

MT-141 の細菌学的検討

岡本了一¹・井上松久²・伊予部志津子¹・三橋進^{1,2}¹ 群馬大学医学部微生物学教室² 群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設

MT-141 の *in vitro* および *in vivo* での抗菌作用について検討した結果、以下のような成績を得た。

- 1) MT-141 は、グラム陽性菌および *P. aeruginosa* をのぞくグラム陰性菌に対し幅広い抗菌力を有していた。MT-141 のグラム陰性臨床分離菌に対する抗菌力は、Cefotetan (CTT) や Latomoxef (LMOX) よりやや劣るものの Cefmetazole (CMZ) や Cefoxitin (CFX) よりも優れていた。特に、嫌気性菌の *B. fragilis* に対して、MT-141 は CTT や LMOX よりも強い抗菌力を示した。しかし、MT-141 のグラム陽性菌に対する抗菌力は CMZ や CFX に比べやや劣る。
- 2) MIC と MBC との比較により、MT-141 は強い殺菌作用を有していた。
- 3) β -lactamase に対する安定性について検討した結果、MT-141 は各種の β -lactamase に安定であった。さらに、多くの β -lactamase に対し強い阻害作用を示した。
- 4) マウス実験感染症に対する MT-141 の治療効果は、CTT, LMOX と同等、CMZ, CFX よりは優れていた。MT-141 の *in vivo* 感染防御がその MIC から予想される以上の良好な成績を示し、本剤の *in vivo* における優れた抗菌活性について、更に今後の検討を要する興味ある結果と考えられた。

MT-141 は、明治製薬株式会社で開発された広域スペクトラムを有する新しい cephamycin 系抗生物質である^{1,2)}。

今回、臨床分離株に対する抗菌力、 β -lactamase に対する安定性およびマウス感染治療効果について検討を行なったので報告する。対照薬剤として CTT, LMOX, CMZ, CFX を用いた。

I. 実験材料および方法

1) 使用菌株

抗菌スペクトラム測定には、日本化学療法学会にて推奨された MIC 測定用標準菌株を使用した³⁾。臨床分離株の感受性測定には、当薬剤耐性菌実験施設の保存株を用いた。

2) 使用薬剤

MT-141 (明治製薬), CTT (山之内製薬), LMOX (塩野義製薬), CMZ (三共), CFX (第一製薬), Cefaloridine (CER, 鳥居薬品), Cephalothin (CET, 塩野義製薬), Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品), Cefuroxime (CXM, 新日本実業), Penicillin G (PCG, 明治製薬), Ampicillin (ABPC, 富山化学), Carbenicillin (CBPC, 藤沢薬品), Cloxacillin (MCIPC, 藤沢薬品) を用いた。

3) 使用培地

臨床分離株に対する感受性測定には、主として Mueller

Hinton (MH) 寒天培地 (ニッスイ) を用いた。また菌種によっては、brain heart infusion 寒天培地 (栄研), Proteose No. 3 寒天培地 (Difco), GAM 寒天培地 (ニッスイ) も使用した。最小殺菌濃度 (minimum bactericidal concentration, MBC) の測定には、感受性測定用ブイヨン培地 (ニッスイ) を用いた。その他に、BHI 液体培地 (栄研), trypticase soy 液体培地 (BBL), GAM 液体培地 (ニッスイ) を用いた。

4) 感受性測定

最小発育阻止濃度 (MIC) は、日本化学療法学会標準法⁴⁾に従い寒天平板希釈法により求めた。すなわち被検菌を感受性測定用ブイヨン培地で 37°C, 18 時間培養した菌液 ($10^8 \sim 10^9 \text{ cells/ml}$) を 10^6 cells/ml になるよう希釈し、その約 5 μl をミクロプランター (佐久間製作所) を用いて薬剤含有寒天平板に接種した。その後、37°C, 18 時間培養し、被検菌の発育が認められない最小濃度をもって MIC とした。なお、*S. pyogenes* は BHI 液体培地を前培養液とし、感受性測定には BHI 寒天培地を用いた。*H. influenzae* は 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の hemin と 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 添加 BHI 液体培地を前培養液とし hemin と NAD 添加 BHI 寒天培地にて感受性測定を行なった。*N. gonorrhoeae* の場合は、1% hemoglobin (Difco), 1% defined

supplement 添加 Proteose No. 3 寒天培地で培養後 trypicase soy 液に菌を浮遊させ 10^6 cells/ml とし薬剤含有同寒天培地に接種して MIC を求めた。*B. fragilis* は、GAM 液体培地を前培養液とし、感受性測定には GAM 寒天培地を用いた。

5) 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

感受性測定用ブイヨン培地にて 37°C, 18 時間培養した菌液を希釈し、薬剤添加同培地に最終細菌濃度が 10^4 cells/ml となるように接種した。37°C, 18 時間培養後 MIC を求め、これら薬剤を含有する培地からミクロプレンターにて薬剤無添加 MH 寒天培地に接種し、37°C, 18 時間培養後、菌の全く認められない最小薬剤濃度を MBC とした。

6) β -lactamase に対する安定性

β -lactamase は当教室で予め精製され、-80°C にて保存されている酵素液を用いた^{5~16)}。

β -lactamase 活性は spectrophotometric assay^{17,18)}により測定した。反応は 0.05M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を用い、30°C で行なった。 K_m , V_{max} , K_t は LINEWEAVER-BURK の plot により求めた。

7) マウス感染治療実験

ICR 系雄マウス、4 適齢、体重 20 ± 1 g を用いた。試験菌として *E. coli* ML 4707, *K. pneumoniae* GN 6445 を用い、腹腔内感染後 1 時間目に薬剤を投与した。感染 7 日後の生存率から ED₅₀ 値を LITCHFIELD-WILCOXON 法¹⁹⁾により算出した。

II. 実験結果

1) 標準菌株に対する抗菌スペクトラム

グラム陽性菌、グラム陰性菌に対する MT-141 の抗菌スペクトラムを CTT, LMOX, CMZ, CFX と比較検討した結果を Table 1 に示した。MT-141 はグラム陽性菌、グラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトラムを有していた。特に *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp., *S. marcescens*, *Proteus* spp. に 0.20~0.78 μ g/ml の MIC を示し、CTT, LMOX と CMZ, CFX の中間の抗菌力を示した。

2) 臨床分離株に対する感受性

臨床分離菌 20 菌種 1,448 株に対する MT-141 の感受性を検討した。結果は累積百分率として Fig. 1~20 に示し、また Table 2 には、菌種ごとに 50%, 90% の株の発育を阻止する薬剤濃度 MIC₅₀, MIC₉₀ を示した。

S. aureus : MT-141 の MIC₉₀ は 12.5 μ g/ml であ

Table 1 Antibacterial spectrum

Organism	MIC (μ g/ml)				
	MT-141	CTT	LMOX	CMZ	CFX
<i>S. aureus</i> FAD 209P JC-1	12.5	6.25	6.25	0.39	3.13
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	6.25	6.25	3.13	0.78	6.25
<i>S. aureus</i> MS 353	3.13	3.13	1.56	0.39	1.56
<i>S. pyogenes</i> Cook	3.13	1.56	0.78	0.78	0.39
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	3.13	3.13	0.78	0.05	0.39
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.78	0.78	1.56	0.39	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.39	0.10	0.10	0.78	3.13
<i>E. coli</i> K12 C600	0.20	0.10	0.05	0.39	1.56
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.39	0.05	0.05	0.20	0.78
<i>S. typhimurium</i> IID 971	0.39	0.05	0.05	0.20	1.56
<i>S. typhi</i> 901	0.20	0.025	0.025	0.20	0.78
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.78	0.10	0.05	0.39	1.56
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	0.39	0.05	0.05	0.20	1.56
<i>S. enteritidis</i> G14	0.39	0.025	0.05	0.20	1.56
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	0.78	0.05	0.10	1.56	6.25
<i>P. morganii</i> IFO 3848	0.39	0.10	0.05	1.56	3.13
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.78	0.10	0.10	1.56	6.25
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.39	0.20	0.20	0.78	3.13
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.39	0.20	0.20	1.56	3.13
<i>P. rettgeri</i> IFO 3850	0.39	0.05	0.025	0.39	1.56
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	>100	25	0.20	>100	>100
<i>E. cloacae</i> 963	100	1.56	0.05	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	50	3.13	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	>100	50	6.25	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	>100	>100	6.25	>100	>100

10^6 cells/ml.

Table 2 Antibacterial activity of MT-141 against clinical isolates of bacteria

Organism	No. of strains	MIC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)*					MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)*				
		MT-141	CTT	LMOX	CMZ	CFX	MT-141	CTT	LMOX	CMZ	CFX
<i>S. aureus</i>	99	12.5	6.25	3.13	0.78	3.13	12.5	6.25	6.25	1.56	3.13
<i>S. epidermidis</i>	54	50	25	25	6.25	6.25	100	>100	100	25	50
<i>S. pyogenes</i>	73	3.13	0.78	0.39	—	—	3.13	0.78	0.39	—	—
<i>E. coli</i>	95	0.39	0.10	0.10	0.78	3.13	0.39	0.20	0.10	1.56	6.25
<i>K. pneumoniae</i>	84	0.39	0.05	0.05	0.39	1.56	0.39	0.10	0.10	1.56	3.13
<i>K. oxytoca</i>	50	0.39	0.05	0.05	0.39	1.56	0.39	0.10	0.05	0.39	3.13
<i>P. mirabilis</i>	47	0.39	0.20	0.10	1.56	3.13	0.39	0.20	0.10	3.13	3.13
<i>P. vulgaris</i>	81	0.39	0.20	0.20	3.13	3.13	0.78	0.39	0.20	3.13	6.25
<i>P. morganii</i>	54	1.56	1.56	0.10	6.25	12.5	3.13	3.13	0.10	12.5	12.5
<i>P. rettgeri</i>	79	1.56	0.20	0.05	3.13	6.25	25	6.25	0.10	50	50
<i>P. inconstans</i>	53	0.78	0.10	0.05	1.56	1.56	1.56	0.39	0.10	3.13	3.13
<i>S. marcescens</i>	100	6.25	1.56	0.39	12.5	25	>100	50	12.5	>100	>100
<i>E. cloacae</i>	100	>100	25	0.10	100	100	>100	100	3.13	>100	>100
<i>C. freundii</i>	100	50	0.39	≤0.05	50	100	>100	100	3.13	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i>	100	>100	>100	12.5	>100	>100	>100	>100	25	>100	>100
<i>P. cepacia</i>	59	12.5	6.25	6.25	—	—	>100	25	25	—	—
<i>A. calcoaceticus</i> subsp. <i>anitratius</i>	102	25	100	25	—	—	25	>100	100	—	—
<i>H. influenzae</i>	27	0.39	0.20	0.05	0.39	1.56	0.78	0.78	0.10	0.78	6.25
<i>N. gonorrhoeae</i>	52	0.78	—	0.78	1.56	—	1.56	—	3.13	12.5	—
<i>B. fragilis</i>	39	1.56	3.13	3.13	—	—	3.13	25	12.5	—	—

* MIC₅₀ and MIC₉₀ values were represented as the concentration at which more than 50% and 90% of the isolates were inhibited, respectively.

り、5剤中では CMZ が最も優れた抗菌力を示した (Fig. 1)。

S. epidermidis : MT-141 の MIC₉₀ は 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、*S. aureus* と同様に CMZ の MIC₉₀ は 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と最も低値を示した。 (Fig. 2)。

S. pyogenes : MT-141 の MIC₉₀ は 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、用いた3剤の中では LMOX が最も良好であった (Fig. 3)。

E. coli : MT-141 の MIC₉₀ は 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、CMZ, CFX に比べると強い抗菌力を示した。 CFX が全く抗菌力を示さない 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で MT-141 は約 90% の菌の発育を阻止した。しかし、その抗菌力は CTT, LMOX よりは劣っていた (Fig. 4)。

K. pneumoniae : MT-141 の MIC₉₀ は 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、 CMZ, CFX に比べ強い抗菌力を示し、 CTT, LMOX より抗菌力は劣っていた (Fig. 5)。

K. oxytoca : MT-141 の MIC₉₀ は 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で CFX より強い抗菌力を示し、 CMZ と同等、 CTT, LMOX よりは劣る抗菌力であった (Fig. 6)。

P. mirabilis : MT-141 の MIC₉₀ は 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。 MT-141 は、 CMZ, CFX に比べ強い抗菌力を示し、 CMZ, CFX が全く抗菌力を示さない 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で約 90% の菌の発育を阻止したが、 CTT, LMOX に

Fig. 1 Antibacterial activity of MT-141

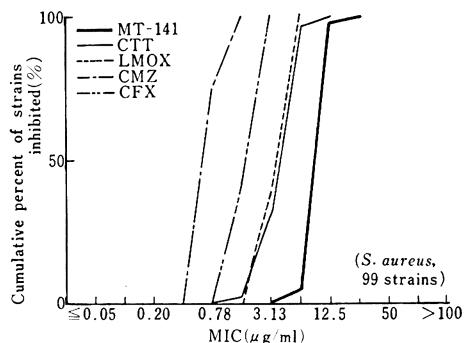


Fig. 2 Antibacterial activity of MT-141

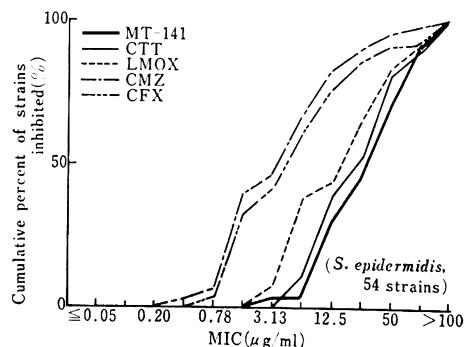


Fig. 3 Antibacterial activity of MT-141

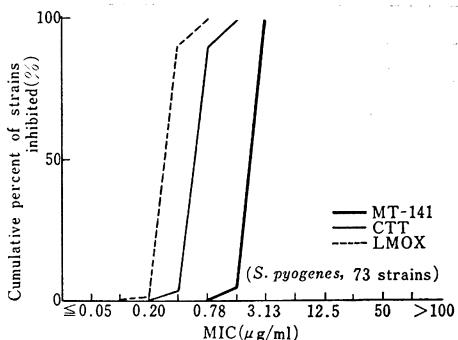


Fig. 4 Antibacterial activity of MT-141

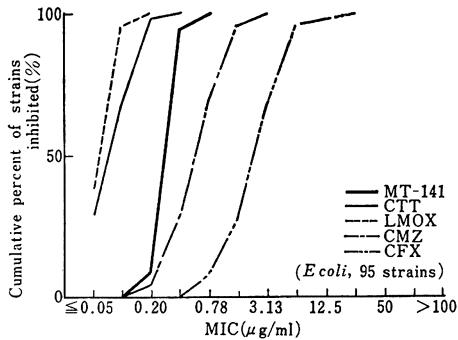
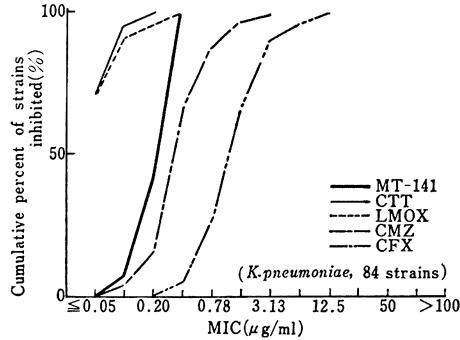


Fig. 5 Antibacterial activity of MT-141



比べると抗菌力はやや劣っていた (Fig. 7)。

P. vulgaris : MT-141 の MIC_{90} は $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ で CMZ, CFX に比べかなり強い抗菌力を示し、特に、CFX が全く抗菌力を示さない $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ で 100% の菌の発育を阻止した。しかしその抗菌力は CTT, LMOX に比べるとやや劣っていた (Fig. 8)。

P. morganii : MT-141 の MIC_{90} は $3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、CMZ, CFX に比べて強く、CTT と同等の抗菌力を示したが、LMOX より抗菌力は劣っていた (Fig. 9)。

P. rettgeri : MT-141 の MIC_{50} , MIC_{90} はそれぞれ

Fig. 6 Antibacterial activity of MT-141

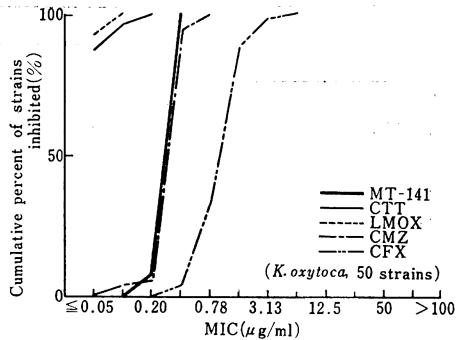


Fig. 7 Antibacterial activity of MT-141

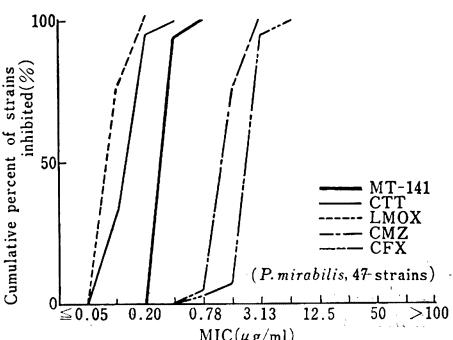
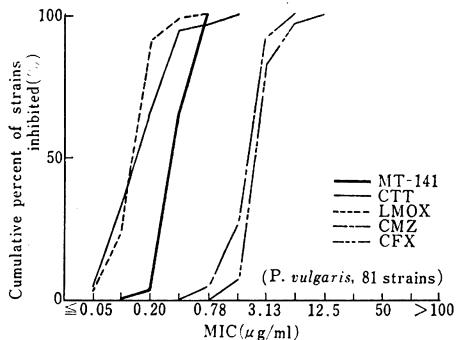


Fig. 8 Antibacterial activity of MT-141



$1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$, $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ と *P. vulgaris*, *P. morganii* よりは幅の広い感受性分布となった。その抗菌力は CMZ, CFX よりやや優れ、CTT, LMOX より劣っていた (Fig. 10)。

P. inconstans : MT-141 の MIC_{90} は $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、CMZ, CFX より強い抗菌力を示し、CTT, LMOX より抗菌力は劣っていた (Fig. 11)。

S. marcescens : MT-141 の MIC_{50} , MIC_{90} はそれぞれ $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$, $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上と幅広い感受性分布を示した。その抗菌力は、CMZ, CFX よりやや強いが、

Fig. 9 Antibacterial activity of MT-141

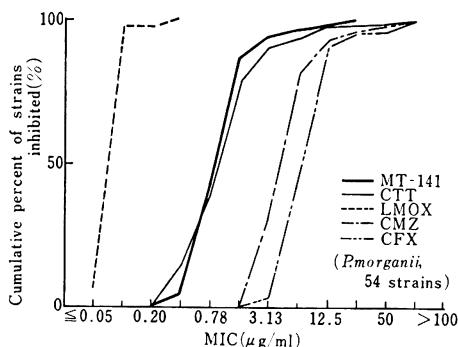


Fig. 10 Antibacterial activity of MT-141

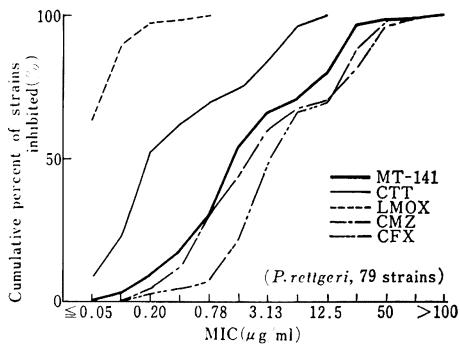
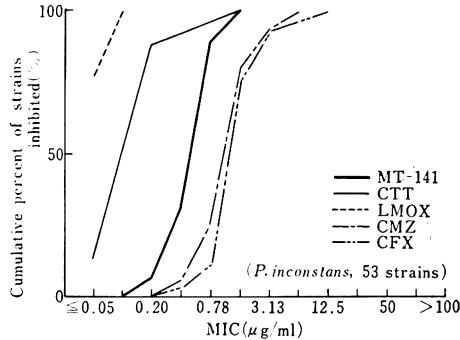


Fig. 11 Antibacterial activity of MT-141



CTT, LMOX より劣っていた (Fig. 12)。

E. cloacae : MT-141 の MIC_{50} , MIC_{90} は共に 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上となり、多くの菌株が耐性側に分布していた。CMZ, CFX にも同様の傾向がみられた (Fig. 13)。

C. freundii : MT-141 の MIC_{50} , MIC_{90} はそれぞれ 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であり、*E. cloacae* と同様に耐性側に分布していた。CMZ, CFX も同様の傾向がみられた (Fig. 14)。

P. aeruginosa : MT-141 では菌株の 95% 以上が 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上に分布した。CTT, CMZ, CFX も MT-141

Fig. 12 Antibacterial activity of MT-141

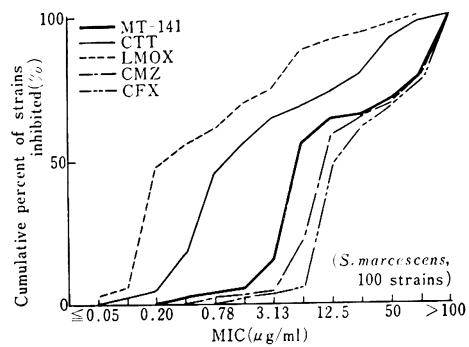


Fig. 13 Antibacterial activity of MT-141

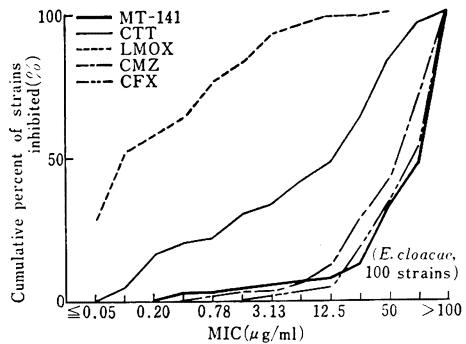
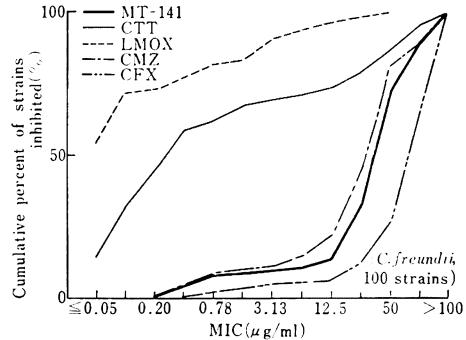


Fig. 14 Antibacterial activity of MT-141



と同様の分布を示し、共に弱い抗菌作用を示した (Fig. 15)。

P. cepacia : MT-141 の MIC_{50} , MIC_{90} はそれぞれ 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった。その抗菌力は CTT, LMOX に比べ劣っていた (Fig. 16)。

A. calcoaceticus : MT-141 の MIC_{90} は 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、LMOX と同等、CTT よりは強い抗菌力を示した (Fig. 17)。

H. influenzae : MT-141 の MIC_{90} は 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、その抗菌力は、CMZ と同等、CFX よりは強いが

Fig. 15 Antibacterial activity of MT-141

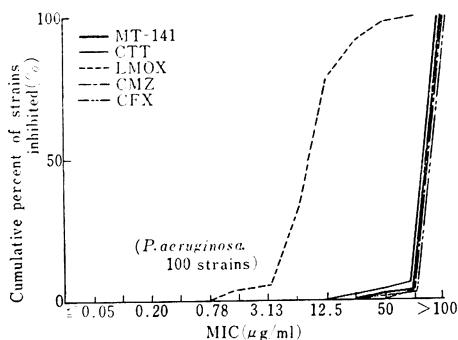


Fig. 16 Antibacterial activity of MT-141

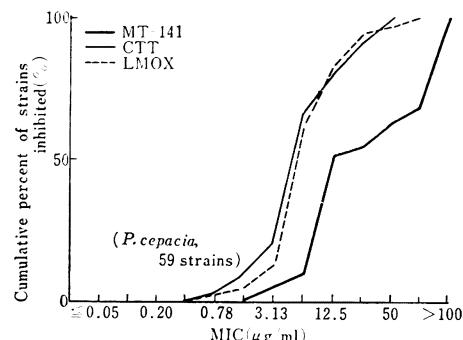
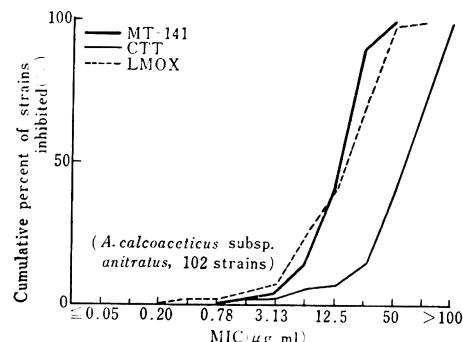


Fig. 17 Antibacterial activity of MT-141



CTT に比べやや劣っていた (Fig. 18)。

N. gonorrhoeae : MT-141 の MIC₉₀ は 1.56 μg/ml であり、LMOX と同等、CMZ よりは強い抗菌力を示した (Fig. 19)。

B. fragilis : MT-141 の MIC₉₀ は 3.13 μg/ml であり、CTT の 25 μg/ml、LMOX の 12.5 μg/ml に比べて最も優れた抗菌力を示した (Fig. 20)。

以上により MT-141 はグラム陰性菌に対して、CTT、LMOX と CMZ、CFX の中間の抗菌力を示した。また、嫌気性菌 *B. fragilis* に対しては CTT、LMOX よりも

Fig. 18 Antibacterial activity of MT-141

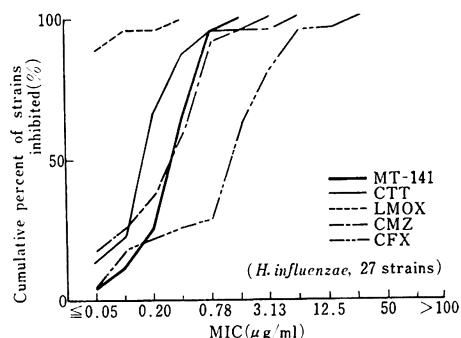


Fig. 19 Antibacterial activity of MT-141

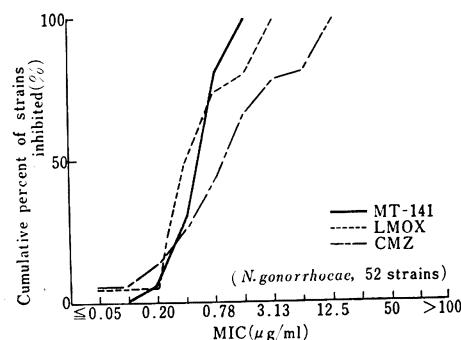
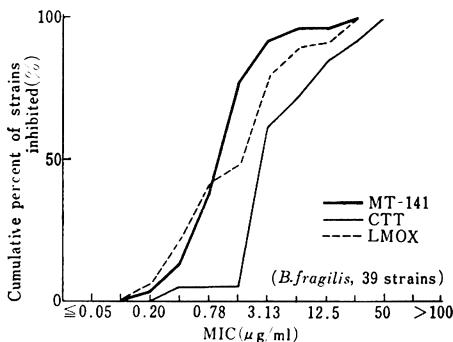


Fig. 20 Antibacterial activity of MT-141

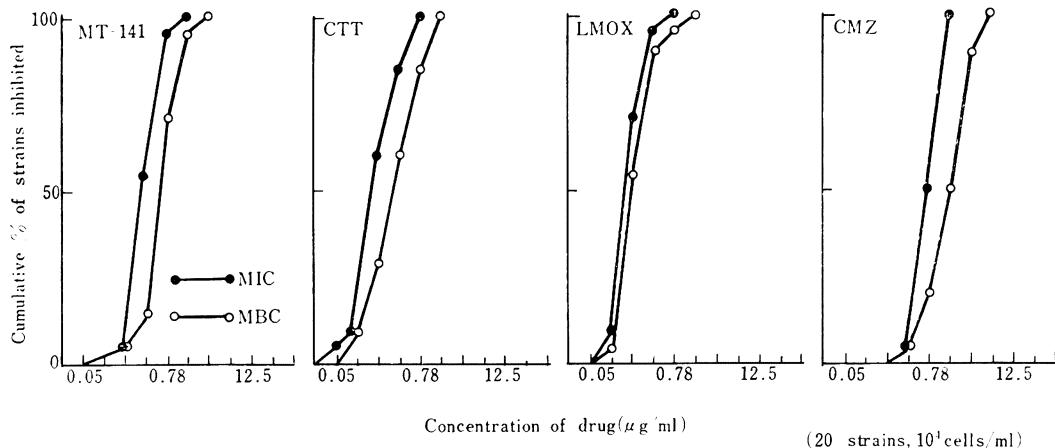
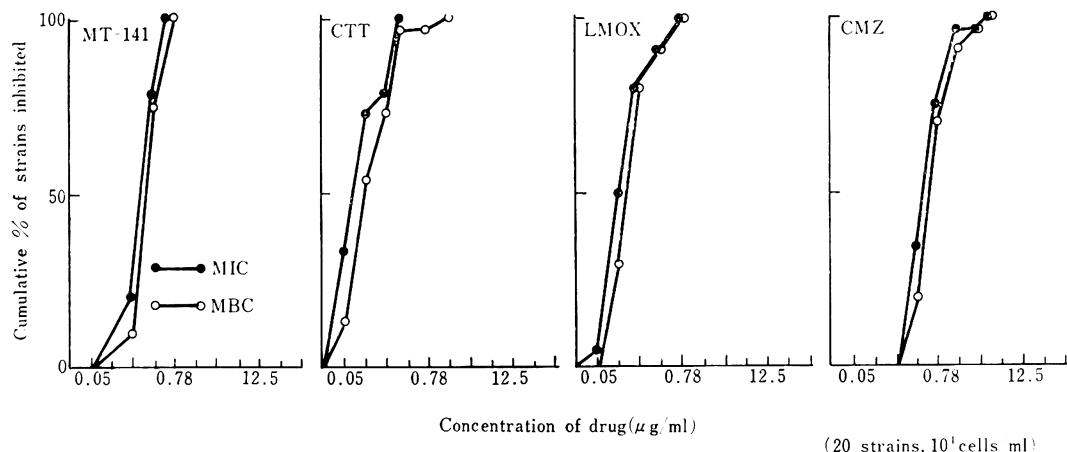


優れた抗菌力を有していた。

3) 殺菌効果

臨床分離の *E. coli* (20 株), *K. pneumoniae* (20 株) を用いて、MT-141 の MIC と MBC を比較検討した (Fig. 21~22)。対照薬剤として CTT, LMOX, CMZ を用いた。

E. coli では、MT-141, CTT, CMZ で MBC が MIC より 1 管程度高い値を示したが、*K. pneumoniae* では、MT-141, CTT, LMOX, CMZ 共に MBC と MIC がほぼ一致していた。したがって MT-141 は対照薬剤同

Fig. 21 Bactericidal activity of MT-141 against *E. coli*Fig. 22 Bactericidal activity of MT-141 against *K. pneumoniae*

様に強い殺菌作用を有することが示された。

4) β -lactamaseに対する安定性

グラム陰性菌の生産する各種 β -lactamaseに対するMT-141の安定性を8種のcephalosporin剤、4種類のpenicillin剤を対照として比較検討した。 β -lactamaseに対する安定性を V_{max} 値を用いた相対加水分解速度で検討した結果をTable 3に示した。MT-141は *E. coli*⁵⁾, *E. cloacae*⁶⁾, *C. freundii*⁷⁾, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*⁸⁾, *P. rettgeri*⁹⁾, *P. morganii*¹⁰⁾由来の典型的なcephalosporinase (CSase), いわゆる cefuroximase (CXase)と呼ばれている *P. vulgaris*¹¹⁾, *P. cepacia*¹²⁾, *B. fragilis*¹³⁾由来のCSaseおよびR因子支配のpenicillinase (PCase) I, II, III^{14~17)}により加水分解を受けず、きわめて安定であることが確認された。

5) β -lactamase阻害活性

各種 β -lactamaseに対するMT-141の阻害活性を

CTT, CMZ, CFX, LMOXのそれと比較検討しTable 4に示した。CSaseの場合は CET, PCaseの場合にはCERを基質とした。

MT-141は *P. morganii* GN 5407と *P. cepacia* GN 11164をのぞく8菌種の産生するCSaseに対して、CTT, CMZとほぼ同程度の K_i 値で酵素活性を阻害したが、*P. morganii* GN 5407の産生するCSaseに対しては $2.25\mu\text{M}$ と CTT, CMZ, CFX, LMOXよりも大きい K_i 値を示した。*P. cepacia* GN 11164の産生するCXaseとPCase I型は、MT-141によって CTT, CMZ, CFX, LMOXと同様に阻害されなかった。PCase II, III型は MT-141によって阻害され、その K_i 値は CMZと同程度であった。

6) マウス感染治療実験

E. coli ML 4707, *K. pneumoniae* GN 6445についてマウス感染症に対する治療効果を検討した (Table 5)。

Table 3 Stability of MT-141 to β -lactamases

β -lactamase source	Substrate profile (V_{max})												
	CER	MT-141	CTT	CMZ	CFX	LMOX	CET	CEZ	CXM	PCG	ABPC	MCIPC	CBPC
<i>E. coli</i> GN5482	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	269	311	< 1	63	< 1	< 1	< 1
<i>E. cloacae</i> GN7471	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	189	100	< 1	12	< 1	< 1	< 1
<i>C. freundii</i> GN7391	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	125	116	< 1	3	< 1	< 1	< 1
<i>S. marcescens</i> GN10857	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100	34	< 1	3	< 1	< 1	< 1
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	139	222	< 1	29	< 1	< 1	< 1
<i>P. rettgeri</i> GN4430	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	85	99	< 1	3	< 1	< 1	< 1
<i>P. morganii</i> GN5407	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	46	20	< 1	16	< 1	< 1	< 1
<i>P. vulgaris</i> GN7919	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	173	387	1140	20	12	—	—
<i>P. cepacia</i> GN11164	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	323	156	239	161	323	< 1	35
<i>B. fragilis</i> GN11477	100	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	81	60	50	3	< 1	< 1	< 1
Rms212/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase type I)	130	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	—	—	—	100	115	2	11
Rms213/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase type II)	263	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	—	—	—	100	450	292	2
Rte16/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase type III)	23	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	—	—	—	100	131	310	54

Table 4 Kinetic constants of β -lactamase hydrolysis in the presence of cephamycin antibiotics

β -lactamase source	K_m (μM)	K_i (μM)				
	CET	MT-141	CTT	CMZ	CFX	LMOX
<i>E. coli</i> GN5482	63	0.62	0.22	0.57	0.11	0.86
<i>E. cloacae</i> GN7471	105	0.25	0.22	0.64	0.50	0.81
<i>C. freundii</i> GN7391	16	0.12	0.09	0.19	0.33	0.07
<i>S. marcescens</i> GN10857	44	0.15	0.44	0.39	0.15	13.0
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	71	0.37	0.15	0.10	0.23	0.39
<i>P. rettgeri</i> GN4430	125	1.62	3.64	4.31	0.34	102
<i>P. morganii</i> GN5407	33	2.25	0.11	0.40	0.22	0.16
<i>P. vulgaris</i> GN7919	61	37.0	13.30	5.22	12.40	107
<i>P. cepacia</i> GN11164	70	— ^b	—	—	—	—
<i>B. fragilis</i> GN11477	100	0.38	0.20	0.20	0.50	0.10
Rms 212/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase type I)	400 ^a	—	—	—	—	—
Rms 213/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase type II)	333 ^a	138	8.53	116	245	16.70
Rte 16/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase type III)	83 ^a	2.3	1.02	2.74	16.70	27.80

^a: CER was used as a substrate.^b: Not inhibited.

E. coli ML 4707 の感染に対する MT-141 の ED₅₀ 値 (3.1 mg/kg) は CTT (2.95 mg/kg), LMOX (2.5 mg/kg) のそれと同程度であり、また CMZ (22.5 mg/kg) の ED₅₀ 値に比べて約 1/7 量であった。しかし、この株に対する MT-141 の MIC (0.39 $\mu g/ml$) は、CTT (0.1 $\mu g/ml$), LMOX (0.1 $\mu g/ml$) の MIC より 4 倍大きく、また CMZ (0.39 $\mu g/ml$) のそれと同じであった。さらに *K. pneumoniae* GN 6445 のモデル感染症に対しても、MT-141 の ED₅₀ 値 (2.25 mg/kg) は、CTT (3.20

mg/kg), LMOX (2.30 mg/kg) の ED₅₀ 値と同程度であり、CMZ (40 mg/kg) の ED₅₀ 値の約 1/20 量、CFX (76 mg/kg) の約 1/30 量であった。しかもこの株に対する MT-141 の MIC (0.78 $\mu g/ml$) は、CTT (0.10 $\mu g/ml$), LMOX (0.10 $\mu g/ml$) の MIC より 8 倍大きく、CMZ (1.56 $\mu g/ml$), CFX (1.56 $\mu g/ml$) のわずか 1/2 倍であった。このように MT-141 は *in vivo* において、その MIC から期待できる以上の治療効果を示した。

Table 5 Protective effect of MT-141 against experimental infections of mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ED ₅₀ (mg/kg)
<i>E. coli</i> ML 4707	6.5×10^6 (65 LD ₅₀)	MT-141	0.39	3.1
		CTT	0.10	2.95
		LMOX	0.10	2.5
		CMZ	0.39	22.5
		CFX	1.56	22.5
<i>K. pneumoniae</i> GN 6445	1.1×10^7 (7.5 LD ₅₀)	MT-141	0.78	2.25
		CTT	0.10	3.20
		LMOX	0.10	2.30
		CMZ	1.56	40
		CFX	1.56	76

Medication time : 1hr. (s.c.).

III. 考察

MT-141 はグラム陽性菌および *P. aeruginosa* をのぞくグラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトルを有している。臨床分離株に対する感受性から、MT-141 の抗菌力を総合的にみると cephalexin 系抗生物質の中で CTT と CMZ, CFX の中に位置づけられた。しかし、嫌気性菌である *B. fragilis* に対して CTT や LMOX よりも優れた抗菌力を示した点に MT-141 の一つの特徴がある。

また、MIC と MBC の比較から、MT-141 は低濃度で殺菌的に作用することが明らかになった。

MT-141 は各種 β -lactamase に対して、他の cephalexin 系抗生物質と同様にきわめて安定であり、かつ強い β -lactamase 阻害活性を示した。このことは、臨床問題となる各種の β -lactamase 產生の耐性菌への有用性が期待される。

in vivo における感染治療効果では、MT-141 は、その MIC 値が CTT や LMOX よりも高いにもかかわらず CTT や LMOX と同等の治療効果を示し、また MIC 値が同程度の CMZ よりも優れた治療効果を示した。このように MIC 値から予想される以上の *in vivo* 効果が得られることが、MT-141 の大きな特徴である。したがって、MT-141 は臨床においても良好な成績が期待できる。この作用機作については、生体が本来備えている防禦機構への影響などが考えられるが、今後の検討が必要である。

文献

- 1) INOUYE, S.; M. KOJIMA, T. SHOMURA, K. IWAMATSU, T. NIWA, Y. KONDO, T. NIIDA, Y. OGAWA & K. KUSAMA : Discovery, isolation and structure of novel cephalexin of *Strepto-*

myces chartreusis. J. Antibiotics 36 : 115~124, 1983

- 2) IWAMATSU, K.; S. INOUYE, T. TSURUOKA, K. MIZUTANI, S. OMOTO, H. OGINO, K. MIYAUCHI, T. WATANABE & T. NIIDA : Synthesis and biological activity of 7β -(2-amino-2-carboxy)-ethylthioacetamido-7 α -methoxy cephalosporin derivatives. J. Antibiotics 36 : 229~241, 1983
- 3) 三橋 進, 井上松久 : MIC 測定用標準菌株。 Chemotherapy 27 : 561, 1979
- 4) MIC 測定法改訂委員会 : 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) MINAMI, S.; M. INOUE & S. MITSUHASHI : Purification and properties of cephalosporinase in *Escherichia coli*. Antimicr. Agents & Chemoth. 18 : 77~80, 1980
- 6) MINAMI, S.; M. INOUE & S. MITSUHASHI : Purification and properties of β -lactamase from *Enterobacter cloacae*. Antimicr. Agents & Chemoth. 18 : 853~857, 1980
- 7) TAJIMA, M.; Y. TAKENOUCHI, S. SUGAWARA, M. INOUE & S. MITSUHASHI : Purification and properties of β -lactamase from *Citrobacter freundii* GN7391. J. Gen Microbiol. 121 : 449~456, 1980.
- 8) MURATA, T.; S. MINAMI, K. YASUDA, S. IYOBE, M. INOUE & S. MITSUHASHI : Purification and properties of cephalosporinase from *Pseudomonas aeruginosa*. J. Antibiotics 34 : 1164~1170, 1981
- 9) MATSUURA, M.; H. NAKAZAWA, M. INOUE & S. MITSUHASHI : Purification and biochemical properties of β -lactamase produced by *Proteus rettgeri*. Antimicr. Agents & Chemoth. 18 : 687~690, 1980
- 10) TODA, M.; M. INOUE & S. MITSUHASHI : Properties of cephalosporinase from *Proteus morganii*. J. Antibiotics 34 : 1469~1475, 1981.
- 11) MATSUBARA, N., A. YOTSUJI, K. KUMANO, M. INOUE & S. MITSUHASHI : Purification and some properties of a cephalosporinase from *Proteus vulgaris*. Antimicr. Agents & Chemoth. 19 : 185~187, 1981.
- 12) HIRAI, K.; S. IYOBE, M. INOUE & S. MITSUHASHI : Purification and properties of a new β -lactamase from *Pseudomonas cepacia*. Antimicr. Agents & Chemoth. 17 : 355~358, 1980
- 13) SATO, K.; M. INOUE & S. MITSUHASHI : Activity of β -lactamase produced by *Bacteroides fragilis* against newly introduced cephalosporins. Antimicr. Agents & Chemoth. 17 : 736~737, 1980

- 14) SAWAI, T.; K. TAKAHASHI, S. YAMAGISHI & S. MITSUHASHI: Variant of penicillinase mediated by a R factor from *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 104 : 620~629, 1970.
- 15) YAGINUMA, S.; N. TERAKADO, S. YAMAGISHI & S. MITSUHASHI: Biochemical properties of a penicillin beta-lactamase mediated by R factor from *Bordetella bronchiseptica*. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 8 : 238~242, 1975
- 16) YAMAGISHI, S.: K. OHARA, T. SAWAI & S. MITSUHASHI: The purification and properties of penicillin β-lactamase mediated by transmissible R factor in *Escherichia coli*. *J. Biophys. Chem. (Tokyo)* 66 : 11~20, 1969
- 17) ROSS, G. W.; K. V. CHANTER, M. HARRIS, S. M. KIRBY, M. J. MARSHALL & C. H. O'CHALLAGHAN: Comparison of assay technique for beta-lactamase activity. *Anal. Biochem.* 54 : 9~16, 1973
- 18) WALEY, S. G.: A spectrophotometric assay of β-lactamase action on penicillins. *Biochem. J.* 139 : 780~789, 1974
- 19) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol.* 92 : 99~113, 1948

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MT-141

RYOICHI OKAMOTO¹, MATSUHISA INOUE², SHIZUKO IYobe¹
and SUSUMU MITSUHASHI^{1,2}

Department of Microbiology¹, Laboratory of Drug Resistance in
Bacteria², School of Medicine, Gunma University

MT-141 is a new cephamycin type antibiotic with a broad spectrum of antibacterial activities. The antibacterial activity of MT-141 was compared with cefotetan (CTT), latamoxef(LMOX), cefmetazole (CMZ) and cefoxitin (CFX). The results are summarized as follows.

- 1) MT-141 possessed a broad spectrum of *in vitro* antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria except *P. aeruginosa*. MT-141 was more effective than CMZ and CFX against gram-negative bacteria, although MT-141 was less active than CTT and LMOX. Especially in the case of *B. fragilis*, the activity of MT-141 was more potent than CTT and LMOX. The activity of MT-141 against gram-positive bacteria was slightly less than those of CMZ and CFX.
- 2) Bactericidal activity of MT-141 against *E. coli* and *K. pneumoniae* was confirmed by determining the minimum bactericidal concentration (MBC).
- 3) MT-141 was stable against both R-plasmid mediated and chromosome mediated β-lactamases as well as CTT, LMOX, CMZ and CFX. Moreover, MT-141 was found to possess an inhibitory activity against a number of various types of β-lactamase.
- 4) *In vivo* activity of MT-141 against experimental infections of mice with *E. coli* and *K. pneumoniae* was more active than those of other cephamycin antibiotics when compared with its *in vitro* efficacy.