

実験的胆道感染症における Cefbuperazone の体内動態と治療効果

亀山 仁一¹⁾・塚本 長¹⁾・浅野 泰司²⁾・千田 尚人²⁾

¹⁾ 山形大学第一外科, ²⁾ 科研製薬

(昭和62年6月9日受付)

家兎を用いた胆道感染症の実験モデルで Cefbuperazone (CBPZ) の体内動態と治療効果について検討し、以下の成績を得た。

1. 胆汁の色調は、CBPZ(-) 群では緑色から黄褐色に変化した。CBPZ(+) 群では変色しなかった。
2. 胆汁中生菌数は CBPZ(-) 群では減少はみられなかったが、CBPZ(+) 群では経時的に減少し、24 時間後ではほとんど検出されなかった。
3. 白血球数は CBPZ(-) 群に比べ、CBPZ(+) 群で有意の低値を示した。
4. 肝機能の障害程度は CBPZ(-) 群に比べ、CBPZ(+) 群で軽度であった。
5. 胆汁中の濃度は血中濃度に比べ著明な高値を示した。
6. 胆のう、胆管の組織中濃度は6時間後でも高値を維持していた。
7. 組織学的には胆のう、胆管壁の炎症性変化は CBPZ(-) 群では著明であったが、CBPZ(+) 群では軽度であった。

以上のことから、CBPZ は胆道感染症に極めて有効な薬剤であったが、これは胆道系への移行が良好なためと思われた。

胆道感染症の治療に際しては、まず胆道内の結石、癌などによる胆道狭窄、胆汁うっ滞を除去することが重要である。次いで適切な抗生物質、特に強力な抗菌力と広範囲抗菌スペクトラムをもち、胆のう組織および胆汁中への移行が優れた毒性の低い薬剤の選択が必要となる¹⁾。

Cephem 系抗生物質である Cefbuperazone (CBPZ) は、 β -lactamase に対し安定であり、腸内細菌科の諸菌種および *Bacteroides* などの嫌気性菌に対し強い抗菌力を示すことが知られており、臨床的には急性胆のう炎、急性胆管炎の治療に大いに期待される薬剤とされている²⁻⁴⁾。しかし、実験的に胆道感染モデルを作製し、胆道への本剤の移行性や治療効果を検討した基礎的な報告はなされていない。

そこで今回我々は、胆道感染において最も多くみられる起炎菌の一つである *E. coli* を、家兎の総胆管内に接種する方法で胆道感染モデルを作製し、CBPZ の体内動態と治療効果を実験的に検討したので報告する。

I. 材料と方法

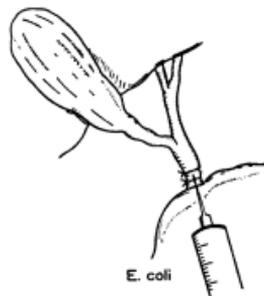
体重 1.8~2.4 kg の日本在来の雌性白色種家兎 30 羽を以下の3群に分けた。対照群は健康家兎とした。CBPZ(-) 群は家兎を背位に固定し、ネブタール麻酔下で上腹部正中切開で開腹し、Fig. 1 に示すごとく、総

胆管末端部を結紮した。その後、滅菌生理食塩水で 3×10^8 CFU/ml に調整した *E. coli* ML 4707 株の菌液 0.1 ml を総胆管内へ接種し閉腹したものとした。CBPZ(+) 群は CBPZ(-) 群の閉腹後ただちに CBPZ (915 μ g/ml 力価、科研製薬) を 50 mg/kg 力価を筋注したものとした。以上の3群を対象として以下の項目について検討した。

1) 最小発育阻止濃度 (MIC)

使用菌株の MIC の測定は、日本化学療法学会感受性

Fig. 1 Experimental procedures



CBPZ 50mg/kg, i.m.

測定法³⁾に準じ、測定用培地には感受性ディスク用培地(日本製薬)を用いた。

2) 胆汁の色調

胆のう、胆管胆汁の色調を肉眼的に観察した。なお、CBPZ(-)群、CBPZ(+)群では感染後24、48時間後に再開腹し、胆汁を採取して観察した。

3) 胆汁中生菌数

CBPZ(-)群、CBPZ(+)群で1/2、1、2、4、6、24、48時間後に家兎を再開腹し、胆のうおよび胆管より胆汁を採取し、生菌数を測定した。測定用培地には普通寒天培地(日本製薬)を用いた。

4) 白血球数

3群で心穿刺により採血し白血球数を測定した。なお、CBPZ(-)群、CBPZ(+)群では感染6、24時間後に測定した。

5) 肝機能

4)項で採取した血液について、GOT、GPT、総ビリルビン、LDH、アルカリフォスファターゼを測定した。

6) CBPZの血液、胆汁、組織中濃度

CBPZ(+)群で感染後、1/2、1、2、4、6、24時間後に血液、胆のうおよび胆管胆汁、胆のうおよび胆管組織中のCBPZ濃度を測定した。胆のうおよび胆管壁は、リン酸緩衝液(1/15 M, pH 7.0)で付着した胆汁や血液を軽く洗浄し、濾紙上で余分な水分を吸い取り、組織重量1g当り3mlの同緩衝液を加え、テフロンホモジナイザーを用いてホモジナイズした後、遠心分離し、その上清中の薬剤濃度を定量した。薬剤濃度測定には、*K. pneumoniae* ATCC 10031を検定菌とする薄層ディスクのbioassay法により定量した。検査線の希釈系列の作成は、血清には正常無処置家兎の血清、胆汁および組織試料には同緩衝液を用いた。

7) 組織学的検査

感染48時間後のCBPZ(-)群、CBPZ(+)群の胆のう壁、胆管壁をH-E染色し組織学的に検討した。

8) 統計学的処置

各実測値は、平均値±標準偏差(m±SD)で表わし、有意差はSTUDENT'S t-testにて検定した。

II. 成績

1) 被験菌のCBPZ感受性

E. coli ML 4707に対するCBPZのMICは 10^6 cells/ml, 10^8 cells/mlの接種菌量でそれぞれ0.05、0.1 μg/mlであった。

2) 胆汁の色調

胆汁の色調の変化についてみると、健康家兎の胆汁は透明な緑色をしているが、感染24時間後のCBPZ(-)群はCBPZ(+)群に比べ濃い緑色を呈し、48時間後に

Fig. 2 Effect of CBPZ on viability of *E. coli* in bile

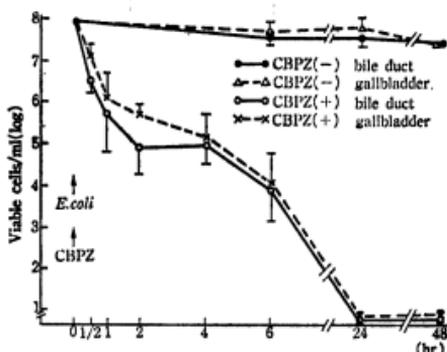


Fig. 3 Number of white blood cells (WBC)

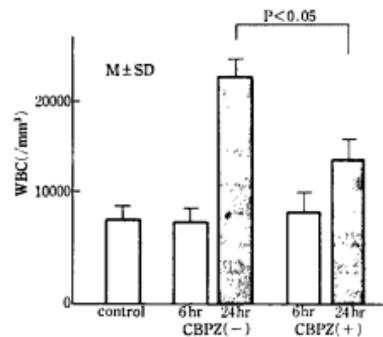


Fig. 4 Blood, bile and tissue levels of CBPZ

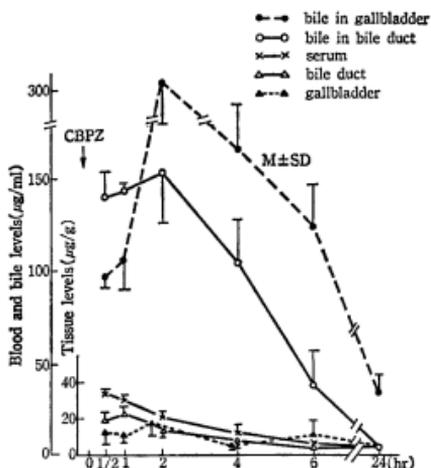


Table 1 Effect of CBPZ on liver function

Time	CBPZ	S-GOT (IU)	S-GPT (IU)	Total bilirubin (mg/dl)	LDH (IU)	Al-P (IU)
Normal control		13	15	0.5	138	180
6hr	(-)	4,066±1,867	1,733±803	1.3±0.7	1,843±435	476±114
	(+)	4,784±2,021	1,976±759	0.9±0.7	2,360±858	733±282
24hr	(-)	2,220±315	1,103±326	1.8±0.4	851±375	1,103±175
	(+)	942±595	468±206	1.5±0.9	505±105	635±195

M±SD, * P<0.05

なると濁った黄褐色に変化した。CBPZ(+)群は通常家兎の色調と変化を認めなかった。

3) 胆汁中生菌数 (Fig. 2)

CBPZの胆汁中生菌数に及ぼす影響を Fig. 2 に示した。CBPZ(-)群では胆のう、胆管中ともに感染菌の生菌数は48時間後まで、 10^4 CFU/ml前後の値を示していた。一方、CBPZ(+)群では胆のう、胆管中ともに経時的に減少し、6時間後では 10^4 CFU/ml前後の値を示し、24, 48時間後には10 CFU/ml以下とほとんど検出されなかった。

4) 白血球数 (Fig. 3)

感染後の血中の白血球数の変動を Fig. 3 に示した。感染6時間後ではCBPZの投与の有無を問わず、対照群とはほぼ同値を示した。24時間後になると、両群とも白血球数は増加したが、CBPZ(+)群ではCBPZ(-)群に比べ有意の低値を示していた (P<0.05)。

5) 肝機能 (Table 1)

GOT, GPTは対照群に比べ、6, 24時間後ともにCBPZ(-)群、(+)群で著明な上昇が認められた。しかし、24時間後ではGOT, GPTともにCBPZ(-)群に比べてCBPZ(+)群で有意の低値を示した (P<0.05)。総ビリルビン、LDHも対照群に比べ、CBPZ(-), (+)群ともに6, 24時間後で著明な高値を示したが、2群間に有意差は認められなかった。アルカリフォスファターゼもほぼ同様な成績であったが、24時間後ではCBPZ(-)群に比べ、CBPZ(+)群で有意の低値を示した (P<0.05)。

6) CBPZの血液、胆汁、組織中濃度 (Fig. 4)

CBPZの血中濃度は、投与1/2時間後に最高値 $33.8 \pm 2.4 \mu\text{g/ml}$ に達し、その後漸減しているが6時間後においても $3.1 \pm 2.0 \mu\text{g/ml}$ と、MIC値をはるかに上回る値を示していた。

胆のう、胆管胆汁中濃度は投与2時間後で胆のう中で $301.1 \pm 87.9 \mu\text{g/ml}$ 、胆管中で $151.8 \pm 59.5 \mu\text{g/ml}$ の著明に高い最高値を示し、以後漸減した。しかし、6時間

後においては胆のう中で $122.2 \pm 85.7 \mu\text{g/ml}$ 、胆管中で $37.4 \pm 43.0 \mu\text{g/ml}$ 、24時間後においても胆のう中では $32.2 \pm 9.5 \mu\text{g/ml}$ と高濃度を維持していた。すなわち、胆汁中濃度は胆のう胆管ともに血中濃度に比べ著明な高値を示していた。

組織中濃度については、投与1/2時間後の胆のう、胆管壁の 14.6 ± 7.5 , $19.6 \pm 3.2 \mu\text{g/g}$ から経時的に漸減する傾向が認められたものの、投与6時間後でもそれぞれ 9.5 ± 6.5 , $2.4 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$ と高濃度を維持していた。

7) 組織学的所見 (Figs. 5, 6)

まず、胆のう壁については (Fig. 5), CBPZ(-)群では粘膜上皮の萎縮、変性、扁平化を認め、粘膜固有層への多核白血球の浸潤も認められた。一方、CBPZ(+)群ではこのような変化はわずかであった。次に、胆管壁についてみると、Fig. 6 に示されたようにCBPZ(-)群では、菌塊を含んだフィブリノイド変性、および周囲の線維化を認めたが、CBPZ(+)群では小円形細胞の浸潤を認めるのみであった。

III. 考 察

胆道感染症の治療に際しては、胆汁から検出される起炎菌に優れた抗菌力を示すとともに、胆汁および胆のう組織内移行の良好なことが薬剤選択の大きな条件となる。

胆道感染症の起炎菌はほとんど腸内細菌であり、グラム陰性菌の *E. coli* や *K. pneumoniae* の頻度が高い。さらに *Bacteroides* などの嫌気性菌もしばしば分離される⁸⁾。CBPZはこのような起炎菌に対して、著しく強い抗菌力を示すことが知られている⁹⁾。また、臨床例でも胆汁排泄および胆のう組織内移行が良好であるために胆道感染症、特に急性胆管炎、急性胆のう炎の治療に大いに期待される薬剤とも報告されている^{8,9,10)}。

しかし、実験的に胆道感染モデルを作製し、胆道への本剤の移行や治療効果を検討した基礎的な報告はなされていない。

そこで今回我々は、家兎の総胆管内に胆道感染症の時

Fig. 5 Microscopic findings in the gallbladder

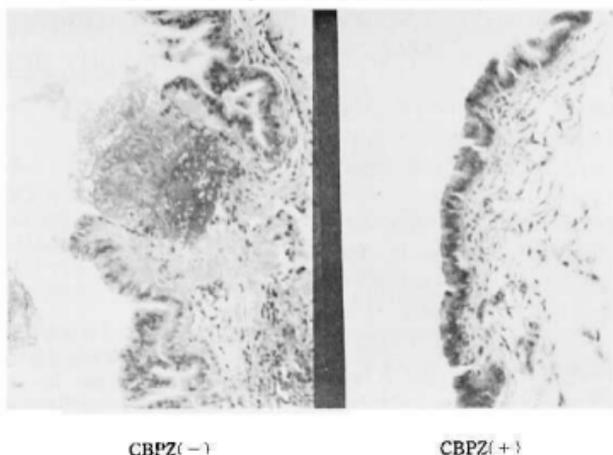
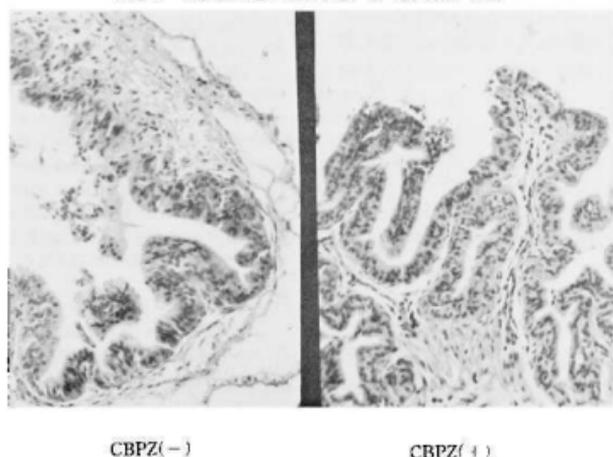


Fig. 6 Microscopic findings in the bile duct



に最も多くみられる起炎菌の一つである *E. coli* を接種する方法で胆道感染モデルを作製し、CBPZ の体内動態と治療効果を中心に検討した。

まず、胆のう、胆管胆汁の色調についてみると、陸家宛の場合は人間とは異なり緑色を呈している。これに感染が起こると黄褐色に変化した。胆汁中の色素（ビリルビン）が腸内細菌の感染により還元され、ビリルビンになり、さらにウロビリジンに変化するためといわれている。今回の成績でも感染後、CBPZ を投与していない群では黄褐色に変化した。投与群では変色しなかった。すなわち、CBPZ には胆道内の大腸菌に対して強

い抗菌作用を有することを示唆するものであろう。

胆汁中細菌数についてみると、胆のう、胆管内ともに CBPZ(-) 群では 48 時間後まで菌数の減少は認められなかった。一方、CBPZ(+) 群では時間とともに減少し 24 時間以後はほとんど検出されなかった。このような成績は CBPZ には胆道内の大腸菌に対して強い抗菌作用を有することを示すものであり、先に述べた胆汁の色調の変化を裏付けするものである。

白血球数についてみると、24 時間後には、CBPZ(-) 群、CBPZ(+) 群ともに増加がみられるものの、その程度は後者で有意に低値を示した。この結果も胆汁の色

調、胆汁中の生菌数で得られた成績と合致すると考えてよからう。

肝機能についてみると、24時間後にはCBPZ(-)群に比べ、CBPZ(+)群でGOT、GPT、アルカリフォスファターゼが有意の低値を示していた。すなわち、胆道感染症に際しては抗生物質を早期より投与することにより肝機能障害に対しても良好な成績が得られることを示しているものと思われる。

胆汁中の本剤の濃度についてみると、胆のう内、胆管内いづれの胆汁も、全経過を通して血中濃度に比べ著明な高値を示していた。荒谷ら¹⁰もウサギの実験で胆汁中濃度は血中濃度の1.3~6.0倍であったと報告している。組織中の濃度についても胆のう壁、胆管壁ともに6時間後においても高値を維持していた。山田ら⁹も臨床例での胆のう壁中で同様な報告をしている。したがって胆汁中、あるいは胆のう、胆管組織への移行性の良好な薬剤であることがわかる。このことは胆汁の色調の変化、生菌数、白血球数、肝機能などの結果を説明できる成績といえよう。高畑ら¹⁰も家兎を用いて胆道感染症における抗生物質の体内動態を検討している。彼らは、総胆管を結紮し、24時間後に結紮を解除した非閉塞群と解除しない閉塞群との2群に分けて実験を行なっている。その成績によれば、両群の病態は明らかに異なり、閉塞群では非閉塞群に比べ、どの抗生物質も胆汁中濃度は低値でかつ経時的に高くなる傾向を示したと述べている。著者らの成績は使用した薬剤や実験方法は異なるが、どちらかといえば彼らの閉塞群ではなく、非閉塞群のものに近いモデルである。すなわち、我々の実験モデルは胆管を結紮してはいるが、肝臓の薬剤排泄機能はまだ正常で、胆汁中移行はそれ程阻害されていない時期の実験方法と考えるとよからう。

今後、この領域での実験モデルとして大いに用いられよう方法の一つであると思われる。

最後に組織学的に検索してみたところ、CBPZ(-)群の炎症性変化は強いが、CBPZ(+)群での変化はほとんど認められなかったという成績が得られた。すなわち、

これらの組織所見はこれまでの胆汁の色調、生菌数、血中白血球数、肝機能、体内動態などで得られた成績とよく合致するといえる。

なお、本論文の要旨は第8回 World Congress of Gastroenterology (1986年9月、サンパウロ市)で発表された。

文 献

- 1) 谷村 弘: 注目される抗生物質と使い方、胆道感染症。臨床と研究 59: 3238~3244, 1982
- 2) 谷村 弘, 他 (11施設及び関連施設): 胆道感染症の化学療法 (XVII)-T-1982の胆道組織内移行と臨床効果。Chemotherapy 30: 679~693, 1982
- 3) 藤本幹夫, 他 (7施設及び関連施設): 外科領域におけるT-1982の臨床使用成績。Chemotherapy 30: 694~704, 1982
- 4) 川上克彦, 古賀明俊, 中山文夫: T-1982臨床治療成績—胆道感染症における臨床的検討を中心として—。Chemotherapy 30: 705~707, 1982
- 5) 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
- 6) 糸瀬 薫, 古川正人, 中田俊則, 山田隆平, 酒井敦, 前田 滋, 森永敏行, 大坪光次: Mezlocillinの胆汁中移行に関する臨床的研究。Chemotherapy 33: 1075~1080, 1985
- 7) SUZUKI, I.; H. SENDA, T. YOKOTA: *In vivo* activity of cefbuperazone (T-1982) against various experimental infections in mice. J. Antibiotics. 38: 249~258, 1985
- 8) 荒谷春恵, 建石英樹, 福宜田純子, 山中康光, 江頭 享: T-1982に関する薬理学的研究。Chemotherapy 30: 222~231, 1982
- 9) 山田良成, 花谷勇治, 齊藤敏明: 外科領域におけるT-1982の基礎的検討および臨床経験。Chemotherapy 30: 662~670, 1982
- 10) 高畑正裕, 笹倉かの子, 滝 秀雄, 保田 隆, 才川 勇: 家兎実験的胆道感染症における抗生物質の体内動態と治療効果。Chemotherapy 30: 277~285, 1982

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE PHARMACOKINETICS
AND THERAPEUTIC EFFECT OF CEFBUPERAZONE
IN BILIARY INFECTION

JIN-ICHI KAMEYAMA¹⁾, MASARU TSUKAMOTO¹⁾,
TAIJI ASANO²⁾ and HISATO SENDA²⁾

¹⁾ First Department of Surgery, Yamagata University School of Medicine,
Yamagata, Japan.

²⁾ Kaken Pharmaceutical Co., Ltd. Tokyo, Japan.

The pharmacokinetics and therapeutic effect of cefbuperazone (CBPZ) were studied using rabbits with an experimental biliary infection caused by *E. coli*. The animals were divided into three groups; control group: normal rabbits, CBPZ(-)group: infected rabbits without CBPZ, CBPZ(+)group: infected rabbits with CBPZ administration. The following results were obtained.

1. Bile color in the CBPZ(-)group changed from green to pale brown, but no changes were found in the CBPZ(+)group.
2. The number of viable *E. coli* in bile did not decrease even 48 hr later in the CBPZ(-)group; but in the CBPZ(+)group, it decreased progressively until it was less than 10 cells/ml after 24 hr.
3. White blood cells in the CBPZ(+)group were significantly less than in the CBPZ(-)group.
4. Liver dysfunction in the CBPZ(+)group was not serious compared to that of the CBPZ(-)group.
5. CBPZ level in bile was much higher than that in blood.
6. CBPZ in the gallbladder and bile duct showed high levels even after 6 hr.
7. From the microscopic findings, inflammatory changes in the gallbladder and bile duct in the CBPZ(+)group were not so serious as those in the CBPZ(-)group.

From these results, we concluded that CBPZ has a high degree of biliary excretion and excellent tissue penetration, and that it should be useful in the treatment of biliary infection.