

## 第31回日本化学会総会

会期：昭和58年6月1～3日

会場：サンケイホール、毎日ホール、毎日文化ホール

会長：酒井克治（大阪市立大学医学部教授）

## 特別講演

## レジオネラ症の治療

原 耕 平

長崎大学医学部第2内科

1976年7月、米国フィラデルフィアでの在郷軍人の集会が開かれた際、4,000名を超える参会人のうち、原因不明の肺炎に182名が罹患し、そのうち29名が死亡した。CDCを始めとするアメリカ研究陣の検索の結果、このものは特殊の条件下でのみ生育する短桿菌であることが判明して、1979年 *Legionella pneumophila* と正式に命名された。本菌については我々も研究を行ない、1980年にはわが国における第1例を報告し、また1982年には本菌がわが国全土の冷却塔の水の中に棲息していることも報告した。

本講演では、焦点を本症の治療に絞り、*in vitro* と *in vivo* の成績を中心に、さらに将来の展望として、本菌のモノクローナル抗体と人工細胞リポソームを用いた抗生剤療法の試みについて述べることとした。

## 1. 試験管内抗菌力 (MIC)

抗生剤の感受性テストの成績には、B-CYE 培地のほか、抗生剤の力を低下させず、判定が早くできる点で最良のものであると考えられた S-YE および B-SYE 培地を考案したので、これを用いて実験を行なった。

標準株に対する DL-8280 およびマクロライド系抗生剤の抗菌力は、DL-8280, TMS-19-Q, RU-28965, EM, JM の順に抗菌力がすぐれ、DL-8280 はすべて  $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$  以下、TMS-19-Q, RU-28965 では、その大部分が  $0.125$  から  $0.0625 \mu\text{g}/\text{ml}$  の範囲で阻止した。この成績は臨床分離株を主とする 37 株でも、同様の成績が裏付けられ、このほか RFP も  $0.00625 \mu\text{g}/\text{ml}$  でその 95% 以上を阻止して極めてすぐれた MIC を示し、MOM は TMS-19-Q と、MDM は JM と類似の抗菌力を示した。

ペニシリン系、セフェム系、アミノ配糖体系、MINO, CP の *in vitro* の抗菌力では、AMPC, PIPC および AC-1370 ではやや抗菌力が劣るもの、いずれもかなりの抗菌力を有し、 $10^6$  接種の場合でも、 $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$

以上の耐性菌は 1 株もみられなかった。これらのものでは MINO, GM がすぐれ、セフェム系第3世代のもの、特に CTX, CFX, CZX, CTRX, CAZ などは、 $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$  以下すべてが阻止されて、マクロライド系とほぼ同様の MIC を示し、MINO, CP, アミノ配糖体系抗生剤よりすぐれていた。ただし CEZ はすべてが  $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  以上の MIC で、高度耐性であった。

## 2. 抗生剤による菌の形態的変化

その形態像を電顕にて観察した。抗生剤無添加の際の *Legionella pneumophila* では、幅  $0.1 \mu\text{m}$  大で、グラム陰性菌としての 3 層の外膜構造がみられた。大腸菌に比べて、ペリプラズム間隙は広く、ペプチドグリカン層は外膜に接して不鮮明で、リボソーム粒子や核構造も不鮮明であった。

EM や RFP  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、4 時間作用では、走査電顕では、無添加のものと比べて大差を認めなかつたが、透過電顕では、いずれの場合でもペリプラズム間隙は広がり、核はやや凝集した像を観察することができた。

ABPC  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、4 時間作用では、バルジ形成と溶菌像がみられ、このような像は PIPC, CMX, CAZ, SISO, DL-8280 でも観察された。MINO  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  4 時間作用では、細胞質膜が菌体内部に陥入した像も観察された。

3. 本菌の  $\beta$ -lactamase の性状

標準菌株 13 株と臨床および環境分離株 9 株の計 22 種を用いて、これらの产生する  $\beta$ -lactamase の基質特異性について検討した。方法は、液体培地に菌を増殖させ、 $1/25$  MIC のセフメタゾールにて  $\beta$ -lactamase 產生性を誘導し、菌体を破壊した後、その上清を粗酵素液として用い、各種  $\beta$ -ラクタム剤の水解率をミクロヨード法にて測定した。

*L. pneumophila*, Philadelphia 1 では、ペニシリン系に比べてセフェム系がよく水解されているのに比べ、*L. pneumophila*, Knoxiville 1 ではセフェム系よりペニシリン系の水解率の方が高く、明らかに異なるパターンを示した。PCG, AMPC, CBPC, MCIPC などの水解率はまちまちであったが、全基質とも水解されており、なかでも AMPC と MCIPC に対する活性は、PCG のそれより高かった。CEZ の水解率は極めて高く、かつ多くの  $\beta$ -lactamase に安定とされる CTX や CPZ

に対しても活性を有していることが判明した。

すなわち本菌によって産生される  $\beta$ -lactamase は、幅広い基質特異性を有し、PCG と同様に MCIPC を水解し、CEZ に対してとくに著明な活性を示すものが約半数にみられ、CTX, CPZ に対しても活性を有する、などの性状を有することが考えられた。

#### 4. 細胞（ヒトの単球）内の菌に対する抗菌力

本菌は、細胞内で増殖することを一つの特徴としている。そこでヒトの単球内の本菌の増殖と抗菌作用を検討してみた。

ヘパリン採取した健康成人男子の単球内では、 $10^3 \sim 10^5$  オーダーの菌接種で、3日目にはそれぞれ  $10^5$  から  $10^7$  オーダーへと増殖がみられた。これに対して、対照の RPMI 1640 液内では、培養日数に従ってわずかな菌量の減少がみられた。この系統に RFP, EM を加えてみると、dose response で本菌の増殖を抑制している現象がみられた。すなわち、単球が菌を貪食した後異なった時間に RFP を加えてみても、いずれも RFP  $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度が細胞内の菌の増殖を抑制し、EM でも培養 24 時間後に  $0.025 \mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度の添加で増殖の抑制がみられた。DL-8280 でも、 $0.065 \mu\text{g}/\text{ml}$  添加で RFP と同程度の菌の抑制がみられた。ところが、PIPC, CMX の添加では  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  の高濃度でも菌の抑制効果はみられず、SISO  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  添加した際にも殺菌されていないことが判明した。

以上、RFP, EM, DL-8280 はヒトの単球内へ高濃度で移行し、これら細胞内では菌の増殖を抑制することが理解されたが、ペニシリソやセフェム系の  $\beta$ -ラクタム剤やアミノ配糖体、MINO は、細胞内へ移行し難いことが考えられた。

#### 5. モルモットにおける実験的レジオネラ肺炎に対する各種抗生素の治療効果

PENNINGTON らの報告しているように、モルモットをケタミン-ザイラシンにて全身麻酔し、2~3時間以内に、経気管的に菌液を注入し、下部気道に菌が到達するよう振盪して、実験的レジオネラ肺炎を作成した。無治療のまま経過を観察したものでは、全肺野にびまん性に肺炎の像が観察された。使用菌株は私達が患者から分離した 80-045 株 (serogroup 1) で、この  $1.5 \sim 2.5 \times 10^6$  CFU (4~5 日目にすべてが死亡する菌量) をその攻撃量と設定した。

この実験的肺炎に、マクロライド系抗生素 5 種、 $\beta$ -ラクタム剤 7 種、その他 5 種の計 17 種で、治療を行なった。各種抗生素とともに、ヒトの常用投与量を低濃度群、その 5~10 倍量を高濃度群として用い、すべて 1 日 2 回 7 日間投与し、10 日間その経過を観察した。まず経口剤としては、RFP, RU-28965, DL-8280 および EM の治療効果がすぐれ、JM, TMS-19-Q は劣る結果が得られた。 $\beta$ -ラクタム剤 7 剤では、CEZ をはじめとする殆どの  $\beta$ -ラクタム剤は全く治療効果がみられず、わずかに最も MIC 値のすぐれた CAZ が、モルモットの死亡日数を延長させたにすぎなかった。注射用抗生素のうちの、EM, MINO, GM, SISO, CP の治療効果をみると、EM は経口と同様すぐれた治療効果がみられた。またすべての薬剤で dose response での治療効果がみられ、MINO は常用量では治療効果がみられなかったものの、その 10 倍量ではすべてのモルモットが生残し、GM, CP も高濃度投与の際にはわずかに治療効果がみられた。

#### 6. 小括

以上の *in vitro*, *in vivo* を含めた成績をまとめてみ

Table 1 *In vitro* and *in vivo* activity of antibiotics to *Legionella pneumophila*

Antibiotics	Penicillins	Cephems			Aminoglycosides	Rifampicin	Macrolides	Minocycline	Chloramphenicol	DL-8280
		First generation	Second generation	Third generation						
Minimal inhibitory concentration	○	×	△	○	○	○	○	○	○	○ ○
Minimal bactericidal concentration	×	×	×	×	×	○	×	×	?	○ ○
Antibacterial activity against <i>L. pneumophila</i> in monocyte	×	×	×	×	×	○	○	×	?	○ ○
Therapeutic effect for experimental pneumonia in guinea-pig	×	×	×	△-×	○	○-△	○-△	×	○	○ ○

○ Excellent    ○ Good    △ Fair    × Not effective

? Unknown

ると、Table 1 のごとく示された。試験管内では多くの抗生素が本菌にかなりの抗菌力を示したが、細胞内抗菌力はわずかに RFP, EM, DL-8280 がすぐれていた。実験的肺炎における治療成績は、細胞内抗菌力と平行し、 $\beta$ -ラクタム剤、アミノ配糖体剤、CP は効果がみられなかった。これは臨床側の治療の際にも、極めて参考になるものと考えられた。

### 7. 将来の展望

このように、レジオネラ症における治療薬剤は極めて数少ないものとなったので、本菌が細胞内増殖菌であることも含めて、この投与法に工夫を加えることを考えた。

#### 1) モノクローナル抗体の治療への応用

*L. pneumophila* の標準株 Philadelphia 1 に対するモノクローナル抗体を作成した。マウス骨髓腫細胞とレジオネラ菌で免疫したマウスの脾細胞とをハイブリッジして、単クローリン特異抗体を得ることができた。得られたモノクローナル抗体は *L. pneumophila* serogroup 1 に対して、ELISA 法で 65,536 倍、間接蛍光抗体法で 16,384 倍の高い抗体価を有し、他のレジオネラ属とは、当然のことながら、交叉反応はみられなかった。

実験的肺炎において実験を行なったところ、GM の単独投与に比較し、モノクローナル抗体および  $\gamma$ -グロブリン投与とともに、GM との併用で明らかに延命効果と死亡率の低下がみられた。

#### 2) 人工細胞（リポソーム）の治療への応用

リポソームは人工細胞として現在大きな注目を集めているが、アミロベクチンで被包された、単層の 1,000~1,500 Å のリポソームが長大工学部砂本教授によって考案され、このものは肺への移行が高いことが判明した。そこでこれに SISO を封入し、ヒトの本菌感染単球を用いて、その中の菌数を判定したところ、50 µg/ml で著明な菌数の減少がみられた。

実験的レジオネラ肺炎に対する治療効果を検討してみたところ、SISO 単独筋注に比べて、リポソームに封入した SISO の筋注、静注による治療成績は、極めてすぐれていることが実証された。

## 教育講演

### $\beta$ ラクタム剤の構造と抗菌力

横田 健

順天堂大学医学部細菌学教室

ペニシリン (PC) とセファロスボリン (CEP) 系抗生素による化学療法の歴史は、それぞれ 40 年および 20 年以上に及ぶが、この系統の薬剤は細菌特有の細胞

壁ムレインの合成阻害剤なので、人体細胞には作用点がない質的選択性を示す安全な薬剤として、今まで広く臨床で使われている。また臨床分離耐性株の多くは  $\beta$ -lactamase 産生によるので、 $\beta$ -lactamase に安定な誘導体も数多くつくられた。以上の理由から、 $\beta$  ラクタム抗生物質は、その抗菌力、抗菌域、耐性菌対策、体内動態等に改良が加えられたうえ、最近 PC, CEP 以外の新系統のものも発見された。これだけ多数の誘導体が検討された例は  $\beta$  ラクタム抗生物質以外には見当らない。そこでこの系統の薬剤は、構造・活性相関を考えるうえで恰好な研究材料となる。

#### 1. $\beta$ ラクタム薬剤の抗菌力に影響する菌側の因子

$\beta$  ラクタム抗生物質の作用点、murein-transpeptidase (ペニシリン結合蛋白: PBP として解析される) は菌の細胞質膜の上にあるので、薬剤の細胞質膜透過性の良否は、 $\beta$  ラクタム抗生物質の抗菌力に関係しない。またグラム陽性菌では  $\beta$ -lactamase は菌体外酵素として産生されるので、 $\beta$  ラクタム抗生物質の抗菌力は  $\beta$ -lactamase に対する安定性と、作用点における 2 つの因子で規定されることになる。

これに対し、グラム陰性菌では、最外層に外膜をもつて、 $\beta$  ラクタム抗生物質の抗菌力はその外膜通過性の良否、外膜と細胞質膜の間に表層酵素として局在する  $\beta$ -lactamase に対する安定性と結合親和性、および作用点における働きの強さの 3 つの因子によって決まることがある。

$\beta$  ラクタム抗生物質の構造・活性相関を考えるときは上記の諸因子についてそれぞれ解析したうえで、さらに総合的に考えなければならない。

#### 2. $\beta$ ラクタム薬剤の構造と作用点における活性（基本抗菌力）の関係

##### (1) 母核構造の影響

現在  $\beta$  ラクタム抗生物質として carbapenam, penam (PC を含む), oxapenam, carbacephem, oxacephem, cepham (CEP), carbapenem, penem, monobactam の 9 系統が知られている。活性中心の  $\beta$  ラクタム環に隣接する構造が、6 因環より 5 因環、それの  $\beta$  ラクタム環に近い位置に二重結合のある方が、さらにその 1 位元素が C, S, O の順になるに従って抗菌力が増強される傾向が認められる (図 1)。 $\beta$  ラクタム抗生物質が murein-transpeptidase に働いて細胞壁合成を阻害するために、その活性中心のセリン水酸基と共有結合し、この酵素を不可逆的に不活化する必要があるので、上記の順序は  $\beta$  ラクタム環の開裂しやすさ (活性化: 不安定性) の順序でもある。carbapenam にはもはや抗菌力を示すものは少なく、oxapenem は著しく不安定なためか、天然

図 1  $\beta$  ラクタム環の開環しやすさ(活性化≠不安定性)  
と母核構造

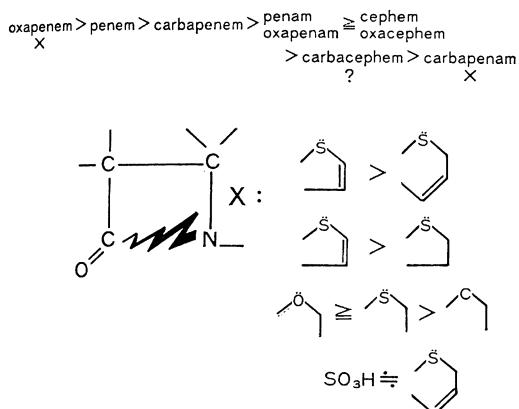
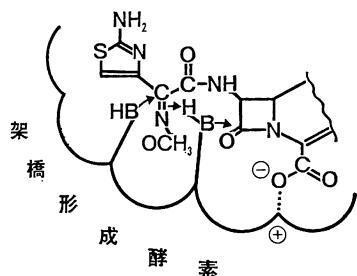


図 2 7位側鎖にアミノチアゾール核をもつセフェムの分子内プロトンの移動 MORITA, et al. (1980)

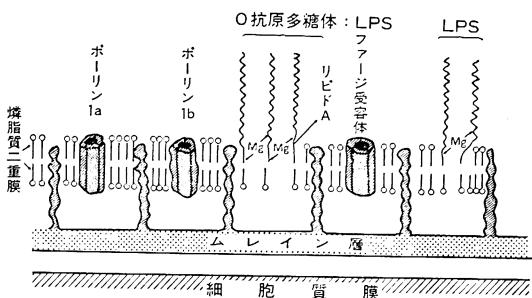


物として発見されていない。

#### (2) 7(6または3)位側鎖の影響

1978年、沼田らは CEP の7位側鎖に活性水素が存在

図 3 グラム陰性菌外膜の横断模型図



することが、強い抗菌力に必要であると考え、この活性水素理論から基本抗菌力の優れたセフォチアム (CTM) を開発した(図 2)。薬剤が murein-transpeptidase に結合したあと、活性中心のセリン水酸基の近くに位置する薬剤構造中にプロトンが抜けやすく陰性荷電する部位が必要で、これが同じ陰性荷電のセリン水酸基を  $\beta$  ラクタム環に押し近づけ反応性を高めるという考え方である。

#### (3) 3位側鎖の影響

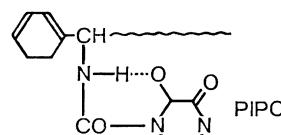
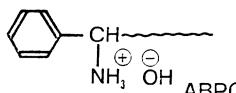
セフチゾキシム (CZX) に見るとおり、CEP の3位側鎖は抗菌力に不可欠ではないが、無縁でもない。プロトンを引張る化学構造が存在すると CEP の抗菌力は増強される。

#### 3. $\beta$ ラクタム薬剤とグラム陰性菌の外膜通過性

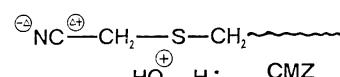
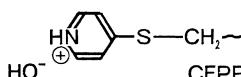
大腸菌等多くのグラム陰性桿菌の外膜は、リン脂質の二重膜に、3分子重合して中心に透過孔を形成した porin 蛋白と、菌体抗原と内毒素の働きをもつ脂質・多糖体複合体 (LPS) が嵌入した構造をとっている(図 3)。porin には数種類、働きの異なるものが知られて

図 4 多くのグラム陰性桿菌の外膜通過性に対する  $\beta$  ラクタム剤 7(6,3) 位側鎖の親水性と荷電

#### 1. 広域ペニシリント



#### 2. 第一、第二世代セフェム(除CTM)



#### 3. CTMと第三世代セフェム

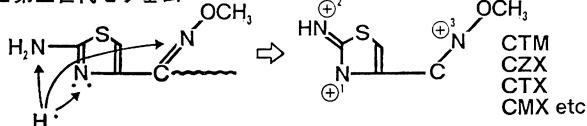
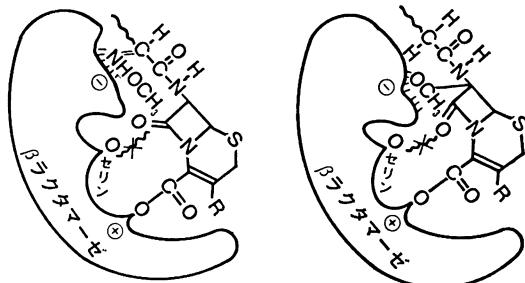


図 5 各種 $\beta$ ラクタマーゼに抵抗性を与える7位側鎖による薬剤・酵素結合に対する立体障害



いる。 $\beta$ ラクタム抗生物質は、porin 1a と 1b を通過するが、そのためには親水性が高く、陽性荷電したものの通過性が高い。新しいcephem の多くが 7 位側鎖にもつ 2-aminothiazole 核は、活性水素に似た分子内プロトン移動をたすけ基本抗菌力を増強するほか、薬剤に高い親水性と陽性荷電を与え、外膜通過性が良くなるので、グラム陰性菌にも強く作用するようになる(図 4)。

綠膿菌属の外膜通過性は特に悪い。porin が 1 種類しかなく、しかもその多くは孔の機能が不充分なためと考えられる。これを通過するためには、特に親水性が高いうえ、薬剤分子内の適当な位置に、2 個以上の陰性荷電が必要と考えられる。

#### 4. $\beta$ ラクタム薬剤の構造

細菌のつくる $\beta$ -lactamase は多様なので、そのすべてに安定で、しかも結合親和性の低い $\beta$ ラクタム抗生物質を開発することは、容易でなかったと思われる。現在 CEP の 7 $\alpha$  位または PC の 6 $\alpha$  位に methoxy 基を導入するか、CEP の 7 位または monobactam の 3 位側鎖に methoxyimino 基またはそれに類似した枝を syn 型に結合するか、いずれかで $\beta$ -lactamase に対し高い安定性を与えることが知られている。どちらも立体障害により、薬剤を $\beta$ -lactamase の活性部位に近づけないことが安定化の仕組みとされるが、両者とも偶然発見された構造なので、その理論的裏付けは完全ではない(図 5)。

#### 5. $\beta$ ラクタム薬剤の構造と体内動態

WRIGHT と LINE (1980 年) の研究によれば、生体内で代謝されない CEP は、分子量が大きい程、また脂溶性が高い程、胆汁移行の割合が増加するという。

#### 6. $\beta$ ラクタム薬剤の構造とジスルフィラム様作用

側鎖に methyl-tetrazole-thiol (TZ) をもつ CEP には嫌酒薬 disulfiram 様作用のあることはよく知られている。これは側鎖から外れた TZ が中性溶液中で thione 型となり disulfiram と立体構造が類似するため、alcohol-dehydrogenase 活性を抑えるためと考えられる。

おわりに：

$\beta$ ラクタム抗生物質は、多数の誘導体が検討されているため、その構造活性相関を考えるうえで多くの研究材料を提供するが、まだ理論的に誤まりのないドラッグデインを行ない得るまでは至っていない。特にグラム陰性菌の $\beta$ -lactamase に安定な構造は、なぜブドウ球菌や *S. faecalis* の作用点に弱いのか大きな疑問も残っている。今後とも多くの試行錯誤が必要であろうが、構造活性相関の研究の積み重ねにより、より優れた $\beta$ ラクタム抗生物質が理論的につくられる日が遠くないことを期待したい。

### 会長講演

#### 術後感染

酒井克治

大阪市立大学医学部第2外科

抗生素の発達普及に伴って術後感染は減少し、またその内容も変ってきたといわれている。以下われわれの教室で発生した術後感染を分析し、その病態、背景因子、起炎菌の種類およびその抗生素感受性を明らかにしようと試みた。

術後に発生する感染症は、1. 手術が起因して発生する敗血症などの全身感染症、2. 術創以外の臓器に発生する術後肺炎、尿路感染口内炎、耳下腺炎などの創外感染、3. 術創感染で、皮下組織などの軟部組織感染と腹腔内臓器術後の腹膜炎、腹腔内膿瘍、胆管炎および胸腔内術後の膿胸など胸腔内感染がある。また手術式を無菌手術、準無菌手術、汚染手術にわけて分析した。

昭和 48 年から 56 年に至る 9 年間の術後感染は、無菌手術 996 例において創感染 32 例、3.3%，肺感染 2 例、0.2%，尿路感染 7 例、0.7%，敗血症 2 例、0.2%，計 43 回が発生し、発生率は 4.3% であった。また準無菌手術 1,877 例の術後には創感染 178 例、9.5%，腹腔内感染 56 例、3.0%，胸腔内感染 30 例、1.6%，胆管炎 37 例、1.9%，肺感染 16 例、0.8%，尿路感染 30 例、1.6%，敗血症 12 例、0.6%，計 359 回、19.1% が発生した。汚染手術 83 例では 29 回、34.9% の発生率であった。

敗血症 15 例の基礎疾患は 13 例が癌患者であった。また無菌手術後に敗血症を発生した 2 例はいずれも治療の目的で動脈内にチューブを留置され、その治療中に発生した。準無菌術後敗血症 12 例は術後縫合不全あるいは肺炎など術後感染症から続発した。以上の術後経過からみて手術そのものが直接原因となって敗血症を起こした症例は肝切を受けた肝癌の 1 例にすぎず、この手術も過治療のためと考えられる。もともと抗生素の予防投与

はこれらの全身感染を防ぐことが第一目的であり、後述のわれわれが用いている抗生素の予防投与は一応目的にかなつたものと考える。

敗血症 15 例の血液培養で得られた細菌は *S. epidermidis*, *Ps. cepacia* あるいは *Acinetobacter* などの弱毒菌が多く、全例すでに多くの抗生素が投与されていたためと考えられる。なお 3 例からは複数菌が分離された。

昭和 50~56 年の間に発生した術後肺感染症は 13 例で、その手術は上腹部手術 10 例、下腹部手術 2 例、胸壁 1 例で、いずれも 70 歳以上の高齢者であった。われわれは患者の病歴および肺機能からみて high risk group に入れられるものに対しては手術前から呼吸体操などを実施して、その予防につとめている。肺感染の予防にはこれらの術前処置を実施し、術後管理を厳重に行なえばその発生は防止しうるものと考える。また発生原因のはほとんどは気管支内栓子による気管閉塞を伴う感染であり、胸部 X 線像による追跡で気管支閉塞が疑わいたら積極的に気管支鏡下で栓子除去につとめている。

吸引材料および栓子から分離された菌は、連鎖球菌、*Klebsiella*, *Hemophilus*, 緑膿菌、エンテロバクターなどで、すべて複数菌で検出された。

昭和 50~56 年に発生した尿路感染症は 29 例で、発生率は 1.2%，男女差はほとんど認められない。全例カテーテル留置後に発生した。ことに直腸癌術後に多発したが、本手術後のカテーテル留置期間がながく、骨盤腔内リンパ節郭清に伴う排尿障害と相俟って尿路感染の頻度が高くなるためと考えられる。尿路感染 29 例から分離された菌のなかでは緑膿菌の検出率が高くなっているほか、*S. faecalis* が多く分離された。

創感染については無菌手術と準無菌手術に分けて分析した。昭和 45 年、われわれが調査した無菌手術後の創感染率は 3.57% であり、その感染創から分離された半数以上が黄色ブ菌であった。この成績にもとづき、無菌手術後の術後感染予防には主に isoxazolyl 系 PC を投与してきた。すなわち術中、創閉鎖に先立って isoxazolyl 系 PC 0.5~1 g を生食水 20 ml に溶解して創に散布し、術後には同剤を内服または点滴静注した。また PC アレルギーをもつ患者には LCM に代えて同様の投与法で投与した。これにはグラム陰性桿菌にも抗菌力をもつ広域抗生素を使用することは腸内細菌の変動をまねき、かつ菌の耐性化を促進すると考えたからである。

昭和 51~56 年の間 720 例の無菌手術が行なわれ、25 例 (3.4%) に創感染が発生した。しかしこの創感染を詳細に調べてみると、25 例中 20 例の感染創は縫合創の皮膚が壊死に陥ったものやドレンが留置された創の感染例であった。たとえば乳癌根治手術における薄層皮

膚弁形成後の縫合創あるいは下肢靜脈瘤ストリッピング創あるいは広範な頸部リンパ節郭清に伴う排液管留置例に発生した創感染であった。このような二期癒合を営んだ創の感染病巣からはグラム陰性桿菌、ことに緑膿菌、*Ps. cepacia* の分離頻度が高い。一方皮膚壊死のない正常と思われる創の感染例はわずか 5 例 (0.7%) であり、かつその創からの分離菌はすべてグラム陽性球菌であった。

さてこれら黄ブ菌の感染経路を解明するため入院患者の鼻腔内黄ブ菌を入院後経時的に check してみた。その結果、入院時の鼻腔内黄ブ菌保持者の数は 15.2% であるが、入院 1 週後には 30% 前後の保持率になっていた。すなわち、患者は入院後 hospital strain としての黄ブ菌を鼻腔内に保持することになる。さらに同一患者について入院時鼻腔内から分離された黄ブ菌と入院後分離された黄ブ菌について AB-PC および MPI-PC 感受性の推移を検討したところ、MPI-PC の感受性には変化がなかったが、AB-PC に対しては次第に MIC が増加し、耐性菌に置きかえられていくようと思われた。これらの成績から創感染の経路を次のように想定した。すなわち、患者は入院期間中に hospital strain としての黄ブ菌を鼻腔内、皮膚内に保菌するようになるが、その媒体は病院内勤務者あるいは病室内感染であろうと推測される。患者が保菌者となった時点で手術が行なわれ、手術創などの抵抗減弱部位に感染症が発生するのではないか、すなわち内因性ルートを推定した。

さてわれわれは昭和 48 年以降準無菌手術の術後には主として AB-PC を、昭和 50 年以降は主として CET または CEZ を投与してきた。術後創感染発生率は昭和 48 年度 11.0% から最近の 7~8% まで多少減少したかに思われる。これを手術部位および侵襲別に分け発生頻度をみると、食道、胃全剥、直腸、脾頭十二脂腸切除、肝切除術後に創感染が多発、単純な胆のう剥出術後には 1 例の発生もなかった。

感染発症例と感染がなく経過した症例の背景因子を検討すると、年齢、体重には両群間に有意差はないが、手術時間 5 時間以上、術中出血量 1,000 ml 以上、アルブミン量 3 g/dl 以下、総蛋白量 6.0 g/dl 以下のものに有意差をもって術後感染が多発した。

準無菌術後感染創から分離された菌を年次別に追ってみると、*Ps. aeruginosa*, *Ps. cepacia*, *Serratia* など増加の傾向がみられるが、依然として *S. faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella* が大半を占めている。昭和 56 年度感染病巣から分離された *E. coli* 32 株の CEZ, CET および AB-PC 感受性を測定したところ、AB-PC 耐性株の增加が目立つが、CEZ, CET に対してはほとんどがなお感性

株であった。また、病巣分離 *Klebsiella* 27 株に対する CEZ および CET の MIC は低く、全株が CEZ には  $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、CET には  $25 \mu\text{g}/\text{ml}$  で発育を阻止された。

昭和 48~56 年の 9 年間の準無菌手術 1,877 例で術後腹腔内感染が 56 例 (3%) に発生した。その原因は縫合不全によるものが最も多く約半数を占める。術後腹腔内出血がこれに次ぎ、原因の明らかでないものが 13 例みられた。

腹腔内感染病巣から分離された菌は少数のグラム陽性菌のほか、*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* が半数を占め、その他 *Ps. aeruginosa*, *Citrobacter*, *Bacteroides* が分離された。また腹腔内感染症 51 例の術後発症までの日数をみると 51 例中 44 例 (86.2%) は術後 5 日以内に発症し、早期発症のほとんどが縫合不全を伴う腹腔内感染症であった。*minor leakage* による腹腔内感染症は抗生素の治療のみで治癒する可能性があるが、多くの腹腔内感染症に対しては再度外科手術が必要である。術後経過を観察し、別途強力な抗生素の投与が必要となる。

胸腔内感染症は昭和 50~56 年の手術総数 2,456 例中 27 例 (1.1%) で肺切除後 7 例、食道癌術後 14 例、開胸下胃全剔除術後 6 例で、いずれも縫合不全に由来した。

さて術後感染に対する対策であるが、肺感染あるいは尿路感染などの創外感染は術後管理を厳重に行なうことによって充分防止しうる合併症である。また創感染、体腔内感染にしてもその多くは術中汚染、縫合不全、出血などの原因が存在し、手術の基本手技の忠実な履行が防止の第一条件である。またこれらの病巣から分離される菌の多くが、予防的に投与された薬剤に高感受性をもっていることから、抗生素の投与で防止できない他の要因で発生した合併症とも考えられる。さらに患者の一般状態の低下、ことに担癌患者のごとき compromised host に対する手術後あるいは長時間にわたる侵襲の大きい術後には合併症の発生頻度が高くなり、感染の機会も増加していく。したがって術前の患者の状態を正確に把握し、待機手術の場合には可能な限り患者の一般状態の恢復につとめる必要があろう。われわれは無菌手術の感染予防に当って、前述のように isoxazolyl 系 PC を投与してきた。

一方、準無菌手術後の抗生素予防投与には、術中 CEZ または CET 2 g を点滴静注、または同量を 20 ml の生食水に溶解し、体腔内散布、術後には同剤 1 日 2~4 g を 3 日間にかぎり点滴静注している。なお CEZ および CET の術中投与について検討したところ、麻酔下におかれた患者の血中濃度は術中出血あるいは補液をしているにもかかわらず、普通状態時よりも高い血中濃度を示

した。この成績から抗生素の術中投与は有効な投与法の一つと考えたい。

また術後投与を 3 日間に限定した理由は、組織の修復過程は 3 日後にはほぼ完成されること、また菌の侵入があっても 3 日間の投与で発育は阻止されるであろうと考えたからである。3 日投与後においても臨床経過がおもわしくない場合には、ほかに原因があつて感染が発症したのではないかと推定し、原因の探究につとめるべきである。

今日外科手術後の予防投与は増えエスカレートし、強力な抗生素を、さらに大量を、また 2 種以上の抗生素を併用されることも少なくない。抗生素は副作用こそ少ないものの、抗生素投与に伴う副現象には充分な配慮が必要であろう。また抗生素の濫用は薬剤耐性菌の増加にもつながり、術後の予防投与は可能なかぎり縮小すべきであると考える。

## シンポジウム (I)

### 肝・胆道感染症と抗生物質

#### 1. 抗生物質の胆汁中移行

谷 村 弘

京都大学医学部第二外科

抗生物質の胆汁中移行に影響を及ぼす因子には、化学構造や分子量、血清蛋白結合率、胆汁中の安全性など抗生物質の特性のほか、患者の持つ背景因子、なかでも肝機能が及ぼす影響が極めて大きい。とくに、腸肝循環を正常に保ちながら、それを比較検討することは極めて困難であり、これらの問題を解決するために行なった工夫について述べた。

バルーン付 T-tube にて完全採取できる方法をまず確立し、PC 剤と CEP 剤に関する限り、その分子量と化学構造が胆汁中移行を決定する大きな因子であり、3 位に tetrazole 基と 7 位に piperazin 核を持っている薬剤が最も胆汁中移行率がよかつた。各薬剤とも同じ比率で肝機能の影響を受け、それが健常時の 1/20 になつても、胆汁中移行のよい薬剤ではなお充分な抗菌力を発揮できる濃度が得られた。bioassay 法では不可能であった 2 剤を同時投与し HPLC 法にて測定し、胆汁酸の腸肝循環の破綻の問題を解決した。単独投与時と他剤との同時投与時とで抗生物質同志の競合は認められなかつた。検査日の胆汁流出量による胆汁中濃度の変化も、2 剤同時投与法を行なうと解決できた。

胆汁成分の経時的变化には、腸肝循環をしている胆汁酸や Mn は時間と共に次第にその濃度が減少するのに

反し、ビリルビンと Cu は胆汁の体外排出開始と同時に経時に上昇する 2 つの特徴的なパターンがあり、APPC が Mn の胆汁中排泄量を増加させることを指摘した。HPLC 法は単に胆汁中濃度の比較ばかりでなく、抗生物質の抱合体、異性体、体内代謝物などの胆汁中移行の解明にも役立つ。薬剤投与と同時に胆汁中の菌量を経時に測定すると、胆汁中濃度が最高に到達する時間から 2 時間遅れて菌数が減少する。また、胆汁中では  $\beta$ -lactamase により分解される以外に、CPZ など 3 位の tetrazole 基が胆汁中で解離し、時間と共に急増し、antabius 様作用の原因にもなり得ることも指摘した。

## 2. 肝病態と抗生物質

国井乙彦

東京大学医研内科

肝臓は腎臓に次いで薬物排泄に大きな役割を果たしており、肝・胆道疾患の場合には、肝の酵素学的な変化、肝血流量の変化、肝内外のシャント形成、蛋白結合や組織結合の変化など種々の病態生理学的な変化が起こり、それに伴って抗生物質の血中濃度、代謝、胆汁内排泄などを中心とする体内動態をさまざまな変化を受けることが推測される。

今回は主に肝障害の臨床例について抗生物質静注時の血中濃度、尿中排泄を測定し薬動力学的解析を行ない、 $\beta$  相血中濃度半減期 ( $T_{1/2\beta}$ )、肝クリアランス ( $C_{hep}$ ) と各種肝・腎機能検査成績との相関の有無・程度の検討を試み、併せて若干の基礎的検討を行なったのでその成績を報告する。

### 1. 臨床的検討：

#### a) 方法：

1) 対象：主として肝・胆道疾患で本院に入院した患者 25 例で内訳は慢性肝炎 2 例、肝硬変 11 例、胆石症 1 例、閉塞性黄疸 5 例、脂肪肝+高ビリルビン血症 1 例、その他 5 例（急性骨髓性白血病、リソバ管炎、尿路感染症、胆道感染症、急性肺炎各 1 例）で、CPZ 投与が 10 例、CEZ 投与が 15 例である。CEZ または CPZ それぞれ 1 g を生理的食塩水 20 ml に溶解し 3~5 分かけて静注 (bolus injection) した。

2) 濃度測定法：経時に 50  $\mu$ l 耳朶採血を行ない生理的食塩水 150  $\mu$ l にて混和希釈後 4°C で 5,800  $\times$  G 10 分遠心し上清 20  $\mu$ l を高速液体クロマトグラフィ (HPLC) で測定した。尿も経時に採取し、1/15 M 磷酸緩衝液 (PB) (pH 7) で希釈しその 20  $\mu$ l を HPLC で測定した。標準曲線は血液および PB でその都度作成した。血漿蛋白結合率は患者の血漿に抗生物質 100  $\mu$ g/ml になるように加え 30 分以上室温放置後 Amicon の Micropartition system MPS-1 を用い遠心限外漏過を行ない、その漏液について HPLC で濃度 (free 体の) を測定し、結合率を計算した。

ml になるように加え 30 分以上室温放置後 Amicon の Micropartition system MPS-1 を用い遠心限外漏過を行ない、その漏液について HPLC で濃度 (free 体の) を測定し、結合率を計算した。

3) 肝・腎機能検査：日常行なう検査で、濃度測定日最も近い日の成績を用いた。

4) 計算：両薬剤とも体内で代謝をほとんど受けないので、 $C_T$  (total body clearance) = (DOSE/AUC), AUC (area under concentration curve) および  $T_{1/2\beta}$  は two compartment model の Simplex 法により計算した。 $C_{ren}$  (renal clearance) = (尿中排泄量/AUC) であるが 6 時間尿中排泄量/AUC<sub>t=6</sub> と近似的に等しいものと仮定した。 $C_T = C_{ren} + C_{hep} + \alpha$  で  $\alpha$  は無視できるほど小さいと仮定して、 $C_{hep} = C_T - C_{ren}$  として計算した。

#### b) 成績：

1)  $T_{1/2\beta}$  と肝機能：例数が少なく、かついくつかの仮定をおいた上で計算なので結論的なことは述べられないが、CPZ については  $T_{1/2\beta}$  は血清総ビリルビン (S-TB), S-ALP, ICG R<sub>15</sub> (インドサイアニングリーン 15 分停滞率) とは正の、血清アルブミン (S-Alb), 血漿蛋白結合率 (PPB), プロトロンビン時間係数 (PTTI) とは負のそれもある程度の相関関係がみられた。しかし CEZ についてはこのような相関関係はみられなかった。

2)  $C_{hep}$  と肝機能：CPZ については  $C_{hep}$  と S-Alb, PTTI, PPB とは正の、S-TB, S-ALP, ICG R<sub>15</sub> とは負のそれもある程度の相関がみられたが、CEZ についてはこのような相関はみられなかった。

3)  $T_{1/2\beta}$  と  $C_{hep}$  : CPZ では負の相関がみられたが CEZ ではみられなかった。

4)  $C_{hep}$  と  $C_{ren}$  : CPZ では負の相関がみられたが CEZ ではみられなかった。

以上のことから CPZ では S-TB, ICG R<sub>15</sub>, S-ALP が増加し、S-Alb, PTTI, PPB が減少するような肝病態のときには  $T_{1/2\beta}$  が延長し、肝クリアランスが減少していることが示唆された。また  $C_{hep}$  が減少しているときには  $C_{ren}$  が増していることも示唆されている。一方 CEZ についてはこのような関係がみられず、これは CPZ は胆汁排泄型で  $T_{1/2\beta}$ ,  $C_{hep}$  は肝病態によって大きな影響を受けるが CEZ は尿排泄型で、それほど大きな影響を受け難いことを示しているものと考えられるが、さらに例数を増して検討する必要がある。

#### 2. 基礎的検討：

1) 無アルブミンラットにおける CPZ および CEZ の胆汁内移行：抗生物質の胆汁内移行に関するアルブミンの関与を探るために、Sprague Dawley rat を対照と

して比較した。CPZ, CEZとともに40 mg/kg 静注時の胆汁内移行は両ラット群間に有意差はみられず、無アルブミンラットではアルブミン以外の物質が代償作用を有しているのか否かさらに今後の検討を必要とする。さらにこの場合ビリルビン 20 mg/kg を予め静注負荷すると、両群ともに胆汁内排泄が低下し、とくに抗生物質投与後 15~30 分の早期に抑制が著明であった。臨床的にみられる高ビリルビン血症でもこのような排泄抑制的な影響が持続する可能性が推測された。

2) PPBに対するビリルビンの影響: CEZ, CPZ, CTRX ともに 100 µg/ml の濃度でビリルビン添加 (10, 20 mg/dl) によりヒト血漿蛋白結合率は低下した。

3) ヒト肝 GSH S-transferase と抗生物質の結合に及ぼすビリルビンの影響: 抗生物質の胆汁内移行と関係があると考えられている肝 GSH S-transferase と CPM の結合をビリルビンは非拮抗的に阻害する成績が得られた。なおビリルビンは肝 cytosol 分画と CPM, CEZ との結合も阻害する。さらにヒト肝 cytosol 分画と <sup>14</sup>C-CPM を in cubate 後 sephadex G-75 superfine で chromatography を行ない、蛋白, GSH S-transferase 活性および CPM のカウントを行ない、それらのパターンを、ビリルビンの preincubation の有無によって比較した。その結果ビリルビンは蛋白ピークの 1 番目次いで 2 番目 (おそらくアルブミン) と CPM との結合を 3 番目 (GSH S-transferase) との結合よりもより強く阻害した。このことから肝 cytosol の中で、ビリルビンが高濃度に存在するとき、抗生物質との結合には GSH S-transferase の方がより大きな意味をもつてはなかろうかと推測される。

これらのことから高濃度にビリルビンが存在するときはそれ自体が抗生物質の胆汁内移行に抑制的に働くものと考えられる。しかし高ビリルビン血症は肝病態の複雑多岐にわたる要因のなかのほんの一因子にすぎず、今後さらに種々の面から多数の因子について検討を加える必要がある。

4) CCl<sub>4</sub> 肝障害モルモットにおける CET の代謝および体内動態: CCl<sub>4</sub> 急性肝障害モルモットに CET 40 mg/kg 静注したときの血中 CET および代謝物 DACET (desacetyl cephalothin) の濃度、 $T_{1/2}$ 、消失定数 ( $K_{el}$ )、 $AUC_{CET}^{0-60}$  などは対照群との間に有意差はない、胆汁内濃度は CET, DACET とともに CCl<sub>4</sub> 肝障害群で有意に低かった。胆汁中の CET/DACET 比は肝障害で増大し、CET から DACET への代謝も低下していると考えられる。

次に DACET 40 mg/kg 静注時の血中 DACET 濃度、 $T_{1/2}$ ,  $K_{el}$ ,  $AUC_{DACET}^{0-60}$  に両群間で有意差はなく、胆

汁内濃度、回収量、回収率ともに急性肝障害群で有意に低下していた。 $C_{hep}$  を計算してみると急性肝障害群では CET 投与時の CET の  $C_{hep}$  も、Dacet 投与時の DACET の  $C_{hep}$  も減少していた。これらの成績から CCl<sub>4</sub> 肝障害による胆汁への DACET 排泄の低下は一つには肝における代謝の低下によると考えられるが、さらに DACET 自体の肝クリアランスの減少も関与していると考えられる。

今後症例数を増してさらに検討を加えて行く必要があると考えられるが、抗生物質の体内動態は同じ抗生物質でも個々の症例により、またそれぞれの肝病態によってかなり異なること、また各抗生物質の性質とくに主な排泄様式の相違によって、肝障害時の体内動態も異なることが示され、肝・胆道疾患における抗生物質の使用に際しては今後さらにこのような点にも配慮する必要があると思われる。

### 3. 急性胆管炎と化学療法

木下博明

大阪市立大学第2外科

著者らは急性胆管炎を臨床的に狭義の急性胆管炎 (以下 AC), 急性化膿性胆管炎 (以下 ASC), 急性閉塞性化膿性胆管炎 (以下 AOSC) の 3 群に分類している。すなわち (1) 右季肋骨痛、(2) 悪感戦慄を伴う高熱および (3) 進行性黄疸のうち 2 項目以上をもち、さらに (4) 白血球数 8,000/mm<sup>3</sup> 以上、(5) 肝機能異常、(6) 胆管内胆汁培養上細菌陽性などのうち 2 項目以上を有するものを AC とした。また charcot の三徴のほかに、胆管内胆汁が明らかに膿性であったものを ASC、さらに (7) 乏尿を伴う低血圧あるいは精神障害症状を示したものを作成した。これによれば、過去 12 年間に取り扱った脾・胆道疾患 1,237 例のうち、AC 84 例、ASC 22 例、AOSC が 19 例みられた。まず急性胆管炎の発生頻度を胆管閉塞の原因別にみると胆管癌が 64 例中 19 例 29.7% で最も高く、次いで十二指腸乳頭部癌 27.3%, 良性胆管狭窄 26.2%, 胆管結石 19.7% の順であった。初発症状から AC, ASC あるいは AOSC と診断されるまでの病歴期間をみると、AOSC のそれは AC および ASC よりもかなり長かった。これら 3 群の臨床検査結果を比較すると、AOSC 例では白血球数の著明な増加と血小板の著明な減少が特異であり、AOSC 例の GOT は AC および ASC に比べて増加の傾向を示していた。また、AOSC 12 例中 9 例の血液培養では *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* など胆汁中と同種の細菌が見出された。さらに血液のリムルステストは、AOSC の 12

例すべてが陽性を示したが、AC および ASC は 16 例中 5 例がいずれも一過性の陽性を示したにすぎない。

ところで、血中から細菌あるいはエンドトキシン（以下 EDT）の検出された AOSC の胆管内圧は 2 群のそれに比べて高値を示していたため、雑種成犬の胆管内に EDT を注入し、それが流血中に移行する条件を実験的に検討した。すなわち、閉塞性黄疸作成 1 週後のイヌ胆管内に大腸菌 EDT 3.0 mg/kg を注入したのち、持続注入器を用いて、胆管内圧を段階的に上昇させ、肝静脈血および大腿動脈血中に現われる EDT を、リムルステストで経時に追求した。その結果胆管内圧が 250 mm H<sub>2</sub>O になれば 13 頭中 6 頭の肝静脈血中に EDT が検出され、さらに 300 mmH<sub>2</sub>O の胆管内圧下では 13 頭すべてに EDT が検出された。さらに、無処置正常ラットおよび閉塞性黄疸作成ラットの静脈内に <sup>125</sup>I 標識 EDT を投与し、ガンマカウンターを用いて 15 分後の血中および諸内臓における EDT の取り込みを測定したところ、黄疸ラット肝の放射能活性は正常ラットのそれよりも少なく、血中では逆に多かったが、肺、脾および腎では両群間に有意の差がみられないとの結果を得た。以上の急性胆管炎症例の臨床像と動物実験の結果からみると、胆管閉塞と細菌の胆管内侵入に起因して発生した AC が持続する胆管閉塞および抗細菌性抵抗の低下などの宿主側の条件、あるいは不的確な化学療法によって ASC と進展する。この ASC に胆管内圧の上昇が起こると、胆管内細菌あるいはエンドトキシンが cholangiovenous reflux を起こして流血中へ移行する。また同時に合併する肝機能障害が血中細菌あるいはエンドトキシンの累積効果を加速させ、AOSC さらには MOF へと進展すると考えられる。

ところで一般に、胆道感染症に対する化学療法には十二指腸液を培養し、これによって検出された細菌が起因菌として取り扱われている。しかし、重症例では十二指腸ゾンデ実施の困難なことが多いのみならず、十二指腸液から培養された菌が胆汁由来の起炎菌かどうかの判定も困難である。そこで、実地臨床では細菌検査の結果を待たずに、胆道感染症あるいは胆道疾患の手術時にあらかじめ検出された菌を対象として化学療法を開始せざるをえない。ここで急性胆管炎症例の胆汁検出菌をみると、*E. coli* が最も多く、次いで *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* の順であり、また胆管ドレナージ中に発症した急性胆管炎でも同様な傾向がみられた。さらに、過去および最近 2 年間の脾・胆道系手術あるいは PTC 時に採取された胆汁中の検出菌をみても、この傾向は同様であった。次に、これら細菌の薬剤感受性をみると、*E. coli* はアミノ配糖体系をはじめ広域抗生剤に対

して感性を示すが、*Klebsiella* の多くは合成ペニシリソ系にはほとんど感性がなく、*Enterobacter*, *Pseudomonas* には KM, GM が有効であるとの結果を得た。すなわち、胆道感染症の起炎菌としてグラム陰性桿菌が多数を占めるため、これに対する化学療法にはこれらグラム陰性桿菌に有効な薬剤で、胆汁中移行が優れ、しかも副作用の少ないものを選択、投与することになる。しかし抗生剤の抗菌作用は細菌の產生する  $\beta$ -lactamase によって影響を受け、またその胆汁中移行は、胆道閉塞の程度によってかなり左右されるものと考えられる。そこで、閉塞性黄疸例に対する PTCD 施行前に、あらかじめ CET, LMOX あるいは CTM を投与しておき、PTCD 直後の胆管胆汁内濃度を経時に測定したところ、これら薬剤の投与終了 30 分ないし 60 分後には、これら薬剤は胆管胆汁中にはほとんど認められず、PTCD 施行後でもそれらの最高濃度は極めて低値であった。しかし、PTCD 施行 7 日後でこれら薬剤の胆汁移行をみると、肝機能の改善に伴い、これら薬剤の胆汁中濃度が上昇していた。すなわち胆道の完全閉塞を伴った症例では、抗生剤の胆汁中移行が極めて不良である。したがってこれら症例には感染胆汁を排除するとともに抗生剤の胆汁移行を高める処置、すなわち胆管ドレナージを施行することが必要である。

急性胆管炎 125 例の治療成績をみると、狭義の急性胆管炎 84 例のうち 50 例 59.6% が化学療法のみによってよく軽快したため、これら症例では疼痛や発熱などの臨床症状が消退したのち、さらに 2~3 日間化学療法が行なわれ、その後 42 例には基礎疾患に対して手術が施された。他方、化学療法の効果が臨床的に認められなかった 20 例のうち 16 例には PTCD あるいは早期手術などが併用された。しかし、胆道系悪性腫瘍例で、減黄処置中に発症した 4 例では臨床効果がみられず、やがて肝・腎不全を併發して、いずれも死亡した。

もともと、悪性腫瘍症例の胆管胆汁有菌率は加齢とともに増加するが、良性疾患よりも低いためか、悪性腫瘍の急性胆管炎合併率は、胆管結石などのそれよりも低くなっている。しかし、減黄処置中の急性胆管炎併発率は良性疾患例よりも高くなっている。この理由は、減黄処置中の胆汁有菌率が極めて高くなるうえに、長期間留置中のカテーテルの自然抜去あるいはその閉塞、さらには癌の浸潤による肝内胆管分枝の断裂などが原因となつて、局所的にも胆汁排出の障害される機会が多くなるからであると理解される。したがって、これら症例には抗生剤を直接胆管内へ注入するのも一法であると考えている。そこでまず閉塞性黄疸家児胆管内へ TOB 5 mg/kg を 15 cmH<sub>2</sub>O で注入し、30 分間胆管内チューブを閉塞

し、血清中および胆汁中濃度をみると、30分後の胆汁中濃度は  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  以上の高濃度が得られ、末梢血中への移行は少量であった。次に PTCD 施行中の患者に TOB, CEZ, SB-PC を  $20\sim30 \text{ cmH}_2\text{O}$  の圧で注入し、血清中濃度を測定すると、各抗生剤ともわずかな注入圧で血中に移行するが、その移行率は低いため、副作用は少ないものと考えられた。さらに有菌胆汁例に TOB 60 mg あるいは GM 40 mg を1回注入した後、胆汁中細菌数の変動をみると、投与後約3日間菌数が減少するが、7日後には再び増加していた。すなわち、抗生剤の胆管内注入の適応は、胆汁移行が不良なため全身性投与で効果の期待できない薬剤や副作用の強い薬剤を使用する場合であると考えられる。その際、第1選択薬剤として *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* などに強い抗菌力をもつアミノ配糖体がよく、至適注入圧は  $20\sim30 \text{ cmH}_2\text{O}$  であり、予防的投与の間隔は3~7日であると考えられた。

ASC および AOSC の治療法をみると、両群41例中40例が化学療法に加えて胆管ドレナージを受け、化学療法単独は原発性硬化性胆管炎の1例にすぎなかった。次に ASC および AOSC の死亡率をみると AOSC の死亡率(19例中9例 47.4%)は ASC のそれ(22例中2例 9.1%)に比べて高率であった。一般に AOSC の予後は他の2群に比べて極めて悪く、1980年代田らの全国集計の結果でも化学療法などの内科的治療の死亡率は 82.9% と高率であり、胆管ドレナージ施行例の死亡率でも 44.5% になっている。事実著者の成績でも開膜下胆管ドレナージでは8例中4例 50% が、PTCD 施行症例の成績でも 11例中5例 45.5% が死亡していた。とくに PTCD 施行後の死亡5例中4例が 65 歳以上の脾・胆道系悪性腫瘍患者であった。

したがって、胆道の基礎疾患をもつ患者とくに高齢者に発熱・疼痛などの症状が現われた場合、急性胆管炎発症の有無を早期に診断、速やかに化学療法を開始し、ASC や AOSC への移行を防止する。この場合起炎菌としてグラム陰性桿菌が強く疑われるため、第1選択薬剤として第II, 第III世代のセフェム系薬剤が適切であると考えられる。しかし、化学療法にもかかわらずその症状が3日間以上持続したり、黄疸が急速に増強する症例では ASC や AOSC に移行する可能性があるため、緊急手術を施行する必要がある。また初療時の臨床検査成績から ASC が疑われる場合、超音波下 PTCD などの侵襲の少ない胆管減圧処置を直ちに施行し、胆汁中起炎菌の薬剤感受性や嫌気性菌存在を検索する。しかし、すでにショック状態に陥った AOSC には抗ショック療法を行ないながら、超音波下 PTCD、強力な化学療法を行なう

ことになるが、抗生剤の著しく開発された今日さえ、AOSC は治療困難な感染症であると考えられる。

#### 4. 胆道感染と嫌気性菌

島 田 錠

東京都養育院付属病院内科

最近の検索では胆石胆囊炎の 30~40% に嫌気性菌感染があり、*B. fragilis* は *E. coli*, *Klebsiella* に次ぐ胆汁分離菌である。嫌気性菌胆道感染は胆石による胆道閉塞や総胆管空腸吻合の患者に発生しやすく、症状も激しい傾向がある。

*B. fragilis* や *C. perfringens* は胆汁酸脱抱合能があるため、胆汁中への遊離胆汁酸の出現を、嫌気性菌と好気性菌の混合感染、好気性菌のみの感染各 16 例と、無菌 4 例で検討した。胆汁中胆汁酸測定は南原の方法によった。胆汁はいずれも開腹手術時に胆囊から採取したものである。胆汁中の総胆汁酸は症例によるバラツキが大きいが、大多数は  $2\sim20 \mu\text{M}/\text{ml}$  の低い濃度を示したが、被験者のほとんどが胆石保有であることと関係があると推定された。

遊離胆汁酸は好気性菌感染群のほとんどが、 $0.1 \mu\text{M}/\text{ml}$  以下で、嫌気性菌群は 11 例に  $>0.1 \mu\text{M}/\text{ml}$ 、最高  $2.8 \mu\text{M}/\text{ml}$  の濃度を示し、無菌 4 例中 2 例にも遊離胆汁酸が証明された。(遊離胆汁酸/総胆汁酸) の比は無菌群、好気性菌群で全例 1% 以下であったが、嫌気性菌群では 6 例が 3% を超え、最高 37.9% であった。しかし嫌気性菌群も 15 例は 10% 以下の濃度比で、胆汁中総胆汁酸の 90% 以上が抱合型であるとの結果であった。遊離 deoxychol 酸は無菌群、好気性菌感染群の胆汁で測定限界以下が過半数で 7 例測定可能であり、うち 5 例は  $0.1 \mu\text{M}/\text{ml}$  以下であった。嫌気性菌群では 10 例に測定可能であったが、1 例を除き  $0.18 \mu\text{M}/\text{ml}$  以下の微量であった。

以上のごとく、嫌気性菌胆道感染例の胆汁中に遊離胆汁酸は出現するものの、総胆汁酸の 10% 以下の濃度にとどまっており、この意義についてはなお検討が必要である。

#### シンポジウム (II)

##### インターフェロンの臨床応用

司会のことば

岸 田 綱 太 郎

京都府立医科大学

(はじめに) 現在、世界のヒト・インターフェロン生

産状況を簡単にお示しいたしますと、以前には世界第一のヒト白血球生産国であったフィンランドは勿論、米国、英國を追いぬいて、我が国はトップに立たうとしています。西欧や米国は、ヒト・インターフェロンの多くのタイプの或るものについては先進国でありますが、我が国は、白血球より生産する $\alpha$ 型、線維芽細胞から生産する $\beta$ 型は勿論、それらを遺伝子組換え技術によって大腸菌に作らせるリコンビナント・ヒト・インターフェロンにおいても、また天然の $\gamma$ 型や、遺伝子合成による $\gamma$ 型においても今や一大生産国になろうとしており、我が国はあらゆる型、あらゆる亜型のヒト・インターフェロンを生産し、臨床治験が進行している唯一の国となりつつあります。

そこで今回のシンポジウムは中間報告の絶好の時期に行なわれることになりました。

インターフェロンの抗ウイルス抗腫瘍効果が、どの程度のものであり、化学療法剤の一端としての将来性を占う重要な研究が、各分野の専門家から報告されます。このシンポジウムにおいては抗ウイルス抗腫瘍とともに、どのような型のものが、どのような患者に、どのように使われると有効であるかを検討するとともに、その副作用の問題も大きな課題であります。また有効性のパラメーターを何によって決めるかも一つの焦点になっていきます。更に将来の問題としては、各型( $\alpha$ ,  $\beta$  および $\gamma$ )のインターフェロンの併用や、かつて大きな期待がもたれたインターフェロン誘発物質や化学抗生物質との併用の可能性が論じられるでしょうし、今や、研究者は、この段階の研究に手を染めつつあります。しかし大切なことはインターフェロンは一種の BRM として位置づけて臨床応用されることを忘れてはならないと考えます。

## 1. Phase I study の問題点

小川一誠\*・江崎幸治\*\*

\* 癌研癌化学療法センター臨床部

\*\* 名古屋保健衛生大学内科

(はじめに) Interferon (IFN) は生産量に限度があり、よって広範囲な臨床研究が不可能であったが、近年 Human Lymphoblastoid Interferon (HLBI)、および Recombinant の IFN など大量生産可能となり、よって欧米・本邦で大規模な研究が進行中である。ここでは我々の Fibroblast Interferon (FIF)・HLBI の臨床研究をまとめ、その上に立って欧米の成績の概略を総説する。

### 1. 我々の成績

a. FIF：原則として 300 万単位連日静注で 34 例に投与した。造血器腫瘍 18 例中、多発性骨髓腫 7 例中

PR 2 例、慢性リンパ性白血病 2 例中 PR 1 例が得られた。効果の持続期間は 6~52 週であった。非ホジキンリンパ腫 6 例、急性骨髓性白血病 2 例、Macroglobulinemia 1 例および胃癌 4 例、乳癌・卵巣癌各々 2 例を含む計 14 例の固型癌は無効であった。

b. HLBI：原則として 300 万単位連日筋注で 25 例に投与した。造血器腫瘍 13 例中、多発性骨髓腫 8 例中 2 例、成人 T 細胞性白血病 2 例中 1 例、急性リンパ性白血病 1 例に PR が得られた。効果持続期間は 1~97 週に及んだ。慢性リンパ性白血病 2 例および乳癌 8 例、胃癌 3 例、卵巣癌 1 例には無効であった。

毒性は発熱、全身倦怠、胃腸症状、白血球・血小板減少が主たるものであり、肝・腎機能異常が少数例に認められた。これら毒性中血液毒性、肝・腎機能異常が一時中止の原因となつたが、いずれも中止後短時間に回復し、Dose Limiting Factor (DLF) と判断される高度の毒性は認められなかった。しかし 1 年以上投与例 2 例に軽い心筋障害、心房細動が認められ慢性毒性と判断された。

## 2. Phase I study

HLBI の phase I study は KNOST, SCHERWIN, SARNA, ROHATINER らにより、種々の投与方法で施行され報告されている。それらの成績から判断すると 30~ $50 \times 10^6$  単位での DLF は白血球・血小板減少と肝機能障害であり、更に  $100 \times 10^6/m^2$  と高投与量では先見当識、幻覚、ケイレン発作などの中枢神経毒性が DLF となり、これら症状と低 Ca 血症、高 K 血症の電解質異常が発現した。また特に血液疾患に投与した時の凝固異常の発現も注目されている。

Recombinant の  $\alpha$ -IFN でもこれら DLF は同様であると考えられた。

### 3. 抗腫瘍効果

今までの成績は殆どすべて 300 万単位連日投与で、白血球由来の IFN および HLBI で得られたものである。

有効性が多数例で確認され、IFN の抗腫瘍効果がほぼ確立したと考えられる腫瘍には多発性骨髓腫、非ホジキンリンパ腫、腎癌、卵巣癌、Kaposi's Sarcoma、慢性リンパ性白血病があげられる。

ある程度の有効性が認められているがもっと多くの確認研究が必要と考えられる腫瘍には、成人 T 細胞性白血病、ホジキン病、慢性骨髓性白血病、菌状息肉症、脳腫瘍がある。乳癌に関しては白血球 IFN では有効との報告があるが、その他の IFN では確とした報告がないため、もっと多くの確認が必要と考えられる。

今までの成績からあまり有効でないと判断される腫

瘍には成人急性非リンパ性白血病、肺癌、胃癌、結腸・直腸癌、悪性黒色腫が含まれる。

#### 4.まとめ

IFN が大量供給可能の時代となり、その臨床研究が一段と加速されると考えられる。以下に将来への問題点を列举するが、これらも近い日の間に解答されるであろう。

第 1 に 300 万単位連日で得られた抗腫瘍効果より以上の結果が高投与量で認められるか、第 2 に  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  3 種の IFN 間で抗腫瘍性、毒性の差が認められるか、第 3 には Natural な細胞由来の IFN と Recombinant IFN 間に有効性、毒性が異なっているのか、第 4 に長期間投与による慢性・蓄積性毒性、第 5 に他の抗癌剤との併用による効果増強がある。

## 2. 動物モデルと他療法との併用について

今 西 二 郎

京都府立医科大学微生物学教室

インターフェロン (IFN) の抗腫瘍性についての報告は *in vivo* および *in vitro* を問わず非常に多くの報告がある。しかしながら、IFN 単独で腫瘍を完全に治癒したという報告は甚だまれである。IFN を臨床応用する場合は、単独で行なうよりも、むしろ他療法との併用を考慮する方がよいだろう。

まず IFN インデューサーとの併用であるが、IFN インデューサーの長所としては容易に大量の IFN を生体内に生じさせるという利点がある。しかし、IFN インデューサーには、くり返し投与すれば IFN の産生が低下する、いわゆる低応答性という欠点があり、これが IFN インデューサーを治療に使う場合の大きい障壁となる。しかし、我々は IFN インデューサーの投与前に IFN を体外より与えておくと、低応答性が回避されることを見出した。この方法を用いれば、より強い抗腫瘍効果が期待できるので、実際にマウスに移植した腫瘍に対して効果を調べた。

まず、IFN インデューサーとして、合成二重鎖核酸である、ポリ I : C を用いた。ポリ I : C を 100  $\mu\text{g}$  腹腔内投与すると 3 時間をピークとして約 14,000~5,000 IU/ml の IFN が血中に出現した。低応答性は 48 時間目で最高となることが確認された。2 回目のポリ I : C の注射を行なう 3 時間前にマウス IFN 10,000 IU を投与しておくと、低応答性は 24% から 73% までに回復した。低応答性回避のためには、マウス IFN が 10,000 IU 以上必要なことも確認された。以上のようにマウス

IFN を投与することにより、ポリ I : C で引き起こさずしてくる低応答性をうまく避けることが可能となった。しかし、実際の治療においては、ポリ I : C、および IFN を連続的に投与する必要がある。そこでポリ I : C を連続的に投与したときでも、IFN の投与により低応答性が回避できるかを検討した。ポリ I : C は 4 回連続投与し、投与間隔は 1 日、2 日、3 日、とした。マウス IFN を 2 回目のポリ I : C 投与以降 3 時間前に 10,000 IU 投与した。その結果、ポリ I : C を 1 日間隔、2 日間隔で投与したのでは低応答性を回避することはできなかったが、3 日間隔のポリ I : C 投与では IFN により低応答性を回避することができた。ポリ I : C を 3 日間隔で投与し、投与の 3 時間前に IFN を投与する方法を実際のマウスの移植腫瘍に対して用いた。A/J マウスにマウス神経芽細胞を移植した後、1 週間してから治療を開始した。その結果、対照群では 30 日までに全例死亡したが、IFN およびポリ I : C 単独群では 40%，IFN とポリ I : C 併用群では 100% の生存率を示した。腫瘍の成長をみると、IFN とポリ I : C 併用群では成長が抑制されており、危険率 0.5% 以下で有意差が認められた。

同様の実験を、今度はポリ I : C にボリリシンと CM-セルローズを結合した複合体である。ポリ I : CLC を用いて試みた。ポリ I : CLC はポリ I : C より強い IFN インデューサー能をもち、副作用も少ないのが特徴である。ポリ I : CLC は、10  $\mu\text{g}$  の投与でも血中に約 30,000 IU の IFN を誘発することができた。ポリ I : CLC による低応答性は 6 時間目より始まり、48 時間で最高になり、96 時間後でもなお 50% の低応答性がみられた。そこで 10,000 IU の IFN を 2 回目のポリ I : C 投与の 3 時間前に投与したところ、ポリ I : CLC 1  $\mu\text{g}$  の投与では 100% まで低応答性が回避された。3  $\mu\text{g}$ 、6  $\mu\text{g}$  の投与では部分的な回避だけが認められた。10  $\mu\text{g}$  ではほとんど回避は認められなかつた。ポリ I : C の場合と同様、連続的に投与したときにも低応答性が回避できることを確認した後、先ほどと同じ系で抗腫瘍性を検討した。その結果、対照群では 38 日目に全例死亡した。IFN 単独群では 44 日目に全例死亡したが、ポリ I : CLC 単独群では 56 日目で 20% の生存率、IFN とポリ I : CLC 併用群で 90% であった。腫瘍の大きさを比較すると IFN とポリ I : CLC 併用群では、IFN およびポリ I : CLC 単独群に比べ有意に縮小していた。

同じような実験をビリミシンの誘導体である 2-アミノ-5-プロモ-6-フェニルピリミジノン (ABPP) について試みた。ABPP は腹腔内投与だけでなく、経口投与も可能であり、この実験では主として経口投与で行なつた。投与量は 200 mg/kg および 500 mg/kg であった。

ポリ I:C やポリ I:CLC の場合と同様に IFN を投与することにより低応答性が回避できることを確かめた。更に、ポリ I:C の場合と同じようにマウス移植腫瘍に対しても IFN と ABPP を併用すると、有意に生存率を高め、しかも、腫瘍の成長を抑制することができた。

次に IFN と免疫療法との併用についても調べてみた。用いた免疫療法剤としては *Corynebacterium parvum* (C.P.), BCG, OK-432, PSK であったが、そのうちの C.P. だけが IFN との併用効果を示した。

今後、更に詳細に IFN と他療法との併用効果を検討し、解析することにより、より有効な IFN の臨床応用が期待されるものと思われる。

### 3. 臨床治験例の紹介

#### 抗ウイルス：(1) 骨髄移植のウイルス感染とインターフェロン

舟田 久・服部 純一

金沢大学医学部第3内科

骨髄移植は白血病などの重症血液疾患や固形癌の治療を目指す治療法である。しかし、同種移植では、腫瘍撲滅と拒絶予防のために致死的な移植前処置が行なわれ、移植後も移植片対宿主反応の予防のために強力な免疫抑制がかけられる。自家移植でも同様の致死的な前処置が行なわれる。このため、移植後の免疫不全が少なくとも数か月持続し、単純疱疹ウイルス (HSV), 水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV), サイトメガロウイルス (CMV) などのヘルペスウイルス属による感染がよくみられる。

1977 年 10 月から 5 年間に当科で骨髄移植が 34 例（同種移植 23 例、自家移植 11 例）に行なわれ、1980 年 4 月からインターフェロン- $\alpha$  (IFN) の予防的ないし治療的投与がなされた。これら症例のうち、移植後 2 週以上生存した 31 例を対象に IFN のウイルス感染症に対する予防ならびに治療効果を検討した。

骨髄移植に高頻度に合併したウイルス感染症は、HSV 口内炎、水痘・帯状疱疹、CMV 肺炎の 3 つであった。HSV 口内炎は移植後 2 週以上生存した同種移植例で 21 例中 11 例 (52%), 自家移植例で 10 例中 5 例 (50%) にみられ、移植後 1 週目に発症のピークがあった。

VZV による水痘・帯状疱疹は 3 か月以上生存した同種移植例で 14 例中 6 例 (43%), 自家移植例で 8 例中 4 例 (50%) にみられ、移植後 4 か月目に発症のピークがあった。帯状疱疹は 9 例中 5 例 (56%) に汎発化がみられた。間質性肺炎は移植後 1 か月以上生存した同種移植例で 20 例中 14 例 (70%), 自家移植例で 10 例中 3 例

(30%) にみられ、移植後 2 ～ 3 か月目に発症のピークがあった。同種移植に合併した間質性肺炎の 79% が CMV と関連した肺炎で、その 64% が死亡した。一方、自家移植では、1 例に CMV 肺炎が合併しただけであった。

これらウイルス感染症の好発時期を網羅するように IFN の予防投与が 1980 年 4 月から始められ、現在、30 万～50 万単位/日筋注ないし静注で主に HSV 口内炎を対象に移植 3 日前より移植後 30 日目まで連日、以後同種移植例にのみ CMV 肺炎を対象に同量を移植後 150 日目まで隔日投与している。

HSV 口内炎の発症率は、同種移植でも自家移植でも、IFN 予防に関係なく、50% であった。しかし、IFN 予防により口唇ヘルペスなどの口腔外病変は減少傾向をみた。移植時 HSV 抗体価から HSV 口内炎の発症率の違いと IFN の予防効果をみたところ、同種移植で、HSV 抗体をもつ場合の発症率が IFN 予防により有意に低下した。しかし、自家移植では、抗体価も IFN 予防も発症率に影響を及ぼさなかった。こうした移植の型による IFN の予防効果の違いがでた理由は不明であった。HSV 口内炎の持続期間は、IFN やアンクロビル (ACV) による予防や治療によっても短縮する傾向はなかった。しかし、IFN 予防中に HSV 口内炎を発症した自家移植の 1 例は、IFN を病変局所に高濃度に作用させることのできる IFN 吸入 (20 万単位/日、分 4) の追加によって口内痛が急激に軽快した。

水痘・帯状疱疹は、同種移植例の IFN 予防のなかたものと予防終了後のものを合わせた症例群で 7 例中 3 例 (43%) に発症し、IFN 予防中の症例群でも全く同じで、予防効果は認められなかった。発症例のうちの 2 例が IFN の局所投与 (50 万単位/日、皮下と水疱内) ないし全身投与 (初日 300 万単位、以後 150 万単位/日筋注) による治療を受けたが、帯状疱疹の経過に変化なかった。

同種移植に合併した CMV 肺炎での IFN 予防効果をみると、予防群で 14 例中 7 例 (50%), 予防なし群で 6 例中 4 例 (67%) と、発症率にはほとんど変化なく、予防効果は認められなかった。この CMV 肺炎に有効な治療法がないが、最近、ACV 30 mg/kg/日、IFN 5 万単位/kg/日、プレドニソロン 2 mg/kg/日の三者併用療法を 10 日間施行し、3 例中 2 例に効果的であった。

IFN 投与に伴う副作用を移植後の血球回復からみると、顆粒球やリンパ球の回復は IFN 予防の影響をほとんど受けなかったが、血小板と網赤血球の回復が著明に遅延する症例がみられ、これは移植の型に関係しなかった。このことは、IFN が移植骨髄生着後の早期造血に

なんらかの影響を及ぼしたことを意味し、骨髓移植における IFN 使用量の限界を示すものかもしれない。その他、少数例で発熱をみた。

以上、当科の成績から、骨髓移植に合併するウイルス感染症の少なくとも一部は、IFN 予防における投与量や投与期間、さらに吸入や他剤併用による治療に検討を加えていければ、劇的な予防や治療効果を期待できないにしても、その感染過程を効果的に修飾しうることが考えられる。

### 3. 臨床治験例の紹介

#### 抗ウイルス：(2) 肝炎

鈴木 宏

山梨医科大学内科

インターフェロン (IFN) の肝疾患における治療対象は、HBe 抗原陽性慢性活動性肝炎である。これは本疾患の大部分が進行性で肝硬変へ移行する可能性が高いことと、本疾患ではB型肝炎ウイルス (HBV) のウイルス血症が持続しており、IFN の効果を判定することが容易なためである。

B型肝炎に対する IFN の効果判定基準としては、MERIGAN らの基準が広く用いられているが、われわれは少し修正を加えて、以下の基準を用いている。

I型：血中より HBs 抗原が陰性化したもの。

a) HBs 抗体が陽性となったもの。

b) HBs 抗体が陰性のもの。

II型：血中より HBe 抗原が陰性化したもの。

a) HBe 抗体が陽性となったもの。

b) HBe 抗体が陰性のもの。

III型：IFN 投与期間中は DNA-p が低下または陰性化するが、投与終了後、再出現するもの。

I型は HBV の持続感染が完全に断ち切られ、肝炎も治癒する例で、有効例といえるが、残念ながら今まで IFN 治療剤で I型の効果を得られた例はない。

II型は HBV の体内での増殖が抑制された例で、多くの例で肝炎の活動性も低下し、非活動性肝炎へ移行する。やや有効例と考えられ、とくに IIa 型は HBe 抗原から HBe の抗体への Seroconversion を起こした例である。

III型は抗ウイルス作用はみられるが、肝炎の治療効果としては無効例である。

現在、わが国では IFN- $\alpha$  (日赤製)、IFN- $\beta$  (東レ製) および recombinant IFN- $\alpha$ A (Roche 製) が肝炎に対して治療が試みられている。ここでは、IFN- $\alpha$  および IFN- $\beta$  の大量投与を行なったわれわれの成績を中心と

して報告する (本研究の大部分は、厚生省特定疾患 “難治性の肝炎” 調査検査班治療分科会において行なわれたものである)。

IFN- $\alpha$  は最初 1 週間は  $7 \times 10^6$  IU/日、以後 3 週間  $3.5 \times 10^6$  IU/日、計  $119 \times 10^6$  IU を筋注により投与した。IFN- $\beta$  は最初の 1 週間  $6 \times 10^6$  IU/日、以後 3 週間  $3 \times 10^6$  IU/日、計  $102 \times 10^6$  IU を点滴静注により投与した。

IFN- $\alpha$  あるいは  $\beta$  投与により全例、血中 DNA-p は低下ないしは陰性化した。したがって、IFNs に HBV に対する抗ウイルス作用のあることは確認された。しかし、投与終了時における DNA-p 陰性化例は IFN- $\alpha$  で 10 例中 4 例 (40%)、IFN- $\beta$  で 51 例中 31 例 (60%) であった。

II型の効果は投与終了後 8 週目において、IFN- $\alpha$  は 10 例中 1 例 (10%)、IFN- $\beta$  は 71 例中 14 例 (20%) にすぎなかった。

IFN- $\alpha$  および  $\beta$  とともに投与 1 週目において、AST および ALT が投与前値に比べて有意の上昇がみられたが、以後、徐々に低下し、IFN- $\beta$  での投与終了 8 週目において有意の改善がみられた。IFN- $\beta$  では 65 例の第 III 相試験において、投与終了後血清蛋白、血清アルブミンの有意の改善がみられたが、また、投与期間中、ALP および  $\gamma$ -GTP の有意の上昇がみられたが、その理由は明らかでない。

IFN- $\alpha$   $7 \times 10^6$  IU/日、1 週間および IFN- $\beta$   $6 \times 10^6$  IU/日、1 週間投与により、著明な好中球減少に基づく白血球減および血小板減少がみられ、1 日投与量の限界と考えられた。発熱は全例にみられ、その他の副作用も数多くみられたが、副作用のため投与を中止した例は 1 例もなかった。

IFN- $\beta$  投与例を II型と III型に分けて、投与前値を比較すると、DNA-p および HBe 抗原値は III型に比べて II型の方が有意に低値を示したが、AST および ALT 値には有意の差はなかった。

IFN- $\beta$  に比べて IFN- $\alpha$  の方が DNA-p に対する効果は低かったが、投与経路の相違によることも考えられる。

B型慢性肝炎に対する IFN の効果は当初考えられたよりも低かったが、ある程度の効果は認められた。今回の試験は大量長期投与に限られており、大量長期投与の効果は確認できたといえるが、今後、投与量、投与期間および投与間隔などを検討すること、および Ara-A などの抗ウイルス剤、Cianidanol、OK-432 などの免疫増強剤との併用療法により、さらに良い効果が得られることが期待される。

### 3. 臨床治験例の紹介

#### 抗腫瘍：(1) 進行悪性腫瘍患者に対するインターフェロン治療

麦谷 喜夫・古江 尚

帝京大学医学部付属溝ノ口病院内科

インターフェロン (IFN) は生体におけるウイルス感染の干渉物質として、1950 年代に発見され、ウイルス感染への臨床効果が当初検討された。それ以後、ある種の腫瘍細胞の増殖への抑制作用や宿主の免疫機序を介しての抗腫瘍効果のあることもわかり、今日各種悪性腫瘍の治療にも試用されるに至った。

今回、われわれは IFN- $\alpha$ , Recombinant-IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , さらにヒト正常リンパ球由来の IFN- $\gamma$  を各種悪性腫瘍患者に投与し、その臨床効果、副作用、単独治療における免疫学的パラメーターの治療前後の変動、家兎および癌患者における、IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  の静脈内・筋肉内、皮下 1 回投与時の血中 IFN の経時的推移の違いをみた。

IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  の 1 回  $1 \times 10^6$  IU/kg 投与の血中 IFN 濃度は、JW-NIBS の雄の家兎を用いて経時に測定した。血中 IFN の測定は FL 細胞と VSV によるブラーク半減法で行なった。家兎に IFN- $\alpha$  の静脈内投与では、静注後速やかに血中 IFN 濃度が上昇し、投与後 3 時間目には約 10 分の 1 に低下し、以後徐々に漸減した。筋肉内投与および皮下投与による血中濃度の推移は、注射後 1 ~ 3 時間に peak をもち、以後数時間にわたり、同程度の血中濃度が持続した。IFN- $\beta$  は IFN- $\alpha$  とよく似た血中濃度の推移であったが、血中 IFN の最高濃度は筋肉内投与、皮下投与の場合、IFN- $\alpha$  よりも低かった。なお、家兎に IFN を頻回に投与すると、家兎の血中に中和抗体が検出された。この結果より、IFN- $\alpha$  は筋肉内投与、IFN- $\beta$  は静脈内投与を行なった。

ヒト（癌患者）に Recombinant IFN- $\alpha$  の筋肉内投与は家兎と同じ様な血中 IFN 濃度の推移をとった。肝癌患者に IFN- $\beta$  の動脈内投与は IFN- $\alpha$  の筋肉内投与の血中 IFN の推移とよく似た推移を認めた。肝炎患者に長期 IFN- $\beta$  を投与した 4 例では IFN に対する血中抗体は検出されなかった。

IFN 投与症例は、いずれも進行癌患者で、その内訳は胃癌 6 例、肺癌 5 例、急性白血病 5 例、悪性リンパ腫 4 例、原発性肝癌 3 例、大腸癌 1 例、腎癌 1 例、悪性黒色腫 1 例、多発性骨髄腫 1 例、子宮癌 1 例、食道癌 1 例、

肉腫 2 例の計 31 例であった。IFN- $\alpha$  による治療が 6 例、他の 25 例は IFN- $\beta$  による治療を行なった。IFN 単独治療が 23 例、化学療法後の投与例が 5 例、化学療法との併用が 3 例であった。1 回投与量は 300 ~ 500 万 IU で、投与間隔は連日または週に 2 ~ 3 回投与、さらに月一度の動脈内投与を行なった。

最高全投与量  $516 \times 10^6$  IU で平均  $79 \times 10^6$  IU であった。治療効果は、IFN- $\beta$  の単独治療による悪性黒色腫の肝転移例に 600 万 IU/日、肝動脈内投与にて、Minor Response が得られたのみであった。化学療法後に引き続いての IFN- $\beta$  の投与例の急性白血病で CR が 2 例、化学療法と IFN- $\beta$  との併用例で CR が 1 例であった。

癌患者に IFN 単独治療を行なったときの免疫学的パラメーターを治療前後で変動をみた。リンパ球数、T 細胞数、IgG-FcR $^+$ 、T 細胞数の著明な変動は認められなかつたが、B 細胞数の減少傾向、PHA 幼若化率の低下傾向を認めた。ADCC 活性はほとんど変動しなかつた。IAP (Immunosuppressive acid protein) は低下傾向はなかつたが、PPD は数例で強陽性になる症例もあつた。

IFN- $\gamma$  を胃癌患者 3 例に投与した。2 例で免疫学的パラメーターの変動をみたが、IFN- $\alpha$  および  $\beta$  と差はあまりなかつた。さらに ADCC 活性、NK 細胞活性の増強効果は認められなかつた。1 例にて投与前後の胃内視鏡にて、胃癌病巣の改善があつたが、malignant cycle も考えられ、今後経過を追う予定である。

肝硬変を伴つた前癌病変ともいえる Liver cell dysplasia の患者に IFN- $\beta$  を動脈内投与と全身投与を施行し、 $\alpha$ -フェトプロテインの低下を認めた。

IFN の副作用は、 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ともに同じような副作用があつた。

発熱が 34 例中 21 例 (61.8%), 悪寒 7 例 (20.5%), 倦怠感 2 例 (5.8%), 神經痛、食思不振共に 2 例、下痢 1 例、白血球減少 7 例 (20.5%), 血小板減少 4 例 (11.7%), 肝機能障害 6 例 (17.6%) であった。大量投与例で著明な全身倦怠感、食思不振を認めた。白血球減少、血小板減少、肝機能障害は重篤な症例はなかつた。

IFN による癌治療は、まだ始まったばかりであつて、その本質的意義はもちろん、その他検討すべき点は多い。しかしある程度癌に有効なことも明らかである。従来の癌の治療法との適正な組み合わせによって、癌の治療成績を向上させることが期待される。

### 3. 臨床治験例の紹介

#### 抗腫瘍：(2) 悪性脳腫瘍に対するインターフェロンの抗腫瘍効果

平川 公義

京都府立医科大学脳神経外科

悪性脳腫瘍に対してインターフェロン (Hu IFN- $\alpha$ ) の投与を行ない、抗腫瘍効果を検討した。対象は原発性脳腫瘍 24 例、その内訳は glioblastoma 14 例、medulloblastoma 3 例、astrocytoma 4 例、ependymoma 1 例、ependymoblastoma 1 例、pontine glioma 1 例である。年齢は 5 歳から 66 歳、男性 15 例、女性 11 例である。

IFN 治療は、原則として、初回開頭手術・術後照射を終えた後、6か月以上経過し、臨床症状、CT スキャンにより再発が確認された時点で、単独投与として開始された。投与方法は全身投与と局所投与とにより行なわれたが、投与量により各々亜群に分けられる。全身投与の場合、 $5 \times 10^4$  IU を週 1 回筋注する少量群 (3 例)、 $3 \times 10^6$  IU を隔日筋注する大量群 (4 例)、局所投与の場合、腫瘍除去後の死腔に設置された Ommaya reservoir を頭皮上より穿刺、または直接髄腔内注射により、 $1 \times 10^6$  IU を週 1 ~ 2 回投与する間歇群 (9 例)、ならびに連日投与群 (8 例) の別である。投与量・期間の平均は、全身少量群で  $3.19 \times 10^6$  IU/13.8 か月、全身大量群で  $121.1 \times 10^6$  IU/9.25 か月、局所間歇群で、1 例の長期連用例を除いて、 $11.2 \times 10^6$  IU/4.1 か月、局所連日群で  $40.4 \times 10^6$  IU/1.9 か月であった。

抗腫瘍効果は、1) 臨床症状とくに Karnofsky performance status (PS), 2) CT 上腫瘍体積、3) 免疫反応とくに Natural killer 活性 (NK) の消長を参考に、究極的には、CT 上腫瘍の造影剤増強効果陽性部分の体積を計算し、小山・斎藤の固形癌化学療法直接効果判定基準のうち、径の積を体積と読みかえて、治療の評価を下すこととした。

治療の結果、一過性の全身状態の改善は得られても、PS の著明な変化はみられなかった。これを亜型別に整理すると、全身投与群の PS 平均は 60% であったが、治療により、glioblastoma および medulloblastoma の各 1 例で 5~11 か月の間、CT 上体積 50% 以上の縮小があり、有効と判定された。他は不变 2 例、進行 3 例である。有効例は少量投与例であったことは興味をひく。

局所間歇投与群の PS は平均 51% と進行した症例が多く、これらには全身投与の併用や Mtx, ACNU の併

用など、厳密に IFN の効果を判断するには不適当と思われる内容であったが、治療の結果は、奏効例は 1 例もなく、不变 1 例、他はすべて進行例であった。

局所連日投与群の PS は平均 64%、治療はすべて Ommaya reservoir を通して行なわれた。その結果、不变 3 例、進行 3 例、glioblastoma の 2 例において 1.5 か月の有効例を得、奏効率は 25% であった。なお局所投与による髄膜炎の合併は 5/17 例にみられ、うち 2 例で治療中止のやむなきに至った。他にはさしたる副作用はなかった。

PPD, PHA 皮膚反応は陽性反応を示すものが多く、NK ならびに ADCC 活性上昇もみられた。NK 活性は局所投与によっても上昇した。治療効果との関係では、NK 活性上昇例には腫瘍の急速な成長を来たした例の無かったことが注目をひく。なお NK 上昇は IFN 投与期間中持続し、投与中止にて低下、再投与により再び上昇した。しかし回数を重ねると共にこの反応は消失した。

以上の臨床的検討から、IFN は少量でも効果を発揮するが、連日、腫瘍局所に接触せしめることができれば、一層効果を発揮するものと考えられた。臨床的には、IFN 投与中は全身状態が良く、投与中止により症状の悪化をみた症例の存在、実験的には、C 57 BL マウスに 203 glioma を皮下移植したモデルで、IFN 局所注射が有効であり、投与中止により再び腫瘍が成長するという事実によく合致するように思える。

IFN 投与例における病理学的検索では、特異な変化をとらえ得なかった。またパラフィン包埋標本より蛍光顕微測定法を用いて、腫瘍の DNA histogram を作成し、IFN 投与前後の経時的变化をみたが、有効例にて S 期比率の低下、polyploid cell の比率低下を認めたのみであった。

治療効果は延命の程度からも判断できる。昨年、悪性脳腫瘍 (malignant astrocytoma) 58 例について多変量解析法を用いて予後決定因子を分析する機会があった。その結果、術後平均生存期間は約 10 か月であるが、これに再手術を重ねると、2 回目手術まで 10 か月、2 回目手術から 3 回目手術まで 7 か月、以後死亡まで 3 か月の生命の延長が可能である。IFN 投与群では、初回手術後の IFN 投与で 23 か月、2 回目手術後では 11 か月の生存が得られており、現在までの最も長い生存期間に匹敵する数字を得ることができた。

IFN は副作用のない点で、連用が可能である。今後他の治療法との併用をも含め、成績向上のため、より良い使い方を探るべく、地道な努力を重ねることが必要であろう。

#### 4. 特別発言 Clinical study on IFN

田 口 鐵 男

大阪大学 微研 外科

インターフェロンの抗腫瘍剤としての検討は世界各国で行なわれており、未だ結論は得られていない。日本では厚生省のインターフェロンの臨床評価に関する総合研究班が組織され、その指導のもとで、各種インターフェロンの臨床治験が進められている。私は遺伝子組み換え型ヒト白血球インターフェロンの代表研究者として、多くの臨床家と共に臨床治験を進めている。今回、特別発言の機会を与えられましたので、このインターフェロン(Ro 22-8181 : rIFN- $\alpha$ A) の phase I および phase II study について、成績を述べさせていただきます。

Ro 22-8181 は遺伝子組み換え技術により、大腸菌で產生され、分離精製したもので、純度は 98% 以上である。臨床治験に先立ち、phase I study をまず米国サンプルで実施し、その後、国産サンプルについて実施した。

実施施設は大阪大学微研他計 9 施設で、各種進行癌患者に、米国サンプルは 18, 36, 50, 75,  $100 \times 10^6$  U の 5 用量を、国産サンプルは 18, 50,  $100 \times 10^6$  U の 3 用量を、ただし、 $50 \times 10^6$  U については、1 週後に米国サンプル  $50 \times 10^6$  U を cross over して、単回投与した。

副作用として、発熱が全例にみられ、他に flu-like 症状、消化器症状、手足のしびれ感などがみられたが、いずれも一過性であった。また、白血球減少、血小板減少、GOT・GPT の上昇などがみられた。以上の副作用所見は米国サンプルと国産サンプルでは差がみられなかつた。

血中濃度は用量相関性を示し、大半が 2 ~ 8 時間でピークに達し、72 時間後には投与前値のレベルとなった。血中抗 IFN 抗体は投与前と投与 1 週後に検討したが、いずれも測定限界以下であり、ブリック試験も全例陰性であった。以上の結果から、Ro 22-8181 は高用量で副作用の頻度が高くなる傾向はあるが、その耐容性は良好であることが確認された。Phase I study に引き続き、early phase II study が 8 つの分科会（脳腫瘍、造血器腫瘍、肺癌、乳癌、メラノーマ、消化器癌、骨軟部悪性腫瘍、泌尿器系悪性腫瘍）に分かれ、計 77 施設で実施された。対象は標準的治療に無効な各種進行癌患者で、投与方法は  $3 \times 10^6$  U/日から投与を開始し、3 日ごとに逐次增量し、連続投与可能な投与量で、少なくとも 1 か月以上投与することにした。ただし、1 日投与量の上限は  $50 \times 10^6$  U とした。

現在投与開始例は 259 例で、うち投与中止または終了例は 203 例、投与中は 56 例である。今までに効果がみられた癌種はやや有効まで含めると、皮膚の悪性リンパ腫、メラノーマ、多発性骨髓腫、脳腫瘍、腎癌などであった。

主な副作用としては、発熱 (62%)、食欲不振 (34%)、恶心・嘔吐 (25%)、全身倦怠感 (22%)、白血球減少 (27%)、GOT 上昇 (27%)、GPT 上昇 (22%) などがみられた。発熱は投与量に関係なく発現したが、他の副作用は投与量の増加と共に発現頻度が高くなるようである。投与中止により、ほとんどの症状が 1 ~ 2 週間で消失した。

血中濃度は用量相関性がみられ、連続 4 ~ 12 週間投与している症例では、投与 24 時間後でもかなり高い値を示していた。

血中抗 IFN 抗体については、現在測定中である。

IFN 全般にわたって、今後解決しなければならない多くの問題が残っている。

すなわち、Ro 22-8181 についても、本剤単独投与の場合、如何なる投与方法（1 回投与量、間隔、期間など）が適当なのか、また、既存の癌治療とどのように組合せるのがよいのかといった問題がある。

IFN の臨床的研究としては、IFN の  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ……といった問題、natural IFN か recombinant IFN かといった問題もある。これら各種 IFN の特徴、性格が明らかになる必要があろう。臨床的にも毒性、薬理作用などはつきりさせねばならない。

今まで IFN は抗癌剤としての立場からのみ検討されてきたが、IFN には様々な生物活性が知られているよう、Biological Response Modifier (BRM) としての作用をもつて、抗癌性についても、この立場から検討してみる必要がある。その際、IFN の低用量と高用量の立場から比較検討してみることが大切である。INF のもつホルモン様作用も忘れてはならない。

その上で体外から投与される IFN と IFN inducer との関係にも研究をのばす必要があるだろうし、既存の各種抗癌治療とどのように組合せることがよいのかどうか、また IFN 相互の組合せなども検討されねばならない問題である。

司会のことば：むすび

古 江 尚

帝京大学医学部内科

本シンポジウムはインターフェロン (IFN) の臨床的意義についての現段階での結論を出すという主旨で企画

されたものであるが、今回の発表によつていくつかの問題点が却つてクローズアップされた感じである。たしかに IFN の臨床的検討を進めるうえで解決されるべき問題点は多い。基礎と臨床、*in vitro* と *in vivo*、理論と実際の間隙はなお深く大きいし、作用機序、体内動態も不明の点が多い。また alpha, beta, gamma……IFN、それぞれの相違も明らかでない。それに適当な投与法もまだ確立されていない。IFN の研究は、最近の大量生産の進歩に伴つてやつと本格的に行なわれるようになつたという段階であつて、これから研究の成果をふまえてあらためて結論を出すべきであろう。

それでも IFN はウイルス疾患に対しても、癌に対しても、単独では決してすぐれた効果を示すとはいえない。ウイルス疾患はまだよいとしても、癌に対しては特にそうである。ただ、しかしある程度は効果のあること

もまたたしかである。IFN は微量で非常に強い生物学的活性を示すという点でも興味がもたれる。

今後 IFN のウイルス疾患、癌における臨床上の有用性を確立するには、次のように諸問題が検討対象となる。

まず第 1 は適正な投与法を確立すること。

第 2 に併用療法での有用性を確立すること。そして IFN の併用には、抗癌剤との併用、免疫療法との併用、各タイプの IFN 相互の併用、そして (exogenous)INF と endogenous IFN(IFN inducer) との併用が考えられる。

そして第 3 に gamma IFN が臨床的にどの程度の効果を示すかも興味がもたれる。

今後これらの問題点を解明して初めて IFN の臨床的有用性が確立されるものと考える。