

## Cefozopran の基礎的抗菌活性の検討

桑原 (新井) 京子

順天堂大学医学部細菌学教室\*

横 田 健

順天堂医療短期大学

Cefozopran の *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2(R<sup>+</sup>), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin 耐性 *Haemophilus influenzae*, および *Bacteroides fragilis* の 18~51 臨床分離株に対する MIC<sub>90</sub> はそれぞれ 3.13, 12.5, 6.25, 0.05, 0.05, 25, >100, 0.1, 6.25, 0.2, 3.13, 1.56, 3.13, 3.13, 25, 12.5, 25, 25, >100, 12.5, 0.39, および >100 µg/ml であった。Cefozopran は, *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris* の PBP<sub>s</sub> には ceftazidime と同程度の結合親和性を示したが, MRSA では PBP<sub>2'</sub> が, *P. aeruginosa* では PBP 1B が ceftazidime より若干強い結合親和性を示した。Cefozopran の血清補体との協力的殺菌作用は, あまり強くはなかったが, マウス培養 M $\phi$  には, 1/4 MIC 以上の cefozopran 存在下で, *E. coli* 生細胞をよく殺菌した。

**Key words** : cefozopran, PBP<sub>s</sub>, 血清補体との協力, M $\phi$  との協力作用

Cefozopran は武田薬品工業株式会社により新たに開発された半合成の注射用セフェム系抗生物質であり, 3 位に imidazo [1,2-*b*] pyridaziniummethyl 基および 7  $\beta$  位に 5-amino-1,2,4-thiadiazolylmethoxyimino 基を導入することにより, 幅広くバランスのとれた抗菌活性と  $\beta$ -lactamase に対し高い安定性および低い親和性を持つといわれている<sup>1,2)</sup>。Cefozopran の臨床効果を推定する基礎資料を集積するため, 本薬剤の試験管内抗菌力を測定するとともに, 作用点 PBP<sub>s</sub> に対する結合親和性, 血清補体およびマウス培養 M $\phi$  との協力的殺菌作用等について検討した。

## I. 材料と方法

## 1. 使用薬剤

Cefozopran は, 武田薬品から供与された。対照薬として, cefpirome (CPR : Hoechst-Roussel), cefclidin (CFCL : エーザイ), cefuzonam (CZON : 日本レダリー) および ceftazidime (CAZ : 日本グラクソ) の純末を使用した。

## 2. 使用菌株

順天堂大学付属病院中央検査室および東京都老人研究所付属病院臨床検査室で 1985~1987 年に分離された 49 株の *Staphylococcus aureus*, 47 株の methicillin

-resistant *S. aureus* (MRSA), 42 株の coagulase-negative staphylococci (CNS), 46 株の *Streptococcus pyogenes*, 22 株の *Streptococcus pneumoniae*, 38 株の *Enterococcus faecalis*, 42 株の *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS 2 に種々の R plasmid を伝達した 51 亜株, 47 株の *Klebsiella pneumoniae*, 48 株の *Proteus mirabilis*, 35 株の *Proteus vulgaris*, 50 株の *Morganella morganii*, 29 株の *Providencia rettgeri*, 50 株の *Citrobacter freundii*, 50 株の *Serratia marcescens*, 50 株の *Enterobacter cloacae*, 50 株の *Pseudomonas aeruginosa*, 33 株の *Pseudomonas cepacia*, 48 株の *Xanthomonas maltophilia*, 29 株の *Acinetobacter calcoaceticus*, 18 株の ampicillin (ABPC) 耐性 *Haemophilus influenzae* および 38 株の *Bacteroides fragilis* を被検菌とした。

PBP<sub>s</sub> の検討には教室保存の *S. aureus* 209 P, *S. aureus* 108-1 (MRSA), *E. coli* NIHJ JC-2, *P. vulgaris* 33 および *P. aeruginosa* PAO 1 株を使用した。

## 3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定法

日本化学療法学会法<sup>3)</sup>に準拠した平板希釈法で測定した。すなわち L-broth 5 ml に 37°C で一夜振盪培養

\*〒113 東京都文京区本郷 3-1-3

し、グラム陽性菌は100倍に、グラム陰性菌は1000倍に滅菌生理食塩水で希釈して接種菌液とした。ただし *S. pyogenes* には HI-broth (DIFCO) を、*H. influenzae* には 5% Fildes extract (OXOID) 加 HI-broth を使用した。*B. fragilis* は GAM broth (日水) で前培養した。*S. pneumoniae* の接種菌液は、血液平板上で 37°C 一夜培養した集落をかきとり、HI-broth に吸光度 0.5 (600 nm) になるように懸濁し、それを HI-broth で 100 倍に希釈し接種菌液とした。2 倍段階希釈濃度の薬剤を含有する Mueller-Hinton (DIFCO) 寒天に、接種菌液をマイクロプランター (佐久間製作所) でスポット接種し、37°C で一夜培養して菌の増殖の有無から MIC を求めた。ただし *S. pyogenes* および *S. pneumoniae* には 5% ヒツジ血液加 HI 寒天を、*H. influenzae* には 5% Fildes extract 加 HI 寒天を使用した。*B. fragilis* には GAM 寒天を使用してガスバック法 (BBL) で 37°C 一夜培養して判定した。

#### 4. ペニシリン結合蛋白質 (PBPs) に対する結合親和性の検討

SPRATT の方法<sup>4)</sup>を改変した著者らの方法<sup>5)</sup>で検討した。すなわち *S. aureus* 209 P, *S. aureus* 108-1 (MR SA), *E. coli* NIHJ JC-2, *P. vulgaris* 33 および *P. aeruginosa* PAO 1 の対数増殖期後期の菌を集め、10 mM MgCl<sub>2</sub> 加 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) に懸濁した。BRANSON sonifier (出力 50 W, 効率 20%, 120 秒×10 回) で菌体を破砕し 3,000 xg, 15 分間遠心で菌体を除いた後、その上清を 100,000 xg 30 分超遠心して膜画分を集めた。同緩衝液で 1 回洗浄し 10~15 mg protein/ml になるように膜画分浮遊液を作製した。30 μl の膜画分に終末濃度 0.1~12.5 g/ml になるように cefozopran または CAZ を加え、30°C 10 分間反応後、3 μl の <sup>14</sup>C-benzylpenicillin (<sup>14</sup>C-PCG, 50 μCi/μ mole/ml: AMERSHAM) を加え、再度 30°C 10 分間反応させた。Sarkosyl と非放射性 PCG を添加して反応を止め、10,000 xg, 30 分間遠心して不溶画分を除いた。上清 30 μl に bromophenol blue 加 SDS 緩衝液を 15 μl 加え、100°C 2 分間煮沸した後、その全量を 10% acrylamide-0.06% bis-acrylamide のスラブゲルで電気泳動した。ただし *S. aureus* には 8% acrylamide-0.06% bis-acrylamide スラブゲルを使用した。メタノールと酢酸で蛋白を固定した後、dimethyl sulfoxide (DMSO) で脱水し、2, 5-diphenyloxazole をしみ込ませ、減圧下でゲルを乾燥した。乾燥したゲルと KODAK X-Omat フィルムを密着し、-70°C 20 日間感光させ蛍光ラジオオートグラフィを行った。

#### 5. Cefozopran と血清補体との協力的殺菌作用の

#### 検討

*E. coli* NIHJ JC-2 を L-broth 中で 37°C 一夜振盪培養した。新鮮 L-broth 5 ml に 10<sup>5</sup>cfu/ml になるよう菌液を希釈した。4 本を一組とし、1 本を対照に、2 本目にはこの菌の増殖に影響を及ぼさない最高量補体 (0.5 units/ml) と 20% 非働化ヒト血清を加えた。3 本目には subMIC の cefozopran (0.052 μg/ml) を加え、4 本目には補体とヒト血清に前者と同量の cefozopran を添加した。37°C で振盪培養を続けながら、その 0, 1, 3, 5 および 24 時間に菌を採取し、平板法で生菌数を計算した。

#### 6. マウス培養 Mφ との協力的食菌殺菌作用の検討

Mφ は ICR ♂ マウス腹腔内を 8 ml の Saline G で洗って採取し、10% fetal calf serum 加 F 12 培地 (日水) に 10<sup>5</sup>cells/ml になるように浮遊した。その 0.1 ml をカバースリップを沈めた CORNING multidish (24 穴) に接種し著者らの方法<sup>6)</sup>で 20% L-CM (conditioned medium of L-929) <sup>7)</sup>を使用し活性化した。*E. coli* NIHJ JC-2 L-broth 一夜振盪培養液を Mφ の 50 倍量 (5×10<sup>5</sup>CFU/well) 接種し、終末濃度 1~1/16 MIC になるよう cefozopran を加えて培養した。*E. coli* 感染 5 時間後にカバースリップを取出し、Saline G で洗浄した後、メタノール固定し Giemsa 染色して光学顕微鏡で観察した。

## II. 成績

### 1. Cefozopran の試験管内抗菌力

Cefozopran の試験管内抗菌力を 22 菌種 18~51 臨床分離株に対し CPR, CFCL, CZON および CAZ のそれと比較検討した (Table 1-1, 1-2)。

Cefozopran の *S. aureus* 49 株に対する MIC<sub>90</sub> は 3.13 μg/ml で、CZON より 2 管、CPR より 1 管ほど劣ったがその MIC<sub>90</sub> は 12.5 μg/ml で CPR と同等であった。MRSA 47 株に対する cefozopran の MIC<sub>90</sub> は 12.5 μg/ml で CZON より 1 管、CPR より 2 管よかった。CNS 42 株に対する cefozopran の抗菌力は CPR および CZON とともに優れており、その MIC<sub>90</sub> は 1.56 μg/ml で比較薬剤中最も優れていた。*S. pyogenes* 46 株に対する cefozopran の抗菌力は強く、その MIC<sub>90</sub> は <0.013 μg/ml で CZON と同程度であった。*S. pneumoniae* 22 株に対する cefozopran の MIC<sub>90</sub> は 0.05 μg/ml で CZON, CPR に次いで良好で CFCL および CAZ より 4 管程よかった。*E. faecalis* に対する cefozopran の抗菌力は弱くその MIC<sub>90</sub> は 25 μg/ml であった。*E. faecium* に対する cefozopran の抗菌力は他のセフェム剤と同様にほとんど抗菌力を示

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

Organism (No. of strains)	antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Staphylococcus aureus</i> (49)	cefzopran	0.78 - 50	1.56	3.13	12.5
	cefpime	0.39 - 50	0.78	1.56	12.5
	ceftid	6.25 - >100	25	50	100
	cefuzam	0.05 - 100	0.2	0.78	50
	ceftazid	3.13 - >100	25	100	>100
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (47)	cefzopran	1.56 - 50	6.25	12.5	25
	cefpime	0.78 - 100	12.5	50	50
	ceftid	25 - >100	100	100	>100
	cefuzam	0.39 - >100	6.25	25	50
	ceftazid	12.5 - >100	100	>100	>100
Coagulase-negative Staphylococci (42)	cefzopran	0.05 - >100	0.78	1.56	6.25
	cefpime	0.025 - >100	0.78	6.25	12.5
	ceftid	1.56 - >100	12.5	50	>100
	cefuzam	0.05 - >100	0.78	6.25	12.5
	ceftazid	3.13 - >100	12.5	100	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> (46)	cefzopran	<0.013- 0.1	<0.013	<0.013	0.05
	cefpime	<0.013- 0.05	<0.013	0.05	0.05
	ceftid	0.025- 0.78	0.05	0.05	0.1
	cefuzam	<0.013- 0.05	<0.013	<0.013	<0.013
	ceftazid	0.05 - 0.39	0.1	0.2	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (22)	cefzopran	0.025- 0.1	0.05	0.05	0.05
	cefpime	<0.013- 0.05	0.025	0.025	0.05
	ceftid	0.1 1.56	0.39	0.39	0.39
	cefuzam	<0.013- 0.39	<0.013	<0.013	0.1
	ceftazid	0.1 -12.5	0.2	0.39	0.39
<i>Enterococcus faecalis</i> (38)	cefzopran	1.56- 25	12.5	25	25
	cefpime	0.1 100	25	50	50
	ceftid	12.5 - >100	>100	>100	>100
	cefuzam	0.39 - >100	50	50	100
	ceftazid	3.13 - >100	>100	>100	>100
<i>Enterococcus faecium</i> (42)	cefzopran	6.25 - >100	>100	>100	>100
	cefpime	12.5 - >100	>100	>100	>100
	ceftid	>100 - >100	>100	>100	>100
	cefuzam	0.05 - >100	>100	>100	>100
	ceftazid	>100 - >100	>100	>100	>100

Table 1-2. Antibacterial activities of cefozopran and reference drugs against clinical isolates of Gram-negative bacteria

Organism (strain No.)	antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Escherichia coli</i> CS 2 (R+) (51)	cefzopran	0.025- 0.2	0.1	0.1	0.1
	cefpime	<0.013- 0.2	0.05	0.05	0.1
	ceftid	<0.013- 0.39	0.2	0.2	0.2
	cefuzam	<0.013- 0.2	0.05	0.05	0.1
	ceftazid	0.05 0.39	0.2	0.2	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (47)	cefzopran	0.05 6.25	0.1	0.78	6.25
	cefpime	0.025- 3.13	0.05	0.78	3.13
	ceftid	0.05 6.25	0.1	0.78	3.13
	cefuzam	0.025- 6.25	0.1	3.13	6.25
	ceftazid	0.025- 1.56	0.2	0.78	0.78
<i>Proteus mirabilis</i> (48)	cefzopran	0.1 0.39	0.2	0.2	0.2
	cefpime	0.025- 0.2	0.05	0.1	0.1
	ceftid	0.1 0.39	0.2	0.39	0.39
	cefuzam	0.025- 0.1	0.1	0.1	0.1
	ceftazid	0.05 0.1	0.1	0.1	0.1

<i>Proteus vulgaris</i> (35)	cefazopran	0.1 -25	0.78	1.56	3.13
	cefpirome	0.025-12.5	0.2	0.39	1.56
	cefclidin	0.1 - 3.13	0.39	0.39	0.39
	cefuzonam	0.05 -25	0.2	0.39	0.78
	ceftazidime	0.05 - 0.78	0.05	0.1	0.2
<i>Morganella morganii</i> (50)	cefazopran	0.1 3.13	0.2	0.78	1.56
	cefpirome	0.025- 0.2	0.05	0.1	0.2
	cefclidin	0.05 - 0.2	0.1	0.1	0.1
	cefuzonam	<0.013- 6.25	0.2	1.56	3.13
	ceftazidime	0.05-25	0.2	3.13	6.25
<i>Providencia rettgeri</i> (29)	cefazopran	<0.013- 6.25	0.78	1.56	3.13
	cefpirome	<0.013- 3.13	1.56	3.13	3.13
	cefclidin	0.025- 3.13	0.78	1.56	3.13
	cefuzonam	<0.013- 6.25	1.56	6.25	6.25
	ceftazidime	0.05 -25	3.13	6.25	12.5
<i>Citrobacter freundii</i> (50)	cefazopran	0.05 100	0.39	1.56	3.13
	cefpirome	<0.013- 50	0.39	1.56	3.13
	cefclidin	0.05- 25	0.1	1.56	1.56
	cefuzonam	0.1 ->100	3.13	25	25
	ceftazidime	0.2 ->100	3.13	50	100
<i>Enterobacter cloacae</i> (50)	cefazopran	0.05 ->100	1.56	6.25	25
	cefpirome	0.025->100	3.13	6.25	25
	cefclidin	0.05 ->100	0.39	3.13	6.25
	cefuzonam	0.05 ->100	25	100	>100
	ceftazidime	0.1 ->100	25	100	>100
<i>Serratia marcescens</i> (50)	cefazopran	0.1 ->100	0.2	1.56	12.5
	cefpirome	0.025->100	0.05	1.56	6.25
	cefclidin	0.1 ->100	0.2	1.56	12.5
	cefuzonam	0.1 ->100	0.39	12.5	25
	ceftazidime	0.1 ->100	0.2	3.13	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	cefazopran	0.39 100	3.13	12.5	25
	cefpirome	0.39 100	6.25	12.5	25
	cefclidin	0.1 100	0.78	3.13	3.13
	cefuzonam	3.13 ->100	50	>100	>100
	ceftazidime	0.78 100	3.13	25	50
<i>Pseudomonas cepacia</i> (33)	cefazopran	6.25-100	12.5	25	25
	cefpirome	3.13-100	6.25	12.5	12.5
	cefclidin	3.13- 12.5	6.25	12.5	12.5
	cefuzonam	3.13- 12.5	6.25	12.5	12.5
	ceftazidime	0.78- 3.13	1.56	1.56	3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (48)	cefazopran	1.56->100	100	>100	>100
	cefpirome	6.25->100	100	100	>100
	cefclidin	0.39- 50	6.25	12.5	25
	cefuzonam	0.78- 100	12.5	25	50
	ceftazidime	0.39->100	3.13	25	100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (29)	cefazopran	0.2 ->100	3.13	6.25	12.5
	cefpirome	0.78- 100	3.13	25	25
	cefclidin	0.2 25	3.13	6.25	6.25
	cefuzonam	0.1 100	25	100	100
	ceftazidime	0.1 25	6.25	12.5	25
Ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> (18)	cefazopran	0.1 -0.39	0.2	0.39	0.39
	cefpirome	0.025-0.1	0.1	0.1	0.1
	cefclidin	0.1 -0.78	0.2	0.39	0.78
	cefuzonam	<0.013-0.05	0.025	0.025	0.5
	ceftazidime	0.1 -0.78	0.2	0.78	0.78
<i>Bacteroides fragilis</i> (38)	cefazopran	6.25->100	12.5	>100	>100
	cefpirome	1.56->100	25	>100	>100
	cefclidin	12.5 ->100	50	>100	>100
	cefuzonam	0.78->100	3.13	50	100
	ceftazidime	>100 ->100	>100	>100	>100

さなかった。

R(bla)plasmidを保有する *E. coli* CS 2 51 亜株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は、 $0.1 \mu\text{g/ml}$  で CPR および CZON より 1 管劣ったが、CFCL および CAZ より 1 管良かった。*K. pneumoniae* 47 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $0.78 \mu\text{g/ml}$  で、CPR、CFCL および CAZ と同等であった。*P. mirabilis* 48 株に対する  $MIC_{80}$  は  $0.2 \mu\text{g/ml}$  で CPR、CZON および CAZ より 1 管劣ったが CFCL より 1 管良かった。*P. vulgaris* 35 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $1.56 \mu\text{g/ml}$  で、比較薬剤中では最も劣っていた。*M. morgani* 50 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $0.78 \mu\text{g/ml}$  で CFCL および CPR には及ばないが CZON、CAZ より 1~2 管程よかった。*P. rettgeri* 27 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は、 $1.56 \mu\text{g/ml}$  で CFCL と同程度であった。*C. freundii* 50 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $1.56 \mu\text{g/ml}$  で、CPR および CFCL と同程度であった。*E. cloacae* 50 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は、CAZ および CZON より優れ CPR と同等であった。*S. marcescens* 50 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $1.56 \mu\text{g/ml}$  で CPR および CFCL と同等であった。*P. aeruginosa* 50 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $12.5 \mu\text{g/ml}$  で CFCL より 2 管ほど劣ったが CAZ よりも 1 管良かった。*P. cepacia* 33 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $25 \mu\text{g/ml}$  で比較薬剤中最も劣っていた。*X. maltophilia* 48 株に対する cefozopran の抗菌活性は CPR とともにほとんどみられなかった。*A. calcoaceticus* 29 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $6.25 \mu\text{g/ml}$  で CAZ より 1 管優れ、CFCL と同等であった。ABPC 耐性 *H. influenzae* 18 株に対する cefozopran の  $MIC_{80}$  は  $0.39 \mu\text{g/ml}$  で CFCL と同等で、CAZ より 1 管程優れていた。

嫌気性菌 *B. fragilis* 38 株に対する cefozopran の抗菌力は CPR と同程度であり強くなくその  $MIC_{80}$  は  $>100 \mu\text{g/ml}$  であった。

2. Cefozopran のペニシリン結合蛋白に対する親和性

Cefozopran の *S. aureus* 209 P の主要 PBP<sub>s</sub> に対する結合親和性は Fig. 1-a に示すとおり PBP 1, 2 に対し強い親和性を示し、その強さは CAZ とほぼ同じであった。*S. aureus* 108-1 (MRSA) の PBP<sub>s</sub> に対する cefozopran の結合親和性は CAZ と比べて強く PBP 2' に  $200 \mu\text{g/ml}$  から相当程度結合親和性がみられた (Fig. 1-b)。*E. coli* NIHJ JC-2 の PBP<sub>s</sub> に対する結合親和性は CAZ とほぼ同等で PBP 3 に強い親和性を示した (Fig. 1-c)。*P. vulgaris* 33 の PBP<sub>s</sub> に対する結

合親和性は、PBP 1 A と 3 に強く CAZ と同等であった (Fig. 1-d)。*P. aeruginosa* PAO 1 の PBP<sub>s</sub> に対する cefozopran の結合親和性は、Fig. 1-e のごとく 3 a, 1 A, 1 B の順に強く、1 B に対する結合親和性は CAZ より強かった。

3. Cefozopran と血清補体との協力的殺菌作用

*E. coli* NIHJ JC-2 の増殖に影響を与えない最高の補体量 ( $0.5 \text{ units/ml}$ ) とヒト血清に 5 時間後の生菌数が subMIC の cefozopran ( $0.052 \mu\text{g/ml}$ ) を共存させると、Fig. 2 のとおり薬剤単独よりその生菌数は、5 時間後に若干減少したが 24 時間後には再増殖し血清補体との協力的作用はそれほど強くなかった。

4. Cefozopran とマウス培養  $M\phi$  との協力的食菌殺菌作用

*E. coli* NIHJ JC-2 を活性化したマウス培養  $M\phi$  に感染させ、5 時間後には Fig. 3-a のごとく食菌された菌細胞は  $M\phi$  内で増殖し、 $M\phi$  を破壊して遊出する像が見られた。これに対し 1 MIC の cefozopran が共存すると Fig. 3-b のとおりフィラメント化した菌体はよく食菌消化され、大きな食空胞が認められた。cefozopran 1/2 MIC 存在化でも Fig. 3-c のごとくフィラメント化した細胞をよく食菌消化していた。1/4 MIC の cefozopran 存在下でも  $M\phi$  の殺菌力は *E. coli* の増殖力より優勢であった (Fig. 3-d)。Cefozopran 1/8 MIC になるとその関係は逆になり (Fig. 3-e)、1/16 MIC の cefozopran 存在下では、 $M\phi$  に食菌された菌細胞の細胞内増殖により  $M\phi$  が破壊された (Fig. 3-f)。

### III. 考 察

Cefozopran のグラム陽性菌に対する抗菌特性は CZON および CPR と並んで優れた抗菌力を示す。MRSA に対しては他の比較薬剤より優れているものの、その抗菌力は十分ではない。また比較薬剤と同様に *Enterococcus* 属には抗菌力を発揮しない。グラム陰性菌に対しては、cephalosporinase 高度産生菌である *C. freundii* および *E. cloacae* に対して CPR と同程度の優れた抗菌力を示す。*Pseudomonas* 属の *P. cepacia* に対してはそれほど強い抗菌力ではないが、*P. aeruginosa* に対しては CAZ より若干優れた抗菌力を示す。ABPC 耐性 *H. influenzae* に対する cefozopran の抗菌力は特に強いわけではないが CAZ および CFCL とともに良好である。嫌気性菌の *B. fragilis* に対する抗菌力は CPR と同程度でそれほど強くない。

本剤がグラム陽性菌にも陰性菌にも幅広く強い抗菌力を示すのは、作用点である PBP<sub>s</sub> との結合親和性が高いためであると考えられる。特に *S. aureus* におい

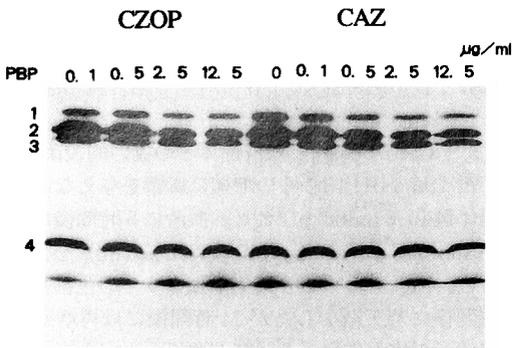
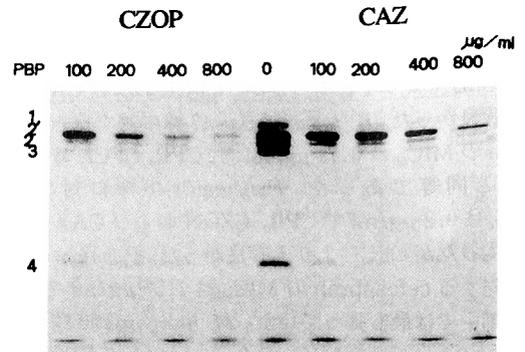
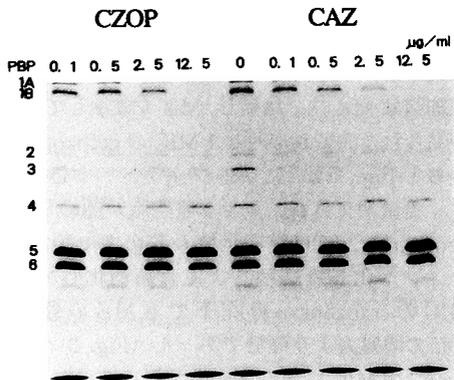
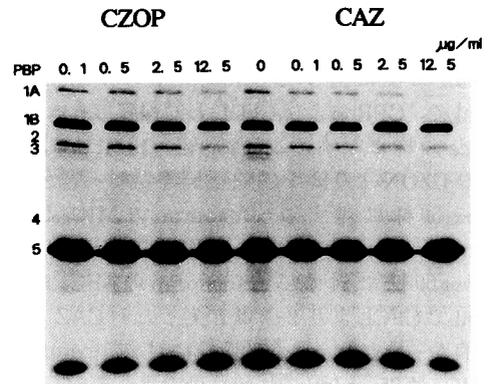
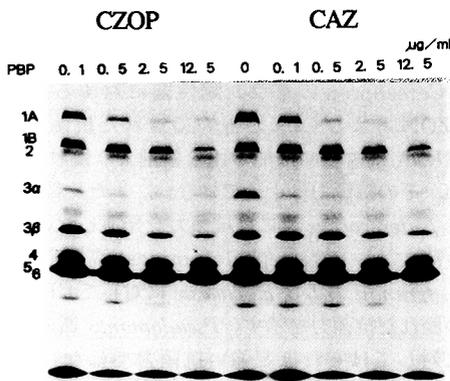
a) *S. aureus* 209Pb) *S. aureus* 108-1 (MRSA)c) *E. coli* NIHJ JC-2d) *P. vulgaris* 33e) *P. aeruginosa* PAO 1

Fig. 1. Competition of ceftazidime and ceftazidime for penicillin-binding proteins

ては、必須と考えられている PBP 1 および 2 に対する結合親和性が高い点が挙げられる。また MRSA に対しては PBP 2' に対する結合親和性がある程度あるため CAZ より優れた抗菌力を示すと考えられる。グラ

ム陰性菌では CAZ と同様に PBP 1 A と 3 に対して高い親和性を持つが、*P. aeruginosa* に対しては 1 B に対する結合親和性が CAZ より若干高い。このことが本薬剤が CAZ より若干強い抗菌力を示す理由と考え

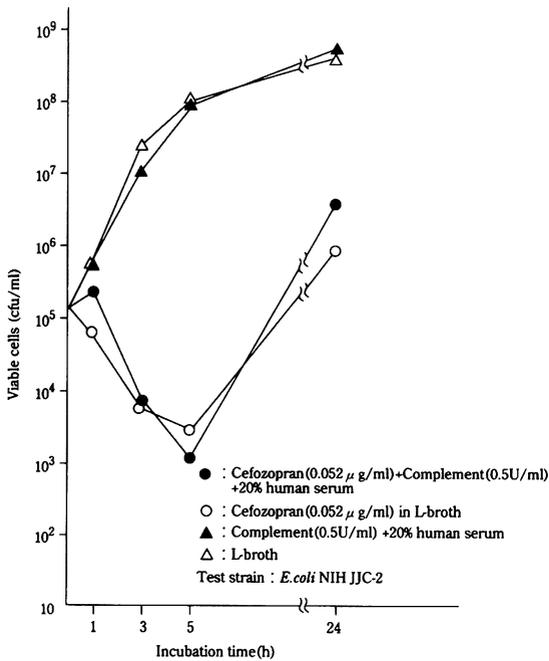


Fig. 2. Synergy of bactericidal effect with serum complement

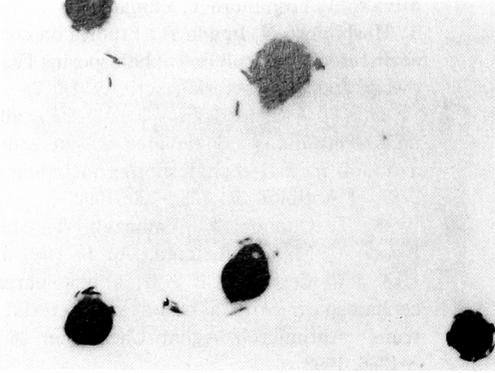
られる。

Cefozopran の血清補体との協力作用はそれほど強くないが、マウス培養  $M\phi$  との協力的殺菌作用は  $1/4$  MIC までみられ、セフェム系抗生物質の中では比較的良好である。以上の成績から本剤の体内動態が良ければ、MRSA, *Enterococcus*, *Xanthomonas* および *Bacteroides* 感染症以外の広範囲の感染症に優れた臨床効果が期待される。

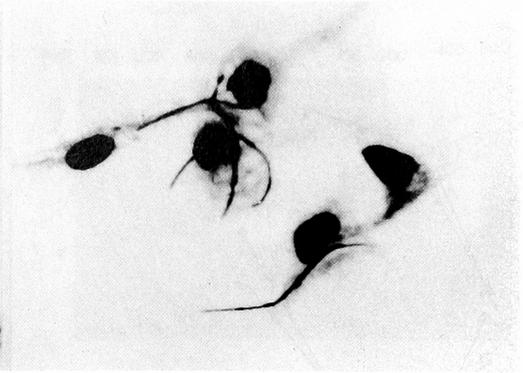
## 文 献

- 1) Miyake A, Yoshimura Y, Yamaoka M, Nishimura T, Hashimoto N, Imada A: Studies on condensed-heterocyclic azolium cephalosporins IV. Synthesis and antibacterial activity of  $7\beta$ -[2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2(Z)-alkoxyiminoacetamido]-3-(condensed-heterocyclic azolium) methyl cephalosporins including SCE-2787. *J Antibiot* 45: 709~720, 1992
- 2) Iwahi T, Okonogi K, Yamazaki T, Shiki S, Kondo M, Miyake A, Imada A: *In vitro* and *in vivo* activities of SCE-2787, a new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. *Antimicrob Agent Chemother* 36: 1358~1366, 1992
- 3) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29(1): 76~79, 1981
- 4) Spratt B. G.: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K 12. *Proc Nat Acad Scia U. S. A.* 72: 2999~3003, 1975
- 5) 横田 健, 関口玲子, 東 映子: Cefmenoxime (SCE-1365) の各種  $\beta$ -lactamase およびペニシリン結合タンパク質に対する親和性とその抗菌力との関係。 *Chemotherapy* 29: 32~41, 1981
- 6) 横田 健, 野沢龍嗣, 鈴木映子, 新井京子: Cefodizime (THR-221) の試験管内抗菌力, PBP に対する結合親和性および補体, マウス培養マクロファージの協力的殺菌力。 *Chemotherapy* 36: 60~76, 1988
- 7) Nozawa R. T., Tokota T: Inhibition by glucocorticoids and cholera toxin of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of new-born hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth). *Cell Physiol* 100: 351~364, 1979

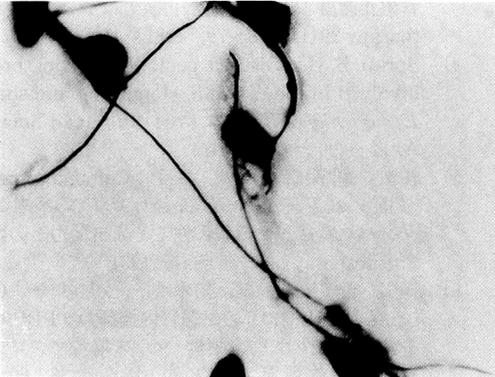
a) Control



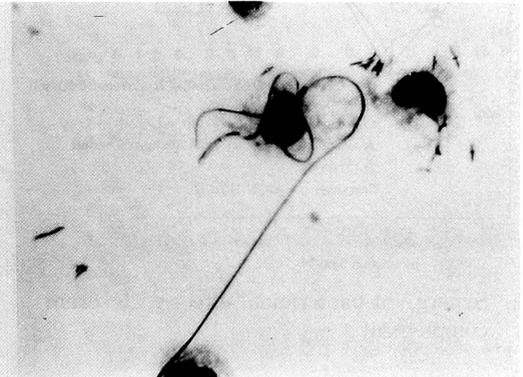
b) 1 MIC



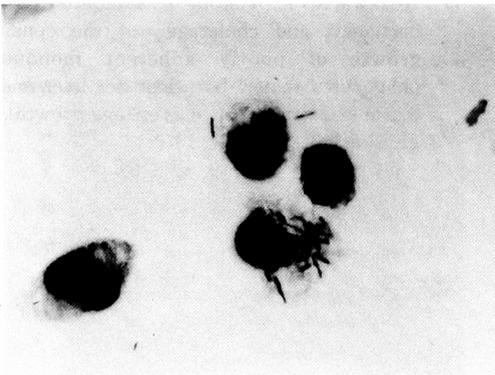
c) 1/2 MIC



d) 1/4 MIC



e) 1/8 MIC



f) 1/16 MIC

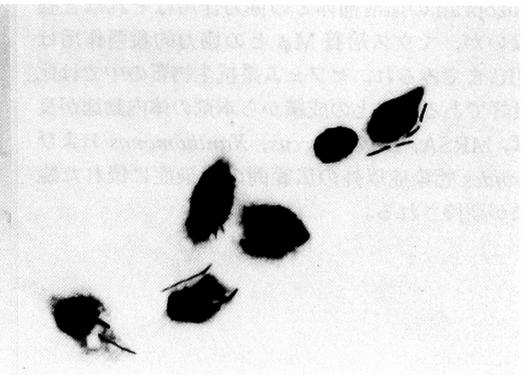


Fig. 3. Phagocytosis of *E. coli* NIHJ JC-2 by mouse cultured macrophages in the absence of ceftiofuran or in the presence of 1~1/16 MIC of ceftiofuran

*In vitro* antibacterial activity of cefozopran

Kyoko Kuwahara-Arai

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

Takeshi Yokota

Juntendo Medical College of Nursing  
2-2 Takasu, Urayasu, Chiba 279, Japan

Eighty percent minimum inhibitory concentrations (MIC80) of cefozopran were 3.13, 12.5, 6.25, 0.05, 0.05, 25, >100, 0.1, 6.25, 0.2, 3.13, 1.56, 3.13, 3.13, 25, 12.5, 25, 25, >100, 12.5, 0.39, and >100  $\mu\text{g/ml}$  against 18 to 51 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*, coagulase-negative Staphylococci, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2 carrying various R (bla) plasmids, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas malto-philis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides fragilis*, respectively.

Cefozopran and ceftazidime showed similar binding affinities to PBPs 1 and 2 of *S. aureus*, PBPs 1A, 1B and 3 of *E. coli* and PBPs 1A and 3 of *P. vulgaris*. Cefozopran manifested stronger binding affinities to PBP2' of MRSA and PBP 1B of *P. aeruginosa* than CAZ.

Cefozopran showed moderate synergy in bactericidal effect with serum complement, but manifested good synergy with mouse cultured macrophages in live *E. coli* phagocytosis at concentrations of more than 1/4 the MIC of cefozopran.