

## 抗生物質の臓器内局在性の検討

安藤 千里・武田 一雄・中村 文昭  
石井 宏典\*・藤本 修造\*\*

### はじめに

われわれは抗生物質の臓器内分布を細胞レベルで確認することを目的としてウサギにおいて抗ペニシリン G 抗体を作製した上でペニシリン G を筋肉内に注射をした後のモルモットの肺, 肝, 腎の各臓器につき間接蛍光抗体法によつて局在性の検討を行い, 前回のこの研究会において発表した。

すなわち, ペニシリン G を Freund の Complete adjuvant と共にウサギ臀筋に長期にわたり注射をすることにより抗ペニシリン G ウサギ血清抗体の産生を計画し<sup>1)</sup>, ペニシリン G により感作を行つたウサギ赤血球<sup>2)</sup> と間接赤血球凝集反応を行い血清抗体価の上昇を確認した。

この抗血清を用いての間接蛍光抗体法により, ペニシリン G 筋注後のモルモットの正常臓器においては組織細胞内には蛍光が見られず主に管腔内に蛍光が見られたことより正常組織においては細胞内へのペニシリン G の取込はないのではないかと推論したが, このような蛍光が特異的なものかあるいは, 抗  $\gamma$ -gl に対する非特異的なものなのかの判別が必要と考えられる。

今回は基礎実験としての意味と今後の検討をより詳細となすために抗ペニシリン G 抗体について血清免疫学的実験を行つた。

### 実験方法と結果

現在までの実験は抗ペニシリン抗体が  $\gamma$ -gl に存在するといわれているために抗ウサギ  $\gamma$ -gl に FITC をラベルした羊血清を用いて蛍光抗体法による検討を行つてきたが,  $\gamma$ -gl で反応を行うことが正しいか否かについての検索を行つた。

このためにペニシリン感作を行つていない正常のウサギ血清と, 8 週間のペニシリン感作を行つたウサギ血清の蛋白電気泳動を行いそれぞれの血清蛋白分画を比較検討した。  $\gamma$ -gl 分画については図 1 に示すごと

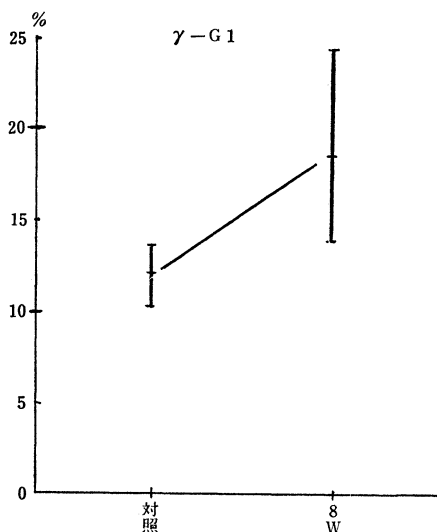


図 1

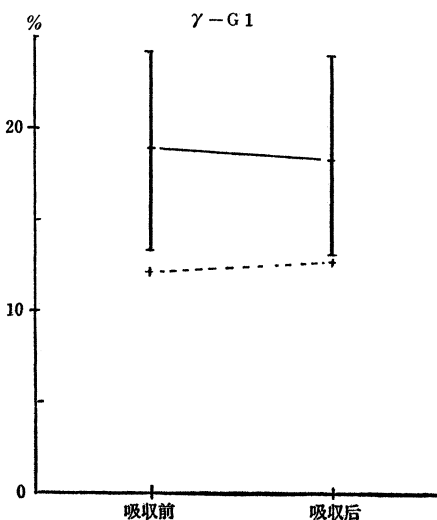


図 2

\* 大阪医科大学耳鼻咽喉科学教室

\*\* 大阪医科大学中央検査科

くで、正常血清における  $\gamma$ -gl は 10.5~13.4%，平均 12.0%，8 週間のペニシリン感作を行ったウサギ血清では 13.5~23.9%，平均 18.0%と明らかな  $\gamma$ -gl の上昇が見られた。

つぎに、これらの各々の血清について間接赤血球凝集反応に用いたと同様のペニシリン G 感作ウサギ赤血球により抗ペニシリン G 抗体の吸収を行ったものについて蛋白電気泳動を行った。

図 2 に示すごとく抗ペニシリン血清については吸収前の  $\gamma$ -gl の平均値 18.0%であったものが吸収後 17.1%に減少した。また点線で示した正常血清では減少は見られなかった。

さらに同様の血清についてゲル内免疫拡散法による検索を行った。寒天内には抗ウサギ  $\gamma$ -gl 羊血清を混じ各凹にはそれぞれの血清をいれて反応を行った。表 1 は吸収前、吸収後のそれぞれの血清についての拡散輪の直径を記したものであるが 4 番の血清を除いて抗血清においては 1~2 mm の拡散輪の減少が見られた。なお対照の正常血清では拡散輪の減少は見られなかった。

これら蛋白電気泳動とゲル内拡散法の所見によりウサギにペニシリン G を筋注することにより得られる抗ペニシリン G ウサギ血清において抗ペニシリン G 抗体は  $\gamma$ -gl に含まれることが判明し今日までの実験が正当であることが裏付けられたと思われる。

そこでさらに今後この実験を進めるにあたりペニシリン抗体の位置をより明確にし狭い範囲の特異抗体を用いて反応を行う方がより詳細な検討が可能であると考えられるので、さらに免疫グロブリンについての詳細な検索を行った。すなわちゲル内免疫拡散法により  $\gamma$ -gl について行つたと同様に抗ウサギ Ig-G、Ig-A 羊血清との反応を抗ペニシリン抗体吸収前および吸収後のウサギ血清について行つた。表 2 は抗ウサギ Ig-G 羊血清との反応について拡散輪の直径を示したもので 3 番の血清以外で Ig-G の明らかな低下が見られる。また、対照血清ではまったく変化が見られなかった。表 3 は抗ウサギ Ig-A 羊血清との反応の結果を示したものであるが各血清ともに吸収操作によつても何らの変化も見られなかった。なお今回は抗ウサギ Ig-M 血清の入手ができなかったために Ig-M についての検討が不可能であった。

なお蛋白電気泳動において  $\beta$ -gl について対照血清との間の比較検討を行つたが対照血清と抗ペニシリン G 血清間に差異は見られず、今回の Ig-A につい

表 1  $\gamma$ -gl (mm)

	1	2	3	4	5	対 1	対 2
吸収前	12	11	11	8	11	7	5
吸収後	10	10	10	8	9	7	6

表 2 Ig-G (mm)

	1	2	3	4	5	対 1	対 2
吸収前	14	15	14	13	12	9	5
吸収後	12	13	14	10	11	9	5

表 3 Ig-A (mm)

	1	2	3	4	5	対 1	対 2
吸収前	13	15	15	12	12	14	12
吸収後	13	15	15	12	12	14	12

てのゲル内免疫拡散法の結果が一致している様と思われた。

### ま と め

以上のごとき基礎的実験の結果ウサギにおける抗ペニシリン抗体は  $\gamma$ -gl にも存在し、吸収操作を加えたゲル内免疫拡散法により Ig-G には確実に存在することが判明した。

なお、JOSEPHSON<sup>1)</sup>によればウサギの抗ペニシリン抗体は  $\beta$  ないしは  $\gamma$ -gl にわたつて存在するとされ、Ig-M についての検討が不可欠であるが今回は抗 Ig-M 抗体の入手が不可能であつたために検討できなかった。この点については次回迄に結果を出す予定である。

また現在炎症組織におけるペニシリン G の局在性ならびに他の  $\beta$  ラクタム環を有する抗生物質についての検討を行っているので次の機会に報告したく思っている。

### 文 献

- 1) JOSEPHSON, A. S.: The development of antibodies to penicillin in rabbits. *J. Exp Med*, 111, 611-620, 1960.
- 2) ALLYN, B. LEY, *et al*: Circulating antibody directed against penicillin. *Science*, 127, 1118-1119, 1958.

〔質問〕馬場（名市大）：白血球内にとり込まれているのは貪食によるものなのか。

〔応答〕安藤（大阪医大）：たしかなことは言えないが、そのようにも考えられる。

〔質問〕広戸（九大）：Ig-Gの抗ペニシリン抗体の量から、ペニシリンの量の多少を知ることができるのか。

〔応答〕藤本（大阪医大）：螢光を発している状態とペニシリンの量が平行するかどうかはまだ疑問である。

〔質問〕岩沢（札幌通信）：使用したペニシリンの種類は？

〔応答〕安藤（大阪医大）：市販の水溶性のペニシリンGを使っている。

## 半合成 Penicillin 剤の血中濃度および 臓器組織内移行に関する研究

岩 沢 武 彦\*

最近 Penicillin 剤の研究開発は、主として Ampicillin の側鎖を化学的転換により相ついですぐれた新規の半合成 Penicillin 剤が誘導合成されるにいたつた。今回数種の半合成 Penicillin 剤について、健康成人3例に 500 mg 投与した場合の血中活性値および各臓器組織内濃度を測定し比較検討した成績を述べた。なお測定方法は、Bacillus subtilis ATCC 6633 株を標示菌とする薄層カップ法による bioassay によつた。各標準曲線の作製は、各純末を PBS (pH 7.2) で2倍通減希釈を行い各薬剤の濃度段階について菌発育阻止帯長を測定し片対数表にのせ活性値を算定した。

Sulfobenzylpenicillin (SB-PC) の筋注後の血中濃度は、30分後に 14.3  $\mu\text{g/ml}$  と急上昇し最高値に達し、1時間後に 9.9  $\mu\text{g/ml}$  と減少し始め、筋注6時間後に 0.9  $\mu\text{g/ml}$  と有効血中濃度を維持しており、慢性副鼻腔炎の場合もほとんど同様な時間的消長傾向が認められた。SB-PC 筋注後のヒト口蓋扁桃には、1時間後に 1.4  $\mu\text{g/g}$  (血清濃度 8  $\mu\text{g/ml}$ ) の活性値を測定し、上顎洞粘膜には 0.9  $\mu\text{g/g}$  (血清濃度 6.3  $\mu\text{g/ml}$ ) の組織内移行が認められた。

Carboxybenzylpenicillin (CB-PC) 筋注後の血中濃度は、30分後に 17.9  $\mu\text{g/ml}$  と急激に高く peak に達したが、1時間後に 11.5  $\mu\text{g/ml}$  と消失傾向がみられ始め、筋注6時間後には 0.5  $\mu\text{g/ml}$  と血中よりの活性値減少が著しかった。CB-PC 5g 静注後の

血中濃度は、15分後に 224  $\mu\text{g/ml}$  と最高値を示し、30分後に 172  $\mu\text{g/ml}$  と減少し始め、2時間後には 93.3  $\mu\text{g/ml}$  となり、静注6時間後には 22.7  $\mu\text{g/ml}$  と低くなつたが十分有効濃度を維持しえた。500 mg 筋注後のヒト上顎洞粘膜には、1時間後に 1.2  $\mu\text{g/g}$  (血清濃度 10.2  $\mu\text{g/ml}$ ) の活性値を測定し、同粘膜組織への十分な有効量の移行を認めた。

Pivampicillin (PV-PC) 内服後の血中濃度は、30分後に 4.2  $\mu\text{g/ml}$  となり、内服1時間後に 9.3  $\mu\text{g/ml}$  と peak に達し、2時間後より減少し始め、内服6時間後には 1.4  $\mu\text{g/ml}$  となお有効血中濃度を維持しており、従来の Ampicillin の同量投与時の約3倍程度の活性値がえられた。PV-PC 内服後のヒト口蓋扁桃には、1時間後に 2.5  $\mu\text{g/g}$  (血清濃度 12.7  $\mu\text{g/ml}$ )、咽頭扁桃に 2.5  $\mu\text{g/g}$  (血清濃度 11  $\mu\text{g/ml}$ )、上顎洞粘膜に 1.5  $\mu\text{g/g}$  (血清濃度 10.7  $\mu\text{g/ml}$ ) の良好な組織内活性値を測定し、Biophotography により菌発育阻止帯を示す透明帯像を確認し、本成績を裏づけしえた。

Amoxycillin (AM-PC) 内服後の血中濃度は、30分後に 0.7  $\mu\text{g/ml}$  の血中活性値を測定し、2時間後に 3.3  $\mu\text{g/ml}$  と最高値に達したが、4時間後には 1.2  $\mu\text{g/ml}$  と減少し始め、6時間後には 0.1  $\mu\text{g/ml}$  と著しく血中から消失した。AM-PC の臓器組織内濃度は、内服2時間後のヒト口蓋扁桃に 0.3  $\mu\text{g/g}$  (血清濃度 8  $\mu\text{g/ml}$ ) の活性値を測定し、上顎洞粘膜に

\* 札幌通信病院耳鼻咽喉科