

Nafcillin の抗ブドウ球菌作用に関する研究

河盛 勇造・西沢 夏生

国立泉北病院

1. 緒 言

Nafcillin (NF-PC) が、ペニシリナーゼ耐性ペニシリンとして開発されてから既に久しく、その臨床的有用性を認めた報告も少なくない^{1)~3)}。

しかし我国への導入が遅れたため、私共も本物質の化学療法剤としての有用性を検討する機会を得なかつた。

今回 NF-PC の提供を受けたので、本物質のブドウ球菌に対する作用を、イソキサゾリール系 PC と比較しながら検討を行った。次にその成績を報告する。

2. Nafcillin の試験管内ブ菌発育阻止作用

先ず NF-PC のブ菌発育阻止作用を、PC-G, MCI-PC, MDI-PC と比較検討した。方法は日本化学療法学会標準法⁴⁾により、寒天平板希釈法を用いた。

その成績は表1の通りで、MDI-PC とほぼ同程度、あるいは多少強い抗菌性が認められ、また MCI-PC に

表1 Nafcillin の試験管内ブ菌発育阻止作用
(測定方法：日本化学療法学会標準法)

菌 株	M I C (mcg/ml)			
	PC-G	MCI-PC	MDI-PC	NF-PC
209 P	0.025	0.39	0.2	0.2
高松	0.05	0.39	0.2	0.2
間	0.78	0.39	0.2	0.2
正田	3.1	0.39	0.2	0.39
奥田	12.5	0.39	0.39	0.2
生田	>100	0.39	0.78	0.39
西	>100	0.39	0.78	0.39

比しては、約半数の菌株で1段階低い MIC が得られていた。なお PC-G 耐性株にも同程度の抗菌性を呈した。

3. Nafcillin の試験管内ブ菌殺菌作用

次にブ菌に対する殺菌の効果について、NF-PC と、MCI-PC を比較した。

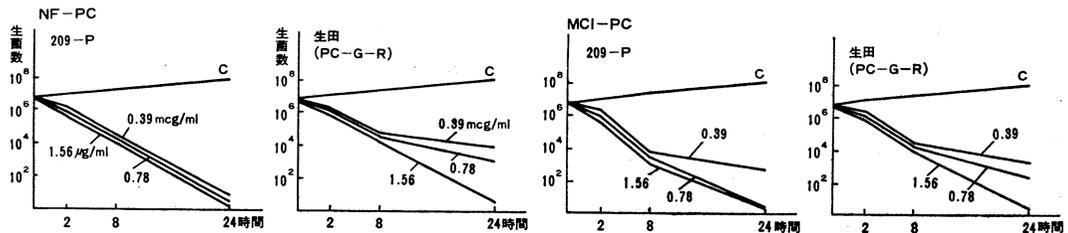
実験は両物質を 0.39, 0.78 および 1.56 mcg/ml に含有する中性ブイオンに、予め24時間ブイオン中にて培養したブ菌209-P株および生田株 (PC-G 耐性) の100倍希釈液 0.1 ml を接種し、2時間、8時間および24時間後に一部を採つて菌数を計算する方法によつた。菌数は10段階希釈液の中性寒天平板上培養により生じた集落数を数えた。なお薬剤非含有培地中の菌数推移および作用開始時の菌数も調べている。成績は図1に示した通りで、NF-PC と MCI-PC が、ほぼ同様な経過を示して菌数が減少しており、わずかにブ菌209-P株に対してNF-PC の 0.39 mcg/ml で、24時間後にほとんど菌集落を認めなかつたのに対し、MCI-PC ではなお生残菌を証明している程度の差にとどまつた。

4. Nafcillin 投与後の血清中濃度

私共は続いて NF-PC 筋肉内注射後の血清中濃度を測定し、これを同一症例についての MCI-PC 注射後と比較した。

測定方法は鳥居氏の重層法により、指示菌として枯草菌 PCI-219 株を用いた。なお基準曲線は両剤共緩衝液によるものを用いたので、得られた値は、血清中の抗菌活性物質濃度を示していることとなる。成績は図2に示した通りで、各剤 500 mg を筋注した後、1, 2 および 6 時間の濃度は、3 例中 2 例において MCI-PC が高値

図1：NF-PCのブドウ球菌殺菌作用



Nafcillin投与後の血清中濃度

を示しており、ことに症例2 および 3 の1時間後では、MCI-PC が約15 mcg/ml であるのに対し、NF-PC は5 mcg/ml にとどまり、2時間後でも前者の約10 mcg/ml

図2：NF-PC および MCI-PC 投与後血清中濃度

測定方法：重量法（指示薬、枯草菌 PCI-219）

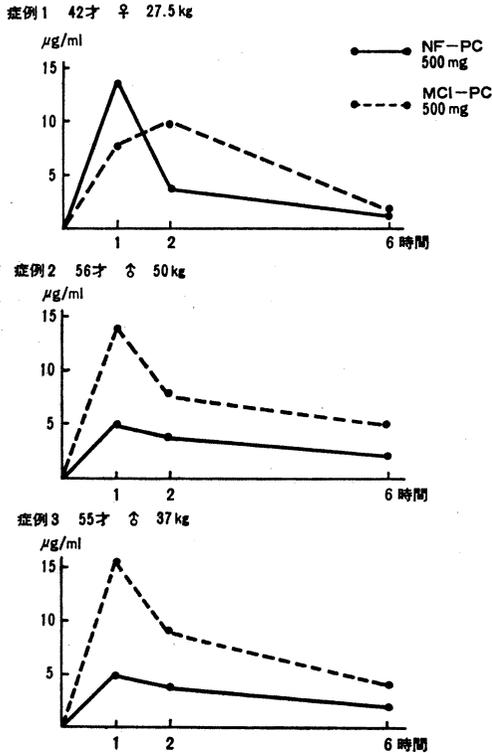
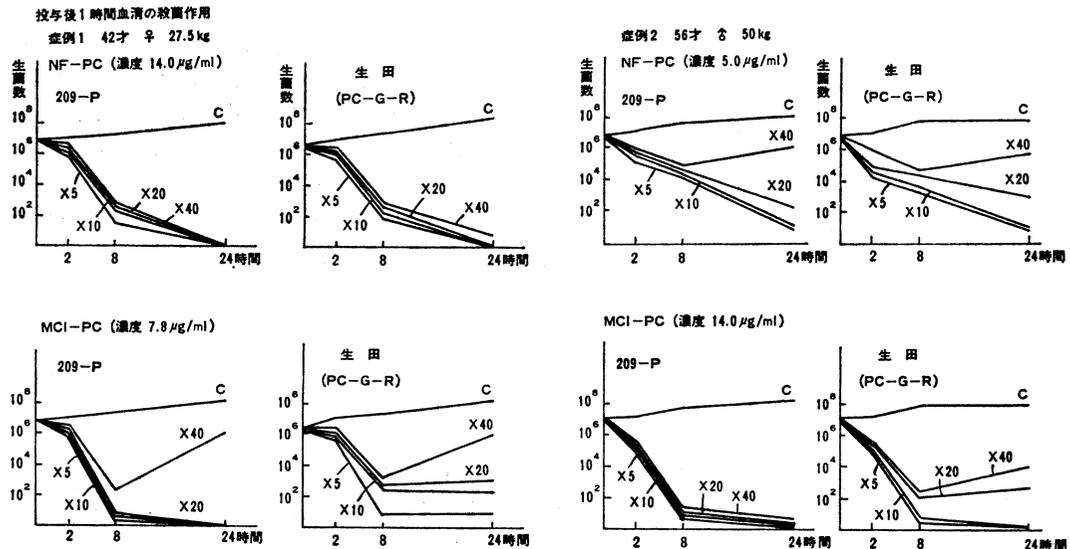


図3：NF-PC および MCI-PC 投与後血清のブ菌殺菌作用



に対し、NF-PC では5 mcg/ml 以下となっていた。症例1 では1時間後においてNF-PC注射時に約15 mcg/ml、MCI-PC注射時に8 mcg/mlであつたが、2時間後には逆転してNF-PC注射後が低値となつた。

以上の成績から、NF-PC注射後血清中濃度は同量のMCI-PC注射後のそれよりも、下廻る傾向がうかがわれた。

5. Nafcillin 投与後血清のブ菌殺菌作用

前項の症例1 および 2 の、NF-PC および MCI-PC 筋注1時間後の血清を、中性ブイヨンにより5, 10, 20および40倍に希釈し、これらにブ菌209-P株および生田株を接種した後、2, 8および24時間後の菌数を計算して、ブ菌殺菌効果を検討した。すなわち前々項に示したNF-PC および MCI-PC 溶解の代りに、筋注後患者血清を用いた実験である。

成績は図3に示した通り、血清中濃度がNF-PCに高値を呈した症例1では40倍希釈まで24時間後にまったく集落を生さず、又MCI-PCが高濃度であつた症例2では、ブ菌209-P株に対して24時間後に40倍希釈まで生残菌がない結果が得られ、共に強い抗ブ菌殺菌作用を有することが明らかにされた。

6. Lysozyme によるブ菌の溶菌に及ぼすNF-PCの影響

WARREN⁵⁾はLysozyme, Trypsin などによるブ菌の溶菌現象に対して、強い協力作用を有することを指摘し

ているので、私共もその追試実験を行つた。方法も可及的 WARREN の原法に準じた。すなわちあらかじめ寒天培地に培養したブ菌209-P 株および生田株 (PC-G 耐性) から、生理的食塩水の濃厚菌液を作成し、その各 1 ml を pH 7.0 の中性ブイオンに NF-PC, または MCI-PC のそれぞれ 0.1 mcg/ml を加えたもの、および薬剤を含まないもの各 200 ml に接種し、これらの各 4 本、すなわち 800 ml ずつを 37°C においた後、8 時間および 24 時間に遠心沈澱して沈澱を蒸留水で洗滌し、 $\frac{1}{15}$ M 磷酸緩衝液 (pH 7.1) で菌浮遊液を作つた。これらの菌浮遊液すなわち NF-PC または、MCI-PC 処置および無処置菌液のそれぞれに、Lysozyme を 20 mcg/ml の割合で添加した後、37°C の恒温槽におき、1, 2, 3 時間後に光電比色計 (Filter 675 m μ red) により混濁度を読んで、溶菌の程度を判定した。以上の概略を表 2 に示している。

表2 ブドウ球菌の Lysozyme による溶菌に及ぼす NF-PC および MCI-PC の影響

実験方法

- 1) 菌液：209-P 株および生田株 (PC-G-R) 37°C 18 時間寒天培地培養菌の生理的食塩水濃厚菌液
- 2) 培地：
 1. 薬剤を含まないブイオン (pH 7.0) 200 ml 4 本
 2. MCI-PC 0.1 mcg/ml を含むブイオン 200 ml 4 本

3. NF-PC 0.1 mcg/ml を含むブイオン 200 ml 4 本
- 3) 作製した菌液 1 ml を上記培地に接種後 37°C 8 時間および 24 時間培養
- 4) 培養後、それぞれ培地を遠心沈澱し、沈澱を 2 回、蒸留水で洗つて $\frac{1}{15}$ M phosphate buffer (pH 7.1) にて菌浮遊液を作る
- 5) その菌浮遊液に Lysozyme (Neuzym エーザイ) を 20 μ g/ml になるように加え、光電比色計の読みが一定になるように調節する
- 6) 37°C に調節した恒温槽に 1~3 時間置き、その混濁度の変化を光電比色計にて読む (Filter 675 m μ red)

このようにして行つた実験の成績は図 4 に見る通りである。

すなわち無処置菌液に緩衝液を加えたものはほとんど溶菌が見られず、またこれに Lysozyme を加えたものも、極めて小さい混濁度の低下にとどまつたが、MCI-PC 処理菌液では相当著しい溶菌が認められ、さらに NF-PC 処理菌液では一層著明な混濁度の減少を見たのである。この結果はブ菌 209-P 株の場合も、PC-G 耐性の生田株の場合も同様であり、WARREN の記載に一致した成績であつた。

以上の実験では両剤ともに、MIC 以下の濃度を用いているので、次に MIC の 2 倍および 4 倍の濃度の NF-

図 4：ブドウ球菌の Lysozyme による溶菌に及ぼす NF-PC および MCI-PC の影響

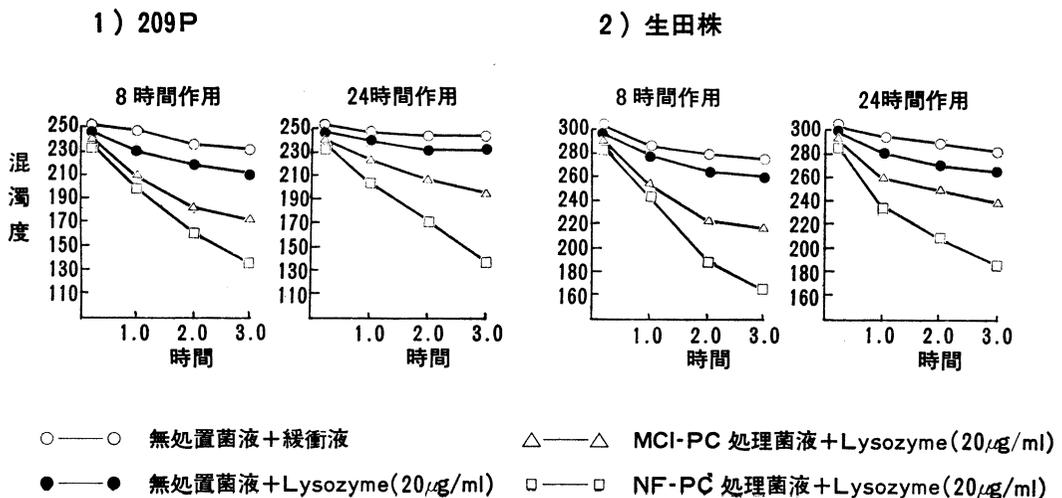
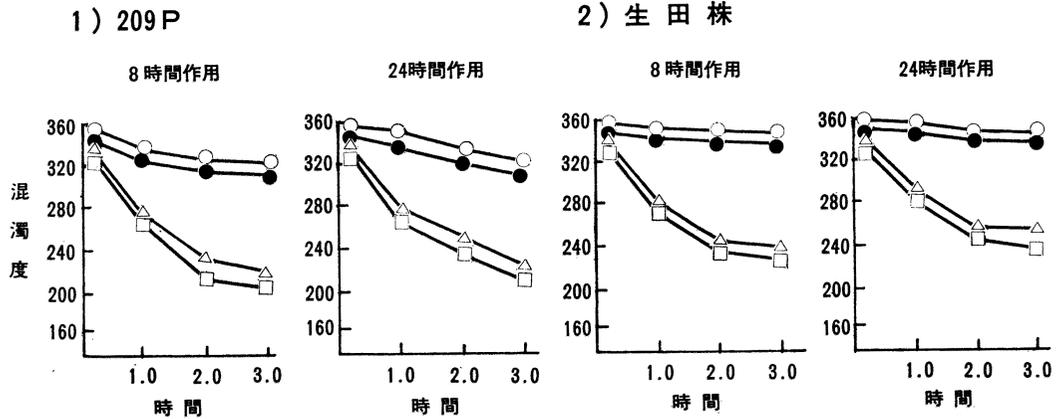
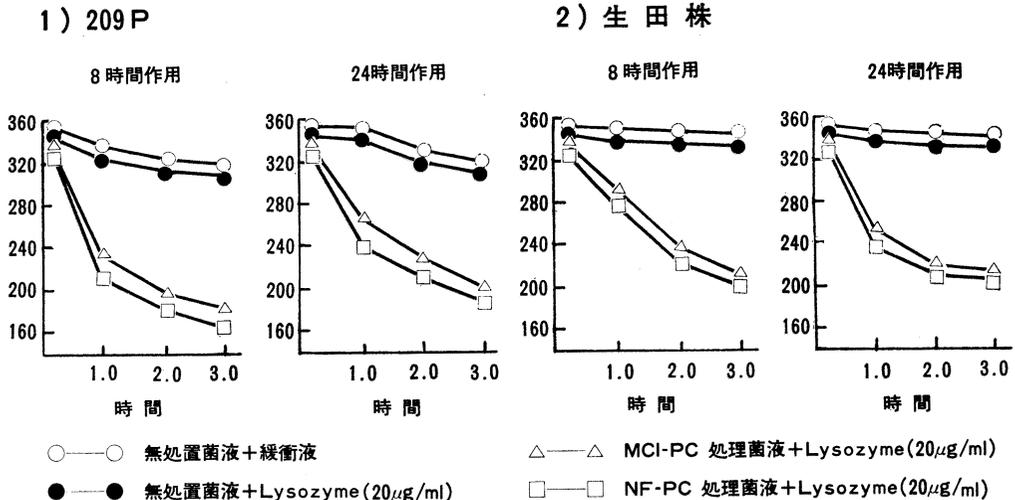


図5：ブドウ球菌の Lysozyme による溶菌に及ぼす NF-PC および MCI-PC の影響

A) MIC の2倍量を加えた場合



B) MIC の4倍量を加えた場合



PC および MCI-PC を用いてブ菌を前処置し、同様に Lysozyme による溶菌の程度を比較した。

その成績は図5の通りで、前処置菌液の溶菌は無処置菌液よりも明らかに高度であったが、NF-PC によるものと、MCI-PC によるもの間には、ほとんど差が認められなかった。

7. 総括および考察

NF-PC はペニシリナーゼ耐性を特長とする半合成 PC である以上その評価は既存のペニシリナーゼ耐性 PC、すなわち主としてイソキサゾリール系 PC との比

較においてなされるのが妥当と考えられたので、私共はブ菌に対する両者の試験管内抗菌力、両種 PC の投与後血清中濃度および血清の抗ブ菌作用を検討してみた。その結果試験管内の発育阻止作用においては、NF-PC は MCI-PC および MCI-PC より幾分すぐれており、少なくとも同程度の MIC が得られたのである。また殺菌作用についても NF-PC と MCI-PC を比較したが、これらも同程度であつて、0.39 mcg/ml でも相当著明な殺菌効果のあることが知られた。しかし NF-PC 500 mg 筋注後の血清中濃度は MCI-PC の同量注射後に比して低く、ことに1時間後の濃度に相当な差が見られた例があつ

た。私共が測定した3例中1例では1時間後に NF-PCの方が高値を示したが、2時間後では MCI-PCの方が高くなっており、むしろ1時間後の NF-PC 高値は例外的と考えてよからう。これらの血清について、ブ菌に対する殺菌作用を検討したところ、NF-PC, MCI-PC 共に20倍希釈まで強い殺菌効果を認めており、高濃度を呈した血清では、40倍希釈でも菌数の減少が認められた。

以上の諸成績では、NF-PC とイソキサゾリール系 PC の間にほとんど差が見られないが、WARREN⁵⁾ はブ菌が Lysozyme あるいは Trypsin などの酵素の作用を受け溶菌を来たす際、あらかじめ NF-PC で処置された場合に、イソキサゾリール系 PC 前処置よりも強い影響を示す事実を記載しているの、私共はこの実験を追試して見た。その成績は上述の通り、全く WARREN らの報告と一致して、MIC 以下の低濃度を作用させた場合、NF-PC は MCI-PC よりも強い影響を、以後の Lysozyme 溶菌に及ぼすことを確認し得た。しかし MIC より高い濃度に両 PC を加えると、Lysozyme 作用を全く同程度に受けて、共に強い溶菌を来たしており、この NF-PC と MCI-PC の作用の差は、MIC 以下の低濃度域に限ることが知られたのである。

さてこのような NF-PC と MCI-PC の作用の差が、果して臨床的にも意義のあることか否かに関しては、種種の見解があり得ると思う。すなわち MIC 以下の低濃度においてのみ差があるということでは、臨床に用いた場合に得られる血中濃度の高さから考えて、無意味にも思われよう。しかし私共は、個々の病巣の性状、あるいは

病巣内の病原細菌の位置によつては、投与された薬剤と起炎菌が接触し難い条件が多く存在していると考ええる。それ故にこそ、細菌が薬剤に感受性を保ちながら、しかも病巣内に生残する Microbial persistence と呼ばれる現象があるわけで、この事実を考えると、MIC 以下の濃度において、生体の非特異的抵抗因子、たとえば、Lysozyme などによる溶菌作用に影響を与えることが大きいというのは、決して無視出来ない点と思われるのである。感染症ことに慢性感染症の治療は、化学療法剤の力にまつことも大きい、究極的には生体の防御機転に負わねばならない。NF-PC とイソキサゾリール系 PC の差は、極めて小さいものではあるが、臨床的にも興味のあることといえよう。なお私共は NF-PC をブ菌感染症に投与した症例を、わずか2例しか経験していない。表3に示した通り、共に肺結核の混合感染例であるが、菌の陰性化と症状の軽快を見ている。しかしなお NF-PC の臨床効果を云々し得るほどの経験ではないので、詳述は避けたい。

8. 摘 要

NF-PC は試験管内において、MCI-PC または MDI-PC と同程度、あるいは多少すぐれたブ菌発育阻止作用を示し、またこれらとほぼ同程度の、強いブ菌殺菌効果を有している。NF-PC 筋注後の血中濃度は、MCI-PC 注射後より低い例が多かつた。

しかしこれらの血清も強いブ菌殺菌作用を示した。NF-PC を MIC 以下の濃度において、ブ菌に作用せし

表3 NF-PC 投与症例

A) 症 例

No.	氏名	性	年齢	臨床診断	原因菌	投与量	日数	総量	臨床効果	細菌学的効果	副作用
1		♀	42	肺結核の混合感染	<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase(+)	250mg × 4	10	10g	有効	有効 (陰性化)	なし
2		♂	55	肺結核の混合感染	同上	同上	6	6g	有効	有効 (陰性化)	なし

B) 細菌の推移

No.	原因菌	検査材料	検査時間	菌数	MIC(μg/ml)
1	<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase (+)	痰	治療前	+20	0.39
			5日後	—	/
			終了前	—	/
2	同上	痰	治療前	++	0.78
			終了時	—	/

めると、Lysozyme によるブ菌の溶菌現象を促進することが認められ、この影響は同濃度の MCI-PC によるよりも強く、また MIC の 2 倍または 4 倍の濃度で作用した場合は、NF-PC と MCI-PC の間に差を認めなかった。

NF-PC によりブ菌感染症 2 例を治療し共に菌の消失を来した。

本論文の概要は、第18回日本化学療法学会総会（昭和45年6月、岡山）で報告した。

引用文献

- 1) ROSENMAN, S. B. & G. H. WARREN: *Antimicrob. Agents & Chemoth.*—1962: p 369~378
- 2) KLEIN, J. O. & M. FINLAND: *Amer. J. Med. Sc.* 246: 10~26, 1963
- 3) MARTIN, C.M; P.A. NUCCIO, D.F. GRAY, I. BERNSTEIL, N.C. WELB, S.B. ROSENMAN & G.H. WARREN: *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1963: p 299~304
- 4) 日本化学療法学会効果判定基準研究会 MIC 小委員会, *Chemotherapy* 16: 98~99, 1968
- 5) WARREN, G.H. & J. GRAY: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120: 504~511, 1965

STUDIES ON ANTISTAPHYLOCOCCAL ACTIVITY OF NAFICILLIN

YUZO KAWAMORI and NATSUO NISHIZAWA

Senboku National Hospital

This is to study an antistaphylococcal activity of Naficillin (NF-PC) comparing with isoxazolyl-penicillins. The results were obtained as follows:

- 1) The growth of staphylococci was inhibited with NF-PC in the same or somewhat smaller concentrations as those of MCI-PC or MDI-PC.
- 2) NF-PC showed bactericidal effects against staphylococci at the same grade as isoxazolyl-penicillins.
- 3) The sera obtained one hour after intramuscular injectin of NF-PC showed bactericidal effects against staphylococci, while the concentrations of the drug were slightly lower than those after the administration of MCI-PC.
- 4) NF-PC accerelated the lytic action of lysozyme on staphylococci. The effect was more distinctly shown in NF-PC than MCI-PC at the half level of minimal inhibiting concentrations, and was almost the same at the level of two or four times of MIC.
- 5) Two cases of minor staphylococcal infections were treated successfully with NF-PC.