビタミン K 欠乏動物においては、PT の延長を招来すると考えられる。

3. 血小板凝集に対する作用

Table 7 は 6315-S, Latamoxef, Cefotaxime, Carbenicillin を通常飼料飼育ラットに 8 日間投与した時の血小板凝集能および PT に対する作用を比較したものである。1 日当り 300 mg/kg の投与量では、血小板

Table 6 Effects of various antibiotics on prothrombin time in conventional and germ-free male rats on vitamin K deficient diet

Groups ^{a)}	Daily dose (mg/kg)	Prothrombin time		
		Conventional	Germ-free	
		(sec)		
Control	---	16.0 ± 0.36 ^{b,c)}	17.5 ± 0.37 ^{c)}	22.9 ± 1.32 ^{d)}
6315-S	300	---	24.2 ± 3.17*	---
Latamoxef	300	25.3 ± 0.89*	28.4 ± 3.56*	---
Ceftriaxone	300	16.0 ± 0.29	---	---
Cefotaxime	300	15.9 ± 0.22	18.8 ± 0.83	---
Cefamandole	300	---	29.6 ± 3.02*	---
Cefoperazone	300	---	33.8 ± 3.65*	---
Carbenicillin	300	---	19.0 ± 1.06	---
Cefmetazole	300	---	---	> 53.0*
Cefotetan	300	---	---	34.5 ± 3.14*
Cefotiam	300	---	---	20.4 ± 1.32
Cefoxitin	300	---	---	25.8 ± 1.36

a) Compounds were injected i.p. once a day for 8 days. Vitamin K deficient diet was fed for 8 days ad libitum.

b) Mean ± S.E. in 4-5 rats.

c) Determined with the use of Prothrombin test kit (Hyland).

d) Determined with the use of Sinplastin test kit (Warner-Lambert).

* Statistically significant ($P < 0.05$).

Table 7 Effects of 6315-S and various antibiotics on platelet aggregation and prothrombin time in conventional male rats on ordinary diet

Groups ^{a)}	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Prothrombin time (sec)	Platelet aggregation (%)		
				ADP		Collagen 10 µg/ml
				0.3 µM	0.5 µM	
Control	-	5	14.1 ± 0.2 ^{b)}		44.8 ± 3.3	82.8 ± 2.3
					(2)	(4)
6315-S	300	5	14.5 ± 0.2		36.5 ± 3.3	82.5 ± 2.0
Cefotaxime	300	5	14.0 ± 0.3		35.8 ± 4.2	75.0 ± 3.9
Control	-	5	13.9 ± 0.4	21.2 ± 3.6	52.5 ± 4.4	90.8 ± 2.7
				(4)	(4)	(4)
Latamoxef	300	5	14.0 ± 0.1	19.4 ± 1.1	51.0 ± 1.6	88.1 ± 1.1
				(4)	(4)	(4)
Carbenicillin	300	5	14.1 ± 0.1	18.5 ± 2.2	49.3 ± 2.2	87.4 ± 1.4

a) Compounds were injected iv once a day for 8 days.

b) Mean ± S.E.

() : No. of rats examined.

Table 8 Effects of 6315-S, latamoxef, cefamandole, cefotaxime and carbenicillin on ADP-, arachidonic acid- and collagen-induced rabbit platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. ($\mu\text{g/ml}$)	No. of tubes	Platelet aggregation (%) ^{a)}			Lag time (sec)
			ADP 10 μM	Arachidonic acid 300 μM	Collagen 20 $\mu\text{g/ml}$	
Control	Saline	9	62.5 \pm 0.7 ^{b)}	75.0 \pm 1.0	79.3 \pm 0.5	72 \pm 4
6315-S	900	4			78.6 \pm 0.8 (0.9)	76 \pm 4
	2700	3	66.8 \pm 1.2 (-6.9)	68.9 \pm 1.9 (8.1)	68.7 \pm 2.1 (13.4)	109 \pm 9
	8100	3	59.4 \pm 0.9 (5.0)	38.4 \pm 0.1 (48.8)	33.8 \pm 4.6 (57.4)	217 \pm 37
Latamoxef	900	3			79.6 \pm 0.6 (-0.4)	77 \pm 4
	2700	3	59.8 \pm 0.2 (4.3)	72.0 \pm 0.8 (4.0)	75.9 \pm 1.7 (4.3)	90 \pm 0
	8100	3	52.7 \pm 0.7 (15.7)	67.8 \pm 1.5 (9.6)	70.3 \pm 1.6 (11.3)	156 \pm 8
Cefamandole	900	3			80.5 \pm 1.0 (-1.5)	74 \pm 4
	2700	3	59.3 \pm 2.1 (5.1)	71.4 \pm 1.7 (4.8)	69.5 \pm 1.4 (12.4)	107 \pm 6
	8100	3	45.6 \pm 1.2 (27.0)	64.1 \pm 0.9 (14.5)	0 (100)	-
Control	Saline	15	57.6 \pm 1.1	71.5 \pm 0.4	78.9 \pm 1.0	64 \pm 3
6315-S	900	3			78.3 \pm 1.3 (0.8)	64 \pm 5
	2700	3			70.0 \pm 1.0 (11.3)	109 \pm 6
	8100	3			29.2 \pm 3.1 (63.0)	253 \pm 17
Latamoxef	900	3	59.4 \pm 0.5 (-3.1)	74.4 \pm 1.0 (-4.1)	79.5 \pm 1.6 (-0.8)	68 \pm 3
	2700	3	52.9 \pm 0.7 (8.2)	69.8 \pm 0.6 (2.4)	75.1 \pm 0.0 (4.8)	82 \pm 10
	8100	3	45.2 \pm 1.6 (21.5)	63.8 \pm 1.4 (10.8)	70.1 \pm 0.5 (11.2)	239 \pm 17
Cefotaxime	900	3	60.2 \pm 1.8 (-4.5)			
	2700	3	53.3 \pm 1.2 (7.5)	73.2 \pm 0.2 (-2.4)	76.2 \pm 0.7 (3.4)	80 \pm 4
	8100	3	46.9 \pm 1.1 (18.6)	68.3 \pm 0.8 (4.5)	71.6 \pm 1.3 (9.3)	120 \pm 10
Control	Saline	14	60.6 \pm 0.6	67.0 \pm 0.6	80.5 \pm 0.7	71 \pm 2
Latamoxef	900	3	61.3 \pm 0.4 (-1.2)		78.3 \pm 0.8 (2.7)	78 \pm 2
	2700	3	59.6 \pm 0.4 (1.7)	67.7 \pm 0.5 (-1.0)	77.3 \pm 0.2 (4.0)	89 \pm 1
	8100	3	50.3 \pm 1.1 (17.0)	64.2 \pm 1.4 (4.2)	69.7 \pm 1.0 (13.4)	164 \pm 9
Carbenicillin	900	3		66.8 \pm 1.4 (0.3)	79.6 \pm 1.0 (1.1)	71 \pm 2
	2700	3	59.8 \pm 1.3 (1.3)	65.3 \pm 0.5 (2.5)	76.0 \pm 2.1 (5.6)	96 \pm 9
	8100	3	50.5 \pm 0.4 (16.7)	58.1 \pm 0.8 (13.3)	0 (100)	-

a) Maximum increase in light transmission after ADP, arachidonic acid and collagen (PRP = 0% , PPP = 100%).

b) Mean \pm S.E.

() : Inhibition in % compared to the control.

凝集能にも、PTにも全く変化は認められなかった。

ウサギ PRP の血小板凝集に対する *in vitro* での各薬剤の作用は Table 8 に示すごとくである。動物の個体により、また実験日により反応量が多少変動するので、一つのセットの実験には対照として常に Latamoxef を用いて測定を行なった。Table 8 から明らかなごとく、*in vitro* で血小板凝集阻害効果を検討する場合は、終濃度が 2,700 あるいは 8,100 $\mu\text{g/ml}$ といった極めて高い濃度でなければその作用をみる事が出来ない。した

がって、非生理的な用量ではあるがこのような高濃度で薬剤の作用を比較した。6315-S は ADP 凝集に対しては Latamoxef, Cefotaxime, Carbenicillin に比べ作用が弱く、8,100 $\mu\text{g/ml}$ でもほとんど阻害作用は認められなかった。これに反し、アラキドン酸凝集に対しては 6315-S は他の薬剤に比べ強い阻害作用を示し、collagen 凝集に対しても Latamoxef や Cefotaxime より強い阻害作用を示した。また、Carbenicillin も collagen 凝集に強い阻害作用を示した。Lag time の

Table 9 Effects of 6315-S, latamoxef and aspirin on collagen (10 μ g/ml)-induced rabbit platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. (mM)	No. of tubes	Lag time (sec)	Platelet aggregation ^{a)} (%)	Inhibition (%)
Control	Saline	6	99 \pm 3 ^{b)}	75.5 \pm 1.9	
6315-S	2	3	93 \pm 6	71.1 \pm 1.5	5.8
	4	3	118 \pm 1	69.7 \pm 2.1	7.7
	8	3	180 \pm 8	59.3 \pm 1.4	21.5
	16	4	—	0	100
Latamoxef	4	3	113 \pm 7	73.3 \pm 3.6	2.9
	8	3	145 \pm 8	69.8 \pm 1.4	7.5
	16	3	297 \pm 29	59.1 \pm 2.8	21.7
Control	Saline + DMSO	6	116 \pm 7	73.9 \pm 0.8	
Aspirin	0.025	4	107 \pm 8	72.4 \pm 1.2	2.0
	0.05	4	199 \pm 16	51.9 \pm 4.0	29.8
	0.1	4	—	5.3 \pm 5.3	92.8
	0.2	3	—	0	100

a) Maximum increase in light transmission after 10 μ g/ml collagen (PRP = 0%, PPP = 100%).

b) Mean \pm S.E.

Table 10 Effects of 6315-S, latamoxef on ADP (0.5 μ M)-induced guinea pig platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. (μ g/mM)	No. of tubes	Platelet aggregation ^{a)} (%)	Inhibition (%)
Control	Saline	9	86.9 \pm 1.1 ^{b)}	
6315-S	900	3	74.7 \pm 8.0	14.0
	2700	3	57.7 \pm 2.3	33.6
	8100	3	48.9 \pm 1.5	43.7
Latamoxef	900	3	83.1 \pm 2.1	4.4
	2700	3	42.1 \pm 3.5	51.6
	8100	3	1.9 \pm 1.7	97.8

a) Maximum increase in light transmission after 0.5 μ M ADP (PRP = 0%, PPP = 100%).

b) Mean \pm S.E.

延長も凝集率の低下にはほぼ平行してみられた。

Table 9 は 6315-S, Latamoxef の collagen 凝集に対する作用を aspirin のそれと比較したものである。6315-S は Latamoxef に較べ約 2 倍強く、また、8

mM の 6315-S による阻害効果は aspirin の約 0.05 mM による阻害効果に匹敵すると考えられる。濃度比にして約 1/160 である。

Table 10 はモルモット血小板の ADP 凝集に対する

Table 11 Effects of 6315-S, latamoxef, cefamandole, cefotaxime and carbenicillin on ADP ($0.75 \mu\text{M}$)-induced guinea pig platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. ($\mu\text{g/ml}$)	No. of tubes	Platelet aggregation			Inhibition (%)
			(%) ^{a)}	Primary ^{c)}	Secondary ^{c)}	
Control	Saline	4	92.6 \pm 0.6 ^{b)}		4/4	
6315-S	900	3	92.3 \pm 1.9		3/3	0.3
	2700	3	87.9 \pm 8.0	1/3	2/3	5.1
	8100	3	65.7 \pm 1.7	3/3		28.7
Latamoxef	900	2	95.3		2/2	-2.9
	2700	3	68.6 \pm 7.7	2/3	1/3	25.9
	8100	3	28.0 \pm 0.9	3/3		69.8
Control	Saline	9	86.9 \pm 1.2		9/9	
Latamoxef	900	3	87.1 \pm 1.2		3/3	-0.2
	2700	3	75.9 \pm 5.2	1/3	2/3	12.3
	8100	3	36.8 \pm 1.1	3/3		57.7
Cefamandole	900	3	83.5 \pm 2.5		3/3	3.9
	2700	3	60.1 \pm 1.5	3/3		30.8
	8100	3	22.2 \pm 2.2	3/3		74.5
Cefotaxime	900	3	78.2 \pm 7.4	1/3	2/3	10.0
	2700	3	53.7 \pm 1.8	3/3		38.2
	8100	3	18.3 \pm 1.4	3/3		78.9
Carbenicillin	900	3	84.6 \pm 2.7		3/3	2.6
	2700	3	82.9 \pm 7.6	1/3	2/3	4.6
	8100	3	56.7 \pm 1.7	3/3		34.8

a) Maximum increase in light transmission after $0.75 \mu\text{M}$ ADP (PRP = 0%, PPP = 100%).

b) Mean \pm S.E.

c) Appearance rate of the primary and secondary aggregation.

6315-Sの作用を Latamoxef のそれと比較したものである。ADP 凝集阻害作用は 6315-S の方が弱いが、両者の根本的な相違点は 6315-S の阻害は主に二次凝集のみの阻害であるのに対し、Latamoxef は高濃度ではあるが一次凝集も阻害する点である。即ち、モルモットの場合、阻害率が約 30% 以下の時は、二次凝集のみの阻害であり、それ以上の阻害は一次凝集の阻害も示すと考えられる。このような仮定に基づいて 6315-S および他の抗生物質の作用を比較すると、Cefotaxime も高濃度で一次凝集を阻害したが Carbenicillin は二次凝集

の阻害を示すに止まった (Table 11)。

このことはヒト血小板の ADP 凝集についても認められた。Table 12 に示すごとく、Latamoxef や Cefotaxime は $8100 \mu\text{g/ml}$ で阻害率約 40% 以上、即ち、二次凝集はもちろん一次凝集も阻害した。しかし、6315-S は阻害率は約 40% に止まり、二次凝集の阻害のみであった。なお、モル濃度で比較した成績は Fig. 1 に示す如くである。Carbenicillin は $2,700 \mu\text{g/ml}$ ではほとんど阻害作用を示さなかったが $8,100 \mu\text{g/ml}$ では強い阻害作用を示した。

Table 13 および Fig. 1 はヒト血小板の ADP 凝集に

Table 12 Effects of 6315-S, latamoxef, cefotaxime and carbenicillin on ADP ($3\mu\text{M}$)-induced human platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. ($\mu\text{g/ml}$)	No. of tubes	Platelet aggregation ^{a)} (%)	Inhibition (%)
Control	Saline	6	75.8	
6315-S	900	2	56.2	25.9
	2700	2	50.3	33.6
	8100	2	43.9	42.1
Latamoxef	900	2	72.1	4.9
	2700	2	64.9	14.4
	8100	2	23.9	68.5
Control	Saline	16	79.2 \pm 0.5 ^{b)}	
Latamoxef	900	4	78.8 \pm 0.8	0.5
	2700	5	53.6 \pm 5.2	32.3
	8100	4	23.4 \pm 1.1	70.5
Cefotaxime	900	4	78.2 \pm 1.2	1.3
	2700	5	55.9 \pm 6.8	29.4
	8100	4	27.0 \pm 1.8	65.9
Control	Saline	9	77.9 \pm 0.3	
Carbenicillin	2700	4	75.0 \pm 0.3	3.7
	8100	3	26.0 \pm 0.6	66.6

a) Maximum increase in light transmission after $3\mu\text{M}$ ADP (PRP = 0%, PPP = 100%).

b) Mean \pm S.E.

対する 6315-S, Latamoxef および aspirin の作用を比較したものである。6315-S と aspirin とは高濃度でも一次凝集を阻害しないが Latamoxef は阻害した。この成績は Table 10 および 12 に示した成績と一致する。

Table 14 はヒト血小板の collagen 凝集に対する 6315-S の作用を Latamoxef の作用と比較したものである。ウサギ血小板の場合と同様に 6315-S は collagen 凝集に対し Latamoxef よりも強い阻害作用を示した。

Table 15 はヒト血小板の collagen 凝集に対する 6315-S の作用を aspirin と比較したものである。両薬剤とも濃度依存的な阻害を示したが、6315-S の作用はモル濃度で aspirin の約 1/80 であった。

ラット PRP は 3.8% クエン酸ソーダーを抗凝固剤として調製した時は collagen に対し凝集を示し難いが、それに Ca^{++} を添加するか、heparin を抗凝固剤として用いるか、あるいは、低い濃度のクエン酸ソーダー溶液

(3.13%) を用いて調製するかすれば collagen に対し反応する。このような条件で 6315-S および Latamoxef のラット血小板の collagen 凝集に対する作用を比較したのが Table 16 の成績である。ヒトまたはウサギの場合とは逆に、ラットの collagen 凝集は Latamoxef で抑制され、6315-S では弱い阻害作用のみみられたに過ぎなかった。Aspirin は用量依存的に阻害作用を示したがウサギに較べて高濃度を必要とした。なお、ADP 凝集に対する作用はウサギの場合とほぼ同じで、Latamoxef が強い阻害作用を示し 6315-S の作用は弱かった。

Fig. 2 はウサギおよびラット PRP に種々濃度の collagen を添加した時の血小板凝集パターンと血小板からの ATP 放出パターンを示したものである。collagen の用量に依存して凝集の開始は早くなり ATP の放出量も増大した。

Fig. 3 はウサギ血小板の ATP 放出に対する 6315-S および他の薬剤の作用を比較検討した成績である。

Table 13 Effects of 6315-S, latamoxef and aspirin on ADP ($5 \mu\text{M}$)-induced human platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. (mM)	No. of tubes	Platelet aggregation ^{a)} (%)	Inhibition (%)
Control	Saline	4	81.8	
6315-S	2	2	71.3	12.8
	4	2	56.8	30.6
	8	2	55.3	32.4
	16	2	50.0	38.9
Latamoxef	2	2	79.4	2.9
	4	2	70.2	14.2
	8	2	44.1	46.1
	16	2	29.1	64.4
Control	DMSO	2	74.8	
Aspirin	0.025	2	66.5	11.1
	0.05	2	62.3	16.7
	0.1	2	52.8	29.4
	0.2	2	53.9	27.9

a) Maximum increase in light transmission after $5 \mu\text{M}$ ADP (PRP = 0%, PPP = 100%).

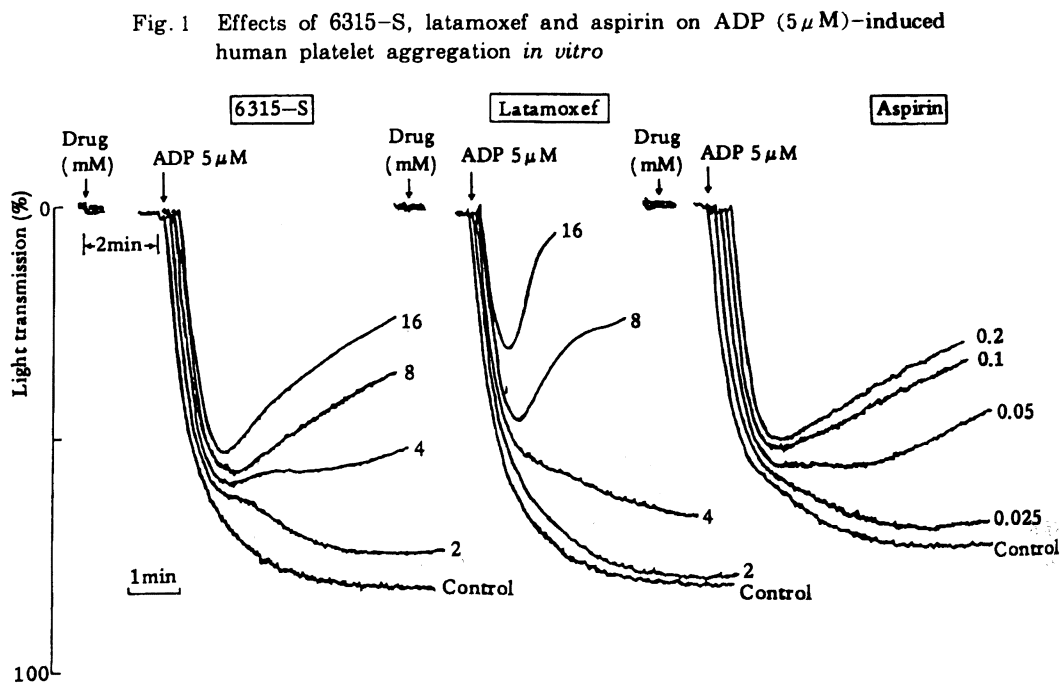


Table 14 Effects of 6315-S and latamoxef on collagen ($2 \mu\text{g/ml}$)-induced human platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. (mM)	No. of tubes	lag time (sec.)	Platelet ^{a)} aggregation (%)	Inhibition (%)
Control	Saline	8	51 ± 2	77.6 ± 0.8^b	
6315-S	1	3	50 ± 2	68.0 ± 1.5	12.4
	2	3	52 ± 1	60.1 ± 1.3	22.6
	4	3	58 ± 1	43.1 ± 2.3	44.5
	8	3	67 ± 2	23.6 ± 1.1	69.6
	16	3	88 ± 6	12.0 ± 0.7	84.5
Latamoxef	4	3	51 ± 2	75.1 ± 0.5	3.2
	8	3	61 ± 1	62.0 ± 1.3	20.1
	16	3	93 ± 2	18.2 ± 0.7	76.5

a) Maximum increase in light transmission after $2 \mu\text{g/ml}$ collagen (PRP=0%, PPP=100%).

b) Mean \pm S.E.

Table 15 Effects of 6315-S and aspirin on collagen ($2 \mu\text{g/ml}$)-induced human platelet aggregation *in vitro*

Groups	Final conc. (mM)	No. of tubes	Platelet ^{a)} aggregation (%)	Inhibition (%)
Control	Saline	5	67.6 ± 1.5^b	
6315-S	1	3	57.2 ± 2.0	15.4
	2	3	48.4 ± 1.4	28.4
	4	3	33.3 ± 0.7	50.7
	8	3	25.3 ± 0.9	62.6
	16	3	18.4 ± 0.3	72.8
Control	Vehicle ^{c)}	3	70.2 ± 1.4	
Aspirin	0.025	3	57.8 ± 1.1	17.7
	0.05	3	43.6 ± 1.5	37.9
	0.1	3	22.4 ± 0.5	68.1

a) Maximum increase in light transmission after $2 \mu\text{g/ml}$ collagen (PRP=0%, PPP=100%).

b) Mean \pm S.E.

c) 30mM Tris-HCl buffered saline (pH 7.4).

Table 16 Effects of 6315-S, latamoxef and aspirin on ADP- or collagen-induced rat platelet aggregation *in vitro* (3.13% citrate)

Groups	Final conc. (mM)	No. of tubes	Platelet aggregation ^{a)} (%)	
			ADP 1 μ M	Collagen 20 μ g/ml
Control	Saline	5	58.1 \pm 0.4 ^{b)}	79.0 \pm 0.6
6315-S	8	3	57.8 \pm 0.2 (0.5)	77.9 \pm 0.4 (1.4)
	16	3	57.0 \pm 0.8 (1.9)	67.0 \pm 0.6 (15.2)
Latamoxef	2	3	57.6 \pm 0.5 (0.9)	78.5 \pm 0.6 (0.6)
	4	3	52.6 \pm 1.0 (9.5)	73.7 \pm 0.3 (6.7)
	8	3	42.6 \pm 1.1 (26.7)	41.1 \pm 10.5 (48.0)
	16	3	18.8 \pm 2.0 (67.6)	0 (100)
Control	DMSO	3	56.7 \pm 0.6	82.8 \pm 0.5
Aspirin	0.4	3	54.9 \pm 0.4 (3.2)	78.3 \pm 0.9 (5.4)
	0.8	3	49.4 \pm 1.0 (12.9)	74.0 \pm 0.1 (10.6)
	1.6	3	42.9 \pm 0.7 (24.3)	67.7 \pm 1.4 (18.2)
	3.2	3	22.0 \pm 1.2 (61.2)	0 (100)

a) Maximum increase in light transmission after ADP and collagen (PRP = 0%, PPP = 100%).

b) Mean \pm S.E.

() : Inhibition in % compared to the control.

Fig. 2 Collagen induced platelet aggregation and ATP-release *in vitro*

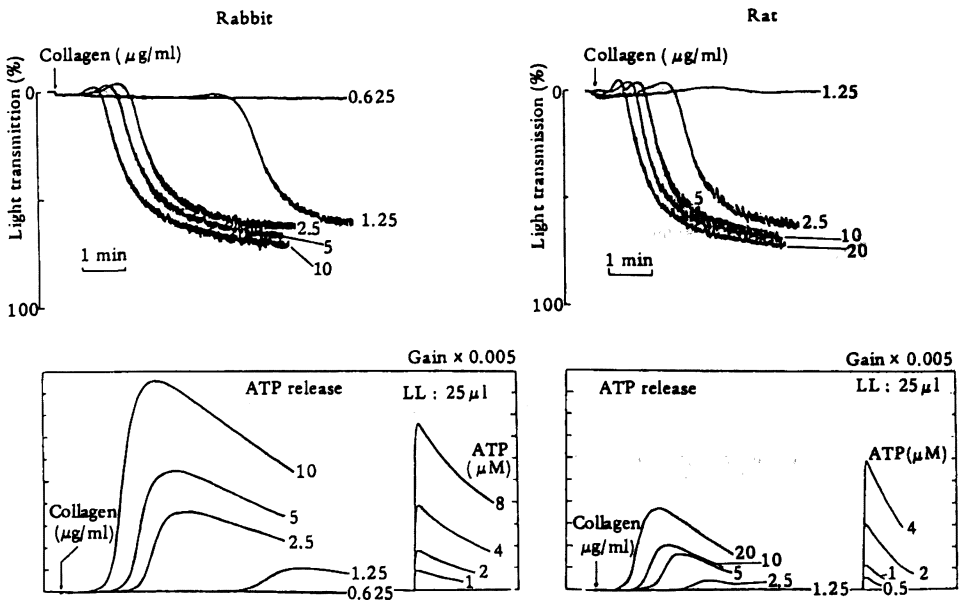
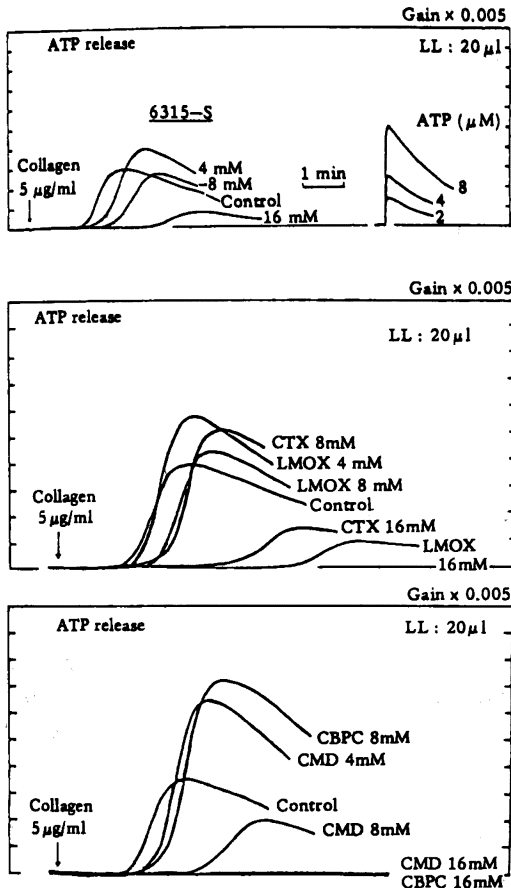


Fig. 3 Effects of 6315-S, latamoxef (LMOX), cefotaxime (CTX), cefamandole (CMD) and carbenicillin (CBPC) on collagen-induced ATP-release from rabbit platelets *in vitro*



6315-S もまた他の薬剤, Latamoxef, Cefotaxime, Carbenicillin も 16 mM といった高濃度では ATP の放出を著しく, または, 完全に抑制したが, 4 mM または 8 mM といった用量では, 放出開始の時間は遅延するものの ATP 放出の反応量は逆に対照群の反応値よりも高値を示した。

4. 血小板の thromboxane A₂ 合成に対する作用

Fig. 4 はウサギ PRP に種々の濃度の collagen を添加した時の血小板凝集と TXA₂ 生成の関係を示す成績である。Collagen の用量を下げるに伴って凝集開始時間は遅延するが最大凝集率はほとんど変わらなかった。しかし, TXA₂ の生成量は collagen の用量にほぼ比例

して低下した。一方, ウサギ血小板において一次凝集しか惹起しない ADP 刺激では, TXA₂ の生成は全く認められなかった。

Fig. 5 はウサギ血小板の collagen 凝集に対する 6315-S, Latamoxef, Cefotaxime, Carbenicillin の作用を比較したものである。終濃度 14.4 mM だけで比較したために薬剤間の強弱を比較するには不十分であるが, いずれも TXA₂ の生成阻害作用を示した。

Fig. 6 はヒト血小板の ADP 凝集と TXA₂ 生成の関係を検討した成績である。終濃度 3 μM の ADP に対し二次凝集まで示したのも 4 例, 一次凝集のみで終わったもの 2 例であったが, TXA₂ の生成は二次凝集の発現と関連していることがうかがえる。ついで, ADP による二次凝集が発現する条件で 6315-S, Latamoxef, Cefotaxime, Carbenicillin の *in vitro* での効果を繰り返し比較した。その結果, 14.4 mM では ADP による二次凝集および TXA₂ 合成は完全に阻害され, また, 4.8 mM でも完全阻害を起こす場合もあった。

Fig. 7 に示したのは 1.6 mM の薬剤濃度で行なった結果の 1 例で, この場合は二次凝集が一部発現し, また TXA₂ 合成も部分阻害にとどまっていた。なお, この成績は control 群を除き 2 例の平均である。この条件では Carbenicillin の作用がやや弱かったが, 6315-S, Latamoxef, Cefotaxime の間には大きな差異を認めることが出来なかった。

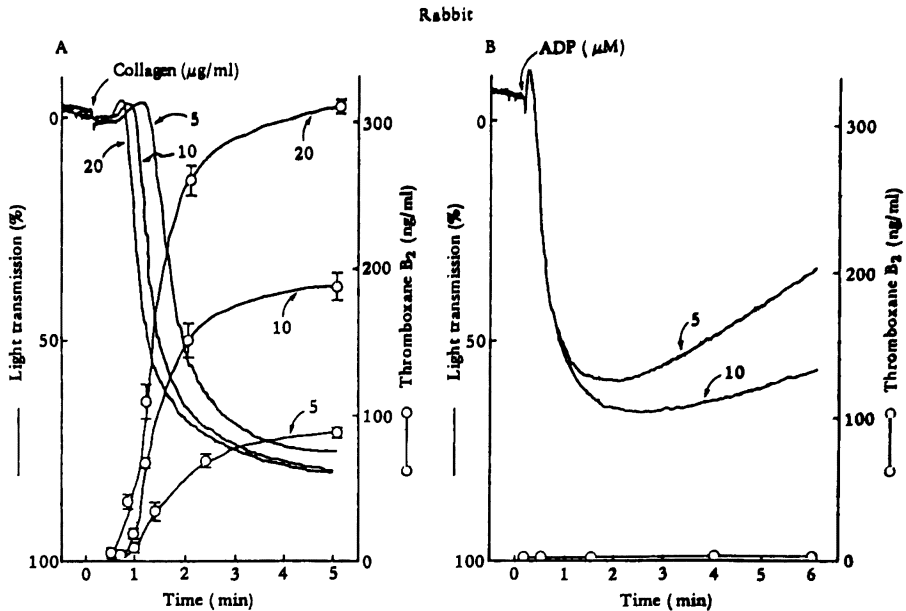
これらの成績から, TXA₂ の生成は二次凝集の発現と関連し, 二次凝集の抑制と TXA₂ 生成阻害とは平行すると考えられる。6315-S は高濃度で TXA₂ 合成を抑制したが, その強さは Latamoxef や Cefotaxime に較べて強いものではなかった。

III. 考 察

6315-S は oxacephem 系抗生物質に分類される新しい抗生物質であるので, その血液凝固系および血小板凝集に対する作用を検討するにあたり, 主に oxacephem 系抗生物質である Latamoxef と比較したが, Latamoxef の作用も未だ十分に解明されている訳ではないので, 他の cephem 系抗生物質とも比較検討した。

緒言で述べたように, 抗生物質による出血傾向に関連する副作用の発現機作には, 大別して, ビタミン K 依存性凝固因子に関連するものと血小板機能に関連するものがある。厳密に言えば, これに加え免疫が関与する血小板減少症もあるが⁴¹⁾。副作用報告にもその例はまれであり, また, 重症感染症においては汎発性血管内凝固症候群 (DIC) も頻発するので, それに基づく血小板

Fig. 4 Effects of collagen (A) and ADP (B) on platelet aggregation and thromboxane A_2 synthesis in rabbit platelets *in vitro*. Thromboxane A_2 was determined as thromboxane B_2 by radioimmunoassay



減少症とも区別する必要があるが、今回の検討項目からは除外した。

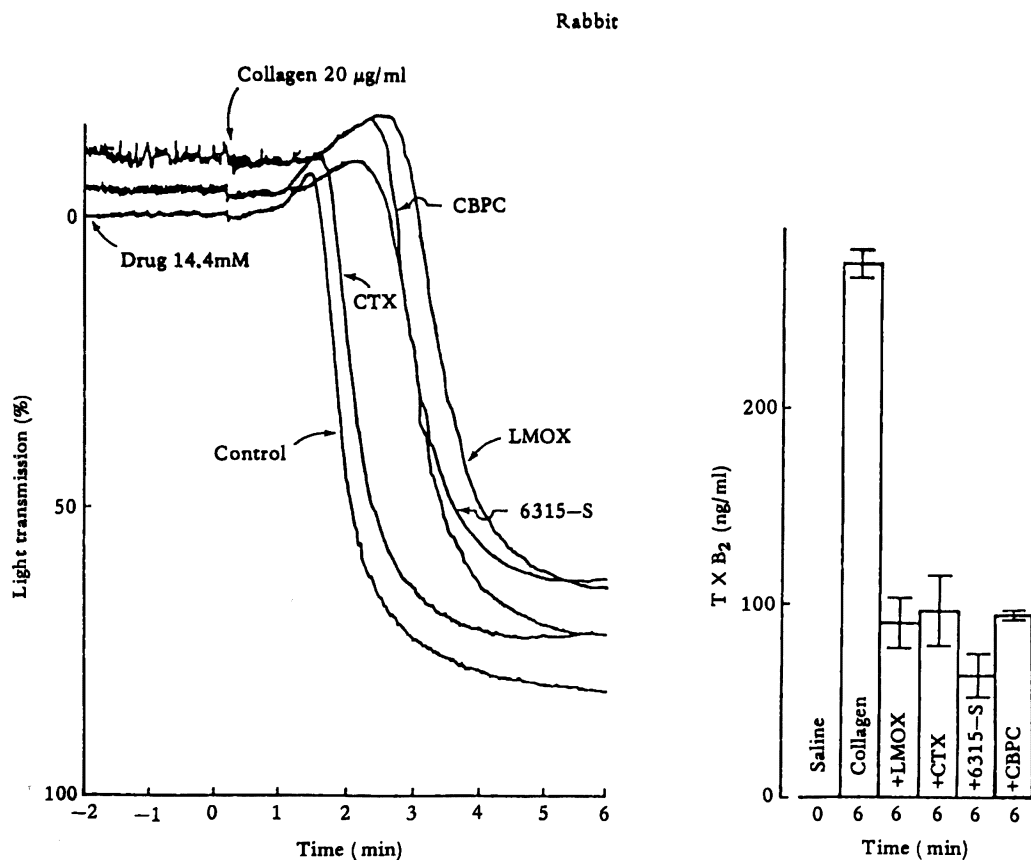
ビタミン K は通常は食事から充分量供給され、主に小腸上部で吸収されているが、この場合のビタミン K は phylloquinone (またはビタミン K_1) である。これに対し、腸内細菌もビタミン K を生成するが、この構造は phylloquinone とは多少異なり menaquinone (ビタミン K_2) と呼ばれている。Menaquinone は生体においては回腸末端から大腸で生成されていると考えられる。

Phylloquinone も menaquinone も脂溶性の化合物であるので、その吸収は一般的に脂質の吸収と同一であると考えられている。すなわち、胆汁酸存在下にミセルを形成し小腸上部で能動的吸収を受け^{24, 25)}、リンパ系を介して吸収されるが、大腸からの吸収は濃度勾配による拡散がその機構であるので、menaquinone の吸収は高くないと考えられる。Menaquinone が果して吸収され利用されているか否かは未だ不明であり、さらに、動物実験では食糞を完全に防止出来ないこともあって結論は得られていない。しかし、ラットにおいても金網の床敷を利用するといった不完全ながらも食糞を防止するケージで飼育するだけで、3日間の絶食もしくはビタミン

ン K 欠乏飼料での飼育でプロトロンビン時間 (PT) 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の延長、ビタミン K 依存性の各凝固因子の低下、血中や肝の異常 prothrombin (PIVKA) の増加、肝ミクロソームの γ -glutamylcarboxylase の活性増加といったビタミン K 欠乏症状が発現するので^{26, 27)}、HOLLANDER^{24, 25)} が menaquinone は大腸から吸収され得ることを示してはいるが、生理的に充分量の menaquinone が吸収され利用されているとは考え難い。抗生物質投与によって招来されるビタミン K 欠乏症の原因としてはじめは腸内細菌の死滅に基く menaquinone の減少が考えられたが、上述の理由によりこれはその原因を鑑別し難いと考えられる。著者らの成績でも Table 6 にも示したように、NMTT を含む抗生物質はいずれも PT の延長 (hypoprothrombinemia) を招来するので、その原因は menaquinone 以外に求めなくてはならない。

LIPSKY^{28, 29)} は NMTT がビタミン K 依存性凝固因子生成に必須の過程である γ -グルタミルカルボキシル化を阻害するのではないかと仮説を提起したが、阻害を招来する濃度は高く²⁹⁾、実験的に *in vivo* で 300 mg/kg といった大量の Latamoxef をラットに投与し

Fig. 5: Effects of 6315-S latamoxef (LMOX), cefotaxime (CTX) and carbenicillin (CBPC) on collagen-induced rabbit platelet aggregation and thromboxane A₂ synthesis *in vitro*



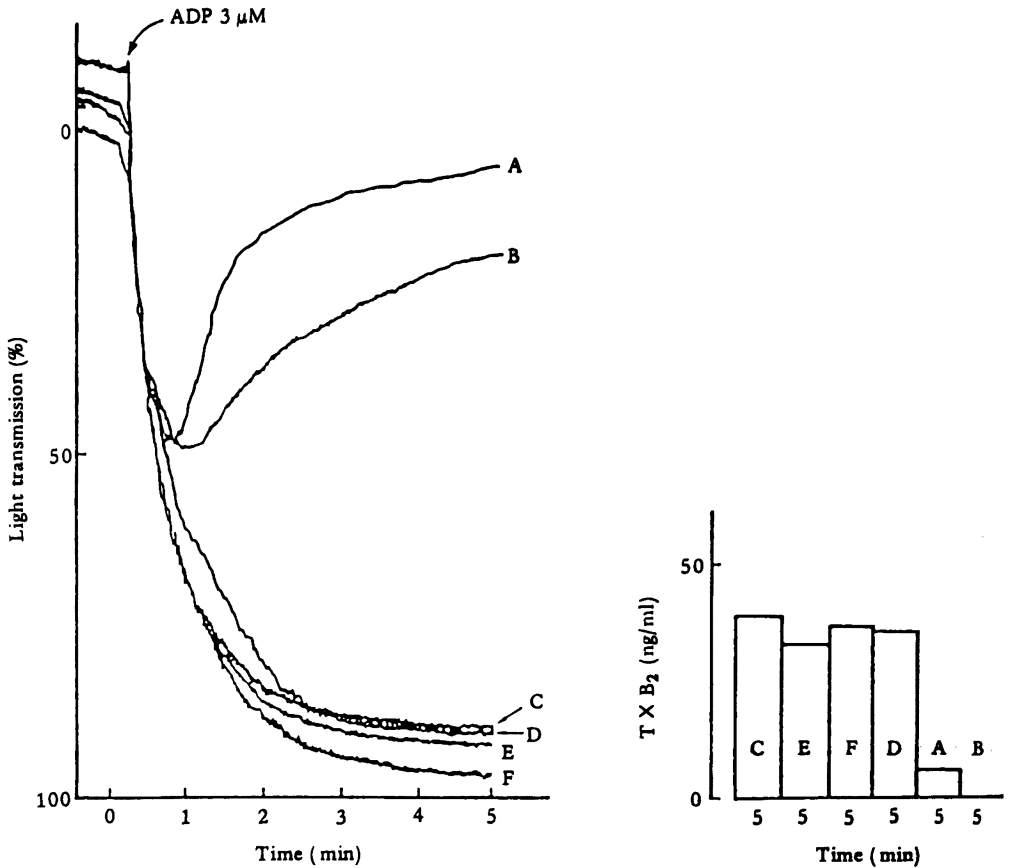
ても肝のNMTT濃度は決してそこまで上昇しない⁴¹⁾。ヒトにおいて肝内濃度を測定することは困難であるが、ヒトにLatamoxefを頻回投与したのちの血中濃度もたかだか20~30 µMであり⁴⁵⁾、1gのLatamoxefを静脈注射した後の胆汁中のNMTT濃度も10~20 µMに過ぎない⁴⁶⁾。また、ラット肝のγ-glutamylcarboxylase活性自体も、*in vivo*においても*in vitro*においても阻害されない³⁰⁾。このことは著者らの成績でも証明されている。したがって、LIPSKYの仮説は当てはまらないのではないかと考えられる。一方、SUTTIEら^{31, 32)}はNMTTがwarfarin⁴⁷⁾やsulfonamide⁴⁸⁾と同じようにビタミンKサイクルにおけるvitamin K epoxide reductaseを阻害するのではないかとする成績を示した。ビタミンKは一般に酸化型(quinone型)で吸収され、肝ミクロソームに存在するvitamin K reductaseによ

り活性型(hydroquinone型)に還元される。この活性型がγ-glutamylcarboxylaseの補酵素として働き、自身はvitamin K epoxideに酸化される。このepoxideはvitamin K epoxide reductaseにより還元され最初のquinone型に戻りビタミンKサイクルが完結する⁴⁹⁾。BECHTHOLDら³³⁾はCefamandole, Latamoxef, CefoperazoneなどNMTTを含む抗生物質を投与した患者ではvitamin K epoxideの血中濃度が増加することを示した。この成績はSUTTIEら^{31, 32)}の成績と一致する。

ビタミンKサイクルは上述の過程を経て再利用されるのであるが、このサイクルはビタミンKが十分に外から供給される時に如何になるか未だ明らかではないが、少なくともビタミンK欠乏状態では充分にその価値が有るものと考えられる。したがって、NMTTがvitamin

Fig. 6 ADP-induced human platelet aggregation and thromboxane A_2 synthesis *in vitro*
Six male volunteers (A through F) participated in this study

Human (A,B,C,D,E,F.)



K epoxide reductase を阻害し再利用を阻止するとすれば、NMTT もしくは NMTT を含む抗生物質がビタミン K 欠乏時においてのみ hypoprothrombinemia を招来することは極めて起り得ることである。それが原因であるとすれば、上述の hypoprothrombinemia はビタミン K 投与により改善され得るものである。事実、抗生物質による hypoprothrombinemia はビタミン K 欠乏時に易発し、ビタミン K の投与により回復させられることが報告されている^{2, 4, 15, 17, 18, 21)}。

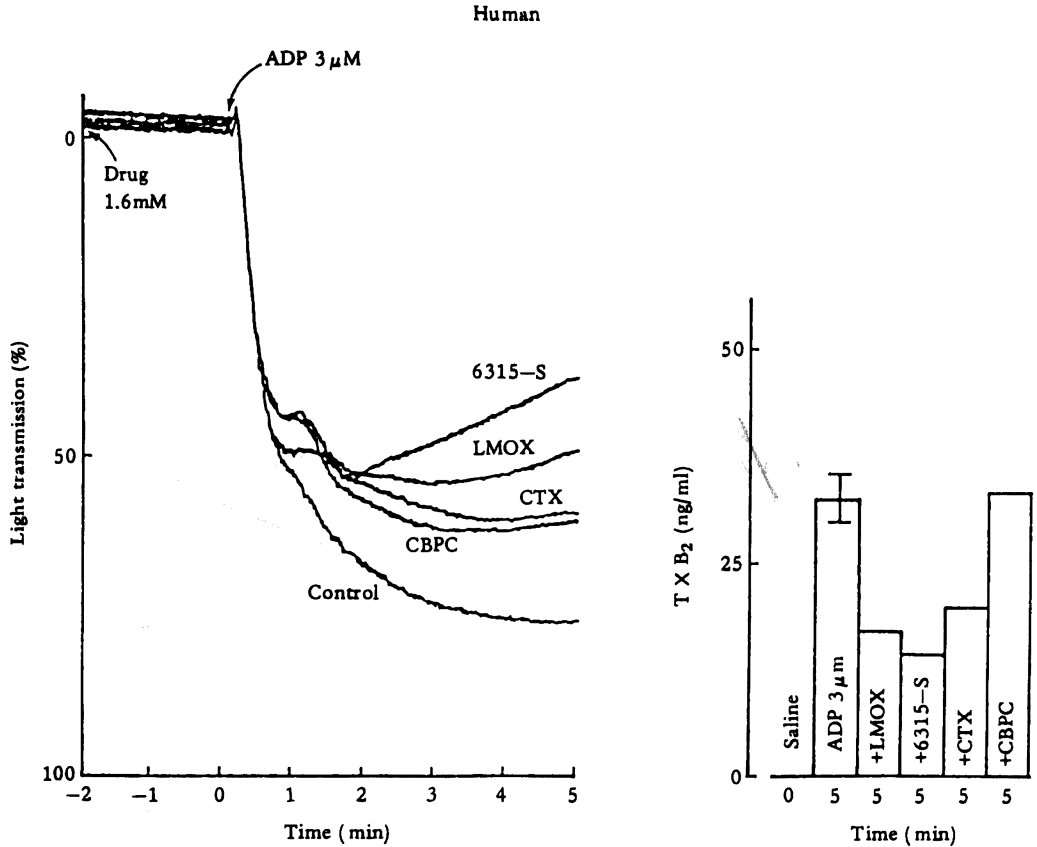
6315-S の 3 位側鎖は NMTT のかわりに HTT であるが、動物実験の成績から推測すると NMTT と同様の作用を示すと考えられる。しかし、正常ラットでは作用が認められず、ビタミン K 欠乏ラットにおいてのみ認められることから、ビタミン K 投与により回復させ得

る変化と考えられる。なお、本報では PT の変化のみ示したが、APTT、第 VII 因子、第 II 因子、PIVKA などの変化も上述の仮定を満足させるものであった⁵⁰⁾。

血小板機能の低下は出血素因として重要な点であるが⁵¹⁾、実際にはどの程度の機能低下が出血の原因となるか明らかにされていない。血小板数と出血との関係では、血小板数が 10 万以下の場合にのみ出血時間と負の相関を示す事が報告されている⁵²⁾。血小板数と血小板機能を直接比較することは出来ないであろうが敢えて述べれば、血小板機能が血小板数にして 10 万以下相当量、すなわち、正常の 1/3 以下になれば出血時間延長の原因となり得るのではないかと考えられる。

実験成績にも示したが、正常ラットに 300 mg/kg の 6315-S を 1 週間連続投与しても ADP や collagen 凝

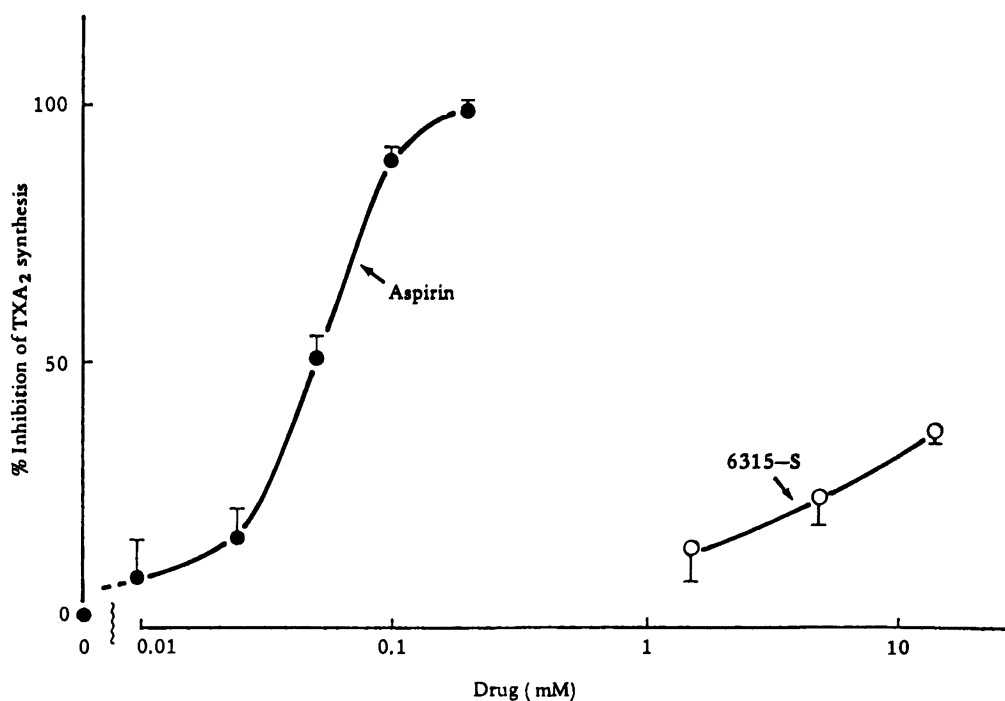
Fig. 7 Effects of 6315-S, latamoxef (LMOX), cefotaxime (CTX) and carbenicillin (CBPC) on ADP-induced human platelet aggregation and thromboxane A₂ synthesis *in vitro*



集能に変化は認められなかった。これは 6315-S のみならず Latamoxef, Cefotaxime, Carbenicillin についても同様であった。この点はヒトに Latamoxef^{6, 53)}, Cefotaxime⁵³⁾, Carbenicillin⁵⁶⁾などを投与すると血小板の ADP 凝集能が低下するとする報告とは一致しない。したがって、*in vivo* の作用に関してはラットの成績からヒトの場合を類推することはできないと考えられる。TEN CATE ら⁵³⁾は健康男子に 1 日 4 g の Latamoxef もしくは同量の Cefotaxime を 1 日 2 回、4 日間投与して凝血学的検索を行ない両薬剤とも血小板凝集の抑制を示したことを報告している。

In vitro においても、ヒトと動物の血小板凝集のパターンや薬剤の作用に相違のみられることが知られている^{54, 55)}が、抗生物質の阻害作用にもヒトとラットの collagen 凝集に相異が認められた。すなわち、ヒト血

小板の collagen 凝集では Latamoxef より 6315-S の方が強い阻害を示したが (Table 14), ラット血小板では Latamoxef の方がはるかに強い阻害を示した (Table 16)。また、ATP はヒトでは凝集を阻害するが⁵⁶⁾、ラットでは凝集を惹起した (嘉久志寿人ほか: 未発表データ)。ヒトとラットとは凝血機序に相違のあることが指摘⁵⁷⁾されているが、血小板凝集機序においても薬物の作用差からみても相違のあることが示唆される。したがって、薬剤の作用を評価するにあたりラットの成績をヒトに外挿するのは危険であるかもしれないが、毒性試験などでも頻用される動物種であるので参考のために記載した。しかし、ADP 凝集については、ラット (一次凝集) とヒト (一次および二次凝集) のパターンに相違はあるが、薬剤の一次凝集に対する作用をみる限り、collagen 凝集のごとき差異はみられなかった。

Fig. 8 Effects of 6315-S and aspirin on thromboxane A₂ synthesis in rat platelets

ところで, *in vitro* では阻害作用発現の薬剤濃度は *in vivo* に較べるとはるかに高く, 終濃度が $2,700 \mu\text{g/ml}$ (約 5 mM) または $8,100 \mu\text{g/ml}$ (約 15 mM) といった濃度ではあるが, ヒト, ウサギ, モルモット, ラットなどの血小板凝集能に対し, 6315-S, Latamoxef, Cefotaxime, Carbenicillin などは阻害作用を示し, その阻害形式には差がみられた。Latamoxef や Cefotaxime は ADP 凝集に阻害作用を示すが, collagen 凝集に対しては作用が弱い。しかし, 6315-S は ADP 凝集に対しては作用が弱い, collagen 凝集には阻害作用を示した。Carbenicillin も同様の傾向を示す薬剤であった。6315-S と Latamoxef の ADP 凝集に対する作用を比較すると, Latamoxef は一次凝集も阻害するのに対し 6315-S は二次凝集は阻害するものの一次凝集に対してはあまり阻害作用を示さなかった。これは aspirin の阻害型式に類似しており, 二次凝集に対する作用はモル濃度で約 $1/80$ 程度であった (Fig. 1)。

血小板凝集の機構は複雑で未だ十分には解明されていないので, 抗生物質による阻害の機作も明らかでないが, BANG と KAMMER¹³⁾ は 1) prostaglandin 生合成の

抑制, 2) 血小板に含まれる cyclic AMP の増加, 3) ADP と血小板膜 receptor の結合阻害, をその可能性として挙げている。Latamoxef¹⁴⁾ や Carbenicillin, Penicillin G¹⁵⁾ などは血小板膜の ADP-receptor には拮抗阻害を示さないが血小板膜に非特異的に結合し, 結果的に ADP の血小板膜への結合を阻害すると考えられている。抗生物質のヒト血小板膜への非特異的結合を検討すると, Latamoxef, Cefamandole, Cefotaxime, Carbenicillin, Ticarcillin, Piperacillin などいずれも同程度の結合を示し, 化学構造に関連した差異は認められていない¹⁶⁾。

Latamoxef の場合, malondialdehyde (MDA) の生成に阻害は認められないので¹⁷⁾, prostaglandin 代謝に影響がないと考えられていた。事実, ラット血小板を用いて MDA の生成を検討すると阻害は認められない (奥野勇, 内田清久: 未発表データ)。しかし, 本報告で示したごとく, ヒトおよび実験動物の血小板を用いて TXA₂ の生成を TXB₂ としてラジオイムノアッセイで直接定量すると, 血小板凝集の抑制に一致して TXA₂ の生成阻害が認められた。ただし, *in vitro* での, しか

も高濃度での実験であるので、*in vivo*での血小板凝集阻害にTXA₂合成の阻害がどの程度関与しているかわからず。ラット血小板を用いて、しかもADPとcollagenを同時に加えて凝集させるという複雑な実験系ではあるが、TXA₂生成に対する6315-Sとaspirinの阻害作用を比較すると、Fig. 8に示すごとく、6315-Sの作用はaspirinに較べはるかに低い(モル濃度比で1/300以下)のものであった。したがって、抗生物質にTXA₂生成阻害作用が*in vitro*で認められるとしても、*in vivo*で血小板凝集阻害の原因にはなり難いのではないかと考えられる。AspirinのTXA₂合成の阻害はprostaglandin代謝におけるcyclooxygenaseの阻害に原因するが、抗生剤の作用機序がこれと同一であるか否かは未だ明らかでなく、この点は将来検討されるべき問題である。ANDRASSYら⁵⁹⁾は抗生物質投与後に血小板のcyclic AMPが増加すると示唆しているが、著者がウサギ血小板を用い、*in vitro*で調べた成績ではこれを裏づける事実は認められなかった(岡林直ら:未発表データ)。

血小板の凝集時に起る血小板からの種々な物質の放出反応は血小板機能としての粘着および凝集と同じく重要な反応の一つである。

高木ら(1980)⁶⁰⁾はヒト血小板のATP放出能と血小板凝集能とは相関を示さず、むしろ血小板の粘着能との間に正の相関を示すことを指摘している。また、ATP放出の測定に加えるluciferin-luciferaseやMgSO₄によってADP、エピネフリンの二次凝集の抑制されることも知られており通常の吸光度法による凝集計とは異なる凝集曲線を描写する問題点のあることからATP放出の測定時には通常の凝集計と同時に凝集曲線を監察することが望ましいと考えられる。

しかし、ATP放出の測定は血栓傾向の予知や血小板機能異常の機序解明の有力な手段として利用される可能性があり(松野ら、1979)⁶¹⁾また、実験的にも容易に測定できることから繁用されている。

ところで6315-Sは放出反応を伴った凝集すなわち、ADPの二次凝集やcollagen凝集を阻害することから放出反応を阻害している可能性が考えられるので、著者らはLumi-aggregometerを用いウサギ血小板のcollagen凝集時に放出されるATP放出に対する作用について検討した。

6315-S, latamoxef, cefotaxime, carbenicillinおよびcefamandoleいずれも16mMの高濃度ではATPの放出を抑制したが4または8mMではATP放出の亢進を示した。しかし、6315-Sや他の抗生物質がATP放出

の亢進を示す作用機序については現時点では明らかでない。

出血傾向の招来には、凝固系、血小板機能の障害に加えて線溶系の亢進も考え得る。BECHTHOLDら⁶²⁾はprotein Cの増加を報告しているが、*in vitro*でのfibrin平板法およびeuglobulin溶解時間で検討した限り、6315-Sやその他の抗生物質に線溶活性を亢進する直接作用は認められなかった⁶²⁾。

(実験期間:1984年4月~1985年8月)

謝 辞

実験に御協力いただいた塩野義製薬研究所の黒澤 淳、井上 健、成定昌幸、奥野 勇、橋本 滋の各博士、および、福井義弘、中尾博之、伊藤文男、佐藤誠二、藤春由美の諸氏に感謝致します。

文 献

- 1) RYMER, W. & C. W. GREENLAW: Hypoprotrombinemia associated with cefamandol. Drug Intell. Clin. Pharm. 14: 780~783, 1980
- 2) HOOPER, C. A.; B. B. HANEY & H. H. STONE: Gastrointestinal bleeding due to vitamin K deficiency in patients on parenteral cefamandole. Lancet i: 39~40, 1980
- 3) REDDY, I. & R. R. BAILEY: Vitamin K deficiency developing in patients with renal failure treated with cephalosporin antibiotics. New Zealand Med. J. 92: 378~379, 1980
- 4) HOLT, R. J.; M. GORROCHATEGUI & C. PEREZ: Hypoprotrombinemia associated with moxalactam treatment of a septic sternoclavicular arthritis due to citrobacter diversus. Drug Intell. Clin. Pharm. 15: 288~289, 1980
- 5) PAKTER, R. L.; T. R. RUSSELL, C. M. MIELKE & D. WEST: Coagulopathy associated with the use of moxalactam. JAMA 248: 1100, 1982
- 6) BANG, N. U.; S. S. TESSLER, R. O. HEIDENRICH, C. A. MARKS & L. E. MATTLER: Effects of moxalactam on blood coagulation and platelet function. Rev. Infect. Dis. 4: S546~S554, 1982
- 7) HOCHMAN, R.; J. CLARK, A. ROLLA, S. THOMAS, A. KALDANY & J. A. D'ELLA: Bleeding in patients with infections. Are

- antibiotics helping or hurting. Arch. Intern. Med. 142 : 1440~1443, 1982
- 8) KAMMER, R. B. : Moxalactam : Clinical summary of efficacy and safety. Rev. Infect. Dis. 4 : S712~S719, 1982
 - 9) CARLBERG, H. ; K. ALESTIG, C. E. NORD *et al.* : Intestinal side effect of cefoperazone. J. Antimicrob. Chemother. 10 : 483~487, 1982
 - 10) NEU, H. C. : The new beta-lactamase-stable cephalosporins. Ann. Intern. Med. 97 : 408~419, 1982
 - 11) WEITEKAMP, M. R. & R. C. ABER : Prolonged bleeding times and bleeding diathesis associated with moxalactam administration. JAMA 249 : 69~71, 1983
 - 12) Editorial : Antimicrobials and hemostasis. Lancet i : 510~511, 1983
 - 13) ANDRASSY, K. ; J. KODERISCH, S. FRITZ & E. RITZ : New beta-lactam antibiotics and hemorrhagic diathesis : Comparison of moxalactam and cefotaxime. Clin. Ther. 6 : 34~42, 1983
 - 14) FAINSTEIN, V. ; G. P. BODEY, K. B. MCCREDIE, M. J. KEATING, E. H. ESTEY, R. BOLIVAR & L. ELTING : Coagulation abnormalities induced by β -lactam antibiotics in cancer patients. J. Infect. Dis. 148 : 745~750, 1983
 - 15) BANG, N. U. & R. B. KAMMER : Hematologic complications associated with β -lactam antibiotics. Rev. Infect. Dis. 5 : S380~S393, 1983
 - 16) HAUBENSTOCK, A. ; P. SCHMIDT, J. ZAZGORNIK, P. BALCKE & H. KOPSA : Hypoprothrombinaemic bleeding associated with ceftriaxone. Lancet i : 1215~1216, 1983
 - 17) JOEHL, R. J. ; D. A. RASBACH, J. O. BALLARD, M. R. WEITEKAMP & F. R. SATTLER : Moxalactam. Evaluation of clinical bleeding in patients with abdominal infection. Arch. Surg. 118 : 1259~1261, 1983
 - 18) JENKINSON, S. G. & H. C. NEU : Adverse effects of new cephalosporins. Ann. Int. Med. 98 : 415~416, 1983
 - 19) DUDA, D. ; H. HEYERS & C. WENSKE : Antibiotika-induzierte Hamostasestörungen und Blutungsneigungen. Dtsch. Med. Wochenschr. 109 : 388~392, 1984
 - 20) ANDRASSY, K. ; H. BECHTOLD & E. RITZ : Hypoprothrombinemia caused by cephalosporins. J. Antimicrob. Chemother. 15 : 133~136, 1985
 - 21) BARCKOW, D & C. D. SCHWIGON : Untersuchungen zu therapie und Prophylaxe moxalactaminduzierter Hypoprothrombinämien bei luntensivpatienten. Intensivmed. 22 : 233~237, 1985
 - 22) HILL, M. J. : The role of unsaturated bile acids in the etiology of large bowel cancer. In "Origins of Human Cancer. Book C, Human Risk Assessment". Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation. Vol. 4. Cold (HIATT, H. H. ; J. D. WATSON & J. A. WINSTEN) Cold Spring Harbor Laboratory, pp.1629~1640, 1977
 - 23) RAMOTAR, K. ; J. M. CONLY, H. CIUBB & T. LOUIE : Production of menaquinones by intestinal anaerobes. J. Infect. Dis. 150 : 213~218, 1984
 - 24) HOLLANDER, D. & E. RIM : Colonic absorption of bacterially synthesized vitamin K₂ in the rat. Am. J. Physiol. 230 : 251~255, 1976
 - 25) HOLLANDER, D. ; E. RIM & P. E. RUBLE, JR. : Vitamin K₂ colonic and ileal *in vivo* absorption : bile, fatty acids, and pH effects on transport. Am. J. Physiol. 233 : E124~E129, 1977
 - 26) UCHIDA, K. ; Y. NOMURA, H. TAKASE, T. HARAUCHI, T. YOSHIZAKI & H. NAKAO : Effects of vitamin K-deficient diets and fasting on blood coagulation factors in conventional and germ-free rats. Jpn. J. Pharmacol. 40 : 115~122, 1986
 - 27) MAMEESH, M. S. & B. C. JOHNSON : Production of vitamin K deficiency in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101 : 467~468, 1959
 - 28) LIPSKY, J. J. : N-Methyl-thio-tetrazole inhibition of the gamma carboxylation of

- glutamic acid : possible mechanism for anti-biotic-associated hypoprothrombinaemia. *Lancet* ii : 192~193, 1983
- 29) LIPSKY, J. J. : Mechanism of the inhibition of the γ -carboxylation of glutamic acid by N-methyl-thiotetrazole-containing antibiotics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81 : 2893~2897, 1984
- 30) UCHIDA, K. ; T. ISHIGAMI & T. KOMENO : Effects of latamoxef and methyltetrazolethiol on gamma-glutamylcarboxylase activity. *Jpn. J. Pharmacol.* 35 : 330~333, 1984
- 31) UOTILA, L. & J. W. SUTTIE : Inhibition of vitamin K-dependent carboxylase *in vitro* by cefamandole and its structural analogues. *J. Infect. Dis.* 148 : 571~578, 1983
- 32) CREEDON, K. A. & J. W. SUTTIE : N-Methylthiotetrazole inhibition on vitamin K epoxide reductase (Abstract), FASESB Meeting, 1985
- 33) BECHTHOLD, H. ; J. LORENZ, L. S. WEILEMANN, T. MEINERTZ, D. TRENK, K. ANDRASSY & E. JAINCIEN : Possible coumarin like mechanism of action for cephalosporins. *Klin. Wochenschr.* 62 : 885~886, 1984
- 34) BROWN, C. H. ; E. A. NATELSON, M. W. BRADSHAW, T. E. WILLIAMS & C. P. ALFREY, JR. : The hemostatic defect produced by carbenicillin. *N. Engl. J. Med.* 291 : 265~270, 1974
- 35) ANDRASSY, K. & E. RITZ : Penicillin and Haemostasis. *Cardiovasc. Med.* 604~608, 1977
- 36) SHATTH, S. J. ; J. S. BENNETT, M. MCDONOUGH & J. TURNBULL : Carbenicillin and penicillin G inhibit platelet function *in vitro* by impairing the interaction of agonists with the platelet surface. *J. Clin. Invest.* 65 : 329~339, 1980
- 37) IKEDA, Y. ; M. KIKUCHI, S. MATSUDA, K. TOYAMA, H. HASEGAWA, K. WATANABE & Y. ANDO : Inhibition of platelet function by sulbenicillin and its metabolite. *Antimicrob. Agents Chemother.* 5 : 881~883, 1978
- 38) SUTTIE, J. W. ; L. M. CANFIELD & D. V. SHAH : Microsomal vitamin K-dependent carboxylase. *Methods in Enzymology* 67 : 180~185, 1980
- 39) LOWRY, O. H. ; N. J. ROSENBROUGE, A. L. FARR & R. J. RANDALL : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265~275, 1951
- 40) BORN, G. V. R. : Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 194 : 927~929, 1962
- 41) BLAJCHMAN, M. A. ; R. C. LOWRY, J. E. PETTIT & P. STRADLING : Rifampicin-induced immune thrombocytopenia. *Br. Med. J.* ii : 24~26, 1970
- 42) 前川正, 藤巻直男, 松田保緒 : DIC (播種性血管内凝固症候群) 基礎と臨床 : テクノ, 東京, 1981
- 43) SMITH, G. F. & J. L. SUNDBOOM : The effect of 1-methyl-5-thiotetrazole in rat liver vitamin K-dependent carboxylase assay. *Thromb. Res.* 33 : 633~644, 1984
- 44) MIZOZIRI, K. : Tissue distribution of latamoxef and N-methyltetrazolethiol in rats. in preparation
- 45) BLACK, H. R. ; M. K. BUENING & R. L. WOLEN : Latamoxef, its side chain and coagulation. *Lancet* ii : 1090, 1983
- 46) UCHIDA, K. ; M. KONISHI & H. IGIMI : Biliary excretion of latamoxef and N-methyltetrazolethiol in human and rats. *J. Pharmacobio Dyn.* 8 : 981~988, 1985
- 47) FASCO, M. J. ; E. F. HILDEBRANDT & J. W. SUTTIE : Evidence that warfarin anticoagulant action involves two distinct reductase activities. *J. Biol. Chem.* 259 : 11210~11212, 1982
- 48) MUSHETT, C. W. & A. O. SEELEER : Hypoprothrombinemia resulting from the administration of sulfaquinoxaline. *J. Pharm. Exp. Therap.* 91 : 84~91, 1947
- 49) SUTTIE, J. W. : Vitamin K. In "Fat-Soluble Vitamins" (DIPLOCK, A. T.) William Heinemann, Ltd., London, 1984
- 50) MATSUURA, M : unpublished data.

- 51) HARDISTY, R. M. : Disorders of platelet function. *Br. Med. Bull.* 33 : 209~212, 1977
- 52) HARKER, L. A. & S. J. SLICHTER : The bleeding time as a screening test for evaluation of platelet function. *N. Engl. J. Med.* 287 : 155~159, 1972
- 53) TEN CATE, J. W. ; H. R. BULLER, A. STURK & K. ZWEENS : A randomized double blind placebo controlled cross-over study on the effect of moxalactam and cefotaxime on platelets and blood coagulation. 13th International Congress of Chemotherapy, pp. 106~114, 1983
- 54) MACMILLAN, D. C. & A. K. SIM : A comparative study of platelet aggregation in man and laboratory animals. *Thromb. Diathes Haemorrh. (Stuttg.)* 24 : 385~394, 1970
- 55) MILLS, D. C. B. : Platelet aggregation and platelet nucleotide concentration in different species. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 27 : 99~107, 1970
- 56) O'BRIEN, J. R. : A comparison of platelet aggregation produced by seven compounds and a comparison of their inhibitors. *J. Clin. Pathol.* 17 : 275~281, 1984
- 57) GAETANO, G. DE ; M. B. DONATI, A. POGGI, I. R. INNOCENTI & M. C. RONCAGLIONI : A peculiar haemostatic mechanism in the rat. *Thromb. Res.* 6 : 201~202, 1975
- 58) UCHIDA, K. ; C. S. HARMS & N. U. BANG : The binding of moxalactam and other beta-lactam antibiotics to human platelets *in vitro*. preparation
- 59) ANDRASSY, K. ; B. KERN, J. KODERISCH, W. KREUSSER, A. WIETASCH & E. RITZ : Penicillininduzierte hamorrhagische Diathese - Nachweis gesteigerte Plättchen-cAMP - und verminderte Thromboxanbildung. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 88 : 1159~1161, 1982
- 60) 高木 康, 尤芳 上, 新谷和夫, 石井 暢, 井出 徳宏, 佐野欣一 : 血小板凝集能と ATP 放出能の検討 -Lumi-Aggregometer での検討. *臨床検査*, 24 : 839~842, 1980
- 61) 松野一彦, 寺田秀夫 : 血小板機能検査の新しい進歩。血栓傾向の予知に用いられる可能性 -Lumi-Aggregometer による血小板凝集能, ATP 放出能測定の意義. *新医療*, 6 : 57~62, 1979
- 62) OKUNO, I. ; Y. FUJIIHARU & K. UCHIDA : Effects of antibiotics on fibrinolytic activity. *Jpn. J. Pharmacol.* 42 : 150~152, 1986

EFFECT OF 6315-S (FLOMOXEF) ON BLOOD COAGULATION AND PLATELET AGGREGATION

KIYOHISA UCHIDA, HARUTO TAKASE, YASUHARU NOMURA,
HISATO KAKUSHI, TSUTOMU SHIKE, TADASHI OKABAYASHI
and SHINICHI MIHARA
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

The effects of 6315-S (Flomoxef) on blood coagulation factors and platelet aggregation were examined experimentally and the following observations made.

1) 6315-S (300 mg/kg/day), or its side chain 1-(2-hydroxyethyl)-1H-tetrazol-5 thiol (HTT, Na salt, 97 mg/kg/day), administered once a day for one week by i. v. injection, caused no inhibition of γ -glutamylcarboxylase activity in rat liver. *In vitro*, 6315-S decreased enzyme activity at very high concentrations such as 10 mM, but the inhibition was less than that produced by latamoxef or cefotaxime.

2) 6315-S had no effect on prothrombin time (PT) in rats fed an ordinary diet, but increased it in rats fed a vitamin K-deficient diet. Increased in PT was also produced by other antibiotics containing N-methyltetrazaolethiol. The hypoprothrombinemia was normalized by vitamin-K injection.

3) 6315-S caused no change in rat platelet aggregation when injected i. v. for one week. *In vitro*, 6315-S decreased ADP-induced platelet aggregation (rats, rabbits, guinea pigs and humans) at very high concentrations such as 2,700 or 8,100 μ g/ml, but to a lesser extent than latamoxef or cefotaxime. 6315-S showed little inhibition of ADP-induced primary-wave aggregation, but latamoxef or cefotaxime inhibited not only secondary-wave but also primary-wave aggregation. 6315-S showed a stronger inhibition of collagen-induced platelet aggregation than did latamoxef or cefotaxime. The inhibition caused by 6315-S, however, was less than 1/80 that caused by aspirin.

4) 6315-S inhibited collagen- or ADP-induced thromboxane A₂ synthesis in rat, rabbit and human platelets *in vitro* at very high concentrations. The inhibition was also produced by latamoxef or cefotaxime to the same extent, but was about 1/300 that caused by aspirin.