

## 化学療法剤の投与法に関する実験的解析 10. 緑膿菌に対する Cefsulodin (SCE-129) の効果

岩日朋幸・西野武志  
京都薬科大学微生物学教室

感染症に対する化学療法において、使用薬剤の投与法に関する問題は治療効果を左右する大きな要因の一つである。とくに、近年問題視されているグラム陰性桿菌感染症を対象に化学療法を行う場合には、一般にその難治性のゆえに、やむなく抗菌剤の長期大量使用を迫られている現状であり、使用薬剤の投与法に関する問題は極めて重要な検討課題の一つかと思われる<sup>1)~6)</sup>。

このような実情に鑑み、数年前から私共は H. EAGLE らの一連の実験<sup>4)~10)</sup>に倣い、数種のとくにグラム陰性桿菌感染症を対象に開発された抗菌剤を使用する際、抗菌作用の立場から眺めたとき、それらの薬剤の最も効果的な投与法は如何にあるべきかという問題について実験的解析を試みてきた<sup>11)~19)</sup>。

今回、その一環として、緑膿菌感染症を対象に開発された新合成セファロスポリン Cefsulodin (SCE-129, CFS) を本感染症に対して使用する際の適切な投与法を考察するために必要かと思われる二、三の細菌学的検討を行ったのでその成績を報告する。

### 実験材料および実験方法

#### 1) 使用薬

CFS (武田薬品工業 K.K. 898  $\mu\text{g}$  力価/mg) および比較薬として硫酸ゲンタマイシン (GM, 塩野義製薬 K.K. 619  $\mu\text{g}$  力価/mg) を用いた。

#### 2) 使用菌株

臨床分離の *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株を用いた。日本化学療法学会標準法に準じて測定したときの、本菌株に対する CFS および GM の MIC は  $10^4$  cells/ml 接種において両剤とも 3.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $10^6$  cells/ml 接種において両剤とも 1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。また ddY 系雄性マウス (生後 4 週令, 16~18 g) に 3% gastric mucin (Orthana-Kemisk-Fabrik-A/S) とともに腹腔内接種したときの本菌株の LD<sub>50</sub> は  $10^4$  cells/mouse 前後であった。

#### 3) *In vitro* における抗菌作用および薬剤除去後の生残菌の再増殖性に関する実験

3%濃度 Tryptosoya Broth (TSB, 日水) 37°C 一夜培養

菌液を新鮮同培地に  $1/10^4$  量に加え、37°C 2 時間振盪培養後、いろいろな濃度の CFS あるいは GM を添加し培養を続けた。以後経時的に試料を採取し、10 倍希釈系列によるコロニー・カウント法を用いて生菌数を測定した。試料から薬剤を除去する場合は、冷却高速遠心器で 12,000 g, 10 分間遠心し上清を除去した。沈澱した被験菌は、すみやかに予め 37°C に保温した新鮮培地に懸濁し以後 37°C で振盪培養し、薬剤除去後の生菌数の変化を経時的に測定した。

#### 4) マウス実験の緑膿菌感染症に対する治療効果

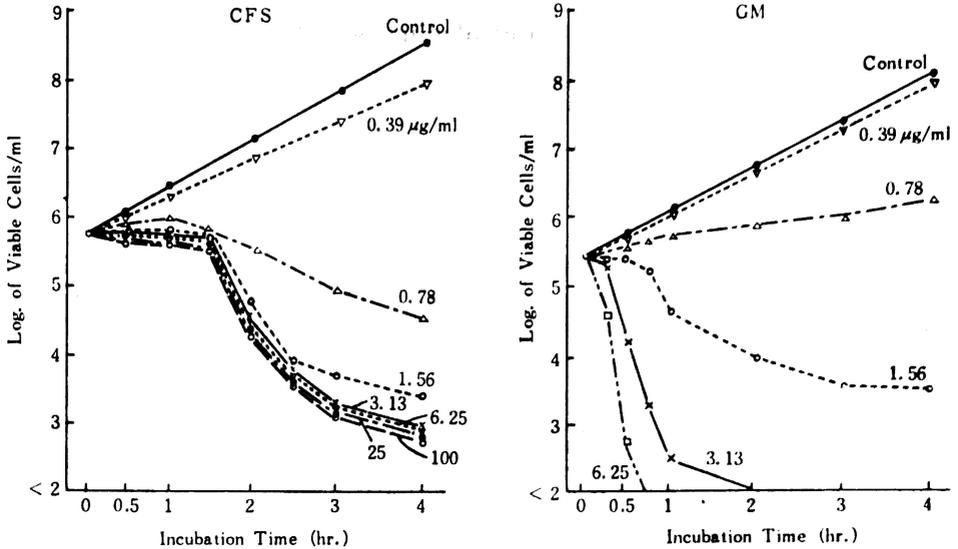
3%濃度 TSB 37°C 一夜培養菌液を同培地に 5% の割合でに加え、37°C 2 時間振盪培養した。本菌液を約  $10^3 \sim 10^4$  cells/ml になるように同培地で希釈し、6% gastric mucin を等量混合後、本混合液を ddY 系雄性マウス (生後 4 週令, 16~18 g) に 0.5 ml ずつ腹腔内接種した。菌接種 2 時間後から、一群 10 匹のマウスをいろいろな投与スケジュールによって s.c. あるいは i.p. 治療した。そして 7 日間経過後の生残率を求め LITCHFIELD-WILCOXON 法<sup>20)</sup>により ED<sub>50</sub>, ED<sub>50</sub> および ED<sub>10</sub> 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感染させたマウスに、各種濃度の CFS あるいは GM を s.c. あるいは i.p. 投与後経時的に一群 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。腹水液は血液採取後のマウスを開腹し、直接 paper disk に滲ませることによって採取した。そしてこれらの検体中の薬剤濃度を CFS は *P. aeruginosa* NCTC 10490 を、GM は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とし、薄層 paper disk 法によって測定した。

#### 6) マウス腹腔および血液内生菌数の測定

緑膿菌感染マウスにいろいろな投与スケジュールで CFS あるいは GM を s.c. 投与後、経時的に一群 3 匹のマウスから血液および腹水洗滌液を採取した。腹水洗滌液は、上記と同様の方法により血液を採取した後、マウス当り 2.5 ml の M/15 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 緩衝液 (pH 7.2) を腹腔内接種し、2~3 回腹部をマッサージ後

Fig. 1 Bactericidal action of CFS and GM against *P. aeruginosa* E-2

接種液を回収することによって採取した。そして得られた試料中の生菌数を10倍希釈系列によるコロニー・カウント法によって測定し、血液および腹水洗滌液 1 ml 当りの菌数を求めた。そして3匹のマウスのそれぞれの菌数を対数値に換算し、その平均値を算出した。

### 実験結果

#### 1. *In vitro* における CFS および GM の緑膿菌に対する抗菌作用型式

CFS の緑膿菌に対する抗菌作用型式を GM のそれと比較検討した。その結果 Fig. 1 に示すように、両剤とも  $\frac{1}{2}$ ~1 MIC (0.78~1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の濃度において殺菌的に作用したが、その作用の発現様式において好対照を示した。すなわち CFS の場合には2時間目あたりから漸く殺菌的作用が認められはじめ、4時間後には接種菌の99~99.9%が殺菌された。さらに薬剤濃度を32~64 MIC 相当 (100  $\mu\text{g/ml}$ ) まで上げて殺菌作用の発現時間、殺菌率ともほとんど変らなかった。一方 GM の場合には  $\frac{1}{2}$ ~1 MIC を作用させると1時間後にも明らかに菌数の減少がみられ、漸次薬剤濃度を上げると、それに応じてより速やかなかつより強い殺菌効果が認められた。

#### 2. *In vitro* における生残菌の再増殖性について

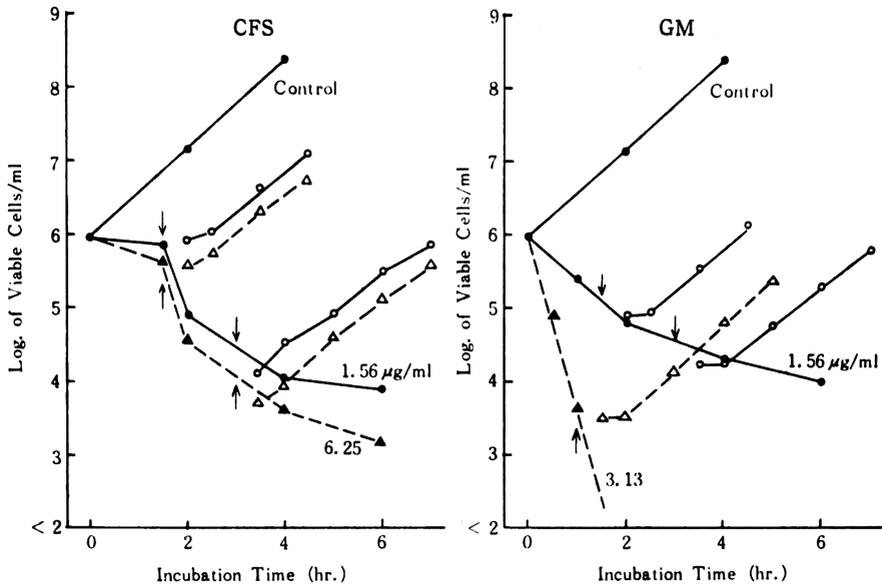
CFS および GM の緑膿菌に対する殺菌作用の発現様式は好対照を示したけれども、いずれにしる薬剤作用時の菌量が  $10^5$  cells/ml 以上ならば  $\frac{1}{2}$ ~1 MIC 相当の CFS あるいは GM を数時間作用しつづけても、まだコロニ-

-形成能を保持した cells が生残していた。そこで、これらの生残菌の再増殖性について検討した (Fig. 2)。その結果、両剤間において、薬剤除去後再分裂増殖を始めるまでの時間に若干差異があるように思われたが、いずれにしる両剤とも薬剤除去1時間後からは正常菌とほぼ同じ速度で再分裂増殖した。

#### 3. マウス実験の緑膿菌感染症に対する CFS および GM の治療効果

緑膿菌腹腔内感染マウスに対する両剤の治療効果を投与回数と投与量をいろいろ変えて比較検討した。投与間隔はすべて1時間間隔とした。

Table 1 および 2 は、CFS および GM をそれぞれ s.c. 投与したときの成績である。本実験系においても両剤は好対照を示した。すなわち CFS の場合には1回投与時の  $ED_{50}$  値が1.2 mg/mouse であるのに対して投与回数を2回、4回、6回とふやすと0.35, 0.032, 0.015 mg/mouse と注射当りの  $ED_{50}$  値は勿論のこと、total  $ED_{50}$  値も0.70, 0.13, 0.09 mg/mouse と著しく減少した。一方 GM の場合には1回投与時の  $ED_{50}$  値が0.80 mg/mouse であるのに対して投与回数を2回、4回、6回とふやすと注射当りの  $ED_{50}$  値は0.44, 0.16, 0.11 mg/mouse と小さくなるものの、total  $ED_{50}$  値は0.88, 0.64, 0.66 mg/mouse であり1回投与時のそれとほとんど変らなかった。従って両剤 s.c. 投与時の治療効果を比較すると1回投与においては CFS の  $ED_{50}$  値は GM のそれより大きい、4回あるいは6回頻回投与時の CFS の  $ED_{50}$  値は注射当りのそれのみならず total

Fig. 2 Regrowth curve *in vitro* of *P. aeruginosa* E-2 previously exposed to CFS or GM

The arrows (↓) in the figure indicate the time at which CFS or GM were removed by centrifugation. The open circles or triangles indicate the regrowth curve of bacteria pre-exposed to CFS or GM.

Table 1 Effect of administration schedule on therapeutic efficacy of CFS by subcutaneous route against intraperitoneal infection with *P. aeruginosa* E-2

Administration schedule	1 inject (—)	2 inject (1 hr. interval)	4 inject (1 hr. interval)	6 inject (1 hr. interval)
Dose (mg/mouse)	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*
5.0	9	10	—	—
1.25	4	8	10	10
0.313	2	5	9	10
0.078	0	2	9	8
0.020	0	0	3	6
0.005	—	—	2	2
0.00125	—	—	—	—
0.00031	—	—	—	—
ED <sub>84</sub> /inject	4.6	1.5	0.13	0.062
ED <sub>50</sub> /inject	1.2 (0.43-3.4)	0.35 (0.12-1.05)	0.032 (0.011-0.10)	0.015 (0.005-0.045)
ED <sub>16</sub> /inject	0.32	0.085	0.0075	0.0035
total ED <sub>50</sub>	1.2 (0.43-3.4)	0.70 (0.24-2.1)	0.13 (0.044-0.40)	0.09 (0.030-0.27)

\* 10 mice per group

( ) : 95% confidence limits

Infective inoculum :  $5.8 \times 10^8$  CFU/mouse with 3% mucin ( $3.9 \times 10^8$  LD<sub>50</sub>)

Table 2 Effect of administration schedule on therapeutic efficacy of GM by subcutaneous route against intraperitoneal infection with *P. aeruginosa* E-2

Administration schedule	1 inject (—)	2 inject (1 hr. interval)	4 inject (1 hr. interval)	6 inject (1 hr. interval)
Dose (mg/mouse)	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*
5.0	9	10	—	—
1.25	8	10	10	10
0.313	1	2	9	9
0.078	0	0	1	4
0.020	0	0	0	0
0.005	—	—	0	0
0.00125	—	—	—	—
0.00031	—	—	—	—
ED <sub>84</sub> /inject	1.7	0.92	0.34	0.24
ED <sub>50</sub> /inject	0.80 (0.42-1.52)	0.44 (0.23-0.84)	0.16 (0.09-0.29)	0.11 (0.055-0.22)
ED <sub>16</sub> /inject	0.40	0.21	0.074	0.050
total ED <sub>50</sub>	0.80 (0.42-1.52)	0.88 (0.45-1.68)	0.64 (0.36-1.16)	0.66 (0.33-1.32)

\* 10 mice per group

( ) : 95% confidence limits

Infective inoculum :  $5.8 \times 10^3$  CFU/mouse with 3% mucin ( $3.9 \times 10^3$  LD<sub>50</sub>)

Table 3 Effect of administration schedule on therapeutic efficacy of CFS by intraperitoneal route against intraperitoneal infection with *P. aeruginosa* E-2

Administration schedule	1 inject (—)	2 inject (1 hr. interval)	4 inject (1 hr. interval)	6 inject (1 hr. interval)
Dose (mg/mouse)	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*
5.0	—	—	—	—
1.25	10	10	—	—
0.313	10	9	—	—
0.078	9	9	10	10
0.020	3	3	9	10
0.005	0	1	8	7
0.00125	—	—	3	2
0.00031	—	—	0	1
ED <sub>84</sub> /inject	0.25	0.064	0.0052	0.0064
ED <sub>50</sub> /inject	0.12 (0.063-0.23)	0.030 (0.016-0.057)	0.0023 (0.0012-0.0044)	0.0028 (0.0015-0.0053)
ED <sub>16</sub> /inject	0.056	0.014	0.0010	0.0013
total ED <sub>50</sub>	0.12 (0.063-0.23)	0.060 (0.032-0.114)	0.0092 (0.0048-0.018)	0.0168 (0.0090-0.032)

\* 10 mice per group

( ) : 95% confidence limits

Infective inoculum :  $6.5 \times 10^3$  CFU/mouse with 3% mucin ( $3.3 \times 10^3$  LD<sub>50</sub>)

ED<sub>50</sub> 値も GM より小さい値を示した。

そこで、これらの点についてさらに確認すべく両剤 i.p. 投与時の、すなわち薬剤の吸収の要因を除外してみたときの効果を比較検討した (Table 3 および 4)。両剤とも s.c. 投与時よりも概ね 1 オーダー小さい値を示

したが、投与回数と治療効果の関係は両剤とも先の s.c. 投与時とほぼ同一の傾向を示した。従って i.p. 投与においても 4 回あるいは 6 回頻回投与時の ED<sub>50</sub> 値は注射当りのそれは勿論のこと total ED<sub>50</sub> 値も明らかに CFS の方が GM より小さい値を示すことが明らかになった。

Table 4 Effect of administration schedule on therapeutic efficacy of GM by intraperitoneal route against intraperitoneal infection with *P. aeruginosa* E-2

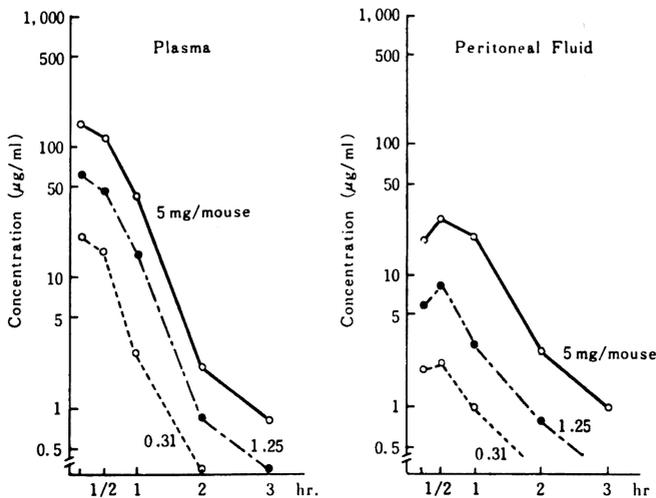
Administration schedule	1 inject (—)	2 inject (1 hr. interval)	4 inject (1 hr. interval)	6 inject (1 hr. interval)
Dose (mg/mouse)	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*
5.0	—	—	—	—
1.25	10	10	—	—
0.313	10	10	10	10
0.078	6	8	9	10
0.020	2	2	5	6
0.005	0	0	1	2
0.00125	—	—	0	0
0.00031	—	—	—	—
ED <sub>84</sub> /inject	0.20	0.13	0.080	0.052
ED <sub>50</sub> /inject	0.058 (0.022-0.15)	0.038 (0.015-0.099)	0.023 (0.0088-0.060)	0.014 (0.0054-0.036)
ED <sub>16</sub> /inject	0.016	0.011	0.0066	0.0040
total ED <sub>50</sub>	0.058 (0.022-0.15)	0.076 (0.030-0.198)	0.092 (0.035-0.24)	0.084 (0.033-0.22)

\* 10 mice per group

( ) : 95% confidence limits

Infective inoculum :  $6.5 \times 10^3$  CFU/mouse with 3% mucin ( $3.3 \times 10^3$  LD<sub>50</sub>)

Fig. 3 Concentrations of CFS in plasma and peritoneal fluid after subcutaneous injection in mice



#### 4. 血漿および腹水中薬剤濃度の推移

Fig. 3 および 4 は CFS および GM s.c. 投与時の血漿および腹水中薬剤濃度の推移を示している。腹水中薬剤濃度の推移は両剤いずれにおいても血漿中のそれよりも時間的に若干遅れがみられたものの、パターンそのものは両剤とも血漿中のそれと酷似していた。

Fig. 5 および 6 は CFS および GM i.p. 投与時の血漿および腹水中薬剤濃度の推移を示している。両剤い

ずれの場合にも腹水中薬剤濃度の方が血漿中のそれよりも概ね 1 オーダー高い値を示した。

これらのデータに基づき、両剤を 1 回あるいは 4 回 s.c. あるいは i.p. 投与時の  $ED_{50}$  (図中実線) および  $ED_{10}$  (図中点線) に相当する薬剤量をそれぞれ投与したときの腹水中薬剤濃度の推移を算出してみた。Fig. 7 および 8 は、CFS を 1 回あるいは 4 回 s.c. あるいは i.p. 投与したときの推移を示している。s.c. 投与時の方が

Fig. 4 Concentrations of GM in plasma and peritoneal fluid after subcutaneous injection in mice

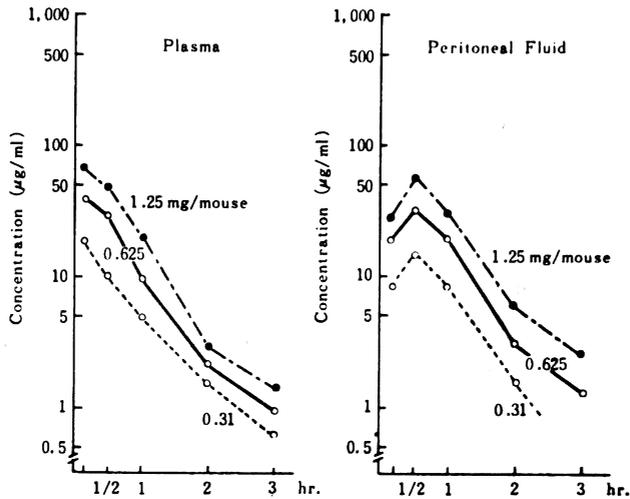


Fig. 5 Concentrations of CFS in plasma and peritoneal fluid after intraperitoneal injection in mice

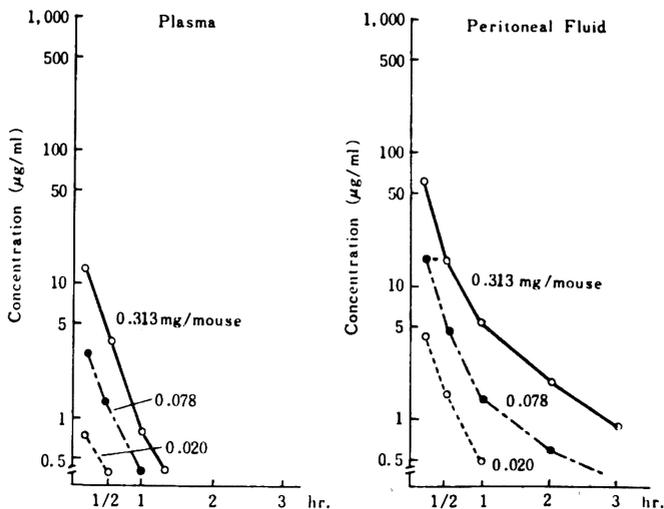


Fig. 6 Concentrations of GM in plasma and peritoneal fluid after intraperitoneal injection in mice

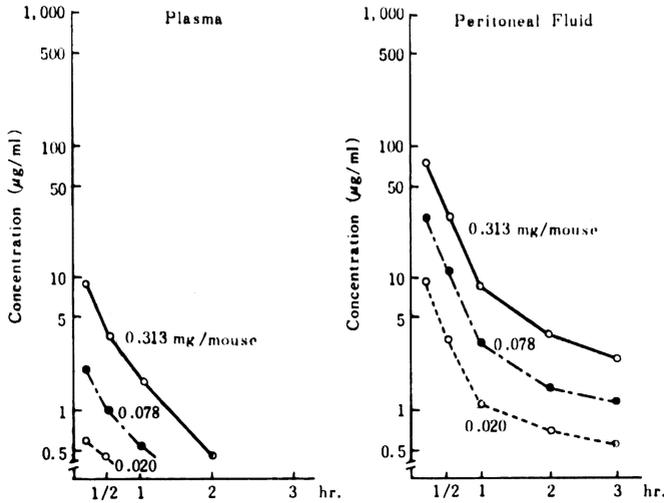
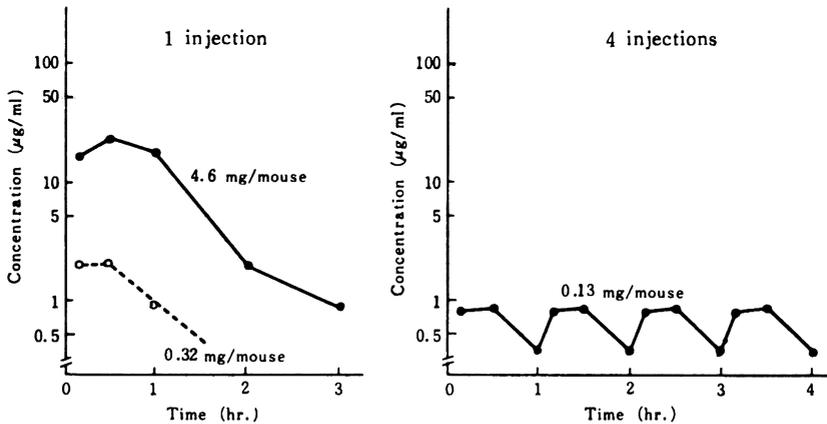


Fig. 7 Relationship between therapeutic efficacy of CFS by subcutaneous route and its concentration in peritoneal fluid



i.p. 投与時よりもピーク値がやや低く持続時間がやや長い傾向がみられたが、両者はほぼ同じ値を示した。1回および4回投与時のパターンを比較すると両者は明らかに異なったパターンを示した。とくにピーク値および吸収総量においてその差は著しかった。しかし0.5 µg/ml前後の濃度が維持されている総時間は両者ほぼ相似た値を示した。Fig. 9 および10はGMを1回あるいは4回s.c. あるいはi.p. 投与したときの推移を示している。GMの場合にもs.c. 投与時の方がi.p. 投与時よりもピーク値が低く持続時間が長い傾向がみられたが、両者はほぼ同じ値を示した。1回および4回投与時のパターン

を比較すると、GMの場合にも両者は明らかに異なったパターンを示したが、本剤の場合にはピーク値および持続時間が大幅に異なり、吸収総量が最も相似た値を示した。

さらにまた、CFS および GM 4回投与により  $ED_{50}$  値を得るために必要な腹液中薬剤濃度を比較すると、CFSの場合にはたかだか0.5~1 µg/ml前後であること、一方GMの場合には5 µg/ml前後であり、明らかにCFSの方が低いことが知られた。

##### 5. 腹腔内および血液内における感染菌の消長

*In vivo* におけるCFSの抗緑膿菌作用をより詳細に

Fig. 8 Relationship between therapeutic efficacy of CFS by intraperitoneal route and its concentration in peritoneal fluid

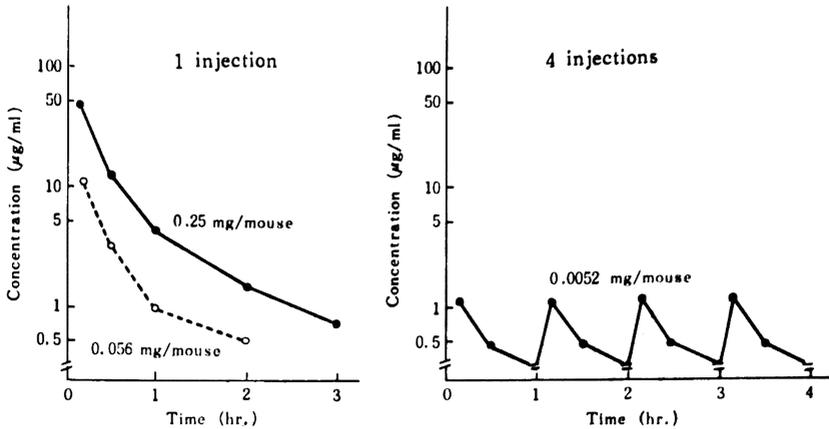
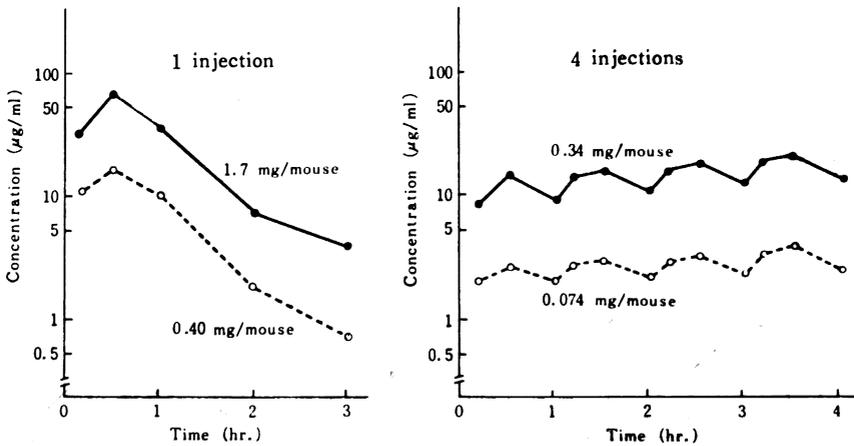


Fig. 9 Relationship between therapeutic efficacy of GM by subcutaneous route and its concentration in peritoneal fluid



理解するために、感染治療実験時の腹腔および血液内における感染菌の消長を GM のそれと比較検討した。

Fig. 11は CFS を0.313, 1.25, 5 mg/mouse それぞれ1回 s.c. 投与したときの腹腔内における感染菌の消長を示している。このときの腹水液中薬剤濃度は先に Fig. 3 に示した如く、ピーク値はおのおの2, 8, 30 µg/ml 前後であり、0.5 µg/ml 前後の濃度が維持されている時間はおのおの1.5, 2.5, 4時間前後であった。しかしマウス腹腔内においては2~4時間目あたりまで著明な菌数の減少がみられた後、おのおの4, 8, 14時間頃まで感染菌の再増殖が抑制されていた。2~4時間目までにみられる菌数の減少の程度には3投与量間において差は

認められなかった。Fig. 12は0.078 mg/mouse を1回、1時間間隔で4回、および $0.078 \times 4 = 0.313$  mg/mouse を1回 s.c. 投与したときの感染菌の消長を示している。1回投与ではただか2時間目までの増殖を抑制するにすぎない投与量でも、1時間間隔で4回、すなわち充分時間作用させるならば著明な菌数の減少がみられ、かつ4倍量1回投与よりも明らかに長い増殖抑制効果がみられた。

Fig. 13は GM を0.313, 0.625, 1.25 mg/mouse それぞれ1回 s.c. 投与したときの腹腔内における感染菌の消長を示している。このときの腹水液中薬剤濃度は先に Fig. 4 に示した如く、ピーク値はおのおの15, 30,

Fig. 10 Relationship between therapeutic efficacy of GM by intraperitoneal route and its concentration in peritoneal fluid

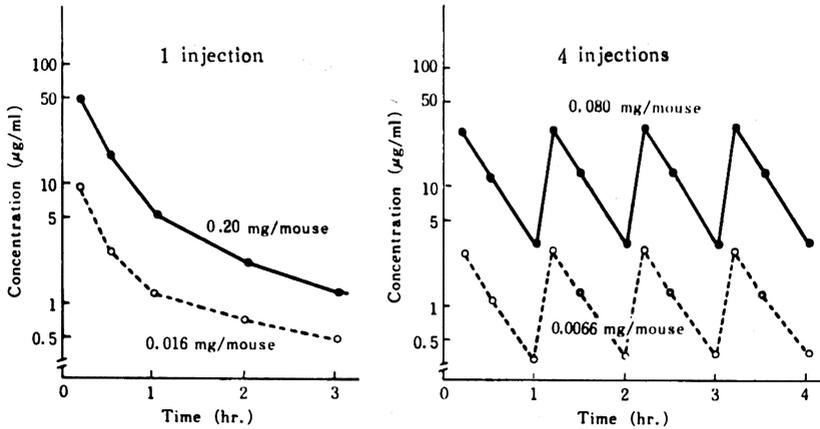
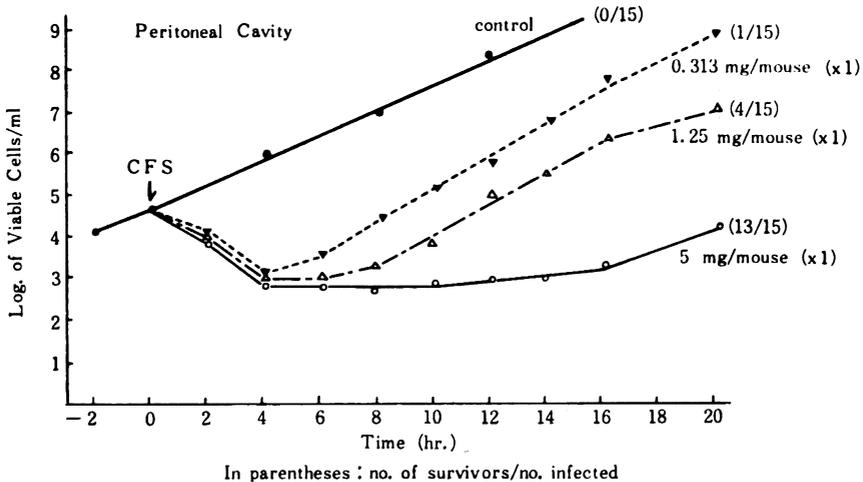


Fig. 11 Bactericidal activity of CFS after subcutaneous administration to mice infected with *P. aeruginosa* E-2



50 µg/ml 前後であり、5 µg/ml 前後の濃度が維持されている時間はおのおの1.3, 1.8, 2.2時間前後であった。GM の場合にも薬剤濃度の推移から予想されるよりも長い増殖抑制がみられたが、本剤の場合には投与量をふやすとそれに応じて菌数の減少の程度が大きくなり、また再増殖抑制時間も長くなった。Fig. 14は0.25 mg/mouse を1時間間隔で4回および0.25×4=1 mg/mouse を1回 s.c. 投与したときの感染菌の消長を示している。本剤の場合 CFS とは異なり、0.25 mg/mouse 4回投与よりも4倍量1回投与の方がむしろ菌数の減少の程度もやや大きく再増殖抑制時間もやや長かった。

上記いずれの場合にも、血液中の菌数は概ね腹腔内菌数の1/10~1/100であり、菌数の消長のパターンは腹腔内のそれと極めてよく似ていた。

考 察

これまで私どもは、合成ペニシリン Sulbenicillin<sup>13</sup>、Piperacillin<sup>14</sup>、Ticarcillin<sup>15</sup> およびアミノ配糖体抗生剤 GM<sup>12</sup>、KW-1062<sup>15</sup>の *in vitro* および *in vivo* (マウス腹腔内)における抗緑膿菌作用について検討し、これら両グループは抗菌作用型式において好対照を示すこと、またいずれの薬剤においても程度の差はあれ *in vivo* に

Fig. 12 Bactericidal activity of CFS after subcutaneous administration to mice infected with *P. aeruginosa* E 2

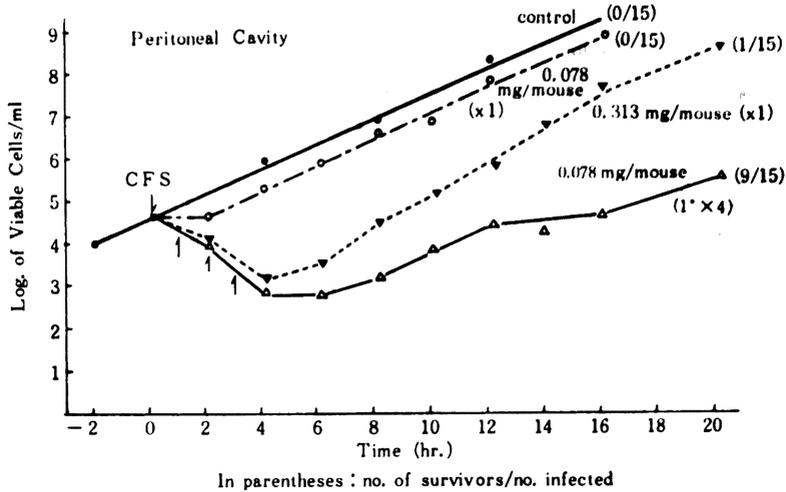
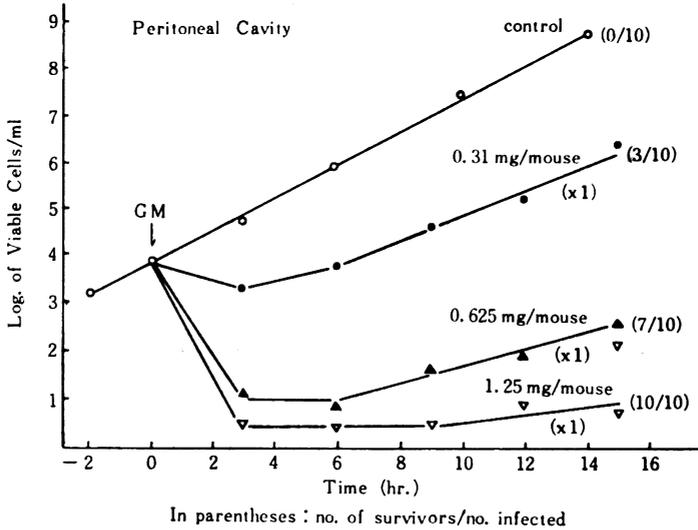


Fig. 13 Bactericidal activity of GM after subcutaneous administration to mice infected with *P. aeruginosa* E 2

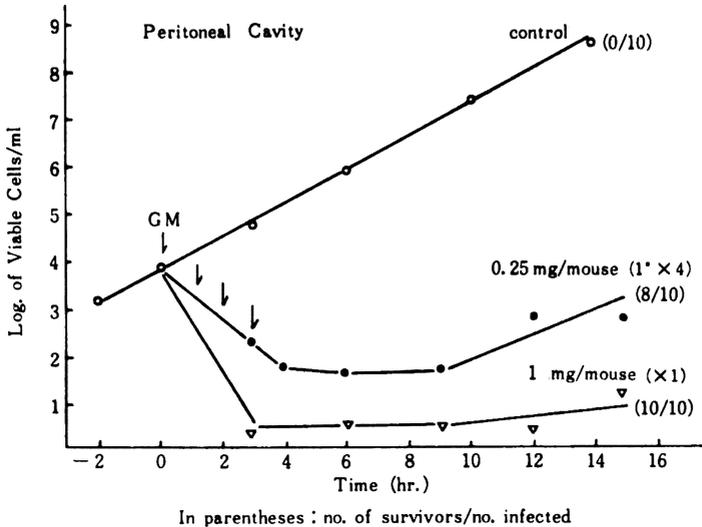


においては、薬剤濃度の推移から予想されるよりも長い増殖抑制効果が認められることなどを明らかにしてきた。そして上記薬剤を緑膿菌感染症に効果的に使用するには、これらの点についても充分留意すべきであることを指摘してきた。今回新たに本菌感染症を対象に開発された合成セファロsporin CFS は *in vitro* において多くの緑膿菌に GM とほぼ同等の MIC 値を示し、かつ GM と対照的な抗菌作用型式を示す<sup>21)</sup>ことなどから、

本剤の *in vivo* における抗緑膿菌作用に興味をもたれた。

そこで、本剤の緑膿菌腹腔内感染マウスに対する治療効果を投与回数をいろいろ変え、GM のそれと比較検討したところ、1 回投与においては CFS の方が GM よりやや大きい ED<sub>50</sub> 値を示すが、4 回あるいは 6 回頻回投与時の ED<sub>50</sub> 値は注射当りのそれのみならず、total ED<sub>50</sub> 値も CFS の方が小さい値を示すことが明らかに

Fig. 14 Bactericidal activity of GM after subcutaneous administration to mice infected with *P. aeruginosa* E 2



なった。すなわち、CFS の治療効果は投与回数をふやすと注射当りの  $ED_{50}$  値は勿論のこと total  $ED_{50}$  値も著しく減少したが、GM の場合には注射当りの  $ED_{50}$  値は小さくなるものの total  $ED_{50}$  値はほとんど変わらなかった。これはこのときの腹液中薬剤濃度の推移から、CFS の治療効果は専ら有効濃度以上が保たれている総時間に、また GM のそれは専ら薬剤の吸収総量に依存しているためと考えられる。そしてこれらの結果はマウス腹腔内においても両剤の *in vitro* の抗菌作用型式の特徴が忠実に反映されていることを示しているかと思われる。COMBER ら<sup>22)23)</sup>は Amoxicillin と Ampicillin の *in vitro* における MIC 値および s.c. 投与時のマウス体内における挙動はほぼ等しいのにもかかわらず、両剤の大腸菌腹腔内感染マウスに対する s.c. 投与時の治療効果を比較すると前者の方が後者より数倍すぐれていることを指摘し、これは主として両剤の抗菌作用型式の違いに由来するのであろうと述べている。

また CFS および GM 頻回投与時すなわち充分時間作用時に  $ED_{50}$  値を得るために必要な腹液中薬剤濃度を比較すると、CFS のそれはたかだか  $0.5 \sim 1 \mu\text{g/ml}$  前後であり、GM のそれは  $5 \mu\text{g/ml}$  前後であると推定された。一方 *in vitro* における両剤の本菌に対する最小有効濃度はほぼ等しく  $0.78 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$  であった。それゆえ、CFS のマウス腹腔内における有効濃度は *in vitro* のそれとほぼ等しいかむしろ若干小さいのに対し、GM の場合には *in vitro* のそれよりも数倍大きいように思われる。これは一体どういう要因に由来するのか興

味ある課題の一つである。峯ら<sup>24)</sup>および NISHIDA ら<sup>25)</sup>は各種抗生物質がウサギ多形核好中球による緑膿菌の食食殺菌作用におよぼす影響について検討し、 $\beta$ -lactam 系抗生物質 Carbenicillin や Sulbencillin 存在下においては食食殺菌効果の増強がみられるが、GM にはこのような作用はみられなかったと報告している。また GM についてはヒト多形核好中球の chemotactic レスポンスを若干阻害するという報告もみられる<sup>26)</sup>。これらの報告は上に述べた私どもの成績を理解するための一つの手掛りを提供するものかもしれない。

さらに、CFS の *in vivo* における抗緑膿菌作用についてより詳細に理解するために、上記感染治療実験時の腹腔および血液内における感染菌の消長を GM のそれと比較検討した。その結果、本実験系においても先の知見から予想されるように極めて対照的な成績が得られた。すなわち、CFS の場合  $0.5 \sim 1 \mu\text{g/ml}$  以上の薬剤存在時における菌数の減少の程度には、投与量を上げてあまり著明な差がみられなかったのに対し、GM の場合には投与量を上げるとそれに応じて菌数の減少の程度もより大きくなることが明らかになった。また両剤いずれの場合にも、マウス腹腔内においては、*in vitro* の場合とは異なり、明らかに薬剤が消失したと思われる時間後にも感染菌の再増殖が抑制されていた。そしてこの再増殖抑制時間もまた CFS の場合には感染菌が有効濃度以上に曝された時間と、GM の場合には曝された吸収総量と相関しているように思われた。これはマウス腹腔内における菌数の減少の程度と関係しているのかもしれない

い。これらの結果は、JAWETZ<sup>27)</sup>、SCHMIDTら<sup>28)29)</sup>および EAGLE ら<sup>3)</sup>をはじめ多くの人達によって指摘されているように、*in vivo*における抗菌剤の作用の発現には薬剤の直接作用のみでなく宿主側の何らかの要因もまた重要な役割を演じていることを示しているものであり、CFS あるいは GM を臨床使用する際の投与間隔に関して一つの重要な示唆を与えるものと思われる。

以上述べてきたように、CFS の緑膿菌に対する抗菌作用は専ら有効濃度以上が維持されている時間に依存していることが明らかである。勿論、本実験において用いたマウスの腹腔内感染系なるものが実際の臨床病像とはあまりにもかけ離れたものであるということは、すでに多くの人達によって指摘されているところであり、ここで得られた成績がそのまま臨床の場に当てはまるとは思われない。しかし、本質的には CFS の抗菌作用の特徴を充分考慮した投与方法がとられるならば、緑膿菌感染症に対して GM と同等あるいはそれよりも若干良好な効果を期待出来る可能性を有していることを示していると思われる。

## 結 論

緑膿菌感染症を対象に開発された新合成セファロsporin Cefsulodin (SCE-129, CFS) の *in vitro* および *in vivo* (マウス腹腔内)における抗緑膿菌作用について、Gentamicin (GM) のそれと比較検討し、次のような成績を得た。

1) *P. aeruginosa* E-2 に対する *in vitro* における最小有効濃度は両剤はほぼ等しく 0.78~1.56  $\mu\text{g/ml}$  であり、いずれも 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以上では殺菌的に作用した。しかし、その作用の発現様式において好対照を示した。すなわち、CFS の場合には 1~1.5 時間頃まではいわゆる静菌的作用が認められるにすぎず 2 時間目あたりからはじめて著明な殺菌作用がみられた。また薬剤濃度を 100  $\mu\text{g/ml}$  まで上げて殺菌作用の発現時間、殺菌率ともほとんど変らなかった。一方 GM の場合には薬剤濃度を上げるとそれに応じてより速やかなかつより強い殺菌効果が認められた。また両剤いずれの場合にも作用薬剤を除去すると 1 時間以内に正常菌とはほぼ同じ速度で再分裂し、増殖を開始した。

2) CFS の緑膿菌腹腔内感染マウスに対する治療効果は、s.c. あるいは i.p. いずれにおいても投与回数をやすと注射当りの ED<sub>50</sub> 値は勿論のこと total ED<sub>50</sub> 値も著しく減少した。一方、GM の場合には注射当りの ED<sub>50</sub> 値は小さくなるものの total ED<sub>50</sub> 値はほとんど同じであった。そのため、CFS は 1 回投与においては GM よりやや大きい ED<sub>50</sub> 値を示すにもかかわらず、4 回あ

るいは 6 回頻回投与時には注射当りの ED<sub>50</sub> 値のみならず total ED<sub>50</sub> 値も GM より明らかに小さい値を示した。

3) このときの腹液中薬剤濃度の推移から、CFS の治療効果を左右している大きな要因は有効濃度の総維持時間であり、GM のそれは吸収総量であると推測された。またマウス腹腔内における CFS の最小有効濃度は *in vitro* のそれとほぼ等しく 0.5~1  $\mu\text{g/ml}$  であるのに対して GM のそれは 5  $\mu\text{g/ml}$  前後であろうと推定された。

4) マウス腹腔内においても、CFS の場合には有効濃度以上の高濃度を与えても殺菌率はほとんど変らなかったが、GM の場合には投与量上げるとそれに応じて殺菌率も大きくなった。また両剤いずれの場合にもマウス腹腔内においては薬剤濃度の推移から予想されるよりも長い増殖抑制効果が認められた。そして薬剤消失後感染菌の再増殖が起こりはじめるまでのいわゆる再増殖抑制時間においても、CFS の場合には感染菌が有効濃度以上に曝された時間と GM の場合には曝された吸収総量と関係しているように思われた。

## 文 献

- 1) 真下啓明：抗生剤大量投与の適応と限界。ファルマシア 10：271~273, 1974
- 2) 上田 泰他：特集・抗生剤大量療法 of 適応と限界。最新医学 29：815~909, 1974
- 3) GREENWOOD, D. & F. O'GRADY: Is your dosage really necessary? Antibiotic dosage in urinary infection. Brit. Med. J. No. 2: 665~667, 1977
- 4) 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
- 5) EAGLE, H.; R. FLEISCHMAN & A. D. MUSSELMAN: The serum concentration of penicillin G in mice, rabbits, and men after its intramuscular injection in aqueous solution. J. Bacteriol. 57: 119~126, 1949
- 6) EAGLE, H. & A. D. MUSSELMAN: The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. J. Bacteriol. 58: 475~490, 1949
- 7) EAGLE, H.; R. FLEISCHMAN & A. D. MUSSELMAN: The effective concentrations of penicillin *in vitro* and *in vivo* for *Streptococci*, *Pneumococci*, and *Treponema pallidum*. J. Bacteriol. 59: 625~643, 1950
- 8) EAGLE, H.; R. FLEISCHMAN & A. D. MUSSELMAN: Effect of schedule of administration on

- the therapeutic efficacy of penicillin. *Am. J. Med.* 9 : 280~299, 1950
- 9) EAGLE, H. ; R. FLEISCHMAN & 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
  - 10) 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
  - 11) 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* 26 : 337~344, 1978
  - 12) 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
  - 13) 三和秀明, 中沢昭三 : 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析。3. 大腸菌に対する Cephalothin の効果。 *Chemotherapy* 25 : 616~617, 1977
  - 14) 渡辺泰雄, 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。4. 緑膿菌に対する T-1220 の効果。 *Chemotherapy* 25 : 747~754, 1977
  - 15) 皆川治重, 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。5. 緑膿菌に対する KW-1062 の効果。 *Chemotherapy* 25 : 1839~1843, 1977
  - 16) 尾花芳樹, 西野武志, 故 中沢昭三 : 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析。6. 緑膿菌に対する Ticarcillin の効果。 *Chemotherapy* 25 : 2422~2427, 1977
  - 17) 戸辺建介, 西野武志, 故 中沢昭三 : 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析。7. 大腸菌に対する Cefoxitin の効果。 *Chemotherapy* 26(S-1) : 100~119, 1978
  - 18) 尾花芳樹, 西野武志, 故 中沢昭三 : 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析。8. 緑膿菌に対する AB-206 の効果。 *Chemotherapy* 26 Suppl.-4 : 41~47, 1978
  - 19) 宇津井幸男, 西野武志, 故 中沢昭三 : 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析。9. 大腸菌ならびに肺炎桿菌に対する CS-1170 の効果。 *Chemotherapy* 27 Suppl.-4 : 57~66, 1978
  - 20) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96 : 99~113, 1949
  - 21) 西野武志, 岩日朋幸, 尾花芳樹, 吉本 正, 塩見あい : 新合成セファロsporin Cefsulodin (SCE-129) に関する細菌学的評価。 *Chemotherapy* 27 Suppl.-2 : 42~57, 1979
  - 22) COMBER, K. R. ; C. D. OSBORNE & R. SUTHERLAND : Comparative effects of amoxycillin and ampicillin in the treatment of experimental mouse infections. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 7 : 179~185, 1975
  - 23) COMBER, K. R. ; R. J. BOON & R. SUTHERLAND : Comparative effects of amoxycillin and ampicillin on the morphology of *Escherichia coli in vivo* and correlation with activity. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 12 : 736~744, 1977
  - 24) 峯 靖広, 野々山重雄, 西田 実 : 多形核好中球による *Pseudomonas aeruginosa* の貪食殺菌効果と抗生物質の作用。 *Chemotherapy* 22 : 247~251, 1974
  - 25) NISHIDA, M. ; Y. MINE, S. NONOYAMA & Y. YOKOTA : Effect of antibiotics on the phagocytosis and killing of *Pseudomonas aeruginosa* by rabbit polymorphonuclear leukocytes. *Chemotherapy* 22 : 203~210, 1976
  - 26) GOODHART, G. L. : Effect of aminoglycosides on the chemotactic response of human polymorphonuclear leukocytes. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 12 : 540~542, 1977
  - 27) JAWETZ, E. : Dynamics of the action of penicillin in experimental animals. Observations on mice. *Arch. Int. Med.* 77 : 1, 1946
  - 28) SCHMIDT, L. H. ; A. WALLEY & R. D. LARSON : The influence of the dosage regimen on the therapeutic activity of penicillin G. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96 : 258~268, 1949
  - 29) SCHMIDT, L. H. & A. WALLEY : The influence of the dosage regimen on the therapeutic effectiveness of penicillin G in experimental lobar pneumonia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 103 : 479~488, 1951

EXPERIMENTAL STUDIES ON ADMINISTRATION  
METHOD OF CHEMOTHERAPEUTIC AGENT  
X. EFFECT OF CEFSULODIN (SCE-129) AGAINST  
*PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

TOMOYUKI IWAHI and TAKESHI NISHINO

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

*In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of Cefsulodin (SCE-129, CFS), a new semisynthetic cephalosporin developed as a drug for use in *Pseudomonas aeruginosa* infections, were studied in comparison with Gentamicin (GM) and the following results were obtained.

1. *In vitro* minimal effective concentrations of both the drugs against *Pseudomonas aeruginosa* E-2 were about the same (0.78~1.56  $\mu\text{g/ml}$ ). The mode of the onset of the bactericidal action of CFS, however, was much different from that of GM. CFS was only bacteriostatic for an hour to one and half hours but showed a remarkable bactericidal action thereafter. Elevation of the CFS concentrations up to as high as 100  $\mu\text{g/ml}$  resulted in almost no change in time of the onset of the bactericidal action and potency of the antibiotic. While, GM showed a faster and more potent bactericidal activity as the concentration was elevated. The organism exposed to CFS and GM began to proliferate an hour after drug elimination in a manner similar to that of the normal organism.

2. In *in vivo* experiments, the protective effect of CFS in mice intraperitoneally infected with *Pseudomonas aeruginosa* improved as the frequency of injections increased. Total  $\text{ED}_{50}$  as well as  $\text{ED}_{50}$  per injection of CFS were markedly smaller with repeated doses. In the case of GM, however,  $\text{ED}_{50}$  per injection was smaller with repeated doses, but total  $\text{ED}_{50}$  remained almost unchanged. Thus,  $\text{ED}_{50}$  of CFS was slightly inferior to that of GM in single dosing, but in multiple dosing the total  $\text{ED}_{50}$  as well as  $\text{ED}_{50}$  per injection of CFS were superior to those of GM.

3. From the time-course change of the drug concentration in the peritoneal fluid it was presumed that an important factor which gave influence to the protective effect was the total duration of the time for which the effective concentration was maintained in the case of CFS, and it was the total amount absorbed in the case of GM. It was also presumed that the minimal effective concentration of CFS by the peritoneal fluid of the mouse was 0.5~1.0  $\mu\text{g/ml}$ , which were almost the same as those observed in the *in vitro* experiment, whereas that of GM was about 5  $\mu\text{g/ml}$ .

4. The bactericidal potency of CFS received little influence even when its concentration in the peritoneal fluid of the mouse was much higher than the minimal effective level, but that of GM became higher as the dose was increased. Both the drugs showed a growth-inhibitory effect for a period longer than expected from their time-course change of the concentration in the peritoneal fluid. The regrowth inhibition period of CFS, which is the time when the infectious organism exposed to a drug begins to proliferate again after the drug is eliminated, was thought to be related to the time for which the organism was exposed to the effective concentrations, whereas that of GM to the total amount of the drug absorbed by the organism.