

第41回日本化学療法学会総会

会期: 平成5年6月17, 18日

会場: 日本都市センター, 全共連ビル

会長: 国井乙彦 (帝京大学医学部第二内科)

特別講演

抗菌薬の生体内効果

—これまでとこれから—

五島 遼智子

東邦大学医学部微生物学教室

抗菌薬の基礎評価は、早い時期から *in vitro* の評価法の基準化が考えられ、日本化学療法学会では1968年にMIC測定法の標準法が制定された。以来、測定機器の開発や培地の進歩、さらに新たに問題となる菌種に対応するため4回にわたる改訂を行ってきた。目下感性、耐性のブレイクポイントについて各国が意見を出し合い討議を進めていく方向にあり、日本でも感受性測定委員会が検討を進め、国際的会合にも参加する予定である。

In vivo の評価は、今こそ臨床試験に入る前の重要なプロセスと位置づけられるが、初期の頃は実験感染の系が動物を含めて均一ではなかったため、再現性に乏しく、必ずしも臨床効果を推測するにたる資料とはなり得なかった。そのため一時は不要論まで出ることもあったが、その後実験動物種、感染モデル、実験感染の方法、感染菌の選択などの条件が次第に整備され、精度の高い感染防御実験が可能となるにおよんで無用論は次第に消えていった。

またその成績の読み方、あるいは評価に欠くべからざる重要な資料である薬剤の体内動態解析の手法や薬剤の体液タンパク結合、細菌細胞および生体細胞内への薬剤の透過性、さらにPAE (Post-Antibiotic Effect) などの研究が進展し、いずれも生体内効果に関わる重要な因子として論じられるようになった。実験感染は依然としてマウスが実験動物の主流であるが、全身感染の他、種々の局所感染モデルや病態モデル感染の研究が進展している。

動物を用いた感染実験における治療成績に関わる諸要因が解明されることは、化学療法剤の生体内効果を実験的および理論的に証明するものとして、この方面の研究の進展は大いに望まれるところであるが、その

結果がそのままヒトにおける効果と同等でないことはいうまでもない。その間隙を埋める方法として考案開発されたのが、シュミレーションシステムである。このシステムを用いて薬剤のヒト血中濃度や尿中濃度を想定した研究が進んでいるが、さらに生体の感染防衛機構または免疫能の要素を加えることが考えられている。

今回、国井乙彦会長から学会の貴重な時間を頂戴したので、生体内効果に関する化学療法の進歩のあとをたどりつつ、今後の研究の方向を考えてみた。

なお臨床評価についてはすでに米国、欧州諸国をはじめ世界の国々が自国の現情を報告しつつ、統合できるところを探ろうという方向があり、日本においても学会としてその対応への準備が必要である。しかし、この問題は人種や国状、医療制度や経済上の違いと無関係ではないため、相互理解に達するまでの努力と時間が必要である。

さらに生物学的見地から次の世代には人種、民族、習慣、食生活などの異なる人々との間に、比較感染学、比較化学療法学などの研究が必要であることを強調した。

招請講演

Prospects for Monitoring Infectious Diseases Using Computer-Assisted Microscopic Image Analysis

Prof. Elliot Goldstein

School of Medicine Department of Internal Medicine
Division of Infectious Diseases Kansas
University School of Medicine

Advances in computerized microscopy have resulted in computer-assisted microscopic image analysis systems (CAMIAS) that rapidly and precisely measure various aspects of cellular morphology and physiology. These systems which are composed of a microscope and attached video camera for image acquisition, an image processor, and a

computer programmed to perform image segmentation, feature evaluation, decision making and data analysis have been used to detect viral nucleic acids in *in situ* hybridization preparations, to detect viral antigens within cells, to measure rates of cellular movement, to measure pH and calcium within phagocytes, and to relate the proliferation of intracellular bacteria to reductions in lysosomal enzymes. Because of the importance of determining the presence of HIV-infected cells in evaluating antiviral chemotherapy, (CAMIAS) have been used to differentiate HIV-infected from uninfected cells. Experiments performed in cell cultures showed that HIV-infected cells can be distinguished by quantifying differences in staining intensity following *in situ* hybridization reactions with chromogenic signals. The CAMIAS determined the percentage of cells with 500 or more HIV-DNA and HIV-RNA copies within 30 minutes. Similar studies showed enhanced sensitivity when fluorescence was used to detect HIV infected cells. Recent advances in high resolution fluorescent *in situ* hybridization methodology now permit the detection of a single HIV-genome in a lymphocyte. The clinical use of this sophisticated assay in monitoring HIV infections awaits the improvement of currently available instrumentation to allow the rapid enumeration of cells containing these low levels of fluorescence.

CAMIAS are also able to enumerate lymphocytes containing HIV-p24 antigen using immunocytochemical reactions with murine monoclonal antibodies and a peroxidase or fluorescent signaling system. As with HIV nucleic acids, monitoring of cells with HIV-p24 antigen may aid in assessing the effectiveness of therapy.

CAMIAS are well suited to measure polymorphonuclear leukocyte (PMN) chemotaxis as they permit continuous measurement of as many as 50 moving PMNs in a microscopic field or continuous measurement of cells moving through filter type chemotactic chambers. Such studies have shown that PMNs from uninfected patients with insulin requiring diabetes have normal rates and responses to F-met-leu-phe during periods of hyperglycemia and that PMNs from patients with severe burns

have reduced motility and responses to F-met-leu-phe stimulation. These techniques should be useful in future studies of PMN chemotaxis in infections.

CAMIAS have also been used to study the pathophysiology of infection. Techniques employing pH sensitive fluorescent probes have provided important information of the pathogenesis of infections caused by intracellular pathogens. These investigations have shown that *Toxoplasma gondii*, *Legionella pneumophila* and virulent strains of *Nocardia asteroides* cause disease in part by inhibiting phagosomal acidification. Additional studies have shown that calcium is a mediator of cellular locomotion and that intracellular bacterial proliferation reduces lysosomal enzyme concentrations.

Thus, although advancement has been slow, future fulfillment to the promise of CAMIAS to provide detailed information of importance in infectious disease can be envisioned in coming years.

教育講演 1

これからの真菌症の治療法

—化学療法と免疫療法—

山口英世

帝京大学医学部細菌学教室

近年深在性真菌症の対策が易感染患者を中心に益々重要な問題となり、確実な早期診断法とならんで、より有効な治療法特に抗真菌化学療法の確立が強く要望されている。現在国内で臨床に導入されている内用抗真菌剤は、ポリエン系の amphotericin B (AMPH), フロロピリミジン系の flucytosine (5-FC), イミダゾール系の miconazole (MCZ) およびトリアゾール系の fluconazole (FLCZ) であり、これに近く上市予定のトリアゾール系としては2番目の薬剤 itraconazole (ITCZ) を加えても5剤を数えるに過ぎない。

AMPH は国内で30年も前から使用されている古い抗真菌剤でありながら、臨床的有効性の点では依然としてもっとも信頼できる薬剤と評価されている。しかし副作用・毒性が強いことが大きな欠点であり、これが本剤の有用性をかなり制約している。これに対してもっとも新しく臨床へ導入された FLCZ は、副作用が少なく、しかも5-FC で問題となっている耐性獲得も起こりにくいとして、1989年の上市以来もっとも繁用されている。FLCZ は経口剤、注射剤ともにき

わめてすぐれた体内動態を示し、カンジダ症およびクリプトコッカス症に対する有効性が確認されている。しかしアスペルギルス症における治療効果はかなり劣るようである。強い抗 *Aspergillus* 活性をもつ ITCZ の出現によって、アスペルギルス症の治療成績がどれほど向上するか今後注目されることである。

従来のアゾール系抗真菌剤は、比較的広い抗菌スペクトルをもつが、その作用が静菌的であるため、患者の感染抵抗性が低下している場合や重篤な感染が起きている場合には、奏効しにくいとされている。また米国では HIV 感染患者や BMT 患者などに予防投与または維持療法として長期間投与される FLCZ に関して、こうした患者で低感受性菌種 *Candida krusei*, *C. glabrata* などによるカンジダ症の発生率上昇の傾向がみられること、また低頻度ながら *C. albicans* の FLCZ 耐性株が出現したことが報告されている。したがって今後のアゾール系薬剤の改良には、これらの低感受性菌種を含む主要な病原真菌のすべてに対してより強力な抗菌活性をもつ誘導体を探索し、開発する必要がある。しかしアゾール系薬剤の作用標的分子である cytochrome P-450 (真菌では lanosterol C-14 demethylase; *cyt*, P-450_{DM}) がヒトでも主要な代謝反応に関与する酵素として存在することから、真菌とヒトのアイソザイム間できわめて高い選択性を発揮することが有効性ならびに安全性の両面から要求される。しかしそうした特性をもつ誘導体が容易に合成できるとはとても考えられない。またたとえ高い選択毒性をもつ新しいアゾール系薬剤の開発に成功したとしても、FCLZ など既存の薬剤に耐性化した菌株が交叉耐性を示す可能性もあり、その場合にはせっかく実用化された新規薬剤の有用性が著しく制約されることになる。ITCZ に続くトリアゾール系薬剤の候補として saperconazole (Janssen 社) をはじめいくつかの誘導体について検討がなされているが、アゾール系薬剤の将来性が必ずしも楽観視できないのは上に述べた理由による。

これとは別の抗真菌化学療法進歩へのアプローチとして、第 1 には非アゾール系抗真菌剤の開発、第 2 に AMPH の毒性を軽減する新規薬剤の開発があげられる。

従来から抗真菌性抗生物質の探索が国内外の多くの研究グループによって行われ、最近 5 年間だけでも 100 を超す新規物質が報告されている。なかでも (i) アミノ酸アナログ、(ii) 縮合多員環性芳香族、(iii) 環状デブシペプチド、に属するものに有望な候補が含まれていると考えられている。それぞれに該当

する抗生物質として RI-331, benanomicin A および aureobasidin A が我々の共同研究グループによって発見され、開発を目指して研究が続けられている。(s)-2-amino-4-oxo-5-hydroxypentanoic acid の化学名をもつ RI-331 については、真菌のアスパラギン酸族アミノ酸 (スレオニン, メチオニン, イソロイシン) 合成経路上の必須酵素の 1 つ homoserine dehydrogenase を特異的に阻害することを明らかにした。この酵素および合成経路が哺乳動物に存在しないことから本剤の高い選択毒性が説明される。Benanomicin A と aureobasidin A は、さらに広い抗菌スペクトルと強い抗菌活性をもち、発育期の *Candida* に対しては殺菌的に働くことが知られている。両物質とも安全性が高いと考えられるところから、その作用メカニズムの解明が待たれる。

一方、米国などにおいては、AMPH の毒性を軽減して本剤の臨床的有用性を高めることを目的に、最近急速に進歩している薬物送達システム (DDS) の技術を利用した新しい製剤の研究・開発が行われており、その代表的なものがリポソーム製剤とリポドコンプレックス製剤である。いずれも現在使われている Fungizone 注射剤 (AMPH とデオキシコール酸のコンプレックス) にくらべて毒性軽減効果はたしかにあるとしても、製剤の安定性や生産技術の面で問題が残っているようであり、国内ではまだ開発の動きはない。

以上述べてきたように、アゾール系および (または) 非アゾール系の新規抗真菌剤、さらには AMPH の DDS 製剤が今後開発される可能性は十分考えられる。しかし現段階で臨床試験に入っているものが 1 つもない状況からみて、今世紀中に新たな薬剤または DDS 製剤の実用化はほとんど望めないといえよう。したがってこうしたアプローチとは別に、真菌症治療効果の改善をはかりうる現実的な手段を導入する必要がある。その第一にあげられるのは、高リスク患者の低下した感染抵抗性を高めるための医療処置である。一般に真菌症においては特異的な感染防御免疫は成立しないことが知られ、いかなる真菌症についても感染予防に有効なワクチンが作られた例はない。一方、多くの真菌症、特に国内での二大真菌症ともいべきカンジダ症とアスペルギルス症に対する第一線の生体防御が好中球およびマクロファージをはじめとする単核性食細胞による食作用に依存することが明らかになっている。したがってこれらの食細胞の数を増やすかまたはその貪食・殺菌能を増強すれば、真菌感染に対する抵抗力が高まり、予防的効果が得られること、また適当な抗真菌剤との併用によってその治療効果が向上す

ることが期待される。

免疫抑制マウスでの *Candida* 感染モデルを用いた実験的研究から、いくつかのサイトカインを含む種々の免疫調節物質 (BRM) に感染予防効果が認められている。その代表的な例を次にあげる。(i) サイトカイン: G-CSF, GM-CSF, TNF, IFN; (ii) 細菌 (生菌または死菌) 菌体標品: BCG, *Streptococcus pyogenes* (OK-432), *Enterococcus faecalis*; (iii) 細菌または真菌細胞壁成分: リポ多糖, ムラミルジペプチド, PS-K; (iv) 生薬 (漢方製剤を含む): 十全大補湯, 補中益気湯, マツカサ; (v) 天然または合成低分子化合物: bestatin, AMPH, D-penicillamine, lavamisol。これらの BRM は主たる感染抵抗性増強作用メカニズムにもとづいていくつかの異なるタイプに分けられる。たとえば, G-CSF, *E. faecalis*, bestatin などは好中球増多型に, リポ多糖, 十全大補湯, AMPH などはマクロファージ活性型に属する。後者のタイプの BRM はマクロファージからの TNF などのサイトカイン産生誘導を介して好中球の食食・殺菌能を増強する効果も示す。また FLCZ や ITCZ などのアゾール系薬剤を単独で使用した場合にくらべて, これと G-CSF, 十全十補湯などの BRM と併用した場合には *Candida* または *Aspergillus* 感染マウスにおける ED₅₀ が著しく低下することも観察される。今後こうした BRM による免疫療法を積極的に活用すべきと考える。

化学療法と免疫療法の併用という観点から特に注目されるのは AMPH の存在である。本剤が抗真菌活性に加えて, 強力なマクロファージ活性作用を示すからである。AMPH のすぐれた真菌症治療効果は, この2つの作用の協力によるものと推察され, 有用な抗真菌剤の備えるべき特性を示唆して興味深いものがある。

教育講演 2

癌と化学療法

—抗癌剤耐性—

桑野信彦

九州大学医学部生化学教室

河野公俊

大分医科大学学生化学教室

1. はじめに

抗癌剤を長期間投与すると投与するにつれて効果が減弱することがしばしば臨床分野で経験されている。

いわゆる“耐性癌”が生体内に出現してきたと推察されるが, その実体は不明である。しかしこの“耐性癌”の出現が抗癌剤治療による効果を著明に減弱させていることが予想される時, “耐性癌”の実体を明らかにすることは大切な課題である¹⁾。事実, 米国癌研究所 (NCI) からの発表によると癌と診断された全患者のうち約 50% は抗癌剤耐性を示し, 癌死亡患者のうち実に 90% 以上が耐性と関連していると報告している¹⁾。病原細菌の感染の際に生じる耐性の獲得機序については, すでに古くからラクタム系抗生物質をはじめとして研究が進み, 耐性と関連する蛋白や酵素を標的として新しい感染症薬剤が開発されているのはよく知られるところである。感染菌における獲得機序の多くは, 耐性癌の機序を考える上でもモデルになっている。しかし, 耐性癌と対比して正常な感受性細胞や組織との違いが, 感染菌と宿主ヒト細胞のそれに較べて顕著ではないことはこの分野の研究を難しくしている。複雑な癌の耐性獲得様式をできるだけ単純化して明らかにするために, 担癌動物実験系で耐性癌を樹立したり, 培養癌細胞由来の耐性株を単離して耐性モデル系を作成して研究が進められている。その結果, 耐性癌細胞を対象にして耐性因子を明らかにし, 耐性の診断マーカーとしての有用性を検討するとともに, 耐性因子を標的として新しい抗癌剤や耐性克服法を考案することができる。

2. 多剤耐性 (multidrug resistance: MDR) と外界からのストレス²⁻⁴⁾

コルヒチンやビンクリスチンなどの薬剤に対する耐性細胞を選択するとアドリアマイシン, アクチノマイシン D, グウノマイシンなどの他の抗癌剤に対して同時に交差耐性を示すいわゆる多剤耐性の表現形質を獲得する。MDR 遺伝子産物である膜に局在する P-糖蛋白は2つの ATP 結合サイトをもっている 17 万の分子量蛋白である。この P-糖蛋白質が発現している癌細胞では, 抗癌剤の細胞外放出を促進して細胞内蓄積が低下していると考えられている。MDR 遺伝子はヒトでは MDR 1 と MDR 2 の2つが知られており, 7 番目染色体 7q 21-22 に存在するが, MDR 1 についてその解析研究がもっとも進んでいる^{2,3)}。MDR 1 はヒト各組織や器官また癌において広く発現しているが, MDR 3 の発現は肝でみられる以外にある種の白血病の悪性転換時に発現することが報告されている。

ヒト腫瘍において大腸, 腎, 肝, 膵, 副腎, 乳腺などの癌や非小細胞肺癌や白血病で MDR 1 の発現がみられている。これらの症例での陽性率は 10%~100% である。しかしここで大切なことは, MDR 1 は, 腎,

大腸、副腎をはじめとして正常組織でも発現していることである。組織特異的に MDR 遺伝子の発現を制御するエンハンサーが副腎や腎細胞から単離されているが、癌での陽性の有無を判定する上で腫瘍の発生母体の組織自身の発現を考慮に入れる必要がある。すなわち、MDR 1 陽性の細胞から派生した腫瘍においては制癌剤に対してすでに耐性を示す自然耐性腫瘍であることが期待される。

他方、癌化学療法のと癌において MDR 1 発現の陽性率が上昇することが報告されている。この報告と関連して、MDR 1 遺伝子の発現が肝切除、高温処理、発癌剤、制癌剤などの外界からのストレスの変化によって亢進することが観察されている。事実我々の研究室でも制癌剤、紫外線、熱、血清除去などで処理することによって MDR 1 発現を制御するプロモーター領域が活性化する新しいモデルを提示し、関与する分子機序を明らかにしつつある。その結果関与する DNA 結合蛋白が臨床腫瘍での新しい耐性診断マーカーとして有用か否かを検討していきたいと考えている。いずれにせよ MDR 1 遺伝子が外界ストレスに応答する一種の SOS 遺伝子である可能性は興味深い。

3. 多剤耐性の克服

ベラバミールに代表されるように多剤耐性の克服剤の開発は P-糖蛋白に高親和性を示し、その機能を阻害し、抗癌剤の癌細胞内での蓄積を回復させたり、耐性癌マウスの延命効果を示す物質として探索された。その結果、我々の研究室においても、Ca²⁺拮抗作用は少なく、ベラバミールに近い克服効果を示す物質として、セファランチン、合成イソプレノイドまたジハイドロピリジンなどを探索した。現在、臨床応用への可能性に夢を託している。

米国 NCI の Pastan 博士らの研究室では MDR 1 プラスミドを用いて MDR 1 遺伝子陽性モホ接合体のマウスを作成することに成功している。この MDR 陽性マウスにおいては、MDR は骨髓系細胞に選択的に発現しているため、耐性克服剤の効果のみならず白血球の細胞数を測定するだけで良いという系である。この系でサイクロスポリン A が耐性克服に有効であることを報告している。

4. P-糖蛋白が介在しないシスプラチン、エトポシドやカンプトテシンに対する耐性獲得^{5,6)}

シスプラチンは白金錯体の抗癌剤である。その耐性機序として、代表的な解毒機序であるグルタチオンおよびその関連酵素やメタロチオネインなどとの関連性がこれまで検討されてきたが、それだけでは十分にシスプラチン耐性を説明できない。特に、この制癌剤が

DNA と架橋を形成して DNA 障害をひきおこすことを考える時、DNA 障害の修復に関与する蛋白に焦点をあわせた今後の分子生物学研究の貢献するところは大きい。

DNA トポイソメラーゼ I と II を標的にした抗癌剤であるエトポシド/テニポシドやカンプトテシンに対する耐性研究も盛んである。これらの薬剤に対する耐性の獲得の機序としてトポイソメラーゼ I および II の構造遺伝子上に突然変異が生じている場合と同酵素群の発現が低下している場合がみられている。いずれの場合においても、DNA・トポイソメラーゼ・薬剤の複合体形成に変化を生じることが期待される。その他に我々の単離したテニポシド耐性のヒトがん細胞株においては、耐性度の上昇とともに、温度感受性変異や薬剤の細胞内とりこみの低下なども観察されている。DNA トポイソメラーゼ以外に DNA 構造変換に関与する他の蛋白因子や関連薬剤の透過性についての機序なども明らかにしていく必要がある。

5. 癌の耐性獲得の知恵

癌は制癌剤に対する防御機構として実に様々な知恵をうまく働かしていることに、驚かされる。P-糖蛋白のプロゲステロン担体活性や小物質の吸収、排出、また脳幹関門などに予想される毒物排出作用の可能性など、P-糖蛋白の生理機能については未知なところが多い。しかし、これらの生理機能を耐性獲得の武器として用いるのも癌の一つの知恵かも知れない。P-糖蛋白に限らず、癌は実に巧みに膜輸送、解毒、障害修復などに関与する遺伝子産物を制癌剤からの防御機転として用いている。今後の細胞生物学や分子生物学の基礎的研究の一層の発展によって、これらの知恵をときあかしていくことが大切である。

文 献

- 1) 秋山伸一: 抗癌剤のはたらき—課題と展望—。未来の生物科学シリーズ 22 大島, 小野寺, 軽部, 水上編, 共立出版 (東京) 1991 年
- 2) 桑野信彦, 河野公俊: 多剤耐性臨床遺伝学 I, 診断と治療社, 東京, 170~171 頁, 1992 年
- 3) 桑野信彦, 河野公俊: 癌細胞の耐性のしくみ「分子生物学からバイオテクノロジーへ」三浦編, 共立出版 (東京), 143~151 頁, 1993 年
- 4) Kohno K, Kuwano M: Is human multidrug resistance 1 a stress-induced SOS gene? The Mechanism and New Approach on Drug-resistance of Cancer Cells (ed, by Miyazaki T, Takaku F, Sakurada K), Elsevier, Netherlands, p.21~27, 1993
- 5) Takano H, Kohno K, Matsuo K, Matsuda, T, Kuwano M: DNA topoisomerases targeting

antitumor agents and drug resistance. *Anti-Cancer Drugs (review)*: 3: 323~330, 1992

- 6) Kohno K, Takano H, Matsuo K, Kiue A, Sato S, Uchiyama T, Miyazaki M, Tanimura H, Sato S, Kuwano M: Drug resistance to DNA topoisomerase II targeting agents and development of the reversal agents. *Molecular Biology of DNA Topoisomerases* ed, by Andoh T, Ikeda H, Oguro M, CRC Press, pp.247~256, 1992

会長講演

化学療法領域における化学発光測定の実用

国井乙彦

帝京大学医学部第二内科

細菌感染症に際し動員される好中球、マクロファージなどの食細胞は食作用に伴い活性酸素を産生する。この酸素依存性の殺菌機構は病原菌の殺菌には必要不可欠である。したがって、食細胞における活性酸素産生能の低下は易感性、感染症の重篤化、難治化に深く関連している。我々は、極微量の末梢血を希釈し、そのまま用いても食細胞の活性酸素産生能を測定できる全血化学発光法 (chemiluminescence: CL) を開発し、多くの臨床例について本法を用いた食細胞の機能解析を行ってきた。その結果、本法は、細菌感染症の有無、活動性、重症度、治療効果の判定に有用であることを明らかにした。また、全血 CL 法は、刺激物として非オプソニン化 zymosan や細菌などを用いた場合には、血清中のオプソニン活性も同時に測定できるため臨床的には応用範囲の広い検査法である。異常例には、分離好中球や単球 CL の測定、血清因子の解析を同時に行っている。現在増加している compromised host における食細胞の活性酸素産生能を本法を用いて測定し、その易感性との関連性について検討したところ、肝硬変、SLE、一部の高齢者、白血病、重症外傷・熱傷患者などでその低下が明らかとなった。さらに、敗血症などの重症感染症が発症しても全血 CL 活性が十分増強しない場合は予後不良となることも明らかにした。その 1 例として、熱傷患者の感染防御能を本法を用いてモニターし、宿主感染防御能を考慮にいたれた抗菌剤療法や免疫グロブリン製剤や新鮮凍結血漿などの免疫補助療法により、救命率を飛躍的に改善することができた。その他の compromised host においても、抗菌薬療法以外に種々の免疫補助療法が施行されるが、最近臨床使用可能となったいくつかのサイトカインは、食細胞の活性酸素産生能に影響をお

よぼす。そのなかでも、rhG-CSF の compromised host における免疫補助療法としての有用性を *in vitro, ex vivo* での CL 反応増強効果について検討した症例を紹介した。

シンポジウム I: 抗菌薬治療法における新戦略

司会のことば

原 耕平

長崎大学第二内科

熊本悦明

札幌医科大学泌尿器科

抗生物質の投与においてよりよい治療効果を上げるためには、菌との関連ならびに薬剤の生体内動態を含めて、host-parasite-drug relationship の関連をよりよい状態に保っていくよう努力しなくてはならない。新しい抗生物質はもちろん、現在日常使用されている抗生物質についても、より効果的な使用方法について工夫がなされるべきであろう。現在の抗菌薬治療における新しい問題点を含め、今回は内科および泌尿器科の立場より検討が加えられた。

1. Biofilm の形成に対する対策

生体の病巣内では存在する菌の周囲に薬剤が浸透し難しい環境ができあがって菌が生存し続けることがある。この biofilm 内に抗生物質をどのように浸透させるか、またこれを崩壊させるためにどのような手段を用いたらよいかを検討が加えられた。

2. 抗菌薬の投与法の検討

a. 動物モデル: 抗菌薬の投与法についての動物感染モデルがあればよいが、マウスの腎障害モデルは、ヒトの体内動態にもっとも近いものとして推奨されるべきことが述べられ、このモデルを用いた抗菌剤の 1 回投与と分割 2 回投与の成績が述べられた。

b. Once a day therapy: 主として β -ラクタム剤とアミノ配糖体薬との組合せで、濃度依存的な投菌作用と Postantibiotic effect (PAE) の作用を考慮しての投与法の違いによる臨床効果と副作用に付いての検討成績が、呼吸器感染症と尿路感染症の両面から述べられた。

c. Breakpoint と治療効果: 臨床的 MIC breakpoint の設定に検討が加えられ、尿路感染症において治療後の分離菌の MIC 値を参考にした臨床的 breakpoint が実際の治療効果とどのような関連にあるか、さらには実験的 breakpoint が得られる動物での膀胱憩室モデルと臨床の有効率との関連をみた成績

が報告された。

その他の問題点も含めて、いずれにしろ、抗菌薬をより効果的に使用していくための投与法の工夫は、今後も絶えず続けていくべきものと考えられた。

動物モデルによる検討

戸塚恭一

東京女子医科大学内科

抗菌薬の効果の検討には *in vitro* の成績とともに *in vivo* での成績が重要である。抗菌薬の投与方法についての検討も、多くは動物の感染モデルを使用して検討されている。しかし動物での感染モデルではヒトと体内動態が異なるためにその成績の解釈には注意が必要である。

マウスなどの動物モデルでは抗菌薬の血中半減期が短いために、短時間殺菌力の強い薬剤が奏功する可能性がある。単回投与による ED_{50} の成績では β -ラクタム薬と比較してキノロン、アミノグリコシドでよい効果が示される。したがって同系の薬剤間での比較は問題はないが、異なった系統の薬剤間での解釈には注意が必要である。

ヒトへの応用を考えると動物モデルでも種々の薬剤間を含めた比較検討が必要である。そのようなことからヒトの体内動態に近いマウス腎障害モデルについて検討した。

雌 ICR マウス (25~27 g) に感染実験 4 日前、1 日前に cyclophosphamide のそれぞれ 150 mg/kg、100 mg/kg を腹腔内に投与した。また 1 日前には塩化第二水銀を 7 mg/kg 投与して腎障害をきたした。

約 10^6 CFU の各種細菌を両大腿に接種して 2 時間後に各種薬剤を背部皮下 (0.2 ml) に投与した。経時的に 3~10 匹のマウスの大腿を除去して、ホモジェネートを作成して、生菌数を測定した。また黄色ブドウ球菌については 5% ムチンに懸濁して接種した。菌株は緑膿菌は ATCC 27853、肺炎桿菌は BK 株、黄色ブドウ球菌は Smith 株を使用した。

ゲンタマイシンの血中濃度は 6 mg/kg を背部皮下に投与した後、18~25 匹のマウスについて 1, 2, 4, 6, 8 時間に経時的に後眼か静脈より採血し、TDX[®] 法により測定した。

マウスにおけるゲンタマイシンの血中濃度はヒトでの 80 mg 筋肉内投与時の血中濃度に近似した値が得られたが、マウスでは 6 時間以降も 2 μ g/ml 前後が持続した。

ゲンタマイシ 6 mg/kg を投与した際の緑膿菌に対

する殺菌作用は最大殺菌値が 4 時間に認められた。ゲンタマイシンの MIC は 1.56 μ g/ml であり、8 時間前後は有効濃度が維持されていると考えられる。肺炎桿菌、黄色ブドウ球菌にも同様に 4 時間に最大殺菌が認められた。しかし黄色ブドウ球菌ではその後も 12 時間までは比較的増殖が抑制されていた。 β -ラクタムのセフトジジムでは肺炎桿菌に対して殺菌作用が持続し、8~16 時間後、緑膿菌では 8 時間後に最大殺菌が認められた。

1 回投与と分割 2 回投与について検討すると、緑膿菌に対してゲンタマイシンの 6 mg/kg の 1 回投与と 3 mg/kg の 2 回投与のいずれでも細菌の増殖を抑制することができなかった。しかし 1 回投与では 2 回投与と比較して殺菌作用が強い傾向が認められた。黄色ブドウ球菌でもほぼ同様の成績であった。肺炎桿菌に対しては両投与方法に殺菌されたが、2 回投与がややよい効果を示した。

24 時間以降も治療し経過を追った結果では緑膿菌に対するゲンタマイシン 6 mg/kg 1 回投与と 3 mg/kg の 2 回投与では 24 時間後に細菌数は治療前値以上となり、2 回目以降の効果が顕著ではなかった。

セフトジジム 50 mg/kg の 2 回投与を併用するとゲンタマイシン 3 mg/kg の 2 回投与と 6 mg/kg の 1 回投与はほぼ同じ生菌数変化を示した。

肺炎桿菌に対してオフロキサシンの 12 mg/kg 1 回投与と 4 mg/kg の 3 回投与では 1 回投与がやや良好であったがほぼ同様の生菌数変化を示した。

オフロキサシン、ゲンタマイシンの 12 mg/kg のセフトジジムの 100 mg/kg を 1 回、2 回、3 回に分割した投与方法で 24 時間治療し、生存率を調べた。この投与量ではオフロキサシンの効果が劣っていたが、ゲンタマイシンとセフトジジムはほぼ同等でよい成績を示し、投与量比は 8.3 倍であり、人での量薬の投与量比に匹敵する成績と考えられた。オフロキサシンではヒトと同様にゲンタマイシンの数倍の投与量が必要であると推察された。

腎障害マウス大腿感染モデルはまだ完全なものではないが、ヒトの体内動態に近い値が得られることから、ヒトの治療法への応用ということが可能であり意義があるモデルと考えられた。このモデルでの AUC や Time above MIC と効果との関連性、感染防御能との関連性などについてもさらに検討を加えたいと考える。

アミノ配糖体の once a day therapy

古賀宏延

長崎大学医学部第二内科

目的: 近年, 各種抗菌薬の抗菌活性, 体内動態, 副作用などの特性を踏まえ, その長所を生かして短所を改善するような, 種々の新しい投与方法が検討されている。今回はその1例として, アミノ配糖体の新しい投与方法について検討を行った。

アミノ配糖体は濃度依存的な殺菌作用と, post-antibiotic effect (PAE) を持つ優れた抗菌薬であるが, 投与方法による臨床効果の相違や副作用の軽減などに関しては, いまだ検討の余地が残されている。我々は動物実験として, マウス MRSA 感染症に対する arbekacin (ABK) の投与方法による治療効果の相違を検討した。さらに臨床症例の中でも非常に治療が困難な, 緑膿菌感染を有する慢性呼吸器疾患患者に対して, isepamicin (ISP) の投与方法別の臨床的ならびに細菌学的効果の相違について検討した。また, 腎障害や聴力障害などの副作用発現頻度についても, ISP と piperacillin (PIPC) との併用療法をもとに検討したので報告した。

方法: ddY 系の SPF マウス (5 週齢, 雄) を用い, サイクロホスファミド (150 mg/kg) を感染 2 日前に腹腔内投与して neutropenic mouse を作成した。2 日後に臨床分離株 MRSA, 10^6 cfu/mouse を鼻静脈より注入し, 全身感染モデルを作成した。翌日より ABK (2 mg/kg) を 1 日 1 回, 2 回, 3 回投与に分割して治療を開始し, 生存率および肺内菌数を測定した。

緑膿菌感染を有する慢性気道感染症患者を対象に, PIPC 併用下の ISP 1 日 1 回投与方法 (A 群) と 2 回投与方法 (B 群) を cross-over 法にて施行し, 喀痰中 ISP 濃度ならびに緑膿菌数の推移を比較検討した。また同様の症例に対して A 群と B 群, および ISP と PIPC の各単独投与群 (それぞれ C 群および D 群) の治療を施行し, 臨床的效果, 細菌学的効果, 副作用, 臨床検査値などについて比較検討した。

結果: アミノ配糖体は PAE を有するとともに, 用量依存的な殺菌作用を示し, その効果は Peak level 値あるいは AUC と良好な相関を示した。アミノ配糖体を 1 日 1 回投与した場合と分割投与した場合を比較検討した結果, 感染マウスの肺内菌数や生存率に関しては有意な差は認められなかった。しかし 1 日 3 回投与した群において生存率の低下傾向がみられ, 肺内菌

数は他の群と大差がなかったことから, 副作用による生存率の低下が疑われた。

慢性気道感染症患者に対する臨床効果を検討した結果, まず喀痰中 ISP 濃度は A 群でのピーク値が B 群よりも高く, 半減期は A 群でやや短くなる傾向がみられた。また喀痰中緑膿菌数の推移を比較検討した結果, 統計学的には有意差はなかったものの, 24 時間後における A 群の菌数減少が B 群よりもやや強く認められた。総合臨床効果は A 群および B 群ともに 29% で差はみられなかった。また細菌学的効果は A 群で 31%, B 群で 36% で, やはり有意差はみられなかった。また臨床的有用性を単独投与群と併用投与群で比較すると, 併用群 (A 群, B 群) が単独群 (C 群, D 群) より有効率ならびに除菌率において高い傾向がみられた。さらに各群の臨床効果を多変量解析で比較検討してみると, 臨床的有効性と強い相関がみられたのは投与方法で, 特に A 群の有用性が認められた。open trial での他の呼吸器感染症, 例えば肺炎に対する ISP の 1 日 1 回投与と 2 回投与の臨床効果に関しても有意差はみられなかった。

副作用は A 群で 3 例, C 群で 1 例にみられたが, 各群間の発現頻度に有意差はみられなかった。また, 臨床検査値異常は A 群で 5 例, B 群で 4 例, C および D 群でそれぞれ 1 例にみられたが, いずれも軽度かつ一過性の異常で, 発現頻度も各群間で有意差はみられなかった。しかし尿中 NAG や $\beta 2$ ミクログロブリン, リン脂質の変動は, A 群のほうが B 群よりやや少ない傾向がみられた。聴力機能検査を 8 kHz 領域で施行した結果, 各群間で 10 dB 以上の変動率に差はみられなかった。

考察: アミノ配糖体の副作用として, 腎毒性や聴器毒性がよく知られている。腎毒性のメカニズムとしては, アミノ配糖体が腎の近位尿管上皮細胞に高濃度に取り込まれて, ライソゾーム内に蓄積する。そしてリン脂質と結合することによって, phospholipase の活性を抑制し, phospholipidosis の病態になる。これがさらに進行すると尿管上皮細胞壊死を伴い, いずれは腎不全状態に陥る。このような腎障害の程度は, 明らかに腎皮質内のアミノ配糖体の濃度に相関しており, この現象を抑制するには, 薬剤を早期に飽和状態にすることが効果的であることが知られている。薬剤濃度を早く上昇させることにより, 細菌学的効果, つまり AUC にはあまり変化をきたさないで, 腎障害の程度だけを低下させる投与方法が望まれるわけである。また, アミノ配糖体と PIPC を併用すると, 腎障害の程度が軽減されることも報告されている。これは陽性

荷電のアミノ配糖体と陰性荷電の PIPC が結合することにより、尿細管上皮細胞への蓄積が抑制されるわけである。

このような基礎的知見をもとに、今回検討したアミノ配糖体の 1 日 1 回投与法は、臨床的あるいは細菌学的効果において従来の投与法と有意差はなく、しかも副作用、特に腎障害の軽減に対して有用性が示唆された。また PIPC を併用することによって、さらに臨床効果を増強するとともに、腎障害もより軽減できる可能性があり、今後は広く臨床応用されることが期待された。

尿路感染症に対する併用療法の 基礎的・臨床的検討

松本哲朗

九州大学医学部泌尿器科

尿路感染症に対しては新規抗菌剤の開発により抗菌活性の増強がなされ、治療法の改善が見られてきた。急性単純性尿路感染症に対しては、治療期間の短縮や投与量の減少が計られている。一方、慢性複雑性尿路感染症に対しては依然として治療に難渋している症例が多い。そのため複数の抗菌剤の併用がしばしば行われている。従来、この併用は経験的に行われてきたが、最近ではその理論的根拠が明らかにされつつある。抗菌剤の併用は複数菌感染のための単一の薬剤で抗菌スペクトラムをカバーできない場合、各種薬剤のもつ抗菌力を増強したい場合、あるいは、耐性菌の出現を抑制するため、また、単一の薬剤では副作用が強く、それを軽減したい場合などの目的で行なわれている。また、Cost effect を考慮して行われる場合もある。

1. アミノグリコシド剤の 1 日 1 回投与法: アミノグリコシド系薬剤は抗菌力が強く、尿中排泄率が高く、尿路感染症に対しては切れ味のよい薬剤であり、従来より多用されている。このアミノグリコシド系薬剤の使用法として、1 日 1 回 (Once a day) 療法が効果と安全性の面から、良いことが知られてきた。すなわち、アミノグリコシド系薬剤は強い Postantibiotic Effect (PAE) をグラム陰性菌、グラム陽性菌に対して有しており、抗菌効果は用量依存性であることが知られている。そのような特徴から、分割投与に比し、1 日量を 1 度に投与する 1 日 1 回療法が良いとされている。さらに、アミノグリコシド系薬剤のもつ腎毒性、聴器毒性、神経筋接合部毒性などに対しても、1 日 1 回療法の方が安全であることが報告され

ている。したがって、アミノグリコシド系薬剤の使用は 1 日 1 回とすべきと思われる。我々の複雑性尿路感染症に対する 1 日 1 回投与の検討では 1 日 1 回投与法と 2 回分割法には有効率に差を認めていないが、いずれにおいても高い有効率が得られた。

2. 複雑性尿路感染症に対する抗菌剤の併用: 尿路感染症に対して併用療法に良く用いられるものはアミノグリコシド系薬剤と β -ラクタム系薬剤の併用である。この両者は尿路感染症治療に用いられることの多い薬剤であり、経験的に併用効果が知られている。実際、それぞれの単独投与ではカテーテル留置複雑性尿路感染症に対して 32~43% 程度の有効率であったが、併用により 68% まで有効率の上昇が見られた。また、アミノグリコシド系薬剤と β -ラクタム系薬剤の併用においては投与順序についてはアミノグリコシド剤の先行投与が良いことが *in vitro* および *in vivo* の実験結果から、知られている。実際の臨床においても、このことが証明されている。我々の、イセパマイシンとピペラシリンを用いた臨床検討の成績を紹介では、カテーテル留置複雑性尿路感染症に対して、イセパマイシン 1 回 400 mg 筋注とピペラシリン 1 日 1 回静注を朝、夕投与した。これをイセパマイシン朝、ピペラシリン夕の群、同者同時投与、ピペラシリン朝、イセパマイシン夕の 4 群で比較した結果、イセパマイシンの先行投与がもっとも良い結果を示した。このことはイセパマイシンの単剤投与に比し、明らかに併用療法が良いが、併用する際は薬剤の投与順序にも注意する必要があることを示している。

3. MRSA 感染症に対する併用療法: MRSA 感染症は現在、もっとも注意すべき感染症の 1 つである。この治療については、バンコマイシン、アルペカシン等の薬剤が用いられ、効果のあることが知られている。しかしながら、これらの薬剤は安全性に多少問題があると共に、現在のところ、最終的な決めのな薬剤であり、乱用をつつしまなければならない。そこで、種々の薬剤を用いた併用療法が試みられている。この中で、注目されるものは、ホスホマイシンとセフェム系薬剤の併用である。ホスホマイシンと第 1 または第 2 世代セフェム系薬剤との併用効果は *in vitro* の研究で確認されている。我々は MRSA による複雑性尿路感染症ミノマイシンまたはホスホマイシンとセフゾナムの併用療法を行った。その結果、ホスホマイシンとセフゾナムの併用は、MRSA 複雑性尿路感染症に対して高い臨床効果と MRSA に対する細菌学的効果が得られた。

4. 抗菌剤と抗炎症剤の併用: 細菌感染症の治療は

適合した抗菌剤の投与がもっとも重要であるが、治療の遅れや非適合抗菌剤の投与による組織障害の起こることも多い。このような場合、抗炎症剤の併用が効果的な場合がある。我々は逆流性腎症のモデルを作成し、抗炎症剤としてのスーパーオキシド・ディスマターゼの効果を明らかにしている。さらに、抗酸化剤、ステロイド、ウリナスタチンなどの併用効果を確認している。

以上のように、複数の抗菌剤の併用や抗炎症剤との併用などには理論的根拠にもとづいた適切な投与方法が必要である。

複雑性尿路感染症の治療における

新しい展開

公文裕巳

岡山大学泌尿器科

近年、抗菌薬の進歩ならびに経皮的腎瘻造設術などに代表されるエンドウロジーの普及により、有熱性複雑性尿路感染症の治療成績は著しく向上したといえる。一方、宿主側因子の変化と耐性菌の増加に伴ない、抗菌薬治療に抵抗する慢性持続感染症が増加していることもまた事実である。この慢性持続感染症の多くの症例において細菌バイオフィームの形成がその病因論の本体として注目されてきたが、これらの感染症は一般に比較的臨床症状に乏しい。したがって、患者のQOLの観点からも外来での経口抗菌薬による治療が望まれる。

今回、経口抗菌薬の適応拡大、服薬コンプライアンスの改善、ならびに、有効性の向上を目的とする、経口抗菌薬のOnce a day療法と経口薬の併用療法について基礎的・臨床的に検討を加えた。具体的には、①ニューキノロン薬によるOnce a day療法の有用性と服薬時期の確認、②緑膿菌感染症に対するニューキノロン薬の現状とCIPCの再評価、③バイオフィーム感染症に対するマクロライド薬の有用性と抗菌カテーテルの臨床応用性の検討、④経口抗菌薬の具体的併用療法の検討などを当面の課題とした。

(1) ニューキノロン薬によるOnce a day療法

半減期の長いニューキノロン薬の登場に伴ない複雑性尿路感染症に対するOnce a day療法が現実的に実施可能となり、その有効率は従来との投与方法と差がないことが明らかとなった。一方、服薬時期に関しては十分な検討がなされているとはいえない。そこで、sparfloxacin 1日量300mgを朝食後ないし夕食後に投与する2群間の比較試験を行ったところ、予想に反

して朝食後投与群の成績が明らかに優れていた。基礎的検討の結果、この成績は夜間尿と昼間尿でのsparfloxacinの尿中抗菌力の差に主として起因するものと考えられた。つまり、sparfloxacinの服薬は朝とすべきであろう。

(2) 経口抗菌薬による緑膿菌感染症の治療

ニューキノロン薬の緑膿菌に対する抗菌力は年次的に低下の一途をたどり、今日、緑膿菌感染症用の経口抗菌薬としては力不足と言わざるを得ない。しかし、他に代わる薬剤のない現状において、緑膿菌に対して適応を有するcarindacillin sodium (CIPC) はもはや過去の薬剤か否かについて検討した。緑膿菌に対するCBPCの感受性は過去10年間ほぼ不変であること、ニューキノロン薬と異なって尿中での抗菌力が低下しないこと、高投与量での安全性が確立していることなどを考慮すると、基礎的には経口の抗緑膿菌薬として今日でも活用可能と判断された。少数例の検討ではあるが、前治療を有する緑膿菌性複雑性尿路感染症に対して臨床的にも優れた効果を示した。さらに、CIPCはニューキノロン薬との併用において、*in vitro*ならびに*in vivo* (マウス実験的緑膿菌感染症)において相乗ないし相加効果を示した。

(3) バイオフィーム感染症に対する治療法の検討

現時点において臨床的には尿流動態の積極的改善と細菌バイオフィームの積極的除去以外に有効な治療法はないものと考えられる。抗菌薬に関してはニューキノロン薬がある程度の効果を示すものの、明らかに不十分である。このニューキノロン薬の効果増強を目的として、開発中のマクロライド薬であるアジスロマイシン (AZM) とOFLXの併用効果を長期のカテーテル留置に伴なう複雑性尿路感染症患者を対象として比較検討した。併用群における除菌率88.0% (22/25) はOFLX単独群の64.9% (13/22) に較べて明らかに優れていた。また、カテーテル材料に関する電顕的検討においてもある程度のバイオフィーム形成阻止作用を示した。

尿路における細菌バイオフィーム形成の場の中心となるカテーテルに関して、抗菌性素材の開発とその臨床応用も今日の課題のひとつである。比較的高濃度 (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上) の銀イオンがバイオフィーム形成菌に対して劇的に効果があることは基礎的には明らかであったが、銀をコーティングした種々の素材から遊出する量には限界がある。そこで新しい素材として抗菌性チタニアについて検討を加えた。この抗菌性素材と1/2 MICのOFLXの併用により、緑膿菌バイオフィームの形成は実験的には阻止可能であった。

(4) 経口薬の併用療法と今後の展開

Once a day療法、抗菌力、ならびに、バイオフィルムに対する直接効果などから考えて、複雑性尿路感染症に対する経口抗菌薬の併用療法における基調薬はやはりニューキノロン薬であると考えられた。併用薬としては、緑膿菌感染症に対する効果増強という観点からはCIPCの併用を今後具体的に検討すべきであろう。マクロライドの併用については、AZMを用いて今回検討を加えたが、その作用メカニズムを含めて基礎的・臨床的にさらに検討する必要がある。また、クラリスロマイシンはもとより今後の新しいマクロライド薬に関しては、バイオフィルムに対する効果を当面の課題として検討するとともに、併用療法の効果的投与法についても考えるべきであろう。一方、カテーテル留置複雑性尿路感染症に関しては、抗菌性カテーテルの臨床応用が最重要課題であろう。この抗菌性カテーテルの開発に関する基礎的検討は、従来の抗菌薬とは異なる新しいタイプの抗菌性物質の発見とその臨床応用に結び付く可能性があり、ここでいう経口抗菌薬の併用療法にさらに厚みをつけることが期待される。

以上、複雑性尿路感染症の治療における新しい展開として、経口薬によるOnce a day療法と経口薬の併用療法を中心として、現在までの成績と今後の展望について私見を述べた。

細菌バイオフィルムへのアプローチ

武田博明

杏林大学第一内科

慢性気道感染症の難治化要因の一つとして、近年気道粘膜表面における細菌バイオフィルムの形成が挙げられている。これら気道壁表面における、細菌バイオフィルム形成に伴なう反応としては、①Host cellとの弱いinteractionによる局所での細菌生息圏の確立と、それにもとづく感染の反復、②適合抗菌剤に対する抵抗性、③免疫複合体形成により惹起される炎症にもとづく組織破壊などが考えられる。

今回、これら気道における細菌バイオフィルムの臨床的意義を分析するとともに、その対策について検討した。

まず慢性気道感染症32例について、喀痰所見を中心に臨床的に検討した結果、24例に細菌バイオフィルムを証明した。これら症例は、疾患別には気管支拡張症12例、びまん性汎細気管支炎(DPB)9例と両疾患が多く、菌種別では緑膿菌が20株、ついで肺炎

桿菌が多かった。

その臨床像の特徴は、同一菌種による感染症憎悪の反復と、適合抗菌剤が使用されたにもかかわらず、その除菌率はきわめて低く20%台であった。しかしながら、除菌がなされていない症例でも、適合抗菌剤使用後臨床的には改善が認められる例も存在し、むしろこのことが、biofilm diseaseの特徴とも考えられた。

また、同一菌種の反復感染はbiofilmから遊離した菌が、気道内で新たな感染巣を形成することによるものと考えられた。

*In vitro*実験系において、biofilm緑膿菌では、floating typeの緑膿菌に比し、菌に対する好中球のchemotaxisの抑制傾向が見られた。

次に、マウス気道にfloatingおよびbiofilm緑膿菌を注入し経時的に観察してみると、biofilm緑膿菌では、肺胞洗浄後(BALF)中好中球の増加は軽微であり、48時間後では、floating菌 46.8×10^4 コ/ml、biofilm菌 1.9×10^4 コ/mlと両群では有意差が認められた。

さらに肺内生菌数の検討では、biofilm緑膿菌は、菌注入後肺内に長期にわたり緑膿菌が残存していた。

これら所見は、臨床的に見られるbiofilm diseaseの特徴を支持するものであろうし、*in vitro*の系における好中球chemotaxis抑制という結果とも合致する所見であろう。

すなわち、菌はbiofilmを形成することにより、宿主側よりの攻撃を回避し、結果的に肺内に菌が長期にわたり付着し続けることが考えられた。

Biofilm diseaseである、DPBに対する、エリスロマイシンを中心とする14員環マクロライドの臨床的有用性は、すでに確認されている。我々も、clarithromycinを用いて検討してきたが、clarithromycinが緑膿菌バイオフィルムを崩壊させることを現象論的にはあるが見出だした。また、*in vitro*の系でclarithromycinとciprofloxacinを併用すると、ciprofloxacin単独に比しbiofilm緑膿菌の生存率は有意に減少した。また、その効果は、clarithromycin用量依存性に見られた。

そこでbiofilm diseaseに対する対策としてclarithromycinとニューキノロン系抗菌剤の併用を、慢性気道感染症13例を対象に試みた。

併用療法開始前、感染性憎悪は軽度のもも含めて、年に数回から10数回、平均5.2回みられていたが、併用療法開始後は、緑膿菌が、*Achromobacter xylosoxidans*に菌交代した1例を除いて感染性憎悪は見られていない。すなわち、biofilm diseaseの特徴の

一つである biofilm から floating してきた菌による新しい感染巣の発生は予防は可能であった。

しかしながら、菌の消失が約 50% であり、この点臨床的対策としては必ずしも十分とはいえない。すなわち一度形成された biofilm 本体に対する効果という点においては、まだ満足できるとはいえず、さらに検討する予定である。

以上細菌バイオフィームによる反復感染に対する基礎的・臨床的成績について報告した。

複雑性尿路感染症治療における抗菌薬 breakpoint と投与法の検討

西村昌宏・広瀬崇興
札幌医科大学泌尿器科

尿路感染症治療の際、抗菌薬の尿中濃度は血中に比べてはるかに高いにもかかわらず、複雑性尿路感染症では除菌され難かったり、再発をきたす場合が経験される。ことに複雑性の程度が高まると、biofilm 形成によりさらに難治性が高まることが考えられる。従来、このような尿路感染症に対する抗菌薬投与法は、試験管内抗菌力、体内動態、安全性、あるいは先行開発薬の用量、用法を参考にしながらかなり経験的に決められてきた場合が多く、必ずしも適切であったとは言えない。そこでこれからのもっとも効率的な投与法を考える上で、以下の検討を行った。1) カテーテル非留置尿路感染症治療成績から、その投与法で何 MIC までの細菌であればほぼ除菌されるか、すなわち臨床的 MIC breakpoint (以下臨床的 breakpoint) の設定、2) 臨床的 breakpoint を推定し得る *in vitro* 複雑性膀胱モデルの作成、3) このモデルによる実験的 MIC breakpoint (以下実験的 breakpoint) の検討から、臨床応用前の効率的な投与法の検討、最後に、4) 尿路 Biofilm disease に対する対応を検討した。

1) 臨床的 MIC breakpoint の設定について

尿路感染症では治療後に菌交代が起こる場合があり、様々な MIC の菌が出現する。そのため起炎菌 MIC 分布からの breakpoint 設定は困難である。しかし、治療後細菌検出症例では、ある値以下の MIC 値の細菌はほとんど認められない。そこで治療後分離菌の MIC 値の低い方から 10% の値を取ると、この値以下の細菌は治療経過中にほとんど除菌されていると推測され、この MIC 値を臨床的 breakpoint と考えた。たとえば、cefotaxime (CTX) 1 g を 1 日 2 回 5 日間投与での臨床的 breakpoint は 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 前後と考えられた。しかし投与法が変われば臨床的 brea-

kpoint は当然異なる。すなわち CTX の 1 回投与量を 2 g に上げると、臨床的 breakpoint は 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に上がり、また 0.5 g に下げると 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と下がるが、あらゆる投与法について多数例での臨床的検討を行い、もっとも効率的な投与法を求める事は事実上困難である。

2) *In vitro* 膀胱炎モデルによる実験的 breakpoint の設定

そこで我々はカテーテル非留置複雑性尿路感染症の臨床成績をある程度反映するような複雑性膀胱モデルの作成を試みた。抗菌薬濃度を実際の尿中濃度推移で作用させつつ、モデル膀胱に付けた憩室サイズを色々変えて尿流停滞の程度を変え、臨床的 breakpoint と比較的一致する実験的 breakpoint が得られる憩室サイズを設定した。

3) 抗菌薬の効率的投与法の検討

このモデルを利用して、臨床治療を行う前に、臨床の有効率の推定を試みた。カテーテル非留置尿路感染症治療成績から求めた臨床的 breakpoint が、その起炎菌 MIC をカバーする率と、実際の臨床の有効率の関係をみると臨床的 breakpoint がその起炎菌 MIC をカバーする率が高いほど、有効率も高いことが判明した。すなわちカバー率が 70% を越える場合にはおよそ 80% 以上の有効率が得られている。したがって、臨床検討を行う前に、カテーテル非留置例から分離された細菌に対する抗菌力を調べ、その 70% 以上をカバーする MIC 値をとり、その値が breakpoint となるような投与法を実験的に設定すれば、臨床的にも有効率の高い投与法を求めていけるのではないかと考えられた。

4) Biofilm disease に対する対応の検討

ところで複雑性がさらに高まると、biofilm 形成により難治性がさらに高まる。そこでこのような場合の対応を検討した。前述のモデル膀胱憩室内に数十個のガラス玉を入れ、その表面に緑膿菌 biofilm を形成させて検討を行った。近年、新マクロライド薬である clarithromycin (CAM) の抗 biofilm 作用が報告されている。そこで抗緑膿菌作用を有する ciprofloxacin (CPFX) に CAM を併用することで、breakpoint にいかに影響するかを検討した。CPFX 1 回 200 mg を 1 日 3 回単独作用時の breakpoint は 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。しかし作用 7 日後、抗菌薬の影響を除くと菌の再増殖が認められ、この場合にはあくまでも見かけ上の breakpoint としか言えない。また 7 日目のガラス玉表面には緑膿菌 biofilm が認められ、これが再増殖の原因と考えられた。一方、CPFX に CAM 1 回 200

mgを1日3回併用時の breakpoint は16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と変わらないが、7日目に抗菌薬の影響を除いても再増殖はみられず、併用7日目のガラス玉表面像では、CAMの抗 biofilm 作用により biofilm が消失した。したがって、CAMの併用で breakpoint に差がでるほどではないが、CAMの抗 biofilm 作用が期待される結果であった。またCAMの投与方法を検討するため、CPFXとCAMを200 mgで1日2回併用時と1日3回併用時を比較すると、抗 biofilm 作用の点でCAM3回併用の方が優れており、臨床上もCAMを3回併用する方が抗 biofilm 作用が強いことが考えられた。次に臨床的検討を行った。対象はカテーテル非留置例を含めた複雑性尿路感染症とし、CPFX 400 mg または 600 mg/日を単独で14~28日間投与した場合と、それにCAMを同量併用した場合で治療効果を比較した。両投与量の集計で比較すると、カテーテル非留置例、留置例ともに、14日目判定の有効率は、CPFX単独群に比べCAM併用群の方が有意差はないが15~20%ほど高かった。カテーテル非留置群でも併用群の有効率が高いのは、尿流停滞があると、尿路粘膜表面などに biofilm が形成される場合があるためかもしれない。また投与後のカテーテル先端の観察では、CPFX単独群では biofilm 消失例は認められないが、CPFXとCAM 600 mg/日併用群では60%に biofilm 消失例が認められた。In vitro の成績と同様にCAMの抗 biofilm 作用が、臨床的にもある程度認められる成績であった。

以上をまとめると、より生体に近い *in vitro* モデルを用いた効率的な投与方法の検討が尿路抗菌薬治療の新戦略の一つにつながり、また尿路 biofilm disease に対しては抗 biofilm 薬の併用がある程度効果を有すると考えられた。

シンポジウム II: 化学療法における生体防御と抗菌薬

司会のことば

西村忠史

大阪医科大学小児科

永山在明

福岡大学微生物

難治性感染症では生体側要因の存在がその感染症の発症、経過さらには治療のも大きく影響する。そのためいかに効果的に化学療法を実施するか、薬剤の選択、併用による強化を考え、一方では種々の感染防御

に関係する因子の欠損、低下の補充、さらには積極的免疫強化も加えてこの問題はしばしば論ぜられてきた。今回は主に感染防御における非特異的防御能をとりあげ食細胞に対し抗菌薬を中心にサイトカインらとの併用も加えその活性への影響をみ感染防御の初段階における抗菌薬の役割を食細胞に焦点をあてて論じた。

まず実験的免疫不全症における感染に対して食細胞活性に抗菌薬がサイトカインとの併用も含めてどのように食細胞の質的、量的強化の面から感染防御に役立つかをしらべるため免疫制御剤、抗癌剤投与マウスにおける生体防御能をもとに抗菌薬の生体内効果を調べ、 β -ラクタム剤では殺菌力が強く Time above MBC の強い薬剤がよいこと、さらにキノロン剤ではMBCとの相関が明らかにされた。

抗菌薬療法と免疫療法の協力では薬剤投与の順序が効果に関係し、またG-CSF, MDP-Lys, モノクロナール併用投与が効果的であるとされた。

また sub MIC の抗菌薬、特に β -ラクタム剤の菌体表層への影響はもっとも大きく、これによって菌の莢膜の薄層化、その疎水性に変化が生じ、さらに補体の結合能もたかめて食菌細胞による貪食、殺菌作用をうけ易くしていることが示唆された。

さらに抗菌薬投与による好中球の活性化に関連してその殺菌能がサイトカインとの相互作用のもとでどのような態度を示すか、また好中球の遊走能は食菌過程の上からもきわめて重要である。非特異的感染防御機構特に食細胞機能と抗菌薬に関し BMR としての抗菌薬について汎用される抗菌薬では食細胞の CL 反応に影響は与えなかったが MINO, DOXY, ST 合剤は抑制的に作用し、PL-B, CPIZ, CDZM らは増強作用を示した。また抗菌薬治療後にみられる Jarisch-Hexheimer 様反応についても演者の見解が示された。好中球遊走能に関しては抗菌薬の通常使用量での影響はほとんどないが、テトラサイクリン系剤特に MINO, DOXY によって遊走能の低下がみられ、これがこれら薬剤の Ca とのキレート結合による可能性が示唆され、生体に投与された場合より低量でも影響の見られることが指摘された。また呼吸器感染症における感染防御と抗菌薬についてサイトカイン応答との関係が IL-8 について調べられた。呼吸器感染症患者気道中 IL-8 応答を喀痰上清中 IL-8/Albumin 値でみると抗菌薬投与後に低下がみられ、また慢性緑膿菌呼吸器感染症の EM 少量持続投与の効果についても言及された。生体の感染防御の初段階に関与する食細胞機能を中心に抗菌薬によるこの系への影響の有無を論じ生体感染防御と化学療法の関係の一面が明らかにされた。

実験的免疫不全症における感染と抗菌薬

辻 明良

東邦大学医学部微生物学

Immunocompromised host における感染はヒトや生活環境に常在する病原性の低い微生物によることが多く、いったん感染すると宿主の抵抗力の改善がない限り、重症あるいは難治性となりやすいことは周知の事実である。特に現在では MRSA や緑膿菌などによる感染が問題となっている。免疫不全症における感染と抗菌薬生体内効果について、これまでの我々の基礎検討成績を紹介する。

1) 実験的免疫不全症と生体防御

生体防御の第一は侵入菌の定着阻止や食細胞による貪食・殺菌である。臨床的には基礎疾患を有する患者では病態や治療・処置などにより、食細胞特に顆粒球の数・機能、液性、細胞性免疫能が低下するため易感染性となり、各種感染症を合併することが多い。そのため、実験的に動物に各種免疫抑制剤や抗癌剤を投与し、感染抵抗性減弱宿主を作製する。我々はマウスに cyclophosphamide (CY), methotrexate, cyclosporin A を投与し、経時的に白血球数の変化を調べた。著明な変化(数の減少と機能の低下)は CY 投与でみられ、各種細菌の最小致死量を正常マウスと比較すると少ない菌量で致死がみられ、著明な易感染性が認められた。また、白血球減少マウスにおける全身感染モデルでの抗菌薬療法は正常マウスでの場合と比べ、ED₅₀ 値は大きくなり、難治性となる。

2) 抗菌薬生体内効果

実験感染モデルと臨床における感染とはギャップがあり、生体内の薬物動態も動物種により異なる。しかし、同一動物での一連の結果からヒト感染での有効性を推測する手がかりとなるのも事実である。抗菌薬の *in vivo* 効果は、抗菌力、体内動態および生体の感染防御能との総合結果として表現される。

全身感染モデルにおける抗菌薬の治療効果を、薬剤側のどの要因(抗菌力、体内動態、白血球との協力作用)と相関するかを、緑膿菌感染について調べたところ、 β -ラクタム剤では短時間殺菌効果をもっとも相関性が高く(相関係数 $r = -0.737$)、短時間殺菌効果 + Time above MBC との重相関はさらに高くなった。すなわち β -ラクタム剤では短時間で強い殺菌力を示す薬剤で、Time above MBC の長い薬剤が優れた効果を示すと推測された。キノロン剤では MBC との相関性が高く(相関係数 $r = 0.937$)、MBC + C_{max}/

MBC との重相関はさらに高くなった ($r = 0.988$)。

薬剤の生体内効果は、一定の濃度が長時間留まっているわけではない。当然吸収、排泄とそれぞれの濃度推移で菌と作用している。そのため血中濃度をシミュレートさせることができた *in vitro* 濃度シミュレーションシステムを用い、殺菌効果を検討した。感染菌に対する短時間殺菌力の強さと殺菌維持時間の長さ(β -ラクタム剤では $-2 \log$ 殺菌維持時間、キノロン剤では $-1 \log$ 殺菌維持時間)が治療効果に影響を与える結果を得た。白血球減少マウスにおいては、 β -ラクタム剤では殺菌力の強さと $-3 \log$ 殺菌維持時間の長さが相関性が強い。投与方法、投与計画に重要な要因である。

3) 抗菌薬療法と免疫療法との協力

免疫不全宿主では生体防御特に顆粒球数や機能の把握とともに、適切な抗菌薬の選択と投与、抗菌薬併用療法および宿主状態の改善のための免疫療法(BRM 剤)との併用も考慮しなければならない。

近年、抗菌活性とともに BRM 作用を示す薬剤も報告されているが、免疫不全症での感染では不十分である。抗菌薬併用療法では投与順序も問題で、 β -ラクタム剤とアミノグリコシド剤ではアミノグリコシド剤を先行投与し、次いで β -ラクタム剤を投与する方が治療効果がよい。またその間隔も影響をおよぼした。抗癌剤(CY)投与担癌マウスに G-CSF あるいは MDP-Lys (L 18) を投与すると白血球数の回復がみられ、感染菌力の低下(LD₅₀の上昇)が認められた。また感染治療では G-CSF や抗 LPS モノクローナル抗体(Mab)と抗菌薬との併用で著明な治療効果が認められた。

以上、免疫不全症における感染は難治性となるため、短時間殺菌力の強い・殺菌維持時間の長い薬剤の選択と宿主防御能の回復のための免疫療法との併用が有用である。

抗菌薬の菌体表層におよぼす影響と食作用

野村秀一

福岡大学医学部微生物学教室

細菌感染症治療においては、抗菌薬の持つ抗菌力、血中濃度、組織移行性などは重要な因子であるが、生体内における治療効果に対しては、細菌とそれに対する抗菌薬のみならず、生体の持つ数々の防御機構が大きく関与しており、特に、感染防御のうえで大きな役割を担っている食細胞との協力作用が重要である。また、実際の感染症治療において、抗菌薬を通常の方法

で投与した場合、排泄臓器を除き、体液中または感染巣内の抗菌薬が起炎菌と接触する時間は起炎菌に対するMIC以上の濃度よりもむしろ殺菌はできないが細菌に対してなんらかの影響（構造学的変化など）をおよぼすことのできる濃度であるMIC以下（sub-MICs）の時間が長いと考えられている。したがって、sub-MICs濃度の抗菌薬の作用によって菌体になんらかの変化を生じた細菌に対する食細胞の対応が実際の治療効果を大きく左右するものと思われる。

これらのことから、莢膜を保有し食細胞の食作用に強い抵抗性を示す *K. pneumoniae* を被験菌として各種の抗菌薬の sub-MIC 濃度の処理による菌体の構造変化と食細胞の食作用に対する感受性の変化との関連について検討したので報告する。

方法：使用抗菌薬は β -ラクタム剤として CBPZ, CDZM, CPZ, CAZ, FMOX, AZT, IPM, TIPC/CVA, ABPC/SBT, ニューキノロン剤として OFLX, CFX, TFLX, SPFX, FLRX, アミノグリコシド剤として GM, AMK, NTL, TOB, マクロライド剤として AZM の 19 薬剤である。

食細胞としてマウスのマクロファージを使用した。被験菌は臨床分離株の *K. pneumoniae* 109 を用いた。各抗菌薬の被験菌に対する MIC は液体倍數希釈法で測定した。また、各抗菌薬の sub-MIC 処理濃度として 1/4 MIC 濃度を設定し、(1): 食細胞の食作用に対する感受性の変化への影響。(2): 菌体表層の構造（形態学的変化）におよぼす影響。(3): 菌体表層の物理化学的性状（疎水性、電荷）におよぼす影響。(4): 菌体表層への補体の結合におよぼす影響について検討を行った。

結果 (1): 食細胞の食作用に対する感受性の変化。

K. pneumoniae を食細胞単独でも、1/4 MIC の薬剤単独でも殺菌できない条件下で、1/4 MIC の薬剤とマクロファージを共存させ培養し、一定時間ごとに生菌数の変化を測定し、3時間目の生菌数を薬剤単独の生菌数と比べて、Killing Index (K.I) として数値化し比較した。ニューキノロン剤はコントロールと比べてわずかに大きな K.I 値を示すが、アミノグリコシド、マクロライド剤ではほとんど差がなく食細胞の食作用に対する感受性はあまり変化しなかった。 β -ラクタム剤では IPM を除き、大きな K.I 値を示し、食細胞の食作用に対する感受性が高まったことを示した。

結果 (2): 菌体表層の構造（形態学的変化）におよぼす影響。

β -ラクタム剤処理で食細胞の食作用に対する感受

性が高まることから、これらの薬剤が細菌の表層構造を変化させ、食細胞から見て非常に食べやすい状態にしていることが考えられるので、*K. pneumoniae* を各抗菌薬の 1/4 MIC で 3 時間処理したあとの菌体表層の構造物である莢膜の形態学的変化を透過型電子顕微鏡で観察し比較した。ニューキノロン剤ではコントロールと比べてわずかに莢膜の最外層部が薄くなっていた。しかし、アミノグリコシド、マクロライド剤ではまったく変化が観察されなかった。 β -ラクタム剤では IPM を除いて、コントロールや他剤と比べて莢膜全体が大きく薄くなりしかも疎やになっていた。

結果 (3): 菌体表層の物理化学的性状（疎水性、電荷）におよぼす影響。

β -ラクタム剤処理によって莢膜の構造が大きく変化するところから、それに伴って菌体表層の性状つまり疎水性や電荷が変化することが考えられる。これらの性状は食細胞との相互作用を考える上で重要な因子である。そこで、マクロファージの細胞表層の疎水性と電荷の状態および *K. pneumoniae* を各抗菌薬の 1/4 MIC で 3 時間処理したあとの菌体表層の疎水性の変化と電荷の変化をそれぞれ接触角法と細胞電気泳動法にて測定し比較した。疎水性の程度は θ 値 (度) で、電荷の状態はゼータ電位 (-mV) で表す。マクロファージの細胞表層の疎水性は 37.9 度であり、コントロールの疎水性は 23.5 度で、約 14 度の差があった。薬剤処理では、 β -ラクタム剤で IPM を除いて、コントロールと比較してそれらの疎水性は約 5 度から 14 度高くなっており、それらの値はマクロファージの値に近いものとなった。ニューキノロン剤では約 2 度ほど高くなっていたが、アミノグリコシド、マクロライド剤ではほとんど変化がみられなかった。一方、電荷の状態ではマクロファージのゼータ電位は 24.7-mV であり、コントロールのゼータ電位は 24.1-mV でほぼ同じ値を示した。薬剤処理では、 β -ラクタム剤で IPM を除いて、コントロールやマクロファージと比較して、それらのゼータ電位は約 3-mV ほど減少していた。ニューキノロン剤では約 1-mV 程減少していたが、アミノグリコシド、マクロライド剤ではほとんど変化がみられなかった。

結果 (4): 菌体表層への補体の結合におよぼす影響。

菌体表層に莢膜を保有するような細菌の表層には非特異的感染防御因子として重要である補体は結合しにくいとされている。そこで、 β -ラクタム剤処理によって莢膜の構造が薄層化し、それに伴ってその物理化学的性状が変化したような菌体表層への補体の結合能を各抗菌薬の 1/4 MIC で 3 時間処理したあと、モ

ルモット血清と 37°C, 30 分間処理し, 遠心洗浄を行ったあとオクテロニー法とケミルミネッセンス法で測定し比較した。オクテロニー法において, β -ラクタム剤の処理のみにおいて補体に対する抗体との間に沈降線が生じ菌体表層に補体が結合しているのが示された。ニューキノロン, アミノグリコシド, マクロライド剤処理においては沈降線が生ぜず補体が結合しにくいものと思われた。また, ケミルミネッセンス法ではヒトの monocytes や好中球を β -ラクタム剤で処理した菌体で刺激した時にもっとも大きなケミルミネッセンス反応を示し, 他剤処理菌の菌体表層よりもよりよく補体が結合しているのが確認された。

結論: 上記成績より β -ラクタム剤が菌体表層におよぼす影響力がもっとも大きく, 菌体表層の荚膜を薄層化し, その物理化学的性状である疎水性や電荷をも変化させ, さらに補体の結合能を高めて, 食細胞による貪食殺菌作用を受け易くしていることが示唆された。

BRM としての抗菌薬

—Post-antibiotic leukocyte activity—

斧 康雄・青木ますみ

帝京大学医学部第二内科

Compromised host が増加している近年において, 生体防御の第一線で働く食細胞の機能におよぼす抗菌薬の影響は, 化学療法を施行するうえで十分に考慮する必要があると思われる。ここ数年来, 抗菌薬の持つ biological response modifiers (BRM) 様作用が注目され多くのデータが集積されている。本シンポジウムでは, 抗菌薬の食細胞機能におよぼす影響の中で, 病原菌の殺菌には必要不可欠な活性酸素生成能におよぼす薬剤の直接的, 間接的影響を化学発光 (CL) 法を用いて検討した。

我々の *in vitro* の系では, 汎用されている多くの β -ラクタム薬, アミノ配糖体, マクロライド薬, 抗真菌薬は治療域濃度では食細胞の CL 反応に影響を与えなかった。一方, 抑制的に作用するものにはミノサイクリン (MINO), ドキシサイクリン (DOXY) などのテトラサイクリン薬, ST 合剤などがあつた。ニューキノロン薬は, 薬剤により増強するものと抑制するものがあり, 薬剤により作用が異なっていた。CL 増強効果を示す薬剤には, ポリミキシン B (PL-B) があり, CP1Z, CDZM など一部の β -ラクタム薬が増強傾向を示したが, その効果は, LPS や G-CSF, GM-CSF, TNF- α , IFN- γ などのサイトカインに比較して弱かった。PL-B は, LPS に比較して軽度で

はあるが, ヒト単球に作用して TNF- α の産生を誘導した。しかし, LPS を PL-B で前処理しておく, LPS や Lipid A の食細胞 CL 反応に対する priming 効果を抑制したり, LPS の単球からの TNF- α の産生を部分的に抑制した。このように, PL-B はそれ自体食細胞に作用して活性酸素産生能を高めたり, TNF- α 誘導能を有する一方で, LPS に対して中和活性を持ち合わせた, いわゆる BRM 作用を持った数少ない抗菌薬と思われる。

実際の細菌感染症患者に抗菌薬を投与し, その後の全血 CL 活性をモニターすると, 通常投与前に高値を示した CL 活性は治療が奏効すると徐々に低下した。しかし, 症例によっては投与直後に, 食細胞の CL 活性がさらに増強する場合もあり, 病態の悪化, 炎症所見の増悪などがみられる症例があつた。抗菌薬投与後の炎症反応の一過性増悪には, 抗菌薬により菌が破壊され生じる大量のエンドトキシン (LPS) などの菌体成分や, これらにより誘導される炎症性サイトカインの過剰産生や, 食細胞を含めた免疫担当細胞の過剰な活性化が関与しているものと思われる。いわゆる, Jarisch-Herxheimer (J-H) 反応の発症機序も同様のメカニズムの関与が指摘されている。食細胞より放出される過剰な活性炭素も感染局所の組織臓器障害に深く関与しており, それを制御する対策もまた重要である。実際のグラム陰性桿菌による敗血症患者の急性期の好中球 CL 反応も健康成人に比較して有意に増強していた。さらに, 患者末梢血の白血球数も約 3 倍ほど増加しており, 敗血症急性期には, 活性化した好中球が多数循環していることが明らかとなった。そこで, 敗血症性ショックや臓器障害の mediator の一つである活性酸素の過剰産生をいかに防ぐかについて検討した。敗血症などの重症グラム陰性桿菌による感染症では, LPS や炎症性サイトカインのなかでもっとも CL 増強効果が強い TNF を制御することが, 活性酸素からの臓器障害を防ぐには重要と思われる。今回の検討で, デキサメサゾン, 食細胞 CL 反応を有意に抑制し, かつ LPS (100 ng/ml) による単球からの TNF- α の産生を部分的に抑制した。抗 LPS モノクローナル抗体である E5 で LPS (*E. coli* 0111 由来) を前処理することで, LPS (100 ng/ml) による全血 CL の priming 効果をほぼ完全に抑制し, 単球からの TNF- α の産生能を部分的に抑制した。抗 TNF モノクローナル抗体や TNF 結合蛋白 (可溶性 TNF レセプター) も, TNF- α (100 U/ml) による全血 CL 増強効果を有意に抑制した。好中球の過剰活性化を防ぐには, 今後これらの薬剤の臨床応用が期待されると思

われた。

以上の成績をまとめると、抗菌薬治療後に見られる J-H 様反応が LPS の放出に伴うサイトカインの過剰産生によりおこる可能性があること。それらが好中球に作用して活性酸素などの toxic substance の過剰放出を引き起こし臓器障害やショックに関与する可能性があることを示した。これに対して、最近では、抗菌薬にも LPS の release を少なく殺菌する薬剤が検討されはじめたこと。release された LPS に対しては、抗 LPS 抗体や PL-B がそれを中和できること。単核球系細胞からの TNF の産生をアキサメザソンが抑制できること。放出された TNF に対しては、抗 TNF 抗体やその可溶性レセプターがその活性を中和できることを示した。一方、活性化された好中球からの活性酸素の産生は SOD やステロイドで抑制されるが、さらにはテトラサイクリンや ST 合剤などの一部の抗菌薬を用いて過剰活性化を抑制し、抗炎症作用をねらった使用も今後試みられるかもしれない。

好中球機能におよぼす抗菌薬の直接作用ではほとんどの抗菌薬は今回の検討より治療域濃度では、その影響は少ないと考えられるが、間接的には、ほとんどすべての抗菌薬は抗菌作用により LPS など菌体成分を release させることで、好中球、単核球系細胞に働き生体防御機構を活性化させる可能性があることが示唆されました。

したがって、多くの抗菌薬は間接的な BRM 様作用を有していると考えられる。抗菌薬療法に際しては、特に細菌の負荷の多い重症例においては、抗菌薬治療後には生体防御機構の過剰反応が起こる可能性があることに留意して、慎重な経過観察を行うよう心掛けることが必要と思われた。

今回、抗菌薬治療後の post-antibiotic leukocytes activity の概念とその対策について私見を述べた。

好中球遊走能と抗菌薬

杉田久美子・西村忠史

大阪医科大学小児科

細菌感染に対する生体防御の中で好中球は重要な役割を有している。すなわち炎症部位への遊走、集積、細菌などの貪食、殺菌を行う。また感染症治療においては化学療法は大きい役割を持つ。しかし生体防御能に破綻がきていれば、化学療法も容易ではない。とりわけ治療の進歩により Compromised host が増加しており、化学療法も生体防御との協力が重要となる。本来抗菌薬は生体細胞に影響しないとされている

が、昨今、ある種の抗菌薬については生体防御能にかなりの関わりあいを持つことが報告され、特にその焦点が食細胞機能に向けられている。そこで好中球機能のなかの遊走能に対し、抗菌薬がどのような影響を与えるかを agarose plate 法を用いて検討した。

1) 各種抗菌薬と好中球を 37°C 30 分 incubate し、その好中球の遊走能を測定した。抗菌薬無処理の好中球の遊走能に対する比を Index とした。濃度は通常使用のときに得られる血中濃度より高値とした。β-ラクタム系薬剤では 400 μg/ml の CPIZ, LMOX で遊走能の軽度増加を、またテトラサイクリン系薬剤で、100 μg/ml の MINO, DOXY で遊走能の有意な低下を認めた。

2) さきの実験で変化の見られた抗菌薬 (MINO, DOXY, CPIZ) を中心に処理濃度、処理時間を変化させ、好中球遊走能への影響の変化を検討した。処理濃度の変化では MINO においては 100, 50 μg/ml で、DOXY では 100 μg/ml で遊走能の低下が見られたが、CPIZ では変化は見られなかった。処理時間の変化については、400 μg/ml の ABPC, CPIZ, 100 μg/ml の MINO で検討したが、ともに時間による遊走能の変化は認めなかった。次に agarose plate 中に抗菌薬を加え、この plate を用いて好中球の遊走能を検討した。抗菌薬は DOXY, MINO, TC, ABPC を使用した。結果は 12.5 μg/ml 以上の濃度の MINO, DOXY で遊走能の有意な低下が見られた。TC, ABPC では遊走能への影響は見られなかった。

好中球の運動の仕組みにおいてはカルシウムが重要であること、またテトラサイクリン系薬剤は結合率は異なるが、カルシウムとキレート結合をすることを考えると遊走能の低下の原因の 1 つにカルシウムへの影響が考えられた。そこでカルシウムとの関係を見るために、以下の実験を行った。

3) 50 μg/ml の ABPC, TC, MINO, DOXY を含む agarose plate のカルシウム濃度を 0~2.80 mg/5 ml と変え、無処理好中球の遊走能を検討し、抗生剤を含まない、カルシウム濃度が 0.56 mg の plate での好中球遊走能に対する比を Index として評価した。その結果、ABPC, TC ではカルシウム濃度で遊走能に変化は見られなかったが、MINO ならびに DOXY ではカルシウムの増加にて低下した遊走能の回復がみられた。また細胞内へのカルシウム流入を促進するカルシウムイオノフォア A 23187, 50 μg/ml の MINO, DOXY と好中球を 37°C 30 分 incubate し、A 23187 を加えなかったときの好中球遊走能と比較したが、A 23187 を加えると MINO, DOXY 共に有意に遊走能

は増加した。ABPC, CP1Z についても行ったが、遊走能の変化は見られなかった。以上の結果よりカルシウムの関与が示唆された。

4) さて好中球は遊走する際、その形態も変化している。抗菌薬の遊走能への影響が見られたMINO, DOXYではどのような形態をとっているのか電子顕微鏡を用いて観察したところ、抗菌薬無処理の好中球や、50 $\mu\text{g/ml}$ のABPC処理好中球では好中球は細長く、lameripodiumと呼ばれる突起が多く認められた。しかし、50 $\mu\text{g/ml}$ のMINO, DOXY処理好中球では好中球は球状でlameripodiumも少なくなっていた。形態的にも好中球の遊走能の低下が示唆された。

以上の結果より *in vitro* でMINO, DOXYのテトラクリン系抗生物質において好中球の遊走能の低下がみられた。次に *in vivo* においてこれらの薬剤が遊走能にどのような影響を与えるかを検討した。

5) 健康成人のボランティアにMINO 200 mgを経口投与し、経時的に好中球遊走能を測定した。血中濃度は2時間で最高となり $2.15 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ であった。遊走能は投与前の遊走能距離に対する比をIndexとしたが、投与1時間後より低下が見られ、4時間後に最低となり 0.84 ± 0.04 であった。*in vivo*では *in vitro*では影響の見られなかった低濃度において遊走能の低下が見られた。この結果の解離は抗菌薬と好中球との接触時間の違いや、生体中に存在するなんらかの因子の関与と思われた。

6) 抗菌薬と生体防御能の関係が特に重要となるのはCompromised hostである。小児科領域における代表的なCompromised hostは新生児ならびに抗癌剤投与を行っている悪性腫瘍患者である。これら2群について好中球遊走能を検討したところ、新生児および悪性腫瘍患者では遊走能は健康成人に比較するとそれぞれ約70%, 85%と低下がみられた。しかし、MINOによる遊走能の低下率は2群とも健康成人との間に差は認められなかった。

結語: 通常使用量においては今回の *in vitro* 実験では特に好中球遊走能に影響を与える抗菌薬は認められなかった。しかし、MINOでは *in vivo* で好中球遊走能の低下がみられた。この点については遊走能に対する種々の因子も存在することから今後検討を加える必要があると思われた。MINOは小児科領域では新生児、乳児へ安易に投与してはいけない抗菌薬であるが、投与を余儀なくされた場合は好中球の遊走能低下の可能性あることを考えておくことが必要と思われた。

呼吸器感染症におけるサイトカイン 応答と抗菌薬

大石和徳

長崎大学熱帯医学研究所内科

細菌性呼吸器感染症において、肺内における細菌の増殖に対応して肺にコンパートメント化された形でのTNF- α 等の炎症性サイトカイン応答が認められる。これに引き続き気道への好中球浸潤が誘導され、一連の感染炎症の過程が惹起される。これに対し、呼吸器感染症に対する適切な抗菌薬療法は起炎菌を速やかに病巣から排除し、気道における感染炎症過程を終息に導く。この過程において、いくつかの抗菌薬は抗菌作用以外に種々の宿主細胞の機能にも直接あるいは間接的に影響をおよぼすことが知られている。

一方、Interleukin 8 (以下IL-8)は松島らによって分離、精製、クローン化された分子量約8,000の強力な好中球走化作用を有するサイトカインである。このIL-8は呼吸器感染症においても主要な好中球遊走因子のひとつとして肺局所の好中球浸潤の過程に一役を担うことが明らかとなり、IL-8の急性および慢性呼吸器感染症における役割が注目されている。

本講演では、1) 抗菌薬の抗菌作用を介した呼吸器感染症におけるIL-8応答への影響と、2) 慢性緑膿菌性呼吸器感染症におけるIL-8の意義と抗菌薬によるIL-8産生の制御に関する検討成績について報告した。

1) 呼吸器感染症患者における気道中IL-8応答に与える抗菌薬療法の影響

細菌性呼吸器感染症8例(肺炎3例、慢性気管支炎の急性増悪5例)における気道中IL-8応答に与える抗菌薬療法の効果について検討した。治療は β -ラクタム剤、新キノロン剤が中心で、全例細菌学的に除菌されており臨床効果も有効であった。8症例における抗菌薬療法前後の喀痰上清中IL-8/Albumin値の比較において、治療前の高値と治療後の有意な減少が認められた($P < 0.05$)。また、肺炎患者の剖検肺の抗IL-8モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色標本において肺胞腔に存在する肺胞マクロファージに強くIL-8が染色された。このことから肺炎の病態における局所の主要なIL-8の産生源の一つとして肺胞マクロファージが推定された。

2) 慢性緑膿菌性呼吸器感染症におけるIL-8の意義と抗菌薬によるIL-8産生の制御

持続性緑膿菌感染を合併する慢性呼吸器感染症患者

の気管支洗浄液 (BALF) 中の細胞成分, IL-8/Albumin 値, 好中球エラストラーゼ/Alb 値の検討成績から, 患者の気道中に多量の IL-8 が産生され, この IL-8 は同部位への持続的好中球浸潤をもたらす, さらには好中球エラストラーゼを介する気道障害を招来することが推察された。また, 慢性性汎細気管支炎 (DPB) 患者の剖検肺の免疫組織化学的検討で IL-8 が気道上皮に良染されることや, *in vitro* の肺胞マクロファージあるいは好中球の緑膿菌刺激あるいは IL-1 β 刺激による細胞培養成績から, 緑膿菌慢性呼吸器感染症患者の気道中 IL-8 の産生源としては気道上皮細胞, 肺胞マクロファージ, 気道に浸潤した好中球自身が推定された。

近年, 慢性性汎細気管支炎 (DPB) をはじめとする慢性下気道感染症においてエリスロマイシン (EM) を中心とするマクロライドの少量持続投与の有用性はすでに確立された感がある。しかしながら, この EM の作用機序は十分に解明されたわけではない。EM 少量持続投与の奏功した緑膿菌持続感染を合併した DPB と気管支拡張症患者の治療効果の観察において, 喀痰量の減少, BALF 中の好中球数, IL-8 値, 好中球エラストラーゼ値の著明な減少を確認した。そこで, 我々は EM をはじめとする抗菌薬による慢性気道炎において悪玉的役割を演じている IL-8 の産生抑制の可能性について *in vitro* の系で検討することとした。

14 員環を有するマクロライド系の EM, roxythromycin (RXM) は緑膿菌死菌あるいは IL-1 β で刺激した好中球の IL-8 産生を 5~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で有意に抑制した ($P < 0.05$)。しかし, EM は緑膿菌や IL-1 β で刺激したヒト肺胞マクロファージ由来の IL-8 産生を抑制しなかった。また, β -ラクタム剤の PIPC, CEZ, CTM, CDZM; CPIZ, IPM, その他の抗菌薬で OFLX, CPFX, MINO, GM いずれも緑膿菌刺激による好中球由来の IL-8 産生に対して影響しなかった。

以上の成績から, 1) 呼吸器感染症の急性期において, 気道にコンパートメント化された IL-8 応答は有効な抗菌化学療法により速やかに終息すること, 2) 慢性緑膿菌性呼吸感染症における病態に持続的 IL-8 産生が深く関与し, 14 員環のマクロライド系抗生物質 (EM, RXM) による少量持続投与の作用機作の一つに好中球由来の IL-8 産生抑制効果が関与することを結論した。

シンポジウム III: 癌化学療法における展開・難治性癌の治療を目指して

司会のことば

塚越 茂

癌研・化療センター

栗原 稔

昭和大学 医

現在, 我が国では年間 23 万人強の癌死亡者が登録されているが, 死因の 1 位は消化器癌であり, さらに肺癌, 乳癌の発生も増大しつつある。これらは, 癌化学療法の対象としては, いずれも難治性のものが多く, これらを含め, 今後新しい抗癌剤の開発, 新しい癌治療法の研究開発は重要な課題となっている。このような状況にあっては, 現在, 我が国でも国際的協力のもとに, いろいろな基礎的, 臨床的研究が進められている。そこで, このシンポジウムにおいては, いかなる研究が難治性癌に対して現在行われているか, そのいくつかの話題を取り上げて報告していただくことにした。biochemical modulation は 5-FU を中心とし, これに他剤を併用することによって, 難治性といわれる進行消化器癌に対して臨床研究が進んできた治療法である。また, 遺伝子治療は 21 世紀に向かって, 新しい有力な癌治療法となる可能性を秘めているものである。一方, 癌治療薬の研究に当っては, 腫瘍部分への効果的な抗癌剤到達をはかるために, DDS (drug delivery system) の研究を欠かすことはできない。進行肝癌や肺癌についても, 最近の臨床研究の成果は, これらの難治性癌に対する有力なものとなりつつあり, 最近の臨床成績が示される。現在の癌治療薬は, 他の疾患の治療と同じく, 患者の立場に立った医療, 医の倫理を重視する方向にあり, そのような意味からも癌治療に伴う, quality of life (QOL) の評価が重要な問題となっている。このような現状から, 本シンポジウムでは, 消化器癌の化学療法における QOL の評価の実際が報告されることになった。本シンポジウムは難治性癌に対する最近の治療の展開を取り上げたものである。

Biochemical Modulation の考え方にもとづく癌治療法の進歩

塚越 茂

癌研癌化学療法センター

Biochemical modulation とは、生化学な（効果または副作用の）修飾を意味する言葉であり、ある抗癌剤を投与する時に、その投与前、同時または投与後に、これと別の薬物（抗癌剤その他）を併用することにより、抗癌剤の薬理動態が変化し抗腫瘍性の増強や副作用の軽減として現われる現象を指しており、これまでに試みられてきた。表1にはそのような併用療法の試みについて示した。

表に示したのは現在臨床上で試みられつつある併用または過去においてすでに臨床研究に入った併用例を示したものである。その作用機序も、biochemical modulation という言葉によって説明されるものも少なくない。以下にその中のものを紹介したい。

1. 大量 methotrexate (MTX) と Leucovorin (LV) の併用

この併用は既に白血病や骨肉腫治療に応用されてきた。これまでの研究では、MTX による細胞毒性は LV が MTX の濃度以上に細胞内に取り込まれて救援されることがわかった。これは、MTX 大量処理により、受動的および能動的に腫瘍細胞内に入った MTX

が殺細胞効果を示すように、LV の投与時間をやや遅らせ、かつ LV 量もよく考えた上で行われているものである。MTX はかなり高濃度で投与されても、その投与 48 時間以内であれば毒性は LV によって救援されることが知られている。

2. MTX と 5-FU の併用

Biochemical modulation の考え方はこの併用における詳細な基礎的検討の上から提唱されてきたともいわれている。胃癌や大腸癌の治療研究が実施されている。生化学的には、MTX 処理により葉酸の活性化にはたらく、dihydrofolate (FH₂) reductase が阻害され、FH₂ polyglutamate が増量し、これと 5-FU の活性体、FdUMP と、thymidylate synthetase (TS) とが 3 者結合体 (ternary complex) を強く形成し、DNA 合成が強く阻害されることが知られている。また、MTX 処理で purine de novo 合成が抑えられ、腫瘍細胞内の phosphoribosyl pyrophosphate (PRPP) 量が増加し、FUMP への同化作用が促進され、さらに 5-FU 活性代謝物、FUTP の腫瘍 RNA への取り込み増加がもたらされる。そして RNA 機能が阻害される。5-FU は DNA へも取り込まれるので、MTX 処理によって FdUTP の DNA への取り込みも増加することが報告されている。この MTX・5-FU 交代療法は、早くから頭頸部癌の治療に応用されてきたが、現在我が国では進行胃癌の治療に応用されるようになった。

3. 5-FU と LV の併用

さきに述べた MTX・5-FU 併用療法につづき、5-FU と LV の併用も試みられるようになった。現在、進行大腸癌の治療について研究が進められている。この生化学的機序は、LV (5-formyl-H₄ folate) は活性補酵素、CH₂-H₄ folate に代謝され、これと FdUMP と TS が強固な 3 者結合体を形成、dUMP から dTMP への過程が抑えられ、結果として DNA 合成が強く阻害されるとするものである。このとき、大量の LV を投与することにより、腫瘍細胞内の還元型葉酸濃度が高まり、5-FU の抗腫瘍性も大きくなることが知られている。5-FU・LV 交代療法の臨床研究が現在進められている。

4. 5-FU およびその系統の化合物と uracil その他の pyrimidine 類との併用

pyrimidine 類は 5-FU と併用するときに、5-FU の薬理動態を変化させることが知られている。実験的には、thymidine は 5-FU の活性を増強させることが示されている。thymidine より生まれた thymine は 5-FU の分解を抑え、5-FU の血中濃度を持続させる。

表1 Biochemical Modulationの考え方にもとづくと考えられる併用療法の例

抗癌剤	修飾剤
Methotrexate	leucovorin
	thymidine L-asparaginase
5-fluorouracil	methotrexate
	leucovorin
	pyrimidines
	allopurinol
Tegafur	uracil
Cytosine anabinoside	thymidine
	methotrexate
Mitomycin C	glutathione
	bleomycin
Doxorubicin (adriamycin)	cepharanthin
	calcium channel
	blochers
	coenzyme Q10
Cisplatin	sodium thiosulfate

また, thymidine は TTP となって ribonucleotide reductase を阻害し, したがって 5-FU 代謝物の 5-FUDP から 5-FdUMP への交換が抑えられ, 5-FUTP が増量し, 5-FU の RNA への阻止効果も増強される。この併用は臨床的には, 骨髄毒性や口内炎も強く現れたため臨床的に応用されることは少なくなった。tegafur (FT) と uracil の合剤, UFT が消化器癌治療に応用されている。これは, FT と uracil の比率が 1:4 の時に, 腫瘍内の 5-FU 濃度も大きくなるという実験事実にもとづいている。

5. その他の併用

これまで抗癌剤と dipyrindamole, isoprenoid, cepharanthin, lonidamine などとの併用療法の臨床試験が進められてきた。いずれも生化学的には主抗癌剤の薬理動態に影響をおよぼすものであるから, biochemical modulation の範囲に属するものである。また, cisplatin と 5-FU も, 最近興味ある biochemical modulation の 1 例として報告されている。

おわりに

このシンポジウムでは, 主として biochemical modulation の考えの生まれてきた歴史的背景をもとに, その現状を考察してみた。

癌遺伝子治療の展望

新津洋司郎

札幌医科大学第 4 内科

遺伝子治療は, 基本的に異常遺伝子を正常遺伝子に置き換える遺伝子置換法と正常遺伝子の機能を付加する遺伝子付加法との 2 つに大別される。癌遺伝子治療は, 後者の方法を用いるのが一般的である。遺伝子を細胞に導入する方法としては, 物理学的な方法と生物学的な方法のいずれかが用いられるが, もっとも汎用されているのはレトロウイルスベクターとそのレセプターを利用する生物学的な方法である。癌遺伝子治療の具体的な戦略としては, 表 1 に示すような 4 つの方法が考えられる。

抗腫瘍性免疫の増強は, さらに受動免疫の増強と能動免疫の増強に分けられる (表 2)。前者の方法とし

表 1 癌遺伝子治療の strategy

- | |
|--|
| A) 抗腫瘍免疫の増強 |
| B) 代謝毒性遺伝子による腫瘍細胞の破壊 |
| C) Antisense, Ribozyme, Suppressor geneによる腫瘍細胞の増殖抑制または分化 |
| D) 骨髄幹細胞のprotection |

表 2 癌遺伝子治療の strategy

- | |
|---|
| A) 抗腫瘍免疫の増強 |
| 1) 受動免疫 |
| a. エフェクター細胞 (LAK, CTLなど) にサイトカイン遺伝子 (IL2, IL4, IL6, <u>TNF</u> , IFNなど) を導入 |
| 2) 能動免疫 (癌ワクチン) |
| a. 腫瘍細胞にサイトカイン遺伝子 (IL2, IL4, IL6, <u>TNF</u> , IFN, GM-CSF, G-CSF) を導入 |
| b. MHC遺伝子, 細胞接着分子の遺伝子を導入 |
| c. 表面抗原遺伝子を導入 |
| B7遺伝子 |

ては LAK, CTL などいわゆるエフェクター細胞に IL-2, IL-5, IL-6, TNF, インターフェロンなどの遺伝子を導入し, その抗腫瘍活性を高める試みがある。

能動免疫の活性化, すなわち癌ワクチンの作製は腫瘍細胞に上述の様々なサイトカイン遺伝子あるいは, MHC 遺伝子や接着分子の遺伝子などを導入することにより行われる。

図 1 には Meth-A 細胞に TNF 遺伝子を導入し, マウスに移植した我々の実験成果を示した。TNF 遺伝子を導入した腫瘍では, 明らかに腫瘍形成能が低下し, その脾臓中に存在する CTL, LAK 活性の抗腫瘍活性が高まっていた。

このような能動免疫の増強法は, 現在もっとも広く試みられている癌遺伝子治療法である。

癌細胞に毒性遺伝子を導入して崩壊させる試みとし

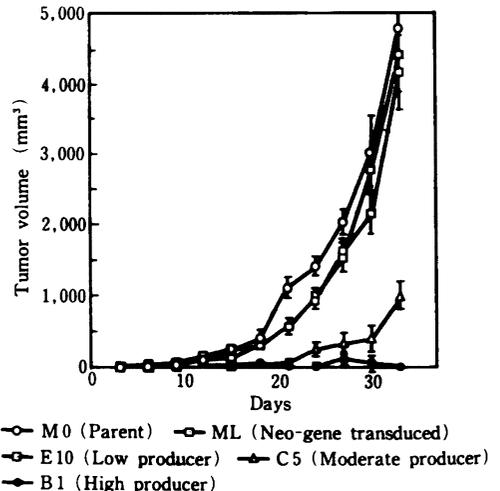


図 1 Growth Curve of TNF Gene Transduced Meth-A Subclones Inoculated Subcutaneously into Syngenic Mice.

でもっとも有名なのは、HSV-TK (Herpes simplex virus チミジンキナーゼ) 遺伝子を用いる方法である。この遺伝子を導入した癌細胞にガンシクロビルを加えると腫瘍細胞は活性化されたガンシクロビルの作用によって死滅する。

この方法は現在、ヒトの脳腫瘍への応用が考えられている。

腫瘍は oncogene の活性化, あるいは tumor suppressor gene の不活性化によって発生すると考えられているので, oncogene に対する antisense や Ribozyme さらに tumor suppressor gene 等を腫瘍細胞に導入する試みが最近盛んに行われるようになってきた。もっとも進んだ clinical trial として米国で開始されたのは難治性の AML に対する P 53 のアンチセンス投与 (phase I) がある。今のところ臨床効果は認められていないが, 強い副作用も報告されていない。

第四のアプローチは, 直接腫瘍細胞を攻撃するものではなく, 化学療法に伴って抑制される骨髓機能をプロテクトする試みである。つまり, multidrug resistant gene (MDR 遺伝子) を骨髓細胞に導入し, 骨髓を保護しようという試みであるが, 今のところ動物実験のレベルで留まっている。

表3 癌遺伝子治療の一般的な問題点

- | |
|---------------------------------------|
| 1) 遺伝子導入法ならびにベクターの改良
効率よく安全で安定した発現 |
| 2) 遺伝子の <i>in vivo</i> における targeting |
| 3) 遺伝子発現の制御 |
| 4) 倫理面での問題 |

このような様々な試みは, しかしながらいくつかの問題点をかかえている。

表3, 4にはその克服すべき諸問題を示した。中でも安全性の高いベクターの開発と腫瘍への特異的な遺伝子ターゲティングの試みが今後もっとも重要な課題となるものと思われる。

癌治療における DDS の応用

高橋俊雄

京都府立医科大学第一外科

Drug Delivery System (DDS) を応用して癌病巣への薬剤の Targeting と薬剤到達部位での Control Release を行い, より効果的癌化学療法が行うことが可能である。今回は我々がこれまで試みてきた癌治療における DDS の応用について述べてみたい。

リンパ節転移と腹膜播種性転移に対しては, 微粒子活性炭を用いた。活性炭には多量の Mitomycin C (MMC) や Peplomycin (PEP) が吸着し, 薬剤は濃度勾配によって離脱する。しかも, これらの抗癌剤吸着微粒子活性炭 (MMC-CH, PEP-CH) を組織内あるいは腹腔内に投与するとリンパ指向性と腹膜内リンパ指向性が高く, リンパ節転移や腹膜播種性転移にきわめて有効性の高い DDS である。術中に投与すれば所属リンパ節が黒染され, リンパ節郭清の指標としても便利である。我々は胃癌に対して, MMC-CH を手術と併用して用い, 遠隔成績の向上を得ることができた。

次に, 我々がこれまで行ってきた大腸癌に対するモノクローナル抗体 A 7 と抗癌剤 Neocarzinostatin

表4 各々の癌遺伝子治療のspecificな問題点

遺伝子治療	問題点	対策
TILの遺伝子導入	導入が容易でない 腫瘍への集積性が不十分	高ウイルスティターのレトロウイルス (MFGベクター) を使用
骨髓幹細胞への遺伝子導入	導入が容易でない	Non-dividing cell でも発現可能なアデノウイルスベクターを使用
腫瘍細胞へのサイトカイン遺伝子導入 (癌ワクチン)	HLAの一致 (autoであること) が必要	<i>In vivo</i> 遺伝子delivery法の開発 (DDSの開発)
代謝毒性遺伝子の腫瘍細胞への導入	レトロウイルス粒子を用いるときには安全性に不安 癌細胞への特異的導入が困難	アデノウイルスベクターを使用 腫瘍特異抗原, レセプターを介した遺伝子導入
Antisenseによる腫瘍細胞の増殖抑制	血中で不安定, 分解され易い増殖抑制が不十分	phosphorylation and nucleotidylation
癌抑制遺伝子導入による癌細胞の正常化	導入した抑制遺伝子がしばしば排除される	

(NCS) との複合体 A 7-NCS によるミサイル療法の臨床応用について述べる。大腸癌およびその転移 80 例に対して本療法を行った。複合体は腫瘍に明らかに Targeting し、肝転移の縮小例も認められた。しかし、投与後はすべての例に Human antimouse antibody (HAMA) が産生された。そこで、この HAMA を克服するため我々はキメラ A 7 を作製し、さらにキメラ A 7-NCS を作製しこれを用いてミサイル療法を検討を行っている。これら DDS の癌治療への応用、特に臨床における成績について述べた。

肺癌に対する化学塞栓療法

—化学療法からみた重要性—

山田龍作・佐藤守男・田中佳代
和歌山県立医大放射線科

肝細胞癌に対する治療は外科的肝切除が第 1 選択とされているが、肝硬変の合併例が多く、また発見された時点ですでに腫瘍が進展している例が多いため、切除例は全症例の約 20% 前後にすぎない。このため、切除不能進行肝細胞癌の治療の主体は非外科的治療法とならざるを得ない。なかでも、抗癌剤をゼラチンスポンジや油性ヨード造影剤リピドールなどの塞栓物質にしみ込ませたものを腫瘍栄養動脈に注入する抗癌剤併用肝動脈化学塞栓療法 (Transcatheter Arterial Embolization—TAE—) は、進行肝細胞癌に対しても優れた効果が得られるため今や標準的な治療法となっている。TAE が肝細胞癌のみを選択的に壊死に陥らせる理由は肝細胞癌が肝動脈よりほぼ 100% の栄養されるのに対し、非癌部肝組織は、動脈より約 25%、門脈より約 75% の血流を受ける。このため、肝動脈を塞栓すると、肝癌のみが選択的に壊死に陥ると考えられてきた。すなわち、本療法の腫瘍に対する作用機序は阻血が主であると考えられてきた。

抗癌剤併用肝動脈化学塞栓療法 (TAE) は当初より塞栓効果と抗癌剤の効果の相乗作用を期待して始められたにもかかわらず、TAE の際、用いられる抗癌剤の果たす役割については、あまり評価されなかった。

今回演者は、TAE の際併用する抗癌剤の動態と働きについて、レ線学的に検討すると同時にその生存率に与える影響で prospective な randomized controlled study を行った。その結果、TAE が抗癌剤を腫瘍に選択的に作用される、drug delivery system として性質を持って進行肝癌患者の延命に重要な役割を

果たしているとの結果が得られたので報告する。また、TAE 不能進行肝細胞癌に対する局所化学療法についても述べた。

肺癌化学療法

—最近の進歩と問題点—

仁井谷久暢

日本医大第四内科

近年、肺癌患者の増加は著しく、厚生省統計情報部の調査では、1989 年の年間死亡数は 37,000 人を超え、2000 年の推計肺癌罹患数は約 80,000 人とされている。大半の症例は診断確定時すでに進行病期にあるもので、肺癌全例の 5 年生存率はなお 10% 以下にとどまっているのが実状である。残念ながら肺癌診療における最近の進歩として瞠目するほどの成果はあげられていない。しかし過去 10 年、20 年の足跡をたどるなら他臓器癌における成果に比べて劣るものではなく、基礎的な研究成果にもとづく多くの知見、ならびに肺癌に対する理解が深まってきたことによって、新たな展開に加えて肺癌診療における問題点は次第に整理されてきている。

なかでも肺癌化学療法の分野では、新たに導入されたいくつかの薬剤によって、明らかな臨床成績の向上がみられるようになってきている。すなわち cisplatin (CDDP), etoposide (Etop), carboplatin (CBDCA), vindesine (VDS), nimustin (ACNU) などが臨床に広く用いられるようになり、腫瘍縮小からみた直接効果ではあるが高い奏効率があげられている。

小細胞肺癌に対して有効とされるさまざまな多剤併用療法の成績が報告されているが、なかでも広く用いられている CPA 療法 (CPA+ADM+VCR) は limited disease (LD) 症例に CR 率 13~72%、全奏効率 (CR+PR) 60~90%、50% 生存期間: MST, 9.5~15.8 か月とされている。最近では CDDP と Etop の併用療法が導入療法として広く用いられているが、LD 例に対する CR 率は 29~67%、全奏効率 82~100%、MST, 9.0~22.0 か月とされている。いずれにせよ 1981 年、世界肺癌会議の小細胞癌に対するワークショップにおける State of the art に示された LD 例に対する、MST, 14 か月を超える報告が多くみられるようになり、いまや小細胞癌に対する臨床の努力目標は延命効果に集中している。導入療法として化学療法と放射線療法との同時併用、さらに放射線照射を 1 日 2 回分割して行う Accelerated hyperfractionated

split-course thoracic radiotherapy (AHSCTR) を化学療法と同時に併用する方法も試みられている。また G-CSF を併用して抗癌剤を増量した dose intensive chemotherapy の試みも行われている。LD 例ではあるがすでに 20 か月を超える MST が報告されてきている。

非小細胞癌に対する治療成績は小細胞癌に対するそれとは異なり明らかな向上は認められていない。CDDP が臨床に導入され、Gralla らが VDS との併用で約 40% の奏効率を報告して以来、CDDP と VPS の 2 剤併用療法は現在もっとも広く用いられている化学療法となっている。その後 CDDP をベースとした 2 剤、3 剤併用療法が試みられているが、3 剤併用によって高い奏効率を示されても、生存率には差がないとする報告がほとんどである。最近では III A 期を対象として、手術前に強力な化学療法あるいはさらに放射線療法を行うことにより、微小転移を根絶させるとともに、原発巣および所属リンパ節転移を縮小させ根治切除率を高めることを目的とする術前導入療法が検討されてきているが、その評価は今後に待たれている。

いずれにせよ合併療法として期待できる化学療法は高い再現性をもって 50% 以上の奏効率が常に保証され得るものでなければ手術に化学療法を併用する意義は乏しい。最近では支持療法として CSF あるいはすぐれた制吐効果を示すセロトニンレセプターの拮抗剤が臨床に導入され、QOL (quality of life) を損なうことなく強化化学療法も行いやすくなってきている。しかし、まず望まれているのはより効果的な新しい抗癌剤の開発である。

最近、我が国で臨床第 II 相試験が行われ、その成績が公表されている新規抗癌剤のなかで、単独投与でも未治療非小細胞癌に対して 25% 以上の奏効率が期待されるものとして、CPT-11, Navelbin, Taxotere などがある。

その他、従来、非小細胞肺癌には無効とされていた代謝拮抗剤、Ara-c の誘導体である Gemcitabine, 5-FU の誘導体である BOF-A 2 などに単独投与によって 15% 以上の成績が示されている。なお、投与法に工夫の余地が残されているが副作用が少ないことから、他剤との併用にも期待が持たれている。

以上、最近における進行肺癌の治療について、その進歩と問題点を概括して述べた。

消化器癌の化学療法の進歩と QOL の評価

栗原 稔・中村浩之

昭和大附属豊川病院内科 (消化器)

消化器系癌のうち、近年奏効率の上昇から進歩したと考えられるのは、食道、胃、大腸の癌に限られている。しかしながら、PR 以上の効果が得られた症例では、延命効果の確かな手応えを得る症例も増えているが、それらをもたらしした特定の治療法が、50% 生存期間の有意な延長をもたらししているとは断定できないのが現状である。エタノール局注や TAE が有効な肝癌も、抗癌化学療法 (ときに全身投与) は、奏効率もきわめて低い。同様に、肺癌、胆道癌は、個々の症例をみればまれには結果的に延命効果もあったと推察される場合もあるにせよ、奏効率はきわめて低く延命効果も得られていない。このように、多臓器の癌種からなる消化器系癌は natural history も異なり、一概に手術不能癌といっても、診断の難易も関係して、抗癌化学療法の対象となる症例における癌の広がりや全身状態が異なり同一には論じられない。

したがって、本報告では食道、胃、大腸の癌に限って、最近の治療成績を検討した。

食道癌の単独治療では、CDDP で 18%、Vindesine (VDS) 15% (Kelsen の集計) が得られ、本邦でもほぼ同様の成績が得られている。特に CDDP の誘導体 254-S は、筆者も効果判定にたずさわったので、原発巣の X 線像や転移巣の CT 像でも改善例が高い比率で認められ、総合効果の奏効率が 42.9% はすぐれた成績を評価している。認可発売後は、併用療法の 1 剤として期待される。

食道癌の多剤併用療法としては、Kelsen の集計によると、CDDP+BLM, ADM+BLM は、いずれも奏効率は 30% 未満であり最近 5 年間の文献に追試成績がなかった。

CDDP (100 mg/m², 静注第 1 日)+5-FU (1,000 mg/m², 持続静注 24 時間, 第 1~5 日) は、奏効率 35~40% と良好である。飯塚らは、50% 生存期間 9.2 か月で、同じグループスタディの CDDP (70 mg/m²) と VDS 3 mg/m² の併用治療の奏効率 16.1% を凌駕している。他に Kelsen らの CDDP+VDS+BLM, CDDP+ADM+5-FU (東北大抗研星らも追試)、星らの CDDP+ADM+5-FU+VDS が奏効率 30~50% と高いが、延命効果の検討は今後の課題である。

本邦では癌死のトップを続けている胃癌も CDDP

を組みこむ併用成績で明らかに奏効率が上昇した。本邦では初めてともいえる多施設共同無作為比較試験の責任者をつとめた筆者らの UFT+MMC の奏効率は、25.3%であったのに対し、同じグループによる 5'-DFUR 1,400 mg/m²/日 経口 (4投3休), CDDP 80 mg/m²/日 静注 (第1日, 3週ごと) の奏効率は、40% (10/25), ただし、下痢と腎障害の合併で重篤例が出たために変更した CDDP を同量で4投10休とし、CDDP を4週ごとにした奏効率は、36.4% (16/44) と高かった。そして従来の治療法では、50%生存期間がせいぜい6か月であったのに対し、この2治療法ともに9か月に延長した。他に、同じ厚生省がん助成金研究班による 5-FU 800 mg/m²/日, 持続静注 (第1~5日) と CDDP 20 mg/m²/日 静注 (第1~5日) による併用で、奏効率 32.7% (18/55), 50%生存期間7か月の成績がある。Preusserらによる Etoposide+ADM+CDDP は、当初高い奏効率のため注目されたが、副作用も激烈で、米国では5-FU+ADM+MMC の3者併用にまさるとはいえないという評価である。治療関連死も10%前後に報告されており、筆者らは60歳以下のPS 2の手術不能癌とはいえ、比較的早期の癌に対して、化療後の手術を期待する Neoadjuvant therapy として用いて、手術可能となることを期待するのが最良の使用法と考えている。

さらに、欧米で大腸癌に対して有用とされて本邦でも追試されている Leucovorin (LV)+5-FU の併用は、本邦では胃癌に対して1-LV (100 mg/m²/日×5日間 (静注) と5-FU 370 mg/m²/日×5日間 (静注) で奏効率 24.1% (7/29), 250 mg/m²/週, (2時間で静注) と5-FU 600 mg/m²/週 (LV注1時間後に静注) で奏効率 37%を得ている。大腸癌と共に延命効果に対する検討が期待される。CPT-11 は、前治療のある胃癌症例に対する larly phase II study で25%の奏効率を得ており、将来は、多剤の併用でよりよい治療法の1剤となり得るのではないかと期待される。

以上のように、延命効果につながる治療法の検討とともに、近年注目されているのは、癌化学療法の際の患者の QOL 評価である。

我々は、欧米における QOL 質問票を参考に独自に作製した質問票 (回答を5段階のリニアスケール印につける10問と、LASAを10等分にした1問) で、上述の5'-DFUR+CDDPの2法について、患者自身による QOL 評価を実施したところ、副作用が少なく投与もきちんとできた5'-DFUR 4投10休と CDDP 4週ごとの法が患者による記載でもすぐれた方法であっ

た。

筆者らが事務局を担当して厚生省がん研究助成金を得て4年の歳月を要して作成した QOL 評価票は、のべがん患者516人、良性疾患患者569人の協力を得て、89項目の質問を因子分析、PS、不安の Scale (STAI), うつの Scale (SDSD) との相関や因子分析にもとづき、最終的に22項目に絞り込んだ。これらは、1) 活動性6項目, 2) 身体状況5項目, 精神・心理状態5項目, 3) 社会性5項目および、4) 全体的 (global) な QOL を示すと考えられる Face Scale に分けられた。この案は、入院と外来の別、治療による変化率、PS, STAI, SDS との相関、がん化学療法の強弱の差などをよく反映し、また信頼性でもすぐれている。今後、多くのがん薬物療法 (Phase III を中心に) で検討されることが望まれる。

ミニシンポジウム1: ウイルス性疾患の化学療法

司会のことば

川名林治

岩手医科大学医学部細菌学教室

ウイルス性疾患は、臨床ウイルス学の進歩に伴い明確にされつつある。

しかし、ウイルス性疾患の化学療法はその必要性にもかかわらず種々の制約から未解決の面が最近までは少なくなかった。

抗菌化学療法は非常な進歩を示していることは周知の通りである。抗ウイルス剤にはこれに対してウイルスが宿主細胞との関連で特定細胞内でのみ増殖する。選択毒性が低いこと。またウイルス性疾患のなかには種々のものがあり、限局性のももあるが、全身性感染のものが多いこと。などのため開発が遅れていた。さらにウイルスに対し一般に狭域のスペクトルを有し、またウイルスには変異しやすいものがあり、時に耐性ウイルスの存在があり、また一部の潜伏ウイルスには作用しにくいことなどが問題点となっていた。

ウイルスの作用操作については多くの基礎的研究が積み重ねられている。ことに最近ではヘルペス性疾患への抗ウイルス剤の開発実用化や、きわめて要望の高い HIV 感染症に対する新薬開発などにも世界をあげて努力が続けられている。

このシンポジウムでは、ウイルス性疾患の化学療法の本邦の指導的立場にあられる茂田士郎教授に抗ウイルス剤開発の戦略、島田馨教授に内科領域から一特に

AIDSの治療をめぐる一、新村真人教授に皮膚科領域から一とくにヘルペスの治療をめぐる一などを中心に講演していただいた。これをもとにディスカッションも盛んにお願いした。

抗ウイルス剤開発へのアプローチ (今後の問題点)

茂田士郎

福島県立医大・細菌学

抗ウイルス剤の開発は、まずヘルペスウイルス感染症、次いでエイズにおいて進められ、ある程度の臨床的成果があげられている。単純ヘルペスウイルス(HSV)、水痘帯状ヘルペスウイルス(VZV)に対してはアシクロビルが、サイトメガロウイルスに対してはガンシクロビルが開発されているが、前者はHSVには良く効くがVZVに対しては、やや効果のおちること、後者については、代るべき第二の薬剤のないことが問題であり、耐性ウイルスの出現についても考え合わせるならば、さらに研究開発が望まれる。

現在、抗エイズ薬としてアジドチミジン(AZT)、DDI、DDCが開発され臨床治療が行われているが、投与量のこと、耐性ウイルスの出現のことなどに検討の余地が残されている。この3者はいずれも逆転写酵素(RT)の阻害剤であるので、すでにHIVに感染してしまったキャリアーからの発症の防御には、他の作用機序を持った物質の開発が望まれる。

インフルエンザ(Flu)、パラインフルエンザ(PFlu)、RSウイルスを含むウイルス性呼吸器感染症は、もっとも罹患率が高く、病弱者における感染死亡率も高い。これらのミクソウイルス感染症に対して、唯一、リバビリンのエロゾール療法が米国で実施されているが、我が国では一般的でない。我々は、リバビリンを対照としてFlu-V、PFlu-V、RSVなどのミクソウイルスに対する抗ウイルス物質を*in vitro*の感染系でスクリーニングして、いくつかの有望な物質を発見した。しかし、これらの物質が今後臨床応用に実用可能であるか否かは、さらにいくつかの段階を経て判断されなければならない、そのストラテジーをも含めて報告した。

AIDS

島田 馨

東京大学医科学研究所感染症研究部

HIV感染症に有効性が確認されている薬剤はAZT

(Azidothymidine), ddi (dideoxy-inosine), ddC (dideoxycytidine)の3薬剤で、前2者は本邦でも使用可能である。いずれもヌクレオシド類似体であり、細胞内で燐酸化をうけて形成される3燐酸塩がHIVの逆転写酵素を阻害する。

当初AZTの投与量は1日1,200~1,500mgとされていた。PBMCのcell lineを用いた実験でのAZTのHIV増殖阻止する培地中濃度は1 μ Mである。AZT 200mg内服時のC_{max}では2 μ M前後で、約4時間にわたって1 μ M以上の血中濃度が維持される。この成績にもとづけば1回200~250mg 1日6回(1,200~1,500mg/日)の投与量が望ましいわけで、米国で最初の二重盲検試験もこの用量で実施された。

本邦での臨床試験は1日100~200mgで1日6回投与で実施されたが、副作用などのため12例中9例が減量・休薬を余儀なくされている。このため本邦での適切なAZT投与量の設定が必要となり、用量設定の根拠を血中濃度ではなく、細胞内のAZT-3燐酸塩の濃度に求め、その測定系を確立した。培地中のAZT濃度を上昇させると細胞内AZT-3燐酸塩濃度も上昇するが、外液のAZTが2 μ Mになると細胞内AZT-3燐酸濃度はプラトーに達する。*in vitro* pharmacokinetic modelを用いた検討ではAZT 200mgの細胞内AZT-3燐酸濃度は6時間プラトーに維持される。この成績を基にAZTの内服回数を1日4回とし、1回100mgと200mgの比較試験を行ったところ、CD4リンパ球の増加は両群同程度であったが、副作用は1回100mg群が少なく、コンプライアンスが良好であった。

以上の成績から本邦でのAZT投与量は1回100mg 1日4回投与が良いと結論した。

ddiを含めた抗HIV薬についても簡単に触れた。

皮膚科領域におけるヘルペスの治療

新村真人

東京慈恵会医科大学皮膚科

我が国では免疫抑制患者の帯状疱疹に対して1985年からビダラビンの点滴静注剤が、1986年からアシクロビルの点滴静注剤が悪性腫瘍、膠原病などの免疫不全に伴う単純疱疹、水痘、帯状疱疹に対して使用されている。また、経口剤としては、1988年以後アシクロビル200mg錠、1日5回の投与が単純ヘルペスウイルス感染症に対して用いられてきた。しかしながら、アシクロビルの経口剤で帯状疱疹を治療する場合には、この投与量では十分に有効な血中濃度には達し

ない。最近になって400 mg 錠を1回に2錠(800 ng), 1日5回投与する方法で, 帯状疱疹も経口剤により治療できるようになった。さらに, 3%ピダラビン軟膏が帯状疱疹および単純疱疹に使用できるようになったので, 単純ヘルペスウイルス感染症および帯状疱疹に対して静注剤, 経口剤, 外用剤のすべての剤型がそろって使用できるようになった。皮膚, 粘膜の単純ヘルペスウイルス感染症は, これらの薬剤により, まほ満足な治療が行えるようになったが, 以後の再発を予防できないという問題点が残されている。帯状疱疹の治療では, 早期から抗ウイルス剤を用いて治療することにより, 帯状疱疹後神経痛を残さずにすむか否かが問題である。また, アシクロビル経口剤による治療では, 1日の内服回数が5回で, 1日4gと大量に投与する必要があり, 改良されるべき点も多い。そこで腸管からの吸収率を高めるために, ファンシクロビルなどの前駆薬タイプの経口抗ウイルス剤により投与回数, 投与量が少なくできることが期待される。さらに, 我が国で開発されたソリブジン(VB-araU)は, 特に水痘・帯状疱疹ウイルスに対して強い抗ウイルス作用を有する。単純ヘルペスウイルス2型には無効であるが, 水痘・帯状疱疹ウイルスに対しては*in vitro*ではアシクロビルの1,000倍以上の効力を有し, 吸収率も高いので, 帯状疱疹に対する優れた経口抗ウイルス剤として期待されている。

ミニシンポジウム2: 胆道感染症の化学療法を めぐる諸問題—基礎と臨床

司会のことば

谷村 弘

和歌山県立医科大学消化器外科教授

このミニシンポジウムは, 胆道感染症の化学療法に造詣が深い國井乙彦会長が特に選ばれて取り上げられた主題である。

最近, 腹部超音波検査にて胆嚢炎の診断は胆嚢壁の構造の変化と胆嚢内の胆汁の貯留が観察できることからかなり容易となったが, 原因菌と思われる細菌を含んだ胆汁の採取は経皮的な胆嚢穿刺を必要とする。したがって, 第1線病院の内科初診時には行われなことが多く, 胆汁の採取は現在でも特殊な技術が要求されるので, 不明のままであることが多い。したがって, 胆道感染症の実際として各種の抗菌薬による化学療法を行う際にも, 推定される細菌に対して empiric

therapy が行われがちである。

しかし, 原因菌に対する感受性が高いだけでなく, 感染部位である胆汁中への移行性がよい抗菌薬の選択が必要である。経口投与または静脈内に全身投与された抗菌薬が, どのようなバリエーションを経て血中から肝へ取り込まれ, 肝細胞から排泄されるのか, 今回, 基礎的な面から, 抗生物質の肝細胞膜輸送機構を金沢大学薬学部の玉井郁巳氏が, 内科からみた胆道感染症治療の問題点を帝京大学第二内科の西谷肇氏が講演した。

また常に流れている胆汁中で抗菌薬, 特に細胞壁合成阻害型の β -ラクタム剤は細菌をうまく殺菌できるのであろうかなどについて, 黄疽を伴う胆道感染症の治療を信楽園病院外科の清水武昭氏が, 胆汁中 β -lactamase 活性について和歌山県立医科大学消化器外科の柏木秀夫が発表し, それらのデータをもとにして活発に討論された。

抗生物質の肝細胞膜輸送機構

玉井郁巳・辻 彰

金沢大学薬学部

胆道感染症の化学療法においては, 原因菌に対する感受性が高いことに加えて, 感染部位である胆汁中への移行性が良く, さらに, 薬物代謝活性の高い肝胆管系においても安定な抗生物質を選択する必要がある。

本発表においては, 胆汁中移行性を左右する因子としての肝細胞膜透過機構について述べた。対象としては, 誘導体間で胆汁中移行性が大きく異なることが報告されており, 多くの誘導体が入手可能な β -ラクタム抗生物質に着目した。 β -ラクタム抗生物質の中には, 投与後胆汁中に高率に排泄されるものもあるが, 多くの誘導体は主に尿中に排泄される。誘導体間で主たる排泄経路が異なる原因として, これまで薬物の分子量や脂溶性などと関連づけた報告がなされているが, いまだに排泄経路決定因子については明確な結論が得られていない。尿中排泄は, 通常特異的機構を介する尿管管分泌と非特異的な糸球体ろ過の両機構により行われる。一方, 胆汁中排泄においては常に肝実質細胞を経細胞的に移行する必要がある。したがって, 薬物が胆汁中に移行するためには肝細胞膜を透過しなければならないが, 誘導体間での肝細胞膜透過性の違いが, 主たる排泄経路の決定因子として重要であることは十分考えられる。

β -ラクタム抗生物質は一般に脂溶性が低いこと, および胆汁中濃度/血液中濃度比が1を越え, 能動的分泌されるものがあることが示唆されており, 特異的

輸送担体が細胞膜透過を制御しているものと予想される。したがって、本研究では β -ラクタム抗生物質が肝細胞膜を担体輸送されることの実証、およびその輸送担体の特性を明らかにすることを試みた。さらにその結果より胆汁中移行性との関連性について考察した。なお、肝実質細胞は血管側、および胆管腔側両細胞膜で機能や形態が異なるため両過程を分離評価する必要がある。そこで本研究では、実験動物としてラットを用い、血管側細胞膜透過に関しては遊離肝細胞および *in vivo* 組織抽出法、胆管腔側細胞膜透過については単離細胞膜小胞をそれぞれ用いることにより、各細胞膜透過過程を評価した。

遊離肝細胞へのペニシリンG、セフピラミド、セファレキシンなど数種の β -ラクタム抗生物質の取り込みを測定した。その結果、取り込みの駆動力は明らかではないが、特異的な担体輸送系が関与していることが示された。また、本輸送系はペロベネシドなどの有機アニオンにより競合阻害を受けるアニオン輸送系であることが明らかとなった。

血管側細胞膜透過のみを検出できる *in vivo* 組織抽出法においても、遊離肝細胞系と同様の肝臓移行特性が観測された。したがって遊離肝細胞系で見られた取り込みは、血管側細胞膜透過機構を示すことが明らかとなった。さらに本輸送系は両性イオン型に比べアニオン型誘導体に対してより高い親和性があることも示された。しかしいずれの誘導体についても、血管側細胞膜透過速度は肝血流量に比して速く、血流律速で肝細胞内に取り込まれているものと推測された。

一方、胆管腔側細胞膜小胞へのセフピラミドの取り込みも、数種の有機アニオン性化合物により阻害され、アニオン性化合物としての認識を受けた担体輸送系の関与が明らかとなった。本輸送系は、アニオン性誘導体に比べ両性イオン型誘導体に体する親和性が低い傾向にあった。さらに、その輸送は膜電位依存性を示し、生理的に負の膜電位を維持する肝細胞内から胆管腔中への方向性を有する担体輸送であることが示唆された。

代謝分解を受けずに胆汁中に分泌される種々の β -ラクタム抗生物質の胆汁中排泄クリアランスと、胆管腔側細胞膜で機能する輸送担体への親和性の間には正の相関関係が見られた。この結果は、血管側細胞膜ではなく、胆管腔側細胞膜透過が胆汁排泄の律速過程となることを示唆するものである。

腎皮質尿細管上皮細胞膜における β -ラクタム抗生物質の分泌には、有機アニオン輸送系のみならず、両性イオン型誘導体に対する特異的な輸送系が関与して

いる。したがって肝細胞膜における β -ラクタム抗生物質の輸送特性は、腎臓とは異なっていることが示唆された。このような関与する輸送系の違いは、両臓器における細胞膜透過機構の違いが排泄臓器指向性を決める一因となる可能性がある。現在、胆汁酸やビリルビンなど β -ラクタム抗生物質輸送系との関連性が示唆される有機アニオン性化合物の肝細胞膜輸送担体に関する分子論的研究が発表されつつある。このような輸送担体の特性が明らかにされることにより、胆汁中移行の優れた β -ラクタム抗生物質の物理化学的特性も明らかになることが期待される。

β -ラクタム剤の肝細胞質内輸送 と胆汁分離菌

西谷 肇

帝京大学第2内科

胆道感染症治療に使用する抗生剤は一般には肝排泄型で胆汁中移行性の優れたものが望ましい。Cefoperazone (CPZ), cefpiramide (CPM), ceftriaxon (CTRX) は特に胆汁移行がよく腎障害時にも投与量の変更の必要のない抗生剤である。

我々は以前より肝細胞質内での β -ラクタム剤の輸送機構と肝 glutathione S-transferase (肝 GST) との関連について検討を加えてきた。肝 GST は肝での解毒作用を担う酵素であり、また anion binding protein として知られ BSP, ICG, Bilirubin の carrier protein として知られてきた。我々は anionic な β -ラクタム剤も肝 GST により輸送されるのではとの仮説のもとに Rat を使い CPM の胆汁移行実験を行ってきた。

Rat に CPM を静注し胆汁中に排泄された CPM を測定すると、その移行は BSP, ICG, Bilirubin, probenecid を併用投与すると明らかに減少した。次に肝細胞質内でどのタンパクに結合しているのかを調べる目的で Rat 肝 cytosol と BSP を incubation 後、Sephadex G-75 によるクロマトグラフィーを行い BSP の結合パターンをみると BSP は肝細胞質内では GST 分面に結合しその結合は CPM をあらかじめ添加しておくで減少した。同様な方法で PCG と肝 cytosol の結合をみると PCG も GST に結合しその結合は CPM や probenecid を添加しておくで減少した。一方 mouse に BHA を食べさせ肝 GST を誘導した肝 cytosol と CPM の結合を検討すると GST の増量に伴ない CPM の結合も著しい増加がみられた。以上の成績から PCB も CPM も GST に結合し特に CPM

ではGSTが肝細胞質内の主要結合タンパクであると考えられた。

以上にみられた結合は、anionicな薬物でありその結合は電気的な弱い結合であると考えられる。そこで肝GSTと共有的に強く結合する利尿剤であるエタクリン酸を併用し肝GSTのbinding能を強く阻害した場合のCPMの胆汁中移行を検討してみた。エタクリン酸を併用するとCPMの胆汁排泄は著明に増加した。CPM投与30分後にエタクリン酸を投与した場合もまた90分後に投与した場合も投与直後、一過性にCPMの胆汁移行は増加していた。

以上の成績からは肝細胞質内での肝GSTの役割はcarrier proteinというよりはCPMを肝細胞質内で貯蔵するstorage proteinであり細胆管側にあるanion carrier systemによりCPMは律速的に排泄されるのはfreeのCPMであろうと推測された。

本院での胆汁中よりの分離菌について1990年1月から1992年12月の最近2年間にかけて検討してみた。その内容は*Klebsiella* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp. を主とするグラム陰性菌が多く約6割を占め、*Enterococcus* spp. を主とするグラム陽性菌が約3割、その他*Bacteroides* spp. などが検出されていた。その感受性をみてもとると*Klebsiella* spp. に対してはセフェム、アミノ配糖体はよい感受性を示した。*E. coli* についてはABPC, CEZに対しては耐性菌もみられた。*Enterobacter* spp. については第三世代セフェムの感受性も十分ではなくアミノ配糖体はよい感受性を示していた。上記3種についてはニューキノロンは優れた抗菌力を示していた。緑膿菌に対しては本院ではAMK, CAZがよい感受性を示していた。

黄疸を伴う胆道感染症の治療

清水武昭

信楽園病院外科

1974年以来、閉塞性黄疸患者の根治術に対するRisk判定法として、減黄術後の血清ビリルビンの減少率、減黄率b値を用い検討を重ねてきた。減黄率b値とは、閉塞性黄疸患者にPTCD等の減黄術を施行、その後の血清ビリルビン濃度を片対数表にプロットすると多くは直線になり、この直線の式を自然対数で表しますと、傾きはbで表せますので、減黄率b値と名付けた訳です。

1) 減黄率b値は直線で、短期的には不可逆的変化の結果と考えられた。2) 高度黄疸例12例にPDを施行、5例はb値I群で、なら合併症はなかった。3)

減黄術後78例にPD施行、b値I群で、何等合併症はなく、III群の2例は手術死亡となった。4) 高度黄疸例328例に減黄術を施行。胆管炎の合併率は、b値I群で9%、II群21%、III群79%、IV群92%であった。5) b値と胆管細胞変性の程度は相関が認められ、いったんその変化が認められると1か月では改善しなかった。このように減黄率b値は黄疸による肝障害を表すのではなく、胆管炎による肝障害の程度を表していると考えられた。

胆管炎による肝障害の機序を検索するため胆管炎により臓器障害をきたした重症胆管炎症例を検討した(急性腎不全138例、うちMOF33例)。1) 胆石症例が92%、肝障害は軽度で、減黄率b値は良好であったが、腎不全は高度であった。悪性閉塞性黄疸例や肝内結石症では、医原的な胆管内圧上昇、胆道内出血、胆管炎の繰り返しが多く、減黄率b値はIII群かIV群と、肝障害が顕著であった。2) MOFを2回繰り返し、3回繰り返した2症例では回をおうごとに、血清クレアチニンの増加、血小板リンパ球数の減少、ショックの程度、腹痛は軽度となり、肝障害、減黄率b値は回をおう度に増悪した。3) 5例にTチューブより仰臥位、定常流でシネ胆道造影を行ったが、3例は高度腎不全、DIC、ARDSを合併し、造影材は胆管を押し広げるように登っていき、胆道系の柔らかさを反映した。b値III群の2症例は、右肝内胆管系には造影剤は胆汁と入れ替わり造影され、左の肝内胆管系は造影されず、胆道系の硬化は著明であった。4) 死亡例は19例(14%)で、ショックで死亡した2症例は、剖検で、肝内胆管周囲に著明な細胞浸潤を認めたが、胆管細胞変性はなかった。他の17例は全例減黄不良例で、胆管細胞変性が認められた。5) 総胆管結石の胆管炎による急性腎不全3例に肝生検を施行したが、グリソン鞘内の細胞浸潤が認められたのみで、胆管細胞には変化がなかった。以上より閉塞性黄疸に胆管炎を合併しても、腎障害型であれば、減黄術および適切な抗菌剤使用により治癒可能であったが、肝障害型胆管炎合併例では、胆管炎による肝障害の進行を停止させるのみにとどまり、現時点では早期発見か、長期間の肝サポートを要すると考えられた。

このような特徴をもつ胆管炎の治療にさいし、抗菌剤の使用上の要点は以下のごとく考えている。

1) 抗生剤は閉塞性黄疸の場合、胆汁鬱滞に対し胆汁ドレナージを加えることにより胆汁内移行を可能にするが、外瘻を続けていると胆汁内移行濃度は減少する。胆石症手術T-チューブ挿入例にて検索した。外瘻状態にしておくと手術時胆汁内ピーク濃度を100と

すると、1週間後には cefazolin (CEZ) 16, MINO 68, CPZ 4, cefamandole (CMD) 20, cefuroxime (CXM) 44 で、4週間後にはすべての抗生剤の胆汁内移行は0となった。

2) 胆汁外瘻中の患者が胆管炎を併発、抗生剤を同一のままとし胆汁飲用を開始したところ、胆汁中抗生剤が0であったのに抗生剤の胆汁中移行が認められるようになり、その胆汁中濃度は日に日に増量した。その後胆管炎は治癒した。このように、胆汁中抗生剤0から胆汁飲用により徐々に胆汁中抗生剤が認められ、日に日に増量する5症例を実測確認した。

これらの経験は胆道感染症治療に重大な事実を示してくれた。つまり、胆汁中に抗生剤が出現するようになり初めて胆管炎は終息し、胆汁内移行こそが胆道感染症における化学療法の原点と考えられた。

結論:

1. 胆道系感染症は胆汁鬱滞に細菌感染が加わったものであり、化学療法と共に胆汁鬱滞除去が大切であった。

2. 臨床的に、化学療法剤の胆汁内への移行は、細菌に対する感受性ととも、不可欠な必要条件と考えられた。

3. 閉塞性の胆汁鬱滞条件のもとでは、化学療法剤はほとんど胆汁内へ移行せず、胆汁鬱滞を除去しても、その後多くの抗生剤は胆汁内へ急速に移行しなくなり、抗生剤の胆汁内移行を可能にするには内瘻に変更するか、胆汁を飲用するなどの、胆汁酸の腸肝循環を復活させる必要があった。

胆汁中 β -lactamase 活性について

柏木秀夫

和歌山県立医科大学消化器外科

胆道疾患 180 例の 243 検体から検出した胆汁中細菌 196 株について β -lactamase 産生能を検討すると、グラム陰性桿菌では *K. pneumoniae* が 75% である以外はほぼ 100% と、いずれの菌も β -lactamase を産生する能力がある。グラム陰性桿菌では PCase と CEPase の両者を産生する菌が 59.6% を占めた。菌培養陽性の 112 例についてみると、46% と半数の症例が複数菌感染であり、胆道感染症では細菌が胆汁中に放出する β -lactamase により、治療として投与した β -lactam 剤が胆汁中で不活性化してしまう可能性があることは臨床上の大きな問題である。

我々は、胆汁中 β -lactamase 活性を Acidimetry 法と HPLC 法を用いて基質によって PCase と CE-

Pase と CXMase に分別定量し、胆道感染症における臨床的意義について検討した。有菌胆汁 50 検体のうち、3 菌種以上の複数菌感染では明らかに PCase も CEPase も高かった。これを β -lactamase 産生能のある菌が検出された胆管胆汁に限ると、PCase も CEPase も無菌胆汁と比べて明らかに高い活性を示した。

そこで、これら胆汁中 β -lactamase 活性の高い症例の臨床症状の特徴を調べてみると、年齢や疼痛とは関連はなく、CRP や白血球数の変化のような炎症所見が明らかな症例で、PCase が高いことがわかった。これを白血球数が $8,000/\mu\text{l}$ を超え、かつ 38°C 以上の発熱を伴っている患者ではそれらの所見を認めない軽症の患者よりも PCase も CEPase も有意に高値を示すことが証明できた。

胆汁中 β -lactamase 活性の経日的変化を急性閉塞性化膿性胆管炎の 1 手例では、手術時に採取した胆汁からは *E. coli* と *Citrobacter* が検出され、胆汁中の PCase と CEPase はともに陽性であったが、治療によりブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌に菌交代し、その消失とともに β -lactamase 活性も陰性化した。

β -lactamase 活性を有する胆汁に suactam を添加した場合の変化を示す。症例 11 の場合には、111 mU/ml と高値を示した CEPase 活性が *in vitro* に sulbactam $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$ を添加することにより $7\ \mu\text{g}/\text{ml}$ に低下し、症例 12, 13 の胆汁でも CEPase と PCase は sulbactam $1.0\ \mu\text{g}/\text{ml}$ の添加により活性は低下し、 β -lactam 剤に sulbactam のような β -lactamase 阻害剤の併用は有用であることが裏付けられた。

In vitro で β -lactamase 産生抑制作用を有することが証明されている clindamycin に注目して、胆汁中における作用を臨床的に検討した。胆汁ドレナージ施行 21 例に対し、まず 1 日目に生理食塩水を投与し、2 日目に CLDM $1,200\ \text{mg}$ を点滴静注して構成型の β -lactamase が抑制されるか否かを観察し、3 日目に CMZ $2\ \text{g}$ 、4 日目に CMZ と CLDM を併用投与して誘導型の β -lactamase が抑制されるか否かを観察した。胆汁は抗菌薬投与 30 分前から 5 時間後まで 6 検体採取し、 β -lactamase 活性を HPLC 法で測定した。1 例では 1 日目の胆汁中 CEPase は $19.6\sim 40.9\ \text{mU}/\text{ml}$ と高値を示したが、CLDM を投与すると $11.0\ \text{mU}/\text{ml}$ に低下した。3 日目に CMZ を投与すると、 $51.3\ \text{mU}/\text{ml}$ と強く誘導され、翌日 CLDM を併用投与すると再び $6.4\sim 8.8\ \text{mU}/\text{ml}$ と低値にとどまった。 β -lactamase 活性を検出した 10 例について CLDM 投与による β -lactamase の抑制率をみると、構成型

CEPaseでは6.7~91.0%,誘導型CEPaseでは4.8~82.9%と、かなり抑制できることがわかった。分離した*E. cloacae*について、*in vitro*でCLDMの β -lactamase産生抑制作用に対する直接効果を検討した。菌体内、細胞質膜、菌体外のいずれにおいても構成型および誘導型 β -lactamase産生を抑制することを確認した。

以上より、グラム陰性桿菌による胆道感染症は複数菌感染が半数を占め、それらが胆汁中に放出する β -lactamaseにより、投与した β -lactam剤が胆汁中で不活化されてしまう可能性があること、それを阻止するためには、sulbactamのような β -lactamase阻害剤の併用か、または産生抑制効果があるといわれているCLDMのような抗菌薬の併用が必要であること、胆汁中 β -lactamase活性の測定は、 β -lactam剤の不活化の程度や抗菌薬の治療効果の判定、さらには適切な抗菌薬の選択の新しい指標になり得る。

この4題の発表を中心に、抗菌薬の胆汁中移行を規定する因子が討議された。その結果、 β -ラクタム系抗菌薬、血管側細胞膜では特異的な担体輸送系が関与し、アニオン輸送系であること、肝血流量によって調整されることがわかった。一方、胆管腔側では膜電位依存的な担体輸送系で胆汁排泄が調整因子となっていること、肝細胞内での抗菌薬の結合タンパクは解毒機構の役割を持つ肝glutathione S-transferaseであり、この結合率が大きな胆汁中移行規定因子となっていることがわかった。

血清蛋白結合率はあまり関係なく、むしろ、血清タンパクとビリルビンの競合が問題である。また肝硬変症例における胆汁中排泄はまだよくわからないとの結論であった。

また胆汁中排泄を促進するための工夫として胆汁そのものないし胆汁酸投与の工夫が紹介された。

菌種が判明した時の抗菌薬の投与基準について、外科系から第1世代のセフェムという意見と、胆汁中 β -lactamase活性による不活化される可能性のない第3世代を使用するという意見にわかれた。

黄疸を伴う胆道感染症の治療について、清水武昭氏が提唱する胆管炎を腎障害型と肝障害型に分類する提案は、適切な胆汁ドレナージの結果としての表現であり、治療開始が遅れないことに尽きるといえる。

最後に、胆汁中 β -lactamase活性の測定は、胆汁中細菌の消長に呼応して β -lactamase活性が変動し、胆汁中 β -lactamase活性値は抗菌剤の治療効果、適切な抗菌剤の選択の新しい指標になり得ると期待され

る。

このように新しい問題が提起され、その解決法が示され、討論されたが、最後に、名古屋市立大学名誉教授由良二郎氏より指定発現があり、胆汁排泄のための努力を続けること、胆管炎という診断名は病理組織学的な変化を意味する病名であるにもかかわらず、現在でも採取した胆汁を培養してそれを起炎菌として臨床効果の判定に用いているという矛盾があり、その意味ではアミノグリコシドも有用であろう。さらに胆道感染症でも緑膿菌によるbiofilmに対するマクロライド系抗菌薬も考慮すべきとのコメントがあった。

ミニシンポジウム3: 抗癌性植物アルカロイド

司会のことば

藤田 浩

鶴見大学歯学部細菌

アルカロイドとは、植物に含まれる含窒素化合物で、阿片、吐根など、少量投与で、ヒト、動物に顕著な生理活性を有する物質である。

1960年頃に、最初に抗がん剤として登場したのは、ビンカ(Vinca)アルカロイドである。ツルニチニチ草から、ピンクリスチン、ピンプラスチンが単離され、当初、抗白血病作用が注目された。その後、各種固形腫瘍に対する活性を有することが判明し、ビンデシン、ナベルピンなどが開発され現在に至るまで、60種以上の誘導体が作られている。これらのビンカアルカロイドは、よく似た構造を有し、細胞分裂を中期で停止させる。しかし、各誘導体の抗癌スペクトル、副作用(骨髄障害、神経毒性など)、生体内動態にはかなりの差違がある。

今回のシンポジウムで対象となる植物由来の抗癌剤の素材の多くは、古くから粗抽出物が成分不明のまま、民間伝承的に各種の病態の治療や腫瘍の局所療法などに用いられていた。この中、窒素を含まない(アルカロイドでない)エトポシド類も討論されるが、その素材はビンカアルカロイドと同様に細胞分裂毒であったことから入れられた。

今回は基礎的、臨床的にほぼ樹立されたビンカアルカロイドを除いて、最近内外で注目されている3つの系列の植物由来抗癌剤について討議された。

基礎的にはこれら薬剤の開発の経緯と最近の進歩(塚越)、作用機序と体内動態(藤田)などが、臨床(試験)の面ではパクリタキセル(タキソール)、タキソテール系(西條)、エトポシド、NK-611などポド

フィロトキシン誘導体 (清瀬), イリノテカン (CPT-11), トポテカンなどのカンプトテシンアルカロイド (日野) が発表され, 討議された。

パクリタキセルは太平洋イチイの樹皮から, タキソテールはヨーロッパイチイの針葉から分離された細胞分裂毒で, 微小管の過形成をきたす。臨床的に, 卵巣がん, 乳がん, 肺がんに対する効果が期待されている。

アメリカミヤオ草から抽出されたポドフィロトキシンは, 細胞分裂毒であるが, エトポシド, NK-611 は糖鎖を結合させたことにより, 分裂阻止作用はなく, トポIIを阻害し, DNAの2本鎖切断をきたす。肺癌, 悪性リンパ腫, 急性白血病, 睾丸腫瘍などにエトポシドは抗腫瘍性を有する。その誘導体NK-611は水溶性, 経口吸収性, 腫瘍組織移行性が改差されており, 現在臨床試験が行われている。

カンプトテシンは, 中国原産の喜樹から抽出されたアルカロイドであり, 強い抗腫瘍性を有するが, 臨床試験で強い毒性が発現したため, 開発は中止された。その後カンプトテシンの抗腫瘍性を保持し, 毒性を軽減したイリノテカン, トポテカンが作成された。本系薬剤はトポIを阻害し, DNAの1本鎖切断を生じる。イリノテカンは, 臨床試験の結果, 肺非小細胞がん, 卵巣がん, 子宮頸癌, 消化器癌などに高い有効性を示した。副作用はかなり強い。トポテカンは臨床試験で初期第II相試験へ移行した段階である。

以上, 3系統の植物由来抗癌剤はそれぞれ独自の作用機序, 耐性機構を有し, そのより詳細な解明に向かって基礎的研究が進行している。臨床的にもがん化学療法の強力な武器としての位置が定着しつつある。強い抗腫瘍性と独特のかなり強い副作用を有することから, より合理的な臨床投与量, 投与方法を設定すべく臨床研究が進められている。

新規抗癌性植物アルカロイド由来 化合物の開発

—最近の進歩—

塚越 茂

癌研癌化学療法センター

現在我が国では抗癌性の天然物由来の薬物臨床試験が行われており, それらのいくつかは本シンポジウムでも取り上げられているように, ひと固形腫瘍に対する効果を示している。ここでは, 植物アルカロイド由来の抗癌物質 (camptothecin および vinblastine 類

似物質) や, 最近注目されている植物由来の薬物 etoposide 関連化合物の薬効, 作用機序についてのべてみたい。

1. Camptothecin 誘導体: 現在, この中国産喜樹のアルカロイド成分, camptothecin の誘導体について, 我が国では, irinotecan (CPT-11) および topotecan が知られている。これらの作用機序の特長は topoisomerase I 型 (topo I) の活性を阻害することにある。I 型は DNA 単鎖の切断・再結合を介して, DNA の高次構造の変換を行うものである。CPT-11 は 1970 年代には, 米国 NCI で camptothecin (CPT-11) の臨床研究が行われていた実績に注目し, その改良型の誘導体として開発されたものである。多くの同系腫瘍に対して有効性が示された, 水溶性化合物である。本剤は生体内ではその活性体 SN-38 に変換されることが示され, 1986 年から臨床研究も始められた。一方, topotecan は CPT の抗腫瘍性は保持し, しかも毒性を減弱した化合物として米国で開発されたもので, topo I を特異的に阻害する。前臨床試験でも同系腫瘍, その多剤耐性腫瘍にも有効性がみられ, 最近我が国でも, 第 I 相試験が開始された。

2. Etoposide 誘導体: 小細胞肺癌治療などに用いられる etoposide (ETP) をより水溶性化合物とするため, 糖鎖の 2 位の水酸基を dimethylamino 基に置換した化合物である NK-611 が現在第 I 相試験に入っている。経口投与による吸収効率は著しく改善され, 効果および副作用の面からも ETP よりも優れている前臨床試験の成績が得られている。NK 611 は ETP に劣らぬ薬効を示し, 組織移行性も ETP に比べ高い。この化合物も ETP 同様に topo II の阻害をすることが明らかにされている。

3. Tubulin 阻害物質: この系統の化合物はこれまで, vinca alkaloid 製剤で代表されていたが, 最近これまでと異なる tubulin 作用物質として taxol, taxotere が見出され, 我が国で臨床試験が行われている。taxol および taxotere はそれぞれ, 太平洋イチイおよびヨーロッパイチイから得られるが, 後者は, イチイの成分, baccatin を一部化学修飾して製造されている。両者共, tubulin の重合促進作用を示すところが vinca 製剤と異なり, 前臨床試験の成績も多くの同系腫瘍に優れた効果を示している。しかし, tubulin 作用物質の特徴としての神経系への副作用も若干認められた。両者共やや水に難溶性のため, 界面活性剤を溶媒として用いている。現在, 我が国でも後期第II相試験に入っており, 肺癌, 乳癌, 卵巣癌などに対する有効性が期待されている薬剤である。また,

従来の vinca alkaloid 製剤の誘導体の一つとして、フランスで開発された navelbine (KW 2307) も臨床試験が行われてきた。この作用機序はこれまでの vinca 製剤と同様に、微小管の脱重合を誘発するところにある。In vitro の試験でも各種のヒト固形癌由来の細胞に増殖阻止効果を示すほか、同系腫瘍、ヌードマウス移植ヒト癌にも効果が示されている。海外の評価の結果と同様に、我が国では、肺癌症例に対する有効例が報告されている。

おわりに: 以上述べたように、植物由来の抗癌物質は従来の vinca alkaloid 製剤に加えて、新しい喜樹の成分やイチイの成分が加わり、さらに etoposide のような植物成分の改良型の臨床研究が進められるようになった。これらは、我が国で発生頻度の高い肺癌や乳癌、難治性の卵巣癌などにも有効性が期待されているから、これらが臨床薬とし登場することにより、今後癌治療成績が一段と向上することも考えられる。

作用機序と体内動態

藤田 浩

鶴見大学歯学部細菌

ピンカアルカロイドは微小管のサブユニットのチューブリンと結合し、微小管の重合を阻害して、分裂紡錘系や神経線維の微小管を破壊する。

パリクタキセル (タキソール) とタキソテールはチューブリンと結合するが、ピンカアルカロイドとは逆に微小管の脱重合を阻害して、その形成過剰をきたし、分裂毒として抗細胞性を発揮する。チューブリンへのレセプターはピンカアルカロイドと異なった部位であることが示されている。

パクリタキセル、タキソテールをウサギに1時間点滴静注後、血中濃度は2相性に下降し、 $T_{1/2\beta}$ は前者は6.4時間、後者は2時間で、AUC も約2倍パクリタキセルの方が大きい。両剤とも K_{12} 、 V_2 の値が K_{21} 、 V_1 の値より大きく、組織移行性が強い。

パクリタキセルを M-109 担癌メスマウスに静注後の組織内濃度は、肝、胆汁にきわめて高濃度を示し、胆汁への優先的排泄を示唆している。腫瘍、卵巣、肺、子宮は、初期は低いが長時間分布し、24時間値はもっとも高い薬剤がこれらの組織に検出された。

S.180 担癌オスマウスにタキソテールを静注後、腫瘍、胃、肺、睾丸は長時間薬剤が留まった。本剤は肝への優先的取り込みは認められなかった。

ポドフィロトキシンはピンカアルカロイドと同様の細胞分裂毒であるが、これに糖鎖を付けたエトポシド

は分裂阻止作用はなく、異なった作用機序、すなわちトポイソメラーゼIIを阻害してDNAの2本鎖切断を生じ、抗細胞性を発揮する。トポIIは核内に存在する2量体酵素でATP存在下に一過性の2本鎖切断を生じ、他側の鎖通過後再結合し、DNAの超らせんを作ったり、逆にらせんの解消を行ったりしている。

エトポシドは単離DNAとは反応しないが、DNA-トポII結合物と結合し、トポIIの機能を安定化し、DNAの切断-再結合反応の再結合が不能となり2本鎖切断を招来する。

NK-611はエトポシドの糖鎖の2位にジメチルアミノ基を導入したもので、水溶性、経口吸収性、組織移行性が改善され抗腫瘍効果が強力となった誘導体である。

ウサギに点滴静注後の血中濃度はNK-611の方が低く、AUCも1/3であるが、 K_{12} 、 V_2 の値はエトポシドより大きく組織移行性が強い。マウスに経口投与後NK-611の吸収率はほぼ100%で、エトポシドは33%であった。

NK-611は組織移行性が強いので、静注でも担癌マウスの組織内濃度はエトポシドより高いが、経口投与ではさらにその差が大きく、高い腫瘍内濃度を示した。

イリノテカン (CPT-11)、トポテカンなどのカンプトテシナルカロイドは、トポイソメラーゼIを阻害する。トポIは核内に存在する1量体酵素で、ATPを要求せず、DNAと結合し、鎖切断-鎖通過、鎖再結合反応により、DNAのリンキング数を1コブつ増減する働きをなしている。カンプトテシンは本酵素反応を安定化するため、切断DNAの再結合が不能となり1本鎖切断をおこす。

CPT-11はプロドラッグで、体内でSN-38に活性化される。未変化体の血中濃度は用量依存的に2相性に下降する。SN-38は低濃度で血中に長時間観察される。

トポテカンはそれ自身活性体であるが、pH依存的にラクトン環が開環し、不活性となる。マウス血中で55%、ウサギでは40%が活性体であった。

^{14}C -CPT-11のラット臓器内濃度は、肝、腎のほか分泌組織に高く、胆汁に優先的に排泄された。トポテカンの担癌マウスの組織内濃度は、腎に最高値を示し尿から優先的に排泄された。

チュブリンに作用する薬剤 (パクリタキセル=Taxol とタキソテレ)

西條長宏

国立がんセンター研究所

パクリタキセル (Taxol) は 1971 年 Wani らにより西洋イチイの樹皮より抽出された植物アルカロイドで 1977 年 NCI により臨床導入された。しかし樹皮からの抽出であるため供給量に限界があるとともに水に難溶性のためその後の臨床研究の進歩は遅々としていた。

しかし最近これら 2 点の問題の解決とともに臨床試験が活発に展開されその抗腫瘍活性が注目されている。パクリタキセルの第 I 相試験は当初 1~3 時間の点滴投与により行われたが、呼吸困難、不静脈、全身発疹および低血圧などのアナフィラキシー様反応が一部の症例に認められた。その後ステロイドホルモンまたは抗ヒスタミン剤等前投与後、モニターで監視しながら投与することが義務づけられるとともに 24 時間持続投与法が導入され、アナフィラキシー様反応の出現頻度は減少している。国立がんセンター病院ではパクリタキセルの 24 時間持続点滴法による第一相試験を行った。対象症例は全身状態が良好で有効な治療法がないか、または治療に抵抗性となった固型癌症例とした。初回投与量は 75 mg/m^2 としたが、初回投与量より grade 3 の副作用 (顆粒球減少) を 3 例中 2 例に認めた。重篤な合併症を経験しなかったため、効果安全性評価委員会の助言のもとに慎重に増量を行った。 135 mg/m^2 投与例では全例 grade 4 の顆粒球減少を認めたが、合併症は認めなかった。しかし 180 mg/m^2 投与症例 3 例中 2 例に感染を認め第 II 相試験への推しよう投与量は 135 mg/m^2 と決定した。癌研化療センターでも同様の結果がえられ、第 II 相試験での投与量は 150 mg/m^2 とされている。現在非小細胞癌、卵巣癌、乳癌、胃癌を対象に 24 時間持続投与による第 II 相試験が展開されている。一方カナダ-NCI と EC 諸国の共同研究によると、24 時間投与に比べると 3 時間投与の方が副作用は明らかに少ないこと、抗腫瘍効果は同程度みられることなどが明らかにされつつある。したがって今後は短時間投与による臨床試験が多く行われると思われる。国立がんセンター病院では 105 mg/m^2 を投与開始量とし現在 $210 \sim 250 \text{ mg/m}^2$ まで増量を行う第 I 相試験を展開中である。 180 mg/m^2 投与症例においても副作用は tolerable であり増量可能なことが確認されている。欧米ではすでに卵巣

癌に対する有効性が第 III 相試験で証明されている。また乳癌、非小細胞癌などに対する抗腫瘍活性も証明され第 III 相試験が開始されている。

タキソテレはヨーロッパイチイの葉からの抽出物より光合成された物質で作用機序はパクリタキセルと同じである。欧米での第 II 相試験での投与量は 100 mg/m^2 、我が国では 60 mg/m^2 とされている。タキソテレは供給と溶解性の問題が少ないため臨床試験のスピードは速く、我が国でも第 II 相試験が行われている。抗腫瘍スペクトラムはパクリタキセルとほぼ同じである。いずれもチュブリンの重合を促進し安定化することにより抗腫瘍活性を示すことが知られており、作用機序の点からも注目される薬剤である。

ポドフィロトキシン誘導体の臨床

古瀬清行¹⁾・福岡正博²⁾・仁井谷久暢³⁾

¹⁾ 国立療養所近畿中央病院内科

²⁾ 大阪府立羽曳野病院第二内科

³⁾ 日本医科大学第四内科

エトポシドは、10 年以上前から臨床的に使用されて、広い抗腫瘍スペクトラムを有する半合成ポドフィロトキシン誘導体で、睾丸腫瘍、小細胞肺癌や悪性リンパ腫の標準的治療薬の 1 つである。

エトポシドのもっとも多く使用されているスケジュールは、5 日間連日、あるいは第 1, 2, 日の 3 日間の 3 週毎の投与である。

エトポシドが、動物腫瘍やヒトの腫瘍に対しスケジュール依存性の薬剤であることが示されている。近年長期連日投与のスケジュールが、「標準的化学療法に抵抗性を示す難治性進行癌でも高い奏効率が得られた」という Vanderbilt のグループの報告から、再び広く臨床的に検討されている。

エトポシド 50 mg/m^2 , 1 日 1~2 回, 14~21 日間連日経口あるいは 100 mg/m^2 , 5 日間連日静脈内投与が小細胞肺癌例に対し効果があることが示されている。また、エトポシドの $1 \mu\text{g/ml}$ 以上の血中濃度を維持する時間が効果に対し重要な因子であることが判明している。

小細胞肺癌に対するエトポシド単剤の効果 (奏効率) は、静脈内投与では、未治療例、で 44.7% と高く、既治療例で、8.4% と低率である。経口投与では、未治療例で 50.1% と高い奏効率である。既治療例でも 38.5% と良好な効果が得られている。経口投与が効果を示唆する成績である。 50 mg/m^2 , 21 日間投与例ではエトポシドの前治療を持つ症例にも効果が認め

られた。エトポシドのスケジュールの重要性を立証する成績と考えられる。

非小細胞肺癌に対する単剤としての効果（奏効率）は、静脈内投与の未治療例では10%と低い。これに対し経口投与14~21日では21%と良好な効果が得られている。エトポシドの長期連日経口投与は、抗腫瘍性を拡大することを示す事実で、エトポシドに効果がないと考えられていた腎腫瘍などにも効果を示すことが報告されている。

未治療非小細胞肺癌に対し、経口エトポシド21日間投与に、シスプラチンあるいはカルボプラチンを併用した成績では、プラチナ抗癌剤を4週に1回併用した試験の奏効率は、20%台であり高くはないが、両者の相乗作用を目的とし毎週1回併用した成績では、33.3~75%と良好な成績である。さらに、症例を増やし、検討する価値のある成績である。

日本化薬が開発されたNK 611は、エトポシドの糖鎖2位が水酸化ジメチルアミノ基に置換された誘導体で、エトポシドの120倍の水溶性、経口吸収性とアドレマイシンのような幅広い抗腫瘍性が動物腫瘍において見られる。

NK 611の臨床第I相試験静脈内5日間投与の試験では、投与制限毒性（dose limiting toxicity）は、白血球減少であった。最大耐容量（maximum tolerated dose）は、未治療例で24 mg/m²、既治療例で20 mg/m²で、白血球数は投与開始2週間後に最低値に至り、約1週間で回復する。既治療2例にMR効果が見られた。21日間経口投与のDLFは、白血球減少で、MTDは、未治療例で6 mg/m²であった。血液以外のgrade 3以上の毒性は、脱毛、倦怠感、下痢等があった。

カンプトテシン誘導体の臨床

日野光紀・仁井谷久暢

日本医科大学第四内科

Camptothecin (CPT) は中国原産の「喜樹」に含まれる植物性抗腫瘍薬剤であり、1970年代前半、米国NCIで第II相臨床試験まで開発が進められたが、強い骨髄抑制と出血性膀胱炎などの毒性のため開発中断となった化合物である。しかしこの薬剤の広い抗腫瘍スペクトラムと、その作用機作がDNAの高次構造の変化と密接な関連を有するtopoisomerase Iの阻害が関与するなどの特殊性から、引き続き誘導体の合成研究がなされた。現在では、その半合成誘導体であるtopotecan (SKF 104864)、irinotecan (CPT-11)

の2剤につき臨床試験が進行している。Irinotecan (CPT-11) は国内で開発された半合成のカンプトテシン誘導体であり、CPT-11も抗腫瘍性を持ちながらも主代謝産物であるSN-38に変化することにより抗腫瘍活性の多くを占めるとされている。国内において1986年12月より第I相試験が開始され、単回投与においては250 mg/m²を3~4週間隔を最大耐量と判断されている。その用量制限因子は白血球減少であり、さらに消化器毒性が高頻度に認められ、下痢は特徴的であった。その後、各投与方法での第I相試験の結果よりこの薬剤のスケジュール依存性が指摘されている。単剤での第II相試験では未治療の非小細胞肺癌に対して30~35%と高い奏効率が得られ、婦人科癌（卵巣、子宮頸癌）、消化器癌（胃癌、肺癌、大腸癌）、再発乳癌、白血病、悪性リンパ腫、皮膚癌に対しても良好の成績が示されている。Topotecan (SKF 104864) は欧米につづいて、本邦において1991年12月より1993年3月までに単回投与と5日間連日投与で3週間隔の投与方法にて第I相試験が終了している。その用量制限因子は白血球減少（好中球減少）であり、かつ、血小板減少は軽度であり消化器症状、特に下痢についても重篤なものは認められていない。単回静脈内（30分点滴）投与方法での最大耐量は22.5 mg/m²、5日間連日投与方法での最大耐量は1.5 mg/m²/dayであり、現在第II相試験へと移行している。海外での第I相臨床試験でも多種の投与方法にて行われている。さらに今後、カンプトテシン誘導体に期待される点としては以下のごとくの事項をあげることができる。①併用療法、②至適投与方法の選択、③新誘導体の開発。併用療法についてはtopoisomerase II inhibitorとの併用、CDDPや他のアルキル化剤との併用、さらにradiation, hyperthermiaとの併用において*in vitro*で相乗効果が証明されており、すでにCPT-11については非小細胞肺癌に対してCDDP, etoposide, vindesine等との併用第I/II相試験が報告され良好な成績を提示している。TopotecanでもCDDP, etoposideとの併用の成績が提示されつつある。第二の点については、これらの薬剤はより酸性の状態においてラクトン環の開環を認めず、抗腫瘍活性を持続することより、pH値が低い環境下において投与方法や、止痢剤の投与を併用したCPT-11のhigh dose administrationの報告、topotecanの癌性体腔液に対する腹腔内投与の報告は今後、期待されるところである。ここの提示したごとくこれらの薬剤はきわめて特徴的な植物由来の化合物であり、今後さらなる副作用の軽減と現在のカンプトテシンの持つ特性を維持した

化合物の開発が期待されるところである。

新薬シンポジウム: SY 5555

はじめに

齋藤 篤

東京慈恵会医科大学附属柏病院総合内科

SY 5555 はサントリー株式会社生物医学研究所において合成され、山之内製薬株式会社とサントリー株式会社により共同開発がすすめられている新しい経口用ペネム系抗菌剤である。

構造的には β -ラクタム環を有する β -ラクタム剤の範疇に属し、ペネム環上の3位がテトラヒドロフリル基により置換されていることが特徴で、非エステル型の原体吸収タイプの薬剤である。

本剤は、好気性および嫌気性のグラム陽性菌、グラム陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有し、特にブドウ球菌、腸球菌を含む好気性グラム陽性菌やバクテロイダス属などの嫌気性菌に対しては、既存の経口抗菌剤と比べて優れた抗菌力を示す。また、各種 β -ラクタマーゼに対して安定で、耐性株も少ない。

本剤は各種前臨床試験により高い安全性が確認され、また、カルバペネム系抗菌剤と比べて腎毒性、中枢毒性は低く、単剤による投与が可能な薬剤である。

臨床第I相試験により忍容性が確認され、その体内動態と抗菌力の成績をあわせ考慮すると本剤の臨床的有用性が期待されたので、1990年9月より研究会を組織し、基礎的ならびに臨床的検討が行われてきた。

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総括的な発表を行い、本剤の特徴ならびに臨床上的位置付けを明らかにした。

抗菌力

横田 健

順天堂医療短期大学

SY 5555 は好気性および嫌気性のグラム陽性菌・陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを示した。特に、*S. aureus*、*E. faecalis*などのグラム陽性菌および*B. fragilis*などの嫌気性菌に対しては、cefotiam (CTM)、cefteram (CFTM)、cefixime (CFIX)、cefaclor (CCL)などの既存の経口セフェム剤と比較し、明らかに優れた抗菌力を示した。グラム陰性菌に対してはほぼ他剤と同様の抗菌力を示した。また*P. aeruginosa*に対する抗菌力は弱かった。

本剤は β -lactamaseに安定であり、また、その不活化作用のため耐性株が少なく、*C. freundii*、*E. cloacae*などセフェム剤に耐性を示す菌種に対しても良好な抗菌力を示した。

ペニシリン結合蛋白に対しては、*S. aureus*ではPBP-1, 2, 3に、*E. coli*では特にPBP-2に強い親和性を有し、本剤の強い抗菌力を裏付ける結果であった。

マウス腹腔内全身感染、マウス肺感染、モルモット腎感染、ウサギ尿路感染などの感染治療実験において本剤は治療効果を認めた。また*in vitro* pharmacokinetic modelにおいては、*S. aureus*、*S. pneumoniae*、*E. coli*、*H. influenzae*に対し良好な生菌数減少傾向を示し、*E. faecalis*に対する複雑性膀胱炎モデルでの検討では300 mg投与時のMICのbreak pointは8 $\mu\text{g/ml}$ であった。

以上SY 5555は新しいペネム系抗菌剤としてその抗菌力から優れた臨床効果が期待できる薬剤であると考えられた。

吸収・分布・代謝・排泄

柴 孝也

東京慈恵会医科大学第二内科

全国42研究機関にて実施されたSY 5555の吸収・分布・代謝・排泄の成績をまとめました。

本剤150 mg、300 mgおよび600 mgを空腹時単回経口投与後の最高血中濃度 (C_{\max}) はそれぞれ2.36, 6.24, 7.37 $\mu\text{g/ml}$ 、AUCはそれぞれ3.95, 11.72, 15.59 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ で、血中濃度推移にはdose responseが認められた。血中半減期($T_{1/2}$)はいずれの投与量でも約1時間であった。本剤の尿中排泄は、腎DHP-Iにより分解を受けるため低く、12時間までの累積尿中排泄率は約5%であった。

食後経口投与では、空腹時投与に比べて最高血中濃度到達時間 (T_{\max}) は延長し、 C_{\max} 、AUCは若干低下したが、 $T_{1/2}$ 、尿中排泄率には差がなく、食事の影響はほとんどないと考えられた。

プロベネシド併用時の体内動態は T_{\max} 、 $T_{1/2}$ が延長し、AUCも増加し、本剤の排泄機序として尿細管分泌の関与が示唆された。

本剤300 mgとCTM-HE 200 mg食後投与時を比較すると、 C_{\max} 、AUCは本剤が若干高いが、 T_{\max} 、 $T_{1/2}$ はほぼ同様であった。尿中排泄はCTM-HEの方が高かった。

本剤200 mgおよび400 mgを1日3回7日間 (計