

β -Lactam 系抗生剤の sub-MIC に関する研究
(第3報) 高齢者血清中での抗菌作用

四辻 彰・伊東 優子・保田 隆・才川 勇
富山化学工業株式会社総合研究所*

大角 誠治・矢野 三郎
富山医科薬科大学第一内科

上 田 泰
東京慈恵会医科大学

(昭和62年12月24日受付)

Compromised host の対象として高齢者を取り上げ、その血清中での β -lactam 系抗生剤の sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) における抗菌作用を調べた。各血清 60 μ l に薬液 10 μ l を加え、それに菌懸濁液 10 μ l を接種し 37°C 4 時間培養後、生菌数の増減を測定した。高齢者の血清殺菌力は健常者に比べ *Escherichia coli* および *Klebsiella pneumoniae* に対しては弱まっている例が多かった。*Proteus mirabilis* T-277 株に対しては約半数例で高齢者の血清殺菌力は強まっていたが、T-250 株に対しては強まっている例はなかった。また *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Staphylococcus aureus* に対しては健常者と同等の殺菌力であった。この殺菌因子として非働化で弱められる易熱性物質やペントナイト処理で除かれるリゾチームの関与が推定された。次に高齢者血清中での β -lactam 系抗生剤の sub-MIC での殺菌作用をみると、piperacillin, cefoperazone および cefbuperazone は nutrient broth (NB) 中でも高齢者血清中でも殺菌的または静菌的に作用した。一方 carbenicillin, cefazolin および cefmetazole は NB 中では菌の増殖を阻止したが高齢者血清中ではほとんど抗菌作用を示さなかった。

Key words : sub-MIC, 血清の殺菌力, β -lactam 系抗生剤

我々は、先に β -lactam 系抗生剤の sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) における抗菌作用を各種動物血清、健常者血清および糖尿病患者血清中で調べ、piperacillin, cefoperazone および cefbuperazone が各種血清中において静菌的または殺菌的に作用すること、carbenicillin, cefazolin および cefmetazole が各種血清中において sub-MIC でほとんど抗菌作用を示さないことを報告した^{1,2)}。

今回、compromised host の対象として先に報告した糖尿病患者に引き続き高齢者を取り上げ、その血清中での β -lactam 系抗生剤の sub-MIC における抗菌作用について検討を加えたので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

Piperacillin (PIPC: 富山化学工業), carbenicillin (CBPC: 塩野義製薬), cefoperazone (CPZ: 富山化学

工業), cefazolin (CEZ: 藤沢薬品工業), cefbuperazone (CBPZ: 富山化学工業), および cefmetazole (CMZ: 三共) を用いた。

2. 使用菌株

富山化学工業(株)総合研究所保有の臨床分離株で健常者血清中でも死滅しない *Escherichia coli* TK-16-1, TK-355, *Proteus mirabilis* T-250, T-277, *Proteus vulgaris* T-330, *Pseudomonas aeruginosa* S-51, *Klebsiella pneumoniae* Y-41, *Staphylococcus aureus* FDA 209 P を用いた。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

薬剤の被験菌に対する MIC は液体希釈法によって測定した。すなわち培地としては nutrient broth (NB) を用い、各種薬剤濃度は 200 μ g/ml を基点とし、倍々希釈で添加し、これに最終菌濃度が 10^6 cells/ml になるように菌を接種して 37°C, 18 時間培養後、肉眼判定によ

* 富山市下奥井 2-4-1

り菌による混濁が認められない濃度を MIC とした。

4. 使用血清

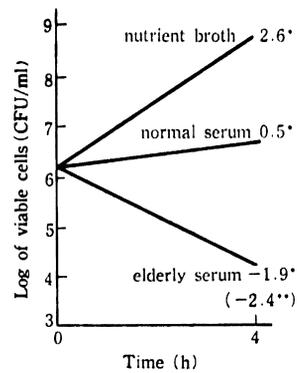
高齢者 (74 歳~96 歳) または健康成人男子 (28 歳~37 歳) より採血し, 室温 1 時間放置後 3,000 rpm 10 min 遠心分離して新鮮血清を得, 使用時まで -70°C にて保存した。血清の一部は 56°C 30 min 加熱し, 非働化血清として用いた。また血清の一部はペントナイト処理血清として用いた。すなわち血清 1 ml に 10% ペントナイト懸濁液 (1% KCl 水溶液) 150 μl を加え, 室温で 3 min 強く攪拌後, 3,000 rpm 10 min 遠心分離してペントナイト処理血清を得た。

5. 血清の殺菌力および薬剤の血清中での殺菌作用

被験菌は NB 中で 37°C 一夜静置培養し, この培養液を滅菌生理食塩液で希釈して菌懸濁液とした。各血清または NB 60 μl に最終薬剤濃度が 1/4 MIC になるように薬液 10 μl を加え, それに最終菌濃度が 10^6 cells/ml となるように菌懸濁液 10 μl を接種し, 37°C で静置培養した。生菌数は 4 時間後に滅菌生理食塩液 720 μl を加

えて 10 倍希釈後, 平板塗抹法で測定した。

殺菌作用の強さを比較する手段として 4 時間後の生菌



*log CFU (4 h) - log CFU (0 h)

**log CFU (elderly serum) - log CFU (normal serum)

Fig. 1. Bactericidal activity of serum against *P. mirabilis* T-277

Table 1-1. Laboratory data of the elderly

| Case | Sex | Age | RBC ($10^6/\text{mm}^3$) | Hb (g/dl) | Ht (%) | WBC ($/\text{mm}^3$) | TP/Alb (g/dl) | GOT (KU) | GPT (KU) | Al-P (KAU) | BUN (mg/dl) | Cr (mg/dl) | ADL* |
|------|-----|-----|-------------------------------|--------------|-----------|---------------------------|------------------|-------------|-------------|---------------|----------------|---------------|------|
| 1 | M | 78 | 372 | 12.8 | 39.0 | 9,300 | 6.1/4.2 | 12 | 7 | 5.0 | 13.6 | 1.1 | 3 |
| 2 | M | 96 | 364 | 11.9 | 35.0 | 6,500 | 6.4/3.7 | 15 | 8 | 7.3 | 11.8 | 1.0 | 2 |
| 3 | F | 87 | 416 | 14.3 | 41.0 | 4,000 | 6.3/3.9 | 16 | 2 | 4.0 | 19.3 | 0.9 | 3 |
| 4 | M | 85 | 314 | 10.8 | 31.0 | 4,900 | 5.9/3.9 | 15 | 5 | 3.6 | 26.6 | 1.2 | 3 |
| 5 | M | 78 | 410 | 13.6 | 40.0 | 5,900 | 6.9/4.2 | 27 | 40 | 6.3 | 14.9 | 1.0 | 3 |
| 6 | F | 74 | 336 | 12.4 | 35.0 | 5,600 | 5.9/4.1 | 11 | 3 | 5.0 | 13.9 | 0.9 | 1 |
| 7 | F | 89 | 362 | 12.3 | 36.0 | 8,500 | 7.2/3.9 | 20 | 9 | 6.0 | 14.1 | 1.8 | 1 |
| 8 | F | 84 | 341 | 10.2 | 31.3 | 4,500 | 6.7/3.7 | 25 | 12 | 5.4 | 21.0 | 1.4 | 3 |
| 9 | M | 76 | 406 | 12.9 | 38.1 | 5,200 | 6.9/3.7 | 25 | 9 | 7.5 | 15.9 | 1.1 | 3 |
| 10 | M | 82 | 390 | 13.0 | 37.9 | 4,600 | 7.0/3.9 | 42 | 27 | 8.9 | 19.3 | 1.0 | 3 |
| 11 | F | 79 | 345 | 9.7 | 30.4 | 3,100 | 7.0/3.4 | 26 | 12 | 6.0 | 25.1 | 0.9 | 3 |
| 12 | F | 78 | 385 | 11.6 | 35.3 | 5,800 | 6.4/3.8 | 25 | 16 | 6.2 | 16.5 | 1.2 | 3 |
| 13 | F | 79 | 373 | 11.2 | 33.9 | 6,200 | 5.9/3.9 | 18 | 11 | 5.9 | 22.8 | 1.2 | 2 |
| 14 | M | 82 | 375 | 10.7 | 33.6 | 4,900 | 6.9/4.0 | 20 | 11 | 6.5 | 14.3 | 1.2 | 3 |
| 15 | F | 93 | 448 | 14.1 | 41.9 | 5,300 | 7.1/3.5 | 16 | 8 | 6.0 | 21.5 | 0.9 | 2 |
| 16 | F | 82 | 387 | 12.5 | 38.0 | 4,500 | 6.3/4.5 | 21 | 11 | 5.7 | 19.5 | 0.7 | 3 |
| 17 | F | 81 | 362 | 12.2 | 35.0 | 4,300 | 7.1/4.8 | 20 | 9 | 8.8 | 19.3 | 0.8 | 3 |
| 18 | F | 85 | 398 | 13.5 | 40.0 | 4,100 | 7.0/4.5 | 20 | 6 | 6.0 | 20.4 | 0.7 | 3 |
| 19 | M | 84 | 377 | 12.2 | 35.0 | 6,300 | 6.7/4.6 | 14 | 8 | 3.2 | 17.7 | 1.2 | 3 |
| 20 | M | 81 | 374 | 9.2 | 31.0 | 6,100 | 7.3/4.9 | 17 | 8 | 7.2 | 13.0 | 0.8 | 3 |
| 21 | M | 83 | 366 | 10.6 | 33.0 | 5,700 | 7.0/4.4 | 14 | 6 | 5.1 | 29.4 | 1.7 | 3 |
| 22 | F | 82 | 363 | 11.6 | 34.0 | 5,100 | 7.0/4.6 | 20 | 10 | 4.9 | 20.0 | 0.7 | 3 |
| 23 | F | 83 | 469 | 15.7 | 47.0 | 5,600 | 7.0/4.8 | 30 | 16 | 5.3 | 17.4 | 0.8 | 3 |
| 24 | M | 81 | 474 | 16.0 | 47.0 | 5,900 | 7.4/4.7 | 25 | 13 | 3.9 | 16.2 | 0.9 | 3 |
| 25 | M | 82 | 380 | 12.8 | 37.0 | 9,900 | 7.7/5.2 | 17 | 6 | 5.4 | 26.0 | 2.3 | 3 |

* ADL: activities of daily living 1: confined to bed

2: ambulatory in hospital ward

3: freely ambulatory

数の対数値を指標とした。すなわち Fig.1 に示したように0時間より生菌数が増加した場合を+, 減少した場合を-で表示した。例えば Fig.1 において NB では +2.6, normal serum では +0.5, elderly serum では -1.9 となる。なお Table 2 には高齢者血清の殺菌力と健常者血清の殺菌力の差を示した。例えば Fig.1 の場合は [elderly serum (-1.9)] - [normal serum (0.5)] = -2.4 となる。

6. 免疫学的検査

免疫グロブリン IgG, IgM および IgA の測定は TIA テスト-G 「ニッスイ」(参考値 917~1,986 mg/dl), TIA テスト-M 「ニッスイ」(参考値 38~261 mg/dl) および TIA テスト-A 「ニッスイ」(参考値 48~409 mg/dl) (日本製薬) を用いる免疫比濁法で行なった。また補体価 (CH 50) の測定は CH 50 生研 (デンカ生研) (参考値 30~45) を用いる溶血法で行なった。

7. リゾチームの定量

血清中のリゾチームの定量はSMOLELIS & HARTSELLの方法³⁾に準じて行なった。*Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698 の乾燥菌体 (シグマ社) を Sørensen のリン酸緩衝液 (pH 6.2) に浮遊し, 分光光度計 (波長 540

nm) で透過度が 10% を示すように調整する。酵素液として結晶リゾチーム (シグマ社) の各種濃度の溶液を調整し, 菌浮遊液に加えて 37°C に放置し, 経時的な透過度の変化と酵素量で標準曲線を作製した。同様の方法で血清を処理し, 標準曲線より血清中のリゾチーム量を算出した。

8. 電子顕微鏡観察

高齢者血清, 健常者血清または NB 中に菌を接種後 37°C 2 時間静置培養した菌体を電子顕微鏡試料とした。すなわち培養液に 1% OsO₄ を培養液に対して 10% になるように添加して前固定し, 数回洗浄後 1% OsO₄ 一夜室温で本固定してエタノール系列にて脱水した。脱水後エポン包埋し, ウルトラミクロトームにて超薄切片を作製した。酢酸ウラニルと硝酸鉛の二重染色後, 透過型電子顕微鏡にて菌体構造を観察した。電子顕微鏡は日本電子 JEM-100 S 型を用いた。

II. 実験結果

1. 高齢者血清の殺菌力

今回検討を加えた高齢者の一覧を Table 1 に示した。3施設 25 人の年齢分布は 74 歳~96 歳, 平均 83 歳で, 男女比はほぼ半々であった。臨床検査値では血液検

Table 1-2. Laboratory data of the elderly

| Case | IgG(mg/dl) | IgM(mg/dl) | IgA(mg/dl) | CH 50 | C3(mg/dl) | C4(mg/dl) | Lysozyme(μ g/ml) |
|------|------------|------------|------------|-------|-----------|-----------|-----------------------|
| 1 | 1,760 | 124 | 235 | 36.5 | 125 | 49 | 4.1 |
| 2 | 1,320 | 174 | 392 | 31.0 | 63 | 23 | 5.0 |
| 3 | 1,300 | 167 | 215 | 35.6 | 76 | 37 | 5.2 |
| 4 | 1,220 | 118 | 268 | 39.3 | 40 | 38 | 4.4 |
| 5 | 1,300 | 134 | 185 | 32.5 | 47 | 49 | 6.2 |
| 6 | 960 | 141 | 175 | 41.8 | 102 | 21 | 3.0 |
| 7 | 1,150 | 184 | 195 | 37.5 | 77 | 54 | 4.6 |
| 8 | 1,390 | 119 | 285 | 37.7 | 80 | 41 | 4.2 |
| 9 | 1,800 | 112 | 221 | 36.4 | 76 | 57 | 2.7 |
| 10 | 1,470 | 20 | 215 | 39.5 | 76 | 65 | 3.5 |
| 11 | 1,450 | 73 | 200 | 32.1 | 86 | 21 | 3.5 |
| 12 | 900 | 75 | 159 | 40.5 | 68 | 25 | 4.5 |
| 13 | 1,320 | 50 | 90 | 36.4 | 98 | 53 | 4.5 |
| 14 | 1,830 | 119 | 350 | 40.0 | 100 | 40 | 5.3 |
| 15 | 1,070 | 150 | 275 | 39.5 | 74 | 30 | 5.4 |
| 16 | 1,130 | 116 | 225 | 36.4 | 83 | 37 | 3.9 |
| 17 | 1,290 | 100 | 125 | 36.4 | 69 | 30 | 3.8 |
| 18 | 1,830 | 108 | 185 | 37.7 | 83 | 32 | 3.2 |
| 19 | 780 | 145 | 115 | 41.4 | 89 | 45 | 3.8 |
| 20 | 1,220 | 49 | 195 | 33.8 | 55 | 34 | 4.4 |
| 21 | 1,310 | 126 | 90 | 39.5 | 69 | 23 | 7.5 |
| 22 | 1,400 | 69 | 90 | 36.0 | 62 | 23 | 3.9 |
| 23 | 1,490 | 172 | 175 | 36.8 | 117 | 46 | 4.0 |
| 24 | 1,920 | 100 | 195 | 34.1 | 96 | 26 | 4.2 |
| 25 | 1,130 | 109 | 215 | 39.5 | 91 | 30 | 21.4 |

Table 2. Bactericidal activity in elderly serum¹⁾

| Case | <i>E. coli</i> TK-16-1 | <i>E. coli</i> TK-355 | <i>P. mirabilis</i> T-277 | <i>P. mirabilis</i> T-250 | <i>P. vulgaris</i> T-330 | <i>P. aeruginosa</i> S-51 | <i>K. pneumoniae</i> Y-41 | <i>S. aureus</i> FDA 209 P |
|------|---------------------------|--------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 1 | 0.1 | 0.5 | -2.6 | -0.1 | -0.3 | -0.7 | 0.3 | -0.1 |
| 2 | 0.9 | 0.2 | -0.6 | 0.2 | -0.1 | 0.4 | 0.4 | -0.1 |
| 3 | 0.3 | -0.1 | 0 | 0.2 | 0.6 | -1.0 | -0.2 | 0.2 |
| 4 | 0.3 | -0.2 | 0 | 0.4 | 0.3 | 0.2 | -0.5 | -0.1 |
| 5 | 1.1 | 0.6 | -1.1 | -0.2 | 0.3 | 0.3 | 1.0 | -0.2 |
| 6 | 0.3 | 0.4 | 0 | 0.2 | -0.5 | 0.2 | 0.4 | 0.2 |
| 7 | 0.7 | 1.5 | -0.2 | 0.1 | 0 | -0.1 | 1.4 | -0.2 |
| 8 | -0.6 | 0 | 0.5 | -0.2 | -0.6 | -0.1 | -0.1 | -0.3 |
| 9 | -0.2 | -0.1 | -2.0 | 0.9 | 0 | 0.8 | 0.3 | 0 |
| 10 | 1.9 | 0.1 | -2.6 | 0.4 | -0.1 | 0.2 | 0.9 | -0.1 |
| 11 | 2.0 | -0.1 | -3.4 | 0.4 | 0.8 | 0.1 | -0.2 | -0.2 |
| 12 | -0.1 | -0.3 | -1.9 | 0.3 | 0.6 | -0.2 | 0 | 0.1 |
| 13 | 0.1 | 0 | 0.1 | 1.0 | 0.8 | -0.1 | 0.6 | 0.4 |
| 14 | 0.6 | 0.2 | -0.6 | 1.1 | 0.2 | -0.4 | -0.1 | 0 |
| 15 | 0.2 | -0.1 | -2.1 | 0.2 | 0.4 | -0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 16 | -0.2 | 0 | -0.1 | -0.1 | 0.3 | 0 | 0.8 | 0.2 |
| 17 | 0.1 | -0.1 | -0.5 | 0 | -0.4 | -0.1 | 1.9 | 0.3 |
| 18 | 0.2 | -0.1 | -0.2 | 0.1 | 0.2 | -0.2 | 1.6 | -0.3 |
| 19 | -0.1 | -0.3 | -0.3 | -0.2 | -0.4 | -0.4 | 1.1 | -0.1 |
| 20 | 0 | 0.1 | -0.3 | -0.1 | 0 | 0 | -0.7 | 0.1 |
| 21 | 0 | -0.3 | -0.3 | -0.5 | 0.2 | 0 | 1.7 | 0.1 |
| 22 | 0.1 | 0.1 | -0.1 | -0.1 | -0.1 | -0.2 | 0 | 0 |
| 23 | 0.5 | -0.1 | -0.1 | 0 | 0.2 | 0 | 0.2 | 0.1 |
| 24 | 0.1 | -0.2 | -1.1 | 0 | 0.2 | 0 | 1.5 | 0.1 |
| 25 | -0.3 | -0.2 | -0.6 | -0.6 | -0.6 | -0.6 | 0 | -0.2 |

a) log CFU (elderly) - log CFU (normal)

査値、肝機能検査値、腎機能検査値および免疫学的検査値に軽度異常値が散見された。主な疾患としては高血圧症5例、腎機能障害3例、脳卒中後遺症3例、脳動脈硬化症2例および老人性痴呆2例で活動性の感染症については除外した。Activities of daily living(ADL)を見ると、寝たきり2人、ベッド周辺歩行可能3人以外の20人は自由歩行可能で比較的元気な高齢者で占められていた。

次に高齢者血清の殺菌力を健常者と比較し Table 2 に示した。

高齢者の血清殺菌力は健常者に比べ *E. coli*、*K. pneumoniae* に対しては弱まっている例が多かった。*P. mirabilis* T-277 株に対しては約半数例で高齢者の血清殺菌力は強まっていたが、T-250 株に対しては強まっている例はなかった。なおデータは示さなかったが、T-277 株や T-250 株以外の *P. mirabilis* 6 株中 4 株で T-277 株のように、高齢者の血清殺菌力は強まっていた。*P. vulgaris*、*P. aeruginosa* および *S. aureus* に対しては健常者と同等の殺菌力であった。

ところで、今回 *E. coli* に対する殺菌力が弱まってい

て、*P. mirabilis* に対する殺菌力は強まっている3人についてその経過を追ってみた (Table 3)。3人の高齢者の血清殺菌力は昭和61年5月14日から昭和62年7月29日まで多少の強弱はあるものの *E. coli* に対しては弱まり、*P. mirabilis* に対しては強まっており、殺菌力は一過性ではなく持続的であることがわかった。臨床検査値を見ると多少の変動はあり軽度異常値は散見されるものの、血清殺菌力との関連をうかがわせるデータは見出せなかった。

2. 高齢者血清の殺菌増強因子

高齢者血清を非働化またはベントナイト処理した場合の各種菌株に対する殺菌力を調べ Fig. 2 に示した。

S. aureus FDA 209 P 株を除く菌株で高齢者血清の殺菌力は非働化またはベントナイト処理で弱められ、その程度は *E. coli* TK-16-1 株や *P. mirabilis* T-277 株で顕著であった。非働化によって弱められる因子として補体を考え、高齢者25人の血清の *E. coli* TK-16-1 株または *P. mirabilis* T-277 株に対する殺菌力と補体量の相関を調べ Fig. 3 に示した。補体量と血清殺菌力の間に相関

Table 3. Bactericidal activity and laboratory data of elderly serum

| Case no. | Date | Susceptibility ^{a)} | | RBC (10 ⁴ /mm ³) | Hb (g/dl) | Ht (%) | WBC (/mm ³) | TP/Alb (g/dl) | IgG (mg/dl) | IgA (mg/dl) | IgM (mg/dl) | CH50 | C3 (mg/dl) | C4 (mg/dl) |
|----------|----------|------------------------------|------------------------------|--|--------------|-----------|----------------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|------|---------------|---------------|
| | | <i>E. coli</i> TK-16-1 | <i>P. mirabilis</i> T-277 | | | | | | | | | | | |
| 9 | 14.5.86 | -0.2 | -2.0 | 406 | 12.9 | 38.1 | 5,200 | 6.9/3.7 | 1,800 | 221 | 112 | 36.4 | 76 | 57 |
| | 19.11.86 | -0.1 | -3.4 | 411 | 13.8 | 40.5 | 5,200 | 7.6/4.1 | 1,260 | 136 | 100 | 29.5 | 46 | 33 |
| | 29.7.87 | -0.4 | 0.3 | 425 | 13.7 | 41.7 | 7,300 | 7.3/4.0 | 1,850 | 232 | 127 | 42.6 | 92 | 50 |
| 10 | 14.5.86 | 1.9 | -2.6 | 390 | 13.0 | 37.9 | 4,600 | 7.0/3.9 | 1,470 | 215 | 20 | 39.5 | 76 | 65 |
| | 19.11.86 | 1.6 | -0.3 | 399 | 13.0 | 38.9 | 4,400 | 6.8/3.7 | 1,360 | 208 | 71 | 35.6 | 58 | 42 |
| | 29.7.87 | 1.8 | -0.3 | 378 | 12.0 | 36.4 | 4,100 | 6.6/3.8 | 1,430 | 220 | 48 | 43.2 | 74 | 37 |
| 11 | 14.5.86 | 2.0 | -3.4 | 345 | 9.7 | 30.4 | 3,100 | 7.0/3.4 | 1,450 | 200 | 73 | 32.1 | 86 | 21 |
| | 19.11.86 | 1.4 | -3.6 | 404 | 10.9 | 33.2 | 5,700 | | 1,630 | 160 | 140 | 31.5 | 58 | 31 |
| | 29.7.87 | 1.6 | -0.9 | 367 | 9.0 | 28.3 | 3,700 | | 1,430 | 237 | 97 | 44.4 | 100 | 43 |

a) log CFU (elderly) - log CFU (normal)

関係は認められなかった。

次にペントナイト処理によって除かれる因子としてリゾチームを考え、高齢者血清の殺菌力とリゾチーム量の相関を調べ Fig. 4 に示した。リゾチーム量と血清殺菌力の間にも相関関係は認められなかった。

電子顕微鏡を用いて細菌の形態学的観察を行なった。高齢者血清中では *P. mirabilis* T-277 株の菌体のまわりに血清成分の付着した像に加え、細胞質が溶出し細胞壁のみとなった像が観察された (Fig. 5)。しかし、これらの像は健康者血清中においても観察され、高齢者血清中で特異的な細胞膜などの変化は認められなかった。なお NB 中ではこのような付着物の存在は認められなかった。

3. 高齢者血清中における β -lactam 系抗生剤の sub-MIC での殺菌作用

a) *P. mirabilis* T-277 株の場合

高齢者血清中における β -lactam 系抗生剤の殺菌作用を健康者血清中および NB 中と比較し Table 4 に示した。

NB 中での control が 2.6 に増殖したのに対し、PIPC-0.4, CBPC 0.6, CPZ 0.6 および CBPZ-1.4 といずれも control に比べ菌の増殖を阻止した。しかし CEZ および CMZ の増殖阻止作用は弱かった。次に健康者血清中の control は 0.6 に増殖したのに対し、PIPC-0.5 および CPZ-0.7 と菌の増殖を阻止した。また CBPZ は -0.1 とやや増殖を阻止したのに対し、CBPC, CEZ および CMZ はほとんど抗菌作用を示さなかった。一方、高齢者血清中の control は 0.6 に増殖したのに対し、PIPC -1.8 および CPZ -1.5 と菌の増殖を阻止し、CBPZ も -1.3 とやや増殖を阻止したのに対し、CBPC, CEZ および CMZ の抗菌作用は弱かった。

b) *E. coli* TK-16-1 株の場合

被験菌として *E. coli* TK-16-1 株を用いた場合を Table 5 に示した。

NB 中で control は 2.7 に増殖したのに対し、PIPC -1.5, CBPC 1.5, CPZ -1.4 および CBPZ -0.4 と菌の増殖を阻止したが、CEZ および CMZ の増殖阻止作用は弱かった。次に健康者血清中および高齢者血清中の control は -1.1 および -0.4 とやや増殖を阻止されたのに加え、PIPC -1.5 および -0.9, CPZ -1.6 および -0.8 とやや生菌数を減少させた。しかし CBPC, CEZ, CBPZ および CMZ の増殖阻止作用は弱かった。

c) *E. coli* TK-355 株の場合

被験菌として *E. coli* TK-355 株を用いた場合を Table 6 に示した。

NB 中の control は 2.3 に増殖したのに対し、

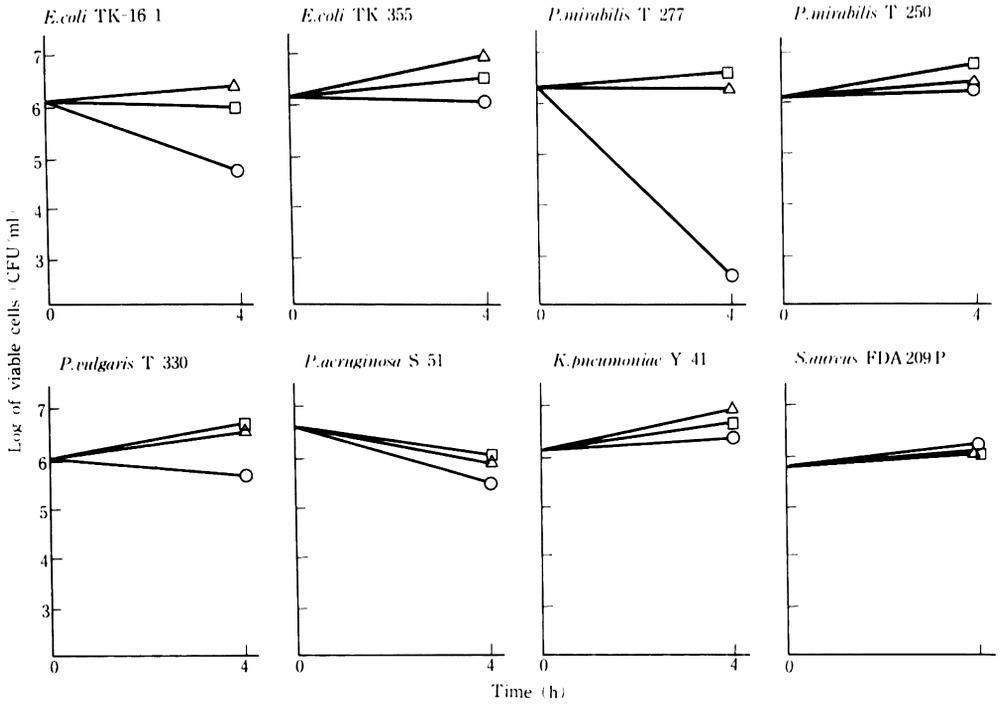


Fig. 2. Bactericidal activity of elderly fresh serum, heated serum and bentonite-treated serum (○ fresh, △ heated, □ bentonite)

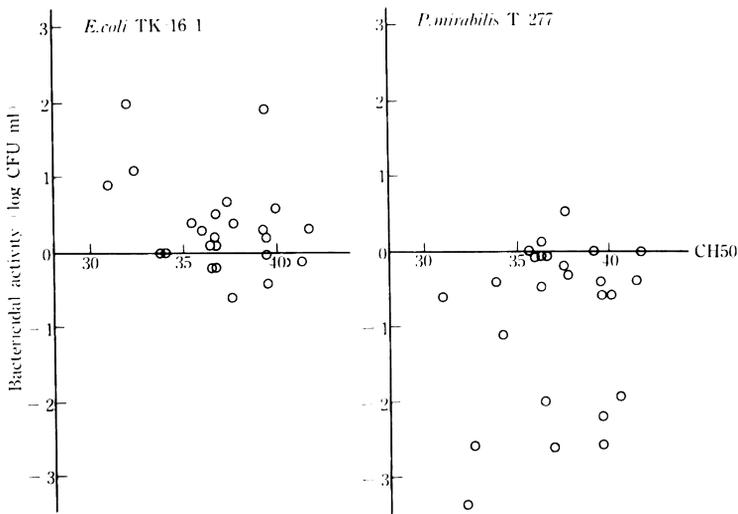


Fig. 3. Bactericidal activity and CH50 values of elderly serum

PIPC -1.5 , CPZ -1.4 および CBPZ -1.2 と菌の増殖を阻止したが, CBPC, CEZ および CMZ の増殖阻止作用は弱かった。次に健常者血清中の control は -0.4 とやや増殖を阻止されたのに加え, PIPC -1.1 と生菌数を減少させた。しかし CBPC, CPZ, CEZ, CBPZ およ

び CMZ はほとんど影響がみられなかった。また高齢者血清中の control は -0.3 とやや増殖を阻止されたのに加え, PIPC -1.0 , CPZ -0.5 および CBPZ -0.5 と生菌数を減少させた。しかし CBPC, CEZ および CMZ はほとんど影響がみられなかった。

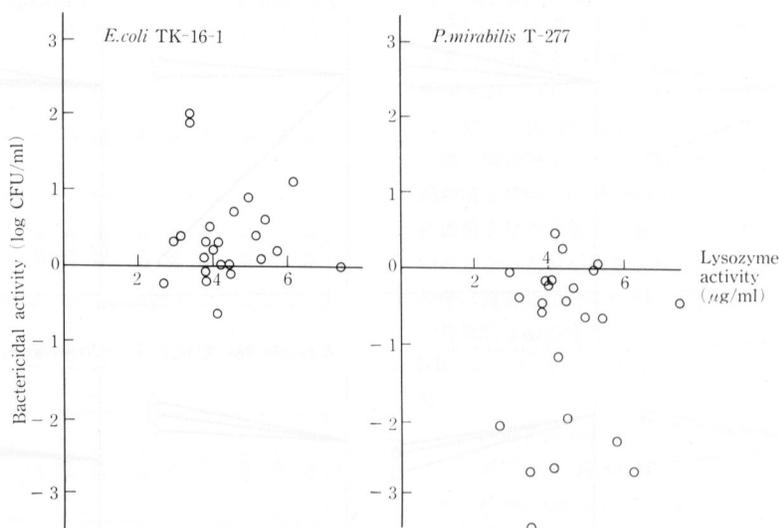
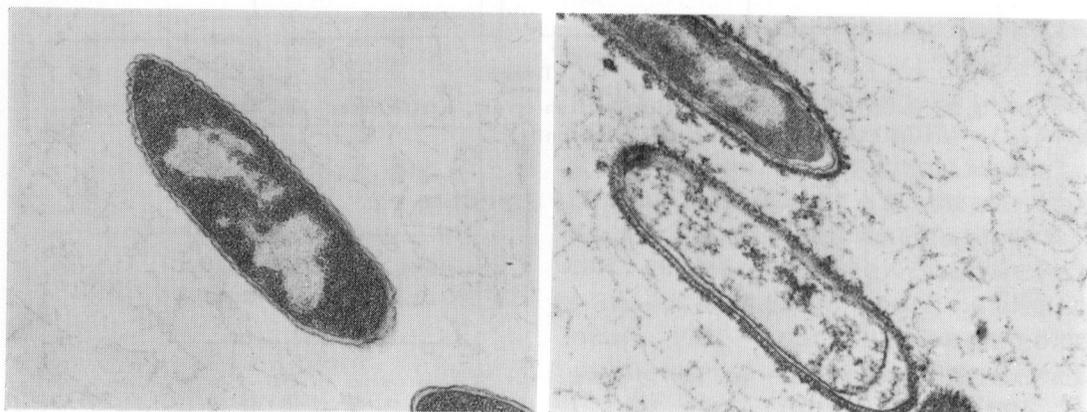


Fig. 4. Bactericidal and lysozyme activities of elderly serum



In nutrient broth

In elderly serum

Fig. 5. Electron micrographs of bacterial cells

Table 4. Mean values of bactericidal activity at 1/4 MIC of antibiotics^{a)}
(strain, *P. mirabilis* T-277)

| Antibiotic | Nutrient broth (n=5) | Normal serum (n=5) | Elderly serum (n=12) |
|------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| Control | 2.6 | 0.6 | 0.6 |
| PIPC | -0.4* | -0.5* | -1.8* |
| CBPC | 0.6* | 0.5 | -0.6 |
| CPZ | 0.6* | -0.7* | -1.5* |
| CEZ | 2.3 | 0.4 | -0.6 |
| CBPZ | -1.4* | -0.1 | -1.3 |
| CMZ | 2.1 | 0.5 | -0.7 |

a) $\log \text{CFU (4h)} - \log \text{CFU (0h)}$

* $p < 0.05$ vs. control by t-test

Table 5. Mean values of bactericidal activity at 1/4 MIC of antibiotics^{a)}
(strain, *E. coli* TK-16-1)

| Antibiotic | Nutrient broth (n=5) | Normal serum (n=5) | Elderly serum (n=12) |
|------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| Control | 2.7 | -1.1 | -0.4 |
| PIPC | -1.5* | -1.5 | -0.9 |
| CBPC | 1.5* | -1.2 | -0.5 |
| CPZ | -1.4* | -1.6 | -0.8 |
| CEZ | 2.0* | -1.3 | -0.7 |
| CBPZ | -0.4* | -1.3 | -0.6 |
| CMZ | 2.5 | -1.1 | -0.6 |

a) log CFU (4h)-log CFU (0h)

* p<0.05 vs. control by t-test

Table 6. Mean values of bactericidal activity at 1/4 MIC of antibiotics^{a)}
(strain, *E. coli* TK-355)

| Antibiotic | Nutrient broth (n=5) | Normal serum (n=5) | Elderly serum (n=9) |
|------------|----------------------|--------------------|---------------------|
| Control | 2.3 | -0.4 | -0.3 |
| PIPC | -1.5* | -1.1* | -1.0* |
| CBPC | 1.8 | -0.4 | -0.4 |
| CPZ | -1.4* | -0.5 | -0.5* |
| CEZ | 1.4 | -0.4 | -0.3 |
| CBPZ | -1.2* | -0.5 | -0.5* |
| CMZ | 1.8 | -0.5 | -0.4 |

a) log CFU (4h)-log CFU (0h)

* p<0.05 vs. control by t-test

III. 考 察

近年、後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) の出現によって compromised host における易感染性が注目を集めてきている。いわゆる compromised host の背景因子としては、AIDS, 癌, 白血病, 重症糖尿病, 重症肝疾患などの疾患, 副腎皮質ステロイド剤, 免疫抑制剤などの使用, また新生児, 高齢者などがあげられている^{4,5,6)}。上田ら⁷⁾はわが国感染症患者の高齢化推移の状況について約 3 万症例について 16 年間にわたる実態を調査した。そして、(i) 内科系, 泌尿器科系感染症患者の年齢は、1969~1971 年に比べて 1982~1984 年では確実に高年齢へ移行している。(ii) 内科系全感染症患者に対する呼吸器感染症患者の占める比率が 1969~1971 年の 1/4~1/3 から 1982~1984 年の 2/3 に著増している。(iii) 高齢患者ほど化学療法剤の反応に不良傾向が認められ、高齢者呼吸器感染症がいわゆる難治感染症のカテゴリーに入ること示唆したことを報告している。また第 34 回日本化学療法学会総会 (昭和 61 年 6 月, 倉敷) において「老人の感染症とその対策」がシンポジウムとして組織されこの問題に対する感心の高さがうかがえる。

ところで高齢者の感染症は諸臓器機能の低下や基礎疾患などのため慢性複雑性の病型をとることが多い。臓器機能の低下としては呼吸器系では気管支拡張や肺気腫, 喀痰の喀出障害などであり, 尿路系では前立腺肥大や神経因性膀胱による尿流障害などである。基礎疾患としては癌, 白血病, 糖尿病などである。特に脳血管障害や大腿骨頭部骨折に伴う ADL の低下による寝たきり高齢者では、全身状態の悪化による統覚免疫不全の進行とともにさらに難治化・重症化するといわれている⁸⁻¹²⁾。そこで、今回は compromised host の対象として先に報告した糖尿病患者に引き続き高齢者を取りあげた。

高齢者の血清殺菌力は健常者に比べ *E. coli*, *K. pneumoniae* に対しては弱まっている例が多かった。*P. mirabilis* T-277 株に対しては約半数例で高齢者の血清殺菌力は強まっていたが、T-250 株に対しては強まっている例はなかった。また *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* および *S. aureus* に対しては健常者と同等の殺菌力であった。これを先に報告した糖尿病患者の血清殺菌力と比較すると、相違点としては高齢者の方が *E. coli* に対する殺菌力減弱例が多いこと、*P. mirabilis* に対する殺菌力増強例が少ないことがあげられる。一方類似点としては

P. vulgaris, *P. aeruginosa* および *S. aureus* に対する殺菌力が健常者と変わらないことがあげられる。高齢者および糖尿病患者の血清殺菌力が *P. mirabilis* に対しては増強されていたことは易感染性であるという点から考えると興味ある事象である。この殺菌因子として非働化で弱められる易熱性物質やベントナイト処理で除かれるリゾチームの関与が推定されたが、殺菌力の強弱と補体量やリゾチーム量に相関関係は認められなかった。

次に高齢者血清中での β -lactam 系抗生剤の sub-MIC での抗菌作用をみると、PIPC, CPZ および CBPZ は NB 中でも高齢者血清中でも殺菌的ないしは静菌的に作用した。しかし CBPC, CEZ および CMZ は NB 中では菌の増殖を阻止したが、高齢者血清中ではほとんど抗菌作用を示さなかった。PIPC, CPZ および CBPZ は化学構造上共通の moiety として 2-3-dioxopiperazine 基を保有しており、対照薬剤に比べて血清中で殺菌力が優れた成績が得られたことは興味深い。この原因を明確にするデータはないが、横田らは *E. coli* に対するヒト血清およびモルモット補体と抗生剤の協力作用を調べ、CEZ や CMZ ではその協力作用はほとんど認められなかったが、CBPZ では強く認められたことを報告している¹³⁾。ヒト血清中の補体やリゾチームと抗生剤の協力作用に薬剤間で差のあることが推定されるが今後検討する必要がある。

加齢に伴う感染防御因子の変動のうち、排尿、痰の咯出、上皮の脱落と再生など物理化学的防壁は一般に徐々に機能が低下する。また補体などの非特異的液性因子や好中球機能、マクロファージ機能などの非特異的細胞性因子は一般的に低下は認められずむしろ亢進する。さらに免疫グロブリン IgG, IgA などの体液性免疫はやや亢進し、遅延型皮膚反応、インターフェロン産生などの細胞性免疫は低下するといわれている^{14,15,16)}。我々のデータでは非特異的液性因子や体液性因子に大きな変動は認められなかった。非特異的細胞性因子や細胞性免疫についてのデータはないが、高齢者の血清殺菌力が増強していることは細胞性免疫の低下を補うための生体防禦反応とも考えられ、その殺菌増強因子の解明とともに高齢者の易感染性を考えるうえで今後ぜひ検討すべき課題であると思われる。

稿を終わるにあたり電子顕微鏡観察に御助力下さった大懸直子さんに謝意を表します。

なお、本論文の要旨は第 35 回日本化学療法学会総会

にて発表した。

文 献

- 1) 四辻 彰, 田井 賢, 征倉かの子, 柿沢裕美, 岡本直子, 保田 隆, 才川 勇, 上田 泰: β -Lactam 系抗生剤の sub-MIC に関する研究, (第 1 報) ヒトおよび各種動物血清中での殺菌作用. *Chemotherapy* 31: 1047~1054, 1983
- 2) 四辻 彰, 柿沢裕美, 伊東優子, 保田 隆, 才川 勇, 大角誠治, 矢野三郎, 上田 泰: β -Lactam 系抗生剤の sub-MIC に関する研究, (第 2 報) 糖尿病患者血清中での抗菌作用. *Chemotherapy* 35: 83~90, 1987
- 3) SMOLELIS, A. N. and HARTSELL, S. E.: The determination of lysozyme. *J. Bact.* 58: 731~736, 1949
- 4) 上田 泰: Opportunistic Infection. 感染症学, 基礎と臨床 (編集: 上田 泰, 他), メジカルビュー社, 東京, 94~99 頁, 1982
- 5) 螺良英郎, 福山興一: Immunocompromised host. 日本臨床 (春季臨時増刊号) 43: 107~112, 1985
- 6) 広田正毅, 原 耕平: 細菌感染症. *臨床免疫* 19: 210~215, 1987
- 7) 上田 泰, 松本文夫, 平林哲郎: 年齢の推移からみたわが国感染症患者の変遷. *日本医事新報* No. 3215: 22~26, 1985
- 8) 清水喜八郎: Compromised host の感染症の臨床一症例を中心に, 序. *最新医学* 42: 1123~1124, 1987
- 9) 岡 慎一, 稻松孝思, 浦山京子, 島田 馨: 老人の感染症. *日本臨床* 44: 781~784, 1986
- 10) 福島保喜: 高齢者の肺炎. *臨床と研究* 62: 2794~2799, 1985
- 11) 関根 理: 高齢者感染症. 新化学療法ハンドブック, 永井書店, 大阪, 410~418 頁, 1980
- 12) ESPOSITE, A. L.: Bacterial pneumonia in the elderly. In: PENNINGTON, J. E. ed., *Respiratory Infections; Diagnosis and Management*. Raven Press, New York, pp. 159~169, 1983
- 13) 横田 健, 関口玲子: T-1982 と血清・補体および白血球の協力殺菌作用. *Chemotherapy* 30 (S-3): 20~27, 1982
- 14) 根来 茂, 原 英記, 岸本 進: 老化. *生体防御* 3: 257~266, 1986
- 15) 斎藤和久: 宿主の感染防御機構—非特異的および特異的—. *日本臨床 (春季臨時増刊号)* 43: 5~12, 1985
- 16) 松橋 直: 液性免疫と細胞性免疫. *日本臨床 (春季臨時増刊号)* 42: 22~28, 1984

STUDIES ON THE SUB-MIC OF β -LACTAM ANTIBIOTICS

III. BACTERICIDAL ACTIVITY IN ELDERLY SERUM

AKIRA YOTSUJI, YUUKO ITO, TAKASHI YASUDA
and ISAMU SAIKAWA

Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.
2-4-1 Shimookui, Toyama 930, Japan

SEIJI OHGAKU and SABURO YANO

First Department of Internal Medicine, Toyama Medical & Pharmaceutical University

YASUSHI UEDA

Jikei University, School of Medicine

We studied the activity of β -lactam antibiotics at a sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) in elderly serum. Mixtures containing serum (60 μ l), antibiotic solution (10 μ l) and bacterial suspension (10 μ l) were incubated for 4 h at 37°C. The colony forming unit (CFU) was determined to evaluate bactericidal activity. Bactericidal activity in elderly serum was similar to that in normal serum against *Proteus mirabilis* T-250, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. However, stronger bactericidal activity against *P. mirabilis* T-277 and weaker against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were observed in elderly serum. Bactericidal activity in elderly serum was heat-labile, and lysozyme was thought to play some role in its augmentation.

Piperacillin, cefoperazone and cefbuperazone showed bactericidal or bacteriostatic activity in nutrient broth, normal serum and elderly serum at a concentration of 1/4 MIC. While carbenicillin, cefazolin and cefmetazole slightly inhibited the growth of bacteria in nutrient broth, they showed hardly any bactericidal activity in normal and elderly serum.