

## ラット肺炎球菌性髄膜炎モデルにおける aspxicillin の治療効果および髄液中移行

春日 修・谷 佳都・芝田 和夫・石井 信男  
奥野 哲・佐久間由光・前澤 功・山口東太郎  
田辺製薬株式会社生物研究所

(昭和 62 年 10 月 3 日受付)

ラット肺炎球菌性髄膜炎モデルにおける aspxicillin (ASPC) の治療効果、髄液中殺菌作用および髄液中移行を ampicillin (ABPC), mezlocillin (MZPC) および piperacillin (PIPC) を比較薬剤として検討した。

細菌接種 24 時間後に各ペニシリン剤を尾静脈内へ単回投与した結果、PIPC を除き投与量に依存した治療効果が認められ、その中で、ASPC は最も良好な治療効果を示した。また、各ペニシリン剤の髄液中殺菌作用は投与量に依存し 20 mg/kg 投与群において投与 24 時間後に ABPC, MZPC および PIPC は髄液中での細菌の再増殖が認められたのに対して、ASPC では再増殖が認められなかった。各ペニシリン剤の感染ラット髄液中濃度は非感染ラットに比べ明らかに高い値を示し、これらのペニシリン剤は感染によって感染髄液中への移行性が増大した。その中で、ASPC はいずれのペニシリン剤より良好な移行性を示した。

我々は肺炎球菌性ラット化膿性髄膜炎モデルの作製を試み、感染髄液の血液生化学的検査および病理組織学的検索の結果より、化膿性髄膜炎として妥当と考えられるモデルが作製できたので前報<sup>1)</sup>で報告した。このモデルを用いて、ASPC の治療効果、髄液中殺菌作用および髄液中への移行性を、ABPC, MZPC および PIPC を比較薬剤として検討したので以下に報告する。

### I. 実験材料および方法

#### 1. 使用菌株

*Streptococcus pneumoniae* type III (京都薬科大学微生物学教室より分与) を用いた。

#### 2. 接種菌液調製

前報<sup>1)</sup>に準じ、*S. pneumoniae* type III を 10% 非働化馬血清加ハートインフュージョン寒天培地 (HIA: 栄研化学) で 37°C, 18 時間培養後、トリプトソイブイオン培地 (栄研化学) に浮遊し、 $1 \times 10^7$  CFU/ml になるよう調製した。

#### 3. 使用動物

生後 7 週齢の Crj-SD 系雌性ラット (体重: 190~210 g) を使用した。

#### 4. 使用薬剤

Aspxicillin (ASPC: 田辺製薬)

Ampicillin (ABPC: 明治製菓)

Mezlocillin (MZPC: バイエル薬品)

Piperacillin (PIPC: 富山化学工業)

の 4 剤を供試した。

#### 5. 髄液採取針および感染動物の作製

前報<sup>1)</sup>に準じ、髄液採取針はテルモ注射針 25 G 1/1 TW の針部分にポリエチレン細管を接続して作製した。また、感染ラットは大槽内に上記髄液採取針を用いて菌液 10  $\mu$ l ( $1 \times 10^5$  CFU/ラット) を接種して作製した。

#### 6. 髄液および血液の採取

髄液は前報<sup>1)</sup>に準じ、ラット大槽内から髄液採取針を用いて 10~50  $\mu$ l 採取した。血液はラット大腿動・静脈切断により約 5 ml 採取した。

#### 7. 薬剤感受性測定

*S. pneumoniae* type III に対する各ペニシリン剤の最小発育阻止濃度 (MIC) は日本化学療法学会標準法<sup>2)</sup>に準じ、増菌用培地は 10% 非働化馬血清加 HIA, 測定用培地は 10% 馬血液加感性ディスク用培地 N ニュスイ (日水製薬) を使用した。なお、接種菌量は  $10^6$  CFU/ml として測定した。

#### 8. 治療効果および髄液中殺菌作用

治療効果および髄液中殺菌作用は大槽内接種 24 時間後の感染ラットに 20 mg/kg, 4 mg/kg および 0.8 mg/kg 各ペニシリン剤を尾静脈内に単回投与することにより検討した。治療効果は 1 群 10~34 匹のラットを用い、14 日後の生存率で求めた。髄液中殺菌作用は 1 群 3

Table 1. Analytical conditions

CSF : HPLC method	
Apparatus :	Varian LC 5000
Detection :	UV-214 nm
Column :	TSK gel ODS 80-TM (Toyosoda)
	4.6 mm i.d.×15 cm
Mobile phase :	
ASPC :	3-5% CH <sub>3</sub> CN—0.025 M PBS (pH 6.0)
ABPC :	12% CH <sub>3</sub> CN—0.025 M PBS (pH 6.0)
MZPC :	25% CH <sub>3</sub> CN—0.025 M PBS (pH 6.0)
PIPC :	25% CH <sub>3</sub> CN—0.025 M PBS (pH 6.0)
Flow rate :	1.0 ml/min
Sensitivity :	0.02-0.1 AUFS
Temperature :	40°C
Injection volume :	10 μl
Serum : Bioassay method (disc method)	
Test organisms :	
ASPC, MZPC, PIPC :	<i>E. coli</i> ATCC 27166
ABPC :	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
Media :	
<i>E. coli</i> ATCC 27166 :	
	peptone 1.5%, agar 1.5% (pH 6.0)
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633 :	
	bacto peptone 0.5%, beef extract 0.3%, sodium citrate 1.0%, sodium chloride 0.5%, agar 1.5% (pH 6.5)

匹のラットを用いて、同一ラットから0時間、3時間、6時間および24時間後に髄液を10~15 μl採取して髄液中菌数の経時的变化を測定することにより検討した。

#### 9. ラット髄液中移行性

100 mg/kg の各ペニシリン剤を大槽内接種 24 時間後のラットおよび非感染ラットの尾静脈内に単回投与し、1群4~7匹のラットを用いて、投与後経時的(7.5分、15分、30分、1時間および2時間)に髄液および血液を採取した。髄液中薬剤濃度は採取時血液の混入した髄液は濃度測定から除外し、測定時まで氷冷下に保存した後、Table 1 に示した条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法、血清中濃度は採取血液を4°C、3,000 rpm、15分間遠心分離して得た上清についてバイオアッセイ(ペーパーディスク)法により測定した。なお、薬動力学的パラメーターは非線型最小二乗法により算出した。

## II. 成 績

### 1. ラット肺炎球菌性髄膜炎モデルにおける各ペニシリン剤の治療効果および髄液中殺菌作用

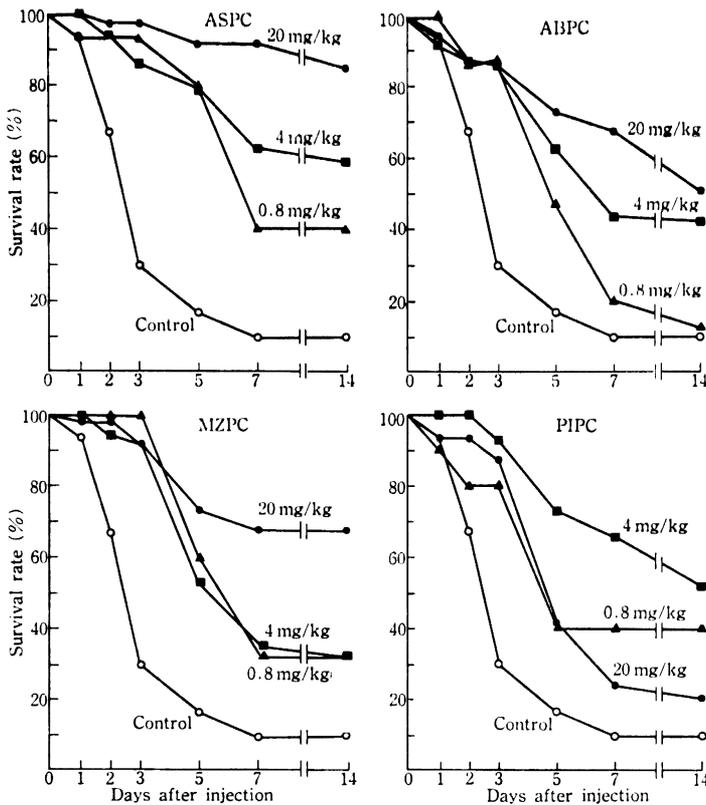
本菌  $1 \times 10^5$  CFU/ラット大槽内接種 24 時間後に各ペニシリン剤を尾静脈内に単回投与した場合の14日間のラット生存率を Fig. 1 に示した。ASPC, ABPC, MZPC および PIPC 20 mg/kg 投与群の14日後の生存率はそれぞれ、85.2%, 55.9%, 67.6% および 20.7%、

4 mg/kg 投与群では 58.8%, 41.8%, 32.4% および 51.7%, 0.8 mg/kg 投与群では 46.7%, 13.3%, 33.3% および 40% であり、各ペニシリン剤投与群は薬剤非投与対照群に比べ、明らかに生存率が高くなり、PIPC を除く3剤には投与量に依存した治療効果が認められた。

各ペニシリン剤の *S. pneumoniae* type III に対する髄液中殺菌作用および MIC 値を Fig. 2 に示した。ASPC は 20 mg/kg, 4 mg/kg および 0.8 mg/kg いずれの投与群においても髄液中菌数は投与6時間後まで直線的に減少し、特に、20 mg/kg 投与群は24時間後でも再増殖が認められなかった。ABPC, MZPC, および PIPC はいずれの投与群とも6時間後まで髄液中菌数を減少させたが、その作用はASPCと比べ明らかに弱く、20 mg/kg 投与群でも24時間後にABPC: 1/3例, MZPC: 3/3例 および PIPC: 3/3例で再増殖が認められた。

### 2. 各ペニシリン剤のラット髄液中移行性

本菌  $1 \times 10^5$  CFU/ラット大槽内接種 24 時間後のラットおよび非感染ラットに各ペニシリン剤 100 mg/kg 投与し、経時的に髄液中および血清中濃度推移を比較した結果を Table 2 に示した。髄液中への各ペニシリン剤の移行性は測定した髄液中濃度の最高値と比較すると、ASPC: 非感染群 1.6 μg/ml, 感染群 11.3 μg/ml, ABPC: 非感染群 1.1 μg/ml, 感染群 9.6 μg/ml, MZPC:



Drugs were injected 24h after infection.  
Each point represents the survival rate of 10 to 34 rats.

Fig.1. Therapeutic effect of ASPC, ABPC, MZPC, and PIPC after intravenous bolus injection on experimental meningitis due to *S. pneumoniae* type III in rats

非感染群 $0.7 \mu\text{g/ml}$ , 感染群  $8.7 \mu\text{g/ml}$ , PIPC : 非感染群  $0.6 \mu\text{g/ml}$ , 感染群  $8.2 \mu\text{g/ml}$  であり, いずれのペニシリン剤も感染によって髄液中への移行が増大した。

一方, 各ペニシリン剤の血清中濃度推移は感染群と非感染群で著しい差が認められなかった。

感染ラットにおける髄液中濃度および血液中濃度から算出した各ペニシリン剤の薬動学的パラメーターを Table 3 に示した。感染髄液中濃度の  $C_{\text{max}}$  は ASPC が最も高く, 次いで ABPC, MZPC および PIPC の順であった。感染髄液中濃度曲線下面積 ( $\text{AUC}_{0-\infty}$ ) は ASPC が最も大きく  $12.8 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$  で ABPC および MZPC の約 2 倍, PIPC の約 4 倍の値を示した。また, 薬剤の血液から髄液への移行率を示す  $\text{AUC}$  髄液血清比百分率は ASPC : 16.2%, ABPC : 11.1%, MZPC : 9.3% および PIPC : 5.2% であった。感染髄液中半減期 ( $t_{1/2}$ )

は ASPC : 44.2 min, ABPC : 24.3 min, MZPC : 25.5 min, および PIPC : 14.1 min であり, 髄液中から薬剤の消失の度合いを示す  $t_{1/2}$  の髄液血清比は ASPC : 2.3, ABPC : 1.2, MZPC : 2.1 および PIPC : 1.2 であった。

### III. 考 察

抗菌剤の化膿性髄膜炎に対する有用性評価は一般に, 家兎モデルが用いられている<sup>3-6)</sup>。今回, 我々はラット肺炎球菌性髄膜炎モデルが致死性であり, 髄液中殺菌作用および髄液中への薬剤移行性が検討できるモデルであることから, ASPC の化膿性髄膜炎に対する有用性について検討した。

本モデルにおける ASPC, ABPC, MZPC および PIPC の治療効果は PIPC を除いて, 投与量に依存した効果が認められた。その中で, ASPC ( $\text{MIC} : 0.1 \mu\text{g/ml}$ ) は他の 3 剤 (各  $\text{MIC} : 0.025 \mu\text{g/ml}$ ) より MIC が

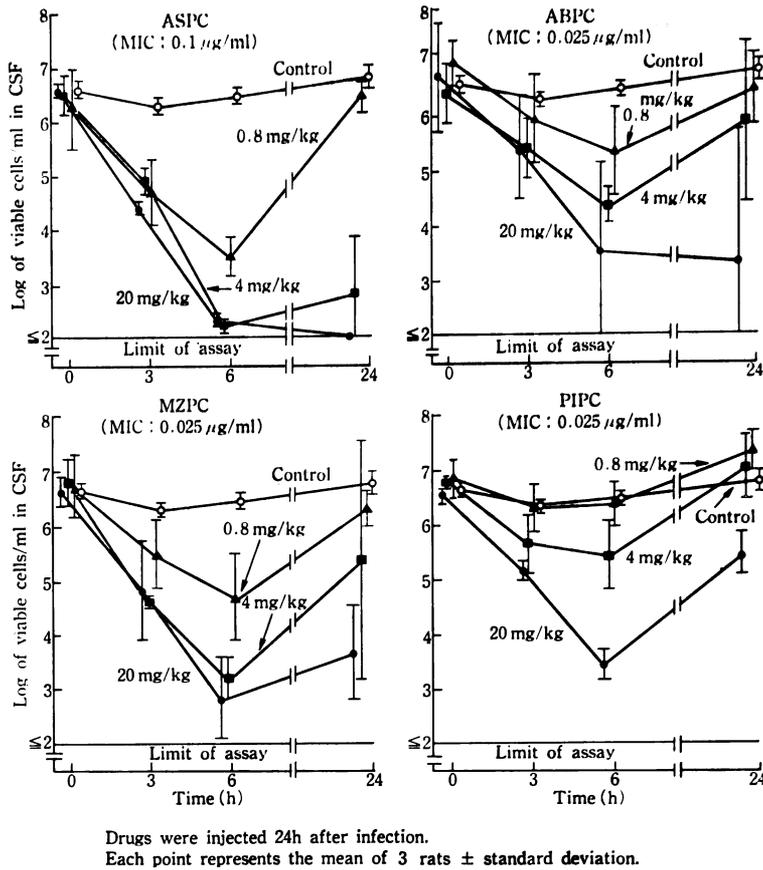


Fig. 2. Bactericidal activity of ASPC, ABPC, MZPC, and PIPC after intravenous bolus injection against *S. pneumoniae* type III in CSF of meningitic rats

高く抗菌力が弱いにもかかわらず良好な治療効果が認められた。ASPC のこのような, *in vivo* 効果については各種のマウス感染実験においても報告されており<sup>7)</sup>, ASPC は血清中濃度が高く組織への移行性に優れていることが理由の一つとして考えられている<sup>8)</sup>。本モデルにおける ASPC の感染髄液中濃度は ABPC, MZPC および PIPC より高く, かつ, より持続し, 血液から髄液中への薬剤移行性を示す AUC 髄液血清比百分率が最も高いことから, ASPC は化膿性髄膜炎において感染髄液への移行性が優れた薬剤と考えられた。さらに, 髄液中細菌に対する ASPC, ABPC, MZPC および PIPC の殺菌作用はいずれの薬剤も投与量に依存した殺菌作用を示し, その中で, ASPC 20 mg/kg 投与群は投与 24 時間後でも全例のラットで再増殖が認められなかった。これらの成績から, 本モデルに対する ASPC の良好な治療効果は感染髄液中への移行性が良好な点と強い髄液中殺菌

作用によるものと考えられた。このように, 本モデルに対して良好な治療効果を示した ASPC は, 臨床での肺炎球菌による化膿性髄膜炎に対する有用性を示唆しているものと考えられる。

PIPC の治療効果が投与量に依存しなかったことは現時点では明らかでないが, 本モデルに用いた *S. pneumoniae* type III は液体培地で 37°C, 24 時間培養すると, 菌数が減少することが確認されている。また, PIPC の髄液中殺菌作用が他の 3 剤と比べ弱く, 20 mg/kg 投与でも 3/3 例に再増殖が認められた (Fig. 2)。これらのことから, PIPC の治療効果が投与量に依存しなかったことは髄液中における殺菌作用の強弱と *S. pneumoniae* type III の自己融解性との間に何らかの関連があるのかもしれない。今後, これらの点については, さらに検討したいと考える。

Table 2. Concentration of ASPC, ABPC, MZPC, and PIPC in the serum and CSF of each group of rats after a 100mg/kg intravenous bolus injection

Antibiotic	Group	Specimen	Mean concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) $\pm$ standard deviation				
			7.5 min	15 min	30 min	60 min	120 min
ASPC	Infected <sup>a)</sup>	Serum	195.3 $\pm$ 1.04	101.5 $\pm$ 20.88	30.7 $\pm$ 5.80	6.7 $\pm$ 1.00	0.7 $\pm$ 0
		CSF	11.3 $\pm$ 4.75	9.7 $\pm$ 4.18	8.3 $\pm$ 2.94	5.2 $\pm$ 1.38	1.9 $\pm$ 0.48
	Uninfected	Serum	211.2 $\pm$ 22.70	123.7 $\pm$ 12.78	52.9 $\pm$ 15.00	9.4 $\pm$ 1.07	1.0 $\pm$ 0.29
		CSF	1.0 $\pm$ 0.29	1.3 $\pm$ 0.21	1.6 $\pm$ 0.48	1.0 $\pm$ 0.08	0.8 $\pm$ 0.34
ABPC	Infected	Serum	135.2 $\pm$ 14.00	61.3 $\pm$ 20.12	20.5 $\pm$ 3.12	4.5 $\pm$ 0.93	0.6 $\pm$ 0.10
		CSF	9.6 $\pm$ 1.27	7.9 $\pm$ 2.72	4.5 $\pm$ 0.61	1.6 $\pm$ 0.67	0.4 $\pm$ 0
	Uninfected	Serum	159.8 $\pm$ 20.61	93.4 $\pm$ 10.20	22.0 $\pm$ 2.73	4.4 $\pm$ 0.80	0.6 $\pm$ 0.05
		CSF	0.9 $\pm$ 0.05	1.1 $\pm$ 0	0.6 $\pm$ 0.23	ND	ND
MZPC	Infected	Serum	124.4 $\pm$ 25.80	38.8 $\pm$ 8.87	13.6 $\pm$ 6.26	2.5 $\pm$ 0.58	ND
		CSF	8.7 $\pm$ 2.96	7.4 $\pm$ 2.80	6.6 $\pm$ 1.97	2.0 $\pm$ 0.50	0.4 $\pm$ 0.06
	Uninfected	Serum	182.4 $\pm$ 28.31	80.1 $\pm$ 20.75	13.2 $\pm$ 4.00	0.5 $\pm$ 0.28	ND
		CSF	0.7 $\pm$ 0.66	0.5 $\pm$ 0.05	ND	ND	ND
PIPC	Infected	Serum	151.3 $\pm$ 5.57	41.7 $\pm$ 10.01	6.2 $\pm$ 1.23	0.8 $\pm$ 0.39	ND
		CSF	8.2 $\pm$ 4.94	5.0 $\pm$ 3.11	2.3 $\pm$ 0.93	0.6 $\pm$ 0.08	ND
	Uninfected	Serum	163.9 $\pm$ 39.87	77.9 $\pm$ 19.52	6.5 $\pm$ 1.30	0.3 $\pm$ 0.06	ND
		CSF	0.5 $\pm$ 0.12	0.6 $\pm$ 0.38	ND	ND	ND

Each value represents the mean of 3 to 7 rats  $\pm$  standard deviation.

ND: not detected.

a) Rats with experimental meningitis due to *S. pneumoniae* type III.

Table 3. Pharmacokinetic parameters of ASPC, ABPC, MZPC, and PIPC after a 100mg/kg intravenous bolus injection in rats with experimental meningitis due to *S. pneumoniae* type III

Antibiotic	$C_{max}$			$AUC_{0-\infty}$			$t_{1/2}$		
	CSF <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/ml}$ )	Serum <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/ml}$ )	CSF/Serum (%)	CSF ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ )	Serum ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ )	CSF/Serum (%)	CSF (min)	Serum (min)	CSF/Serum
ASPC	11.3 $\pm$ 4.74	195.3 $\pm$ 1.04	5.8	12.8	78.8	16.2	44.2	19.1	2.3
ABPC	9.6 $\pm$ 1.27	135.2 $\pm$ 14.00	7.1	5.8	52.1	11.1	24.3	20.2	1.2
MZPC	8.7 $\pm$ 2.96	124.4 $\pm$ 25.80	7.0	6.0	64.2	9.3	25.5	12.3	2.1
PIPC	8.2 $\pm$ 4.94	151.3 $\pm$ 5.57	5.4	3.0	57.3	5.2	14.1	11.7	1.2

a) Each value represents the mean of 3 to 7 rats  $\pm$  standard deviation.

## 文 献

- 春日 修, 谷 佳都, 芝田和夫, 石井信男, 奥野 哲, 佐久間由光, 前澤 功, 岩崎 仁, 山口東 太郎: ラット肺炎球菌性髄膜炎モデルの作製。Chemotherapy 36: 97~102, 1988
- 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 (1968 年制定, 1974 年改訂)。Chemotherapy 30: 76~79, 1984
- 森川嘉郎, 春田恒和, 藤原 徹, 小林 裕: 家兎黄色ブドウ球菌性髄膜炎における抗生剤の髄液中移行に関する実験的研究 I。半合成 Penicillin について。Jap. J. Antibiot. 31: 260~268, 1978
- SAKATA, Y., BOCCAZZI, A. and MCCracken, Jr. G. H.: Pharmacokinetics and bacteriological effect of ceftazidime in experimental *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Escherichia coli* meningitis. Antimicrob. Agents Chemother. 2: 213~217, 1983
- MCCracken, Jr. G. H., NELSON, J. D. and GRIMM, L.: Pharmacokinetics and bacteriological efficacy of cefoperazone, cefuroxime, ceftriaxone, and moxalactam in experimental *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* meningitis. Antimicrob. Agents Chemother. 21: 262~267, 1982
- HARUTA, T., YAMAMOTO, H., OKURA, K., KUROKI, S. and KOBAYASHI, Y.: Penetration of cefuzonam into the cerebrospinal fluid of rabbits. Antimicrob. Agents Chemother. 30: 157~160, 1986
- 谷 佳都, 早坂治男, 石井信男, 春日 修, 山口

- 東太郎, 大島 慧: TA-058 の *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 32 (S-2): 90~98, 1984
- 8) 山口東太郎, 前澤 功, 吉田弘嗣, 谷 佳都, 佐久間由光, 恩田時男, 石井信男, 大島 慧, 仁田

修治, 村田一夫, 溝口雅一: 実験動物における TA-058 の体内動態。Chemotherapy 32: (S-2) 119~132, 1984

**THERAPEUTIC EFFECT AND PENETRATION INTO  
CEREBROSPINAL FLUID OF ASPOXICILLIN IN  
EXPERIMENTAL *STREPTOCOCCUS PNEU-  
MONIAE* MENINGITIS IN RATS**

OSAMU KASUGA, KATO TANI, KAZUO SHIBATA, NOBUO ISHII, SATOSHI  
OKUNO, YOSHIMITSU SAKUMA, ISAO MAEZAWA and TOUTARO YAMAGUCHI  
Biological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd., Toda

The therapeutic effect, bactericidal activity and penetration into cerebrospinal fluid (CSF) of aspoxicillin (ASPC) were compared with those of ampicillin (ABPC), mezlocillin (MZPC) and piperacillin (PIPC) in an experimental meningitis model caused by *Streptococcus pneumoniae* type III in rats.

By a single intravenous injection 24 hours after infection, three of the penicillins exhibited dose-related efficacy, except PIPC. Of these, ASPC was most effective. These penicillins also showed bactericidal activity in CSF in a dose-related manner. A dose of 20 mg/kg, ABPC, MZPC and PIPC showed re-growth of bacteria in CSF 24 hours after administration, but this was not observed after ASPC.

The concentrations of these penicillins in CSF of infected rats were higher than those in uninfected controls. The penetration into CSF was significantly increased by bacterial infection. Of these penicillins, ASPC had the highest penetration into the infected CSF.