

Panipenemの試験管内抗菌力, PBP_sに対する結合親和性, β -lactamase不活化作用, DHP-Iに対する安定性および血清補体, M ϕ との協力作用について

横田 健・神田佳代子・鈴木映子
順天堂大学医学部細菌学教室*

Panipenem/betamipron (PAPM/BP) の活性原体, panipenem (PAPM) の *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, β -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Xanthomonas maltophilia*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* および *Bacteroides fragilis* の15~50臨床分離株に対するMIC₅₀はそれぞれ, 0.05, 6.25, 0.2, \leq 0.013, \leq 0.013, \leq 0.013, 1.56, >100, 0.2, 0.1, 0.39, 0.78, 1.56, 1.56, 0.2, 0.39, 0.2, 6.25, 12.5, 0.2, >100, 0.39および0.78 μ g/mlであった。

PAPMは *S. aureus* の penicillin-binding protein (PBP) 1および3に親和性が強く, *E. coli* の PBP 2, *S. marcescens* の PBP 2, *P. aeruginosa* の PBP 2等ムレイン合成開始指令酵素と考えられる画分に imipenem (IPM) 同様結合親和性が高かった。

PAPMはIc, Iib, V型 β -lactamaseはIPMと同程度に不活化したが, その他の型にはIPMより不活化力が弱かった。

PAPMの補体との協力的殺菌作用は明らかではなかったが, マウス培養マクロファージ(M ϕ)との協力は顕著で, *E. coli* NIHJ JC-2の生細胞は1/8MIC以上のPAPM共存下でよく食菌消化された。PAPMはブタおよびヒトのdehydropeptidase-I (DHP-I)にIPMより安定であった。

Key words : カルバペネム, DHP-I, β -Lactamase, PBP_s

Panipenem (PAPM) は我が国で開発された最初のカルバペネム系抗生物質である。ウサギを使用した動物実験である程度の腎毒性を示した由, 腎毒性軽減剤 N-benzoyl- β -alanineが等量に配合された注射剤として準備された。本報告は活性原体PAPMの各種臨床分離株に対する試験管内抗菌力, 作用点ペニシリン結合蛋白 (PBP_s) に対する結合親和性, 各種 β -lactamase に対する一時的および永久不活化作用, 各種動物dehydropeptidase-I (DHP-I) に対する安定性および血清補体またはマウス培養マクロファージ (M ϕ) との協力的殺菌作用を検討し, panipenem/betamipron (PAPM/BP) の臨床評価のための基礎的研究成績を

集積するのを目的とした。

I. 材料および方法

1. 使用薬剤

PAPMは純末を三共株式会社から供与された。対照薬剤として imipenem (IPM: メルク万有株式会社) および ceftazidime (CAZ: 日本グラクソ株式会社) を使用した。

2. 被検菌株

2年以内の臨床分離株で順天堂大学附属病院中央検査室および東京都老人病研究所附属病院中央検査室から分与された22菌種15~50株を使用した。

3. 試験管内抗菌力の測定

臨床分離株に対する試験管内抗菌力は日本化学療法学会標準法¹⁾に従った最小発育阻止濃度として表示した。すなわち被検菌を5mlのL-broth (Difco) で一夜振盪培養し, グラム陽性菌の前培養液は100倍に, グラム陰性菌の前培養液は1,000倍に希釈し, これを 10^6 CFU/ml菌浮遊液として使用した。ただし*Haemophilus influenzae*には, heart infusion (HI) brothにFildes extractを5%添加した培地を使い, *Bacteroides fragilis*はGAM broth (ニッスイ) 中で前培養した。さらに*Streptococcus pyogenes*の前培養にはHI broth (栄研) を使用した。*Streptococcus pneumoniae*の接種菌液は5%ヒツジ脱繊維血液平板上に増殖した集落をかき取り, HI brothに懸濁し, 660nmの波長でO.D. 0.5になるように調製し, これをHI brothで100倍希釈して接種菌液とした。

Mueller-Hinton agar (Difco) に倍々希釈濃度の薬剤を0.013~100 μ g/ml添加し, これに接種菌液1白金耳をマイクロプランター (佐久間製作所) を用いて接種した。37 $^{\circ}$ Cで一夜培養し, 平板上の菌の集落の有無からMICを求めた。ただし, *S. pyogenes*および*S. pneumoniae*には5%ヒツジ脱繊維血液加HI agarを, *H. influenzae*には5%Fildes extract添加HI agarを使用し, *B. fragilis*は薬剤添加GAM agarを用いガスバック法 (BBL) で嫌気培養した。

4. 作用点ペニシリン結合蛋白 (PBPs) に対する結合親和性の検討法

Staphylococcus aureus 209P, *Escherichia coli* NIHJ JC-2, *Serratia marcescens* 13および*Pseudomonas aeruginosa* PAO-1を被検菌とし, Spratt²⁾の方法に準じて³⁾非放射性PAPMまたはIPMと [¹⁴C] penicillin G (PCG) (AMERSHAM: 500 μ Ci/ μ mol/ml) の競合結合実験から検討した。すなわち被検菌を10mlのL-broth中で一夜振盪培養し, その全量を坂口フラスコ中の200mlのL-brothに接種し, 37 $^{\circ}$ C 4時間振盪培養後, 対数増殖期の菌細胞を冷却遠心で集めた。10mM MgCl₂加50mMリン酸緩衝液 (pH 7.0) で1回洗い同緩衝液8mlに浮遊した。BRANSON Sonifierで10kc, 効率20%で氷冷下超音波破碎した。その3,000 \times g, 10分間遠心上清を使用し, 10,000 \times g, 30分間超遠心し膜画分を得た。同緩衝液で1回洗浄後, 少量の同緩衝液に再浮遊し, Lowry法でタンパク量10mg/mlになるように調整した。膜画分30 μ lに水または1.1~880 μ g/mlの非放射性PAPMまたはIPM溶液を加え, 30 $^{\circ}$ C 10分間反応させた。次にこの反応液に3 μ lの20% (w/v) sarkosylと60mg/ml [¹⁴C]PCGの等量混合液を加え反応を停止した。不溶画分を10,000 \times g, 30分間遠心で除き, その上清30 μ lと

15 μ lのsodium dodecylsulfate (SDS) 緩衝液および5 μ lの β -mercaptoethanolを混合し, 沸騰水中で2分間加熱した。その全量を10%polyacrylamide平板gel (ただしブドウ球菌には8%polyacrylamide) にのせ, 120Vで等電圧電気泳動を行った。7%酢酸, 50%methanol液でタンパクを固定し, gelを水洗した後, 2,5-diphenyloxazoleを浸み込ませ乾燥し, Kodak X-O mat filmに密着し-80 $^{\circ}$ Cで20日間感光させた。

5. 各種 β -lactamaseに対する不活化作用の検討法
各種 β -lactamaseに対する一時阻害力は*K_i*値でIPM, sulbactam (SBT), clavulanic acid (CVA) およびflucloxacillin (MFIPC) のそれと比較した。すなわちIa型 β -lactamaseを産生する*Enterobacter cloacae* Nek39, Ic型 β -lactamaseを作る*Proteus vulgaris* 33, IIb型産生株*Proteus mirabilis* JY10, III (TEM) 型産生株*E. coli* CS2/RK1, IVb型産生株*Klebsiella pneumoniae* 42およびV型 β -lactamase産生株*E. coli* CS2/RE45の対数増殖期後期の細胞を集め, 粗酵素液を超音波破碎と超遠心により調製した。基質として種々の濃度のampicillin (ABPC: penicillinase (PCase) に) またはcephaloridine (CER: cephalosporinase (CEPase) に) を加え, これにPAPMまたは対照薬剤をいろいろな濃度に添加し, 基質の加水分解初速度の変化を指示薬を使った酸測定法で検討した。*K_i*値はその成績を基としてLineweaver-Burk plot法で求めた。

永久的または半永久的 β -lactamaseの不活化はFISHER⁴⁾法による希釈法で検討した。約100単位/0.1mlの β -lactamase希釈液と10mMリン酸緩衝液 (pH 7.0) に1~100 μ g/mlになるように阻害剤をマイクロチューブ中で混合し30 $^{\circ}$ C, 50分間反応させた後, 5mMの基質溶液で200倍に希釈し, 30 $^{\circ}$ C, 30分間反応後, 残存酵素活性で破壊された基質量をマクロヨード法で測定した。

β -Lactamaseの残存活性はinhibitorで処理する前のそれを100とした時の比較値で示した。

6. 各種動物のdehydropeptidase- I (DHP- I) に対するPAPMの安定性の検討

PAPMまたはIPMの0.1mg/mlまたは1.0mg/mlを含む25mM Tris 塩酸緩衝液0.5mlに, 0.01 unit のブタDHP- I (Farmitalia Carlo Erba株式会社) またはヒトDHP- I (サントリー株式会社) を含む酵素液10 μ lを加え, 0~180分間, 37 $^{\circ}$ Cで反応させた。80 $^{\circ}$ C, 5分間加熱で反応を止めた後, 基質1.0mg/mlは100倍に, 基質0.1mg/mlは10倍に希釈し, その20 μ lを濾紙円板に浸み込ませ, HI agar上に*Micrococcus luteus* ATCC 9341 5×10^6 CFU/mlを含む60 $^{\circ}$ C 溶融軟寒天を重層した上に置

き、37°C、一夜培養して薬剤の残存活性を測定した。

7. PAPMと血清補体またはマウス培養Mφとの協力的殺菌作用の検討

E. coli NIHJ JC-2を10mlのL-broth中で一夜37°C振盪培養した。これを新鮮L-brothで10,000倍に希釈し、5mlずつ試験管に分注した。4本一組とし、1本を対照とし、2本目にはPAPM 50%殺菌濃度 (ID_{50} : 5時間後に生菌数が接種時の50%になる濃度)を加え、3本目には0.5 unit/mlのモルモット補体と20%ヒト非働化血清 (*E. coli*の増殖に影響しない補体の最高濃度)を添加し、4本目にはPAPMと補体およびヒト血清を加えた。37°Cで振盪培養を続け、1, 3, 5および24時間後にそれぞれの一部を取り出し、適当に対数希釈して平板法で生菌数を測定した。

MφはICR♂5週齢マウスの腹腔を8mlの10% fetal calf serum加F12培地 (ニッスイ) で洗って採取し、遠心して、同培地5mlに再浮遊させた。同培地で1回洗浄後 10^6 cells/mlの浮遊液を作り、その0.1mlをカバースリッ プを洗めたCORNING cell wells (24穴) の各wellに接種し、同培地1mlを加え5%CO₂存在下、37°C、一夜培養した。翌日浮遊細胞を除き、20%L-CM⁹を加え2時間CO₂培養しMφを活性化した。各wellに一夜振盪培養した*E. coli* NIHJ JC-2菌液をMφの50倍量接種した。一部のwellには1~1/16MICのPAPMを加えた。CO₂培養5時間後にカバースリッ プを取り出し、saline Gで洗浄後、methanol固定、Giemsa染色して光顕像を撮影した。

II. 成 績

1. PAPMの試験管内抗菌力

S. aureus 49臨床分離株 (methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) を含む) に対するPAPMのMIC₅₀はTable 1のとうり、0.05μg/mlで感受性株ではIPMに劣るがCAZよりかなり強い。しかし、耐性株になるとPAPMはIPMと同程度の抗菌力を示す。MRSAだけ集めると、本剤はCAZよりはもちろん強くIPMと同程度で、MIC₅₀は6.25μg/mlである。Coagulase-negative staphylococci (CNS) に対する本剤のMIC₅₀は0.2μg/mlでCAZより強くIPMに近い。*S. pyogenes* 50株にはMIC₅₀が0.013μg/ml以下でCAZより強くIPMに等しい。 β -streptococci 15株に対する本剤のMIC₅₀も0.013μg/ml以下でCAZより強くIPM同様極めて抗菌力が強い。*S. pneumoniae* 22株に対するMIC₅₀も0.013μg/ml以下である。*Enterococcus faecalis* 39株に対しCAZは抗菌力を示さないが、本剤のMIC₅₀は1.56μg/mlでIPMに近い。しかし、*Enterococcus faecium*には本剤はIPM、CAZ同様抗菌力は弱い。

Table 2のごとく *E. coli* CS2 (R⁺) 50株に対する本剤のMIC₅₀は0.2μg/mlであり、IPMよりわずかに強くCAZと同程度である。*K. pneumoniae* 47株に対する本剤のMIC₅₀は0.1μg/mlで、IPMおよびCAZと同じく強い抗菌力を示した。*P. mirabilis* 50株に対する本剤のMIC₅₀は0.39μg/mlでIPMと同程度であるが、CAZより若干弱く、*P. vulgaris* 35株にはMIC₅₀が0.78μg/mlで、IPMより若干強かったがCAZには劣った。*Providencia rettgeri* 29株に対する本剤のMIC₅₀は1.56μg/mlでIPM同様CAZより若干強く、*Morganella morganii* 50株には本剤のMIC₅₀は1.56μg/mlで、IPMと等しくCAZには劣った。*Serratia marcescens* 50株に対するMIC₅₀は0.2μg/mlで、CAZと同程度でIPMより若干強かった。*E. cloacae* 50株には本剤、IPMのMIC₅₀は0.39μg/mlでCAZよりかなり強かった。*Citrobacter freundii* 50株には本剤とIPMのMIC₅₀は0.2μg/mlでCAZよりかなり強く、*P. aeruginosa* 50株には本剤のMIC₅₀は6.25μg/mlでIPMには若干劣ったがCAZと同程度であった。*Pseudomonas cepacia* 33株に対する本剤のMIC₅₀は12.5μg/mlでIPMおよびCAZより若干抗菌力が弱かった。*Xanthomonas maltophilia* 29株に対するPAPMのMIC₅₀はIPM同様100μg/mlを越え、CAZのMIC₅₀ 1.56μg/mlよりもはるかに高かった。*Acinetobacter calcoaceticus* 29株に対する本剤のMIC₅₀は0.2μg/mlでIPMに等しくCAZよりかなり強かった。ABPC耐性*H. influenzae* 23株に対する本剤のMIC₅₀は0.39μg/mlでIPMよりは強かったがCAZには及ばなかった。嫌気性菌*B. fragilis* 40株に対するPAPMのMIC₅₀は0.78μg/mlでIPMのそれに等しく、CAZの25μg/mlと比べるとかなり抗菌力は強かった。

2. 作用点PBP_sに対するPAPMの結合親和性

PAPMは*S. aureus* 209PのPBP 1および3に強い親和性を示し、その程度はFig. 1aのごとくIPMと同程度であった。*E. coli* NIHJ JC-2に対してはPAPMはFig. 1bのごとくPBP2に最も親和性が高く、続いて1a, 1bによく結合した。その程度はIPMより強かった。*S. marcescens* 13のPBPに対してはFig. 1cのごとくPAPMはPBP 2, 3, 1b, 1c, 1aに高い親和性を示しIPMより強かった。*P. aeruginosa* PAO-1に対するPAPMの結合親和性はすべての画分に、より抗菌力の強いIPMよりも結合親和性が強かった (Fig. 1d)。

3. 各種β-lactamaseに対するPAPMの一時阻害作用

PAPMはIPM同様、Table 3のごとくIaおよびIc型CEPaseには小さな*K_i*値を示し、さらに*P. mirabilis* JY10のIib型β-lactamaseにはIPMより強い一時阻害力(小

Table 1. Antibacterial activities of panipenem and reference drugs against clinical isolates of Gram-positive bacteria

strain(No.)	Drug	MIC($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Staphylococcus aureus</i> (49)	panipenem	0.025 ~ 50	0.05	0.78
	imipenem	≤ 0.013 ~ 50	0.025	0.39
	ceftazidime	3.13 ~ 100	25	>100
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (48)	panipenem	0.05 ~ 100	6.25	50
	imipenem	0.025 ~ 100	6.25	50
	ceftazidime	25 ~ >100	>100	>100
Coagulase-negative staphylococci (42)	panipenem	≤ 0.013 ~ >100	0.2	100
	imipenem	≤ 0.013 ~ >100	0.1	100
	ceftazidime	3.13 ~ >100	12.5	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> (50)	panipenem	≤ 0.013 ~ 0.05	≤ 0.013	≤ 0.013
	imipenem	≤ 0.013 ~ 0.05	≤ 0.013	≤ 0.013
	ceftazidime	0.05 ~ >100	0.1	0.39
β -streptococci (15)	panipenem	≤ 0.013	≤ 0.013	≤ 0.013
	imipenem	≤ 0.013	≤ 0.013	≤ 0.013
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (22)	panipenem	≤ 0.013	≤ 0.013	≤ 0.013
	imipenem	≤ 0.013	≤ 0.013	≤ 0.013
	ceftazidime	0.1 ~ 12.5	0.2	0.39
<i>Enterococcus faecalis</i> (39)	panipenem	0.1 ~ 3.13	1.56	1.56
	imipenem	0.05 ~ 1.56	0.78	1.56
	ceftazidime	3.13 ~ >100	>100	>100
<i>Enterococcus faecium</i> (42)	panipenem	0.2 ~ >100	>100	>100
	imipenem	0.1 ~ >100	>100	>100
	ceftazidime	>100	>100	>100

きな*Ki*値)を示した。III(TEM)型およびIVb型のPCaseに対してはIPM, SBT, CVAより*Ki*値が大きかったが、V型に対してはSBTやCVAのそれよりも小さかった。PAPMは一時阻害力でみれば各種 β -lactamaseに比較的平均的な阻害力を示した。

β -Lactamaseに対する不活化作用は希釈法で検討した限りFig. 2a~fに示すごとくIa, IVbおよびIII(TEM)型 β -lactamaseには、IPMより不活化力は弱かったが、Ic, IIbおよびV型 β -lactamaseにはIPMと同程度の不活化作用を示した。

4. ブタおよびヒトDHP- I に対する安定性

Fig. 3aに示すとうり、PAPMはブタのDHP- I に対してIPMより安定であった。IPMは基質濃度を変化させてもDHP- I に対する安定性はそれほど変化しないが、PAPMは1.0 $\mu\text{g/ml}$ の基質濃度の時の方が0.1 $\mu\text{g/ml}$ の時よりもかなり安定性が高かった。

ヒトDHP- I に対してもFig. 3bのごとく、PAPMは

IPMより安定性が高かった。PAPM/BPに配合されたbenzoylalanineはPAPMのDHP- I に対する安定性に全く影響を与えなかった。

5. PAPMと血清補体またはマウス培養M ϕ との協力的殺菌作用

PAPMは血清補体とはFig. 4のごとく協力的殺菌作用を*E. coli* NIHJ JC-2に対し示さないが、マウス培養M ϕ とはFig. 5 a~fのごとく強い協力的食菌殺菌作用を示し、*E. coli*生細胞はわずか1/8MICの本剤存在下でM ϕ によく食菌消化された。

III. 考 察

PAPM/BPの活性成分PAPMは、*S. aureus*および*E. faecalis*を含むグラム陽性菌から*P. aeruginosa*, *Acinetobacter*等ブドウ糖非発酵菌を含むグラム陰性桿菌にわたり強い抗菌力を示す抗菌域の広い抗生物質である。嫌気性菌の*B. fragilis*にもoxime型セフェムより抗菌力が強い。本剤が抗菌力を示し得ないのは、*E.*

Table 2. Antimicrobial activities of panipenem and reference drugs against clinical isolates of Gram-negative bacteria

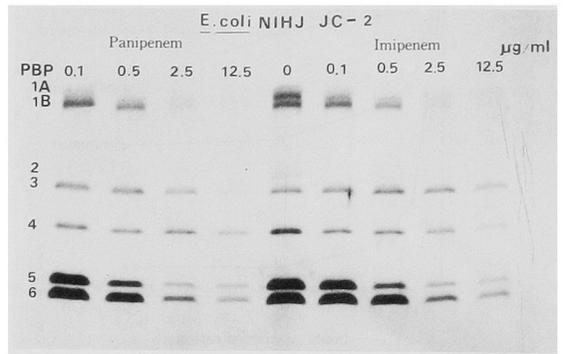
strain(No.)	Drug	MIC(μ g/ml)		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Escherichia coli</i> CS2 (R+) (50)	panipenem	0.1 ~ 0.39	0.2	0.2
	imipenem	0.1 ~ 0.39	0.39	0.39
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.2	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (47)	panipenem	0.1 ~ 1.56	0.1	0.2
	imipenem	0.1 ~ 1.56	0.1	0.2
	ceftazidime	0.025 ~ 1.56	0.1	0.78
<i>Proteus mirabilis</i> (50)	panipenem	≤ 0.013 ~ 3.13	0.39	0.78
	imipenem	≤ 0.013 ~ 1.56	0.39	0.78
	ceftazidime	0.025 ~ 0.1	0.05	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> (35)	panipenem	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56
	imipenem	0.2 ~ 6.25	1.56	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 0.78	0.05	0.2
<i>Providencia rettgeri</i> (29)	panipenem	0.39 ~ 25	1.56	25
	imipenem	0.39 ~ 6.25	1.56	6.25
	ceftazidime	0.05 ~ 25	3.13	12.5
<i>Morganella morganii</i> (50)	panipenem	0.2 ~ 3.13	1.56	1.56
	imipenem	0.05 ~ 3.13	1.56	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 25	0.2	6.25
<i>Serratia marcescens</i> (50)	panipenem	0.1 ~ 25	0.2	12.5
	imipenem	0.1 ~ 12.5	0.39	6.25
	ceftazidime	0.1 ~ >100	0.2	6.25
<i>Enterobacter cloacae</i> (50)	panipenem	0.1 ~ 3.13	0.39	0.78
	imipenem	0.1 ~ 3.13	0.39	0.78
	ceftazidime	0.1 ~ >100	25	>100
<i>Citrobacter freundii</i> (50)	panipenem	0.1 ~ 0.78	0.2	0.78
	imipenem	0.2 ~ 0.78	0.2	0.39
	ceftazidime	0.2 ~ >100	3.13	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	panipenem	0.78 ~ 50	6.25	12.5
	imipenem	0.78 ~ 25	1.56	3.13
	ceftazidime	0.78 ~ >100	3.13	50
<i>Pseudomonas cepacia</i> (33)	panipenem	12.5 ~ 25	12.5	25
	imipenem	3.13 ~ 6.25	6.25	6.25
	ceftazidime	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (29)	panipenem	1.56 ~ >100	>100	>100
	imipenem	0.2 ~ >100	>100	>100
	ceftazidime	0.39 ~ >100	1.56	25
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (29)	panipenem	0.1 ~ 25	0.2	1.56
	imipenem	0.1 ~ 3.13	0.2	0.78
	ceftazidime	0.1 ~ 25	6.25	25
Ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> (23)	panipenem	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78
	imipenem	0.1 ~ 1.56	1.56	1.56
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
<i>Bacteroides fragilis</i> (40)	panipenem	0.2 ~ 6.25	0.78	1.56
	imipenem	0.2 ~ 6.25	0.78	1.56
	ceftazidime	6.25 ~ >100	25	>100

Table 3. K_i values of panipenem and others against various β -lactamases

RS. C.	β -lactamase		K_i (μ M)				
			panipenem	imipenem	sublactam	clavulanic acid	flucloxacillin
I a	MS. C.	<i>Enterobacter cloacae</i> Nek39	0.4	0.140	78.3	496	0.0007
I c	CEPase	<i>Proteus vulagris</i> 33	0.011	0.160	1.52	0.53	1.21
IIb		<i>Proteus mirabilis</i> JY10	0.47	8.47	0.41	0.089	45.8
III	PCase I	<i>Escherichia coli</i> CSH2/RK1	4.60	2.30	0.69	0.30	20.8
IVb		<i>Klebsiella pneumoniae</i> 42	5.50	1.38	0.96	0.26	17.5
V	PCaseII	<i>Escherichia coli</i> CSH2/RE45	2.35	4.13	32.8	12.5	N.D

1a : *Staphylococcus aureus* 209P

1b : *Escherichia coli* NIHJ JC-2



1c : *Serratia marcescens* 13

1d : *Pseudomonas aeruginosa* PAO-1

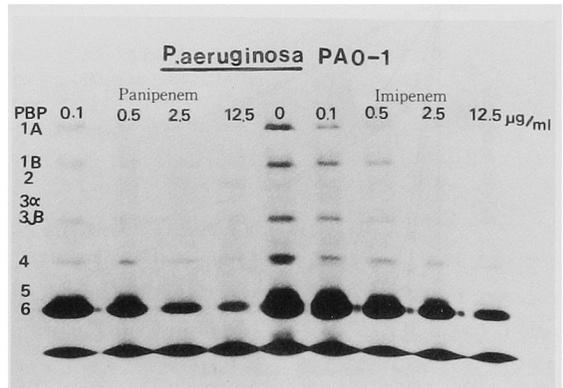
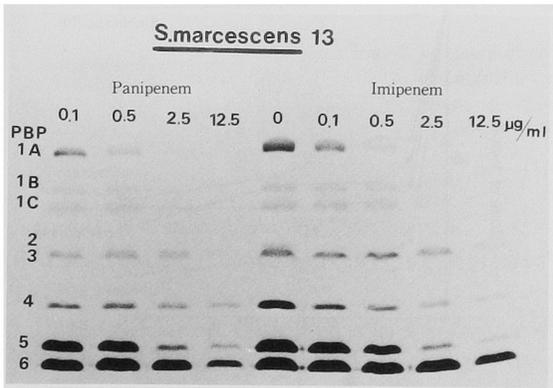


Fig. 1. Competition of panipenem and imipenem for bacterial penicillin-binding proteins (PBPs)

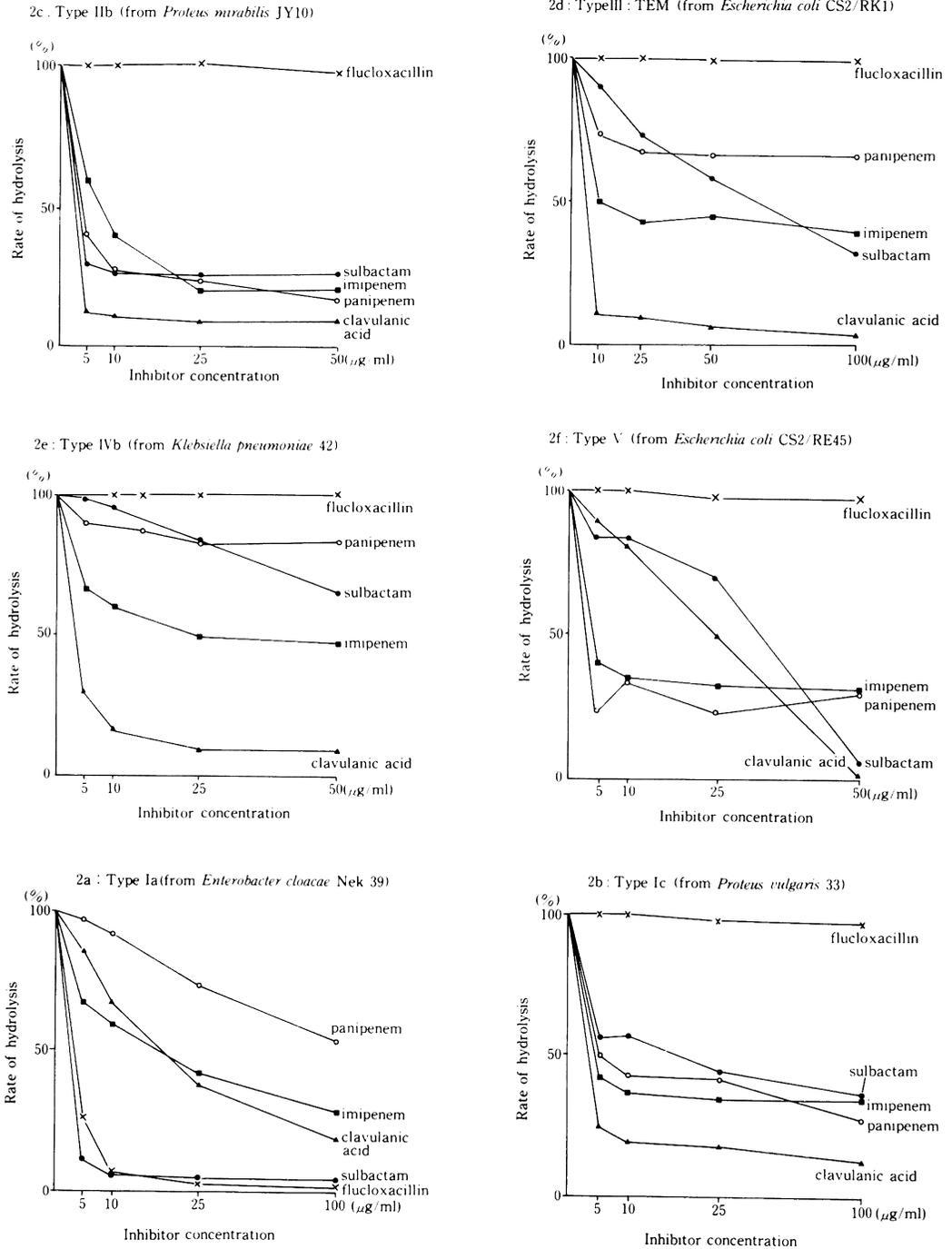


Fig. 2. Permanent inactivation of various types of β -lactamases by panipenem and others (Dilution method)

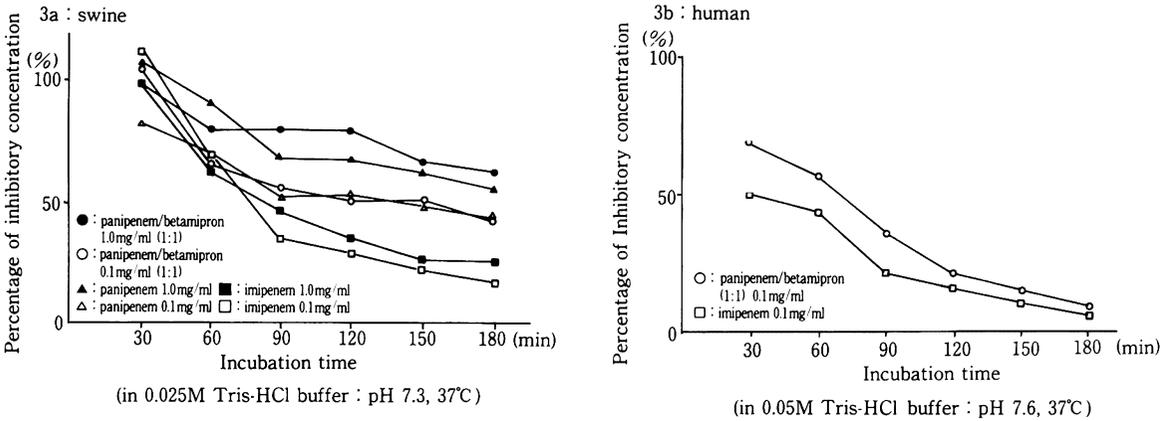


Fig. 3. Enzymatic degradation of panipenem and imipenem by dehydropeptidase I purified from the kidney of pigs or human beings (0.01 units of DHP-I)

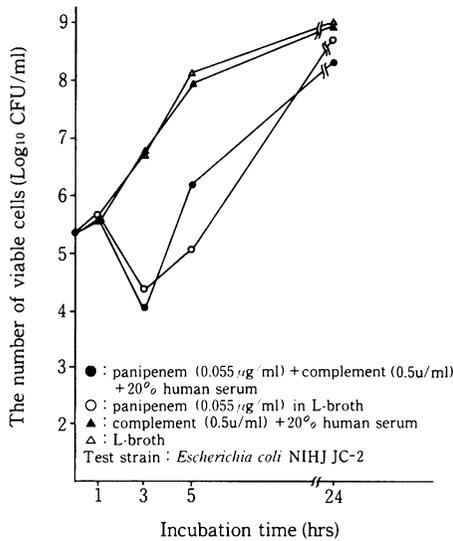


Fig. 4. Influence of complement of the highest concentration manifesting little growth inhibitory effect on *Escherichia coli* NIHJ JC-2 on the ID_{50} of panipenem (0.055 $\mu\text{g/ml}$)

faecium, *X. maltophilia*等種類が限られる。また、PAPMはIPMより*P. aeruginosa*に対する抗菌力がわずかに弱い。

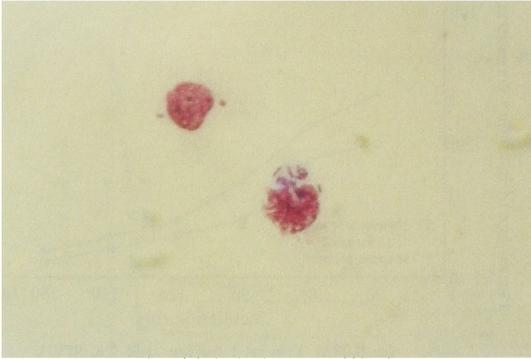
PAPMはIPM同様、作用点PBPのうち新しいムレイン合成開始を指令する酵素、すなわち*E. coli*のPBP 2等に親和性が強い。IPMより隔壁合成酵素PBP 3に対する親和性がわずかに強いので、本剤の存在下で培養された菌はIPM存在下で培養された菌より直径の大きな球形に変わることが考えられ、事実M ϕ との協力作用を

みる顕像でそれが確認された。

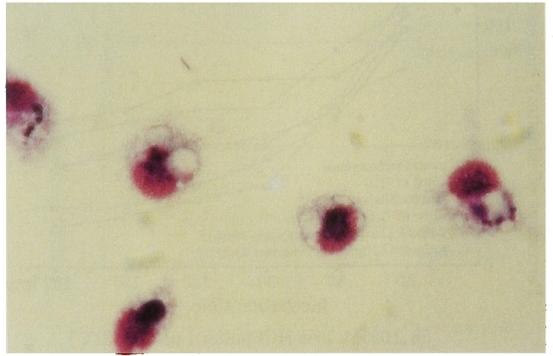
PAPMはDHP- Iに破壊されるが、 C_{max} 程度の濃度では比較的分解されにくい。さらにヒトDHP- Iのカルバペネムに対する親和性はネズミのそれよりかなり弱いので(未発表成績)、ヒトにおける臨床効果はDHP- I阻害剤を併用しなくとも比較的良好なことが想像される。

PAPMの補体との協力的殺菌作用は強くないが、感染防御で最も大事なM ϕ との協力作用が強いので*in vivo*

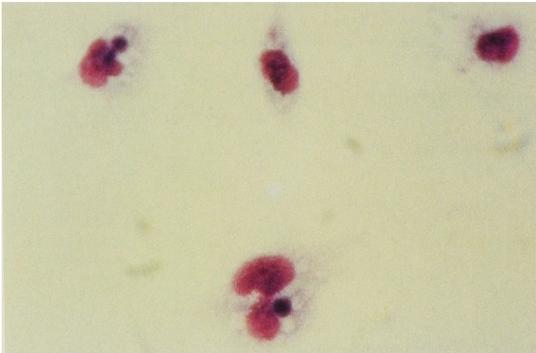
5a control



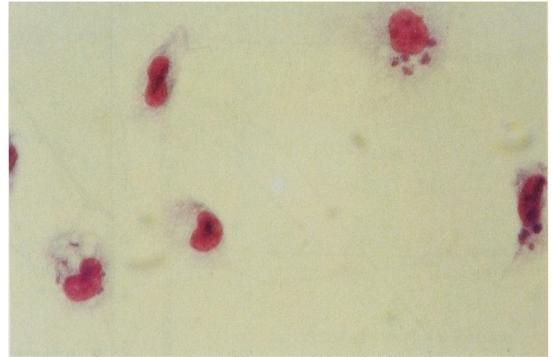
5b 1 MIC



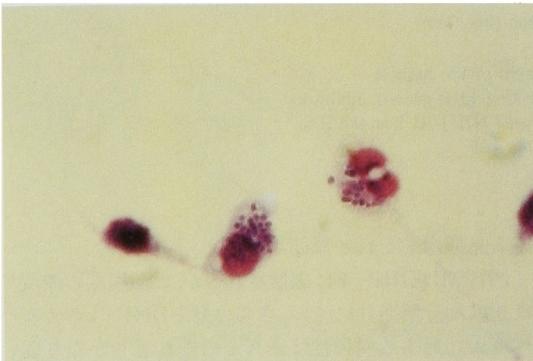
5c 1/2 MIC



5d 1/4 MIC



5e 1/8 MIC



5f 1/16 MIC

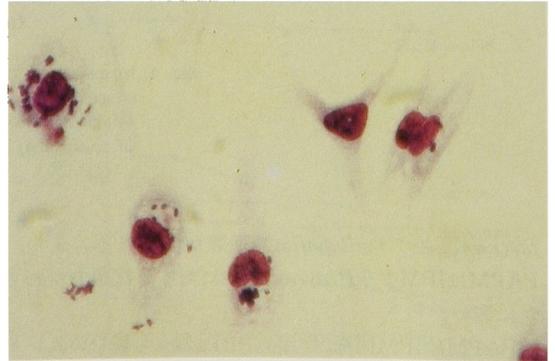


Fig. 5. Phagocytosis of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 by mouse cultured macrophages in the presence of sub MIC of panipenem

効果が優れる可能性がある。

PAPMはその安全性がヒトで確認されれば, 抗菌域が広く殺菌性の強い抗生物質としてその有用性が期待される。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981
- 2) Spratt BG : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K12. Proc Nat Acad Sci USA 72 : 2999~3003, 1975
- 3) 横田 健, 関口玲子, 東 映子 : Cefmenoxime (SCE

-1365) の各種 β -lactamase およびペニシリン結合蛋白質に対する親和性とその抗菌力との関係。Chemotherapy 29 (S-1) : 32~41, 1981

- 4) Fisher J, Charnas RC, and Knowles JR : Kinetic studies on the inactivation of *Escherichia coli* (R) TEM β -lactamase by clavulanic acid. Biochemistry 17 : 2180~2184, 1978
- 5) Nozawa R T, Yokota T : Inhibition by glucocorticoids and cholera toxin of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of newborn hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth). Cell Physiol 100 : 351~364, 1979

PANIPENEM, ITS *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY, BINDING AFFINITY TO BACTERIAL PBP_s, INACTIVATION OF β -LACTAMASES, STABILITY TO DHP-I, AND SYNERGY IN BACTERICIDAL EFFECT WITH COMPLEMENT OR MOUSE CULTURED MACROPHAGES

Takeshi Yokota, Kayoko Kanda, and Eiko Suzuki

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University
2-1-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

Fifty percent minimum inhibitory concentrations (MIC₅₀) of panipenem (PAPM) that is the active carbapenem in panipenem/betamipron (PAPM/BP) were 0.05, 6.25, 0.2, ≤ 0.013 , ≤ 0.013 , ≤ 0.013 , 1.56, >100, 0.2, 0.1, 0.39, 0.78, 1.56, 1.56, 0.2, 0.39, 0.2, 6.25, 12.5, 0.2, >100, 0.39, and 0.78 $\mu\text{g/ml}$ against 15 to 50 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, β -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Xanthomonas maltophilia*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*, and *Bacteroides fragilis*, respectively.

PAPM manifested strong binding affinities to penicillin-binding protein (PBP) 1 and 3 of *S. aureus*, PBP 2s of *E. coli*, *S. marcescens*, and of *P. aeruginosa*, those are considered as the initiation enzyme of new murein-synthesis.

PAPM inactivated types Ic, IIb, and V of β -lactamases at the same level as imipenem (IPM), although manifested weaker inactivation to other types of the enzyme than IPM.

PAPM showed little synergy in bactericidal effect with the complement. PAPM, however, manifested a good synergy with mouse cultured macrophages. Living cells of *E. coli* NIHJ JC2 were well engulfed and rapidly digested by the macrophages in the presence of higher than 1/8 MIC of PAPM.

PAPM was more stable to swine and human dehydropeptidase-I than IPM.