

Aztreonam の乳幼児腸内フローラおよび vitamin K 代謝に及ぼす影響

坂田 宏・藤田 晃三・吉岡 一

旭川医科大学小児科学教室*

(昭和 63 年 7 月 20 日受付)

生後 2 か月から 2 歳 2 か月までの乳幼児 7 例に Aztreonam (AZT) を 60-80 mg/kg/day を投与し、腸内フローラおよび体内での vitamin K の代謝状態を示す指標として血漿 protein induced by vitamin K absence-II (PIVKA-II) と γ -carboxyglutamic acid (Gla) の変動を検討した。

腸内フローラの変動(糞便 1g 当りの菌数の常用対数値で示す)は投与後 3~5 日目に 7 例の平均で Enterobacteriaceae が 9.1 から 4.5 に有意に減少し、Streptococcus が 8.2 から 9.5 に有意に増加した。Bacteroidaceae や Bifidobacterium などの嫌気性菌群はほぼ安定していた。投与中止後 3~5 日目には腸内フローラは回復した。

血漿 PIVKA-II は 6 例で検討したが投与前後も測定限界の 0.05 ng/ml 以下であった。尿中 Gla は 7 例の平均値は投与前 87.6 \pm 18.5 nmol/mg creatinine から投与後 99.6 \pm 26.9 nmol/mg creatinine に変動したが有意差はなかった。

これらの結果から AZT は腸内フローラおよび体内での vitamin K の代謝に及ぼす影響は比較的少ない抗生物質と考えられた。

Key words: Aztreonam, Vitamin K, Intestinal flora, PIVKA-II, γ -carboxyglutamic acid

最近, cephem 系の抗生物質投与中に起こった vitamin K 欠乏によると思われる出血傾向の報告が多数なされている^{1,2)}。その機序として vitamin K を合成する腸内フローラの抑制や生体内での vitamin K 代謝を阻害することにより vitamin K 欠乏状態となり、止血作用をもたない異常なプロトロンビン (protein induced by vitamin K absence-II, PIVKA-II)³⁾ が産生されることが原因とされている。

Aztreonam (AZT) は monobactam 系の抗生物質で、グラム陰性桿菌に対して優れた抗菌力をもっているが、グラム陽性球菌にはほとんど抗菌力がないという特徴をもった薬剤である⁴⁾。したがって、Bifidobacterium や Bacteroidaceae などの嫌気性菌が 99% 以上を占める腸内フローラへの影響は比較的少ないことが予想される。そこで、著者らは抗生物質による腸内フローラへの影響が現われやすい乳幼児において、AZT を投与し腸内フローラの変動を検索した。また、生体内での vitamin K 代謝異常の指標として血漿 PIVKA-II および尿中 γ -carboxyglutamic acid (Gla) の変動も検索したので報告する。

I. 対象および方法

対象は尿路感染症の治療のため旭川医科大学附属病院小児科に入院した生後 2 か月から 2 歳 2 か月までの乳幼児 7 例である。症例の概要は Table 1 に示した。AZT は 1 回量 20 mg/kg を 1 日 3~4 回 one-shot 静注した。AZT 投与前には抗生物質の投与は受けていなかった。また、腸内フローラに影響を及ぼすような生菌製剤などは使用しなかった。

腸内フローラの検索方法は光岡の方法⁵⁾で行なった。AZT 投与直前、投与後 3~5 日目、投与中止後 3~5 日目に糞便を採取した。採取した糞便の約 1g を CO₂ ガスとともに試験管に封入した輸送用培地に入れ 4°C で培養まで保存した。糞便を入れた輸送用培地を 10⁻¹ とし、光岡の嫌気性希釈液を用いて 10 倍階段希釈により CO₂ ガス通気下で 10⁻² から 10⁻⁸ まで検体を希釈した。所定に希釈した検体を各種の培地に塗抹後培養を行なった。BL, EG, BS, ES, NBGT, NN, 変法 LBS, 変法 VS の 8 種類の培地は嫌気性ジャーを用いた CO₂ ガス加スチールウール法で 3 日間嫌気性培養を行なった。DHL, TATAC, PEES, P, NAC, 5% 血液加 TS 培地は 37°C で 2 日間好気性培養を行なった。検出され

* 旭川市西神楽 4 線 5 号 3-11

Table 1. Aztreonam treatment in 7 patients with urinary tract infection

Case no.	Age	Sex	Pathogen	Daily dose		Duration (days)
				dose (mg/kg)	times	
1	1y. 7m.	M	<i>P. aeruginosa</i>	20	4	5
2	11m.	F	<i>E. coli</i>	20	3	10
3	11m.	F	<i>E. coli</i>	20	4	7
4	2m.	F	<i>P. aeruginosa</i>	20	4	14
5	11m.	F	<i>E. coli</i>	20	3	4
6	7m.	M	<i>E. coli</i>	20	3	5
7	2y. 2m.	F	unknown	20	3	3

Table 2. Counts of fecal micro-organisms in patients receiving aztreonam

Micro-organisms	Case 1			Case 2			Case 3			Case 4			Case 5			Case 6			Case 7	
	B	D	A	B	D	A	B	D	A	B	D	A	B	D	A	B	D	A	B	D
Bacteroidaceae	10.2	10.0	8.7	8.9	7.4	8.2	10.3	7.7	9.8	7.7	9.3	7.5	10.3	10.3	10.5	N.D.	N.D.	10.4	9.4	9.9
<i>Eubacterium</i>	N.D.	N.D.	4.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8.5	N.D.	7.9	N.D.	N.D.	N.D.	9.2	8.3
Peptococcaceae	9.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8.3	6.9	6.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Bifidobacterium</i>	8.6	7.5	7.3	10.1	9.6	10.5	10.9	9.8	10.3	9.8	8.6	7.9	10.2	10.0	10.0	9.9	7.3	9.7	10.7	10.8
<i>Veillonella</i>	6.6	8.0	9.3	7.4	6.0	6.7	N.D.	6.2	N.D.	6.3	4.1	4.4	7.0	6.3	6.0	7.8	6.7	N.D.	9.4	9.2
<i>Megasphaera</i>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	7.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Clostridium</i>	N.D.	N.D.	N.D.	8.5	7.9	9.0	8.0	6.5	6.6	8.2	8.0	6.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Lactobacillus</i>	N.D.	N.D.	N.D.	7.6	8.6	6.8	5.9	8.9	7.2	5.1	5.6	4.7	5.4	7.0	6.2	N.D.	N.D.	N.D.	8.7	5.6
Enterobacteriaceae	10.1	6.6	9.4	6.9	2.6	8.0	8.5	5.6	9.4	9.2	3.8	9.7	9.0	4.0	8.4	10.0	N.D.	9.6	10.7	4.1
<i>Streptococcus</i>	11.1	10.0	10.2	6.9	9.2	7.1	7.3	8.5	6.9	7.0	9.4	7.1	8.4	9.9	7.8	5.7	9.5	10.5	8.5	10.1
<i>Staphylococcus</i>	3.0	2.0	5.2	5.8	9.2	6.4	5.7	3.8	3.6	4.1	7.2	5.9	3.6	5.2	5.2	4.5	3.9	5.6	4.7	7.5
<i>Bacillus</i>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Yeasts	3.2	4.3	3.2	N.D.	N.D.	N.D.	2.6	3.4	3.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Pseudomonas</i>	4.0	3.3	3.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	5.7	3.3	2.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.6

Values expressed as log₁₀/g of wet feces

N.D.: not detected (counts less than 2 log₁₀/g of wet feces)

B: before treatment, D: during aztreonam use, A: after cessation of aztreonam

た菌はコロニー形態、グラム染色性、菌の形態、生化学的性状などにより分類・同定し糞便 1g 当りの菌数を算定し、常用対数値で表わした。平均値と標準偏差は検出された例数で幾何平均を求めた。菌数は t 検定で、検出例数は χ^2 検定で有意差を検討した。

尿中 Gla と血漿 PIVKA-II は AZT 投与直前と投与後 3～5 日目に検体を採取して検索した。尿中 Gla の測定方法は KUWADA らの方法⁶⁾に準じて行ない、高速液体クロマトグラフィーで測定した。カラムは Nucleosil 5 SB を充填した 250×4.6 mm を用い、移動相は 0.05 M, pH 4.25 クエン酸ナトリウム緩衝液を用い、流速 0.5 ml/分とし、励起波長 240 nm, 蛍光波長 445 nm で検出した。尿中への排泄量は尿中クレアチニン比で示した。対照として抗生物質の投与を受けていない生後 9 か月から 1 歳 8 か月までの乳幼児 9 例についても測定した。血漿 PIVKA-II は Ap-latex 法⁷⁾を用いた。

II. 成 績

腸内フローラの検索を行なった 7 例の成績を Table 2 に示した。症例 7 では投与中止後の検索ができなかった。好気性菌群では 7 例とも Enterobacteriaceae の菌数の減少を認め、1 例では 10² 個/g の測定限度以下となった。*Streptococcus* は 6 例で、*Staphylococcus* は 4 例で増加していた。Yeasts や *Pseudomonas* は検出例数が少なかったが、大きな変動はなかった。嫌気性菌群では Bacteroidaceae は 2 例で 10～100 分の 1 程度の減少を認めたが、おおむね安定していた。*Bifidobacterium* は 5 例でやはり 10～100 分の 1 程度の減少を認めた。他の嫌気性菌群は一定した傾向はみられなかった。また、臨床的に下痢、出血傾向を認めたものはなかった。

Table 3 に 7 例の平均値、標準偏差と有意差の検定を示した。菌数で有意な変動を認めたのは Enterobacteriaceae の減少と *Streptococcus* の増加であった。検出率

Table 3. Counts of fecal micro-organisms in patients receiving aztreonam
(Mean \pm SD)

Micro-organisms	Before (n=7)	During (n=7)	After (n=6)
Bacteroidaceae	9.5 \pm 0.9 (6)	9.1 \pm 1.1 (6)	9.2 \pm 1.1 (6)
<i>Eubacterium</i>	8.9 \pm 0.4 (2)	8.3 (1)	6.3 \pm 1.7 (2)
Peptococcaceae	8.8 \pm 0.5 (2)	6.9 (1)	6.0 (1)
<i>Bifidobacterium</i>	10.0 \pm 0.7 (7)	9.1 \pm 1.2 (7)	9.3 \pm 1.2 (6)
<i>Veillonella</i>	7.4 \pm 1.0 (6)	6.6 \pm 1.5 (7)	6.6 \pm 1.8 (4)
<i>Megasphaera</i>	7.7 (1)	N.D. (0)	N.D. (0)
<i>Clostridium</i>	8.2 \pm 0.2 (3)	7.5 \pm 0.7 (3)	7.4 \pm 1.1 (3)
<i>Lactobacillus</i>	6.5 \pm 1.4 (5)	7.1 \pm 1.4 (5)	6.2 \pm 0.9 (4)
Enterobacteriaceae	9.2 \pm 1.2 (7)	4.5 \pm 1.3** (6)	9.1 \pm 0.6 (6)
<i>Streptococcus</i>	7.8 \pm 1.6 (7)	9.5 \pm 0.5* (7)	8.3 \pm 1.5 (6)
<i>Staphylococcus</i>	4.5 \pm 1.0 (7)	5.5 \pm 2.3 (7)	5.3 \pm 0.9 (6)
<i>Bacillus</i>	N.D. (0)	N.D. (0)	N.D. (0)
Yeasts	2.9 \pm 0.3 (2)	3.9 \pm 0.5 (2)	3.4 \pm 0.2 (2)
<i>Pseudomonas</i>	4.9 \pm 0.9 (2)	3.4 \pm 0.1 (3)	3.3 \pm 0.4 (2)

Values expressed as mean \pm SD of log₁₀/g of wet feces

Values in parentheses indicate number of patients with flora positive for the organisms

N.D.: not detected (counts less than 2 log₁₀/g of wet feces)

** : p<0.01, * : p<0.05 (Student t-test)

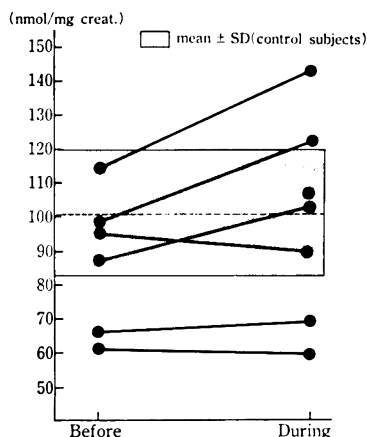


Fig. 1. Changes of γ -carboxyglutamic acid before and during therapy with aztreonam in children

では有意差を認めたものはなかった。投与中止後は投与前と比較して有意な変動はなく、Enterobacteriaceaeの減少とStreptococcusの増加も回復した。

尿中Glaは対照群では101.1 \pm 18.1 nmol/mg creatinineであった。投与前後で測定できた6例と投与後のみ測定した1例で変動を検討した。4例で増加、2例で低下を示した。平均では87.6 \pm 18.5 nmol/mg creatinineから99.6 \pm 26.9 nmol/mg creatinineに増加したが有意な差はなかった。また、対照群と比較しても有意差

はなかった。

血漿PIVKA-IIは投与前後で測定できた6例で検討したがいずれも測定限界の0.05 ng/ml以下で陰性であった。

III. 考 案

抗生物質による腸内フローラの変動が宿主に与える影響としては下痢・軟便、偽膜性大腸炎などの消化器症状、菌交代による日和見感染、vitamin K産生菌の減少による出血傾向などがあげられる。

下痢・軟便は第3世代のCephem系抗生物質の中でも胆汁移行性が良好なcefoperazoneなどの薬剤に頻度が高いとされている⁹⁾。第3世代のcephem系抗生物質のcepiramideやcefoperazoneでは時として全く菌が検出されないannihilationの状態を引き起こすことがある^{9,10)}。腸内フローラの変動が大きければすぐ消化器症状を起こすわけではないが、影響が少ない方が特に小児では適当と考えられる。我々が以前に検索したampicillin, methicillin, cepiramide, ceftazidime¹¹⁾と比較すると本剤は腸内フローラに及ぼす影響は少ないといえる。今回検討した7例で下痢・軟便を認めた患者はいなかった。

菌交代による日和見感染はCompromised hostでは特に注意が必要である。Compromised hostで敗血症を発症した患者の腸内フローラではBifidobacteriumをはじめとする嫌気性菌が著しく抑制され、PseudomonasやKlebsiellaなどのpotential pathogenが糞便1g当り

10⁹ 個以上ある例が多いことを著者らは報告した¹²⁾。したがって、嫌気性菌を温存し、potential pathogen となりうる Enterobacteriaceae を抑制するという特徴をもつ本剤の意義は大きいと思われる。しかし、*Streptococcus* や *Staphylococcus* が糞便 1g 当り 10⁹ 個以上増加した症例もあり、これらの菌が potential pathogen となりうるかどうかは不明だが、methicillin 耐性ブドウ球菌などの大きな reservoir となる可能性もあり、注意深い経過観察は必要である。

抗生物質による vitamin K 欠乏性の出血傾向の原因として腸内フローラ中の vitamin K 産生菌の減少や vitamin K を異常消費することなどが考えられる。vitamin K を産生する菌は *Escherichia coli*, Bacteroidaceae, *Staphylococcus* などがあげられる¹³⁾。AZT が *Escherichia coli* を含む Enterobacteriaceae を抑制することは vitamin K 産生菌の減少につながる。しかし、他の菌種の多くが残存しており、またヒトでは vitamin K の最大の供給源は食物であり、腸内フローラで産生される vitamin K は腸管からの吸収に問題があり生体ではあまり利用されていないので、経口摂取できる場合には vitamin K 産生菌の減少は大きな問題とはならないという意見¹⁴⁾もあり、本剤においては vitamin K 産生菌の減少による影響は少ないと考えられた。

肝では vitamin K を補酵素として glutamic acid から酵素により γ -carboxylation され Gla が産生されている。Gla は vitamin K 依存性の凝固因子 II, VII, IX, X に含まれている。vitamin K が不足した場合には十分な Gla が産生されず、凝固活性をもたない PIVKA-II とよばれる異常なプロトロンビンが生成される。したがって、尿中への Gla の排泄量と血漿中の PIVKA-II を測定することによって生体内の vitamin K の代謝状態を推測することが可能である。

Cephem 系抗生物質の中で latamoxef, cefamandole, cefoperazone など、その構造式に *N*-methylthiotetrazole 基をもつものは出血傾向を起こす頻度は高い¹⁵⁾。岩田は小児での PIVKA-II の陽性率は cefmetazole 50%, latamoxef 63%, cefoperazone 25%, cefpiramide 14% と報告している¹⁶⁾。尿中 Gla については成人であるが、latamoxef 投与例で低下したと報告されている¹⁷⁾。その機序として vitamin K が *N*-methylthiotetrazole 基に作用するため、 γ -carboxylation に関与することができず、十分な Gla が産生されないことがあげられる¹⁸⁾。vitamin K サイクルの vitamin K-epoxide reductase を抑制して vitamin K の再利用を阻害するという意見もある¹⁹⁾。

今回の成績から AZT は腸内フローラに及ぼす影響は

少なく、血漿中 PIVKA-II および Gla の尿中への排泄量は投与前後で有意な変動もなく、vitamin K の代謝に及ぼす影響は少ないと考えられた。

本論文の要旨は第 36 回日本化学療法学会総会（昭和 63 年 6 月，神戸）にて発表した。

Gla および PIVKA-II の測定に御協力いただいた日本スクイブ株式会社エーザイ株式会社および SRL 株式会社に深謝いたします。

文 献

- 1) HOOPER C A, HANEY B B, STONE H H: Gastrointestinal bleeding due to vitamin K deficiency in patients on parenteral cefamandole. *Lancet* 1: 39~40, 1980
- 2) NEU H C: The new beta-lactamase-stable cephalosporins. *Ann Intern Med* 97: 408~419, 1982
- 3) HEMKER H C, MULLER A D: Kinetic aspects of the interaction of blood-clotting enzymes. VI Localization of the site of blood-coagulation inhibition by the protein induced by vitamin K absence (PIVKA). *Thromb Diath Haemorrh* 20: 78~87, 1968
- 4) JACOBUS N V, FERREIRA M C; BARZA M: *In vitro* activity of aztreonam, a monobactam antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother* 22: 832~838, 1982
- 5) 光岡知足: 腸内菌の世界, 叢文社, 東京 1980
- 6) KUWADA M, KATAYAMA K: A high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of γ -carboxyglutamic acid and glutamic acid in proteins, bones, and urine. *Anal Biochem* 117: 259~265, 1981
- 7) MEGURO T, YAMADA K: A simple and rapid test for PIVKA-II in plasma. *Thromb Res* 25: 109~114, 1982
- 8) NORRBY S R: Problems in evaluation of adverse reactions to β -lactam antibiotics. *Rev Infect Dis* 8(suppl 3): s 358~s 370, 1986
- 9) FUJITA K, SAKATA H, YOSHIOKA H: Diarrhoea and annihilation of faecal flora associated with cefpiramide. *Lancet* 1: 423~424, 1983
- 10) MULLIGAN M E, CITRON D M, MCNAMARA B T, FINEGOLD S M: Impact of cefoperazone therapy on the fecal flora. *Antimicrob Agents Chemother* 22: 226~230, 1982
- 11) 坂田 宏: 抗生剤投与による小児腸内細菌叢の変動に関する研究。日児誌 88: 825~834, 1984
- 12) 坂田 宏, 藤田晃三, 吉岡 一, 梯 仁志, 室野晃一: 免疫機能低下患児における敗血症と腸内細菌叢。感染症誌 60: 231~238, 1986
- 13) ALMQUIST H J: Vitamin K: Discovery,

- identification, synthesis, functions. *Federation Proceedings* 38 : 2687~2689, 1979
- 14) UDALL J A : Human sources and absorption of vitamin K in relation to anticoagulation stability. *JAMA* 194 : 127~129, 1965
- 15) NEU H C : Adverse effects of new cephalosporins. *Ann Intern Med* 98 : 415~416, 1983
- 16) 岩田 敏 : 抗生剤投与中の腸内細菌叢及び血液凝固系の変動に関する検討。 *感染症誌* 58 : 903~919, 1984
- 17) 後藤勝博, 上原総一郎, 加藤清治, 住谷真春, 平山亮夫 : 抗生物質投与時の γ -carboxyglutamic acid (Gla) の変動について。 *Chemotherapy* 35 : 252~253, 1987
- 18) LIPSKY J J : *N*-methyl-thio-tetrazole inhibition of the gamma carboxylation of glutamic acid : Possible mechanism for antibiotic-associated hypoprothrombinaemia. *Lancet* 2 : 192~193, 1983
- 19) SHEARER M J, BECHTOLD H, ANDRASSY K, KODERISCH J, MCCARTHY P T, TRENK D, JÄHNCHEN E, RITZ E : Mechanism of cephalosporin-induced hypoprothrombinaemia : Relation to the cephalosporin side chain, vitamin K metabolism, and vitamin K status. *J Clin Pharmacol* 28 : 88~95, 1988

EFFECT OF AZTREONAM ON FECAL FLORA AND VITAMIN K METABOLISM IN CHILDREN

HIROSHI SAKATA, KOZO FUJITA and HAJIME YOSHIOKA

Department of Pediatrics, Asahikawa Medical College
Nishikagura 4-5-3-11, Asahikawa 078, Japan

We studied the effect of aztreonam (AZT) on the fecal flora, PIVKA-II in plasma and γ -carboxyglutamic acid (Gla) in urine of seven children, 2 months to 2 years old. Daily doses of AZT were 60-80 mg/kg. Stool specimens were obtained before treatment, on days 3 to 5 of AZT use, and 3 to 5 days after the cessation of treatment. The counts of Enterobacteriaceae decreased, but those of *Streptococcus* increased during AZT treatment. There was no marked change in anaerobic bacteria, especially *Bifidobacterium*. PIVKA-II and Gla were investigated before and during treatment with AZT. PIVKA-II was not detected in the six cases examined. The mean values of Gla before treatment was 87.6 ± 18.5 nmole/mg creatinine and that during treatment was 99.6 ± 26.9 nmol/mg creatinine. There was no significant difference.