

第 38 回日本化学療法学会西日本支部総会

会期: 平成 2 年 12 月 6, 7 日

会場: 岐阜グランドホテル

会長: 上野一恵 (岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設)

特別講演 (I)

膜に作用する抗真菌剤

野沢義則

岐阜大学医学部生化学教室

Hazen ら (1951 年) が、バージニア牧場の土壌から分離した *Streptomyces noursei* からの抗真菌活性物質 fungicidin (現在のナイスタチン) として発表した。エルゴステロールを標的分子とする抗真菌剤の最初であった。エルゴステロールは真菌細胞の形質膜に局在する主要ステロール成分であり、高等動物細胞におけるコレステロールと同様に、膜物性 (主として膜流動性) の調節因子として重要な機能を有する。相転移温度より高温側では流動性低下、低温側では流動性上昇という二重効果 (dual effect) を有するバイオレギュレーターとして作用する。したがって、真菌細胞形質膜のエルゴステロールに質的あるいは量的な異状変化が起こると膜機能障害が生じる。前者の例としてポリエン系物質があり、エルゴステロールとの特異的相互作用によるステロール機能障害をもたらす。一方、後者としてはアゾール系、チオカルバメート系があり、これらはいずれもエルゴステロール生合成の阻害物質である。

ポリエン系抗生物質 (アンホテリシン B, ナイスタチン, ピマリシン) は、疎水性のポリエン領域と水酸基連鎖の親水性領域との両者を備えた両親媒性 (amphipathic) の分子である。アンホテリシン (amphotericin) の名の由来もここにあり、大きな疎水性ドメインと膜エルゴステロールが特異複合体を形成し、イオノホアの作用によりイオン透過性の異常亢進が誘起される。構造類似性 (C-24 のメチル基, Δ^7 と Δ^{22} の二重結合が異なる) から生体コレステロールとも相互作用するが、両ステロールに選択性があり治療効果をその差にもとめている。つまり、コレステロールよりエルゴステロールに対する親和性が大きい。ポリエン抗生物質による膜構造変化は、フリーズ・フラクチャー電顕 (膜蛋白質粒子の分布異常) および電子

スピン共鳴法などの物理化学的手法 (流動性, 相転移温度の変化) で観察される。

一方、エルゴステロールの生合成阻害を作用機序とするアゾール系抗真菌剤として、イミダゾール系 (クロトリマゾール, ミコナゾール, エコナゾール, スルコナゾールなど) とトリアゾール系 (フルコナゾール, イトラコナゾールなど) があるが、これらはいずれも小胞体 (ミクロゾーム) のチトクローム P-450 を介する C-14 位の脱メチル化反応の阻害をきたし、薬剤処理真菌細胞には前区駆体のラノステロールが蓄積する。この阻害反応は膜ステロールとしてコレステロールを有する生体細胞でも起こるが薬剤に対する親和性が著しく低い。たとえば、ラット肝ミクロゾームの脱メチル化酵素活性のアゾール系薬剤による阻害効果は、*C. albicans* のミクロゾーム酵素の場合に比して著しく小さい。ステロール生合成の初期反応であるスクワレン閉環を司るスクワレン・エポキシダーゼを阻害する抗真菌剤として、チオカルバメート系 (ナフチオメート T, トルシクレイト, ピリテトレート) とアリルアミン系 (ナフチフィン, テルビナフィン) があり、スクワレン 2,3-エポキシドの生成が抑えられスクワレンが蓄積する。

最近、これらのコレステロール生合成との共通ステップに作用する薬剤によるエルゴステロール生合成阻害のほかに、エルゴステロール特異構造の形成を阻害することによってより選択性の高い抗真菌剤の開発が試みられている。C-22 位の二重結合 (C-22, -23 間の不飽和化) と C-24 位のメチル基 (C-24 位の側鎖アルキル化と二重結合の還元) の形成阻害によってエルゴステロールの合成阻害をきたす物質 (コレスタノール誘導体) がある。

なお、これらの膜エルゴステロール異常に起用する膜機能障害を作用機序とする抗真菌剤のほかに、形質膜のマンノース分子との相互作用を介してイオノオア様作用を示す抗真菌剤もある。

特別講演 (II)

癌の化学療法の進歩と制癌剤に対する感受性

近藤達平

公立学校共済組合東海中央病院

癌の化学療法の歴史は40年に近くなるがその進歩は遅々としているように見えるとはいえ確実に前進してきたことは疑う余地はない。この化学療法の進歩は新しい制癌剤の開発に負うところ大であることは言うまでもないが、現在までに我が国で開発されあるいは輸入されて市販されている薬剤は50種類に近く、その中約半数は国内で開発されたものである。これらの研究の進歩を我が国で一番多い胃癌を中心に述べる。

制癌剤投与は単剤投与・2剤投与あるいは3剤投与が行われ現在胃癌に対し単剤として用いられるのは5FU・MMC・ADM・BCNU・CCDP等であるがそれらの効果は30%を超えるものはほとんどない。2剤投与としては5FUにBCNU・McCCNU・MMCまたはADMが併用されるがその効果は14～31%である。3剤投与の場合はやや効果が高くFAMすなわちFU・ADM・MMCについては36.3～51%、FAPすなわちFU・ADM・CCDPでは32%の報告があり、さらにEtoposideを加えるEAP等が期待されている。このように消化器癌に対する化学療法は5FUが基調になっているが、FUについては我が国ではaualogとしてFT, HCFU, UFTがよく用いられる。

制癌剤は腫瘍細胞数が少ない程効果が著明なことなどの理由により、いわゆる根治手術の後に再発を防止するために手術併用癌化学療法が胃癌・大腸癌・乳癌・肺癌等に対し投与されるが、その組み合わせ、投与時期などが大きな研究課題となっている。これらの中主なものにつき述べその変遷をたどって見たい。初めてadjuvant chemotherapyを多施設の共同研究により行ったのはG.E. mooreであり1957年University groupの仕事としてNIHの後援のもとに研究を開始した。各種の癌に対し行われ当時すでに統計学者も加入して、またすべて電話方式で行われている。胃癌に対してはTSPAを術直後に大量に投与する方式が取られたが8年成績の報告でよい結果が得られていない。その後欧米で行われたadjuvant chemotherapyは5FUの他にMcCCNUが主体であり、MMC:ADM等も用いられてきたがあまりよい成績とは言えない。

我が国では1965年今永教授により厚生省研究班の仕事して大学・癌研groupの共同研究が開始されてい

る。第一次より第四次まであり、第五次・第六回は免疫化学療法として近藤が受け継いだ。第一次はいわゆる根治手術後早期にMMCを中等量間歇投与するもので0.08 mg/kg週2回、総量40 mgが投与されている。その結果は全症例としては有意の差はないが、stage別に分けてみるとstage IIにおいて差が有意であった。第二次ではMMCを術中より大量に投与する方式がとられ術直後に0.4 mg/kg、第2は0.2 mg/kgの投与で総量30 mgとなる。その結果はstage IIIにおいて最も有効であった。これらの研究に続いて行われた「胃癌手術補助化学療法研究会・第一次研究」では厚生省一次・二次のMMC投与法に加えて維持療法として術後3か月にわたりFTが投与された。その成績は術後MMC中等量間歇投与+FT群ではstage IIにおいて効果があり、MMC術中大量投与+FT群ではstage IIIにおいて効果が出ている。かくて胃癌については1950年頃の5生率は25%前後であったのが、その後外科手術の進歩、拡大根治手術の普及に加えて早期発見技術がすすみ、さらに手術併用癌化学療法が積極的に行われるようになり現在は5生率は60%を超えるに至った。大腸癌に対してもMMC中等量間歇投与とこれにHCFU 600 mg/dayを3か月以上加えたものとを肉眼的治癒切除例において比較すると8生率において20%の差がある。

化学療法に加えて免疫療法剤が登場したのは1975年頃からであるが、手術療法・放射線療法・化学療法に次いで第4の治療法と言われ、adjuvant chemotherapyとしては主に非特異的免疫療法剤が用いられており、欧米ではBCGが主流であり、我が国ではPSK・OK 432・CWS等の研究がなされてきた。我が国で免疫療法剤をadjuvant chemotherapyにgroup studyとして最初に用いたのは、1974年の厚生省研究班第五次・第六次研究である。これはMF療法に加えて免疫療法剤としてOK 432またはPSKを術前より用いたものであるが、まだ免疫療法剤使用の経験が浅くその効果は出ていない。次いで行われた「胃癌手術補助化学療法研究会・第3次pilot study」ではMMC投与の後、FTおよびPSKを術後1年間投与したが、FT・PSK両者併用の方が単独より優れた傾向が見られている。一方我々は免疫療法剤としてPSKを投与する時、連続的に投与してもその効果は2～3か月しか続かず、連続投与よりも間歇的に投与する方がよい成績を得られることを知った。この事実から免疫療法剤は間歇的に投与すべきと考え、これと組合せて化学療法剤も間歇的に投与して両者を交代に用いる免疫化学交代療法を実験的に確立した。このような考えから

我々は各種の組合せのプロトコールを試みてきたが、それらの中から、CQとPSK；FTとPSK；5FUとPSKの3種の交代療法の組合せを示す。CQとPSKをCQのみと比較したもの、FTとPSKの組合せをFTのみと比較したもののそれぞれの10年目の成績はPSKの間歇投与を組入れたものの方によりよい成績が得られている。5FUとPSKの組合せはMMC 6 mg/m²の導入後、5FU 150 mg/day 4週、PSK 3 g/day 4週、合計8週を1クールとし、10クールを経過し投与した。対照例は5FUのみを間歇的に投与する。5年目の成績ではdisease free survivalはPSK併用群に有効で、2群間に統計的に、有意差が見られる。一方このように免疫療法剤を化学療法剤と交代に投与するに当たってはその組合せ、投与順序が問題となることに留意する必要がある。

薬剤到達性は現在の化学療法の問題点の1つであるが、これに関連して動脈内注入法と局所灌流法が行われる。またさらにすすんで薬剤をgelatine spangeに染み込ませて注入する方法、microcapsuleに封じ込んで動注する方法などが我が国で盛んに行われ成果をあげている。我々は1963年頃数例に局所灌流を試みたが、ある例は灌流することにより完全に治癒したが、他の例では逆に腫瘍が著明に増大した。この例は制癌剤が腫瘍に対する効果は見られないが、局所の宿主抵抗の減弱により腫瘍が逆に増大し逆効果をきたしたものと考えられ、このような現象は制癌剤のadverse effectと呼ばれる。

かかる事実から制癌剤感受性を決定することの重要性が痛感されるが、現在知られている感受性試験法は大きく分けると、①組織培養を用いる判定、②酵素活性を用いる判定、③放射性同位元素を用いる判定、④*in vivo*による判定と4つに分けることができる。現在広く研究が行われているのはSDI法、isotopeを用いる方法、colony forming assayおよび*in vivo*の方法としてはSRC法である。

SDI testは1964年に開発されて以来種々変遷を重ねた。当時は制癌剤としてNMO、MMC等の細胞毒性薬剤しか用いられなかったので薬剤接触は1時間で充分であったが、代謝拮抗剤が出現したtutrazolium塩としてTTCより鋭敏なMTTが合成されると共に、斉藤らにより3日間薬剤を接触させるSDI変法が発表され、さらに米国でMosmannが半ばautomaticに測定する形にしてMTT assayとして報告した。現在NIHではanti cancer drug screening programの一環としてCarmichael, Alley, Scudiero等により熱心に研究が進められている。96穴のmult-

iwell plateを用いて4~5種類の薬剤の感受性を一度に判定するが、ELISER readerによりきわめて迅速に自動的にすべての値を読み取ることができる。

Tetra zolium塩は各種のものが作られてきたが、最近XTTがScudieroにより新しく発表された。XTTそれ自体はMTTより感度が低いが促進剤であるPMSを加え感度を上げて用いる。XTT+PMSはMTTに比し感度が高く、少数細胞でも反応時間が長くなると共に吸光度が増し24時間後も増加するが、MTTの場合は4~5時間でプラトーに達する。したがってMTTの場合は4時間後に判定するのに対し、XTTを用いれば1/10の細胞数で20時間後に判定が可能になる。

我々は適応ある制癌剤とは「有効にして副作用のない薬剤」と考えているが副作用を予知することも制癌剤を選択する上できわめて重要であり、生体における真の適応ある薬剤を選ぶためには腫瘍に対する効果のみならず宿主への影響も考慮すべきと考え、腫瘍indexから肝indexを引いた数値を適応ある薬剤の指標とし、これをeffective valueと名づけた。

各種の感受性試験法が研究されているが、これらの方法を比較すると、評価可能性においてはSDI法、SRC法が優れており、迅速性・簡便性ではSDI法がよく、一方SRC法は*in vivo*の方法としての特徴を有している。また間質結締織の影響はcolony forming assay以外はすべてが影響を受けている。Weiseutialは文献上の固形癌における各種感受性試験による判定結果と臨床効果との関係を約2,000例についてとりまとめており、その結果としてpredictive accuracyはpositiveに対して63%、negativeに対して92%としている。臨床例の*in vivo*の成績を*in vitro*で予知するためには薬剤の薬理作用・体内代謝・体内分布等種々の影響が出ることは当然予想されることである。前述の成績から言えることはいかなる方法でもpredictive accuracyは60~70%であり、有効な薬剤を的確に判定するにはかなりの困難性があるが、一方negative accuracyは90%に近くきわめて高いことから考えると、感受性試験は無効な薬剤の排除に威力を発揮するものと考えられ、その普及が望まれるゆえである。

現在癌集学的治療財団では特別研究16として全国15か所に適応センターを設け、それぞれのセンターの所属施設の協力のもとに症例を集積し、各症例の腫瘍にSDI法を施行すると共に化学療法の成績を検討しているが、その成果が期待される。

癌の集学的治療が叫ばれている今日、化学療法は最

も期待されている分野の1つであるが、薬剤組合せのタイミング、投与ルート、投与方法の工夫、また投与に当たっての前提条件として感受性決定などを基礎的に検討することは、癌治療の発展に大きくつながりうるものと信ずる。

会長講演

嫌気性菌の薬剤耐性獲得機序

上野一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

近年嫌気性菌においても薬剤耐性株が増加の傾向にある。嫌気性菌が関与した感染症から検出頻度の最も高い *Bacteroides fragilis* は薬剤耐性獲得が比較的早く、多剤耐性であることが多く治療上問題となっている。嫌気性菌の薬剤耐性機構に関する研究は比較的少ないが、好気性菌の場合とほぼ同様に 1) 薬剤不活化酵素、2) 薬剤作用点の変化、3) 薬剤の膜透過性の変化、4) 耐性の伝達、などの観点から研究が進められている。特に嫌気性菌の薬剤耐性伝達機構に関しては多くの研究があり、特に *B. fragilis* の薬剤耐性伝達機構の研究は1970年後半よりスタートした。我々は主として *B. fragilis* を用いて薬剤耐性機構を検討している。

我々は *B. fragilis* の MLs 感受性の機構を明らかにするため、MLs の取り込みとリボソームに対する結合能を検討し、MLs の取り込みは薬剤の疎水性に依存して、EM < JM < RKM の順に増大したが、薬剤の菌体からの流出速度は EM > JM > RKM の順に減少した。MLs に自然耐性を示す *Fusobacterium varium* と *E. coli* における MLs の取り込みは *B. fragilis* に比べ著しく減少していた。すなわち薬剤の取り込み量と薬剤感受性はよく相関することが認められた。しかし、リボソームに対する MLs の結合能は *B. fragilis*, *F. varium*, *E. coli* の菌種間で差は認められない。したがって、*B. fragilis* において MLs はその疎水性に依存して取り込まれ、この取り込み能の昂進が本菌種の MLs に対する高い感受性の原因である可能性が示唆された。

B. fragilis はそのほとんどの菌株が β -lactamase を産生し、一般には CEPs, PCs に耐性であるが Cephamycins, Carbapenems には感受性であることがよく知られている。しかし、近年 Cephamycins に対する耐性菌株が増加の傾向にある。*B. fragilis* の β -lactam 剤に対してする耐性機構は β -lactamase によることが、多くの研究により明らかにされてきた。し

かし、Carbapenems に対する *B. fragilis* の耐性株も数%に分離されている。IPM 耐性の *B. fragilis* からの β -lactamase は、一般によくみられる *B. fragilis* の酵素で分解される PCG, CER のほかに、CZX, LMOX, CFX, CMZ, IPM をも良く分解する。これらの分解活性は薬剤の MIC 値と良く相関し、薬剤耐性が β -lactamase に由来することが示された。本酵素活性は CVA, SBT には阻害されず、一方、pCMB, EDTA はその濃度に依存して酵素活性を阻害する。このことは、酵素活性への -SH 基および金属の関与が予想され、銅が強く活性を阻害した。EDTA による阻害は亜鉛により 100%、コバルトで約 40% 回復した。また、亜鉛は酵素を安定化する作用も示した。これらのことから本酵素が亜鉛を要求する Metallo β -lactamase であることが示唆される。この酵素の分子量は約 33,000、等電点は 4.7 であった。

我々は、1983年、*B. fragilis* の薬剤耐性伝達機構の研究において、*B. fragilis* の CLDM 耐性が、接合様の過程で *B. thetaiotaomicron* に伝達する事実を確認した。この伝達は、TC 耐性と co-transfer により起こった。1979年の CLDM 耐性を暗号する plasmid すなわち pBF4, pBFTM10 の発見の報告から、我々は、我が国で分離された CLDM 耐性の *B. fragilis* の耐性伝達実験と plasmid の分析を反復したが、CLDM 耐性を暗号すると思われる plasmid の発見はできなかった。しかし、我が国で分離される CLDM 耐性の *B. fragilis* は、欧米での分離株から分離された CLDM 耐性を暗号する plasmid 上にある CLDM 耐性決定基を probe として colony hybridization を行った場合、そのほとんどが相同性を示すことがわかった。また、plasmid の関係のない接合様の過程による CLDM 耐性伝達現象が plasmid の関連する伝達現象より優勢であるらしいことを報告した。その後のこの領域の研究は活発に進み、嫌気性菌では *E. coli* など好気性グラム陰性桿菌では報告されていない新しい耐性伝達機構があることが明らかとなっている。また、我々は *B. fragilis* の CFX 耐性や AMPC 高度耐性も接合様の過程で伝達することを報告した。AMPC 高度耐性の *B. fragilis* の耐性伝達は、約 40 kilobases の plasmid が関係していた。これは、plasmid が関連していると思われる *B. fragilis* の β -lactam 耐性伝達の最初の報告である。さらに、我々は、最近 IPM 耐性の *B. fragilis* が、その耐性を伝達できることを発見した。*B. fragilis* における IPM 耐性伝達の報告はまだない。

以上、*B. fragilis* を中心にして嫌気性菌の薬剤耐性機構について我々の研究の一端を報告します。

シンポジウム (I) : 病原性未確定グラム陽性球菌の臨床的意義

司会のことば

河田幸道

岐阜大学医学部泌尿器科

山口恵三

東邦大学医学部微生物

近年における抗菌薬の開発はめざましく、それに伴い従来みられていた強毒菌による感染症は著明に減少した。しかし、一方では病原性はきわめて低いものの多剤に耐性を示す細菌による感染症が増加してきたことも事実である。特に、グラム陰性桿菌には著明な抗菌力を有するも、グラム陽性球菌に対しては従来のものに比較し明らかに抗菌力が劣る第三世代セフェム系抗菌薬が実際の臨床の場に登場するようになってからは、腸球菌やコアグラージェ陰性ブドウ球菌などが臨床材料から高頻度に分離されるようになってきた。これらはヒトの常在菌であり、一部の限られた感染症の起炎菌になり得ることはすでに知られていたが、一般的には弱毒菌とされ、臨床材料から分離されてもあまり問題とされていなかった。しかし、コンプロマイズドホストの増加に伴い、これらのグラム陽性球菌に起因した考えられる感染症の報告が近年明らかに増加しつつある。

このような現状にかんがみ、臨床材料から高頻度に分離されるが、起炎菌としての意義がいま一つ不明であるグラム陽性球菌を取り上げ、これらの臨床的意義について、各科領域のシンポジストより、①臨床材料からの各菌種の分離頻度、およびその中で実際に起炎菌と考えられたものの割合、②これらの菌に起因した感染症とするための診断基準、およびそれらの症例の背景因子および病態の特徴、③化学療法開始の時期と薬剤の選択などについて、それぞれの成績および考え方を述べていただいた。

内科領域では、まず川崎医科大学の中浜先生に敗血症(菌血症)におけるコアグラージェ陰性ブドウ球菌に関して、また、琉球大学の重野先生には呼吸器感染症における *Viridans streptococci* の臨床的意義について発表していただいた。

外科領域では、名古屋市立大学の石川先生に腸球菌を対象に臨床的検討を加えていただき、岐阜大学の伊藤先生には尿路感染症におけるグラム陽性球菌の関

りについてお話しいただいた。

最後に、基礎的立場から岐阜大学渡辺先生に腸球菌を用いた感染実験モデルの成績より本菌の病原的意義に関するご意見をうかがった。

内容の詳細は各演者によって後述されるが、本シンポジウムは、従来その起炎菌としての決定が困難であったグラム陽性球菌による感染症の実状の把握、それらの診断の基準および化学療法などについて、それぞれ専門の領域から論議していただいたものであり、これが日常の診療に少しでもお役に立てば司会者として望外の喜びである。

(1) 内科(敗血症)

コアグラージェ陰性ブドウ球菌の検討

中浜 力

川崎医科大学検査診断学

近年の高度医療の進歩と免疫低下宿主の増加に伴い、敗血症の分離菌のうち特にコアグラージェ陰性ブドウ球菌(以下CNS)が問題となっている。そこで今回、CNS敗血症の起炎性ならびにその臨床的意義について報告した。

まず川崎医大における最近9年間の血液培養よりのCNS分離頻度は12~20%であり、特に経年的な変化は認められない。そのうち複数菌分離の検体は年平均18.9%で、他の複数菌としては *S. aureus*、*E. faecalis*、*E. coli* が多い。またCNSが連続分離された症例は、年平均10.8%で、分離回数も平均2.3回と低いものであった。侵入門戸として問題となるカテーテル先端培養では最近10年間に41菌種269株が分離され、CNSは *Candida* 属の20%に次いで15.2%と高い分離頻度であり、カテーテル感染におけるCNSの関与を裏付ける成績であった。

次にCNSの菌種同定の正確性について、市販キット3種を用いて血培分離CNS64株を同定した結果を比較すると、3種共に菌名が一致した株は34株(53.1%)と低率であった。そこでこの64株を江崎らの開発したmicroplate hybridization法で同定すると、*S. epidermidis* が48.4%であり、以下 *S. capititis* 25%、*S. caprae* 9.4%、*S. simulans* 4.7%、*S. hominis* 4.7%、*S. haemolyticus* 1.6%の順で、同定不能が4株であった。本法と従来法を比較すると、APスタッフとSP-18は共に64%の一致率で、スタフィオグラムは89.1%であった。

次にCNSの起炎性を検討する目的で、血培施行時のCNS汚染の検討を行った。まず患者5例の肘部内

側の皮膚分布菌量を調べると、CNSは4例で陽性であったが、その菌量は $10^1 \sim 10^2$ cfu/mlと健常人と変わらず、入院日数と菌数間にも相関はなかった。そこで健常ボランティア24名を用いて右肘静脈は未消毒、左肘静脈は消毒処置後、それぞれの血培分離菌を比較すると、未消毒群では6名(25%)が菌陽性で*S. hominis*, *S. capitis*等が分離された。一方、未消毒群は2名(8.3%)が陽性であったが、CNSは分離されなかった。また針先を液体培地に浸したり、注入後ボトルを反転しても汚染率は同様であった。ところでこれらの2回の実験では、菌は嫌気もしくは好気の1ボトルより分離されており、汚染菌は菌量が少ないため片ボトル分離の可能性が示唆された。このことは実際の臨床成績を見ても、両ボトル陽性例は有意に片ボトル陽性より分離日数が短く、また*E. coli*, *S. aureus*, *Paeruginosa*等は80%以上が両ボトル陽性であることに対して、CNS、*B. cereus*は各々35%、17%と有意に低いことから強調された。

そこで以上の成績を踏まえた上で、1986年から1990年の血培CNS陽性例86例を無作為抽出し臨床的検討を行った。CNSの起炎性については診断基準を設定し4群に分類した。まず敗血症群の判定は、カテーテル汚染、連続分離、他にCNS感染源あり、そして敗血症症状を有してCNSが両ボトル陽性の場合とした。また敗血症症状+片ボトルでもCNS単独分離された場合を敗血症疑群とした。汚染菌群は他発熱原因あり、もしくは皮膚常在菌との同時分離の場合とし、これら以外を起炎性不明群とした。

その結果、敗血症群31.4%、敗血症疑群19.8%の計51.2%でCNSは起炎性ありと考えられ、そして起炎性不明群31.4%、汚染菌群17.4%であった。CNSの菌種同定を行い得た36例でみると4群間に差はなく、菌種間に病原性の差は特定されなかった。また同時期に他検体でもCNS陽性例は敗血症で18.5%、全体でも17.4%と低く、侵入門戸の特定も困難であった。

これら4群間の臨床像の特徴をまとめると、まず汚染菌群は年齢が47.2歳と他より12歳以上低く、他感染合併率も13.3%と他群の90%より有意に低かった。一方、敗血症群は悪性腫瘍の合併率が25.9%と最も高く、ChEも平均148 I.U./mlと最も低いことより、宿主状態不良例で好発していた。また、カテーテル留置率も92.6%と高率であった。炎症所見は平均体温38.7°C、WBC 10,010/mm²と高く、特にCRPは平均12.1 mg/mlと最も高度であった。しかしCNS敗血症死は1例のみで、感受性のある薬剤が60%の症例

で投与されていることを考慮しても、その予後は致死的ではなかった。

以上のCNS敗血症の臨床像を*S. aureus*、真菌の敗血症と比較すると、*S. aureus*は平均年齢が47.3歳と若く、強い病原性を示し、真菌は悪性腫瘍の合併率が52.3%と日和見感染の性格が理解される。一方、CNSはDIC合併率7.4%、死亡率3.7%と共に低く病原性は最も弱かった。

最後に血培分離CNS 60株に対する15薬剤のMIC₅₀を比較するとRFP, TFLX, IPM/CS, MINO, CZONが良好な抗菌力を示し、次いでOFLX, NTL, VCM, CEZ, CTXであり、DMPPC 4 µg/ml以上のいわゆるMRSEは32%であった。

以上、血培分離CNSの起炎性ならびに臨床的意義について報告したが、今後の課題としてはスライム産生能など病原性の検討や、血液培養の菌数定量化による起炎性の評価などが必要と思われる。

(2) 内科(呼吸器感染症)

Viridans streptococciの病原性の検討

重野芳輝・山城 哲

琉球大学第一内科

元来口腔内常在菌とされてきたviridans streptococciなかでも近年膿瘍形成起炎菌として注目されている“*Streptococcus milleri*”group (*S. anginosus*, *S. intermedius*, *S. constellatus*) (以下SMGと略)の呼吸器感染症における病原的意義についての検討を行った。

1) 健康成人におけるviridans streptococciの口腔内の分離頻度を検討した。同定はVitek systems GPI cardを用い、定量培養にて 10^3 cfu/ml以上分離されたもののみを同定した。20代健康成人男性20例の唾液、咽頭ぬぐい液では、いずれも*S. mitis*, *S. sanguis* IIが高頻度に分離され、SMGはまったく検出されなかった。20~80歳の男女計120例の検診例については、SMGは全体で11.7%の陽性率で、*S. intermedius*と*S. constellatus*がほとんどであった。

2) 膿性の有意な677検体のうち、明らかな起炎菌が不明の97検体からのSMGの分離頻度を検討した。SMGは約25%で、健康成人に比べ明らかに高い陽性率を示した。

3) SMGによる感染症例の検討を行った。

最近1年間に検査部細菌室へ各科より呈出され、起炎菌不明の膿性検体や血液、胸水からSMGは30症例から分離された。23例が喀痰と咽頭ぬぐい液から

で、その他胸水、血液、腹水、顎下部膿から分離された。疾患では、上気道炎9、肺炎9、その他慢性気道感染症3、膿胸3、慢性扁桃炎2、敗血症2、腹膜炎1、顎下腫瘍1であった。しかし、疾患別や、入院・外来の別、基礎疾患の有無と分離菌との明らかな関連は不明であった。

肺炎・肺化膿症の起炎菌は一般に約半数が不明とされているため、経皮的肺吸引穿刺による起炎菌の分離を試みた。急性肺炎16例中4例、肺化膿症では24例中8例に *viridans streptococci* が分離され、なかでもSMGが多く分離されたが、単独分離のほか嫌気性菌との複数菌例も多かった。

4) 前出の30例のうちの10例について、間接蛍光抗体法にて血清抗体価を測定した。抗原としてSMG3菌種のホルマリン処理したものを同量ずつ混合して用い、健康成人コントロール18例と比較したが、コントロール群は全例256倍以下で、患者群はすべて512倍以上の値を示し、明らかに両者間に差がみられた。

SMGによる感染症6例について、抗原として①患者由来のSMG、②他の臨床分離SMG3菌の混合、③*S. sanguis* 株、④*S. mitis* 株を用いて抗体価を測定したが、5例で①②のSMGに対する抗体価が③④より4倍以上の値を示し、①と②では大差なかった。

血清抗体価の経過のおえた3例では、臨床経過と一致した推移を示した。

5) 正常マウスを用いて経気管接種法による肺炎実験を行い、*viridans streptococci* の病原性の検討を行った。*S. mitis*、*S. sanguis* ではまったく致死性肺炎をおこさず、SMGでは 10^6 cfu/ml台の大量投与で高頻度に肺炎、胸膜炎、膿胸をおこすものの、致死性肺炎は少なかった。口腔内常在嫌気性菌の *Peptostreptococcus anaerobius* との混合感染では明らかに高い死亡率を示した。

6) ミクロブイオン希釈法により、*S. pneumoniae* 27株、*S. sanguis* 20株、*S. mitis* 21株、SMG46株 (*S. anginosus* 11、*S. constellatus* 17、*S. intermedius* 18) に対する8薬剤 (PCG、ABPC、CEZ、CMZ、CZON、EM、CLDM、MINO) のMIC値を測定した。SMGは多くの薬剤に対し感受性を示したが、セフェム系ではやや高いMIC値であった。PCG、ABPC、CEZでは、SMGは *S. pneumoniae* よりもやや高く、*S. sanguis*、*S. mitis* より低いMIC値を示した。またSMG3菌種間では特に差がなく、臨床分離株が健康成人分離株より若干耐性傾向を示した。

以上の成績から *viridans streptococci* による肺炎

(肺化膿症) を診断する基準私案を以下に示した。

咯出痰では：1. 膿性痰より 10^6 cfu/ml以上検出される。2. 好中球によるGPCの貪食像がみられ、これに相当する他菌種の分離がなされない。3. 感受性のある抗菌剤使用により消失する。以上に加えて、次の3項目が満たされればさらに確実である。1) Antibody-coated bacteria (ACB) 陽性の連鎖球菌がみられる。2) 同定の結果SMGに属する菌種である。3) 血清抗体価の上昇がみられる。

その他の検体では：1. 経皮肺穿刺吸引により検出される (吸引物は膿性、非膿性を問わない)。2. 経気管吸引、気管支ファイバー下の採痰では、好中球に貪食された像を認めることが望ましい。

結論：1. 従来、口腔内常在菌とされた *viridans streptococci* 特に "*S. milleri*" group は、呼吸器感染症において、肺炎、肺化膿症、膿胸の重要な起炎菌の一つである。

2. 本菌群が検出された場合の肺炎 (肺化膿症) における原因菌と判断する基準の私案を提示した。

(3) 外科

腸球菌の臨床的意義

石川 周

名古屋市立大学第1外科

目的：外科領域における病原性未確定なグラム陽性球菌として問題となっているものは、入院症例では腸球菌であり、外来症例ではコアグラセ (-) ブドウ球菌といえよう。腸球菌はセフェム剤の多用と共に増加傾向を示し、特に術後感染症に多く見られている。今回は腸球菌について、その臨床的意義について検討を加えたので報告する。

方法：1988. 1から1990. 7までに教室入院症例で腸球菌を分離した116例について、その分離状況を集計し、その病原性の有無、薬剤感受性、治療成績、予後などについて検討した。病原性に関しては、溶血性、プロテアーゼ産生性を検討し、また、薬剤感受性はミクロブイオン希釈法によって行った。

結果：1；腸球菌に抗菌力の弱いセフェム剤、特に第3世代セフェム剤の多用により、腸球菌分離頻度が増加傾向にあった。

2；腸球菌116株中、*E. faecalis* が72株と最も多く、ついで *E. faecium* 21株、*E. avium* 12株、*E. durans* 3株の順であった。

3；外科領域でなんらかの臨床的に感染症症状を伴った腸球菌分離例は73例であり、その内、術後感染

症が50例(68.5%)と多く、中でも術後腹腔内感染症が31例と多く見られた。その他の感染症としては胆道感染9例、腹膜炎7例などであり、*E. avium*による敗血症が3例見られた。この他に感染症状の乏しい43例においては、胆汁よりの分離例が21例と多く、次いで尿17例などとなっていた。また、基礎疾患としては、大腸癌や肝胆道系癌などを主とする消化器悪性疾患が全体で79例(69%)と多くを占めていた。良性疾患では胆石症が15例と最も多く、全体として36例(31%)であった。痛などの抵抗性減弱因子を背景に発生する頻度が高いと考えられた。しかし、重症腸球菌感染症によって予後不良となった例は認めなかった。

4:腸球菌分離例を、単独分離と複数菌分離で検討したが、単独感染は約半数を占め、その内、臨床的に感染症状を示したものは50%弱であった。一方、複数菌感染の約75%がなんらかの感染症状を示していた。同時に分離された菌種としては、*P. aeruginosa*が最も多く、次いで*E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*などグラム陰性桿菌が多く、全体として62%を占めていた。これに対してグラム陽性球菌は16.9%、嫌気性菌は8.5%であった。

5:腸球菌の病原性として、 β -溶血型、プロテアーゼ産生などを検討したが、今回の集計の中では特にこれらと相関した傾向は認めなかった。

6:腸球菌感染症は主として腸内常在細菌叢に由来する内因性感染と考えられていたが、院内環境にも存在していることより院内感染の可能性も考えられ、消毒剤による手洗いが院内感染予防が必要であると考えられた。*E. faecalis*に対する消毒剤としては、ウエルパス液、塩化ベンザルコニウムなどが優れていたが、クロールヘキシジンではその殺菌までに1分以上、時に5分以上を必要とし注意が必要であった。

7:抗生剤感受性として、*E. faecalis*に対してはABPC、VCMが優れ、次いでPIPC、IPM、OFLXなどが良好であったが、84株中2株にABPC耐性株を認めた。また、MINOでは1/3が良好な感受性であった。いずれの菌株も β -ラクタマーゼ産生を認めなかった。

8:腸球菌感染症の治療において、細菌学的な効果と臨床的効果の間に差を見る場合が多かった。

9:複数菌感染症における腸球菌の治療上の問題点として、他菌種による薬剤不活化と考えられるMIC(MBC)の上昇が見られた。

考察:今回の検討でも腸球菌の病原性に関して明瞭なものは出せなかったが、その治療対策として以下の

ごとき方針をあげてみた。(1)感染症状のない場合;経過観察で対処する。(2)感染症状のある場合;(細菌学的効果と臨床効果が一致しない場合が多く、菌の消長だけで判断できない)①単独感染;ABPC、PIPCを主として投与するが、重症な場合や、臨床効果のない場合には他の菌種の存在をも考慮して対処する(*P. aeruginosa*, 嫌気性菌など)、②複数菌感染;混合感染菌の病原性が考えられる際には、これを目標に抗生剤を選択する。しかし、癌や抵抗性減弱個体など基礎疾患の重篤な例では、腸球菌に対しても有効な薬剤(ABPC、PIPC、VCM、IPMなど)も併用投与する。なお、腸球菌に有効なABPC、PIPCなどは、他の菌種の産生する β -ラクタマーゼによって不活化され、抗菌力が低下している可能性があるので注意が必要である。

(4) 泌尿器科(尿路感染症)

グラム陽性球菌の臨床的意義

伊藤康久・河田幸道

岐阜大学泌尿器科

尿路感染症の原因菌は主としてグラム陰性桿菌であり、グラム陽性球菌が分離される頻度は少なく、その病原的意義は高くはないと考えられてきた。しかし、近年グラム陰性桿菌には強い抗菌力を示すものの、グラム陽性球菌にはそれほど抗菌力の強くない抗菌剤の使用頻度の増加に伴い、尿路感染症においてもグラム陽性球菌の分離頻度の増加が指摘されている。しかし、その病原的意義についてはまだ不明な点も多く、今回、尿路感染症を基礎疾患のない単純性尿路感染症と基礎疾患を有する複雑性尿路感染症に大別し、それぞれにおけるグラム陽性球菌の臨床的意義を検討した。

1. 単純性尿路感染症

単純性尿路感染症は代表的な疾患である女子急性単純性膀胱炎において検討を行った。

グラム陽性球菌の単数菌感染例において治療により細菌尿が陰性化した症例では膿尿の改善率(正常化+改善)は87.5%(7例/8例)に認められ、一方細菌尿が陰性化しなかった症例では膿尿の改善率は50%(2例/4例)と低く、グラム陰性桿菌の場合(それぞれ93.5%, 50%)とほぼ同じ傾向にあった。

同様に、治療により細菌尿の陰性化した症例での自覚症状の消失率は100%に対し、細菌尿が陰性化しなかった症例では、症状不変例が4例中2例認められた。以上のことより、頻度こそ多くないものの、グラム陽性球菌が単独で分離され、その生菌数が10⁴

CFU/ml 以上あり、1 視野に 10 個以上の膿尿を伴っている症例では、グラム陽性球菌がなんらかの病原的意義をもっていたことはまちがいないものと思われる。

2. 複雑性尿路感染症

複雑性尿路感染症においても multi clinical well controlled study の成績を用いて検討した。なお、カテーテル留置症例や前立腺術後感染症は除外した。

細菌尿が陰性化した場合の膿尿の改善率（正常化＋改善）は、大腸菌の 85.3%（180 例/211 例）に比しグラム陽性球菌は 73.1%（57 例/78 例）とやや低いものの良好である。一方、細菌尿が不変であった場合の膿尿の改善率はグラム陽性球菌、大腸菌ともに 16.7%（1 例/6 例）と非常に悪いことから、グラム陽性球菌が単独で有意の膿尿とともに 10^4 CFU/ml 以上の菌数で分離された場合はグラム陽性球菌が原因菌と考えられるので、積極的に治療する必要があるものと思われる。

グラム陰性桿菌とグラム陽性球菌との複数菌感染例において、グラム陰性桿菌とグラム陽性球菌がともに消失した症例では膿尿の改善率は 75%（78 例/108 例）と良好であるが、グラム陽性球菌が残存した場合には 33.3%（1 例/3 例）とグラム陰性桿菌が残存した場合の 28.6%（4 例/14 例）と同様に膿尿の改善は悪く、グラム陰性桿菌とグラム陽性球菌の両者が消失した場合と差がみられることより、グラム陰性桿菌とグラム陽性球菌との複数菌感染例における病原菌はどちらかということは別にして、少なくともグラム陽性球菌の存在が膿尿の改善を妨げていると考えられ、グラム陽性球菌にも抗菌スペクトルを有する抗菌剤を用いて治療することが望ましいと考えられた。

3. 採尿時のグラム陽性球菌による汚染（採尿法による比較検討）

男性症例（28 例）においては恥骨上膀胱穿刺尿と中間尿を、女性症例（21 例）においてはカテーテル尿と中間尿を採取し、それぞれの採尿法によって得られた尿の定量培養を行った。なお、対象は尿路感染症の認められないものとした。

膀胱穿刺尿で細菌尿のみられた症例は中間尿からも細菌尿がみられ、菌種はブドウ球菌と腸球菌が各 1 例であった。膀胱穿刺尿と中間尿がともに細菌陰性であったのは 16 例で、残りの 10 例では膀胱穿刺尿では陰性であったにもかかわらず中間尿では細菌尿を認めた。しかし、10 例中 8 例（80%）は生菌数が 10^3 CFU/ml 以下であり、男性においては中間尿は信頼できる採尿法と考えられた。しかし、中間尿から低菌

量分離される菌種としてはグラム陽性球菌が多いことから、グラム陽性球菌との複数菌感染例においては菌種ごとの定量培養が望ましいと考えられた。

カテーテル尿と中間尿がともに細菌陽性であった症例は 3 例で、ともに陰性であった症例は 9 例であった。カテーテル尿では陰性にもかかわらず中間尿では細菌尿が認められた症例は 9 例、12 株あり、11 株までがグラム陽性球菌であったが、そのうちの 1 例に 10^4 CFU/ml、1 例に 10^6 CFU/ml の細菌尿を認め、この 2 株もグラム陽性球菌であった。したがって、女子において尿培養を行う際には、汚染菌、特にグラム陽性球菌の混入を防ぐため中間尿よりカテーテル尿の採取が望ましいと考えられた。

(5) 基礎

Enterococcus spp. の病原性マウス実験的腹腔内膿瘍形成モデルでの検討

渡辺邦友

岐阜大学医学部付属兼気性菌実験施設

腹腔内感染症における *Enterococcus* spp. の意義は議論的のひとつである。腹腔内感染症における *Enterococcus* spp. の病原的役割に否定的見解を与えた研究に、Onderdonk らのそれがある。彼らは、*Enterococcus* の 10^7 cfu を単独でラット腹腔に接種しても、動物の致死および膿瘍形成も起こしえなかったと報告した。しかし、彼らを用いた *Enterococcus* の菌種レベルでの同定は実施されていない。我々は、*Bacteroides fragilis* の腹腔内膿瘍形成能を検討するのに用いたマウスのモデルを用いて、*Enterococcus* spp. の病原性について再度検討を加えた。

Enterococcus faecalis ATCC 29212, K-1 株（尿路由来株）、B, C, D 株（外科膿由来株）および *E. faecium* S-1, 2 株および *E. avium* S-3, 4 株を用いた。*B. thetaiotaomicron*, *B. fragilis* NCTC 10581 も対照に用いた。マウス腹腔内膿瘍モデルの作製は以下のように行った。マウスは、C57 BL/6 J, 5~6 W, 雄（日本クレア）を用いた。ミンチで飼育したラットの盲腸内容物から Onderdonk らの方法で Autoclaved cecal content（以下 ACC）を調整した。血液寒天培地上の集落を用いて、PYG 中に菌浮遊液を調整し、等量の ACC と混合したものを接種液とし、その 0.1 ml を、マウス腹腔内に接種した。5 日目にとさつ解剖し、膿瘍形成能を検討した。*E. faecalis* ATCC 29212 は、*B. thetaiotaomicron* との混合接種で強い膿瘍形成を示した。

しかし *E. faecalis* K 1 株の 1.6×10^6 cfu 単独接種は、5 日目の解剖時に腹腔内にかなり強い膿瘍形成を引き起こしていた。この結果は、Onderdonk らの成績と異なった。*E. faecalis* を腹腔内に接種した場合と *B. fragilis* を腹腔内に接種した場合との膿瘍形成の状況および接種菌の臓器内分布などについても検討したところ、5 日目では両菌株ともほぼ同様な膿瘍形成を示した。*B. fragilis* によって形成される膿瘍と *E. faecalis* によって形成される膿瘍の組織学はほぼ同様の所見を示した。しかし *B. fragilis* 接種では、接種後 8 日目でもかなりの自然治癒傾向を示したが、*E. faecalis* 接種では、接種後 8 日目でもその傾向は弱く感じられた。また、*E. faecalis* 接種では *B. fragilis* 接種より明らかに悪い肝臓所見を示した。すなわち *E. faecalis* 接種マウスでは、肝臓に多発性の膿瘍が認められた。*E. faecalis* K-1 株以外の *E. faecalis* を用いて行った実験でも、強い腹腔内膿瘍形成作用が認められた。*E. faecalis* によって形成された膿瘍の大きさは *E. faecium* や *E. avium* によって形成された膿瘍の大きさより明らかに大きく、*E. faecalis* の膿瘍形成能は、*E. faecium*、*E. avium* のそれより明らかに強力であると思われた。

以上のことから、*E. faecalis* の 1×10^7 cfu/ml を ACC とともにマウス腹腔内に接種すると、5 日目に膿瘍形成が認められることが明らかとなった。*E. faecalis* の膿瘍形成には、菌株による差異があることが示唆された。また、*E. faecalis* の膿瘍形成能は、*E. avium*、*E. faecium* より強いことが明らかとなった。

シンポジウム (II) : 東南アジア諸国における 臨床分離株の薬剤感受性分布

司会のことば

DRUG SUSCEPTIBILITY FOR CLINICAL ISOLATES IN SOUTHEAST ASIAN COUNTRIES

Rinzo Soejima

Division of Respiratory Diseases, Department
of Medicine, Kawasaki Medical School

Joichi Kumazawa

Department of Urology, Faculty of Medicine,
Kyushu University

The infectious disease is a result of an impaired relationship between human and microorganism. Although many kinds of antimicrobial agents have

been developed and available, the incidence of infectious diseases has not decreased and intractable infectious diseases caused by resistant organism have increased. Recently the pattern of infectious diseases has changed. Especially, as a factor of microorganism, the incidence of isolation and its drug susceptibility have markedly changed. The first step for the treatment of infectious diseases is to obtain the immediate and correct information of causative organism.

Since we can go abroad easily today, it is necessary to have the information about infectious diseases from neighbouring countries. But it is difficult to obtain these informations and official announcement from WHO or each government are not so sufficient to utilize.

In this meeting, the President, Professor Ueno has organized the symposium "Drug Susceptibility for Clinical Isolates in Southeast Asian Countries" and invited clinical bacteriologists from Hong Kong, Taiwan, Philippines, Indonesia and Korea. We are sure that this is a very timely and significant symposium.

From each speaker, present status of drug usages, changes of clinical isolates and formation of resistance in each country will be reported, and so information about the present status of infectious diseases and drug susceptibility in Southeast Asia will be obtained in detail.

The President, Professor Ueno has given us an opportunity not only to have up-to-date information from Southeast Asian countries but also to establish the information network among each country concerning the incidence of clinical isolates and drug susceptibility. We believe, establishing these information network is one of the purpose of this symposium. In cooperation with each symposist, we are going to do our best to realize these purpose.

(1) ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF CLINICAL ISOLATES IN HONG KONG

Pak Yin Chau

Department of Microbiology, University of
Hong Kong, Hong Kong

Queen Mary Hospital is a university-affiliated general hospital with 1,800 beds, which serves a population of about one million in the Hong Kong island. The prevalence and distribution of bacterial pathogens in various clinical specimens and their antibiotic susceptibility in 1989 in this hospital are summarized as follows:

1. Bacterial pathogens from blood: Gram-negative aerobes, Gram-positive aerobes, anaerobes and yeasts (mainly *Candida*) constituted 68.9%, 23.8%, 3.9%, and 3.4%, respectively, of the blood isolates. The five most frequently isolated bacteria were *E. coli* (24.2%), *S. aureus* (12.0%), *Klebsiella* (10.4%), *Salmonella* (4.4%) and *Enterobacter* (3.8%). Compared to the previous 2 years, there was a decrease in the isolation frequency of *E. coli* and *Klebsiella* and an increase in the isolation of *S. aureus*. The rates of drug resistance in Gram-negative enterobacteria isolated from blood were summarized as follows.

Antibiotics	<i>Escherichia coli</i> (308 strains)	<i>Klebsiella</i> species (134)	<i>Enterobacter</i> species (48)	<i>Proteus mirabilis</i> (26)
Ampicillin	48	81	58	60
Cephalothin	12	15	68	11.5
Cefamandole	4	10	21	0
Gentamicin	17	10	8	19
Netilmicin	5	2	4	8
Co-trimoxazole	26	13	10	35

2. Bacterial pathogens from urine: About 80% of the pathogens isolated from urine were Gram-negative bacteria. *E. coli* (38.4%), *Klebsiella* (14.3%), and *Proteus* (9.4%) added together constituted 62.1% of the total urine isolations. The

rates of resistance to various antimicrobials of some most frequent urine isolates were summarized in the following.

Antibiotics	<i>Escherichia coli</i> (2,470 strains)	<i>Klebsiella</i> species (910)	<i>Enterobacter</i> species (215)	<i>Proteus mirabilis</i> (180)
Ampicillin	61	99	94	27
Cephalexin	4	13	86	4
Cefuroxime	1	8	44	2
Gentamicin	23	24	38	8
Co-trimoxazole	36	34	38	17
Nalidixic acid	4	8	9	3

3. Bacterial pathogens from the respiratory tract.

A. Bacterial pathogens from throat: *Str. pyogenes* was the most frequently isolated pathogen. All isolates of *Str. pyogenes* remained sensitive to penicillin, but 21%, and 5% of the isolates were found resistant to erythromycin and co-trimoxazole respectively.

B. Bacterial pathogens from sputum: Although Gram-negative bacteria were often isolated in predominant growth in sputum, the results were often difficult to interpret. The frequencies of isolations of *H. influenzae*, *Str. pneumoniae* and *B. catarrhalis*, the three recognized pathogens, were at a ratio of 8:2.4:1. Drug resistance rates in these three pathogens were summarized as follows:

	% of resistance		
	<i>H. influenzae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>B. catarrhalis</i>
Ampicillin	19	0	96
Erythromycin	1.6	5	0
Co-trimoxazole	1.2	7	0
Chloramphenicol	8.5	0.5	0
Cefamandole	0.4	0	0

(2) CHANGING PATTERNS OF BACTERIAL INFECTIONS AND ANTIMICROBIAL THERAPY IN TAIWAN, R.O.C.

Wei-Chuan Hsieh

Department of Internal Medicine, College of Medicine,
National Taiwan University,
Taipei, Taiwan, R.O.C.

Prior to the 1950s, most infections in Taiwan were attributed to Gram-positive bacteria. The advent of various antimicrobials partially solved this problem, but Gram-negative bacilli have assumed an increasing importance. In 1989, 52.8% of clinical isolates at the National Taiwan University Hospital (NTUH) were Gram-negative, 40.4% were Gram-positive and 6.8% were anaerobic bacteria. Among them, coagulase-negative staphylococci was the most frequently isolated organism (12.5%) followed by *Pseudomonas aeruginosa* (10.0%). Furthermore, from 1981 to 1989, 64.6% of pathogens causing nosocomial infection at NTUH were Gram-negative, 25.1% were Gram-positive and 10.3% were anaerobes. The main microorganisms were *P. aeruginosa* (13.5%), *Escherichia coli* (11.1%), *Enterococcus* spp. (8.4%), *Klebsiella* spp. (7.5%), and *Enterobacter* spp. (6.5%). Thus, at present time, Gram-negative rods are the main pathogens, especially causal organisms of opportunistic infections in the compromised hosts. Many of them are multiple resistant, it presents a problem for the antimicrobial therapy.

The excessive use of antimicrobial agents has been found to be common in various parts of the world. In Taiwan, antimicrobial agents are the most commonly used class of drugs. The asle of antimicrobials in 1989 was US\$122.0 millions or 15.6% of total pharmaceuticals. Among them, proportions of major antimicrobials consumed were as following: cepheids 45.7%, penicillins 18.5%, aminoglycosides 10.0%, macrolides 9.2%, tetracyclines 5.9%, chloramphenicols 2.7%, co-trimoxazole 1.8% and others 6.1%. In the past 10 years,

at NTUH, annual consumption of all antimicrobials has increased. Among them cepheids was the most remarkable one. It has increased 279%, followed by quinolones 210% and aminoglycosides 156%. Penicillins, co-trimoxazole, tetracyclines, macrolides and chloramphenicols have remained unchanged. The consumed quantity of cepheids has increased rapidly. In 1984 it replaced penicillins as the most commonly used antimicrobials.

Changing patterns of important clinical isolates, antimicrobial susceptibilities, yearly consumption of antimicrobial agents in Taiwan and pathogens of nosocomial infection at NTUH will be presented and factors influencing the patterns of antimicrobial usage will be discussed.

(3) BACTERIAL RESISTANCE IN INDONESIA

Usman Chatib Warsa, A. Rahim Pane,
Suharno Js. and R. Utji

Department of Microbiology, Medical Faculty,
University of Indonesia, Jakarta, Indonesia

Infection is prevalent in Indonesia mainly because of the tropical climate. Gastroenteritis & respiratory infection are still high in incidence, and cardiac vascular diseases and cancer has been increasing in the last decade. The antibiotic most frequently used in community & hospital are beta-lactam derivate, penicillin, chloramphenicol, tetracycline & sulfa. In the University Hospital in Jakarta and other large hospitals, the new antibiotic as 3rd generation cephalosporin, aminoglycoside & quinolone are probably more in use.

Drug resistance pattern of *Streptococcus pyogenes* & *Pneumococcus* does not differ much in the last 10 years, they are still very sensitive to penicillin G and moderate resistance to macrolide & chloramphenicol.

Epidemiology study of *Staphylococcus aureus* showed that the percentage of resistance against sulfanilamide was 100%, penicillin 95%, tetracycline 54% & chloramphenicol 30%. The incidence of MRSA was 5% in General Hospital in Jakarta. 60% of *N. gonorrhoeae* are producing enzyme penicillinase and *N. gonorrhoeae* are very sensitive to

fluoroquinolone.

Streptococcus viridans & *E. coli* are predominant cause of urinary tract infection but other Gram-negative microorganisms such as *Pseudomonas aeruginosa* & *Klebsiella* sp. are more frequently found in nosocomial infection & multi-resistance strains to the new antibiotics were also found.

Study on anaerobic bacteria revealed that the antibacterial activity of metronidazole, cefmetazole, amoxicillin-potassium clavulanate & sulbenicillin are still very active against *Bacteroides fragilis*, *Clostridium* sp., *Peptostreptococcus* sp. & *Veillonella* sp.

Pulmonary tuberculosis still a major problem showed resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* as follow: rifampicin 1%, isoniazide 1%, streptomycin 2% and ethambutol 1%.

To control the development of resistance of hospital bacteria against antibiotic, the University hospital is active in formulating antibiotic guideline.

(4) DRUG RESISTANT BACTERIA AND USAGE OF ANTIBACTERIAL AGENTS IN KOREA

Yunsop Chong and Kyung Won Lee*

Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea and Yonsei University Wonju College of Medicine*
Wonju, Korea

The data at Severance Hospital, Seoul, showed that from blood cultures the proportion of *Salmonella typhi* decreased from 43.8% in the 1970s to 2.3% in 1989. Consequently, *Escherichia coli* became the most frequently isolated species, 16.2% in 1989. *Enterobacter* sp., *Acinetobacter anitratus* and *Pseudomonas aeruginosa* became more frequently isolated species and in 1989 the rates were 10.8%, 11.7% and 7.0%, respectively. *Bacteroides fragilis* remained to be around 1%. Isolation of *Haemophilus influenzae* was rare.

From urine specimens, *E. coli* was the most frequently isolated organism, but the rate decreased from 45.9% in 1971 to 34.4% in 1989. Marked increase of *Enterococcus* sp. was noted from 6.5%

in 1971 to 19.5% in 1989.

Yield of *Shigella* sp. from stool specimens decreased from 67.6% of total enteric pathogen in 1970s to 14.0% in 1989. Relative increase of *Salmonella* sp. to 63.2% in 1989 and absolute decrease of *S. typhi* was noted.

Species of organism isolated from purulent specimens in 1989 were *P. aeruginosa* 17.9%, *S. aureus* 12.0%, *E. coli* 8.2%, *Bacteroides* sp. 6.8% and *Peptostreptococcus* 4.7%.

Our sputum culture results are difficult to interpret, because some specimens are for colonization study. In 1989, the most frequently isolated was *P. aeruginosa*, 32.1%. Other organisms were *Klebsiella* sp. 9.7%, *Enterobacter* sp. 8.1%, *S. marcescens* 7.3%, *S. aureus* 13.3%, *S. pneumoniae* 3.3% and *H. influenzae* 5.5%.

Resistance to antibacterial agents is considered more frequent in Korea. Thirty percent of *S. pneumoniae* isolates showed reduced susceptibility to penicillin G, but beta-lactamase producing strain was not found. Methicillin-resistant *S. aureus* had been increasing to the rate of 46% in 1989.

Ampicillin-resistant *H. influenzae* increased from 14.0% in 1983-85 to 21.9% in 1988-89, but beta-lactamase producer remained around 9%. Beta-lactamase producing *Neisseria gonorrhoeae* gradually increased to 45%.

Enterobacteriaceae species isolated in 1989 showed that MIC₉₀ of ampicillin against *E. coli* was >128 µg/ml. MIC_{90s} of cefazolin, cefamandole and cefotazime were against *E. coli* 8, 16 and 0.12 µg/ml, against *K. pneumoniae* 64, 128 and 2 µg/ml and against *S. marcescens* >128, >128 and 64 µg/ml, respectively. MIC_{90s} against *P. aeruginosa* were piperacillin >256 µg/ml, ceftazidime 16 µg/ml and amikacin 64 µg/ml. Eighty-one percent of *B. fragilis* were susceptible to clindamycin.

Usage of antibacterial agents was estimated by the production data. In 1989, 518.8 tons of antibacterial agents were produced, excluding anti-tuberculosis agents. Of these 44% were penicillins, 17% tetracyclines, 11% chloramphenicol, 8% cephalosporins, 7% macrolides, 5% aminoglycosides, 3.2% lincomycins, 1.7% quinolones, and 0.1% metronidazole.

It is concluded that recently the isolation of communicable disease agents, such as *S. typhi* and *Shigella* sp., have been decreasing markedly and that our isolates include various nosocomial pathogens which are often resistant to many of the commonly used antibacterial agents.

(5) CLINICAL UTILIZATION OF THE QUINOLONES : ITS IMPACT ON THE RESISTANCE PATTERNS OF COMMONLY ISOLATED PATHOGENS

Garvez, M.D., Francisco, R.S., Co,
S.L. and Tupasi, T.E.

Tropical Disease Foundation, Inc.,
Makati Medical Center,
Makati, Metro Manila, Philippines

4,264 clinical isolates obtained from various sources within a 30-month period were studied at quarterly intervals for the prevalence of resistance to the fluoroquinolones (ciprofloxacin and ofloxacin). The resistance data was correlated with the amount of unit doses dispensed by the Pharmacy Services during the study period.

13.3% of the isolates were *Pseudomonas aeruginosa*; 19.7% *Enterobacter* sp.; 19.3% *Escherichia coli*; 15.9% *Klebsiella* sp., Only the prevalence of resistance of *P. aeruginosa* to ciprofloxacin and ofloxacin varied significantly in the 10 quarterly periods studied ($p < 1.0 \times 10^{-6}$). There was no significant difference in the rates of resistance of *P. aeruginosa* to piperacillin, ceftazidime and amikacin.

Compared to ofloxacin, ceftazidime, piperacillin and amikacin, ciprofloxacin accounted for the highest number of doses dispensed (15.3%) and this was significantly greater than any of the other antimicrobials utilized. The utilization of ciprofloxacin in 10 quarters varied significantly ($p < 1.0 \times 10^{-6}$). There was a correlated increase in the prevalence of resistance of *P. aeruginosa* in the following quarter where the utilization of ciprofloxacin was demonstrated to be increased. This correlation, however, was not statistically significant. There was a one-way cross resistance be-

tween ciprofloxacin and ofloxacin so that despite the lower frequency of ofloxacin utilization there was an observed parallel increase in the prevalence of ofloxacin cross-resistance during the study period. This study clearly demonstrates the value of rational antimicrobial utilization in the treatment of infections and the need to limit the use of antimicrobials as a means of preventing the emergence of antimicrobial resistance.

To determine the serotype frequency distribution of ofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, 77 clinical isolates obtained within a one-year period were studied using monoclonal antibodies (Meiji Seika Kaisha, Ltd.) based on the Homma typing scheme; 44 (57%) were typable into 8 serotypes majority of which were type E. Forty-three percent of the isolates were non-typable and were stratified into 10 types according to their resistance pattern to amikacin (AM), aztreonam (AZT), ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO), gentamicin (GM), netilmicin (NET), ofloxacin (OFX), ciprofloxacin (CIP), and tobramycin (NN). Thus, there were 18 strains of ofloxacin-resistant *P. aeruginosa*.

Majority of the isolates were recovered from 4 areas of the hospital namely, the Charity Ward 17 (22%), OPD 13 (17%), 7 th floor 11 (14%), ICU 11 (14%). Half of the type E isolates were from the 7 th floor and ICU, representing 46% of *P. aeruginosa* isolated from these floors suggesting a possible clustering in these areas possibly due to breaks in aseptic techniques. However, the other types did not show any clustering in any geographical area which suggest a widespread distribution of resistant strains of *P. aeruginosa* in the hospital.

(6) THE PROBLEMS ON THE BACTERIAL RESISTANCE IN JAPAN, 1990

Yoshihito Niki, M.D.* and
Rinzo Soejima, M.D.**

Department of Public Health Care Medicine*,
and Division of Respiratory Diseases,
Department of Medicine** Kawasaki
Medical School, Kurashiki, Japan

From early 1970's, we have been developing a

huge number of new antibacterial agents, and now we have more than 130 agents available for clinical use. The first "Gold rash" was observed on developing injectable cephalosporins, so called the 2nd or the 3rd generation cephalosporins.

Prior to the 1970's, major pathogens of infections complication in immunocompromised patients were gram negatives, such as *Klebsiella*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. Against these organisms, except pseudomonas, new cephalosporins have been really effective.

Antimicrobial activities of these new cephalosporins against major gramnegative isolates from respiratory infections have not been changed significantly.

And late 1980's we got ceftazidime & imipenem as powerful weapons against *P. aeruginosa*.

A remarkable progression have also been found in development of new oral antimicrobial agents.

New quinolones were another reliable weapons for control pseudomonas infections in the outpatient department, and they have established new principle of treatments especially in the chronic respiratory infection.

We already have 6 new quinolones on the market and 5 or more derivatives are now under the clinical evaluation.

But in our country also, the excessive use of these new antimicrobial agents has been found to be common and brought about many problems.

Annual changes of incidence of bacterial isolation from blood showed remarkable decrease of gram negative enterobacteriaceae species and in contrast marked increase on isolation of gram positive bacteria after early 1980's, it was just same point, new cephalosporins came to be available for clinical use.

In respiratory tract infections, there is the data of annual retrospective survey on susceptibility of bacteria from respiratory infections from 17 research institution across the country, and summarized by Dr. Ikemoto, Juntendo University.

In pneumonia, he reported the change of the isolation pattern has not been significant, but, after 1986, *S. aureus* keeping the highest incidence and it was 23.5% at 1989.

Among chronic respiratory tract infections, *S.*

aureus has been increasing gradually and the incidence of isolation of *H. influenzae* has been decreasing in contrast. This drop of *H. influenzae* considered to be the effects of new quinolones and new cephalosporins.

The population of β lactamase positive *S. aureus* have been reached more than 65% in these 3 years, and also high incidences of β -lactamase production were reported in *P. aeruginosa*, *Branhamella* and *E. coli*.

β -lactamase positive *H. influenzae* remains around 15% in Japan.

But except *P. aeruginosa*, most of infections due to these β -lactamase producing organisms are under control now, by using various β -lactamase resistant agents including β -lactamase inhibitor.

And from late 1980's, we have been faced on the straggling of methicillin resistant *S. aureus*; MRSA. Almost all reports from various medical field of various parts of Japan showed remarkable increase of incidence of MRSA after 1986 or 1987, and they are reached above 50% at 1989. But MRSA is more common problem in inpatients of larger hospitals, as a nosocomial infection. And the isolation frequency of MRSA is not high in community acquired infections.

Because, injectable formula of Vancomycin is not available yet in Japan, the treatment of the infection due to MRSA is often difficult. MICs of various antibiotics against MRSA varies from report to report, except Vancomycin or Rifampicin.

Most of drugs which have some activity against MRSA are not strong enough to control them by solo-therapy. So the majority of investigators recommend a combination use of some of these drugs.

New quinolones were also highly effective against MRSA, immediately after they came on a market, but Ikemoto showed rapid reduction of their susceptibility in his nation wide collection after 1987.

In any case, we need injectable Vancomycin for better control of MRSA infection.

The second problem in recent Japan, is changes of susceptibility of new quinolones against some pathogens. As I described already, MICs of new quinolones against *S. aureus*, including MRSA, have been declined. We can see the other rapid drop

of susceptibility of new quinolones against *P. aeruginosa* in the data of Dr. Ikemoto.

At 1983, the MIC₈₀ of Ofloxacin was superior to any other anti-pseudomonal agents. It was 0.39 µg/ml. But from the next year, it has been declining year by year and it is 8.0 µg/ml at 1989. And after 1985 some strains showed very high MICs more than 100 µg/ml.

These problems are not only applied in ofloxacin but in all other standard new quinolones, norfloxacin, enoxacin and ciprofloxacin.

Dr. Deguchi of Tokyo Clinical Research Center compared MICs of these 4 standard new quinolones between 1985 and 1988 against various clinical isolates. And he found all 4 standard new quinolones showed clear drop in their MICs against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. Some more gram negative rods, such as *C. freundii*, *S. marcescens* and *E. coli* have been also increasing resistance.

We have been considered these rapid falls of activities of new quinolones reflects the nation wide overuse of the drugs. So it is very important for all medical staffs to have clear criterion of indications of new quinolones and another antimicrobial agents to prevent their extermination.

We have many more problems in bacterial resistance in our country.

For example, recent increase of penicillin sensitive pneumococcus. In the 1989, 5.4% of *S. pneumoniae* isolated from respiratory infection need higher Penicillin-G concentration than 0.5 µg/ml to inhibit their growth.

Fortunately we do not have complete resistant pneumococcus yet, but some other investigators reported higher frequency of these intermediate resistant strains.

We also need to discuss about the problems of multi-drug resistant *P. aeruginosa*, the problems about anaerobes and so on.

シンポジウム (III) : 感染症における BRM 療法の意義

司会のことば

斉藤 厚

琉球大学第一内科

正岡 徹

大阪成人病センター第五内科

BRM (biological response modifier) とは「生体の免疫を含めた応答力を変化させ、疾患を治療に導く薬物あるいは方法」と訳されるであろう。生体応答を調節あるいは制御する物質のうち、治療的、予防的目的で使用されるものを総称する。

したがって、感染症における BRM 療法とは、感染防御能の低下した状態あるいは治療困難な症例に対して、感染に対する防御能を増強したり、治療を促進させる生体の反応を増強させる方法と理解される。

感染症の分野における BRM にはいわゆる免疫増強剤として知られている細菌菌体成分や多糖体、化合物にはじまり各種のサイトカイン類 (インターフェロン、各種 CSF 類、多くのインターロイキン類)、各種モノクローナル抗体、抗原 (ワクチン、特異抗原感作)、さらに生体成分の移入 (感作リンパ球移入、白血球成分輸注) など多様なものが応用されつつある。これらのうち、特に各種のサイトカイン類の研究の進歩は近年の遺伝子工学のめざましい発達が背景にあることは言うまでもないことである。

本シンポジウムではこれらのいくつかに焦点をあて、その研究の up to date な情報について、討議を行った。

(1) 内科領域における CSF 類の適用と意義

佐分利能生

大分医科大学第2内科

CSF の種類には Multi CSF, GM-CSF, M-CSF, G-CSF などがある。このうち、G-CSF は顆粒球系細胞の分化と増殖に関与し、さらに好中球に対しては、その働きを亢進させることが知られている。また、G-CSF の投与は抗腫瘍剤による好中球減少期間の短縮や好中球減少症、さらに感染症の治療に応用など、今後、種々の分野で有効な薬剤と思われる。そこで、我々は G-CSF の効果を rhG-CSF を用いて、好中球

Chemiluminescence 法を中心に検討してみた。

我々はまず、臨床の症例に対して rhG-CSF の効果を見た。症例は肺癌が 2, 悪性リンパ腫 4, ATL 2, 骨髄異形成症候群 1 で、その結果、諸家の報告のとおり、rhG-CSF の投与後、白血球数や好中球数の増加が認められた。そこで、我々は好中球に対する rhG-CSF の働きを Chemiluminescence 法を用いて検討した。好中球は全血をヒストパック 1119 と 1077 で処理することにより単離し、HEPES-Saline 緩衝液で洗浄して使用した。被貪食粒子として Zymosan を用い、化学発光を測定する前に Luminol を増感させるために用いた。rhG-CSF は 30 分の incubation を行い、測定機器はラボサイエンス社の改造型 TD-4000 Lumiphotometer を用いた。測定した結果は peak までの高さや時間で評価し、これを好中球機能の指標とした。

対象患者は、前述の rhG-CSF を投与した悪性リンパ腫の患者について検討した。rhG-CSF は化学療法の 2 日後より投与し、測定は化学療法前、rhG-CSF 投与前と 24 時間後、1 週間後に行った。その結果、好中球機能は、1 週間後には約 1.5 倍の増加が認められた。rhG-CSF を投与した症例を報告する。

症例 1: 54 歳の男性。主訴は腰痛。近医を受診し、腹部腫瘤を認められた。生検にて非ホジキンリンパ腫と診断され当院に入院となった。入院時、臍の周囲に 15 cm の弾性硬の腫瘤を触知し、検査所見では、貧血が有り、LDH が上昇していた。入院後、THP-adriamycin, VP-16, vindesine などにて治療を行ったが、白血球が著明に減少し、白血球の立ち上がりの前に腰痛、腹部腫瘤の腫大が出現するため、rhG-CSF を 75 μ g 併用投与した。投与後、白血球数の立ち上がりが見られ、以後の化学療法による白血球数の減少もわずかで、自覚症状も改善した。

症例 2: 45 歳の男性。昭和 61 年頃より全身倦怠感と溶血発作があり、当院を受診し球状赤血球症が疑われていた。平成 2 年 3 月より溶血発作があり入院。入院時、貧血を認め、肝、脾を触知した。白血球数は 6,260 μ l で、貧血と血小板減少を認めた。LDH の上昇があり、ハプトグロビンは低下していた。入院後経過は、最初、球状赤血球症の溶血と考えていたが、汎血球減少が進行し、骨髄に芽球が 13% 存在し、細胞に異形性があることから、骨髄異形成症候群 (RA) と診断し Ara-C 少量療法を行った。しかし、汎血球減少が進行するため、rhG-CSF を 75 μ g 投与した所、白血球数、血小板数は増加し発熱も改善した。これらの 2 症例は、化学療法による好中球減少を改善させ、

化学療法を行いやすくする点、増殖、分化に異常があると骨髄異形成症候群などに対して、rhG-CSF の有用性を示す症例と思われた。

抗癌剤や抗菌剤に対する rhG-CSF の併用効果を *in vitro*, *in vivo* において検討した。まず、rhG-CSF 単独の効果を見るため、前述の方法により好中球を採取した後、30 分間 rhG-CSF を作用させてから Zymosan 刺激を加えたところ、rhG-CSF は約 1.3 倍好中球機能を増加させた。さらに、好中球に濃度を変えた抗癌剤を 30 分間作用させ、Buffer を加えた後遠心し、白血球数を合わせた後に rhG-CSF を 30 分間作用させ、Zymosan 刺激を行って好中球機能を測定した。adriamycin, MTX, VCR, cyclophosphamide, Ara-C について検討を行った。これらの薬剤の抑制は、すべて rhG-CSF の投与により回復した。このことは、薬剤による好中球機能低下に対して、rhG-CSF の投与が有利に働くことを示唆させた。

次に、抗菌剤について検討した。抗癌剤と同様の方法で行った。用いた薬剤は MINO, AMPC, EM, CLDM で、rhG-CSF の投与により、これらの抗菌剤の抑制が回復した。これらの結果から、感染症の治療において rhG-CSF の投与が、抗菌剤による好中球機能の抑制を回復させることが期待できると思われた。ところで、抗菌剤の内でも好中球機能を高める薬剤が知られている。この内の OFLX, CBPZ, CPIZ について同様の検討を試みた。その結果、これらの抗菌剤と rhG-CSF を併用すると、rhG-CSF 単独のコントロールよりさらに好中球機能が亢進した。このことは、ある種の抗菌剤と rhG-CSF の併用が相乗的に抗菌力を高める可能性を示唆していると思われた。

(2) 緑膿菌性泌尿器感染症に対する 抗菌剤と G-CSF 併用の意義

栗山 学・伊藤雅康・河田幸道
岐阜大学医学部泌尿器科

緑膿菌感染症に対する宿主側の第一義的な防御機構は好中球による貪食であるとされている。また、compromized host においては、好中球機能も低下していると言われている。このため、緑膿菌による難治性の複雑性尿路感染症 (UTI) における抗菌剤と好中球増殖因子 (granulocyte colony stimulating factor; G-CSF) 併用療法の意義を臨床的に検討した。

対象および方法: 対象は、緑膿菌による 9 例 12 感染であり、これを感染発症の誘因を有する群 (2 例) と慢性 UTI (7 例) の 2 グループに分けて検討した。

また、対照として、発症に誘因を有したMRSAによる感染症4例もあわせて検討した。基礎疾患は、36%が悪性腫瘍であり、半数は良性疾患であったが、再発性腎結石や神経因性膀胱機能障害といったUTIに関しては難治性要因であり、本併用療法以前は継続して緑膿菌が分離されていた症例であった。

治療スケジュールは、感受性を有する抗菌剤の単独治療を5日間先行させ、7日間にわたり100 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ のG-CSFの点滴静注を併用することを原則とした。抗菌剤投与開始時のほか、G-CSF投与開始時、併用終了時に培養を行い、細菌学的効果を検討した。また、再燃の有無に関して、引き続きフォローアップした。

結果ならびに考察：G-CSF投与による副作用は、1例の腰痛と2例の肝機能障害であったが、いずれも一過性であり投与中または投与終了後に消失ないし正常化した。

誘因を有する群の感染症病名はUTIが3例、移植腎周囲腫瘍・創部感染・敗血症が各1例で、誘因としては、抗癌化学療法3例、腎移植術2例、副腎摘出術後のMOF1例であった。G-CSF投与開始後の白血球数は、スタート時点では $3,067 \pm 3,257/\text{mm}^3$ であったが、最高値 $25,967 \pm 7,573$ 、投与終了時 $24,000 \pm 5,924$ と有意に高値となった。また、G-CSF併用前後のCRP、発熱、PSについても、顕著な改善を示した。緑膿菌による2例のUTI症例は、抗菌剤の単独治療には無効であり、G-CSF併用後に1例消失、1例は菌交代となり、緑膿菌自体は除菌できた。フォローアップの結果、1例は他菌種による、他の1例は緑膿菌と*E. faecalis*の複数菌による再発を認めた。一方、MRSAの4例の内、抗菌剤による治療の結果、1例は菌交代したが、この症例を含め3例で除菌でき、残存した1例も14日目に消失した。MRSAの再燃はなく、1例に他菌種によるUTIの再発を認めた。対象菌の除菌率は83%と高いものの、UTI症例の再発が問題であろうと思われた。

慢性UTI群では、2例に各々2、3回の本併用療法を行った。G-CSF投与前の白血球数は $7,280 \pm 1,882/\text{mm}^3$ と抑制されていなかったが、最高値 $27,980 \pm 9,263$ 、投与終了時 $20,796 \pm 6,930$ と有意に増加した。発熱は、全例前後とも認めず、CRP・PSの改善は得られたが、その改善度は誘因を有する群ほど顕著ではなかった。尿中白血球は、併用前半より後半期に改善する傾向を認めた。8例の抗菌剤先行例では、1例のみ菌の消失を認め、併用施行の10例では、終了時に3例、遅れて2例の計5例が消失し、4例が

菌交代を生じ、先述の抗菌剤による消失例で再燃1例という結果であった。併用開始時認めた9例の緑膿菌は全例除菌できたことになったが、5例で緑膿菌の早期の再燃を認めた。フォローアップすると、併用直後の優れた除菌率に比して、以降全くUTI freeは2例に過ぎず、また緑膿菌 freeは3例のみであった。しかし、間歇投与を行った3症例では、以降の緑膿菌によるUTI発症を防止でき、今後施行すべき方法と思われる。

結語：抗菌剤にG-CSFを併用することで対象菌種である緑膿菌、MRSAの88%を除菌できることが判明したが、早期の再燃が問題として残った。今後、投与量・再燃抑制法としての継続投与の意義を確立することが必要であり、個々の患者の好中球機能をフォローしてゆくことで推測することが可能になるものと思われる。

(3) IL-1 α の感染防御効果

中村信一

大日本製薬・総合研究所

インターロイキン1(IL-1)は感染や炎症に際し、生体内の種々の細胞から産生されるサイトカインであり、その生物活性はきわめて多彩であることが知られている。IL-1 cDNAのクローニングにより、IL-1には α 型および β 型の2種の分子のあることが明らかになっている。両分子のアミノ酸相同性は26%と低いにもかかわらず、レセプターは共通で、生物活性は互いにきわめて類似している。

1987年、我々のグループにより遺伝子組換えIL-1 α に、また1988年にはオランダのvander Meerのグループにより遺伝子組換えIL-1 β にそれぞれ感染防御能増強作用のあることが見出された。両者の感染防御能増強作用は互いに類似しているため、以下IL-1 α のデータにつき述べる。

IL-1 α は種々の菌によるマウスの感染死を用量依存的に防御し、0.01~10 μg /マウスの投与量で生存率を有意に上昇させた。IL-1 α の作用は多型核白血球により殺菌されると言われている緑膿菌や肺炎桿菌の感染症のみならず、夾膜を持つ肺炎球菌や抗体との協同でマクロファージにより殺菌されると言われている細胞内増殖性のネズミチフス菌、殺菌に多型核白血球とT細胞を介するマクロファージの活性化が必要とされているカンジダなどの感染症においても認められた。IL-1 α の作用の強さは投与タイミングにより大きく左右され、緑膿菌感染系では感染3および1日

前に、また肺炎桿菌感染系では感染直後と1日後にそれぞれ1回ずつ投与した場合、最も高い生存率が得られた。これはIL-1 α 投与後、生体の感染防御能が高まる迄に一定の時間がかかることと、菌により感染進行過程に違いがあるためと思われる。緑膿菌を腹腔内に接種して惹起した全身感染系では、IL-1 α の腹腔内投与が最も効果的で、皮下、筋肉内および静脈内投与より良好であったことから、IL-1 α は感染部位に投与するのがよいと推察される。IL-1 α の効果は感染菌量の影響を大きく受ける。緑膿菌および肺炎桿菌感染系では、感染菌量が3~4LD₅₀の場合、IL-1 α の効果は見られたが、その10倍の感染菌量では効果は減弱ないし認められなくなった。IL-1 α の効果はtarget/effector ratioに影響されると思われる。抗癌剤を連続投与すると通常生体防御能が低下し、生体は易感染状態になる。マウスに5-フルオロウラシル(50 mg/kg)、マイトマイシンC(2 mg/kg)、ドキソルビシン(3 mg/kg)またはシクロホスファミド(100 mg/kg)を1日1回、3日間連続腹腔内注射すると、マウスは易感染状態になり、少量の緑膿菌接種でも死亡するようになる。このようなマウスにIL-1 α を投与したところ、用量依存的に生存マウスが増加した。したがってIL-1 α は易感染状態になった生体の感染防御能を改善する働きがあると考えられる。緑膿菌および肺炎桿菌感染系を用いて、IL-1 α とセフトラジウム、ラタモキシフ、ゲンタミシン、エノキサシンおよび免疫グロブリン製剤との併用効果を調べたところ、いずれの薬剤との併用においても、著明な協力作用が認められた。このような協力作用は白血球減少マウスにおいても認められた。IL-1 α と β -ラクタム系、アミノ配糖体系、キノロン系、免疫グロブリン系薬剤との併用は、抗菌剤単独ではコントロールできない難治性感染症の治療に役立つ可能性がある。

IL-1の感染防御能増強のメカニズムとして、好中球、マクロファージ、Tリンパ球などの活性化およびBリンパ球の抗体産生増強などが考えられている。IL-1の作用のユニークな点は、単にeffector細胞を活性化するだけではなく、インターロイキン8や単球走化活性化因子などの走化因子の産生を誘導し、感染部位にeffector細胞を集合させるようにすることと、インターロイキン3、GM-CSF、G-CSF、M-CSFなどの増殖因子の産生を誘導して、好中球やマクロファージなどの前駆体細胞の増殖を促進し、effector細胞の消耗を補充するように働くことである。

IL-1には感染防御能増強作用の他、骨髄障害回復作用、抗癌作用、放射線防護作用、創傷治療作用など

があり、その臨床への応用が期待されている。IL-1には発熱作用、ホルモン分泌作用などの神経内分泌系への作用、炎症のメディエーターとしての作用、プロスタグランジンの誘導など副作用に繋がる虞のある作用もある。したがってIL-1が臨床的に有用なサイトカインであるか否かは今後の臨床検討を待たねばならない。IL-1 α については米国の国立癌研究所で、またIL-1 β については日本で抗菌剤としての臨床研究が行われているので、その臨床的なメリットおよびデメリットは近い将来明らかになるものと思われる。

(4) IL-2と難治性感染症

中川 勝・螺良英郎

国立療養所刀根山病院内科

インターロイキン2(以下IL-2と略す)はT細胞の増殖分化因子として免疫応答の中核的な役割を担っていることが知られているが、臨床的にもIL-2による免疫能改善が期待されている。今回我々は遺伝子組み替えIL-2(TGP-3、武田薬品)を用いて抗菌剤の前投与で治療効果の認められない難治性感染症への臨床応用について多施設間の協同研究を開始した。難治性感染症に対するIL-2と抗菌剤の併用による臨床試験の報告はなく、これがはじめての試みと考えられる。

初期臨床第2相試験

対象および投与方法：抗菌剤に感受性であるにもかかわらず治療効果の認められない難治性細菌・真菌感染症の入院患者とした。TGP-3は250 Uまたは500 Uを1日1~2回原則として1週間以上点滴静注で投与することとした。また以前より使用している抗菌剤は継続し併用した。

結果：総症例数は19症例で安全性については全症例、有効性については15症例で検討した。

患者背景は評価可能15症例について検討した。感染部位はほとんどが呼吸器感染で13例であった。重症度別ではきわめて重症2例、重症6例、中等症7例であった。PPD反応陰性を判断の中心根拠とした主治医判定の免疫能では低下が15例中10例と2/3を占めた。基礎疾患・合併症を有するものは15例中12例で、のべ19疾患がみられ重症のものが多かった。

実際に施行されたTGP-3投与法の主流は1,000 Uの点滴静注であった。吸入や気管支内注入というような新しい方法も4例に試みられた。投与期間は6日から最長143日であった。

全体の有効率は評価可能 15 症例中 7 例で 46.7% であった。疾患別の有効性では、肺結核は 3 例中やや有効 1 例のみであった。肺非定型抗酸菌症では 3 例中有効が 2 例、やや有効が 1 例であった。肺炎および DPB では 8 例中有効が 3 例、やや有効が 2 例であった。口腔内カンジダ症および蜂窩織炎では 1 例ずつでいずれも有効であった。分離菌種およびその有効性では、結核菌および非定型抗酸菌については先に述べたが、緑膿菌は 2 例中やや有効 1 例のみ、黄色、ブドウ球菌、*E. cloacae* は各々 1 例全部が有効であった。緑膿菌と黄色ブドウ球菌の混合感染は 1 例で無効、カンジダは 1 例で有効であった。

IL-2 の効果と患者の免疫能との関係を検討した。有効例およびやや有効例では 11 例中 9 例と大部分は免疫能低下患者であった。一方無効例では免疫能の低下が 4 例中 1 例に認められるのみであった。すなわち IL-2 の併用療法は免疫能低下による難治性感染症に適していると判断された。

副作用・臨床検査値異常は全 19 症例中 12 例にみられ発熱 6 例、好酸球増多 5 例、肝障害、嘔吐、血圧低下 1 例ずつであった。脱落例はすべて 1,000 U 静注例であった。

疾患別の検討で IL-2 の有用性が示唆された肺非定型抗酸菌症と IL-2 との関係について露口らは非定型抗酸菌症の患者リンパ球の PPD 抗原に対するリンパ球幼弱化反応は低下しているがこれに IL-2 を添加すると幼弱化反応は回復すると報告している。次に難治性の肺非定型抗酸菌症を対象とした後期臨床第 2 相試験を計画した。

後期臨床第 2 相試験

対象および投与方法：抗結核化学療法剤を 6 か月以上投与し治療効果が認められない *Mycobacterium avium* complex による肺非定型抗酸菌症、しかも月 1 回の検痰で TGP-3 投与直前 6 か月間に最低 4 回以上排菌の認められた症例を対象とした。また原則として入院患者を対象とした。TGP-3 は 1 日投与量 250 U および 1,000 U の 2 用量の control randomization 法による非盲検群間比較試験として行った。投与期間は 2 か月以上連日投与した。

結果：総症例数は 20 症例であった。安全性については全例、有効性については 16 例で検討した。

TGP-3 投与量 250 U と 1,000 U の 2 群別に検討すると、有効率では 250 U 群は 9 例中有効 2 例、やや有効 4 例であり、一方 1,000 U 群では 7 例中やや有効 6 例であった。全体では有効率は 16 例中 2 例 12.5% であり、初期第 2 相試験に比べ有効率が低かつ

た。

全症例 20 例について副作用発現頻度は 250 U 群では 11 例中 4 例にみられ、1,000 U 群では 9 例全例に副作用がみられた。投与量が多いほど副作用の発現頻度が増大する傾向がみられた。その内訳は発熱 7 例、頭痛 2 例、食欲不振 2 例、関節痛 1 例、著明な好酸球増多 2 例、肝障害 1 例、ショック 1 例であった。

難治性の非定型抗酸菌症に対する IL-2 併用によって明らかな BRM 効果を得るまでには至らなかった。しかし compromised host の難治性感染症に対する IL-2 をはじめとした BRM 療法は今後も検討されるべき重要な課題であると考えられる。

(5) 致死性リステリア感染症における CD 8⁺ T 細胞の果たす役割と γ IFN 投与による予防効果

佐々木豊裕

長崎大学臨床検査医学

原 耕平

同 第二内科

中山睿一

同 腫瘍医学

はじめに

Listeria monocytogenes は、ヒトでは Immunocompromised host に髄膜炎、敗血症を引き起こす、いわゆる日和見感染の原因菌である。ところが、最近、感染源を乳製品などの身近な食品とするリステリア感染症の発症が報告され、死亡例も認められたことより、本感染症に対する注意が促されている。そこで、今回我々はリステリア感染症における免疫学的研究の中から致死病態に焦点をあてて T 細胞（特に CD 8⁺ T 細胞）の果たす役割と γ IFN 投与による感染予防効果について免疫細胞学的に解析したので報告する。

致死病態を引き起こす最低致死量 $7 \sim 8 \cdot 10^3$ colony forming unit (cfu) のリステリア菌を BALB/c マウスに静脈内投与するとマウスの肝臓は広汎な壊死を引き起こし 4~7 日で死亡する。この死因に T 細胞分画である CD 4⁺、CD 8⁺ T 細胞がいかなる関与をしているかを CD 4⁺、CD 8⁺ T 細胞に対する monoclonal antibody (mAb) をあらかじめ *in vivo* 投与することによりそれぞれの機能を抑制し、その効果を検討した。

まず、感染後の生存率におよぼす効果は、抗 CD 8 抗体あるいは抗 CD 8、CD 4 抗体投与例は高い生存率

を認めたのに対し、抗 CD 4 抗体単独投与例は対照例と同様にそのほとんどが死亡した。

このことから、致死性リステリア感染症における感染死には CD 8⁺ T 細胞が関与していることが示唆された。次に、抗体投与の肝臓、脾臓におけるリステリア菌の増殖と肝臓の破壊の指標としてマウス血清中の Transaminases (GOT, GPT) におよぼす効果を経時的に検討した。臓器内菌数増殖に関しては、肝臓、脾臓いずれも抗 CD 8 抗体投与例は感染初期にて一旦増殖を認めるもののその後菌数の減少し感染後約 40 日で細菌の除去を認めた。一方、抗 CD 4 抗体投与例は対照例と同様に著しい菌の増殖を認め死に至った。

マウス血清中 Transaminases 値も同様の挙動を示し抗 CD 8 抗体投与により肝臓破壊の抑制効果が認められた。肝臓における病理組織学的検討でも抗 CD 8 抗体投与例では対照例に比べ肝臓破壊の程度が著しく小さかった。以上の実験結果より致死性リステリア感染症における肝臓の破壊とそれに基づく感染死に CD 8⁺ T 細胞が深く関与し抗 CD 8 抗体をあらかじめ投与することによって感染死を予防することが明らかになった。さらに以上の実験結果を確認するために受身移入の実験を行った。BALB/c nu/+ の脾細胞を抗体と補体で処理し、その分画 T 細胞を T 細胞がほとんど欠損していると考えられている BALB/c nu/nu (ヌードマウス) に移入しその後致死量の菌を接種した。結果は、抗 CD 8 抗体と補体で処理した CD 4⁺ T 細胞移入例は全例生存したのに対し、抗 CD 4 抗体と補体で処理した CD 8⁺ T 細胞移入例は 20% の生存率に留まった。最後に γ IFN 投与が致死性感染症におよぼす効果を検討した。recombinant-murine- γ IFN の効果的な投与時期と投与量をあらかじめ検討し、致死量のリステリア菌接種数時間前に、 3×10^4 U を静脈内投与した。生存率では、 γ IFN 単独でも高い生存率を認めさらに抗 CD 4 抗体投与により CD 8⁺ T 細胞のみにしたマウスでも高い生存率を認めた。肝臓における菌増殖ならびにマウス血清中 GOT 値の経時変化でも γ IFN 投与の有効性を未処置、抗 CD 4 抗体投与例で認めた。以上の γ IFN の予防効果をさらに解析するために感染後 3 日目の脾臓における T cell subpopulation の変化を Nylon wool 処理により T cell enrich にし、得られた T 細胞を FACS 解析した。 γ IFN 単独投与例では CD 4⁺ T 細胞の若干の増加を認め、抗 CD 4 抗体投与例では γ IFN 追加投与によって CD 8⁺ T 細胞の約半数の減少を認め、この量的減少が CD 8⁺ T 細胞による肝障害を予防している可能性を示唆していると考えられた。

γ IFN の致死性リステリア感染症における予防効果のメカニズムは不明であるが、以下の可能性を考えている。

1) γ IFN は M ϕ 活性化因子として作用し、活性化された M ϕ が活発にリステリア菌を貪食しその結果菌の除去に働く。あるいは活性化された M ϕ が CD 8⁺ T 細胞による肝破壊を抑制しそのため感染死を回避できる。

2) γ IFN が感染細胞と考えられる肝細胞に直接働き、肝細胞表面の γ IFN receptor を介して細胞内の何らかの変化をもたらすリステリア菌の増殖を抑制している。

3) γ IFN が直接 CD 8⁺ T 細胞の肝細胞障害性を抑制する。しかしながら、 γ IFN は一般には CTL (細胞障害性 T 細胞) の分化、誘導に必要不可欠のものと考えられており、慎重かつ詳細な検討が必要と考えられる。

参考文献

Sasaki T. et al. 1990. J. Exp. Med. 171. 1141

(6) γ -globulin 療法における 2, 3 の試み

平岡 諦・正岡 徹

大阪府立成人病センター第 5 内科

血液疾患に伴う重症感染症に対する γ -globulin 療法の応用につき報告し、将来の方向につき考案した。

1. 顆粒球減少時の重症感染症：(1) γ -globulin 製剤：抗菌剤併用 (CMZ 4 g/day + NTL 200 mg/day) 3 日間投与無効例を randomize し、 γ -globulin 製剤 (4 日目に 5 g) の投与群と、非投与群に分けた。抗菌剤を変更せずさらに 4 日間投与しその時点での有効率を比較した。結果は登録 401 例中 45.9% が抗菌剤 3 日間投与で有効であり、無効であった 217 例が randomize された。抗菌剤のみ投与群中、適格 86 例の有効率は 44.2% であり、 γ -globulin が上乘せされた群中、適格 91 例の有効率は 63.7% と有意の ($p < 0.01$) 差が見られた。有効率をさらに治療前後の顆粒球数で層別してみると、治療前後ともに顆粒球数 $\geq 500 \mu$ l を維持していた層では有効率は同等であったが、顆粒球数がそれ以下の層ではいずれも γ -globulin 上乘せ群の有効率が高かった。(2) 抗 lipid A MoAb (HA-1 A)：グラム陰性桿菌敗血症およびエンドトキシン血症に対する、endotoxin の core structure である lipid A に対するヒトモノクローナル抗体の効果を検討中である。投与 2 例の臨床経過を示した。第 1 例は AML 再発例で、Aeromonus hyd-

rophiliaの敗血症に対し、抗菌剤と共に HA-1 A 25 mg を投与した。敗血症は治癒し、Endoscopy で測定した血中エンドトキシン量は11.6 ng/ml から翌日には9.0, 1 週後には2.4 ng/ml と正常化した。第2例はALL 初回寛解導入中 *P. aeruginosa* 敗血症とともに septic shock を発症した。抗菌剤と共に、shock 発症1日後に HA-1 A 100 mg を投与した。shock は数日後に回復したが、蜂窩織炎、肺炎、肝不全を合併し、MOF の状態で死亡した。HA-1 A 投与前後で endotoxin は陰性であったが、血中 TNF は前値 48 pg/ml が直後には陰性化した。今後症例を増やし臨床経過、parameter の変化について検討する必要がある。

2. 骨髄移植後ウイルス感染症：(1) 抗 CMV 高力価 γ -globulin 製剤：ACV, α -IFN とともに、間質性肺炎に対する予防効果をみた。 γ -globulin 製剤投与時 (BMTday-7, 0, 7, 14, 21 に 10 g, 以降 day 90 まで 10 g/2 weeks) のみに発症率の低下 (非投与時 37.5%, 投与時 11.5%) がみられた。さらに抗 CMV 高力価 γ -globulin 製剤と通常の γ -globulin 製剤の比較を行った。血小板輸血に抗 CMV 抗体価陰性ドナーのみを選んだ場合には効果が見られなかったが、random ドナーの場合には高力価 γ -globulin 製剤に予防効果 (高力価 6%, 通常 44%) が見られた。(2) 抗 CMV MoAb (TI 23)：移植後毎週尿中 CMV 抗原量を測定し、抗原陽性化以降 12 週間 (第1群)、および移植前1週より 12 週間投与した (第2群)。CMV 陽性化率は第1群 (55.8%), 第2群 (54.5%) で差が無かったが、検出数/検査数 (49.8% : 22.0%), 平均検出数 (380.7 \pm 573.2 : 48.7 \pm 61.4 pfu), 最高検出数 (1,900 \pm 2851 : 72.4 \pm 110.1) と、移植前からの予防投与群で尿中 CMV 抗原量を著しく抑制することが判った。CMV 肺炎などの発症頻度については未集計であるが、投与方法、量を考慮することにより、充分予防効果が期待できる成績であった。(3) ウイルス性下痢に対する γ -globulin 製剤経口投与：骨髄移植後しばしば下痢を合併し、1日 10~20 行におよぶと骨髄移植特有の合併症である GVHD の一症状と考え免疫抑制剤を投与する。最近これらのかかなりの部分が、coxsackie, rota, adeno, cytomegalo-virus などウイルス性の下痢であることがわかってきた。乳児ウイルス性下痢症に経口 γ -globulin が有効であることより、骨髄移植後の免疫能低下時のウイルス性下痢症に対する予防効果を検討しつつある。Intact または修飾型 γ -globulin 製剤 (2.5 g/日) を計 7 例に移植翌日より 28 日間経口投与し、便中 Ig-G の測定を行った。投与

前の便中には Ig-G がまったく同定されなかったが、投与中には重層沈降法、および IEP において、検討し得た全例において抗原性として Ig-G が確認された。しかし IEP における沈降線は正常ヒト Ig-G の位置になく、かなり低分子化し移動度の変化が考えられた。投与全例とも投与中の下痢の回数は最高 1 日 3~5 回であり経口 γ -globulin 投与が有効であったのかもしれない。下痢が軽症であったため、消化管内停滞時間が長く、そのために Ig-G が消化されやすかったことが考えられる。消化酵素による *in vitro* 試験で、消化時間、pH, intact/修飾型などの影響が大である事が判った。今後 cost 面のことも考え、ヒト以外の γ -globulin の応用も考慮している。

3. γ -globulin 療法の将来：(1) 特定 target に対してはモノクローナル抗体の作製が考えられる。しかし、敗血症や、骨髄移植後のウイルス性下痢症のように、原因病原体が症例によりまちまちである場合は、polyclonal な γ -globulin 製剤の価値は大きいと考えられる。(2) 敗血症時の点滴投与、消化管感染症時の経口投与等投与経路の検討、また投与時期の検討が重要と考えられる。

(7) 動物肺炎モデルにおける MDP-Lys-L 18 と抗菌剤の併用効果

多田羅治・二木芳人・副島林造

川崎医科大学呼吸器内科

MDP は結核菌細胞壁の骨格成分であり、免疫アジュバント活性発現の最小単位である。

ROMULTIDE MDP-Lys (L 18) 以下 L 18 は MDP の持つ細胞性、体液性免疫増強作用や細菌感染に対する非特異的抵抗力の増強活性は損なわず、臨床上不都合な種々の作用を低減させた誘導体で、その本体は多糖体である。主な作用細胞は $M\phi$ であり、各種のサイトカインを産生させる他に、末梢血の好中球増多作用、機能亢進作用、補体 C_3 増多作用など、広範な BRM 作用が報告されている。

我々は呼吸器感染モデルを用いて、L 18 単独もしくは、抗菌剤との併用投与を行い、その予防および治療効果について報告した。

(1) マウス *K. pneumoniae* B 54 株肺炎モデルにおける L 18 と CMX の併用効果

① 感染 7 日後の生存率で比較した場合、CMX 単独治療群に対し、L 18 感染 1 日前併用群は有意な生存率の上昇が認められ、感染 1 日後+3 日後併用群でも生存率の改善が認められた (n=25)。

② 肺内菌数の推移では、コントロール群は感染2日後にすべて $10^7 \sim 10^9$ cfu/lungに増加するのに対し、CMX単独群では $10^2 \sim 10^7$ cfu/lungと中程度の抑制が認められ、さらにL18併用群では $10^1 \sim 10^3$ cfu/lungと強い抑制を認めた(n=5)。

③ 各治療群のマクロ肺病変を0から4点にスコア化し、その平均値の推移を比較すると、コントロール群やCMX単独投与群では感染2から3日後で肉眼的肺炎巣が多発し、胸膜病変も認められるのに対し、L18併用群では肉眼的な炎症巣の数と面積では進行の抑制傾向を認めた。同様に肺病理スコア0から5点の平均値の推移では、L18併用群は感染18時間後より炎症細胞の浸潤が認められ、スコア平均値にも上昇を認めたが、感染2日後にはマクロスコアと同様にCMX単独投与群より低い結果であった(n=5)。

④ 末梢血(PB)および肺胞洗浄液(BALF)中の白血球数の推移では、PBではL18併用群はCMX単独群と比較して有意差を認めなかったが、BALFではL18併用群は感染1日後に総白血球数が有意に高かった。しかし分画別に比較した場合は差は認めなかった(n=5)。

⑤ マウス肺胞M ϕ に対するL18の作用を検討した結果、fMLPに対する走化能はL18投与群は投与1日後では低下傾向を認めたが有為差は無いのに対し、投与2日および4日後では明らかに亢進していた。Latex Beedsに対する貪食能でも、L18投与群は投与1日後で明らかに亢進していた。またCMXで処理した*K. pneumoniae* B54株に対する貪食能も同様に有為な亢進を認めた。

(2) 免疫抑制ラットにおける、肺アスペルギルス症モデルに対する効果

酢酸コーチゾン投与等により免疫不全状態としたラットに気管内注入により急性および慢性の肺Aspergillosisモデルを作成した。

① 急性モデルでは、種々の投与量およびスケジュールでL18を単独投与した場合、すべてのラットは8日間で死亡し、予防もしくは治療効果を認めなかったが、感染菌量を1/10に低下させた場合、コントロール群の生存率23.5%に対し、L18単独投与群は、37.5もしくは43%とやや良好な生存率が示されたが有意差はなかった。これはステロイド等による強力な免疫抑制が食細胞にも強い影響をおよぼし、L18による活性作用に充分反応し得なかった結果と考えられた。

② 低菌量感染ラットに対し、AmBの予防的吸入を感染48時間前に行った場合、生存率は約90%と著

明に改善した。さらにL18を併用投与した場合、週3回3週間の治療投与で100%の生存率が得られた。しかしこれら生存ラットの肺内には感染4週後もなおencapsulateされた感染巣が認められた。また肺内菌数でも減少傾向は認めるものの、 $10^2 \sim 10^3$ cfu/lungの真菌が残存し、その完全な除菌にはさらに3~4週間を要した。

③ この慢性モデルに対し、感染4週後から再度コーチゾンを投与して免疫を抑制状態にすると、炎症巣拡大と菌数の増加が認められ、再燃状態となった。逆に感染4週後からL18を投与した場合、肺内菌数の減少はコントロール群と比較して速やかな傾向が認められた。さらに再燃モデルにおいても、L18を投与により菌数の減少が認められた。

④ 肺組織の検討でも、L18併用群はencapsulateされた炎症巣内部への細胞浸潤の亢進が認められ、病巣の縮小傾向を認めた。

L18は健常動物における細菌の急性呼吸器感染モデルおよび免疫抑制動物における真菌の慢性感染モデルの両者で治療効果が認められ、抗菌剤単独では治療効果の不十分な感染症に対する併用薬剤として高い有用性が示唆された。

その併用効果発現の機序の1つとして、肺胞M ϕ の機能亢進による炎症局所への集簇とそれに引き続く除菌が関与することが考えられたが。しかし現在までのところこれが真に併用効果の機序であるか否か、またL18に特異的なBRM作用であるか否かも不明であり、さらに検討する予定である。

(8) 菌体で誘導した感作自己リンパ球による養子免疫療法

橘川桂三

琉球大学医学部第一内科

近年、免疫抵抗力の低下した宿主における日和見感染症が問題となっている。これらの感染は感染防御機構の低下に起因するものであるため、抗生剤の投与のみでは十分な治療効果が得られない場合もあることは容易に理解される。このため、細胞内増殖菌の場合は特に感染組織および感染細胞内へ移行性が良く、かつ感受性のある抗菌剤を選択するとともに、患者の感染に対する抵抗力を増強する必要があると考えられる。我々は、細胞内増殖菌の1つであるレジオネラ菌を用い、モルモット腹腔マクロファージ内の同菌の増殖抑制に関する抗菌剤の評価を行った。また、宿主の低下した感染防御機能を回復する目的で、感染している細

菌の菌体により *in vitro* で誘導した感作自己リンパ球を患者に移入する養子免疫療法の感染症への応用を考えた。レジオネラ菌に対するマウスおよびヒトの *in vitro* および *in vivo* の実験結果と抗生剤に対して耐性菌であった結核菌による F 型広範進展結核で粟粒結核を併発した 1 症例に養子免疫療法を試みたので報告する。

方法と結果：

1) レジオネラ菌に対する各種抗生剤の最小阻止濃度 (MIC) と最小阻止細胞外濃度 (MIEC)：正常モルモットから腹腔浸出細胞を回収し、プレート付着細胞を 2 時間後に回収し、レジオネラ生菌と 16 時間培養した後、洗浄する。洗浄後、抗生剤を加え、36 時間後、細胞破碎後、BCYE α 培地に植え、3 日後ブランク数を測定する。MIC が低くても β -ラクタム剤は MIEC は高く、エリスロマイシン、リファンピシン、ニューキノロンの MIEC は低かった。このことから細胞内増殖菌に対しては MIEC と MIC の比の低い薬剤を選択する必要がある。

2) レジオネラ菌に対する BALB/c マウスの *in vitro* の成績：マウス脾細胞を Ficoll conray で分離し、リンパ球を回収する。レジオネラ菌菌体と混合培養し 5 日後、³H-thymidine を加え 16 時間後ハーベストし、乾燥後、液体シンチレーションカウンターにて測定する。また、リンパ球を各モノクローナル抗体を結合したマグネットマイクロスフェアを用い、positive selection および negative selection する。この細胞を用い、幼若化反応およびレジオネラ生菌との混合培養を行った。レジオネラ生菌との混合培養は、2 日間培養後、細胞破碎し BCYE α 培地に植え 3 日後ブランク数を測定する。レジオネラ生菌で免疫したマウス脾細胞は強い幼若化反応を示し、その反応は L3 T4 陽性 T 細胞が担っていた。また、レジオネラ生菌と各リンパ球サブセットを除去した脾細胞との培養では、L3 T4 陽性細胞および Thy1 陽性細胞を除去した場合に菌数が増加した。

3) レジオネラ菌に対する BALB/c マウスの *in vivo* の成績：BALB/c マウスに致死量の X 線を照射後、Thy1 陽性細胞を除去した骨髓細胞と抗胸腺抗体を静注したマウスを作成した。このようなマウスはレジオネラ菌に対して容易に感染した。また、このマウスに、レジオネラ菌菌体成分で刺激し、IL-2 を加えて培養した脾細胞を移入すると、レジオネラ生菌に対して生存率が高くなった。

4) レジオネラ菌に対するヒトの *in vitro* の成績：ヒト末梢血より白血球を Ficoll-Hypaque で分離す

る。その白血球とレジオネラ菌菌体成分を 7 日間混合培養した後、³H-thymidine を加え 16 時間後ハーベストし、乾燥後、液体シンチレーションカウンターで測定する。また、各リンパ球サブセットに対するモノクローナル抗体を結合したマグネットマイクロスフェアにて positive selection と negative selection を行った。この細胞を用い、幼若化反応およびレジオネラ生菌との混合培養後、レジオネラ生菌数を、マウスと同様の方法で測定した。また、幼若化反応と同時に採血した血清および培養上清の抗体価を間接蛍光抗体法にて測定した。30 名の健康成人において約 7 割が Stimulation index 10 以上を示した。これらの末梢血白血球の幼若化反応は血清中のレジオネラに対する抗体価と関連は認めなかったが、レジオネラ菌菌体成分で刺激後 7 日目の培養上清中の抗体価との間には T 検定で 1% 以下の危険率で相関が認められた。レジオネラ抗原刺激した培養上清と無刺激の培養上清の比と幼若化反応の間にも同様の検定で相関が認められた。この幼若化反応は CD4 陽性 T 細胞によって担われていた。また、レジオネラ生菌と各リンパ球サブセットを除いた白血球との培養では、その培養にサブセットの白血球を戻した場合、CD4 陽性細胞を戻した場合と CD2 陽性細胞を戻した場合にレジオネラ菌数が低下した。このように CD4 陽性 T 細胞は、抗体産生に働く CD4 陽性細胞だけでなく、マクロファージあるいはその他の細胞に働いてレジオネラ菌を抑制する CD4 陽性細胞が認められた。

5) PPD に対するヒトの *in vitro* の成績：末梢血白血球の PPD に対する幼若化反応もレジオネラと同様に CD4 陽性 T 細胞が担っていた。

6) 細菌菌体成分で誘導した感作リンパ球による養子免疫療法：レジオネラ症の症例はマレであるため、抗生剤に対して耐性を示す結核菌による F 型広範進展結核で粟粒結核を併発した症例で死亡すると考えられた患者に使用した。患者の喀痰より分離した結核菌より菌体成分を作り、患者末梢血白血球と混合培養し、IL-2 を加え、7 日目に Ficoll paque 液で白血球を分離し、洗浄し、患者に静注する。この療法による移入により、一時的ガフキー数の低下、下熱、体重増加、血沈改善がみられ、14 か月の現在生存している。

考察：ヒトの場合、結核菌の細胞壁を破壊する酵素をマクロファージはもたないと考えられており、結核に対する治療は抗菌剤が第一であり、MIEC などを考慮して有効な抗菌剤を選択する必要があるが、薬剤耐性菌に対しては養子免疫療法は補助療法として有効と