

## ヒト好中球の付着能および化学発光に及ぼす cefpimizole 投与の影響

深瀬 洋子・阿部 吉弘・高橋 恒男・石川 誠

山形大学医学部第2内科学講座\*

(昭和63年12月3日受付)

消化器癌患者5例に、腹部血管造影施行後感染予防目的で cefpimizole sodium (CPIZ) を数日間投与し、投与の前後で好中球の付着能とルミノール依存性化学発光を測定した。その結果、1) 抗生物質投与前の付着能と化学発光はすべての患者で健康人よりも低下していた。2) 化学発光は、CPIZ を投与した患者5例中2例で著明な増強が認められ健康人レベルまで回復した。残り3例も軽度の増強がみられた。3) 付着能も、CPIZ を投与した4例中3例で増強が認められた。

これより、CPIZ が生体内で好中球の機能を賦活化する可能性が示唆された。

**Key words** : 好中球, Cefpimizole, 付着能, 化学発光

感染防御機構の中で重要な役割を占める好中球は食細胞として即効的な役割を持っている。我々は、好中球の食菌および殺菌能が溶連菌製剤、OK-432 で刺激した脾細胞培養上清により増強することを報告してきた<sup>1-3)</sup>。これは、Biological Responce Modifier (BRM) のひとつである OK-432 がリンフォカインを介して好中球の機能を増強する可能性を示唆するものであるが、生体内では、様々な因子によって好中球の機能が修飾されると考えられる。

一方、感染症に用いられる抗生物質の中には、単純な抗菌活性ばかりでなく *in vitro* あるいは *in vivo* で食細胞の機能を増強するものがあり、BRM 様物質としての側面が注目されている<sup>4-6)</sup>。第3世代のセフェム系抗生物質 cefpimizole sodium (CPIZ) もこのような抗生物質のひとつであるが、実際に患者に投与した場合の好中球機能の変動を調べた報告はまだ少ない<sup>5)</sup>。

そこで、CPIZ の BRM 様物質としての活性を知る目的で消化器癌患者に CPIZ を投与し、その前後で好中球の機能を検討した。

### I. 対象と方法

対象：昭和63年1月から8月の間に当科に入院した消化器癌患者10例を検索の対象とし、腹部血管造影(肝動脈塞栓化学療法を含む)施行後、感染予防目的で抗生物質を投与し、その前後で好中球の機能を検討した。

対象患者の年齢、性、投与した抗生物質、投与期間、投与量を Table 1 に示した。なお、いずれの患者も抗生

物質の投与前後で、白血球数、CRP の変動はほとんど認められなかった。

好中球機能の検索事項と方法：好中球の機能のうち、食菌の第一段階と考えられる付着能と、殺菌機構のひとつであるミエロペルオキシダーゼ-過酸化水素-次亜塩素酸の活性を反映するルミノール依存性化学発光を測定した。

#### 1) ヒト末梢血好中球の分離

ヘパリン加採血した末梢静脈血からデキストラン沈降法により赤血球を除去した後、比重遠心法により好中球分画を得た。得られた細胞分画における好中球の純度は93%以上であった。

#### 2) 付着能の測定

細菌由来ペプチドである formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP)、および黄色ブドウ球菌(18Z株)で誘導される付着能を八坂らの方法<sup>9)</sup>により測定した。すなわち、96穴マイクロプレートに好中球浮遊液100 $\mu$ l ( $2 \times 10^5$ /well) を刺激物質100 $\mu$ l (fMLP  $1 \times 10^{-5}$  M あるいは、オプソニン化した黄色ブドウ球菌  $1 \times 10^9$  cfu/well) とともに加え、50 G で2分間遠心した後、37°C の CO<sub>2</sub> インキュベーター中で30分間培養した。培養終了後サーモミキサー上でプレートを十分に振盪させた後、培養上清を捨て、非付着細胞を除去した。次に、各 well に12%中性ホルマリン、10%エタノール含有0.5%クリスタルバイオレット液を200 $\mu$ l ずつ加えて室温にて20分間固定染色を行なった後、プレートを十分に水洗し、風乾させた。その後、1% SDS を

\* 山形市飯田西 2-2-2

Table 1. Subjects included in the cefpimizole study

Case no.	Age	Sex	Diagnosis	Administration of antibiotics	Dose	Duration
1	61	M	hepatoma	CPIZ	2 g/day	3 days
2	71	F	hepatoma	CPIZ	2 g/day	3 days
3	57	F	hepatoma	CPIZ	2 g/day	3 days
4	80	M	pancreatic cancer	CPIZ	2 g/day	4 days
5	73	M	gastric cancer	CPIZ	2 g/day	3 days
6	57	M	hepatoma	CBPZ	2 g/day	3 days
7	82	F	hepatoma	CBPZ	2 g/day	4 days
8	77	M	gastric cancer	CBPZ	2 g/day	3 days
9	64	M	hepatoma	AZT	2 g/day	3 days
10	77	F	gall bladder cancer	AZT + CEZ	2 g/day 2 g/day	2 days +2 days

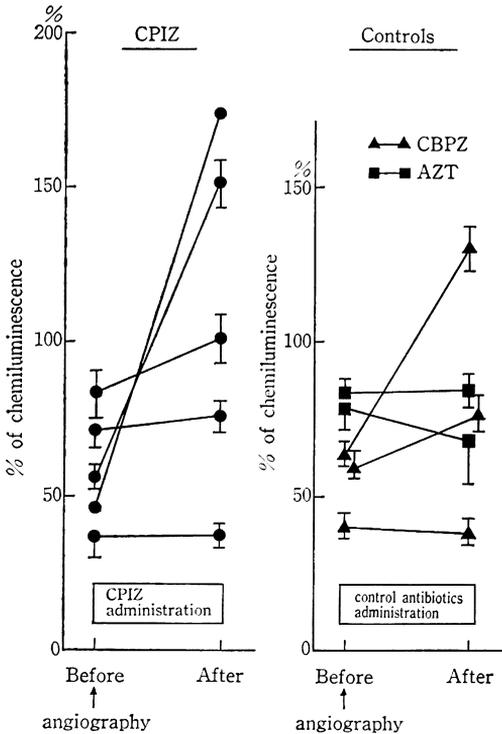


Fig. 1. Effect of administration of CPIZ on chemiluminescence of neutrophils stimulated with opsonized *S. aureus*

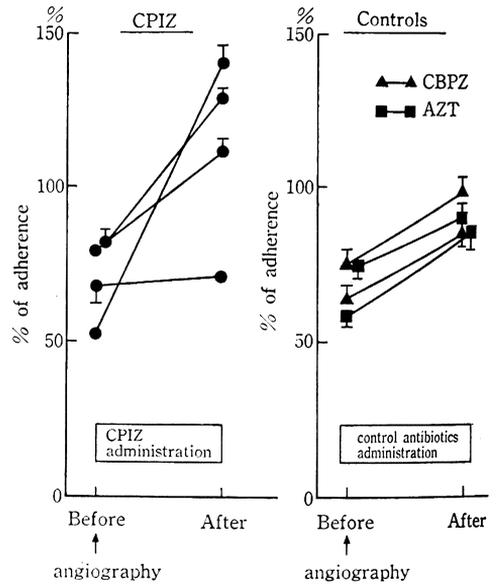


Fig. 2. Effect of administration of CPIZ on adherence of neutrophils stimulated with fMLP

100  $\mu$ l/well ずつ添加して付着細胞を融解させ、タイターテックスマルチスキャン MS により 570 nm の吸光度を測定し、その OD 値をもって好中球付着能とした。

3) 化学発光の測定

好中球浮遊液 100  $\mu$ l ( $2 \times 10^5$ /well) とルミノール溶液 100  $\mu$ l ( $2 \times 10^{-4}$  M) を加え、さらに刺激物質として 10%

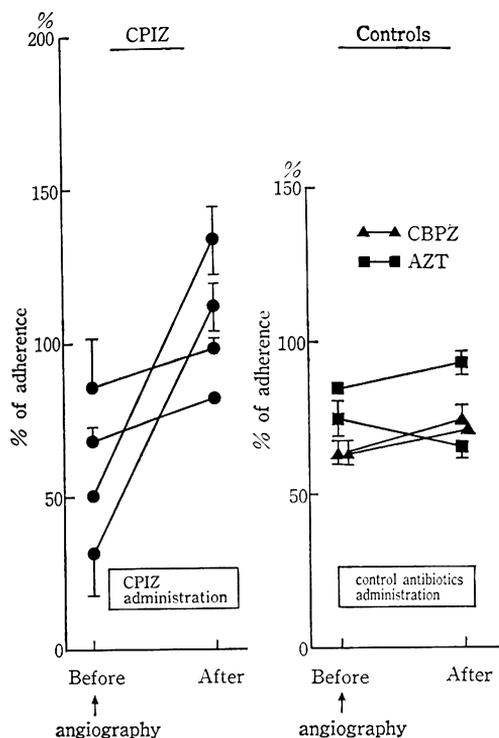


Fig. 3. Effect of administration of CPIZ on adherence of neutrophils stimulated with opsonized *S. aureus*

ヒト AB 型血清でオプソニン化した黄色ブドウ球菌  $100 \mu\text{l}$  ( $2 \times 10^8$  cfu/well) を加えてよく混和し、ルミフォトメーター TD-4000 を用いて  $37^\circ\text{C}$  で化学発光を測定した。

#### 4) 実験データの比較

実験日の異なる群を比較するために、同じ実験日に健常人の対照をとり、その OD 値、あるいは、化学発光ピーク値の平均値に対する割合を求めて、比較検討した。

$$\% \text{ of adherence} = \frac{\text{患者の OD 値}}{\text{健常人の OD 値の平均}} \times 100$$

$$\% \text{ of chemiluminescence} = \frac{\text{患者の化学発光ピーク値}}{\text{健常人の化学発光ピーク値の平均}} \times 100$$

## II. 成 績

### 1) 化学発光

Fig. 1 に示したように、血管造影直後の患者では、% of chemiluminescence が、いずれも 100% 未満で、化学発光が健常人よりも低下していた。CPIZ 2g/日を数日間投与した群では、2例が 150% 以上になり、健常人以上に化学発光が増強した。3例は、軽度上昇あるいは、ほぼ横這いであった。一方、CPIZ の対照として

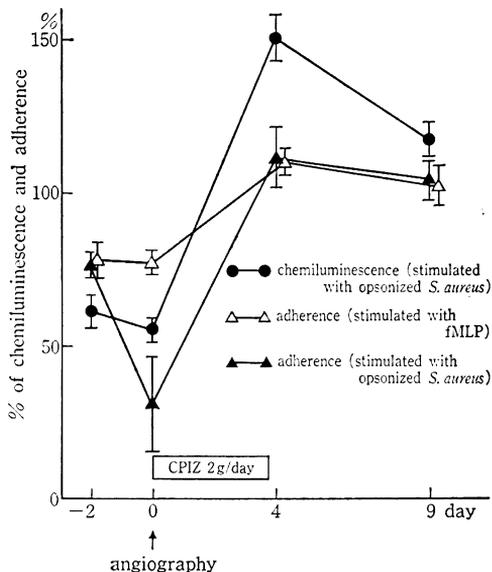


Fig. 4. Effect of CPIZ administration on chemiluminescence and adherence of neutrophils

aztreonam (AZT)、cefbuterazone sodium (CBPZ) を投与した群では、CBPZ を投与した 2 例が増強を示したが、残りの 3 例は、ほぼ横這いであった。

### 2) 付着能

Fig. 2 は、fMLP で刺激した場合の好中球の付着能を示したものである。血管造影直後の好中球の付着能は、いずれの患者も 100% 未満で健常人よりも低下していた。しかし、CPIZ 数日間投与後では 1 例を除き付着能の顕著な増強が認められ、健常人レベル以上まで改善した。対照群では、いずれの抗生物質を投与した群も付着能が軽度増強したが、依然として健常人レベル以下であった。

Fig. 3 は、黄色ブドウ球菌で刺激した場合の付着能である。CPIZ を投与した 4 例では、投与前は、付着能の低下が認められたが、投与後は、2 例で付着能の著明な増強が認められた。残り 2 例は軽度の上昇を示した。一方、対照群では、抗生物質の投与前後でほとんど変動が認められなかった。

### 3) CPIZ を投与した 1 症例

Fig. 4 は、CPIZ を投与した症例の好中球の機能を定期的に調べたものである。患者は、腓頭部領域癌で、腹部血管造影を行なった後 CPIZ 2g/日を 4 日間投与した。血管造影 2 日前の好中球の機能は、化学発光、付着能とも 60~70% で健常人よりも低下していた。血管造影直後、抗生物質投与前は、化学発光、付着能とも、さ

らに低下する傾向が見られた。CPIZ 4 日間投与後は、化学発光、付着能とも、著明に増強し、特に化学発光は健常人よりも亢進していた。抗生物質投与終了後 6 日目には、化学発光、付着能とも低下する傾向が見られたが、依然として健常人と同程度であった。

### III. 考 察

近年、第 3 世代のセフェム系抗生物質の中には、*in vitro* の抗菌活性以上に *in vivo* での効果が優れていると報告されているものがある<sup>4-8)</sup>。我々は、これらの抗生物質の中で食細胞の機能を賦活化することが示唆されている CPIZ について、実際に患者に投与し、その前後で好中球の機能を測定した。対照として第 3 世代のセフェム剤である CBPZ、および最近注目されているモノバクタム系の抗生物質である AZT を用いた。調べた好中球の機能は遊走、食菌、殺菌という一連の働きのうち、食菌の第 1 段階と考えられる付着能と、酸素依存性殺菌機構のうちミエロペルオキシダーゼが関与する活性を反映するルミノール依存性化学発光である。これらの機能の測定は、比較的容易で再現性も高いという特徴がある。

抗生物質投与前の消化器癌患者は、全症例とも好中球の機能が、健常人よりも低下していた。この結果は、我々がすでに発表した、消化器癌患者 20 例の好中球の化学発光が低下していたという報告<sup>10)</sup>と矛盾しない。また、今回検討した症例の抗生物質投与前の nutritional index (小野寺ら<sup>12)</sup>) の平均は 38.56±7.12 と 40 以下で、低栄養状態にあることを示し、中越ら<sup>11)</sup>も報告しているように、このために好中球の機能が低下していることも予想される。さらに、Fig. 4 に示したように腹部血管造影、あるいは、肝動脈塞栓化学療法の影響も加味されている可能性も考えられる。

CPIZ を投与した群では、2 例で好中球機能の明らかな増強が認められ、低下していた機能は、いずれも健常人レベル、あるいは、それ以上まで回復した。残りの症例も軽度の増強を示した。今回は、症例数が少なく、推計学的処理を行なえなかったが、CPIZ が生体内で好中球の機能を賦活化する可能性が示唆された。落合ら<sup>9)</sup>も消化管手術後 CPIZ を投与した患者群では、対照群のように好中球の殺菌能が低下しないことから CPIZ が生体内で好中球の殺菌能を高めている可能性を報告している。今回、対照として用いた抗生物質のうち、CBPZ は、付着能、化学発光ともわずかに増強する傾向が認められたが、症例数も少なく、今後の検討が必要と思われる。一方、AZT は投与前後で好中球機能の変動はほとんど見られず、生体内での BRM 様物質としての作用はないものと思われた。

CPIZ がどのような機序で好中球の機能を賦活化するのかは、不明であるが、CPIZ (1~100 μg/ml) と好中球を 37°C でインキュベートした後、付着能と化学発光を測定したところまったく変化が認められなかったことから(深瀬ら、未発表データ)少なくとも、CPIZ の直接作用ではないと思われる。むしろ、大西ら<sup>8)</sup>も報告しているように、生体内で CPIZ がサイトカインなどの因子を介して好中球の機能を増強している可能性が予想される。

### 文 献

- 1) FUKASE Y, FUKASE S, SENDO F: Priming Activity for Chemiluminescence Reaction of PMN in the Culture Supernatant of Streptococcal Preparation (OK-432)-Stimulated Spleen Cells. *Microbiol. Immunol.* 32: 621~633, 1988
- 2) 深瀬洋子, 木村青史, 深瀬 滋, 仙道富士郎: OK-432 刺激ヒト脾細胞培養上清によるヒト好中球の化学発光及び食菌作用の増強効果。日本免疫学会総会・学術集会記録 第 16 巻: 458, 1986
- 3) 深瀬洋子, 深瀬 滋, 仙道富士郎: OK-432 刺激ヒト脾細胞培養上清によるヒト好中球化学発光の増強効果(II)作用機序の検討 Ca イオンおよび adhesion-promoting glycoprotein の関与について。日本免疫学会総会・学術集会記録 第 17 巻: 372, 1987
- 4) 前田真一, 小林克寿, 斉藤昭弘, 秋野裕信, 出口隆, 西浦常雄: 白血球機能に及ぼす抗生剤の影響。感染症学雑誌 第 57 巻 第 10 号: 890~896 1981
- 5) 落合武徳, 佐藤 博, 浅野武秀, 榎本和夫, 永田松夫: 免疫能と白血球食菌能に及ぼす AC-1370 投与の影響。Chemotherapy 32: 98~102, 1984
- 6) 横田 健, 関川玲子: T-1982 と血清, 補体および白血球の協力的殺菌作用。Chemotherapy 30: 20~28, 1982
- 7) 朝長昭光, 大角良子, 岩永整磨, 川上和義, 山田耕三, 芳賀英章, 横山 篤, 中島 学, 福島喜代康, 門田淳一, 平谷一人, 宮崎幸重, 須山尚史, 河野 茂, 重野芳輝, 植田保子, 鈴山洋司, 山口恵三, 泉川欣一, 広田正毅, 斉藤 厚, 原 耕平: AC-1370 の好中球機能に及ぼす影響。Chemotherapy 32: 114~118, 1984
- 8) 大西治夫, 小雀浩司, 稲場 均, 望月秀典, 長尾裕二: AC-1370 の主感染防御能に対する作用の解析。Chemotherapy 32: 120~126, 1984
- 9) 八畝 直, 井上富夫, 渡辺 正, 仙道富士郎: 新しく開発した好中球付着能テストを用いた好中球の活性化能の検討。日本免疫学会総会・学術集会記録 第 17 巻: 377, 1987
- 10) 深瀬洋子, 三宅由紀子, 阿部吉弘, 後藤成治, 安日 新, 熱海 稔, 新沢陽英, 石川 誠, 仙道富士郎: 消化器癌患者末梢血多形核白血球の化学発

光とリンフォカインによるその増強効果。消化器と免疫 18:36~39, 1987

者での検討—日本外科学会雑誌 第87回 第4号:375~386, 1986

- 11) 中越 亨: 消化器担癌患者における好中球 superoxide 産生能に関する研究—とくに低栄養患

- 12) 小野寺時夫: 術前・術中・術後の管理。外科MOOK (37):54~63, 1983

## EFFECT OF ANTIBIOTIC ADMINISTRATION ON CHEMILUMINESCENCE AND ADHERENCE OF HUMAN NEUTROPHILS

YOKO FUKASE, YOSHIHIRO ABE, TSUNEO TAKAHASHI  
and MAKOTO ISHIKAWA

Second Department of Internal Medicine,  
School of Medicine, Yamagata University,  
2-2-2 Iida Nishi, Yamagata City 990-23, Japan.

We evaluated the effect of cefpimizole sodium (CPIZ) on neutrophil functions, such as adherence activity and luminol-dependent chemiluminescence, in 5 cancer patients given CPIZ to prevent infection after angiography.

1) Before administration of CPIZ, adherence activity and chemiluminescence of neutrophils were suppressed in all the cancer patients compared with healthy controls.

2) After administration of CPIZ for 3 or 4 days, the chemiluminescence of neutrophils in 2 patients increased remarkably to the level of healthy controls and that in 3 patients was enhanced slightly.

3) Adherence activity of neutrophils also increased moderately in 3 patients after administration of CPIZ.

These results suggest that CPIZ has the effect of augmenting neutrophil functions.