マウス実験的子宮内感染に対するcefetamet pivoxilの感染防御効果の検討

関根 讓・塚口 敏之・寺田(櫻井)千寿子・有沢 幹雄
日本ロシュ(株)研究所*

(平成7年9月26日受付・平成7年10月16日受理)

経口セフェム剤であるcefetamet pivoxil(CEMT-PI)の*Escherichia coli*を用いたマウス実験的子宮内感染症に対する治療効果を,cefteram pivoxil(CFTM-PI)と比較検討した。3.5×10³ cfu/uterusの菌量を接種後,無投与群の子宮内生菌数は20時間で約4×10⁷ cfu/uterusに達していたが,CEMT-PIおよびCFTM-PI投与群では,用量依存的に菌数の減少が認められた。両剤の比較では,CEMTおよびCFTMの*E. coli* RC 4株に対するMICは各々0.2 μg/ml, 0.39 μg/mlと同程度の抗菌活性であるが,子宮内生菌数は0.5 mg/mouseでCEMT-PI投与群はCFTM-PI投与群の約1/10, 2 mg/mouseでは約1/20, 8 mg/mouseでは約1/1,300であり,明らかに,CEMT-PIはCFTM-PIより優れた($p<0.001$)治療効果を示した。以上の結果より,CEMT-PIによる子宮内感染症の有効性が示唆された。

Key words: cefetamet pivoxil, cefteram pivoxil, マウス子宮内感染症

Cefetamet pivoxil(CEMT-PI)は,経口用セフェム剤であり投与後腸管から吸収される際に腸管壁エステラーゼにより脱エステル化され,活性体であるcefetamet(CEMT)となる。CEMTは一部菌種を除くグラム陽性菌およびブドウ糖非発酵菌以外のグラム陰性菌に対しcefteram(CFTM)と同様広い抗菌スペクトルを有し,強い抗菌活性を示す[1~5]。臨床用量でCEMT-PIは良好な血中濃度推移を示し[6~8],500 mg(CEMTとして388 mg力価)食後投与でC_{max}およびAUCは6.5 μg/mlおよび41.5 μg・h/mlと高値[8]であり,またヒト血漿蛋白結合率も約23%[9]と低いなど優れた生体内動態を示す。

今回は,このCEMT-PIの婦人科領域感染症に対する有効性を探るため,マウスを用いた実験的子宮内感染症に対する本剤の治療効果について,側鎖に同じピバロイルオキシメチル基を持つCFTM-PIと比較検討を行った。感染に用いた菌株は,当研究室保存の臨床分離*Escherichia coli*のなかから,子宮内で良好な増殖を示し,CEMTおよびCFTMに対して同程度の感受性を持つRC 4株を選択し用いた。臨床分離*E. coli*に対するCEMT(ロシュ社合成品),cefteram pivoxil(CFTM-PI)の活性体であるCFTM(ロシュ社合成品),cefixime(CFIX,藤沢薬品)およびcefaclor(CCL,塩野義製薬)の抗菌活性の測定は,前培養には感受性測定用ブイヨン(STB: 日水製薬),MICの測定には感性ディスク用培地-N(SDA: 日水製薬)を用い,日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法に準じて行った[10]。接種菌量は10⁶ cfu/mlとした。

マウス子宮内感染は,感性ディスク用培-N(SDA: 日水製薬)平板上,37℃で一夜培養した後,感受性測定用ブイヨン(STB: 日水製薬)に浮遊させ,尾花らの方法[11~12]を一部改変してこの菌液を感染させた。すなわち,4週齢で入荷したICR系雌マウス(Charles River: 17~19 g)を1週間飼育(5週齢,22~24 g)した後,これらマウスをペントバルビタール麻酔下,背部に小切開を入れ子宮頸部を結紮し,左側子宮角に上記菌液20 μlを接種した(3.5×10³ cfu/uterus)。菌液の漏れを防ぐため接種部分を結紮した後小切開部を閉じた。

菌接種4時間後にCEMT-PI(日本ロシュ)およびCFTM-PI(富山化学)の両薬剤を0.5% Carboxymethyl Cellulose Sodium Salt(SIGMA)に懸濁して0, 0.5, 2および8 mg/mouseの各用量で経口投与した。接種20時間後に子宮を摘出し,滅菌生理食塩水中でホモジナイズし,これを希釈し寒天平板にまき子宮内生菌数を測定した。これらの操作はすべて無菌的に行った。CEMT-PIおよびCFTM-PIによる治療の結果得られた子宮内生菌数のデータは,対数をとってSASのANOVA(分散分析)を用いて解析し,両剤の治療効果の比較を行った。

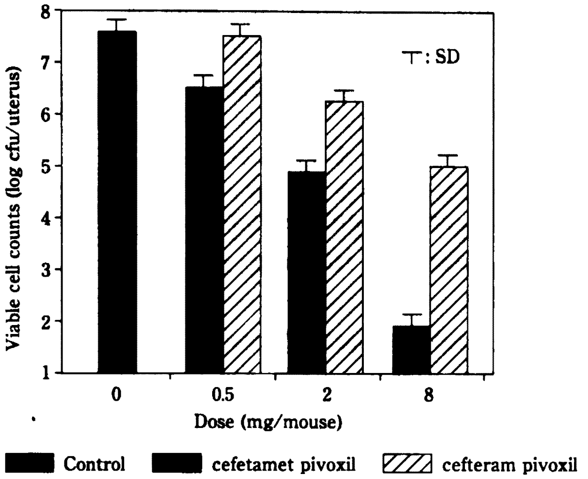
CEMTおよびCFTMの研究室保存臨床分離*E. coli* 27株に対するMIC range, MIC_{50}およびMIC_{90}をTable 1に示した。CEMTおよびCFTMの*E. coli*に対する抗菌力は同程度であった。そこで,このなかから接種後子宮内で十分な生育が得られ,また,CEMTおよびCFTMに同程度の感受性を持つ*E. coli* RC 4株を選択し子宮内感染に用いた。RC 4株に対するCEMTおよびCFTMのMICは各々0.20および0.39 μg/ml

*神奈川県鎌倉市梶原200

Table 1. Antibacterial activity of cefetamet against *Escherichia coli*

	Drug	MIC range (μg/ml)	MIC_{50} (μg/ml)	MIC_{90} (μg/ml)
Escherichia coli (27 strains)	cefetamet	0.2 − 1.56	0.78	1.56
	cefteram	0.025 − 0.78	0.39	0.39
	cefixime	0.05 − 0.78	0.2	0.39
	cefaclor	0.78 − 12.5	3.13	3.13

Agar dilution method
Medium: Sensitivity Disk-AgarN (Nissui)



Mice: ICR, 5 W. 23±1 g, 5 mice/group
Administration route: p. o.
Inoculum: 3.5×10^{3} cfu/uterus

Fig. 1. Therapeutic effect of cefetamet pivoxil on experimental intrauterine infection in mice.

であった。

マウス実験的子宮内感染に対する CEMT-PI の治療効果について，CFTM-PI と比較検討した結果を Fig. 1 に示す。

菌接種後 20 時間で無投与群の子宮内生菌数は約 4×10^{7} cfu/uterus に達していたが，両剤ともに用量依存的に子宮内生菌数の減少が認められた。

両剤の治療効果を子宮内生菌数で比較すると，0.5 mg/mouse 投与時の CEMT-PI 群の菌数は CFTM-PI 群の1/10（$3.4 \times 10^{6}/3.4 \times 10^{7}$ cfu/uterus），2 mg/mouse 投与時で約 1/20（$7.6 \times 10^{4}/1.8 \times 10^{6}$ cfu/uterus），さらに 8 mg/mouse 投与時では約 1/1,300（$7.8 \times 10/9.9 \times 10^{4}$ cfu/uterus）であり，薬剤間比較における統計学的解析（分散分析）の結果でも CEMT-PI は，CFTM-PI より有意（$p<0.001$）に優れた治療効果を示した。

以上，CEMT および CFTM の *E. coli* RC 4 株に対する MIC は各々 0.2 μg/ml，0.39 μg/ml と *in vitro* での抗菌力は同様であったが，CEMT-PI はマウス実験的子宮内感染症に対し CFTM-PI より優れた治療効果を示した。本剤はマウスにおいても CFTM-PI より良好な血中レベル[9]を示し，さらに CEMT のマウス血漿蛋白結合率は 35%[9] と低く，血中で抗菌活性を示すフリー体の CEMT 濃度は結合率が 82%[13] の CFTM と比較すると，より高いことになる。また，CEMT は，宿主感染防御機構のひとつである補体と *E. coli* に対して協力的殺菌作用を示し，*E. coli* に対するマクロファージの食菌作用に対し 1/16 MIC の濃度下でも協力的食菌作用[14,15]を示す。一方，CFTM や cefixime（CFIX）の場合，協力的食菌作用が見られるのは，各々 1/8 MIC，1/4 MIC までである。この CEMT のマクロファージとの協力的食菌作用は cephem の中で強いものである。本剤の本実験的マウス感染症に対する CFTM-PI より優れた治療効果は *in vitro* から予想されるよりも良好な成績であり，これは本剤の良好な体内動態，低い血漿蛋白結合率，補体やマクロファージなどの生体感染防御機構との強い協力作用などが反映した結果であると思われる。

一方，ヒトにおいても CEMT-PI の臨床用量での血中，尿中濃度は，同じ経口 cephem 剤の CFTM-PI や CFIX と比べて非常に高い値を示し，AUC 値も大きい[6,13,16]。また，CEMT のヒト血漿蛋白結合率は約 23%であり，CFTM の75%，CFIX の 63%に比べ低く，本剤のヒトにおける血中活性体濃度も他剤に比べより高いことになる[6,13,16]。一般臨床試験において本剤は，子宮付属器炎に対し 80.4%（37/46），子宮内感染に対し 93.3%（84/90），バルトリン腺炎に対し 97.1%（33/44）の臨床効果を示しており（社内集計資料），今後，臨床における婦人科領域感染症に対する本剤の有用性が期待される。

文　献

1) Wise R, Andrew J M, Piddock L J V: *In vitro* activity of Ro 15-8074 and Ro 19-5247, two orally administered cephalosporin metabolites. Antimicrob Agents Chemother 29: 1067〜1072, 1986

2) Neu H C, Chin N, Labthavikul P: *In vitro* activity and β-lactamase stability of two oral cephalosporins, ceftetrame (Ro 19-5247) and cefetamet (Ro 15-8074). Antimicrob Agents Chemother 30: 423〜428, 1986

3) Jones R N, Fuchs P C, Barry A L, Ayers L W, Gerlach E H, Gavan T L: Antimicrobial activity of Ro 15-8074, active metabolite of a new oral cephalosprin (Ro 15-8075), against 7, 775 recent clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 30: 961〜963, 1986

4) 井上邦雄，三橋　進，井上松久: 経口セファロスポリン cefetamet pivoxil の細菌学的検討。Chemotherapy 38 (S-1) : 1〜11, 1990

5) 五島瑳智子，宮崎修一，辻　明良，金子康子: Cefetamet pivoxil の *in vitro*, *in vivo* 抗菌力。Chemotherapy 38 (S-1): 21〜31, 1990

6) 村山雅庸，中島光好，植松俊彦，水野淳宏，鈴木孝之，嶋田寿男，辻井　敦: Cefetamet pivoxil の臨床第一相試験（第 1 報）。Chemotherapy 38 (S-1) : 62〜69,

1990
7) 中島光好, 植松俊彦, 金丸光隆, 鈴木孝之, 嶋田寿男, 辻井 敦: Cefetamet pivoxil の臨床第一相試験 (第2報)。Chemotherapy 38 (S-1) : 70～81, 1990
8) 斉藤 玲: Cefetamet pivoxil の体内動態に関する研究。Chemotherapy 38 (S-1) : 82～88, 1990
9) 第36回日本化学療法学会東日本支部総会: 新薬シンポジウム, Ro 15-8075 (cefetamet pivoxil)。新潟, 1989
10) MIC 測定改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76～79, 1981
11) 尾花芳樹, 北川英男, 中るり子, 田中和重, 西野武志, 谷野輝夫: マウス実験的子宮内感染症の作製について。Chemotherapy 34 (No. 8) : 677～681, 1986
12) 尾花芳樹, 西野武志, 谷野輝夫: マウス実験的局所感染症に対する Cefixime (CFIX) の治療効果について。Chemotherapy 33 (S-6) : 97～102, 1985
13) 第 33 回日本化学療法学会総会: 新薬シンポジウム, T-2588。東京, 1985
14) 横田 健, 鈴木映子, 新井京子: Cefetamet (cefetamet pivoxil の活性原体) の試験管内抗菌力, PBPs に対する結合親和性および補体・Mφ との協力作用。Chemotherapy 38 (S-1) : 12～20, 1990
15) 関根 譲, 須藤ユリ, 櫻井千寿子, 有沢幹雄: 新経口セフェム剤 cefetamet pivoxil の活性体 cefetamet の *in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 38 (S-1) : 53～61, 1990
16) 第 31 回日本化学療法学会東日本支部総会: 新薬シンポジウム, FK 027。横浜, 1984

Therapeutic effect of an oral cephem antibiotic, cefetamet pivoxil (CEMT-PI) on an experimental intrauterine infection in mice

Yuzuru Sekine, Toshiyuki Tsukaguchi, Chizuko Sakurai-Terada and Mikio Arisawa

Nippon Roche Research Center, 200 Kajiwara, Kamakura, Kanagawa 247, Japan

We studied the therapeutic activity of an oral cephem antibiotic, cefetamet pivoxil (CEMT-PI) against an experimental intrauterine infection in mice, and compared it with that of cefteram pivoxil (CFTM-PI). At 20 hours after injection of on *Escherichia coli* suspension with 3.5×10^3 cfu/uterus into a uterine horn, the number of viable cells reached approx. 4×10^7 cfu/uterus, in the control mice. In mice to which CEMT-PI and CFTM-PI had been administered, the number of viable cells decreased in a dose dependent manner. The *in vitro* antibacterial activity of CEMT against *E. coli* RC 4 with a MIC of 0.2 μg/ml was similar to that of CFTM (0.39 μg/ml). The viable cell counts in the uterus of mice, to which CEMT-PI had been orally administered at 0.5, 2 and 8 mg/mouse were approx. 10-, 20- and 1,300-fold lower than those obtained with CFTM-PI at the same doses, respectively. The therapeutic effect of CEMT-PI on this experimental intrauterine infection was superior to that of CFTM-PI, statistically ($p < 0.001$).