

# 実験肺炎を場とする CEZ・GM 併用療法の解析

## GM 少量併用の効果の確認

宇塚 良夫・永武 毅・松本 慶蔵  
穴戸 春美・力富 直人・渡辺貴和雄  
長崎大学熱研内科

(昭和 55 年 3 月 3 日受付)

重症グラム陰性桿菌性肺炎の化学療法の解析を目的に開発した致死性肺炎桿菌性マウス肺炎を場として、*in vivo* における CEZ と GM の併用療法を解析し、GM の少量併用においても明確な効果を確認し、臨床応用に有意義な示唆を与える結果を得た。

Biophotorecorder による *in vitro* の実験において、肺炎桿菌 B-54 株に対し、CEZ (MIC 1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) 単独に比し、GM (MIC 0.39  $\mu\text{g/ml}$ ) 1/50 MIC 併用でも明確な増殖抑制効果を認めた。

*in vivo* 実験は、1 回 150 匹のマウスを用い、肺炎桿菌 B-54 株 500 LD<sub>50</sub> (約  $5 \times 10^4$  C. F. U./マウス肺) 吸入感染 12 時間後の肺炎発症時から CEZ および GM を皮下注射し、肺内生菌数変動と死亡率を指標として併用効果を解析した。CEZ 50 mg/kg 1.5 時間毎投与成績に対比し、GM 1 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.01 mg/kg 各々 1.5 時間毎の併用で明確な治療促進を認めた。さらに、GM 0.01 mg/kg の 3 時間毎、6 時間毎併用でも効果は明白で、回帰直線を用いた解析による 3 相性肺内生菌数減少パターンの比較によって、併用効果の差が明瞭となった。CEZ 50 mg/kg 単独と、GM 0.01 mg/kg 併用 1 回投与後の血中および肺内薬剤濃度は、bioassay 法では差がないにも拘らず、肺内細菌の再増殖抑制時間が、CEZ 単独では 1 時間であるのに対し、GM 併用では 3 時間以上となること、治療効果の差に反映しているものと考えられた。

## 緒 言

重篤なグラム陰性桿菌性肺炎に対し、 $\beta$ -lactam 系抗生物質と Aminoglycoside 剤の併用は既に一般臨床に広く用いられている<sup>1)</sup>。しかしながら、この併用療法の根拠は、*in vitro* における静菌・殺菌効果に関する成績<sup>2-6)</sup>と、腹腔感染モデルによる *in vivo* 実験<sup>7)</sup>、および臨床例における有効率の成績<sup>8,9)</sup> に依存しており、実際に肺炎における併用療法の機構を明らかにする報告は見出せない。私共は、重篤な肺炎における化学療法理論を確立する手段として、肺炎モデルによる *in vivo* 実験が最良の方策と考え、噴霧吸入感染による致死性肺炎桿菌性マウス肺炎を作製し<sup>10)</sup>、 $\beta$ -lactam 剤による治療の解析<sup>11)</sup> と、ここにおいて見出された特異的な 3 相性肺内生菌数減少パターン<sup>12)</sup> について既に本学会誌に報告した。この実験系において既に明らかにした CEZ の治療に加えて、GM の併用を行ない、本実験系が併用効果の解析にも適することとともに、GM の併用量が少量でも明瞭な併用効果を確認し、臨床における併用療法に新しい方向を示唆する成績を得たので報告する。

## 実験方法および材料

### 1. 肺炎作製法および肺内生菌数測定法

詳細は前著<sup>10,11)</sup>に述べているので、要点だけを以下に記す。

ddY マウス、オス体重 10~15 g, 1 回 100~150 匹を私共の噴霧感染装置に入れ、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) B-54 株 (LD<sub>50</sub>;  $9.7 \times 10^4$  C. F. U./マウス肺) の  $2 \times 10^9$  C. F. U./ml 菌液 10 ml を噴霧吸入させ、全マウスに約 500 LD<sub>50</sub> の菌をテイクさせる。

肺内生菌数測定には、1 測定点当たり 3 匹を用い、脱血屠殺した後、肺を汚染せぬように摘出する。摘出した肺を化学天秤にて秤量後、滅菌乳鉢にて磨砕し、滅菌生食水にて稀釈して定量培養を行なった。各時点における肺内生菌数は、3 匹の値の幾何平均値をもって表わした。

### 2. 抗生物質投与方法

CEZ, GM の 2 剤を用い、滅菌生食水にて溶解し、マウスに対する投与薬液量が 1 回 0.005 ml/g となるように調整した。すなわち、CEZ 50 mg/kg 投与では、10 mg/ml, GM 1 mg/kg 投与では 0.2 mg/ml のように

抗生物質液を作製した。さらに CEZ と GM を併用投与する時は、それぞれの抗生物質の 2 倍濃度の液を作製し、投与直前に等量混合して注射液とした。薬剤投与は、肺内細菌が増殖し、肺炎病巣形成の始まる感染 12 時間後から開始し、各々のスケジュールに従ってマウスの臀部に皮下注投与した。

用いた薬剤の肺炎桿菌 B-54 株に対する MIC は、CEZ 1.56  $\mu\text{g/ml}$ , GM 0.39  $\mu\text{g/ml}$  で、化学療法学会標準法 ( $10^4/\text{ml}$  菌液接種) でも、液体培地法 ( $10^4/\text{ml}$  接種) でも同一であった。

3. 抗生物質血中・肺内濃度測定法<sup>11)</sup>

鎖骨下動脈を切断して血液を採取し、血清を分離して血中濃度測定用検体とした。脱血層殺後抽出した肺は滅菌乳鉢で磨砕後、2 倍量の滅菌生食水を加えてホモジナイズし、肺内濃度測定用検体とした。

濃度測定はいずれも *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする薄層カップ法および Agar well 法を用い、培地は Trypticase Soy Agar <BBL>, 標準曲線はマウス・プール血清希釈で作製した。

4. 治療効果判定

治療中止後 7 日まで観察を行ない、7 日後の生存率で効果を判定した。死亡したマウス、および 7 日後まで生存したマウスとも、すべて剖検して各臓器を観察し、肺炎の有無を確認するとともに肺内細菌数の測定を行なった。

5. *in vitro* における CEZ-GM 併用実験

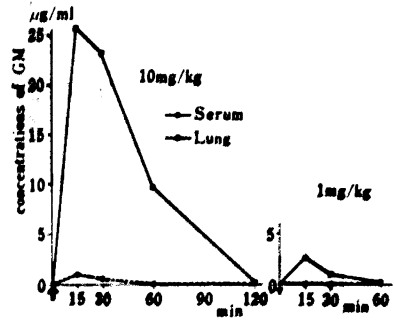
Biophotorecorder TN-112D <東洋科学> を用い、肺炎桿菌 B-54 株に対する CEZ, GM 各々単独および 2 剤併用における増殖抑制効果を調べた。培地は Trypticase Soy Broth <BBL> を用い、各濃度の抗生物質を加えた培地に、18 時間液体培養を行なった肺炎桿菌 B-54 株を  $10^5/\text{ml}$  濃度に接種し、この液を吸光度 0.05 にセットし、振盪培養を行ない、細菌の増殖による吸光度の変化を記録した。次いで、さらにマウスにおける *in vivo* 実験に近付けるため、CEZ のマウス肺内濃度ピーク値に近い 16 および 64 MIC 濃度に GM 1/50 MIC を併用し、培地開始 30 分後に  $\beta$ -lactamase として PCase II <Difco> を 1.0 units/ml 加え CEZ を分解した後の菌の増殖曲線を調べた。

成績

1. 本実験肺炎マウスにおける GM の血中および肺内濃度

感染 12 時間後に GM を 10 mg/kg および 1 mg/kg 皮下注投与し、それぞれ血中濃度および肺内濃度を経時的に測定した成績を Fig. 1 に示す。10 mg/kg では、15 分後に血中、肺内ともに最大値を示し、それぞれ 25.6

Fig. 1. Concentrations of gentamicin (GM) in serum and lung of mice with pneumonia

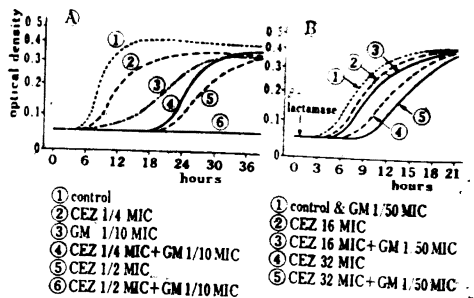


$\mu\text{g/ml}$  および 1.1  $\mu\text{g/ml}$  であり、その後速やかに減少し、血中からは 120 分までに 0.2  $\mu\text{g/ml}$  以下、肺からは 60 分までに 0.5  $\mu\text{g/ml}$  以下となった。1 mg/kg では、血中では 15 分後に最大値 2.4  $\mu\text{g/ml}$  で、60 分後には 0.2  $\mu\text{g/ml}$  以下、肺ではいずれの時間も検出不能で 0.5  $\mu\text{g/ml}$  以下であった。

2. *in vitro* における CEZ と GM の併用

前の実験から、ヒトの投与量に準じた GM の 1 回投与量では、肺内濃度が肺炎桿菌 B-54 株の MIC に達しないことが推測された。そこで、MIC 以下の濃度の GM を CEZ に併用した時の本菌に対する増殖抑制効果を調べた。Fig. 2 の A に示したように、GM 1/10 MIC を併用すると、CEZ 1/4 MIC および CEZ 1/2 MIC の場合ともに強い増殖抑制効果を示した。ただし、GM 1/10 MIC 単独でも本菌の増殖は control に較べて著明に遅延している。図には示していないが、GM 1/50 MIC の場合は、単独では菌の増殖は control に一致し、CEZ 1/4, 1/2, および 1 MIC との併用では弱いながら明瞭

Fig. 2. Synergism between cefazolin (CEZ) and gentamicin (GM) against *Klebsiella pneumoniae* B-54. Bacterial growth was measured as the change of optical density by Biophotorecorder



な増殖抑制効果の増強を示した。

次に、より *in vivo* に近い状態での併用効果を調べた。前報<sup>11)</sup>の実験にて、CEZ 50mg/kg 皮下注射では、肺内濃度は 15 分で最大値 51~59  $\mu\text{g/ml}$  (33~38 MIC) となり、その後速やかに減少して 60 分では 3.9  $\mu\text{g/ml}$  となることがわかっているため、CEZ の 16 および 64 MIC との接触 30 分後に  $\beta$ -lactamase にて CEZ を分解する試みを行ない、この系における GM 1/50 MIC の併用の有無による増殖抑制効果を比較した。Fig. 2 の③に示すように、CEZ 16 MIC との併用で約 1 時間、CEZ 64 MIC との併用では約 2 時間の細菌増殖の遅延が認められた。

### 3. CEZ と GM の併用投与によるマウス肺炎の治療実験

#### (1) CEZ と GM の投与時間の検討

CEZ と GM の同時投与と、両剤の投与時間をズラした場合の差を検討する目的で、CEZ 50 mg/kg 3 時間毎投与と、GM 1 mg/kg 3 時間毎投与の併用において、方法の項に述べたように、CEZ と GM を混合して注射した場合 (同時併用) と、CEZ 投与の 1.5 時間後に GM を投与する場合 (交互投与) とを比較したが、治療開始 15 時間までの肺内細菌数は両群間に差がなかった。従って、以後の併用投与実験においては、注射直前に CEZ と GM を混合して同時に投与する方法を用いた。

#### (2) CEZ 50 mg/kg と GM 1 mg/kg の 1.5 時間毎併用

CEZ 単独、GM 単独、CEZ と GM 併用の 3 群における治療開始後 24 時間までの肺内細菌数の動きは Fig. 3 のとおりで、治療開始時肺内細菌数  $9.02 \times 10^8$  C.F.U./マウス肺から、24 時間の治療で、CEZ 単独群  $2.25 \times 10^8$  C.F.U./マウス肺、GM 単独群  $3.92 \times 10^2$  C.F.U.

Fig. 3. Effects of repeated injections of cefazolin (CEZ) 50 mg/kg and/or gentamicin (GM) 1 mg/kg q.1 1/2 h. on number of bacteria in lung

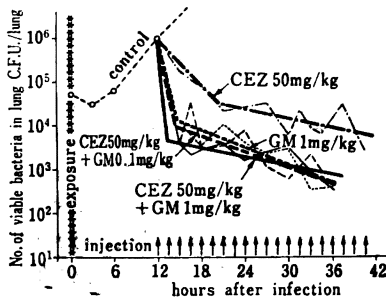
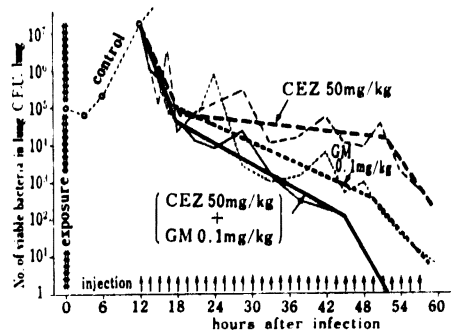


Fig. 4. Effects of repeated injections of cefazolin (CEZ) 50 mg/kg and/or gentamicin (GM) 0.1 mg/kg q.1 1/2 h. on number of bacteria in lung



U./マウス肺、併用群  $3.57 \times 10^8$  C.F.U./マウス肺へそれぞれ減少した。前著<sup>12)</sup>に記したとおり、肺内細菌変動曲線を、最小 2 乗法により、最も良く一致する 1~3 本の回帰直線に分割して肺内細菌減少パターンを解析すると、3 群ともに 2 本の回帰直線で近似され、CEZ 単独よりも、GM 単独および CEZ と GM の併用でより早く肺内細菌数が減少している。本実験系において、CEZ 50 mg/kg と GM 0.1 mg/kg 併用治療も同時に実施したところ、肺内細菌減少パターンは、GM 1 mg/kg の併用群と、GM 0.1 mg/kg の併用群の間にほとんど差を認めなかった。

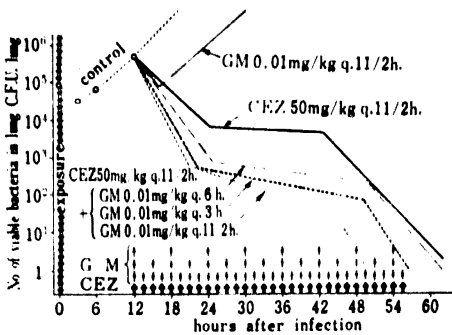
#### (3) CEZ 50 mg/kg と GM 0.1 mg/kg の 1.5 時間毎併用

前項の実験結果から、CEZ の 1 回量を 50 mg/kg のまま、GM の 1 回量を 0.1 mg/kg に減らし、CEZ 単独、GM 単独、CEZ と GM 併用の 3 群において、1.5 時間毎皮下注射 46.5 時間の治療における肺内細菌数変化を比較し、Fig. 4 に示した。1.89  $\times 10^7$  C.F.U./マウス肺と肺内細菌数の多い状態で治療を開始したが、3 群ともに肺内細菌数変動は 3 相パターンを呈し、CEZ 単独では治療 46.5 時間で  $3.94 \times 10^8$  C.F.U./マウス肺まで減少し、GM 単独では肺内細菌数は 8.29 C.F.U./マウス肺まで減少した。CEZ と GM の併用では、治療 39 時間で肺内細菌は検出不能 ( $< 7$  C.F.U./マウス肺) となり肺炎は治癒した。

#### (4) CEZ 50 mg/kg と GM 0.01 mg/kg の併用

次いで、さらに GM の量を減らし、1 回量を 0.01 mg/kg とし、CEZ は 50 mg/kg を 1.5 時間毎に投与し、GM は 1.5 時間毎併用、3 時間毎併用、6 時間毎併用の 3 群に分け、CEZ 単独群、GM 単独 1.5 時間毎

Fig. 5. Synergistic effects of small dose of gentamicin (GM) with cefazolin (CEZ) on the patterns of bacterial clearance from lung



投与の計5群について同一実験で比較を行なった。肺内生菌数の変化を回帰直線で表示すると、Fig.5のとおりであった。すなわち、GM単独では、治療開始後約3時間は肺内生菌数が減少するが、その後は薬剤投与中にも拘らず肺内生菌数は増加し、マウスはすべて肺炎で死亡した。CEZ単独では肺内生菌数は3相のパターンを示して減少し、30回投与(43.5時間の治療)を行なうと、投与中止7日後にマウスは全数生存し、肺炎は治癒した。GM併用群では、第1相における肺内生菌数減少は速やかで、第2相の菌数はCEZ単独群よりも1桁少なく、第3相の菌数減少も速やかで、CEZ単独よりも早期に肺内から菌が消失した。さらに、以上の効果は、GMの併用回数が多いほど大となった。

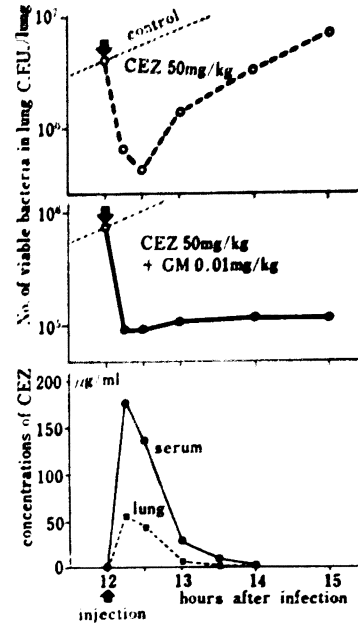
(5) CEZ 50 mg/kg と GM 0.01 mg/kg 併用1回投与後の肺内生菌数の変動

CEZ 50 mg/kg と GM 0.01 mg/kg 1回投与後3時間までの肺内生菌数と肺内抗生物質濃度をCEZ単独投与の場合と比較した(Fig.6)。なお、前記1,の成績から、GM 0.01 mg/kg 投与では肺内濃度は検出不能であるので、CEZ濃度だけ測定した。CEZの血中濃度、肺内濃度は、CEZ単独群、GM 0.01 mg/kg 併用群の間に差はなく、肺内では15分に最大値 52  $\mu\text{g/ml}$ 、その後速やかに減少し、60分後 3.8  $\mu\text{g/ml}$ 、90分後検出不能( $<0.5 \mu\text{g/ml}$ )であった。肺内生菌数は、CEZ単独では投与後30分まで減少したが、その後再増殖し、投与後2~3時間で投与前の肺内生菌数を越えた。これに対し、CEZとGM併用群では、15分で肺内生菌数は速やかに減少し、その後は、投与3時間後まで肺内生菌数はほとんど増殖せず一定に抑えられていた。

#### 考 察

近年における化学療法学上の関心は、1つは新化学療

Fig. 6. Effects of single injection of cefazolin (CEZ) and gentamicin (GM) on number of bacteria in lung



剤の開発に、1つは化学療法剤の作用機作に向けられている。前者の方面においては、化合物の構造と活性の相関の研究から、今や理論的に有用な新化学療法剤を合成する方向へと進み、着実にその効果が現われつつある<sup>13)</sup>。一方、後者の方面においては、PC binding proteinsや化学療法剤の細菌細胞壁透過性の問題など、*in vitro*における作用機作や効果は次第に明らかにされつつあるが<sup>14-16)</sup>、それらが*in vivo*において、どのような形で成立し得るかについてはいまだ明確ではない。さらに、JAWETZら<sup>17)</sup>以来、抗生物質の併用効果は広く認められ、臨床においても併用療法が日常的に行なわれている。しかしながら、*in vitro*における併用効果の証明と解析は多数報告されているが、臨床例における併用効果の解析は困難であり、併用療法における投与量、投与間隔の基準も明確でなく、併用理論も確立されていない。*in vitro*の成績をただちにそのまま臨床に適應させ得ないことは当然である。そこで、*in vivo*における解析が不可欠であり、臨床例の病態と対応させ得る*in vivo*モデルにおける解析が最も有効な方法と思われる。緒言に述べたように、私共は重症肺炎に対する化学療法理論の確立を目的に、解析のための手段としてマウス肺炎モデルを用い、その得られた結果と人間の場合との相違点を明確に考察した上で、臨床例に応用可能な化学療法上の方策を希求しつつある。本実験系のような重症グラム陰

性桿菌性肺炎においては、臨床上  $\beta$ -lactam 剤と、Aminoglycoside 剤の併用が一般的に行なわれており、本実験系はその併用療法の解析に最適と考えられる。また、前報<sup>11,12)</sup>までに、肺炎桿菌性肺炎治療の主剤とすべき CEZ を始めとする Cephalosporin 剤による解析を行ない、単に投与量の増加や頻回投与だけでは治療効果の増強には限度があり、CEZ 50 mg/kg 1 時間毎投与に較べて、CEZ 50 mg/kg 30 分毎投与が有効性増強を示すわけではないことも認めた。すなわち、本肺炎において、Cephalosporin 単剤による治療は、投与量を増しても効果発現には限度があり、さらに効率の良い治療法を求める上で Aminoglycoside 剤の併用が当然検討されるべきであった。

前述のとおり、抗生物質の併用効果の解析の報告は大部分 *in vitro* におけるものであり、checkerboard method により相乗効果の有無を判定するのが一般的で、併用効果指数 (FIC index) で表示することや<sup>5,6)</sup>、多剤間の併用効果を能率良く検討表示する方法<sup>10)</sup>などが行なわれている。各報告者の成績を見ると、併用効果、すなわち相乗効果の大小は、菌種、菌株、抗生物質の組合せによって非常に異なっているが、一般的に、 $\beta$ -lactam 剤と Aminoglycoside 剤の間に相乗効果を認めており、肺炎桿菌に対しては CEZ と GM の併用効果が認められている<sup>5,6)</sup>。さらに、西田ら<sup>9)</sup>は、checkerboard method では相乗効果を認められない菌株に対しても、殺菌および増殖曲線において併用効果を認めている。私共の目的としている重症肺炎の治療においては、抗生物質による殺菌の他に、宿主による細菌のクリアランス、すなわち、喀出などによるドレナージと好中球、マクロファージ等による貪食殺菌も関与し、*in vitro* と異なり、細菌の存在する環境そのものがダイナミックに変化している。従って、細菌の増殖が抑制されるだけであっても、全体として治療効果が出現すると考えられるので、その効果を *in vitro* で検索する方法としては、増殖抑制効果の持続時間を検討するのが最良と考え、本研究においては checkerboard method を取らず、biophotorecorder による増殖曲線の検討だけを行なった。

*in vitro* における併用効果の検討において、まず CEZ 1 MIC からの 2 倍稀釈系列に GM を併用し、GM 1/10 MIC、さらに 1/50 MIC 併用でも細菌増殖抑制時間が延長することを確認した。すなわち、本実験に用いた肺炎桿菌 B-54 株では、GM は 0.008  $\mu$ g/ml という極めて低濃度でも併用効果が期待される。近年 cephalosporin と Aminoglycoside 剤の併用について、腎毒性の面からその可否が問題となっており<sup>10,9)</sup>、この成績は Aminoglycoside 剤の併用量を減らして副作用発現を防

止できる可能性を与えることになる。ところで一方、生体内においては、抗生物質は代謝、排泄され、その濃度は時々刻々と変動する。従って、*in vitro* の検討でもその点を充分考慮すべきであろう。私共の肺炎マウスに CEZ および GM をそれぞれ皮下注射与して濃度を実測した成績から、ヒトにおける標準投与量に基づいた CEZ 50 mg/kg、GM 1 mg/kg の 1 回投与後の肺内濃度とその持続時間を想定し、さらに、GM 併用量を減らすことを考え、CEZ 64 MIC (10  $\mu$ g/ml) および 16 MIC (2.5  $\mu$ g/ml) に GM 1/50 MIC (0.008  $\mu$ g/ml) を併用し、30 分後に  $\beta$ -lactamase を添加して CEZ を不活化し、より生体の病巣内に近い条件を作製した。この系においても細菌の増殖抑制時間が延長することを確認したので、既に CEZ 単独治療でその効果と治療過程を把握している本実験肺炎を用い、*in vivo* における併用効果を解析した訳である。

肺炎の治療効果は、本来、肺炎治癒および治療中止後の死亡率で判定すべきであるが、私共はすでに、本実験肺炎系において、肺内生菌数曲線を解析し、回帰直線による肺内生菌数変動パターンによって治療効果が充分判定できることを示した<sup>12)</sup>。すなわち、治療開始後の第 1 相でその回帰直線の傾きが正ならその治療では肺炎死を防止できず、第 1 相の傾きが負、すなわち肺内生菌数が減少する方向であれば、必要な期間治療を継続すると、肺内生菌数は、第 1 相 (急速)、第 2 相 (緩徐)、第 3 相 (急速) の 3 相の減少パターンを呈して肺内から菌が消失し、肺炎が治癒する。さらに、第 1 相の傾きを急峻にし、第 2 相における肺内生菌数がより少数となり、早期に第 3 相に移行する治療法ほど、より短期間に肺炎を治癒させることを明らかにした。これらの事実を踏まえて今回の GM 併用治療の成績を見ると、GM 併用により、第 1 相の肺内生菌数減少は CEZ 単独に較べていずれも急峻となり、第 2 相の菌はより少量になり、早期に第 3 相に移行して治癒しており、今回の研究においても肺内生菌数の 3 相性減少パターンが再確認された。GM 1 mg/kg~0.1 mg/kg 単独 1.5 時間毎皮下注射与によっても本肺炎が治癒し得るが、GM 単独では治癒しない GM 0.01 mg/kg と CEZ の併用で、肺炎治癒は促進され、しかもその効果は CEZ 1.5 時間毎投与に対し、GM 0.01 mg/kg を 6 時間毎に投与した場合にも認められる。第 1 相の急峻化、第 2 相の低位化、第 3 相への早期の移行、次いで治癒という過程は、GM の併用頻度を増すに従って促進され、この関係は回帰直線によるパターンに明瞭に認められる。ところで、GM 0.01 mg/kg 皮下注射与後の肺内濃度は bioassay が不可能なので、10 mg/kg 皮下注射時の実測値と平行するものとして考える

と、肺内濃度ピーク値は約  $0.001 \mu\text{g/ml}$  となる。biophotorecorder による *in vitro* 実験の GM 濃度  $0.008 \mu\text{g/ml}$  と同じレベルの薬剤量であり、かなり少量の GM による相乗効果が、*in vitro* ならびに *in vivo* において初めて証明されたものと考えている。

さらにこの効果を明瞭に見るため、1 回だけ投与後の肺内生菌数再増殖立上りを、CEZ 単独と、GM  $0.01 \text{ mg/kg}$  併用時と比較したところ、血中および肺内から bioassay で検出される抗生物質濃度には差がないにも拘らず、3 時間後でも菌数増加はほとんど完全に抑えられていた。GM の 6 時間毎併用でさえも効果があったことは、この結果から首肯される。それならば、この GM の微量の併用が何故これほど奏効するのかについては、現在までそれを解明するような報告を見出し得ず、かつこういう臨床的事実も経験していない。これまで報告されている *in vitro* の併用効果の研究<sup>8-10)</sup> はほとんど  $1 \text{ MIC} \sim 1/10 \text{ MIC}$  濃度内に止っており、私共が証明したほどの低濃度における明確な相乗効果を示した報告はない。

*in vivo* で併用効果を明らかにした報告に、西野<sup>7)</sup> による大腸菌のマウス腹腔感染モデルによる研究がある。彼らは、MIC が ABPC  $6.25 \mu\text{g/ml}$ 、DKB  $12.5 \mu\text{g/ml}$  の大腸菌を用い、ED<sub>50</sub> の成績から、ABPC と DKB の量が 5:4 のとき最も併用効果が高く、かつ両剤を同時併用投与した場合に最も優れた治療効果を認めている。私共の実験は、彼らの 1 回だけ投与の治療と異なり、連続投与であったためか、CEZ と GM の同時投与と、両剤の時間をズラした場合との間に効果の差を認めなかった。2 剤の併用量の比については、西野らの成績は、BERENBAUM<sup>10)</sup> の主張する両剤の MIC 量の比と等しい割合で併用した場合に最も併用効果が高いという成績に近い数字となっている。しかし、実際の臨床使用においては、 $\beta$ -lactam 剤と Aminoglycoside 剤の副作用、安全性の点から、薬剤量 1:1 の併用ということは現実的でなく、私共の見出した、 $\beta$ -lactam 剤の量に比較して極めて少量の Aminoglycoside 剤の併用で優れた治療効果を上げ得るということは、より臨床に大きな示唆を与えるものと考えられる。

現在のところ、この Aminoglycoside 剤の少量併用による著明な効果に関する機作は明らかでないが、最近の抗生物質の研究は、細胞壁透過性や標的物質の分子レベルにまで進展しており、今回私共が見出した事実も、これらの研究により、さらに解明されるものと考えている。

今回私共が行なった *in vivo* モデルでの検討成績から、臨床例、すなわち重症グラム陰性桿菌性肺炎の化学療法を考えるならば、起炎菌に対して抗菌力の高い  $\beta$ -

lactam 剤を主剤とし、それに Aminoglycoside 剤を併用することは積極的に奨められて良いと考える。その際の Aminoglycoside 剤の併用量は、通常単独で使用する場合よりも遙かに少ない量でもその併用効果が期待できるので、これによって副作用発現の防止も充分可能であろうと推測される。私共は、これらの知見に従って、臨床的事実をさらに積重ねたいものと考えている。

## 文 献

- 1) 松本慶蔵：細菌感染症の化学療法。呼吸器感染症の化学療法。第 20 回日本医学会総会会誌, 1187~1191 頁, 1979
- 2) 中沢昭三, 大槻雅子, 西野武志, 中尾雅文：緑膿菌に対する合成ペニシリンとアミノ配糖体抗生物質との併用に関する細菌学的研究。Chemotherapy 23: 3201~3209, 1975
- 3) 増田剛太, 富岡 一：Klebsiella 感染症の化学療法に関する基礎的研究：Cephalosporin 系抗生剤単独と Gentamicin との併用について。Chemotherapy 24: 451~455, 1976
- 4) 佐々木昌子, 今野 淳：臨床分離グラム陰性桿菌（緑膿菌, 肺炎桿菌）に対する ABPC+MCIPC と DKB の併用効果について。Chemotherapy 26: 15~20, 1978
- 5) 横田好子, 村川武雄, 西田 実：Cefazolin と Gentamicin の併用に関する基礎評価。Chemotherapy 27: 696~703, 1979
- 6) 高橋公毅, 小林章男：緑膿菌, クレブシエラ, セラチアに対する抗生剤の併用効果。Chemotherapy 27: 848~856, 1979
- 7) 吉田 隆, 折笠義則, 渡辺忠洋, 石井孝弘, 鬼海庄一郎, 数野勇造, 西野武志, 後藤直正：大腸菌に対するアンピシリンとジベカシンの併用に関する細菌学的研究。Chemotherapy 27: 857~864, 1979
- 8) 関根 理, 薄田芳丸, 青木信樹, 若林伸人：Dibekacin と Penicillin 系薬剤の併用療法——とくに重症呼吸器感染症に対して一。Chemotherapy 24: 476~480, 1976
- 9) GENTRY, L. O.: Efficacy and safety of Cefamandole plus either Gentamicin or Tobramycin in therapy of severe Gram-negative bacterial infections. J. Infect. Dis. 137: s144~s149, 1978
- 10) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 宍戸春美, 鈴木寛, 野口行雄, 玉置公俊, 羅 士昂, 井手政利：噴霧吸入感染によるグラム陰性桿菌性肺炎モデル。日本胸部疾患学会雑誌, 16: 581~588, 1978
- 11) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 宍戸春美, 鈴木寛, 野口行雄, 玉置公俊, 井手政利, 渡辺貴和雄：肺炎桿菌性マウス実験肺炎を場とする Cefazolin による化学療法の解析。Chemotherapy 27: 109~115, 1979
- 12) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 宍戸春美, 渡辺貴和雄：実験肺炎治療過程における 3 相性肺内生菌数減少パターン。Chemotherapy 27: 801~

- 806, 1979
- 13) PERLMAN, D.: Structure-activity relationships among the semisynthetic antibiotics. Academic Press (New York), 1977
- 14) 横田 健:  $\beta$ -lactam 薬剤の抗菌力。とくに  $\beta$ -lactamase に対する安定性について。Chemotherapy 27: 211~221, 1979
- 15) 三橋 進: 薬剤耐性因子——その発見の歴史と遺伝学的意義——。Chemotherapy 27: 567~580, 1979
- 16) 松橋通生, 野口 浩, 玉置成夫: ペニシリン結合蛋白質——理論と実際——。Chemotherapy 27: 827~840, 1979
- 17) JAWETZ, E. & J. B. GUNNISON: Experimental basis of combined antibiotic action. J. A. M. A. 150: 693~695, 1952
- 18) BERENBAUM, M. C.: A method for testing for synergy with any number of agents. J. Infect. Dis. 137: 122~130, 1978
- 19) FILLASTRE, J. P.; R. LAUMONIER, G. HUMBERT, D. DUBOIS, J. METAYER, A. DELPECH, J. LEROY & M. ROBERT: Acute renal failure associated with combined Gentamicin and Cephalothin therapy. Brit. Med. J. 2: 396~397, 1973

## EXPERIMENTAL ANALYSIS OF COMBINATION THERAPY WITH CEFAZOLIN AND GENTAMICIN FOR MURINE PNEUMONIA DUE TO *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Remarkable Synergistic Effect of Small Dose of Gentamicin with Cefazolin

YOSHIO UZUKA, TSUYOSHI NAGATAKE, KEIZO MATSUMOTO,  
HARUMI SHISHIDO, NAOTO RIKITOMI and KIWAO WATANABE

The Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University  
(12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852 Japan)

The combined effects of cefazolin and gentamicin on the fatal murine pneumonia due to *Klebsiella pneumoniae* have been studied, utilizing the method for quantitating both intrapulmonary viable bacteria and drug concentrations, and revealed the synergistic action small dose of gentamicin with cefazolin.

Before the *in vivo* experiments, *in vitro* synergistic effect of cefazolin and gentamicin on the growth curve of *Klebsiella pneumoniae* B-54 (MIC of cefazolin 1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; gentamicin 0.39  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) was examined, using Biophotorecorder TN-112 D [Toyo Kagaku Co.]. This study revealed that 1/50 MIC (0.008  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of gentamicin clearly strengthened the suppressing effect of cefazolin on the bacterial growth.

As reported in our previous papers [Chemotherapy 27:109~115 & 801~806, 1979], in each experiment, 150 mice infected with 500 LD<sub>50</sub> of *Klebsiella pneumoniae* B-54 (LD<sub>50</sub>: 9.7 $\times$ 10 C. F. U./lung) were treated by subcutaneous injections of cefazolin and/or gentamicin, begun at 12 hours after infection. The curative action of repeated injections of cefazolin 50 mg/kg plus either gentamicin 1 mg/kg, 0.1 mg/kg or 0.01 mg/kg was superior to that of cefazolin alone. Furthermore, even the injections of 0.01 mg/kg of gentamicin q. 6 h. clearly increased the curative effect of the injections of cefazolin 50 mg/kg q. 1 1/2 h. The single injection of cefazolin 50 mg/kg plus gentamicin 0.01 mg/kg suppressed the bacterial growth in the murine lung during more than 3 hours, while the single injection of cefazolin 50 mg/kg alone suppressed during only one hour.