Meropenemのモルモットにおける実験的呼吸器感染症および腎内感染症に対する治療効果について

谷尾知治・佐々木土貴子・奥田隆夫・深澤万左友
住友製薬株式会社研究所*

新規カルバペネム系抗生物質meropenem(MEPM)の*in vivo*での効力を検討する目的で，モルモットを用いた実験的呼吸器感染症ならびに実験的腎内感染症を作成し，それらに対する効果をimipenem/cilastatin(IPM/CS)およびceftazidime(CAZ)を対照薬として検討し，以下の結果を得た。

呼吸器感染モデルでは，正常モルモットにおいては，使用した*Pseudomonas aeruginosa* 2株に対してMEPMは5mg/kgの投与量でIPM/CSとほぼ同等の，CAZとの比較では1株ではほぼ同等の，他の1株では有意に優れた効果を示した。cyclophosphamide投与により作成した免疫抑制モルモットにおいては，MEPMは5mg/kgの投与量でIPM/CSとほぼ同等の，CAZとの比較では有意に優れた効果を示した。

腎内感染モデルでは*P. aeruginosa*，*Escherichia coli*，*Proteus mirabilis*および*Citrobacter freundii*の各菌を用い，各薬剤は1および5mg/kg投与量で効果の検討を行った。いずれの菌株に対してもMEPMは1mg/kgの投与量で著明な効果を示し，対照薬との比較では，*P. aeruginosa*感染系においてはIPM/CSに対して有意に優れた効果を示し，CAZとの比較では同等かそれ以上の効果を示した。*E. coli*感染系においてはいずれの薬剤も優れた効果を示し，*P. mirabilis*感染系においてはCAZ，MEPM，IPM/CSの順に，*C. freundii*感染系においてはMEPM，IPM/CS，CAZの順に効果を示した。

Key words：Meropenem モルモット 実験感染治療効果

Meropenem(MEPM)は新規注射用カルバペネム系抗生物質であり，グラム陽性菌からグラム陰性菌まで幅広く，かつ強力な抗菌活性を示す[1]。また，カルバペネムを分解することが知られているデヒドロペプチダーゼⅠ(DHP-Ⅰ)に比較的安定であり，単剤での臨床開発が試みられている。しかし，MEPMのDHP-Ⅰ安定性は動物種によって大きく異なり，ヒトの腎DHP-Ⅰに対してはIPMに比べ約4倍安定であるが，マウスの腎DHP-Ⅰに対してはIPMより不安定である[2]。また，マウス血中半減期はIPM/CSが8.6分であるのに対しMEPMは4.5分と短い値を示す[2]。このため，一般に汎用されているマウスを用いた感染実験モデルは，MEPMの臨床における有効性を予測するための実験モデルとしては必ずしも適切でないと考えられる。そこで，MEPMの各種動物の腎DHP-Ⅰに対する安定性，血中半減期等を検討した結果，小動物の中ではモルモットのDHP-Ⅰに対する安定性が最も高く，ヒトの酵素に対する安定性の約半分であり，モルモットにおける血中半減期もヒトの場合と同様IPM/CSと大差ないことを見いだした。よって，MEPMの*in vivo*での効力を検討するにはモルモットを用いることがヒトでの臨床効果を予測するのにより適切であると考え，実験的呼吸器感染症および腎内感染症を作成し，MEPMの効果をIPM/CSおよびCAZを対照薬として検討した。

Ⅰ．実験材料および実験方法

1．使用菌株

菌株は当社研究所保存の，臨床分離株*Pseudomonas aeruginosa* TL-2112およびSP-9755を実験的呼吸器感染症に，*Escherichia coli* SP-6088，*Citrobacter freundii* SP-10846，*Proteus mirabilis* No.133，*P. aeruginosa* SP-9737，SP-9797，SP-10031およびSP-10050を実験的腎内感染症に用いた。

2．使用薬剤

MEPMは当社研究所にて合成されたものを用い，IPM/CS，CAZは市販品を用いた。なお，感受性測定用に用いたIPMは，当社研究所でIPM/CSより単離精製したものを用いた。

3．使用動物

*〒554 大阪市此花区春日出中3丁目1-98号

Hartley系SPFモルモット(日本エスエルシー)の雄250～300gを実験的呼吸器感染症に，雌250～300gを実験的腎内感染症および血中濃度推移の測定に用いた。なお，群分けは層別無作為抽出法にて行った。

4. 感受性測定法

実験に用いた4菌種9菌株について，前培養には感受性測定用ブイヨン(STB：ニッスイ)を，感受性測定には感受性測定用寒天培地(STA：ニッスイ)を用い，日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法[3]に従って，各薬剤に対する感受性を測定した。

5. モルモット実験的呼吸器感染症に対する治療効果

正常モルモットでの感染には*P. aeruginosa* TL-2112およびSP-9755の2株を，免疫抑制モルモットでの感染には*P. aeruginosa* TL-2112株を使用した。

各菌株はハートインフュージョン寒天培地(HIA：ニッスイ)で前培養後，同培地で37℃，20時間培養し，滅菌生理食塩水で2.0×10^9 CFU/mlになるように接種用菌液を調整した。また，免疫抑制モルモットの感染では2.0×10^7 CFU/mlとした。感染はペントバルビタール麻酔下でモルモットの頸部を切開し，気管を露出させ22Gサブロー留置針を用いてカテーテルを気管内に挿入し，シリンジで菌液を0.2ml接種することにより行った。各薬剤は5mg/kgの投与量で感染直後，4および8時間後に後肢筋肉内に投与した。治療効果の判定は感染9時間後の肺内生菌数の比較で行った。なお，肺内生菌数はモルモットを屠殺した後に肺を採取し，滅菌生理食塩水を加えてホモジナイズ後平板塗沫法にて測定した。免疫抑制系の実験では感染6日および2日前に，cyclophosphamide(CY，注射用エンドキサン：塩野義製薬)200mg/kgをモルモット腹腔内に投与し，正常モルモットの場合と同様の方法で感染および薬剤投与し治療効果を検討した。

6. モルモット実験的腎内感染症に対する治療効果

E. coli SP-6088，*C. freundii* SP-10846，*P mirabilis* No. 133および*P. aeruginosa* SP-9737，SP-9797，SP-10031，SP-10050をHIAで前培養後，ブレインハートインフュージョンブイヨン(BHIB：ニッスイ)で，37℃，20時間培養し，滅菌生理食塩水で10倍に希釈したものを接種用菌液とした。感染はペントバルビタール麻酔下でモルモットの背部を抜毛後切開し，直視下に右腎を露出させ，マイクロシリンジを用いて菌液20μlを実質部3ケ所に分割接種することにより行った。各薬剤は感染後0，4，8，12，16および20時間目に1および5mg/kgの投与量で後肢筋肉内に投与した。治療効果の判定は感染24時間後の腎内生菌数の比較で行った。なお，腎内生菌数はモルモットを屠殺脱血後右腎を摘出し，滅菌生理食塩水を加えてホモジナイズ後平板塗沫法にて測定した。

7. 血中濃度推移の測定

MEPM，IPM/CSおよびCAZを5mg/kgの投与量で後肢筋肉内に投与後，経時的に眼窩静脈叢より採血し血漿画分を得た。血漿中の各薬剤の定量は，MEPMの場合は*E. coli* NIHJ，IPMの場合は*Bacillus subtilis* ATCC-6633，CAZの場合は*Klebsiella pneumoniae* ATCC10031を用いたbioassay法にて行った。得られたデータはNEC PC-9801を用い，山岡ら[4]による薬動力学的解析プログラムにてone-compartment open model解析を行った。

Ⅱ. 実験結果

1. モルモット実験的呼吸器感染症に対する治療効果

Table 1. Efficacy of meropenem, imipenem/cilastatin and ceftazidime against lung infection with *P. aeruginosa* in guinea pigs

Strain	Challenge dose (CFU/animal)	Drug	MIC (μg/ml)	Dose (mg/kg)	Mean log CFU ± S.D./lung
TL-2112	6.2×10^8	Meropenem	1.56	5	5.24±0.35 (n=12)*1 *2
		Imipenem/cilastatin	1.56	5	5.38±0.32 (n=12)*1 *2
		Ceftazidime	1.56	5	6.38±0.75 (n=12)*1
		Control			9.22±1.01 (n=12)
SP-9755	1.4×10^8	Meropenem	1.56	5	5.74±0.27 (n=10)*1
		Imipenem/cilastatin	3.13	5	5.55±0.54 (n=10)*1
		Ceftazidime	1.56	5	6.11±0.56 (n=10)*1
		Control			9.43±0.93 (n=9)

*1 Different from control group ($p<0.01$; Student's t test with Bonferroni correction factor)
*2 Different from ceftazidime group ($p<0.01$)

1) 正常モルモットにおける治療効果

P. aeruginosa TL-2112およびSP-9755による実験的呼吸器感染症に対するMEPMの効果について検討した結果をTable 1に示した。いずれの薬剤投与群も両株においてコントロール群に対し顕著な肺内菌数の減少が認められた($p<0.01$)。また，*P. aeruginosa* TL-2112株においてMEPM投与群およびIPM/CS投与群はCAZ投与群と比較して肺内生菌数の有意な減少が認められた($p<0.01$)。

2) 免疫抑制モルモットにおける治療効果

CY投与により白血球を減少させたモルモットにおける治療効果について検討した。本実験条件ではCY処理により，末梢白血球数は正常値の5,000cells/mm³から感染2日前(CY2回目投与時)には1,300 cells/mm³に減少し，さらに感染前日から感染後3日目までは800～1,000 cells/mm³の値を維持した。

P. aeruginosa TL-2112による実験的呼吸器感染症に対するMEPMの効果について検討した結果をTable 2に示した。正常モルモットの場合と同じく，いずれの薬剤投与群もコントロール群に対し顕著な肺内菌数の減少が認められた($p<0.01$)。また，MEPM投与群およびIPM/CS投与群はCAZ投与群と比較して肺内菌数の有意な減少が認められた($p<0.01$)。

2. モルモット実験的腎内感染症に対する治療効果

E. coli SP-6088，*C. freundii* SP-10846，*P. mirabilis* No. 133，*P. aeruginosa* SP-9737，SP-9797，SP-10031およびSP-10050の各菌株によるモルモット実験的腎内感染症に対するMEPMの治療効果をTable 3に示した。いずれの菌株に対してもMEPMは優れた効果を示し，1mg/kgの投与量でコントロール群よりも有意な腎内生菌数の低下を示した($p<0.01$)。他剤との比較では，*E. coli*感染系においてはIPM/CS投与群およびCAZ投与群もMEPM投与群と同等の生菌数減少を示したが，*C. freundii*感染系においては*in vitro*活性に相関して，MEPM投与群はCAZ投与群と比較して有意に優れた生菌数の減少を示し，IPM/CS投与群と比較しても有意差は得られなかったが明らかに低い生菌数を示した。*P. mirabilis*感染系においてもMEPM投与群は，IPM/CS投与群よりも有意に優れた生菌数の減少を示したが，1mg/kgの投与量ではCAZ投与群がMEPM投与群よりも有意に低い生菌数を示した。*P. aeruginosa*感染系においては，検討した4株のうちMEPMのMIC値が他の2剤よりも2管低いSP-9737株では，MEPM投与群はIPM/CS投与群およびCAZ投与群と比較して有意に優れた生菌数の減少を示した。MIC値が3剤ともに同一であるSP-9797株，SP-10031株およびSP-10050株では，MEPM投与群の生菌数はCAZ投与群とは有意差を示さなかったが，IPM/CS投与群とは少なくともどちらかの投与量で有意に低い値を示した。

3. 血中濃度推移の測定

雌性モルモットに対する各薬剤の筋肉内投与後の血中濃度推移をFig. 1に，薬動力学的パラメータをTable 4に示した。MEPM，IPM/CSおよびCAZの最高血中濃度はそれぞれ8.9，10.3および14.2μg/ml，血中半減期はそれぞれ11.7および11.5および18.9min，$AUC_{0-\infty}$は240，313および863μg・min/mlであった。

Ⅲ. 考　　察

抗菌剤の臨床における有効性を予測するための実験モデルとして，一般にはマウスの全身感染モデルが汎用されている。これは，この感染系が臨床における感染症のモデルとして最適であるということよりも，操作の簡便さ，効果判定が容易であること等の理由によると考えられる。しかし，抗菌剤によっては実験動物での体内動態が異なる等により，マウスでの全身感染系が適切な実験系ではない場合も考えられる。MEPMはヒト腎DHP-Ⅰに安定であり，単剤での臨床開発が検討されている。MEPMのヒトでの血中半減期は約1

Table 2. Efficacy of meropenem, imipenem/cilastatin and ceftazidime against lung infection with *P. aeruginosa* TL-2112 in neutropenic guinea pigs

Drug	MIC (μg/ml)	Dose (mg/kg)	Mean log CFU ± S.D./lung
Meropenem	1.56	5	4.50±0.16 (n=6)*1 *2
Imipenem/cilastatin	1.56	5	4.51±0.14 (n=6)*1 *2
Ceftazidime	1.56	5	5.10±0.14 (n=6)*1
Control			6.25±0.49 (n=6)

Challenge dose: 5.6×10^6 CFU/animal

*1 Different from control group ($p<0.01$; Student's t test with Bonferroni correction factor)

*2 Different from ceftazidime group ($p<0.01$)

Table 3. Efficacy of meropenem, imipenem/cilastatin and ceftazidime against intra-renal infection in guinea pigs

Organism	Challenge dose (CFU/head)	Drug	Dose (mg/kg)	MIC (μg/ml)	Mean log CFU ± S.D./kidney
Escherichia coli SP-6088	6.2×10^5	Meropenem	1	0.025	3.04±0.42 (n=7)
			5		2.39±0.81 (n=7)
		Imipenem/ cilastatin	1	0.10	3.44±0.99 (n=7)
			5		2.46±0.60 (n=7)
		Ceftazidime	1	0.10	3.14±0.74 (n=7)
			5		1.78±0.54 (n=7)
		Control	—	—	6.14±0.70 (n=7)
Citrobacter freundii SP-10846	4.0×10^6	Meropenem	1	0.05	2.60±0.75 (n=7)
			5		1.64±0.40 (n=7)
		Imipenem/ cilastatin	1	0.39	3.37±0.82 (n=7)
			5		2.87±0.85 (n=7)
		Ceftazidime	1	25	4.22±0.54 (n=7)*1
			5		3.82±1.21 (n=7)*2
		Control	—	—	5.06±0.23 (n=7)
Proteus mirabilis No.133	4.0×10^6	Meropenem	1	0.05	4.14±0.59 (n=8)
			5		3.19±0.64 (n=8)
		Imipenem/ cilastatin	1	3.13	5.23±0.43 (n=7)
			5		4.40±0.33 (n=7)*3
		Ceftazidime	1	0.05	2.48±0.55 (n=7)*1
			5		2.60±0.44 (n=7)
		Control	—	—	5.86±0.48 (n=8)
Pseudomonas aeruginosa SP-9737	2.6×10^6	Meropenem	1	0.78	2.60±0.59 (n=7)
			5		1.77±0.38 (n=7)
		Imipenem/ cilastatin	1	3.13	4.61±0.47 (n=7)*1
			5		2.97±0.86 (n=7)*2
		Ceftazidime	1	3.13	4.44±0.34 (n=7)*1
			5		3.32±0.72 (n=7)*2
		Control	—	—	6.28±0.48 (n=6)
Pseudomonas aeruginosa SP-9797	2.8×10^6	Meropenem	1	1.56	3.14±0.90 (n=7)
			5		1.64±0.36 (n=7)
		Imipenem/ cilastatin	1	1.56	4.87±0.51 (n=7)*1
			5		3.46±1.02 (n=7)*2
		Ceftazidime	1	1.56	3.18±0.66 (n=7)
			5		1.66±0.43 (n=7)
		Control	—	—	6.68±0.41 (n=7)
Pseudomonas aeruginosa SP-10031	1.8×10^6	Meropenem	1	1.56	1.54±0.30 (n=7)
			5		1.68±0.72 (n=7)
		Imipenem/ cilastatin	1	1.56	3.29±0.53 (n=6)*1
			5		2.52±0.68 (n=7)
		Ceftazidime	1	1.56	2.72±1.33 (n=7)
			5		1.55±0.36 (n=7)
		Control	—	—	5.52±0.40 (n=7)
Pseudomonas aeruginosa SP-10050	2.8×10^6	Meropenem	1	1.56	3.03±0.50 (n=7)
			5		1.84±0.37 (n=7)
		Imipenem/ cilastatin	1	1.56	5.26±1.15 (n=7)
			5		3.39±0.54 (n=5)*3
		Ceftazidime	1	1.56	3.82±0.64 (n=7)
			5		1.77±0.85 (n=7)
		Control	—	—	7.31±0.70 (n=7)

*1 $p<0.01$ with meropenem 1 mg/kg treated group (Student's t test with Bonferroni correction factor)
*2 $p<0.01$ with meropenem 5 mg/kg treated group
*3 $p<0.05$ with meropenem 5 mg/kg treated group

時間であり，IPM/CSとほぼ同等の値を示す[5]。これに対し，マウスでのMEPMの血中半減期はマウス腎DHP-Ⅰに対する安定性の低さおよび肺中のDHP-Ⅰ様活性による分解を反映して4.5分と短く，IPM/CSの8.6分の約1/2である[2]。このため，マウスを用いた感染実験はMEPMの臨床での有効性を予測する実験系としては不適切と考え，感染実験に使用可能な小動物の体内動態等を検討した結果，モルモットが適した条件を有することを見いだした。すなわち，モルモットの筋肉内投与後の血中半減期はMEPM，IPM/CS共に約12分と同等であり，CAZの半減期19分と比べても約2/3と，ほぼヒトの血中半減期の比率を維持している(CAZのヒト血中半減期：1.6時間[6])。そこで我々は，モルモットを用いて実験的呼吸器感染症および腎内感染症を作成し，MEPMの*in vivo*での効果を検討した。

MEPMは*P. aeruginosa*による実験的呼吸器感染症においてIPM/CSと同等の優れた効果を示し，これはモルモットが免疫抑制状態であっても同様であった。CAZとの比較でも全般に優れた効果を示し，MIC値が同一であることや体内動態を合わせて考えるとカルバペネム系薬剤とセフェム系薬剤の殺菌力の差が反映したものと思われる。

一方，実験的腎内感染症においてはMEPMの優れた*in vitro*活性が*in vivo*によく反映している結果が得られた。*P. mirabilis* No. 133による感染に対するMEPM 1mg/kg投与群がCAZ投与群より生菌数が高いのを除き，すべて他の2剤と同等かより優れた効果を示し，特に*P. aeruginosa*による感染症については検討した4株全てに対して最も優れた効果を示していた。このことは，本剤が*P. aeruginosa*による尿路感染症に対し，優れた効果を示す可能性を示唆する結果であった。さらに，CAZ等の第3世代セフェム剤に対して耐性株の

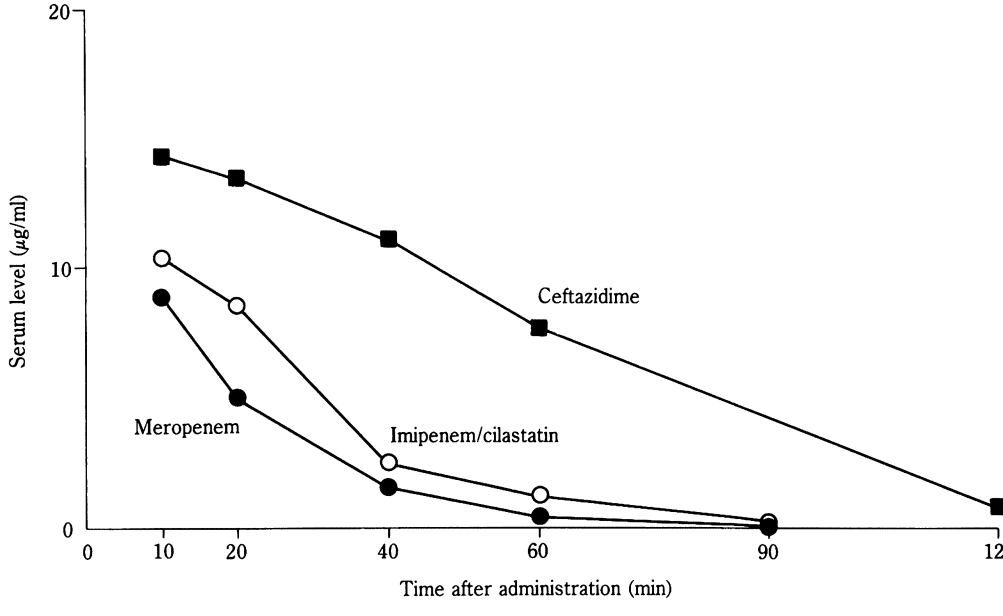

Fig. 1. Concentration of meropenem, imipenem/cilastatin and ceftazidime in the serum of guinea pigs after intra-muscular administration at 5 mg/kg.

Table 4. Pharmacokinetic parameters of meropenem, imipenem/cilastatin and ceftazidime after intra-muscular administration at 5 mg/kg to guinea pigs

Drug	C_{max} (μg/ml)	T_{max} (min)	$T_{1/2}$ (min)	Vdβ (l/kg)	AUC_0-∞ (μg·min/ml)
Meropenem	8.9	10	11.7	0.35	240
Imipenem/cilastatin	10.3	10	11.5	0.27	313
Ceftazidime	14.2	10	18.9	0.16	863

多い*C. freundii*やIPMに対して感受性が比較的低い*P. mirabilis*に対しても，MEPMが優れた効果を示したことは，*in vitro*の優れた活性を合わせて考えると，*Xanthomonas maltophilia*などの一部の低感受性菌を除く幅広い菌種による感染症に対して優れた臨床効果を示すことが期待される。

文　献

1) Sumita Y, Inoue M, Mitsuhashi S: *In vitro* antibacterial activity and beta-lactamase stability of the new carbapenem SM-7338. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 8: 908～916, 1989

2) 住田能弘，納田浩司，多田央子，上月庸生，加藤益弘，奥田隆夫，深澤万左友：Meropenemの各種実験動物における体内動態。Chemotherapy 40(S-1): 123～131, 1992

3) 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

4) Yamaoka K, Tanigawara Y, Nakagawa T, Uno T: A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. J Pharm Dyn 4: 879～885, 1981

5) 中島光好，植松俊彦，金丸光隆，上野一恵：Meropenemの第Ⅰ相臨床試験。Chemotherapy 40(S-1): 258～275, 1992

6) 小山　優，中川圭一，武田憲三，肥後喬一，奥村和夫：Ceftazidime(SN401)の臨床第一相試験。Chemotherapy 31(S-3)：146～155, 1983

EFFICACY OF MEROPENEM AGAINST EXPERIMENTAL RESPIRATORY TRACT INFECTION AND INTRA-RENAL INFECTION IN GUINEA PIGS

Tomoharu Tanio, Tokiko Sasaki, Takao Okuda and Masatomo Fukasawa

Research Laboratories, Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd.

1-98 Kasugade-naka, 3-chome, Konohana-ku, Osaka 554, Japan

The *in vivo* efficacies of meropenem (MEPM), a new parenteral carbapenem, against experimental respiratory tract infection and intra-renal infection in guinea pigs were compared with those of imipenem/cilastatin (IPM/CS) and ceftazidime (CAZ). MEPM was as effective as IPM/CS against pneumonia with 2 strains of *Pseudomonas aeruginosa* at a dose of 5 mg/kg, and was significantly more effective against one strain and equally effective against the other strain, compared with CAZ. In neutropenic guinea pigs, MEPM was as effective as IPM/CS and was significantly more effective than CAZ at a dose of 5 mg/kg against pseudomonal pneumonia. MEPM also showed excellent efficacy against intra-renal infection with *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* and *Citrobacter freundii* at doses of 1 or 5 mg/kg. Against *P. aeruginosa*, the activity of MEPM was significantly superior to that of IPM/CS and equal to or superior to that of CAZ. Against *E. coli*, all three drugs were equally effective. Against *P. mirabilis*, CAZ was the most effective, and MEPM was superior to IPM/CS. Against *C. freundii*, MEPM was the most effective, and IPM/CS was superior to CAZ.