

Cephacetrile に関する基礎的、臨床的検討

野村恭博・河田幸道・塩味陽子・西浦常雄

岐阜大学医学部泌尿器科学教室

(主任：西浦常雄教授)

I 緒 言

Cephacetrile (以下 CEC) は1965年に開発された半合成 cephalosporin 系抗生物質で他の cephalosporin 系抗生物質と同様、殺菌的な広範囲抗菌スペクトラムを有している。

本剤は毒性が極めて低く、各種細菌の産生する β -lactamase に対して比較的安定であることが特長とされている。

我々は最近この CEC に関して若干の基礎的検討を加え、さらに尿路感染症に対する臨床効果を検討したので報告する。

II 基礎的検討

〔1〕 抗菌力の検討

昭和48年度中に当教室で分離、同定した尿路感染症起炎菌のうち、代表的グラム陰性桿菌に対する抗菌力を日本化学療法学会標準法により測定した。

E. coli は、MIC 6.25 $\mu\text{g/ml}$ に peak を有し、MIC 25 $\mu\text{g/ml}$ 以下に85%が分布している。MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株は、6%認められた。

Klebsiella は MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ に peak を有し、MIC 25 $\mu\text{g/ml}$ 以下に69%が含まれるが、MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株が25%を占めていた。

Enterobacter は MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株が60%以上で、MIC 25 $\mu\text{g/ml}$ にも peak を有する、2峰性の分布をしていた。

Proteus group は測定した全株が MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ あるいはそれ以上であった。

Pseud. aeruginosa は測定した20株全てが、MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株であった。

これらの感受性分布は、他の cephalosporin 系抗生物質とはほぼ同様の抗菌力を CEC が有していることを示していると考えられる (Fig. 1)。

〔2〕 β -Lactamase に対する安定性の検討

CEC は各種細菌の産生する β -lactamase に対して比較的安定であると報告されている¹⁾。

Pseud. aeruginosa より分離した cephalosporinase に対する安定性を検討した。

1) 実験方法

CEC あるいは Cephalothin (以下 CET) の 1/15M phosphate buffer 溶解液中に同量の cephalosporinase を添加し振盪しながら 30°C で incubate し、一定時間後の残存活性を測定した。残存活性は、*Bac. subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする薄層カップ法で測定した。なお1分間毎にサンプリングした薬剤と cephalosporinase 混合液は直ちに 100°C 1分間加熱し、急冷して保存し可及的速やかに残存活性を測定した。

2) 成績

Fig. 2 に示す通り明らかな差が CEC と CET との間に認められた。

CEC は1分間で35%が失活するのに比べ CET は73%が失活している。CET は4分後には測定不能になってしまうのに比べて、CEC は26%が残存し5分後にも17%が残存している (Fig. 2)。

なお pH 7.0 1/15M phosphate buffer 溶解液は 100°C、1分間の加熱により CEC は9% CET は15.5%が失活するがこの差を考慮に入れても CEC は CET より *Pseud. aeruginosa* の産生する cephalosporinase に対して安定であると考えられる (Fig. 3)。

本実験に使用した cephalosporinase の酵素活性は保存その他の影響であきらかでなかったので各種条件で CEC と CET の不活化を検討したがいずれも CEC は CET に比べ安定であった。

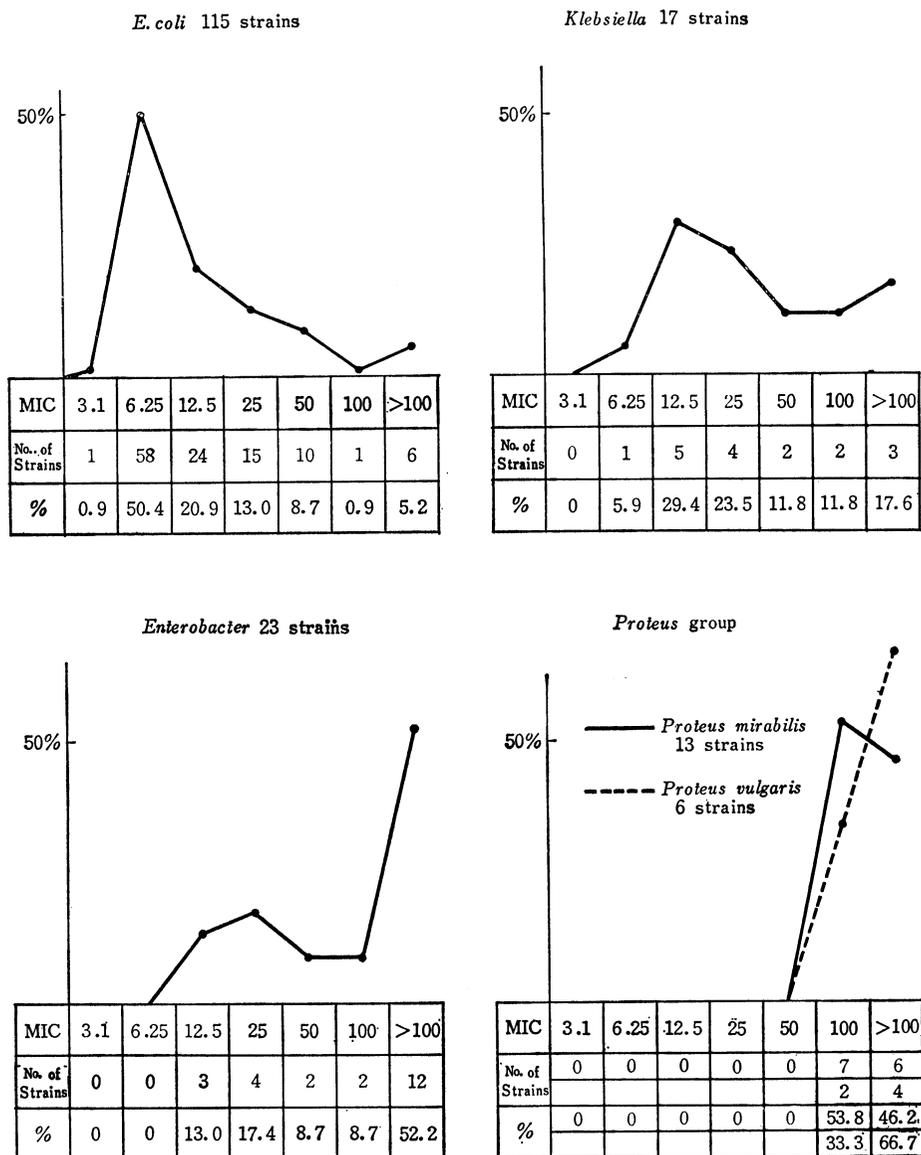
〔3〕 いわゆる感性大腸菌に対する抗菌力と CEC 及び CET の不活化の検討

1) 実験方法

共同研究者の塩味が第21回日本化学療法学会西日本支部総会以来、第22回日本化学療法学会総会、西日本支部総会で、CET のいわゆる感性大腸菌による不活化について報告しているが、その方法に準じて細菌を含む培地に、CEC あるいは CET を添加し、薬剤の不活化と細菌の増殖態度を検討した。

E. coli NIHJ JC-2 あるいは *E. coli* 437 を含む Trypticase soy broth (BBL) (以下 TCSB) に CEC あるいは CET を添加し、一定時間後の生菌数を Heart infusion agar (栄研) 平板で算定し、同時に残存活性を *Bac. subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする薄層カップ

Fig.1 Susceptibility distribution of clinical isolates



法で測定した。濃度測定用にサンプリングした検体は直ちにミリポアフィルターを通して細菌を除き、100°C 1分間加熱した後、急冷凍結保存し、可及的速やかに濃度測定を行なった。

なお本実験は 37°C 振盪培養しながら行なったものである。

2) 成績

恒常期の *E. coli* NIHJ JC-2 を含む培地中に CEC あるいは CET を添加した場合、細菌は急速に殺菌されるが、10⁶cells/ml の細菌を含む培地中に CEC, CET

共に 1 MIC となる様に添加した時には、両薬剤とも約 12 時間まで再増殖を抑制した。しかし 12 時間後からは明らかに再増殖したが、CEC を添加した場合の方が細菌の再増殖はゆるやかであった。

薬剤はこの間に不活化されるが両薬剤の間には、著明な差が認められた。共に細菌が減少している時期に急速に不活化を受けるが、CEC は 1 時間以内に 43% が不活化されるのに比べ、CET は 65% が不活化される。4 時間目には CEC が 52% 残存しているのに比べ、CET は 16% が残存しているにすぎない (Fig. 4)。

Fig. 2 Stability of CEC and CET against cephalosporinase

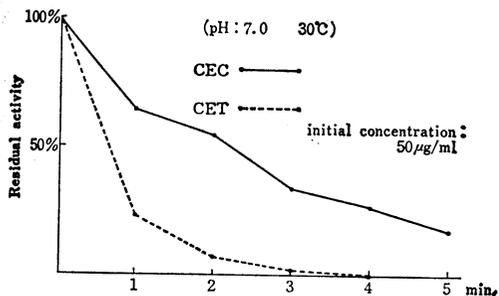


Fig. 3 Heat stability of CEC and CET

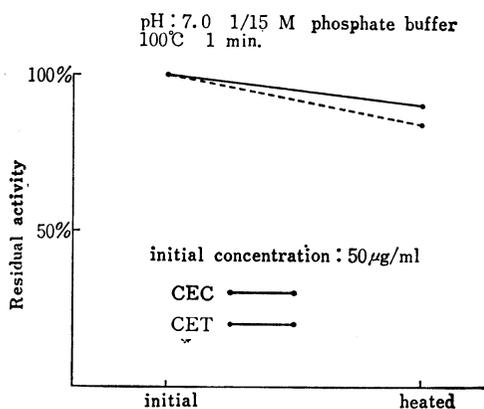
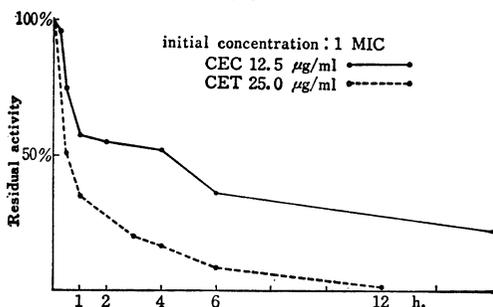


Fig. 4 Inactivation of CEC and CET by *E. coli* NIHJ JC-2



Antibacterial action of CEC and CET

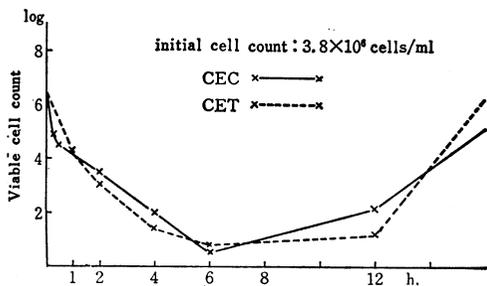
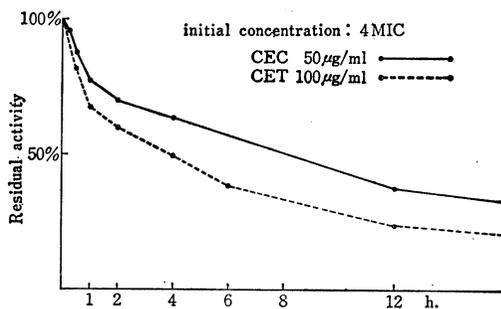


Fig. 5 Inactivation of CEC and CET by *E. coli* NIHJ JC-2



Antibacterial action of CEC and CET

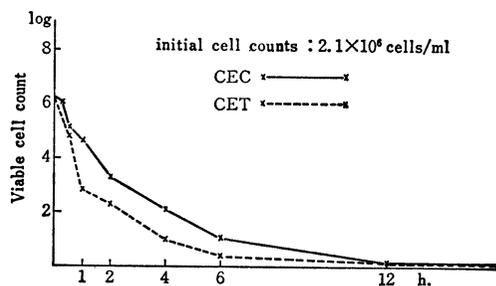
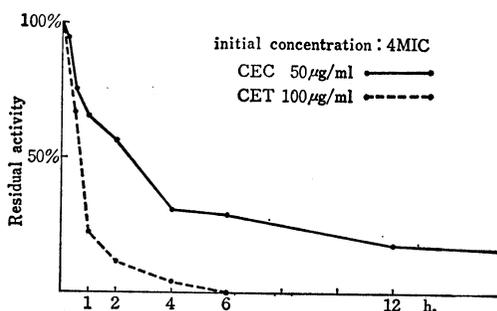
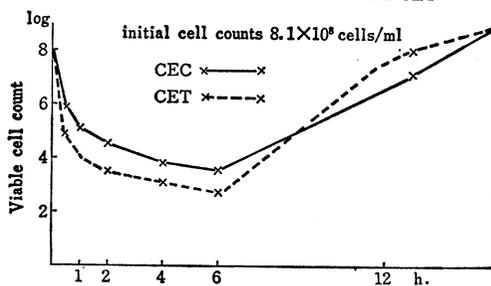


Fig. 6 Inactivation of CEC and CET by *E. coli* NIHJ JC-2



Antibacterial action of CEC and CET



同様の条件で薬剤濃度が、4 MIC となるように添加した場合、細菌はさらに著明に減少し、24時間まで再増殖は抑制された。しかし無菌試験で細菌の生残が証明され完全に消失はしなかった。

薬剤の不活化は両薬剤の間に著明な差が認められないが、CECの方がCETより不活化され難い傾向がうかがわれた (Fig. 5)。

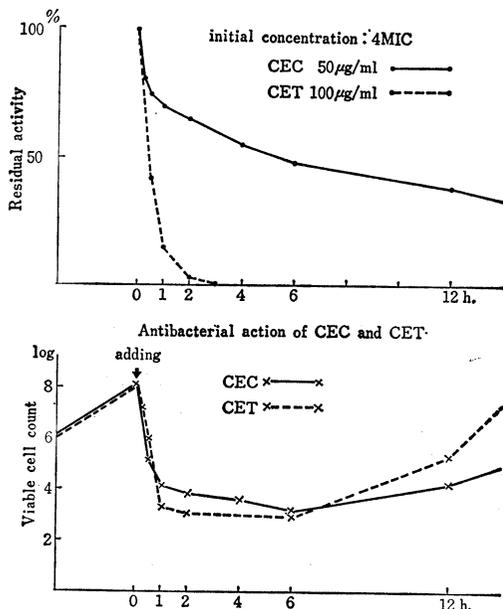
細菌を 10^8 cells/ml 含む培地中に両薬剤共に 4 MIC となる様に添加した場合、細菌は減少するが 10^8 cells/ml の order までの減少にとどまり12時間後には、 $10^7 \sim 10^8$ cells/ml の order まで再増殖した。この間の薬剤の不活化は著明で、CECは1時間までに35%が不活化され、CETは78%が不活化された。6時間目にはCECが28%残存しているのに比べ、CETは測定不能であった (Fig. 6)。

10^8 cells/ml の細菌を含む培地中よりも 10^6 cells/ml の細菌を含む培地中の方が薬剤の失活が顕著なことより、薬剤は細菌が多く破壊された時ほど不活化を多く受けると考えられる。

Cephalosporin 系抗生物質は対数増殖期の細菌に対してより強い抗菌活性を発揮することが知られている。

対数増殖期の *E. coli* NIHJ JC-2 を 10^8 cells/ml 含む培地中に、CECあるいはCETを4 MICとなるように添加した場合、恒常期の細菌を 10^8 cells/ml 含む培地中に添加した場合より急速に生存菌数が減少し、再増

Fig. 7 Inactivation of CEC and CET by *E. coli* NIHJ JC-2



殖も長時間抑制された。この間の薬剤の失活は、CECの場合恒常期の細菌を含む培地中での失活と大差はないが、CETの場合では、特に著明で、1時間で24%、3時間ではほぼ100%が不活化された (Fig. 7)。

対数増殖期の細菌が最も急速かつ大量に破壊され、その間の薬剤の不活化が最も顕著なことから、この薬剤の不活化は破壊された細菌の菌体成分によるものと考えられる。

PERRET²⁾の macro iodometric assay に準じて *E. coli* NIHJ JC-2 の β -lactamase を測定すると、この細菌の菌体成分の中には β -lactamase 活性が認められることから、薬剤の失活が β -lactamase によるものであると

Fig. 8 Inactivation of CEC and CET by *E. coli* 437

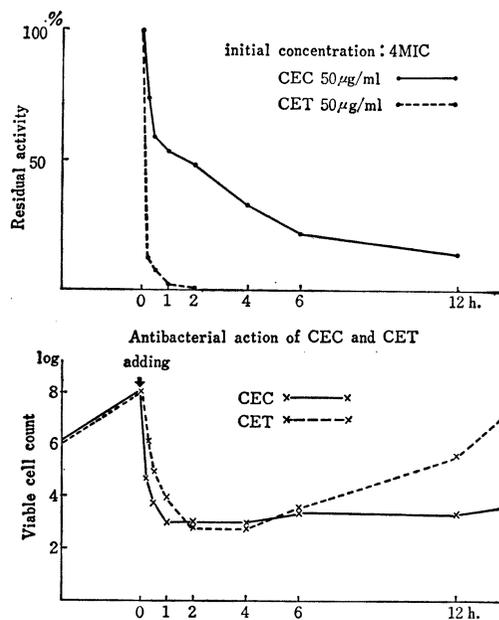
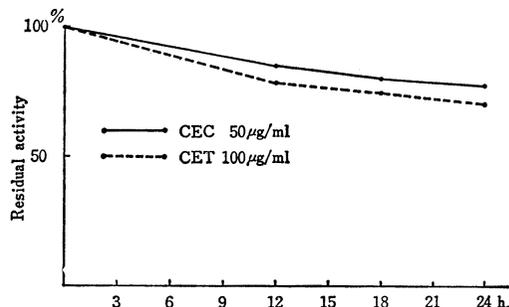


Fig. 9 Stability of CEC and CET (TCSB 37°C shaking)



想像される。

同じ方法で測定した β -lactamase 活性値が *E. coli* NIHJ JC-2 の約10倍である *E. coli* 437 の対数増殖期に薬剤を添加し抗菌力と不活化を検討したが、*E. coli* NIHJ JC-2 に添加した場合と同様の抗菌力を示した。この場合の薬剤の失活は *E. coli* NIHJ JC-2 による場合よりさらに著明であった (Fig. 8)。

E. coli 437 も *E. coli* NIHJ JC-2 と同様にいわゆる感性大腸菌であるが β -lactamase 活性値が *E. coli* NIHJ JC-2 より高いことが異なっている。このことからこの細菌を含む培地中での薬剤の失活が β -lactamase によるものであるという speculation はより確かなものと考えられる。

以上の実験で用いた、*E. coli* NIHJ JC-2 及び *E. coli* 437 は、CEC 及び CET に長時間接触していたわけであるが、full groth になった時点で CEC 及び CET の MIC を測定しても耐性の上昇は認められなかった。したがって薬剤を添加した後の再増殖は、薬剤の活性が低下した結果であると考えられる。

なお *E. coli* NIHJ JC-2 に対する CEC と CET の MIC は $12.5 \mu\text{g/ml}$ 及び $25 \mu\text{g/ml}$ であったため、*E. coli* NIHJ JC-2 を用いた実験では添加した CEC と CET の濃度は異なっている。*E. coli* 437 に対する MIC は両剤とも $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった。

最後に 37°C 振盪中の TCSB 中での失活を検討したが、12時間までの失活は CEC では15%、CET では21.5%であった (Fig. 9)。この差を考慮に入れても CEC は CET に比べていわゆる感性大腸菌による不活化を受け

難いと考えられる。

〔3〕 小括

尿路感染症由来のグラム陰性桿菌に対して、CEC は他の cephalosporin 系抗生物質とほぼ同様の抗菌力を示した。

Pseud. aeruginosa の産生する cephalosporinase に対して CEC は CET より強い抵抗性を有していた。

いわゆる感性大腸菌によっても不活化を受けるが、CET に比べその程度は少なかった。不活化は細菌の菌体成分によるもので細菌が急速にかつ大量に破壊された時が最も不活化を受け易いと考えられ、この不活化物質の1つは β -lactamase であると考えられた。

III 臨床的検討

〔1〕 治療効果の検討

1) 対象：岐阜大学医学部付属病院泌尿器科入院及び外来患者のうち、尿路感染症を有し、本剤投与開始以前に少なくとも24時間以上いかなる抗菌性薬剤をも投与されていない症例 (Table 1, 2, 3)。

2) 投与方法：原則として1回1g、朝夕2回、筋肉内注射により総量8g連続投与としたが、さらに大量を静脈内注射によって投与した症例も含んでいる。その場合の総投与量は15gから32gに及んでいる。

3) 検討項目：尿蛋白、尿沈査 (白血球、赤血球、細菌)、尿細菌培養、CER に対する感受性、血液生化学的検査。

4) 効果判定基準：検討項目のうち尿沈査 (白血球、細菌)、及び尿細菌培養結果により判定した。1日5g

Table 1 Clinical use of Cephacetrile (Clinical effect : poor)

Case	Diagnosis	Before				After			Complication	Total dose
		W.	B.	Isolates	MIC $\mu\text{g/ml}$	W.	B.	Isolates		
H. F. 67 f	Chronic cystitis	+	rod ##	<i>Enterobacter</i> $>10^7$ <i>Proteus vulgaris</i> 6×10^6	12.5 N. D.	5 }	rod ##	<i>Proteus vulgaris</i> $>10^7$	Urachus tumor	8
H. S. 45 f	Chronic pyelonephritis	10 }	rod ##	<i>Klebsiella</i> $>10^7$	N. D.	4 }	rod ##	<i>Klebsiella</i> 1×10^6	Neurogenic bladder	8
M. T. 36 f	Chronic pyelonephritis	+	rod ##	Unknown	N. D.	+	rod ##	Unknown	Renal stone	8
S. A. 50 m	Chronic cystitis	##	rod ##	<i>E. coli</i>	12.5	##	rod ##	<i>E. coli</i>	Vesico- rectal fistula	8
A. K. 60 m	Chronic cystitis	+	rod ##	<i>Klebsiella</i> 1×10^6	6.25	10 }	rod ##	<i>Pseud. aeruginosa</i> 3×10^6 <i>Proteus mirabilis</i> 2×10^8	Neurogenic bladder	15

W. : White blood cell

B. : Bacteria

N. D. : Not determined

Table 2 Clinical use of Cephacetrile (clinical effect : good)

Case	Diagnosis	Before				After			Complication	Total dose
		W.	B.	Isolates	MIC $\mu\text{g/ml}$	W.	B.	Isolates		
Y. I. 51 f	Acute cystitis	4 } 5	rod ##	<i>Klebsiella</i> $>10^7$	50	—	—	—	Neurogenic bladder	8
M. S. 61 f	Chronic pyelonephritis	+	coc. ##	<i>Strept. faecalis</i> $>10^7$ (r. l.)	6.25	1 } 2	—	—	Bilateral nephrostomy	8
Y. K. 73 m	Chronic cystitis	5 } 6	rod ##	<i>Proteus rettgeri</i> $>10^7$	100	—	—	—	Cystostomy	8
F. M. 50 f	Chronic cystitis	##	rod ##	<i>Klebsiella</i> $>10^7$	50	10 } 15	—	—	Cystostomy	8
S. T. 76 m	Chronic cystitis	6 } 10	coc. ##	G N R $<10^3$ <i>Strept. epidermidis</i> $10^7 <$	N. D. N. D.	—	—	—	B. P. H.	8
A. T. 52 f	Acute pyelonephritis	10 } 15	rod ##	Unknown	N. D.	—	—	—	Neurogenic bladder	8
Y. N. 76 f	Chronic cystitis	##	rod ##	<i>E. coli</i> 72×10^5	12.5	10 } 15	—	—	Cystostomy	8
M. H. 55 f	Chronic pyelonephritis	##	rod ##	<i>E. coli</i> $>10^7$	N. D.	—	—	—	Renal stone	16
M. S. 30 f	Chronic cystitis	+	rod ##	<i>Proteus mirabilis</i> 62×10^5	N. D.	—	—	—	Neurogenic bladder	16
M. S. 61 f	Chronic pyelonephritis	4 } 5	rod +	<i>Pseud. aeruginosa</i> 4×10^8	>100	—	—	—	Bilateral hydronephrosis	32

W. : White blood cell B. : Bacteria N. D. : Not determined B. P. H. : Benign prostatic hypertrophy

Table 3 Clinical use of Cephacetrile

Diagnosis	Cases	Total
Acute cystitis	1	9
Chronic cystitis	8	
Acute pyelonephritis	1	6
Chronic pyelonephritis	5	
Total	15	15

3日間計 15g 投与した症例以外は 5日目に効果判定を行なった。

有効：尿中細菌が消失し、かつ尿中白血球が消失あるいは激減した場合。

無効：有効以外の場合。

5) 成績：15症例に投与し有効10例，無効5例，有効率67%の成績を得た (Table. 4)。

6) 副作用：1例に本剤 5g を 20ml の 5%ブドウ糖液に溶解して静注中に一過性の悪心，胸やけを認めたが 300ml の 5%キシリトールに溶解し点滴静注することで投与を中止するには至らなかった。

大半の症例で血液生化学的検査を本剤投与前後に行なっているが，GOT，GPT，アルカリ性フォスファターゼ，LDH 等はいずれも正常値内の変動であった。BUN，クレアチニンについては明らかに本剤投与のためと考えられる変動は認められなかった。

〔2〕細菌学的効果の検討

15症例から18株の尿中細菌を本剤投与前に分離したが

Table 4 Clinical effect of Cephacetrile

Effect	Diagnosis	Cases	Total
Good	Pyelonephritis	4	10
	Cystitis	6	
Poor	Pyelonephritis	2	5
	Cystitis	3	
Total			15

Table 5 Isolated organisms from patients on this drug trial

Organism	Strains
<i>E. coli</i>	3
<i>Klebsiella</i>	4
<i>Enterobacter</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Proteus vulgaris</i>	1
<i>Proteus rettgeri</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
G. N. R	1
<i>Staph. epidermidis</i>	1
<i>Strept. faecalis</i>	2
Unknown	2
Total	18

Table 6 Susceptibility against CER and bacterial fate

Susceptibility	Disappeared	Persisted	Changed	Total
##	5	0	1	6
++	1	1	0	2
+	2	0	0	2
-	4	2	0	6
Unknown	2	0	0	2
Total	14	3	1	18

13株がグラム陰性桿菌であった。同定結果は表に示す通りで、*Klebsiella* が最も多く、その他に各種細菌が同定された (Table 5)。

このうち10株については CEC の MIC を測定したが 6.25 $\mu\text{g/ml}$ から 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上まで広く分布していた (Table 1, 2)。

MIC と治療効果の間に特別な相関は認められなかった。

CER disc に対する感受性を16株について検討したが、(++)以上の感受性を示す細菌は8株あり、このうち6株は CEC 投与後には消失し、1株は存続し、1株は菌交代を起こした。菌交代を起こした症例は *Klebsiella* が *Pseud. aeruginosa* と *Proteus mirabilis* に交代したものである。(一)であった6株中4株は消失し、2株は存続した (Table 6)。

〔3〕 小括

今回の治験に際し対象とした症例はいずれも重篤な泌尿器科学的合併症を有する尿路感染症であるが、本剤は注射剤であり、主として入院患者に対して使用される機会が多いと考え、あえて複雑性尿路感染症を対象とした。

投与症例は急性膀胱炎1例、慢性膀胱炎8例、急性腎盂腎炎1例、慢性腎盂腎炎5例であるが、急性症は2例とも有効例であり、慢性症は13例中有効8例、無効5例であった。15例中有効10例という成績は対象疾患を考慮に入れば、充分尿路感染症治療剤として効果が期待できるものと考えられる。

投与量、投与方法については症例が少なく言及し難いが、1回1g、12時間毎の投与で有効例が10例中7例あり、この投与方法でもかなりの効果が期待できると考えられる。しかし複雑性尿路感染症は、その基礎疾患により、抗菌性薬剤の投与のみでは治癒せしめ難いことが常識であり、本剤の複雑性尿路感染症に対する投与に際しても、その投与量、投与方法のみならず基礎疾患に対する治療を忘れてはならない。我々の今回の検討によっても、治療効果は細菌の薬剤感受性より、むしろ合併症としての基礎疾患に左右される傾向が大きいと思われるような成績が得られた。

副作用に関する検討では、1例に悪心、胸やけを認めただにすぎず、本剤は毒性が少なく安心して投与できる薬剤であると言われている点³⁾が、少ない症例からではあるがうかがい知ることが出来た。

IV 結 語

新しい半合成 cephalosporin 系抗生物質である Cephacetrile に関して基礎的ならびに臨床的検討を加え、次の結果を得た。

1. CEC は他の cephalosporin 系抗生物質とほぼ同様の抗菌力をグラム陰性桿菌に対して有していた。
2. *Pseud. aeruginosa* の産生する cephalosporinase に対して CET より安定であった。
3. いわゆる感性大腸菌により不活化されるが、その程度は CET より少なかった。
4. いわゆる感性大腸菌による CEC と CET の不活化は β -lactamase によるものが主であると考えられた。

5. 15例の複雑性尿路感染症に投与し、10例が有効であり、その有効率は67%であった。

6. 投与法は1回1g、12時間毎の投与を行なったものでは11例中7例有効であったが、複雑性尿路感染症に対する投与法に関しては、今後さらに検討の余地があるように思われた。

7. 副作用は1例に高濃度溶解液静注時に悪心、胸やけを認めたにすぎなかった。

(本論文の要旨は第22回日本化学療法学会西日本支部総会において発表した。)

文 献

- 1) KNÜSEL, F. *et al.*: Antimicrobial studies *in vitro* with CIBA 36,278-Ba, A new cephalosporin derivative. *Antimicrob. Agents & Chemother.* -1970: 140~149, 1971
- 2) PERRET, C. J.: Iodometric assay of penicillinase. *Nature* 174: 1012, 1954
- 3) 第22回 日本化学療法学会西日本支部総会 ラウンド・テーブル・ディスカッション (司会 柴田清人, 原 耕平), 1974年12月7日, 徳島

LABORATORY AND CLINICAL STUDIES ON CEPHACETRILE

YASUHIRO NOMURA, KODO KAWADA, YOKO SHIOMI and TSUNEO NISHIURA

Department of Urology, School of Medicine, Gifu University

Laboratory and clinical investigations were performed on a new semi-synthetic cephalosporin derivative, Cephacetrile (CEC), and the following results were obtained.

1. CEC had a similar antibacterial activity to other cephalosporin antibiotics against gram negative rods isolated from patients with urinary tract infections.
2. CEC showed a higher resistance to cephalosporinase derived from *Pseud. aeruginosa* than that of CET.
3. CEC is inactivated by sensitive *E. coli* but the degree of inactivation is less than that of CET.
4. So called inactivation of CEC and CET by sensitive *E. coli* is due to degradation of bacteria, and mainly due to their β -lactamase
5. CEC was administered to 15 patients with complicated urinary tract infections and achieved improvement in 10 patients, effectiveness of 67%.
6. Only one case was observed to produce nausea and heart burn.