

Thiamphenicol の嫌気性菌に対する抗菌作用について

上野一恵・二宮敬宇・大谷文茂

向坂孝・鈴木祥一郎

岐阜大学医学部微生物学教室 (主任: 栗本珍彦教授)

(昭和 45 年 3 月 10 日受付)

Chloramphenicol の Methylsulfonyl 同族体である Thiophenicol (d(-) threo-2-dichloroacetamide-1-(4-methyl-sulphonylphenyl)-1,3-propanediol) は純合成の広範囲化学療法剤で、各種の好気性菌に対して強い抗菌力を有している。しかし嫌気性菌に対する抗菌作用はあまり検討されていない。近年嫌気性菌による感染症が臨床各科領域において注目されて来たため¹⁾、本剤の嫌気性菌とくに臨床的に重要な無芽胞嫌気性菌に対する抗菌作用を *in vitro* ならびに *in vivo* において検討を行なつたので報告する。

実験方法

A *In vitro* における抗菌作用

1. 供試菌株

最近 1 年間に臨床材料 (人の膿、分泌物、穿刺液、血液および牛肝膿瘍)、健康者糞便から分離した *Peptococcus* 7 株、*Peptostreptococcus* 7 株、*Veillonella* 6 株、*Bacteroides* 10 株、*Sphaerophorus* 8 株、*Fusobacterium* 2 株、*Corynebacterium* 2 株、*Cillobacterium* 1 株、*Clostridium perfringens* 4 株、*Clostridium tetani* 3 株を使用した。

2. 感受性測定法

原則として赤痢菌やブドウ球菌について行なわれている平板培地による希釈法で行なつた¹⁾。培地は GAM 寒天培地 (日水) を使用した。エーザイ株式会社から分与された力価の明らかな Thiamphenicol の 10 mg/ml 水溶液から 1 mg/ml を作り、以後 2 倍希釈法で順次希釈した。希釈液の 2 ml を滅菌シャーレに滴下、ついで約 50°C に保温した GAM 寒天培地 18 ml を分注、よく混合して固め、薬剤含有平板培地とした。各濃度の薬剤含有平板培地はそれぞれ 1 枚を 25 区画した。各区画に GAM 半流動高層寒天培地 (日水) に 24 時間培養した上記供試菌株を内径約 2 mm の白金耳で約 1 cm の長さに画線塗抹した。嫌気培養法は当教室常用の Steel wool 法 (CO₂ 20%, N₂ 80% 環境) で行なつた²⁾。37°C 24 時間嫌気培養後、最低発育阻止濃度 (MIC) を判定した。

B 実験的嫌気性菌感染症に対する Thiophenicol の治療効果

1. 供試菌株

著者らの経験でマウスの皮下接種法で必ず膿瘍を形成する *Sphaerophorus necrophorus* (2347) 株を用いた。GAM 寒天培地 24 時間嫌気培養菌を希釈液 (KH₂PO₄ 4.5 g, Na₂HPO₄ 6 g, チオグリコール酸ナトリウム 0.3 g, 寒天 1 g, 蒸留水 1 L pH 7.2) に浮遊させ接種菌液とした。この菌液は 10⁶ コ以上を ddN 系マウスに皮下接種すれば、常に 100% 膿瘍を形成する。

2. Thiamphenicol の膿瘍形成防止効果

体重 15 g ± 1.5 g の ddN 系マウス (1 群 10 匹) に上記の菌液を A 群 2 × 10⁶ コ、B 群 2 × 10⁶ コ、C 群 2 × 10⁷ コ、D 群 2 × 10⁸ コと接種菌量を変えて背部に皮下接種した。菌接種してから 1 時間後に Thiamphenicol の 0.45 mg/マウスあるいは 0.9 mg/マウスをそれぞれ第 1 回注射し、以後 1 日 1 回 7 日間皮下注射し、膿瘍形成阻止効果を観察した。薬剤の投与終了の翌日、各群の半数を屠殺して、菌接種局所、肝、脾、腎、肺の肉眼的観察、重量およびそれぞれについて嫌気培養を行なつた。残りの半数のマウスはそのまま 7 日間薬剤は投与しないで観察を続け、最後に屠殺し上記と同様な観察を行なつた。

3. 膿瘍形成マウスの Thiamphenicol の治療効果

体重 16 g ± 1 g の ddN 系マウス (1 群 10 匹) に上記菌液の 5 × 10⁷ コを背部皮下に接種した。2 日後菌接種部位に膿瘍が形成されたことを確認した後 Thiamphenicol 0.45 mg/マウスおよび 0.9 mg/マウスをそれぞれ 1 日 1 回 10 日間皮下注射を行ない、膿瘍の消失を観察した。治療効果は毎日体重の測定、膿瘍の縮少を触診によつて観察し薬剤投与終了の翌日生存マウスはすべて屠殺して膿瘍、肝、脾、腎、肺の肉眼的観察、重量および各臓器の培養を行なつた。

実験成績

1. 各種嫌気性菌の Thiamphenicol 感受性

表 1 に示すとおり、*Peptococcus*、*Peptostreptococcus*、*Veillonella*、*Bacteroides*、*Sphaerophorus*、*Fusobacterium*、*Corynebacterium*、*Cillobacterium*、*Clostridium* など、嫌気性菌はグラム陰性、陽性、球菌、桿菌をとわず、すべて Thiamphenicol に対して強い感受性を示し

表 1 嫌気性菌に対する Thiophenicol の抗菌力

MIC(mcg/ml)	0.39	0.78	1.5	3.1	6.25	12.5	25	50	100	100<
菌種										
<i>Peptococcus</i>		1*	4	1						1
<i>Peptostreptococcus</i>			4	2	1					
<i>Veillonella</i>		2	4							
<i>Bacteroides</i>	1	1	1	5	1		1			
<i>Sphaerophorus</i>			8							
<i>Fusobacterium</i>			2							
<i>Corynebacterium</i>			1	1						
<i>Cillobacterium</i>					1					
<i>Cl. perfringens</i>		1	2	1						
<i>Cl. tetani</i>		2	1							

* 表中の数字は菌株数を示す

表 2 *Sphaerophorus necrophorus* (2347) 株の膿瘍形成に対する Thiophenicol の阻止効果 (7日間観察)

接種菌量(生菌数)	治療法	Thiophenicol 投与量(1日)		非治療群
		0.45 mg/マウス	0.9 mg/マウス	
A 群 2×10^5		0/10	0/10	10/10
B 群 2×10^6		0/10	0/10	10/10
C 群 2×10^7		0/10	0/10	10/10
D 群 2×10^8		1/10	0/10	10/10

感染菌: *Sphaerophorus necrophorus* (2347), 皮下接種

治療法: 菌接種1時間後から1日1回皮下注射

判定: 表中の分母は被検マウス数, 分子は膿瘍形成マウス数

た。すなわち *Peptococcus* の MIC は7株中6株は0.78~3.1 mcg/ml であつたが, 1株は高耐性を示し100 mcg/ml 以上であつた。*Peptostreptococcus* は7株中全菌株が1.5~6.25 mcg/ml であつた。*Veillonella* は全菌株が0.78~1.5 mcg/ml と強い感受性を示した。*Bacteroides* は10株中5株は3.1 mcg/ml であつたが, 1株は0.39 mcg/ml, 1株は0.78 mcg/ml, 1株は1.5 mcg/ml, 1株は6.25 mcg/ml, 1株は25 mcg/ml であつた。*Sphaerophorus* および *Fusobacterium* はすべて1.5 mcg/ml で発育が阻止された。

以上の成績のとおり, 嫌気性菌のほとんどの菌種の MIC は0.78~3.1 mcg/ml であつた。

2. 実験的嫌気性菌感染症に対する Thiamphenicol の治療効果

表2に示すとおり, 2×10^5 コ以上を皮下接種すれば100%膿瘍を形成する *Sphaerophorus necrophorus* (2347) 株の接種後1時間目から1日1回 Thiamphenicol 0.45 mg/マウスの注射を1週間行なえば, 100倍量であ

表 3 膿瘍形成マウスに対する Thiophenicol, Sulfamethazole, Sulfamethoprazine の治療効果 (10日間観察)

抗菌剤	治療効果	Thiophenicol (投与量(1日量))		非治療群
		0.45 mg/マウス	0.9 mg/マウス	
Thiophenicol		5/10	2/10	10/10
Sulfamethazole (1日6 mg/マウス)		8/10		
Sulfamethoprazine (1日6 mg/マウス)		4/10		

感染菌: *Sphaerophorus necrophorus* (2347), 5×10^7 コ皮下接種

治療法: 菌接種2日後から1日1回皮下注射

判定: 表中の分母は被マウス数, 分子は膿瘍をもつマウス数

る 2×10^7 コまでの菌量を接種しても膿瘍は全く形成されない。しかし 2×10^8 コの接種群では10匹中1匹に膿瘍形成がみられた。ところが Thiophenicol 0.9 mg/マウスの注射群では 2×10^8 コの菌量を接種しても膿瘍形成は認められなかつた。

治療終了の翌日各群の生存マウスの半数を屠殺し, 菌接種局所, 肺, 肝, 脾, 腎を嫌気培養したところ, 1例を除いて, いずれも菌陰性であつた。その1例とは 2×10^8 コ接種の Thiophenicol 0.45 mg/マウス治療群の1匹で, 局所には米粒大の膿瘍が認められ, 膿瘍からは *Sphaerophorus necrophorus* が無数に検出されたが各臓器からは菌陰性であつた。

対照の非治療群では菌接種局所には, 2日目から膿瘍を認め, 7日後には米粒大の厚い被膜をもつた膿瘍が10匹中全例に認められ, 且つ膿瘍からは *Sphaerophorus necrophorus* が無数に検出された。また各臓器では腎では10匹中7匹, 肝では10匹中3匹, 脾では10匹中1匹に *Sphaerophorus necrophorus* を検出した。また脾,

肝の腫大は全例に認められた。

残りの半数は治療中止後さらに7日間飼育観察し、その後の膿瘍の形成、体重の増減ならびに各臓器から嫌気性菌の検出を試みた。治療群では膿瘍の形成は認められず、体重は減少せず、各臓器から嫌気性菌は検出されなかつた。

以上のとおり、Thiamphenicol は *Sphaerophorus necrophorus* の感染に対して著しい阻止作用を認めた。

膿瘍を形成したマウスに対する治療効果は表3に示した。Thiamphenicol を 0.45 mg/マウスおよび 0.9 mg/マウス 1日1回、10日間皮下注射した。0.45 mg/マウス治療群では10匹中5匹に治療効果が認められ、膿瘍は消失し、培養によつても局所および各臓器からも嫌気性菌は検出できなかつた。0.9 mg/マウス治療群では10匹中8匹に治療効果が認められた。膿瘍は消失し、培養によつても嫌気性菌は検出されなかつた。しかし2匹は治療効果が認められなかつた。

いつぼう、治療対照群として Sulfamethazole および Sulfamethoprazine をそれぞれ 6 mg/マウス 1日1回 10日間経口投与したところ、表3に示すとおり、Sulfamethoprazine にはかなりの治療効果が認められた。スルファミン剤の嫌気性菌に対する抗菌作用については別報で述べる。

表には示さなかつたが、Thiamphenicol は治療開始3日目までに、すべてのマウスが 1~2 g の体重減少をきたしたが、その後は急激に増加し、菌非接種マウス群と同等になつた。スルファミン経口投与群にはこのような現象はみられなかつた。

総括ならびに結論

Thiamphenicol の好気性菌に対する抗菌作用は Chloramphenicol に比し、やや劣るが、優れた広範囲化学療法剤であることは周知のところである。しかし Chloramphenicol に比して血中濃度はより高く、より長く持続し、肝で変化を受けず、肝汁中、尿中では活性型として Chloramphenicol より大量に排泄される利点を有していることも周知である。従がつて本剤は今後臨床に多く利用されるものと考えられる。そこで著者らは嫌気性菌感染症の起炎菌となる無芽胞嫌気性菌に対する Thiamphenicol の抗菌作用を検討した。

Thiamphenicol の嫌気性菌に対する抗菌作用は Dinis および Zambon 研究室⁹⁾で若干行なわれているが、いずれも少数の保存菌株についてみたものである。彼等

によれば、*Cl. histolyticum* の MIC は 2.5 mcg/ml、*Cl. perfringens* は 3.75 mcg/ml、*Bacteroides* は 0.25 mcg/ml、*Fusobacterium* は 0.5~2.5 mcg/ml である。著者らは最近1年間に臨床材料から分離した嫌気性菌について *in vitro* および *in vivo* における抗菌作用を検討した。いずれの嫌気性菌もほとんどが好気性菌よりも強い感受性を示した。*Peptococcus* の1株が 100 mcg/ml 以上、*Bacteroides* の1株が 25 mcg/ml であつたのを例外として、すべての嫌気性菌が 6.25 mcg/ml 以下の MIC を示した。Chloramphenicol が嫌気性菌に対して強い抗菌作用を有することからしても当然考えられるところであるが⁹⁾、Thiamphenicol もまた嫌気性菌に対して強い抗菌力を示した。

いつぼう、動物実験においても強い感染防御効果を示した。*Sphaerophorus necrophorus* の 100% 膿瘍を形成する菌量の 100 倍量の菌量を接種しても、Thiamphenicol 0.45 mg/マウス 1日1回7日間の注射で 100% 膿瘍形成を防止した。さらに 0.9 mg/マウスの投与量では 1,000 倍量の生菌数を接種しても 100% 防止した。しかし、すでに膿瘍を形成させたマウスにおける治療実験では 0.45 mg/マウス 1日1回 10日間の投与では 10匹中5匹のマウスに治療効果を認めたにすぎなかつた。ところが 0.9 mg/マウスの投与量では 10匹中8匹を全治させることができた。すでに膿瘍を形成させたマウスでの治療効果の低下は、*Sphaerophorus necrophorus* による膿瘍は厚い被膜で包まれているため、膿瘍内へ本剤が浸透し難いためと考えられる。このことは臨床例に於いても充分考慮されなければならないであろう。

近年臨床各科領域で嫌気性菌感染症が注目されて来たが、本剤はこれら嫌気性菌感染症に対して極めて有効な化学療法剤であることを、*in vitro* 並びに *in vivo* の実験で明らかにした。

文 献

- 1) 石山俊次、ほか：最小発育阻止濃度測定法の標準化について。Chemotherapy 16: 98~99, 1968
- 2) 鈴木祥一郎、上野一恵：嫌気性菌、医学書院、1969
- 3) Thiamphenicol: Experimental and clinical bases of a new antibiotic, Zambon Research Laboratories, 1968
- 4) 上野一恵、鈴木祥一郎：嫌気性菌感染症。メディヤ・サークル 12: 1~18, 1967
- 5) 小酒井 望、鈴木祥一郎編：嫌気性菌と嫌気性菌症、医学書院 1967

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THIAMPHENICOL
AGAINST ANAEROBES

KAZUE UENO, KEIU NINOMIYA, FUMISHIGE OTANI,
TAKASHI KOZAKA and SHOICHIRO SUZUKI

Department of Bacteriology, Gifu University, School of Medicine, Gifu-shi, Japan

The antibacterial activity of thiamphenicol *in vitro* was studied on numerous strains of different species of pathogenic anaerobes.

The genera *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Bacteroides*, *Sphaerophorus*, *Fusobacterium*, *Corynebacterium*, *Cillobacterium*, *Cl. perfringens* and *Cl. tetani* are very sensitive to thiamphenicol (Table 1).

Thiamphenicol showed a high degree of curative or suppressive activity against the infections caused by *Sphaerophorus necrophorus* (Tables 2 and 3).