

新セフェム系抗生剤 Cefodizime(THR-221)の *in vitro* 抗菌作用と 生体防御系との協力作用

野村秀一・田縁晴子・永山在明
佐賀医科大学微生物学教室

新鮮臨床分離株479株に対する Cefodizime(THR-221)の *in vitro* 抗菌力を Cefmenoxime(CMX), Cefotiam(CTM), Cefazolin(CEZ), Ceftazidime(CAZ), Cefotaxime(CTX), Cefoperazone(CPZ), Latamoxef(LMOX), Ceftizoxime(CZX), Cefsulodin(CFS)および Gentamicin(GM)と比較した。

THR-221は第三世代セフェム系薬剤としての幅広い抗菌スペクトルを有し、グラム陰性桿菌では、腸内細菌群に対しては良好な抗菌力を示した。しかし、*P. aeruginosa* に対する抗菌力は不充分であった。

しかし *E. coli*, *P. aeruginosa* を低濃度の THR-221(1/4~1/8 MIC)と30分~2時間接触させると、マクロファージや多核白血球の食作用を受けやすくなり、生菌数は1/10~1/20に低下し容易に殺菌されることが明らかとなった。この殺菌増強作用は、CPZ や CAZ など他の薬剤に比してきわめて優れており、THR-221は生体防御機構、とくに食細胞との協力作用に優れているという特徴を有する新しいセフェム系薬剤であることが解明された。

Cefodizime(THR-221)はヘキスト社(西独)とルセル社(仏)で合成され、我が国では大鵬薬品とヘキストジャパンにより共同開発されている注射用セフェム系抗生物質である。

本剤は他の第三世代セフェム系抗生剤と同じ様に、広い抗菌スペクトルを有している。そこで第一に、本剤の *in vitro* 抗菌作用をグラム陽性菌、腸内細菌群、緑膿菌について検討した。

マクロファージや多核白血球など食細胞は細菌感染に対して重要な防御能を担っている。したがって細菌感染症の治療の上では、化学療法剤それ自身の抗菌力が優れていることの必要性は勿論、それに加えてその化学療法剤と生体側の防御能がうまく協調し、生体防御能が効率よく機能を果たしているかどうか、きわめて重要である。

本薬剤の特徴として、*in vitro* の抗菌力以上に *in vivo* での効果がきわめて優れていることが報告されている^{1,2)}。

そこで、*in vivo* で優れた効果が発揮されるメカニズムを解明するために本薬剤の生体防御系、とくに食細胞系との協力作用について基礎的検討を加えた。

I. 材料と方法

1. *In vitro* 抗菌力

1) 使用菌株

昭和60年以降、当教室において泌尿器科領域の複雑性尿路感染症患者から分離・同定された *S. aureus* 33株、*S. epidermidis* 58株、*E. coli* 55株、*K. pneumoniae* 66株、*E.*

aerogenes 37株、*P. vulgaris* 19株、*P. rettgeri* 36株、*C. freundii* 55株、*S. marcescens* 55株、*P. aeruginosa* 71株の合計10菌種479株を用いた。

2) 薬剤

Cefodizime(THR-221), Cefmenoxime(CMX), Cefotiam(CTM), Cefazolin(CEZ), Ceftazidime(CAZ), Cefotaxime(CTX), Cefoperazone(CPZ), Latamoxef(LMOX), Ceftizoxime(CZX)の9薬剤を用いて検討した。

グラム陽性菌に対してはCMX, CTM, CEZ, CAZ およびCTXとの5薬剤と比較し、グラム陰性菌の腸内細菌群に対してはCPZ, LMOX, CZX, CAZ およびCTXの5薬剤と比較した。また、*P. aeruginosa* については、さらにCFS, GMとも比較を行った。

3) 薬剤感受性試験

日本化学療法学会標準法³⁾にしたがい、感受性ディスク用培地(栄研)を用いて 10^6 cells/mlの接種菌量でMICを測定した。

2. *In vitro* ならびに *in vivo* での THR-221の生体防御に及ぼす影響

1) 使用菌株と薬剤

E. coli S 615(臨床分離株)、*P. aeruginosa* PAO-1および *K. pneumoniae* 163(臨床分離株)の3菌種、薬剤としてはTHR-221, CAZ, CTX, CPZを用いて比較検討を行った。

2) *In vivo* の実験系として Balb/c マウス 8週齢雌を用いた。

3) 食細胞はマウスのマクロファージ細胞樹立株

CA1-SL1⁴⁻⁶) を Eagle's MEM に 10% 胎児牛血清, 10% LCM (L-cell conditioned medium) を添加し培養して, 均一なマクロファージ細胞集団を得て用いた。マウス多核白血球は, G-CSF を産生する HM 3-11 細胞⁵⁾ の培養上清を添加した Eagle's MEM でマウス骨髓細胞を培養し, 99% 純化した白血球を用いた。

4) 食細胞による殺菌作用の測定

対数増殖期の *E. coli* S 615 または *P. aeruginosa* PAO-1 ($4\sim 6 \times 10^6$ cells/ml) を 1/4 あるいは 1/8 MIC 濃度の各抗生物質を添加した Ham's F 12 medium で 30 分培養前処理し, F 12 で洗浄後 $1\sim 2 \times 10^6$ cells/ml の細菌と $2\sim 4 \times 10^6$ cells/ml のマクロファージあるいは白血球と混合し, 37°C で軽く振盪培養を行い経時的に生菌数を測定した。各薬剤の MIC は, F 12 medium での倍數希釈系列によって測定した。

5) THR-221 前処理 *E. coli* S 615 のマクロファージによる食菌作用の顕微鏡的観察

対数増殖期の *E. coli* S 615 を THR-221 の 1/8 MIC 濃度で 2 時間前処理し, マクロファージと混合, 培養した後, 顕微鏡的検討には直接スライドグラス上に培養液を塗布し固定後, Giemsa 染色して観察した。透過電顕像は同様に処理したものを遠心後, 2% グルタルアルデヒドで前固定し, 1% オスミウム酸で後固定した。エタノールで脱水後 Epon 812 に包埋し, 超薄切片を作製後, 電子染色を施して JEM-100 CX 型透過電子顕微鏡で観察した。

II. 実験結果

1. *In vitro* 抗菌力

1) *S. aureus* および *S. epidermidis*

S. aureus 33 株と *S. epidermidis* 58 株の成績をそれぞれ Fig. 1 および Fig. 2 に示す。この 2 つの MIC 累積カーブの結果からは, THR-221 の *Staphylococcus* に対する抗菌力は著しいものではないことが判明した。

2) *E. coli*

E. coli 55 株の結果が Fig. 3 である。THR-221 感受性分布は $0.2 \mu\text{g/ml}$ にピークがあり, CPZ より優れているが, CAZ, CTX, LMOX よりやや劣り, CZX より 4 倍程劣っていた。

3) *K. pneumoniae*

K. pneumoniae 60 株の成績は Fig. 4 のごとくであった。感受性分布は *E. coli* のそれとよく似ており, 60 株中 49 株は $0.39 \mu\text{g/ml}$ 以下の非常に良好な感受性を示し, CPZ より優れていた。

4) *P. vulgaris* および *P. rettgeri*

P. vulgaris 19 株と *P. rettgeri* 36 株の結果が Fig. 5 および Fig. 6 である。THR-221 は *P. vulgaris* 19 株すべてに

対して $0.39 \mu\text{g/ml}$ 以下の抗菌力を示し, CTX, LMOX, CPZ より優れ, CAZ, CZX よりやや劣っていた。*P. rettgeri* に対しても 36 株中 35 株が $1.56 \mu\text{g/ml}$ 以下の感受性株であり, CAZ とほぼ同等の抗菌活性を示した。

5) *E. aerogenes* および *C. freundii*

E. aerogenes 37 株と *C. freundii* 55 株の結果が Fig. 7 および Fig. 8 である。この両菌種に対しては検討を行ったすべての薬剤が中等度の抗菌力を示し, THR-221 の MIC も $0.05 \mu\text{g/ml}$ から $100 \mu\text{g/ml}$ 以上と広範囲に分布していた。

6) *S. marcescens*

S. marcescens 55 株の結果が Fig. 9 である。THR-221 は CPZ, LMOX より優れており, CTX と同等, CAZ, CZX よりやや劣っていた。

7) *P. aeruginosa*

P. aeruginosa 71 株の結果が Fig. 10 である。THR-221 は *P. aeruginosa* に対しては 71 株中 54 株が MIC 値 $100 \mu\text{g/ml}$ 以上であり, *in vitro* での抗菌力は弱かった。

2. *In vitro* における各薬剤の抗菌力と THR-221 の殺菌増強作用

1) *E. coli* S 615, *P. aeruginosa* PAO-1 および *K. pneumoniae* 163 の各薬剤に対する MICs

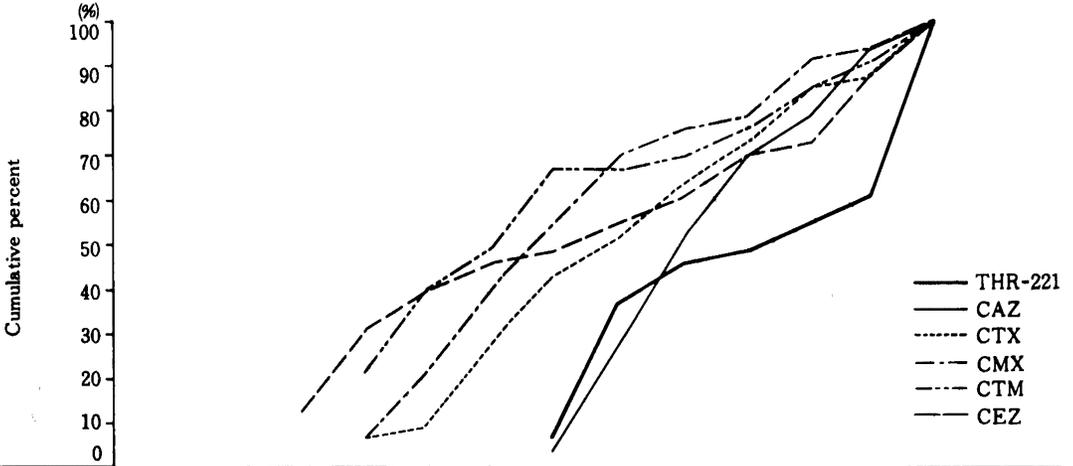
各菌株に対する MIC は Table 1 のごとくであり, *in vitro* 抗菌力で比較すると, THR-221 は *E. coli* と *K. pneumoniae* に対しては MIC 値 $0.39 \mu\text{g/ml}$ と良好な値を示したが, *P. aeruginosa* PAO-1 に対しては $25.0 \mu\text{g/ml}$ であり, CAZ, CPZ の $6.25 \mu\text{g/ml}$ より劣っていた。

2) THR-221 処理 *E. coli* に対する食細胞の殺菌増強作用

Fig. 11 は THR-221 1/8 MIC 前処理菌の白血球による殺菌増強効果を示している。薬剤未処理菌は白血球の存在の有無にかかわらず増殖する。THR-221 1/4 MIC 濃度では *E. coli* は伸長が著しく, その増殖が抑制されたが, 1/8 MIC 濃度では菌体はやや伸長するものの, 未処理菌と同様に時間の経過とともに生菌数が増加した。しかしながら, この 1/8 MIC という低濃度で処理した *E. coli* も, PMN を共存させるとその数の増加は著しく阻害され, 240 分後の生菌数は 1/8 MIC 処理菌単独に比して約 1/8 に, また薬剤未処理菌 + PMN に比して約 1/20 と減少し, THR-221 1/8 MIC 処理菌は PMN によって殺菌されやすくなった。

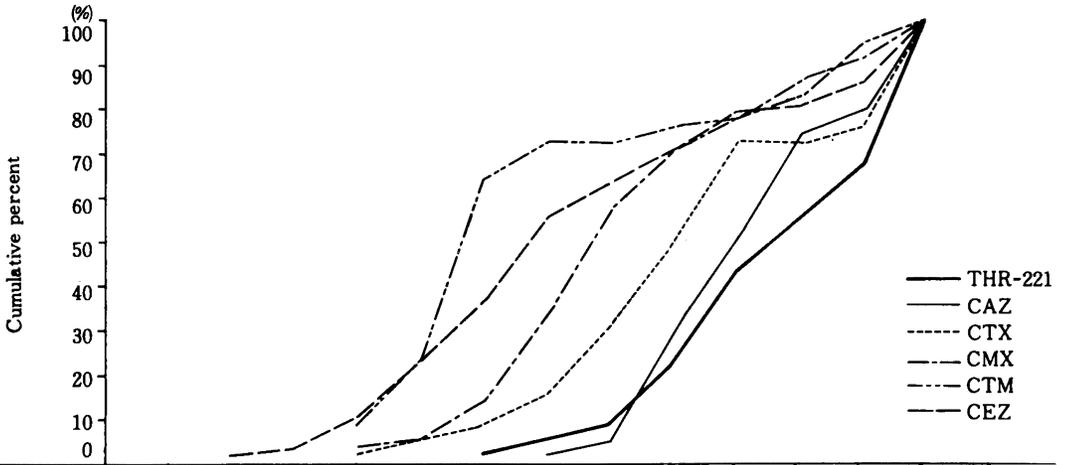
E. coli は Gram 陰性桿菌であり, マクロファージよりも白血球によってより容易に殺菌される菌である。そこで, 白血球に比して *E. coli* に対しては殺菌作用の弱いマクロファージの系が, 抗生物質の食細胞に対する殺菌相乗効果を見る上ではより優れており, とくに株化マク

Fig. 1 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CMX, CTM and CEZ against 33 isolates of *S. aureus* (10^6 cells/ml)



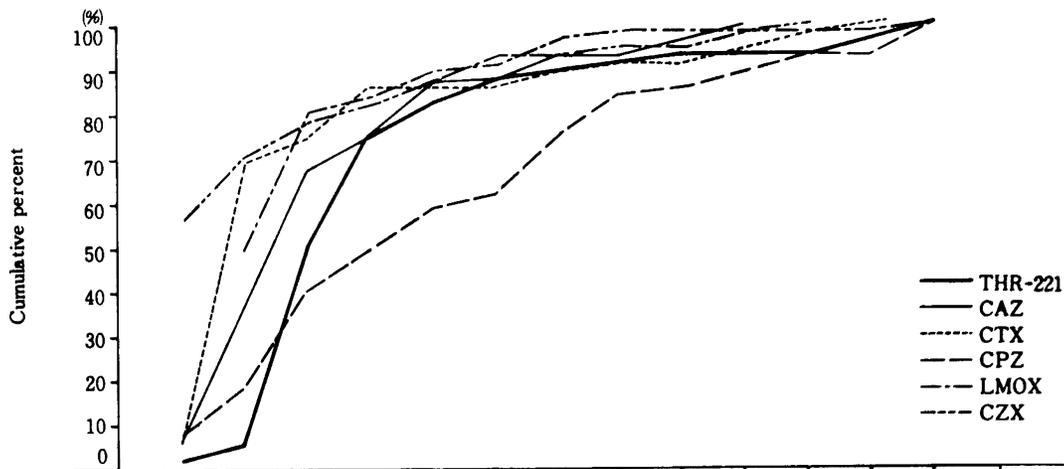
| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | | | | | | | 2 | 10 | 3 | 1 | 2 | 2 | 13 | 33 |
| CAZ | | | | | | | 1 | 8 | 8 | 6 | 3 | 5 | 2 | 33 |
| CTX | | | | 2 | 1 | 6 | 5 | 3 | 4 | 3 | 4 | 1 | 4 | 33 |
| CMX | | | | 2 | 5 | 6 | 5 | 5 | 2 | 1 | 4 | 1 | 2 | 33 |
| CTM | | | | 7 | 6 | 3 | 6 | | 1 | 2 | 3 | 2 | 3 | 33 |
| CEZ | | 4 | 6 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 5 | 4 | | 33 |

Fig. 2 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CMX, CTM and CEZ against 58 isolates of *S. epidermidis* (10^6 cells/ml)



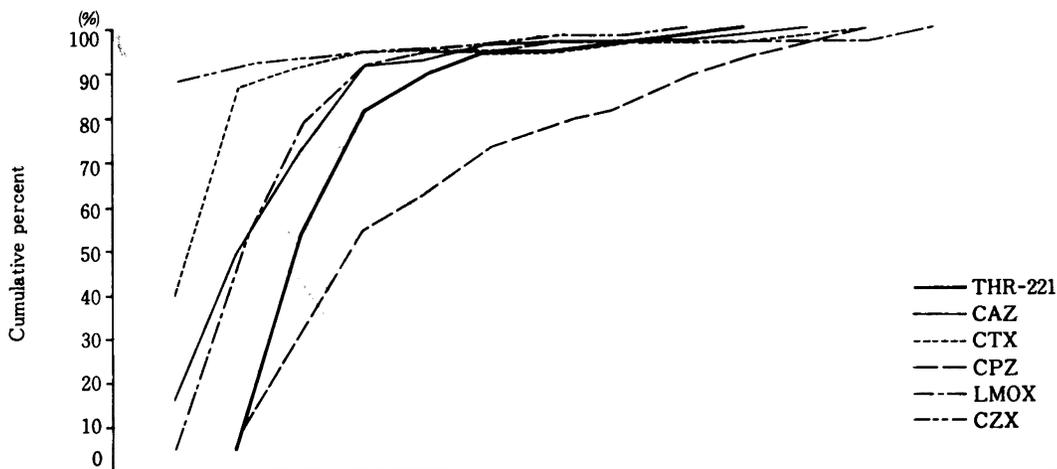
| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | | | | | | 1 | 2 | 2 | 8 | 12 | 7 | 7 | 19 | 58 |
| CAZ | | | | | | | 1 | 2 | 14 | 12 | 14 | 3 | 12 | 58 |
| CTX | | | | 1 | 2 | 2 | 4 | 9 | 11 | 13 | | 2 | 14 | 58 |
| CMX | | | | 2 | 1 | 5 | 11 | 14 | 8 | 4 | 5 | 3 | 5 | 58 |
| CTM | | | | 5 | 8 | 24 | 5 | | 2 | 1 | 3 | 6 | 4 | 58 |
| CEZ | | 1 | 1 | 4 | 7 | 8 | 11 | 5 | 4 | 5 | 1 | 3 | 8 | 58 |

Fig. 3 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, LMOX and CZX against 55 isolates of *E. coli* (10^6 cells/ml)



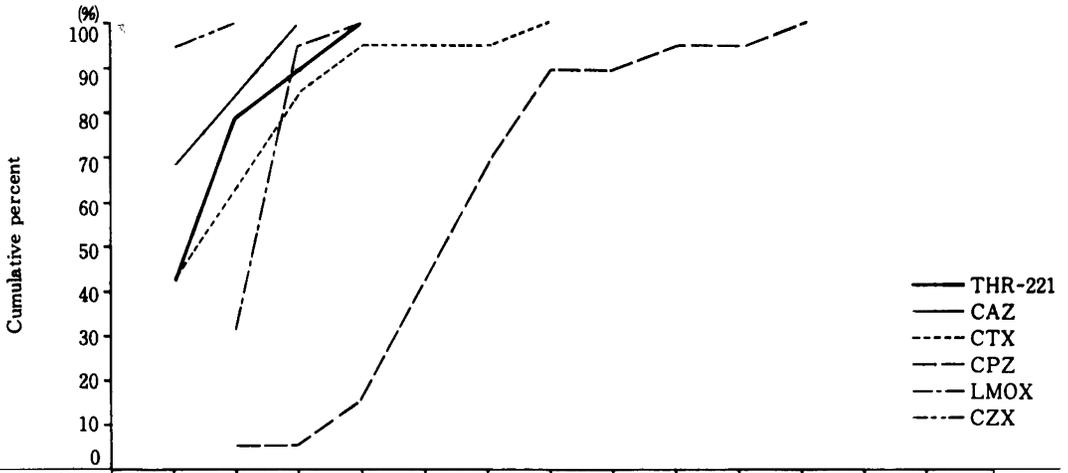
| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | 1 | 2 | 24 | 14 | 4 | 3 | 1 | 1 | 1 | | | 2 | 2 | 55 |
| CAZ | 3 | 18 | 16 | 4 | 7 | | 3 | | 2 | 2 | | | | 55 |
| CTX | 3 | 35 | 3 | 6 | | | 2 | 1 | | 2 | 2 | 1 | | 55 |
| CPZ | 4 | 6 | 12 | 5 | 5 | 2 | 7 | 5 | 1 | 2 | 2 | | 4 | 55 |
| LMOX | | 27 | 17 | 2 | 3 | 1 | 3 | 1 | | | | | 1 | 55 |
| CZX | 31 | 8 | 4 | 2 | 3 | 3 | | 1 | | 2 | 1 | | | 55 |

Fig. 4 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, LMOX and CZX against 60 isolates of *K. pneumoniae* (10^6 cells/ml)



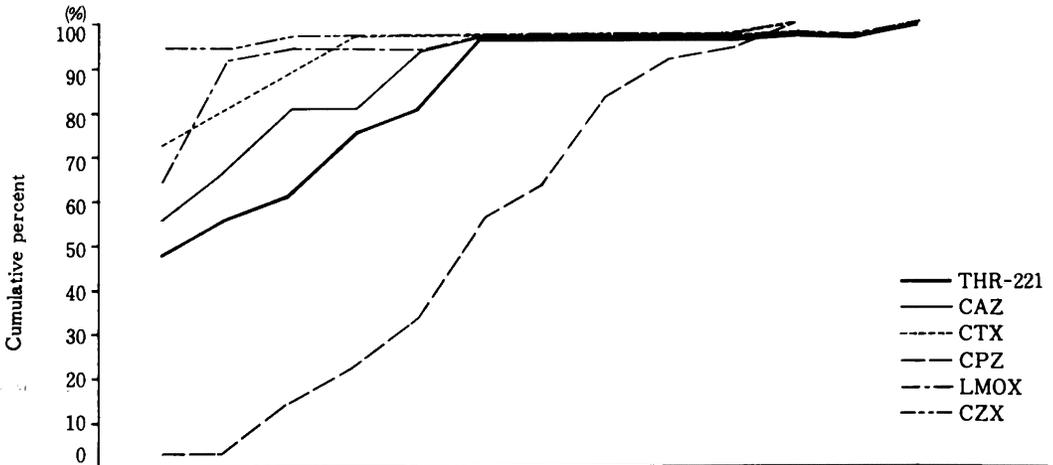
| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | | 3 | 29 | 17 | 5 | 3 | | 1 | 1 | 1 | | | | 60 |
| CAZ | 10 | 20 | 14 | 11 | 1 | 2 | | | | 1 | 1 | | | 60 |
| CTX | 24 | 28 | 3 | 2 | | | | 1 | | | 1 | 1 | | 60 |
| CPZ | | 4 | 15 | 14 | 5 | 6 | 3 | 2 | 4 | 3 | 2 | 2 | | 60 |
| LMOX | 3 | 25 | 19 | 8 | 2 | | 1 | | | | | | 2 | 60 |
| CZX | 53 | 2 | 1 | 1 | | 1 | 1 | | 1 | | | | | 60 |

Fig. 5 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, LMOX and CZX against 19 isolates of *P. vulgaris* (10^6 cells/ml)



| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | 8 | 7 | 2 | 2 | | | | | | | | | | 19 |
| CAZ | 13 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | 19 |
| CTX | 8 | 4 | 4 | 2 | | | 1 | | | | | | | 19 |
| CPZ | | 1 | | 2 | 5 | 5 | 4 | | 1 | | 1 | | | 19 |
| LMOX | | 6 | 12 | 1 | | | | | | | | | | 19 |
| CZX | 18 | 1 | | | | | | | | | | | | 19 |

Fig. 6 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, LMOX and CZX against 36 isolates of *P. rettgeri* (10^6 cells/ml)



| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | 17 | 3 | 2 | 5 | 2 | 6 | | | | | | | 1 | 36 |
| CAZ | 20 | 4 | 5 | 3 | 5 | 1 | | | | | | | 1 | 36 |
| CTX | 26 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | 1 | | | 36 |
| CPZ | 1 | | 4 | 3 | 4 | 8 | 3 | 7 | 3 | 1 | 2 | | | 36 |
| LMOX | 23 | 10 | 1 | | | 1 | | | | | | | 1 | 36 |
| CZX | 34 | | 1 | | | | | | | | | 1 | | 36 |

Fig. 7 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, LMOX and CZX against 37 isolates of *E. aerogenes* (10^6 cells/ml)

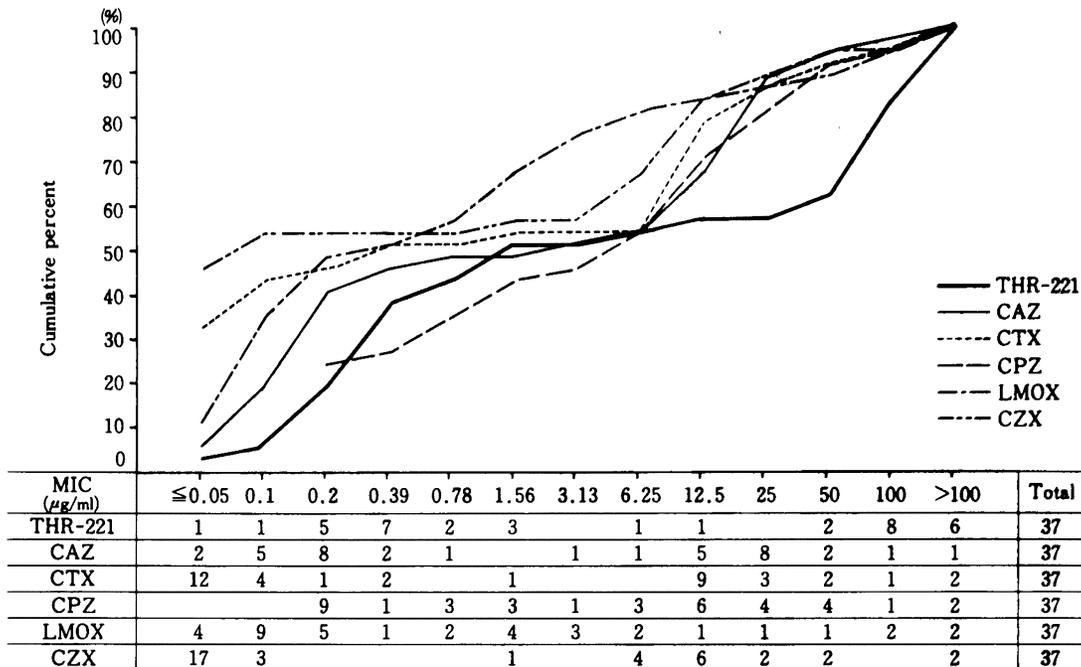


Fig. 8 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, LMOX and CZX against 55 isolates of *C. freundii* (10^6 cells/ml)

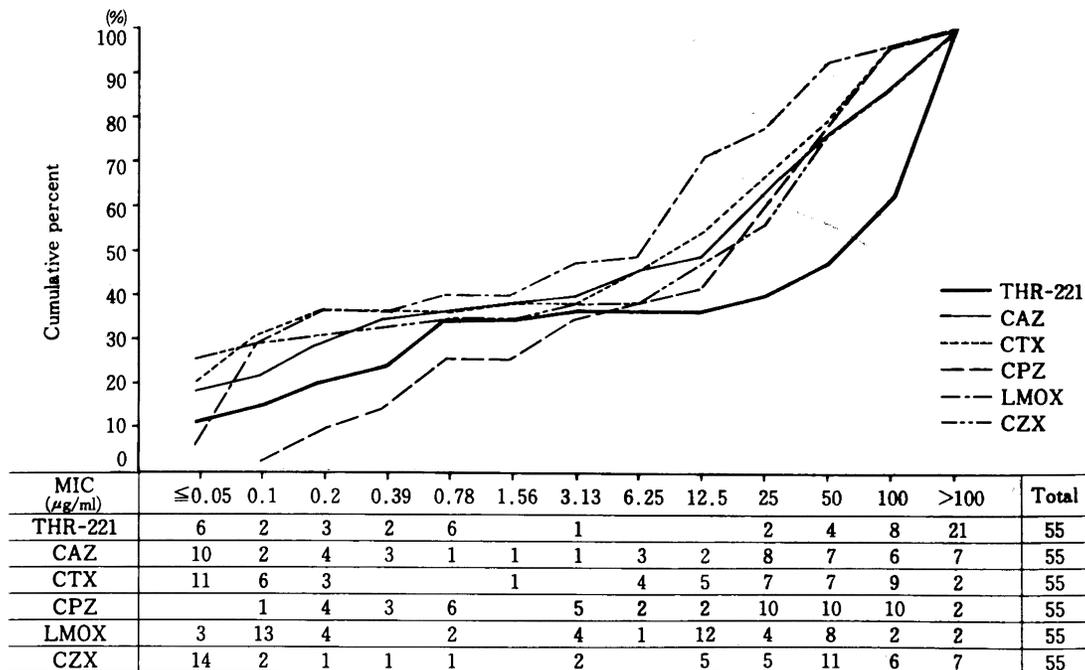
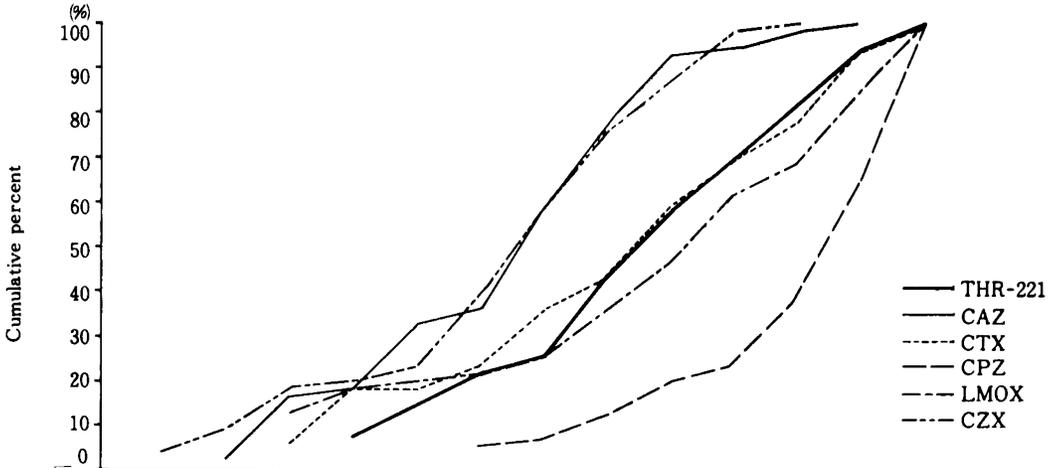


Fig. 9 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, LMOX and CZX against 55 isolates of *S. marcescens* (10^6 cells/ml)



| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | | | | 4 | 4 | 4 | 2 | 10 | 8 | 6 | 7 | 7 | 3 | 55 |
| CAZ | | 1 | 8 | 1 | 8 | 2 | 13 | 10 | 8 | 1 | 2 | 1 | | 55 |
| CTX | | | 3 | 7 | | 3 | 7 | 4 | 9 | 5 | 5 | 9 | 3 | 55 |
| CPZ | | | | | | 3 | 1 | 3 | 4 | 2 | 8 | 15 | 19 | 55 |
| LMOX | | | 7 | 3 | 1 | 1 | 2 | 6 | 6 | 8 | 4 | 9 | 8 | 55 |
| CZX | 2 | 3 | 5 | 1 | 2 | 9 | 11 | 9 | 6 | 6 | 1 | | | 55 |

Fig. 10 Comparative activity of THR-221, CAZ, CTX, CPZ, CFS and GM against 71 isolates of *P. aeruginosa* (10^6 cells/ml)



| MIC (µg/ml) | ≤0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | >100 | Total |
|-------------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----|----|-----|------|-------|
| THR-221 | | | | | | | | | 1 | 3 | 13 | 13 | 41 | 71 |
| CAZ | | | | | 8 | 17 | 19 | 11 | 4 | 7 | 4 | | 1 | 71 |
| CTX | | | | | | | 2 | 5 | 17 | 11 | 13 | 6 | 17 | 71 |
| CPZ | | | | | | 1 | 10 | 9 | 14 | 11 | 11 | 7 | 8 | 71 |
| CFS | | | | | 7 | 17 | 10 | 8 | 11 | 7 | 5 | 3 | 3 | 71 |
| GM | | 2 | | | 1 | 9 | 18 | 14 | 2 | 4 | 2 | 1 | 18 | 71 |

ロファージを用いれば、常に一定の条件で薬剤間の比較を行うことができる。

Fig. 12はマクロファージによる食殺菌の成績で、THR-221処理大腸菌は殺菌され、その増殖が阻止された。

Fig. 13はCPZ 処理菌の白血球あるいはマクロファージ存在下での、*E. coli* の生菌数の変化を示している。1/8 MIC 濃度のCPZ 処理菌は薬剤未処理のコントロールと全く同様に増殖し、また、マクロファージを共存させた系も、白血球を共存させた系のどちらの場合も、殺菌作用の増強はみられなかった。

CPZはMIC 濃度では、薬剤単独ではTHR-221に比して殺菌作用が強く、生菌数の減少がみられるが、MIC以下の濃度における食細胞系との協力殺菌作用は弱いといえる。

3) THR-221処理 *P. aeruginosa* に対する食細胞の殺

菌増強作用

Fig. 10で示した様に、*P. aeruginosa* 臨床分離株71株に対するTHR-221の *in vitro* 抗菌力は弱く、約75%の菌株はMIC 値100 $\mu\text{g/ml}$ 以上である。その様な抗菌活性にもかかわらず、臨床的には緑膿菌感染においても50%を超える除菌率を示していることが報告された(THR-221研究会報告)。そこで *P. aeruginosa* PAO-1株を用いて1/4 MIC 濃度で前処理した菌とマクロファージとを共存させて、食細胞との協力作用を検討した。Fig. 14にTHR-221, Fig. 15にCAZの結果を示す。THR-221では、薬剤単独よりマクロファージを共存させることにより、240分後に生菌数は約1/10に低下し、増殖が抑制されていた(Fig. 14)。一方CAZでは、食細胞共存下1/2に低下しているものの、THR-221の殺菌増強効果には及ばなかった(Fig. 15)。

Table 1 Minimum inhibitory concentration against *E. coli*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*

| | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|----------------------------|--------------------------|------|------|------|
| | THR-221 | CTX | CPZ | CAZ |
| <i>E. coli</i> S 615 | 0.39 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| <i>P. aeruginosa</i> PAO-1 | 25 | 50 | 6.25 | 6.25 |
| <i>K. pneumoniae</i> 163 | 0.39 | 0.10 | 0.78 | N.D. |

N.D.: Not done

Fig. 11 Effect of THR-221 pretreatment of *E. coli* S 615 on killing by PMNs

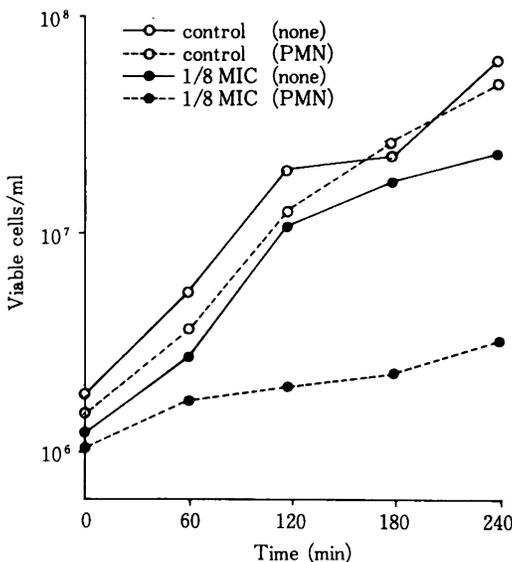


Fig. 12 Effect of THR-221 pretreatment of *E. coli* S 615 on killing by macrophages

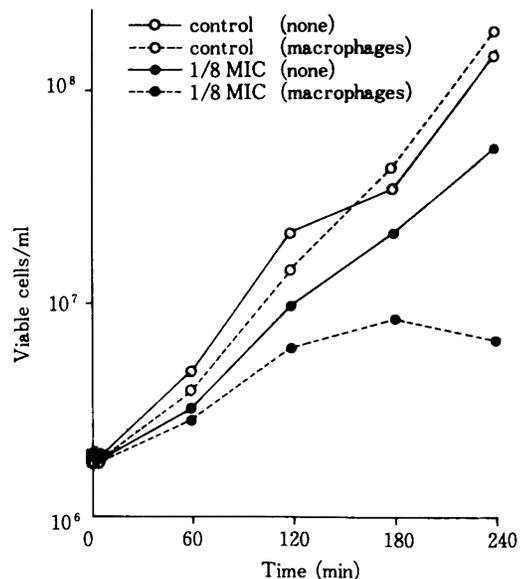


Fig. 13 Survival of *E. coli* S 615 pretreated with CPZ in the presence of PMNs or macrophages

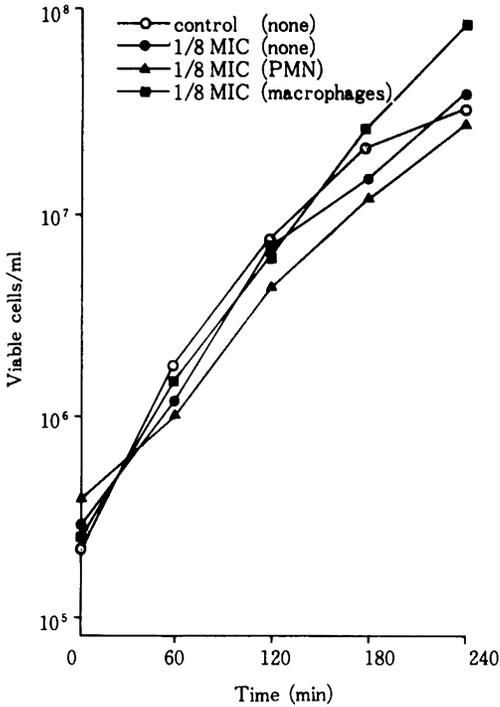
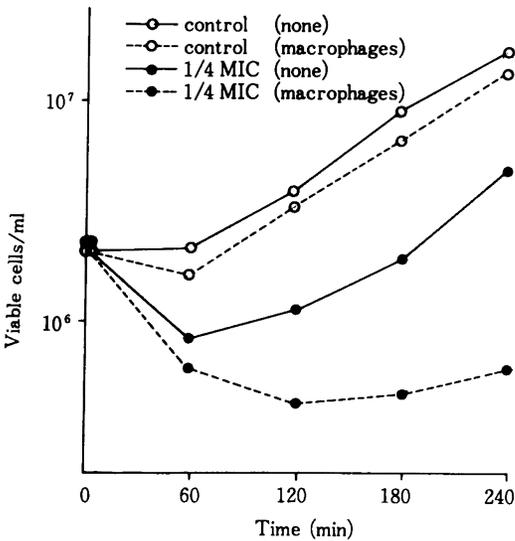


Fig. 14 Effect of THR-221 pretreatment of *P. aeruginosa* PAO-1 on killing by macrophages



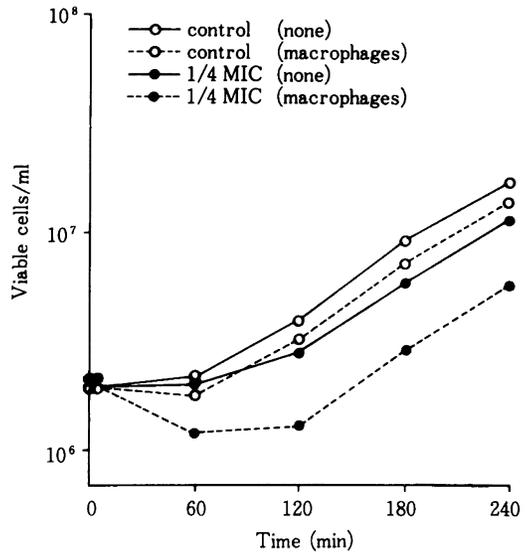
Ⅲ. 考 察

THR-221は、現在多用されている第三世代セフェム系抗生物質と比して、抗菌スペクトルの点ではほぼ同様である。すなわち、THR-221の *in vitro* での MIC 測定から、THR-221は CTX と同様の幅広い抗菌スペクトルを有し、とくに *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* 属等に対して強い抗菌力を示し、*Enterobacter*, *Citrobacter* および *Serratia* 属にも良好な抗菌力を示した。しかし、*Pseudomonas* に対する抗菌力は不十分であったが、*in vitro* 抗菌力は特記すべきものはない。しかし、緒言において述べた様に、抗生物質としての抗菌力の最大の有用性は *in vivo* において、すなわち臨床種々の細菌感染症に使用された場合に、その感染症を治癒に導く力を持っているか否かにある。

THR-221の *in vivo* での感染治療実験は、*in vitro* での抗菌力から期待される以上に良好であることが数多く示され^{1,2)}、その力が何に起因しているかは非常に興味ある問題である。

感染症の治癒機転には、多くは生体の持つ数々の防御機構、食細胞機能や免疫が大きく関与している。とくに、最近話題になっている細菌感染は、正常細菌叢常在菌や病原性の弱い日和見感染菌であり、これらの多くは免疫の成立によって感染を防御することは稀で、もっぱら白血球やマクロファージ等食細胞の非免疫的殺菌作用によ

Fig. 15 Survival of *P. aeruginosa* PAO-1 pretreated with CAZ in the presence of macrophages



って、感染の防御および治癒が行われている。

したがって、抗生物質のなかでそれ自身が持っている抗菌力、血中濃度や臓器移行性、持続性あるいは不活化酵素に対する抵抗性などの他に、食細胞の殺菌作用を増強させるあるいは免疫系全体を活性化させる様な作用を、もしある種の抗生物質が有しているとするれば、それは *in vivo* の効果を高めるのに貢献することになる。その場合4つの可能性を考えることができる。

1. その薬剤が直接あるいは生体の他の pathway を介して間接的に食細胞機能を活性化する。
2. その薬剤が直接あるいは間接的に colony stimulating factor として働き、骨髄の幹細胞を刺激し食細胞の数を増加させる。
3. その薬剤が細菌に変化を与え、とくに表層の構造や表面の荷電を変化させ、その結果、細菌が食作用を受けやすくなる。
4. その薬剤が直接あるいは間接的に抗原提示細胞、T-cell、B-cell など免疫応答細胞を活性化させ、免疫系を増強させる。

上記4つの可能性のいずれに起因しているかを解明するために、いくつかの *in vitro* ならびに *in vivo* の実験を試みた。

THR-221を種々の濃度に添加して培養したマクロファージには、食作用の増強は認められず、また、IL-1の産生にも変化がなく、THR-221が直接的に食細胞を活性化する可能性は小さい。また、マウスの *in vivo* の薬剤投与実験によって、ConAによるT-cellの活性化やB-cellの抗体産生を検討したが、T-cell、B-cellそのいずれに対しても増強効果を証明することはできなかった。

一方、THR-221処理の *E. coli* とマクロファージを接触させ、光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡によって観察した。Fig.16は未処理菌でマクロファージ内で増殖していく像がみられるのに対し、本剤の1/8 MIC濃度で2時間前処理した *E. coli* S 615をマクロファージに取り込ませた場合は、伸長した *E. coli* がマクロファージ内で溶菌されているのが明らかである(Fig.17)。THR-221前処理菌とCPZ前処理菌を電子顕微鏡下で観察すると、THR-221の特徴が顕著に判明した。THR-221で1/8 MICという低濃度作用させた菌は、マクロファージ内で細胞壁が膨張して溶菌されている像がみられた(Fig.18)。以上の結果から、THR-221は他のβ-ラクタム剤と同様に、細胞壁の合成阻害により細菌を伸長させるとともに、その上食細胞の食作用を容易に受ける様な、表層構造の変化をひき起こすものと考えられる。

以上述べてきたように、THR-221は *in vitro* における食細胞の殺菌作用、増強効果がきわめて著しい薬剤であ

Fig. 16 Macrophages phagocytizing normal cells of *E. coli* S 615 grown without drug

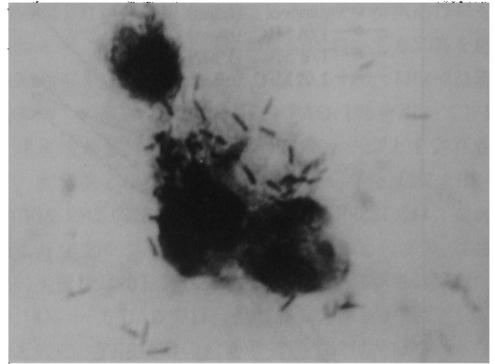


Fig. 17 Macrophages phagocytizing filamentous cells of *E. coli* S 615 pretreated with 1/8 MIC of THR-221 for 2 h (light micrograph)

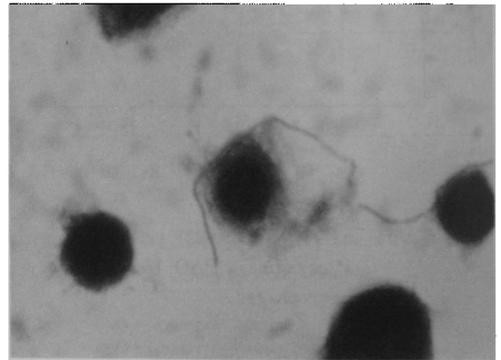


Fig. 18 Macrophages phagocytizing filamentous cells of *E. coli* S 615 pretreated with 1/8 MIC of THR-221 for 2 h (electron micrograph)



る。*In vitro*での食細胞の殺菌増強作用は、*in vivo*で食細胞をコントロールした*K. pneumoniae*の感染実験でも確認されている(manuscript in preparation)。このような食細胞による殺菌増強作用(食細胞との協力作用)を本薬剤THR-221は有しており、このことが*in vivo*の感染治療実験において、他の薬剤に比して優れた治療効果を生みだしている大きな理由の一つであり、したがって*in vitro*での抗菌力以上に*in vivo*、すなわち、臨床上是優れた薬効を示すことが期待できる薬剤である。

文 献

- 1) KLESEL, N. ; M. LIMBERT, G. SEIBERT, I. WINKLER and E. SCHRINNER : Cefodizime, an aminothiazolyl cephalosporin III. Therapeutic activity against experimentally induced pneumonia in mice. J. Antibiotics 37 : 1712~1718, 1984
- 2) KASAI, K. ; A. TSUJI, S. MIYAZAKI and S. GOTO : *In vivo* antibacterial activity of cefodizime, a new

cephalosporin antibiotic. Japanese J. Antibiotics 37 : 1306~1312, 1984

- 3) 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 23 : 1~2, 1975
- 4) OHKI, K. ; A. NAGAYAMA : Cell hybrids between SV 40- transformed macrophage cell lines and a chinese-hamster cell line : growth responsiveness and induction of colony-stimulating factor. J. Cell. Physiol. 114 : 291~301, 1983
- 5) OHKI, K. ; A. NAGAYAMA : Properties of colony-stimulating factors produced by macrophage cell lines and hybrid cells. J. Cell. Physiol. 130 : 68~76, 1987
- 6) IIDA-TANAKA, K. ; T. TANAKA, S. IRINO and A. NAGAYAMA : Enhanced bactericidal action of mouse macrophages by sub-inhibitory concentrations of monobactams. J. Antimicrob. Chemother. 18 : 239~250, 1986

IN VITRO ACTIVITY OF CEFODIZIME(THR-221) AGAINST CLINICAL ISOLATES AND STIMULATION OF PHAGOCYTE ACTIVITY

SHUICHI NOMURA, HARUKO TAEN and ARIAKI NAGAYAMA

Department of Microbiology, Saga Medical School

Against 479 strains of clinical isolates, the *in vitro* activity of cefodizime(THR-221), a new cephalosporin, was compared with those of other cephalosporins. THR-221 was active against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *Proteus* spp., *C. freundii* and *S. marcescens*, but it was not so active against most *P. aeruginosa* strains.

Of Gram-positive cocci, THR-221 was slightly less active against *S. aureus* and *S. epidermidis*.

We also examined the effects of brief exposure to THR-221 on the killing of *E. coli* and *P. aeruginosa* by macrophages or polymorphonuclear leukocytes(PMNs). After brief exposure of *E. coli* to 1/8~1/4 MIC of THR-221, both macrophages and PMNs killed THR-221 pretreated *E. coli* more efficiently than untreated normal bacteria. Of other cephalosporins, cefoperazone failed to enhance the killing activity of either macrophages or PMNs.

Though the *in vitro* bactericidal activity of THR-221 against *P. aeruginosa* was not superior, *P. aeruginosa* PAO-1 pretreated with sub-MICs of THR-221(1/4~1/8 MIC) was more highly susceptible to killing by phagocytes than untreated control bacteria. Ceftazidime, which is known to be one of the most potent cephalosporins against *P. aeruginosa*, was not so effective in increasing the killing activity of phagocytes.

We found that exposure of either *E. coli* or *P. aeruginosa* to THR-221 rendered the bacteria more susceptible to killing by phagocytes.

We therefore expect THR-221 to have excellent clinical utility.