

TA-058 とアミノ配糖体系抗生物質との併用効果

吉田 弘嗣・香山 恵子・谷 佳 都

山口東太郎

田辺製薬株式会社微生物研究所

TA-058 について、アミノ配糖体系抗生物質 (AGs) との併用効果を検討した。

1) *S. aureus* 209-P JC-1 および *E. coli* NIHJ JC-2 は、TA-058 にも AGs にも感受性であったが、相加又は弱い相乗効果しか認められなかった。

2) TA-058 あるいは AGs に必ずしも感受性の高くなかった *S. marcescens*, *Proteus* および *P. aeruginosa* に対して相乗効果が認められた。

3) 臨床分離の *P. aeruginosa* 20株のうち16株 (80%) に TA-058 と AGs の相乗効果を認めた。

4) 臨床分離の *P. aeruginosa* に対する相乗効果は TA-058 と GM の併用が最も強く、次いで TOB, DKB, AMK の順であった。

5) 緑膿菌感染マウスに対して TA-058 と AMK を併用したところ *in vitro* の成績と同様に強い相乗効果を認めた。

緒 言

ペニシリンとストレプトマイシンとの間に相乗効果¹⁾が認められて以来、種々の合成ペニシリンとアミノ配糖体系抗生物質との併用^{2),3)}が試みられている。今回、我々は新しい半合成ペニシリン TA-058 とアミノ配糖体系抗生物質との *in vitro* における各種菌株、特に緑膿菌に対する併用効果を、また緑膿菌感染マウスにおける併用効果について検討したところ顕著な相乗効果を認めたので以下にその成績を報告する。

I 材料および方法

1. 試験管内における併用効果

1) 使用薬剤

TA-058 と、アミノ配糖体系抗生物質 (以下 AGs と略す) として Amikacin (AMK, 万有製薬), Dibekacin (DKB, 明治製薬), Gentamicin (GM, 塩野義製薬) および Tobramycin (TOB, 塩野義製薬) を用いた。

2) 使用菌株

当研究所保存の *S. aureus* 209-P JC-1, *E. coli* NIHJ JC-2, *S. marcescens* OU-29, *P. vulgaris* IID-84, *P. rettgeri* KU-23, *P. aeruginosa* No. 12 および *P. aeruginosa* 35 R ならびに *P. aeruginosa* の臨床分離株 20 株を使用した。

3) 使用培地

各種菌株の前培養には Müller-Hinton broth (Dif-

co) を、最小発育阻止濃度 (MIC) 測定には Müller-Hinton agar (Difco) を用いた。

4) 試験管内併用効果の検討

日本化学療法学会の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁴⁾に準拠し、寒天平板に TA-058 と AGs のそれぞれ倍數希釈した溶液を種々の配合比に混合した Checker-board 法によって実施した。併用効果は Checker-board 法で得られた各単剤の MIC と 2 剤併用した時の MIC の成績から Fractional Inhibitory Concentration-index⁵⁾ (FIC-index = 併用時の A 剤の MIC/A 剤単剤の MIC + 併用時の B 剤の MIC/B 剤単剤の MIC) を求めて、判定した。

2. 緑膿菌感染マウスに対する併用効果の検討

In vitro で、TA-058 にやや感受性が鈍く、AMK に感受性の *P. aeruginosa* 4013 および TA-058 に感受性で AMK にやや感受性の鈍い *P. aeruginosa* PI-67 を使用した。これらの菌を Heart-infusion broth (榮研) で 37°C, 1 夜培養した後、適宜希釈し、菌数を調整して、5% ムチン液へ 1/10 量混合して、その 0.5 ml/マウスを腹腔内接種し、1 時間後に TA-058 は尾静脈に、AMK は筋肉内に投与した。併用の場合は TA-058 (i. v.) と AMK (i. m.) を同時投与した。AMK は単独投与では全く治療効果を示さない 1.56 mg/kg および 3.13 mg/kg の 2 用量とした。併用効果の判定は治療開始後 7 日間マウスの生死を観察し、各投与量における生存率から ED₅₀ を算出し、更に OLAY ら⁶⁾ の Fractional

Fig. 1 *In vitro* synergistic effects of TA-058 and aminoglycosides against various bacterial strains

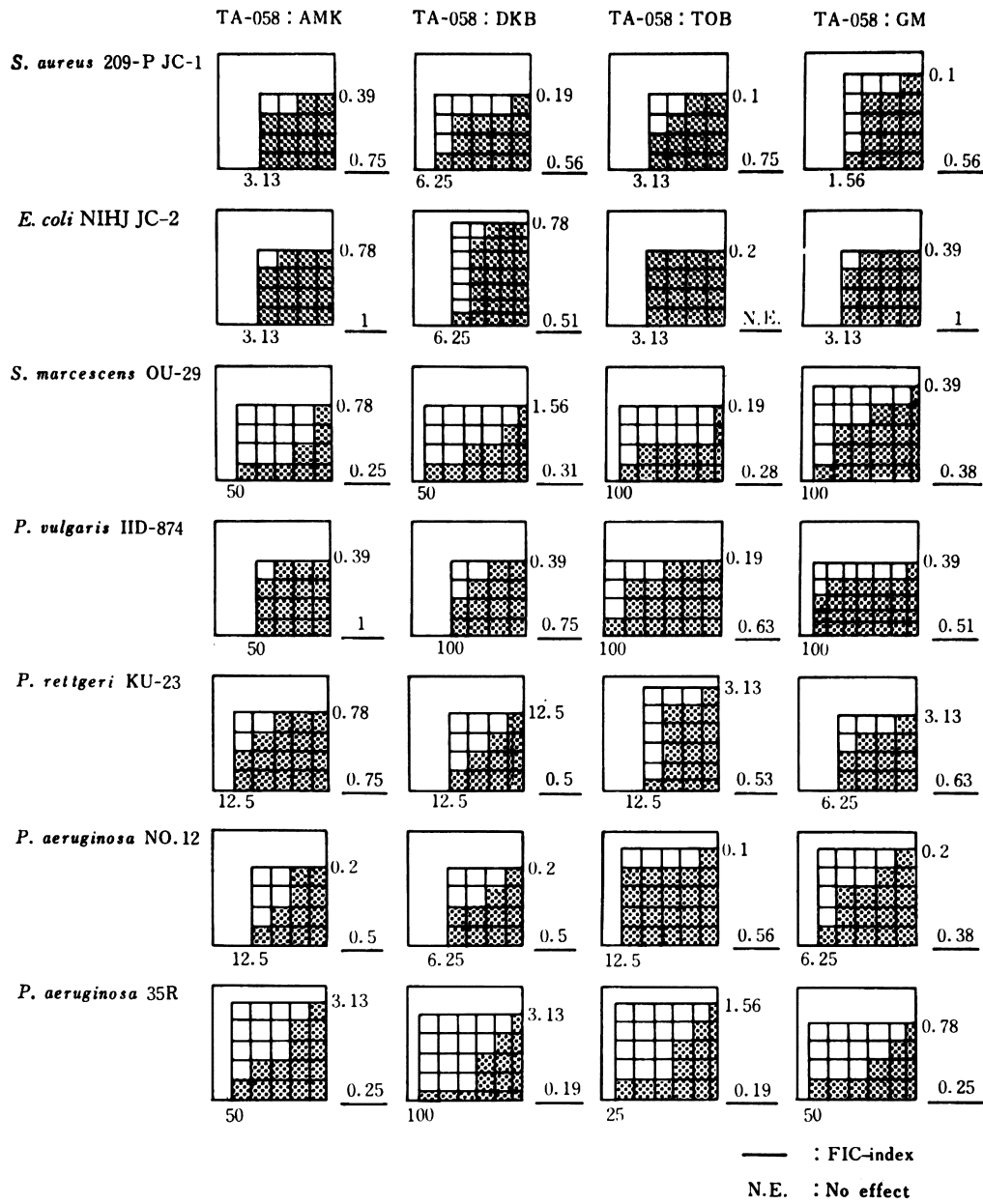


Table 1 *In vitro* synergistic effects of TA-058 and aminoglycosides against clinically isolated strains of *P. aeruginosa*

Test organism	Alone MIC(μ g/ml)		FIC-index	Combination MIC(μ g/ml)		FIC-index	Alone MIC(μ g/ml)		FIC-index	Combination MIC(μ g/ml)		FIC-index
	TA-058	AMK		TA-058	DKB		TA-058	TOB		TA-058	TOB	
<i>P. aeruginosa</i>												
4010	>100	6.25	—	>100	>100	—	>100	25	—	>100	50	—
4011	>100	6.25	—	>100	>100	—	>100	25	—	>100	50	—
4009	>100	3.13	—	>100	>100	—	>100	12.5	—	>100	25	—
4008	>100	0.78	—	>100	0.39	—	>100	0.2	—	>100	0.39	—
4018	100	1.56	0.5	100	0.78	0.38	100	0.39	0.38	100	0.78	0.27
4045	25	0.78	0.5	25	0.39	0.1	25	0.2	0.5	25	0.39	0.31
4040	12.5	0.78	0.63	12.5	0.78	0.2	12.5	0.39	0.38	12.5	0.39	0.14
4046	6.25	3.13	0.5	6.25	0.78	0.2	6.25	0.39	0.5	12.5	1.56	0.13
4019	3.13	1.56	0.5	1.56	0.78	0.39	6.25	0.39	0.75	6.25	0.78	0.25
4014	>100	6.25	<0.38	>100	1.56	0.39	>100	0.78	<0.5	>100	3.13	<0.38
4043	50	3.13	0.25	100	>100	25	100	12.5	<0.38	100	25	0.25
4033	100	3.13	0.31	100	1.56	0.2	100	0.78	0.25	100	1.56	0.31
4017	100	3.13	0.28	100	1.56	0.39	100	0.78	0.31	100	1.56	0.38
4048	100	3.13	0.28	100	1.56	0.39	100	0.39	0.31	100	3.13	0.28
4035	100	3.13	0.25	100	1.56	0.2	100	0.39	0.25	100	1.56	0.19
4015	50	3.13	0.38	100	3.13	0.78	100	0.78	0.27	100	1.56	0.38
4030	12.5	1.56	0.31	12.5	0.78	0.2	25	0.39	0.31	25	0.78	0.19
4031	12.5	1.56	0.38	12.5	0.78	0.2	25	0.39	0.38	25	0.78	0.16
4013	6.25	1.56	0.31	6.25	0.78	0.1	12.5	0.39	0.25	12.5	0.78	0.14
4020	6.25	1.56	0.31	6.25	0.78	0.1	12.5	0.39	0.25	12.5	0.78	0.1

Quotients-index (FQ-index) を求めた。

II 実験成績

1. 試験管内併用効果

各種菌株に対する TA-058 と AMK, DKB, TOB あるいは GM との併用効果は Fig. 1 に示す如くであった。*S. aureus* 209-P JC-1 および *E. coli* NIHJ JC-2 は TA-058 に 3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$, AGs に 0.1~0.78 $\mu\text{g/ml}$ と両薬剤に高い感受性を示したが、何れの AGs との組み合わせにおいても併用効果は弱く、FIC-index は 1.0~0.5 で、相加ないしは弱い相乗効果しか見られず、GM との組み合わせでは *E. coli* NIHJ JC-2 に全く併用効果を示さなかった。他方、*S. marcescens*, *Proteus* および *P. aeruginosa* に対しては、TA-058 あるいは AGs に対する感受性が必ずしも高くはないにもかかわらず、何れの AGs との組み合わせにおいても、大部分が FIC-index 0.5 以下の比較的強い相乗効果が認められ、特に *S. marcescens* OU-29, *P. aeruginosa* 35 R に対する相乗効果は著明であった。

P. aeruginosa の臨床分離株 20 株に対する TA-058 と AGs の併用効果を Table 1 に示した。TA-058 と AGs を併用した場合の FIC-index から、測定した濃度範囲では併用効果が全く認められなかった菌株と、FIC-index が 0.5 前後あるいはそれ以下の菌株に分かれた。AGs との併用効果が全く認められなかった *P. aeruginosa* 4010, 4011, 4009 および 4008 の 4 株は全て

TA-058 に耐性で、その内 1 株 (4008) は AGs に高い感受性を示し、他の 3 株は DKB に $>100 \mu\text{g/ml}$, AMK, TOB および GM に中等度の耐性であった。相乗効果が認められた菌株は大部分が AGs に感受性であり、TA-058 の MIC も 1.56~100 $\mu\text{g/ml}$ であった。これらの菌株のうち 4014 株は AGs にやや感受性、TA-058 には耐性を、4043 株は AMK に感受性で、DKB, TOB および GM に耐性を示し、併用効果が認められなかった菌株に類似の感受性パターンを示した。

2. 緑膿菌感染マウスに対する併用効果

P. aeruginosa 4013 および *P. aeruginosa* PI-67 感染マウスに対する TA-058 と AMK の併用効果は Table 2 に示す如くであった。*P. aeruginosa* 4013 感染に対する単剤投与時の ED_{50} は TA-058: $>1,600 \text{ mg/kg}$, AMK: 8.8 mg/kg であったが、AMK 1.56 mg/kg を併用すると、TA-058 の ED_{50} は 70.5 mg/kg に低下し、さらに AMK を 2 倍量の 3.13 mg/kg に増量すると、 ED_{50} は 21.6 mg/kg に低下し、顕著な併用効果が認められ、FQ-index はそれぞれ 0.22, 0.37 であり、比較的強い相乗効果が現われた。

P. aeruginosa PI-67 感染に対する単剤投与時の ED_{50} は TA-058: 583.6 mg/kg, AMK: 42.2 mg/kg であったが、AMK を 1.56 mg/kg あるいは 3.13 mg/kg 併用すると、TA-058 の ED_{50} はそれぞれ 108.6 mg/kg および 61.8 mg/kg と低下し、顕著な併用効果が認められ、それぞれの FQ-index は 0.22 および 0.18 を示

Table 2 Synergistic effect of TA-058 and AMK on experimental infection with *P. aeruginosa* in mice

Infected organisms	Drug*	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	ED_{50} (mg/kg)		Fractional Quotients -index**
			TA-058	AMK	
<i>P. aeruginosa</i> 4013 1.0 $\times 10^6$ CFU/mouse (60 LD ₅₀)	TA-058	6.25	$>1,600$	—	
	AMK	1.56	—	8.8	
	TA-058(+AMK1.56 mg/kg)***		70.5		0.22 (1.56/8.8+70.5/1,600)
	TA-058(+AMK3.13 mg/kg)***		21.6		0.37 (3.13/8.8+21.6/1,600)
<i>P. aeruginosa</i> PI-67 1.5 $\times 10^5$ CFU/mouse (90 LD ₅₀)	TA-058	3.13	583.6	—	
	AMK	3.13	—	42.2	
	TA-058(+AMK1.56 mg/kg)***		108.6		0.22 (1.56/42.2+108.6/583.6)
	TA-058(+AMK3.13 mg/kg)***		61.8		0.18 (3.13/42.2+61.8/583.6)

*: Administration: 1hr. after infection (TA-058: i. v., AMK: i. m.)

**: Fractional Quotients-index: (ED_{50} of first antibiotic in combination/ ED_{50} of first antibiotic alone)+(ED_{50} of second antibiotic in combination/ ED_{50} of second antibiotic alone)

***: No effect in this dose of AMK alone.

し、強い相乗効果があった。

要 考

抗生物質を併用する目的は、抗菌スペクトルの拡大、抗菌力の増強、耐性菌出現の防止、副作用の軽減などであるが、今日最も多用されているペニシリン系あるいはセファロスポリン系薬剤と AGs との併用も、しばしば難治性感染症の治療に、相乗効果を期待して用いられている。

TA-058 と AMK, DKB, TOB および GM との併用効果について検討した結果、*S. aureus* 209-P JC-1, *E. coli* NIHJ JC-2, *Proteus* に対しては相加ないしは弱い相乗効果しか認められなかったが、*S. marcescens* OU-29 および *P. aeruginosa* には明らかな相乗効果が見られた。TA-058 と組み合わせる AGs の違いによる併用効果の差は顕著でなかったが、菌種間には明らかな違いが認められ、佐々木⁷⁾らならびに JONE³⁾らと同様の成績であった。*P. aeruginosa* に対して CBPC, SBPC, PIPC 等のペニシリンと AGs との併用が相乗効果を示すことはすでに認められているが、同様に TA-058 と AMK, DKB, TOB あるいは GM との併用により臨床分離の *P. aeruginosa* 20 株の内 16 株 (80%) に相乗効果が見られた。FIC-index の値から相乗効果が最も強かったのは GM との併用であり、次いで TOB, DKB, AMK の順であったが、DKB と AMK の間にはほとんど差がなかった。

次に TA-058 および AGs に対する感受性と併用効果の関係を見ると、TA-058 に MIC : $>100 \mu\text{g/ml}$ の耐性を示した 5 株の内 4 株は併用効果が認められず、AGs の MIC とはあまり関係がないようであった。併用効果が認められた大部分の株は感受性値と関係なく、AGs 単剤の MIC と併用時の AGs の MIC の比がほぼ 1 : 4 ~ 8 あるいは 1 : 8 ~ 16 と一定しており、TA-058 が細胞壁障害作用をわずかでも有していれば、AGs の透過性を促進し、それぞれの菌株の感受性に応じて、相乗効果が高まることを示唆していると思われる。

緑膿菌感染マウスに対する併用効果は TA-058 にやや感受性が鈍く、AMK に感受性の *P. aeruginosa* 4013

および TA-058 に感受性で AMK にやや感受性の鈍い *P. aeruginosa* PI-67 について実施したが、いずれにおいても強い相乗効果が認められた。この *in vivo* の結果は *in vitro* の成績と良く一致しており、TA-058 と AMK の併用は臨床の場合においても十分効果が期待出来るものと思われた。

文 献

- 1) NICHOLS, A. C.: Bactericidal action of streptomycin-penicillin mixtures *in vitro*, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 69 : 477~478, 1948
- 2) NAKAZAWA, S.; T. NISHINO, M. OTSUKA, M. NAKAO & T. NOMURA: Bacteriological studies on the combined action of aminoglycoside antibiotics and synthetic penicillins against *Pseudomonas aeruginosa*. J. Antibiotics XXXII No. 12 : 989~991, 1974
- 3) JONE, R. N.; R. R. PACKER, A. L. BARRY, R. E. BADAL, C. THORNSBERY & C. BAKER: Piperacillin (T-1220), a new semisynthetic penicillin.: *In vitro* antimicrobial activity and synergy comparison with carbenicillin and gentamicin. J. Antibiotics XXX : 29~35, 1979
- 4) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981
- 5) 吉谷直太: SMX と TMP の併用効果と両者の混合比に関する考察。Chemotherapy 21 : 147~148, 1973
- 6) OLAY, T.; A. RODRIGUEZ, L. E. OLIVER, M. V. VICENTE & M. C. R. QUECEDO: Interaction of fosfomycin with other antimicrobial agents: *in vitro* and *in vivo* studies. J. Antimicrobial Chemotherapy 4 : 569~576, 1978
- 7) 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 渡辺 彰, 青沼清一, 今野 淳: Carbenicillin と Aminoglycoside 併用における基礎的、臨床的研究。Chemotherapy 28 : 825~835, 1980

THE COMBINATION EFFECT OF TA-058 AND AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS

HIROTSUGU YOSHIDA, KEIKO KOUYAMA, KATO TANI
and TOUTARO YAMAGUCHI

Microbiological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.

The combination effects of TA-058 and several aminoglycoside antibiotics (AGs) were examined and the results obtained are summarized as follows:

1. *S. aureus* 209-P JC-1 and *E. coli* NIHJ JC-2 were both sensitive to TA-058 and AGs tested alone but combinations of TA-058 with each AGs produced only an additive or a weak synergistic effect (Fig. 1).

2. *S. marcescens*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri* and *P. aeruginosa* were not always sensitive to TA-058 or AGs, however, combinations of the two drugs gave a moderate or a marked synergistic effect (Fig. 1).

3. The combinations of TA-058 and AGs were synergistic for 16 strains (80%) of 20 clinical isolates of *P. aeruginosa* (Table 1).

4. The synergistic effect against clinically isolated *P. aeruginosa* was most potent with combination of TA-058/gentamicin (GM) and followed by TA-058/tobramycin (TOB), TA-058/dibekacin (DKB) and TA-058/amikacin (AMK) (Table 1).

5. The combination of TA-058/AMK also exhibited a marked *in vivo* synergistic effect in an experimental infection of mice with *P. aeruginosa* (Table 2).