

抗菌剤の膀胱腔内への移行にかんする研究

補遺：両腎摘除ラットに投与された KM, ABPC, CEZ および
OLM の早期における膀胱内生理的食塩水中濃度について

山口大学医学部泌尿器科学教室（主任：酒徳治三郎教授）

桐 山 竜 夫*
上 領 頼 啓
永 田 一 夫
広 中 弘

A STUDY ON THE TRANSFER OF ANTIMICROBIAL AGENTS INTO THE CAVITY OF URINARY BLADDER CONCENTRATION OF KANAMYCIN, AMINOBENZYL PENICILLIN, CEFAZOLIN AND OLEANDOMYCIN IN THE INTRAVESICALLY INSTILLED SALINE IN THE EARLY PERIOD OF POST-ADMINISTR ATION TO BILATERALLY NEPHRECTOMIZED RATS

Tadao KIRIYAMA, Yoriaki KAMIRYO,
Kazuo NAGATA and Hiroshi HIRONAKA

*From the Department of Urology, Yamaguchi University School of Medicine
(Chairman: Prof. J. Sakatoku, M. D.)*

In order to obtain the basic data which may contribute to the prevention and treatment of infection occurring in the defunctionalized bladder, an investigation was attempted to confirm if the antimicrobial agents administered generally is transferred into the vesical cavity. 0.7 ml of normal saline was instilled into the bladder of the male rats after bilateral nephrectomy. The rats weighed 300 to 350 grams and their penis were ligated preoperatively.

Kanamycin, cefazolin, aminobenzyl penicillin or oleandomycin was intramuscularly administered in the dosage of 40 mg/kg. Concentration of each antibiotic in the serum and the intravesical fluid was determined three and six hours after intramuscular injection. The following table shows the results of this study.

	Concentration in the serum ($\mu\text{g/ml}$)		Concentration in the intravesical fluid ($\mu\text{g/ml}$)	
	3 hours	6 hours	3 hours	6 hours
Kanamycin	96.5 $\pm$ 7	98.5 $\pm$ 12	2.4 $\pm$ 0.5	3.5 $\pm$ 1
Cefazolin	54 $\pm$ 7.5	22 $\pm$ 6.5	1 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1
Aminobenzyl Penicillin	17 $\pm$ 4.5	3 $\pm$ 0.5	4.5 $\pm$ 2.5	10.5 $\pm$ 5
Oleandomycin	3.5 $\pm$ 0.5	1.5 $\pm$ 0.5	0	0

*現：京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：吉田修教授）

緒 言

著者の1人、上領は、上部尿路変更術のみを施行して、あとに残された left-behind bladder の感染の予防や治療についての基礎的データを得る目的で、抗菌剤の膀胱壁移行にかんする研究をおこない、その成績を報告してきた^{1,2)}。そのなかで、両腎を摘除し、膀胱内に生理的食塩水を注入したラットに、全身的に投与した抗菌剤が24, 48 および72時間後にこの生理的食塩水のなかに移行してくるか否かを研究した結果を述べている。KM, DKB および GM の aminoglycoside 系抗生剤は、血清および膀胱内に注入された生理的食塩水（膀胱内腔液と略す）の両者に比較的高い活性が認められる。一方、ABPC および CEZ では、24時間後に膀胱内腔液にわずかの活性が認められ、OLM では全く活性が検出されなかった。

これらの成績からは、ABPC, CEZ および OLM では、一度は膀胱内腔液へ移行してきたものが、血中濃度の減少とともに再び膀胱外へ移行してしまったのか、あるいは、始めからわずかしかなかったかまたは全く移行してこなかったのかは不明である。このことを明らかにする必要を感じて以下の研究をおこない、その成績をここに発表する。

実験方法

実験方法の詳細は前報¹⁾に譲り、ここでは簡単に記す。

使用した動物は、体重 350 g 前後の Wistar 系雄性ラットで、5匹をもって1群としたが実験中死亡したり、膀胱内腔液が回収しえずしてそれより少なくなった群があった。エーテルで麻酔し、腹部正中切開で開腹して両腎を摘出した。陰茎を絹糸#5で結紮し、0.7ml の生理的食塩水を膀胱内に注入した。創部を縫合し、この後体重 kg あたり 40 mg の抗生剤を筋注した。

抗菌剤としては、kanamycin sulfate (KM: 力価 700 mcg/mg, 明治製菓株式会社), aminobenzylpenicillin-Na (ABPC: 力価 915 mcg/mg, 明治製菓株式会社), cefazolin-Na (CEZ: 力価 944.5 mcg/mg, 藤沢薬品工業株式会社) および oleandomycin phosphate (OLM: 力価 830 mcg/mg, 台糖ファイザー株式会社) を使用した。KM 溶液は 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.8) で、ABPC, CEZ および OLM 溶液は 0.15 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で作成した。

抗生剤投与3時間または6時間後に再度エーテルで麻酔し、血液および膀胱内腔液を採取した。血清および 3,000 回転10分間遠心分離した膀胱内腔液の上清

を濃度測定のための試料とした。

抗菌剤の濃度測定は平板ディスク法でおこなった。ディスクは抗生物質検定用ディスクろ紙（東洋ろ紙 KK, 8 mm, thin）を用いた。検定菌として *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を使用し、培地として KM, ABPC および CEZ には、ポリペプトン 5g, 肉エキス 3g, クエン酸ナトリウム 10g, 寒天（栄研）10g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.2 を、OLM には、ペプトン 6g, 酵母エキス 3g, 肉エキス 1.5g, ブドウ糖 1g, 寒天（栄研）15g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.8 を使用した。標準曲線の作成は上記のリン酸緩衝液希釈によった。

以上のすべての操作は可能な限り無菌的におこなった。

実験成績

Table 1 にすべての成績を一括して表示した。

Table 1. Concentration of KM, CEZ, ABPC and OLM in serum and in the saline* 3 and 6 hours following administration to anephric rats.

		3-hr-level		6-hr-level	
		Serum (μ g/ml)	The saline (μ g/ml)	Serum (μ g/ml)	The saline (μ g/ml)
KM	mean $\pm$ S.E. (n=4)	96.5 $\pm$ 7	24 $\pm$ 0.5	98.5 $\pm$ 12	3.5 $\pm$ 1
40mg/kg. i.m.	range	91~106	1.6~3.2	87~110	4.8~24
CEZ	mean $\pm$ S.E. (n=4)	54 $\pm$ 7.5	1 $\pm$ 1	22 $\pm$ 6.5	2 $\pm$ 1
40mg/kg. i.m.	range	45~63	0.6~1.8	17~31	0.6~29
ABPC	mean $\pm$ S.E. (n=5)	17 $\pm$ 4.5	4.5 $\pm$ 2.5	3 $\pm$ 0.5	10.5 $\pm$ 5
40mg/kg. i.m.	range	12.5~23	1.0~8.1	2.5~3.4	4.4~16
OLM	mean $\pm$ S.E. (n=4)	3.5 $\pm$ 0.5	0	1.5 $\pm$ 0.5	0
40mg/kg. i.m.	range	2.9~4.3		0.9~2.0	

* 0.7ml of normal saline which was instilled into the bladders of anephric rats and recovered from them.

Table 2. Molecular weights of the antibiotics used.

	Antibiotics used			
	KM	CEZ	ABPC	OLM
Molecular weight	485.4	476.5	371.4	ca715

KM を投与したあと3時間 および6時間の平均血清濃度 (Fig. 1) は、それぞれ 96.5 $\pm$ 7 μ g/ml (n=4), 98.5 $\pm$ 12 μ g/ml (n=4) であった。一方膀胱内腔液はそれぞれ 2.4 $\pm$ 0.5 μ g/ml (n=4), 3.5 $\pm$ 1 μ g/ml (n=4) であった。血清濃度および膀胱内腔液内濃度はともに3時間値および6時間値はほぼ同程度の値を示した。

CEZ の血清3時間値および6時間値は、それぞれ平均 54 $\pm$ 7.5 μ g/ml (n=4), 22 $\pm$ 6.5 μ g/ml (n=4) であった。膀胱内腔液中の平均濃度はそれぞれ 1 $\pm$ 1

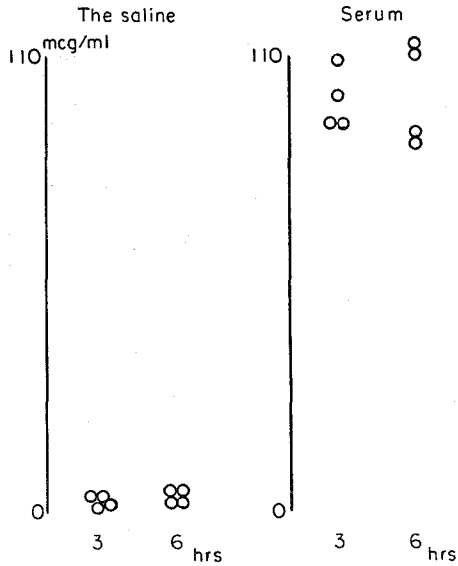


Fig. 1. KM concentrations in the saline.
(40mg/kg, im.)

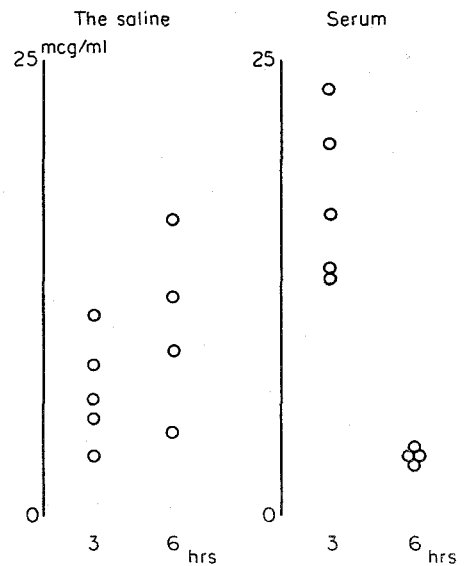


Fig. 3. ABPC concentrations in the saline.
(40 mg/kg, im.)

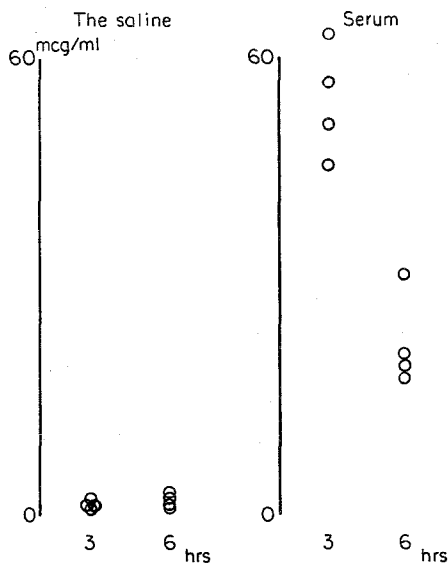


Fig. 2. CEZ concentrations in the saline.
(40 mg/kg, im.)

$\mu\text{g/ml}$, $2 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 2).

ABPC の投与 3 および 6 時間後の平均 血清濃度はそれぞれ $17 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), $3 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=4$) であった. 同じく ABPC 投与後 3 および 6 時間の平均膀胱内腔液中濃度は $4.5 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$) および $10.5 \pm 5 \mu\text{g/ml}$ ($n=4$) であった (Fig. 3).

OLM の血清 3 時間および 6 時間の平均値は, それ

ぞれ $3.5 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=4$) $1.5 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) であったが, 投与後 3 時間および 6 時間のいずれにおいても膀胱内腔液中に OLM の活性を認めることはできなかった (Fig. 4).

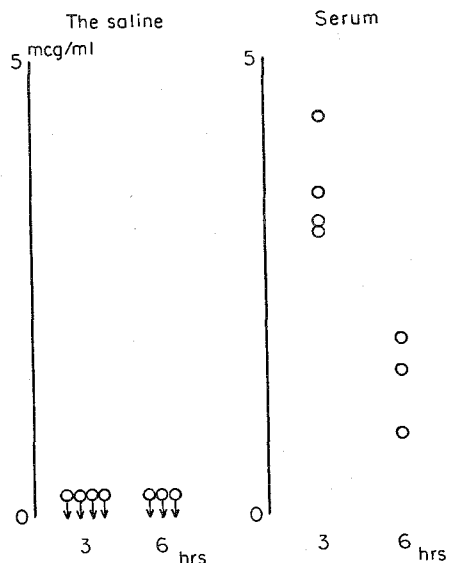


Fig. 4. OLM concentrations in the saline.
(40 mg/kg, im.)

考 察

前回は, 全身的に投与された抗菌剤が仮りに膀胱内腔液中に移行してくるとしても, それが測定可能にな

るにはかなりの時間が必要であるとの想定に立って、24, 48および72時間後の膀胱内腔液中の抗菌剤濃度を測定した¹⁾。この結果、KM は24時間値 $90 \pm 13.5 \mu\text{g/ml}$, 48時間値 $57 \pm 9.5 \mu\text{g/ml}$, 72時間値 $28 \pm 6 \mu\text{g/ml}$ と血清中に長時間にわたって滞留した。一方膀胱内腔中の濃度は24時間値 $16 \pm 8 \mu\text{g/ml}$, 48時間値 $42.5 \pm 20.5 \mu\text{g/ml}$, 72時間値 $20 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$ と48時間で peak を示し、かなりの高濃度となった。

これに対し、OLM は血清および膀胱内腔液の両方で全くその活性を検出できなかった。これは OLM が全く膀胱内腔液中に移行しないのか、あるいは一旦は移行したが、その後膀胱から消失したのかは不明である。

また CEZ は24時間後血清が $7 \pm 3.5 \mu\text{g/ml}$, 膀胱内腔液が $2 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$ の濃度を示したが、それ以降は血清および膀胱内腔液ともに活性は存在しなかった。ABPC もほぼ同様で24時間値が血清 trace, 膀胱内腔液 $1.5 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ であった。これらはともに微量にしか膀胱内溶液に移行しないのか、それとも OLM 同様に一旦移行したものが減少したのか不明である。

これらのことを補足する意味で、今回行なった研究の成績から、まず OLM は全く膀胱内腔液には移行しないことがわかった。つぎに CEZ は膀胱内腔液中に移行するがその量はきわめて微量であることと ABPC が血清で投与3時間後に $17 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$ と高値であったものが、投与6時間後には $3 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ と減少しているのに反し、この時点で、3時間値が $4.5 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$ であった膀胱内腔液中濃度が $10.5 \pm 5 \mu\text{g/ml}$ と上昇していることが明らかである。KM は血清値の漸減と同時に、膀胱内腔液中濃度は peak 値すなわち48時間値を目指して上昇している。膀胱内腔液への移行にかんし、これら4つの抗菌剤がいずれも異なった pattern を示したことはきわめて興味のあるところである。

これらのうち KM の pattern については、KM が血清中に長時間にわたって高濃度に存在し、このため KM が膀胱内腔液に移行し、徐々に濃度を高め、血清濃度が膀胱内腔液中濃度より減少すると膀胱内腔液中濃度も減少するものと解釈しうる。OLM は膀胱内腔液へは全く移行しない。前報¹⁾で考察したように膀胱壁を介しての物質の移行はきわめて多くの因子の複雑な組合わせの結果であって、単に分子量のみによるものではない。巷間に広がっている分子量 200 が、膀胱から体内への移行の決め手になる²⁾ というのは誤りである。多くの実験的事実がこれを否定している^{4, 5)}。逆方向への移行ではあるが、われわれの成績、

すなわち分子量 485.4 の KM や 371.4 の ABPC (Table 2) も移行している。もちろん分子量が大きな役割を果たしていることを全く否定しうるものではない。OLM が移行していないのは分子量の大きなことも関係しているであろう。

抗菌剤の蛋白結合率は、実験方法や実験条件によって著しく変動することはもちろん、使用する動物の種類によっても著しく変動する。CEZ の蛋白結合率は家兎やラットでは90%以上であるが、イヌ、ウマ、ウシで約50%であり、ヒトでは92%である⁶⁾。Kirby ら⁷⁾によればヒトでの蛋白結合率は86%である。これらは限外濾過法で測定したものであるがヒトにおける CEZ の蛋白結合率を平衡透析法で測定した結果では73%⁸⁾, 66%⁹⁾, 55~61%¹⁰⁾などと報告されている。橋本¹¹⁾によれば限外濾過法による ABPC のウシ血清蛋白との結合率は81.50%であり、KM のそれは45.10%, OLM のそれは58.36%である。蛋白結合率も抗菌剤の膀胱壁の移行に何らかの役割を演じていると考えられるが、ウシ血清に対する蛋白結合率の差違からは KM, ABPC, CEZ および OLM の膀胱内腔液への移行の相違を説明できないだろう。

膀胱内注入療法、水圧療法、膀胱洗滌など経尿道的操作を日常おこなっている泌尿器科医にとって薬剤の膀胱壁移行の問題は、きつと大きな関心が払われてしかるべきと考える。

結 語

Defunctionalized bladder の感染の予防または治療に関する基礎的データを得る目的で、全身的に投与された抗菌剤が、直接、膀胱腔内へ移行しているか否かを前報に引き続いて検討した。すなわち、両腎を摘除し膀胱腔内に生理的食塩水 0.7cc (膀胱内腔液) を注入、陰茎を結紮した 300~350 g の雄ラットを使用し、KM, CEZ, ABPC および OLM の 40 mg/kg を筋注後3および6時間に血清および膀胱内腔液中の濃度を測定した。

KM の血清平均濃度の3時間値および6時間値は $96.5 \pm 7 \mu\text{g/ml}$, $98.5 \pm 12 \mu\text{g/ml}$ で、膀胱内腔液中濃度のそれは $2.4 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$, $3.5 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ であった。CEZ の値はそれぞれ $54 \pm 7.5 \mu\text{g/ml}$, $22 \pm 6.5 \mu\text{g/ml}$, $1 \pm 1 \mu\text{g/ml}$, $2 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ であった。ABPC の値はそれぞれ $17 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$, $3 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$, $4.5 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$, $10.5 \pm 5 \mu\text{g/ml}$ であった。OLM の血清値はそれぞれ $3.5 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$, $1.5 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ であった。膀胱内腔液中濃度はいずれも0であった。

稿を終えるに際し、御指導、御助言・御校閲をいただいた恩師酒徳治郎教授に深謝すると同時に一連の本テーマに関する研究を支持していただいた教室の各位に御礼申し上げます。また標準物質の御提供など種々の面で御協力をいただいた製薬会社の各位にも心からの謝意を申し上げます。

文 献

- 1) 上領頼啓：抗菌剤の膀胱腔内への移行にかんする研究. 両腎摘除ラットにおける各種抗菌剤の血清ならびに膀胱内生理的食塩水中濃度について. 泌尿紀要, **2**: 807~818, 1978.
- 2) 上領頼啓：抗菌剤の膀胱腔内への移行にかんする研究. II. TLC-bioautography による抗菌活性代謝産物の検索について. 泌尿紀要, **24**: 819~825, 1978.
- 3) 川井 博・ほか：膀胱腫瘍の化学療法, 臨泌, **24**: 1,093~1,099, 1970.
- 4) Fellows, G. J. et al.: The permeability of mammalian urinary bladder epithelium. Rev. europ. Études clin. et biol., **16**: 303~310, 1971.
- 5) Pavone-Macaluso, M. et al.: Absorption of drugs from the bladder and intravesical chemotherapy. Urol. Res., **4**: 1~3, 1976.
- 6) Shimizu, T.: Studies on protein binding of cefazolin and other antibiotics. Jap. J. Antibiot., **27**: 296~301, 1974.
- 7) Kirby, W. M. M. et al.: Pharmacokinetics of cefazolin compared with four other cephalosporins. J. Infect. Dis., **128** (Suppl) : 341~346, 1973.
- 8) Madhavan, T., et al.: Clinical studies of cefazolin and comparison with other cephalosporins. Antimicrob. Agents Chemother., **4**: 525~531, 1973.
- 9) Mashimo, K. et al.: Laboratory and clinical studies on cefazolin. Chemotherapy (Tokyo), **18**: 544~551, 1970.
- 10) Gomi, J. et al.: Laboratory and clinical studies on cefazolin (CEZ). Chemotherapy (Tokyo), **18**: 577~579, 1970.
- 11) 橋本孝夫：抗生物質の生体内動態に関する基礎的研究. 第1編 血清蛋白との結合について. Chemotherapy, **21**: 38~44, 1973.

(1978年9月10日受付)