

新ピリドンカルボン酸系抗菌剤 DL-8280 のヒト腸内菌叢におよぼす影響

千田俊雄・柴岡はるみ・石塚 巖・中谷林太郎

東京医科歯科大学医学部微生物学教室

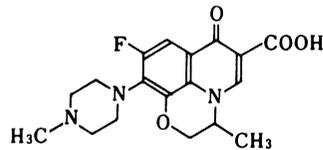
健康成人男子5名 (volunteers A, B, C, D および E) に、新しいピリドンカルボン酸系抗菌剤 DL-8280 を、1回 200 mg, 1日3回 (計 600 mg), 6日間連続経口投与した際にみられる腸内菌叢の経日変動, およびその変動と糞便中薬剤濃度との相関について検討した。

- DL-8280 投与により好気性菌群が強く抑制された。特に, Enterobacteriaceae は投薬開始後早期に消失し, それが元の菌数に回復するまでは投薬中止後1週間以上を要した。
- 偏性嫌気性菌群では, レシチナーゼ陰性の Clostridia が投薬開始後増加傾向を示した。しかし, *C. difficile* は検出されなかった。一方, レシチナーゼ陽性の Clostridia は投薬開始後に消失した。その他の嫌気性菌群は投薬後もほとんど変化しなかった。
- 総菌数は実験期間中ほぼ一定していた。
- DL-8280 投与後による腸内菌叢の乱れが投薬開始前の菌叢に復帰するまでには, 投薬終了後22日目ではまだ不完全で, さらに1~2週間を要すると考えられる。
- DL-8280 連続経口投与による腸内菌叢の変動と糞便中薬剤濃度とは明らかに相関が認められた。つまり, 糞便中薬剤濃度の増加に伴い本剤に感受性の菌群が減少ないし消失し, 糞便中薬剤濃度が減少・消失するとそれらの菌群が再び元の菌数に回復する様子を示した。
- 本実験期間中, 2例にそれぞれ1回, 軽い下痢が認められた。しかし, その原因は分からなかった。

序 文

DL-8280 は, 第一製薬株式会社で新しく開発されたピリドンカルボン酸系の経口用合成抗菌剤である。その化学構造式は Fig. 1 に示すとおりで, 化学名は (±)-9-fluoro-2, 3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido [1, 2, 3-de] [1, 4]benzoxazine-6-carboxylic acid である。本剤は, *in vitro* の抗菌力試験の結果, グラム陰性および陽性の好気性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムと強い殺菌力を有し, さらに嫌気性菌に対しても優れた抗菌力を示すこと, また, 吸収, 排泄試験の結果では, 本剤は経口投与により速やかに血中および組織内に移行すること, ヒト糞便中累積排泄率は24時間で1.6%, 48時間で3.9%と低く, 尿中に高濃度に排泄されることなどが報告されている¹⁾。本剤をヒトに連続経口投与した場合, ヒトの正常腸内菌叢がどのような影響を受けるのかは興味深いところである。また, この結果はヒト腸内での各種腸内菌の抗菌効果判定としてのみならず, 菌交代現象による下痢あるいは薬剤関与腸炎等の副作用の検討にも意義あるものと思われる。今回, 我々は健康成人男子の volunteers を対象として, DL-8280 を連続経口投与した際, その腸内菌叢の量的・質的变化, 投薬終了後の腸内菌叢構成菌群の回復経過とその時期, 非感受性菌ないし耐性菌の出現とその動態, 下痢等の副作用の有無, また, 腸内菌叢の変動と糞便中薬剤濃度との相関等について検討したので, その結果を報告する。

Fig. 1 Chemical structure of DL-8280



実験材料および方法

1. 対象

健康成人男子5名 (年齢 27~39 歳, 体重 55~63 kg) の volunteers (A, B, C, D および E) を対象とした。

2. 使用薬剤と投与方法

DL-8280 (第一製薬) の錠剤を, 毎日, 朝・昼・夜の定時に, 1回 200 mg, 1日3回 (合計 600 mg), 6日間連続して投与した。その投与量および投与期間を Fig. 2 に示す。

3. 腸内菌叢検査法

検査日程を Fig. 2 に示す。検査は投薬開始前 (実験第0日), 投薬開始2日目 (実験第2日), 投薬開始4日目 (実験第4日), 投薬終了後1日目 (実験第7日), 3日目 (実験第9日), 5日目 (実験第11日), 9日目 (実

Fig. 2 Time sequence of DL-8280 administration and fecal collection (healthy human adult volunteers A, B, C, D and E)

DL-8280 administration and fecal collection	Day of study																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	≈21≈28
Oral administration 200mg, 3 times/day																	
Collection of fecal specimens																	
Test for microflora	○		○		○		○		○		○				○	○	○
Test for drug concentration			●		●		●		●		●						

Table 1 Differential plating media for isolation of intestinal microorganisms and incubation procedures

Medium	Organism to be detected	Incubation	
		Condition	Day
EG agar ^a	Anaerobes, Aerobes, especially Bacteroidaceae, Eubacteria, Peptococcaceae, Clostridia	Anaerobic	2
BL agar ^a	Anaerobes, Aerobes, especially Bacteroidaceae, Eubacteria, Bifidobacteria, Lactobacilli, Megasphaera	Anaerobic	2
TS agar ^a	Aerobes, especially Enterobacteriaceae, Streptococci, Bacilli, Corynebacteria	Aerobic	1 ~ 2
BS agar ^b	Bifidobacteria	Anaerobic	2
ES agar ^b	Eubacteria	Anaerobic	2
NN agar ^b	Clostridia [Iecithinase(+)]	Anaerobic	2
Modified VS agar ^b	Veillonellae	Anaerobic	2
Modified LBS agar ^b	Lactobacilli	Anaerobic	2
TATAC agar ^b	Streptococci	Aerobic	1 ~ 2
DHL agar ^b	Enterobacteriaceae	Aerobic	1
PEES agar ^b	Staphylococci	Aerobic	2 ~ 3
P agar ^b	Yeasts	Aerobic	1 ~ 2
NAC agar ^b	<i>Pseudomonas</i>	Aerobic	1 ~ 3
CCFA agar ^b	<i>C. difficile</i>	Anaerobic	2

^a Nonselective medium

^b Selective medium

験第15日), 15日目(実験第21日)および22日目(実験第28日)の合計9回行った。

1) 糞便採取と輸送

検査当日の早朝排便後, 約1gを還元処置した輸送培地²⁾ 9mlの入った採便管の中に入れ, 氷冷下で輸送し検体採取後5時間以内に培養検査を完了した。

2) 培地および培養方法

光岡の方法²⁾に従って実施した。培地はMedium 10を除く3種類の非選択平板培地と12種類の選択平板培地を用いた(Table 1)。6種類の平板培地(DHL, PEES, PD, NAC, TATACおよびTS)には, 糞便100倍段階希釈系列(10⁻¹, 10⁻³, 10⁻⁵, および10⁻⁷)のそれぞれ0.05mlを, 4分画した平板培地に塗布し, 37°C, 24時間(た

だし, NAC, PDおよびPEESは72時間)好気培養した。また, 9種類の平板培地(BL, BS, EG, ES, LBS, NBGT, NN, VSおよびCCFA³⁾)も前者と同様に塗布し, 37°C, 48時間嫌気グローブボックス(Anaerobic System Model 1024, Forma社)内で嫌気培養した。

3) 同定および菌数算定

平板培地上の集落形態, グラム染色標本の鏡検および好気発育試験によって菌群の同定を行った。また, 一部の好気性菌と通性嫌気性菌は常法により同定した。*Clostridium difficile*は, CCFA培地上に発育したレシチナーゼ反応陰性, 果糖陽性の集落に対して, さらに運動性, インドール反応, 牛乳凝固, 乳糖, 白糖, マンニト, ガラクトース分解能およびゼラチン液化能を試験し

て推定同定した。菌数算定は、平板上の集落を数え、糞便 1g 中の菌数を求めた。菌数 (N) はすべて対数 ($\log_{10} N$) で示した。検出限界菌数 (対数) は 2.3/g である。

4. 糞便中薬剤濃度測定法

検査日程を Fig. 2 に示す。測定は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法により行った。HPLC サンプルは、糞便を 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) で 10 倍希釈し、 CHCl_3 で抽出した後、 CHCl_3 層を分取し、 CHCl_3 を留去、これに $\text{CH}_3\text{CN}/0.04\text{M H}_3\text{PO}_4$ (9/1 v/v %) を添加したものを用いた。装置は日立 635 A 型液体クロマトグラフを用いた。カラムは、Nucleosil 5 CN 30 cm \times 4.6 mm I.D. (メインカラム)、3 cm \times 4.6 mm I.D. (プレカラム) を用いた。カラムの温度は室温で、流速は 1.8 ml/min とし、測定は 295 nm の紫外外部吸収により行った。また、移動相は、 $\text{CH}_3\text{CN}/0.04\text{M H}_3\text{PO}_4$ (9/1 v/v %) なる混合溶媒を用いた。

結 果

1. 腸内菌叢の総菌数および各菌群菌数の変動

Volunteers A, B, C, D および E の総菌数と各菌群数の経日変動を、それぞれ Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6 および Fig. 7 の上部に示す。また、それら 5 例の平均総菌数および平均各菌群菌数の経日変動を Table 2 および Fig. 8 の上部に示す。また、5 例の各菌群検出率を Table 3 に示す。

総菌数： 各対象例の総菌数 (偏性嫌気性菌群と好気性菌群の総計を意味する) についてみると、volunteer A (Fig. 3) の総菌数は、投薬開始 2 日目 (実験第 2 日) に 4 分の 1 に減少したものの、投薬開始 4 日目 (実験第 4 日) には元の菌数に回復し、その後はほぼその状態を維持した。Volunteers B (Fig. 4) および D (Fig. 6) の総菌数は、実験期間中ほとんど変動が認められず、約 10.3/g で推移した。Volunteer C (Fig. 5) では、投薬開始前・後の総菌数の変動は認められなかった。しかし、投薬終了後 3 日目 (実験第 9 日) は約 8 分の 1 に減少し、投薬終了後 9 日目 (実験第 15 日) には回復した。Volunteer E (Fig. 7) の総菌数も volunteer C と同様、投薬開始前・後の菌数変化は認められなかったが、投薬終了後 5 日目 (実験第 11 日) には若干の増加 (約 7 倍) を示し、その後もそのレベルで経過した。総菌数の変動を 5 例の平均値でみると (Fig. 8)、総菌数は、投薬開始前・後および投薬終了後 22 日目 (実験第 28 日) までの実験期間中ほぼ一定し、10.2/g 前後で推移した。

偏性嫌気性菌群： Volunteer A では、Bacteroidaceae, Eubacteria, Bifidobacteria および Peptococcaceae が観察期間中多少の変動は認められたものの、ほぼ一定の菌数で推移した。レシチナーゼ陰性の Clostridia [以

下、Clostridia (-) と略す] は、投薬開始後漸増傾向を示し、投薬終了後 1 日目には 9.2/g に達して投薬開始前の 500 倍増加した。しかし、それをピークに徐々に減少して投薬終了後 22 日目には元の菌数に回復した。一方、レシチナーゼ陽性の Clostridia [以下、Clostridia (+) と略す] は、投薬開始後早期に減少し、投薬開始 4 日目には検出されなくなり、その状態が投薬終了後 3 日目まで続いた。投薬終了後 5 日目には、5.6/g 検出されたがその後再び減少し、投薬終了後 15 日目は検出されなかった。Veillonellae は投薬開始前に 4.5/g 検出されたが、投薬開始 2 日目には消失した。その後実験期間中は検出されなかった。Volunteer B では、Bacteroidaceae, Eubacteria, Bifidobacteria および Peptococcaceae が volunteer A と同様に観察期間中ほとんど菌数変動が認められなかった。Clostridia (-) は、投薬開始前には検出されなかったが、投薬開始 2 日目には 9.2/g 検出された。しかし、投薬開始 4 日目には消失した。投薬終了後 3 日目に再び出現し、その後増加傾向を示した。一方、Clostridia (+) は投薬開始後消失した。Volunteers C, D および E も先の 2 例とほぼ同様の変動パターンを示した。すなわち、Bacteroidaceae, Eubacteria, Bifidobacteria, Peptococcaceae が実験期間中ほぼ一定した菌数で推移したのに対し、Clostridia (-) は投薬開始後ないし投薬終了後に増加傾向を示したこと、また、Clostridia (+) および Veillonellae は投薬開始後早期に消失したことである。これは 5 例の平均値で示した偏性嫌気性菌群の経日菌数変動 (Fig. 8) をみても同様のことがいえる。

好気性菌群： 好気性菌群 (ここでは通性嫌気性菌と好気性菌を含めて呼ぶ) の変動について、好気性菌群総菌数の経日変動でみると、5 例すべてに共通して投薬開始後減少傾向が認められた (Fig. 8)。菌群別にみると、Enterobacteriaceae は投薬開始前は平均 7.4/g 検出されたが、投薬開始 2 日目には 4.9/g と約 300 分の 1 に激減し、投薬開始 4 日目には検出されなくなった。その状態が投薬終了後 3 日目まで続いた (Fig. 3)。Streptococci の菌数変動をみると、投薬開始 2 日目には増加ないしは投薬開始前とほぼ同程度の菌数が検出されて、その後減少傾向を示した例 (volunteers B, C および D) と投薬開始 2 日目にはすでに減少傾向が認められた例 (volunteers A および E) の 2 通りの変動パターンが認められた。その減少程度は投薬開始前の約 100 分の 1 から 1,000 分の 1 ほどであったが、volunteer E の場合では、投薬開始前の約 5 万分の 1 に激減した (Fig. 7)。Lactobacilli の菌数変動をみると、volunteers B および C では投薬期間中減少傾向を示し、その減少程度は約 100 分の 1 であった (Fig. 4, Fig. 5)。Volunteers A および

Fig. 3 Effects of DL-8280 on fecal microflora of volunteer A and concentration of the drug in the fecal specimens

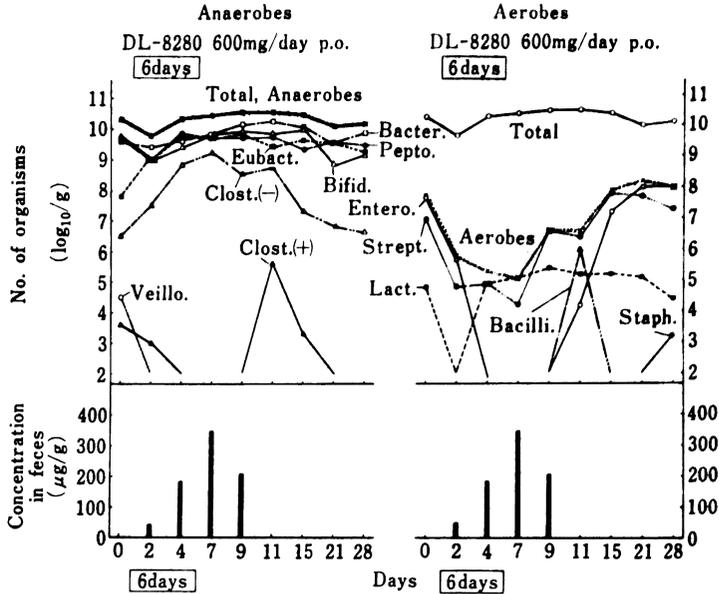
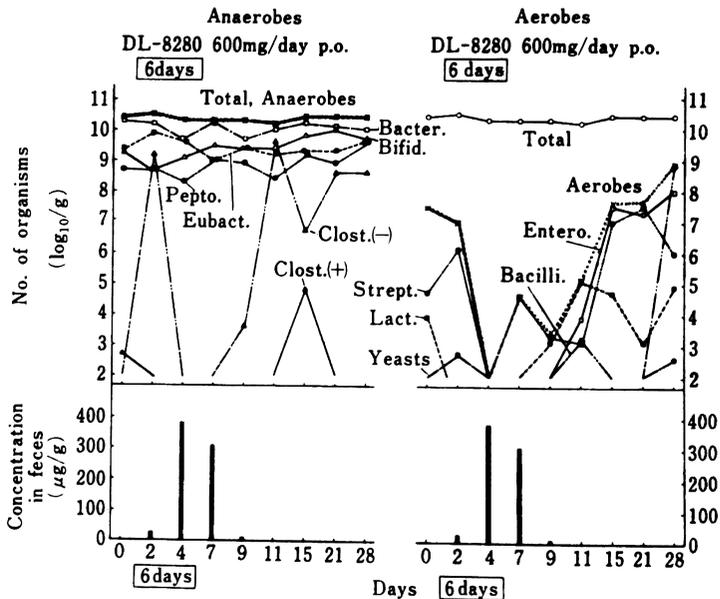


Fig. 4 Effects of DL-8280 on fecal microflora of volunteer B and concentration of the drug in the fecal specimens



Eでは投薬開始2日目に減少したものの、投薬開始4日目には投薬開始前の菌数に回復し、その後、その菌数を維持した (Fig. 3, Fig 7)。Volunteer Dでは実験期間中ほぼ一定の菌数で経過した。Staphylococciはヒト腸内の少数定住菌であるが、今回の5例では検出率が非常に低く傾向は分からなかった (Table 3)。Bacilliも同様で

あるが、しいていえば投薬終了後に検出率が高まった。

Yeasts: 5例の対象をみると、投薬開始前のYeastsの検出率は20%と低かったが、投薬開始後および投薬終了後では60%と高くなった (Table 3)。しかし、菌数をみると多い場合でも3.4/gであり、観察期間中は平均2.5/gで推移した。

Fig. 5 Effects of DL-8280 on fecal microflora of volunteer C and concentration of the drug in the fecal specimens

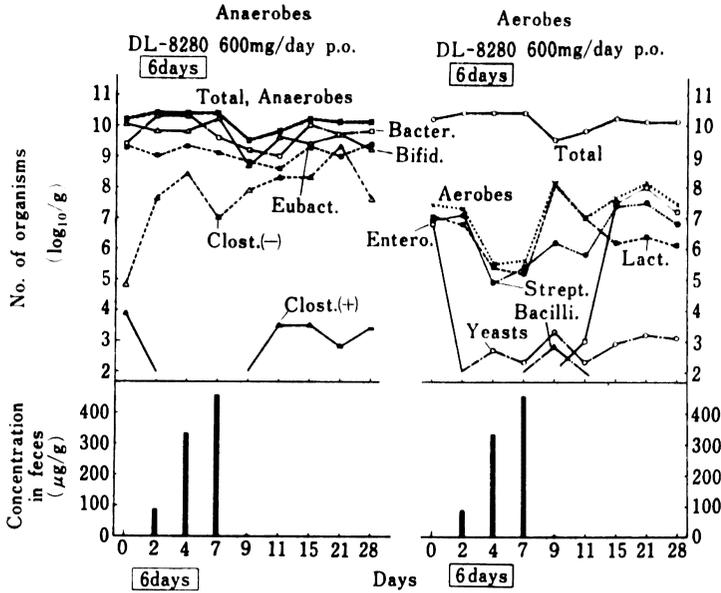
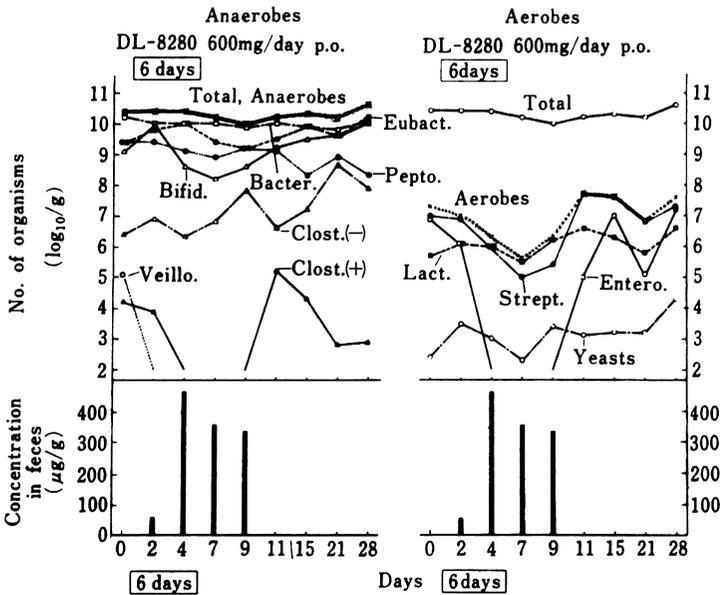


Fig. 6 Effects of DL-8280 on fecal microflora of volunteer D and concentration of the drug in the fecal specimens



2. 糞便中薬剤濃度

対象5例の投薬開始後および投薬終了後の糞便中薬剤濃度を Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6 および Fig. 7 の下部に示した。また、それら5例の平均濃度値およびその標準偏差 (σ_{n-1}) を Fig. 8 の下部に示した。各例における投薬開始2日目, 4日目, 投薬終了後1日目, 3日

目および5日目の合計5回の糞便中薬剤濃度は, volunteer A では, 51.6, 185, 347, 207, 1.2 $\mu\text{g/g}$, volunteer B では, 28.2, 382, 308, 12.9 $\mu\text{g/g}$, n.d. [検出限界値 (1 $\mu\text{g/g}$) 以下], volunteer C では, 88.3, 333, 458, 5.3 $\mu\text{g/g}$, n.d., volunteer D では, 57.6, 462, 359, 337 $\mu\text{g/g}$, n.d., volunteer E では, 16.2, 281, 459, 342, 247 $\mu\text{g/g}$

Fig. 7 Effects of DL-8280 on fecal microflora of volunteer E and concentration of the drug in the fecal specimens

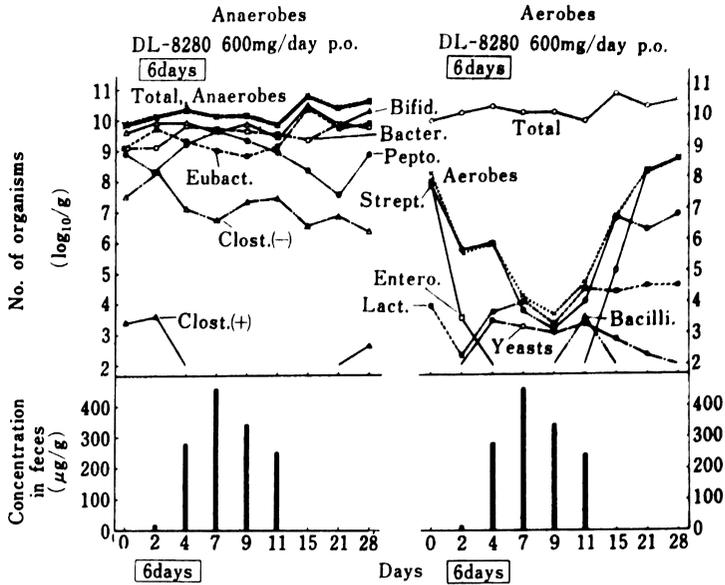
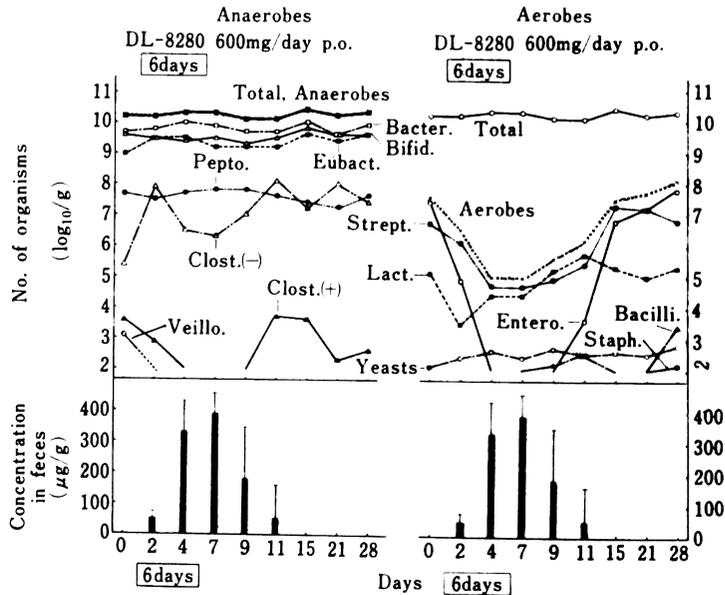


Fig. 8 Effects of DL-8280 on fecal microflora and concentrations of the drug in the fecal specimens



Values are means ± standard deviation (n=5).

であった。また、対象5例の平均濃度値およびその標準偏差は、それぞれ 48.4 ± 28, 329 ± 104, 386 ± 69, 181 ± 166, 49.6 ± 110.3 μg/g であった。

3. 腸内菌叢の薬剤の影響からの回復

総菌数および各菌群の菌科・菌属レベルでの薬剤の影

響からの回復をみると、総菌数(偏性嫌気性菌群と好気性菌群の総計を意味する)では投薬期間中および投薬終了後もほとんど変動せず、投薬開始前の菌数で推移した。このことは腸内菌叢の優勢菌群である Bacteroidaceae, Eubacteria, Bifidobacteria および Peptococcaceae

Table 2 Effects of DL-8280 on fecal microflora of volunteers

Organism	Day of study								
	0	2	4	7	9	11	15	21	28
Total count	10.2±0.21	10.2±0.33	10.3±0.05	10.3±0.13	10.1±0.38	10.1±0.30	10.4±0.19	10.2±0.16	10.3±0.23
Bacteroidaceae	9.7±0.52	9.8±0.52	10.0±0.28	9.9±0.26	9.7±0.34	9.7±0.49	10.0±0.15	9.6±0.22	9.9±0.16
Eubacteria ^b	9.0±0.68	9.5±0.44	9.6±0.33	9.2±0.30	9.2±0.42	9.2±0.35	9.6±0.26	9.4±0.28	9.6±0.38
Bifidobacteria	9.6±0.40	9.5±0.57	9.4±0.53	9.5±0.75	9.3±0.61	9.5±0.22	9.8±0.39	9.6±0.46	9.6±0.48
Peptococcaceae	7.7±3.23	7.5±3.09	7.7±3.24	7.8±3.28	7.8±3.27	7.6±3.18	7.4±3.07	7.4±3.09	7.6±3.18
Lactobacilli	5.1±1.32	3.8±2.40	4.4±1.59	4.4±1.44	5.2±2.09	5.7±1.09	5.3±0.89	5.0±1.27	5.3±0.99
Streptococci	6.7±1.16	6.1±0.93	4.7±1.62	4.7±0.73	4.9±1.63	5.4±1.85	7.3±0.45	7.2±0.59	6.8±0.53
Enterobacteriaceae	7.4±0.49	4.9±2.05	2.0	2.0	2.0	3.6±1.15	6.8±1.05	7.3±1.29	7.8±0.60
Clostridia (lecithinase(+))	3.6±0.57	2.9±0.88	2.0	2.0	2.0	3.7±1.71	3.6±1.07	2.3±0.44	2.6±0.60
Clostridia (lecithinase(-))	5.4±2.15	7.9±0.88	6.5±2.72	6.3±2.64	7.0±1.96	8.1±1.16	7.2±0.70	8.0±1.12	7.4±0.95
Veillonellae	3.1±1.55	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Staphylococci	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.2±0.54
Bacilli	2.0	2.0	2.0	2.0	2.2±0.36	2.5±0.75	2.0	2.0	3.4±3.09
Yeasts	2.1±0.18	2.4±0.67	2.6±0.62	2.4±0.49	2.7±0.69	2.5±0.62	2.6±0.55	2.5±0.61	2.8±0.96
GNR aerobes	2.0	2.0	2.0	2.0	2.1±0.13	2.0	2.0	2.0	2.0
GPR aerobes	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.7±1.57	2.0
Total aerobes	7.5±0.67	6.3±0.76	5.0±1.72	5.0±0.62	5.6±1.98	6.2±1.31	7.5±0.46	7.8±0.55	8.1±0.64
Total anaerobes	10.2±0.21	10.2±0.32	10.3±0.05	10.3±0.13	10.1±0.38	10.1±0.30	10.4±0.19	10.2±0.16	10.3±0.23

^a Mean log viable count per gram of wet stool from five volunteers

DL-8280 was administered orally for 6 days from day 1 through day 7 of study (3 doses of 200 mg per day).

^b Include anaerobic lactobacilli

Table 3 Detection frequencies of intestinal microflora in human volunteers orally given DL-8280

Organism	Day of study								
	0	2	4	7	9	11	15	21	28
Bacteroidaceae	100 ^a	100	100	100	100	100	100	100	100
Eubacteria ^b	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Bifidobacteria	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Peptococcaceae	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Lactobacilli	100	60	80	80	100	100	100	100	100
Streptococci	100	100	80	100	100	100	100	100	100
Enterobacteriaceae	100	80	0	0	0	80	100	100	100
Clostridia (lecithinase(+))	100	60	0	0	0	60	80	40	60
Clostridia (lecithinase(-))	80	100	80	80	100	100	100	100	100
Veillonellae	40	0	0	0	0	0	0	0	0
Staphylococci	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacilli	0	0	0	0	20	60	0	0	20
Yeasts	20	40	60	60	60	60	60	60	60
GNR aerobes	0	0	0	0	20	0	0	0	0
GPR aerobes	0	0	0	0	0	0	0	20	0

^a Percentages of cases with positive cultures in the 5 volunteers

^b Include anaerobic Lactobacilli

の菌数があまり変動しなかったことによる。一方、少数定住した Clostridia (+) は投薬開始後早期に消失した。しかし、投薬終了後の回復は個人間にバラツキが認められ、投薬終了後5~22日目ではほぼ元の菌数に復帰していた。また、Clostridia (-) では、volunteer A が投薬期間中および投薬終了後5日目まで増加傾向を示したが、その後減少し投薬終了後22日目には回復した。しかし、多くは投薬終了後も増加傾向を示し、投薬終了後22日目に至っても元の菌数には回復しなかった。Veillonellae は投薬開始前に2例に検出されたが、その2例とも投薬開始後に消失して、その後再び検出されなかった。一方、好気性菌群では、Enterobacteriaceae が最も強い影響を受け、全例とも投薬終了後3日目まで検出されず、投薬終了後5日目に至りはじめて検出された。しかし、その菌数は4.2/gと低かった。各対象例について Enterobacteriaceae の経日変動をみると、volunteers A および B では投薬終了後9日目にほぼ元の菌数に回復したが、投薬終了後15日目に一時増加したり (volunteer C)、減少したり (volunteer D) して投薬終了後22日目にほぼ元の菌数に回復した例や、投薬終了後22日目でもまだ増加傾向を示す例 (volunteer E) があつた。また、Streptococci も投薬開始後に強く抑制された。この菌群の投薬終了後の回復経過をみると、Enterobacteriaceae でみられたのと同様、投薬開始後に減少あるいは消失していた菌が一度投薬開始前の菌数に達した後、さらに増加を示し、再び減少して元の菌数に回復するパターンを示した。Volunteers A, C および D がその例で投薬終了後22日目には元の菌数に回復した。Volunteers B および E では投薬終了後22日目に至ってもまだ元の菌数に回復しなかった。変動の少なかった Lactobacilli は、投薬終了後3日目にはほぼ元の菌数に回復した。

4. 下痢等の副作用

実験期間中、軽い下痢が volunteer B で投薬終了後3日目 (実験第9日) に、volunteer E では投薬終了後20日目に各1回だけ観察された。しかし、便性状の特別な異常は認められず、その他の副作用は全例とも認められなかった。

考 察

第一製薬株式会社で新しく開発されたピリドンカルボン酸系の経口用合成抗菌剤である DL-8280 について、本剤を健康成人男子に6日間連続経口投与し、その正常腸内構成菌群の量的・質的变化、投薬終了後の腸内菌叢の回復経過、腸内菌叢の変動と糞便中薬剤濃度との相関および下痢等の副作用の有無について検討した。対象5例の DL-8280 投与開始前、投与期間中および投与終了後における腸内菌叢の経日変動をみると、ほぼ類似した結

果が得られた。すなわち、総菌数は実験期間中ほとんど変動が認められず平均 10.2/g で推移した。これは腸内菌叢構成菌群で最優勢を占める偏性嫌気性菌群の Bacteroidaceae, Eubacteria, Bifidobacteria, Peptococcaceae が菌科ないし菌属レベルでほぼ一定の菌数を維持していたことによる。一方、Clostridia (+) は投薬期間中消失したのに対し、Clostridia (-) は投薬期間中ないしは投薬終了後に増加傾向が認められた。なお、*C. difficile* は、近年、薬剤耐性と腸炎あるいは偽膜性腸炎の原因菌として問題になっているため、本実験でも *C. difficile* の検出を行ったが、CCFA 培地に発育したコロニーを生化学性状試験を行って調べた結果では、*C. difficile* が検出されなかった。一度、好気性菌群をみると、対象5例の平均値の好気性菌群総菌数は、投薬開始後、約数百分の1に減少していた (Fig. 8)。菌群別にみると、Enterobacteriaceae が投薬開始後早期に激減、消失した。Streptococci では投薬開始後に数百分の1の減少が認められた。また、これらの菌群が元の菌数に回復するまでには投薬終了後3週間以上要する例もあり、回復の遅延傾向が認められた。以上のことから、各人本来の腸内菌叢に復帰するには投薬終了後22日目ではまだ不完全で、さらに1~2週間を要するものと考えられる。本剤の連続経口投与によるヒトの腸内菌叢構成菌群におよぼす影響をみると、我々が以前に報告した本剤と同系統の抗菌剤、PPA および DJ-6783 をビーグル犬に連続投与した際の腸内菌叢の変動とほぼ類似した変動⁹⁾を示した。しかし、PPA および DJ-6783 両薬剤には、Streptococci および Lactobacilli に対する抑制効果が認められなかったのに対し、DL-8280 は、Streptococci に対して強い抑制効果を示した他、Lactobacilli に対しても抑制効果を有していた。一方、糞便中薬剤濃度の測定結果では、本剤を連続経口投与した場合、糞便中薬剤濃度の増加傾向が認められ、投薬終了後1日目にはピークに達した。Volunteers A, D および E では投薬終了後3日目まで高濃度で排泄され、特に、volunteer E は投薬終了後5日目でも 247 μg/g の糞便中薬剤濃度があつた。この糞便中薬剤濃度と腸内菌叢の変動とは明らかに相関が認められ、糞便中薬剤濃度の上昇とともに本剤に感受性の菌群が減少した。また、糞便中薬剤濃度が減少するにつれ、減少あるいは消失していた菌群が再び増加ないし出現しはじめ、徐々に元の菌数に回復していった。本剤は、*in vitro* の抗菌力試験の結果では、グラム陰性および陽性の好気性菌のみならず、嫌気性菌に対しても優れた抗菌力を示したにもかかわらず、本剤をヒトに連続経口投与した際の腸内菌叢の変動結果では、偏性嫌気性菌群よりも好気性菌群、特に、Enterobacteriaceae および

Streptococci に対し強い抑制効果を示したことが特徴づけられる。このことは、Enterobacteriaceae による腸管感染症に対しても十分効果が期待できると考えられる。なお、副作用として、便性状および下痢について特別な異常は認められなかったが、軽い下痢が volunteer B で投薬終了後 3 日目に、volunteer E では投薬終了後 20 日目に各 1 回だけ観察された。しかし、この下痢を投薬による腸内菌叢の変動と関連づけることは難かしく、その原因は分からなかった。

謝 辞

DL-8280 の分与および糞便中薬剤濃度測定に際し、ご協力を

戴きました第一製薬株式会社の諸氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 第 30 回 日本化学療法学会 西日本支部総会, 新薬シンポジウム, DL-8280, 1982
- 2) 光岡知足: 腸内菌の世界, 養文社, 1980
- 3) GEORGE, W.L.; V.L. SUTTER, D. CITRON & S.M. FINGOLD: Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. J. Clin. Microbiol. 9: 214~219, 1979
- 4) NAKAYA, R.; T. CHIDA & H. SHIBAOKA: Antimicrobial agents and intestinal microflora. Bifidobacteria Microflora 1: 25~37, 1982

THE EFFECT OF DL-8280, A NEW ANTIBACTERIAL AGENT OF PYRIDONE-CARBOXYLIC ACID DERIVATIVE, ON HUMAN FECAL FLORA

TOSHIO CHIDA, HARUMI SHIBAOKA, IWAO ISHIZUKA and RINTARO NAKAYA

Department of Microbiology Tokyo Medical and Dental University School of Medicine

A new antibacterial agent of the pyridone-carboxylic acid derivative DL-8280 (Daiichi Seiyaku Co., Ltd.) was administered to five volunteers (healthy adult males) orally (3 doses of 200 mg per day) for 6 days. Changes in the fecal microflora and their correlation to the fecal drug concentrations were investigated.

1. DL-8280 caused drastic suppression of the members of aerobic bacterial groups. In particular, the bacteria belonging to Enterobacteriaceae were eliminated within 2 days of drug administration, and more than one week was required for recovery to normal level.

2. Among anaerobic bacteria, lecithinase-negative clostridia increased after drug administration, although *C. difficile* was not detected, while lecithinase-positive clostridia were eliminated. The other anaerobes remained unchanged.

3. The total viable count remained unchanged during the experimental period.

4. Recovery of the microflora that had changed by drug administration to normal levels seemed to require 4 to 5 weeks.

5. Degrees of alteration in the flora correlated well to concentrations of the drug in the fecal concentrations of the drug in the fecal contents. DL-8280 caused reduction and elimination of the sensitive bacteria in parallel with its increase in the fecal contents.

6. Mild diarrhoea was observed in two subjects during the period of study.