

## 第 37 回日本化学療法学会総会

会期：平成元年 5 月 18 日，19 日

会場：京王プラザホテル

会長：紺野昌俊（帝京大学医学部臨床病理 教授）

## 一 般 演 題

198 制癌剤感受性試験（clonogenic assay）  
による術後補助化学療法の妥当性の検討

久保田哲朗・井上 聡・葛岡真彦  
有沢 淑人・首藤昭彦・如水和也  
藤 田 伸・山本貴章・小平 進  
石引 久弥・阿部令彦

慶應義塾大学医学部外科学教室

山田好則・浅沼史樹・河村栄二  
北里研究所病院外科

臨床手術材料を対象として Human Tumor Clonogenic Assay (HTCA) を行い、当該薬剤が患者の術後生存に寄与しえたか否かを検討した。

1981 年より 1987 年まで、慶應義塾大学医学部外科学教室および北里研究所病院外科で手術施行された胃癌 95 例、大腸癌 62 例、肺癌 27 例を中心とする総計 224 例を対象とした。新鮮手術材料を無菌的に採取し、酵素的に単離したのち、mitomycin C (MMC) 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、adriamycin (ADM) 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、cisplatin (DDP) 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の各剤と 1 時間接触し、Salmon & Hamburger 法に準じて二重寒天培地でコロニーの形成を観察した。5-FU は 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、2～3 週間の持続接触とした。培養は 2～3 週間行い、対照群に比して 50% 以上のコロニー抑制がみられた場合を感受性ありと判定した。治癒手術例が補助化学療法が感受性ありと判定された群を適応群、なしと判定された群を非適応群とし、両群の生存率を Kaplan-Meier 法により算出し logrank 法により比較検討した。

224 例中 127 例 56.7% で判定可能であり、全症例における各薬剤の有効率は MMC 23.1%、5-FU 45.8%、ADM 19.5%、DDP 12.0% であった。非治癒手術における臨床抗腫瘍効果の予見性は、sensitivity 5/5, specificity 8/16, accuracy 72.4% であった。治癒手術例の適応群と非適応群の背景因子（性・年齢・stage・臓器）のあいだには有意の差はみられなかった。用いられた補助化学療法適応群（n=14）の 5 年生存率は 73.8%、非適応群（n=13）のそれは

30.8% であり、適応群の生存率は非適応群の倍以上であった。両群のあいだには logrank test で推計学的に有意な差（ $p < 0.05$ ）が認められた。Human tumor clonogenic assay により治癒手術後の補助化学療法を選択することは患者の生存率延長に有用な方法と考えられた。

199 MTT を用いた SDI 法の基礎的臨床的  
検討

首藤昭彦・久保田哲朗・下山 豊  
井上 聡・葛岡 真彦・有沢淑人  
石引久弥・阿部 令彦

慶應義塾大学医学部外科学教室

ヌードマウス可移植性ヒト癌株 10 株および臨床手術材料 60 例を用いて抗癌剤感受性試験（MTT assay）を行った。使用薬剤は、mitomycin C, 5-fluorouracil, adriamycin, cisplatin の 4 種類で、接触時間はすべて 48 時間、接触濃度はそれぞれ 10, 50, 10, 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  とした。薬剤接触後、0.5% の MTT 試薬を 10  $\mu\text{l}/\text{ml}$  加え、4 時間反応させ、産生した formazan 塩の発色を比光度計によって測定した。対照群の 50% 以下の発色を示すもの感受性陽性とした。ヌードマウスには各種抗癌剤の最大耐量を投与し、腫瘍の T/C 比 42% 以下を有効とした。本 assay による薬剤濃度は人体内最大薬剤濃度の 10～70 倍に相当するもの、ヌードマウスにおける感受性の予測率は 86.7% と高値であり、すでに報告されている HTCA による予測率とほぼ同率であった。すなわち、48 時間という短期の接触時間による MTT assay においては高濃度の薬剤の接触が必要であることが示唆された。臨床手術材料 60 例に対する検討では、特に胃癌に対する 5-FU の感受性の低さが著しく、time dependant な薬剤における本 assay の、薬剤濃度の再検討が必要と考えられた。臨床効果予測率は true negative 5, false positive 1 case で、accuracy rate は 86.7% であった。

## 200 細胞内 ara-C の濃度の維持の増強

神谷健一・高柳智代美・田中 経雄  
吉村輝夫・佐々木欣也・津谷 寛  
和野雅治・上田 孝典・内田三千彦  
中村 徹

福井医科大学第1内科

Cytosine arabinoside (以下 ara-C) は、代表的代謝拮抗剤の一つで、今日白血病の治療に広く用いられている。ara-C の抗腫瘍効果は細胞内に取り込まれリン酸化され ara-CTP となり DNA polymerase を阻害することや DNA 鎖に組み込まれ DNA 複製の障害をひきおこすことによっており細胞内 ara-CTP の貯留に依存している。今回我々は細胞内 ara-C と ara-CTP の貯留形式について観察しその維持の方法について検討した。

方法：RPMI-1640 培地に継代培養した人白血病細胞株 HL-60 を  $1 \times 10^7$ /ml に無血清培地 HB-101 に調整した。 $^3\text{H}$ -ara-C を  $20 \mu\text{M}$  となるように加え  $37^\circ\text{C}$ 、60 分間孵置した後細胞を洗浄し新たに HB-101 培地に再浮遊し、経時的 (0, 15, 30, 60, 90, 120, 180 分後) に細胞をシリコンオイル法にて採集した。その酸可溶性分画を PEI-cellulose および Cellulose TLC を用いて ara-C および ara-CTP を分離しその放射活性を測定し定量した。

結果：①細胞内貯留。細胞内に取り込まれた ara-C は再浮遊後比較的緩徐に減少するがそれは細胞内 ara-CTP の速度とほぼ一致していた。細胞内の ara-CTP 貯留は再浮遊後 3 時間で 45% 程度に減少した。② ara-C の貯留の増強。前処理の濃度の 5% 濃度の ara-C を細胞外に維持すると細胞内貯留は明らかに増強され対照比 124% (3 時間後) であった。この際細胞内濃度は  $19 \mu\text{M}$  で細胞外濃度  $1 \mu\text{M}$  をはるかに上回っていた。

考案：細胞内に取り込まれた ara-C は ara-CTP として比較的長く細胞内に貯留し ara-CTP の分解速度は極めて緩徐であるため細胞外に前処理の 5% 濃度を維持すると細胞外液よりもはるかに高い細胞内濃度が維持される。したがって ara-C の投与の際には投与後も ara-C を維持してゆくことが抗腫瘍効果の増強になると期待された。(厚生省がん研究助成金の援助を受けた)

## 201 脂溶性抗腫瘍薬 behenoyl ara-C (BHAC) の血球間分布

高柳智代美・神谷 健一・上田孝典  
福島 俊洋・岩崎 博道・吉村輝夫  
津谷 寛・内田三千彦・中村 徹

福井医科大学第一内科

目的：脂溶性抗腫瘍薬投与時の薬効動態を検討し、合理的投与法を考案するため、BHAC をモデルとして全血内における薬剤の血漿血球間分布およびその移動を検討した。

方法：BHAC- $^{14}\text{C}$  と incubate した白血病症例または正常人の全血を dextran 法により血漿、赤血球、白血球に分離し、各分画の薬剤分布を放射活性により測定した。さらに血球を新鮮血漿に浮遊させた場合の薬剤の放出を観察した。

結果：末梢血に BHAC を加えて incubate した場合、血漿、白血球、赤血球の薬剤濃度はそれぞれ  $13.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $12.1 \mu\text{g}/10^9 \text{ cells}$ 、 $2.7 \mu\text{g}/10^{10} \text{ cells}$  で、赤血球内薬剤濃度は低い。しかし、全血中の赤血球量が白血球量よりはるかに多いため薬剤分布はそれぞれ、74%、2%、21% と赤血球内に多い。全血中の赤血球数と薬剤含量の間に相関が得られ、貧血のある白血病症例に輸血を行った場合、BHAC 血中濃度が一層高濃度に維持された。

BHAC を取り込ませた赤血球、白血球を新鮮血漿中に浮遊させると、赤血球、白血球中薬剤含量は徐々に低下し、それにほぼ見合う血漿中薬剤含量の上昇が見られた。血漿中と血球内の薬剤濃度で比較すると、いったん血球に取り込まれた薬剤の一部は放出されるが、残存薬剤量も多く、血球内濃度は血漿濃度まで低下し難い。白血球内薬剤濃度は赤血球内薬剤濃度より一層高値を持続した。

結論：静注した BHAC は血漿中より血球内に急速に取り込まれ、血漿中濃度が低下すると徐々に放出されて血漿中薬剤濃度の維持に役立つ。赤血球は全血に占める割合が大きいので特にこの作用が強い。BHAC が特に白血球に高い親和性を示すことは本薬が白血球に効率よく集積し、白血病の治療薬として効果的に作用することが推論される。(厚生省がん研究助成金の援助を受けた)

## 202 新しい anthracycline 系抗癌剤の抗腫瘍活性とその細胞内動態

堀地直也・豊後雅巳・中川 和彦  
 湊 浩一・新美茂樹・藤原 康弘  
 福田正明・田村友秀・佐々木康綱  
 新海 哲・江口研二・西條 長宏

HAIM TAPIERO

国立がんセンター研究所薬効試験部  
 同病院 内科

Institute de Cancerologie et d'Immunogenetique

目的：Anthracycline 系抗癌剤に関して、adriamycin (ADM) とその誘導体 ME 2303 とその代謝物 (M1) の抗腫瘍活性とその細胞内動態に関して比較検討したので報告する。

方法：ヒト白血病細胞株 K 562 とその adriamycin 耐性株 K 562/ADM (癌研 鶴尾博士より供与) を用い、前記薬剤に対する殺細胞能、細胞内濃度、DNA の single-strand breaks (SSBS) を各々 growth inhibition assay, HPLC, alkaline elution にて測定した。

結果：K 562 に対する ME 2303, M1 の 30 分接触時の  $IC_{50}$  は、それぞれ 4.1, 1.2  $\mu$ M であり、K 562/ADM に対しては 33, 9.1  $\mu$ M であった。また K 562/ADM に対しては両薬剤とも時間依存性殺細胞能を示したが、K 562 に対しては ME 2303 のみが時間依存性を示した。ME 2303 3.5  $\mu$ M 処置の場合 ME 2303, M1 の細胞内濃度は 30 分接触時 K 562 で 32, 26, K 562/ADM で 20, 30 picomoles/ $10^6$  cells であったが 120 分接触時にはそれぞれ 43, 97 と 21, 85 picomoles/ $10^6$  cells であった。K 562 における SSBS は ADM と比較して ME 2303 は同程度、M1 ではより多く形成された。一方 K 562/ADM における SSBS は ADM と比較して両薬剤共により多く形成されたが、やはり M1 のほうがより多く形成された。また K 562 における SSBS の形成は殺細胞能と同様に ME 2303 のみ時間依存性を示した。

考察：ADM, ME 2303 と比較して M1 は細胞内への取り込みが早く、SSBS も早く形成されることが示された。

## 203 新アンスラサイクリン系薬剤 ME 2303 の生体内動態について

藤田 浩・岡本公彰・高尾亜由子

鶴見大学歯学部細菌

ME 2303 はアグリコンと糖の結合を強固にするため、アドリアマイシンの糖の 2' 位にフッ素を、3' 位に OH を導入し、水溶性とするためアグリコンの 14 位にピメリン酸を結合させたものである。本剤の急性毒性はアドリアマイシンの 7~10 倍低毒性で、心毒性も低い。マウス腫瘍 L-1210, P-388, ルイス肺癌, コロン 26, B-16 メラノーマなどに高い抗腫瘍効果を有する。我々は本剤をウサギと担癌マウスに静注し、血中、組織中、尿中、胆汁中の未変化体と代謝物の濃度を HPLC 法で測定した。

結果：本剤投与後、未変化体は急速に減少するが、14 位のピメリン酸の外れた代謝物 M-1 と、その 13-OH 体 M-2 が数時間血中、組織中に留まり、抗腫瘍性に関与すると考えられる。

ウサギに ME 2303 を 20 mg/kg 静注後の  $t_{1/2\alpha}$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  はそれぞれ 0.019, 0.135, 0.746 時間と短い。これに対し、M-1, M-2 の終末相の半減期はそれぞれ 2.58, 4.72 時間であった。

S. 180 担癌 (皮下) マウスの組織内には活性の強い M-1 が主に分布し、脾に最高、肝、肺、腎、胃、小腸、脾に高濃度であるが、24 時間値は低い。尿よりも胆汁中に優先的に排泄されるが、その排泄は 24 時間内にほとんど終了する。

考察：ME 2303 は他のアンスラサイクリンに比し薬物回転が速やかで、M-1, M-2 に代謝され、主に胆汁から排泄され消失する。組織中には活性の強い M-1 が主に分布するが M-1 の持続時間も短い。この速やかな体内動態は本剤の低毒性と関連するが、実験動物にみられた強い効果を臨床で発現させるためには、この体内動態を考慮した投与法の設定が必要である。

## 204 Thymidylate Synthetase 阻害率と抗腫瘍効果

—1-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (HCFU) を用いた検討—

金 隆史・西山正彦・高上真一  
桐原義昌・佐伯俊昭・地主和人  
新本 稔・服部孝雄  
広島大学原医研外科

目的：5-fluorouracil (5-FU) 系抗がん剤である 1-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (HCFU) 経口投与後の thymidylate synthetase (TS) 阻害率と抗腫瘍効果との関係をヌードマウス実験系において検討した。

材料、方法：BALB/c/nunu ヌードマウス、オス、5 週齢を使用。対象腫瘍はヌードマウス可移植ヒト胃がん株 H-111, SH-8, SH-10, 同食道がん株 EH-1 を用いた。ヌードマウス側腹部皮下に移植後、概算腫瘍体積が 100 ~ 200 mm<sup>3</sup> となった時点より、1 回投与量 50 mg/kg で 5 日間連続経口投与を行った。4 日毎に腫瘍径およびマウスの体重を測定し、治療開始前の概算腫瘍重量とそれ以降の概算腫瘍重量の比を求め、投与群の対照群比 (T/C%) にて抗腫瘍効果の指標とした。また、最終投与後、0, 6, 24 時間後に同移植腫瘍を摘出し、総 TS 濃度および、遊離 TS 濃度を測定した。

結果、考察：総 TS 濃度は腫瘍により大きな差を示した。遊離 TS 濃度は対照群に比し、すべての腫瘍で投与群が低値となった。さらに、対照群では経時的変化は見られず、投与群では SH-8 を除いて時間と共に緩徐な増加が認められた。TS 阻害率はすべての腫瘍に対し、著明な高値となり SH-8 を除き時間とともに低値となっていく傾向を示した。抗腫瘍効果 (T/C%) は、全腫瘍に対し day 8 or day 12 で最大を示した。しかしながら、T/C% で 42% 以下を抗腫瘍効果 (+) とすると、EH-1 の day 12 のみに効果が認められた。したがって、TS 阻害率と抗腫瘍効果との間には相関関係は認められず、遊離 TS 濃度の絶対量と抗腫瘍効果とが相関する可能性が示唆された。以上より、5-FU 系抗がん剤の抗腫瘍効果の予測に関しては、TS 阻害作用だけでなく RNA 阻害など他の作用機序についても検討する必要があると考えられた。

## 205 UFT と 5-Fluorouracil のヌクレオチドプール、細胞回転及び腫瘍細胞形態への影響に関する研究

大久保俊樹・堀 浩樹・東川正宗  
川崎 肇・桜井 実  
三重大小児科

垣東英史・賀川義之・住田克己  
同 薬剤部

谷口 清洲・浜崎 豊  
静岡県立こども病院臨床病理科

目的：Tegafur (FT) と Uracil との合剤 UFT と 5-Fluorouracil (5-FU) の薬物動態を *in vivo* で比較するため、L 1210 細胞  $1 \times 10^6$  個を腹腔内移植した BDF1 マウスに移植 3 日後 5-FU 13 mg/kg, FT として等モルの UFT を経口投与し、1 ~ 24 時間後のリボ、デオキシリボヌクレオチドプールと細胞回転と腫瘍細胞の形態変化を検討した。

結果：細胞内 dTTP プールはコントロール群の  $23.74 \pm 4.13$  pmol/ $10^6$  cells に比し、UFT, 5-FU 投与 1 時間後ではそれぞれ 29.5%, 51.8% に、6 時間後でもそれぞれ 40.7%, 60.2% と減少したが、12 時間後では UFT 群で 42.9% と減少が持続するのに対し、5-FU 群では 159.8% に上昇を認めた。細胞内 dATP プールはコントロール群の  $6.67 \pm 1.93$  mol/ $10^6$  cells に比し、UFT, 5-FU 投与 1 時間後でそれぞれ 172.3%, 137.5% に、12 時間後でも 275.4%, 156.9% に上昇が持続した。また細胞回転の上では両薬剤ともに G 0-G 1 期細胞が 39% から約 20% に減少し、S 期細胞が 47% から約 70% に増加したが、そのピークが UFT では 24 時間であるのに対し、5-FU では 12 時間であった。一方、腫瘍細胞の形態を FCM、およびギムザ染色標本で検討すると、5-FU, UFT ともに細胞の膨化と細胞内顆粒の増加を認めたが、5-FU では細胞の膨化が 12 時間以後回復するのに比べ、UFT では 24 時間まで持続し、またその程度は 5-FU よりも著明であった。

## 206 新規経口制癌剤 HO-221 のヌードマウス移植ヒト癌に対する抗腫瘍効果

藤田史子・藤田 昌英・稲葉 秀  
 枚本卓司・奥山也寸志・田口鐵男  
 大阪大学微生物病研究所臨床部門外科

HO-221 はミドリ十字・石原産業が開発された化学式  $N-(4-(5\text{-Bromo-2-pyrimidinyl-oxo})-3\text{-chlorophenyl})-N'-(2\text{-nitrobenzoyl})\text{ urea}$  で示される新規ベンゾイルウレア誘導体であり、主として DNA 合成阻害作用をもつ新規抗癌剤である。経口投与で可移植性実験腫瘍に対して広い抗腫瘍スペクトラムを示すことが昨年の本学会および癌学会で報告されている。今回は教室で確立し継代維持中のヌードマウス移植人癌株 7 株を用いて、この薬剤の抗腫瘍効果と至適投与スケジュールの検討を行った。

材料と方法：用いたヌードマウス移植ヒト癌株は、胃癌 4 株 (H-55, H-111, H-154, H-81)、大腸癌 1 株 (H-143)、乳癌 1 株 (H-31)、膀胱癌 1 株 (H-48) の計 7 株である。HO-221 の抗腫瘍効果は移植腫瘍が 5 ~ 8mm 径に達した時、1 群 7 匹に群分けし、75 mg/kg (0.1 ml/マウス体重 10 g) を週 2 回、計 8 回と 300 mg/kg (0.2 ml/マウス体重 10g) を週 1 回、計 4 回経口投与した後の腫瘍増殖抑制率 IR:  $(1-T/C) \times 100$  (%) にて判定した。また、病理組織学的検討も行った。

結果：HO-221 は単回投与よりも間歇投与が優れ、75 mg/kg (0.1 ml/マウス体重 10 g) を週 2 回計 8 回経口投与、300 mg/kg (0.2 ml/マウス体重 10 g) を週 1 回計 4 回経口投与する方法がほぼ同程度の最も高い抗腫瘍効果を示した。HO-221 の抗腫瘍効果は腫瘍増殖抑制率 (I. R) 58%以上を有効とした時、検討した 7 株中 4 株 (H-111, H-154, H-143, H-31) において有効と認められた。病理組織学的にも、下里、大星分類でいずれも Grade I ~ II a となり、特に高分化型腺癌 H-111 では II a に相当する変化となり、既存の代謝拮抗剤とはやや異なる性格が認められた。

## 207 各種プラチナ (Pt) 化合物の適切な投与法に関する実験的検討

小林 国彦・日野 光紀・松坂三枝  
 広 沢 彰・吾妻安良太・武本俊彦  
 仁井谷久暢

日本医科大学臨床病理科

薬剤が濃度依存性薬剤であるか、時間依存性薬剤であるか、および薬剤の最小阻止濃度 (MIC) を知ることは臨床での使用法を考えるさいに重要である。今回、我々は各種 Pt 化合物の時間依存性 MIC をコロニー形成法を用いて検討した。

方法：Mc Coy's 5A+10% FCS に浮遊させたヒト肺腺癌細胞株である PC-9 細胞に、各 Pt 化合物 (CDDP, CBDCA, NK-121, 254 S) を種々なる薬剤濃度で 1, 2, 4, 6, 24 時間暴露させ薬剤洗浄後二重寒天培地にまきコロニー形成法を行った。①時間依存性の解析として  $\log [IC_{50}] - \log [\text{exposure time}]$  curve を描き、② MIC は各薬剤暴露時間での  $IC_{20}$  値とした。ヒト最大耐用量 (MTD) 時の free Pt の AUC とコロニー形成法での MIC 時の free Pt の AUC の比率を求めた。

結果：①  $\log - \log$  curve から CDDP と NK 121 は、傾き約 -1 の直線となり濃度依存性薬剤と判断された。254 S と CBDCA では、暴露時間初期に傾き約 -1 の直線にのらず、この間、時間依存性を認めたが、以後直線にのり、基本的には濃度依存性薬剤と考えられた。

②  $[AUC_{\text{free Pt of MIC in vitro}} / AUC_{\text{free Pt of MTD in human}}] \times 100$  (%) 値は、CDDP 7.7, CBDCA 20.0, 254 S 13.5, NK 121 34.5%であった。

考察：上記 Pt 化合物は、基本的には濃度依存性薬剤であり、MIC 以上の  $AUC_{\text{active from}}$  を大きくすべく臨床上投薬すべきである。CDDP は MIC が低く、分割投与、持続静注法でも MIC 以上の  $AUC_{\text{active from (free Pt)}}$  が維持され、効果を期待できる。なお、実験上この薬剤には時間依存性はまったく無かった。

## 208 シスプラチン感受性・耐性肺癌細胞株における DNA 損傷と修復の検討

豊後 雅巳・金子元久・中川和彦  
 湊 浩一・新美茂樹・堀地直也  
 藤原 康弘・福田正明・田村友秀  
 佐々木康綱・新海 哲・江口研二  
 西條 長宏

国立がんセンター研究所薬効試験部生物物理部  
 同病院 内科

目的：近年シスプラチンは固型癌の化学療法においてキードラッグとして用いられているが、臨床上前述の耐性が問題となってきている。そこでシスプラチン耐性機構の解明を目的に、アルカリ溶出法を用いて、シスプラチン感受性・耐性肺癌細胞株における DNA 損傷とその修復について定性的・定量的に検討した。

方法：対数増殖期にあるヒト肺腺癌細胞株 PC-9 (S) とそのシスプラチン耐性株 PC-9/0.5 (R) を用い、<sup>14</sup>C-チミジンにて標識した。次に、標識した細胞に種々の濃度のシスプラチンを 6 時間接触させた後、γ線を照射し、アルカリ溶出法により DNA inter-strand cross-links (ICL) を測定した。また、シスプラチン一定濃度において 3 時間接触させた後、incubation time を変え、経時的に ICL の変化を測定した。

結果：シスプラチン 6 時間接触により、S, R ともに濃度依存性に ICL が形成されたが、R は S より明らかに ICL の形成が少なかった。シスプラチン 3 時間接触後、S, R いずれも数時間後まで ICL の形成が進みその後修復されたが、その速度に差は認められなかった。

考察：我々が用いた細胞におけるシスプラチン耐性機構は、生じた ICL の修復の亢進ではなく、形成の低下によるものであった。この機構がシスプラチンの細胞内への取り込みの低下に起因するものか否かについては、原子吸光法を用いてシスプラチンの細胞内濃度を測定することにより現在検討中である。

## 209 膀胱癌動注療法時の CDDP の薬物動態

松山豪泰・山本憲男・酒徳治三郎

山口大泌尿器科

藤田 俊生

同 薬剤部

我々は高濃度の free Pt を腫瘍組織に接触させるため浸潤性膀胱癌 10 例に対し内腸骨動脈より動注療法を行い CDDP の薬物動態を解析し① CDDP の動注法と静注法の薬物動態の差② CDDP 動注時の薬物動態のパラメータと副作用、治療効果との関連③腫瘍内 Pt 濃度と治療効果との関連について検討した。動注法は CDDP 50～100 mg, ADM 30 mg, アンギオテンシン II 20 μg を 10～15 分で注入し同時にライナック治療（総量 30 Gy）を行った。採血は動注直後より 48 時間後まで計 9 回行い一部を限外濾過し free Pt とした。治療効果は直接効果判定（小山，斎藤）では CRO, PR 6, NC 3 で組織学的効果判定（大星，下里）では Grade II b 以上の有効例は 5 例，Grade IV（著効）は 2 例だったが 2 つの効果判定法は必ずしも一致しなかった。抗腫瘍効果を反映するといわれる free Pt AUC は PR 群が NC 群に比べ高い傾向にあったが組織学的に有効群（Grade II b 以上）と無効群（Grade II a 以下）とは差がなかった。また腫瘍内 Pt 濃度は有効群が無効群に比べ高値を示し 2 μg/g が境界値となっているようだった。主な副作用は悪気、嘔吐等の消化器症状 8 例，白血球減少 3 例，下肢のしびれ，疼痛等の神経障害 6 例であった。白血球減少例は非減少例に比べ free Pt AUC 値が高い傾向を示し，神経障害は投与時間と CDDP 投与量に依存していた。また CDDP 量 (mg/m<sup>2</sup>)/Ccr と free Pt AUC の間に r=0.728 の相関が認められ単位 CDDP 量あたりの free Pt AUC は動注例と静注例ではほとんど差がなかった。以上の結果より従来局所療法と評価されている動注療法も CDDP の free Pt AUC からみると静注法と同程度の全身的效果が期待でき，腫瘍内 Pt 濃度を上げうるといふ点で浸潤性膀胱癌の術前治療として期待できると思われる。

## 210 Mitomycin C 誘導体の新制がん剤 KW2149の抗腫瘍効果

—制がん剤感受性試験による前臨床評価—

高上真一・野宗義博・西山正彦  
金 隆史・桐原義昌・地主和人  
佐伯俊昭・峠 哲也・新本 稔  
服部孝雄

広島大学原医研外科

Mitomycin C (MMC) の誘導体で新しい制がん抗生物質である KW 2149 の抗腫瘍効果を、ヌードマウス可移植ヒト消化器がん株（胃がん株、大腸がん株）を用いて Nude Mouse Experimental System (NMES) と Subrenal Capsule Assay (SRCA) にて検討した。NMES では、基本的に NCI プロトコルに準じて行い、薬剤投与方法を分割投与と大量単回投与に分けて比較した。分割投与群では、KW 2149 と MMC を 4 日毎 3 回腹腔内投与とし、1 回投与量は各々の薬剤のマウス LD<sub>50</sub> の 1/3, 1/4, 1/5 とした。一方、大量単回投与群は、両薬剤を 1 回腹腔内投与とし各濃度別の投与量が分割投与群の総投与量にほぼ等しくなるように設定した。いずれの群も投薬開始日より 16 日間、抗腫瘍効果を観察した。SRCA では、正常免疫マウスを用い 4 日法にて行った。KW2149 と MMC を 3 日間連日腹腔内投与し、投与量は 3 日間の総投与量が各々の薬剤のマウス LD<sub>50</sub> の 1/2, 1/3, 1/4 になるように設定した。NMES と SRCA のいずれの実験系においても、KW 2149 の抗腫瘍効果は投与量に依存して増大する傾向を示し、その傾向は MMC においても同様であった。NMES の分割投与群と大量単回投与群を比較すると、KW 2149 はすべての濃度群において、分割投与群のほうが著明に高い抗腫瘍効果を示し、被験マウスの体重減少も軽微であった。KW 2149 と MMC の抗腫瘍効果を比較すると、大量単回投与方法では MMC が高く、分割投与方法では KW 2149 が著明に高かった。NMES においては KW 2149 分割投与群がいずれの腫瘍株に対してももっとも高い抗腫瘍効果を示した。SRCA においては、KW 2149 の抗腫瘍効果は全体として MMC とほぼ同等であったが、腫瘍別にみると、KW 2149 は大腸がん株に、MMC は胃がん株に対してより高い抗腫瘍効果を発揮する可能性が示唆された。以上のことより、KW 2149 は MMC とは異なった投与方法においてその抗腫瘍効果を発揮し、また、MMC とは異なった抗腫瘍細胞活性スペクトラムを有する可能性が示唆された。

## 211 Mitomycin C=モノクローナル抗体 NCC-LU-243 結合物質による抗腫瘍効果の基礎的研究

山本貴章・如水 和也・藤田 伸  
有沢淑人・首藤 昭彦・井上 聡  
葛岡真彦・久保田哲朗・石引久弥  
阿部令彦

慶應義塾大学医学部外科

Mitomycin C (MMC) はキノン、アジリジン、カルバモイル基の 3 つの官能基を有するが、キノン 7 位のアミノ基にアミノ酸を結合させた化合物 (KT 6149) の抗腫瘍性は母化合物の MMC とほぼ同程度である。

今回我々は MMC のキノン 7 位のアミノ基とモノクローナル抗体 NCC-LU-243 の Fc レセプターの SH 基を、アミノ酸を主体としたスパーサーを用いて結合させ、T-3M-LU243 (T-3)、T-11M-LU-243 (T-11) を作成した。NCC-LU-243 はヒト肺小細胞癌 Lu-24 を抗原として得たマウス IgG2a モノクローナル抗体である。本抗体の抗原決定基は細胞膜上の 145 kDa の蛋白であり、ほとんどすべての肺小細胞癌と一部の正常神経組織、内分泌組織、筋組織と反応するが、非小細胞癌との交差はない。この T-3、T-11 の抗腫瘍性を LU-243 抗原陽性株、陰性株を用いて検討した。

① T-3、T-11 は *in vitro* で LU-243 抗原陽性の H-69 に結合能を有していたが陰性の Lu-65 (大細胞癌) には結合しなかった。② *In vitro* MTT assay および<sup>3</sup>H-thymidine 取り込み阻害試験により二つの化合物の抗腫瘍性を MMC 単独の場合と比較検討した。MTT assay では抗原陽性の H-69 に対する抗腫瘍効果は T-11>T-3>MMC の順に高かったが、抗原陰性の K 562 に対する効果は T-11=MMC>T-3 であった。<sup>3</sup>H-TdR 取り込み阻害試験においては 72 時間持続接触を行った。H-69 親和性は MMC に対して T-11 が 3.53 倍、T-3 が 5.6 倍であった。

これら 2 種類の MMC=モノクローナル抗体は今後 *in vivo* 実験系へ進む価値があるものと考えられた。

212 L-ascorbic acid 誘導体の抗腫瘍性とブレオマイシンの副作用に対する軽減効果について

藤本 二郎

大阪大学医学部第2外科

前回の本学会では recombinant human superoxide dismutase がブレオマイシン (BLM) 大量投与時の担癌マウスの肝, 膵, 唾液腺の変性・壊死を予防し, 担癌マウスの生存期間を延長することを報告した。今回は L-ascorbic acid 誘導体の一つで, 強力な活性酸素種消去作用を有する 2-O-octadecylascorbic acid (CV-3611) につき検討した。

無処置の Fujimoto ascites tumor 担癌マウスの生存期間は  $9.78 \pm 0.19$  日であるが, CV-3611 10 mg/kg  $\times$  3 回の皮下注射 (sc) を行うと生存日数は  $13.58 \pm 1.82$  日となり, わずかながら有意の延長を示した ( $p < 0.05$ )。これは活性酸素種が過剰の担癌マウスにおいて, CV-3611 が組織障害を防止しているためと考えられる。

担癌マウスに 75 mg/kg BLM  $\times$  3 回の腹腔内投与 (ip) を行うと生存日数は  $20.67 \pm 2.13$  日となるが, CV-3611 10 mg/kg  $\times$  3 回 sc を併用すると  $18.60 \pm 1.45$  日となり両者間に有意差は認められなかった。担癌マウスに 120 mg/kg という大量の BLM を 3 回 ip したときの生存日数は  $11.37 \pm 0.69$  日で無処置対照と同じレベルになるが, CV-3611 15 mg/kg  $\times$  3 回 sc を併用すると生存日数は  $16.86 \pm 2.70$  日と BLM 単独投与の場合よりも明らかに延長した ( $p < 0.05$ )。

担癌マウスに 120 mg/kg BLM を 3 回 ip したのち屠殺し, 内臓の病理組織学的検査を行ったところ, 肺炎, 肝の変性, および唾液腺の萎縮などの臓器障害が認められた。このような臓器障害は同量の BLM に CV-3611 15 mg/kg  $\times$  3 回 sc を併用した担癌マウスでは認められなかったため, CV-3611 は BLM の大量投与による臓器障害とくに肺障害を予防することにより延命効果を発揮するものと考えられる。

213 マウス大腸癌 colon 26 を用いた大腸癌肝転移モデルの作製および肝転移阻止実験

有沢淑人・久保田哲朗・葛岡真彦

片上 聡・首藤 昭彦・藤田 伸

小平 進・石引 久弥・阿部令彦

慶應義塾大学医学部外科学教室

目的: 大腸癌の初回手術時にはすでに約 20% の肝転移が存在し, 肉眼的治癒切除後の再発形式としても肝転移再発が最も多く, 大腸癌治療においては肝転移の克服が重要課題であると考えられる。大腸癌肝転移阻止のための癌化学療法作製の目的で, マウス大腸癌 colon 26 肝転移モデルを用いて肝転移阻止実験を行った。

方法: 実験動物には CDF 1 マウスを用い, 実験腫瘍には CDF 1 マウスの皮下に継代中のマウス大腸癌 colon 26 を用いた。継代株を皮下に移植し, Day 0 または Day 7 に mitomycin C (MMC, 6 mg/kg 1  $\times$  ip), 5-fluorouracil (5-FU, 60 mg/kg q4d  $\times$  3 ip), adriamycin (ADM, 8 mg/kg 1  $\times$  iv) を投与し抗腫瘍効果を T/C 比値より判定した。さらに継代後 2 ~ 3 週目の腫瘍を切除し, ハサミで細切した後に酵素処理を行い単離浮遊細胞を作製し, 3 ~ 5 週齢の CDF 1 マウスをエーテル麻酔下に左背部より開腹し colon 26  $5 \times 10^3 / 0.05$  ml をその脾内に注入した。皮下移植の場合と同一の薬剤を腫瘍細胞脾注後 Day 0 または Day 7 に投与し, 腫瘍移植後 21 日目にマウスを屠殺して肝転移阻止効果を検討した。また OK-432 の 1 KE/mouse および 2 KE/mouse を腫瘍細胞脾注後 0 ~ 5 日の連日 ip 投与しその効果を腫瘍移植後の生存日数で判定した。

結果と考察: MMC, 5-FU, ADM は sc  $\rightarrow$  ip 系でいずれも有意な抗腫瘍効果を示し, その効果は Day 0 投与と Day 7 投与ではほぼ同程度であった。肝転移阻止実験においては 5-FU と ADM は Day 0 投与において肝転移を有意に阻害したが, MMC の効果は有意ではなく, 肝転移阻害においては腫瘍細胞の抗癌剤感受性以外に着床阻止等の因子が関与するものと考えられた。MMC と 5-FU については Day 0 投与の方が Day 7 投与よりも肝転移阻害の効果が高く, 抗癌剤は術後早期に投与する必要性が示唆された。OK-432 は用量依存性をもって肝転移モデルマウスの生存日数を延長し, BRM の肝転移予防効果の可能性が示された。



214 Mupirocin の臨床分離株 (特にグラム陽性菌を中心に) に対する *in vitro* 抗菌力について

小笠原晃・三浦雅彦・横田栄作  
中沢 久・中平和男・D. R. SUMMERS  
小西孝勇

ビーチャム薬品株式会社

三 橋 進  
エビゾーム研究所

目的: Mupirocin は *P. fluorescens* の産生する抗生物質である。その構造は他の抗生物質とまったく異なった新規の抗生物質である。側鎖には Iso-leucine 類似構造を持つことから、細菌の Iso-leucyl t-RNA synthetase と結合し、蛋白合成を阻害する。Mupirocin は主にグラム陽性菌に対して抗菌力を有している。今回、我々は mupirocin の臨床分離株 (ブドウ球菌, 連鎖球菌) に対する抗菌力について、 $\beta$ -lactam 剤および ofloxacin と比較検討したので報告する。

方法: 1987年4月から1988年3月までに分離されたブドウ球菌 1,012 株, EM, MINO, GM 耐性ブドウ球菌, および化膿レンサ球菌 90 株を使用した。MIC の測定は化学療法学会標準法に準じて寒天希釈平板法によった。接種菌量は、 $10^6$  cells/ml とした。

結果: *S. aureus* に対する mupirocin の  $MIC_{80}$  は  $0.20 \mu\text{g/ml}$  を示し他剤より抗菌力が優れていた。また、MRSA に対する  $MIC_{80}$  も  $0.20 \mu\text{g/ml}$  であり、 $\beta$ -lactam 剤との交差耐性は認められなかった。また、EM, MINO, GM 耐性 *S. aureus* に対しても強い抗菌力を示し、これらの薬剤との交差耐性も認められなかった。*S. epidermidis* に対する  $MIC_{80}$  も  $0.20 \mu\text{g/ml}$  で *S. aureus* と同様に他剤との交差耐性は認められなかった。本実験において、mupirocin のブドウ球菌に対する MIC range は  $\leq 0.05 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$  だった。

Mupirocin は、*S. pyogenes* に対しても  $MIC_{80}$  が  $0.10 \mu\text{g/ml}$  と強い抗菌力を示した。

考察: ブドウ球菌は、MRSA の出現によって  $\beta$ -lactam 剤への耐性が問題となっている。それに伴い他の薬剤の使用が増加し、その結果多剤耐性ブドウ球菌の分離頻度が増加しているといわれている。

Mupirocin は、ブドウ球菌に対し強い抗菌力を示し、 $0.78 \mu\text{g/ml}$  で今回調べた臨床分離株のすべての発育を阻害した。また、他の抗生物質との交差耐性も認められないことから、MRSA を含む各種薬剤耐性

ブドウ球菌に有用な抗生物質であると考えられる。

215 *In vitro* に於ける *S. pneumoniae* の *B. catarrhalis* 増殖抑制作用について

峰本久美・渡辺貴和雄・松本慶蔵  
長崎大学熱帯医学研究所内科

目的: *S. pneumoniae* (*S. pn.*) と *B. catarrhalis* (*B. c.*) の Broth 培養下での *S. pn.* による *B. c.* の増殖抑制は、第35回西日本支部総会でも発表のごとく顕著でかつ安定した作用である。今回はその増殖抑制因子を明確にするためにいくつかの実験を試み、注目すべき成績を得たので報告する。

材料および方法: *S. pn.* および *B. c.* は病原性の明確な臨床分離株で各々1株ずつ選び、この *S. pn.* 濾液に *B. c.* 一夜培養後  $10^{-2}$  に希釈した菌液を  $1/10$  量接種し、以下の検討を行った。

① *S. pn.* 濾液培養時の *B. c.* の生菌数と pH を測定し、また他の細菌の濾液においても同様の検討を試みた。② *B. c.* の菌体の形態変化を、グラム染色および走査型・透過型の両電子顕微鏡にて観察した。③ *B. c.* 濾液に Trypsin 処理を施し、処理前後の *B. c.* の菌体の形態変化を②と同様に検討した。④ *S. pn.* 濾液の生化学的特徴を調べるためにさらにいくつかの実験を試みた。

まとめ: ① *S. pneumoniae* と *B. catarrhalis* の生菌同志の混合培養でみられた *B. c.* の抑制作用は、*S. pn.* 濾液ではより著明であった。さらに、 $\alpha$ -streptococcus,  $\gamma$ -streptococcus にも *S. pn.* 同様に *B. c.* の増殖を抑制する作用が認められた。これらの *B. c.* 増殖抑制作用は pH の低下によるものであった。② *S. pn.* 濾液培養時の *B. c.* の菌体は明確な形態変化を起こしていることが走査型・透過型の両電顕およびグラム染色によって確認された。③ *B. c.* の形態変化を引き起こす因子は、Trypsin 処理により活性を失う。また、酸性寄りの pH 域で作用し、アルカリ側に移行することでその活性は減少した。④ *S. pn.* 濾液のその他の生化学的特徴として、温度  $70^\circ\text{C}$  以上で不可逆的に失活する、分子量  $30,000$  以上、溶解度  $60\%$  附近の物質であることが確認された。

216 呼吸器感染由来 *H. influenzae*, *S. pneumoniae* および *B. catarrhalis* の経口抗生剤感受性の検討

西岡きよ・荻原央子・丹野恭夫  
滝島 任

東北大学第一内科

*H. influenzae*, *S. pneumoniae* および *B. catarrhalis* は呼吸器感染の主要原因菌であり、特に外来患者では当科の場合 80%以上がこの3菌種が原因菌となっており、中でも最近 *S. pneumo.* の増加が顕著である。今回、1987, 88年の当科分離上記3菌種について、外来治療の中心となる経口抗生剤の抗菌力を検討した。

使用薬剤: PCG, ABPC, AMPC/CUA, CCL, CXM, CTM, CFIX, CFTM-PI, NFLX, OFLX, CFX, ENX, EM, CLDM, MINO.

結果: 当科における  $\beta$ -lactamase 陽性 *H. influenzae* の頻度は 1982, 83年の約 24%をピークに近年減少傾向にあり、87年は 8.2%, 88年 7.5%と低く従って ABPC の MIC<sub>90</sub>, MIC<sub>50</sub> は両年ともに低値である。(0.2 ~ 0.39  $\mu\text{g/ml}$ )  $\beta$ -l. 陽性菌は 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以上であり、 $\beta$ -l. 陰性 ABPC 耐性菌はみられなかった。CFIX, CFTM-PI は全株 0.1  $\mu\text{g/ml}$  以下の MIC で強い抗菌力を示し、CXM, CTM がこれに次いでいる。新キノロン剤は薬剤間の差はあまりなく、いずれも強い抗菌力を示したが、1987年分離株の中に ENX 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , 他の3剤も 1.56 ~ 3.13  $\mu\text{g/ml}$  の MIC を示した耐性株が1株みられた。他の薬剤では感受性に変化はなかった。

*S. pneumoniae* は PCG の MIC 0.1 ~ 0.2  $\mu\text{g/ml}$  (ABPC 0.2 ~ 0.39  $\mu\text{g/ml}$ ) の株が、当科においてははじめて 1988年の分離株にみられた。PCG 0.2  $\mu\text{g/ml}$  の1株はセフェム剤でも高い MIC 値であった。EM, CLDM は各年とも  $\geq 50 \mu\text{g/ml}$  の株が約 2%みられたがこれは以前から同程度にみられており増加しているとは言えない。キノロン剤は高 MIC を示すものが多く、最近の本剤の汎用が、*S. pneumoniae* の分離頻度増加の一因であろうと考えられる。*B. catarrhalis* の  $\beta$ -l. 陽性率は各年とも 80%以上であり、ABPC の MIC 分布も幅広いが AMPC/CUA は  $\leq 0.1 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$  で全株を発育阻止している。セフェム系は MIC 分布が幅広く抗菌力もあまり強くない。新キノロン剤は強い抗菌力を示し耐性菌もみられなかった。他の被検薬剤も大きい動きはみられなかった。

217 1986, 1987年度分離 A 群溶血レンサ球菌の T 型別と薬剤感受性

川上 晃・佐々木宏和・織田慶子  
荒巻雅史・島田 康・古賀達彦  
阪田保隆・石本 耕治・富永 薫  
本廣 孝・山下 文雄

久留米大学医学部小児科

目的: 福岡県における A 群溶血レンサ球菌の菌型と薬剤感受性を知ることが目的とした。

方法: 小児の臨床材料(咽頭粘液)から分離された A 群溶血レンサ球菌 245 株(1986年 157 株, 1987年 88 株)について T 型別分類と 9 種類の抗生物質に対する薬剤感受性を実施した。

結果: T 型別分類では、1986年は T-12 が 57 株 (36.3%) と最も多く、次いで T-4 32 株 (20.4%), T-28 30 株 (19.1%) の順で分離され、これら 3 型で全体の 3/4 以上を占めていたが、1987年は T-12, T-4 の分類頻度が逆転し、T-4 が約半数を占め、1986年は 19.1% 分離された T-28 はわずか 4 株 (4.5%) であった。薬剤感受性は 1986年, 1987年ともに  $\beta$ -ラクタム系薬剤に対しては全株良好であった。最小発育阻止濃度 (MIC) 25  $\mu\text{g/ml}$  以上の菌株は、1986年は erythromycin (EM) で 4 株 (2.6%), tetra-cycline (TC) で 51 株 (33.3%), chloramphenicol (CP) で 1 株 (0.7%) 分離されたが、1987年には EM, CP に対する耐性株はなく、TC 単独耐性株が 52 株 (59.1%) 認められたのみで、本菌の感化が示唆された。耐性パターンでは、1986年は EM・TC・CP 多剤耐性株を 1 株 (T-12) 認めたが、1987年には分離されなかった。また、TC 単独耐性株は 1986年は 49 株, 1987年は 52 株分離され、それぞれ 63.3%, 78.8% を T-4 が占めた。

218 最近の *Streptococcus milleri* の動向について

下野信行・高木宏治・石丸敏之  
澤江義郎

九州大学医学部第一内科

竹森 紘一・筒井 俊治

九大病院検査部

近年, API 20S system の普及に伴い、検査室レベルでの *Streptococcus* 属の細かい菌種の同定が可能かつ容易になってきた。

*S. milleri* は、口腔内や消化管の常在菌として考えられてきたが、現在では脳膿瘍、胸腔および腹腔内の膿瘍、皮下膿瘍などのさまざまな部位の膿瘍の起炎菌として注目されてきている。そこで九大病院検査部に提出された臨床材料の *S. milleri* の分離頻度、その感染部位および個々の臨床経過について調査、検討したので、その成績を報告する。

1987年および1988年の2年間の総検体数39,221検体から *S. milleri* を分離したのは127検体で、その検出率は0.32%であった。検出される頻度の高かったのは膿・分泌物およびドレーンからのもので、疾患としては口腔および耳鼻咽喉科疾患が大半を占めていた。ついで喀痰・咽頭からのものが多かったが、常在菌と考えられるものが多く含まれていた。また、複数菌として分離されるものが約3/4であった。

薬剤感受性はペニシリン、セフェム剤に対してはすべて良好で、いまだ耐性化はすすんでいないと考えられた。*S. milleri* 感染症の治療成績では、抗生物質による菌消失は良好であったが、外科的ドレナージを必要としたものが多かった。また菌交代をおこした症例が約10%あり、すべて死亡していた。

## 219 b型インフルエンザ菌と肺炎球菌の抗生剤感受性、および、抗生剤の髄液中濃度

藤田晃三・張道華・坂田宏  
室野晃一・梯仁志・吉岡一  
旭川医科大学医学部小児科

目的：b型インフルエンザ菌と肺炎球菌は新生児期を除く小児の重症感染症の主要な起炎菌である。両菌で問題になっているのはインフルエンザ菌の ampicillin (ABPC) 耐性と肺炎球菌の penicillin G (PcG) 耐性である。我々は小児患者から分離された両菌の抗生剤感受性を調べ、また、化膿性髄膜炎患者の髄液中抗生剤濃度にも検討を加えた。

材料と方法：試験菌は1976～1988年に北海道内の小児患者の髄液、血液などから分離されたb型インフルエンザ菌38株と肺炎球菌28株である。 $\beta$ -lactamase産生性はnitrocefinディスク法、抗生剤感受性はMueller-Hinton brothにCa<sup>++</sup>、Mg<sup>++</sup>、Fildes enrichmentを加えた培地を用いたmicro broth dilution法、髄液中抗生剤濃度測定は溶連菌S-8を指示菌とした毛細管垂直拡散法で行った。

結果： $\beta$ -lactamase産生インフルエンザ菌は10株(26%)で、1982年から分離されるようになり、1982年以降の分離頻度は34%(10/29)であった。産生株

に対するABPCのMICは16～64  $\mu$ g/mlで、そのうち1株にだけchloramphenicol (CP)のMICが8  $\mu$ g/mlで高かった。感受性株に対するMICはABPC 0.25, CP 0.5～1  $\mu$ g/mlであった。Cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), cefuroxime (CXM)に耐性の株はなく、そのMICは、それぞれ、0.016, 0.008, 0.5  $\mu$ g/mlであった。肺炎球菌に対する薬剤のMICはPcG 0.016～0.063, CTXとCTRX 0.016～0.032, CXM 0.032～0.063, CP 2～16  $\mu$ g/mlであった。髄膜炎患者に薦められている投与量を静注した時の抗生剤の、化膿性髄膜炎患者における髄液中濃度は、ABPC  $4.70 \pm 1.83$  (n=11), PcG  $0.57 \pm 0.32$  (n=7), CTX  $4.97 \pm 2.30$  (n=9), CP  $8.52 \pm 3.54$   $\mu$ g/ml (n=3)であった。

結論：得られた成績と文献に基づき、生後3か月以後の小児化膿性髄膜炎患者の初期治療にはABPC 75 mg/kgとCTX 50 mg/kg、1日4回静注で投与を開始し、起炎菌とその感受性結果をみて抗生剤を変更するのが良いと考える。

## 220 難治性気道感染症由来 *Branhamella catarrhalis* の薬剤感受性

後藤純・永井寛之・黒田芳信  
重野秀明・田代隆良・那須勝  
大分医科大学第二内科

東久和・長門宏  
長門記念病院

珪肺症患者の多くは、合併症として続発性気管支炎を有し、難治化傾向が強くなり、繰り返す気道感染や肺炎のために死亡に至ることが多い。1978年のNINANEの報告以来、塵肺合併続発性気管支炎の急性増悪に *Branhamella catarrhalis* が関与することが指摘されている。今回、臨床的に感染症状を呈した、珪肺合併続発性気管支炎患者の膿性痰より分離された *B. catarrhalis* について抗菌力、臨床的背景について検討した。

1988年1月から1988年12月までに起炎菌と同定された213株の内訳をみると、*S. pneumoniae* が24.9%と最も多く、次いで *B. catarrhalis* と *H. influenzae* がほぼ同数であった。入院外来別では、上記の3菌種は外来由来株が多数を占め、全体の75.8%であった。入院由来株では、糖非発酵菌、弱毒腸内細菌、*S. aureus* が多い傾向であった。

1987年と1988年の2年間に起炎菌と同定された *B. catarrhalis* のうち47株39例を今回の検討対象とし

た。入院外来別では93.6%が外来患者由来で、院内肺炎の起炎菌としてよりも院外での急性増悪菌としての頻度が高い傾向であった。47株中16株34%は他菌種と同時に分離され、*B. catarrhalis*は複数菌感染の傾向がみられた。

加療標準法に従い、19薬剤について抗菌力を測定したが、ペニシリン剤ではSBTPC、セフェム剤ではCAZ、CFIX、キノロン剤ではCPFXが優れていた。耐性株分離例では、原疾患、合併症の進行したものが多く、前投与抗菌剤も数種に及んでいた。

## 221 血中菌の抗生剤感受性

小林芳夫・川上行雄・内田 博

慶応義塾大学中央臨床検査部

目的：慶応病院における血中菌の年次の検出状況の検討の一環として今回は主要検出菌の各種抗生剤に対する感受性を検討した。

方法：MICの測定は日本化学療法学会の標準法に従ったが、接種菌液はMueller Hinton Brothの一昼夜培養菌液の100倍希釈菌液を使用した。使用菌株は1988年に分離した*S. aureus* 39株、1987年から1988年にかけて分離した*E. coli* 27株、*K. pneumoniae* 19株および*P. aeruginosa* 18株を使用した。

結果：*S. aureus*に対するDMPPCのMICは0.78  $\mu\text{g/ml}$  から3.13  $\mu\text{g/ml}$  に12株6.25  $\mu\text{g/ml}$  に1株分布していたが残る26株には12.5  $\mu\text{g/ml}$  以上のMICであった。VCMのMICは全株に対し0.39 から3.13  $\mu\text{g/ml}$  であった。CMZ、CZON、FMOX、FOMはMSSAに比較してMRSAには高いMICを示した。入院から菌分離までの期間が長いほどDMPPCのMICは高くなる傾向を認めた。なお12.5  $\mu\text{g/ml}$  以上のMRSAが分離された患者の内死亡退院していた患者は26名中16名であったがこの16名中14名までが菌検出後4週間以上経過後の退院であり、MRSA敗血症による死亡とは考え難い成績であった。

*E. coli* および *K. pneumoniae* に対するCEZおよびCMZのMICはほとんどの株に対して0.78 から1.56  $\mu\text{g/ml}$  に分布し、GMのMICも0.78  $\mu\text{g/ml}$  以下であった。

*P. aeruginosa* ではTIPCのMICは18株中12株に対し12.5 から25  $\mu\text{g/ml}$  で残る4株に対しては100から200  $\mu\text{g/ml}$  のMICであった。GMは16株に対して3.13  $\mu\text{g/ml}$  以下のMICで残る2株には12.5  $\mu\text{g/ml}$  のMICであった。なお当然のことと言

い得るがPIPC、IPM、CAZ、AZTおよびCRMNはTIPCに比較して、TOBはGMに比較してMICは低値であった。

## 222 当科における剖検時心房血培養の検討と薬剤感受性

山田保夫・林 嘉光・山本和英

加藤政仁・武内俊彦

名古屋市立大学第1内科

松浦 徹・足立 暁・鈴木幹三

山本俊幸

名古屋市厚生院内科

目的：難治性感染症患者や担癌患者、血液疾患患者等免疫不全状態の症例に対して抗生物質投与が行われているが終末感染として菌血症を疑わせる例が多い。そこで剖検時心房血培養の成績と、分離菌のMICを測定し、生前使用された抗生物質の影響とを検討した。

方法、対象：当科患者の剖検時、右房の表面を焼灼し無菌的に心房血を採取し、columbia broth, thioglycollate mediumを用いて培養を行った。対象は71例、平均年齢61.5歳で約80%が悪性腫瘍であった。培養陽性37株中14株について14抗生剤のMICを測定した。

結果：①71例中37例53%が心房血培養陽性で、陽性率は死亡から剖検までの時間、悪性か否か、抗生剤の使用の有無に関係しなかった。②培養陽性例37例中6例が、死亡直前の痰、尿からの分離菌または剖検所見と一致した。それらはすべて悪性例で死後3時間以内の剖検例であった。③剖検時心房血からの分離菌はペニシリン、セフェム耐性菌が多いが、IPM-CS、MINO、OFLXには比較的感受性を示す株が多かった。④MICを測定し得た菌では、生前使用した抗生剤に耐性の菌が多くを占めていた。

考察：終末感染の起炎菌を知るうえで心房血培養は有用であり、心房血検出菌は菌交代現象および薬剤耐性化により出現したと推測した。検出菌の薬剤感受性を検討することはCompromized hostに対する化学療法の一助になると考えた。

## 223 泌尿器科領域における菌血症々例の臨床的検討

徳永周二・高島三洋・大川光央  
久住治男  
金沢大学医学部泌尿器科学教室

目的：尿路は菌血症をきたす細菌の侵入門戸として重要であり、菌血症と尿路感染症との関係は深い。今回我々は、当科における菌血症患者について臨床的検討を行ったので報告する。

対象：対象は1983年4月より1988年12月までの5年9か月間に当科で経験された菌血症患者32例（男子29例、女子3例、平均61.7歳）で、血液採取時には全例に38℃以上の発熱を認めていた。

結果：泌尿器科的基礎疾患は膀胱癌が11例と最も多く、担癌患者が24例を占めていた。血中からは36検体より41株、尿中からは31検体より52株が分離された。菌血症の主な助長因子としては、悪性腫瘍、高齢、抗生物質の投与などが多かった。26例に尿路ないし生殖器感染症を認め、22例が腎盂腎炎で多くは尿路にカテーテルが留置されていた。血中および尿中分離菌種が一致していたのは28例中19例であった。のべ36回の治療には、セフェム系薬剤やペニシリン系薬剤が中心に使用され、アミノグリコシッド系薬剤が13回に併用された。血中分離菌の薬剤感受性を見ると、一般にアミノグリコシッド系薬剤に高い感受性を示したもののペニシリン系やセフェム系薬剤には耐性化傾向が認められた。検査日より1週間以内に7例が死亡し、2例の高齢末期癌患者および2例の重篤な末梢白血球減少症患者が血液培養の結果がでる前に死亡した。

考察および結語：今回の検討においては、尿路感染症に起因する菌血症は、血液疾患に起因するものに比べ比較的予後良好であった。しかし、高齢者で全身状態の不良な患者や白血球減少症を有する患者では、有効な薬剤が決定される前に死亡していた。したがって、重篤な基礎疾患を有する患者や抗癌剤投与、白血球減少などの助長因子を数多く有している菌血症患者は、抗菌化学療法の時点を逸すると致命的なることを念頭に置く必要がある。

## 224 各種臨床分離におけるコロニーの耐性分布と薬剤感受性

長谷川美幸・山田英樹・内野卯津樹  
手塚 孝一・石古博昭・小林 寅喆  
三菱油化ビーシーエル化学療法研究室

一般に感染症の疑われる臨床材料から起炎菌を分離し薬剤感受性を測定する場合、患者から採取した試料を目的菌に応じた培地に接種し、培養後に分離されたコロニーを釣菌し同定および薬剤感受性を測定する。多くの場合、単一コロニーが釣菌され、測定が行われる。

我々は呼吸器感染症由来の *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. aureus* および *B. catarrhalis* について分離培養を行った平板上から見た目ではまったく差がないコロニーを6～16個釣菌し、*S. pneumoniae* を除く3菌種についてはβ-lactamase産生性および薬剤感受性、*S. pneumoniae* ではオプトヒン感受性と薬剤感受性について測定した。

呼吸器感染症由来の *H. influenzae* 33株について検討した結果β-lactamase産生、非産生のコロニーが混在している株が7株、21%存在した。両群コロニーを用いた感受性の測定ではABPCに対して耐性および感受性と対象的な結果が得られた。またBio typeにまったく差は認められなかった *S. pneumoniae* ではオプトヒン耐性、感性コロニーの混在型の株が存在し、オプトヒン耐性株のほとんどはABPC, CEZ, CMZ, CTX に対し耐性となった。*S. aureus* からβ-lactamase産生および非産生コロニーの混在型は低頻度ながら存在した。両コロニー間で薬剤感受性に差がみられたが今回の検討ではCoagulase typeに特徴はみられなかった。*B. catarrhalis* には混在型はまったく存在せず、多くはβ-lactamase産生株だった。

検査室において分離平板から起因菌のコロニーを釣菌し薬剤感受性を測定する場合、耐性、感性コロニーのみを釣菌し薬剤感受性を測定すると臨床結果と不一致が生じる。β-lactamase産生能が異なる混在型の菌種では複数のコロニーを釣菌し、測定を行う等細心の注意が必要となる。

## 225 中国で1988年に分離されたチフス菌の薬剤感受性

新井 俊彦・牟礼 佳苗

明治薬大・微生物

坂口 早苗

川村短大・保健

我が国ではチフス症はまれになったが、まだアジア諸国ではかなりの発生をみている。特に中国では耐性株の増加が問題となっている。そこで、1988年に分離された菌株の薬剤感受性を調べた。その結果、半数が多剤耐性であること、多くがSA, TP, KM, TC, CPおよびABPCに耐性であり、これにNAやSM耐性が加わった株のあることがわかった。したがって、従来チフス症の特効薬とされたCPには効果を期待できず、ST合剤も不適切である。

そこで、これらに代る薬剤として、これらの耐性菌に有効な薬剤を検討した。その結果、MINO, 新キノロンおよび第4世代セフェムがこれらの耐性株に対しても充分MICが低いことがわかった。また、耐性を接合伝達した原株と耐性受容株でのプラスミドDNAの検出によって、これらの薬剤耐性はすべて140Mdの同一サイズの伝達性Rプラスミドによって担われていることがわかった。

また、このプラスミド保有株は非保有株よりヒトマクロファージ内増殖性が良く、非保有株にこれらのプラスミドを伝達すると、例外なくマクロファージ内増殖性が上昇した。チフス症はチフス菌が食細胞内で殺されないためにおこる敗血症であるから、このプラスミドは病原遺伝子を持つと考えられる。すなわち、この140Mdの伝達性プラスミドは、多剤耐性化によって化学療法を困難にするのみならず、病原性も高めるのである。したがって、このRプラスミド上に耐性遺伝子の存在する薬剤を用いることは、チフス菌株を耐性化するのみならず、強毒化することになると考えられる。チフス症の化学療法には特別の注意が必要である。

## 226 尿路感染症から分離された大腸菌の薬剤感受性

—中核病院と一般医療機関との比較—

高橋孝行・国分勝弥・田浦勇二

桜井 磐

神奈川県衛生看護専門学校付属病院検査科

松本文夫・今井健郎・北條敏夫

同 内科

鈴木 和夫

保健科学研究所細菌科

目的：地域医療における中核病院と一般医療機関での尿路感染症由来大腸菌の耐性検出状況と薬剤感受性の相違点を知る目的で諸検討を行ったので報告した。

方法：当院および一般医療機関において、1988年1月から12月までの1年間に分離された菌株のうち原因菌と判定された大腸菌それぞれ113株、49株を対象とした。

Apiコードシステムによって同定し、被検薬剤は、ABPC, PIPC, CEZ, CPZ, CMZ, CEX, KM, GM, NFLX, OFLX計10薬剤について測定した。なお感受性測定は化学療法学会標準法に準じた。

成績：当院および一般医療機関での*E. coli*の耐性株(≥12.5 μg/ml)の検出頻度はABPCでは、それぞれ36.3, 22.5%, PIPCでは32.7, 30.6%, CEZでは6.2, 10.2%, CPEでは10.6, 14.3%, CMZでは9.7, 8.2%, CEXでは40.7, 40.2%, KMでは12.4, 24.9%, GMでは0.61%, NFLXでは1.8, 12.2%, OFLXでは0.82%であった。*E. coli*の両者でのMIC<sub>90</sub>のABPCではそれぞれ≥100, 25 μg/ml, PIPCでは100, 25 μg/ml, CEZでは1.56, 0.78 μg/ml, CPZでは3.13, 3.13 μg/ml, CMZでは0.78, 1.56 μg/ml, CEXでは12.5, 12.5 μg/ml, KMでは6.25, 6.25 μg/ml, GMでは0.78, 1.56 μg/ml, NFLXでは≤0.1, 0.2 μg/ml, OFLXでは≤0.1, 0.2 μg/mlであった。多剤耐性パタンの1～5薬剤耐性は病院より分離した菌株に多くみられたが、6, 8薬剤の多剤耐性は一般医療機関より分離した菌株にみられた。

考察・結語：尿路感染症患者からの大腸菌のPIPC, CPZ, CMZ, CEX耐性株の検出頻度は中核病院と一般医療機関との間にほとんど差が認められなかった。KM, GM, NFLX, OFLX耐性株に対して一般医療機関で、それぞれ24.9, 6.1, 12.2, 8.2%検出された事実については、抗菌剤の無効症例から分離された菌株

が多く含まれていることがその理由と考えられた。また当然のことながら抗菌剤使用状況の相違なども考えられる。今後も継続的に検討していきたいと考えております。

## 227 尿路感染症分離菌に対する抗生剤の抗菌力比較 (1988年)

熊本悦明・広瀬崇興・西島紀子

札幌医大泌尿器科

茂田 士郎

福島医大細菌

白岩 康夫

同 泌尿器科

吉田 浩・尾形 正裕

同 検査部

引地 功侃

公立刈田総合病院泌尿器科

入 久巳・小林芳夫・内田 博

慶応大中央検査部

田 崎 寛

同 泌尿器科

北川 龍一・藤田 和彦

順天堂大泌尿器科

林 康之

同 臨床病理

小栗 豊子

同 中央検査室

松田 静治

江東病院

古澤 太郎

京都第二赤十字病院泌尿器科

竹内泰子・守山洋美・柴田喜久太郎

同 中央検査部

米津 精文

関西医大第1内科

高羽 津・松宮 清美

国立大阪病院泌尿器科

田中美智男

同 臨床検査部

山口忠三・館田一博・餅田親子

長崎大検査部

猪狩 淳

琉球大臨床病理

我々は1979年以来、尿路感染症患者からの分離菌について経年的な感受性の推移を検討してきた。今回、1988年度の単純性および複雑性尿路感染症患者より分離された菌種について、分離頻度ならびに薬剤感受性を比較検討し、あわせてこれらの年次の推移についても検討した。

使用菌株は1988年6月より1989年4月までの間に、参画施設において尿路感染症と診断された患者より分離された菌株を用いた。調査用紙は前報で報告した用紙に基づいた。抗菌力の測定はMIC 2000システムを用いる微量液体希釈法により、順天堂大学・中央臨床検査室で一括して行った。使用薬剤は28種の抗菌剤を用い、菌種により適宜選択した。

菌株由来患者の年齢は単純性では20歳代、50～60歳代の2峰性であり、複雑性では50歳以上、特に70歳代にピークを認めた。尿路感染症分離菌は単純性では*E. coli*が半数以上を占め、一方、*P. aeruginosa*は少なかった。複雑性では*E. coli*は25%以下に減少し、*P. aeruginosa*や*S. marcescens*が増加した。この傾向はカテーテル非留置例に比べ、留置例の方が顕著であった。

薬剤感受性では*E. faecalis*ではCPFX, ABPC, IPMの抗菌力が優れており、*Staphylococcus* spp. ではIPM, MINO, HBKが優れていた。*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*では多くの薬剤に強い感受性を示し、特にCTM, 第3世代セフェム剤、ニューキノロン剤の抗菌力が優れていた。これに対し、*S. marcescens*, *P. aeruginosa*ではMIC<sub>90</sub>値は比較的大きな値であった。MIC<sub>90</sub>値の年次の推移を比較すると*E. coli*では依然として大きな変動は認められなかったが、*Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*では1987年より1988年にかけて一部の薬剤においてMIC<sub>90</sub>値の上昇が認められた。

## 228 外科感染症分離菌 (1987) および感受性調査について

品川長夫・由良二郎・石川 周  
水野 章・真下啓二

名古屋市立大学第一外科

早坂 滉・白松 幸爾

札幌医科大学第一外科

石引久弥・相川直樹・鈴木啓一朗  
高橋孝行

慶応義塾大学外科

酒井克治・藤本幹夫・上田隆美

大阪市立大学第二外科

折田薫三・淵本定義・浜田史洋

岡山大学第一外科

木村秀幸・間野清志・北村元男

筒井信正

岡山済生会病院外科

小長 英 二

国立岩国病院外科

志村 秀彦・山本 博

福岡大学第一外科

出口 浩 一

東京総合臨床検査センター研究部

目的：1982年から外科領域の感染症分離菌について、その分離頻度、薬剤感受性および患者背景因子などを検討してきた。今回は1987年の成績について報告する。

対象：1987年に143症例より209株の細菌が分離された。一次感染は69症例であり、腹膜炎がもっとも多かった。術後感染は74例であり、創感染がもっとも多かった。

成績：細菌の分離頻度は、全体としてGPCが約50%を占めていたが、なかでも*E. faecalis* (18.7%)がもっとも多かった。*S. aureus*は20株(9.6%)分離された。GPCの分離頻度は術後感染でより高かった。好気性菌では一次感染で*E. coli*が、術後感染で*Pseudomonas* spp.の分離頻度が高かった。薬剤感受性についてみると、*S. aureus*および*P. aeruginosa*では、術後感染より分離されたもののMIC<sub>90</sub>は大きく、*E. coli*では一次感染と術後感染で感受性にほとんど

差がみられなかった。薬剤感受性の経年的変動は*S. aureus*でもっとも大きく、*P. aeruginosa*ではわずかであるが、*E. coli*ではほとんど変動がなくいずれの薬剤も鋭い感受性を示した。

## 229 泌尿器科外来患者における尿路感染症分離菌の年次推移について

林 秀治・宇野裕巳・玉木正義

永井 司・武田明久・藤広 茂

兼松 稔・坂 義人・河田幸道

岐阜大学医学部泌尿器科

目的：尿路感染症分離菌の動向を知ることは、尿路感染症の実態を把握する上で極めて有益である。そこで最近の尿路感染症患者より分離された菌の菌種別頻度、および各種薬剤感受性について調べ、過去の結果と比較検討した。

対象および方法：1985年より1988年までの4年間に岐阜大学泌尿器科を受診した外来患者のうち、尿道炎、性器感染症を除く単純性尿路感染症(膿球10個/hpf以上、菌数10<sup>4</sup>cfu/ml以上)、複雑性尿路感染症(膿球5個/hpf以上、菌数10<sup>4</sup>cfu/ml以上)の初感染例を対象とした。集計は年次毎に行い、薬剤感受性は1濃度ディスク(昭和)により(卍)(卄)(+)(卍)の4段階に判定し(+以上)を感性菌とした。菌種別分離頻度および*E. coli*に対する各種薬剤感受性については1984年以前の結果とも比較した。

結果および考察：外来総患者に対する尿路感染症患者の割合は最近4年間の総計で、単純性1.2%、複雑性4.7%、計5.9%であった。

菌種別分離頻度をみると、単純性尿路感染症においては*E. coli*が常に70%以上を占め、1978～1984年の動向と比較しても大きな変化はみられなかった。複雑性尿路感染症においては、グラム陽性球菌の分離頻度が1978～1986年には17～26%であったものが、1987年32.9%、1988年35.9%と明らかに増加しており注目された。また、1987年より*P. aeruginosa*の比率にも増加がみられた。

*E. coli*は単純性、複雑性由来のいずれもほとんどの薬剤に対し90%以上の感性率を示したが、ペニシリン系薬剤に対する感性率は低かった。*P. aeruginosa*はアミノグリコシド系薬剤、CFSの他、CAZ、IPM、AZTに対しても100%近い感性率を示していた。



## 230 尿路感染症分離菌の年次的変遷と薬剤感受性について

西谷嘉夫・宇埜 智・山田大介  
早田俊司・津川昌也・公文裕己  
大森弘之

岡山大学泌尿器科

目的および方法：抗菌性化学療法剤の開発、普及に伴い、尿路感染症（UTI）は大きな変貌を遂げている。当教室では、1971年以降、UTI分離菌の年次変遷および化学療法剤との関連性について報告してきた。今回1986～1988年における当科外来ならびに入院患者より検出されたUTI分離菌について、その検出頻度と薬剤感受性を集計し、1982年1月～1985年12月までの過去4年間の成績と比較検討した。検討対象は、尿細菌培養で菌数 $10^4$ /ml以上、一患者一感染を原則とした。薬剤感受性検査は一濃度disk法を用い、(+)以上を感受性ありとした。

結果：1. 年次変遷 総分離菌株数は、全体として年々減少する傾向を見せていた。外来単純性UTIでは各年とも*E. coli*が大半を占めていたが、外来複雑性UTIでは近年*E. coli*の減少と*P. aeruginosa*の増加傾向が認められた。入院複雑性UTIでは、近年*Enterococcus sp.*の著明な増加が認められたが、これは主にカテーテル非留置群における同菌の分離頻度増加によるものと考えられた。

2. 薬剤感受性 *E. coli*ではペニシリン系以外の多くの薬剤に対し高い感受性率が認められた。*P. aeruginosa*ではPIPC, CFS, CPZに対し、各年度を通じて高い感受性率が認められたが、発売当初には90%以上の感受性率を有していたNFLXに対する年次的な感受性率の著明な低下が特徴的であった。*Serratia sp.*では、全体に低感受性率の薬剤が多いが、GM, ST, MINO等は、各年度を通じ比較的高い感受性率を保っていた。

## 231 尿由来の緑膿菌に関する検討

西村清志・須山一穂・横山英二  
池田 滋・稲葉恵子・石橋 晃  
北里大学泌尿器科

平 田 泰 良  
同 臨床検査部

当科では従来、尿路感染分離菌につき、年次的推移の検討を行ってきたが、今回特に、1988年4月より

1989年3月までの1年間の尿路感染分離菌のうち、その中で最も分離頻度の高い緑膿菌に注目し、その血清型別分類を中心に検討した。

上記期間中、尿由来総分離株数は1,549株で、緑膿菌の分離株数は146株、9.4%（外来517株中19株3.7% 入院1,032株中127株12.3%）であり、他の施設と同様な分離頻度を示し、かつ入院が外来より高い分離頻度を示した。

各種抗生剤に対する感受性をMIC<sub>90</sub>値で検討すると、IPM, CAZ, CRMNが比較的良好な感受性を示すものの、他のほとんどの薬剤に対し、耐性を示した。

分離された緑膿菌につき、血清型別分類（デンカ生検）を行い、あわせて複雑性尿路感染症UTI群別分類と対比させ検討した。

分離菌全株の血清型別では、B型47株（37.2%）F型50株（34.3%）と全体の6割以上を占めた。UTI群別分類を調べ得た緑膿菌感染症例は86例で、G-5群32株（37.2%）、G-6群18株（26.9%）と、全体の約7割を占め、複数菌感染症が多いことがうかがわれた。

G-5, G-6の各群での血清型別分離頻度では、B, Fの各型は、ほぼ同じ傾向を示したが、A型ではG-6群が、I型ではG-5群が高い傾向を示した。この原因については現在のところ不明で、さらに症例を増やした長期間の検討が必要であると思われる。

## 232 全国19施設における緑膿菌の分離頻度と薬剤感受性について

後藤美江子・岡 慎一・後藤 元  
島 田 馨

東大医科研感染症研究部, 他19研究機関

緑膿菌は日和見感染、院内感染などにおいて重要な菌種である。我々は感染症の起炎菌の実態把握研究の一環として1986年12月～1987年11月の1年間（1年を4期に分け、各時期2週間のデータ、計8週間分）に全国19病院（大学病院18、公立病院1）の中央検査部細菌検査室から寄せられたデータをもとに集計した緑膿菌の分離頻度と、これに加え、1986年12月～1988年11月までの2年間に同上施設において分離された緑膿菌1,032株の薬剤感受性試験と血清型別を検討したので報告する。MIC測定は微量液体希釈法（MIC 2000システム）によりMg<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>加MHB（Difco）を用い、37℃20時間培養後、結果は肉眼にて判定した。血清型別はメיאッセイ（明治製薬）にて行った。抗菌薬はPIPC, CPZ, CAZ, CFS,

IPM, AZT, CRMN, GM, AMK, HBK, TOB, FOM, OFLX, CPFY を使用した。

成績：調査期間中に臨床材料より分離された菌株 28,905 株中緑膿菌は 3,273 株 (11.3%) と黄色ブドウ球菌 (12.8%) に次ぐ、第 2 位の分離頻度であった。入院、外来別に解析すると、入院由来株 13.2%、外来由来株 (5.6%) と入院由来株の方が高い頻度であった。検体別に解析すると痰由来株において 22.9% と他の検体由来株より高かった。1,032 株に対する  $\beta$ -lactam 剤の MIC<sub>90</sub> は PIPC: 50  $\mu$ g/ml, CPZ: 50  $\mu$ g/ml, CAZ: 12.5  $\mu$ g/ml, CFS: 12.5  $\mu$ g/ml, CRMN: 25  $\mu$ g/ml, AZT: 25  $\mu$ g/ml, IPM: 3.13  $\mu$ g/ml と IPM が良好であった。他の抗菌薬の MIC<sub>90</sub> 値は GM: 12.5  $\mu$ g/ml, AMK: 12.5  $\mu$ g/ml, HBK: 12.5  $\mu$ g/ml, TOB: 3.13  $\mu$ g/ml, OFLX: 6.25  $\mu$ g/ml, CPFY: 0.78  $\mu$ g/ml, FOM: 50  $\mu$ g/ml と TOB, CPFY の値が低値であった。検体別に菌株を分け各薬剤の MIC<sub>90</sub> 値を検討したが、 $\beta$ -lactam 剤において、耳漏由来株が 3.13  $\mu$ g/ml と他の薬剤 (25  $\mu$ g/ml) より低かった。OFLX の MIC<sub>90</sub> 値が尿由来株において、100  $\mu$ g/ml、他の抗菌薬においては 6.25  $\mu$ g/ml であった。血清型の内訳は G 群: 22.2%, B 群: 14.2%, E 群: 13.9%, A 群: 11.1%, I 群: 7.5%, M 群: 7.0% であった。型不能株は 8.6% であった。菌株収集期間を 6 期に分け、経時的に主な血清型の分離率の推移を検討したが、差がみられなかった。

### 233 新キノロン系薬剤中止 1 か月後の病原性 明確な尿路感染症起炎菌の感受性推移

渡辺貴和雄・高橋 淳・峰本久美

松本 慶蔵

長崎大学熱帯医学研究所

坂本 翊・木下 和久

愛野記念病院

井手 政利・川内 安二

長崎労災病院

目的：我々は第 36 回本学会西日本支部総会において、主要細菌感染症の起炎菌を対象に新キノロン剤に対する感受性成績をと病態の解析を行い次のような結論を得た。(1) 尿路感染症で耐性菌が増大しており、(2) 特に背損や脳血管障害などの長期入院患者での長期使用例が高度耐性株の中心をなすことが判明した。(3) 本系統薬剤に対する耐性菌の監視と使い方に注意を喚起

した。今回は高度耐性株が分離された 2 施設を対象に 1 か月間本系統薬剤の使用を完全に中止後、中止前後の尿路感染症分離菌の変動および本系統薬剤に対する感受性変化について検討した。

対象および方法：細菌；1988 年 9 月 (A 施設)、10 月 (R 施設) の 1 か月間本系統薬剤の使用を中止後、あらかじめ合議決定した尿路感染症の起炎性明確な菌株を同年 10 月 (A 施設)、11 月 (R 施設) の 2 か月間に 16 菌種 170 株を収集し実験に供した。薬剤；NFLX, OFLX, ENX, CPFY の 4 剤である。耐性菌の基準；本研究の対象菌株は尿路系であるが、新キノロン剤中止前と同様に呼吸器感染症の立場から便宜的に 6.25  $\mu$ g/ml 以上を耐性域とし、100  $\mu$ g/ml およびそれ以上を高度耐性域とした。

成績および結論：1. 尿路分離菌を新キノロン完全中止以前の成績と比較すると、A 施設では中止後、*S. aureus* の減少と *P. aeruginosa* の増加が認められた。R 施設では、*K. pneumoniae* や *E. cloacae* など腸内細菌の微増が確認された。2. 薬剤感受性成績では、*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* など多くの菌種に MIC の改善を認めた。

今回の検討は中止期間が約 1 か月と短期間であったが、本系統薬剤の中止において耐性菌の減少傾向が明らかになり、今後さらに耐性化防止に向けた精細な臨床的検討を進める必要があると考えられた。

### 234 ニューキノロン薬 (特に OFLX) に対する 尿路分離菌の耐性について

中條俊博・広瀬崇興・熊本悦明

札幌医大泌尿器科

丸 田 浩

室蘭市立病院泌尿器科

目的：近年、開発が目覚ましいニューキノロン薬は、その強い抗菌力と広い抗菌スペクトルにより、尿路感染症治療薬の主要な地位を獲得している。しかし、使用頻度の増加に伴い耐性菌の出現が問題となっている。

そこで今回、当教室と室蘭市立病院泌尿器科にて分離された臨床株について OFLX に対する耐性率の年次推移について検討した。

方法：1986 年から 1988 年の 3 年間に分離された *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella* spp, *P. mirabilis*, *Indole (+) proteus*, *Enterobacter* spp, *Citrobacter* spp, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* の 11 菌種、計 1,577 株について of-

loxacin の昭和一濃度ディスク法を用いて (+) と (-) に区別して比較検討した。

結果および考察：過去3年間の OFLX に対する耐性率の年次推移では、*S. aureus*, *P. aeruginosa* で両病院とも明らかな上昇を認めた。また *Enterobacter* spp. では1病院のみに上昇を認めた。また、耐性率の上昇は認めないものの Indole (+) proteus, *S. marcescens* においては病院間に明らかな耐性率に差を認めた。また、ニューキノロン薬の使用量は急激な伸びを認めており耐性株が増加した一因には薬剤の汎用が関係していると考えられた。

ニューキノロン薬は確かに有用性は高い薬剤ではあるが、一部菌種においては耐性株の上昇を認めるため、今後も耐性率の動向に注意を払い慎重な対処が望まれる。

### 235 臨床分離株のオフロキサシンに対する感受性：年次別感受性推移(1)

法邑正人・佐藤謙一・石井裕子  
星野一樹・采 孟・長田恭明  
第一製薬・中央研究所

目的：臨床分離株のオフロキサシン (OFLX) に対する感受性推移を検討するため、1987年度および1988年度に以下の施設より分離された各種菌株について感受性測定を行ったので報告する。

材料および方法：被験菌株は北里大学付属病院、慶応大学付属病院、東京総合臨床検査センター、東北大学抗酸菌病研究所、仙台厚生病院および国立仙台病院から分与された、*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* を使用した。対象薬として CFPX, NFLX, CCL, AMPC, CAZ, GM, DMPPC, IPM を用いた。各菌株の感受性は MIC 2000 システムを用いたマイクロイオン希釈法により測定した。

結果および考察：臨床分離株に対する OFLX の MIC<sub>90</sub>値は、開発当時の1980年分離株との比較では、いずれの菌種においても大きな変化は認められなかった。MIC<sub>90</sub>値は特定の菌種で上昇し、*S. aureus*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* において耐性化傾向を示した。また他キノロン剤においても同様の傾向が認められた。1987年および1988年分離の *P. aeruginosa* (101株および117株) においては19% (19株) および15% (18株) が CAZ 耐性 (MIC:  $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ ), 29% (29株) および32% (37株) が

OFLX に耐性 (MIC:  $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$ ) を示した。1987年および1988年分離 *S. aureus* (89株および90株) においては MRSA (MIC:  $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ ) が37% (33株) および48% (43株), OFLX 耐性菌は11% (10株) および29% (26株) であった。また、OFLX 耐性菌は MRSA 中に高頻度に認められた。この点は耐性機構を含めた検討がさらに必要であろう。

### 236 臨床分離株のニューキノロン耐性菌に関する検討 第1報

(1985年分離株, 1988年分離株に対する  
MIC測定成績の比較)

出口 浩一・横田のぞみ・古口昌美  
中 根 豊・福島よし子・深山成美  
西村由紀子

東京総合臨床検査センター研究部

小田 清次・田中節子・佐藤久美子  
加藤三枝子

同 検査第II部

演者らは、ニューキノロン耐性菌を含む経年的な多剤耐性菌の分離頻度を検討するため、1985年分離株15菌種625株、1988年分離株15菌種625株(合計1,250株)のニューキノロン系薬剤などのMICを測定し、両者の成績を比較した。

成績：

1. ニューキノロン耐性菌 (1988年分離株の成績)
  - 1) 耐性が皆無の菌種：*P. mirabilis*, *H. influenzae*
  - 2) 耐性が1割程度の菌種：*E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*
  - 3) 耐性が2～3割の菌種：*E. faecium*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *P. vulgaris*, *M. morgani*
  - 4) 耐性が5割以上の菌種：*S. marcescens*, *P. aeruginosa*

\*①ニューキノロン耐性が2割以上の菌種の耐性株は、MIC値 $\geq 25 \mu\text{g/ml}$ の高度耐性の占める割合が高い。

② *S. aureus* のニューキノロン耐性株は MRSA に高率にみられる。*S. pyogenes*, *S. pneumoniae* は供試株数が少なかったため、はっきりした傾向が確認できなかった。

2. *E. coli* のセフェム低感性または耐性株

1985年分離株では皆無だった単純性尿路感染症由来株の CCL 耐性株 (MIC値 $\geq 50 \mu\text{g/ml}$ ), CFTM

低感性株 (MIC 値 3.13 ~ 12.5  $\mu\text{g/ml}$ ) か、1988 年分離株では前者が 24%、後者が 16%認められた。

### 3. *P. aeruginosa* の CAZ, IPM 耐性株

1988 年分離株の CAZ 耐性株 (MIC  $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ ) は、尿由来株 37%、喀痰由来株 15%であるが、CAZ 耐性 15 株中 10 株 (67%) が QLs と同時耐性であり、IPM 耐性の 5 株は 5 株とも、CAZ, QLs にも、耐性を示した。

考察：1988 年分離株の成績では、ニューキノロン耐性菌は明らかな増加傾向を示しており加えて耐性の菌種も拡大している。

*E. coli* のセフェム耐性または低感性株は、薬剤作用点の変異 (PBPs など)、*P. aeruginosa* の CAZ, IPM 耐性株は、膜透過性の変化などを示唆していることから、現在検討中。これらは第 2 報で報告の子定である。

## 237 緑膿菌の NFLX 耐性について

加藤広行・塚田勝彦・長町幸雄

群馬大学医学部第一外科学教室

伊豫部志津子・橋本 一

群馬大学医学部微生物学教室

Norfloxacin (NFLX) に始まるニューキノロン剤は、ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX), ciprofloxacin (CPFX) と続き、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して広く用いられ、特に緑膿菌に対しても高い抗菌力が認められている。

今回我々は群馬大学付属病院において 1984 年 4 月から 1988 年 3 月までに分離された緑膿菌 479 株を用いて、NFLX の耐性機構を解析した結果を報告する。

年度毎の NFLX の薬剤感受性曲線は 1984 年、1985 年は一峰性の分布を示すが、1986 年、1987 年は三峰性の分布を示し、その中に耐性菌の峰も認めた。そして 1987 年には MIC 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の高度耐性菌の出現も認められた。NFLX 耐性緑膿菌の年度別分離頻度は 1984 年に 1%であったが、以後経年的に 4%、16%、21%と著しく増加してきた。このような NFLX 耐性の増加の機構を解析する目的で、感受性株および標準株 PAO を用い、耐性変異株を分離しその分離頻度、他薬剤に対する薬剤感受性、外膜蛋白質について検討した。

臨床分離株における NFLX 耐性変異株の中には緑膿菌標準株を用いてすでに報告されている染色体性耐性遺伝子 *nfxA*, *nfxB*, *nfxC*, *nalB* の変異株と同様な薬剤感受性の変化を認めるものがあり、また分類不能

な type も存在した。これらの耐性変異株と元株とを比較すると、膜透過性の変化による耐性機構と考えられるものには、外膜タンパク質に変化するものが認められた。しかしその変化にはほとんど統一性は認められなかった。今後 *nfxC* type の耐性菌の増加は他薬剤に耐性化する可能性を示唆された。

## 238 1984 ~ 1985 年分離 *Serratia marcescens* の薬剤感受性と R プラスミドについて

村山琮明・木村光子・狩場岳夫

澤田和江・木村貞夫

帝京大学医学部細菌学教室

1984 ~ 85 年に都内 3 病院 (S, Te, To 病院) から分離された *S. marcescens* 計 275 株について、11 薬剤 (SM, KM, GM, TOB, DKB, AMK, ABPC, CP, TC, NA, RFP) に対する感受性を測定し、耐性株から *E. coli* に接合伝達を行い、耐性株分離率と R プラスミドについて解析した。

1) 275 株の由来を臨床材料別にみると、Sa, Te 病院では、尿由来株が最も多く全体の 65 ~ 85%をしめており、To 病院では、喀痰が多く 1980 ~ 1983 年の成績と一致していた。

2) 275 株中 268 株が、調べた薬剤のいずれか 1 剤以上に耐性の株は 268 株、97%であった。

3) 薬剤別にみるとほとんどの株が、ABPC (81%)、TC (80%) に耐性であり、このことが、薬剤耐性株分離率の高さの主たる原因と思われる。

4) 薬剤耐性を病院別にみると、従来と大きな変更はなく、Te, Sa, To 病院の順に耐性株の分離率が高い。

5) *E. coli* K 12 株に接合伝達したところ、一次接合伝達体が得られたものが、10 株あった。

6) 病院別にみると、Sa 病院から 1 株、Te 病院から 3 株、To 病院から 6 株接合伝達体が得られた。

7) 10 株のアミノグリコシド耐性株のうち 9 株は、三次まで接合伝達体が得られた。

8) 9 株のうち、5 株はプラスミドが検出されず、染色体に耐性遺伝子が挿入されているものと思われる。

9) 残り 4 株は、50 ~ 80Md の ABPC 耐性を支配するプラスミドによって、アミノグリコシド耐性を支配する 12Md 以下のプラスミドが可動化されていた。

10) 9) の ABPC 耐性は TEM あるいは OH101 型の  $\beta$ -lactamase に担われていることが明らかにな

った。OHIO 1 型の  $\beta$ -lactamase が、2"-amino-glycoside nucleotidyl transferase をいつも伴っているという SHLAES D M 等の報告とあわせて興味深い。すなわち、*S. marcescens* のアミノグリコシド耐性は、ABPC 耐性を支配するプラスミドの伝播に強く影響されていることが示唆された。

### 239 胃潰瘍からの *Campylobacter pylori* の検出頻度と薬剤感受性

手塚孝一・内野卯津樹・石古博昭

小林寅祐

三菱油化ビーシーエル化学療法研究室

河原弘規

公立昭和病院消化器内科

近年、胃炎、消化性潰瘍と *C. pylori* との関連性について種々の検討が報告され話題となっているが、本菌の感染の発症に対する役割は明らかにされていない。本菌は CO<sub>2</sub> 要求性の強い微好気性菌で死滅しやすいことから試料の採取等に関しては細心の注意を払う必要がある。

目的：消化性潰瘍と *C. pylori* との関連性および各種薬剤の本菌に対する *in vitro* 抗菌活性について検討した。すなわち潰瘍の大きさ（採取試料数）および潰瘍周辺生検部位別による *C. pylori* の検出率について検討した。さらにペニシリン、セフェム、アミノ配糖体、合成抗菌剤等の 28 薬剤に対する本菌 52 株の感受性を検討した。

方法：内視鏡的に消化性潰瘍と診断された患者胃粘膜をマイクロチューブに採取し、ただちに Hanks 液を 3 滴加え摩砕を行い、変法 Skillow 培地に接種し、微好気条件で 35°C 3～7 日間培養した。採取部位は活動期および大きな潰瘍では口側、肛門側、これを中心に左右の辺縁の 4 か所、治癒期および小さな潰瘍は口側、肛門側のみを採取した。薬剤感受性は Blood agar base NO. 2 (OXOID) に馬血液を 5% 加え分離培養と同条件で測定した。

結果：活動期および大きな潰瘍試料からは治癒期および小さな潰瘍試料より *C. pylori* の分離率は 2 倍以上高率であった。また採取部位別でも口側、肛門側がやや高い結果となった。各種抗菌剤の感受性試験では  $\beta$ -lactam 系全般の抗菌力が優れ、特に imipenem では MIC 0.025  $\mu$ g/ml 以上の株は存在しなかった。それとは逆に PPA, ST 合剤はほとんど耐性を示した。

現在のところ病変と本菌による感染との関連が明ら

かにされていない。また本菌が分離された患者に感受性の良い薬剤を投与しても除菌されないとの報告もある。今後さらに感染および抗菌剤の投与についての検討が必要である。

### 240 新しい $\beta$ -lactam 系抗菌剤に対する *in vitro* での耐性菌の誘導頻度および耐性機構に関する検討（第二報）

石井 良和・市川 正孝

長崎大学医学部付属病院薬剤部

朝野和典・山口恵三・白井敏明

同 検査部

目的：IPM, AZT および第三世代 cephem 系抗菌剤は、 $\beta$ -lactamase に安定で、多くのグラム陰性桿菌に対して強力な抗菌力を示す。しかし、*P. aeruginosa* においては、このような新しい  $\beta$ -lactam 系抗菌剤に対して、耐性を示す菌株がすでに出現しつつあり、その機構には、 $\beta$ -lactamase によるものと、外膜蛋白の変化による薬剤透過性の低下が考えられている。

今回は、*P. aeruginosa* の IPM, AZT, CAZ, CZX ならびに LMOX に対する耐性菌の出現について *in vitro* の系にてその頻度および耐性機構について検討を加えた。

材料および方法：供試菌株として *P. aeruginosa* ATCC 28752, *P. aeruginosa* D-4 および *P. aeruginosa* NUH 64 を用いた。耐性株の誘導は、IPM, AZT, CAZ, CZX あるいは LMOX を含有する Mueller-Hinton Agar にて行った。 $\beta$ -lactamase の活性は、CET (100  $\mu$ M) を基質とする UV 法にて行った。菌体の外膜蛋白は、6M Urea-SDS PAGE にて分離確認した。

結果および考察：CZX および LMOX では、親株から直接、高度耐性株 ( $\geq 100 \mu$ g/ml) が  $10^{-5} \sim 10^{-8}$  の頻度で出現した。また、CAZ の場合、直接、高度耐性株は出現せず、中等度耐性株 (25～50  $\mu$ g/ml) を経て、約  $10^{-8}$  の頻度で高度耐性株が出現した。一方、IPM および AZT の高度耐性株の出現は認められず、中等度耐性株の出現が、 $10^{-5} \sim 10^{-8}$  の頻度で認められた。耐性機構についての検討では、CZX, LMOX および CAZ の耐性株は、親株では誘導型であった  $\beta$ -lactamase が、高度耐性株では、脱抑制型になっていた。IPM 耐性株は、菌体の 48K 付近に親株では認められた蛋白が、耐性株では消失してい

た。この蛋白の消失が、IPMの外膜透過性に影響を与えたものと思われた。IPM耐性株と、今回用いた他の $\beta$ -lactam系薬剤耐性株との間に、交差耐性は認められなかった。

#### 241 喀痰由来病原細菌の $\beta$ -lactamase活性と薬剤(disk)感受性との相関

渡辺 彰・大泉耕太郎・本宮雅吉

東北大学抗酸菌病研究所内科学部門

千葉 潤一・加藤 美和

仙台厚生病院臨床検査部細菌検査科

目的と方法：1988年1～6月の当科の喀痰分離株538株中271株について、一濃度ディスク法による薬剤(ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CMZ, CPZ, SBT/CPZ, LMOX, CZON, IPM)感受性の測定およびBromocresol purpleを用いたpHディスク法による $\beta$ -lactamase活性の測定を同時に行って、その相関を検討した。

成績と考察：538株中グラム陽性菌は165株(30.7%)、グラム陰性菌は371株(69.0%)、嫌気性菌は2株(0.4%)を数えた。同時測定を行った271株中171株(63.1%)が $\beta$ -lactamaseを産生していたが、その頻度は、グラム陰性菌の61.3%(122/199)に対してグラム陽性菌では68.1%(49/72)、また、外来由来株の55.1%(49/89)に対して入院由来株では67.0%(122/182)であった。主な菌種では*S. aureus* 66%、*H. influenzae* 4.5%、*B. catarrhalis* 93%、*K. pneumoniae* 24%、*E. cloacae* 100%、*P. aeruginosa* 88%、*X. maltophilia* 92%、*Acinetobacter* 84%であった。総じて $\beta$ -lactamase産生株のディスク感受性はABPCとCEZに対しては全般的に低下しており、PIPC, CTM, CMZ, CPZ, LMOX, CZONに対しては菌種により一部に、あるいは広範囲に低下が見られた。しかし、IPMとSBT/CPZに対しては全般的に高感受性を保っており、 $\beta$ -lactamase産生菌が起炎菌となる確率が高いと考えられるimmunocompromised hostにおける併発感染に対するIPMとSBT/CPZの有用性が示唆された。

#### 242 モノバクタム高度耐性と $\beta$ -ラクタマーゼのかかわり合い(第2報)

松田耕二・真田 実・中川 晋

田中信男

萬有製薬株式会社岡崎研究所

三 橋 進

エビゾーム研究所

48株の*M. morgani*の臨床株について、そのCRMNに対する感受性を検討し、7株(13%)の耐性菌が得られました。これらの株についてモノバクタムの構造と $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性について検討した。また代表的なCSaseとCXaseに対するモノバクタムの安定性についてもあわせて検討した。

使用菌株：当研究所保存の*M. morgani*より、CRMNのMICが6.25  $\mu$ g/ml以上の7株を用いた。

使用薬剤：CRMN, AZTは力価の明らかな標品を使用し、BO-1165, BO-1166は当研究所で合成した。 $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性は微生物定量法とUV法によった。アシル複合体よりの酵素の遊離は透析法により測定した。

結果：CRMN耐性株はすべて $\beta$ -ラクタマーゼを生産していたが、その酵素生産量や、酵素生産様式と耐性度との間には、特に関連は認められなかった。*M. morgani*の酵素はいずれもCis体のモノバクタムをtrans体より速く分解することが微生物定量法で確認された。また、CSase生産の*E. cloacae* GN 7471, *C. freundii* GN 346の $\beta$ -ラクタマーゼもCis体の方を優先的に分解した。しかし、分光学的方法では酵素反応阻害のため、その分解を直接モニターすることは困難であった。Ki値の測定からCis体の方がCSaseに対する親和性がtrans体より弱いことが示唆された。モノバクタムのCSaseに対する阻害からの回復は、Cis体の方がTrans体より早く回復した。3位、4位の立体異性体であるBO-1165とBO-1166についても同様の結果が得られた。モノバクタムのCSaseに対する安定性は、そのアセチジノン環の立体配位に依存し、それはアシル複合体からの酵素の遊離速度がCis体とtrans体で異なるためと推定された。一方CXaseではTrans体を容易に加水分解し、Cis体の方は、その酵素に対する親和性がまったくないので安定であった。以上のことから、CSaseとCXaseでは、モノバクタムの3、4位の立体構造の違いを認識し、それに対する親和性がまったく異なるという新しい事実を見い出しました。

本研究に当り終始懇切丁寧なる御指導を賜りました群馬大学附属薬剤耐性菌実験施設の井上松久助教授に深謝致します。

#### 243 外科領域感染巣から分離したグラム陰性桿菌の $\beta$ -lactamase 産生能の検討

—アシドメトリーディスク法を用いて—

竹末 芳生・横山 隆\*・児玉 節

藤本三喜夫・村上義昭・瀬分 均

広島大学医学部第1外科, 同 総合診療部\*

目的: グラム陰性桿菌 (GNB) においては陽性菌と異なり cephalosporinase (CSase) 並びに penicillinase (PCase) が存在し,  $\beta$ -lactamase の分類は複雑で不明な点も多い。そこで GNB の特に PCase と R-プラスミドの関係に注目し検討を行った。

方法: 当科において過去6年間に臨床より分離された *P. aeruginosa* 201株, *E. cloacae* 85株, *C. freundii* 67株, *Serratia* 36株, *E. coli* 267株, *K. pneumoniae* 109株 (1症例1株) を対象とした。アシドメトリーディスク法を用い,  $\beta$ -lactamase を加水分解する基質により分類し比較を行った。(penicillin を P型, cephalosporin を C型, 双方を C/P型) なお, トリプトソイ寒天培地に inducer として *P. aeruginosa* は CMZ 10  $\mu$ g/ml, *E. cloacae*, *C. freundii*, *Serratia* は CEZ 10  $\mu$ g/ml, *E. coli*, *K. pneumoniae* は PCG 10  $\mu$ g/ml を各々加え 37°C : 18時間培養し,  $\beta$ -lactamase 産生能の判定を行った。また *P. aeruginosa* は緑膿菌群用免疫血清 (デンカ生研) を用い血清型別に分類し検討を加えた。

結果, 考案: GNB の  $\beta$ -lactamase は染色体性の菌種特異的なものと, 異菌種間で伝達可能な R 因子による菌種非特異的なものがある。染色体性のは GNB においては多くが C型であり (*K. pneumoniae* P型), これを修飾するのが後者のほとんどを占める TEM型 PCase である。この酵素は PCase との呼称がありながら C/P型で, 染色体性に C型の菌が C/P型を示した場合, R因子の関与が考えられる。(1) R因子の存在が考えられる C/P型は *Sevatia*, *E. cloacae* に高率にみられた。(2) Cephalosporin 系においては R因子の関与により耐性化が認められるものの, 染色体性の菌種特異的  $\beta$ -lactamase の影響が大きく, C/P型における菌種間での感受性の差が認められた。(3) 一方, penicillin 系においては, R因子により C型が C/P型に変わるため, いずれの菌種においても同

様に高度耐性化を認めた (PIPC)。(4) 緑膿菌の血清型の検討において, E群は高度耐性を示し, C/P型の頻度が高率であった。

#### 244 胆道感染症における胆汁中 $\beta$ -lactamase 活性測定の意義

坂本幸具・青木洋三・谷村 弘

和歌山県立医科大学消化器外科

徳川佐奈美・松永敏幸・川崎賢二

台糖ファイザー細菌研究室

胆道疾患 109 例の胆汁中  $\beta$ -lactamase 活性を ABPC および CER を基質とする Acidmetry により, フェノールレッドを発色試薬として 25°C における 558nm の吸光度の低下を分光光度計で経時的に測定し, その低下率より  $\beta$ -lactamase 活性を算出した。

結果: 1) 胆嚢結石症 81 例, 総胆管結石症 15 例, 肝臓瘍 1 例, 膵・胆道系悪性腫瘍 12 例, 計 109 例の胆汁では,  $\beta$ -lactamase 活性は, PCase は 81%, CSase は 56% に活性を認めた。 $\beta$ -lactamase 活性の平均値を比較すると, PCase が 8.8 mU/ml, CSase が 3.7 mU/ml と, PCase 活性が高かった。胆嚢胆汁 (81 例) は PCase 8.5 mU/ml, CSase 2.0 mU/ml で, 胆管胆汁 (28 例) は 9.5 mU/ml, 2.4 mU/ml であり, 採取部位による差は認めなかった。

2) 胆汁分離菌は 79 株で, *E. coli*, *K. pneumoniae* などの *Enterobacteriaceae* 32 株 (40%) と *Enterococcus* 26 株 (33%) が大部分を占めた。これらの胆汁分離菌の  $\beta$ -lactamase 産生能 (ニトロセフィンディスク法) は, *Staphylococcus* は 67%, *Enterobacteriaceae* は 91%, GNF GNR は 100% であった。

3) 単独感染と混合感染に分けると, 胆汁中  $\beta$ -lactamase 活性は *Enterobacteriaceae* と GNF GNR の混合感染例で高値を示した。各種  $\beta$ -lactam 剤に対する薬剤感受性がきわめて低いことと併せて, 胆道感染症を難治性とする原因と考えられる。

4) 高濃度の  $\beta$ -lactamase 活性を認めた胆汁に  $\beta$ -lactamase 阻害剤 (SBT) を添加したところ, 111 mU/ml の活性は 10  $\mu$ g/ml の, 16 mU/ml の活性は 1.0  $\mu$ g/ml の SBT の添加により阻害され, これが  $\beta$ -lactamase 活性であることを確認した。

245 各種臨床材料より分離された Group JK *Corynebacterium* の薬剤感受性と生物学的性状

三沢 成毅・小栗 豊子  
順天堂大中検

目的：Group JK *Corynebacterium* (以下 Group JK と記す) は近年、院内感染の起原因菌として注目を集めており、また各種抗菌薬に耐性であることも知られている。今回、我々は日常検査にて Group JK と同定された菌株の各種抗菌薬に対する感受性を測定し、またその生物学的性状についても検討した。

実験材料および方法：使用菌株は 1987 年 9 月から 1989 年 4 月までに当院中検にて分離された臨床分離株 219 株で、MIC 測定には MIC 2000 system (Dynatech) を用いた。使用薬剤は ABPC, PIPC, CEZ, CMZ, CTX, CZON, IPM, GM, AMK, MINO, EM, CLDM, VCM, OFLX, CPF, ST 合剤の計 16 薬剤を用いた。また、生物学的性状の検討にはミニテックシステム (BBL) を用いた。

成績：使用菌株 219 株の約 80% は入院患者に由来しており、尿、ドレーン液・創部膿より分離されたものが多かった。薬剤感受性は VCM, MINO の抗菌力が最も優れており、他の薬剤では耐性株が多く、2 峰性の分布を示した。分離株の性状は A (12%), B (24%), C (64%) の 3 つのグループ、すなわち、典型的な Group JK の性状を示す A グループ、A グループに類似の性状を示す B グループ、A グループとかなり性状を異にする C グループの 3 つに大きく分けられた。これら 3 つのグループと薬剤感受性の関係は、 $\beta$ -ラクタム剤、GM において 3 つのグループ間に大きな差が認められ、A グループが最も耐性株が多く、次いで B グループ、C グループの順であった。その他 MINO では B グループが他のグループに比べ、最も耐性株が多かった。

今回の検討により Group JK として収集された菌株の中には、Group JK と性状を異にする株が含まれていた。Group JK は他の菌種に比べ多くの薬剤において最も耐性株が多かった。

246 *Bacteroides fragilis* の  $Zn^{++}$  要求性  $\beta$ -ラクタマーゼ

板東香お里・武藤吉徳・渡辺邦友  
加藤 直樹・上野一恵  
岐阜大・医・嫌気性菌実験施設

当施設で臨床分離された IPM に対する MIC が 100  $\mu\text{g/ml}$  という *B. fragilis* の IPM 高度耐性株 (GAI-30144) の  $\beta$ -ラクタマーゼについて検討した。

結果と考察：本酵素は PCG, CZX, IPM を顕著に分解するほか、LMOX, CFX も基質とした。酵素活性は CVA, SBT には阻害されず、pCMB, EDTA に阻害を受けた。EDTA による阻害は  $Zn^{++}$  で顕著に回復し、また、亜鉛は活性を安定化する作用も示した。他の IPM 分解性  $\beta$ -ラクタマーゼの例とあわせて、亜鉛を利用した触媒機構と IPM の分解能の関係が示唆される。また今回、本酵素を約 800 倍まで部分精製した。

247 *Bacteroides thetaiotaomicron* の  $\beta$ -lactam 感受性株と耐性株の特徴

渡辺邦友<sup>1)</sup>・板東香お里<sup>1)</sup>・武藤 吉徳<sup>1)</sup>  
上野一恵<sup>1)</sup>・島田 馨<sup>2)</sup>・清水喜八郎<sup>3)</sup>  
原 耕平<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>：岐阜大学医学部嫌気性菌

<sup>2)</sup>：東京大学医科学研究所内科

<sup>3)</sup>：東京女子医科大学内科

<sup>4)</sup>：長崎大学医学部内科

昭和 61 ~ 62 年分離の臨床材料由来の *B. thetaiotaomicron* 40 株の 14  $\beta$ -ラクタム剤に対する感受性を、寒天平板希釈法により測定し、*B. thetaiotaomicron* のこれら  $\beta$ -ラクタム剤に対する感受性の現況 (耐性菌の出現状況)、*B. fragilis* との  $\beta$ -ラクタム薬剤に対する感受性の相異などについて検討した。

Ampicillin 100  $\mu\text{g/ml}$  を基準としてみた場合、*B. thetaiotaomicron* 40 株中 31 株 (78%) は感性側に、9 株 (22%) は耐性側に分布した。一方先に報告した *B. fragilis* では、145 株中 102 株 (70%) が感性側に、43 株 (30%) が耐性側に分布していた。

*B. thetaiotaomicron* の感性株 (31 株) は、*B. fragilis* の感性株 (定型的) に比し、すべての薬剤で 2 倍 ~ 4 倍高い MIC を示した。しかし、*B. thetaiotaomicron* の感性株は、 $\beta$ -lactamase 産生量の多



い *B. fragilis* の耐性株 (定型的) よりは、感性であった。*B. thetaiotaomicron* は、*B. fragilis* より、cephamycins に対しより耐性の傾向であることが確認された。

*B. thetaiotaomicron* の  $\beta$ -ラクタム耐性株 (9 株) は、一様に ampicillin, piperacillin のペニシリン剤に、そして cefazolin, cefoperazon そして cefbuterazone に高度耐性を示した。これら 9 株中、ceftizoxime (100  $\mu\text{g/ml}$  以上) 耐性株が 4 株、cefoxitin, cefmetazole (200  $\mu\text{g/ml}$  以上) 耐性株が、1 株そして latamoxef, cefotetan (200  $\mu\text{g/ml}$  以上) 耐性株が、6 株存在した。

*B. thetaiotaomicron* の耐性株は、*B. fragilis* の高度耐性株とほとんど同様の耐性パターンを示したが *B. thetaiotaomicron* には、imipenem 耐性株は存在しなかった。*B. thetaiotaomicron* の ampicillin, amoxycillin および cefoperazone に対する感受性は、Clavulanic acid や Sulbactam の添加で有意に低下した。

## 248 薬剤耐性菌の保存中での安定性と長期保存

角田光子・井上松久・橋本 一\*

群馬大学医学部薬剤耐性菌、同 微生物\*

目的：化学療法剤は感染症に対し著しい効果を示した反面、それらの薬剤に対する耐性菌も分離され、その動向は常に使用薬剤とともに変わってきている。耐性菌は新たな薬剤の開発にとっても必要であり、耐性菌等の長期安定保存が望まれる。今回 1965 ~ 1972 年までに分離された当施設保存菌の安定性を薬剤耐性型、プラスミドの DNA を指標に検討した。臨床分離グラム陰性薬剤耐性菌約 900 株は、クックトミート培地保存菌および 50% グリセリン (-80°C) 保存菌したものである。その結果クックトミート培地保存では *E. coli* 178 株 (36.4%) *Klebsiella* sp. 29 株 (22.4%) *Proteus* sp. 23 株 (23.4%) の割合で保存菌が死滅していた。保存時の耐性型の変っていた菌株は *E. coli* 82 株、*Klebsiella* sp. 32 株、*Proteuse* sp. 20 株であった。耐性の変化は 4 剤 (TC, CP, SM, SA) 耐性を中心に見た場合 TC, CP, SM の順に不安定であり、SA の変化率は低かった。またアンピシリン耐性プラスミドの脱落は、*S. aureuse* (33%) グラム陰性菌 (100%) であった。-80°C 50% グリセリン保存菌 169 株 (*S. aureus*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteuse* sp. *S. marcescens*) は *C.*

*freundii*, *K. pneumoniae*, *Proteus* sp. で耐性の脱落が見られたがその割合は 1 ~ 9% であり 1 株当りの不安定の割合は 0.1% 以下であった。プラスミド pMS 76 (Ap) pMS551 (Sa) pCRI (Km) 各 DNA を 1/10 SSC, (4°C) TE (4°C) エタノール沈殿 (4°C) の中に 5 ~ 10 年間保存したものの安定性を形質転換率で調べた。その結果 1/10 SSC は活性が 0.5 ~ 0.2% に減少し、TE, エタノール沈殿では 70 ~ 100% の活性を保持していた。このことから耐性菌は 50% グリセリン (-80°C), プラスミド DNA はエタノール沈殿または TE 中に保存することが望ましいことと判明した。

## 249 蛍光法による MIC 値測定の見直し

三品正俊・谷田貝浩三・藤村重晴

堀米一巳

日水製薬株式会社中央研究所

小林 芳夫・内田 博

慶応義塾大学中央臨床検査部

目的：近年、病院検査室等において薬剤感受性を測定するいくつかの機器が使われるようになってきている。今回我々は新しい方法として、蛍光基質を用いたマイクロブイオン希釈法における菌発育の有無の自動読み取りシステムを試用する機会を得、従来通りの肉眼濁度判定と蛍光自動読み取り装置での判定結果とを比較するとともに、寒天平板希釈法との比較を行い若干の知見を得たので報告する。

材料と方法：1) 菌株：ATCC 由来の *S. aureus* 7 株、*Enterococcus* 2 株、*E. coli* 4 株、*Pseudomonas* 4 株、*Klebsiella* 4 株、*Serratia* 2 株、*Enterobacter* 3 株の計 26 株を用いた。2) 蛍光自動読み取りシステム：薬剤プレートは 96 穴マイクロプレートに薬剤を 2 倍希釈系列 (・, ・, 1, 2, 4, ・, ・  $\mu\text{g/ml}$ ) で分注後凍結乾燥した 7 タイプのプレートを用いた。菌接種用ブイオンは緩衝剤 TES を含むミュラーヒントンブイオンを用いた。あらかじめ蛍光基質を含む紙片を加えたブイオンに、菌数が  $10^5/\text{ml}$  になるように懸濁調整後、専用の分注器で各穴 50  $\mu\text{l}$  ずつ接種した。プレートを粘着シールで封じた後、37°C で 18 時間培養後判定を行った。蛍光による MIC の判定には専用の自動読み取り装置を用い、また同時に濁度による肉眼判定も行った。3) 寒天平板希釈法：薬剤希釈濃度系列を薬剤プレートと同一にしたほかは、治療標準法に準じた。

結果：蛍光判定と肉眼判定は非常によく一致し、同

一判定であったのが75.5%，前後1段階のずれが19.6%で両者を併せると95.1%が一致した。前後2段階以上のずれは4.9%にすぎなかった。また、寒天平板希釈法とは、蛍光判定・肉眼判定ともによく一致した。

## 250 寒天平板2倍希釈法によるMIC値の変動およびこれに基づいたディスク法の精度管理について (続報)

金 沢 裕

新津医療センター病院内科

倉 又 利 夫

KK ニチエー

2倍希釈法の成績は不連続な値でしか示されず、実験条件に左右される生物学的反応の表現で、測定値の変動は少なくない。たとえばChemotherapy誌上で化療法 $10^6$ 接種による*S. aureus* 209 P株のCEZに対するMICは6段階の変動幅を示した。また同一MICを示し、 $\bar{X}-X=0$ でも変動の幅は0でなく2倍希釈法の幅の表現を加える必要がある。さきにMICの対数値は正規分布を呈することが証明されている(金沢:メデアサークル19:261, 1974)。したがって基準化正規分布(0, 1)の関数 $f(t)$ の $t: -5 \sim +5$ の幅には中央値側の同一MIC値が含まれることになる。したがってその数値から母集団推定標準偏差 $\sigma$ を求めることができる。このようにして同一菌株MIC測定集計成績(桑原, 藤井, 1968)の最小変動幅グループについて棄却限界幅( $\alpha=0.05$ )を求めると(4.1)<sup>2</sup>の値が得られた。この値をルーチン検査としてのMIC変動幅としてディスク法の精度管理限界値を治療標準株*S. aureus* 209 P, *E. coli* NIHJに*P. aeruginosa* ATCC 27853を加えて求めた。すなわち、1) 測定阻止円の管理限界はMICが $M \pm 2\sigma$ に、2) 5回連続測定の際の正確度の管理限界はMICが $2\sigma/\sqrt{5}$ に、3) 精密度の管理限界は正規母集団から5個を選んだ場合の偏位( $d_3$ )を示す数値を適用し最大幅はMICが $\pm 2\sigma d_3$ に、4) その平均の幅は $\pm 2\sigma d_3/\sqrt{5}$ にそれぞれ相当する阻止円径の幅から求められた。このような理論的管理限界は、回帰式を含めての精度管理に役立つ、実験的に求めた数値に比べさらに一般的とも考えられる。

## 251 感受性ディスク・レプリカ法による *in vitro* 抗菌活性 (総合的殺菌効果, 初期効果, 薬剤後効果, 接触時間効果) の観察 (続報)

金 沢 裕

新津医療センター病院内科

倉 又 利 夫

KK ニチエー

目的および方法: 任意の発育時相の菌接種平板上に被検薬剤の感受性ディスクをおき、任意の接触時間後にレプリカ法を行い、発育阻止円内の菌コロニーの発育を観察することにより、1) 菌発育時相に応じた殺菌作用、2) 菌薬剤接触開始時間からの効果発現時間、すなわち初期効果、3) 薬剤除去後の薬剤後効果、4) 接触時間の殺菌効果への影響を検討した。

実験材料: 使用ディスク $\beta$ -lactam 剤計12, AGs 2, FOM, ST, MINO, OFLX, CP, EMの昭和ディスク(金沢法)、本ディスクは同一系統薬剤は同一含有量となっているので本実験に好適である。使用菌株,*S. aureus* 209 P, *E. coli* NIHJ, *P. aeruginosa* ATCC 27853を主な被検菌株として実験項目により好気性菌計20株を加えた。

実験成績: 1)  $\beta$ -lactam 剤の殺菌作用は発育初期に限定されたが、CZON, CZX, IPMは多少長く発限される傾向があり、OFLX, AGsは定常期を含めて活性を示した。2) AGs, OFLX, CZON, CZX, IPMに抗菌活性発現が早く認められた。3) 薬剤除去後の活性はAGs, OFLXに長く、 $\beta$ -lactam 剤では短い、CZON, CZX, IPMでは多少長い傾向がみられた。またレプリカ回数を追加して阻止リング内外のコロニー数を数え、PAEとして定量化することもできた。4) AGs, OFLX,  $\beta$ -lactam 剤(発育初期に限定)は短時間接触でも殺菌作用がみられた。また短時間接触では発育阻止に限定されているMINO, FOM, CPでも長時間接触では殺菌作用を呈することが認められた。

結語: 日常の検査としてのディスク法にレプリカ操作を加えることにより個々の分離起因菌に対する任意の化学療法剤の*in vitro* 抗菌活性についての情報を入手する可能性が推定された。

## 252 コンピューターを用いての3次元チェス盤法による3剤併用効果の解析

渡辺 彰・北村直人・大泉耕太郎  
 本田芳宏・小野玲子・徳江 豊  
 庄司 聡・本宮雅吉  
 東北大学抗酸菌病研究所内科学部門

目的：我々はすでに抗菌性薬剤の3剤併用効果の解析の目的で3次元チェス盤法を考案・報告した(Chemotherapy 36:613, 732, 738)が、原法に関して、今回パソコン(NEC PC-9800)を用いて正確に解析する方法を考案した。

方法：被検菌種は *S. aureus* 10株, *E. coli* 17株, *K. pneumoniae* 20株, *S. marcescens* 20株, *P. aeruginosa* 20株である。原法(同36:613, 1988)に従い, MIC 2000 システムを用いて PIPC, AMK, MINO の3剤による立体的なチェス盤多数枚を作成した。一夜前培養後の菌液を接種して得られた成績を今回作成したプログラムにデータ入力し, 1株毎に3次元グラフ上の VUS (volume under the surface) を算出比較して菌種毎に比較解析すると共に, 最適な薬剤組み合わせ濃度を求める試みを行った。なお, VUS index (3剤各々単独使用時に対する併用時の VUS の比=3次元グラフ上の体積の比) が 0.75 未満を相乗作用, 0.75 ~ 1.0 を部分的相乗作用, 1.0 以上を拮抗作用と定義した。

成績：VUS index は全 87 株に対して 0.702 であり, 相乗作用が認められた。菌種別では *S. aureus* 0.867, *E. coli* 0.679, *K. pneumoniae* 0.578, *S. marcescens* 0.726, *P. aeruginosa* 0.847 であり, 菌種毎に異なる種々の程度の併用効果が認められた。

考察：上記の菌種間で見られた併用効果の程度の差異は, 全報(同36:738, 1988)において簡便法として提唱した FIC<sub>2</sub> index を用いた成績と同様の傾向であり, 2つの方法のそれぞれの有用性が確認された。また, 今回は1種類の併用のみの成績を提示したが, 他種類の多剤併用に関して2つの方法を使い分けて正確にあるいは簡便に成績を求め, これを菌種毎あるいは1株毎に比較することにより, より有用性の高い併用療法を選択することが可能になると考えられる。また, 今回の解析法は抗菌性薬剤のみならず, 抗癌剤や消炎鎮痛剤の多剤併用の解析にも応用が可能である。

## 253 緑膿菌の皮膚消毒剤に対する感受性の検討

石川 周・石原 博・村元雅行  
 桜井 敏・鈴井勝也・保里恵一  
 真下啓二・品川長夫・由良二郎  
 名古屋市立大学第一外科

目的：生体防御能の低下した個体において, 難治性となりやすい緑膿菌感染症は, その対策として感染予防が重要となる。今回, 緑膿菌の皮膚消毒剤に対する感受性について検討したので報告する。

方法：臨床材料または環境より分離された緑膿菌を用いて検討した。消毒剤の感受性測定は, 各濃度の薬液中に最終濃度 10<sup>6</sup>/ml の菌を接種し, 30秒後と5分(10分)後の生菌数を測定して行った。検討した消毒剤は外科領域において皮膚消毒剤として最も多く用いられるクロールヘキシジン, ポビドンヨード, 塩化ベンザルコニウムを用いた。なお, これら消毒剤に血漿, 胆汁, 尿などを添加し, その抗菌力の変化も検討した。また, 消毒剤に対する抗生剤の影響についても検討した。

結果：環境分離の緑膿菌6株は各種抗緑膿菌抗生剤に対して良好な感受性を示していたが, 抗生剤に耐性の臨床分離株も含めて, いずれの消毒剤にも常用濃度においては *in vitro* で優れた感受性を示し, また各種抗生剤感受性との相関は認めなかった。環境分離株2株について消毒剤に血漿, 胆汁, 尿などと同時に菌を接種した場合, 低濃度のクロールヘキシジン, ポビドンヨードで殺菌力の低下がみられた。これに対して塩化ベンザルコニウムでは, これらの添加による影響がみられなかった。抗生剤と消毒剤の併用効果についても若干検討したが, クロールヘキシジンにおいて消毒剤の殺菌力に変化が見られた。

考察：皮膚消毒剤は常用濃度において *in vitro* ではいずれも緑膿菌に対して優れた殺菌力を有しているものの, 臨床の場では血漿や種々の不活化因子が存在しており, 感染予防としてその効果が時に不充分となることにも注意する必要がある。

## 254 Microplate-hybridization 法による *Legionella* 属菌の種同定

中浜 力・黒川幸徳・上田 智  
副島林造\*

川崎医大検査・診断学, 呼吸器内科\*

江崎孝行・山本啓之・橋本安宏  
藪内英子

岐阜大学微生物

健山正男・草野展周・伊良部勇栄  
重野芳輝・斎藤 厚

琉球大学第一内科

賀来満夫・河野 茂・山口恵三  
原 耕平

長崎大学第二内科

目的: *Legionella* 属菌は現在 23 種に分類されているが, 菌種間の生化学的性状には明確な差異は乏しく, 日常検査での同定は主に直接蛍光抗体法もしくはスライド凝集法により行われている。しかし実際には抗血清等の問題により正確な菌種同定は困難であると言わざるを得ない。最近, 江崎・藪内らは Microplate-hybridization による *Legionella* 属の菌種同定法を開発したので, その方法論ならびに基礎的検討成績を報告する。

方法: Microplate-hybridization 法は, まず被験株より抽出した DNA を photobiotin で標識し, この標識 DNA を, 23 種の *Legionella* と 2 種の陰性 control 株の抽出 DNA をコーティングした microplate 内で各々 hybridization させる。次に, 洗滌後, peroxidase-streptoavidin, TBZ, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> にて発色させ吸光度を測定し, homology (%) より菌種を決定するものである。本法の基礎検討としては, まず *L. pneumophila* 以下 17 基準株の同定を試み次に演者間の 3 施設において基準株 6 株を blind にて同定を行った。

結果・考察: 基準株 17 株はすべて正しく同定され,

3 施設における blind による 6 株の同定結果もすべて一致した。本法は non-RI 法であるため特殊な機器を必要とせず, 通常の検査室においても正確な同定が可能となり, 今後他菌種への応用も含めて有用な検査法であると考えられた。これら検討の詳細について述べる。

## 255 リムルステスト及び D-arabinitol 測定 による深在性真菌症の迅速診断法

宮崎幸重・笹山一夫・道津安正  
河野 茂・山口恵三・原 耕平

長崎大学第 2 内科

我々は, 人工脂質膜であるリポソームに抗真菌剤アンホテリシン B を封入し, マウスカンジダ症の治療実験において, その有用性を報告してきた。しかし, リポソーム封入アンホテリシン B の臨床応用のためには, より確実な深在性真菌症の診断法が必要である。

この目的で, 簡便な真菌症の補助的迅速診断法の確立のため下記の実験を行ったので報告する。

Eudotoxin フリーの状態で, カンジダを培養したところ, endotoxin 特異的なリムルステスト (endospecky test) には反応がみられなかったが, factor G を含む従来のリムルステスト (toxicolor test) には発色反応が認められた。また, *in vitro* でのカンジダ菌数の増加に平行して, 曾山らの開発した方法により D-arabinitol 濃度が増加することが示された。

同様に家兎にカンジダ  $1.0 \times 10^7$  CFU を静注した場合も, 5 羽全例において経時的に toxicolor test には発色反応が認められたが, endospecky test はまったく反応しなかった。また, 同時に測定した D-arabinitol 濃度も, 前値と比較して, 上昇が認められた。

以上より, ① endospecky test と toxicolor test の両者の差による診断法と②曾山らの D-arabinitol 濃度測定用のキットは, 深在性真菌症の迅速診断法として, 臨床に応用が可能と考えられた。