

Imipenemによる補体殺菌能増強作用

福田 互・竹村 周平・柳田 国雄・岡本 雅之
笠松 美宏・小野寺秀記・出口 雅子・上田 正博
杉野 成・近藤 元治

京都府立医科大学第一内科*

(平成元年10月19日受付・平成2年3月22日受理)

Imipenem (IPM) の細菌に対する血清・補体との協力的殺菌作用について、検討を加えた。1/4の最小発育阻止濃度 (MIC) の IPM と 1/2 増殖阻止濃度の正常ヒト血清を共存させると、グラム陰性菌である *Escherichia coli* (*E. coli*)、*Pseudomonas aeruginosa* ならびに *Serratia marcescens* に対しては協力的殺菌作用が認められた。一方、グラム陽性菌である *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) に対してはその作用を認めなかった。すでに IPM に関しては *E. coli* において、補体との協力的殺菌効果を認めないとの報告があるが、ここにみられた実験結果の相違は、用いた菌株の血清・補体に対する感受性の差によることが推定された。

Key words : Imipenem, 補体, 協力的殺菌作用

細胞壁合成阻害剤である β -lactam 剤は、血清・補体の持つ殺菌能を増強させることが報告されている^{1,2)}。新しく開発された carbapenem 系抗生物質である imipenem (IPM, チエナム[®]) は、広い抗菌域を有すると共に各菌種に対し強い試験管内抗菌力を示すが、従来の cephem 系抗生物質にみられるような血清・補体との協力的殺菌作用に関しては、否定的な見解を示す報告がなされている³⁾。

今回、各種菌に対する IPM の血清・補体との協力的殺菌作用につき検討を行い、特にすでに報告のある *Escherichia coli* (*E. coli*) について興味ある知見を得たので報告する。

I 材料および方法

1) 使用菌株および培地

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) FDA 209 P, *E. coli* NIHJ J-2, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) NCTC 10490 および *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) II D 620 を用いて実験を行った。菌の前培養には Trypto-Soya Broth (日水製薬) を、実験系には Heart Infusion Broth (日水製薬) を、colony forming units (CFU) の測定には Heart Infusion 寒天培地 (日水製薬) を使用した。

2) 血清ならびに抗生物質

複数の健康人より静脈採血にて得た血清を混合し正常人血清 (NHS) として用いた。補体価は 30 CH 50/ml であった。各種被験菌に対し寒天平板希釈法によ

り増殖阻止濃度を求めた。IPM は 萬有製薬株式会社より供給を受け、0.05 M morpholino propane sulfonate (MOPS) 緩衝液に溶解し、使用した。各種被験菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は寒天平板希釈法により測定し、その値は血清の増殖阻止濃度と共に Table 1 に示した。

3) 各種菌に対する血清・補体と IPM の協力的殺菌作用

各被験菌は Trypto-Soya Broth にて 37°C、20 時間培養後、さらに Heart Infusion Broth 中で 37°C、3 時間培養したものを使用した。1/4 MIC 濃度の IPM のみ、1/2 増殖阻止濃度の NHS のみ、ならびに両者を添加した Heart Infusion Broth 2.0 ml を作り、各菌を 1.0×10^4 /ml 接種した。さらに補体以外の抗菌物質の影響をみるため NHS と同濃度の非働化血清を加えたものと、コントロールとしては培養液のみに菌を接種した。37°C で振盪培養を続け、0、2、4 および 24 時間目にその一部を取り、適当に対数希釈した後、Heart Infusion 寒天培地に散布し、37°C、24 時間培養後集落数を数え、生菌数 (CFU) を計算した。

II. 結 果

Heart Infusion Broth に 1/2 増殖阻止濃度の NHS 単独、1/4 MIC 濃度の IPM 単独、ならびに両者を共存させたときの各種被験菌に対する殺菌曲線を Fig. 1

*京都市上京区河原町広小路 465

Table 1. Growth inhibitory concentration of NHS and MIC of imipenem against various strains of bacteria

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Serratia marcescens</i>
GIC* of serum (%)	2.5	10	10	20
MIC of IPM ($\mu\text{g/ml}$)	0.012	0.10	1.6	0.78

* GIC = growth inhibitory concentration IPM : imipenem

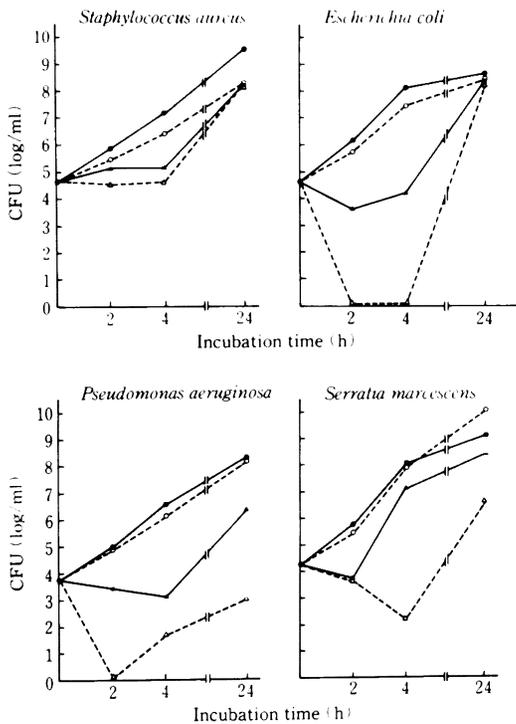


Fig. 1. Influence of 1/4 MIC of imipenem on bactericidal activity of serum complement against various kinds of bacteria

●, Broth alone; ○, IPM; ▲, NHS; △, IPM+NHS

に示した。グラム陰性桿菌である *E. coli*, *P. aeruginosa* および *S. marcescens* においては、IPM 単独では培養後の各時間において対照と生菌数に差がなく、血清単独でも培養の 2, 4 時間後にわずかな増殖の抑制が見られるのみであった。しかし両者を共存させると *E. coli* では 2, 4 時間での生菌数は著明に減少し、*P. aeruginosa* でも培養 2 時間以後の増殖が強く抑制

された。また *S. marcescens* でも 4, 24 時間後における生菌数は他の 3 群に比し明らかに減少していた。これに対し、グラム陽性球菌である *S. aureus* では IPM, NHS 単独および共存のいずれにおいてもほとんど殺菌効果は認められなかった。なお非働化血清のみを加えたものではコントロールと差がなかった。

III. 考 案

各種菌に対する血清・補体の殺菌作用において、IPM は菌種間で感受性の差は見られるものの、グラム陰性菌に関しては他の β -lactam 剤と同様の協力的殺菌作用を認めた。しかし、グラム陽性菌にはその作用を認めなかった。これは一般にグラム陽性菌が細胞壁の構造上の相違から血清・補体に抵抗性であることが知られており、そのため IPM による協力的殺菌作用も受けにくいことによるものと思われる。

IPM についてはすでに横田らが補体との協力的殺菌作用を認めないことを R 因子陽性の *E. coli* CS 2 (RE 28) を用いた実験から報告している³⁾。今回の我々の結果はそれと異なり *E. coli* においても血清との協力的殺菌効果を認めた。これは主に実験に用いた菌株の血清に対する感受性の差によるものと思われる。すなわち横田らの報告では、実験に用いた *E. coli* は 20% 血清単独でほとんど殺菌を受けないのに対し、我々の用いたものでは 2.5% 血清により増殖阻止が見られた。したがって前者における *E. coli* はヒト血清・補体に対して抵抗性であったことが推定される。このことは β -lactam 剤と血清の協力的殺菌が後期補体成分の細胞壁侵襲の上に成立つとされていることから考えて、IPM により殺菌増強効果が認められなかったことの一因であるものと思われる。一方、後者では血清に対する感受性がきわめて高く、そのために補体による細胞壁障害が容易に起こり、IPM による協力的殺菌作用も認めえたのであろう。このように同一の菌種でも血清・補体に対する感受性に大きな差が見られるこ

とは、補体に対する耐性発現のメカニズムそれ自身が、興味あることだが、抗生物質による協力的殺菌作用を考えるうえでも重要な問題になると考えられ、臨床的にも興味深い。

文 献

- 1) MILLER C P, FOSTER A Z : Studies on the action of penicillin. III. Bactericidal action of penicillin on meningococcus *in vitro*. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 56 : 205~208, 1944
- 2) WATANABE K, KIN R, MURAKAMI M, KONDO M : Influence of human serum on bactericidal activ-

ity of ceftizoxime sodium. *Chemotherapy* 32 : 113~117, 1986

- 3) 横田 健, 丸山映子, 鈴木映子, 新井京子, 加藤尚代 : Imipenem (MK 0787) の試験管内抗菌力, β -lactamase 不活化作用, ペニシリン結合蛋白親和性およびマウスの脳と腎ホモジネートに対する安全性。 *Chemotherapy* 33 (S-4) : 43~53, 1985
- 4) 出口雅子, 竹村周平, 小野寺秀記, 上田正博, 杉野成, 近藤元治 : Cefbuperazone による補体殺菌能増強作用。 *Chemotherapy* 35 : 542~545, 1987

ENHANCEMENT OF BACTERICIDAL EFFECT OF SERUM COMPLEMENT BY IMPENEM

WATARU FUKUDA, SHUHEI TAKEMURA, KUNIO YANAGIDA,
MASAYUKI OKAMOTO, YOSHIHIRO KASAMATSU, HIDEKI OSOBERA,
MASAKO DEGUCHI, MASAHIRO UEDA, SHIGERU SUGINO and MOTOHARU KANDA

First Department of Internal Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan

We investigated the influence of imipenem (IPM) on the bactericidal effect of serum complement. One-fourth of minimal inhibitory concentration (MIC) of IPM increased the killing activity of complement against Gram-negative bacteria, such as *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*, but not against Gram-positive, *Staphylococcus aureus*. It was reported previously that in an experiment using R factor positive *E. coli* the bactericidal effect of serum complement with IPM showed no synergy. From the present data we conclude that synergistic bactericidal effect of IPM depends on the susceptibility of bacteria to complement.