

多核白血球遊走能にかんする研究

—第1報— 各種抗生剤のヒト多核白血球遊走能におよぼす影響

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神襄次教授）

黒 田 泰 二
守 殿 貞 夫
石 神 襄 次

神戸大学医学部第3内科

中 尾 実 信

A STUDY POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE
CHEMOTAXISREPORT I: EFFECT OF ANTIBIOTICS ON CHEMOTAXIS
OF HUMAN POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES

Yasuji KURODA, Sadao KAMIDONO and Joji ISIGAMI

Yoshinobu NAKAO

*From the Department of Urology, The Kobe University School of Medicine**(Director: Prof. Joji Ishigami, M. D.)**From the Third Division Department of Medicine, The Kobe University School of Medicine*

The effect of five different antibiotics on chemotaxis of human polymorphonuclear (PMN) leukocytes was studied in an *in vitro* system using an agarose plate method. PMN leukocytes were collected from 30 healthy human volunteers (between 20 to 79 years of age), and they were incubated with carbenicillin, cephaloridine, gentamicin, tetracycline and chloramphenicol. Quantitation of chemotaxis is done by measuring in centimeters the linear distance the cells have migrated from the margin of the well toward the chemotactic factor. Random mobility is represented by the distance the cells have migrated from the well margin toward the control medium.

The results were summarized in the followings: (1) In higher age more than 50 years old, the values of chemotaxis were 70 to 80% compared with those in the age group under 49 years old, though there was no significant influence of age on drug-induced suppression of chemotaxis by statistical analysis. (2) There was almost no effect of the betalactam antibiotics (CBPC, CER) on the chemotaxis. (3) Tetracycline of the therapeutic blood level (3.12 $\mu\text{g/ml}$) appeared to inhibit PMN leukocyte chemotaxis, whereas there was a tendency to fail to suppress leukocyte chemotaxis in very high concentration (500 $\mu\text{g/ml}$) of tetracycline. (4) Chloramphenicol in concentrations of 3.12 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ and 500 $\mu\text{g/ml}$ inhibited the PMN leukocyte chemotaxis. (5) Gentamicin seemingly suppressed PMN leukocyte chemotaxis at the high concentrations. An increasing inhibition was seen with the higher concentrations. The followings were postulated: (1) The increased production of lactic acid by leukocytes in the presence of 500 $\mu\text{g/ml}$ of tetracycline may be a manifestation of a metabolic effect of the drug, and the low levels of tetracycline may effect to microfilaments of leukocyte. (2) In the presence of chloramphenicol, the increased production of intracellular cyclic AMP in leukocytes

restrict an intact system of cytoplasmic microtubules. (3) Gentamicin has a character such as chemoattractant substance.

はじめに

細菌感染症の治療において近年著しく発展した抗生剤のはたす役割は大きく、その評価は高いものである。しかし細菌感染症に対して抗生剤が万能とは言えない諸種の事情が存在することも事実としてある。たとえば耐性菌の出現や、手術手技、麻酔、放射線治療などの医療技術の進歩などにより従来では認められなかった新しい病態の出現、そして制癌剤や免疫抑制剤などの使用による生体の感染防御能の変化などである。臨床的にこれらの病態を基盤として発症する諸種の感染症に対し抗生剤使用の工夫がなされ大量投与、長期投与などが試みられている^{1,13)}。一方、抗生剤のなかに宿主の感染防御能を障害するものがあるとの報告をみる。そこで投与された抗生剤の抗菌力のみを重視するのではなく抗生剤が宿主の感染防御機構にいかなる影響を及ぼすかを検討することも重要と思われる。今回著者は宿主の感染防御機構のなかでもとりわけ多核白血球（以下 PMN と略す）による非特異的炎症反応を重視し、白血球機能の first step として重要な多核白血球遊走能（以下 PMN chemotaxis と略す）をとりあげた。PMN chemotaxis の in vitro における研究は1962年 Boyden²⁾ による画期的な millipore filter 法の考案を端緒とし、それ以後 PMN chemotaxis についての報告が散見される。しかし Boyden の millipore filter 法は高度の技術を要するうえに、一部操作の改良がなされたものの chemotaxis の定量化および再現性に問題を残しており、諸家^{3,4)} の成績は必ずしも一定していないのが現状である。そこで著者は再現

性のある簡便な agarose plate 法⁵⁻⁷⁾を用いて各種抗生剤の健康成人ヒト白血球遊走能に及ぼす影響を検討したので報告する。

実験材料および方法

20歳代から70歳代まで各年代5人ずつの健康成人計30人を対象とし、それらの末梢血中 PMN を実験に供した。

1) 材料

① 使用した抗生剤

- (a) 細菌の細胞壁 peptidoglycan 生合成障害剤
 - carbenicillin (CBPC)
 - cephaloridin (CER) } β -lactam 群
- (b) 蛋白合成阻害剤
 - gentamicin (GM)
 - tetracycline (TC)
 - chloramphenicol (CP)

上記5薬剤を0.39 μ g/ml, 3.12 μ g/ml, 25 μ g/ml, 100 μ g/ml, および 500 μ g/ml の濃度に調製し使用した。

② 多核白血球浮遊液 (PMN suspension) の作製 (Fig. 1)

10~15ml のヘパリン加静脈血を採取し37°C ふらん器に約1時間放置後、分離した血漿層を ficoll-sodium metrizoate (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden) 4 ml の上に静かに重層し 1500 rpm (500 $\times$ G), 30 分間遠沈し底に沈んだ PMN と赤血球の残りを取り出し、0.87% NH_4Cl で溶血させ Hanks 液 (Grand Island Biological Company, Grand Island, New York) で2回洗浄した後 Hanks 液で 5×10^5

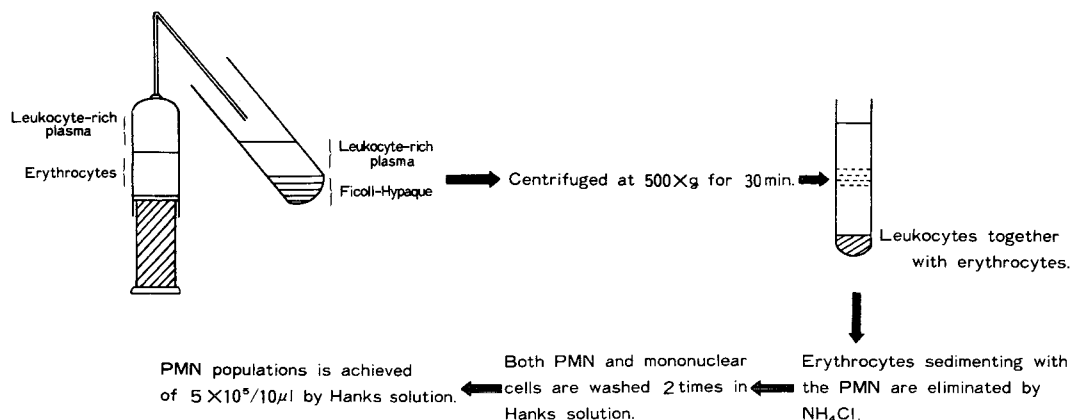


Fig. 1. Isolation of polymorphonuclear leukocytes (PMN).

cells 10 μ l の PMN suspension に調製した。

③ agarose plate 作製 (Fig. 2)

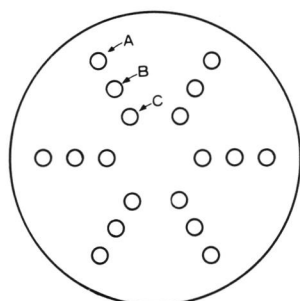
0.24 g agarose (Sigma Chemical Co., St Louis,

Missouri) に滅菌蒸留水 10 ml を加え約15分間煮沸浴

槽につけた後47°C 浴槽内で冷やした。2.0 ml の $\times 10$

Hanks 液に 2.0 ml のヒト不活化血清, 0.6 ml (1 mol)

Agarose	0.24g	Cooling in a 47°C water bath after boiling water bath for 15 min.	Mixed with an equal volume in a 47°C water bath, and 5 -ml volumes of the agarose medium are delivered to each 60 $\times$ 15mm tissue culture plate.
Sterile, distilled water	10ml		
10 $\times$ Hanks solution	2.0 ml	Warmed in a 47°C water bath.	
Heat-inactivated, pooled human serum	2.0 ml		
Hepes buffer	0.6 ml		
Sterile, distilled water	5.4 ml		



Six series of three wells, 3 mm in diameter and spaced 3 mm apart are cut in each plate using the punch.

Alternative patterns for arrangement of triplicate well series.

- A. bacterial chemotactic factor
- B. PMN suspension
- C. control medium (Hanks)

Fig. 2. Preparation of agarose plate.

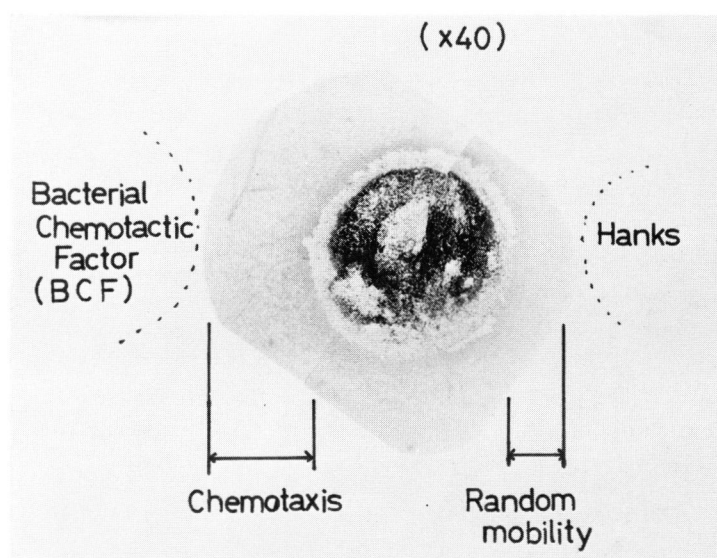


Fig. 3. Pattern of differential migration of leukocytes under agarose in response to chemotactic factor. Quantitation is accomplished by light microscopy of the migration pattern and measurement of the linear distances chemotaxis and random mobility.

Table 1. Chemotactic activity of human polymorphonuclear leukocytes with different concentrations of antimicrobial agents and without antimicrobial agent.

(mean values : n=30)

	CB-PC	CER	GM	TC	CP	Control
0.39 $\mu\text{g/ml}$	3.4	3.3	3.3	3.0	3.2	
3.12 $\mu\text{g/ml}$	3.4	3.3	3.2	2.1	3.1	
25.0 $\mu\text{g/ml}$	3.2	3.2	3.0	1.8	3.0	3.3
100 $\mu\text{g/ml}$	3.1	3.1	2.8	1.9	2.8	
500 $\mu\text{g/ml}$	2.9	3.0	2.5	2.4	2.6	

(cm)

の Hepes buffer (Sigma, Chemical Co., St. Louis, Missouri) と 5.4 ml 滅菌蒸留水を 47°C 浴槽内でよく混和した後 petri dish ($\phi 60 \times 15 \text{ mm}$, Falcon, Oxnard, California) に 5 ml ずつ分注し冷蔵庫に保存した。冷やして硬くした agarose plate に直径 3 mm のステンレスパンチで 3 mm 間隔、直線上に 3 つの well を放射状に 6 箇所作り注射針にて注意深く plug を除去したものを実験に供した。

④ 細菌性遊走因子 (bacterial chemotactic factor: BCF) の作製⁴⁾

E. coli NIHJ-JC 1 strain の 1 白金耳を TCM-199 (Flow Laboratories, Walkersville, Maryland) 100 ml に混じり 24 時間 37°C ふらん器にて培養、その後 10,000 rpm 30 分間遠沈し supernatant を micropore filter でろ過し、凍結保存した。

2) 実験方法

直線上に 3 つの well を放射状に 6 箇所作った agarose plate のそれぞれ中央の well に対象から採取調製した PMN suspension 9 μl と各濃度に調製した CBPC, CER, GM, TC および CP の各薬剤を 1 μl ずつ注入混合した。外側 well には BCF, 内側 well には Hanks 液を注入した。37°C ふらん器内に 2 時間放置後メタノール洗浄、ホルマリン固定、ライト染色した。細胞の遊走距離は $\times 40$ 顕微鏡下にて測定しその単位を cm で表示した。Fig. 3 に示すごとく PMN が BCF に向け遊走する場合を chemotaxis, Hanks 液へのそれを random mobility とした。なお control として中央の well に抗生剤無注入時の chemotaxis を測定した。

実験成績

抗生剤無注入時 (control) での chemotaxis および random mobility の平均値は Table 1~2 に示すごとくそれぞれ 3.3 cm, 1.6 cm であり、さらに各年代別の成績をその平均値で示したのが Fig. 4 である。50 歳代以上の高齢者に chemotaxis および random mobility の抑制傾向がみられた。70 歳代では 40 歳代までの成績に比し 70~80% 程度に低下していた。Fig. 5 は抗生剤無注入時の抗生剤と年代間における interaction effect を Scheffe Method を用いて推計学的に検討した成績であるが有意差を認めなかった。このことから年代別因子は chemotaxis に対する薬剤の影響に関連しないことが考えられた。つぎに各濃度に調製した抗生剤注入時における PMN migration の成績を Fig. 6~10, および Table 1~2 に示す。CBPC は Fig. 6, Table 1 に示すごとく 100 $\mu\text{g/ml}$ および 500 $\mu\text{g/ml}$ の濃度にて chemotaxis の成績がそれぞれ

Table 2. Random mobility of human polymorphonuclear leukocytes with different concentrations of antimicrobial agents and without antimicrobial agent.

(mean values : n=30)

	CB-PC	CER	GM	TC	CP	Control
0.39 $\mu\text{g/ml}$	1.7	1.6	1.5	1.6	1.4	
3.12 $\mu\text{g/ml}$	1.7	1.5	1.5	1.4	1.5	
25.0 $\mu\text{g/ml}$	1.5	1.5	1.5	1.2	1.4	1.6
100 $\mu\text{g/ml}$	1.4	1.7	1.4	1.3	1.4	
500 $\mu\text{g/ml}$	1.4	1.5	1.3	1.6	1.4	

(cm)

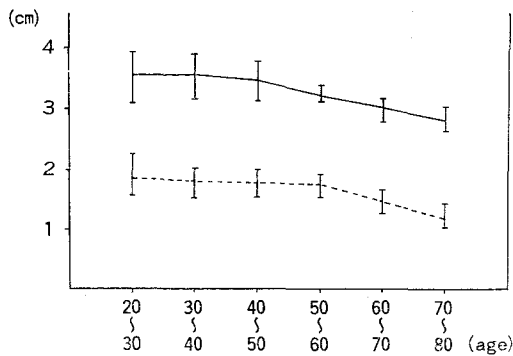


Fig. 4. Chemotactic activity and random mobility of human leukocytes with different ages. (—chemotaxis,random mobility)

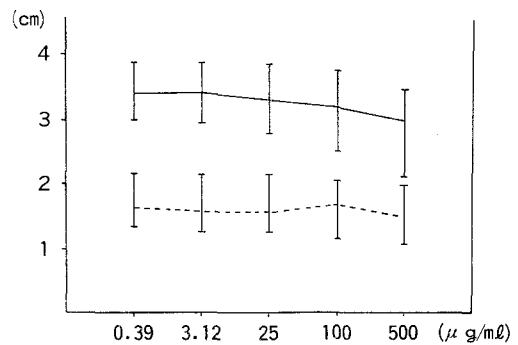


Fig. 7. Chemotactic activity and random mobility of human leukocytes with different concentrations of cephaloridine. (—chemotaxis,random mobility)

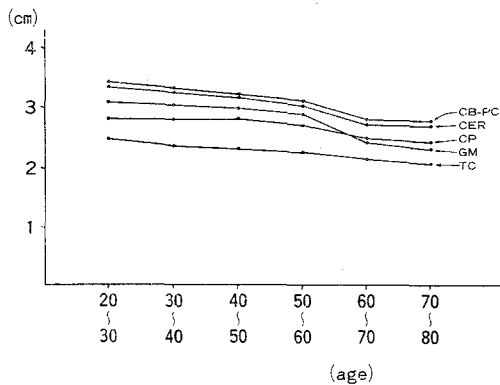


Fig. 5. Interaction effect of chemotaxis between antimicrobial agents and ages.

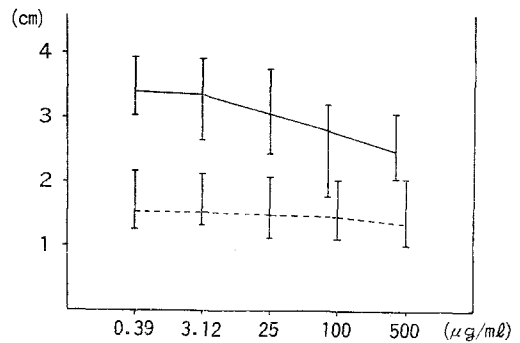


Fig. 8. Chemotactic activity and random mobility of human leukocytes with different concentrations of gentamicin. (—chemotaxis,random mobility)

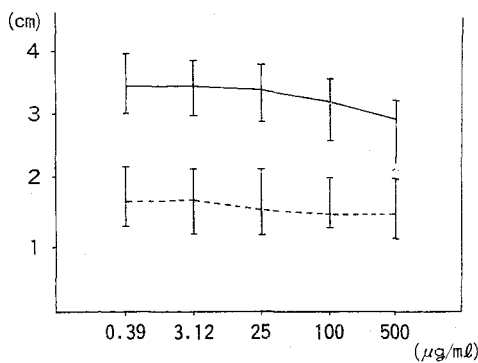


Fig. 6. Chemotactic activity and random mobility of human leukocytes with different concentrations of carbenicillin. (—chemotaxis,random mobility)

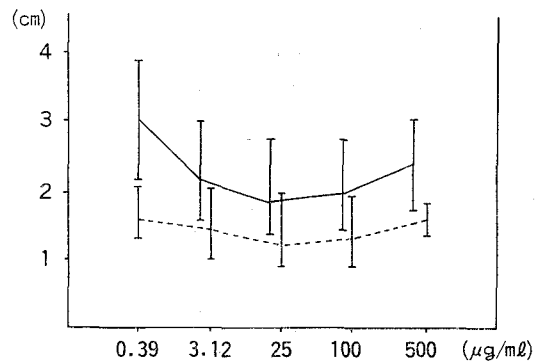


Fig. 9. Chemotactic activity and random mobility of human leukocytes with different concentrations of tetracycline. (—chemotaxis,random mobility)

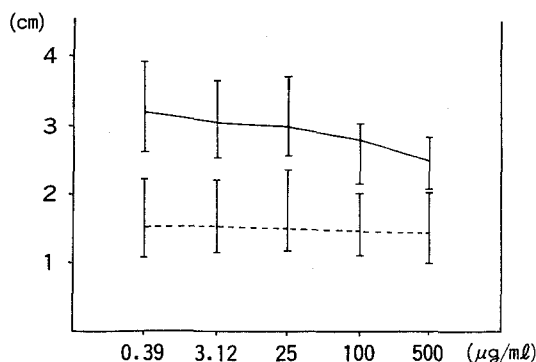


Fig. 10. Chemotactic activity and random mobility of human leukocytes with different concentrations of chloramphenicol. (—chemotaxis,random mobility)

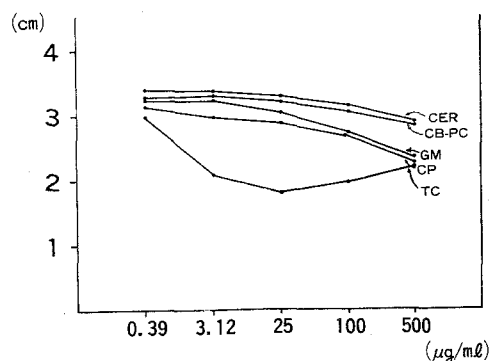


Fig. 11. Interaction effect of chemotaxis between antimicrobial agents and concentrations.

3.1 cm, 2.9 cm と control に比し軽度抑制され、また random mobility でも Table 2 に示すごとく 1.4 cm で control に比しわずかに抑制が認められた。CER の成績も Fig. 7 および Table 1~2 に示すごとく CBPC とほぼ同様のパターンを示した。GM 注入時の成績を Fig. 8 および Table 1~2 に示す。25 µg/ml 以上の高濃度にて chemotaxis が CBPC, CER の 2 薬剤に比しより抑制され 500 µg/ml での成績は 2.5 cm であった。random mobility は 500 µg/ml の濃度で 1.3 cm とわずかに抑制された。Fig. 9 は TC の成績であるが chemotaxis は 0.39 µg/ml の濃度で 3.0 cm, 3.12 µg/ml で 2.1 cm と control に比し抑制が著明に認められ、25.0 µg/ml で peak を示しその成績は Table 1 に示すごとく 1.8 cm であった。この値は control の成績である 3.3 cm に比し約 55% であった。しかし 500 µg/ml の高濃度での成績は 2.4 cm を示し、3.12 µg/ml の濃度での成績より高値を示した。一方 random mobility は chemotaxis とほぼ同様の傾向を

Table 3. Multiple comparison with chemotactic activity of human leukocytes between 5 antimicrobial agents.

	CER	CP	TC	GM
CB-PC	0.00	2.55*	4.55*	1.32
CER		2.55*	4.55*	1.32
CP			2.00*	1.22
TC				3.23*

(*..... $P < 0.05$)

示したがその抑制の範囲は 0.4 cm と軽度であった。CP は Fig. 10 に示すごとく TC ほど顕著ではないが 3.12 µg/ml より chemotaxis が漸次抑制され、500 µg/ml での成績は Table 1 に示すごとく 2.6 cm であったものの、random mobility は Table 2 に示すごとく不変であった。Fig. 11 および Table 3 は各種抗生剤別における chemotaxis を推計学的に比較検討したものである。この結果 TC は CBPC, CER, GM および CP に比し、また CP は CBPC および CER に比べ明らかに chemotaxis を強く抑制することが分かった。しかし CBPC, CER および GM 間には有意差を認めなかった。

考 察

細菌感染の成立する第 1 歩は宿主内部に細菌が侵入し分裂増殖することである。これに対する宿主側の最初の防御反応は PMN migration であり、これは感染による局所循環障害の結果、血管透過性亢進状態になり血管外に遊走した PMN が炎症局所の刺激性物質に向ってすすむ一般に言うところの走化性 (chemotaxis) である。著者の chemotaxis は細菌など異物の存在する局所で産生される oligopeptide あるいは細菌由来の protease により補体および免疫グロブリンが分解されてつくられる chemotactic factor (C3a, C5a, IgG-IgM fragment) に向う一定の方向性を有する運動で炎症反応の first step として重要な反応であり、random mobility は目的のない緩慢な運動でその詳細な意義は明らかでない。

各種抗生剤は起炎菌のある種の酵素に特異的に働くため細胞壁 peptidoglycan 合成障害、細胞膜への障害、核酸蛋白合成障害などの作用により低濃度でも bacteriocidal or bacteriostatic effect を示す。このことは同時に起炎菌ばかりでなく他の細胞、特に PMN の機能には何らかの影響を及ぼすと考えられる。最近抗生剤の PMN chemotaxis への影響についての報告

が散見されるが、測定法が高度の技術を要すると言われている Boyden 法によるもので相互の成績は必ずしも一致していない⁹⁻¹²⁾。このことより著者は簡便で再現性のある方法とされている agarose plate 法を用いた。なお抗生剤の chemotaxis に及ぼす影響について、理論的にはたとえ微量でも抗生剤そのものが chemoattractant を inactivate する場合、さらに chemotactic factor を阻害する場合が考えられるが本実験に使用した抗生剤でそのような作用を示すものはなかった。

つぎに実験成績および感染症に対し臨床的に使用されるこれら 5 薬剤の血中濃度の peak 値とを併せてまとめる。CBPC、CER は感染症に対し日常頻回に用いられる薬剤で、なかでも CBPC は難治性感染症に対し、しばしば大量投与される薬剤である¹³⁾。CBPC 10 g 点滴静注時の血中濃度の peak 値は 400~500 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁴⁾、CER 8 g 点滴静注時のそれは 250~350 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁵⁾ と報告されている。実験成績よりこれら 2 薬剤は 500 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で軽度 PMN chemotaxis を抑制するものの 100 g/ml 以下の濃度では chemotaxis に対しほとんど影響を及ぼさなかったことより臨床的に用いられている投与量範囲内では PMN chemotaxis への抑制は軽微なものと思われる。GM の 80 mg 筋注時における血中濃度の peak 値は 10 $\mu\text{g/ml}$ 前後値であるが、腎毒性の面から大量もしくは長期投与されるような性格の薬剤ではないと言われている^{16,17)}。実験成績では 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で chemotaxis および random mobility の抑制がみられたが、この濃度は臨床的に使用される投与量範囲内での血中濃度の peak 値に対し約 2 倍強である。これらのことより臨床的に GM が PMN chemotaxis に及ぼす影響は血中濃度の点から言えばごくわずかなものと考えられる。しかし GM それ自体に chemoattractant としての作用があることからこの competition による chemotaxis の障害も考慮すべきと考えている。Martin¹⁸⁾、Forsgren¹⁰⁾、Esterly¹¹⁾らは TC は低濃度にて PMN chemotaxis を著明に抑制するが、300 $\mu\text{g/ml}$ の高濃度では抑制しないと報告している。著者の実験にて 3.12 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度で chemotaxis を顕著に抑制したが、500 $\mu\text{g/ml}$ の高濃度では軽度の抑制であったことより諸家らの成績と一致している。TC の PMN chemotaxis におよぼす影響についての機構は未だ不明であるが、Martin によれば低濃度での chemotaxis 抑制の原因について TC が PMN 細胞内への glucose uptake を抑制するための hypoglycolysis による microfilament への障害が考えられると報告している。

さらに 500 $\mu\text{g/ml}$ の高濃度で PMN chemotaxis が上昇したのは PMN 細胞内での lactate 産生能が亢進した結果と説明している。臨床にて TC 500 mg を経口投与した際の血中濃度の peak 値は 4~5 $\mu\text{g/ml}$ と言われている¹⁹⁾。さらに著者の実験にて TC は 3.12 $\mu\text{g/ml}$ の濃度にて PMN chemotaxis を著しく抑制する成績が得られたことより、本剤は臨床投与量にて PMN chemotaxis を障害することが推測される。CP について Majeski⁹⁾ は chemotaxis への影響はないと報告しているが、われわれの成績では Forsgren および倉辻¹²⁾らの報告と同様に 3.12 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で chemotaxis を抑制する成績であった。この抑制の原因については PMN 細胞内 cyclic AMP を増量させるためによる microtubules への障害と言われている^{20,21)}。CP 1 g 静注時の血中濃度の peak 値が 10~13 $\mu\text{g/ml}$ であることより著者の成績から判断して CP も臨床使用にあたっては PMN chemotaxis への抑制を考慮する必要があると考える。

以上、*in vitro* における抗生剤のヒト健康成人 PMN chemotaxis への影響を述べた。この事実から殺菌もしくは静菌効果を期待して感染症例に対し大量あるいは長期の抗生剤投与を行なうことはときとして宿主の PMN 機能を抑制する場合があることを示唆するもので、今後感染症治療においてこれらのことを留意しなければならぬと考えられた。

結 語

5 種類の抗生剤 (CBPC、CER、GM、TC および CP) のヒト健康成人白血球遊走能におよぼす影響について agarose plate 法を用いて調べた。

(1) 5 薬剤ともに PMN chemotaxis を多かれ少なかれ抑制した。その程度は TC が最も強く、ついで CP、GM、CBPC、および CER の順であった。

(2) 最も強く PMN chemotaxis を抑制した TC は他の 4 薬剤とは異なり 25 $\mu\text{g/ml}$ の濃度でその抑制の peak を示し、100 $\mu\text{g/ml}$ および 500 $\mu\text{g/ml}$ と高濃度になるにつれ抑制が軽度になった。一方他の 4 薬剤は高濃度になるにつれ抑制が強くなる傾向を示した。

(3) TC は 3.12 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度で PMN chemotaxis を抑制した。この濃度は日常臨床に用いられる本剤の血中濃度の peak 値 (4~5 $\mu\text{g/ml}$) に近い値であるので本剤使用時には PMN chemotaxis 抑制を考慮すべきであると言える。CP も TC ほど著明ではないが日常における臨床投与量範囲内で PMN chemotaxis を抑制する成績であった。

(4) GM は 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で PMN chemo-

taxis を軽度抑制するものの、臨床に用いられる投与量範囲内では chemotaxis への影響は軽微であると言える。

(5) CBPC, CER (β -lactam 群抗生剤) は100 μ g/ml 以下の濃度で chemotaxis はに影響をおよぼさなかったことより臨床的に用いられる投与量範囲内では PMN chemotaxis への影響はないものと考えられた。

なお本論文の要旨は第26回日本化学療法学会西日本支部総会にて発表した。

文 献

- 1) 石神襄次：尿路感染症。臨床と研究, **54**: 43~47, 1975.
- 2) Boyden, S. V.: The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.*, **115**: 453, 1962.
- 3) Zigmond, S. D. & Hirsch, J. G.: Leukocyte locomotion and chemotaxis: New method for evaluation and demonstration of cell-derived chemotactic factor. *Exp. Cell. Res.*, **93**: 420~426, 1975.
- 4) Willkinson, P. C. & Robert B. A.: Assay system for measuring leukocyte locomotion: Over view. Raven Press, New York, 1978.
- 5) Robert, D. N.: Chemotaxis of human leukocytes under agarose. Raven Press, New York, 1978.
- 6) Anja, H. R., Kostiala, I. & Kosunen, T. U.: Use of leukocyte migration under agarose to study spontaneous and directed locomotion of leukocytes. *Immunol.*, **35**: 539, 1978.
- 7) 辻 芳郎：白血球遊走能検査法に関する研究—Boyden 法と agarose plate 法の比較検討—。臨床免疫, **8**: 895~899, 1976.
- 8) Schiffmann, E.: The isolation and partial characterization of neutrophil chemotactic factors from *Escherichia Coli*. *J. Immunol.*, **114**: 1831, 1975.
- 9) Majeski, J. A.: Effect of antibiotics on the in vitro neutrophil chemotactic response. *Am. Surg.*, **42**: 785, 1976.
- 10) Forsgren, A.: Effects of antibiotics on chemotaxis of human leukocytes. *Antimicrob. agents and chemoth.* **2**: 580, 1977.
- 11) Esterly, N. B., Furey, N. L. & Flanagan, L. E.: The effect on antimicrobial agents on leukocyte chemotaxis. *J. Invest. Dermatol.*, **70**: 51, 1978.
- 12) 倉辻忠俊・賀川治美：化学療法剤の多核白血球運動機能に及ぼす影響。感染学雑誌, **52**: 358~363, 1978.
- 13) 石神襄次：抗生剤大量療法の適応と限界。最新医学, **29**: 850~858, 1974.
- 14) 渡辺健太郎・中川圭一・横沢光博：CB-PC, SB-PC の吸収排泄臓器内濃度について。最新医学, **29**: 830~837, 1974.
- 15) 松本慶蔵・横山紘一・荒井澄夫・西岡きよ・中村隆：難治性呼吸器感染症と重症細菌感染症の仕在療法 (PC 系抗生物質と Cephalosporin 系抗生物質の大量点滴療法)。最新医学, **25**: 1915~1921, 1970.
- 16) 石神襄次・福田泰久・正司武夫・斎藤 博・速見晴朗・福原 公：泌尿器科領域における Gentamicin の応用。Chemotherapy, **15**: 401~407, 1967.
- 17) 上田 泰・中村 昇・松本文夫・田所博之・斎藤篤・山根正夫・野田一雄・嶋田甚五郎・大森雅久・古屋千鶴子・中村喜典：Gentamicin の吸収、排泄およびその腎毒性にかんする研究。Chemotherapy, **15**: 276~281, 1967.
- 18) Martin, R. R., Warr, G. A., Couch, R. B. Yeager, and Knight, V.: Effects of Tetracycline. *J. Infect. Dis.* **129**: 110~116, 1974.
- 19) Finland & Garrod: The use of antibiotics, Tetracycline, **280**, 1972.
- 20) Malawista, S. E., Oliver, J. M. and Rudolph, S. A.: Microtubules and cyclic AMP in human leukocytes. *J. Cell Biol.*, **77**: 881~886, 1978.
- 21) Hill, H. R.: Cyclic nucleotides as modulators of leukocyte chemotaxis. Raven Press, New York, 1978.
- 22) McCrumb et al.: The use of antibiotics. Chloramphenicol, **169**, 1972.

(1979年4月20日受付)