

Cefazolin の気管支肺胞腔内移行に関する検討

—ラットでの気管支肺胞洗浄法による—

多代 友紀・加藤 政仁・吉友 和夫・山田 保夫
伊藤 剛・山本 和英・林 嘉光・武内 俊彦
名古屋市立大学第一内科*

(平成2年8月3日受付 平成2年10月17日受理)

1. 肺炎ラットと正常ラットに cefazolin (CEZ) を投与し 10 回の気管支肺胞洗浄 (BAL) により回収される CEZ を測定した。同時に BAL 液中の総蛋白 (TP)、尿素窒素 (BUN) を測定し、三者の気管支肺胞腔内移行を比較検討した。

2. BAL 液中最高濃度は TP, BUN, CEZ の順であり血清濃度と相関した。BAL 液中移行の程度を示す BAL 液中最高濃度と血清濃度との比は BUN, CEZ, TP の順であり分子量の大きさは逆相関した。

3. BUN, CEZ の 3 者の BAL 液中最高濃度および BAL 液中最高濃度と血清濃度との比は肺炎が正常群より高値を示したが、TP は両者間に有意差を認めなかった。

4. CEZ の肺組織濃度は正常群と肺炎群とに差はみられなかったが、肺炎群の肺重量は正常群の 1.5 倍と腫大したため、CEZ の肺内絶対量は肺炎群が有意に増加した。

Key words : cefazolin, 気管支肺胞腔内移行, 気管支肺胞洗浄, 肺炎, 肺組織濃度

抗生剤の気管支肺胞腔内移行に関する研究が進み、移行に影響をおよぼす因子が種々検討されているが、いまだ不明の点が多く残されている¹⁻⁴⁾。また、気管支肺胞洗浄 (Bronchoalveolar lavage 以下 BAL) は種々の呼吸器疾患において気管支肺胞腔内の情報を得る手段として現在広く施行されている⁵⁻⁸⁾。今回 cephem 系抗生剤である cefazolin (CEZ) の気管支肺胞腔内移行を検討するため健康ラットおよび肺炎ラットに CEZ を投与し BAL により回収される CEZ を測定した。また、同時に BAL 液中の尿素窒素 (BUN)、総蛋白 (TP) を測定し CEZ の BAL 液中移行を BUN, TP のそれと比較したので報告する。

1. 対象ならびに方法

1) 実験動物

Specific pathogen free の SD 系ラット (体重 210~290 g) を用い、1 群 5 匹とした。ラットは購入後飼育室に最低 2 週間飼育し、健康を確認し、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、屠殺後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。BAL は 10 回行いそれぞれ個々に BAL 液中の CEZ, BUN, TP 濃度を測定した。

3) CEZ 投与方法および投与量

大腿部に 100 mg/kg 筋注し、30 分後に BAL を施行した。

4) CEZ 濃度測定法

B. subtilis ATCC 6633 を検定菌とする薄層カップ法で行った。標準希釈液の調整には血清中濃度測定にはコーンセラを、BAL 液中濃度および肺組織内濃度測定には PBS を使用した。

5) 尿素窒素測定法

Sigma 社の BUN 測定用キット (DIAGNOSTICS BUN[®][RATE]) を用い紫外部吸光度法により測定した。

6) 総蛋白濃度の測定

Folth 法 (Lowy 法) による吸光度法により測定した。

7) 肺炎ラットの作製

松本らの噴霧感染装置⁹⁾を用い *P. aeruginosa* IFO 3445 10⁹/ml の 20 ml を 40 分間噴霧し、18~24 時間後

*名古屋市瑞穂区川澄 1

に実験に供した。

II. 成 績

1) BAL 液注入量および回収量

PBS の注入量および回収量は Fig. 1 のごとく、2 回目から 9 回目までの BAL は各々注入量と回収量はほぼ等しく、正常群で 6.4 ± 1.4 ml, 感染群で 6.7 ± 0.9 ml が注入され、正常群で 6.8 ± 1.3 ml, 感染群で 6.9 ± 0.9 ml が回収された。初回および最終の 10 回目は BAL 装置の死腔部分の存在のため注入量と回収量が一致しなかった。正常群と肺炎群との間に BAL 注入量, 回収量に有意差は認めなかった。

2) CEZ, BUN, TP 血清中濃度 (Table 1)

CEZ の血清中濃度は正常群 $202 \pm 34 \mu\text{g/ml}$, 肺炎群 $221 \pm 8 \mu\text{g/ml}$ であり、正常群と肺炎群とに差はみられなかった。また、BUN, TP の血清中濃度も正常群と肺炎群とに差はみられなかった。

3) BAL 液中濃度 (Table 1)

CEZ, BUN, TP の 10 回の BAL による個々の BAL 液中濃度の推移は Figs. 2~4 に示したごとくである。CEZ, BUN, TP 三者ともに BAL 第 1 液または第 2 液が最高濃度を示し以後くり返す BAL により濃度が低下した。

CEZ の最高濃度は正常群では第 2 液の $1.00 \pm 0.33 \mu\text{g/ml}$ で肺炎群では第 1 液の $2.58 \pm 0.98 \mu\text{g/ml}$ であ

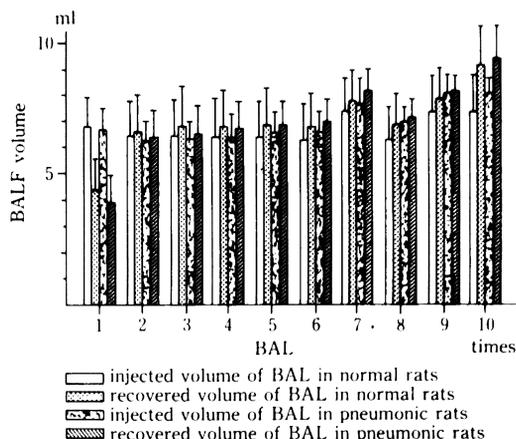


Fig. 1. Recovery volume of each lavage fluid.

About 6.8 ± 1.0 ml of buffer was injected and about 4.1 ± 1.1 ml was recovered in the first lavage. In the 2nd to 9th lavages, the recovered volume was almost equal to the injected volume. The recovered volume in the last lavage was about 9.4 ± 1.4 ml because of recovery from the dead space in the lungs and the apparatus tubes.

Table 1. Serum concentration, maximum BALF concentration and permeability in normal rats and pneumonic rats

	Pneumonia	Serum conc. ¹⁾ ($\mu\text{g/ml}$)	Max. BALF conc. ²⁾ ($\mu\text{g/ml}$)	Permeability ($(1)/(2) \cdot 10^{-2}$)
BUN	N	175 ± 18	7.59 ± 1.44	4.55 ± 0.46
	P	185 ± 20	$10.77 \pm 0.19^{**} (1.4)^{3)}$	$5.96 \pm 0.76^* (1.3)^{3)}$
TP	N	$60,600 \pm 2,500$	151.84 ± 72.72	0.25 ± 0.11
	P	$61,000 \pm 1,100$	$209.26 \pm 60.75 (1.4)^{3)}$	$0.35 \pm 0.10 (1.4)^{3)}$
CEZ	N	202 ± 34	1.00 ± 0.33	0.49 ± 0.14
	P	221 ± 8	$2.58 \pm 0.98^* (2.6)^{3)}$	$1.17 \pm 0.50^* (2.4)^{3)}$

BUN: urea, TP: total protein

Mean \pm SE

CEZ, cefazolin

Permeability: Maximum BALF concentration / serum concentration

N: normal rats, P: pneumonic rats

* ** Significant difference from normal rats (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

³⁾ Ratio of mean BALF concentration and BALF conc. / serum conc. of pneumonic rats to that of normal rats

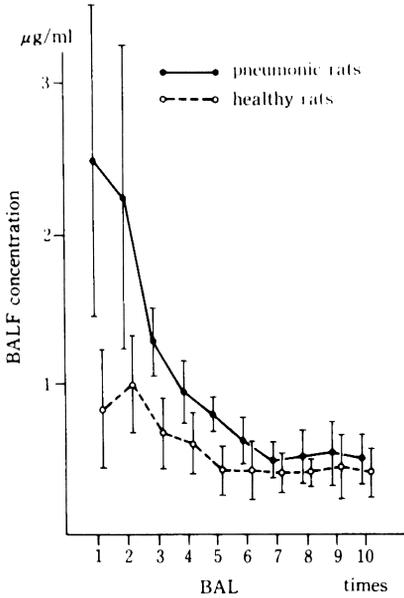


Fig. 2. The trend in CEZ concentration with each lavage. In CEZ, BAL was done at 0.5 h after administration of CEZ 100 mg/kg i.m. BALF: BAL fluid

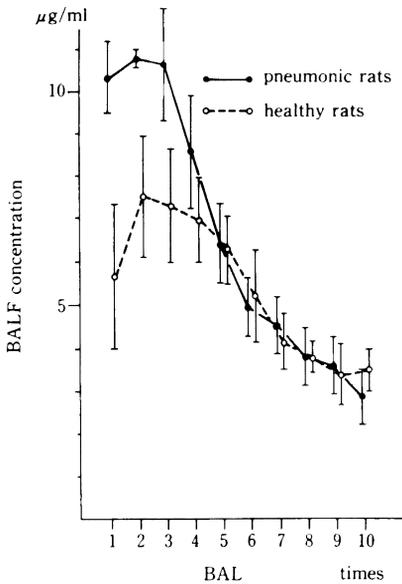


Fig. 3. The trend in BUN concentration with each lavage BALF: BAL fluid

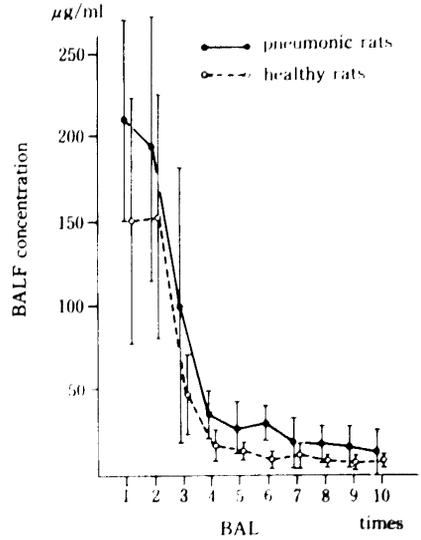


Fig. 4. The trend in TP concentration with each lavage BALF: BAL fluid

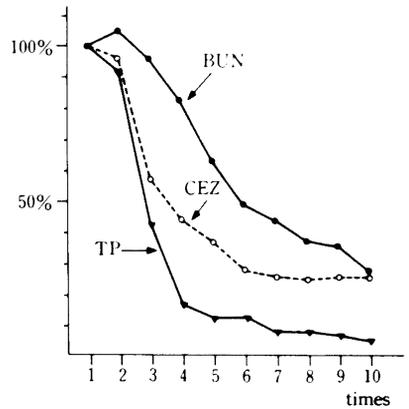


Fig. 5. The mean concentration of CEZ, urea and total protein expressed as a percentage of the concentration in the first BALF in pneumonic rats

った。BUNの最高濃度は正常群では第2液で $7.59 \pm 1.44 \mu\text{g/ml}$ 、肺炎群では第2液で $10.77 \pm 0.19 \mu\text{g/ml}$ であり、TPの最高濃度は正常群では第2液の $151.84 \pm 72.72 \mu\text{g/ml}$ 、肺炎群では第1液の $209.26 \pm 60.75 \mu\text{g/ml}$ であった。三者のBAL液中濃度の推移をBAL第1液の濃度に対する%としてあらわすと濃度の減少速度はTP, CEZ, BUNの順であり、TPが最も急峻な濃度減少を示した (Fig. 5)。

Table 2. Comparison of tissue level and tissue weight of lung between normal and pneumonic rats

		Tissue level ($\mu\text{g/g}$)	Weight of lung (g)	Amount in lung (μg)
Cefazolin	N	54.90 \pm 4.16	0.86 \pm 0.05	47.2 \pm 3.8
	P	63.70 \pm 7.03	1.27 \pm 0.08**	80.3 \pm 6.0**

N: normal rats, P: pneumonic rats

CEZ in lung: amount of CEZ in lung

** Significant difference from normal rats (** $P < 0.01$)

BAL 液中最高濃度は肺炎群、正常群ともに TP, BUN, CEZ の順で統計学的に有意差がみられた。この三者の BAL 液中濃度の順位関係は BAL 第 1 液から第 10 液にいたるまで続いた。

BAL 液中最高濃度を正常群と肺炎群とで比較すると BUN は肺炎群が正常群の 1.4 倍, CEZ は肺炎群が正常群の 2.6 倍を示し、ともに両者間に有意差がみられた。TP も肺炎群が正常群の 1.4 倍を示したが有意差はなかった。

4) BAL 液中最高濃度と血清中濃度との比 (Table 1)

BAL 液中最高濃度と血清中濃度との比を血中から BAL 液中への移行率として、三者間で比較したところ、正常群、肺炎群共に統計学的に有意に BUN, CEZ, TP の順であった。正常群と肺炎群とを比較すると CEZ は肺炎群が正常群の 2.4 倍であり両者間に有意差を認めた。また BUN は 1.3 倍, TP は 1.4 倍を示したが、BUN のみに有意差がみられた。

5) 肺組織濃度、肺組織重量による検討 (Table 2)

BAL を施行していない別の群で CEZ の肺組織内濃度を測定した。CEZ 100 mg/kg 投与 30 分後の CEZ の肺組織内濃度は正常群 54.90 \pm 4.16 $\mu\text{g/g}$, 肺炎群 63.70 \pm 7.03 $\mu\text{g/g}$ であり肺炎群がやや高値を示したが、両群に統計学的な有意差は認めなかった。しかし、肺は感染により腫大し重量は肺炎群が正常群より約 1.5 倍と有意に増加したので ($p < 0.01$), 肺組織内濃度 \times 肺重量より CEZ の肺内の絶対量を求めると肺炎群が有意に高値を示した ($p < 0.01$)。

III. 考 案

我々は ampicillin (ABPC), fosfomycin (FOM) の気管支肺胞腔内移行を検討する目的で同様の実験を行い、肺炎群における移行の増加を報告した^{6,7)}。今回は CEZ の気管支肺胞腔内移行を BUN, TP のそれと比較検討した。

1 回の BAL 注入量の平均は 6.5~7.0 ml であり、これは文献的には同程度の体重のラットの全肺活量の約

70~80% にあたっている¹⁰⁻¹²⁾。この肺活量は 30 cm H₂O の圧により測定されており我々の実験系での注入圧が 15 cm H₂O であることからこの差が生じたものと思われる。しかし、予備実験としてインドシアニングリーンにより 15 cm H₂O の圧で BAL を行ったところ、10 回の BAL によりほぼ全胸膜直下まで染色されていたことから、この実験系でほとんどすべての気管支肺胞腔内を洗浄されているものと考えた。

血中から肺胞腔内への移行について、我々は人での検討では BAL 液中濃度と血中濃度との比で示し、ラットでの検討では 10 回の BAL による総回収量と血中濃度との比で示すに報告した^{6,7)}。しかしどちらの指標が肺胞腔内移行を示すのに適しているかの定説はない。今回は抗生剤、BUN, TP とまったく性質の異なるものを比較し、BAL による回収濃度推移が三者間で異なることから、BAL 液中最高濃度と血中濃度との比を肺胞腔内移行の指標とした。その結果 BUN が最も移行が良く、TP が一番劣るという成績が得られた。

BAL 液中の TP の主体は Albumin であり、その分子量は約 69,000、BUN の分子量は 60、CEZ の分子量は 453 であることから、3 者間のみ比較ではあるが、分子量と気管支肺胞腔内移行との逆相関が示唆された。Crandall E D らは食用ガエルの肺胞上皮を用いて、水、BUN、多糖類の移行を検討し分子半径の大きさと移行が逆相関することを示した^{13,14)}。Enna S J らはラットを用いて分子量の異なる物質を気管支肺胞腔内に注入して気管支肺胞腔内から毛細血管への移行を検討し、その移行と分子量とが逆相関することを報告している¹⁵⁾。我々の BAL による検討でも同様の結果が得られた。

BUN の気管支肺胞壁の拡散について Enna らはラット肺では気管支肺胞腔内から血中へ 4~5 秒で拡散することを示しており¹⁵⁾、Seitsemra らは、ラベルした BUN を羊に静注しブロンコスコーピーにより BAL を施行し BUN は BAL 施行中にも毛細血管から気管支

肺胞腔内に拡散することを示しており¹⁹⁾、BUNは肺胞内の毛細血管と肺胞腔内を比較的にやすく両方向に拡散できるものと報告されている。

方蛋白の気管支肺胞内への移行は悪く、その移行部位としてPersson、蘇原らは蛋白などの分子量の大きな物質の血管からの漏出は毛細血管の後の細静脈からであると報告している¹⁷⁻¹⁹⁾。肺細静脈の数は肺毛細血管の数の1/10程度であることから移行は悪いものと推測された¹⁹⁾。

BAL液中の濃度推移を検討すると蛋白はくり返すBALによりその濃度は急激に低下したがBUNの濃度低下は比較的ゆるやかであった。CEZはその中間に位置した。これはBAL施行中にBUNは毛細血管内からBAL液中に容易に拡散するため濃度低下がゆるやかであり、逆に蛋白は拡散が悪いためBAL液中濃度の低下が急峻であったと考えられた。Marcyらも同様の成績を報告している²⁰⁾。

CEZのBAL液中最高濃度は肺炎群は正常群の2.6倍を示し、またBAL液中最高濃度と血清中濃度との比である移行率は2.4倍を示した。これは炎症によるblood-bronchoalveolar barrierの破綻によりCEZの血中からBAL液中への拡散が亢進したのが原因と考えられた。BUNの移行率はCEZより高値を示したが、炎症による増加は有意差はあるものの軽度であった。これはBUNが正常群においてもbarrier内を比較的容易に拡散するため肺炎によりbarrierの破綻の影響が少なかったためと考えられた。一方、TPは移行が非常に悪く今回作製された肺炎によるbarrierの破綻の程度では炎症に伴う増加が認められなかったものと考えられた。正常時と肺炎時とで移行率が三者間で異なることから、正常時のBAL液中濃度で肺炎時のBAL液中濃度を推定することはできず、個々に検討する必要があると思われた。

肺組織濃度は血液の混入などの問題はあるものの、抗生剤の組織移行を検討する上に現在もなお一般的な方法である。しかし、炎症時における組織濃度の検討は詳細には検討されていない。我々の成績によれば肺組織濃度は肺炎群と正常群との間には有意差は認められなかったが、肺が炎症により腫大したため肺内の総抗生剤量は肺炎により有意に増加していた。炎症による腫大を無視し、肺組織濃度のみで抗生剤の組織移行を検討した場合、炎症による臓器内移行の増加を過小評価および無視する結果ともなりうるので注意しなければならないと考えられた。

文 献

1) Eugenie Bergogne-Berezin, Pennington J E:

Pharmacokinetics of Antibiotics in Respiratory Secretions: Respiratory Infections: Diagnosis and Management 461~477, 1983

- 2) Smith B R, Le Frock J L: Bronchial tree penetration of antibiotics. *Chest* 1983; 904~908
- 3) 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— β -ラクタム剤について—. *Chemotherapy* 34: 250~260, 1986
- 4) 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
- 5) 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, 島田久久, 蝶良英郎: 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. *日本胸部疾患学会誌* 21: 340~348, 1983
- 6) 加藤政仁, 多代友紀, 吉友和夫: 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—. *Chemotherapy* Vol. 35 No. 5 MAY, 1987
- 7) 加藤政仁, 多代友紀, 吉友和夫: Fosmism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—. *Chemotherapy* Vol. 35 No. 6 JUNE 1987
- 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
- 9) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 穴戸春美, 他: 噴霧吸入感染によるグラム陰性桿菌性肺炎モデル. *日胸疾会誌*, 16: 8: 581~587
- 10) Weibel E R: Morphological basis of alveolar-capillary gas exchange. *Physiol Rev* 53: 419~495 1973
- 11) Diamond L, O'Donnell M: Pulmonary mechanics in normal rats. *J. Appl. Physiol.* 43: 942~948, 1977
- 12) 横山栄二: ラット換気能測定法. *日胸疾患会誌* 21: 4; 1983
- 13) Crandall E D, Kim K J: Transport of water and solutes across bullfrog alveolar epithelium. *J Appl Physiol* 1981; 50: 1263~1271
- 14) Crandall E D: Water and Nonelectrolyte Transport across Alveolar Epithelium. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: S16~24
- 15) Enna S J, Schanker L S: Absorption of saccharides and urea from the rat lung. *Am J Physiol* 1972; 222: 409~414
- 16) Seitsema K, Effros R M, Siu S T, Mason G R: Solute concentrations of bronchoalveolar fluid (abstract). *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: A20
- 17) Persson C G, Svensjoe E: Airway hyperreactivity and microvascular permeability to large molecules. *Eur Dis Suppl* 1983; 131: 183~214
- 18) 蘇原泰則, 三井清文, 他: 生体顕微鏡を用いた血行力学的肺水腫の研究. *医学のあゆみ* 142: 779, 1987

- 19) 蘇原泰則, 堀原一: 肺の微小循環。呼吸 6: 1191, 1987
20) Marcy T W, Merrill W W, Rankin J A, Reynold

H Y. Limitation of using urea to quantify epithelial lining fluid recovered by bronchoalveolar lavage. Am Rev Respir Dis 1987; 135: 1276~1280

COMPARISON OF RESPIRATORY TRACT PENETRATION BY CEFAZOLIN, UREA AND PROTEIN

Tomoyuki Tashiro, Masahito Kato, Kazuo Yoshitomo and Toshihiko Takeuchi

First Department of Internal Medicine, Nagoya City University Medical School,

1 kawasumi, Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan

We used bronchoalveolar lavage (BAL) to study penetration of the rat respiratory tract by cefazolin (CEZ), urea (BUN) and total protein (TP). In both normal and pneumonic rats, concentration in serum was $TP \gg CEZ > BUN$, and in bronchial alveolar lavage fluid (BALF) it was $TP \gg BUN > CEZ$. We defined permeability as the ratio of maximum BALF concentration to serum concentration. Permeability was, in decreasing order $BUN > CEZ > TP$ in both normal and pneumonic rats. This seems to indicate that molecular weight affects the permeability of the respiratory tract. BALF concentration and permeability of these three substances seemed to be higher in pneumonic than in healthy rats, with CEZ increasing most, followed by BUN. TP did not increase significantly. The tissue level of CEZ in lung was not significantly higher in pneumonic than in normal rats, though the tissue weight and volume were significantly greater. Thus, the total amount of CEZ in lung increased significantly in pneumonic over healthy rats.