

Cefodizime(THR-221)の試験管内抗菌力, PBP に対する結合親和性および補体, マウス培養マクロファージの協力的殺菌力

横田 健・野沢龍嗣・鈴木映子・新井京子

順天堂大学医学部細菌学教室

新しい注射用 cephem 系抗生物質 Cefodizime(THR-221)のグラム陽性菌に対する抗菌力は, CTX に劣ったが, CAZ より若干強かった。グラム陰性の強毒菌には, CTX と同程度の抗菌力を示したが, 弱毒菌では, CTX や CAZ より劣った。THR-221の *Pseudomonas* 属の菌に対する抗菌力は弱く, *Enterococcus* 属の菌には作用しなかった。THR-221は *E. coli*, *P. rettgeri*, *A. calcoaceticus* の PBP に対し CTX より強い結合親和性を示したので, CTX より抗菌力が劣るのは本剤の外膜透過性が CTX より悪いためと考えられた。

THR-221は補体と中等度の協力的殺菌作用を示した。またその1/8 MIC 存在下でマウス培養マクロファージ(M ϕ)は, 大腸菌細胞を良く食菌消化し, 両者の協力作用は他の cephem より良好であった。本剤にはマウス PMN および M ϕ に対する直接的 chemiluminescence 上昇作用は認められなかったが, 他の cephem より PMN, M ϕ の細胞内取り込み量が多いので, これが良好な生体内効果の一因と考えられた。

Cefodizime(THR-221)は Hoechst, Roussel 社で合成され¹⁾, 我が国の大鵬薬品と共同開発されている注射用 cephem 系抗生物質である。試験管内抗菌力は, Cefotaxime(CTX)等のいわゆる注射用第三世代 cephem に劣るが, 実験感染症に対する生体内効果は, CTX 等より優れると報告されている²⁾。本研究の目的は, THR-221の試験管内抗菌力を他の第三世代 cephem のそれと比較するとともに β -lactam 薬剤作用点である penicillin 結合蛋白質(PBP)に対する親和性を検討した。また生体内効果が優れるといわれる本剤の生体感染防御機構との協力の仕組みを明らかにしようとした。

I. 実験方法

1. 試験管内抗菌力の測定

臨床分離 *S. aureus* 50株, MRSA 44株, coagulase negative staphylococci (CNS) 45株, *S. pyogenes* 26株, *S. pneumoniae* 21株, A 群以外の β -streptococci 15株, 異なる R plasmid を伝達した *E. coli* CS 2 50亜株, *K. pneumoniae* 45株, *P. mirabilis* 50株, *P. vulgaris* 41株, *M. morgani* 52株, *P. rettgeri* 25株, *E. cloacae* 44株, *S. marcescens* 49株, *C. freundii* 47株, *P. aeruginosa* 49株, *P. cepacia* 38株, *X. maltophilia* 28株, *A. calcoaceticus* 47株, ABPC 耐性 *H. influenzae* 24株および *B. fragilis* 50株に対する THR-221の最小発育阻止濃度(MIC)の測定は化学療法学会の定める平板希釈法³⁾で, 一夜液体培地中で前培養した菌の 10^6 cfu/ml 浮遊液を1スポット接種する方法で実施した。

レンサ球菌群には HI 寒天をベースとした5%羊血液寒天を, *H. influenzae* には HI 寒天に Fildes Extract を添加した培地を, *B. fragilis* には GAM 寒天を使用した他は, 全て Mueller-Hinton 寒天に薬剤を添加して MIC 測定を行った。

比較薬剤は Cefotaxime(CTX : ヘキストジャパン), Cefmetazole(CMZ : 三共), Cefazolin(CEZ : 藤沢薬品工業), Ceftazidime(CAZ : 新日本実業), Latamoxef(LMOX : 塩野義製薬), Ceftizoxime(CZX : 藤沢薬品工業), Cefmenoxime(CMX : 武田薬品), Aztreonam(AZT : 日本スクイブ), Cefoperazone(CPZ : 富山化学), Ampicillin(ABPC)とした。

2. PBP に対する結合親和性の検討

S. aureus 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2, *P. rettgeri* 21, *S. marcescens* 13および *A. calcoaceticus* 5 を10 ml の L-broth⁴⁾ 中で37℃一夜振盪培養した。その全量を500 ml 振盪コルベン中に入れた200 ml のL-broth に接種し, 37℃, 4時間振盪培養して対数増殖期後期の菌細胞を得た。冷却遠心機で集菌し, 0.01 M の phosphate buffer で1回洗浄した。菌細胞を0.05 M phosphate buffer(pH 7.0)に10 mM の MgCl₂ を加えた液に浮遊し, BRANSON sonifier を用いて20 KC, 効率20%, 出力50 W で2分間3回, 超音波処理し, 細胞を破壊した。3000×g, 15分間の冷却遠心で cell を除き, 上清を100,000×g, 30分遠心して膜画分を集めた。MgCl₂ 加 phosphate buffer(pH 7.0)で1回洗浄し, 同 buffer に再浮遊して15 mg/protein 濃度になる様に再浮遊した。PBP に対する THR-221の競合結

合は、SPRATT⁵⁾の方法を改良して行った。すなわち30 μ lの菌膜画分浮遊液に各種濃度の非放射性 THR-221の溶液 3 μ lを加えて30 $^{\circ}$ C 10分間反応させた後、¹⁴C-PCG(50 μ Ci/ml: AMERSHAM) 3 μ lを添加し、さらに30 $^{\circ}$ C 10分間反応させた。20% (W/V)の sarkosyl に非放射性 PCG 60 mg/ml 添加した液 3 μ lを添加して反応を止め、不溶画分を10,000 \times g, 30分冷却遠心で除き、上清を全量 acrylamide 平板電気泳動にかける。分離ゲルの組成を acrylamide 8%, bis-acrylamide 0.06%に変えないと高分子 PBP画分の明瞭な分離はできない。電気泳動終了後、7%酢酸加50%メタノールで蛋白を固定し、増感剤である 2, 5-diphenyloxazole(DPO)を dimethylsulfoxide 中でゲルに浸み込ませ、減圧下でゲルを乾燥する。乾燥したゲルを Kodak X-Omat AR 5 film に密着し、カセット中で-80 $^{\circ}$ C, 3週間露光し、レントゲンフィルムを現像して、THR-221の PBP に対する競合結合の蛍光オートラジオグラフィーを行った。

3. THR-221と補体との協力的殺菌作用の検討

THR-221の subMIC は、種々の薬剤を含む L-broth に *E. coli* NIHJ JC-2を振盪培養し、5時間後の菌数計算から、薬剤を含まない培地中の菌数の半分以下になる薬剤濃度を求めた。補体は、市販のモルモット血清を使用し、単位測定の後、この菌の増殖に影響を与えない最高濃度、すなわち0.75 units/mlを求めた。

L-broth 中で37 $^{\circ}$ C 18時間振盪前培養した *E. coli* NIHJ JC-2を適当に希釈し、5 ml ずつの L-broth, 0.75 units 補体含有 L-broth, subMIC の THR-221含有 L-broth および0.75 units の補体と subMIC の THR-221両方を含む L-broth のそれぞれに 1×10^8 cfu/ml の菌を接種した。37 $^{\circ}$ Cで振盪培養を続けながら、1, 3, 5 および24時間後にそれぞれの一部を採り、平板法で生菌数を測定して、それぞれの菌数の変動を測定した。

4. THR-221とマウス培養 M ϕ との協力的食菌殺菌作用の検討

subMIC の THR-221とマウス培養 M ϕ との協力作用は、著者らの方法⁶⁾で検討した。すなわち ICR 雄マウス腹腔を saline G で洗い、正常 M ϕ を遠心で集めた。24穴の FALCON multidish の各 well にカバースリップを入れ、10% fetal calf serum 加 F 12培地に浮遊した M ϕ 細胞を 1×10^4 個になる様に接種し、5% CO₂ 存在下で37 $^{\circ}$ C 一夜培養した。浮遊細胞を除き、新鮮 F 12培地20% L-CM⁷⁾を加えたものを1 ml 加え、37 $^{\circ}$ C, CO₂ 培養、2時間行って M ϕ を活性化した。培地を除き、37 $^{\circ}$ C 18時間 L-broth で前培養した *E. coli* NIHJ JC-2の細胞 5×10^5 cfu/ml 含む F 12培地を1 ml ずつ各 well に加えた。一部の well には、THR-221が最終濃度1~1/16 MIC になるように加

えて培養した。37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 存在下で5時間培養し、カバースリップを取り出して、saline G で洗浄後、メタノールで固定し、Giemsa 染色して顕微鏡を観察した。

5. PMN, M ϕ の chemiluminescence に対する THR-221の影響

4~6週齢の ICR 雄マウスに12.5 mg/kg の THR-221を皮下注射し、その18時間後にさらに100 mg/kg の薬剤を皮下注射した。2度目の薬剤投与後6時間目にマウスを屠殺し、生理食塩水で腹腔内を洗い M ϕ を採取した。PMN は屠殺5時間30分前に0.1% グリコーゲンを腹腔内注射し、M ϕ 採取と同様に生理食塩水で腹腔を洗って採取した。それぞれの方法で得た細胞が、大部分 M ϕ または PMN であることを Giemsa 染色で検鏡により確認した。

M ϕ または PMN 5×10^6 cells/ml を試験管に入れ、phorbol myristate acetate(PMA) 30 ng, ルミノール試薬10 μ lを加え、ルミフォトメーター TD 4000を使用し、ルミノール発光を計測した。測定値は、10分間計測で行いその最大値を cpm で表示した。

6. THR-221のマウス白血球内への取り込みの検討

上記の方法で活性化したマウス培養 M ϕ および0.1% グリコーゲン腹腔内注射で誘導したマウス多形核白血球(PMN)をそれぞれ10% fetal calf serum F 12培地に 5×10^6 cells/ml になる様に浮遊し、プラスチック遠心管に1 ml ずつ分注した。それぞれの試験管に THR-221または CTX を最終濃度100 μ g/ml になる様に加え、37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 存在下で60分保温した。遠心で細胞を集め、新鮮 F 12培地で洗浄した後、0.3~0.5 ml の蒸留水を加え、細胞膜を破壊した。この懸濁液中の薬剤を *P. mirabilis* ATCC 21100 を被検菌とし、bioassay で濃度測定した。実験は2~3回繰り返し、その平均値で表示した。

II. 成 績

1. THR-221の各種細菌臨床分離株に対する試験管内抗菌力

THR-221は、Fig. 1 のとおり *S. aureus* 50臨床分離株に対し、対照薬剤 CEZ, CMZ, CTX より若干劣った。CMZ 以外の薬剤は、20%程度みられる MRSA にほとんど作用しない。この状況は、MRSA 44株に対する Fig. 2 の成績からも明らかである。coagulase negative staphylococci(CNS)45株に対しては、Fig. 3 のとおり CAZ よりやや強い抗菌力を示したが、CEZ, CTX, CMZ より劣った。*S. pyogenes* 26株には Fig. 4 のとおり、THR-221は優れた抗菌力を示し、LMOX にはもちろん、CAZ よりかなり強かった。*S. pneumoniae* 21株には Fig. 5 のごとく、THR-221の抗菌力は CMZ, CAZ に勝り、CEZ

Fig. 1 Susceptibility distribution of 50 clinical isolates of *S. aureus* to THR-221 and other cephalosporins

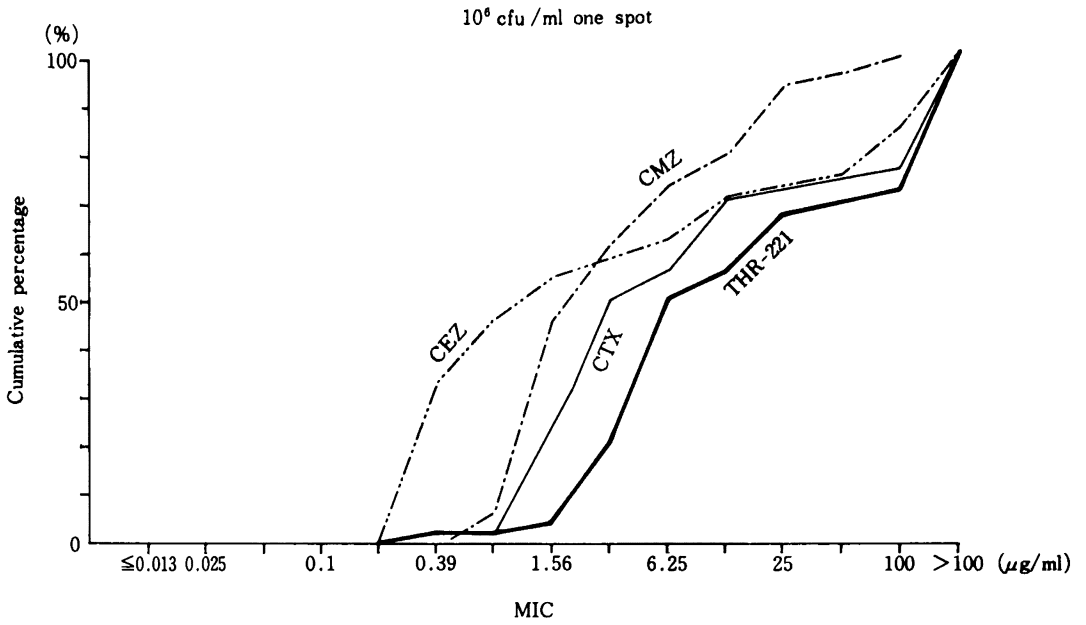


Fig. 2 Susceptibility distribution of 44 clinical isolates of *S. aureus* (MRSA) to THR-221 and other cephalosporins

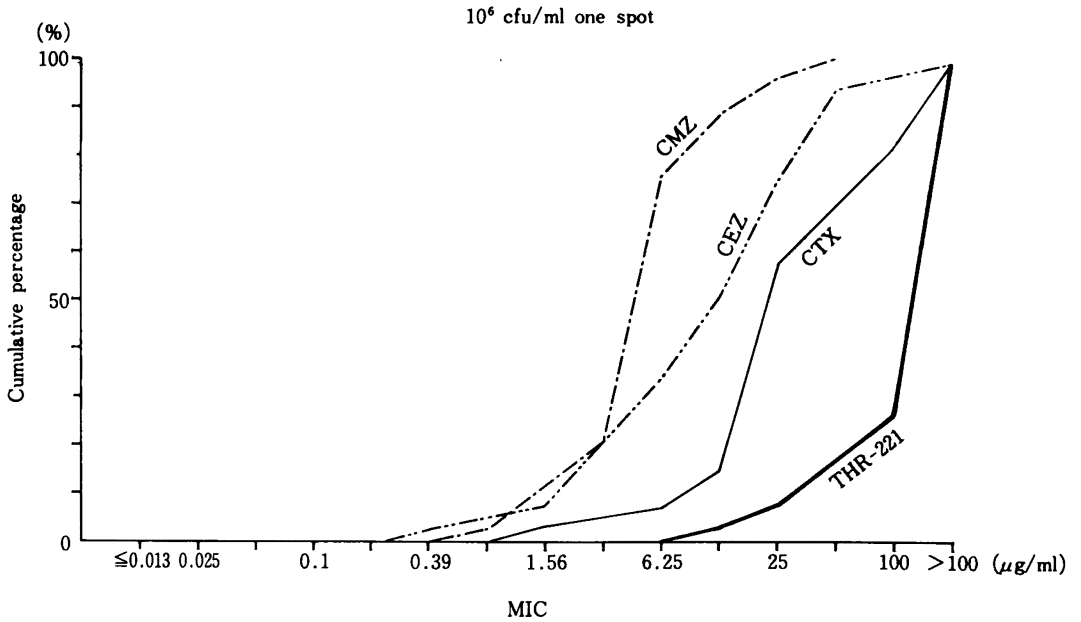


Fig. 3 Susceptibility distribution of 45 clinical isolates of coagulase-negative staphylococci (CNS) to THR-221 and other cephalosporins

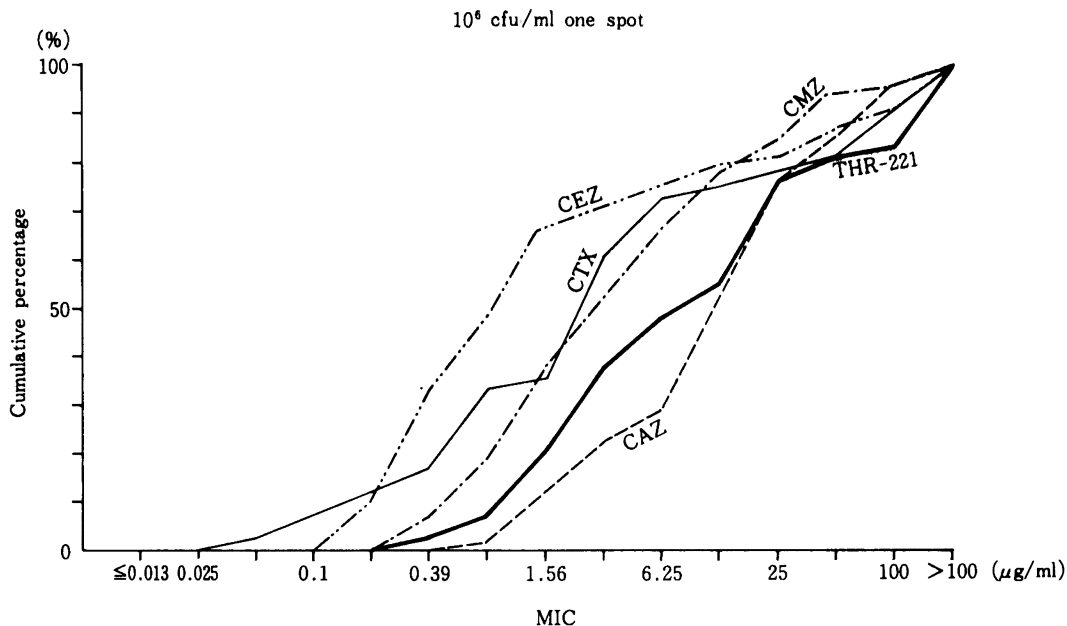
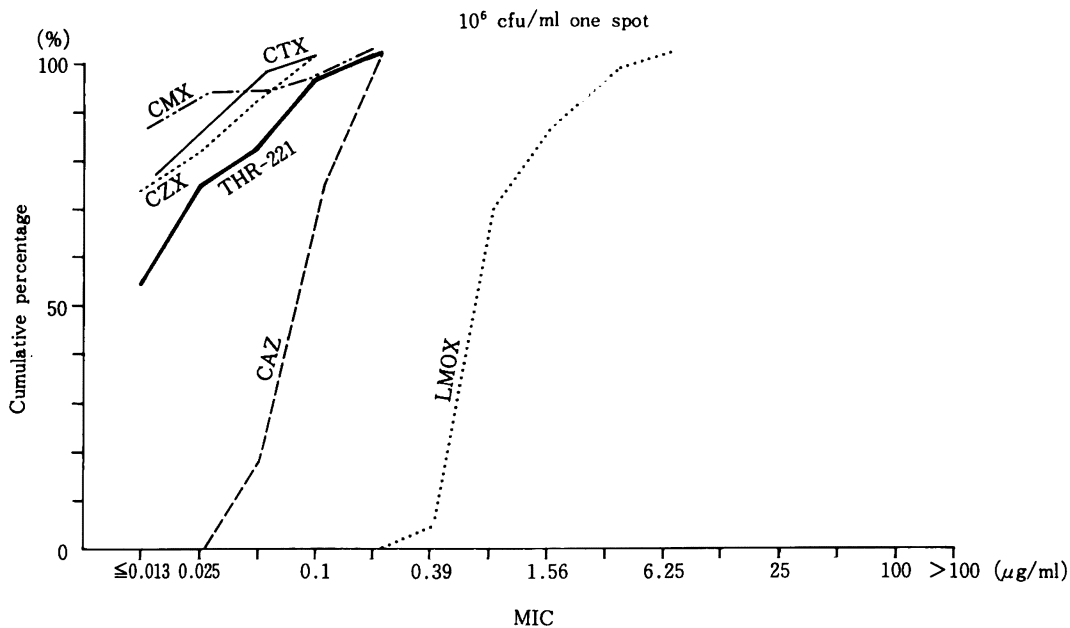


Fig. 4 Susceptibility distribution of 26 clinical isolates of *S. pyogenes* to THR-221 and other cephalosporins



と同程度であったが、CTXには劣った。A群以外のβ-streptococci 15株に対する抗菌力は、Fig. 6のとおり LMOX, CAZに勝り、CZXと同程度で、CTX, CMXには劣った。

異なった50種類のR plasmidを持つ*E. coli* CS 2亜株に対するTHR-221の抗菌力は、Fig. 7のとおりCEZ, CPZおよびCMZよりかなり強く、CAZとAZTと同程度でCTXより若干劣った。*K. pneumoniae* 45株に対しても同様でTHR-221の抗菌力はCAZとほぼ同等であった(Fig. 8)。*P. mirabilis*に対するTHR-221の抗菌力は強く、CTXと同程度でFig. 9のとおり、他のcephemよりかなり優れていた。*P. vulgaris* 41株に対してもFig. 10のとおりTHR-221はCTXに近い抗菌力を示し、CEZ, CMZ, CPZより優れていた。*M. morgani* 52株に対する抗菌力は、CAZと同程度であり(Fig. 11)、*P. rettgeri* 25株に対してもTHR-221はFig. 12のとおりCAZと同程度の抗菌力を示した。*E. cloacae* 44株に対しては、THR-221の抗菌力はFig. 13のとおりCEZ, CMZより優れていたが、他のcephemには若干劣った。*S. marcescens* 49株に対するTHR-221の抗菌力はFig. 14のとおり、CPZと同程度でCTX, CAZ, AZTには劣った。*C. freundii* 47株にはTHR-221はCEZやCMZよりかなり強い抗菌

力を示したが、Fig. 15のとおりCPZ, CTX等には劣った。Fig. 16に示すとおり、THR-221の*P. aeruginosa* 49株に対する抗菌力は、中等度でMIC₅₀は50 μg/mlであった。Fig. 17, 18および19のごとくTHR-221の*P. cepacia* 38株、*X. maltophilia* 28株および*A. calcoaceticus* 47株に対して中等度の抗菌力を示した。ABPC耐性*H. influenzae* 24株に対するTHR-221の抗菌力は強く、CTXと同程度で他の対照薬剤よりかなり優れていた(Fig. 20)。Fig. 21に嫌気性菌*B. fragilis* 50株に対するTHR-221の抗菌力を示した。CPZに勝りCTXと同程度であるが、THR-221には、20%程度高度耐性株がみられた。

2. THR-221の各種細菌PBPに対する結合親和性

CTXを対照薬剤とした*S. aureus* 209 PのPBPに対するTHR-221の結合親和性は対照薬剤より優れていた(Fig. 22)。*E. coli* NIHJ JC-2のPBPに対してもTHR-221の結合親和性はCTXに勝り、特にPBP 1Bsに対する親和性の高さが特徴的であった(Fig. 23)。*P. rettgeri* 21のPBPに対してもTHR-221は、Fig. 24のとおりCTXよりかなり優れていた。*S. marcescens* 13のPBPにはCTXとほぼ同程度の結合親和性をFig. 25のとおり示した。*A. calcoaceticus* 5のPBPに対してはTHR-221の結合親和性は、CTXより若干高かった(Fig. 26)。

Fig. 5 Susceptibility distribution of 21 clinical isolates of *S. pneumoniae* to THR-221 and other cephalosporins

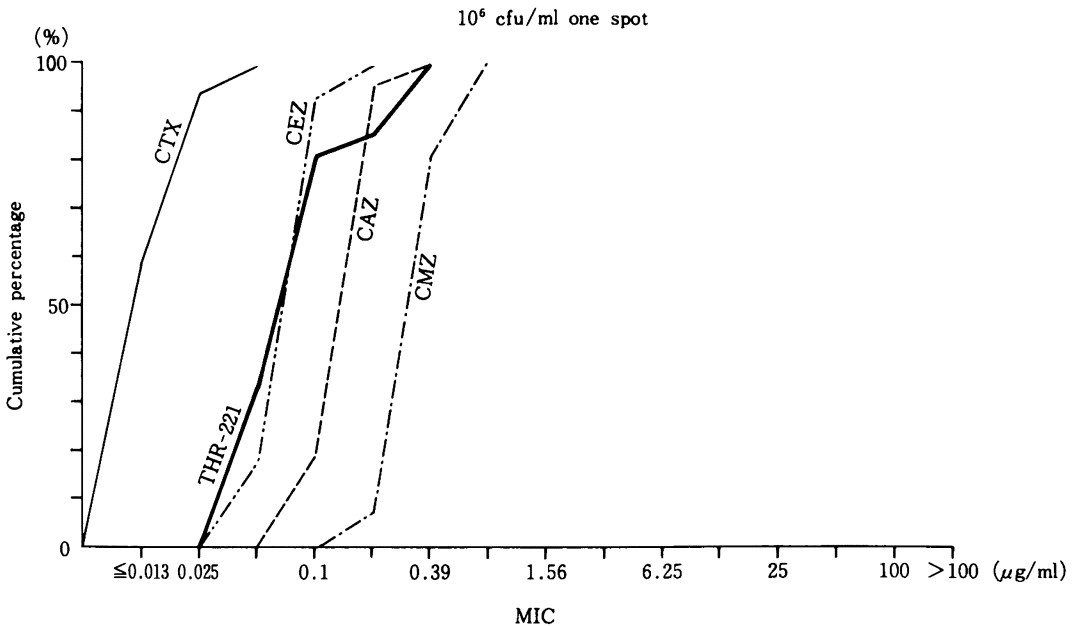


Fig. 6 Susceptibility distribution of 15 clinical isolates of β -streptococci to THR-221 and other cephalosporins

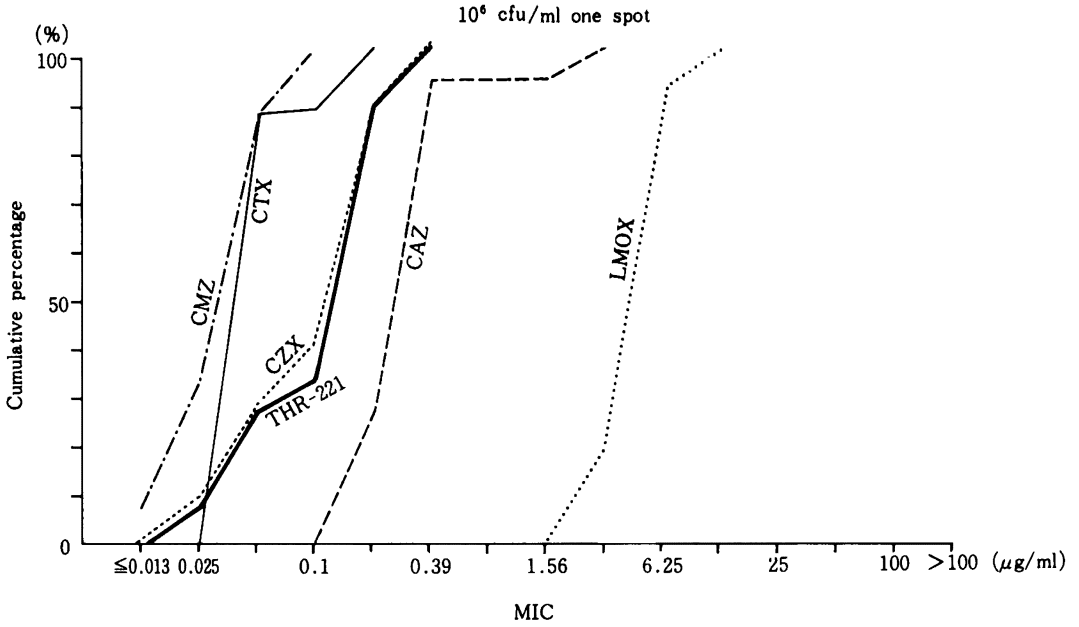


Fig. 7 Susceptibility distribution of 50 subclones of *E. coli* carrying various R (*bla*) plasmids to THR-221 and other cephalosporins

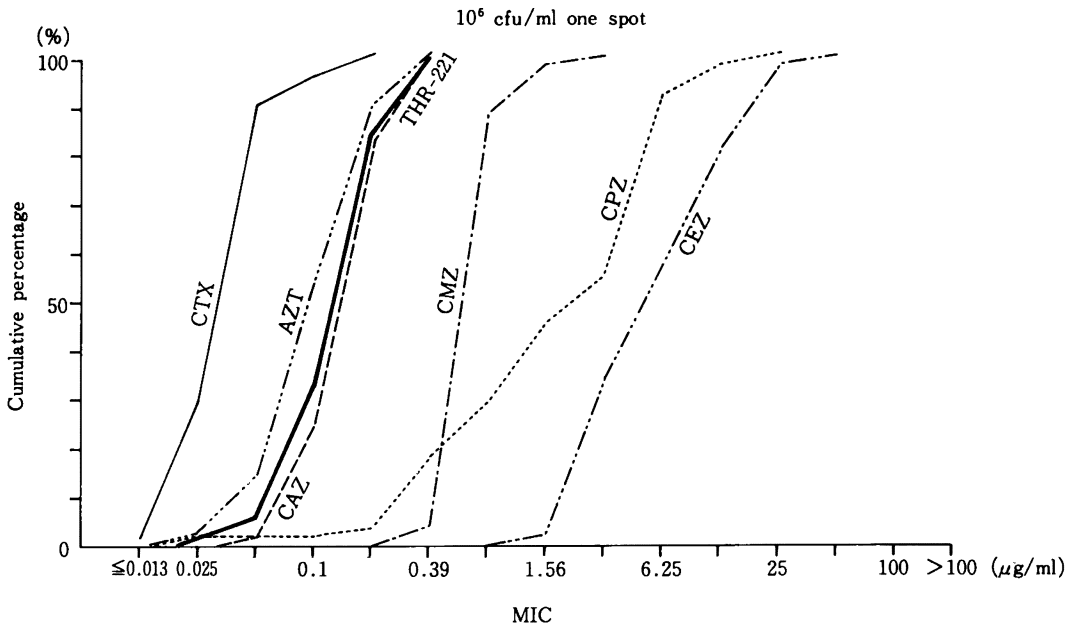


Fig. 8 Susceptibility distribution of 45 clinical isolates of *K. pneumoniae* to THR-221 and other cephalosporins

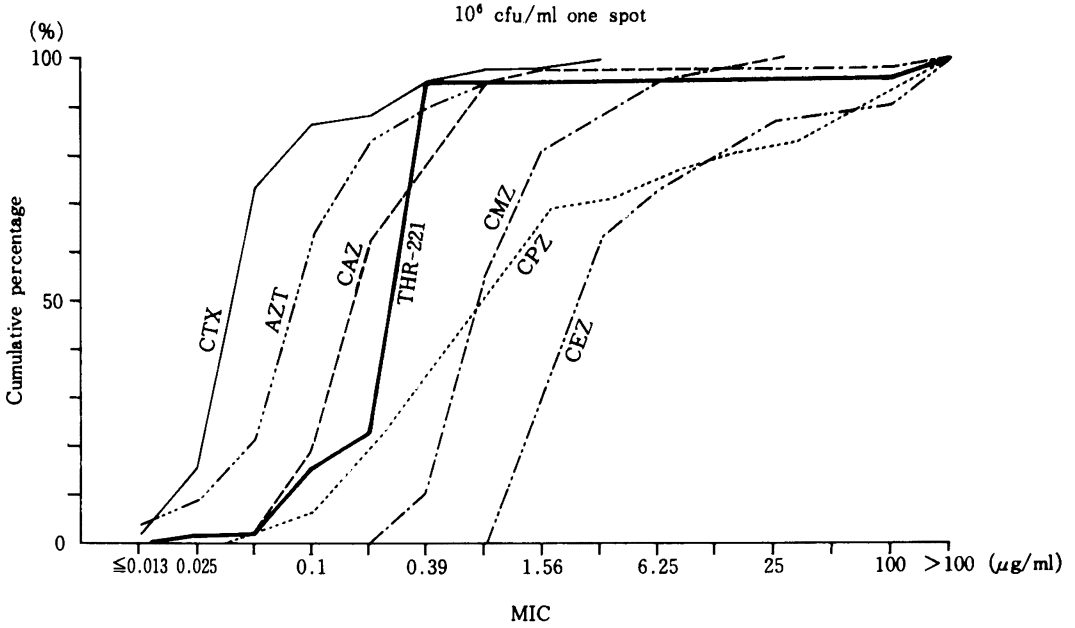


Fig. 9 Susceptibility distribution of 50 clinical isolates of *P. mirabilis* to THR-221 and other cephalosporins

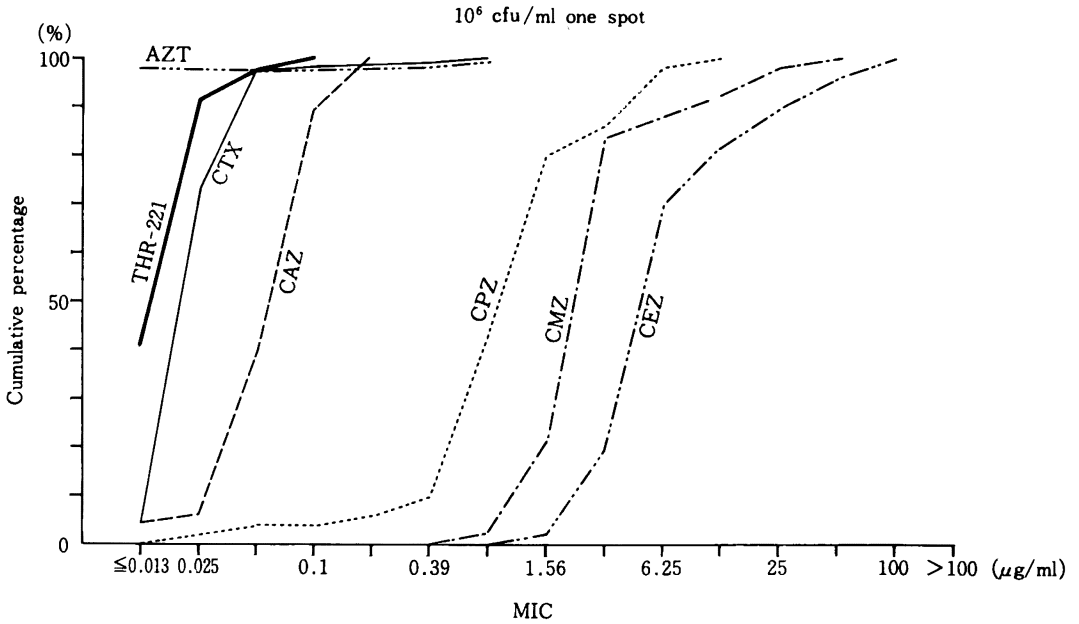


Fig. 10 Susceptibility distribution of 41 clinical isolates of *P. vulgaris* to THR-221 and other cephalosporins

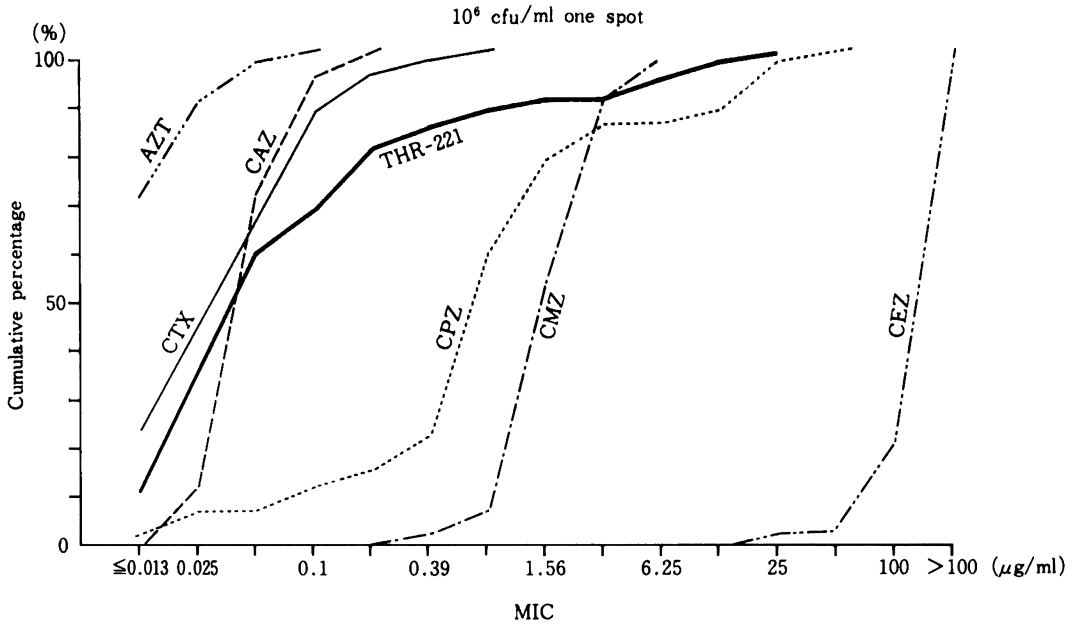


Fig. 11 Susceptibility distribution of 52 clinical isolates of *M. morgani* to THR-221 and other cephalosporins

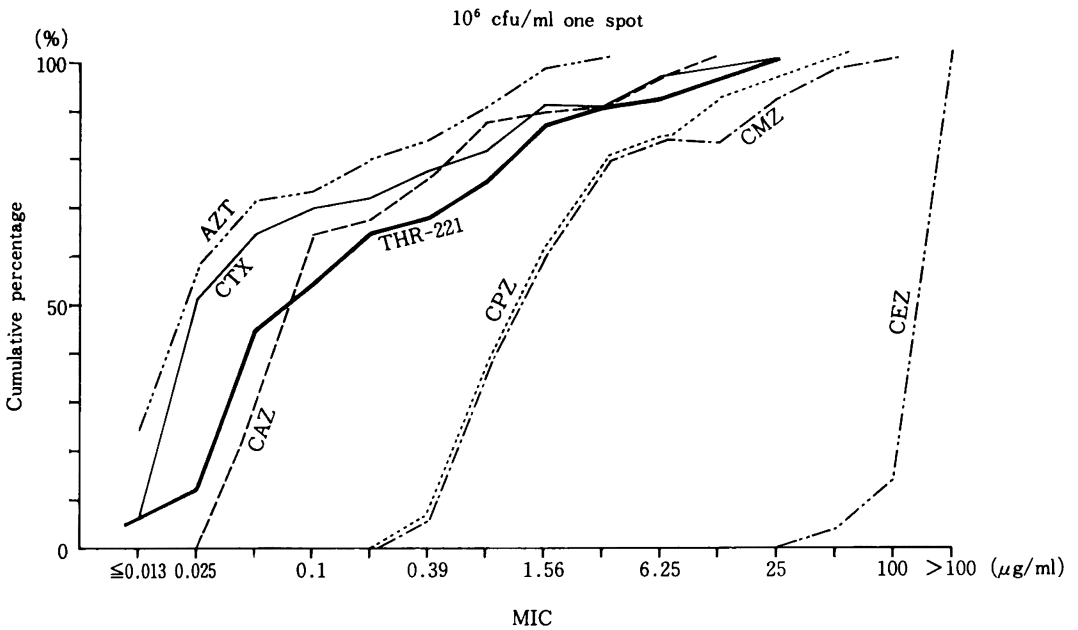


Fig. 12 Susceptibility distribution of 25 clinical isolates of *P. rettgeri* to THR-221 and other cephalosporins

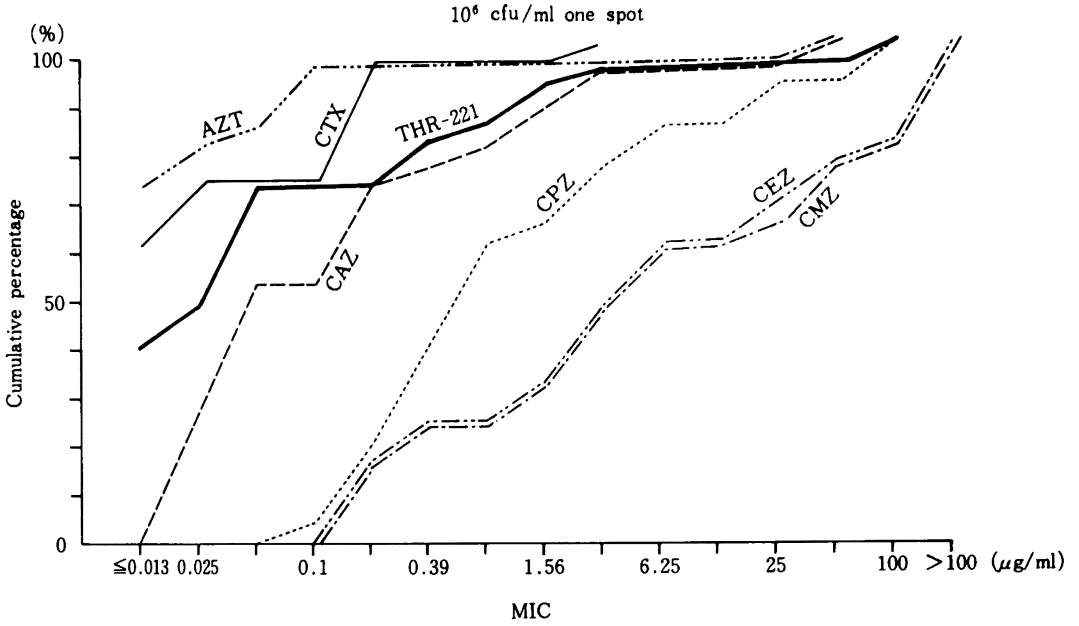


Fig. 13 Susceptibility distribution of 44 clinical isolates of *E. cloacae* to THR-221 and other cephalosporins

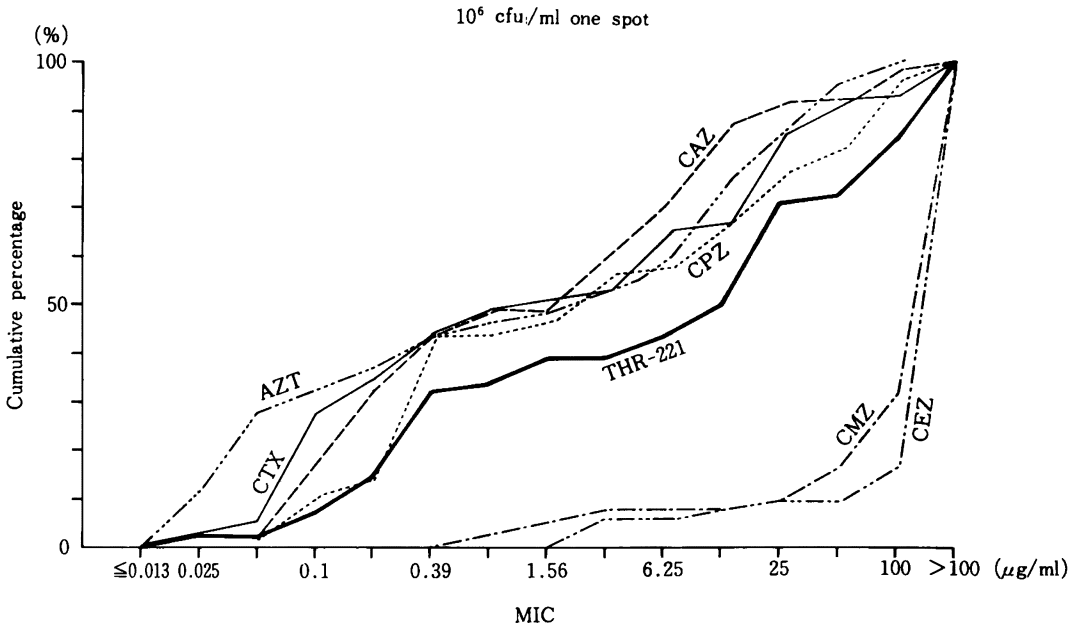


Fig. 14 Susceptibility distribution of 49 clinical isolates of *S. marcescens* to THR-221 and other cephalosporins

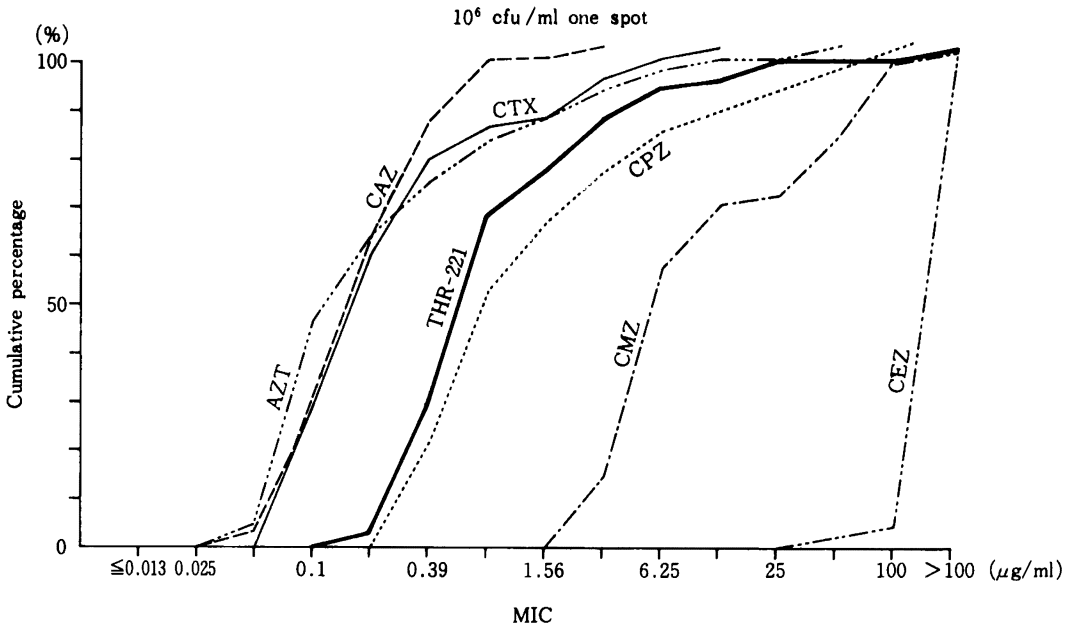


Fig. 15 Susceptibility distribution of 47 clinical isolates of *C. freundii* to THR-221 and other cephalosporins

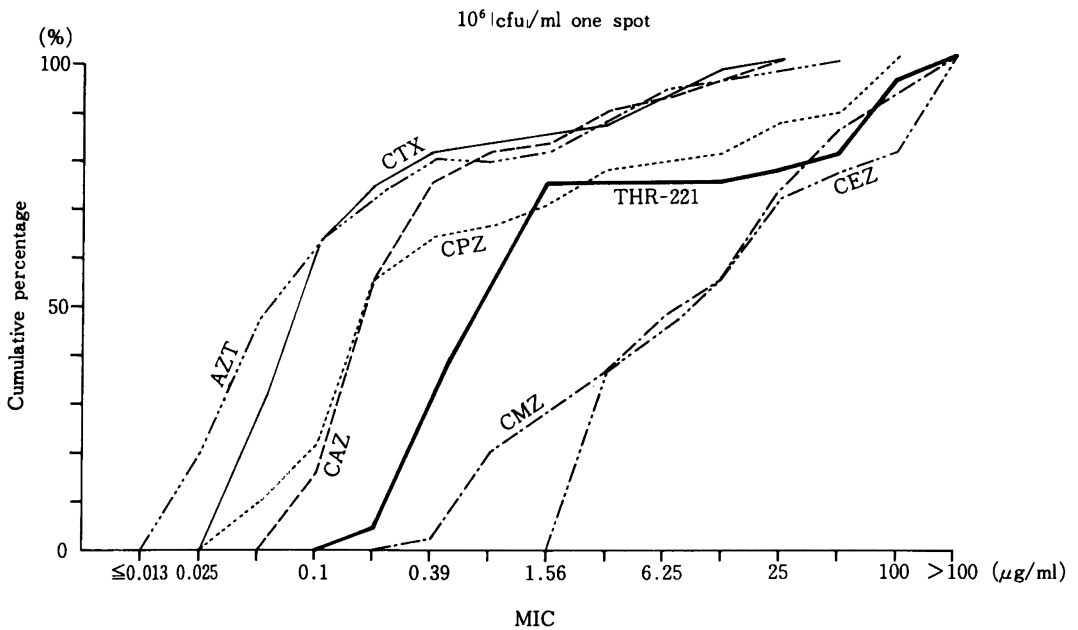


Fig. 16 Susceptibility distribution of 49 clinical isolates of *P. aeruginosa* to THR-221 and other cephalosporins

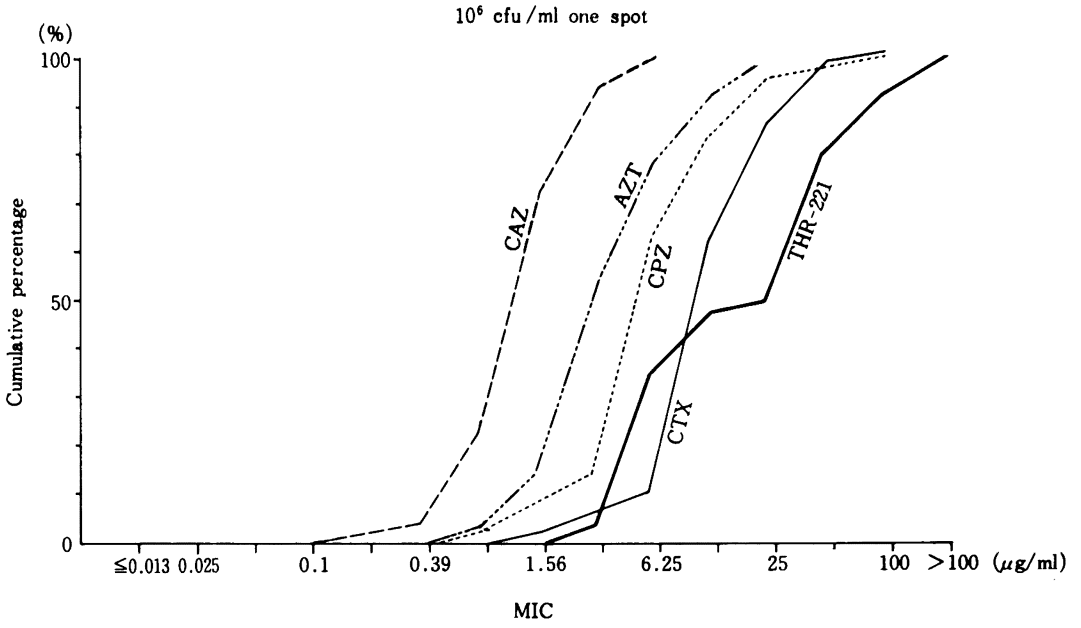


Fig. 17 Susceptibility distribution of 38 clinical isolates of *P. cepacia* to THR-221 and other cephalosporins

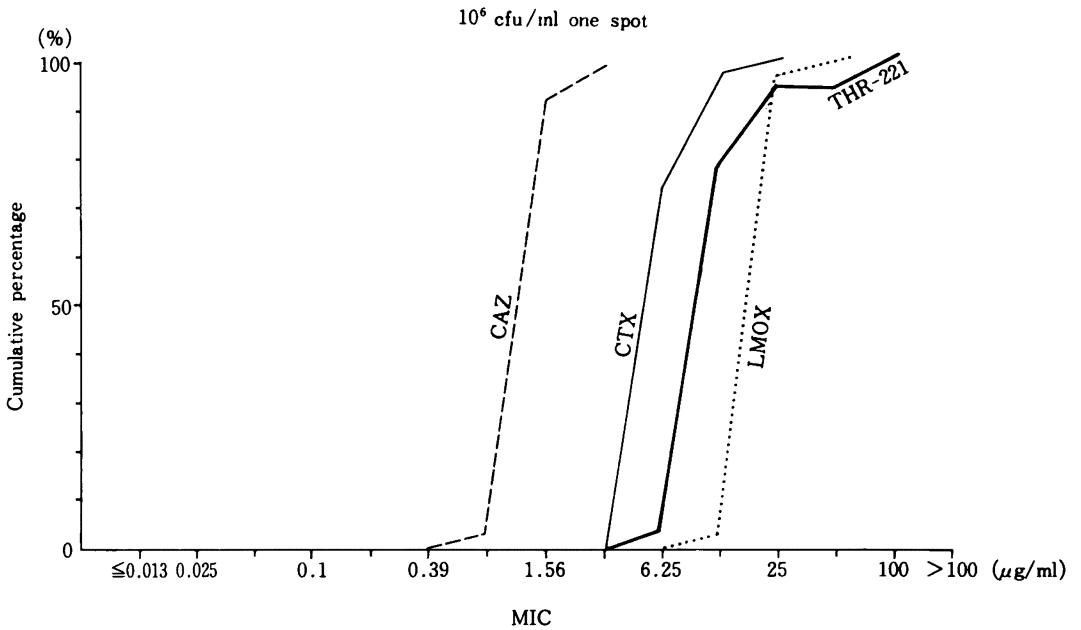


Fig. 18 Susceptibility distribution of 28 clinical isolates of *X. maltophilia* to THR-221 and other cephalosporins

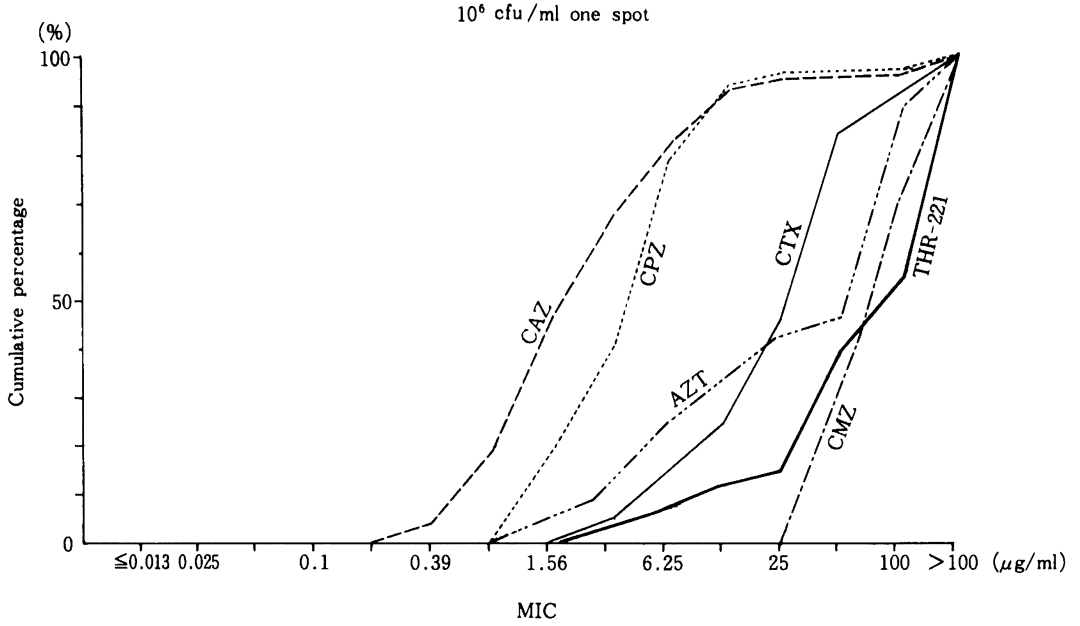


Fig. 19 Susceptibility distribution of 47 clinical isolates of *A. calcoaceticus* to THR-221 and other cephalosporins

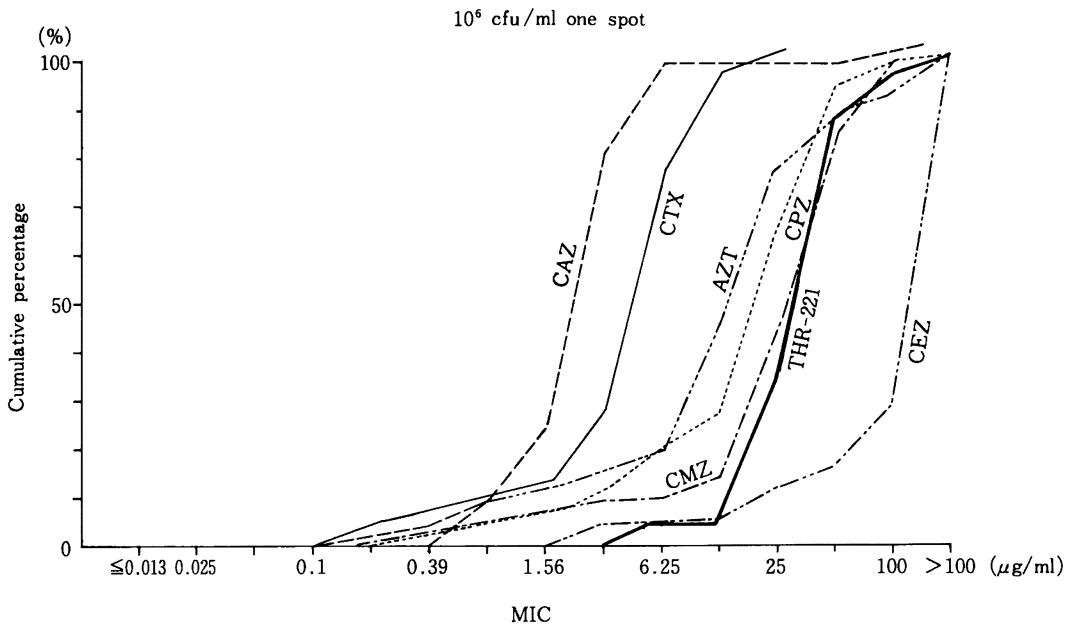


Fig. 20 Susceptibility distribution of 24 clinical isolates of ABPC-resistant *H. influenzae* to THR-221, ABPC and other cephalosporins

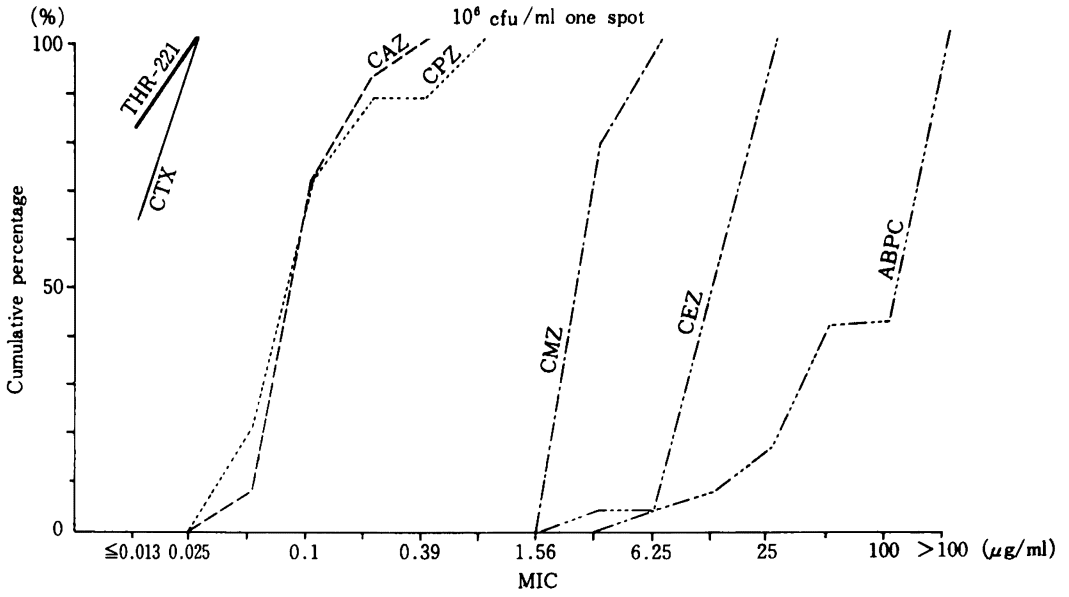


Fig. 21 Susceptibility distribution of 50 clinical isolates of *B. fragilis* to THR-221 and other cephalosporins

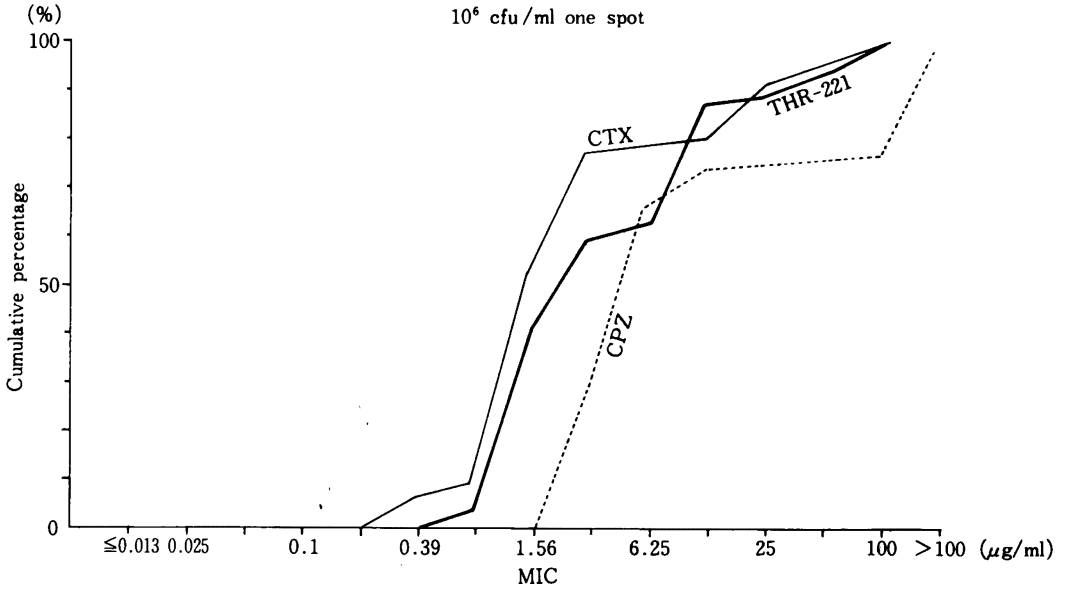


Fig. 22 Competition of THR-221 and CTX for penicillin binding proteins of *S. aureus* 209P

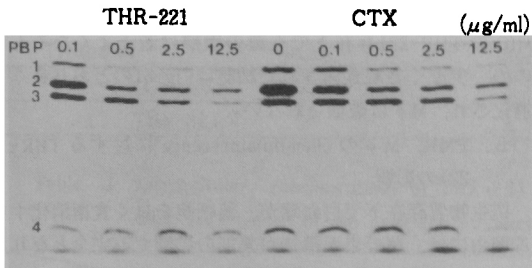


Fig. 25 Competition of THR-221 and CTX for penicillin binding proteins of *S. marcescens* 13

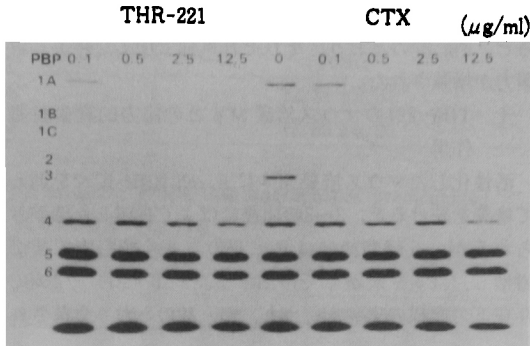


Fig. 23 Competition of THR-221 and CTX for penicillin binding proteins of *E. coli* NIHJ JC-2

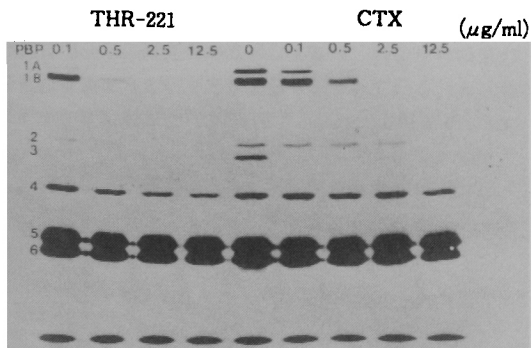


Fig. 26 Competition of THR-221 and CTX for penicillin binding proteins of *A. calcoaceticus* 5

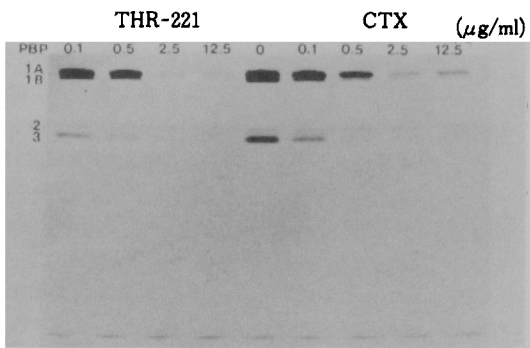


Fig. 24 Competition of THR-221 and CTX for penicillin binding proteins of *P. rettgeri* 21

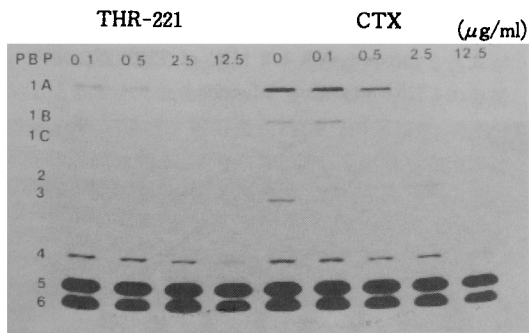
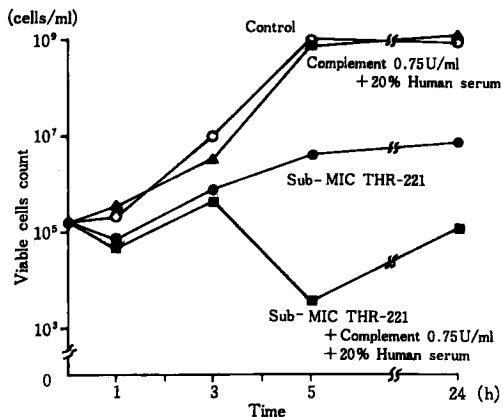


Fig. 27 Influence of sub-MIC THR-221 (0.16 μg/ml) on the bactericidal effect of serum complement (*E. coli* NIHJ JC-2)



3. THR-221と補体との協力的殺菌作用

E. coli NIHJ JC-2にその増殖に影響を与えない最高濃度のモルモット補体、すなわち0.75 units/mlと20%ヒト血清に、subMICのTHR-221 0.16 μ g/mlを共存させると、Fig.27のとおり、それぞれ単独で加えた時より殺菌力が増強された。

4. THR-221のマウス培養 M ϕ との協力的食菌殺菌作用

活性化したマウス培養 M ϕ に *E. coli* NIHJ JC-2を加えて培養を続けると、2~3時間後にはよく食菌した像がみられるが、5時間後には Fig.28のごとく細胞内で菌が増殖し、M ϕ を破壊して遊出する。THR-221 1/2 MIC存在下で同様の実験を行うと、Fig.29のとおり食菌され

た filament 状の菌細胞はよく消化され、M ϕ に食空胞を生ずるが細胞は正常な状態に止まる。薬剤濃度、1/4 MICにしてもまだ M ϕ の殺菌力が filament 状の菌の増殖力に勝り Fig.30のとおり M ϕ は破壊されない。1/8 MICのTHR-221存在下でも菌の増殖は若干よくなるものの、少なくとも食菌された細胞はFig.31のとおり良く消化され、M ϕ は破壊されない。

5. PMN, M ϕ の chemiluminescence に対する THR-221の影響

抗生物質存在下で白血球が、菌細胞を良く食菌消化する理由には、菌の表面構造が薬剤の影響で不完全となり、食菌後、容易に消化されることや、白血球中に薬剤が取り込まれ、薬剤と白血球の lysosome 中の殺菌物質が協

Fig. 28 Death of mouse macrophages phagocytizing normal cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown without drug, at 5 hours after infection

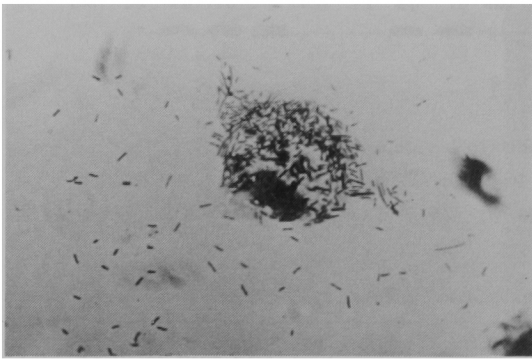


Fig. 29 Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown with 1/2 MIC of THR-221, at 5 hours after infection

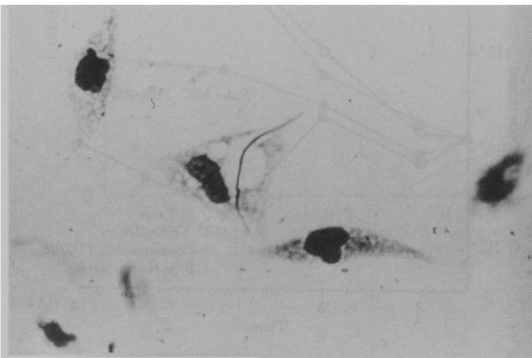


Fig. 30 Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown with 1/4 MIC of THR-221, at 5 hours after infection

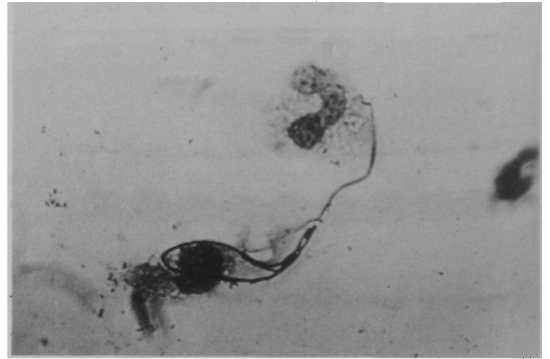


Fig. 31 Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown with 1/8 MIC of THR-221, at 5 hours after infection

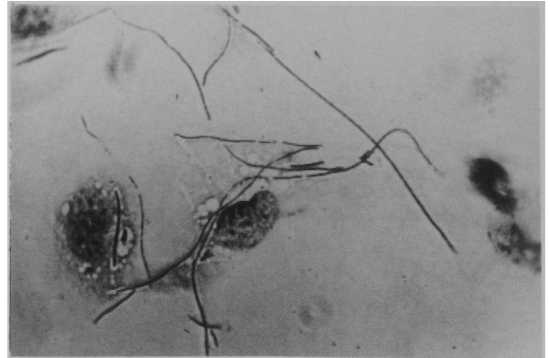


Table 1 Chemiluminescence activities of mouse normal peritoneal macrophages and stimulated PMNs derived from ICR male mice pretreated with THR-221

Treatment	Cell type	Chemiluminescence peak count (cpm)	
		Macrophages	PMNs
Control		2.31 ± 1.62	12.81 ± 3.31
THR-221		2.30 ± 1.58	12.96 ± 5.29

Table 2 Intracellular concentrations of THR-221 and CTX in mouse PMNs and macrophages preincubated with 100 µg/ml of the drug for 60 minutes at 37°C under 5% CO₂

Drug	Cell type	Intracellular concentration (µg/10 ⁷ cells)	
		PMNs	Macrophages
THR-221		0.123	0.306
CTX		0.06	0.019

力的に働く場合、さらに白血球自身の食菌殺菌能力が薬剤により促進される場合等、いろいろ考えられる。THR-221はHoechst研究所の成績によれば、白血球の殺菌力を直接促進するという実験成績も示されている。そこでICRマウスに屠殺24時間前12.5 mg/kg、6時間前に100 mg/kgのTHR-221を皮下注射して前処理した。対照として同様に、生理食塩水を皮下注射したマウスを作り、両群の動物の腹腔からPMNおよびMφを誘導した。白血球の殺菌力の指標としてTable 1のとおり、chemiluminescenceを比較したが、THR-221前処理群でも対照群でも、Mφ、PMNともに差を認めなかった。さらにsuperoxideの直接測定も行ったが、両群に差が無く、THR-221に白血球の食菌殺菌作用を直接的に促進する効果を確認することはできなかった。

6. THR-221のマウス白血球内への取り込み

抗生物質の白血球との協力的食菌作用の他の理由として、THR-221が他のcephemより白血球内の取り込みが高いことも考えられるので、マウスPMNとMφの薬剤取り込みをCTXと比較した。Table 2のとおり、THR-221はCTXに比較し、PMNで2倍以上、Mφで10倍以上の良好な取り込みがみられた。

Ⅲ. 考 察

THR-221は新しい注射用cephemで試験管内抗菌力は、CTXより若干劣るが、生体内効果は、CTXより高いとされる薬剤である。当教室で、各種臨床分離株に対する試験管内抗菌力を検討した結果は、グラム陽性菌に対しては、THR-221はCTXに劣ったが、グラム陰性強毒菌ではCTXと同等、グラム陰性弱毒菌では若干CTXに劣った。各種細菌のβ-lactam薬剤作用点、PBPに対する

親和性は、THR-221がCTXより若干優れているので、グラム陽性菌や弱毒菌で、THR-221がCTXより若干抗菌力が弱いのは、薬剤の作用点への到達が後者より若干少ないためであろう。

THR-221の良好な生体内効果を解析するために、補体との協力的殺菌作用および白血球との協力的食菌殺菌作用を検討したが、THR-221は、補体と相当程度の協力的殺菌作用を示し、マウス培養Mφは、1/8 MICのTHR-221共存下でもなお良く大腸菌細胞を食菌消化した。これら感染防御機構との協力は、他のcephemより強い。ちなみに、マウス培養Mφと協力的に大腸菌細胞を殺菌消化するためには、他のcephemでは、1/2~1/4 MIC以上の量を要することが多い。優れたTHR-221と白血球との協力作用の仕組みを明らかにするため、THR-221で前処理したマウスのMφおよびPMNの殺菌力を化学発光およびO₂⁻直接測定を行い、対照マウスのそれと比較したが、差を認めることはできなかった。すなわちTHR-221に白血球の殺菌作用を増強する性質があることは、確認できなかった。そこで、マウス腹腔から誘導したPMNおよびMφに100 µg/mlのTHR-221またはCTXを60分間接触させ、白血球を洗浄後、細胞内薬剤濃度を測定したところ、THR-221はCTXより良好な細胞内移行がみられた。THR-221と白血球との良好な食菌殺菌作用は、細胞内で、薬剤とlysosome顆粒の殺菌物質が協力するためであろう。THR-221は実験動物で、CTXより高いC_{max}、長いβ T_{1/2}を示すことも報告されているので、THR-221の良好な生体内効果は、優れた体内動態、良好な白血球内への移行等によるものであって、本剤が直接生体の感染防御機構を促進する可能性は少ないと考えられる。

文 献

- 1) JONES, R. N., BARRY, A. L., THORNSBERRY, C. & WILSON, H. W. : *In vitro* Antimicrobial Activity Evaluation of Cefodizime(HR 221), a New Semisynthetic Cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 20 : 760~768, 1981
- 2) LEYHAUSEN, G., SEIBERT, G., MAIDHOF, A. & MÜLLER, W. E. G. : Differential Stimulation of Lymphocyte Cell Growth *In vitro* by Cephalosporins. *Antimicro. Agents Chemother.* 26 : 752~756, 1984
- 3) 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。 *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 4) LENNOX, E. S. : Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. *Virology* 1 : 190~206, 1955
- 5) SPRATT, R. G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K 12. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 72 : 2999~3003, 1975
- 6) 横田 健, 関口玲子 : T-1982と血清, 補体および白血球の協力的殺菌作用。 *Chemotherapy* 30 : 20~28, 1982
- 7) NOZAWA, R. T. & T. YOKOTA : Inhibition by glucocorticoids and cholera toxin of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of newborn hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth). *Cell. Physiol.* 100 : 351~364, 1979

CEFODIZIME(THR-221), ITS *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY,
BINDING AFFINITY TO BACTERIAL PBPs, AND SYNERGY OF BACTERICIDAL
ACTIVITY WITH COMPLEMENT AND MOUSE CULTURED MACROPHAGES

TAKESHI YOKOTA, RYUSHI NOZAWA, EIKO SUZUKI and KYOKO ARAI
Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo

The activity of a new cephem antibiotic, cefodizime(THR-221) against Gram-positive bacteria was found to be somewhat superior to that of ceftazidime, but inferior to that of cefotaxime. This antibiotic manifested strong activity against particularly virulent Gram-negative bacteria, as does cefotaxime, although its activity against slightly virulent Gram-negative rods was a little weaker than those of cefotaxime and ceftazidime. THR-221 showed weak anti-pseudomonal activity and no activity against *Enterococcus* spp..

Since THR-221 showed a slightly stronger binding affinity to the PBPs of *E. coli*, *P. rettgeri* and *A. calcoaceticus*, its weaker activity against those bacteria than cefotaxime might be due to poorer penetration through the outer membrane.

THR-221 manifested moderate synergy of bactericidal effect with serum complement. Furthermore, mouse cultured macrophages engulfed well and rapidly digested cells of *E. coli* NIHJ JC-2 in the presence of higher than 1/8 MIC of this antibiotic. The synergy with macrophages was found to be better than that of other cephem antibiotics. The reason for the better synergy with leucocytes was confirmed by our finding that a higher amount of THR-221 was incorporated into macrophages and polymorphonuclear leucocytes of mice than with other cephem antibiotics, although no direct stimulation of the chemiluminescence of the leucocytes was confirmed in our laboratory.