

Cephacetrile の基礎的及び臨床的検討

石 引 久 弥

川崎市立井田病院手術部

慶応義塾大学医学部外科学教室

栢 田 隆 治

川崎市立井田病院研究検査部

7-ACA の新しい合成誘導体である Cephacetrile¹⁾²⁾ (以下 CEC) の一般消化器外科領域における感染症に対する適応を検討するため、基礎的及び臨床的研究を行ったので報告する。

1) CEC の体液内濃度

CEC 投与後の体液内濃度測定にあたっていくつかの検討を加えたが、測定法は普通寒天(日水)に *B. subtilis* PCI-219 芽胞を 10^6 /ml に混釈したものを使用した薄層 cup 法である。

CEC, 50, 10, $1.0\mu\text{g/ml}$ 3 濃度の pH7.0, M/15 phosphate buffer solution (以下 p. b.) についてみると、 4°C 3 週間で力価は不変、 55°C 30分 でやや低下、室温 3 週間放置では著しい低下がみられた。同濃度のヒト血清及びヒト胆汁 p. b. 5 倍希釈液は 4°C 3 週間で力価の低下は認められなかった。なお、ヒト血清と p. b. との阻止帯の大きさには相異はなかった (Fig. 1)。ヒト胆汁の影響をみたところ、胆汁原液ではそれ自体の阻止帯が出るが、CEC $2.5\mu\text{g/ml}$ の濃度では胆汁による不活性化のためか、阻止帯は小さくなった。pH7.0 p. b.

で 4 倍に希釈すると pH も 7.0 になると共に、胆汁による阻止帯は消失し、CEC の示す阻止帯の大きさも安定した。そこで、胆汁中濃度測定に際しては検体を p. b. で 5 倍希釈を行なうこととした (Fig. 2)。

外科領域では術後感染予防を目的とした術中投与を行なうことが多いので、その裏づけともなる全麻下術中の血清中濃度を測定した。腹部手術 9 症例 (47~72 歳, 体重 44~66 kg) に CEC $1\text{g}/20\text{ml}$ 生食水溶液を GOF 麻酔下, 加刀前にゆっくり静注した。投与後 30 分では 12~58, 平均 $41.8\mu\text{g/ml}$, 60 分では 10.5~27, 平均 $19.9\mu\text{g/ml}$ であった。このうち 1 例は 20 分 125, 30 分 58, 90 分 $35\mu\text{g/ml}$ と最も高い値を示した (Fig. 3)。

胆石症手術を行なった 6 症例に、CEC 1g 静脈内投与 30 分後における血清, 胆嚢胆汁, 総胆管胆汁を術中に採取し濃度を測定した。胆嚢胆汁中濃度は $0.3\sim 8.5\mu\text{g/ml}$ で血中濃度の約 $1/10$ 以下であった。胆嚢管の完全閉塞を示す "White gall" を認めた症例でも血中の 0.14 倍の濃度が証明された。総胆管胆汁中濃度は $5.0\sim 80\mu\text{g/ml}$ であったが、胆嚢管の閉塞が確認または疑われた 3 症例では血中濃度以上の値を示した。また、胆嚢

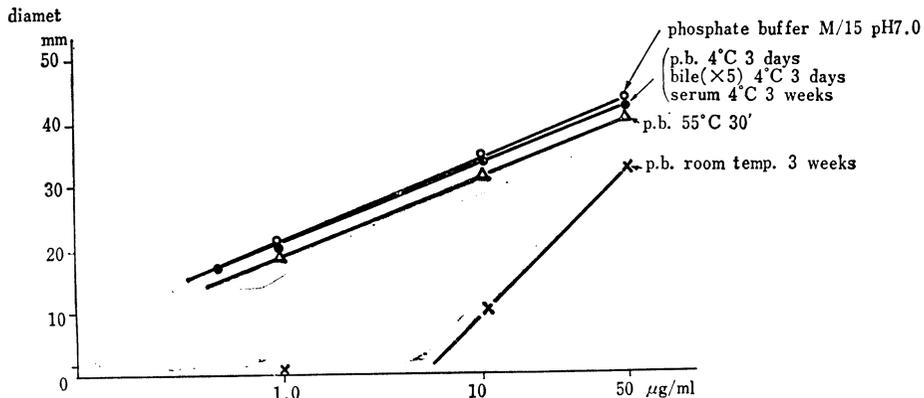
Fig. 1 Effect of storage on CEC solution (Thin layer cup method *B. subtilis* PCI-219)

Fig. 2 Effect of dilution with phosphate buffer on bile level of CEC (Thin layer cup method, *B. subtilis* PCI-219)

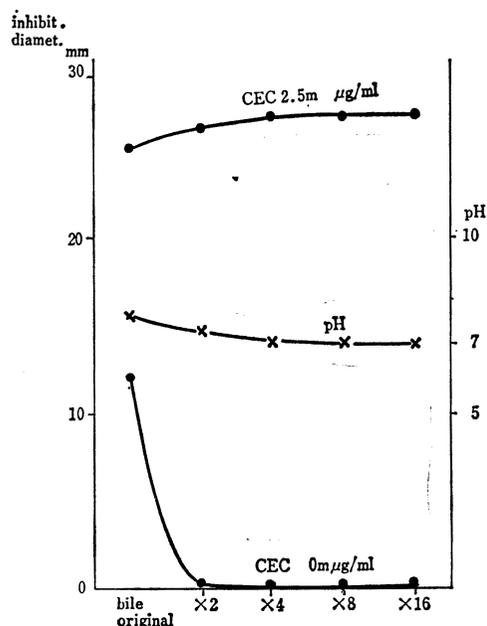


Fig. 3 Serum level of CEC after 1.0 g i. v. administration (Thin layer cup method *B. subtilis* PCI-219)

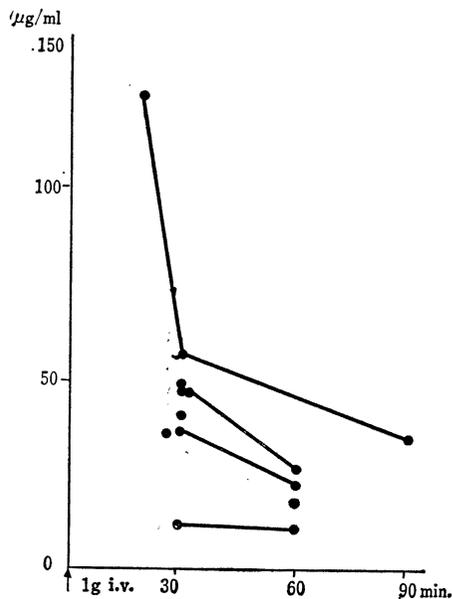


Table 1 Serum and bile levels of CEC
CEC 1.0g/20ml saline one shot i. v.

Case	Patency of cystic duct	Serum level after 30 min. $\mu\text{g/ml}$ (1)	Bile level, $\mu\text{g/ml}$		Ratio		
			Gallbladder (2)	Common duct (3)	(2)/(1)	(3)/(1)	(3)/(2)
1.	(+)	38	0.3	5.0	0.008	0.13	16.6
2.	(-) White gall	12	1.7	15.5	0.14	1.29	9.1
3.	(+)	48	2.1	25	0.04	0.52	11.9
4.	(+)	38	0.3	5.0	0.008	0.13	16.6
5.	(?) Sand	50	0.7	7.0	0.01	0.14	10.0
6.	(?) Cystic stone	58	8.5	80	0.14	1.39	9.4

胆汁と総胆管胆汁中濃度の比をとると、胆嚢管閉塞が手術によって確認または強く疑われる症例では、その値は10以下、閉塞のない場合は10以上であった (Table 1)。このことから CEC 投与後の胆嚢胆汁中への移行は、少くとも30分においては、総胆管胆汁経由より胆嚢粘膜経由のものが主体をなすと考えられる。なお、胆嚢管閉塞例では総胆管胆汁中濃度比からみると、開存例より胆嚢胆汁移行はかえって良好とみることも出来る。

CEC 筋注時の総胆管胆汁中への移行を、胆石症で胆

嚢摘出術を行ない T-tube を留置した72歳男子症例で検討した。本剤 1g 筋注後、血中には1時間9.0、2時間7.2、4時間1.1、9時間0 $\mu\text{g/ml}$ 、胆汁中には1時間0.5、2時間1.9、3時間0.9、4時間0.5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で認められた (Fig. 4)。

2) 血中 CEC の電気泳動特性の検討

抗生物質の血清蛋白結合は分布、代謝、作用機序等に関連をもつものと考えられ、種々の結合度測定法と解釈

Fig. 4 Serum and bile levels of CEC
18 p. o. d. after cholecystectomy for gallstone
bile samples collected through T tube
72 y. m. 1.0 g i. m.

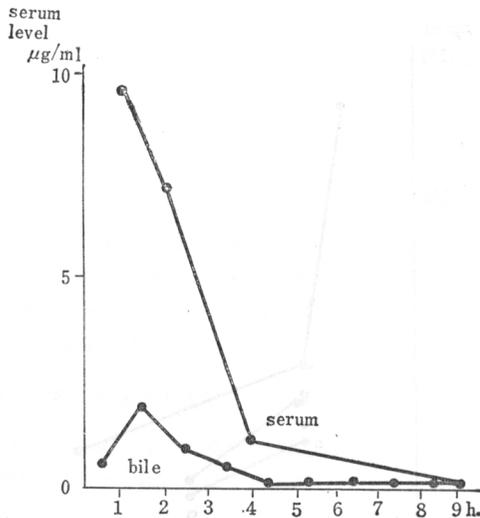
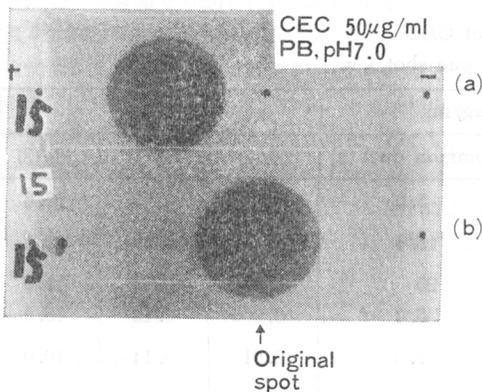


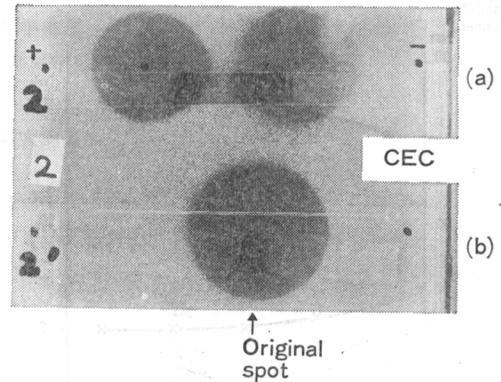
Fig. 5 Bioautogram before (b) and after (a) electrophoretic examination of phosphate buffer solution of CEC



が行ななわれている³⁾。我々は抗生物質投与後のヒト血清を電気泳動し、bioautogram から抗生物質の易動特性⁴⁾をとらえ、同時に血清蛋白分画⁵⁾、特に Albumin のそれとの比較によって蛋白結合特性を抗生物質の荷電性の面から検討を行なっている⁶⁾。

CEC, 1g/20ml 生食水溶液をゆっくり静注し、循環血液との mixing time を考慮して15分後に採血した。血清 10 μ l を長さ 6.2cm の cellulose acetate film (Ceparax) の陰極側40%の位置に 4cm の線状に塗布、M/15 pH7.0, p. b. を用い 1mA/cm (100 V/6cm) の定電流で30分間泳動した。泳動終了後、film を泳動軸に

Fig. 6 Bioautogram before (b) and after (a) electrophoretic examination of human serum taken 30 min. after administration of CEC (Case 1)



平行に 5mm 幅に切断、中央部 strip 1本を *B. subtilis* PCI-219 を指示菌とした薄層寒天平板上に重畳、4°C 6時間拡散後 37°C 12時間培養して autobiogram を作製、出現した spot の中心位置、阻止帯直径を計測した。他の1本の strip は3%アミドブラック・酢酸：エタノール (1:9) 液で染色後、Beckman-Microzone densitometer R-110により densitometry を行ない、各蛋白分画のピーク位置を測定した。同一処理のうち通電しないものを各検体のコントロールとした。

CEC, 50 μ g/ml, p. b. 溶液では抗菌 spot は原点よりの泳動距離 (s) 17mm, 直径 (d) 22mm であり、泳動しないコントロールの spot 直径 (D) は 20mm であったので、泳動処置による CEC の力価は低下しないものと考えられた (Fig. 5)。

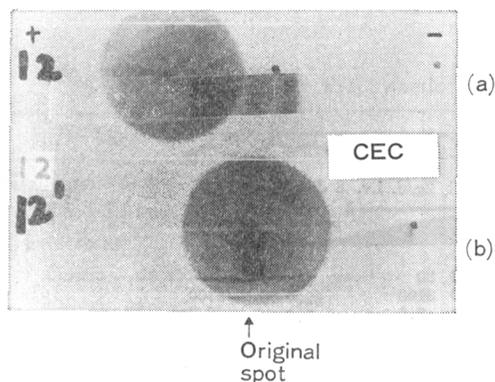
症例1より得た3検体の CEC 濃度は経時的に変化しているが、s は平均 20.0mm であった。しかし、p. b. 溶液と異なる副 spot が s' 平均 -5.3mm (陰極側) で出現した (Fig. 6)。この場合の Albumin の位置 (Alb.) と γ -Globulin の位置 (γ -G) は夫々、平均 9.3, -7.6mm で、これらと s, s' の相対易動度 s/Alb, 平均 2.1 s'/Alb. 平均 -0.57 となり、Albumin 及び γ -Globulin 分画と CEC の2つの spot は一致しなかった。なお2個の spot の直径 d, d' の間には一定の傾向なく、共に泳動しないコントロールの D と同値以下であった。他の5症例からの9検体では上記のような副 spot は出現しなかった (Fig. 7)。これらでは、s, 18~20, 平均 19.2mm, Alb. 11~15, 平均 12.6mm, γ -G, -1~-3, 平均 -2.3mm, s/Alb. 1.2~1.8, 平均 1.5 となり、d は1検体以外 D 以上の値を示した (Table 2)。

以上の成績から、電気泳動上は CEC と血清 Albumin

Table 2 CEC bioautogram and serum protein fractions by electrophoresis

Case (Sampling time min.)	Serum level ($\mu\text{g/ml}$)	Bioautogram					Fraction		s/Alb.	s'/A b.
		s (Main spot) (mm)	d (Diamet.) (mm)	s' (Sub-spot) (mm)	d' (Diamet.) (mm)	D (Control) (mm)	Alb. (mm)	γ -G (mm)		
1. (20) (30) (90)	125	21	16	-5	18	24	10	-6	2.1	-0.50
	58	20	18	-5	20	24	9	-9	2.2	-0.55
	35	19	20	-6	20	20	9	-8	2.1	-0.66
Ave.		20.0		-5.3			9.3	-7.6	2.1	-0.57
2. (30)	42	23	22			22	13	-3	1.7	
3. (30) (50)	50	19	18			16	13	-1	1.4	
	27	20	18			18	13	-1	1.5	
4. (25) (60)	28	20	20			18	11	-3	1.8	
	23	20	16			12	11	-3	1.8	
5. (25) (30)	37	17	14			14	15	-3	1.2	
	29	18	14			14	12	-3	1.5	
6. (25) (30)	48	18	24			24	13	-2	1.3	
	48	18	14			16	13	-2	1.3	
Ave.		19.2					12.6	-2.3	1.5	
M/15 phosphate buffer pH 7.0, 50		17	22			20				

Fig. 7 Bioautogram and before (b) and after (a) electrophoretic examination of human serum taken 30 min. after administration of CEC. (Case 6)



分画とは分離証明されているが、本剤の蛋白結合は極めて少ないのか、電気泳動によって分解する可逆的結合であるなどの可能性がある。今回の方法では濃度測定精度、再現性に問題があるが、この点が改良されるとこの分野の解析は進行すると考えられる。しかし基本的には蛋白結合成分は抗菌活性をもたないという考えかたにも問題点もあるように思われる。また、1症例でみられた副spotは脱アセチル、脱アセチルラクトン体などの中間代

謝体であるか確認していないが、CERでは泳動用bufferのpHが7.0の場合にのみ2個のspotが出現⁶⁾しているので実験条件の検討も必要であろう。

3) 臨床効果の検討

外科的感染症5例にCECを筋肉内または静脈内投与し、細菌学的検索と共に臨床経過を観察した。本剤投与開始後、外科的処置の有無にかかわらず、感染症に対する自覚的症状、細菌学的検索上の改善あったものを有効とし、それらが不変または、増悪した場合を無効と判定した (Table 3)。

軟部組織感染症は3例で、*Staph. aureus*による右急性化膿性乳腺炎、臀部膿瘍各1例、*E. coli*による術後感染創1例である。いずれも排膿処置を行なっているが、CEC、1~2g/日、5~8日間投与で有効と判定された。

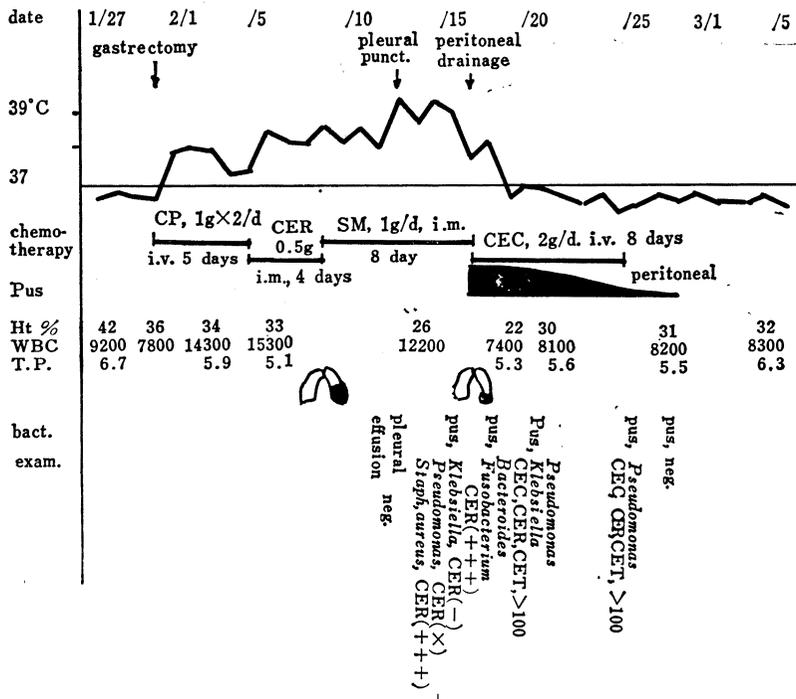
消化器手術後の横隔膜下膿瘍は2例であった。

症例4 50歳男子。胃・12指腸穿通性潰瘍のため胃切除、B-II吻合を行なった。術後CP、CERを投与したが、38°C以上の発熱が持続し、左胸水貯留を認めた。肺結核を疑いSM投与に変更したが解熱せず、胸水、喀痰から結核菌は証明出来なかった。その後上腹部の圧痛、筋性防禦を認め、手術創部に発赤、腫脹を来したので術後17日目に手術創を開放したところ、腹腔内より大

Table 3 Clinical effect of CEC

Case	Clinical diagnosis	Bact. exam.	CEC	Effect	Remarks
O. Y., 25, f. #74-00615	R. acute mastitis (induration 5 cm diam., abscess 3 cm diam., r. axell lymphadenitis)	<i>Staph. aureus</i> PC-G, ABPC, EM, SM, TC, CP, KM, CER (##)	1.0g/d.i.m. ×5 days	+	Incisional drainage WBC 10600→6800
O. Y., 45, f. #73-02703	Subcutaneous abscess, R. buttocks. (induration 4 cm diam., abscess 3 cm diam.)	<i>Staph. aureus</i> CEC CER CET 0.78 0.39 0.39	2.0g/d.i.v. ×8 days	+	Gastric ca. post-op. MMC, FU, steroid treat. Incisional drainage WBC 7900→3400
Y. T., 36, m. #71-03124	Wound infection, abdominal	<i>E. coli</i> ABPC, CP, KM, CER, CL, GM, (##) SM, (+) TC, (-)	1.0g/d.i.m. ×5 days	+	Ileocecal resection, 7 pod, drainage WBC 10000→7900
M. T., 50, m. #74-00165	Postoperative subphrenic abscess, 1 exudative pleurisy	<i>Staph. aureus</i> CEC CER CET 1.56 1.56 0.78 <i>Pseudomonas, Klebsiella</i> CEC CER CET >100 >100 >100	2.0g/d.i.v. ×8 days	+	Gastroduodenal ulcer post-op, Hypoproteinaemia Subphrenic drainage
S. M., 77, f. #74-00771	Postoperative subphrenic abscess. Wound infection	<i>E. coli</i> (bile, ascites) ABPC, CP, SM, KM, GM, CL, CER, TC, (##) <i>Pseudomonasaeruginosa</i> SM, KM, CL, GM, (##) TC, CP, (+) ABPC, CER, (-)	1.0g/d.i.m. ×9 days 2.0g/d.i.v. ×8 days	+	Acute cholecystitis Gallstone post-op. Jaundice*, I.I. 50 u

Fig. 8 No. 74-00165 M. T. 50 y., m. postoprative subphrenic abscess (post-gastrectomy)
1. exudative pleurisy



量の排膿があった。膿より *Staph. aureus* (CEC:MIC, 1.56 μ g/ml), *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* (CEC:MIC, >100 μ g/ml) を分離した。本剤 1g \times 2/日静注を開始, 解熱と共に排膿量は急速に減少した。瘻孔造影によって左横隔膜下に膿瘍腔を認め, 浸出液より *Pseudomonas aeruginosa* (CEC:MIC, >100 μ g/ml)

のみが分離されるようになり, 解熱したため 8 日間で本剤投与を中止, その後, 菌は陰性化した。本例では排膿効果も加味されているが, CEC 投与効果があったものと判定した (Fig. 8)。

症例 5 77歳女子。胆石を有する急性胆嚢炎で胆嚢摘出術を受けた。術中より CEC, 0.5g \times 2/日筋注を開始

Fig. 9 No 74-00771 S. M., 77y., f., bile peritonitis cholelithiasis (cholecystectomy) wound infection

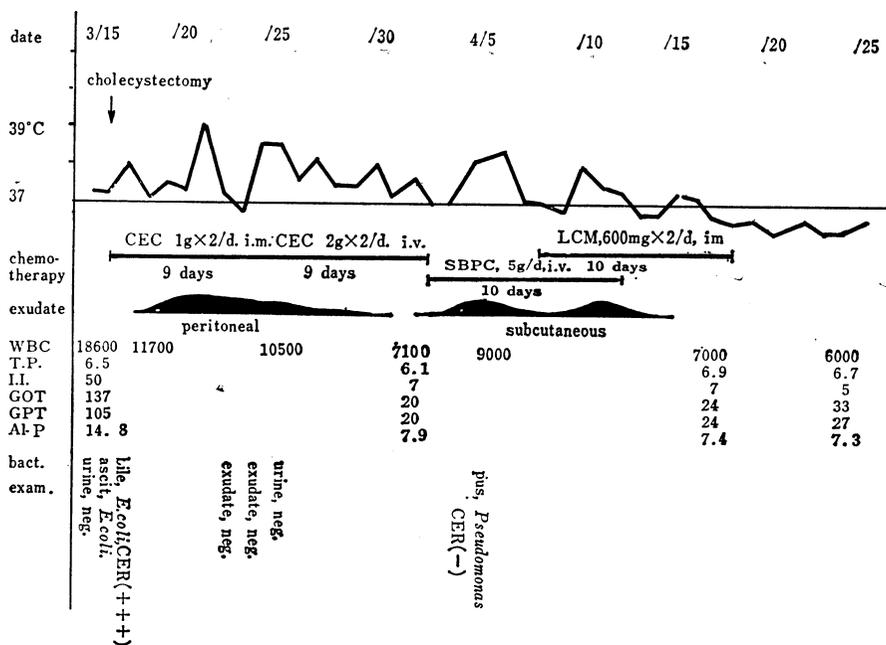


Table 4 Prophylactic use* of CEC for postoperative infection

Operation/Diagnosis	No. of cases	Postoperative infection
Cholecystectomy		
Cholelithiasis, Cholecystitis	8	1 Wound infection <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CER (-)
Gastrectomy		
Gastric, duodenal ulcer	1	0
Gastric cancer	1	0
Combined resection of rectum		
Rectal cancer	1	0
Partial resection of ileum		
Postoperative intestinal adhesion	1	0
Drainage laparotomy		
Bile peritonitis	1	1 Wound infection <i>Klebsiella</i> . CER (++)+(-) <i>Staph. aureus</i> " (++)
Total	13	2

* Skin test negative

Preoperative, CEC 1.0g/20ml saline, one shot i. v.

Postoperative, CEC 1.0g \times 2/day i. v. or i. m., if necessary

した。術中採取した胆嚢胆汁から *E. coli* を分離、右肝下部に留置したドレーンより術後2日目より膿性浸出液が排出されたが菌は証明されなかった。臨床症状、白血球増多のため CEC, 1g×2/日静注に増量したところ、9日間で解熱、白血球7100に戻った。その直後、再度熱発したが、手術創部に腹壁膿瘍を形成したためとわかった。これを開放排膿したところ、*Pseudomonas aeruginosa* が膿より分離された。その後、SB-PC, 更に LCM 投与を行ない治癒した。本症例では *E. coli* (ディスク法で CER 感受性) によると考えられる横隔膜下膿瘍には CEC の投与効果が増量によって得られたが、*Pseudomonas aeruginosa* による創感染には無効であっ

たと思われる (Fig.9)。

術後感染防止の目的で腹部手術13例に CEC を加刀前より静注、準無菌、汚染手術には術後も5日以上投与を

Fig.10 Haematological examination after CEC administration

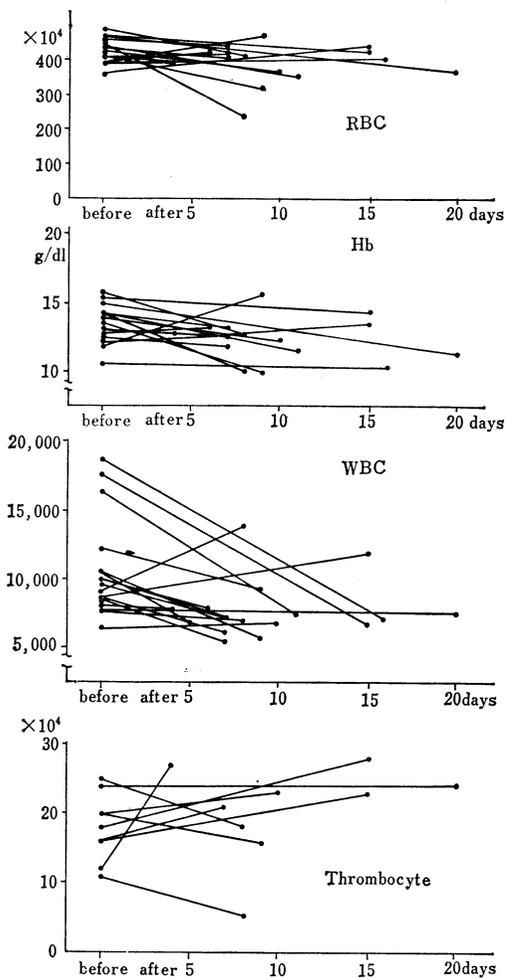


Fig.11 Liver function after CEC administration

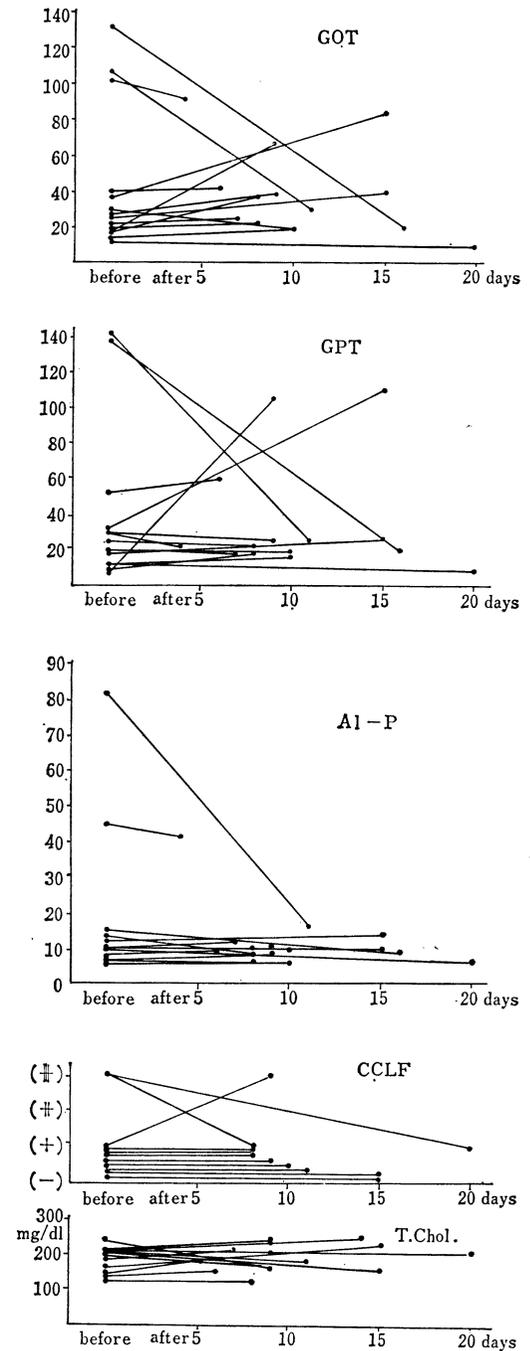
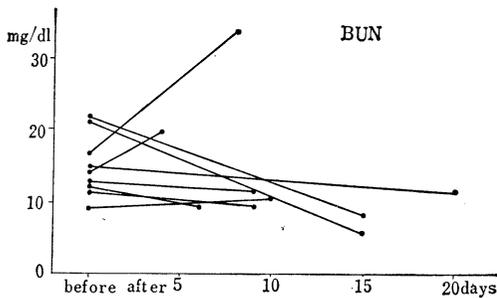


Fig. 12 BUN after CEC administration



続け、予防効果を観察した。このうち8例の胆嚢摘出術々後に *Pseudomonas aeruginosa* による創感染1例と、胆汁性腹膜炎手術々後の *Klebsiella*, *Staph. aureus* 混合感染による手術創感染を1例認めている。これは2/13, 15.4%の発生頻度になる (Table 4)。

これら CEC の臨床効果を検討した18例は CEC 1.0~2.0g/日, 5~17日間, 総量5~25g 投与を受けているが, 投与中, 副作用と考えられる局所及び全身的臨床所見は認められなかった。また, 本剤投与開始後, 各種臨床検査上異常値を示したものは血液検査上, RBC 2/15, Hb 2/15, WBC 2/15, 血小板 1/9 例, 肝機能検査上, GOT 3/14, GPT 3/14, Al-P 1/14, CCLF 1/11, 総コレステロール 0/12 例, 腎機能として BUN 1/9 例であった (Fig. 10, 11, 12)。しかしこれらの症例では原疾患, 手術侵襲, 出血・輸血量などの影響が強く反映されていると考えられた。すなわち, 進行胃癌の胃全剝を行なった1例では, 赤血球数, 血色素量, 血小板数減少, 白血球数増多, BUN 上昇が著しかった。肝機能検査で CEC 投与前後に異常値を示したものは全て胆道系の結石または狭窄の存在する症例と胃癌肝転移の証明されている症例であり, 本剤投与の影響とは考えにくかった。

4) ま と め

CEC について基礎的及び臨床的検討を加え以下のような結論がえられた。

i) 体液濃度測定には pH 7.0, M/15 phosphate buffer 溶液による標準曲線を使用し, 胆汁は同 buffer で5倍希釈を行なえば充分である。

ii) CEC, 1g 静注後の血中濃度は30分41, 60分20 μ

g/ml となり, 30分における総胆管胆汁濃度は血中の約1/10から同等以上, 胆嚢胆汁中には総胆管胆汁の約1/10の濃度で移行し, 胆嚢管閉塞症例でも胆嚢胆汁に同程度以上移行した。

iii) CEC, 1g 筋注後の血中濃度は1時間値 9.0 μ g/ml, 半減期約3時間, 総胆管胆汁中濃度は2時間値が最高で, 1.9 μ g/ml であった。

iv) CEC 投与後のヒト血清の電気泳動と bioautogram を検討したところ, 本剤と Albumin 分画の泳動特性は異なり, 6例中1例に, 全例に共通する主 spot の他, 副 spot が認められた。両 spot の Albumin に対する相対易動度は夫々, 1.5~2.1, -0.57 であった。

v) 軟部組織感染症, 術後横隔膜下膿瘍計6例に CEC を非経口的に投与し, 5例に臨床効果を認めた。無効の1例は *Pseudomonas aeruginosa* による創感染症例であった。

vi) 術後感染予防に術中より本剤を投与, 13例中2例に手術創感染を認めた。

vii) 臨床効果を検討した18例に CEC 1.0~2.0g/日, 5~17日間, 総量5~25g を投与したが, 血液, 肝機能, 腎機能検査上, 原疾患などの影響が強くあらわれており, その他の臨床所見も加味すると, 本剤の副作用と考えられるものは認められなかった。

文 献

- 1) Editorial, Cephalosporins, present and future. Lancet 2: 364, 1973
- 2) GELZER, J. & P. N. MAURICE: Cephalosporins, Lancet 2: 855, 1973
- 3) WATERMAN, N. G.: Antibiotics and serum protein binding. S. G. O. 138: 244, 1974
- 4) 藤井良知, 紺野昌後, 岡田一穂, 熊谷道彦, 吉田昭雄, 松崎明紀: Aminobenzyl-Penicillin, Methylphenylisoxazolyl-Penicillin 合剤の分離定量法に関する研究. Chemotherapy 17: 1620, 1969
- 5) 小川恕人: セルローズアセテート電気泳動法。電気泳動学会編, 電気泳動実験法 p. 111, 文光堂, 昭48
- 6) 石引久弥: 抗生物質の蛋白結合に関する研究。第22回日本化学療法学会総会講演, 昭49

FUNDAMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON CEPHACETRILE

HISAYA ISHIBIKI

Department of Surgery, Kawasaki City Institute of Ida Hospital

TAKAJI HAIDA

Research and Laboratory Division, Kawasaki City Institute of Ida Hospital

Fundamental and clinical studies were carried out with CEC and the following results were obtained.

i) For measurement of body fluid concentrations, M/15 phosphate buffer solution pH 7.0 was used. Five fold dilution of bile with the buffer solution was sufficient to elucidate the results.

ii) Following intravenous administration of 1g of CEC, 41 and 20 μ g/ml of blood levels were achieved at 30 and 60 minutes. At 30 minutes concentrations in bile (from choledochus) were equivalent to 1/10th or higher to those in blood. The transfer in gall bladder bile was 1/10th of density to bile from choledochus and this compound excreted in equivalent value to gall bladder bile in patients with obturation of bile duct.

iii) Following intramuscular administration of 1g of CEC, a blood level of 9.0 μ g/ml was attained in one hour, having half life of three hours. The peak biliary concentration was 1.9 μ g/ml, which was achieved in two hours.

iv) Following administration of CEC, human sera were collected for electrophoretic examination and the bioautograms were compared with the contrast. One out of the six cases demonstrated a different albumin pattern, having subspot besides main spot which was common to all six cases. The relative mobilities of each spot in the albumin phoresis were 1.5~2.1 and -0.57.

v) CEC was administered either intravenously or intramuscularly to 6 patients with soft tissue infections or postoperative subphrenic abscess. 5 patients achieved a satisfactory result, but one patient with traumatic infection due to *Pseudomonas aeruginosa* could not respond to the medication.

vi) CEC was given to 13 patients for prophylaxis of post-operative infections and traumatic infection was observed in 2 patients.