抗凝血薬ダイクマロールに対する個体差の成因について とくに腸内菌叢由来のビタミンKの意義

東京大学医学部吉利内科教室（指導 吉利 和教授）

松 村 俊 彦

VARIATIONS IN RESPONSE TO ANTICOAGULANT, DICUMAROL (THE ROLE OF VITAMIN K SYNTHETIZED BY INTESTINAL BACTERIAL FLORA)

Toshihiko MATSUMURA

The First Department of Internal Medicine, University of Tokyo, School of Medicine
(Director: Prof. Yawara Yoshitoshi)

概要 ダイクマロールに対する感受性の個人差の成因究明の目的で、とくに腸内菌叢由来のビタミンKのプロトロンビン合成における役割を検討した。ウサギにダイクマロールを投与することにより惹起された相対的ビタミンK欠乏状態のもとで、大腸菌発育に強い抑制作用を有し、かつ腸管から吸収されにくい抗生物質ネオマイシンを投与しその影響をみた。ダイクマロール単独投与ではウサギのプロトロンビン時間変化は、不変型・回復型・延長型にわかれるが、それ単独投与では変化を示さないネオマイシンを併用すると、すべての例が延長型となる。ダイクマロールに対しては、食餌由来のビタミンKと、腸内菌叢により合成されるビタミンKの総和が拮抗するわけであるが、相対的ビタミンK欠乏状態では、腸内菌叢由来のビタミンKを無視できないこと、またこれがダイクマロールの感受性の個人差や、いわゆるダイクマロール耐性の成因の一つとなりうるであろうことを明らかにした。

目 次

I. 緒 言

II. 実験方法

A. 実験動物

B. プロトロンビン時間

C. 使用薬物

1. 抗凝血薬
2. 抗生物質
3. ビタミンK

III. 実験成績

A. 対照実験

B. ダイクマロール単独投与

1. 1 mg投与群

2. 1.5mg投与群

3. 3 mg投与群

4. 6 mg投与群

5. 小 括

C. ネオマイシン単独投与

D. ダイクマロール・ネオマイシン併用投与

1. ダイクマロール 1 mg・ネオマイシン 50mg/kg
併用群

2. ダイクマロール 1 mg・ネオマイシン 200mg/kg
併用群

3. 小 括

E. ダイクマロール・ネオマイシン併用群に対する ビタミンKの影響

1. ビタミンK₁
2. ビタミンK₃

本論文の要旨は昭和38年、第38回日本血液学会総会
において発表した。

3. 小 括

IV. 総括ならびに考案

V. 結 論

I. 緒 言

近年わが国においても、血栓塞栓症の予防や治療に、いわゆる低プロトロンビン血症を招来するクマリン系抗凝血薬が次第に広く用いられるようになった。しかし、これらの薬物に対する感受性には症例によりかなりの差が認められている。すなわちある症例では、現在一般に常用量とされている薬量の投与でも、時に出血を招く場合があり、他方常用量以上の比較的大量でも、十分な効果を得られない場合もある。また同一個体に対する同一維持量投与でも、プロトロンビン活性値が治療域を逸脱するようなことが、しばしば経験され、これらは抗凝血薬の臨床的応用が一般化されない原因の一つとさえなっている^{1)~5)}。

クマリン系薬物は、antivitamin-Kともいわれるように、その効果はビタミンKの投与で拮抗される。その作用機序は現在次のように考えられている。すなわち肝におけるプロトロンビンを始めとするいくつかの凝血因子の生成にあたって、生成酵素の活性化に必要なapoenzymeにビタミンKが結びつくことが必要であり、クマリン系薬物は、この反応系からビタミンKを追い出して、自らapoenzymeと結合して、活性化を阻害するというのである⁶⁾。従つて、クマリン系薬物に対する個体差を究明するには、クマリン系薬物の代謝のみならず、拮抗物質であるビタミンKについても考慮されねばならない。

ところでビタミンKの成人における1日必要量は、1mg以下の極めて少量であり⁷⁾、また臨床的に用いられるビタミンKの定量法も確立されていない現在、その代謝についてはなお不明の点が少ない。

ビタミンKは、大部分が摂取された食餌から供給されるほかに、腸内菌叢により合成されるが⁸⁾⁹⁾、後者の生理的意義については、まだ充分に究明されていない。それは腸内菌叢に変動を与え

と思われる物質、たとえば抗生物質を用いたとしても、それによるビタミンKの変動は、食餌由来のものに代償され、またその物質そのものの測定対象に対する直接の影響も加わつて、実験を困難にさせるためであろう。

著者は、クマリン系薬物に対する個体差の成因につき、とくに腸内菌叢由来のビタミンKの役割について、実験方法に新しい工夫を加えて検討を行ない、若干の新知見を得たので報告する。

II. 実験方法

A. 実験動物

体重約2kgの成熟した健常ウサギ60匹を、オリエンタル・ウサギ用RC-5固型飼料1日量として120gと充分量の水を与えて飼育し、経口的に摂取されるビタミンKおよび脂肪の量を一定とした。固型飼料の成分は、水分7.0%、粗蛋白21.5%、粗脂肪4.8%、粗灰分6.7%、粗繊維11.5%、可溶性無窒素物48.5%である。

B. プロトロンビン時間

採血は常に薬物投与前、一定時刻に行なつた。あらかじめ0.2mlの3.13%クエン酸ナトリウム液を入れた注射器に、耳静脈より1.8ml採血し、混和後直ちに毎分3,000回転30分遠心して血漿を分離し、測定するまでは4℃に保存し、採血後1時間以内にQuick1段法によつて、プロトロンビン時間測定を行なつた。すなわち被検血漿0.1mlを37℃の恒温水槽中で2分間加温した後、その都度調製したトロンボキナーゼ（ガイギー社製）液0.2mlを加えて、血漿プロトロンビン時間を測定し、少なくとも2回の測定を行ない、その平均値をとつてプロトロンビン時間とした。なお急速な変化を捕捉する必要がある場合を除いて、2日ないし3日の間隔で測定を行なつた。

C. 使用薬物

1. 抗凝血薬

ダイクマロール（エンボリン）の粉末を、 $1/10$ N苛性ソーダ液で、7.5mg/mlとなるように無菌的に溶解し、それぞれの必要量を連日耳静脈から注入した。

表 1

日 期 番 号	1	2	3	4
No.1	5.0	5.5	5.0	5.0
No.2	7.0	6.5	6.0	6.0
No.3	7.0	7.0	6.5	6.0
No.4	8.0	7.5	7.5	7.0
No.5	6.0	6.5	7.0	7.5

図 1. 対照群

2. 抗生物質

腸内細菌の発育を抑制する目的の抗生物質としては、大腸菌に最も強い抑制作用を有し、しかも腸管より吸収されにくいネオマイシン（フラジオマイシン）錠を50mg/mlの水様懸濁液として、ネラトンチューブ4号を食道内に挿入して経口投与した。

3. ビタミンK

ビタミンK₁としては、ケーワン注射液（10mg/ml）とケーワン錠（5mg/錠）を水懸濁液として使用し、ビタミンK₃は、カチーフ注射液（10mg/ml）を用いた。

III. 実験成績

A. 対照実験

無処置のウサギ5匹のプロトロンビン時間を4日間連続して測定した結果は、表1、図1の如く、最長値8秒、最短値5秒で、個々の変動の幅は、0.5秒から1.5秒であつた。従つて以下の実験では5秒から8秒の間を生理的動揺と考えて、正常範囲として取り扱うことにした。

B. ダイクマロール単独投与

同一量のダイクマロールに対する個体差を検討

表 2

日 期 番 号	前	4	6	7	8	11	13
No.6	6.0	7.0	6.0		5.5	7.0	5.0
No.7	6.0	5.5	6.0		11.5	7.5	5.5
No.8	7.5	7.0		22.0	†		
No.9	7.5	8.5	9.0	†

図 2. ダイクマロール単独投与

するために、ウサギ16匹を4群にわち、それぞれに個体当たり1mg、1.5mg、3mg、6mgのダイクマロールを14日間連続静注して、プロトロンビン時間を測定した。

1. 1mg投与群

a. 表2、図2-Aにみるごとく、No.6は終始5～7秒の正常範囲にとどまつた。以下このようにダイクマロールを投与しても、プロトロンビン時間が正常範囲内にとどまる型のものを“不変型”とよぶことにする。

b. No.7は6日目までは5.5秒～6秒の正常範囲内にとどまっていたが、8日目に11.5秒と延長した後、11日目に再び7.5秒の正常範囲に回復した。このようにプロトロンビン時間が一過性に延長した後、正常範囲に復帰する型を“回復型”とよぶ。

c. No.8およびNo.9は4日目ないし6日目からプロトロンビン時間は経日的に延長し、ついに出血死した。以下このようにプロトロンビン時間が次第に延長し、出血死するような型を“延長

表 3

日 期 番号	前	2	3	4	5	6	7	8	9
No.10	6.5	6.0	6.0	5.5	8.0	6.0		6.0	
No.11	7.0	7.5	7.0	6.0	8.0	7.0		7.0	7.5
No.12	5.5	11.0	8.0	8.5	7.0	8.5	8.5	6.5	
No.13	6.0	13.0	15.0	18.0	27.0	17.0		8.0	

型”とよぶ。

d. 剖検所見

死因確認の目的で行なつた。本実験で死亡したウサギ全例の剖検所見では、一般に腎周囲の広範な後腹膜出血が主なもので、その他、腸管出血、腸間膜出血とともに、肺実質および筋肉内にも軽度の点状出血が認められた。

2. 1.5mg投与群

a. 表3、図2-Bにみるごとく、No.10およびNo.11は1mg投与群にみられた“不変型”である。

b. No.12はダイクマロール投与から2日目にプロトロンビン時間は5.5秒から11秒に延長したが、3日目には正常範囲に復した。本例を1mg投与群中の回復型No.7と比較すると、一過性のプロトロンビン時間の延長がより早期に起こっていることが注目される。また本例では、6日目に再び8.5秒に延長したが、こゝで投薬を中止し自然回復を観察したところ、中止して3日後に6.5秒の正常範囲に回復した。

c. No.13は“延長型”を示し、プロトロンビン時間は6秒より経日的延長をつゞけ5日目には27秒となり、高度の血尿が認められた。投薬を中止して自然回復をみたところ、No.12と同様、その後3日を要して、8秒の正常範囲にもどつた。なお、1.5mg投与群の回復型、延長型に属するもののプロトロンビン活性低下は、1mg投与群に比べて、より早期にみられた。

3. 3mg投与群

表4、図3-CのNo.14およびNo.15は“不変型”，No.16は“回復型”，No.17は“延長型”

表 4

日 期 番号	前	2	3	4	5	6
No.14	7.0	6.5	6.0	7.0	6.5	
No.15	7.5	7.5	6.5	6.5	7.5	
No.16	6.0	11.0	11.0	9.5	8.5	
No.17	6.0	12.5	15.5	18.5	21.5	33.5†

図3. ダイクマロール単独投与

表 5

日 期 番号	前	2	3	4	5	6	7	8
No.18	5.5	†(空気塞栓にて死亡)						
No.19	5.5	6.0	6.0	5.5	7.0	6.0	6.5	6.5
No.20	6.0	10.0	7.0	9.0	11.5	15.0	11.0	6.5
No.21	5.5	13.5	18.5	23.5	33.0			

であり、1～1.5mg投与群と同じように3型に分類された。

4. 6mg投与群

表5、図3-Dに示すごとく、1～3mg投与群と同じ3型にわかれた。すなわちNo.19は“不変型”，No.20は“回復型”No.21は“延長型”に属し、No.20はプロトロンビン時間が一旦回復した後、再び経日的延長をみた。投薬中止により、3日で自然回復を認めた。6mg投与群のプロトロンビン時間延長の程度は、1～3mgのダイクマロール投与群に比し、きわめて急激であり、No.21は5日目に33秒に延長したのち出血死した。

表 6

日 期	前	4	6	8	11	13
No.22	6.5	6.5	6.5	7.0	6.0	6.5
No.23	7.0	7.0	6.5	7.0	6.5	6.5
No.24	7.0	7.5	6.5	7.0	6.0	6.0
No.25	7.5	5.5	6.0	6.5	6.0	5.5

表 7

日 期 番号	前	4	6	8	11
No.26	5.0	5.0	5.0		
No.27	5.5	5.5	5.5	5.5	
No.28	6.5	6.0	6.0	5.5	5.0
No.29	5.5	†(空気塞栓にて死亡)			

5. 小 括

健康なウサギにダイクマロール 1～6 mg を連日静注すると、プロトロンビン時間は経日的に延長を示し、ついには出血死する“延長型”と、一旦延長した後に正常範囲に復する“回復型”と、單に正常範囲内の動揺を示すにすぎない“不変型”に分類できる。ダイクマロールの投与量を増量するにつれて、プロトロンビン時間の延長を示す例では、延長の出現は早期に、その程度は急激となる傾向がみられ、また出血死するまでの日数も短くなるが、1～6 mg のダイクマロール投与では不変型が存在する。なお、ダイクマロール静注により20秒前後に延長したプロトロンビン時間が、薬物投与の中止によつて正常値にまで自然回復するには2～3日を要した。

以上の実験結果から、ダイクマロールを増量しても、常に同一傾向の“不変型”ないし“回復型”の存在が認められるので、以下にのべる実験では、ダイクマロールの溶媒に用いる苛性ソーダによる血管への侵襲をなるべくなくするために、個体当たり1mgのダイクマロールを静脈内投与した。

C. ネオマイシン単独投与

ネオマイシン単独投与によるプロトロンビン時間への影響をみるために、ウサギ8匹を4匹ずつ2群にわけ、それぞれにネオマイシン50mg/kgおよび200mg/kgを14日間連続経口投与し、プロトロンビン時間を測定した。表6, 7, 図4に示すごとく、ネオマイシン投与後もプロトロンビン時間は5.5秒から7.5秒という正常範囲内の変動にとどまり、対照の無処置群に比して、有意の差はみとめられなかつた。

図4. Neomycin単独投与による「プ」時間の変動

すなわち、ネオマイシン単独経口投与によつては、プロトロンビン活性に有意の変動をみとめなかつた。

D. ダイクマロール1mg・ネオマイシン50mg/kg併用群

ウサギ8匹にダイクマロール1mg静注と、ネオマイシン体重kgあたり50mgの経口投与を連続2週間併用して、プロトロンビン時間の変動を追究した。その成績は、表8, 図5のごとく、ダイクマロール単独投与の場合と同じく3型に分類された。すなわちNo.30, No.31, No.32, No.33は“不変型”, No.34, No.35は“回復型”, No.36, No.37は“延長型”である。この結果をダイクマロール1mg単独投与群と比較すると, “回復型”“延長型”にみられるプロトロンビン時間の延長はより早期にみられ, 併用投与の翌日に出現し, また出血死する場合も, ダイクマロール単独投与

表 8

動物 番号	前	3	4	6	8	10	11	13
No.30	7.0	7.5		6.0		6.0	7.0	
No.31	7.5		6.5	6.5	7.5		5.5	6.0
No.32	8.0		6.5	7.0		7.0		
No.33	8.0		7.5	7.0				
No.34	7.5		12.0	23.0	14.0		17.5	13.0
No.35	7.0		9.0	8.5	7.5		7.0	7.0
No.36	8.0		19.0	†				
No.37	7.5		14.5	24.0	†

図 5. Dicumarol 1 mg-Neomycin 50 mg/kg併用
投与群

の場合には7～8日を要したのに、併用投与群では4～7日とその期間は短縮されていた。

2. ダイクマロール1mg・ネオマイシン 200 mg/kg併用群

ウサギ No.41～49の9例に、ダイクマロール1 mg静注と、ネオマイシン体重kgあたり 200mgの経口投与を併用した。表9、図6にみるごとく、プロトロンビン時間は経日にかつ急速に延長し、

表 9

動物 番号	前	4	5	6	8
No.37	(空気塞栓にて死亡)				
No.40	(空気塞栓にて死亡)				
No.41	5.5	10.5	18.0	†	
No.42	6.0	8.0	9.0	10.0	16.0
No.43	6.0	9.0	11.0	20.5	†
No.44	6.0	10.0	†		
No.45	6.0	19.0		24.0	†
No.46	6.5	13.0	21.0	†	
No.47	6.5	16.5	23.0	†	
No.48	7.0	15.0	21.0	†	
No.49	7.0	22.0	†

図 6. Dicumarol 1 mg-Neomycin 200 mg/kg併用
投与群

ほとんどが4～6日目に20秒前後となり、翌日出血死した。

すなわちネオマイシン 200mg/kg併用群には、“不変型”あるいは“回復型”と称すべきものは存在せず、すべて“延長型”を示した。しかもこれをダイクマロール1 mg単独投与群に比べた場合、プロトロンビン活性の低下はより急速であ

る。

3. 小 括

a. ダイクマロール 1 mg・ネオマイシン 50 mg/kg 併用群においては、ダイクマロール単独投与群と同じく 3 型に分かれた。しかしこの場合のプロトロンビン活性の低下は、ダイクマロール単独投与群に比して、急速かつ急激であつた。

b. ダイクマロール 1 mg・ネオマイシン 200 mg/kg 併用群では、“回復型” “不変型” は存在せず、全例ともプロトロンビン時間の著明な経日的延長を示したのち、出血死をきたした。

以上の成績から、ダイクマロールと併用したネオマイシンが、腸内菌叢に大きな影響を及ぼし、その結果腸内菌叢によるビタミン K の合成が障害されたのではないかと考えられるので、その点を明らかにするために次の実験を行なつた。

E. ダイクマロール・ネオマイシン併用群に対するビタミン K の影響

ダイクマロール 1 mg・ネオマイシン 200 mg/kg 併用群においては、すべてが“延長型”となるので、この群におけるプロトロンビン活性低下が、ビタミン K の投与によりいかなる影響をうけるかを追究した。

1. ビタミン K₁

a. 非経口投与群

表 10、図 7 のごとく、ダイクマロール 1 mg・ネオマイシン 200 mg/kg 併用群において、プロトロンビン時間が 20 秒前後に延長したウサギ 3 匹 (No. 52, 53, 54) に、ダイクマロール・ネオマイシン併用投与を継続しつつ、ビタミン K₁ 2 mg の 1 回

表 10

日 番号	前	4	5	6	8	9	10
No.52	5.5	10.0	(K ₁ 2mg) 18.0	6.5	18.5	†	
No.53	7.0	15.0	(K ₁ 2mg) 20.0	6.5	28.0	39.0	†
No.54	6.0	13.0	(K ₁ 2mg) 20.0	8.0	18.0	19.0	30.0†
No.55	6.0	19.0	44.0	†			
No.56	6.0	8.0	9.0	10.0	16.0	†

図 7. ダイクマロール・ネオマイシン併用群にビタミン K の与える影響

静注を行ない、翌日プロトロンビン時間を測定すると、すべてが 6.5 秒～8 秒の正常範囲に回復した。ビタミン K₁ を投与しなかつた対照 2 匹 (No. 55, 56) のプロトロンビン時間はさらに延長をつづけ、翌日および 4 日後にそれぞれ出血死した。

b. 経口投与群

同じく、ダイクマロール 1 mg・ネオマイシン 200 mg/kg 併用群の 3 匹 (No. 57, 58, 59) にビタミン K₁ 2 mg の経口投与を行なつた。結果は、表 11、図 8 に示すごとくである。

(i) No. 57 はプロトロンビン時間が 18.5 秒に延長した時にビタミン K₁ 2 mg を投与した。翌日プロトロンビン時間はさらに 21.0 秒と延長したが、再び 2 mg のビタミン K₁ 投与により、翌日は 17 秒と

表 11

日 番号	前	3	4	5	6	8	9	10	12
No.57	6.5	(K ₁ 2mg) 18.5	(K ₁ 2mg) 21.0	17.0	8.0	7.0			
No.58	5.5		9.0	11.0	(K ₁ 2mg) 21.0	15.5	(K ₁ 2mg) 10.0	(K ₁ 2mg) 7.5	6.5
No.59	6.5	(K ₁ 2mg) 28.0	39.0	45.0	†				
No.60	8.0	(K ₁ 10mg) 18.0	(K ₁ 10mg) 20.0	30.0	†

図8. ダイクマロール・ネオマイシン併用群にビタミンKの与える影響

短縮し、初回投与後3日目には8秒と正常範囲に回復した。

(ii) No.58 は21秒とプロトロンビン時間が延長した時に、ビタミンK₁2mgを投与したが、2日目には10秒まで回復した。さらに2mgを2日づけて追加投与したが、翌日から7.5秒、6.5秒と短縮して、正常範囲にもどつた。

(iii) No.59 は、プロトロンビン時間が28秒に延長した時期に、ビタミンK₁2mgを1回投与したが、プロトロンビン時間はさらに延長し、ついに死亡した。

2. ビタミンK₃

ウサギ No.60に同じようにダイクマロール・ネオマイシンの併用投与を行ない、プロトロンビン時間が18秒に延長した時に、ビタミンK₃10mgを2日間静注したが、プロトロンビン時間はさらに延長をつづけ、ついに出血死をきたした(表11, 図8)。

3. 小 括

a. ビタミンK₁非経口投与群では、ビタミンK₁2mgのたゞ1回の静脈内投与により、全例とも24

時間後に、延長したプロトロンビン時間は正常に回復した。しかも回復に要する時間は、ダイクマロール単独投与群で延長したプロトロンビン時間が、投薬中止により正常範囲に自然回復するのに2～3日を要したのと比較すると短い。すなわち、ダイクマロール1mg・ネオマイシン200mg/kg併用群で惹起されるプロトロンビン活性の低下に対して、ビタミンK₁の非経口投与は十分に効果を認めることが明らかとなつた。しかしこのプロトロンビン活性は、ビタミンK₁の投与を中止し、ダイクマロール・ネオマイシンの併用投与をさらに続ければ、再び活性は速やかに低下した。

b. ビタミンK₁経口投与の場合は、投与前から貧血が高度に存在し、耳朶の採血部位に持続的に出血を認めたNo.59の例をのぞいて、ビタミンK₁の非経口投与と同じく、プロトロンビン活性は回復しうる事が明らかにされた。

従つて、ビタミンK₁の腸管よりの吸収は、少なくとも、ダイクマロールとネオマイシンの併用投与によつては障害を受けなかつたものと解せられる。しかし、静脈内投与に比して、プロトロンビン活性低下の回復は遅延した。

c. ビタミンK₃は、10mgの大量を静脈内投与したにもかかわらず、プロトロンビン活性の低下を回復し得なかつた。

IV. 総括ならびに考案

いわゆる抗凝血療法において、ある薬量に対するプロトロンビン活性の低下の程度は、必ずしも個々の例で同一ではなく、ある例での維持量が他の例では過重であつたり、同一人に対しても、プロトロンビン活性の治療薬維持に必要な量が漸次増加したり、薬物によつては全く感受性を示さない例すらあることは、緒言に述べたとおりである。

ところで、このプロトロンビン活性の変動は、正常状態においては、肝において生成されるプロトロンビンおよび関係凝血因子(以下單にプロトロンビンという)の量と、消費されあるいは自然に消失してゆく量との差によつて現わされる。投

与されたダイクマロールは、前述のごとく、肝のプロトロンビン生成の場において、apoenzymeと結びつくビタミンKを追い出して、その活性化を阻害し、プロトロンビンの血中濃度低下を招来するのである。従つてある意味では、プロトロンビン生成に関与する諸条件の集積が、いわゆるダイクマロールへの感受性として表現されることになる。

通常臨床的には、抗凝血薬は経口的に投与される場合が多い。経口的に投与されたダイクマロールの吸収については、古くはLinkの成績¹⁰⁾や、またWeiner¹¹⁾をはじめとして数多くの報告があるが、吸収速度、吸収量、あるいは吸収後の体内分布と排泄については一致した見解はみられていない。非経口的に投与された場合、¹⁴C標識ダイクマロールを用いたJaquesの成績¹²⁾では、ダイクマロールの大部分は肝にとり入れられ、そのほとんどが胆汁より排泄されて、腸管の再吸収をうけるが、この再吸収されたダイクマロールのほとんどが直接腎から排泄されてしまうので、これら再吸収されたものの肝におけるダイクマロールへの影響はほとんどないものと考えられる。従つてダイクマロールへの感受性の検索において、腸管吸収の影響を避けるために、著者は実験動物に対するダイクマロールの投与はすべて静脈内投与により行なつた。

ところで、ダイクマロールの1～6 mgをウサギに投与すると、プロトロンビン時間の変動からみて、それぞれ“不変型”、“回復型”および“延長型”の3型にわけることができ、同一量でもダイクマロールに対する感受性に個体差の著しいことが確認された。また“不変型”を除いた延長型あるいは回復型の初期において、これらダイクマロールの感受性がみとめられた場合は、プロトロンビン活性低下の発現時間の短縮と、その低下の程度は、投与されたダイクマロールの量の増加により著明となることを認めたが、この変化は前述の如く、プロトロンビンの生成量の減少の程度に左右され、これはapoenzymeと結びつくビタミン

Kと、ダイクマロールとの競合における量的の差によるものと考えられる。

さてSoulier¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾は、抗凝血薬に対して感受性を示さなかつた臨床例を数例検討して、これに“ダイクマロール耐性”と名づけて、当初より全く感受性を示さない一次的耐性と、本実験における回復型の如く、投与初期にはプロトロンビン時間の延長をみるのに、その後抗凝血薬投与を続けても再び正常値に回復し、プロトロンビン活性を治療域に維持するためにはさらに大量の投与を必要とするか、あるいは薬物の種類変更を余儀なくされるような二次的耐性とを区別し、後者の血中ダイクマロール濃度は正常かあるいはやや上昇し、その原因は不明であるとした。また前者では、全く血中にダイクマロールを検出できず、静脈内投与で血中濃度の上昇をきたすことから、この一次的耐性の原因をダイクマロールの吸収障害とした。

本実験においては、ダイクマロールは静脈内投与を行なつていたので、腸管からの吸収の問題については除外しうる。従つて、プロトロンビン生成の場に到達するダイクマロールの量は、同一投与量においては、それぞれの個体において同一とみなし得るので、これら3型を示すプロトロンビン活性の変動に対しては、与えられたダイクマロールに拮抗するビタミンKの量が問題とされねばならない。

さてビタミンKは、その一日の必要量は極めて微量であり、体内での貯蔵は僅かで、その大部分が食餌より供給されているが、この食餌由来のビタミンKのほかに、腸内菌叢により合成されたビタミンKがあり、この両者の総和が、ダイクマロールと拮抗するビタミンKの量となるわけである。

ところで、この腸内菌叢由来のビタミンKが、ダイクマロールの感受性に対してどのような役割りを果しているかは、未だ詳らかでない。しかし、抗凝血薬投与中の患者に抗生物質を投与して、出血の危険が増加することが知られており、その原因として、抗生物質による腸内菌叢の発育

が抑制されて、菌叢によるビタミンKの生成が低下した¹⁶⁾と考えられている¹⁶⁾¹⁷⁾。この問題の究明には、食餌由来のビタミンKの影響を除外しなければならないが、従来より行われているビタミンK欠乏食での飼育や、腸管への胆汁流出を阻止するためのcholecystonephrostomy¹⁸⁾は、ビタミンKの腸内合成に必要なprovitaminの欠乏を招いたり、ビタミンKの腸管内吸収を妨げる危険性がある。そこで著者は、ダイクマロールを投与してプロトロンビン活性の低下するような状態、すなわち食餌性由来と、腸内菌叢から合成されたビタミンKが、プロトロンビン生成の場で、ダイクマロールとの拮抗に相殺される状態、理論的には最少必要量のダイクマロールと双方由来のビタミンKが量的に辛うじて均衡を保っているような状態で、腸内菌叢だけに影響を与える抗生物質を経口的に投与したら、一定の食餌の下では、僅かの腸内菌叢によるビタミンKの生成阻害が起れば、ダイクマロールに拮抗すべき総合的ビタミンKの減少となり、その影響が現われてくるのではないかと考えて、ダイクマロールと抗生物質の併用投与を行なった。

抗生物質自体の血中における影響を除外するために、腸管からの吸収が僅か3%前後であるネオマイシン¹⁹⁾を経口投与したが、教室の真下²⁰⁾らの成績によれば、本物質は、腸内菌叢の支配勢力である大腸菌群に極めて著明な抑制効果を有し、投与2日目には菌数の著減を招くことが確認されている。

さて、ダイクマロール1mgとネオマイシンを併用すると、体重kgあたりネオマイシン50mgを用いた場合は、ダイクマロール単独投与の場合と変わらず、プロトロンビン時間の変動が3型にわけられるのに対して、200mgと増量した場合はすべての例でプロトロンビン時間の延長の結果、出トロン血死を招いた。ネオマイシン単独投与では、プロトロンビン時間になんらの変化を来たさないことから、腸内菌叢によるビタミンKの生産が阻害されても、食餌由来のビタミンKは吸収されて、これを補っているものと考えられ、また後に述べる如

く、ビタミンK₁の経口投与により、ダイクマロール・ネオマイシン併用で惹起された低プロトロンビン活性の回復がみられることから、ネオマイシン自体の凝血系への影響や、腸管におけるビタミンKの吸収阻害は否定できよう。

しかし、ダイクマロールとネオマイシン 200mg/kgの併用投与では、腸管内における腸内菌叢のビタミンKの合成を阻害した¹⁶⁾ために、相対的に肝におけるダイクマロール拮抗のビタミンKの欠乏がもたらされて、すべて延長型を示したものと推定される。このような低プロトロンビン状態に、ビタミンKを非経口的に投与すると、直ちにプロトロンビン活性の回復することから、この活性低下はビタミンKの欠乏により出現したものと考えてよいであろう。ネオマイシン50mg/kg併用で、ダイクマロール単独投与の場合と同様の結果を得たことは、腸内菌叢への効果が、抗生物質が少量のため発現しなかつたものと解釈される。

さて本実験において示された不変型、回復型、延長型について考察を加えてみたい。

不変型は、Soulier⁷⁾のいわゆる一次的耐性と類似するものであるが、Soulierの報告とは異なり、ダイクマロールの吸収に異常を認めないのに出現している。これはダイクマロールの効果に対し、食餌由来と腸内菌叢により合成されたビタミンKの量が、それを上回る場合と考えられる。もし逆にそれが下回れば延長型となるであろう。また回復型は、Soulierの二次的耐性に相当するが、当初はなんらかの原因で腸内菌叢のビタミンKの合成力が低下しているために、一旦は延長型を示すものが、その後ビタミンKの合成力を回復するか、または増加して、その不足を補い、ダイクマロール効果を上まわつて来たと考えてよいのではなかろうか。しかし、ある抗凝血薬に対する感受性が失われた場合、他の薬物に変更すれば再びその個体が感受性を示すような二次性耐性については、先天的なその個体のある薬剤に対する代謝能の差を考慮せねばならないので、耐性については、単に腸内菌叢のビタミンK合成能の変化のみ

では説明できず、なお今後に残された問題である。临床上ではダイクマロールへの感受性の変化に対しては、食餌由来のビタミンKの影響は決して小さくない。またダイクマロールとビタミンKとの競合を考慮した場合に、ダイクマロールやビタミンKの吸収障害を除外することはできないが、投与されたダイクマロールの拮抗にビタミンKが費やされているような状態においては、腸内菌叢により合成されるビタミンKの役割も決して無視できないこと、そしてこれがダイクマロールに対する感受性の個体差や、いわゆるダイクマロール耐性の成因の一つになりうるであろうと考えられる。

V. 結 論

ダイクマロールに対する感受性の個体差の成因について、とくに腸内菌叢で合成されるビタミンKの役割を明らかにするため、実験方法を考案した。すなわち生体に摂取されるビタミンKは食餌性のものと腸内菌叢由来のものとの総和と考えられるので、ダイクマロールの非経口的投与により、プロトロンビン生成の場における相対的ビタミンK欠乏状態を招いた上で、腸内菌叢に強い抑制効果を有しかつ腸管より吸収されにくい抗生物質を経口投与として、腸内菌叢へ変化を与え、その影響を検討し、以下の結論を得た。

(1) 一定食餌で飼育したウサギにダイクマロールを非経口的に連日投与し、プロトロンビン時間の変化を経日的に観察すると、プロトロンビン時間は終始正常範囲にとどまる“不変型”と、一旦延長したプロトロンビン時間が再び正常に回復する“回復型”、経日的にプロトロンビン時間が延長してゆく“延長型”にわかれた。この3型は個体当たり1～6mgのダイクマロール非経口投与では常に観察された。

(2) ネオマイシンを体重あたり50mgおよび200mgを連日経口的に2週間にわたって投与した結果は、全例が正常範囲内のプロトロンビン時間を示した。

(3) ダイクマロール個体当たり1mgとネオマイ

シン50mg/kg併用では、ダイクマロール単独投与の場合と同様に、プロトロンビン時間は3型の変動を示した。しかしネオマイシンを200mgに増量すると、全例が延長型となり出血死した。

(4) この併用投与によるプロトロンビン活性の低下に対して、出血死前にビタミンK₁2mgを投与すると、プロトロンビン時間は24時間以内に回復した。このビタミンK₁の効果は、経口、非経口をとわず同様である。ビタミンK₃の10mgを非経口投与した場合は無効であった。

(5) 以上の成績を総括して、ダイクマロールと拮抗するビタミンKは、食餌由来のものと腸内菌叢由来のものとの総和と考えられるが、ダイクマロール投与による相対的ビタミンK欠乏状態においては、腸内菌叢由来のビタミンKの役割は無視できず、これがダイクマロールに対する感受性の個人差、あるいはいわゆるダイクマロール耐性の成因の一つになりうるであろう。

文 献

- 1) Douglas, A.S., Anticoagulant therapy. p. 245, Blackwell, Oxford, 1962. —2) Ferriman, D.G. et al. Determination of maintenance dosage. *Lancet*, I: 476, 1955. —3) Bjerkelund, C.J., The method of administering Dicumarol. *Lancet*, I: 260, 1953. —4) Toohey, M., Clinical trial of PID as an anticoagulant. *Brit. Med. J.* 3: 650, 1953. —5) Gordin, R., Certain aspect of the thrombotest method for the control of anticoagulant therapy. *Scandinav. J. Clin. & Lab. Invest.* 12: 329, 1960. —6) Quick, A.J., Hemorrhagic disorder. p. 109, Lea & Febiger, Philadelphia, 1957. —7) Jaques, L.B. et al., The metabolism of the K-vitamins. *Schweiz. med. Wschr.* 84: 792, 1954. —8) Almquist, H.J. et al., Synthesis of the anti-hemorrhagic vitamin by the bacteria. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 38: 336, 1938. —9) Almquist, H.J., Vitamin K. *Physiol. Rev.* 21: 194, 1941. —10) Link, K.P., The anticoagulant from spoiled sweet clover hay. *Harvey Lecture Series*, 38: 162, 1943. —11) Weiner, M. et al. The physiological disposition of dicumarol in man. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 99: 409, 1950. —12) Jaques, L.B. et al., Dicumarol labelled with ¹⁴C. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 74: 151,

1956. —13) Soulier, J.P., Resistance aux dicoumariniques. *Path. Biol.* 8 : 985, 1960. —14) Soulier, J.P., Dicumarol resistance. Anticoagulant and fibrinolysis, International Symposium edited by Macmillan, p. 201, Lea & Febiger, Philadelphia, 1961. —15) Soulier, J.P., Les anticoagulant en thérapeutiques. p. 118, G. Doin & C. Paris, 1955. —16) Bay, E.B. et al., The use of anticoagulant drugs in ambulatory patients. *Circulation*, 9 : 741, 1954. —17) Doug-

las, A.S., Anticoagulant therapie. p251. Blackwell, Oxford, 1962. —18) Kapinow, R. et al., Intra-abdominal biliary exclusion from the intestines-cholecystonephrostomy, a new method, *Surg. Gynec. and Obst.*, 39 : 62, 1924. —19) Wakesman, S.A., Neomycin. p. 132, Rotger University Press, New Jersey, 1953. —20) 真下啓明外, 腸内細菌叢の変動と血清コレステロール, 日本化学療法学会誌, 11 : 392, 1963.