

第 36 回日本化学療法学会総会

会期：昭和 63 年 6 月 9 日～11 日

会場：神戸ポートピアホテル，神戸国際交流会館

会長：小林 裕（神戸市立看護短期大学学長）

特別講演（I）

生体防御，特に食細胞による感染防御と
抗生物質

西村 忠史

大阪医科大学小児科

感染に対し生体の防御機能は多彩な反応を示すが，なかでも食細胞による貪食殺菌作用は感染の初段階の防御反応として重要な役目を有している。近年，compromised host での感染症の難治性に生体の免疫機能の低下，欠損が大きな原因となっている。本来，生体細胞に影響を与えないとされた抗生物質にも単に菌を殺菌するだけでなく，防御反応の強化も指摘されており時には正常機能に影響するものもある。特に食細胞機能に対して間接にまた時に直接に作用して本来の抗菌作用と関連するという新たな問題も生じている。したがって生体の種々の感染防御能を背景にした抗生物質の効果もこれらの関与する機序を解析することが必要となっている。基礎的研究で得られた薬剤のもつ特性の臨床への反映にあたり，この問題を明らかにすることは化学療法へのよき適応という意味でも意義は大きい。そこで好中球による貪食殺菌作用をとりあげ，化学療法との間にどのような関連をもって有利性があるかを検討した。好中球による貪食殺菌作用には走化性，オプソニン活性，捕捉（付着），貪食，殺菌，消化の一連の過程があり，それぞれにおける抗生物質との関連を明らかにしようとした。

1. 好中球の走化性からみた抗生物質の影響

好中球の走化性を agar plate 法にて測定し，予め抗生物質にて 30 分間処理した好中球を用いた。すなわち β -ラクタム剤 20 種（ペニシリン剤 7，セフェム剤 13），アミノグリコシド剤 4 種，マクロライド剤 6 種，テトラサイクリン剤 3 種，他に CP，RFP，FOM を用いた。薬剤濃度は β -ラクタム剤は 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，その他は 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である。Chemotactic index, random index は CFS, LMOX, CPIZ を除き 0.9～1.1 で，特に CPIZ では chemotactic index が高値を示した。なお，他剤では MINO が低値を示したが，一般に通常使用量では影響は少ないと考えられた。特に MINO は 100

$\mu\text{g}/\text{ml}$ ，50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で影響がみられ，25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では正常であったが，100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理では処理時間に平行して低値を示した。

2. 好中球の貪食殺菌作用からみた抗生物質の影響

好中球の貪食殺菌作用に対する影響は，通常，薬剤の種類，濃度，ひいてはそれぞれによる菌障害の程度により現われる。一方近年，抗生物質によっては好中球内移行，また直接好中球殺菌活性強化を示すことが指摘されている。特に後者の場合，細胞内寄生性細菌感染症治療には有利性が期待される。

1) 抗生物質により構成，代謝に変化を生じた細菌に対する好中球の貪食殺菌作用

S. aureus, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus*, *P. aeruginosa* を用いて Quie の法に準じ残存生菌数を算出した。CEZ を対照にして β -ラクタマーゼに安定な CTX, CZX, CMX, LMOX を用い，*K. pneumoniae*, *E. coli* の β -ラクタマーゼ産生株 (*E. coli* 17, *K. pneumoniae* 33)，非産生株 (*E. coli* NIHJC-2, *K. pneumoniae* 17) を試験菌として添加薬剤濃度 1, 1/2, 1/4, 1/8 MIC で 4 時間，6 時間培養を行なった。これら sub-MIC 添加によっても好中球存在下では薬剤のみの時に比べて明らかに効果が現われ，CEZ に比べて効果係数で 1/2 MIC まで差を認めた。しかし， β -ラクタマーゼ高度産生の *Proteus vulgaris* 9 (CEase Ic), *E. cloacae* 91 (CEase Ia) で検討すると，CTX, LMOX, CXM のうち CXM を除き 6 時間後 1/8 MIC 添加まで差を認めた。

一方，*S. aureus* では CER, CET で CEZ と比べて負の効果係数を示し，それは 1, 1/2 MIC で著明で 1/4, 1/8 MIC 添加でもわずかながら差を認めた。そこで，好中球対菌の比を $10^8/\text{ml} : 10^5/\text{ml}$ として，すでに行ってきた $10^5/\text{ml} : 10^5/\text{ml}$ のときと比較すると，前者では 1 MIC で CEZ に比べ CZX, CTX, LMOX, CXM で明らかに効果係数が優れ，1/2 MIC となるとほとんど差はなかった。これらは CEZ と新しいセフェム剤の抗菌力，特に β -ラクタマーゼ安定性の違いによるところが大きく，予め β -ラクタマーゼ産生，非産生菌を 30 分間薬剤と接触，その後 30 分間好中球に貪食させ，残存生菌の再増殖をみた成績からも β -ラクタマーゼ産生

菌、非産生菌と薬剤との関係からも証明することができた。

さらに、同様の実験を経口剤 CCL, CEX についても実施した。CEX は CCL に比べて殺菌力は劣るが β -ラクタマーゼ安定性の良いことは知られている。 β -ラクタマーゼ産生、非産生の *E. coli*, *K. pneumoniae* を用いた場合、培養 6 時間後にて β -ラクタマーゼ非産生株では *E. coli*, *K. pneumoniae* とともに 1, 1/2 MIC 添加で CCL の方が CEX に比べ良い添加効果を示したが、産生株ではどの濃度でも差はみられず、抗菌力、 β -ラクタマーゼ安定性の違いがこの結果を生じたと推察された。もちろん 1/4, 1/8 MIC 添加ではいずれも差はみられなかった。

次に、*P. aeruginosa* (血清量 G 型) を用い抗緑膿菌性アミノグリコシド剤の効果と好中球共存下で調べた。すなわち GM, TOB, AMK, SISO に加え PIPC, CFS, FOM についても同時に検討した。アミノグリコシド剤では PIPC, CFS, FOM に比べ好中球共存下での菌減少が優れ、特に TOB が最も良く、次いで SISO, GM, AMK で 1~1/4 MIC までアミノグリコシド剤と他剤との差がみられた。また、予め 15 分間薬剤別各 MIC 処理菌を用いた場合、この傾向はより明瞭となり、TOB, SISO, GM で 1, 1/2 MIC, AMK 1 MIC 処理で減少がみられ、PIPC, CFS, FOM では 1~1/8 MIC で差はなかった。これらは 15 分処理後の MIC 別菌増殖推移の成績からも証明された。すなわちアミノグリコシド剤の MIC と MBC 差の小さいこと、また、postantibiotic effect (PAE) が好中球食菌作用に加わりより明瞭に示されたものと考えられた。

2) 好中球への抗生物質の移行と殺菌効果

抗生物質の好中球内移行は細胞内寄生性細菌感染症治療においてその有用性が期待される。すでにマクロライド剤、CLDM, ST 合剤 (特に trimethoprim), EB, RFP などの移行はよく知られ、演者らはさらに FOM の移行とサルモネラ症治療への活用を報告した。

マクロライド剤、すなわち EM, JM, RKM, TE-031 のラベル体を用いての好中球内移行を好中球内外カウント比 (C/E ratio) でみると、60 分間処理後で RKM 23.6 ± 3.5 , EM 13.1 ± 1.6 , JM 11.5 ± 1.1 , TE-031 16.6 ± 3.7 で RKM が最も移行がよかった。また、予め 60 分間 *S. aureus*, *S. pyogenes* を好中球に食菌させ、その後 60 分間マクロライド剤 1 MIC, 5 MIC で処理抗生剤除去後 1 時間、2 時間目の好中球内生菌数を算定した。すなわち midcamycin acetate, EM, RKM を用い、*S. aureus* で検討すると、RKM 5 MIC 処理好中球内生菌数が最も少なく、次いで midcamycin acetate,

EM であった。しかし *S. pyogenes* に対しては *S. aureus* の場合ほど明らかな差はみられなかった。マイコプラズマ肺炎治療中に EM, RKM, midcamycin acetate それぞれ 1 回 400 mg 経口投与し、投与前、投与 1 時間後の好中球を用い、*S. aureus*, 好中球内殺菌効果を検討した。すなわち好中球内生菌数比をみると、midcamycin acetate 41.8%, RKM 35.7% で EM は 23.4% と劣った。また CLM についても同様の方法で CLM 10 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ の好中球貪食 *S. aureus* 209 P (MIC 0.05 $\mu\text{g/ml}$), *S. aureus* ファージ型 80/81 (MIC > 100 $\mu\text{g/ml}$) への影響を調べた。*S. aureus* 209 P では MIC が小さく CLM 濃度に平行して好中球内生菌数は減少したが MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の *S. aureus* ファージ型 80/81 では減少はみられなかった。

次にサルモネラ下痢症において ST 合剤、FOM の除菌効果の良いことがすでに指摘されてきた。細胞内寄生性感染症である本症では、薬剤の食細胞内移行は治療上重要である。FOM の能動輸送による菌障害性と分子量の小さい点に着目して好中球移行の検討を試み、FOM ラベル体で移行性を証明し、KM を対照に 100 $\mu\text{g/ml}$ 添加で好中球サルモネラ菌の減少を認めた。さらに菌数に対し好中球数を $10^8/\text{ml}$ 増す ($10^5/\text{ml} : 10^8/\text{ml}$) ことにより 25 $\mu\text{g/ml}$ まで好中球内生菌数の減少を示すことを認め、TMP でも同様の傾向がみられた。実際に治療成績からもこの知見をもとに初期胆汁排泄の良い第 5 群セフェム剤、次いで FOM 投与の方法で 85.7% の除菌率を得ることができた。

3) 好中球の殺菌能強化に対する抗生物質の効果

好中球の化学発光 chemiluminescence が細胞内殺菌能の一つの指標となっている。オプソニン化ゼイモザンを用い、抗生物質 100 $\mu\text{g/ml}$ 30 分間添加処理は中球の化学発光を測定、非処理好中球との比 (CI) をもって抗生物質の効果調べた。すなわちペニシリン剤 4 種、セフェム剤 10 種、アミノグリコシド剤 3 種、他に MINO, CP, CLPM, FOM で検討したが、CPIZ を除き効果はなかった。*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* を用い予め CPIZ 100, 50, 10 $\mu\text{g/ml}$ 30 分処理した好中球による内外生菌数の推移を調べた。好中球外生菌数はいずれの菌でも差はなかったが内生菌数は CPIZ 100 $\mu\text{g/ml}$ 処理の場合明らかに減少し、特に *E. coli* では 50 $\mu\text{g/ml}$ でも減少をみた。また phenylbutazone 処理による殺菌能低下好中球でも本剤により殺菌能強化がみられ、NBT test でも CPIZ の特異体が示された。さらに 3 症例に CPIZ 1 回 20 mg/kg, 30 分点滴静注し、前後の好中球内生菌数の変動を *P. aeruginosa* を用いて調べた。点滴静注後の好中球内生菌数は明

らかに減少し, chemiluminescence でも同様であった。

3. 好中球の食食殺菌作用からみた抗生物質とガンマグロブリンの併用効果

好中球の *P. aeruginosa* 食食殺菌作用に GM 1/4 MIC, CBPC 1 MIC とガンマグロブリン (PEG-gammaglobulin: OEP-HA 価 256 倍と 16 倍) を添加し併用効果を調べた。 *P. aeruginosa* に対する抗体価の高いガンマグロブリンの併用効果が優れ, オプソニン化のための新鮮血清の抗体価が低いほど効果的で, ペブニン, プラスミン, ポリエチレングリコール処理グロブリンとの比較でも同様抗体価が大きく影響した。

以上, 生体の感染防御, 特に好中球の食菌能をとりあげ抗生物質との関連の中で特異性を論じた。結果は薬剤の種類, 実験条件, 薬剤濃度による影響も多様である。そして, それは生体に反映しうる条件設定下での検討が必要であり, 本来の抗生物質のもつ特性が生体の感染防御能を背景に如何に生かされてゆくか, 化学療法に関する新たな展開を臨床治療への応用の手がかりが求められれば幸いである。

特別講演 (II)

レジオネラ感染症の治療上の問題点

齋藤 厚

琉球大学医学部第一内科

レジオネラ肺炎の治療に関する特性は原因菌である *Legionella* 属がヒト食細胞内で増殖可能であることが第一にあげられ, 本症の感染防御機構としては細胞性免疫が深く関与していることがあげられる。

以下に, *Legionella* を食菌したヒト好中球の形態変化と, 抗菌化学療法剤の *in vitro* 抗菌力および食細胞移行性からみた *in vivo* 抗菌力, 次いで細胞性免疫能の解析とそれに基づく adoptive immunotherapy の有効性, さらに近年注目されている biological response modifier (BRM) の治療への応用について, 主として感染モデルを用いた検討成績について述べる。

また, 細胞内移行の不良な β -lactam 剤やアミノ配糖体をリポソームや lipid microsphere に封入しての targeting 療法の有用性についても, 今回までに検討した成績について紹介する。

1. 世界におけるレジオネラ肺炎の頻度

本症は cooling tower から高頻度に検出されるので, 暖かい地方に多いと一般に考えられているが, 寒い地方からの報告をみると市中感染 (院外肺炎) において, イギリス 13.0%, フランス 10.5%, ソビエト 9.9%, デンマーク 2.1% などと約 10% の頻度で, 院内肺炎にお

いては, 西ドイツ 10.0%, 東ベルリン 6.0% と報告され, むしろ院外肺炎の頻度が高い。

我国では現在まで 20 症例の菌検出例の報告があるが, 一般に全肺炎の中の 1.0% 以下と推定され, 極めて低頻度である。検出菌種では *L. pneumophila* serogroup 1 が 13 例, serogroup 3, 4, 5 がそれぞれ 1 例, *L. bozemanii* 1 例, *L. dumoffii* 2 例, *L. micdadei* 1 例となっており, 男性 14 例, 女性 6 例であり, 死亡率は 65% と極めて高率である。

その原因は確定診断の遅れのため, 有効抗生物質が充分使用できなかったものがほとんどである。救命されたものはいずれも EM を含んだ化学療法がなされていた。

2. 食細胞のレジオネラ食食時の形態変化

レジオネラは食細胞の殺菌機構に抵抗して生存するといういわゆる食細胞内増殖菌である。人工培地で継代を繰り返し, モルモットに病原性を低下させた *L. pneumophila* をヒトの好中球に食食させると, その食食能には変化はみられないが, 大腸菌を食食させた場合と同様, phagosome は大きく, lysosome の多くは multivesicular なもので, phagosome と lysosome の fusion の像が高頻度に観察される。

一方, 病原性の強い *L. pneumophila* では phagosome 内に食食されてはいるものの phagosome は小さく, その周辺に mitochondria や種々の形の lysosome が観察され, これが phagosome と fusion している像はほとんどみることができない。

このことは食細胞内で phagosome-lysosome の fusion を抑制することによって, 食細胞の respiratory burst に引き続いておこる最も強力な殺菌機構である MPO 系を作動させないことにより, 食細胞内増殖を可能にしているものと推測できる。

3. レジオネラに有効な化学療法剤

以上のことから, レジオネラ感染症に有用な抗生剤は *in vitro* で優れた抗菌力を有する上に食細胞内移行に優れたものでなければならない。

試験管内抗菌力は RFP が最も優れ, MIC₉₀ は 0.003 μ g/ml 以下であった。次いでマクロライド系, ミノサイクリン, 第 3 世代セフェム, CP, アミノ配糖体, ニューキノロン剤であり, いずれも MIC₉₀ は 1.56 μ g/ml 以下であり, 臨床的に有効性が期待できる程の MIC 値を有する。各系統の薬剤の中での抗菌力はマクロライド系では TE-0.31 > RKM > RU-28965 \geq EM > JM の順で, 第 3 世代セフェムでは CTX > CTRX > CAZ > LMOX \geq CTX > CMX \geq CMNX \geq CBPZ > CTT > CPIZ の順, ニューキノロン剤では CPFX > OFLX = NY-198 > ENX の順に強いものであった。

これら抗菌剤のヒト好中球内移行を調べると、マクロライド系では6~32倍、RFP 5~8倍、CP 6~8倍、ニューキノロン剤2~8倍の細胞内移行がみられ、いずれも細胞外濃度よりも高く、active transportされたが、ペニシリン系、セフェム系、アミノ配糖体系は0.3以下で、細胞内への移行はほとんど認められない。ヒト好中球やモルモットの肺胞洗滌液中の細胞内移行はマクロライド系ではRKM>RU-28965>TE-031>JM>EMの順であり、ニューキノロン剤ではOFLX>NY-198>CPFX>NFLXの順であった。β-lactam剤は不良であるがその中ではABPC>PIPC, CAZ>CTZ>CEZ>CPIZの順にわずかながら移行が認められた。

多数のモルモットを用いて、レジオネラ肺炎に対するこれらの薬剤の治療効果をみてみると、RFP、マクロライド、ニューキノロン剤が優れ、まったく効果がみられないものはセフェム系、ペニシリン系、アミノ配糖体系であり、抗菌力以外に細胞内移行性が重要な要因であることが立証された。マクロライド剤ではTE-031, RU-28965, EM, JM, RKMの順に治療効果が優れていたが、JM, RKMの治療効果が劣る理由は、モルモット体内で早期に代謝されることが、その一因と考えられた。

以上の実験データと多くの臨床例の解析から、ニューキノロン剤のヒトにおける治療成績の報告はないもののレジオネラ感染症に対する有効抗生剤は以下のように結論づけられる。

効果の確実なもの：RFP、マクロライド系、ニューキノロン系抗菌剤

効果が期待できるもの：テトラサイクリン、CP、ST合剤

効果が期待できないもの：あらゆる世代のセフェム剤、イミペネム系、ペニシリン系、アミノ配糖体系抗生剤

4. Targeting 療法の応用

以上のように本症に効果が確実な薬剤は極めて限られており、静注剤としてはEMを除けば、現在我々は本症に有用な薬剤を有していないことになる。したがって、副作用の少ない、静注可能なβ-lactam剤などを何らかの手段で、食細胞内へ取り込ませて、治療薬剤として使用できるようにする必要がある。いわゆる drug delivery system の試みとして、リボソームや、lipid microsphere にこれらの抗生剤を封入して、レジオネラ感染モルモットの治療実験を試みた。

これらのヒト食細胞へ取り込み、モルモットの臓器内濃度や *in vitro* における殺菌効果などの基礎的研究を行なって、リボソームとしては1枚膜のリボソームをアミノペクチンで coating して CAZ を封入 (封入率 36~

98%) し、治療実験を試みた。筋注あるいは腹腔内投与では局所のマクロファージに貪食されるため病巣中への移行が少なくなり、その治療効果が劣るが、それでもβ-lactam 剤単独治療では全く治療効果がみられないのに対し、かなりの生存率 (50%) を得ることができ、胸腔内投与では 100% の救命率を得ることができた。Lipid microsphere は大豆のレシチンを主成分として、0.8 μm のサイズのものを用い、CZX を封入 (封入率 75%) した water/lipid/water (W/L/W) を用い、有意に優れた治療効果をあげることができた。

5. 感染防御機構の解析

本症が immunocompromised host に発生しやすいことから、細胞性免疫がその感染防御の主役を演じていることはすでに多くの報告で指摘されているが、その詳細は不明である。今回、ABLB/C, SPF マウスを用いて、その検討を行なった。*L. pneumophila* の生菌で感作したマウスの脾細胞と別々のマウスの腹腔マクロファージを培養することで、マウスが本菌に自然抵抗性であるのはマクロファージ自体の働きではなく、T-細胞存在下でのみ殺菌作用を示し、特に感作 T-リンパ球の存在下で極めて強い殺菌効果を示す結果を得た。

そこで、この T-細胞を抗 Thy 1.2, 抗 L3T4, 抗 Ly 2.2 のモノクローナル抗体で処理し、その反応性をみることで抗 L3T4, すなわちヒトにおける T4 (CD 4) 細胞がレジオネラ感染における特異的防御反応を担っていることをはじめて明かにすることができた。

1,000 レントゲン照射 BALB/C, SPF マウスは抗 L3T4 抗体で処理した骨髓液を移植し、抗胸腺抗体で処理することにより、モルモット以上の感受性を示し、LD₅₀ は 3.0×10⁵ CFU と *Legionella* の low dose challenge で感染が成立した。

6. Adoptive immunotherapy の有用性

このようにして作製したレジオネラ感染マウスに、健常感作マウスの脾細胞から菌体成分と interleukin 2 で active T-4 cell を誘導増殖させて、これを静注すると、単に T-リンパ球を移入した群よりも有意で高い生存率を得ることができた。このことは、難治性の本症に対する本療法の有用性を示唆するもので、臨床応用の可能性を示唆している。

7. Biological response modifiers (BRM) の応用

以上のことから、本症治療に BRM が応用されることが理解される。

BRM として、G-CSF, GM-CSF, Interleukin 1, 2 を用いて検討した。G-CSF, GM-CSF とも大量投与においては治療効果がみられたが、発熱などの副作用もあり、本症の動物モデルではそれ程有効ではなかった。今

後 M-CSF の検討が必要と思われた。一方、IL-1 はその早期投与あるいは予防的投与において有効であり、IL-2 はこの中では最も優れた治療効果が得られた。単独では無効である β -lactam 剤との併用効果も明らかに認められ、今後臨床に應用できる可能性が見出された。

以上、レジオネラ感染症の治療上の問題点として、菌と生体防御系に解析を加え、免疫療法の今後の応用と drug delivery system としてのリポソーム、lipid microsphere の有用性について報告した。

招 請 講 演 (I)

Modifying antibiotic use by the clinicians

J. D. WILLIAMS

The London Hospital Medical College, UK

招 請 講 演 (II)

Modern therapy of bacterial meningitis Role of antiinflammatory drugs

G. H. McCracken, Jr.

Department of Pediatrics, University of Texas,
Health Science Center at Dallas, Southwestern
Medical School

教 育 講 演 (I)

感受性検査の現状と将来

小 酒 井 望

順天堂浦安病院

抗菌薬としてスルホンアミド、ペニシリン (PCG) が使用され、最初は著効を奏したが、やがてこれらの薬が無効な症例が増加し、その無効の原因が菌の耐性化にあることが明らかになった時から、原因菌の感受性検査が必要となった。そして抗菌薬の種類増加にともない、化学療法を選択の目的から、感受性検査が重要な日常検査となった。感受性検査は、最初は耐性（または抵抗性）検査という言葉の方が多く使われていたが、その後感受性検査に統一された。

1. 感受性検査の歩み

結核菌と他の一般細菌では、感受性検査法は別の発達過程をたどった。最初はいずれも液体培地による希釈法が用いられたが、間もなく固形培地を用いる希釈法と拡散法が用いられるようになった。結核菌の場合は、わが国独自の発達をし、厚生省「結核菌検査指針」記載の方法が標準法として定着し、主流は小川培地による希釈法

の変形である。

一般細菌では固形培地（寒天平板）を用いる希釈法は今日まで継続して用いられており、拡散法はカップ法、傾斜平板法など自家製の方法をへて、一定量の抗菌薬を含有させた錠剤、浮紙（ディスク）が市販され、それを用いる方法が広く行なわれるようになった。わが国では、昭和 30 年頃までは輸入の錠剤（感応錠, Roskilde）、ディスク（Difco, BBL）が用いられたが、その後国産の三濃度ディスク（栄研、のちにトリディスク）と一濃度ディスク（昭和）が市販され、この2種類のディスクが専ら使用されるようになった。三濃度ディスク（栄研）は Difco 社のそれに追従するもので、感受性を 卍, 卍, +, - の4段階に分ける。一濃度ディスク（昭和）は金沢の考案によるものだが、阻止円の大きさから MIC の算出ができ、また三濃度ディスク同様、感受性を4段階に区分できる。日常検査としては4段階の区分が専ら用いられている。感受性の4段階の区分と、病巣の部位、抗菌薬投与方法、臨床効果の関係は、TUNEVALL らの報告（1954）を骨子として 卍, 卍, +, - の臨床的解釈が行なわれている。その後昭和 50 年前後から感受性を +, - の2段階に区分するモノディスク（栄研）が市販されたが、最近製造中止となった。

一方米国では、1975 年から NCCLS によるディスク法の標準化が進み、本法がヨーロッパでも広がり、本法によるディスク（BBL, Difco）がわが国へも輸入され、さらに最近国産品（KB ディスク、栄研）も市販されるようになり、本法が大学病院や大病院を中心に広まりつつある。本法は Kirby-Bauer 法（1966）を基本としたもので、感受性を S, I, R（または S, MS, R）の3段階に区分する方法である。また感受性検査の自動化も進み、最近わが国へ輸入されつつある自動機器の多くは、液体培地中での菌の増殖曲線を、抗菌薬を加えた培地と加えない培地で比較し、感受性を NCCLS 法に合わせて3段階に区分するようになっている。ディスクを用いる平板法より早く結果が得られる。

寒天平板希釈法には本学会標準法がある。1968 年好気性菌についての MIC 測定の標準法が発表されて、次いで 1974 年その改訂が行なわれ、1979 年嫌気性菌の MIC 測定法が標準化された。最近 MIC 2000 など半自動機器が輸入され、微量の液体培地を用いる MIC 測定法が使用され始めたので、従来の寒天平板を用いる方法に液体培地を用いる方法も加えて、本学会標準法の改訂が検討されつつある。

感受性検査は抗菌力すなわち発育阻止力の検査であり、抗菌力は MIC で表現される。抗菌薬には発育阻止力も殺菌力も強いものから発育阻止力に比べて殺菌力の

著しく弱いものである。そこで殺菌力、最小殺菌濃度 (MBC) の測定が必要とされるが、その方法の標準化はまだ行われていない。

2. 感受性検査の現状

現在用いられている感受性検査法は、一般細菌では希釈法 (寒天平板による本学会標準法または液体培地を用いる MIC 2000 による半自動化法) とディスク法 (トリディスク, 昭和ディスク, NCCLS 標準法), それに自動化法 (液体培地中での増殖曲線による) である。結核菌では小川培地による希釈法である。

感受性検査法はその目的によって選択される。(1) 細菌感染症治療のための抗菌薬の選択という臨床的目的のためには、迅速で、簡単な方法であること、そして臨床効果の予測が可能な方法であることが望まれる。臨床効果の予測については不十分ではあるが、迅速、簡単という点ではディスク法が最適である。次に (2) 特定の細菌の感受性の地域的分布や年次の推移を観察する、いわば疫学的目的、さらに (3) 新抗菌薬と従来の抗菌薬の抗菌力の比較の目的には、再現性がよく、感受性の差がはっきり出て、多数株の同時測定が可能な方法が望まれる。それには現在のところ希釈法、特に本学会標準法が適当である。

抗菌薬 2 剤の併用の場合、*in vitro* で組み合わせによって相乗作用から拮抗作用まであることが知られている。この併用効果を検査する方法が種々検討されている。また最近 β -ラクタム薬と β -ラクタマーゼ阻害薬の合剤が使用され始めた。これら併用の効果を検査するため両薬を混じたディスクが用いられているが、ディスクに含有させる両薬の比率、量については検討の余地が残されている。

抗菌力の測定に際しては、対象の細菌が最も発育し易く、被検抗菌薬の抗菌力が阻害されない培地を用いることが、現在では原則になっているが、この *in vitro* の抗菌力は必ずしも *in vivo* の抗菌力と一致するものではない。従来、*in vivo* の抗菌力にできるだけ近い抗菌力の検査法が種々検討されてきたが、まだ結論には達していない。

3. 感受性検査の直接法と間接法

検体中に原因菌が多数含まれる場合には、検体から直接感受性検査を行なう直接法は、早く結果が得られる利点があり、結核菌の塗抹陽性の喀痰の場合に広く行なわれている。一般細菌の場合、菌数が少ない、2 種以上の菌が混在する、あるいは常在菌が混在するときには、ディスク法では正しい結果は得られない。ただし塗抹陽性の髄液、あるいは血液培養瓶の液体培地からは、直接法が可能な場合が少くない。化膿性髄膜炎や菌血症では、

少しでも早く適切な化学療法を行う必要があるので、上記の直接法を試みる必要があろう。

4. 感受性検査の精度管理 (QC)

感受性検査の QC には感受性既知の標準株の併用が行われる。希釈法にしろ、拡散法にしろ、その成績は培地の種類、接種菌量、接種方法、培養時間、培養温度、判定法などの諸因子によって影響を受ける。特に培地は同一組成でもメーカーの違い、また同一メーカーでもロットの違いが結果に影響する。

本学会標準法では標準株の指定があり、その併用が義務づけられており、成績の記載に当っては標準株の MIC を同時に記載することになっているが、必ずしも実行されていない。従来のトリディスク、昭和ディスクでは、培地の種類、培地の厚さ、接種菌量、ディスクの置き方などが使用書に記載されているが、必ずしもその通り実行されていない。なおこれらのディスクでは標準株による定期的なチェックは義務づけられていない。一方 NCCLS 標準法のディスクでは、培地、接種菌量、接種法など詳細な規定があり、標準株による定期的なチェックが必要とされる。これらの規定を守らないと、成績に大きなバラツキが見られる。

5. 菌種と抗菌薬の組み合わせ

抗菌薬の種類は増加の一途をたどっている。どの菌にも常用抗菌薬のすべてについての感受性検査を行なうことは、労力からも、経済的にも無駄である。そこで菌種によって臨床効果が認められないことがわかっている抗菌薬は除外し、また作用機序が同じで交差耐性が認められる抗菌薬群では、その内の一つを代表薬として用い、その結果を同一抗菌薬群の他の薬にも適用すればよい。もっとも同一抗菌薬群でも抗菌力に多少の差はあるが、ディスク法はといえば半定量的方法であることを考えれば、一つで代表すれば充分である。例えば菌種をブドウ球菌群、腸球菌群、その他のレンサ球菌群、腸内細菌群、緑膿菌など非発酵菌群、バクテロイデス群、その他の嫌気性菌とグループ分けし、それぞれのグループに対する抗菌薬の種類を、臨床側と検査室で協議して決定しておくことよい。NCCLS 標準法ではかかる菌種のグループ分けと、それに臨床的に有効な抗菌薬のリストが発表されている。そのリストの中から代表薬制を考慮して薬を選択するようになっていく。

6. 感受性検査法の標準化

一般細菌の希釈法の標準化は本学会で行なわれているが、広く日常検査に使用されているディスク法については、トリディスク法については、トリディスク法、昭和ディスク法、それに NCCLS 標準法を充分に検討し、本学会としての標準化が行なわれることを期待する。

7. 感受性検査の今後

感受性検査自体の迅速化は、自動機器の開発によって果たされつつあるが、検体の採取から感受性検査までの時間の短縮は容易ではない。したがって現在の感受性検査は、初期治療の段階での抗菌薬の選択には役立たない。臨床医の中には、急性感染症の治療には感受性検査は直接役立たないと極言する人も少なくない。現在検討されている検体中の菌の R-プラスミド、 β -ラクタマーゼなどの検出が、迅速化され、日常検査に用いられるようになれば、抗菌薬の選択にはかなり役立つであろう。

会長講演

化膿性髄膜炎の初回化学療法

小林 裕

神戸市立看護短期大学

化膿性髄膜炎は現在でも難治で、全治率は 60~70% にすぎず、救命できても重い中枢神経系後遺症を残すものが少なくない。予後改善のためには早く診断し、適切な化学療法を開始する必要がある。すなわち診断したら、起炎菌判明を待たずに、直ちに化学療法を開始し、判明時必要なら修正というのが常道で、この初回化学療法は当然適中率が高くなければならないから、主要菌には的確に奏効し、他の菌種もできるだけ広く抗菌域内に含むことが要求される。

我々の全国アンケート調査によると、本症の主要起炎菌は、生後3か月までは *S. agalactiae* と *E. coli*、6か月以後は *S. pneumoniae* と *H. influenzae* で、3~6か月では4菌種が混在している。なお *Listeria* は全体としては低率であるが、乳幼児期に多いのが本邦の特徴である。

従来勧告されてきた初回化学療法の選択剤は ABPC と、新生児期は AGs、乳児期以後は CP の併用であったが、効果が充分とはいえない上に、最近耐性株が増加し、また3~6か月の4菌種混在期ではどちらを用いても外れる場合があり、転換を迫られているので新しい選択剤として何が適当かについて検討した。

〈本症化学療法の特殊性〉

本症の化学療法が困難なのは、抗生剤の髄液中移行が血液髄液関門によって強く制限されているにもかかわらず、髄液は防御能に乏しく、その協力を期待しにくいために、髄液中に移行した抗生剤の力だけで殺菌しなければならないからである。しかも、理由は不明であるが、髄液中の抗生剤濃度が試験管内 MBC に達しても有効な殺菌は起こらない。我々は IPM の髄液中濃度が起炎 *E. coli* に対する MBC 0.39 $\mu\text{g/ml}$ の 37~14 倍に達し

ていたのに菌が消失しなかった症例を経験した。すなわち本症に充分奏効するためには、MBC よりずっと高い髄液中濃度が必要で、髄液中移行が良好なこととともに、MBC が非常に低いことがより大切な条件となる。このような条件を満たすためには、副作用が僅少で大量投与可能なことが必要で、選択剤は β -lactam 剤に限られる。

〈 β -lactam 剤の髄液中移行〉

そこで β -lactam 剤の髄液中移行について検討した。髄液中濃度は、薬剤の性格以外に髄膜炎の程度、薬剤投与量、投与後髄液採取までの時間など様々な因子によって大きく左右されているため、髄液の連続採取が困難な人体での系統的評価は不可能に近いので、*S. aureus* 髄膜炎家兎をモデルとして使用し、髄液中移行度の評価の指標としては、主に AUC 髄液血清比百分率を用いた。今までの経験では、この動物実験成績は臨床例で得られた成績とかなりよく照応するように思われる。検討した β -lactam 剤 23 種のうち、AUC 髄液血清比百分率 10% 以上のものをあげると、LMOX の 18.7% を筆頭に、以下 CAZ, IPM, CTRX, CMD, CPZ, CMNX, CTX, CDZM, CPIZ, CXM の順であった。

〈主要4菌種に対する抗菌力〉

主要4菌種に対する MIC₉₀ を、本学会新薬シンポジウムの成績を借用してスクリーニングすると、4菌種すべてに対して 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 以下のものは CTRX, CTX, CZX, CZON の4剤であった。これに *E. coli* に対する MIC₉₀ は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ と若干高かったが、他の3菌種に対しては CTX などの CMX を加えた5剤について、接種菌量 10⁸ CFU/ml で MBC を検討した。MBC₉₀ でみると、*S. agalactiae* では、CTX, CZON が 0.1 $\mu\text{g/ml}$ で最もよく、PCG の 0.05 $\mu\text{g/ml}$ に次ぎ、CTRX, CMX は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ であったが、CZX は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ と劣っていた。*S. pneumoniae* では CTX, CMX, CZON, PCG が 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、CTRX, CZX は 0.1 $\mu\text{g/ml}$ であった。*H. influenzae* では CZON の 0.05 $\mu\text{g/ml}$ を除き、他剤は 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、*E. coli* では CTRX が 0.2 $\mu\text{g/ml}$ で最もよく、次いで CTX の 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 、CZX, CMX の 0.78 $\mu\text{g/ml}$ で、CZON は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ と劣っていた。対照とした ABPC は両菌種とも 100 $\mu\text{g/ml}$ を超えていた。以上から4菌すべてに平均してよい値を示したのは CTX、また MBC₉₀ の許容上限を 0.39 $\mu\text{g/ml}$ とすると、該当するのは CTX と CTRX で、他の3剤はいずれかの菌種においてこの上限を超えていた。

なお、この5剤の AUC 髄液血清比百分率は CTRX 13.8%、CTX 11.7%、CZX 8.9%、CMX 7.78%、CZON 7.09% の順であった。

〈内外文献に報告された治験成績〉

本症のような重篤な疾患では、臨床での実証が特に大切である。現在までの治験例数と有効率を検討すると、有効率には大差はないが、例数は CTX が 969 例と群を抜いて多く、CTRX が 576 例でそれに次ぎ、比較試験も揃っており、他の 3 剤は 60 例未満であった。

〈2 剤同時投与時の髄液中移行〉

第 3 世代 cephem 剤の欠点は、ABPC なら奏効する *Listeria* に無力なことで、我々は、塗抹陰性で CTX 単独治療を開始したところ、翌朝培養液中からグラム陽性桿菌が見つかり、直ちに ABPC に変更したが間に合わず死亡した *Listeria* 髄膜炎を経験した。このような失敗を防ぐためには、起炎菌判明まで ABPC と併用するほかない。そこで ABPC と同時投与した場合の髄液中移行を髄膜炎家兎を用いて検討したところ、CTX、CTRX は ABPC と同時に投与しても、最高髄液中濃度、AUC 髄液血清比百分率ともに、単独、同時投与群間に有意差はなく、相互に悪影響を及ぼさないと考えられた。CZX、CDZM においても同様に悪影響はみられなかったが、CMX では ABPC の AUC 髄液血清比百分率が同時投与群で強く抑制され、CMX にも若干の低下が認められた。なお LMOX、CAZ、AZT はグラム陰性菌には優秀な抗菌力を示すが、陽性菌に弱点があるため、単独では初回化学療法剤になり得ない。しかし ABPC と併用するならその弱点を補うことができるので、同時投与時の髄液中移行を検討したが、いずれも ABPC の髄液中濃度を低下させた。

〈CTX と CTRX の問題点〉

以上の諸成績から、初回化学療法剤としては CTX と CTRX の適格性が最も高いと考えられる。

CTX の問題点は desacetyl 化である。家兎では静注後 30～60 分で髄液中の desacetyl 体が本体濃度を上回る。この desacetyl 体は、大槽内に直接 CTX を注入しても静注時とほぼ類似の髄液中推移パターンをとることおよび *ex vivo* で髄液に CTX を溶解しても急速に desacetyl 化することから、大部分髄液中で生成されるものと考えられる。Desacetyl 体の髄液中半減期は本体よりはるかに長いので、髄液中濃度の持続が延長する効果を持つ反面、抗菌力が劣る desacetyl 体を生じることが、抗菌力上不利な現象と一応は考えざるを得ないが、本体と desacetyl 体の間に相乗作用があるという報告もあり、副作用軽減効果も考えられ、desacetyl 化の意義についてはまだ検討する必要がある。ともかく人体での髄液中 desacetyl 体出現は家兎より遅れ、量も本体の 2/3 から同程度と、少ないと報告されている。それでも bioassay 法で測定した髄液中濃度値を評価する場合に

は、本体と desacetyl 体の MIC の比が菌種によってかなり異なるので、注意する必要があるが、治療上は desacetyl 化による髄液殺菌力の低下が失敗を招いたという報告は今のところみられておらず、MBC を充分上回る濃度が得られているため現実には問題を生じていないものと思われる。

一方 CTRX の欠点は胆汁中排泄が多いことと血清蛋白結合率が高いことである。胆汁中排泄が多いことは、髄膜炎の治療にとっては無駄であり、腸内細菌叢の変動が懸念され、特に新生児における大量投与の経験はまだ少ない。蛋白結合率が高いため、試験管内実験ではあるが、ビリルビンと競合して追い出す可能性があり、特に新生児黄疸児では核黄疸増強の危険性が指摘され、この点今後充分つめる必要がある。半減期が長く 1 日 1～2 回の投与ですむのは非常な利点であるが、投与量、1 日投与回数についてまだ充分な意見の一致がみられていない。したがって、特に新生児髄膜炎に関しては以上の諸点の解決を待つことが望ましい。

以上から、現時点では初回化学療法としては、CTX と ABPC の併用が妥当と考えられる。なお MCCRACKEN らは昨年生後 3 か月までは CTX と ABPC の併用、3 か月以降は CTX、CTRX いずれか単独を骨子とする試案を発表したが、アメリカと異なり、*Listeria* の分布のピークが乳幼児期にある本邦では、学童期までは併用が必要である。

〈CTX、ABPC の投与方法〉

髄膜炎家兎を用いて静注と 1 時間点滴静注を比較すると、CTX、ABPC とともに最高髄液中濃度、AUC およびそれらの髄液血清比百分率いずれも静注の方がはるかに優れていた。したがって長時間点滴は避け、できるだけ短時間内に静注すべきであろう。

最後に、以上の成績は神戸市立中央市民病院小児科の森川嘉郎（現桜町病院小児科）、春田恒和、大倉完悦、黒木茂一、山本初実諸氏との共同研究によるものであることを付記する。

シンポジウム (I)

最近のブドウ球菌感染症をめぐる諸問題

司 会

横 田 健

順天堂大学細菌学教室

松 本 慶 蔵

長崎大学熱帯医学研究所

ブドウ球菌感染症は古くて新しい問題である。感染症

は生物エコロジーの一断面ともいえるので、菌を取り巻く環境、すなわち人体の感染防御力(免疫)と汎用される抗菌剤の特性が変われば、急速に変貌する。ブドウ球菌感染症も例外ではなく、近年その臨床分離菌種や薬剤耐性株に急速な変化がみられるようになった。本シンポジウムでは、最近のブドウ球菌感染症の臨床の問題点を明らかにし、その対策を、臨床と基礎の連携により確立することを目的として計画された。

近年、菌種の同定に DNA 相同性試験などが取り入れられ、人為分類から自然分類に移行しつつあるため、ブドウ球菌の分類にも大きな変化がみられた。慈恵医大臨床病理の黒坂教授の解説によれば、現在ブドウ球菌属は 19 菌種に分けられ、*S. aureus* と *S. intermedius* が coagulase-positive で、他の 17 菌種が coagulase-negative staphylococci (CNS) である。そのうちヒトの常住細菌は 12 菌種で、他は動物から多く検出されるという。これらの菌の同定を市販の生物学的検査キットで行なおうとすると、*S. aureus*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosum* および *S. simulans* では信頼性の高い結果が得られるが、他の菌種を正しく同定するためには、キットを更に改良する必要があると結論された。

MRSA (新型多剤性黄色ブドウ球菌) 感染症の実態については、国療東京病院呼吸器の矢野博士が、多方面からの検討結果を報告した。松本教授が主催された全国主要病院の調査結果は、1982~1983 年の MRSA が臨床分離黄色ブドウ球菌中に占める割合 34% が、1986~1987 年には 43% に上昇したことを明らかにした。MRSA 感染症は第 3 世代 cephem と aminoglycoside を前投与された患者に多く、熱傷感染、褥瘡感染、骨髄炎で高率であったという。特に「寝たきり老人」の多いわが国の病院形態では、その褥瘡感染単が MRSA 院内感染の reservoir となっている可能性が高いとの指摘は印象的であった。MRSA の薬剤感受性パターンは病院ごとに差がみられるので、各症例に応じた抗菌剤の選択が要求され、またポビドン・ヨードなどの消毒剤は、MRSA 感染予防にはもちろん、場合により外用薬として治療にも有効であると、豊富な臨床経験から結論された。

異物挿入医療行為に伴う弱毒菌 CNS 感染症の増加については、東大手術部の小林助教授が問題点を提起された。CNS 感染症は脳脊髄液シャント手術、人工弁置換手術、人工関節手術などの術後に高率に認められ、起因菌としては、*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* などが多く、多剤耐性株も少なくないという。cloxacillin, cefazolin に 12.5 µg/ml 以上の耐性株が 1% 程度認められるので、compromised host の増加とともに

に、その感染防止対策や治療法の確立が重要となろうと結論された。

多くの MRSA が耐性機構は、分子密度 78 K ダルトンの cephem 系薬剤に結合親和性の低い PBP 2' の新生によることは、内外の研究者が認めるところであるが、その起源などについては本シンポジストの間でも意見の不一致がみられた。

帝京大臨床病理の生方博士は、先に tobramycin 耐性とリンクしていた MRSA, PFP 2' 構造遺伝子を、*E. coli* に cloning した DNA を *Hind* III で切断してその 4.3 Kb 断片を精製し、ブドウ球菌の chloramphenicol 耐性 plasmid に結合、感受性 *S. aureus* に形質転換すると methicillin や多くの cephem 系抗生物質に耐性化すると報告した。形質転換の詳細な過程は明らかにされていない。一方 CNS の遺伝的耐性株で、β-lactam 剤で誘導される、MRSA の PBP 2' と分子量が同じと考えられる PBP が存在することを示した。また cloning した PBP 2' 構造遺伝子の 4.3 Kb DNA を probe として、CNS 染色体 DNA との southern blotting を行なうと、*S. epidermidis* と *S. simulans* では、MRSA と同じ restriction pattern を示す DNA 断片が、*S. haemolyticus* ではやや短い DNA 断片が、放射能ラベルされた MRSA の 4.3 Kb DNA と hybrid を形成したといひ、CNS の遺伝的耐性も MRSA と共通の PBP の存在によるとした。しかし CNS のこの PBP が cephem 剤に結合親和性が低いかどうかは言及されていない。

東大応微研の松橋教授らは、上記の MRSA PBP 2' 構造遺伝子の 4.3 Kb DNA の塩基配列を決定し、それから推定されるアミノ酸配列は、N 末端が *S. aureus* の penicillinase に、その下流が *E. coli* の PBP 2 または PBP 3 に似ており、それが murein 生合成のための transglycosylase および transpeptidase 活性部位であると考えた。結局 MRSA の PBP 2' の構造遺伝子は、β-lactam で誘導される penicillinase の調節部分と、ある種の murein-transpeptidase の主要部分が遺伝子融合により生じたもので、世界十数か国の MRSA が共通の 4.3 Kb *Hind* III 断片をもつことから、遺伝子融合の時期は古いとした。

これに対し横田は、MRSA の PBP 2' はその温度感受性、産生時の中性培地依存性、fosfomycin sub-MIC による産生抑制、PC より CEP により結合親和性が高いなど、PBP 2 の性質をすべて備えているので、PBP 2' は PBP 2 遺伝子の突然変異の結果生じたもので、外来遺伝子ではないとの見解を明らかにし、また菌の murein-transpeptidase (PBP) には誘導画分と構成画分があるので、β-lactam による PBP 2' の誘導は、誘導画分

PBP 2 の性質が増強されたに過ぎず、耐性機構との直接的因果関係はないとした。また imipenem (IPM) は PBP 2' に親和性を欠くのに、多くの MRSA に抗菌力を示し得る点に着目し、IPM 低度耐性と IPM 高度耐性の MRSA の PBP 電気泳動パターンを比較したところ、今まで minor 画分として無視されてきた 60 K ダルトン前後の PBP m1 と PBP m2 に変化が認められ、IPM 高度耐性株では PBP m2 が非放射性 IPM で競合結合されないことを示した。結局 MRSA の耐性機構には多様性があり、その起源として突然変異が強く疑われる。MRSA への対策としては、術後感染予防などには抗ブドウ球菌作用の強い薬剤を使い、それを増加させないこと、不幸にして MRSA 感染症が生じた時は、MINO, DOXY, IPM, CMZ+FOM, CZON+FOM など有効な薬剤で早期に治療することが肝要であると結論した。

討論において、MRSA における PBP 2' の β -lactam による誘導と耐性とのかかわり、CNS の遺伝的耐性の機序などについて活発な討論が行なわれ、基礎と臨床の連携における新しい研究テーマの掘り起しに役立つと思われた。また第3世代 cephem を術後感染予防に使うことの是非について臨床の先生方の真剣な討議もあり、本シンポジウムの目的を達したと考える。シンポジストおよび討議に加わられた先生方、ならびに参加の先生方に歴一同深い感謝の意を表わしたい。

1. ブドウ球菌の分類

黒坂 公生

東京慈恵会医科大学臨床検査医学教室

1957 年に出された第7版の Bergey's Manual of Determinative Bacteriology では、ブドウ球菌はコグラセ (以下コと略す) 陽性、マンニット陽性の *S. aureus* と、コ陰性、マンニット陰性の *S. epidermidis* の2つに分けられていた。ブドウ球菌属と極めて似ている *Micrococcus* 属との鑑別点も、ブドウ糖の発酵能の有無があげられているのみであった。

1960 年代の後半になると、菌の生化学性状よりも、DNA の相同性や細胞壁の組成がより信頼性の高い分類規準であるとの見解が主流を占めるようになってきた。そして 1974 年に出された第8版の Bergey's Manual ではコ陰性ブドウ球菌に *S. saprophyticus* が追加された。本菌は以前 *Micrococcus saprophyticus* と呼ばれていた菌である。*S. epidermidis* と *S. saprophyticus* の鑑別点は、細胞壁のグリセロールタイコ酸、リビトールタイコ酸の保有状況とノボビオンに対する感受性の差のみである。

その後 KLOOS, SCHLEIFER らはコ陰性菌について広範な研究を行ない、チオグリコレート培地での発育性、リゾスタヒンとノボビオンに対する感受性、牛血球に対する溶血性、硝酸塩の還元能、ホスファターゼ活性、乳糖、マンニット、マンノースなど各種糖に対する分解能といった性状を基にして、コ陰性菌を更に細かく分けることを提案した。そして 1980 年に出された Approved lists of bacterial names (Int. J. Syst. Bacteriol., 30: 225~420, 1980) では、コ陽性菌が *S. aureus* と *S. intermedius* の2菌種に分けられるようになった。コ陰性菌は *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* に加えて *S. capitis*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosum*, *S. simulans*, *S. sciuri* の8菌種が追加されている。更にコに関して中間的な性状を示す *S. hyicus* が加えられ、ブドウ球菌として13菌種が承認されるようになった。これらのうち *S. intermedius* は以前 HAJEK らが *S. aureus* の生物型 E, F としていたもので、犬、馬、鳩由来の株である。

1986 年に Bergey's Manual of Systematic Bacteriology の2巻が発刊されたが、それによるとコ陰性菌は更に *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. carnosus*, *S. caseolyticus*, *S. gallinarum*, *S. caprae* が追加され、ブドウ球菌は計19菌種に分けられている。

これら19菌種のうち、ヒトの常在菌として認められているものは *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosum*, *S. simulans* の12菌種で、他の菌種は動物から多く検出される菌種である。一方、ヒトに対する病原性の面から眺めてみると、*S. aureus* は以前から重要な菌種であったが、近年 *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* をはじめとする幾つかのコ陰性菌が compromised host に対して病原性を発揮することが認められている。

ブドウ球菌が3菌種に分けられるようになった1974年から10年たった時点で、我々が160病院について調べた成績によると、殆どの臨床検査室で *S. aureus* とコ陰性ブドウ球菌とは何らかの方法で鑑別を行っていた。しかし、コ陰性菌を *S. epidermidis* と *S. saprophyticus* に分けているところは40%弱と少なく、まだ区別していない施設の方が多い状況であった。実施している施設の半数はノボビオン感受性試験で、半数は同定キットで鑑別を行っていた。両者を鑑別することの意義に対する認識の不足、ノボビオン感受性試験の専用ディスクがないこと、*S. epidermidis* にも抵抗性を示す株のあることに起因するノボビオン感受性試験に対する不信心、同定キットを用いた時の経済的な問題などが、

実施施設を少なくしている要因と思われる。臨床的に意義のある株について容易に鑑別できる方法の開発が望まれる。

更に細かく菌種を同定するためには、簡易同定キットを使用して多数の生化学性状を調べることが必要になってくる。現在我々が容易に入手できるブドウ球菌同定キットは、API スタッフ、ID テスト・SP-18、Minitex Gram-positive である。いずれも 20 項目前後の性状を調べ、この成績をコード化し、コード表を参照して同定するようにできている。これら 3 種の同定キットについて標準株を用いて正しい菌性名がでるかどうかを検討してみると、*S. aureus*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosum*, *S. simulans* ではいずれの同定キットでも正しい菌性名が得られたが、*S. intermedius*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. auricularis*, *S. sciuri*, *S. lentus* については、キットによっては別な菌種名あるいは同定不能という解答が得られた。

常在菌として採取した株および病巣から分離した株について、3 種の同定キットを用いてどのくらい同じ菌種名が出るかを検討してみた。

A 社のキットによる同定名を基準にして、2 種以上のキットで同定名が一致した場合を一応正しい菌種名が得たものとして算定してみると、*S. aureus* と *S. epidermidis* では 96.7% の株で同一同定名が得られ、これらの菌種では比較的信頼性の高い菌種名が得られているものと思われた。しかしその他の菌種では、*S. haemolyticus* 76.7%, *S. saprophyticus* 66.7%, *S. xylosum* 63.6% と次第に低下し、*S. capitis*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. simulans* ではその一致率は 50% 台で、同定はできたもののその菌種名の信頼性は相当低いものと考えた方がよいような成績であった。

Bergey's Manual の分類では、ブドウ球菌は 19 菌種に分けられるところまで進んできている。今後同定キットの方も、1980 年の Approved lists に載せられている 13 菌種程度までは、信頼性の高い同定結果が得られるところまで改良されることを望んでいる。

2. 多剤耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)

感染症の現状

宍戸 春美

国立療養所東京病院呼吸器科

近年、耐性ブドウ球菌用 penicillin 剤 (methicillin, isoxazolyl PCs)・第 1 世代 cephem 剤に対する耐性菌 (多くはアミノ配糖体剤にも耐性)、すなわち methicil-

lin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) による感染症は、院内感染を中心に重大な問題になってきた。既に欧州では 1961 年以後、米国では 1968 年以後、MRSA は院内感染の主要起炎菌として重要視されていた。

私共は、全国の主要病院 (大学病院や地域のセンターの総合病院が中心; 約半数以上が病床数 ≥ 500) の協力を得て、本邦の MRSA 感染症について、1982 年 4 月～1983 年 5 月 (前期) と 1986 年 9 月～1987 年 5 月 (後期) において臨床的な調査を行なうとともに、その菌株について細菌学的検討を加えた。その成績を要約すると、1) 病原性が明確な *S. aureus* の 34% (前期)→43% (後期) が MRSA (methicillin の 10^6 CFU/ml 接種時 MIC ≥ 12.5 $\mu\text{g/ml}$) であり、増加傾向にあった。また minocycline (前期 5%→後期 17%), ofloxacin (後期 6%) 耐性菌の出現が注目される。2) MRSA 感染症は、前投与抗菌剤ありの群に多く、基礎疾患ありの群でも高率であった。後期における前投与抗菌剤数が 2 以上の場合には、MRSA が約 80% にも達した。MRSA 分離例の前投与剤の種類は、methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) の場合に比較して、第 3 世代 cephem 剤とアミノ配糖体剤が多く、penicillin 剤が少なかった。3) 基礎疾患では、脳血管障害、外傷を有する患者の MRSA 起炎率が有意に高率であった。4) *S. aureus* 感染症のうち MRSA の占める率が高いのは、熱傷感染、褥瘡感染、骨髄炎などであり、外来治療が主体である急性気管支炎や慢性下気道感染症では低率であった。5) 本邦でも、MRSA 感染症は院内感染の様相を呈し、地域差は認められず、施設による差が大きく、また院内流行株の存在が示唆された。

欧米では、熱傷センターの入院患者に MRSA が多く、院内感染の感染源としても注目されている。本邦では熱傷感染よりも褥瘡感染の MRSA が重要であることに注目し、本邦に特有の病院形態と思われる『老人病院』での院内感染の実態について研究を行なった。平均年齢 78 歳の入院患者の約 60% に脳血管傷害後遺症がある A 病院では、院内肺炎起炎菌として *S. aureus* と *P. aeruginosa* が重要であり、咽頭、喀痰、褥瘡から同一菌株の分離される症例が多く、MRSA の割合は 68% と高率で、cephem 剤、アミノ配糖体剤に交叉耐性を示した。本邦では、所謂「寝たきり老人」の褥瘡感染巣が、院内感染における MRSA の感染源および reservoir として重要であると結論された。

疫学的検討のために行なった *S. aureus* の coagulase typing の成績では、前・後期を通じて type 2, 3, 4, 7 の分離頻度が高く、type 2, 4 に MRSA が高率であっ

た。また、検体別には褥創の type 2, 4, 7 のすべてが MRSA であり、喀痰では type 2, 4 の MRSA が高率であったが、特定の病院に極端に偏ることはなかった。MRSA の coagulase 型別には、地域による差よりも病院による差が大きいと考えられた。

全国調査の後期における病原性の明確な MRSA 124 株について MIC (10^8 CFU/ml 接種時) を測定した。Rifampicin (MIC₅₀, MIC₉₀: 0.025 μ g/ml, 1.56 μ g/ml), vancomycin (MIC₅₀, MIC₉₀: 1.56 μ g/ml, 1.56 μ g/ml), minocycline (MIC₅₀, MIC₉₀: 0.78 μ g/ml, 12.5 μ g/ml), habekacin (MIC₅₀, MIC₉₀: 1.56 μ g/ml, 6.25 μ g/ml), new quinolones (ofloxacin の MIC₅₀, MIC₉₀: 0.78 μ g/ml, 3.13 μ g/ml) などは、臨床的に有効性が期待できるが、vancomycin 以外に対しては既に耐性菌が存在した。また、各種の併用療法も提案されているが、MRSA の耐性パターンと耐性の程度は、各病院ごとに多様性があるため、その病院に応じた化学療法を行なう必要性が痛感される。

呼吸器感染症における *S. aureus* 感染症は、急性では、1) 肺炎(在宅, 院内), 2) 肺膿瘍, 3) 膿胸, 慢性では、4) 慢性気道感染症の形をとる。MRSA は院内肺炎, 基礎疾患ありの膿胸, および長期入院の難治性慢性気道感染症の繰り返し感染の起炎菌となることが多い。気管支局所採痰法では、*S. aureus* は比較的正常に近い気管支粘膜にも新和性があると思われる成績であった。また、通常の喀痰培養法で、 \equiv と判定される同一の検体を定量、培養すると、その 3/19 のみが $\geq 10^7$ /ml であり、*S. aureus* の起炎性が過剰に判定されうる危険性が存在すると思われた。

MRSA に対する対策は、予防と治療の両面から考える必要がある。予防投薬に用いる抗菌剤の種類や治療に用いる抗菌剤の投与期間などの設定において、MRSA を念頭においた化学療法デザイン(例えば、極力、第3世代 cephem 剤の使用を控える)、ならびに一般的な院内感染の予防法が MRSA 感染症に対する対策として極めて重要である。消毒薬の適正使用、手洗の励行、医療器具の滅菌などが挙げられる。MRSA 感染症に対する治療の主体は抗菌剤である。Minocycline, new quinolones, habekacin, ならびに cefmetazole + fosfomycin などの併用療法が用いられるが、病院により耐性の種類と程度が異なり、また、宿主条件の差も大きいため、各症例に応じた抗菌剤の選択が要求される。抗菌剤以外に宿主感染防御能、栄養状態、褥創、などに対する治療法が重要である。また、ポビドン・ヨード剤などの消毒薬の使用は、MRSA の予防はもとより、症例によっては治療にも有効性が発揮されるので、今後、広く試みるべ

き方法であると考えられる。

3. コアグララーゼ陰性ブドウ球菌感染症の現状

小林 寛 伊

東京大学医学部附属病院手術部

コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) はヒトの常在菌であり、いわゆる弱毒菌あるいは平素無害菌であることから、従来は病原性微生物としてあまり問題とならなかった。

しかし、最近になり、CNS 病院感染対策上重量な対象の一つとなり、表皮ブドウ球菌として一括されていたものが分類しなおされている。CNS 感染が問題となってきたのは、急速な医学の進歩に伴った院内易感染患者の急増に起因するものであり、人工臓器手術、移植手術、血管内カテーテル留置、尿路カテーテル留置、ME 機器の多用、免疫抑制療法、抗生物質の開発と進歩などが複雑に絡み合って問題を提起している。特に、脳神経外科における脳脊髄液シャント手術、心臓外科における人工弁置換手術、整形外科における人工関節手術などの術後に高率に認められる。DONOWITZ ら (Am. J. Inf. Cont. 15(4), 1987) は、NICU における CNS 菌血症が 1976~78 年の 17% から、1979~81 年には 28% に増加したと報告している。報告者による差がかなり認められるが、脳脊髄液シャント手術後で 10% 強、人工弁置換手術後で 3% 前後というのが術後 CNS 菌血症であろう。YEUNG ら (Infect. Control Hosp. Epidemiol. 9(4), 1988) の鎖骨下静脈内カテーテル留置症例 1,140 例では、感染例 42 例中 13 例が CNS によるものであった。また、DARBYSHIRE ら (Arch. Dis. Child. 60(2), 1985) の小児におけるカテーテル菌血症 43 例においては、22 例が CNS によった。

1981~82 年にかけて、全国 10 施設より収集した CNS 臨床分離株 1,035 株 (上田, 他: Chemotherapy, 31(7), 1983) について、KLOOS & SCHLEIFER に準じた分類結果では *Staphylococcus epidermidis* が約 43%, *S. haemolyticus* が 21%, *S. hominis* が 12%, *S. saprophyticus* が 6%, *S. warneri* が 4% であったが、施設によっては、1 菌種による多発を示唆する分離頻度が認められた。任意に選んだ 387 株に関する MIC 測定の結果では、PC 系, cephem 系, aminoglycosides, erythromycin などでは、50 μ g/ml 以上の株がかなり存在した。Gentamicin における MIC が 12.5 μ g/ml 以上の株は約 1/3 あり、その内 cloxacillin, cefazolin においても 12.5 μ g/ml 以上の株が 13 株存在した。これら抵抗

性の高い株の 0.2% chlorhexidine あるいは 0.2% benzalkonium chloride の消毒用エタノール溶液、消毒用エタノール単独、0.05% chlorhexidine, 1% povidone-iodine それぞれによる 30 秒処理の結果（接種菌量 10^{5-6} /ml）では、いずれも菌の陰性化を認め、適切な手指消毒により交差汚染を防止しうることを示すものである。

外科医および手術室ナースの指先より分離した CNS 125 株と、医学生および看護学生の指先よりの 50 株を比較すると、methicillin に対する耐性率は、前者で高い。ICU などに長期滞在した患者では、耐性株保有率が高くなるといわれている。

東大病院において、1980 年 6 月から 1984 年 1 月までに血液培養陽性症例は 295 例認められ、内 24 例から CNS が分離されたが、2 回以上分離されたのはわずか 3 例で、残りは検体の汚染か否かが問題となる。血管内留置カテーテル感染についても同様な問題がある。カテーテルより CNS が分離された症例 38 例において、cloxacillin, cefazolin とともに耐性の株は 3 例認められた。

CNS 感染の疫学に用いられる手法で、一般的なものには生化学的反応、抗生物質感受性パターン、ファージ型別、粘液産生能、プラスミド分析などが挙げられるが、欧州で開発されたファージセットは、型別可能率が低く、KLOOS & SCHLEIFER や BAIRD-PARKER の生化学的分類も、*S. epidermidis* が約半数を占るところに問題がある。

東大病院で分離した 1986~87 年の *S. epidermidis* 116 株に対する MIC をみると、clindamycin, erythromycin, cloxacillin, methicillin, ampicillin, piperacillin, gentamicin, amikacin などでは二峰性の分布を示しており、minocycline, ofloxacin は比較的低い MIC を示した。*S. haemolyticus* 24 株に対してほぼ同様な傾向であった。CNS に対する gentamicin の MIC において、12.5 μ g/ml 以上の株が占める割合は 1985 年以前と 1986 年以降で差が明白でなかった。しかし、vancomycin の MIC においては、1985 年までの 128 株と、1986 年以降の 226 株との比較で、上昇の傾向が認められた。

MøLLER (J. Hosp. Infect. 11(1), 1988) は、*S. epidermidis* に対する MIC の経年的変化について報告し、1981, 83, 85 年と全体的な上昇をみているが、vancomycin 耐性株は認めなかったと述べ、また、methicillin 耐性 CNS の gentamicin に対する耐性率は、1975 年ほとんど 0 であったものが、1985 年には 70% 以上となっており、gentamicin の年間使用量に比例し

ているとしている。

CNS の slime 産生能と感染率との関係は議論の対象となっており、幾つかの報告では、slime 産生株の方が感染率が高いとされている。著者らは、tripticase soy broth で 37°C, 24 時間培養後、試験管壁を蒸留水で 1 回洗浄し、染色せずに肉眼的に slime 形成の有無を判定した。今回の検討結果においては、血管カテーテル先端よりの 11 株、血液よりの 28 株、胆汁よりの 53 株の範囲では差異を認めず、更に継続的検討が必要である。

以上、CNS 感染の問題点に言及したが、CNS はヒトの常在菌であり、人間が存在するところには必ず CNS 汚染が生じており、手術室の空気、床、壁の汚染も CNS が主たるものである。これらは、正常な抵抗力を有する患者には無害であるが、compromised host にとっては最も感染を惹き起しやすき微生物の一つであり、今後医学の進歩に伴って更に増加するであろう compromised host を中心に、より細心かつ総合的な感染防止対策が考慮されなければならず、また、疫学的調査体制の確立が切望される。

4. MRSA および表皮ブドウ球菌遺伝的耐性株の耐性機作

生方 公子

帝京大学医学部臨床病理

臨床検査材料より分離されるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) におけるその主たる耐性機構は、メチシリン感受性菌 (MSSA) には存在しない PBP-2' と呼ばれる菌の壁合成をつかさどる代替酵素の出現にあるとされてきた。PBP-2' の特徴は、菌が β -lactam 系薬に触れるとその産生量が著しく高まるということにあり、私共はそれらの事実から、メチシリン耐性機構は PBP-2' が誘導産生される、いわゆる誘導耐性であることを指摘してきた。しかしながら、その耐性因子のみで実際にはどの程度耐性値が上昇するかは未解決であった。与えられたテーマの MRSA と CNS のメチシリン耐性機構を比較するに先立っては、この PBP-2' の遺伝子のみで、確実に β -lactam 系薬に耐性となるということが前提条件となる。私共はそのために、MRSA TK 784 株から採取した染色体 DNA を用い、TOB 耐性をマーカーとして PBP-2' の構造遺伝子を *E. coli* ヘクローニングし、さらにそれより PBP-2' 遺伝子部分（制限酵素の *Hind* III で切断した時 4.3 Kb DNA 断片となる）のみを精製してブドウ球菌の CP 耐性プラスミドと結合し、recipient とした MSSA の SA 113 株へ戻すことを試み

た。得られた形質転換株は、SA 113 (sSQ 53) と命名したが、メチシリンを始め、セファゾリン、セフピラマイド、セフトゾキシムには 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上、セフゾナム、セフメタゾールには 25~50 $\mu\text{g/ml}$ 、フロモキシセフには 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、クロキサシリンには 1.56~12.5 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示し、recipient SA 113 株の 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 前後の MIC とは異なって、明らかに耐性化していることが示された。この事実から、PBP-2' がメチシリン耐性の本体であることを確認できたと考えている。

上記の事実を踏まえて、CNS におけるメチシリン耐性機構を MRSA における PBP-2' の誘導と対比しながら検索を行なうと、*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. simulans* の耐性菌においても、分子量の同じと考えられる蛋白が、 β -lactam 薬による誘導によって同じように出現してくることが見出された。¹⁴C-CZON を用いた PBP の検出によっても、その誘導蛋白が PBP であることを確かめた。また、上述した *S. aureus* の PBP-2' 構造遺伝子の 4.3 Kb DNA 断片をプローブとして、サザンブロット・ハイブリダイゼーションにより、CNS における同じような遺伝子の有無について検索を行なうと、*S. epidermidis*, *S. simulans* では、MRSA と同じ restriction pattern を示す DNA 断片の存在が示され、*S. haemolyticus* ではやや短い DNA 断片であったものの、PBP-2' の構造遺伝子の部分には違いは認められないという成績であった。これらの事実は、ブドウ球菌であれば、たとえ菌種が異なっても、メチシリン耐性機構は本質的に PBP-2' によるものであることを強く示唆していると考えられる。

一方、本邦における MRSA は、疫学的見地から眺めると、GM 耐性 (6'-アセチル転移酵素と 2"-リン酸転移酵素の両機能を有するアミノ配糖体修飾酵素を産生) を伴う MRSA (ファージ型 I 群, コアグラセ IV 型が多い) と、TOB 耐性 (4', 4"-アデニル転移酵素を産生) を伴う MRSA (ファージ型 III 群, コアグラセ II 型が多い) とが主流を占め、両者を合わせると MRSA の 80% はそのいずれかの範疇に分類される。1980 年頃に分離されていた MRSA は前者の GM 耐性型であったが、1983 年頃になって、本邦でも MRSA がにわかに注目され始めた頃より急速に増加したのは後者の MRSA で、現在では GM 耐性型の MRSA を上回ってきつつあるのが実態である。その原因を考える時、GM 耐性型の MRSA よりも TOB 耐性型の MRSA の方が、種々の β -lactam 系薬によって PBP-2' の誘導がかかり易いということと関連があるように考えられるのである。特に TOB 耐性型の MRSA では、既存の第 3 世代 cephem 系薬のいずれによっても PBP-2' の明らかな誘導がみら

れるということが問題である。また両者の PBP-2' 遺伝子の乗った *Hind* III DNA 断片を調べると、GM 耐性型では 4.1 Kb DNA 断片であり、部分的には違いがあるように思われたものの、基本的な構造遺伝子部位には違いがないと考えられる。したがって、 β -lactam 薬による誘導能に違いがあるとすれば、誘導という現象に深くかかわっていると考えられる PCase 産生遺伝子の方に原因の一端があるのではなからうかと現在の時点では推測している。両者の interaction は興味深いことでもあり、それらについて詳細に解析することが今後に残された大きな課題である。

さらに、本邦における MRSA と、諸外国より分離された MRSA とが同じ PBP-2' 遺伝子によるものか否かも述べたが、少なくとも本邦における MRSA の 4.3 Kb DNA 断片を基本として、サザンブロット・ハイブリダイゼーションによって DNA を検索すると、まさしく本邦と同じ 4.3 Kb の DNA 断片を有する菌と、4.1 Kb の DNA 断片を有する菌の 2 種類が認められた。世界で最初に MRSA が分離された英国周辺では 4.1 Kb 断片のものが多く、4.3 Kb の断片は東ヨーロッパから米国にかけて分離されていたが、本邦ではその両者が分離されているという現実、薬物の使用状況とともに考察してみると非常に興味深いことと考え、発表した。

最後に、PBP-2' 遺伝子を戻し得た形質転換株 SA 113 (pSQ 53) を用いて、PCase 産生遺伝子の乗ったプラスミドと PBP-2' 遺伝子の相互作用について若干の成績を示したが、先にも記したように、それらについては将来に残された大きな研究課題であることを述べた。

5. MRSA-PBP 遺伝子の構造と由来

松橋通生・宋 浜東・前崎繁文

東京大学応用微生物研究所

MRSA 株の特徴であり、同株の β -lactam 耐性の原因であると考えられる ペニシリン結合蛋白質 (MRSA-PBP と呼ぶ、他に PBP-2' などとも呼ばれる) の遺伝子の構造、同遺伝子の発現の機構、生成の由来について知見と考察を述べた。

MRSA-PBP は分子量 75,000、ほとんどすべての β -lactam 剤に対して極めて低い親和性を示し、細菌体が β -lactam 化合物と接触した時、誘導的に多量に合成される。

帝京大学分離の MRSA 株の一つ、TK 784 株より MRSA-PBP 遺伝子を 4 Kb *Hind* III 断片中にクローン化し、この DNA の塩基配列を決定したところ、次のようなことがわかった。

(1) MRSA-PBP の構造遺伝子 *mrsA* の DNA 塩基配列より推定した MRSA-PBP のアミノ酸配列は、N末端が古典的な黄色ブドウ球菌のペニシラーゼに似ており、本体は大腸菌のペニシリン結合蛋白質 PBP-2 または PBP-3 とよく似ており、細胞壁ペプチドグリカン生合成のためのトランスグリコシラーゼ活性部位とトランスペプチダーゼ活性部位をもつと思われ、後者にはペニシリン結合部位と思われるセリン残基がある。N末端にはペニシラーゼのペニシリン結合部位のセリン残基を含むアミノ酸配列によく似た配列があるが、2つのセリン残基は MRSA-PBP のペニシリン結合部位ではないと思われる。

(2) MRSA-PBP のコーディング・フレーム (*mrsA*) の上流にプロモーター配列およびリプレッサー結合部位と思われる繰り返り回文配列があり、これらの配列は上記のペニシラーゼ遺伝子のそれと大変よく似ている。

(3) *mrsA* のプロモーターおよびリプレッサー結合部位と思われる DNA 部分には逆鎖の方向に別のプロモーター様配列があり、その先にはリプレッサーの遺伝子と思われる 169 個のアミノ酸をコードしているフレーム *mrsB* がある。

(4) 恐らく MRSA-PBP の産生すなわち *mrsA* 遺伝子の発現はリプレッサーすなわち *mrsB* 遺伝子産物などによって調節を受け、あるペニシリン結合蛋白質が細胞質膜上で β -lactam 化合物のセンサー蛋白質として機能し、リプレッサーの働きをおさえるのであろう。この *mrsA* 遺伝子の発現の系はペニシラーゼの発現の系と共通であり、一部をペニシラーゼの系から借りていると考えると都合がよい。このように考えれば MRSA のうちのペニシラーゼをプラスミド上に持っている株がこのプラスミドを失った時、MRSA-PBP の生成が β -lactam 化合物の誘導を受けなくなる現象もある程度理解できる。

上述の *mrsA* 遺伝子、*mrsB* 遺伝子の一部をそれぞれプローブとして、DNA-DNA ハイブリッド形成法によって、これらの遺伝子と極めて類似性の高い DNA 部分を *S. aureus*、大腸菌、その他の菌種の染色体およびプラスミド上に求めたところ、*mrsA* および *mrsB* のプローブのどちらも結合する 4 Kb の *Hind* III 断片が MRSA 株 (プローブの DNA を分離したもとの株と他の株と) の染色体中には存在したが、この一つ TK 784 株から分離された MSSA 株および大腸菌その他の菌種にはなかった。私達は先に MRSA-PBP 遺伝子 (*mrsA* と *mrsB* およびその2つの間のプロモーターおよびリプレッサー結合配列を指す) は β -lactam 誘導性のある

ペニシラーゼ遺伝子の調節部分と、あるペニシリン結合蛋白質の遺伝子の主要部分とが遺伝子融合によって生じたものであろうと想定したが、後の DNA 塩基配列の決定によりこの仮説の正しいことがほぼ確かめられた。すなわち *mrsA* の頭 (蛋白質に翻訳された場合のN末端) の部分とプロモーター、リプレッサー結合配列と思われるものから *mrsB* にかけては古典的な黄色ブドウ球菌のペニシラーゼに似ており、*mrsA* の主要部分は大腸菌の PBP-2 に似ていた。そこで、このような2つの遺伝子が MRSA-PBP 遺伝子のふた親であろうと考えられた。しかし DNA-DNA ハイブリッド形成実験の結果、*mrsA* の DNA と MSSA や大腸菌の染色体 DNA は結合しなかったから、これらの細菌の通常もっている PBP の遺伝子は MRSA-PBP のその直接の親ではない (黄色ブドウ球菌の通常 PBP 遺伝子の塩基配列はまだ知られていない)。一方 *mrsB* を含む DNA は MRSA 株の染色体ばかりでなく、MRSA 株の一つ TK 731 株のもつペニシラーゼプラスミドとも結合した。故に、この菌のプラスミドには MRSA-PBP 遺伝子の親である部分があるか、あるいは MRSA-PBP 遺伝子の一部がこのプラスミドに転移したかのどちらかである。

次に、同様な DNA-DNA ハイブリッド形成法を用いて、1960 年以来報告されている英国をはじめ世界十数か国の MRSA 株および MSSA 株百株について MRSA-PBP 遺伝子を検索してみたところ、一応すべての MRSA 株の染色体には *mrsA* と *mrsB* を含む 4 Kb の *Hind* III 断片があり、MSSA 株にはなかった。他の制限酵素を用いた実験からも、これらすべての MRSA-PBP 遺伝子はみな殆ど同じ一次構造もっていることが推定される結果が得られた。

これらの実験結果から、MRSA-PBP 遺伝子は、昔ある時、あるペニシラーゼ遺伝子と、現在の黄色ブドウ球菌とは異なるある生物のペニシリン結合蛋白質遺伝子が一度融合して生じ、これがブドウ球菌の間に広がり、二十数年前、ペニシリン療法によって拾い出されたもので、世界中、ほぼすべての MRSA 株について多少の変異はあっても共通であろうと考えられた。

6. メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) と、コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) 遺伝的耐性株の耐性機構と対策

横 田 健

順天堂大学医学部細菌学教室

MRSA は、1950 年代後半に、医療上の難問であった薬剤耐性 plasmid 保有による多剤耐性 *S. aureus* に、その問題を解決した狭域半合成 penicillin (PC) および第 1 世代 cephem に対する耐性が、染色体変異の結果加わったものである。すなわち、MRSA は新しいタイプの多剤耐性 *S. aureus* である。したがって治療できる薬剤が少ないので、*S. aureus* の強毒性から、対応を誤ると MRSA 感染症患者の犠牲率は高い。

一方、CNS は患者体内への異物挿入医療行為の増加とともに、感染症が増加し、なかには β -lactam 剤に対する遺伝的耐性株による難治感染例もみられる。

本研究の目的は、近年増加しつつある *S. aureus* および CNS の、 β -lactamase に安定な薬剤に対する耐性機構を明らかにし、その対策を確立しようとするものである。

1. MRSA 増加の背景

Penicillinase (PCase) によらない *S. aureus* の β -lactam 耐性は、遺伝的耐性 (intrinsic resistance) としてすでに 1961 年以來知られていた。しかし狭域半合成 PC や第 1 世代 cephem が化学療法の主役であった 1970 年代後半までは増加していない。それが MRSA として急増したのは 1980 年からで、抗ブドウ球菌作用の弱い第 3 世代 cephem が、万能の抗菌剤と誤解され、術後感染予防などに汎用された結果と考えられる。

2. MRSA の耐性機構

多くの MRSA の耐性機構は、分子密度 78 K ダルトンの cephem に結合親和性の乏しい PBP 2' 画分の新生によることを当教室で発見した¹⁾。PBP 2' はその温度感受性、中性 pH 依存性、fosfomycin (FOM) による産生抑制などの性質から、PBP 2 から派生した可能性が高い。*S. aureus* の PBP 2 は *E. coli* の PBP 3 同様、ムレイン単体を自然の誘導原とする誘導型の隔壁合成ムレイン架橋酵素と考えられるので、それから派生した PBP 2' も誘導型である。 β -lactam 剤による PBP 2' の誘導は、ムレイン単体ペプチド末端との立体構造類似性によるもので、MRSA 耐性機構の本質とは関係が少ないと考えられた。

一方 imipenem (IPM) は、MRSA の PBP 2' に結

合親和性がないのに多くの MRSA に抗菌力を示す。MRSA のうち IPM 感受性株と IPM 耐性株の PBP 電気泳動パターンを比較すると、耐性株では今までマイナー画分として無視されてきた分子密度 60 K ダルトン前後の PBPm 2 に差があり、非放射性 IPM 25 μ g/ml で、感受性株の PBPm 2 は完全に競合結合されるが、耐性株のそれは IPM に対する結合親和性が低く、競合結合されないことが明らかになった。IPM は *E. coli* の PBP のうち、ムレイン合成開始酵素 PBP 2 に最も親和性が高いことを考えると、*S. aureus* のムレイン合成開始酵素 (既存ムレイン網に切れ目を入れる酵素) は PBPm 2 である可能性が高い。結局 MRSA の耐性機構は、PBPm 2, PBP 3, および PBP 2 のいずれかが β -lactam 剤に親和性を失えば耐性化し得るもので、多様性が見られることが立証された。PBP 2' 遺伝子の塩基配列の解析のみから MRSA の起源を云々することは片手落ちになることが心配される。

3. MRSA への対策

耐性機構から考えれば、MRSA に対する抗菌力は変化した PBPm 2, PBP 3, および PBP 2 (PBP 2') のいずれかに結合親和性を示す薬剤ならば期待できることになる。

多くの MRSA は PBP 2' の新生によるので、PBP 2' になお結合親和性を保持する cephaloridine (CER), cefmetazole (CMZ), および cefuzoname (CZON) は MRSA にある程度の抗菌力を示す。これらの薬剤と FOM を併用すれば協力的に抗菌力が増強される。FOM が PBP 2' の産生量を低下させるためである。

PBP 2' に結合親和性がなくとも PBPm 2 に親和性の高い IPM や flomoxef (FMOX) も MRSA に抗菌力を示す。

他系統の抗菌剤では minocycline (MINO), doxycycline (DOXY) および arbekacin (HBK) が MRSA の多くに抗菌力を示す。ただし TC 系薬剤は著しい compromised host では臨床効果が悪い。その作用が静菌作用を主とするためである。

4. CNS の耐性機構と対策

CNS は 19 菌種に分類されるが、現在の生物学的検査では正確な同定は困難である。そこで β -lactamase に安定な薬剤にも耐性を示す CNS から PCase を脱落させ、その PBP に対する非放射性 cefazoline (CEZ) との競合結合を行ない、ATCC から直輸入した CNS 標準菌株の PBP パターンと対比する方法をとった。

S. epidermidis, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. auricularis*, *S. caseolyticus*, *S. gallinarum*, *S.*

hycus subsp. *hycus*, *S. cohnii*, *S. caprae* および *S. sciuri* supsp. *sciuri* はそれぞれ菌種特異的な PBP パターンを示した。CEZ, CMZ 耐性の CNF は PCase の脱落に成功した株も、脱落に成功しなかった株も、それらの PBP はすべて 100 µg/ml の非放射性 CEZ で競合結合され、真の遺伝的耐性株はまだ確認できないので、対策も明らかでない。

5. おわりに

MRSA 感染症は火事にたとえられる。最良の方法は術後感染予防などには抗ブドウ球菌作用の強い薬剤を使い、それを増加させないことである。不幸にして MRSA 感染症が見られたら、MINO, DOXY, IPM, CMZ+FOM, CZON+FOM など小火のうちに消し止めることである。MOF, コレラ様下痢, トキシックショック, 髄膜炎症状などを示す MRSA 感染症の大火は治療が容易でない。

- 1) UTSUI & YOKOTA : A. A. C., 28 : 397~403, 1985
- 2) UTSUI, et al.: A. A. C., 30 : 917~922, 1986

シンポジウム (II)

抗癌剤使用時の感染症とその対策

司会のまとめ

螺 良 英 郎

国立療養所刀根山病院

守 殿 貞 夫

神戸大学医学部泌尿器科

悪性腫瘍疾患の増加につれて抗癌治療、すなわち抗腫瘍化学療法、放射線療法、各種外科療法などが普及し、生存期間の延長がみられるようになってきた。その一方で感染症の合併も問題となりつつある。これら癌に伴う感染症は細菌、真菌、ウイルスに対する適切な化学療法により効果を得る例もあるが、担癌宿主の悪液質状態が悪化していわゆる *compromised host* となり、抗癌剤使用によってさらに易感染性が增強することも多い。

本シンポジウムにおいては、

- 1) 抗癌剤使用時の感染症合併の頻度、病態それに対する抗菌化学療法や各種治療法の効果
- 2) 癌疾患に基づく免疫抑制と感染発症の機序
- 3) Cytotoxic drugs に基づく好中球減少と日和見感染の因果関係からみて、好中球減少を回復させるための方法と感染合併の予防、CSF および MDP を中心としての3点を重視し、抗癌剤使用に伴う感染対策の問題を討議した。

上記の3点以外も演者および参加者から化学療法の今

後の問題をかかえる本シンポジウムへの大きい関心が寄せられた。

1. 抗癌剤使用による感染症の実態とその化学療法

A. 肺癌を中心に

大 泉 耕 太 郎

東北大学抗酸菌病研究所内科

近年の抗菌薬の目ざましい進歩にもかかわらず、肺癌に併発する感染症のコントロールには、必ずしも満足すべき成果を挙げ得ず、併発感染症は依然として肺癌患者の予後を不良にする因子の一つとして大きな位置を占めている。

以下、自験例を中心に肺癌に併発する感染症、特に抗癌剤使用時の感染症の実態につき述べる。

肺癌に併発する感染症の頻度は当然のことながら臨床病期によって異なり、Ⅲ期までは56%、Ⅳ期では70%、の症例に少なくとも1回の感染エピソードを認める。また、中心性閉塞を来し易い扁平上皮癌で最も頻度が高く、70%に及ぶ。

入院後12か月の時点での生存率を感染合併例(n=114)と非合併例(n=74)とで比較すると、前者で13%に過ぎないのに対し、後者では29%であり、前者が有意(p<0.025)に下回り、感染が肺癌患者の予後に悪影響を及ぼしていることが明らかである。

さらに、併発感染の存在は肺癌治療そのものにも制約を加えるため、治療成績にも悪影響を及ぼす。すなわち、治療効果評価可能125例を感染合併例(n=77)と非合併例(n=48)とで癌治療効果達成率を比較すると、前者の13%に対し後者では29%であり、前者で有意(p<0.05)に低率であった。

肺癌に併発する呼吸器感染症の難治要因は局所要因と全身的要因とに二大別される。

肺癌に特異的な局所要因として癌腫による気道閉塞機転があげられる。閉塞部位より末梢では粘液線毛系による気道浄化機構は破綻し、感染成立の機会は著しく増大する。

また、閉塞末梢領域における肺動脈血流が減少ないし欠損する。そのため抗菌薬の感染局所への到達が劣悪となり、化学療法の効果が得にくくなる。

全身的要因の主要なものは抗癌剤・ステロイド投与あるいは放射線照射などの医原的要因および悪性疾患である原疾患の進展に伴う不可避的易感染状態の出現である。

CDDP, VDS を中心とする癌化学療法施行時、末梢

血中顆粒球は約2週間で最低値に達したのち回復に向う。顆粒球とリンパ球の比率をみると、抗癌剤投与後2週目で好中球の占める割合の減少と、これに伴うリンパ球の比率の相対的な上昇とが観察され、その後徐々に正常の比率に復する。第2回目の治療では投与前値が既に低いものの、絶対数、比率ともにはほぼ第1回目の投与の場合と同様の動きを示す。第3回目の治療では2週後の最低値からの回復が著しく遅れ、かつ前値までの回復は不可能となる。

OKT₄⁺/OKT₈⁺ 比の動きを day 0, 15, 30 でみると (n=4)、抗癌剤投与後 15 日, 30 日と直線的に低下することが知られた。

以上、肺癌患者の全経過の一断面である癌化学療法施行時に限定した末梢血球成分の動きにつき述べた。

ところで、肺癌に併発する感染は肺癌患者の全経過中のどの時期に発症したかにより、その発症様式、臨床像、予後、などに大きな差異がみられる。以下、原発性肺癌患者で感染を併発した 114 例につき上記の点を検討した成績を述べる。

併発感染症の発症時期を、1) 入院時またはその直後、2) 入院経過中、3) 終末期、の3期に分けた場合、1) では閉塞性肺炎が大部分を占め、2) ではこの時期に骨髄機能障害・免疫抑制を結果的に招来する癌化学療法が積極的に行なわれることを反映して、全身的易感染状態の出現に伴う、腫瘍存在部位以外の部位における肺炎・肺化膿症および尿路感染症、敗血症、などがみられるようになる。3) の終末期の感染では腫瘍の増大による閉塞機転の進展のため、再び閉塞性肺炎の頻度が高まると同時に、他部位における肺炎や全身法の各臓器の感染が増加する。

これらの各時期を通じてみられる全身性の感染防御にかかわる諸因子の動きは以下のものであった。すなわち、栄養状態を示す血清アルブミン値は、経過につれて着実に低値に傾き、特に終末感染において著しい。これに対し、 γ -グロブリン値は終末期の感染例においても低値である症例もある一方で高値を示す例もあり、血清 γ -グロブリンの多寡と感染の重篤とは必ずしも一致しなかった。

末梢血中白血球総数は、入院時またはその直後の感染では正常域かまたは 10,000 cells/mm³ 程度の増多に止まる例が大部分を占め、4,000 を下廻る例はなく、癌化学療法が積極的に行なわれる入院経過中の感染では 4,000 ないしそれ以下の低値を示す例が目立つ。終末感染では予期に反し、抗癌剤の影響が残存し低値をとる例と既にこの影響から脱し感染に対応した増多を示す例とに分かれる。

好中球数の動きも上記の白血球総数の動きに類似のパターンを示す。

これに対し、リンパ球数の変動は特徴的である。すなわち、入院時、入院経過中、終末期、の感染と臨床病期が進むにつれてリンパ球数が低値である症例が一方的に増加し、白血球総数や好中球数のように、終末期感染に際して増多を示す例と減少を示す例、とに二分極化することはない。この事実、リンパ球は抗癌剤・放射線の影響からの回復が遅いことを示すものと考えられる。このことが後述するような終末期における細胞性免疫能の低下に伴う pneumocystis carinii などの原虫や cytomegalovirus などのウイルスによる感染の危険性の増大につながるものと理解される。

起因微生物のうち、細菌についてみると、その種類と頻度の年次推移は以下のものである。すなわち、最近の傾向として次の3点が指摘される。第1点は肺炎桿菌の関与率の激減である。これはこの菌種に対する抗菌力が飛躍的に増強された第3世代セフェム剤の臨床導入の結果と考えられる。第2点はさきの肺炎桿菌の激減の裏返し現象としての黄色ブドウ球菌の増加である。第3点は、第3世代のセフェム剤といえどもその抗菌力がいまだ充分とはいえない難い菌種、セラチア、エンヒロバクターなど、の増加である。

起因菌の種類と頻度は併発感染症の発症時期によっても当然異なる。すなわち、入院時またはその直後の感染では在宅発症の市中感染が多いことを反映して、肺炎球菌を主とするグラム陽性球菌が 60% 以上を占める。これに対し、入院経過中および終末期の感染ではグラム陽性球菌が関与する割合は相対的に減少するが、黄色ブドウ球菌の関与率のみは増加する。終末期の感染では、黄色ブドウ球菌、緑膿菌および大腸菌、肺炎桿菌以外の腸内細菌科に属する菌種による感染例が増加する。

上記のような背景の下に発症した肺癌に併発した呼吸器感染症に対する化学療法の成績は以下のごとくである。

肺炎桿菌が起因菌の多くを占めた 1973 年から 77 年にかけては、 β -ラクタム剤。この時期にはセファゾリンを中心としたセフェム剤が主流であったが、これとアミノ配糖体との併用療法の有効率が 50% であり、単独療法の有効率 27% を有意に上回っていた。

第2、第3世代セフェム剤が治験薬として導入され始めた 1978 年以降は、それらの単独療法によっても 50% 以上の、併用療法では 70% 弱の有効率を挙げ得るようになった。

しかし、それ以降、有効率の上昇はみられなかった。1982 年以降、重症例に対して、 β -ラクタム剤、アミノ配

糖体, テトラサイクリン系, の3剤併用を試みるようになって以来, 症例数はいまだ少ないものの, この三者併用による有効率が83%と極めて高いことが知られるに至った。テトラサイクリン系薬剤の良好な肺内移行, 広範囲に及ぶ抗菌スペクトラムが好成績につながるものと考えられた。

以上の一般細菌のほか, 極端な易感染状態にある肺癌患者においては, 真菌, 原虫, ウイルスなどによる感染が発症する。

終末期感染例で, 胸部レ線写真上, 両側びまん性に間質性肺炎像を呈する場合には, pneumocystis carinii または cytomegalovirus の単独あるいは混合感染が考えられる。

前者の場合は ST 合剤が有効であり, 後者に対しては有効な治療法は現在のところ確立されていない。しかし, 将来, 有効な抗サイトメガロウイルス剤など有効な治療法が出現した場合に備えて, 実態解明に取り組んでいる。すなわち, 尿, 気管支鏡下採取気管支分泌液からの同ウイルスの分離を試みている。同時に, 剖検肺織の HE 染色標本中の, 封入体の観察およびモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法による同ウイルス感染細胞の検出を行なっている。さらに, ヒト胎児肺線維芽細胞を用い, 同ウイルスの分離を試みている。

その結果, 原疾患が肺癌であり, 抗癌剤投与に加えて副腎皮質ホルモンが大量・長期に投与され, かつ死亡直前の胸部レ線写真上, 両側びまん性陰影を呈した4症例の剖検肺から cytomegalovirus が分離され, 最近, さらに同様の3症例からの分離にも成功している。

以上のように, 肺癌に併発する呼吸器感染症, 特に終末期に発症してくるものでは腸内細菌叢中の弱毒グラム陰性桿菌, 環境由来のブドウ糖非発酵菌による感染症に加えて, 真菌, 原虫, ウイルスによる感染症の可能性を除外し得ない。したがって, これらの多岐にわたる病原微生物を念頭に置いた対応にせまられる。

また, これらの微生物による感染が懸念されるときには, 種々の予防策を講ずべきである。

また, 一般療法ないし補助療法として, 栄養状態の改善策, 呼吸不全・心不全への対応, 血清電解質不均衡の是正, などが癌化学療法・感染症治療の成績向上のために必要であろう。

B. 白血病・悪性リンパ腫

柴田 弘 俊

大阪府立成人病センター第5内科

急性白血病および悪性リンパ腫における多剤併用療法後の感染症の実態を明らかにするため, 当科で初回導入療法を受けた急性白血病患者147例, 悪性リンパ腫患者89例について, 38°C以上の発熱のエピソードを詳細に調査した。急性白血病患者の92.5%が初回導入療法中に発熱を経験し, 一人平均1.7回の発熱を認めた。悪性リンパ腫では77.5%に発熱がみられ, 一人平均1.9回の発熱回数であった。発熱原因の検索では, 原因の明らかにできない場合(不明熱)が多く, 当科の成績では不明熱は, 急性白血病では54.3%, 悪性リンパ腫では52.1%であった。この不明熱は抗生物質の投与により約80%が解熱することから, 我々は大部分のものが感染症であると考えている。原因の明らかにされたものでは, 敗血症・肺炎の頻度が高く, この二者で全感染症の約50%を占めた。その他の感染症としては, 歯肉口内炎, 上気道炎, 肛門周囲膿瘍, 尿路感染症などがみられた。感染症の原因菌を敗血症についてみると, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* のような G(-) 桿菌が多く約60%であり, G(+) は20%, 真菌は18%であった。感染症の発熱因子として重要な好中球数と感染症の関係を見ると, 急性白血病では敗血症・肺炎は500以下の時期の発熱が大多数であり, 不明熱はやや高い好中球数においてもみられた。リンパ腫では1,000以上の時にも敗血症以外の感染症がやや高率に発生していた。

感染症の治療は感染部位・原因菌の判明する前に開始する 경우가多く, 敗血症を念頭において G(-) 桿菌に感受性の高いβ-ラクタム, ペニシリン剤を選択しアミノ配糖体と併用投与する。原因菌の判明しない症例で効果のみられない場合は抗真菌剤の投与が必要である。

急性白血病・悪性リンパ腫においては, 感染症の好発する時期は, 導入療法後2~4週間である。当科ではこの時期に患者の腸内細菌叢の選択的抑制と無菌室内隔離を行なって感染症の予防を図っている。無菌室治療の感染予防効果をみるために, 一般病室・無菌室内での無菌気流のみ, さらに清潔操作を加えた完全無菌状態における各々100例当りの感染症の発症について検討した。感染症発症回数は各々113, 47, 28回で無菌治療の予防効果が認められた。感染症別では肺炎の減少が著明であって, 30.3回, 10回, 完全無菌下での発症は認められなかった。その他の感染症では上気道炎・肛門周囲膿瘍などが減少したが, 敗血症の減少は著明ではなかった。すなわち, 肺炎・上気道炎のような外因性感外因性感染症

と考えられるような感染症に対して無菌室治療は有効であると考えられた。

骨髄移植療法は造血器悪性疾患において治療を目指す治療法である。我々はこれまで 54 例の同種骨髄移植を行ってきたのでその成績を述べるとともに合併する感染症の対策につき述べる。骨髄移植に合併する感染症は、口内炎、単純ヘルペス、帯状疱疹、間質性肺炎などウイルスに關与する感染症が多く (80%)、次いで肺炎・敗血症などの細菌性感染症もみられる。このうち間質性肺炎は死亡率が高く、骨髄移植においては最も問題となる感染症である。間質性肺炎の発生率は 20~40% であり、その病因は、サイトメガロウイルス (CMV) によるもの 50%、*P. carinii* の關与するもの 15%、原因不明であるが放射線全身照射に起因すると考えられるもの 35% である。間質性肺炎は一旦発症すると、ステロイド大量療法、ST 合剤、 γ -globulin 大量投与が試みられるが有効なものが少なく死亡率は 70% に達する。治療が困難であれば予防法が重要となるので、種々の予防法が試みられ、その結果、anti-CMV- γ -globulin の予防投与、低線量率で分割照射とする全身照射法の改良、CMV 抗体陰性者よりの血小板輸血が有効であることがわかり現在予防手段として実施されている。ヘルペス感染症に対しては抗ウイルス剤アシクロピルの予防投与が有効であり、これにより口内炎が予防され、その結果、細菌侵入門戸も減少し細菌感染の予防にも効果があるものと考えられている。

我々はこれまでに骨髄移植の成績の向上のために種々の改良を行ってきた。すなわち、第 21 例目より適応症を急性白血病では第一寛解期とし、慢性骨髄性白血病では慢性とし、いずれの場合も再発急性転化例は除外した。GUHD の予防には MTX に代って cyclosporin A を用いた。感染予防の目的で vancomycin を加えた強力な腸内殺菌を行なった。また骨髄移植後より移植骨髄の

機能回復までの白血球の極度に減少する期間を短縮する目的でヒト由来の CSF を用いた。また、先に述べた間質性肺炎の予防を強化した。本年度からは G-CSF を試み現在までのところ好成績が得られている。以上の改良点の結果として骨髄移植の成績は 1984 年 7 月以降では著しく向上し、長期生存率は 85% が期待できるようになった (図参照)。

2. 抗癌剤使用による免疫抑制とその対策

小倉 剛

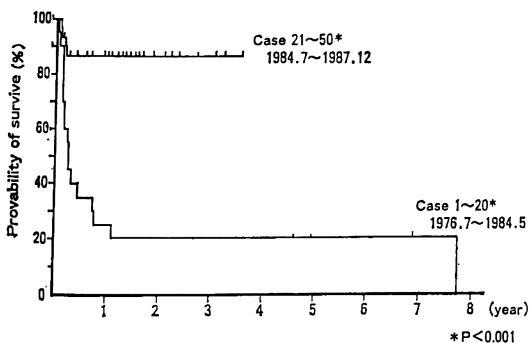
徳島大学医学部第三内科

1. はじめに

抗癌化学療法による副作用は、これまで赤血球を含めた骨髄造血機能と免疫系に分けて論じられてきた。しかし、マクロファージを例にとってみても、多能幹細胞から終局の活性化マクロファージに至る一連の過程では、T細胞を含む種々の細胞から産生されるコロニー刺激因子 (CSF) による調節を受ける一方で、インターロイキン (IL)-1 を産生してリンパ球を活性化したり腫瘍細胞を障害するなどの多彩な機能を示す。すなわち、骨髄機能と免疫機能は生体の恒常性保持の点で一体として考えるべきものである^{1,2)}、これらは洵に複雑多岐な相互反応系を示している。本項では癌化学療法と感染について、マクロファージ・顆粒系に焦点を絞って考えてみたい。

2. 癌化学療法による骨髄機能への影響

15 名の非小細胞性肺癌患者に MMC と CDDP 療法を行ないその回数と副作用の關連について調べた。白血球数、好中球数の減少度を WHO の Grade 分類により評価してみると³⁾、2,3 回目の化学療法後に減少度がより高度となっていた。そこで末梢血白血球数と、メチルセルロース法²⁾ で培養した骨髄細胞の顆粒球・マクロファージ (G·M)-CSF によるコロニー形成数を測定した。化学療法後、両者は相関して変動したが、末梢白血球数が 4,000 以上を維持しているにもかかわらず、骨髄細胞のコロニー形成は全く見られず、2 回目の化学療法でさらに遷延する症例もみられた。さらに化学療法後の末梢血中には、一過性に骨髄細胞と同様に G·M コロニー形成能を示す単核細胞が出現することに着目し、CDDP と VP-16 化学療法後の患者末梢血から調整した単核細胞を種々の化学療法剤と 1 時間処理させた後、洗浄し、G·M-CSF 添加下にコロニー形成能を調べた。In vitro 化療剤感受性テストに用いる薬剤濃度での処理により⁴⁾、VDS, ADM は高度の形成阻害を示したが、薬剤によって著しい差がみられた。このことから、骨髄中な



Survival Curve of Bone Marrow Transplantation
in Center for Adult Disease, Osaka

いし末梢血中の G・M-CSF 反応性のコロニー形成を調べることによって、薬剤による白血球、特に顆粒球・マクロファージ抑制を予見する可能性が考えられたが、一般に、*in vitro* コロニー形成の判定には7日間を要する点、今後の検討が必要であろう。

3. Muramyl dipeptide (MDP)-Lys の CSF 産生菌体細胞壁の免疫調節活性の最小構造単位である MDP は、様々な誘導体が合成されている⁵⁾。我々も MDP-Lys (L-18) の白血球減少症に対する臨床応用を検討しつつあるが、MDP-Lys は健康人骨髓細胞に直接加えても形成されるコロニー数はまったく増加しなかった。しかし末梢血または骨髓細胞のプラスチック粘着性細胞に MDP-Lys を加えて、24 時間培養した上清を CSF として加えると明らかにコロニー形成が増加した。このことは、MDP-Lys は生体の単球-マクロファージ系細胞に働いて CSF 活性を産生し、前駆細胞からの G・M 系細胞の誘導を増強すると考えられた。さらに、化学療法後末梢血白血球減少 (<3,000) 例に対し MDP-Lys を投与すると、白血球の増加と骨髓細胞中の G・M コロニー形成数の増加を認めている。現在、第二相共同試験が進行中であり、臨床的有用性も明らかにされるものと期待している。

4. MDP-Lys の G・M の抗菌活性への影響

Fisher 系ラット気管を通じて肺胞洗浄を行ない、肺胞マクロファージ (AM) を回収し、MDP-Lys (10 µg/ml) と培養した後、洗浄し、³H-アデニン標識 *P. aeruginosa* と 60 分培養して貪食能を測定したが⁶⁾増強を認めなかった。しかし、あらかじめ MDP-Lys (1 mg/kg) を静注し、24 時間後回収した AM は強い貪食能を示した。

次に感染への影響を検討するため、ホルマリンで不活化した *P. aeruginosa* を 10^{8-10} 経気管的に注入し 20 時間後肺胞洗浄を行なうと、菌量に依存して肺胞中好中球数が増加した。さらに、AM と不活化菌体を *in vitro* で培養した上清中には、高い好中球走化因子が認められた。そこで MDP-Lys を静注したラットに *P. aeruginosa* を経気管的に注入した後、同様に肺胞洗浄を行なうと、好中球の占める割合が著明に多くなり、洗浄液から分離した AM と同菌体と培養した上清中には有意に好中球走化因子の産生が増加していた。これらの成績から、MDP-Lys は、肺胞内 *P. aeruginosa* に反応して AM からの好中球走化因子の産生を増強し、肺胞内への好中球集積を高め、抗感染抵抗性を増強させる可能性が示唆された。

5. 癌化学療法剤の IL-2 産生と IL-2 活性化キラー細胞の誘導に対する影響

癌に対する免疫エフェクター細胞として、T 細胞産生リンホカインである IL-2 によって誘導される、lymphokine activated killer (LAK) 活性が注目されている。癌の化学療法により免疫抵抗性が障害されると、悪循環的に感染抵抗性も低下すると考えられる。そこで、末梢血単核球を種々の癌化学療法剤と、*in vitro* 感受性試験に用いられる方法で前処理した後、一部は PHA を添加して培養し IL-2 産生能を、一部はリコンビナント IL-2 を加えて3日間培養した後⁷⁾ ⁵¹Cr 標識 Daudi 細胞に対する障害活性 (LAK 活性)⁷⁾ を測定した。いずれも、前処理による抑制が認められ、アドリアマイシンによる抑制が最も顕著であった。この成績から、白血球減少や免疫能低下患者では、化学療法剤を選択することによる免疫抑制を未然に軽減しうる可能性を示唆している。

6. 考案と総括

癌患者では、癌の進展とともに癌化学療法による骨髓、免疫機能の低下が起り易感染状態となることがあり、特に呼吸器感染が発生しやすい。そこで少なくとも、好中球の減少の防止、速やかな増加を図れば感染に対する効果のみならず、化学療法の強化の点でも期待するところが大きいわけである。このような観点のもとに、我々は実験的、臨床的研究を行ない、化学療法剤による肺癌患者の末梢血白血球数減少を骨髓の G・M コロニー形成細胞の面から解析し、MDP-Lys が単球・マクロファージの CSF 産生の増強を介して白血球増加ないしその促進に働くことを明らかにした。さらにラットへの投与実験から、呼吸器感染に対して MDP-Lys が AM の貪食能を亢進させる一方で、AM からの好中球走化因子をも増強させ、感染細菌に際して肺局所へ動員される好中球を増加させることを明らかにした。これら実験成績から MDP-Lys の臨床的有用性として、癌化学療法後の遷延する白血球減少への効果を介して、癌化学療法強化や呼吸器感染への予防的、治療的効果の増強に役立つ可能性が示唆された。現在、MDP 以外にも種々の免疫調節剤が癌患者に用いられつつあるが、基礎研究では同様な生物活性が報告されており^{8,9)}、今後、抗腫瘍効果誘導の面のみならず感染症対策の面からも臨床的有用性に興味もたれるところである。

参考文献

- 1) 高久史磨: 免疫細胞と造血のかかわりあい。免疫薬理 5: 8~10, 1987
- 2) 斎藤政樹: 血液細胞の培養, 代謝, 癌 '86: 81~97, 1986
- 3) 二見仁康, 西條長宏: 抗癌剤の臨床試験, 図説臨床「癌」シリーズ, 癌化学療法の進歩 (山村雄一・杉村隆監修), 47~57 頁, メヂカルビュー社, 東京, 1986

- 4) 星 昭夫: HTCA の基礎と薬剤感受性テストへの応用, 抗がん剤感受性テストの基礎と臨床 (末舛憲一, 西條長宏監修), 1~18 頁, 協和企画通信, 東京, 1986
- 5) 高田春比古, 小谷尚三: ムラシルペプチドの免疫薬理作用. 免疫薬理 3: 279~287, 1985
- 6) 中山耕三, 安岡 勲, 螺良良郎: ヒト肺胞マクロファージの蘇膜菌貪食におけるスライムの影響。
- 7) 仁井昌彦, 曾根三郎, 小倉 剛: LAK 細胞の誘導機序と腫瘍破壊. 実験医学 5: 53~58, 1987
- 8) 小倉 剛: 宿主応答修飾作用, 臨床的立場から. 最新医学 42: 252~260, 1987
- 9) 螺良良郎, 塚越 茂編: Biological Response Modifier, 医薬ジャーナル社, 東京, 1987

3. 抗癌剤使用による骨髄抑制とその対策

A. 日和見感染における G-CSF の意義

大 沢 仲 昭

東京大学医学部第三内科

1. はじめに

細菌感染に対する生体防御系の中で, ヒトにおいて最も重要な一つが好中球系である。したがって, 抗癌剤使用による骨髄抑制の際の日和見感染の発症には, 好中球の減少が関与していることが多い。最近, 好中球の造血因子である G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) の研究が進み, 遺伝子工学的に組み換えヒト G-CSF (r. G-CSF) が大量に生産可能となり, 好中球減少症に対する治療剤としての検討が可能となってきた。G-CSF の臨床治験は現在進行中であり, 来年度の本学会総会シンポジウムでもその成果が発表される見通しであるので, ここでは, ヒト G-CSF の前臨床試験的成績の評価を中心に報告する。

2. G-CSF の基本的性質

CSF は顆粒球セマクロファージの増殖・分化に関与するサイトカインであり, 4 種類の存在が明らかにされている。すなわち

- 1) Multi-CSF (IL-3)
- 2) GM-CSF (granulocyte-macrophage)
- 3) G-CSF (granulocyte)
- 4) M-CSF (macrophage)

である。このうち, G-CSF は顆粒球 (好中球) のみの増殖・分化を促進するところから, 他の血球系への直接的・間接的影響が少ないとされている。

ヒト G-CSF は分子量 18,000~20,000 の糖蛋白で, 糖を除いた蛋白部分の分子量は 18,800 といわれる。ヒ

ト G-CSF は, GM-CSF と異なり, マウス, ラットなどの実験動物へも作用を発揮するところから, その薬効および副作用について, 実験的に検討し得るという利点がある。すなわち, シミュレーション実験を必要としない。ただ, 抗原性が実験動物に対して有するので, 長期の薬効, および安全性試験 (発癌実験を含む) を行なう際には注意が必要である。

3. ヒト G-CSF の薬効薬理

ヒト G-CSF は, *in vivo* において以下の 4 種類の効果を好中球に及ぼす。

- 1) 貯留部位からの動員 (好中球増加)
- 2) 増殖促進 (好中球増加)
- 3) 分化誘導 (好中球の成熟)
- 4) 機能誘導, 促進 (好中球の機能維持)

すなわち, 1 種類で好中球の造血に関するほぼすべての役割を果たすことになる。

A. 正常動物への効果

(a) G-CSF 単回投与

G-CSF 1~2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の皮下投与後, ラット, マウスの末梢血中好中球数は著明に増加し, 6~12 時間後にピークに達する。この好中球増加は, 貯留部位からの動員のためと考えられる。

(b) G-CSF の連続投与

G-CSF は 1~2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の皮下投与を連日 14 日間行なうと, ラット, マウスとも単回よりも, 更に著明な好中球増加を来し, かつ投与期間中持続する。これは好中球の増殖促進のためである。この際, 増加した好中球はその大部分が成熟した分葉核球であり, また, 食作用を始めとする好中球の機能は十分に誘導されていることが証明される。

B. 抗癌剤投与による骨髄抑制のみられる実験動物への効果

(a) Busulfan 投与によるヌードマウスの骨髄抑制に対する CSF 産生腫瘍の移植の効果

ヌードマウスに CSF 産生腫瘍 (OTUK 株) を移植すると, G-CSF の持続分泌のために高度の好中球増加 (末梢血好中球数 50 万/ mm^3 ~) を来す。この系を用いて, busulfan 投与による骨髄抑制実験を行なったところ, 対照群が, 好中球減少, 骨髄障害像を示すのに対し, 好中球数の回復, 骨髄中に著明な好中球, 殊に感熟好中球の増加するのが認められた。

(b) Cyclophosphamide (CPA) 投与による実験的好中球減少症に対する G-CSF の効果

マウスに CPA (200 mg/kg, i. p.) を投与すると, 好中球減少が発症し, 5 日目に最低値を示し, 7 日目には回復する。この際, 線膿菌, あるいはカンジタの感染実

験を行なうと、無処置群に対し、LD₅₀ 値は低下する。これに対し、G-CSF (2 µg/m²) をCPA 投与翌日より4日間連続皮下投与すると、好中球の減少を防ぎ、LD₅₀ 値は上昇する。CSFの投与方法によっては、好中球の減少は防がないが、その回復を著明に促進する。同様の効果が5-FUの投与実験でも認められる。

以上の成績から、ヒト G-CSF は、正常のマウス、ラットに対し、好中球の増加作用を有し、抗癌剤による骨髓抑制に伴う好中球減少動物に対して、その防止作用あるいは回復、促進作用を示し、更に、その際の細菌、あるいは真菌に対する易感染性を低下せしめる作用を有することが明らかにされた。これらの事実は、ヒト G-CSF が臨床においても、抗癌剤投与による好中球の減少、それに伴う感染抵抗性の低下に対して有用な治療剤になる可能性を示唆するものである。

4. ヒト G-CSF の安全性

ヒト G-CSF は、インターフェロンや IL-2, TNF などのサイトカインに比べ、最も副作用の少ない製剤となる可能性がある。大部分のサイトカイン (GM-CSF を含めて) は発熱性を有するが、G-CSF には発熱性がみられない。

ヒト G-CSF の副作用として予見されるのは、投与の過剰、特に長期間の投与過剰例におこり得る、CSF の作用、あるいは薬効の過剰である。すなわち、好中球の過剰による肺の障害の可能性、特に日和見感染時のエンドキシンショックの際の肺病変の可能性、次に造血系の中で、好中球系の増殖を促進するために、他の血球造生系への間接効果、例えば貧血、血小板減少などの可能性があげられる。前述のようにヒト G-CSF はマウス、ラットにも作用を有するので、少なくとも急性、悪急性実験は評価が可能である。現在のところこれらの実験で著明な変化はないようである。

G-CSF は造血系の中で、好中球系を促進するが、間接的には幹細胞の細胞回転にも影響する可能性がある。最近、G-CSF は、IL-6 とともに、幹細胞にも作用することが示唆されるようになった。これらの作用機構から、造血系の悪性化、特に白血病の発生に対する効果も十分に考慮しておく必要がある。ただ、ヒト G-CSF は抗原性があるため、実験動物での発癌実験は困難である。これに対しては、transgenic mouse の作出を含めた、抜本的な安全性試験の確立が要望される。

5. おわりに

以上の成績から、ヒト G-CSF 製剤は、抗癌剤投与による好中球減少症、およびそれに伴う日和見感染症の治療、予防剤として極めて有用な薬剤となり得ることが期待される。臨床治験の成果が待たれる所以である。

B. MDP-Lys (L-18) の末梢血好中球回復効果について

西川 秀樹・螺良 英郎

国立療養所刀根山病院

悪性腫瘍に対する化学療法や放射線療法に基づく感染症の問題点は、neutropenia が最大の誘因とされている。このような neutropenia を予防または早期に回復させる方法の確立が早急に解決する必要がある。

ムラミルジペプチド (MDP) の誘導体の一つである MDP-Lys (L 18), N²-[(N-acetylmuramoyl)-L-alanyl-D-isoglutaminyl]-N⁶-stearyl-L-lysine (MUROCTASIN) は、MDP の誘導体にイソダルタミンにリジンを介して C 18 のステアリン酸を結合した化合物で (図 1), 生物活性は十分に備えながら発熱やアジュバント関節炎などの副作用が少ない物質である。現在までに証明されている生物活性は、1) マウス、ラット、ウサギ、イスに対し末白血球数を増加させる¹⁾。2) マウス単球からの CSF 産生を亢進させる²⁾。3) 抗癌剤投与あるいは放射線によって白血球減少マウスに投与して白血球数の回復を促進させる³⁾。4) マウス白血球機能 (走化能, 食菌能, 殺菌能) を亢進させる⁴⁾。5) マウス、モルモットの実験的感染症に投与して防御と治療効果を示すこと⁵⁾などが明らかにされている。MUROCTASIN が臨床投与で末白血球数の増加作用がある可能性が考えられ、癌化学療法後の白血球減少の回復効果がないかと臨床研究を開始した。第 1 相試験を実施後、臨床早期第 II 試験、次いで臨床第 II 試験を行なった。

1. 対象患者

悪性腫瘍患者で癌化学療法後白血球数が 3,000/mm³ 以下に減少した者 176 名に投与した。解析除外症例 69 例を除いた適格症例 107 例について検討した。107 例中 75 例が固形癌で 32 例が血液悪性疾患であった。固形癌中 59 例が肺癌であった。

2. 方法

1) MUROCTASIN の投与方法

Phase II 試験の MUROCTASIN の投与スケジュールは、抗癌化学療法を施行後、末白血球数が 3,000/mm³ 以下となった時、200 µg 皮下投与で 6 日間隔日と連続投与の 2 群と、400 µg 皮下投与で 6 日間隔日と連続投与の 2 群の計 4 群に分けて臨床試験を行なった。3 日後、7 日後、14 日後の白血球数と、その分類を経時的に観察するとともに副作用について血清酵素を含め学的所見について検査した。

2) 肺癌患者の化学療法

小細胞癌には c-DDP+etoposide または CPA+

ADM+vincristine, 非小細胞癌には c-DDP+VDS または c-DDP+VDS+MMC を投与した。

3. 結果

MUROCTASIN 投与後の末血白血球数の変動を固形癌 (S) と悪性造血臓器疾患 (H) に分けて図 2 に示す。白血球数が癌化学療法により $3,000/\text{mm}^3$ 以下になってから, MUROCTASIN の投与を行なった結果, 固形癌群では白血球数は 3 日後に増加し始め, そして 7 日目と上昇し, 投与中止しても増加を続け 1 週後の 14 日目においてはほぼ正常値に戻った。固形癌群の, 肺癌が大部分を占めるが, MUROCTASIN 投与後の白血球数の回復は主に, 好中球数の回復と単球の回復による。リンパ球の変動はあまりなかった。固形癌では白血球数の回復能は良好であったが, 血液疾患群では, 回復効果はさほど認められなかった。MUROCTASIN の白血球数の回復効果は固形癌で 44.3% であったが, 血液疾患では, 26.3% であった。

Phase II の固形癌の中で肺癌の症例について検討したが, 癌化学療法後白血球数が $3,000/\text{mm}^3$ 以下になった時に MUROCTASIN を投与した結果, 白血球数の回復は良好で, 以前に同じレジメで治療した肺癌の患者の白血球数を historical control として比較すると回復促進効果がみられた。白血球分類で検討すると, historical control と比較して好中球と単球の回復が早期に認められた。

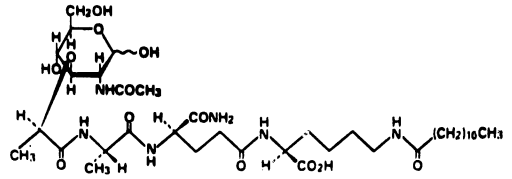
Phase II study における副作用としては, 発熱が 51%, 局所の疼痛, 腫脹が 32% 認められた。肝臓機能異常も 3% 前後認められたが, 本剤の投与を中止後消失し重篤な副作用はなかった。

4. 考察

临床上, 悪性腫瘍患者に癌化学療法を施行後の末血白血球数の変動は抗癌化学療法後 10 日から 14 日目で最低値となりその 7 日から 14 日目で回復するのが natural restoration であるが, 時には回復が悪く, 次の癌化学療法が不可能になったり, 感染症の原因ともなる白血球数が $3,000/\text{mm}^3$ 以下の期間をできるだけ短縮し good restoration にする必要がある。

MUROCTASIN が, 抗癌剤投与によって生じる白血球数の減少のナディアーからの回復を早め, その効果は好中球数の回復によっていた。MUROCTASIN の好中球の回復の作用機作は明確ではないが, MUROCTASIN が単球を刺激して, IL-1, CSF などを産生させて骨髓での好中球の増殖を増加させている可能性がある。

悪性血液疾患患者への MUROCTASIN 投与効果が低く, leukopenia が遷延するのは malignancy に使用する薬剤の cytotoxic drug の bonemarrow sup-



MDP-Lys(L18); muroctasin

Fig. 1 Chemical formula of MPP-Lys. (L-18) (Muroctacin)

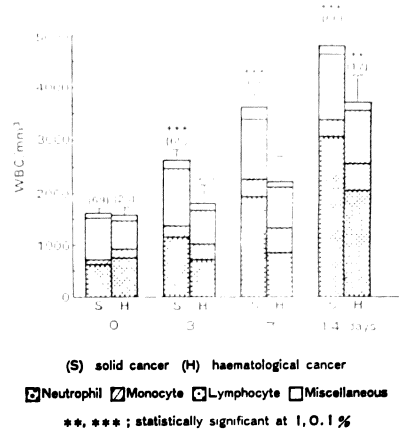


Fig. 2 Restoration of leukocyte and its subpopulations after administration of Muroctacin

pression が強いと思われる。

癌化学療法投与後の白血球減少の回復効果の第Ⅲ相試験を肺癌を対象に現在実施しているが, MUROCTASIN により, 白血球数の早期回復が得られ, cancer chemotherapy の投与をより効果的にさせないか, さらに今後 MUROCTASIN *in vivo* での好中球, マクロファージなどの活性化作用によって感染の防御効果も得られないものか, 癌治療効果向上のためにさらに臨床研究を進めて行く必要がある。

(本報告に当たって, 全国協同研究の各位の協力に感謝し, また全面的に協力していただきました第一製薬に感謝します)。

文 献

- 1) *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 38:1988 (in press)
- 2) *Advances in the Biosciences.* 68: 237~243, 1988
- 3) *Advances in the Biosciences.* 68: 337~380, 1988
- 4) *Infect. Immunity* 38: 848~854, 1982
- 5) *Infect. Immunity* 39: 1029~1040, 1983

C. 顆粒球減少時の抗菌化学療法

荒川 創一

神戸大学医学部泌尿器科

泌尿器科領域固型癌に対する抗癌剤による化学療法は、CDDP が導入されて以来、多剤併用により精巣腫瘍、膀胱腫瘍などの進行例あるいは癌病巣の手術摘除前後の補助療法として、その成績の向上がみられる。一方、これら抗癌剤の副作用のうち、その骨髄抑制による白血球の減少特に顆粒球減少は、癌患者の感染防御能低下をもたらす点で重要な問題といえる。

今回、担癌状態および抗癌剤による顆粒球減少時の感染に対する治療および予防的抗菌化学療法について、基礎的および臨床的検討を行ない、その成績を報告した。

1. 対象および方法

1) 基礎的検討

マウスを使用し、感染実験を施行した。易感染宿主として担癌マウスおよび顆粒球減少マウスを作製し、各種グラム陰性桿菌の尿路および腹腔内接種時の病原性、抗菌薬治療効果につき検討した。担癌マウスでは癌移植10日目に、顆粒球減少マウスではサイクロフォスマイド投与4日目に菌接種した。治療実験では、菌接種後その日から抗菌薬を投与した。

2) 臨床的検討

泌尿器科領域固型癌を対象とし、抗癌剤投与による顆粒球減少時（末梢血顆粒球数 $1,000/\text{mm}^3$ 以下）の予防的抗菌化学療法の意義につき検討した。AMPH と VCM の内服のみの I 群と、これら内服に LMOX 点滴静注を併用する II 群につき、その感染予防効果を比較した。

2. 結果

1) 基礎的検討

(1) 上行性腎盂腎炎モデル

担癌マウス；ID₅₀ 値は、被検5菌株すべてで無処置マウスに比べ低く、易感染性が示された。*C. freundii* による感染治療実験では、ED₅₀ 値はいずれの薬剤でも担癌マウスで高かった。

顆粒球減少マウス；ID₅₀ 値は、無処置マウスに比べ顆粒球減少マウスで明らかに低かった。*P. aeruginosa* 接種による腎盂腎炎に対する抗菌薬治療効果は、キノロ

ン、IPM/CS、CM でそれぞれ MIC に見合った ED₅₀ 値が得られた。

(2) 腹腔内感染（全身感染）モデル

担癌マウス；LD₅₀ 値は、担癌マウスで低かった。

顆粒球減少マウス；LD₅₀ 値は、各菌株とも無処置マウスのそれより低く、*P. aeruginosa* でその比が137,000 と最も大きかった。*P. aeruginosa* 感染に対する抗菌薬治療効果は MIC に見合っていた。

2) 臨床的検討

対象症例数は I 群 10 例、II 群 11 例であり、両群とも膀胱腫瘍、精巣腫瘍が主であった。平均年齢は I 群 58 歳、II 群 63 歳であった。抗癌化学療法による末梢血顆粒球数最低値の平均は I 群で $480/\text{mm}^3$ 、II 群で $410/\text{mm}^3$ であり、そのときの白血球数は I 群 $1,700/\text{mm}^3$ 、II 群 $1,500/\text{mm}^3$ であった。感染予防目的での抗菌薬平均投与期間は I 群 10.5 日、II 群では内服 11.3 日、注射 10.8 日となっていた。

結果的に、本プロトコールによる感染予防効果は I 群で 80%、II 群で 90.9% であった。本研究に参加した7施設中、顆粒球減少時に患者の隔離、ガウンテクニックを施行している2施設（うち1施設ではクリーンベッド使用）では、感染発現例はみられなかった。全21例中、感染の出現した3例でも重篤な全身感染に至ったものは認められなかった。

1例で、本プロトコール施行中（I 群）の腸内細菌叢の推移について検討した。AMPH、VCM 投与中は嫌気性菌、好気性菌とも減少がみられ、*Candida* の出現もみられていないが、これらの内服終了16日目には細菌の総菌数、菌種とも投薬剤と類似してきており、*Candida* も認められている。

3. まとめ

以上の基礎的および臨床的検討成績をまとめると、抗癌剤使用時には、担癌状態と顆粒球減少という易感染因子の重なりから、弱毒菌感染の起こりやすいことが動物実験で確認された。それらに対する抗菌薬の効果については、MIC に見合った成績が得られた。固型癌に対する抗癌剤投与にみられる中等度の顆粒球減少症では、AMPH、VCM などの内服による腸管内フローラ抑制が感染予防に有用と考えられたが、これらと同時に患者隔離、クリーンベッドの使用などが望ましいと思われた。