

実験的肺感染病巣内における肺炎桿菌に対する Ceftizoxime と Cefazolin の効果に関する研究

—特に形態変化と多形核白血球による貪食殺菌作用に及ぼす効果について—

川 西 正 泰

川崎医科大学呼吸器内科

(指導：副島林造教授)

(昭和58年2月24日受付)

In vitro およびマウス実験的肺炎において、肺炎桿菌 B-54 株に対する Ceftizoxime (CZX) と Cefazolin (CEZ) の抗菌作用を、電顕的に主として形態学的変化の面より検討した。さらに多形核白血球 (PMNs) の貪食、殺菌作用に対する CZX と CEZ の効果についても検討した。

In vitro において CZX と CEZ は、MIC 以下の濃度でも菌を伸長化し、濃度を上げると spheroplast や bulge を形成し、その後溶菌した。

マウス実験的肺炎においても、CZX 20 mg/kg 4回投与、および CEZ 80 mg/kg 4回投与で明らかに溶菌を認めたが、特に CZX 80 mg/kg 4回投与では99%の菌に spheroplast ないし lysis を認め、これは肺内生菌数の著明な減少とよく相関した。すなわち *in vivo* での殺菌効果に関し CZX は CEZ と比べはるかに優れていた。また CZX と CEZ は、単回投与に比べ分割投与がより殺菌的であり、抗菌作用を考える上で有効濃度の持続が重要であると考えられた。

CZX と CEZ の投与により、未治療対照群に比べ、菌を貪食した PMNs の割合が約2倍増加しており、また PMNs に貪食された菌数も約3倍増加していることが電顕的に確かめられた。さらに PMNs 内の菌の形態変化では、spheroplast ないし lysis の変化は、未治療群で9%程度に認められたにすぎないのに対し、CZX ないし CEZ 投与群では73~95%にその変化を認めたが、両薬剤間での違いは明らかでなかった。すなわち、CZX と CEZ は、菌に対して殺菌的に作用するだけでなく、PMNs の貪食並びに細胞内殺菌作用を増強する作用も有していると考えられた。

抗生物質の抗菌活性の評価のひとつとして、*in vitro* における細菌の形態変化に及ぼす作用が検討されている。しかし *in vitro* での優れた成績が必ずしも動物実験や実際の臨床効果と相関しないことも多く、*in vivo* における菌の形態変化について検討した研究は比較的少ない¹⁻⁴⁾。

一方、感染に対する宿主の防御因子として食細胞は重要な役割を担っており、食細胞の機能に及ぼす抗生物質の影響についての報告も少なくない。しかし、実際の感染病巣内での食細胞、細菌、抗生物質間の相互作用についてはいまだ不明な点が多い。

今回私は、最近開発された新しい Cephem 系抗生物質の中で、抗菌活性が優れていると考えられる Ceftizoxime (CZX) を用い、*in vitro* ならびに *in vivo* における本剤の抗菌作用を、主として菌の形態変化の面より検討するとともに、感染病巣内での多形核白血球 (PMNs) の貪食、殺菌作用に及ぼす影響についても若干の検討を試みた。

I. 材料と方法

1) 使用菌株：肺炎桿菌 B-54 株 (β -lactamase(-), MIC: CZX 0.1 μ g/ml, CEZ 3.13 μ g/ml) (長崎大学熱研内科, 松本慶蔵教授より分与)。

2) 培養条件：Heart Infusion Broth にて 37°C, 24 時間培養後、*in vitro* の実験にはさらに継代して4時間振盪培養した菌液 (2×10^9 /ml) を用いた。感染実験には継代して18時間培養した菌液を 1×10^8 /ml とするよう調整して噴霧菌液とした。

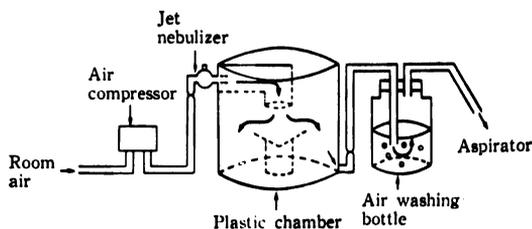
3) 使用抗生物質：Ceftizoxime (CZX)
Cefazolin (CEZ)

4) 使用動物：生後4~5週齢の ICR 雄性マウス (体重 22~25 g)。

5) 噴霧感染装置 (Fig. 1)：円筒型のプラスチック製装置で、上方に取り付けたジェットネブライザーにより菌液を噴霧し、底部から吸引しながら減菌排除する方式を用いた⁵⁾。

6) 試験管内での抗菌作用

Fig. 1 Aerosol exposure apparatus



(i) CZX 濃度 : 1/4, 1/2, 1, 2, 4, 8, 16 MIC (MIC : 0.1 $\mu\text{g/ml}$)

(ii) CEZ 濃度 : 1/4, 1/2, 1, 2, 4 MIC (MIC : 3.13 $\mu\text{g/ml}$)

継代して $2 \times 10^8/\text{ml}$ とした菌液 50 ml に対し, 作用時に上記各濃度となるように調整した CZX, CEZ 溶液を 1 ml 付加し, 37°C で振盪混和しながら, 1, 3, 5 時間後に colony forming 法により生菌数を算定するとともに, 電顕試料を作成して形態変化を調べた。

7) 実験的肺感染病巣内の抗菌作用

既述の感染装置を用い, $1 \times 10^9/\text{ml}$ に調整した菌液 9 ml を 40 分間噴霧感染し, 明らかに膿瘍を形成してくる 27 時間後に, CZX ならびに CEZ を下記の 4 群に分けて筋注投与した。

(i) 1 群 : 80 mg/kg 1 回投与

(ii) 2 群 : 20 mg/kg 30 分ごと 4 回投与

(iii) 3 群 : 320 mg/kg 1 回投与

(iv) 4 群 : 80 mg/kg 30 分ごと 4 回投与

投与 3, 6 時間後にマウスを各群 3 匹宛屠殺し, 肺をホモジナイザーで磨碎して肺内生菌数を算定した。また同時に各群 2 匹宛, ネプタール腹腔内注射後脱血死させ, すぐに気管切開を行ない軽気道的に固定して電顕試料を作成した。

8) 電顕試料作成法

1% Kellenberger 四酸化オスミウムにて一夜固定後, Kellenberger 緩衝液にて洗浄し, 0.5% 酢酸ウラン液にて 3 時間処理, 再び緩衝液にて洗浄, その後上昇エタノール系列にて脱水した。

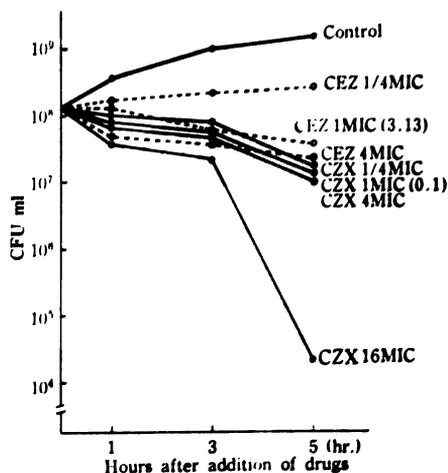
走査電顕試料は酢酸イソアミルで置換後臨界点乾燥を行ない, 白金パラジウムを表面に蒸着し, 日立製 HHS-2R, 20 kV で観察した。

透過電顕試料は Epon 812 で包埋し, 超薄切片を酢酸ウラン, 鉛にて電子染色後, 日立製 HU-12A で観察した。

II. 成 績

1) 試験管内での抗菌作用

① 生菌数の推移 (Fig. 2)

Fig. 2 Bactericidal activity of CZX or CEZ to *K. pneumoniae* B-54

CZX については 1/4, 1, 4 MIC の濃度を作用させた場合, その殺菌効果に大きな差はなく, $2 \times 10^8/\text{ml}$ であった生菌数が $1 \sim 3 \times 10^7/\text{ml}$ と約 1/10 に減少し, 16 MIC 作用後の生菌数の減少はさらに著明で $4 \times 10^4/\text{ml}$ と約 1/1000 に減少した。

一方 CEZ については 1/4 MIC では静菌的であり, 1, 4 MIC でも生菌数は $4 \sim 6 \times 10^7/\text{ml}$ と約 1/4 に減少したにすぎなかった。

② 走査電顕による観察

CZX については, 1/4 MIC (0.025 $\mu\text{g/ml}$), 1 時間後で対照群 (Fig. 3 a) に比べ既に菌は伸長化し, 5 時間後 (Fig. 3 b) にはより著明となり, 4 MIC (0.39 $\mu\text{g/ml}$), 5 時間後までは伸長化がみられたのみであったが, 8 MIC (0.78 $\mu\text{g/ml}$), 5 時間後で (Fig. 3 d) 菌は spheroplast 様の変化を呈し, 一部で lysis とおぼしき変化も認められた。

一方 CEZ については, 1/4 MIC (0.78 $\mu\text{g/ml}$), 5 時間後では (Fig. 3 c) 伸長化がみられたのみであったが, 4 MIC (12.5 $\mu\text{g/ml}$), 5 時間後では (Fig. 3 e) ほとんどすべての菌が bulge 様の変化を示していた。

③ 透過電顕による観察

走査電顕で伸長化のみが認められた CZX 1/4~4 MIC までの透過電顕像では (Fig. 4 b), 細胞壁および細胞質内構造は未治療対照群 (Fig. 4 a) とはほぼ同様によく保たれていた。しかし 8 MIC では spheroplast や lysis とおぼしき変化が認められた (Fig. 4 c)。

一方 CEZ については, 走査電顕で bulge 様の変化を認めた 4 MIC の場合, 菌体は膨大化し強い変形を示していたが, 外膜は比較的よく保たれていた (Fig. 4 d)。

Fig. 3 Scanning electron micrographs of *K. pneumoniae* B-54 *in vitro*.

(a) Control. (b) Filamentous cells exposed to CZX at 1/4 MIC, 0.025 $\mu\text{g/ml}$, 5 hr. (c) Filamentous cells to CEZ at 1/4 MIC, 0.78 $\mu\text{g/ml}$, 5 hr. (d) Spheroplasts and lysis to CZX at 8 MIC, 0.78 $\mu\text{g/ml}$, 5 hr. (e) Bulges to CEZ at 4 MIC, 12.5 $\mu\text{g/ml}$, 5 hr. Bar=1 μm . (a~d: $\times 6,000$, e: $\times 4,500$).

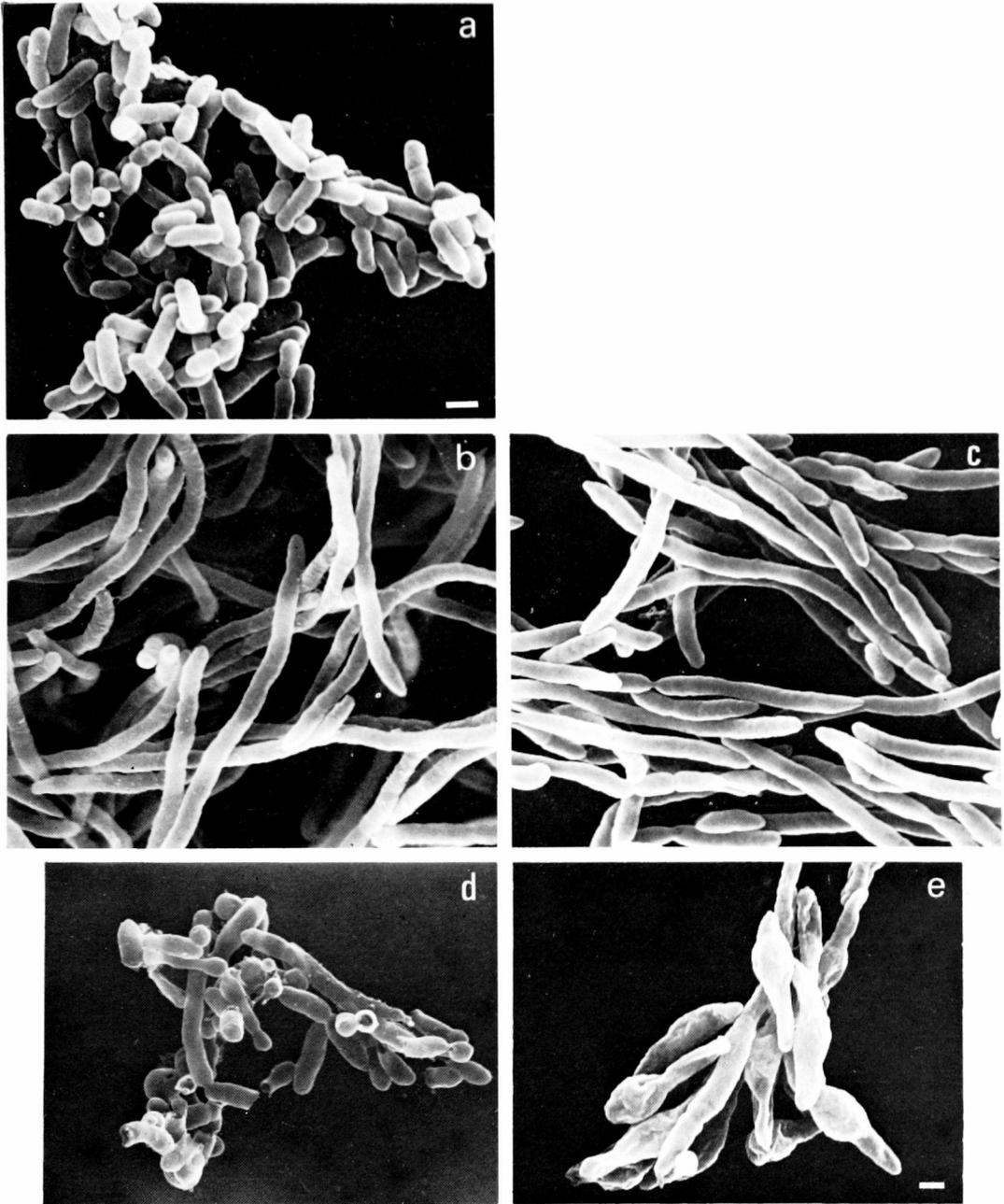
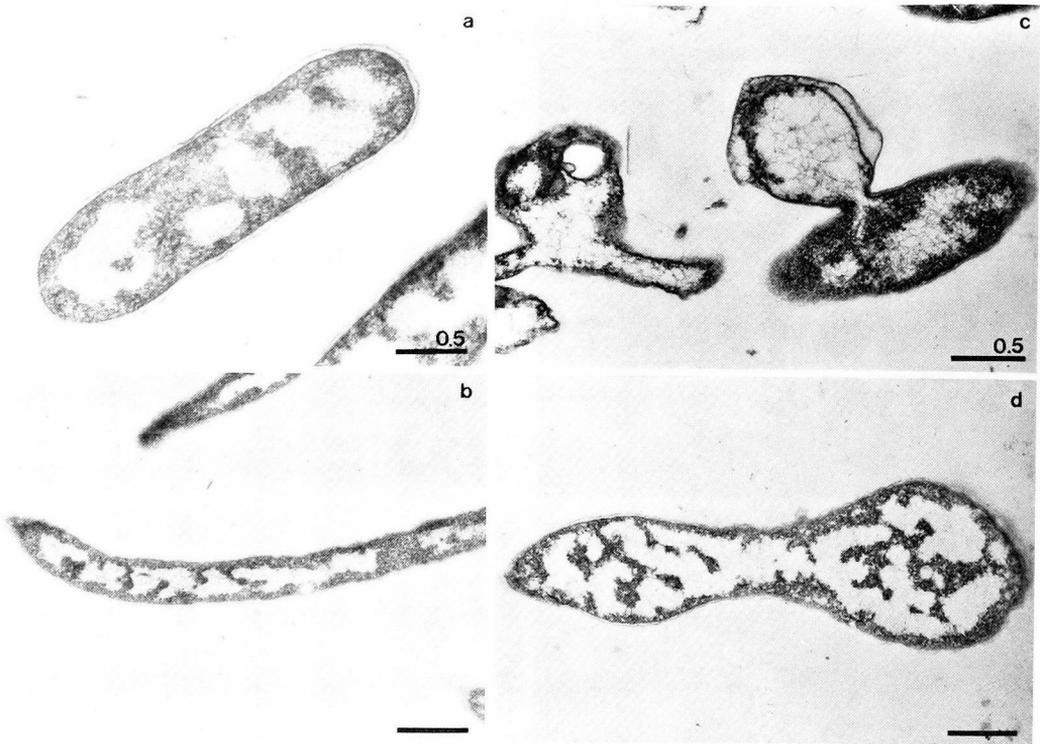


Fig. 4 Transmission electron micrographs of *K. pneumoniae* B-54 *in vitro*.

(a) Control. ($\times 40,000$). (b) Filamentous cell to CZX at 1/4 MIC, 5 hr. ($\times 10,000$). (c) Spheroplasts and lysis to CZX at 8 MIC, 5 hr. ($\times 42,000$). (d) Bulge to CEZ at 4 MIC, 5 hr. ($\times 20,000$).



2) 実験的肺感染病巣内での抗菌作用

① 肺内生菌数の推移

感染直後の肺内生菌数は、 4×10^9 /lungs であり、肉眼的に明らかな膿瘍を形成する 27 時間後の生菌数は、 $8 \sim 10 \times 10^6$ /lungs であった。

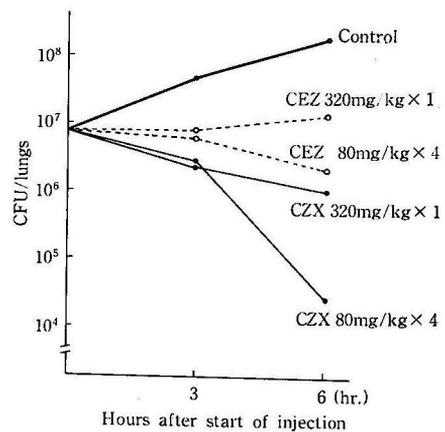
CZX あるいは CEZ 投与後の肺内生菌数の推移をみると (Fig. 5), CZX 320 mg/kg 1 回投与では、6 時間後に 1×10^6 /lungs と生菌数は約 1/10 に減少しており、80 mg/kg 30 分ごと 4 回投与では、6 時間後に 5×10^4 /lungs と約 1/100 に減少していた。

一方 CEZ 320 mg/kg 1 回投与後の肺内生菌数は殆ど不変であり、80 mg/kg 30 分ごと 4 回投与では、6 時間後に 4×10^6 /lungs と若干生菌数の減少を認めたにすぎなかった。

② 走査電顕による観察

感染 27 時間後、病巣内の菌は互いに糸状の物質でつながって、肺胞腔内に多数存在していた (Fig. 6a)。CZX 320 mg/kg 1 回投与 3 時間後の病巣内菌の走査電顕像では、伸長化が見られたのみであった (Fig. 6b)。CZX 80 mg/kg 4 回投与でもほぼ同様で、明らかな

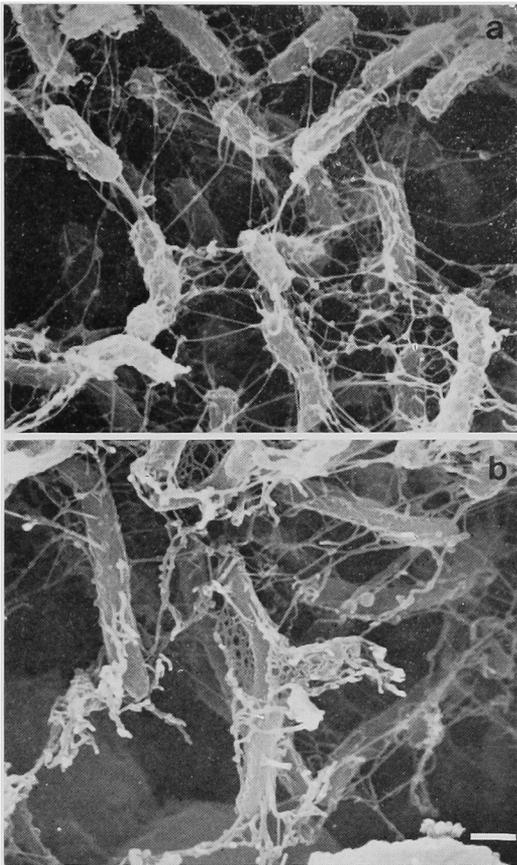
Fig. 5 Viable counts of bacteria in murine lung after administration of CZX or CEZ



spheroplast や bulge の形成を確認することは困難であった。しかし未治療対照群に比べ肺内残存菌数が少なく、lysis が示唆された。また CEZ 投与の場合もほぼ同様であった。

Fig. 6 Scanning electron micrographs of *K. pneumoniae* B-54 in murine lung.

(a) Control at 27 hr. after the start of infection.
 (b) Filamentous cells at 3 hr. after the start of administration of CZX at 320 mg/kg. ($\times 8,000$).



③ 透過電顕による観察

薬剤投与後の病巣内菌の形態変化は、走査電顕では伸長化が認められたのみであったが、透過電顕では明らかに spheroplast や lysis の像がとらえられた。Fig. 7 a は未治療膿瘍内の菌を示したものであるが、菌体の表面は糸状の物質で線毛様におおわれている。Fig. 7 b は CZX 320 mg/kg 1 回投与 3 時間後の伸長化した菌であり、Fig. 7 c には 80 mg/kg 4 回投与 6 時間後に plasmolysis を起こしている菌を、Fig. 7 d には lysis した菌を示した。

Fig. 8 は、各群 2 病巣よりそれぞれ 200 ずつ合計 400 の菌をかぞえて、このような肺病巣内菌の形態変化の程度を百分率で表わしたものである。

CZX 320 mg/kg 1 回投与では、中等度 (spheroplast あるいは bulge 様の変化) 以上の変化は、3 時間後の 43% から 6 時間後には 66% (このうち 82% は lysis)

に増強していた。さらに CZX 80 mg/kg 4 回投与では、3 時間後で既に中等度以上の変化が 80% にみられ、6 時間後には 99% (このうち 86% は lysis) とほぼすべての菌に強い変化が認められた。

一方 CEZ 320 mg/kg 1 回投与では、3 時間後で 18% (このうち 28% が lysis) にみられた中等度以上の変化が、6 時間後には 2% にしか認められなかった。しかし 80 mg/kg 4 回投与では、3 時間後で 18% に、6 時間後で 37% (このうち 49% が lysis) に中等度以上の変化を認めた。

なお、図示していないが CZX 80 mg/kg 1 回投与あるいは 20 mg/kg 4 回投与では、約半数程度に中等度の変化を認めたが、CEZ ではほとんど変化を認めることができなかった。

3) 感染病巣内での PMNs に及ぼす効果

Fig. 9 は 2 病巣 400 個の PMNs のうち、細菌を貪食した PMNs の割合を示したものである。未治療対照群が 13% であるのに対し、CZX 320 mg/kg 1 回投与では 27%、80 mg/kg 4 回投与では 30% といずれも約 2 倍に増加していた。

他方 CEZ 320 mg/kg 1 回投与では、13% と対照群と変わらなかったが、80 mg/kg 4 回投与では 28% と約 2 倍に増加していた。

Fig. 10 は、100 個の PMNs に貪食された細菌の数とその形態変化を表わしたものである。

貪食された菌数についてみると、未治療対照群が 14 個であるのに対し、CZX 320 mg/kg 1 回投与 6 時間後では 39 個、80 mg/kg 4 回投与では 57 個と約 3~4 倍多く貪食されていた。

一方 CEZ 320 mg/kg 1 回投与では、18 個と対照群と比べ有意差はみられなかったが、80 mg/kg 4 回投与の場合には 37 個と約 2.5 倍に増加していた。

また貪食された菌の形態変化についてみると、spheroplast あるいは lysis は、未治療群では貪食された菌の 9% 程度にすぎないのに対し、CZX、CEZ 投与群ではともに、貪食された菌の 73~95% が中等度以上の形態変化を示していた。

Fig. 11 a は未治療群の PMN に貪食された菌であり、Fig. 11 b は CZX 80 mg/kg 4 回投与後 PMN に貪食された菌であるが、細胞壁は断裂、離開しており、未治療群に比べ形態変化が著明であった。

III. 考 察

β -lactam 系抗生物質の抗菌力は、グラム陰性桿菌外膜の通過性の良否、 β -lactamase に対する安定性、および標的酵素である murein transpeptidase 阻害の強弱により決まるといわれている⁹⁾。CZX は各種 β -lactamase

Fig. 7 Transmission electron micrographs of *K. pneumoniae* B-54 in murine lung.
 (a) Control; bacterial cell in the pus of the lung abscess just before the administration of the drug. ($\times 21,000$). (b) Filamentous cell at 3 hr. after the administration of CZX 320 mg/kg. ($\times 12,000$). (c), (d) plasmolysis and lysis at 6 hr. after administration of CZX at 80 mg/kg, $\times 4$. ($\times 21,000$).

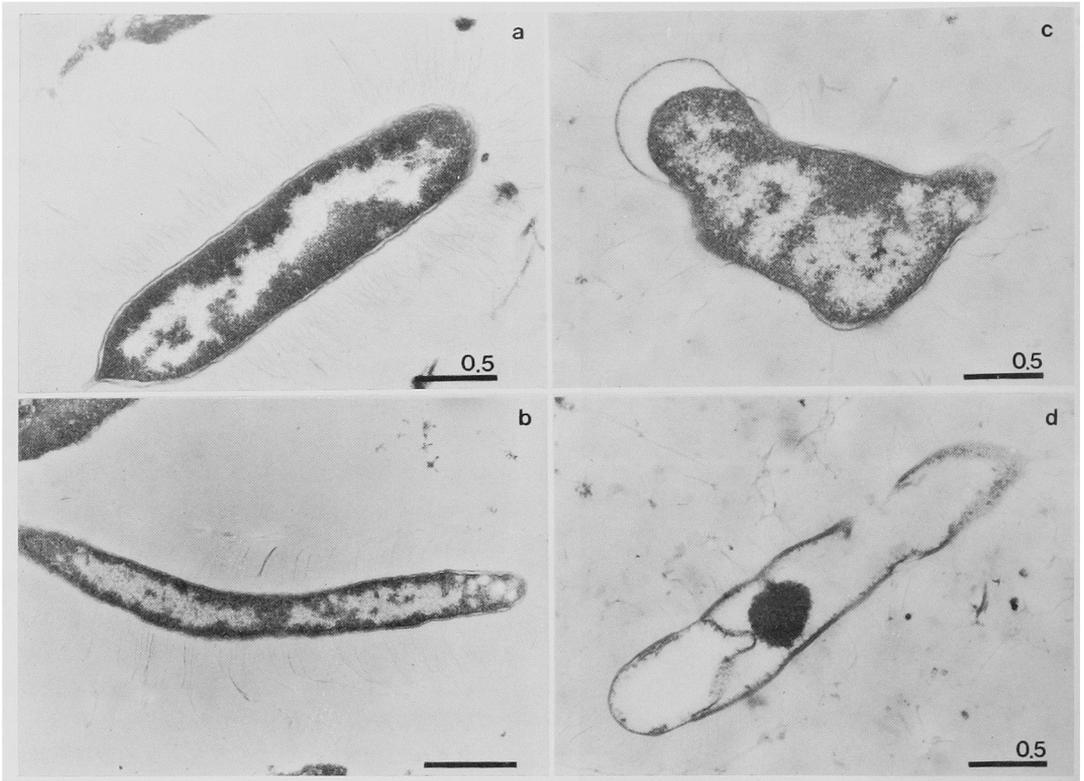
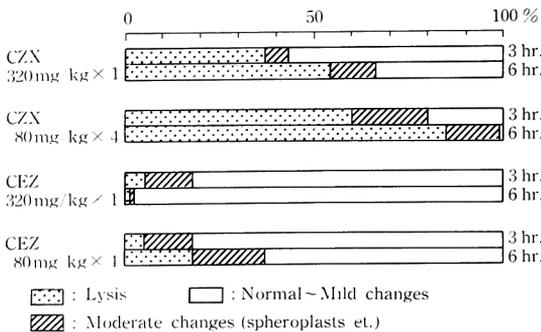


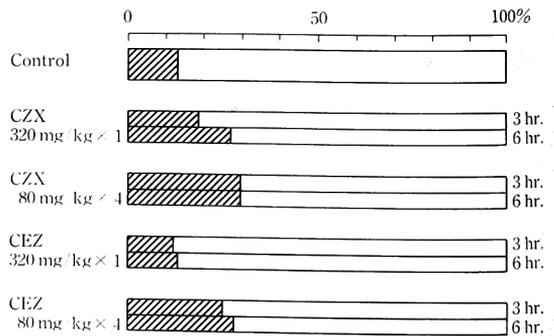
Fig. 8 Morphological changes of *K. pneumoniae* B-54 in murine lung after administration of CZX or CEZ



に対して安定であり⁷⁾, また大腸菌のペニシリン結合蛋白 (PBP) のうち 1Bs, 3, 1A に強い親和性を示すといわれている⁸⁾。

PBP 1Bs は細菌細胞壁 peptidoglycan の伸長時に必要な架橋酵素とされており, PBP 1A は 1Bs が欠損した

Fig. 9 Ratio of phagocytosis of polymorphonuclear leukocytes in murine lung after administration of CZX or CEZ



ときの迂回酵素であり, また PBP 3 は隔壁形成に関与する蛋白質である。したがって 1Bs と 1A を同時に強く阻害する CZX は, spheroplast を形成し溶菌して強い殺菌作用を示すとともに, さらに 3 にも強い親和性を持つので, MIC 以下では菌細胞は伸長化すると考えられる。

Fig. 10 Relationship between intracellular morphological change and phagocytized bacterial counts in 100 PMNs in murine lung after administration of CZX or CEZ

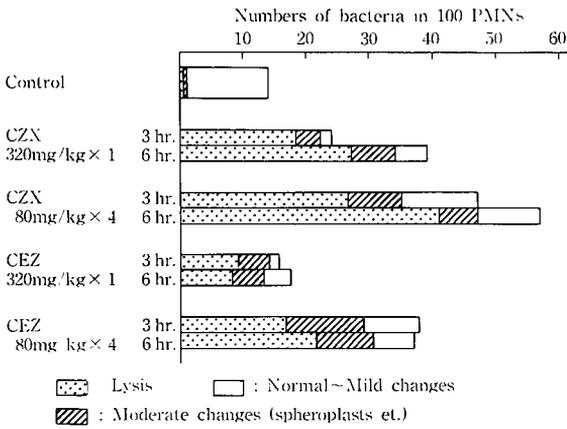
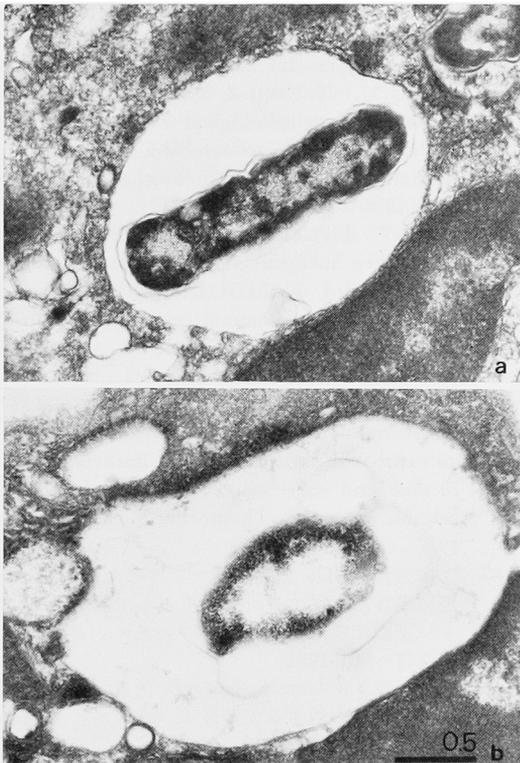


Fig. 11 Transmission electron micrographs of *K. pneumoniae* B-54 in PMN in murine lung. (a) in PMN untreated. (b) in PMN treated. ($\times 42,000$).



事実今回の私の *in vitro* の成績でも、CZX 1/4~4 MIC では菌は伸長化し、生菌数も 2×10^8 /ml から $1 \sim 3 \times 10^7$ /ml と約 1/10 に減少し、8 MIC で spheroplast を形成し lysis を認めた。一方 CEZ についても 1/4~2 MIC で菌は伸長化し、4 MIC で bulge 様の変化を示し生菌数も約 1/4 に減少していた。

すなわち、CZX の殺菌作用はその MIC 前後では、CEZ とほぼ同等ないしはそれ以上の成績であったが、MIC が小さいだけ CZX の方がより強力と考えられた。また外膜透過性についても他の Cephem 剤に比べ数倍~10 倍以上良好という報告がある⁹⁾。

浅野ら¹⁰⁾は、大腸菌について、CZX 1/8 MIC で spheroplast 様構造を呈し溶菌したと報告しているが、これは菌種および菌量の違いによるものと考えられる。

肺炎桿菌による実験的肺炎の作成ならびに治療効果については、SALE ら^{1,11)}、NAKAO ら²⁾、BERENDT ら^{12,13)}、NISHI ら^{3,14)}の報告もあるが、治療効果に及ぼす菌の形態変化について電顕的に検討したものは、NAKAO ら²⁾、NISHI ら³⁾の報告にすぎない。

肺膿瘍内の菌に対する抗菌作用を考える時、抗生物質の体内動態とくに膿瘍内への薬剤の移行、細菌あるいは組織等による薬剤の不活化等のさまざまな要因を考慮する必要がある。普通組織内濃度は血中濃度と持続時間に比例すると考えられるが、村上ら¹⁵⁾によると、マウスにおける血中濃度およびその持続とも CZX は CEZ に比し約 1/2 と劣っている。またラットを用いた肺内濃度では、20 mg/kg 1 回筋注で 15 分値が CZX は 7.0 μ g/ml、CEZ は 13.3 μ g/ml であったと報告している。

また、JOINER ら¹⁶⁾は、各種抗生物質について実験的膿瘍内濃度を測定しているが、 β -lactam 系抗生物質の膿瘍内ピーク値は血中濃度のほぼ 20% 程度であり、血中レベルにややおくれでピークに達し持続は血中に比べ長いとしている。以上の報告から考えると、今回私が行なった 20 mg/kg 30 分ごと 4 回投与でも十分に有効な肺内濃度が得られるものと予測された。

今回の実験で、抗生物質投与後の生菌数の推移とそれに伴う菌の形態変化について経時的に検討したが、肺内生菌数についてみると CZX 320 mg/kg 1 回投与 6 時間後では約 1/10 に減少しており、80 mg/kg 4 回投与では約 1/100 と著明な生菌数の減少を示した。一方 CEZ 320 mg/kg 1 回投与では生菌数は変わらなかったが、80 mg/kg 4 回投与では若干生菌数の減少がみられた。さらに形態的には、spheroplast 以上の変化を示す割合が生菌数の減少とほぼ相関しており、特に CZX 80 mg/kg 4 回投与 6 時間後では 99% の菌が spheroplast ないし lysis の変化を示し、生菌数の減少とよく一致した。

また各投与方法での形態変化を *in vitro* の形態変化と対比して考えると, CZX, CEZ の膿瘍内濃度は予想される濃度に比べかなり低いのではないかと考えられる。原因としては病巣内への移行の程度, 病巣内での不活化等の問題を考慮する必要があるであろう。

CZX, CEZ ともその殺菌作用は dose-response であるが, 大量単回投与よりも頻回投与の方がより有効であった。しかし CEZ に比べ CZX の殺菌作用が明らかに優れていた。特に菌量の多いときには, 頻回投与により有効濃度を持続させることが治療上重要であると考えられた。

ところで, 膿瘍内の菌は走査電顕上糸のような物質で互いつながっており (Fig. 6 a, b), また透過電顕でも菌体表面に線毛様の物質がみられるが (Fig. 7 a-d), BAYER ら¹⁷⁾, ならびに SPRINGER ら¹⁸⁾の成績から考え, 著者はこの糸状の物質は capsule 由来のものと推測している。

さて感染病巣内での抗生物質の抗菌作用を考える時, 食細胞との相互作用は重要な問題である。WELCH ら¹⁹⁾は, 19 種の抗生物質のヒト PMN 機能に及ぼす影響を検討し, Cephalothin の 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で PMN の chemiluminescence が著明に抑制されたと報告している。しかし MELBY ら²⁰⁾は, Cephalothin は高濃度でもヒト PMN の貪食能を抑制しないと報告している。また MAJESKI ら²¹⁾はヒト PMN の走化能が Cefoxitin の高濃度で抑制されたと報告しており, β -lactam 系抗生物質でも高濃度では PMN の機能に抑制的に作用する可能性もあるが, 常用量では殆ど問題ないと考えてよさそうである。

次に β -lactam 系抗生物質により障害された菌が, 食細胞に貪食, 殺菌されやすくなるかどうかについては, ALEXANDER ら²²⁾, FRIEDMAN ら²³⁾, NISHIDA ら²⁴⁾は, 細菌に対する食細胞の貪食, 殺菌作用が, β -lactam 系抗生物質により増強されたと報告している。しかし ROOT ら²⁵⁾は, PC-G の前処置で *Staphylococcus aureus* に対するヒト PMN の殺菌作用は増強されたが, 貪食作用は変わらなかったと述べている。

以上は *in vitro* における成績であるが, *in vivo* でも細菌に対する食細胞の貪食, 殺菌作用が, β -lactam 系抗生物質により増強されるであろうと推測される。実際, 私の成績からも, 未治療対照群に比べ治療群では, CEZ 320 mg/kg 1 回投与を除き, 菌を貪食した PMNs の割合が約 2 倍に増加しており, また 100 個の PMNs に貪食された細菌数も約 2.5~4 倍に増加していた。これは CZX, CEZ により菌が貪食されやすくなったためと考えられる。

さらに PMNs 内の菌の形態変化についてみると,

spheroplast 以上の変化が未治療群では 9% にすぎなかったのに, 治療群では 73~95% に変化が認められたということは, 奥村ら²⁰⁾の Cefuroxime 存在下で増殖した菌は PMNs 内の殺菌物質に対し明らかに殺菌されやすくなっていたという成績から考えても, 単に CZX や CEZ によって強い変化を受けた菌が貪食されやすくなったためだけでなく, 細胞内殺菌作用との相互作用の結果と考えられる。すなわち肺感染病巣内においても, CEZ 特に CZX は, 肺炎桿菌に対する PMNs の貪食ならびに殺菌作用を増強しているものと考えられた。

本研究の一部は, 第 30 回日本化学療法学会総会において報告した。

<謝辞>稿を終るに臨み, 御指導, 御校閲を賜りました副島林造教授に深謝するとともに, 種々御助言をいただいた松島敏春助教授, 松本明助教授, ならびに電顕に関する御指導をいただいた大倉卓教授, 上平賢三, 須田泰司両氏に感謝いたします。

文 献

- 1) SALE, L., Jr.; M. R. SMITH & W. B. WOOD: Studies on the mechanism of recovery in pneumonia due to Friedländer's bacillus. II. The effect of sulfonamide chemotherapy upon the pulmonary lesion of experimental Friedländer's bacillus pneumonia. J. Exp. Med. 86: 249~256, 1947
- 2) NAKAO, M.; T. NISHI & K. TSUCHIYA: *In vitro* and *in vivo* morphological response of *Klebsiella pneumoniae* to cefotiam and cefazolin. Antimicrob. Agents Chemother. 19: 901~910, 1981
- 3) NISHI, T.; M. NAKAO & K. TSUCHIYA: relevance of *in vitro* antibacterial activities of cefotiam and cefazolin to their therapeutic effects on experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice. J. Antibiotics 34: 231~239, 1981
- 4) COMBER, K. R.; R. J. BOON & SUTHERLAND: Comparative effect of amoxycillin and ampicillin on the morphology of *Escherichia coli* *in vivo* and correlation with activity. Antimicrob. Agents Chemother. 12: 736~744, 1977
- 5) 二木芳人: NO₂ 急性暴露マウスにおける肺の感染防御作用に関する研究—主として肺胞マクロファージ機能の障害と修復について—。感染症誌 55: 71~82, 1981
- 6) 横田 健: β -lactam 薬剤の抗菌力, とくに β -lactamase に対する安定性について。Chemotherapy 27: 211~221, 1979
- 7) 横田 健, 東 映子: Ceftizoxime (CZX) の各種 β -lactamase に対する安定性と結合親和性。

- Chemotherapy 28 (S-5) : 38~43, 1980
- 8) 横田 健, 関口玲子 : Ceftizoxime (CZX) の大腸菌およびコレラ菌 penicillin 結合タンパク質に対する親和性と殺菌力の関係。Chemotherapy 28 (S-5) : 44~49, 1980
 - 9) KOJO, H.; Y. SHIGI & M. NISHIDA: *Enterobacter cloacae* outer membrane permeability to ceftizoxime (FK 749) and five other new cephalosporin derivatives. J. Antibiotics 33 : 317~321, 1980
 - 10) 浅野英夫, 村川武雄, 西田 実 : Ceftizoxime の sub-inhibitory concentration による *E. coli* の形態変化について。Chemotherapy 28 (S-5) : 104~109, 1980
 - 11) SALE, L., Jr. & W. B. WOOD: Studies on the mechanism of recovery in pneumonia due to Friedländer's bacillus. I. The pathogenesis of experimental Friedländer's bacillus pneumonia. J. Exp. Med. 86 : 239~248, 1948
 - 12) BERENDT, R. F.; G. G. LONG & J. S. WALKER: Treatment of respiratory *Klebsiella pneumoniae* infection in mice with aerosols of kanamycin. Antimicrob. Agents Chemother. 8 : 585~590, 1975
 - 13) BERENDT, R. F.; G. L. KNUITSEN & M. C. POWANDA: Nonhuman primate model for the study of respiratory *Klebsiella pneumoniae* infection. Infect. Immun. 22 : 275~281, 1978
 - 14) NISHI, T. & K. TSUCHIYA: Experimental respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice: chemotherapy with kanamycin. Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 494~505, 1980
 - 15) 村上武雄, 坂本 博, 深田志計実, 中本昭治, 広瀬俊治, 伊藤位一, 西田 実 : Ceftizoxime (CZX) の実験動物における体内動態について。Chemotherapy 28 (S-5) : 111~118, 1980
 - 16) JOINER, K. A.; B. R. LOWE, J. L. DZINK & J. G. BARTLETT: Antibiotic levels in infected and sterile subcutaneous abscesses in mice. J. Infect. Dis. 143 : 487~494, 1981
 - 17) BAYER, M. E. & H. THUROW: Polysaccharide capsule of *Escherichia coli*: microscope study of its size, structure, and sites of synthesis. J. Bacteriol. 130 : 911~936, 1977
 - 18) SPRINGER, E. L. & I. L. ROTH: The ultrastructure of the capsules of *Diplococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* stained with ruthenium red. J. Gen. Microbiol. 74 : 21~31, 1973
 - 19) WELCH, W. D.; D. DAVIS & L. D. THRUPP: Effect of antimicrobial agents on human polymorphonuclear leukocyte microbicidal function. Antimicrob. Agents Chemother. 20 : 15~20, 1981
 - 20) MELBY, K. & T. MIDTVEDT: Effects of some antibacterial agents on the phagocytosis of P-labelled *Escherichia coli* by human polymorphonuclear cells. Acta path. microbiol. scand. Sect. B. 88 : 103~106, 1980
 - 21) MAJESKI, J. A.; M. J. MORRIS & J. W. ALEXANDER: Action of cefoxitin and cefamandole on human neutrophil function. J. Antibiotics 31 : 1059~1062, 1978
 - 22) ALEXANDER, J. W. & R. A. GOOD: Effect of antibiotics on the bactericidal activity of human leukocytes. J. Lab. & Clin. Med. 71 : 971~983, 1968
 - 23) FRIEDMAN, H. & G. H. WARREN: Enhanced susceptibility of penicillin-resistant Staphylococci to phagocytosis after *in vitro* incubation with low doses of nafcillin (38177). Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 146 : 707~711, 1974
 - 24) NISHIDA, M.; Y. MINE, S. NONOYAMA & Y. YOKOTA: Effect of antibiotics on the phagocytosis and killing of *Pseudomonas aeruginosa* by rabbit polymorphonuclear leukocytes. Chemotherapy 22 : 203~210, 1976
 - 25) ROOT, R. K.; R. ISTURIZ, A. MOLAVI, J. A. METCALF & H. L. MALECH: Interactions between antibiotics and human neutrophils in the killing of Staphylococci: studies with normal and cytochalasin B-treated cells. J. Clin. Invest. 67 : 247~259, 1981
 - 26) 奥村和夫, 横田 健, 加藤日出子, 遠 彦二 : 血清または多形核好中球共存下における Cefuroxime の殺菌効果について。Chemotherapy 27 (S-6) : 76~82, 1979

STUDIES ON THE EFFECTS OF CEFTIZOXIME AND
CEFAZOLIN AGAINST *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN THE
EXPERIMENTAL INFECTIOUS LESIONS OF MURINE LUNG

—ESPECIALLY THE EFFECTS ON MORPHOLOGICAL CHANGES OF
KLEBSIELLA PNEUMONIAE AND PHAGOCYTOSIS AND
KILLING OF POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES—

MASAYOSHI KAWANISHI

Division of Respiratory Diseases,

Department of Medicine, Kawasaki Medical School,

Kurashiki 701-01, Japan

The antibacterial activities of ceftizoxime (CZX) and cefazolin (CEZ) against *Klebsiella pneumoniae* B-54 *in vitro* and in experimental pneumonia in mice were examined morphologically by electron microscopy. Furthermore the effects of CZX and CEZ on phagocytosis and bacterial killing of polymorphonuclear leukocytes (PMNs) were examined similarly.

The effects of CZX and CEZ against *Klebsiella pneumoniae* B-54 were bactericidal and showed greater response to increased doses. At the subminimal or minimal inhibitory concentrations of CZX and CEZ filamentous cells were induced, and with increased concentrations of drugs spheroplasts and bulges were formed which subsequently lysed *in vitro*.

In the treatment of experimental pneumonia in mice, the administration of CZX at 20 mg/kg, $\times 4$ and CEZ at 80 mg/kg, $\times 4$ showed lysis obviously in the infected organisms. In particular, 99% of the infected organisms became spheroplasts or lysis by the administration of CZX at 80 mg/kg, $\times 4$, which correlated with a significant decrease of viable counts in murine lung. CZX was significantly superior to CEZ on the bactericidal effects against experimental *Klebsiella pneumoniae* in mice. As a divided administration of CZX and CEZ was more bactericidal than a single administration, it seemed that the continuance of an effective concentration of CZX and CEZ was important to the antibacterial effects.

The ratios of phagocytosis of PMNs in treated PMNs increased about two times and the phagocytized bacterial counts in PMNs increased about three times in comparison to the untreated PMNs. Spheroplasts or lysis were observed in only 9% of phagocytized bacterias in untreated PMNs, but they were observed to be from 73% to 95% of phagocytized bacterias in treated PMNs but no significant differences on the morphological changes were observed between CZX and CEZ. It was concluded that CZX and CEZ were not only bactericidal, but also enhanced the phagocytosis and killing of PMNs against *Klebsiella pneumoniae*.