

## Aztreonam の血小板凝集能・血液凝固能におよぼす影響

浅田 高広・柳原 太・山中 吉隆  
吉岡 宗・間瀬 勘史・安永幸二郎  
関西医科大学第一内科\*

(平成2年5月10日受付・平成2年8月4日受理)

近年抗生物質の副作用として出血傾向が注目されてきており、今回我々は初のモノバクタム系抗生物質である aztreonam (AZT) の血小板凝集能と凝固能におよぼす影響を家兎を用いて検討した。AZT 40 mg/kg/day または 200 mg/kg/day (n = 10) を 1 日 1 回 7 日間家兎の静脈内に投与し、その前後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)、フィブリノーゲン、PIVKA II、および血小板凝集能を測定した。血小板凝集能では、凝集惹起物質として adenosine diphosphate (ADP) 4, 6, 8, 10  $\mu$ M, collagen 4, 8, 16, 24  $\mu$ g/ml の各濃度を用い、ADP 凝集では最大凝集率 maximal aggregation (MA)、collagen 凝集では MA と最大傾斜率 maximal slope (MS) にて検討した。200 mg/kg/day 投与群では、ADP 凝集の MA と collagen 凝集の MS で各濃度において有意な抑制が見られたが、40 mg/kg/day 投与群ではほとんど有意な凝集抑制は見られなかった。血液凝固指標 (PT, APTT, フィブリノーゲン, PIVKA II) に関しては、40 mg/kg/day および 200 mg/kg/day 投与群ともに有意な変化を認めなかった。今回の検討より、AZT は常用量の範囲内では血小板凝集能と血液凝固能におよぼす影響はほとんど認められず、常用量の約 3 倍濃度を投与した場合でも血液凝固能への影響は少なく、ADP 凝集、collagen 凝集を軽度抑制したのみであった。

**Key words :** Aztreonam, 血小板凝集能, 血液凝固能, ビタミン K

近年抗生物質の開発、進歩は目覚ましく、より抗菌力の強い薬剤が臨床の場で使用されるようになってきている。その一方で副作用としての出血傾向が注目されてきており、その主な要因としては、1) 多くの cephem 系薬剤が有する 3 位側鎖の N-methyltetrahydrothiol (NMTT) 基によるビタミン K 依存性凝固因子の合成抑制<sup>1-7)</sup>、2) 抗生物質の腸内細菌叢の抑制によるビタミン K 合成障害<sup>8-10)</sup>、3) 一部の  $\beta$ -lactam 剤が有する 7 位側鎖のカルボキシル基による血小板凝集抑制<sup>11-14)</sup>などが考えられている。

そこで今回我々は、従来の penicillin, cephem 系抗生物質とはまったく異なり、 $\beta$ -lactam 環の単環構造からなる初のモノバクタム系抗生物質である aztreonam (AZT) の血小板凝集能と凝固能におよぼす影響を家兎を用いて検討したので報告する。

### I. 対象および方法

体重約 2.5 kg の雄兎 (北山ラベス) を通常飼料にて飼育し、AZT 40 mg/kg/day あるいは 200 mg/kg/day (n=10) を 1 日 1 回 7 日間静脈内に投与し、その前後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)、フィブリノーゲン、PIVKA II、および血小板凝集能を測定した。

方法として PT, APTT, フィブリノーゲンについては、アメラック KC 4 血液凝固自動測定装置を用い、PIVKA II については、バリウム吸着処理血漿を蛇毒にて活性化し、S 2238 を発色させ、トロンビンをスタンダードとして比色定量する原内ら<sup>15)</sup>の方法を用いた。

血小板凝集能については、家兎の耳介静脈より 3.8 % クエン酸ナトリウム 1 容に対し血液 9 容の割合で採血し、700 g にて 8 分間遠沈し、多血小板血漿 (PRP) を作製後 Born ら<sup>16)</sup>の方法に従い HEMATRACER 1 (二光バイオサイエンス) を用いて測定した。凝集惹起物質としては終濃度が ADP (Sigma) 10, 8, 6, 4  $\mu$ M, collagen (二光バイオサイエンス) 24, 16, 8, 4  $\mu$ g/ml となるようにそれぞれを加えて 5 分間測定し、ADP 凝集については最大凝集率 maximal aggregation (MA) にて、collagen 凝集については、MA および最大傾斜率 maximal slope (MS) にて検討した。

\*大阪府守口市文園町 1 番地

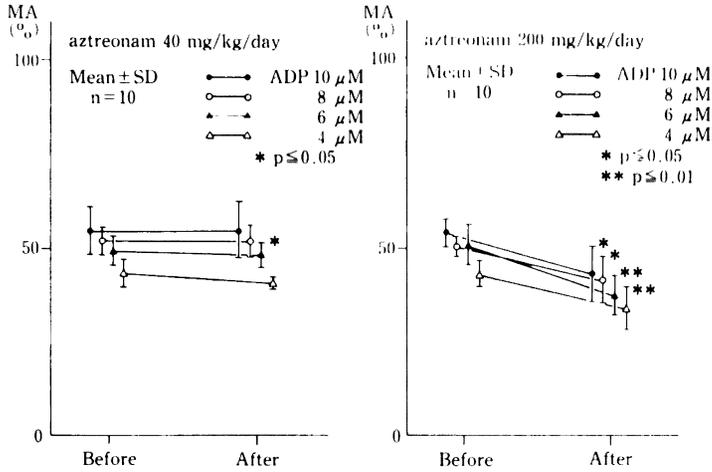


Fig. 1. Effects of aztreonam on ADP-induced rabbit platelet aggregation *in vivo* (MA: maximal aggregation)  
ADP: adenosine-diphosphate

Table 1. Effects of aztreonam on ADP induced rabbit platelet aggregation *in vivo* (Mean ± SD n=10)

ADP	Aztreonam 40 mg/kg/day				Aztreonam 200 mg/kg/day			
	10 μM	8 μM	6 μM	4 μM	10 μM	8 μM	6 μM	4 μM
Before (%)	54.8±6.4	52.2±3.9	49.6±4.0	43.3±3.8	54.4±3.6	51.0±2.9	50.8±5.5	43.2±3.6
After (%)	55.2±7.7	52.2±4.5	48.0±3.4	40.6±1.3	43.2±7.6	41.8±6.3	37.6±5.4	34.0±5.6
P Value	NS	NS	P≤0.05	NS	P≤0.05	P≤0.05	P≤0.01	P≤0.01

ADP: adenosine-diphosphate

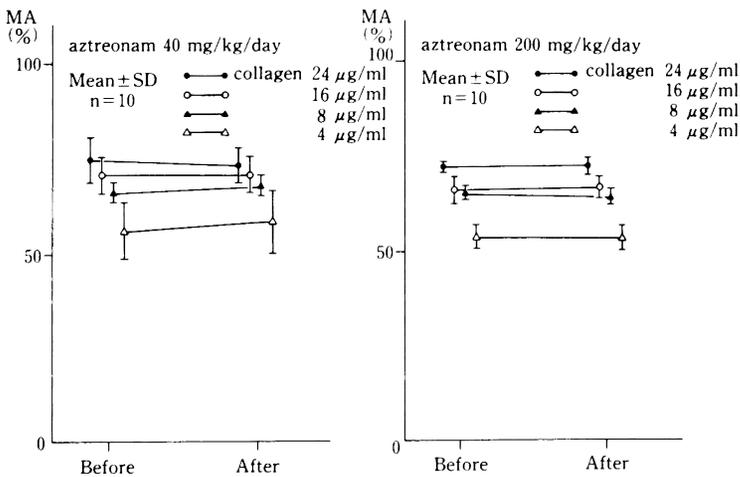


Fig. 2. Effects of aztreonam on collagen-induced rabbit platelet aggregation *in vivo* (MA: maximal aggregation)

II. 結 果

1) 血小板凝集能

a) ADP凝集: AZT 40 mg/kg/day 投与群ではADP 6 μMでのみ有意な抑制が認められたが, 200 mg/kg/day 投与群では, ADP 4, 6, 8, 10 μMのすべて

の濃度において有意な抑制が認められた (Fig. 1, Table 1)。

b) Collagen凝集: AZT 40 mg/kg/day および 200 mg/kg/day 投与群ともに MAにおける検討では, いずれの濃度でも有意な抑制は認められなかった

Table 2. Effects of aztreonam on collagen induced rabbit platelet maximal aggregation *in vivo* (Mean ± SD n = 10)

Collagen	Aztreonam 40 mg/kg/day				Aztreonam 200 mg/kg/day			
	24 μg/ml	16 μg/ml	8 μg/ml	4 μg/ml	24 μg/ml	16 μg/ml	8 μg/ml	4 μg/ml
Before (%)	74.6 ± 5.6	71.2 ± 5.2	66.2 ± 2.6	56.0 ± 7.6	72.2 ± 1.3	65.8 ± 3.6	65.0 ± 1.9	53.8 ± 3.3
After (%)	73.0 ± 4.7	70.6 ± 4.6	67.6 ± 2.7	57.6 ± 8.3	72.0 ± 2.2	66.4 ± 2.9	64.2 ± 2.0	53.2 ± 3.3
P Value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

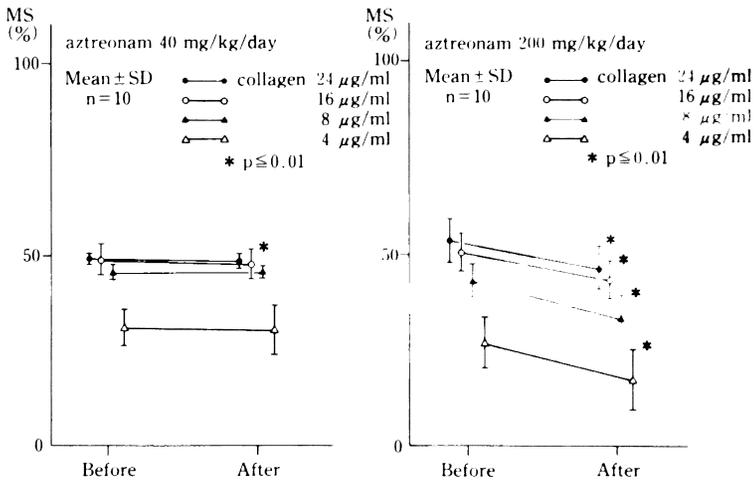


Fig. 3. Effects of aztreonam on collagen-induced rabbit platelet aggregation *in vivo* (MS: maximal slope)

Table 3. Effects of aztreonam on maximal slope collagen-induced rabbit platelet aggregation *in vivo* (Mean ± SD n = 10)

Collagen	Aztreonam 40 mg/kg/day				Aztreonam 200 mg/kg/day			
	24 μg/ml	16 μg/ml	8 μg/ml	4 μg/ml	24 μg/ml	16 μg/ml	8 μg/ml	4 μg/ml
Before (%)	49.2 ± 1.3	49.0 ± 4.1	45.6 ± 1.7	31.0 ± 4.7	53.6 ± 5.8	51.0 ± 5.6	43.4 ± 4.1	26.6 ± 6.7
After (%)	48.2 ± 1.9	47.6 ± 3.9	45.4 ± 1.5	30.2 ± 6.5	46.6 ± 5.6	43.2 ± 5.0	33.4 ± 5.7	17.0 ± 8.1
P Value	NS	P ≤ 0.01	NS	NS	P ≤ 0.01	P ≤ 0.01	P ≤ 0.01	P ≤ 0.01

(Fig. 2, Table 2)。MS における検討では、AZT 40 mg/kg/day 投与群では collagen 16  $\mu$ g/ml でのみ、200 mg/kg/day 投与群では collagen 4, 8, 16, 24  $\mu$ g/ml のすべての濃度において有意な抑制が見られた (Fig. 3, Table 3)。

## 2) 血液凝固指標 (Fig. 4, Table 4)

a) AZT 40 mg/kg/day 投与群: PT は投与前が  $8.7 \pm 0.4$  秒, 後が  $8.9 \pm 0.5$  秒, APTT は投与前が  $16.7 \pm 1.4$  秒, 後が  $17.3 \pm 1.6$  秒, フィブリノーゲンは投与前が  $276.3 \pm 51.2$  mg/ml, 後が  $281.0 \pm 33.0$  mg/ml, PIVKA II は投与前が  $1.35 \pm 0.89$  U/ml, 後が  $1.40 \pm 0.43$  U/ml といずれもやや増加傾向が見られたが正常範囲内の変動で、しかも有意な変化ではなかった。

b) AZT 200 mg/kg/day 投与群: PT は投与前が  $8.5 \pm 0.5$  秒, 後が  $8.8 \pm 0.7$  秒, APTT は投与前が  $15.5 \pm 1.9$  秒, 後が  $16.0 \pm 0.9$  秒, フィブリノーゲンは投与前が  $309.3 \pm 34.1$  mg/ml, 後が  $355.1 \pm 54.4$  mg/ml, PIVKA II は投与前が  $1.40 \pm 0.13$  U/ml, 後が  $1.32 \pm 0.54$  U/ml で、フィブリノーゲンにやや増加傾向が強いものの、他の変化と同様に有意なものではなかった。

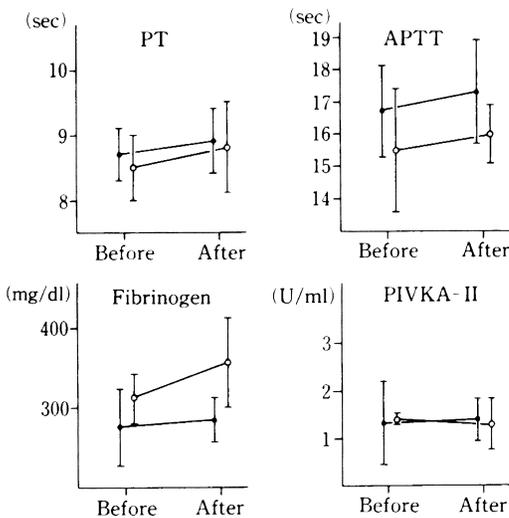


Fig. 4. Effects of aztreonam on PT, APTT, fibrinogen, PIVKA-II in rabbits (Mean  $\pm$  SD n = 10)

● aztreonam 40 mg/kg/day  
○ aztreonam 200 mg/kg/day

PT: prothrombin time

APTT: activated partial thromboplastin time

PIVKA-II: protein induced by vitamin K absence-II

## III. 考 察

$\beta$  lactam 系抗生物質は、広い抗菌スペクトラムと強力な抗菌力を有し、毒性も比較的低いため、現段階では最も広く使用されており、新薬の開発も盛んである。それとともに今まで見られなかった副作用が報告されるようになり、出血傾向もその一つである。その主な原因としては、1) 多くの cephem 系薬剤が有する 3 位側鎖の N-methyltetrahydrothiol (NMTT) 基によるビタミン K 依存性凝固因子の合成抑制、2) 抗生物質の腸内細菌叢の抑制によるビタミン K 合成障害、3) 一部の  $\beta$ -lactam 剤が有する 7 位側鎖のカルボキシル基による血小板凝集抑制などが考えられている。1) の機序について、Neu<sup>1)</sup>はビタミン K が NMTT 基に作用し、異常消費されるためビタミン K 不足となり凝固因子の合成が抑制されるとし、Lipsky<sup>2,3)</sup>はビタミン K 依存性凝固因子生合成の過程で、前駆体蛋白のグルタミン酸残基 (Glu) を  $\gamma$ -carboxyglutamic acid (Gla) に変換する  $\gamma$ -glutamylcarboxyl 化反応を NMTT 基が阻害すると報告している。しかし Uchida<sup>4-6)</sup>の検討では NMTT 基の  $\gamma$ -glutamylcarboxylase に対する阻害作用は認められず、NMTT 基がビタミン K サイクルの vitamin K epoxide reductase を阻害する<sup>7)</sup>ことより、ビタミン K 欠乏状態においては NMTT 基がビタミン K 欠乏を助長し、凝固因子の生合成を抑制すると考え、また、ビタミン K 投与によりその生合成を容易に回復させ得ることを示した。2) に関しては、腸内細菌が産生するビタミン K は、回腸末端から大腸より一部吸収されるが生理的に必要な量には満たないため主な原因にはなり難いとの報告があり<sup>6,17,18)</sup>、腸内細菌が産生するビタミン K だけでは正常の血液凝固活性を維持することはできないと考えられる。3) の機序については、7 位側鎖のカルボキシル基が血小板膜に非特異的に結合し、ADP-receptorなどをブロックし血小板凝集を抑制すると考えられている<sup>13,14,19)</sup>、カルボキシル基を持たない抗生物質にも血小板凝集抑制は認められており<sup>20)</sup>、カルボキシル基のみが血小板凝集抑制に関与しているかどうかは不明である。

今回検討した AZT では、血小板凝集に関しては ADP 凝集の MA と、collagen 凝集では MA より鋭敏にその変化を示す MS でのみ主に 200 mg/kg/day 投与群において有意な抑制が認められ、現在までの  $\beta$ -lactam 剤による collagen 凝集への影響は少なく、ADP 凝集の抑制が強いという報告<sup>11,12,14,19)</sup>とほぼ一致する結果であった。

血液凝固指標に関しては、いずれにも影響をおよぼさなかったことからビタミン K 欠乏状態でないかき

Table 4. Effects of aztreonam on PT, APTT, fibrinogen (Fbg), PIVKA II in rabbits (Mean  $\pm$  SD n=10)

	Aztreonam 40 mg/kg/day			
	PT (sec)	APTT (sec)	Fbg (mg/dl)	PIVKA II (U/ml)
Before	8.7 $\pm$ 0.4	16.7 $\pm$ 1.4	276.3 $\pm$ 51.2	1.35 $\pm$ 0.89
After	8.9 $\pm$ 0.5	17.3 $\pm$ 1.6	281.0 $\pm$ 33.0	1.40 $\pm$ 0.43
P Value	NS	NS	NS	NS
	Aztreonam 200 mg/kg/day			
	PT (sec)	APTT (sec)	Fbg (mg/dl)	PIVKA II (U/ml)
Before	8.5 $\pm$ 0.5	15.5 $\pm$ 1.9	309.3 $\pm$ 34.1	1.40 $\pm$ 0.13
After	8.8 $\pm$ 0.7	16.0 $\pm$ 0.9	355.1 $\pm$ 54.4	1.32 $\pm$ 0.54
P Value	NS	NS	NS	NS

PT: prothrombin time

APTT: activated partial thromboplastin time

PIVKA II: protein induced by vitamin K absence-II

り、他の  $\beta$ -lactam 剤と同様にビタミン K 依存性凝固因子の合成は阻害されないと考えられる。

AZT は  $\beta$ -lactam 環の 3 位に aminothiazolyl-carboxypropyloxyimino 基を側鎖として有しており、これが他の  $\beta$ -lactam 剤における 7 位側鎖のカルボキシル基と同様に血小板凝集を抑制している可能性が考えられるが、今後の検討を必要とする。

以上健康家兎を用いた *in vivo* 系における検討では、AZT は常用量の範囲内では血小板凝集能と血液凝固能におよぼす影響はほとんど認められず、常用量の約 3 倍濃度を投与した場合でも血液凝固能への影響は少なく、ADP 凝集、collagen 凝集を軽度抑制したのみであった。

#### 文 献

- 1) Neu H C: Adverse effect of new cephalosporins. *Ann Intern Med* 98: 415~416, 1983
- 2) Lipsky J J: N-Methyl-thio-tetrazole-inhibition of the gamma carboxylation of glutamic acid: possible mechanism for antibiotic-associated hypoprothrombinaemia. *Lancet* II: 192~193, 1983
- 3) Lipsky J J: Mechanism of the inhibition of the  $\gamma$ -carboxylation of glutamic acid by N-methyl-thiotetrazolecontaining antibiotics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81: 2893~2897, 1984
- 4) Uchida K, Ishigami T, Komeno T: Effects of latamoxef and methyltetrazolethiol on gamma-glutamylcarboxylase activity. *Jpn J Pharmacol* 35: 330~333, 1984
- 5) 内田清久: 抗生剤とビタミン K 代謝。感染症 15 (5): 161~168, 1985
- 6) 内田清久, 他: 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。Chemotherapy 35: 470~493, 1987
- 7) Uotila L, Suttie J W: Inhibition of vitamin K-dependent carboxylase *in vitro* by cefamandole and its structural analogues. *J Infect Dis* 148: 571~578, 1983
- 8) 岩田 敏: 抗生剤投与中の腸内細菌叢及び血液凝固系の変動に関する検討。感染症 58: 903~920, 1984
- 9) Conly J M, Ramotar K, Bow E J: Hypoprothrombinemia in febrile, neutropenic patients with cancer: Association with antimicrobial suppression of intestinal microflora. *J Infect Dis* 150: 202~212, 1984
- 10) Pieno G F, Gallus A S, Hirsh J: Unexpected vitamin K deficiency in hospitalized patients. *Canad Med Assoc J* 109: 880~883, 1973
- 11) McClure P D, Casserly J G, Monster C, Crozier D: Carbenicillin-induced bleeding disorder. *Lancet* II: 1307~1308, 1970
- 12) Jonson G J, Rao G H R, White J G: Platelet

- dysfunction induced by parenteral carbenicillin and ticarcillin. *Am J Path* 91: 85-106, 1978
- 13) Sattil S J, Bennet J S, McDonough M, Turnbull J: Carbenicillin and Penicillin G inhibit platelet function *in vitro* by impairing the interaction of agonists with the platelet surface. *J Clin Invest* 65: 329-337, 1980
- 14) Bang N U, Tessler S S, Heinrich R O, Marks C A, Mattler L E: Effect of moxalactam on blood coagulation and platelet function. *Rev Infect Dis* 4: S 546-554, 1982
- 15) Harauchi T, Takano K, Matsuura M, Yoshizaki T: Liver and plasma levels of descarboxyprothrombin (PIVKA II) in vitamin K deficiency in rats. *Jpn J Pharmacol* 40: 491-499, 1986
- 16) Born G V R: Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and reversal. *Nature* 194: 927-929, 1962
- 17) Uchida K, Nomura Y, Takase H, Harauchi T, Yoshizaki T, Nakao H: 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
- 18) 山野雅弘, 山中吉隆, 浅田高広, 内田清久, 四家勉, 安永幸二郎: ラット血中の血液凝固因子値を指標としたビタミン K 必要量及び持続時間に関する研究。血液と脈管 20: 53-60, 1989
- 19) 飯田 夕: 抗生物質の止血機構に及ぼす影響, I. 基礎的検討。Chemotherapy 35: 649-658, 1987
- 20) 内田清久, 石神豊一: 血液凝固異常。β-ラクタム系薬, 南江堂: 124-132, 1987

## EFFECT OF AZTREONAM ON PLATELET AGGREGATION AND BLOOD COAGULATION

Takahiro Asada, Futoshi Yanagihara, Yoshitaka Yamanaka,  
Muneto Yoshioka, Kanshi Mase and Kojiro Yasunaga

First Department of Internal Medicine, Kansai Medical University,  
1 Fumizonochi, Moriguchi 570, Japan

In recent years, there have been reports of hemorrhagic manifestations as a side effect of antibiotics. We studied the effect of aztreonam (AZT), the first monobactam, on platelet aggregation and blood coagulation in rabbits. AZT was administered intravenously at a dose of 40 mg/kg/day or 200 mg/kg/day for 7 days and prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), serum fibrinogen, PIVKA-II and platelet aggregation were examined before and after administration. We used adenosine diphosphate (ADP) at final concentrations of 4, 6, 8, 10  $\mu$ M and collagen at final concentrations of 4, 8, 16, 24  $\mu$ g/ml as agonists for platelet aggregation. ADP-induced platelet aggregation was analyzed through maximal aggregation (MA) and collagen-induced platelet aggregation through MA and maximal slope (MS). AZT at 200 mg/kg/day significantly suppressed ADP-induced platelet aggregation (in terms of MA) and collagen-induced platelet aggregation (in terms of MS) for each final concentration of ADP or collagen, but hardly suppressed platelet aggregation at 40 mg/kg/day. Blood coagulational parameters (PT, APTT, fibrinogen and PIVKA II) did not change significantly after AZT administration at either 40 mg/kg/day or 200 mg/kg/day. We concluded that AZT hardly affects platelet aggregation and blood coagulation in therapeutic doses, and that at triple the therapeutic dose it has little effect on blood coagulation and slightly suppresses ADP-induced and collagen-induced platelet aggregation.