

## FK037 の細菌学的検討

館 田 映 子・平 松 啓 一

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

FK037 の試験管内抗菌力は、methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), 軽度耐性 methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), 高度耐性 MRSA, coagulase-negative staphylococci, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* CS2(R+), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*, および *Bacteroides fragilis* の 18~64 臨床分離株に対する MIC<sub>80</sub>として、それぞれ 0.78, 25, 25, 12.5, ≤0.013, 0.025, 0.05, 0.39, 0.05, 0.2, 6.25, 0.1, 1.56, 12.5, 3.13, 25, 25, >100, 25, 0.1 および >100 μg/ml であった。FK037 は MSSA に対して cefpirome (CPR) や flomoxef (FMOX) とほぼ同等の抗菌力であったが、MRSA に対しては CPR や FMOX の 2~8 倍強い抗菌力を示した。FK037 は *S. aureus* 209P のペニシリン結合蛋白 (PBPs) 1, 2, 3 に対して CPR と同等の結合親和性を示したが、軽度耐性 MRSA KL2 および高度耐性 MRSA 108-1 の PBP 2' に対しては、CPR よりもかなり強い結合親和性を示した。*E. coli* NIHJ JC2 および *P. aeruginosa* PAO1 の各 PBPs 画分に対する結合親和性は、CPR のそれとほぼ同等だった。FK037 は、*E. coli* に対し低濃度で補体との協力的殺菌作用を示した。また FK037 とマウス培養マクロファージとの協力的食菌殺菌作用は、1/4 MIC 以上の本剤存在下で明らかに認められた。

**Key words:** FK037, PBPs, マウス培養マクロファージ

FK037 は藤沢薬品工業株式会社で開発された注射用セファロsporin 剤である。本剤はブドウ球菌を含むグラム陽性菌から緑膿菌を含むグラム陰性菌まで幅広い抗菌スペクトルを有し、メチシリン耐性ブドウ球菌に既存のセフェム剤より強い抗菌力を示すと言われている<sup>1-4)</sup>。本研究では、FK037 の基礎的検討として、試験管内抗菌力、作用点、ペニシリン結合蛋白 (PBPs) への結合親和性、血清補体またはマウス培養マクロファージとの協力作用について検討した。

## I 材料および方法

### 1. 菌 株

順天堂大学附属病院中央検査室および東京都老人研究所附属病院中央検査室から分与された methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) 19 株, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 111 株,

coagulase-negative staphylococci (CNS) 44 株, *Streptococcus pyogenes* 50 株, *Streptococcus pneumoniae* 24 株, *Escherichia coli* CS2 (R+) 51 株, *Klebsiella pneumoniae* 50 株, *Proteus mirabilis* 48 株, *Proteus vulgaris* 54 株, *Providencia rettgeri* 51 株, *Morganella morganii* 50 株, *Serratia marcescens* 50 株, *Enterobacter cloacae* 50 株, *Citrobacter freundii* 50 株, *Pseudomonas aeruginosa* 50 株, *Pseudomonas cepacia* 33 株, *Xanthomonas maltophilia* 48 株, *Acinetobacter calcoaceticus* 49 株, ampicillin (ABPC)-resistant *Haemophilus influenzae* 18 株, および *Bacteroides fragilis* 38 株を用いた。R 因子保有 *E. coli* は *E. coli* CS2 に順天堂大学附属病院中央検査室の臨床分離株から得られた R 因子を当教室で接合伝達したものである。

## 2. 使用薬剤

FK037は藤沢薬品工業株式会社から、cefpriome (CPR)は日本ルセル株式会社から、flomoxef (FMOX)は塩野義製薬株式会社、cefuzonam (CZON)は日本レダリー株式会社から、ceftazidime (CAZ)は日本グラクソ株式会社から、methicillin (DMPPC)は萬有製薬株式会社から分与された原末を使用した。

## 3 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

日本化学療法学会法<sup>5)</sup>による平板希釈法で測定した。すなわち被検菌をL-broth中で一夜振盪培養し、グラム陽性菌の場合は100倍に、グラム陰性菌の場合は1,000倍に希釈し、これを $10^6$ CFU/mlの接種菌液とした。ただし、*S. pyogenes*にはHeart infusion (HI) brothを用い、*H. influenzae*にはHI brothにFildes extract (Oxoid)を5%添加した培地を用い、*B. fragilis*はGAM broth (日水製薬)中で前培養した。また*S. pneumoniae*の接種菌液はヒツジ脱繊維血液平板上に増殖した集落をかき取り、HI brothに懸濁し適当に希釈して $10^6$ CFU/mlになるようにしたものを用いた。2倍希釈系列にした濃度の薬剤を含むMueller-Hinton agar (Difco)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一夜培養後の菌増殖の有無からMICを求めた。ただし、*Streptococcus*属の菌は全て血液寒天を、*H. influenzae*はFildes extract加HI agarで一夜培養し、*B. fragilis*にはGAM agarを使用し、ガスパック法(BBL)で37°C一夜嫌気培養した。

## 4 作用点ペニシリン結合蛋白 (PBPs) に対する結合親和性の検討

*S. aureus* 209P, *S. aureus* KL2 (軽度耐性 MRSA), *S. aureus* 108-1 (高度耐性 MRSA), *E. coli* NIHJ JC2, *S. marcescens* 13, *P. aeruginosa* PAO1を被検菌とし、Spratt<sup>6)</sup>の方法に準じ非放射性各薬剤と $[^{14}\text{C}]$ penicillin G ( $[^{14}\text{C}]$ PCG: Amersham  $50\mu\text{Ci}/\mu\text{mole}/\text{ml}$ )との競合結合実験から検討した。すなわち200mlのL-broth中で37°C4時間振盪培養した菌細胞を集め、BRANSON sonifierで細胞を破壊した後、その $3,000\times\text{g}$ 10分遠心上清を $100,000\times\text{g}$ 30分超遠心を行い膜画分を得た。それを10mM  $\text{MgCl}_2$ を含む0.05Mのリン酸緩衝液 (pH 7.0)に浮遊し、10~15mg protein/mlになるように調製した。これに3 $\mu\text{l}$ のFK037またはCPR溶液を加え、最終濃度0.1~800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように調製し、30°C10分間反応した。さらに3 $\mu\text{l}$ の $[^{14}\text{C}]$ PCGを添加し30°C10分間反応した。Sarkosylで内膜を溶かし、 $10,000\times\text{g}$ 30分の遠心で外膜等不溶成分を除き、その全量をacrylamide平

板電気泳動にかけた。*S. aureus*には分離ゲルとして8% acrylamide-0.06% bis-acrylamide組成のものを、グラム陰性菌には10% acrylamide-0.06% bis-acrylamide組成のものを使用した。電気泳動終了後、メタノールと酢酸で蛋白を固定しゲルを水洗した後、増感剤を染みこませ乾燥してレントゲンフィルム (KODAK X-Omat)に密着して、カセット中で-80°C、20日間感光させた。

## 5 血清補体との協力的殺菌作用の検討

*E. coli* NIHJ JC2を被検菌とした。4本の10ml L-brothに約 $5\times 10^4$ CFU/mlになるように菌を接種した。1本目は対照、2本目にはそれぞれの菌の発育に影響を与えない補体の最高量 (0.75 U/ml)と20%非働化ヒト血清を、3本目には5時間後に接種時の50%に生菌数を低下させる濃度 ( $\text{ID}_{50}$ )のFK037を、4本目には補体、ヒト血清および $\text{ID}_{50}$ のFK037を加えた。37°Cで振盪培養を続けながら1.5, 3, 5, 24時間後に培養液の一部を取り、適当に希釈して平板法で生菌数を測定した。

## 6. マウス培養マクロファージとの協力的食菌殺菌作用

ICR♂6週齢マウスの腹腔を8mlの5% fetal calf serum加F12培地 (日水)で洗い腹腔マクロファージを採取した。同培地5mlに浮遊し、洗浄後 $10^6$ cells/mlの浮遊液を作った。カバースリップを沈めた24穴FALCON multi-dishの各wellに細胞浮遊液0.1mlを接種し、5%CO<sub>2</sub>存在下で30分静置後、同培地を1mlずつ加え、一夜CO<sub>2</sub>培養した。翌日培地を除き、20%L-CM (conditioned medium L-929)<sup>7)</sup>加F12培地1mlと交換し、2時間CO<sub>2</sub>培養を行ってマクロファージを活性化した。L-broth中に37°C一夜振盪培養した*E. coli* NIHJ JC2菌液を適当に希釈し、マクロファージの50倍量 ( $5\times 10^5$ cells/well)になるように接種した。一部のwellにはFK037を1~1/16MICになるように加えて5時間培養を続けた。カバースリップを取り出し、Saline Gで洗浄しメタノール固定してGiemsa染色を行い顕像を撮影した。

## II. 成績

### 1. 試験管内抗菌力

FK037の試験管内抗菌力を、21菌種の18~64臨床分離株に対し検討した (Table 1)。

MSSA 19株に対するFK037のMIC<sub>90</sub>は0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でCPRやFMOXのそれと同等の抗菌力を示した。軽度耐性MRSAに対しては、FK037はMIC<sub>90</sub>が25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でCPRやFMOXより2~4倍強い抗菌力を示した。高度耐性MRSA 64株に対しても、FK037

Table 1. Antibacterial activities of FK037 and reference drugs against clinical isolates

Organism (No. of strain)	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	80%
Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (19)	FK037	0.78 ~ 3.13	0.78	0.78
	Cefpirome	0.39 ~ 6.25	0.78	0.78
	Flomoxef	0.39 ~ 6.25	0.39	0.78
Low-level methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (47)	FK037	3.13 ~ 50	12.5	25
	Cefpirome	1.56 ~ >100	25	100
	Flomoxef	1.56 ~ >100	6.25	50
	Methicillin	6.25 ~ >100	25	>100
High-level methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (64)	FK037	3.13 ~ 50	25	25
	Cefpirome	3.13 ~ >100	50	100
	Flomoxef	0.39 ~ >100	50	100
	Cefuzonam	0.78 ~ >100	100	>100
	Ceftazidime	25 ~ >100	>100	>100
Coagulase-negative staphylococci (44)	FK037	0.05 ~ >100	1.56	12.5
	Cefpirome	0.025 ~ >100	0.78	6.25
	Flomoxef	0.05 ~ 100	3.13	25
	Cefuzonam	0.05 ~ >100	0.78	6.25
	Ceftazidime	3.13 ~ >100	12.5	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> (50)	FK037	$\leq 0.013 \sim 0.05$	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$
	Cefpirome	$\leq 0.013 \sim 0.05$	$\leq 0.013$	0.05
	Flomoxef	0.1 ~ 6.25	0.2	0.2
	Cefuzonam	$\leq 0.013 \sim 0.05$	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$
	Ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (24)	FK037	$\leq 0.013 \sim 0.1$	$\leq 0.013$	0.025
	Cefpirome	$\leq 0.013 \sim 0.1$	0.025	0.025
	Flomoxef	0.1 ~ 0.78	0.2	0.39
	Ceftazidime	0.2 ~ 3.13	0.39	0.39
<i>Escherichia coli</i> CS2 (R <sup>+</sup> ) (51)	FK037	$\leq 0.013 \sim 0.1$	0.025	0.05
	Cefpirome	$\leq 0.013 \sim 0.2$	0.05	0.05
	Flomoxef	0.025 ~ 0.39	0.05	0.1
	Cefuzonam	$\leq 0.013 \sim 0.2$	0.05	0.05
	Ceftazidime	$\leq 0.013 \sim 0.2$	0.05	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (50)	FK037	$\leq 0.013 \sim 6.25$	0.05	0.39
	Cefpirome	$\leq 0.013 \sim 3.13$	0.05	0.78
	Flomoxef	0.05 ~ 25	0.05	0.39
	Cefuzonam	0.025 ~ 6.25	0.1	3.13
	Ceftazidime	0.025 ~ 1.56	0.2	0.78
<i>Proteus mirabilis</i> (48)	FK037	$\leq 0.013 \sim 0.1$	0.05	0.05
	Cefpirome	0.025 ~ 0.2	0.05	0.1
	Flomoxef	0.1 ~ 0.78	0.2	0.2
	Cefuzonam	0.025 ~ 0.1	0.1	0.1
	Ceftazidime	0.05 ~ 0.1	0.1	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> (54)	FK037	0.025 ~ 3.13	0.1	0.2
	Cefpirome	0.025 ~ 12.5	0.2	0.39
	Flomoxef	0.2 ~ 0.78	0.39	0.39
	Ceftazidime	0.05 ~ 0.78	0.05	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> (51)	FK037	$\leq 0.013 \sim 50$	1.56	6.25
	Cefpirome	$\leq 0.013 \sim 25$	1.56	3.13
	Flomoxef	0.025 ~ >100	1.56	6.25
	Ceftazidime	0.05 ~ 25	3.13	>100
<i>Morganella morganii</i> (50)	FK037	$\leq 0.013 \sim 3.13$	0.05	0.1
	Cefpirome	0.025 ~ 0.2	0.05	0.1
	Flomoxef	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
	Cefuzonam	$\leq 0.013 \sim 6.25$	0.2	1.56
	Ceftazidime	0.05 ~ 25	0.2	3.13

Table 1. Continued.

Organism (No. of strain)	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	80%
<i>Serratia marcescens</i> (50)	FK037	0.05 ~ >100	0.1	1.56
	Cefpirome	0.025 ~ >100	0.05	1.56
	Flomoxef	0.2 ~ >100	0.78	50
	Cefuzonam	0.1 ~ >100	0.39	12.5
	Ceftazidime	0.78 ~ >100	0.2	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> (50)	FK037	0.025 ~ >100	3.13	12.5
	Cefpirome	0.025 ~ >100	3.13	6.25
	Flomoxef	0.2 ~ >100	>100	>100
	Cefuzonam	0.05 ~ >100	25	100
	Ceftazidime	0.1 ~ >100	25	100
<i>Citrobacter freundii</i> (50)	FK037	0.025 ~ 50	0.39	3.13
	Cefpirome	$\leq 0.013$ ~ 50	0.39	1.56
	Flomoxef	0.05 ~ >100	6.25	100
	Cefuzonam	0.1 ~ >100	3.13	25
	Ceftazidime	0.2 ~ >100	3.13	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	FK037	0.78 ~ >100	6.25	25
	Cefpirome	0.39 ~ 100	6.25	12.5
	Flomoxef	100 ~ >100	>100	>100
	Cefuzonam	3.13 ~ >100	50	>100
	Ceftazidime	0.78 ~ >100	3.13	25
<i>Pseudomonas cepacia</i> (33)	FK037	6.25 ~ >100	12.5	25
	Cefpirome	3.13 ~ >100	6.25	12.5
	Flomoxef	50 ~ >100	100	100
	Cefuzonam	3.13 ~ 12.5	6.25	12.5
	Ceftazidime	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (48)	FK037	3.13 ~ >100	>100	>100
	Cefpirome	6.25 ~ >100	100	100
	Flomoxef	25 ~ >100	>100	>100
	Cefuzonam	0.78 ~ 100	12.5	50
	Ceftazidime	0.2 ~ >100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (49)	FK037	0.39 ~ 100	6.25	25
	Cefpirome	0.39 ~ 100	3.13	25
	Flomoxef	6.25 ~ >100	100	>100
	Ceftazidime	0.1 ~ 100	6.25	25
Ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> (18)	FK037	0.05 ~ 0.39	0.05	0.1
	Cefpirome	0.025 ~ 0.1	0.1	0.1
	Flomoxef	0.39 ~ 1.56	0.78	0.78
	Cefuzonam	$\leq 0.013$ ~ 0.05	0.025	0.025
	Ceftazidime	0.1 ~ 0.78	0.2	0.78
<i>Bacteroides fragilis</i> (38)	FK037	12.5 ~ >100	25	>100
	Cefpirome	1.56 ~ >100	25	>100
	Flomoxef	0.39 ~ >100	0.78	12.5
	Cefuzonam	0.78 ~ >100	3.13	50

は被検薬剤中最も優れた抗菌力を示し、そのMIC<sub>80</sub>は25  $\mu\text{g/ml}$ でCPRやFMOXのそのの4倍以上低い値だった。CNS 44株に対しては、FK037のMIC<sub>80</sub>値はFMOXより1管優れた値だったが、CPRやCZONよりは1管劣る成績だった。S. pyogenes 50株に対してFK037はCZON同様優れた抗菌力を示し、そのMIC<sub>80</sub>は $\leq 0.013$   $\mu\text{g/ml}$ だった。S. pneumoniae 24株

に対するFK037のMIC<sub>80</sub>は0.025  $\mu\text{g/ml}$ でCPR同様強い抗菌力を示した。

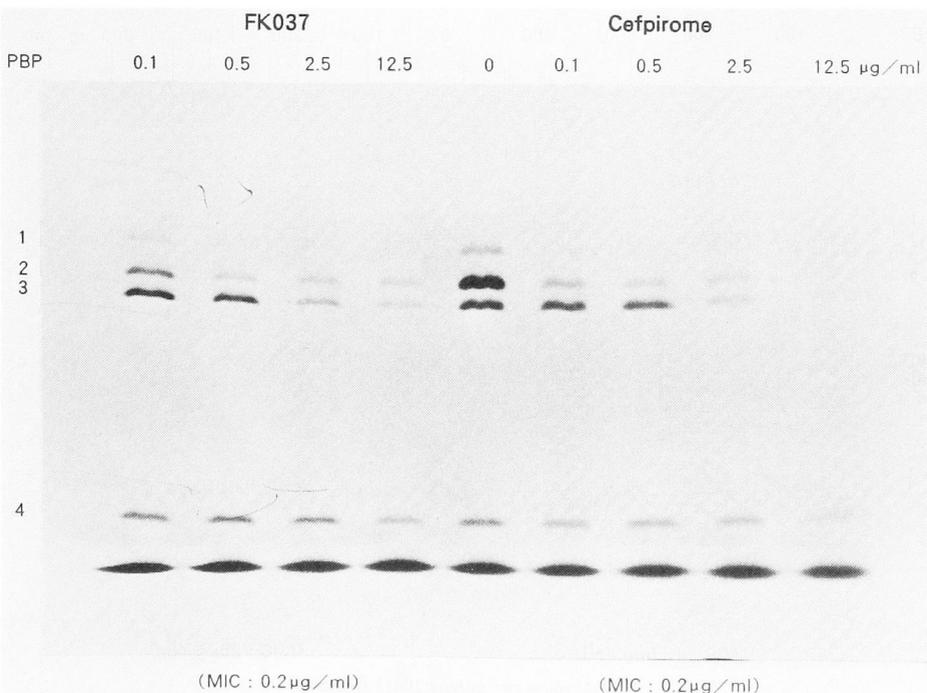
E. coli CS 2株に野外から得られた種々のR plasmidを接合伝達したE. coli (R+) 51株に対しては、FK037は全株0.1  $\mu\text{g/ml}$ で増殖を抑え、被検薬剤中最も強い抗菌力を示した。K. pneumoniae 50株に対してもFK037は優れた抗菌力を示し、そのMIC<sub>80</sub>は0.39

$\mu\text{g/ml}$  だった。*P. mirabilis* 48 株に対しては、FK037 は  $0.1 \mu\text{g/ml}$  で全株の増殖を抑え、優れた抗菌力を示した。*P. vulgaris* 54 株に対しては、FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $0.2 \mu\text{g/ml}$  で CAZ より 1 管劣る成績だったが、他剤よりは優れていた。*P. rettgeri* 51 株に対しては、FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $6.25 \mu\text{g/ml}$  で FMOX とほぼ同等だった。*M. morgani* 50 株に対しては、FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $0.1 \mu\text{g/ml}$  で CPR と同等で他剤より優れた抗菌力だった。*S. marcescens* 50 株に対しても FK037 は CPR と同様優れた抗菌力を示し、その  $\text{MIC}_{80}$  は  $1.56 \mu\text{g/ml}$  だった。*E. cloacae* 50 株に対しては、FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $12.5 \mu\text{g/ml}$  で CPR より 1 管劣った成績だったが、他剤より優れていた。*C. freundii* 50 株に対しても同様に FK037 は CPR より 1 管劣る成績だったが他剤より優れていた。*P. aeruginosa* 50 株に対しては FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $25 \mu\text{g/ml}$  で CAZ と同等で CPR より 1 管劣る結果だった。*P. cepacia* 33 株に対しては FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $25 \mu\text{g/ml}$  で CPR, CZON, CAZ より 1~3 管劣る成績だった。*X. maltophilia* 48 株に対する FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $100 \mu\text{g/ml}$  以上で他剤同様抗菌力は期待できない。*A. calcoaceticus* 49 株に対する FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $25 \mu\text{g/ml}$  で CPR

や CAZ と同等であった。ABPC 耐性 *H. influenzae* 18 株に対しては、FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $0.1 \mu\text{g/ml}$  で CPR と同等で、CZON より 2 管劣るが CAZ や FMOX より優れた成績だった。*B. fragilis* 38 株に対しては、FK037 の  $\text{MIC}_{80}$  は  $100 \mu\text{g/ml}$  以上で CPR 同様、抗菌力は弱かった。

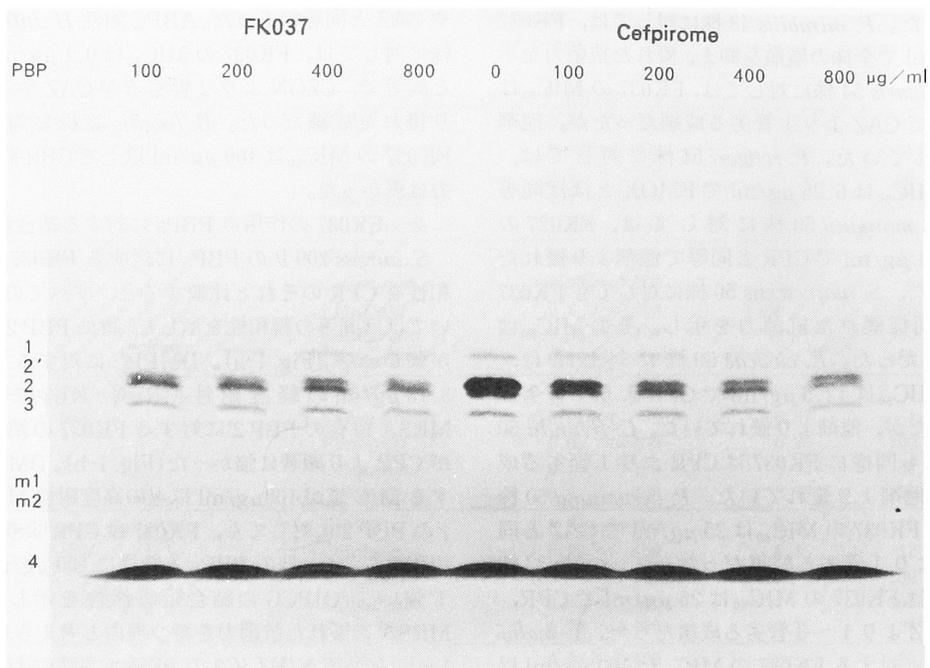
## 2 FK037 の作用点 PBP<sub>s</sub> に対する結合親和性

*S. aureus* 209 P の PBP<sub>s</sub> に対する FK037 の結合親和性を CPR のそれと比較すると、すべての画分についてほぼ同等の親和性を示した。特に PBP 2 に親和性が強かった (Fig. 1-a)。DMPPC に対する  $\text{MIC}$  値が  $3.13 \mu\text{g/ml}$  の軽度耐性 MRSA KL2 では、特に MRSA 特有の PBP 2' に対する FK037 の結合親和性が CPR より顕著に強かった (Fig. 1-b)。DMPPC に対する  $\text{MIC}$  値が  $100 \mu\text{g/ml}$  以上の高度耐性 MRSA 108-1 の PBP 2' に対しても、FK037 は CPR より強い結合親和性を示し、他の PBP<sub>s</sub> と同様に  $100 \mu\text{g/ml}$  の添加で強い [ $^{14}\text{C}$ ]PCG の結合阻害活性を示し、本剤が MRSA に優れた抗菌力を持つ理由と考えられた (Fig. 1-c)。*E. coli* NIHJ JC2 の PBP<sub>s</sub> に対しては、CPR とほぼ同等の結合親和性を示し、特に PBP 3 に最も親和性が高かった (Fig. 1-d)。*S. marcescens* 13 の PBP<sub>s</sub> に



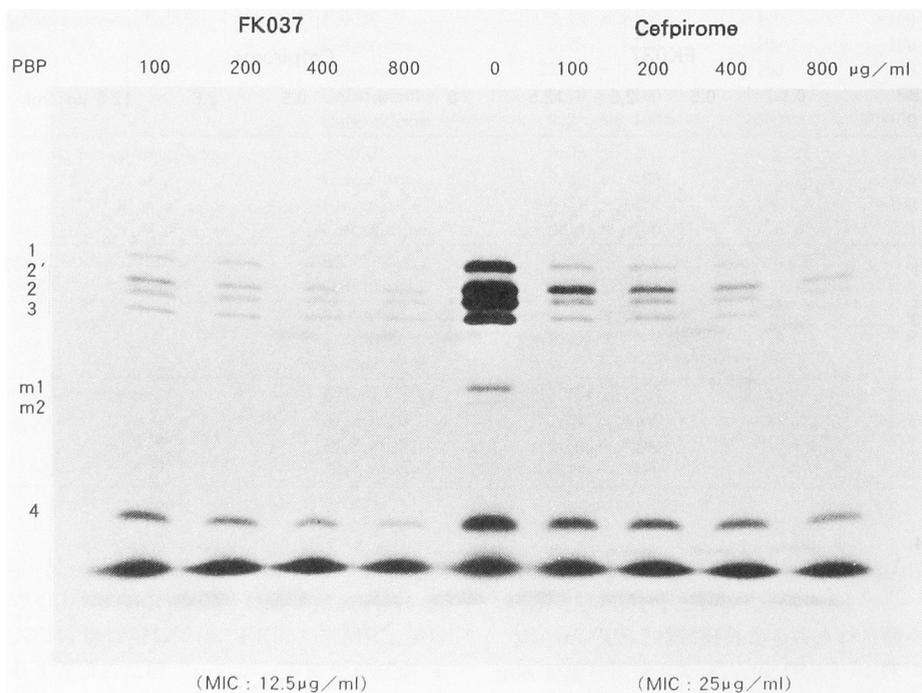
a: *Staphylococcus aureus* 209P

Fig. 1. Competition of FK037 and cefpirome for penicillin-binding proteins



(MIC : 1.56µg/ml)

(MIC : 6.25µg/ml)

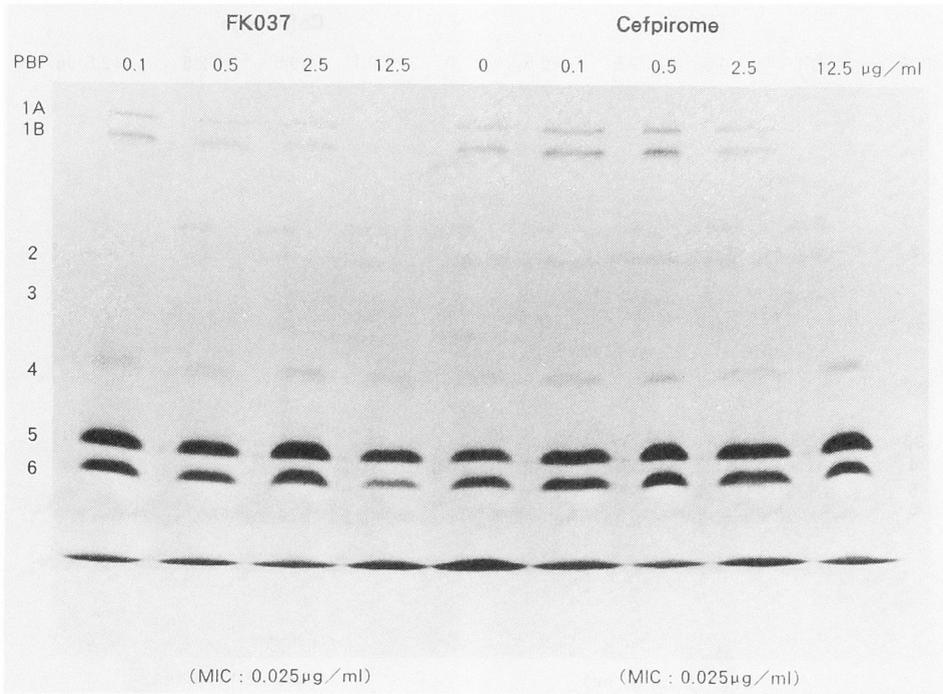
b : *Staphylococcus aureus* KL2 (MRSA)MRSA : methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

(MIC : 12.5µg/ml)

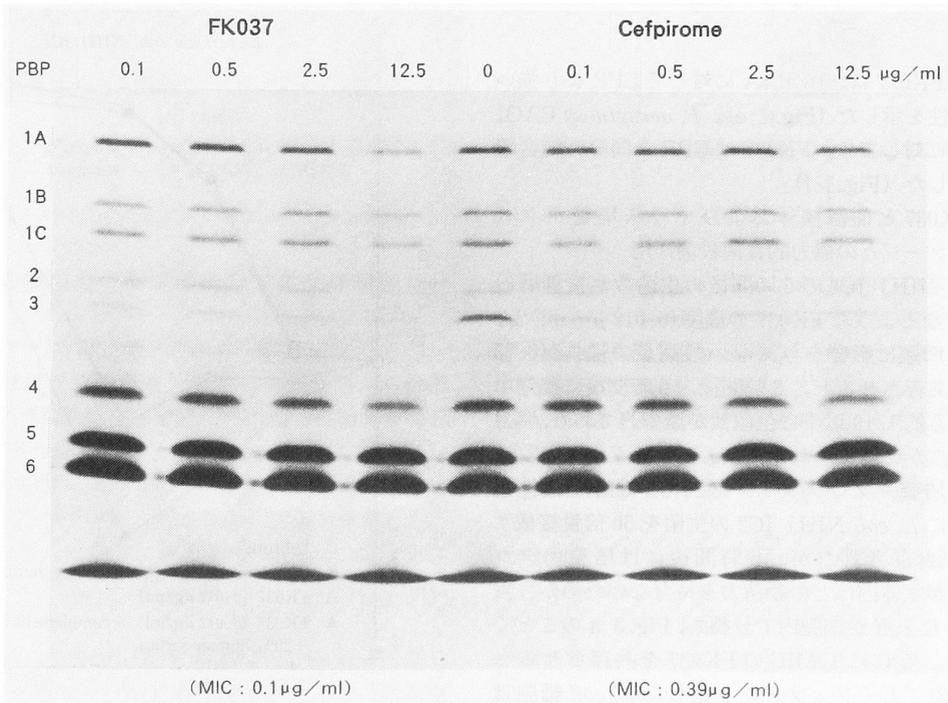
(MIC : 25µg/ml)

c : *Staphylococcus aureus* 108-1 (MRSA)MRSA : methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Fig. 1. Competition of FK037 and cefpirome for penicillin-binding proteins

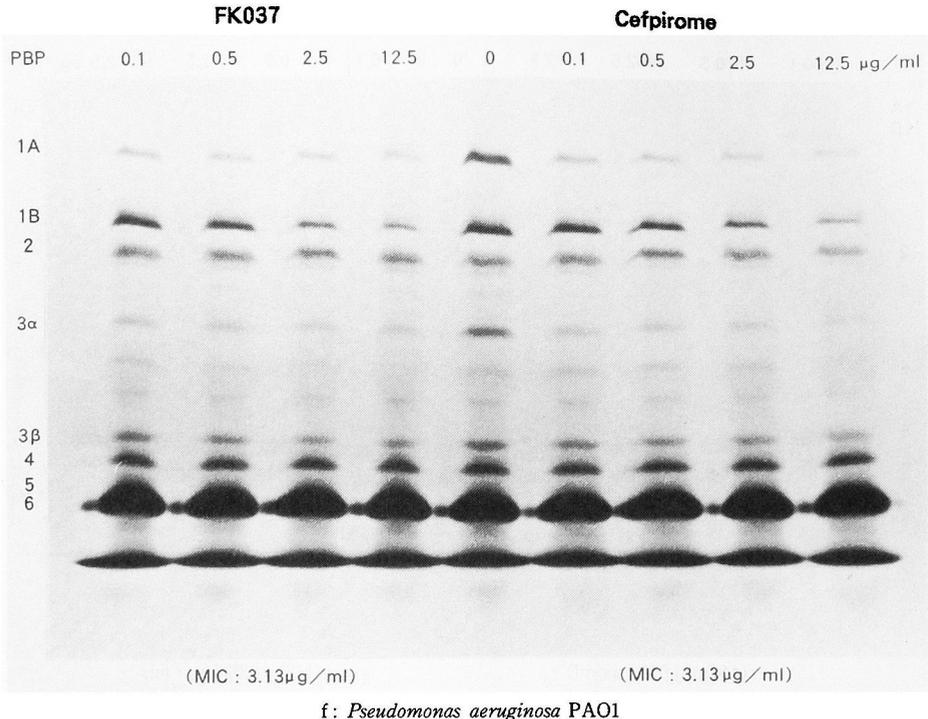


d: *Escherichia coli* NIHJ JC2



e: *Serratia marcescens* 13

Fig. 1. Competition of FK037 and cefpirome for penicillin-binding proteins



f: *Pseudomonas aeruginosa* PAO1  
 Fig. 1. Competition of FK037 and cefpirome for penicillin-binding proteins

対してはFK037は、PBP 1A に対して CPR より強い結合親和性を示した (Fig. 1-e)。 *P. aeruginosa* PAO1 の PBP s に対しては、FK037 は CPR と同等の結合親和性を示した (Fig. 1-f)。

3 FK037 と血清補体およびマウス培養マクロファージとの協力的食菌殺菌作用

*E. coli* NIHJ JC2 の 5 時間後の生菌数が接種時の約 50% になるような FK037 の濃度 (0.012 µg/ml) と、この菌の増殖に影響を与えない最高量の補体 (0.75 U/ml) を共存させると、3 時間後、5 時間後に薬剤単独時よりも約 1/10 以下に生菌数が減少しており、協合作用が明らかに認められた (Fig. 2)。

マウス培養マクロファージを 20% L-CM で活性化し、それに *E. coli* NIHJ JC2 の生菌を 50 倍量接種すると良く食菌されたが、5 時間後には培養マクロファージが生体内ほどの殺菌力を持たないためか、食菌された *E. coli* が細胞内で分裂し、Fig. 3-a のごとく遊出した。これに 1 MIC の FK037 を共存させると Fig. 3-b のごとくフィラメント化した *E. coli* 細胞は良く食菌消化され、消化の終わった食空胞も見られた。1/2 MIC 存在下でもマクロファージとの協合作用は認められたが (Fig. 3-c)、1/4 MIC 共存下ではマクロ

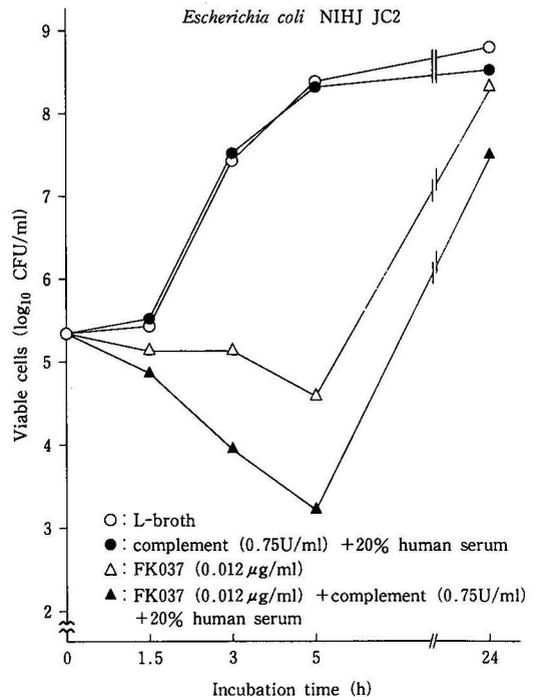


Fig. 2. Influence of serum complement on the bactericidal activity of FK037 at ID<sub>50</sub> (0.012 µg/ml) against *Escherichia coli* NIHJ JC2

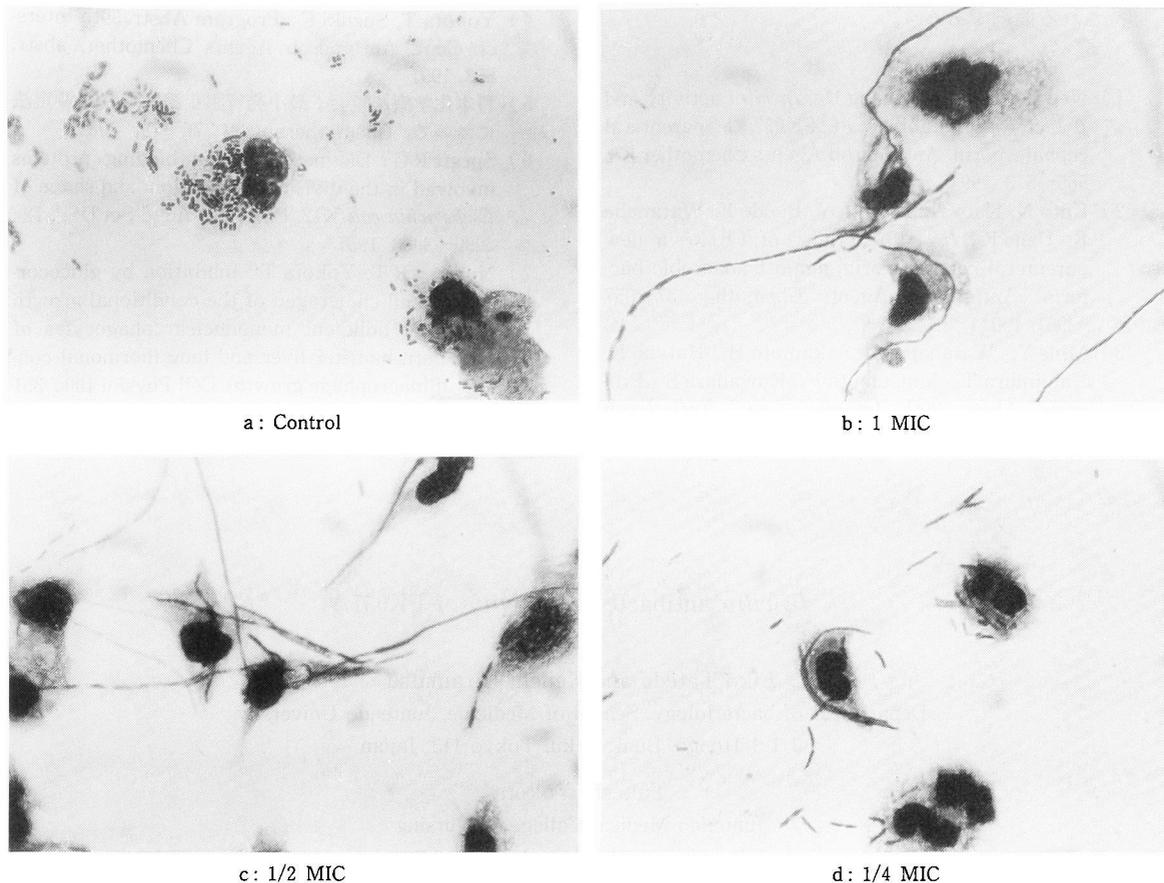


Fig. 3. Phagocytosis of *Escherichia coli* NIHJ JC2 by mouse cultured macrophages in the absence of FK037 or presence of 1~1/4 MIC of FK037

ファージの殺菌力と菌の増殖力とがほぼ平行した (Fig. 3-d)。

### III. 考 察

FK037 はブドウ球菌を含むグラム陽性菌から緑膿菌を含むグラム陰性菌まで幅広く、強い抗菌力を有した。特にブドウ球菌に対しては、MSSA では FK037 は CPR や FMOX と同等の抗菌力だったが、MRSA に対しては既存のセフェム剤より強い抗菌力を有した。MIC<sub>80</sub> で比較した場合、軽度耐性 MRSA、高度耐性 MRSA とともに FK037 は対照薬より 2~8 倍以上強い抗菌力を示した。

FK037 は *S. aureus* 209 P の PBP 1, 2, 3, 4 に対して CPR とほぼ同等の結合親和性を示したが、軽度耐性 MRSA KL2 および高度耐性 MRSA 108-1 において、MRSA 特有の PBP 2' に対して CPR より強い結合親和性を有し、本剤が MRSA に優れた抗菌力を示す

理由と考えられた。

グラム陰性菌に対しては、FK037 は CPR とほぼ同等の優れた抗菌力を示した。

FK037 は *E. coli* NIHJ JC2, *S. marcescens* 13, *P. aeruginosa* PAO1 の PBP 画分に対して CPR とほぼ同等の結合親和性を示した。特に *E. coli* NIHJ JC2, *S. marcescens* 13 においては PBP 3 に最も親和性が高かった。

FK037 は *E. coli* に対し、低濃度で血清補体との協力作用が明らかに認められた。マウス培養マクロファージとは 1/4 MIC 以上の本剤存在下で協力作用が認められ、その強さは他のセフェム剤とほぼ同等だった。

以上の結果より、FK037 は幅広い抗菌力を示し、MRSA にも既存のセフェム剤より優れた抗菌力を有することから、今後多くの感染症において臨床効果の

期待される薬剤であろう。

### 文 献

- 1) Neu H C, Chin N, Huang H: *In vitro* activity and  $\beta$ -lactamase stability of FK037, a parenteral cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 566~573, 1993
- 2) Kato N, Kato H, Tanaka Y, Bando K, Watanabe K, Ueno K: *In vitro* activity of FK037, a new parenteral cephalosporin, against anaerobic bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 957~961, 1993
- 3) Mine Y, Watanabe Y, Sakamoto H, Hatano K, Kamimura T, Matsumoto F, Kuwahara S: Program Abstr. 30th Intersci. Conf. Antimicrob Agents Chemother, abstr. 849, 1991
- 4) Yokota T, Suzuki E: Program Abstr. 30th Intersci. Conf. Antimicrob Agents Chemother, abstr. 853, 1991
- 5) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 6) Spratt R G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K12. *Proc Nat Acad Sci USA* 72: 2999~3003, 1975
- 7) Nozawa R T, Yokota 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

### *In vitro* antibacterial activity of FK037

Eiko Tateda and Keiichi Hiramatsu

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

Takeshi Yokota

Juntendo Medical College of Nursing

FK037 is an oxime-type cephem antibiotic possessing 1-hydroxyethyl-5-amino-pyrazole moiety at the 3 position. MIC<sub>80s</sub> of FK037 against clinical isolates of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) (19strains), low-level methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) (47), high-level MRSA (64), coagulase-negative staphylococci (CNS) (44), *Streptococcus pyogenes* (50), *Streptococcus pneumoniae* (24), *Escherichia coli* CS2 (R+) (51), *Klebsiella pneumoniae* (50), *Proteus mirabilis* (48), *Proteus vulgaris* (54), *Providencia rettgeri* (51), *Morganella morganii* (50), *Serratia marcescens* (50), *Enterobacter cloacae* (50), *Citrobacter freundii* (50), *Pseudomonas aeruginosa* (50), *Pseudomonas cepacia* (33), *Xanthomonas maltophilia* (48), *Acinetobacter calcoaceticus* (49), ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (18), *Bacteroides fragilis* (38) were 0.78, 25, 25, 12.5,  $\leq 0.013$ , 0.025, 0.05, 0.39, 0.05, 0.2, 6.25, 0.1, 1.56, 12.5, 3.13, 25, 25, >100, 25, 0.1, >100  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. FK037 provided almost the same activity for MSSA as cefpirome (CPR) and flomoxef (FMOX). However, the drug had 2 to 8 times stronger anti-MRSA activity for both low-level and high-level strains than CPR and FMOX.

FK037 had the same binding affinity to PBPs 1, 2 and 3 of *S. aureus* 209P as CPR, but showed higher affinity to PBP 2' of low- and high-level MRSA strains than CPR. The binding affinity of FK037 to PBPs of *E. coli* NIHJ JC2 and *P. aeruginosa* PAO1 was the same level as that of CPR.

FK037 exhibited a strong synergy of bactericidal effect with the complement on *E. coli* NIHJ JC2 at rather low concentrations. Cultured mouse macrophages engulfed well and easily digested *E. coli* cells in the presence of higher concentrations than 1/4 MIC of FK037.

FK037 is a useful chemotherapeutic for infections by gram-positive and gram-negative bacteria including some strains of MRSA, if its pharmacokinetics in humans are good.