

第 27 回 日本化学療法学会総会

会 期 昭和 54 年 6 月 7, 8, 9 日

会 場 福岡市民会館

会 長 百 瀬 俊 郎 (九大教授)

特 別 講 演 I

PREDICTION AND SIGNIFICANCE
OF SYNERGY BETWEEN
ANTIBIOTICS USED
FOR TREATMENT OF GRAM
NEGATIVE SEPSIS

J. KLASTERSKY¹⁾

Service de Médecine et Laboratoire
d'Investigation, Clinique H. Tagnon, Institut
Jule Bordet, Centre des Tumeurs de
l'Université Libre de Bruxelles,
Bruxelles, Belgique²⁾

It may be asked whether the measurement of the bactericidal activity of the serum in patients receiving combinations of antibiotics would not represent the most effective and simple test for predicting synergism. The test is usually carried out as a tube-dilution technique, using serum or plasma obtained from a patient who has received an antibiotic or a combination of drugs at a specified time before the venipuncture. Dilutions are carried out with a pool of plasma or serum. The test microorganisms are added to the tube containing the dilutions of plasma or serum at a given concentration (usually 10^5 viable organisms per ml). The bacteriostatic titers are read after 18 hours of incubation. Clear tubes are plated on solid nutrient media in order to determine bactericidal titers.

In spite of technical limitations, the test has proven itself as a valuable tool to monitor therapy with combinations of drugs in patients with clinical infection. We have studied the peak and

activity of the serum of 317 patients with proven Gram negative infections, using the patient's microorganism and the serum containing antibiotics. When the peak titer of bactericidal activity in serum was $\geq 1/8$ the infection was cured in over 80% of cases. When the bactericidal activity was lower than $1/8$, the occurrence of a clinical favorable outcome was less frequent.

In another study, we were able to correlate the occurrence of synergism *in vitro* the level of the antibacterial activity of the serum of patients who received combinations of antibiotics as a therapy for Gram negative sepsis caused by the bacteria which were investigated for synergism. In 52 patients, the combinations used were synergistic on the patient's microorganisms: the mean bactericidal activity of serum was $1/8$ (trough concentration) and $1/16$ (peak concentration). In 64 patients in whom the combination therapy was not synergistic *in vitro*, the mean bactericidal activity of serum was $1/2$ (trough) and $1/4$ (peak). It appears from these data that a high bactericidal activity of the serum in a patient receiving a combination of antibiotics may suggest *in vitro* synergism between the antibiotics which are being used.

The next important question is whether the use of synergistic combinations would be associated with a better clinical result than that of non-synergistic associations since the former results in a higher antibacterial activity of sera of the treated patients. As already mentioned, it has been shown in our hospital that the bactericidal dilutions of sera in patients treated with synergistic combinations was usually adequate, *i.e.* these sera were active at least at a 1:8 dilution, while sera of most patients who received non-synergistic combinations were not active at these dilutions.

Even more important is the observation that the synergistic combinations were more effective clinically than non-synergistic combinations. Syner-

1) Chief of Medicine

2) 1, rue Héger-Bordet, Bruxelles 1000, Belgique through levels of bacteriostatic and bactericidal

gistic combinations were associated with a favourable outcome in 80% of the patients while non-synergistic combinations were effective in only 52%. The effect of antibiotic synergism on the outcome of Gram negative sepsis has also been studied by ANDERSON, YOUNG and HEWITT. In patients with "non-fatal" or "ultimately fatal" underlying diseases, treatment failures was seen in 25% of those treated with two drugs whether or not the combinations were synergistic. However, in patients with "rapidly fatal" underlying diseases and who presented a Gram negative septicemia 52% (28/54) responded when treated with non-synergistic combinations whereas 77% (42/54) treated with synergistic combinations responded. This difference was statistically significant ($p < 0.005$). When the outcome of sepsis in neutropenic patients for all prognosis categories was analyzed, those treated with synergistic combinations responded in 79% of cases (23/29), whilst those treated with non-synergistic combinations responded in 33% (8/24) ($p < 0.001$). Recently, we studied, in a prospective fashion, the clinical effectiveness of carbenicillin plus amikacin *versus* penicillin plus amikacin in Gram negative infections in non-neutropenic cancer patients. It has been found that both regimens were similarly effective but that synergistic combinations (whether penicillin plus amikacin or carbenicillin plus amikacin) were more often associated with a favourable clinical outcome (75%) than non-synergistic combinations (41%).

The data obtained in these studies indicate that combination therapy with two antibiotics having synergistic activity *in vitro* might be associated with a more favourable outcome than therapy with single drugs or with non-synergistic combinations. This observation is not really surprising when the considerable potentiation of one drug by the other which occurs *in vitro* in synergistic combinations is taken into account. The decrease of the MIC to both antibiotics used in synergistic combinations makes it possible to reach in serum, and presumably in the tissues, of the infected host higher levels of antibacterial activity.

The determination of the bactericidal activity of the serum is not only an useful clinical tool for

monitoring therapy; it can be used also as an investigational mean to compare the respective efficacy of antibiotics used as single drugs or in combination. The test is probably more meaningful clinically than the simple *in vitro* microbiological studies or the determination of blood levels. It integrates some of the pharmacologic characteristics of the drugs studied as well as the sensitivity of pathogens to it. It has the advantage of providing assessment of the antimicrobial activity of serum during combined therapy. The test—which is rather insensitive since it is based on two-fold dilutions—will not reflect minor differences in blood levels of antibiotics or in pathogen sensitivity. Although these small differences often generate much speculation and controversy in the medical literature as far as respective merits of antibiotics are concerned, it is likely that they are relatively unimportant clinically.

Since the test is easy to perform in human volunteers, valuable information regarding the efficacy of a new antibiotic or a combination can be obtained rapidly and at a much less expense than that generated by a clinical trial. It would appear both useful and ethical to study by this technique and in a comparative fashion with well established modes of treatment, any new antibiotic or combination regimen to be used clinically before embarking into clinical trials. As far as combinations of drugs are concerned, synergy or antagonism which might be important clinically, might be detected much easier than through *in vitro* tests which clinical significance remains uncertain to some degree or animal experiments which are expensive and time consuming.

特別講演 II

THE LABORATORY
DEMONSTRATION OF
ANTIBIOTIC INTERACTIONS :
SYNERGY STUDIES
WITH TRIMETHOPRIM
AND AMINOGLYCOSIDES

STEPHEN H. ZINNER, M. D.

Head, Division of Infectious Diseases
Department of Medicine
Roger Williams General Hospital.
Associate Professor of Medicine
Brown University
Providence, Rhode Island, U. S. A.

When antibiotics are used in combination, their combined effects may be indifferent or additive, synergistic or antagonistic. The *in vitro* demonstration of antibiotic synergy may provide new uses for old or existing antibiotics, thus maximizing the activity of available drugs.

The use of trimethoprim in the United States is primarily limited to combination therapy with sulfamethoxazole with which it shows true synergy against many organisms. With the possibility that trimethoprim may become available as a single agent and therefore might be utilized in combination with other antibiotics, the aim of this study was designed to investigate the potential for synergy or antagonism when trimethoprim is combined with aminoglycoside antibiotics. In the first series of experiments, 15~20 strains each of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, and *Pseudomonas aeruginosa*, all isolated from clinical material, were studied against trimethoprim and amikacin alone and in combination.

Several laboratory methods are available to determine the combined activity of antibiotics, these include the use of paper strips or paper discs that have been impregnated with a given concentration of each antibiotic. The inhibitory activity of the two drugs alone and in combination can be estimated visually with proper placement of the discs or strips

after overnight incubation. So-called checkerboard dilution methods, either in agar or broth dilution, can be used to quantitate the inhibitory activity of the agents alone and in combination. Finally, timed bacterial killing experiments can be performed at varying antibiotic concentrations to examine bactericidal activities of the single or combined drugs.

In these studies a microtiter modification of the broth dilution checkerboard technique was used. The minimal inhibitory concentrations are determined by inspection after overnight growth, and minimal bactericidal concentrations are determined by replicate subculture onto antibiotic free solid media. In order to reduce the concentration of thymidine in the media (thymidine is known to inhibit the *in vitro* activity of trimethoprim), 5% lysed horse blood is used in MUELLER HINTON broth.

Isobolograms constructed from the checkerboard dilutions show inward bowing characteristic of a synergistic effect of trimethoprim and amikacin against *Serratia marcescens*, *E. coli* and *Klebsiella* but not against *Pseudomonas aeruginosa*. Using a more stringent definition for synergy (reduction of the MIC or MBC in combination to at least 4-fold lower than that of the drug alone), 40% of the *Klebsiella* and *E. coli* tested showed true synergy, and 80% of the strains of *Serratia marcescens* showed synergy with trimethoprim and amikacin.

Trimethoprim was studied with either gentamicin, tobramycin or amikacin against 9 strains of *S. marcescens* specially selected for resistance to one or more of the aminoglycosides and against 19 strains of *S. marcescens* randomly selected from the hospital microbiology laboratory. A synergistic effect for the combination was found for 75~95% of the random strains and 22~30% the resistant strains. There was no significant difference according to which aminoglycoside was used.

In a similar series of experiments with 16 strains of *Staphylococcus aureus*, synergy was not found for any organism with trimethoprim and amikacin or gentamicin, but antagonism was found for approximately 80% of these strains.

The synergistic potential of trimethoprim and

aminoglycoside for the Gram-negative rods studied was confirmed with *in vitro* killing curves even against a high gentamicin resistant strain of *Serratia marcescens*. Also, the antagonistic effect of trimethoprim on the *in vitro* killing of *Staph. aureus* by aminoglycosides was confirmed with killing curve studies.

Thus, an exploration of combined activity of trimethoprim with aminoglycosides *in vitro* has led to the potential for enhancing or maximizing the activity of these antibiotics against Gram-negative rods. In addition, it has been shown that the same combinations appear to be antagonistic for *Staphylococcus aureus*: The mechanisms for these differences are currently being explored, and it is suggested that *in vivo* investigations of these antibiotics in combination be performed to fully explore their potential for synergy and antagonism and perhaps expand the potential for use in human infections due to some Gram-negative bacilli.

教育講演

細菌表層構造と化学療法剤

小池 聖 淳

佐賀医大副学長

細菌表層構造は細胞壁と原形質膜とから成り、外界との接点として、細菌細胞の生命維持に極めて重要な機能を果している。したがって、化学療法剤、抗生物質の中には、この表層構造にターゲットを設定しているものが多く、これら薬剤の作用機序を解明することは、逆に表層物質の構造と機能を明らかにすることにもなる。以下、今日までの研究の進歩をわれわれの研究成果を中心におきながら説明し、問題点を指摘したい。

1. 細胞壁の構造：細胞壁には全細菌に共通するペプチドグリカン層が基本的な構成成分として存在する。さらに、グラム陽性菌ではそれに結合するタイコ酸、原形質膜より突出し細胞壁中を貫通するリポタイコ酸から成り、グラム陰性菌ではペプチドグリカン層の外側には外膜が存在する。これは2重膜構造をなし、外膜タンパク、リポタンパク、リポ多糖、磷脂質から成る。これらの諸成分について詳述する。

2. ペプチドグリカン：ペプチドグリカンはNアセチルムラミン酸Nとアセチルグルコサミンの結合したグリカン鎖と、Nアセチルムラミン酸に結合したL-アラニン、D-グルタミン酸、ジアミノ酸、D-アラニンとから

なるペプチド鎖の架橋結合からなる網状構造である。この生合成系は殆んど解明されていて、第1段階は原形質内でウリジンヌクレオチドを担体としおこなわれ、NアセチルグルコサミンとNアカチルムラミル-5 ペプチドが合成される。その間に有効な化学療法剤としては、phosphonomycin, gentiana violet, cycloserine である。第2段階は膜中でおこなわれ、それぞれの前駆体はヌクレオチドを遊離して、膜中のC₅₅ イソプレノールに渡され、デオツカリド-5 ペプチド単位となる。この間に多少の修飾を受ける場合もある。これを阻害するものとして、tunicamycin, vancomycin, ristocetin がある。第3段階は膜表面から既存のペプチドグリカンへと組み込まれる段階である。膜表面でデオツカリド単位はそれぞれのC₅₅ イソプレノール-P・Pを離しながら、70~80単位が1個のC₅₅ イソプレノール上で重合する。この状態を nascent ペプチドグリカンという。この重合を vancomycin, ristocetin は阻害する。C₅₅ イソプレノール P・P は Pi を離して再び膜中での前駆体に役立つが、これを bacitracin が阻害する。そして最後にこの nascent ペプチドグリカンが C₅₅ イソプレノール P・P を離れ、transpeptidase により5番目のD.アラニンを切り離し、4番目のD.アラニンを既存のペプチドグリカンの3番目のジアミノ酸とペプチド結合させることにより細胞壁の中に組み込まれる。しかし既存のペプチドグリカンも組み込みのための場を作る必要があり、自己融解酵素により3番目のジアミノ酸とD.アラニンの結合を切り、ジアミノ酸を free にしておかなくてはならない。この最終段階を阻害するのがβ-lactam 剤である。現在ペニシリンは大腸菌の原形質膜タンパクの7種類のものの特異的に結合することが知られているが(ペニシリン結合タンパク, PBP), そのうち1a, 1b, 2, 3が細胞壁合成に重要な機能をもつことが推定されている。すなわち、1a, 1b は溶菌作用、1b は transpeptidase 活性、2 は桿菌形態形成、3 は隔壁形成の機能を持つことが、1a, 1b に対しては cephaloridine, 2 に対しては mecillinam, 3 に対しては cephalixin, piperacillin を用いての特異タンパクの阻害実験で明らかにされている。しかし酵素的な解明はこれからの問題である。

3. 外膜：外膜タンパクは結晶排列し ペプチドグリカンと結合しているマトリックスタンパク 1a, 1b があり、これは分子量 550 以下の低分子物質の受動透過の役割をもつ、このタンパクの欠損株はテトラサイクリン耐性菌である。リポタンパクはペプチドグリカンのDAPと共有結合し、外膜とペプチドグリカンの連繫をおこなっている。bicyclomycin はこの結合を阻害する

とされている。リポ多糖はO抗原性をもつが、この基盤の lipid A は polymyxin と結合し変性され、細胞壁の全体の構成が破壊される。

4. DNA 阻害剤 (nitrofurantoin, nalidixic acid derivatives) により菌は分裂阻害を起し糸状菌形成を起すが、その機序についてはまだ十分に解明されていない。

以上、細菌表層の構造と機能に対する化学療法剤、抗生物質の作用点をあげたが、なお多くの未解決の問題を残している。今後の研究の進展を待ちたい。

会長講演

抗生物質と腎障害

百瀬 俊郎

九州大学医学部泌尿器科学教室

(協同研究者：平田耕造・上田豊史・天野拓哉

伊藤秀明・稗田 定・倉本 博・加藤敬太郎

石川豊子・平田寿恵・厚地伸子)

われわれは 10 数年来、抗生物質の腎障害について、いくつかの見地から検討を続けて来た。今回、アミノ配糖体系、およびセファロsporin系抗生物質の腎障害についてわれわれの得た 2, 3 の知見について報告する。

I アミノ配糖体系抗生物質とアルギン酸ソーダ (以下アルギンと略す) 併用による腎障害

われわれは動物実験にて以下のような結論を得た。(1) アミノ配糖体系抗生物質とアルギン同時投与により腎障害が惹起される。(2) 両薬剤は試験管内で酸性条件下で結合し、強固な沈澱を形成する。(3) この反応は尿管の酸性尿中で起こり、尿管閉塞を来し、この機械的閉塞と、それに続発する抗生物質の細胞内とり込みの増加が、尿管上皮細胞の変性、壊死を起すことといえる。

II アミノ配糖体系抗生物質と低分子デキストラン併用による腎障害

形態学的、細胞化学的検討により、以下のような結論を得た。(1) アミノ配糖体系抗生物質と低分子デキストラン同時投与により、腎障害が起こる。(2) この際、尿管腔に沈澱形成はなく、近位尿管上皮細胞内に多数の空胞形成が認められる。(3) この空胞は薬剤をとり込んだ phagolysosome であり、lysosome 膜の透過性は亢進している。(4) この lysosome の機能障害と崩壊により、内部の加水分解酵素が細胞内に放出され、細胞の変性、壊死を起す可能性があり、いわゆる自己融解に似た過程をとるものと考えている。

III アミノ配糖体系抗生物質による腎障害

アミノ配糖体系抗生物質による腎障害は薬剤による尿

細管上皮細胞への直接的障害であり、後述するセファロリジンと同様、単独投与によっても惹起される。細菌細胞ではアミノ配糖体系抗生物質によって ribosome での蛋白合成が抑制され、これが抗菌力の機序として証明されているが、動物細胞では ribosome の subunit の相違により、アミノ配糖体系抗生物質は ribosome の機能を抑制しない。いわゆる選択毒性があるとされて来た。これははたしてどうかを追求するためにアミノ配糖体系抗生物質の腎毒性について種々の検討を加え、以下の結果を得た。(1) アミノ配糖体系抗生物質は近位尿管曲部の上皮細胞に、lysosome を中心とした形態学的変化を示す。(2) この際、薬剤は腎皮質に蓄積され、lysosome にも集まるが、それとは別に膜蛋白、とくに ribosome とも強固に結合する。(3) この結合は ribosome の蛋白合成を阻害する可能性があり、この障害が直接的、または lysosome の崩壊を介して、尿管上皮細胞の変性、壊死を起す過程が考えられる。これらの結果は従来のアミノ配糖体系抗生物質の腎障害についての通念に反するものと考え、今後充分な御検討をいただきたい。

IV セファロsporin系抗生物質による腎障害

近年セファロsporin系抗生物質の開発は著しい進歩をとげているが、その反面、腎障害についての報告も多く見られるようになってきた。これらセファロsporin系抗生物質の腎障害に関し、基礎的実験を行ない、以下の結論を得た。(1) セファロsporin系抗生物質中、セファロリジンは強い腎毒性を示した。(2) この障害は形態学的には近位尿管の上皮細胞にみられ、滑面小胞体および刷子緑の変化が著明であった。(3) 酵素組織化学的にも小胞体は特有な変化を示し、これが細胞の変性、壊死にあずかる可能性を示唆しており、この問題は今後の極めて興味ある課題と考えられる。

以上、われわれは抗生物質とくにアミノ配糖体系およびセファロsporin系抗生物質の腎障害に関し、形態学的、細胞化学的方法によりその発生病理に関し種々の検討を加え、ほぼ満足すべき結果を得たが、最後に全体を総括すると、(1) アミノ配糖体系およびセファロsporin系抗生物質は、近位尿管曲部の上皮細胞を直接障害する。(2) この障害は、lysosome、小胞体膜、さらに ribosome などの機能障害を介して、細胞の機能低下、壊死にいたるものであり、薬剤のこれら小器管への到達、集積を必要とするようである。従ってこの過程に対する研究は、腎障害の予防、抗生物質のより安全な使用につながる。(3) また他薬剤との併用は、種々の機序を経て抗生物質の腎毒性を増強する場合があり、抗生物質の腎内動態、細胞内小器管への作用について、従来の通念を超えた、より高次の詳細な研究が望まれる。

パネルディスカッション

癌の免疫化学療法—基礎と臨床—

司会 井 口 潔 (九大2外科)
服 部 孝 雄 (広大原医研外科)

司会者のまとめ

基礎の面から、まず野本教授が各種免疫賦活剤の作用機序のちがいを、わかりやすく説明し、とくにマクロファージの動きを、リステリアに対する感染初期の抵抗性を指標として追求した成績にふれた。いままではがんの免疫というと、すぐにT細胞というふうに考えられていたが、実はT細胞だけでなく、B細胞あるいはマクロファージとか、近年はNK細胞など、多彩な細胞群の関与が考えられ、それだけでなく液性因子の関与も重視されるようになって来た。これらの多くの因子が促進的にまたは抑制的に、複雑にからみあってがんの免疫を構成していると思われるが、今回は時間の関係から、とくにマクロファージの問題と、抑制因子の問題が話題にとりあげられた。マクロファージ機能を臨床的に適確に反映するパラメーターの必要性が痛感されるが、神代博士は super O_2 の追求を、また峠博士は血清リゾチーム活性の追求をそれぞれ検討しており、これらの成績とマクロファージの関係を強調した。近年いくつかの免疫賦活剤の併用が、臨床でも行われつつあることに関して、一部の実験的な検討では却って抑制的に作用するような報告もみられ、その是非が論ぜられたが、野本教授は作用機序の異なる免疫賦活剤の併用は理論的にも極めて有用であろうと述べ、むしろその投与の dose とか timing に問題があることを強調した。

免疫学的パラメーターについて、峠博士はリンパ球の幼若化反応について、また螺良教授は皮膚反応について、それぞれ報告した。ここでは、とくに非特異的なパラメーターと、特異的なパラメーターの関連が論ぜられたが、螺良教授は、特異的なパラメーターと非特異的なその間には、必ずしも相関性がみられないのが実情と思えるが、それはそれで差支えなく、それぞれに意味があるのだというふうに考えるべきであろうと強調した。その意味では現状では、まだ多くのパラメーターについて検討を重ね、経験を積んでいく時期であり、特異的なものと非特異的なものとの関連性についての結論は、現状では差しひかえるべきであろう。

古江教授も豊富なデータから、リンパ球の幼若化を中心にパラメーターを整理され、とくに液性因子の抑制能についての考えをまとめた。とくにIAPについて、

その本態あるいはそれが腫瘍によって産生されるのか、宿主側の反応性の産物なのか、というあたりについての討論がもたれた。

岸田教授はインターフェロン(IF)に関する現状をわかりやすく説明し、IFと制がん剤あるいは免疫賦活剤との併用についての実験成績を呈示し、その併用効果の可能性を示された。今後いくつかの施設の共同研究の形で、IFががん治療への利用を早急に検討すべきことを提案した。

以上、基礎の面について、時間の関係で十分な討論は出来なかったが、いくつかの問題点と今後急速に解明すべきポイントは、明らかにされたといえよう。

総 論

1. 各種免疫賦活剤の作用機序

野本 亀久雄
九大医癌研免疫

1. 特異的免疫療法と非特異的免疫療法

細菌やウイルスの予防接種に相当する抗原特異的な方法は、腫瘍特異抗原を利用することが困難なため、臨床的に応用されるには至っていない。そこで、宿主側のひろい意味での免疫能力、すなわち食細胞系やリンパ系を含む生体防御の能力をたかめる非特異的免疫療法が用いられる。担癌によって低下した生体防御の能力を正常に回復させあるいは正常以上に活性化させることで、癌に対する抵抗性を上昇させると同時に感染に対する抵抗性を含む全体的な生体防御の機能を上昇させようとするものである。

2. 局所的な効果と全身的な効果

非特異的免疫療法を目的として多くの免疫賦活剤が開発されているが、投与方法によって局所的な効果を期待する場合と全身的な効果を期待する場合にわけられる。細菌由来の製剤の多くのものは注射部位に好中球、マクロファージ、Tリンパ球などを集合させ、局所での異物細胞排除を促進する働きをもっている。肺癌患者の癌性肋膜炎において肋膜腔内に製剤を注入して得られる効果はその典型的なものである。これらの製剤には、もちろん全身的な効果もみとめられている。一方、PSKには局所的な効果はほとんどみられず、全身的な効果が主体となる。

3. 抗腫瘍抵抗性と全体的な生体防御能力

腫瘍細胞のもつ腫瘍特異抗原または食細胞の識別の対象となる膜構造がキラーT細胞または活性化マクロファージの認識の対象となることが期待されるので、非特異的免疫療法も結果的には腫瘍細胞を特異的に排除するよ

うように働く可能性が考えられる。しかし、このような立場からの免疫療法は、腫瘍細胞に特異的なマーカーのない場合には有効には働かないものと考えられる。一方、担癌個体ではマクロファージ・Tリンパ球の機能が低下し、制癌療法によってさらに低下させられるので、これらの能力を回復させることも非特異的免疫療法の目的の1つとなる。この場合には、腫瘍に対する抵抗性だけでなく感染抵抗性の回復も期待することになる。

4. 制癌剤との併用に関する考え方

非特異的免疫療法だけで抗腫瘍効果あるいは患者の延命効果を期待して治療を行うことは少なく、多くの場合制癌剤あるいは放射線と併用される。この場合にも、腫瘍細胞排除の主な担い手を免疫療法におくか、化学療法におくかで治療の方針が異ってくる。免疫療法に腫瘍細胞排除の主体を期待する場合、担癌個体の免疫能力、マクロファージ能力が非常に低下している症例は適切ではない。また、宿主の免疫能力の低下するほどの強力な化学療法は望ましくないことになる。一方、腫瘍細胞の排除は化学療法に期待する場合、免疫あるいはマクロファージの能力を多少犠牲にしても強力な免疫療法が必要となる。免疫療法には宿主の生体防御能力の低下を出来るかぎり防止し、化学療法の遂行を助け、その効果の発現を補助する役割を期待する。

5. 各種免疫賦活性のアジュバント的作用

BCG 生菌、OK-432、嫌気性コリネ、PSK をとりあげ、正常マウスでの効果を比較してみよう。BCG 生菌を投与すると、11 日目頃からマクロファージの抗菌活性、抗腫瘍活性が上昇し、15 日目にはピークに達する。この時期と一致して、遅延型足蹠反応でとらえられるようなTリンパ球の機能が上昇する。OK-432 でもマクロファージおよびTリンパ球の機能がたかめられるが、活性化に要する期間が数日であるという点が異なっている。嫌気性コリネは数日目から強いマクロファージ活性化をひき起すが、Tリンパ球の活性化はほとんどみられない。PSK には正常マウスのマクロファージやTリンパ球の機能をたかめる効果はほとんどみとめられない。

6. 担癌マウスにおける効果

Sarcoma-180 を ICR の皮下に移植すると、まずマクロファージの抗菌活性が低下し、つづいてTリンパ球の機能が低下する。PSK を投与すると、腫瘍が消滅するとともに免疫能力は回復する。X-5563 と C3H/He の同系移植の系では、PSK の投与によって腫瘍は排除されないが、免疫能力は回復する。PSK の作用の特性は担癌によって低下する機能の回復にあると考えられる。担癌マウスの腹水や血清中にはリンパ球の機能を抑制する因子が認められるが、PSK はこの因子と拮抗的に作用

すると考えられる。リンパ球の一部の集団に免疫抑制因子と PSK が拮抗的に結合することを示唆する成果が得られている。

BCG 生菌や OK-432 で前処置したマウスではマクロファージやTリンパ球の機能がたかまっており、腫瘍移植によっても強い抑制効果があらわれないことが多い。作用発現までに比較的長い潜伏期を要する BCG 生菌では、腫瘍移植と同時にまたは移植後に投与したのでは効果があらわれないことが多い。OK-432 では効果発現までの期間が短いので、このような場合でも効果のあらわれることが多い。

7. 局所へ細胞を集合させる働き

正常マウスの腹腔内に各種免疫賦活剤を投与し、経時的に集合する細胞を観察したところ、BCG 生菌、OK-432、嫌気性コリネでは好中球の浸潤につづいてマクロファージの集合がみとめられる。また集合したマクロファージも数日後には強い抗腫瘍活性を示すようになる。PSK にも細胞を集合させる働きがあるが、細菌由来のものにくらべると弱いものである。

8. 免疫賦活剤選択の基準

腫瘍の起源、増殖の場、stage、患者の年齢、制癌剤の投与方法など他の因子を考慮に入れてどのような免疫療法を選ぶかを決定する必要性にせまられているが、動物実験で得られた基本的作用機序を参考に、臨床データを解析しながら、一步一步つみかさねて行くのが唯一の方法と考えられる。

(追加) 各種免疫賦活剤のマクロファージにおよぼす影響について

神代 竜之介

九州大学第2外科

免疫賦活剤の作用機序については、いろいろの報告がみられるが、マクロファージに対する効果についての報告はあまりみられない。

私達が新しく開発したマクロファージ機能検査法を用い、各種免疫賦活剤のマクロファージに及ぼす影響を検討した。

新しいマクロファージ機能テストは、マクロファージにサイトカラシンEと小麦胚レクチン(WGA)を作用させると $-O_2$ が産生される現象を定量的に測定する方法である。マクロファージの活性化の程度に比例し、 $-O_2$ 産生は増加した。また、担癌患者の末梢血中のモノカイトの $-O_2$ 産生はあきらかな減少が認められた。

そこで、 $-O_2$ 産生能からみたマクロファージ機能に対する各種免疫賦活剤の影響をみるために、C₃Hマウス腹腔内に薬剤を投与し4日目の腹腔細胞からマクロファ

ージを分離し、 $^{-}O_2$ 産生能を調べると、BCG, OK 432, PSK, ペスタチン, レンチナン順にマクロファージの活性化がみられた。また、薬剤をマウス尾静脈内に2回投与し2日後の腹腔内マクロファージの $^{-}O_2$ 産生をみると、BCG, OK 432, PSK では著しい $^{-}O_2$ 産生の亢進がみられた。すなわち、BG, OK 432, PSK では、静脈内投与によって腹腔内マクロファージの活性化が期待できることを意味するものである。

2. 癌免疫化学療法における皮膚反応

螺 良 英 郎

徳島大学医学部第三内科

癌免疫化学療法の臨床効果を評価するには最終的には対照群をおいた比較によって推計学的に有意な生存率の上昇、生存期間の延長をみることに尽きる。しかしその過程において宿主の抗腫瘍細胞性ないし非特異的な細胞性免疫能が強化ないし賦活化されることが証明されなければならない。

癌特異抗原を反映した診断パラメーターについては cytotoxicity test や MLTR 等があるが、臨床の実際にはその方法、手技がすべて解決されていない。一方、免疫化学療法効果を期待する1つの方向に癌宿主の免疫不全状態の防止、回復がある。この効果は宿主の細胞性免疫能の測定にあるが、何をもちいて基準にするかに問題が残っている。

癌宿主全般の免疫能の診断パラメーターの1つとして皮膚反応が注目されている。

癌免疫化学療法に当っての皮膚反応には3つの方法が考えられる。(1) 癌組織抽出抗原液を用いての皮膚反応で、癌特異抗原の反応を目的としたものではあるが、抗原性に問題があり、殆んど行われていない、(2) 遅延型過敏性皮膚反応であってツベルクリン(PPD)反応、DNCB反応の他、SK-SD, mumps, candidin, trichophyton等のいわゆる recall antigenを用いた皮膚反応である。このうち最も広く用いられているものが、PPD反応およびDNCB反応であって、癌の病期、予後とも相関していることは一般に認められ、一応の指標となっている。しかし反面感作に問題があり、またDNCB反応では反応をみるのに時間のかかることと患者の負担が大きい欠点がある。recall antigenにあっては反応陽性率の組合せでもってみているが、一般に自然感作されている率は低い、(3) PHA(赤血球凝集を来たす分画を除き、mitogen活性の部分に精製したものによる)皮膚反応は全く非特異的なものであるが、前感作の要なく、簡単に反復実施可能である点において実用性に富ん

でいる。

PHA皮膚反応についてこれまで行ってきた成績を総括すると、以下のとおりである。

1. 5 μ gの皮内反応、24時間目の紅斑径をもって測定したところ、健常者では25mm以上の恒常的な陽性反応を示し、加齢による影響が少なく、反復実施による反応性に異常がない。副作用は認められていない。

2. 癌患者では病期が、Ⅲ,Ⅳ期と進展して本反応性の低下が認められ、予後との相関をとってみると明らかに予後不良のもので反応性は低下している。

3. *in vitro*のPHAによるリンパ球幼若化反応との相関は明らかである。

4. PPD, DNCB皮膚反応ともある程度の相関性が認められる。

5. 本反応は反復実施しうるところから、急性白血病や悪性リンパ腫、肺癌で経過を追ってみると寛解に入るものでは反応性が高く、逆に寛解導入されないものでは反応性が低下している。

6. 個々の症例での経過の追求では抗癌剤投与による一時的な反応性の低下がみられるが、寛解導入するものでは4~5日目から反応性がreboundして正常域に戻る。このことは癌多剤化学療法における免疫抑制と賦活因子投与のタイミング、効果をみるのに役立つ指標ともいえる。

7. 肺癌症例での *Nocardia* CWS randomized trial にあつて多剤化学療法剤投与後では反応性が一時低下するが、その後N-CWS投与を行った1週後ではPHA皮膚反応性が正常域に戻る効果が認められた。

8. 皮膚反応24時間後の局所皮膚生検では単核細胞浸潤が主であつて、PHAによるSkin reactive factorによる非特異的な反応ではないかと考えている。

PHA皮膚反応は簡易に反復施行しうる利点を生かし、PPD反応とも併用して癌患者の免疫能を推定するのに役立つと共に、免疫賦活剤投与のタイミングとその効果を知るのに実用的なパラメーターといえよう。

しかし皮膚反応全般を通じて言いうことは、本反応性に限界があり、生体のもつ真の抗腫瘍性免疫能をどれだけ反映しうるかについては疑問が多い。

癌免疫化学療法効果をみる診断パラメーターを単一のものに帰することは不可能であつて、個々の免疫応答能をそれぞれの立場から解釈して評価してゆくべきであろうと考える。

(N-CWSの成績については大阪府立羽曳野病院の奥中規矩氏らの協力をえた。ここに深謝します。)

3. 免疫化学療法におけるリンパ球幼若化反応

峠 哲 哉

広島大学原医研外科

がん患者に対する免疫化学療法の導入は、近年注目を浴びているが、その導入に際して、腫瘍に対する効果を追求することは重要であるが、さらにその作用機序が免疫学的なメカニズムに基づいていることを証明する必要がある。これらの観点から、免疫学的パラメーターの確立は、がんの免疫化学療法を進める上での急務と言えよう。免疫学的なパラメーターとしては、がん特異抗原に対応した免疫反応であることが理想ではあるが、臨床的な応用となると、なお多くの問題が残っている。そこで我々の教室においては、あらゆる症例に可能であるという意味でリンパ球幼若化反応を取り上げ、マイクロ法による手技の画一、簡便化を企り、PHA, PWM に対する反応を測定している。今回、がん患者に対する免疫化学療法におけるリンパ球反応および抑制因子の動態について、我々の行なった成績から検討した。まず、がん患者の術前リンパ球 PHA, PWM 反応を検討すると、リンパ球 PHA 反応は胃、食道、大腸がん症例群においては、正常者群に比べて有意な反応値の低下を示した。また、各症例において、自己血清および健康者 AB 血清添加群を作成し、同時に血清中のリンパ球反応抑制因子について検討すると、胃、食道、大腸がん症例群においては、反応値低下に、さらに血清抑制因子の関与を認めた。リンパ球 PWM 反応値は、PHA 反応値と同様のパターンを示し、胃、食道、大腸がん症例群では、正常者群に比べ有意な反応値の低下および血清中の抑制因子の関与を認めた。一方、乳がん症例群の術前のリンパ球反応値は、正常者群に比較しても有意な低下は認めず、予後の悪く考えられる疾患においては、リンパ球反応が著明に低下する傾向を認めた。そこで胃がん症例 320 例について、術前反応値とがん進行度との相関性について検討した。反応値は stage の進行に伴ない低下する傾向を認めたが、stage I, II 群の反応値は正常者群に比較して反応値の低下を認めない。しかし、III, IV 群においては、正常者群に比べて有意な反応値の低下を認めた ($p < 0.01$)。また同時に反応値に対する血清抑制因子の関与を認めた。リンパ球 PWM 反応値も PHA 反応値と同じパターンを示したが、末期におけるリンパ球反応の低下は若干異なり、PHA 反応値が先行して低下し、次に PWM 反応値が低下する傾向を認めた。こうしたことから、とくに末期がん患者におけるリンパ球反応

は、PHA, PWM 反応を同時に測定することにより、より客観的に反応動態を観察出来るものと考えられる。また血清中の抑制因子に関して、正常リンパ球反応に対する影響を検討した。正常者リンパ球培養中に胃がん患者各 stage 別の血清を 20% に添加すると、stage III, IV 群の血清では、著明に反応を抑制することを示し、この抑制制度は、がん患者リンパ球に対する自己血清添加による抑制制度に一致した。次に、がん患者術後の反応値の回復度をより簡便に表現するために、MORTON らによる Slope Index により検討した。術後 6 カ月の時点における Slope Index の平均は胃がん症例では、PHA 反応 -0.072 , PWM 反応 -0.137 , 食道がん症例では、PHA 反応 -0.12 , PWM 反応 -0.09 といずれの反応とも負を示しており、術後 6 カ月目においても、この両患者群においては、術前の反応値に回復し得ない症例の多いことが認められる。一方、乳がんおよび大腸がん症例においては、Slope Index は、いずれの反応においても正を示し、術後の回復も早いと言える。また胃がん症例 Stage 別の Slope Index を示すと、Stage III 群では PHA 反応 -0.005 , PWM 反応 -0.114 , Stage IV 群では PHA 反応 -0.202 , PWA 反応 -0.321 と負を示し、とくに Stage IV 群においては非常に回復が悪いと考えられる。以上のように、予後の悪く考えられている癌腫および進行期がん患者においては、術前よりリンパ球反応は低下しており、リンパ球反応低下に対する血清抑制因子の関与、さらに術後の回復が非常に悪いことを認めた。このことは、これらリンパ球反応が、予後とよく相関していることを示し、非特異的なリンパ球反応もパラメーターの 1 つとして有用であることを示す成績であると考えられる。

そこで、我々の教室で行なっている胃がん術後の補助療法および再発あるいは切除不能がん患者に対する OK-432 腫瘍内大量投与を中心とした免疫化学療法における治療効果とリンパ球反応との相関性について述べる。胃がん切除後の補助療法として、胃がん患者を 3 群に分け Controlled trial を行なっている。すなわち、術当日 MMC 20 mg, 翌日 10 mg の one shot 静注に 1) PSK 投与群, 2) FT-207 投与群, 3), 1)2) の併用群, の 3 群である。Stage III において、2 年生存率は (P+F) 群では 100% であるのに反し、P 群では 34% と低下しており、(P+F) 群において著明な効果を認めた。

また Stage IV においても (P+F) 群では最もよい成績が得られた。これら 3 群について、リンパ球反応の推移を検討すると、(P+F) 群においては、反応値は術後速やかに回復し、上昇傾向を示すのに反し、P 群においては、術前値にまで回復し得ない症例も多い。また血清

抑制因子の推移についても検討すると、P群においては、術後も上昇する傾向を示し、治療効果との相関性が認められた。当教室における再発あるいは切除不能がん患者に対する免疫化学療法は、OK-432 腫瘍内大量投与に MFC あるいは MFU の併用であるが、OK-432 腫瘍内大量投与群は、化学療法単独あるいは、化学療法と OK-432 連日皮下注の併用群に比較して有意な生存月数の延長を認めている。そこで、OK-432 腫瘍内大量投与群 53 例において、リンパ球反応による導入の時期および治療効果との相関性について検討を加えた。リンパ球反応において、自己血清添加群 PHA 反応値 18,000 cpm, PWM 反応値 10,000 cpm 以上を陽性例とし、治療前のリンパ球反応により 3 群に分けた。つまり、PHA, PWM 両反応値とも陽性である A 群、一方だけ陽性である B 群、および両反応値とも陰性である C 群である。Karnofsky 効果判定基準により、治療効果を判定すると、A 群においては、O-C 以上の症例は 5/11(45.5%) に認められるのに反し、O-O 例は 2/11(18.1%) であった。しかしながら C 群では、O-C 以上の症例は 1/17(5.9%)、O-O 例は 12/17(70.6%) と殆んど症例が O-O 例であった。A : B 群および A : C 群の間に有意差を認め ($p < 0.01$)、治療前のリンパ球反応と治療効果が相関することが認められた。また、この 3 群について 1 年目までの生存率を検討すると、1 年目において A 群と、B および C 群では生存率で 20% の差を認めた。50% 生存月数では、A 群 5.8 カ月、B 群 2 カ月、C 群 1.4 カ月と生存率から検討しても、治療前リンパ球反応が high responder である群では予後の良いことが認められた。次にこれら 3 群の治療後のリンパ球反応および血清抑制因子の推移を検討すると、A 群ではリンパ球反応値は治療後も高い反応値を維持するのに反し、C 群においては、リンパ球反応の上昇傾向は認められず、またこの C 群においては、治療後抑制因子の著明な上昇傾向を認めた。リンパ球反応および抑制因子の推移は、治療効果を鋭敏に反映するものと言えよう。

非特異的リンパ球反応は、特異的なリンパ球反応である MLTR と極めて高い相関性を有することが我々の成績からも示されており、こうした非特異的なリンパ球反応の動態も、腫瘍に対する治療効果を反映するものと考えられる。今回報告したように、リンパ球反応は治療効果および予後と相関することが認められ、免疫化学療法の導入に際しては、免疫学的なパラメーターによる follow up が重要視される。さらに、リンパ球反応を検討することにより、治療適応および導入の時期を考慮することは、治療効果の向上を可能にするものと考えられる。

(発言) 癌の免疫療法下における免疫学的パラメーターの動き

古 江 尚
帝京大学内科

癌の免疫療法の意義、投与方法の確立にあたっては効果の評価が本質的意義を有する。従来この点については、腫瘍効果や生存期間の観察があたり、併せて副作用の分析が参考とされて来た。われわれの MFC 対 MFC+OK 432 の併用の比較もこのような観点から行なわれた¹⁾。しかし腫瘍効果については、薬剤感受性の相応する腫瘍型について、このように抗腫瘍剤やその投与方法、投与量を一定にして比較することが必要であろう。そして免疫療法の効果をみるためには、必ずしも腫瘍の縮小を必要としない。一方、生存期間についても、均一な背景因子を有する多数例についての比較が必要であるが、引き続いて行なわれる治療が患者の生存期間に大きな影響を及ぼすし、また観察期間がかかりすぎるという問題点もある。免疫学的パラメーターで、免疫療法の効果と相関を示すものがあれば、その効果の評価、投与方法の確立にも大きく寄与することになる。われわれはかつて病態生理学的パラメーターと癌化学療法との関連について広汎な研究を行ない、そのなかのあるものが、癌化学療法の効果とあるていどの相関を示すことを報告した²⁾。

癌患者の免疫能は、とくに進行したものにおいてはその低下の著しいことが指摘されている。なかでも細胞性免疫能の低下が著しい。抗腫瘍剤は多くの場合、免疫抑制的に働く。そしてこれらの免疫能が、癌化学療法、免疫療法、あるいはこれらの併用によってどのように動くか、それらと効果との関連が問題である。

われわれが今日までにいちおう検討しえたパラメーターは表に示すとおりである。すなわち、リンパ球数、T 細胞数 (Active T 細胞数と、総 T 細胞数)、B 細胞数、IgG の Fc 部分に対する Receptor をもった T 細胞数、PHA によるリンパ球の芽球化率、Con-A によるリンパ球の芽球化率、IgG、IgA、IgM、PPD 皮膚反応、IAP (Immunosuppressive acid protein)、すなわち免疫抑制作用を有する酸性蛋白、それとまだデータを提示できるようにになってはいないけれども、Interferon 産生能と、溶連菌抗体価である。表はわれわれの測定による癌例、非癌例、正常人の対象例数と、それぞれの平均値があげてあるが、われわれの検索結果からみても、進行癌における免疫能の低下は明らかである。

免疫療法の用い方はいくつかの方法がある。そのなかでわれわれは抗腫瘍剤との併用による寛解導入と、単独

Immunological parameters

Parameter	Malignant tumors		Benign diseases		Healthy	
	No. of cases	Mean value	No. of cases	Mean value	No. of cases	Mean value
Lymphocyte No.	112	1603	77	1862	53	1999
Active T-cell No.	43	818	29	1058		
%		56.0		54.2		
T-cell No.	68	1405	20	1577		
%		83.8		87.6		
B-cell No.	67	174	20	117		
%		8.8		5.7		
IgG-Fc-Receptor T No.	58	99	20	117		
%		8.4		6.4		(2~8%)
PHA-blastogenesis	31	38.6	10	74.0		(Stimulation index)
Con-A-blastogenesis	22	23.4	8	48.6		(Stimulation index)
IgG	105	1694 mg/dl	31	1882 mg/dl	7	1377 mg/dl
IgA	105	315 mg/dl	31	390 mg/dl	7	250 mg/dl
IgM	105	189 mg/dl	31	189 mg/dl	7	140 mg/dl
PPD skin test	114	36.8%	18	78.8%		(Positive cases)
IAP*	147	623 μ g/ml	126	445 μ g/ml	67	347 μ g/ml
Interferon						
Antibody titer						

* IAP : Immunosuppressive Acid Protein

による寛解維持に限って検討している。しかしこれらパラメーターの動きを分析する場合、先行する治療が大きな影響をもつので、これらの点を整理して検討することが必要である。すなわち、無治療例と免疫療法単独投与例、化学療法施行例と化学療法と免疫療法を併用した群、そして化学療法施行後に引き続いて免疫療法を行なわなかったものを行なったもの、それぞれわけて考察すべきである。しかしこのようにわけて比較してみても、いずれの比較においても、免疫療法剤の投与によって、免疫学的パラメーターに改善の傾向がみられた。主な結論をのべると、つぎのとおりである。

- (1) 化学療法無効例では時間とともに低下するが、有効例では低下の程度が少ない。
- (2) 化学療法に免疫療法を併用した場合、化学療法単独よりも低下の程度が少ない。
- (3) 化学療法中止によって、免疫学的パラメーターは再び復元の傾向を示すが、この場合引き続いて免疫療法剤を継続投与したほうが、復元の傾向が大きい。
- (4) 無治療例では、免疫学的パラメーターは時間とともに低下するが、免疫療法剤単独の投与によっても、その低下は抑制される。
- (5) 放射線治療例ではとくに低下が著しい。
- (6) 薬剤別にみると、最も有意の動きは OK 432, PS-K, Levamisole 投与例にみられ、ついで Bestatin

で、Lentinan, SSM では動きが少ない。

(7) IgM は少なくとも進行癌では動かない。IgG, IgA の動きも比較的少ない。B細胞数の動きも少ない。しかしわれわれの検索した限りの他のパラメーターはすべて、同じような有意の動きがみられた。

(8) IAP は治療による効果、他のパラメーターともよく相関する。しかしなかでも患者の生存期間とはとくに密接な相関を示す。

(9) リンパ球数, PPD 反応は、どこでも容易に行なうことのできる、そして手技による差の少ないパラメーターとして、実際の意義が大きい。

ただこれらの動きは著明なものでなく、全体をまとめて統計処理してはじめて1つの傾向として指摘される程度のものである。従って個々の症例に適用して、免疫学的パラメーターの動きだけから治療の効果を判断することは困難である。そして同様なことは病態生理学的パラメーターについても言える²⁾。しかしいずれにしても、化学療法、免疫療法によって、このように免疫学的パラメーターに有意の動きがみられることは重要である。

このようなパラメーターの有意の動きは免疫療法そのものの有用性を意味するものであり、さらに効果の評価にあたって免疫学的パラメーターの研究の重要性を示唆するものと言うことができよう。

なお、本研究には東京医歯大 矢田純一氏、東邦大

新保敏和氏, 科薬抗生研 本木宏昭氏の協力を得た。

文 献

- 1) 古江 尚, ほか: 癌の併用療法の研究。第2報。MFC 対 MFC+OK 432。癌と化学療法 6巻, 5号, 1979 (掲載予定)
- 2) 古江 尚: 癌化学療法の効果判定についての1考察。癌と化学療法 1, 267~271, 1974

4. インターフェロン系関与について

岸田 綱太郎

京都府立医大微生物

インターフェロン (IF) は細胞に変化を与えることによって, その細胞でのウイルス増殖を阻止する抗ウイルス因子である。従って IF は中和抗体のように直接ウイルスと結合してウイルスの活性を失なわせる物質ではなく, はじめ (発見の初期) から細胞に「或る変化」を引起す物質として理解されて来た。このことから当然 IF には抗ウイルス活性以外にも生体のあらゆる細胞に種々の生物学的影響を与える作用があろうと想像された。果せるかな IF の歴史は抗ウイルスから抗腫瘍ウイルスへ, さらには発癌物質の発癌作用を抑制したり, ウイルス発癌によらない腫瘍細胞の増殖や, その移植にも抑制効果, ひいては担癌マウス等の延命効果が報告された。

一方, IF の抗ウイルス機転はかなり早くから解明に近づいたが, 抗腫瘍メカニズムは, ただ多様であるという以外に未だ充分な説明がなされていない。その理由は, ウイルスの増殖機転の解析に比し, 腫瘍の発生や存在の機転の解明が遅れているという根本問題に起因する以外に IF が持つ多様活性が複雑であるからであろう。

しかし我々 IF を主題とする人間は, *in vivo* と *in vitro* の諸系を用いて, IF の抗腫瘍性をいちおう直接作用と間接作用に分別して解析しようとしている。この点を簡単に表示するならば以下のようなだろう。

これらについて項を分けて簡単に説明する。

(I) 直接作用

IF は細胞を介して間接的に抗ウイルス性を発揮するが, IF はむしろ直接腫瘍細胞に作用すると嘗て書いたことがあるが, いずれの場合も IF は細胞の機能に可逆

的に短時間の変化を与える点には差がないので同じ範ちゅうに入る問題である。

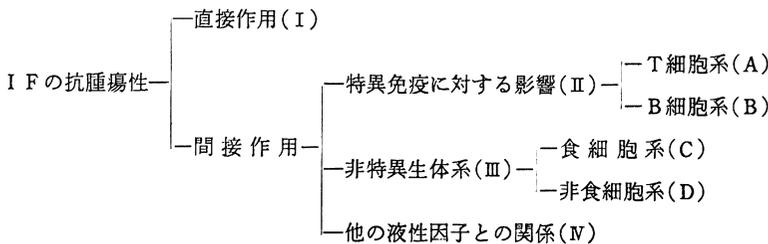
In vitro で培養増殖中の腫瘍作用の系に単独で IF を介在させると, 強弱の差こそあれ腫瘍細胞は一様にその分裂増殖が抑制を受けることは事実である。しかし IF は腫瘍細胞に毒性や細胞破壊作用をもたないことも一般的な現象であって, 特殊な Transformed cell. 例えばウイルス genomes の存在によってその細胞の生存増殖が保持されている細胞を IF 処理する場合はその細胞の生存が保持出来なくなりバランスを失なって死滅する場合はあるが, IF はその系から除去すれば再び元の増殖力と腫瘍としての能力を回復する。しかし同じ抗ウイルス単位の IF を *in vitro* で細胞に投与すれば正常な細胞の増殖を抑制しない低い単位で腫瘍細胞の増殖を抑制する 경우가多く, IF の作用は腫瘍細胞に強く働くと思われる。しかしその差はどこにあるのか明らかでない。IF には種特異性があるためにヌード・マウスに移植したヒト癌細胞に対してはヒト IF のほうが抑制効果がありマウス IF は作用が弱いから, この場合の IF の抗腫瘍性も一種の直接作用を考えている。

(II) 間接作用

IF の標的細胞に対する増殖抑制および破壊の免疫関連細胞や抗体およびマクロファージ等の機能亢進を介して発揮される場合が多い。

(A) 免疫学領域で先づ検討されたのは感作Tリンパ球の機能におよぼす IF の影響であるが, 多くのデータは明確でなく或いは亢進或いは抑制的であるが, とくにどちらに強い影響をおよぼしているかを考えるためには実験条件の設定が不完全である。

むしろ, 非感作リンパ球 (多くは前TまたはT系リンパ球) と共存させる場合には比較的低い単位の IF が腫瘍細胞 (標的細胞) の増殖抑制と細胞毒性を著明に亢進する 경우가多くこれらの場合は 5~500 単位の IF が充分な効果を発揮することは多くの報告が一致し, 我々のデータもそれを証明している。また抗腫瘍抗体は一方では抗原としての腫瘍細胞の表面の抗原性を IF により増強され抗体の吸着と破壊を強化する一方, ADCCの際にもやはり低い単位の IF の介在が有意の細胞毒性を亢進するというデータ (北大・大里らと私達の共同研究) が



あり、これらの現象は生体内で IF が 0 の状態とわずかな単位介在するかによって生体反応（防御作用）が大きく運命を左右されていることを示唆している。しかしその解析は全く進展していない。

(B) IF の B リンパ球におよぼす作用は、むしろ抑制的で、感作 B 細胞が抗体産生細胞に分化することを抑制し、むしろ JERN の Plaque 法では著しく抗体産生細胞の減少、ひいては抗体産生の抑制に働くというデータ（我々および外国）が一般であろう。

(C) 非特異生体系についてはリンパ系以外の複雑多様な全構成細胞が、それぞれに多様に IF の影響を受けていると考えられるが、やはり食細胞におよぼす食作用の亢進、食細胞内での微生物の増殖阻止、IF 感作マクロファージの標的細胞への接着と破壊が IF によって亢進される場合が多い。

(D) 一方、非食細胞、とくに正常センキ芽細胞と腫瘍細胞の混合培養系では IF 非存在系と IF 存在系を比べると両者の *in vitro* での領土占領競争は逆転する現象が（ユーゴスラヴィアと我々の系で）見られ IF の存在の有無が大きな転機となる。この場合の IF 単位も IF 単独の場合より低くて充分であるから、混合培養での現象は細胞相互間の未知の問題を含んでいると思われる。そこには Cytokines (Lymphokines) の介在と似た何かの細胞性因子が介在することを暗示している。

最後に、本パネルディスカッションの主題と関連しまとめるならば、IF はあらゆる生体反応に何等かのかかわりを持ち、その多くは生体の腫瘍を抑制する方向に働いていると言えよう。

また免疫療法の多くとは容易に協調し得ることも明らかであって、それらと IF との併用は将来癌の予防治療により役立つ一つの武器に IF を加えられると考えられる。

また化学療法剤と IF との併用は、薬剤の作用機転を十分に考慮する必要があるが IF 系の明らかな阻害剤である Act-D との併用は IF の能力を抑制するので望ましくなからう。

その他の抗癌剤との併用は目下始められたばかりであるが、Adriamycin との併用（がんセンター、福岡）や Endoxan との併用（GVESSEY ら）はより効果が期待できるだけでなく、IF の節約と薬剤の毒性軽減（用量を減らす）に役立つと思われる。

各 論

1. 内科領域における免疫化学療法

BCG-CWS および *Nocardia*-CWS を中心として

岸 本 進

熊本大学医学部第二内科

癌の免疫化学療法は世界的に広く試みられている。米国立癌研究所に登録された世界の癌免疫療法のプロトコルを集録した 1978 年発刊の Compendium によると BCG 生菌が 42%、MER や CWS を含めると約 51%、次いで *Corynebacterium parvum*, levamisole の順に免疫強化剤として用いられている。しかし BCG 生菌は弱毒菌であるため時に重篤な副作用を起し且つその効果も変動し易く品質管理上問題が多い。これらの問題点を解決するため山村、東らによって BCG 菌から細胞壁骨格 (CWS) が分離された。化学的にはアラビノガラクトタンにミコール酸およびムコペプチドが結合した安定な化合物であり、強いアジュバント活性、抗腫瘍活性がみとめられる。その後、結核菌と類縁関係にあるがヒトに無毒な *Nocardia rubra* から同様に CWS が分離された。化学構造は BCG-CWS と類似しているが、抗腫瘍効果やアジュバント活性は BCG-CWS よりも強く且つ毒性が少ない。さらに短期日に大量培養可能である利点がある。われわれは急性非リンパ性白血病の免疫療法にこの 2 つの CWS を使用した成績について報告する。

本研究の対象は免疫化学療法群 15 例、化学療法単独群 24 例である。いずれも急性非リンパ性白血病で多剤併用療法により完全寛解に導入された症例で、免疫療法群では地固め療法の後、初回 CWS 300 μ g を、次いで 200 μ g を 2 週毎に 4 回、その後 4 週毎に皮内に注射された。その際 X 線照射した自己または他人の白血病細胞

Fig. 1 Survival time

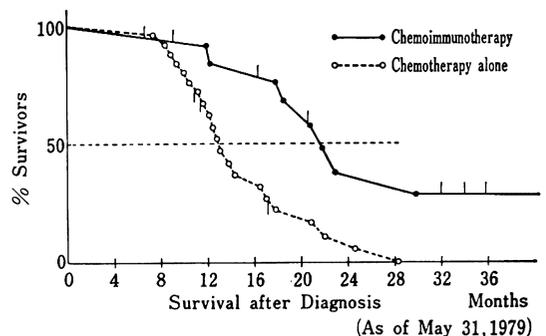
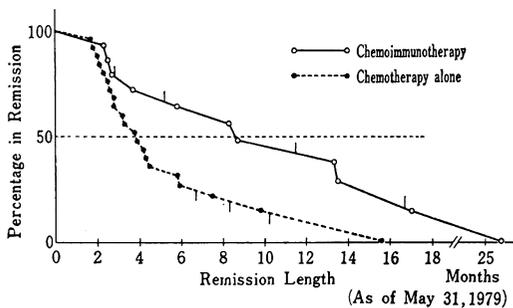


Fig. 2 Remission length



を同時に注射した。寛解維持化学療法はCWS注射の中間に施行した。

平均生存期間は免疫化学療法群では21.7カ月に對し化学療法群では12.9カ月に統計学的に有意の延長がみとめられた (Fig. 1)。さらに平均寛解期間は免疫化学療法群では8.6カ月に對し化学療法単独群では3.8カ月に著しい延長がみとめられたが統計学的には有意に至らなかった (Fig. 2)。免疫療法により遅延型皮膚反応、マイドゲン反応、AL₁細胞障害能、NK活性など免疫パラメーターの改善がみとめられた。

注射局所には殆どどの症例で硬結、潰瘍がみとめられ、約半数に1~2日持続する発熱、局所リンパ節腫脹がみられたが、肝機能障害を来さず症例はなかった。

2. 免疫化学療法 OK-432 を中心に

太田 和雄

愛知県がんセンター

OK-432は癌患者が毒菌に罹患すると癌が自然退縮するとの歴史的事実から、溶連菌の抗腫瘍作用に着目し開発された抗腫瘍剤である。初期の研究においては、その直接的な抗腫瘍作用に注目され、単独使用症例においてもとくに腫瘍内注射例に効果がみられていたが、今日では非特異的免疫賦活剤として、主に化学療法と併用して用いられている。その作用機序として、マクロファージの活性化、T-リンパ球の活性化、液性免疫反応に及ぼす影響、あるいは宿主生体防禦機能の亢進など、多くの実験的、臨床的データが集積されて来た。その中からわれわれが研究して来たOK-432を用いた免疫化学療法の成績について述べる。

癌の免疫療法の評価には、randomized controlled trialが要求されている。われわれは東海胃癌免疫化学療法共同研究の第1次研究として、非治癒切除例に対し

て、術後化学療法としてMFC療法を行い、これに免疫療法としてOK-432を加える群と、加えない群の2群設定のrandomized trialにより、生存期間を比較検討した¹⁾。諸種の脱落症例を除きA群27例、B群19例について腫瘍のひろがり、投与制癌剤の量など16項目の背景因子の片よりの有無について検討したところ、両群を比較するのに障害となる片よりはみられなかった。両群についてKAPLAN-MEIER法による生存曲線を比較すると、化学療法単独群よりOK-432併用群に有意に生存率がすぐれ、16カ月に約30%の差がみられた。なお同時に行った非切除群においてはほとんど差はみられなかった。

次いで副作用について検討すると、白血球数の減少に関してOK-432併用群では白血球4,000以下の減少例が有意に少なかった。これは従来からいわれている、本剤の制癌剤による白血球減少防止作用がrandomized trialにおいても証明されたことになる。また肝機能障害に関して、OK-432併用によりGOT、とくにGPTの70単位以上に上昇する頻度が有意に減少している。これは手術および術後化学療法によりしばしば肝障害が認められているが、OK-432の生体防禦機能亢進作用により、肝障害発現を抑えた結果と考えられる。以上の成績から進行胃癌に対して術後化学療法MFCに免疫療法OK-432を併用することは非治癒切除例において延命効果ならびに副作用発現防止効果があることが明らかとなった。

次に、一般に免疫抑制作用をもつといわれている化学療法と免疫療法を同時に使用することの可否に関して、第2次研究として、寛解維持療法における免疫化学療法と免疫療法単独との優劣を比較した²⁾。寛解導入療法は第1次研究よりさらに強力にMFCとOK-432併用を6回行い、寛解維持療法としてA群ではMFCとOK-432の併用による免疫化学療法、B群はOK-432単独の免疫療法を行う2群設定によるrandomized trialを行った。腫瘍の広がり、OK-432の使用量など24項目の両群の背景因子の片よりについて検討し、両群を比較する上に障害となる片よりのないことを確かめた上で両群の生存期間を比較した。A群39例、B群44例のKAPLAN-MEIER法による生存曲線から寛解導入療法開始後8カ月の時点において、B群の生存率がA群より高値を示し、その差は24%であり、免疫化学療法群より免疫療法単独群のほうが、寛解導入療法開始後9カ月までの各々の月において生存率が有意にすぐれていることが明らかとなった。そしてリンパ球数について比べてみると、当然のことながら化学療法併用群では低下し、免疫療法単独群では増加しており、その差は5カ月において有意

であった。

そこで胃癌の組織型を分けて検討してみたところ、分化型においては両群に全く差異がなかったが、非分化型では明らかに OK-432 単独のほうが生存率はすぐれていた。以上の結果を考察すると、大部分の胃癌を切除した上で、さらに6回の MFC 療法による寛解維持療法としてはある一定の期間、すなわち寛解維持療法開始後7ヵ月までは免疫療法単独で充分であり、強力な化学療法を免疫療法と併用することは却ってマイナスに働く場合もあり、とくに化学療法があまり有効でないと考えられる非分化癌では、充分な寛解導入療法の後の維持療法として MFC を用いることは、むしろマイナスの面に働く可能性のあることが考えられる。しかしこれらも一定期間の後には差は無くなっているため、その辺りで再度化学療法による寛解強化療法を行うのが良いであろうということが考えられる。したがって寛解維持療法としては一時化学療法を休み、免疫療法単独で維持していたほうが、リンパ球数も増加しているため、寛解強化の化学療法を行う上に有利であろうことが考えられる。

次に別の観点から化学療法と免疫療法の使い方について述べる。癌性胸膜炎に対する OK-432 の効果はすでに前から認められている。胸水中に本剤を注入した直後に起る好中球、マクロファージの遊出、次いで癌細胞の変性崩壊、壊死に陥った癌細胞の周囲に好中球、リンパ球が付着し、次いで癌細胞は消失し、リンパ球の増多が起る。これらは非特異的な局所における免疫反応である。すなわち胸水中の癌細胞の消失は OK-432 によって引き起された炎症による癌細胞のまぎ込み破壊が起ったものと考えられる。その後遠隔部位における癌病巣の退縮が起った場合、感作されたリンパ球による特異的免疫反応が成立したということが出来よう³⁾。一方、Adriamycin は癌細胞の DNA と速やかに吸着し、また胸水中から血中への吸収の少ないことから、癌性胸膜炎の胸腔内に投与され、すぐれた効果が認められている。そこで、この両者の特長を生かした併用療法が考えられるのであるが、その投与方法によってはその作用を相殺することも起る可能性が考えられる。そこで実験腫瘍を用いてその投与スケジュールについて検討した。

Meth-A 腫瘍を腹腔内に移植し、Adriamycin OK-432 両者の併用の効果を検討した。その中で Adriamycin を day 3 に投与し、OK-432 を day 5 に投与した場合に各薬剤単独投与時に比べて著しい延命効果の増強が認められた。これに対して、両者を day 3 に一緒に投与したり、逆に OK-432 を day 3 に投与して、Adriamycin を day 5 に投与した場合は、若干の延命効果はあるが、前述の順序の交代療法に劣っている⁴⁾。

以上の実験成績を考察すると、Adriamycin は抗腫瘍作用は直接作用であり、OK-432 は宿主の細胞を介しての抗腫瘍作用であるので、両者を同時に投与したり、Adriamycin を後に投与したりすると、OK-432 によって引き起された細胞効果を Adriamycin が消してしまう可能性が考えられる。

以上から免疫化学療法を行う場合、両者の作用機序の特長を生かした投与方法の開発が重要と考えられる。

文 献

- 1) 東海胃癌術後免疫化学療法共同研究班：進行胃癌の術後免疫化学療法に関する研究。癌と化学療法 3：715～721, 1976
 - 2) 安江満悟，他：進行胃癌に対する術後免疫化学療法に関する研究(第2次研究)：東海胃癌免疫化学療法共同研究。癌と化学療法(印刷中)
 - 3) 太田和雄，他：癌性胸膜炎に対する溶連菌製剤 OK-432 の効果。癌と化学療法 2：255～265, 1975
 - 4) 斎藤元男，他：Meth-A 腹水腫瘍に対する Adriamycin と OK-432 の腹腔内投与による併用効果。癌と化学療法(印刷中)
3. 免疫化学療法——レバミゾールを中心にして

折 田 薫 三

岡山大学第一外科

免疫賦活剤の多くは、細菌、細菌成分、多糖体などの生物学的物質であるが、私に与えられた levamisole (LMS) は化学薬品であり、すでに広く駆虫剤として常用されている。2,3,5,6-tetrahydro-6-phenylimidazo (2,1b) thiazole hydrochloride で、分子量 240.75 の安定な白色結晶状粉末であり、水に易溶性、酸性で安定、したがって経口で消化管から良く吸収される。成人に 150 mg 屯用させると、2時間以内に血中濃度が 0.7 $\mu\text{g/ml}$ に達し、2日以内に血中から完全に消失する。肝で殆んどすべて分解される。1971年 RENOUX がマウスに LMS を投与すると brucella vaccination が強まることを報告して以来、LMS に免疫賦活作用のあることが知られている。In vivo, in vitro において LMS は細胞性免疫反応に関与する各種細胞に作用し、ことに末梢血 T リンパ球や大食細胞の機能低下の著明な場合、これを急速に正常化させる。常用量の 150 mg/日では正常以上に免疫能を賦活させることはない。この点は従来の、BCG などの免疫賦活剤とは異なった点である。LMS の急性毒性はマウスで 28 mg/kg (i. v.), 121 mg/kg (s. c.), 285 mg/kg (oral) であり、毒性は低く、人体常用量は 2～3 mg/kg (oral) と考えられている。

以上から LMS が癌の治療に用いられているわけであるが、LMS の単独投与が種々の動物癌に行われ、その抗腫瘍効果に関しては賛否相半ばしている。

I LMS の動物癌に対する抗腫瘍効果

1) マウス自然発生乳癌：直径 6~15 mm 大の自然発生乳癌をもった C3H/He マウスに、生食水に溶解した LMS 1.15 mg/kg あて、隔日に 10 回、対照群には生食水を同様 10 回 s.c. に注射し、腫瘍の増大曲線と生存日数を観察した。LMS 投与群 12 匹中、腫瘍の完全退縮したもの 1 匹、増殖が明らかに抑制されたもの 7 匹であり、LMS 群では明らかに腫瘍増殖が抑えられており、マウス平均生存日数は対照で 45.7 日、LMS 群で 65.6 日となっている。自然発生乳癌で LMS が抗腫瘍性に働いたことは極めて意義が大きいものと考え、その詳細を移植癌で検討中である。

2) MH 134 肝癌の同系移植：C3H/He マウスの背部皮下に MH 134 肝癌細胞 10^5 コ/マウスを移植し、任意に 7 群に分け、第 1 群を生食水注射対照群、以下 6 群を LMS 投与群とした。第 2 群では腫瘍移植当日から、第 3 群では移植 7 日目から、第 4 群では移植 10 日目から、第 5 群では移植 14 日目から、第 6 群では移植 21 日目から、第 7 群では 28 日目から、LMS 1.15 mg/kg 連日 10 回 s.c. に注射している。移植当日から LMS 投与開始した第 2 群、7 日目から投与した第 3 群では生食対照群と同一の腫瘍の増殖がみられるが、腫瘍が小指頭大に増殖した移植 10 日目から LMS 投与した第 4 群では LMS 投与後腫瘍の増殖にばらつきがおり、16 匹中 4 匹に腫瘍増殖の遅延、2 匹に腫瘍の完全退縮があり、抗腫瘍効果が 6/16(37.5%) にみられている。しかし、移植 21 日目、28 日目から投与した場合には抗腫瘍効果は全くみられない。以上 7 群の平均生存日数は 44, 50, 58, 72, 41, 32, 34 日であり、移植 10 日目から LMS を投与した場合に LMS の抗腫瘍効果が最も強く出ている。

3) Ehrlich 癌の同種移植：Ehrlich 腹水癌 5×10^6 コ/マウスを DDS マウスの背部皮下に同種移植し、2 群に分け、一方を生食水注射対照群、他方を移植直後から LMS 1.15 mg/kg 連日 10 回投与群とする。平均生存日数は前者で 31.4 日、後者の LMS 投与群で 26.5 日とかえって、LMS 投与で腫瘍増殖が促進されている。しかし、別の実験で、Ehrlich 癌移植後 7 日目から LMS を s.c. に注射すると生食対照群では平均生存日数が 27.2 日であるのに、LMS 注射群では 31.4 日と僅かに延命し、LMS 投与の抗腫瘍効果が出てくる。移植直後から LMS を投与したマウスの移植 15 日目の局所腋窩リンパ節の Ehrlich 癌株化 JTC-11 細胞に対する *in*

vitro での殺細胞性を測定してみると、生食対照群に比してむしろ減弱している。逆に、移植 7 日目から LMS を投与して、移植 16 日目に殺細胞性を測定し、対照に比し殺細胞性が強く温存されていることをみている。移植直後からの LMS 投与はかえって抗原認識から始まる免疫の成立を阻止するのかも知れない。腫瘍増殖による免疫の低下が始まる時期から LMS を投与すれば、LMS を単独に投与しても抗腫瘍効果がえられるものと考えている。

II LMS の消化器癌患者、ことに胃癌患者への投与効果

約 3 年半前、放射線療法で末梢血リンパ球数や PHA 幼若化能の極度に低下した乳癌患者に LMS を 155 mg/日 3 日間連用させたところ、1 週後にこれらの免疫能がほぼ正常値に回復することを知り、症例を重ね副作用も少ないことをみいだした。約 3 年前から消化器癌を対象として LMS 投与の抗腫瘍効果を検討している。現在までに当第一外科に入院した 300 余例の消化器癌を主体とする癌患者に LMS を手術 3 日前から 150 mg/日 3 日間連続服用させ 11 日間休薬する、3 投 11 休をできる限り長期間継続する。進行癌では Mitomycin, 5-FU を併用している。そのうち LMS 投与胃癌症例は 128 例で、対照は歴史的対照 203 例である。進行度別にみても両群間には大差はなく、Stage I, II は腫瘍を残すことなく切除できる治癒切除症例であり、Stage III は少々腫瘍の取り残しの生じる非治癒切除症例が含まれている。Stage IV では末期胃癌で試験開腹に終る症例も少くない。LMS 投与群で 24 カ月までの経過の判明しているものは 49 例、対照群では 176 例である。Stage 別生存曲線をみると、Stage I, II 症例では LMS 群、対照群ともに死亡例が少ないため両群間には有意差はみられない。Stage III 症例では LMS 投与の効果が術後 12 カ月から差が始め、18 カ月で各々 18/20(90.0%), 36/50(72.0%), 24 カ月で 15/19(79%), 18/36(50%) と LMS 投与群に有意に生存率が上昇している。Stage IV 症例では LMS 投与群と対照群との間の生存率の差は術後 6 カ月で 10%, 12 カ月で 20%, すなわち、19/30(63.3%), 47/104(45.2%) と LMS 投与が早期から有効であるが、18 カ月で両群間の差が 15% に縮少し、24 カ月では 6/23(26%), 16/90(17.8%) と両群間に有意差が全くなり、LMS の効果は消失する。これら胃癌症例を治癒切除、非治癒切除、非手術例に分けても似た傾向がみられる。治癒切除症例では術後経過と共に LMS の投与効果が大きくなり、24 カ月では 14/15(93.3%), 21/41(51.2%) と有意に LMS 投与の効果が出てくる。非治癒切除症例や非切除症例では早期から LMS の投与効果

が出てくるが、その効果には限度があり 24 カ月では有意差が完全に消失する。以上から進行胃癌であっても、治癒切除症例では LMS 投与の効果が術後経過と共に増強してくるが、非切除のように大きな腫瘍をもった末期癌症例では LMS 投与の効果が早期に大きく出るが、その効果の持続は 10 カ月未満である。Cytoreductive surgery を十二分行った後 LMS を長期間投与すれば再発の防止に有効と考えられる。

II LMS 投与の免疫系への作用

LMS が末梢血 T リンパ球や大食細胞の機能を回復させ、T 細胞の前駆細胞を成熟細胞に分化させることは周知である。最近 cyclic AMP や cyclic GMP が免疫や炎症反応に関与する細胞の制御に関与することが明らかとされている。cyclic GMP を上昇させるとリンパ球や大食細胞の増殖能や分泌能が亢進してくる。LMS は 1 種の Cholinergic agent であって、免疫に関連するリンパ球、多核白血球、大食細胞の cyclic GMP 濃度を上昇させ、これら細胞の増殖や活性を亢進させる。われわれの使用経験では、LMS を術前 3 日間 150 mg/日投与しておく、手術の直接侵襲による末梢血リンパ球の PHA 幼若化反応の一過性の低下を防止しうる。胃癌の治癒切除症例を長期に follow up してみると、術後末梢血リンパ球の PHA 幼若化反応が回復して正常域に達するのに約 2 年を要するが、3 投 11 休で LMS を内服させれば術後 6 カ月で正常域に回復する。非治癒切除例、非切除例では術後 PHA 幼若化反応の上昇回復はまずみられないが、LMS を継続投与すると幼若化反応が数カ月間は著明に上昇し、過半数例が正常域までに回復する。PHA, Con. A, PWM などの plant mitogen は overlap しつつも互いに異なったリンパ球の subset を優位に幼若化させると考えられている。Con. A は標的癌細胞に殺細胞性に働く cytotoxic T 細胞と免疫を抑える suppressor T 細胞の両者を幼若化させるといわれている。同一癌患者の末梢血リンパ球を 4 等分して、PHA, Con. A, PWM, LPS に対する至適幼若化率 (cpm) を測定し stimulation index (SI) を比較してみると、治癒切除症例ではその大半が術前術後を通して PHA > Con. A > PWM > LPS の順になる。しかし、非治癒切除症例、非切除症例では Con. A > PHA \geq PWM > LPS と Con. A 幼若化率のほうが PHA のそれよりも強くなる。進行癌では suppressor T 細胞の頻度や活性の上昇をうかがわせるものである。術後 LMS を継続投与すると進行癌であっても、術後約 3 カ月間、幼若化率の順序が正常化して PHA \geq Con. A > PWM の順となる。その他、末梢血の T 細胞頻度、active T 細胞頻度も上昇し、PPD 反応も LMS 投与 2~3 カ月頃から治癒切除症例で著明

に上昇してくる。

IV LMS 投与時の副作用

LMS 投与 200 症例についてみると、副作用は 19 例 (9.5%) であり、その内訳は悪心、腹痛、下痢などの消化器症状 5 例、頭痛、不安、発熱などの中枢神経症状 8 例、発疹 3 例、顆粒球減少 1 例であり、休薬したものは全体で 7 例 (3.5%) である。その内訳は消化器症状 2 例、神経症状 1 例、発疹 3 例、顆粒球減少 1 例である。副作用はいずれも LMS の休薬により 1 週間前後で完全に消失する。

以上から LMS を手術前から 2~3 mg/kg 体重 3 投 11 休で長期間投与すれば、たいした副作用もなく非治癒切除症例や非切除症例では延命に、治癒切除症例では再発の防止に有効に作用するものといえよう。LMS も他の免疫賦活剤と同じく、最少腫瘍組織遺残状態でその効力を最も強く発揮するものと考ええる。

4. 癌の免疫化学療法——PSK を中心にして

神代 竜之介
九州大学第二外科

PSK は、担子菌類さるのこしかけ科に属するカラタケの菌糸体から抽出した糖蛋白体であり、経口投与でも Hostmediated な抗腫瘍効果がみとめられている。Sarcoma 180 移植ラットにおける実験で PSK 投与群は、Killer T 活性の増強がみられ、さらに興味あることには、担癌マウスにみられる免疫抑制物質に対して PSK は拮抗的に作用することである。すなわち、Ehrlich 腹水癌の腹水を遠心分離、限外ろ過、さらに、ゲルろ過を行うと免疫抑制活性の高い Fraction 4 が得られ、これを免疫抑制因子 (IS 因子) とした。MMC 処理した Sarcoma 180 細胞とマウス脾細胞の混合培養の系に免疫抑制 IS 因子、および PSK を添加し、培養を行なった際には、IS 因子添加による反応の低下は PSK 投与群ではみられなかった。また PSK は経口投与により抗腫瘍性が認められており、しかも重大な副作用が全くみられないことにより、術後の Adjuvant 剤としてその特徴が生かせるものである。

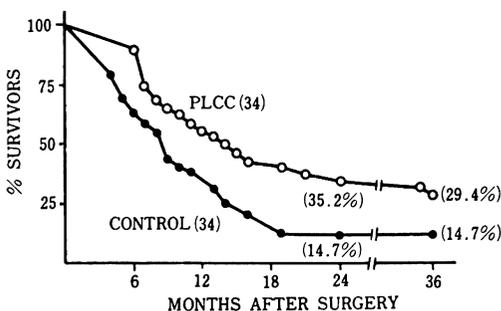
そこで、我々は胃癌に対して昭和 45 年以來行なってきた MMC 間歇投与を主とする術後長期癌化学療法 (PLCC) に、経口制癌剤 FT 207 および、免疫賦活剤として PSK を併用投与する PLCC を計画し、その具体的な投与計画は術中 MMC 20 mg 上半身投与、術後 1 カ月目に、MMC 10 mg を静脈内投与、術後 3 カ月毎に外来にて MMC 10 mg を静脈内に投与、さらに、

術後 1~2 週目から FT 207 800 mg, PSK 3.0g を連日経口投与するものである。この治療計画の効果を手早く知るために、その 2 年生存率がせいぜい 20% 前後であり、まず Stage IV 胃癌に対して実施した。Stage IV 胃癌の予後はきわめて不良であることから、術後少なくとも 4 カ月以上、制癌剤、PSK の投与ができた症例を PLCC 群とし昭和 39 年から 46 年の間に、MMC 上半身投与だけを行なった症例 (34 例) を対照群として比較した。両群の背景因子については、両群間に大差をみとめなかった。PLCC 群 34 例の 2 年生存率は 35.2% であるのに対して、対照群 (34 例) の 2 年生存率は、14.7% であり、PLCC 群では生存率の向上が有意である。また、3 年生存率は PLCC 群 29.4% であり、対照群の 3 年生存率 14.7% にくらべ良好である (Fig. 1)。これら両群のうち治癒切除術をうけた症例の 2, 3 年生存率について検討すると、PLCC 群の 2, 3 年生存率 67%, 56% であり、対照群のそれは、29%, 14% であり、治癒切除例では、とくに PLCC の効果は著明であった。

この結果から、現在、Stage III 胃癌に対しても、MMC 間歇投与に FT 207, PSK を併用投与する PLCC を施行して症例数は少ないのであるが Stage III 胃癌治癒切除例における PLCC の効果をみるために、術中 MMC 上半身投与だけの行なわれた 17 例を対照群とし、また、PLCC 群は FT 207, PSK が術後 1 年以上投与されたものとしてその生存率を比較した。術後 3 年目頃から、PLCC の効果がみられ、5 年生存率では、PLCC 群 60%, 対照群 27.3% であり、PLCC 群にその生存率の向上がみられ、術後 1 年以上制癌剤、PSK の投与がでずに脱落した 5 例を PLCC 群に加えた PLCC 群を補正してみると、PLCC 群の 5 年生存率は 50% であり、PLCC 群に生存率の向上がみられた。

以上、MMC 投与に FT 207, PSK を併用投与する PLCC の有用性が確かめられるが PSK の果す具体的な役割について、明らかにするため、東北大学 石田教

Fig. 1 Postoperative long term chemotherapy (PLCC) against stage IV gastric cancer



授らの報告する Immunosuppressive acidic protein (IAP) 値を IAP プレートを用いて測定した。IAP とは担癌患者や担癌動物血清中に著しく増加する等電点 3~3.3 の酸性蛋白質、分子量約 59,000 の免疫抑制作用を有するものである。正常人における IAP 値は $345 \pm 85 \mu\text{g/ml}$ であり、 $500 \mu\text{g/ml}$ 以下を正常とした。胃癌患者の術前の IAP 値について検討すると、Stage I 胃癌では $399 \mu\text{g/ml}$ 、Stage II 胃癌では $354 \mu\text{g/ml}$ 、Stage III 胃癌では $559 \mu\text{g/ml}$ 、Stage IV 胃癌では $583 \mu\text{g/ml}$ であり、Stage III, IV 胃癌では IAP 値が $500 \mu\text{g/ml}$ 以上の症例が半数以上にみられた。次にこの IAP 値の胃切除術後推移について、PSK 非投与、PSK 投与例別に追跡すると、興味ある結果が得られた。Stage I, II, III 胃癌治癒切除例のうち PSK 非投与例、PSK 投与例とも、手術侵襲により術直後一過性に IAP 値は上昇するが、IAP 値は治癒切除によって正常化がみられた。

次に Stage IV 胃癌非治癒切除例について、IAP 値の推移をみると、PSK の投与に関係なく、術直後一過性の上昇がみられ、その後正常化がみられるが、その正常化の頻度は PSK 投与群に多くみられた。これらの結果をまとめてみると、Stage I, II, III 治癒切除例では、IAP の正常化は PSK 非投与群 85%、PSK 投与群 100% であり、Stage IV 胃癌非治癒切除例では、IAP の正常化は、PSK 非投与群 54%、PSK 投与群 78% であった。PSK の投与によって血清中の IAP の正常化率が増加するものと考えられた。

以上、PSK は副作用がなく、経口投与により、効果がみとめられることから、術後補助化学療法に用いる薬剤として有用なもの 1 つであるとえられる。

5. 泌尿器科領域における免疫化学療法

吉 田 修

京都大学医学部泌尿器科

(1)

泌尿器科領域における悪性腫瘍疾患のうち辜丸腫瘍、前立腺癌、腎細胞癌、膀胱癌に関する免疫学的事項および免疫化学療法につき述べる。

(2)

免疫学的パラメーター：リンパ球幼若化反応 (PHA, ConA, PWM)、リンパ球数、T cell、PHA 皮内反応、PPD 皮内反応について調べた。

辜丸腫瘍では進行癌にリンパ球幼若化反応が著しく低下しているものが 1 例あったほかは、正常に近いものが多く、免疫能はよく保たれているといえる。

前立腺癌では、high stage でもだいたいにおいて正

常値を示しているものが多い。

腎細胞癌では stage D の症例について調べた。リンパ球幼若化反応が PHA は低下の傾向にあり、Con A, PWM では対照との間に差を認めず、PHA, PPD 皮内反応は全例陰性であった。

膀胱癌ではリンパ球幼若化反応、PHA, PPD 皮内反応ともに stage が進行するほど低下する傾向が認められた。

(3)

睪丸腫瘍：化学療法の対象となるのはセミノーム以外の胎児性癌、奇形腫、絨毛癌であるが、多くはその混合型の進行癌であり、一言でいえば non-seminomatous disseminated testicular tumor である。セミノームの予後はよく、放射線感受性も高いので化学療法の対象となることはあまりない。

進行睪丸腫瘍に対しては Vincristine, Actinomycin D, Bleomycin から成る多剤併用療法を行っている。この3者により寛解導入後、ACD と VCR による維持療法を1年半、合計2年間行うのが原則的プロトコルである。維持療法は OK-432, PSK, NK-421 などを併用する免疫化学療法を行うことを原則としている。

最近米国において注目を集めている白金化合物である cis-diaminedichloroplatinum (CDDP) による免疫化学療法も検討している。方法は EINHORN のプロトコルに準じたもので、3週間を1コースとし、CDDP, Vinblastine, Bleomycin の2者を2コース、維持療法として Vinblastine と OK-432, NK-421, PSK のいずれかの組合せで行うことにしている。

睪丸腫瘍は症例が少なく、一方、化学療法は奏効することが多いので、免疫療法の“上のせ”効果を明らかにすることは困難であるが、今後研究されるべき課題である。

(4)

前立腺癌：ヒト前立腺癌由来の EB 33 を標的細胞とし、前立腺癌患者のリンパ球を effector cell として細胞傷害試験を ^{51}Cr release assay によって行うと、stage B では高い cytotoxicity を示し、stage C, D では低く有意の差であった。

凍結手術による細胞傷害の変化を同じ方法で調べたが、いまだに凍結手術後に術前に比して cytotoxicity が上昇する症例を経験していない。凍結手術を含めての免疫内分泌療法が、前立腺癌に対する治療の研究課題の1つである。

(5)

腎細胞癌：進行腎癌に対して Progesterone, 5-FU, 抗プラスミン剤, OK-432 による免疫化学療法を行って

る。長期間、本療法を施行し得た4例中2例が有効であったと考えている。

SVERSON & COLE による癌の自然治癒症例中で最も多いのが腎細胞癌である。この点からも、腎癌の免疫化学療法はさらに研究されるべきである。

(6)

膀胱癌：EVERSONE & COLE の集計の中で、膀胱癌は5番目に多い。免疫療法が期待できるところであり、われわれも OK-432, PSK などをくみ入れた免疫化学療法を行っているが、現在のところまだ評価する段階にいたっていない。

6. 婦人科領域における免疫化学療法

竹内正七

新潟大学医学部産科婦人科学教室

婦人科癌に関する免疫的研究とその知見、また免疫療法の試みも原則的には他科の癌と異なるものではない。しかし、生殖器癌として、また妊娠に関連した癌として多少なりとも趣きを異にしているところもある。また歴史的にみて、婦人科癌に対する免疫療法の中にはユニークな試みもなされてきている。

1. 婦人科癌の免疫的特徴

基本的には他のヒト癌と変らない。外陰癌、膣癌、子宮頸癌は原則として扁平上皮癌である。子宮頸癌は婦人科を代表するものであり、免疫的には外陰癌、膣癌とともにウイルス、とくに Herpes Virus Type II との関連が指摘され、発癌の場に、また癌共通抗原の存在に関係している可能性が示されている。子宮体癌は原則として腺癌であり、ホルモン、とくにエストロゲン依存性の強い癌である。卵巣はヒトの組織、臓器の中で最も多種多様な癌が発生する。上皮性の漿液性および粘液性腺癌が最も popular であり、免疫的解析も多く、抗原の抽出、これによる免疫的診断も試みられつつあり、また共通抗原の存在も示唆されてきている。非上皮性には奇形腫や胎児性癌など特異なものがあり、とくに癌胎児抗原の分析とその診断への応用がなされている。

絨毛癌は本来患者には存在しない胎児側の絨毛上皮細胞が癌化したものであり、この意味で他に類をみないものであり、同種移植腫瘍とみなされている。したがって、抗原の分析にあたっては、癌としての特異抗原と夫由来の組織適合抗原とが考慮されており、これに基づく夫のリンパ球や皮膚による特異的能動免疫が免疫療法の1つとして試行されてきている。また絨毛癌は種々の胎盤性ホルモンを産生分泌する機能性腫瘍 functioning tumor である。

2. 婦人科癌の免疫的パラメーター

1) 子宮頸癌

臨床進行期別に分けて、治療前の DNCB, PPD, PHA 皮膚反応をみると、いずれも 0 期, I 期に比較して II 期以後、とくに III + IV 期に陽性率の低下が観察された。また DNCB 反応の陽性群と陰性群とに大別すると、その再発率は前群に比較して後群で約 2 倍であった。

末梢血リンパ球数, total E-RFC および active E-RFC 数をみると、治療前の値として臨床進行期とともに減少していることが観察された。ただ active E-RFC 数の減少は比較的軽度であった。また PHA 幼若化率は III + IV 期で低下していた。一方、血清の幼若化抑制作用は臨床進行期とほぼ平行して増強することが観察された。

2) 卵巣癌

卵巣癌は開腹後に臨床進行期がなされるので、症例を臨床進行期別に解析することは多数例にならないと困難であるが、入院時の DNCB 皮膚反応を最終的に予後良好群と不良群とに大別して比較すると、後群の陽性率は圧倒的に低く、ほぼ 0% であった。

末梢血リンパ球数, total E-RFC および active E-RFC 数を良性卵巣腫瘍と比較すると、治療前の値として卵巣癌で減少していることが観察された。また PHA 幼若化率, 血清の幼若化抑制作用も同様に卵巣癌で低下, ないし増強していることも観察された。

3) 絨毛癌

絨毛癌の臨床進行期分類は確立されていないが、治療前の DNCB, PPD, PHA, SK-SD 皮膚反応を最終的に予後良好群と不良群とに大別して比較すると、やはり後群の陽性率の低いことが観察された。

末梢血リンパ球数, total E-RFC および active E-RFC 数を良性疾患としての胞状奇胎と比較すると、治療前の値として絨毛癌で減少していることが観察された。また PHA 幼若化率, 血清の幼若化抑制作用も同様に絨毛癌で低下, ないし増強していることが観察された。

この他の婦人科についても、少数例であるが、ほぼ同様の傾向が得られている。すなわち婦人科についても、今日一般的に用いられている免疫的パラメーターが癌の進行と並行して変化すること、またその予後を予測する上に有効であることが観察されてきている。

3. 進行卵巣癌と debulking operation

卵巣癌は入院時, ないし開腹時すでに進行例であることが少なくない。教室ではこのような一般的にはほぼ in-operable とみなされる症例に対し、全身状態や局所所見を充分考慮し、症例を厳選し、少なくとも肉眼レベ

ルで腫瘍の大部分を摘出できると判断された場合に、いわゆる debulking を目的として aggressive surgery を試行してきた。未だ少数例であるので、結論はできないが、少なくとも寛解期間の延長や延命率の向上に有効であることを認めている。大きな腫瘍塊を担荷していることは免疫能を含めて全身的にきわめて不利な状態におかれているわけであり、悪循環にあると考えられる。手術的に腫瘍塊を除去することによりこの悪循環を断つことは免疫的にも大きな意味があると推測され、1つの免疫療法ともみなすことが可能であろう。

4. 婦人科癌と免疫療法

文献的には 1960 年代前半から報告がある。対象は主として進行婦人科癌である。免疫療法の内容としては、癌細胞ないし癌組織のワクチンによったものが多く、1970 年代になると BCG, DNCB (局所), PSK, OK-432, C. parvum などの非特異的免疫療法が化学療法と併用されるようになってきている。しかし、これらの多くは、対照が不十分であったり、いわゆる historical であったりするので、その評価には慎重でなければならない。

1) OK-432 併用による免疫化学療法

教室では既に子宮頸癌や卵巣癌の治療に際して OK-432 を併用してきたが、初期の症例は対照が不備なために、多分に印象的評価の域を出なかった。

絨毛癌についてはとくに精神的に症例を重ねてきており、historical control も含まれているが、その内容を充分吟味しても、OK-432 の併用が患者の免疫能を保持する上に、またその臨床経過や予後に有意義な影響を与えることを観察しており、その一部は既に報告した。また進行例であったが、OK-432 の併用に加え、夫のリンパ球移入や皮膚移植による特異的免疫療法を試み、寛解に到った症例も経験している。

2) randomized study

教室を中心とした新潟県下主要関連病院の提携により、1977 年 11 月から婦人科癌免疫化学療法の randomized study を開始した。現在まで子宮頸癌 206 例を含めて計 263 例に達した。封筒法によって A 群 (免疫療法非併用群), B 群 (OK-432 併用群), C 群 (その他, 主として PSK 併用群) とに選別した。未だ症例の経過期間が短いため、詳細な分析は今後を待たざるを得ないが、とくに進行例で免疫療法の併用が少なくとも患者の免疫能を保持する上に有効であるとの preliminary data を得ており、今後最終的な予後とも合わせて解析を進める予定である。

5. 妊娠現象と癌との対比

妊娠は母体とは体質的に異なる、すなわち同種移植片

として胎児が宿った状態であるとみなされている。この胎児が母体からの免疫的攻撃をまぬがれている機序は今日なお不明である。胎児は self-controlled ないし self-limited であるという点で癌とは趣きが異なっている。しかし、共に宿主に生き続けているのであり、その背景にある免疫的葛藤は、少なくとも今日の免疫学的理論で推論する限り、大いに類似したところがある。同種移植の成立とされる妊娠現象を免疫的に解明していくことは、癌の免疫的研究の場に重大な impact をもたらすと推察される。それがまた我々産科婦人科医の使命であろうと考える。

シンポジウム

化学療法における基礎データと臨床データの関連性

司会 上田 泰 (慈恵医大内科)
清水 喜八郎 (東女医大内科)

1. 基礎と臨床の間隙

五島 瑛 智子
東邦大学微生物

抗菌薬の効果を評価する場合、基礎だけをとり上げても、*in vitro* と *in vivo* の成績が平行しないことがあり、臨床と基礎との間にはさらに多くの因子が存在するため、基礎での評価が、そのまま臨床効果に反映するとは限らず、その間隙は永久に埋めることはできない。しかし *in vitro* と *in vivo* については近年評価法の進歩によって、両者の関連性はかなり詳細に解析され、さらに基礎と臨床との距離を少しでも近づけようとする努力は、基礎および臨床の双方から試みられている。

その現状を整理してみると、大体次のようである。

1. 基礎的評価

1) *in vitro*

in vitro における評価のもっとも端的な表現は、最小発育阻止濃度 (MIC) であり、時に最小殺菌濃度 (MBC) が使われるが、MIC に影響をあたえる要因として、測定法に関する諸条件のほかに、薬剤の性状として殺菌作用の強弱、不活化酵素に対する安定性、透過性、また β -lactam 剤であれば、ペニシリン結合タンパク (PBP) などが問題となる。

2) *in vivo*

in vivo 評価では、多くの場合、実験感染における 50% 有効量 (ED_{50}) で表わされるが、この値は動物種差、薬剤の体内動態、動物の菌感受性、感染菌量の多少、投与方法などによって大きく変動する。

in vitro, *in vivo* の評価が適正な条件で行われても、MIC の値と ED_{50} 値が平行しない場合がある。両者のギャップを理論的につなげるための実験的解析目標は、主として *in vivo*、それも感染動物を対象とした、

感染動物における薬剤の体内動態

動物の感染防衛機能への薬剤および菌の影響

感染治療経過の細菌学的解析

などがあげられる。これらの諸項目については、実験手技が複雑で、手間がかかることや、実験材料を揃える困難さなどから、現在、まだあまり手がつけられていない。しかし *in vitro* と *in vivo* をつなげるための解析法が、この方向にむけられることは確実である。

感染動物における薬剤の体内動態:

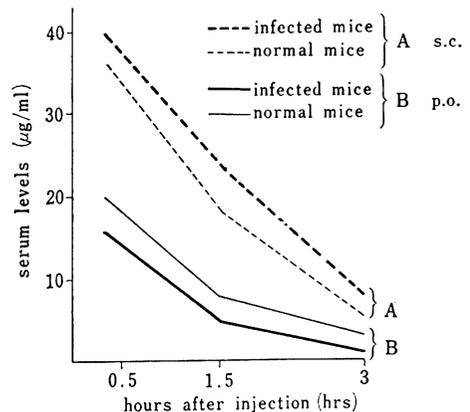
正常動物における体内動態は、各種実験動物において、詳細にしらべられているが、感染動物における体内動態とは必ずしも同一ではない。Fig. 1 は皮下投与、経口投与における血清中濃度を感染マウスと正常マウスでの対比で表わした模式図である。

一般に皮下投与ではマウス血清中濃度は、感染マウスのほうが高く、経口投与では低い値を示す。但し、その程度は薬剤によって異なり、また感染菌の条件によっても変動する。*in vitro* と *in vivo* 成績の間に相関性のみとめ難い場合、あるいは多種の薬剤を比較する場合、実験感染に用いる同一条件での動物での血清中濃度、体内動態がしらべられることが望まれる。

動物の感染防衛機能への薬剤および菌の影響:

ED_{50} あるいはその他の表現で表わされる *in vivo* 効果が、*in vitro* の抗菌力と相関しない場合に考えられる因子として、動物の感染防衛能の影響がある。これは薬剤だけでなく、感染菌の影響も大きいと思われるが、この実験系を組み入れるのはかなり困難である。一般に

Fig. 1 Comparison between normal and infected mice in serum levels of antibiotics



ED₅₀ を求める方法では、マウスを用いるが、同一マウスで白血球の食菌や、血清の殺菌作用をしらべることはむづかしく、また比較的大きい動物では、白血球や血清を得ることはやさしいが、大量の実験感染を行うことが困難であるためである。

しかし、感染菌に対する防衛機能は、動物種によって異なり、例えば *Staphylococcus epidermidis* はヒト血清の殺菌作用はうけないが、ウサギ血清の殺菌作用には感受性を示すように著しい差のあるものがある。したがって異なる動物での成績は、あくまで参考資料として考えるべきである。

感染治療経過の細菌学的解析：混合感染系での治療実験や、薬剤の併用療法を行う場合などには、感染時の実験動物におけるそれぞれの菌の消長、あるいは薬剤の動態を知ることが要求されるであろう。この種の実験系は、投与方法による効果の理論的裏づけを求める場合にも、有効な方法である。

2. 基礎と臨床との間

基礎における各種のデータは、臨床効果の推定に役立つが、*in vitro* の MIC, *in vivo* の ED₅₀ だけでは臨床効果の説明が困難な場合がある。基礎と臨床の間隙を少しでもちぢめようとする試みは

ヒト感染防衛能の影響

各種感染モデルでの治療実験

などに表われているが、この領域の研究はまだ手をついたばかりの感がある。その中のいくつかを紹介し、今後の方向を考えてみたい。

1) ヒト血清の殺菌作用におよぼす抗菌薬の影響 (Fig.2, 3)

グラム陰性桿菌の多くはヒト血清の殺菌作用に感受性を示すことは知られているが、抗菌薬がその殺菌効果にどのような影響をあたえるかをしらべた成績がある。Fig.2 は正常ヒト血清の殺菌作用に感受性の大腸菌であり、Fig.3 は抵抗性の大腸菌株を用いた実験成績の模式図である。ブイヨンのみの場合は菌はどちらも増殖するが、血清中では感性の大腸菌は血清の殺菌作用をうけて、菌数が減少し、抵抗性の大腸菌は血清中でもブイヨン中と同程度に増殖する。この実験系のそれぞれに各薬剤の MIC を加えた時、薬剤によって異なるパターンが生ずる。CEZ は血清に MIC の薬剤を加えても殺菌作用の増強はなく、かえって弱められる傾向を示し、反対に血清中ではブイヨン中より殺菌作用が強くなる薬剤には CFX, CTM, CXM, T-1551 などがある。このような薬剤の特徴について、その理由はまだ明らかにされていない。

2) ヒト白血球の食菌作用におよぼす抗菌薬の影響

ヒト白血球の食菌能は、感染防衛能の中でも大きな役割をはたしているが、薬剤の存在によってその効果は助長される。薬剤によってダメージを受けた菌が、白血球の食菌を受け易くなることは当然であろうが、その程度は薬剤によって異なる (西村ら)。

3) 病的感染モデルにおける治療効果

ヒトの感染の状態になるべく近い感染モデルを設定することの必要性は臨床各領域の特殊性から考えても当然のことであり、各種の感染モデルが試みられている。皮下に限局した感染、呼吸器感染、尿路感染など多岐にわたっているが、今後はさらに多種の菌による混合感染系の設定などが要求されるであろう。

Fig.4 は Cyclophosphamide 処理により実験的に白血球減少症マウスを作り、それぞれの投与量における白血球数と、緑膿菌を感染させた場合の MLD の変動を表

Fig.2 Influence of drugs to bactericidal activity in human serum. *E. coli*(sensitive strain to cidal activity of serum)

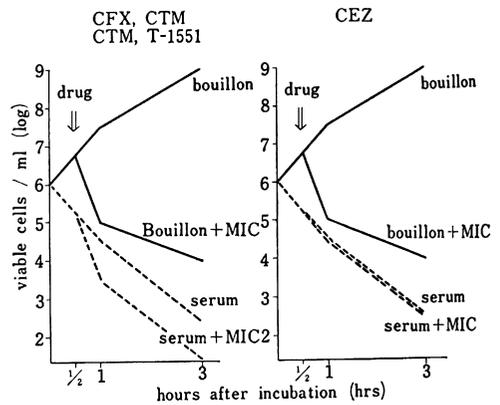


Fig.3 Influence of drugs to bactericidal activity in human serum. *E. coli*(resistant strain to cidal activity of serum)

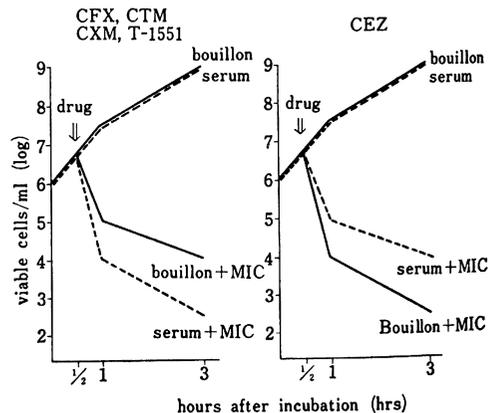


Fig. 4 Change on number of WBC and MLD mice by dose of cyclophosphamide

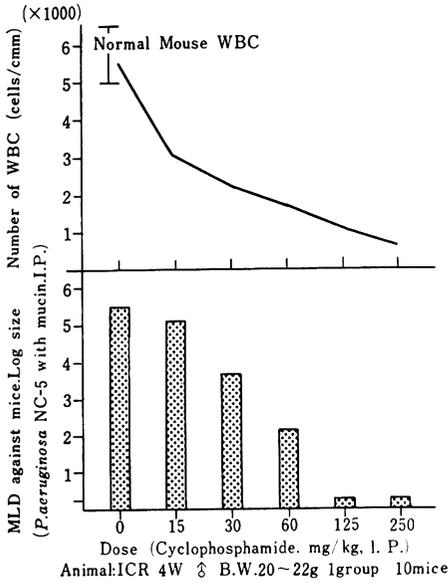
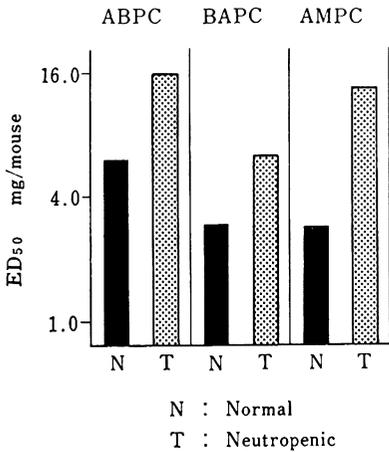


Fig. 5 Comparison between normal and neutropenic mice in protecting effect of various antibiotics challenge : *E. coli* C-11 8×10^8 /mouse

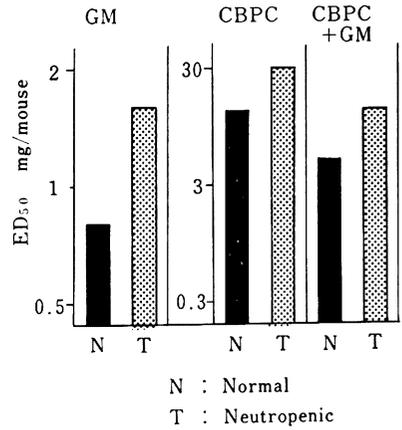


わたしたちのものである。Cyclophosphamide の投与量が大きくなるにつれ、白血球数の減少と、MLD の減少がみられ、感染しやすい状態となっていくことが示されている。

Fig. 5 は 250 mg/kg 処理マウスに大腸菌を感染させ、ABPC, BAPC, AMPC をそれぞれ経口投与した場合の ED₅₀ を、正常マウスと比較した成績である。

Fig. 6 は同様の実験を緑膿菌感染で行い、GM, CBPC, CBPC と GM の併用で治療した成績である。いずれの

Fig. 6 Comparison between normal and neutropenic mice in protecting effect of various antibiotics challenge : *P. aeruginosa* NC-5 6×10^5 /mouse



場合も正常マウスより白血球減少マウスのほうが、治療に大量の薬剤を必要としており、この種の感染における抗菌薬治療の困難さの一端が示されている。

臨床における感染症に、混合感染、重複感染、あるいは他の基礎疾患を伴う感染例が増加している現状からも、臨床効果を推測するための各種実験はますます必要となるであろうが、一方、多岐にわたる臨床での感染様式が拡大し、宿主の条件が複雑になるにつれ、基礎と臨床との間隙は一層深まるとも考えられるのである。そしてその間隙をつなぐことのできるの、種々のデータを適確にとらえ、個々の症例に有効に活用することのできるすぐれた臨床家の眼であるといえるであろう。

2. 基礎と臨床の関連

清水喜八郎
東京女子医大内科

第 21 回の東日本総会シンポジウムにおいて基礎と臨床との関連ということで、私の考え方を述べたが、現在においても原則的には異なる所はない。

五島先生の題が基礎と臨床との間隙という題に対して、私は基礎と臨床の関連と一字の差であるが、基礎の立場からすると、間隙はうまらないのだという冷さを感じるが、これは動物と人間の間隙の問題が前提にたったものと考ええる。

基礎的検討が臨床への情報として提供されるものは、今述べたその間隙がどうしてもうまらないものと、現在きわめて重要な情報としてだされているいくつかのものがあるわけで、その代表的なものが、まず抗菌力の評価

である。

In vitro の抗菌力の測定値の臨床的意義については、多面的な見方から、かなりはっきりしてきたが、臨床との関係をとらえてゆくうえには、いくつかの問題が残され、その1つとしての接種菌量の問題にしても、必ずしも明確でないことは国際的にもかなりまちまちであることから理解できそうである。

近年ルーチンに検討されるようになってきた菌の形態的变化の臨床的意味づけとの関係についても注目すべきことであり、常識的には低濃度で溶菌する *cidal action* の強いものが有利であることが推察されえるが、その *process* が *In vitro* でかなり詳細に調べることが可能になってきた現在、ただその事実の列挙だけでなく臨床との手ごたえとの関連を何らかの形で把握することも今後の問題であるのかもしれない。

次に *In vitro* 抗菌力であるが、攻撃菌量、代謝パターン、投与方法の違いなどいくつかの問題はあるものの、比較的よくコントロールされた動物感染防禦実験は、ヒトにおける有効性のある程度類推できうと思う。

しかし現在でもこのモデルは、感染症治療を目的としたモデルではない。したがってよりヒトで適応となる臓器感染症、起炎菌を含めての実験モデルを必要とするものであるし、またヒトに似た病態モデルの作成が望まれる。その上で、投与回数など投与方式を含めての治療実験が必要であり、基礎と臨床の共同研究がおこなわれるべきであることを痛感するとともに、現在では動物とヒトとの病態の差をいかに把握するかということに焦点がしばられる。

薬の側からみると、薬と菌の出会いの必要なことはいうまでもない。まず健康成人における血中濃度、尿中濃度の成績から理論値を設定するが、それ以後必要なのは生理的変動を含めて病的状態との差を知ることである。とくに病巣移行性の把握が、適正投与量につながることはいうまでもない。

薬理学的な意味からの体液濃度の測定は、HPLC, radioimmunoassay, enzymeimmunoassay の測定は大きな貢献をしめしているし、また将来さらに貢献することも充分予測でき、今後大いに活用すべきものであろう。しかし、病的材料の測定には今後も *bioassay* の意義は大きく、それが *clinical* なアプローチにつながる事が理解できる。代謝についての、基礎成績は、動物と人との間隙のうまらないもので、年齢差などを含めての代謝を、動物レベルで考えるべきである。ヒトと同じパターンをしめす動物がえられないとすると、動物の成績から、*phase I* に入る保証をえなくてはならないし、

また *phase I* からえられた成績を精密に分析して、予想との違いを検討する以外には方法はないわけでありヒトのことはヒトでおこなわなくてはならないという極めて当り前の結論になってくるし、代謝経路による毒性についてもヒトにおける危険性を未然に知りうる方法も、今後へのこされた問題で、基礎と臨床の大きな間隙である。

臨床に関連のある基礎データのなかで、もっとも、その意義が、不明であり、いわば検討がすすんでいない領域が蛋白結合の問題である。

血清蛋白結合に、動物種差のあるのが知られたのは、*cefazolin* が始めてであり、その後比較的最近の薬剤としては、*cefmetazole*, T 1551 があげられる。

血清蛋白結合が、動物実験のレベルで体内分布、病巣移行に影響があるとすれば、動物のレベルにおいて、その結合率についての配慮が必要であり、その成績を基としてヒトとの関係を推察する必要があるのかもしれない。その結合定数、結合部位、強さおよび抗生物質間の競合を *in vivo* で知ることが可能になりつつある現在、今後、臨床的意義が明らかになるかもしれない。

結合定数 K 、最大結合量 n を測定し、ついで蛋白結合の強さをみるために、*in vitro* で結合定数 k 、最大結合量 n の同程度の CEZ, T 1551 の競合を *in vitro* で蛋白結合率の同じウサギ血清、ヒトアルブミンについてみると、CEZ に T 1551, T 1551 に CEZ を加えることによって各々の結合力は低下が認められ、このような事実は蛋白結合の強さの薬剤間の競合以外に蛋白結合と体内分布、ひいては、病巣移行の関係を推察できうる可能性があるかもしれない。

またラット肝エマルジョンなどと薬剤の結合と、ラット血清蛋白との結合の関係をみたものであるが、*novobiocin*, *Apalcillin* は、両者ともに結合が強く、ついで T 1551, *piperacillin* の順であるが、T 1551 で血清と肝との間に差があることは、あるいは動物と人との体内パターンとの差を示す要因であるならば、動物と人の体内パターンとの差を説明できる手がかりになるかもしれない。つまり基礎から臨床への移行への資料を提供しうる夢もありそうである。この領域の研究も今後の基礎と臨床の関連のためのデータを提供できるかもしれない。これを *in vivo* でみると、ウサギに CEZ, T 1551 併用時は単独投与時に比して各々の血中濃度は、低く推移し T 1551 5分, 15分値で有意差が認められ、その原因は胆汁では差は認められず尿排その他で差のあることがしられた。このことは、ヒトにおいても同様の傾向がみられ、尿濃度は併用時に T 1551 の 15分, 30分値で有意差がみられ、このことは *free* 体は尿から排泄される

ことがしられた。このことは蛋白結合の強さと体内分布との関係を示唆すると思われる。

CEZ T 1551 の結合率は APPC の共存で差はないが CEZ の共存で APPC の結合率は低下を示す。ウサギ *in vivo* で併用時は CEZ の血中濃度は単独に比してやや高く、APPC 濃度は低下、とくに5分値で有意になる。この事実も蛋白結合が体内分布に関係あることを類推できえるような可能性をしめす。

以上、基礎と臨床の関連を主として、今後の問題を中心に述べてきたが、従来は、基礎成績が行政上の製造許可の資料として作成に努力がむけられて、より臨床への関連が目標した努力が、ややなおざりにされている傾向がなかっただろうか。5年前のシンポジウムに比べれば、かなりの前進があったことは評価すべきであるが、私は臨床側から、さらに正確な要求を基礎側に行うべきであって、その意味が最初の私の演題の関連という言葉につながるのではないかと考える次第である。

3. 尿路感染症：臨床分離株の問題

熊 沢 浄 一

九州大学泌尿器科

新しい抗菌剤が開発され、臨床検討が行なわれる際の問題点で、尿路感染症検討の立場から若干の検索を行ってみる。

1. UTI 薬効評価基準

泌尿器科専門医の中で、尿路感染症に関心を抱くものが集まり大越正秋東海大泌尿器科教授を中心にして Urinary Tract Infection 研究会(UTI 研究会)を設けている。抗菌剤の薬効を評価する基準を第2版まで作製し、一般的な診療機関であれば、大きな誤差なく判定可能な薬効評価判定基準を提示している。もちろん、まだ多くの問題があり、最良の評価判定法とは思っていないし、現在新たな検討も行っているの、いずれ第3版が公表されることになっている。現在の第版では、急性単

純性膀胱炎と複雑性尿路感染症の2つに大別して薬効を評価することになっている。実際には急性単純性腎盂腎炎などもあり、これは現在の検討課題となっている。

急性単純性膀胱炎では3日間投薬し4日目に薬効を評価し、複雑性尿路感染症では5日間投薬し6日目に薬効を評価することになっているが、これは多数の抗菌剤治療経験成績を集計した結果から、最も適正な判定日と考えられたものである。複雑性尿路感染症は単独、混合感染の別、カテーテル留置の有無別などにより6群に分けても検討することになっているが、抗菌剤の特徴を見極めるのに有用である。なお、この判定法は薬効の評価のためのものであり治療効果の判定法ではない。

2. 臨床分離菌株

新しい抗菌剤が開発された折は、まず各種細菌の標準株に対する抗菌力を検討し、次で臨床分離株について同様の検索を行って、すぐれた成績を得たならば臨床検討に移るのが普通の開発ステップである。ところがこの「臨床分離菌株」と称するものを如何なる材料から分離したのかについては余り明示されていない。

尿路感染症ではカテーテル留置の尿路感染症は難治性とされている。最近開発された Cefalosporin 系薬剤の比較試験の成績をみても明らかにカテーテル留置例のほうが非留置例よりも尿中細菌の消失率は低くなっている (Table 1)。しかし G 剤はカテーテル留置例の細菌消失、減少率は非留置例よりも低率であるが H 剤ほどではなく、G 剤の特性が、これからだけでもうかがうことができる。カテーテル留置例のほうが消失、減少率の低い理由は、分離される菌種、その薬剤感受性にあると思われる。最近開発された Cefalosporin 系2薬剤の薬効を検討したところ、カテーテル留置例からは *Serratia*, *Proteus* 属などが非留置例よりも多く分離されており、菌種別に検討してみると *E. coli*, Indole 陽性 *Proteus* などではカテーテル留置例よりのもののほうが非留置例のものよりも高い MIC を示していた。この成績から、少くとも尿路感染症に関しては臨床分離菌株も、その材

Table 1 Influence of indwelling catheter on efficacy in bacteriuria

Indwelling catheter	Drug	No. of cases	Eliminated (%)	Suppressed (%)	Replaced (%)	Unchanged (%)
+	G	36	8(22.2)	1(2.8)	9(25.0)	18(50.0)
	H	28	2(7.1)	9(25.0)		
-	G	48	20(41.7)	2(4.2)	11(22.9)	15(31.3)
	H	59	18(30.5)	22(45.8)		
				20(33.9)		

料を明確にし、とくにカテーテル留置例からの分離株は別に MIC 値をまとめて提示して頂ければその抗菌剤の特性がかなり推測できるものと考えられる。

10 数年来私は、急性単純性尿路感染症には感受性の有無にかかわらず、すべての抗菌剤は高い有効率を示し、複雑性尿路感染症には感受性の有無にかかわらず、すべての抗菌剤は低い有効率しか示さないと報告してきた。ところが最近開発された新しい合成抗菌剤と Cefalosporin 系薬剤の薬効を検討したところ、急性単純性膀胱炎では J 剤は確かに感染性の有無にかかわらずよく奏効しているが I 剤は感受性成績と臨床効果には関係が認められ (Table 2)、複雑性でも J 剤は感受性成績に関係ないが、K 剤は感受性成績と臨床効果の間には大きな相関が認められる (Table 3)。すなわち先の報告に一致しない抗菌剤が登場してきている。したがって米国などで行われている、感受性を認める細菌を分離した症例についてだけ臨床効果を検討する方法もかなり有意義な方法と考えられる。従来からの方法、すなわち感受性には関係なく使用した症例すべての成績の検討と共に感受性を

Table 2 Sensitivity and overall clinical efficacy (acute cystitis)

Drug	Sensitivity	Overall clinical efficacy		
		Excellent	Good	Poor
I	卅, 卅	30	17	6
		88.6%		11.4%
	+, -	2	5	6
		53.8%		46.2%
J	卅, 卅	17	18	1
		97.2%		2.8%
	+, -	18	16	2
		94.4%		5.6%

Table 3 Sensitivity and overall clinical efficacy (complicated UTI)

Drug	Sensitivity	No. of cases	Overall clinical efficacy		
			Excellent	Good	Poor
J	卅, 卅	13	3	7	3
			76.9%		23.1%
	+, -	27	2	13	12
			55.0%		44.5%
K	卅, 卅	15	5	4	6
			60.0%		40.0%
	+, -	24	1	2	21
			12.5%		87.5%

認める細菌を分離した症例だけの成績の検討も行ったほうが、その抗菌剤の特性がより明確になるのではないかと考える。

3. 無芽胞嫌気性菌 (嫌気性菌と略す)

感染症ありと主治医が判断し、抗原剤を投与開始したにもかかわらず、投与前の尿培養の結果、細菌が生育しないので、薬効評価検討対象から、除外される症例はかなりある。何等かの抗菌剤がすでに投与されていたために細菌が生育しなかったものももちろん含まれているが、嫌気性の関与も考えられる。嫌気性菌は培養方法が好気性菌と比べるとやや煩雑であるので、日常慣用検査となっていない機関も多いが、尿路感染症例、とくに複雑性症例の尿中からはかなり分離されるものである。家兎を用いた動物実験でも尿路閉塞の水腎症を作製すれば嫌気性菌によっても腎盂腎炎を発症することを認めている。尿中白血球は余り減少しないが、細菌が陰性化したので薬効評価は有効と判定されたものの中にも、或いは嫌気性菌により感染が続いているものがあるかも判らない。新しい抗菌剤の基礎的検討では嫌気性菌に対する MIC 測定は必ず行われるようになったが、抗菌剤の種類によっては、臨床的検討の折も嫌気性菌の検索を可能な限り行う必要があると考える。

ま と め

尿路感染症検討の立場から、新しい抗菌剤の臨床検討の際の問題点について報告した。

単純性、複雑性に分けて検討する UTI 薬効評価基準 (第 2 版) は極めて妥当な方法であること、臨床分離菌株の感受性成績は、出来ればその分離した材料を明示し、尿路から分離されたものはカテーテル留置、非留置別に提示して頂きたいこと、臨床効果の検討には感受性を認める細菌を分離した症例についてだけの成績も別にまとめて報告したほうが有用であること、無芽胞嫌気性菌についての検索も必要な時があることを略記したが、この他にも今後に残された問題点が多いことを最後に付記しておく。

4. 尿路感染症について——主として MIC 累積 % curve からみた有効率の検討

熊本悦明
札幌医大泌尿器科

感染症に対する抗菌剤の治療効果を論ずる場合、薬剤の特性に関する問題は別にしても④宿主の条件や⑤薬剤の臓器内濃度などを考慮して検討しなければならないことは、あらためて言うまでもない所であろう。

そこで演者も、担当する尿路感染症における、⑥およ

び⑤に関する問題点を 2, 3 検討してみたので、その成績について述べてみたい。

④ 宿主の条件

尿路感染症の治療の難易度は尿路における尿流停滞の有無またその停滞度によって左右されることが多い。その停滞度により尿路感染症を分類すると次の 3 群に分けられる。

I 群：単純性……尿流非停滞型

II 群：複雑性……尿流停滞型

III 群：カテーテル留置

この I, II, III 群の順に治療成績は悪くなる。その理由は種々あげられているが、この問題に関しては、泌尿器科領域のもう 1 人の演者 熊沢博士が詳細に報告されるので演者は省略する。

⑤ 薬剤の尿中濃度

次に実際に治療する時点で問題となるのは起炎菌の MIC のだいたい何倍くらいの尿中薬剤濃度が必要であるかという点である。

前述の I, II, III 群でそれぞれ条件が異なり、一律には決め難いが、必要尿中濃度に関するいちおうの目安になる法則が決められれば、臨床上極めて有意義であり、それは西浦常雄教授の clinical effective dosis の概念につながるものといえよう。

その点を検討するため、演者は、女子急性単純性膀胱炎 (I 群) において、投与薬剤量を段階的に変えてその治療効果を分析している。現在まで検討した 5, 6 種類の薬剤の成績を紹介しながら、MIC 累積 % curve と治療成績に関する dose response curve とを比較検討したい。

最近の AB-206 の MIC 累積 % curve と治療成績の dose response curve を検討すると平行関係にあることがわかる。この data で興味深いのは、治療成績 curve (治療中の尿中濃度と細菌消失率とで plot した点を結んだもの) は、累積 % curve より 4 倍、高濃度方向に移動したものと一致することである。これは 4MIC の濃度が常にあれば、急性膀胱炎においては細菌が消失することを意味している。他の薬剤についても同様な検討を行って報告する。

また複雑性疾患については複雑度が増すにつれて影響する因子が多くなり簡単な結論を得るのは難しくなっている。

しかし 2 剤で同量投与比較を行った成績で、菌消失率 curve と MIC 累積 % curve を書き、検討すると、1 つの結論が得られるように考えている。

5. 呼吸器感染症：臨床評価のための

基礎資料

原 耕 平

長崎大学医学部第二内科

新しい抗生物質が開発されると、これが臨床的に応用されるための前段階として、種々の基礎的な検討が行われることは当然である。これには、主として細菌への作用機作にも関連する抗菌力の面と、薬剤の生体における代謝や臓器親和性ないしは蛋白結合に関連する抗生剤の体内動態と、の 2 つが大きな柱となっている。

私は、ほぼその投与量が類似し、殺菌的な効果を示す近年開発された数例づつの広域セファロスポリン系抗生剤とペニシリン系抗生剤を選んで、対象を呼吸器感染症にしぼり、その臨床効果の判定に参考となる基礎資料を検討してみた。

1. *In vitro* の MIC と菌消失率

まず新しい広域セファロスポリン系抗生剤の 1 つである Cefoxitin について、その MIC と菌消失率との関連を検討してみた。*In vitro* における MIC は試験薬剤の有効な微生物群と無効な微生物の分布を明らかにするものであるが、これが臨床的な有効、無効をそのまま示すものかどうかには問題があると考えたからである。本剤がディスクで 11 以上の判定でであるであろう濃度、すなわち 10 $\mu\text{g/ml}$ の濃度に区切って、MIC からみた感受性菌による感染症の菌陰性化率ないしは臨床効果と、非感受性菌による感染症のそれと比較してみた。呼吸器系臨床症例 121 例のうちの、いちおう起炎菌が判明した 57 例で、感受性菌と考えられた菌と考えられた菌の消失率は 76.5% (17 例中 13 例) で、非感受性菌のそれは 42.5% (40 例中 17 例) とかなりの差が認められた。しかしその臨床効果には差は認められなかった。過去の新薬の open trial の成績の表現法から考えると、今後このような新薬剤の菌陰性化率をみてゆく場合には、感受性菌だけの菌陰性化率と検出菌全体の菌陰性化率とを併列して成績を出すのがよいのではないかと考えた。さらにこれら MIC の濃度から効果を判定する場合、その薬剤の病巣内濃度を加味した菌の MIC から検討した菌陰性化率および臨床効果をみることも大切で 6 種のセファロスポリン系抗生剤についてこれを比較してみたところ、1 剤を除いて、いずれも病巣内濃度以下の MIC を有する菌によって惹起された感染症における効果が勝れている成績が得られた。このことから局所の抗生剤の病巣内濃度を加味した菌の MIC でみてゆく方法は、その菌陰性化率を判定する場合の 1 つの指標になるものと思

われた。

2. 喀痰内濃度と臨床効果

薬剤の喀痰内濃度と臨床効果との関連について検討を加えてみた。喀痰内濃度の測定には投与量を一定せずに行っていることもあるため、これを或る程度客観的に評価する方法として、私は最高血中濃度に対する最高喀痰内濃度の比を出してみた。近年開発されたセファロスポリン系抗生剤の6剤について、各薬剤毎3人について、血中および喀痰中濃度を経時的に測定し、その移行比の平均値を求めた。これらの6剤は、抗菌力のパターンはいくぶん異なるところはあるが、ほぼ投与量が同じ広域静注用のセファロスポリン剤である。その喀痰内移行がよい順に、A, B, C, D, E, F(移行比の平均値は 4.48, 3.56, 2.62, 1.49, 1.28, 0.91)の記号を設けた。これらの除菌効果および臨床効果については、いずれも新薬シンボジウムブツレットの中の呼吸器感染症だけに絞って集計し、使用した。菌の陰性化率は喀痰内移行の順位と極めてよく相関し(A=81.5%, B=82.8%, C=72.2%, D=68.4%, E=64.4%, F=63.8%), その順位は1位と2位が入れ換ったにすぎなかったが、臨床効果についてはC>B>A>>D>E>F(C=81.4%, B=77.2%, A=71.8%, D=69.2%, E=68.1%, F=67.8%)の順となった。とくに上気道炎がウイルスの関与が多いことを考え、これを除外して集計を行ってみたが、その順位は殆んど変らなかつた。この6剤の中でとくにC剤の臨床効果がよかつた理由の1つは、他剤に比べて10~100倍の抗菌力を或る程度の幅で有していたことがその理由と考えられた。

同様の虚理を近年開発された静注用広域ペニシリン剤で、新薬シンボジウムの終了した4剤について検討してみた。この場合も喀痰内移行比はほぼその臨床効果と平行した成績を示した(喀痰内移行比はG=3.77, H=1.07, I=0.80, J=0.32であったのに対し、臨床効果はG=68.3%, H=70.9%, I=65.8%, J=56.8%)。

これらの成績は、呼吸器感染症の場合、MICと共に抗生剤の喀痰中への移行濃度が、菌陰性化率、ひいては臨床効果に影響を及ぼすものと考えられた。

3. 各個症例の喀痰内濃度と臨床効果

各個の症例でさらに厳密に検討する場合は、病巣内の菌がその薬剤にどれほどの感受性を有しているか、実際に何 $\mu\text{g/ml}$ 位の濃度の薬剤が気道内に移行しているのか、さらには病巣内の菌量の推移がどうなるのか、という3者の関連が大切である。喀痰内細菌を分離し、その投与抗生剤に対するMICを濃度法で確かめてみると、その病巣内移行の薬剤濃度からそれが有効か無効かの推定ができることがあるが、これはちょうど結核菌の耐性

検査において臨床的な耐性の限界を定める理論に全く合致するものと考えられた。

しかしこのような喀痰内濃度は、臨床的には慢性気管支炎や気管支拡張症などの、いわば慢性気道感染症において、かなりの量の膿性痰が喀出されるのでなければ測定できないことが多く、しかもその移行にはMAYの言う、blood-bronchus barrierの概念があるので、実質性の炎症すなわち細菌性肺炎や肺化膿症などには適応できないことを考えておかねばならない。

4. 動物における肺内濃度の臨床効果への反映

前述のほぼ投与量が同じセファロスポリン系抗生剤をkg当り40mgという同一量3匹ずつのラットに筋注し、1時間目における血中および肺内濃度を測定してみた。これを全く単純に、実質性炎症としての肺炎および肺化膿症だけの臨床成績と比較してみたが全く平行しなかつた(ラットの肺内濃度比はA=34.9, B=8.9, C=18.5, D=28.5, E=28.9, F=34.1で、臨床効果はA=78.3%, B=81.6%, C=86.7%, D=70.0%, E=71.3%, F=67.9%)。投与量やラットという動物中での代謝の問題や、また人で炎症も惹起する際の基礎的条件の差など多くの問題があるものと考えられた。

5. 呼吸器感染症の病態別による効果の差異

臨床的にも、肺炎や肺化膿症では未だグラム陽性菌ないしは大腸菌による感染が多いのに対し、慢性気道感染症では、ヘモフィルスや緑膿菌などが主体を占めるといふ病因的条件と共に、抗生剤がbronchusに入り易いかどうかによって効果に差が認められることが考えられた。

数種の検討に足る症例数のあるセファロスポリンおよびペニシリン系抗生剤について、実質性炎症と慢性気道感染症とに分けてその効果を比較してみた。セファロスポリン系抗生剤の肺実質性炎症に対する有効率はB=81.6%, C=86.7%, E=71.3%, F=67.9%, 慢性気道炎のそれはB=60.7%, C=74.5%, E=61.3%, F=67.6%で、ペニシリン系抗生剤では肺実質性炎症に対する有効率はG=76.5%, I=71.2%, J=61.5%, 慢性気道炎に対するそれはG=38.1%, I=60.0%, J=50.0%となった。後者の成績が前者の成績に著しく劣るものと、或いは余り差を認めないものがあることが分つた。今後は薬剤の効果の評価にも、このような病態の差によって差が生じてくるかどうかを、基礎的な資料と対比しながら検討してゆく必要があろうと思われた。

以上、私は菌のMICと薬剤の臓器内濃度の面から論理を展開し、それに基づいて行った実験が臨床面の成績とどれほど平行しているかを検討してみたが、幸に成績の平行するものもあり、また全く平行しないものもあつ

た。いずれにしろ、病巣に存在する菌の種類と菌量、その MIC を把握して、病巣内の薬剤濃度を検討してゆけば、ある程度の効果を予測することは可能と思われたが、それらの条件は各個体の感染病態によって異なっていて、総合的な予測を立てる基礎データを何に求めてゆけばよいかは、極めて難かしいことを感じさせられた。従って今後この問題を解決するためには、病態をさらに細かく分けて臨床成績を纏めてゆくことが必要と思われた。

6. 呼吸器感染症：比較試験成績を中心として

三木文雄

大阪市立大学第一内科

薬剤の臨床評価手段の1つとして、比較試験が慣例的に実施され、抗菌剤についても、開発段階において比較試験が要求されているのが現状である。

今回、過去数年間に実施された、呼吸器感染症を対象とした比較試験について、得られた成績と基礎データとの関連性について検討を行なってみた。それらの成績を基として、抗菌剤の評価手段としての比較試験について、2, 3の考察を加えたので、私見を混えて述べてみたい。

Table 1 は、実施した比較試験における試験薬剤と対照薬剤の組合せとその投与量、対象疾患を一括したものである。第I群は、*in vitro*の抗菌力の上で、本質的な差のない2つの抗菌剤の比較、第II群は、同一系統の抗菌剤同志であるが、*in vitro*の抗菌活性の上でかなり大きな相違点のある薬剤間での比較、第III群は、異なる系統の抗菌剤同志での比較である。

以下、それぞれの比較試験について、比較した両抗菌剤の *in vitro* あるいは *in vivo* 抗菌活性の比較、比較試験を実施した投与量、投与方法での血清中濃度の推移の

比較、それらと、得られた臨床効果の比較成績を対比してみた。

1) AMPC : ABPC

AMPC 1日 2g ならびに 1g に対して ABPC 1日 2g の比較であるが、血清中濃度は AMPC 1g と ABPC 2g がほぼ同様、AMPC 2g がそれらの約2倍の高値を示す。両薬剤同時に同一条件で行なわれたマウス実験感染における ED₅₀ 値を比較すると、AMPC の高い血清中濃度と殺菌力の強さを反映して、耐性菌以外では、ABPC より AMPC のほうがすぐれるとの成績が示されている。肺炎を対象とした比較試験の成績は、AMPC 投与群に著明例が高率に存在するが、各群の症例数が少ないことも関連して、3群間に有意差は認められていない。この場合、AMPC 2g と 1g の間にも、血中濃度の差を反映せず、有意差の認められなかったことが注目される。

2) BAPC : AMPC

血清中濃度は両薬剤間に大差がなく、ED₅₀ においても両薬剤間に殆んど差がないか、AMPC がややすぐれた成績が示されている。肺炎に対する臨床成績においても両群間に有意差は認められていない。

3) CED : CEX

in vitro の抗菌活性の上でも、吸排の面でも殆んど差のない CED と CEX の比較であるが、ED₅₀ においても両薬剤間に差のない成績が示されている。肺炎に対する臨床効果は、CED 投与群に著効例が、CEX 投与群に無効例がやや多い成績であるが、両群間に有意差は認められていない。

4) CTZ : CEZ

in vitro の抗菌力は両薬剤ほぼ同等と考えられるが CEZ に比べて短い血中半減期を示す CTZ は、ED₅₀ においても CEZ より劣るデータが示されている。肺炎に対する臨床効果では、血中濃度の成績とは逆に、CTZ

Table 1 Comparative studies in R. T. I.

	Antibiotics	Dose (g/day)	Indication
I	1) AMPC : ABPC	2, 1 : 2	Pneumonia
	2) BAPC : AMPC	1 : 1	Pneumonia
	3) CED : CEX	2 : 2	Pneumonia
	4) CTZ : CEZ	2 : 2	Pneumonia
II	5) CFX : CEZ	4 : 4	Pneumonia
	6) CMZ : CEZ	4 : 4	Chr. R. T. I., Pneumonia
	7) APPC : CBPC	2 : 4	Chr. R. T. I.
	8) PIPC : ABPC	4 : 2	Chr. R. T. I., Pneumonia
III	9) CED : AMPC	2 : 1	Pneumonia
	10) FOM : SBPC	4 : 4	Chr. R. T. I.

のほうに著効例が多く無効例の少ない成績であるが、有意差は認められていない。

5) CFX : CEZ

6) CMZ : CEZ

in vitro の抗菌活性においては、 β -lactamase 安定性という CMX, CFZ の特性により、*P. vulgaris* に対する抗菌力は CEZ に比べて CFX と CMZ はかなりすぐれているが、グラム陽性球菌に対する抗菌力は CEZ に対して CFX, CMZ とともに劣り、とくに CFX と CEZ の間でこの差が大きく認められる。*E. coli*, *Klebsiella* に対する抗菌力では CFX は CEZ より劣り、CMZ は CEZ よりすぐれ、*H. influenzae* に対しては CFX, CMZ とともに CEZ よりすぐれているが、とくに CMZ と CEZ の間で差が明らかである。ED₅₀ の比較においても、*Serratia*, *Indole (+) Proteus*, CEZ 耐性 *E. coli*, *Klebsiella* などでは CFX, CMZ が CEZ よりすぐれたデータが示され、グラム陽性球菌では CEZ のほうがかなり小さい ED₅₀ の成績も存在する。

この2つの組合せのように、抗菌力がある菌種に対しては一方が強く、別の菌種に対してはもう一方の薬剤が強いというように、抗菌力が個々の菌種についてかなり相違する場合、その2種の抗菌剤は感染症の起炎菌が何であるかということにより、当然正しく使い分けるべきである。しかしながら比較試験においては、両薬剤を無作為に投薬する必要上、起炎菌が判明していても、いずれの薬剤が投与されるかは全く不明の状態、すなわち blind にして実施するか、blind にせずに比較する場合においても無作為に割付けられた投薬順序を変更しないというとり決めを守ることが必要となる。したがって、実際に比較試験薬剤を用いて患者の治療を行なう bed side の医師の立場に立つと、どちらか一方の薬剤が割付けられた場合には抗菌力が無いかあるいは極端に劣るために、治療効果を期待し得ないような起炎菌による感染症患者をその比較試験の対象にすることには躊躇せざるを得なくなり、どちらの薬剤が投薬された場合にも治療効果を挙げ得るような患者だけを対象に選ぶこととなり、その結果、個々の薬剤のもつ基礎データでの特徴を臨床的に生かすことは不可能とならざるを得ない。

この2組の比較試験の際に、実際に投薬された症例の起炎菌をみると、起炎菌不明例が多く明確なことは言い得ないが、比較両薬剤に対して明らかに異なる感受性を示す菌の分離例はきわめて少なく、肺炎とともに慢性気道感染症も対象疾患とした CMZ と CEZ の比較においては *H. influenzae*, *Klebsiella* など CMZ によりよい感受性を示す菌が比較的多く、治療効果の上で CMZ のほうが有利ではないかと考えられ、一方、肺炎だけを対

象とした CFX と CEZ の比較においては、分離菌の上で CFX が有利であるとは考えられない。

実際の比較試験の臨床効果においては、CMZ は CEZ よりすぐれ、逆に CFX は CEZ より劣る成績が得られた。CFX の血中濃度のピーク値が CEZ のほぼ 1/2 であり、血中半減期も CEZ よりはるかに短かいにも拘わらず、CEZ と同一投与量、しかも1日2回投与で CEZ と比較したことも CFX 敗因の1つと考えられる。

7) APPC : CBPC

8) PIPC : ABPC

in vitro 抗菌活性についてみると、APPC は *S. aureus*, *S. pyogenes*, *H. influenzae*, *E. coli*, *Klebsiella*, *P. aeruginosa* のいずれに対しても CBPC より抗菌力がすぐれ、とくに *P. aeruginosa*, *Klebsiella*, *E. coli* でその差が大きい。一方、PIPC はグラム陰性桿菌に対しては ABPC より抗菌力がすぐれ、グラム陽性球菌に対しては ABPC より劣り、感染予防実験でも同様の成績が示されている。

これらの基礎データを考慮に入れて APPC と CBPC は 2g : 4g, PIPC と ABPC は逆に 4g : 2g で比較が行なわれたが、結果は共に有意差が認められていない。PIPC と ABPC の比較試験においては、グラム陽性球菌感染が多いと考えられる肺炎において、かえって PIPC がすぐれる傾向が認められたことに興味ももたれる。PIPC と ABPC の比較試験において、ABPC 投与群の8例で *P. aeruginosa* が分離されており、もしこれが真の起炎菌であるとすれば、これらの症例は placebo により治療されたことにならう。

9) CED : AMPC

10) FOM : SBPC

この2つの比較試験において、抗菌活性その他基礎的性質でかなり異質の薬剤が対照薬剤として選ばれた根拠は、対象疾患を治療し得る薬剤同志で比較したということである。

CED : AMPC, FOM : SBPC いずれの組合せにおいても、抗菌スペクトラムの上で比較両薬剤間にかんがいの差のあることは基礎データの上から明らかであるが、比較試験の成績は、いずれの比較においても差は殆んど認められていない。

CED と AMPC の比較試験において、起炎菌としての *H. influenzae* 分離例がすべて AMPC 投与群に含まれ、*Klebsiella* 分離例も AMPC 投与群に多数存在したが、もし逆に、これらの症例が CED 投与群に集っておれば CED の無効例が増し、AMPC の無効例が減る結果、得られた成績は異なっていた可能性のあることは推論に難くない。

結 語

以上、これまでに実施して来た呼吸器感染症を対象疾患とした比較試験について、得られた成績と比較両抗菌剤の基礎データとの対比を行なった。

臨床的に感染症に対して化学療法を実施する場合には、確実な効果を期待して患者の治療を行なわねばならないことは言うまでもない。したがって、かなり余裕をもった投薬量で治療するのが通則であり、ある程度までの基礎データの差を臨床効果の差として認めることは困難といえよう。一方において、最近次々と開発される抗菌剤と既存の抗菌剤の比較のように、抗菌活性あるいは体内動態の上で明らかな差のある薬剤間での比較試験を実施した場合には臨床効果の上でも有意差が出るようになるが、一方の薬剤が inactive placebo になるような比較試験は道義的にも実施するべきではないであろう。あえて実施した場合は、どちらの薬剤であっても治療効果を挙げ得るような疾患だけを対象に選ぶ結果、それぞれの抗菌剤の特徴を生かした状態での薬効比較にはなり得ないであろう。

以上のことから、比較試験における臨床成績はその薬剤の基礎データと合致しないのは当然の結果であり、抗菌剤の臨床評価に際しては、基礎データを基として、理論的にも治療効果を発揮し得る症例、個々の抗菌剤の特徴を生かし得る症例に投与して、有効性と安全性にかんする正確な検討を行なうことが、比較試験よりはるかに重要であると考えられる。

7. 外科領域感染症における問題点

石 引 久 弥

慶応義塾大学医学部外科学教室

外科領域の感染症においても基礎データと臨床データの関連性に多くの問題点が存在する。他領域の感染症と大きく相異なる点は外科的感染症の定義と言える外科的処置である排膿、排液手段が感染症治療の重要な構成因子であり、これが臨床データに大きな影響を及ぼす特異性があることである。このことは外科的感染症の多くを占める局在性感染症症例においては、少なくとも局所的な組織液や組織液、リンパ流、血流の変動をもたらすと考えられ、薬剤の炎症組織への移行を変化させうる。同時に臨床効果の指標として使われる炎症の5徴をはじめ、他の臨床効果を判定する因子にも影響を及ぼす。しかし、他の分野の感染症と同様に、投与薬剤に対する起因菌の感受性、薬剤の感染局所への移行濃度は基礎と臨床成績の関連を検討する上には必要な点である。以下、外科的感染症の中の代表的な軟部組織感染症と急

性化膿性腹膜炎を対象にして、これらの問題点にふれた。

本学会の新薬シンポジウムとして、かつてとりあげられていたいくつかの薬剤の軟部組織感染症に対する臨床の有効率をみると、投与量、投与方法に関係なく集計すれば、CEDの92.6%から、TOBの53.1%まで幅広い分布が認められる。これに対し、最近3年間に同様なシンポジウムで最も多く検討されたPC系とCephalosporin系薬剤の軟部組織感染症に対する有効率は70~80%に集中する傾向がある。外科領域の感染症の効果判定基準は現在まで全国的に使われる一定のものは設定されていないが、効果判定が経験により安定してきたことを示すものと考えられる。しかし、有効率間に推計学的な有意差はなくても、100%という値が出ている点は臨床的な判定基準、薬剤投与対象の選択に未だ問題点が残されていることを意味する。

これに対して、腹膜炎、腹腔内膿瘍に対する臨床成績をみると、軟部組織感染症より低い有効率が一般的であるが、逆に軟部組織感染症より高い値を示す薬剤もあり、現在の臨床上の通念からは理解しにくい点も認められる。

一方、基礎データのうちの1つの重要な因子である、薬剤の感染局所への移行性と関連が深いと考えられる指標として、血中半減期、ヒト血清蛋白結合率を臨床的な有効率との関係でとらえてみた。これらの指標は本学会でも度々とりあげられ、研究報告も多数あり、それぞれの測定法から臨床的意義に至るまで、多くの議論が行われているところであるが、今回は理論的な問題をとらえず、臨床上的有効率だけとの関連をみた。

血中半減期をみると、PC系では軟部組織感染症に対する有効率は45分を中心に分布し、腹膜炎でも同様の傾向がうかがわれており、半減期の長いものが必ずしも臨床効果が良好とは言えないようである。一方、Cephalosporin系では両者の関係は明らかではないが、半減期と臨床効果は少なくとも平行関係にないと考えられる (Fig. 1)。

次にヒト血清蛋白結合率と臨床効果との関連をみると、PC系では結合率が極めて低く、しかも有効率も低い薬剤があり、Cephalosporin系でも、軟部組織感染症において同様の傾向がみられている (Fig. 2)。

この両者の比、半減期/血清蛋白結合率、をとってみると、多くの抗生剤が1に近い値を示し、この値の大きなものは少数にすぎないが、PC系では臨床成績は低くなり、Cephalosporin系では軟部組織感染症で1~2を中心とした薬剤に高い有効率が認められている (Fig. 3)。

これらの傾向から感染局所への薬剤移行と関連をもつ

Fig. 1 Clinical effect and serum half-life of antibiotics

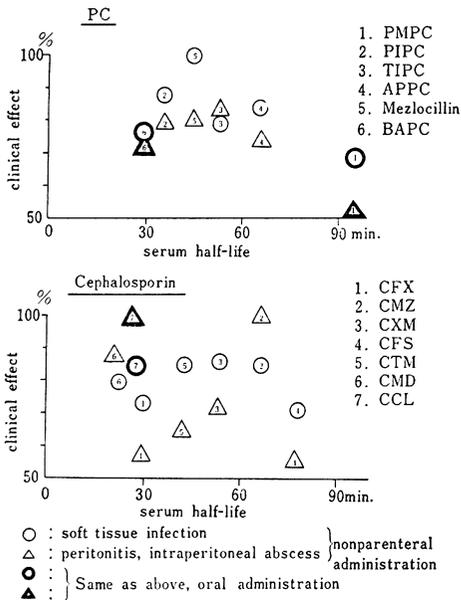


Fig. 3 Clinical effect and serum half-life/serum protein binding rate

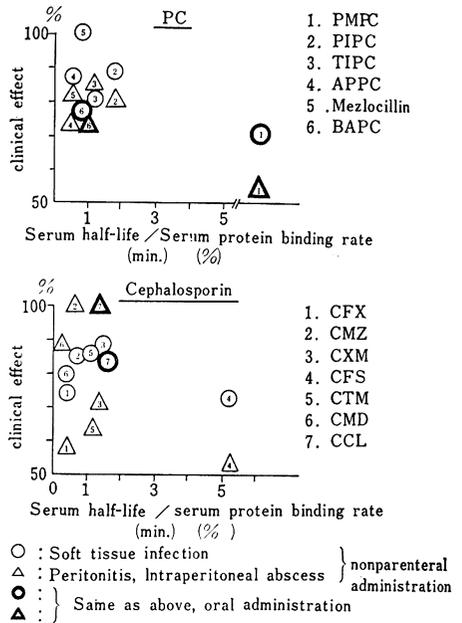


Fig. 2 Clinical effect and serum protein binding rate of antibiotics

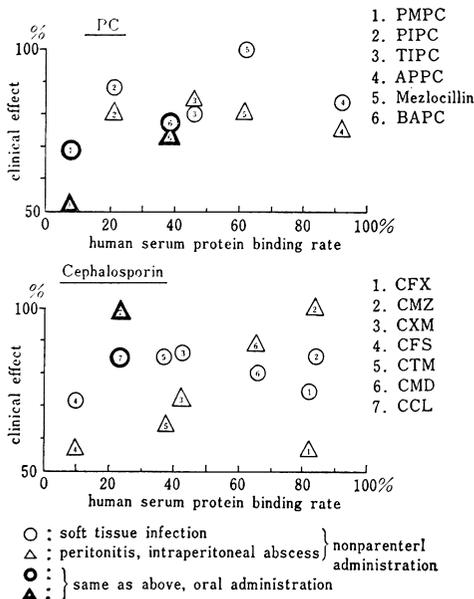
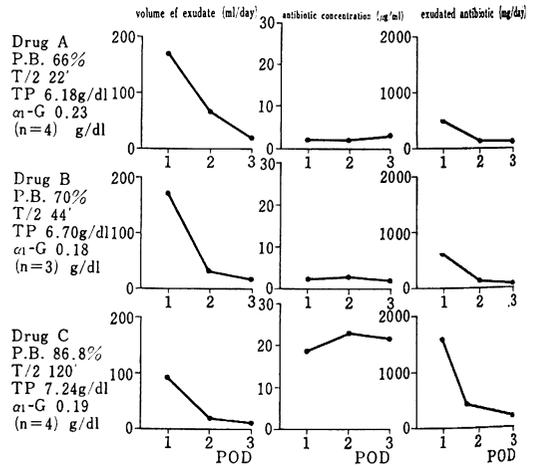


Fig. 4 Transmission of antibiotics in peritoneal exudate after radical operation of gastric cancer



の投与法，1回投与量，投与間隔もさらに考慮されるべき問題点であろう。

次に，腹膜炎，腹腔内膿瘍の場合の化学療法の効果と関連すると思われる腹腔内薬剤移行の成績にふれたい。感染症として発症した腹膜炎の腹腔滲出液中への薬剤移行の検討においては，薬剤の不活性化と滲出液の持続的

と考えられる血中濃度推移，ヒト血清蛋白結合率にはそれぞれに，また，相互により高い臨床効果をうるための望ましい値が存在するのではないかと考えられる。具体的な因子としては筋注，one-shot 静注，点滴静注など

採取の面で方法論的な困難性があるため、機械的炎症は必ず存在し、滲出液採取の容易な上腹部手術で、手術侵襲のそろうた胃癌根治術後の腹腔内滲出液中への抗生剤移行を最近検討した Cephalosporin 系 3 剤で比較した。なお、この検討は術後腹腔内感染症に対する予防的化学療法意義の解明に役立つと考えられる。

Fig. 4 はこの成績であるが、各薬剤群の蛋白結合率 (P.B.)、血中濃度半減期 (T/2)、血清総蛋白 (TP)、 α_1 -globulin 濃度 (α_1 -G) と共に、滲出液排液量/日、薬剤濃度、薬剤排出量/日の平均値の推移を示した。滲出液量の変動に大きな差異は認められないが、濃度の推移をみると、A, B 剤では数 $\mu\text{g/ml}$ 以下であるのに対し、C 剤は術後 3 日間にわたり 20 $\mu\text{g/ml}$ 前後の値を示した。しかし、本学会新薬シンポジウムで発表された腹膜炎、腹腔内膿瘍に対する各薬剤の臨床成績とは平均しなかった。前述の血中半減期/血清蛋白結合率の比をみると、A 剤 0.3、B 剤 0.6、C 剤 1.4 となり、C 剤に臨床効果が期待しうることになるが、局在性感染症における薬剤移行動態、その臨床的意義づけには多くの検討が必要と考えられる。

局在性外科的感染症では切開・排膿などの外科的処置が臨床経過に大きな影響を及ぼすことは当然と思われるが、原因菌の薬剤感受性との関連において、軟部組織感染症の 1 つである急性化膿性乳腺炎について検討した。殆んどの原因菌は *Staph. aureus* であり、全例に Chloramphenicol を経口した成績で、化学療法の効果の指標として分泌および膿中菌消失期間をとりあげたものである。MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌症例では両期間とも、やや延長傾向がみられるが、切開が大きく行われた症例と、切開せず連日穿刺排膿を受けた症例は、小さく切開された症例にくらべて両期間いづれも短縮し、切開・排膿法による影響が強く現われている。膿中細菌濃度をさらに観察すると、菌数が 1 白金耳中 10^{3-4} になると急激な滅菌傾向が多く認められること、切開の大きさと、関連の少ない滅菌傾向は耐性菌株症例でやや遅延がみられた。

一方、全症例をまとめると、原因菌株の薬剤感受性、切開率とは無関係に、1 週間前後で菌消失の起る群と 3 週間以上を要する群の 2 群にわけることが出来た。前者は切開効果のあった自然治癒傾向の強い早期治癒型、後者は切開効果のえにくい遷延治癒型とに分類することも出来る。前者からは有効例が、後者からは無効例が出やすいことは予想され、症例中にこの両者の含まれる比率が問題と考えられる。そのためにも、尿路感染症のように、症例の細かい群わけも今後検討する必要があるであろう。

以上、化学療法における基礎および臨床データの関連性を外科領域の立場から、薬剤の感染局所への移行動態の問題点にふれたが、薬剤別の薬理学的特性の意義づけや臓器、部位別の病態生理学的特性の解明が基礎面では望まれるし、臨床面では症例の群わけとそれに適する臨床効果を表現するパラメーターを求める試みが必要と考えられる。

討論のまとめ

上田 泰・清水 喜八郎

前述した抄録に記載されている内容の発表が各演者からおこなわれた。

基礎の領域から、五島教授は *in vitro*, *in vivo* における抗菌作用についての検討上の問題をのべ、とくに *in vitro* と *in vivo* のギャップをつなげるための解析目標として、感染動物の薬剤の体内動態、動物の感染防御機能への薬剤および菌の影響、感染治療経過の細菌学的解析をあげ、今後この方向への方法論の確立を強調し、さらに基礎と臨床との間隙をせばめる試みについて言及した。

清水は抗菌力とともに、薬剤体内動態の解析の必要性、とくに臨床薬理的検討としての薬剤の血清蛋白結合の臨床的意義、ならびにこの成績から動物の成績と人との成績の差を類推できるかもしれないとのべ、基礎的検討がより臨床への関連を目標とした努力がなおざりにされないことを要筆した。その後、臨床側の発言として熊沢助教から、主として、新鮮臨床分離菌株についての抗菌作用の検討の必要性を泌尿器科領域の立場からのべられた。つまり MIC を測定する菌株についてみると、いわゆる標準株と臨床分離株との間に差があることから、できうる限り新鮮な分離株を用うべきであるとしているわけで、この点について基礎の立場から、五島教授は、例えば *Serratia* のように 1 年毎に耐性が変わってくる場合は新鮮株で測定すべきことは大切であり新しい株での累積をみてゆけば、1 つの幅を知ることができうるわけで、新鮮株を集める中央システムを考えるべきであろうとしている。

熊本教授は MIC の累積カーブと尿中濃度と有効率の関係がくすりによってかなり異なることをのべたが、この間隙をうめるものはなにかという問題を提起した。

そのデータは平均値としてでているが、個々の症例について各々 factor があるし、感染状態にも差があることは、動物実験でもしられているので、それが parameter の 1 つではないかという考え方もだされた。これと同様

な議論は、原教授がのべられた呼吸器感染についても同様な議論がなされとくに菌と薬剤の接触時間と有効性の問題についても論議された。基礎からの発言として尿、血清を材料としての実験は比較的容易であるが、喀痰を用いての実験は困難であること、ブイオン中での菌と薬剤の接触は効率がよいが、喀痰中での菌と薬剤の接触は必ずしもブイオンとは同一ではないことが、この解析のむずかしさをしめすことになるとのべた。

三木助教授は、呼吸器感染症を対象とした比較試験でえられた成績と、用いた抗菌剤の基礎データとの対比についてのべ、合致しない理由をのべ、石引助教授は、外科の立場から、基礎と臨床データの関連性についてのべ、その中で、感染局所への薬剤の移行性と関係のべ、血清蛋白結合と関連について解析し、今後の課題の1つとしてとりあげている。

この問題について、清水は化学療法の分野においてももっとも臨床との関連において、検討のすすんでいない領域が、薬剤蛋白結合の領域であり、その解析の必要性をのべ、蛋白結合の位置、強さ、結合率の解析がすすんでゆけば、薬剤間の競合以外に、体内分布さらに病巣移行との関係を推察できる可能性もありうるとし、とくに動物実験との関係を類推できるかもしれないとの発言がおこなわれた。

三木助教授は基礎への要望として、複雑な感染症に付する有効性をしめす、基礎データを希望した。つまり薬剤は、有効性の低いと思われるものは、軽症例に、有効性の高いと思われるものは重症例に用いるといづれも有効性が高くなるので現状でとくに上述の基礎データが臨床知見の上で必要であるとしていた。

以上は演者の発表をふまえて主として臨床から基礎への討論としておこなわれた。

この討論をふまえて、帝京大学 藤井教授は化学療法は病原微生物が目標であるという前提にたっている、しかし臨床では自然治癒が入ってくるので、その間隙がうまらないのは当然である、しかしその時代、時代で菌と宿主の関係は変わってきていると発言した。

関西医大 大久保教授は、基礎的には尿中濃度、喀痰濃度は臨床的には間接的な意義をもつものであり、とくに喀痰濃度については限界があるであろう。つまり薬剤濃度は、生体側の状態による因子がかなりあるので、その解析はかなりむずかしいとのべ、さらに熊沢助教授の発言についての臨床分離株の内容を学会として、決めるべく努力すべきであろうと発言した。

ついで、基礎から臨床面についての討論のはじめに、五島教授は基礎と臨床はそ、その間隙を前提としてその関連を求めるべきであるが、基礎データのすべてを臨床

に用いたくない。

研究方向は間隙をうめるべく努力しているが、臨床効果をみるときは、薬剤の抗菌力、薬剤濃度以外の要素もみるべきである。たとえば *in vivo* の ED₅₀ など活用してみるべきであろうとのべた。

ついで臨床効果判定について討議され、まず UTI の判定について若干討議され、大越教授から第1にカテーテル留置例の化学療法について、一般的には留置カテーテル症例に対して、何らかの薬剤投与をすることが多いが、カテーテル留置例では、化学療法をおこなうべきでないとのべ、第2に MIC と臨床効果との不一致の要因は、急性単純性尿路感染の場合は、over dosis、慢性複雑性尿路感染の場合は患者側の因子であるとし、前者は少量投与すれば一致するし、後者は基礎疾患のない状態にすれば一致するであろうと推論した。

第3に臨床効果の有効率をだす場合、病態別に分けることは必要であるが、分離菌が耐性菌であった時、その症例を除いて有効率をだすことは、原則的にはよいが、慢性例では菌が感性で効かないこともあるし、その逆もあるので、その辺の解析を明確にしたうえで除くべきであるとした。

呼吸器感染症の効果判定についての討論では、呼吸器感染症の効果判定例は、肺炎、肺化膿症についておこなうべきであるとし、原教授が発表内容で分離菌を感受性菌と非感受性菌に分けて有効率をみた根拠は、呼吸器感染症では菌が分離しにくいためであると述べた。

肺炎などは、現在でも有効な薬剤はかなり存在するわけで、臨床的には複雑な感染に有効であるものが有用であるが、そのものの効果判定がむずかしく、比較試験において、各薬剤の特徴をいかしての比較は困難で、必ずしも適切な方法ではないと述べた三木助教授の意見については、特別な発言はなかった。以上について、神戸市民病院 小林博士は、基礎と臨床の間隙は、理論的には0にはならないし、また関連性のないものが多いので、臨床効果は必ずしも、基礎データと一致しないものがあるので各症例についての解析成績を蓄積してゆくことが大切だとのべた。また髄液移行性についても論及され、問題点の提起がおこなわれた。

最後に血清蛋白結合について、今後の検討方向についての討論があった。

以上の討論をふまえて、本シンポジウムの結論の1つとして臨床分離株の選択集積について学会としてなんらかの制度をつくってもらいたいという要望をとりあげた。

その他、比較試験の問題、効果判定規準の問題、基礎と臨床の共同研究による実験モデルの作成など、抗菌剤

の評価上大切ないくつかの問題をとりあげて、重ねて討論をおこなえる場をもちたいということ、もう1つの結論として終了した。

要 望 演 題 I

急性膀胱炎の化学療法

司会 名 出 頼 男 (名保大泌尿器科)
松 本 文 雄 (慈恵医大内科)

司会のことば (I)

名 出 頼 男

急性膀胱炎の化学療法を論ずることが要望演題について応募された5題の内容を見ると、すべて泌尿器科からのものであった。またその内容を検討すると、いづれも、現在「UTI 薬効評価基準」と呼ばれているものに合致した症例を主体としてその治療結果について論じたものである。

しかし、この演望演題が採用された意義は、たんに泌尿器科外来診療における膀胱炎治療について論議することにあるとは考えられず、むしろ、泌尿器科医師以外の学会々員の間に、急性単純性膀胱炎の化学療法の持つ問題点を整理して提示し、且つ、この疾患を薬効評価比較試験の対象疾患とすることの意義を知って貰うことにあると考えられた。

従って、問題点を整理すると、いちおう3つにしぼることが出来た。

第1は、診断上の問題点である。(1) 先ず急性単純性膀胱炎は、女子が殆んどであり、男性では、前立腺疾患の合併等が多く、全く単純性であることは稀と考えられるので除外する。(2) 幼小児・老人では基礎疾患の合併が多いので、これを除外した症例だけとする注意を守る(UTI 評価基準では、16才から69才までとし、まぎらわしい例を除くよう努めている)。(3) 自然治癒過程にある症例、不完全感染成立例等を除くため、症状、初発からの期間、等について詳しく問診する注意を守る(疑いあるものは対象から除くのをUTI 基準では除いている)。(4) 細菌尿の診断は、極力外陰部菌叢の混入を避けるため、診断時はなるべくカテーテルを用い導尿検体を用いる。retrospective にはあるが、 10^4 /ml 以上を感染成立と見做す(導尿検体では、外陰部菌叢混入は 10^3 /ml の order までと考えられる。)中間尿で採った場合は 10^5 /ml 以上としなければならないのは当然である。(5) 細菌尿だけでなく、膿尿を感染のパラメーターとするのは、単なる尿感染に止まらず、局所の炎症反応が充分強いことの証とする意味である。岐阜大医・泌

尿器科の観察成績として、細菌尿・膿尿・症状の各パラメーターの動きを治療過程を追って観察したところ、細菌尿膿尿、症状の順に、或る lag を置いて、それぞれが消失して行くことが判ったとの報告が見られた。すなわち、この3つのパラメーターの推移は、薬剤投与に極めて良く反応する場合は、3日ではほぼ消失し、これらはいずれも、著効と判定されるが、抗菌力の弱い薬剤では、遅れて消失するパラメーターが、3日後には未だ消失していない場合のあることが示された。従ってこれらのことから、膿尿は、細菌尿とは違った速さで、移推するパラメーターとして価値を有すると言える。

次にこれらの診断上の問題点を基礎に、薬効判定上の問題点を、考えることとした。

薬効判定上の問題点は、単に薬効があったかどうかと言う莫然とした判定だけが必要な、日常診療レベルで考える場合は、患者や、医師の都合で、1週間分くらい投薬し、その結果、早期に良い反応がある場合、患者は与えられた1週間分の薬剤を服用してから来院することとなり、その時点で検尿や細菌学的検査を行ない、薬効の有無と治癒判定を同時に行なうこととなる。またもし、薬効が不十分な場合、患者はそのことを医師に告げに再度来院し、尿所見から薬効が期待できないと判断されれば、別の薬剤に替えてさらに反応を見ることになる。いづれの場合も、厳密な治癒判定は、薬剤中止後さらに1~2週後観察し、再発のないことを確かめた上で行われるべきもので、同時にこの方法により再発率から見た薬効判定も行なわれ得るが、この方法は、患者の投薬中止後の再来率がやや低いということもあって、従来は余り用いられていない。しかし、諸外国ではこの種の観察は常識の範疇に入るもので、本邦でも着手している機関も少なくない。このような主として経験的な「勘」に基づく部分のある薬効判定は、熟練した医師によって行われれば多くの場合、あまり差のない結果を生むが、それでも、客観的には必ずしも一致した結論が導けるとは限らないとの批判があり、その意味では、対象疾患として、一定の条件を満たしたものだけを選び、各パラメーターの動きを一定のやり方を見て、主観の入る余地の少ないものを作る試みがなされている。そのまともなもの1つが、現在周知の「UTI 薬効評価判定基準」であり、この基準作製に当っては、前に述べた(診断上の問題点の項)、患者を一定の枠に入るものだけを選ぶ、方法として、

- (1) 性別——女子
- (2) 年齢——16才以上69才以下
- (3) 症状——排尿痛を有するもの(症状の中で最も高率に認められ、且つ治癒過程で、最も敏感に反

応して動く)

- (4) 膿尿——投薬前、強拡大視野毎に 10 コ以上
- (5) 細菌尿——カテーテル導尿検体を用い生菌数 10^4 /ml 以上
- (6) 発症から 2 週間以上経過していないもの

と言う患者条件を設定している。(UTI 薬効評価基準第 2 版から引用、以下同じ)

また投薬期間として 3 日を最低とし、3 日目だけで判定する方法をとっている。これは、充分に有効な薬剤を投与した場合、3 日目ですべてのパラメーターが正常化する場合が多く、これ以上長期の観察は、再発の有無についてだけであると言う過去の幾つかの集計作業の結論がある故である。

さらに、細菌感染である以上、細菌尿の消失は当然最重要のパラメーターの動きとしてとらえることになるが、また動きの最も速いパラメーターであるため、観察時期によっては薬効比較のためには通常の診療業務の範囲時間内ではうまくとらえられないことがある。(研究的な方法としては、砂川市立病院の宮本博士の演題のように、服用 2 時間後の尿中細菌の消失を追うとか、平塚市民病院の鈴木博士のように、服用 8 時間後の尿中細菌数の推移を見るときの方法があるが、これはすべての場合に実施できるものではない) このような場合に、膿尿の動きは、それより動きの遅い 1 つのパラメーターとして用いると、薬剤種によっては、薬効の差を見るに極めて有用なパラメーターとなる。1 例として、岐阜大 西浦教授のグループで行われた、Bacampicillin と ampicillin の比較試験(double-blind 法によった) の成績がある。この group study の場合、3 日目判定では、Bacampicillin 1 日 1g 群と、ampicillin 1g, Bacampicillin 0.5 群の間に、膿尿の動きについてだけ有意差が見られ、これは結局、penicillin 耐性菌に対しては、吸収率の高い Bacampicillin を 1g 与えた時に始めて、有効症例が増加すると言う、極めて微妙な細菌と薬剤と宿主との関係があるためと解釈される結果であった。(Bacampicillin 0.5g, ampicillin 1g がはからずも ED_{50} に当たったと考えればよい)。このような場合、初回投与後 3 日で検査すると、細菌学的反応では、有意差がやや出難く、膿尿のほうが差を捉え易いパラメーターであると言える。なお症状については、急性膀胱炎の最も特徴的な症状である排尿痛をとることに問題はないであろうが、これが一定の lag を置いて、細菌尿、膿尿の消失に続き軽快・消失すれば問題はないが、軽度の尿道炎を有する患者などでは、必ずしも他のパラメーターと一致した歩みを示さぬことがある。本来同一傾向を示す筈のパラメーターの動きに喰違いが出来た時が、こ

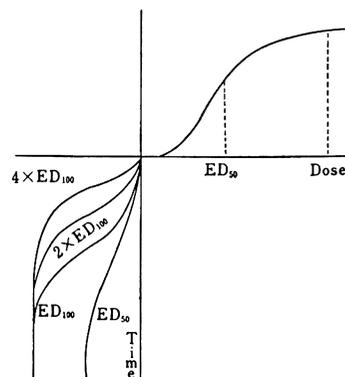
のような薬効判定に当って最も苦慮し、問題になるので、当面はいちおうのきまりをつけて置くか、或いは決定不能として置くかどちらかの方法しかないわけであるが、現在では症例蒐集に重きを置いたため、いちおうのきまりをつけて(必ずしも logic に完全適合しないまま)、どのような傾向が全体として見られるか観察しているのが実状である。

考え様によっては、急性膀胱炎は、試験管内試験成績をそのまま反映するような一種の感染モデルの性格を有していると言える。Dose-response の見られる範囲での小量投与を行って見ると、この性質が明らかである。

急性膀胱炎に限らず、一定の性質を共有する感染症群に薬剤を投与し時の反応は、Dose-responding range では S 状カーブを描いて増加し、一定量で ED_{100} となるが、その途中の変曲点が ED_{50} に相当する。これを反応の時間の要因を加えて考えると、Fig. 1 の左下の curve のようになる筈で、同じ 100% cure にしても投与量を増せば一定の範囲で cure に至る時間が短縮し得る筈である。この仮定は、鈴木博士の発表によって或る程度成立すると考えられる結果であったが、同様の研究が種々の対象疾患について行われて、始めてこの仮説が演足されたと考えられるものである。

ただ 1 つ注意すべきことは、このような比較試験のための薬効評価法の枠が、あらゆる感染症の中の 1 つの pattern に過ぎず、疾患の phase、その他でこれに該当しない症例でも何らかの方法で、その例における薬効評価は可能であると言うことである。この点が、このような評価法を決定するに当って最も誤解され易い点で、感染症の種々相それぞれに応じた判定法が適用されるのが、生物現象すべてを見るに当って共通して考えられることである。

Fig. 1 薬剤投与に対する反応の Kinetics



司会のことば (II)

松本文夫

東京慈恵会医科大学第二内科

神奈川県衛生看護専門学校付属病院内科

急性膀胱炎は日常もっとも高頻度に遭遇する感染症であり、化学療法によく反応するにもかかわらず、再発例が少なくないことがその特徴である。本学会総会百瀬俊郎会長が「急性膀胱炎の化学療法」を要望演題としてとりあげられた理由もこの点にあるものと理解される。

急性膀胱炎の診断は必ずしも容易ではない。本要望演題では時間の制約もあって、この点にはふれえなかったが、上部尿路感染症状を伴うことなく、過去1年間 episode がみとめられないか、あるいは初発の膀胱炎と理解される。

本症は原因菌の決定が容易であることから適正な化学療法の実施が可能であり、多くの場合化学療法に極めてよく反応し、しかも、自然治癒症例も少なくないので、本症ではとくに化学療法の臨床的意義を明確にする必要がある。

急性膀胱炎の化学療法は罹患期間を短縮し、かつ完治を可能にすることは明白であることから、本症の化学療法では適正使用の確立と再発防止方法の確立がその要点と考えられる。

本症では使用抗菌剤の尿中濃度が原因菌の感受性(MIC)を一定以上上回れば、臨床成果がえられることは周知のところであり、その臨床成果は使用抗菌剤の尿中濃度と原因菌の感受性によって規定される。このことは原因菌が使用抗菌剤に対して一定の感受性を示し、かつ、宿主に腎機能障害がみとめられない限り、抗菌剤の使用量にかかわらず、ほぼ同等の臨床成果がえられる事実(西浦ら)によっても明らかであろう。

一方、急性膀胱炎に対する抗菌剤の適正使用については従来から諸検討が試みられているが、今回鈴木らは吸収、排泄が同等で抗菌力を異にする Cephalexin と Cefatrizine をえらび、両者の臨床成果を極少量の使用量(最高尿中濃度 23~218 $\mu\text{g/ml}$)で比較検討している。その結果、本症に対する臨床成果は吸収、排泄がほぼ同等であれば、抗菌力の差によって臨床成果に有意差が生ずる可能性のあることを確認している。このことは急性膀胱炎では原因菌に対する使用抗菌剤の抗菌力がすぐれていれば、少量使用によっても十分な臨床成果がえられることを示唆するものである。西浦、鈴木らの報告は急性膀胱炎における抗菌剤の選択とその使用量のある程度規定する成績として注目される。

また、宮本らは急性膀胱炎における使用抗菌剤が適正か否かを短時間で判定が可能であるかどうかを、抗菌剤使用後 2, 24 時間の尿所見を比較することによって検討しているが、抗菌剤使用 2 時間後の尿中細菌の消失如何で適正如何の判定が可能であることを示唆している。この成績は感染菌の種類と宿主側要因によって成績が異なることも考えられるので、1つの speculation として今後の検討をまちたい。

諸演者の成績から急性膀胱炎では①常用使用量であれば、原因菌が高度耐性でないかぎり有効な結果がえられること、②原因菌の感受性が良好であれば少量使用でも十分な臨床成果がえられることなどが印象として把握できた。しかし膀胱炎は前述のとおり、再発例が少なくないので、適正使用の guide line の設定とともに、その使用方法による再発率の比較検討も必要であろう。現状では再発率は報告者によって異なる成績が発表されているが、今回の要望演題で指摘された再発防止の方法を要約すると使用期間は細菌尿の消失だけでなく尿沈渣所見の正常化を目標として決定され、一般には1週間の使用が必要であること、また化学療法後は定期的な経過観察と生活指導管理がとくに必要であることが演者間の共通した意見であった。しかし、本症の化学療法による再発防止の確立のためには化学療法実施期間別、患者背景別での再発率の比較検討が必要であろう。

1. 急性膀胱炎の化学療法

仁藤 博・東海林文夫・多胡紀一郎

武蔵野赤十字病院泌尿器科

急性単純性膀胱炎は、日常診療でよくみられ、診断さえつけば治療は容易である。しかし、この厳密な意味での定義や、再発の問題など未解決部分が少なくない。これらのアプローチにまづ当科の実態調査を行なった。1978年4月から9月までの6カ月間に当科外来を受診した16才以上60才未満の女子例で患者条件はUTI薬効評価基準第2版によった。この基準により急性単純性膀胱炎と診断されたものは101名(分離株数101株)で当該期間中の新患者(1,024名)の約10%であった。採尿法は全てカテーテル採尿とし、尿沈渣標本の作製、尿細菌培養は標準法で行い、分離菌の薬剤感受性試験は3濃度ディスク法で行なったが、(卅)、(卅)を示したものを有効薬剤と判定し有効率を算出した。なお、調査期間より過去1年以内に急性膀胱炎で当科を受診したか、その既往のあるものは反復性ありとして区別したが101例の中には含めた。

起炎菌別頻度はグラム陰性桿菌、ことに大腸菌が最も

多く (79 例, 78.2%), プロテウス 5 例 (5%), クレブシエラ 1 例, セラチア 1 例があり, グラム陽性球菌は, *Staphylococcus aureus* 11 株, *Streptococcus faecalis* 3 株, α -*streptococcus* 1 株の計 15 例 (14.8%) であった。年令別頻度は 20 才台 31 例 (30.7%) と最も多く, 40 才, 30 才, 50 才, 10 才台の順であった。感受性をみると, 大腸菌では GM, DKB, ST 合剤が 100%, AKM, CL, NA が 90% 台, SM, FRM, CET が 80% で, ABPC は 59.7% と低かった。プロテウスでは, CL の 20% を除き, 75% 以上の有効率を示すものが多かった。結局すべてのグラム陰性桿菌に 100% 有効率を示したのは, GM, DKB, ST 合剤の 3 剤だけであった。グラム陽性球菌 15 株では, GM, MONO, PCH で 100% の有効率を示し, TC, SBPC, EM がこれにつづいた。これら 101 例になんらかの薬剤が通常 1 週間投与されているが, 7 例の再来受診のないものを除く 98 例での著効は 79 例 (81%) で, 無効はわずかに 2 例だけであった。無効例は感受性のない薬剤が投与されていたものであるが, 薬剤に感受性がありながら著効を示さなかったものが 3 例あり, このいづれもが「反復性あり」に属することは, 注目に値する。このような反復性のあるものを, もちろん反復性の程度にもよるが, みんなひっくりめて急性単純性としていいかどうか, UTI 基準にはこの点の規定が欠けており, 再発という問題を含めて考えなおしてみる必要があるのではないと思われる。

2. 急性単純性膀胱炎の病態と化学療法に対する反応経過について

坂 義人・清水保夫・嶋津良一
土井達朗・村中幸二・加藤直樹
河田幸道・西浦常雄
岐阜大学医学部泌尿器科学教室

急性単純性膀胱炎の化学療法に際しては, まずその病態を把握し, さらにそのものの化学療法に対する一般的な反応態度を熟知していることが必要である。急性単純性膀胱炎の病態に関する臨床統計的観察については従来散見されたが, 最近の実態に関してはあまり報告がみられない。われわれは最近検討方法を厳密に統一して, multiclinical に観察した貴重な臨床症例を多数例集積しているので, これらについて, 急性膀胱炎の病態と化学療法に対する反応態度を臨床統計的に検討を加えた。

対象は, 現在までに集積された急性単純性膀胱炎 595 例で, 以下の条件を満たす症例である。① 16 才以上 60 才未満の女性, ② 尿中細菌が 10^4 コ/ml 以上, ③ 尿

中白色球数が 10 コ/hpf 以上, ④ 排尿痛を有するもの, および⑤発症からの経過が 2 週間以内の症例。これらの症例に対して penicillin 系薬剤 (ICBPC 2g/日; PCBPC 2g/日; ABPC 2g/日, 1g/日; BAPC 1g/日, 0.5g/日), cephalosporin 系薬剤 (CEX 1g/日) を 1 日 4 回, 3 日間経口投与して反応経過を, 薬効評価基準 (第 2 版) に従って検討した。

結 果

発症年令は 20 才台が最も多く (40%), つぎの 30 才台 (24%) と合すると, 全体の 64% がこの年令である。年令毎の臨床効果は, 若年者も高令者も高い有効率が得られ, 化学療法に対する反応は, このような年令の範囲内では変わらなかった。発症から受診までの期間は, 3 日以内の受診例が 68.1% と圧倒的に多く, 著効率 (68.6%) も最も高い。この著効率は 4~7 日後受診例に比して有意に高い値で, 一方 8~14 日後受診例 (2.9%) の著効率 (47.1%) はやや低い値であった。発現頻度の高い症状は排尿痛に次いで頻尿 (87.2%), 残尿感 (81.4%) で, 下腹部不快感, 終末時血尿, 下腹部痛は低頻度 (40~20%) であった。このうち排尿痛, 終末時血尿の残存率はきわめて低い。膿尿の程度は卍が多く次いで卍, + の順になるが大きな偏りはない。膿尿卍群の正常化率 (55.9%) は, 卍, + (81.2%; 81.1%) 群に比して有意に低いが, これは, 膿尿が強い場合には, 3 日後の判定時には, 改善途中にあるためと考えられる。細菌尿陰性化率は 90% と高く, この場合は膿尿正常化率 (75.9%) も高い。しかし細菌尿不変の場合は膿尿の正常化率は 29.2% と有意に低く, 膿尿は細菌尿に追隨して変化していくことがわかる。分離菌の中で最も多い菌種は *E. coli* で約 80% を占め, 次いで *S. epidermidis* (12.5%) となる。この他 *Proteus*, *Klebsiella* 等各種の菌種がみられる。混合感染症例は全体の 3.7% にすぎず, うち大半は 2 種混合感染 (*E. coli* とグラム陽性球菌の組合せ) で 4 種以上の混合感染例はみられなかった。混合感染例でも細菌尿陰性化率は 81.8% と良いが, 著効率は 36.4% と低い。分離菌全体の 70% 以上が $12.5 \mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。抗菌剤の投与量を減量した場合に, 全体の細菌消失率が低下するのは, 主として MIC が高い菌の消失率が低下することによることが判明した。

3. 急性膀胱炎の化学療法：薬剤 Random 投与と臨床効果

夏目 紘・小幡浩司・本多靖明
坂田孝雄・伊藤博夫・村瀬達郎
名古屋第一赤十字病院泌尿器科

1978 年度に当科を受診した急性単純性膀胱炎症例の背景、薬剤と臨床効果等につき UTI 薬効評価基準にもとづきまとめてみたので報告する。

対象は 15 才から 79 才までの女子 174 例で、年齢分布は 20 代 36.8%，30 代 21.8%，40 代 13.8%，50 代 13.2%，60 代 9.8%，70 代 2.9%，10 代 1.7% であり、全体として 58 名 33.3% に膀胱炎の既応をみた。

単独感染 157 例，2 種混合感染 16 例，3 種混合感染 1 例である。

単独感染 157 例の起炎菌は *E. coli* 130(82.8%)，*P. mirabilis* 7(4.4%)，*St. epi.* 7(4.4%)，*Kleb. p.* 5(3.2%) 等である。

全体の分離 192 株では *E. coli* 142(73.9%)，*St. epi.* 12(6.2%)，*P. mirab.* 11(5.7%)，*Kleb. p.* 9(4.7%) 等が主なものである。

投与薬剤は NA, ABPC, CEX, PA, ST, CBPC, MINO の 7 種で、だいたい常用量で 3~7 日間投薬である。

単独感染例の *E. coli* 130 株に対する Disc 感受性結果では 卍, 卍を合せたものをみると TC 66.9%，ABPC 64.6%，CBPC 69.2%，NA 96.9%，MINO 63.8% で、NA と他の薬剤間では 1% 以下の危険率で差を認めた。

各投与薬剤群と総合臨床効果をみると、174 例中、NA 投与群、著効 50 例(71.4%)、有効 20(28.6%)、ABPC 著効 15(51.7%)、有効 11(37.9%)、無効 3(10.4%)、CEX 著効 18(78.3%)、有効 5(21.7%)、PA 著効 21(95.4%)、有効 1(4.6%)、ST 著効 14(73.7%)、有効 5(26.3%)、CBPC 著効 5(71.4%)、有効 1、無効 1、MINO 著効 3(75%)、有効 1 である。

E. coli 単独感染 130 例についてみると、NA 投与群著効 44 例、有効 10 例、ABPC 著効 10 例、有効 8 例、無効 1 例、PA 著効 18 例、有効 1 例、CEX 著効 11 例、有効 3 例、ST 著効 12 例、有効 3 例、CBPC 著効 4 例、有効 1 例、無効 1 例、MINO 著効 2 例、有効 1 例であり、比較的症例数の多かった NA と ABPC の有効率を比較すると 5% の危険率で NA 優位である。

排尿痛に対する総合効果を 174 例で判定した結果、以下著効例数を示すと、NA 70 例中 65 例、ABPC 29 例中 21、CEX 23 例中 20、PA 22 例中 21、ST 19 例中

17、CBPC 7 例中 6、MINO 4 例中 4 であり、154 例 90.5% に著効をみた。

膿尿に対しては同様に著効例は NA 56、ABPC 20、CEX 19、PA 21、ST 16、CBPC 5、MINO 3 で 140 例 (80.4%) に著効をみた。

細菌尿に対しては、同様に著効例は NA 64、ABPC 22、CEX 19、PA 21、ST 18、CBPC 6、MINO 4 で 154 例 (88.5%) に著効をみた。

単独感染 157 例中 1 カ月後、2 カ月後、3 カ月後各 1 例初回菌種と同一で再発をみた。いずれも初回治療時、著効と判定した症例である。

E. coli 単独感染 19 例に対し ABPC を投与したが、その Disc 感受性は、(卍) 8、(卍) 4、(-) 7 で細菌尿の持続したものは (卍) の 1 例、(-) の 2 例で Disc (-) にも拘らず 19 例中 16 例 (84.2%) の細菌消失率をみた。

Bacterial response は *E. coli* 142 株中 133(93.6%)、*Kleb. p.* 9 株中 8(88.8%)、*P. mira.* 11 株中 11(100%) で eradicate されている。

今回集計した症例は投与薬剤の差異、投与日数の若干の違いはあるものの Retrospective に比較検討した結果、急性膀胱炎の治療では、初診時の鏡検で球菌、桿菌の大別で、上記のような薬剤を 3~7 日間投与することではほぼ効果が期待されるが、10~20% の率で動きの悪いものもあり、その後も 1~2 週間の follow up の重要性を示しているといえよう。

4. 急性膀胱炎の検討

—服薬 2 時間後および服薬翌日ないし 2 日目の所見—

宮本慎一・田宮高宏・高塚慶次
砂川市立病院泌尿器科
熊本悦明
札幌医科大学泌尿器科

〔目的〕

急性膀胱炎患者の自覚症状、他覚所見は、抗菌剤服薬後早いものでは数時間、多くは 1~2 日の間に改善するものである。今回は、抗菌剤投与後 2 時間、および 1 日目から 3 日目にかけての総合臨床効果と細菌学的効果の推移を検討し、薬剤の種類と投与量、分離菌の MIC、判定日などの諸要因と治療成績との関係を解析した。

〔対象と方法〕

E. coli による急性膀胱炎患者 65 例を対象とした。投与薬剤は CGP-9000 125 mg×2/日 (A₁)、CGP-9000 250 mg×2/日 (A₂)、CGP-9000 250~500 mg×3/日 (A₃)、

Cephalexin(CEX) 125 mg×2/日(A₁'), CEX 250 mg×2/日(A₂'), Pipemidic acid(PPA) 250 mg×3/日(A₁'), PPA 500 mg×3/日(A₂')の7群である。

MICは化療標準法によった。得られたデータについては分散分析を行った。

〔結果〕

総合臨床効果について：多くの症例が11日で著効ないし有効となる。A₃でA₁, A₂より著効率が高い。A₁'とA₂', A₁'とA₂'では差はない。2日目から3日目にかけて総合効果は著明に上る。しかし薬剤間、投与量間での総合効果の優劣関係は一貫しており、いずれで判定しても同じ結論になると推定される。

細菌学的効果・A₁ではA₂, A₃より有意に菌陰性率が低い。このことは2時間目から3日目を通じてほぼ一貫している。A₁', A₂', A₁'', A₂''ではいずれも菌陰性率に差はない。

MICと菌陰性率：MICによってわけて菌陰性率をみると、A₁, A₁'ではMICが高いと菌陰性率は低下した。このことは2時間目から3日目を通じて同じことが言える。

〔結論〕

今回 *E. coli* による急性膀胱炎患者に抗菌剤を投与し、短時間毎の治療効果を検討し、次のことを主張した。

(1) 総合効果は1日目から3日目にかけて大きく上昇する。しかし薬剤間、投与量間の優劣関係は1日～3日を通じてほぼ同じように推移する。

(2) 細菌学的効果では、薬剤投与後短時間のうちにかなり陰性化する。1日目以後はあまり上昇しない。

(3) 急性膀胱炎に対する抗菌剤の評価の方法という観点からみると、投薬後1日目ないし2日目の成績も重要であり、薬剤間比較は3日間を通じて行うべきである。

5. 急性膀胱炎に対する抗菌性薬剤の少量投与の検討

—CFTとCEXの臨床効果の比較—

鈴木 恵三

平塚市民病院泌尿器科

名出頼男・藤田民夫・浅野晴好

山越 剛・玉井秀亀・新村研二

置塩則彦

名保大学泌尿器科

目的：我々が従来から報告してきた急性単純性膀胱炎

(ASC)に対する抗菌性剤の少量投与の意義として、治療のメリットと治療成績に基く疾患の解析的面的評価をあげてきた。今回は重点を薬効の評価という点におき、臨床的検討を行った。すなわち抗菌性剤のうちA剤とB剤において試験管内抗菌力に明らかな差が認められ、かつ吸収、排泄に差が認められない場合に、臨床的効果ではどのような差でとらえられるかという目的で、宿主側に基礎疾患のない成人女子の *E. coli* によるASCを対象疾患として、基礎的、臨床的検討を行い、その成績を統計的解析により評価した。

方法：(1) 対象疾患：成人女子の *E. coli* によるASC。(2) 投与薬剤：Cefatrizine(CFT)またはCephalexin(CEX)。(3) 検討方法と症例数。Open studyでCFT, CEX各8例。Double blind studyで計24例。(4) 投与量：初診時に両剤のうちいずれかのドライシロップ製剤25mgを1回投与。24時間以降は、初回投与と同一製剤を1日750mg, 3～4日間投与。(5) 臨床検査。投与前、投与後8時間, 24時間, 3～4日後の尿中細菌数。投与前, 24時間, 3～4日後の尿中白血球, 症状の観察。(6) 分離細菌の同定と両剤に対する感受性の測定。(7) 5名の成人volunteerによるcross overで両剤の尿中排泄の測定。

成績：(1) 尿中排泄。最高濃度の比較では、CFTが62～148 μg/ml(平均116 μg/ml), CEXが23～218 μg/ml(平均114 μg/ml)と差がなく、8時間までの回収率でも、それぞれ64%, 65%と差がなかった。(2) 分離菌のMICは、CFTが0.8～1.6 μg/ml, CEXが6.3～12.5 μg/mlにピークがあり、CFTが2～4管程度優れた抗菌力を示した。(p<0.01)。(3) 8時間, 24時間後の尿中細菌数の動向は、open study(各N=8)ではp<0.05, double blind study(CFT, N=10, CEX, N=11)ではp<0.1でCFT治療群が消失, 減少効果が優った。なお3～4日後の治療成績をUTI効果判定基準でみると、両群共に差がなく、全例共に有効であった。

結論：*In vitro*と*in vivo*との相関を、ASCという抗菌性剤が1次的に作用する感染の場を用いて、1回25mgという少量投与で、比較的早い時期の細菌学的反応をみることによって検討した。この結果、症例数は少ないもののopen study, double blind study共に同じようなパターンの細菌学反応を認めた。こうした差は吸収、排泄に差のないことから考えて、抗菌力の差によるものと思われる。

こうした検討は、*in vitro*において示された薬剤の特長を、臨床的に捉える1つの手段として有力なものであると考える。

要 望 演 題 II

Penicillin Binding Proteins

司会 中山一誠(日大第3外科)
 五島瑛智子(東邦大微生物)

司会のことば

β -Lactam 系抗生物質は細胞壁ペプチドグリカン合成系の最終段階である transpeptidation 反応を阻害すると考えられており、すでに STROMINGER 一派により優れた研究がなされているが、この溶菌、殺菌現象は単に transpeptidase や、D-alanine carboxypeptidase の阻害作用だけでは説明出来ない。

このような状況下に SPRATT により開発されたペニシリン結合蛋白 Penicillin Binding Protein(PBPs) の概念は高い放射活性を持つ ^{14}C -labeled PCG を用い、競合作用を利用した方法で、 β -Lactam 系薬剤の作用機作を検討する上で優れた方法である。原法は大腸菌 K12 株を用いた成績であるが、その後我が国でも、広田、松橋らの細菌遺伝学的な研究を導入した優れた研究がある。

今回の要望演題では、グラム陽性菌ならびにグラム陰性桿菌から抽出した PBPs について up to date の成績が報告され、現段階における最新かつ最も hot な情報と考えられる。 β -Lactam 系抗生物質は一般的には、酸性側でその抗菌力は増強されるが、PBPs の検討では大腸菌を用いた系においては、アルカリ側では 1a, 3 に結合が強く、酸性側では 2 に結合が強い。PBPs のスタンダードに関して Mecillinam が PBPs 2 に特異的に結合することから、いずれの菌種においても本剤をスタンダードとして検討し得る点の特徴である。

グラム陽性球菌の PBPs については、グラム陰性桿菌とは異なり、分子量の重い部分に Band が多く検出され、しかも温度感性により変化が見られる。また Mecillinam 添加により特異的に消失する Band がないため、グラム陽性球菌に関しては PBPs 2 がないか、あるいは存在しても少量と推論される。耐性ブドウ球菌用ペニシリンの PBPs に対する親和性は良好とは言えず、感性菌と耐性菌に関しても PBPs の間には差は認められない。一方、Cephaloridine および PCG は、1b および 3 に対する結合率が高く、とくに肺炎双球菌、連鎖球菌において著明であり、ブドウ球菌についても 1b について同様な傾向にある。

変形菌のグループにおいては、Mecillinam が PBPs 2 に対して結合性を示した。変形菌の PBPs は大腸菌

のそれと類似しており、各菌種間において大差はないが、*Proteus inconstans* においては PBPs の抽出が困難である。変形菌に対する薬剤の特徴としては、一般的に $7\alpha\text{-OCH}_3$ 基を有する cefmetazole は PBPs 4, 5, 6 に対して結合性を示すのに対して、 $7\alpha\text{-H}$ 誘導体では全く結合性を示さない。PBPs 5, 6 に結合した ^{14}C -PCG は遊離し、この遊離は 6 より 5 に起り易い。

緑膿菌の PBPs は大腸菌の PBPs に類似しているが、PBPs 2, 3 は熱に弱く、PBPs 4 は熱に対して安定である。薬剤別の緑膿菌 PBPs に対する親和性は、抗緑膿菌性ペニシリンは PBPs 3, 1a, 1b に結合するのに対してセファロsporin系薬剤では多少薬剤間に相異が認められた。

以上、現在までの各菌種についての PBPs の結合についての研究成績が報告されたが、この領域の研究は日進月歩の感があり、大腸菌における PBPs の Mapping まで行われている現状であり、大腸菌の PBPs の Target は 1b との考えもある。今後 PBPs の結合能を指標にして、その他の因子、例えば細菌の外膜の透過性、 β -Lactamase に対する安定性、Autolytic enzyme の関与等との関連、あるいは MIC, MBC とのかねあいのもとに検討することにより β -Lactam 系抗生物質の作用機作の一助となることを期待する。

1. β -lactam 系抗生物質の殺菌作用機作に関する研究

西野武志・猪奥耕一
 信定孝子・谷野輝雄
 京都薬大・微生物

β -lactam 系抗生物質は細胞壁ペプチドグリカン合成系の最終段階である transpeptidation 反応を阻害すると報告されている。一方、 β -lactam 系抗生物質を対数増殖期に作用させると、細菌は溶菌を起こし、殺菌される。この溶菌、殺菌現象を単に transpeptidase D-alanine carboxypeptidase の阻害作用だけで説明できないように思われる。そこで今回私どもは培地の pH を変えることにより、 β -lactam 剤の殺菌力が異なることを利用し、大腸菌 *E. coli* K-12 を用い、形態学的、Penicillin binding proteins(PBPs) に対する親和性、外膜透過性さらに溶菌活性の面から検討し、以下の成績を得た。

1. Penicillin G (PCG), Ampicillin (ABPC), Amoxicillin (AMPC), Cephaloridine (CER), Cephalixin (CEX), Cefazolin (CEZ), Cefmetazole (CMZ) を用い、培地の pH を 5.5, 7.0, 8.0 に変えた場合にどのように殺菌力が変動するかを、生菌数測定により検討し

たところ、すべての薬において短時間内での殺菌力が酸性側で増強されていた。

Fig. 1 Effect of penicillins on the morphology of *Escherichia coli* K-12 at various pH

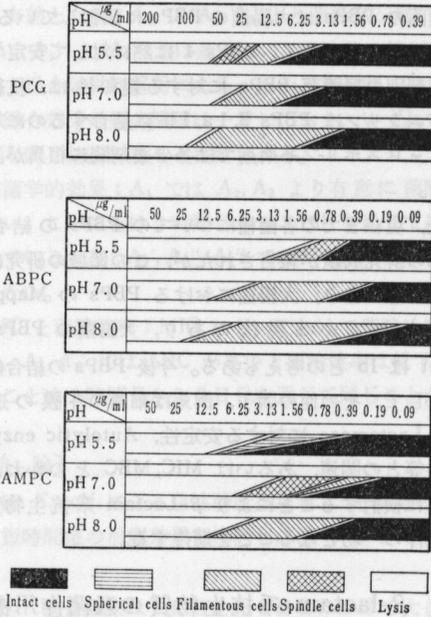
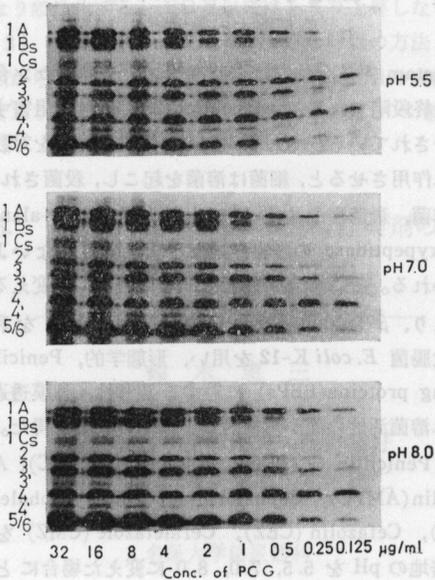


Fig. 2 Binding of ¹⁴C-benzylpenicillin to envelopes of *E. coli* K-12



2. 位相差顕微鏡, 走査型電子顕微鏡を用い, 形態学的な変化について検討したところ, pH を変えることにより形態的に差が認められた (Fig. 1)。すなわちアルカリ側で filament 化しやすく, 酸性側において elongation 阻害の傾向が認められ, ABPC, PCG, CEZ 作用では酸性側で bulge を形成した。また中性において bulge を形成する AMPC においては, 酸性側で mecillinam 様の ovoid cells を形成した。

3. 薬と膜タンパク質の結合の際の pH を変え, SPRATT の方法により PBP に対する親和性の検討を行ったところ, アルカリ側で PBP 1 A, 3 の親和性が強くなり, 酸性側で PBP 2 の親和性が著るしく強くなっていた (Fig. 2)。この結果は SPRATT や他の報告と考え合わせると, 形態観察の結果に非常に良く一致していた。また minor components に対しては, 中性, アルカリ側で PBP 1 Cs の親和性が強くなり, 酸性側で PBP 4' の親和性が強くなっていた。

4. ZIMMERMANN, SAWAI らの方法により, *E. coli* No. 21 を用い, 薬の外膜透過性について検討した。その結果, pH を変えても薬の外膜透過性には変化が認められなかった。

5. phosphate buffer に浮遊した菌の濁度の変化を測定することにより, 溶菌活性について検討したところ, pH 5.5 における薬剤作用菌の溶菌は活性化されていた。すなわち β -lactam 系抗生物質は増殖系で菌の溶菌を活性化することにより菌は溶菌死滅するものと思われる。

6. PCG による溶菌と菌の増殖時期との関係について検討した結果, 対数増殖期において活性が強く現われ, 誘導期, 定常期において活性が弱かった。この結果は PCG が増殖期でだけ殺菌的に働くことと一致していると思われる。

β -lactam 系抗生物質の抗菌作用は 1) 外膜の透過性, 2) β -lactamase に対する安定性, 3) PBP に対する親和性, 4) autolytic enzyme の関与, これら 4 つの因子が相互に関連して, 菌は殺菌, 溶菌されていくものと考えられる。今回私どもの行った結果では, 外膜の透過性に差は見られず, 酸性側で spindle cells が見られ, 溶菌も活性化されており, PBP 2 に対する親和性が強く認められた。このような差が pH 間における抗菌作用に反映しているものと考えられる。また PBP の minor components も何らかの意味を持っていると考えられた。

2. グラム陽性球菌における Penicillin Binding Proteins について

紺野昌俊・沢井 稔・斎藤洪太
高橋洋子・生方公子

帝京大学医学部小児科学教室

Staph. aur. 209-PJC 株, TK-1 E 株 (PC 感性), MS-353 株 (PC 感性), TK-1 株 (PC 耐性), *Str. pyogenes* No. 58 株, *Str. pneum.* No. 20 株の6株を用いて, 振盪培養, 対数増殖の後期に集菌して, SPRATT の方法に準じて膜成分を分離した。そして ^{14}C Penicillin G と他の Penicillin 系, Cephalosporin 系薬剤の同時添加による競合, あるいは ^{14}C Penicillin G の単独添加による ^{14}C Penicillin G の density の強さから速度式を求め, また PBP の温度処理による ^{14}C PCG の結合の強弱から, それぞれの PBP の特性と, 各薬剤の特性に対する推察を行った。

グラム陽性球菌の PBP の band は, グラム陰性桿菌とは異なり, 分子量の重い部分の band が多く検出され, 温度感受性で見ると, 分子量の最も重い band は 42°C で density を失うもの (ブドウ球菌) と, 50°C で急速に不活化し, 55°C で density を失うもの (溶連菌, 肺炎球菌) とがあり, これを大腸菌の Ia に相当するものとする, 大腸菌のそれとは多少異なると思われた。また, その次の分子量のやや軽い部分には大腸菌の Ibs に相当すると思われる少なくとも2本の band が見られ, その2本の中, 分子量がやや重い band は 50°C の温度処理で消失する特性を有し, もう1つの band は 55°C で消失するという。この2本の band には多少の相違が見られ, おそらく, この band には分子量はほぼ同じでも, 異なった役割りを有する酵素が混在していると考えられた。

また, Mecillinam の添加により, 特異的に消失する band はなく, 大腸菌の PBP 3 に親和性を有する Piperacillin の添加で消失する band が Ibs の次に見られ, これが肺炎球菌の PBP 3 に相当するものと考えられたが, この物質は肺炎球菌のそれよりも温度には抵抗性を有しており, 55°C で失活する。肺炎球菌の PBP 5, 6 に相当する band は Cefmetazole の添加で特異的に消失するが, この band はブドウ球菌では1本, 肺炎球菌と溶連菌では2本認められる。しかし, この2本の band は 55°C の温度処理で同時に消失しており, 少なくとも肺炎球菌の PBP 5, 6 とは, 多少異なる性質を有するものと思われた。

このような ^{14}C Penicillin G との競合による速度

式は, Competitor が ^{14}C Penicillin G と類似な物質である場合, 酵素の活性中心が共通の場合 (single site) と, 活性中心が別個の場合で相互作用がある場合 (double site: non-crossing type あるいは crossing type) など, 少なくとも5通りの case が考えられるが, この実験の場合には, ^{14}C Penicillin G の添加量は一定にして, Competitor の量だけ変化させて, ^{14}C Penicillin G の density の減少率から測定しているものであり, 実測によるその density の減少率と Competitor の濃度との間には直線性が得られることから, site は1つ, もし2つあっても2つの site が同じ結合力を有しているものと考えられ, このようなことから, 反応の速度が時間の経過によっても一定の比率で増加し, $[\text{E} \cdot \text{S}]$ 複合体からの解離が比較的遅い PBP の 1, 2 および 3 については, これらの速度式は応用できると考え, 最小自乗法により, その速度を求めた。(但し, この際の実験速度は ^{14}C Penicillin G の単独添加により各 PBP への結合が saturated した時の density を1とした。)そして, 実測による ^{14}C Penicillin G の結合を50% 阻止する Competitor の濃度 (モル比) と, 求めた K_m とを比較すると, 当然のことながら, よく一致した。そして, 種々の薬剤のこれらの結合反応に対する効率の良し悪しを比較するために K_m/V を求めて, 比較すると, CER と PCG が他の薬剤に比して飛び抜けて Ib, 3 に対する結合反応の効率がよく, この傾向は肺炎球菌と溶連菌で著明であり, ブドウ球菌でも, Ib については同じ傾向が認められた。

一方, 耐性ブドウ球菌用 Penicillin は, ブドウ球菌の PBP に対する親和性は決してよいものではなく, 効率も悪い。この結果は, 私達が嘗て示した PCG や CER ではブドウ球菌は溶菌するが, 耐性ブドウ球菌用 Penicillin では巨大膨潤するだけで溶菌し難いこと, 小児のブドウ球菌感染症に対しては, 現在の耐性ブドウ球菌用 Penicillin だけでは, 必ずしも充分でないという私達の考えを裏付けるものであった。最近の新しい β -lactam 系薬剤は, 総じて, グラム陰性桿菌には優れた MIC を示すが, グラム陽性球菌には必ずしも優れた抗菌力を示さない一端は, この PBP に対する結合の効率の悪さにあるとも考えられ, これらの方法により検討することが, 薬剤評価の一助, あるいはグラム陽性球菌用の薬剤の開発に役立つものと考えられた。

3. *Proteus* 属細菌の Penicillin Binding Proteins

大屋 哲・山崎光郎・菅原真一

三共株式会社中央研究所

玉城成夫・松橋通生

東京大学応用微生物研究所

〔目的〕 大腸菌において Penicillin Binding Proteins (PBP) の分離分析法が確立し、各々の PBP と細菌細胞壁合成系酵素との対応や産生支配の遺伝子の染色体上の位置等が明らかになって来た。PBP の中には菌の生長分裂に重要な役割を果しているものがあるので、大腸菌以外の菌種にも当然 PBP が存在することが予想される。 β -lactam 系抗生剤の作用機序の解明上、大腸菌以外の菌種の PBP に対する β -lactam 系剤の結合性検討は必要であり、これによって薬剤の抗菌スペクトラムの特徴や殺菌力の強さ等に関する知見が得られると考えられる。しかし、大腸菌以外の菌種では、細菌細胞壁合成系酵素との対応や遺伝子レベルでの解析が大腸菌の場合ほど進んでいないため、これらの菌種の PBP を研究する場合、大腸菌 PBP との対応を明らかにしておく必要がある。

我々は *Proteus* 属 3 菌種 (*P. mirabilis*, *P.morganii*, *P.rettgeri*) で PBP の存在を確認し、これらの PBP をその諸性質によって大腸菌 PBP との対応づけを試みた。大腸菌 PBP との対応の指標として、(1) ゲル電気泳動の易動度、(2) 大腸菌の特定 PBP に結合性を有し、特徴的菌形態を誘発する β -lactam 系剤の *Proteus* PBP への結合性、(3) ^{14}C -Penicillin G (PCG) の結合の kinetics、(4) β -lactamase 活性、(5) ^{14}C -PCG 結合の熱安定性について検討した。

〔方法〕 使用菌株は *E. coli* K 12 JE 1011, *P. mirabilis* ATCC 15290, *P.morganii* IFO 3045, *P.rettgeri* ATCC 14505。これらの菌株からの細胞膜画分の調製および ^{14}C -PCG 結合実験は SPRATT の方法によった。 ^{14}C -PCG の各 PBP への結合量はフルオログラムのバンドをマイクロデントメーターで測定した。

〔結果〕 *Proteus* 属 3 菌種の主な PBP は SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動の易動度および以下の実験結果から、大腸菌 PBP と対応させて、易動度の小なる方から PBP 1A, 1B(s), 2, 3, 4, 5(s), 6 とした。*P.rettgeri* では大腸菌 PBP 1Bs, 5 に対応するバンドをそれぞれ 2 本認めたので 1Bs, 5s とした。このほか *P. mirabilis* と *P.morganii* では 1A と 1B との間に微小なバンドそれぞれ 1 本を認めた。3 菌種の泳動パターンは *Pro-*

teus 属内での相互類似性を示し、大腸菌 PBP との対応も推測できた。大腸菌 PBP 2 に選択的結合性を示す mecillinam (MPC) は *Proteus* 属 3 菌種の PBP 2 に対しても同様の選択的結合性を示した。*P. mirabilis* では PBP 2, 3 が相互に分離せず 1 本の幅広いバンドとなったが、MPC はこの上半部にだけ選択的結合を認めた。従って *Proteus* 属のこれらの PBP は大腸菌 PBP 2 に対応する蛋白であると考えられる。大腸菌 PBP 1A, 1Bs に結合性を示す cephaloridine (CER) は *Proteus* 属 PBP 1A, 1B(s) に対しても同様の結合性を示した。従ってこれらは大腸菌 PBP 1A または 1Bs に対応する蛋白であると考えられる。大腸菌 PBP 1A と 1Bs は異なる遺伝子によって産生され、両者は生化学的諸性質にも明確な違いがあることが明らかになっている。PBP 1Bs は熱 (50°C, 10 分) および各種界面活性剤の前処理に安定 (^{14}C -PCG 結合性を失わない) で、cephalosporin (CS) 類よりも penicillin (PC) 類に強い結合性を示す。1A は逆に、熱および界面活性剤の前処理に 1Bs より不安定で、PC 類よりも CS 類に強い結合性を示す。*Proteus* 属 3 菌種の PBP 1A, 1B(s) にも同様の違いが確認されたのでこれらは大腸菌 PBP 1A, 1Bs にそれぞれ対応する蛋白であると考えられる。なお *P. rettgeri* の場合、易動度最小の 1 バンドが 1A、これより易動度大なる 2 バンドが 1Bs に対応していた。PBP 3 の対応は同様に cloxacillin や apalcillin の選択的結合性で確認できた。PBP 4, 5, 6 の対応は cefmetazole (CMZ) とその 7 α -H (セファロsporin) 型誘導体の対照的結合性と ^{14}C -PCG の結合と遊離の kinetics によって示された。大腸菌 PBP では、7 α -OCH₃ 基を有する CMZ は PBP 4, 5, 6 に結合性を示すのに対し、7 α -H 誘導体は全く結合性を示さない。また PBP 5, 6 に結合した ^{14}C -PCG はこれらの蛋白の持つ β -lactamase 様活性によって遊離し、この遊離は PBP 6 より 5 からが多く、4 を含むその他の PBP からは見られない。この ^{14}C -PCG 遊離性の差によってもこれら PBP の区別が可能である。 β -lactamase の加水分解を受けない CMZ は PBP 5, 6 から遊離しない。さらに PBP 4 への ^{14}C -PCG の結合は他の PBP より低濃度で飽和するので他の PBP と区別できる。これら PBP 4, 5, 6 に関する諸性質はすべて *Proteus* 属でも確認された。従って *Proteus* 属 3 菌種の PBP 4, 5, 6 は大腸菌 PBP 4, 5, 6 にそれぞれ対応すると考えられる。以上の結果から *Proteus* 属 3 菌種の PBP を大腸菌 PBP と対応させることができた。本法は広く腸内細菌群の PBP の解析に応用可能と考えられる。

4. 緑膿菌のペニシリン結合性蛋白について

野口 浩

住友化学K. K. 医薬事業部

細胞の成長・分裂に関する酵素反応を個別に測定することは現在不可能である。しかしながら、最近の大腸菌における酵素学的・遺伝学的な研究はペニシリン感受性の細胞壁生成酵素がペニシリン結合性蛋白 (PBP) のうちのいくつかと一致することを示した。その結果、 β -lactam 抗生剤の PBP への結合性を調べる方法はその薬剤の作用機序を解明する有力かつ簡便な手段を提供した。

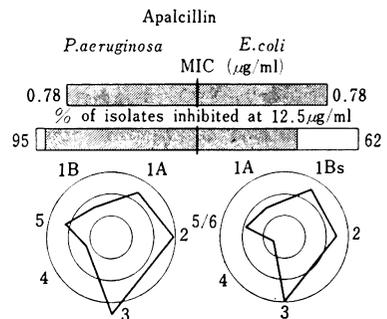
我々は、大腸菌に比較的近縁な菌種でありながら多くの抗生剤に非感受性の緑膿菌の薬剤耐性に着目しその耐性機構の解明を、さらには近年登場してきた抗緑膿菌性 β -lactam 剤の作用機構を明らかにすることを目的として生化学的・遺伝学的に検討を加えてきた。今回はこの立場にたつてペニシリンの標的蛋白としての PBP についてその性状を緑膿菌と大腸菌で比較検討した。また、併せて形態変化と抗菌活性との関係を調べた。

P. aeruginosa NCTC 10490, PA 02142, GN 918 および *E. coli* JE 1011 を材料とし、細胞膜の調製、PBP の検出は、SPRATT の方法を一部変えて行なった。各種 β -lactam 剤の親和性は、その薬剤と [14 C] penicillin G (PCG) とを混ぜた後に細胞膜標品と 30°C, 10 分間反応させ常法により PBP を検出した。

P. aeruginosa の PBP は 6 つの major bands (PBP-1A, 1B, 2, 3, 4, 5) と 2~3 の minor bands (PBP-3', 4', 7) として検出された。細胞内膜に局在し菌株間による差はなかった。みかけの分子量はそれぞれ 90, 71, 59, 49, 32 および 27 K であった。PBP-5 が量的に最も多く 78% を占めた。[14 C] PCG に対する親和性は PBP-4 で最も高く ($K_d = 2 \times 10^{-6}$ M), PBP-2 で最も低かった ($K_d = 8 \times 10^{-5}$ M)。PBP-[14 C] PCG complex は、PBP-1A~4 においては安定であり、PBP-5 の場合 $T_{1/2} = 5$ 分で [14 C] PCG が遊離された。半減期 $T_{1/2} = 20$ 分を示すとされる *E. coli* PBP-6 に相当する PBP はなかった。*P. aeruginosa* PBP-2 および 3 は熱に弱く 40°C 10 分の処理により結合能を失ない、PBP-4 は 55°C 10 分でも安定であった。以上の諸性状を *E. coli* PBP の性状と比較すると *P. aeruginosa* の PBP-2, 4, 5 はそれぞれ *E. coli* の PBP-2, 4, 5 に対応することが示唆された。

P. aeruginosa PBP の生理的役割は何か。*E. coli* で試みられた手法、すなわち、各種抗生剤の PBP への結

合親和性を求め、その薬剤により惹起される形態変化および抗菌力との関係を *P. aeruginosa* で検討した。その際、各薬剤の PBP への親和性を星型 (star shape) として表示した。PCG と比べた親和性の強さを log scale にて放射線上、PBP-1A, 1B は上, 2 は右, 3 は下, 4, 5 は左方向に配置した。PCG の 10 倍, 1, 1/10 の強さの親和性を意味する外円, 中心円, 内円を置いた。Apalcillin は *P. aeruginosa*, *E. coli* にはほぼ同等の抗菌力を示し低濃度において、ところどころに buldge 様構造をもつ非常に長い filament 構造を引きおこす。この薬剤の PBP への親和性は、下および右方向に広がった比較的大きな star-shape を示した。Cephelordine (CER), Mecillinam (MPC), Cefoxitin (CFX) は、*P. aeruginosa* に活性の弱い薬剤であるが、cell-free 系で調べた PBP への親和性は、*E. coli*, *P. aeruginosa* 間でその大きさに大差なく、*P. aeruginosa* PBP-1A, 1B の位置を *E. coli* の PBP-1Bs, 1A に対応づけて配置した場合、極めて形の似た star-shape を示した。CER は左上方に伸びた star-shape を示し、*P. aeruginosa* に対しても 6,400 μ g/ml と高濃度を作用させたとき *E. coli* と同様に filament 化の少ない lysis 像が観察された。MPC は *E. coli* と同様に PBP-2 に特異的な親和性を示し右方向に伸びた star-shape をとり、桿菌を球状化した。CFX は、MPC と対照的に右方向の欠如した左方向にとくに伸びた比較的大きな star-shape をとって、高濃度ではあるが filament 化の少ない lysis 像を惹起した。これらの事実は、*P. aeruginosa* の薬剤耐性は、PBP という target level よりも、むしろ cell envelope という barrier に起因するところが大きいことを示唆する。そして、*P. aeruginosa* の PBP の生理的役割は、*E. coli* のそれとよく似ている可能性の強いことを示す。その場合、機能上、*P. aeruginosa* の PBP-1A, 1B, 2, 3, 4, 5 はそれぞれ *E. coli* の PBP-1Bs, 1A, 2, 3, 4, 5 に対応すると考えられる。*P. aeruginosa* PBP-



1A, 1B および5の変異株が得られたので、今後、この対応付けや *P. aeruginosa* PBP の生理的役割について実証していく。

5. 緑膿菌における β -lactam 系抗生物質の作用機序 (第2報)

中牟田誠一・熊沢浄一・百瀬俊郎
九州大学泌尿器科

緑膿菌は、尿路感染症の患者尿からの分離率は増加しつつあり、薬剤耐性菌も多く、治療にあたっては臨床医を困窮させている。一方、近年抗緑膿菌抗生物質が多数開発され、臨床にも用いられて来た。これらのうち β -lactam 系抗生物質の作用機序について検討を加えた。

ペニシリン系抗生物質である Carbenicillin, Sulbenicillin, Ticarcillin, Piperacillin, Mezlocillin, Ampicillin については、すでに構造的、抗菌作用および形態変化を Penicillin-binding Protein の関連を報告したので今回は、セファロスポリン系抗生物質について報告する。検討を加えた抗緑膿菌作用のあるセファロスポリン系抗生物質は、SCE-129, T-1551, HR-756, FK-749 である。実験に用いた菌株は、Holloway の株を信州大学 松本博士から分与頂いた *Pseudomonas aeruginosa* PAO-1 株である。この菌に対する各薬剤の MIC は、SCE-129 は $1.56 \mu\text{g/ml}$, T-1551 は $6.25 \mu\text{g/ml}$, HR-756 は $12.5 \mu\text{g/ml}$, FK-749 は $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった。

次に抗菌作用を見た対数増殖期にある菌に抗生物質を 1, 10, 50, 100, 500 $\mu\text{g/ml}$ 添加し、30 分毎に生菌数と濁度を測定した。

T-1551 では、10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 添加後も生菌数の明らかな減少は見られず、濁度は、500 $\mu\text{g/ml}$ でも Control とほぼ同様に増加し、菌の死は少なく、分裂阻害にて伸長している。FK-749 も、100 $\mu\text{g/ml}$ でも生菌数の著明な減少は見られず、500 $\mu\text{g/ml}$ でも濁度は、やや低下するだけで、明らかな菌の死は見られなかった。SCE-129 も同様の傾向を示した。HR-756 では前3剤とは異なり 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ で生菌数は減少し、濁度の低下があり、菌の死が見られた。

次に緑膿菌における Penicillin-binding Protein (PBP) について検討した。SPRATT の方法に準じ SDS-polyacrylamid gel にて電気泳動を行ない Autoradio-

graphy により inner membrane protein と ^{14}C -PCG との結合を見た。また β -lactam 系抗生物質により前処理し、 ^{14}C -PCG との結合拮抗を見ることにより、PBP に対する薬剤の親和性を判定した。Control 像は、Mecillinam が結合する Band を Protein 2 とし、分子量の多い方から 1a, 1b, 2, 3, 4, 5/6 とした。Protein 5/6 より低分子のところにも Band が出来ることもあった。 ^{14}C -PCG の親和性を見ると Protein 4, 1a, 3, 5/6, 2 の順となった。

SCE-129 で前処理すると Protein 3, 1b に結合拮抗が見られ、次いで4の順となり、すなわち、この薬剤は、Protein 3, 1b 次いで4に親和性が見られた。T-1551 では Protein 3 に最も強く、ほかに、1b, 1a, 4の順で親和性が見られた。HR-756 では、Protein 1a, 3 に強く、1b にも低濃度で結合しており次いで4に親和性が見られた。FK-749 では Protein 3 に最も強く結合し、次いで4, 1a に親和性が見られ、1b は高濃度でも結合しなかった。

以上まとめて見ると、ペニシリン系抗生物質では、CBPC, SBPC, TIPC を作用させると早期に菌の死が見られ、PBP では Protein 3, 1a, 1b との親和性が強く、今回検討したセファロスポリン系の中でも同様のことが HR-756 で確認され、菌の死が見られ、PBP では Protein 1a, 3, 1b への親和性が強く現われた。

PBP について考えると、Protein 1a, 1b の双方に親和性が強い薬剤では、早期に菌の死が現われ、1a あるいは1b の片方だけに親和性のある薬剤では著明な菌の死は見られなかった。

Affinities of PBPs for β -lactams

β -lactams	Penicillin-binding Proteins
*CB-PC	3>1a>1b, 4>>2
*SB-PC	3>1a>1b>>4, 2
*TI-PC	3>1a>1b>>4
PI-PC	3>1a>2, 4>1b
ME-PC	3>1a>2, 4>1b
AP-PC	3>1a>2, 4>>1b
SCE-129	3>1b>1a, 4
T-1551	3>1b>1a>4
*HR-756	1a, 3>1b>4
FK-749	3>4, 1a>>1b