

Carumonam の実験的呼吸器感染症および尿路感染症における治療効果について

岩日朋幸・西 武・中尾雅文・飯沢祐史・近藤正熙・今田 哲
武田薬品工業株式会社中央研究所

Carumonam (CRMN) の実験的呼吸器感染症並びに尿路感染症に対する治療効果を aztreonam (AZT) のそれと比較検討した。

Klebsiella pneumoniae DT-S による呼吸器感染症, *Proteus mirabilis* IFO 3849 による尿路感染症及び *Pseudomonas aeruginosa* P 9 による尿路感染性において, carumonam は aztreonam とほぼ同程度の治療効果を示した。これら 3 菌株に対する両剤の *in vitro* 抗菌力はほぼ同程度であるので, CRMN は呼吸器系あるいは尿路系の病巣内移行性においても AZT と類似した動態を示すものと考えられる。

近年, 臨床各科領域において, 細菌感染性特に複雑性疾患の起原菌としてグラム陰性桿菌の増加が目ざされている。これらのグラム陰性桿菌は, しばしば既存の抗生物質に耐性を示すため, これらの菌種に有効な抗生物質の開発が望まれている。

Carumonam は, *Pseudomonas aeruginosa* を含む各種グラム陰性桿菌に強い抗菌力を有する新規単環性 N-sulfo- β -lactam 抗生物質である (Fig. 1)¹⁾。本剤は各種実験動物に皮下あるいは筋肉内投与したとき, 注射局所から速やかに吸収され, 血中へ移行し, 比較的良好な臓器移行性を示し, 主として尿中に排泄される²⁾。

本報告では, グラム陰性桿菌によるマウス実験的呼吸器感染症並びに尿路感染症における carumonam の治療効果を aztreonam を比較薬剤として検討した。

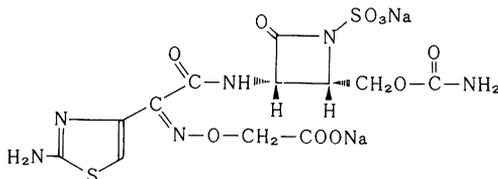
研究所で, Azthreonam (AZT) は Hoffmann-La Roche Inc. で合成されたものを用いた。

Table 1 MICs of carumonam and aztreonam against *K. pneumoniae* DT-S, *P. mirabilis* IFO 3849, and *P. aeruginosa* P 9^{a)}

Organism	MIC (μ g/ml)	
	Carumonam	Aztreonam
<i>K. pneumoniae</i> DT-S	0.025	0.013
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.025	0.013
<i>P. aeruginosa</i> P 9	0.78	1.56

a) : Determined by the agar dilution method on Mueller Hinton agar (BBL) using an inoculum of 10^6 CFU/ml.

Fig. 1 Chemical structure of carumonam



実験材料及び方法

1. 薬剤

Carumonam (CRMN) は武田薬品工業(株)・中央

2. 菌株

Klebsiella pneumoniae DT-S, *Proteus mirabilis* IFO 3849 及び *Pseudomonas aeruginosa* P 9 を用いた。化学療法学会標準法に準じて測定したこれら 3 菌株に対する CRMN 及び AZT の最小発育阻止濃度 (MIC) を Table 1 に示す。

3. 感染症の作成

K. pneumoniae による呼吸器感染症は NISHI & TSUCHIYA³⁾ の方法により作成した。4 週齢, 体重 19 ~ 21 g の Slc : ICR マウスに *K. pneumoniae* DT-S の 7.6×10^8 colony forming units (CFU)/ml 菌液をネブライザーを用いて 1.2 kg/cm^2 で 40 分間

Table 2 Therapeutic effects of carumonam and aztreonam on pneumonia caused by *K. pneumoniae* DT-S in mice^{a)}

Treatment ^{b)} Antibiotic dose (mg/kg)	Survival ^{c)} rate (Survival /total)	Time to ^{d)} death (days; mean±S.D.)	Rate of positive mice for ^{e)}		No. of bacteria ^{f)} in lung (log CFU/tissue; mean±S.D.)	50% effective dose calculated by ^{g)}	
			Gross lesion (positive /survival)	Bacterial recovery (positive /survival)		Survival rate (SD ₅₀ , mg/kg)	Eradication rate (CD ₅₀ , mg/kg)
Infected control	0/10	2.4±0.5					
Carumonam 80	0/10	3.3±1.2					
160	6/10	5.3±2.2	6/6	6/6	6.47±1.11	209	578
320	7/10	3.0	7/7	7/7	4.85±1.66	(122~343)	(382~>640)
640	8/10	2.0	8/8	3/8	3.90±0.21		
Aztreonam 80	0/10	4.5±1.5					
160	4/10	6.0±2.1	4/4	4/4	7.59±0.62	267	>640
320	7/10	2.3±0.6	7/7	7/7	5.85±1.34	(163~493)	
640	7/10	2.3±0.6	7/7	7/7	2.79±1.04		

a) : Four-week-old Slc:ICR male mice weighting 19 to 21 g were used. Bacterial suspension (7.6×10^8 CFU/ml) was nebulized at a pressure of 1.2 kg/cm² for 40 min.

b) : Antibiotics were administered subcutaneously two times a day (at 9 a.m. and 5 p.m.) for 7 days beginning 30 h after infection. Dose is expressed as amount of antibiotic per injection.

c) : Survival rate on day 8 after infection.

d) : Time to death was calculated for fatal cases only.

e) : Surviving animals were sacrificed on day 8 after infection and examined for gross pulmonary lesions and bacterial recovery from the lung. Bacterial recovery was considered as positive when the number of bacteria was more than 10^1 CFU/tissue.

f) : Number of bacteria in lung was calculated for positive lungs only.

g) : SD₅₀, 50% survival dose; CD₅₀, 50% clearance dose. Numbers in parentheses indicate 95% confidence limits.

噴霧し、感染した。感染直後の肺内菌数は約 10^4 CFU/lung であったが、感染 30 時間後には約 10^8 CFU/lung に増加した。

P. mirabilis による尿路感染症は IWAHI & TSUCHIYA⁴⁾ の方法により作成した。5~6 週齢、体重 18~20 g の CF⁺ 1/b マウスに *P. mirabilis* IFO 3849 の約 10^3 CFU を経尿道的に膀胱内に注入し、尿道口を 6 時間閉塞した。閉塞解除直後の尿中からは 10^4 ~ 10^6 CFU/ml の、膀胱壁からは 10^2 ~ 10^5 CFU/bladder の、腎からは 10^0 ~ 10^2 CFU/kidneys の感染菌が回収されたが、3 日後には尿中、膀胱壁及び腎内菌数は各々 10^6 ~ 10^7 CFU/ml, 10^4 ~ 10^7 CFU/bladder 及び 10^3 ~ 10^6 CFU/kidneys に増加した。

P. aeruginosa による尿路感染症は NISHI & TSUCHIYA⁵⁾ の方法により作成した。5~6 週齢、雌、体重 18~20 g の CF⁺ 1/k マウスに *P. aeruginosa* P 9 の約 10^6 CFU を経尿道的に膀胱内に注入し、尿道口を 6 時間閉塞した。閉塞解除直後には尿中からは 10^5 CFU/ml 以上の、膀胱壁からは 10^3 ~ 10^6 CFU/

bladder の、腎からは 10^4 ~ 10^6 CFU/kidneys の菌数が回収された。感染 3 日後には腎内菌数は 10^6 ~ 10^7 CFU/kidneys に増加したが、膀胱壁内菌数は著しく減少し、感染菌が検出されないマウスも散見された。

4. 治療試験

各感染症における CRMN 及び AZT の治療効果はいずれも前報^{3,4,6)} に準じて測定した。*K. pneumoniae* による呼吸器感染症では感染 30 時間後から 7 日間、*P. mirabilis* 及び *P. aeruginosa* による尿路感染症では感染 3 日後から 5 日及び 10 日間、1 日朝夕 2 回、薬剤の 2 倍又は 4 倍階段希釈液を 0.2 ml ずつ皮下投与した。呼吸器感染症では経日的に生死を観察すると共に、投薬終了翌日に生残マウスの肺内菌数を測定した。*P. mirabilis* による尿路感染症では 3 日間投薬後の翌朝に各マウスから尿 5 μ l を採取し尿中菌数を調べると共に、5 日間投薬後の翌日に膀胱壁及び腎内菌数を測定した。*P. aeruginosa* による尿路感染症では投薬終了翌日に腎における肉眼病変の有無を調べると共に、腎内菌数を

Table 3 Therapeutic effects of carumonam and aztreonam on urinary tract infection caused by *Proteus mirabilis* IFO 3849 in mice^{a)}

Antibiotic ^{b)}	Dose (mg/kg)	Urine ^{c)}		Bladder ^{d)}			Kidney ^{d)}		
		Eradication rate (negative/total)	CD ₅₀ ^{e)} (mg/kg)	Eradication rate (negative/total)	No. of bacteria (log CFU/tissue; mean±SD)	CD ₅₀ ^{e)} (mg/kg)	Eradication rate (negative/total)	No. of bacteria (log CFU/tissue; mean±SD)	CD ₅₀ ^{e)} (mg/kg)
Control		0/19		0/19	4.46±0.68		0/19	5.36±1.11	
Carumonam	1.56	2/15		3/15	4.58±1.49		2/15	4.03±1.53	
	6.25	3/15	16.36	5/15	3.64±1.36	28.0	4/15	2.74±1.28	204
	25	10/15	(8.20~31.10)	11/15	3.14±0.70	(3.49~291)	5/15	3.14±0.96	(51~>400)
	100	12/15		9/15	1.72±0.45		7/15	2.03±0.96	
	400	15/15		9/15	1.56±0.43		7/15	2.15±0.89	
Aztreonam	1.56	3/15		3/15	5.27±1.00		1/15	3.81±1.55	
	6.25	8/15	9.00	8/15	2.52±2.03	9.57	3/15	2.33±1.02	264
	25	8/15	(3.25~19.24)	10/15	2.12±0.67	(2.13~30.86)	6/15	2.31±0.84	(67~>400)
	100	14/15		11/15	1.45±0.57		5/15	1.93±0.57	
	400	14/15		7/15	1.30±0.39		8/15	1.78±0.53	

- a) : Urinary tract infection was induced in female 5 to 6-week-old CF#1/b mice by transurethral inoculation of about 10^3 CFU of *P. mirabilis* IFO 3849 into the bladder, followed by urethral obstruction for 6 h.
- b) : At day 3 after infection, mice with bacteriuria of more than 10^5 CFU/ml and with reduction of their body weight within 15% of the initial weight were selected and grouped for antibiotic therapy. Antibiotics were administered subcutaneously twice a day (10 a.m. and 5 p.m.) for 5 days.
- c) : The number of bacteria in $5 \mu\text{l}$ of urine was examined by quantitative cultures in the morning after medication for 3 days. The urine cultures were considered as negative when the number of bacteria was less than 5×10^3 CFU/ml of urine.
- d) : The bladder wall and kidneys were examined bacteriologically the day after completion of medication. The bladder and kidney cultures were considered as negative when the number of bacteria was less than 10^1 CFU/tissue.
- e) : Numbers in parentheses indicate 95% confidence limits.

測定した。

各臓器内菌数が臓器当り 10 CFU 以下に尿中菌数が 5×10^3 CFU/ml 以下に減少した場合を陰性例とした。

SD₅₀ (50% survival dose) 値は投薬終了翌日の生残率を、CD₅₀ (50% clearance dose) 値は投薬終了翌日の臓器内菌数の陰性化率(陰性例/被験例)を指標に、Probit法⁷⁾により算出した。ただし、*P. aeruginosa* による尿路感染症では REED & MUENCH法⁸⁾により算出した。

実験結果

1. *K. pneumoniae* による呼吸器感染症における治療効果

感染 30 時間後から CRMN 及び AZT を 1 回当り 80~640 mg/kg を 1 日朝夕 2 回 7 日間皮下投与した (Table 2)。無投薬群では感染 3 日後までに全

例が死亡した。CRMN 治療群では 160 mg/kg 以上の投与量で半数以上が生残し、320 mg/kg 以上の投与量で肺内菌数の著明な減少が認められた。640 mg/kg の投与量では生残した 8 例中 5 例のマウスで肺内菌数の陰性化が認められた。一方、AZT 治療群では 640 mg/kg の投与量で生残した 7 例中全例のマウスの肺から感染菌が回収された。生残率を指標に求めた CRMN 及び AZT の SD₅₀ 値は各々 209 mg/kg 及び 267 mg/kg であり、肺内菌数の陰性化率を指標に求めた CRMN 及び AZT の CD₅₀ 値は各々 578 mg/kg 及び >640 mg/kg であった。

2. *P. mirabilis* による尿路感染症における治療効果

感染 3 日後から CRMN 及び AZT を 1 回当り 1.56~400 mg/kg ずつ 1 日朝夕 2 回 5 日間皮下投与した (Table 3)。無投薬群では感染 5 日後には全例の尿中から $>10^5$ CFU/ml の、感染 8 日後には全例

Table 4 Therapeutic effects of carumonam and aztreonam on urinary tract infection caused by *P. aeruginosa* P9 in mice^{a)}

Antibiotic ^{b)}	Dose (mg/kg)	Gross lesion in kidney ^{c)} (negative/total)	Eradication rate in kidney ^{c)} (negative/total)	No. of bacteria in kidney ^{d)} (log CFU/tissue; mean ± SD)	CD ₅₀ ^{e)} (mg/kg)
Control Carumonam	0	1/11	1/11	6.44 ± 1.51	154
	12.5	4/8	1/8	5.88 ± 1.76	
	25	5/11	5/11	6.57 ± 1.51	
	50	8/13	6/13	4.54 ± 2.16	
	100	4/7	1/7	5.32 ± 1.80	
	200	5/9	5/9	6.37 ± 0.62	
	400	4/10	3/10	5.77 ± 1.45	
	800	6/6	3/6	4.24 ± 2.01	
Aztreonam	12.5	6/10	4/10	5.04 ± 1.65	135
	25	3/9	2/9	5.50 ± 1.72	
	50	5/11	3/11	5.73 ± 1.74	
	100	5/11	6/11	5.79 ± 1.01	
	200	5/10	4/10	5.50 ± 0.92	
	400	7/11	6/11	4.97 ± 1.57	
	800	5/8	5/8	4.68 ± 0.97	

a) : Urinary tract infection was induced in female 5 to 6-week-old CF#1/K mice by transurethral inoculation of about 10⁶ CFU of *P. aeruginosa* P9 into bladder.

b) : Antibiotics were administered subcutaneously twice a day for 10 days starting on day 3 after infection. Mice without bacteriuria of more than 10⁵ CFU/ml of urine on day 3 were excluded.

c) : The kidneys were examined for gross lesions and bacterial recovery the day after completion of medication. Bacterial recovery was considered as positive when the number of bacteria was more than 10¹ CFU/tissue.

d) : Calculated for positive cases only.

e) : Determined by the method of REED and MUENCH.

の膀胱壁及び腎から各々10⁴~10⁵CFU/bladder 及び 10⁵~10⁶CFU/kidneys の感染菌が回収された。CRMN 治療群では 25 mg/kg 以上の投与量で半数以上のマウスの尿中及び膀胱壁内菌数が陰性化し、腎内菌数も著明に減少した。しかし、尿中及び膀胱壁に比べ腎内の感染菌は消失し難く、100 mg/kg 以上の投与量でも半数以上のマウスの腎から 10²~10³ CFU/kidneys の感染菌が回収された。AZT 治療群では 6.25 mg/kg 以上の投与量で半数以上のマウスの尿中及び膀胱壁内菌数が陰性化した。本剤の場合にも尿中及び膀胱壁に比べ腎内の感染菌は消失し難く、100 mg/kg 以上の投与量でも半数以上のマウスの腎から 10¹~10³CFU/kidneys の感染菌が回収された。臓器内菌数の陰性化率を指標に求めた

CRMN 及び AZT の CD₅₀ 値は、尿では 16.36 mg/kg 及び 9.00 mg/kg、膀胱壁では 28.0 mg/kg 及び 9.57 mg/kg、腎では 204 mg/kg 及び 264 mg/kg であった。

3. *P. aeruginosa* による尿路感染症における治療効果

感染3日後から CRMN 及び AZT を1回当たり 12.5~800 mg/kg を1日朝夕2回10日間皮下投与した(Table 4)。無投薬群では感染13日後、腎から1例を除き 10⁵~10⁶CFU/kidneys の感染菌が回収された。CRMN 及び AZT による治療ではいずれの薬剤においても用量-効果関係が不明瞭で、比較的低投与量でも腎に肉眼病変が認められない場合には腎内菌数が高率に陰性化していたが、比較的高投

与量でも腎に肉眼病変が認められる場合には多くの場合感染菌が検出された。腎内菌数の陰性化率を指標に算出した CRMN 及び AZT の CD_{50} 値はそれぞれ 154 mg/kg 及び 135 mg/kg であった。

考 察

CRMN のマウスにおける実験的呼吸器感染症並びに尿路感染症における治療効果を AZT を比較薬剤として検討した。

K. pneumoniae DT-S による呼吸器感染症においては、CRMN は生残率及び肺内菌数の陰性化率のいずれを指標にしても AZT よりもやや良好な効果を示したが、有意差は認められなかった。本菌に対する CRMN の *in vitro* 抗菌力は AZT とほぼ同程度かやや弱い¹⁾。また、健常マウスに両剤を皮下投与したとき、血中薬剤濃度は AZT の方が CRMN よりもやや高い濃度推移を示すが、両剤の肺組織内における薬剤濃度の推移は極めて類似している²⁾。したがって、本感染モデルにおいて CRMN が AZT とほぼ同程度の治療効果を示すのは、*in vitro* の抗菌力、生体内動態と共に、肺内感染病巣への移行性においても両薬剤が類似した動態を示すことを示唆している。

P. mirabilis IFO 3849 による尿路感染症においては、CRMN は尿及び膀胱内菌数の陰性化率を指標に比較すると AZT よりもやや弱い³⁾が、腎内菌数の陰性化率を指標に比較すると AZT とほぼ同程度の効果を示した。本菌に対しても CRMN は AZT とほぼ同程度かやや弱い抗菌力を示す⁴⁾。また両薬剤を健常マウスに皮下投与したとき、血中薬剤濃度は AZT の方が CRMN よりもやや高い⁵⁾が、腎及び尿中薬剤濃度は CRMN の方が AZT よりもやや高い⁶⁾。したがって、本感染モデルにおいても両薬剤は *in vitro* 抗菌力および生体内動態に応じた治療効果を示すと考えられる。

P. aeruginosa P9 による尿路感染症においては CRMN 及び AZT のいずれで治療した場合にも腎内菌数は消失し難く、用量-効果関係も不明瞭であった。複雑性尿路感染症、中でも縁膿菌に起因する疾患は難治性であり、本疾患の化学療法による治療の成否は、背景因子や病態により著しく影響を受けることがしばしば指摘されている。本感染症においても腎に肉眼病変が認められない場合には比較的低投

与量でも腎内菌数が高率に陰性化していたが、腎に肉眼病変が認められる場合には比較的高投与量でも感染菌が残存していた。*P. aeruginosa* による重症の腎感染の治療の場合には、感染部位における薬剤の持続が必要と思われる。ヒトにおける CRMN の血中半減期 (1000 mg/man 筋注時, 2.03h) はマウスにおける本剤の血中半減期 (20 mg/kg 皮下投与時間, 0.17h) よりはるかに長く、腎内濃度の持続時間も同様の傾向を示すものと考えられる。*P. aeruginosa* によるマウス実験的尿路感染症に対し、ヒトの体内動態をシミュレートした投与スケジュールで治療効果の検討を行う必要があると考えられる。(試験期間：昭和 58 年 6 月 1 日～昭和 60 年 3 月 1 日)

文 献

- 1) 近藤正熙, 西 武, 中尾雅文, 深沢一郎, 野路弓子, 今田 哲, 新規単環性 N-sulfo- β -lactam 抗生物質, Carumonam の *in vitro* 及び *in vivo* 抗菌作用. *Chemotherapy* 35(S-2):104~145, 1987
- 2) 喜多八洲男, 畚野 剛, 今田 哲: Carumonam の実験動物における体内動態. *Chemotherapy* 35(S-2):187~197, 1987
- 3) NISHI, T. & K. TSUCHIYA: Therapeutic effects of cefotiam and cefazolin on experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18:549~556, 1980
- 4) IWAHI, T. & K. TSUCHIYA: Comparative activities of cefotiam and cefazolin against urinary tract infections with *Proteus mirabilis* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18:257~263, 1980
- 5) NISHI, T. & K. TSUCHIYA: Experimental urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Infect. Immun.* 22:508~515, 1978
- 6) NAKAO, M.; T. NISHI, M. KONDO, T. FUGONO, A. IMADA & K. TSUCHIYA: Relevance of *in vitro* antibacterial activities and pharmacokinetic properties of antipseudomonal β -lactam antibiotics to their therapeutic effects on urinary tract infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* P9 in mice. *J. Antibiotics* 37:275~284, 1984
- 7) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON: A simple method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Thera.* 96:99~113, 1949
- 8) REED, L. J. & H. MUENCH: A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 27:493~497, 1938

CARUMONAM IN
EXPERIMENTAL INFECTIONS IN MICE

TOMOYUKI IWAHI, TAKESHI NISHI, MASAFUMI NAKAO
YUJI IIZAWA, MASAHIRO KONDO and AKIRA IMADA
Central Research Division,
Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka

The therapeutic effect of carumonam on experimental respiratory and urinary tract infections in mice was compared with that of aztreonam.

Carumonam was as effective as aztreonam against respiratory tract infection caused by *Klebsiella pneumoniae* DT-S and urinary tract infections caused by *Proteus mirabilis* IFO 3849 and *Pseudomonas aeruginosa* P 9.

Taking into consideration that carumonam possesses nearly the same antibacterial activity as aztreonam against these test organisms, these results suggest that carumonam penetrates as effectively as aztreonam to infectious foci in respiratory and urinary tracts.