

T-1220 に関する基礎的ならびに臨床的検討

紺野昌俊・生方公子・高橋洋子・柱新太郎

柳瀬義男・中山康子・藤井良知

帝京大学医学部小児科

β -lactam 系抗生物質の中でも Carbenicillin (以下 CBPC と略) や Sulbenicillin (以下 SBPC と略) は、緑膿菌に対しても抗菌力を有し、既に臨床に使用されているが、抗菌力の面から見ると未だ必ずしも満足するものではなく、緑膿菌に対してより一層強い抗菌力を有する合成ペニシリンの出現が期待されていた。

最近わが国で開発された T-1220 は、その化学構造中に側鎖としてピペラジン環を有するユニークな合成ペニシリンである。本剤は緑膿菌に対して今までの合成ペニシリンでは見られなかった薬剤濃度で抗菌力を発揮したが、種々の実験の結果、抗菌作用の上で従来の CBPC および SBPC とはやや異なることが推測された。本論文ではそれらの成績について報告し、併せて小児科領域における T-1220 の臨床成績をも報告したい。

I. 実験方法

1. 使用菌株

昭和 50 年度中に帝京大学附属病院において分離された、*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia*, *Proteus mirabilis*, *Proteus inconstance*, *Proteus morgani* および *Pseudomonas aeruginosa* の計 8 菌種を使用した。

2. 薬剤感受性測定方法

上記 8 菌種の T-1220 に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は、日本化学療法学会標準法に従い、寒天平板希釈法により測定を行なった。対照薬剤には SBPC を選び、T-1220 と同時に感受性を測定して、抗菌力を比較した。

3. 菌の増殖に及ぼす影響

液体培地中における T-1220 の菌の増殖に及ぼす影響を、*E. coli*, *Klebsiella* および *Pseud. aeruginosa* の 3 菌種について検討した。培地は Heart infusion broth (栄研) を用い、被験菌を 2 時間前培養した後、菌量が 10^6 /ml になった時点で種々の濃度の T-1220 を添加し、37°C で静置培養した。生菌数の測定は、薬剤添加後 2, 4, 6, 8 および 24 時間後にそれぞれ実施した。

4. 菌の形態変化の観察

T-1220 が菌の形態に及ぼす作用については、上記液体培地中における菌の経時的变化を、グラム染色により

観察した。

また緑膿菌については、臨床分離株 TK 508-082 株を用いて、薄層寒天を含むチャンパー内で、薬剤処理による緑膿菌の形態変化を位相差顕微鏡下で観察した。

更に、この菌については、グルタルアルデヒドとオスミウムの二重固定により超薄切片を作製して、電子顕微鏡下で観察した。なお、同菌の T-1220 に対する MIC は、原液接種で 25 μ g/ml、100 倍希釈の接種では 6.25 μ g/ml である。

5. 小児における T-1220 の吸収排泄

T-1220 を臨床に使用した 3 例において、T-1220 の血中濃度および尿中排泄を測定した。

血中濃度および尿中濃度の測定方法は、鳥居・川上の重層法 (症例 T. T., S. S.) あるいは藤井・紺野の微量測定法¹⁾ (症例 T. U.) で行なった。培地は Heart infusion agar に 10% の割合に綿羊脱繊維血液を混入して用いた。検定菌は *Str. pyogenes* No. 58 株の 18 時間培養した菌液を用い、0.1% の割合に加えて行なった。なお、T-1220 の希釈には、pH 7.2 の phosphate buffer を使用している。測定時間などに関しては、臨床使用例なので、測定結果の項で述べる。

6. 小児における T-1220 の臨床使用成績

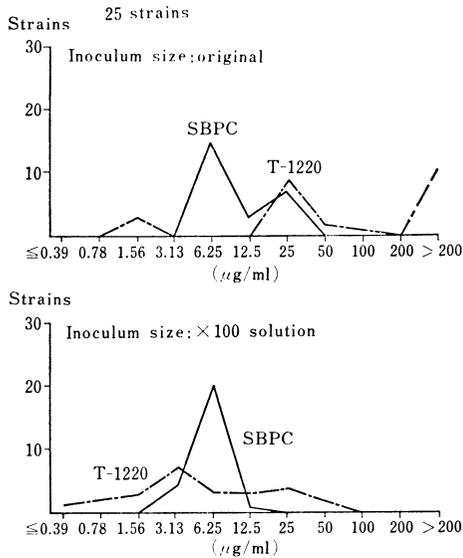
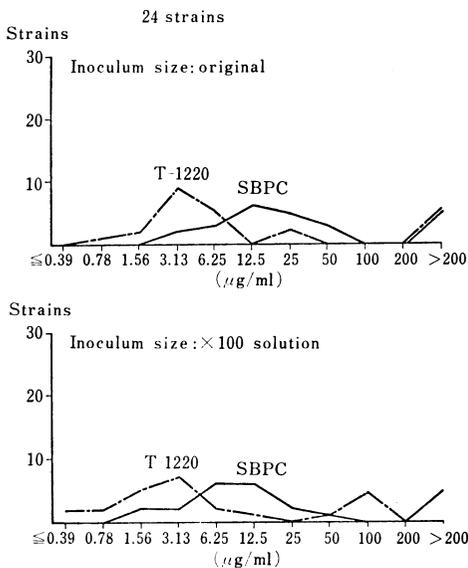
小児における T-1220 の臨床使用例は、T-1220 が緑膿菌に優れた MIC を示すことから、緑膿菌による感染症が疑われ、T-1220 の使用が適当と考えられた 3 例について使用した。効果判定方法は、従来から当教室において行なっている方法²⁾ に準じて行なった。また、T-1220 の使用前後には、咽頭や糞便の細菌叢の変動や GOT, GPT, BUN などの変動についても調べた。

対象とした症例の詳細については、結果の項で述べる。

II. 抗菌作用

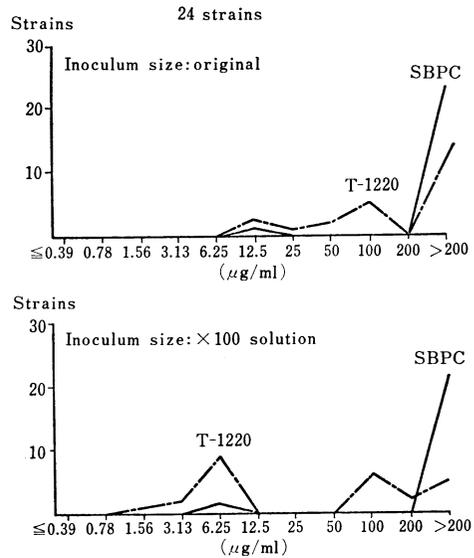
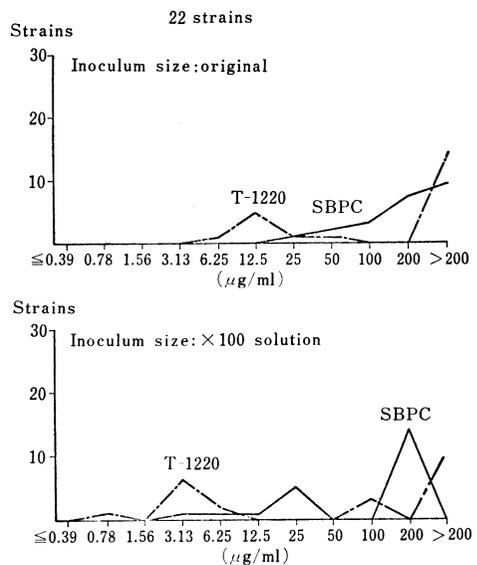
1. 感受性測定成績

S. aureus 25 株の T-1220 および SBPC に対する感受性成績は、Fig. 1 に示した。接種菌量が原液の場合には (Fig. 1, 上段)、T-1220 の感受性は SBPC よりも劣り、100 μ g/ml 以上の MIC を示す株も認められたが、接種菌量を 100 倍希釈液にすると (Fig. 1, 下段)、T-1220

Fig. 1 Sensitivity distribution of *Staphylococcus aureus* to T-1220 and SBPCFig. 2 Sensitivity distribution of *E. coli* to T-1220 and SBPC

では 0.39~50 $\mu\text{g/ml}$ までの幅広い分布を示すようになり、SBPC の 1 峰性の高いピークとはかなり異なる分布を示した。このように、SBPC では接種菌量による MIC の変動がほとんどないのに比べ、T-1220 では試験管で 3~4 管も MIC の変動する株が見られるのが特徴的であった。

E. coli 25 株に対しては (Fig. 2), 原液接種では (Fig.

Fig. 3 Sensitivity distribution of *Klebsiella* to T-1220 and SBPCFig. 4 Sensitivity distribution of *Serratia* to T-1220 and SBPC

2, 上段) T-1220 は SBPC よりも試験管で 2 管程度抗菌力が優れている株が多く見られ、ピークは 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に見られるが、SBPC 高度耐性株では T-1220 に対しても高度耐性で、交叉性が認められた。100 倍希釈液 (Fig. 2, 下段) では全体的に 1 管程度感受性が良くなり、原液と 100 倍希釈液での MIC の変動が今回調べた菌種の中では比較的少ない方であった。

Fig. 5 Sensitivity distribution of *Proteus mirabilis* to T-1220 and SBPC

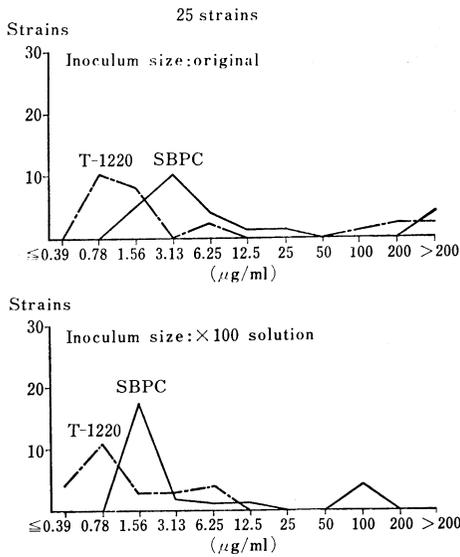
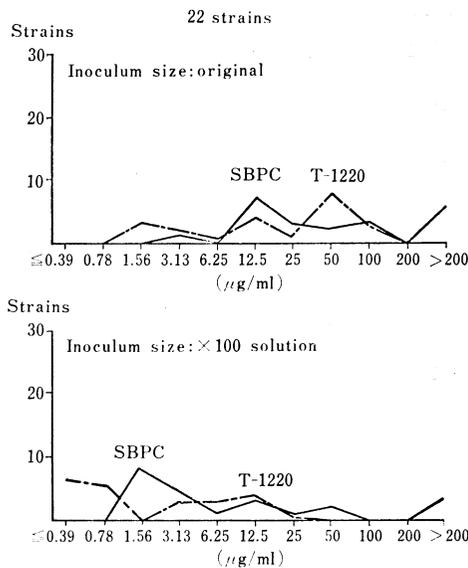


Fig. 6 Sensitivity distribution of *Proteus morgani* to T-1220 and SBPC



Klebsiella 24 株では、Fig. 3 に示したように、原液接種の場合にはほとんどの菌株が SBPC 同様 T-1220 に対して 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示したが (Fig. 3, 上段)、100 倍希釈液では約半数の菌株が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 程度の MIC を示し、*E. coli* の場合とは異なり接種菌量によって MIC が大きく変わる菌株が認められた。

Serratia 22 株の T-1220 に対する感受性は、Fig. 4 に

Fig. 7 Sensitivity distribution of *Pseudomonas aeruginosa* to T-1220 and SBPC

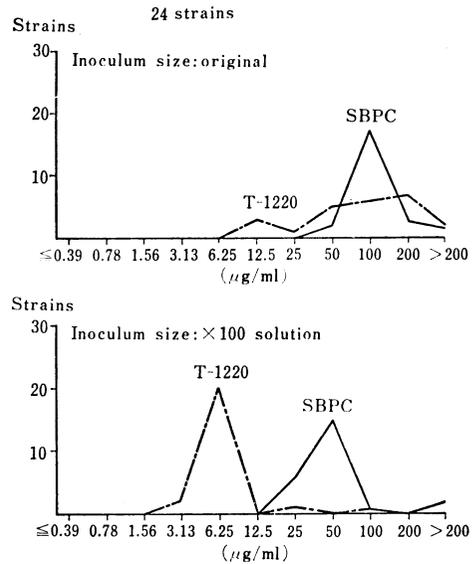
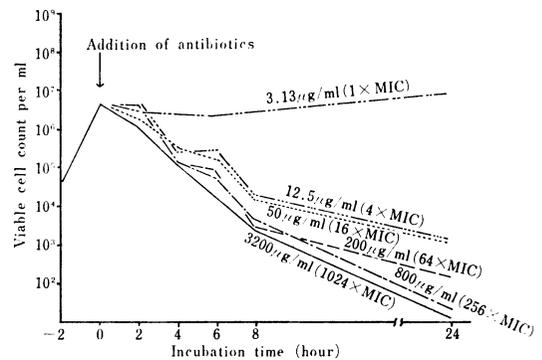


Fig. 8 Bactericidal effect of T-1220 on *E. coli* TK 508-065

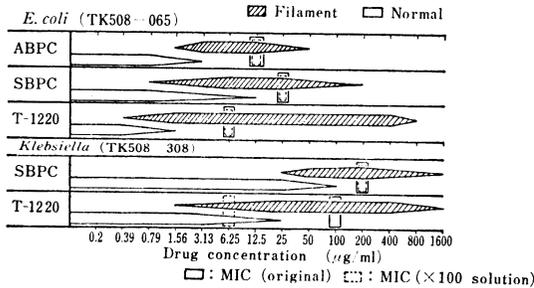


示したように、約 1/2 の株が接種菌量のいかんにかかわらず、100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性を示したが、残りの約半数の株は原液接種で 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、100 倍希釈液接種で 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 前後にピークを有する MIC を示した。

P. mirabilis 25 株では (Fig. 5)、原液接種、100 倍希釈液接種とも SBPC に比して試験管で 1~2 本 MIC が優れており、0.78~1.56 $\mu\text{g/ml}$ にそのピークが認められた。また、MIC の低い菌株では接種菌量によっての MIC の変動がほとんど認められないのに対し、原液接種で T-1220 に 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した菌株は、100 倍希釈液では 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 程度に MIC が良くなるという著しい変動が見られた。

Fig. 9 Morphological changes in various concentration of antibiotics

Medium: HI broth, Inoculum size: 10^6 cells/ml, Cultured period: 37°C 6 hr.



P. morganii 22 株の成績は Fig. 6 に示したが、T-1220 に対する MIC は、低濃度から高濃度までの分布を示し、MIC は SBPC のそれとほぼ同等か試験管で 1 管程度優れているという成績であった。

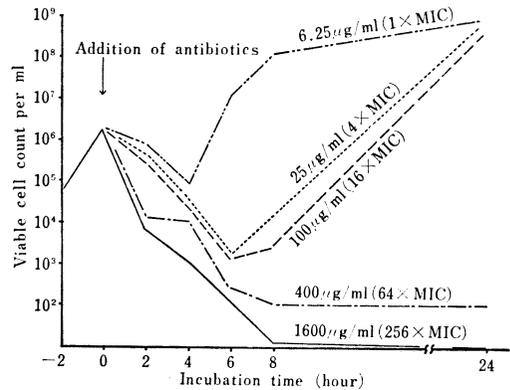
Pseud. aeruginosa 24 株の T-1220 に対する感受性成績は Fig. 7 に示した。原液接種では対照として調べた SBPC に対する MIC が $100 \mu\text{g/ml}$ にピークを有する明瞭な 1 峰性の感受性分布を示すのに対し、T-1220 では原液接種で $12.5 \mu\text{g/ml}$ から $200 \mu\text{g/ml}$ まで幅広い分布を示した。100 倍希釈液では 24 株中 20 株が T-1220 に対しては $6.25 \mu\text{g/ml}$ の MIC という 1 峰性の分布を示したのに対し、SBPC に対しては大多数は $50 \mu\text{g/ml}$ にピークを有する 1 峰性の分布を示していたが、中に $200 \mu\text{g/ml}$ 以上という MIC を示す菌が存在していた。

以上、T-1220 の各種細菌に対する MIC は、従来の抗緑膿菌用合成ペニシリンに比して、接種菌量による MIC の変動が著明に見られ、中でも *Pseud. aeruginosa* で最も顕著に見られたのが特徴的であった。

2. 菌の増殖に及ぼす影響と菌の形態変化

臨床分離株 *E. coli* TK 508-065 株を用いて、T-1220 の菌の増殖に及ぼす影響について調べた成績を Fig. 8 に示す。この菌株の T-1220 に対する MIC は、原液接種で $6.25 \mu\text{g/ml}$ 、100 倍希釈液接種で $3.13 \mu\text{g/ml}$ である。図中括弧内に示した数値は、100 倍希釈液接種時の MIC から見た倍数值である。 $3.13 \mu\text{g/ml}$ の薬剤添加では菌数はほとんど変化せず、静菌的な作用を示すが、 $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上になると生菌数は薬剤接触時間に平行して減少する。しかし、24 時間後に菌がほぼ完全に消失した薬剤濃度は $800 \mu\text{g/ml}$ ($256 \times \text{MIC}$) 以上であり、それ以下の濃度では $10^8/\text{ml}$ 程度の菌数の残存が認められた。また、図は省略するが、同時に対照として実施した ABPC では、ABPC に対する 16 倍の MIC の薬剤添加

Fig. 10 Bactericidal effect of T-1220 on *Klebsiella pneumoniae* TK 508-308

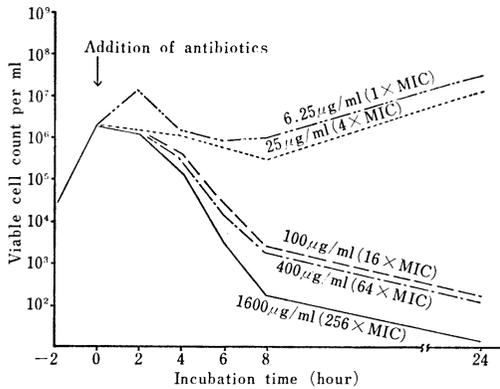


で 6 時間後にはほとんど生菌数が認められなくなっており、T-1220 の *E. coli* に対する殺菌作用は ABPC などに比較すると弱いという印象を受けた。

さらに、私達がペニシリンやセファロスポリン系薬剤間の殺菌力を比較検討する上に、常時使用している菌の形態変化の観察をも併せ行なった成績を Fig. 9 に示した。図示したものは 6 時間後のものであるが、T-1220 では対照とした ABPC や SBPC よりもはるかに広い濃度幅にわたってフィラメントの形成が認められた。これらの菌の形態変化の成績と、菌の増殖に及ぼす影響を見た成績とを総合して考えると、T-1220 ではある一定の薬剤濃度以上では、菌に及ぼす影響がほぼ同じで、一様にフィラメント形成後に溶菌に至ると推測されるが、溶菌に至るとしてもそれまでの経過時間は長い。それに比し、ABPC などでは薬剤が高濃度になれば菌はフィラメントを形成せずに、すぐにスフェロプラストないしはプロトプラストとなり、溶菌に至ることが観察された。

次に臨床分離株の *Klebsiella* TK 508-308 株を用いた際の T-1220 の菌の増殖に及ぼす影響の測定結果を Fig. 10 に示す。この株の T-1220 に対する MIC は、原液接種で $100 \mu\text{g/ml}$ 、100 倍希釈の接種で $6.25 \mu\text{g/ml}$ と、接種菌量により MIC に大きな差が認められた菌株である。両 MIC に挟まれた薬剤濃度 ($6.25 \mu\text{g/ml}$ から $100 \mu\text{g/ml}$) の処理では、6 時間後までは著しい生菌数の減少が見られるにもかかわらず、その後は菌が徐々に増え始め、24 時間後には薬剤無添加とほぼ同じ菌数に達した。そして、この菌の増殖を完全に抑える薬剤濃度は、少なくとも $400 \mu\text{g/ml}$ 以上を必要とした。この成績は、Fig. 9 の下段に示した菌の形態変化とよく一致する。すなわち、この菌は SBPC に対しては、接種菌量による

Fig. 11 Bactericidal effect of T-1220 on *Pseudomonas aeruginosa* TK 508-259



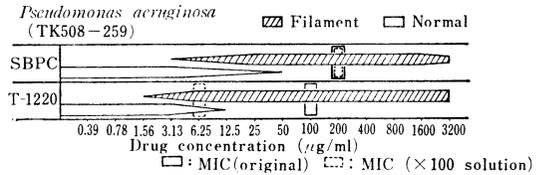
MICの変動がほとんど見られず、MICを中心にして25 $\mu\text{g/ml}$ から1,600 $\mu\text{g/ml}$ の間でフィラメントの形成が見られる。それに対し T-1220 では、フィラメント形成が100倍希釈液接種のMIC以下の濃度(1.56 $\mu\text{g/ml}$)から始まり、むしろ原液のMIC付近で多く見られ、フィラメント形成が見られなくなるのは、SBPCと同じ1,600 $\mu\text{g/ml}$ であるという幅広い成績を示した。

臨床分離株の *Pseud. aeruginosa* TK 508-259 株に対する T-1220 の菌の増殖に及ぼす影響について調べた成績を、Fig. 11 に示した。この株の T-1220 に対する MIC は、原液で100 $\mu\text{g/ml}$ 、100倍希釈液で6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。10⁶/ml の菌数での T-1220 の添加は、100倍希釈接種時の MIC (6.25 $\mu\text{g/ml}$) 程度の薬剤濃度では静菌的であり、原液接種の際の MIC 以上の薬剤で処理しなければ、殺菌作用は見られなかった。しかし、この成績は、図には示さないが、同時に実施した SBPC では、100倍希釈液での MIC の4倍(200 $\mu\text{g/ml}$) から64倍(3,200 $\mu\text{g/ml}$) 程度まで濃度を高めても、僅かの殺菌作用が認められるのみで、それに比してははるかに優れた成績であった。薬剤処理後6時間目の菌の形態変化は Fig. 12 に示した。ここでの特徴は、T-1220 では SBPC よりも低濃度からフィラメント形成が見られ始めるが、3,200 $\mu\text{g/ml}$ の薬剤処理でもなお長いフィラメント形成が見られ、SBPC 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高濃度での長いフィラメントを作らずに比較的早くスフェロプラストを形成して溶菌して行く経過と極めて対照的な観察結果であった。

このように、T-1220 の場合、緑膿菌においては、処理する薬剤濃度を高めて行っても、スフェロプラストから溶菌に至る像があまり認められないにもかかわらず、

Fig. 12 Morphological changes in various concentrations of antibiotics

Medium: HI broth, Inoculum size: 10⁶ cells/ml, Cultured period: 37°C, 6 hr.



生菌数が徐々に減少していく現象が他のペニシリン系薬剤と異なって、極めて印象的であった。

3. T-1220 処理時における *Pseudomonas aeruginosa* の形態変化の観察

a) 位相差顕微鏡による観察

T-1220 の *Pseud. aeruginosa* の増殖に及ぼす影響が100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で顕著に見られたことから、チャンバー内の培地に T-1220 を100 $\mu\text{g/ml}$ 以上含有させた時の緑膿菌の形態変化を主として観察した。ここには T-1220 400 $\mu\text{g/ml}$ (64 \times MIC) で処理した時の成績を示す。用いた菌は、T-1220 の菌の増殖に及ぼす影響を観察した菌と同じで TK 508-259 である。

Phot. 1 は T-1220 作用後30分の像で、菌は分裂をせずに2~4倍の長さに伸長している。Phot. 2 は作用後1時間、Phot. 3 は2時間、Phot. 4 は3時間のものである。MIC よりもはるかに高濃度での処理にもかかわらず、菌は時間の経過とともに伸長してフィラメントを形成するのみで、cell wall の septum 形成部位や他の脆弱部位から溶菌に至る像がほとんど見られない。そして菌体の内部には、細胞質内のところどころに何ものが凝集し始めるような density の濃い部分が見られ始める。薬剤作用後10時間近くなると、Phot. 5 に矢印で示したように、細胞質の中に density の極めて濃いかなり大きな粒子様物質が出現し、その粒子が細胞質の中をブラウン運動様の動きをするのが認められた。この時期には、フィラメント化した菌全体もまだ活力を有するかのよう動いている。このブラウン運動様の動きは、長時間にわたって認められたが、24時間頃になると Phot. 6 に示したような状態で菌の動きやブラウン運動様の動きは静止していた。恐らく菌は溶菌を起こすことなく死滅したものと考えられた。

このような形態変化の観察は、対照とした SBPC で処理した際には全く見られず、SBPC に対する16倍の MIC 濃度でも、薬剤作用開始後2~3時間になると、フィラ

Table 1 Serum concentrations of T-1220 in pediatric patients

Name	Sex	Age	Body weight (kg)	Administration	Dosage	Serum level ($\mu\text{g/ml}$)						
						30'	1°	2°	4°	5°	6°	7°
T. T.	♂	4 d	3.7 kg	i. v.	50 mg/kg	165	76	38	15			
T. U.	♂	5m	5.9 kg	i. v. d.	100 mg/kg	115	47	21	4.8		N. D.	
"	"	"	"	"	"	72	30	16	1.5		0.4	
S. S.	♂	10 y	43 kg	i. v. d.	23 mg/kg		11	4	1.1		0.5	
"	"	"	"	"	93 mg/kg	185	92	52	30	11		8

Method : Torii & Kawakami, Fujii & Konno micro method

Medium : HI agar+10% sheep blood

Strain : *Str. pyogenes* No. 58

Standard curve : pH 7.2 phosphate buffer

Table 2 Urinary excretion of T-1220 in pediatric patients

Name	Sex	Age	Body weight (kg)	Administration	Dosage	Urinary excretion					
						2°	4°	5°	6°	7°	Total
T. U.	♂	5m	5.9 kg	i. v. d.	100 mg/kg	13,750 $\mu\text{g/ml}$	8,000 $\mu\text{g/ml}$		540 $\mu\text{g/ml}$		
						181.5 mg	200 mg		15.1 mg		396.6 mg
						30.3%	33.3%		2.5%		66.1%
S. S.	♂	10 y	43 kg	i. v. d.	23 mg/kg	1,805 $\mu\text{g/ml}$	915 $\mu\text{g/ml}$		32 $\mu\text{g/ml}$		
						355.9 mg	82.9 mg		6.1 mg		444.9 mg
						35.2%	8.2%		0.6%		44.0%
"	"	"	"	"	93 mg/kg	5,241 $\mu\text{g/ml}$	1,436 $\mu\text{g/ml}$		378 $\mu\text{g/ml}$		
						1,913 mg	215.4 mg		69.9 mg	2,198.3 mg	
						47.8%	5.4%		1.8%	55.0%	

メント化した菌は次々と cell wall の脆弱部位より細胞膜が膨化突出し、溶菌する像が観察され、6時間後にはほとんどの菌が溶菌していた。

b) 電子顕微鏡による観察

Phot. 7 は、位相差顕微鏡下で観察した *Pseud. aeruginosa* TK 508-259 を T-1220 400 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で3時間作用させた時の像である。菌の cell wall にはほとんど損傷が見られず、また細胞内構造にも変化が認められない。しかし6時間後になると、Phot. 8 に示したように、cell wall は無変化にもかかわらず、核質部分と思われる部位に変化が出現し始めている。すなわち、細胞質内に均一に散在していた核質部分が、細胞の中心に片寄って来るようで、しかも DNA ファイバーが肥厚ないしは凝集しているような像が見られた。さらに時間が経過すると、Phot. 9 に示したように、核質部位の凝集はより著明となる。またその他に、Phot. 10 に示すように、リボゾーム粒子の崩壊が起こっていると思われる細胞質電子密度の低下も観察された。Phot. 11 も同一時間

においてしばしば観察される像で、細胞質の解離した像が認められた。

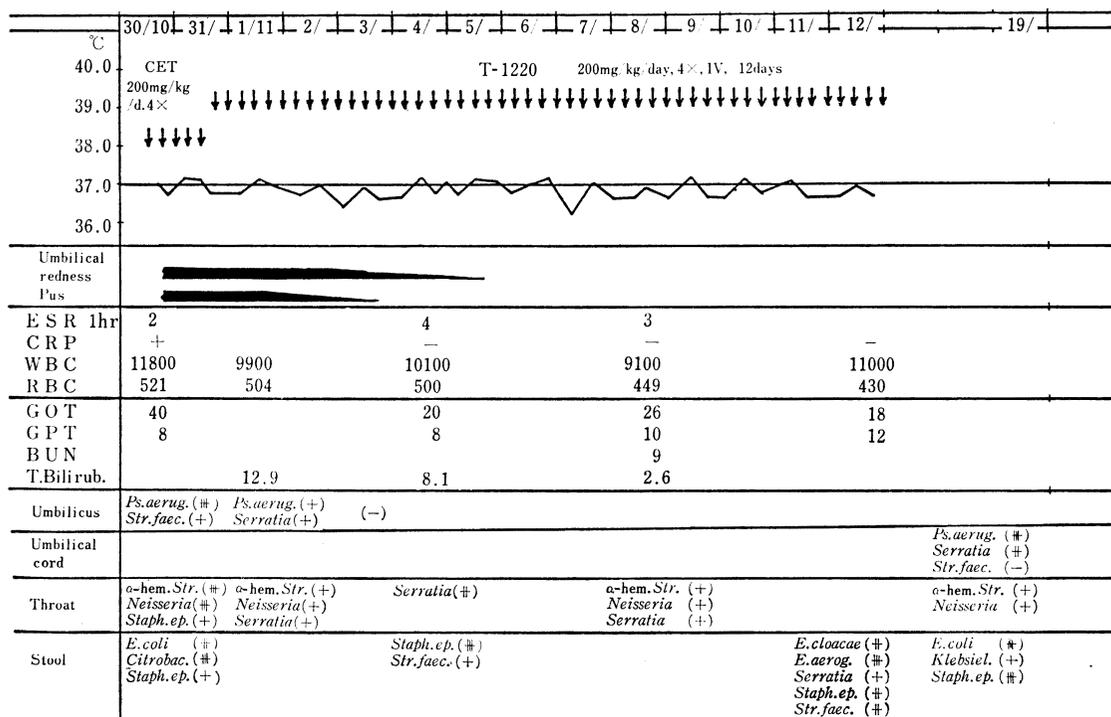
さらに時間が経過し、位相差顕微鏡下で density の強い粒子様物質が見られた時間での同菌の切片像は、Phot. 12 に示した。この density の強い粒子様の物質は非常に固く、超薄切片は極めて作製しにくく、厚い切片しか作製出来なかったが、細胞質の中にブラウン運動様の動きの見られた像に一致すると思われる電子密度の高い比較的大きなかたまりが観察された。このような電子密度の高い粒子様構造は、対照として用いた SBPC や CBPC で *Pseud. aeruginosa* を長い時間処理してもほとんど観察されない特異な像であった。

III. 小児における T-1220 の血中濃度および尿中排泄

1. 血中濃度

Table 1 には血中濃度を測定した3例の成績を示す。

第1例 (T. T. 例) は、緑膿菌による肺炎の新生児例で、生後4日目より T-1220 を使用し始め、全身状態が

Fig. 13 Case : T. T. ♂ S. 51.10.28. 2 days, B. W. : 3.6 kg, Diag. : Acute omphalitis due to *Ps. aeruginosa*

やや改善し、濃度測定が可能となった段階で微量定量法で測定している。6時間毎の連続投与中なので、尿中排泄は測定しなかった。投与量および投与方法は、50 mg/kg を10分かけて one shot 静注した。静注後30分で165 µg/ml の血中濃度を示し、1時間で76 µg/ml、2時間で38 µg/ml と比較的急速に血中濃度が下降し、4時間では15 µg/ml の濃度であった。6時間後は採血し得なかったが、この下降曲線から見ると、血中濃度の半減期は新生児としては意外と短く、また4時間で15 µg/ml 程度であることから、尿中からの排泄も比較的早いことが推測された。

第2例(T. U. 例)は、生後5ヵ月の男児で、T-1220 100 mg/kg を30分かけて点滴静注している。この症例も6時間毎の連続投与中のもので、2回にわたって測定しているが、第1回目の測定は初回投与時のもの、第2回目の測定は回復期に入ってからのものである。第1回目の測定では、点滴終了時に115 µg/ml の値を示したが、1時間で47 µg/ml、2時間で21 µg/ml と急速に下降し、4時間では4.8 µg/ml、6時間では測定不能であった。第2回目の測定値は、第1回目には比してはやや低い値を示したが、全体の血中濃度の推移は第1回目とはほぼ同様である。

第3例(S. S. 例)も、6時間毎の投与中のものであり、当初は1回量としては23 mg/kg を30分かけて点滴静注しているが、この時には点滴終了時には測定していないが、1時間目の血中濃度は11 µg/ml、2時間目は4 µg/ml と低い血中濃度であった。

2回目の測定は、1回目の約4倍量の93 mg/kg を30分かけて点滴静注しているが、点滴終了時には185 µg/ml、1時間で92 µg/ml、2時間で52 µg/ml、4時間で30 µg/ml と、第1例とはほぼ同様な消長をたどり、7時間目でも8 µg/ml の濃度が認められた。

2. 尿中排泄

Table 2には、T-1220の尿中排泄を測定し得たT. U. 例とS. S. 例の成績を示した。

T. U. 例では、2時間までの尿中排泄率は投与量の30.3%、2時間から4時間目までで投与量の33.3%と、尿中への排泄の遅延が見られたが、S. S. 例では投与量のいかんにかかわらず、2時間目までに35.2%、47.8%と6時間頃までに尿中に排泄される全量の大半が排泄されるという結果であった。

6時間前後までの排泄総量は、T. U. 例では投与量の66.1%、S. S. 例では44.0%、55.0%であった。

また尿中濃度は、S. S. 例の23 mg/kg の投与でも、

Fig. 14 Case T. U. ♂ S. 51. 1. 21. 5 months, B. W. : 5.9kg, Diag. : Partial 7th Trisomy+Pneumonia

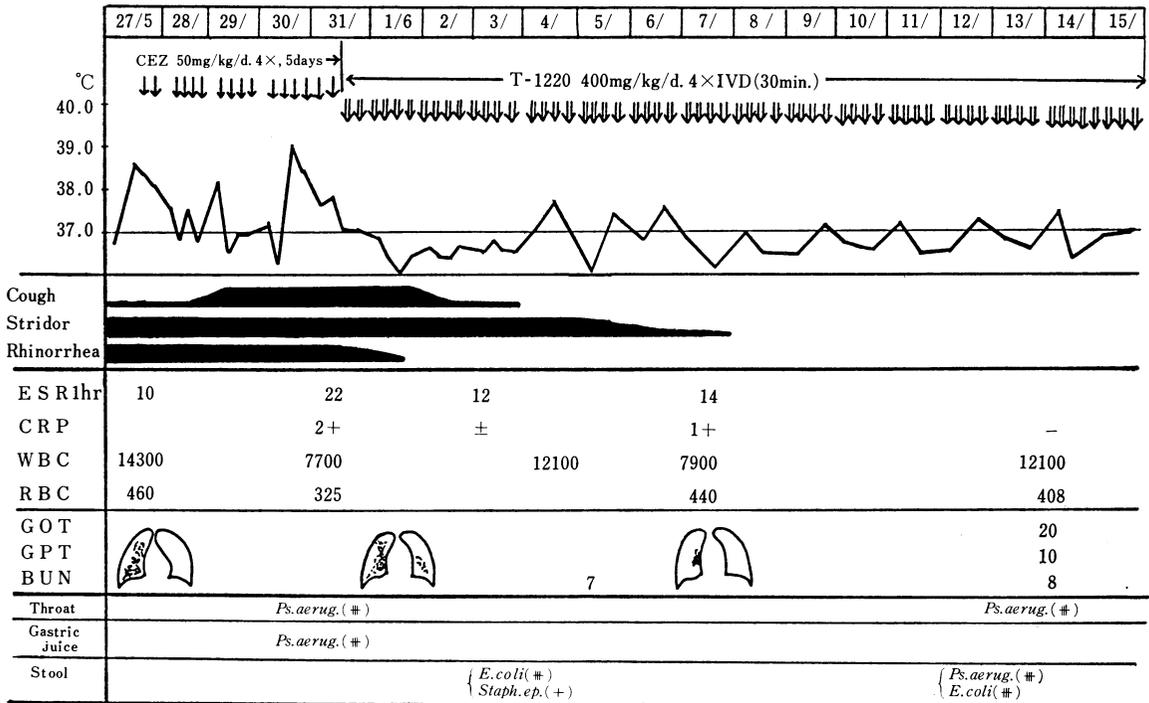


Fig. 15 Case S. S. ♂ S. 41. 3. 7. 10 ys. B. W. : 44 kg, Diag. : Acute leukoblastic leukemia

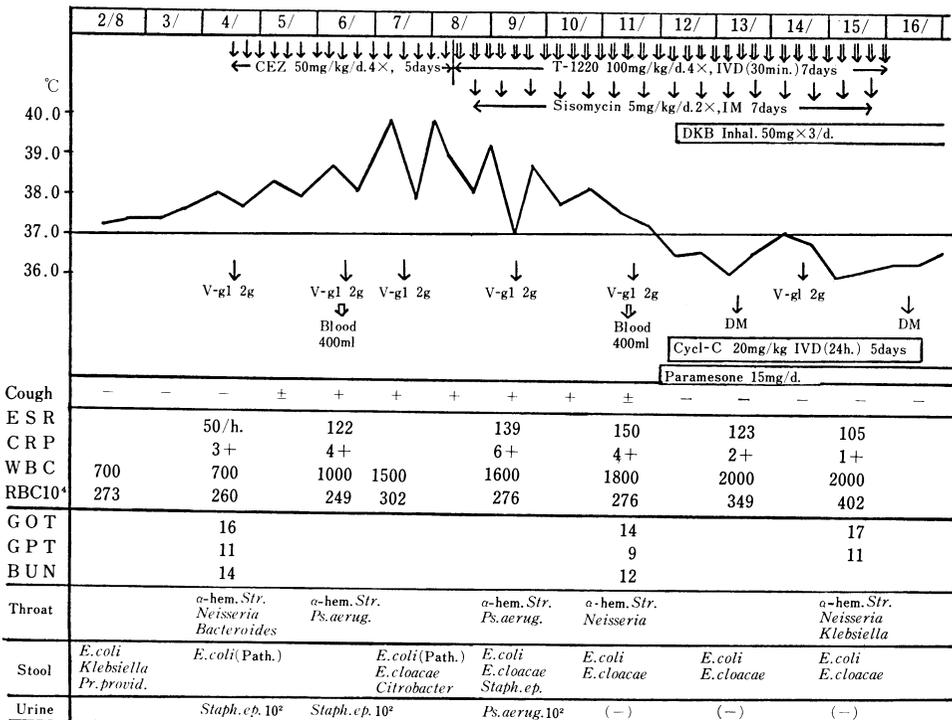
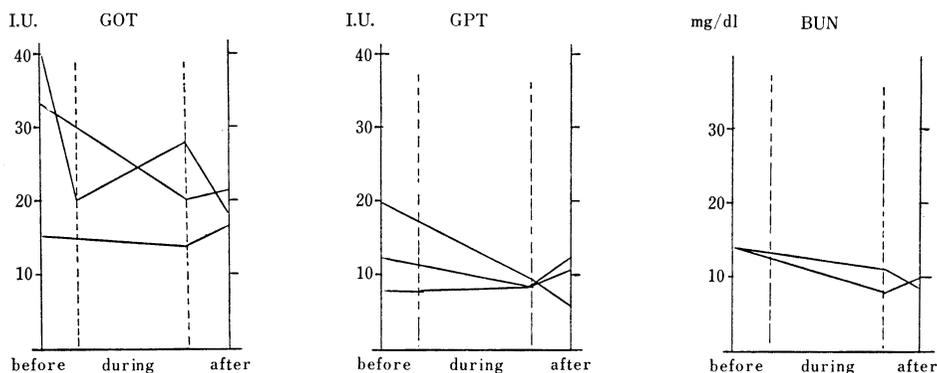


Fig. 16 Changes of GOT, GPT and BUN value during T-1220 usage



投与開始後4時間目まではほぼ $1,000 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度を保つものと推測される。

IV. 小児の感染症に対する T-1220 の臨床使用成績および副作用など

昭和51年4月より10月にかけて、帝京大学病院小児科に入院した患者のうち、T-1220の使用が適切と考えられた3例について使用した成績を述べる。これらの症例は、いずれも血中濃度あるいは尿中排泄をも臨床経過中にあわせて調べた症例である。

症例 T. T. 例 (Fig. 13) は、生後1日目より臍周囲部に発赤、腫脹をきたし、2日目には発赤、腫脹は臍周囲部に径 15 cm 大に拡大し、臍帯付着部より膿汁が認められ、不機嫌、哺乳力減退があり入院して来た。当初黄色ブドウ球菌による膣炎および臍周囲のフレグモネを考へて、CET (200 mg/kg/日 , 分4) の静注を開始したが、入院時の臍分泌物より緑膿菌が純培養的に検出されたため、生後4日目より T-1220 を1回量として 50 mg/kg ずつを10分かけて、one shot 静注、1日4回、6時間毎の投与に切り変えた。臍部の発赤、腫脹は T-1220 投与開始後24時間目頃より改善し始め、4日目には臍部よりの膿汁は消失して乾燥し、5日目には発赤は完全に消失した。この症例は、緑膿菌による急性膣炎と考えられ、臨床経過より T-1220 は有効と判断された。

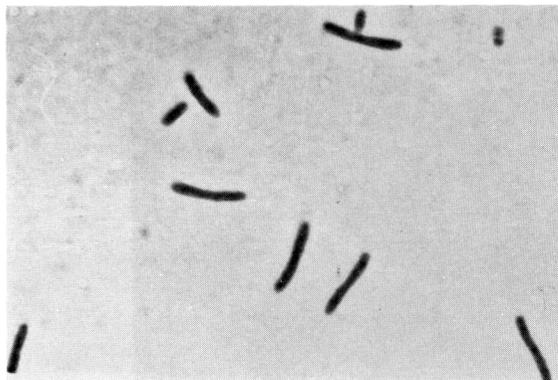
なお、T-1220の使用日数は12日間、使用総量は $8,640 \text{ mg}$ となるが、臍部膿汁からの緑膿菌は T-1220 使用開始後2日目には、膿汁が分泌されなくなったためもあって、検出されなくなったが、この症例は臍帯が癒着化して長く児に附着しており、臍帯が脱落するまでには21日を要し、臍帯脱落后癒着化した臍帯の断面を培養したところ、緑膿菌と *Serratia* が検出された。また咽頭よりは T-1220 使用中に *Serratia* が検出されていた。

症例 T. U. 例 (Fig. 14) は、多発性の奇形があり、哺乳力が弱く精査の結果、partial 7 trisomy と診断されたが、哺乳力は依然として弱く、しばし哺乳時の誤飲が認められていた。生後5ヵ月後、ミルク誤飲後、翌日より 38°C 台の発熱、咳嗽、喘鳴の増強、湿性ラ音、胸部X線写真で淡雲状の陰影出現をきたした。そのため CEZ を 50 mg/kg/日 を分4として6時間毎の one shot 静注を行っていたが、CEZ 投与後72時間経過しても 39°C の発熱が続き、血沈、CRP の検査結果もやや悪化の傾向が認められた。また同時期の咽頭培養、胃液培養で緑膿菌が純培養的に検出されたことも考え合わせて、緑膿菌性肺炎を疑い、T-1220 を1回 100 mg/kg とし、30分間かけての点滴静注を1日4回、6時間毎に投与することにした。投与開始後翌日には下熱し、4日目頃より一過性に 37.8°C 前後の発熱が認められることもあったが、臨床症状の改善を見、またその後の胸部X線写真で異常陰影の著明な改善を認めており、T-1220 が有効であったと判断された。なお、この症例の咽頭より検出された緑膿菌の T-1220 に対する MIC は、 $6.25 \mu\text{g/ml}$ (接種菌量が $10^6/\text{ml}$ の場合) であった。

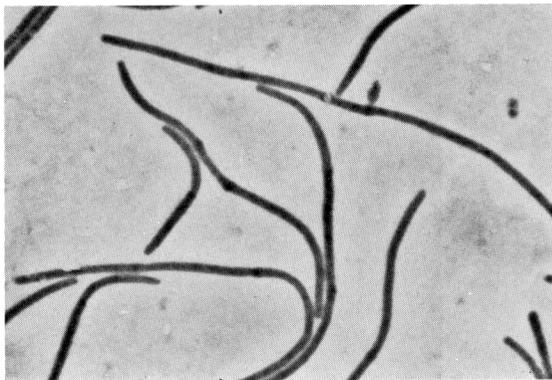
T-1220 の使用日数は15日間、使用総量は 36 g となるが、咽頭からの緑膿菌は、T-1220 使用期間中も消失は見られず、また T-1220 使用中より糞便にも緑膿菌が検出された。

症例 S. S. 例 (Fig. 15) は、6歳より急性リンパ球性白血病に罹患し、その後髄膜浸潤を繰り返していたが、10歳になって白血病細胞の精巣および硬口蓋浸潤をきたし、当科に入院した。入院後、ステロイドの大量療法、放射線照射などの治療を受けるも完全寛解には至らず、ステロイドを漸減していたところ、発熱、CRP 陽転、血沈の亢進をきたした。何らかの細菌による感染を疑い、

Phase-contrast micrograph of *Pseudomonas aeruginosa*



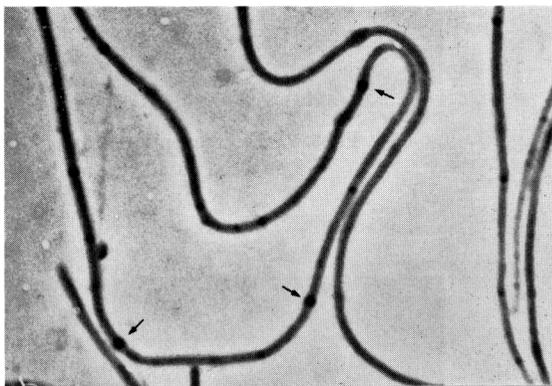
Phot. 1 30 minutes



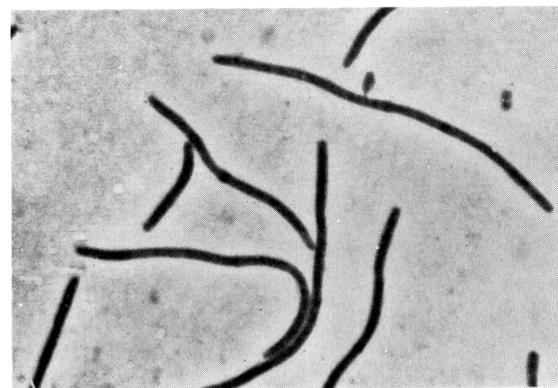
Phot. 4 3 hours



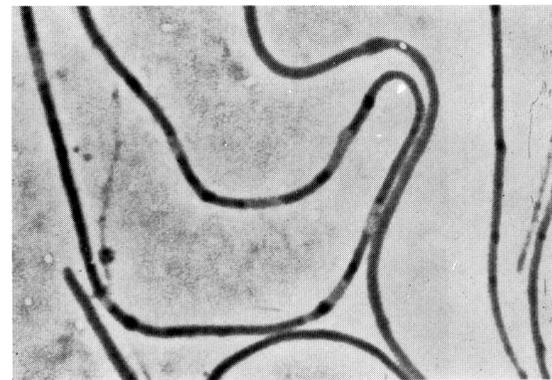
Phot. 2 1 hours



Phot. 5 10 hours



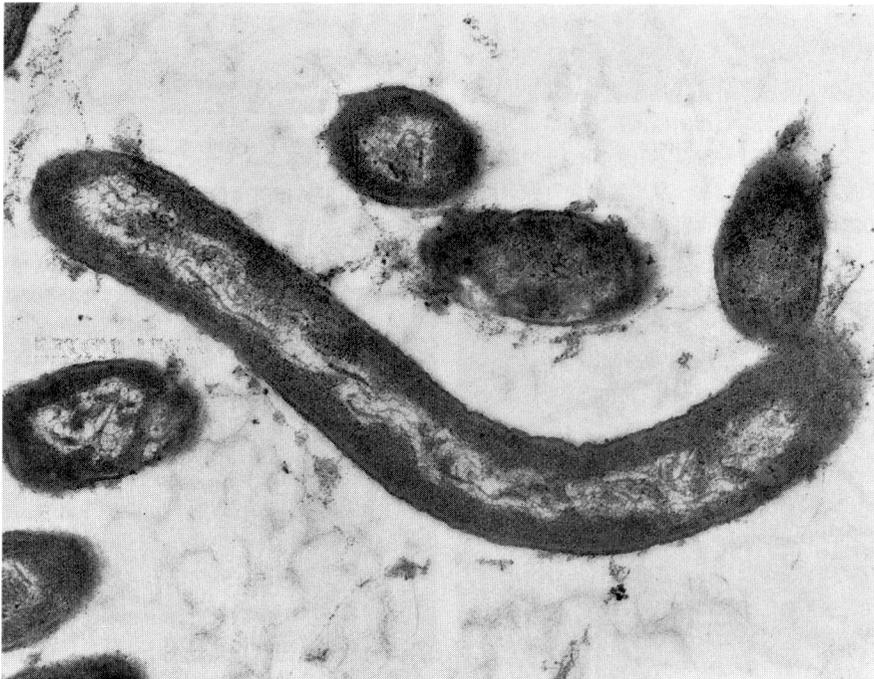
Phot. 3 2 hours



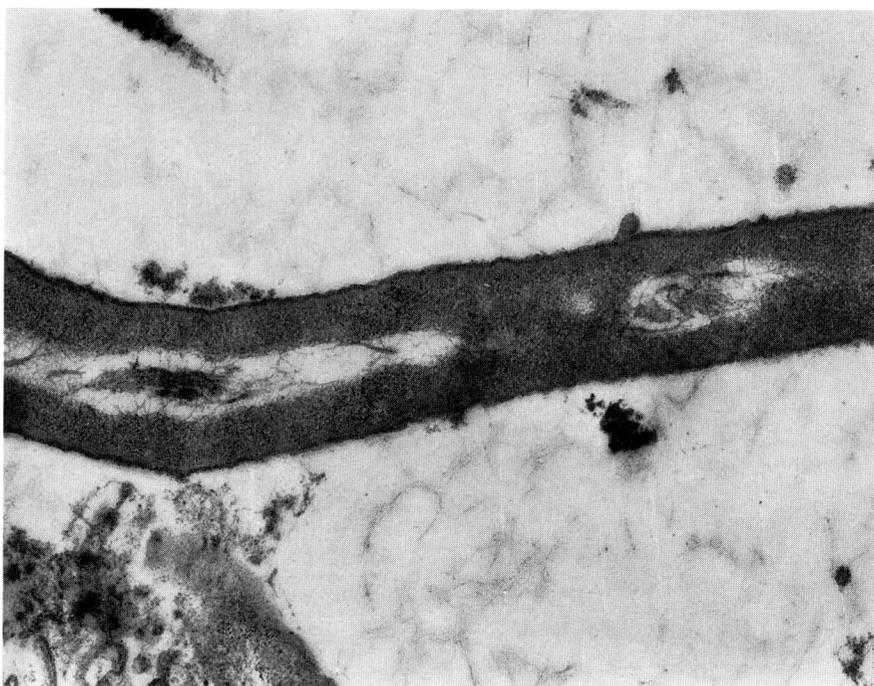
Phot. 6 24 hours



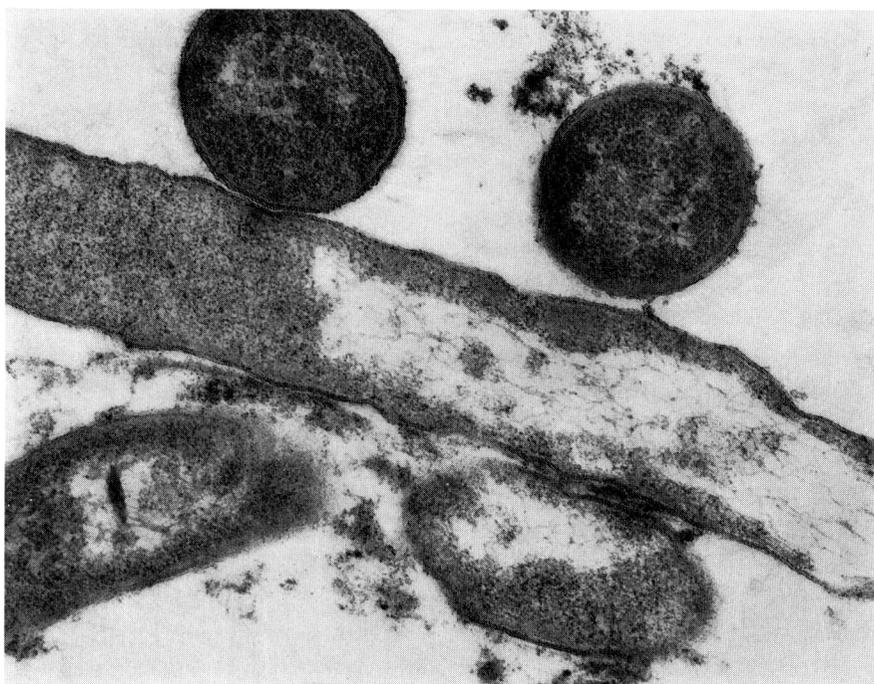
Phot. 7 Electron micrograph of ultrathin section of *Pseud. aeruginosa*, exposed to 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of T-1220 for 3 hours



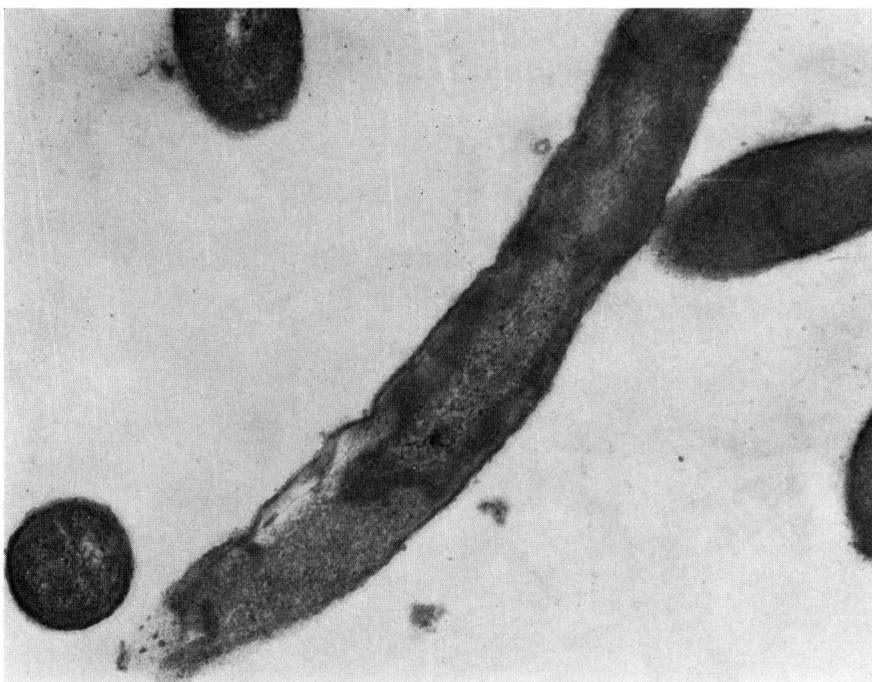
Phot. 8 Ultrathin section after 6 hours



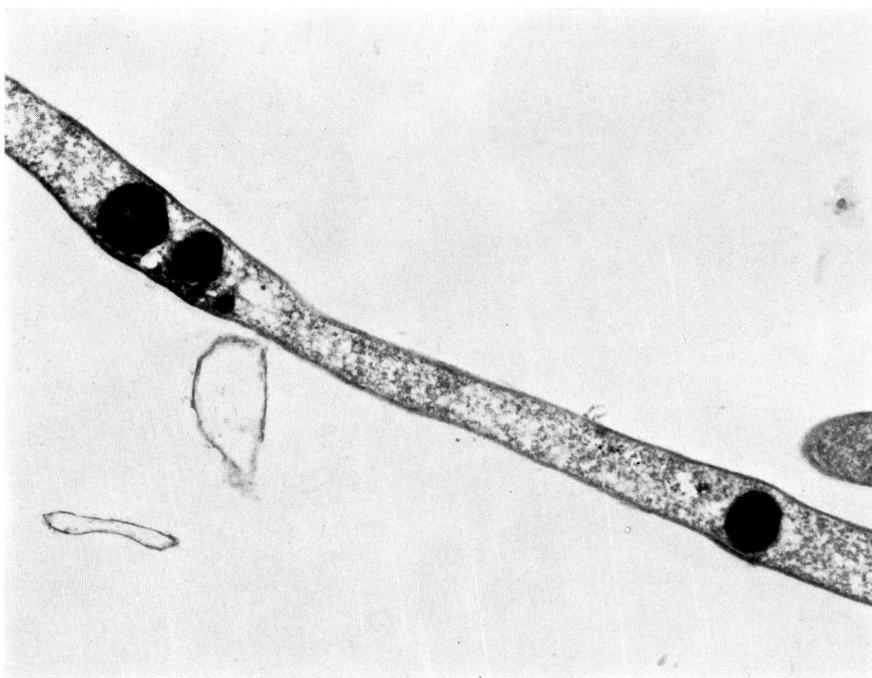
Phot. 9 Ultrathin section after 9 hours



Phot. 10 Ultrathin section after 9 hours



Phot. 11 Ultrathin section after 9 hours



Phot. 12 Ultrathin section after 11 hours

CEZ (50 mg/kg/日, 分4) 静注を開始し, 輸血, ヴェノグロブリン投与などを行っていたが, 下熱せず, 臨床検査所見の改善も認められなかった。加えて咽頭から緑膿菌が検出され始め, 血液培養では菌は常に陰性であったが, 緑膿菌による感染を疑い, T-1220 を1回25 mg/kg, 30分間かけての点滴静注, 1日4回6時間毎の投与に切り変えた。しかしこの症例は白血病末期であり, 重症例であったので, 同時に Sisomicin (5 mg/kg/日, 分2) の筋注も併用している。投与開始後3日目には下熱し, CRP のやや改善が認められたが, 血沈は改善しなかった。しかし咽頭や尿からの緑膿菌は消失している。この症例は, 咳嗽は多少あったものの, 咽頭, 胸部の臨床的所見は正常であり, その他諸種の細菌学的検索にもかかわらず, 感染巣および原因菌は明らかにし得ず, 臨床経過よりは抗生物質が有効であったとも判断されたが, 他剤併用のため T-1220 の効果は不明と判断した。なおこの症例は, その後まもなく再悪化し, T-1220 を1回100 mg/kg として6時間毎の投与を行なっているが, 結局は頭蓋内出血で死亡している。

以上, 細菌感染症と考えられた3例のうち, 緑膿菌感染症と思われた2例で, T-1220 は有効であったが, 残る1例については, 他剤併用のために効果は不明であった。なお, 3例とも副作用と考えられる症状を呈したものは1例もなく, T-1220 使用前後に測定した GOT, GPT, および BUN の成績ではいずれも正常範囲内の値であった。そのまとめは Fig. 16 に示した。

なお, 静注, 点滴静注による局所障害であるが, 点滴静注では疼痛はなかったが, one shot 静注では同一部位を3日程度連続使用していると, 静注時激しく啼泣するが, これはこの薬剤に限らずどの薬剤でも見られることで, 特にこの薬剤で甚だしいとは考えられなかった。

V. 考 察

T-1220 の各種細菌に対する感受性試験成績は, ブドウ球菌に対しては SBPC よりやや劣り, 大腸菌, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morgani*, *Pseudomonas aeruginosa* に対しては, SBPC より試験管で1管程度優れているものから, 数管優れているものがあるというのが, 総括的な見方であろう。

しかしながら, 詳細に眺めてみると, その中に, いくつかの問題点を見出すことが出来る。

その第1は, 接種菌量により従来の同系統の薬剤に比して MIC が大きく変動するということである。

第2には, ブドウ球菌に対する T-1220 の MIC は, 接種菌量を少なくしても, SBPC のような1峰性の分布は示さず, なだらかな曲線を描くということである。

第3には, *Klebsiella* や *Serratia* に対しては, 接種菌量を少なくすると確かに SBPC に比較して, MIC が遙かに優れている株も存在するが, なお SBPC と同様に高度耐性を示す株もあるということである。

第4には, 緑膿菌では, 接種菌量を少なくすると, T-1220 の方が SBPC より MIC が確かに優れているということである。

この第4の特性から, T-1220 が抗緑膿菌用の薬剤として注目を浴びてきたのであるが, 私達のしらべたところでは, そこには, 臨床使用上, いくつかの留意すべき問題が存在するように思われた。

そもそも, MIC が接種菌量により大きく変動する場合には, 従来は, おおよそ3つのことが考えられていた。

その1つは, 例えばサルファ剤のように, 薬剤処理後, 2~3代の generation を経てから発育が阻止されるもの, 2つには, Streptomycin や Kanamycin のように, mutant frequency の高いもの, 3つには, Penicillin や Cephalosporin 系薬剤に見られる β -lactamase の影響によるものがある。

しかしながら, 同じ Penicillin や Cephalosporin 系薬剤でも, 薬剤によっては, 接種菌量による MIC の変動の幅は必ずしも同一でなく, 極めて大きく変動するものから, 僅かの変動であるものなどがあり, このような変動の差は, 同じ Penicillin や Cephalosporin 系の薬剤の中でも菌の産生する β -lactamase に対して毀されやすいか, 毀されにくいかという差が一番大きな因子と理解されていたが, その他に薬剤含有培地中で培養している際に, induction がかかって MIC が変動するもの, あるいは薬剤が菌に取り込まれる速度の相違……つまり, これらの薬剤の target site に対する親和性の差が, 接種菌量による MIC の変動を生むのだらうと理解されている面もある。

しかし, 私達は, Penicillin 系や Cephalosporin 系の薬剤の場合, 上述したいろいろな意味をも含めて, 菌が薬剤の作用を受け, フィラメント化し, 次にはスフェロプラスト化ないしはプロトプラスト化し, 遂には溶菌に至る過程の時間的な速度の差, ならびにそれらの現象が出現し, 確実に溶菌に至るまでの薬剤濃度の幅も, MIC に大きな変動を与えると考えており, そのような評価の仕方の方が, 臨床使用の際における臨床反応と明らかに直結していると考えている。

つまり, 同じ Penicillin 系や Cephalosporin 系薬剤でも, cell wall 合成阻害剤といわれ, 殺菌性物質であるとされていながら, cell wall の合成阻害作用の上で

は大きな差があり、中には殺菌的より静菌的作用と理解した方がよい薬剤もかなりあり、このような cell wall 合成阻害作用の弱い薬剤ならびに殺菌作用の弱い薬剤の場合には、臨床使用の際には、臨床反応は鈍いことを指摘してきた⁸⁷⁻⁹¹。

このようなことから、私達は、ABPC や SBPC と比較しながら、T-1220 の菌の増殖に及ぼす影響を観察したが、菌の発育を抑え、少なくとも殺菌効果が発揮される濃度は、菌の 18 時間培養の 100 倍希釈液を用いた際に見られる MIC より、遙かに高濃度でなければ見られず、何よりも特徴は殺菌効果が見られる濃度であっても、殺菌に至る迄の時間が長く、完全に殺すためには、早くて 8 時間、多くはそれ以上の時間を必要とするということである。

その証拠に、菌の形態変化を見ても、ABPC や SBPC に比して、遙かに高濃度までフィラメント化した菌が見られ、菌は溶菌を示さない。この溶菌までに至る時間的な長さが、菌の増殖曲線の上に見られた殺菌効果のゆるやかさと一致すると考えられるのである。

このように MIC がよいのにもかかわらず、フィラメント化はするがなかなか溶菌に至らない現象は、緑膿菌で著明に認められることから、緑膿菌については位相差顕微鏡下で、その形態変化を観察したが、やはり菌は長くフィラメント化するのみで、少なくとも 8 時間以上経過しても溶菌には至らなかった。

それよりも、ここでもう 1 つの特徴は、T-1220 がフィラメント化するのみでなく、従来の Penicillin や Cephalosporin 系薬剤では見られない density の強い粒子様の構造が形成され、細胞質内をブラウン運動様に動いているということであった。もっとも従来の Penicillin や Cephalosporin 系薬剤では、T-1220 と異なり、8 時間以上の長時間にわたって溶菌せずにフィラメント化している現象を観察することが出来なかつたことに起因するのかもしれないが、いずれにしてもこれは新しい事実であった。そして菌は遂には溶菌することなく、菌体内に粒子様構造を持ったまま、フィラメントのまま死滅するものと考えられた。

この粒子様構造を、電子顕微鏡下で観察しようとして、電顕試料を作製したが、この粒子は極めて固く、ダイヤモンドナイフを用いても結局は厚い切片しか製作し得ず、その微細構造は観察することが出来ず、細胞質内の何に起因する物質なのかを推測することも出来なかつたが、この粒子様構造は、現在の常法として用いられている、グルタルアルデヒドとオスミウムによる二重固定、エポキシ樹脂を用いた包埋法では、極めて固くなる

という性状を持っている物質であるということ、記録に留めておきたい。

もう一つ、電顕下での観察の中で、T-1220 は従来の Penicillin や Cephalosporin 系薬剤と異なる現象が見られた。それは溶菌に至る像が見られないことから考えると、電顕下では細胞壁の構造に著明な変化が見られないのは当然だとしても、主な変化は細胞壁よりも細胞質内に見られ、時間の経過とともに、粒子様物質の他に、核質部分に DNA ファイバーの凝集あるいは肥厚とも見える像や、ribosome の崩壊を思わせる像が見られたことである。

このような DNA ファイバーの凝集ないしは肥厚像は、菌の発育に適さない環境下で、長時間放置すると、時に見られることもあるが、対照とした T-1220 無処置の同じ時間における緑膿菌には、このような像は見られず、今のところ私達はこの DNA ファイバーの凝集ないしは肥厚像は、T-1220 の直接の作用機作によるものではないにしても、T-1220 の存在が菌の生存発育に悪影響を与えている結果であると考えたい。

そして、このような凝集ないしは肥厚像、ribosome の崩壊像と、density の強い粒子様物質とは、恐らく一連の関連を持っていると考えられ、T-1220 による菌のフィラメント化は、正しく T-1220 の cell wall 合成阻害作用を反映するものだとしても、溶菌しにくいことから考えると、それ程強いものではなく、フィラメント化したまま細胞質内に粒子構造を持って死滅していくことから、T-1220 が単なる cell wall の合成阻害作用だけではなく、細胞質内の菌の代謝過程のどこかをも阻害している可能性は容易に推察された。即ち、T-1220 には側鎖にピペラジン環を有しており、このピペラジン環は、化学療法剤 Pipemidic acid にも側鎖として見られており、Pipemidic acid が DNA 合成阻害を一次作用点としていると考えられている時、T-1220 にも DNA 合成阻害作用はないとはいいい切れないと考えている。

もし、想像を許していただけるなら、T-1220 は Penicillin の cell wall 合成阻害作用とピペラジン環を主とする側鎖の DNA 合成阻害作用が分子結合の上で相加ないしは相乗的に作用している薬剤とも考えられるが、それではこの 2 つの異なる作用は T-1220 が細菌に取り込まれた後、分子結合の状態のままでも発揮できるものなのか、それとも分解して菌の更に内部まで取り込まれて作用するのかは判らないことであり、今後側鎖単独、あるいは側鎖と 6-APA を別々に同一菌体に作用させて検討することなどが必要であろう。

T-1220 の血中濃度や尿中排泄については、T-1220 の

投与が適正と考えられた3例の小児について検討した。

ただ、小児の使用量については、動物実験レベルや成人での吸収排泄や安全性をも考慮に入れ、かつ、私達が行った本物質の殺菌作用の弱さを起点として考える時、試験管内での MIC より遙かに高濃度の血中濃度を必要とすると考えて、年齢は異なるとしても1回投与量 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg の静注または点滴静注について慎重に臨床症状をチェックしながら行った。

その結果、25 mg/kg を30分かけて点滴静注する方法では、尿路感染には有効だとしても全身的な緑膿菌感染症には血中濃度から見ても効果は期待しがたいと考えられ、one shot 静注であれば、50 mg/kg あるいはそれ以上の投与量、30分かけての点滴静注では 100 mg/kg の投与が必要であると考えられた。

事実、臨床使用例は生後4日目の新生児での緑膿菌による肺炎では、1回量 50 mg/kg (1日量 200 mg/kg, 分4, 6時間毎投与) で効を奏し、生後5ヵ月の緑膿菌によると考えられる肺炎では1回量 100 mg/kg (1日量 400 mg/kg, 分4, 6時間毎の投与) で効を奏している。

ただし、これらの症例は臨床的には効果があったものの、MIC より遙かに高い血中濃度を示す量の T-1220 の使用中にもかかわらず病巣や咽頭、糞便から緑膿菌が検出され、それらの菌は T-1220 に対しては耐性を示さなかったことから考えると、やはり基礎実験で私達が指摘した殺菌力の弱さを裏付けするものと考えている。即ち、これらの症例が T-1220 の使用により効を得たのは T-1220 の大量使用により緑膿菌の増殖が抑えられた結果、生体側の感染防禦因子が働くことによって病巣を治癒帰転にもっていくことが出来たのであって、生体側の防禦因子が低下しているような際にも果してこの量で効を奏するのか、あるいはどのように量を増しても効を奏さないのかということは不明なことである。

即ち、T-1220 は緑膿菌に対しては試験管内での MIC はよいとしても、殺菌力は弱く、臨床使用に関しては全身的な感染症であれば CBPC や SBPC と同様かなりの大量を1日4回程度使用しなければ、臨床効果は期待できないというのが今のところの私達の印象である。

また、生後4日目の新生児に使用しているが、腎機能の未熟な新生児では薬物によっては腎からの排泄が遅れ、血中に長くかつ高く持続する場合があるが、T-1220 にはそのような傾向は著明には認められなかったが、これは1例のみであるので結論は控えたい。

副作用としては、極めて慎重に投与時のチェック、GOT, GPT, BUN などの検査を行なったが特に異常は認められなかったが、病巣のみならず咽頭や糞便の細菌

叢の変動を経時的にしらべると、例えば T. T. 例では病巣より緑膿菌が消失しなかった他に咽頭から *Serratia* が検出され、糞便から大腸菌が消失、緑膿菌が検出され、T-1220 の使用中止とともにいずれも正常細菌叢に戻るというような現象も見られいずれにしても無批判な大量長期間の使用は菌交代現象から新生児、未熟児や免疫不全状態の時には医原性ともいふべき opportunistic infection が起こることも予想され、本薬剤の使用にあたっては適応を厳密にするばかりでなく、上述したような細菌学的検査のチェックも必要であると考えている。

結 語

T-1220 の各種細菌に対する抗菌力に関する基礎的検討を行ない、その基礎的検討から小児科領域で使用される際の本薬剤の位置づけを明確にするとともに、3例の本薬剤の使用が適当と考えられる症例に使用し、本薬剤の小児科領域における臨床使用の意義について言及した。

文 献

- 1) 藤井良知, 紺野昌俊: FUJII-GROSSMAN 抗生物質微量測定法の検討—その変法と応用—. *Chemotherapy* 12: 22~30, 1964
- 2) 藤井良知: 化学療法の効果判定基準—小児急性気道感染症. 医人 14: 41~48, 1965
- 3) 藤井良知: 小児呼吸器感染症と合成ペニシリン—なぜペニシリンは昔ほど効かないか—. 胸部疾患 8: 1043~1052, 1964
- 4) 藤井良知, 紺野昌俊, 生方公子: ペニシリン, セファロsporin C 系薬剤による大腸菌のフィラメント形成並びにその臨床的意義について. I. セファレキシン投与後慢性腎盂腎炎患児の尿中に出現した大腸菌のフィラメント像およびスフェロプラスト並びにそれらと再発の関係. *感染症学雑誌* 44: 62~71, 1970
- 5) 藤井良知, 紺野昌俊, 生方公子: ペニシリン, セファロsporin C 系薬剤による大腸菌のフィラメント形成並びにその臨床的意義について. II. 基礎的検討. *感染症学雑誌* 44: 72~85, 1970
- 6) 藤井良知, 紺野昌俊, 生方公子: ペニシリン, セファロsporin C 系薬剤による大腸菌のフィラメント形成並びにその臨床的意義について. III. 電子顕微鏡による検討. *感染症学雑誌* 44: 146~155, 1970
- 7) 藤井良知, 紺野昌俊, 岡田一穂, 八森 啓, 生方公子: 小児科領域における経口 Cephalosporin C 製剤の検討 (特に Cephalexin を中心として). *小児科臨床* 22: 1093~1105, 1969
- 8) 藤井良知, 紺野昌俊, 岡田一穂, 八森 啓, 生方公子: 小児科領域における Cefazolin の基礎的ならびに臨床的検討. *Chemotherapy* 18: 645~657, 1970
- 9) 紺野昌俊, 生方公子: 緑膿菌感染症の治療上の問題点. *小児科臨床* 26: 269~276, 1973

FUNDAMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON T-1220

MASATOSHI KONNO, KIMIKO UBUKATA, HIROKO TAKAHASHI
SHINTARO HASHIRA, YOSHIO YANASE, YASUKO NAKAYAMA
and RYOCHI FUJII

Department of Pediatrics, School of Medicine, Teikyo University

Fundamental studies on the antibacterial activity and clinical studies in the field of pediatrics of T-1220 were carried out and the following results were obtained.

A. Fundamental studies on the antibacterial activity

1) Antibacterial activity

The sensitivity of *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* sp. and *P. aeruginosa* isolated from clinical specimens to T-1220 and SBPC was measured.

The results showed that the sensitivity to T-1220 was 2-3 tubes superior to that of SBPC. But the MIC of T-1220 remarkably changed by the inoculum size in comparison with SBPC.

2) Bactericidal action

The bactericidal action of T-1220 was studied employing each one strain of *E. coli*, *Klebsiella* and *P. aeruginosa*. The bactericidal action of T-1220 was weaker than that of ABPC and SBPC, but the bactericidal effect of T-1220 against *P. aeruginosa* was observed by the treatment at lower concentration than that of SBPC.

3) Morphological changes

When *E. coli*, *Klebsiella* and *P. aeruginosa* were treated with T-1220 at far higher concentration than MIC, very long filamentous shapes were formed and the formation of spheroplast or bacteriolysis were not observed.

Especially the filamentous shape observed in the cases of *P. aeruginosa* was very specific and thick density particle features were observed in the inside of the cells, suggesting that the cells may become extinct without bacteriolysis.

4) Electron microscopic observation

In *P. aeruginosa* treated with T-1220 the change in the cell wall was scarcely detected in spite of the filament formation. The agglutinating feature of nucleoplasm region in the cell, degradation of ribosome or hyperplasia feature of DNA fibers were rather distinctive.

The activity of T-1220 against gram negative bacilli such as *P. aeruginosa* and *E. coli* was not only the inhibitory action of cell wall synthesis, but the side chain of T-1220, piperazine ring, may act some effect.

B. Results on the absorption, excretion and
clinical trial in the field of pediatrics

T-1220 was administered to the neonates, infants and children and the levels in blood and urine were measured. The half-life in blood was comparatively short. From the results the necessary dose of administration against the infectious diseases by *P. aeruginosa* was 50 mg/kg at one time in the cases of one shot intravenous injection and in the drip infusion 100 mg/kg 4 times a day at 6 hrs interval.

Against omphalitis in the neonates and pneumonia in infants by *P. aeruginosa* T-1220 was administered and clinically effective results were obtained. Any side effect was not observed.