尿中抗生剤の濃度と細菌増殖抑制効果

——Bladder model による検討——

説田 修
岐阜大学医学部泌尿器科学教室
（主任：西浦常雄教授）

（昭和 59 年 6 月 22 日受付）

試験管内膀胱モデルを用いて，生体における膀胱炎の場合と同様に活発に増殖する細菌に対して，抗菌剤を生体の尿中濃度を模式化して作用させ，その細菌増殖抑制効果を抗菌剤の最高濃度と維持濃度の面から解析した。

被検菌は尿路由来の *E. coli* とし，抗菌剤は ampicillin (ABPC)，cefazolin (CEZ) および gentamicin (GM) を用いた。最高濃度の意義を検討する目的では，各薬剤の 1, 2, 5, 10, 20, 50 および 100 MIC 濃度を 4 時間作用させ，維持濃度とくに必要最低維持濃度を検討する目的では，pulse administration によって初期濃度が 50 もしくは 25 MIC 濃度となるようにし，別途に 2, 1 および 1/2 MIC 濃度での持続投与を 8 もしくは 16 時間行なった。

その結果，GM では最高濃度の上昇によって細菌増殖抑制時間が著しく延長し，ABPC でも中等度に延長したが，CEZ では 5 MIC 濃度以上では延長効果が見られなかった。

また，初期高濃度投与による細菌増殖抑制効果を延長させるための必要最低維持濃度は，GM では初期濃度 50 MIC の場合は 1 MIC 濃度，初期濃度 25 MIC の場合は 2 MIC 濃度と考えられ，ABPC ではともに 1 MIC 濃度と考えられた。

以上により，GM では初期高濃度投与も重要であることが示唆され，ABPC では低濃度での持続時間を長くする投与法が好ましいと考えられた。

感染症の治療にあたっては，抗菌薬の作用機作を適切に把握し，最も少ない投与量で充分な治療効果を得ることが望まれる。一般的に，投与された抗菌薬の病巣内濃度はある最高値を示した後に漸減するという曲線的経過を示すが，病巣内の細菌に対して如何程の高さの濃度が必要であるのか，またその濃度が何時間以上維持されるべきであるのかが問題となる。とくに尿路感染症においては，尿中に排泄された抗菌薬の濃度の意義が極めて大きいので，尿路内での抗菌薬の濃度の変化が細菌増殖抑制効果に及ぼす影響について bladder model（試験管内膀胱モデル）[1] を用いて検討し，抗菌薬の投与方法についても若干の考察を行なった。

実験に使用した bladder model (Fig. 1) は O'Grady ら[2~6] によって考案されたものに河田らとともに若干の改良を加えたもので[1]，本 model 内における細菌は膀胱内におけるのと同様に腎尿（液体培地）による栄養補給を受けながら活発に増殖し，その腎尿と排尿（排液）によって生体の膀胱内と同じようないわゆる wash out effect[7] をも受けている。一方，投与される抗菌薬の尿路内濃度は濃度勾配自動発生装置により随意に変化させることが可能で，生体で得られる尿中濃度に simulate させることも可能である。以上の特徴によって，本 model を使用した実験的膀胱炎では，通常の薬剤感受性試験のための試験管内抗菌力の測定に比べて，生体に極めて近い状態での抗菌力の検討が行なわれうることが期

Fig. 1 Bladder model

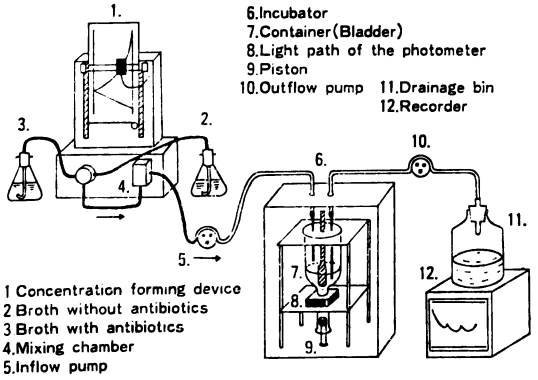
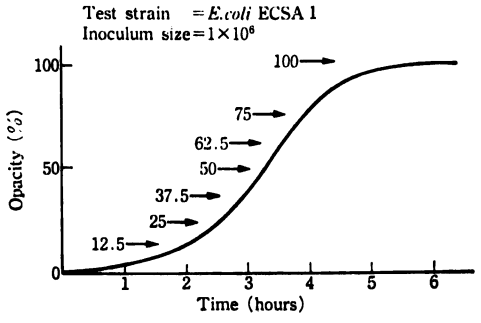


Fig. 2 Growth curves of *E. coli* in the bladder model



Bacterial counts is calculated in each opacity (→)

Fig. 3 Comparison of antibiotic concentration

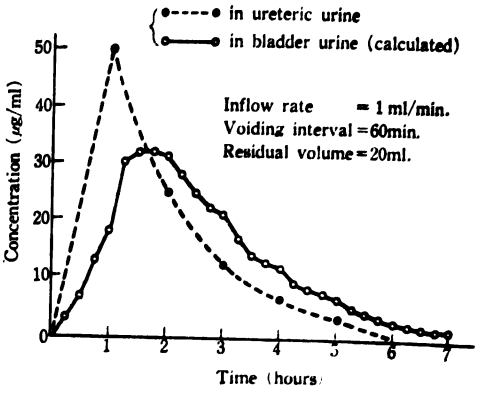


Table 1 Three conditions of bladder model

Conditions \ Case	I	II	III
IR (inflow rate) ml/min.	0.5	1.0	2.0
VI (voiding interval) min.	120	60	30
RV (residual volume) ml	100	20	20

待された。

I. Bladder model の機能に関する基礎的実験

Bladder model は細菌数を濁度によって計測することを基本原理としているが，その計測域はどの程度か，腎尿量・排尿間隔および残尿量によって細菌数がどのように影響を受けるのか，投与された抗菌薬の尿路内濃度があらかじめ設定されたとおりに形成されているのか，また bladder model 内での抗菌薬の細菌増殖抑制効果を再現性のある如何なる指標によって表現するかなど，本 model の機能に関する基礎的実験を行なった。

A. 実験方法

使用した bladder model の構造については先に報告したので[1]省略する。また，代用尿としての液体培地には trypticase soy broth (BBL) を使用し，供試菌としては尿路由来の *E. coli* ECSA 1 を用い，抗菌薬としては ampicillin (以下 ABPC と略す) を用いたが，供試菌に対する最小発育阻止濃度 (以下 MIC と略す) は tube dilution method で 6.25 μg/ml であった。

実験 1：膀胱内生菌数と濁度

濁度計の感度と再現性とを検討するために，膀胱内に 100 ml の液体培地を入れ，希釈も排尿も行なわない状態で 1×10^6 cells の *E. coli* を接種すると，Fig. 2 に示したような増殖曲線を描いて細菌数が増加する。そこで 3 回の実験を行なって，12.5% 間隔の各濁度における生菌数を heart infusion (HI) 寒天培地 (栄研) を用いた平板法によって測定した。

実験 2：尿量・排尿間隔および残尿量と膀胱内細菌数

膀胱内に *E. coli* の over night broth culture (約 1.6×10^9 cells/ml) を 20 ml 注入し，その後の細菌増殖が腎尿による希釈と排尿によって受ける影響を観察するために，Table 1 に示した I～III の作動条件を設定し，これらの条件下における bladder model 内の細菌数の変動を 12 時間以上濁度計にて測定した。

実験 3：濃度勾配自動発生装置の再現性

抗菌薬の尿中排泄動態が本装置によって希望どおり得られるか否かを検討するため，Fig. 3 の破線で示したような尿管尿 (腎尿) 内濃度を設定し，仮に尿量を毎分 1 ml，排尿間隔を 1 時間，残尿量を 20 ml として bladder model を作動させると，計算上では実線で示したような膀胱内濃度が得られることになる[6]。この計算上の濃度が膀胱内で正確に実現されるか否かを，1 時間ごとに 7 時間まで膀胱より採尿を行なって薄層カップ法によって測定した。なお，被検薬剤は ABPC，検定菌は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を用いたが，検定菌に対する ABPC の MIC は 0.39 μg/ml であった。

実験 4：細菌増殖抑制効果の指標および再現性

抗菌薬を bladder model 内の細菌に作用させた時の細菌増殖抑制効果を表現するための，もっとも再現性の高い指標を定め，また本 model 全体としての再現性をも確認する目的で，実験 2 の II の作動条件下に実験 3 の方法で ABPC を投与して実験を行なった。その投与開始は細菌が活動的な増殖状態に入った後が望ましいと考え，作動開始から 1 回目の排尿までを 1 cycle とすると，腎尿による希釈でいったんは下降傾向の強かった濁度

Fig. 4 Relation between opacity and bacterial counts

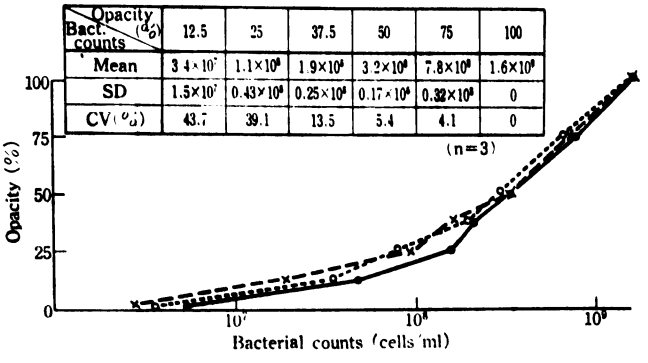


Fig. 5 The influence of inflow rate, voiding interval and residual volume on the growth of *E. coli*

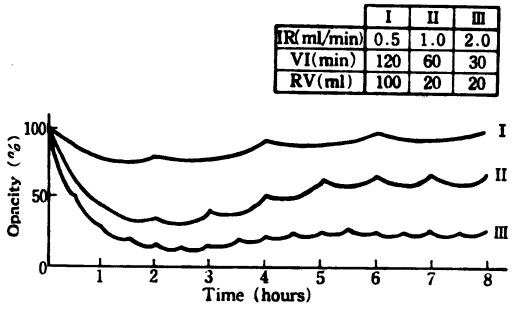
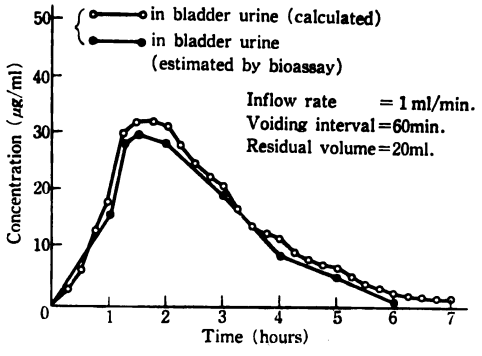


Fig. 6 Comparison of antibiotic concentration



が，細菌増殖の活発化にともなって明確な上昇傾向を見せ始める 4 cycle 終了時が適当と考えた。

B. 実験成績

実験 1：膀胱内生菌数と濁度

各濃度における膀胱内生菌数は Fig. 4 に示したように，濁度として感知しうるのは $3\sim4\times10^6$ cells/ml 以上で，50% 濁度は約 3×10^8 cells/ml，100% 濁度は 1.6×10^9 cells/ml であった。また，生菌数の変動係数（以下 CV と略す）は濁度が高いほど小さくなる傾向があり，とくに 50% 濁度以上では 5%以下と小さく，良好な再現性を示し信頼性が高いことが実証された。

実験 2：尿量・排尿間隔および残尿量と膀胱内細菌数

Fig. 5 に示したように，Ⅰの条件下では多量の残尿のため腎尿による希釈効果がほとんどみられず，排尿間隔が長いために細菌数はすみやかに回復した。逆にⅢの条件下では著しい希釈効果と排菌効果によっていわゆる wash out effect が強く現われ，同様の効果はⅡの条件下でも認められた。また，濁度としての変動領域は前者では 30～40%，後者では 50～70% であったが，実験 1 の結果により細菌数の濁度としての再現性は 50% 濁度以上の領域においてより高いことが明らかとなったため，以下の実験においては本 model をⅡの条件下に作動させることとした。

実験 3：濃度勾配自動発生装置の再現性

計算によって得られた膀胱内抗菌薬濃度と bioassay による実測値とを Fig. 6 に示したが，ほぼ計算どおりの膀胱内濃度が得られることが実証された。

実験 4：細菌増殖抑制効果の指標および再現性

抗菌薬の投与開始とともに膀胱内の濁度は急速に低下し，Fig. 7 に示したように投与開始から数時間で感知能以下の 0 となるが，細菌の再増殖とともに再び上昇を始め，抗菌薬の投与開始時の濁度（original level；以下 OL と略す）を経て平衡状態となる。そこで，抗菌薬の投与開始時から，いったん低下していた濁度が 12.5%，25%，37.5%，50% および OL に回復するまでに要した時間（$T_{12.5}$，T_{25}，$T_{37.5}$，T_{50} および T_{OL}）を細菌増殖抑制効果の指標とし，実験を 5 回繰り返して各指標の測定値の変動係数をみたが（Table 2），いずれの指標も変動係数が 5%前後と小さく良好な再現性が認められた。

Fig. 7 A typical opacity record of bladder model

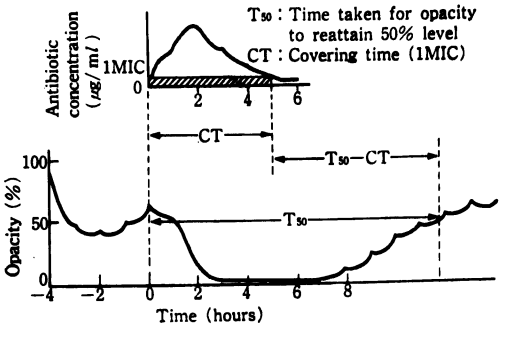


Table 2 Reproducibility of the time to recovery by use of concentration forming device

	$T_{12.5}$	T_{25}	$T_{37.5}$	T_{50}	T_{OL}
Mean	14.2	15.7	17.0	18.5	20.3
SD	0.4	0.1	0.4	1.0	1.3
CV(%)	3.0	0.8	2.5	5.0	6.5

(N=5)

T_X : Time taken for opacity to reattain X% level.
T_{OL} : Time taken for opacity to reattain original level.

C. 小括

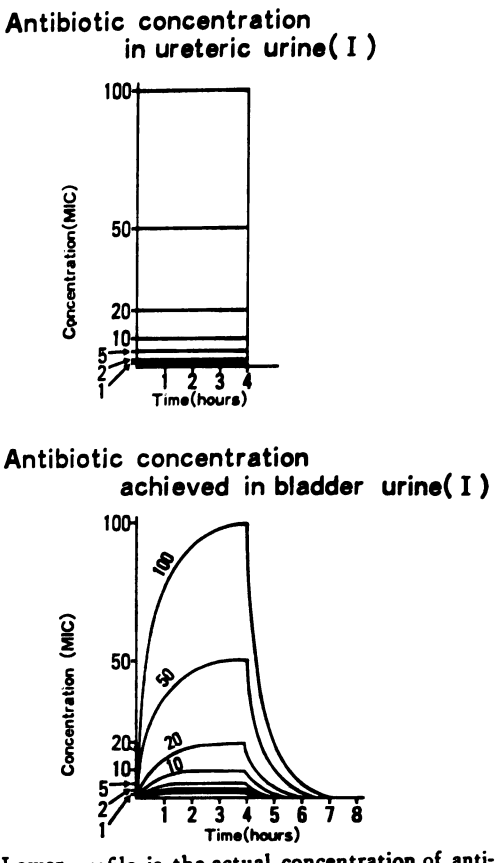
実験1では，膀胱内生菌数は 50% 濁度から 100% 濁度の領域において良好な再現性をもって濁度で示された。また実験2では，Ⅱの条件（腎尿量：1 ml/min.，排尿間隔：1 hour，残尿量：20 ml）の場合に 50～60% 濁度付近での wash out effect をも備えた膀胱内生菌数の波動がみられ，以後の実験ではこの作動条件を用いることとした。一方，実験3では，濃度勾配自動発生装置によって作成される膀胱内抗菌薬濃度は計算値と実測値とがよく一致することが確認された。

以上の実験の総括として行なった実験4では，抗菌薬の細菌増殖抑制効果は，抗菌薬の投与開始時から，いったん低下して感知能以下の0となった濁度が，12.5%，25%，37.5%，50% および OL に回復するまでに要する時間（$T_{12.5}$，T_{25}，$T_{37.5}$，T_{50} および T_{OL}）として表わすと，良好な再現性をもって示されたが，12.5，25 および 37.5% 濁度は実験1で示したように生菌数の濁度としての再現性が低いことから，また T_{OL} は T_{50} に比べて変動係数がやや大きいことから，今後の実験における細菌増殖抑制効果の指標としては T_{50} を用いることにした。

II. 尿路内での抗生剤濃度の変化と細菌増殖抑制効果との関係

尿路感染症とくに膀胱炎において，抗生剤の抗菌作用はその尿中濃度のうちどの部分によって発揮されるのか，すなわち，その最高濃度によるのか，低濃度での持続時間によるのか，また両者の相互作用によるのかなどの点について，さらに抗生剤の種類によって，それらがどのように異なるのかについて，bladder model を用いた実験的膀胱炎によって検討した。

Fig. 8 Peak levels



Lower profile is the actual concentration of antibiotic achieved in the bladder, when antibiotic is excreted as upper one from concentration forming device.

A. 実験方法

Bladder model は，腎尿量を毎分 1 ml，排尿間隔を1時間，残尿量を 20 ml として作動させ，供試菌には *E. coli* ECSA 1 を用いた。

抗生剤としては，細胞壁合成阻害剤である ABPC（実験Ⅱでも用いた）および cefazolin（以下 CEZ と略す），蛋白合成阻害剤である gentamicin（以下 GM と略す）を用いたが，供試菌に対する各薬剤の MIC は tube dilution method ではそれぞれ 6.25 μg/ml，1.56 μg/ml および 6.25 μg/ml であった。

1. 最高濃度の効果

抗生剤の投与は concentration forming device を用いて Fig. 8 の上段のように，1，2，5，10，20，50 および 100 MIC の各濃度での 4 時間連続投与で行なったが，これによって bladder model 内で実際に得られる尿中濃度は Fig. 8 の下段に示したように，投与開始時の残尿による希釈で濃度の上昇がやや鈍くなるが，3 から 4 時間目にはほぼ目標濃度に達する。続く 4 時間目以降では，全く抗生剤を含まない腎尿による希釈と排尿によって残留抗生剤の濃度は急速に低下するが，たとえば最高濃度 100 MIC の場合，1 時間後には 25 MIC 濃度，2 時間後には 6.25 MIC 濃度，3 時間後でも 1.56 MIC 濃度が残り，1 MIC 濃度以下となるのは，腎尿中の抗生剤を切ってから 3.2 時間後になり，抗生剤の投与開始からは 7.2 時間を要する。先に細菌増殖抑制効果の指標としては T_{50} を用いることとしたことは述べたが，1 MIC 濃度以上の抗生剤が作用している時間 covering time（以下 CT と略す）が長くなったことによる影響を検討する目的で，1 MIC 以下の濃度となってから後の時間すなわち T_{50}-CT も計測した。

2. 初期高濃度投与とその後の低濃度持続投与の効果

抗生剤の初期高濃度投与によって得られる細菌増殖抑制効果の持続時間を，その後の低濃度持続投与によってどの程度延長できるか，そのための必要最低限の維持濃度（以下，必要最低維持濃度という）はどの程度かを求め，また，それが初期高濃度投与の影響をどのように受けるかを検討した。

抗生剤の投与は Fig. 9 の上段に示したように，まず pulse administration で初期濃度が 50 もしくは 25 MIC になる量を投与し，別途に concentration forming device を用いて，2，1 および 1/2 MIC の持続濃度での投与を，持続時間を 8 もしくは 16 時間として行なった。この場合の計算上の膀胱内濃度は Fig. 9 の下段に示したようになり，初期の高濃度は 50 MIC の場合でも 2 時間強までに持続濃度と同程度にまで低下し，それ以降は持続濃度のみでの投与が続けられる。また，持続投与終了後の残留抗生剤は持続時間の長さに比して問題外の短時間で希釈・排除されるため無視することとした。なお，この実験における CT は 1 MIC 以上の濃度が持続した時間ではなく，それぞれの維持濃度以上を持続した時間となる。

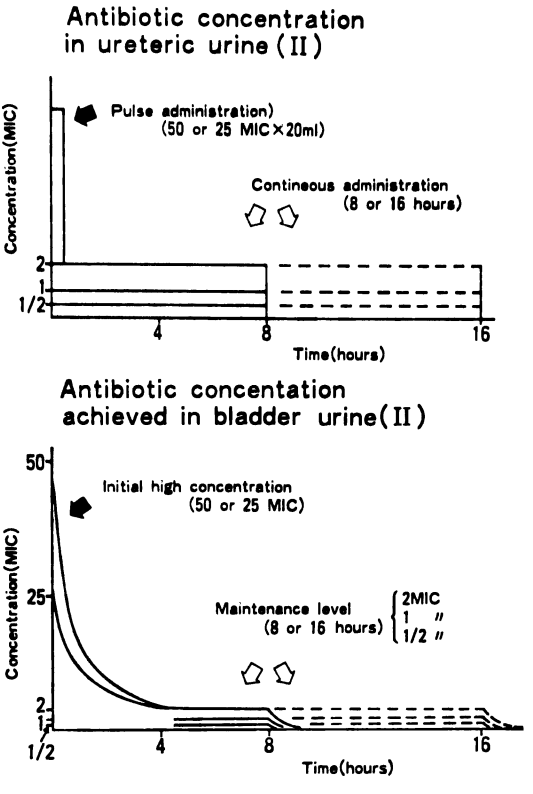
B. 実験成績

1. 最高濃度の効果

a. ABPC の場合

最高濃度の上昇につれ T_{50} は，10 MIC までは比較的急激に，10 MIC 以上では緩やかに延長した（Table 3, Fig. 10）。すなわち，最高濃度を 1 MIC から 100 MIC

Fig. 9 Maintenance levels



Lower profile is the actual concentration of antibiotic achieved in the bladder, when antibiotic is excreted as upper one from concentration forming device.

に上昇させたことにより，T_{50} は 17.5 時間から 23.8 時間へと 6.3 時間延長されたことになる。しかし，最高濃度 100 MIC の場合は 4 時間目以降も多量の残留抗生剤があり，その濃度が 1 MIC 以下となるまでには，実験方法の項で述べたように抗生剤の投与開始から 7.2 時間を要するため，最高濃度 1 MIC の場合に比べると，1 MIC 濃度の CT は前者では 7.2 時間，後者では 4 時間となり，同条件で最高濃度の影響を比較したことにならないため，1 MIC 以下の濃度になった後にも細菌増殖抑制効果が認められていた時間（T_{50}-CT）を計算すると，最高濃度が 100 MIC の場合には投与量が 100 倍であるにもかかわらず，1 MIC の場合に比べて 3.1 時間しか延長されないことがわかった。

b. CEZ の場合

CEZ による T_{50} は ABPC によるそれより全般的に短く，両剤の差は最高濃度が 1 MIC の場合に 4.8 時間，10 MIC の場合に 3.2 時間，100 MIC の場合に 3.8 時

Table 3 Effect of peak concentration (ampicillin)

Peak concentration (MIC)	T_{50}	CT	$T_{50}-CT$
100	23.8	7.2	16.6
50	21.9	6.7	15.2
20	20.8	6.1	14.7
10	19.9	5.5	14.4
5	18.9	5.1	13.9
2	17.8	4.3	13.4
1	17.5	4.0	13.4

(hrs)

CT : Covering time.
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level.

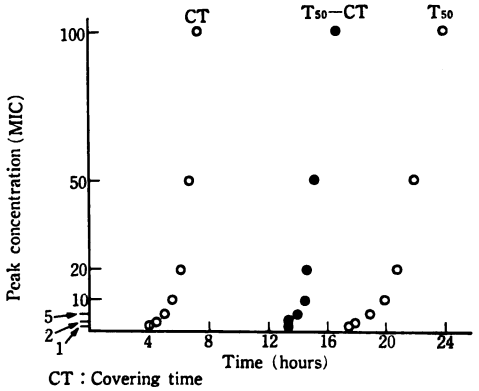
Table 4 Effect of peak concentration (cefazolin)

Peak concentration (MIC)	T_{50}	CT	$T_{50}-CT$
100	20.0	7.2	12.8
50	16.8	6.7	10.0
20	17.0	6.1	10.9
10	16.7	5.5	11.2
5	16.8	5.1	11.7
4	15.0	5.0	10.0
3	14.7	4.7	10.0
2	14.6	4.3	10.3
1	12.7	4.0	8.7

(hrs)

CT : Covering time.
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level.

Fig. 10 Effect of peak concentration (ampicillin)



CT : Covering time
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level

間であった (Table 4, Fig. 11)。CEZ では最高濃度が 1 MIC より 10 MIC になることにより T_{50} が 4 時間延長し，100 MIC になることにより 7.3 時間延長した。しかし，T_{50}-CT としてみると，最高濃度 5 MIC の場合まではわずかに延長されたが，最高濃度 10 MIC 以上では最高濃度の上昇によって逆に短くなる傾向もみられた。

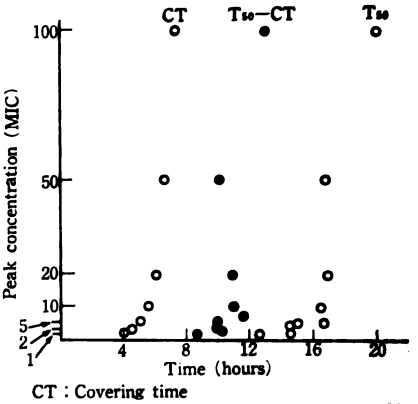
Table 5 Effect of peak concentration (gentamicin)

Peak concentration (MIC)	T_{50}	CT	$T_{50}-CT$
50	33.0	6.7	26.3
30	25.8	6.3	19.5
20	22.9	6.1	16.8
10	21.0	5.5	15.5
5	19.8	5.1	14.7
2	17.8	4.3	13.5
1	15.8	4.0	11.8

(hrs)

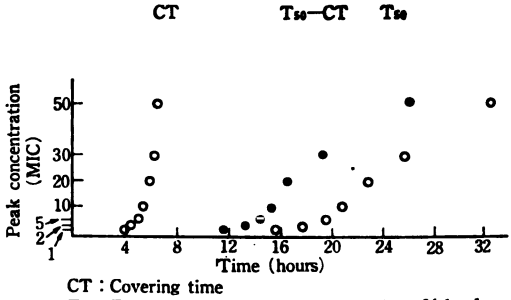
CT : Covering time.
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level.

Fig. 11 Effect of peak concentration (cefazolin)



CT : Covering time
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level

Fig. 12 Effect of peak concentration (gentamicin)



CT : Covering time
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level

c. GM の場合

GM 投与による T_{50} は Table 5 および Fig. 12 に示したように，先の 2 剤に比べて最高濃度の上昇による延長効果が極めて大きく，ほぼ直線的に延びる傾向がみられ，ABPC の場合は 10 MIC で，CEZ の場合は 5 MIC で頭打ちになったことと明らかに相違して，最高濃度が 50 MIC の場合では 1 MIC の場合に比べて T_{50} で 17.2 時間，T_{50}-CT でも 14.5 時間もの延長が認められた。その結果，同じ最高濃度 50 MIC の場合で T_{50} を比較すると，GM の 33 時間は ABPC の 21.9 時間や CEZ の

16.8 時間に比べて，それぞれより 11.1 時間および 16.2 時間も長く，CEZ の 2 倍近い時間となった。さらに T_{50}-CT を比較すると，GM の 26.3 時間は ABPC の 15.2 時間や CEZ の 10.1 時間に比べて，それぞれより 11.1 時間および 16.2 時間長いことになり，ABPC の約 1.7 倍，CEZ の約 2.6 倍も最高濃度の上昇による T_{50} の延長効果が大きく現われていた。

さらに，最高濃度を 1 MIC から 50 MIC へと上昇させたことによる T_{50} の延長は，ABPC と CEZ ではそれぞれ 4.4 時間と 4.1 時間であったことに比べて，GM では 17.2 時間と長く，同様に T_{50}-CT の延長も，ABPC と CEZ ではそれぞれ 1.8 時間と 1.3 時間であったことに比べて，GM では 14.5 時間と極めて長いことがわかった。しかし，抗生剤の投与量の面からみると，最高濃度の上昇による T_{50} の延長効果は，最もその効果が大きい GM の場合ですら，50 倍の投与量でも T_{50} として約 2.1 倍，T_{50}-CT として約 2.2 倍にしかならなかった。

2. 初期高濃度投与とその後の低濃度持続投与の効果

a. ABPC の場合

まず初期濃度が 50 MIC になる高濃度投与を行ない，その後の低濃度持続投与を 8 もしくは 16 時間行なった場合，T_{50} は Table 6 の上段のようになった。このうち，維持濃度 2 MIC の場合は持続時間 (CT) が 8 時間から 16 時間に延長されると，T_{50} は 22.8 時間から 32.7 時間へと 9.9 時間延長され，T_{50}-CT は 14.8 時間から 16.7 時間へと同様に延長された。これは CT を 8 時間延長したことによって T_{50} が 8 時間以上延長したことを示しており，T_{50}-CT が延長されたことは，すなわち 2 MIC が必要最低維持濃度より高い濃度であることを示している。次いで維持濃度 1 MIC の場合は，T_{50}-CT が CT の延長によって 15.2 時間から 15.9 時間へと延長されているが，これは bladder model の誤差範囲内で有意な差ではないと判定した。さらに維持濃度 1/2 MIC の場合は T_{50}-CT が CT の延長と一致した。これらの点により，CT が延長された分だけ T_{50} が延長された（別の見方をすれば T_{50}-CT が変らなかった）のは，維持濃度が 1 MIC と 1/2 MIC の場合で，1/2 MIC 濃度が必要最低維持濃度と推定された。

同様にして初期濃度 25 MIC の場合を検討すると，維持濃度が 1 MIC と 1/2 MIC の時に，持続時間が 8 時間の場合と 16 時間の場合の T_{50}-CT が誤差範囲内でほぼ一致し，やはり 1/2 MIC 濃度が必要最低維持濃度と考えられた。

また，初期濃度が 25 MIC の場合は 50 MIC の場合に比べて T_{50} が全般的に 1～4 時間短くなり，とくに持続時間が 16 時間と長い例において強くその傾向がみられ，初期高濃度投与後の残存生菌数の差がこの現象に関与していることをうかがわせた。

Table 6 Effect of maintenance concentration (ampicillin)

I. Peak concentration : 50 MIC

		CT : 8 hrs.		CT : 16 hrs.	
		T_{50}	T_{50}−CT	T_{50}	T_{50}−CT
MC	2 MIC	22.8	14.8	32.7	16.7
	1 MIC	23.2	15.2	31.9	15.9
	1/2 MIC	20.9	12.9	28.9	12.9

(hrs)

II. Peak concentration : 25 MIC

		CT : 8 hrs.		CT : 16 hrs.	
		T_{50}	T_{50}−CT	T_{50}	T_{50}−CT
MC	4 MIC	22.7	14.7	30.6	14.6
	2 MIC	21.6	13.6	27.8	11.8
	1 MIC	20.6	12.6	27.9	11.9
	1/2 MIC	18.7	10.7	26.9	10.9

(hrs)

MC : Maintenance concentration.
CT : Covering time of maintenance concentration.
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level.

Table 7 Effect of maintenance concentration (cefazolin)

I. Peak concentration : 50 MIC

		CT : 8 hrs.		CT : 16 hrs.	
		T_{50}	T_{50}−CT	T_{50}	T_{50}−CT
MC	2 MIC	15.9 (−6.9)	7.9	25.0 (−7.7)	9.0
	1 MIC	18.0 (−5.2)	10.0	22.7 (−9.2)	6.7
	1/2 MIC	12.5 (−8.4)	4.5	19.7 (−9.2)	3.7

(hrs)

II. Peak concentration : 25 MIC

		CT : 8 hrs.		CT : 16 hrs.	
		T_{50}	T_{50}−CT	T_{50}	T_{50}−CT
MC	2 MIC	20.0 (−1.6)	12.0	24.9 (−2.9)	8.9
	1 MIC	16.9 (−3.7)	8.9	21.8 (−6.1)	5.8
	1/2 MIC	13.7 (−5.0)	5.7	23.0 (−3.9)	7.0

(hrs)

MC : Maintenance concentration.
CT : Covering time of maintenance concentration.
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level.

b. CEZ の場合

CEZ 投与による T_{50}・T_{80}-CT を Table 7 に示し，T_{50} の項に ABPC との差を示したが，いずれも ABPC に比べて約 2～9 時間短く，とくに初期濃度 50 MIC の場合はその差が大きく 5.2～9.2 時間あった。これは初期濃度による細菌増殖抑制効果が ABPC より弱いことを示していると思われた。

一方，抑制時間は全般的に極めてバラツキが大きく，ABPC の場合のように必要最低維持濃度を求めることは困難であった。

c. GM の場合

Table 8 に示したように，初期濃度 50 MIC の場合は，持続濃度が 2 MIC と 1 MIC の時に CT の如何にかかわらず T_{50}-CT が誤差範囲内で一致し，1 MIC が必要最低維持濃度と考えられた。

同様に，初期濃度 25 MIC の場合は，持続濃度が 2 MIC の時に CT の如何にかかわらず T_{50}-CT が誤差範囲内で一致し，2 MIC が必要最低維持濃度と考えられた。

また，初期高濃度投与の投与量と T_{50} の延長効果との関係をみると，初期濃度 50 MIC の場合の T_{50} は，初期濃度 25 MIC の場合のそれに比べて約 3～9時間長く，ABPC における同様の差が約 1～4 時間であったのに比べると，GM では初期高濃度投与の投与量の増加による T_{50} の延長効果が大きいことがわかった。しかも，

Table 8 Effect of maintenance concentration (gentamicin)

I. Peak concentration : 50 MIC

		CT : 8 hrs.		CT : 16 hrs.	
		T_{50}	T_{50}−CT	T_{50}	T_{50}−CT
MC	2 MIC	26.9 (+4.1)	18.9	34.9 (+2.2)	18.9
	1 MIC	26.9 (+3.7)	18.9	33.8 (+1.9)	17.8
	1/2 MIC	22.8 (+2.0)	14.8	27.9 (−1.0)	11.9

(hrs)

II. Peak concentration : 25 MIC

		CT : 8 hrs.		CT : 16 hrs.	
		T_{50}	T_{50}−CT	T_{50}	T_{50}−CT
MC	2 MIC	23.7 (+2.2)	15.7	33.0 (+2.4)	17.0
	1 MIC	22.8 (+2.1)	14.8	24.7 (−3.2)	8.7
	1/2 MIC	19.0 (+1.0)	11.0	23.0 (−3.9)	7.0

(hrs)

MC : Maintenance concentration.
CT : Covering time of maintenance concentration.
T_{50} : Time taken for opacity to reattain 50% level.

GM と ABPC の同一条件下での T_{50} の差を個別にみると，Table 7 の T_{50} の項にその差を示したように，ほとんどの例で T_{50} は GM の方が ABPC より 2～4 時間長いが，初期高濃度投与が低いほど，また，維持濃度が低くなり持続時間が長くなるほど差は小さくなり，とくに初期濃度が 25 MIC，維持濃度 1/2 MIC で持続時間が 16 時間の場合などでは，逆に ABPC の T_{50} より短くなった例もみられ，GM の必要最低維持濃度は ABPC よりも若干高いことをうかがわせた。

C. 小括

尿中抗生剤濃度のうち，最高濃度が細菌増殖に与える抑制効果は，代表的抗生剤 (ABPC, CEZ および GM) のうち蛋白合成阻害剤である GM において最も強く，次いで ABPC＞CEZ の順であった。すなわち，細菌増殖抑制時間 (T_{80}) は，同じ MIC 濃度を作用させた時には GM＞ABPC＞CEZ の順に長く，最高濃度の上昇に伴う T_{50} の延長効果も同じ順に大きくなり，濃度の上昇につれてその差は拡大した。その結果，同じ最高濃度 50 MIC の場合の T_{50} はそれぞれ 33.0, 21.9 および 16.8 時間となり，これを 1 MIC 以下の濃度になった後にも細菌増殖抑制効果が認められていた時間 (T_{50}-CT) としてみると，それぞれ 26.3, 15.2 および 10.1 時間で，GM では CEZ の約 2.7 倍の延長効果が得られた。しかし，抗生剤の投与量の面からみると，最高濃度の上昇による T_{50} の延長効果が最も大きい GM ですら，最高濃度を 1 MIC から 50 MIC へ上昇させるために投与量を 50 倍にしても，T_{50} で約 2.1 倍，T_{50}-CT で約 2.2 倍の延長効果しか得られないこともわかった。

同じく尿中抗生剤濃度のうち，初期高濃度投与後の低濃度持続投与が細菌増殖抑制に与える効果の検討から，必要最低維持濃度を求める試みを行なったが，ABPC においては初期濃度 50 MIC および 25 MIC のいずれの場合も必要最低維持濃度は 1/2 MIC であった。また，GM においては初期濃度 50 MIC の場合は 1 MIC，初期濃度が 25 MIC の場合は 2 MIC が必要最低維持濃度と考えられた。

一方，初期高濃度投与後の残存生菌数は，その後の維持濃度や T_{50} に影響を与え，初期投与量の半減によっていずれの薬剤においても T_{50} の短縮が認められたが，とくに GM の場合には，初期濃度が低く維持濃度が必要最低維持濃度より低い例において T_{50} が著しく短くなり，本剤における初期高濃度投与の重要性をうかがわせた。

III. 考　　按

A. 感染症治療実験としての bladder model の位置

抗菌薬による細菌増殖抑制効果を，いわゆる試験管内

抗菌力の測定として行なわれている平板法や tube dilution 法のように，一定濃度の抗菌薬と細菌とを 18～20 時間持続的に接触させて観察するという方法（MIC の測定）だけでなく，生体における両者の関係により近い状態で把握しようという試みは数多くなされて来た。

まず，抗菌薬の作用濃度を一定に持続させたまま作用時間のみを変化させて，その意義を知ろうとする試みが Eagle ら[4~12]によって行なわれ，生菌数の変化を経時的に測定していわゆる 99% 殺菌時間を求めること，あるいは，一定濃度で数十分から数時間にわたり抗菌薬と接触した場合の生菌数の変化が検討された。本邦でも，尾崎ら[14]，坂[15]および宮本ら[16]によって同様の実験が行なわれ，1 MIC より高濃度ならばより短時間でも同等の細菌増殖抑制効果が得られること，逆に低濃度では 20 時間以内に細菌の再増殖が始まる例もあることを示した。

また，生体にさらに近い条件下での実験として，経過中に抗菌薬の濃度を血清中濃度や組織内濃度に類似して変化させて細菌と接触させることが試みられ，Randolph ら[17]や加藤ら[18]は，抗菌薬含有液と非含有液とを用いて抗菌薬の濃度を変化させた。

次に，試験管内実験としては最も生体の条件に近い手段として各種の連続流動培養法が開発され，Grasso ら[19]は peristaltic pump を用いて，村川ら[20~24]は two compartment open model を用いて抗菌薬の血清中濃度を模擬し，Zinner[25] は polysulfone hollow fiber の束を培養容器として組織内濃度を模擬して，経時的に変化する抗菌薬濃度が細菌増殖に及ぼす抑制効果について詳細な検討を行なった。

一方，O'Grady ら[2~6]は尿路感染症とくに膀胱炎に類似させた実験に不可欠な排尿機構という要素を備えた実験系を開発した。今回の実験で使用した bladder model はこの改良型で，本邦でも尿路感染症を想定した類似の実験は行なわれているが[26]，排尿機構を備えたものは見当らない。

B. 尿中の抗生剤の濃度と細菌増殖抑制効果

抗生剤を必要最小限に投与して，最大限の細菌増殖抑制効果を得るためには，その作用濃度と作用時間のもつ意義を検討し熟知することが必要である。

1940 年代に Eagle ら[8~13]は penicillin の細菌増殖抑制効果を検討した基礎的実験の結果から "adequate" penicillin dosage への提言として，感染組織内濃度と作用時間の 2 つの parameter が重要であると述べ，組織内 penicillin 濃度の時間的経緯の模式図を示して，細菌増殖抑制効果との関係を説明している。すなわち，生菌数を著しく低下させる maximal bactericidal activity を示す濃度以上の濃度が持続する時間を最も重視して，その濃度以上の濃度については疑問符つきながら waste penicillin とし，あまり重きを置いていない。また，maximal bactericidal activity を示す濃度以下となってから lowest concentration definity bactericidal の濃度となるまでの時間もさらに殺菌効果は持続され，それ以降の *in vitro* では殺菌効果を示さない濃度となってからの時間も，*in vivo* では host participation によって殺菌効果が続くと述べて，むしろ全体的な持続時間（total penicillin time）を重視している[8]。以来，この考え方が抗生剤の投与方法の指標の一つとして，濃度の面では 1 MIC もしくは 1 MBC を上回る濃度を病巣内に到達させること，時間の面ではその濃度を長く保つことが心掛けられて来たが，近年，抗生剤の研究・開発の進歩が著しく，極めて強い抗菌力を有する薬剤が多数開発されたために，常用量を使用しても相対的に著しく高い病巣内濃度が容易に得られることとなり，Eagle らのいった waste penicillin という言葉の意義があらためて問い直されている。一方，1 MIC あるいは 1 MBC を上回る病巣内濃度が極めて長時間得られる long acting な抗生剤も開発されるようになり，従来の抗生剤の投与方法とは異なって一発療法の可能性もあらためて検討されつつある[27]。

以上の認識のもとに，今回の実験では bladder model を用いた実験的膀胱炎において，尿中抗生剤濃度と細菌増殖抑制効果との関係を，とくに最高濃度と持続濃度の意義の面から検討を加えた。

1. 最高濃度の意義

細菌に抗生剤を作用させる場合，その最高濃度の上昇が如何なる意義をもつかについて論じた研究は少なく，Eagle ら[8]が maximal bactericidal activity を示す濃度以上の投与については waste penicillin という言葉を用いていることから示されるように，やや懐疑的な考え方をするものが多い。加藤ら[17]は *E. coli* に cephalothin（以下 CET と略す）を血中濃度に simulate させて作用させた実験によって，CET 濃度が 1 MIC を上回る時間が長いほど，*E. coli* に対する再増殖抑制時間が長くなると報告し，Grasso ら[19]も，経口あるいは筋注後の血中濃度に simulate させた *in vitro* model を用いた実験によって，CEZ などのセフェム系薬剤の濃度が 1 MIC 以下となった時点から *E. coli* や *Klebsiella* の再増殖が始まったとして，細菌増殖抑制時間は 1 MIC 濃度の持続時間により決められると述べている。また，尾崎ら[14]は，*E. coli* に 1 MIC から 10 MIC までの 5 段階の濃度でセフェム系薬剤を作用させた時の生菌数を経時的に測定し，作用時間が 1 時間と短い場合には 4 MIC 濃度以上から殺菌率の増加が認められたとして，最高濃度の意義

を部分的には認めながらも，3時間以上の作用時間では，1 MIC以上の濃度があれば薬剤濃度よりも薬剤作用時間の方が，より大きく殺菌率に関与していると考えられると報告した。NISHIDA ら[21]も作用時間を限定して，*E. coli* に3種類のセフェム系薬剤を 0.4, 1, 4, 10, 40 および 100 MIC 濃度で2時間作用させた場合には，1 MIC 濃度では3剤の殺菌効果に差があり，4 MIC 濃度以上ではその差が消失すること，および，4あるいは6時間作用時には1 MIC 濃度でもその差を認めないことを根拠に，2時間以内の作用時間では4 MIC 濃度に意義を認めたが，4時間以上の作用時間では1 MIC 濃度を重視したことは尾崎ら[14]とほぼ同様である。また，坂本ら[24]は CEZ に対して 3.13, 6.25, 12.5, 25 および 50 μg/ml で感受性を示す *E. coli* の菌株を選び，各菌株に対して同一量の CEZ を血清中濃度に simulate して作用させ，相対的な最高濃度の上昇による細菌増殖抑制時間の延長効果を検討した結果，明らかな dose response は認めながらも，その延長効果を1 MIC 以上の血清中濃度が保たれた時間（CT）の延長による効果と解釈し，1 MIC 濃度を重視した報告を行なっている。

しかし，教室の坂[15]が biophotometer を用いて行なった，*E. coli* に対するペニシリン系薬剤，セフェム系薬剤およびアミノグリコシド系薬剤の作用濃度と作用時間の研究で示したように，抗生剤の抗菌作用は1 MIC 以下の濃度でもみられ，それが抗生剤濃度の上昇に伴って漸次的に増強されるのであって，1 MIC 濃度を境にして大きく変るものではないと考えるものもある。また，抗菌作用の薬剤間における差異として，ペニシリン系およびセフェム系薬剤では，作用濃度を上昇させることによる細菌増殖抑制時間の延長効果は少なく，作用時間の延長によるそれも数時間以上では頭打ちになることを示し，それに対してアミノグリコシド系薬剤では，作用濃度を上昇させることにより細菌増殖抑制時間が前者より大きく延長されることを示して，前者のような β-ラクタム系薬剤では頻回投与によって細菌増殖抑制時間を延長しうるとし，後者のようなアミノグリコシド系薬剤では作用濃度の上昇すなわち高濃度投与によって，その投与間隔を前者に比べて延ばしうる可能性があると指摘し，動物実験でも検討を行なったように[28]，最高濃度を上昇させることによる細菌増殖抑制時間の延長効果を認める報告もみられる。

今回の実験では，代表的抗生剤としてペニシリン系では ABPC，セフェム系では CEZ，アミノグリコシド系では GM を選び，その最高濃度を1 MIC から 50 MIC もしくは 100 MIC まで上昇させて細菌増殖抑制時間（T_{50}）に対する延長効果を検討したが，その結果，3薬剤とも最高濃度の上昇による T_{50} の延長効果を示したが，本実験系では，腎尿による抗生剤の投与時間は4時間であるにもかかわらず，最高濃度を上昇させたことによる残留抗生剤の増加によって，坂本ら[24]が指摘したような1 MIC 以上の濃度が持続する時間（CT）も延長されるため，1 MIC 以下の濃度となってから後にも細菌増殖抑制効果を認めた時間（T_{50}-CT）についても併せて検討した。その結果，ABPC では最高濃度 5 MIC から 10 MIC までは T_{50}・T_{50}-CT ともに明らかに延長し，10 MIC 以上でも緩やかな延長効果がみられた。一方，CEZ では最高濃度 5 MIC までは延長効果を認めたが，10 MIC 以上では T_{50}-CT がむしろ短くなる例もあり，5 MIC 以上の最高濃度を投与することの必要性が少ないと考えられた。これとは対照的に，GM では最高濃度の上昇による T_{50} および T_{50}-CT の延長効果が極めて大きく，ABPC や CEZ より明らかに大きな dose response が認められた。その理由については，3薬剤の比較だけで結論を出すのは早計であるが，坂[15]が GM と同じアミノグリコシド系薬剤である KM について，他の β-ラクタム系薬剤よりも大きな dose response があったと報告していることを考え合わせると，アミノグリコシド系薬剤と β-ラクタム系薬剤との作用機序の違いと何らかの関係があることをうかがわせた。

また，これら最高濃度の上昇による細菌増殖抑制時間の延長効果を投与量の面から考えるために，前述の尾崎ら[14]の実験成績を，1 MIC 濃度から 10 MIC 濃度のセフェム系薬剤を *E. coli* に作用させた場合の，投与開始によりいったんは低下した生菌数が元の値に戻るまでに要した時間を細菌増殖抑制時間としてみると，CEZ では1 MIC の場合に5時間の抑制時間があり，10 MIC の場合には9時間の抑制時間があったことになるが，これは，10 倍の投与量で約2倍の細菌増殖抑制時間が得られたことを示している。今回の実験においては，最高濃度を1 MIC から 50 MIC に上昇させることによって，最高濃度の上昇による細菌増殖抑制時間の延長効果が最も大きい GM ですら，T_{50} が 15.8 時間から 33 時間へと約 2.1 倍に延長されたに過ぎない。これを尾崎ら[14]の結果と合わせて考えると，最高濃度の上昇のみで細菌増殖抑制時間の延長をはかることが極めて非能率的であることがわかった。

さらに，最高濃度を上昇させるための大量投与自体に疑問を投げかける報告も無視できない。すなわち，EAGLE ら[9]が penicillin G と *Streptococcus* や *Staphylococcus* などのグラム陽性球菌の数菌種との関係から，作用濃度を上昇させることによって 99.9% 殺菌時間がむしろ長くなったり，6時間作用後の生菌数が低濃度作

用後よりも逆に多かったりする現象(zone phenomenon)を発見し，それを paradoxically reduced activity と呼んだように，抗生剤と菌種によっては大量投与によってむしろ殺菌効果が減少する可能性が示唆されている。本邦でも西野ら[9]が，CBPC，SBPC，CET，CEX および CEZ を *S. aureus* に作用させた実験において，CET では 0.5 μg/ml，CEX では 20 μg/ml が最も殺菌的で，100，200，400 そして 800 μg/ml と高濃度になるのに従って殺菌効果は低下し，CBPC，SBPC および CEZ でも同様の現象が認められたと報告している。一方，CRUMPLIN ら[80]はこの現象がグラム陽性球菌ばかりでなく，nalidixic acid (以下 NA と略す) とグラム陰性菌 (*E. coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei* および *Salmonella typhimurium*) との間にも認められたことを報告しており，NA は 100 μg/ml 前後では殺菌的に働くが，400 μg/ml 以上ではむしろ静菌的に働くことを示し，その原因として，NA 濃度の上昇に伴って細菌の DNA synthesis が低下し，逆に RNA synthesis と Protein synthesis が増加することから，低濃度作用時とは別個の target が高濃度作用時に存在する可能性を示唆している。このことと，今回の実験で CEZ では最高濃度 5 MIC までは T_{50} が順調に延長されたにもかかわらず，10 MIC 以上では T_{50} の延長がほとんどみられなくなり，T_{50}-CT では逆に短くなる傾向が示されたこととをただちに結びつけて考えることは危険であるが，作用時間を約 4～7 時間とした場合，少なくとも CEZ に関しては，最高濃度を 5 MIC にまで上昇させることについてはそれなりの T_{50} および T_{50}-CT の延長効果を望みうるが，それ以上の高濃度での投与を行なってもあまり意味がないことが示された。それに対して ABPC および GM では，最高濃度の上昇によって T_{50}-CT が逆に短くなるような傾向はみられず，両薬剤間で程度の差はあるがほぼ最高濃度の上昇につれて殺菌効果も増強されると考えられた。

2. 初期高濃度投与後の低濃度持続投与の意義

EAGLE ら[10~12]は *Streptococcus*, *Pneumococcus* および *Staphylococcus* に penicillin を作用させた場合，その作用時間の長さに応じて生菌数が指数関数的に減少するが，penicillinase を用いて作用を中断した後は，ただちに生菌数が増加するわけではなく，penicillin の toxic effect が継続しているための殺菌効果と細菌の再増殖とがほぼ平衡して，生菌数の増えない定常状態が数分から数時間続き，その後に活発な再増殖が始まる現象 (slow recovery) を報告した。この“定常状態”は，例えば *Pneumococcus* に penicillin 0.1 μg/ml を 1.5 時間作用させた場合には，生菌数が接種時の 5％にまで減少し，penicillin の作用中断後もその生菌数が約 2 時間継続し，同じく 6 時間作用させた場合には，接種時の 0.02％の生菌数において同様の状態が約 4.5 時間継続したと述べている[15]。われわれは，初期高濃度投与によって強力な殺菌効果が得られて生菌数が低下した後に，低濃度持続投与によって細菌の再増殖のみを抑制し生菌数の“定常状態”を継続させることが可能ならば，細菌増殖抑制時間を最も効率よく延長させることができると考え，この定常状態を保つために持続すべき最低濃度を必要最低維持濃度と仮定した。そして，初期高濃度投与後にこの必要最低維持濃度で持続的投与を行なえば，その持続時間 (CT) が延長された時間と一致した細菌増殖抑制時間 (T_{50}) の延長が得られるはずであると考えた。実験では，初期濃度が 50 もしくは 25 MIC となるような pulse administration による初期高濃度投与と，1/2・1 もしくは 2 MIC という維持濃度を 8 もしくは 16 時間持続させる continuous administration による投与とを同時に開始させて行なった。その結果，ABPC においては，初期濃度 50 MIC の場合に維持濃度 1/2 MIC での CT を 8 時間延長させたことにより T_{50} が 8 時間延長された。すなわち，1/2 MIC 濃度が持続された 8 時間にわたって生菌数の“定常状態”が維持され，その結果として T_{50} が 8 時間延長されたと推測され，この 1/2 MIC が必要最低維持濃度であると考えられた。同様にして，初期濃度 25 MIC の場合も 1/2 MIC が必要最低維持濃度と考えられた。また，GM においては，初期濃度 50 MIC の場合は 1 MIC，初期濃度 25 MIC の場合は 2 MIC が必要最低維持濃度と考えられた。これによって，少なくとも bladder model を使用した実験的膀胱炎においていいうることは，抗生剤の初期高濃度投与によってある程度の殺菌効果が得られた後に，残存する生菌の再増殖を抑制して T_{50} を延長するためには，必ずしもその高濃度での投与を必要とはせず，1/2 から 2 MIC 程度の低濃度における持続的投与でも充分であるということで，生体における膀胱炎の場合には humoral and cellular clearance mechanism が働くため，さらに低濃度での持続的投与でも充分効果的であると考えられた。また，薬剤の相違による必要最低維持濃度の違いについては，坂[15]が biphotometer 内で *E. coli* に対する増殖抑制効果の得られる最低濃度は，ABPC では寒天平坂法により測定した 1 MIC の 1/4 の濃度，KM では 1/2 の濃度であったと述べていること，および，寒天平板法により測定した 1 MIC を 24 時間接触させた場合，ABPC では 24 時間までほぼ完全に増殖が阻止されたが，KM では 24 時間以内にほぼ full growth に達する程の増殖が認められたと述べていることとを考慮する

と，KM と同じアミノグリコシド系薬剤である GM では，必要最低維持濃度としては ABPC よりも若干高い濃度が必要であると考えられた。

次に問題となるのは初期高濃度投与後の生菌数であるが，今回の実験のように初期高濃度投与として初期濃度が 50 MIC および 25 MIC となるような pulse administration を行なうと，bladder model 内の濁度は急激に低下して数時間後にほぼ感知以下の 0 となるが，この時点での生菌数は濁度計の感度の面からして検出下限の約 $3\sim4\times10^6$ cells/ml 以下になっているはずであり，100% 濁度における生菌数約 1.6×10^9 cells/ml からみれば約 0.2%，抗生剤投与開始時の生菌数約 $3\sim8\times10^6$ cells/ml からすれば約 0.5～1% で，少なくとも 99% 以上が殺菌されたことを示している。理論的には，この初期高濃度投与終了時の生菌数が低くなるほど，"定常状態" を保つために必要な維持濃度は低くなり T_{50} は延長されるはずであるが，われわれが行なった実験において，GM では初期濃度 25 MIC の場合の必要最低維持濃度は 2 MIC であったが，初期濃度 50 MIC の場合の維持濃度は 1 MIC と低くなった。しかし，ABPC では初期濃度が 50 MIC でも 25 MIC でも必要最低維持濃度は 1/2 MIC であり差を認めなかった。また，初期濃度を 25 MIC から 50 MIC に増加させたことによって，GM では約 3～9 時間，ABPC では約 1～4 時間の T_{50} の延長があり，CEZ ではその値が一定しなかった。これは，初期高濃度投与の投与量の増加によって得られる殺菌効果の増大とその結果としての生菌数の減少が，GM では ABPC より大きく，CEZ では一定しなかったためと考えられた。

以上の結果と，最高濃度の上昇による T_{50} の延長効果が GM において最も顕著であったこととを考え合わせると，少なくとも GM については先の理論どおり，初期高濃度投与を増加させることによって維持濃度をより低濃度とし，なおかつ T_{50} を延長しうることが明らかとなった。すなわち，低濃度持続投与に費す投与量のうちでの不必要な部分を初期高濃度投与に振り向けて最高濃度を上昇させることによって，T_{50} がより延長される可能性があり，最高濃度の上昇分が EAGLE ら[8]のいう waste penicillin にはならないことが示された。

これに対して，ABPC では数時間の初期高濃度投与を 10 MIC 程度の濃度で行なった後は，1/2～1 MIC 程度の低濃度の持続投与を続けることが好ましいと考えられた。

また，CEZ においては測定値のバラツキが大きく解釈に苦慮したが，例えば初期濃度 50 MIC で低濃度持続投与として 2 MIC 濃度を 8 時間持続した場合の T_{50} は 15.9 時間で，初期濃度を 25 MIC に半減して同様の低濃度持続投与を行なった場合の T_{50} が 20 時間と，初期濃度の低い方が T_{50} が長くなるような結果が得られたことについては今後さらに検討を加えなければならないが，可能性としては，最高濃度の検討の項で述べたように，初期高濃度投与の濃度の上昇によって必ずしも殺菌率は上らず，静菌状態にある生菌数は逆に多いことも考えられ，また，EAGLE らが slow recovery について報告した中で述べたように，penicillin と *α*-hemolytic *Streptococcus* との間には前述のような定常状態は生れず，penicillinase によって penicillin の作用を中断した直後から生菌数が増加し始めていることからすると[10]，CEZ と *E. coli* の間では ABPC や GM の場合とは違って定常状態が存在し難く，低濃度持続投与のみでは細菌増殖が抑制できなかったと考えられる。すなわち，CEZ のように 5 MIC 程度の低濃度で殺菌効果が比較的強く現われ，最高濃度をそれ以上に上昇させても確実な効果が期待しにくい薬剤においては，5 MIC 程度の濃度でなるべく持続時間を延長させることを心掛けた投与方法によって，より有効に細菌増殖抑制時間を延長しうるのではないかと考えられた。

C. 尿中抗生剤濃度の面から見た臨床的投与方法について

尿路感染症に限らず，抗生剤投与によって得られる細菌増殖抑制効果を如何にして維持するかについて，投与方法としてはその体内動態（血中濃度・組織内濃度および尿中濃度等）を考慮した上での 2 つの面から，すなわち一方では投与間隔の面から，他方では 1 回投与時の最高濃度および持続時間としての面からの検討が行なわれている。

前者の例としては EAGLE ら[13]や加藤ら[18]が行なった実験にみられるように，抗生剤の投与間隔や投与回数（投与量）を様々に変化させて，得られた細菌増殖抑制効果から経験的に必要量を求める方法があるが，必要最低限のそれを求めることは難しい。

後者の例としては，ZINNER ら[30]が bolus infusion 時と continuous infusion 時の細菌増殖抑制時間の差を濃度の持続時間の面から検討した実験があるが，明確に最高濃度と持続濃度とを分けて行なわれた実験ではない。今回のわれわれの実験では 1 回投与時についての検討のみを行なって，前述のような初期高濃度投与後の生菌数の定常状態を必要最低維持濃度によって持続させることが臨床的にも可能なら，生体の殺菌能によって生菌数は定常状態から更に下降し治癒に至ることも期待されるとの結論に至ったが，この結果は次回投与時までの間隔時間（谷間時間）と次回投与量の決定にもある程度参考とす

ることができる。

今回の実験から，尿路感染症の中で管腔性感染の要素の強い下部尿路感染症について考えられる最も効率的な投与方法は，たとえば GM の場合には，点滴静注のような投与方法で 1～2 MIC の尿中濃度が長時間得られるようにしておいて，投与開始時に高濃度での静注あるいは筋注を行なうという方法が考えられる。また，単一の投与方法によって最も大きな効果をうるために膀胱内注入や一発静注のような短時間での高濃度投与を行なうことの意義も認めることができるが，筋注のように最高濃度もある程度上昇し，低濃度での持続時間も長い投与方法が好ましいと考えられた。また ABPC の場合には，10 MIC 程度の尿中濃度が数時間得られるような軽い初期高濃度投与を行ない，それ以降は 1 MIC 程度の低濃度持続投与を続けることによって，その他の濃度分の投与量を節約しうる可能性がある。具体的な投与方法としては，最高濃度の軽度の上昇があった後に少しでも持続時間を延ばすという意味で，主体としては低濃度の点滴内投与を長く行ない，その初期に一部分を側注するような投与方法が望ましいと考えられた。さらに CEZ の場合には，5 MIC 以上の尿中濃度を得る必要性は少なく，最も強く殺菌効果を示すと考えられる 5 MIC 程度の尿中濃度が得られるような点滴静注を最初から持続的に行なうことで，それ以上の濃度を得るために要するはずの投与量をすべて節約しうる可能性がある。1 回投与としては，一発静注とか筋注よりも内服とか点滴静注のように，吸収も排泄も遅く緩やかな尿中濃度が長く持続する投与方法が好ましいと考えられた。

以上，副作用の面を全く考慮せず，また，低濃度での長時間連続投与による細菌の感受性分布の変化や耐性菌の出現などの問題を無視しているための若干の飛躍はあるが，bladder model を用いた実験的膀胱炎において，代表的抗生剤（ABPC，CEZ および GM）の尿中最高濃度と持続的低濃度の意義の違いを検討した結果から得られた，効率的投与方法への提言の一つである。

IV. 結　　語

実験的膀胱炎としての試験管内膀胱モデル（bladder model）を用いて，代表的抗生剤（ABPC，CEZ および GM）の尿路由来 *E. coli* に対する細菌増殖抑制効果を，尿中濃度とくにその最高濃度と持続的低濃度の面から検討し，各薬剤の効果的な利用方法についての検討を行なった。なお，本実験に先立って bladder model の機能に関する基礎的実験を施行し，機能の確認と実験上のパラメーターの選定を行なった。

1. 最高濃度について：抗生剤の尿中濃度を上昇せしめることによって，ABPC では最高濃度が 10 MIC まで，CEZ では最高濃度 5 MIC までは細菌増殖抑制時間（T_{50}）の延長効果が得られ，それ以上の濃度では延長効果が少なくなった。一方，GM では最高濃度の上昇とともに T_{50} がほぼ直線的に大きく延長された。

しかし，投与量の面から考えると，GM の場合ですら 50 倍の投与量で最高濃度を 1 MIC から 50 MIC に上昇させても T_{50} は約 2.1 倍にしか延長されず，けっして効率的とはいえなかった。

また，最高濃度を上昇させた場合には，残留抗生剤による低濃度（1 MIC）での持続時間（CT）が延長されるため，T_{50} へのその影響を除いた時間（T_{50}-CT）についても検討し上記と同様の結果を得たが，CEZ では最高濃度 10 MIC 以上の例で，最高濃度の上昇に伴って逆に T_{50}-CT が短くなるものもあり，むしろ殺菌効果が低下する可能性も示唆された。

2. 初期高濃度投与後の持続投与の濃度について：初期高濃度投与によって減少した生菌数は，その投与による toxic effect の継続による殺菌と細菌の再増殖とが平衡した場合に定常状態となる。この定常状態を長時間保つために持続すべき最低濃度を必要最低維持濃度と考えた。

ABPC では初期濃度が 50 MIC となる pulse administration に続く必要最低維持濃度は 1/2 MIC で，初期濃度が 25 MIC の場合も同様であったが，GM では前者の場合が 1 MIC，後者の場合が 2 MIC と異なっていた。また，CEZ では測定値が一定せず判定は困難であった。一方，初期高濃度をうるための投与量を 2 倍にしたことによって，T_{50} は ABPC では約 1～4 時間，GM では約 3～9 時間延長された。これらの結果により，初期高濃度投与後に定常状態となった生菌数の差が，その後の必要最低維持濃度および細菌増殖抑制時間の差となって現われたものと考えられた。

3. 各薬剤の効果的な投与方法について：1 と 2 の結果から，ABPC では初期高濃度投与によって 10 MIC 程度の最高濃度を得た後は，1～2 MIC 程度の持続濃度を可能な限り長く続けること，CEZ では 5 MIC 程度の持続濃度を得ること，GM では投与量の主体を最高濃度の上昇に向け，残りの部分を 2 MIC 程度の持続濃度を得るように用いることによって，細菌増殖抑制効果が最も効率よく得られると考えられた。

稿を終るにあたり，御指導・御校閲を賜った恩師西浦常雄教授および福井医科大学河田幸道教授に深く感謝致します。

なお本論文の要旨は第 26 回日本化学療法学会西日本支部総会，第 26 回日本化学療法学会総会，第 27 回日本化学療法学会総会および第 13 回国際化学療法学会に

おいて発表した。

文　献

1) 河田幸道，脱田　修，西浦常雄：試験管内膀胱モデルについて。Chemotherapy 29：842～847, 1980
2) O'GRADY, F.; I. P. MACKINTOSH, D. GREENWOOD & B. W. WATSON: Treatment of "bacterial cystitis" in fully automatic mechanical models simulating conditions of bacterial growth in the urinary bladder. Br. J. exp. Path. 54：283～290, 1973
3) GREENWOOD, D. & F. O'GRADY: The comparative performance of beta-lactam antibiotics against ampicillin sensitive *Escherichia coli* in conditions simulating those of the infected urinary bladder. Br. J. exp. Path. 55：245～250, 1974
4) GREENWOOD, D. & F. O'GRADY: Dual-action cephalosporin utilizing a novel therapeutic principle. Antimicrob. Ag. Chemother. 10：249～252, 1976
5) GREENWOOD, D. & F. O'GRADY: An *in vitro* model of the urinary bladder. J. Antimicrob. Chemother. 4：113～120, 1978
6) KAWADA, Y.; D. GREENWOOD & F. O'GRADY: Factors affecting antibiotic concentrations in bladder urine. Invest. Urol. 17：484～486, 1980
7) CATTELL, W. R.. Urinary tract infection. Recent Advance in Urology (No. 2), Ed., HENDRY, W. F.: 75～112, Churchill livingstone, Edinburgh, London and New York, 1976
8) EAGLE, H.: Speculations as to the therapeutic significance of the penicillin blood level. Ann. Int. Med. 28：260～278, 1948
9) EAGLE, H.: The rate of bactericidal action of penicillin *in vitro* as a function of its concentration, and its paradoxically reduced activity at high concentrations against certain organisms. J. Exp. Med. 88：99～131, 1948
10) EAGLE, H.: The recovery of bacteria from the toxic effect of penicillin. J. Clin. Investigation 28：832～836, 1949
11) EAGLE, H. & A. D. MUSSELMAN: The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. J. Bact. 58：475～490, 1949
12) EAGLE, H.; R. FLEISCHMAN & A. D. MUSSELMAN: The bactericidal action of penicillin *in vivo*: the participation of the host, and the slow recovery of the surviving organisms. Ann. Int. Med. 33：544～571, 1950
13) EAGLE, H.; R. FLEISCHMAN & A. D. MUSSELMAN: Effect of schedule of administration on the therapeutic efficacy of penicillin. Importance of the aggregate time penicillin remains at effectively bactericidal levels. Am. J. Med. 9：280～299, 1950
14) 尾崎　守，西村欣也，小林功二，青葉誠二，木村美司，中村光男，小林譲二，板倉隆志，加藤　博：注射用 Cephalosporin C 系抗生剤の殺菌効果について。第一報 *In vitro* における Cephalosporin 系抗生剤の *Escherichia coli* に対する殺菌効果。Chemotherapy 23：3179～3191, 1975
15) 坂　義人：抗菌剤の投与方法に関する研究。投与形式の試験管内実験による検討。日泌尿会誌 69：1467～1486, 1978
16) 宮本忠昭，小林章男，降矢　震：抗生物質の抗菌力定量化の試み。Chemotherapy 21：6～10, 1973
17) RANDOLPH, J. A.; R. E. BUCK & K. E. PRICE: Comparative bactericidal effect of ceforanide (BL-S 786) and five other cephalosporins in an *in vitro* pharmacokinetic model. J. Antibiotics 32：727～733, 1979
18) 加藤　博，西村欣也，永井修吾，北井征二，桑原佑一，中村光男，大西一也，真山三賀雄，伊藤昌男，安田正俊：Cefalotin sodium の殺菌効果(第2報) Cefalotin sodium の血中濃度に3回 simulate した *in vitro* model system による *E. coli* 3株の生菌数変化および感受性に関する population analysis. 最新医学 35：1887～1894, 1980
19) GRASSO, S.; G. MEINARDI, I. DE CARNERI & V. TAMASSIA: New *in vitro* model to study the effect of antibiotic concentration and rate of elimination on antibacterial activity. Antimicrob. Ag. Chemother. 13：570～576, 1978
20) 村川武雄，上村利明，岡田直彦，坂本　博，横田好子，西田　実：生体内濃度に simulate した *in vitro* model system における cephalosporin 類の殺菌作用。Chemotherapy 25：585～589, 1977
21) NISHIDA, M.; T. MURAKAWA, T. KAMIMURA & N. OKADA: Bactericidal activity of cephalosporins in an *in vitro* model simulating serum levels. Antimicrob. Ag. Chemother. 14：6～12, 1978
22) 村川武雄，広瀬俊治，西田　実：生体内濃度に simulate した *in vitro* model における抗生物質の殺菌作用(2)　Two compartment 理論による新しい gradient 濃度変化 model について。Chemotherapy 28：26～30, 1980
23) MURAKAWA, T.; H. SAKAMOTO, T. HIROSE & M. NISHIDA: New *in vitro* kinetic model for evaluating bactericidal efficacy of antibiotics. Antimicrob. Ag. Chemother. 18：377～381, 1980
24) 坂本　博，広瀬俊治，村川武雄，西田　実：抗生

物質の生体内濃度に simulate した *in vitro* model system について(3) Cefazolin の透析 cell compartment への移行。Chemotherapy 28: 842～847, 1980
25) ZINNER, S.; M. HUSSEN & I. KLASTERSKY: An artificial capillary *in vitro* kinetic model of antibiotic bactericidal activity. J. Infect. Dis. 144: 583～587, 1981
26) 岡田敬司：感染モデルとしての連続流動培養法による各種抗菌薬の細菌発育抑制効果の観察。第一報 *E. coli* および *P. aeruginosa* 単独培養に対する場合。Chemotherapy 30: 499～507, 1982
27) 大越正秋，石神襄次，西浦常雄，熊本悦明，河田幸道：膀胱炎，診療新社，大阪，1982
28) 坂 義人，横井山繁行，早野和夫：抗菌剤の投与方法に関する研究（II） マウスを用いた感染治療実験。日泌尿会誌 72: 669～679, 1981
29) 西野武志，中沢昭三：β-lactam 系抗生物質大量投与の問題点 1. ブドウ球菌の増殖曲線に及ぼす影響。Chemotherapy 21: 1317～1318, 1973
30) CRUMPLIN, G. C. & J. T. SMITH: Nalidixic acid: an antibiotic paradox. Antimicrob. Ag. Chemother. 8: 251～261, 1975

EFFECT OF URINARY ANTIBIOTICS LEVELS, ON THE GROWTH INHIBITION OF URINARY BACTERIA

OSAMU SETSUDA
Department of Urology, Gifu University School of Medicine
(Director: Prof. T. NISHIURA, M. D.)

In the treatment of urinary tract infection, urinary bacteria are exposed to changing concentration of antibiotics in the urine. To obtain a better understanding of the response of bacteria to changing concentration of urinary antibiotics, an *in vitro* model of the urinary bladder has been introduced by O'GRADY and his coworkers. In this model, the conditions of bacteria to antibiotics which exist in the treatment of cystitis are simulated. We have constructed a similar model of the urinary bladder with some modification. The response of bacteria exposed to high concentration of antibiotics for short period of time and to low concentration for long period of time in the bladder model was studied to make clear the significance of peak urinary level and effective urinary maintenance level.

Escherichia coli originally isolated from infected urine was used as the test organism. Overnight broth culture of *E. coli* was diluted at a rate of 1 ml per minute and at hourly intervals a micturition emptied the bladder. After four such cycles of dilution and micturition, ampicillin, cefazolin or gentamicin was introduced into the system. *E. coli* was exposed to antibiotics in the bladder model in one of two ways: 1) concentration corresponding to 1, 2, 5, 10, 20 or 50 MIC for test organism for 4 hours, 2) concentration corresponding to 1/2, 1 or 2 MIC for 8 or 16 hours after antibiotics were added directly as a single pulse achieving an instantaneous concentration corresponding to 25 or 50 MIC for test organism. MICs of ampicillin, cefazolin and gentamicin were 6.25, 1.56 and 6.25 μg/ml respectively. Antibacterial activity of antibiotics against test organism in the bladder model was expressed by the time taken for opacity to reattain 50% of original opacity level.

With the increase of peak level of gentamicin, growth inhibition time of *E. coli* was markedly elongated. In the cases of ampicillin and cefazolin, growth of *E. coli* was not effectively suppressed with the increase of peak level. Growth of *E. coli* was effectively suppressed by the elongation of maintenance level of ampicillin and cefazolin but only slight effect of elongation of maintenance level was observed when *E. coli* was exposed to gentamicin. These results suggest that the increase of peak level is more effective than the elongation of maintenance level in gentamicin. On the contrary, elongation of maintenance level of ampicillin and cefazolin suppress the growth of *E. coli* more effectively than the increases of peak level.