

## 家兎実験的胆道感染症における norfloxacin の治療効果

庭田 寧・村上吾由美・相島 博・平井 敬二

杏林製薬株式会社中央研究所\*

品川 長大・由良 二郎

名古屋市立大学医学部第一外科

(平成2年10月11日受付・平成2年11月27日受理)

総胆管を結紮した家兎の胆管内に *Escherichia coli* NIHJ JC-2 を  $10^{3-4}$  CFU/ml となるよう接種することにより実験的胆道感染症を惹起した。胆汁中生菌数は、菌接種 24 時間後に  $10^{8-9}$  CFU/ml に達し、以後このレベルを維持した。白血球数の増加、胆汁の色調変化が認められ、組織学的には、胆嚢、総胆管とも粘膜上皮が剥離し、筋層にまで壊死におちいていた。このモデルに norfloxacin (NFLX) の 25, 50 mg/kg を経口投与することにより、用量依存的に胆汁中生菌数が減少し、非治療群に比べ有意な菌増殖抑制効果がみられた。さらに、白血球数の増加が抑制され、胆汁の色調および胆嚢、胆管組織の変化も軽度には抑られていた。この効果は、NFLX の抗菌力とともにその胆汁中への良好な移行性によるものと考えられた。

**Key words :** 実験的胆道感染, norfloxacin, 家兎

胆道感染症の起炎菌としては、大腸菌、肺炎桿菌や緑膿菌のようなグラム陰性菌が多いが、グラム陽性菌でも第三世代セフェムの使用に伴って、腸球菌の増加も目立っている<sup>1,2)</sup>。胆道感染症の治療では、起炎菌に対して抗菌力の強い薬剤を選択することが原則であるが、胆汁排泄の良好なことも必要である。ニューキノロン系薬剤である NFLX は、大腸菌をはじめとする腸内細菌群や緑膿菌等に対して強い抗菌力を示し<sup>3)</sup>、胆汁排泄が良好な経口抗菌剤として知られている。臨床的には胆道感染症に対する有効性が期待される<sup>4-6)</sup>が、実験的胆道感染症モデルを用いて NFLX の治療効果を検討した報告は見られていない。また、従来より、胆道感染症モデルで評価された抗菌剤は注射剤<sup>9-13)</sup>が多く、経口剤についての報告は少ない。そこで、我々は胆道感染症で分離頻度の高い大腸菌を用い、家兎を使用した胆道結紮による実験的胆道感染症モデルを作製して、NFLX を経口投与しその治療効果について検討した。

## I. 実験材料と方法

### 1. 使用菌株

使用した菌株は、*E. coli* NIHJ JC-2 であり、日本化学療法学会標準法<sup>14)</sup>に準じて測定した NFLX の MIC は  $0.05 \mu\text{g/ml}$  であった。

### 2. 実験的胆道感染症家兎の作製

ペントバルビタール麻酔下で家兎（在来白色種、雄、

体重 1.7~2.4 kg）を背位に固定し、正中線に沿って開腹後、総胆管を十二指腸開口部近くで結紮した。結紮した直上部の総胆管から注射針で胆汁を 0.2 ml 採取した後、滅菌生理食塩水で調整した *E. coli* NIHJ JC-2 株の菌液 0.2 ml を総胆管内に注入した。

### 3. NFLX による治療

*E. coli* NIHJ JC-2 接種 6 時間後に NFLX を 0.3 % Carboxymethylcellulose-Na に懸濁し、感染家兎に経口投与した。投与量は 25 mg/kg (25 mg/5 ml/kg) および 50 mg/kg (50 mg/5 ml/kg) とした。投与 24 および 48 時間後に家兎を開腹し、総胆管より注射針で胆汁を 0.2 ml 採取して、Heart infusion agar (Nissui) を用いる寒天平板塗抹法により胆汁中生菌数を測定した。家兎は 1 群 3 羽用い、4 回の治療実験で計 24 羽を使用した。白血球数の測定 (n=3) は、耳静脈より採血し、Bürker-Türk の血球計算盤を用いて行った。

### 4. 病理組織学的検査

感染 48 時間後に胆嚢および総胆管を摘出し、10 % 緩衝ホルマリンで固定した後、パラフィン包埋、Hematoxylin-Eosin 染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。なお、組織の観察は、正常家兎 (n=1)、NFLX (50 mg/kg) 治療群 (n=3) および非治療群 (n=2) について行った。

\*栃木県下都賀郡野木町御手洗 2399-1

5. NFLX の血清および胆汁中濃度の測定

NFLX の 50 mg/kg を 1 回経口投与 (n=5) した後、経時的に血液と胆汁を採取し、NFLX 濃度を E. coli NIHJ JC-2 を検定菌とする薄層ディスク法で測定した。なお、血液は耳静脈より、胆汁は投与に先だって総胆管に挿入したカニューレにより採取し、採取時以外はカニューレ先端を縛り閉塞状態を維持した。

II. 実験結果

1. 細菌学的検討 (Fig. 1)

(1) 非治療群

家兔の総胆管内に E. coli NIHJ JC 2 を  $10^{3-4}$  CFU/ml となるよう接種した場合、胆汁中生菌数は、感染 6 時間後に  $10^{4-5}$  CFU/ml、24 時間後には  $10^{8-9}$  CFU/ml まで増加し、それ以後このレベルを維持した。感染 24 時間後には血液培養陽性の個体がみられ、48 時間後ま

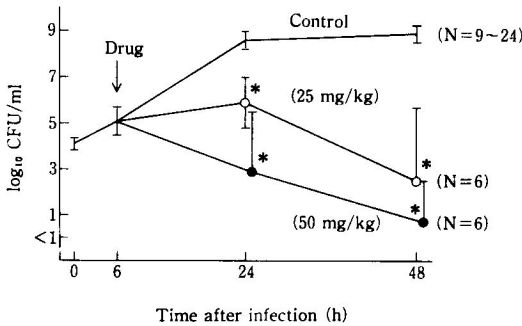


Fig. 1. Effect of norfloxacin on viability of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 in bile (Mean ± SD)

\*Significantly different from control by T test (p<0.01).

でに全例が陽性となった。

(2) NFLX 治療群

E. coli 接種 6 時間後の家兔に NFLX を 25 および 50 mg/kg 経口投与し、その後の胆汁中生菌数を測定した。NFLX 25 mg/kg 投与群の胆汁中生菌数は、24 時間後に  $10^8$  CFU/ml となり、非治療群の  $10^8$  CFU/ml に比べ、胆汁中での増殖が有意に抑制されていた。投与 48 時間後には生菌数は  $10^2$  CFU/ml まで減少し、強い殺菌効果が見られた。一方、NFLX 50 mg/kg 投与群では 24 時間後までに胆汁中生菌数は  $10^8$  CFU/ml まで減少し、48 時間後にはさらに生菌数の減少が見られた。

2. 白血球数の変動

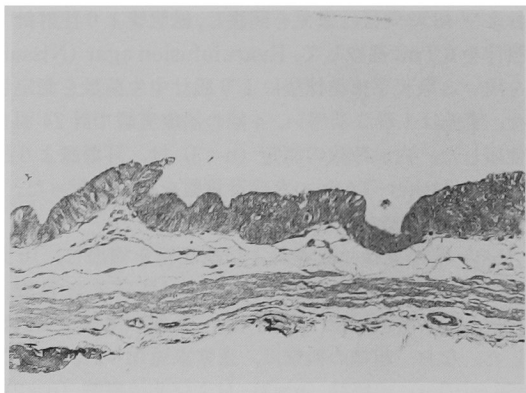
非治療家兔の白血球数は、感染前の  $7,900 \pm 300/mm^3$  から、24 および 48 時間後にはそれぞれ  $8,200 \pm 2,800$  および  $18,200 \pm 7,600/mm^3$  となり、経時的な白血球数の増加が見られた。一方、NFLX 50 mg/kg 投与群の白血球数は、感染前の  $9,800 \pm 3,100/mm^3$  から投与 24 および 48 時間後にはそれぞれ  $9,500 \pm 1,400$  および  $11,800 \pm 2,000/mm^3$  となり、非治療群の白血球数と比べると、増加の程度は軽度であった。

3. 胆汁の色調の変化

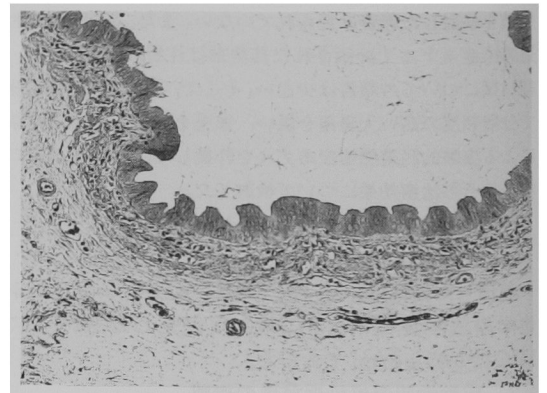
正常家兔の胆汁は透明な緑色をしていたのに対し、感染家兔の胆汁は濃い緑色、黄緑色あるいは白濁しており、明らかに色調の変化が観察された。NFLX 治療群の胆汁は比較的透明な緑色で、正常家兔の胆汁に近い色調を呈していた。

4. 病理組織学的所見 (Figs. 2~4)

感染 48 時間後の胆嚢および胆管壁を観察した結果、非治療群では、胆嚢、胆管とも粘膜上皮が剥離し、筋層まで壊死がおよんでおり、高度な炎症性の変化を呈

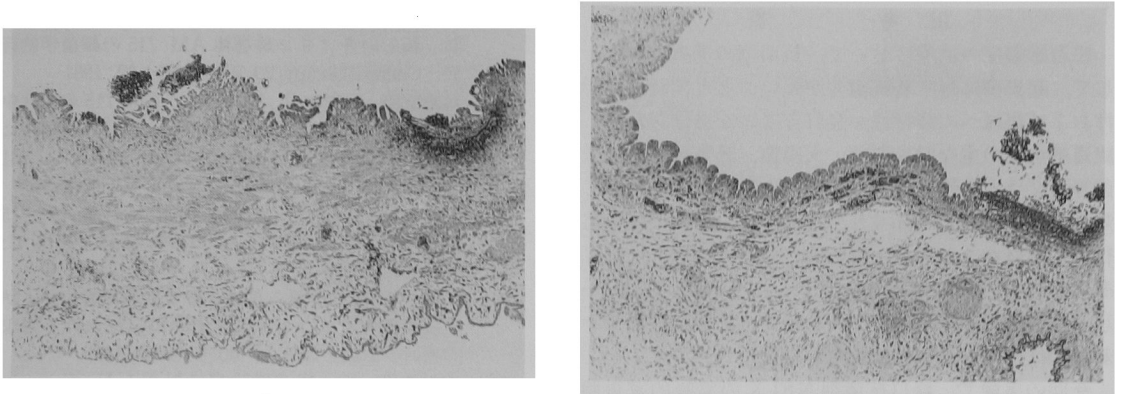


a



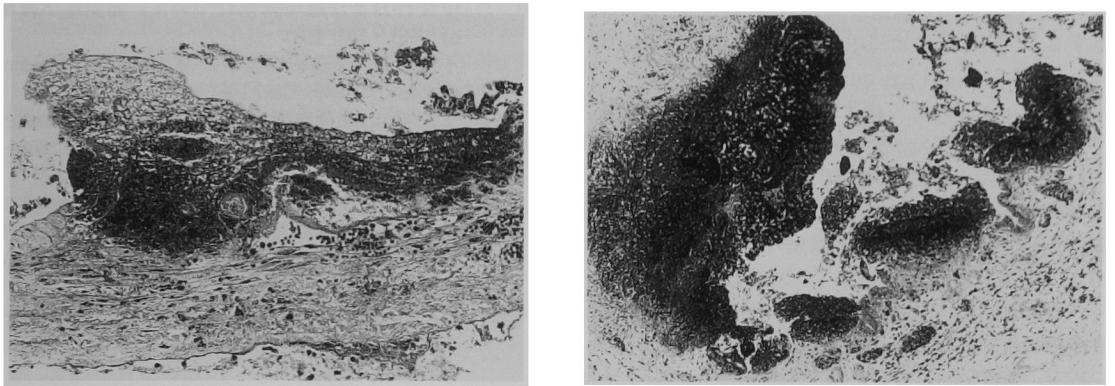
b

Fig. 2. Gallbladder (1-a) and common bile duct (1-b) of normal rabbits (HE stain)



a

Fig. 3. Gallbladder (2-a) and common bile duct (2-b) of norfloxacin-treated rabbits (exfoliation of epithelium) (HE stain)



a

b

Fig. 4. Gallbladder (3-a) and common bile duct (3-b) of infected rabbits (necrosis of mucosa) (HE stain)

した。一方、NFLX (50 mg/kg) 治療群では、粘膜上皮の一部に剥離が見られたが、非治療群に比べ炎症性の変化は軽度であった。なお、肝臓内の胆道系では特に異常が認められなかったが、実質では閉塞性黄疸に特有の網状壊死巣が見られた例もあった。

#### 5. NFLX の血清および胆汁中濃度

NFLX 50 mg/kg を 1 回経口投与したときの血清および総胆管に挿入したカニューレより採取した胆汁中の NFLX の濃度を Fig. 5 に示した。血清中濃度は、投与後 3~24 時間にわたって 0.54~0.68  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度を示し、48 時間後にわずかに濃度の減少が見られた。また、胆汁では投与 3, 6, 24 および 48 時間後にそれぞれ  $0.21 \pm 0.21$ ,  $0.63 \pm 0.35$ ,  $1.0 \pm 0.72$  および  $2.4 \pm 3.1$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度を示し、経時的な濃度の上昇がみられた。

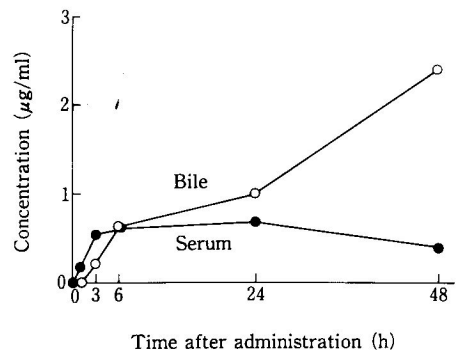


Fig. 5. Serum and bile levels of norfloxacin after a single oral administration of 50 mg/kg in rabbits with common bile duct ligation (n=5)

### III. 考 察

胆道感染症の治療において、抗菌剤の選択の条件として、起炎菌に対する抗菌力が強いことと同時に、胆汁および組織への移行性が良好なことがあげられる。胆道感染症の主な起炎菌は、大腸菌、肺炎桿菌や緑膿菌等のグラム陰性菌であるが、NFLX はこれらの菌に対して強い抗菌力を示す<sup>3)</sup>と同時に胆汁排泄や組織移行性も良好なことから、臨床的に胆道感染症の治療に有用な経口抗菌剤であると考えられてきた<sup>4-8)</sup>。しかし、実験的胆道感染症モデルを用いてその治療効果を基礎的に検討した報告は見られなかった。

今回の実験で、経口抗菌剤 NFLX の実験的家兎胆道感染に対する有用性が明らかとなった。この効果は、使用した *E. coli* NIHJ JC-2 株に対する強い抗菌力と胆汁中への良好な移行性によるものと考えられた。すなわち、総胆管閉塞家兎に NFLX 50 mg/kg を経口投与すると、NFLX の血清中濃度は投与後 3~24 時間にわたり、0.54~0.68  $\mu\text{g/ml}$  を維持しており、また胆汁では、cefoperazone で報告されているように、NFLX でも経時的な濃度の上昇がみられ、投与後 3~24 時間にわたって *E. coli* NIHJ JC-2 に対する MIC を上回る濃度が存在していた。なお、総胆管閉塞家兎における NFLX の血中濃度は正常家兎のピーク到達時間 (1 h)<sup>15)</sup> に比べ、ピークが遅れ、また持続時間が長くなっていた。これは、胆管閉塞による NFLX の吸収や胆汁排泄の変化によるものと考えられた。

以上、細菌学および組織学的検討から、NFLX は家兎胆道感染症モデルに対して有効であることが確認されたが、今回の実験で作製した胆道感染症モデルは臨床的には急性閉塞性化膿性胆管炎の病態に類似しており、ヒトにおける有用性が期待される。

### 文 献

- 1) 真下啓二, 由良二郎, 水野 章, 品川長夫: 胆道感染症の起因菌と抗生物質. 肝胆膵 18: 13~20, 1989
- 2) 藤岡利夫, 那須 勝: 最近の胆道感染症の起因菌の動向. 日本臨床 46 (増刊号): 804~809, 1988

- 3) 伊藤 明, 村山 哲, 平井敬二, 阿部泰夫, 入倉勉: 新しいキノロン誘導体 AM-715 の細菌学的研究. Chemotherapy 29 (S 4): 66~82, 1981
- 4) 斉藤敏明, 山田良成, 新井健之: AM-715 の胆汁中排泄および肝・胆嚢組織内濃度ならびに外科領域における臨床的検討. Chemotherapy 29 (S 4): 631~638, 1981
- 5) 平山 隆, 菊池金男: 胆道感染症における AM-715 の基礎的・臨床的検討. Chemotherapy 29 (S-4): 655~662, 1981
- 6) 平山 隆, 菊池金男: AM 715 の胆嚢胆汁中および胆嚢組織内濃度ならびに胆道感染症における臨床的検討. 基礎と臨床 16: 6039~6043, 1982
- 7) 志村秀彦, 他: 胆道感染症に対する Norfloxacin (AM 715) の基礎的・臨床的検討. Chemotherapy 31: 351~367, 1983
- 8) 谷村 弘, 他: 胆道感染症の化学療法 (XXX II) —Norfloxacin (AM 715) の胆嚢組織内濃度, 胆汁中移行および臨床効果について. 感染症学雑誌 61: 681~703, 1987
- 9) 小島愛司: 実験的胆嚢炎に関する研究. Chemotherapy 15: 549~559, 1967
- 10) 土井孝司: 胆道感染症における嫌気性菌の動態とその臨床的意義について. 各市大医誌 28: 508~537, 1977
- 11) 高畑正裕, 笹倉かの子, 滝 秀雄, 安田 隆, 才川勇: 家兎実験的胆道感染症における抗生物質の体内動態と治療効果. Chemotherapy 30: 277~285, 1982
- 12) 森田隆幸, 他: 実験的重症胆管炎に対する各種 Cephem 系抗生剤の投与効果の検討. 医学と薬学 16: 193~203, 1986
- 13) 亀山仁一, 塚本 長, 浅野泰司, 千田尚人: 実験的胆道感染症における Cefubuperazone の体内動態と治療効果. Chemotherapy 35: 762~767, 1987
- 14) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. Chemotherapy 23: 1~2, 1975
- 15) 村山 哲, 平井敬二, 伊藤 明, 阿部泰夫, 入倉勉: 各種動物における AM-715 の Bioassay による体内動態に関する研究. Chemotherapy 29 (S-4): 98~104, 1981

## THERAPEUTIC EFFECT OF NORFLOXACIN ON EXPERIMENTAL BILIARY TRACT INFECTION IN RABBITS

Yasushi Niwata, Ayumi Murakami, Hiroshi Aijima and Keiji Hirai

Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.,  
2399-1 Mitarai, Nogi-machi, Shimotsuga-gun, Tochigi 329-01, Japan

Nagao Shinagawa and Jiro Yura

First Department of Surgery, Nagoya City University Medical School

An experimental biliary tract infection model in rabbits was produced by injecting *E. coli* NIHJ JC-2 into the common bile duct after ligation. The number of viable cells in bile reached  $10^{8-9}$  CFU/ml 24 h after inoculation, and this level was maintained until 48 h. An increase in the number of white blood cells and a change in bile color were observed. Microscopic examination showed that the mucosa was acutely inflamed in the gallbladder and the common bile duct. There was exfoliation of epithelial cells and necrosis had spread to the muscle layer. The therapeutic efficacy of norfloxacin was evaluated using this model. Norfloxacin (25, 50 mg/kg, p.o.) significantly reduced the number of viable *E. coli* cells in bile and its activity was dose-dependent. In addition, norfloxacin suppressed the increase in the number of white blood cells and the change in bile color. The inflammatory changes in the gallbladder and common bile duct in the norfloxacin-treated group were milder than that in the untreated group. This efficacy might be due to the potent activity of norfloxacin and its good penetration into bile.