

Pipemidic acid 経口投与によるヒト腸内菌叢の変動

辨 野 義 己

理化学研究所

光 岡 知 足

東京大学農学部実験動物, 理化学研究所

(昭和 59 年 5 月 30 日受付)

健康成人 10 例に Pipemidic acid (PPA) を, 1 日 3 回 500 mg ずつ 5 日間連続経口投与した時の腸内菌叢の変動を検索した。

PPA 投薬開始後, Enterobacteriaceae の有意な ($P < 0.001$) 減少, レンチナーゼ陽性の Clostridia および Veillonellae の減少および Bifidobacteria のわずかな減少を認めた。一方, 腸内菌叢を構成する優勢菌に対して著しい抗菌作用を示さず, 腸内菌叢の均衡を乱さない抗菌剤であることが明らかにされた。また, PPA 投薬中止後比較的早期に元の腸内菌叢に回復した。さらに, 本剤投薬中下痢その他の副作用とみられる症状を認めず, 全例とも *Clostridium difficile* を検出されなかった。

Pipemidic acid (8-ethyl-5, 8-dihydro-5-oxo-2-(1-piperazinyl)-pyrido[2, 3-d] pyrimidine-6-carboxylic acid, 以下 PPA と略す)¹⁾はグラム陰性菌に有効で, かつ piromidic acid や nalidixic acid 耐性グラム陰性菌の一部などに抗菌作用を示す新しい化学療法剤で, とくに緑膿菌にも抗菌活性を有する特徴が明らかにされている²⁾。本剤は経口投与での吸収は良好で, 組織内濃度は高く, 大部分は未変化体のまま尿路から排泄される³⁾。本剤をヒトに連続経口投与した場合, ヒトの腸内菌叢がどのような変動を示すかを知ることは, 各種の腸内菌の抗菌活性の判定だけでなく, 抗菌剤投与による下痢あるいは薬剤腸炎などの副作用を検討する上で重要であると思われる。今回, 筆者らは, 健康成人に本剤を連続経口投与し, その腸内菌叢の変動, *Clostridium difficile* の出現および下痢などの副作用の有無について検討した。

I. 材料および方法

対象: 健康成人 10 名 (年齢 25~34 歳, 体重 50~75 kg) を対象とした。

使用薬剤と投与方法: PPA を, 毎日, 朝・昼・夜の定時に, 1 回 500 mg, 1 日 3 回 (合計 1,500 mg), 5 日間連続して投与した。

腸内菌叢の検索方法: 腸内菌叢の検索は投薬開始 3 日前, 投薬開始前, 投薬開始 3 日目, 投与開始 5 日目, 投薬終了後 6 日目および 8 日目の計 6 回行なった。

1) 糞便採取と輸送: 早朝自然排便便を採取し, ほと

んど全排泄量をビニール袋に入れ, 氷冷下で輸送し, 排便後 3 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⁴⁾に従って, 嫌気性菌の非選択培地として変法 Eggerth-Gagnon (EG) 寒天および glucose-blood-liver extract (BL) 寒天, 好気性菌の非選択培地として 5% 血液加 Trypticase Soy (TS) (BBL) 寒天, さらに, 嫌気性菌の選択培地として NBGT (Bacteroidaceae 選択培地) 寒天, ES (Eubacteria) 寒天, BS (Bifidobacteria) 寒天, VS (Veillonellae) 寒天, NN (レンチナーゼ陽性 Clostridia) 寒天, CCF (*C. difficile*) 寒天⁵⁾ および LBS (Lactobacilli) 寒天, また, 好気性菌の選択培地として DHL (Enterobacteriaceae) 寒天および TATAC (Streptococci) 寒天, 以上 12 種類の培地を用いた。嫌気性菌の培養は炭酸ガス加スチールウール法⁶⁾で 37°C, 72 時間の嫌気培養を行なった。

3) 菌群の同定および菌数の算定: 各平板培地上の集落形態, 菌形態, グラム染色性, 芽胞の有無および好気性発育試験によって菌群の同定を行なった。菌数の算定は糞便 1 g 当りの菌数を求め, 対数値で表わした。

II. 結 果

PPA 投薬開始 3 日前, 直前, 投薬開始 3 日後, 5 日後, 投薬中止 6 日後および 8 日後における健康成人 10 名の腸内菌叢の変動は Table 1 に示すとおりである。すなわち, PPA 投薬開始後, 総菌数, Bacteroidaceae, Eubacteria, Peptococcaceae および Streptococci の各

Table 1 Effect of pipemidic acid (PPA) on the human fecal flora

Bacterial group	Before PPA treatment		During PPA treatment		After PPA treatment	
	3rd day	0 day	3rd day	5th day	6th day	8th day
Lactobacilli	6.4±1.1 ^a (100) ^b	6.5 ± 2.0 (100)	6.6 ± 1.3 (100)	6.0 ± 1.2 (100)	5.9 ± 1.5 (100)	6.0 ± 1.3 (100)
Enterobacteriaceae	7.0±0.6 (100)	7.1 ± 0.7 (100)	4.2 ± 1.0 ^c (100)	3.6 ± 0.9 ^c (100)	7.3 ± 1.0 (100)	7.1 ± 0.9 (100)
Streptococci	6.8±2.0 (100)	6.4 ± 1.1 (100)	6.7 ± 1.3 (100)	7.0 ± 1.0 (100)	6.3 ± 0.9 (100)	6.5 ± 1.0 (100)
Bacilli	7.4±1.4 (40)	7.5 ± 1.4 (30)	7.0 ± 0.1 (20)	8.1 (10)	7.1 (10)	(0)
Total aerobes	7.7±1.1	7.5 ± 0.7	7.5 ± 0.9	7.2 ± 0.9	7.7 ± 0.8	7.3 ± 0.8
Bacteroidaceae	10.2±0.3 (100)	10.4 ± 0.3 (100)	10.2 ± 0.2 (100)	10.1 ± 0.3 (100)	10.5 ± 0.2 (100)	10.5 ± 0.2 (100)
Eubacteria	9.9±0.2 (100)	9.9 ± 0.2 (100)	9.7 ± 0.4 (100)	9.8 ± 0.3 (100)	9.8 ± 0.4 (100)	9.8 ± 0.3 (100)
Peptococcaceae	9.9±0.5 (100)	9.8 ± 0.4 (100)	9.6 ± 0.5 (100)	9.7 ± 0.3 (100)	9.8 ± 0.5 (100)	9.6 ± 0.8 (100)
Bifidobacteria	9.8±0.2 (100)	10.1 ± 0.4 (100)	9.1 ± 0.5 (100)	9.0 ± 0.6 (100)	9.9 ± 0.5 (100)	9.9 ± 0.4 (100)
Veillonellaceae	5.3±1.8 (60)	5.7 ± 1.7 (70)	3.2 ± 1.3 (40)	3.8 ± 1.5 (40)	5.2 ± 0.8 (50)	5.8 ± 1.3 (70)
Lecithinase positive clostridia	4.8±0.7 (60)	5.0 ± 1.0 (60)	4.6 ± 0.4 (20)	3.8 ± 0.8 (40)	5.3 ± 1.0 (60)	4.8 ± 1.6 (60)
Total anaerobes	10.7±0.4	10.8 ± 0.2	10.6 ± 0.3	10.5 ± 0.2	10.5 ± 0.2	10.8 ± 0.2
Total bacteria	10.7±0.2	10.8 ± 0.2	10.6 ± 0.3	10.5 ± 0.2	10.5 ± 0.2	10.8 ± 0.2

^a Mean ± S.D. of log bacterial counts per g wet feces.

^b Frequency of occurrence(%).

^c P < 0.001 of probability of Student's t-test.

菌数は投薬開始前のそれに比べて著しい変動を認めなかった。一方、PPA投薬開始後、Enterobacteriaceae (主に *Escherichia coli*) の菌数は投薬開始前のそれに比べて有意に (P < 0.001) 減少し、PPA投薬開始前、糞便 1g 当り $10^{7.0-7.1}$ から $10^{3.6-4.3}$ に減少し、本菌群に対して強い抗菌作用を示した。さらに、Veillonellae および レシチナーゼ陽性の Clostridia (主に *Clostridium perfringens*) が投薬開始後、菌数および検出率ともに減少することが認められ、また、Bifidobacteria の菌数は投薬開始後、わずかに減少するようであった。

PPA投薬中止後、約1週間程で Enterobacteriaceae, Veillonellae, レシチナーゼ陽性の Clostridia および Bifidobacteria の菌数はほぼ元の状態に回復した。

Clostridium difficile の検出例は、本剤投薬開始前、開始後および中止後も認められなかった。さらに被検者全例とも下痢を含む副作用は認められなかった。

III. 考 察

PPA は既に臨床に使用され、主に大腸菌群を含むグラム陰性菌による感染症に対して優れた効果があることが知られている²⁾。今回、本剤を健康成人に5日間経口投与し、その腸内菌叢の変動および投薬中止後の腸内菌叢の回復について検索した。

その結果、Enterobacteriaceae, レシチナーゼ陽性 Clostridia および Veillonellae に対して抗菌作用を示したが、腸内菌叢を構成する優勢菌、すなわち Bacteroidaceae, Eubacteria, Peptococcaceae および Bifido-

bacteria や Streptococci に対して著しい抗菌作用を示さず、正常な腸内菌叢の均衡を乱さない抗菌剤であることが明らかにされた。これまで急性腸炎患者に PPA を経口投与すると、速やかに下痢などの症状を改善ししかも腸内優勢菌である嫌気性菌やグラム陽性菌の菌数を低下させないと報告されており⁷⁾、本研究の成績とはほぼ一致するようであった。また、PPA の嫌気性菌の抗菌力を検討した成績⁸⁾ では、*Megamonas hypermegas* で 6.25 μg/ml, *Clostridium perfringens* で 50 μg/ml, *V. parvula* で 50 μg/ml および *Acidaminococcus fermentans* で 50 μg/ml の各最小発育阻止濃度 (MIC) で、他の大部分の嫌気性菌の MIC は 100 μg/ml 以上であると述べられており、今回の成績とはほぼ一致していた。

本剤投薬期間中を通じ全例において下痢その他の副作用とみられる症状は認められず、各期間とも全例において *C. difficile* の検出例は認められず、抗菌剤投与により発症する偽膜性大腸炎を誘発することはないものと考えられた。さらに PPA 投薬による Enterobacteriaceae, レシチナーゼ陽性 Clostridia および Veillonellae の減少にみられる腸内菌叢の乱れも投薬中止後比較的早期に回復するものと考えられる。

(謝辞) PPA の投薬実験にあたり御協力を戴きました大日本製薬株式会社の諸氏に感謝致します。

文 献

- 1) MATSUMOTO, J. & S. MINAMI: Pyrido [2,3-d] pyrimidine antibacterial agents. 3,8-Alkyl-

- and : 8-vinyl-5,8-dihydro-5-oxo-2-(1-piperazinyl) pyrido [2,3-d] pyrimidine-6-carboxylic acids and their derivatives. J. Med. Chem. 18 : 74~79, 1975
- 2) 清水当尚, 高瀬善行, 中村信一, 片江宏己, 南明, 中田勝久, 井上 了, 石山正光, 久保雄嗣 : Pipemidic acid の抗菌作用。Chemotherapy 23 : 2659~2667, 1975
 - 3) 清水当尚, 中村信一, 黒部暢之, 高瀬善行 : Pipemidic acid の吸収, 分布および排泄。Chemotherapy 23 : 2724~2729, 1975
 - 4) 光岡知足 : 腸内菌の世界, 叢文社, 1980
 - 5) GEORGE, W. L.; V. L. SUTTER, D. CITRON & S. M. FINEGOLD : Selective and Differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. J. Clin. Microbiol. 9 : 214~219, 1979
 - 6) PARKER, C. Y. : Anaerobiosis with iron wool. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 30 : 33~38, 1955
 - 7) 三輪谷俊夫, 他 (17 施設および関連施設) : 急性腸炎に対する Pipemidic acid の二重盲検比較試験による薬効評価。Chemotherapy 29 : 227~249, 1981
 - 8) 今村博務, 渡辺邦友, 甲畑俊郎, 望月 泉, 三和敏夫, 二宮敬亨, 上野一恵, 鈴木祥一郎 : Pipemidic acid (PPA) の嫌気性菌に対する抗菌力。Chemotherapy 23 : 2668~2670, 1975

THE EFFECT OF PIPEMIDIC ACID ON HUMAN FECAL FLORA

YOSHIMI BENNO

The Institute of Physical and Chemical Research

TOMOTARI MITSUOKA

Department of Biomedical Science, Faculty of Agriculture, University of Tokyo

The effect of pipemidic acid on the fecal flora was investigated in 10 normal healthy adults receiving the drug for five days. Fecal specimens were cultured quantitatively for aerobic and anaerobic bacteria before, during and after treatment.

The bulk of predominant anaerobic bacteria in the fecal flora were not changed during the pipemidic acid treatment. The count of enterobacteria during the treatment was significantly ($P < 0.001$) lower than that before and after treatment. There was marked suppression of lecithinase-positive clostridia and veillonellae. By one week after the drug treatment the normal fecal flora in all subjects was immediately recovered. No positive culture of *Clostridium difficile* was obtained from all the specimens throughout the experimental course. No subjects developed diarrhoea or other side effects.