

Delayed-type hypersensitivity における β -lactam 剤の交叉性の検討 (V)

—Methyl-tetrazolethiol の関与に関する動物実験における検討—

宇野 勝次・山作 房之輔¹⁾

水原郷病院* 薬剤科, 同¹⁾ 内科

(昭和 63 年 1 月 18 日受付)

3 位側鎖に tetrazole 基を有する cephem 剤による過敏症患者に対して, delayed-type hypersensitivity (DTH) における β -lactam 剤の交叉性について検討した臨床試験の成績を確認する目的で, 動物実験を試みた。実験動物にモルモットを使用し, 感作薬剤に LMOX, CPZ, ならびに LMOX や CPZ の 3 位側鎖構造自体である methyl-tetrazolethiol (MTT) の 3 剤を用い, 交叉試験は遅延型皮内反応と leucocyte migration inhibition test (LMIT) の 2 つの方法で試験薬剤 14 剤について検討した。

感作モルモットにおける遅延型皮内反応と LMIT の結果はほぼ一致し, 臨床試験の成績を強く支持した。すなわち LMOX や CPZ による DTH では, LMOX や CPZ と同じように 3 位側鎖に tetrazole 基を有する cephem 剤だけでなく, MTT, MTT の類似構造である hydroxyethyl-tetrazolethiol (HTT), および cephem 剤の母核構造である 7-aminocephalosporanic acid (7ACA) にも交叉反応が成立した。一方 MTT による DTH では, HTT だけでなく 3 位側鎖に tetrazole 基を有する cephem 剤にも交叉反応が成立した。

以上の結果から, 3 位側鎖に MTT 基を有する cephem 剤による DTH では, 抗原決定基として遊離 MTT 基と母核構造が強く関与し, そのため 3 位側鎖に tetrazole 基を有する他の cephem 剤に高率に交叉反応が成立すると考えられる。

Key words : Delayed-type hypersensitivity, Cross-reactivity of β -lactam antibiotics, Methyl-tetrazolethiol, Leucocyte migration inhibition test, Delayed-type intradermal skin test

我々は, 前報で leucocyte migration inhibition test (LMIT) により, 3 位側鎖に tetrazole 基を有する cephem 剤に過敏症を呈した患者 7 例に対して delayed-type hypersensitivity (DTH) における交叉性について検討し, 3 位側鎖に tetrazole 基を有する他の cephem 剤に高率に交叉反応が成立することを報告した¹⁾。この臨床試験の結果を確認する目的で, 3 位側鎖に tetrazole 基を有する cephem 剤による DTH における β -lactam 剤の交叉性に関して動物実験を試みた。実験動物にモルモットを使用し, 感作薬剤に latamoxef (LMOX), cefoperazone (CPZ) および LMOX, CPZ の 3 位側鎖構造自体の methyl-tetrazolethiol (MTT) の 3 種類を用い, 交叉試験の方法に遅延型皮内反応と LMIT を用いて, DTH における 3 位側鎖構造の tetrazole 基の関与について検討した。

I. 材料と方法

1. 実験動物と感作薬剤

実験動物に Hartley 系白色モルモット (体重, 300~500 g) を使用し, 感作薬剤に CPZ, LMOX, MTT (塩野義製薬提供) の 3 種類を用いた。

2. 免疫

感作薬剤の 2% 生理食塩水と Freund の complete adjuvant の等量混合 emulsion を感作抗原液とし, 免疫は前報²⁾ 通りの方法で行ない, 感作薬剤 1 剤につき 5 匹のモルモットを感作した。

3. 試験薬剤

試験薬剤は LMOX, CPZ, flomoxef (FMOX), cefotiam (CTM), cefazolin (CEZ), ceftazidime (CAZ), ceftizoxime (CZX), cephalixin (CEX), penicillin G (PCG), ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC),

* 新潟県北蒲原郡水原町岡山町 13-23

Table 1. Delayed-type intradermal skin test in guinea pigs sensitized with latamoxef, cefoperazone and methyl-tetrazoethiol

| Sensitizing agent | | LMOX | CPZ | MTT |
|--------------------|------|-----------|-----------|-----------|
| Tested agent | | | | |
| Cephem | LMOX | + + + + + | + + ± ± - | ± ± ± - - |
| | CPZ | ± ± - - - | + + + + + | ± ± ± ± - |
| | FMOX | + + ± ± - | ± ± ± - - | + ± ± - - |
| | CTM | N.D. | + + ± ± - | + + + ± - |
| | CEZ | ± ± - - - | ± ± ± - - | + ± - - - |
| | CAZ | N.D. | - - - - - | - - - - - |
| | CZX | ± - - - - | ± - - - - | - - - - - |
| | CEX | + + - - - | N.D. | - - - - - |
| Penam | PCG | ± - - - - | N.D. | N.D. |
| | ABPC | - - - - - | N.D. | N.D. |
| | PIPC | N.D. | ± - - - - | N.D. |
| MTT ¹⁾ | | ± ± ± - - | + + ± ± - | + + + + + |
| HTT ²⁾ | | ± ± ± ± - | + ± ± ± - | + + ± ± ± |
| 7ACA ³⁾ | | + + ± - - | + + + ± ± | ± - - - - |

+ : positive, ± : probably positive, - : negative, N.D. : not done

1) MTT : methyl-tetrazoethiol

2) HTT : hydroxyethyl-tetrazoethiol

3) 7ACA : 7-aminocephalosporanic acid

MTT, hydroxyethyl-tetrazoethiol (HTT, 塩野義製薬提供), 7-aminocephalosporanic acid (7ACA) の14種類の薬剤を用いた。

4. 遅延型皮内反応

前報²⁾通りの方法で行ない、判定も前報²⁾に従った。

5. LMIT

前報²⁾と同様の方法で行なったが、感作モルモットの脾細胞と各試験薬剤の反応培養期間を4日に統一した。判定も前報²⁾に従った。

II. 成績

1. 遅延型皮内反応

5匹の感作モルモット群に対する各試験薬剤の遅延型皮内反応の結果をTable 1に示した。

感作薬剤がLMOXの感作モルモット群では、LMOXは全例陽性、CPZは2例疑陽性；3例陰性、FMOXは2例陽性；2例疑陽性；1例陰性、CEZは2例疑陽性；3例陰性、CZXは1例疑陽性；4例陰性、CEXは2例陽性；3例陰性、PCGは1例疑陽性；4例陰性、ABPCは全例陰性、MTTは3例疑陽性；2例陰性、HTTは4例疑陽性；1例陰性、7ACAは2例陽性；1例疑陽性；2例陰性を示した。

感作薬剤がCPZの感作モルモット群では、CPZは全例陽性、LMOXは2例陽性；2例疑陽性；1例陰性、FMOXは3例疑陽性；2例陰性、CTMは2例陽性；2例疑陽性；1例陰性、CEZは3例疑陽性；2例陰性、CAZは全例陰性、CZXは1例疑陽性；4例陰性、PIPCは1例疑陽性；4例陰性、MTTは2例陽性；2例疑陽性；1例陰性、HTTは1例陽性；3例疑陽性；1例陰性、7ACAは3例陽性；2例疑陽性を示した。

感作薬剤がMTTの感作モルモット群では、MTTは全例陽性、LMOXは3例疑陽性；2例陰性、CPZは4例疑陽性；1例陰性、FMOXは1例陽性；2例疑陽性；2例陰性、CTMは3例陽性；1例疑陽性；1例陰性、CEZは1例陽性；1例疑陽性；3例陰性、CAZ、CZX、CEXの3剤は全例陰性、HTTは2例陽性；3例疑陽性、7ACAは1例疑陽性；4例陰性を示した。

2. LMIT

感作モルモットの脾細胞に対して各試験薬剤についてLMITを行なった結果をTable 2に示した。

感作薬剤がLMOXの感作モルモットの脾細胞では、LMOX、FMOX、HTT、7ACAに陽性、CPZ、CEZ、CEX、MTTに疑陽性、CZX、PCG、ABPCに陰性を示

Table 2. Leucocyte migration indices in guinea pigs sensitized with latamoxef, cefoperazone and methyl-tetrazolethiol

| Sensitizing agent | | LMOX | CPZ | MTT | Normal range ¹⁾ |
|--------------------|------|---------|---------|---------|----------------------------|
| Tested agent | | | | | |
| Cephem | LMOX | 76 (#) | 118 (+) | 86 (±) | 99±12 |
| | CPZ | 87 (±) | 125 (+) | 81 (#) | 100±12 |
| | FMOX | 80 (#) | 118 (+) | 82 (#) | 100±10 |
| | CTM | N.D. | 115 (+) | 84 (±) | 95±10 |
| | CEZ | 89 (±) | 113 (±) | 90 (±) | 102±10 |
| | CAZ | N.D. | 98 (-) | 99 (-) | 100±10 |
| | CZX | 98 (-) | 97 (-) | 100 (-) | 100±10 |
| | CEX | 83 (±) | N.D. | 95 (-) | 94±10 |
| Penam | PCG | 97 (-) | N.D. | N.D. | 98±10 |
| | ABPC | 100 (-) | N.D. | N.D. | 97±10 |
| | PIPC | N.D. | 102 (-) | N.D. | 100±12 |
| MTT ²⁾ | | 83 (±) | 125 (+) | 77 (#) | 94±10 |
| HTT ³⁾ | | 80 (#) | 123 (+) | 82 (#) | 100±10 |
| 7ACA ⁴⁾ | | 77 (#) | 120 (+) | 95 (-) | 97±12 |

(): judgment, #: positive, +: weakly positive, ±: probably positive, -: negative

1) Normal range: mean±2SD (n=6) of migration indices in normal humans

2) MTT: methyl-tetrazolethiol

3) HTT: hydroxyethyl-tetrazolethiol

4) 7ACA: 7-aminocephalosporanic acid

した。

感作薬剤が CPZ の感作モルモットの脾細胞では、LMOX, CPZ, FMOX, CTM, MTT, HTT, 7ACA に弱陽性、CEZ に疑陽性、CAZ, CZX, PIPC に陰性を示した。

感作薬剤が MTT の感作モルモットの脾細胞では、CPZ, FMOX, MTT, HTT に陽性、LMOX, CTM, CEZ に疑陽性、CAZ, CZX, CEX, 7ACA に陰性を示した。

III. 考 察

感作モルモットにおける遅延型皮内反応と LMIT は、ほぼ一致した結果を得た。ただし遅延型皮内反応で5例中1例だけの疑陽性は測定誤差範囲と考えられ、1例疑陽性・4例陰性の場合については陰性と解釈した。

遅延型皮内反応と LMIT の結果ならびに Fig. 1 に示す試験薬剤の構造式から、感作薬剤3剤による DTH における交叉性と構造相関について以下のように考察した。

LMOX による DTH では、3位側鎖構造に関すれば、LMOX と同じように tetrazole 基を有する CPZ,

FMOX や tetrazole 基と類似構造の thiaziazole 基を有する CEZ に交叉反応が成立し、更に LMOX の3位側鎖構造自体の MTT や MTT の類似構造で FMOX の3位側鎖構造自体の HTT にも交叉反応が成立したが、類似構造を有さない CZX には交叉反応が成立しなかった。一方7位側鎖構造に関すれば、LMOX と同じように phenyl 基を有する CEX に弱いがながらも交叉反応が成立したが、6位側鎖に phenyl 基を有するが母核構造の違う PCG や ABPC に交叉反応が成立せず、cephem 剤の母核構造自体の 7ACA に交叉反応が成立した。

CPZ による DTH では、3位側鎖構造に関すれば、CPZ と同じように tetrazole 基を有する LMOX, FMOX, CTM や thiaziazole 基を有する CEZ に交叉反応が成立し、更に CPZ の3位側鎖構造自体の MTT や MTT の類似構造の HTT にも交叉反応が成立したが、類似構造を有していない CAZ, CZX には交叉反応が成立しなかった。一方、CPZ の7位側鎖構造の類似構造を6位側鎖に有する PIPC には交叉反応が成立せず、cephem 剤の母核構造である 7ACA に交叉反応が成立した。

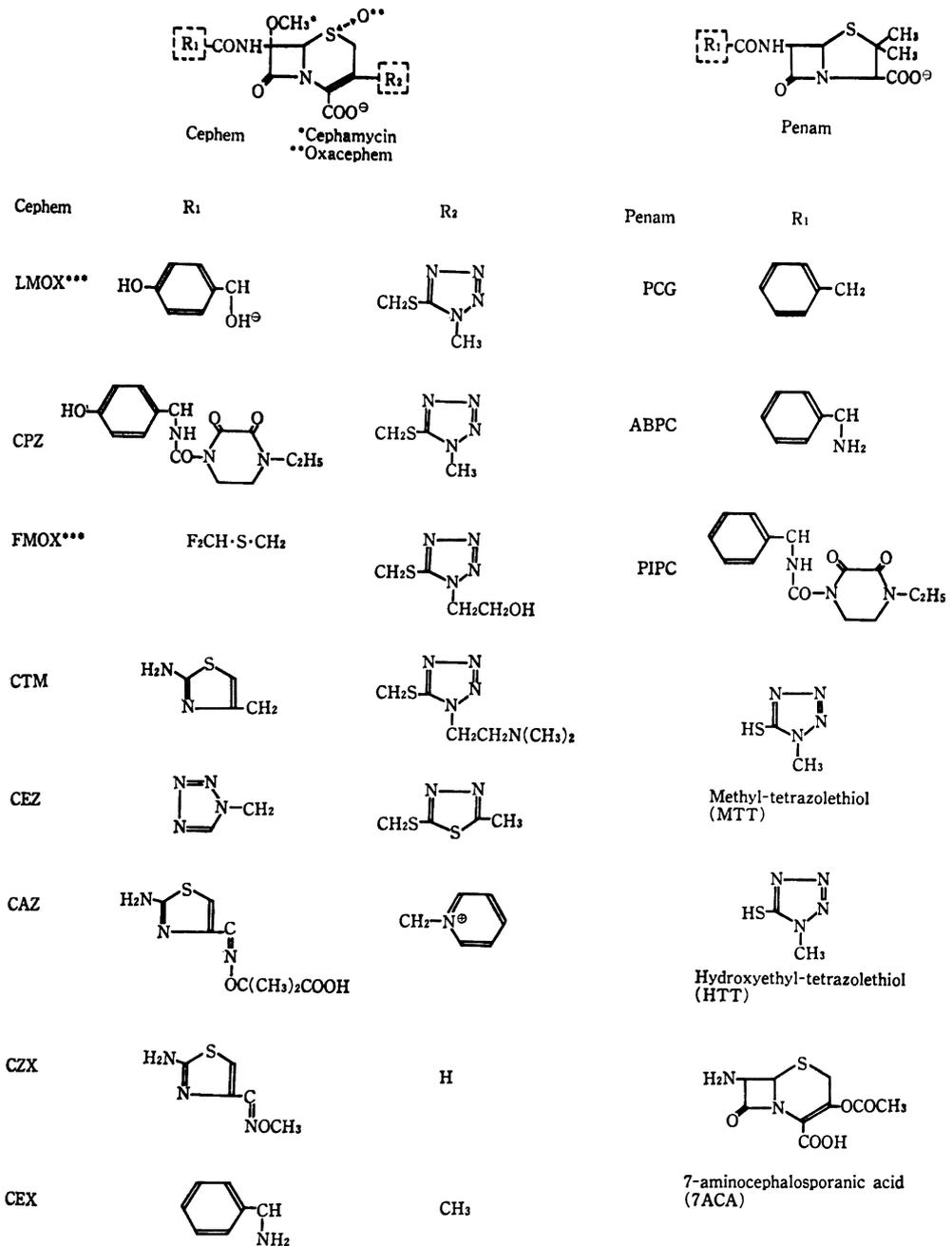


Fig. 1. Chemical structure of the tested agents

MTT による DTH では、MTT の類似構造である HTT に交叉反応が成立し、3 位側鎖に tetrazole 基を有する cephem 剤の LMOX、CPZ、FMOX、CTM や thiadiazole 基を有する CEZ に対して反応の強さに差

はあるが交叉反応が成立した。一方、3 位側鎖に tetrazole 基やその類似構造を有していない cephem 剤の CAZ、CZX、CEX に交叉反応が成立しなかった。

以上の動物実験の結果は、前報の臨床試験の成績¹⁾を

強く支持するものであった。すなわち、3位側鎖に MTT 基を有する cephem 剤による DTH における抗原決定基として、遊離 MTT 基や cephem 剤の母核構造が強く関与している（ただし母核構造を含めた7位側鎖構造の関与も否定できない）と考えられる。そのため3位側鎖に MTT 基を有する cephem 剤による DTH では、3位側鎖に tetrazole 基を有する他の cephem 剤に高率に交叉反応が成立し、7位側鎖に類似構造を有する cephem 剤の交叉反応も否定できないが、6位側鎖に類似構造を有する penam 剤には交叉反応は成立しにくいと考えられる。

文 献

- 1) 宇野勝次, 山作房之輔: Delayed-type hypersensitivity における β -lactam 剤の交叉性の検討 (II), 3位側鎖に tetrazole 基を有する cephem 剤過敏症における交叉性. *Chemotherapy* 35: 205~212, 1987
- 2) 宇野勝次, 山作房之輔: Delayed-type hypersensitivity における β -lactam 剤の交叉性の検討 (IV), 実験動物における cephem 剤と monobactam 剤間の交叉性の検討. *Chemotherapy* 35: 928~935, 1987

CROSS-REACTIVITY OF BETA-LACTAM ANTIBIOTICS IN DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY REACTION (V)

—ANIMAL STUDIES ON PARTICIPATION OF METHYL-TETRAZOLETHIOL IN DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY—

KATSUJI UNO and FUSANOSUKE YAMASAKU*

Pharmacy and *Department of Internal Medicine, Suibarago Hospital,
13-23 Okayama-cho, Suibara-machi, Kitakanbara-gun,
Niigata 959-21, Japan

We conducted an investigation in animals to substantiate our previous clinical findings on the cross-reactivity of beta-lactam antibiotics in delayed-type hypersensitivity (DTH) by carrying out cross-reactivity testing of patients displaying hypersensitivity to cepheims with a tetrazolyl group in the C-3 side chain. We used guinea pigs and three sensitizing agents: latamoxef (LMOX), cefoperazone (CPZ), and methyl-tetrazolethiol (MTT), which is itself the C-3 side chain of both LMOX and CPZ. The delayed-type intradermal skin test and leucocyte migration inhibition test (LMIT) were used to examine the cross-reaction of 14 agents in DTH on sensitized guinea pigs.

The results of the skin test and LMIT on sensitized guinea pigs correlated and closely agreed with our human studies. Briefly, our observations suggest that in DTH to LMOX or CPZ they cross-reacted not only with cepheims with a tetrazolyl group in the C-3 side chain like LMOX or CPZ, but also with MTT, hydroxyethyl-tetrazolethiol (HTT) which is similar to MTT, and 7-aminocephalosporanic acid (7 ACA) which is itself the nucleus of cepheims. Also, in DTH to MTT, they cross-reacted not only with HTT, but also with cepheims with a tetrazolyl group in the C-3 side chain.

Our findings indicate that in DTH to cepheims with an MTT group in the C-3 side chain, free-typed MTT and the mother nucleus structure may play an important part in the function of the antigenic determinant and consequently they may cross-react at a high rate with other cepheims with a tetrazolyl group in the C-3 side chain.