

## セフェム系抗生物質の喀痰中濃度におよぼす塩化リゾチームの併用効果

宍戸 春美・永井 英明・三宅 修司

国立療養所東京病院呼吸器科\*

内 田 和 仁・吉 良 枝 郎

順天堂大学医学部呼吸器内科

松井 泰夫・折 津 愈・秋 山 修

宮原 隆成・石川 智久

日本赤十字社医療センター内科

(平成4年2月21日受付・平成4年4月22日受理)

塩化リゾチームの慢性呼吸器感染症患者における喀痰中への抗菌薬移行を高める効果を臨床薬理学的に検討した。Cefuzonam (CZON) 単独投与時の喀痰中 CZON 濃度平均値と CZON+塩化リゾチーム併用時の喀痰中 CZON 濃度平均値について、t-検定を行った結果、7例中2例において統計学的有意差が認められ、この2例を含む6例で塩化リゾチームの併用により CZON 点滴静注後の喀痰中 CZON 濃度が上昇した。また、7例全体の平均値について2元配置分散分析を行った結果では、CZON 単独投与と比較して、CZON+塩化リゾチーム併用投与では、統計学的有意に CZON の喀痰中濃度が上昇した。今回の CZON と併用した塩化リゾチームの臨床薬理学的検討と文献的考察から、呼吸器感染症において、抗菌薬と塩化リゾチームの併用は臨床的に有用であると結論される。

**Key words:** 塩化リゾチーム, 喀痰中移行, blood-bronchus-barrier, cefuzonam, 慢性呼吸器感染症

ムコ多糖体分解酵素である塩化リゾチームは、呼吸器感染症患者の喀痰中ムコ多糖体を分解し粘稠度を低下させることにより、喀痰の排出を容易にするため、しばしば呼吸器感染症患者に抗菌薬と併用して投与される。臨床的にも、すでに抗菌薬との併用時の塩化リゾチームの臨床的有用性が証明されている<sup>1)</sup>。また、*in vitro* において、塩化リゾチーム単独で溶菌作用を持つと共に、細胞壁作用性の抗菌薬との併用でその抗菌作用を増強する<sup>2)</sup>。

我々は、このような塩化リゾチーム本来の作用のほかに、動物モデルで証明されている、抗菌薬の病巣中移行を増強する作用<sup>3)</sup>に注目し、慢性呼吸器感染症患者の喀痰中への抗菌薬移行を高める効果を臨床薬理学的に検討し、塩化リゾチームの呼吸器感染症に対する新たな有用性を示唆する新知見を得たので報告する。

## I. 研究方法

### 1. 試験期間および対象症例

1989年(平成元年)6月から1990年(平成2年)3月までに著者らの所属する3施設に入院した、びまん

性汎細気管支炎(diffuse panbronchiolitis (D.P. B.))患者4例、気管支拡張症患者3例、計7例を今回の研究対象とした。

### 2. 投与方法・投与量

セフゾナムナトリウム(以下 CZON と略す)の1gを100 mlの生理食塩液に溶解し、1日2回、1時間で点滴静注した。CZONの投与期間は10日間とし、前半の5日間は CZON 単独の投与とし、後半の5日間は塩化リゾチーム(90 mg/カプセル; アクディーム 90 (グレラン製薬))の1日量270 mg(3カプセル/日、分3、毎食後)の経口投与と併用した。なお、本試験前に3日間の wash out 期間を置いた(Fig. 1)。

### 3. 血清中、喀痰中 CZON 濃度測定法

CZON 単独投与および CZON+塩化リゾチーム併用投与の、各々、5日目において、CZON の血清中濃度および喀痰中濃度を測定した。

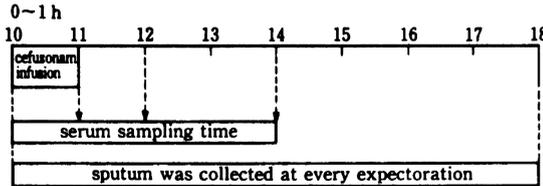
血清中濃度の測定は、点滴静注開始1時間後(点滴静注終了時)、点滴静注終了1時間後、3時間後に採

\* 東京都清瀬市竹丘3-1-1

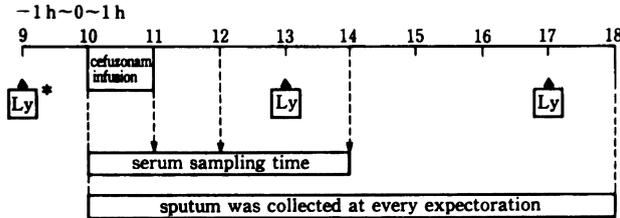
day 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
cefuzonam (1g/100 ml)×2/day i. v. drip infusion					cefuzonam (1g/100 ml)×2/day i. v. drip infusion				
					Lysozyme chloride (ACDEAM®90 capsule)90 mg×3/day p.o.				

Wash out period before the trial was at least 3 days.

① cefuzonam alone (day 5)



② cefuzonam+lysozyme chloride (day 10)



\* Ly : Lysozyme chloride (Acdeam® 90 capsule) p.o.

Fig. 1. Schedule of drug administration and collection of blood and sputum.

血し、測定まで血清を凍結保存した検体について行った。喀痰中濃度の測定は、CZON の点滴静注開始直後から 12 時間後までの喀出痰を 1 個ずつ、別個の容器に採取し、測定まで凍結保存した検体について行った (Fig. 1)。血清および喀痰の測定までの保存は、 $-20^{\circ}\text{C}\sim-40^{\circ}\text{C}$  では 1~2 日間の短期間とし、速やかに  $-70^{\circ}\text{C}$  で行った。

CZON の濃度測定は、*Escherichia coli* NIHJ を検定菌とし、Heart Infusion Agar (日水製薬) を検定培地とする円筒平板法で行った。血清は、0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) にて 10 倍希釈または 100 倍希釈し、試料液とした。喀痰は、10 倍量の 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) を加えた後、ホモジナイズし、さらに遠心分離した上清を試料液とした。血清中濃度測定の標準希釈系列は、CZON の原末を 1% リン酸塩緩衝液 (pH 6.0) に溶解して調製した標準原液を 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) で希釈し、さらに抗菌薬が投与されていない Blank 血清で希釈し調製した。

喀痰中濃度測定の標準希釈系列は、CZON の原末を 1% リン酸塩緩衝液 (pH 6.0) に溶解して調製した標準原液を 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) で希釈し、調製した。本 bioassay 系による最小測定可能濃度 (minimum measurable concentration) は、血清中では  $0.025\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 、喀痰中では  $0.0025\ \mu\text{g}/\text{ml}$  であった。

血清中および喀痰中の CZON 濃度測定 (Bioassay 法) におよぼす塩化リゾチームの影響について検討し、血清中および喀痰中の CZON 濃度測定には塩化リゾチームの影響はないことを確認したので、付記する。CZON 点滴静注患者より採取した血清および喀痰に各種濃度 (0, 5.0, 12.5, 25, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) の塩化リゾチームを添加し、前記の bioassay 法により CZON 濃度の回収試験を行った結果、血清中および喀痰中の CZON 回収率は、各々、97~114%, 101~117% であった。

4. 副作用の検討

臨床症状の詳細な観察を行うとともに、血液学的検査、血液生化学的検査、肝機能検査、尿検査などを実施し、副作用の有無を検討した。

## II. 研究成績

同一患者での CZON 単独投与時と CZON+塩化リ

ゾチーム併用投与時の喀痰中 CZON 濃度の測定成績を、患者の性、年齢、診断名および統計学的有意差検定と共に Table 1 に示す。また血清中 CZON 濃度の測定成績および統計学的有意差検定を Table 2 に示す。CZON 単独投与時の血清中 CZON 濃度平均値と

Table 1. Sputum concentration of cefuzonam in 7 patients treated with cefuzonam alone or cefuzonam+lysozyme chloride

Case no.	Sex	Age	Diagnosis	Cefuzonam alone			Cefuzonam+lysozyme chloride			Statistical analysis (t-test)
				n <sup>1)</sup>	Geometrical mean ( $\mu\text{g/ml}$ )	Confidential range (1-P=0.95)	n <sup>1)</sup>	Geometrical mean ( $\mu\text{g/ml}$ )	Confidential range (1-P=0.95)	
1	M	65	bronchiectasis	15	0.032	0.013~0.077	12	0.038	0.018~0.080	NS
2	M	48	DPB <sup>1)</sup>	5	0.048	0.028~0.084	9	0.011	0.007~0.017	
3	F	59	bronchiectasis	14	0.022	0.008~0.060	19	0.404	0.252~0.648	P<0.01
4	M	56	DPB	14	0.099	0.053~0.187	14	0.127	0.088~0.182	NS
5	M	74	DPB	4	0.038	0.002~0.708	7	0.122	0.075~0.197	NS
6	F	48	DPB	13	0.107	0.050~0.228	10	0.116	0.045~0.297	NS
7	F	70	bronchiectasis	11	0.115	0.057~0.232	11	0.385	0.134~1.107	P<0.05
Total				76	0.055	0.042~0.073	82	0.102	0.078~0.133	Repeated two way layout analysis of variance P<0.01

<sup>1)</sup> DPB: diffuse panbronchiolitis

<sup>2)</sup> Number of samples

Table 2. Serum concentrations of cefuzonam in 7 patients treated with cefuzonam alone or cefuzonam+lysozyme chloride

Case no.	Peak serum concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	cefuzonam alone	cefuzonam+lysozyme chloride
1	53.1	49.7
2	59.3	39.8
3	33.8	50.0
4	28.1	26.5
5	64.6	42.4
6	38.9	25.4
7	28.0	27.2
mean	43.7	37.3
Confidential range (1-P=0.95)	29.7~57.7	27.2~47.3
paired t-test	NS	

CZON+塩化リゾチーム併用時の血清中 CZON 濃度平均値について t-検定を行ったが、有意差は認められなかった。CZON 単独投与時の喀痰中 CZON 濃度平均値と CZON+塩化リゾチーム併用時の喀痰中 CZON 濃度平均値について t-検定を行った。7 例中 2 例 (症例 No. 3, 7) で統計学的有意差 (症例 No. 3:  $P < 0.01$ ; 症例 No. 7:  $P < 0.05$ ) が認められ、この 2 例を含む 6 例で塩化リゾチームの併用により CZON 点滴静注後の喀痰中 CZON 濃度が上昇した。また、7 例全体の平均値について 2 元配置分散分析を行ったが、CZON 単独投与に比較して、CZON+塩化リゾチーム併用投与では統計学的有意 ( $P < 0.01$ ) に CZON の喀痰中濃度が上昇した。

CZON 単独投与、CZON+塩化リゾチーム併用投与のいずれでも、CZON および塩化リゾチームによると思われる副作用・臨床検査値異常は認められなかった。

代表的な症例を呈示する。

症例 No. 7: 70 歳女性、気管支拡張症。

肺のう胞を合併した気管支拡張症の症例である。血清中濃度測定成績では、CZON 単独投与 5 日目と CZON+塩化リゾチーム併用投与 5 日目の血中濃度推移に差はなかった (Fig. 2)。喀痰中濃度測定成績では、CZON 単独投与 5 日目と CZON+塩化リゾチーム併用投与 5 日目の喀痰中濃度は、後者が前者よりも高い濃度を呈した (Fig. 3)。CZON 単独投与 5 日目と CZON+塩化リゾチーム併用投与 5 日目での喀痰中 CZON 濃度の平均値は、それぞれ、 $0.115 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.385 \mu\text{g/ml}$  であり、塩化リゾチームの併用により喀痰中の CZON 濃度は有意 ( $P < 0.05$ ) に上昇したと

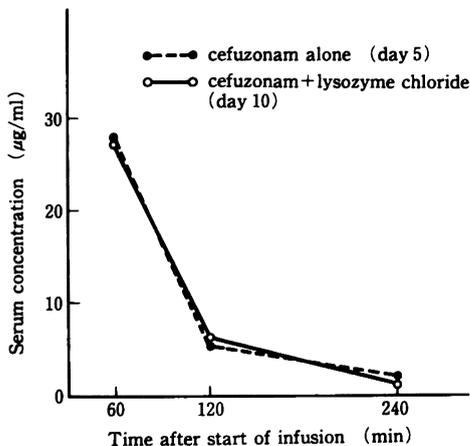


Fig. 2. Serum concentration of cefuzonam 70 F, Bronchiectasis (Case no.7).

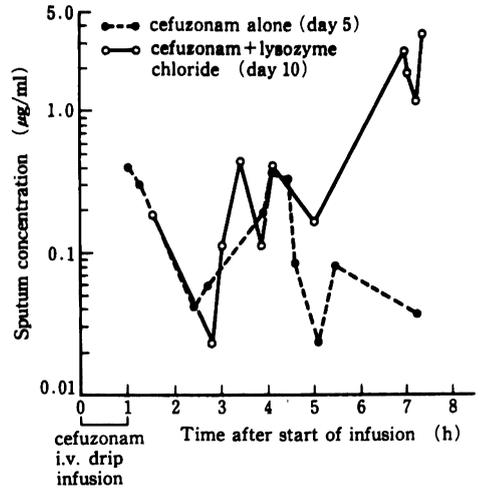


Fig. 3. Sputum concentration of cefuzonam 70 F, Bronchiectasis (Case no.7).

いえる。

### III. 考 察

肺には Blood-Bronchus-Barrier が存在し、感染・炎症の改善とともに抗菌薬の気管支分泌液中への移行が次第に低下することが確認されている<sup>4)</sup>。このため気管支分泌液中の抗菌薬濃度が炎症の修復とともに低下し有効濃度を維持できず、十分に除菌できないままに感染症の遷延化が起こり得る。したがって炎症過程の推移にかかわらず、とりわけ炎症の修復期、すなわち、Blood-Bronchus-Barrier の復元期に抗菌薬の能動移行を高めることはきわめて重要である<sup>5)</sup>。

喀痰中の抗菌薬濃度におよぼす各種薬剤の効果が報告されている。松本ら<sup>6)</sup>は慢性呼吸器感染症患者で、 $\beta$ -ラクタム系抗菌剤と蛋白分解酵素剤との併用による  $\beta$ -ラクタム剤の喀痰中濃度を非併用時と比較し、蛋白分解酵素剤は  $\beta$ -ラクタム剤の喀痰中濃度を有意に増加させたと報告した。中島ら<sup>7)</sup>は、蓄痰した喀痰を用いた測定ではあるが、細菌性肺炎患者に対して cefmenoxime (CMX) と Serrapeptase との併用効果を検討し、喀痰中 CMX 濃度が CMX 単独群に比較し Serrapeptase 併用群で有意に上昇したと報告した。前山と大山<sup>8)</sup>は、慢性副鼻腔炎患者に対する CMX と塩化リゾチームの併用で、統計学的有意に上顎洞粘膜への移行を促進したと報告した。抗生物質と消炎酵素剤の併用投与は、血管および組織の透過性が亢進するため抗生物質の組織中への移行性が改善すると考えられる<sup>3)</sup>。

また、去痰剤の抗菌薬との併用効果も検討されてお

り、今岡<sup>9)</sup>は陳旧性肺結核患者に rifampicin (RFP) 単独および Ambroxol 併用投与を行い、喀痰中 RFP 濃度が Ambroxol 併用時に高値を示したと報告し、その作用機序は、secretory IgA とリゾチームが分泌腺から移行するのは異なり、IgG の気道への移行と同一で、血中からの能動的移行と推察されると考察している。Braga ら<sup>10)</sup>は慢性気管支炎患者における amoxicillin (AMPC) と S-carboxymethylcysteine (S-CMC) の併用効果を検討し、AMPC 単独群と比較して、AMPC と S-CMC の併用群で喀痰中への AMPC の移行が有意に高まったと報告した。この機序は S-CMC の消化管への刺激作用により AMPC の吸収が促進されるためであろうとしている。森戸ら<sup>11)</sup>は慢性呼吸器感染症患者で、norfloxacin (NFLX) と S-CMC の併用投与による喀痰中の NFLX 濃度を NFLX 単独投与と比較した結果、最高喀痰中濃度が、併用により 1.4~3.5 倍に上昇したと報告した。宮崎と松本の報告<sup>12)</sup>では、漢方製剤の「清肺湯」が、cefoperazone (CPZ) との併用で CPZ の喀痰中濃度を上昇させた。

塩化リゾチームは、ムコ多糖体分解作用および陽帯電コロイドとしての塩基性タンパク質が持つ非特異的作用により、溶菌作用<sup>2)</sup>、喀痰喀出作用<sup>13)</sup>、抗炎症作用<sup>14,15)</sup>、出血抑制作用<sup>15)</sup>等の種々の薬理作用が認められている。これまでに報告された塩化リゾチームの *in vitro*, *in vivo* における作用を考慮すれば、塩化リゾチームが呼吸器感染症患者で抗菌薬の喀痰への移行に有利に働くことが推測される。今回の我々の臨床薬理学的検討は、この点を確かめる目的で行ったものである。抗菌薬として、今回、第3世代セフェム剤のひとつである CZON を選択した理由は、CZON の喀痰中移行率が  $\beta$ -ラクタム剤の中で比較的低い薬剤に属すると報告<sup>16)</sup>されているからである。当初の推測の通り、塩化リゾチームは、セフェム剤 CZON との併用で、CZON の喀痰中移行を上昇させた。本成績は、呼吸器感染症に対する塩化リゾチーム自体の有用性を示すとともに、塩化リゾチームが CZON の有効性を増加させる可能性を示唆する。

以上の CZON と併用した塩化リゾチームの検討成績と文献的考察から、呼吸器感染症において、抗菌薬と塩化リゾチームの併用は臨床的に有用であると結論される。

なお、本論文の要旨は第17回国際化学療法学会(1991年6月、ベルリン)で発表した。

#### 文 献

1) 佐藤篤彦: 慢性気道感染症における抗生物質と塩化

リゾチームの併用効果。臨床と新薬 19: 3103~3109, 1982

- 2) Runti C: Recenti progressi sull 'attivit a' lisante e farmacologica del lisozima. 2 nd Inter. Symp. on Fleming's Lysozyme, I Sec. : 35~45, 1961
- 3) 小宮正道: Ampicillin あるいは Amoxicillin と Bromelain または Lysozyme との併用投与における血液および実験的病巣への移行に関する薬物速度論的研究。日大口腔科学 12: 246~260, 1986
- 4) 穴戸春美, 永武 毅: 呼吸器感染症の化学療法: 5. 抗菌剤の喀痰中移行と Blood-Bronchus-Barrier. 医療 42: 447~452, 1988
- 5) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 穴戸春美: 経口抗生物質の臨床応用とペネトレーションをめぐる: 呼吸器感染症。JAMA (日本語版) 1983年2月号: 38~41, 1983
- 6) 松本慶蔵, 穴戸春美, 力富直人, 永武 毅, 高橋淳:  $\beta$ -Lactam 系抗生剤の喀痰中濃度におよぼす蛋白分解酵素剤の併用効果。現代医療 14: 220~224, 1982
- 7) 中島明雄, 藤田博司, 明瀬加典, 池田賢次, 池田順彦, 多田利彦, 山岡英樹, 弘山直滋: Cefmenoxime の喀痰中移行における Serrapeptase の併用効果。臨床と研究 64: 309~312, 1987
- 8) 前山拓夫, 大山 勝: 副鼻腔炎に対するリゾチームの影響に関する実験的ならびに臨床的研究—実験的副鼻腔炎に対する効果と臨床例における抗生物質との併用効果を中心に—。耳鼻咽喉科展望 29 (補1): 31~39, 1986
- 9) 今岡 誠: 呼吸器感染症の化学療法における去痰薬併用効果に関する基礎的・臨床的研究—特に Rifampicin と Ambroxol の併用効果を中心に—。Chemotherapy 34: 262~270, 1986
- 10) Braga P C, et. al.: Comparison between penetration of Amoxicillin combined with Carbocysteine and Amoxicillin alone in pathological bronchial secretions and pulmonary tissue. Int. J. Clin. Pharm. Res. V (5): 331~340, 1985
- 11) 森戸俊博, 永武 毅, 吉田俊明, 大石和徳, 田口幹雄, 山本真志, 穴戸春美, 松本慶蔵: 気道感染症に対するノルフロキサシンとカルボシステインの併用効果。化学療法の領域 4: 142~149, 1988
- 12) 宮崎昭行, 松本慶蔵: 漢方製剤の併用療法: 慢性呼吸器疾患—清肺湯を中心として—。Current Therapy 3: 85~91, 1985
- 13) 長岡 滋, 中山栄一, 外丸弘子, 中沢幸明, 狩野元成: 塩化リゾチームの去痰効果について。現代の診療 17: 495~501, 1975
- 14) Vallarino G, Merlini M, Rognoni F: Attivit a' antiflogistica del lisozima e suoi rapporti con il sistema ipofiso - surrenale. Nota 1- Attivit a' antiflogistica del lisozima. 3 rd Inter. Symp. on Fleming's lysozyme, V Sec.: 17~22, 1964
- 15) 府川和永, 入野 理, 渡辺麻男: Lysozyme の薬理作用および血清蛋白との反応。応用薬理 21: 587~593, 1981

- 16) 穴戸春美, 高橋 淳, 大石和徳, 永武 毅, 渡辺貴和  
雄, 松本慶蔵: 呼吸器感染症における新規半合成 Ce-  
phalosporin 剤 L-105 の *in vitro* 抗菌力, 体内動態,  
ならびに臨床的有用性に関する研究。Chemother-  
apy 34 (Suppl.3): 363~379, 1986

A crossover comparison of the influence of lysozyme chloride  
on cefuzonam penetration into sputum in patients  
with chronic respiratory infections

Harumi Shishido, Hideaki Nagai and Shuji Miyake

Department of Respiratory Diseases, Tokyo National Chest Hospital, Tokyo, Japan

Kazuhiro Uchida and Shiro Kira

Department of Respiratory Medicine, School of Medicine, Juntendo University

Yasuo Matsui, Masaru Oritsu, Osamu Akiyama,

Takasige Miyahara and Tomohisa Ishikawa

Department of Respiratory Diseases, The Japanese Red Cross Medical Center

The purpose of this study was the objective evaluation of the influence of lysozyme chloride on antibiotics. Cefuzonam (CZON), which is a third generation cephalosporin antibiotic, penetrates less into sputum than most other cephem antibiotics. CZON 1 g was administered by intravenous drip infusion over 1 h twice a day for 5 days with or without oral lysozyme chloride 270 mg per day in 3 divided doses in patients with chronic lower respiratory tract infections. To reduce inter- and intra-patient variability, we performed a crossover comparative pharmacokinetic study. Blood and sputum samples were collected at timed intervals, stored at  $-40^{\circ}\text{C}$  and CZON concentrations were assayed by a bioassay method using *Escherichia coli* NIHJ. The serum and sputum concentrations of CZON in 7 patients with chronic respiratory tract infections were measured. The geometrical mean CZON concentration in sputum was  $0.055\ \mu\text{g}/\text{ml}$  in patients given CZON 1.0 g intravenous drip infusions over 1 h twice a day without oral lysozyme chloride. Comparative study revealed geometrical mean sputum CZON levels as high as  $0.102\ \mu\text{g}/\text{ml}$  ( $P < 0.01$ ) in patients given CZON combined with per oral lysozyme chloride 270 mg per day in 3 divided doses. These findings show that lysozyme chloride increases cephem antibiotic concentration in sputum in patients with chronic respiratory tract infections.