

化学療法剤の投与方法にかんする実験的解析

6. 緑膿菌に対する Ticarcillin の効果

尾花芳樹・西野武志・故中沢昭三
京都薬科大学微生物学教室

感染症の化学療法において、治療薬剤の投与方法は治療効果を左右する上で重要な問題となりうる。Penicillin G が実用化された1940年代に、EAGLEら^{1)~5)}は、この薬剤の投与方法にかんする実験的解析を行なっている。すなわち、彼らは β -溶血性連鎖球菌、肺炎球菌などのグラム陽性球菌を用いて、Penicillin G の治療効果を検討した。そしてこれらの結果から、Penicillin G の治療効果は感染病巣部位における薬剤の有効濃度の総維持時間に左右されること、さらに感染菌に対する薬剤の直接作用だけでなく、宿主側の感染防禦機能が大きく関与していることなどが示唆され、これらを考慮した上での薬剤の投与方法が必要となってきた。しかしながら、その後開発、実用化された各種化学療法剤についての投与方法にかんする研究はほとんどなされておらず、真下⁶⁾、島田⁷⁾らの若干の報告があるに過ぎなかった。

そこで教室の中沢ら^{8)~11)}は、実験的緑膿菌感染症に対する Sulbencillin, Gentamicin, Piperacillin の投与方法ならびに大腸菌感染症に対する Cephalothin の投与方法について詳細に検討を行ない、それらの結果を報告してきた。今回、近年英国 Beecham 社で開発された新しい半合成ペニシリン Ticarcillin の細菌学的評価の1つとして、緑膿菌感染症を対象に、本物質の投与方法にかんする実験的解析を試み、2, 3の知見を得たので報告する。

実験材料および実験方法

1. 使用菌株および薬剤

菌株は臨床分離の緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* E-2株 (TIPC, CBPC に対する MIC 50 $\mu\text{g/ml}$) を用い、薬剤は Ticarcillin (TIPC: Beecham 薬品 K.K.) および比較薬剤として Carbenicillin (CBPC: 藤沢薬品工業 K.K.) を用いた。

2. *In vitro* における抗菌作用

Tryptosoya ブイヨン (TSB: Nissan) で前培養した菌を heart infusion ブイヨン (HIB: Nissan) に接種し、37°C で振とう培養を行なった。対数増殖期に達した菌液に薬剤を添加し、経時的に生菌数を測定した。

3. *In vitro* における再増殖にかんする実験

上記のように対数増殖期まで培養した菌液を、HIB で約 10^{-2} に希釈を行ない、その希釈菌液に薬剤を添加した。薬剤添加後 1.5, 3時間目に市販 penicillinase (Schwartz/Mann, 10,000,000 kinetic U/mg) 溶液を培養液の 1/100 倍量加え、TIPC および CBPC を完全に不活化後、引き続き経時的に生菌数測定を行ない、再増殖性を検討した。なお、この条件下では両薬剤ともに 1~2 分で完全に不活化され、また菌への影響はほとんど認められなかった。

4. マウス実験的緑膿菌感染症に対する治療効果

2/3 濃度の TSB で前培養した菌を同培地に 10% の割合で加え 1.5 時間振とう培養し、同培地で 10^{-5} に希釈し、6% gastric mucin (Orthana-Kemisk-Fabrik-A/S) と等量混合した。上記の菌の 30 LD₅₀ を 1 群 10 匹の ddY-S 系マウス (17~18 g) の腹腔内に接種して、感染 2 時間後に 1 回、薬剤を皮下投与した。また頻回投与の場合は、感染 2 時間後の治療を第 1 回とし、以後 2 時間間隔で治療を行なった。その後 7 日間生死の観察を行ない、生残率を求め、プロビット法により ED₅₀ 値を算出した。

5. マウス体液内濃度の測定

上記と同様の方法により緑膿菌で感染させたマウスに薬剤を皮下投与し、投与後 15~120 分経過後、1 群 3 匹のマウスから血漿および腹水液を採取した。血漿は腋下動脈から採取した血液を遠心操作して分離した。また腹水液は血液採取後開腹し、直接 paper disc にしみ込ませて調製した。これらの方法により採取した検体中の薬剤濃度を検定菌として *Bacillus subtilis* PCI-219 を用いた薄層 paper disc 法によって測定した。

6. マウス腹腔内生菌数の測定

緑膿菌感染マウスの皮下に薬剤を投与し、経時的に 1 群 3 匹のマウスの腹腔内に生理食塩水 (2.5 ml) を接種し、腹腔内の菌を浮遊させ、この浮遊液を回収し、生菌数測定を行なった。

実験結果

1. *In vitro* における抗菌作用

TIPC および CBPC の抗菌作用の結果は、Fig. 1, 2 に示すとおりである。すなわち Fig. 1 は薬剤作用時の

菌量が少ない場合, Fig. 2 は多い場合である。いずれの場合も作用 1~2 時間後から殺菌作用が認められた。

2. *In vitro* における再増殖にかんする実験
薬剤除去後の菌の再増殖にかんする実験結果は Fig.

Fig. 1 Bactericidal effect of TIPC and CBPC on *Ps. aeruginosa* E-2

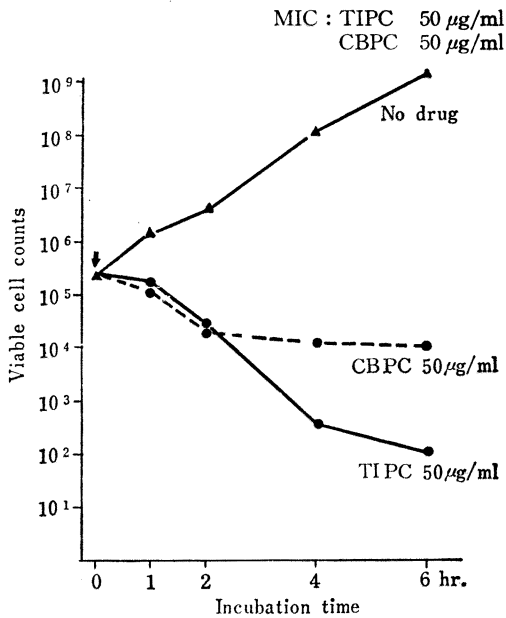
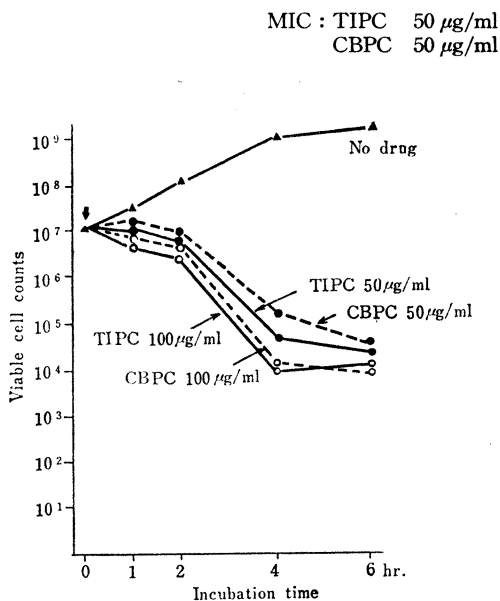


Fig. 2 Bactericidal effect of TIPC and CBPC on *Ps. aeruginosa* E-2



3, 4 に示すとおりである。すなわち TIPC, CBPC のそれぞれ 50 µg/ml を 1.5, 3 時間作用させた後, penicillinase を加え, 培地中の薬剤を不活化したときの生菌数を経時的に調べた。その結果, 薬剤除去により薬剤処理を受けていた生残菌は正常菌とほとんど変わらない速さで分裂再増殖することが認められた。

3. マウス実験的緑膿菌感染症に対する治療効果
実験的緑膿菌感染症に対する治療効果を, 単投与と頻

Fig. 3 The fate of TIPC damaged *Ps. aeruginosa* E-2 *in vitro*

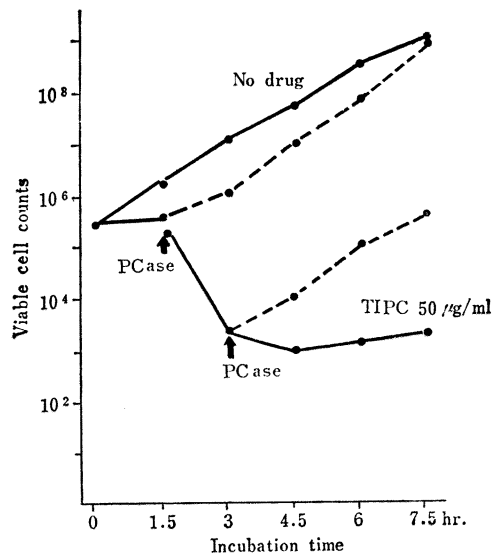
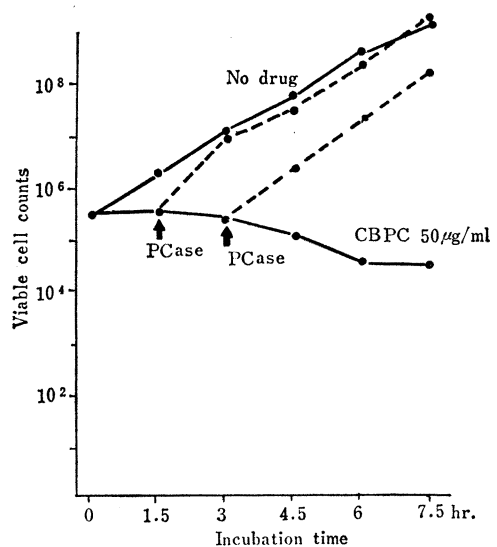


Fig. 4 The fate of CBPC damaged *Ps. aeruginosa* E-2 *in vitro*



回投与について検討した結果を Table 1 に示す。なお頻回投与の ED₅₀ 値は総投与量で示してある。TIPC の治療効果 (ED₅₀ 値) は単投与が 3.48 mg/mouse, 2 回投与が 2.30 mg/mouse, 3 回投与が 1.87 mg/mouse という値を示し, 頻回投与のほうが治療効果は良くなっている。いっぽう CBPC の場合, ED₅₀ 値は単投与が 4.92 mg/mouse, 2 回投与が 5.28 mg/mouse, 3 回投与が 5.66 mg/mouse という値を示し, 頻回投与により治療効果が良くなる傾向は認められなかった。

Table 1 Protective effect with TIPC and CBPC for experimental *Ps. aeruginosa* E-2 infection in mice

Drug	Challenge doses (cells/mouse)	MIC (μg/ml)	Administration		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Times	Times (after infection)	
TIPC	4.0 × 10 ²	50	1	2 hr.	3.48
			2	2, 4 hr.	2.30
			3	2, 4, 6hr.	1.87
CBPC	(30LD ₅₀)	50	1	2 hr.	4.92
			2	2, 4 hr.	5.28
			3	2, 4, 6hr.	5.66

4. マウス体液内濃度の測定

各薬剤 1.25 mg および 2.5 mg/mouse を皮下投与した時の血漿, 腹水液濃度を測定した結果を Fig. 5, 6 に示す。血漿中濃度では 2.5 mg 投与では両薬剤とも, 15 分後には 60 μg/ml 前後の値を示し, 30 分後には約 30 μg/ml であった。また 2.5 mg, 1.25 mg 投与いずれも両薬剤間に吸収の差はほとんど認められなかった。腹水液濃度では, TIPC のほうが CBPC よりも 2 倍以上優れており, 2.5 mg 投与では 15 分後に CBPC が 57.5 μg/ml であるのに対して TIPC では 121.5 μg/ml であった。30 分後には両薬剤とも 15 分値の約 50% に減少していた。

5. マウス腹腔内生菌数の測定

緑膿菌感染マウスに薬剤を皮下投与し, 以後の腹腔内生菌数の消長を測定した結果を Fig. 7~10 に示してある。また図中の () 内は 7 日後の生残率 (生残匹数/使用匹数) を表わしている。Fig. 7 は TIPC 0.8, 4, 20 mg/mouse を単投与した時の結果である。0.8 mg/mouse 投与群では 2 時間菌の増殖抑制が認められたがその後は無処置群と同じ速さで増殖が認められ, 20 時間後には全例死亡した。4 mg および 20 mg/mouse 投与群では投与後菌数の減少が見られ, それぞれ 2 時間およ

び 6~8 時間の lag を経て緩やかな速さで増殖を開始した。なお, 4 mg/mouse の投与量はほぼ ED₅₀ 値に相当する。Fig. 8 は TIPC 4 mg/mouse を分割して, 1 時

Fig. 5 Concentration in plasma after subcutaneous administration of TIPC and CBPC

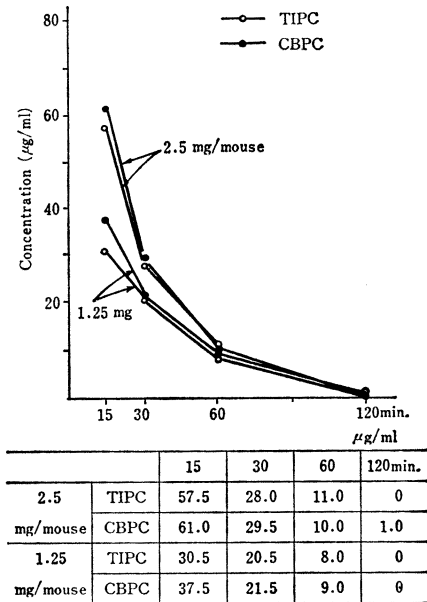


Fig. 6 Concentration in peritoneal fluid after subcutaneous administration of TIPC and CBPC

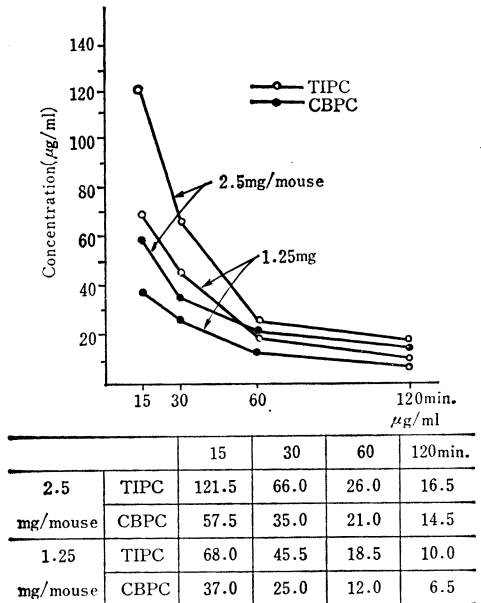


Fig. 7 Bactericidal effect of TIPC after subcutaneous administration to mice infected with *Ps. aeruginosa* E-2

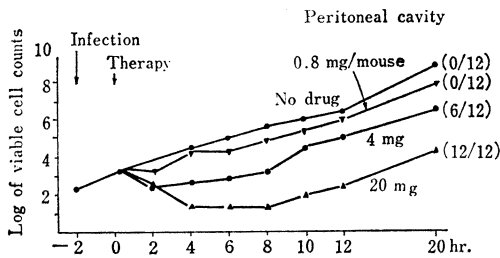


Fig. 8 Bactericidal effect of TIPC after subcutaneous administration to mice infected with *Ps. aeruginosa* E-2

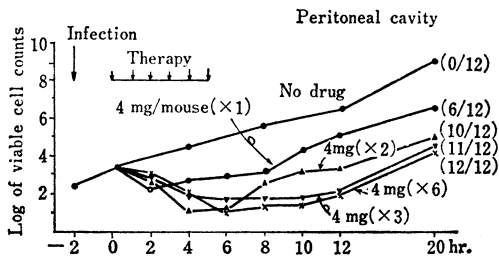


Fig. 9 Bactericidal effect of CBPC after subcutaneous administration to mice infected with *Ps. aeruginosa* E-2

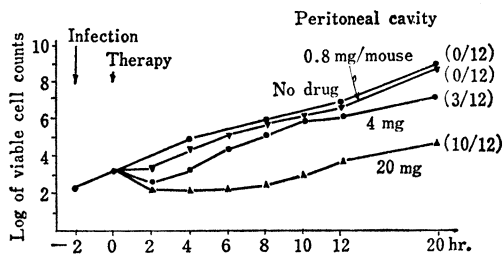
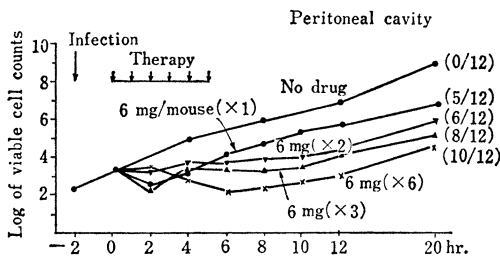


Fig. 10 Bactericidal effect of CBPC after subcutaneous administration to mice infected with *Ps. aeruginosa* E-2



間隔で投与した時の結果である。いずれの場合も投与後菌数の減少が見られ、2回投与では2時間、3回投与では6時間、6回投与では4時間の lag が見られ、それ以後は徐々に菌数の増加が見られたが80%以上のマウスが生残した。Fig. 9は CBPC 0.8, 4, 20 mg/mouse を単投与した時の結果である。0.8 mg/mouse 投与群では2時間菌の増殖抑制が認められたが、その後は無処置群と同じ速さで増殖し全例死亡した。4 mg/mouse 投与群では菌数の減少がわずかに認められたが、やはり無処置群と同じ速さで菌は増殖した。20 mg/mouse 投与群は菌数の減少と約6時間の lag により80%の延命が認められた。Fig. 10は CBPC 6 mg/mouse を分割して1時間間隔で投与した時の結果である。いずれの場合も、菌の増殖抑制あるいは菌数の減少が認められたが、菌数の立ち上りの速さは分割投与回数に応じており、回数が多くなるにつれ菌の増殖が遅いことが解る。なお6 mg/mouse はほぼ ED₅₀ 値に相当する。

このように単投与においては、両薬剤ともに薬剤量に応じた菌数の減少と lag が認められたが、TIPC のほうがCBPC よりも菌の減少率が大きく、また lag の長さも長かった。また頻回投与においても、両薬剤ともに分割投与回数が多くなるにつれ、菌の減少率が大きく、また lag が長くなる傾向にあった。さらに TIPC と CBPC を比較してみると、投与量が少ないにもかかわらず、TIPC 投与のほうがCBPC よりも菌の減少率は大きく、lag も長かった。

総括および考察

緑膿菌感染症を対象に新しい半合成ペニシリン Ticarcillin (TIPC) の投与方法にかんする実験的解析について Carbenicillin (CBPC) を比較薬剤として検討を行ない、次のような結果が得られた。

1. *In vitro* における抗菌作用では、薬剤作用時の菌量が少ない場合、多い場合にも両薬剤とも殺菌的に作用した。

2. *In vitro* における再増殖にかんする実験では、薬剤処理を受けていた生残菌は薬剤除去により、正常菌とほとんど変わらない速さで分割再増殖した。この結果は EAGLE ら³⁾が報告した結果と若干異なっている。すなわち彼らは、Penicillin G の作用を1~1.5時間受けたグラム陽性球菌の再増殖には少なくとも2~3時間の lag が認められるとしている。この EAGLE らの結果と今回得られた結果に若干の差異が認められるのは、菌種の違いから生ずるものと考えている。またわれわれが得た結果は、さきに中沢ら⁸⁾¹⁰⁾¹¹⁾が報告している緑膿菌に対する Sulbenicillin, Piperacillin, 大腸菌に対する Cephalo-

thin の場合と同じであった。

3. マウス実験の緑膿菌感染症に対する治療効果では、単投与の場合最小発育阻止濃度 (MIC) が同じであるにもかかわらず、TIPC のほうが CBPC よりも若干治療効果は優れていた。また、2 時間間隔の頻回投与では、TIPC は投与回数を増す程治療効果が良くなる傾向にあり、いっぽう、CBPC は回数が増しても効果にはあまり影響がなかった。このように両薬剤の治療効果の違いは興味を持たれる問題であるが、TIPC の場合、EAGLE ら⁴⁾や中沢ら⁸⁾¹⁰⁾¹¹⁾が述べたように、治療効果を上げるためには有効濃度の総維持時間が重要であるという報告と良く一致していた。

4. マウス体液内濃度の測定を、血漿および腹水液について検討した結果、血漿中濃度においては両薬剤間ではほとんど差は認められなかった。また腹水液濃度においては、TIPC のほうが CBPC よりも 2 倍以上高い値を示した。このように CBPC に比べ、TIPC のほうが腹水液への移行が良いために、良好な治療効果が得られるものと考えている。

5. マウス腹腔内生菌数を測定した結果、TIPC、CBPC をそれぞれ 0.8, 4, 20 mg/mouse 投与した時、薬剤投与量に応じた菌数の減少と lag の長さが認められ、また薬剤が体内から消失したと思われる時期になっても増殖は抑制されていた。このことは *in vitro* で認められた再増殖の現象とは異なっており、菌の再増殖抑制は宿主側の影響や生体内での薬剤による damage の強さによるものと考えられる。さらに腹腔内菌数の消長が、薬剤投与量に依存するののか、薬剤投与期間に依存するののかを検討するため、ED₅₀ 値の薬剤量、すなわち TIPC 4 mg/mouse、CBPC 6 mg/mouse を 1 時間間隔で 2 回、3 回、6 回と分割して投与した時の生菌数の変動を調べた。その結果、両薬剤ともに総投与量が同じである場合には、分割するほうが菌数の減少率や lag の長さが大きくなることが認められ、さらに頻回投与でも 6 回分割、3 回分割、2 回分割の順に優れていた。これらのことは明らかに、有効濃度の総維持時間が薬剤投与量よりも重要な因子となりうることを示唆している。

以上のような結果から、TIPC の治療効果を最大限に発揮するためには、感染菌に対する本物質の最小有効濃度を長時間維持することが重要であると考えられる。そのため、臨床においては本物質の少量を適当な間隔で頻回投与する方法や点滴静注する方法のほうが、多量を one shot 投与するよりも効果的であると考えられる。

結 論

緑膿菌感染症に対する新しい半合成ペニシリン Ticar-

cillin の投与方法について実験的解析を行なった。

1. Ticarcillin, Carbenicillin の作用を受けた緑膿菌は薬剤除去により、正常菌と同じ速さで分裂再増殖した。
2. Ticarcillin は単投与よりも頻回投与のほうが治療効果 (ED₅₀ 値) は優れていた。Carbenicillin の場合にはあまり差は認められなかった。
3. Ticarcillin, Carbenicillin の治療効果を左右する因子は薬剤投与量よりも有効濃度の総維持時間であることが解った。

文 献

- 1) EAGLE, H. & A. D. MUSSELMAN: The rate of bactericidal action of penicillin *in vitro* as a function of its concentration and its paradoxically reduced activity at high concentrations against certain organisms. *J. Exp. Med.* 88: 99~131, 1948
- 2) EAGLE, H. & A. D. MUSSELMAN: The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. *J. Bact.* 58: 475~490, 1949
- 3) EAGLE, H.; R. GLEISCHMAN & A. D. MUSSELMAN: The bactericidal action of penicillin *in vivo*; the participation of the host and the slow recovery of the surviving organisms. *Ann. Intern. Med.* 33: 544~571, 1950
- 4) EAGLE, H.; R. FLEISCHMAN & A. D. MUSSELMAN: Effect of schedule of administration on the therapeutic efficacy of penicillin. Importance of the aggregate time penicillin remains at effectively bactericidal levels. *Am. J. Med.* 9: 280~299, 1950
- 5) EAGLE, H.; R. FLEISCHMAN & M. LEVY: Continuous vs "discontinuous" therapy with penicillin the effect of the interval between injections on therapeutic efficacy. *New Engl. J. Med.* 248: 481~488, 1953
- 6) 真下啓明: 抗生剤大量投与の適応と限界。ファーマシア 10: 271~273, 1974
- 7) 島田 馨: Cephalothin 大量療法の適応と限界。最新医学 29: 867~887, 1974
- 8) 岩日朋幸, 中沢昭三: 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析 (1) 緑膿菌に対する Sulbenicillin の効果。Chemotherapy 25: 615~616, 1977
- 9) 佐藤 清, 中沢昭三: 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析 (2) 緑膿菌に対する Gentamicin

- の効果。Chemotherapy 25 : 616, 1977
- 10) 渡辺康雄, 西野武志, 中沢昭三 : 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析 (3) 緑膿菌に対する T-1220 の効果。Chemotherapy 25 : 747~754, 1977
- 11) 三和秀明, 平井芳美, 大槻雅子, 中沢昭三 : 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析 (4) 大腸菌に対する Cephalothin の効果。Chemotherapy 25 : 616~617, 1977

EXPERIMENTAL STUDIES ON ADMINISTRATION OF
CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS

VI. EFFECT OF TICARCILLIN AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

YOSHIKI OBANA, TAKESHI NISHINO and SHOZO NAKAZAWA

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The most effective administration of a semisynthetic penicillin, ticarcillin (TIPC), has been studied in the experimental mice infection with *Pseudomonas aeruginosa*.

- 1) *Pseudomonas aeruginosa* damaged by TIPC or carbenicillin (CBPC), when the drug was free, immediately began to regrow *in vitro*.
- 2) The therapeutic efficacy of TIPC on multiple administrations was more effective than that of CBPC.
- 3) An important factor to decide the therapeutic efficacy of TIPC and CBPC was the total duration of the effective concentration rather than the total dosing amounts of the drug.