

7432-S のヒト食細胞との協力殺菌作用および基礎的臨床的検討

斧 康雄・馬場ますみ・上田雄一郎・芳賀敏昭・安達悦子
 村岡 啓・野末則夫・西谷 肇・国井乙彦・宮下英夫
 帝京大学医学部第二内科*

7432-S は、新しいセフェム系の経口抗生物質である。本剤の食細胞機能に及ぼす影響、臨床分離株に対する抗菌力および臨床的效果について検討した。

1) 臨床分離の *Escherichia coli* (19 株), *Klebsiella pneumoniae* (20 株), *Pseudomonas aeruginosa* (15 株), *Staphylococcus aureus* (19 株) に対する 7432-S および cefaclor (CCL), amoxicillin (AMPC) の感受性を検討した。

E. coli や *K. pneumoniae* に対する 7432-S の抗菌力は、ほとんどが MIC 0.1 μ g/ml 以下であり、CCL や AMPC より優れていた。*P. aeruginosa* の大部分の株は、CCL や AMPC と同様に、7432-S に対しても高度耐性であった。*S. aureus* に対しては、本剤は感受性不良で、AMPC より劣り、CCL よりはやや劣った MIC であった。

2) *E. coli* NIHJ JC-2 株を 7432-S の Sub-MICs (1/2, 1/4, 1/8 MIC) で、37°C の恒温槽中で、3 時間振盪培養した場合、菌のフィラメント化がみられた。

3) 7432-S の 1/4 MIC で処理した *E. coli* NIHJ JC-2 株を用いた全血 chemiluminescence (CL) は、未処理菌に比較して 1.36 倍高値を示した (P<0.05)。

4) 7432-S で処理された細菌の CL ピーク時間は、未処理菌に比較して有意に短縮していた (P<0.05)。この結果は、この薬剤によって処理された細菌により、血清オプソニン活性が亢進することが推測される。

5) 7432-S 処理菌による好中球 CL は、未処理菌に比較して、1.31 倍高値を示した (P<0.05)。単球 CL も、有意ではないが、薬剤処理菌は未処理に比較して 1.18 倍高値を示した。

6) 臨床的には、尿路感染症 5 例、肺炎 2 例に、本剤 1 回 100 mg を、1 日 3 回、5~21 日間経口投与した。成績は、著効 3 例、有効 3 例、やや有効 1 例であった。副作用は認められず、2 例において臨床検査値異常が認められたが、本剤使用との因果関係は不明であった。検査値異常は、GOT、GPT の上昇 1 例、Hb の減少 1 例であり、両方ともに軽度な異常で、かつ一過性であった。

Key words : 7432-S, 食細胞, 化学発光, 協力殺菌作用

7432-S は、本邦の塩野義製薬研究所で開発された新規経口セフェム系抗生物質であり、その構造式を Fig. 1 に示した。本剤は、広範囲のグラム陰性菌に対して優れた抗菌力を有しているが、*Streptococcus pyogenes* などの一部の菌を除いては、グラム陽性球菌には感受性が低く *Pseudomonas aeruginosa* や嫌気性菌に対する抗菌力は弱いとされている¹⁾。本剤は、菌の産生する各種 β -ラクタマーゼに安定で、殺菌的に作用する。

今回、各種新鮮臨床分離株に対する本剤の感受性を調べるために、ceftiofur (CCL), amoxicillin (AMPC) の MIC と比較検討した。また、臨床上的有用性と安全性を評価するために、各種細菌感染症に対する臨床的検

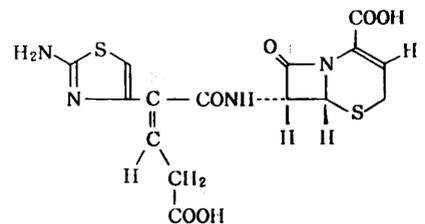


Fig. 1. Chemical structure of 7432-S.

討を行なった。さらに、本剤と宿主生体防御機構との協力的殺菌作用を検討するために、Sub-MIC で処理した *Escherichia coli* NIHJ JC-2 株を被検菌として、

*〒173 東京都板橋区加賀 2-11-1

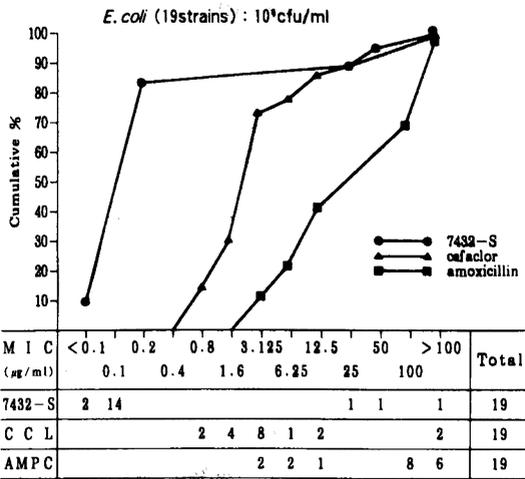


Fig. 2. Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* (19 strains) : 10^6 cfu/ml.

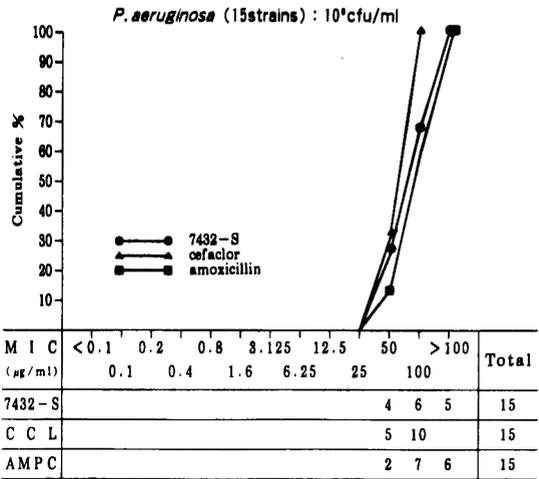


Fig. 4. Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* (15 strains) : 10^6 cfu/ml.

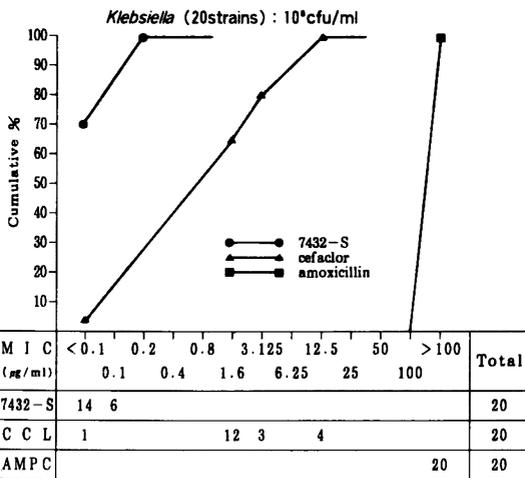


Fig. 3. Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella* (20 strains) : 10^6 cfu/ml.

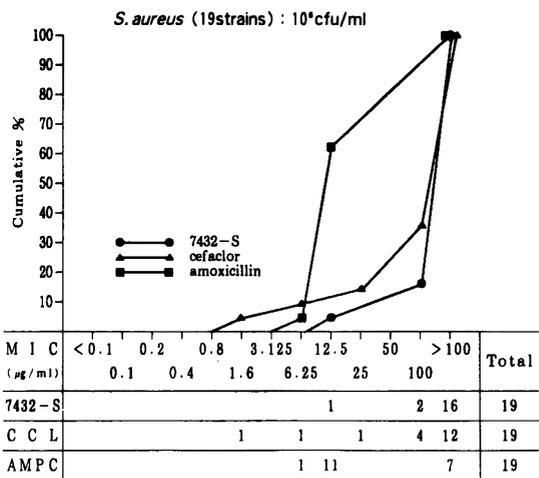


Fig. 5. Sensitivity distribution of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (19 strains) : 10^6 cfu/ml.

ヒト食細胞の貪食殺菌能を、化学発光 (chemiluminescence : CL) を測定することで評価した。

I. 感受性試験

〔方法〕

当院中央検査部細菌検査室にて、各種臨床材料より分離された *E. coli* 19 株, *Klebsiella pneumoniae* 20 株, *P. aeruginosa* 15 株, *Staphylococcus aureus* 19 株に対する本剤の感受性を、日本化学療法学会標準法に準じて測定し、CCL, AMPC の感受性と比較した。培地

は、heart infusion broth (HIB) を使用し、接種菌量は 10^6 cells/ml で行なった。

〔結果〕

E. coli 19 株に対する本剤の MIC は、ピークが $0.1 \mu\text{g/ml}$ であり、CCL より 5 段階、AMPC より 6 ~ 10 段階優れていた (Fig. 2)。

K. pneumoniae 20 株に対する本剤の MIC は、すべて $0.1 \mu\text{g/ml}$ かそれ以下であり、CCL よりは 5 段階程優れた抗菌力を示した。AMPC は、すべて $100 \mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性であった (Fig. 3)。

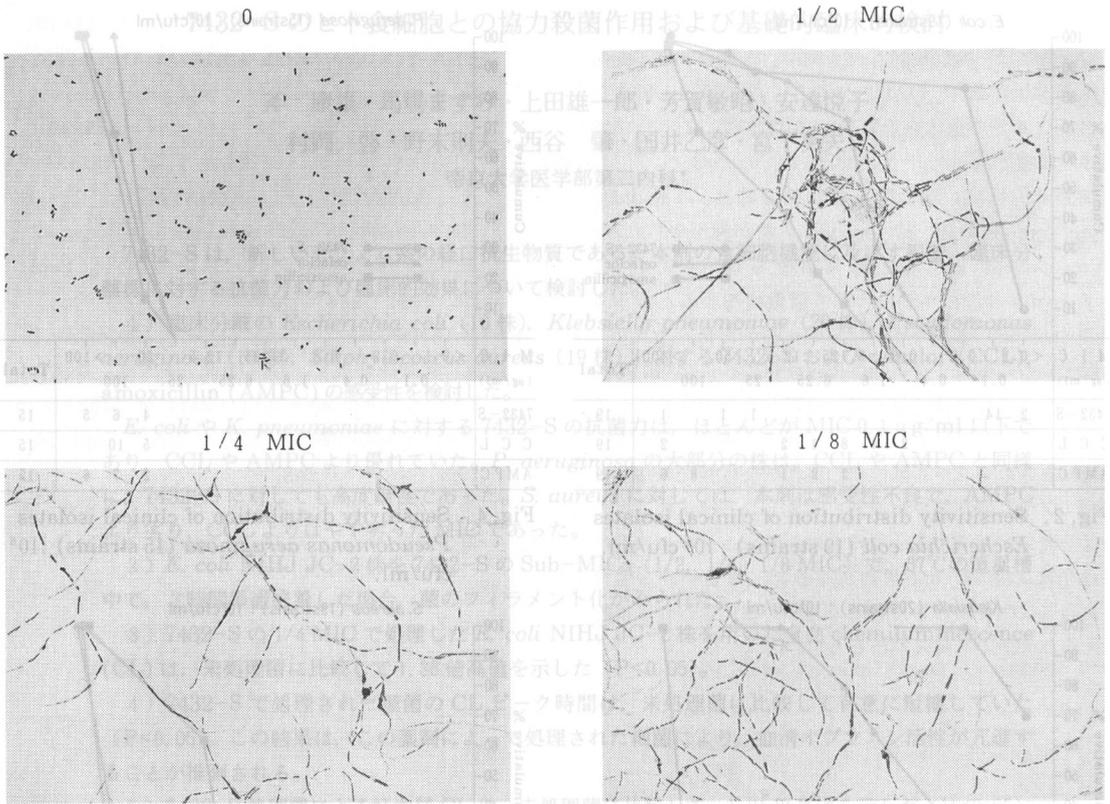


Fig. 6. Filamentous formation of *Escherichia coli* incubated with 7432-S. Bacteria : *Escherichia coli* NIHJ JC-2 (1×10^8 cells/ml) incubation time : 3 h in heart infusion broth.

P. aeruginosa 15 株に対する本剤の MIC は、50~100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、AMPC と同等で、CCL と比較して同等か一段階劣っていた (Fig. 4)。

S. aureus 19 株に対する本剤の MIC は、ほとんど 100 $\mu\text{g/ml}$ かそれ以上の耐性株で、CCL よりは 1~2 段階、AMPC よりは 4 段階劣った MIC を示した。(Fig. 5)。

II. 食細胞との協力的殺菌作用

[方法]

1. 食細胞の分離

健康成人より採血したヘパリン加 (10U/ml) 末梢血 8 ml を、4.5% デキストラン溶液と混合後、45 分間室温放置した上清を、Ficoll-paque 比重液の上に重層し、400G にて 30 分間遠心して分離好中球 (PMNs) を得、残存する赤血球を hypotonic lysis にて除去し、Dulbecco 改変 minimum essential medium (MEM :

日水) に浮遊させ、その 1×10^6 cells/ml を試料とした。

単球 (Mo) の分離は、上記のように Ficoll-paque にて遠心後の中間層より単核球 (単球+リンパ球) を分離し、MEM 中に浮遊させ、1000 rpm で 1 回遠心洗浄後、一部をスライドガラス上に塗布し、May-Giemsa 染色にて単球とリンパ球の比率を求め、単球として 5×10^5 cells/ml となるように 1 ml の MEM に再浮遊させた。この資料を 5% CO_2 存在下、37°C でビオルマートチューブ中で 2 時間培養し、同量の MEM で培地交換を行ない付着細胞を得、この付着単球 5×10^5 cells/ml を CL 測定の前試料とした。

2. 菌液の調整

HIB 中で 37°C、18 時間培養した *E. coli* NIHJ JC-2 株を遠沈にて集菌し、生理食塩水中に 1×10^8 cells/ml となるよう調整した。その 1×10^8 cells を 7432-S の sub-minimal inhibitory concentrations (sub-MICs : 1/2, 1/4, 1/8 MIC) の抗生物質存在下で、3

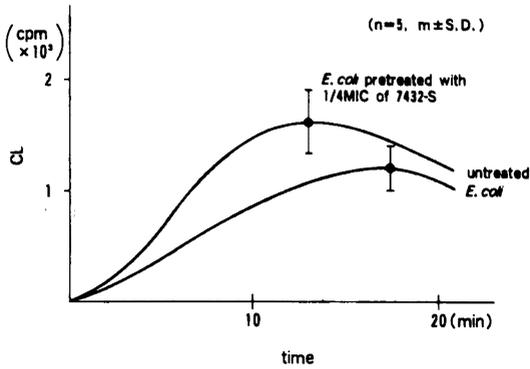


Fig. 7. Kinetics of whole blood chemiluminescence (CL) stimulated by *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

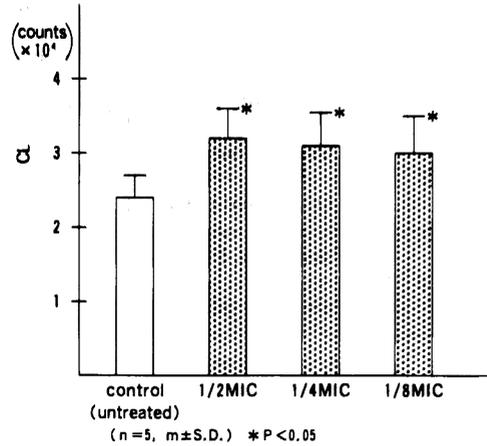


Fig. 8. Effect of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 pretreated with 7432-S (1/2, 1/4, 1/8 MIC) on whole blood chemiluminescence.

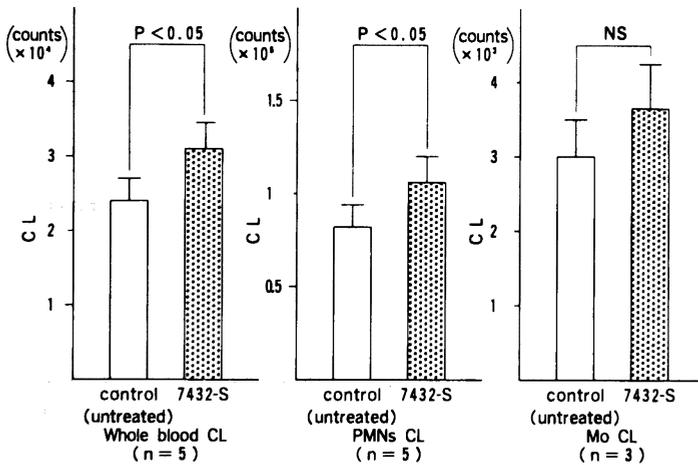


Fig. 9. Effects of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 pretreated with 7432-S (1/4 MIC) on chemiluminescence (CL) of phagocytic cells.

時間 HIB 中で振盪培養し、その沈渣を生理食塩水で 2 回洗浄後、それぞれ菌数を 1×10^9 cells/ml の濁度となるように分光光度計を用いて調整し、生理食塩水中に再浮遊させた。同様の条件で、抗生物質未処理菌についても菌数を 1×10^9 cells/ml に調整した。*E. coli* NIHJ JC-2 に対する本剤の MIC は $0.2 \mu\text{g/ml}$ (1×10^8 cells 接種) であった。

Sub-MICs 処理菌の形態変化は、上記のような条件で処理した *E. coli* NIHJ JC-2 株を、グラム染色施行

後に光学顕微鏡にて観察した。

3. 食細胞の化学発光 (CL) の測定

全血 CL の測定は、ヘパリン加採血した全血を MEM で 10 倍希釈したものを試料とした (全血 $0.1 \text{ ml} + \text{MEM } 0.9 \text{ ml}$)。10 倍希釈した全血 1 ml に、ルミノール $20 \mu\text{l}$ を加え、 37°C で 10 分間保温後、*E. coli* NIHJ JC-2 株 1×10^8 cells ($100 \mu\text{l}$) を刺激物として 20 分間の CL を測定し、薬剤処理菌の CL と比較した。成績は、20 分間の CL の総 counts 数である total CL および

Table 1. Result of clinical trial with 7432-S

Case No.	Age	Sex	Disease Underlying disease	Treatment		Isolated organisms before ↓ after	Effect		Adverse effects
				Dose (mg/day)	Duration (days)		Clinical	Bacteriological	
1	28	F	Acute pyelonephritis Duplicated pelvis	300	6	<i>E. coli</i> ↓ (-)	Excellent	Eradicated	(-)
2	50	F	Pneumonia, Pleuritis Pulmonary infarction	300	6	(-) ↓ (-)	Good	Unevaluable	(-)
3	25	F	Acute pyelonephritis	300	11	<i>S. epidermidis</i> 1×10 ⁹ /ml <i>Lactobacillus</i> 1.1×10 ⁹ /ml ↓ <i>S. epidermidis</i> 20/ml <i>Lactobacillus</i> 4.9×10 ⁹ /ml	Excellent	Unchanged	(-)
4	47	F	Chronic pyelonephritis Behçet's disease	300	10	<i>Lactobacillus</i> 1×10 ⁹ /ml ↓ <i>S. epidermidis</i> 1.7×10 ⁹ /ml <i>Lactobacillus</i> 9.8×10 ⁹ /ml	Fair	Replaced	Hb 10.2 ↓ 9.2
5	55	M	UTI Urinary stone	300	6	<i>S. epidermidis</i> 30/ml ↓ <i>S. epidermidis</i> 3.8×10 ⁹ /ml <i>E. faecalis</i> 1.4×10 ⁹ /ml	Good	Replaced	(-)
6	71	F	Pneumonia Bronchiectasis	300	21	<i>H. influenzae</i> # <i>K. oxytoca</i> + ↓ (-)	Good	Eradicated	GOT ↑ GPT ↑
7	33	M	Acute cystitis Uricemia	300	5	<i>E. coli</i> ↓ (-)	Excellent	Eradicated	(-)

• No. 3 ABPC : poor

• No. 4 NFLX : poor

ピーク値までの時間（ピーク時間）で評価した。

PMNs CL 及び MoCL の測定は、PMNs 1 × 10⁶ cells/ml, Mo 5 × 10⁵ cells/ml にそれぞれ AB 型プール血清 1% 濃度 (10 μl) と、ルミノール 20 μl を加え 37 °C で 10 分間保温後、*E. coli* NIHJ JC-2 株 2 × 10⁷ cells (20 μl) を刺激物として 20 分間の CL を測定した。

〔結果〕

1. 光学顕微鏡による形態変化の観察

7432-S を 1/2, 1/4, 1/8 MIC の低濃度で *E. coli* NIHJ JC-2 株に 3 時間作用させると、菌体は未処理菌に比較して細長くフィラメント状に形態変化をおこした (Fig. 6)。

2. 薬剤処理菌の全血 CL に及ぼす影響

7432-S の 1/4 MIC で 3 時間処理した *E. coli* NIHJ JC-2 株と、薬剤未処理菌を用いた場合の全血 CL 活性の比較を行なった (Fig. 7)。7432-S 処理菌は、未処

理菌に比較して約 1.36 倍程有意に全血 CL を増強させた (P < 0.05)。ピーク時間を比較すると、薬剤未処理菌では、ピーク時間 17.6 ± 1.8 分に対し、処理菌は 13.2 ± 0.95 分であり、有意にピーク時間の短縮が認められた (P < 0.05)。薬剤処理濃度を 1/2, 1/4, 1/8 MIC と変えた場合でもほぼ同様の効果が認められ、薬剤処理菌を用いた場合は有意に CL の増強とピーク時間の短縮を認めた (P < 0.05) (Fig. 8)。

3. 薬剤処理菌の PMNs-CL, Mo-CL に及ぼす影響

Fig. 9 に 7432-S の 1/4 MIC で処理した *E. coli* NIHJ JC-2 株の全血 CL, PMNs-CL, Mo-CL に及ぼす効果を示した。全血 CL と同様に、PMNs-CL においても薬剤処理菌は、未処理菌と比較して約 1.31 倍 CL を増強させた (P < 0.05)。

Mo-CL においても、有意ではないが薬剤処理菌を用いると CL 活性が高まる傾向が認められ、その程度は

Table 2. Laboratory findings before and after treatment with 7432-S

Case B/A	RBC ($\times 10^4$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Plts ($\times 10^4$)	WBC (/mm ³)	Eosino (%)	GOT (U)	GPT (U)	AlP (IU)	BUN (mg/dl)	Cre (mg/dl)	CRP	ESR (mm/hr)
1	389	10.7	31.1	31.5	7100	0	7	5	202	13.1	0.6	12.8	37
	405	10.6	32.4	43.7	4500	1	1	6	174	13.2	0.5		65
2	389	11.9	34.8	27.4	5700	1	16	8	154	27.2	0.6	5.0	57
	419	11.3	37.2	29.4	4800	5	15	8	154	16.8	0.6	0.25>	17
3	433	13.0	38.9	20.6	11600	0	14	6	122	8.4	0.9	10.8	25
	421	12.4	37.1	48.6	6600	2	11	8	135	13.4	0.7	0.27	20
4	378	10.2	32.4	34.7	8100	3	12	9	150	13.1	0.7	0.53	22
	332	9.2	28.6	27.4	12400	1	19	14	177	19.9	0.6	9.31	33
5	465	14.9	43.4	29.0	14100	0	11	11	168	20.0	1.3	2.4	41
	449	14.0	42.3	22.6	7000	2	10	13	144	16.3	0.9	0.25>	14
6	464	12.5	38.9	29.7	5900	4	21	13	125	15.1	0.7	1.83	58
	486	13.3	41.4	19.7	5600	4	34	22	131	14.6	0.6	0.25>	14
7	516	15.2	46.7	27.7	4800	1	20	23	125	13.7	0.9	0.25	3
	464	14.0	41.9	24.6	4900	2	20	23	116	18.2	0.9	0.25>	4

B/A : before/after

* The values of Hb(No. 2), GOT, GPT(No. 6) were improved after this treatment

約 1.18 倍であった。

以上の結果より、7432-S の sub-MICs で *E. coli* NIHJ JC-2 株を処理することにより、好中球や単球などの食細胞の食作用に付随する活性酸素放出能が亢進することが示された。

Ⅲ. 臨床的検討

1. 対象および方法

本剤を当院外来通院および入院中の細菌感染症患者 7 例 (男性 2 例, 女性 5 例, 年齢 25 歳~71 歳, 平均 44.1 歳) に使用した。尿路感染症 5 例の内訳は、急性腎盂腎炎 2 例, 急性膀胱炎 1 例, 慢性腎盂腎炎 1 例, 尿管結石に伴う尿路感染症 1 例であり、呼吸器感染症では、肺炎 2 例に本剤を使用した。投与方法は、1 日 300 mg を、分 3 で 5 日~21 日間経口投与した。

2. 成績

臨床的効果を Table 1 に示した。成績は、著効 3 例, 有効 3 例, やや有効 1 例であった。

細菌学的効果については、3 症例で起炎菌と考えられる細菌が分離された。症例 1 の急性腎盂腎炎では、起炎菌と考えられる *E. coli* は消失、症例 6 の気管支拡張症に合併した肺炎例では、喀痰中の *Haemophilus influenzae* (#), *Klebsiella oxytoca* (+) は消失、症例 7 の急性膀胱炎では、尿中 *E. coli* は消失した。症例 4,

5 では、本剤使用後に *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* など分離されたが、菌量も極少量であり、病原性は考え難く本剤投与中止後も再発はみられなかった。

3. 副作用

本剤投与によると考えられる自・他覚的な副作用は見られなかった。本剤投与前後の臨床検査成績を Table 2 に示した。症例 4 において、投与後軽度の貧血 (Hb 10.2→9.2 g/dl) を認めたが一過性であり、本剤中止後ほぼ前値に復した。本症例では、他にも消炎鎮痛剤などを服用しており、本剤服用との因果関係は不明である。症例 6 において、一過性の GOT, GPT の軽度上昇を認めたが、服用中止後前値に改善している。本症例は、以前より肝機能障害を有しており、本剤の使用と関係ないかもしれない。

Ⅳ. 考 案

7432-S は、*E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *H. influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* などのグラム陰性菌に対して、極めて強い抗菌力を有し、*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Branhamella catarrhalis*, *S. pyogenes* にも強い抗菌力を有しているが、*S. aureus*, *Enterococcus* には無効であり、*P. aeruginosa* や嫌気性菌にも抗菌力が弱いと報告されている¹⁾。本剤の臨床

分離株に対する抗菌力を、CCL, AMPCと比較した我々の成績においても、*E. coli*, *K. pneumoniae*に対する抗菌力は、CCLより5段階、AMPCよりはそれ以上の優れた抗菌力を示し、*E. coli*の一部には耐性菌はあるものの、ほとんどが0.1 µg/mlかそれ以上の優れた抗菌力を有していた。一方、*P. aeruginosa*に対しては本剤は無効で、*S. aureus*に対してはCCLより1~2段階、AMPCよりは4段階劣り、感受性不良であった。

本剤の体内動態に関しては、健康成人に本剤100 mgを空腹時1回経口投与した時の平均Cmaxは4.1 µg/mlであり、T_{1/2}は1.8時間とされている。

尿中回収率は、投与後24時間まで投与量の約70%であり、血漿中と尿中に数%の代謝物(7432-S-trans)が認められている¹⁾。

7432-Sは、各種のβ-ラクタマーゼに安定で殺菌作用が強い。ペニシリン結合タンパク(PBP)に対する親和性は、PBP-3(菌の隔壁形成に関与するタンパク)に強い親和性を有するため¹⁾、*E. coli* NIHJ JC-2に本剤の低濃度(1/2, 1/4, 1/8 MIC)を作用させると、菌体のフィラメント化がみられた。今回、食細胞と本剤の協力的殺菌作用を調べる目的で、本剤の1/4 MICで3時間処理した*E. coli* NIHJ JC-2株を用いて、食細胞の化学発光(CL)について検討し、薬剤未処理菌のCLと比較した。その結果、本剤のsub-MIC(1/4 MIC)で処理された*E. coli* NIHJ JC-2株は、未処理菌に比較して有意に全血CL, PMNs-CLを増強させ、Mo-CLも増強傾向を示した。このことは、本剤のsub-MICで処理された細菌は、食作用に付随する活性酸素放出能を高め、好中球や単球によりよく食殺菌されやすくなることを示している。

また、全血CLにおいて、オプソニン活性の示標となるピーク値に至るまでの時間(ピーク時間)が、薬剤処理菌で有意に短縮していることより、同時に血清オプソニン活性も高まることが推測された。我々も、薬剤処理によりフィラメント化した細菌がよりよく血清補体を消

費することを観察しており、このように低濃度の抗生物質により菌体に何らかの形態的变化をおこした細菌は、食細胞や補体などの協力作用により、効率よく食殺菌されやすくなるものと思われる^{2,3)}。横田らも、本剤と血清補体との協力殺菌作用およびマウス培養Mφとの協力的食菌殺菌作用について検討し、マウスMφは、7432-S 1/4 MIC存在下で、*E. coli* NIHJ JC-2のフィラメント化した細胞をよく食菌消化し、本剤が生体感染防御機構と良好な協力作用を有することを報告している⁴⁾。

以上より、本剤はグラム陰性菌に対する強い抗菌力と、良好な体内動態を示し、また食細胞・補体などの生体防御機構とも良い協力殺菌作用を示す薬剤であり、尿路感染症5例、肺炎2例に使用した我々の臨床的検討においても、7症例中6症例に有効以上の成績を得、副作用の発現も少ないことより、本剤は臨床的に十分期待できる新抗生物質であると考えられる。

文 献

- 1) 第35回日本化学療法学会 西日本支部総会、新薬シンポジウム、7432-S。鹿児島、1987
- 2) GEMMELL, C. G., et al : Potentiation of opsonization and phagocytosis of *Streptococcus pyogenes* following growth in the presence of clindamycin. *J. Clin. Invest.* 67 : 1249~1256, 1981
- 3) ONO, Y., et al : Effects of THR-221 on the function of human phagocytic cells in healthy and immunocompromised hosts. 27th ICAAC, Abstract, 1987 (New York)
- 4) 横田 健, 鈴木映子, 新井京子 : 7432-Sの試験管内抗菌力、作用点、PBPに対する結合親和性、および血清補体またはマウス培養Mφとの協力的殺菌作用。第35回日本化学療法学会 西日本支部総会、新薬シンポジウム、7432-S抄録集 : 19, 1987

EFFECT OF 7432-S ON PHAGOCYtic CELL FUNCTION

YASUO ONO, MASUMI BABA, YUICHIRO UEDA, TOSHIKI HAGA,
ETUKO ADACHI, AKIRA MURAOKA, NORIO NOZUE, HAJIME NISHIYA,
OTOHIKO KUNII and HIDEO MIYASHITA
Second Dept. of Internal Medicine, Teikyo University School of Medicine
2-11-1, Kaga, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan

7432-S is a new cephem antibiotic for oral use. We examined its effect on phagocytic cell function, its antibiotic action against clinically isolated strains and clinical efficacy.

1) The sensitivity of 7432-S, cefaclor (CCL), and amoxicillin (AMPC) against clinically isolated *Escherichia coli* (19 strains), *Klebsiella pneumoniae* (20), *Pseudomonas aeruginosa* (15) and *Staphylococcus aureus* (19) was examined. Against *E. coli* and *K. pneumoniae*, most MICs of 7432-S were less than 0.1 μ g/ml, which were superior to those of CCL and AMPC. Most strains of *P. aeruginosa* were highly resistant to 7432-S as well as CCL and AMPC. Against *S. aureus*, 7432-S was inactive, inferior to AMPC and slightly inferior to CCL.

2) After 3 h of exposure to subinhibitory concentrations (1/2, 1/4, 1/8 MIC) of 7432-S in a shaking water bath at 37°C, *E. coli* NIHJ JC-2 showed filamentous formation.

3) A whole blood chemiluminescence (CL) test of *E. coli* NIHJ JC-2 treated with sub-MIC (1/4 MIC) of 7432-S revealed a value 1.36 times higher than that of bacteria untreated with the drug ($p < 0.05$).

4) The CL peak time of 7432-S treated bacteria was significantly short ($p < 0.05$) as compared with that of the untreated control. This result suggests that serum opsonic activity is increased in bacteria pretreated with this drug.

5) Polymorphonuclear leukocytes (PMNs)-CL responses by drug treated bacteria were induced 1.31 times higher than those by control ($p < 0.05$). Monocytes (Mo)-CL responses by drug treated bacteria also showed 1.18 times higher activities, but not significant.

6) Clinically 7432-S was given orally to 5 patients with urinary tract infection and 2 with pneumonia, at a dose of 100 mg three times a day for 5-21 days. The results were markedly effective in 3 cases, effective in 3 and slightly effective in 1 case.

No side effects were observed, but in 2 cases some laboratory abnormalities were detected which had no clear causal relationship with drug administration. One was a rise in GOT, GPT values and another was a decrease in Hb. Both were, however, mild and temporary.