

抗菌剤の膀胱腔内への移行にかんする研究

I. 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

山口大学医学部泌尿器科学教室（主任：酒徳治三郎教授）

上 領 頼 啓

STUDIES ON THE TRANSFER OF ANTIBACTERIAL
AGENTS INTO THE INTRAVESICAL SPACEI. SERUM AND INTRAVESICAL SALINE CONCENTRATION
OF VARIOUS ANTIBACTERIAL AGENTS IN BILATERALLY
NEPHRECTOMIZED RATS

Yoriaki KAMIRYO

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

In order to obtain the basic data regarding the prevention and treatment of infection of the defunctionalized bladder, an investigation was made to see if the antibacterial agent administered generally is transferred into the intravesical space.

Male rats, weighing 300 to 350 grams, were nephrectomized bilaterally and their penis was ligated. The bladder was instilled with 0.7 ml of normal saline. This was designated as the intravesical fluid. Various antibacterial agents were administered to these rats which were sacrificed 24, 48, and 72 hours after that in order to determine the serum and intravesical fluid concentration of the agents.

In aminoglycoside group such as kanamycin, DKB and gentamicin, the serum concentration showed a relatively high level even at 72 hours following the gradual decline. The intravesical fluid concentration showed the peak level at 48 hours and the almost same level with the serum at 72 hours.

In rifampicin and nalidixic acid, the serum concentration decreased in the course of time. Antibacterial activity was proved in the 72 hours serum in rifampicin and 48 hours serum in nalidixic acid. Intravesical fluid also showed small activities.

In aminobenzyl-penicillin, sulbenicillin and cefamezin, tiny activity was proved in the serum and intravesical fluid. Aminobenzyl-penicillin or sulbenicillin disappeared from the serum and cefamezin from the intravesical fluid in the early period of the experiment.

In vitro stability of aminobenzyl-penicillin, cefamezin, kanamycin and oleandomycin in the intravesical fluid was examined. In aminobenzyl-penicillin and cefamezin, contaminated bacteria achieving growth during the experiment might have enhanced the inactivation.

The activity was not affected by the change of pH.

緒 言

尿路感染症の治療に使用されている抗菌剤は、一般に活性を持ったまま腎より排泄され、尿流とともに膀胱へ到達する性状を有している。下部尿路感染症の治療は、抗菌スペクトルを勘案しつつ選ばれ、こうして尿中に高濃度に排泄された抗生剤によりおこなわれる。

しかしながら、進行膀胱癌では摘除不能のため尿路変更術のみが施行されて、膀胱がそのまま遺残 (left behind) されることがある。神経因性膀胱でも同様なことがおこなわれることがある。このように尿流から隔絶された膀胱では、尿流による洗い出し効果、すなわち voiding defense mechanism が失われて、感染しやすく、一旦感染すれば難治となり、ときに pyocystis となることがある。このような defunctionalized bladder の感染に対する予防または治療に抗菌剤の全身投与が有効なのかどうか、換言すれば、全身的に投与された抗菌剤が直接、膀胱壁を通過して、膀胱腔内へ移行してくるものかどうか、もし移行してくるとすれば、どの位の量が移行してくるのか全く不明である。またこの問題は、人工透析療法を受けている無尿ないしは乏尿の状態にある腎不全患者の膀胱にあって同じである。

著者は、これらの臨床的問題の解決に手掛りを得る目的で、ラットの両腎を摘除して遺残膀胱を作成し、この内腔内に全身的に投与された抗菌剤が移行してくるか否かを検討した。その成績について報告する。

実 験 材 料

A-I. 実験動物

体重 350 g 前後の Wistar 系雄性ラットを使用した。

A-II. 使用薬剤

抗菌剤は、つぎのものを使用した。

Kanamycin sulfate (KM: 力価 700 mcg/mg, 明治製薬株式会社)

3',4'-dideoxykanamycin B sulfate (DKB: 力価 700 mcg/mg, 明治製薬株式会社)

Gentamicin sulfate (GM: 力価 616 mcg/mg, 日本シエーリング株式会社)

Aminobenzylpenicillin-Na (ABPC: 力価 915 mcg/mg, 明治製薬株式会社)

Sulfobenzylpenicillin-Na (SBPC: 力価 871 mcg/mg, 武田薬品工業株式会社)

Cefazolin-Na (CEZ: 力価 944.5 mcg/mg, 藤沢薬品工業株式会社)

Cephalothin-Na (CET: 力価 930 mcg/mg, 塩野義製薬株式会社)

Oleandomycin phosphate (OLM: 力価 830 mcg/mg, 台糖ファイザー株式会社)

Rifampicin (RFP: 力価 1,000 mcg/mg, 第一製薬株式会社)

Nalidixic acid (NA: 力価 1,000 mcg/mg, 第一製薬株式会社)

A-III. 検定菌株および培地

抗菌剤濃度測定のために使用した検定菌株および培地は、つぎのとおりである。

KM, DKB, GM, ABPC, SBPC, CET, CEZ の測定には、*Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌として用い、培地には、つぎの組成のものを使用した。

ポリペプトン 5 g, 肉エキス 3 g, クエン酸ナトリウム 10 g, 寒天 (栄研) 10 g, 蒸溜水 1,000 ml, pH 7.2

RFP の濃度測定には、*Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とし、普通寒天培地 (栄研 pH 7.0) を用いた。

NA の濃度測定には、検定菌は *E. coli* NIHJ, JC-2 を使用し、Müller-Hinton 培地 (栄研 pH 6.0) を用いた。

OLM の濃度測定には、検定菌として *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を使用し、培地はつぎの組成のものを用いた。

ペプトン 6 g, 酵母エキス 3 g, 肉エキス 1.5 g, ブドウ糖 1 g, 寒天 (栄研) 15 g, 蒸溜水 1,000 ml, pH 7.8

実 験 方 法

B-I. 両腎摘除ラットにおける抗菌剤の膀胱腔内への直達移行

本論文の冒頭で述べたごとく本研究の主旨に従って、まずつぎに記す実験をおこなった。

1. 実験モデルの作成

エーテル麻酔のもとに、A-I のラットに腹部正中切開を加え、両腎を摘出する。腎茎の切断とともに尿管の末梢側も確実に結紮しておく。つぎに陰茎をペアン鉗子で軽く挫滅せしめたのち、絹糸 #5 で結紮し、排尿不能にする。このとき膀胱内に尿が貯留していたらあらかじめ手で軽く膀胱を圧迫し、尿を排出させて膀胱内を空虚にしておく。つづいて 1/4 gauge の皮下注射針で直接膀胱を穿刺し、0.7 ml の生理的食塩水を注入する。針穴よりの注入液の漏出を防ぐ目的で刺入部を絹糸 #0-5 で結紮する。このあと創部を縫合

する。以上の操作は可能な限り無菌的におこなった。当然のことながら抗生剤の投与などはおこなわなかった。

2. 薬剤の投与

KM, DKB, GM は 0.1M リン酸緩衝液 (pH. 78) で溶解し, KM, DKB は 40 mg/kg of body weight を, GM は 10 mg/kg of body weight を大腿筋肉内に投与した。

SBPC, ABPC, CEZ, CET, OLM は 0.15 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で溶解し, 40 mg/kg of body weight を大腿筋肉内に投与した。

RFP は 0.5 % carboxymethylcellulose-Na 水溶液で懸濁し 40 mg/kg of body weight を腹腔内に投与した。

NA は生理的食塩水に 1N-NaOH を加えた溶液で溶解し, 0.1 N-HCl で pH 7.8 に調整したのち大腿筋肉内に 100mg/kg of body weight を投与した。

3. 試料の採取

抗菌剤を投与した両腎摘除のラット (実験群) のうち, KM 投与群, DKB 投与群および GM 投与群は 5 匹をもって 1 群とし, ABPC 投与群, SBPC 投与群, CEZ 投与群, CET 投与群, NA 投与群, RFP 投与群および OLM 投与群は 3 匹をもって 1 群とし, 各投与群は 3 群より成り, 薬剤投与 24, 48 および 72 時間後 (ABPC 投与群, SBPC 投与群, OLM 投与群および NA 投与群では 2 群より成り, 24 および 48 時間後) に血清および膀胱内生理的食塩水 (以下膀胱内腔液) を採取した。この間水および MF 固型飼料 (オリエンタル酵母 KK) を自由に摂取させ, 岡崎産業社製のラットゲージで飼育した。

血清はエーテル麻酔下に開腹し, 腹部大動脈に 22 gauge の注射針を刺入し採血, 分離して得た。膀胱内腔液は, 膀胱頸部を結紮, 切断して膀胱を摘出し, 生理的食塩水で洗滌した後ろ紙の上を転がして余分の水分を取り, 膀胱を切り開いて小試験管に採取した。

4. 試料の生物学的活性濃度の測定

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。Bacillus subtilis ATCC 6633 を検定菌として使用した場合には, 孢子浮遊液 1.0×10^8 spores/ml を 1.5% になるように培地に植菌し, シャーレ (テルモ社製, 90 mm $\times$ 15 mm) に 10 ml ずつ, E. coli NIJH, JC-2 を使用した場合には, 37°C で overnight culture したブイオンを 0.5% に培地に植菌し, シャーレに 6 ml ずつ分注した。

標準曲線の作成には, RFP を除いた他の抗菌剤では B-I 2 の方法で溶解し, リン酸緩衝液で倍数希釈して作成した標準希釈溶液を用いた。RFP の場合には, 少量のエタノールで溶解し, 以後 0.15 M リン酸緩衝液で調整した。

試料として採取した膀胱内腔液は, 3,000 回転, 10 分間遠心分離し, その上清を濃度測定に供したなお, 試料の採取から濃度の測定までの各操作も可能な限り無菌的におこなった。

B-II. 膀胱腔内液中における試験管内安定性

実験モデルである両腎摘除ラットの血液および膀胱内腔液中での各抗菌剤の安定性を調べるために, つぎの実験をおこなった。

1. 膀胱内腔液の作成

B-I 1 の方法により作成した実験モデルラット 5 匹をもって 1 群とし, 24 時間後にエーテル麻酔下に膀胱内腔液を B-I 3 の方法で採取し, 3,000 回転, 10 分で遠心分離し, 各膀胱内腔液の上清を等量ずつ取って 1 本の小試験管に混じた。この際併せて B-I 3 の方法で血液を採取し, 上記の膀胱内腔液の場合と同じく, 等量ずつ取って 1 本の小試験管に血清を混じた。

2. 抗生剤混合溶液の作成

試験に供した抗菌剤は, KM, DKB, GM, CEZ, CET, ABPC, SBPC, OLM である。これらの各抗生剤を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で溶解し 100 mcg/ml および 50 mcg/ml 溶液を作成した。この 50 mcg/ml の抗生剤溶液と B-II 1 の膀胱内腔液の等量を混合した。血清の場合には血清 1.5 ml と 100 mcg/ml 溶液 0.5 ml とを混和して, それぞれ 25 mcg/ml に抗生剤を含有する膀胱内腔溶液と血清を作成した。

さらに pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 および 9.0 の barbitrate buffer に ABPC, CEZ, KM および OLM を 25 mcg/ml に含有する溶液を作成した。

以上の操作は, すべて可能な限り無菌的におこなったが, さらに 50 mcg/ml 抗生剤 リン酸緩衝液溶液と膀胱内腔液との等量混合液を Milipore filter HA 045 でろ過滅菌した溶液を用意した。

3. 試験管内安定性の検討

B-II 2 に述べた抗菌剤を 25 mcg/ml に含有する各溶液を 37°C, 恒温槽で incubate し, 24, 48 および 72 時間後に濃度および pH を測定した。

4. 濃度および pH の測定

濃度の測定は B-I 4 に述べた方法でおこなった。pH の測定は pH 指示紙 (東洋ろ紙 K.K.) でおこなった。

実 験 成 績

C-I. 抗菌剤の膀胱腔内への直達的移行

Table 1 にすべての成績を一括して表示した。

i) KM

KM を投与した時の 24, 48, 72時間後の濃度で, KM は血清内に72時間を経ても存在し, その平均濃度は, 24時間で $90 \pm 13.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 48時間で $57 \pm 9.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 72時間で $28 \pm 6 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) であり, 次第に減衰している。一方膀胱内腔液内にはKMの移行がみられ, 24時間後の平均濃度は, $16 \pm 8 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$) であり, 48時間後には $42.5 \pm 20.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$) と最高値を示し, 72時間後は $20 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) となった。血清濃度と比較すると24時間値は血清のそ

れの約 1/6 であるが48時間, 72時間では, 血清のそれに近い。

ii) DKB

DKB も KM と同様に, 72時間まで血清内に滞留し, その平均濃度は24時間で $86 \pm 5.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 48時間で $56 \pm 8 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 72時間で $24.5 \pm 5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) と時間とともに減少している。膀胱内腔液内へも移行がみられ, その平均濃度は24時間で $35.5 \pm 15.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 48時間で $42.5 \pm 8 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 72時間で $37.5 \pm 6 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) で, やはり KM と同様48時間値が peak を示した。24時間値は血清のその1/3 であった。また, 投与24時間後における膀胱内腔液中の DKB 濃度は, 血清濃度に差がないにもかかわらず KM 濃度より有意に ($p < 0.01$) 高い。

Table 1. Concentrations of various antimicrobial drugs in serum and in the saline* 24, 48 and 72 hours after administration to anephric rats.

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

		24-hr.-level		48-hr.-level		72-hr.-level	
		Serum	The saline	Serum	The saline	Serum	The saline
		($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)
KM	mean $\pm$ S.E.	90 ± 13.5 ($n=5$)	16 ± 8 ($n=5$)	57 ± 9.5 ($n=5$)	42.5 ± 20.5 ($n=5$)	28 ± 6 ($n=3$)	20 ± 2.5 ($n=3$)
	40mg/kg i.m. range	74~110	9~295	47~67	17.5~62	24.5~35	18~22.5
DKB	mean $\pm$ S.E.	86 ± 5.5 ($n=5$)	35.5 ± 15.5 ($n=5$)	56 ± 8 ($n=5$)	42.5 ± 8 ($n=5$)	24.5 ± 5 ($n=3$)	37.5 ± 6 ($n=3$)
	40mg/kg i.m. range	80~92	10~48	47~67	30.5~52	20~29.5	32~44
GM	mean $\pm$ S.E.	31.5 ± 3.5 ($n=5$)	15 ± 7 ($n=5$)	19.5 ± 8.5 ($n=5$)	17.5 ± 7.5 ($n=5$)	15 ± 2.5 ($n=3$)	11.5 ± 1.5 ($n=3$)
	10mg/kg i.m. range	28.5~37	10~275	9~29.5	9.8~29	13~18	9.7~13
CEZ	mean $\pm$ S.E.	7 ± 3.5 ($n=5$)	2 ± 1.5 ($n=5$)	0	0	0	0
	40mg/kg i.m. range	4.1~10.5	0.9~4.9				
CET		trace	trace	0	0	0	0
	40mg/kg i.m.						
ABPC	mean $\pm$ S.E.	trace	1.5 ± 0.5 ($n=4$)	0	0	0	0
	40mg/kg i.m. range		0.9~2.1				
SBPC	mean $\pm$ S.E.	trace	2 ± 1 ($n=3$)	0	0	0	0
	40mg/kg i.m. range		1.4~3.3				
OLM		0	0	0	0	0	0
	40mg/kg i.m.						
RFP	mean $\pm$ S.E.	17 ± 3.5 ($n=3$)	5.5 ± 3.5	4.5 ± 4.5 ($n=3$)	4 ± 1.5 ($n=3$)	2 ± 2 ($n=2$)	0.5 ± 0.5 ($n=2$)
	40mg/kg i.p. range	13.2~20.5	2.6~9.6	1.2~9.4	2.1~5.3	0.2~3.9	0.2~1.1
NA	mean $\pm$ S.E.	26 ± 4 ($n=3$)	5 ± 3	10 ± 7 ($n=3$)	4 ± 3.5 ($n=3$)		
	100mg/kg i.m. range	22~30	2.1~7.6	4.6~18	0~6.2		

iii) GM

GM も KM, DKB と同様に 72 時間を経ても平均 $15 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$ と血清内に高濃度に滞留している。 $31.5 \pm 3.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$) (24 時間), $19.5 \pm 8.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$) (48 時間), $15 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) (72 時間) と、その濃度は時間とともに減少している。膀胱内腔液への移行は 24 時間で平均 $15 \pm 7 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 48 時間で $17.5 \pm 7.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$), 72 時間で、 $11.5 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$), で KM, DKB と同じく 48 時間に高い山型の pattern を示した。血清濃度との比較では 24 時間値は約 1/2 であるが、48, 72 時間ではほぼ血清のそれと平行してくる。これは KM, DKB の場合と同様である。

iv) ABPC および SBPC

血清中には 24, 48 時間ともに ABPC および SBPC の濃度は、いずれも $0.25 \mu\text{g/ml}$ 以下で測定不能であった。それにもかかわらず、微量ではあるが膀胱内腔液への移行が認められた。24 時間で ABPC は平均 $15 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=4$), SBPC は平均 $2 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) であった。ABPC ではさらに 48 時間でも $0.5 \mu\text{g/ml}$ の微量が存在していた。

v) CEZ および CET

CEZ の血清濃度の 24 時間値は平均 $7 \pm 3 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$) で、この時の膀胱内腔液濃度は $2 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=5$) であった。48 時間後にも平均 $1 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) の CEZ 濃度を示したが、膀胱内腔液中濃度は測定限界値以下であった。一方 CET は血清内にも膀胱内腔液中にもその存在を認めることはできなかった。

vi) RFP

RFP は血清中には 24 時間で $17 \pm 3.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$), 48 時間で $4.5 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) と滞留し、72 時間では $2 \times 2 \mu\text{g/ml}$ ($n=2$) と減少している。一方膀胱内腔液へも移行を示し、24 時間で平均 $5.5 \pm 3.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$), 48 時間で平均 $4 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$, ($n=3$), 72 時間で $0.5 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=2$) と、血清における同様に、濃度は時間とともに漸減した。血清と比較してみると 24 時間値は膀胱の約 3 倍の濃度差があるが、48, 72 時間ではその値はほぼ等しかった。

vii) NA

NA の血清内濃度は 24 時間で平均 $26 \pm 4 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) を示し、48 時間では $10 \pm 7 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) と減少した。また膀胱内腔液への移行も示したが、その濃度はかなり低く、24 時間では平均 $5 \pm 3 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$), 42 時間では $4 \pm 3.5 \mu\text{g/ml}$ ($n=3$) であった。

viii) OLM

投与後 24 および 48 時間後には、血清から OLM は検出されない。また膀胱内腔液への移行もみられなかった。

C-II. 膀胱内腔液中における試験管内安定性

1. 血清および膀胱内腔液中における各抗菌剤の活性の変動

混和した直後の抗菌剤の濃度を 100% として各時間における濃度をその百分率で示した。

i) KM, DKB および GM

KM (Fig. 1), DKB (Fig. 2) および GM (Fig. 3) は、膀胱内腔液中で、24 時間後にはそれぞれ 83.0%, 83.8%, 81.9% の、48 時間後には 98.7%, 97.5%, 100% の、72 時間後には 97.5% 101.3%, 98.7% の活性を有していた。同様に血清中においてもそれぞれ 24 時間後には 85.1%, 91.1%, 85.4% の、48 時間後には 97.5%, 108.0%, 97.5% の、72 時間後には 95.9%, 106.6%, 104.6% の活性を有していた。

ii) ABPC および SBPC

ABPC (Fig. 4) および SBPC (Fig. 5) は血清中において 24 時間後にはそれぞれ 65.8%, 74.4%, 48 時間後には 73.4%, 71.1%, 72 時間には 64.5%, 73.4% の活性を示した。一方膀胱内腔液中では 24 時間後に ABPC および SBPC がそれぞれ 42.6%, 38.3% の活性を示したのみで 48 および 72 時間後には全く活性は認められなかった。

iii) CEZ および CET

CEZ (Fig. 6) および CET (Fig. 7) は血清中にお

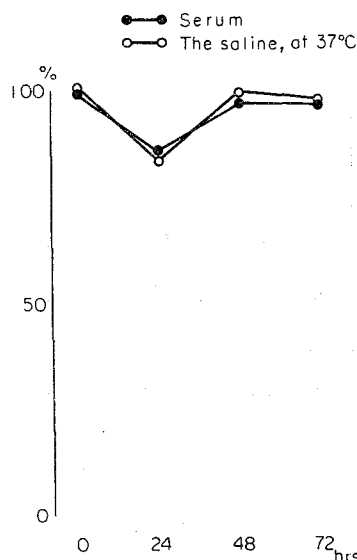
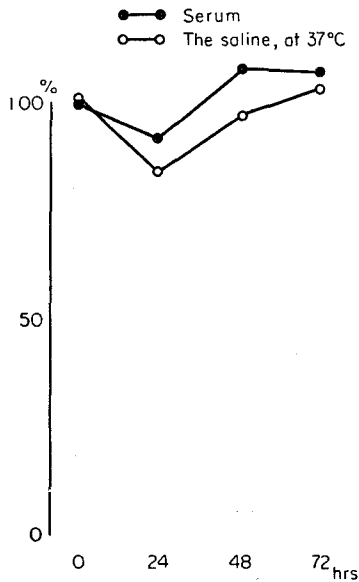
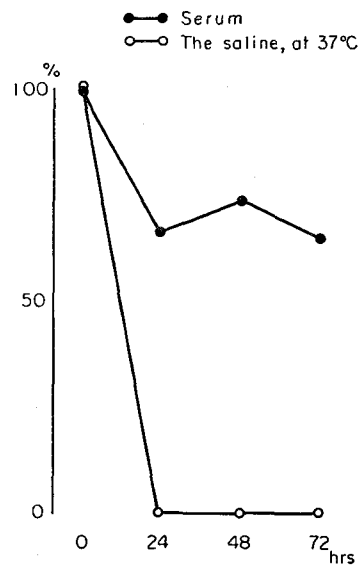
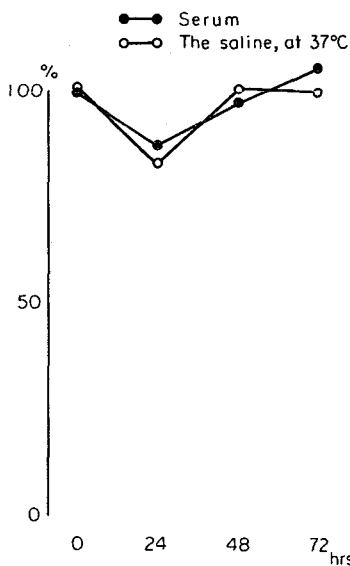
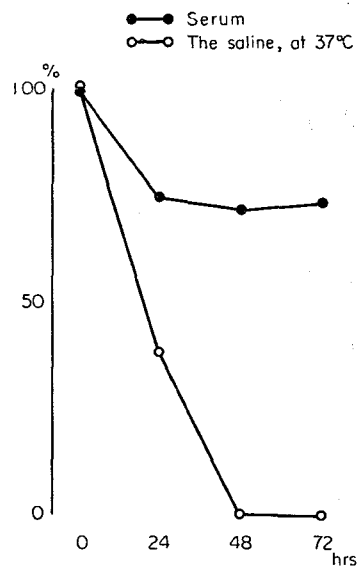


Fig. 1. *In vitro* stability of KM.

Fig. 2. *In vitro* stability of DKB.Fig. 4. *In vitro* stability of ABPC.Fig. 3. *In vitro* stability of GM.Fig. 5. *In vitro* stability of SBPC.

いて24時間後にはそれぞれ 89.3%, 94.7%, 48時間後には 69.5%, 67.3%, 72時間後には 65.2%, 46.8%と比較的ゆるやかに活性を減じた。しかし、膀胱内腔液では24時間後にはすでに活性を全く消失している。

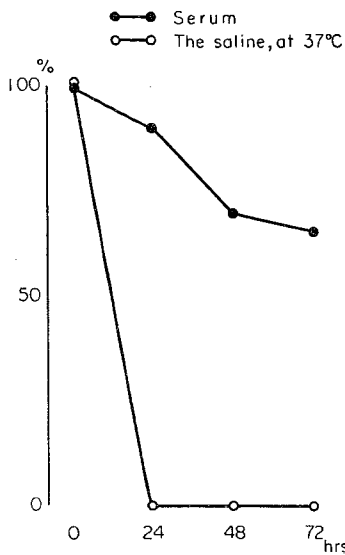
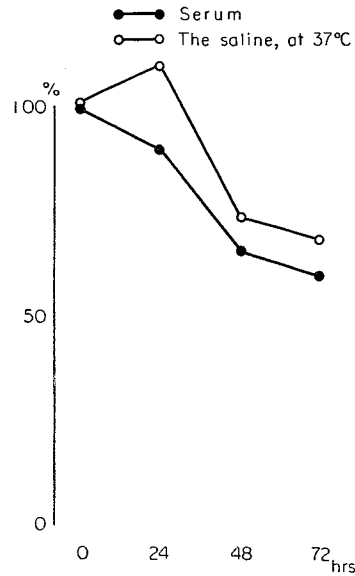
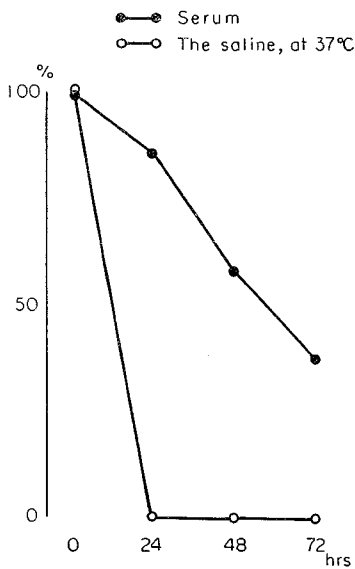
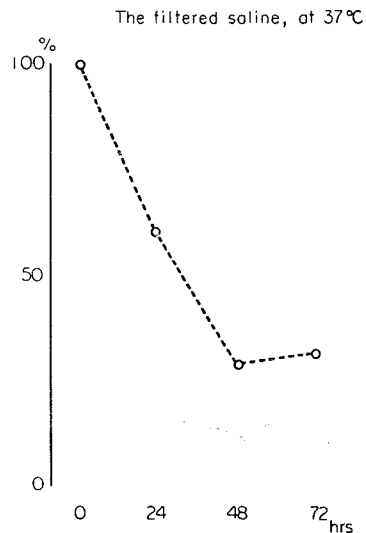
iv) OLM

OLM (Fig. 8) は、ほかの抗生剤、とくに ABPC, SBPC, CEZ および CET とは逆に血清よりも膀胱内腔液中でより安定の傾向を示した。しかし24時間後

にはそれぞれ 89.2%, 108.8%, 48時間後には 64.7%, 72.5%, 72時間後には 57.8%, 67.6% とその活性は減弱した。

以上、抗生剤の試験管内安定性を検討した結果では、 β -lactam 環を有する ABPC, SBPC, CEZ, CET の膀胱内腔液中での活性の著減が目についた。

2. ろ過滅菌後の膀胱内腔液中における KM, ABPC, CEZ および OLM の活性の変動

Fig. 6. *In vitro* stability of CEZ.Fig. 8. *In vitro* stability of OLM.Fig. 7. *In vitro* stability of CET.Fig. 9. *In vitro* stability of ABPC.

50 mcg/ml 抗菌剤リン酸緩衝液と膀胱内腔液との等量混合液を Millipore filter HA 045 でろ過滅菌した溶媒中での抗菌剤の活性の変動を調べた。

24, 48 および72時間後の ABPC の活性はそれぞれ当初の活性の 59.8%, 28.3%, 31.4% であった (Fig. 9). CEZ のそれは, それぞれ 86.3%, 77.9%, 59.3% であった (Fig. 10). KM のそれは, それぞれ 94.1%, 97.1%, 93.1% であった (Fig. 11). OLM のそれ

は, それぞれ 92.2%, 72.0%, 62.7% であった (Fig. 12).

以上, 膀胱内腔液における ABPC, CEZ の活性の減弱は, 汚染, 増殖した細菌による不活性化に起因すると推論されたが, 同時に pH の変化による不活性化の可能性も考慮して実験をおこない, 以下の成績を得た。

3. 血清および膀胱内腔液中の pH の変化

Fig. 13 のように, 当初 7.2 だった血清の pH は,

24, 48 および 72 時間後にはそれぞれ 7.8, 7.8 および 7.4 であった。当初 7.4 であった膀胱内腔液の pH は, 24, 48 および 72 時間後にはそれぞれ 7.0, 7.2 および 7.2 となった。

4. pH の KM, ABPC, CEZ および OLM の抗菌活性に及ぼす影響について

上述の膀胱内腔液中での ABPC, SBPC などの濃度の希薄化が, 膀胱内腔液の pH の変化による活性の減弱によるものでないことを, 補助的に証明するために, 各種 pH における barbitrate buffer 中での

KM, ABPC, CEZ および OLM の抗菌活性の推移を調べた。

その成績は, Fig. 14 (KM), Fig. 15 (ABPC), Fig. 16 (CEZ) および Fig. 17 (OLM) に示すごとくである。KM は pH 5.0~pH 9.0 の範囲で 72 時間後までも, その抗菌活性は一定している。OLM は, この pH の範囲内で, 抗菌活性の減弱をきたすが, この傾向は pH 6.0, pH 5.0 の酸性側で強く, pH 5.0 では 72 時間後には 37.3 % の減少をきたしている。ABPC および CEZ もこの pH の範囲内で抗菌活性の減弱をきたすが, OLM とは逆にアルカリ性側での減弱が強く,

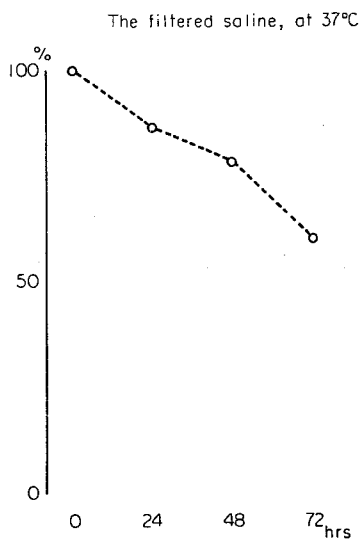


Fig. 10. *In vitro* stability of CEZ.

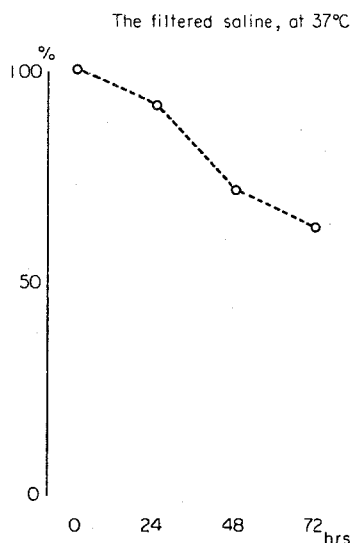


Fig. 12. *In vitro* stability of OLM.

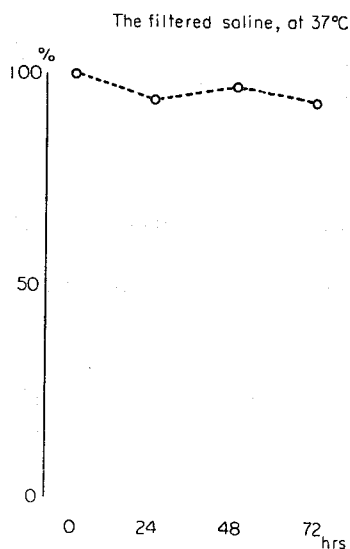


Fig. 11. *In vitro* stability of KM.

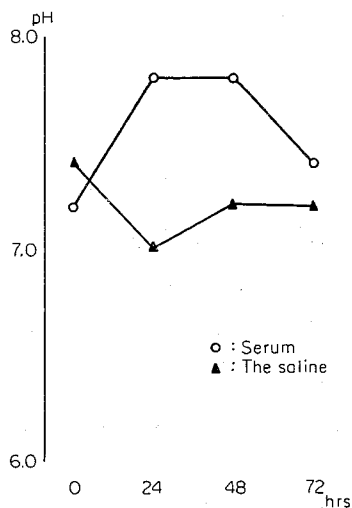


Fig. 13. Changes of pH *in vitro*.

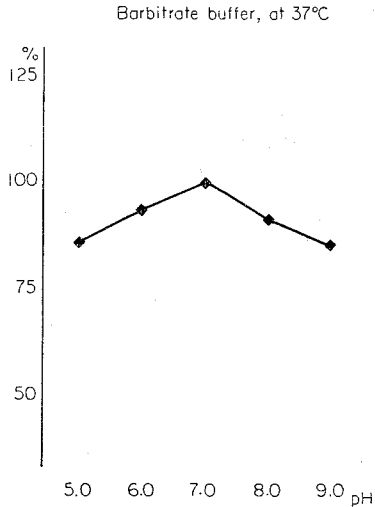


Fig. 14. Effect of pH on activity of KM.

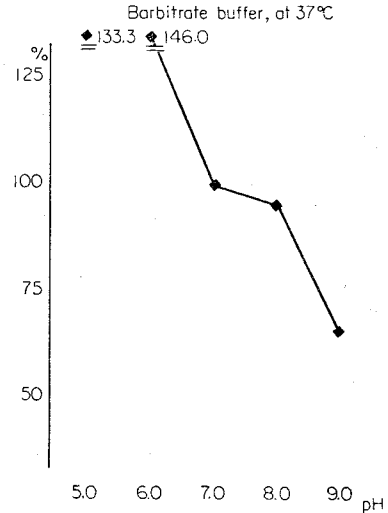


Fig. 16. Effect of pH on activity of CEZ.

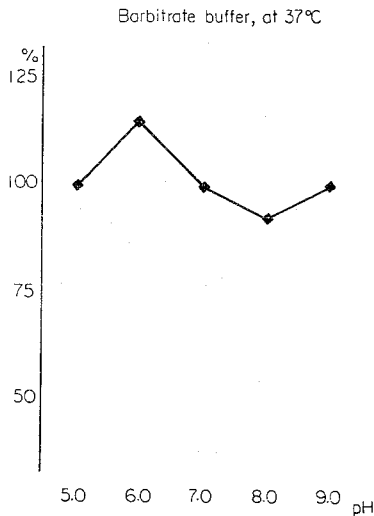


Fig. 15. Effect of pH on activity of ABPC.

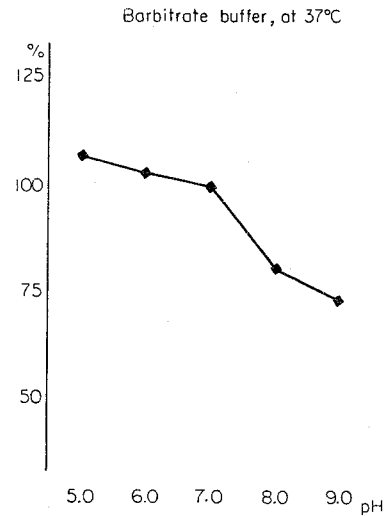


Fig. 17. Effect of pH on activity of OLM.

とくに ABPC では、pH 9.0 においての72時間後には、当初の 37.2%の活性しか残っていなかった。

考 察

膀胱からの各種物質の吸収についての報告は、数多くみられる。toad bladder の粘膜は、腎尿細管上皮と機能的に類似していることから、水、電解質の吸収、排泄の生理学的研究に利用されてきた²⁾。最近では哺乳動物においても、膀胱からの吸収について形態学的に^{3,4)}、あるいは生理学的⁵⁾に研究が進められ、それらをまとめた総括的な論文^{6,7)}も1, 2発表されている。研究の対象となった物質も、生理学的な興味から

おこなわれた水⁸⁻¹²⁾、Na^{8,11-14)}、K¹⁴⁾、Ca¹⁵⁾、P¹⁵⁾、PO₄¹⁴⁾、ブドウ糖⁶⁾、尿素¹²⁾、炭酸ガス¹⁶⁾のみならず、実際の治療面からの必要性から、nitrofurantoin¹⁷⁾、tetracycline¹⁸⁾、kanamycin¹⁹⁾などの抗菌剤や thiopental^{20,21)}、daunomycin²¹⁾、adriamycin²¹⁾などの抗癌剤も取り上げられている。その他 alcohol¹⁶⁾、acetone¹⁶⁾、formaldehyde²²⁾、para-aminohippuric acid¹⁵⁾、pentobarbital²³⁾、nicotine⁵⁾、cotinine⁵⁾、quinine⁵⁾、salicylic acid⁵⁾などの透過性についても検討されている。

これらの成績を総括してみると、膀胱の透過性は想像以上によく、水の透過性は皮膚のそれよりは大き

く、胃粘膜のそれと同程度である。Na の透過性についてみると、膀胱のそれは皮膚の透過性よりも大きく、他の上皮のそれと同じである。Na の移行は細胞間隙を通じて²⁴⁾、水の移行は細胞膜をとおこなわれている²⁵⁾らしい。したがって膀胱壁の物質の吸収を規定するものは粘膜上皮の性状である^{26~28)}。この粘膜上皮を介しての物質の移行は、一般には passive transport によるとされ⁶⁾、濃度勾配の影響が大きいが、分子量、pH、滲透圧の影響も加味され⁶⁾、かなり複雑である。さらに大きな影響をもつものは上皮の変化で、炎症・腫瘍の存在で吸収は著しく亢進し、このことは、dimethylsulfoxide^{9,24)} や cyclophosphamide²²⁾ などの投与による実験的粘膜上皮損傷時の吸収亢進によって確かめられている。膀胱粘膜を透過した tetracycline は、主としてリンパ管に、thiotepa は、主として静脈に移行して全身に吸収されると報告されている¹⁸⁾。

われわれ泌尿器科医にとって、膀胱よりの薬剤の吸収が問題となってきたのは、膀胱癌に対する抗癌剤の膀胱内注入療法が創始され、普及し、薬剤による副作用が報告される^{29,30)} ようになってきたからである。さらに膀胱出血に対するホルマリン注入療法においてもホルマリンの吸収される危険が指摘される²²⁾ ようになってきたからである。

しかしながら膀胱内からの薬物の吸収については数多くの報告があるが、全身的に投与したときの薬剤の、膀胱臓器内移行については足立の実験的観察³¹⁾があるものの、膀胱内移行についての報告は見当たらない。著者は、defunctionalized bladder の感染の予防・治療という臨床面での必要性から、ラットに両腎摘除術をおこなって尿流を膀胱から遮断した実験モデルを作り、全身的に投与された抗菌剤の膀胱内移行と血清濃度との関係について検討をおこなった。

Aminoglycoside 系抗生剤は、KM, DKB, GM とも血清および膀胱内腔液濃度について同じ動きを示した。Aminoglycoside 系抗生剤は、血清中でも安定性はよく、そのほとんど大部分が尿中に排泄され、胆汁への移行はきわめて少ない。著者の実験では、無腎にもかかわらず血清内濃度は、時間の経過とともに減少している。Kiriya and Hironaka³²⁾は、無腎状態では KM の胆汁内排泄が増加するが、これのみで血清中の KM 濃度の減少は説明されないと報告している。一方、aminoglycoside 系抗生剤が長期間体内に存在しているために起こる不活性化の可能性も少ないようである。事実、著者の *in vitro* の実験においても血清および膀胱内腔液中で安定であった。著者の成績よりみて aminoglycoside 系抗生剤の膀胱壁を介し

ての移行は濃度勾配による passive transport と考えられ、その absorption coefficient は小さいと想像される。この点の検討は今後の課題としたい。

合成ペニシリン系抗生剤および cephalosporin 系抗生剤は、ABPC, SBPC, CEZ および CET について実験をおこなった。CET が血清および膀胱内腔液の双方で、その活性が測定限界値以下であったのを除くと他の3者は似たような動向を示した。CEZ は血清中に微量ではあるが48時間後も活性が認められたが ABPC, SBPC では血清には全く活性がみられなかった。ABPC, SBPC, CEZ は、いずれも膀胱内腔液に活性が存在していたが CEZ は48時間後には、ABPC と SBPC は 72時間後には消失していた。ABPC, SBPC, CEZ および CET は、いずれも腎および肝の両者から排泄される。Kiriya and Hironaka³²⁾によれば、両腎摘除術によって、筋注された ABPC の胆汁からの回収率は約4倍に増加する。これらのことを考えると、これらの4剤では筋肉より速やかに吸収されて、早期に高い血清濃度を示し、膀胱内へも移行するものと考えられる。肝から比較的速やかに排泄され、血清濃度の減少、それにつれて膀胱内からの back diffusion が起るものと考えられ、もっと早い時間での測定が必要である。また著者の *in vitro* の実験からも示されたごとく、実験中の汚染による細菌の増殖、多分 β -lactamase による不活性化が、膀胱内腔液中濃度の減少に大きな役割を果していると考えられる。CET は酸には比較的安定であるが、アルカリにはやや弱い。血清および膀胱内腔液の pH は *in vitro* でも72時間までは 7.0~7.4 とほとんど変動を示さなかった。CET が他の3剤とは違って血清および膀胱内腔液の両者で活性を示さなかった一因は、CET が体内で代謝をうけてその 20~30% が desacetyl CET となり抗菌活性が低下する³³⁾という事実を負うと考えられる。

OLM は、比較的安定であるにもかかわらず、血清内にみられなかったのは、胆道系への移行がすぐれているので、血清より早期に消失し、膀胱への移行がみられなかったものと思われる。

RFP および NA は、似たような血清濃度のパターンと膀胱内腔液への移行のパターンを示したが、これら2剤は腎からも排泄されるが胆汁へもかなりの多くが排泄され、腸肝循環すると考えられている。Spring³⁴⁾によると正常者での RFP の半減期は 2.9 時間で、無尿症の場合でも、これは長引かず、胆汁に排泄されるだろうと報告している。著者の実験では血清中に微量ではあるが72時間も停滞した。これは投与方法と投与

量、ヒトとラットという種の違いによるかもしれない。

以上ラットを使用し両腎を摘除し、膀胱内に生理的食塩水を注入した状態で、全身的に投与された抗菌剤が移行してくることは事実のようである。しかしながら24時間よりも早期の成績が明らかにならない限り、断定できないが、defunctionalized bladderの感染の予防、少なくとも治療に役立つほど十分な抗菌剤が移行してくるようには思えない。

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くるか否かを検討した。すなわち、両腎を摘除し、膀胱腔内に生理的食塩水 0.7 cc (膀胱腔液) を注入、陰茎を結紮した 300~350 g の雄ラットを使用し、これらに各種抗菌剤を投与し、24, 48, 72時間後に屠殺して、血清および膀胱腔液中の濃度を測定した。Aminoglycoside系抗生剤 (KM, DKB, GM) では血清濃度は緩徐に減少しながら72時間後も比較的高値を保った。膀胱腔液濃度は48時間値がピークとなり、72時間値は血清濃度とほぼ同じ値をとった。RFP および NA では、血清濃度は時間とともに減少し、72時間 (RFP), 48時間 (NA) 後にも活性が認められ、同様に少量ではあるが膀胱腔液にも活性が認められた。

CET および OLM では、血清、膀胱腔液のいずれにおいても活性は全く認められなかった。

ABPC, SBPC および CEZ は、血清および膀胱腔液中に微量の活性が認められたが、ABPC および SBPC は血清から、CEZ は膀胱腔液から、より早期にその活性が消失した。

また、*in vitro* における膀胱腔液中での ABPC, CEZ, KM および OLM の安定性の検討から、*in vitro* における膀胱腔液中での ABPC および CEZ の活性の減少には、実験中に汚染・増殖した細菌による不活性化が加味されているようであった。pH の変化による活性の減少は否定された。

稿を終えるに際し、終始、御指導、御鞭撻、御校閲を賜った酒徳治三郎教授に心からの謝意を呈します。本実験の遂行に御協力を頂いた桐山富夫助教、広中弘講師、永田一夫先生に深謝します。各抗菌剤の標準品の御提供ならびに濃度測定法などについて御教示をいただいた各製薬会社感謝いたします。

文 献

1) 桐山富夫：膀胱の voiding defense mechanism

- の数量的解析 I. Mathematical model とその意義について. 日感染学誌, **50**: 362~369, 1976.
- 2) Choi, J. K.: Electron microscopy of absorption of tracer materials by toad urinary bladder epithelium. J. Cell Biol., **25**: 175~192, 1965.
 - 3) Fellows, J.: Permeability of normal and diseased human bladder epithelium. Proc. roy. Soc. Med., **65**: 299~300, 1972.
 - 4) Fulker, M. J. et al.: Proliferation and ultrastructure of papillary transitional cell carcinoma of the human bladder. Cancer, **27**: 71~82, 1971.
 - 5) Borzelleca, J. F.: Studies on the mechanisms of drug movement from the isolated urinary bladder. J. Pharmacol. exp. Ther., **148**: 111~116, 1965.
 - 6) Fellows, G. J. et al.: The permeability of mammalian urinary bladder epithelium. Rev. europ. Études clin. et biol., **16**: 303~310, 1971.
 - 7) Pavone-Macaluso, M. et al.: Absorption of drugs from the bladder and intravesical chemotherapy. Urol. Res., **4**: 1~3, 1976.
 - 8) Rapoport, A. et al.: Movement of electrolytes across the wall of the urinary bladder in dogs. Amer. J. Physiol., **198**: 191~194, 1960.
 - 9) Turnbull, G. J. et al.: Permeability of the urinary bladder of the rabbit. Rev. europ. Etudes clin. et biol., **17**: 745~749, 1972.
 - 10) Fellows, G. J. et al.: The permeability of human bladder epithelium to water and sodium. Invest. Urol., **9**: 339~344, 1972.
 - 11) Maluf, N. S. R.: Absorption of water, urea and electrolytes through the human bladder. J. Urol., **69**: 396~404, 1953.
 - 12) Maluf, N. S. R.: Further studies on absorption through the human bladder. J. Urol., **73**: 830~835, 1955.
 - 13) Hatrim, A. A. et al.: Fluxes of Na⁺ and Cl⁻ in the dog urinary bladder. Invest. Urol., **2**: 348~354, 1965.
 - 14) Hlad, C. J. et al.: Transfer of electrolytes across the urinary bladder in the dog. Amer. J. Physiol., **184**: 406~411, 1956.
 - 15) Strohmenger, P. et al.: Resorption radioaktiv markierter Substanzen aus Harnblase und isolierter Dünndarmschlinge. Urol. int., **21**:

- 538~548, 1966.
- 16) Wesson, L. G.: Permeability to carbon dioxide of the urinary bladder of the dog. *Amer. J. Physiol.*, **183**: 391~394, 1955.
 - 17) Conklin, J. D. et al.: Studies on the movement of nitrofurantoin across the dog urinary bladder. *Invest. Urol.*, **5**: 244~248, 1967.
 - 18) Milroy, E. J. G. et al.: The bladder lymphatics: A study of drug transport. Scientific exhibit at the 68th annual meeting of AUA, 1973.
 - 19) Schoenrock, G. et al.: Absorption of kanamycin from urinary bladder of the dog: A kinetic study. *Surg. Forum.*: 556~558, 1973.
 - 20) Cole, D. R. et al.: Absorption and activity studies on intraluminal thio-tepa in the dog's bladder. *J. Urol.*, **94**: 556~558, 1965.
 - 21) Pavone-Macaluso, N. et al.: Permeability of the bladder mucosa to thio-tepa, adriamycin, and daunomycin in men and rabbits. *Urol. Res.*, **4**: 9~13, 1976.
 - 22) Eickenberg, H. et al.: Vascular absorption of intravesical formalin in cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis. *Urol. Res.*, **4**: 5~8, 1976.
 - 23) Borzelleca, J. F.: Drug absorption from the urinary bladder. *Fed. Proc.*, **18**: 370, 1959.
 - 24) Cereijido, M. et al.: Fluxes and distribution of sodium in frog skin: a new model. *J. gen. Physiol.*, **51**: 280s~289s, 1968.
 - 25) Ling, G. N. et al.: Is the cell membrane a universal rate-limiting barrier to the movement of water between the living cell and its surrounding medium? *J. gen. Physiol.*, **50**: 1,807~1,819, 1967.
 - 26) Borzelleca, J. F. et al.: The effect of DMSO on the permeability of the urinary bladder. *Invest. Urol.*, **6**: 43~52, 1968.
 - 27) Englund, S. E.: Observations on the migration of some labelled substances between the urinary and blood in rabbit. Review of the literature. *Acta radiol. Suppl.*, **135**: 11~17, 1956.
 - 28) Hicks, R. M.: The permeability of rat transitional epithelium: the relationship between structure and function. *Brit. J. Derm.*, **81**, Suppl. 4: 23~30, 1969.
 - 29) Bruce, D. W. et al.: Pancytopenia and generalized sepsis following treatment of cancer of the bladder with instillations of triethylene thiophosphoramidate. *J. Urol.*, **97**: 482~485, 1967.
 - 30) Watkins, W. E. et al.: Severe pancytopenia associated with the use of intravesical thio-TEPA. *J. Urol.*, **98**: 470~471, 1967.
 - 31) 足立卓三：膀胱内注入抗菌性物質の膀胱壁内移行：尿路感染症に対する尿中抗菌性物質の意義について。日泌尿会誌, **62**: 220~240, 1971.
 - 32) Kiriya, T. et al.: Excretion of kanamycin into the bile and detection of its hepatotoxicity in anephric rats. *Cur. Chemoth.*, 397~398, 1978.
 - 33) 松下光延・ほか：合成 Cephalosporin C に関する研究 第1報。Jap. J. Antibiotics, **18**: 286~291, 1965.
 - 34) Spring, P.: The pharmacokinetics of Rimactane in patients with impaired liver and kidney function. A Symposium on Rimactane, p. 32~34, Basle, 1968.

(1978年7月1日受付)