

外科領域における KW-1062 の抗菌力, 吸収, 排泄, 代謝
および臨床応用に関する検討

坂部 孝・中山一誠・岩本英男・岩井重富
鷹取睦美・川辺隆道・大橋 満・村田郁夫
杉山博昭・水足裕子

日本大学医学部第三外科

石山俊次

日本大学総合医学研究所

KW-1062 (O-2-amino-6-(methylamino)-2,3,4,6-tetra-deoxy- α -D-erythro-hexopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O-[3-deoxy-4-C-methyl-3-(methylamino)- β -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-2-deoxy-D-streptamine) は協和醸酵工業(株)東京研究所において発見された新アミノ配糖体抗生物質で¹⁾, その構造式は Gentamicin に類似している (Fig. 1)。

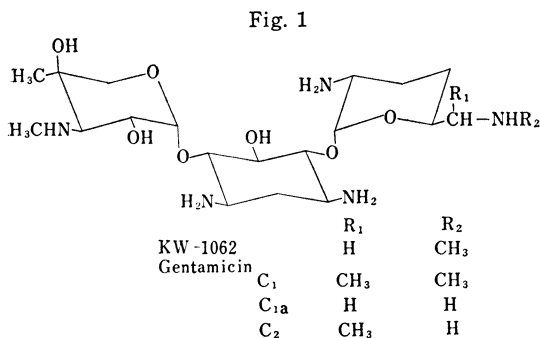
その抗菌作用もグラム陽性および陰性菌に幅広く, とくに緑膿菌に対してもすぐれた抗菌力を有するといわれる。

今回, KW-1062 について, その抗菌力, 吸収, 排泄, 代謝および臨床応用について検討を行なったので報告する。

I. 抗菌スペクトル

教室保存の標準株について KW-1062 の抗菌力 (MIC) を測定し, その抗菌スペクトルを検討した。MIC の測定法は日本化学療法学会標準法に準じて行ない, 菌液は原液を用いた。以下の病巣分離菌に対しても同様に MIC 測定を行なった。

その結果, KW-1062 はグラム陽性および陰性菌に対し幅広い抗菌力を示し, *Staphylococcus aureus* は 0.1~0.2 μ g/ml, *E. coli* は 0.4~0.8 μ g/ml, *Pseudomonas aeruginosa* は 1.56 μ g/ml, でそれぞれ発育が阻止された (Table 1)。



これは同時に測定した Gentamicin (GM)^{2,3)} のそれとほぼ同等であり, KW-1062 はアミノ配糖体系抗生物質の中で抗緑膿菌作用を有するグループに属する抗生物質である。

Table 1 Antimicrobial spectrum

	GM	KW-1062	Sisomicin
1. <i>Staph. aureus</i> JC-1	0.2	0.2	≤0.1
2. <i>Staph. aureus</i> 209-P	≤0.1	≤0.1	≤0.1
3. <i>Staph. aureus</i> Terajima	0.2	0.2	0.1
4. <i>Staph. aureus</i> Smith	≤0.1	≤0.1	≤0.1
5. <i>Staph. aureus</i> Newmann	0.2	0.2	0.2
6. <i>Staph. aureus</i> ATCC 6538	0.4	0.2	0.2
7. <i>Streptococcus</i> Cook	1.56	1.56	3.13
8. <i>Strept. faecalis</i> ATCC 8043	3.13	3.13	3.13
9. <i>Micrococcus lysodeikticus</i>	0.2	0.4	0.8
10. <i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	0.4	0.8	1.56
11. <i>Kleb. pneumoniae</i> PCI 602	0.4	0.8	0.4
12. <i>Bacillus pumilus</i> IFO 3813	0.4	0.4	0.4
13. <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	≤0.1	0.2	≤0.1
14. <i>B. cereus mycoides</i> ATCC 9654	0.2	0.4	0.2
15. <i>B. cereus mycoides</i> ATCC 11778	0.2	0.4	0.2
16. <i>Corynebacterium</i> Nozi	≤0.1	≤0.1	≤0.1
17. <i>Escherichia coli</i> K 12	0.4	0.4	0.4
18. <i>Escherichia coli</i> B	0.4	0.4	0.4
19. <i>Escherichia coli</i> BWM	0.4	0.4	0.4
20. <i>Escherichia coli</i> C 14	0.8	0.4	0.2
21. <i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.8	0.8	0.8
22. <i>Escherichia coli</i> JC-2	0.4	0.8	0.4
23. <i>Shigella sonnei</i> I	1.56	1.56	0.8
24. <i>Aerobacter aerogenes</i> IAH 1102	0.4	0.4	0.4
25. <i>Proteus morgani</i> No. 1001	0.4	0.4	0.4
26. <i>Proteus</i> sp. (MB 838)	3.13	3.13	3.13
27. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	3.13	1.56	0.8

Table 2 Susceptibility distribution of *Staphylococcus aureus* to aminoglycosides (54 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
	≤ 0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
SM							2	5	15	11	2	19
KM							8	9	18		1	18
GM		2	8		12	27	5					
DKB				1	6	26	17	4				
AMK			1		2	2	3	12	20	9	4	1
TOB	2		2	5	14	16	15					
KW-1062		1	8	10	16	19						
Sisomicin		7	12	18	17							

Table 3 Susceptibility distribution of *E. coli* to aminoglycosides (54 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
	≤ 0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
SM					4	2	27	4	3	2	12	
KM					2	5	21	12	4	1	9	
GM			4	18	24	7	1					
DKB				5	13	23	11	1	1			
AMK				1	9	7	21	12	4			
TOB			6	11	23	8	5	1				
KW-1062				9	17	21	3	2	2			
Sisomicin		1	12	25	14	1	1					

II. 外科病巣より分離した各種病原菌の感受性分布
外科病巣より分離した病原菌の抗生物質感受性を KW-1062 およびその他のアミノ配糖体系抗生物質について測定した。

Staphylococcus aureus 54 株では、KW-1062 において全株が 0.2~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、その最大分布は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ にあり 19 株認められた。

この分布は GM あるいは Tobramycin (TOB) とほぼ同等と考えられ、Dibekacin (DKB) および Amikacin (AMK) よりもすぐれている (Table 2)。

E. coli 54 株では、KW-1062 において 1.56~50 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、そのうち 47 株 (87.0%) が 1.56~6.25 $\mu\text{g/ml}$ にあり、最大分布は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ に 21 株であった。この分布は DKB とほぼ同等であり GM あるいは TOB よりはやや劣る (Table 3)。

Proteus sp. 27 株では、KW-1062 において 3.13~100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、最大分布は 12.5 $\mu\text{g/ml}$ に 18 株であった。この分布は GM, DKB および TOB とほぼ同等であり、AMK よりもすぐれている (Table 4)。

Klebsiella 27 株では、KW-1062 において全株が 0.8~

3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、0.8 $\mu\text{g/ml}$ に最大分布 17 株が認められた。この分布は TOB とほぼ同等であり、DKB および AMK よりもすぐれ、GM よりはやや劣る (Table 5)。

Pseudomonas aeruginosa 54 株では、KW-1062 において 1.56~100 $\mu\text{g/ml}$ 以上に幅広い分布を示すが、そのうちの 49 株 (90.7%) は 1.56~12.5 $\mu\text{g/ml}$ にあり、最大分布は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ に 23 株であった。この分布は GM とほぼ同等と考えられたが、GM では最大分布が 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に 35 株であった。AMK では 3.13~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に 48 株 (88.9%) の分布が認められ、最大分布は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ に 26 株で KW-1062 よりやや劣る。いっぽう DKB では 0.8~6.25 $\mu\text{g/ml}$ に 50 株 (92.6%) が分布し、1.56 $\mu\text{g/ml}$ に最大分布 22 株があり、TOB では 0.4~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に 49 株 (90.7%) が分布し、0.8 $\mu\text{g/ml}$ に最大分布 22 株があり、これらは KW-1062 よりもやすぐれた感受性分布を示した (Table 6)。

次に、*Pseudomonas aeruginosa* について KW-1062 と GM あるいは AMK との間の感受性相関をみると、KW-1062 は GM と完全な交叉耐性が認められたが、AMK とでは AMK に 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上で KW-1062 に

Table 4 Susceptibility distribution of *Proteus* sp. to aminoglycosides (27 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
	≤ 0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
SM									14	9	4
KM							1	4	15	4	3
GM					5	8	13	1			
DKB					1	5	9	10	2		
AMK							1	17	8	1	
TOB				1	5	7	11	3			
KW-1062					1	5	18	2		1	
Sisomicin				3	5	12	6		1		

Table 5 Susceptibility distribution of *Klebsiella* to aminoglycosides (27 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
	≤ 0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
SM						1	10	3	1	1	1	10
KM						7	16	2		1		1
GM			14	11	2							
DKB				3	17	5	2					
AMK					6	14	5	1	1			
TOB			3	14	5	4						
KW-1062				17	8	2						
Sisomicin		1	18	6	2							

Table 6 Susceptibility distribution of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides (54 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
	≤ 0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
SM							3	3	22	10	16
KM									2	9	43
GM				3	35	8	5		1	1	1
DKB			4	22	22	2			3		1
AMK					14	26	8	1	2	1	2
TOB		6	22	15	6	1	2	1		1	
KW-1062				2	17	23	7	2	1	1	1
Sisomicin			29	17	3	2	1	1			1

12.5 $\mu\text{g/ml}$ の 1 株が認められ不完全交叉耐性を示した (Fig. 2, 3)。

III. 吸収, 排泄および代謝

(i) 標準曲線

KW-1062 の標準曲線を試験菌 *Bacillus subtilis* AT CC 6633 を用い, 培地に Heart Infusion Agar を使用して Cup 法 (10 ml/シャーレ) および Paper disc 法

(5 ml/シャーレ) にて測定した。いずれの方法においても Moni-trol I 血清希釈の方が pH 7.0 1/15 M Phosphate Buffer Solution (PBS) 希釈よりも阻止円が大であり, これは血清の pH (アルカリ性) に起因するものと考えられる⁴⁾(Fig. 4)。以下, 血中濃度測定には Moni-trol I 血清希釈の標準曲線を, 尿中濃度および臓器内濃度測定には pH 7.0 1/15 M PBS 希釈の標準曲線を使用

Table 7 Serum levels of KW-1062

(40 mg i. m.)

	1/4	1/2	1	2	4	6 hrs μg/ml
T. S. (0.66mg/kg)	2.70	2.75	1.97	1.48	N. D.	N. D.
Y. N. (0.71mg/kg)	2.05	2.25	2.10	1.46	N. D.	N. D.
J. M. (0.62mg/kg)	1.75	2.40	1.93	1.77	N. D.	N. D.
Average	2.17	2.47	2.0	1.57	N. D.	N. D.

Fig. 2 Cross resistance (*Pseudomonas aeruginosa* 54 strains)

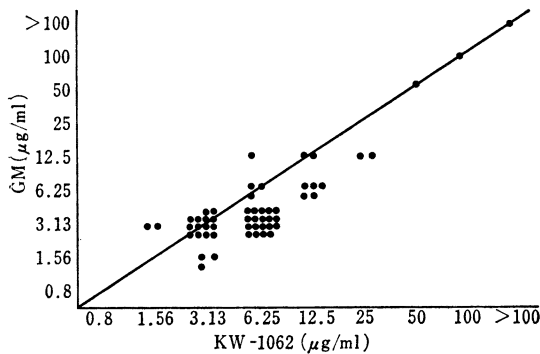
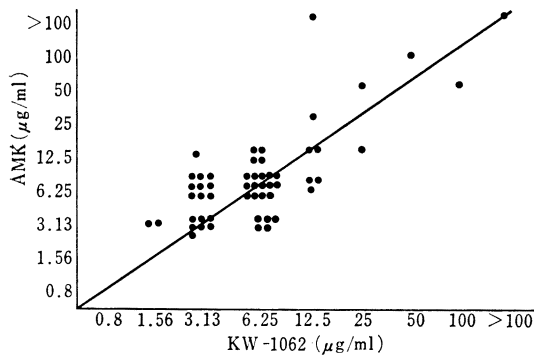


Fig. 3 Cross resistance (*Pseudomonas aeruginosa* 54 strains)



し、Paper disc 法にて測定した。

(ii) 血中濃度および尿中排泄

健康成人男子 3 名に KW-1062 40 mg 筋注し、血中濃度および尿中濃度を測定した。平均値で見ると、血中濃度は 15 分後 2.17 μg/ml、30 分後 2.47 μg/ml (最高濃度)、1 時間後 2.0 μg/ml および 2 時間後 1.57 μg/ml であり、4 時間以後は測定不能であった。なお Fig. 5 は平均値と最大最小値の範囲を示した (Table 7, Fig. 5)。

その時の尿中濃度をみると、30 分後あるいは 1 時間後に最高濃度 151~300 μg/ml に達し、以後漸減しており 6 時間後までで平均 75.8% が排泄された (Table 8, Fig. 6)。

Fig. 4 Standard curve of KW-1062

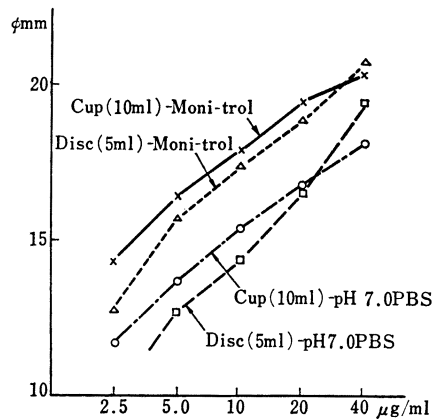
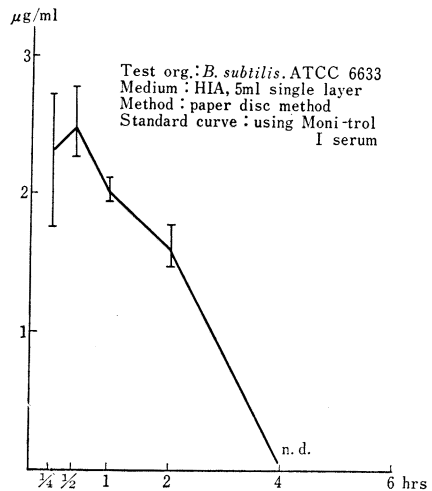


Fig. 5 Serum level of KW-1062 (40mg i. m.)



(iii) 臓器内濃度

SD 系ラットを 1 群 3 匹として用い、20 mg/kg 筋注時の臓器内濃度を測定した。筋注したあと経時的に断頭瀉血致死後各臓器を摘出して、それぞれ重量の 3 倍量の滅菌蒸留水を加えて Homogenizer にて homogenation し、その遠沈上層液を検体とした。

臓器別にみると、腎が最も高く、血清とともに際立っており、その他肺、脾、心などに移行がみられるが、肝

Table 8 Urinary excretions of KW-1062
(40 mg i. m.)

	1/2	1	2	4	6 hrs	Recovery
T. S. (0.66 mg/kg)	300	222.5	65.0	85.0	33.6 μ g/ml	29.9 mg (74.8%)
	14	22	121	96	141 ml	
	4.2	4.9	7.9	8.2	4.7 mg	
Y. N. (0.71 mg/kg)	222.5	210	165.0	89.0	45.0 μ g/ml	29.2 mg (73.0%)
	26	25	50	88	91 ml	
	5.8	3.2	8.3	7.8	4.1 mg	
J. M. (0.62 mg/kg)	98.0	151.5	96.0	73.0	46.0 μ g/ml	31.8mg (79.5%)
	44	42	83	114	105 ml	
	4.3	6.4	8.0	8.3	4.8 mg	
Average (0.66 mg/kg)	206.8 4.8	194.7 4.8	108.7 8.1	82.3 8.1	41.5 μ g/ml 4.5 mg	30.3mg (75.8%)

Table 9 Tissue concentrations of KW-1062
(20 mg/kg i. m.)
(Average of 3 rats)

	1/2	1	2	4	6 hrs
Brain	5.25	trace	N. D.	N. D.	N. D. μ g/g
Lung	12.45	6.84	5.01	3.96	3.27
Heart	2.82	trace	N. D.	N. D.	N. D.
Liver	trace	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Kidney	42.6	37.5	30.0	25.5	15.45
Spleen	4.11	3.30	2.64	N. D.	N. D.
Muscle (inj. side)	68.4	45.3	trace	N. D.	N. D.
Serum	40.0	20.5	5.9	1.24	trace μ g/ml

Fig. 6 Urinary excretion of KW-1062 (40 mg i. m.)

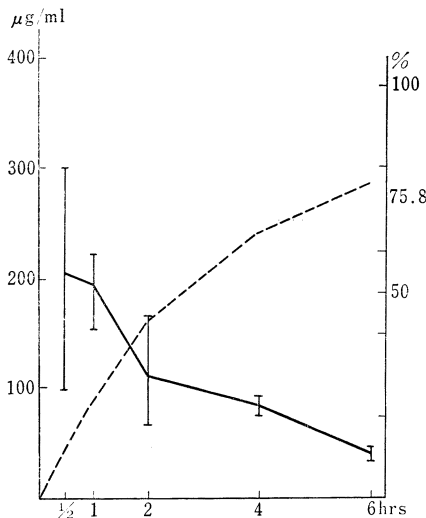


Fig. 7 Tissue concentration of KW-1062 (20 mg/kg i. m.)

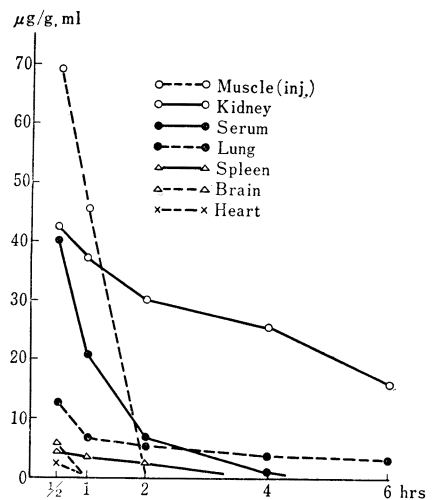
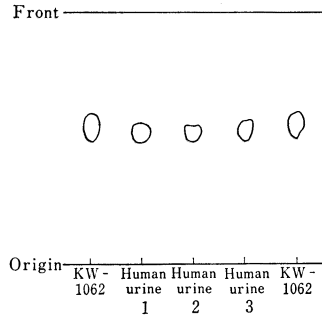


Table 10 Clinical responses of KW-1062

No.	Name	Age	Sex	Disease	Organism	Dose/day	Days	Adj. therapy	Side effect	Response
1	T. N.	59	M	Haemopythorax, after rupture of necrotizing colon, herniated through traumatic fissure of diaphragm	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella</i>	40mg×3 40mg×2	3 7	Drainage	—	Good
2	K. T.	47	M	Peritonitis after gastrectomy (perforated duodenal ulcer)	—	40mg×3	9	Drainage	—	Good
3	T. M.	51	M	Intra-peritoneal abscess after cholecystectomy (gall stone with cholecystitis)	<i>E. coli</i> <i>Pr. inconstans</i>	40mg×2	6	Drainage	—	Good
4	Y. M.	68	M	Biliary tract infection followed by local abscess at drainage tube (ca. of gall bladder)	<i>Enterococcus</i>	40mg×3 80mg×3	5 3	—	—	Poor
5	M. I.	34	M	Biliary tract infection after resection of lt. hepatic lobe (stone of intrahepatic duct)	<i>E. coli</i> <i>Proteus sp.</i>	40mg×3 80mg×3	9 7	—	—	Good
6	S. N.	65	M	U. T. I. with intra-pelvic abscess (recidiv. of rectal cancer)	<i>Serratia</i>	80mg×1 (d. i.)	14	—	—	Fair
7	T. N.	55	F	Perforation peritonitis after ileosigmoidostomy (colon cancer)	<i>E. coli</i> <i>E. cloacae</i> <i>Anaerobe?</i>	80mg×2 60mg×3	11 7	—	—	Poor

Fig. 8 Bioautogram of KW-1062
Solvent : $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}:\text{H}_2\text{O}=1:4:2:1$
Adsorbent : Spotfilm (Tokyo Kasei)
Test org. : *B. subtilis* ATCC 6633



への移行は認められずアミノ配糖体系抗生物質としての特徴が認められた。また、脳にも30分後に移行が認められた。筋注した側の大腿筋内濃度は速やかに低下して、2時間後には測定不能となり、筋注局所の拡散も良好であった (Table 9, Fig. 7)。

(iv) 代謝

人尿中の代謝物の検討を Bioautography により行なった。

溶媒系としてクロロホルム、メタノール、アンモニア、および水を1:4:2:1の割合のものを用い、支持体はSpotfilm (東京化成) を、試験菌は、*B. subtilis* ATCC 6633 を用いた。

その結果、人尿中にはKW-1062のspot以外に阻止円は認められず、抗菌性代謝物は存在しないことが判明した (Fig. 8)。

IV. 臨床使用経験

外科感染症7例にKW-1062を使用し、その臨床効果を検討した。

疾患別にみると、腹膜炎2例、胆道感染症2例、腹腔内膿瘍1例、膿血胸1例および複雑性尿路感染症1例である。用量は1回40mg、60mgあるいは80mgを1日2~3回筋注したが、尿路感染の症例では5%ブドウ糖液500ml中に80mgを加え点滴注入した。病巣からは*E. coli*が3例に、*Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella*、*Proteus sp.*、*Enterococcus*、*E. cloacae*、*Pr. inconstans* および *Serratia* がそれぞれ1例に検出された。

臨床効果は有効4例、やや有効1例、無効2例であった。そのうち1回40mgを1日3回筋注した4例についてみると、2例に有効であり、無効の胆道感染症2例のうち1例について1回80mgに増量し、1日3回筋注したところ有効であったことが注目された。

菌種別では *Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella* お

Fig. 9 T.N. 59 yrs male, Haemopyothorax (rupture of herniated colon through traumatic fissure of diaphragm)

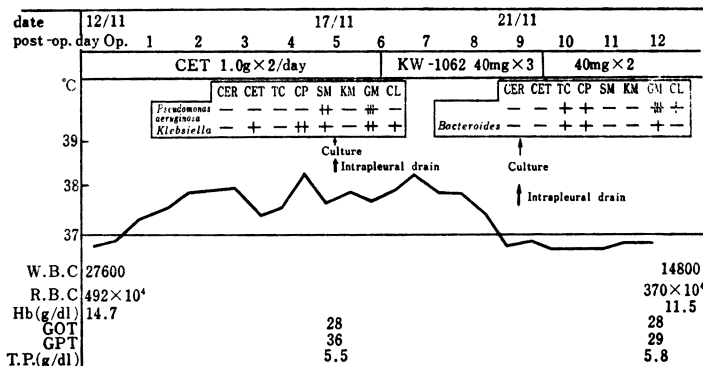


Fig. 10 K.T. 47 yrs male, Local peritonitis after gastrectomy (B-II) (perforative duodenal ulcer)

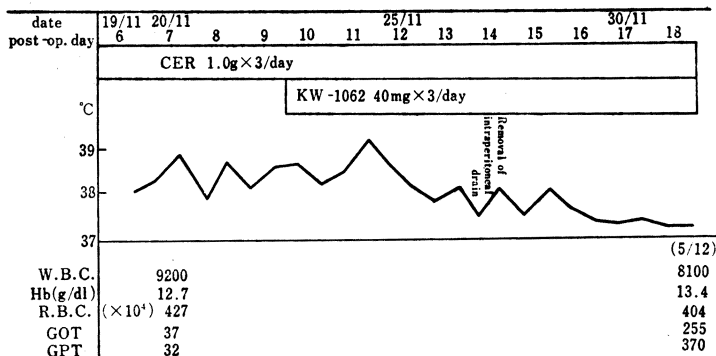
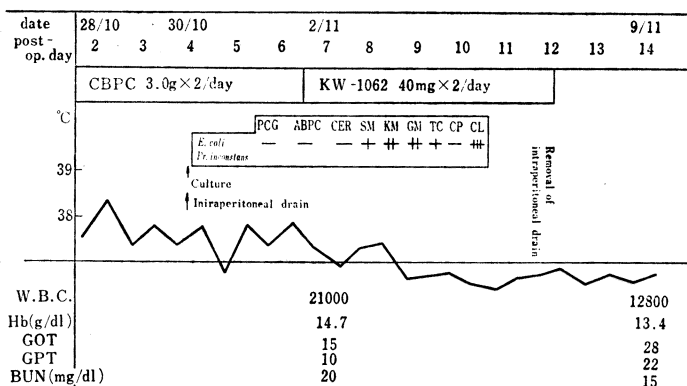


Fig. 11 T.M. 51 yrs male, Post-op. intra-abdominal abscess (gallstone with cholecystitis)



よび *Proteus sp.* が検出された症例に有効であり、*Serratia* にはやや有効であった。

副作用としては、1例に GOT および GPT の上昇をみたが速やかに正常に復した。

その他、本剤投与前後に GOT, GPT を含めて BUN, Creatinine 等の肝腎機能検査、また血液、末梢血所見

について施行し得た症例においてとくに異常所見は認められなかった (Table 10, Fig. 9, 10, 11)。

V 総括および結語

1) 新アミノ配糖体系抗生物質 KW-1062 について、抗菌力、吸収、排泄、代謝および臨床応用について検討した。

2) KW-1062 の抗菌スペクトルは GM と類似し、グラム陽性および陰性菌に対し幅広い抗菌力を有する。

3) 外科病巣より分離した各種病原菌の KW-1062 に対する感受性分布より次の結果を得た。すなわち、KW-1062 は黄色ブドウ球菌に対しては GM あるいは TOB とほぼ同等の抗菌力を有し、*E. coli* に対しては DKB とほぼ同等で GM よりはやや劣る。変形菌に対しては GM とほぼ同等であり、肺炎桿菌に対しては TOB とほぼ同等で GM よりやや劣り、緑膿菌に対しては GM とほぼ同等であった。

4) 健康成人男子に 40 mg 筋注時の血中濃度は、30 分後に最高 2.47 $\mu\text{g/ml}$ を示した。また、その時の尿中回収率(6時間)は 75.8% であった。

5) ラットにおける臓器内濃度は腎および血清に最も高く、また肝では検出されなかった。

6) 人尿中の代謝物を Bioautography により測定したが、抗菌性代謝物は認められなかった。

7) 外科感染症 7 例に使用し、有効 4 例、やや有効 1 例、無効 2 例であった。使用量は 1 回 40~80 mg が用いられ、投与回数は 1 日 3 回筋注が有効のようであった⁵⁾。

8) 副作用として、1 例に GOT, GPT の上昇がみられたが、他抗生剤との併用例であり本剤によるものかどうかは不明であった。それを含めて、KW-1062 によると思われる副作用はとくに認められなかった。

文 献

- 1) 大越正秋ほか：第23回日本化学療法学会東日本支部総会，新薬シンポジウムⅡ，KW-1062，1976
- 2) 石山俊次，坂部 孝，汐沙都也，高橋右一，笠置達，長崎祥佑，川上 郁，西岡伸也，中山一誠，大島聰彦，岩井重富，岩本英男：Gentamicin の臨床研究。Chemotherapy 15(4)：361~369, 1967
- 3) 石山俊次，中山一誠，岩本英男，岩井重富，鷹取陸美，川辺隆道，坂田育弘，大橋 満，村田郁夫，杉山博昭：Gentamicin の基礎的，臨床的再検討。Jap. J. Antibiotics 29(3)：264~272, 1976
- 4) 岩本英男，石山俊次：カップ法による検討。最新医学 27(2)：287~292(1972)
- 5) ISHIYAMA, S.; I. NAKAYAMA, H. IWAMOTO, S. IWAI, I. MURATA & M. OHASHI: Clinical use of tobramycin in patients with surgical infection due to gram-negative bacilli. J. Infect. Diseases 134 (Suppl.): 178~181 August, 1976

STUDIES ON KW-1062 IN SURGERY-ANTIBACTERIAL ACTIVITIES, ABSORPTION, EXCRETION, METABOLISM AND CLINICAL APPLICATION

TAKASHI SAKABE, ISSEI NAKAYAMA, HIDEO IWAMOTO, SHIGETOMI IWAI,

MUTSUMI TAKATORI, TAKAMICHI KAWABE, MITSURU OHASHI,

IKUO MURATA, HIROAKI SUGIYAMA and YUKO MIZUASHI

Third Department of Surgery, Nihon University, School of Medicine

SHUNJI ISHIYAMA

Research Institute of Sciences, Nihon University

1. KW-1062, a new aminoglycoside antibiotic, was studied on antibacterial activities, absorption, excretion, metabolism and clinical application.

2. KW-1062 has a broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria, which is similar to that of gentamicin (GM).

3. The susceptibility of KW-1062 against clinically isolated strains from surgical focuses was determined, and the following results were obtained. Antibacterial activity of KW-1062 against *Staph. aureus* was similar to that of GM and tobramycin (TOB), and regarding the activity against *E. coli*, KW-1062 was similar to dibekacin and a little less than GM. The activity of KW-1062 against *Proteus* sp. was similar to that of GM, and against *Klebsiella*, it was almost equal to that of TOB and less than that of GM. Against *Pseudomonas aeruginosa*, KW-1062 was as active as GM.

4. Three healthy adults were administered 40 mg of KW-1062 intramuscularly, and 30 minutes after dosing the serum level reached the peak, 2.47 $\mu\text{g/ml}$. Urinary recovery of KW-1062 during 6 hours in these cases was 75.8% on an average.

5. Tissue level of KW-1062 in rats was highest in the kidney and serum, but it was not detectable in the liver.

6. Bioautogram of the urine collected from healthy adults having intramuscular administration of 40 mg of KW-1062 showed no metabolites with antibacterial activity except KW-1062 itself.

7. Clinical response to KW-1062 in surgical infectious diseases was good in 4 cases, fair in 1 case and poor in 2 cases. A dose of KW-1062 was 40~80 mg/time. It appeared effective when intramuscular injection at this dose was given three times/day.

8. As a side effect, the elevation of GOT and GPT was observed in 1 case, but it was unknown if the elevation was due to KW-1062, because of combination with another antibiotic agent. Side effect which may have been caused by KW-1062 was not observed, including of this case.