

## 第42回日本化学療法学会総会

会期: 平成6年6月10日~11日

会場: 福岡電気ホール, 福岡電気ビル, オテルニューオータニ博多

会長: 熊澤浄一 (九州大学医学部泌尿器科)

## 宿題報告

びまん性汎細気管支炎に対する  
マクロライドの作用機序

小林宏行

杏林大学第一内科

はじめに

1969年, 山中ら<sup>1)</sup>は病理学的検索からびまん性汎細気管支炎という概念を提唱し, 以来臨床例の集積とその形態学的検索が積み重なり, 1983年, 本疾患は本間ら<sup>2)</sup>により Diffuse Panbronchiolitis DPB の名のもとに国際的にも紹介されるに至った。当初本症の予後は悪く, その5年生存率は緑膿菌喀出例で8%であった<sup>3)</sup>。

一方, 本症に対するエリスロマイシン EM の効果が, 一実地医家故宮澤博士 (松本市で開業) によるわずか1例の偶然の臨床経験に端を発するものである。この効果が工藤ら<sup>4)</sup>澤木ら<sup>5)</sup>によって確認され, 1991年山本ら<sup>6)</sup>の厚生省班研究での二重盲検比較試験によって本治療法の有用性が確立された。さらに同様な14員環マクロライドであるクラリスロマイシン CAM の臨床効果も報告され<sup>7)</sup>, 近年15員環マクロライドであるアジスロマイシン AZM での効果も確認されつつあるといえよう。このようなDPBに対する有効性は16員環マクロライドにはみられず, 14および15員環に特異的であることも知られるに至った。

しかしながら, 本治療法の有用性は臨床経験が先行した反面, その作用機序は未だ不明確であり, ここに熊澤会長が宿題を下命した理由があるわけであろう。

1. マクロライドの Side action に関するこれまでの研究

DPB に対する臨床効果を契機として, いわゆるマクロライドの Side action に関する研究が活発になってきた。これらを要約すると, 気道細胞に対する作用, 抗炎症作用, 抗細菌学的作用に大別される。いずれの業績もマクロライド作用の究明という点ではそれぞれ立派なものであるが, こと DPB に対する作用機序となるとその説得性になお距離を余すものであった。

すなわち, これら研究の多くはまずマクロライドを起

点とし, その作用を分析し, 得られた結果を実際の DPB におこっていると思われる現象に結びつけるという帰納法をとっており, またとらざるを得なかったわけでもあった。その理由は, DPB が原因不明の疾患で実験モデル作製も困難であることがまず挙げられよう。したがって, このようなマクロライドを焦点とした分析的方法は, 個々の研究が詳細になればなる程, DPB との関連が反比例的にわからなくなってしまうわけであった。

そこで, 著者らは DPB の病態をまず母核とし, その範疇におけるマクロライド, とくに14および15員環マクロライドに特有な効果に焦点を絞り, 本研究の過程を進めることにした。

## 2. DPB の病態分析

## 1) 臨床的解析

このような背景から著者がまず最初に手をつけた仕事は, DPB の病態そのものをもう一度再検討することであった。その観点は, DPB 自体は原因不明の疾患であるが, 実際に臨床上遭遇する DPB はこれに慢性持続感染が伴ったものが多いという特徴がみられている。そのような角度から, 手持ちの症例における個々の所見について因子分析を行った。DPB に特異的という角度から比重が軽い因子を順次消去すると, 最終的に細菌学的にはムコイド型緑膿菌, 形態学的には細気管支周囲のリンパ球集積, 症候学的には好中球増加を伴う気道内分泌物が重要な因子として残存した。今これら各々の因子の関連性を求めると (Fig. 1), 各因子は一見して無関係であることが示された。すなわち, ムコイド型緑膿菌と好中球との干渉作用はきわめて乏しく, その特異性を見出すことは不可能であるばかりか, むしろ両者の関連は否定的でもあった。またムコイド型緑膿菌とリンパ球浸潤



Fig. 1. 感染性 DPB の特徴 (因子分析から)

の関連も不明であり、ましてや気道周辺のリンパ球浸潤と気道分泌物中の好中球浸潤に至ってはその関連性はさっぱりわからないというのが現実であった。しかしながら、これら3つの因子は実際のDPBにおいては気道末梢部という同一の場で、しかも時期を同じくしてみられる現象である。したがって、これら因子相互の関連を説明することは、DPBの病態を把握するのみならず、本症に対するマクロライド作用の解明につながるものであるとの仮説に強く固執し、以下の検索を行った。

## 2) アルギネートによる免疫反応

DPBでは長期にムコイド型菌が存在するという臨床的事実から、ムコイド型菌が産生するアルギネートにまず注目した。つまり、ムコイドの長期局在に対して生体は必ず何かの反応を示すという考えからの生体側反応の観察である。実際のDPB症例でとくに緑膿菌を有する例において血清中抗アルギネート抗体価は高値であった。またこの場合の緑膿菌陰性例の多くはすでにCAMが使用され菌陰性化したものであった。この傾向は気管支拡張症でも同様であった。(Fig. 2)。

そこで、これら抗アルギネート抗体の臨床的意義を知る目的で、あらかじめアルギネートで免疫したマウスに対して緑膿菌 (PT 1252 株) の噴霧感染を行うと、末梢気道領域に著明なリンパ球浸潤が出現し (Fig. 3)、さらに感染を反復することによりこれらリンパ球浸潤は長期に持続し、終局的に forming cell を伴った肉芽腫形成がみられるようになった。また気道内腔はこれら肉芽腫により圧迫され変形し、さらには好中球を伴った半

ば器質化した分泌物の増加が示された (Fig. 4)。この所見はヒト DPB におけるそれときわめて類似したものである。この段階において、これら免疫マウスにおいてもアルギネートが抗原となり、気道末梢部で抗原抗体反応が発現し、持続感染による抗原刺激により肉芽腫形成を伴うリンパ球浸潤、また内腔への好中球浸潤がみられ

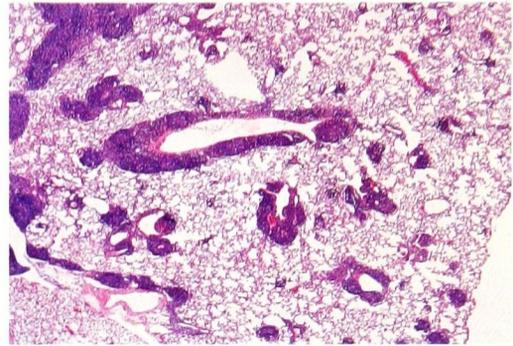


Fig. 3. Morphologic finding on the immunised mouse lung on 3 days after *P. aeruginosa* PT 1252 strain infection by inhalation. Immunised mouse was prepared by 4 times of intra-abdominal injection with 40 mg of alginate extracted from *P. aeruginosa* PT 1252 strain. Lymphocytes infiltration was appeared surrounding small airways and small vessels. This change began to note on 1st day after inhalation and continued for 3~4 weeks. It may be thought that the antigen-antibody reaction occurred between alginate and antialginate antibody on the level of small airway.

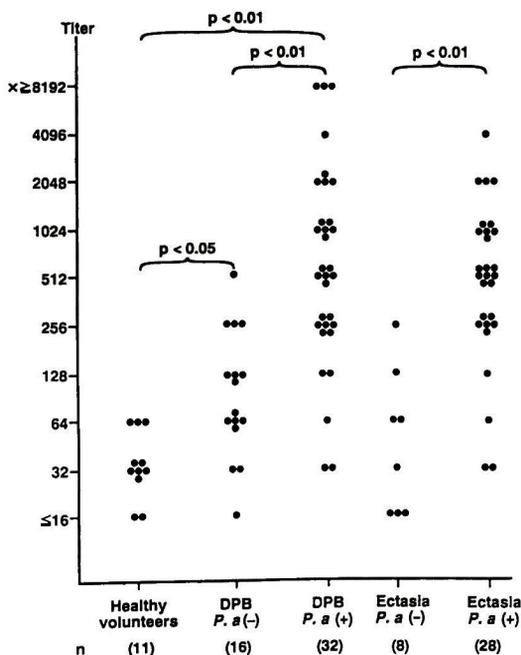


Fig. 2. Anti-alginate antibody (IgG).

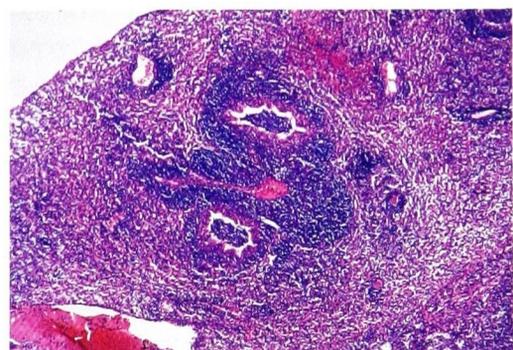


Fig. 4. Morphologic finding on the immunised mouse lung re-infected by *P. aeruginosa* PT 1252 strain. The lymphocyte cell infiltration became to stabilize and lymphocyte granuloma including plasma cells was formed. The neutrophils infiltration in organizing airway secretion was also seen in narrowing airway by the granuloma. It is quite alike that of the finding of human diffuse panbronchiolitis.

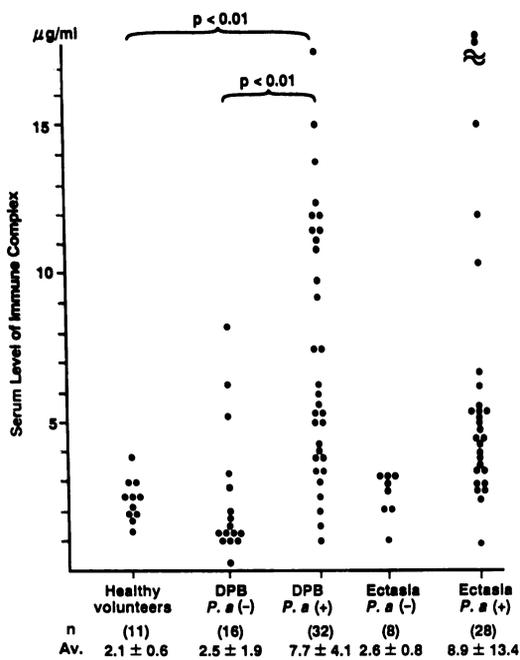


Fig. 5. Serum immune complex.

るといふ一連の過程が示された。

### 3) 免疫複合体の形成

感染持続による過剰な抗原刺激は生体内で免疫複合体を形成することが知られている。DPB 患者についても、とくに緑膿菌陽性例では血清中免疫複合体の増加がみられた (Fig. 5)。これら免疫複合体は臨床症状ともよく関連し、症状が顕著な例でより高値であり (Fig. 6) むしろ、臨床症状は免疫複合体により修飾されているものとも考えられた。実際 CAM 治療により免疫複合体が低下した例では臨床症状が好転し、反面、不変あるいは悪化例では免疫複合体の不変あるいは増加がみられた。

このような免疫複合体が末梢肺組織に沈着することにより、補体が活性化され、好中球が走化され、膿性分泌物の増加や組織破壊が招来されるものと考えられた。

### 4) 小括

以上、DPB の病態は、ムコイド型菌からのアルギネートが抗原となり、生体側で抗アルギネート抗体が産生され、さらに感染により抗原としてのアルギネートは末梢気道部で抗原抗体反応を呈し、その結果リンパ球集簇が発現する。さらに感染の持続や回復はこれら変化を助長し、肉芽腫形成による気道内腔の狭細化・変形を来す。一方、持続感染による抗原過剰は免疫複合体を形成し、その組織沈着により好中球が活性化付着し、結果的にこれら好中球による膿性分泌物の出現や組織破壊を呈することが示された。以上の成績により、DPB における慢性感染の病態が明確になったものと考え、以下これに対するマクロライドの作用機序について検討した。

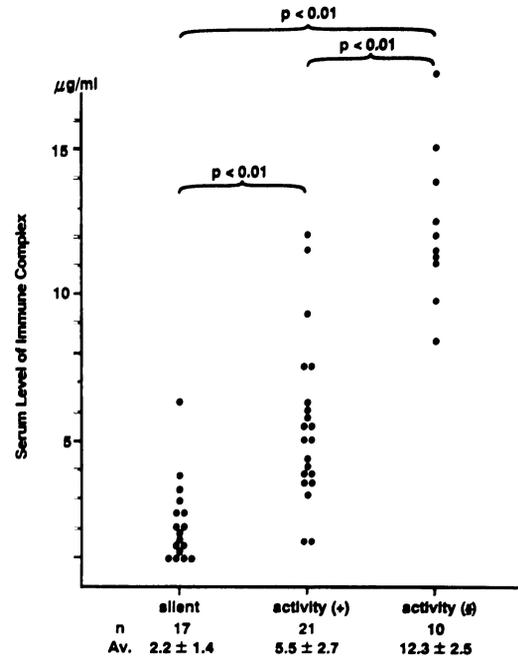


Fig. 6. Relation between serum-immune complex and symptom activity in DPB.

### 3. マクロライドの作用機序

まず強調したいのは、DPB に対するマクロライドの臨床効果は 14 員環および 15 員環マクロライドのみにみられ、16 員環のそれにはみられないということである。したがって、実験的検討には常にこの点を留意しなければならないわけである。

#### 1) 免疫反応に対する抑制作用

まず *in vitro* で抗原として緑膿菌 PT 1252 株より抽出したアルギネートを、また抗体としてこれらアルギネートで免疫したマウス血清を用い反応させ、その結果を ELISA 法で測定した。成績はセフトアム CTM および 16 員環マクロライドであるミデカマイシン MDM ではこれら反応は抑制されなかったが、EM, AZM ではこれら免疫反応に対する有意な抑制効果がみられた (Fig. 7)。この場合、抗原を WAKO 純薬製の市販のア

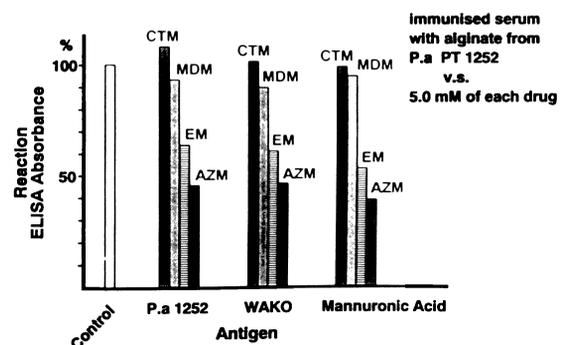


Fig. 7. Inhibitory effect on antigen-antibody reaction.



Fig. 8. Morphologic finding of the immunised mouse lung that was pre-treated with 10 mg of azithromycin (AZM) for 4 days before *P. aeruginosa* PT 1252 strain inhalation. The lymphocyte infiltration on periairway or perivascular area seemed to be inhibited comparing with non-treated animals. The *in vivo* inhibitory effect of AZM on lymphocytes infiltration was attested by BALF examination showing in next result (Fig. 9).

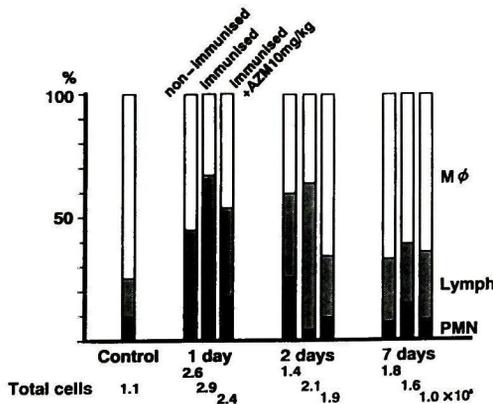


Fig. 9. Changes in BALF-cells by  $10^6$ CFU/ml of *P. aeruginosa* PT 1252 inhalation.

ルギネート、またはマヌロン酸に置き換えても同様であった。またEM, AZMにみられた抑制効果は、これら薬剤と抗体をあらかじめincubateしたときのみみられることから、抗体に対する薬剤の競合性によるものと理解された。

次いで、*in vivo* 実験として、アルギネート免疫マウスにあらかじめAZM 10 mgを4日間前投与し、緑膿菌の噴霧感染を行い肺組織を観察した。末梢気道領域に集積するリンパ球浸潤は数においても密度においても非投与例のそれに比し、抑制されている傾向がみられた (Fig. 8)。この所見をさらに確認する目的でBALF中白血球分画を観察すると、非免疫マウスでは感染1日後好中球の軽度増加がみられたが、免疫マウスではリンパ

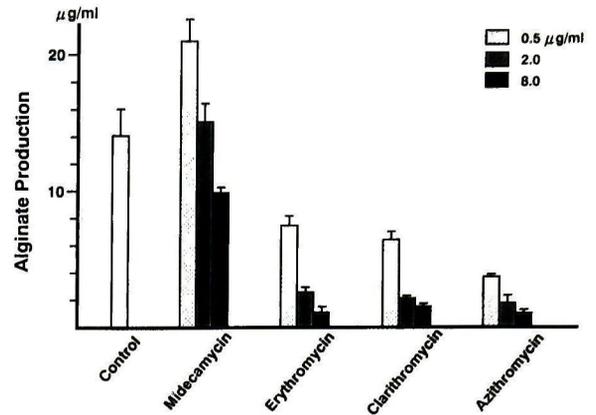


Fig. 10. Influence of macrolides on alginate production from mucoid *P. aeruginosa* 354 ( $10^9$ /ml).

球の著明増加が観察され、さらにAZM前投与群ではリンパ球増加が抑制されていることが示された。感染2日後にはAZM群ではリンパ球増加はもとに戻っていた (Fig. 9)。

これらBALFでの所見から、さきの組織反応は、*in vivo*における免疫反応をもAZMが抑制した結果と解することができよう。

## 2) アルギネート産生に対する作用

すでに述べた免疫反応における抗原となるアルギネート産生に対するマクロライド効果を観察した。ムコイド型緑膿菌PT1252株を用い各薬剤の作用を観察すると、16員環マクロライドのMDMではアルギネート産生抑制はみられなかったが、14員環のEM,CAMおよび15員環のAZMではともに量依存的に産生抑制がみられた (Fig. 10)。ここにも16員環と14および15員環マクロライドの差異が観察され、さらにこれら変化は他のムコイド株でも同様な成績であった。臨床的な問題として、アルギネートは喀痰の粘調性を増加し、喀出困難を招来することが考えられる。そこで、最小倍地にムコイド型緑膿菌を入れ、2週間培養すると倍地の粘調度はきわめて増加するが (Fig. 11 a)、これにAZMを添加し培養するとアルギネート産生は抑制され、倍地の粘調度は増加しなかった (Fig. 11 b)。このことは、AZMが気道分泌物の喀出を容易にし、臨床的に有意な効果をもたらす一因となると考えられた。

緑膿菌におけるアルギネート産生は、菌体内のフルクトース6リン酸から始まり、PMI, PMM, GMPなどの酵素系を経てこれが合成されることが知られている。これら各酵素活性について検索した結果、EM, AZMはアルギネート産生最終段階にあるGMD活性を阻害しアルギネート産生を抑制することが示された。しかしながら、16員環のMDM, RKM (ロキタマイシン)ではその活性阻害効果はみられなかった。すなわち、14員環、

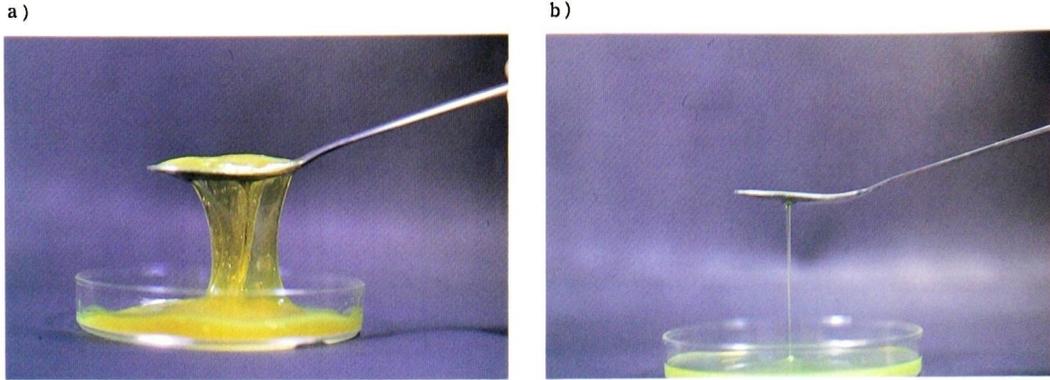


Fig. 11. A long term culture of mucoid *P. aeruginosa* PT 1252 in AP medium. 14 days after that, the viscosity of medium was remarked increased by alginate production (11-a). By adding 10  $\mu$ g of azithromycin (AZM), in contrary, the increase in viscosity was not observed by inhibitory effect of alginate-production by AZM (11-b). It is more likely to obtain a good effect in clinical patient by making easy to exclude the airway secretion.

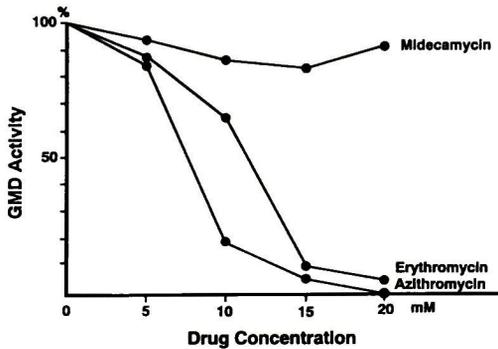


Fig. 12. Influence of macrolides on GMD activity.

15員環のみみられる特異的作用であることが判明した (Fig. 12)。

### 3) マクロライド構造活性の特異性

この時点で各マクロライドの構造式を新たにためて見直すと14員環および15員環と16員環の差異は側鎖の配置にあることがあげられる。すなわち、16員環では5位の側鎖に糖鎖が2つ連結していることであり、すなわち mycaminosa の先にもう一つの糖である mycarose が結合している。一方、アルギネート産生抑制作用がみられた14員環、15員環ではこの mycarose の部分に相当する糖 (cladinose) は3位に結合しており、mycaminosa (desosaminide) は5位で露出した構造を呈している。

そこで、16員環にみられる先端糖鎖である mycarose を切断した化合物について実験を試みた。すなわち、MDM から mycarose を切り離した CP 4305 を、同じく RKM から mycarose を切断した M-leuconolide を用い、緑膿菌アルギネート産生におよぼす影響を観察した。その結果、これら16員環マクロライドでも先端糖鎖を切り離し、mycaminose を露出しておけば、GMD

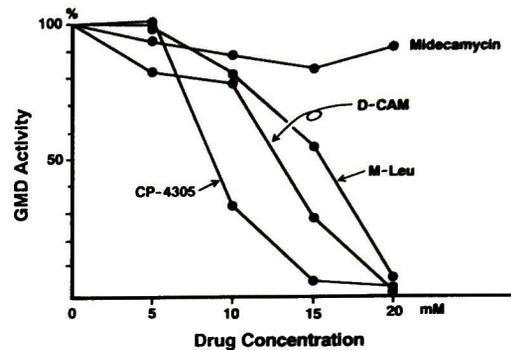


Fig. 13. Influence of macrolide derivatives on GMD activity.

酵素活性阻害効果が発現することが示された (Fig. 13)。また、もともと阻害効果がみられた14員環マクロライド CAM でも3位の側鎖を切断しても5位の糖鎖のみを残しておけば、その作用は維持されていることが示された。

これら成績から14員環、15員環マクロライドにみられたアルギネート産生抑制作用は、マクロライド環自体の構造特異性にもとづくものではなく、むしろ5位の結合している糖鎖の配置に依存しており、16員環でも先端糖鎖を除去すれば十分なアルギネート産生抑制が発現するものと考えられた。さらにこれら化合物は同時にバイオフィーム破壊作用も発現することが観察された。ここに現在ある14員環および15員環マクロライドのみが有するDPBに対する有効性の根拠が構造活性の上からも明らかになったものと考えられた。

おわりに

DPBの病態を慢性持続感染という角度から解明すると、もっとも重要なものはアルギネートを抗原とした過剰な抗原抗体反応と、その結果形成された免疫複合体で

あることがまず判明した。この病態と14員環, 15員環マクロライド作用を特異的に結ぶものは, アルギネートを背景とした免疫反応の抑制であり, さらに抗原となるアルギネート産生のGMD酵素レベルでの阻害効果である。また, これら作用に対するマクロライドの構造活性上の特異性も判明した。

この一連のプロセスは, 従来の諸家の報告とは全く異った視点からのアプローチであり, 得られた成績はまったくの新しい知見といえよう。しかしながら, 成績が新しいものゆえに解決しなければならない2, 3の問題もこの実験過程の上ですでに新しく生み出されている。

一方, DPBの疾患カテゴリーは, わが国で生まれ, その治療法はわが国で育ったものであり, 今日, 欧米においても本日とり上げられた「マクロライド療法」はCystic fibrosisを対象にはじめられている。かかる疾患に対するマクロライドの作用機序が, 私ども日本人の手によって, さらに幅を広げた型で解明されることを切望する次第である。

おわりに, 本宿題をご下命くださった熊澤浄一會長, および日頃何かとお世話になっている本学会会員各位に以下の協力研究者とともに深謝する。

協同研究者: 太田見宏, 椰野健司, 武田博明, 渡辺秀裕, 河合伸

なお, 本研究の遂行にあたっては上原記念生命科学財団の助成をいただいた。重ねて深謝する。

#### 文 献

- 1) 山中 晃, 齊木茂樹, 田村静夫, 他: 慢性気管支閉塞性疾患の問題—とくにびまん性汎細気管支炎について。内科23: 442, 1969
- 2) Homma H, Yamanaka A, Tanimoto S, et al: Diffuse panbronchiolitis. A disease of the transitional zone of the lung. Chest 83: 63, 1983
- 3) 中田紘一郎, 稲富恵子: 病理組織学的にびまん性汎細気管支炎と診断された症例に関する検討, 予後治療。厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班昭和56年度研究報告書。p 51, 1981
- 4) 工藤翔二, 植竹健司, 荻原弘一, 他: びまん性汎細気管支炎に対するエリスロマイシン少量長期投与の臨床効果に関する研究—4年間の治療成績。日胸疾患誌25: 632, 1987
- 5) 澤木政好, 三上理一郎, 三笠桂一, 他: 慢性下気道感染症におけるErythromycin長期化学療法の検討。感染症誌60: 37, 1986
- 6) 山本正彦, 他: DPBに対するエリスロマイシンの治療効果—二重盲検による検討—。厚生省特定疾患 びまん性肺疾患調査研究班 平成2年度研究報告書。p18, 1991
- 7) 武田博明, 三浦 洋, 小林宏行, 他: びまん性汎細気管支炎に対するTE-031長期投与の検討。感染症誌63: 71, 1989

#### 招 請 講 演 1

### Evolving Concepts in Bacterial Quinolone Resistance

David C. Hooper, M.D.

Associate Professor of Medicine Harvard Medical School and Infectious Disease Unit, Massachusetts General Hospital

With increasing clinical use of fluoroquinolones there has been increasing recognition of the occurrence of bacterial resistance to these agents. Quinolone resistance results from alterations in chromosomal genes, and the mechanisms of resistance have been studied most extensively in gram-negative bacteria such as *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. In these organisms, alterations in the drug target enzyme DNA gyrase have been found most frequently. This enzyme is composed of two subunits, GyrA and GyrB. Alterations in GyrA usually cause greater increases in resistance than the less frequent alterations in GyrB. The domains of GyrA and GyrB involved in quinolone resistance have been defined and are thought possibly to be in proximity to one another and to the site of DNA binding to the enzyme complex.

Resistance in gram-negative bacteria has also been associated with mutations in regulatory genes that affect the expression of outer membrane porin proteins that likely serve as diffusion channels for quinolones across the outer membrane. These resistance genes (in the *marRAB* operon of *E. coli*) appear to be components of complex regulatory networks that allow the cell to adapt to environmental insults. Resistance of this type is pleiotropic and is associated with reduced quinolone accumulation, only part of which is explained by reductions in porin diffusion channels. Quinolone accumulation in whole cells is energy-dependent, and active carrier-mediated drug efflux has been demonstrated in everted inner membrane vesicles prepared from both resistant and susceptible *E. coli*. Thus, reduced accumulation appears to result from the interaction of reduced diffusion and active efflux in gram-negative bacteria. In

gram-positive bacteria, which lack an outer membrane, quinolone resistance has also been shown to be associated with the increased expression of the *Staphylococcus aureus* *norA* gene, which encodes an efflux transport protein with apparent high affinity for norfloxacin that is driven by the pH gradient across the cell membrane and is similar to known efflux transporters of tetracycline, ethidium bromide, and other compounds.

Resistance also appears to occur by other less well-defined mechanisms distinct from alterations of DNA gyrase, *mar*, and *norA*. In *E. coli* the *nfxD* locus causes quinolone resistance that cannot be expressed in the presence of wildtype DNA gyrase but augments the resistance of mutant DNA gyrase. *nfxD* is located in the region of the chromosome containing the genes encoding topoisomerase IV and the relationship of resistance and this enzyme are under study. In *S. aureus* as well the common *flqA* resistance mutation is distinct from other known resistance mechanisms but appears to interact with DNA gyrase. These resistance mutations suggest that distinct mechanisms of resistance that affect DNA gyrase merit additional evaluation.

Quinolone resistance among clinical bacterial isolates has developed most often in *P. aeruginosa* and methicillin-resistant strains of *S. aureus* (MRSA). The predominance of these organisms relates in part to the lower therapeutic index achievable relative to more highly susceptible bacteria such as *E. coli* and to the increasing frequency with which mutants may be selected as selecting drug concentrations are reduced. Nosocomial transmission has also been shown to play a role in the spread of quinolone-resistant strains of MRSA and some gram-negative bacteria. Increasing resistance has been reported in some areas among some isolates of *Enterobacteriaceae* and *Campylobacter* spp. The prevalence of quinolone resistance varies in different countries and among individual hospitals, possibly related to differences in selective pressures. Strategies for limiting quinolone resistance need to be explored more fully.

## 招 請 講 演 2

### Pharmacological modulation of inflammation and neutrophil functions in human

P. Van der Auwera

Clinique des Maladies Infectieuses, Service de Medecine, Institut Jules Bordet, Brussels, Belgium

Present address: Clinical Research, Infectious Diseases, Hoffmann La Roche, CH 4002 Basel, Switzerland

Neutrophils constitute one of the first line of defence against microbial pathogens, however, in several infectious diseases, they are responsible for tissue damage and severe sequelae so that down-regulating their activity might be a sound therapeutic approach. These conditions include meningitis, cerebral malaria, pneumonia and acute respiratory distress syndrome (ARDS), pyelonephritis and salpingitis.

Several *in vitro* model have been used to document the interaction between neutrophils and anti-infective agents, cytokines or antagonists, pentoxifylline, and other molecules. Few of them have been tested in animal models. Very limited data are available to support this concept in infections in humans.

Few *ex vivo* studies have been performed in humans supporting the modulation of the functions of neutrophils collected from peripheral venous blood. Our experience with azithromycin failed to detect any interference on various neutrophil functions. However, the concentration of cell-associated bioactive azithromycin was still very high (>30 mg/l) 7 days after the last dose, supporting the concept of "drug shuttling" by neutrophils. A similar study using neutrophils collected from patients treated with amphotericin B showed a major discrepancy between *in vitro* exposure (inhibition of chemotaxis, adherence, phagocytosis) and *in vivo* exposure (no alteration of chemotaxis, adherence and phagocytosis, increased neutrophil-dependent killing of *Candida* species) despite similar cell-associated concentration of amphotericin B.

A skin chamber method originally developed by Dubertret (Paris, France) was adapted to study the functions of tissue-recruited neutrophils in human subjects and the influence of anti-infective agents. This model allows to modulate the level of inflammation by choosing the stimulant present in each chamber (saline buffer, opsonized zymosan, autologous serum, PAF-acether). A similar approach can be used in infected patients. A double-blind placebo controlled study using clindamycin failed to corroborate *in vitro* studies previously published in the literature. None of the many functions studied (chemotaxis, *in situ* degranulation, phagocytosis, chemiluminescence and integrin expression, *ex vivo* superoxide production, chemiluminescence, degranulation and bactericidal activity) were significantly altered by the administration of clindamycin. In this study, "drug shuttling" was strongly suggested from bioassays of neutrophils accumulated in the skin chambers. Other antibiotics which are concentrated in neutrophils and monocytes are likely to behave similarly with cellular drug delivery at the site of infection (fluoroquinolones, rifampicin, macrolides, synergists).

This *in vivo* model for the study of the functions of neutrophils at the site of a relevant inflammatory site should be useful to evaluate compounds designed to down-regulate neutrophil-derived tissue damage.

## 教育講演

### AIDSの化学療法の現在と今後

満屋裕明

米国立癌研究所内科療法部門

レトロウイルス感染症部

後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome: AIDS) が初めて報告されてから、早や13年有余がすぎた。この間、その病原体であるヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus type-1: HIV-1) の宿主細胞への接着から遊離にいたる増殖サイクルで、およそ考えうるすべてのステップが治療法開発の手段として選択され、試され、かつ利用されてきた。確かに、AIDSの治療法の開発は着実に進んでいると言ってよい。1993年12月段階で、米国だけでも74

の製薬会社、研究施設が、計103個に及ぶAIDS治療薬 (抗HIV剤、日和見感染症治療剤、免疫賦活/増強剤等を含む) を開発中で、うち11件が米国食品医薬品局の認可を待っている。開発中の薬剤のうち、49件が、AIDSの死亡原因の90%を占める種々の日和見感染症に対する治療薬で、このような薬剤でこれまでにAIDS症例を適応として認可されたものは、ganciclovir, foscarnet, pentamidine aerosol などを入れて、21種類を数える。しかし、抗ウイルス薬としての認可薬剤は未だ僅か三種類、逆転写酵素阻害剤のアジドチミジン (3'-azido-2',3'-dideoxy thymidine; AZT: zidovudine), ジデオキシイノシン (2',3'-dideoxyinosine; ddI: didanosine), ジデオキシシチジン (2',3'-dideoxy cytidine; ddC: zalcitabine) のみである。

この三薬剤を使ったAIDSに対する化学療法は、HIV感染症者、殊に、症状の進行した症例で著明な臨床症状の改善と延命効果をもたらしている。CD4陽性細胞数やウイルス血症レベルで見ると、こうした臨床効果が抗ウイルス活性に由来しているのは間違いない。HIVキャリアーでも少なくともある期間は臨床効果が得られるとのコンセンサスが確立されている。しかし、AZT単独投与を受けたあるHIVキャリアー群では延命効果が明らかではなかったという報告もある。また、どの薬剤を、どの用量で、どのような組み合わせで、どの時点で開始したら最大の効果が得られるのかについてもまだ臨床試験の結果を待たねばならないところが多い。しかも、これらの三薬剤が臨床に導入されてからの数年間にAIDSの化学療法は、幾つかの困難な課題に直面してきている。(1)長期投与に伴う亜急性、慢性毒性、(2)薬剤耐性HIV株の出現、(3)化学療法によって延命した患者での悪性腫瘍の好発等である。こうした問題が、現在のAIDSの化学療法の、比較的短期間しか持続しない、しかも不十分な臨床効果、という最も基本的な特質と密接に関連しているものと思われる。免疫賦活/増強/再建をはかる効果的な方法の付加が必要とされる所以である。

他方、この数年の間に異なったタイプの抗ウイルス薬が開発されてきている。HIVのプロテアーゼ阻害剤はその好例で、極めて高い抗ウイルス活性と特異性を有する点で、最も期待される薬剤の一つである。しかし、これまで逆転写酵素とプロテアーゼ以外の標的を用いた化学療法剤開発に十分な人的、物的投資が行われてきたとは言いがたい。HIV-1感染成立に必須と思われる未だ明らかでない過程も報告されてきている。AIDSとHIV感染症についての基礎的な研究を一層推進すると共に、新しい治療薬のデザイン、探索という現実的、集中的な研究が更に進められなければならない。

## 会長講演

## 尿路における白血球機能と化学療法

熊澤淨一

九州大学医学部泌尿器科

## 1. はじめに

尿路感染症は細菌の逆行性感染に始まり、細菌の尿路粘膜への付着、定着および組織侵入から組織障害へと広がっていく。このような尿路感染症の感染メカニズムについては不明な点も数多く、各方面でアクティブな研究が行われている。

細菌感染の防御機構には種々のものが知られているが、中でも貧食細胞、特に好中球は第一線防御に重要である。この好中球の尿路感染症における役割と治療上での好中球の抗菌剤との相互作用について検討した教室の仕事をまとめてみた。

## 2. 高浸透圧と白血球機能

尿路感染症を考える場合、堅実質の高浸透圧や尿の成分による感染防御機構への影響が考えらる。腎髄質は皮質に比し、細菌感染に対して弱く、Locus minolisとなっている。この原因の一つとして、腎髄質の高浸透圧が考えらる。腎髄質は尿濃縮機能のため、高浸透圧状態となっており、その成分はNaClと尿素であることが知られている。そこで、我々は高浸透圧状態の好中球機能への影響を *in vitro* で検討した。

まず、NaClおよび尿素による高浸透圧状態の好中球の遊走能への影響を検討した。その結果、NaCl、尿素とも濃度依存的にザイモザン、FMLP刺激による遊走を阻害した。

また、NaClおよび尿素は好中球の貧食、殺菌能も低下させ、多核白血球の大腸菌に対する貧食能はNaCl、尿素とも強く阻害した。また、細胞内殺菌能も同様に高浸透圧状態で障害されるが、NaClの方が阻害の程度は強かった。さらに、白血球の殺菌機構として重要なスーパーオキシド産生についても検討した。PMA刺激によるスーパーオキシド産生はNaClおよび尿素による高浸透圧状態では強く抑制された。このスーパーオキシド産生抑制のメカニズムを検討すると、NaClによる抑制は温度感受性であった。即ち、37°Cでは強く抑制されるが、4°Cでは抑制が見られなかった。一方、尿素では37°Cでも4°Cでも抑制がみられた。さらに、PMA刺激によるスーパーオキシド産生をContinuous assayで検出する際、途中で高浸透圧物質を添加すると、NaClでは影響ないが、尿素では濃度依存性に、その時点より以後に抑制が見られた。また、NaClと尿素の高浸透圧状態で白血球を培養した場合の細胞内ATP濃度

を測定すると、NaClでは著明な低下が見られるが、尿素では低下しなかった。

このように、NaClと尿素ではスーパーオキシド産生抑制に違ったメカニズムが考えられ、NaClでは間接的な抑制であり、細胞内エネルギーの低下によると考えられた。すなわち、Na pumpの活性化によるATP消費と思われた。一方、尿素による抑制は直接的と考えられた。

そこで、白血球スーパーオキシド産生のキーエンザイムであるNADPH Oxidaseに対する作用を検討した。白血球をPMA刺激後、部分分解し、基質のNADPHを補給する実験系で見ると、NaClでは $K_m$ 、 $V_{max}$ ともに変化なかったが、尿素では $V_{max}$ の有為な低下がみられ、尿素は白血球細胞膜のNADPH Oxidaseを直接的に阻害していることが認められた。

このように、腎実質の感染防御機構阻害のメカニズムには少なくとも2種類のものがあり、阻害メカニズムに基づいた対策が治療効果の増強と感染予防に繋がると考えられた。

## 3. 白血球機能と抗菌剤

抗菌剤の一部のものが生体の感染防御機構を増強することが知られている。白血球のケミルミネセンス反応によりスーパーオキシド産生を検討すると、セフェム系やアミノグリコシド系の薬剤では影響が少なく、むしろ低下させる。ところが、ニューキノロン系薬剤のうち、オフロキサシンとフレロキサシンはケミルミネセンス反応を増強させる。

このケミルミネセンス増強作用はオフロキサシンの2種類の光学異性体であるレボフロキサシンとDR-3354にも同様に認められ、抗菌活性の部位とは異なる構造によると考えられた。また、この白血球機能増強作用は前述の高浸透圧状態でも認められ、尿路感染症治療上の有用性が期待される。

このようなニューキノロン系薬剤の白血球機能増強のメカニズムについて検討した。白血球のスーパーオキシド産生の刺激伝達の中間的な酵素であるProtein Kinase CとTyrosine Kinaseへの影響を、その阻害剤であるStaurosporinやH-7およびGenisteinを利用して検討した。その結果、オフロキサシンのスーパーオキシド産生増強効果は、StaurosporinおよびH-7で濃度依存的に低下し、Genisteinでも同様に低下した。さらに、スーパーオキシド産生のNADPH Oxidaseに対するオフロキサシンの直接作用も検討したが、全く影響しなかった。以上の事実から、オフロキサシンの白血球機能増強は、白血球刺激伝達のKinaseへの増強作用によることが考えられた。

## 4. 最後に

以上のように、尿路感染症では白血球の高浸透圧によ

る機能抑制が見られ、尿路感染の一つの原因に成っていると考えられた。また、このような白血球の機能回復や増強作用を持つ薬剤が、治療上有用と考えられる。

現在までの仕事は、基礎的な検討が中心であるが、このような事実に基づいた臨床的な展開を検討している。

#### 参考文献

- 1) M. Bonnet, T. Matsumoto et al: Influence of osmoprotectants on superoxide generation by human neutrophils submitted to high osmolality. Arch. Int. Phys. Bioch. 95: S1~S20, 1987
- 2) P. van der Auwera, G. Petrikos, T. Matsumoto et al: Influence of LY 146032 on human polymorphonuclear leukocytes *in vitro*. J. Antimicrobial. Chemother. 21: 57~63, 1988
- 3) P. van der Auwera, T. Matsumoto et al: Intrapagocytic penetration of antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 22: 185, 1988
- 4) T. Matsumoto, et al: Effect of NaCl and urea concentration comparable to renal medulla on superoxide production by human polymorphonuclear leukocytes. Urol. Res. 16(5): 367~371, 1988
- 5) T. Matsumoto, J. Kumazawa, P. van der Auwera: Suppression of leukocyte function and intracellular content of ATP in hyperosmotic condition comparable to the renal medulla. J. Urol 142: 399~402, 1989
- 6) T. Matsumoto, P. van der Auwera, Y. Watanabe, M. Tanaka, N. Ogata, S. Naito, J. Kumazawa: Neutrophil function in hyperosmotic NaCl is preserved by phosphoenol pyruvate. Urol. Res. 19: 223~227, 1991
- 7) T. Matsumoto, K. Takahashi, S. Kubo, M. Haraoka, M. Tanaka, Y. Mizunoe, N. Ogata, J. Kumazawa: Preservation of chemiluminescence of human leukocytes subjected to hyperosmolality by ofloxacin and DR3355. Int. J. Exp. Clin. Chemother. 4: 125~131, 1991
- 8) T. Matsumoto, K. Takahashi, Y. Mizunoe, N. Ogata, M. Tanaka, J. Kumazawa, M. Nozaki, P. van der Auwera: Inhibition of chemiluminescence response of human PMNs by hyperosmolality comparable to renal medulla and preservation by ofloxacin. Eur. Urol. 20: 232~237, 1991
- 9) T. Matsumoto, S. Kubo, K. Takahashi, M. Haraoka, Y. Mizunoe, N. Ogata, M. Tanaka, S. Koto, S. Naito, J. Kumazawa: Effect of recombinant human granulocyte-colony-stimulating-factor on human polymorphonuclear leukocytes subjected to hyperosmolality comparable to the renal medulla. Int. J. Exp. Clin. Chemother. 4: 187~193, 1991
- 10) T. Matsumoto, K. Takahashi, S. Kubo, M. Haraoka, Y. Mizunoe, M. Tanaka, N. Ogata, S. Naito, J. Kumazawa & Y. Watanabe: Suppression of chemotactic activity of neutrophils in hyperosmotic conditions comparable to the renal medulla; partial preservation by phosphoenol

pyruvate. Urol int. 50: 1~5, 1993

- 11) K. Takahashi, T. Matsumoto, N. Ogata, Y. Mizunoe, M. Tanaka, J. Kumazawa, P. van der Auwera: Direct inactivation of superoxide generation of PMNs by hypereosmotic urea. J. Urol. 149: 386~389, 1993
- 12) T. Matsumoto, S. Kubo, K. Takahashi, M. Haraoka, M. Tanaka, J. Kumazawa, K. Yoshimine, T. Fukumitsu, Y. Mihara, K. Takayama: Suppressive effect of sera from patients undergoing chronic hemodialysis on neutrophil chemiluminescence response. Renal Failure. 14: 529~532, 1993
- 13) N. Nagafuji, T. Matsumoto, K. Takahashi, S. Kubo, M. Haraoka, M. Tanaka, N. Ogata, J. Kumazawa: Enhancement of superoxide production of polymorphonuclear neutrophils by ofloxacin and the effects of the inhibitors of protein kinase C. Chemotherapy (Basel) 39: 70~76, 1993
- 14) K. Takahashi, T. Matsumoto et al: Influence of hyperosmotic environment comparable to the renal medulla upon membrane NADPH oxidase of human polymorphonuclear leukocyte. J. Urol. in press.

#### シンポジウム I: カルバペネム- $\beta$ -ラクタムの新しい可能性を求めて

司会のことば

大野雅二

エーザイ株式会社筑波研究所

清水喜八郎

聖マリアンナ医科大学

$\beta$ -ラクタム抗生物質の歴史の中で 1976 年ほど記念すべき年はない。なぜならご承知のようにチエナマイシン(メルク社)、クラブラン酸(ビーチャム社)、ノカルジシン A(藤沢薬品)など、画期的構造とユニークな抗菌又は生物活性を有する  $\beta$ -ラクタム抗生物質が相ついで発見された年だからである。

すなわち基本骨格がペニシリンやセファロsporin と異なり、今までの常識が通じないまさに天然による華麗な化学的修飾を見る思いがしたからである。放線菌が生産するカルバペネムは、構造化学的には数種類発見されたが、実用化を目指した新しい世代への基本骨格はチエナマイシンのみに絞られている。そして研究開発の流れは、メルク社研究陣の画期的発見に支えられていることに気付く。最初の発見は哺乳動物のラクタム加水分解酵素 dehydropeptidase-I にまともな攻撃を受けるカルバペネムを酵素阻害剤 cilastatin の併用というアイデアによる克服であった。第 2 の発見は 1  $\beta$ -メチル基の導入

という飛躍したアイデアで, dehydropeptidase-I による加水分解を単剤で抑制することに成功したことである。それでもなおカルバペネムには大きな問題がある。ご承知のとおりペニシリンもセファロスポリンも今では培養によって効果的に得られる。それ故それら母核から化学修飾をすることは薬物設計者にとって都合よく、かつ経済的でもある。しかしチエナマイシン培養液を濃縮すると側鎖のアミノ基はもう一方の $\beta$ -ラクタムに求核反応を起こし二量化する。それ故化学合成のみによってカルバペネムを合成することが必須となる。この点でもメルク社は効果的ルートを開拓し、第1世代の Imipenem を世に出した。ついで三共からS-側鎖に新工夫をこらし安定化と腎毒性軽減剤を併用する Panipenem を上市した。一方 $1\beta$ -メチル基含有カルバペネムの開発研究も非常に活気を呈している。特許文献から見ると世界で20社以上がこの領域に研究活動を展開している。すなわち住友の Meropenem, 日本レダリーの Biapenem, 万有の BO-2727 が開発されてきた。このアメリカ生れで日本育ちという感じのするカルバペネムは何故日本で活発なのであろうか。おそらく培養法に匹敵する原料を日本の有機合成化学者がつくることに成功したことと密接に関係していると思われる。

本シンポジウムは、カルバペネムを提供する立場の研究者、および開発に携った基礎研究者、使用する立場の臨床医が一堂に会して討論を行い、本化学療法学会の目的でもある明日の $\beta$ -ラクタム抗生物質を考える新しき出発点となることを願うものである。

### イミペネムを中心に

橋爪照隆

萬有製薬つくば研究所

イミペネム (IPM) はデヒドロペプチダーゼ-I (DHP-I) 阻害剤のシラスタチン (CST) との合剤、即ちチエナム<sup>®</sup>として1987年に上市された最初のカルバペネム系抗生物質である。その親化合物のチエナマイシン (THM) は1976年に、メルク社の研究グループにより、放線菌 *Streptomyces cattleya* の培養液から単離された。THM はカルバペネム骨格という新規な化学構造と緑膿菌をも含めた広範囲抗菌スペクトルおよび、 $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性などから一躍注目を集めたが、化学的に不安定であること、発酵法による生産性の低さなど、抗菌薬として用いられる為には、解決すべき幾つかの問題点を抱えていた。

検討を重ねた結果、安定性と抗菌活性の改善された N-formimidoyl thienamycin, IPM が創製された。生産性の向上には結局、発酵法から全合成法に転換され、

経済的全合成法の確立がこの薬剤の開発に大きく寄与した。IPM は THM より水溶液中では数倍安定であり、さらに結晶体では水溶液中、および原体での安定性がより改善された。また、IPM は THM の抗菌活性をさらに2~4倍増強する結果が得られ、*S. aureus*, *E. faecalis*, 腸内細菌はもとより緑膿菌に対し強力な抗菌活性を示した。

IPM の工業的生産は重要な課題であり、多くの有機化学者の関心を集めた。アセトンジカルボン酸エステルを出発物質とする全合成法では、複雑なマルチステップな方法ながらも、プロセスの改良により3つの不整炭素中心を含む複雑なカルバペネムの経済的大量生産が可能となり、臨床使用に供給できる体制が出来上がった。

ところが、IPM を種々の動物に投与した場合、尿中回収率が著しく低いことがわかり、その原因は腎の近位尿細管の冊子縁膜に存在する DHP-I による加水分解であることがわかった。それは IPM のカルバペネム骨格が構造的に DHP-I の良好基質、グリシルデヒドロフェニルアラニンに類似していることに起因する。この酵素は IPM, THM の他にも $\beta$ -ラクタム環の立体配位がシス体である MM 13902 をより加水分解し易く、カルバペネムだけでなく SCH 29482 の様なペネム系化合物をも加水分解した。阻害剤の検索は、デヒドロペプチドの基本骨格に注目し、そのアナログの化合物の中から阻害剤のスクリーニングを実施した結果、最終的に CST が選ばれた。

CST は DHP-I に対して選択的、且つ可逆的阻害剤であるとともに、極めて低毒性の優れた阻害剤であり CST との併用により、IPM のヒト尿中回収率は20%から70%強までに有意に改善した。CST の併用薬としての重要な性質として、IPM と CST の体内挙動が良く一致していることが挙げられる。一方、IPM は兔において CER よりは弱いが CEZ より強い腎毒性を発現する。幸いな事に、DHP-I の阻害剤として見つけられた CST は、IPM: CST=1:1 の配合比で投与すると IPM による腎尿細管上皮細胞の壊死を完全に抑えることがわかった。CST の腎毒性抑制効果は DHP-I 阻害効果とは異なり、有機アニオン輸送系を介した近位尿細管上皮細胞への取り込み抑制によるものと考えられている。このことは、DHP-I 阻害活性の無い CST の光学異性体が同様の腎毒性抑制作用を示すことや有機アニオン輸送系阻害剤のプロベネシドが同様の効果をもたらすことから裏付けられた。

IPT は大腸菌の致死標的である PBP-2, PBP-1A, -1Bs に親和性が強く、優れた短時間殺菌力を示す。また、グラム陰性菌の外膜透過性に優れており、大腸菌の外膜ポリン孔 Porin F 及び C を効率よく透過する。その理由として、分子篩効果をもたらすポリン孔に対し

て、イミペネムの分子量が小さいこと、両性イオンを有すること等がその要因として挙げられている。このような良好な外膜透過性や $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性は、第三世代セフェムが選択するセファロスポリナーゼ構成的産生変異株に対してセフェム剤と交差耐性を示さないことに寄与していると考えられる。

IPMが創製されて以来、他の $\beta$ -lactam剤とは異なる特徴や新しい事象が数多く報告された。例えば、前述のセフェム剤耐性株に対する抗菌力やグラム陰性菌に対するPost Antibiotic Effect (PAE)、slow growingあるいはnon-growing cellに対する殺菌作用、*X. maltophilia*の産生するZn酵素(カルバペネメース)、緑膿菌の外膜蛋白D2の機能についての報告等。そして、カルバペネム代謝酵素としての腎DHP-Iが一躍知られるようになった。

最初のカルバペネム系抗生物質IPMを本邦で初めて開発するに至って、多くの労苦、費用を費やしたことは申すまでもない。前臨床研究については、IPM及びCSTの2品目に加えて、併用薬を合わせた計3品目を同時に評価するに等しい試験研究が行なわれた。製造に関しては2成分の製造コストを償却する必要性が生じ、結果としてProcess Chemistryの進展により、何とか初のカルバペネム製剤を販売する体制が出来上がったが、現在のカルバペネム開発の動向を振り返るとチエナム開発はこれらの先駆的役割を果たしたと言える。

さて、IPMの全合成の成功によりカルバペネム骨格へ各種置換基を導入することが可能となり、1 $\beta$ -メチルカルバペネムが創製されるに至った。THMの1 $\beta$ 位にメチル基を導入した1 $\beta$ -メチルチエナマイシンでは、グラム陰性菌に対する抗菌活性が増強し、DHP-Iに対する安定性も大幅に改善した。この1 $\beta$ -メチル基導入の成功をきっかけに、メルク社は1983年に最初の1 $\beta$ -メチルチエナマイシン、L-646, 591を発表した。この化合物はIPMに比較し、緑膿菌を含むグラム陰性菌に対する活性の増強と、DHP-Iに対する安定性の向上を示し、DHP-I阻害剤を必要とせず、単剤で使用可能であることを示唆した。また、IPMに比較し、溶解性が一段とよくなり、高濃度水溶液中での安定性が大幅に改善されたことなど、第二世代のカルバペネムとして一躍注目された。この化合物は開発こそ行われなかったが、以後のカルバペネム開発の歴史において、重要な位置を占める化合物であった。

そこで、弊社では1 $\beta$ -メチルカルバペネム誘導体として次世代のカルバペネム系抗生物質、BO-2727を創製するに至った。BO-2727の構造的特徴としては、ピロリジン環の2位側鎖に1-hydroxy-3-N-methylamino-propyl基を有し、グラム陽性菌と緑膿菌に対する抗菌活性のバランス、水溶液中の安定性、IPM耐性緑膿菌

に対する活性、及び安全性の向上等を考慮し、数多くの誘導体の中から選ばれた。

BO-2727は、DHP-Iに極めて安定であり、IPMに比較して体内動態や安全性面がより改善され、水に極めてよく解け、取り扱い易い製剤である。細菌学的にはIPMに高度耐性のMRSAや緑膿菌に対してIPMの数倍強い活性を示す。DHP-Iに対して安定であり、マウスにおける緑膿菌感染治療実験ではCSTの併用の有無にかかわらず、単独投与で良好な治療効果が得られた。BO-2727のもう一つの特長は良好な体内動態にある。健常成人での第一相試験では、BO-2727は1.5時間の長い半減期、良好なAUCが認められ、尿中にはおよそ70から80%が活性体として排泄された。その強力な抗菌力と良好な体内動態から優れた臨床効果が期待され、現在、臨床試験が行われている。

カルバペネムの製造面について展望すると、近年、カルバペネムの鍵中間体となるアセトキシアゼチチノンが本邦の数社で開発され、また、この酢酸誘導体が立体化学のそろった1 $\beta$ -メチルカルバペネムの中間体として、供給されることが可能となり、今後、中間体の入手の容易さも製造コストに大いに影響するものと思われる。

パンペネムを中心に

岩田正之

三共株式会社第二生物研究

1976年メルク社からThienamycinが発表され、その優れた抗菌力に触発され、当社の抗菌剤合成はまずペネム研究をスタートした。約2年間の研究成果に基づき、ペネム骨格の2位にカルバモイルメチルチオ基(-SCH<sub>2</sub>LONH<sub>2</sub>)を導入した場合、そのメチレンに分枝メチルを導入するとグラム陰性菌に対する抗菌力が増強することを発見した。この知見に基づき、種々の環状アミンを導入し、最終的にピロリジン環が最適であることを見出した。一方、ペネムとカルバペネムを比較すると、*in vivo*汚性を含む抗菌力はカルバペネムの方が常に優れていたことからカルバペネム研究に集中することとし、最終的に、アセトイミドイルピロリジニルチオ基を2位置換基として有するパニペネムが開発品に選ばれた。本化合物については1982年米国化学療法学会(於マイアミ)にて発表した。それ以降の各社のカルバペネム開発品、即ちメロペネム、ピアペネム、BO-2727などを見ると、いずれも2位側鎖にピロリジンまたは含窒素五員環構造が応用されている。

パニペネムをウサギに静注すると150 mg/kg以上の投与量で腎毒性が発現した。そこで腎毒性軽減剤の開発を意図した。既に、セファロリジンの腎毒性が有機アニ

オンであるプロペネシドにより軽減されることがTuneにより公表されていたことから、効果、安全性ともにより優れた有機アニオン剤の発見に努めた。数百種類の化合物をスクリーニングし、目的になかったものとして、N-ベンゾイルβアニン、一般名ベタミプロンを最適の化合物として選んだ。本剤は腎毒性軽減作用のほか、特別な薬理作用、DHP-I阻害作用、毒性をもたなかった。ベタミプロンの作用機序は、腎尿細管基底膜において、血管側からのアニオン輸送系の阻害に基づくことが解明された。ベタミプロンをパニペネムに併用投与しても、パニペネムの体内動態に影響を与えなかった。パニペネムとベタミプロンを重量比で1:1に配合すると、パニペネムの400 mg/kg投与まで腎毒性を発現しなかった。この配合剤を、一般名カルベニンとして開発品とした。1987年臨床試験を開始し、1991年申請、1993年に許可を取得し、同年12月発売、今日に至っている。

次にパニペネムの抗菌作用について述べる。まず、グラム陽性菌に対し、パニペネム、イミペネムのような1-Hタイプのカルバペネムは、1-βメチルタイプのメロペネム、ピアペネムに比較して一般的に抗菌力が勝っていた。グラム陰性菌にはメロペネムの抗菌力が最も優れ、パニペネム、ピアペネム、イミペネムの3剤はほぼ同程度の抗菌力を示した。MRSAに対し、パニペネムは他のカルバペネムに比較し若干強い抗菌力を示した。これはMRSAのPBP-2'に対する親和性の高さに基づくものとも推定された。マウスへの腹腔内細菌感染によるモデルでの治療効果は、グラム陽性菌感染症において、パニペネムはイミペネム/シラスタチン、ピアペネムとほぼ同等であった。グラム陰性菌感染症においては、メロペネムが最も良好な効果を示し、次いでピアペネムが、パニペネムはイミペネム/シラスタチンと同等であった。

緑膿菌に対するパニペネムの*in vitro*抗菌力はイミペネムと比較し、MICで2管程度劣っていた。一方、マウスでの感染治療効果はほぼ同程度であった。この*in vitro*と*in vivo*での抗菌活性の差異の原因を追究した。緑膿菌におけるカルバペネムの透過孔としてOprD<sub>2</sub>チャンネルが知られている。このチャンネルは他方では緑膿菌にとっての必須栄養素である塩基性アミノ酸の透過孔でもある。そこで、塩基性アミノ酸とカルバペネムとのOprD<sub>2</sub>チャンネルにおける透過競合が予測されたので、Müller-Hinton培地と血清中とで塩基性アミノ酸含量を測定すると、前者が40倍高濃度であった。次に、炭素源と塩類のみからなるMinimum mediumを用い塩基性アミノ酸の影響を調べると、塩基アミノ酸の添加によりパニペネムの抗菌力は低下した。塩基アミノ酸含量がMüller-Hinton培地より著しく低い血清中でのパニペネムの臨床分離緑膿菌に対するMICは、イミ

ペネムのそれと同等及至はそれ以下の低値を示した。以上の結果からパニペネムの緑膿菌に対する*in vitro*の抗菌力は、培地中に含まれる加劇な塩基性アミノ酸の影響で見掛け上弱く発現し、生体内では培地中程多量に含まれていないため良好な抗菌力が発揮されるものと判断された。

最後に本研究の過程で見出されたメロペネム耐性緑膿菌について若干述べる。臨床分離緑膿菌のなかに少数ながらカルバペネム耐性株が認められた。そしてこの耐性株のなかで更に5%程度の頻度でメロペネムにのみ耐性を示すものがあった。このメロペネム耐性株の耐性パターンを調べると、セフェム、キノロンのほか多くの薬剤に耐性であった。一方、耐性株の外膜蛋白を解析すると49 kDaの蛋白に過剰産生が認められた。これを我々はOprMと命名した。ところで、二階堂は緑膿菌の新しい耐性機序として薬剤の能動的汲み出しチャンネルについての仮説を提唱している。この仮説はPooleらの実験事実に基づいており、Pooleは鉄キレート蛋白、siderophoreの排出チャンネルを構成する蛋白として、外膜、ペリプラスム及び細胞内膜にそれぞれ存在する3つの蛋白をクローニングした。外膜に局在するものをOprKと命名したが、どうもこれが我々の見出したOprMと同一ではないかと推定している。我々の知見とPooleらのそれらとを総合して考慮すると、メロペネム特異的な耐性は、二階堂の仮説のように、OprKの過剰産生に基づく薬剤の汲み出し機構の亢進によるのではなかろうかとも推測され、今後の検討課題である。

## メロペネムを中心に

砂川 洵

住友製薬株式会社開発第1研究所

当社は高い抗緑膿菌活性を有する広域スペクトル抗菌剤の開発を一貫して目指し、ヘニシリン系薬剤アパルシリン、セフェム系薬剤セフピラミド、そしてカルバペネム系薬剤メロペネムへと引き継いでいる。

カルバペネム系化合物の特徴としては、強力かつ幅広い抗菌スペクトルを有するものの、化学的および生体内における安定性、さらには副作用の面において克服すべき課題があることが知られていた。そこで、メロペネムの開発に際しては、単剤で使用可能であることを念頭に①抗菌活性の維持向上②高い物理化学的安定性③優れた生体内安定性および④低い副作用（中枢毒性および腎毒性）等を目標として研究を始めた。

具体的な攻め方を明らかにする目的で展開したカルバペネム及びペネム化合物の構造活性相関などの初期検討によって、抗菌活性面でカルバペネム骨格がペネム骨格

に比べ明らかに優れていること、6位ヒドロキシエチル基が $\beta$ -ラクタメース産生菌に対する活性維持に有効なことなどが確認されるとともに、2位側鎖内の塩基性、カチオン性が抗菌活性及びDHP-I安定性の維持、向上に大きな役割を果たしていることが判った。一方、2位側鎖内の塩基性基の存在が副作用に関与していることが示唆され、抗菌力を維持したまま副作用を低減化することは非常に難しい課題であることが明らかとなった。副作用の中でもその低減化が全く検討されていなかった中枢毒性が重要と考え、特にその点に注目した研究展開を計画した。

副作用の低減化には化合物の物理化学的性質を変える必要があるとの考えの一環として“抗菌活性、特に抗緑膿菌活性を維持したままいかに2位側鎖内の塩基性の低下が図れるか？”といったアプローチが考えられた。この攻め方は、抗菌活性及びDHP-Iに対する安定性に本質的な役割を果たしている塩基性にかかわるものでリスクといえるが、一方、副作用の低減のみならず化学的安定性の向上及び、カルバペネム系他剤と異なった特徴に結びつくことが期待できると考え、その研究展開を図った。その結果、天然アミノ酸から誘導される4-メルカプトプロリン誘導体を2位側鎖として有する化合物が低い塩基性にも拘らず緑膿菌を含め優れた抗菌活性を示すことを見出し、初期の目的を達成することができた。しかしながら、予想通りDHP-Iに対する安定性は充分でなかった。

そこで、4-メルカプトプロリン誘導体側鎖を有する化合物をベースに化学修飾によるDHP-Iに対する安定性の向上を検討し、1 $\beta$ -メチル基の導入、4-メルカプトプロリン側鎖のアミノカルボニル基とピロリジン環の間へのメチレンスペーサーの挿入、側鎖内窒素原子へのメチル基の導入の三つの化学修飾が各々DHP-Iの安定性を向上することを見い出した。それらの内、1 $\beta$ -メチル基の導入によってDHP-Iに対する安定性ととも抗菌力の向上が認められ、メロペネムが特に優れた抗菌活性を示すことを認めた。メロペネムは抗菌活性、DHP-Iに対する安定性に優れているのみならず、期待通り副作用が低くかつ化学的安定性が改善されており、初期の課題を克服したプロフィールを有することが判り、初めての単剤投与が可能なカルバペネムとして開発した。

研究の経緯から当然と言えるが、上市されている、あるいは開発中のカルバペネム系他剤全てが2位側鎖内に高い塩基性基を持っており、中性付近ではカチオンとしてのみ存在しているのに比し、メロペネム2位側鎖内のアミノ基は塩基性が低いことからそのアミノ基が中性付近で中性型としてもカチオン型としても存在しており、メロペネムは他剤と異なった物理化学的性質を有していることが、メロペネムの特徴の一つとすることがで

きる。メロペネムに到るまでの間、各種構造活性相関を検討したが、その特徴が反映された多くの結果を得ている。

それらの中には、緑膿菌の外膜透過に関して、他剤と異なりメロペネムは2つの透過経路を有しており、イミペネム耐性菌に対しても効力を発揮するなど微生物学面での特徴に結びついた結果も得ているが、腎毒性、中枢性副作用の構造活性相関について以下、簡単に説明する。ウサギを用いた静脈内単回投与実験において2位側鎖に高い塩基性を有するイミペネムは、薬剤投与後の血清BUN、クレアチン値の上昇及び腎の病理組織学的所見に変化が明らかに認められるのに対し、塩基性基を有さないアセチルチエナマイシン、塩基性の低いメロペネム及びデスメチルメロペネムはより高い投与量においても何ら変化が認められなかった。以上の結果は腎毒性はカルバペネム骨格そのものに起因するのではなく、2位側鎖にある強い塩基性の存在に強く関係していることを示している。中枢性副作用についてはより詳細な検討を加えたが、その結果は腎毒性と同様、2位側鎖の塩基性の有無、強弱が中枢性の痙攣誘発に強く関与しており、イミペネム、パニペネムに比べメロペネムの痙攣誘発作用は非常に弱いか、ないということが明らかになった。また、2位側鎖の塩基性基を含む部分構造が痙攣誘発の要因であることを明らかにした(参照ポスター22)。

これらのメロペネムに到るまでの構造活性相関研究が、抗菌活性、安全性がより高い優れた新しいカルバペネムの創製に有用な知見となることを期待したい。

## ピアペネムを中心に

西木克侑

日本レダリー株式会社生物研究所

カルバペネムは広域に互る細菌に対して抗菌力を発揮することが知られている。井上による数千株に及ぶ国内臨床分離菌の感受性に関する集計結果(1992)をみると、ペニシリン系のピペラシリンや第1世代から第3世代のセフェム剤では非感受性菌が多数あるのに対して、カルバペネムにはほとんどすべての代表的な病原菌が感受性を示している。この事実が数ある抗菌剤の中でカルバペネムが注目を集めている理由である。しかし、腎デヒドロペプチダーゼ(DHP-I)に対して不安定なために血中濃度を維持できなかつたり、腎臓毒性が強いため、当該酸素の阻害剤あるいは尿細管細胞への薬物取込み阻害剤の併用が不可欠であるのが現状である。また最近臨床的に強い中枢神経毒性を伝える報文もみられる。このような問題点の克服と共に、生体内で単剤でも抗菌活性を発揮できるカルバペネムを創製することが私ども

の目標であった。

ピアペネムとその抗菌力: 数百にのぼる化合物を種々のスクリーニング・テストを介してピアペネム (L-627) を開発候補物質として選択した。この化合物は1位に $\beta$ -メチル基を、2位にピラゾロトリアゾリウム基を導入したトランスカルバペネムである。その抗菌力はイミペネムと同様に他のセフェム剤よりも強く、広域の菌種に互っている。

カルバペネムにおける問題点の克服: (1)ヒト DHP-I に対する安定性—ヒト DHP-I と2時間反応させることにより、イミペネム、パニペネム、メロペネムはそれぞれほぼ100%、78%、48%分解されるのに対して、ピアペネムは4時間反応させても未変化体の濃度が殆ど変化しなかった。(2)中枢神経毒性の軽減—今回の試験で用いたIPM、IPM/CS、CEZとは対照的に、ピアペネムのみが300 mg/kgを静脈内投与したのちでも脳波ならびに一般行動に異常を惹起しなかった。この効果は薬物を脳室内に投与しても同様であり、ピアペネムは本投与ルートで投与可能な上限である320  $\mu$ gでも、上記のふたつのパラメータに異常は認められなかった。このピアペネムの性質は脳—血液関門透過性が低いことを反映しているのではなく、GABA<sub>A</sub>受容体およびグリシン受容体への結合親和性が極めて弱いことに起因していると考えられた。

ピアペネムと薬剤耐性機構の関連性: (1) $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性—カルバペネムは一般にセリン $\beta$ -ラクタマーゼによる水解作用に対する抵抗性が非常に強く、メタロ $\beta$ -ラクタマーゼには比較的容易に分解される事がよく知られている。しかし、ピアペネムはイミペネムやメロペネムに比較して*B. fragilis*, *X. maltophilia*, *S. marcescens* から精製した種々のメタロ $\beta$ -ラクタマーゼに対して安定であった。(2)ペニシリン結合蛋白(PBP)との親和性—ピアペネム、イミペネム、メロペネムの*P. aeruginosa*でのPBP親和性について比較してみると、ピアペネムはすべてのPBPに対して強い親和性を示す。中でも細菌の生存に必須であるといわれる高分子量のPBP 1aおよび2に強く、さらには低分子量のPBP 4に対しても強い親和性を示す。(3)菌体外膜透過性—Zimmermann & Rosseletの方法に従って*P. aeruginosa*を用い、従来のカルバペネム(ピアペネム、イミペネム、パニペネム、メロペネム)およびセフトジデムの菌体外膜透過性を測定、比較してみると、いずれのカルバペネムも第3世代セフェム剤であるセフトジデムに比較して外膜透過性が優れている。また、カルバペネムの中でもピアペネムとイミペネムがほぼ等しく、パニペネムとメロペネムの約2~3倍の膜透過性を示した。

ピアペネムの薬効の特色: (1)低増殖期における抗菌力

—ピアペネムは増殖率が低下し $\beta$ -ラクタム剤感受性が低下した*P. aeruginosa*に対してもセフトジデムに比較して著明な殺菌効果を示す。(2)実験的感染動物における抗菌力—ピアペネムは、試験管内におけるMIC値がイミペネムに比較して低い菌株については勿論のこと、MIC値が等しいかあるいは高い菌株であっても、それらの菌を実験的に感染させた好中球減少症マウスでの生体内効果は常にイミペネムよりも強い効果を示す。(3)生体内 Post-Antibiotic Effect (PAE 効果)—細菌を実験的に感染させた好中球減少症マウスにおけるPAE効果は、セフトジデムに比較して長時間持続する結果が*S. aureus*のみならず、*K. pneumoniae*および*P. aeruginosa*でも認められる。

以上に示した種々の試験成績は、ピアペネムが生体内においても<単剤>で、カルバペネム特有の優れた抗菌力と広域性を発揮しうることを物語っている。これは、ピアペネムが単に哺乳動物におけるカルバペネム分解酵素であるDHP-Iに対して安定であるという事だけによるのではなく、上記の種々の性質が総合的に作用した結果もたらされた効果であると考えられる。このような薬理学的特質は既に上市されているカルバペネムよりも低用量で臨床使用されるところに集約されている。この投与量低減と神経毒性のintrinsic activityが極めて低いことが相まって、米国で問題となりつつあるカルバペネム臨床使用時の神経症状発現の可能性がピアペネムではきわめて低いと思われる。

また、イミペネムはシラスタチンと、パニペネムはベタミプロンとの配合剤として臨床使用されているが、シラスタチンとベタミプロンはそれぞれDHP-I阻害剤、尿管細胞有機イオン輸送系阻害剤といわれている。ピアペネムはこれらの阻害剤を必要としないので、生体に本来備わっている酵素や細胞の生理機能に干渉することが少なくなると考えられ、より高い安全性が期待される所に<単剤>としての利点がある。

## カルバペネム剤の細菌学的特徴

井上松久  
北里大医微生物

抗菌力の面からカルバペネム剤の細菌学的な特徴について述べた。

1) IPMが発売されて既に7年経過したが、この間の疫学調査では、腸内細菌科の各菌種からカルバペネム剤耐性菌は分離されなかった。一方、カルバペネム剤耐性緑膿菌は現在約5%前後分離されているが、その割合は発売当時のそれとほぼ同程度であった。

2) 本剤のグラム陰性菌での外膜透過性はペニシリン

系薬剤やセフェム系薬剤に比べて20倍以上優れている。この良好な外膜透過性を反映してカルバペネム剤は $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌に対して強い抗菌力を示すし、菌数を変えてもMICが変動しにくかった。しかし、カルバペネム剤といえども緑膿菌での外膜透過生は大腸菌に比べ遙かに悪い。緑膿菌にはカルバペネム剤固有の透過孔D2があるが、このD2変異株はいずれのカルバペネム剤に対しても交差耐性を示す。また、MEPM耐性菌の一部にはCAZ耐性と交差耐性を示す菌株が存在した。

3) カルバペネム剤は大腸菌のPBP2に対する親和性が強く、薬剤で処理した菌はスフェロプラスト化(丸くなる)し、溶菌する。一方、その他の $\beta$ -ラクタム剤はPBP3に親和性が強いので、薬剤処理すると菌はフィラメント化する。この形態学的な変化に付随して溶菌が起こった場合のエンドトキシン遊離量は、カルバペネム剤の方がPBP3に親和性の強い他の $\beta$ -ラクタム剤に比べて少なかった。その他、PBP2を阻害してスフェロプラスト化した大腸菌は、PBP3を阻害してフィラメント化させた菌に比べてプラスミドを受け取り難いことも解った。ところで、カルバペネム剤の中でMEPMは緑膿菌のPBP3に親和性が強い薬剤である。そこで、緑膿菌を薬剤処理した後プラスミドの受容能を比較すると、PBP2に親和性の強いIPM, PAPM, L627の方がMEPMに比べてプラスミドを受取難かった。

4) カルバペネム剤が $\beta$ -ラクタマーゼ産生を誘導する最適濃度はsub MICであるが、MIC以上になると酸素の誘導は著しく低下した。これに対し、他の $\beta$ -ラクタム剤の最適誘導濃度はMICまたはそれ以上の濃度であった。一方、PBP2及びPBP3変異株を用いて $\beta$ -ラクタマーゼの誘導を検討した結果、PBP2変異株での酵素誘導はPBP3変異株に比べて著しく低かった。以上の結果は、グラム陰性菌のPBP2は $\beta$ -ラクタマーゼの誘導に密接に関わっていることを示している。また、カルバペネム剤がその抗菌力を発揮する濃度(PBP2を阻害する濃度)では $\beta$ -ラクタマーゼが誘導され難いため、耐性菌をより選択しにくくしていると推定された。

5) カルバペネム剤は他の $\beta$ -ラクタム剤に比べて種々の点で優れている薬剤である。しかし、次のような問題点もある。第一の問題は、カルバペネム剤を良好な基質とし、それを加水分解する $\beta$ -ラクタマーゼを産生する一群の菌種が臨床分離菌の中に存在することである。カルバペネム剤が現在以上に使用された場合、これらの菌種の動向が注目される。第二の問題は、最近セフェム剤耐性に加えてカルバペネム耐性に対しても同時に耐性を示すプラスミドが出現してきている点である。耐性遺伝子がプラスミド性であるため、新たな $\beta$ -ラクタム剤耐性として種々の菌種に伝播する可能性が大いに考

えられる。この点についても注意深く見守る必要がある。

## カルバペネム剤の体内動態と解析

—動物実験データからヒト体内動態の予測—

辻 彰

金沢大学薬学部製剤学教室

生理学的モデルによる予測:

広範囲抗菌スペクトルと強い抗菌力を有し、かつ $\beta$ -ラクタマーゼに対して安定であることから次世代抗菌剤として注目されているカルバペネム剤には、腎以外(おそらく肝臓)での代謝に加えて、腎尿管上皮細胞刷子縁膜やその他の組織に存在するdehydropeptidase-I(DHP-I)による $\beta$ -ラクタム環の分解と腎毒性や中枢毒性の発現という体内動態上の弱点がある。

カルバペネム剤に限らず、医薬品の開発に際し、動物実験での体内動態情報からヒトに投与後の動態予測が可能となれば、数ある候補薬物の中から、有効性と安全性に優れた動態特性を示すものを選択する道が開かれる。では、そのような予測法があるか? 幸い、ファーマコキネティクス理論の近年の急速な進歩とコンピュータの発展に伴い、体内動態予測学が進展した。その中であって、生理学的薬物速度論モデル(physiological pharmacokinetic model, 以下生理学的モデルと略す)を利用した予測は上記の目的に最適である。カルバペネム剤を含む $\beta$ -ラクタム抗生剤の体内動態予測では、肺、筋肉、皮膚などへの分布と肝、腎での代謝・排泄の様式を示す生理学的モデル(モデル省略)に従って連立させた微分方程式を数値積分する作業をコンピュータに任せる。解析法の詳細は省略するが、対象とする動物またはヒトにおける抗生剤の腎クリアランス、肝クリアランス(分離できない場合は全身クリアランス)と血漿タンパク結合率に加えて組織の毛細血管体積・全体積・細胞間液体積・血漿流量を入力すれば、投与後、時々刻々と変化する各組織細胞間隙中および血漿中における抗生剤濃度を算出することができる。

DHP-Iによる代謝の動物とヒトでの相違:

ヒトの腎DHP-Iには極めて安定であるため単剤で投与されるピアペネムにあっては、各種動物で得られた全身クリアランスと体重の関係から外挿したヒトの値は実測値と一致しない。ラット等のげっ歯類では肺のDHP-I活性が高いので、カルバペネム剤は腎のみならず肺で著しく代謝される。このようにDHP-I活性には種差と臓器差があるので、各種動物にDHP-I阻害剤シラスチンを併用投与したカルバペネム剤の動態データがあればヒトへの外挿が可能である。イミペネムはシラスチ

チンと1:1の合剤として使用されるが、各種動物におけるシラスタチン併用後の全身クリアランスと体重との関係からヒトの値が良好に予測できている。メロペネムはヒト腎DHP-Iに対し比較的安定で、かつ腎毒性が少ないことから、ピアペラムと同様に単剤で使用されるが、マウスとラットではシラスタチン併用によって全身クリアランスは有意に減少する。特筆すべき点は、上記2種のカルバペネム剤において、シラスタチン併用後のデータから外挿したヒトの全身クリアランスは単剤で投与後の全身クリアランスの実測値と一致することにある。このようにして外挿して求めた全身クリアランスを生理学的モデルに組み込んで数値積分したイミペネムとメロペネムの500 mgをヒトに30分間点滴静注後の血漿中濃度の時間推移はいずれも実測値と良く対応した。なお、イミペネムを250 mg単剤投与後の尿中排泄率は23%程度であるのに対し、シラスタチン同量併用後の尿中排泄率は70%に上昇する。しかし、血漿濃度時間推移にはシラスタチンはほとんど影響を与えない。以上の解析結果は、ヒトにおいて、(1)腎以外の組織DHP-Iによる代謝は無視できること、(2)糸球体濾過後あるいは尿細管上皮細胞透過後の刷子縁膜DHP-Iによる代謝は、尿中排泄率を減少させるが、血漿中濃度推移に影響を与えないことを示している。

一方、パニペネムは腎毒性軽減作用を有する腎尿細管上皮細胞有機アニオン輸送阻害剤ベタミプロンと1:1の配合剤として用いられるが、ヒトに投与後のパニペネムの血漿中濃度時間曲線下面積や消失半減期などの動態パラメータは、ベタミプロン併用によって有意な影響を受けない。この結果は全身クリアランスに対する尿細管分泌クリアランスの寄与が少ないことを示唆している。ベタミプロンにはDHP-I活性の阻害作用がないので、パニペネムの約30%という低い尿中排泄率は腎のDHP-Iによる分解と腎以外で代謝されるためであろう。

まとめ:

以上の解析から理解されるように、カルバペネム系抗生剤のDHP-Iに対する安定性の良否はヒトにおいては尿中排泄率に影響を与えても血漿中や組織細胞間隙中の濃度推移にほとんど影響しない。一方、尿細管上皮細胞と脳への取り込みと蓄積がカルバペネム剤の毒性および中枢毒性と関わりがある。単剤投与が可能で、これらの毒性を克服し、かつ抗菌活性に優れたカルバペネム剤の開発が望まれる。

## 臨床からみた特性

原 耕平・朝野和典

柳原克紀・山本善裕

長崎大学医学部第2内科

### 1. はじめに

カルバペネム系抗生物質は従来のセフェム系抗生物質に比べ、 $\beta$ -ラクタマーゼに極めて安定で、グラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に幅広い抗菌スペクトルと強力な抗菌力を有し、その作用は殺菌的である。イミペネム・シラスタチン(チエナム<sup>®</sup>;以下イミペネム)が1987年に発売されて以来、臨床における感染症治療に大きな変革をもたらした。近年さらに、新しいカルバペネム系抗生物質の開発が進められ1993年にパニペネム/ベタミプロン(カルベニン<sup>®</sup>;以下パニペネム)が発売され、それに続いてメロペネム、ピアペネムの発売が待たれている。

このようなカルバペネム系抗生物質の実際の効果を知り、臨床における正しい位置づけ(使用法と期待される効果)を示すことを目的に、各カルバペネム系抗生物質の臨床的な優劣性に検討を加えた。

### 2. 長崎大学第二内科関連施設におけるカルバペネム系抗生物質の使用例の解析

まず、私達の教室と関連施設におけるイミペネム、パニペネム、メロペネムおよびピアペネムの臨床治験段階の成績と、発売後のイミペネムの実際の使用成績を検討した。イミペネムとパニペネムの臨床効果は、それぞれ有効以上79%と77%であったが、その後に関されたメロペネムとピアペネムは有効率100%と96.2%と極めて優れた成績を示した。

発売後のイミペネムの最近の臨床での使用経験では、77症例のうち有効以上の症例は46例、有効率67.7%であった。この成績は臨床治験段階での成績に比べ10%低い有効率であった。

実際の臨床におけるイミペネムの有効率の低下の原因についての解析では、①イミペネムの臨床使用に伴い緑膿菌や*S. aureus*に耐性化が進行した、②抗生物質の使用に際して「切り札」的に使用されたため、重症例や難治例に偏って使用された、の2点が症例の解析において確かめられた。

また、おそらくカルバペネム系抗生物質の使用頻度が増加したためか、私達の大学においても*X. maltophilia*の臨床分離株に占める頻度は増加の傾向にあった。

### 3. 各カルバペネム系抗生物質の内科系治験段階での成績の解析

上記の私達の教室や関連施設で解析された問題点をさ

らに明らかにするため、カルバペネム系抗生物質の治験段階での全国内科一般臨床試験の成績に解析を加えた。

各カルバペネム系抗生物質の全国の内科一般臨床試験の臨床効果および副作用発現率は、私達の教室の成績と同じく、臨床効果では開発順に有効率が高くなっており、それとともに副作用の発現率は低下する傾向にあった。

上記に示されたような有効率の上昇がもたらされたのは何故かということ解析するために、まず各カルバペネム系抗生物質の臨床分離細菌に対する感受性を比較してみた。その結果パニペネムとピアペネムはイミペネムに比べほぼ同等の抗菌力を示していたが、メロペネムは *E. coli*, *K. pneumoniae* などの腸内細菌群、および *H. influenzae*, 緑膿菌などにイミペネムより強い抗菌力を示していた。

各カルバペネム系抗生物質の臨床効果無効例の背景因子としては、基礎疾患や合併症では肺癌、糖尿病、脳血管障害、悪性血液疾患などがあり、また起炎菌としては緑膿菌が最も多く、次いで *S. aureus* であった。

呼吸器感染症全体に対する各抗生物質の有効率はイミペネム 72%、パニペネム 78%、メロペネム 86%、ピアペネム 90% であった。基礎疾患、合併症別では慢性気管支炎、気管支拡張症、肺気腫、陳旧性肺結核、糖尿病 + 呼吸器感染症などの有効率は、全体の有効率とほぼ等しい傾向にあって難治化の要因とはなっていないことが判明したが、びまん性汎細気管支炎 (DPB) と肺癌は全体の有効率より低い傾向にあり、これらの背景がある患者ではいずれのカルバペネム系抗生剤も効果が少ないことが判明した。

また、起炎菌の臨床効果にあたる影響を判断するため、起炎菌別の有効率を比較したところ、緑膿菌に対してはカルバペネム系が最も効き難い菌であることが判明した。しかし、この緑膿菌に対する臨床効果は、開発順に改善されており、緑膿菌に対する臨床効果の改善が、内科全般の臨床効果の改善と相関していた。

#### 4. カルバペネム系と広域セフェム系との比較

カルバペネム系抗生物質と他のセフェム系抗生物質を開発年度順に比較すると、開発の初期においては、カルバペネム系薬剤はその抗菌力が広域で、強いものであるにも関わらず必ずしもセフェム系薬剤に対する優位性が臨床効果としては明白ではなかった。このことが臨床において思った程の効果が得られないとする印象を持たれた原因のひとつと考えられた。しかし、新しく開発されたカルバペネム系抗生物質の各薬剤は副作用が軽減し、臨床効果も他のセフェム系抗生物質を上回る傾向にあることが判明した。

#### 5. おわりに

近年の化学療法を考えるうえで、カルバペネム系抗生

物質の登場は臨床の場において革命的な恩恵をもたらした。本演題の解析を通じて、カルバペネム系抗生物質が難治重症感染症の治療に有効性を増し、軽快ならに治癒に導くことが多くなってきていることが判明した。しかし、疾患によってはいかに抗生物質の抗菌力が向上してもなお難治である感染症もあり、今後は宿主の側からの治療のアプローチが必須であると考えられた。

## シンポジウム II: 感染局所の防御機構と化学療法

### 司会のことば

大井好忠  
鹿児島大学・泌尿器科

山口恵三  
東邦大学・微生物

“感染局所の防御機構と化学療法”というタイトルのシンポジウムの司会を仰せつかったが、今回は、呼吸器、腸管、尿路に話題を絞って討議させて頂いた。

まず、呼吸器感染症に関しては、永武先生に、肺局所の防御機構と化学療法について、①下気道における感染防御機構の破綻と感染症成立のメカニズム、②慢性下気道感染症の治療などについて、基礎的研究および臨床的立場から独自のお考えを論じて頂き、さらに、今後の課題についても若干触れて頂いた。御発表の中では、炎症細胞などの破壊残渣が感染症の慢性化、難治化の重要な因子となっていることが述べられ、その他、細菌の上皮細胞付着性の問題点およびサイトカインの影響などが論じられた。

吉開先生には、腸管感染症の発症機序と防御機構について、新たな見地から御意見を述べて頂くようお願いした。腸管感染症の防御機構として GALT が重要な役割を果たしているが、それを形成しているものとして腸管上皮間リンパ球 (IEL) が知られている。近年、この IEL に関する研究が急速に進歩し、とくに  $\gamma\delta$ T 細胞の感染防御に果たす重要性が明らかにされつつある。吉開先生からは、マウスの腸管感染症モデルを用いた実験成績から、IEL の果たす役割について興味ある幾つかの知見が報告された。

尿路感染症に関しては、川原、松本の両先生から御発表頂いた。

川原先生からは、尿管閉塞実験モデルより、ヘンレ上行脚の糖鎖構造の変化が易感染症の要因になっている可能性が指摘され、さらに大腸菌の外膜蛋白に対する抗体が、その感染防御に効果的に働くことが報告された。

松本先生からは、腎盂腎炎における組織障害に IL 6 などのサイトカインが深く関わり合っていること、抗菌

薬の投与が遅れた場合には、ステロイドなどの投与が腎の癒痕形成を最小限に抑えるのに有効であることが述べられた。

最後に、Dr. Auwera から、好中球機能測定のための *in vivo* モデル作製法とその応用についての追加発言が行われた。

本シンポジウムでは、感染症を局所的な立場から捉え、その発症機序に対する詳細な検討成績が述べられるとともに、その成績に基づく対応策について論議が交わされた。感染症の治療に際しては、単に感染症の現象にのみ注意が払われるのではなく、その本質を深く見極めることが重要であり、それを参考的に確な対応策を立てることが、より効果的な臨床効果を得るための不可欠な要素と考えられる。

## 呼吸器感染症

### —慢性下気道感染症を中心として—

永武 毅

長崎大学熱帯医学研究所内科

感染症が発症し慢性・難治化してゆく過程において種々の菌側の要因と共に複雑にからみ合った宿主感染防御機構の破綻が見られる。これらの感染症成立に関わる種々の要因を解析し、その予防を計ることが今日の感染症研究に求められている。ここでは、呼吸器感染症における感染局所の防御機構と化学療法に関して慢性下気道感染症を中心とする最近の私共の臨床的・基礎的研究成果と今後の課題について述べる。

〔1〕 下気道における感染防御機構の破綻と感染症成立のメカニズム

喀痰の炎症細胞診による呼吸器主要病原細菌の起炎性と難治要因の解析を顕微鏡や電顕による知見を中心に解析し、特に細胞破壊残渣 (cell debris) が慢性化・難治化の一つの情報源として重要な意味を有することが明らかとなった。細菌感染症での殺菌に中心的に働くべき好中球が緑膿菌持続感染症の慢性下気道感染症患者喀痰では緑膿菌よりも cell debris を貧食している像を多く認めることは難治化の一つの要因として重要な所見である。また、病原細菌側の病原・難治化要因として病原菌の耐性化やエンドトキシン、エラスターゼの産生性、菌の細胞付着因子、菌の相互作用など多方面からの解析を試みた。病原菌の付着性と下気道感染症の発症については上気道 (咽頭上皮細胞) への付着性と下気道感染症が相関することをブランハマ呼吸器感染症において報告したが、今回は下気道の線毛上皮細胞では脱落した上皮細胞には健康人群、呼吸器感染症患者群共によく付着し差が見られないことを報告した。従って細菌と細胞の付着性

から呼吸器感染症をみた場合に上気道での付着性が直接的に下気道感染症の発症に結びつくことがより明確になった。さらに、最近明らかとなってきた気道感染症における IL-8 の役割やブランハマ呼吸器感染症における抗体の関与についても述べた。

### 〔2〕 慢性下気道感染症の治療

繰り返し感染、持続感染の見られる慢性下気道感染症での治療の要点を次の3つに分けて述べた。

1) 化学療法 (抗菌剤の併用療法を含む): 化学療法の基本は抗菌剤の有効濃度の病巣内移行にすべてかかっている。しかるに慢性下気道感染症の難治要因の一つとして病巣の不均一性と血流不全があり、これらの要因を克服する為により強力な抗菌力を有する薬剤の開発や併用療法による抗菌力の強化がはかられている。

2) 補助療法: 慢性下気道感染症でのドレナージの重要性は言うまでもない。最近、EM 療法が多くの施設で難治例に試みられるようになった。EM 有効性のメカニズムについては好中球遊走の抑制、エラスターゼ産生の抑制、IL-8 産生の抑制などが明らかとなっている。また新しい薬物療法の一つとして抗エラスターゼ療法なども登場しつつある。

3) 再感染防止対策: 上気道への菌付着予防対策としてうがいによる感染予防効果も明らかとなり、呼吸リハビリの重要性、患者を取り囲む環境要因の中の病原菌のエコロジーの解明などをも考慮して再感染防止に努めるべきである。

### 〔3〕 今後の慢性下気道感染症研究の課題

ウイルス、細菌、真菌などの病原体研究における各種病原体の個々の病原因子とそれらの相互作用の解明、宿主の防御機構の解析の進展とそれを生かした補助療法の開発などまだ多くの取り組むべき課題を残している。

## 腎感染成立における検討を中心として

川原元司

鹿児島大学泌尿器科

感染症の成立は宿主と微生物との相互関係から論じられ、尿路感染症の成立においてもその主要な起炎菌である大腸菌の尿路病原因子については多くの研究報告がある。今回は腎感染成立における大腸菌の尿路病原因子と外膜蛋白 (Omp) の腎盂腎炎用ワクチンとしての可能性に関する *in vitro* ならびに動物実験成績を中心に報告した。

### 実験と成績:

大腸菌の尿路病原性関連特性の中で感染成立に重要な接着因子について検討した。尿路感染症由来の臨床分離株 160 株について、MS, P, X adhesin の保有株数を

*in vitro* で検討した結果、MSのみ認められた株は103株(64.4%)と最も多く、ついでMS, P, Xのいずれも陽性と判定された株が46株(28.6%)であった。MSは151株(94.4%)で認められ、P保有株は47株(29.4%)であった。マウス膀胱上皮細胞に対する付着実験においてMS, P保有株は非保有株に比べて高い付着性を示し、HA titer値と相関する成績であった。CEZ, AMK, OFLXのsub-MIC濃度を含む培地中で6時間 incubate し付着性を検討した実験ではOFLXの1/2, 1/8 MICにおいて各 fimbriae の産生低下による有意な付着菌数の低下を認めた。

*In vitro* で認められる各菌株の保有する病原因子および特性が菌の膀胱定着と腎感染成立にいかに関与するかをBALB/cマウスの非閉塞性腎盂腎炎モデルを用いて検討した。いろいろな表現型を示す尿路分離大腸菌15株を接種し、膀胱内生菌と腎の病理組織変化を観察した。S-23 A, O6株をコントロール株として有意差検定を行い判定した。その成績からP or T or Hlyを保有する株は非保有株に比し有意に高い尿路定着を示し、P保有株は有意に高い頻度で腎感染成立が認められた。しかし、*in vitro* で認められる各菌株の保有する他の病原因子は膀胱定着および腎感染の頻度から検討した場合、必ずしも協同的に感染局所で作用しなくとも尿路病原性が発揮されうること示された。

尿路感染モデルにおいて大腸菌の外膜蛋白に対する特異抗体が細菌の定着、病原性発現にどのように関与するかを検討した。実験方法は*E. coli* S-23 A, O6株の $10^7$ CFU/mlを経尿動的にマウス膀胱内に接種し、10日目に屠殺して、膀胱および腎の生菌数と血清中の抗OMPおよびLPS抗体価の上昇をコントロール群と比較することで判定した。その結果、OmpおよびLPSに対する高い抗体価は接種菌の宿主尿路からの除去に関与していることが示された。我々の精製したOmp (porin trimer) はLPS freeではないが、兎で比較的安定した高力価の抗体価が認められ、高い免疫原性と抗原性が示された。以上の成績をふまえ、短時間尿管閉塞による兎腎盂腎炎モデルを用いてS-23 A, O6由来のOmp/LPSの感染防御効果を検討した。追加免疫は4W目に行い、菌接種は6-7週目に行った。 $10^3$ orderの接種菌量では、免疫群において、*E. coli* S-23 A O6および*E. coli* O-14ともに腎内生菌は認められず、病理組織学的検討でも腎盂腎炎の発症は確認されなかった。しかし、 $10^6$ の接種菌量では腎感染防御効果は明らかではなかった。

#### 結論:

*In vitro* および腎感染モデルにおける検討からMS, Pの接着因子やHly産生能を有するwild-typeの尿路分離大腸菌株の尿路定着性が高いこと。非閉塞モデルで

はP陽性株は非保有株に比べ腎感染成立頻度が高いこと。動物実験でも大腸菌の尿路病原性を明確に規定する単一の病原因子は明らかにし得ないこと。大腸菌S-23 A, O6株の部分的に精製された外膜蛋白を免疫することにより得られた高い抗Ompおよび抗LPS抗体価を示す兎ではhomologousおよびheterologous *E. coli* の $10^3$ 個の菌を接種後1週で尿路から排除しうること。外膜蛋白は腎盂腎炎用ワクチンとして可能性が認められるものの、免疫学的にLPS freeのOmpは得られておらず、除菌機序の解明を含めて検討されるべき問題がある。

## 腎尿路感染における防御機構の解析と化学療法剤の影響

松本哲朗

九州大学医学部泌尿器科

尿路感染では細菌は逆行性感染により、尿道から膀胱や腎に達し、付着、定着、増殖し、組織内へ侵入する。この過程において、細菌と局所の感染防御機構の相互作用が生じ、炎症が惹起される。強い炎症は組織障害を残し、腎盂腎炎では腎癬痕を形成し、腎機能障害に繋がる。感染予防と炎症の防止が尿路感染症治療上、最も重要と考えられる。

一方、膀胱尿管逆流現象は腎盂腎炎の頻回の再発を来たし、腎癬痕を形成し、残存ネフロンオーバーロードを来たし、逆流性腎症となる。この実験モデルとしてラットおよびマウスを用い、細菌の腎実質内直接接種および膀胱内接種による腎盂腎炎を作成し、6週後に腎を摘出し、肉眼的、組織学的検討を行い、以下の解析を行った。

1. 細菌線毛と腎癬痕形成: 細菌のピルレンスファクターとして細菌線毛は極めて重要であり、尿路上皮に付着し、感染の成立に関与する。この線毛にはMSおよびMRの種類があり、腎癬痕形成にはMS線毛に関与していることを見いだした。さらに、宿主の白血球数減少や遊走阻害剤を感染初期に投与すると、癬痕形成が予防された。また、SuperoxideのScavengerであるSODやCV-3611, DR-3305などの抗酸化剤を投与しても、癬痕形成は予防された。このようなことは癬痕形成にSuperoxideが関与していると思われた。

2. 癬痕形成予防法: 上記のような機序による腎癬痕形成予防にはSuperoxideの強い阻害剤が良いが、現在臨床的に使用可能なものはない。そこで、Steroid, Ulinastatinなどの抗炎症剤を用いた。これらの薬剤はLysozomal enzymesの阻害剤であるとともに、強いSuperoxide阻害剤でもある。このような薬剤を投与し

でも癒痕形成が有意に抑制された。

さらに、抗菌剤の投与は感染 48 時間以内に行えば、腎癒痕の予防が可能であるが、72 時間以後では抗菌作用は発揮されるものの、癒痕に至る組織障害は予防できない。治療開始が遅れた場合の対策としては、上記の Steroid の投与が効果的であることも確認した。

また、慢性感染のモデルとして、ビーズに細菌バイオフィームを形成させ、このバイオフィームビーズを膀胱内へ挿入する実験系を開発し、癒痕形成予防法を検討した。即ち、抗菌剤と Steroid を併用する際、48 時間以内に併用すると、癒痕形成の抑制作用は発揮されないが、72 時間以後では併用効果が認められた。

3. IL-6 と腎癒痕: 逆行性腎感染では尿中のサイトカインが炎症の引き金となり、腎盂腎炎に伴う組織障害の誘発に関与している可能性が考えられる。そこで、上行性腎盂腎炎モデルにおいて、尿中 IL-6 の濃度を経時的に測定した。その結果、感染後 3 日以内では高濃度の IL-6 が検出されたが、その後減少し、5 日目以後は低い濃度で検出される。その際、癒痕形成を予防するため、感染早期の抗菌剤の投与では IL-6 は極めて低値を示し、抗菌剤投与の遅れは IL-6 の濃度がコントロール群と変わらず高い値が得られた。このことより、腎癒痕予防を含めた治療の良否を判定する指標として、尿中 IL-6 が有用であることが考えられた。

以上より、腎癒痕形成は細菌の MS 線毛により刺激を受けた白血球より産生された Superoxide が強く関与し、その抑制が重要であることを報告した。

## γδ 型腸管上皮間リンパ球と生体防禦

吉開泰信・稲垣匡子・酒井 徹  
名古屋大学医学部病態制御研究施設  
生体防禦研究部門

### 1. はじめに

細菌などの微生物の侵入に対する生体防禦機構の中心的役割を担う T リンパ球はその抗原レセプター (TCR) により αβ 型と γδ 型に分類される。末梢リンパ組織の大部分は αβ 型 T リンパ球であるが、外界にいつも曝されている表皮や腸管の上皮内には γδ 型 T リンパ球が多数認められる。これら γδ 型 T リンパ球はその存在部位より生体防禦の第一線の役割を担っていると推定されているが、その正確な役割は不明である。本シンポジウムでは消化管免疫に深く関わっている腸管上皮間リンパ球について概説し、私どもの graft versus host disease (GVHD) と内因性感染症のマウスモデルを用いて γδ 型腸管上皮間リンパ球の病態形成における役割について検討した結果を紹介する。

### 2. 腸管上皮間リンパ球の概説

腸管上皮間リンパ球は小腸上皮細胞間の基底膜側に存在するユニークな T リンパ球集団で、おもに CD8 を発現する。マウスにおいては TCR によって αβ 型と γδ 型に分類され、γδ 型腸管上皮間リンパ球は腸管で胸腺外分化すると考えられている。一部の αβ 型腸管上皮間リンパ球は腸内細菌叢に関連する抗原で増殖するが、γδ 型腸管上皮間リンパ球の抗原特異性については不明である。TCR を介する刺激によって NK 細胞様の細胞障害活性や各種サイトカイン (IL-2, IL-3, IL-5, γIFN) の産生を示すようになる。経口トレランスを抑制するコントラサプレッサーとしての働きや経口感染症の防禦機構として働いている可能性も示唆されているが、その生体内での役割は不明な点が多い。

### 3. 研究結果

#### 1) 急性 GVHD の消化器病変

(C57 BL/6 xDBA/2) マウスに C57 BL/6 マウスの脾臓細胞を静脈内に投与することによって急性 GVHD のモデルを作成した。腸管上皮間リンパ球の動態をフローサイトメーターで解析すると脾臓細胞投与後 6 日目から 9 日目にかけて宿主の γδ 型腸管上皮間リンパ球が増加し、12 日目になると急速に減少した。ドナー側の腸管上皮間リンパ球は 9 日目から始めて出現して 15 日目までに 80% を占めるにまで至った。ドナー側の腸管上皮間リンパ球は TCRαβ 型であった。腸管上皮障害の指標であるクリプトでのアポトーシス細胞数は 15 日目で最大になった。急性 GVHD の消化器病変形成における γδ 型 T リンパ球の役割を明らかにするために (C57 BL/6 xDBA/2) マウスに抗 γδ 型 TCR 抗体を投与して作成した γδ 型 T リンパ球除去マウスに脾臓細胞を静注して急性 GVHD の腸病変を解析した。γδ 型 T リンパ球除去マウスでは明らかにドナー T リンパ球の腸管上皮間への浸潤が抑制されており、クリプトのアポトーシス細胞が減少していた。これらのことより、宿主の γδ 型腸管上皮間リンパ球は急性 GVHD における消化器病変の病態形成に積極的な役割を担っているものと考えられる。

#### 2) 内因性感染症

BALB/c マウスに致死量以下の 5-fluorouracil (5FU) または放射線照射を行い、腸管上皮間リンパ球の動態をフローサイトメーターで解析した。5FU および放射線照射群ともに 4 日目までに腸管上皮間リンパ球数が減少し、その後 14 日までに正常レベルまでに回復した。腸管上皮間リンパ球では 7 日目からまず γδ 型 T リンパ球の増加が見られ、その後 αβ 型 T リンパ球が増加した。腸管上皮間リンパ球では胸腺外で分化する γδ 型 T リンパ球が αβ 型 T リンパ球に先んじて分化、増殖してくると考えられる。

内因性感染症における $\gamma\delta$ 型腸管上皮間リンパ球の役割を明らかにするために、BALB/cマウスに抗 $\gamma\delta$ 型TCR抗体を投与した $\gamma\delta$ 型T細胞消去マウスを作成した。500 $\mu$ gの抗 $\gamma\delta$ 型TCR抗体をマウスの腹腔内に投与し、投与14日まで腸管上皮間リンパ球に $\gamma\delta$ 型Tリンパ球の出現を認めないことを確認した。抗 $\gamma\delta$ 型TCR抗体投与群およびコントロール抗体投与群に致死量の5FUを投与して死亡率を調べると抗 $\gamma\delta$ 型TCR抗体投与群で死亡率の低下を認めた。肝臓の*E. coli*数も抗 $\gamma\delta$ 型TCR抗体投与群で有意に少ないことが明らかとなった。さらにTCR $\delta$ 鎖遺伝子に変異をおこして $\gamma\delta$ Tリンパ球を除去したTCR $\delta$ ノックアウトマウス(京大糸原博士より供与)に致死量の5FUを投与してその死亡率を調べたところ、TCR $\delta$ +/-マウスに比べ、TCR $\delta$ -/-マウスで死亡率の低下を見た。

サイムリンは胸腺ホルモンの一つで、胸腺依存性のT細胞前駆細胞を増加させることが知られている。サイムリンの内因性感染におよぼす効果を検討した。サイムリン前処置マウスでは5FU投与による $\alpha\beta$ 型腸管上皮間リンパ球の減少が少なく、回復も早いことが分かった。死亡率はサイムリン前処置マウスで有意に低いことが明らかとなった。

これらの結果より、 $\alpha\beta$ 型腸管上皮間リンパ球が5FUによる内因性感染症の防禦に重要な役割を担っていることが示唆された。

#### 4. 考察

今回の実験結果より、 $\gamma\delta$ 型腸管上皮間リンパ球は急性GVHDにおいて腸管上皮に対して障害的に作用していることが明らかになった。一方、 $\gamma\delta$ 型腸管上皮間リンパ球の腸内細菌叢による内因性感染症に対する防禦的役割は認められなかった。 $\gamma\delta$ 型腸管上皮間リンパ球の特異性やその作用機序については現在のところ不明である。 $\gamma\delta$ 型腸管上皮間リンパ球は $\alpha\beta$ 型腸管上皮間リンパ球と異なり、腸内細菌叢の刺激によって増殖しない。また表皮内の $\gamma\delta$ 型Tリンパ球は表皮細胞の内因性ペプチドを認識していることが明らかとなっている。これらの事実から、 $\gamma\delta$ 型腸管上皮間リンパ球は腸管上皮由来の抗原を認識している可能性が考えられる。この腸管上皮間リンパ球は古くなった腸管上皮を認識して取り除くことによって免疫監視機構として働いているものと推定される。急性GVHDにおいては、ドナーTリンパ球の刺激によって $\gamma\delta$ 型腸管上皮間リンパ球は活性化されて、過度の腸管上皮の障害をひきおこしたものと推定している。5FU投与による内因性感染症においては、腸内細菌叢に反応する $\alpha\beta$ 型腸管上皮間リンパ球が防禦的に働くものと考えられる。

### シンポジウム III: 癌と化学療法—Compromised host 下の感染症対策—

#### 司会の言葉

杉町圭蔵

九州大学第二外科

正岡 徹

大阪成人病センター

癌治療が強力になり、効果が上がるにつれて癌本来の免疫能低下に治療による免疫低下が加わって、その際の感染対策は非常に重要になって来ているが、本シンポジウムでもこれを反映して活発な議論が展開された。

舟田は、血液内科の成績から菌血症は減少しているが緑膿菌は不変、グラム陽性球菌真菌感染が著増していると述べた。緑膿菌敗血症の一週間生存率がG-CSFの出現によっても改善がみられないと述べた。大泉は、呼吸器内科の立場からサイトメガロウイルスやニューモシチマカリニPCR法により迅速診断して早期治療に役立つを試みを示した。小児科からは石川がALL、AMLの全例に完全寛解が得られたが、AMLでは全例にALLでは半数に感染症がみられたと述べた。消化器外科の立場から谷村は、重症感染者では好中球スーパーオキシド産生能が低下すること、これがOK-432により賦活できることを示した。

又、腫瘍外科から前原が消化器癌の外科治療後の感染症は23.6%と非癌例より高率に発生すること、IAP高値、NK活性の低下高全などが危険因子であると述べた。泌尿器科からは水之江が癌化学療法時にG-CSFを投与して白血球最低値の上昇、減少期間の短縮、及び好中球機能の上昇が認められたと述べた。

討論では予防的投与に従来の非吸収性の薬剤に加えて吸収性の薬剤を加えること、無菌室の必要性、癌手術前後の処置、ウイルス感染症の早期診断などが活発に論じられた。癌治療の多くの分野での感染症の実態が明らかになり、その予防治療対策も進歩し、かなりの程度に感染症の克服も可能となって来ている。発表された成績は多くは先駆的な観察によるもので興味ある事実が多かったが、これが十分計画された対照比較試験により、科学的に証明されることが必要と感じられた。

#### 血液内科から

舟田 久

金沢大学医学部附属病院高密度無菌治療部

造血器腫瘍に対する治療成績が向上したとはいえ、治

療中の最大の関心事は現在も感染症対策である。

## 1. 細菌感染症

### a. 菌血症の頻度

急性白血病に合併した菌血症の頻度は過去20年間(1972~1991)ほぼ変化なく、入院1,000回当たり482回であったが、最近2年間は382回と減少をみる。この頻度は、急性白血病患者に次いで発症頻度の高い悪性リンパ腫患者の2倍であり、一般内科疾患患者と比べると実に45倍も高い頻度である。

### b. 菌血症原因菌の推移

原因菌はウレイドペニシリンと第三世代セフェムが使用され始めた1982年を境に、前後の10年間の比較で好気性グラム陰性桿菌が全体の81%から50%に減少し、カルバペネムや顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の使用が増えた最近2年間は33%まで減少した。しかし、緑膿菌の頻度に変化はなかった。一方、好気性グラム陽性球菌は過去20年間に9%から35%へ、さらに最近2年間は47%と上昇し、表皮ブドウ球菌と腸球菌が著増した。これに比べれば、黄色ブドウ球菌の増加は軽度であった。

### c. 緑膿菌菌血症

過去20年間に87回の緑膿菌菌血症が主に造血器腫瘍患者に発症し、発症時の顆粒球数は80%の症例で100/ul以下であった。原発巣には、消化管が62%と最も多く、次いで呼吸器が21%と続いた。監視培養が78%の症例で陽性であった。血液分離菌には、優勢な血清群の時期的推移がみられたが、血清群の分布が広範で、同一血清群内での感受性パターンの違いのみられることから、交差感染ばかりでなく、内因性感染の存在も無視しえない。予後は1週生存の有無で大きく左右された。単菌性菌血症の発症後1週生存率は53%であった。抗緑膿菌用のβラクタム薬の1~2薬とアミノ配糖体薬の併用では、1週生存が75%にみられた。G-CSF投与による予後の改善はなかった。予後はショックと適正抗菌薬治療に左右され、前者は後者で減少した。

## 2. 真菌感染症

急性白血病剖検例での深在性真菌症の頻度は、10%(1970~1974)から38%(1983~1986)に上昇したが、その後の経験的アムホテリシンB治療の導入により頻度は29%へやや減少した。しかし、1989年以降のフルコナゾールの繁用にもなって深在性真菌症の頻度は47%と上昇した。カンジダ症は横ばいで推移したが、アスペルギルス症の著しい増加がみられた。この点で、経験的抗真菌薬治療のための薬剤選択は注意を要すると考えられた。

造血器腫瘍の寛解が得られたにもかかわらず、発熱の持続する症例にみられた多発性肝脾腫瘍は経験的抗真菌薬治療の早期開始でほとんど経験されなくなってきた。

## 3. 無菌室治療の効果

高度の顆粒球減少にともなう感染症は重症、難治で予後不良である。このため、感染予防が強調される。無菌室治療は無菌室への逆隔離と腸管内無菌化を2大骨子とする感染予防策である。

骨髄移植のために施行した無菌室治療では、菌血症の頻度が16%と、無菌室治療を受けない場合の約1/3に低下したが、これ以上にアスペルギルスやムーコルなどの外来性の真菌による肺炎の発症がみられなかった。なお、肛門直腸の先行感染や慢性の菌性感染は移植直後に菌血症へ進展しやすく、この移植前評価に注意が必要である。

以上、造血器腫瘍患者の感染の現況と対策の概要に触れた。

## 呼吸器内科から

大泉耕太郎

久留米大一内科

固形癌あるいは悪性血液疾患患者に抗癌剤・抗白血病剤により強力化学療法を施行することにより、その副作用として顆粒球数の減少ならびに機能不全、液性および細胞性免疫障害ならびに粘膜バリアーの損傷、などが出現する。

肺癌患者では上記の感染に対する危険因子に加えて、局所的感染危険因子として、咳反射、嚥下反射の障害による吸気性肺炎発症の危険性が増すとともに、気道の狭窄ないし閉塞による気道分泌物のうっ滞にもとづく易感性が高まる。

このような状況下では体内に潜伏感染(下顕性感染)しているウイルスの再活性化が起り得るし、また口腔・腸管内に存在する平素無害の弱毒菌による日和見感染が発症したり、あるいは外因性に環境由来の弱毒一般細菌、非定型抗酸菌、真菌、原虫、による感染の危険性が増す。

顆粒球減少患者に発症する感染症の起因微生物は原則として感染部位に一過性に存在する微生物ではなしに、既にある期間定着していたものによることが多いことが知られている。

そこで、癌化学療法施行により好中球減少を来した患者で、減少前、減少時、回復後の好中球機能の一端を知るべく、好中球表面膜上のCD16分子(IgGFcに対するレセプター)の密度を調べた。その結果、少なくとも化学療法が可能な身体状況下の患者では好中球数の減少時には好中球数1個あたりのCD16分子数を増加(CD16分子密度の上昇)させることにより対応していることが知られた。

しかし、化学療法による粘膜バリアー障害、線毛運動の低下に加えて気道閉塞にもとづくドレナージ不良、などの肺感誘発因子が顆粒球減少と共存する場合にはCD 16分子の密度の上昇などによる好中球機能の一時的な上昇のみでは、感染防止に十分でなく平素無害に定着微生物の組織内侵入、ひいては感染が成立する。呼吸器感染症に限れば口腔・鼻腔・咽頭に定着している微生物が起原菌として重要である。これに対して、全身感染症は免疫抑制による全身的易感染症もさることながら、抗腫瘍療法による粘膜バリアーの障害を発端とする血管内への微生物の侵入により菌血症、全身播種が起り、しばしば致命的である。

一方、日和見感染症の起原微生物のなかで、真菌、原虫、ウイルスによるものは、診断および治療の両面で多くの難点を抱えている。

当科での最近10年間の悪性血液疾患による死亡例の剖検例79例のうち、臨床経過、臨床検査所見および剖検所見の上から感染症死と考えられる例数は27(34%)である。これらのうち19例では真菌(カンジダ、アスペルギルス、クリプトコッカス、ムコール)、原虫(ニューモシスチス・カリニ)あるいはウイルス(サイトメガロウイルス)の何れか1が関与しており、残りの8例では上記の病原微生物の2つ以上が関与していたと判断された。

上記の非細菌性病原微生物の確定診断・迅速同定は困難であった。このような早期診断、早期治療開始の遅れが、易感染状態にある患者に発症した日和見感染症の進展を許し、患者の予後を不良にする大きな要因であった。

最近、私共はニューモシスチス・カリニ(Pc)およびサイトメガロウイルス(CMV)を喀痰、吸引気管支分泌物、肺胞洗浄液などを検体とし、PCR法にて検出することを試みている。とくに毛細管と温熱空気による温度変換器とを組み合わせたrapid cycle amplification法(capillary PCR)を臨床応用することにより、コストの削減と所要時間の短縮をはかっている。临床上、PcあるいはCMV、または両者の感染の疑いが濃厚な例に試み、陽性所見が得られたときには、前者に対してST合剤を、後者に対してガンシクロビルを直ちに十分量を点滴静注することにより救命し得る例を経験するようになった。とくにPc肺炎例で好成績が得られている。

GCSFの臨床応用に加えて、日和見感染症に関与す

る頻度の高い病原微生物の迅速同定とその結果にもとづく早期かつ十分な治療が、易感染患者に発症した本症の治療成績の向上に関与するものと期待される。

## 小児科から

石川順一

北海道大学医学部小児科助手

小児急性白血病の治療成績は著しく改善しており、北海道大学小児科および関連病院において1989年1月～1993年12月の5年間に治療を行った初診のALL37例の5年生存率は84%、AML 18例の5年生存率は61%であった。この理由として強力な化学療法、骨髄移植などの治療法の向上以外に、支持療法の進歩、特に抗生物質療法の進歩、抗ウイルス剤、サイトカインの開発などがあげられる。小児科領域における癌(特に白血病)と感染症について言及した。

小児白血病治療に合併する感染症としては細菌感染症、真菌感染症、ウイルス感染症がみられる。

細菌感染症に対しては従来広域スペクトルのβラクタム系抗生物質とアミノ配当体の併用療法が主体となっていたが、アミノ配当体の副作用である腎及び聴力障害を考え、モノバクタム系抗生物質であるaztreonam(AZT)がtobramycin(TOB)に変わりうる薬剤か否かを北海道小児悪性腫瘍研究会にて検討した。急性白血病を中心とした小児癌患児で、好中球減少時に感染症を併発した場合、piperacillin(PIPC)+AZT、PIPC+TOBをラント“マウス”した。その結果Table 1に示すごとく両者の有効率に差が認められなかった。また投与5日目の好中球数と有効率の検討では両者をあわせると100/μl未満の場合は57%に対して100/μl以上では87%と好中球の回復が早い方が有効率が高かった。この際感染症予防としてamphotericin Bシロップ100 mg/kg及びST合剤(連日または3投4休)を投与した。

次にこの5年間に北海道大学小児科に入院したALL 19例、AML 9例の寛解導入療法及び強化療法時に合併した感染症について検討した。ALLにはvincristine, prednisolone, l-asparaginase, epirubicinの4剤にて寛解導入を、以後危険群別に異なる強化療法を行った。AML及び寛解導入不能であったALL1例にはBHAC・AMP+中等量～大量Ara-C療法(寛解導入療法、強化療法と約6カ月間で6クルールの治療になる)を用い

Table 1. Clinical effects of two combinations

Combination	Cases	Good response	No response	Response rate (%)
AZT+PIPC	55	40	14	75
TOB+PIPC	48	40	8	83

Table 2. Clinical usefulness of rhG-CSF

Clinical stage	Good response	No response	Response rate (%)
Remission induction	23	0	100
Complete remission	27	8	77
Terminal stage	3	4	43
Total	53	12	82

た。最終的な完全寛解率は100%であった。ALL症例の多くは治療開始後早期に好中球数の増加が認められるため半数にしか細菌感染症は合併しなかった。一方AMLは治療後2~3週間好中球数500/ $\mu$ l未満の日が続くため全例に何らかの感染症を合併した。10例計56クルールの治療で40回(71%)の細菌感染症を合併し、感染症1回あたりの38°C以上の有熱日は1~10日(平均2.9日)であった。

合併した細菌感染症に対して第1選択にはPIPCを基本薬としてAZT, SBT/CPZ, FMOX等のうち1剤を併用した。また3~4日で解熱傾向がない例に対しては、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)も用いた。

この間深在性真菌感染症は1例も認められなかった。この理由としてamphotericin Bシロップ100 mg/kgの投与、及び全例が完全寛解に到達したことが考えられた。

重篤なウィルス感染症とし単純ヘルペスウィルス、エンテロウィルス71(手足口病)による脳炎がそれぞれ1例認められた。手足口病に続発した脳炎に罹患したALL患児は後遺症なく回復したが、ヘルペス脳炎に罹患したALL患児は後に白質脳症を発症した。ウィルス感染症としては従来白血病の患児が水痘に罹患した場合、時期によっては致死性であったが、zoster immune globulinの普及、acyclovir、水痘ワクチンの開発により問題にならなくなってきつつある。

G-CSFを代表とするサイトカインが臨床の場に登場してからその有効性に対する種々の研究がなされているが、北海道小児G-CSF研究会では小児白血病に対してG-CSFの有効性について検討した。急性白血病35例(ALL 31例, AML 4例)で65クルールにおいて化学療法後の好中球数500/ $\mu$ l未満時にG-CSFを投与した。Table 2に示すごとく有効率は81.5%であったが、寛解期及び寛解導入期に比較し骨髄の正常の造血幹細胞が枯渇していると思われる末期時には有効率が低かった。G-CSFは極めて有用な薬剤であるが、G-CSFレセプターを有する大部分のAMLに対しては白血病細胞の増殖を促す可能性がありその使用に関しては注意を要する。従って細菌感染症合併時、抗生物質投与後も解熱傾向のない症例に投与したが好中球数の回復が早まり有熱期間を短縮できる印象があった。

以上小児癌(主として白血病)の治療中に合併した

種々の感染症に対しての治療を中心に述べたが、正常骨髄の回復が期待できる場合は大部分の例において感染症を克服する事ができる。

## 消化器外科から

谷村 弘

和歌山県立医科大学消化器外科

消化器外科の手術に際しては、癌患者自身の感染防御能の良否が術後感染症の発症防止に大きく影響する。我々、まず最初に、消化器癌患者80例について、術前の末梢血好中球のスーパーオキシド産生能をflow cytometry法で測定し、良性疾患と比較し、術後感染症合併との関連性を検討した。

良性疾患(n=53)では、PMA刺激により好中球スーパーオキシド産生能が強く誘導されるのに対し、癌患者ではいずれもPMA刺激に対する反応が抑制されており、これが術後の重篤な感染症を引き起こす原因の1つになると考えられる。

食道癌(n=12)の術前についてみると、stage IではPMA刺激によりスーパーオキシド産生能がかなり誘導されるのに対し、stage II以上では、著しく誘導が抑制されている。その際の好中球の貪食能も、stage II以上ではやや抑制されていることもわかった。

胃癌(n=31)のstage別では、やはり進行度が進むとPMA刺激によるスーパーオキシド産生能は術前から強く誘導が抑制されていることがわかった。

これらの症例のうち、術後に感染症を発症した癌患者は11例あった。感染症の内容は、創感染、術後胆嚢炎、膵液瘻、縫合不全術後肺炎、縦隔炎、カテーテル敗血症などであった。術後経過良好例では術前のテストでPMA刺激によりスーパーオキシド産生能が強く誘導される好中球をもっているのに対し、それらの術後に感染症を発症するような症例では、術前から好中球機能としてのPMA刺激時のスーパーオキシド産生能がすでに反応が弱いことがわかった。

また、術後に感染症を合併した症例において、感染症が持続状態で術後2~14日目に採血した好中球の機能を検討した結果では、スーパーオキシド産生能は術後1週目の経過良好例(n=20)では、そのスーパーオキ

イド産生能はPMA刺激に強い反応を認めたが、重症感染症例(n=8)ではPMA刺激を加えてもほとんど反応せず、好中球機能が有意に低下していることがわかった(p<0.01)。また、別のグループのMRSA感染症を比較してみても、やはりPMA刺激を加えてもほとんど反応しないことが追認できた。したがって、術前から好中球機能が抑制されている癌患者では、術後感染症を合併する危険性が高く、これに対する何らかの術前からの宿主側対策が必要と考えられる。

実際に白血球が減少した症例では積極的にG-CSFを使用する。例えば、62歳のS状結腸癌による汎発性腹膜炎の症例では、来院時、白血球数は1,900/ $\mu$ lと低下しており、手術終了と同時にG-CSFを抗真菌薬とともに併用投与し、1週間目に23,300/ $\mu$ lとなったので投与を中止した。*E. coli*, *K. oxytoca*, *C. glabrata*が検出されたが、それぞれカルバペネムと抗真菌薬で消失した。

58歳の男性の直腸癌による汎発性腹膜炎の症例では、血中エンドトキシン値が高いと予測されたので、手術の当日に抗エンドトキシン抗体を2 mg/kg投与した。血小板数が $8.7 \times 10^4$ / $\mu$ lと低下してDICになりかけたが、このような強力な併用薬のお陰で、術後経過は順調に経過した。この症例のサイトカインの動きとエンドトキシンの血中濃度の推移をみると、エンドスペシーにて測定したエンドトキシンも10 pg/mlから1 pg/mlへと低下し、それに伴ってIL-6, TNF $\alpha$ も順調に低下した。

一方、最近のIVHカテーテル敗血症における検出菌について、1988年～1990年の前期と、1991年～92年の後期に分けて、25例ずつ検出例を見てみると、いずれも*C. albican*ばかりでなく、*C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*など真菌が殆んどを占めている。このような症例に気が付かないでいると、難治性の真菌性眼内炎を起こして、失明に至ることにもなる。したがって、IVHカテーテルを入れると、定期的に眼科医による眼底検査を受診するようシステム化しておくべきである。

さらに、術後感染症から検出される起炎菌についてみますと、敗血症の63.4%をはじめ、他の領域でも真菌の検出率はほぼ1/4～1/3を占める。このような目で癌患者の病巣別に周術期におけるカテーテル敗血症の発生頻度をみると、手術前に腸管を洗浄して内容を減少した症例の多い大腸癌282例では明らかに他の領域の癌患者の発生率よりは低い。

このことは、術前の腸管洗浄の効果がいかに大切かを示している。

そこで、肝切除例について、術前に抗真菌薬を投与しなかった例と投与した例を比較した結果、投与しないと術後に色々な真菌が各部位から検出されるが、Fluconazoleを投与した症例では、手術後10日目以降に始めて真菌

が検出され、しかも、腹腔内膿瘍からは1例だけにとどまった。

それでも真菌感染に難渋する時には、私達は、脂肪乳剤の中性脂肪と乳化剤との関係に注目して、Amphotericin B 50 mgを10%大豆油乳剤であるIntralipid 500 mlに混合して投与しています。この方法により、炎症巣へのdeliveryと腎毒性の軽減が期待できる。

消化器癌の術後に真菌感染症を早期に発症し、左横隔膜下膿瘍を生じ、*C. albicans*が検出されましたので、Fluconazoleを静脈内投与していたがCRPの低下が十分でなく、このAmphotericin B脂肪乳剤封入法にてCRPの正常化がえられた症例を提示した。

一方、全国消化器外科施設の術後MRSA腸炎における臨床症状をまとめた結果から、その特徴は、術後早期の胃液の増量であり、また、白血球数増多に劣らず、白血球数の減少で始まる症例が多いことであり、さらに、イレウス状態を呈してくることである。手術後2日目にイレウス状態になった場合には、MRSA腸炎を疑い、直ちに対処する必要がある。

我々は、積極的に術前から咽頭、喀痰、糞便を検査しているが、そのほかに術後1～4日間の胃液の監視が最も重要である。このようにして、早期に対策をとるようになってからは、MRSA感染症は減少し、最近では殆んど重症例の発生をみなくなった。

以上、消化器外科癌患者における感染症対策としては、

1. 感染症と好中球機能に注目して見ますと、癌患者で術前より好中球スーパーオキシド産生能が低下している症例には、術後感染症を発生する危険性があること、これに対する何らかの術前の宿主側対策が必要であること、
2. 起こってしまった好中球減少症にはG-CSFの投与、エンドトキシン・ショックには抗エンドトキシン抗体の投与が有用な症例があること、
3. 真菌症対策としては、
  - 1) 肝切除予定例には術前抗真菌薬を3日間経口投与すると有用であること、
  - 2) 術後真菌感染症には市販の10%脂肪乳剤にAmphotericin Bを混合投与すると良いこと、
  - 3) IVHカテーテル挿入例は真菌性眼内炎に注意すること、
  - 4) ニフレック<sup>®</sup>による術前腸管洗浄が有用であることを述べた。
4. MRSA感染症対策としては、
  - 1) 監視培養により早期診断、VancomycinとArbecacinによる早期治療で対処できており、
  - 2) MRSA腸炎の激症例は減少してしまっただけを報告した。

このような癌患者に周術期における感染症対策をみますと、特に術前のコンプロマニズドホストの免疫能の賦活化や栄養状態の改善や、糖尿病の合併症の治療のほか、腸管前処置の必要性を強調しておきたい。

### 腫瘍外科から

前原喜彦・大岩久夫・大城辰雄  
大野真司・馬場秀夫・杉町圭蔵  
九州大学第二外科

はじめに:

消化器癌患者は慢性的な低栄養状態のため、宿主感染防御機構が障害され、さらに侵襲の大きな手術や癌化学療法により易感染状態にあります。そこで、本研究の目的として消化器癌患者の免疫能、および術後感染症の現状を検討し、感染症対策について明らかにしたい。

方法:

1. 免疫能の評価は、胃癌患者 150 例における術前免疫能として血清 IAP 値 (いわゆる血清免疫抑制酸性蛋白質)、PHA リンパ球幼若化能、NK 活性を測定した。また、食道癌患者 40 例における術前温熱、化学療法、放射線三者併用療法 (HCR 療法) の免疫能に及ぼす影響について検討した。

2. 消化器癌外科治療症例 220 例の感染症について、感染部位、起炎菌などについて解析した。

結果:

1. (1)胃癌患者 150 例における術前血清 IAP 値では、stage が進むに伴い高値を示した。70 歳以上の高齢者でも高値を示した。(2)術前 PHA リンパ球幼若化能では、stage の進行とともに低値を示した。70 歳以上の高齢者でも同様であった。(3)術前 NK 活性を検討してみると、stage の進行とともに低値を示し、stage IV では著明に低下していた。このように病期の進行に伴い、宿主の免疫能は低下した。

2. 教室では食道癌に対して術前温熱、化学療法、放射線の 3 者併用療法 HCR 療法を行っている。(1)術前に HCR 療法を行なうことにより、血中リンパ球数が著明に減少した。また、手術によっても同様にリンパ球数が減少した。(2)術前 HCR 療法により PHA リンパ球幼若化能、NK 活性ともに有意に低下した。

3. 九大第二外科において、1992 年 11 月から 1993 年 11 月までに手術を施行した消化器癌症例 220 例、および良性疾患 35 例について、術後感染症の実体を調べた。食道癌で 38%、胃癌で 15%、大腸癌で 12%、肝胆道癌で 25% と、良性疾患の 6% に比べ、高率に術後感染症が認められた。術後感染症の内訳を検討すると、呼吸器感染、吻合不全、創感染など種々の原因が認められ

た。術後感染症において同定できた起炎菌を示すとグラム陽性菌では MRSA、グラム陰性菌では緑膿菌がそれぞれ半数を占めていた。そのほかのグラム陽性菌として腸球菌、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ菌などであった。グラム陽性菌としてはバクテロイデス、セラチア、アシネトバクター、肺炎桿菌などであった。

とくに MRSA 感染に注目して、併発する起炎菌を調べたところ、約半数に併発が認められ、緑膿菌、エンテロロカス、真菌の順でした。compromized host 下での複合感染が考えられた。

術後 MRSA 感染症の危険因子を解析したところ、敗血症状態、消化器癌、種々の先行抗生物質が有意な因子として同定された。

当科における MRSA 感染症例の推移を検討したところ、1987 年には症例は認められなかったが、1989 年にかけて著明な増加を認め、以後減少の傾向にあった。

抗生物質の使用量を見てみると、1987 年までは多くの量が投薬されていたが、1990 年以降減少の傾向があり、術後 MRSA 感染との因果関係が示唆された。

4. 一方、当教室では胃癌患者において腫瘍局所樹状細胞浸潤の程度を測定し局所免疫能の指標の一つとして評価している。樹状細胞は腫瘍局所で T 細胞に対し腫瘍抗原提示細胞として働く。抗 S-100 蛋白で免疫染色すると、胃癌組織中に樹状突起をもった細胞として染色することができる。

Stage III 胃癌症例を樹状細胞浸潤密度が高度なものと軽度なものと 2 群にわけ、予後を比較すると、高度浸潤群では良好な予後を示したが、軽度浸潤群では著明に予後不良であった。

術後免疫化学療法として PSK または OK-432 を加えた治療法の効果を検討してみると、高度浸潤群では免疫療法の効果は認められなかったが、樹状細胞軽度浸潤群で免疫療法の効果は認められた。各症例の免疫能を加味した癌の治療法の必要性が考えられた。

まとめ:

消化器癌患者では病期の進行や治療により免疫能が低下するため、周術期を通じての有効な癌の治療と、適切な empiric therapy が必要である。さらに、起炎菌の同定と感受性結果による使用中の薬剤の適否の確認が重要と考えられる。

### 泌尿器科領域

水之江義充  
九州大学医学部泌尿器科

悪性腫瘍に対する化学療法の施行に際し、担癌患者の免疫能低下に加え、抗癌剤の副作用による白血球減少等

による易感染性に充分注意を払う必要がある。今回我々は rhG-CSF を使用して癌化学療法を行ったので、その臨床効果と好中球機能に及ぼす影響について検討を加え、報告する。rhG-CSF の白血球減少症に対する予防効果は、化学療法 1 コース目に白血球数が  $3,000/\text{mm}^3$  以下もしくは好中球数が  $1,500/\text{mm}^3$  以下に減少した症例で、同一の化学療法を繰り返し行った患者に 2 コース目以降に rhG-CSF を投与し、検討を加えた。対象は M-VAC 療法を行った 8 例である。白血球数最低値、白血球数  $3,000/\text{mm}^3$  以下の日数を比較すると白血球最低値 (好中球) は rhG-CSF 無投与期では  $2,425 \pm 875/\text{mm}^3$  ( $703 \pm 576/\text{mm}^3$ )、投与期  $3,752 \pm 1,645/\text{mm}^3$  ( $1,901 \pm 1,135/\text{mm}^3$ )、白血球数  $3,000/\text{mm}^3$  (好中球数  $1,500/\text{mm}^3$ ) 以下の日数は、rhG-CSF 無投与期では、 $6.9 \pm 7.1$  日 ( $10.0 \pm 9.3$  日)、投与期  $2.0 \pm 4.1$  日 ( $2.3 \pm 2.8$  日) と rhG-CSF 投与群では白血球数最低値の有意な上昇および白血球数  $3,000/\text{mm}^3$  以下の日数の有意な短縮が認められた。化学療法開始日から白血球数  $3,000/\text{mm}^3$  および好中球  $1,500/\text{mm}^3$  までの回復日数は、rhG-CSF 無投与期では各々  $28.8 \pm 6.5$  日、 $31.7 \pm 8.9$  日、投与期では  $20.6 \pm 7.3$  日、 $22.7 \pm 7.3$  日と有意に短縮した。癌化学療法患者における rhG-CSF の好中球機能に及ぼす影響は rhG-CSF の投与前後の PMA および FLMP 刺激に対する好中球のルミノール依存性化学発光を測定することにより検討した。rhG-CSF 投与により好中球のルミノール発光は FLMP 刺激で有意に亢進した。また PMA 刺激では若干亢進したが、有意差は認められなかった。

次に M-VAC 療法を行った尿路悪性腫瘍患者 31 例について化学療法中の感染の有無を  $38^\circ\text{C}$  以上の発熱のエピソードを指標として検討を加えた。基礎疾患は、膀胱腫瘍 23 例腎盂腫瘍 5 例、尿管腫瘍 3 例であった。患者の年令性別をみると、ほとんどが男性で 50 代から 70 代に集中していた。化学療法中発熱をみたのは 31 例中 13 例で、発熱者と平熱者の白血球数最低値を比較すると、平熱者は  $3,000/\text{mm}^3$  以上であり、発熱者では  $2,000/\text{mm}^3$  以下に低下していた。発熱者の転帰をみると、死亡 3 例、1 コース目に rhG-CSF 未使用で発熱し、2 コース目に rhG-CSF 使用した 8 例は、7 例が発熱を予防できた。2 コース目に rhG-CSF を投与し、発熱を予防できた 7 例の 1 コース目と 2 コース目の白血球数最低値を比較すると、両コース間にほとんど差がみられなかった。このことは rhG-CSF 投与による白血球数  $3,000/\text{mm}^3$  以下の日数の短縮に加え、rhG-CSF の白血球機能亢進作用により発熱を予防できたのではないかと思われる。rhG-CSF 投与による自他覚的副作用は認められなかった。以上より rhG-CSF は、癌化学療法を行う際に、白血球の減少防止効果、安全性、機能面からみて極

めて有用と考えられた。

## ミニシンポジウム I: バイオフィーム感染症—新しい実験的アプローチとその展開—

司会の言葉

公文裕巳

岡山大学医学部泌尿器科

細菌感染症の治療において、薬剤感受性試験成績から期待しうるはずの治療効果が、現実には得られないという事例は必ずしも少なくない。また、治療後における極めて短期間での再感染 (再燃)、ならびに、抗菌薬不応性の慢性持続感染症も臨床現場ではよく経験する事例である。近年、これらの感染症の病態として病巣局所での細菌バイオフィームの形成が重要視されてきた。その結果、種々の人工医用材料に起因する感染症、心内膜炎、骨髄炎、びまん性汎細気管支炎や cystic fibrosis 患者での緑膿菌性呼吸器感染症、各種の複雑性尿路感染症、創部感染症などの病態がバイオフィーム感染症と総称しうることが、少なくとも現象論的には明かとなった。

細菌バイオフィームとは、細菌が感染病巣局所において菌自体が産生する菌体外多糖 (glycocalyx) からなる粘液状の殻ないし隠れ家のなかでコロニーを形成した状態であり、この粘液状の殻そのものが病巣局所への固着性を支配するものである。バイオフィームの形成は、細菌にとって必ずしも有利とはいえない環境下における一種のストレス応答と考えられるものの、その形成メカニズムを含めて不明な部分が少なくない。したがって、バイオフィーム感染症の論理的理解に基づく予防法や治療法は考案されておらず、今日の化学療法学会が抱える重要な課題のひとつである。このミニシンポジウムでは、バイオフィーム感染症の論理的理解を目的として研究を行っている 3 名のシンポジストの先生から、それぞれの実験の意図、現時点までの成果、ならびに今後の展望を明示して頂いた。

バイオフィーム形成細菌の抗菌薬抵抗性は、glycocalyx の抗菌薬透過性バリア能が主として関与すると考えられているものの、実際にはバイオフィーム内における細菌の緩慢な増殖速度の影響も強いものと思われる。徳島大学歯学部口腔細菌学の三宅洋一郎先生は、以前より浮遊菌と付着菌との抗菌薬感受性の差について、マイクロプレートを使用する独自の方法で検討を行っている。それによると、バイオフィーム形成以前の単に固相に付着しただけの細菌でも浮遊菌に較べて抗菌薬の殺菌作用に抵抗性になるという。今回は更に、この付着菌の抗菌薬抵抗性メカニズムの解析を試み、熱ショック蛋白の関与に

ついでの実験成績が提示された。

岡山大学泌尿器科の小野憲昭先生からは、Robbins device を用いる実験方法と共焦点レーザー顕微鏡の応用性に関する報告を頂いた。それによると、細菌バイオフィルムの解析には、まず、*in vivo* の条件に近似する *in vitro* モデル系で効率良く、しかも、再現性の高いバイオフィルム・サンプラーを用いる必要があり、Robbins device がほぼこの条件を満足するものであるという。また、細菌バイオフィルムの形態的観察には、従来主として走査型電子顕微鏡が用いられてきたが、生の状態に近い細菌バイオフィルムの観察が共焦点レーザー顕微鏡により可能であることが示された。

杏林大学第1内科の渡辺秀裕先生からは、細菌バイオフィルムと生体反応について報告を頂いた。細菌バイオフィルムは単に抗菌薬療法に抵抗するだけでなく、生体の防御系に対しても抵抗性を示すことが知られている。今回、末梢血白血球（顆粒球、リンパ球、単球）に対するバイオフィルム形成菌と浮遊菌の反応性の差をさまざまな角度から検討した成績が提示された。それによると、顆粒球系の反応性はバイオフィルム菌に対して減弱しているものの、リンパ球系の反応性は必ずしも低下していないという。顆粒球系の反応性の減弱が慢性化と難治化に、リンパ球系の比較的強い反応性が慢性的組織障害に関与しうる可能性を示唆する成績として興味深い。

一方、glycocalyx の産生そのものは細菌のストレス応答の結果として理解されるものの、実際の問題はこの glycocalyx が強い陰性荷電を有しており、陽イオン交換樹脂様に作用することであろう。つまり、病巣局所においては、glycocalyx は種々の生体由来物質を取り込んで多種多量の extracellular polymeric substance (EPS) を形成し、この EPS の様相が実際の病巣におけるバイオフィルム形成菌の抗菌薬と生体防御系に対する抵抗性を支配していると考えられる。したがって、臨床的治療を前提とする細菌バイオフィルムの形成メカニズムの解明とバイオフィルム感染症の予防ならびに治療法の確立のためには、今回提示頂いた個々の実験系と実際の病巣環境とのギャップを埋める作業も残されている。

現時点において、この不可解な感染症の病態の全容を明らかにしうる実験系と成績は必ずしも得られてはいないが、その論理的理解に近づきつつあることは事実であり今後の進展が期待される。

## 付着細菌の抗菌薬抵抗性

三宅洋一郎

広島大学歯学部口腔細菌学

現: 徳島大学歯学部口腔細菌学

はじめに:

感染症難治化の原因の一つとしてバイオフィルムが問題となっている。バイオフィルム細菌は多くの抗菌薬に抵抗性を示すが、その抗菌薬抵抗性のメカニズムとして増殖速度、グライコカリックスの透過障害などがあげられている。それに加え、我々はバイオフィルム形成以前の単に固相に付着した状態の細菌も浮遊細菌に比べ抗菌薬の持つ殺菌作用により抵抗性となることを報告してきた。この現象もバイオフィルム細菌の抵抗性に関わると考えられる。そこで付着細菌の抗菌薬抵抗性について変異株を用い検討を行った。

これまでの経過:

付着細菌に対する抗菌力の測定は以下の通り行った。96 ウェルプレートに菌を付着させ、そこに抗菌薬の系列希釈液を加え培養し、24 時間後の増殖の有無より付着細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC<sup>AD</sup>) を判定した。さらに抗菌薬溶液を除き抗菌薬を含まない新しい培地を加えさらに 24 時間培養し、最小殺菌濃度 (MBC<sup>AD</sup>) を判定した。様々な抗菌薬、菌種の組み合わせで実験を行った結果、MIC<sup>AD</sup> は浮遊細菌に対する MIC とほぼ同じであったが、殺菌的にはたらくと言われる抗菌薬にも関わらず MBC<sup>AD</sup> は非常に高い価であった。この抵抗性のメカニズムの検討に当たり、耐性機構とは異なるトランスの機構を参考にした。

抵抗性メカニズムの検討:

菌は *Staphylococcus aureus* を用いた。この菌において浮遊状態と付着状態での増殖速度を測定したが差は見られなかった。また、付着した細菌であっても抗菌剤と接触することにより多くの細胞は死滅しており、生存している菌数は少数である。従って、その直接の解析は困難と考え、MBC<sup>AD</sup> の低い変異株の分離を試みた。ニトロソグアニジン処理した菌をスクリーニングすることにより得られた MBC<sup>AD</sup> の低い変異株の性状を検討した。その結果 MIC は親株とほとんど変わらなかったが、緩衝液に懸濁し増殖しない状態で測定した殺菌濃度が親株に比べ低くなっていた。非増殖時の細胞は増殖時の細胞に比べ通常殺菌濃度が高くなるが、それに関わると思われる因子は増殖速度、stringent response、ストレスタンパク産生などである。変異株の増殖速度は親株とそれほど変わらなかった。また、プレートに対する付着性にも明らかな変化はなかった。変異株の stringent response

は緩衝液に懸濁し飢餓状態とした菌体の RNA 合成能を測定することにより行った。トリチウムラベルしたウラシルの取り込みにより測定したところいずれも取り込みはほとんどなく、親株と変異株の間に差はなかった。また、緩衝液中においても RNA 合成が停止しない relaxed mutant を分離しその MBC<sup>AD</sup> の測定を行ったところ親株と同様の高い MBC<sup>AD</sup> を示した。

熱ショックタンパクの測定は以下の通り行った。洗浄した菌体を新しい培地に懸濁し、42°Cにて30分培養した後菌体をガラスビーズで破壊し、その上清をポリアクリルアミドゲル電気泳動することにより分析した。その結果、親株において42°C処理により出現するバンドに加え、MBC<sup>AD</sup> 低下変異株では42°C処理により親株では見られないバンドが出現していた。

#### 結論:

抗菌薬は細菌に大きなストレスを与えると考えられる。そのストレスに対する細菌の反応のうちのいずれかが抗菌薬抵抗性に関わっていると考えられる。付着細菌の抗菌薬抵抗性もストレスに対する反応が浮遊細菌と異なることによると考え検討を行った。その結果、stringent response の関与については否定的な結果であったが、熱ショックタンパクの産成、あるいはそれに関わる因子の関与を示唆する結果が得られた。今後のさらなる検討が必要である。

共同実験者: 藤原政治 (広島大・医・泌尿器), 中嶋誠治 (広島大・歯・補綴 I)

### Robbins device と共焦点レーザー顕微鏡による解析

小野憲昭

岡山大学泌尿器科

目的: *In vitro* 実験系においてカテーテル素材表面に形成される細菌バイオフィルムの経時的形成過程ならびに各種薬剤に対する反応性を解析することは、バイオフィルム感染症の治療あるいは予防法の確立に重要である。この細菌バイオフィルムの解析には、その構成成分としての細菌細胞と、菌体外多糖を中心とする extracellular polymeric substances (EPS) とに分けて検討する必要がある。今回、Robbins device を用いてシリコンディスク上に形成される緑膿菌バイオフィルムについて、ATP 測定による bioactivity 評価法およびトルイジンブルーによる EPS の簡易定量法を組み合わせで解析した。また、形態的観察法として、従来の走査電顕観察に加え、EPS を水分を含んだままの状態を観察する共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM) を用いてバイオフィルムの立体的構築を中心に観察し、その有用性を

検討した。

材料と方法: 1) 使用菌株: 臨床分離 *P. aeruginosa* (14-210) 株。 2) 細菌バイオフィルム形成実験: 人工尿路モデルに終濃度が 10<sup>6</sup>cfu/ml になるように菌を接種し、silicon disc を装着した modified Robbins device に接続し、37°Cにて40ml/minの流速で8時間灌流して、バイオフィルムを形成させた。 3) ATP 測定: ケミルミネッセンス法により ATP 量を測定した。 4) トルイジンブルー法による EPS の簡易定量: 人工尿, Alginate promoting medium を用い、形成過程の検討を行なった。 5) 走査電顕による観察: 走査電顕にて disc 表面の形態的観察を行なった。 6) CLSM による細菌バイオフィルムの形態的観察: 菌体と EPS の染め分けを行ない、立体的構築、とくに表層と深層における細胞の形態および細胞密度の差を検討した。 7) 細菌バイオフィルムに対する薬剤効果の検討: バイオフィルム形成後、各種抗菌性物質 (OFLX, CAM, GM, FOM, イオン化銀) を含有する人工尿溶液を灌流し、併用を含む各種薬剤作用後の増殖様式の変化を 3)~6) の解析系を用いて検討した。

結果と考察: 1) CLSM による細菌バイオフィルムの観察: 菌体の染色には acridine orange と safranine, EPS の染色には FITC-ConA が優れており、safranine と FITC-ConA による 2 重染色が可能であった。Z 軸方向に scanning した断層像によりバイオフィルムの厚みの正確な測定も可能であった。今回の系では、まず 6~10 $\mu$ m の micro colony が散在性に形成され、時間経過とともにそれらが融合し、8時間でディスク全面に厚さ約 10 $\mu$ m のバイオフィルムが形成されることが明らかとなった。 2) バイオフィルムの形成過程の検討: AP medium 中で形成されたバイオフィルムでの EPS 産生量は人工尿の場合よりも増加しており、その量的変化はトルイジンブルー反応量とで捉えられることが可能であった。 3) 形成された細菌バイオフィルムに対する薬剤効果の検討: 人工尿中で OFLX, FOM 各 3 MIC, CAM 100  $\mu$ g/ml, GM 800  $\mu$ g/ml を作用させても、単剤ではいずれも明らかな効果は認められなかった。GM 作用時には CLSM での観察により、単に GM が抗菌力を発揮しただけでなくむしろ EPS を増加させることを確認した。OFLX は 125  $\mu$ g/ml (20 MIC) 以上では、長時間作用にて用量依存的に ATP 量の低下をみた。イオン化銀は、5  $\mu$ g/ml 以上で bioactivity の十分な抑制効果を認め、走査電顕像でもほとんどの菌体が溶菌している様子が観察された。抗菌剤併用効果については、非増殖性 medium の PBS を用いると、OFLX と CAM あるいは OFLX と FOM 併用にて抑制効果を認め、走査電顕像でもバイオフィルムが破壊されている様子が観察された。人工尿中では、OFLX と CAM の併用では明ら

かな効果を認めないのに対し、OFLXにFOM 3 MICを併用するとbioactivityの明らかな低下を認めた。CLSMの観察で、OFLX、CAM併用では深層部の細胞は薬剤による変化をほとんど受けていないのに対し、OFLX、FOM併用では、表層から深層に至るまでその変形や染色性のばらつきが見られ、バイオフィーム全層にわたる効果が明らかとなった。

Robbins deviceを用いた実験系は、培養環境の変化が少なく、また、ATP測定によるbioactivityの評価法や形態的評価法と組み合わせることが可能であり、細菌バイオフィームに対する*in vitro*実験系として優れていた。とくにCLSMを用いた生の状態での緑膿菌バイオフィームの観察法は、その立体的構築や抗菌性物質の作用メカニズムの解析法として有用であり、今後幅広い応用が期待される。

## 細菌バイオフィームと生体反応

渡辺秀裕

杏林大学第一内科

### 目的:

緑膿菌(Pa)は、グライコカッカリクスを中心とした多糖体によるBiofilmを形成し、菌自身の生息圏を可能とすることが報告され、これらの現象は、慢性気道感染症症例の気道や肺胞という局所においても見出され、難治化の要因の一つとして指摘されている。Biofilmに対しては、抗菌剤の透過性の問題や、さらに好中球の走化性、貪食能の抑制等の成績が報告され、難治化のメカニズムの解明が進んできている。私達は、この細菌、Biofilm、と炎症性細胞との関わりを中心に、生体側反応を捕える目的で検索を行った。

### 1. 好中球活性化と細菌 Biofilm

健常人の末梢白血球細胞をデキストラン比重遠心変法を用いて好中球分画、リンパ球分画に分離した。その好中球を用いBiofilm型緑膿菌(B型) Floating型緑膿菌(F型)、と直接のinteractionを行いH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>産生能をDCFH-DAを用いFlow cytometer(FCM)にて解析した。次に、好中球の活性化段階を観察するため活性化の初期段階に見られるCaイオン細胞内流入現象をFlow-3-AMを用いLaser Scanning Microscope (LSM)にて観察した。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>産生能ではfluorescence peakはB型<F型でありB型の細胞内殺菌性の低下が示された。この好中球反応の低下は、Caイオン細胞内流入では明らかにB型<F型であり、好中球系の反応の低下はその初期段階からすでに見られることが示された。

### 2. 細菌 interaction と表面マーカー

好中球、リンパ球の反応を詳細に検討するためB型、

F型に対してinteraction後、各細胞の表面マーカー(接着、活性化、増殖因子=CD 11 a, CD 11 b, CD 11 c, CD 18, CD 25, CD 54, CD 14, CD 16, CD 69=)発現能の変化をFCMを用いて解析した。好中球では、検討した全ての表面マーカーにおいてB型<F型が観察された。しかし、リンパ球においては、一部のマーカー(CD 11 b, CD 54, CD 25, CD 69)ではむしろB型>F型として観察された。これらの成績から、好中球、リンパ球とでは、B型菌に対し反応性が異なることが示され、とくにリンパ球では補体系(CR 3)やサイトカインレセプターの関与が示され、B型菌を認識してくる可能性が推測された。

### 3. 抗 Alginate 抗体と慢性気道感染症

これら反応性の差異には、B型菌の表面に形成される多糖体であるAlginateの存在が、関与していることが推測され、Alginate-リンパ球のinteractionを検索するため次の検討を行った。健常人(N)、慢性気道感染症(CRI:臨床的にBiofilm Disease)症例の血清を用い、抗Alginate抗体(A-A-Ab)を作製し、これを用いて、抗体価(IgG, IgA, IgM)を測定した。なおCRIはPa(+)とPa(-)に分類した。CRIのPa(+)群のみで、A-A-Ab IgGが有意に高値を示した。その他は、いずれも有意差は認められなかった。この成績から、菌体外成分であるAlginateが、CRIにおいては生体に対し、IgMを誘導せず二次免疫応答であるIgGを誘導している可能性が推測された。

### 4. Alginate 免疫マウス作製と感染実験

これらの成績を背景に、臨床的にCRIに近似したA-A-Ab IgG高値の状態を作り出すため、Alginate免疫マウス作製を試みた。ICR系4週齢マウス腹腔内にAlginate 80 mg/body/weekで5週間連続注射し6週目に20 mg/bodyを尾静脈注射を行いA-A-Ab IgG抗体価1,000倍以上を確認した。これらをAlginate免疫マウスとして緑膿菌の噴霧感染実験に用い経時的に観察した。マウスBALF中細胞分画を免疫(I)群、非免疫(N-I)群とで比較するとN-I群では好中球の集積が主体であるのに対しI群ではリンパ球が主体であった。N-I群、I群の肺に集積するリンパ球をsubpopulationレベルまでFCMにて解析すると、Ly 6-CD 4の活性化型のCD 4細胞やLECAM-1の再循環因子陽性の細胞はI群にて速やかなBALF内すなわち肺内誘導が観察された。

### 考案:

好中球系; B型菌、F型菌と好中球のinteractionでは、各種表面マーカー発現能ではB型菌で低下してかんさつされ、初期細胞活性化の指標であるCaイオンの細胞内流入においても同様の成績が観察された。これには、B型菌の菌体表面に存在するAlginateの関与が示

唆された。

リンパ球系;一部の表面マーカーではB型菌にむしろ反応していることが観察され、好中球系と異なった反応系や認識系とくに補体系 (CR 3) の関与が示された。また、Alginate 免疫マウスによる感染実験モデルにおいてはその抗体価の上昇形態や活性化CD 4, 再循環因子の誘導から、リンパ球が Alginate を認識し反応していることが示唆され、この認識リンパ球が免疫複合体形成に関与していることが推測された。

## ミニシンポジウム II: 光線過敏症

### 司会の言葉

荒田次郎

岡山大学皮膚科

抗菌薬の中では、サルファ剤、テトラサイクリン系薬剤 (デメチルクロルテトラサイクリン)、キノロン剤 (ナリジクス酸) が光線過敏症の原因薬剤として皮膚科領域ではよく知られていた。しかし、このような副作用は minor なものとして、化学療法の領域では「発疹」として一括され注目されることはなかった。ニューキノロンが世に出はじめて、エノキサシンによる光線過敏症がかなりの頻度でみられるようになっても、中枢神経系の副作用の影にかくれて、論議の対象にはならなかった。その後、開発中あるいは市販後のニューキノロンの中に、かなりの頻度で光線過敏症を惹起するものがあり、薬剤を使う側、作る側からも、ニューキノロンによる光線過敏症が注目されるようになった。今回のミニシンポジウムで「光線過敏症」を取り上げられたのは、熊澤会頭がその重要性を認められ機が熟したと判断されたためであろう。標題にはキノロンという言葉は入っていないが、本ミニシンポジウムは当然のことながらキノロンが中心となる。

キノロン薬には沢山の種類があるが、光線過敏症を起こし易いものとそうでないものがある。また、臨床使用中に起きる光線過敏が光毒性なのか光アレルギーなのかも一定した見解がない。

以上のことをふまえて、今回は4人の演者にシンポジウムになっていただいた。堀尾武先生には皮膚科の光線過敏症の専門家として光線過敏症を総論的に解説していただいた。副島林造先生は2つのニューキノロン剤の光線過敏症の疫学調査結果を示された。中島光好先生はニューキノロンの光毒性の *in vitro* のスクリーニングについて、また、松本雅彦先生にはニューキノロンの光毒性と化学構造との関係についての研究成果を発表していただいた。これらの御発表と討論を通じて、今後のニュー

キノロンの光線過敏症の予防や研究方向が多少とも明らかになればと思う。

## 光線過敏症総説

堀尾 武

関西医科大学皮膚科

### 1. はじめに

日光は種々の害を生体に及ぼすが、地表に生息する生物にはこの有害作用から身を守るために実に巧妙な防御機構が備わっている。しかし、不幸にしてこの機構に異常が生じると光線過敏症が発症する。

光線過敏症の原因および症状はきわめて多彩であるが、大別すると先天異常、代謝異常、栄養障害、酵素異常、免疫異常などの内的因子によるものと、化学物質や薬剤など外的因子によるものがある。また、原因となる光線の波長 (作用波長) も、中波長紫外線 (UVB: 290~320 nm)、長波長紫外線 (UVA: 320~400 nm)、可視光線 (400~760 nm) と、疾患により異なる。

### 2. 内因性光線過敏症

#### 1) 色素性乾皮症

遺伝性光線過敏症のなかで比較的頻度が高く重要なものに色素性乾皮症がある。多くは2~3歳までに異常な日焼け反応として気づかれる。短時間の日光照射でも長期間持続する強度の紅斑を生じ、反復するうちに皮膚の老化現象が幼児期から発現する。十分な光防御を行わないと基底細胞癌、有棘細胞癌などの悪性腫瘍が必発する。なかには、知能障害、アタキシア、難聴、構音障害などの精神神経症状を伴う重症型もある。

正常人皮膚でも320 nm以下のUVBが照射されると細胞核内でDNAの損傷が生じるが、正常皮膚にはこれを修復する機構が存在する。しかし、色素性乾皮症患者には修復に関与する酵素が先天的に欠如しているために皮膚腫瘍が発生するものと考えられている。

日光を避ければ腫瘍は発生しないため、早期診断が重要である。サンスクリーン剤の塗布を励行し、眼症状の予防にはサングラスの着用を指導しなければならない。

#### 2) ポルフィリン症

本症はポルフィリン代謝経路に関与する酵素の異常で発症する。骨髄性と肝性に大別され、それぞれに数種の病型が知られている。急性間歇性ポルフィリン症を除いてすべての病型に光線過敏反応を伴う。多くは先天的な酵素異常に基因し小児期から発症するが、晩発性皮膚ポルフィリン症は飲酒などによる肝障害に続発して後天的に成人に発症する。

皮膚症状は、露光部位の発赤、浮腫、灼熱感、疼痛、水疱、痂皮、癬痕などである。酵素異常の個所に応じ

て、尿、便あるいは赤血球中に大量のポルフィリン体が検出される。

作用波長は400 nm付近にあるため、ガラス越しの光線でも発症し、日焼け止め用のサンスクリーン剤は無効である。

### 3) ペラグラ

本症はニコチン酸の欠乏症で、皮膚症状、消化器症状(下痢、嘔吐、舌炎など)、神経症状(知覚障害、運動障害、てんかん様発作など)を3主徴とする。ニコチン酸は必須アミノ酸のトリプトファンより代謝されるため、トリプトファン欠乏の偏食によっても発症する。しかし、近年の日本の食糧事情にあつては摂取不足よりも胃腸障害などによる吸収不足や薬剤が誘因となることが多い。治療はニコチン酸アミドおよびビタミンB群の全身投与ですべての症状が急速に改善される。

### 4) 日光蕁麻疹

本症は光線の照射された皮膚のみに局限して蕁麻疹の生ずる物理的蕁麻疹の一種である。すべての症例が同じ症状を呈するが、原因となる光線はUVB, UVA, 可視光線など症例により一定していない。わが国では可視光線を作用波長とする症例が大部分を占める。この病型では、血清成分に光線が照射されて新たに形成された因子に対してアレルギーが成立して発症するもので、著者らは一種の自己免疫疾患である可能性を提唱している。

### 3. 外因性光線過敏症

光線過敏症のなかで最も頻度が高い外因性光線過敏症は、その発症機序により光毒性反応と光アレルギー性反応に大別される。その理解のために有名な実験を以下に紹介したい。

1939年 Epstein, S. は6人の実験対象に1% sulfanilamideの0.1 mlを皮内注射し、次いで紫外線を照射することですべての対象に光線過敏反応を証明した。この反応は数日後に一旦消滅したが、6名中2名のみ10日後に同一部位に異質の反応が再発してきた。これはこの2名においてのみ再現が可能であり、sulfanilamideの注射量は初回量の1/10、紫外線照射量も1/3で誘発することができた。Epsteinは、前者の反応はすべての人に生じうる光毒性反応であり、後者の反応はアレルギー感作の結果発現する光アレルギー反応であるとした。

#### 1) 光毒性反応

光毒性を有する化学物質の十分量が皮膚に沈着し、適当な波長の光(作用波長)が十分に照射されれば、実験的にはすべての人に生じうる反応である。しかし、現実には光アレルギーと比較して光毒性皮膚炎の患者をみる機会は少ない。これは、薬剤の血中濃度が最高に達した時点で太陽光線に長時間当たる機会が少ないことによると思われる。

Psoralenは植物中に含まれている成分で、古代から

日光照射と併用して白斑の治療に経験的に用いられていた。近年ではpsoralenがUVA照射の下でDNAと光結合して細胞分裂を抑制することが知られ、乾癬や菌状息肉症(悪性リンパ腫の一型)など増殖性皮膚疾患の治療に応用されている。これは、psoralenの頭文字とUVAを合成し、PUVA療法と呼ばれている。光毒性反応の治療への応用である。

#### 2) 光アレルギー性反応

光アレルギー性反応とは、光線エネルギーが関与して形成されたある物質(光産物)に対してアレルギーの成立した個体のみが示す過敏反応である。その多くは細胞性遅延型アレルギー反応である。感作物質が皮膚の外部から接触して生じる光アレルギー反応を光接触アレルギーという。ハロゲン化サリチルアニリドおよび類似の殺菌剤は感作力が強く、かつはこれを含む数多くの石鹸(デオドラントソープ)、皮膚外用剤、シャンプー、化粧品、シェービングクリームなどにより光接触皮膚炎が多発した。約10年前からこれらの強力な光感受性を有する殺菌剤は使用が禁止されている。

光アレルギー反応は、接触皮膚炎ときわめて類似の発症機序で同様の皮疹を生じるが、臨床経過に大きな差を示すことがある。接触皮膚炎は原因物質との接触を経つことにより短期間で治癒し、接触がなければ再発することはない。一方、光接触皮膚炎を含む光アレルギー反応は、原因との接触を絶っても、後は光線に照射されるだけで皮疹の再発が何か月、ときには10年以上に及ぶことがある。かかる症例はpersistent light reactorと呼ばれるが、患者の苦痛には計り知れないものがある。

治療、予防の第1は原因の除去と遮光であるが、対症的にはステロイド外用剤が有効である。

#### 3) 薬剤性光線過敏症の診断

皮疹の性状よりも分布が診断の助けとなる。接触皮膚炎も露出部に好発するが、光線過敏症では襟の部分で境界が鮮明であり、顎下では軽く、上肢伸側に強く、屈側で軽度である。指間部を避けるのも特徴である。すなわち、露出部位と露光部位は必ずしも一致しない。

薬剤性光線過敏症の作用波長は、2, 3の例外を除けばUVAにある。この光は十分にガラスを透過するため、診断に当たって、また皮疹予防のためにも留意する必要がある。診断のために皮疹の誘発を試みる場合には、ガラス越しの日光あるいは蛍光灯型ブラックライトを用いなければならない。治療用太陽灯は代用できない。正常人はUVAに紅斑を示すことはなく、この光に反応すればすなわち光線過敏があると判定しても差し支えない。その原因追求にはまず「光パッチテスト」を施行する。疑わしき薬剤を皮膚に24~48時間貼布した後、UVAを照射し、さらに24時間後に判定する。判定法はパッチテストと同様である。ただ、降圧剤など全身投

与薬は光パッチテストでは陽性反応を示さないことが多く、実際と同じ経路で投薬した後に光線照射する必要がある(内服照射テスト)。

#### 4. おわりに

皮疹の分布や季節的消長から光線過敏症を疑った場合、内的因子の検索として遺伝的關係、全身症状の有無を問い、肝機能検査、尿検査などを施行する。光線過敏症の確定診断には、光線照射で人工的に皮疹を誘発、再現することが重要である。また、皮疹と日光あるいは薬剤との関連を聴取することも必要である。しかし、患者によっては温熱や発汗による自覚症状の増強を日光による増悪と訴えるものもあり、注意を要する。

太陽は仕事、スポーツ、レジャーと切り離して考えることはできず、健康や幸福のシンボルである。それを享受できない人のために、光線過敏症の診断、治療、予防は皮膚科医にとって重要な課題の1つである。

#### 参 考 書

- 1) 佐藤吉昭(編): 光線過敏症, 金原出版, 東京, 1983
- 2) 堀尾 武(訳), Harber, L.C. & Bickers, D.R. (著): 日光過敏性疾患—その診断と治療, 医学書院サウンダース, 東京, 1984

### ニューキノロン薬による光線過敏症の現況

副島林造

川崎医科大学呼吸器内科

はじめに:

光線過敏症を起こし易い抗菌薬としては、従来サルファ剤やテトラサイクリン系薬さらにオリジクス酸などがよく知られているが、近年ニューキノロン薬の開発・普及によりニューキノロン薬による光線過敏症が注目されている。

すでに市販されているニューキノロン薬について開発時と市販後調査時における光線過敏症の出現頻度をみると、norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), tosufloxacin (TFLX) ではないずれも認められていないが、enoxacin (ENX) や fleroxacin (FLRX) では市販後調査で、lomefloxacin (LFLX), sparfloxacin (SPFX), さらに開発を中止した Y-26611 では少数例ながら開発時に光線過敏症が認められている。また NFLX, OFLX, CPFX についても今までの報告をまとめてみると 100 万人に 1~2 人の割合で光線過敏症が認められている。

LFLX, TFLX による光線過敏症の全国調査成績:

LFLX および TFLX による光線過敏症の発現頻度ならびに発現に及ぼす要因を知る目的で全国規模での調査を行った。LFLX については、1991 年 10 月から季節に偏りがないよう約 2 年間に亘り全国 100 施設から 4,284

症例を収集し、評価可能な 4,276 例について検討した。TFLX についてはまだ中間成績であるが 1992 年 8 月から 1993 年 12 月までに全国 305 施設から収集した 1,763 例中評価可能な 1,759 例について検討した。

その結果 LFLX による光線過敏症は 4,276 例中 44 例, 1.03% に認められたが、TFLX では 1,759 例中 3 例, 0.17% の発現率であった。光線過敏症の程度は大部分が軽度または中等度で、薬剤の中止または処置により軽快、正常化している。

LFLX による光線過敏症 44 例について検討した結果、患者要因として男性が女性より高率であり、年齢別にみると 39 歳以下では 1,101 例中 3 例 0.3%, 40~59 歳では 1,362 例中 3 例 0.2% の発現率であったのに対し、60 歳以上では 1,813 例中 38 例 2.1% と有意に高率であった。治療要因としては服薬日数が 2 週間以内では 0.28~0.23% の発現率であったが、15~29 日で 1.03%, 30~59 日で 2.62%, 60 日以上で 5.95% と服薬日数が長くなる程高率に発現する傾向が認められた。その他種々の患者要因、治療要因について多変量解析を行った結果、患者要因としては年齢が 60 歳以上、基礎疾患、合併症ありの症例に多く発現していた。治療要因としては、1 日使用量、1 日服薬回数とは無関係で、服薬日数 30 日以上、総使用量 20 g 以上、キノロン服薬歴ありの症例に高率に発現していた。

新規発売ニューキノロン薬による光線過敏症:

昨年発売された SPFX の初年度調査成績では、10,024 例中 53 例 0.53% に光線過敏症が認められている。LFLX の場合と同様女性より男性に多く、60 歳以上の高齢者では 3,842 例中 32 例 0.83% と発現率が高くなっている。1 日 100 mg 2 週間以内の使用例では 1 例に認められたにすぎないが、1 日 200 mg, 2 週間以上の使用例では 1,072 例中 22 例 2.05% の発現率である。

FLRX については詳細は不明であるが、すでに関東地区での皮膚科学会で 10 例の報告があり、海外での報告では、4,234 例中 24 例 0.57% に光線過敏症が認められている。

考 察:

ニューキノロン薬は程度の差はあるが、すべて光線過敏症を発現する可能性があり、特にキノロン骨格の 8 位置換基がフッ素である LFLX, SPFX, FLRX で発現しやすい傾向にある。

患者要因としては年齢 60 歳以上、基礎疾患、合併症ありの症例に、治療要因としては服薬日数、総使用量が多くなる程高率に発現している。

高齢者に高率に発現する原因としては、加齢に伴う皮膚局所の変化も考慮する必要があるが、これらニューキノロン薬の加齢に伴う血中濃度の上昇も原因の一つと考えられる。

現時点におけるニューキノロン薬による光線過敏症対策としては、服薬中過度の日光曝露を受けないよう注意するとともに、徒らな長期使用を避けることが重要であると考えられる。

LFLX による光線過敏症について、338 例中 19 例 5.6% と高率な発現を報告した安城更正病院の戸澤らは、その後 LFLX の 1 日使用量を 400 mg 以下、服薬期間は 14 日以内とし、継続使用が必要な場合でも総使用量が 20 g 以下となるよう規制をして検討している。その結果対象症例の性、年齢、キノロン服薬歴などは前回の報告とほぼ同じであったにもかかわらず、光線過敏症が発現したのは 324 例中 1 例 0.3% であったと報告している。

以上の成績からニューキノロン薬による光線過敏症は、60 歳以上の高齢者に使用する場合特に注意が必要であり、過度の日光曝露を避けるよう指導するとともに、少なくとも服薬期間を 2 週間以内に制限することにより、ある程度発現率を軽減することが可能であると考えられる。

#### ニューキノロン剤の光毒性のスクリーニング

中島光好・梅村和夫・和田孝一郎  
浜松医大薬理学教室

ニューキノロン剤は有効な抗菌剤として臨床で広く使用されている。しかし、副作用の 1 つとして日光皮膚炎が問題とされている。しかし、未だその発症メカニズムはわかっていないため、臨床に入って開発を中止せざるを得ないケースが多い。今までに報告されているニューキノロン剤の日光毒性のスクリーニングモデルは赤血球溶血試験、白血球 DNA 合成抑制試験や耳厚反応試験などがあるが、まだ適切なものはない。そこでよりよい方法の開発を試みた。

#### 方法:

まず、ヒトの赤血球膜を使用した *in vitro* のモデルは、ボランティアからクエン酸入りのチューブに血液を採取し、 $10^7$  cell/ml の洗浄赤血球液に調整した。この洗浄赤血球にニューキノロン剤やラジカルスカベンジャーを添加した。紫外線は UV-B と UV-A の 2 種類の波長を使用し、この溶液に 60 分間照射した。紫外線照射後に細胞障害の指標として、赤血球膜の脂質過酸化量をチオバルビタール酸反応物質として測定した。

次にラットの皮膚を利用した *in vivo* のモデルであるが、ラットの背の毛を刈り、皮下にニューキノロン剤を投与し、直径 3 mm の UV-B 光を 45 分間照射した。24 時間後に白血球からのスーパーオキシドラジカルと反応して光子を発生する MCLA (2-methyl-6- [p-metho-

xyphenyl] -3,7-gihydroimidazo [1,2-a] pyrazin-3-one hydrochloride) を照射した部位の皮下に投与し、光子を直接光子カウンターにて測定した。

使用したニューキノロン剤は Y-26611, ofloxacin, sparfloxacin, lomefloxacin である。ラジカルスカベンジャーは azide と phenyl N-tert-butyl nitron (PBN) を使用した。

#### 結果:

ヒト赤血球膜を使用した *in vitro* モデルでは、脂質過酸化量の増加はニューキノロン剤の存在下に紫外線照射をしたときのみ見られた。それぞれのニューキノロン剤の脂質過酸化量の変化は、Y-26611 では用量依存的に脂質過酸化量の増加が見られ、ofloxacin では増加は見られなかった。Y-26611 は UV-A, UV-B の照射により脂質過酸化量は、時間依存的に増加した。また、UV-B のほうが UV-A より脂質過酸化量を増加させた。ラジカルスカベンジャーである azide および PBN は Y-26611 による脂質過酸化の増加を抑制した。

ラットの皮膚を使用した *in vivo* モデルでは、24 時間後の組織学的検討で皮下に多核白血球が集積し、炎症反応が見られた。光子は Y-26611 を皮下投与した群にて最も多く測定された。この光子は多核白血球からのものと考えられた。その次に sparfloxacin さらに lomefloxacin の順で光子が多く測定された。ofloxacin ではほとんど光子が測定されなかった。また、照射後 24 時間で肉眼的には皮膚の変化がないような状態でも Y-26611 投与群では光子が測定された。

#### 考察:

Ofloxacin, sparfloxacin, lomefloxacin は臨床で抗菌剤として広く使用されているが、日光皮膚炎の発症が報告されている。前臨床試験で Y-26611 は lomefloxacin より光毒性が弱いという報告がされていたが、臨床試験で、日光皮膚炎が強く出現し開発を中止した。このことより、今まで使用されてきた前臨床試験のスクリーニングモデルは臨床の予測にあまり適していない。そこで、我々は、ニューキノロン剤の光毒性のスクリーニングモデルとしてヒトの赤血球膜の脂質過酸化量を指標としたモデルとラット皮膚を使用し、白血球からの光子を測定するモデルの開発を試みた。

我々の実験法では、臨床の日光皮膚炎の発症頻度を反映するような結果が得られた。今後これらのモデルを利用しいろいろなニューキノロン剤の評価をしていくつもりである。

## ニューキノロン剤の光毒性

—化学構造との関係—

松本雅彦・丸谷 清・松原秀三

中外製薬(株)富士御殿場研究所, 信州伊那研究所

横田 健

順天堂医療短期大学

松本文夫

神奈川県衛生看護専門学校付属病院

ニューキノロン系抗菌剤 (NQs) は、時に光線過敏症を発現する。これが、プロトタイプであるナリジクス酸以来のキノロン骨格の構造に特有の副作用であるのか、NQs の化学構造を修飾する事により軽減できる現象であるのかを明らかにする事は、NQs の構造活性相関の研究と同様に、新しい誘導体の研究・開発において、重要な問題である。

Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>) は、キノロン環 8 位にメトキシ基を有する NQs である。その溶液は、紫外線照射下で放置しても、特に、変化しなかったが、8 位をフッ素置換した 8-フルオロキノロン溶液では着色する事が観察された。そこで、8 位構造以外は Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>) と同様の構造に固定した 8 位フッ素置換体 (8-F) と 8 位未置換体 (8-H) の長波長紫外線照射下での安定性および生物活性について Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>) と比較検討した。

まず、リン酸緩衝液 (pH 7.3) にて調整した 20 μg/ml の NQs 溶液に、ブラックライト蛍光ランプ (東芝) を用い、主に長波長紫外線である UVA 領域の紫外線を照射した。各 NQs 溶液の吸収スペクトルは、ほぼ同様に 270~280 nm と 320~330 nm に吸収ピークを有した。UVA 照射溶液の吸収スペクトルは、Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>) では変化しなかったが、8-F および 8-H は変化し、可視部領域である 400 nm 以上にまで吸収が見られ、これが着色として観察されたものと考えられた。そこで、UVA 照射量とその溶液の安定性、生物活性を測定すると、Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>) は 5J の照射に対しても安定で、抗菌活性および細胞毒性は変化しなかったが、8-F は 0.3J で、8-H は 1J でほぼ本体が消失した。その時、初期の本体の消失に伴い 8-F、8-H の抗菌活性は低下した。また、これらの NQs 10 μg/ml 存在下で、マウスリンパ性白血病細胞株 L-1210 細胞は、薬剤非添加条件下とほぼ同様に増殖し、細胞毒性は殆ど観察されなかったが、UVA 照射 NQs 溶液に細胞を添加すると、多量の UVA (3~5 J) を照射した 8-F または 8-H 溶液において、細胞毒性が観察された。

次に、*in vitro* 光毒性試験として、96 穴プレートを

用いて、10 μg/ml の NQs 溶液に 5 × 10<sup>3</sup> 個の細胞を添加し、その混合液を UVA 0.1~2 J にさらした後、2 日間培養し、細胞増殖に及ぼす影響について検討した。UVA 照射下においても、Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>) は細胞障害性を増強しなかったが、8-F では 0.1~0.2 J、8-H では 0.5~1 J の UVA 照射により *in vitro* 光毒性が観察された。

最後に、*in vivo* 光毒性試験として、BALB/c 系雌マウスに NQs を 3~800 mg/kg を経口投与し、30 分後から UVA 40 J を照射し、照射後 24 時間の耳翼皮膚の発赤を観察した。Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>) は 800 mg/kg を投与しても発赤等の炎症反応は観察されなかったが、8-F または 8-H では各々 12.5 mg/kg、200 mg/kg 以上の投与で発赤、浮腫が観察され、その 50% 紅斑誘発投与量は 8-F で 12.5 mg/kg、8-H で 100 mg/kg であった。今回は、データを示さなかったが、マウス皮膚組織への移行性は、8-F が最も良好で次いで Q-35 (8-OCH<sub>3</sub>)、8-H の順であったが、その C<sub>max</sub> にて補正を加えても、*in vivo* 光毒性は、8-F、8-H の順で発現すると考えられた。

以上の結果より、紫外線照射下での光分解、*in vitro* および *in vivo* 光毒性の惹起能は、8-F、8-H の順で発現し、キノロン環 8 位へのメトキシ基の導入により改善される事が明らかになった。

## ミニシンポジウム III: アゾール系抗真菌薬

## 司会の言葉

二木芳人

川崎医科大学呼吸器内科

深在性真菌症の臨床的重要性の認識は、近年の免疫不全宿主の質的・量的増加と共に飛躍的な高まりをみせている。しかし、その診断面や治療面における問題点は、各方面での精力的な研究努力にもかかわらずまだまだ多いと考えられる。

診断面では特に各種血清学的診断法がこの数年間でめざましい発展を遂げ、広く臨床応用可能なキット化製品も相次いで市販され、診断率の向上ひいては有効治療への足がかりとして、将来への展望も明るい。しかし、その確実性を高めるためにはさらなる改良や工夫も必要と考えられる。

治療面での近年の最大の進歩は、Fluconazole (FLCZ) や Itraconazole (ITR) の新しいトリアゾール系抗真菌薬の登場とその幅広い臨床応用の開始にある。既存のイミダゾール系抗真菌薬 Miconazole (MCZ) を加えたこのアゾール系抗真菌薬は、安全性や体内動態の面で従

来の代表的抗真菌薬である Amphotericin B (AMPH) を明らかに上まわる臨床的有用性を示し、一部の深在性抗真菌症をより安全にまた確実に治療できるようにしたと同時に、本症に対する empiric therapy をより一般に普及させる事となった。

他方、その選択や投与方法については、深在性真菌症の診断や治療効果判定の困難性などもあって比較的あいまいな部分が多くみられるようである。我国に先立って、1980年代当初から深在性真菌症の急増を経験し、より積極的な対策を講じて来ている米国においては、河野氏の報告にもみられるように NIAID の Mycoses Study Group (MSG) が中心となって、よりすぐれた抗真菌療法を模索するべく数多くの Prospective な Project 研究が数多く行われている。これらの成績に基づいて、より厳格な適応や具体的な治療法が確立されるわけであり、特にアゾール系抗真菌薬に対する評価は化学的根拠に裏付けされた上で、我国のそれに比し明らかに慎重でありかつ明確である。我国においてもその適応と使用方法について、より多くの実験的・臨床的検討成績に基づいた再確認が必要であろう。

その過程において、個々の薬剤の *in vitro* あるいは *in vivo* の抗菌活性を適正に評価することが不可欠であるが、アゾール系抗真菌薬はここでも大きな問題点を有する。川崎氏はアゾール系抗真菌薬の *in vitro* 抗菌力は、実験条件で様々に影響を受け、さらに生体内では代謝や血清蛋白との結合による活性の著明な低下がみられるなどの問題があり、新規物質の初期スクリーニングすらも容易でないことを示し、FLCZ 開発の経緯も絡めてアゾール系抗真菌薬の酵母様真菌に対する *in vitro* 抗菌活性測定法の確立への現在までの努力を明らかにした。1992年には米国の NCCLS 標準法も提唱されているが、より適正な評価法の確立にはさらに継続的な検討と努力が必要であろう。

臨床における実際の使用に関しても、解決されるべき問題や疑問点は多い。治療をいつ開始しいつ終了すべきか、効果の判定はいかにすべきか、効果面・安全面からの適正投与量は、など枚挙にいとまがないが、これらの多くは現在進歩の著しい各種血清診断法など深在性真菌症の診断技術の改善により、近い将来自ずと答えが得られるものと考えられる。さらにより効果的な抗真菌薬療法を考える場合、その体内動態や作用機序あるいは併用効果の有無などを把握しておくことも必要であろう。

アゾール系抗真菌薬と既存の AMPH あるいは Flucytosine (5 FC) との併用は、現在臨床の場においてはしばしば行われている。これら併用療法に関する基礎的・臨床的検討成績の報告は数多くみられるが、その評価は必ずしも一定したものではないようである。久米氏は自

身の数多くの実験成績を示し、アゾール系抗真菌薬と AMPH さらにはアゾール系抗真菌薬同志の併用による相乗効果の可能性を示唆したが、同時に実験方法の改良によるより明確な評価法の必要性も強調した。ITR と AMPH の *Aspergillus* に対する併用効果の検討では、投与順序での差なども報告されており、その有用性の確定にはより多くの実験的・臨床的評価が必要であろう。

アゾール系抗真菌薬の登場は、深在性真菌症治療の可能性と確実性を明らかに高めるものであるが、より効果的にこれらを活用する上で、我々が認識し努力すべき問題点は数多い。今後我国においても AIDS を含めた免疫不全宿主のさらなる増加が予測され、その合併症としての深在性真菌症もより重要性を増してくるものと考えられるが、本ミニシンポジウムが本学会での深在性真菌症に関する研究をより活発化させる一助になれば幸いである。

## 米国におけるアゾール系抗真菌薬の評価と現状

河野 茂

長崎大学医学部第二内科

1980年代に入り、米国では AIDS や臓器移植などの増加により、日和見感染症としての真菌症が増加している。米国内感染症調査システムに加入した病院における院内感染症としての真菌症の頻度は、1980年から1990年までの10年間で、退院1,000人あたりの感染症数が5と約2倍に増加し、敗血症の起炎菌を500床以上の教育病院において検討したものでは、カンジダ属はコアグラゼ陰性ブドウ球菌などについて、第4位の頻度であり、10年間で約5倍に増加している。米国における抗真菌剤として1978年に Miconazole, 1981年に Ketoconazole, 1990年に Fluconazole, 1992年に Itraconazole がアゾール系抗真菌剤として上市された。米国での年間の販売額の推移では、Fluconazole が上市された1990年から既に7,000万ドルと Ketoconazole を抜いてトップになり、1993年では2億4000万ドルになった。第二位は Ketoconazole 5,000万ドル、三位 Itraconazole 4,250万ドルであり、Miconazole は8位の4万ドルであった。米国における抗真菌剤の臨床治験は、NIAID の Mycoses Study Group により全米43施設で行われている。サブプロジェクトとしてクリプトコックス症、コクシジオイドマイコシス、endemic mycosis, 日和見真菌症の4部門にわかれており、1993年4月現在で Study #1 から Study #16 までが終了し、現在進行中から将来の治験まで28の臨床治験が施行および予定されている。

Study #8 においては米国で最も大きな問題の一つで

ある AIDS 患者におけるクリプトコッカス髄膜炎に対するフルコナゾールとアムホテリシン B の比較試験が行われた。HIV 感染者で髄液中の *Cryptococcus neoformans* が培養陽性の患者にフルコナゾール 200~400 mg またはアムホテリシン B 0.3 mg/kg を 10 週投与し、髄液培養および臨床症状の改善で判定した。10 週目におけるフルコナゾールの有効率は 34%、アムホテリシン B は 40% でほぼ同等であったが、副作用はフルコナゾールの 2% に比べ、アムホテリシン B は 8% とやや多く、髄液培養陰性化までの陰性化平均日数はアムホテリシン B では 42 日とフルコナゾールの 64 日より短く、早期に陰性化したが、80 日後の陰性化率は同じであった。最終的な副作用の頻度は、フルコナゾールで 27%、アムホテリシン B で 64% と後者で有意に高く、内訳として全身性や腎障害の頻度が目立った。骨髄移植後や急性白血病で、治療の導入時から好中球減少が回復するまで、二重盲検比較試験で、プラセボ群とフルコナゾール 400mg 投与群において深在性真菌症の合併率の検討が行われ、当然のことながらフルコナゾール群で有意に合併率が少ない結果が得られた。Study #15 では、侵襲性アスペルギルス症に対する Itraconazole の多施設オープン試験が行われた。肺アスペルギルス症では 12 週後の判定に比べ、長く治療した結果の最終判定で、著効や有効症例が増加し、有効率が約 50% になった。しかし、中枢神経系のアスペルギルス症では、逆に長期間治療にても無効例が増加し、有効は僅か 13% であった。基礎疾患別の臨床効果では、顆粒球減少や臓器移植、ステロイド治療によるアスペルギルス症で長期投与するほど有効率が上がったが、AIDS 患者では、最終的に有効例がまったく見られなかった。血中イトラコナゾール濃度と臨床効果の関係では、無効とやや有効の群で、血中濃度が測定限界以下の症例が多く見られたものの、両者間に有意の差はなかった。また、治療血中濃度が 10~15 µg/ml と高い濃度が得られても、中枢神経系アスペルギルス症や AIDS では無効がほとんどであった。

米国では、実際的な適応がより厳格であり、アゾール系抗真菌剤の中では、アスペルギルス症に対しては Itraconazole が有用であり、カンジダ症では Fluconazole で有用性が確立し、Itraconazole は現在治験中である。クリプトコッカス症の導入療法や維持療法では Fluconazole で有用性が確立し、Itraconazole での可能性が検討されている。

本邦と一部の抗真菌剤の使用状況は異なり、種々の問題が含まれるため、同じ様な適応は難しいと思われるが、今後とも国際的コンセンサスを参考にした適応法の確率が望まれる。

## アゾール系抗真菌薬の併用効果

— 基礎的立場から —

久米 光

北里大学医学部・病理

抗真菌剤の併用効果については、アムホテリシン B (AMPH) とフルシトシン (5 FC) との間で強い相乗効果を示すことがすでに知られており、演者らはこの強い相乗効果発現の機転の 1 つがポリエンの存在による真菌細胞膜の透過性の亢進に起因することを報告した。

その後、いくつかの抗真菌剤が新たに上市され、これら新規の抗真菌剤についてもその併用効果に関する基礎的・臨床的研究がなされ数多くの報告があるが、その評価は一致した見解を示しているわけではない。

本ミニシンポジウムではアゾール系抗真菌剤の併用効果について基礎的立場から改めて検索した成績のあらましを提示した。

1. 試験管内における併用効果 (チェッカーボード法とその他の検索法による評価)

アムホテリシン B (AMPH) とミコナゾール (MCZ) およびフルコナゾール (FLCZ)、5 FC と MCZ および FLCZ との併用効果について検討した結果、感受性測定用培地として YMA を用いた寒天希釈法では、少なくとも相乗効果はなく、また明らかな拮抗作用もなかった。

次に AMPH (0.25 µg/ml)、MCZ (3 µg/ml) および FLCZ (15 µg/ml) をおのおの単独で作用させた場合と、上記薬剤のうち 2 剤をそれぞれ作用させた場合の生菌数の経時的な消長と供試菌の viability の経時的な変化について *Candida albicans* を対象として検索した結果、生菌数の消長を検索した成績では AMPH の単独作用群に勝る殺菌効果を示す組み合わせはなかった。また MCZ と FLCZ はそれぞれ単独よりは併用により殺菌効果を助長するであろうことを示唆する成績を示した。また、FLCZ は殺菌効果をほとんど示さなかったが、薬剤添加の初期に供試菌の viability (蛍光顕微鏡法による評価) をかなり低下させる成績を示した。しかしながら、FLCZ 添加後 7 時間目以降では、むしろ viability が高くなり増菌傾向を示した。この成績は本剤が抗菌活性が低いにもかかわらず、感染治療実験や臨床的に治療効果をもつという事実に関連する所見と考えられる。

殺菌曲線法による検索成績から、アゾール系抗真菌剤についてその併用効果を buffered YNB を用いたマイクロダイリュション法によって改めて検討した結果、MCZ (IC<sub>80</sub> = 0.005 µg/ml)、FLCZ (IC<sub>80</sub> = 0.6 µg/ml)、

ITZ ( $IC_{80} = 0.26 \mu\text{g/ml}$ ) のそれぞれ 2 剤併用で、そのいずれもの組み合わせにおいても  $FIC_{80} \text{index} \sim FIC_{100} \text{index}$  は 0.476 から 0.761 と sub MIC 域で相乗効果を示したが、その濃度域は  $0.003 \sim 0.3913 \mu\text{g/ml}$  とかなり低い値であった。なお、 $FIC_{100} \text{index}$  ではいずれの組み合わせも相乗効果はなく、相加効果を示すにとどまった。

### 2. 感染治療実験による併用効果

*Candida albicans* の静脈内接種マウスを対象として AMPH, MCZ および FLCZ の各々 1 日臨床容量をそのままマウスの体重にスライドした投与量で連続 3 日投与し、累積死亡曲線および病理組織学的所見の両者で、その治療効果を評価した。

その結果、殺菌曲線法における検索成績と同様に AMPH の単独投与群に勝る治療効果を示した併用群はなかった。また、同様に殺菌曲線法と同様にアゾール剤の 2 剤はそれぞれの単独投与群に比べて両剤の併用では有意に効果的であることを示唆する成績を示した。また、感受性値および殺菌曲線法による検索成績と異なり MCZ の単独投与群でまったくその治療効果をみなかった。

また、AMPH の投与量を 1/5 に下げた同様の実験群と、AMPH のシロップ剤をヒトの臨床容量にスライドさせ投与した実験群について同様に検索した。その結果、AMPH の単独投与群に勝る治療効果をみた併用群はなかった。

### 3. 抗真菌剤の血中濃度と薬効評価

抗菌活性と感染治療実験とのギャップに回答を与えるべく、同様の投与量および投与方法で投与したマウス血中濃度を測定した結果、MCZ 血中濃度の  $C_{\text{max}}$  は  $14.86 \mu\text{g/ml}$  であるが半減期は約 0.32 時間で、投与後 3 時間では血中からほとんど消失した。この成績は MCZ の 1 日 1 回投与は、その治療効果をほとんど期待できないことを示唆する。

AMPH の経口投与時におけるマウス血中濃度の推移と、体重あたりの投与量を同じくしたヒトへの経口投与時の血中濃度の推移を検索した結果、マウス経口投与時の AMPH の血中濃度はヒトの場合の約 10 倍高い濃度で推移した。

これらの成績を総括して、抗真菌剤の併用効果に関する基礎的評価がかなり困難であることを指摘した。そしてかかる目的のために応用が可能と思われる BIO-CELL TRACER (グンゼ産業) による検索成績の一部を提示した。

(共同研究者: 山崎敏和, 舟岡美砂子, 望月真弓, 村瀬勢津子)

## 酵母様真菌に対するアゾール系抗真菌薬の抗菌活性測定

川崎賢二

ファイザー製薬(株)臨床開発統轄部

アゾール系抗真菌薬は異なる 2 つの抗真菌活性機序を有すると考えられていた。比較的高濃度で観察される殺菌作用は、Polymyxin-B の殺菌作用に類似する瞬間的な原形質膜の破壊を特徴とする。しかし、この作用は pH 依存的であり、血清の添加により著しく減弱、もしくは消失する。他の 1 つはエルゴステロール合成阻害に基づく静菌的抗真菌活性である。アゾール系抗真菌薬の標的が表在性皮膚真菌症に留まっていた間は、抗真菌薬の活性はこの 2 種の活性の相加作用として捉えられていた。局所投与されたアゾール系抗真菌薬の皮膚角質内濃度は MIC レベルに比べはるかに高いこと、また皮膚糸状菌に耐性獲得が認められないことから、抗菌活性測定に関するこれ以上の検討は、少なくとも臨床例にとって必要とされなかった。

表在性真菌症に対する繁用治療薬の位置を獲得したアゾール系抗真菌薬が、深在性真菌症への適応拡大を本格的に試み始めたのは 1980 年前後に遡る。医療技術の高度化に伴う易感染症患者の増加、加えてエイズの急速な蔓延は深在性真菌症治療薬への臨床現場の関心を高め、同時に製薬企業には市場の拡大を示唆した。しかし、新規物質のスクリーニングは決して容易なものではなかった。これは、アゾール系抗真菌薬の *in vitro* 抗菌力が、培地組成、培地 pH 等の実験条件の影響を強く受け、さらに、生体内での代謝や血清蛋白との不可逆的結合による抗菌活性の著明な低下等の問題が複雑に絡み合っており、多数の開発候補物質の初期スクリーニングを *in vitro* 実験で行う従来の常識が、ほとんど成立し得なかったことに起因する。

再現性のよい試験法が模索され、得られた *in vitro* 成績と *in vivo* (臨床的) 効果との対応が検討された。Van Cuttsen らが報告した *Dandida* の germ tube 伸長阻害を指標とする方法は特別な装置を必要とせず、正確性、再現性にも優れていた。また、De Brabander らはマウス腹腔由来食細胞の培養系に *Candida* と抗真菌薬を添加し、*in vivo* 効果を *in vitro* の場に移しかえることを試みた。

Ketoconazole, Miconazole に続いて開発された Fluconazole がマウスを用いた感染治療実験でスクリーニングされた事実は、当時の研究者が直面していた困難さを如実に物語っている。注射剤型の開発のために必須であった水溶性の上昇は、Fluconazole に至る一連の候

補化合物から、瞬間的な原形質膜破壊作用を消失させたため、一時期 Fluconazole は *in vitro* 抗真菌活性の指標を喪失したと考えられた。Fluconazole の臨床治験が開始され、用法用量と体内動態および臨床効果の対応が明らかになるにしたがい、これをヒントとして検討が進展し、アゾール系抗真菌薬の酵母状真菌に対する *in vitro* 抗菌活性測定法の確立への挑戦に、本剤は格好の材料となった。fluconazole の作用様式にサルファ剤のそれとの類似点が見出され、接種菌量の標準化が培地の選択と同様に重要なことが明らかとなった。

このように Fluconazole の *in vitro* 抗菌活性は他のアゾール系抗真菌薬に比べても一層顕著に実験条件の影響を受けることが判明したことから、培地には HR 培地や SAAMF, RPMI 1640 等の完全合成培地が選ばれ、強力な緩衝能を備えさせて菌の発育に伴う pH の変動を防ぐ工夫が加えられ、1992 年に至って NCCLS 標準法が提唱された。しかしながら、アゾール系抗真菌薬の特徴である広範囲の濃度域に亘る部分的発育抑制は、有効の濃度の終末点を不明確とするため、生菌数測定、濁度測定、菌体蛋白定量、最近では ATP 活性測定により、終末点の判定を客観化する試みが続けられている。

アゾール系抗真菌薬の抗菌活性測定の簡便法としては、浅利らが報告した試験法が推奨されている。基礎培地に SAAMF を採用した浅利らの方法で得られる MIC は、NCCLS 標準法での成績とよく相関する。

#### ミニシンポジウム IV: 抗菌剤と適正使用—ペニシリン剤の教訓—

##### 司会の言葉

菅野治重

千葉大学医学部臨床検査医学講座

新しい抗菌剤が次々と開発・市販され、感染症の治療に大きく貢献している。しかし急速な抗菌剤の増加は、臨床でその使い分けに混乱が生じている。新薬には抗菌力、抗菌域、薬価など多くの長所があるが、あまりに新薬優先の日本の状況は、古い治療実績のある抗菌剤を次々と発売中止に追い込んでおり、中にはペニシリン剤など現在でも特定の領域においては治療に必要な抗菌剤も含まれている。

また日本では MRSA が問題になってからも、新たに開発・市販された注射用抗菌剤には、セフェム系、カルバペネム系が依然として多く、系統的に偏った開発が行われているが、耐性菌対策では、汎用性にとらわれず、多数の系統の抗菌剤を常備して置くことが大切であり、この点で日本の現状は問題が多い。MRSA では約 40 年

前に市販された古い抗菌剤である VCM を復活させざるを得なかったことは、新薬は簡単には開発できないことを痛感させられたが、この教訓を活かすには、今後は限られた資源として抗菌剤を有効に使用していくための適切な使用法を確立することが必要と思われる。

今回のミニシンポジウムでは「抗菌剤の適正使用」を考えるため、ペニシリン剤を例として、製薬会社の立場から「古い抗菌剤を安定供給するための条件」について、続いて臨床の立場から「ペニシリン剤の現代的な位置」について意見を述べ、双方の立場からこの問題について検討した。このミニシンポジウムが日本の化学療法のあり方を考える一つの契機になれば幸いである。

#### PC 製剤の薬価の推移と国際比較

蓮沼 隆

明治製菓株式会社医薬営業企画部

田前雅也

田辺製菓株式会社東京業務統括部

戦後の混乱期以降諸感染症に対する治療を一変させた PC 剤の薬価は統制経済下であるにも関わらず高薬価であったが、その後薬価基準の制定、幾多の薬価改定を経て PC 剤の薬価は凋落した。爾来薬価算定の移り変わりと PC 剤の薬価の推移についての分析を、また抗生物質の使用と薬価の国際比較を行い、さらに PC 剤の安定供給に必要な条件について検討した。

薬価基準は保険医療で使用できる品目一覧表と基準価格表の 2 つの性格を有しており、その収載について、昭和 40 年統一限定列記方式の採用により、同一成分の医薬品は全て同一価格となり、これを受けて後発品が続々と発売されるようになり、それに伴い競争は激化、市場価格は下落、その結果次回改訂時の薬価は大幅に下がることとなった。流通秩序の乱れを防ぎ、薬剤の適正使用を主眼として、昭和 53 年銘柄別収載となり、現在に至っている。

PC 剤の薬価の推移をみるに、代表的経口剤 ABPC や AMPC について収載時から平成 6 年までのその推移は、ほぼ隔年毎に低下し、特に、後発品が収載され販売活動に激しさも増し、10 年前後で収載時の約半分、更に今年平成 6 年の薬価は収載時に比し、先発品は 1/10、後発品は約 1/20 に低下している。注射用 PC 剤の薬価推移も同様な様相を呈し、ABPC、CBPC や PIPC についても後発品の参入等により収載後 10 年から 20 年前後でやはり約半分の薬価に引下げられている。斯様な大幅な薬価引下げは薬価基準の仕組みで行われる薬価改定によるものである。

薬価基準の基本は銘柄別収載と市場価格主義にあり、

医療機関の購入する価格と医療機関の請求する薬価基準との間に差があり、この差を薬価差といい、薬価基準ではこの薬価差を解消し市場実勢価を反映すべく薬価調査という市場調査を行い、市場実勢価に基づいた薬価改定がなされる。薬価基準制定後32回の薬価改定が行われた。薬価改定の方法には、バルクライン方式と加重平均値一定価格幅方式とがあるが、昭和25年の薬価基準制定時より90%バルクライン方式がとられ、この方式のもとでは相当量が薬価で購入されないかぎり、薬価は必ず下がる仕組みになっており、薬価改定の度毎に必ず薬価は引下げられる、いわゆる循環的引下げが行われてきた。平成3年の中医協建議により、加重平均値方式に改正され、平成4年から実施された。卸から医療機関に対する販売価格の加重平均値に一定幅を上乗せした価格が次回薬価となるこの方式は個々の薬剤の全体の実勢価をそのまま反映し、しかも販売姿勢により薬価が変わらない据え置きも可能にした。

新医薬品の薬価算定には、類似薬効比較方式と原価計算方式と2通りあり、薬効に類似のものが既にある場合は類似薬効比較方式で行い、新薬の薬価=類似薬の薬価+補正加算となる。また、全く新しい効能で比較対象がない場合は原価による算定で行われる。PC剤の殆どが類似薬効比較方式で算定されており、例えば、IPABPC、ACPCやAMPC等の薬価は各々が記載された年のABPCと同一薬価であり、その時点まで常に薬価改定を受け薬価ダウンしているABPCがPC新薬の薬価算定の基準となっている。注射剤も同様であり、PC剤の新薬の薬価は、激しい競争による実勢価の反映と循環的薬価の引下げにより低薬価となったPC剤が薬価算定の対照薬となり、PC剤の枠を超えることが出来ず、新薬といえども低薬価に抑えられてきたことが明らかである。

昭和40年から平成2年に至るイソキサゾリル系注射剤の薬価推移と物価指数の比較では、物価は2倍に膨張しているのに反し、薬価のダウン率の低いイソキサゾリル系でも4割引下げとなった。しかも、これらの低薬価と狭い有効菌種、適応症に起因する使用頻度・量の問題から製造中止せざるを得なくなり、市場からの撤退、薬価から削除に向かったと推察されるPC剤がイソキサゾリル系の他にもCBPC系に見られる。なお、一部低薬価PC剤については今年の薬価改定時も僅かに引上げられた。

その後、 $\beta$ ラクタマーゼ阻害剤のCVAやSBTのPC剤との配合剤が記載されたが、記載時の薬価はCVA・AMPCはAMPCが算定の基本となり、PC剤の枠を大きく超えていないと推察された。

すでに日本におけるPC剤の薬価が大きく低下していることが明らかになったが、この価格水準が先進諸国の

中でどの位置にあるかを検証すべく、薬価の国際比較の検討を行ったが、現状では各国間に差異のあるいくつかの問題点が指摘されている。まず、流通マージン、付加価値税等の問題、次に用法・用量、効能・効果の面、更に規格・単位、包装単位の調整そして一番大きな問題である為替変動などであり、国際比較の難しさを呈している。

今回の比較では日、米、英、独、仏の5ヶ国を対象とし、各国の薬価リストに掲載された最小包装の1錠(本)当り薬価を用い、ここ数年の大幅な為替変動に対処するために購買力評価によって現地通貨を円に換算する手法を用いた。

これによると、CVA・AMPCの日本における価格は収載時(昭和60年)においてはほぼ5ヶ国の平均的な薬価となっているが、その後の経年変化を見ると諸外国の薬価が上昇傾向にある一方で、日本だけが大きく薬価を引下げられ、日本の価格は現在では最低レベルとなっていることが判明した。同様にAMPCの内服、ABPCの注射、ならびにセフェム系抗生物質の代表的製剤であるCCLの内服、CTXの注射についても分析を行ったが、これらの薬剤についても日本の薬価は収載時は先進5ヶ国で平均以上の水準となっているが、度重なる薬価改定の結果、現在では最低レベルまで低下している。

また、日本は他に見られないほどPC剤よりセフェム剤の使用が多く、逆に欧米ではPC剤が多く使用されているが、このように日本だけがセフェム剤の使用量がPC剤に比して多いという現象にはいろいろな要因があるが、臨床面で薬剤選択にあたって薬価の高いセフェム剤へシフトしたことと企業の開発の勢いも薬価の高いセフェム剤に向けたことなどもその要因としてあげられる。

以上のことから、市場での競争とバルクライン方式による循環的薬価の引下げにより、PC剤の薬価は収載時に比し大幅に低下したが、加重平均値方式に改正され、従前のような急激で大幅な薬価の引下げの時代は脱したと考えられる。しかしながら、過去に大幅に引下げられた薬価は取り返しにもままならず、回復を望むべくもない。

イソキサゾリル系では、現在の収載は経口剤、注射剤各1銘柄のみの収載であるが、この両剤とも薬価は抗生物質のなかでも低く、使用量も少ないが、その安定供給については製薬企業の社会的使命として継続していかねばならない。そのためにも、このような薬剤について、例えば国際薬価や医療経済的評価を用いての薬価の見直し再評価がなされることも一考に値するのではないかと。

つぎにPC剤の新薬が収載される際は、現状では最良と評価されている類似薬効比較方式で算定され、しかもPC剤の枠を超えることが殆ど不可能であり、その為既

に低薬価になっている PC 剤が基本的対照薬となり、同一薬価もしくは僅かな補正加算が上乘せされた薬価となることは必定である。それ故 PC 剤開発インセンティブとしての補正加算等に改善がなされても良いのではないか。

さらに国際比較において、日本の PC 剤の薬価は比較的安くまた使用量も少なく、PC 新薬収載にあたり、類似薬効比較方式のもとに、国際薬価の評価や医療経済的評価の観点からも先進各国と同様な PC 剤の薬価の評価がなされることが必要である。また、同様な軌跡を歩んでいるセフェム系内服剤等抗生物質全体にも同様なことがいえるのではないかと PC 剤の教訓が論じている。

## ペニシリン剤の現代的地位

菅野治重

千葉大学医学部臨床検査医学

序:

最近、MIPIC, DMPPC, MDIPC など抗ブドウ球菌用のペニシリナーゼ耐性ペニシリン剤が相次いで発売中止となり、他のペニシリン剤もその将来が危ぶまれる状況になっている。セフェム系やカルバペネム系の著しい発展により、感染症治療におけるペニシリン剤の地位が相対的に低下してきたことは明白であるが、ペニシリン剤がこのまま消え去ってしまうことには大きな危惧を感じる。多くの抗菌剤が市販されたが、残念ながら、その使い分けには明確な基準が設けられてこなかった。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) を契機として、抗菌剤の使用法が見直されている時期でもあり、臨床的立場から現在の化学的療法におけるペニシリン剤の位置を再検討した。

ペニシリン剤の群別と抗菌力:

ペニシリン剤はその抗菌域から 5 群に大別される。第一は肺炎球菌や連鎖球菌に強い抗菌力を示すペニシリン G 群、第二はペニシリン G 群の抗菌域に加え、インフルエンザ菌、腸球菌にも抗菌力を示すアンピシリン群、第三はペニシリナーゼ産生黄色ブドウ球菌 (除く MRSA) に強い抗菌力を示すペニシリナーゼ耐性ペニシリン群、第四は緑膿菌を含むグラム陰性菌に幅広い抗菌力を示す広域性ペニシリン群、第五は  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤を併用した群、である。

ペニシリン剤の各種臨床分離菌に対する抗菌力を他の  $\beta$ -ラクタム薬と比較した。今回の検討では、ペニシリン剤には ABPC, PIPC を、セフェム剤には CEZ, CMZ, FMOX, CZX, CAZ, LMOX を、さらに IPM を加えて MIC を測定した。

グラム陽性菌に対する各抗菌剤の MIC<sub>50</sub> と MIC<sub>90</sub> の

比較では、ABPC は、肺炎球菌、溶連菌、メチシリン感性黄色ブドウ球菌 (MSSA) のペニシリナーゼ非産生株、および腸球菌に対し、今回検討した  $\beta$ -ラクタム剤で最も低い MIC を示した。また IPM も ABPC と同等の MIC を示した。しかし ABPC や PIPC の、腸内細菌や緑膿菌などのグラム陰性菌に対する抗菌力は他の  $\beta$ -ラクタム剤より弱く、MIC<sub>50</sub> でも  $\geq 128 \mu\text{g/ml}$  を示す菌種が多く、セフェム剤や IPM に比べてかなり劣る成績であった。

以上の成績から、主要なグラム陽性球菌に対してはペニシリン剤は他の  $\beta$ -ラクタム剤より強い抗菌力を示し、溶連菌、肺炎球菌、MSSA、などが原因となる感染症に対しては、ペニシリン剤は現在でも有用性の高い抗菌剤と思われた。これに対し主要なグラム陰性菌に対する抗菌力はセフェム系や IPM より弱く、これらの菌種が原因となる感染症の治療ではペニシリン剤の存在価値は低いと考えられた。

このように現在のペニシリン剤の適応は、主にグラム陽性菌感染症にあるため、その抗菌域から、ペニシリン G 群、ペニシリナーゼ耐性ペニシリン群、アンピシリン群、アンピシリン群 +  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤、などは存在意義が高い薬剤と思われる。

なお臨床分離菌の現況として、本年の当院の臨床分離菌を検討したが、ペニシリン剤が適応と考えられる、MSSA, A 群および B 群溶連菌、肺炎球菌、などの菌種が上位に分離されており、現在でもペニシリン剤が有用な領域はかなり広いことが確認された。

ペニシリン剤の特徴:

ペニシリン剤の特徴として、長所として、グラム陽性球菌に対する強い抗菌力、大量投与が可能、殺菌効果に優れる、などの点が上げられ、短所として、アレルギー性の副作用が多い、血中半減時間が短い薬剤が多い、などの点が上げられる。なお、抗菌域が狭い、 $\beta$ -ラクタマーゼに不安定、薬価が低い、などの点は、考え方により長所とも短所とも考えられる。

以上の特徴から、ペニシリン剤を使用するには以下の点を考慮する必要がある。第一に、ペニシリン剤が適応となる感染症の領域は、感染性心内膜炎など主にグラム陽性球菌が起炎菌となる疾患であるが、抗菌域が狭いため起炎菌はペニシリン剤の有効菌種であることの確認が大切であり、耐性株が存在する菌種では感受性検査が不可欠である。また多菌種が起炎菌となり得る血液疾患患者などの重症感染症にはペニシリン剤の単独投与は不向きである。第二に、他の  $\beta$ -ラクタム剤より副作用発現の可能性が高いこと、第三に、現在の医療制度では治療費が安価となること、などである。このためペニシリン剤はある程度感染症の治療に精通した医師において初めて適切な使用が可能な薬剤である。

米国におけるペニシリン剤の位置:

化学療法におけるペニシリン剤の位置は、欧米と日本では大きく異なる。米国の臨床検査の標準化の機関である National committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) の「薬剤感受性検査において菌種別に選択すべき抗菌剤」のガイドでは、グラム陽性球菌では、ブドウ球菌、肺炎球菌、連鎖球菌、腸球菌、の全ての菌種においてペニシリン剤（検査剤は PCG と MPIPC）は治療の第一選択剤としての地位を与えられているのに対し、セフェム剤はブドウ球菌に対して CEZ または CET のみが第一選択剤として扱われており、肺炎球菌と連鎖球菌ではセフェム剤は第二選択剤として、腸球菌では適応外の薬剤とされている。グラム陰性菌でも、腸内細菌、緑膿菌、ヘモフィルス属菌、淋菌、の全ての菌種においてペニシリン剤（検査剤は緑膿菌では TIPC または PIPC、その他の菌種では ABPC）が第一選択剤として扱われており、セフェム剤では、腸内細菌に対しては CEZ と CET が、緑膿菌には CAZ のみが、第一選択剤として扱われているのみである。米国では抗菌剤使用には経済性が重視される傾向があるが、これがペニシリン剤の評価にも影響していると考えられる。

ペニシリン剤の使用が減少した原因:

以上の成績から、ペニシリン剤の使用が減少した原因は、適応菌種に対するペニシリン剤の抗菌力の低下が主な原因ではなく、ペニシリン剤が使用されてきた領域に、他の抗菌剤、特にセフェム剤が使用される機会が増加したためと思われる。抗菌剤の使用状況をみるため、1987年以後の当院の抗菌剤の使用量を検討した。1990年から1991年にかけて全セフェム剤の使用量が大幅に減少し、特に第三世代セフェム剤は1987年の約1/3に著減し、代わって第一世代セフェム剤の使用量が微増している。1992年以降は動きが少なく、各世代のセフェム剤が均等に使用されており、臨床でのセフェム剤間の使い分けが定着してきた感がある。

ペニシリン剤はセフェム剤より使用量は少ないが、同様の変化がみられ、第三世代セフェム剤とともに MRSA 増加の一因と考えられた広域性ペニシリン剤の使用量が約1/3に減少し、逆にアンピシリン群の使用量が増加している。ペニシリン剤においても薬剤間の使い分けが定着し始めており、ペニシリン剤本来の特徴であるグラム陽性球菌に対して強い抗菌力を示すアンピシリン群の使用が、増加していることは歓迎すべき事柄と思われる。

なお当院の MRSA 排菌患者数は1991年以降減少傾向にあり、1993年は1990年の約2/3となったが、これには抗菌剤の使用法の変更も一因となっていると思われる。

まとめ:

以上をまとめると、ペニシリン剤はグラム陽性球菌に対し、 $\beta$ -ラクタム剤の中で最も強い抗菌力を保持しており、この特徴から、心内膜炎、呼吸器感染症、皮膚・軟部組織感染症などの治療には、現在でも最も適した抗菌剤と考えられる。ペニシリン剤の中で特に重要な薬剤は、ペニシリン G 群、ペニシリナーゼ耐性ペニシリン群、アンピシリン群、アンピシリン群+ $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤との併用群、などグラム陽性球菌を標的とした薬剤であり、グラム陰性菌に対しては広域性ペニシリン剤よりもセフェム剤やカルバペネム剤を使用すべき時代にあると思われた。

このようにペニシリン剤は特定の領域では現在も重要な薬剤であり、今後も安定して供給される必要であるが、そのためには薬価が問題である。薬価の問題はペニシリン剤のみでなく、抗菌域の狭い抗菌薬や古い抗菌薬を安定して存続させる上で大きな障害となっており、抜本的な対策が必要な時期にきている。

MRSA の反省として、広域性抗菌剤の安易な使用が問題となっており、前述したように臨床では既に抗菌剤の使い分けが進行している。しかし現在開発途上にある多くの抗菌薬は依然として広域性を追求した薬剤であり、MRSA の反省が活かされていない。抗菌薬を限られた資源と捉え、これを有効に利用していくための適切な使用法を確立するために、今後本学会が指導的な役割を果たすことを期待する。

## ランションセミナー

### 活性酸素、一酸化窒素(NO)とキノロン系抗菌薬

野崎正勝

岐阜大学医学部薬理学

生物は地球上に大量に存在し、反応性の高い化合物がつかれ、利用しやすい元素として炭素とともに酸素、窒素を使いこなしている。高い反応性ゆえに生体にとって不都合と考えられる物質であっても、自己保存のために積極的に使用している。生体内ラジカルと呼ばれる活性酸素( $O_2^-$ )や一酸化窒素(NO)はこの両刃の剣である。食細胞を中心に産生される $O_2^-$ は生体防御に必須であるが、他方、組織障害にとって重要な物質であると考えられている。最近、生体のあらゆる場に関与が検討されているNOは情報伝達に深くかわかり、また $O_2^-$ 同様に生体防御とともに組織障害にも関係しているようである。これら生体内のラジカル反応においては、分子種とともに水の存在を考慮せねばならない。我々は合成抗菌薬であるキノロン薬(フルオロキノロン)が食細胞

刺激にともなう  $O_2^-$  産生を増強すること（プライミング効果）、またおそらくは構成型 NO 合成酵素を刺激して NO 産生を亢進することを見いだした。ここでは以上の作用とキノロン薬の薬理作用との関係を考察する。

#### 1) 好中球活性酸素産生におけるキノロン薬のプライミング効果

ヒト好中球をエノキサシン、オフロキサシン、シプロフロキサシン、ロメフロキサシンなどで前処置（1~20  $\mu\text{g/ml}$ ）すると、食食刺激（チモーザン）、遊走刺激（f-MLP）、PLC 刺激（ホルボールエステル）による  $O_2^-$  産生はキノロン薬の濃度依存的に増加した。その作用は G-CSF 処理によって認められるプライミング効果と異なり、C キナーゼあるいはチロシンキナーゼの阻害、さらに  $O_2^-$  産生の細胞内抑制系である c-AMP 系の賦活下でも出現した。NADPH オキシターゼ標本には無影響であった。生体内で実際に細胞障害を引き起こす活性酸素種として  $O_2^-$  や  $H_2O_2$  の寄与の可能性は低く、それらが Fe や Cu の触媒作用のもとで変換した OH ラジカルを考慮する必要がある。すなわち、これら金属イオンの存在状態が障害の程度を規定しているとも考えられる。キノロン薬は金属の優れたキレーターであり、特に Fe をよく捕獲するため、 $O_2^-$  が高活性ラジカルに変換する反応を抑制するであろう。したがって、キノロン薬がもつプライミング効果は生体防御にとって有利に関与している可能性が高いと推測される。

#### 2) キノロン薬の NO 産生亢進作用

キノロンはそれ自体、弱い中枢興奮作用をもち、それはグルタメート NMDA 型受容体を介した作用と考えられている。しかし、キノロン薬は NMDA 受容体に親和性を示さなかった。マウスに中毒量のキノロン薬を投与すると例外なく間代性痙攣が認められた。この痙攣は非特異的 NO 合成酵素阻害薬（L-NMMA, L-NAME）の前処置によって抑制されたが、誘導型 NO 合成酵素の阻害薬（L-NIO）投与では抑制されなかった。また、痙攣発現マウスではメトヘモグロビンが検出できた。比較的高濃度を必要としたが、キノロン薬は ADP、コラーゲン、セロトニンによる血小板凝集を抑制した。しかし、細胞内 Ca イオン動態、c-AMP レベル、膜流動性、セロトニン受容体には影響しなかった。他方、キノロン薬はマクロファージの NO 産生に対し、LPS 刺激の有無にかかわらず無影響であった。これらのことから、キノロン薬は構成型 NO 合成酵素刺激を介して NO 産生を亢進していることが推測された。なお、キノロン薬はグアニル酸シクラーゼ阻害作用を示し、そのため NO-cGMP 系の作用解析は複雑である。感染症患者では NO 産生が亢進していると考えられ、キノロン薬の NO 産生亢進作用は生体防御機構というよりも、中枢性有害作用（頭痛、めまい、不眠、羞明など）の重要な原

因になっていることが示唆された。

## ワークショップ

### 注射用バンコマイシン

島田 馨<sup>1)</sup>・山口恵三<sup>2)</sup>・砂川慶介<sup>3)</sup>  
稲松孝思<sup>4)</sup>・尾熊隆嘉<sup>5)</sup>・小林寛伊<sup>6)</sup>  
A. Weinstein<sup>7)</sup>

<sup>1)</sup>社会保険中央総合病院内科

<sup>2)</sup>東邦大学微生物学

<sup>3)</sup>国立東京第二病院小児科

<sup>4)</sup>東京都老人医療センター感染症科

<sup>5)</sup>塩野義製薬株式会社新薬研究所

<sup>6)</sup>東京大学医学部附属病院感染制御部

<sup>7)</sup>Lilly Research Laboratories

本ワークショップでは、経時的に実施している市販後調査成績をもとに、本剤の MRSA に対する抗菌力、小児および高齢者に対する臨床効果、血中濃度モニタリングデータによる体内動態、および安全性について報告し、さらに安全性については外国における情報をまとめて報告した。

#### 1. 対象と方法: 島田 馨

対象は 1992 年 11 月から 1993 年 10 月の間に MRSA 感染症と診断され注射用バンコマイシンの投与をうけた症例であり、全国 241 施設から 416 例が収集された。有効性、安全性の評価は主治医判定にしたがった。416 例全例が安全性の評価対象例で、有効性は主治医が判定不能とした 14 例を除外し 402 例（うち小児 19 例）を評価対象例とした。

#### 2. 細菌学的検討: 山口恵三

有効性評価対象 402 例の全例から MRSA が分離されており、分離検体は喀痰が最も多く、次いで膿、血液の順であった。また分離状況では、MRSA 単数菌感染が 72.9%、複数菌感染が 27.1% であり、複数菌感染の相手菌としては *P. aeruginosa* を含むグラム陰性菌が 66.7% を占めていた。

小児 19 例は別に報告されたので、16 歳以上の成人 371 例についてさらに検討を加えた。VCM 単独投与は 52%、他の抗生物質との併用例は 48.0% で、第三世代セフェム 24.9% が最も多く、その他ではミノサイクリン、イミペネム/シラスタチン、フォスフォマイシン、アミノ糖系の順であった。MRSA に対する細菌学効果は全体で消失 67.4%、減少 18.9%、不変 13.7% であった。また、併用薬の有無別ではあり 69.9% の方がなし 64.6% よりやや高く、併用薬別ではセフェム系とミノサイクリンがともに 72% であり、他は 50~63% の