

マウスのブドウ球菌皮下膿瘍の erythromycin による治療効果に  
影響を及ぼす因子について

相 川 清・和田みづる

日研化学株式会社研究部

(昭和 48 年 1 月 25 日受付)

ブドウ球菌皮下感染により生じる膿瘍を感染のモデルとして、抗菌性物質のスクリーニングをおこなおうとするところみは、既に大衛ら<sup>1)</sup>により報告されている。マウス生体とブドウ球菌(以下、ブ菌)の間で単に膿瘍形成という1つの現象をみても、その膿瘍の状態を左右する原因として、生体側には週令、過敏状態を含めて種々の要因があり、菌側にもその生物学的性状におけるいくつかの性質等が関与していることは、既に衆知のところである<sup>2-6)</sup>。このような種々の関連の上に形成される膿瘍に、さらに抗菌薬の作用が加わった場合、その膿瘍の状態にどのような変化が生じるかを知っておくことは、この方法を用いて抗菌薬の効果を判定しようとする場合まず必要なことである。そこで、このたびは膿瘍形成と接種菌量、投与時間等の関係について検討をおこない、2, 3の成績を得たので、これについて報告する。

実験材料および方法

使用菌株、動物および薬剤

実験には *Staphylococcus aureus* 226 株、および 4~5 週令の雄性 ddY-SLC マウス(体重約 20 g)を用いた。Erythromycin 塩基(以下、EM)は市販錠剤(Japan Upjohn 社)から抽出、精製した力価 970 mcg/mg の結晶を用いた。

使用菌株の EM 感受性

Trypticase Soy Broth(BBL 社)(以下、TSB)および Heart Infusion Agar(BBL 社)(以下、HIA)を用い、日本化学療法学会標準法<sup>7)</sup>に従がい平板希釈法により最小発育阻止濃度(MIC)を求めた。

マウスにおける血中濃度

EM を 0.5% CMC に懸濁し、0.2 ml/10 g b. w. の容量でマウスに経口投与した。投与後 0.5, 1, 2, 3, 6 時間ごとに各 7 匹の動物の頸動脈から採血し、血清を分離したのち混合し、薄層寒天培地を用いてカップ法により血清中濃度を測定した。標準曲線は薬剤をマウス血清により希釈したものをを用いて作成した。

皮下膿瘍治療実験

Trypticase Soy Agar(BBL 社)(以下、TSA)に 37°C 20 時間培養した菌苔を掻き取り、滅菌生理食塩水に懸濁し、光電比色計を用いあらかじめ作成した標準曲線か

ら所要の濃度の菌液を作り、これをマウスの背側皮下に 0.1 ml 接種した。接種菌量は  $10^{8.5}$ ,  $10^{8.0}$ ,  $10^{7.5}$  および  $10^{7.0}$  とした。

薬剤は 0.2 ml/10 g b. w. の容量でそれぞれの濃度を投与できるよう 0.5% CMC に懸濁調製した。薬剤濃度は 1,000 mg/kg b. w. を最高濃度とし公比  $\sqrt[3]{10}$  で遞減した。対照群には希釈に用いた 0.5% CMC を同様に投与した。投与時間は菌接種 1 時間前、菌接種直後および菌接種 2 時間後の 3 群とした。

菌接種 48 時間後に動物をエーテルで殺し、剥皮し、炎症の状態を肉眼的に観察した。次で膿瘍の長径とこれに直交する径をノギスで計測し、これを加算し 1/2 としたものを膿瘍の大きさの指標とした(以下、膿瘍径とする)。動物は各群について 10 匹以上を用いた。

実験成績

使用菌株の EM 感受性

TSB で 37°C 24 時間培養した培養液そのまま(約  $10^9$  cells/ml)、およびこれを生理食塩水で 10 倍系列希釈した菌液を接種用菌液として、所定どおり作成した HIA 平板上に塗抹し測定した MIC 値を Table 1 に示す。すなわち、接種菌量の大きい変化にもかかわらず MIC 値の変動は極めて少なく、安定した値を示していた。

マウスにおける EM の血中濃度

マウスに対し EM 460 mg/kg, 100 mg/kg を経口投与した場合の血中濃度の推移を Table 2, Fig. 1 に示す。両投与例とも最高血中濃度は投与 1 時間後にみら

Table 1. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* 226 to erythromycin

Number of cells per ml	MIC (mcg/ml)
$10^9$	0.78
$10^8$	0.39
$10^7$	0.39
$10^6$	0.20
$10^5$	0.20
$10^4$	0.20

Trypticase soy broth (BBL)  
Heart infusion agar (BBL)

Table 2. Blood levels of erythromycin in mice following a single oral administration

Dose(mg/kg)	Blood level (mcg/ml)				
	0.5	1	2	3	6 Hours
460	8.0	9.7	7.2	3.8	1.4
100	0.6	1.9	0.74	0.35	0.08

Fig. 1 Blood levels of erythromycin in mice following a single oral administration

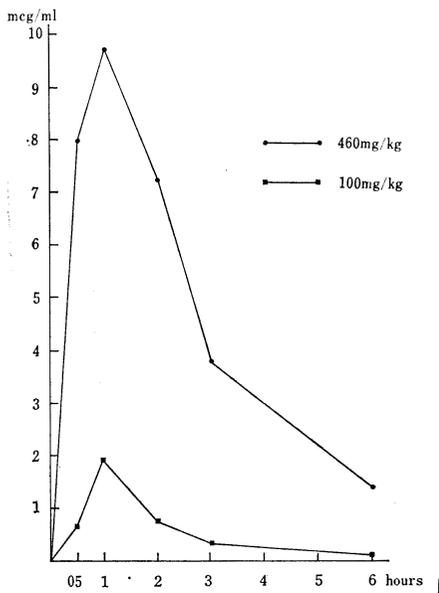


Fig. 2 Staphylococcal subcutaneous abscess and erythromycin treatment

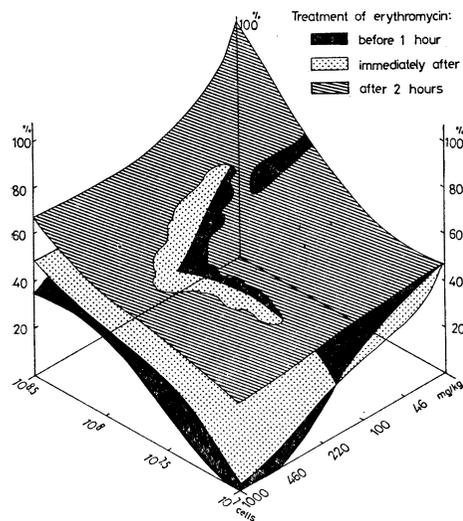


Fig. 3 Effect of erythromycin against staphylococcal subcutaneous abscess : erythromycin dose and size of abscess

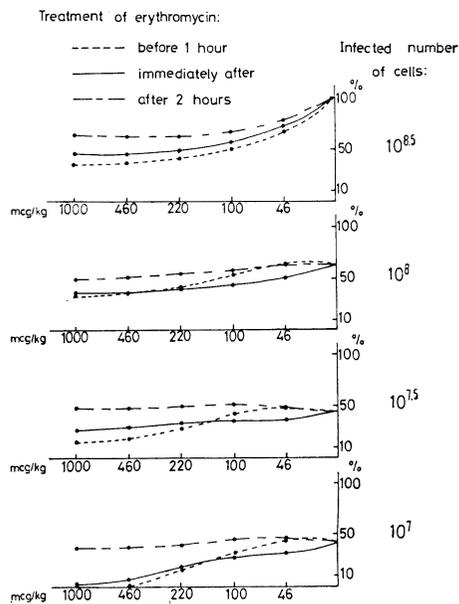


Fig. 4 Effect of erythromycin against staphylococcal subcutaneous abscess : infected cell number and size of abscess

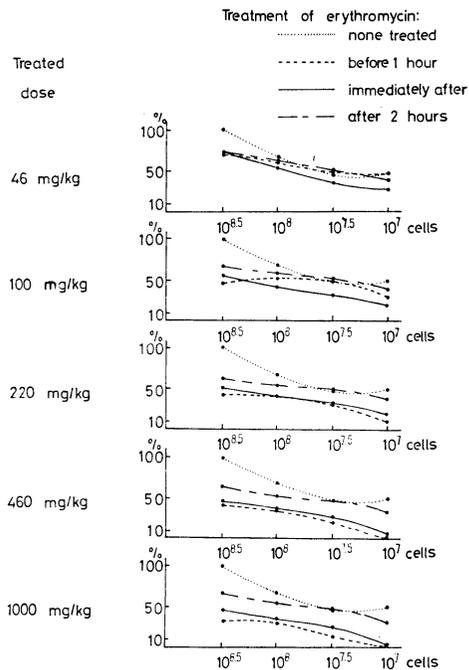


Table 3. Effect of erythromycin against staphylococcal subcutaneous abscess

Treatment	Dose(mg/kg)	Size of abscess (%)			
		10 <sup>8.5</sup> cells	10 <sup>8</sup> cells	10 <sup>7.5</sup> cells	10 <sup>7</sup> cells
None		100	67.76±3.26	46.56±1.96	46.88±1.27
Before 1 hour	46	67.52±2.33	65.50±4.31	48.00±1.69	45.00±4.08
	100	49.30±3.69	50.32±4.78	46.50±2.48	31.50±5.38
	220	44.27±4.67	40.53±3.95	30.00±5.10	17.50±5.43
	460	40.74±3.51	38.23±3.00	20.00±4.25	0
	1000	35.08±8.13	34.39±2.45	15.84±4.76	0
Immediately after	46	74.81±5.15	54.69±6.08	38.24±2.79	31.50±5.48
	100	57.69±5.54	43.98±4.60	36.50±5.60	26.01±7.00
	220	50.77±2.69	40.50±4.75	34.64±1.74	20.72±5.37
	460	47.68±4.44	38.20±4.58	28.12±5.55	7.39±5.00
	1000	49.46±2.19	35.42±2.52	28.70±1.59	3.79±3.79
After 2 hours	46	75.35±4.73	63.35±2.46	52.50±3.35	46.91±2.10
	100	67.83±2.58	57.39±3.05	53.56±3.31	44.50±3.19
	220	66.07±2.45	55.00±3.15	52.00±3.29	42.00±1.73
	460	67.67±2.86	52.50±3.08	49.00±3.10	40.61±2.41
	1000	67.01±2.50	50.40±2.71	48.79±3.65	38.14±2.00

れ、投与量にはほぼ比例した最高値を示した。また血中からの消退も投与量の増加にしたがい遅延し、100 mg/kg 投与群では2時間後すでに有効濃度の限界にあるようであるが、460 mg/kg 投与群では6時間後においてもなお明らかな有効濃度を維持していた。

#### 皮下膿瘍治療実験

10<sup>8.5</sup> の菌を接種し EM 処置をおこなわなかつたマウス群の平均膿瘍径を100%とし、その他の接種菌数については10<sup>8.5</sup> の膿瘍径に対する百分率で表現し、その平均値と標準誤差を求め、次に各投与量、投与時間別に同様にして値を求め、これをTable 3, Fig. 2に示す。さらにFig. 2を接種菌量の線でそれぞれ截つたものをFig. 3に、投与量の線でそれぞれ截つたものをFig. 4に示す。

これらの成績において明らかなように、膿瘍の大きさは接種菌量の減少に従がい急激に縮小して来るが、10<sup>7.5</sup> と10<sup>7.0</sup>の間では大きな差異が認められない。この膿瘍に対するEMの作用は必ずしも一様ではなく、10<sup>8.5</sup>の膿瘍においてはEMの各投与量とも前処置、直後処置、後処置の順に効果が減退して来る。10<sup>8.0</sup>の膿瘍においては高濃度のEM投与では前者と同様の傾向を示すが、低濃度群では直後処置、後処置、前処置の順に効果の減退がみられるという結果を示している。そして、10<sup>7.5</sup>および10<sup>7.0</sup>の膿瘍においても10<sup>8.0</sup>の場合と同様の傾向を示しているが、EMの低濃度群では直後処置、前処置、後処置の順に効果が減退している。またさらに、10<sup>7.5</sup>の後処置ではすべてのEM投与群で全く膿瘍の縮小を認めないという結果を示している。

このように、接種する菌量と、投与するEM濃度と、その投与する時期により膿瘍の大きさはかなり複雑に変動することが明らかとなつた。

#### 考 察

ブ菌の接種菌量と膿瘍径の関係についてはすでにいくつかの報告がある<sup>2-4,6)</sup>。ここに得られた成績もすでに述べられた成績をほぼ再現しているものと考えられるが、膿瘍の径でみるかぎり、菌数10<sup>7.0</sup>、10<sup>7.5</sup>の間では大きい差異は認められない。しかし、この限界を越えて10<sup>8.0</sup>あるいは10<sup>8.5</sup>と接種菌数が増えた場合、膿瘍は直線的にその径を増大している。徳重の報告<sup>6)</sup>によると、黄色ブ菌の炎症反応の特徴が良く表現されるのは比較的接種菌数の少ないところであると言う。このことを含め考えた場合、ブ菌感染により生体側で生じる防禦反応にはある点に限界があり、その限界を越えた場合、少ない菌数で生じる膿瘍とは質的に異なつた型での膿瘍の形成が進行して来るものと推定される。そして、この実験では10<sup>7.5</sup>接種の点が生体反応の限界にあつているものと考えられる。MICの成績が示しているように、EMの場合そのMIC値は菌数の影響を大きく受けずほぼ一定した値を示しているところから、血中濃度(より正確にはその局所における薬剤濃度を考えるべきであろう)と効果の関係を直接的にむすびつけて考える上には都合が良い。この実験条件下における血中濃度についてはその成績をTable 2およびFig. 1に示したが、100 mg/kg投与では有効濃度の維持は投与後約2時間程度と推定される。いつぼう、460 mg/kg投与では投与後6時間以

降まで有効濃度の持続がみられている。これらのことを前提として EM の膿瘍に及ぼす作用を考えてみると、膿瘍の径の上にもみられたかなり複雑な変動をある程度説明することが出来る。 $10^{8.0}$  以下の菌数を接種した際の前処置と直後処置の間にみられる面の交叉について考えてみると、EM の高濃度投与においては前処置のほうが、薬剤の効果が顕著にあらわれるが、薬剤濃度の低い点では同時投与がむしろすぐれた結果を示している。これは菌の接種がおこなわれる時点の血中濃度とその有効血中濃度の持続時間、とくに後者にその原因があるように考えられる。次に、後処置群が他の処置群に比して効果が少ないことについては、投薬後 EM が有効濃度に達する以前に、つまり菌接種後ごく初期に、膿瘍形成への反応がすみやかに進行していることをものがたつていようように思える。そして後から投薬され血中で有効濃度に達した EM の作用は、すでに形成されつつある膿瘍壁や炎症産物の障壁で炎症局所には充分到達しなかつたり、あるいはまた、この反応の進行を有効血中濃度が持続する間停滞させることにとどまるようである。菌が接種されたごく初期に膿瘍形成の反応がすみやかに進行していることは、 $10^{7.0}$  接種群の前処置の高濃度の点で膿瘍の形成が生じないのにかかわらず、同用量の直後処置ではすでに膿瘍の形成が認められているところをみても明らかかなところであろう。ここで他の接種群とややおもむきを異にしている  $10^{8.5}$  接種群についてみると、前処置群が低濃度であつても最も効果をあらわしている。そしてこの最低用量における膿瘍の径は  $10^{8.0}$  の菌を接種し EM 処置をおこなわなかつたものの膿瘍にはほぼ一致している。このような所見から、菌量のひじょうに多い場合の膿瘍形成の反応は、前にも述べたが、菌数の少ない場合と質的に異なり、生体の防禦機構による抑制をうけることなく、ひじょうに急速に進行するものと推定される。そして、EM による処置はたとえそれが極く低濃度の場合であつても、この進行のある点をわずかなりとも抑制するのであろう。そしてこのわずかの差異がこのよう大きな膿瘍径の差、すなわち、効果として表現されているものと考えられる。この場合と逆に、生体の防禦機構のバランスの限界点と考えた  $10^{7.5}$  の点では、後処置群の効果が著明でなくむしろ膿瘍増強の傾向を示し、直後処置群および前処置群の効果も他の菌量接種群ほど明瞭でなかつた事実も注目する必要がある。

この一連の実験を通して、MIC 値が菌数にかかわりなく安定し、また血中濃度の経過も dose dependent で安定している EM を媒体として、ブ菌によるマウスの皮下膿瘍形成を考えてみた場合、菌と生体との相互作用を或る程度浮彫りにすることが可能となつて来る。そし

てこのことは、逆に、ブ菌による皮下膿瘍を対象として、これにまつわる抗菌薬の効果を評価しようとする場合、常に考慮に入れておかなければならない前提であるとも考えられる。このような前提に立つて、ブ菌皮下膿瘍を抗菌薬の効果判定の手法とするならば、その抗菌薬についてかなり明瞭な評価をおこない得るであろう。

#### 結 語

マウスのブドウ球菌皮下膿瘍形成条件とこれに対する erythromycin 治療との関係を接種菌量、投与量、投与時間などの要因を変えて観察した。そして、薬剤の膿瘍縮小効果は上述の諸要因によつて一定の傾向を示さず、かなり複雑な様相を示すことを認めた。

1. 大量の薬剤投与の場合には、菌接種前投与が最も有効である。
2. 少量の薬剤投与の場合には、むしろ菌接種直後投与が有効のようであり、これは血中の有効濃度を維持している時間帯に関係するようである。
3. 菌接種後時間を経て後の薬剤投与は、投与量の如何にかかわらず効果は明瞭ではない。
4. 大量菌 ( $10^{8.5}$ ) 接種の場合の膿瘍形成反応は、接種菌量が少ない場合と異なるようであり、これにともない薬剤の効果もおのずと異なつた表現をしているようである。

以上の諸点についてそれぞれ考察を加えた。

本研究に際し種々御指導を賜りました横浜市立大学医学部細菌学教室 田所一郎教授に深甚の謝意を表します。

#### 文 献

- 1) 大藪 卓, 矢野邦一郎: マウス皮下感染を利用する抗菌性物質のスクリーニング。モダンメディア 13: 121~126, 1967
- 2) 田所一郎: ブドウ球菌のマウス皮下感染実験法。モダンメディア 13: 110~118, 1967
- 3) 田所一郎, 森田茂男: 黄色ブドウ球菌のマウス皮下病変について。最近医学 19: 2799, 1964
- 4) 田所一郎, 森田茂男: ブドウ球菌のマウス皮下膿瘍形成に対する各種代謝産物および免疫の影響について。日本細菌学雑誌 20: 450, 1965
- 5) 徳重隆幸: ブドウ球菌特に表皮ブドウ球菌の膿皮症における病原性に関する研究。日本皮膚科学会雑誌 79: 202~213, 1969
- 6) 徳重隆幸: ブドウ球菌特に表皮ブドウ球菌の膿皮症における病原性に関する研究。日本皮膚科学会雑誌 79: 249~273, 1969
- 7) 日本化学療法学会効果判定基準研究会, MIC 小委員会: 最小発育阻止濃度測定法の標準化について。Chemotherapy 16: 98~99, 1968

SEVERAL FACTORS AFFECTING ON THE TREATMENT  
OF SUBCUTANEOUS ABSCESS IN MICE BY  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* WITH ERYTHROMYCIN

KIYOSHI AIKAWA and MIZURU WADA

Department of Research, Nikken Chemicals Co., Ltd.

**Summary**

The effect of erythromycin for the subcutaneous abscess in mice caused by *Staphylococcus aureus* was examined by varying several factors, the number of infected cells, the dose, and the time of administration, and it was revealed that the effect of the drug for abscess formation was affected by the above factors, assuming a very complicated aspect, which are summarized as follows :

1. On large dose, the administration before infection is the most effective.
2. Administration of small dose seems to be effective immediately after infection, and the effect may be related to the time sustaining effective level in serum.
3. Administration after infection is not so effective regardless of the dose.
4. The abscess formation by large number cells infection ( $10^{8.5}$ ) seems to be different in nature from that by small number cells infection, and consequently the effect of the drug may be differently observed according to the amount of bacteria infected.

The above each point was discussed in this paper.