

第39回日本化学療法学会総会

会期: 平成3年6月5~7日

会場: シェラトン・グランデ・トーキョーベイホテル&タワーズ

会長: 横田 健 (順天堂大学医学部細菌学教室)

国際特別講演 (I): 「 β -ラクタム剤の基礎と臨床」ブドウ球菌における β -ラクタム剤
の作用標的

今田 哲

武田薬品工業・研究開発本部・生物研究所

β -ラクタム剤は優れた抗菌力と安全性を持つ最も理想的な薬剤として化学療法の主流を占めている。1970年代から1980年代にかけて精力的に行われた開発研究の結果、多数の優れた β -ラクタム剤が臨床に使用されるようになっただけでなく、細菌学的研究、作用機序の研究、化学的研究、体内動態の研究などが総合されて、 β -ラクタム学ともいえるひとつのジャンルを形成している。本講演では、 β -ラクタム剤の基礎側の話題としてブドウ球菌における β -ラクタム剤の作用標的を取上げ、感性ブドウ球菌の4つのペニシリン結合蛋白 (PBP), およびMRSA特有のPBP 2'の機能について、最近我々の研究室で得られた成績を紹介する。

あらゆる細菌には複数のPBPが存在する。大腸菌を始めとするグラム陰性菌についてはそれらのPBPが細胞壁合成、菌の形態形成の制御、あるいは隔壁形成などの異なったプロセスをつかさどっていることが、1975年のSpratt・Pardeeの特筆すべき研究以来、逐次明らかにされ、 β -ラクタム剤の作用標的がその機能と抗菌作用との関連から整理された概念として把握されている。一方、ブドウ球菌は現在MRSAの問題を中心に化学療法の主要な対象となっているにもかかわらず、PBPの研究は著しく立ち遅れている。その要因としては、PBPの研究が最も活発に行われた期間にはグラム陰性菌が治療ないし薬剤開発の対象として重視されていた背景もあろうが、より直接的には、各PBPに選択的に作用する β -ラクタム剤によるグラム陽性球菌の形態変化が、グラム陰性菌のように光学顕微鏡レベルで観察できるほど顕著でないためと考えられる。そこで今回の一連の研究では、まずブ

ドウ球菌の各PBPを選択的に阻害する β -ラクタム剤を見だし、各PBPが単独あるいは複合阻害されたときの菌の形態変化、増殖、細胞壁合成を詳細に調べた。なお、実験には標準株209P株と臨床分離MRSA株を用いた。

1. ブドウ球菌の各PBPに特異的に作用する化合物の選択: 感性ブドウ球菌には通常4種のPBPが検出される。多数の β -ラクタム剤について [14 C]ペニシリンGの結合を阻害する作用を調べたところ、クロキサシリン、セフチゾキシム、セファレキシムおよびセフォキシチンがある濃度領域で、細胞膜画分あるいは生育条件下の菌のPBP 1, 2, 3および4をそれぞれ選択的に阻害することを見出した。

2. 特定のPBPが阻害されたときの菌の形態: ブドウ球菌では正確な形態変化を光学顕微鏡で観察することが困難なので、超薄切片の電子顕微鏡的観察を行った。薬剤無処理菌では所定の位置から隔壁形成が規則的に起こり、隔壁形成終了後娘細胞の間に明瞭な分離帯が生じる。次の隔壁形成は娘細胞が分離されてから初めて開始される。PBP 1をクロキサシリンで選択的に阻害すると、細胞は直径で約2倍に膨大化し、異常な隔壁形成が無秩序に様々な位置から開始される。クロキサシリンの濃度をほかのPBPも阻害される濃度まで上げると、隔壁形成開始箇所から溶菌が起こる。PBP 2をセフチゾキシムで選択的に阻害すると細胞は直径で約1.5倍に膨大化し、細胞壁は隔壁を含めて著しく菲薄化する。PBP 3をセファレキシムで選択的に阻害すると細胞は直径で約1.5倍膨大化する。隔壁は所定の位置から形成されるが、完成後も分離帯が生じず、娘細胞が二分される前に次の隔壁形成がプログラムされた位置から始まる。PBP 4をセフォキシチンで選択的に阻害しても細胞の形態にはほとんど変化は見られないが、細胞壁の密度は低下する。

3. 特定のPBPが阻害されたときの菌の生育ならびに高分子合成におよぼす影響: PBP 1のみの阻害がみられる濃度のクロキサシリンでは生育濁度では影響はみられず、生菌数もわずかに低下するだけである。しかし、PBP 1に加えて2および3も若干阻害され

る濃度まで上げると溶菌が観察され、あわせて強い殺菌作用がみられた。これらの変化はさきの形態変化と一致する。セフチゾキシムはPBP 2を選択的に阻害する範囲内で濃度に依存した生育抑制を示したが、殺菌・溶菌作用は示さなかった。また、PBP 2の阻害に伴って細胞壁ペプチドグリカンの合成(N-アセチルグルコサミンの取り込み)阻害がみられた。このことは形態観察での細胞壁の菲薄化現象と一致する。他のPBPの単独阻害ではペプチドグリカンの合成は阻害されなかった。セファレキシンによるPBP 3の完全阻害では生育濁度でみる限り変化はなかったが、生菌数増加はやや抑制された。PBP 4の単独阻害は生育濁度にも生菌数増加にもまったく影響をおよぼさなかったが、PBP 1および3と同時にPBP 4を阻害した場合には著しい溶菌促進作用がみられた。

4. 各PBPの役割と阻害の影響:各PBPの機能とその阻害による効果は表のように推定される。

PBP 1が阻害されると異常な細胞壁および隔壁形成が起こる。このような状態で蛋白質などの高分子合成が継続して細胞は肥大し、やがて内圧に耐えかねて溶菌する。すなわちPBP 1は隔壁形成を制御していると考えられる。PBP 2はブドウ球菌ではペプチドグリカン生合成の主要酵素であり、その阻害は細胞壁の菲薄化を起こす。PBP 3が阻害されるとややびつな隔壁ができる。このPBPも隔壁形成の制御に関与している可能性が高いが、その役割はPBP 1ほど重要ではなく、その阻害による障害は細胞の分離を遅らせる程度の軽度なものに止まる。PBP 4は一見何の役割もないようにみえるが、ペプチドグリカンの架

橋を増す活性が知られており、それがPBP 1および3と同時に阻害されると著しい溶菌促進作用がみられるので、細胞壁を強固にする機能を有していることが示唆される。

5. MRSAのPBP 2'の機能:MRSAでは β -ラクタム剤に低親和性のPBP 2'の産生が耐性の原因になっていることがよく知られている。そこでPBP 2'が上記のPBP 1, 2, 3および4のどの機能を代償するかを検討した。構成的にPBP 2'を産生するMRSAを50 μ g/mlのメチシリンの存在下で培養した菌の膜画分を用いて[¹⁴C]ペニシリンGによるフルオログラフィーを行うと、PBP 2'のみしか検出されない。このようなPBP 2'のみが機能している条件下では菌の増殖が若干制御されるものの、溶菌は起こらない。その時の菌の形態は感性の209 P株をPBP 3の選択的阻害剤であるセファレキシン存在下で培養した時のものと酷似し、娘細胞の分離前に次の隔壁形成が生じていた。したがって、PBP 2'にはPBP 3の機能がないと考えられる。PBP 2'はPBP 4の機能も持たないと報告されているので、PBP 1および2の機能を代償するPBPであることが示唆される。

結語:グラム陰性菌について β -ラクタム剤の作用標的が抗菌力、作用点との関係から整理された概念として提示されてから15年以上になるが、グラム陽性菌に関する研究はなぜか放置されていた。前述のとおりブドウ球菌は現在化学療法の主ターゲットのひとつになっているが、今回の検討結果からその β -ラクタム剤の作用標的について、ある種の枠組みを提示できたのではないかと考えている。しかし、それはこれからの研究の方法論の一部を示唆するものにしか過ぎない。今後は、以上得られた枠組みのうえに作業仮説を立て、分子生物学的手法も駆使して、さらに詳細を明らかにすることにより、ブドウ球菌感染症により有効な β -ラクタム剤、特に現在化学療法の最大の課題であるMRSA感染治療薬の開発、あるいは併用療法の理論的基礎の確立に役立てられればと考えている。

(共同研究者:小此木研二, 中尾雅文, 野路弓子)

Clinical Significance of Beta-Lactam Antibiotics

Harold C and Neu M D

F.A.C.P., College of Physician & Surgeons,
Columbia University, New York

Penicillin was first used to treat infections in man 50 years ago. Since that time numerous beta-lac-

表. ブドウ球菌の各PBPの機能

PBP	推定される機能 (β -ラクタム剤の攻撃対象としての特記すべき意義)
1	隔壁形成開始部位の決定 隔壁形成の制御 (阻害は溶菌・殺菌に必須)
2	ペプチドグリカン生合成の主要酵素 (静菌作用)
3	娘細胞の分離 (PBP 1との同時阻害で溶菌・殺菌促進)
4	細胞壁の補強=架橋の増加 (他のPBPとの同時阻害は溶菌を著しく促進)

tams have been synthesized—penams, penems, carbapenems, oxacephems, and clavams. The reason for the large number of Beta-lactams is that bacteria have evolved excellent mechanisms of resistance via alteration of outer membranes, altered PBPs, beta-lactamases, or combinations of the mechanisms. Beta-lactams currently are the agents of choice to treat out-patient respiratory infections due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*. The availability of beta-lactamase stable oralcephalosporins or penicillin-beta-lactamase inhibitor concentrations makes flexible dosing programs possible. Beta-lactams also are particularly useful for skin, skin-structure infections because of anti-streptococcal and anti-staphylococcal activity. The excellent activity of beta-lactams against the mixed aerobic and anaerobic flora found in surgical and gynecological infections has permitted use of beta-lactams as single therapeutic agents instead of combinations of drugs. It is in treatment of life-threatening infections such as meningitis, endocarditis, and sepsis that beta-lactam antibiotics have had their greatest impact. Third generation cephalosporins are a mainstay of therapy for meningitis, and older agents such as penicillin, nafcillin, and oxacillin are ideal for streptococcal and staphylococcal endocarditis. In the era of immunosuppression, cancer chemotherapy, and transplantation, anti-pseudomonas penicillins, cephalosporins, and carbapenems are initial choices until culture results are available. Beta-lactams also are the agents of choice for many prophylactic procedures—prevention of rheumatic fever, endocarditis, post-operative infections. Nonetheless, there are infections for which new beta-lactams with either improved antimicrobial activity or pharmacodynamic properties are needed. The next decade should see continued use of beta-lactams both in and outside the hospital.

国際特別講演 (II): ニューキノロンの基礎と臨床

Molecular Mechanisms of Antibacterial Activity of New Quinolones

Linus L Shen

Anti-infective Research Division, Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois 60064 U.S.A.

Quinolones are a group of low molecular-weight, synthetic and extremely potent antibacterial agents. The functional target of these drugs has been identified to be the DNA gyrase, a type II DNA topoisomerase that exists only in bacteria. DNA gyrase is an essential enzyme for cell viability, and is known to control the superhelical density of DNA in the cell and to resolve any topologically constrained DNA structures that arise during DNA replication and transcription. DNA gyrase catalyzes the ATP-dependent supercoiling reaction and relaxation reaction (in the absence of ATP) via a series of concerted DNA breaking, gateopening, strand passing and resealing processes. The hallmark of quinolone action is their unique ability to stabilize the transient enzyme-DNA intermediate, termed 'cleavable complex', that upon addition of a protein denaturant converts to linear DNA with newly revealed 3'-end attached covalently to the enzyme subunit. The formation of such complex has been shown to be responsible for the cell killing via a hitherto unknown cellular process.

Extensive investigations have been carried out in our laboratory in an effort to understand at molecular level how quinolones stabilize the cleavable enzyme-DNA complex. Initial studies indicated that, contrary to prior belief, the drug binds directly to pure DNA, but not to the enzyme (1). From this aspect, quinolones may therefore be classified as DNA-targeted drugs in a broader sense. Three levels of drug binding specificity to DNA have been observed (2, 3): (i) at the structure level the drug binds preferentially to the single-stranded DNA rather than the double-stranded, (ii) at the unpaired nucleotide level it binds better to guanine than other bases, (iii) at enzyme inhibition level, however, the binding specificity is further con-

trolled by the bound enzyme. Further detailed studies carried out in our laboratory have allowed us to propose an inhibition model (4): the drug molecules bind to a DNA site induced by the bound enzyme, possibly to the partially denatured DNA "bubble" created during the intermediate gateopening step. These small drug molecules acquire high binding affinity to this specific DNA site through a cooperative binding mechanism that involves self-associations among the drugs at the binding site as proposed. The model explains most of the structure-activity relationship of quinolones including, for example, that of ofloxacin stereoisomers. The model also provides a plausible explanation of quinolone resistance mutations that were found to occur either in *gyr A* or *gyr B*, the structural genes of the enzyme subunits A and B, respectively.

Some prospectives on quinolones as future chemotherapeutic agents: (i) Quinolones of certain structural types may be designed to act specifically on mammalian or fungal topoisomerases II; this is derived from the fact that the proposed binding site is at the double-stranded DNA gate that also forms during the catalytic process of all type II topoisomerases. (ii) Capitalizing on their ability to interact with DNA, through either single-stranded DNA binding or intercalation, quinolone anticancer drugs independent of topoisomerase action may be discovered or designed in the future.

REFERENCES:

- 1) Shen and Pernet (1985) Proc. Natl. Acad. Sci., USA 82: 307~311
- 2) Shen et al. (1989) J. Biol. Chem. 264, 2973~2978
- 3) Shen et al. (1989) Biochemistry 28, 3879~3885
- 4) Shen et al. (1989) Biochemistry 28, 3886~3894

ニューキノロン薬の臨床

副島林造

川崎医科大学呼吸器内科

1980年にNFLXが開発されて以来、相次いでOFLX, ENX, CPMX, LFLX, TFLXなど6種のニューキノロン薬が本邦で市販されており、現在さら

に数多くのもが開発中である。これらニューキノロン薬はオールドキノロンに較べて *P. aeruginosa* を含むグラム陰性菌に対する抗菌力の強化と殺菌性、*S. aureus* などグラム陽性菌に対する抗菌スペクトラムの拡大、さらに良好な組織移行性など数多くの特性を有している。しかも経口薬であるため外来患者への使用も容易であり、その使用状況をみても1984年当時に比し5年間で約10倍近い増加を示している。このことはニューキノロン薬の優れた臨床効果のあらわれとも考えられるが、他方乱用を指摘するものもあり、すでに菌種によっては耐性化が目立ち始めている。

ニューキノロン薬の優れた特性をいかに臨床の場で有効に生かしていくかということが、臨床家のこれからの重要な課題であると考えられる。しかも一口にニューキノロン薬といっても抗菌力、体内動態、薬物相互作用などそれぞれ異なる面があり、これらの特徴を熟知した上で使い分ける必要もある。現時点におけるニューキノロン薬の臨床適応、使用上の問題点などについて述べる。

ニューキノロン薬の臨床適応

本邦におけるニューキノロン薬の適応疾患は幅広く認められているが、世界的にみて第一選択と考えられる感染症は、cystic fibrosisを含む慢性気道感染症、淋菌性尿道炎を主とする尿路感染症、前立腺炎、腸管感染症および骨髄炎、などである。

慢性気道感染症についてはその主要病原菌は *H. influenzae* と *P. aeruginosa* であり、ニューキノロン薬は第一選択薬と考えられる。しかも経口薬であるために、これら慢性気道感染症の外来治療が可能となり、事実慢性気道感染症の入院患者は著明に減少している。しかし *S. pneumoniae* に対するニューキノロン薬の抗菌力はペニシリンなどβ-ラクタム薬に較べて必ずしも十分なものではないので *S. pneumoniae* を主とする市中肺炎に対しては、安易にニューキノロンを第一選択薬とすべきではない。

ニューキノロンの適応となる肺炎は、むしろグラム陰性菌群を主とする compromised host に発症した院内肺炎であり、このような症例に対してはやはり注射薬の検討が必要である。

尿路感染症に対しては、単純性、複雑性尿路感染症ともに他剤に比し有効な臨床効果が得られているが、特に淋菌性尿道炎に対しては本剤 200~400 mg の単回投与が有用である。

感染性腸炎特に細菌性赤痢や病原性大腸菌などでは短期間の使用でほぼ確実に除菌可能であり、従来除菌

がきわめて困難とされていた非チフス性サルモネラ症に対しても優れた効果が得られている。特に TFLX でその効果が優れているが、このような通性細胞内寄生菌であるサルモネラの除菌効果は、細胞内移行性が良好なニューキノロン薬の大きな特徴の一つであるといえる。

臨床適応の拡大

ニューキノロン薬が臨床的に有効であったと報告されたものには、レジオネラ、抗酸菌、クラミジア、マイコプラズマ、ウレアプラズマ、リッケッチアさらにニューモシスチス・カリニ感染症などがあるが、今回はクラミジア感染症と抗酸菌感性症について述べる。

各種クラミジア感染症に対する第一選択薬は MINO あるいは CAM と考えられるが、ニューキノロン薬の中では TFLX 特に SPFX の MIC が 0.06 $\mu\text{g/ml}$ と最も優れており、マウス治療実験ならびに臨床でのクラミジア肺炎に対しても有効である。もちろん *C. trachomatis* による男子尿道炎、女子の子宮頸管炎に対しては OFLX, TFLX, SPFX では、ほぼ満足すべき効果が得られており適応疾患と考えることができる。

抗酸菌に対する抗菌力は SPFX が現在最も優れているが、長期投与を必要とする抗酸菌感染症では日光過敏症などの副作用が多発する危険性がある。他方 OFLX の副作用は低いが抗菌力がやや不十分であり、近畿地区国療胸部疾患研究会での多剤耐性肺結核に対する菌陰性化率は 10% 程度である。しかも菌陰性化の得られなかった症例では高率に耐性化が認められている。他に有効な薬剤がなく進行性病変を示す抗酸菌感染症に限って使用すべきであろうと考えている。

ニューキノロン薬の使用上の問題点

• 用法、用量についての検討: 通常経口抗菌薬は 1 日 3~4 回使用が行われており、ニューキノロン薬についても 1 日 3 回使用が一般的である。しかし現在開発中の FLRX や SPFX は血中半減期が 10 時間以上と長いので、1 日 1 回投与しかも 1 回 300 mg (あるいは 200 mg) の低用量でも、呼吸器感染症に対して有効な臨床効果が得られており、同時に副作用発現も軽減される傾向にある。同じニューキノロン薬でもその特性に応じて once a day therapy が可能である。

• 薬物相互作用: ニューキノロン薬とフェンブフェンなど非ステロイド性抗炎症薬との interaction は有名であり、程度の差はあるが本系統薬にほぼ共通して認められ ENX, NFLX, CPFX では少数例ではあるが臨床例の報告もある。

次にテオフィリンとの相互作用については、ENX

のようにテオフィリンの血中濃度が 2 倍近くなり副作用が出現する可能性があるもの、CPFEX, TFLX のように 20% 前後高めるもの、NFLX, OFLX のようにほとんど変化がないものとの 3 群に大別することができる。

• 副作用: ニューキノロン薬の副作用は消化器症状、中枢神経症状、過敏症などが主たるものであるが、その発現頻度を 8 薬剤 117,534 例について検討した結果 2.21% と比較的低率であり、特に NFLX が 1.25% と最も低率であった (Table 1)。しかし OFLX 投与症例約 19,000 例について年齢別、投与量別に副作用発現率をみると 50 歳以上で、1 日 400 mg 以上投与された症例で副作用発現率が高くなる傾向が認められた。FLRX について年齢別に血中濃度を測定して比較した結果、70 歳以上の高齢者では 20 歳代に比し最高血中濃度は約 2 倍、AUC は 3 倍以上に高くなっており、(Fig. 1) 高齢者への使用に際しては投与量、投与回数を減らすなど十分な配慮が必要である。

さらに最近光線過敏症が問題になっているが SPFX, LFLX, ENX で発現しやすく、CPFEX, NFLX で発現しにくいと考えられる。しかも長期投与例に発現しやすくないはずな長期投与は避けるべきである。

• 耐性化の問題: 近年 *S. aureus* (特に MRSA) や *P. aeruginosa*, さらに *S. marcescens* などに耐性菌の出現がみられており、呼吸器由来の *S. aureus*, *P. aeruginosa* でも同様の耐性化傾向が認められている。これら耐性化の臨床効果への影響を見る目的で二重盲検比較試験での OFLX の有効率を 1984 年から 1991 年までの成績と比較してみた。幸いなことに呼吸器感染症では有効率にほとんど変化はみられず、一部の菌の耐性化による影響は少ないものと考えられた。しか

Table 1. Side effects of new quinolones

new quinolones	No. of cases	cases with side effects
NFLX	40,320	504 (1.25)
OFLX	19,398	587 (3.03)
ENX	25,026	779 (3.11)
CPFEX	15,689	231 (1.47)
LFLX	7,639	177 (2.32)
TFLX	5,528	128 (2.32)
FLRX	1,182	53 (4.48)
SPFX	2,754	133 (4.38)
Total	117,534	2,592 (2.21%)

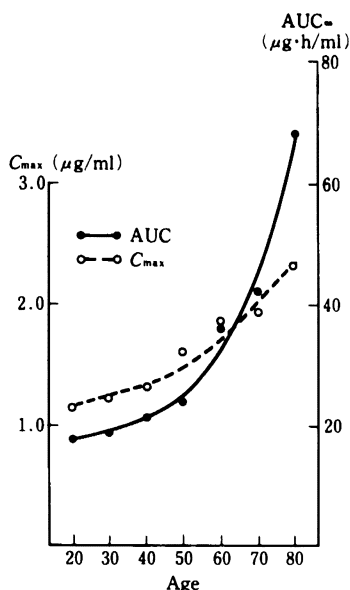


Fig. 1. Age-related C_{max} and AUC of fleroxacin.

し、1990年分離の緑膿菌では尿由来のもので65%、喀痰由来のものでも50%に耐性化が認められるとの報告もあり、耐性化は急速に進展している。早急な対応策が必要である。

おわりに

ニューキノロン薬の適応疾患として慢性気道感染症、尿路感染症、前立腺炎、腸管感染症、骨髄炎などに対してはほぼ評価が確率したものと考えられる。さらにレジオネラ症、クラミジア感染症に対しても有効性が期待できるが、抗酸菌感染症に対しては、やむを得ない症例に限って使用すべきである。

ニューキノロン耐性菌の急速な増加がみられるので早急な防止対策が必要であり、そのためには適正な使用が重要であるが、外用薬使用の制限さらに動物用薬としての製品化の禁止なども必要である。

体内動態や抗菌力などその特性に応じた適応疾患ならびに用法、用量の確立が必要である。

適切な使用が行われる限りニューキノロン薬の安全生はほぼ確立されたと考えられるが、長期使用や高齢者、特に小児への使用にはなお問題がある。安易に上気道感染症などに使用すべきではないと考えている。今後のニューキノロン薬の開発に関して、従来のものと類似の域をでないものについては厳しく評価されるべきであろうが、今後さらに画期的ニューキノロン薬が開発されることを期待している。

国際特別講演 (III): バイオフィルムの基礎と臨床

Basic Aspects of Bacterial Biofilms and Their Influence on the Anti-Bacterial Activity of Chemotherapeutics

J. William Costerton

NSERC Professor of Biofilm Microbiology
The University of Calgary,
Alberta, Canada T2N 1N4

Direct examination of device-related infections and of many other chronic bacterial infections (osteomyelitis, prostatitis, etc.), has clearly shown that the causative organisms grow in slime-enclosed microcolonies and biofilms. Conventional antibacterial antibiotics have been selected for their ability to kill floating (planktonic) bacteria in test tubes and they are notably unsuccessful in the treatment of these chronic infections in which biofilm bacteria can often withstand 25-100 X the concentration of an antibiotic that will kill a planktonic cell of the same species. Presently-used diagnostic tests are not fully predictive because they test the efficacy of antibiotics against essentially planktonic cells in broth or on agar.

Our biofilm group studies the structure of biofilms and the physiology of sessile biofilm bacteria and our modern physico-chemical methods (FTIR, NMR, Confocal Scanning Laser Microscopy-CSLM) have allowed us to demonstrate that these adherent population contain cells that are profoundly physiologically different from their planktonic counterparts and that they are embedded in an exopolysaccharide matrix of amazing complexity and plasticity. We are approaching an understanding of why biofilm bacteria are inherently resistant to phagocytic white blood cells, antibodies, surfactants, antibiotics, antiseptics, even physical forces such as drying and sonication. In essence, each biofilm cell lives within a highly protected microecosystem, within a microcolony of similar cells, and such well-defended cells are eradicated only with some difficulty

We will elaborate on the details of a large number of *in vitro* and *in vivo* methods for the assessment of

the efficacy of antibacterial agents against biofilm bacteria. We contend that the selection of antibacterial agents for their specific ability to kill biofilm bacteria will produce a new class of antibiotics that will be much more successful in the treatment of device-related and other chronic bacterial infections. In some cases these agents will be successful in the prevention of device-related infections if they can be incorporated as coatings in the materials from which these devices are made.

The continuing study of bacterial biofilms has shown that their component organisms actually grow as microcolonies in dense slime matrices that are separated by water-permeable channels. Direct observations of living biofilms, by CSLM, have shown that the specific microenvironment of some biofilm cells may be sufficiently altered (eg. pH < 3.0) as to preclude the local efficacy of specific antibiotic molecules and thus confer inherent resistance on the biofilm organisms. We will discuss means by which these protected microenvironments within biofilms may be altered to enhance the efficacy of conventional and of newly developed antimicrobial agents.

細菌バイオフィルムの臨床

小林宏行

杏林大学第一内科

はじめに

細菌は自然界において異物表面に付着し、その生息圏を得ている。この場合、「異物」とは無機物、有機物あるいは生体内組織であれかまわないわけである。細菌がこれら異質に付着している形態を電顕レベルで観察すると、そのほとんどの場合は周辺に glycoalyx を産生し、これを介して隣接する菌がたがいに凝集し、一塊となって物質の表面に強く粘着する様相がみられている。すなわち Biofilm の形成である。

この様相は、ときとして臨床的にも観察され、多くは感染症難治化の要因となっている。

本講演では、これら biofilm 形成と、その臨床的意義について演者らのこれまでの成績をまとめて述べてみたい。

1. 生体内における細菌 Biofilm の意義

1986年であった。10年来持続した緑膿菌持続排菌を有する慢性気道感染症の1症例の気道壁擦過標本か

ら緑膿菌 biofilm の存在が見い出されたのであった。

一般に緑膿菌気道感染症は除菌に困難であり、むしろこのことが緑膿菌感染症の臨床的特徴の一つともされ、いとも抵抗なく臨床医家の概念の中に受け入れられているのが現状といえよう。それゆえ、その原因は詳しく探究されようとしなかった。すなわち、MIC と治療効果のはざまに位置する細菌 biofilm という局所における菌自身の生息圏形成に目が向けられていなかったのである。

しかもこれら biofilm 形成は臨床例の検討から複雑性尿路感染症、亜急性心内膜炎、慢性骨髄炎、カテーテル留置感染症におけるカテーテル先端、体内装着機器表面などにもしばしば観察され、ときとして感染症難治化の原因となっていることが判明してきた。

2. 実験的 biofilm の形成

我々が通常観察している細菌は、*in vitro* で培養された、すなわち細菌の生育にとってきわめて至適環境で培養された細菌であり、自然界や病巣部位に生存しているそれとは少なくともその発育環境においては異なっている。一般に細菌は異所環境、特に自己の生育にとって不利な環境下におかれた場合、菌体周辺に glycoalyx を産生する。

この glycoalyx 産生は、少なくとも現象的には、細菌が周辺物質に付着 (sessile cell) した直後から観察でき、一方水中に浮遊している細菌 (planktonic cell) ではみることはできない。

ここで細菌の付着過程を観察するとき、まず細菌は対象となる異物に吸着する。この作用は主として DLVO Theory での電位差あるいは Pili などによることが多い。次いで吸着した細菌のあるものは適合組織との間に特異的に有する糖鎖結合あるいは glycoalyx を介しての非特異的付着が成立し、さらに非可逆的状態としての粘着へと進展する。ここに細菌付着という立場からの glycoalyx の意義があるようである。さらにこれら glycoalyx を介して隣接した菌はたがいに凝集し、一単位としての biofilm 形成へと進展する。これら付着特性に非特異的付着は多くの細菌が有する潜在能力の発現ともみなされ、これら現象はごく簡単に試験管内でも再現することができる。

いま、試験管内に生食水と異物としてテフロン片 (1 cm²) などを入れ、さらにこの系に菌を注入し (10⁶ ml) 37°C で放置しておく。

この場合、異物はテフロン他にビニール片、組織片でもかまわない。演者らは *P. aeruginosa* のほか *K. pneumoniae*, *S. aureus* などを用いたが、いずれも成

續は同様であり、菌量も 10^6 /ml と限定する必要はない。

テフロン片と *P. aeruginosa* の場合、細菌は1日後テフロン表面に付着し、3日後菌体周辺に glyco-calyx 産生がみられ、6日後、菌は glyco-calyx を介して凝集し、テフロン表面に biofilm が産生された。細菌 biofilm 産生は、菌自身による生息圏形成とみなすことができよう。

3. biofilm 菌と抗菌剤の作用

biofilm 形成菌に対する抗菌剤の影響を観察した。ここで対照を同一試験管内にて生食中に浮遊している菌、すなわち floating bacteria と比較した。緑膿菌を対象とし、floating bacteria に 2 MBC の抗菌剤 (ciprofloxacin, tosufloxacin, meropenem, E 1040 など) を加え、4 時間 incubate した場合、そのほとんどは殺菌されたが、biofilm 菌での殺菌率はこれらに比し有意に低値であった。

さらに、*in vivo* 環境下での biofilm を推定し、biofilm 形成過程において血漿を加えた。この場合 biofilm はさらに抵抗性となり、10 MIC の薬剤添加においてもほとんどの菌が生産し得た。また *Klebsiella* に対する cefoperazone の場合も同様であった。

すなわち、biofilm 中の菌は感受性があるにもかかわらず、これら薬剤に抵抗性があり、biofilm 中への薬剤透過性に問題があるものと考えられた。

4. 細菌 biofilm の臨床的意義

1) 臨床像の解析

一般に、biofilm の検出には気道擦過標本の電顕所見がもっとも確実であるが、この方法は日常臨床で必ずしも普遍的ではない。演者らはこれに加え喀痰中細菌のレクチン染色、グラム染色などと対比検討し、グラム染色によってもある程度 biofilm の存在が証明できるとの結果を得た。その結果、22 例の呼吸器感染症において biofilm 陽性であった。

これら疾患別内訳ではびまん性汎細気管支炎 11 例、気管支拡張症 8 例、慢性気管支炎 2 例、慢性肺炎 1 例であり、biofilm 陽性例は、びまん性汎細気管支炎と気管支拡張症例に集中して多くみられた。また、起炎菌は *P. aeruginosa* が最も多く 15 例、*K. pneumoniae* 6 例、*S. aureus* 1 例で前 2 者が大部分を占めていた。

これら症例の臨床像に共通していえることは膿性痰の長期持続、また過去 2 年間にわたりその病歴を調査した結果、それぞれの症例が同一菌種による感染憎悪を来たしたときでも CRP は 3.0 mg 以下、末梢白血球数は 10,000 以下のものが多かった。しかしなが

ら *H. influenzae* などの異種菌種の混合感染が 3 例にみられたが、この場合には強い炎症反応が示されていた。これら症例はいずれも抗菌剤治療に抵抗性であり、しだいに呼吸機能、胸部レ線所見および全身状態の憎悪がみられ、すべて進行性であった。

これらの臨床的成績は、細菌 biofilm は起炎性こそ少ないものの、長期に持続し予後を悲観的にするものと考えられた。

2) 細菌 biofilm の起炎性・定着性

そこで biofilm 菌の作用を実験的にさらに検討した。

マウスに経気道的注入、経皮的肺内接種および経尾静脈接種を行った。その結果、いずれの場合も floating 菌 (planktonic cell) 接種で短期間に死亡する菌量と同量の biofilm 菌を接種した場合、biofilm 菌では死亡率は有意に低く、また一方、4 週以上生存した群でも、肺内あるいは血中からの菌検出は可能であった。しかもこの場合、少なくとも肺組織には強い炎症所見はみられなかった。

このことは、biofilm 菌での組織付着は、いわゆる菌体周辺に産生されている glyco-calyx を介してのいわゆる間接的付着 (Sandwich 結合) であり、菌体自身の直接付着とは様相を異にすることによる。したがって、強い好中球浸潤などの局所での炎症反応が誘導されることなく、結果的に菌側にとっては有利な生息条件が獲得されるものと考えられた。

したがってこれらのことは、菌は弱い炎症反応を呈しながらも長期に生体内に存在し、さきの抗菌剤抵抗性もあいまって、臨床的には慢性難治性感染症の成立に関与しているものと考えられる。

3) biofilm と immune complex

Cystic fibrosis において、Høiby ら (Høiby et al: Ann. Rev. Microbiol. 40: 29-23, 1986) は緑膿菌のアルジネートに対する抗体が産生され、それが緑膿菌自身との間に immune complex を形成し、肺組織に付着するとともに、補体および白血球と作動し組織破壊を呈することを述べた。臨床的には Cystic fibrosis はいかに急性憎悪しても決して緑膿菌敗血症などの純粋な感染性憎悪を呈さないことが上述の説の組立根拠となっている。

事実、緑膿菌による慢性気道感染症では、敗血症を呈することもきわめてまれとされている。演者らも剖検例 1 例の検索ではあるが、かかる immune complex の肺組織破壊部位への沈着をみるとめており、biofilm disease の組織破壊性には免疫複合体の関与も十分考えられ、今後さらに検索すべきだと考えてい

る。

5. biofilm disease の対策

直接的対策は biofilm の菌を殺菌することであり、抗菌剤の biofilm 中への透過性を何らかの形で高めればよいわけである。

biofilm の構成主成分は多糖体であることから、これを融解する dextranase などの使用が考えられたが、*in vitro* biofilm に対しては別として *in vivo* biofilm においては、その表面に血小板、フィブリンさらには炎症性蛋白の付着があり、必ずしもその効果は期待できない。また放射線照射も試みたが、許容量で中の菌を殺菌することはできなかった。

近時、clarythromycin, erythromycin などが、緑膿菌性びまん性汎細気管支炎に効果があることから、biofilm 菌に対し *in vitro* でかかるマクロライドの併用実験を行った。その結果 ciprofloxacin, tosufloxacin との併用で、biofilm 中の緑膿菌は相乗的に殺菌された。しかしながら、*in vivo* 効果については現在確たる実験的成績は得られなかった。

今後さらに検討すべき課題であろうが、本質的にはさらに有効・確実な別法を考えなくてはならない。

おわりに

細菌 biofilm 感染症は一たびそれが発症すれば、きわめて難治性である。このことは、慢性気道感染症、心内膜炎、慢性骨髄炎などにみられるとおりである。一方、カテーテル先端 biofilm に由来する場合は、これを抜去することがもっとも有用な治療手段であるが、体内装着機器の場合は簡単には抜去できない。

本講演によって biofilm disease の本態はある程度明確になったと考えられるが、要はその対策法の樹立が急務であることを改めて強調する次第である。

終りに本講演の機会を与えて下さった横田会長ならびに関係各位に協同研究者とともに厚く御礼申し上げる次第である。

会 長 講 演

生物進化と耐性菌の変遷

横田 健

順天堂大学医学部細菌学教室

はじめに

自然界は現在の人智を越える巧妙さを見せる。わが国でも見られる美しい蝶アサギマダラは幼虫時代の食草ガガイモ科に含まれるアルカロイドを体内に蓄積しているの、鳥が食べると中毒し二度と補食しない。この蝶の多い台湾以南には無毒ではあるが色や形が良

く似たカバシタアゲハが生息し、鳥の補食を逃がれている。すなわち擬態である。このような巧妙な現象が進化論にいう突然変異と選択だけで生まれたのであろうか。ここでは薬剤耐性菌の変遷を生物進化の面から考えてみたい。

1. 突然変異と選択による耐性菌増加と対策

Demerec と Lederberg はそれぞれ 1948 年と 1951 年、薬剤含有培地中に菌を培養した時増加する耐性菌は、突然変異と薬剤による選択で生じることを立証した。若しこれが耐性菌増加の唯一の仕組みなら、作用の異なる 3~4 種の抗菌剤を併用すれば、耐性菌増加は相当程度防げるはずである。ある系統の薬剤に対する耐性菌の突然変異発生率を 10^{-10} /cell/division とすれば、3 系統の抗菌剤に同時に耐性となる確率は 10^{-30} /cell/division となり実際上 0 に近くなるからである。しかし併用療法が有用であったのは、結核の化学療法などに限られた。

2. 外来遺伝子による耐性菌の増加と対策

自然界では一種の微生物が純培養状に増殖する機会は少ない、多種類が混在するので、複雑な耐性遺伝子の種間移動のあることが明らかにされた。

イ. 伝達性細胞質因子 (R-plasmid: R 因子)

秋葉らと落合らは 1959 年 TC, CP, SM, SA に対する多剤耐性赤痢菌の増加に注目し、細胞接触による自己伝達能のある R 因子を発見した。R-plasmid は 60~180 kb の二重鎖 DNA で、その上に最大 7 系統の抗菌剤 (TC, CP, PCase, AGs, SA, TMP, 重金属) に対する耐性遺伝子と、接合伝達に関する遺伝子群 (性線毛産生遺伝子等) をもっている。R-plasmid はグラム陰性菌であれば、種・属・科の枠を超え伝達されるが、緑膿菌臨床分離株から得られる R-plasmid は緑膿菌以外の菌には伝達されないものが多い。

R-plasmid による耐性菌の仕組みは、TC と SA が薬剤の透過性低下、CP と AGs が薬剤不活化酵素群 (添加酵素: 側鎖修飾)、PC や第一世代 CEP が β -lactamase による加水分解で耐性化することが知られている。R-plasmid の起源について、その DNA 複製と自己伝達能に関する部分はバクテリオファージに由来すると考えられているが、耐性遺伝子がどこから来たかは明らかでない。

ロ. 非伝達性細胞質因子 (r-plasmid)

三橋らは 1965 年、黄色ブドウ球菌の多剤耐性臨床分離株の β -lactamase 産生性と EM 耐性がバクテリオファージにより同時形質導入されることを見出し、非伝達性細胞質因子、r-plasmid を発見した。この現象は当時桑原らによっても独立に報告されている。r-

plasmid は 2~56 kb の DNA で、R-plasmid よりかなり小さいが、自己伝達能に関係する遺伝子群を欠くためである。 β -lactamase 産生遺伝子をもつ r-plasmid は 20~56 kb の大きさで、重金類、MLs、AGs、TCs、CP 等の耐性遺伝子をもつものよりかなり大きい。レンサ球菌属に β -lactamase 産生株が発見されないのは大型の r-plasmid を保有できないためであろう。ブドウ球菌と腸球菌では少数伝達性のある R-plasmid をもつものがあり、また非伝達性の r-plasmid はグラム陰性菌でも発見される。

ハ. 外来遺伝子による耐性菌への対策

外来遺伝子による耐性菌の仕組みの多くは薬剤不活化酵素によるもので、一部薬剤透過性の低下が原因となる。薬剤を加水分解して抗菌力を奪う β -lactamase 産生菌に対しては、各種 β -lactamase に安定な第 3 世代 CEP や β -lactamase 阻害剤との併用が対策となっている。また側鎖修飾による薬剤不活化酵素産生菌には、標的側鎖の除去や、立体障害による酵素活性中心への薬剤結合防止が対策となる。この方法は AGs では DKB や、AMK、ISP、ABK で実用化されているが、CP 不活化酵素には対策はない。

薬剤の透過性低下や作用点変化による耐性菌には偶然の発見以外は対策が立てにくい。

3. 適応現象 (誘導酵素) による耐性菌と対策

細菌は遺伝的变化無しでも、環境に適応する程度の能力をもつ。すなわち表現型 (phenotype) の変化である。この中に必要な時だけつくられる適応酵素がある。弱毒グラム陰性桿菌が染色体性につくる cephalosporinase (CEPase) の多くは適応酵素で、CEP が存在する時だけ増産される。菌の糖分解酵素も、ブドウ糖に対するもの以外は適応酵素であるが、ブドウ糖が多量に共存すると、その糖があっても分解酵素は増産されない。利用しやすいブドウ糖があるのにほかの糖を分解する酵素をつくるのは無駄だから、この複雑な代謝調節の鍵がサイクリック AMP (cAMP) である。弱毒グラム陰性桿菌の CEPase も適応酵素ではあるが、cAMP とは関係がない。糖代謝と無関係なことを考えれば当然である。誘導型 β -lactamase 産生菌への最も効果的な対策は、 β -lactamase 阻害剤の併用である。大量に誘導された酵素の薬剤捕捉 (trapping) による耐性も解除できるからである。

4. 外来遺伝子と突然変異の組み合わせによる MRSA

MRSA は多くの r-plasmid を持ち、各種抗菌剤に抵抗性を示すうえ、染色体上離れた位置の 2 箇所が変

化して β -lactam 剤に耐性を示す、新型の多剤耐性黄色ブドウ球菌である。MRSA は β -lactam 剤に結合親和性の低い 78 KD の PBP 2' を新生しているが、その支配は *mecA* で外来遺伝子である。しかし MRSA には他の *femA*、B といわれる遺伝子領域の突然変異も必要である。したがって MRSA 深部感染症の増加を止めるためには、術後感染予防等には抗ブドウ球菌作用が強く、*fem* 領域の突然変異を起こしにくい薬剤を使う配慮と、MRSA の院内感染による拡大を防ぐ予防対策の確立とを併行させる必要がある。

MRSA 深部感染症の治療は特殊な β -lactam 剤の併用 (CMZ+FOM、IPM/CS+CTM) か、他系統の薬剤 (MINO、ABK、VCM) の点滴静注で行うが、耐性化が MSSA より早いので、将来を見越した新しい治療法を考えておく必要がある。

おわりに

十億年以上に及ぶ生物進化の歴史は長く、巧妙である。八重山群島には鳥が不快に感ずる臭気をもつベニモンアゲハがいて補食を逃れているが、異臭のないシロオビアゲハの♀の一部が擬態して種の維持を謀っていると考えられる。これはモデルであるベニモンアゲハの数がコピーより多くなければ、シロオビアゲハは安泰にならないと考えれば、部分擬態に意味があることになる。シロオビアゲハの♂や大部分の♀は鳥に補食されても、ベニモンアゲハに擬態した一部の♀が生き残れば後目は果たせるからである。

薬剤耐性菌の増加も自然の生物進化の巧妙さの結果である。人類の英知がどれ程高いとしてもそれに完全に勝てるとは思えない。次々に出現するであろう新しい耐性菌に対処するためには、人智を傾けた新抗菌剤の開発と、その合理的な使い方が常に要求されることを強調したい。

シンポジウム (I): 難治性感染症の化学療法

司会のことば

熊沢浄一

九州大学医学部泌尿器科

島田 馨

東京大学医科学研究所

感染症が難治化する要因としては起炎菌に対し、有効・確実な治療手段がないこと、宿主の感染防禦機構に欠陥があることが挙げられ、実際にはこの両者が一緒になって治療に抵抗している場合が多い。1970 年代の難治感染症の中にはセラチア・エンテロバクター

など弱毒菌の感染がかなりの部分を占めていたが、第三世代セフェムの卓抜した抗菌力によって押さえ込まれ、コンプロマイズドホストでもこれらの菌の感染が難治の経過をとる例は珍しくなった。第三世代セフェムを含め今日のβラクタム薬の抗菌活性の不十分な細菌が黄色ブドウ球菌と緑膿菌である。

黄色ブドウ球菌のうち MRSA はメチシリンが登場した 1961 年に既に英国で分離され、欧州の病院で時々院内流行を起こしていたが全世界をまきこむ大規模な発生は第三世代セフェムの登場以降のことである。黄色ブドウ球菌は基本的病原性が強いので感染抵抗力にそれほど障害のない宿主にも感染するが、術後患者、老人、気管切開ないし気管内挿管例などには好んで慢性難治性の感染を、新生児・未熟児には電撃的致死感染を起こし、現在では最も厄介な細菌感染症の一つに挙げられる。

緑膿菌の病原性は黄色ブドウ球菌より低く、感染の成立にはなんらかの宿主側要因の欠陥が前提となる。緑膿菌に対する主要な感染防禦機構は好中球の貪食であり、抗白血球薬治療時に重篤な全身性緑膿菌感染症が起きるのもこの理由によるが、肺の正常構造の破壊や尿流障害のような局所因子の破綻でも難治性の臓器感染症が成立してくる。緑膿菌感染症のコントロールはニューキノロンや IPM を適宜使用することにより、治療成績が改善しきっている。G-CSF は顆粒球減少時の感染症の治療に有力な武器となり得ることが期待され、さらに顆粒球数減少の少ない例での難治性緑膿菌感染症にどの程度の効果を期待できるかに興味もたれている。

今回のシンポジウムでは難治感染症の臨床として未熟児の MRSA 感染症と汎細気管支炎の緑膿菌感染症を取り上げ、MRSA と緑膿菌に基礎の立場から疫学的な面と薬剤耐性を中心に検討を加えていただいた。さらに G-CSF の感染症に対する臨床成績と緑膿菌の実験慢性感染症における G-CSF の効果の紹介をしていただき、難治性感染症の化学療法の現状と展望を討論したい。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に関するいくつかの問題

平松啓一

順天堂大学細菌学

現在世界中に蔓延したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) はβ-ラクタム系抗菌剤に低い親和性を持つペニシリン結合蛋白, PBP 2', を産生すること

により耐性を発現する。このことは、1983年に横田らにより示された。さらにこの蛋白 PBP 2' をコードする遺伝子 *mecA* が 1986年に松橋らによりクローン化され、そのブドウ球菌細胞内での発現が 1989年に生方らにより確認された。このような経過を経て、MRSAの研究は分子遺伝学の領域へと進展し、その分子レベルでの理解は極めて速やかにもたらされつつある。本稿では、現在までに我々の MRSA の理解がどこまで到達したのか、以下の3つの問題に関して述べる。

MRSA はメチシリン耐性か? MRSA の多様性

MRSA 臨床分離株のメチシリンに対する耐性度は、MIC 値が 100 以上の高度耐性を示すものから 3.13~6.25 といった低い耐性度しか示さないものまできわめて多様である。さらに、メチシリン以外のβ-ラクタム剤に対する耐性パターンにも菌株間で大きな差がある。現在では、クローン化された *mecA* 遺伝子をプローブとしてサザン解析を行うか、あるいは *mecA* の塩基配列をもとに合成したプライマーによる PCR 増幅法を用いることにより、臨床分離ブドウ球菌のメチシリン耐性遺伝子の存在を直接に決定することができる。この方法を用いて *mecA* 遺伝子の有無とメチシリンの MIC 値を対照すると、必ずしも相関のないことが解かった。すなわち、*mecA* 遺伝子を持たないメチシリン耐性株が存在する (ただし頻度は低い; CNS で 6%, 黄色ブドウ球菌で 169 株中 1 株) 一方、*mecA* 遺伝子を持ちながらメチシリン耐性を示さない株も存在した。さらに後者には、すべてβ-ラクタム型抗菌剤に対して感受性のものと、メチシリンには感受性であるがセフェム型抗菌剤の一部には耐性を示すものがあつた。これらの株では、耐性に関与する遺伝子の突然変異による不活化、または *mecA* の転写活性誘導系の異常が原因となっていた。しかし、メチシリン MIC の低い株の中で、臨床的に最も重要で、また頻度の高いものは heterogeneous MRSA と称されるタイプのもので、低い耐性度の菌集団の中に 10^{-4} から 10^{-7} の頻度で高度耐性菌を内蔵する MRSA 株であつた。MRSA の同定にあつてはこのタイプの MRSA を見逃さない注意力が要求される。

メチシリン耐性は伝達するか?

mecA 遺伝子は、コアグラーゼ型、あるいはリポゾーム RNA をコードする染色体領域の RFLPs (restriction fragment length polymorphisms) によって区別される、異なる遺伝的バックグラウンドの黄色ブドウ球菌に広く検出される。また、ブドウ球菌属は現在約 30 菌種から構成されているが、黄色ブドウ球菌

以外のコアグラールゼ陰性ブドウ球菌菌種 (CNS species) にも *mecA* 遺伝子が広く分布していることが解かった。このことは、*mecA* 遺伝子がブドウ球菌菌種間を伝達していることを示唆しているのであろうか？ 現在までに多くの研究者がメチシリン耐性のブドウ球菌間の伝達を証明しようと試みたが成功していない。にもかかわらず *mecA* 遺伝子が黄色ブドウ球菌と CNS 間を伝達していると考えられる根拠は以下のとおりである。すなわち、ブドウ球菌菌種の PBP は進化の過程でそれぞれの菌種に特徴的な数と分子量を獲得しており、その電気泳動のパターンを観察することにより菌種の同定が可能であるほどである。ところが現在までに 6 菌種において PBP 2' の発現が確認されているが、その電気泳動度により推定される分子量はすべての菌種において同一であった。また、最近、表皮ブドウ球菌からクローン化された *mecA* 遺伝子の塩基配列が報告されたが、その配列は黄色ブドウ球菌のそれと 99.5% の相同性を持っていた。これらの観察は、*mecA* 遺伝子が、ブドウ球菌の他の PBP 遺伝子と異なる遺伝的来歴を有していることを示唆している。すなわち、*mecA* はブドウ球菌菌種間を伝達している可能性が高い。その伝達メカニズムとして *mecA* の近傍に位置する挿入配列 IS 431 が活性を持っており、MRSA の染色体から *mecA* の脱落を支配している例を示した。この脱落した DNA 断片がどのようにして他の菌に伝達するのかは現時点では不明であるが、院内感染対策としてはメチシリン耐性 CNS をも含めた対策を立てることが望ましいと考える。

MRSA は多剤耐性化しやすいか？

MRSA が難治性の院内感染菌となる最大の原因の一つはその多剤耐性にある。すなわち、MRSA はメチシリン感受性ブドウ球菌 (MSSA) と比較して、 β -ラクタム剤以外の抗菌剤に対しても耐性であることが多く、極端な場合には、有効な薬剤を見いだすことが難しい場合さえある。現在までに複数の研究者によって行われた染色体解析によれば、水銀耐性、テトラサイクリン耐性、ゲンタマイシン耐性、トブラマイシン耐性などの薬剤耐性トランスポゾンが *mecA* 遺伝子の近傍に位置する IS 431 の下流域に連関して見いだされており、この挿入配列が多くの耐性遺伝子を染色体上に獲得するために働いている可能性が示されている。また、エリスロマイシン耐性トランスポゾン Tn 551 の形質導入の実験により MRSA は MSSA に比してトランスポゾンの転移率が高いことが報告されており、MRSA は MSSA よりも薬剤耐性トランスポ

ゾンを染色体上に獲得しやすいという事実の裏付けとなっている。それでは、もうひとつのカテゴリーに属する耐性メカニズムである突然変異によるものはどうであろうか。最近ニューキノロンに耐性となった MRSA が増加している。臨床におけるその頻度は MSSA のそれよりも有意に高いことが報告されている。この場合には DNAGyrase の変異が原因と考えられるため、MRSA は MSSA よりも突然変異の頻度が高いのではないかという問題が生じる。大腸菌の変異株のなかにはこのような菌株が存在し mutator 変異株として知られている。そこでこの可能性を、MRSA と MSSA のリファンピシン耐性の出現頻度を Luria-Delbrück の方法を用いて比較することにより検討した。その結果、mutator 形質は MRSA には存在せず、突然変異の頻度は MRSA と MSSA 間で差がなかった。ニューキノロン耐性もまた試験管内の実験ではその耐性変異の頻度には差がなく、ただ MRSA の場合には、本来 MSSA に比して増殖スピードが低いため、オフロキサシン耐性株（その増殖スピードは感受性の親株より有意に低い）の出現率自体は MSSA のそれよりも見かけ上高くなることがわかった。またノルフロキサシン耐性の黄色ブドウ球菌からは高頻度にオフロキサシン耐性株が出現することも明らかとなった。すなわち、ノルフロキサシン耐性の株に対してオフロキサシンを使用する場合には速やかな耐性株出現を覚悟しなければならない。

以上の結果から、現在国内に蔓延しているコアグラールゼ II 型でリポタイプ B 型の高度耐性 MRSA に対する化学療法にあたっては、各医療施設において、その薬剤耐性パターンを熟知したうえで使用する抗菌剤を決定し、耐性パターンの変動をモニターしながら、耐性菌の出現を最小限に抑える努力を惜しまないことが大切である。

未熟児 MRSA 敗血症

田中吾朗

獨協医科大学第二小児科

1. はじめに

MRSA は現在種々の医療分野で猛威をふるっている。本学会のシンポジウムのテーマにこの問題が取り上げられたのもそのためであろう。本稿での筆者の目的は、第一に未熟児医療における被害の実態を紹介することであり、第二に compromised host の代表例である未熟児でも一定の治療効果が上げうることを示すことである。我々の些細な経験が他の分野の方々の参

考になれば幸いである。

2. 新生児・未熟児医療の進歩

我が国では近年未熟児医療に関心が高まり、未熟児センター・周産期センターが全国各地に開設された。さらに、人工サーファクタントの開発など呼吸管理の進歩により、きわめて未熟な児の生存の可能性が高まり、保育対象児の出生体重が年々小さくなり、その感染症対策が一層重要になってきた。

3. 獨協医科大学病院未熟児部における MRSA 敗血症の実態

a) 定義

未熟児部の対象患者は未熟児および疾患を有する新生児である。病棟が開棟された1978年10月から1990年末までの12年間を3年毎の4期に分け検討した。敗血症の定義は血液培養ボトル2本から菌が検出された場合および検出は1本であるが症状・検査成績が感染を強く示唆するものとし、菌不明のものは含めていない。MRSAは当院中検のルーチンにより、メチシリン耐性ではなくオキサシリン耐性で代用した。

b) 患者内訳

この期間の入院患者総数は2,976名で、出生体重別の内訳を示すと以下の通りである。出生体重が小さい程死亡率が高く、1,000g未満では38%に達する。

出生体重 (g)	死亡率		患者数	発症率 (%)
	入院患者数	(%)		
~ 499	2/ 2	100	0	0
~ 999	50/ 131	38.2	21	16.0
~1,499	37/ 280	13.2	26	9.3
~1,999	28/ 478	5.9	14	2.9
~2,499	26/ 628	4.1	12	1.9
2,500~	75/1,457	5.1	39	2.7
合計	218/2,976	7.3	112	3.8

この患者群での敗血症患者数をみると、総数は112名(3.8%)で、1,500g未満に発症率が高く、1,000g未満に特に顕著である。起炎菌不明のものを含めれば数字はさらに高くなる。

c) 敗血症起炎菌の変遷

菌種	時期				合計
	1	2	3	4	
黄色ブドウ球菌	3	4	15	22	44
MSSA	3	4	4	2	13
MRSA			11	20	31
表皮ブドウ球菌	1	4	2	6	13
連鎖球菌	3	5	6	4	18
他のGPR		1		1	2
真菌			2		2
腸内細菌群	10	5	6	6	27
大腸菌	7	2	1	4	14
その他	3	3	5	2	13
緑膿菌	1	2	4	5	12
他のGNR	2	2	1	1	6
合計	20	23	36	45	124

112名の患者(複数回発症、混合感染あり)の血液から検出された124株の菌種を分類した。MSSAは各時期3, 4, 4, 2と変わらないが、MRSAは1, 2期にはみられず、3期に11, 4期に20と合計31株検出されている。3, 4期の菌株の増加はMRSAの増加である。

我々は第2期には *Klebsiella* の感染に悩まされ、その最終年度1984年より抗生剤の第一選択をそれまでのABPC+GMからCTX+GMに変更したが、その頃よりオキサシリン、CEZの黄色ブドウ球菌に対する感受性が低下し始め、当時の感受性試験のセットではDOXY以外はすべて耐性の菌が検出されるようになった。

d) MRSA 敗血症による死亡症例

死亡症例は7名で、生存例に比べ、出生体重、在胎週数が小さいものが多く、明らかに未熟なものが多く死亡している。

体重 (g)	週	死亡 (日)	基礎疾患	コメント
900	26	16	RDS, PFC, PDA	○
690	23	3	RDS	Ps 混合感染
800	25	31	RDS, PDA	Ps 混合感染
1,240	36	8	PDA	○
870	25	14	PDA, malrotation	●
1,115	28	10	PDA	後にPs合併
710	24	47	WMS, PDA, NEC	小腸穿孔

略号: RDS: 特異性呼吸窮迫症候群, PFC: 胎児循環遺残症, PDA: 動脈管開存, WMS: Wilson-Mikity syndrome, NEC: 壊死性腸炎, Ps: 緑膿菌敗血症, ○: 敗血症発症を基礎疾患の悪化と誤診, ●: 外科疾患合併を見逃した

重症PDAの治療中に状態が悪化し、それを基礎疾患の悪化と判断し敗血症発症を見落とした例、壊死性

腸炎の併発例、腸回転異常合併を見逃した例、緑膿菌の混合感染が存在した例などがある。7例中6例はPDAの治療中にMRSA敗血症を起こしてきており、PDAの治療の改善、習熟が成績改善に重要と思われる。

4. 未熟児 MRSA 敗血症の対策

a) セフェム系抗生剤との関係

セフェムの乱用がMRSAの流行を引き起こすと言われている。未熟児部においてCTXの使用開始後間もなくMRSAが出現し始め、1年立たぬ1985年2月にそれによる敗血症を経験し、最初の犠牲者を出した。CTXとの関係は否定できないであろう。なお我々は現在抗生剤の第一選択をABPC+AMKにしている。

b) 患者の集団発生傾向

1987年の夏に患者が集団発生したが、この時期には頻りに徐脈発作を起こす児が入院しており、スタッフの手洗いが不十分になったため病棟中にMRSAが広がったと思われる。重症例入院が多く、看護能力を超えるような場合にMRSA敗血症が起こりやすい。

c) 獨協医科大学病院のMRSA

未熟児部に蔓延しているMRSAがその他の病棟のMRSAとどのような関係にあるかを調べた。種々の病棟より1991年の前半に得られたMRSAを比較したものを下に示す。coagulase型は全例2型であったが、抗生剤感受性はかなり異なっている。院内の各所に種々のMRSAがはびこっているようにみえる。

病棟	部位	Coag	CMZ	AMK	MINO	IPM	OFLX
3E	気管内	2	0	3	3	3	3
7S	血液	2	1	2	3	2	0
4S	血液	2	0	3	3	1	0
8E	血液	2	1	2	3	2	3
ICU	血液	2	1	1	2	1	0
ICU	血液	2	0	1	3	0	0
8S	尿	2	0	2	3	2	0
3W	膿	2	1	3	3	2	3

当院中検で過去2年間に分離された黄色ブ菌のオキサシリン感受性は以下の通りであり、60~70%がMRSAである。MRSAが病院全体に蔓延していることが分かる。

年度	株数	オキサシリン感受性 (%)			
		0	1	2	3
1989	1,590	60.5	1.4	10.6	27.5
1990	1,792	58.8	1.5	7.5	22.2

d) 予防対策

このようにMRSAがはびこってしまった状態では、1医師、1病棟、1病院の努力では、MRSAを駆逐することは不可能である。MRSAが付いている児をマークすることおよびポピドンヨードによる手洗いの励行をスタッフに注意している。

e) 早期発見のために
予防にいかにか努力しようと、ある程度の発症は避けられない。患者の早期発見・早期治療が重要となる。

危険因子(動静脈ラインの留置、挿管、皮膚の糜爛、膿瘍の存在)の多い児には厳重な監視が必要である。

小さな未熟児の感染の早期発見に最も有用なものは低レベルのCRPである。CRPを0.1mg/dl以下まで測れるようにして、その経日的変化を見ることがきわめて有用である。早期に治療を開始できれば経過は良好である。

MRSA敗血症は生後7~13日に発症のピークがある典型的な院内感染のパターンをとることも注意が必要である。入院時に既に発症している例は今のところ経験していない。

f) 抗生剤感受性の変遷と使用抗生剤
初期にはCMZが効果があったが、耐性菌が増加し、その後はAMKにDOXYまたはMINOを併用することを基本方針とし、ときにIPMを使用している。しかし、現在徐々にMINO、IPM、AMK耐性の菌が検出されてきている。まもなくVCMを第一選択に入れざるを得なくなるであろう。

g) 補助療法
本格的敗血症に進展してしまった場合の補助療法について簡単に触れる。

ショック・DICに陥ったとき交換輸血が非常に有効である。さらにこれに顆粒球輸血を併用すると一層の効果期待される。森田等は8例中7例を救命したと報告している²⁾。

G-CSFは未熟児に対してはまだ試験的な使用の段階である。少数例ではあるが、好中球増加による感染予防・治療効果が確認できた。今後、未熟児に対する適用が増加すると期待される。

5. 結語

未熟児のMRSA敗血症について述べた。早期発見と適切な抗生剤の選択により、かなりの成績が期待し得る点を強調した。

最後にデータを提供下さった当院臨床検査部最菌検査室大内友二主任に深謝致します。

参考文献
1) 田中吾朗: 順天堂医学: 34: 307; 1988
2) 森田優治: 周産期医学: 17: 臨時増刊号 457; 1987

緑膿菌の耐性化について

伊豫部志津子
群馬大医微生物

緑膿菌に有効な化学療法剤は多い。しかしながら、菌の耐性化は、薬剤の使用に伴う必然的な現象である。抗緑膿菌剤を系統別にみると、主に、アミノ配糖体系、 β -ラクタム系、新キノロン系の3種類となる。それぞれの系統においては、耐性菌の耐性化機構には共通性があり、一括して論じることができる。

1. 耐性緑膿菌の現われかた

1978年から現在に至るまでに群馬大学付属病院で分離された緑膿菌における耐性菌の分離状況は以下のごとくである。

1) アミノ配糖体耐性菌

GM耐性菌は、1978年には20%に近い頻度で分離されていたが、その後はほぼ10%前後の分離頻度で現在に至っており、AMK耐性菌は1978年にはほぼ10%と高い頻度で分離されたが、以後は数%の低い分離頻度に止まっていた。1990年に至って再び、10%近い高頻度で分離されている。

2) β -ラクタム耐性菌

PIPC耐性菌は1984年から増え始め、近年は10%から20%の頻度で分離されている。CPZには1985年、CFS、AZTには1987年から耐性菌が出現し始め、現在は、ほぼ10%前後の分離頻度である。IPMに対する耐性菌は1988年に現われ、現在数%の頻度で分離されている。

3) 新キノロン耐性菌

最初の新キノロン剤として1984年より使用されてきたNFLXに対しては、耐性菌は急速に増加し、その分離頻度は、1987年には20%を超え、現在はやや減少したが10%を下がることはない。

4) 耐性緑膿菌による院内汚染

以上の耐性菌を由来、耐性型、血清型、ファージ型、ピオシン型、プラスミド型からみると、院内汚染の姿が浮かびでてくる。1984年から1987年にかけて2系統の汚染がみられた¹⁾。

まず、Iの血清型をもつGM、PIPC耐性菌が多いことに注目したところ、これらは、ファージ型、ピオシン型が同じで、同じ薬剤耐性プラスミドを保有していた。プラスミドはGM、PIPC、SM、SA耐性をコードし、22.5~22.6 Kbのサイズをもつ、非伝達性プラスミドであった。この株は、外科系、内科系の5つの科から、4年間にわたって分離された。

次に、血清型 non-typable のGM、PIPC耐性菌があり、これらは、ファージ型、ピオシン型が同じで、GM、PIPC、SM、SA耐性をコードする伝達性の薬剤耐性プラスミドを保有していた。この株は、外科系、内科系の3つの科から3年間にわたって分離された。うち一つの診療科からは、上述の血清型がIで非伝達性プラスミドを保有する株も同時に分離され、伝達性と非伝達性の両プラスミドの耐性型が等しいことから、プラスミドの、伝達性から非伝達性への進化という面で興味深い。

2. 耐性化のしくみ

1) アミノ配糖体耐性

GMに対する耐性は、ほとんどがプラスミドにコードされている。耐性はアミノ配糖体修飾酵素による不活化が主である。緑膿菌に最も多く見出だされるアミノ配糖体修飾酵素はアセチル化酵素 AAC (6') であり、GM以外の6'位にアミノ基を有するDKB、TOB、AMK、ABK、NLT、SISO、ISPも不活化する。

2) β -ラクタム耐性

PIPC耐性は、 β -ラクタマーゼによる不活化によることが多いが、この種の β -ラクタマーゼ(ペニシリナーゼ)はプラスミドにコードされており、CBPC、SBPC、TIPCも基質となる。

緑膿菌のプラスミド性 β -ラクタマーゼには、種々のタイプが報告されており、これらに加えて我々は、IPMを分解する β -ラクタマーゼを見出だした²⁾。この β -ラクタマーゼはoxyiminocephalosporinaseに属する新しいタイプの酵素である。コードするプラスミドは、伝達性プラスミドであり、 β -ラクタマーゼのほかに、GM、SA耐性をコードする。このプラスミドを保有することにより緑膿菌はIPMの他に、MEPM、CAZ、CFS、CPZ、CBPCに高濃度耐性となる。

一方セファロsporin類を分解するタイプの β -ラクタマーゼは、緑膿菌の染色体上の遺伝子群(*bla*)にコードされている。この酵素の産生は誘導的であり、制御の機構は複雑である³⁾。我々は、この遺伝子のそばに、アミノ配糖体リン酸化酵素をコードする遺伝子(*aphA*)を見出した⁴⁾。*bla*は第一世代セフェム、*aphA*はKMに対する緑膿菌の自然耐性を説明する。

3) 新キノロン耐性

MFLX耐性に関与する4種類の遺伝子が緑膿菌染色体上に見出だされた^{5,6)}。*nfxA*はNFLXのターゲットであるDNA gyraseをコードする遺伝子である。

臨床分離新キノロン剤耐性緑膿菌の70%は、*nfxA*の変異で説明されている⁷⁾。他方、*nfxB*、*nfxC*、*nalB*は、外膜の透過性をコードする遺伝子である。これらの遺伝子の変異は外膜蛋白の変化に対応しており、新キノロン剤以外の薬剤に対する感受性を同時に変化せしめる。すなわち *nfxB* 変異はアミノ配糖体とβ-ラクタム剤への感受性化を伴い、*nfxC* 変異は、アミノ配糖体とβ-ラクタム剤への感受性化と同時にIPMとCPへの耐性化を伴う。また *nalB* 変異は菌をβ-ラクタム剤とCPに耐性化する。後者の2例は、1つの遺伝子の変異で菌が多剤耐性化することを示している。特に *nfxC* タイプの変異は、新キノロンとIPMに同時に耐性化するという点で、興味深い。IPMの菌体内への透過には、緑膿菌外膜のD2蛋白が関与している⁸⁾。D2蛋白のない突然変異株はIPM耐性となる。D2蛋白に相当するものが *nfxC* 変異株でも欠損している。

我々は現在、緑膿菌染色体上の耐性に関与する遺伝子をクローニングすることにより、臨床分離株における耐性化の遺伝的背景を解明しつつある。最近、PAO株から *nfxB* 遺伝子をクローリングした。*nfxB* 遺伝子を *nfxB* タイプのNFLX耐性変異株に入れると、野生型が優性であり、耐性菌はNFLXに感受性となる。同時に *nfxB* タイプの特徴であるアミノ配糖体とβ-ラクタム剤への感受性を失う。この方法は、NFLX耐性菌の検討に用いられる。すなわち、NFLX耐性菌に *nfxB* 遺伝子を入れることにより、NFLXに感受性化するかどうか、また、同時にアミノ配糖体とβ-ラクタム剤への感受性がなくなるかどうかで、染色体上の *nfxB* 変異の有無を知る。

臨床分離株について検討すると、NFLX耐性菌として分離された数株で、*nfxB* 変異が証明できた。また、NFLXによる治療後に得られたNFLX耐性株のあるものは、*nfxB* の耐性変異株であることが分かった。すなわち、*nfxB* 遺伝子を入れることにより、NFLX、CAZ、IPM、GM、AMKのMICは治療前の株の値に戻った。

4) 耐性化の動向

菌が耐性化するしくみは従来、プラスミドまたはトランスポゾンによる外来性遺伝子の獲得によるものが多く、耐性機構には不活化酵素が主役を占めていた。しかしながら、新キノロン、カルバペネム等の新しいすぐれた抗緑膿菌剤に対しては、外来性遺伝子では対応しきれず、菌は自身の変化(変異)によって耐性化している。薬剤のターゲットまたは、膜の透過性の変化による耐性化である。プラスミドに次いで、現在

我々が興味をもっているのは、変異による耐性化である。染色体の遺伝子をクローニングすることによって、この種の耐性化を今後明らかにしていくことが可能になった。

文 献

- 1) 塚田勝彦, 加藤広行, 長町幸雄, 伊豫部志津子, 橋本一: 北関東医学 38: 269~274, 1988
- 2) Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S: Antimicrob. Agents chemother. 35: 147~151, 1991
- 3) Matsumoto H, Terawaki Y: In Drug resistance in Bacteria. Japan Scientific Societies Press, Tokyo. pp.207~211, 1982
- 4) Okii M, Iyobe S, Mitsuhashi S: J. Bacteriol. 155: 643~649, 1983
- 5) Hirai K, Suzue S, Irikura T, Iyobe S, Mitsuhashi S: Antimicrob. Agents Chemother. 31: 582~586, 1987
- 6) Fukuda H, Hosaka M, Hirai K, Iyobe S: Antimicrob Agents Chemother. 34: 1757~1761, 1990
- 7) Yoshida H, Nakamura M, Bogaki M, Nakamura S: Antimicrob Agents Chemother. 34: 1271~1272, 1990
- 8) Satake S, Yoshihara E, Nakae T: Antimicrob Agents Chemother. 34: 685~690, 1990
- 9) Okazaki T, Iyobe S, Hashimoto H, Hirai K: FEMS Microbiology Letters 79: 31~36, 1991

共同研究者: 荒木康久, 橋本一(群馬大, 医, 微生物); 渡辺正人, 三橋進(エビ研); 塚田勝彦, 加藤広行, 長町幸雄(群馬大, 医, 一外); 小野寺昭一(慈恵医, 沁); 平井敬二, 福田秀行, 青山博, 岡崎隆(杏林製薬, 中研)

謝辞: 高橋綾子, 四方田幸恵, 小林功(群馬大, 中検)

耐性緑膿菌の臨床

谷本普一

東京慈恵会医科大学第4内科

中田紘一郎

虎の門病院呼吸器科

緑膿菌呼吸器感染症は、肺炎と気道感染症に分かれるが、いずれも感染症として難治である。肺炎と気道感染症とそれぞれについて、耐性緑膿菌感染例を中心に、最近の病像の特徴とその対策を検討した。

1. 緑膿菌肺炎

緑膿菌肺炎は、1960年代から1980年代前半まで、その大半がcompromised hostにおける終末期肺炎の形をとり、剖検肺からの検出菌の中で最も多く、30%

台の検出頻度を示してきた。1980年代後半に至り *S. aureus* が増加し、剖検肺分離菌全体の半ばを占めるようになり、さらに MRSA が増加している。

このような経時的变化を背景に、最近緑膿菌と MRSA による複数菌肺炎の発症が目立ち始めている。その形態像は、従来のそれぞれの肺炎と異なり、組織の滲出が強く壊死を生じることが少なく、臨床的にはそれぞれの菌の単独感染よりはるかに難治であり、致命率が高い特徴をもっている。今回我々は、多くの抗菌薬が奏効しない緑膿菌および MRSA 肺炎 (51 歳男性) を経験し、G-CSF の併用により著しい改善をみた。緑膿菌消失後 3 か月間で MRSA 肺炎が徐々に悪化し、MIC が IPM 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、MINO 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示し治療抵抗性であったが、MIC が 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の VCM 使用により治癒に至った。

2. 緑膿菌気道感染症

緑膿菌気道感染症は、その成立機序の中に本質的に難治性要因が含まれており、慢性持続感染の形をとるので、抗緑膿菌薬の長期使用は、当然のことながら耐性化を生じる。多剤耐性緑膿菌感染びまん性汎細気管支炎 (DPB) 2 例を呈示した。症例 1 は 23 年の経過をたどった 39 歳の男性。1986 年以降 OFLX 長期投与を行い、MIC は 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と耐性化した。8 回の急性増悪の都度用いた IPM は、MIC が 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ から 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ へ、CAZ は 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ から 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ へと変った。現在は CPFx と EM を併用し、小康を保っている。症例 2 は 74 歳の女性で、1988 年以降 OFLX と EM 併用を行い比較的良好な状態を保ってきたが、最近徐々に悪化し入院に至った。ムコイド型緑膿菌の MIC は、IPM 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、CAZ 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ など多剤耐性であり、現在治療に苦慮している。しかし、このような耐性緑膿菌による難治例は別として、1985 年以降行われている EM ないしニューキノロンの長期療法により、DPB の予後は飛躍的に改善している現状もあわせて報告しておきたい。

G-CSF による実験的細菌感染症の治療

岩田正之・安田 紘
三共株式会社生物研究所

緒言

G-CSF は癌化学療法において併発しやすい顆粒球減少症の治療剤としてその有用性が明らかにされている。最近では他の適応の可能性についても種々試みられ、その一つとして感染症がある。特に、抗生剤療法に限界のある難治性感染症に対して、抗生剤との併用

療法に期待がもたれている。その場合、一方では臨床効果の程度と範囲が明らかにされる必要があり、他方では理論的根拠を与える基礎研究も必須である。現在のところ、後者の蓄積が乏しい。本講演では実験動物を用いた種々の感染モデルにおいて G-CSF の治療的意義について検討した。

方法

三種類の実験感染モデルを作成した。

A. 緑膿菌のマウス大脳筋内感染: マウス (SPF, ICR, 雄, 6 週齢) の大脳筋部に *P. aeruginosa* 1008 を 5×10^6 CFU 筋肉内接種した。G-CSF はキリン・アムジェン-三共で現在開発中のヒトリコンビナント G-CSF を用いた。感染直後、1 日および 2 日後の 3 回、400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を皮下注射した。動物の経日的な生存数を記録し、筋肉内および血中菌数は寒天平板希釈法により測定した。

B. カルボキシメチルセルロース (CMC) ポーチ内感染: ラット (SPF, Wistar-Imamichi, 雄, 6 週齢) を用い、安食ら (Chemotherapy, 38 No.6, 552~559, 1990) の方法に従って行った。感染菌は *E. coli* 704, *P. aeruginosa* 1008, *S. aureus* 535 (MRSA) 株を用いた。1% CMC 食塩液中にいずれの細菌も 10^8 CFU/ml になるように加え、10 ml の細菌含有 CMC 液をポーチ内へ注入した。感染の前、または後に G-CSF を所定量皮下注射した。随時に CMC 液を採取し菌数測定を④と同様に行った。本感染モデルにおける難治性の程度について、試験管内評価系を考案した。すなわち、細菌を添加しない CMC 液を常法通りポーチ内へ注入し、7 時間放置後、生体成分を含んだ CMC 液を取出した。この CMC 液中に綿糸をつるし、*E. coli* を培養した。綿糸付着菌と浮遊菌について薬剤感受性を測定し、さらに、菌の形態を走査型電子顕微鏡で観察しバイオフィーム形成について評価した。

C. 感染性心内膜炎: ラット (SPF, Wistar-Imamichi, 雄, 9 週齢) の感染性心内膜炎は J. Santoro & M.E. Levison (Infection & Immunity, 19, No.3, 915~918, 1978) の方法に準じて行った。すなわち、右総頸動脈より、外径 1 mm 弱のポリエチレンチューブを大動脈-大動脈弁をへて左心室内へ挿入した。チューブの反対側にはトランスデューサーを装着し左心室挿入時の圧をモニターして挿入の成否を確認した。チューブ挿入 48 時間後に *S. aureus* 507 (MRSA) 株を 10^4 CFU 静脈注射した。所定の時間経過の後、動物を麻酔死せしめ、左心室内チューブの周囲に付着した vegetation を注意して取りはずし、重量測定および菌数測定を行った。以上の三種モデルに

において抗生剤治療も行った。使用薬剤と感染菌に対する MIC (括弧内) は次のごとくである。E. coli 704: CMZ (0.78) および CEZ (0.78), P. aeruginosa 1008: CS 976 (12.5) および CAZ (6.25), S. aureus 535: CTM (200) および CS 976 (6.25), S. aureus 507: CTM (100) および CS 976 (0.39)。

結果と考察

A-1 正常動物に対する緑膿菌筋肉内感染における G-CSF の効果: 菌を感染後, G-CSF を毎日 1 回, 3 日間投与すると無投与群に比し, 7 日後の生存率が 50% および 5% となり, 有意に G-CSF 群の生存率が高かった。この実験系で両群の筋肉内細菌数と死亡率とを経日的に対比すると, G-CSF 投与群での筋肉内菌数は無投与群のそれより低値を示したが, その差が最大となったのが感染 1 日後であり, それを反映して感染 2 日後の死亡率の群間差が最大となった。このように, 両群の生死を分ける転換期は感染 1 日後であったが, 末梢血中顆粒球数のキネティクスをみると感染 15 時間に最大となり, かつ, 両群の差が最も大きかった。以上のように, G-CSF は単独で明らかな感染治療効果を示した。

A-2 抗生剤の治療効果に及ぼす宿主末梢血中顆粒球数の影響: マウスにサイクロフォスファミド (CY) または G-CSF を適宜の用量で投与し, 顆粒球減少または増多症マウスを作成した。これらのマウスにおける緑膿菌筋肉内感染でのセフトジジム (CAZ) とネチルマイシンの ED₅₀ 値を検討した。ネチルマイシンの治療効果は宿主の顆粒球数の多寡に大きな影響は受けなかった。一方, CAZ は顕著な影響を受け, 顆粒球数が正常時の 1/4 に減少した宿主では CAZ の治療効果は 1/1,000 に低下した。一方, 正常より約 4 倍に増多した宿主では CAZ の治療効果は 10 倍に上昇した。

A-3 G-CSF と抗生剤との併用療法: 以上のように顆粒球減少宿主における感染が難治性であり, このような場合にこそ G-CSF 療法の意義が高い。そこで次に, G-CSF と抗生剤との併用療法に関する詳細な検討を行った。マウスに CY を 100 mg/kg 投与し, その後 4 日間 G-CSF を種々の用量で投与した。次いで CAZ 療法を併用した。併用投与群では G-CSF と CAZ の投与を一定比率とし, 5 群作った。第 1 群は 1: 250, 2 群は 1: 500…第 5 群は 1: 4,000 とした。対照として, G-CSF および CAZ それぞれ単独投与の効果も検討した。その結果, G-CSF 単独群の ED₅₀ は 0.8 mg/kg, CAZ 単独群の ED₅₀ は 1,000 mg/kg であった。一方, 併用治療群は, いずれの群の G-CSF

および CAZ の ED₅₀ も単独治療群のそれよりも低値を示し, なかでも, 第 1 群, G-CSF と CAZ の併用比率を 1: 250 と, 相対的に G-CSF の投与量の多かった群ではそれだけ顆粒球が増多し, 併用効果が一層顕著に認められた。

B-1 CMC ポーチ感染モデルにおける難治化要因: CMC ポーチ内に大腸菌を感染させその後, 時間を追って CMZ の静注療法を行うと, 治療開始時間を遅らせるほど治療効果は低下した。その理由として, 感染菌の増殖速度に伴い菌の薬剤感受性が低下することが原因の一つであることが推定された。しかし, ポーチ液内での菌の増殖形態を走査電子顕微鏡で追跡すると, 薬剤感受性低下の他の要因として, バイオフィルムの生成も一役を担うことが予想された。ともあれ, CMC ポーチ内感染モデルは, 治療開始時間によって難治性の程度を任意に調節しうる良好なモデルとなることが確認された。

B-2 CMC ポーチ内感染における G-CSF と抗生剤との併用効果: 上記のように治療開始時期を種々設定し, 大腸菌, 緑膿菌および MRSA 感染に対する G-CSF₂ 抗生剤との併用効果を, それぞれの単独投与と比較した。大腸菌感染では, 感染後治療開始時期を 1 日, 2 日および 3 日後の 3 時点から行った。その結果, 開始時点が遅れるほど治療成績は低下したが, いずれの場合も, CMZ 単独治療に比較し, G-CSF と CMZ 併用療法群が良好な治療成績をあげた。次に緑膿菌感染では, 治療開始時期を, 感染直後, 6 時間後および 24 時間後の 3 時点とした。カルバペネム系抗生剤の CS-976, G-CSF それぞれの単独および両者併用の治療を比較した。まず, 6 時間後治療開始では, いずれの薬剤によっても治療効果は乏しく, 顕著な難治化がみられた。さらに 24 時間後治療ではまったく治療効果は得られなかった。一方, 感染直後治療開始では抗生剤単独治療群と G-CSF 併用治療群で著しい効果がみられた, しかし G-CSF 単独治療ではみるべき効果はなかった。次に MRSA 感染では, 感染直後および 24 時間後治療の 2 時点で行った。やはり, 治療開始時間の遅れにより著しい難治化が確認された。直後治療では G-CSF 単独投与によってもわずかながら効果を認めたが, CS-976 単独投与では著しい治療効果を認めた。一方, CS-976 と G-CSF 併用治療によって, CS-976 単独以上の治療効果を認めた。対照のため, 現在臨床で試みられているカルバペネム系抗生剤と CTM との併用療法をみたところ, 顕著な併用効果を認めた。CTM 単独療法でもかなりの効果を発現したが, 本剤単独では治療継続にもかかわらず

ず、時間と共に再増殖が認められた。以上、MRSA 感染においても、G-CSF はカルバペネム系抗生剤 CS-976 との併用により、CS-976 と CTM とのダブル β -ラクタム剤療法に匹敵する効果をあげた。

C. 感染性心内膜モデルにおける G-CSF と抗生剤との併用療法: 左心室へ挿入したチューブに付着した疣贅 (vegetation) 中および末梢血中の菌数により治療効果を評価した。まず、G-CSF 単独治療でも、対照の無治療群に比し、若干の効果を認めた。一方、CS-976 単独群は有意の効果を発現した。CS-976 と G-CSF との併用群および CS-976 と CTM との併用群は顕著な効果を認め、両併用群間の効果は同程度であった。

結 論

1. G-CSF は正常顆粒球数宿主での感染に対し、それ自身で感染治療効果を示した。
2. さらに、上記宿主での難治性感染において、 β -ラクタム剤との併用療法により良好な治療効果を示した。
3. 一方、顆粒球減少宿主において、G-CSF と β -ラクタム剤との併用療法はきわめて顕著な相乗の効果を示した。その効果は末梢血中顆粒球数増多に相関して認められた。
4. MRSA 感染に対し、G-CSF とカルバペネム系抗生剤との併用療法はセフォチア、カルバペネムのダブル β -ラクタム剤療法に匹敵する効果を示した。
5. 以上の G-CSF の作用機序は感染局所に集簇した大量の顆粒球による細菌の食殺殺菌および増殖抑制に基づくことが示唆された。

難治性感染症の化学療法 G-CSF の臨床応用

浦部晶夫

関東通信病院血液内科

顆粒球コロニー刺激因子 glanulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) は、好中球の産生を特異的に促進する造血因子である。G-CSF を投与すると末梢血中の好中球が増加する。G-CSF には、(1) 好中球を骨髄から末梢血に動員する、(2) 骨髄の好中球系前駆細胞の分化増殖を促進する、(3) 好中球の機能を高める、の3つの作用がある。このうち主なものは、(2) であり、正常人に G-CSF を連続して投与すると、末梢血中の好中球数の持続的な上昇がもたらされる。

G-CSF には好中球数の増加効果があるので各種の顆粒球減少症に対する臨床応用が試みられている。G

-CSF の臨床応用としては、抗痛剤や放射線照射後の顆粒球減少症、先天性あるいは後天性の好中球減少症 (周期性好中球減少症を含む)、骨髄移植後の顆粒球減少症、白血病の寛解導入療法後の顆粒球減少症、骨髄異形成症候群や再生不良性貧血の顆粒球減少症などに投与して好中球数の増加をはかることが行われている。

抗痛剤治療後の顆粒球減少症、急性白血病の寛解導入療法後の顆粒球減少症、骨髄移植後の顆粒球減少症などに対して G-CSF を投与すると、コントロールに比べて好中球数が有意に増加し、感染症の発症率が低下することが示されている。

目 的

感染症の発症あるいは重症化に関与する要因のなかで、最も重要なもののひとつは好中球の減少である。感染症の治療において、起炎菌の同定にもとづく適切な抗生物質の選択と投与がなられても、好中球減少のために抗生物質がなかなか奏効しない場合もよく経験される。この様な場合に、G-CSF を併用することによって好中球を増加させることができれば、感染症の治療に有用であろうと考え、検討を行った。

方 法

好中球減少症がみられ、抗生物質投与のみでは治療が不十分と考えられる感染症症例や、好中球数が正常でも難治性の感染症症例 96 例に対して、抗生物質と併用して G-CSF を 1 日 1 回 $100 \mu\text{g}/\text{m}^2$ または $200 \mu\text{g}/\text{m}^2$ を 7 日間点滴静注して効果を検討した。G-CSF 投与後、好中球が増加し、臨床所見が改善したものを〈有効〉、好中球数が増加したものの、臨床所見の改善がみられなかったものを〈無効 1〉、好中球数の上昇がみられなかったものを〈無効 2〉として効果を判定した。

結 果

投与前の好中球数別の有効率は、 $500/\text{mm}^3$ 未満の症例が 73%、 $500/\text{mm}^3$ 以上 $2,000/\text{mm}^3$ 未満の症例が 67%、 $2,000/\text{mm}^3$ 以上 $4,000/\text{mm}^3$ 未満の症例が 56%、 $4,000/\text{mm}^3$ 以上の症例が 31% であった。〈無効 2〉の症例はいずれも重症の血液疾患であった。敗血症や肺炎などの疾患別の効果の検討でも、投与前の好中球数が $500/\text{mm}^3$ 未満であった症例で〈有効〉例が多かった。副作用として、骨痛、皮疹等を若干認めたが重篤なものはいずれもみられなかった。

考 察

重症感染症に対する G-CSF の臨床的効果は、好中球減少症の著しい症例に抗生物質と併用すると有効であると考えられる。また、重症の顆粒球減少状態に G

-CSFを投与することによって、感染症の発生率が有意に減少する。

慢性型の難治性感染症に対しては、G-CSFの投与によって好中球数を比較的高いレベルに保つことが抗生物質の治療効果を高める可能性がある。

G-CSFは重症感染症の治療ならびに予防の上から有用な薬剤であると考えられる。

G-CSFの投与方法、投与量など

(1) 皮下注射、静注、点滴静注が可能である。皮下注射は静注の1/3の投与量でほぼ同等の効果をもたらす。

(2) 皮下注射の場合は、50~200 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ を1日1回連日投与する。点滴静注の場合は100~400 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ を1日1回連日投与する。

(3) 好中球(白血球)数が上昇しすぎないように注意する。具体的には、好中球数15,000/ μl (白血球数30,000/ μl)を超えないように注意すべきである。好中球減少を伴った急性型の感染症の場合は、好中球が5,000/ μl 、あるいは白血球数が10,000/ μl を超えたら投与を中止する。

シンポジウム(II): 癌化学療法における基礎と臨床の連携

「癌化学療法における基礎と臨床の連携」の話題

塚越 茂

癌研・癌化学療法センター

太田和雄

名古屋記念病院

癌治療の成績は外科、放射線の各療法と、化学療法の3種の治療法により近年著しい向上をみせている。さらに最近は免疫療法剤などを含めたbiological response modifiers (BRM)や抗癌剤以外の薬剤などを併用する治療法も次第に進歩発展してきており、今や癌の集学的治療の段階に入りつつある。

また、進行癌の場合には癌化学療法の有用性はきわめて大であり、その進歩発展を今後一層はかっていく必要性が大きい。

現在化学療法でその効果が顕著にみられ、一定の律で5年生存や治癒のみられるようになった悪性腫瘍には小児の急性白血病、ホジキン病、睾丸腫瘍、胎児性横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、ウィルムス腫瘍、パーキットリンパ腫、網膜膠腫、絨毛癌などがある。これらは以前には必ず診断後早期に致死的となったことを

考えれば、化学療法の有用性はもはや疑いのないところであろう。しかし、現在なお多くの固形癌は化学療法により十分な治療効果を期待するには問題点があり、今後の新規な抗癌剤の開発が望まれている。

歴史的にみると、1865年にドイツの医学会誌に亜硫酸カリウムによる白血病その他の治療報告が掲載され、1893年にはコーレートキシン(Coley's toxin,丹毒菌および蠱菌からの毒素液)による肉腫その他の治療成績も報告された。しかし、癌化学療法が組織的に開始されたのは1940年代後半からの多官能基をもつアルキル化剤の研究からである。1950年代に入ると現在でも臨床に用いられている。葉酸拮抗物質、プリン類似体、副腎皮膚ホルモン類などが次々に開発された、1960年代にはさらに主要な抗癌剤のほぼすべてが出揃い、その後これらに新規な構造をもつものや類似体加わり、臨床に供せられるようになっていく。

このような癌化学療法の歴史をみると、この研究分野は過去30年前位から急速に発展してきた分野であり、これは感染症の科学療法においてもほぼ同様であるといえよう。

しかし、癌化学療法が進歩したとはいえ、固形癌に対する治療手段としては現在も補助療法的な意義が大きく、今後さらに化学療法の発展を期するにはなるべく腫瘍に対して選択的に作用する薬物を見いださなければならぬ。ここにおいては、過去に見いだされてきた抗癌剤の主なものを中心としてその特徴をのべてみたい。

天然物由来の抗癌剤としては、植物成分、抗生物質、細菌製剤、酵素製剤などが含まれ、また人工合成物としては、核酸またはタンパク質合成阻害剤、人工合成ホルモン剤、作用機序のまだはっきりしない化合物などが含まれている。さきに、英国のBergelらは、このような抗癌剤をそれらの作用機序や由来から次のように分類している。1)生物学的アルキル剤、2)代謝拮抗物質、3)植物または微生物産生物、4)酵素および補酵素類、5)ホルモンおよび抗ホルモン剤、6)免疫物質の6種である。このうち2)の代謝拮抗物質をさらに(1)ピリミジン類、(2)プリン類、(3)プテリジン類、(4)抗ビタミン類に細分した。このような細かい分類に従う方法もあるが、一般的にはアルキル化剤、代謝拮抗物質、抗生物質、植物由来物質、ホルモン剤、その他のような分類が普通行われており、新しく開発される抗癌剤もこれらのなんらかに属するものとして分類されることが少なくない。癌化学療法の成果は、優れた抗癌剤が開発されれば一段と進歩する事が期待されるが、このことは過去において

もブンカアルカロイド製剤や白金錯化合物が開発されてからの癌治療成績が向上したことで知られている事実である。過去 30 有余年間に見いだされた抗癌剤によって、白血病や悪性リンパ腫、絨毛癌、小児癌、睾丸腫瘍などに対しては、かなりの治療効果や時には

延命効果をも期待される時代になってきた。しかし、肺非小細胞癌、大腸癌をはじめとする多くの消化器癌、泌尿器癌などに対して十分有効性を発揮できる抗癌剤が存在しないのも事実であり、このような難治性の癌に対して効果を示す薬剤の開発は急務であるとい

表 1. 癌治療薬研究の進歩

- 1) 癌化学療法における進歩
 - a) 新抗癌剤の開発
 - b) 抗癌剤の有効利用法
 - *Biochemical Modulation
 - *効果増強の研究
- 2) 癌のBiotherapyにおける進歩
 - QOLを重視する治療法

表 2. 新抗癌剤の開発

- 1) 従来の抗癌剤の類似体 (アナログ) の研究
 - フッ化ピリミジン類
 - アンスラサイクリン類
 - 白金錯化合物類
 - その他
- 2) わが国では新規な化合物の研究
 - 植物由来の抗癌物質
 - 構造の新規な合成化合物

表 3. 抗癌剤の生化学的作用機序による分類¹⁾

生化学的作用機序	代表的抗がん剤
1. DNAと反応し、DNA再生に作用する抗癌剤	アルキル化剤 (Mitomycin, Porfiromycinも含む) Daunomycin, Adriamycin, Bleomycin
2. DNAと反応し、RNAへの転写に作用する抗癌剤	Actinomycin D Anthracycline系 (Daunomycin, Adriamycin) Chromomycin系 (Mithramycin, Olicomycin) Bleomycin ある種のアルキル化剤 Camptothecin
3. 基本塩基としてDNAに取り込まれる抗癌剤	Bromodexyuridine Cytosine arabinoside Thioguanine
4. DNA合成に阻的に働く抗癌剤	Methotrexate Cytosine arabinoside 5-Fluorouracil, FUDR Hydroxyurea
5. RNAに疑似的に取り込まれる抗癌剤	8-Azaquanine 5-Fluorouracil Cytosine arabinoside
6. RNA合成に阻的に働く抗癌剤	6-Mercaptopurine, Thioguanine 8-Azaquanine poly 1: poly C Methotrexate DON
7. アミノ酸の利用に対して阻的に働く抗癌剤	L-Asparaginase

表 4. 投与法の改善

- 塞栓療法
 - マイクロカプセル
 - 経口剤 (例: Menogaril)
 - その他の局所投与法
 - 効果増強の研究
- Dipyridamole
Isoprenoid
Lonidamine
Cepharanthin
hEGF
Others

える。このような背景のもとに、我が国では現在多くの化合物について抗癌剤としての有用性の可否を検討しつつある。

表1にはこのような背景のもとにおける最近の癌化学療法の進歩を示したものである。

1. 抗癌剤開発の努力

上述したように現在臨床の第I, II相試験に入っている化合物は表2に示すようなものである。特にこれまで開発の主目的となってきた化合物は、フツ化ピリミジン類、アンストラサイクリン系化合物、白金錯化合物などである。また、このような抗癌物質の主要な作用機序については表3に示した。

2. 投与法の改善

癌化学療法の進歩発展は投与法の改善によるところも極めて大きい。そのような試みは表4に示すような試みがある。効果増強の研究もこのような意味において将来、投与量、投与法の改善につながることも考えられ、現在研究が進められている。

3. 癌と感染症対策

癌治療に伴う免疫不全状態は、日和見感染を含め、多くの重症な感染症を惹起することが少なくない。その対策を講ずることは目下の急務といえよう。

おわりに

癌化学療法は、その標的である癌細胞が、性状細胞と生物学的な類時点が多いため、効果の向上を一挙に期待することは極めて困難であることが過去の歴史の中に物語られている。しかし、最近の新抗癌剤の開発、投与法の改善、それに感染症対策の進歩など、癌治療の全般的な研究の進歩により、かなりの治療成績の向上も期待されるようになってきている。

抗癌剤の作用機序

稲葉 實

癌研・癌化学療法センター

一般的にいえば、現在抗癌剤として使われているものは、直接、間接にDNAに障害を与えたり(前者はalkylationやintercalation, 後者はtopoisomeraseなどを介した作用), DNA合成を拮抗的に阻害するなど、DNAに作用する薬剤がほとんどである。RNAや蛋白質に作用する抗癌剤は少数であり、よく知られているのはactinomycin DとVinca alkaloidである。毒性薬理的にも理解できるように、この範疇に属する物質は広範な副作用を示す可能性が高く、それがためドロップアウトした化合物は少なくないであろう。

言うまでもなく抗癌剤の副作用が強いのは癌に対する選択毒性が低いためであるが、以上の事実はDNA作用薬が相対的にみれば癌選択毒性を発揮しやすいことを示唆している。逆にみれば、Vinca alkaloidを含めて抗癌剤の癌選択毒性は、癌細胞の高い増殖能に依拠しているのが厳然たる事実である。最近の癌遺伝子やその産物に関する研究成果に基づいて全く新しいターゲットを見いだせるか否か、興味あるところである。

抗癌剤の作用機序といえば、一般的に考えるのは化学的または生化学的な作用メカニズムである。しかしそれはきわめて狭義な解釈であり、表1に示すような広範な研究がなされて初めて作用の全体像が明らかになる。したがってここでは表の中からいくつかのポイントを取り上げ、作用機序に関して一般的な考察をしていきたい。すなわち教科書的に種々の抗癌剤の作用機序を並べていくのではなく、作用機序を考える中で例としていくつかの抗癌剤を取り上げていくつもりである。

第一点は生化学的作用メカニズムと殺細胞作用との関連である。抗癌剤の中には複数の生化学的作用をもつものが少なくない。問題はその場合、いずれの生化学的作用が殺細胞作用、さらには抗癌作用に関連しているかである。たとえばadriamycinは少なくとも次の3つの生化学的作用メカニズムをもつと報告されている。(1) DNA intercalationによるDNA, RNA, の合成阻害, (2) topoisomerase IIに対する作用, そして(3) 生成フリーラジカルによる細胞傷害作用である。これはきわめて難しいところであるが、この点を解明できない限り作用機序が明らかになったとはい

表 1. 抗癌剤作用の全体像

生体レベル
肝または血中酵素による代謝
血漿蛋白結合, 組織分布
作用の及ぶ組織 (副作用)
細胞及び分子レベル
殺細胞作用 (細胞周期との関連)
細胞膜輸送様式
細胞内で起こる酵素的, 非酵素的変化 (活性化と不活化)
標的分子との反応と細胞傷害との関連
傷害の修復
耐性発現機序
選択毒性
癌細胞 (組織) と正常細胞 (組織) の違い

い難い。この問題に関しては 5-fluorouracil (5-FU) の作用機序についての我々の研究を紹介したいが、長くなるので後述したい。

第二点は癌選択毒性についてである。前述したように残念ながら現在の抗癌剤の癌選択毒性は高くない。しかしある薬剤に抗癌作用が見いだされた以上、少なくとも適応癌に対しては、程度の違いはあれ、選択毒性をもつことは当然である。抗癌剤においてはこの点の解明が特に重要であろう。このような研究から癌細胞と正常細胞の間に何らかの違いを見いだすことができれば、新しい抗癌剤のデザインに貴重な示唆を得ることができる。多種類の臓器癌に対して今日最も繁用されている抗癌剤の 1 つである cisplatin (DDP) を例にして若干考察してみたい。

作用機序からみれば DDP はアルキル化剤に類似しているといえよう。しかしながら、DDP は従来のアルキル化剤を凌駕する高い臨床効果を示している。癌選択毒性に関して古典的アルキル化剤となりが異なるのであろうか。次の 2 つの可能性を挙げる事ができよう。第一は活性化の問題である。DDP は一種の masked compound であり、血液中より Cl^- 濃度の低い細胞内でより速く Cl^- 原子が脱離し水和が起り、高い反応性が賦与されるといわれている。もしこの活性化が癌細胞内でより活発に進むならば、癌細胞に対しより高い毒性を発揮するであろう。癌細胞とある種の正常細胞の間で Cl^- 濃度に僅かでも差があるか否かが興味あるところである。第二は DNA 修復の問題である。DNA に adduct が形成されると、修復が起こることは広く知られている。癌選択毒性発現のために

は、癌細胞の修復能は正常細胞のそれに比して低くなければならない。この点で従来のアルキル化剤と DDP のもたらす傷害に対する修復の間に質的または量的な違いがあるのであろうか。これらの解明が期待される。

第三点は耐性機序に関してである。耐性機序の解析はそれ自身重要であるが、第一点で述べた殺細胞作用をもたらす生化学的メカニズムを特定する上で重要な情報を提供してくれる。最近注目されている新抗癌剤 CPT-11 の母化合物である camptothecin (CPT) そして amsacrine や etoposide はその好例であろう。これらの薬剤は topoisomerase と DNA の複合体に結合してそれを安定化させる作用があるが、その作用は可逆的であり薬剤を除去すると DNA は再結合し、一見何ら傷害は残らないように見える。その意味では topoisomerase に対する作用が真にこれらの抗癌剤の殺細胞作用であるか否か、疑問を抱かせる。しかし、耐性機序の研究から、多くの耐性細胞が各薬剤に耐性な topoisomerase をもつことが証明されて、上記の疑問に明快な解答が与えられた。DNA-topoisomerase-薬剤によって形成された cleavable complex がおよそ「致命的傷害」に関して有力な仮説が提出されているが省略する。

耐性機序に関して付記したいのは多剤耐性である。Anthracycline, Vinca alkaloid など、一定の化学構造要件を満たす物質を能動的に細胞外に排出する P-糖タンパク質がこの耐性の主役であることは周知の通りである。我々はカルシウム拮抗作用のない dihydropyridine 化合物 AHC-52 が *in vivo* でも著しい耐性克服作用を示すことを報告してきた。「基礎と臨床の連携」がこの分野でも実ることを期待したい。

最後に 5-FU の作用機序に関する我々の研究を紹介したい。5-FU の生化学的作用としては DNA と RNA に対する 2 つの作用が知られている。前者は活性代謝物 FdUMP の thymidylatesynthase (TS) 阻害による DNA 合成の抑制であり、後者は FUTP の RNA 転入による ribosome 等の機能障害である。これらのいずれが 5-FU の殺細胞作用、抗癌作用に大きな働きをしているか、今でも論争が続いている。我々は従来のアプローチと逆の方向から、すなわち生化学的データから殺細胞作用のメカニズムを推理するのではなく、5-FU の殺細胞作用自体の速度論的解析から殺細胞作用をもたらした生化学的作用モードを推定した。

具体的にはすでに我々が報告した、ある抗癌剤の作用が cell cycle phase に特異的か、非特異的かを識別

する速度論的解析法を応用した。すなわち1から144時間に亘って種々の濃度の5-FUをヒト結腸癌細胞に作用させ、コロニーアッセイによって各作用時間における90%殺細胞濃度を求め、時間とその濃度を両対数グラフにプロットした。その結果、FUdRはcell cycle phase 特異的に作用したのに対し、FURは非特異的に作用することを見いだした。この事実、殺細胞作用としてのFUdRによる対DNA効果とFURによる対RNA効果をこの方法により識別できることを意味する。そこで5-FUについてこの解析を行ったところ、比較的短時間高濃度の処理ではFURと同様に作用し、長時間低濃度の処理では(細胞により程度の差はあるが)FUdRとほぼ同様に作用することを見いだした。すなわち5-FUの作用機序は、各細胞における5-FU代謝パターンに加えて、その作用方法によっても大いに異なってくることを明らかにした。より詳細な検討を続行中である。

癌化学療法における基礎と

臨床の連携抗癌剤

—臨床効果—

有吉 寛

愛知県がんセンター血液化学療法部

癌化学療法は白血病、悪性リンパ腫、睾丸腫瘍、絨毛癌あるいは小児腫瘍などの腫瘍において治癒・延命が期待されるが、肺癌、胃癌、大腸癌など頻度が高い多くの癌では、それにより治癒を期待することは難しい。この状況をいかに打破するかは癌征圧の最も重要な課題である。そうした現状を改善するための癌化学療法の研究体制には、基礎研究と臨床研究の連携が不可避である。

近年の癌化学療法の基礎研究において注目される研究は ①薬剤開発における抗癌剤スクリーニング系の確立 ②生物学的あるいは薬理学的研究を基礎とした癌化学療法の確立 ③BRMを含む他の薬剤や他の治療法との併用に関する理論の確立 などであり、一方臨床研究の動向は ①開発された薬剤の化学的実証的評価 ②臨床薬理学に基づいた癌化学療法(併用療法を含む) ③癌の生物学的性格を踏まえた化学療法などに分類できる。こうした研究動向はシンポジウムのメインテーマである基礎と臨床の連携をきわめて密に必要とするものである。ここではそうした基礎と臨床の連携に基づいた癌化学療法の具体的成果の現状を報告したい。

1. 新しく期待される抗癌剤

現在癌化学療法において有効な抗癌剤として考えられている薬剤は、誘導体を除けば30種類未満である。この数字は抗癌剤開発の最初のスクリーニングにかけられた数十万以上と推定される物質の数からすればきわめて低いものであり、抗癌剤開発の困難さを物語るものである。それにもかかわらず抗癌剤開発への挑戦は盛んであり、近年でも数多くの薬剤が臨床治験にまで進んでいる。現在本邦で治験中あるいはほぼ終了した薬剤は誘導体を含み20以上あり、期待される成績が得られつつある薬剤もある。その中で特に注目されるのは、topoisomerase I (Topo I) 阻害剤として開発されたCPT-11である。

TopoはDNAの高次構造の変化を触媒する核内酵素で、Topo IとTopo IIに分類されているが、かつて米国NCIが開発のため臨床治験に力を入れたカンプトテシンはそのTopo I阻害剤である。しかしそれ自身は強い毒性のため治験が中止された。CPT-11はカンプトテシン誘導体として本邦で開発されたもので、投与されると体内で活性体SN-38となり、核内酵素であるTopo Iとの結合により細胞毒として働き、結果としてDNA合成阻害を示す時間依存型の薬剤である。その臨床第I相試験は単回投与および週1回投与で行われ、MTDは前者では250 mg/m²以上、後者では125 mg/m²で、DLFはいずれも白血球減少および下痢であった。この結果臨床第II相試験のrecommended doseは200 mg/m²の単回投与または100 mg/m²の週1回投与とされ、種々の腫瘍を対象に施行された。その結果現在までの報告では(Proc. of ASCO, 1990および1991より)以下の成績が得られている。

肺非小細胞癌では週1回100 mg/m²投与のスケジュールで行われ、既治療および未治療例の有効率は18.4% (7/35)、未治療例のみでは有効率40.9% (9/22)であった。また肺小細胞癌では既治療例では33.3% (9/27)、未治療例では50.0% (4/8)であった。これらの成績は近年開発された薬剤の肺癌における成績では出色である。さらに多数例での後期第II相試験の成績報告が近い将来期待される。

進行大腸直腸癌では週1回100 mg/m²または2週に1回200 mg/m²の投与スケジュールがとられ、46.1%の有効率が得られている。また卵巣癌で21.4% (3/14)、子宮頸癌で42.8%が報告されている。特に大腸直腸癌に高い有効率が示されていることは、従来の薬剤では稀なことであり、最終結果が待たれる。

CPT-11に対するもう一つの期待は、本剤が薬剤耐

性に関連する P-glycoprotein の影響を受けるアドリアマイシンやビンクリスチンと交叉耐性を欠くことが実験系で示されていることで、多剤耐性克服への展望を有している。

その他ナベルピンなどいくつかの薬剤も期待される成績が得られているが、ここでは省略する。

2. 基礎的理論に立脚した癌化学療法

① Biochemical modulation

新しい有効性の高い抗癌剤開発がきわめて難しい現状を背景に、既存の抗癌剤の抗腫瘍効果を他の薬剤により増強し、かつ副作用軽減を計るというのが抗癌剤の biochemical modulation である。この考えは実験的には多くの事実が認められているが、臨床的な証明は多くの試みにもかかわらずきわめて難しい。その中で最近最も注目を浴びているのが 5-FU と Leucovorin (LV) や 5-FU と MTX との併用による modulation である。これらの理論はいずれも実験的事実を根拠に、LV や MTX により 5-FU の効果増強を計るものである。ここでは臨床的に有用性が証明された LV/5-FU の進行性大腸癌における臨床成績を総説したい。

進行大腸癌を対象の LV/5-FU の臨床第 II 相試験は、LV の投与量が 200 から 500 mg/m² であり、5-FU の量は 370 から 600 mg/m² で施行されている。投与方法は LV が i.v. または d.i. であり、5-FU はいずれも i.v であった。投与期間は day 1~5、または週 1 回毎週などである。その奏効率は Machover らの報告 (LV 200 mg/m², 5-FU 370~500 mg/m²) では 30% (n=30)、Schmoll らの報告 (LV 200 mg/m², 5-FU 30~40 mg/kg) では 18% (n=68)、また Lopez らの報告 (LV 20~30 mg/m², 5-FU 400~850 mg/m²) では 57% (n=7) と、まちまちであった。いずれにしてもそれらの成績を背景にいくつかの大規模な臨床第 III 相比較試験が施行された。

Poon, O'Connell らは 5-FU 単独群, LV 200 mg/m²+5-FU 370 mg/m² 群 (HD-LV 群), LV 20 mg/m²+5-FU 370 mg/m² 群 (LD-LV 群), 5-FU+CDDP 群, 5-FU+高用量 MTX 群 (HD-MTX 群), 5-FU+低用量 MTX 群の 6 群による比較試験で、各群約 70 例の症例の抗腫瘍効果は HD-LV 群および LD-LV 群 (および HDMTX 群) が 5-FU 単独に比し有意に良好で、生存率にも有意な impact を与えることを示した。

そのほか Petrelli ら、あるいは Gerstner らの成績も LV-5 FU が有用で、さらに LD-LV が cost benefit の上からも優れているとしている。

今後 LV-5 FU の regimen の問題点として LV の投与法, LV の性状, 5-FU の投与量などの検討が進められる可能性があるが、現状では LD-LV と 5-FU が広く行われる可能性が強い。

② dose intensity

癌化学療法において毒性を少なくして最大の効果を得るためには、薬剤の投与量や投与方法を十分研究することが重要である。近年薬剤投与量に時間的背景を加えた dose intensity の実験的事実が示され (Skipper ら)、その概念は臨床的には Hodgkin 病における MVPP 療法の解析において提唱された。すなわち「単位時間当たりの化学療法薬剤投与量が治療効果と正の相関をする」とするものである。その計算例として Hryniuk らは dose intensity (DI) を週当たりの薬剤投与量で示し、基準 regimen の DI で比較対象の薬剤 DI を除したものを相対的 DI とした。この概念により従来報告された化学療法の成績を retrospective に分析すれば、悪性リンパ腫、乳癌、卵巣癌、大腸癌、子宮頸癌で dose intensity が証明されている。このことから prospective に dose intensity を証明しようとする study が、本邦の福岡らにより肺小細胞癌で施行されている。そのほか最近開発された血液細胞の増殖因子 CSF を利用した dose intensity も考慮されており、この概念による研究は今後も進められることであろう。

3. まとめ

(1) 現在基礎研究の成果の上に立った臨床研究の成果が徐々に得られつつあること ①薬剤開発 ② Biochemical modulation ③dose intensity の面から報告した。

(2) 新しく期待される薬剤としては DPT-11 (カンプトテシン誘導体) が最も注目される。

(3) Biochemical modulation の理論が臨床 LV-5 FU の組み合わせで証明された。

(4) Dose intensity は悪性リンパ腫、卵巣癌あるいは乳癌などで証明され、今後の化学療法で広く試みる必要がある。

(5) 癌化学療法の発展のためには基礎的理論に立脚した薬剤開発や手法が不可欠であり、そのためには基礎と臨床の緊密な連携が強く期待される。

ターゲティング化学療法の

薬剤動態と抗腫瘍効果

佐藤一成・加藤哲郎

秋田大学泌尿器科

癌の化学療法を阻む最大の問題は、抗癌剤に選択毒性がないため、癌細胞だけでなく、正常細胞にも障害がおよぶこと、すなわち治療係数が低い点である。この問題を克服するために腫瘍親和性のある抗癌剤をめざして、研究・開発が続けられてきたが、正常細胞と癌細胞の質的差異が乏しいことから、理想的な新規抗癌剤はいまだ出現していない。

そこで既存の抗癌剤を、作用させたい場所に局限して送り込み、必要な量と必要な時間作用させようという方法論、すなわち DDS の考えが起こってきた。これは、薬剤の標的指向（ターゲティング）と放出調節（コントロールドラッグデリバリー）により成るもので、その実践のためには腫瘍周辺の循環動態、薬剤代謝を含む病態生理学と製剤学の有機的結合が必要となる。

歴史的にみると、すでに 1950 年代に動注法が導入され、また体内注入も試みられた。いずれも抗癌剤の腫瘍選択性を指向した投与方法であるが、抗癌剤のクリアランスが大きいため効果に限界があった。その対策として持続動注療法が導入され、携帯型や体内埋め込み型ポンプが開発された。しかし、動注療法の要である first pass effect を増強するという点では問題が残る。その結果、1970 年代以降になると投与方法に応じた剤形が研究開発されるようになった。すなわち局注用のエマルジョンとデキストラン結合体、腔内投与用の活性炭、動注用のマイクロカプセルや高分子化合物などである。一方では、阻血あるいは昇圧剤の併用によって、first pass effect の増強も試みられるようになった。

これらの投与方法は臨床応用可能であるが、腫瘍の転移能と薬剤投与の簡便性を考慮すると理想的な DDS は、全身投与のよっても目的の病巣に薬剤が集積するものといえる。このような性質を持つ物質として腫瘍細胞に対して特異性を持つ DNA や抗体ならびに、腫瘍血管の特異性を利用して集積する天然あるいは高分子化合物と微粒子が、担体として研究されている。たとえば、静注後には分子量の小さいネオカルチノスタチン (NCS) は、腫瘍組織から除去されて行くのに対し、アルブミン、ガンマグロブリン、スチレンマレイン酸 NCS などの高分子物質は、徐々に腫瘍組織に

蓄積する共通の性質を持っている。しかし、これらの高分子には腫瘍蓄積性もみられるものの、肝を中心とした網内系に投与薬剤の大部分が取り込まれるという短所があり、全身投与によるターゲティングは、実験室レベルに留まっている。また、モノクローナル抗体も高分子であることから、同様の問題を持っている。

以上のような全身循環への投与によるターゲティングの問題点を回避するため、癌治療の DDS の多くは、動注を利用している。このような方法による抗癌剤のターゲティングを行う場合、薬剤の移動を以下のように 3 段階に分けて考えるのが便利である。すなわち、第一に抗癌剤は腫瘍組織の血管床に局限して集積し、かつ血管壁を容易に透過して間質に移行する段階がある。次に、間質内の抗癌剤が、癌細胞をめざして移動する段階が想定される。そして最後に、癌細胞に到達した抗癌剤が、細胞内に取り込まれて細胞毒性を発揮する段階へ至る。このようなターゲティングの機序は順序よく行われることが必要であり、まず最初に第 1 次ターゲティングが成就できる方策をたてる必要がある。

このように投与方法の改善は、投与経路や投与スケジュールの工夫と言った初期段階を経て、今日ではコロイド化学を基とした製剤学と物理工学をも包含した投与形態を検討する時期に至っている。それに伴って徐々にではあるが、実用性に富む成果が生まれつつある。そこで、第一次ターゲティングを行うもっとも効果的な方法として、演者らが試みてきたマイクロカプセル化学塞栓療法の基本資料を提示してみたい。

マイクロカプセル (MC) は種々の高分子化合物を被膜素材として作製されるが、演者らは、prototype としてエチルセルロースを素材とした。被膜素材と芯物質となる抗癌剤の比率によって薬物放出速度を、また作製条件によって粒形をそれぞれ調節できるが、初期放出 (burst effect) と収率を勘案して抗癌剤含有率 50%、平均粒径約 200 μm の MC を使用している。MC を X 線透視下の経皮動脈カテーテルで腫瘍栄養動脈に注入すると、微細腫瘍血管床に捕捉されて血流を停滞させるとともに抗癌剤を放出するので、従来の動注法に比して標的病巣における抗癌剤の生物学的利用率は飛躍的に向上する筈である。この予想は実験動物と臨床例における薬物動態分析から実証することができた。さらに抗腫瘍効果の増強も腎癌と肝癌で観察された。

この方法は、controlled release device を腫瘍血管床に塞栓されることから化学塞栓 chemoembolization と称することができ、MC 以外の担体によっても

同様の効果が得られる。ただし、血流停止を伴うので、MMCのように低酸素下でも活性低下を来さない抗癌剤を選択するのが望ましい。

MC化学塞栓療法を施行した759例を集計すると、治療部位は肝、腎、肺、骨盤内臓器、骨と多岐にわたり、中枢神経系と消化管を除く種々の病巣に適應された。副作用と合併症の発生頻度は肝機能障害15%、腎機能障害6%、造血器障害8%、発熱、疼痛、消化器症状18~40%、皮膚潰瘍21%、遠隔塞栓0.7%であったがそのほとんどは可逆性であった。本療法に起因する死亡例は2例(0.26%)であったが、いずれも既存の重度肝・腎疾患が増悪したもので、通常の化学療法に適應基準を十分に満たす安全性が示された。

本法の抗腫瘍効果をみると、奏効率(PR+CR)は肝細胞癌18%、腎細胞癌19%、膀胱癌54%ならびに前立腺癌54%であり、大部分の症例で一回のみの投与であったが、ほぼ満足できる結果が得られた。このような強力な抗腫瘍効果は、手術補助療法として期待がもたれた。そこで、手術前に化学塞栓療法を行い、種々の癌で根治手術を容易にすることができた。その結果、局所浸潤性腎細胞癌と膀胱癌患者の治療成績が有意に改善された。また、手術不能肝細胞癌の延命を示唆する成績も得られている。

MC化学塞栓療法の適應と効果は、次のようにまとめられる。1. 手術補助療法として使用した場合、高い抗腫瘍効果により根治手術を容易にし、手術適應の拡大、臓器保存などの縮小手術を可能とする、2. 手術不能例では疼痛、止血などの対症療法として、QOLに貢献する場合が少なからずあり、本法によってPR、CRが得られれば延命あるいは治癒が期待できる。さらに、3. 他の治療法との併用すなわち集学的治療への組み入れにより、効果が增強されることが予想される。

しかし、化学塞栓療法にもいくつかの問題がある。まず、カテーテル技術の限界は本治療法の限界となる。塞栓という性質上、適應に制限があり、中枢神経系、消化管は適應外となる。より効果的でコストパフォーマンスを上げるためには製剤学上の問題(素材、放出速度、粒径、薬物含有率、至適抗癌剤、安全性、生産効率)を解決する必要がある。さらにより客観的データに基づく結論を得るためにコントロールスタディが不可欠である。

DDSの癌治療への応用のためには、安全性、実用性ならびに効率について、臨床、製剤学を含む学際的な基礎研究が重要である。そして、その結果をふまえて癌治療体系におけるDDSの位置づけを行っていく

必要がある。個々の症例に応じたDDSが選択できるようにになれば、癌治療の成績はいつそう向上するものと考えられる。

抗癌剤投与法の改善

山田龍作

和歌山県立医科大学放射線科

抗癌剤を局所に投与し、効率よく作用させるために、色々な工夫が成され、投与方法の改善が行われ臨床に應用されている。targeting chemotherapyを達成するためのdrug delivery systemの開発である。現在臨床に應用されている投与方法について述べたい。

これらの方法は次のように大別できる。

1. 動脈内注入法, 2. 動脈化学塞栓法, 3. 局所注入法, 4. その他の方法である。

1. 動脈内注入法

腫瘍を栄養する担癌臓器動脈に血管カテーテルを挿入し抗癌剤を注入し、高濃度の薬剤を腫瘍に作用させようという試みである。

① one shot 動注, bolus arterial injection

Seldinger法により、カテーテルを選択的に担癌臓器動脈に挿入し、dose dependentの抗癌剤が、10~30分間で注入せられる。

② 持続動注 continuous infusion

カテーテルを担癌臓器動脈内に留置し、注入ポンプを用いて長時間にわたって注入する。最近では皮下埋込型ポンプが用いられることが多くなった。抗癌剤の濃度と作用時間の両方を得ることができる。

③ 一時的血流遮断下動注法 (Balloon occluded arterial infusion)

Swanganz typeのballoon catheterを担癌臓器動脈に二腔を有するバルーンカテーテルを挿入し、一時的(30分~60分間)に血流を遮断した上で、その末梢に抗癌剤を動注する。薬剤は血流に稀釈されないまま腫瘍に到達し、滞留して作用する。

④ 血流改変下動注

血管カテーテルとstainless steel coilを用いて、腫瘍を栄養する動脈を単純化した上で動注を行う interventional procedureである。

2. 動脈化学塞栓法 chemoembolization

動脈の塞栓による腫瘍への血流遮断と、局所への効率のより選択的な化学療法を組合せて行う工夫が色々成され、chemoembolizationと呼ばれるようになった。これは1980年に加藤らによる、microcapsulated MMCの選択的動注に対して付された名称で

あるが、その後、化学療法と塞栓療法の組合せによる targeting chemotherapy の技術が次々と生み出された。

- ① microcapsule chemoembolization
- ② transcatheter arterial chemoembolization (TACE)
- ③ Lipiodol chemoembolization
- ④ microsphere chemoembolization

などである。

3. 局所注入法

抗癌剤やその他の薬剤を超音波などのガイド下に腫瘍に直接注入する治療法が試みられている。

- ① 抗癌剤局注
 - ② OK 432 局注
 - ③ エタノール局注
 - ④ 植込型徐放性抗癌剤
- などがある。

4. その他の方法

昇圧化学療法、リポゾーム、モノクローナル抗体を carrier とする化学療法なども試みられている。

これらの各種治療法の手技や臨床成績について報告したい。

基礎の立場から

辻 明良

東邦大学医学部微生物学教室

重篤な基礎疾患を有する宿主（悪性腫瘍、臓器移植など）においては、その治療のために投与される薬剤（抗腫瘍剤、免疫抑制剤など）や処置などにより、いっそう宿主の感染防御機能を低下させ、いわゆる compromised host（易感染宿主）を増加させる結果となっている。このような宿主では、各種感染症を合併することが多く、しかも近年の優れた抗菌化学療法でも難治性である。

今回、「腫瘍と感染症」を基礎の立場から、主として実験モデルでの基礎検討成績を紹介し、考察した。

1. 担癌状態は易感染性であるか。

臨床的には癌の進行に伴い、易感染状態に陥りやすく、各種感染症を合併しやすいことが報告されている。また、各種固型癌と白血病などの造血器癌とではその易感染性は必ずしも同一でないといわれている。我々は L 1210 白血病マウスおよび 3 LL 担癌マウス（皮下移植）を用い、*P. aeruginosa*, *E. coli* を感染菌とし、全身感染モデルでの抵抗性を検討した。その結果、各担癌マウスとも感染菌で 50% 致死量 (LD₅₀

値) は正常マウスとほぼ同等の値を示した。3 LL 細胞を尾静脈内に移植した担癌マウスに *K. pneumoniae* を経鼻感染させた 3 日目の肺内生菌数は、正常マウスに比べ少なく、むしろ抵抗性を示していた。

癌治療のために抗腫瘍剤 (cyclophosphamide: CY) を投与した 4 日目に、*P. aeruginosa* などを感染させると、担癌マウス (L 1210 白血病マウス, 3 LL 担癌マウス)、正常マウスとも LD₅₀ 値は著明に低下し、易感染性となる成績が得られた。抗癌剤投与による白血球減少が大きな要因で、医原的処置が大きく関与している。

2. 悪性腫瘍に合併する感染症と原因微生物

腫瘍患者における感染症の多くは、呼吸器感染症、尿路感染症で、末期感染では敗血症である。その原因微生物は、いわゆる opportunistic pathogen であり、環境および宿主常在菌（微生物）である。ブドウ球菌、緑膿菌をはじめとする細菌や真菌、ウイルス、原虫などあらゆる種類の微生物があげられている。

3. 治療と感染予防の問題点

癌治療中における感染症の合併は、癌治療に支障をきたし、予後に大きく影響をおよぼす。抗腫瘍剤投与により、顆粒球数、リンパ球数の減少をまねき、緑膿菌やブドウ球菌などの常在菌でも感染が成立し、その治療も困難となる。

抗癌剤の CY 投与のより著明な白血球減少状態で *P. aeruginosa*, *E. coli* を感染させ、抗菌薬投与による ED₅₀ 値を測定した。抗癌剤投与マウスは正常マウスに比べ、各薬剤で高い値を示し、難治性になっていた。そのため、抗腫瘍化学療法中は宿主の防御機能、特に好中球の数や機能の把握が必要になる。易感染宿主における感染に対する化学療法は、難治性感染を誘発する菌種を対象に、薬剤の選択、適切な投与方法（抗菌併用療法を含む）を考慮しなければならない。

癌における感染症への対策は感染予防が主であるが、近年、宿主側の機能を高める biological response modifiers (BRM) が、抗癌化学療法との併用で検討されている。この BRM が癌宿主における感染症の予防および治療にどのように関与するかを検討した。

今回、BRM のうち G-CSF, MDP-Lys (L 18) を用い、宿主状態の改善がみられるかを検討した。3 LL 担癌マウス（皮下移植）に CY 投与した 6 時間後より G-CSF, MDP-Lys (L 18) を 1 日 1 回、4 日間皮下投与した。CY 投与 4 日目に *P. aeruginosa* を全身感染させたとき、LD₅₀ 値は CY 投与マウスより上昇し、感染抵抗性の回復が認められた。このことは G

-CSF, MDP-Lys (L 18) がCY 投与による顆粒球数の減少を抑制していたためと考えられた。また、抗腫瘍効果については、G-CSF, MDP-Lys (L 18) 投与により、腫瘍径の増加抑制および腫瘍重量(癌移植後21日目)の低下がみられた。

以上の成績より、抗癌剤の副作用の一つである顆粒球減少をG-CSF, MDP-Lys (L 18) は抑制させ、感染防御を示すとともに、抗腫瘍性も認められた。

今後、このようなBRM療法は特に抗菌化学療法との併用で、感染予防および感染治療に期待できると考えられた。

臨床の立場から

螺良英郎

結核予防会大阪病院長

各種悪性腫瘍患者でみられる感染症は観察や研究目的に応じていろんな分類がなされる第一に悪性腫瘍疾患別で感染症のパターンが異なる。たとえば、造血器悪性腫瘍群では、感染症のエピソードの頻度が高く、固形癌ではその頻度は低い。頻度のみならず悪性腫瘍患者の予後におよぼす影響、対策もこの2つの疾患群で異なる。しかしどちらの型の腫瘍疾患にあっても疾患の経過中に感染症を併発することは癌治療上支障をきたし、予後不良につながる。感染を早期に予知して予防するか、たとえ併発しても速やかに治癒させるのが理想である。

癌での感染症のもう1つの分類で注目されることはopportunistic typeの感染エピソードと、全身感染症(敗血症)で致死的となるterminal typeの2つがあることである。opportunistic typeは悪性腫瘍疾患の過程において発熱エピソードとして生じるもので一過性であるが反復する。原因として医原的免疫抑制によるterminal typeは生前は不明で、剖検によって見出されるものである。やはり、医原的免疫抑制が原因であるが、全身的な防御機能の低下によっている。

治療対策はopportunistic typeではempiric chemotherapyが主であるが、terminal typeではほとんど対策をたてる余裕がないことが多い。

感染の原因となる微生物の種類にも癌患者では一定の傾向もみられるが、特徴は少ない。

一般に病原性を度外視した、あらゆる種類の微生物による感染症が起こりうることである。

いわゆる宿主依存性の感染であるので、感染症としての発症、進展ないし治癒には癌患者の宿主状態如何が関係している。

癌患者の宿主状態というcompromised hostと称せられている。

癌患者にあつてのcompromised hostの成因には、癌疾患による悪液質因子で生じた抵抗力低下と、医原的な免疫抑制、好中球機能障害の2つが複合したためと考えられる担癌状態によるcompromised hostの病態に応じて、原因菌がことなり、感染症の病状、経過、予後が左右されているようである。

Compromised hostでの宿主抵抗力低下の宿主状態をどのような診断パラメーターで把握したらよいかの問題である。末梢血中の好中球数減少neutropeniaは確かに最も明確な易感染性指標とされているが、これ以外の癌患者における抵抗力低下と易感染性指標については多施設でのこれからの協同研究が必要であろう。

臨床の立場からみて悪性腫瘍患者の経過中でみられる感染症の問題点を列記すると次のごとくなる。

(1) 悪性腫瘍疾患の種類とその進展度、すなわち宿主状態によって、感染の原因菌と感染症の種類が異なる。こうした感染症のあり方のパターンを整理し直すことが経験的療法の上からも重要である。一方では、悪性腫瘍患者ではあらゆる菌が宿主状態によって原因となりうる。

(2) opportunistic infectionでは呼吸器、胆道、尿路等の局所感染症であることが多いが、末期のcompromised hostでの感染は全身感染症(敗血症)であつて、死因と直結していることが多い。予防、治療の最大の対象は敗血症である。

(3) これらの原因となる微生物、原虫等はパラエティーに富んでいる。特に病原性という立場で論じにくいし、かつ血中菌を除いては検出することができないことが多い。しかしこれらも新しいテクノロジーを用い、抗原チェックによって解決される日も近いであろう。

(4) 一方宿主側での易感染状態の診断については好中球数減少neutropeniaが最も重要な指標となっている。しかし、neutropeniaあるいは好中球機能不全のみでは解釈できない易感染要因がある。その1つが感染免疫である。感染免疫はマクロファージ、リンパ球を主とする細胞群とその機能を司る一連のサイトカイン群によっているが、しかしこれらを臨床的に評価、診断することは現状の診断法をもってしては不可能である。

免疫抑制は易感染につながるが、免疫抑制の原因のなかで最も大きいのは医原的免疫抑制である。このことについてはBachらと共に我々もかつてそれらの医

原的免疫抑制が一樣ではなく、薬剤、投与と抑制をうける細胞群によって多様であることを報告している。免疫抑制といってもそのあり方は種々でその一部が易感染につながっていると解釈される。この医原的抑制も正常個体では生じにくいのが、担癌という状態で生じてくる。

癌における感染症への対策の目標は感染予防にあるが、好中球減少で有熱患者に対しては感染症を推定して、それへの適切な化学療法である。病因菌の検出が問題となるので、retrospectiveな解析にもとづく empiric chemotherapy であろう。癌疾患のどの段階でまたどのような条件下に、どういうレジメの化学療法を選択すべきであるか、実状に即したプロトコールがもとめられよう。

もう1つの感染対策は宿主状態の改善を目標とした BRM 療法である。その1つが、neutropenia に対する回復である。CSF 療法あるいは MDP 療法がこれに当る。これら広くサイトカインによる治療は抗菌化学療法とうまく組み合わせることによって感染予防効果を発揮しうると考えられる。

すなわち、易感染状態に準じてこの抗菌剤の選択、投与、chemotherapy を補助する療法の選択のガイドラインを設定することが癌治療効果を cost effective, cost benefit にし患者にとっても QOL の高いものとすると考えられる。これら宿主にたった癌における感染症対策の臨床研究はこれからの抗菌および抗癌の化学療法の接点として重要な研究目標となろう。

新薬シンポジウム (I): SM-7338

はじめに

小林宏行

杏林大学第一内科

SM-7338 (一般名 meropenem, 略号 MEPM) は住友製薬株式会社により開発された新しい注射用カルバペネム系 β -ラクタム剤であり、4位に methyl 基が導入された新しい骨格を有し、3位は dimethyl-carbamoyl pyrrolidin で修飾されている。本剤は既存のカルバペネム系 β -ラクタム剤とは異なり、DHP-I 阻害剤あるいは、腎毒性低減剤を必要とせず、単剤にて使用可能となっている。

本剤はグラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルときわめて強い抗菌活性を示しその作用は殺菌的である。特に緑膿菌等ブドウ糖非発酵グラム陰性菌を含むグラム陰性菌に対して強い抗菌力を示す。また、各種病原菌による実験的感

染治療試験においても、優れた効果が認められている。

一般毒性試験、腎毒性試験、生殖試験、変異原性試験、一般薬理試験および臨床第 I 相試験により安全性が確認された。

本シンポジウムにおいては、現在までに検討された基礎および臨床成績について各シンポジストに総括的な発表をお願いし、本剤の特徴ならびに臨床上の位置づけを明らかにした。

抗 菌 力

五島瑛智子

東邦大学微生物学教室

SM-7338 は、黄色ブドウ球菌から緑膿菌にわたる広範囲の細菌に対して強い抗菌力を示す注射用カルバペネム系抗生物質である。

大腸菌および緑膿菌の PBP-1,2,3,4,5 (特に 2,3) に、黄色ブドウ球菌の PBP-1,2,3,4, さらに MRSA の PBP-2' にも強い親和性を有し、強力な殺菌作用を示した。また、各種 β ラクタマーゼに高い安定性を有し、かつ β ラクタマーゼ阻害活性が強いことから耐性株が少ない。

グラム陰性菌特に緑膿菌に対し、*in vitro* および *in vivo* の postantibiotic effect (PAE) は比較薬剤より高かった。

各種感染治療実験 (局所感染および免疫不全モデル) における治療効果は試験薬剤中最も優れ、全身感染では菌株により良好または同等の成績であった。

展望: 本剤は複数菌感染や免疫低下時等の重症感染症に対しても優れた効果が期待できるものと考えられる。

吸収・分布・代謝・排泄

松本文夫

神奈川県衛生看護専門学校附属病院内科

SM-7338 500 mg, 30 分点滴静注後の最高血中濃度は、25~30 $\mu\text{g/ml}$ に達し、投与量に相関した血中濃度が得られた。血漿中半減期は約 60 分であった。

尿中には 24 時間で約 60~70% が未変化体で回収された。

連続使用による体内動体の変化や蓄積性は認められなかった。

これら体内動体は、プロベネシッドの影響を受け、腎排泄機序として尿管分泌の関与が示唆された。ま