

緑膿菌性腎盂腎炎の化学療法に関する実験的研究

川 島 尚 志

鹿児島大学医学部泌尿器科学教室

(主任：岡元健一郎教授)

(昭和 52 年 3 月 3 日受付)

I. 緒 言

化学療法が普及するにつれ、従来無害菌または弱毒菌と考えられていた細菌が交代菌として出現し、感染を存続することが知られて来た。これら交代菌のうちでも緑膿菌による感染症は、宿主の抵抗力が減弱した状態で発症することが多く緑膿菌の薬剤耐性と相まって非常に難治性であることは明確な事実であり、尿路感染症においても例外ではない。泌尿器科領域では尿路変向術をはじめとする泌尿器科手術後、留置カテーテル例における複雑性尿路感染症において緑膿菌が出現する頻度が高く、宿主の状態から考えても尿路を無菌に保つことは困難になる。しかも急性増悪をおこして急性腎盂腎炎を再発することは日常よく経験される。一方、泌尿器科で取扱う疾患のなかには悪性腫瘍以外でも尿路通過障害ともなる腎盂腎炎は多くみられ、同様の経過をとり、尿路閉塞性の場合には、適切な化学療法が行なわれなければ膿腎となり、腎を保存的に治療することが困難となり、腎摘除術の適応となる。

一般的に緑膿菌が薬剤耐性であること、障害された組織への薬剤移行が不良であることから、緑膿菌による、このような腎盂腎炎の化学療法は困難が予想され、いきおい大量療法の適応とされていることが多いと考えられる。家兎実験的腎盂腎炎においても緑膿菌を接種した場合には他菌種と比べて、MIC を指標として治療成績を検討した場合、より大量の薬剤が腎組織中へ移行する必要があることが考えられる¹⁾。

緑膿菌を接種した家兎実験的腎盂腎炎では後述の予備実験で確認したとおり 48 時間後が急性腎盂腎炎成立期と考えられるので、この時期から治療を開始し、Gentamicin, Carbenicillin の患腎組織内濃度、接種菌の最小発育阻止濃度 (MIC)、最小殺菌濃度 (MBC) と投与量の関連から家兎における緑膿菌による急性腎盂腎炎の治療成績を検討した。また感染家兎における緑膿菌抗体価を本間²⁾、富山³⁾の方法による OEP-HA 価により測定した成績についても付け加えた。

II. 実験方法ならびに成績

1. 使用菌株の選定

家兎実験的腎盂腎炎の使用菌株として、*Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 (以下、標準株と略す) と患者分離緑膿菌の 2 菌株を用いた。患者分離緑膿菌の選定のために、予備実験として教室保存の患者分離緑膿菌 57 株について、五島らの緑膿菌同定法⁴⁾にしたがって再同定を行なった。緑膿菌の選択培地である NAC 寒天培地に接種して選別したのち、King A, King B 培地で明らかに pyocyanin の緑色色素を確認できたのは 47 株であった。この 47 株と標準株について 1974 年、日本化学療法学会において改訂された最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁵⁾を用いて、Carbenicillin (CBPC), Gentamicin (GM) の MIC を測定した。標準株は CBPC に 3.12 $\mu\text{g/ml}$, GM に 1.56 $\mu\text{g/ml}$ の感受性株であった。患者分離株のうち CBPC に 200 $\mu\text{g/ml}$, GM に 1,600 $\mu\text{g/ml}$ の耐性株を選別した。

この 2 菌株にたいする CBPC, GM の最小殺菌濃度 (MBC) を測定した。測定方法は SILVERBLATT & TURCK の方法⁶⁾にしたがった。液体培地希釈法で MIC を求め、外観上発育のみられない培地よりも高濃度の薬剤を含有する培地数本から 0.005 ml づつとり、これを、あらかじめ準備した薬剤無添加の普通寒天培地に接種し、37°C で 24 時間培養した。コロニーの発育をまったくみえない培地を end point として MBC とした。標準株にたいする MBC は CBPC 50 $\mu\text{g/ml}$, GM 12.5 $\mu\text{g/ml}$, 患者分離株の MBC は CBPC に 800 $\mu\text{g/ml}$, GM に 3,200 $\mu\text{g/ml}$ であり、MIC と MBC に大きな距りがある。

2. 家兎実験的腎盂腎炎の作製法

体重 2~3 kg の白色雄性家兎を用い 1 群 3 羽とした。下腹部を剃毛後イソジンで術野を消毒し、エーテル麻酔下に下腹部正中切開にて膀胱を体外へ引き出し、右尿管を剥離した。あらかじめ tryptocase-soy プイオンで 1 夜培養しておいた標準株または患者分離緑膿菌の 2 菌株を、滅菌生理食塩水で 100 倍に希釈し、その 0.1 ml をマントー針 (26 $\frac{1}{2}$ G) で右尿管下端から上行性に注入し、ただちに針とともに 3 号絹糸で尿管を結紮後、針を抜去して比較的軽度の尿管狭窄を作製した。創は絹糸で

2層に閉鎖した。操作はすべて無菌的におこなった。

3. 緑膿菌接種による家兎実験的腎盂腎炎の成立

尿路感染症患者から分離した緑膿菌を用いて前述の方法で家兎の腎盂腎炎を惹起できることは教室の大井⁷⁾、角田¹⁾がすでに報告している。標準株、患者分離緑膿菌を前述の方法で接種して腎盂腎炎が成立するかどうかを検討するため、また急性腎盂腎炎成立の時期を確認し、化学療法開始に適切な時期を選定するために以下の予備実験を行なった。

上記2菌株を接種後1群2羽として24時間、48時間、72時間、1週間目に屠殺して、腎実質、腎盂尿中生菌数を算定し、腎の組織学的検索をおこなった。その成績の図表は省略する。

その結果、48時間後に屠殺したNo. 635, No. 636, No. 637においてすでに腎盂腎炎が成立していることが判明した。No. 635, No. 636では腎盂は膿塊で充満し、腎盂粘膜に近接する髓質にすでに軽度ながら多核白血球を中心とする間質の細胞浸潤がみとめられ、No. 637では限局性ではあるが、さらに上行性に尿細管に沿って間質の細胞浸潤がみられ、48時間ですでに急性腎盂腎炎が発症しているものと考えられた。1週間後の病理組織学的所見は上行性腎盂腎炎特有の楔形の小膿瘍形成がみられ、腎盂腎炎が完成していた。したがって緑膿菌を接種した家兎の実験的腎盂腎炎は48時間後が急性期に相当するものと考えられるので、この時期の家兎を用いて以下の実験に供した。

4. CBPC, GMの血中、尿中および健腎ならびに感染腎組織内濃度

治療実験における健腎および感染腎の治療開始時期の抗生剤の吸収および排泄を知るために前述の方法で標準株を接種して家兎に実験的腎盂腎炎を作製し、菌接種後48時間目にCBPC 200 mg/kg, GM 8.0 mg/kgをそれぞれ筋注投与し、注射後1, 3, 5時間目に下大静脈から採血したのち、腹部大動脈から脱血し屠殺した。患側腎盂尿を採取後、両側腎を摘出した。血液はただちに遠沈して血清に分離し、腎は皮質と髓質に分けてそれぞれ0.5gずつ切除してホモジナイズし、pH 7.0のPBSを3ml加えてよく攪拌したのち1分間煮沸除蛋白、2,500回転10分間遠沈し、上清を検体として腎実質1g中に含まれる抗生剤量をもって腎組織内濃度とした。

抗生剤濃度の測定はCBPC, GM両薬剤とも*Bacillus subtilis* ATCC 6633を検定菌とするカップ法で測定した。使用培地は普通寒天培地(ニッスイ)で、検定菌の培地内接種量は 10^6 /mlである。血中濃度の測定には健康ヒト血清を、臓器内濃度および尿中濃度測定にはpH 7.0のPBSを用いて標準曲線を得た。CBPC, GM濃度

測定用の標準曲線をヒト血清と家兎血清を用いて作成した結果、阻止円の直径の差は各濃度において(25~200 μ g/ml)0.5~1.0 mmヒト血清を用いたほうが大となる。

その結果、ヒト血清を用いて作成した標準曲線を用いて家兎血清中濃度を測定した場合、家兎血清を標準曲線とした場合よりも低値となる。しかし細菌接種48時間後の家兎では γ -グロブリンの上昇、アルブミン低下を来たしてアルブミン量はヒト血清に近づき、そのため薬剤との蛋白結合率はヒト血清における蛋白結合率に近似すると考えられる。そのため今回はヒト血清を用いて作成した標準曲線を使用した。検体をカップ注入後4°Cに4時間放置後ただちに37°C、20時間培養し、生じた阻止円の直径をノギスにて0.1 mmまで正確に測定した。測定成績は1群2羽として平均値で表わした。12羽における菌接種後の感染成立状況は全例腎に肉眼的肥大が

Fig. 2 Intrarenal and blood levels of CBPC in pyelonephritic rabbits (200 mg/kg i. m.)

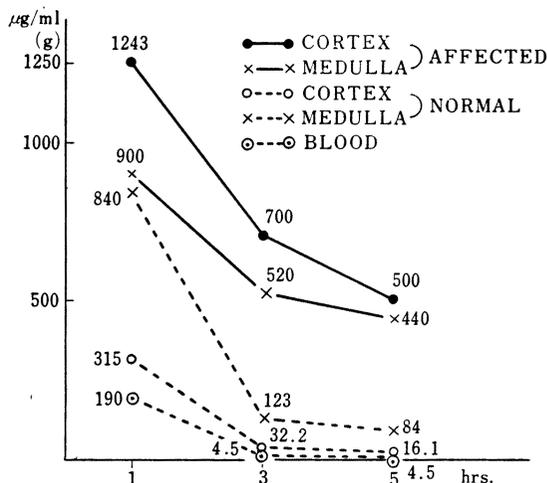


Fig. 3 Intrarenal and blood levels of GM in pyelonephritic rabbits (8.0 mg/kg i. m.)

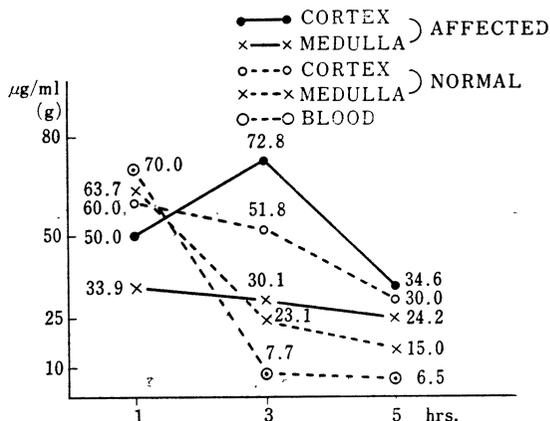


Fig. 1 No. 537 48 hours after inoculation of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490

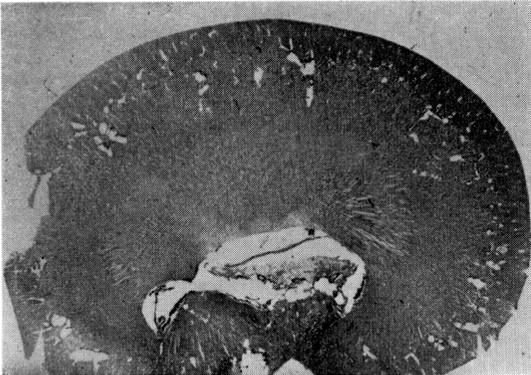


Fig. 4 No. 543 treated by CBPC, 200 mg/kg, inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490

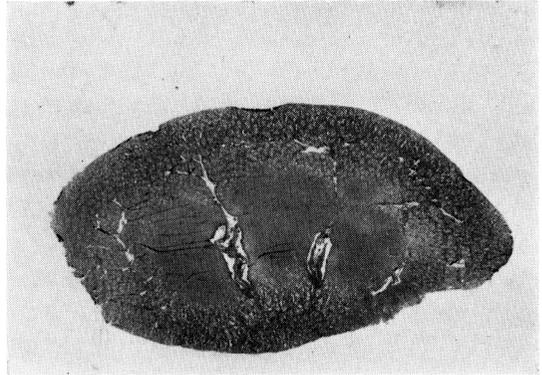


Fig. 5 No. 578 treated by CBPC, 200 mg/kg, inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* isolated from UTI

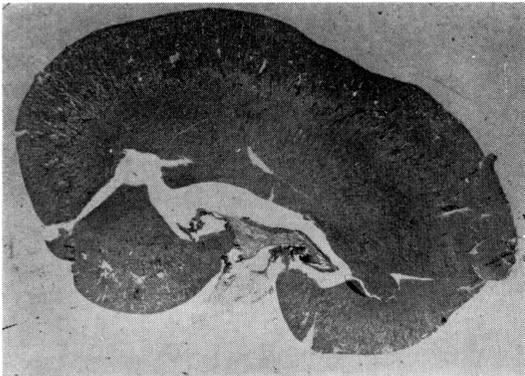


Fig. 6 No. 652 non-treated control, on the 7th day, inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490

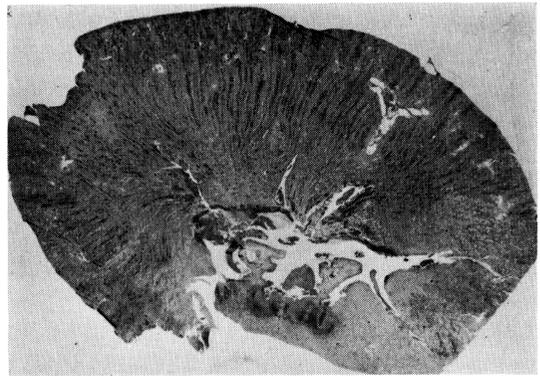
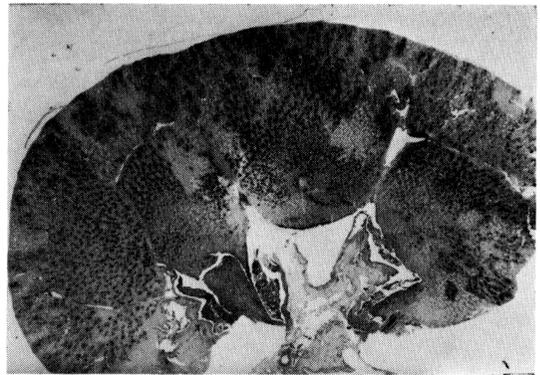


Fig. 7 No. 536 treated by GM, 1.6 mg/kg, inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490



Fig. 8 No. 574 treated by GM, 16.0 mg/kg, inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* isolated from UTI



みられ、組織学的には Fig. 1 のように急性腎盂腎炎の所見を示した。

1) 血中濃度

i CBPC: 1時間目 190 $\mu\text{g/ml}$, 3, 5時間目にはおのおの 4.5 $\mu\text{g/ml}$ と速やかに減少している (Fig. 2)。

ii GM: 1時間目の 70.0 $\mu\text{g/ml}$ をピークに3時間目に 7.7 $\mu\text{g/ml}$, 5時間目に 6.5 $\mu\text{g/ml}$ と急速に低下した (Fig. 3)。

2) 尿中濃度

i CBPC: 患側腎盂尿中濃度は1時間後 4.7 $\mu\text{g/ml}$, 3時間後 1.8 $\mu\text{g/ml}$, 5時間後には 173.6 $\mu\text{g/ml}$ であった。

ii GM: 患側腎盂尿中濃度は1時間後に 19.8 $\mu\text{g/ml}$, 3時間後に 12.5 $\mu\text{g/ml}$, 5時間後に 234 $\mu\text{g/ml}$ であり, 1, 3時間後ではまだ十分に薬剤は腎盂尿中に排泄されていない。

3) 腎組織内濃度

i CBPC: 腎組織内濃度は皮質, 髓質とも患腎が健腎よりも高濃度で推移しており, 患腎皮質では1時間目 1,243 $\mu\text{g/ml}$, 3時間目に 700 $\mu\text{g/ml}$, 5時間目に 500 $\mu\text{g/ml}$ を示した。患腎髓質ではおのおの 900 $\mu\text{g/ml}$, 520 $\mu\text{g/ml}$, 440 $\mu\text{g/ml}$ と皮質と近似のレベルを保ち漸減した。

一方, 健腎では薬剤排泄が速やかにおこなわれており, 1時間目には皮質, 髓質おのおの 315 $\mu\text{g/ml}$, 840 $\mu\text{g/ml}$ を示したが3時間目に 32.2 $\mu\text{g/ml}$, 123 $\mu\text{g/ml}$, 5時間目に 16.1 $\mu\text{g/ml}$, 84 $\mu\text{g/ml}$ と3時間目以降急速に減少した。

ii GM: 患腎皮質では1, 3, 5時間後の GM 濃度は 50.0 $\mu\text{g/ml}$, 72.8 $\mu\text{g/ml}$, 34.6 $\mu\text{g/ml}$ であり, 患腎髓質ではおのおの 33.9, 30.1, 24.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。

一方, 健腎では皮質において1時間後に 60.0 $\mu\text{g/ml}$, 3時間後に 51.8 $\mu\text{g/ml}$, 5時間後に 30.0 $\mu\text{g/ml}$, 髓質ではおのおの 63.7, 23.1, 15.0 $\mu\text{g/ml}$ を示した。1時間後では皮, 髓質とも健腎が患腎よりも濃度が高いが, 3, 5時間では逆に患腎内濃度が高くなっている。

細菌接種後 48 時間という尿管狭窄による腎盂腎炎成立期では患腎の薬剤とりこみは大きく, 排泄は緩慢であり, 腎組織内薬剤濃度は高いことが示唆された。

5. 治療成績

前述第2項の方法で菌液を接種した 48 時間後から CBPC または GM を1日1回, 7日間大腿筋に筋注投与した。投与量は CBPC は 40, 200, 400 mg/kg, GM は 1.6, 8.0, 16.0 mg/kg である。対照として未治療群を設け, 各群3羽ずつ使用した。

治療終了翌日, エーテル吸入により屠殺したのち, 体

重測定, 腎重量測定, 患側腎実質, 患側腎盂尿, 膀胱尿および心血の培養, 患側腎の H-E 染色による病理組織標本を作製した。腎実質の定量培養は腎の中央部で皮質, 髓質をふくむ組織 1.0 g を切採し, 3 ml の滅菌生理食塩水を加えてガラスホモジナイザーで磨砕後, 腎 1 g 中の生菌数として測定した。この実験では感染の成立した 34 羽における治療成績について述べる。

実験的腎盂腎炎の病理組織学的判定は, 腎組織は尿管の水腎性変化をのぞき炎症性所見が全くみとめられないものを(-), ごく限局性に細胞浸潤が存在するものを(±), 限局性に小膿瘍または散在性に細胞浸潤がみとめられるものを(+), 小膿瘍が散在または細胞浸潤が広範囲にみとめられるものを(++) , 未治療対照腎とほぼ同様な腎盂腎炎所見が残存するものを(+++)とした。

治療効果の判定は病理学的所見が(-)で腎, 腎盂内生菌数が 10^4 未満, (±)で生菌数が0のものを薬剤効果(+++)とし, 生菌数が 10^5 以上のものは薬剤効果(++)とした。病理組織学的所見が(+), (++) , (++)の場合, 薬剤効果は(++), (+), (-)とし, 生菌数が 10^5 以上の時には薬剤効果の判定を1段階下げることとし, 病理組織学的所見が(+++)でも生菌数が 10^4 未満のものは薬剤効果は(±), 生菌数0のものは(+)の効果とした。膀胱尿中生菌は腎盂腎炎成立の指標とし, 判定には加えず参考にとどめた。

1) CBPC 投与群

i 標準株接種群: 薬剤効果は 40 mg/kg 投与3羽中 ++ 2羽, ++ 1羽であり, 200 mg/kg 投与2羽ではいずれも ++, 400 mg/kg 投与群では3羽いずれも ++ の成績であった。8羽全例腎実質, 腎盂尿中には生菌をみとめず, とくに 200 mg/kg 以上投与では病理組織学的に完全な治癒が得られている (Table 1)。

ii 患者分離株接種群: 同様に CBPC を投与した成績は細菌学的には標準株の成績にくらべ劣っているが, 組織学的には 200 mg/kg 以上投与群では十分な効果が得られた (Table 2)。

Fig. 4, 5, 6 に標準株接種, CBPC 200 mg/kg 投与例, 患者分離株接種, CBPC 200 mg/kg 投与例および標準株接種, 未治療例 (対照) の病理組織像を示した。いずれの治療例も対照に比し効果は著明である。標準株と CBPC の組み合わせでは MIC が 3.12 $\mu\text{g/ml}$ であったため, 40, 200, 400 mg/kg いずれの投与群でも著効であり, dose response は明確にしえなかったが, 患者分離株における CBPC の MIC は 200 $\mu\text{g/ml}$ であったので, dose による *in vivo* 効果の差が明確に把握できた。

Table 1 Treated by CBPC after inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 strain in rabbits

No.	Dosage (mg/kg)	Decrease of body weight (%)	Kidney weight ratio (R/L)	Culture			Appearance		Histopathol. finding	Response
				par.	pel.	bla.	absc.	pus		
539	40	19.6	1.89	—	—	—	—	—	+	++
540	40	7.7	1.6	—	—	—	—	—	+	++
541	40	6.3	1.7	—	—	—	—	—	±	##
543	200	12.9	1.9	—	—	—	—	—	—	##
544	200	22.0	2.5	—	—	—	—	+	—	##
545	400	17.4	1.2	—	—	—	—	—	—	##
546	400	15.1	1.3	—	—	—	—	+	±	##
547	400	23.6	1.1	—	—	—	—	—	—	##

Table 2 Treated by CBPC after inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* strain isolated from UTI in rabbits

No.	Dosage (mg/kg)	Decrease of body weight (%)	Kidney weight ratio (R/L)	Culture			Appearance		Histopathol. finding	Response
				par.	pel.	bla.	absc.	pus		
561	40	22.6	1.38	1.0×10^1	2.6×10^4	—	—	—	+	++
576	40	29.6	2.06	4.0×10^1	4.0×10^5	2.0×10^1	+	+	++	±
577	40	13.5	1.82	—	—	—	—	—	±	##
578	200	7.3	1.52	—	2.0×10^3	—	—	—	—	##
579	200	21.0	2.0	2.0×10^1	5.0×10^1	—	—	+	—	##
557	400	10.9	1.63	—	1.7×10^2	—	—	—	—	##
558	400	15.4	2.90	—	6.0×10^1	—	—	+	±	##
586	400	10.7	1.35	—	—	—	—	—	—	##

2) GM 投与群

i 標準株接種群：1.6 mg/kg 投与群の薬剤効果は3羽中土，＋，＋各1羽であり，細菌学的にも不十分な効果であったが，8.0 mg/kg および 16.0 mg/kg 投与では全例組織学的所見は＋以下であり薬剤効果は＋が得られた。しかし CBPC の標準株接種群に比し 10^8 以下ではあるが生菌の残存が目立った (Table 3)。

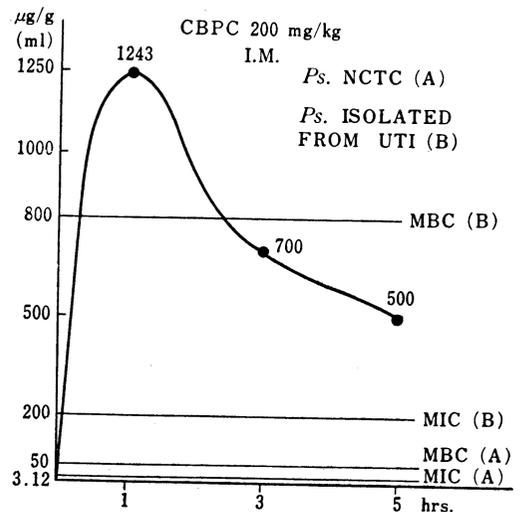
ii 患者分離株接種群：1.6 mg/kg 投与例では腎実質，腎盂尿中にも生菌の残存が著しく，大量投与群でもその効果は必ずしも dose response を反映しない (Table 4)。Fig. 7, 8 に標準株接種，GM 1.6 mg/kg 投与例および患者分離株接種，GM 16.0 mg/kg 投与例の病理組織像を示した。ともに CBPC 投与例に比し組織学的効果は劣っている。

6. 治療成績と MIC, MBC との相関

CBPC では患腎皮質内濃度は薬剤投与1時間後から5時間以上にわたって標準株，患者株の MIC を大きく上まわり，約3時間までは標準株はもちろん患者株の MBC を上まわった (Fig. 9)。

GM では患腎皮質内濃度は標準株の MIC, MBC を5

Fig. 9 Correlation among drug levels in pyelonephritic kidney, MIC and MBC



時間まで大きく上まわっているが，患者株の MIC, MBC には及ばない (Fig. 10)。

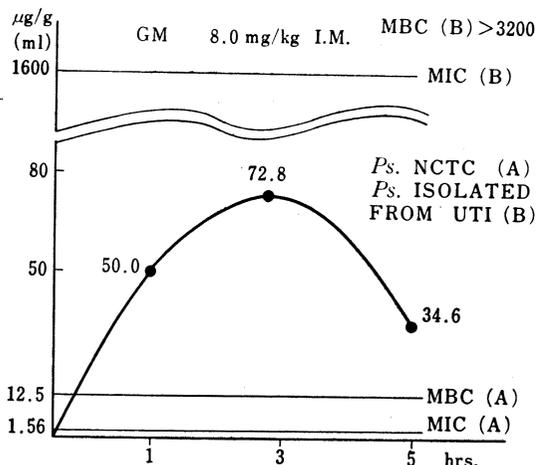
Table 3 Treated by GM after inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 strain in rabbits

No.	Dosage (mg/kg)	Decrease of body weight (%)	Kidney weight ratio (R/L)	Culture			Appearance		Histopathol. finding	Response
				par.	pel.	bla.	absc.	pus		
534	1.6	11.1	2.7	84×10^4	5×10^4	2×10^4	+	+	++	+
535	1.6	9.3	3.1	6×10^3	22×10^6	6×10^6	-	+	±	++
536	1.6	6.4	3.9	-	6×10^3	-	+++	++	+++	±
538	8.0	2.3	1.5	-	3×10^2	-	-	-	+	++
580	8.0	13.1	1.3	-	-	-	-	-	±	+++
581	8.0	9.2	1.7	-	-	-	+	-	+	++
582	16.0	4.8	1.7	-	-	80×10^4	-	-	±	+++
583	16.0	15.8	2.2	-	5×10^4	-	-	+	+	++
584	16.0	16.7	2.4	25×10^4	-	24×10^2	-	+++	±	++

Table 4 Treated by GM after inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* strain isolated from UTI in rabbits

No.	Dosage (mg/kg)	Decrease of body weight (%)	Kidney weight ratio (R/L)	Culture			Appearance		Histopathol. finding	Response
				par.	pel.	bla.	absc.	pus		
551	1.6	8.0	1.83	9×10^2	10^8	-	-	-	±	++
570	1.6	2.4	1.47	-	-	1.2×10^7	-	-	±	+++
571	1.6	11.5	3.0	2×10^7	-	1.2×10^3	++	+	+++	-
554	8.0	2.4	2.76	-	-	-	+	-	+++	+
555	8.0	17.0	4.14	1.1×10^7	2.5×10^8	3.7×10^6	++	++	+++	-
572	8.0	13.0	1.47	6×10^2	-	1.0×10^3	-	-	+	++
556	16.0	13.5	3.74	1.0×10^5	2.8×10^6	8.0×10^5	++	-	-	++
573	16.0	25.0	1.94	1.0×10^4	-	4.0×10^6	++	++	+	++
574	16.0	4.8	3.0	4.0×10^6	10^8	2.0×10^4	++	++	+++	-

Fig. 10 Correlation among drug levels in pyelonephritic kidney, MIC and MBC



以上の結果を Table 5, 6 にまとめて示した。表中の各薬剤濃度はピーク時の値である。各投与群中、上段は標準株、下段は患者株の成績である。標準株では GM 8.0 mg/kg 投与の場合、血中濃度および患側腎実質内濃度は各々 MIC の 45 倍、47 倍であり、MBC の 5.6 倍、5.8 倍であり細菌学的にも組織学的にも良好な治療効果がえられた。

CBPC 200 mg/kg 投与、標準株接種群では血中濃度および患側腎実質内濃度は各々 MIC の 61 倍、398 倍に達し、同様に良好な成績がえられた。しかし患者株接種群では GM 8.0 mg/kg 投与で腎組織内濃度は MIC, MBC に達せず治療効果は充分にえられなかった。CBPC 200 mg/kg 投与では患側腎組織内濃度は MIC の 6 倍、MBC の 1.5 倍に達し組織学的には良好な治療成績が得られた。しかし血清中濃度はいずれの薬剤の場合も MBC に達していない。

以上の結果から完全な治療成績を期待するためには病巣内に到達した抗生剤の濃度が MBC を上まわり、一定

Table 5 Correlation among drug levels, MIC and response

Antibiotic	Dose (mg/kg)	No.	Serum level	Affected pel. urine level	Affected cortical level	Affected medullary level	Response	
							bacterial	patholog.
GM	8.0	3	45 MIC	24 MIC	47 MIC	22 MIC	##	++~###
		3	< MIC	< MIC	< MIC	< MIC	-~++	-~++
CBPC	200	2	61 MIC	2 MIC	398 MIC	289 MIC	##	##
		2	= MIC	< MIC	6 MIC	5 MIC	++~##	##
MIC of GM against <i>Ps. aerug.</i> NCTC 10490					1.56 µg/ml			
" " isolated from UTI					1,600 "			
MIC of CBPC " NCTC 10490					3.12 "			
" " isolated from UTI					200 "			
(at peak level cup method)								

Table 6 Correlation among drug levels, MBC and response

Antibiotic	Dose (mg/kg)	No.	Serum level	Affected pel. urine level	Affected cortical level	Affected medullary level	Response	
							bacterial	patholog.
GM	8.0	3	5.1 MBC	3.0 MBC	5.8 MBC	2.8 MBC	##	++~###
		3	< MBC	< MBC	< MBC	< MBC	-~++	-~++
CBPC	200	2	3.8 MBC	< MBC	24.9 MBC	18.1 MBC	##	##
		2	< MBC	< MBC	1.5 MBC	1.3 MBC	++~##	##
MBC of GM against <i>Ps. aerug.</i> NCTC 10490					12.5 µg/ml			
" " isolated from UTI					>3,200 "			
MBC of CBPC " NCTC 10490					50 "			
" " isolated from UTI					800 "			
(at peak level cup method)								

時間維持されることが必要であると考えられ、MIC より MBC がより大事な治療効果の指標になるものと思われる。

7. OEP-HA 価の測定成績

1) 実験材料および方法

Pseudomonas aeruginosa NCTC 10490 株を 10^5 接種した家兎 3 羽を未治療のまま放置し、OEP-HA 価を経時的に約 6 カ月間測定した。Normal control として健康家兎 10 羽について本抗体価を測定した。採血は耳静脈からおこない、OEP-HA 価の測定は OEP-HA 反応³⁾に従っておこなった。OEP 試薬は東大医科研 本間教授から分与されたものを使用した。採血した血液はただちに遠沈し血清を分離し、56°C、30 分間加温して非働化した後、この血清 0.025 ml にたいして未感作血球凍結乾燥粉末 1 vial をあらかじめ調製した稀釈液 5 ml に溶かしたもの 0.1 ml を加えて、血清を 5 倍に稀釈した。ひきつづいてこれを時々振盪しながら 37°C、2 時間放置後水室に 1 夜静置して吸収をおこなった。また念のため富士臓器製の吸収用試薬である加熱処理ウシ血球、パンパイン処理ヒツジ血球または加熱処理ヒツジ血球を用いて

吸収した。

マイクロタイター用 U 型プレートの各ホールに 0.025 ml づつドロップパーで稀釈液を滴下分注し、5 倍に稀釈され吸収を終了した検体の血清をダイリューターで倍々稀釈する。第 1 列には未感作血球を 0.025 ml 滴下分注し、第 2~8 列には感作血球を 0.025 ml づつ分注したのち、Taiyo Bussan 社製マイクロミキサーにかけて十分に混和し、サランラップで被って蒸発を防ぎ室温に 1 夜静置した。明らかな凝集を示した end point を陽性とし、稀釈倍数により HA 価を算出した。陽性と陰性の境界が不鮮明のときはプレートを垂直に立てて、対照が完全に流れた時点で判定し、全く流れないものを (+)、完全に流れたものを (-)、不完全に流れたものを (±) とした。いずれの場合も未感作血球対照が完全に陰性であるものだけを採用した。

2) 測定成績

正常家兎 10 羽の成績はいずれも 40 倍未満であった。*Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 株接種後未治療家兎 3 羽では菌接種 24 時間後から抗体価が上昇はじめる 160~320 倍を示し、以後多少の変動はあるが 320

この治療実験ではより明解に dose response の有無を検討するために、投与薬剤である CBPC, GM に良好な感受性を示す感受性株（標準株）と耐性株（患者株）の両極端の2菌株を選択し、一方、薬剤投与量も CBPC を 40~400mg/kg, GM を 1.6~16mg/kg と広い幅に設定した。また従来一般に MIC と きわめて近似するといわれ¹⁰⁾、あまりとりあげられることのなかった MBC についても検討した。SILVERBLATT⁶⁾、小林¹⁰⁾¹¹⁾ は *Pseudomonas* では MIC と MBC の差が他菌種に比べて大きいという。今回測定した MBC は標準株では CBPC は4段階、GM は3段階、患者株では CBPC は4段階、GM は2段階 MIC よりも高い値を示した。したがって緑膿菌感染症では MIC だけを指標として化学療法をおこなうことには問題があると思われる。

教室における従来の検討で大腸菌感染では1回投与の場合十分な治療効果を得るためには尿中濃度が MIC の10倍以上、継続投与では MIC の6倍に達する必要があることを報告した¹⁾。この結果は緑膿菌感染においては標的臓器内に MIC よりもはるかに高い濃度の抗生剤が移行しなければ治癒が得難い印象である。そのため今回この事実をさらに詳細に検討する目的で、接種菌の MIC とともに MBC を測定し、急性腎盂腎炎期の家兎腎組織内濃度の推移と治療効果との関係を追求したわけである。その結果、Fig. 9 のように CBPC 200mg/kg 投与の場合には最高腎組織内濃度は標準株の MIC の398倍、MBC の24.9倍、患者株の MIC の6倍、MBC の1.5倍に達しているが、患者株接種群のこの投与量における治療成績では Table 2 のように細菌学的効果が不十分である。しかし標準株接種群の治療成績は Table 1 のように細菌学的にも組織学的にもすぐれたものであった。したがって最高腎組織内濃度が MBC の1.5倍では治療効果不十分といえるが、24.9倍に達すると治療効果は期待できるということになる。かつ MBC を上廻る腎組織内濃度は2.5時間であった。GM 8.0mg/kg 投与群では腎組織内最高濃度は標準株の MIC の47倍、MBC の5.8倍、その持続時間は5.0時間であり (Fig. 10)、1羽の細菌学的不完全治癒をのぞき細菌学的にも組織学的にも完治が得られた (Table 3)。しかし患者株では腎組織内濃度は MIC, MBC に達せず、細菌学的、組織学的にも不完全治癒であった。

今回の検討では MIC を上廻るが MBC に達しない範囲の腎組織内濃度は得られていないので、MIC を border line として腎組織内濃度と治療効果との関連を clear cut に論じ得ないが、両抗生剤投与群において、MBC の5.8倍~25倍に腎組織内濃度が達する場合には

治癒が期待できるという結果を得た。

しかし MIC を指標としたのではその数百倍の腎組織内濃度を目安にしなればならず、MBC を指標にしたほうが治療効果との関係をより近似的に表現できるものと思われた。

標準株接種 CBPC 200mg/kg, GM 8.0mg/kg 投与群の治療成績を同等と考えると、最高腎組織内濃度の MBC に対する比は CBPC は 24.9:1, GM は 5.8:1 であり、CBPC は GM の4.3倍となる。腎盂腎炎の組織内濃度が MBC を越える時間は CBPC 2.5時間、GM は5時間であり、GM のほうが2倍持続している。したがって CBPC では腎盂腎炎期の腎組織内濃度が MBC よりどれだけ高くなるか、GM では MBC を上廻る持続時間がどれだけ長くなるかが緑膿菌による腎盂腎炎治療の要件になると考えられた。

投与薬剤に CBPC, GM の2剤を選んだ理由は以下のとおりである。CBPC は合成ペニシリンでありながら従来のペニシリン系薬剤ではみられなかった変形菌および緑膿菌にたいする抗菌作用を有しており^{12)~14)}、緑膿菌感染症の治療に現在 first choice drug として広く用いられている薬剤の1つである。その低毒性のために投与量の可変範囲が大であり、最近普及している大量療法のきっかけとなった薬剤でもある。本剤の緑膿菌にたいする MIC は教室の成績では¹⁵⁾、47株についての検索で全株 25 μ g/ml 以上に分布し、とくに 50~100 μ g/ml に27株 (57.5%) が集中し比較的感受性を示した。報告者により多少異なるが、25~100 μ g/ml を中心とする比較的感受性群がもっとも多いが、概して 200~1,600 μ g/ml の中等度耐性群、1,600 μ g/ml 以上の高度耐性群もかなりみられる^{12,16,17)}。

一方、GM は1963年、WEINSTEIN¹⁸⁾ によって *Micromonospora* 属の2つの新種 *M. purpurea*, *M. echinospora* の培養液から分離された aminoglycoside 系抗生物質である。抗菌スペクトラムがきわめて広範囲なこと、とくに緑膿菌、変形菌にたいする抗菌力が優れていることが実証されている^{19)~20)}。本剤の緑膿菌にたいする抗菌力は五島²¹⁾は緑膿菌41株について検討し、全株 6.25 μ g/ml 以下であったとし、中沢²³⁾は18株中15株は 1.56~3.13 μ g/ml に分布したという。RUBENIS²⁴⁾、COX²⁵⁾ の報告もこれらと近似する。GM はもっとも抗菌力の優れた抗生剤の1つであり、難治性緑膿菌感染症においては切り札的存在である^{25,26)}。

実験的腎盂腎炎の成立および進展に関しては内外に多くの報告がみられるが、実験条件の差違によってその成績も異なる。ANDERSON & JACKSON²⁷⁾ はラットを用いた上行性腎盂腎炎において、接種菌の種類によって惹起

される腎盂腎炎の組織障害の程度は異なることを観察し、*E. coli*, *Proteus mirabilis* では重篤であるが、*Pseudomonas* では病変が軽度であったという。しかし大井⁷⁾、角田¹⁾は *E. coli*, *Proteus* と同様に *Pseudomonas* の家兎尿路にたいする病原性はかなり強いものであるという。GORILL & NAVASQUEZ²⁸⁾ もマウスに血行性に接種した場合の *Pseudomonas* の病原性のつよさを確認している。使用動物、接種菌株、接種菌量、接種経路に違いがあるので、このように相反する結果となったものと思われる。

腎盂腎炎の感染経路として、一般に血行性、上行性あるいはリンパ行性の3ルートが考えられている。実験的腎盂腎炎ではこのうち前2者の方法によって再現されることが多い。細菌の接種経路すなわち血行性か上行性かによって感染の成立、進展の様式は一様でないことは以下に記す報告によってもわかる。HEPTINSTALL²⁹⁾ はラットに上行性に *E. coli* を接種した場合、pyelitis がまず起こり、その後連続性あるいは管内性に炎症が腎組織に波及すると述べ、ANDERSON & JACKSON²⁷⁾ もほぼこれに近い見解を示しているのに反し、GORILL & NAVASQUEZ²⁸⁾ はラットに血行性に *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* を感染させた場合、まず細菌は糸球体に定着し増殖した後、腎髄質、腎盂へと管内性に下行してゆくという。SANFORD³⁰⁾ は *E. coli* による血行性ラット腎盂腎炎では感染の発症は皮質ではなく、間質においてであると述べている。藤本³¹⁾ は pyelitis から pyelonephritis へと進展する形式として管内性およびリンパ管性の2様式を紹介し、とくに後者の意義を強調している。いずれにしても腎内における感染の拡散、進展は連続性、管内性およびリンパ行性のいずれかによると考えられる。

一方、上田³²⁾は尿流障害の存在するラットにおける上行性尿路感染症では、非尿流障害例と感染の進展方法が異なり、腎盂→髄質→皮質の経路以外に腎盂→腎盂粘膜下→被膜下→皮質という異なった経路の存在を推察している。ヒトにおける腎盂腎炎は自然発生であり、動物実験における感染発症とは様相が異なることは十分に考えられる。ヒトの腎盂腎炎を未治療あるいは不完全治療のまま放置した場合、急速に膿腎を形成するに至る激症例は比較的少なく、ヒトにおける病変の進展、経過はもっと mild な印象をうける。

抗生物質の体液内、腎組織内濃度測定に関して、1) カップ法における種々の要因、2) 腎ホモジネート中に混入する血液および尿による誤差が技術的問題となる。抗生物質の蛋白結合率、測定の際の稀釈液の pH による抗菌力の変動などいくつかの問題は指摘されるが³³⁾、手技が

簡単であり正しい条件下でおこなえば、かなりの微量まで正確な測定値がえられる点でカップ法は有用である。CBPC の測定において本剤に含まれる benzyl-PC を測定段階で除外する目的で検定菌の選択が問題になるが¹⁶⁾、本実験では *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を使用した。

腎組織内濃度測定において腎組織ホモジネート中に混入した血液による薬剤濃度の誤差は protein-binding の部分が除蛋白によって除かれれば、その誤差を最小限に抑えられると考えられる。しかしポーマン腔ならびに尿細管内の原尿に含まれる薬剤が腎組織濃度にどの程度影響を与えるかについては未だ不明な点が多い。WHELTON³⁴⁾ は normal kidney で hydropenic state では腎盂乳頭部における尿中薬剤濃度は高いが、集合管中に含有される尿量は容積比では 1.4% にすぎず、腎組織内濃度にさしたる誤差を与えるものではなく、まして患腎では濃縮力低下があるので、なおさら影響は少ないと考えている。一方、山作³⁵⁾は尿中薬剤濃度は高く、腎内の原尿量は容積比で 10~15% と比較的多量に存在するので、これによる影響は無視できないと述べている。尿細管内原尿中薬剤濃度は抗生剤の種類による腎からの排泄機序の相違、水利尿状態の程度、感染の程度などの条件の差によってことなるものと思われる。

大久保⁹⁾臓器内濃度測定法として、臓器エマルジョンに既知量の抗生剤を添加して1夜放置後、上清について濃度測定をおこない、試験管内回収率から実測値を補正する方法を提唱している。ただ肝組織内濃度測定において、ラット肝ホモジネートを用いた場合、薬剤によっては測定値が経時的に変動する。その要因として金属イオン、組織成分との相互関係をあげ、肝ホモジネート中には抗生物質を不活性化する物質とそれを抑制する物質の2つの因子が共存することが推察されている^{36,37)}。腎組織内濃度測定においても同様の現象がおこる可能性は十分に考えられる。臓器内における抗生剤の pharmacokinetics の解析が充分でない現状では、大久保の方法はもっとも評価されてよいものと考えられる。今回は除蛋白操作による蛋白結合部分を除外した free な薬剤として組織中濃度を測定した。

感染病巣内における抗生剤の分布、動態は感染症の治療の根本にふれる重要な問題と考えられるが、このことに関して腎盂腎炎以外では北本³⁸⁾によるマウス肺感染症で Kanamycin (KM と略す) の分布状態の実験的研究がある。KM の肺組織内濃度は炎症の程度によって異なり、炎症著明な部位が最も高く、次いで炎症軽度の部位の順であったと報告している。その理由として深谷³⁹⁾は炎症部位における血流増加、毛細血管の拡張および血管透過性の亢進をあげている。松本⁴⁰⁾は実験的肺感染症

で、炎症部位と正常部位による肺組織内濃度の差はみられなかったとのべている。

一方、腎盂腎炎における抗生剤の腎組織内濃度に関する報告は少なく、慢性炎症期における検討として川上⁴¹⁾、WHELTON^ら^{34,42)}のものが急性炎症期における研究ではSCHLEGEL^ら⁴³⁾、PRÁT^ら⁴⁴⁾、MÁLEK^ら⁴⁵⁾の報告を散見するにすぎない。川村⁴⁶⁾は *E. coli* 接種ラットによる急性腎盂腎炎において、炎症腎では薬剤の排泄動態の相違に拘わらず、腎組織内濃度は低下して腎組織への移行が不良となることを観察している。一方、上田^ら⁴⁷⁾は *E. coli* を腎に直接穿刺接種マウス腎盂腎炎において ¹⁴C-Cefazolin (以下 ¹⁴C-CEZ と略す) を用いる macroautoradiography によって CEZ の腎内動態を実験的に検討した結果、菌接種3日後の急性腎盂腎炎の時期では病巣部中心の壊死巣では黒化像は健常に比べてきわめて弱いが、壊死巣周囲では健常部より黒化度がつよく、しかも健常部の黒化像が消滅後4時間目においても黒化像が残存したことから、¹⁴C-CEZ は炎症病巣への移行分布が高く速やかにかつ長期間残存することを示唆している。

本実験においても、菌接種後48時間という急性腎盂腎炎成立期ともいべき初期の炎症腎では、薬剤の組織内濃度が健腎に比較して高値であることが観察された。上田^ら⁴⁷⁾と本実験では実験動物腎盂腎炎作製方法の違い、尿路通過障害の有無、抗生剤の種類、その測定方法の違いがあるので結果だけを比較するのは当を得ていないかもしれないが、腎盂腎炎の急性期における感染病巣内への薬剤移行に関する重要な問題を提起したのと考えたい。

急性期における感染病巣内薬剤濃度が高いのは血管透過性亢進、血流およびリンパ流の停滞などが考えられるが⁹⁾、さらに尿路通過障害による薬剤の尿細管内停滞も考慮する必要がある。

腎における第3循環系として腎リンパ系が存在するが、これは2大排出経路すなわち腎静脈および尿管の排出機能状態によって作動する一種の安全弁の役割を持つという^{48,49)}。腎間質に存在する体液を腎内リンパ系、腎門部リンパ管さらに乳糜槽へと運び出す。

尿管の閉塞は腎盂内圧上昇を来たし腎内リンパ流量の増加をもたらすという^{50)~52)}。またはLEBRIE & MEYERSON⁵³⁾は硝酸ウラニウムによる実験的腎不全動物の腎被膜リンパ管のリンパ流量を測定し、ウラニウム注射後2~7日において腎不全例は対照に比してリンパ流量が約15倍に増加していることを観察し、糸球体濾液がリンパ行性に運ばれる可能性を示唆した。COCKETT⁴⁸⁾は犬を用いた Nitrofurantoin 投与実験で、腎内リンパ液

には血中よりかなり高濃度の抗菌剤がとりこまれ、1.5~2時間持続するとのべている。

本実験で尿管に狭窄を設けたことが、腎内リンパ流量の増加をもたらした抗菌剤の病巣内濃度を高める一因となったことも考えられる。本実験における急性腎盂腎炎期には間質の浮腫、尿細管拡張にともなう抗生剤の間質・尿細管内の蓄積も充分に考えられることである。

緑膿菌感染症は臨床的には基礎疾患をとめない難治性と考えられている。しかし緑膿菌による腎盂腎炎でも発症後早い時期に治療を開始すれば、基礎疾患があっても適切な化学療法、すなわちMBCを数倍上廻る抗生剤が確実に腎組織内に移行する投与量であれば治癒の期待がもてるものと考えられる。

尿路感染症に関係の深い細菌群にたいする血清抗体価を追求した報告は意外に少ない^{54)~56)}。NEEDELL^ら⁵⁷⁾は *E. coli*, *Proteus*, *Pseudomonas* などが検出された20名の尿路感染症例において同種菌の加熱凝集原を用いた indirect hemagglutinin test (以下 IHA test と略す) および bacterial agglutinin test をおこない、両者において凝集素価の存在を確認し、HA抗体価は常に bacterial agglutination test の値よりかなり高いとした。かつ20名のうち数名に感染の初期にH-A抗体価が急激に上昇することを観察している。

またSANFORD^ら⁵⁸⁾は腎盂腎炎ラットで、血中凝集素価の上昇を確認した。感染の存続する例ではHA抗体価は3カ月間高値を維持した。この凝集反応は特異性において優れており、*E. coli* でも血清型による特異性が認められたという。

BRUMFITT⁵⁹⁾は bacterial agglutination test を用いているが、その理由として感度はHA抗体価より劣るが、特異性において優れているという。NEEDELL^ら⁵⁷⁾は感度、特異性ともに優れているとしてI-HA test を採用している。またHANSON^ら⁶⁰⁾もI-HA test が bacterial agglutination test より感度がよいとのべ、5名の小児急性腎盂腎炎において、O抗体価の上昇をみており、分析の結果O抗体はIgG分画に存在することを示唆している。また腎盂腎炎の反復する症例においては初感染例よりもO抗体価の上昇がより高頻度にとめられるといい、この現象の説明として2次の抗体産生、adjuvant effect あるいはより病原性をつよい菌株による再感染の可能性を挙げている。しかし血清抗体価測定は抗原の選択の相違による多少の意味の違いはあるにしても、これまでのところその成績は大同小異で、それ自体の意義づけがあいまいであり、臨床的应用に至っていない。

緑膿菌感染症にたいする血清抗体価測定に関する報告

には、赤血球凝集反応として抗原に本菌の浸出液を用いたものでは古くは GAINES & LANDY⁶¹⁾、最近では高井ら⁶²⁾の報告がある。また bovin 抗原を吸着使用したものに小林⁶³⁾らの報告がある。

しかし本間²⁾による緑膿菌の共通抗原である OEP を抗原とした血清抗体価測定法が特記されるべきであろう。OEP は緑膿菌の分離株を一定の条件下で培養することにより、その培養濾液から分離精製され、糖脂質部分と複合体をつくらぬ蛋白部分である^{2,64,65)}。緑膿菌は本間血清による分類で現在 18 種類の血清型別が知られているが⁶⁶⁾、緑膿菌の血清抗体価を測定する場合このことが複雑さの原因となっている。緑膿菌の血清抗体価測定法として、凝集素価を測定する方法と、もう 1 つは感染防禦の意味での共通抗原である OEP 抗体価を測定する方法がある。患者血清中の凝集素価測定には凝集原として加熱凝集原を用いる場合と、ホルマリン死菌を用いる場合があり、それぞれ型特異性や感度の点で一長一短がある。すなわち加熱凝集原を用いる場合型特異性は高いが感度において劣り、IgM には反応するが IgG には十分に凝集を示さない。一方、ホルマリン死菌を用いる場合逆のことがおこる。しかしこの方法では凝集素価はわかるが、それがどのような意味をもつかは別問題であり、しかも多種類の凝集原を使わなければならないことは非常な労力を伴う²⁾。

富山³⁾は以上の事実から、より簡便で意義ある患者血清中の抗体価測定法として、OEP 抗体価を OEP を抗原とするタンニン酸処理ヒツジ固定血球による indirect hemagglutination test (I-HA test) で測定することに成功し、この方法で測定された抗体価を OEP-HA 価とよんだ。感度にすぐれているので実際には microtiter 法で明瞭な反応を呈し、抗原、抗体 (検体) とともに 0.025 ml の微量ですむ。OEP は緑膿菌の型共通抗原であり、2 菌株から分離した 2 種の OEP (OEP 1, OEP 2) で 18 種類すべての血清型の OEP-HA 価を測定できる。

著者の実験では *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 株を接種した家兎では OEP-HA 価の上昇は早期にみられ、診断上の価値は大であった。感染動物では 6 カ月後も OEP-HA 価は高値を示し、血清抗体の存続を示唆した。この結果から OEP-HA 価測定は臨床例における緑膿菌感染症の診断に有用であろうと思われた。

IV. 結 論

1) *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 株 (標準株) と患者分離緑膿菌 (患者株) の 2 菌株について CBPC, GM にたいする MIC および MBC を測定し、両菌株とも CBPC および GM にたいして MIC と MBC の間には 2~4 段階の差があることをみとめた。

2) 上記 2 菌株を 1 群 2 羽として家兎の一侧尿管に上行性に接種して尿管に狭窄を設け、24, 48, 72 時間および 1 週間後に屠殺した。その結果、いずれの菌株によっても菌接種後 48 時間に腎盂腎炎が成立することが組織学的、細菌学的に確認された。

3) 1 群 2 羽として標準株を用いて同様にして作製した腎盂腎炎家兎において、菌接種後 48 時間目に CBPC または GM を筋注投与した後、経時的に各薬剤の血中、尿中、腎組織内濃度をカップ法で測定した。その結果、菌接種後 48 時間の急性腎盂腎炎成立期には、薬剤の種類によって多少の相違はあるが、病巣内への薬剤とりこみは大きく排泄は緩慢であり、腎組織内薬剤濃度が高いことが示唆された。

4) 標準株または患者株を用いて同様にして作製した腎盂腎炎家兎で 1 群 3 羽とし、菌接種後 48 時間目から CBPC または GM を 1 日 1 回、7 日間筋注投与した。CBPC 投与群は 40, 200, 400 mg/kg, GM 投与群は 1.6, 8.0, 16.0 mg/kg で標準株群と患者株群とを合わせて計 12 群にわけた。標準株、患者株とも CBPC 200, 400 mg/kg 投与群では組織学的に完全な治癒がえられた。GM 8.0, 16.0 mg/kg 投与では標準株群で組織学的に良好な効果であったが、患者株群では必ずしも dose response を反映せず効果は劣った。効果がえられた動物ではいずれも病巣内薬剤濃度は MBC を上まわり、しかも一定時間維持されることが判明した。この結果から MIC よりも MBC がより重要な治療成績の指標となるものと思われた。

5) 標準株を接種して作製した腎盂腎炎未治療家兎 3 羽および normal control 10 羽について、OEP 試薬 (東大医科研 本間教授から分与) を用いて富山らによる OEP-HA 反応に従って OEP-HA 価を測定した。その結果、normal control は 10 羽いずれも 40 倍未満であったのに反し、未治療家兎 3 羽では菌接種後 24 時間目から抗体価が上昇しはじめ、160~320 倍を示し、以後多少の変動はあるが 80~1,280 倍の範囲の抗体価を維持し、6 カ月後においても高値を示し血清抗体の存続を示唆した。治療による OEP-HA 抗体価の正常化はみられないが、緑膿菌感染症の診断には有用であると思われた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師岡元健一郎教授、終始懇切な御指導、御助言をいただいた大井好忠助教授、OEP 試薬を分与していただいた東大医科研 本間遜教授に深謝します。また教室員諸兄の御協力に感謝します。

なお、本論文の要旨は第 22, 23 回日本化学療法学会総会、第 9 回緑膿菌研究会などにおいて報告した。また

本研究は文部省科学研究費昭和49年度948194, 昭和50年度048245, 昭和51年度148258の助成によった。

文 献

- 1) 角田和之: 実験的腎盂腎炎における抗生剤の効果に関する研究。泌尿紀要 19: 931~962, 1973
- 2) 本間遜: 緑膿菌感染症, 特にその基礎研究の現状。感染症学雑誌 46: 189~200, 1972
- 3) 富山哲雄, 本間遜, 阿部千代治, 平尾豊: 羊固定血球を使用した緑膿菌 OEP 血球凝集反応の試み。第6回緑膿菌研究会抄録 208~212, 1972
- 4) 五島瑳智子, 佐久一枝: 緑膿菌の同定。臨床検査 16: 602~608, 1972
- 5) 小酒井望, 五島瑳智子, 中沢昭三, 紺野昌俊, 三橋進, 松本文夫, 中山一誠, 清水喜八郎, 岡本穰子: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 22: 1126~1127, 1974
- 6) SILVERBLATT, F. & M. TURCK: Laboratory and clinical evaluation of carbenicillin. Antimicrob. Agents & Chemoth. -1968: 279~285, 1969
- 7) 大井好忠, 片平可也: 尿路感染菌の病原性検討のための実験的腎盂腎炎。西日泌尿 32: 152~161, 1970
- 8) 大久保侃: 化学療剤の臓器別分布からみた特性。臨と研 47: 781~784, 1970
- 9) 宮川正澄, 三橋進, 石田名香雄: 実験感染学 73~77, 朝倉書店, 東京, 1967
- 10) 小林稔: MBC(最小殺菌濃度)。医薬の門 14: 271~275, 1974
- 11) 小林稔: Carbenicillin の臨床分離起炎菌に対する Minimal Bactericidal Concentration (MBC) についての検討, 第1報。Jap. J. Antibiotics 26: 470~474, 1973
- 12) BRUMFITT, W. & A. PERCIVAL: Clinical and laboratory studies with carbenicillin. Lancet 1: 1289~1293, 1967
- 13) KNUDSEN, E. T. ; G. N. ROLINSON & R. SUTHERLAND: Carbenicillin: a new semisynthetic penicillin active against *Pseudomonas pyocyanea*. Brit. Med. J. 3: 75, 1967
- 14) JONES, R. J. & E. J. L. LOWBURY: Prophylaxis and therapy for *Pseudomonas aeruginosa* infection with carbenicillin and with gentamicin. Brit. Med. J. 3: 79~82, 1967
- 15) 川島尚志, 永田進一, 大井好忠, 岡元健一郎: I-CBPC の基礎的, 臨床的検討。Chemotherapy 23: 793~798, 1975
- 16) 小酒井望, 猪狩淳, 小栗豊子: 試験管内抗菌力からみた抗生剤大量療法の検討。最新医学 29: 818~823, 1974
- 17) 名出頼男, 長久保一朗, 長谷川昭, 鈴木恵三, 川村猛, 大越正秋: 緑膿菌による尿路感染症のペニシリン系薬剤による治療, 臨床的 dose response 観察の1モデル。Chemotherapy 20: 391~392, 1972
- 18) WEINSTEIN, M. J. ; G. M. LUEDEMANN, E. M. ODEN & G. H. WAGMAN: Gentamicin, a new broad-spectrum antibiotic complex. Antimicrob. Agents & Chemoth. -1962: 1~7, 1963
- 19) FINLAND, M. : Gentamicin, antibacterial activity, clinical pharmacology and clinical applications. Med. Times 97: 161, 1969
- 20) HOLLOWAY, W. J. : Gentamicin, a new antibiotic. Delaware Med. J. 41: 83, 1969
- 21) JAO, R. L. & G. G. JACKSON: Gentamicin sulfate, new antibiotic against gram-negative bacilli. Laboratory, pharmacological and clinical evaluation. J. A. M. A. 189: 817, 1964
- 22) 五島瑳智子, 桑原香吾: Gentamicin の抗菌作用。Chemotherapy 15: 462~466, 1967
- 23) 中沢昭三, 横田芳武, 金森政人, 吉田進彦, 石田邦彦: 新抗生物質 Gentamicin に関する細菌学的研究。Chemotherapy 15: 477~482, 1967
- 24) RUBENIS, M. ; V. M. KOZIU & G. G. JACKSON: Laboratory studies on gentamicin. Antimicrob. Agents & Chemoth. -1963: 153, 1964
- 25) COX, C. E. : Gentamicin. Medical Clinics of North America 54: 1~21, 1970
- 26) 坂本日朗, 大井好忠, 角田和之, 中山健, 川島尚志: 尿路感染症にたいする Gentamicin の検討。西日泌 34: 446~451, 1972
- 27) ANDERSON, B. R. & G. G. JACKSON: Pyelitis, an important factor in the pathogenesis of retrograde pyelonephritis. J. Exp. Med. 114: 375~383, 1961
- 28) GORILL, R. H. & S. J. DE NAVASQUEZ: Experimental pyelonephritis in mouse produced by *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. J. Pathol. Bacteriol. 87: 79~87, 1964
- 29) HEPTINSTALL, R. H. : Experimental pyelonephritis, bacteriological and morphological studies on the ascending route of infection in the rat. Nephron 1: 73~92, 1964
- 30) SANFORD, J. P. ; B. W. HUNTER & P. DONALDSON: Localization and fate of *E. coli* in hematogenous pyelonephritis. J. Exp. Med. 116: 285, 1962
- 31) 藤本輝夫: 腎盂腎炎の成立と進展, その組織病理学的理解。日本臨床 25: 418~424, 1967
- 32) 上田泰: 実験的腎盂腎炎の化学療法にかんする研究, 発症と進展に関連して。Chemotherapy 22: 1474~1478, 1974
- 33) 岩本英男, 石山俊次: 抗生剤の体内濃度の問題点, とくに血中濃度について, カップ法による検討。最新医学 27: 287~292, 1972
- 34) WHELTON, A. ; D. G. SAPIR, G. G. CARTER, M. A. GARTH & W. G. WALKER: Intrarenal distribution of ampicillin in the normal and diseased human kidney. J. Infect. Dis. 125: 466~470, 1972
- 35) 山作房之輔: 抗生物質の体内濃度測定の問題点とその意義, とくに臓器内濃度について, 腎。最

- 新医学 28 : 414~420, 1973
- 36) 呉京修, 岡本緩子, 大久保滉 : 各種抗生物質の組織ホモジネート (とくに肝) における不活性化。Chemotherapy 20 : 713, 1972
- 37) 大久保滉, 岡本緩子, 呉京修 : 各種抗生物質の組織ホモジネート (とくに肝) における不活性化 (3)。Chemotherapy 21 : 1272, 1973
- 38) 北本治, 深谷一太, 橋田晃, 川島明, 本間久枝 : 抗微生物剤の生体内動態に関する研究, カナマイシンについて。J. Antibiotics, Ser. B 15 : 1~6, 1962
- 39) 深谷一太 : 抗生物質の体液内濃度の測定の問題点とその意義, とくに臓器内濃度について, 肺。最新医学 28 : 390~395, 1973
- 40) 松本慶蔵, 西岡きよ, 荒井澄夫, 宇塚良夫, 磯山正玄 : 抗生物質の体液内濃度測定の問題点とその意義, 追加発言。最新医学 28 : 395~400, 1973
- 41) 川上隆 : 片腎障害時における薬剤の排泄動態について。日泌尿会誌 61 : 772~777, 1970
- 42) WHELTON, A. ; G. G. GARTER, H. H. BRYANT, L. A. PORTEOUS & W. G. WALKER : Carbenicillin concentration in normal and diseased kidneys, a therapeutic consideration. Annals Int. Med. 78 : 659~662, 1973
- 43) SCHLEGEL, J. U. & J. J. BURDEN : Studies in the treatment of acute pyelonephritis. J. Urol. 91 : 127~130, 1964
- 44) PRAT, V. ; M. HATALA & D. BENESOVA : Virchow's. Arch. Path. Anat. 339 : 37, 1965
- 45) MALEK, P. ; V. ZASTAVA, F. ZAK, S. V. KOCVARA & J. KOLC : Distribution and retention of tetracycline analogues in kidney tissue in some pathological conditions. J. Urol. 89 : 784~792, 1963
- 46) 川村猛 : 実験的腎盂腎炎における薬剤の腎内拡散について, 腎盂腎炎の薬剤治療に関する一考察。日泌尿会誌 60 : 555~571, 1969
- 47) 上田泰, 嶋田甚五郎, 松本文夫, 斉藤篤, 小林千鶴子, 大森雅久, 柴孝也, 山路武久, 三枝幹文 : 抗生剤の体内分布にかんする研究, 実験的腎盂腎炎病巣における ¹⁴C-labelled cefazolin の動態。Chemotherapy 21 : 1887~1888, 1973
- 48) COCKETT, A. T. K. ; A. P. ROBERTS, R. S. MOORE & W. E. GOODWIN : Significance of antibacterial levels in the renal lymph during treatment for pyelonephritis. J. Urol. 95 : 164~168, 1966
- 49) GOODWIN, W. E. & J. J. KAUFMANN : Renal lymphatics, II, Preliminary experiments. J. Urol. 76 : 702, 1956
- 50) LUDWIG, C. & R. ZAWARYKIN : Cited by SCHMIDT, C. F. and HAYMAN, J. M. : A note on the formation of lymph in the dog's kidney and the effect of certain diuretics upon it. Amer. J. Physiol. 9 : 157, 1929
- 51) GOODWIN, W. E. & J. J. KAUFMANN : The renal lymphatics. I, Review of some patient literature. Urol. Sur. 6 : 305~329, 1956
- 52) MURPHY, J. J. ; M. K. MYINT, W. H. RATTNER, R. KLIUS & J. SHALLOW : The lymphatic system of the kidney. J. Urol. 80 : 1~6, 1958
- 53) LEBRIE, S. J. & H. S. MEYERSON : Influence of uranium nitrate-induced nephrosis on flow and composition of renal lymph. Physiologist 3 : 102, 1960
- 54) 熊沢浄一 : 非特異性尿路感染症に関する研究, 第2報, 尿路分離菌の病原性に関する免疫学的研究。福岡医誌 54 : 1084~1101, 1963
- 55) 山本隆司 : 尿路感染症の免疫学的研究, 第1編, 正常人血清および急性膀胱炎患者血清抗体 (赤血球凝集素価)。日泌尿会誌 55 : 386~395, 1964
- 56) 井上哲也 : 慢性腎盂腎炎の血清学的研究, 第3報, 腸内細菌のエタノール分画に対する家兎の共通抗体産生に関する実験的研究。日腎誌 11 : 519~529, 1969
- 57) NEEDELL, M. H. ; E. NETER W. J. STAUBITZ & W. A. BINGHAM : The antibody (hemagglutinin) response of patients with infections of the urinary tract. J. Urol. 74 : 674~682, 1955
- 58) SANFORD, J. P. ; B. W. HUNTER & L. L. SOUDA : Role of immunity in the pathogenesis of experimental hematogenous pyelonephritis. J. Exp. Med. 115 : 383, 1962
- 59) BRUMFITT, W. & A. PERCIVAL : Serum antibody response as an indication of renal involvement in patients with significant bacteriuria. Progress in pyelonephritis. 118~128, F. A. Davis Co., Philadelphia, 1965
- 60) HANSON, L. A. ; J. HOLMGREN, U. JODAL & B. KAIJSER : Characterization of precipitating antibodies to *E. coli* O antigen in infants and children with acute pyelonephritis. Clin. Exp. Immunol. 8 : 573~580, 1971
- 61) GAINES, S. & M. LANDY : Prevalence of antibody to pseudomonas in normal human sera. J. Bact. 69 : 628~633, 1955
- 62) 高井昌子, 長尾四郎, 森弘 : 緑膿菌エキスを抗原とするタンニン酸処理血球凝集反応, 慢性中耳炎患者血清での予備観察。日細菌誌 26 : 467~472, 1971
- 63) 小林康夫, 田所一郎 : 緑膿菌性中耳炎における感作血球凝集反応と皮内反応について。第6回緑膿菌研究会抄録 107~109, 1972
- 64) 本間遜 : 緑膿菌に関する最近の知見。綜合臨床 19 : 2338~2347, 1970
- 65) HOMMA, J. Y. : Recent investigations on *Pseudomonas aeruginosa*. Jap. J. Exp. Med. 41 : 387~400, 1971
- 66) 本間遜 : 緑膿菌の血清型別, 特に他国のものとの比較。第8回緑膿菌研究会抄録 49~51, 1974

A STUDY OF CHEMOTHERAPY ON EXPERIMENTAL
PYELONEPHRITIS IN RABBITS INOCULATED
WITH *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

TAKASHI KAWABATA

Department of Urology, Faculty of Medicine, Kagoshima University
(Director : Prof. K. OKAMOTO)

It is well recognized that urinary tract infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* is difficult to treat and manage because of the drug resistance and an existence of urinary stream disturbance in such cases. So that a large dose chemotherapy using such as carbenicillin (CBPC) and sulbenicillin (SBPC) against *Pseudomonas* infections is used to be applied recently. In order to evaluate an appropriate chemotherapy for *Pseudomonas* infections in the urinary tracts, especially pyelonephritis, the following studies have been performed on experimental pyelonephritis in rabbits.

1. MICs and MBCs of CBPC and gentamicin (GM) against *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 (standard strain) and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections (UTI strain) were measured by agar dilution method and by SILVERBLATT & TURCK's method. It was proved that the difference between MIC and MBC of the drugs against the bacterias ranged from twice to 16 times.

2. Experimental pyelonephritis in rabbits was produced by inoculation with both strains of *Pseudomonas aeruginosa* into unilaterally obstructed ureter. The animals were sacrificed 24, 48, 72 hours and a week after the inoculation. Occurrence of acute pyelonephritis in rabbits was proved 48 hours after the inoculation from histopathological and bacteriological points of view.

3. Concentration of CBPC and GM in the serum, urine and renal tissue 1, 3, 5 hours after the intramuscular administration in acute pyelonephritic rabbits was measured by thin layer cup method. It was suggested that tissue level of the drugs in acute pyelonephritic kidney was recorded higher and decreased more gradually than that in the normal kidney.

4. The animals 48 hours previously inoculated with the bacterial strains were treated by intramuscular injection of CBPC or GM once a day for 7 days. Doses of the drugs were 40, 200, 400 mg per kg for CBPC and 1.6, 8.0, 16 mg per kg for GM. The animals were sacrificed on next day of the cessation of the treatment. Histopathological findings demonstrated complete healing in rabbits treated by CBPC showing dose response. However, dose response was not reflected and consequently the results were poor in efficacy in UTI strain inoculated animals treated by GM, while good to excellent results were obtained in standard strain inoculated animals.

5. The fact came into the light the tissue level of the drugs in the pyelonephritic kidney revealed higher than MBC in rabbits who obtained perfect histopathological and bacteriological healing. MBC is thought to be more important than MIC for a marker of the treatment of acute pyelonephritis induced by *Pseudomonas aeruginosa*.

6. OEP-HA titer was measured in 10 normal rabbits and in 3 rabbits inoculated with standard strain of *Pseudomonas aeruginosa* but not medicated. OEP-HA reagent was supplied by Prof. HOMMA of the Institute of Medical Science, the University of Tokyo. Microtiter method was applied. OEP-HA titer showed lower than 40× in normal controls. On the other hand, it began to rise 24 hours after the bacterial inoculation and reached range from 160 to 320×. Elevation of OEP-HA titer was kept for 6 months after the inoculation. Measurement of OEP-HA titer is useful for diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* infection in the urinary tract.