

抗生物質の臓器内局在性に関する検討

安藤千里*・武田一雄・中村文昭

石井宏典・藤本修造**

緒 言

われわれは抗生物質の臓器内局在性を細胞レベルで確認する事を目的として、ウサギにおいて抗ペニシリンG抗体を作製し、間接蛍光抗体法により正常モルモット臓器についての実験を行つて来た¹⁾。

今回は基礎実験の追加と炎症臓器における実験を行つた。

実験方法

1. ペニシリンG抗体の作製

ペニシリンG抗体の作製は JOSEPHSON の方法²⁾に準じた。すなわち水性ペニシリン G 20万単位と 1 ml の FREUND の Complete adjuvant を週 2 回の割合でウサギ腎筋に頻回に注射をする事によつて行つた。

2. 抗セファロリジン抗体の作製

ペニシリンGと同じくセファロリジン 125 mg/ml と FREUND の Complete adjuvant を用いて同様の操作によつて作製した。

3. 各抗体血清の抗体価の測定

ALLYN B. LEY³⁾の方法にしたがい、上記各抗生物質溶液とウサギ赤血球浮遊液を incubate をすることにより抗生物質で感作されたウサギ赤血球と倍数希釈抗体血清とを反応させることにより行つた。

4. 抗体の位置に関する実験

前回までの報告により抗ペニシリンG抗体は γ -G1 に存在し免疫グロブリンレベルでは Ig-G に存在する事が判明したが、今回は Ig-M に関する実験を行つた。

すなわち、抗体血清を 2メルカプトエタノールで処理を行い、処理前後の 3) における ペニシリン感作ウサギ赤血球との間で間接赤血球凝集反応を行つた。

また一方、抗体血清と抗ウサギ Ig-M 羊血清との間で免疫拡散法を行つたものと、前記ペニシリン感作ウサギ赤血球を用いて抗体血清中の抗体血清中の抗ペニ

シリン抗体の吸収操作を行つた血清との間の免疫拡散法を行い拡散輪の直径の変化を見た。

5. 炎症臓器における間接蛍光抗体法

炎症臓器としてはモルモット肝を用いた。すなわち、モルモット肝臓に黄色ブドウ球菌の 1 mg/ml 浮遊液の 0.3~0.5 ml を注射し、その 1 週間後にペニシリン G あるいはセファロリジンを筋注、その 1 時間後に肝臓の病変部を採取し凍結切片を作製、各抗体血清を作用させ、型のごとく間接蛍光抗体法を行つた。

実験結果

1. セファロリジン抗体について

実験方法 2. の手技により作製したウサギ血清について間接赤血球凝集反応を行つたところ、23 週目の血清について使用した 4 羽のウサギ共 512 倍までの凝集が見られ、この方法によつてセファロリジンについてもウサギにおいて抗体産生が可能なが判明した、と同時にセファロリジンによりウサギ赤血球が感作され得ることも確認された。

2. 各抗体の特異性について

抗ペニシリンG抗体血清と抗セファロリジン抗体血清について、ペニシリンG、セファロリジン、セファロチン各感作血球との間で間接赤血球凝集反応を行つた。

抗ペニシリンG抗体血清はペニシリンG感作血球は当然の事として、セファロリジンおよびセファロチン感作血球との間でも凝集を示した。また、抗セファロリジン抗体血清はペニシリン感作血球とは凝集を示さないが、セファロチン感作血球との間ではセファロリジン血球と同程度の凝集を示した。

これらのことより、ウサギにおける抗ペニシリンG抗体はセファロリジンならびにセファロチンに対しても作用する事、抗セファロリジン抗体はペニシリンGに対しては作用しないが、セファロチンに対しては反

* 大阪医科大学耳鼻咽喉科学教室

** 大阪医科大学中央臨床検査部

応を示すことが判明した。

3. 抗ペニシリンG抗体の位置について

2メルカプトエタノール処理前後の抗ペニシリンG抗体血清とペニシリン感作ウサギ赤血球との間接赤血球凝集反応を行つたところ2メルカプトエタノール処理により明らかな凝集価の低下が見られた。また免疫拡散法によつても処理により拡散輪直径の減少を見た。このことよりウサギにおける抗ペニシリンG抗体はIg-Mにも存在する事が確認された。

4. 炎症臓器におけるペニシリンG, ならびにセファロリジンの局在性

間接蛍光抗体法による観察を行つたが、対照としては抗ペニシリンG血清あるいは抗セファロリジン血清ではなく正常のウサギ血清を用いたが、いずれについても全く蛍光は見られなかった。

ペニシリンG, セファロリジン筋注1時間後の炎症のない肝臓では静脈内の一部あるいはグリッソン氏鞘の一部に少数の蛍光が見られた。

一方、黄色ブ菌により発症を起した肝臓では、H・E標本で限局性の細胞浸潤の見られる部位でSinusoidに多数の蛍光が見られた。また、別の部位で膿瘍形成、強い細胞浸潤、Nekrose, 菌塊等の見られる場所では、膿瘍の内側および外側においても多数の蛍光が見られ、これらの部位では円形の蛍光が多く、円形細胞と考えられるがこれらの細胞がどの種類の貪食細胞であるかは判明しなかつた。また、ペニシリンGなどを単独で貪食したものかあるいは、菌に作用したペニシリンなどを貪食したものかも不明であつた。

これら炎症臓器における実験によつても、いわゆる実質細胞内と思われる蛍光はいずれの標本においても見られなかつた。

以上の炎症肝臓における実験により、炎症のない肝臓に比し非常に多くの蛍光が炎症部位に見られた事は、

炎症による脈管系破損により血管外へ多量のペニシリンG, あるいはセファロリジンが流出することが明白となり、炎症臓器におけるこれら抗生物質濃度の上昇を来し、菌に対しての抗生物質の作用機転の中で重要な因子であると考えられる。

結 語

1. セファロリジンについてもペニシリンGと同様の方法でウサギにおいて抗体産生が可能であり、またセファロリジンもウサギも赤血球に附着する。

2. 抗ペニシリンG抗体はセファロリジン, セファロチンにも作用をする。抗セファロリジン抗体はペニシリンGには反応しないが、セファロチンには反応を示す。

3. 抗ペニシリンG抗体は γ -G1分画に存在し、免疫グロブリンレベルではIg-GおよびIg-Mにも存在する。

4. 黄色ブ菌によるモルモット炎症肝臓では、炎症のない肝臓に比し著しい蛍光が見られ、炎症部位ではこれら抗生物質が多量に存在すると考えられる。

今後はさらにこれらの実験をもとにアレルギー性炎症臓器, あるいは人扁桃等のこれら抗生物質の局在性を検討する予定である。

文 献

- 1) 武田一雄他：抗生剤の組織内局在性に関する検討。耳鼻と臨床 23:1, 63-65, 1977.
- 2) JOSEPHSON, A. S.: The development of antibodies to penicillin in rabbits. Journal of Exp. med. 111: 611-620, 1960.
- 3) ALLYN, B. LEY, et al.: Circulating antibody directed against penicillin. Science 127: 1118-1119, 1958.