

マウス実験的局所感染症に対する TA-058 の効果

石井 信男・西野 武志・谷野 輝雄

京都薬科大学微生物学教室

E. coli KC-14 によるマウス実験的尿路感染症および *K. pneumoniae* DT-S によるマウス実験的呼吸器感染症に対する TA-058 の治療効果について、Piperacillin (PIPC) および Carbenicillin (CBPC) を比較薬として検討を行い、以下の成績を得た。

1) マウス実験的尿路感染症に対する TA-058 の治療効果は、PIPC や CBPC に比べて非常に優れていた。

2) マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果でも、TA-058 は PIPC や CBPC に比べて非常に優れていた。

3) マウス実験的呼吸器感染症に於いて、肺内生菌数の消長について検討を行ったところ、TA-058 の除菌効果は PIPC や CBPC に比べて優れていた。

4) マウスを用い、血中および腎や肺の組織内濃度について検討したところ、TA-058 は PIPC や CBPC に比べ血清中および組織内濃度が高く持続性が認められた。

はじめに

TA-058 は田辺製薬株式会社に開発された新しい半合成ペニシリン系抗生物質である。本剤はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムを有し、Piperacillin (PIPC) や Apalcillin (APPC) よりも優れた抗菌作用を示す事が特徴とされている^{1),2)}。また、TA-058 は *in vitro* で予想されるよりは *in vivo* において非常に優れた治療効果を示す^{2),3)}。そこで今回我々は TA-058 のマウス実験的尿路感染症に対する効果ならびに、マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果と感染マウスの肺内生菌数の消長を PIPC および Carbenicillin (CBPC) を対照薬として検討し、二、三の知見を得たので報告する。

実験材料および実験方法

1. 使用動物

尿路感染には Slc-ICR マウス雌、4 週齢、体重 17~19 g を用い、呼吸器感染および TA-058 の体内動態の実験には Slc-ddY マウス雄、4 週齢、体重 17~19 g を用いた。

2. 使用薬剤

TA-058, Piperacillin (PIPC), Carbenicillin (CBPC) のいずれも力価の明らかなものを使用した。

3. 使用菌株

尿路感染には *E. coli* KC-14, 呼吸器感染には *K. pneumoniae* DT-S (武田薬品工業中央研究所から分与を

受けた株)を使用した。両株とも Heart infusion agar (HIA: 日水) 斜面培地で約 20 時間培養した後、*E. coli* KC-14 は、Nutrient broth (NB: 日水) で、*K. pneumoniae* DT-S は生理食塩液にそれぞれ懸濁させ、光電比色計(日立)により所定の濃度の感染菌液を作製した。

4. 感染および薬剤投与の方法

1) 尿路感染症⁴⁾

前日から約 24 時間絶水させたマウスの腹部を押して強制的に排尿させ、pentobarbital (大日本製薬) 50 mg/kg (0.5 ml/mouse) を腹腔内に注射して麻酔し、先端を丸めた注射針を使用して菌液 (1×10^6 cells/ml) 0.1 ml を経尿道的に膀胱内に注入した後、触診により膀胱内に菌液が入っている事を確かめ、外尿道口を約 4 時間クリップで止めて排尿を阻止すると共にさらに絶水を続けて上行性尿路感染症を惹起させた。

薬剤は、感染 4 時間および 5 時間後の計 2 回皮下に投与した。薬剤投与終了後 48 時間目に左右両腎を摘出し生理食塩液を加えてホモジナイズし、ドリガルスキー寒天培地(日水)を用いて生菌数を測定した。マウス是一群 5 匹とし、腎内生菌数は腎 1 g 当りの平均値で示した。

2) 呼吸器感染症^{5),6)}

松本ら⁵⁾の考案した噴霧感染装置にマウスを入れ、約 4×10^9 cells/ml の菌液 10 ml を 1 kg/cm^2 の圧で約 40 分噴霧吸入させ、肺感染症を惹起させた。

薬剤は、感染 3 時間後より 1 時間ごとに連続 4 回皮下投与した。判定は、感染日から 5 日後までの生死を指標とし、LITCHFIELD WILCOXON 法⁷⁾により 1 回投与量で

ED₅₀ 値を示した。なおマウスは一群9匹とした。

5. 呼吸器感染における肺内生菌数の測定

前記2)と同様に感染を起させたマウスに、感染3時間後から1時間ごとに4回あるいは感染15時間後から1時間ごとに4回薬剤を皮下投与した。その後経時的に肺を摘出して肺重量の9倍の生理食塩液を加えてホモジナイズし、HIAを使用して生菌数を測定した。なおマウスは一群3匹とし、肺内生菌数はマウス1匹当りの平均で表わした。

6. 血清中および臓器内濃度の定量

各薬剤 50 mg/kg を皮下注射し、15分、30分、1、2および3時間後に3匹のマウスを放血殺して血清を採取し、肺および腎を摘出した。肺および腎は pH 7.0 1/16 M 磷酸緩衝液 (PBS) を4倍量加えてホモジナイズし、遠心後上清を定量した。また、いずれもマウス3匹をプールして用いた。

定量は *M. luteus* ATCC 9341 を検定菌とするディスク法で行った。なお検量線は血清についてはマウス血清で、肺および腎については PBS で求めた。

実験成績

1. 使用菌株の MIC

Table 1 Antibacterial activities (MIC : μ g/ml) on test organisms

Antibiotics	TA-058		PIPC		CBPC	
	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶
<i>E. coli</i> KC-14	1.56	0.78	1.56	0.78	3.13	1.56
<i>K. pneumoniae</i> DT-S	0.39	0.39	0.78	0.39	3.13	1.56

Table 2 Therapeutic effect of TA-058 in mice infected with *K. pneumoniae* DT-S by inhalation

Antibiotics	MIC (μ g/ml)	One dose (mg/kg)	Survival/Tested	ED ₅₀ (mg/kg)	Efficacy ratio Antibiotic/TA-058
TA-058	0.39	400	9/9	27.0 (12.3~59.4)	1
		100	7/9		
		25	4/9		
		6.3	3/9		
		1.6	2/9		
PIPC	0.78	1,200	4/9	>1,200	>44.4
		300	3/9		
		75	0/9		
CBPC	3.13	600	6/9	490 (314~764)	18.1
		150	0/9		

Administration : 3, 4, 5, 6 hours after inhalation

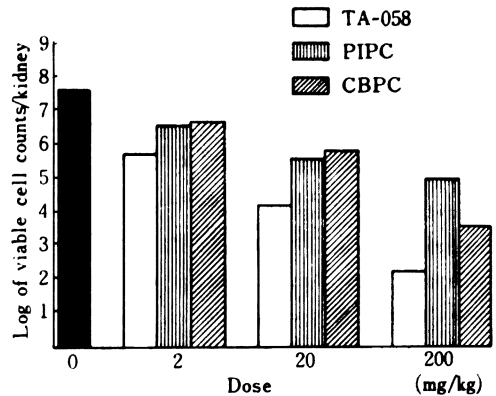
Observation : 5 days

Table 1 に日本化学療法学会感受性測定法⁸⁾に準拠して求めた使用菌株の MIC を示した。10⁸ cells/ml 接種の場合 TA-058 は PIPC と全く同様の MIC を示し、CBPC の抗菌力が劣っていた。

2. 尿路感染症に対する効果

成績を Fig. 1 に示した。すなわち *E. coli* KC-14 をマウス1匹当たり 1×10⁸ cells/ml 膀胱内に注入すると、対

Fig. 1 Protective effect on experimental urinary tract infection with *E. coli* KC-14 in mice



照群では48時間後には腎に 5×10^7 cells/kidney の菌が定着した。

一方、各薬剤の2, 20および200 mg/kgを感染4および5時間後に皮下注射すると、感染48時間後の腎内生菌数の増加は各薬剤とも用量依存的に抑制された。TA-058は各用量において増加抑制の度合いが、MICが同じである PIPC および約2倍の CBPC より大きく、用量の増加につれてその差が広がる傾向が認められ、TA-058は PIPC や CBPC に比べて優れた治療効果を示した。

3. 呼吸器感染症に対する治療効果

Table 2 に示す様に TA-058 の ED_{50} 値を1として

対照薬のそれと比較すると、MIC (Table 1) がほぼ同じである PIPC は >44.4 倍、MIC が2倍である CBPC は18.1倍となり、TA-058 が呼吸器感染症においても優れた効果を示す事が認められた。

4. 肺内生菌数の消長

感染3, 4, 5および6時間後に投薬した成績をFig. 2に、感染15, 16, 17および18時間後に投薬した成績をFig. 3に示した。

噴霧感染したマウスの肺には約 5×10^4 cells/lung の菌が定着し、対照では感染3時間後にやや減少するものの、以後増加を続け、感染48時間後には 4×10^8 cells/lung

Fig. 2 Bactericidal activity of TA-058, PIPC and CBPC after subcutaneous administration to mice infected with *K. pneumoniae* DT-S by inhalation

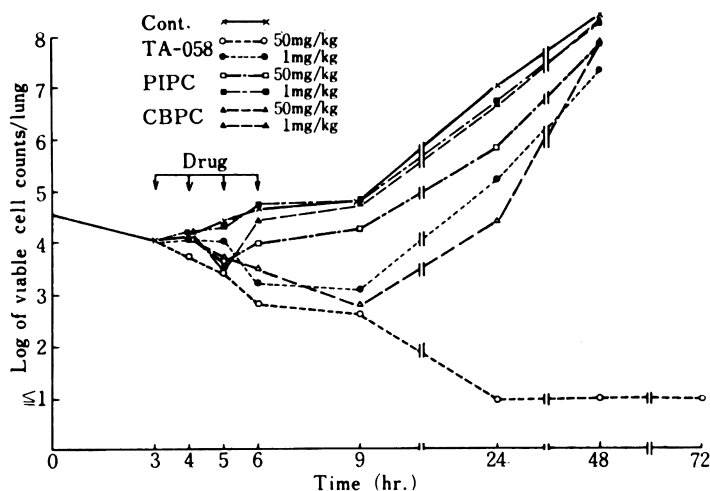
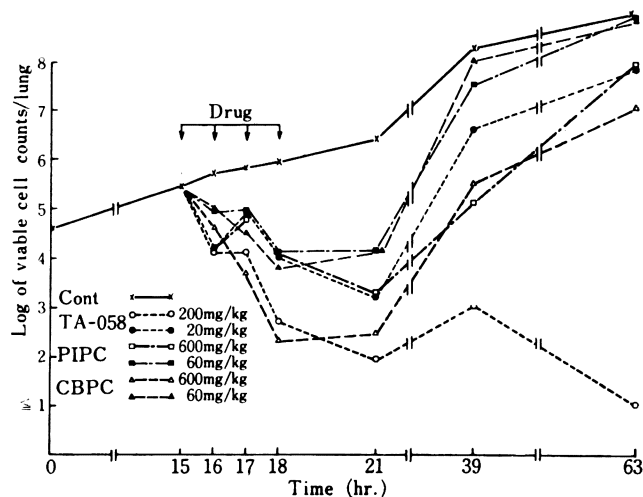


Fig. 3 Bactericidal activity of TA-058, PIPC and CBPC after subcutaneous administration to mice infected with *K. pneumoniae* DT-S by inhalation



に達した。感染3時間後から投薬した場合には Fig. 2 に示すように PIPC および CBPC の 50 mg/kg では感染9時間後まで菌数が減少し、その後増加した。

一方 TA-058 の 50 mg/kg では菌が減少の一途を辿り、感染24時間以降は ≤ 10 cells/lung になったが CBPC の 50 mg/kg では TA-058 の 1 mg/kg とほぼ同様の経過を辿り、PIPC の 50 mg/kg では、TA-058 の 1 mg/kg と対照の中間を推移した。

感染15時間後から投薬した場合は Fig. 3 に示すように、各投薬群とも投薬から6時間後まで菌の減少が認められ TA-058 の 200 mg/kg を除いてその後再び増加した。菌の減少が著明な順は、TA-058 200 mg/kg > CBPC 600 mg/kg > TA-058 20 mg/kg $\Rightarrow$ PIPC 600 mg/kg > CBPC 20 mg/kg $\Rightarrow$ PIPC 20 mg/kg の如くであ

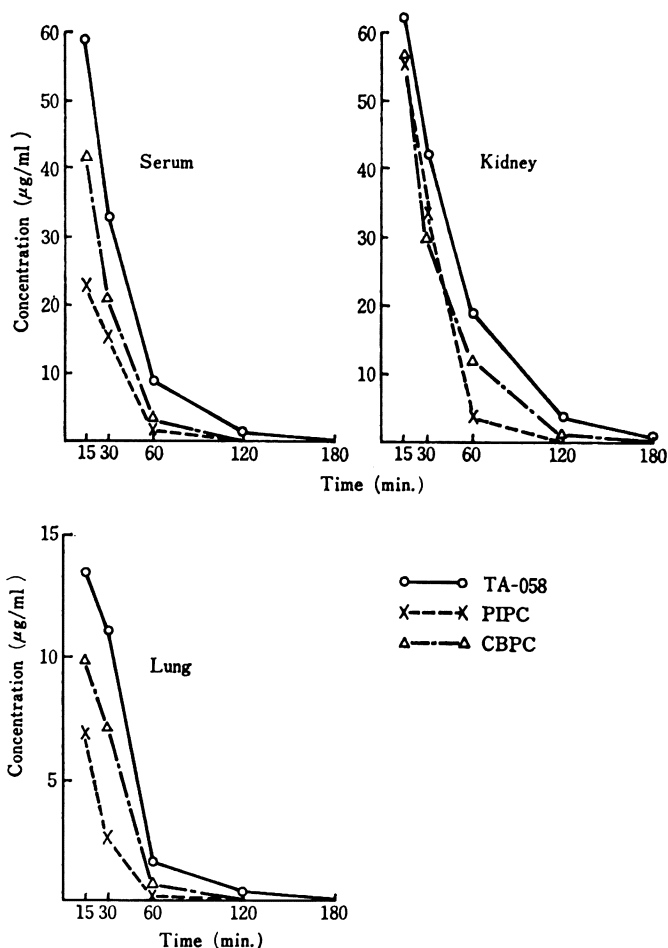
った。

5. 血清中および臓器内濃度の推移

上述の如く、実験的尿路感染症および実験的呼吸器感染症に対して TA-058 が対照2剤に比べて明らかにすぐれた効果を示したので、感染部位である肺および腎ならびに血清中の薬剤濃度を経時的に測定したところ、Fig. 4 に示す如く TA-058 の投与後15分値の血清中濃度は CBPC の約1.4倍および PIPC の約2.6倍と高かった。肺内濃度でも CBPC の約1.4倍、PIPC の約2倍と移行が良く、さらに CBPC および PIPC よりも持続性が認められた。

また、腎における15分値は TA-058 と他の2剤との間にあまり差がなかったが、60分値では TA-058 の濃度は、CBPC の約1.5倍および PIPC の約4倍と持続

Fig. 4 Tissue levels of TA-058, PIPC and CBPC
mice : s.c. 50 mg/kg



性が認められた。

総括ならびに考察

新しく開発された半合成ペニシリン TA-058 の *E. coli* KC-14 によるマウス実験的尿路感染症に対する効果および *K. pneumoniae* DT-S によるマウス実験的肺感染症に対する効果を PIPC および CBPC と比較したところ、MIC はほとんど差がないにも拘らず、TA-058 は両対照薬剤にくらべて明らかに優れた効果を示した。これは血清、肺および腎における薬剤濃度の推移の差異、すなわち TA-058 が両対照薬剤より高い濃度を示し、かつ持続時間も長い事がその理由の一部と考えられるが、前報で報告したように TA-058 の殺菌作用が強い事なども係わりがあるのではないかと考えている。

また、TA-058 の臓器内移行が良いという点から他の局所感染モデルにおいても優れた効果が得られると考えられるので、今後検討する予定である。

文 献

- 1) 第30回日本化学療法学会総会、新薬シンポジウムⅢ、TA-058、1982(東京)
- 2) 西野武志、石井信男、谷野輝男：半合成ペニシリン系抗生物質 TA-058 に関する細菌学的評価。

Chemotherapy 32 (S-2) : 47~66, 1984

- 3) 谷 佳都、早坂治男、石井信男、春日 修、山口 東太郎、大島 慧：TA-058 の *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 32(S-2) : 90~98, 1984
- 4) 松浦真三、三和秀明、東山伊佐夫、島岡 登：Cefaclor の *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 27(S-7) : 98~104, 1979
- 5) 松本慶蔵、宇塚良夫、永武 毅、矢戸春美、鈴木 寛、野口行雄、玉置公俊、羅 士易、井手政利：噴霧吸入感染によるグラム陰性桿菌性肺炎モデル。日本胸部疾患学会雑誌16 : 581~587, 1978
- 6) NISHI, T. & K. TSUCHIYA : Experimental respiratory tract infection with *K. pneumoniae* DT-S in mice : Chemotherapy with Kanamycin. Antimicrob. Agents & Chemother. 17 : 494~504, 1980
- 7) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96 : 99~113, 1949
- 8) 日本化学療法学会 MIC 測定委員会：最小発育阻止濃度(MIC)測定法改定について。Chemotherapy 22 : 1126~1128, 1974

THERAPEUTIC EFFECT OF TA-058 ON LOCAL EXPERIMENTAL INFECTIONS IN MICE

NOBUO ISHII, TAKESHI NISHINO and TERUO TANINO

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The therapeutic effects of TA-058 against local experimental infections in mice were compared with those of piperacillin (PIPC) and carbenicillin (CBPC). The following results were obtained.

1. TA-058 was more effective than PIPC and CBPC against experimental urinary tract infections induced by *E. coli* KC-14 in mice.
2. Against experimental pneumonic infection induced by inhalation of *K. pneumoniae* DT-S in mice, TA-058 excelled PIPC and CBPC in the therapeutic efficacy.
3. With subcutaneous treatment of infected mice, TA-058 decreased viable bacterial cells in the infectious lungs more rapidly than PIPC and CBPC.
4. In subcutaneously administered mice, TA-058 gave higher drug concentrations in the blood, kidney and lung than PIPC and CBPC. These higher concentrations of TA-058 maintained longer than those of PIPC and CBPC.