

新経口 cephalosporin 剤, Cefixime (CFIX) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用

五島磋智子・池田文昭・小川正俊
宮崎修一・金子康子・桑原章吾
東邦大学医学部微生物学教室

新経口セファロスポリン剤 Cefixime (CFIX) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を Cefaclor (CCL), Cephalexin (CEX) と比較し、次の結果を得た。

1. CFIX は *Pseudomonas* 属その他一部のブドウ糖非醗酵菌を除く各種のグラム陰性菌に対し対照薬剤と比較して強い抗菌活性を示し、とくに CCL および CEX がほとんど活性を有しない indole-positive *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* にも優れた抗菌活性を示した。

2. CFIX は *Bacteroides fragilis* の産生する β -lactamase 以外の各種 β -lactamase に対して非常に安定であった。

3. マウスの実験の全身感染に対する治療効果の成績は *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis* 感染に対して CCL や CEX よりも優れた効果を示した。

4. 実験の免疫能低下マウスの *K. pneumoniae* および *P. mirabilis* 全身感染に対して CCL や CEX よりも優れた治療効果を示した。

5. マウスに *K. pneumoniae* を噴霧する実験的呼吸器感染に対して CCL よりも優れた治療効果を示した。

6. 好中球の貪食殺菌作用に対し、CCL よりも優れた相乗効果を示した。

はじめに

経口用セファロスポリン系抗生物質として新しく開発された Cefixime (CFIX) はセファロスポラン酸の3位にビニル基を、7位にカルボキシメトキシイミノ基を導入したアミノチアゾール系の誘導体でその構造式は Fig. 1 のとおりである。

本剤は化学構造が類似する注射用の第3世代アミノチアゾール系セファロスポリン剤と同様、各種の β -lactamase に極めて安定で、市販の経口用セファロスポリン剤およびペニシリン剤より広範な抗菌スペクトルをもち、とくにグラム陰性桿菌に対して優れた抗菌活性をもつことが報告されている¹⁻³⁾。また本剤のヒトにおける薬動学的挙動は Cephalexin などの他の経口セファロスポリン剤とは異なり、経口投与後の bioavailability はやや小さいが、血清中濃度は持続性を示すことが知られている¹⁾。

われわれは CFIX の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を Cephalexin および Cefaclor と比較したので、その結果を報告する。

実験材料および実験方法

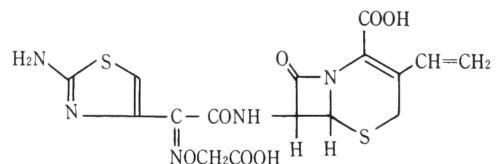
1. 使用菌株

教室保存株および昭和52年から昭和59年の間に臨床材料から分離したグラム陽性菌、グラム陰性菌の多数株を使用した。

2. 薬 剤

Cefixime (CFIX, 881 μ g/mg)	藤 沢 薬 品
Cephalexin (CEX, 924 μ g/mg)	塩野義製薬
Cefaclor (CCL, 960.6 μ g/mg)	塩野義製薬

Fig. 1 Chemical structure of Cefixime



3. 感受性測定

前培養に MUELLER HINTON Broth (MHB: Dif-

co), 感受性測定に MUELLER HINTON Medium (MHM: Difco) を用いて, 日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に準じて行った⁴⁾。なお *Neisseria gonorrhoeae* については前培養に 1% Kellogg の supplement を含有した Gonococcal medium base (Difco), 感受性測定に 1% Kellogg の supplement と 1% hemoglobin を含有した Protease No. 3 agar (Difco) を用いた。

4. β -lactamase に対する安定性

1) 酵素液の調整

Bacteroides fragilis は GAM broth (日水), 他の菌種は Nutrient broth (栄研) 500ml にて 37°C 18 時間培養した菌液を遠心にて集菌し, 少量の生理食塩水に浮遊して超音波破碎した。さらに破碎液を無菌濾過し, その濾液を 500ml になるように broth で希釈して得た液を粗酵素液として用いた⁵⁾。

2) 酵素活性の測定 (Bioassay 法)

上記酵素液に薬剤を 50 μ g/ml になるように加え, 37°C で 4 時間 incubation したのち, 100°C 1 分間熱処理して酵素を不活化し, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする disc 法にて残存する薬剤量を測定した。

5. 実験的感染症に対する治療効果

1) 実験動物

ICR 系マウス, 雄, 4 週令, 1 群 5~10 匹を使用した。

免疫能低下マウスは, cyclophosphamide (endoxan, 塩野義製薬) を感染 4 日前に 250mg/kg を腹腔内に 1 回投与, または hydrocortisone (半井化学) を感染 4 日, 3 日, 2 日および 1 日前の計 4 回各々 75mg/kg を皮下投与して作製した⁶⁾。

2) 全身感染

S. pyogenes S 23 および *S. pneumoniae* type IV は血液寒天で, *K. pneumoniae* FP221 は普通寒天で 37°C, 18 時間培養後, 生理食塩水の懸濁液として, 静脈内へ接種した。上記以外の菌株は普通寒天で 37°C 18 時間培養後, 生理食塩水に懸濁し, 5% gastric mucin と等量混合して腹腔内に接種した。感染 1 時間後, 0.5% メチルセルロースに懸濁させた薬剤を 1 回経口投与し, その後 7 日間観察後に生存率を求めプロビット法によって ED₅₀ 値を算出した。

3) 呼吸器感染

K. pneumoniae FP221 を Tryptic-soy agar (Difco) で 2 代継代後, 生理食塩水に懸濁した菌液を噴霧感染装置で, マウスに噴霧した⁶⁾。感染後, 所定時間に 0.5% メチルセルロースに懸濁した薬剤を経口投与した。その後 8 日間観察後に, 生存率を求めプロビット法によって

ED₅₀ 値を算出した。また感染, 治療後経時的にマウスをクロロホルムで死亡させた後, 心臓より採血し, 無菌的に肺を摘出した。血液は生理食塩水で 10 倍希釈法により ml 当りの生菌数を測定し, 肺は生理食塩水を加えポリトロンホモジナイザーで均質化した後, 肺当りの生菌数を測定した。

6. マウスの肺および血清中濃度の測定

ICR 系マウス, 雄, 4 週令, 1 群 10 匹に *K. pneumoniae* FP221 の菌液を噴霧感染装置を用いて感染した。4 時間後に薬剤を経口投与後, 経時的に麻酔死させ, 血液および肺を摘出した。血液は血清に分離後血清中濃度を測定し, 肺は均質化後 10,000G, 20 分遠心後, 上清中の濃度を disc 法により測定した。検定菌は CFIX は *E. coli* ATCC 39188, CCL は *Micrococcus luteus* ATCC 9341 を用いた。

血清中濃度はマウスの血清で作成した標準曲線より, また肺中濃度は 1/15M phosphate buffer で作成した標準曲線よりそれぞれの濃度を算出した。

7. 腹腔食細胞の貪食殺菌におよぼす影響

ICR 系マウス, 雄, 4 週令の腹腔内に 0.1% グリコーゲン 1ml を注入し, 3 時間後に瀉血致死せしめた。HANK's Balanced Salts solution の 4 ml を腹腔内に注入し, 腹部をよくマッサージした後, 腹腔液を注射筒で採取した。この腹腔液はギムザ染色により, 95% は好中球 (PMN) であることを確認した。以下この腹腔液を PMN として使用し, 実験系は次のように構成した。

95% PMN (4.0 × 10 ⁶ cells/ml)	0.2ml
<i>K. pneumoniae</i> (6.0 × 10 ⁵ cfu/ml)	0.2ml
immune serum	0.2ml
薬剤溶液	0.2ml
HANK's BSS	1.2ml

37°C 4 時間反応後, その 0.1ml に 9.9ml の滅菌水を加え, 好中球を破壊後, 総生菌数を常法通り測定した。

実験成績

1. 抗菌スペクトラム

グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する CFIX の抗菌スペクトラムを CEX, CCL と比較検討した成績を Fig. 2, 3 に示した。

CFIX は特にグラム陰性菌に広範囲な抗菌スペクトルを有し, *S. aureus* などのグラム陽性菌には CEX, CCL よりも抗菌力は弱い, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* などには極めて強い抗菌力を示した。さらにインドール陽性 *Proteus*, *S. marcescens* など CEX, CCL に感受性が低い菌種にも強い抗

菌力を示した。しかし *P.aeruginosa* などのブドウ糖非
 醱酵のグラム陰性桿菌には CEX, CCL と同様抗菌力は
 弱かった。

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離した *S.aureus* 64株, *S.epider-*
midis 32株, *S.faecalis* 49株, *N.gonorrhoeae* (ペニ
 シリナーゼ産生株) 62株, *E.coli* 63株, *K.*
pneumoniae 58株, *P.mirabilis* 20株, *P.rettgeri* 31
 株, *P.stuartii* 30株, *P.vulgaris* 31株, *M.morganii*
 20株, *E.cloacae* 66株, *E.aerogenes* 9株, *C.freund-*
dii 15株, *S.marcescens* 60株, *P.aeruginosa* 88株の

CFIX に対する感受性分布を調べ, CEX, CCL と比較
 した成績を Fig. 4 ~ 9 に示した。

S.aureus, *S.epidermidis*: CFIX の抗菌力は
 CEX, CCL と比較してやや弱い。Fig. 4 および 5 の
 とおり接種菌量が 10^8 および 10^6 cfu/ml において,
 CFIX に対する感受性ピークは *S.aureus* で $25\mu\text{g/ml}$,
S.epidermidis で $6.25\mu\text{g/ml}$ にあった。

S.faecalis: Fig. 6 のとおり, CFIX は CEX, CCL
 と同様ほとんど抗菌力を示さなかった。

Penicillinase 産生 *N.gonorrhoeae*: TEM 型 β -
 lactamase を産生する *N.gonorrhoeae* に対して CFIX

Fig. 2 Antibacterial spectrum against aerobic bacteria

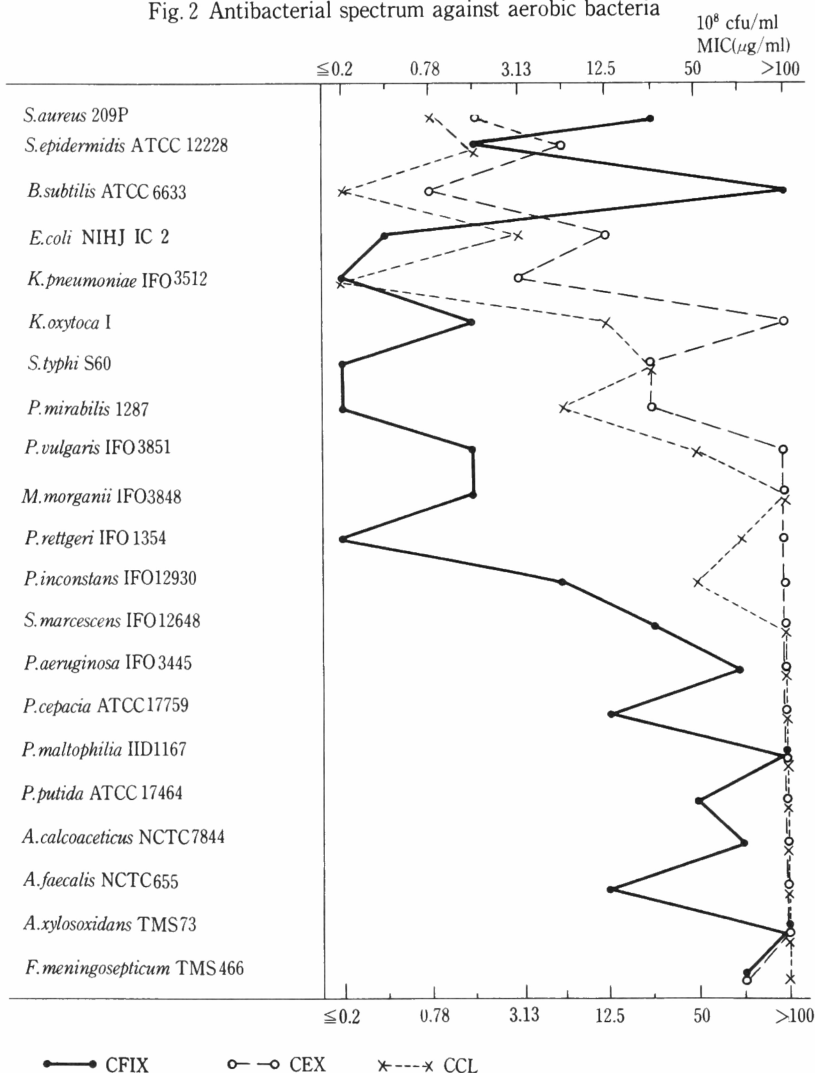
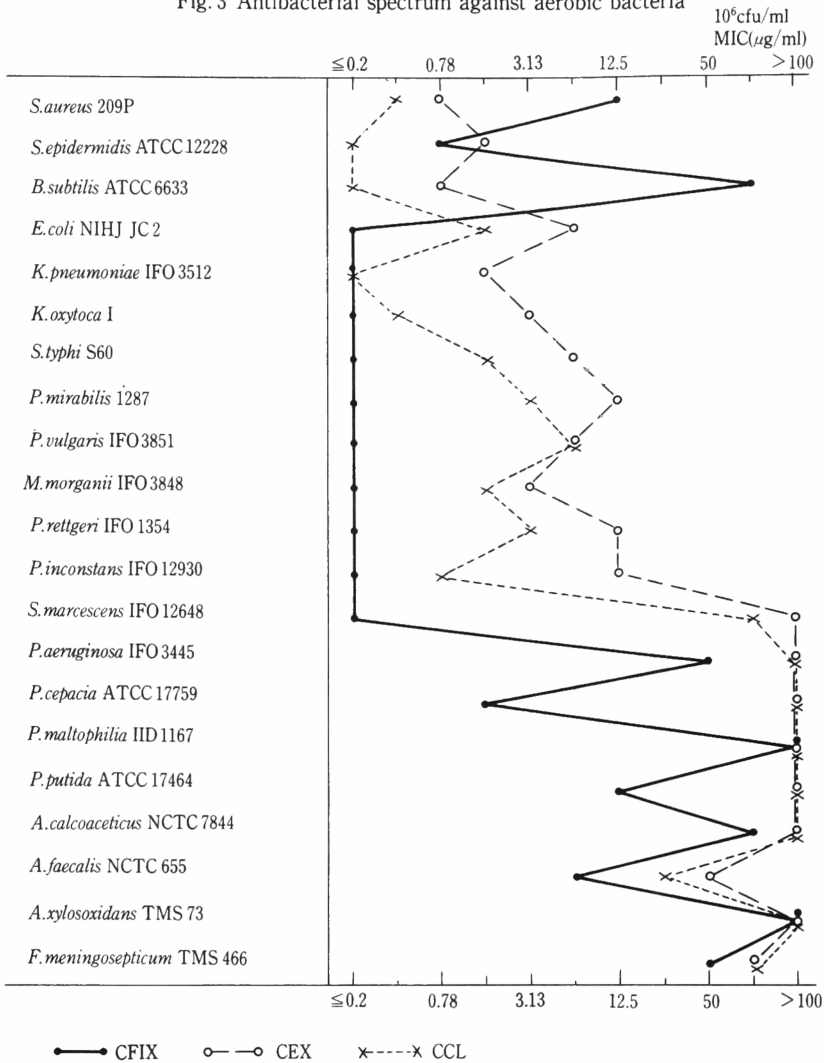


Fig. 3 Antibacterial spectrum against aerobic bacteria



は極めて強い抗菌力を示し、Fig. 7 のとおり 10^6 cfu/ml 接種においては $0.025\mu\text{g/ml}$ 以下で全菌株の発育が阻止された。一方、CEX、CCLに対する感受性のピークは $1.56\mu\text{g/ml}$ にあった。

E. coli、*K. pneumoniae*、*P. mirabilis*：これら3菌種に対してCFIXはCEX、CCLと比較して極めて強い抗菌力を示した。すなわちFig. 8～10のとおり 10^6 cfu/ml接種条件における感受性ピークは*E. coli*ではCFIX $0.39\mu\text{g/ml}$ 、CEX $6.25\mu\text{g/ml}$ 、CCL $1.56\mu\text{g/ml}$ 、*K. pneumoniae*ではCFIX $0.05\mu\text{g/ml}$ 、CEX $6.25\mu\text{g/ml}$ 、CCL $1.56\mu\text{g/ml}$ 、*P. mirabilis*ではCFIX $0.05\mu\text{g/ml}$ 以下、CEX $25\mu\text{g/ml}$ 、CCL $1.56\mu\text{g/ml}$ にあった。

インドール陽性 *Proteus* (*P. rettgeri*、*P. stuartii*、*P. vulgaris*、*M. morganii*)：Fig. 11～14のとおりCEX、CCLの抗菌力が弱いこれらの菌種に対してもCFIXは極めて強い抗菌力を示した。特にCEX、CCLの*P. vulgaris*および*M. morganii*の大部分の菌株に対するMICは 10^6 cfu/mlの条件で $100\mu\text{g/ml}$ 以上と高度耐性であるのに対し、CFIXは $0.05\mu\text{g/ml}$ 以下で*P. vulgaris*の全株を、また*M. morganii*20株中19株は $3.13\mu\text{g/ml}$ 以下で発育を阻止した。

E. cloacae、*E. aerogenes*：Fig. 15のとおり*E. cloacae*に対するCFIXの抗菌力のピークは 10^6 cfu/mlで $1.56\mu\text{g/ml}$ にあり、66株中59株は $6.25\mu\text{g/ml}$ 以下で発育を阻止された。しかし7株(10.6%)に対するMICは25

Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *S.aureus* 64 strains

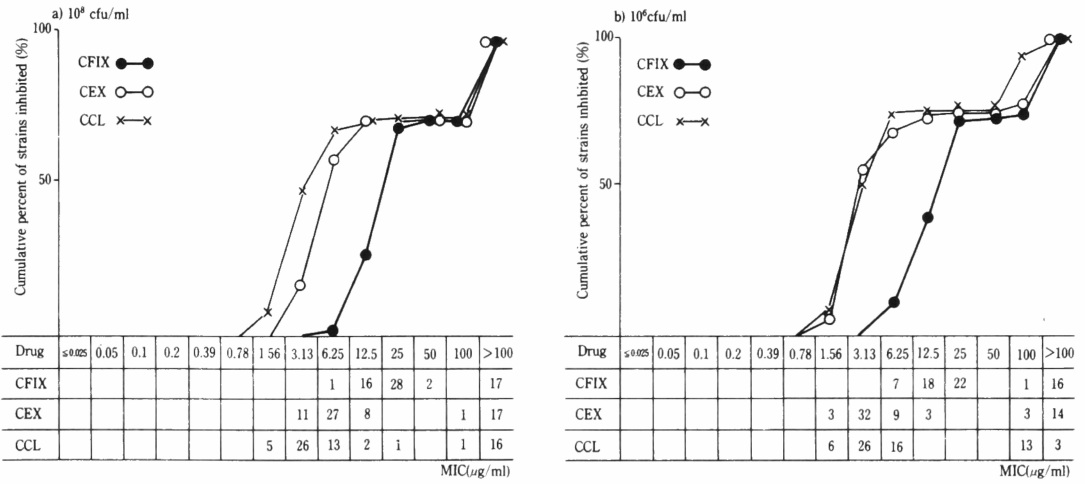


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *S.epidermidis* 32 strains

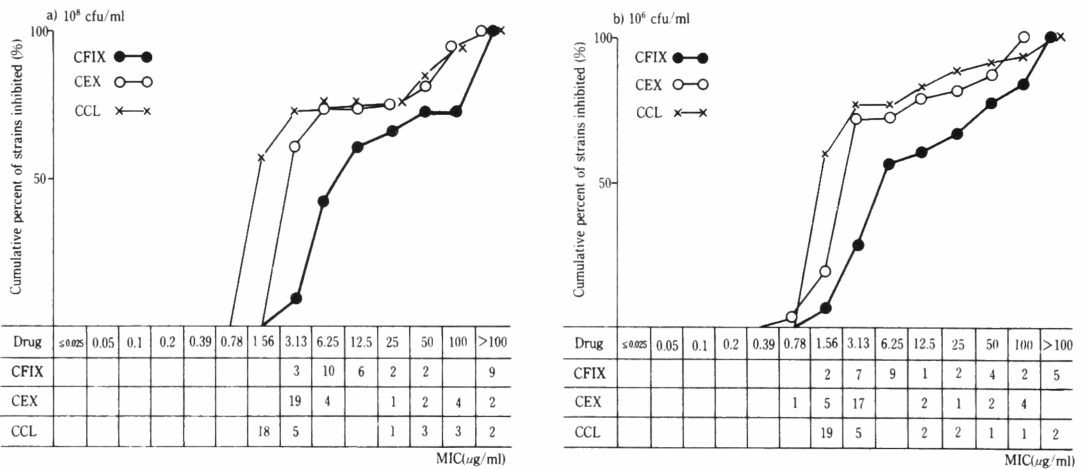


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *S.faecalis* 49 strains

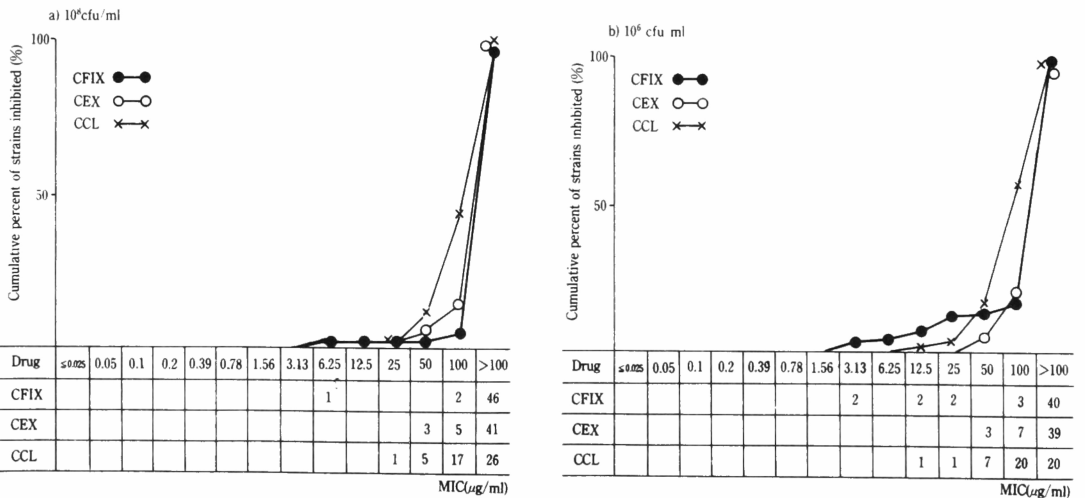


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates penicillinase producing *N.gonorrhoeae* 62 strains

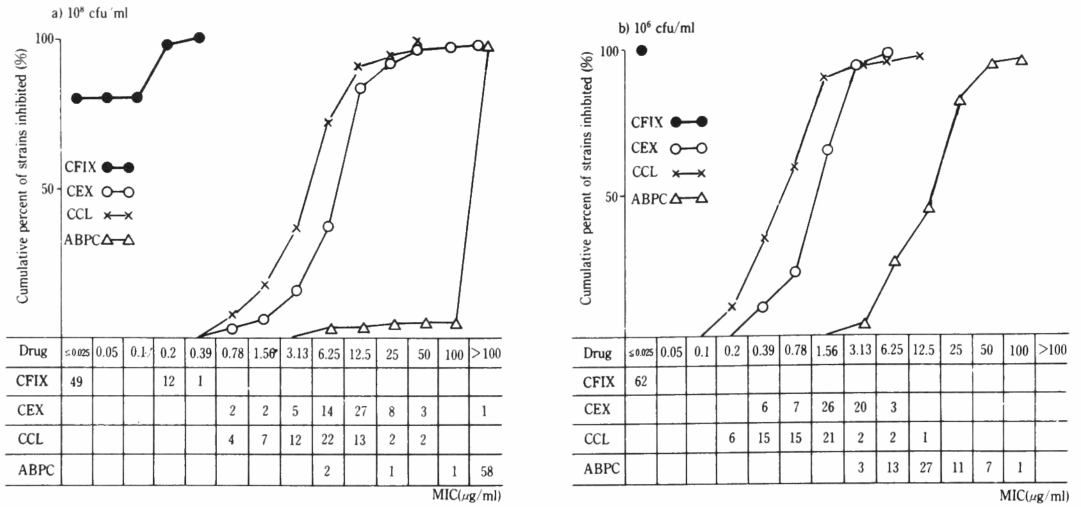


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *E.coli* 63 strains

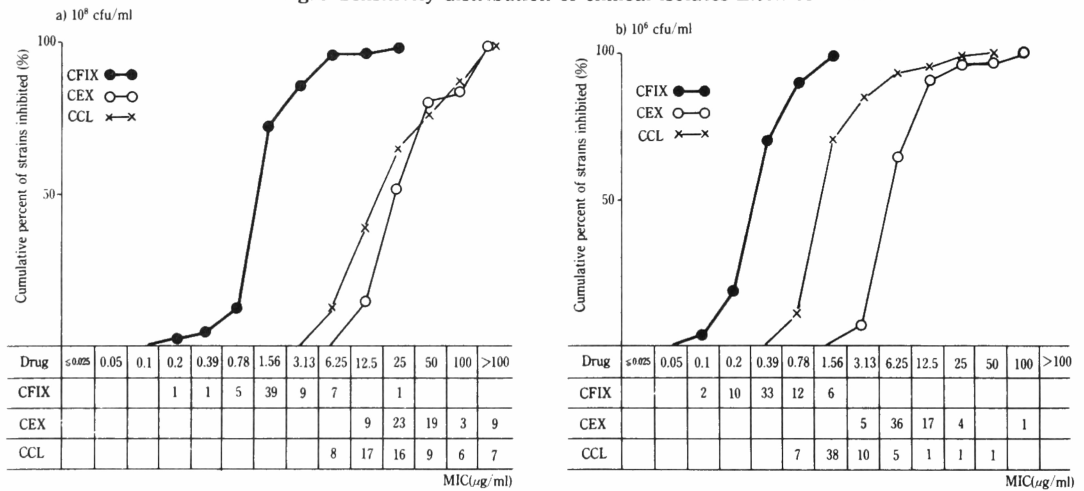


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *K.pneumoniae* 58 strains

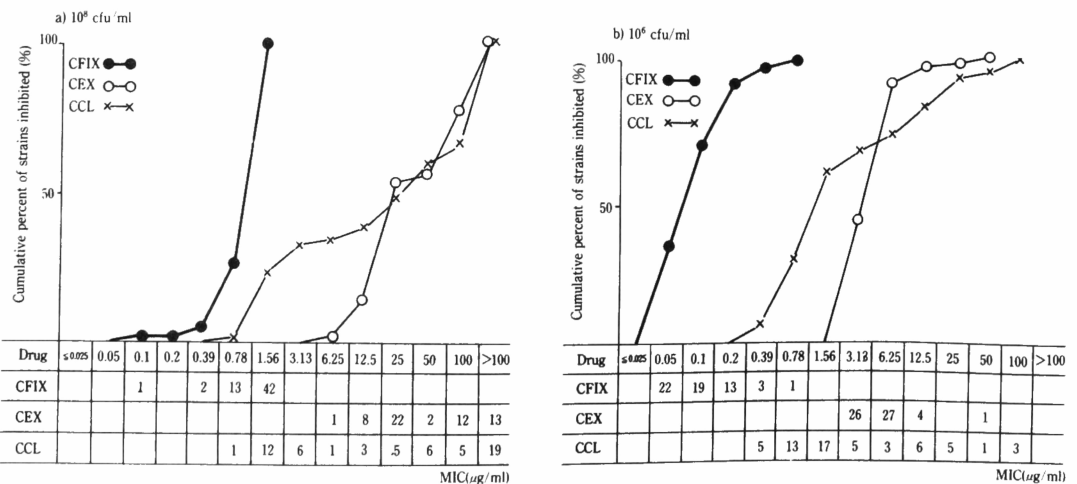


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *P.mirabilis* 20 strains

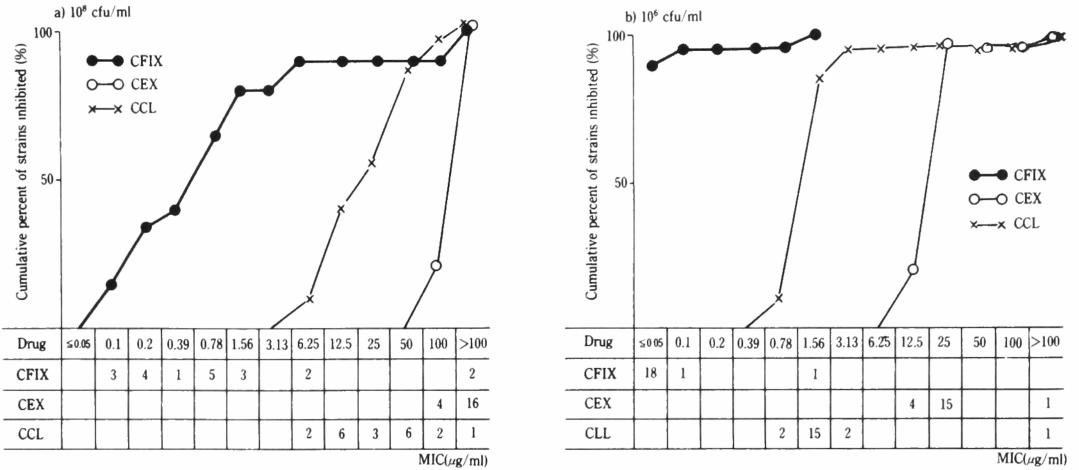


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *P.rettgeri* 31 strains

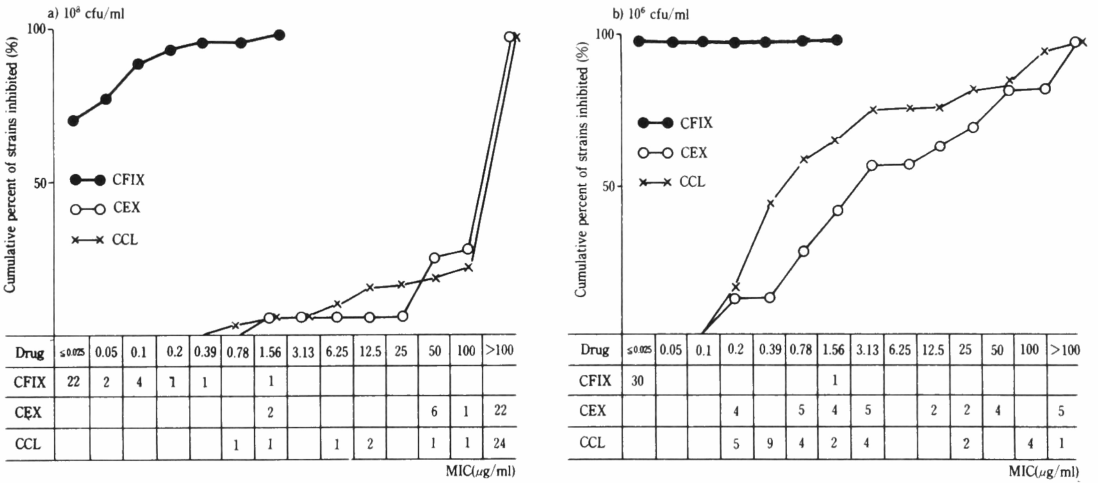


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *P.stuartii* 30 strains

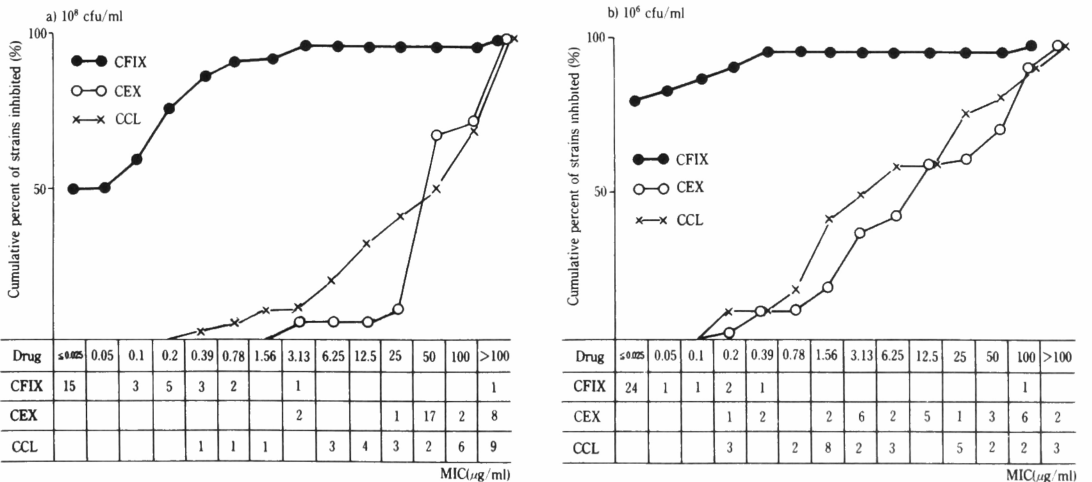


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* 31 strains

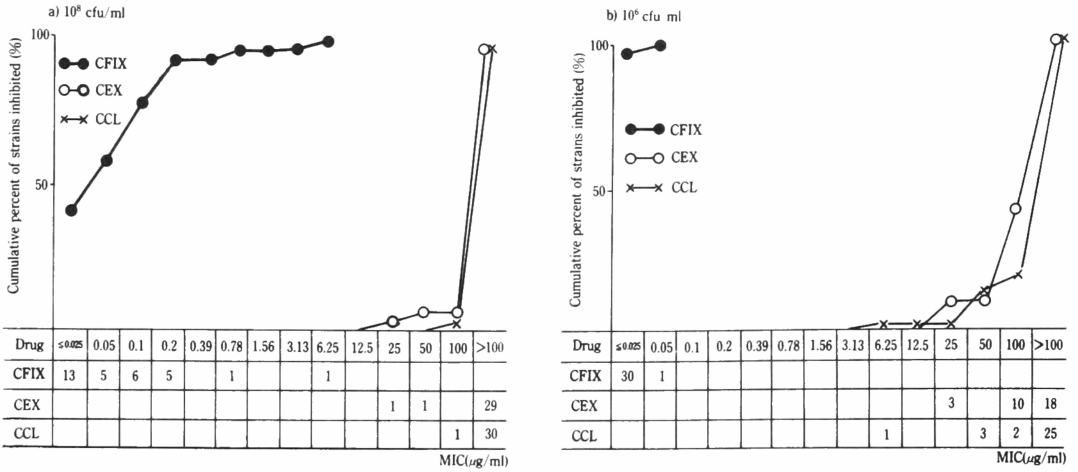


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *M. morgani* 20 strains

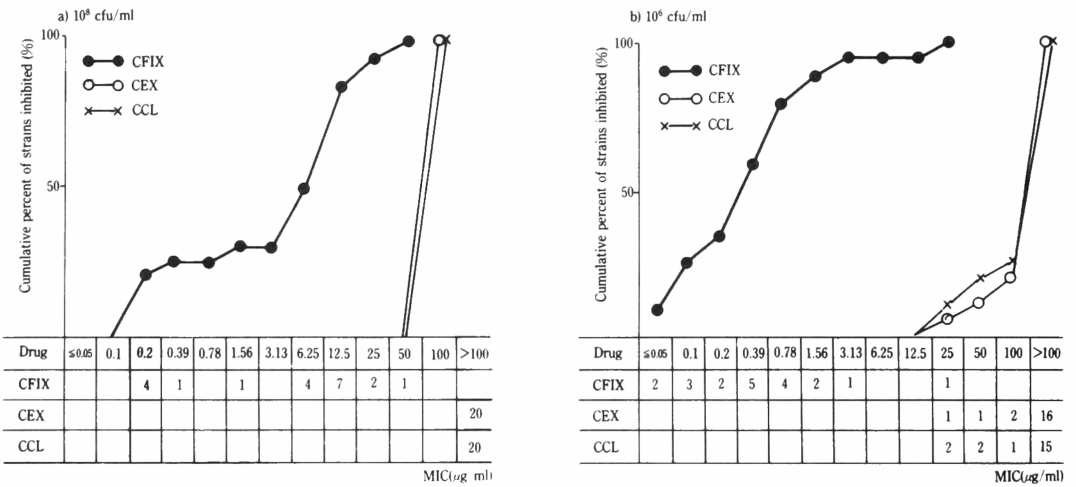


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. cloacae* 66 strains

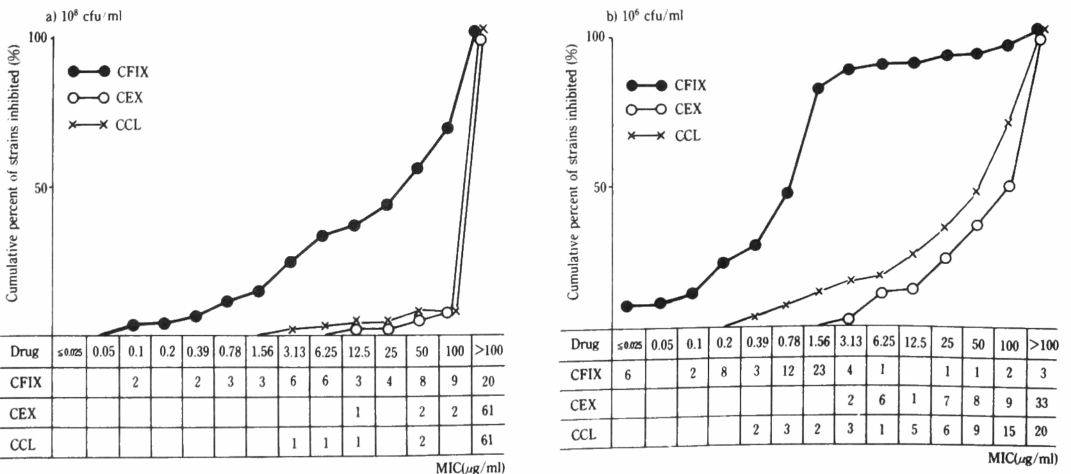


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *E.aerogenes* 9 strains

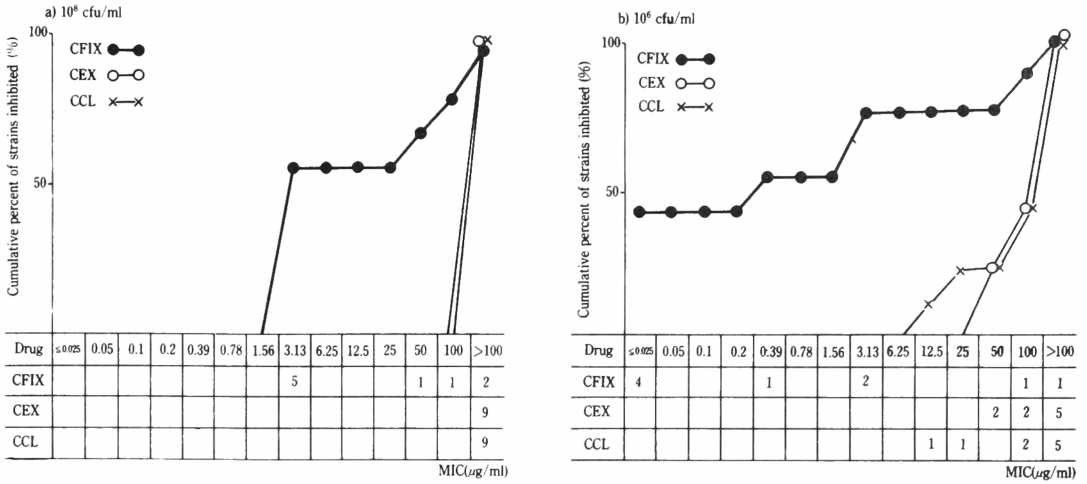


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *C.freundii* 15 strains

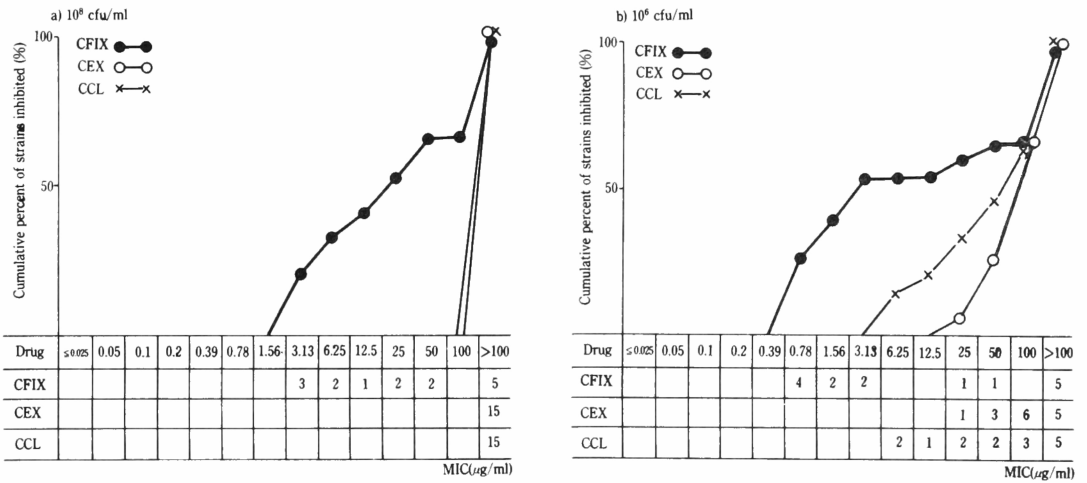


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates *S.marcescens* 60 strains

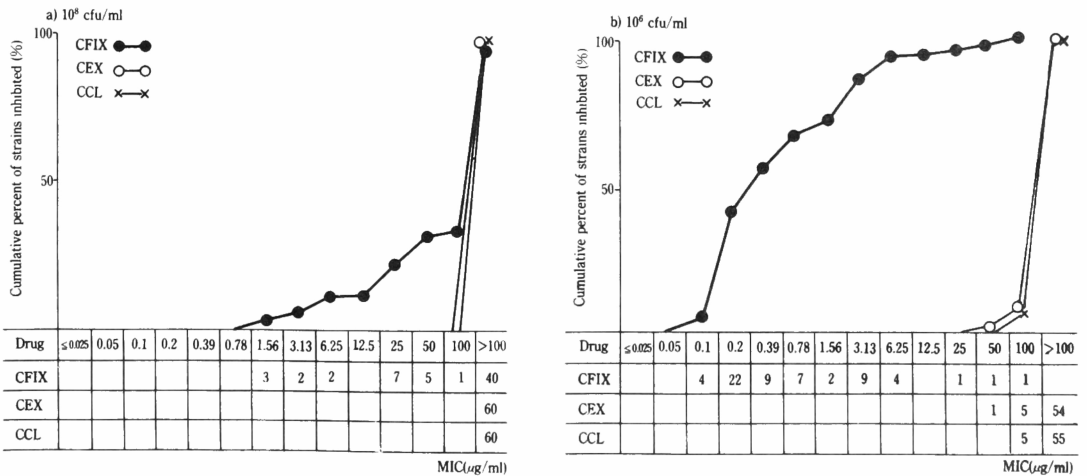
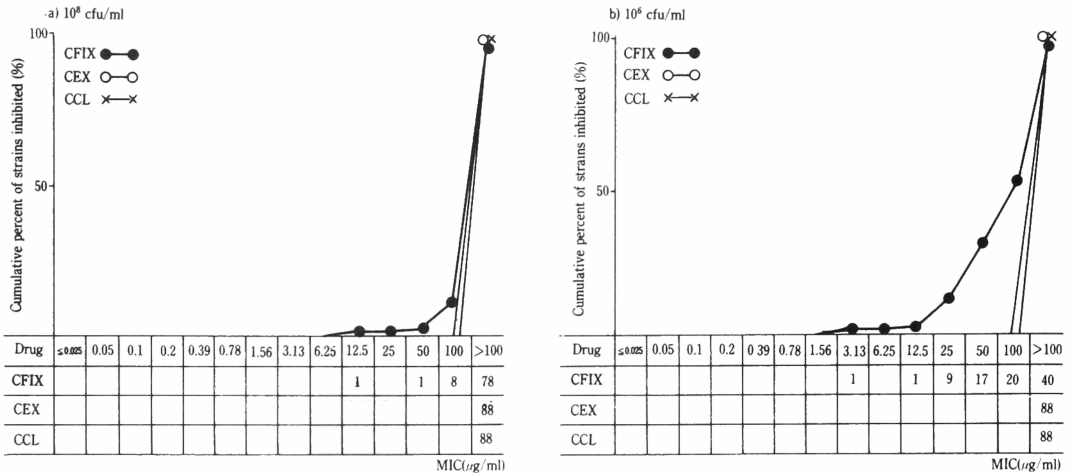


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *P.aeruginosa* 88 strains



μg/ml 以上であった。しかし CEX および CCL の MIC はそれぞれ 3.13~>100 μg/ml および 0.39~>100 μg/ml に分布し、MIC 25 μg/ml 以上の菌株は CEX で 86.4 %、CCL では 75.8% であった。Fig.16 のとおり *E. aerogenes* 9 株に対する CFIX の MIC は広範に分布し 10⁶cfu/ml で高度感受性 (≤0.025 μg/ml) 4 株、感受性 (0.39~3.13 μg/ml) 3 株、高度耐性 (≥100 μg/ml) 2 株であったが、CEX および CCL に対しては試験菌株はすべて耐性であった。

C.freundii, *S.marcescens*: Fig.17, 18 のとおり、*C.freundii* に対し 10⁶cfu/ml の接種で CEX, CCL に対しては大部分の株が MIC 25 μg/ml 以上の耐性であったが、CFIX に対しては 15 株中 8 株が MIC 0.78~3.13 μg/ml の感受性株であった。一方、*S.marcescens* に対して CFIX は 0.2 μg/ml に抗菌力ピークを示し、MIC が 25 μg/ml 以上の耐性株はわずか 3 株であった。CEX および CCL に対しては殆どの株が高度耐性株であった。

P.aeruginosa: Fig.19 のとおり CFIX に対し CEX, CCL と同様、大部分が耐性株であったが、10⁶cfu/ml 接種時には CEX, CCL と比較して感性側に移行する一部の菌株がみられた。

3. 不活化酵素に対する安定性

好気性または通性嫌気性グラム陰性桿菌 7 菌種 9 菌株、および *B.fragilis* 7 菌株をそれぞれ超音波破碎して得た粗酵素液に対する CFIX の安定性を、セフェム系 7 薬剤および Ampicillin と比較した成績を Fig.20, 21 に示した。

CFIX は CCL, CEX と比較して全般に β-lactamase

(Richmond type I ~ V) に極めて安定で第 3 世代注射用セフェム剤と類似した安定性を示した (Fig.20)。しかし、試験した *B.fragilis* 7 株中特に高度に β-lactamase を産生する *B.fragilis* No.19 と GM7004 株には不安定であった (Fig.21)。

4. マウス実験的感染症

① 全身感染モデルに対する治療効果

正常マウス: *S.pyogenes* S23, *S.pneumoniae* type IV, *E.coli* ML 1410 RGN 823, *K.pneumoniae* FP 221, *P.vulgaris* GN 76 による全身感染に対する CFIX の経口投与による治療効果を CCL および CEX と比較した成績を Table 1 に示した。上記の 5 菌株による感染に対して CFIX はその *in vitro* の抗菌力を反映して CCL, CEX よりも優れた治療効果を示した。すなわち、*S.pyogenes* S23 感染に対して CFIX は 1.32mg/kg, CCL は 8.19mg/kg, CEX は 12.6mg/kg の ED₅₀ 値を示し、CFIX が CCL, CEX より有意に優れた治療効果を示した。*S.pneumoniae* type IV 感染に対して CFIX は 5.01mg/kg, CCL は 6.58mg/kg, CEX は 31.3mg/kg の ED₅₀ 値を示し、CFIX の効果は CEX より有意に、CCL よりやや優れていた。*K.pneumoniae* FP221 感染に対しても CFIX は 1.56mg/kg, CCL は 47.4mg/kg の ED₅₀ 値を示し、CFIX は CCL より有意に優れていた。*E.coli* ML 1410 RGN823 感染では本菌の産生する TEM 型 β-lactamase に対して不安定な CCL, CEX は全く無効であったが、この酵素に安定な CFIX の ED₅₀ 値は 15.8mg/kg と有効であった。また β-lactamase (Richmond type Ic) を産生する *P.vulgaris* GN 76 感染では CCL および CEX は全

く治療効果を示さなかったが、CFIXのED₅₀値は19.5 mg/kgと有効であった。

免疫能低下マウス：Cyclophosphamideおよびhydrocortisoneによる免疫能低下マウスにおける*K. pneumoniae* No.14および*P. mirabilis* GN 79感染に対するCFIXの治療効果はTable 2のとおりである。*K. pneumoniae* No.14感染において、正常マウスではCFIX 2.5mg/kg, CCL 125mg/kg, CEX 198mg/kg, cyclophosphamide処理マウスではCFIX 78.5mg/kg, CCL 1,000mg/kg, CEX 2,000mg/kg以上, hydrocortisone処理マウスではCFIX 19.5mg/kg, CCL 630mg/kg, CEX 250mg/kgのED₅₀値を示し、CFIXの治療効果はcyclophosphamideおよび

hydrocortisone処理マウスにおいて正常マウスより低下したが、いずれの免疫低下モデルにおいてもCFIXはCCL, CEXよりも有意に優れた効果を示した。*P. mirabilis* GN 79感染でも、正常マウスではCFIX 2.5 mg/kg, CCL 15.5mg/kg, CEX 49.5mg/kg, cyclophosphamide処理マウスではCFIX 12.5mg/kg, CCL 198mg/kg, CEX 198mg/kg, hydrocortisone処理マウスではCFIX 24.5mg/kg, CCL 49.5 mg/kg, CEX 99.0mg/kgのED₅₀値を示し、CFIXの治療効果はこのタイプの免疫低下モデルにおいて正常マウスより低下したが、いずれの場合もCCLおよびCEXよりも有意に優れた効果を示した。

Fig. 20 Stabilities of β-lactams to various type of β-lactamase

Source of enzyme		Cefixime	Cefaclor	Cephalexin	Latamoxef	Ceftizoxime	Cefotaxime	Cefoxitin	Cefazolin	Ampicillin
Organism	Richmond type									
<i>E. cloacae</i> No.91	I a									
<i>C. freundii</i> GN-346	I a									
<i>E. coli</i> 35	I b									
<i>P. vulgaris</i> No.9	I c									
<i>P. aeruginosa</i> No.47	I d									
<i>P. mirabilis</i> GN-79	II									
<i>E. coli</i> ML-1410 RGN-823	III									
<i>K. pneumoniae</i> GN-69	IV									
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN-238	V									

Drug concentration:50μg/ml
 Incubation:37°C, 4hrs
 Residual activities(μg/ml): □ 50, ▤ <50-35, ▨ <35-20, ▩ <20-2, ■ <2

Fig. 21 Stabilities of Cephems to β-lactamases from *B. fragilis*

Source of enzyme	Cefixime	Cefaclor	Cephalexin	Latamoxef	Ceftizoxime	Cefotaxime	Cefoxitin	Cefazolin
<i>B. fragilis</i> No.19								
<i>B. fragilis</i> No.32								
<i>B. fragilis</i> No.48								
<i>B. fragilis</i> No.69								
<i>B. fragilis</i> GM7000								
<i>B. fragilis</i> GM7002								
<i>B. fragilis</i> GM7004								

Drug concentration:50μg/ml
 Incubation:37°C, 4hrs
 Residual activities (μg/ml): □ 50, ▤ <50-35, ▨ <35-20, ▩ <20-2, ■ <2

Table 1 Protective effect of Cefixime against experimental infections in normal mice

Organism	Challenge dose (cfu/mouse)	5% mucin	Drug	ED ₅₀ (mg/kg)	MIC (μg/ml)	
					10 ⁶	10 ⁶
<i>S. pyogenes</i> S23	1.4×10 ⁷ (i.v.)	—	CFIX	1.32	0.1	0.1
			CCL	8.19*	0.78	0.39
			CEX	12.6*	0.78	0.78
<i>S. pneumoniae</i> type IV	6.4×10 ³ (i.v.)	—	CFIX	5.01	0.2	0.2
			CCL	6.58	1.56	0.78
			CEX	31.3*	1.56	1.56
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN823	6.0×10 ⁷ (i.p.)	+	CFIX	15.8	0.39	0.2
			CCL	>2,000*	>400	6.25
			CEX	>2,000*	>400	25
<i>K. pneumoniae</i> FP221	1.0×10 ⁴ (i.p.)	—	CFIX	1.56	0.05	≤0.0125
			CCL	47.4*	0.78	0.39
<i>P. vulgaris</i> GN76	5.0×10 ⁷ (i.p.)	+	CFIX	19.5	0.78	≤0.05
			CCL	>2,000*	>400	>400
			CEX	>2,000*	>400	>400

Mouse: ICR, male, n=6~10

* P<0.05 to CFIX

Therapy: p.o., 1 hr after challenge

Table 2 Protective effect of Cefixime against experimental infections in immunosuppressed mice

Organism	Challenge dose (cfu/mouse)	Drug	ED ₅₀ (mg/kg)			MIC (μg/ml)
			Normal	CY-treated	HC-treated	10 ⁶
<i>K. pneumoniae</i> No. 14	5.0×10 ⁷	CFIX	2.5	78.5	19.5	0.1
		CCL	125*	1,000*	630*	1.56
		CEX	198*	>2,000*	250*	3.13
<i>P. mirabilis</i> GN79	1.9×10 ⁹	CFIX	2.5	12.5	24.5	≤0.025
		CCL	15.5*	198*	49.5*	1.56
		CEX	49.5*	198*	99.0*	3.13

Mouse: ICR, male, n=6

* P<0.05 to CFIX

CY-treated: Cyclophosphamide, 250 mg/kg, i.p., 4 days before challenge

HC-treated: Hydrocortisone, 75 mg/kg, s.c., 4,3,2 and 1 day before challenge

Therapy: p.o., 1 hr after challenge

② 肺炎モデルに対する治療効果

治療効果: *K. pneumoniae* FP221の噴霧によって惹起されたマウスの肺炎モデルを用いてCFIXおよびCCLの治療効果を比較した成績をTable 3に示した。感染4時間後に1回経口投与した場合、CFIXは8.69mg/

kg, CCLは320mg/kg以上のED₅₀値を示した。一方、4日間に7回の頻回投与時の治療効果は1回投与の場合より優れ、ED₅₀値はCFIX 4.44mg/kg, CCL 71.9mg/kgであった。

肺および血中生菌数の変化: Fig.22-aのとおりK.

pneumoniae FP221をマウスに噴霧直後の肺の生菌数は 5.9×10^4 cfu/lung (5例平均)で4時間後は 1.7×10^4 cfu/lung, 8時間後では 3.6×10^3 cfu/lungと減少したが、その後徐々に増加して2日後には 2.6×10^8 cfu/lungとなった。感染4時間後にCFIXの5 mg/kgを経口投与すると、肺内の菌の増殖を著しく抑制し、3日後における生菌数は 1.1×10^4 cfu/lungであった。しかしその後、徐々に増加し、6日後は 3.2×10^5 cfu/lungとなった。CFIXの20mg/kgを経口投与すると殺菌効果は著明で、2日後に肺当り生菌数は10個以下にまで減少した。しかしその後、徐々に増加傾向がみられ、6日後は 4.9×10^3 cfu/lungとなった。一方、CCLの20mg/kgの経口投与では無治療時と同様全く無効であった。CCLの80mg/kgの経口投与ではやや増殖は抑制されたが、その殺菌効果はCFIXの5 mg/kgより弱かった。CFIXの5 mg/kgを4日間に7回投与すると著しい殺菌効果を認め、感染後2日では生菌数は10個以下にまで減少した。しかし薬剤の投与を終了すると6日後に生菌数は 2.0×10^3 cfu/lungにまで増加した。また20mg/kgの頻回投与は、投与期間中10個以下に維持されたが、薬剤投与の終了後にはゆるやかな増殖傾向が認められた。一方、CCLの20および80mg/kg頻回投与でも投与量に対応して肺内菌の増加は抑制されたが、その効果はCFIXの殺菌効果に及ばなかった。

Fig.22-bのとおり同一実験下において血中に菌が検出されるのは噴霧2日後で、その後 $10^6 \sim 10^7$ cfu/mlの菌数が維持された。CFIXの5 mg/kgの投与では3日後に 5.2×10 cfu/ml, 6日後に 1.1×10^3 cfu/mlが検出され、20mg/kgの投与では6日後に 1.9×10^2 cfu/ml検出された。一方、CCLは20および80mg/kgとも3日後にはすでに 4.9×10^6 cfu/mlおよび 6.6×10^5 cfu/mlの菌数

が検出されており、実験肺炎に対する両薬剤の治療効果の差は血中菌数の動向にも顕著にみられた。さらに頻回投与においては投与期間中、両剤とも血中に菌の検出を認めなかったが、投与終了3日後にはCFIX (5 mg/kg; 1.1×10^3 cfu/ml, 20mg/kg; 1.9×10^2 cfu/ml) およびCCL (20mg/kg; 2.1×10^6 cfu/ml, 80mg/kg; 1.9×10^4 cfu/ml) と、それぞれ肺内菌数に対応した菌数が血中から検出された。

肺および血清中濃度推移: Fig.23のとおりマウスに*K. pneumoniae* FP221を噴霧感染し、4時間後CFIXの20mg/kgを経口投与した時の血清中濃度は2時間後にピークに達し、 $5.97 \mu\text{g/ml}$ であった。その後6時間においても $1.58 \mu\text{g/ml}$ が血清中から検出された。同時に測定した肺内濃度も、 $0.34 \mu\text{g/lung}$ と2時間後がピークでその後血清中濃度と同じパターンで消失し、6時間後では $0.08 \mu\text{g/lung}$ が検出された。なおCFIXの*K. pneumoniae* FP 221に対するMICは $0.025 \mu\text{g/ml}$ (10^6 cfu/ml接種)であるため、薬剤投与後6時間まで血中および肺内濃度はそれぞれMICの約60倍および約3倍以上に維持されたことになる。一方、CCLはCFIXとは対症的に血中濃度がピークに達するまでの時間が極めて速く、15分後では $76.7 \mu\text{g/ml}$ が検出されたが、消失も速く4時間後では $0.93 \mu\text{g/ml}$ 、6時間後では検出限界以下であった。肺内濃度も同様に推移し、15分後は $2.66 \mu\text{g/lung}$ 、1時間後は $0.63 \mu\text{g/lung}$ であるが、2時間後では検出限界以下であった。CCLの*K. pneumoniae* FP 221に対するMICは $0.39 \mu\text{g/ml}$ であるため、血中では3 MIC以上が約2時間、肺では1.5MIC以上が約1時間維持されたことになる。

好中球の貪食殺菌におよぼす効果: Fig.24のように正常マウスの肺の常在マクロファージは 1.8×10^5 cells/

Table 3 Comparative activities of Cefixime and Cefaclor against bacteremia induced with *K. pneumoniae*-inhalation in mice

Drug	ED ₅₀ (mg/kg)		MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	Single dose a)	Repeated doses b)	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁴
CFIX	8.69(0.013~36.0)	4.44(0.069~17.6)×7	0.05	0.025	≤0.0125
CCL	>320*	71.90 (12.1~∞) ×7*	0.78	0.39	0.2

Mouse:4-week-old ICR male mice(n=10)

* P<0.05 to CFIX

Infection:*K. pneumoniae* FP221 suspension(1.2×10^8 cfu/ml) was nebulized for 20 min.

Therapy:a) Drugs were given orally in single doses 4 hr after inhalation

b) Drugs were given orally 4 hr after inhalation and continued twice a day for 3 successive days

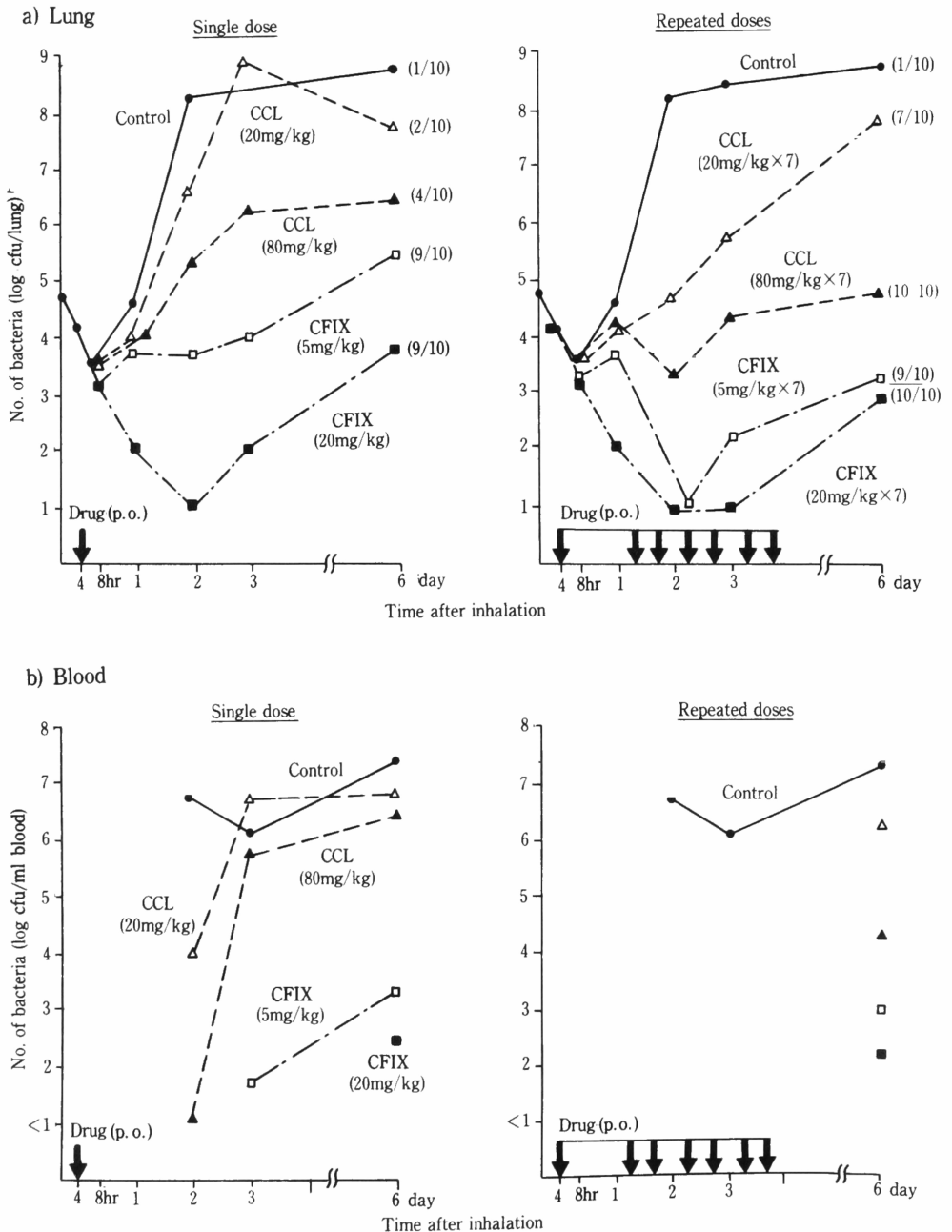
Observation:8 days after inhalation

lung で、好中球は 8.0×10^3 cells/lung であったが、ホルマリン処理 *K. pneumoniae* を感染の場合と全く同一の条件で噴霧した場合、噴霧後6時間でマクロファージは 3.2×10^5 cells/lung と殆ど変化が認められなかったのに*

対し、好中球は 4.0×10^5 cells/lung と顕著な増加が認められた。そこで肺胞好中球より採取が簡易な腹腔好中球を用い、食糸殺菌におよぼすCFIX およびCCLの効果を検討した。Fig.25のように *K. pneumoniae* 単独では

Fig. 22 Effect of Cefixime and Cefaclor on the number of bacteria in lung and blood of mice infected with *K. pneumoniae* by inhalation

* () Survival rate 6 days after inhalation



4時間後に 6.0×10^6 cfu/mlに増加するが好中球の存在により 7.1×10^5 cfu/mlと約1/10に減少した。一方、CFIXの $0.02 \mu\text{g/ml}$ 添加による残存菌数は 7.1×10^5 cfu/mlとなるが好中球の共存により生菌数は 9.1×10^4 cfu/mlとさらに減少した。またCCLの $0.2 \mu\text{g/ml}$ の添加に

よる残存菌数は 1.4×10^6 cfu/mlとなったが、好中球の共存により 9.7×10^4 cfu/mlとなった。好中球の貪食殺菌により同等の生菌数を得るためにはCFIXは $0.02 \mu\text{g/ml}$ 、CCLは $0.2 \mu\text{g/ml}$ が必要であった。

Fig. 23 Serum and lung levels of Cefixime and Cefaclor in mice infected with *K.pneumoniae* by inhalation

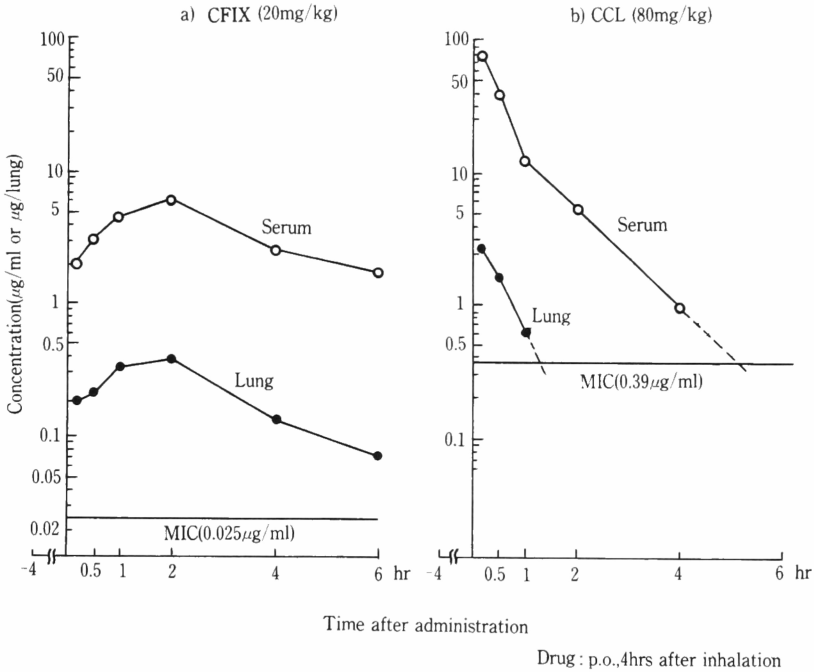


Fig. 24 Exudate response of macrophages and neutrophils in the lung of mice after inhalation of formalized *K.pneumoniae*

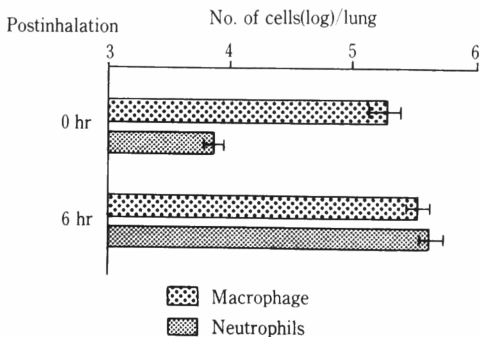
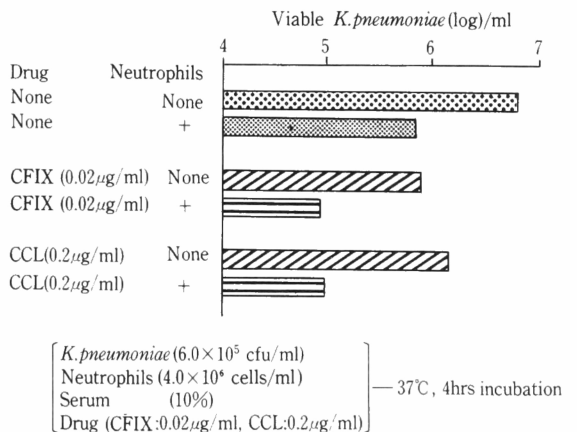


Fig. 25 In vitro phagocytosis and Killing of *K.pneumoniae* by neutrophils of mice in the presence of Cefixime and Cefaclor



考 察

Cefixime (CFIX) は 7 位側鎖に aminothiazolyl carboxymethoxyimino 基を有する経口セフェム剤で、*P. aeruginosa* などのブドウ糖非発酵菌を除くグラム陰性桿菌全般に極めて強い抗菌力を示した。特に、*E. coli*, *K. pneumoniae* および *P. mirabilis* の CEX および CCL 耐性株に対しても強い抗菌力を示し、交差耐性は認められなかった。CEX, CCL が無効であった *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, インドール陽性 *Proteus* にも比較的優れた抗菌力を示した。一方、*S. aureus* などのグラム陽性菌に対する抗菌力は CEX, CCL よりやや劣っていた。

CFIX は *B. fragilis* の産生する β -lactamase に対してはやや不安定であったが、その他のプラスミド支配および染色体支配の各種 β -lactamase に極めて安定で、CEX, CCL のように特定の菌由来の β -lactamase によって特異的に分解されることはなかった。

以上の成績から CFIX はこの種の側鎖を有する第三世代の注射用セフェム剤 (CTX, CZX, CMX, CTRX など) と類似した抗菌活性と β -lactamase に対する安定性を有する経口用セフェム剤と考えられる。

マウスの各種の実験感染に対して CFIX は *in vitro* の抗菌力と相関し、*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* および *P. mirabilis* のいずれの感染モデルにおいても CEX, CCL よりも優れた治療効果を示した。Cyclophosphamide や hydrocortisone 処理による免疫能低下マウスの *K. pneumoniae* および *P. mirabilis* 感染に対しては治療効果は低下したが、CEX, CCL よりも優れていた。また

マウスの実験的 *K. pneumoniae* 肺炎に対しても CCL よりもすぐれた治療効果を示した。

CFIX の各種感染に対する治療効果は、その抗菌力とともに、血清中および組織内濃度のピーク濃度は対照とした CEX, CCL よりも低いが、生体内濃度が持続的であること、および好中球その他の食細胞の貪食殺菌に、低濃度で相乗的に作用することなどの総合的な結果と思われる。

文 献

- 1) 第31回日本化学療法学会東日本支部総会新薬シンポジウム FK027, 1984 (横浜)
- 2) KAMIMURA, T.; H. KOJO, Y. MATSUMOTO, Y. MINE, S. GOTO & S. KUWAHARA: *In vitro* and *in vivo* antibacterial properties of FK027, a new orally active cephem antibiotic. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 25: 98~104, 1984
- 3) NEU, H. C.; N. CHIN & P. LABTHAVIKUL. Comparative *in vitro* activity and β -lactamase stability of FR17027, a new orally active cephalosporin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 26: 174~180, 1984
- 4) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改定について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 5) 吉田 勇, 小川正俊, 宮崎修一, 西勝恵子, 五島嵯智子：グラム陰性桿菌の産生する不活化酵素に対する各種 β -lactam 系薬剤の安定性。 *Chemotherapy* 29: 865~879, 1981
- 6) 横田好子：実験的免疫能低下宿主の感染防御機構と免疫賦活剤による修復。 *日本細菌学雑誌* 39: 29~45, 1984

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF CEFIXIME,
A NEW ORAL CEPHALOSPORIN

SACHIKO GOTO, FUMIAKI IKEDA, MASATOSHI OGAWA,
SHUICHI MIYAZAKI, YASUKO KANEKO and SHOGO KUWAHARA
Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

1. Cefixime (CFIX) exhibited a marked *in vitro* antibacterial activity against clinical isolates of gram-negative bacteria including indole-positive *Proteus* spp., *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii* and *S. marcescens* which are not susceptible to cefaclor or cephalixin.

2. CFIX was highly stable to various types of β -lactamases produced by organisms other than *B. fragilis*.

3. The therapeutic effect of CFIX orally given in normal and immunosuppressed mice infected with *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* or *P. mirabilis* was by far superior to that of cefaclor and cephalixin.

4. The therapeutic effect of CFIX in mice infected with *K. pneumoniae* by inhalation was about 20 times higher than that of cefaclor. The remaining bacterial counts in the lung and blood after dosing with 5 mg/kg of CFIX was lower than that after dosing with 80mg/kg of cefaclor. The inhibition of bacterial growth in the lung and blood of the infected mice was stronger in repeated doses than in a single dose. CFIX at 20mg/kg maintained 3 and 60 times the MIC level respectively in the lung and serum 6 hrs after dosing.

In contrast, cefaclor at 80mg/kg maintained only 2 times the MIC level in the lung 1 hr after dosing 3 times the MIC level in the serum 4 hrs after dosing. The most effective dosage schedule of CFIX in this model infection was started from 4 hrs after infection. Synergism of neutrophils and both drugs was obtained in the *in vitro* phagocytic killing of *K. pneumoniae*. The killing activity of CFIX at 0.02 μ g/ml was almost the same as that of cefaclor at 0.2 μ g/ml in the presence of neutrophils.