

第 37 回日本化学療法学会東日本支部総会

会期：平成 2 年 11 月 16, 17 日

会場：日本都市センター

会長：橋本 一（群馬大学 教授）

教 育 講 演

抗菌剤の体内動態

辻 彰

金沢大学薬学部

抗菌剤が臨床上抗菌力を発揮するには、試験管内で優れた抗菌力を示すばかりでなく、体内動態に優れる必要がある。すなわち、抗菌剤は投与後速やかに感染組織に到達し、病原菌に対して殺菌的あるいは静菌的に作用するだけの濃度に達し、かつこの濃度が一定時間持続するというファーマコキネティック特性を示すことが望ましい。

以下に抗菌剤の体内動態支配因子とその評価法について紹介する。

1. 細胞膜透過機構とその臓器間相関

細胞膜は脂質層で構成されているので低脂溶性の抗菌剤の細胞膜透過は制限される。しかし、抗菌剤の中には低脂溶性であっても栄養物または内因性物質輸送系に認識され、良好に輸送されるものがある。

(1) 消化管吸収機構

β -ラクタム抗生物質やキノロン系合成抗菌剤の一部およびホスホマイシンは小腸刷子縁膜ジペプチド輸送系、モノカルボン酸輸送系、リン酸輸送系などが関与して立体選択的に二次性能動輸送機構に従って吸収される。輸送系の構造認識特性および輸送の駆動力に対する知見は経口剤の開発や投与後の動態の理解に重要である。

(2) 肝・腎排泄機構

β -ラクタム抗生物質の肝臓および腎臓からの排泄振り分けは関与する輸送系の種類と構造認識特性およびその輸送の駆動力と深く関わっている。

肝臓では、シヌソイド側膜および胆管腔側膜をプロベネシドと共通の有機アニオン輸送系を、後者の膜では細胞内外の電位差を駆動力として、胆汁中へ排泄される。前者の膜における輸送の駆動力についてはいまだ明らかにされていないが、その輸送には直接的であ

れ間接的であれ、エネルギーを利用しているものと思われる。腎臓では、血清タンパクと非結合型分子のみが糸球体よりろ過されるが、尿細管側底膜からプロベネシドと共通の有機アニオン輸送系を介して上皮細胞内に取り込まれる。刷子縁膜においては、プロベネシドを輸送する有機アニオン輸送系が β -ラクタム抗生物質の分子内アニオン部位を認識して細胞内外の電位差を駆動力として、また tetraethylammonium 塩などを輸送する有機カチオン輸送系が分子内カチオン部位を認識して管腔側から細胞内に向けられたプロトン勾配を駆動力として、いずれの輸送系も細胞内から管腔に効率よく分泌する。このように、糸球体ろ過および尿細管分泌によって尿中に排泄された β -ラクタム抗生物質の一部は尿管上皮細胞刷子縁膜に存在するジペプチド輸送系に認識されプロトンとの共輸送によって細胞内に再吸収される。

(3) 中枢移行の機構

β -ラクタム抗生物質は脳毛細血管内皮細胞が形成する血液脳関門 (blood brain barrier) を単純拡散あるいは担体輸送によって透過し、脳細胞間隙に取り込まれることが示唆されている。脳内を拡散し、脳脊髄液 (CSF) へ移行した β -ラクタム抗生物質が脈絡叢 (Choroid plexus) 上皮細胞刷子縁膜において Cl^- と交換輸送によって血液中に放出されるので、CSF 中濃度は脈絡叢における輸送系に対する親和性の差異によって決定されるものと推測される。

2. 細胞膜非透過型抗菌剤の組織移行性

β -ラクタム抗生物質は、血液内でアルブミンと可逆結合した平衡状態で血漿中に存在し、血流に乗って組織間を循環する。組織毛細血管では血清アルブミンと結合していない非結合型分子がその細孔を拡散して細胞間隙内に局在して、ここに存在するアルブミンと結合平衡となる。これらの抗生物質は非処理組織では細胞膜を透過することができないので、組織中総濃度 (C_T)/組織静脈血清中総濃度 ($C_{p,b} + C_{p,i}$) で定義される組織—血漿間分配係数 ($K_{p,i}$) は、定常状態では非消失組織 (骨組織を除く) では、次式で記述される。

$$K_{p,i} = IS_1 [AR_1 + (1 - AR_1) f_p]$$

ここで、 IS_i は*i*-組織における細胞間液スペース (IS_i 、組織細胞間液—組織体積比あるいはイヌリンスペース)、 f_p は血漿タンパク非結合率 ($C_{p,t}/(C_{p,b} + C_{p,t})$)、 AR_i は細胞間液中と血漿中のアルブミン濃度比を示す。

骨組織では、 IS_{bcr} および S_{bnm} をそれぞれ骨組織体積に対する骨皮質体積および骨髄体積比とすると、

$$K_{p,bn} = (IS_{bcr} - S_{bnm}) f_p + S_{bnm}$$

と記述できる。

アミノグリコシド系抗生物質も低脂溶性である。したがって腎臓以外の組織で β -ラクタム抗生物質と同様に組織分布は組織間液スペースに限定される。なお、これらの抗生物質は血漿タンパクとほとんど結合しない ($f_p=1$) ので、 K_p 値は IS と等しくなる。

3. *In vivo* 抗菌作用とタンパク結合

一般的に感染症は病原菌が組織細胞表面に付着し、増殖することによって発症する。感染治療のために投与された β -ラクタム抗生物質は感染組織の細胞間液中に移行し、そのうち、アルブミンと結合していない非結合型のみが抗菌作用を示すものと考えられる。 β -ラクタム系抗生物質やアミノグリコシド系抗生物質のように組織(肺臓、心臓、皮膚、筋肉など)細胞膜を透過しない抗菌剤にあっては、組織切片を採取して測定した組織ホモジネート中全濃度 C_T が起炎菌に対するMIC(最小阻止濃度)あるいは90%殺菌濃度MBC₉₀などと比較し、それをもって有効、無効の指標とすることが、いかに不合理であるかが理解されよう。

抗菌剤においては、上述のようにタンパク質との非結合型分子のみが抗菌活性を示す。したがって、タンパク結合率の高い抗菌剤は抗菌作用からは不利となるが、ファマコキネティクスの観点に立ってその臨床的価値を考察することが必要である。

β -ラクタム抗生物質のヒトにおける腎クリアランス CL_R と血漿タンパク結合率(f_b %)との関係は、きわめて低い(0~15 ml/min)尿管管分泌クリアランス($CL_{int,R}$)をもつグループと、100 ml/min以上の高い $CL_{int,R}$ をもつグループに分類される。前者には第3世代の抗生物質が含まれるが、 f_b が大きくなるにつれて腎クリアが著しく減少する傾向がある。その結果、体内からの消失半減期は短いもので1.5時間、長いもので8時間にもおよぶ。一方、後者のグループには多くのペニシリン系抗生物質および第1、第2世代のセファロスポリン系抗生物質が含まれる。このグループでは、 f_b 値が著しく変化しているにもかかわらず、腎クリアランスの変化はわずかである。これらのグループの抗生物質の体内からの消失半減期は30~60分程度である。

高い分泌クリアランスをもつグループでは、タンパク結合率の増加につれて、非結合型濃度—時間下面積(AUC_t)は著しく減少する。これに対して、低い分泌クリアランスを有するグループでは血漿中総濃度—時間下面積(AUC)は増加するが、 AUC_t はタンパク結合率の大小に関わらずほぼ一定値をとる。したがって、MICを上回る濃度以上の AUC_t (above MIC)を*in vivo* 抗菌活性の指標とすると、尿細胞分泌クリアランスの少ない抗生物質が、より優れた有効性を示すことが期待される。

4. 細胞膜透過型抗菌剤

キノロン系合成抗菌剤、テトラサイクリン系およびマクロライド系抗菌剤の K_p 値は処理組織はもとより非処理組織において、細胞間液スペース(イヌリンの K_p)より大きい値を示し、組織細胞膜を透過することができる。

キノロン系合成抗菌剤の組織移行性の差は、血漿タンパク結合率の違いによるものであり、組織結合率は化合物間で差がきわめて少ない。したがって、 K_p を f_p で割った値($K_{p,t}$)はキノロン系抗菌剤では一定値となる。

細胞透過型抗菌剤にあっては、抗菌活性は組織中の非結合型濃度に依存すると考えられる。細胞間液中に病巣が限定された感染症では、血清中非結合型濃度推移がその抗菌作用の指標となろう。

5. 生理学的薬物速度論の応用

従来コンパートメント理論に代わって、生理解剖学的に実体のある生理学的薬物速度論モデルを用いた動物データからヒトへのスケールアップ理論が着実に成果を挙げている。この生理学的薬物速度論モデルを用いれば、 β -ラクタム抗生物質のような細胞膜非透過型に限らずキノロン系抗菌剤などの細胞膜非透過型抗菌剤の組織移行の推移が予測できる。薬物固有のモデルパラメータとして必要なのは上述の K_p 値と腎および肝固有クリアランス値の他、血漿タンパク結合定数(あるいは f_p 値)である。

本生理学的モデルによるシュミレーション結果より、たとえば β -ラクタム抗生物質では投与後擬定常状態に達した後の組織細胞間液中の非結合型濃度推移は、血漿中非結合型濃度推移にほぼ等しいとする考え方が妥当であることが示された。

シンポジウムII：化学療法における難治性の諸因子—症例、薬剤耐性、宿主側の因子—

司会のことば

橋本 一
群馬大学

本合同学会における3つのシンポジウムは、1)難治性感染症がいかにして起こり、2)その場合の宿主側また菌側の要因がいかなるものであり、3)さらにそれを治療する具体的な方法はどうかあるべきか、という一つの流れの中で、感染症学と化学療法学の結びつきを討論したいという目的を持つ。したがってこの第2のシンポジウムでも、難治性要因をめぐって、臨床と基礎の両面から話し合うために、臨床家2人基礎学者3人の登場を願った。最初に虎ノ門病院の中田先生にモデルとなる一臨床例を提示して戴き、感染症の難治化がどのように進行し、化学療法がどれだけ効果があり限界があったか、具体的な問題提起をお願いすることにした。

次の3題は菌側の話題である。薬剤耐性化の3大機構、すなわち不活化、作用点の変異、透過性の減少について現在最も活発に研究を進められている小原、井上、平井の3氏に話題提供をお願いした。病原細菌にあっては、自分自身の生存に不可欠な諸種の遺伝子、また緑膿菌なら緑膿菌であるための遺伝子、つまり同定にも用いられる諸種の形質発現のための遺伝子はすべて細菌の染色体として一本の環状DNAとして存在している。菌が化学療法剤で攻撃される時、その薬剤が菌体内に入らないか、入っても作用点への親和性がなければ菌は生存を続け、その場合それらの菌は“自然耐性”であると言われるが耐性遺伝子があるわけではない。はじめ薬剤感受性であった菌が後に耐性となると、それは獲得耐性と言われる。菌にとって最も容易な耐性化の方法は、自分の持つ体制を変えることなしに、相手だけを無力にする。いわゆる不活化酵素の生産である。つまり攻撃は最大の防御という方式である。不活化には相手の化学構造を壊す分解と、余分のものをつ加して活性をなくす修飾とあるが、いづれにしてもそれらは酵素作用によるものであり、1種の遺伝子があればこと足りる。しかし多くの病原菌ははじめから将来ヒトが抗菌剤を使うことを予想して進化してきたわけではないから、ほとんどの場合それら不活化遺伝子を自分の染色体上に持っていることはない

(例外は日和見感染菌のセフェム分解酵素である。その染色体性遺伝子の由来については種々興味ある話題があるが今回は省く)。つまり不活化酵素産生遺伝子のほとんどは外来性であり、したがって多くプラスミドという核外遺伝体上にある。

菌が第一次の不活化に成功しても、ヒト側でその酵素で不活化を受けない抗菌剤を開発しそのイタチごっこが続くと言うように、 β -ラクタム、アミノグリコシド、またキノロンで次々と改良が行われ、ついに菌側にとって不活化による耐性獲得が難しい現状となった。

そうなるといよいよ菌側は自分自身を変えることによって、つまり染色体遺伝子を変異させることで適応するということとなる。その場合、作用点の変異か、透過性の変異ということになる。作用点の場合、DNA合成とかRNA合成のように1つの酵素の変異で菌の生存も薬剤耐性も同時に可能な場合もあるが、ペニシリン結合タンパク質のように、多くの酵素で細胞壁合成と言うような複雑な構築物を作る場合は、薬剤耐性の質も量も複雑である。それが透過性に関する膜タンパク質の変異となるとなお複雑で、薬剤のみならず必須栄養物の吸収も影響を受けるから、薬剤耐性発現の質的、量的解析も益々複雑となり、他の薬剤に対しても耐性化したり感受性化したりする。同じ耐性でも高度耐性の発現は中等度耐性と質的に異なる機構と考えねばならない。

菌側がこのように複雑で総合的な適応、つまり多剤耐性で高度耐性化を遂げる課程では、それを許す宿主側の要因も大きく関係する。抗菌剤の殺菌作用には病巣における体内動態が重要な要因である。第5の演者国井教授にはさらに宿主側の年齢、栄養条件、基礎疾患、医原的因子などがいかに抗菌剤の有効性を左右するかを述べ、ヒト側の生体防御能の限界を解説して戴いた。

1) 難治性疾患臨床例

中田 紘一郎
虎の門病院呼吸器科

気道感染の難治化には、宿主側の要因と細胞側の要因とが関与する。

宿主側の要因からみると、気道感染症はすべて既存の気管支および細気管支疾患を基盤として生じるので、基礎疾患が根治しない限り、二次的に生じた気道感染は、治療によりいったん軽快しても、再燃するのが通常であり、気道感染症は難治化の要因を本質的に含んでいる。気道病変は一般に経時的に進行するので、気

道防御機構の低下および過分泌など感染を生じやすい条件は次第に増大する。特にびまん性汎細気管支炎では、病変の進展とともに二次性の細気管支拡張・気管支拡張が生じ、痰が貯留し、細菌感染を繰返す。この形態学的変化が難治化の重要な要因となる。

宿主側の要因として免疫機能の低下も指摘されているが、気道感染症の場合にはその関与は少ない。

細菌側の難治化要因としては緑膿菌の抗菌剤に対する耐性と有毒代謝産物が挙げられる。

緑膿菌は、多くの抗菌剤に対して自然耐性であり、気道感染の難治化の最大の要因となっている。特に気道感染症の難治化は、気道の形態学的な変化を背景にした各種抗菌剤の MIC 高値で示される。

また緑膿菌の産生する有毒代謝産物も難治化の要因として重要であり、エステラーゼとプロテアーゼは、緑膿菌の定着、増殖および生体防御機構の破壊に関与していることが明らかにされている。

以上のような難治化の要因を兼ね備えた難治性気道感染症の代表的疾患としてびまん性汎細気管支炎があげられる。今回呈示する症例は、慢性副鼻腔炎を合併する 48 歳の男性である。昭和 50 年頃から労作時呼吸困難が生じ、昭和 57 年当院を受診したが、初診時にすでに緑膿菌に持続感染しており、その後現在まで急性憎悪の度に計 14 回入院を繰返している。胸部 X 線所見は経年的に増悪し、広汎な気管支拡張および嚢胞を形成、また、呼吸不全も徐々に進行し低酸素血症のため常時 O₂ 吸入を要する状態に至っている。この間種々の抗緑膿菌剤を使用するも次第に多剤耐性となり、その MIC はほとんどの抗菌剤に対し 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を呈する状況に至っている。

本例の経過について、難治化の要因に注目しながら呈示した。

2) 薬剤の不活化による耐性

小原康治

東京薬大・第 2 微生物

今までに、薬剤不活化酵素としては β -ラクタマーゼ、クロラムフェニコール (CP) アセチル化酵素 (CAT)、アミノグリコシド修飾酵素などが詳細に研究され、多くの総説がある。したがって、これらに関しては基本的なことおよび異なった不活化機構について少し触れ、ここでは主として今まで取り上げられていない抗生物質の不活化機構についていろいろな菌の場合を取り上げてみた。

β -ラクタム環抗生物質耐性機構は通常、 β -ラクタム

環を加水分解する酵素 β -ラクタマーゼによっており、非常に多くの研究がなされ、多種類に分類されている。また、 β -ラクタマーゼ以外の β -ラクタム抗生物質抗菌活性低下酵素としては、セファロチン CET を大量投与した慢性尿路感染症患者から見いだされた大腸菌由来のセファロスポリン・アシラーゼがある。この菌は、CET のアセチル基を脱離してデアセチル CET (DACET) とすることにより、1/5 の抗菌活性にまで低下させてしまい、その DACET と CET を低活性 β -ラクタマーゼによって最終的には完全に不活化する。

クロラムフェニコール耐性機構は CP の C 3 位と C 1 位をジアセチル化する CP アセチル化酵素 CAT に寄っており、I~IV 型に分類されている。また、CAT 以外の CP 不活化酵素としては、CP 産生放線菌においてジクロロアセチル基部分を除去する菌体内酵素、すなわち、CP ハイドロラーゼがあり、最近、その遺伝子がクローニングされた。

アミノグリコシド (AG) 耐性機構はいろいろな修飾酵素が関与している。(1) ストレプトマイシンに対してはリン酸化酵素として AG 6-リン酸化酵素 (APH (6)) と AG 3''-リン酸化酵素 (APH (3'')) がある。また、アデニル化酵素としては AG 6-アデニル化酵素 (AAD (6)) または AG ヌクレオチジル化酵素 (ANT (6))、AG 3''-アデニル化酵素 (AAD (3'')) やスペクチノマイシンの 9 位もアデニル化する酵素 AAD (3'') (9) が知られている。

(2) カナマイシン系 AG に対してはリン酸化酵素として APH (3')-I~III, APH (5''), APH (2'')/AAC (6'), APH (4) がある。アデニル化酵素としては AAD (4'), AAD (4', 4'') または ANT (4', 4''), AAD (2'') または ANT (2'') がある。アセチル化酵素としては AAC (6')-1~4, AAC (3)-I~IV, AAC (2') がある。

テトラサイクリン (TC) 耐性機構は、非不活化型とされているが、新奇な TC 不活化機構が *Bacteroides fragilis* で見いだされた。このプラスミド由来の非誘導型 TC 耐性遺伝子による *E. coli* 内での好氣的培養条件下での TC 不活化体は自然酸化物類似体と推測されている。

マクロライド高度耐性大腸菌の耐性機構は (i) エリスロマイシン・エステラーゼ (*ere* 遺伝子) による不活化 (ii) プトウ球菌と同様の rRNA のアデニン-N-ジメチラーゼ (*erm* 遺伝子) による作用点変化, (iii) マクロライド-2'-リン酸転移酵素 MPH(2') (I 型, II 型) による不活化が知られている。

リンコサミド耐性機構に関しては、*Streptomyces* に

において、3-リンコサミド O-リン酸転移酵素や3-リンコサミド O-ヌクレオチル転移酵素が見いだされている。また、*Staphylococcus (S.) aureus*, *S. haemolyticus* によるリンコマイシン、クリンダマイシンの不活化が知られ、それらの各不活化物の構造はリンコマイシン 3-(5'-アデニレイト) およびクリンダマイシン 4-(5'-アデニレイト) であった。したがって、不活化酵素は3-リンコマイシン、4-クリンダマイシンヌクレオチル転移酵素 (LNT (3) (4)) と名付けられた。

ストレプトグラミン耐性機構に関しては、*S. aureus* において S_A , S_B タイプの各々に、ストレプトグラミン A O-アセチル転移酵素とストレプトグラミン B ハイドロラーゼが見いだされている。

フォスフォマイシン (FOM) 耐性機構に関しては、最初に *Serratia marcescens* 由来の伝達性多剤耐性プラスミド上のトランスポゾンに FOM 耐性遺伝子 (*fos A*) が、そして、*Klebsiella pneumoniae* から R プラスミド支配のものが、見いだされた。また、緑膿菌では菌体内不活化酵素によることが報告された。そして、ラベル FOM と *fos A* 株との反応物の Rf 値変化および抗菌性消失から、その機構が FOM 修飾酵素、すなわち、グルタチオン転移酵素による不活化であると分かった。一方、*Staphylococcus epidermidis* 由来の *fos B* をグラム陰性菌の *fos A* と比較すると 48% の塩基相同性を示している。

リファンピシン耐性機構に関しては、*Rhodococcus* と *Mycobacterium* において不活化が見いだされている。この不活化機構は今のところ、不明である。

フシジン酸耐性機構に関しては、CAT のバイファンクショナル性に基づくフシジン酸の親和性によるとされている。しかしながら、*Rhodococcus erythropolis* において誘導型の菌体内不活化酵素が見いだされている。この不活化機構は今の処、不明である。

以上のように、耐性菌が生産する不活化酵素が水や生体内の補酵素を利用して、いろいろな不活化機構を発揮していることがわかる。

3) 薬剤の作用点の変化による耐性

井上松久

群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設

伝達性あるいは非伝達性プラスミド上の遺伝子支配による薬剤耐性機構は、薬剤の修飾・加水分解による不活化がその主なものであった。したがって耐性菌に有効な薬剤の開発は、この不活化酵素に影響を受けにくくするため薬剤の化学修飾を主眼に行われた。一方

これらの薬剤の使用は、不活化酵素の基質特異性の拡大、薬剤作用部位あるいは透過性等の各変異株の出現を促したと言える。

薬剤作用部位の変化による薬剤耐性として次のものが挙げられる。

(1) β -ラクタム剤

Spratt と Pardee によって β -ラクタム系薬の結合する特定の蛋白 Penicillin-binding Proteins (PBPs) の存在とその確認技術が報告され、 β -ラクタム剤の作用機作および新たな耐性機構としての PBPs の研究が進んだ。PBP の変化による β -ラクタム剤耐性として、*S. aureus* は MRSA 特有の遺伝子 *mec A* によって作られる PBP 2' の存在による耐性がある。南アフリカで分離された *S. pneumoniae* PCG 耐性菌は PBP の変化によるもので、その MIC は感性菌に比べ 1,000 倍以上も上昇する。本邦においても小栗らによりこの種の耐性菌が報告されている。*E. faecium* は PCG と結合速度の遅い PBP を産生する。PBP 5 は PC 感性 PBP の機能を補うため、PBP 5 の蓄積量と共に耐性化する。また PBP 5 欠損株は CEX や PCG に対する MIC が元株に比べ 1/2,000 以下となる。*N. gonorrhoeae* にも PBP 2 の変異による耐性菌が知られている。しかし耐性値は β -ラクタマーゼや外膜透過性変異株に比べ低い。*C. perfringens* の PBP はセファロスポリン系薬剤に対する親和性を欠くため、耐性化している。また PCG 耐性菌が分離されているが、これは PBP 1 に対する親和性を欠く。*E. coli* の *in vitro* PBP 3 変異株は CEX や CXM 耐性、CTX, CAZ 感性である。PBP 3 変異遺伝子を人工的にプラスミド化し他の菌に移すと、この場合も耐性化することが判った。*P. aeruginosa* 由来の PBP 3 変異株は第 1~第 2 世代、*E. cloacae* 由来 PBP 3 変異株は第 3 世代の各セファロスポリン系薬耐性を示す。また PBP の変異がセファロスポリナーゼ産生におよぼす結果や PBP 阻害が殺菌力を増強する結果も報告されている。その他、薬剤からみた場合、AZT, CRMN はグラム陽性菌の PBP と結合親和性を欠くため抗菌力が弱い。

(2) キノロン系薬剤

キノロン系薬剤の作用部位は、DNA 複製に関与する DNA ジャイレース阻害である。DNA ジャイレース変移 (耐性) は感性に比べ劣性であるため DNA ジャイレース耐性プラスミドが検出されない原因の 1 つであろう。これまで臨床分離菌の中から DNA ジャイレース変異の証明された菌種は、*E. coli*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, および *E. faecalis* 等である。DNA ジャイレース変異株では、

DNA ジャイレースが薬剤によって阻害されにくくなっているため感性株に比べ新キノロン剤に対するMICも100倍以上上昇している。

(3) サルファ剤

SA 耐性値 $>3,200 \mu\text{g/ml}$, TMP 耐性 $>100 \mu\text{g/ml}$ を示す耐性菌は Dihydropteroate Synthetase (DHPS) や Dihydrofolate reductase (DHFR) の変異株であり、それぞれの酵素の薬剤に対する親和性が約1,000倍程度低下している。特にTMP耐性にはI型、II型変異株が知られており、高濃度のTMPによっても阻害されないDHFRはII型TMP耐性菌由来である。

(4) その他

マクロライド (MLs) 系薬剤耐性菌のリボゾームはアデニンのジメチル化により耐性化している。このジメチル化酵素はEMやOMなど14員環によって誘導される。リファンピン (RFP) 耐性はその作用部位であるRNAポリメラーゼのサブユニットの変異である。

以上薬剤作用点の変異に伴う耐性について紹介した。

4) 薬剤の透過性減少による耐性

平井敬二

杏林製薬(株)中央研究所

細菌の抗菌剤および抗生物質に対する主な耐性機構として、1)薬剤の不活化 2)薬剤の作用点の変化 3)薬剤の菌体膜透過性減少が知られている。薬剤の透過性減少による耐性化は主として菌体膜の変化によって引き起こされるが、膜透過性低下による耐性の重要な点は、化学構造上まったく異なる薬剤の透過性にも影響し交差耐性を示すことである。本シンポジウムでは、膜透過性低下によるニューキノロン耐性を中心に、イミペネム、 β -ラクタム剤、テトラサイクリン、クロラムフェニコール等の透過性に対する影響についてグラム陰性菌での結果を中心に述べてみたい。

ニューキノロンの菌体膜透過性に関連する大腸菌における耐性遺伝子としてnfxB, norB, norC, cfxB, marAが知られている。これらの耐性遺伝子以外にNAの膜透過性が低下するnalB, nalD遺伝子が報告されている。norB, nfxB, cfxA変異体ではニューキノロンの菌体内への取り込み(蓄積)量が親株に比べ1/2~1/3に減少しており、このことが耐性化の要因と考えられている。さらに、nfxB, norB, cfxB変異株ではOmpFと呼ばれるポーリン(小孔)を形成する外膜蛋白質の欠失または減少が、ファージ感受性試験およびSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動による分

析から明らかにされた。この結果から、キノロンの膜透過性にOmpFポーリンが重要な働きをしており、nfxB, norB, cfxB変異株におけるキノロン耐性機構はOmpFポーリン蛋白質の減少に関連した膜透過性低下によることが考えられた。これらの耐性変異株は、OmpFポーリンを透過孔として利用する代表的な薬剤であるセフォキシチン、テトラサイクリン、クロラムフェニコールに対しても感受性が低下していた。norC変異株は親水性のキノロンに耐性を示すが、NAなどの疎水性キノロンには高感受性を示す株で、疎水性の抗生物質、色素、界面活性剤にも高感受性を示す。この変異株ではOmpFタンパク質の減少以外にLPSにも変化があることがファージ感受性試験および外膜蛋白質の解析から明らかになった。したがって、OmpFポーリン以外にLPSの変化もキノロンの膜透過性耐性に関与することが推定された。尿路感染症患者から分離されたニューキノロン耐性大腸菌では、DNAジャイレースの耐性化と同時に膜透過性も低下していた。この株はセフォキシチンおよびクロラムフェニコールにも耐性を示し、実験室株同様OmpF蛋白質に相当する外膜蛋白質が欠失していた。

キノロンの膜透過性が減少した肺炎桿菌およびセラチアのニューキノロン耐性変異株も、セフォキシチン、テトラサイクリン、クロラムフェニコールに交差耐性を示した。肺炎桿菌の耐性変異株では、分子量39Kと41Kの外膜蛋白質が、セラチアの耐性変異株では、分子量41Kの外膜蛋白質の減少または消失が観察された。この結果から、肺炎桿菌では39, 41Kの外膜蛋白質が、セラチアでは41Kの外膜蛋白質が大腸菌のOmpFポーリン蛋白質に相当し、キノロンの膜透過性に関与していると考えられた。セラチアの臨床分離株のNFLX感受性株(MIC: $0.1 \mu\text{g/ml}$)とNFLX耐性株(MIC: $>12.5 \mu\text{g/ml}$)各々5株で膜透過性を検討したところ、耐性株ではNFLXの菌体内取り込み量が感受性株に比べ1/10~1/100以下に低下していた。これらのキノロン耐性株では、分子量41Kの外膜蛋白質の欠失が認められ、膜透過性低下が耐性化の要因と考えられた。

緑膿菌ではnfxB, nfxC, nalB遺伝子変異によるキノロンの膜透過性低下が見出されている。nfxB耐性変異株は、 β -ラクタム剤およびアミノ配糖体に高感受性を示し、膜変化として分子量54Kの外膜蛋白質の新生が見られた。nfxC耐性変異株は、nfxB同様 β -ラクタム剤およびアミノ配糖体には高感受性を示したが、イミペネムとクロラムフェニコールに交差耐性を示した。nfxC変異株では46Kの外膜蛋白質の減少と同時

に 50 K の外膜蛋白質の増加が認められた。46 K 蛋白質は緑膿菌におけるイミペネムの膜透過性に関する D 2 蛋白質に相当するものと考えられる。この外膜蛋白質のみが欠失したイミペネム耐性緑膿菌はニューキノロンには交差耐性を示さないことから、分子量 46 K の外膜蛋白質はキノロンの膜透過性には関与していないものと考えられた。nalB 変異株はキノロン以外に β -ラクタム剤およびクロラムフェニコールに対する感受性が低下し、外膜変化として 49 K 蛋白質の新生が確認された。さらに、外膜蛋白質以外に LPS の変化によるキノロン耐性化も見出されている。このようにキノロン透過性減少は菌体外膜成分の変化によって起こっていたが、耐性機構は腸内細菌群と緑膿菌では細かい点で多少異なっていた。尿路感染症患者から分離されたニューキノロン耐性緑膿菌について遺伝学および生化学的解析を行った結果、これらの株では DNA ジャイレースの耐性化以外に nfxC、nfxB タイプの膜透過性低下による耐性化も考えられた。

最近、ブドウ球菌でも膜透過性低下（減少）によるキノロン耐性が見出されており膜透過性に関連する耐性化が、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に共通した重要なキノロン耐性機構であることが明らかにされている。

5) 難治性疾患における宿主側の因子

国井乙彦

帝京大学第二内科

最近の感染症の変貌の中で大きな問題の一つは易感染性宿主が増加し、一旦感染症が起ると、今日の進歩した化学療法を行っても容易に反応しない難治性のもの、しかも重症化するものが多いことである。これは医療・診断法の進歩や高齢化社会、環境因子の変化などに伴って生じてきたもので、このような難治化する背景因子の解析とその対策は重要課題の一つである。

感染症の難治性要因は多岐にわたり、しかも相互に関連のあるものも多く複雑であるが、今回演者に与えられた課題である「難治性疾患における宿主側の因子」について、その中の主なものとしてはおよそ次のようなものが挙げられる。

1. 感染防御能の低下

宿主の感染防御能が低下した状態では病原微生物の宿主体内への侵入、増殖が容易に起こり得るし、また平素無害菌によっても感染が起こり得る。このような場合には起炎菌が耐性菌であったり、複数菌感染であることも多く、重症化あるいは難治化する可能性が高

い。

感染防御能低下の要因として①皮膚・粘膜バリアーの損傷、②顆粒球減少および貪食細胞の機能低下、③細胞性免疫不全、④体液性免疫不全などがあるが、さらに後述の医原性因子、局所性因子なども深い関わりがある。そして、先天性のものを除けば、感染防御能の低下は次に述べるような基礎疾患に起因する二次的なものが大部分である。

皮膚・粘膜バリアーの損傷の例として広範な熱傷があげられる。患者はきわめて易感染性でありかつ感染症が一旦発症すると難治化し易いことは周知である。この場合患者の血清オプソニン活性は著明に低下している。受傷後 3~5 日目頃から回復してくるが、回復傾向のみられない場合には予後不良である。かかる場合には凍結乾燥血漿製剤の補給が有用である。

2. 基礎疾患

宿主の感染防御能を低下させ、感染症難治化要因となる基礎疾患としては、白血病をはじめとする悪性腫瘍、広範な外傷や熱傷、種々の慢性~進行性疾患（肝疾患、腎疾患、糖尿病、脳血管障害など）、長期臥床による褥瘡、低栄養などがあげられる。これら基礎疾患自体の経過によることはもちろんであるが、それに応じた治療が加えられて iatrogenic にも感染抵抗性が次第に低下して行く場合も少なくないことに注意を払う必要がある。

重篤かつ難治感染症の一つである敗血症について当教室における過去約 5 年間の約 60 症例をみると基礎疾患として悪性腫瘍（白血病を含む）、脳血管障害が多く次いで膠原病、肝・胆道疾患、循環器疾患、代謝疾患その他であり、基礎疾患別に死亡率をみると悪性腫瘍では 82%、脳血管障害 28%、膠原病 30% で、基礎疾患のないものでは 0% であり、基礎疾患が難治化要因として重要であることを明示している。感染防御能の一つのパラメーターとして好中球の活性酵素産生能を全血 chemiluminescence 法でみると肝硬変患者では明らかに低下している。低栄養ないしは栄養欠乏があればタンパク合成、細胞の再生能は低下し、食細胞機能、炎症反応、補体やインターフェロン産生等は低下し、細胞性免疫反応は低下し、易感染症となる。感染が成立すれば発熱や発熱物質によって異化作用は亢進し低栄養へとつながってくる。また感染のために、悪心、嘔吐、吸収障害、腸管内へのタンパク喪失等がおこればこれらも栄養低下につながってくる。さらに感染病原体のリンパ組織への侵入、破壊、コーチゾール、IgE の増加、病原体の産生物質（毒素等）、chalone 等により生体防御の免疫反応が抑制される。つまりこ

れらの一連の相互作用によって悪循環が成立し、感染はさらに難治化の道をたどることになる。

3. 医原性因子

上に述べたような基礎疾患を有する宿主に対して、膀胱内カテーテル留置、IVH、気管内挿管、放射線治療、ステロイド剤あるいは抗癌剤の使用、免疫抑制剤の使用、ペースメーカー等の人工臓器の使用等々の種々の治療手段が講じられ、これらが感染を誘発する因子となったりあるいは感染抵抗性を低下させる因子となる可能性があり、これらの要因が持続的に存在すれば、再燃、再発等を繰り返し、感染の難治性要因となる。

4. 局所性因子

局所の器質的あるいは機能的障害も感染症難治化の重要な因子となる。呼吸器感染症では喉頭咳嗽反射不全、気管・気管支の狭窄、気道粘液腺毛輸送系の障害などが反復感染や難治化の要因として重要で、尿路感染症では膀胱尿管逆流現象や尿路狭窄、尿路結石・腫瘍等による尿流障害、閉塞性障害の存在が重要な意味を持っている。胆道感染症においても同様に、結石、狭窄、腫瘍等による閉塞性障害があれば、重大な難治性要因であることは申すまでもない。

5. 年齢

高齢者では単に高齢のみでは必ずしも感染防御能は低下していないが、種々の基礎疾患を有していたり、あるいは癒痕治癒、欠損（機能的または形態学的）等の障害を有する例が多いため感染抵抗力は低下し、一旦発症すると速やかに進行し難治となり易い。文献的にも、グラム陰性桿菌性敗血症、細菌性髄膜炎、心内膜炎、急性虫垂炎、急性胆のう炎、急性肺炎等による死亡率は高齢者において、青、壮年者のそれよりも数倍～十数倍程度高く、高齢者におけるこれら感染症の重篤性、難治性が示されている。高齢者の食細胞機能、免疫能の個々のパラメーターを検討した成績では一部を除いては不変または若干低下しているとするものが多いが、個々の機能にはそれ程大きな変化はみられないとしても、それらのネットワークの総和としての感染防御能は低下しているかまたは容易に低下し易い状態にあるものと考えられる。一方、新生児、乳幼児、未熟児では好中球機能、抗体産生能、常在細菌叢形成等が不十分で、易感染性と同時に重症化、難治化の要因を抱えている。

6. その他

感染病巣の部位が深在性のもの、病巣の拡がりの大なるもの、診断、排膿ドレーン、薬剤移行等の困難なものは一般に難治性であり、不適切な化学療法も難治

性要因の一つとなり得ることは銘記しておくべきであろう。

以上のような難治性因子は相互に密接な関係があり複雑であるが、個々の症例についてかかる因子をいかにして早期に取り除き得るか、あるいは予防し得るかを念頭において、対処することが、難治性感染症対策上、病原体撲滅と同様にきわめて重要である。

シンポジウムⅢ：難治性疾患の治療—今後の併用療法に対する考え方—

司会のことば

紺野昌俊

帝京大学医学部臨床病理

「名医は薬のサジ加減」と言うが、それは古今東西を問わず薬の併用の原点でもあるし、処方権の原点でもある。しかも難病であるほどに、それが正当に扱われる論理性を有している。

抗菌薬においても、併用は開発の当初から試みられていた。今日の結核菌の耐性防止においては、それに負うところが多い。

一般感染症でも、併用について過去に何回かのシンポジウムが行われてきた。しかし、併用の理論と実際の間には、まだ大きな隔りがある。たとえば「感染症の治療は単一の抗菌薬で行うのが原則である。併用しなければならぬ疾患というのは、それほど多くない」と専門家は言うが、現実の臨床の場では併用が数多く行われている。

併用に伴う医原性とでも言うべき薬害も生じているはずであるが、重篤な基礎疾患を持った患者以外に、それが顕症となって現われる機会は少ないがゆえに、多くの場合、直視されていない。MRSA 感染症などはその典型と言えよう。院内感染として騒がれるには至ったが、抗菌薬の開発や使用法にまで立ち至った深い反省が、開発メーカーをも含めて行われているとは思えない。

本邦における抗生物質併用実験の創始者である故石山教授から、次のような話をうかがったことがある。「世間では、私の行った実験を利用して、臨床でも併用効果に意味があるような宣伝をしているが、私が併用実験を行った真意は、自然界は森羅万象すべてが相乗と拮抗のバランスの上に成り立って調和しているはずであるから、抗生物質といえども、ヒトにとって都合のよい面もある反面、悪い面もあるはずである。それを調べたかったのだ」。今も心しなければならぬ医の

哲学であると私は考えている。

私が化学療法の道に入った頃、カナマイシンの開発が行われていた。当時はカナマイシンを発病の初期から使用していて、確か80%前後の有効率を得ていたように思う。しかし、それ以降のアミノ配糖薬の開発方法は副作用があるがゆえに限定され、有効率もそれほど高くならなかったように思う。現に、多くのアミノ配糖薬は、種々のβ-ラクタム薬を使用した後の終末期の患者に併用されている。果たして、アミノ配糖薬の併用によって救命し得た症例は何例あったのだろうか。そして、それは併用の理論に支えられていたものであったのだろうか。

一方、ヨーロッパにおいて、抗菌薬が潤沢に供給されない国では、アミノ配糖薬の1日1回投与方法などが検討され、重症感染症では第一選択剤として使用されており、それなりの効果も報告されている。その反面、我々は、アミノ配糖薬はpHの影響を受け、酸性側に傾く病院内での効果は疑問視されていることも知っている。しかし、その片側では、β-ラクタム薬の投与では反復する婦人の尿路感染症に対し、アミノ配糖薬を7~10日連用して、再発までの期間を飛躍的に延ばし得た臨床経験も持っている。もっとも、それはUTI判定基準などができる以前のことであって、尿路感染症の治験が主として内科領域で行われていた頃の話である。今、この治験を行うとしたら、どうなのであろうか。

抗菌薬の潤沢な日本において、ヨーロッパのそれを真似て欲しいとは言わないが、現実に難治感染症に使用されている抗菌薬の併用については、もう一度原点に戻って考えてみる必要があるのではなかろうか。

その意味で今回は、主として試験管内とほぼ同じ条件下にあると考えられる白血球減少症など、感染防御能が低下している compromised host における化学療法を想定し、抗菌薬を併用した際の菌の動態を追及し、その功罪を論じようと考えた次第である。

シンポジウムにおける論点は、①β-ラクタム薬同士の併用、②β-ラクタム薬とアミノ配糖薬の併用、③その他の抗菌薬の併用、④MRSA 感染症に対する併用、⑤併用を必要とする患者とは？ という5つの事項に対して行われた。いずれもβ-ラクタム薬より殺菌性の強い抗菌薬を先行した方が、より効果的であること、ことに緑膿菌やMRSAのような多剤耐性菌による感染症の際には、疾患の難治性をも含めて、これらの考慮が必要なが述べられた。また、MRSA 感染症に対するバンコマイシンの使用法については、抗菌作用に基づく殺菌曲線の上からは、投与量を増していっても、それが必ずしも効果をよりよくする因子とはなら

ないことなど、いくつかのユニークな実験結果が論議された。

結局、cost benefit の問題をも含めて、無駄な併用は止めるべきであること、白血球等の感染防御能が正常であったとしても、抗菌薬の併用をしなければならない際は、先行すべき抗菌薬の併用の理論は守られるべきであろうことが強く主張された。

1) 抗菌薬の併用効果を左右する因子について

—試験管内実験の成績から—

生方公子

帝京大学・医学部・臨床病理

今日、臨床場においては抗菌薬の併用が多く使われているのが現実である。ことに、医療の進歩と共に最近増加してきている免疫不全状態にある患者、リスクの大きい手術や多発外傷等の患者においては、抗菌薬の併用は当然のこととして受けとめられている。その実態を調べると、併用されている抗菌薬の組み合わせは、β-ラクタム薬同士であるとか、β-ラクタム薬とアミノ配糖薬であるとか、あるいはβ-ラクタム系薬とニューキノロン薬であるという場合さえ見受けられる。

しかしながら、臨床における個々の抗菌薬の投与間隔は、通常異なっており、同時投薬であったとしても、体内の薬物動態から考えて、同一薬剤に共に長く曝されているわけではない。このようなことから考えると、併用効果を検討するために従来から行われてきたチェッカーボード法の成績のみでは、臨床における併用を考える際に、必ずしも満足のいく成績が得られるとは限らない。このような点に関連して、より生体内に近い条件によって薬剤の投与方法を検討しようとする試みとして、シュミレーションカーブによる生菌数の経時的変動あるいはPAE等についての検討がすでに何人かの研究者によってなされてきた。

今回は、臨床で併用されている実態と照らし合わせて、1)β-ラクタム薬同士の併用、2)β-ラクタム薬とアミノ配糖薬の併用、3)β-ラクタム薬とニューキノロン薬の併用の3つの組み合わせに絞って、緑膿菌と大腸菌に対する検討を行い、薬剤作用後一定時間における生菌数の減少と、その時点からのPAEとを検討し、その成績を総合的にみて併用の優劣を比較した。

β-ラクタム薬同士の併用においては、作用機序の異なるβ-ラクタム薬の組み合わせのみが意味があると

考えられた。すなわち、IPM と CFS, あるいは IPM と CAZ 等であり、併用に際しては殺菌作用の強い IPM を先行させた方が生菌数の減少、PAE 共に優れていた。しかしながら、低濃度で β -ラクタマーゼを誘導し易い IPM のような β -ラクタム薬の併用は、併用の仕方によってはフィラメント化された桿菌がたちまちのうちに短い桿菌に分断され、再増殖してくるという問題も有していた。

β -ラクタム薬とアミノ配糖体薬の NTL の併用では、生菌数の減少からみた殺菌効果と PAE は、アミノ配糖体薬を先に使用し、後で β -ラクタム薬を使用した方が明らかに優れていた。 β -ラクタム薬を先に使用し、次いでアミノ配糖体薬を使用した成績は同時併用よりも劣っていた。 β -ラクタム薬とニューキノロン薬の OFLX の併用でも、 β -ラクタム薬とアミノ配糖体薬の併用時と同様の成績が得られた。

臨床でむしろ上述した併用とは逆の順序で使用されている場合が多く、たとえば、 β -ラクタム薬を先に使用して、期待される程の臨床効果が望めない時にアミノ配糖体薬が併用されるというようなことである。一般には、生体内では種々の防御機能が働いており、それらが機能する限りにおいては、試験管内実験にみられる微妙な相違は、たちまちのうちにマスクされているのが現実であろう。しかしながら、免疫不全状態の患者においては、試験管内実験と同じような現象が生ずるかも知れないという可能性は否定できず、そのような観点からも、基礎ならびに臨床において、併用の成績が一致するような手法の確立が急務であると考えられた。

2) *In vitro* と *in vivo* での併用療法の解析

辻 明良

東邦大学医学部微生物学教室

感染症に対する化学療法は、本来は単剤による治療が原則である。しかしながら、近年の感染症の変貌につれ、重篤な基礎疾患を有するいわゆる compromised host における感染症に対しては、単剤では十分な治療効果が得られず、難治化するため、併用療法が行われることが多い。

抗菌薬の併用効果の基礎検討は、今まで多くの報告がみられるが、その多くが *in vitro* における実験で、しかも、同時に、長時間抗菌薬との接触で判定している。このようにして得られた結果が、必ずしも *in vivo* 効果に反映しない場合もあることが指摘されている。このことは *in vitro* での 2 剤の組合せで、配合比によ

っては効果変動し、また *in vivo* でも投与後 2 剤が生体内で必ずしも相乗効果を示す配合比を維持するとは限らないためである。

今回、難治性感染症の併用療法の基礎検討の試みとして、緑膿菌を対象とし、*in vitro* での併用効果を FIC index、ディスク法および血中濃度をシミュレーションさせたモデルでの検討、*in vivo* では白血球減少マウスを用いた全身感染モデルでの併用投与方法について検討を加えた。使用薬剤は抗緑膿菌剤である β -ラクタム剤 (ceftazidime, imipenem)、アミノグリコシド剤 (tobramycin, gentamicin)、ニューキノロン剤 (ciprofloxacin) などである。

1) *In vitro* 併用効果

(1) FIC index

Imipenem は他の β -ラクタム剤 (piperacillin, cefsulodin, ceftazidime など) とは拮抗 (FIC index: 4~16) を示したが、tobramycin, gentamicin とは相乗 (minimum FIC index: 0.53~0.75)、ciprofloxacin とは相加 (minimum FIC index: 1) がみられた。Tobramycin, gentamicin は β -ラクタム剤、とは相乗、ciprofloxacin とは相加を示した。また、このような結果はディスクによる拡散法によっても同様な結果が得られている。

(2) *In vitro* auto-simulation system

各薬剤単独および併用時のマウス血中濃度動態下での生菌数の変化により、併用効果を検討した。 β -ラクタム剤単独添加 (25 mg/kg 皮下投与時血中濃度推移) 時では、生菌数の減少がみられるものの、薬剤がなくなるとともに再増殖が認められた。最大生菌数減少 (短時間殺菌力の強さ) は ceftazidime より imipenem の方が強かった。アミノグリコシド剤単独添加 (25 mg/kg 皮下投与時血中濃度推移) では、著明な短時間殺菌がみられ、薬剤がなくなっても再増殖抑制効果が認められた。また、ciprofloxacin (50 mg/kg 経口投与時血中濃度推移) も同様な短時間殺菌と再増殖立上がり時間は tobramycin, gentamicin よりはやいものの、再増殖抑制効果が認められた。

Ceftazidime と imipenem の併用では、FIC index では拮抗を示すが、同時添加で著明な菌数の減少がみられ、添加時の菌数を $-3 \log$ 維持する時間も 8.7 時間とそれぞれの時差添加した時より長かった。 β -ラクタム剤とアミノグリコシド剤の併用 (FIC index: 相乗) では、アミノグリコシド剤を先に添加した方が、 β -ラクタム剤を先に添加するより、生菌数抑制効果が持続した。

2) *In vivo* 併用効果

白血球減少マウスに緑膿菌を感染(全身感染モデル)させ、 β -ラクタム剤同士、 β -ラクタム剤とアミノグリコシド剤、ニューキノロン剤とアミノグリコシド剤との併用効果を検討した。単独投与ではほとんど生残率がみられない投与量での併用投与で効果がみられ、アミノグリコシド剤を先行投与した方が著明な併用効果がみられた。Imipenem と ceftazidime の併用 (FIC index:拮抗) では同時投与の方が時差投与より生残率が高かった。これらの結果は、*in vitro* での濃度シミュレーションの併用効果と相関していた。また、ciprofloxacin と tobramycin との併用 (FIC index:相加) では tobramycin を先行した投与の方が併用効果が著明であった。

以上の結果から、従来 *in vitro* 併用効果の検討に用いられてきた FIC index やディスク拡散法では *in vivo* との相関が得られず、不充分である。しかし、そのなかでも血中濃度シミュレーションによる検討は *in vivo* 効果を推測する 1 方法と考えられた。

全身感染モデルにおける薬剤の治療効果は短時間殺菌力の強さと Time above MBC の長さに相関することをすでに報告しているが、 β -ラクタム剤とアミノグリコシド剤との併用では、短時間殺菌力の強いアミノグリコシド剤を先に投与した方がその再増殖抑制効果とあいまっていい効果が得られると考えられた。また、 β -ラクタム剤同士の併用では作用点の異なる imipenem と ceftazidime では同時投与での併用がよく、作用点が同じ薬剤同士では時差投与で効果がみられると考えられた。また *in vitro* での薬剤濃度シミュレーションの結果から、一度薬剤にふれ再増殖してきた菌に対する薬剤の効果は、生菌数の減少効果や再増殖抑制効果が劣る結果が得られており、薬剤の選択や投与時期も考慮しなければならない。

3) 薬動学的見地からの抗菌薬併用効果

—動物感染モデルを中心に—

戸塚恭一

東京女子医科大学内科

近年 compromised host の増加により難治性感染症が増加しており、抗菌薬療法の効果を最大限に発揮する必要ある。経済性を考慮した。副作用の少ない投与方法が望まれており、最小の投与量で最大の効果を得ることができる投与方法が必要とされている。主に緑膿菌感染症に対する併用療法の効果を薬動学的見地から主に白血球減少マウス大腿感染モデルを使用した動物実験で検討した。

1. ファマコキネティックパラメーターと効果

緑膿菌感染症に対してチカルシリンとトブラマイシンの種々の投与量、投与間隔で治療を行いその効果と各種ファルマコキネティックパラメーターとの関係を多変量解析で検討すると、チカルシリンは Time above MIC と関連を示し、有効濃度を維持することが重要と考えられた。トブラマイシンは log AUC と関連し、総投与量との関係が重要と考えられた。併用においても β -ラクタム剤の Time above MIC とアミノ配糖体の log AUC の 2 パラメーターをあわせたものが効果と関連することが示された。すなわち単剤で最も効果的な投与方法を併用でも行う必要があることを示している。

2. 相乗効果

相乗効果を検討すると β -ラクタム剤を頻回に投与した場合により相乗的に作用する傾向が見られた。チカルシリンを 1 時間毎に投与すると相乗効果が見られるが、チカルシリンの投与間隔を開けると見られない。ネチルミシンでは β -ラクタム剤を頻回投与してアミノ配糖体の投与間隔を開けた場合に相乗効果の頻度がさらに高くなることが示されている。

緑膿菌感染させた白血球減少マウスをチカルシリンとトブラマイシンで各々 1 時間毎投与と 12 時間毎投与の組み合わせで 24 時間治療して生存率を検討すると、単剤のチカルシリン 12 時間毎とトブラマイシン 1 時間毎で最も効果が劣り、チカルシリンを 1 時間毎に併用した場合が優れていたが、特にトブラマイシンを 12 時間毎に併用した場合がトブラマイシン 1 時間毎に併用した場合に比べて効果が優れていた。

生菌数の検討でもアミノ配糖体は 12 時間毎に併用した時最も効果を示したが、24 時間毎併用すなわち 1 回併用投与もほぼ同等の効果を示した。チカルシリンを持続投与に近い 1 時間毎の投与にしてトブラマイシンを 1 mg/kg で 1 時間毎に 24 回投与、12 mg/kg を 2 回、24 mg/kg を 1 回併用投与するとトブラマイシンを 2 回ないしは 1 回併用した場合が最も効果を示し、トブラマイシンの 1 回併用は 2 併用とほぼ同等かわずかに優れた効果を示した。したがって白血球減少時でも併用においてはアミノ配糖体の 1 回併用投与で効果を示す可能性が示される。アミノ配糖体は何回にも分割して投与するより最初にまとめて投与すると効果が優れている。

β -ラクタム剤のピペラシリンは 100 mg/kg から 1,600 mg/kg まで投与量を増加させても殺菌作用の増加は認められないが、100 mg/kg と最も少量を持続的に維持すると最も効果を示した。

ゲンタマイシンでは10 mg/kgから80 mg/kgと投与量を増加させると用量依存的に殺菌効果が増加する。この2つの特徴を組み合わせたことが必要と考えられた。

3. first exposure effect

アミノ配糖体のfirst exposure effect, アミノ配糖体は初回効果が最も優れている。1時間, 2時間, 4時間, 6時間, 8時間と2回目の投与時間をずらすと効果が減少しこの範囲では初回投与が最も優れていた。このことからアミノ配糖体では最初に充分量の薬剤を投与して用量依存的に殺菌させることが重要であると考えられた。

4. sub MICにおける増強作用

アミノ配糖体を作用させて後 β -ラクタム剤のsub MIC濃度での作用が増強されることが示された。*In vitro*で緑膿菌に対してゲンタマイシンを作用させた後、ピペラシリンを作用させるとコントロールに対するピペラシリン1/2 MICでの殺菌作用に比べて1管程度殺菌効果が増加し、再増殖の時間が延長した。この検討は微妙な検討であるので、同実験を繰り返した他剤にて行ったが同様の結果でABPCでも認められた。

Odenhaltらは今年のICAACにて緑膿菌に対してイミペネムを接触させたPAE期にはsub MICの濃度のイミペネムがコントロールに比べて長時間増殖を抑制することを報告している。同じ投与量を繰り返すのではなく初期に殺菌することが重要である可能性が考えられた。

5. アミノ配糖体と β -ラクタム剤の投与順序

β -ラクタム剤とアミノ配糖体の併用時の投与順序について示す。緑膿菌を使用した大腿感染モデルでは β -ラクタム剤とアミノ配糖体の投与順序を前後させるとアミノ配糖体を先行させた場合に効果が優れていることが示される。 β -ラクタム剤を先行させた場合に β -ラクタム投与剤後の再増殖期にアミノ配糖体の効果が低下する傾向が見られることが一因であると考えられた。

この結果からはまず殺菌作用の強い薬剤を投与することが重要であると考えられる。*in vitro*においてもMRSAに対してFMOXとMINOの併用を行う際にはMINOを先行させた場合より殺菌作用の強いFMOXを先行させた場合に併用効果が優れていることが示されている。

併用療法においては併用するそれぞれの薬剤の抗菌活性の特徴を捉えた投与方法を行うことが重要であると考えられた。

4) 複雑性尿路感染症に対する抗菌薬併用の試み

松本哲朗

九州大学医学部泌尿器科

目的：難治性感染症に対しては、抗菌スペクトラムの拡大、抗菌力の増強、副作用の軽減等種々の目的で抗菌化学療法剤の併用が行われる。尿路感染症においては、併用療法の行われる機会は少ないが、尿路に基礎疾患を有する複雑性尿路感染症では、急性増悪時、Urosepsis時またはその予防、あるいは尿路への手術直前等には積極的に行われることがある。しかしながら、これら併用療法における薬剤の種類、併用時の時間間隔、尿中排泄量または排泄率との関係等についての詳細な検討は少ない。さらに、尿pH、尿浸透圧等の影響が複雑に絡み、併用療法における至適投与法の検討は困難な面が多い。今回は、複雑性尿路感染症の中でも最も難治性と考えられるカテーテル留置例における硫酸イセパマイシン (ISP) とピペラシリン (PIPC) の併用治療効果および複雑性尿路感染症に対するISP 1回投与に引き続く、オフロキサシン (OFLX) の経口投与による併用効果について解析し、複雑性尿路感染症に対する併用療法における至適投与法の検討を加えたので報告する。

対象、治療法および結果：

1) カテーテル留置複雑性尿路感染症に対するISPとPIPCの併用治療：ISP 1回400 mg 1日1回筋注とPIPC 1回2 g, 1日1回点滴静注を下記の4群に分け検討した。I群(朝ISP 400 mg 筋注, 夕PIPC 2 g 点滴静注), II群(朝ISP 400 mg 筋注とPIPC 2 gの同時投与), III群(朝PIPC 2 g 点滴静注, 夕ISP 400 mg 筋注)およびIV群(朝ISP 400 mg 筋注, 1回のみ)とし、連続5日間繰り返し投与した。対象はカテーテル留置複雑性尿路感染症例とし、上記の投与方法を封筒法により選択した。臨床効果の判定はUTI判定によった。その結果、5日目の総合臨床効果はI群72.7%, II群54.5%, III群66.7%, IV群25.0%であり、両薬剤の併用効果がうかがえ、しかもISP先行投与の方がPIPC先行投与より多少良好な臨床効果であった。また、経時的に採尿し、尿中細菌数の検討を行った結果、1日目、2日目、5日目の尿中総菌数には、治療群間に大きな相違はなかった。しかしながら、緑膿菌検出例に限り、緑膿菌の消失速度を検討すると、1日目、2日目の尿中よりの消失率はI群で最も良好であった。

2) カテーテル非留置複雑性尿路感染症に対する ISP 1 回投与に引き続く OFLX 経口投与による併用治療: 33 人のカテーテル非留置複雑性尿路感染症患者を併用群 (受診日朝 ISP 200 mg 筋注 1 回, 夕より OFLX 1 回 200 mg, 翌日より OFLX 1 回 200 mg, 1 日 2 回経口投与 4 日間) および単独群 (OFLX 1 回 200 mg, 朝夕 2 回経口投与, 5 日間) に分け, 臨床効果を検討した。5 日目の総合臨床効果は併用群 58.8%, 単独群 66.6% であり, 明らかな併用効果は認められなかった。しかしながら, 投与翌日の細菌尿効果は併用群において良好であり, ISP 併用による効果が認められた。この結果は, ISP 単回投与併用の有用性は投与 1~2 日間に限られることを意味しており, 1 回のみ併用では不十分と思われた。

考察と結論: カテーテル留置例における ISP と PIPC の併用療法は ISP 単独と比較すると, きわめて有効率は高くなり, 併用治療の有用性は高いと思われる。ISP と PIPC の同時投与は, 投与直後の細菌尿減少には有効であったが, 他の治療法に比し, 5 日目の有効率は低かった。

一方, ISP と PIPC の投与順序は ISP 先行投与の方が, PIPC 先行投与より良い成績が得られた。特に, 緑膿菌分離症例に限ると, 緑膿菌の消失は ISP 先行投与において, 消失速度の早いことが見出された。この事実は, *in vitro* 実験や *in vivo* 動物実験等での報告結果と一致するものであった。本研究での対象症例はカテーテル留置例に限ったので, 菌抗体や尿膿の改善等が不良であったが, カテーテル非留置例では, さらに良好な成績が望めるものと思われた。また, アミノ配糖体と β -ラクタム剤の併用は, 尿路感染症にも有効であることが確認されたものと考えられる。

一方, アミノ配糖体は筋注使用であり, 尿路への移行がきわめて良好であり, 腎毒性や聴器毒性等の改良がみられることから, 外来での使用に便利である。以前より, 外来でのアミノ配糖体 1 回投与と経口抗生物質の併用治療は広く行われ, 有効であることが経験的に知られている。我々は, アミノ配糖体の 1 回投与に引き続き, OFLX を内服させる治療法をカテーテル非留置複雑性尿路感染症に対して行った。その結果, 併用の効果はごく短期間であることが判明した。アミノ配糖体は腎および尿への移行が優れ, 強い殺菌作用がある。また, OFLX も強い殺菌作用があるため, 併用効果が現れ難かったものと考えられる。しかしながら, 外来治療においては, アミノ配糖体の 1 回筋注に引き続く経口治療は菌の早期消失に格げることができ, 有用な方法の一つであると考えられた。

以上, 2 つの臨床トライアルの結果から, 併用療法の有用性, 併用療法時の薬剤の選択基準, 併用のタイミング等について言及することはできないが, 症例により, 併用療法の有用性の高いものもあり, 今後共検討が必要と思われた。

共同研究者:

1. ISP と PIPC の併用療法: 田中正利, 尾形信雄, 熊澤浄一・九州大学医学部泌尿器科, 西村昌広, 熊本悦明・札幌医科大学泌尿器科, 安野博彦, 守殿貞夫・神戸大学医学部泌尿器科, 永山在明・福岡大学医学部微生物学, 清水喜八郎・東京女子医科大学内科

2. ISP と PIPC の併用療法: 田中正利, 尾形信雄, 熊澤浄一・九州大学医学部泌尿器科, 植田吾吾, 江藤耕作・久留米大学医学部泌尿器科, 湯下芳明, 斎藤 泰・長崎大学医学部泌尿器科, 石井 達, 坂本公孝・福岡大学医学部泌尿器科, 澤江義郎・九州大学医療技術短期大学部

5) MRSA に対する抗菌薬の併用効果

—併用投与方法の検討—

長谷川裕美

東京女子医科大学臨床中央検査部

近年, immunocompromised host の MRSA 感染症の増加が問題となっており, これら感染症に対しての抗菌薬療法として, 特に生体にとって安全で, かつ, より強力な抗菌効果が期待できる治療法が必要となっており, 併用療法も, 最も効果のある併用投与方法 (投与順序, 投与量, 投与時間, 投与間隔など) の検討が注目されている。今回, MRSA 感染症に対するより効果的な治療法を検討するため, 抗菌作用および安全性の面から, 臨床的にも用いられる fosfomycin (FOM) と β -ラクタム剤の併用投与方法を中心に, 投与順序, 投与量について, その併用効果を検討した。なお, β -ラクタム剤として flomoxef (FMOX) を用いた。また, 最近使用される機会の多い vancomycin (VCM) についても若干の検討を行った。

In vitro にて, 両薬剤を一定濃度作用させた場合, FOM, FMOX 単独投与では抗菌作用が期待しにくい sub MIC どおしの併用で, 投与後短時間で生菌数減少を認め, 抗菌効果を示した。また, その程度は, 同時もしくは FMOX 先行併用投与に比べ, FOM 先行併用投与時に, より強力に認められた。特に, 高度耐性を示す MRSA (MIC: FOM > 3,200 μ g/ml, FMOX 200 μ g/ml) に対して, FOM 400 μ g/ml (< 1/16 MIC)

を1時間先行投与後 FMOX 1/2 MIC を併用投与することで投与後6時間にて約 $4 \log_{10}$ cfu/ml の生菌数減少を認めた。また、FOM, FMOX の各々 1 MIC を単独および併用（同時または時間差）にて1時間作用後の PAE は、特に FOM 先行併用投与時に明らかな延長を認めた。

In vitro auto simulation system を用い、ヒト血中濃度動態下で薬剤を作用させた場合、その抗菌効果を①最大生菌数減少、②薬剤作用開始時の生菌数にもどる時間、③再増殖開始時間、④薬剤作用開始時の生菌数にもどる時間までに開始時生菌数以下に抑制されていた部分の面積より検討すると、併用投与は単独投与に比べ、①～④のいずれにおいても優れ、明らかに併用効果を示した。中でも、FOM 先行併用投与は、同時または FMOX 先行併用投与に比べ、特に④について優れた抗菌効果を示した。

また、顆粒球減少マウスの大腸感染モデルに対し、FOM, FMOX をそれぞれ 50 mg/kg 皮下注にて単独または併用投与した場合も同様に、FOM 先行併用投与で特に④について優れた抗菌効果を示した。

さらに、顆粒球減少マウス全身感染モデルに対し、FMOX を単独または少量の FOM と併用皮下注した場合の FMOX の ED₅₀ は、単独で 8.8 mg/kg、同時併用投与では 2.2 mg/kg、FMOX 先行併用投与では 3.6 mg/kg、FOM 先行投与では 0.86 mg/kg と、特に FOM 先行投与時に他の併用投与時と有意差をもって低値を示した。

以上、*in vitro*, *in vivo* の結果より、MRSA 感染症に対する FOM と β -ラクタム剤の併用療法においてはその投与順序、投与量を考慮する必要性が示唆された。FOM は β -ラクタム剤と異なり、菌体内へは、能動輸送系を介して高濃度に取り込まれ、細胞壁合成の初期段階を阻害し、また、sub MIC で PBP 2' の産生を抑制することが報告されている。このような特徴から FOM 先行投与により、次に作用する β -ラクタム剤が非常に有利な条件で抗菌作用を発揮することができると考えられるが、詳しいメカニズムについては、今後の検討が必要と思われる。

欧米ではすでに MRSA 感染症の第一選択薬として広く使用されている vancomycin (VCM) が、我が国でも単独または追加併用される例がみられるようになった。そこで、VCM の単独または β -ラクタム剤との併用時の抗菌作用について若干の検討を行った。

臨床分離株 (MIC: VCM 2 μ g/ml, FMOX 256 μ g/ml, FIC index: 0.5) に対して、VCM を一定濃度単独作用させた場合、作用後 6~8 h での殺菌作用は非常に

弱く、1/2~16 MIC で dose dependency はほとんど認められなかった。また、VCM の濃度を変え、FMOX と併用作用させると、短時間での殺菌効果は、VCM の濃度が高いほどむしろ減弱した。

In vitro auto simulation system を用い、VCM 0.5 g または 1 g と FMOX 2 g を 1 時間点滴静注にて同時併用した場合も、VCM 1 g 投与が必ずしも優れた結果を示さず、連続投与で重要なポイントの 8~12 h 後はむしろ VCM 0.5 g 併用でより強い殺菌効果が認められた。

このように、VCM 治療においては、投与量を増加することが必ずしも抗菌効果増強に結び付かない可能性も考えられ、今後、VCM の投与方法はそのメカニズムも含め、充分検討される必要があると思われる。

以上の検討より、MRSA 感染症の併用治療においても、併用する薬剤の特徴をとらえた併用投与計画をたてるのが重要であると思われる。

ワークショップⅣ：化学療法剤の開発について考える

司会のことば

今田 哲

武田薬品・生物研究所

化学療法剤はこれまで抗細菌剤を中心に開発されてきた。歴史的には天然から得られる抗生物質の時代を経て、半合成ペニシリン、アミノグリコシド、セファロスポリン、次いで完全合成のニューキノロンが開発され、細菌感染症の治療に大きく貢献してきた。いくつかの菌種にみられる耐性菌、新たに出現する臨床上の問題菌などに有効な薬剤、empiric therapy に適した広域スペクトルの薬剤、さらに優れた経口剤、持続性薬剤などの開発が今後の課題として残されるが、抗細菌化学療法剤について大きな山は越え、完成の域に近づきつつある。一方、癌治療法や各種基礎疾患の治療法の進歩は易感染性の宿主を増加させ、それらの宿主における細菌のみならず真菌、ウイルスによる感染症の治療、あるいは免疫不全状態自体の改善に対する要望が高まってきている。したがってこれからの化学療法剤の開発は、このような医療サイドのニーズに対応して行く必要がある。

本ワークショップでは谷本、橋本両会長の「異なる分野間の対話」という運営方針に沿い、細菌、真菌およびウイルスによる感染症を幅広く取上げ、それらの治療にすでに貢献してきた薬剤とこれから貢献するこ

とが期待される薬剤について4つのテーマを設定して、大学と企業からのそれぞれ2名の演者に御講演をお願いした。

まず抗細菌剤については、 β -ラクタム系薬剤とキノロン系が2大カテゴリーとして存在するが、ここでは、1980年代に我が国で目覚ましい発展を遂げ、感染症治療に大きなインパクトを与えたニューキノロンを取り上げた。ニューキノロンは経口で注射に匹敵する優れた治療効果を示し、従来入院治療の対象であった感染症を在宅のまま治療できるようにした。このことは医療費節減という社会的ニーズに合致した点からも評価されている。一方、当初は予期されなかった一部の細菌での耐性菌の急速な出現という疫学的変化を生み、また副作用面からもユニークな側面を提示してきた。嶋田先生にはニューキノロンがいかにして世にでてきたか、その有用性の化学的根拠、医療への貢献、問題点と将来への課題について解説して頂き、抗菌剤開発が医療にどのような影響も持ち得るかを、ニューキノロンを例に検証していただいた。また、最近この群の化合物の一部にHIVを初めとするレトロウイルスに対する阻害作用が見い出されており、その点についても言及された。討論では何故特定の菌種で耐性化がおりやすいか、ニューキノロン耐性菌に有効な化合物の開発は今後可能かといった点、また抗レトロウイルス剤としての可能性等を取り上げた。

最近感染症の治療が一部の免疫不全患者などを除いてほぼ完成したことにより最もクローズアップされてきたのが深在性真菌症である。それに呼応して抗真菌剤の開発に一段と拍車がかかってきている。山口先生には抗真菌剤へのニーズの高まりの背景、開発の歴史的な流れ、ストラテジーと問題点、最近のアゾール系抗真菌剤の医療へのインパクトなどを通してその開発について考察していただいた。討論では企業サイドからの新しいリード化合物発掘へのアプローチ、臨床における真菌症の診断と抗真菌剤使用のタイミング、アゾール系抗真菌剤への耐性化等についての追加発言が行われた。

感染症はウイルスを原因とするものが圧倒的に多い。しかし現在上市されている抗ウイルス剤の中に選択毒性が高く安心して使用できるものはアシクロビルだけである。町田博士にはアシクロビルにはない特徴を有する新規抗ヘルペスウイルス剤の開発経験を中心に抗ウイルス剤開発のストラテジーを解説していただき、この抗ヘルペス剤の臨床評価に関する最近の成績についても紹介していただいた。討論では現在用いられている抗ウイルス剤の臨床試用経験をご紹介いただくと

ともに、今後どのようなウイルス種に対する薬剤が望まれるか等についても考えてみた。

痛化学療法や臓器移植に伴う免疫状態不良患者での感染症は最大の課題であると考えられるが、昨今、遺伝子工学による組替え colony stimulating factor (CSF)の大量生産が可能となり、感染症の治療に有効な補助手段となろうとしている。尾野博士にはCSFを取り上げて、従来の化学療法剤とは異なる新しい視点からの感染症治療剤開発について述べていただいた。討論では各種CSFの特徴ならびにrG-CSFの重症感染症患者に対する使用経験、抗生剤との併用効果等についての追加発言が行われた。

以上のとおり抗細菌剤、抗真菌剤、抗ウイルス剤、感染症補助療法剤の代表的なものについてご発表いただき討論した。総合討論においては重症感染症の代表例としてAIDSをとり上げて、その治療の立場からの化学療法の現状と各種の新しい化学療法剤に対する期待についてご発言いただいた。最後に、化学療法の基礎、臨床ならびに開発サイドにある企業の研究者からもご発言頂き、今後の化学療法剤の開発の方向性を探った。

1) キノロン系抗菌剤について

嶋田甚五郎

東京慈恵会医科大学第二内科

キノロン系抗菌剤とは、抗菌作用の発現に最も重要とみなされる4-OXO-3 pyridine carboxylic acid (pyridon carboxylic acid)を基礎構造とする一連の合成抗菌剤で、1962年にWinthrop laboratoriesのLesher, G Yらにより合成されたnalidixic acid (NA)をもって嚆矢とする。1990年10月1日現在、厚生省より製造承認をえて本邦で発売されている本系薬は10剤あり、なお4剤が現在臨床検討中である。

合成抗菌剤の細菌感染症への臨床応用はサルファ剤に端を発するが、サルファ剤耐性菌の出現は早く、ペニシリンGに始まる抗生物質の相つぐ開発によって1960年代の合成抗菌剤療法は衰微の一途をたどっていた。このような背景の中にあつてのNAの登場は、前例を見ない化学構造、細菌の核酸合成阻害という作用機序の特異性、サルファ剤や抗生物質と交叉耐性を示さないこと、折から臨床問題となりつつあったグラム陰性桿菌にすぐれた活性を示すことから注目を集めた。

しかし、抗菌スペクトルが1)好気性のグラム陰性菌に限られること、2)経口剤として腸管からの吸収は良

好ではあるものの、体内で容易に代謝されて不活化されやすいこと、3)安全性の上から対象が限定されることなどから適応症は淋疾・尿路・腸管・胆のう胆管の感染症に限られ、華々しい抗生物質療法時代の舞台にあってNAは常に脇役に甘んじてきた。

しかし、その母核の6位にフッ素(F)を、そして7位にpiperazinyl基が導入されたnorfloxacin(NFLX)が1980年に、ofloxacin(OFLX)が1982年に、cinoxacin(ENX)が1982年に、ciprofloxacin(CPFX)が1983年に開発されるにおよんでキノロン剤の評価は一変した。すなわち、1)抗菌スペクトルがグラム陽性球菌にまで拡がり、2)グラム陰性桿菌に対する基礎抗菌力が増強され、3)生体内での安全性が増し、4)分布容積が増大したことなどによりこれら薬剤はニューキノロン剤と称され、almighty drugと評されるようになった。その後、lomefloxacin(LFLX)さらに7位にpyrrolidinyl基を配したtosufloxacin(TFLX)が臨床に供され適応症も呼吸器感染症にまでも拡大され、その優れた有効性とともにもその処方量は短時日の内に急速に伸び、1989年1年間の経口抗菌剤の総売上げ(薬価ベース)の30%を占めるまでになった。

しかし、ニューキノロン剤にも1)耐性緑膿菌や耐性ブドウ球菌の出現、2)薬剤間相互作用によるテオフィリンやカフェイン代謝の抑制、3)制酸剤である乾燥水酸化アルミニウムゲルとの併用時にみられるキノロン剤の腸管からの吸収の低下、4)非ステロイド系消炎剤との併用による痙攣副作用の誘発、5)光線過敏症、6)幼若犬にみられる関節軟骨での水疱あるいはびらん形成などいくつかの問題が指摘され、有用性の改良が急務と成ってきている。

一方、本系薬はクラミジア属、マイコプラズマ属、非定型抗酸菌などにも殺菌作用を有するばかりでなく、HIVの増殖抑制もあることなどが報告されており、将来さらなる発展が期待されている。

2) 抗真菌剤について

山口英世

帝京大・医真菌研究センター

1970年代の末(我が国では1980年代半ば)にmiconazole(MCZ)(注射剤)が実用化される以前には、深在性真菌症の治療に使用可能な抗真菌剤はamphotericin B(AMPH)(注射剤)とflucytosine(5-FC)(経口剤)のわずか2剤を数えるに過ぎなかった。真菌がヒト(動物)と同じ真核生物に属するという理

由から、真菌に対してのみ強い毒性を発揮する薬物が容易に見つからなかったからである。しかし1960年代からそのきざしをみせていた深在性真菌症の問題は、1970年代に入って発生率、重症度の両面で益々深刻化の度合いを深め、ここに有用性の高い抗真菌剤に対する要望が一段と強まったのである。

この状況のなかにあつて新規タイプの抗真菌剤の候補として有望視されたのがイミダゾール系化合物である。その理由としては、(i)農業用抗真菌剤としてすでに使用されている誘導体がある、(ii)比較的強力でしかもスペクトルの広い抗真菌活性をもつ、(iii)AMPHにくらべてはるかに毒性が低い、(iv)5-FCにみられるような耐性獲得は起こり難い、(v)新しい誘導体を容易に合成できる、などがあげられる。欧州製薬企業を中心にイミダゾール剤の開発を目指して活発な研究がくりひろげられ、この間ドラッグデザイン、構造・活性相関、作用メカニズム、前臨床の評価法など抗真菌剤開発に必要な基礎的研究面での進歩も著しいものがあつた。その結果、clotrimazole, MCZを皮切りに、多数のイミダゾール剤が輩出した。しかし初期のイミダゾール剤はいずれも経口投与後の腸管からの吸収がきわめて不良であり、外用剤としてしか実用化されなかった。その後MCZをポリエチレン硬化ヒマシ油に溶解したIV製剤が開発され、これが最初の全身用アゾール剤として臨床へ導入されるに至つた。さらに1980年代には経口投与可能なイミダゾール剤としてketoconazole(KCZ)が開発に成功し、現在でもこの薬剤は深在性真菌症の治療薬として諸外国では最も繁用されている。

これらのイミダゾール剤特にKCZの出現は、抗真菌化学療法にとって大きな進歩であつた。しかし高い血漿タンパク結合率、代謝的不安定性、低い髄液への移行性、肝における分解酵素誘導能などの体内動態に関するいくつもの欠点が開発当初から指摘されていた。加えて、肝障害およびホルモン(特に性ホルモンや副腎皮質ホルモン)合成阻害による毒性、副作用が特にKCZで顕在化した。イミダゾール剤を含めてアゾール系薬剤に共通する一次的作用メカニズムは真菌の必須ステロールであるエルゴステロールの合成を、前駆体ラノステロールまたは24-Me-ジヒドロラノステロールの酸化のC-14脱メチル反応の段階で阻害することであり、この反応を触媒するcyt, P-450が作用標的分子とされている。一方、ヒトのP-450に対する親和性が低いことがアゾール系薬剤の安全性を確保するのに不可欠である。KCZに関しては、P-450選択性の不十分なこと上記の毒性を発現する主因になると考えら

れる。

KCZについての多くの知見は、その後のアゾール剤の研究・開発に大きな示唆を与え、高いP-450選択性に基づく安全性の向上とならんで、より好適な薬力学的性質を兼備するような新規経口アゾール系化合物の探索を目指して活発な研究が展開されたのである。特に薬力学的性質の改善という観点からは、従来のイミダゾール系化合物に代ってトリアゾール系化合物が注目されるようになった。イミダゾール基にくらべてトリアゾール基は肝での代謝（開裂）を受けにくいのみならず、極性がより高いことから水溶性の向上やタンパク結合率の低下も期待されるからである。これまで検討された多数の抗真菌性トリアゾール誘導体のなかで、現在のところ開発に成功したのは fluconazole (FCZ) と itraconazole (ITZ) の2剤である。

KCZと比較してFCZ, ITZともに毒性は著しく軽減され(P-450選択性の向上による)、加えて良好な組織移行性によって分布容積が大きくなり、血中半減期の延長(20時間以上)によりバイオアベイラビリティが高くなるなど体内動態の面で著しい改善がみられ、それに伴って動物モデルにおける *in vivo* 活性が強化されている。一方、FCZとITZはいくつかの点で対照的であり、前者は後者にくらべて(i)極性が高く(水溶性も高くなり注射剤の製剤化も容易)、(ii) *In vitro* 抗真菌活性が著しく低く、(iii)生体内での安定性がきわめて高く大部分が活性体のまま存在し、タンパク結合率が低く、髄液へ良好に移行し、(iv)血中半減期はやや短い、などの相違点を指摘することができる。(ii)以下の抗菌力または薬力学的性質の特徴は、高い極性をもつFCZとより脂溶性のITZとの物性の差に由来するところが大きいと考えられる。極性を高めることは、水溶性、髄液への移行性、代謝的安定性などの向上につながる可能性はあるが、反面、抗菌力の低下や体液・組織内からの速やかな排泄をもたらすことが懸念される。実際には、抗菌活性、溶解性および薬力学的性質のバランスをいかにとるかが有用性の高い経口アゾール剤の開発の決め手となろう。FCZとITZはその「適正な」バランスを探る上でのパラダイムと見なすことができるかも知れない。

トリアゾール系の可能性は高く、これまで物理化学的ならびに生物学的性状の点できわめて多彩な誘導体がつくられ、そのなかからSCH 39304 (SM-8668), saperconazole とした次世代アゾール剤の有望な候補も見出されている。新しい抗真菌性トリアゾール誘導体を求めて研究は今後とも多くの研究グループによって続けられるであろうが、FCZで端的に示されている

ように、*in vitro* 活性と *in vivo* 活性はまったく相関しないこと、*in vitro* 活性が低くとも体内動態が良好であれば十分な *in vivo* 活性が得られることをぜひとも考慮しなければならない。これは新規誘導体の探索・評価に際しての *in vivo* 試験の重要性がきわめて大きいことを意味する。

今後アゾール剤の改良が一層進んだとしても、真菌とヒトがP-450という作用標的を共有している以上、潜在的毒性の問題は常につきまとい、一方、比較的弱い現在のアゾール剤の抗真菌活性を増強することも選択毒性の点から限界がある。したがって、アゾール剤とは別に、安全性および抗真菌活性の点でよりすぐれた薬剤を早急に開発する必要があることは論をまたない。AMPHについて一時期精力的に試みられた可溶性誘導体のなかからは有望な候補はついに見出せず、アリルアミン系は抗 *Candida* 活性が弱いことが難点であり、従来から真菌細胞壁合成阻害という魅力的な作用メカニズムをもつ理由で注目を集め、cilofungin (echinocandin Bの半合成体) および nikkomycins はいずれも抗真菌スペクトルの狭さなどの点で問題をかかえている。

このような状況を考えるならば、今後リード化合物となるべき新しい構造および作用メカニズムをもつ抗真菌性物質の発見が強く望まれる。我々を含めて国内外のいくつもの研究グループが抗生物質を主な対象として検討を進めており、近い将来そのなかからまったく新しいタイプの抗真菌剤が出現することを念願している。

3) 抗ウイルス剤について

町田治彦
ヤマサ醤油研究開発本部

AIDSという病が世の中に蔓延してからにわかに抗ウイルス剤の必然性が叫ばれるようになったが、イドクスウリジンを初めとする近代抗ウイルス学はAIDS出現の約20年前から始まっている。現在、抗ウイルス化学療法の対象となるウイルス性疾患は以下の通りと考えられている。

(1) 死亡率が高い、または癌への移行の可能性のある疾患。エイズ、ウイルス性肝炎、ヘルペス性脳炎、新生児ヘルペス、免疫不全患者での各種ヘルペス性疾患など。

(2) ワクチンがない、またはワクチンが不完全な疾患。インフルエンザ、鼻風邪、開発途上国に発生する各種風土病など。

(3) 再発性の高いウイルス性疾患。単純ヘルペス、帯状疱疹など。

一方、現在までに開発された、または開発中の抗ウイルス剤は核酸の誘導体がほとんどである。その理由は、ウイルスは細胞の中でのみ増殖し、その増殖過程の大半は細胞の生命活動に必要な反応を共有し、そのため、細胞の機能を損なわずにウイルスの増殖を特異的に抑えるには代謝拮抗剤としての核酸誘導体が適しているためである。最近、抗エイズウイルス (HIV) 剤として HIV のプロテアーゼに対する特異的酵素阻害剤や TIBO 誘導体、あるいはキノロン系抗菌剤が報告されたことは抗ウイルス剤研究の新しい方向性を示すものとして興味深い。

核酸誘導体が抗ウイルス剤となりえた科学的根拠はヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ (TK) や HIV の逆転写酵素の基質特異性にある。以下、我々がこの根拠に基づいて開発している新規抗ヘルペス剤、BVアラUを中心に核酸系抗ウイルス剤について述べる。

1970 年半ばから、海外ではデオキシウリジンの誘導体を中心に盛んに抗ヘルペス剤の研究が行われ、アシクロビルの画期的な開発とともに抗ウイルス剤の研究は 10 年間で非常な進歩を遂げた。我々はアラビノシルチミンが選択的な抗ヘルペス活性を示すとの報告をもとに、細胞の TK ではリン酸化されないチミジン誘導体はヘルペスウイルス感染細胞中でのみウイルスの TK によってリン酸化され得ること、およびアラビノシルヌクレオシド類は生体内代謝系においてデオキシリボヌクレオシドのアナログとして挙動することを理論的根拠とし、5-置換アラビノシルウラシル (アラU) 誘導体が選択性の高い抗ヘルペスウイルス剤になり得ると考え、その合成と抗ヘルペス作用を研究している中で BVアラU を見出した (1980 年)。また、水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) も独自の TK をもつことに着目し、多くのチミジン誘導体の抗 VZV 活性を試験した結果、BVアラU がきわめて強い抗 VZV 作用を有することも見いだした (1981 年)。

BVアラU は 5 位にプロモビニル基を有するアラU 誘導体である (Fig. 1)。アシクロビルは単純ヘルペスウイルス (HSV) に対して強い作用を有するが、VZV に対して比較的作用が弱い。一方、BVアラU は HSV2 型に対して作用が弱く、当初は注目されなかったが、VZV に対して著しい活性を示し、細胞に対してほとんど増殖抑制活性を示さないきわめて選択性が高い薬剤であることがわかり注目されるようになった。また、BVアラU より BVDU の開発が先行していたが、以下の点で BVDU とは性質を異にすることがそ

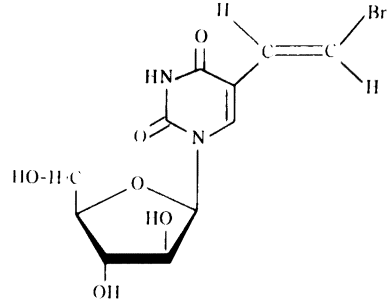


Fig. 1. Chemical structure of BV-araU

の後の研究で明らかになった。

1. BVアラU はミトコンドリア TK にたいして親和性を示さない (BVDU はミトコンドリア-TK によってリン酸化される)。

2. BVアラU 三リン酸はウイルスの DNA ポリメラーゼの反応に対して dTTP と拮抗するが、dTTP の代替基質にはならず、DNA 鎖には取り込まれることなくウイルス DNA 合成を阻害する (BVDU は DNA 鎖に取り込まれる)。

3. BVアラU は哺乳類のピリミジンホスホリラーゼによる脱リボシル反応を受けない (代謝を受けにくい)。

4. BVアラU について変異原性および癌原性は認められていない。

一方、アシクロビルとの比較では、BVアラU は VZV に対して特に強い活性を示し、既存の抗ウイルス化合物の中で最も強く、その *in vitro* の作用はアシクロビルの約 2,000 倍、ピダラビンの約 4,000 倍強い。BVアラU はアシクロビルに比べ、消化管吸収が優れており、経口剤として開発することが容易である。作用機序については、アシクロビル二リン酸は細胞のキナーゼの作用によって生成されるが、BVアラU はウイルスのキナーゼの単独作用によって一リン酸を経て二リン酸化体になる。

BVアラU は前臨床試験において動物に対する副作用がきわめて少ないことが確認された。また、HSV1 型に対しても強い活性を有することからマウスを用いてその *in vivo* 抗ウイルス活性を検討した。その結果、脳内、腹腔内、皮膚のいずれの感染に対しても効果を示し、免疫抑制マウスの腹腔内感染に対しても十分な治療効果を発揮した。米国ではサルの水痘ウイルス感染モデルにおいて経口 BVアラU の顕著な治療効果が報告されている。

BVアラU の経口投与の臨床効果については、健常

人における带状疱疹を対象として用量設定および重盲検試験が行われた。副作用もほとんどなく、対照と比べ有意な治療効果が認められ、従来、带状疱疹に対する治療薬として点滴静注のみが使用可能であった状況で、新しい経口抗ウイルス剤として臨床応用が有望となった。また、造血器疾患を有する免疫機能の低下した患者においても VZV 感染症に対し顕著な治療効果がみられた。

今後の抗ウイルス剤の展望として、抗 AIDS 薬開発の動向が最も注目され、第二世代の核酸系薬剤と前述の非核酸系薬剤の開発の進展が話題の中心となる。その他、前述の肝炎と風土病に対する薬剤が社会的要請が強い。肝炎に対してはインターフェロンが認可されているが、自宅加療が可能な経口剤の開発が待たれる。オキセタノシン系化合物の抗 HBV 活性が注目されているが、この慢性疾患に対しいかに副作用が少ないかが開発のかぎであろう。風土病に対してはリバビリンの薬効拡大が試みられているが余り進展していない。[化学と生物 27, 356, 1989; 臨床とウイルス 18, 115, 1990; 臨床皮膚科 44: 447, 1990; 腫瘍と感染 3: 371, 1990]

4) Colony Stimulating Factor について

尾野雅義

中外製薬研究開発本部

液性の造血因子の 1 種であり、顆粒球系への分化、増殖を特異的に促進するヒト Granulocyte colony stimulating Factor は 174 個のアミノ酸よりなるポリペプチドと 4% の O-グリコシド型糖鎖で構成される分子量約 20,000 の糖蛋白質である。この天然型 G-CSF と同一のアミノ酸配列、同様の糖組成、物性および生物活性を有するリコンビナント G-CSF (rG-CSF) が最近遺伝子工学的的手法により大量生産が可能となった。

rG-CSF はマウス骨髓細胞を用いた *in vitro* のコロニー形成法では顆粒球系 (好中球) のコロニー形成を特異的に刺激する。またヒト骨髓細胞より分画した non-adherent, non-T cell 画分中の前駆細胞 (CFU-GM) に作用しマウスの場合と同様、顆粒球系 (好中球) の特異的な形成を促進する。このような *in vitro* の rG-CSF の生物活性は *in vivo* で各種の動物に投与した際にも認められる。マウスに rG-CSF を単回投与するとわずか 30 pg/kg の用量でも明らかな末梢血中の好中球の上昇が認められ、これは用量既存のかつ特異的である。増加した好中球の機能を検討する目的でアカゲ

ザルに rG-CSF を 2 週間連投し増加した末梢血好中球を集めてその遊走能、走化能さらに *Candida* に対する貪食殺菌能等を検討したがいずれもこれらの好中球機能はコントロール群のそれに比べ明らかな亢進が認められた。そこで好中球減少モデルを作成しこれらのモデルに対する rG-CSF の投与が造血、特に好中球レベルの回復に及ぼす効果、またこのモデルを用いた感染実験における感染死の防止効果を検討した。ddY 雄マウスの腹腔内に Cyclophosphamide (CPA) を 200 mg/kg 投与すると末梢血好中球数は CPA 投与 2 日後より急激に減少し、4 日目に最低となった後、一週間かかって回復した。ところが rG-CSF を CPA 投与翌日より 4 日間連投するとこの好中球減少は明らかに防御された。そこでこの好中球減少マウスに緑膿菌を感染させ rG-CSF 投与による感染防御効果を検討した。その結果、CPA 投与翌日より rG-CSF を 4 日間連投しその最終投与 4 時間後に緑膿菌を感染させるとコントロール群では 2 日以内に全例死亡したが rG-CSF 投与群は明らかな生存率の上昇を示すと共にその効果は用量依存性であった。次に本モデルを用いて rG-CSF と抗生物質の併用効果を検討した。CPA 投与 4 日目に緑膿菌感染を成立させ gentamicin (GM) と rG-CSF の併用投与を行った。この際 GM や rG-CSF の単独投与では感染死から完全に免れることはできなかったが、両者を併用投与することにより 100% 生存率を得ることができた。この事実は緑膿菌に対する感染抵抗性の低下が好中球数の正常レベルへの増加に伴って抗生物質が有効に作用することを強く示唆している。次に末梢血好中球の回復がどのように感染抵抗性に結びつくのかを検討した。すなわち感染に伴う菌の消長と流血中ならびに感染局所における好中球数の経時的变化を追った。その結果 rG-CSF の投与は末梢血中の好中球の回復を促進すると同時に感染局所に速やかに浸潤し菌を淘汰することが明らかとなった。このような rG-CSF の有する好中球数の用量依存的回復作用と好中球機能の亢進作用は cyclophosphamide 誘導による好中球減少症よりもさらに重症な agranulocytosis が招来される致死量全身照射後の骨髓移植 (BMT) モデルの感染防御において発揮される。BMT マウスでは緑膿菌等に対する感染抵抗性は著しく減弱し感染菌に対する LD₅₀ はきわめて小さくなる。しかし BMT 後 rG-CSF を連投したマウスにおいては末梢血好中球の回復はより顕著であり BMT 後 11 日目に緑膿菌感染をさせた場合 rG-CSF 投与群は全例生存し、一方コントロール群の生存率はわずか 12.5% であった。また rG-CSF 投与例における好中球機能も明らか

にコントロール群よりも回復が促進された。

以上のような前臨床実験の結果をもとにヒトにおける各種の好中球減少症に対する臨床治験が行われた。なかでも同種骨髄移植における末梢血好中球レベルの回復効果は顕著であり rG-CSF の連投により agranulocytosis からの回復を早めると共に末梢血好中球が $500/\text{mm}^3$ および $1,000/\text{mm}^3$ 以上に回復するまでに要する日数をプラシボー群に比べ 10 日ないしそれ以上短縮することが明らかにされた。また BMT 施行例はその後の agranulocytosis により感染症が頻発しその 1 つの示標としての 38°C 以上の有熱症例数が約 50% にまで増加するが rG-CSF 投与群における平均好中球数の $2,000/\text{mm}^3$ 以上の回復に伴い有熱症例は 16.7% と激減した。以上のように rG-CSF は好中球減少モデルや BMT モデルで観察された顕著な好中球数の回復効果を有すると共に好中球が持つ重要な機能である感染局所への速やかな浸潤や感染菌に対する食食殺菌能の亢進を行うことにより好中球減少症モデルにおける感染抵抗性を著しく高めるものと考えられる。またこれらのモデル動物における実験結果はヒトにおける骨髄移植以外にも各種の好中球減少症（ガン化学療法後、再生不良性貧血、特発性好中球減少症等）において末梢血好中球レベルの速やかな回復効果として確認されており、今後この rG-CSF がもたらしうる感染抵抗性の増強が臨床における感染症にどのように適応され、その有用性が証明されていくかが大きな焦点となろう。

一般演題

B-1-O-1

急性菌性感染症に対する Cefuroxime axetil の薬効評価

—Cefaclor を対照とした二重盲検比較試験—

佐々木次郎

東海大学医学部口腔外科学教室

道 健一

昭和大学歯学部第一口腔外科学教室

佐藤田鶴子

日本歯科大学歯学部口腔外科学第一講座

小川暢也

愛媛大学医学部薬理学教室

出口浩

東京総合臨床検査センター研究部

(研究参加施設 14 施設)

目的：Cefuroxime axetil (CXM-AX) の急性菌性感染症に対する有効性、安全性および有用性を客観的に評価するため Cefaclor (CCL) を対照薬として比較試験を実施した。

方法：歯周組織炎、歯冠周囲炎および顎炎の患者を対象とし、CXM-AX あるいは CCL を 1 回 250 mg (力価)、1 日 3 回食後経口投与した。投与期間は原則として 3~7 日間とした。

成績：総投与症例 264 例 (CXM-AX 群 131 例, CCL 群 133 例) のうち、除外・脱落例 13 例を除く 251 例 (CXM-AX 群 125 例, CCL 群 126 例) を臨床効果ならびに有用性の解析対象とした。安全性は 260 例 (CXM-AX 群 128 例, CCL 群 132 例) について検討した。

臨床効果は、主治医判定で CXM-AX 群 81.6%、CCL 群 82.5%、委員会判定ではそれぞれ 89.6% および 83.3% の有効率であり、いずれも両群間に有意の差はみられなかった。

副作用は CXM-AX 群で 128 例中 1 例 (0.8%)、CCL 群で 132 例中 6 例 (4.5%)、臨床検査値異常は CXM-AX 群で 86 例中 8 例 (9.3%)、CCL 群で 91 例中 5 例 (5.5%) にみられたが、いずれも両群間に有意の差はみられなかった。

また、有用性においても CXM-AX 群 81.6%、CCL 群 81.7% の有用率であり、両群間に有意の差は見られなかった。

結論：以上の成績より、CXM-AX は急性菌性感染症に対し有用な薬剤であると考えられた。

B-1-O-2

口腔外科領域感染症に対する Cefteram pivoxil (CFTM-PI) と cefaclor (CCL) の二重盲検比較試験

全国 11 施設共同研究

佐々木次郎

東海大学・医・口腔外科

道 健一

昭和大学・歯・第一口腔外科

小川暢也

愛媛大学・医・薬理