

## XI. びまん性汎細気管支炎 (DPB) に対する臨床的検討

小林宏行

杏林大学第一内科

1. びまん性汎細気管支炎は60例集積され、52例を臨床効果の解析対象とした。
2. そのうち6例(11.5%)が著効、38例(73.1%)が有効であり、有効率は84.6%であった。
3. 分離菌別の細菌学的効果は、*S. pneumoniae*の消失率が66.7%(4/6)、*H. influenzae*の消失率が85.7%(6/7)であった。*P. aeruginosa*は23株検出され5株が消失した。
4. 他のマクロライド薬が効果不十分であった12例に対して、AZMは8例に有効であった。
5. 副作用は4例(7.3%)に認められ、下痢、胃症状、皮疹、掻痒感が各1例であった。
6. 臨床検査値の異常変動は5例(9.3%)に認められ、好酸球の軽度増多3例、GOT、ALPの軽度上昇が各1例であった。

## XII. 安全性

斎藤 厚

琉球大学第一内科

1. 総症例1,508例が集積され、55例を除外し、1,453例における副作用および臨床検査値の異常変動について検討した。
2. 副作用は43例(3.0%)に認められ、性・年齢別の副作用発現率に特別な傾向は認められなかった。その内訳はアレルギー症状9件(0.6%)、消化器症状36件(2.5%)、その他5件(0.3%)であり、最も発現率の高かった症状は下痢17件(1.2%)であった。
3. 臨床検査値の異常変動は、77例(6.2%)に116件認められ、主なものはGPTの上昇30件(2.7%)、GOTの上昇22件(2.0%)、好酸球の増多20件(1.9%)、 $\gamma$ -GTPの上昇8件(1.0%)であった。
4. 本剤を3日間投与した時の安全性は、93.3%(1,263/1,353)が「問題なし」であり、4日間以上投与した場合は90.0%(90/100)であった。

## XIII. まとめ

島田 馨

社会保険中央総合病院

1. 総症例1,508例が集積され、176例を除外し、1,332例を臨床効果の解析対象症例とした。
2. 年齢別には20歳以上50歳未満が全体の6割であり、男女比は約11対9であった。

3. 疾患別臨床効果(有効率)は、呼吸器感染症88.0%(272/309)、外科領域感染症88.7%(157/177)、産婦人科領域感染症91.9%(102/111)、皮膚科領域感染症84.8%(89/105)、耳鼻咽喉科領域感染症77.4%(120/155)、歯科・口腔外科領域感染症82.0%(105/128)、性感染症90.5%(267/295)、びまん性汎細気管支炎84.6%(44/52)であり、全体では86.8%(1,156/1,332)であった。

4. 分離菌別の菌消失率は、グラム陽性菌では*S. aureus* 82.0%(109/133)、*S. pneumoniae* 75.6%(34/45)であった。グラム陰性菌では*N. gonorrhoeae* 87.2%(34/39)、*M. catarrhalis* 100%(14/14)、*E. coli* 80.0%(32/40)、*H. influenzae* 81.4%(35/43)であった。嫌気性菌では*B. fragilis* 90.9%(10/11)であった。

## 一般演題

### 003 市中の気道系感染症に対する cefetamet-pivoxil の臨床的、細菌学的効果

出口浩一<sup>1)</sup>・横田のぞみ<sup>1)</sup>・古口昌美<sup>1)</sup>

鈴木由美子<sup>1)</sup>・深山成美<sup>1)</sup>・石原理加<sup>1)</sup>

小田清次<sup>1)</sup>・嶋田甚五郎<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東京総合臨床検査センター研究部

<sup>2)</sup>聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

Phase-IVにおける市中の気道系感染症に対する Cefetamet-pivoxil (CEMT-PI) の臨床的、細菌学的効果を検討した。

#### I. 検討方法

##### 1. 臨床的検討

1994年2月～4月上旬に東京都、神奈川県、埼玉県、千葉県内の42施設において同一プロトコルでCEMT-PIが投与された気道系感染症の420症例から、臨床効果の判定が可能とされた359症例を解析対象とした。性別は女性が56.3%であり、診断名は咽喉頭炎60.7%、扁桃炎14.2%、急性気管支炎13.6%等であり、外来患者が94.4%を占めていた。

##### 2. 細菌学的検討

CEMT-PI投与前に咽頭粘液又は喀痰を採取し、シードスワブ2号(栄研)にて演者の施設に材料を送付することとし、推定起炎菌の分離・同定とMIC測定等を一括して検討した。なお、検体の採取と輸送方法を詳細に記述した印刷物を各施設に配布した。そして、359症例中の238症例から、CEMTが抗菌スペクトルを示す推定起炎菌を検出したが、*H. influenzae* 85株、*S. pneumoniae* 76株、*S. pyogenes* 20株、*M. (B.) catarrhalis* 17株が主な菌種だった。

#### II. 結果と考察

臨床効果(著名改善+改善=改善率)は、CEMT-PI

錠 (194 mg, 力価) 1日1錠2回投与76.5%, 1日2錠2回投与87.4%であり, 1日2錠2回投与例の改善率が $P<0.05$ の有意差をもって高かった。推定起炎菌(単独菌)別臨床効果は *M. (B.) catarrhalis* 93.6%,  $\beta$ -streptococci 91.7%, *H. influenzae* 87.1%, *S. pneumoniae* 78.4%等であり, *S. pneumoniae* の検出症例の改善率がやや低かった。しかし, *S. pneumoniae* においては76株中の7株(9.2%, CEMTのMIC値1.56~6.25  $\mu\text{g/ml}$ ) がPCG低感受性株(PISP)であったが, PISP検出症例は全例が著名改善又は改善であった。一方, *M. (B.) catarrhalis* 17株中の16株, 及び *H. influenzae* 85株中の23株は $\beta$ -ラクタマーゼ産生株であったが, これら2菌種の $\beta$ -ラクタマーゼ産生株に対するCEMTのMICは低い方に分布しており)CEMTのMIC値は, 前者は $\leq 0.025\sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ , 後者は $\leq 0.025\sim 0.1 \mu\text{g/ml}$ , 臨床的改善率も高かった。

なお, *S. aureus* は13症例から13株(1株がMRSA)が検出されたが, *S. aureus* は他菌種と共に少量菌数で検出された複数菌症例だけであり, *S. aureus* を含む複数菌検出例の臨床的改善率は100.0%だった。

#### 006 重症・難治性呼吸器感染症に対するニューキノロン薬を主とする外来下治療

小田切繁樹・鈴木周雄・高橋 宏

高橋健一・吉池保博・小倉高志

平居義裕・石丸百合子

神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器科

本治療の内容は, ①I群: LVFX 0.6分3/日, ②II群: ニューキノロン(以下, NQ), ③III群: CPF0.6分3+CAM 0.4分2+RFP 0.45分1+EB0.5~1.0分2〔肺非定型抗酸菌症III群(肺MAC症)に対して〕の三群である。以下, 各群の症例を呈示し略述する。①症例: 61歳, ♂。17年前に発症したDPBで, 今回は高熱・P痰↑で発症, 呼吸困難⊕。WBC 12,800(至急検査)で $\text{PO}_2$  58.4 Torrと急性呼吸不全に進展す。以上, DPBの急性増悪で入院治療の適応なるも, 空床なきため外来下対応をせざるをえず。LVFX 0.6分3投与が奏効し感染治癒す。原因菌 *B. cat.* は本治療で消失。②症例: 51歳, ♀。Tbc治療後の続発性気管支拡張症。緑膿菌定着でCAM 0.2分1連投下, 高熱。P痰↑・呼吸困難で感染発症。WBC 21,800(至急),  $\text{PO}_2$  55.0 Torrと急性呼吸不全に進展, 入院治療の適応なるも空床なく外来下対応す。CPF0.6分3+CAM 0.4分2(0.2g増量)で感染治癒す。原因菌 *H. inf* 消失す。③症例: 55才, ♀。咳嗽・喀痰で発症, 胸Xpでヒマン性粒状・斑状影の中に空洞形成あり。喀痰から非定型抗酸菌III群(MAC)大量連続検出し肺MAC症と診断。CPF0.6分3+CAM 0.4分2+RFP 0.45分1+EB 1.0分2の約

9ヶ月投与が奏効し, MAC菌もほぼ消失す。

以上, I群では, ①原因菌は緑膿菌も視野に入れた本感染主要細菌を念頭に, ②胸部画像所見から読みとれる高度・広範の器質変化のある症例にあっても抗菌薬の有効病巣濃度をうるためにはNQの高用量が至適であり, 量的選択毒性の本剤ではLVFX 0.6分3が最適となる。II群のNQ+CAMは, 抗菌域的には日常RTIの超炎微生物の殆ど全てをカバーし, 相乗効果に近い相が効果を期待でき, 両薬共に抜群の気道移行性を具備する的原因菌不明の重症RTIの第一選択となる。III群では, この四者併用治療は肺MACに対し現時点では最強の治療メニューと思われ, 18症例(含, 入院下・治療中)に施行した成績は有効率61.1%, 菌消失率50.0%と本症治療成績としては良好であった。

#### 008 オウム病14例の臨床的検討

中谷龍王・長濱博行・岸 一馬

坪井永保・成井浩司・本間 栄

中森祥隆・中田紘一郎

虎の門病院呼吸器科

目的: 当科で経験したオウム病症例について検討し, その臨床的特徴および治療上の問題点を明らかにすることを目的とした。

対象および方法: 当科を受診したオウム病14例(男性4例, 女性10例, 平均年齢50.9歳)について検討した。オウム病CF抗体価の4倍以上の変動, 単独では32倍以上をオウム病と診断した。可能なものについてはクラミジアの分離を試みた。

結果: 全例インコとの接触歴があり, 3組7例が家族内発症であった。発症時期は冬から春に集中していた。64%に雛鳥との接触歴があり, 重症の呼吸不全3例はいずれも雛の飼育例であった。1例で患者咽頭および飼育鳥からオウム病クラミジアを分離した。発熱は全例に見られ平均体温は39.5度であった。過半数で頭痛を伴っており, 咳は3分の1に, 喀痰は1例のみで見られた。白血球数は重症の3例をのぞいて1万/ $\mu\text{l}$ 以下であった。血液ガス所見では, 4例が $\text{PO}_2$  60 Torr未満の呼吸不全に陥っていた。胸部X線所見は淡い間質陰影が主体であったが浸潤影も見られた。7例が両側性であり, その内3例では両側広範であった。2例にDICを合併したが, ヘパリン投与で改善した。全例, 入院時にオウム病を強く疑われて鳥との接触歴を聴取され, 入院直後から適切な抗菌薬投与がなされていた。投与薬剤はMINO 10例, DOXY 4例で全例有効であり, 重症の3例を除いて急速に解熱した。両側広範な陰影をともなった3例はステロイド薬の投与と人工呼吸管理を必要としたが, 離脱可能であった。

考察: オウム病は冬から春に発症していた。肺炎の鑑

別としてオウム病を考慮しておく必要があり、とくに雛鳥との接触歴が重要である。適切な抗菌薬投与によって急速に解熱した。

## 009 抗菌剤使用による新生児敗血症原因菌の変化

佐藤吉壮<sup>1)</sup>・岩田 敏<sup>2)</sup>

秋田博伸<sup>3)</sup>・砂川慶介<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>富士重工業健保組合総合太田病院小児科

<sup>2)</sup>国立霞ヶ浦病院小児科

<sup>3)</sup>聖マリアンナ医大小児科

<sup>4)</sup>国立東京第二病院小児科

新生児細菌感染症においては、先行抗菌剤の有無によりその原因菌は容易に変化する。

過去13年間のNICUにおける敗血症44例について検討を加えた。先行抗菌剤が投与されていなかった21症例の原因菌では *S. aureus* 6例が最も多く、*E. coli* が3例、*S. agalactiae*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* を各2例ずつ、*S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *A. calcoaceticus*, *H. influenzae* を各1例ずつ認めた。抗菌剤を先行投与していた群23例の原因菌では *E. cloacae* が8例と最も多く、*S. ureus* を5例、*P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *A. calcoaceticus*, *C. albicans* を各2例ずつ、*S. epidermidis*, *E. faecalis* を各1例ずつ認めた。先行抗菌剤が投与されていなかった群に比較してグラム陰性桿菌の検出頻度が増加していた。日齢・出生体重別の原因菌の検討では、出生後6日まではグラム陽性球菌が多くを占め、出生後7日以降はグラム陰性桿菌が多くなる傾向を認めた。

新生児敗血症の原因菌は、先行抗菌剤の投与の有無により大きく変動する。出生直後より抗菌剤投与を受けた症例では異常腸内細菌叢を形成することが多く、この異常腸内細菌叢は敗血症発症のリスクファクターと成り得る。この様な背景から、特に感染予防として新生児期に投与する抗菌剤は、腸内細菌叢への影響が少ない薬剤が望ましく、また抗菌剤投与期間についてはできる限り短時間にすべきであると思われる。

## 011 定量的血液培養法を用いた抜歯後菌血症の解析

—特に予防投与の抗菌薬の影響について—

坂本春生・内藤博之

椎木一雄・富沢真澄

いわき市立総合磐城共立病院口腔外科、臨床検査部

抜歯後に生じる一過性の菌血症は感性性心内膜炎の誘因とされている。私たちは血液の定量培養法である lysis filtration 法を用いて、抜歯時に生じる菌血症の解

析を行っているが、今回は予防投与の抗菌剤の影響について報告する。

方法: 当科受診の要抜歯患者を対象とした。抗菌薬を投与しない群20名、術前に bacampicillin 500 mg を投与した群18名 (BAPC PO群), ampicillin 1 g をDIV後抜歯を行った患者8名 (ABPC DIV群) を対象とした。血液培養法については本年の化療総会 (博多) で報告したように、Lysis Filtration 法を用いた定量的培養法を行った。

結果: コントロール群の菌検出率は75% (15名)、このうちレンサ球菌が検出されたのは60% (12名) であった。術前に bacampicillin 500 mg を投与した群18名での菌検出率は77.0%、このうちレンサ球菌が検出されたのは8名、44.4%であった。ampicillin 1 g DIV群では8例中5例から菌が検出され、5例ともレンサ球菌の発育を見た。いずれの群でも最も高頻度に発育したものは *S. constellatus* であった。検出されたレンサ球菌のMICはABPC, AMPC, VCMには高感受性であったがEMには耐性株が認められた。ABPCの血清中濃度はBAPC PO群では平均3.3 ug/ml, ABPC 1 g DIV群では平均34.6 ug/ml であった。

考察: 抗菌薬投与下でも菌血症の発現をなくすることはできなかった。特にABPC DIV群では、菌のMICをはるかに上回る血清中濃度が得られていた。予防投与の抗菌剤の意義は菌の付着を阻害することや付着しても増殖させないことも重要であると考えられる。抗菌薬の選択、投与量、期間の検討と論議が必要であると考えられた。

## 012 抜歯・小手術後の菌血症の検索

佐々木次郎<sup>1)</sup>・山崎純子<sup>1)</sup>

金子明寛<sup>1)</sup>・小林寅結<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東海大学医学部口腔外科

<sup>2)</sup>三菱油化 BCL 化学療法研究室

目的: 抜歯あるいは口腔外科領域の小手術後に、抗菌薬を投与しなかった場合の一過性菌血症の発現頻度が69.2%と高率であることは、すでに報告した。今回、セフェム系注射剤 ceftriaxone を予防投与した際の一過性菌血症の発現について検討した。ceftriaxone の予防投与については、教室の加藤が報告しており、23例の検討で菌の陽性例は認められなかった。しかし、ここで使用した培地は Brain Heart infusion bouillon, Thio-glycolate medium, Triptosey bouillon で、血中の抗菌薬を中和する成分が含まれていない。したがって、血中の抗菌薬により菌の発育が抑制され、陰性となった可能性も否定できない。そこで、今回は、抗菌薬を吸着して不活化する resin を含有した Bactec 16 A<sup>®</sup>, 17 A<sup>®</sup> を使用した。

方法: 抜歯, 小手術を必要とする 20 例に, 処置前から ceftriaxone 1 g の点滴静注を開始し, 点滴終了後 5~10 分に静脈血を採取, Bactec 16 A<sup>®</sup> および 17 A<sup>®</sup> にて培養した。

結果: 20 例中, 菌陽性は 3 例でその陽性率は, 15% であった。検出菌は, *Lactobacillus* sp 2 株と *P. micros* 1 株で ceftriaxone の MIC は, それぞれ 12.5 µg/ml, 1.56 µg/ml, 0.39 µg/ml であった。

#### 014 急性膀胱炎とクラミジアによると思われる尿道症候群併発時の化学療法

鈴木恵三・堀場優樹・石川清仁

平塚市民病院泌尿器科

目的: 女子の急性単純性膀胱炎 (AUC) は, 周知のように *E. coli* を主とする腸内細菌が主な起炎菌である。一方 AUC と症状は類似しているか, これより軽い尿道膀胱炎症状を示す疾患を尿道症候群 (US) と診断して治療することが多い。最近では AUC の患者のうちクラミジア・トラコモナーティス (CT) 抗体が陽性を示す率が上昇する傾向がみられる。また CT は US の一因ともみなされていて, AUC に隠れて併発していることが多いものとみられる。このような疫学的背景を認識した上で, 通常ほとんどの抗菌剤で容易に治療可能な AUC に対して, 抗菌剤の選択には改めて慎重な配慮を要する。

対象と成績: 1992 年と 1993 年に当科を受診した AUC, US の患者 212 名に対して CT 抗体を測定した。その結果陽性率は Ig-G 35.5%, Ig-A 22.0% であった。AUC では抗菌剤として CT に対して抗菌活性をもたないか, 弱い薬剤を用いると症状, 膿尿が残る例があった。これらの症例では CT の抗体陽性者が多かった。治療面では, AUC に対しては通常短期間の抗菌剤投与で治癒するとされているが, CT を併発している例では, AUC は完全に治癒するものの, CT による感染症には不完全な治療となる結果となるおそれがあった。

まとめ: 1. AUC, US の 212 例の CT 抗体陽性率は, Ig-A 22.0%, Ig-G 35.5% であった。2. 年齢別では 15 歳以上 40 歳までほとんど大差のない陽性率であった。3. このような症例に対しての化学療法剤の選択は, 初診時から CT に抗菌活性を有するもの, もたないものを主治医は十分に認識して投与すべきである。4. 臨床症状では下腹部に疼痛を訴える例では CT 感染症が多い。初診時に抗体を測定して, 抗体陽性者の場合, 有効な抗菌剤を 2 週間投与する。5. これらの疾患は無症候性 CT 感染症の診断に有用である。

#### 015 ニューキノロン薬耐性淋菌の検出と耐性機構の解析 第 2 報

小野寺昭一<sup>1)</sup>・清田 浩<sup>1)</sup>・後藤博一<sup>1)</sup>

川原 元<sup>1)</sup>・五十嵐宏<sup>1)</sup>・大石幸彦<sup>1)</sup>

岡崎武二郎<sup>2)</sup>・吉田博明<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>東京慈恵会医科大学泌尿器科

<sup>2)</sup>東京都立台東病院泌尿器科

<sup>3)</sup>大日本製薬生物科学研究所

目的: 従来, ニューキノロン薬は淋菌に対し優れた抗菌力を有し, 淋菌性尿道炎に対しても 100% に近い有効率が得られていたが, 最近, ニューキノロン薬による治療で効果が得られない淋菌性尿道炎を経験するようになってきている。われわれはすでに, ニューキノロン薬耐性淋菌の耐性機構について解析し, 形質転換実験により *gyrA* 変異を有していることを報告したが, 今回, キノロン耐性淋菌の *gyrA* 遺伝子の塩基配列を PCR 法により決定した。

方法: 対象とした淋菌は, 1991 年 2 月から 1992 年 1 月までの間に, 関連病院泌尿器科を受診した淋菌性尿道炎患者から分離されたニューキノロン薬耐性淋菌 3 株である。形質転換実験の後, 大腸菌 *gyrA* 遺伝子上のキノロン耐性決定領域に相当する部位をキノロン感受性ならびに耐性淋菌から PCR により増幅し, クローン化の後, 塩基配列を決定した。

結果および考察: 耐性淋菌 3 株中 2 株はいずれも *gyrA* 遺伝子上に Ser-83 (TCC)→Phe (TTC) 変異を有していた。また, 他の 1 株ではこの変異のほかに, Asp-87 (GAC)→Gly (GGC) 変異をあわせもっていた。これまで, 淋菌 *gyrA* 遺伝子の塩基配列は報告されていないが, 今回 PCR 法により大腸菌 *gyrA* 遺伝子決定領域に相当する領域を含む 444 bp DNA 断片を淋菌臨床分離株より得, 塩基配列を決定した。これらの変異は表皮ブドウ球菌あるいは黄色ブドウ球菌, 大腸菌に対応する変異と考えられた。

#### 016 体外衝撃波碎石術における抗菌剤の予防的投与

藤田公生\*・濱崎公久・山崎 哲

松島 常・宗像昭夫

国立国際医療センター, \*現: 浜松医科大学

目的: 体外衝撃波尿路結石破碎術 (ESWL) 後に重篤な腎盂腎炎の起こることがあり, その予測がむずかしいために過剰な予防投与がなされる傾向がある。そこで予測因子を検討した。

対象と方法: 1992 年 6 月までの延べ 1,003 回の治療について, 治療後に 38°C 以上の発熱の発生した症例を分

析し、多変量解析を行ったところ、結石の大きさ、糖尿、細菌尿、以前の治療における発熱の既往、内視鏡操作の併用が重要因子として残された。その後の症例にこの結果を当てはめ、また分離菌種を検討した。

結果: この方式で絞り込んだ危険例 18 回の治療における発熱は 6 回 (33.3%) で、危険度の高い症例を選ぶことはできたが、発熱例を完全に予測することはむずかかった。しかし高危険例に対する重点的な予防投与により、以後の治療においては 450 回中 55 回 (11.6%) に対する投与のみで、発熱は 1 回 (0.2%) に抑えることができた。予防投与を行わなかった例のみについて retrospective に分析しても、この判定法で危険と判定された例の発熱率は高かった。菌種別では *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marsescens*, *Proteus mirabilis* の分離されていた症例に発熱の発生する危険性が高く、*Escherichia coli* の分離された 12 回の治療では発熱はみられなかった。

結論: ESWL においては、危険例に対する重点的な予防投与が望ましい。危険例を治療前に判定するためにはこの方式が有用である。

## 021 抗消化性潰瘍薬エカベトナトリウムの *Helicobacter pylori* に対する作用

芝田和夫・遠藤俊夫・大橋元明

田辺製薬(株)薬理研究所

目的: *Helicobacter pylori* は胃・十二指腸潰瘍や胃炎の原因菌であり、その urease は重要な病原因子である。そこで、抗消化性潰瘍薬エカベトナトリウム (ES と略す) の *H. pylori* に対する MIC、殺菌作用および urease 阻害作用を検討した。

方法: MIC は 10% 馬血液加ブレインハートインフュージョン寒天培地を用い微好気培養して測定した。殺菌作用は pH 4~7 の緩衝液を用い経時的に生菌数を測定して検討した。Urease 阻害作用は尿素添加の pH 3 緩衝液中で経時的に産生されるアンモニアを測定して検討し、併せて生菌数測定および菌の形態変化を観察した。さらに、*H. pylori* より調製した urease に対する ES の作用を検討した。

結果: 臨床分離株に対する ES の MIC は  $>1,600 \mu\text{g/ml}$  であった。ES は pH 4 と 5 の酸性緩衝液において  $0.25\sim4 \text{ mg/ml}$  の範囲で濃度依存性の殺菌作用を示した。pH 3 の緩衝液では *H. pylori* は生存不能だが、尿素を添加するとアンモニア産生により生存可能となった。この尿素添加緩衝液中に ES を加えると濃度依存的にアンモニア産生が阻害され、生菌数が減少した。この時形態は増殖能力がない U 字形や馬蹄形に変化した。さらに、ES は酵素の至適 pH 5 で濃度依存的に粗精製 urease の活性を阻害した。

結論および考察: ES は酸性緩衝液中で、urease 活性阻害に依存した殺菌作用 (pH 3) および依存しない直接的な殺菌作用 (pH 4 および 5) を示した。このように、胃粘膜防御因子増強作用を有する ES は *H. pylori* に対する殺菌作用を併せ持つので、胃潰瘍の治癒のみならずその再発防止にも寄与すると考えられる。

## 022 *Helicobacter pylori* の各種抗菌薬に対する感受性の検討

三澤成毅<sup>1)</sup>・小栗豊子<sup>1)</sup>・猪狩 淳<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>順天堂大学病院臨床検査部

<sup>2)</sup>同 医学部臨床病理

目的: *Helicobacter pylori* は胃・十二指腸疾患との関連が注目されているラセン菌である。私共は本菌の薬剤感受性を微量液体希釈法にて測定し、日本化学療法学会総会 (1990 年) で報告した。今回はその後に収集された菌株を用い、さらに最近開発された経口セフェム剤に対する感受性についても検討を加えた。また、一部の薬剤については前回の成績と比較検討を行った。

材料および方法: 使用菌株は、1990 年から 1993 年の間に胃内視鏡検査によって採取された生検材料より分離された *H. pylori* 約 50 株を用いた。MIC の測定は MIC-2000 system (Dynatech) により行った。使用培地はウマ血清 (5%) 添加 Brucella broth (BBL) を用いた。培養は Anaerocult C (MERCK) を用い、 $35\sim37^\circ\text{C}$ 、72 時間行った。使用薬剤は ABPC、IPM、PAPM、CCL、CFIX、CFDN、CCMT、CDTR、KM、EM、CLDM、MINO、OFLX などを用いた。

成績: *H. pylori* は本培地に顆粒状の沈殿となって発育した。 $\beta$ -ラクタム剤の感受性は使用 8 剤中、IPM と PAPM が最も優れた抗菌力を示し、ABPC がこれに次ぐ成績であった。一方、経口セフェム剤の抗菌力は全体に先の 3 剤に比べてやや劣り、その MIC<sub>90</sub> は CCL を除いて  $0.5 \mu\text{g/ml}$  であった。他の薬剤では MINO の抗菌力が優れていた。耐性株はマクロライド剤および OFLX に認められたが、いずれもその頻度は低く、その MIC 分布はそれぞれ  $>128 \mu\text{g/ml}$ 、 $4\sim8 \mu\text{g/ml}$  であった。前回の検討では Trypticase soy broth (BBL) にウマ血清のほか Iso Vitale X (BBL) などを添加した培地を用いたが、今回の成績と比較して感受性に大きな変化は認められなかった。

## 026 EIA によるメチシリン耐性ブドウ球菌 PBP 2' の簡易迅速検出法の検討

齋藤充弘<sup>1)</sup>・矢嶋隆一<sup>1)</sup>・飯沼一茂<sup>1)</sup>

渋谷 貴<sup>1)</sup>・畠山靖子<sup>2)</sup>・菅野治重<sup>3)</sup>

岡田 淳<sup>4)</sup>・小堀一乃<sup>5)</sup>・阿部美知子<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>ダイナボット(株), <sup>2)</sup>千葉大学病院検査部

<sup>3)</sup>千葉大学臨床検査医学, <sup>4)</sup>関東通信病院臨床検査科

<sup>5)</sup>獨協医科大学越谷病院検査部, <sup>6)</sup>北里大学病院検査部

目的: メチシリン耐性ブドウ球菌の産生する耐性因子であるペニシリン結合タンパク 2' (PBP 2') の EIA による検出法を開発したので報告する。

方法: PBP 2' のアミノ酸配列 (Song ら 1987) から合成ペプチドを作製した。これら合成ペプチドを動物に免疫し、ヤギ抗体とマウス単クローン抗体を得た。マウス抗体をビーズ固相化抗体、ヤギ抗体を HRPO 標識抗体とした。また、ヒツジ血液寒天培地培養菌を 8 M 尿素液に McF# 2~3 に懸濁し、被検サンプルとした。サンプル 50  $\mu$ l, HRPO 標識抗体 200  $\mu$ l と抗体固相化ビーズ 1 コを反応ウェルに加え、室温で 2 時間振盪した。洗浄後、OPD 発色液を加え、492 nm の吸光度で測定した。この EIA の成績をディスク法による薬剤感受性試験、および PCR による *mecA* 遺伝子検出法の成績と比較検討した。

結果: EIA の検出感度は、臨床材料由来の構成型 MRSA の 1 株で  $10^6$  cfu/ml であった。黄色ブドウ球菌および CNS の 40 株中、26 株がディスク法により耐性と判定された。これらはすべて EIA および PCR で陽性であった。逆に、感受性の 14 株はすべて EIA, PCR とも陰性であった。

考察: EIA による PBP 2' 検出は、ディスク法および PCR による成績とよく一致した。今回開発された EIA は 1 ステップの反応であり、しかも全工程はほぼ 3 時間で終了する。サンプルは 1 ないし数コロニーを尿素液に懸濁することで簡便に用意される。

このことから、EIA による PBP 2' の検出法は、MRSA の簡易迅速診断法の 1 つとして、特に臨床検査に導入しやすい検査法であると考えられた。

### 031 実験的マウス腎膿瘍における病期と治療効果に関する基礎的検討

田中二郎<sup>1)</sup>・荒明美奈子<sup>1)</sup>

河原條勝己<sup>1)</sup>・嶋田甚五郎<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>明治製菓(株)薬品総合研究所

<sup>2)</sup>聖マリアンナ医科大学

目的: 前回我々は本学会総会 (1993 年, 東京) に於いて黄色ブドウ球菌の腎直接接種法による実験的腎膿瘍モデルの作成について報告した。今回はこのモデルを用いて病期と治療効果について基礎的な検討を行ったので報告する。

方法: 6 週齢の ICR 雄マウスをペントバルビタール麻酔下で右背部を切開、右腎を露出させ、2 段針装着マイクロシリッジにて *S. aureus* No. 58 (MRSA) 株 (DMPPC の MIC: >400  $\mu$ g/ml, ABK の MIC: 0.78  $\mu$ g/ml) の  $10^5$

cfu を髄質内に接種した。異なる病期における治療効果は、ABK 2.5 mg/mouse を皮下に連続投与 (投与開始日は 4 時間おきに 3 回、翌日から 1 日 1 回) し、生菌数および病理組織学的所見から検討した。

結果および考察: 菌接種 4 時間後の病変は、刺傷による出血像が中心で強い炎症反応は認められなかった。この病期から ABK を投与すると菌は消失し、治癒できることが確認できた。菌接種 24 時間後の病変は顆粒球浸潤を伴った強い炎症像が認められ、菌の増殖も著しかった。この病期から投与を開始した場合、菌の増殖を強く抑制し、病変の明かな改善も認められた。また、菌接種 48 時間後の病変は、顆粒球柱と共に膿瘍形成が認められた。この病期から投与を開始した場合、膿瘍内は薬剤の移行が悪い為、除菌作用は弱かったが、病変域が周囲のネフロン単位へ拡大するのを抑制する働きが認められた。

以上、病期の進行に伴い治療が困難になる傾向があったが、ABK を連続投与することにより、治療の可能性があることが示唆された。

また、本モデルは黄色ブドウ球菌による腎感染症に対して有効な薬剤の評価に活用できると考えられる。

### 032 実験的膀胱結石モデルの作製と緑膿菌の定着

高畑正裕<sup>1)</sup>・黒瀬朱美子<sup>1)</sup>・新村裕子<sup>1)</sup>

藤巻一雄<sup>1)</sup>・渡辺泰雄<sup>1)</sup>・成田弘和<sup>1)</sup>

長谷川真常<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>富山化学工業(株)総合研究所, <sup>2)</sup>長谷川病院

目的: 尿路結石症は発生頻度、再発率が比較的高く、泌尿器科領域では尿路感染症とともに重要な疾患である。同時に尿路結石は難治性あるいは再発性の細菌性腎盂腎炎や膀胱炎の原因となっている場合もあり軽視できない。今回、実験的膀胱結石モデルの作製を試みると共に細菌の結石に対する定着、抗菌剤による除菌効果を検討した。

方法: Wistar 系ラット (雌性, 7 週令) を用い実験的膀胱結石モデルを作製した。膀胱内に手術用絹糸を刺入、内因性高シュウ酸尿を引き起こす 1% ethylene glycol (EG) を摂水させ実験的膀胱結石を発症させた。結石惹起 7 日目に *P. aeruginosa* を経尿道的に接種し、結石への定着を SEM で観察した。感染 7 日後より Tosufloxacin (TFLX), Clarithromycin (CAM), 20 mg/kg, 1 日 1 回 3 日間、経口投与で治療を行い、除菌効果を検討した。

結果及び考察: 膀胱内への手術用縫合糸留置と 1% EG 摂水で高率に実験的膀胱結石が形成された。結石成分はイオンクロマトグラフィー等の結果からシュウ酸カルシウムとリン酸カルシウムとの混合結石であった。感染後

7日目には結石表面にフィルム様の緑膿菌定着が認められた。除菌効果を検討した結果、治療24時間後ではTFLXとCAMの併用でTFLX単独より菌数減少が認められた。本モデルは尿路結石への菌定着メカニズム、また化学療法の検討に有用と考えられた。

### 033 マウス実験的腎盂腎炎における Prednisolone 併用抗菌化学療法時の感染局所免疫応答

松川雅則・熊本悦明・広瀬崇興

札幌医科大学医学部泌尿器科

目的: 今回我々は、種々の免疫反応を修飾する薬剤として prednisolone を抗菌化学療法に併用し、実験的腎盂腎炎における免疫関連細胞の浸潤経過を検討した。

方法: BALB/c 系雌マウス膀胱に  $1 \times 10^8$  CFU/ml に調製した大腸菌 (O6) 菌液 0.25 ml を膀胱内注入することにより実験的腎盂腎炎を発症させた。感染48時間後より 100 mg/kg の imipenem/cilastatin (IPM/CS) を12時間毎に5日間(計10回)皮下投与した。この際、10 mg/kg の prednisolone を24時間毎に5日間(計5回)皮下投与した群を steroid 併用群、prednisolone は投与せず IPM/CS のみのものを steroid 非併用群とした。両群とも薬剤投与開始後、1及び5日目に腎を摘出し、半腎を腎内細菌測定に、残りの半腎を免疫染色に供した。HE染色により多核白血球を観察後、Avidin-Biotin Complex 法による免疫組織化学染色を、T細胞、B細胞、マクロファージ、抗原提示細胞を対象に行った。鏡検により浸潤程度を判定し両群で比較した。

結果と考察: 感染後腎内細菌数の比較では1および5日目とも有意差はなく、本実験系での prednisolone 併用は腎内細菌消失に有意な影響を与えていないと考えられた。免疫関連細胞の浸潤経過の比較; 1日目の steroid 併用群においては、CD4 T細胞、B細胞、Ia抗原陽性細胞の浸潤程度が非併用群に比して低下していたが、5日目には回復傾向が認められた。また、多核白血球やPanT細胞数には明らかな差がみられなかったが、今後の更なる検討が必要と考えられた。

### 035 PIPC 投薬中に出現した薬剤耐性 *E. coli* に関する検討

金山明子<sup>1)</sup>・小林寅詔<sup>1)</sup>・本廣 孝<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>三菱化学ビーシーエル・化学療法研究室

<sup>2)</sup>久留米大学医学部小児科

健康成人ボランティアに PIPC を 2.0 g $\times$ 2, 5日間6名に、TAZ/PIPC (1:4) を 2.5 g $\times$ 2, 5日間7名に投与した。投与前より終了20日目まで計6ポイントの糞便を採取し、検出した *E. coli* に対する両薬剤の MIC を測定した。PIPC 投与群では6例中5例に投与中に

PIPC に耐性を示す *E. coli* が検出されたが TAZ/PIPC 投与群では認められなかった。PIPC 耐性株の TAZ/PIPC に対する感受性の変化は認められなかった。

PIPC 投与群の2名より検出した *E. coli* について  $\beta$ -lactamase 活性を測定した。その結果、投与中および後に検出された PIPC 耐性株は投与前の感受性株と比較し10倍以上の高い活性を認め、特に CER より PCG を基質とした場合に活性は著しく高く、ペニシリン系薬剤に特異性が強かった。この  $\beta$ -lactamase 活性は PIPC の MIC の上昇に起因していると考えられた。これらの株の生化学的性状は乳糖分解能、運動性、アミノ酸分解酵素産生能等に差があり、MIC、 $\beta$ -lactamase 活性と関連が認められた。

さらに、Not I を用いた染色体 DNA の切断パターンをパルスフィールドゲル電気泳動法によって検討した結果、投与中および投与後に検出した PIPC 耐性 *E. coli* は同様なバンドパターンを示し投与前とは異なっていた。すなわち投与前の PIPC 感受性株と、投与中、後に出現した耐性株は異なる菌株であることが示唆された。

### 039 好中球機能に対するニューキノロン薬の影響 (第2報)

吉川晃司<sup>1)</sup>・坂本光男<sup>2)</sup>・中澤 靖<sup>2)</sup>

前澤浩美<sup>2)</sup>・吉田正樹<sup>2)</sup>・柴 孝也<sup>2)</sup>

酒井 紀<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>横浜市立市民病院感染症部

<sup>2)</sup>東京慈恵会医科大学第二内科

目的: ニューキノロン薬 (NQ) の好中球機能に対する影響を知る目的で好中球貪食能について検討した。又 NQ の好中球内濃度を測定し、好中球各機能との関係について検討したので報告する。

方法: 1. NQ と好中球の前培養: 健康成人より分離した好中球を、最終濃度で 0.625, 2.5, 10  $\mu$ g/ml になるように調製した NQ (OFLX, LVFX, SPFX, NM 441) と温浴下で 0, 10, 20, 30 分間前培養した。2. 好中球貪食能の測定: 各種 NQ と前培養後洗浄した好中球、*E. coli* 臨床株等を入れよく混和した後、37°C, 60 分間振盪培養し、培養後沈渣にて塗抹標本を作成した。光学顕微鏡下で、50 個の好中球に食菌された菌数の合計を算出し、phagocytosis 値とした。コントロール (非薬剤下) との比較 (%phagocytosis 値) を検討した。3. 好中球内濃度の測定: 各種 NQ と前培養した後、好中球、細胞外液をシリコン油を用いた速度勾配遠心分離法によって分離した。好中球内、細胞外液中の各 NQ 濃度を *E. coli* Kp 株を検定菌とした Paper disk method による Bioassay にて測定した。4. 好中球内濃度と好中球各機能との関係: 好中球貪食能および第42回化学療法学会総会時に発表した好中球殺菌能・遊走能と好中球



内濃度との相関関係をみた。

結果: NQ 濃度 10  $\mu\text{g/ml}$  の系において, 前培養時間を増やすことにより, 全ての NQ 薬が有意な好中球貪食能上昇を認めた。NQ の好中球内への移行は, 前培養時間に比例して上昇し,  $\text{SPFX} \geq \text{NM 441} > \text{LVFX} \geq \text{OFLX}$  の順であった。好中球殺菌能・貪食能は, 好中球内濃度と高い相関を認め, 遊走能も相関関係を認めた。

結語: NQ 薬により, 好中球機能の上昇が認められ, 好中球内濃度との関連性が示唆された。

#### 042 *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm に対するマクロライド剤作用機序の解析

棚野健司・小林宏行

杏林大学・第一内科

目的: 緑膿菌による慢性気道感染症の難治化の要因の一つとして, 菌自体が形成する Biofilm が考えられる。最近, この Biofilm 形成に対してマクロライド剤が抑制的に作用することが知られてきた。今回, 私共はマクロライド剤の Biofilm に対する作用機序を解析するため, アルギン酸合成に対するマクロライド剤作用に関して検討を行ったので報告する。

方法: 使用薬剤は, 14 員環の Erythromycin (EM), 15 員環の Azithromycin (AZM), 16 員環の Midecamycin (MDM) を用いた。Biofilm の作製は, mucoid 型緑膿菌を用いて生食寒天上で作製し走査型電子顕微鏡により観察した。菌体外アルギン酸定量は, Bitter-Muir 法により行った。アルギン酸合成酵素 (PMI, PMM, GMP, GMD) 活性測定は, 破碎菌体より得た抽出液を用いて UV 法により測定した。

結果及び考察: 今回実験に用いたマクロライド剤の内, EM 及び AZM において, ①Biofilm 形成に対しての抑制作用, ②菌体外アルギン酸産生量の抑制, ③アルギン酸合成酵素 GMD 活性の特異的阻害作用, などが観察された。しかしながら, MDM にはこれら作用はみられなかった。以上の結果から, マクロライド剤の Biofilm 作用機序として, アルギン酸合成酵素 (GMD) 阻害作用にもとづくアルギン酸産生抑制が一つの要因であることが示唆された。

#### 043 *Enterococcus faecalis* の致死標的 Penicillin-binding proteins に対する cefozopran の親和性

土森 登・小此木研二

武田薬品・創薬第3研究所

目的: Cefozopran は第3世代セフェムが無効である *Enterococcus faecalis* に対して臨床で治療効果を示す。

今回 cefozopran の標的分子を明らかにするために, *E. faecalis* の penicillin-binding proteins (PBPs) に対する cefozopran および対照  $\beta$ -lactam 薬の親和性を調べた。

方法: 臨床で分離された *E. faecalis* TN 2005 株の膜画分 PBP への親和性を [ $^{14}\text{C}$ ] benzylpenicillin との競合試験によって測定した。

結果と考察: 調べた  $\beta$ -lactam 薬の *E. faecalis* TN 2005 に対する抗菌力は PBP 5 に対する親和性と相関した。Cefozopran は PBP 5 に親和性を示したが, 本株に対して抗菌力を示さない ceftazidime と cefmenoxime は 100  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で PBP 5 に親和性を示さなかった。本菌に対する抗菌力が cefozopran より強い ampicillin, benzylpenicillin, imipenem は PBP 5 に加えて PBPs 3/4 に対しても cefozopran より高い親和性を示した。調べた薬剤の PBP 1, 2 および 6 に対する親和性と抗菌力に相関は認められなかった。以上の結果から, *E. faecalis* の致死標的分子は PBP 3/4 と 5 であり, cefozopran は第3世代セフェムが結合しない PBP 5 に親和性を示すことにより抗菌力を発揮することが示唆された。

#### 044 *mec* 領域 DNA の染色体への挿入部位のクローニング

伊藤輝代・浅田和美・平松啓一

順天堂大学・医学部・細菌学教室

目的: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) において, メチシリン耐性遺伝子及びその周辺の領域は, 本来のブドウ球菌染色体 DNA には存在しない外来性のものである。我々はこの外来遺伝子の由来及び染色体領域への挿入方法を明らかにすることを目的としてプロトタイプ MRSA, N315 株を中心に外来遺伝子領域 (*mec* 領域 DNA) のクローニングとその構造解析を行った。

材料と方法: N 315 株染色体 DNA より各種プローブを用いて *mecA* 遺伝子の上流及び下流にわたる *mec* 領域 DNA をクローニングした。サザン解析, PCR 法を用いて, *mec* 領域 DNA の挿入部位の検討をおこなった。

結果及び考察: 1. クローニングした *mecA* 上流の DNA 断片 (プローブ 1-11) を用いてドットプロット法をおこない, N 315 株の場合 *mecA* 上流約 40 kb は MSSA には存在しない外来領域であること (プローブ 1-9), そのさきの DNA 断片 (プローブ 10, 11) は MSSA と反応することを確認した。2. *mec* 領域 DNA の挿入部位を確定するため, MSSA, NCTC 8325 株染色体 DNA よりプローブ 11 に反応するクローンを得た (LD 8325)。LD 8325 の 7.4 kb *HindIII* 断片 (N 315 株由来のプローブ 11 と反応する) をプローブとして用いたサザン解析において, N 315 株の場合は二つのバンドが検出され



た。一つのパンドはプローブ 11 が含まれるパンドである。もう一つのパンドは *mec* 領域 DNA が挿入された下流側の連結部位を含む DNA 断片に相当し、LD 8325 の 7.4 kb *Hind*III 断片は *mec* 領域 DNA の挿入部位を含んでいると考えられた。今後 N 315 株における *mecA* 下流のクローニングを進めるとともに、すべての MRSA 株に於いて染色体上の同じ位置に挿入されているかどうかを検討して行きたい。

#### 045 ペニシリン耐性肺炎球菌における PBP-2 B 遺伝子 (*penA*) の解析

ペニシリン耐性肺炎球菌研究会: 代表 紺野昌俊

参加: 40 施設, 参加者: 75 名

生方公子<sup>1)</sup>・杉浦 睦<sup>1)</sup>・中野浩美<sup>2)</sup>

山根明男<sup>2)</sup>・紺野昌俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>帝京大・医・臨床病理, <sup>2)</sup>湧永製薬(株)バイオ研究所

目的: ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) における耐性機構には, PBP-2 B, 1 A あるいは 2 X 遺伝子の変異が関与している。これらのうち, 私共は PRSP 研究会によって全国各地から収集された約 1,000 株について, Dowson 等の PBP-2 B 遺伝子解析に基づき, 数種の primer を設計して PCR を行い, 第 42 回日本化学療法学会総会において報告した。PCR の成績と感受性成績との関係では, MPIPC に明らかな耐性を示す株は, ClassB 変異の耐性株が圧倒的に多く, ClassA 変異の耐性株はわずか 8 株であった。MPIPC に感性の菌株は感性菌検出用 primer ですべて陽性であったが, 感受性測定で PRSP と判定されたにも関わらず, 感性菌検出用の primer に反応した不一致株が約 100 株認められた。今回はこれらの不一致株における塩基配列について検討した成績を報告する。

方法: PRSP にみいだされる耐性ブロック付近の遺伝子解析を約 10 株について行った。そして, これらの遺伝子解析から新たな primer を作成し, PCR の成績と感受性成績とが不一致であった株について再度 PCR を行った。

結果: PRSP の ClassA 変異と ClassB 変異のある領域の遺伝子解析により, 検索した菌株では種々の遺伝子変異が見いだされた。中でも, 今までに報告されていない遺伝子変異が数株に共通して見いだされた。この変異は, PBP-2 B 遺伝子の活性中心と考えられる領域に 9 塩基が繰り返し挿入された tandem repeat の塩基配列であった。この解析結果から新しい primer を作成して, 上述した不一致株についてさらに PCR を行った。不一致株の約 1/3 がこのユニークな塩基配列を有する株であった。

考察: PRSP における耐性機構は複雑であるが, 今までに報告のされていない変異株の存在が示唆され

た。

#### 046 プラスミド性カルバペネム剤加水分解酵素

井上松久<sup>1)</sup>・岡本了一<sup>1)</sup>・中村景子<sup>1)</sup>

布施愛索<sup>1)</sup>・松田耕治<sup>1)</sup>・出口浩一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>北里大医微生物, <sup>2)</sup>都総合臨床検査センター

$\beta$ -ラクタマーゼに安定なセフェム剤やカルバペネム剤が臨床応用されて既に 10 年近く経過した。我々は, 1993~1994 年分離の *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *S. marcescens* 50 株の中から IPM に対して 6.25  $\mu$ g/ml 含有平板に増殖した株を耐性として選択した結果, *S. marcescens* から 3 株の IPM 耐性株を分離した。各耐性は, *E. coli* K 12 ML 4901 に形質転換された。しかし, *E. coli* K 12 株での IPM, PAPM の形質発現は弱く, 菌数を通常の 100 倍増やすことによって明かな耐性を示した。この結果は, *E. coli* での IPM や PAPM の良好な外膜透過性を反映したものであり, 通常検査ではカルバペネム剤耐性は *E. coli* では感受性と判定される危険性が示された。また, IPM 耐性プラスミドは先に我々が報告した *X. maltophilia* 由来の L-1 と同じく AZT に対して感受性を示した。形質転換株由来の阻酵素は IPM, PAPM, CER, CPZ を加水分解したが, AZT を加水分解しなかった。3 株共に約 37.8 Kbp プラスミドであり, その不和合性群 H であった。次いで制限酵素 *Bam*H 1 にて 3 株の耐性が pHSG 398 にクローン化され, 其の制限酵素地図は, 先に荒川等の報告した *S. marcescens* 染色体由来のカルバペネム剤耐性遺伝子のそれに類似していた。次いで, その塩基配列を参考に, PCR 法にて DNA の類似性を調べたところ, 期待された大きさの DNA が増幅された。しかし, これまでに知られているカルバペネムを加水分解する酵素産生菌では, PCR 法による DNA の増幅は全て陰性であった。

#### 047 *S. marcescens* の非伝達性 plasmid 支配 $\beta$ -lactamase の性状

布施愛索<sup>1)</sup>・中村景子<sup>1)</sup>

井上松久<sup>1)</sup>・出口浩一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>北里大学医学部微生物学教室

<sup>2)</sup>東京総合臨床検査センター研究部

目的: *S. marcescens* より IPM 耐性菌が分離され, その耐性機構は, 非伝達性 plasmid 支配の IPM をも分解する  $\beta$ -lactamase の産生による事が判明したので, この酵素を精製し, 酵素学的諸性状を, 既存の各種 carbapenemase と比較検討した。

材料及び方法: 使用菌株; *S. marcescens* の plasmid pKU 62 を cloning した *E. coli* KU 1190 を用いた。 $\beta$ -

lactamaseの精製と性状; 常法に従い粗酵素液を得て、これをCM toyopearl 650 Mで精製した。活性測定はUV法によった。精製酵素を用い、各種 $\beta$ -lactam剤の $K_m$ ,  $V_{max}$ やinhibitor profileを求めた。12.5% SDS-PAGEにより分子量を決定した。IPMを基質として至適温度、至適pHを決定した。Ampholine PAG plateを用い等電点を調べた。

結果と考察: 単一バンドにまで精製された酵素は、分子量28000、至適温度60°C、至適pH 8.0、pI 8.4であった。基質特異性は、IPM, PAPM, CER, CPZとPC系をよく水解し、AZT, CZONは水解しなかった。各種 $\beta$ -lactamase inhibitorには阻害されなかったが、EDTA等のキレーターで阻害され、Zn添加により活性が回復し、原子吸光分析で酵素1分子からZn1分子が検出された。

以上の諸性状より、本酵素は、Class B  $\beta$ -lactamaseに分類され、*S. marcescens*のIMP-1や*P. aeruginosa*のpMS 350と非常によく似ていたが、その由来は不明である。

#### 048 Cefotaxime 耐性大腸菌の $\beta$ -lactamase 遺伝子に関する検討

石井良和・辻 雅克・大野 章

辻 明良・山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

目的: 当大学医学部付属大森病院で分離された大腸菌が産生するextended broad-spectrum  $\beta$ -lactamaseの生化学的検討に関しては第42回日本化学療法学会総会で報告した。今回は、この $\beta$ -lactamaseをコードする遺伝子の由来について推察することを目的にクローニングおよびシーケンスを行ったので報告する。

材料および方法: Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamaseをコードする遺伝子のクローニングは、*Escherichia coli* TUH 12191から分離された58 KDのpMTY 001をSau 3 AIにて不完全消化後得られた断片をpHSG 397のBamHI部分に挿入して*E. coli* MV 1184にtransformationした後、cefotaxime 10  $\mu$ g/ml含有LB寒天培地で選択して得た。このplasmidをpMTY 010とした。pMTY 010を保有する*E. coli* MV 1184は、親株同様cefotaximeに対して>512  $\mu$ g/mlのMICを示した。このpMTY 010をKpnIおよびAvaIで切断後、Takara deletion kitを用いてdeletion mutantを作製した。このdeletion mutantを用いてDNAシーケンスを行った。DNAの解析には、DDBJのODENおよびFasta mail serverを用いた。

結果および考察: 1,048 bpの配列が決定され、ORFは、そのうちの876 bpであった。この結果から予測されるペプチドのシーケンスは、前駆体は291 アミノ酸

残基からなっており、成熟体は264 アミノ酸残基からなる $\beta$ -lactamaseであることが明かとなった。この $\beta$ -lactamaseは、*Klebsiella oxytoca*あるいは*Citrobacter diversus*のものと約70%の相同性を有していた。一方、本 $\beta$ -lactamaseの成熟体のアミノ酸配列と*K. oxytoca* E 23004由来の $\beta$ -lactamaseあるいはMEN-1の間に約83%と高い相同性が認められた。本 $\beta$ -lactamaseはこれらの $\beta$ -lactamaseと起源を同じくする可能性が高いものと推察された。

#### 049 新規 DNA gyrase 類似キノロン耐性遺伝子

小島 毅<sup>1,2)</sup>・山岸純一<sup>1)</sup>・小山田義博<sup>1)</sup>

吉田博明<sup>1)</sup>・服部宏昭<sup>1)</sup>・中村信一<sup>1)</sup>

井上松久<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>大日本製薬生物科学研究所

<sup>2)</sup>北里大学医学部微生物学教室

近年、キノロン耐性MRSAが高頻度で分離され、臨床において重要な問題となっている。黄色ブドウ球菌のキノロン耐性は、キノロン排出ポンプの亢進並びにDNA gyrase 遺伝子の変異により生じることが知られている。しかしながら、臨床分離のキノロン高度耐性株での耐性機構は、まだ十分に解明されていないのが現状である。そこで、臨床分離キノロン耐性MRSAよりキノロン耐性遺伝子をクローニングし、解析した。

方法: 臨床分離キノロン高度耐性MRSAである*S. aureus* KMP 9株より抽出したクロモゾームを制限酵素で消化した後、*S. aureus* RN 4220株とプラスミドpND 40を用い、NFLX及びCPで選択することによりキノロン耐性遺伝子をクローン化した。

結果及び考察: NFLXに6.25  $\mu$ g/ml(親株の4倍)の耐性を与える新規キノロン耐性遺伝子をpRK 3上にクローン化した。pRK 3は、4.2 KbのDNA断片を持っており、2種の新規遺伝子(*orf1*, *orf2*)をコードしていた。アミノ酸相同性解析の結果、*orf1*及び*orf2*はそれぞれgyrB及びgyrA類似遺伝子であった。最近、これらの遺伝子は、L. Ferrero等により報告されたDNA topoisomerase IV (topo IV) 遺伝子であることが判明した。野生型topo IV遺伝子との比較並びにDNA gyrase 遺伝子のキノロン耐性決定領域の知見を考え合わせると、*orf2*のSer-80→Phe, Glu-84→Lysがキノロン耐性に関係する変異であると推察した。以上のことより、黄色ブドウ球菌のキノロン耐性機構には、norA及びgyr 遺伝子のみならず、topo IV遺伝子も関与していることが明らかになった。

050 トランスポゾン挿入型変異 *norA* 遺伝子小島 毅<sup>1,2)</sup>・小山田義博<sup>1)</sup>・山岸純一<sup>1)</sup>藤本孝一<sup>1)</sup>・服部宏昭<sup>1)</sup>・中村信一<sup>1)</sup>井上松久<sup>2)</sup><sup>1)</sup>大日本製薬生物科学研究所<sup>2)</sup>北里大学医学部微生物学教室

臨床分離キノロン耐性 MRSA の耐性機構を詳細に解明するために、キノロン耐性遺伝子をクローニングしたところ、キノロン排出ポンプの遺伝子である *norA* の上流に、トランスポゾンが挿入された変異 *norA* 遺伝子を見出したので報告する。

方法: キノロン耐性遺伝子は、臨床分離キノロン耐性 MRSA である *S. aureus* KMP 9 株のクロモゾームを *Hind*III 又は *Kpn* I で処理し、*S. aureus* RN 4220 株とプラスミド pND 40 を用いてクローン化した。PCR 法は、常法に従い行った。

結果及び考察: プラスミド pRK 1, pRK 2 上に、3.6 kb 及び 2.5 kb の *norA* 遺伝子を含む DNA 断片をクローン化した。これらの DNA 断片は、*norA* 構造遺伝子の上流に、アミノグリコシド耐性トランスポゾンである Tn 4001 由来 IS 256 のプロモーター領域を含む断片が挿入されており、そのプロモーター活性により、NorA 蛋白質が過剰生産されていると推定された。PCR 解析により、*S. aureus* KMP 9 株のクロモゾーム上では、*norA* 遺伝子の -35 領域と -10 領域の間に IS 256 が完全な状態で存在することが判明した。他の臨床分離キノロン耐性 MRSA に、IS 256 挿入型変異 *norA* 遺伝子が存在するか否かについて PCR で検討した結果、40 株中 7 株 (17.5%) に IS 256 の挿入が検出できた。これらの結果は、キノロン耐性機構の一つである *norA* 遺伝子の発現亢進に、トランスポゾンが関与する可能性を示唆している。

051 黄色ブドウ球菌における *gyrA* 遺伝子変異とキノロン薬耐性との関連

徳江 豊・菅野康吉

国立がんセンター中央病院臨床検査部

目的: 黄色ブドウ球菌においてキノロン耐性と関連している *gyrA* 遺伝子のコドン 84~88 における点変異の種類とその頻度を明らかにし、さらにキノロン耐性への関与を検討する目的でそれぞれの点変異型と OFLX の MIC との関連を解析した。

方法: 臨床分離黄色ブドウ球菌 106 株の *gyrA* 遺伝子のコドン 84-88 を含む領域を PCR で増幅後、銀染色を用いた一本鎖 DNA 高次構造多型解析 (Non-RI SSCP) 法および PCR 産物の直接塩基配列決定法で解析した。

OFLX の MIC は微量液体希釈法にて測定した。

結果: 臨床分離黄色ブドウ球菌 106 株は野生型を含めて 9 種類に分類された。Non-RI SSCP における泳動度の異なるバンドは全て *gyrA* 遺伝子の点変異に関連していた。(1) Ser-84→Leu; (2) Ser-85→Pro; (3) Glu-88→Gly; および (4) Glu-88→Lys の 4 種類の点変異に加えて 3 種類の二重点変異が 22 株に認められた [(1)+(2), (1)+(3), (1)+(4)]。1 株にコドン 86 の点変異 (ATT→ATC) を認めたが silent mutation であり、さらに 22 株は点変異のない野生型で OFLX の MIC は 4 µg/ml 以下であった。それぞれの点変異株ごとに OFLX の MIC の分布を検討してみると、二重点変異を持つ株は 3 種類ともに高度耐性 (128 µg/ml 以上) であり、コドン 84 のみに変異を持つ株の MIC は 8~128 µg/ml、その他の変異株は 8~16 µg/ml に分布した。

考察: *gyrA* 遺伝子のコドン 84-88 の領域の点変異、特に Ser-84→Leu は、高度キノロン耐性への関与が強く示唆された。また、Non-RI SSCP は点変異のスクリーニングや解析に対して迅速、簡便、かつ有用性の高い検査法と考えられた。

## 053 抗菌力計測システム (質量分析方式) を用いた抗菌作用の検討

渋谷寛人<sup>1)</sup>・西 功<sup>2)</sup>・中原正城<sup>3)</sup><sup>1)</sup>ウエストロン (株)<sup>2)</sup>東京理科大学理工学部<sup>3)</sup>科学技術研究所

目的: 抗生物質の抗菌力の評価の 1 つとして、細菌の増殖曲線に及ぼす影響で評価する方式が取られている。この場合、時間の経過に伴う生菌数を計測しなければならないが菌数計測の為に多大な労力が必要である。我々は、質量分析計を用いた抗菌力計測システムを用いて試験したのでその成績を報告する。

質量分析方式のガス計測システムはこれまでに微生物の発酵課程の制御のために広く使われている方式である。原理は、微生物の代謝活性を微量なガスの変化で捉える方式である。本報告では、*E. coli* に対する Cefmetazole の作用を試験した。

方法: 試験菌としては、*E. coli* NIHJ JC-1 を用い、薬剤としては、Cefmetazole (CMZ) (MIC 値は、0.78 µg/ml) を用いた。培地は、Mueller Hinton Broth (Difco) を用いた。一夜前培養した菌液を 10<sup>5</sup>cfu/ml になるように接種し、培養温度は 37°C に設定した。

結果: 対照 (薬剤無添加) では、時間の経過と共に菌数の増加を伴い菌の代謝活性が exponential curve で増大し、ピークは約 6 時間であった。ピーク後少し下がり定状的に推移した。CMZ (1.56 µg/ml) を培養開始時に添加した場合、菌の生育・活性は完全に抑えられた。

培養途中でCMZを添加した場合、菌の生育・活性は抑制され、菌の再増殖は認められなかった。

考察: ガス計測システムを用いて、CMZの*E. coli*に対する作用を試験したが、計測が全て自動化されているために、菌数測定等の労力が省力できた。薬剤無添加では、菌の生育・活性は6時間がピークで一旦少し下がりその後定状的に推移したが、この傾向は、他の細菌(yeast菌等)でもこれまでに認められている。今後、本機種を用いて各種の試験を行って行きたい。

#### 054 新規抗ヘルペス剤・アンチセンスオリゴヌクレオチドアナログの抗ウイルス活性

岩谷若夫<sup>1,2)</sup>・田村信也<sup>1,2)</sup>・東海林洋子<sup>1)</sup>

乗松美樹<sup>1)</sup>・嶋田基五郎<sup>1)</sup>・水島 裕<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>聖マ医大・難病治療研究センター

<sup>2)</sup>科研製薬(株)

目的: 我々は、単純ヘルペスウイルスI型(HSV-I)の早期発現遺伝子に対して相補的なホスホロチオエート型アンチセンスオリゴDNA(PS-antisense oligo-DNA)を合成し、新規ヘルペス剤としての*in vitro*探索研究を行った。

方法: PS-oligo DNAをDNA全自動合成装置にて合成し、HPLCで分離精製して供試した。対照化合物としてアシクロビル(ACV)と本HSV遺伝子に対して相補性を持たないsense PS-oligo DNAを用いた。被検ウイルスとしてHSV-I、GG株及びKP株を、宿主細胞としてVero細胞及びSIRC(ウサギ角膜細胞)を用いた。Confluentに生育した細胞に一定量( $1 \times 10^2$  pfu/well)のウイルスと化合物を同時に添加し、ウイルスの細胞変性作用を100%阻害する最小化合物濃度(MIC)を72時間培養後に求め、また化合物のウイルス増殖抑制能をプラーク検定法で検討した。

結果および考察: antisense PS-oligo DNA, sense PS-oligo DNAおよびACVのMIC値は、各々0.78~1.56  $\mu$ M, 100  $\mu$ Mおよび12.5~25  $\mu$ Mであった。本antisense化合物はHSV-Iの株種及び宿主細胞の種類に関係なく配列特異的な抗ウイルス効果を発現し、ACVよりも短期間で強い殺ウイルス作用を示した。また本antisense化合物のウイルスに対する感受性は接種ウイルス量に影響されず、ACVについては接種ウイルス量に依存して感受性が著しく低減した。最高接種量 $1 \times 10^4$  pfu/wellでの本化合物及びACVのMIC値は各々1.56~3.13  $\mu$ M及び>100  $\mu$ Mであった。ACVとの併用試験においてはウイルス増殖に対して相加的あるいは相乗的な抑制効果が観察された。以上の成績から本antisense PS-oligo DNAは、抗ヘルペス剤あるいは併用剤としての有用性が強く示唆された。

#### 057 ペネム系抗菌剤FC/TA-891のウサギ口腔組織移行に関する研究

阿部 葵・佐藤田鶴子・宮坂孝弘

吉田 誠・石垣佳希

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第1講座

目的: FC/TA-891は新しく開発されたペネム系経口抗菌剤で、経口投与後、腸管より吸収され活性本体であるFCE 22101として抗菌力を示すプロドラッグである。本剤は各種 $\beta$ -lactamaseに安定であり、グラム陽性、陰性菌に広範囲な抗菌スペクトルを有し、優れた抗菌力を示す。今回、私たちはFC/TA-891の口腔領域の組織移行についてウサギを用いて検討した。

方法: 1週間の予備飼育を行い、実験前日より禁食したNew Zealand White種ウサギ雄(体重2.5~3.0 kg)にFC/TA-891 20 mg/kgを経口投与した。投与後3時間まで血液については耳静脈より採血し、組織については各ポイントで屠殺後、舌、歯肉、顎下リンパ節、顎下腺、耳下腺、上顎骨、下顎骨を摘出し試料とした。移行濃度は*Bacillus subtilis* ATCC 12432を検定菌にしたペーパーディスク法によるbioassayにて測定し、測定結果を用いて薬動学的解析を行った。

結果: 血清では $T_{max}$  0.46 h,  $C_{max}$  11.33  $\mu$ g/ml AUC 12.64  $\mu$ g·h/mlであった。組織では $C_{max}$ は歯肉が5.62  $\mu$ g/gと最も高く、次いで舌3.49, 耳下腺2.70, 顎下腺1.95, 上顎骨0.78, 顎下リンパ節0.73, 下顎骨0.58  $\mu$ g/gの順であった。また、各組織の血清に対するAUC ratioは0.04~0.50であった。

結論: 本剤は速やかに血中および組織に移行し、歯肉などの口腔軟組織への移行が良好であることがわかった。

#### 058 Fleroxacinのウサギ感染モデルにおける口腔組織移行に関する研究

吉田 誠・佐藤田鶴子・阿部 葵

石垣佳希・宮坂孝弘・岩重洋介

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第1講座

Fleroxacinはニューキノロン系の合成抗菌剤で、グラム陽性菌および陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、安定な持続性をもつ薬剤であることが報告されている。

今回我々は、口腔外科領域における本剤の有用性を検討するために、ウサギ感染モデルを作製し、口腔組織への移行について検討を行った。

方法: NZW種ウサギ雄、体重2.5~3.0 kgを用い、佐藤-Heim Dahl法に準じて感染モデルを作製し、その1週間後、Fleroxacin 20 mg/kgを空腹時経口投与し

た。投与後6時間までの計9ポイントで耳静脈より採血し、また投与後6時間までの計6ポイントで屠殺し、舌、歯肉、顎下リンパ節、耳下腺、顎下腺、上顎骨、下顎骨、膿汁を採取しホモジナイズ後、その遠心上清を測定試料とした。

薬剤の濃度測定は *Escherichia coli* NIHJ JC-2 を検定菌とした薄層平板ディスク法で行い、その測定結果から薬動力学的解析を行った。

結果: 血清における  $T_{max}$  は1.47時間、 $C_{max}$  は3.55  $\mu\text{g/ml}$  であり、口腔組織での  $T_{max}$  は1.62~2.14時間、 $C_{max}$  は2.01~6.21  $\mu\text{g/g}$ 、また、膿汁における  $T_{max}$  は2.41時間、 $C_{max}$  は3.08  $\mu\text{g/ml}$  であった。各組織の  $C_{max}$  対血清比は0.46~1.75、AUC対血清比は0.60~2.32で、骨組織においては1/2程度であるものの、軟組織では良好な移行を示した。

まとめ: 健常群での検討で、他のニューキノロン剤と同様に、特に腺組織、リンパ節への優れた移行性が確認されたが、感染群において、それぞれ健常群を上回る移行性を示した。

#### 059 Biapenem (L-627) の体内動態に関する imipenem/cilastatin との比較検討

多羅尾史明<sup>1)</sup>・三浦敏明<sup>1)</sup>

齋藤 玲<sup>1)</sup>・佐藤 清<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>北海道大学医療技術短期大学部

<sup>2)</sup>北海道大学医学部付属病院検査部

新規カルバペネム系抗生物質 Biapenem (BIPM; L-627) の体内動態を、既存同系薬剤である imipenem/cilastatin (IPM/CS) を対照薬とした cross-over 法で比較検討した。健常成人男子6名に BIPM 300 mg または IPM/CS 500 mg/500mg を30分間点滴静注にて投与し、経時的に採取した血液および尿中の各薬剤濃度を HPLC 法ならびに Bioassay 法により測定し検討を行った。両測定法による薬剤濃度の成績はきわめて良い相関を示した。

HPLC 法による各パラメーターは、最大血中濃度 ( $C_{max}$ ) において、BIPM 19.0 $\pm$ 2.9  $\mu\text{g/ml}$ 、IPM 29.2 $\pm$ 5.8  $\mu\text{g/ml}$ 、血中濃度一時間下面積 (AUC) ではそれぞれ 26.2 $\pm$ 3.2  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$  と 40.2 $\pm$ 7.0  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$  であった。血漿中半減期 ( $T_{1/2\beta}$ ) は BIPM、IPM それぞれ 0.99 $\pm$ 0.15 h、0.91 $\pm$ 0.10 h、腎クリアランスは 6.84 $\pm$ 0.70 と 8.92 $\pm$ 1.51 l/h、総クリアランスは 11.58 $\pm$ 1.49 と 12.78 $\pm$ 2.42 l/h であった。12時間までの尿中排泄率は 60.0% と 69.8% であった。なお、BIPM は HPLC による尿中代謝物があり、総尿中排泄率は 79.4% であった。

以上の結果より BIPM は IPM/CS 投与時の IPM と類似した体内動態を示し、安定性に優れること、また HPLC にて検出される主要物質と抗菌活性が相関する

ことより、代謝産物は抗菌活性を示さないことが示唆された。

#### 060 Lomefloxacin と Balofloxacin (Q-35) の汗中移行

松本文夫<sup>1)</sup>・桜井 磐<sup>1)</sup>・高橋孝行<sup>2)</sup>

寺尾公男<sup>3)</sup>・福島政文<sup>3)</sup>・近藤晶子<sup>4)</sup>

松尾秀三<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>神奈川県衛生看護専門学校付属病院内科、<sup>2)</sup>同 検査科

<sup>3)</sup>中外製薬株式会社試験研究センター、<sup>4)</sup>同 学術第一部

キノロン薬の主な副作用の一つに光毒性があり、化学構造との関連性が示唆されている。また光毒性を発現しやすいキノロン薬ほど水溶液中での紫外線照射に対して不安定であることを示唆する成績もある。体表におけるキノロン薬濃度を知る目的で汗中濃度を測定した。

光線過敏症の発現頻度が比較的高い Lomefloxacin (LFLX) と光線照射に安定な Balofloxacin (Q-35) を被験薬とし、同意が得られた健康成人男子6名を対象に、使用量を 400 mg と定め、6日間の休薬期間をおく。cross over 法により、両剤の汗中濃度を測定した。また同時に血中・唾液中濃度を測定し、それと比較した。

LFLX および Q-35 の血中  $C_{max}$  はそれぞれ 4.6 $\pm$ 0.3  $\mu\text{g/ml}$ 、3.6 $\pm$ 0.4  $\mu\text{g/ml}$  で、 $T_{1/2}$  は 5.1 $\pm$ 0.8 h と 5.8 $\pm$ 1.7 h であって、唾液中濃度は Q-35 では血中濃度より若干高いものの、血中濃度とほぼ同等の推移を示した。汗中濃度は Q-35 では血中濃度の 2.5~3.5 倍、LFLX では 4.1~5.2 倍に達し、使用後 12 時でも 4.4 $\pm$ 0.7  $\mu\text{g/ml}$  または 8.5 $\pm$ 3.3  $\mu\text{g/ml}$  の濃度が得られた。なお両剤とも汗中に代謝物とみられる HPLC 解析像は確認できなかった。使用後 12 時間までの尿中回収率は両剤とも 30% 前後であって、臨床第一相試験のそれより低かった。

以上、LFLX と Q-35 は汗への移行が良好であることを確認したが、汗中濃度が高い薬剤は皮膚表面の薬剤濃度は高く、もし皮膚表面が日光照射とともに損傷を受けるような状況になれば光毒性は出現し易くなる可能性もありうるし、しかも汗中の薬剤が日光照射によって変化し毒性を発揮することも考えられるので、今後は日光照射による汗中での両薬の変化について検討したい。

#### 063 Sparfloxacin の肺抗酸菌症治療への応用の可能性

吉川博子・青木信樹・薄田芳丸

信楽園病院内科

目的: Sparfloxacin (SPFX) は既存のニューキノロン剤の中で抗酸菌に対して最も強力な抗菌活性を有し、抗酸菌症治療薬としても期待されている。今回、SPFX

が有効であった肺抗酸菌症の症例を経験したので、本剤の体内動態とあわせて、SPFXの肺抗酸菌症治療への応用の可能性について検討した。

方法: 1. 当科に入院した肺結核及び肺非定型抗酸菌症の症例にSPFXを抗酸菌培養で菌の陰性化を確認した後も、2ヵ月間投与した。2. 腎機能低下症例にSPFX 200 mg投与し、本剤の尿中排泄について検討した。3. SPFXの喀痰中濃度のピーク値を *M. avium* complex, *M. tuberculosis* に対するMIC<sub>90</sub>で割った値について検討した。4. 抗酸菌症の患者に、SPFX 200 mgを隔日投与し、本剤の血中濃度を経時的に測定した。

結果: 1. 炎症反応は改善し、菌は陰性化した。2. 腎機能低下症例ではSPFXの尿中排泄の低下が認められた。3. SPFXの喀痰中濃度のピーク値は *M. avium* complex, *M. tuberculosis* のMIC<sub>90</sub>に対して、それぞれ5.4, 168と良好な値を示した。4. 腎機能正常者でSPFX隔日投与にて、服用12時間後では平均1.15, 36時間後では平均0.41と十分な血中濃度を示し、かつ蓄積も認められなかった。

考察: SPFXは肺抗酸菌症の治療に有用であると思われるが、比較的高齢者に多い疾患であり、本剤を常用量で長期間使用した場合、蓄積も懸念される。SPFXの優れた抗菌力、肺への移行を考慮すると、より安全に長期間使用するためには低用量での使用が検討されるべきであると思われる。

## 070 MRSA 尿路保菌者に対する尿路手術の安全性の検討

三沢一道・渡辺健二・小川秋實  
信州大学医学部泌尿器科

目的: MRSAの尿路保菌者に対して尿路手術を施行する危険性については報告が少ない。われわれは、術前にMRSAが尿路から分離された28人に対して、32例の尿路手術を施行したので、成績を報告する。

方法: 全例、術前に除菌を試みず、29例の尿路手術では、感受性の確認された抗菌剤を手術前日夜あるいは当日から投与した。3例の尿路手術ではMRSAに非感受性の抗菌剤が使用された(手術日までに、術前の尿培養が判明しなかったか、MRSA菌量が少なく無視したため)。術式の内訳は、内視鏡手術12例、開放手術20例であった。

結果: 尿中MRSAの術前菌量は、10<sup>4</sup> cfu/ml以上が25例(78%)で、他菌の同時検出例は18例(57%)だった。MRSAを目的に使用された抗菌剤ではバンコマイシンが17例と最多であった。術後、有症候性MRSA感染が5例に生じた(肺炎+創感染1例、腹膜炎+創感染1例、菌血症1例、創感染2例)。重症MRSA感染の3例(肺炎、腹膜炎、菌血症)はMRSAに非感受性抗菌

剤(セフトリアム、セファゾリン、イミペナム)が術中・術後に使用されていた。肺炎と腹膜炎の2例は抗菌剤の変更、及びG-CSFの投与で治癒し、菌血症の1例はイミペナム(MRSAに非感受性)の投与のみで治癒した。

考察: 尿中MRSAが肺炎あるいは腹膜炎を起こしたかは不明であるが、適切な抗菌剤が使用されていれば、これらの重症感染症は防げた可能性がある。MRSA尿路保菌者の手術は、MRSAに高感受性の抗菌剤を術中・術後に投与することにより、安全に行ない得ることが示唆された。

## 071 胃酸分泌抑制とMRSA感染の基礎的検討

吉田祐一・炭山嘉伸・草地信也  
青柳 健・川井邦彦・有馬陽一  
東邦大学医学部外科学第三講座

目的: 大きな侵襲の手術の周術期には、AGML対策として胃酸分泌抑制剤が投与される。胃酸分泌抑制剤H<sub>2</sub>ブロッカー(H<sub>2</sub>-RA)の投与によるMRSA感染増加への影響を探ることを目的に、胃酸分泌抑制とMRSA感染の基礎的検討を行った。

対象・方法: 250~300 gのWister雄性ラットを用い、胃切除施行群、H<sub>2</sub>-RA 3週間連日投与群、TPNによる絶食群、H<sub>2</sub>-RA 4日間投与後にMRSA 10<sup>7</sup> CFU/mlを経口投与した群、H<sub>2</sub>-RAとKM+MTNを4日間投与後にMRSA 10<sup>7</sup> CFU/mlを経口投与した群の4群を作成し、便中細菌叢の変化をみた。また、1 NのHClでpHを調整したGAMブイヨン培地を用いて、pHとMRSA・*E. coli*・*E. faecalis*・*B. fragilis*の増殖関係をみた。

結果: 胃切除群では好気性総菌数と*E. coli*生菌数が術後4日目に増加したが、6日後には術前レベルに回復した。*B. fragilis*は2日後に増加し、その後、術前のレベルに回復した。H<sub>2</sub>-RA 3週連日投与群では便細菌叢に変化はなかった。絶食ラットでは、*E. coli*が増加(P<0.05)したが、*S. aureus*生菌数は有意な変化をみなかった(分散比=0.97)。H<sub>2</sub>-RA前処置後のMRSA投与群では、便中からMRSAの生着が検出されたが、その量は減少傾向を示した。H<sub>2</sub>-RA+KM+MTN前処置では便中MRSA生菌数は10<sup>5</sup> CFU/gを示した。*In vitro*の実験では、pH=6を越えると*E. coli*, *E. faecalis*, *B. fragilis*が、培地接種前より増加しpH=7以上ではMRSAも増加した。

結語: 胃切除では*S. aureus*の増加はなく、便中細菌叢も6日後には、術前とほぼ同等に回復する。また、H<sub>2</sub>-RA投与のみでは便中細菌叢に変化はなく、KM+MTNを組み合わせることでMRSAの生着をみており、pHの変化だけではMRSAの増加はみられなかつ

た。抗生剤による細菌叢の乱れが加わると MRSA が増加した。

## 072 ブドウ球菌のセフェム系抗生剤に対する感受性について

鈴木正人<sup>1)</sup>・安達房代<sup>1)</sup>・源不二彦<sup>1)</sup>  
後藤 元<sup>2)</sup>・島田 馨<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学医科学研究所附属病院細菌検査室

<sup>2)</sup>都立駒込病院呼吸器内科

<sup>3)</sup>社会保険中央総合病院

目的: セフェム系抗生剤は、いわゆる第1世代から第4世代へと開発が進むにつれ、グラム陰性桿菌に対する抗菌力には、改善がみられたが、一方黄色ブドウ球菌やコアグラセ陰性ブドウ球菌 (CNS) に対する抗菌力には問題が残されており、これが近年の MRSA の増加にも関与しているとされる。そこで当院における黄色ブドウ球菌および CNS 臨床分離株のセフェム系抗生剤に対する感受性を第1世代から第4世代の各々について検討した。

材料及び方法: 1991年3月から1994年5月までに当院に入院した症例から分離された黄色ブドウ球菌および CNS 200株について検討した。MIC 測定は、日本化学療法学会標準法で実施した。測定薬剤は CER, CET, CEZ, CEPR, CFX, CMZ, CTM, CMD, CAZ, CZX, CPZ, CFCL, CZOP, E 1077 の14薬剤である。

結果, 考察: MSSA の MIC<sub>90</sub> は、血液患者由来株で CER 0.25 µg/ml, 非血液患者由来株で CER 0.5 µg/ml であった。以下 CTM と CMD が 1 µg/ml, CPZ 4 µg/ml, CZOP 1 µg/ml E 1077 2 µg/ml と同等の抗菌力であり差は、明らかでなかった。MRSA は、いずれの薬剤にも耐性であった。

CNS の MIC<sub>90</sub> は、血液患者由来株では CER 0.5 µg/ml, CTM と CMD が 4 µg/ml CPZ 8 µg/ml で優れた抗菌力を示し、CZX は 128 µg/ml で無効であった。CZOP, E 1077 は 8 µg/ml で同等の抗菌力であった。非血液患者由来株の MIC<sub>90</sub> は CER と CMD が 32 µg/ml で他の薬剤は 64 µg/ml 以上で耐性株が多かった。

MSSA, CNS のいずれにおいても第1世代の抗菌力が高く第2世代, 第3世代と抗菌力は順次低下した。第4世代では抗菌力の改善が見られましたが、第1世代には及ばなかった。また同一世代内でも抗菌力にはバラツキが見られ MIC 分布では2峰性を示すものも見られた。全体的な傾向は、黄色ブドウ球菌と CNS は類似していたが、CNS に耐性株が多く、今後臨床的にも問題となる可能性が考えられた。

## 073 arbekacin (ABK) の MRSA に対する殺菌力の評価

—ABK 存在下で再増殖する菌の病原性の検討—

青木泰子<sup>1)</sup>・高山吉弘<sup>2)</sup>・蘇武健一<sup>2)</sup>  
大樽直子<sup>2)</sup>・益吉真次<sup>2)</sup>・吉田 隆<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>筑波大学臨床医学系内科

<sup>2)</sup>明治製菓薬品総合研究所

目的: 第38~40回本学会で、MRSA が約 1/2~4 MIC の ABK 存在下で特徴的な微小コロニーの出現を伴う再増殖を示すこと、この微小コロニーは親株に比して増殖速度が遅く、好中球に貪食殺菌されやすいこと等を報告してきた。この微小コロニーの ABK の臨床効果への関与を知る手がかりとして、微小コロニーの病原性をマウスを用いて *in vivo* で検討した。

方法: 臨床分離 MRSA を 4 MIC の ABK 存在下で 24 時間培養後、寒天平板に塗抹して出現した特徴的な微小コロニーを純培養して被検菌とし、腹腔内投与による全身感染モデルでの LD<sub>50</sub>、尾静脈から菌接種時の血中クリアランスを親株と比較した。実験は4週齢の ICR 系マウスを用い、正常マウス、および cyclophosphamide 投与により作成した好中球減少マウスにつき検討した。

結果: 微小コロニーのマウス全身感染モデルにおける LD<sub>50</sub> は親株より 30~75 倍大きく、血中クリアランスの比較でも、微小コロニーは接種菌量 10<sup>6</sup>、および 10<sup>8</sup> CFU/マウスのいずれでも親株よりも速やかな消失を示した。両者の差は正常マウスでも好中球減少マウスでも明らかであったが、正常マウスにおける差がより顕著な傾向を示した。

考察: 微小コロニーのマウスにおける病原性は親株よりも明らかに弱いことが示された。これは *in vitro* での微小コロニーの増殖速度の遅延、好中球への貪食殺菌されやすさと符合している。微小コロニーの出現が ABK の臨床効果へ与える影響は低いと思われるが、好中球減少マウスでは正常マウスよりも差がやや小さいことから、好中球減少宿主や、好中球の作用が期待し難い病巣では考慮すべきと考えられた。

## 074 MRSA に対する Carbapenem 系抗生剤と Glycopeptide 系抗生剤の併用効果の検討

小林芳夫<sup>1)</sup>・内田 博<sup>1)</sup>・木崎昌弘<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>慶應義塾大学中央臨床検査部

<sup>2)</sup>同 内科

目的: Vancomycin (VCM) は Imipenem (IPM) あるいは Panipenem (PAPM) と IPM 耐性 MRSA に対して併用効果がある事は既に報告した。今回は新しく市販される予定の抗生剤である Meropenem (MEPM) お



よび Teicoplanin (TEIC) さらには現在開発治験中の Carbapenem 系抗生剤である BO-2727 をも加え IPM 耐性 MRSA に対する併用効果を比較検討した。

材料と方法: 使用菌株は慶應義塾大学中央臨床検査部微生物において血液培養検体より分離した *S. aureus* のうち既に報告した PCR 法により *mecA* 遺伝子を有することが確認され、後述する方法で測定した IPM の最小発育阻止濃度 (MIC) が  $16 \mu\text{g/ml}$  以上の 27 株を用いた。MIC の測定は日本化学療法学会標準法に従い平板希釈法で行った。ただし薬剤濃度の希釈系列は  $128 \mu\text{g/ml}$  を最高濃度とする倍數希釈法で行なった。併用効果の測定は既に報告した checkerboard 法で行なった。

結果: VCM と IPM, PAPM, MEPM 及び BO-2727 の何れも被検 27 株に対して優れた併用効果を認めた。すなわち何れの組合せに於いても超相加作用以上の併用効果であり 23 株～25 株に対して相乗作用を認めた。さらに TEIC と IPM, PAPM, MEPM 及び BO-2727 の何れの組合せに於いても同様に超相加作用以上の併用効果を認め 23 株～26 株に対して相乗作用を認めた。

結論: VCM および TEIC は Carbapenem 系抗生剤との間に IPM 耐性 MRSA に対して優れた併用効果を認めやすく、難治性 MRSA 感染症ではたとえ Carbapenem 系に耐性でも VCM あるいは TEIC と Carbapenem 系抗生剤の併用投与は試みる価値があると考えられる治療法であると考えられる。

#### 077 MRSA の単独及び多剤併用各種抗菌剤に対する耐性化について

加澤玉恵・国松正彦・岩井重富  
佐藤 毅・古畑 久・加藤高明  
大塚一秀・新井尚之・中川良英  
妻 正徳・梶真由美・伊藤裕美子  
田中 隆

日本大学第三外科学教室

目的: 多剤耐性 MRSA の各種抗菌剤に対する過去 3 年間の MIC の推移を調べ、耐性化の現状について考察する。

方法: 日本大学附属板橋病院第三外科において平成 2 年、4 年、5 年の各年に検出された MRSA のうち症例が重複しないよう選択した 27 株を対象とした。

MIC 測定は日本化学療法学会標準法に準じ、平板希釈法によって行なった。使用抗菌剤は CMZ, FOM, FMOX, ABK, MINO, IPM, VCM 及びこれらの複合剤を用いた。

結果: 単剤使用時には、CMZ, FMOX, IPM に対して耐性化が進行しているが、ABK, MINO の 2 剤についてみると、むしろ感受性が増している。VCM の対し

ては、現在のところ、全ての株が  $1.56 \mu\text{g/ml}$  以下で発育が阻止されている。複合剤使用時には単剤使用時に比べ良好な感受性が認められた。

考察: 多剤耐性 MRSA の各種抗菌剤に対する耐性化の現状として、当教室において比較的使用頻度の高い CMZ, FMOX, IPM に対しては耐性化が進行している。VCM にたいしては、今回の結果からは明らかな耐性化は認められず、依然として高い感受性を示している。しかし、MIC が  $1.56 \mu\text{g/ml}$  を示す株の割合が増加していることから、耐性化は徐々に進行していると考えられる。

また、複合剤使用時の耐性化傾向については、IPM 使用時に単独の時には認められなかった二峰性の感受性分布が認められた。

#### 080 VCM の体内動態

一特に喀痰移行・気道内停滞濃度について  
の基礎的解析一

新妻一直

福島県立会津総合病院内科

目的: 喀痰由来 MRSA は、80% が定着または起炎性が低いとされる。演者は、起炎性の存在と宿主の背景を考慮して、MRSA 呼吸器感染症に対する Vancomycin (VCM) の治療適応と投与方法を解析するため、喀痰移行濃度 (S 法) と気道内停滞濃度 (T 法) について検討したので報告する。

方法: 1. S 法を MRSA 呼吸器感染症 3 例に試み、VCM 500 mg を 60 分間点滴静注した後、ポイント的に血液と喀痰を採取し、Bioassay 法にて濃度測定した。

2. T 法を VCM 25 mg 吸入を 3 例、12.5 mg と 2.5 mg 吸入を各 1 例に施行して、FPIA 法、Bioassay 法で測定した。

結果: 1. S 法について; ①VCM 500 mg 点滴静注 (60 分) 後の血中濃度は、 $18.7 \sim 31.8 \mu\text{g/ml}$  であり、7 時間後の濃度は、 $3.6 \sim 15.3 \mu\text{g/ml}$  であった。②VCM の喀痰濃度は、n.d. ( $<0.9$ )  $\sim 2.49 \mu\text{g/g}$  であり、その移行率は n.d. ( $<0.9$ )  $\sim 13.3\%$  であった。③VCM 投与開始後 8 時間までの尿中排泄量は、 $160 \sim 268 \text{ mg}$  であり、排泄率は  $32 \sim 54\%$  であった。

2. T 法について; ①VCM 25 mg 吸入直後の気道内停滞喀痰中濃度は  $25 \sim 337 \mu\text{g/g}$  であり、4 時間後では、 $0.9 > \sim 5.9 \mu\text{g/g}$  であった。②VCM 12.5 mg 吸入による停滞濃度でも  $89.4 \rightarrow 1.4 \mu\text{g/g}$  (4 h) であった。又、同様に 2.5 mg でも  $19.5 \rightarrow 1.6 \mu\text{g/g}$  (4 h) であった。③25 mg, 12.5 mg, 2.5 mg 吸入のいずれの場合でも血中・尿中移行は検出限界値以下であった。

結語: VCM の抗菌活性と体内動態から、適応や投与方法の工夫により、さらに除菌を含めた臨床効果が期待

し得る。

## 081 VCM と CPR の MRSA に対する *in vitro* 併用効果

### —第1報: VCM-induced postantibiotic phase における CPR の抗菌効果—

長谷川裕美<sup>1)</sup>・乙黒一彦<sup>2)</sup>・清水喜八郎<sup>2)</sup>

菊池 賢<sup>3)</sup>・戸塚恭一<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>東京女子医科大学第二病院小児科

<sup>2)</sup>北里研究所

<sup>3)</sup>東京女子医科大学臨床中央検査部

目的: MRSA 感染症に対する VCM と  $\beta$ -lactam のより有効な併用投与方法を検討する1手段として, VCM 前作用にて PAE 期に誘導された菌に対する CPR の sub-MIC, above-MIC での抗菌効果について検討した。

材料: 使用薬剤: vancomycin (VCM), cefpirome (CPR)。使用菌株: MRSA 臨床分離株 [MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ): VCM 2, CPR 128]。

方法: VCM 作用後 filter 法にて薬剤を除去し, 直後に CPR を作用させ経時的に生菌数を測定し求めた PA-phase の菌に対する CPR の抗菌効果を, VCM 前作用 (−) の菌と比較検討した。また, VCM は, (A) 1, 2, 10, 50  $\mu\text{g/ml}$  −2 h, (B) 10  $\mu\text{g/ml}$  −1/4, 1/2, 1, 2 h と, 作用濃度または時間を変えて検討した。

結果: (1) CPR の sub-MIC (1/8 MIC) での抗菌効果 (Postantibiotic sub-MIC effect); VCM 前作用 (+) は (−) に比べ増殖抑制作用, 殺菌作用ともに増強した。また, 前作用 (+) の菌が 1 log<sub>10</sub> cfu/ml 増殖する時間 (h) は, (A) VCM の作用濃度が増加しても殆ど変化しなかったが, (B) VCM 作用時間の延長に伴い 5.5, 7.5, 9.0, 10.5 と延長する傾向を認めた。(2) CPR の above-MIC (1, 2 MIC) での抗菌効果; VCM 前作用 (+) と (−) では, (A), (B) とともに CPR 作用 6 時間後の殺菌作用 (−log<sub>10</sub> cfu/ml) は, 1 MIC-2.0~2.5, 2 MIC-2.8~3.2 と, 有意な差は認められなかった。

考察: VCM 前作用 (+) の PA-phase の菌は, VCM 前作用 (−) の菌に比べ, CPR の above-MIC での抗菌効果増強は示さなかったが, sub-MIC での抗菌効果は増強傾向を示した。また, この増強効果には, VCM の作用濃度よりむしろ作用時間が重要な factor となった。

## 082 VCM と CPR の MRSA に対する *in vitro* 併用効果

### —第2報: CPR-induced postantibiotic phase における VCM の抗菌効果—

長谷川裕美<sup>1)</sup>・乙黒一彦<sup>2)</sup>・清水喜八郎<sup>2)</sup>

菊池 賢<sup>3)</sup>・戸塚恭一<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>東京女子医科大学第二病院小児科

<sup>2)</sup>北里研究所

<sup>3)</sup>東京女子医科大学臨床中央検査部

目的: 第1報と同様の目的で, CPR 前作用にて PAE 期に誘導された MRSA に対する VCM の sub-MIC および above-MIC での抗菌効果について検討した。

材料: 使用薬剤; VCM, CPR。使用菌株; MRSA 臨床分離株 [MIC  $\mu\text{g/ml}$ : VCM 2, CPR 128]。

方法: CPR 作用後 filter 法にて薬剤を除去し, 直後に VCM を作用させ経時的に生菌数を測定し求めた PAE 期の菌に対する VCM の抗菌効果を, CPR 前作用 (−) の菌と比較検討した。また, CPR は, (A) 1/4, 1/2, 1, 2 MIC-2 h, (B) 1 MIC-1/4, 1/2, 1, 2 h と, その作用濃度または時間を変えて検討した。

結果: (1) VCM の sub-MIC (1/8 MIC) での抗菌効果 (postantibiotic sub-MIC effect); CPR 前作用 (+) は (−) に比べ増殖抑制作用, 殺菌作用ともに増強した。また, 前作用 (+) の菌が 1 log<sub>10</sub> cfu/ml 増殖する時間 (h) は, (A) CPR の作用濃度の増加とともに, 3.0, 4.1, 7.3, 7.9 と, (B) CPR の作用時間の延長とともに, 3.0, 3.7, 6.8, 7.3 と延長する傾向を認めた。(2) VCM の above-MIC (8 MIC) での抗菌効果; CPR 前作用 (+) は (−) に比べ, 優れた殺菌作用を示した。また, 6 時間後の殺菌 (−log<sub>10</sub>  $\mu\text{g/ml}$  cfu/ml) は, (A) 2.5, 3.2, 3.6, 4.2, (B) 2.1, 2.7, 3.0, 3.6 と, CPR の作用濃度の増加, 作用時間の延長とともに, 増強する傾向を認めた。

考案: MRSA に対する VCM の抗菌効果は, CPR 前作用 (−) の菌に比べ, CPR 前作用 (+) の PAE 期の菌で, sub-MIC および above-MIC とともに増強する傾向を認めた。また, この増強効果には, CPR の作用濃度, 作用時間ともに重要な factor となった。

## 083 MRSA に対する VCM と他剤との併用効果について

高橋公毅<sup>1)</sup>・渡辺正治<sup>1)</sup>・菅野治重<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>千葉大学医学部付属病院検査部

<sup>2)</sup>同 医学部臨床検査医学

VCM の殺菌効果の増強を目的として, 集塊化した MRSA に対する VCM と他剤との併用による殺菌効果を検討した。さらに, ラットを用い, VCM と ABK の併用による安全性を検討したので, その成績を報告する。

材料と方法:

1. 供試菌株; 臨床材料から分離した MRSA No. 1925 株と No. 2421 株を用いた。

2. 集塊菌の作成; 滅菌した直径  $1.8 \times 30$  mm の木綿縫糸を Mueller-Hinton broth 中に入れ、被検菌を接種、 $35^{\circ}\text{C}$ 、一夜培養後、菌液を含む木綿縫糸を取り出し、滅菌生食水で洗浄したものを集塊菌とした。

3. 殺菌効果に用いた抗菌剤の濃度; VCM, ABK, RFP, ST, FMOX は、それぞれ 16, 4, 2, 40, 60  $\mu\text{g/ml}$  とした。

4. 集塊菌に対する併用による殺菌効果; 集塊とした MRSA No. 1925 株と No. 2421 株に対する VCM と他の抗菌剤との殺菌曲線は、①二つの抗菌剤の同時作用、②一つの抗菌剤を一時間作用後、他の薬剤を添加作用させた場合について、経時的に殺菌効果を検討した。

#### 結果と考察:

1. 殺菌効果; いずれの組み合わせでも、二種の抗菌剤を同時に作用させた場合に、最も強い殺菌効果が認められ、抗菌剤作用開始前の  $10^8$  cfu/ml の菌量は、作用 9 時間後には、VCM+ABK は  $10^2$ , VCM+FMOX は  $10^3$ , VCM+ST は  $10^4$ , VCM+RFP は  $10^5$  cfu/ml に減少した。

2. ラットを用いた VCM と ABK の併用による腎毒性の検討では、VCM と ABK を 3 日間併用投与し、その後 7 日間 VCM を投与した場合、常用量の 10 倍量を投与した場合には強い腎障害を認め、併用は腎障害を増悪させる傾向が認められた。

VCM と ABK の併用は、VCM の初期治療効果を高める上で有用と思われるが、腎障害を増悪させる可能性があるため、併用は 3 日間程度の短期に止める必要があり、血清中濃度を監視するなどの対応も必要と思われる。

### 084 MRSA とグラム陰性菌の混合菌に対する VCM とセフェム薬の併用

上野由紀子・宗景 正

西村欣也・佐々木繁

塩野義製薬(株)創薬第一研究所

目的: 臨床の場合において、MRSA とグラム陰性菌の複合感染や菌交代が報告されている。このような複数菌感染の治療時の、vancomycin (VCM) とセフェム薬の併用の有効性を *in vitro* で検討した。

方法: 1) MRSA, *H. influenzae*, *K. pneumoniae* および *P. aeruginosa* の臨床分離株の中で、再頻 MIC 値を示す株を各々 2 または 3 株選び実験に用いた。2) 抗菌薬として VCM, latamoxef (LMOX), flomoxef (FMOX) および cefpirome (CPR) を使用した。3) FIC index は寒天平板希釈法によるチェッカーボード法で調べた。4) 殺菌作用は、MRSA とグラム陰性菌の混合菌に VCM およびセフェム薬 (LMOX, FMOX, CPR) を常用量投与時のヒト血中濃度にシミュレートさせながら作用

し、検討した。

結果: 1) FIC index: VCM とセフェム薬の併用時、いずれの組み合わせにおいても、MRSA およびグラム陰性菌に対して 1.0 以下の値を示し、拮抗作用は認められなかった。2) シミュレーション作用: MRSA とグラム陰性菌の混合菌に VCM とセフェム薬を単剤または併用で作用すると、MRSA に対しては VCM が、グラム陰性菌に対してはセフェム薬がそれぞれ殺菌作用を示し、2 剤併用時にのみ両菌が効果的に殺菌された。また併用時の、MRSA とグラム陰性菌の各々に対する殺菌力は、単剤作用時の殺菌力とほぼ同程度であり、併用による殺菌力の上昇または低下 (拮抗作用) は認められなかった。

考察: 以上の結果より、MRSA とグラム陰性菌の複数菌感染の治療時に VCM とセフェム薬の併用が有効であることが示唆された。

### 085 MRSA と緑膿菌の混合感染に対する VCM と CPR の併用

松田早人・井澤政明・菊山とり子

三和秀明・上野由紀子・宗景 正

西村欣也・佐々木繁

塩野義製薬(株)創薬第一研究所

目的: MRSA 感染は免疫不全患者で緑膿菌との混合感染として発症することが多く、さらに MRSA 感染の治療中の緑膿菌菌交代症がしばしば見られ、臨床で問題となっている。我々は両菌の混合に対する VCM と CPR との併用効果を *in vitro* および *in vivo* で検討した。

方法: *S. aureus* SR 3637 および *P. aeruginosa* SR 24 あるいは SR 10165 を用い、*in vitro* や混合感染モデルでは緑膿菌 SR 24 を、緑膿菌菌交代症モデルでは SR 10165 を使用した。*In vitro* の系では、寒天平板希釈法によるチェッカーボード法で VCM+CPR の FIC index や混合培養菌に対する殺菌作用を VCM (1 g $\times$ 2/日) および CPR (2 g $\times$ 2/日) 投与時の血中濃度にシミュレートして検討した。*In vivo* の系では、健常あるいは好中球減少症マウスを用いた腹腔内あるいは肺混合感染に対する併用効果、ならびに ABPC 投与と cyclophosphamide 処置を施し経口接種で腸管内に緑膿菌を定着させた後、MRSA を腹腔内に接種したマウスでの緑膿菌菌交代症発症に対する CPR 併用の有効性について検討した。

結果: FIC index の成績より MRSA および緑膿菌に対し両剤は相加的に作用した。濃度シミュレーションシステムにおける混合培養菌に両剤を単独あるいは併用で作用した場合、併用時のみ MRSA および緑膿菌が除菌された。一方、両菌の混合感染による腹腔内および肺感染に対する VCM+CPR 併用投与はそれぞれの単独投

与より明らかに優れた *in vivo* 活性を示した。さらに両剤の併用療法は、VCM 単独療法に比べ有意に緑膿菌菌交代症発症を抑制した。

考察: *In vitro* および *in vivo* の成績から、MRSA と緑膿菌との混合感染に対する VCM と CPR との併用は、有効な併用療法の一つであると考えられる。

## 086 ペニシリン耐性 *Streptococcus pneumoniae* によるマウス呼吸器感染症モデル

高島勝典<sup>1)</sup>・館田一博<sup>1)</sup>・松本哲哉<sup>1)</sup>  
伊藤隆康<sup>2)</sup>・安藤孝夫<sup>2)</sup>・飯沢祐史<sup>3)</sup>  
中尾雅文<sup>3)</sup>・山口恵三<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東邦大学医学部微生物学教室

<sup>2)</sup>武田薬品薬剤安全性研究所

<sup>3)</sup>同 創薬第三研究所

目的: 近年、ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* の分離頻度が世界各地で増加し、臨床的に問題となっている。私共は本菌による呼吸器感染症に着目して感染モデルを作製し、その病態を解析するとともに、薬効評価系としての有用性を検討した。

方法: *S. pneumoniae* TUM 19 を CBA/J マウスに点鼻接種することにより肺炎を惹起し、感染後の各種臓器中菌数推移を調べるとともに肺病変の病理組織学的検討を行った。また、本感染系に対する cefozopran の治療効果も調べた。

結果および考察: CBA/J マウスに約  $10^6$  CFU/マウスの *S. pneumoniae* TUM 19 を点鼻接種することにより菌接種 3 週間以内にほぼ全例のマウスが死亡する亜急性の致死感染症が成立した。肺内生菌数は菌接種 3 日から 5 日にかけて  $10^7$  CFU/肺に急増し、5 日以降は顕著なマウス体重減少も伴った。また、菌接種 7 日以降の肺内生菌数が  $10^8$  CFU/肺に達したマウスでのみ血中および他臓器から菌が回収された。即ち、感染菌は肺に局限し、マウスは菌血症を伴わずに顕著な体重減少に代表される悪液質が関与する症状を呈して死亡した。肺病理組織像は菌接種 1 日から 3 日にかけて気管支周囲に局限した炎症性細胞の浸潤、肺胞上皮の肥大、壊死および出血を示し、同様の病変は 5 日以降急激に広がった。本感染系において cefozopran を菌接種 1, 3 または 5 日後から投与すると、いずれの場合も用量依存的な治療効果を示したが、その治療効果は投与開始時の病変の程度に影響された。以上のことから、本感染モデルはペニシリン耐性 *S. pneumoniae* 呼吸器感染症における病態の進展に伴う抗菌化学療法の検討に有用と思われる。

## 087 ペニシリン耐性 *Streptococcus pneumoniae* に Penicillin G は無効か

## —マウス呼吸器感染症モデルでの検討—

宮崎裕康・高島勝典・豊澤逸生  
松本哲哉・館田一博・宮崎修一  
山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

近年ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (PRSP) の臨床効果に対する PCG の有効性が問題となっている。しかし他剤及び他菌種の耐性と比べ PCG の MIC が小さいことから、高い薬剤濃度を維持できる部位の感染症に対しては無効とは言い切れない。今回は第一報として、マウスによる PRSP 肺炎に対して、PCG を大量投与することにより、治療可能か否かを知る目的で、肺内生菌数を指標とした治療効果の検討を行った。

*S. pneumoniae* (SP) 肺炎モデルは、臨床分離株を馬血清添加 Todd Hewitt Broth 培地で培養し、濁度による菌量調整後、5 週齢の雄 CBA/J マウスにケタミンとキシラジンによる麻酔下で、菌液を経鼻的にマウスあたり 80  $\mu$ l 接種することにより作製した。治療は感染 36 時間後より 1.5 時間間隔で 12 時間行った。投与間隔はヒトで低感受性 SP 感染症に対し有効であったと報告されている 4 時間間隔を基準として、Time above MICs を基に 1.5 時間間隔とした。

その結果、ペニシリン感性 SP 肺炎モデルに対して、低投与量で優れた治療効果を示した。一方、耐性 SP による肺炎モデルに対しては、同量の低投与量で効果は認められなかったが、投与量を増加した群では、用量依存的に肺内生菌数の有意な減少が認められた。今回の検討から、PCG はマウスによる PRSP 肺炎に対して、感性 SP 肺炎モデルと比べ治療効果の低下は認められるが、頻回大量投与することで向上する可能性が示唆された。

## 089 市中診療所での PC 低感受性肺炎球菌性急性中耳炎の治療経験

杉田麟也<sup>1)</sup>・出口浩一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>杉田耳鼻咽喉科 (千葉市)、順大耳鼻科

<sup>2)</sup>東京総合臨床検査センター研究部

目的: PC 低感受性肺炎球菌 (PCG insensitive *S. pneumoniae*: PISP) の臨床的意義が問題となっている。このたびは杉田耳鼻咽喉科での PISP 中耳炎の治療経験を報告した。

症例 1. S. T., 1993 年 3 月 25 日生、体重 10 kg, (カルテ 5913)。病歴: 1994 年 4 月 30 日、発熱、耳痛を主訴に受診。鼓膜発赤、腫脹が著しく鼓膜切開術を施行。中耳炎分泌物、上咽頭ぬぐい液ともに PISP (Biotype II)。ABPC 0.1  $\mu$ g/ml, CDTR 0.1, CPDX 0.39  $\mu$ g/ml。AMPC 40 mg/kg/day を投与し 7 日間で耳漏は停止した。鼓膜充血が除去できないので CPDX-PR 12

mg/kg/day に変更。3 日後 38°C 発熱、左血性耳漏を認め発赤・腫脹が強いため再度切開。検出菌は中耳、上咽頭とも PISP (Biotype II)。AMPC 50 mg/kg/day の内服で耳漏は停止。しかし上咽頭の PISP は存続。

症例 2. A. S., 1992 年 10 月 22 日生, 12 kg (カルテ 6085) 病歴: 膿性鼻汁, 咳がつづき小児科にてセフペンと EM を併用投与されていたが改善せず 3 日後に 38.5°C, 左耳漏, 発赤・腫脹のため鼓膜切開。検出菌は PISP (Biotype II) ABPC 0.1 µg/ml, CDTR 0.1, CPDX 0.39. AMPC 40 mg/kg/day 10 日間内服。中止 2 日後, 中耳炎再発。中耳, 上咽頭ともに PISP (Biotype II)。SBTPC 20 mg/kg/day 内服 3 日目に再び鼓膜腫脹。

症例 3. M. S., 1990 年 11 月 17 日生。14.5 kg (カルテ) 病歴: 4/30 PISP (Biotype I), ABPC 0.05 µg/ml, PCG 0.1, CPDX 0.2, CDTR 0.05 µg/ml. AMPC, CPDX の投与で PISP 消失。10/13 PISP (Biotype I), CDTR 9 mg/kg/day 投与中, 両側中耳炎再発。CDTR 18 mg/kg/day にて耳漏停止。中止数日後右中耳炎再発。中耳, 上咽頭ともに PISP (Biotype I)。

結果: AMPC の増量投与が症状の改善をはかる上では一番有効。しかし上咽頭の PISP を除菌しにくく, 中耳炎を繰返しやすい。

## 095 細菌性膣症に対する Ecological treatment

千村哲朗

山形大学医学部産婦人科

目的: 細菌性膣症 Bacterial vaginosis のリスクは, 下部性器細菌叢の上行感染にあるが, 非妊時では子宮内感染・骨盤内感染, 妊娠時では絨毛羊膜炎及び流産・preterm PROM, 産褥時の子宮内感染・骨盤内感染の発生との関係が指摘されている。細菌性膣症に対する ecological treatment として Lactobacillus (yoghurt) 療法は, Fredricsson (1987), Neri (1993) により報告されているが, 細菌学的効果は不明である。細菌性膣症に対する Yoghurt 療法の膣内細菌叢への影響について検討した。

方法: 細菌性膣症と診断した 9 例を対象 (Trichomonas, Candida は除外, 年齢 20~60 歳) とし, 初期投与としての commercially yoghurt (pH 4.3±0.2) を約 5 ml 1 回のみ膣内に注入し, ガーゼタンポンは約 5 時間後に除去した。投与 3 日後の膣内性状及び細菌学的効果を検討した。

成績: Lactobacillus (yoghurt) 投与後の膣内性状では, 帯下量・膣壁発赤・膣内 pH など有意な改善が認められ, pH は 6.72±0.91 から 5.73±0.56 (p<0.05) と低下した。膣内細菌叢の変動では, グラム陽性菌の残存率は高かったが, グラム陰性菌では全株消失した。S.

agalactiae の残存率が高かった。

結論: 細菌性膣症に対する Lactobacillus (yoghurt) 療法は, 膣内細菌叢の正常化と pH 値の低下の面から非妊時及び妊娠中の膣内環境の正常化としての意義が示唆される。

## 099 外科病巣由来緑膿菌の血清型別 1990 年～1994 年間の動向について

中山一誠<sup>1)</sup>・山地恵美子<sup>1)</sup>・平田浩子<sup>1)</sup>

川口 広<sup>2)</sup>・秋枝洋三<sup>3)</sup>・渡辺哲弥<sup>4)</sup>

糸川冠治<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> 日本大学医学部第三外科

<sup>2)</sup> 日本大学医学部健診センター細菌研究室

<sup>3)</sup> 秋枝病院外科

<sup>4)</sup> 高島平中央病院外科

<sup>5)</sup> 横浜いずみ台病院外科

1990 年～1994 年に分離した病巣由来緑膿菌 116 株について検討した。緑膿菌の血清型別は, 緑膿菌群別用モノクローナル抗体メイズセ (明治製菓) Kit 及び緑膿菌型別用免疫血清 (デンカ生研) の 2 つの kit を使用した。

緑膿菌 116 株の由来は, 尿 51 株 (44.0%), 喀痰 31 株 (26.7%), 膿汁 15 株 (12.9%), 分泌物 7 株 (6.0%), 胆汁 5 株 (4.4%), 及びその他 7 株 (6.0%) である。その他 7 株の内訳は糞便 3 株, 腹水 2 株, IVH 1 株及び咽頭由来 1 株である。免疫血清による血清型別は, A 型 17 株 (14.7%), G 型 15 株 (12.9%), E 型 14 株 (12.1%), I 型 14 株 (12.1%), F 型 5 株 (4.3%), D 型, H 型各 3 株 (2.6%), B 型, C 型各 2 株 (1.7%), K 型, L 型各 1 株, 及び型別不能 39 株 (33.6%) である。

免疫血清法とモノクローナル抗体法では同様の成績を示した。

1990 年～1994 年に分離された緑膿菌の特徴は尿, 喀痰由来株の増加である。血清型別に関しては, 型別不能株の I 型の増加であり, 一方, B 型は減少傾向にある。

## 100 Pseudomonas aeruginosa の lipopolysaccharide (LPS), A-band および B-band 構成と外膜性状および薬剤感受性

—抗緑膿菌薬の影響—

小林寅詔<sup>1)</sup>・長谷川美幸<sup>1)</sup>

松本 威<sup>1)</sup>・西田 実<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 三菱化学ビーシーエル・化学療法研究室

<sup>2)</sup> 東邦大学医療短期大学

目的: *P. aeruginosa* の LPS は外膜の機能に重要な役割をもち, virulence factor として病原性にも関与する。

さきに J. S. Lam らは *P. aeruginosa* の O-抗原性は、LPS の B-band (長鎖, 高分子量) により決定され、A-band (短鎖, 低分子量) は血清型が non-typable な菌株の主要 LPS 抗原であることを示唆した。我々は最近入手した *P. aeruginosa* の LPS 構成の異なる 4 菌株について外膜性状および薬剤感受性を比較し、それらに対する抗緑膿菌薬の影響を検討した。

実験方法: 最近, カナダ Guelph 大学より入手した LPS 構成の相違する次の 4 株, PAO 1 (A-band-LPS, B-band-LPS あり), AK 1401 (A-band-LPS のみ), dps 89 (B-band-LPS のみ) および rd 7513 (両 band-LPS とともになし) を用いた。薬剤の処理および OMP の検出は既報の通り, LPS の検出は P. J. Hitchcock らの方法に従った。

結果: rd 7513 は  $\beta$ -ラクタム系抗緑膿菌薬 4 種, NFLX PL-B および GM を含むアミノ配糖体薬 5 種のすべてに感性であった。その他の LPS 構成の *P. aeruginosa* 3 菌株は SM, ASTM に対する感受性は著しく低いが、他の各薬剤に対しては rd 7513 と同様の感受性を示した。B-band-LPS のみの dps 89 株を抗緑膿菌薬で処理すると、コロニー形態の変化した variant を生成した。この variant の薬剤感受性は両タイプの LPS を欠いた rd 7513 と同様に SM, ASTM にも感性となった。*P. aeruginosa* の LPS の A-band および B-band の構成は多価カチオン抗菌薬, AGs に対する感受性に大きな影響を与えることを認めた。

#### 104 再発性・治療抵抗性非ホジキンリンパ腫に対する ACE 療法 (cytosine arabinoside, carboplatin, etoposide) の検討

新津 望・梅田正法

東邦大学第一内科

目的: 治療抵抗性あるいは再発性の非ホジキンリンパ腫 (NHL) に対し, ACE 療法と granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) を併用し, 治療成績, 副作用を検討した。

対象および方法: 対象は NHL 28 例で, 男性 16 例, 女性 12 例, 年齢中央値 52 歳。方法は cytosine arabinoside 100 mg/m<sup>2</sup> 第 1 日目から 7 日目, carboplatin 250 mg/m<sup>2</sup> 第 1 日目, etoposide 70 mg/m<sup>2</sup> 第 1 日目から 3 日目まで点滴静注とし, 第 9 日目より G-CSF 2  $\mu$ g/kg を皮下投与した。

結果: 治療効果は, 全症例 28 例中完全寛解 (CR) 11 例 (39.3%), PR 10 例 (35.7%) で奏率は 75% であった。病理組織型別では, D. large 14 例中 5 例に CR, D. medium 8 例中 3 例 CR, D. mixed 6 例中 3 例が CR であった。また, T 細胞性 17 例中 5 例, B 細胞性 11 例中 6 例に CR を得た。初回治療にて CR となり再発した

症例 14 例のうち, 9 例が CR, 5 例が PR となったが, 治療抵抗例では 14 例中 2 例のみが CR, 5 例が PR となった。本療法開始後 3 年生存率は 51.5% で, CR 例は 87.5% であった。PR+non-response (NR) 例の 50% 生存期間は 153 日であった。CR 症例と PR+NR 症例で一般化 Wilcoxon test にて危険率 5% 以下で有意に CR 例の方が 50% 生存期間の延長を見た。また, 50% 無再発生存期間は, 20.8 カ月であった。副作用は, WHO の分類に従い grade 2 以上の白血球減少 28 例中 14 例 (50%), 血小板減少 18 例 (64.3%), 貧血 16 例 (57.1%) を認めた。また, 吐気・嘔吐, 口内炎, 肝機能障害, 腎機能障害などを認めたが投与終了後速やかに軽快した。

結論: ACE 療法は, 再発性 NHL において有効な治療法と思われたが, 治療抵抗例に対しては今後検討の余地があると考えられた。

#### 105 サイトカインによる 5-fluorouracil の Biomodulation の検討

大澤 浩・相羽恵介・稲本幸雄

柴田はるみ・箕輪さゆり・柴田次郎

三原大佳・高橋俊二・祖父江良

伊藤良則・堀越 昇

癌研・癌化学療法センター臨床部

目的: 5-fluorouracil (5-FU) 獲得耐性株及び自然耐性株を含むヒト大腸癌細胞株パネルにおいて, 各種サイトカインの 5-FU に対する Biomodulation (BM) 効果及びその効果増強機序を検討した。

方法: ヒト大腸癌株は 5-FU 獲得耐性 C1 株 (C1/FU) を含む 4 株。modulator (M) は thymidine (TdR) 10  $\mu$ M, uridine (Urd) 10  $\mu$ M, d,l-leucovorin (LV) 10  $\mu$ M, interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) IC 10 値: 10 U/ml, IFN- $\gamma$  IC 20 値: 10 U/ml, IL-1 IC 10 値: 30  $\mu$ M, IL-2: 100 JR U/ml であり, 抗腫瘍効果は MTT assay を用い, 96 時間同時接触にて判定した。

結果: 各 IC 50 値 ( $\mu$ M): (5-FU 単独/+TdR/+Urd/+LV/+IFN- $\alpha$ /+IFN- $\gamma$ /+IL-1/+IL-2) は, C1 株 (0.46/-/-/-/0.03/-/-/0.17), C1/FU 株 (2.90/1.51/3.78/1.00/0.11/0.06/0.30/0.30), H 508 株 (0.21/0.78/0.12/0.11/0.07/0.40/0.33/0.80), H 716 株 (20/264/9.8/46/200/140/21/-) であった。

(M) としてサイトカインでは IFN, IL-1, IL-2 等が有用と期待された。IL-2 は C1 及び C1/FU において 5-FU の抗腫瘍効果を増強し, 特に C1/FU において効果増強がより認められた。その効果増強機序として thymidylate synthase (TS) 阻害率は上昇し, TS catalytic activity は抑制されたことから考えると標的酵素 (thymidylate synthase: TS) レベルの modulation が示唆された。IFN では, thymidine kinase 活性抑制によ

るサルベージ系の抑制と IL-2 と同様 TS レベルの modulation が効果増強機序と示唆された。

## 106 大腸癌肝転移症例に対する LV/5 FU 肝動脈動注療法

柚本俊一・小西敏郎

篠原一彦・幕内雅敏

東京大学医学部第二外科

LV/5 FU 療法は FdUMP, Leucovorin の誘導体である 5, 10-methyleneFH 4 および thymidylate synthase が強固な共有結合を形成することにより 5 FU の DNA 合成阻害を増強させる biochemical modulation 療法である。我々は、大腸癌異時性多発肝転移 5 例、残肝再発 2 例、同時性多発肝転移 4 例の合計 11 症例に対し少量 5 日間連続投与法による LV/5 FU 肝動脈動注療法を行ってきた。その結果は CR 1 例および PR 3 例で奏効率は 36.4%, 平均奏効期間は 8.25 カ月であった。副作用としては口内炎、下痢が最も多く 8 例 (72.7%) に認められた。それ以外には脱毛、白血球減少 (Gr.IV) が 2 例 (18.2%), 皮膚炎が 1 例 (9.1%) に認められた。これらのうち Gr.IV の白血球減少に対しては入院加療が必要であったが、5 FU の投与量を 30% 減量することにより治療継続が可能であった。その他の副作用は軽度で、全例が外来での通院加療が可能であった。また奏効例では奏効期間中は癌による症状は無く、全身状態も良好で通常の社会生活が可能であり、QOL の点からも効果的であると思われた。

LV/5 FU 肝動脈動注療法は従来の動注療法と比べると効果が期待できる優れた治療法と考えられた。また副作用も比較的軽度であり、外来での治療継続が可能な QOL の面からも評価できる治療法であると考えられた。

## 107 膀胱腫瘍の再発防止のための注入療法剤の効果の比較

原島康壽・増田愛一郎・岡田敬司

木下英親・河村信夫

東海大医学部泌尿器科教室

ウサギを用いて制癌剤を膀胱内注入した場合の血中への移行量を測定し、各制癌剤の安全性を確立した上で実際の臨床にて患者に膀胱内注入療法を施行し、その効果についての現在までの治療成績をまとめた。

ウサギを用いた実験では MMC (Mitomycin C) THP (Terarubicin), Epirubicin について調べたが、通常ほとんど血中移行は認められず認めても微量にすぎなかった。ただしエーテルによる膀胱炎の存在下においては血中移行量は明らかに増加した。

実際の臨床効果の比較では、THP > MMC > Carboqu-

one, 5-FU, Cytosinarabioside の併用という結果となった。

Epirubicin の臨床効果については現在調査中である。

## 108 ヒト多剤耐性白血病細胞株に対する新規抗癌剤 Taxotere (RP 56976) の抗腫瘍効果

村田慶一・金丸龍之介

東北大学加齢医学研究所癌化学療法部門

新規抗癌剤 Taxotere の *in vitro* に於けるヒト腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果、及びその作用機序について検討し以下の結果を得た。① K 562 細胞と多剤耐性遺伝子 MDR 1 を高度に発現している K 562/ADM 及び K 562/VCR に対する抗腫瘍効果を MTT-assay により評価した。IC<sub>50</sub> 値は K 562, K 562/ADM, K 562/VCR に対してそれぞれ 4.2 nM, 177.5 nM, 23.5 nM であり交差耐性を認めたが Taxol に比べ低い値であった。② Taxotere 10<sup>-8</sup> M ~ 10<sup>-7</sup> M に於いて DNA, RNA, 蛋白質合成阻害作用を示さなかった。③ Topoisomerase I 及び II 共に Taxotere による阻害作用を受けなかった。④ 細胞周期に対する作用を検討した結果 FCM から得られたヒストグラム上 G<sub>2</sub>M 期へ蓄積を示し又 Wright-Giemsa 染色にて metaphase cell の著増が認められた。⑤ 微小管蛋白の重合能に対する作用を 350 nM に於ける濁度測定により検討した結果、Taxotere は GTP 非存在下の条件において微小管重合促進作用を示した。以上の結果より Taxotere は癌化学療法における新しい mitotic inhibitor として期待される。

## 109 投与スケジュールによる 5-FU の抗腫瘍効果

—腫瘍組織内 TS 阻害率の検討—

花谷勇治・小平 進・浅越辰男

三吉 博・蓮見直彦・長岡信彦

帝京大学第一外科

目的: 我々は第 42 回本学会総会において、5-FU の大量間歇投与が少量連日投与よりも優れた抗腫瘍効果を示すと報告した。今回はその作用機序を知る目的で、腫瘍内 thymidylate synthetase (TS) 活性を測定したので報告する。

対象と方法: 腫瘍は名古屋大学第一外科で樹立された胃の低分化型腺癌株 (SC-1-NU) を用いた。5-FU 10 ないし 40 mg/kg を 1 回腹腔内投与後、0.5, 1, 2, 4 日後に腫瘍を摘出した。また、10 mg/kg を連日ないし 40 mg/kg を 4 日に腹腔内投与し、8, 16 日目に腫瘍を摘出した。腫瘍内 TS 活性の測定は Spears らの方法に準じて行った。

成績: ① 対照群 (n=5) の total TS 活性は 51.9 ± 5.41



pmol/g, TS 阻害率は  $4.34 \pm 3.59\%$  であった。②単回投与後の total TS 活性は 1~2 日後にはむしろ高値 (10 mg/kg; 65.7 pmol/g, 40 mg/kg; 76.8 pmol/g) を示したが, 4 日後には投与前に復した。③連続投与後の total TS 活性 (8, 16 日目) は 10 mg/kg では 50.9, 38.0 pmol/g, 40 mg/kg では 45.5, 34.8 pmol/g と漸減した。④単回投与後の TS 阻害率 (0.5, 1, 2, 4 日後) は 10 mg/kg では 38.5, 30.6, 17.8, 0.95%, 40 mg/kg では 55.6, 49.8, 37.1, 40.1% であった。⑤連続投与後の TS 阻害率 (8, 16 日目) は 10 mg/kg では 35.8, 52.4%, 40 mg/kg では 47.4, 62.9% と漸増した。

考察: 40 mg/kg 投与では TS 阻害率が高いだけでなく, 阻害が長期間 (少なくとも 4 日間) 持続しており, 5-FU 大量間歇投与の有用性が示唆された。

#### 118 種々の臨床分離株における, 各種抗菌薬に対する感受性分布調査

佐々木 繁・長野 馨・木村 美司

地主 豊・東山伊佐夫・永田 弘

魚谷 幸一

塩野義製薬 (株) 創薬第一研究所

目的: 新規抗菌薬の開発または既発売抗菌薬についての最新の評価に必要な, 新鮮分離株に対する各種抗菌薬の感受性分布についての調査等を行った。

方法: 主に 1992 年に, 全国で分離された種々の菌株, 16 株種 1,386 株に対する各種抗菌薬 42 種類の MIC を寒天平板希釈法で測定し抗菌力の比較等の検討を行った。

結果: 1. *S. aureus* の中でメチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) の割合は 58.1% に達し, これら MRSA に対し vancomycin, arbekacin は強い抗菌力 ( $MIC_{90}$ ; 0.78, 1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) を示した。*S. pneumoniae* に対しては  $\beta$ -ラクタム薬は全般的に抗菌力は強く, 中でも cefazolin, cefepime およびカルバペネム薬の  $MIC_{90}$  は 0.39  $\mu\text{g/ml}$  以下であった。ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* は 37.0% 認められた。*E. coli* および *K. pneumoniae* に対しセフェム薬, カルバペネム薬, キノロン薬は全般的に強い抗菌力を示した。*H. influenzae* に対しては大半のセフェム薬, カルバペネム薬, キノロン薬は抗菌力が強く特に ciprofloxacin は  $MIC_{90}$  が 0.013  $\mu\text{g/ml}$  と最も強かった。また ampicillin 耐性株は 10% 認められた。*P. aeruginosa* に対しカルバペネム薬が最も強い抗菌力 ( $MIC_{90} \leq 6.25 \mu\text{g/ml}$ ) を示した。また ceftazidime 耐性株, imipenem 耐性株は, それぞれ 29.1%, 8.7% 認められ, キノロン耐性株も 16.5~33.0% みられた。

2. MRSA を寒天平板希釈法による MIC 値から判定する場合の使用薬剤は oxacillin, flomoxef が適当と判断された。

#### 121 各種抗菌物質の存在下に 1 夜培養した *Pseudomonas aeruginosa* の感受性変化

増田剛太<sup>1)</sup>・山口 剛<sup>1)</sup>

古谷利道<sup>2)</sup>・外山圭助<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>都立駒込病院感染症科

<sup>2)</sup>東京医大第一内科

目的: 試験管内で抗菌物質の存在下に菌を培養すると, その薬剤に対する耐性娘菌株が得られる。今回, 我々は多くの *P. aeruginosa* 菌株について, 各種抗菌物質の存在下に生じる娘株の薬剤耐性化状況を検討した。

実験材料・方法: 菌株は駒込病院臨床検査科で分離した *P. aeruginosa* のうち, PIPC, CAZ, AZT, IPM, AMK, OFLX, TFLX に比較的感受性が高い 27 株を選んだ。これら菌株 (親株) を抗菌物質を含有した液体培地中に 1 夜培養後, MIC に近い濃度中に生存していた娘菌株を選び, その MIC を測定し, 各菌株の MIC と比較した。

成績・考察: *P. aeruginosa* 娘株の MIC 値は親株と同一なものから 64 倍の上昇を示すものまで多様であった。耐性化の指標とした娘株の MIC/親株の MIC 比で比較すると CAZ, IPM, AMK, OFLX, TFLX でより高い耐性発現化傾向が示された。これら薬剤のうち, CAZ で選択された耐性娘株は PIPC に交差耐性を示したが, IPM, AMK, OFLX には耐性化を示さなかった。これに対し, OFLX で選択された娘株の耐性は CAZ, IPM, AMK にも耐性化する傾向があったが, PIPC には耐性化しなかった。

#### 122 呼吸器感染症分離菌に対する各種抗菌剤の抗菌力

池本秀雄

RTI 分離菌感受性調査研究会共同研究世話人

順天堂大学医学部

RTI 患者の主に喀痰から分離され, 起炎性が疑われた細菌の種類, 頻度, 患者背景別のパターンならびに抗菌剤の MIC を 1981 年より調査してきた。1993 年度の総分離菌株は 584 株 (473 症例) で, MIC 測定 (MIC 2000 システム) は 580 株であった。

今回は 93 年度の成績を含め, 年齢別感染症分類, ペニシリン, EM 耐性肺炎球菌の経年推移等について検討した。

(1) 1983~1993 年 11 年間集計 (5,487 症例) の各年齢別の各種呼吸器感染症分類

・60~69 歳が 1,620 例 (29.5%) と最も多く, 次いで 70~79 歳は 1,224 例 (22.3%) で, 60 歳以上の高齢者は 3,207 例 (58.4%) と過半数を占めた。

・各年齢別の肺炎の頻度は、19歳以下58.6%，70～79歳27.3%，80歳以上35.3%と若年者及び70歳以上の高齢者で多かった。

(2) 抗菌剤投与前に検出された分離菌頻度の年次推移(1983～1993年度)

・肺炎、慢性気管支炎では、肺炎球菌、インフルエンザ菌が多く毎年20～30%の分離頻度で1位、2位を占めた。

・気管支拡張症では83～88年度まではインフルエンザ菌が30～60%と圧倒的に多かったが、その後減少傾向で逆に緑膿菌が89年度21.1%とトップとなり、その後も増加し93年度は38.3%と第1位であった。

(3) MRSAの分離頻度及びMIC<sub>90</sub>の経年推移

・黄色ブドウ球菌のうちMRSAの分離頻度は、86年度14.7%でその後年々増加し、92年度は61.4%に達したが93年度は56.0%とやや減少した。

・MRSAに対する抗菌剤の感受性をみると、殆どに耐性を示したが、VCMとABKは良好でMIC<sub>90</sub>は1μg/mlであった。

(4) ペニシリン、EM耐性肺炎球菌の年次推移

・ペニシリン耐性肺炎球菌の頻度は、84～90年度ではR (Resistant: MIC<sub>90</sub>≥1.56又は2μg/ml) 株は0～2%の頻度であったが、91～93年度はそれぞれ4.5%，5.0%，4.1%と増加した。肺炎、慢性気管支炎、気管支拡張症でみると各疾患ともR株の増加がみられたが、特に肺炎の89～93年度累計ではR株4.1%と最も多かった。

・EM耐性肺炎球菌のR (MIC<sub>90</sub>≥3.13又は4μg/ml) 株の分離頻度は87年度(22.2%)より毎年増加し91～93年度はそれぞれ31.0%，43.8%，51.0%と93年度は過半数を占めた。

(5) 緑膿菌臨床分離株の薬剤感受性

・CAZ, OFLX, IPMの89年度と93年度における緑膿菌に対する感受性はほとんど変化はなく良好であったが、IPMの93年度のMIC<sub>50</sub> 1μg/ml, MIC<sub>90</sub>は4μg/mlと3剤のなかでは最も良い感受性を示した。

(6) インフルエンザ菌臨床分離菌株に対するABPC, CTXの感受性(1989, 1991, 1993年度比較)推移

・ABPC耐性インフルエンザ菌のR (MIC<sub>90</sub>≥4μg/ml) 株の検出頻度は89年度, 91年度, 93年度それぞれ18.9%, 9.9%, 9.0%とR株は減少傾向にある。

・CTX耐性インフルエンザ菌 (MIC<sub>90</sub>≥4μg/ml) の菌株は各年度とも検出されておらず感受性は良好であった。

## 123 臨床分離ニューキノロン耐性インフルエンザ菌に関する検討 第1報

出口浩一・横田のぞみ・古田昌美

鈴木由美子・深山成美・石原理加

小田清次

東京総合臨床検査センター研究部

1993年後半からニューキノロン耐性インフルエンザ菌が検出されていることから、その割合を検討した。

### I. 検討方法

#### 1. 供試臨床分離株

1994年1月～6月に、当所で検出または集積した*H. influenzae* 300株。由来は喀痰由来150株、咽頭粘液由来(大部分が小児)50株、中耳分泌物由来(大部分が小児)50株、中鼻道内容由来50株である。

#### 2. β-ラクタマーゼとMIC測定

供試株のβ-ラクタマーゼ産生性をAcidimetry disc method, 及びChromogenic disc methodでチェックすると共に、ニューキノロン系のNFLX, OFLX, CFPX, TFLX, SPFXとABPC, CVA/AMPC, CFTM, CPDX, CDTR, CDZM, CPR, 合計12薬剤のMICを本学会標準法に従い、10<sup>6</sup> cfu/ml接種の寒天平板希釈法にて測定した。

#### 3. ニューキノロン耐性株の選定

上記ニューキノロン系5薬剤のいずれか、または複数、更にすべてにMIC値≥0.39μg/mlを示す株をニューキノロン耐性株とした。

### II. 結果

β-ラクタマーゼ産生株は47株(15.7%)、ニューキノロン耐性株は26株(8.7%)であった。ニューキノロン耐性で、β-ラクタマーゼを産生していた株は4株(15.4%)、残りの22株(84.6%)はβ-ラクタマーゼ非産生株であった。ニューキノロン耐性株の由来別の内訳は、喀痰由来(大部分が慢性下気道感染症)23株、咽頭粘液由来(成人)1株、中鼻道内容由来(成人)2株である。そして、ニューキノロン耐性株は既存のニューキノロンに共通な耐性パターンを示す結果であった。なお、ニューキノロン耐性株には、MICを測定したセフェム系薬剤が強い抗菌活性を示した。

### III. 考察

ニューキノロン耐性インフルエンザ菌は、現状においては慢性下気道感染症由来株に割合が高いことが示唆されたが、他の由来株にも存在することから、ニューキノロン耐性インフルエンザ菌が増加することが危惧される。耐性機構の検討は現在検討中である。

## 124 中耳炎、外耳炎由来臨床分離株に対するofloxacinの抗菌活性 第1報

横田のぞみ・出口浩一・古田昌美

鈴木由美子・深山成美・石原理加

小田清次

東京総合臨床検査センター研究部

1993年に検出した中耳炎、外耳炎由来臨床分離株に対する ofloxacin (OFLX) の抗菌活性を測定し、現状における耳科用 OFLX の有用性を検討した。

### I. 検討方法

#### 1. 供試臨床分離株

1993年1月～12月に、当所において検出した以下の中耳炎および外耳炎由来臨床分離株を無作為に集積して供試した。*Staphylococcus* spp. (*S. aureus* および CNS) 125株, *Streptococcus* spp. (6菌種) 100株, *Enterococcus* spp. (3菌種) 30株, *Corynebacterium* sp. 20株, *Enterobacteriaceae* (14菌種) 90株, (G) NF-GNR (8菌種) 180株, *H. influenzae* 25株, 合計 560株。

#### 2. 抗菌活性

560株に対する OFLX の抗菌活性は、LFLX, CMX, FOM, FRM を対照薬剤とし、本学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定標準法に従い、 $10^6$  cfu/ml 接種 (一部の株は  $10^8$  cfu/ml 接種も併用) の寒天平板希釈法にて Minimum inhibitory concentration (MIC) を測定した。

### II. 結果

耳科用液の局所投与の対象となり得る慢性中耳炎急性増悪、びまん性外耳道炎における「三大起炎菌」としての *S. aureus*, *proteus* group, *P. aeruginosa* の  $10^6$  cfu/ml 接種時の MIC 値  $>100$   $\mu$ g/ml を示す高度耐性株の割合は MSSA には無く、MRSA においては OFLX 14.3%, LFLX 28.6%, CMX 33.3%, FOM 42.9%, *Proteus* group では OFLX, CMX には無く、LFLX 2.0%, FOM 28.0% そして *P. aeruginosa* では OFLX 3.2%, LFLX と CMX に各々 8.4%, FOM 6.3% であり、「三大起炎菌」の OFLX 高度耐性株の割合が最も低かった。そして、上記の菌種を含む多菌種には FRM 高度耐性株が高い割合に認められた。なお、「三大起炎菌」以外の菌種においても OFLX 高度耐性株の割合は低く、全供試 560株に対する試験薬剤の MIC<sub>90</sub> は OFLX 12.5  $\mu$ g/ml, LFLX 50  $\mu$ g/ml, CMX  $>100$   $\mu$ g/ml, FOM  $>100$   $\mu$ g/ml, FRM  $>100$   $\mu$ g/ml であり、この結果からは OFLX のバランスのとれた抗菌活性が示唆された。

### III. 考察

中耳炎由来、外耳炎由来臨床分離株に対する OFLX の抗菌活性はバランスのとれた結果を示すことから、1990年代中期を迎えた今日においても、耳科用 OFLX は臨床的な有用性が期待できる。

### 125 最近の2年間に複雑性尿路感染症から分離した *P. aeruginosa* に対する10種類の抗菌剤の感受性

鈴木恵三<sup>1)</sup>・堀場優樹<sup>1)</sup>・石川清仁<sup>1)</sup>

四元砂金<sup>2)</sup>・花田睦男<sup>2)</sup>・名出頼男<sup>3)</sup>

柳岡正範<sup>3)</sup>・安藤慎一<sup>3)</sup>・加藤 忍<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>平塚市民病院泌尿器科, <sup>2)</sup>同 検査科

<sup>3)</sup>藤田保健衛生大泌尿器科

目的: 1992年と1993年の2年間に、平塚市民病院泌尿器科で複雑性尿路感染症から分離した77株の *P. aeruginosa* に対する10種類の抗菌剤の MIC を測定した。

方法: 被検薬剤は CAZ, CPR, CFCL, AZT, IPM/CS, BIPM, NTL, GM, OFLX, CPFEX の10剤である。測定方法は日本化学療法学会標準法によった。

成績:  $\beta$ -ラクタム剤6剤の MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> ( $\mu$ g/ml) は以下の通りであった。CAZ, 3.13/100, CPR 12.5/100, CFCL 1.56/25, AZT 6.25/50, IPM/CS 6.25/25, BIPM 1.56/6.25 であった。アミノグリコシド系2剤はそれぞれ GM 6.25/50, NTL 12.5/100 であった。ニューキノロン2剤では、OFLX 25/100, CPFEX 6.25/100 であった。

まとめ: 今回検討した抗菌活性の評価は、1. セフェム剤では CFCL  $>$  CAZ  $>$  CPR, 2. AZT は CAZ とほぼ同様、3. アミノ配糖体では、NTL  $\div$  GM, 4. カルバペネム系では BIPM  $>$  IPM/CS, 5. ニューキノロン系では CPFEX  $\geq$  OFLX であるが、MIC<sub>90</sub> がいずれも 100  $\mu$ g/ml で高度の耐性株が目立った。6. CFCL 開発当時の *P. aeruginosa* に対する抗菌活性を、今回のわれわれの成績を比較した。その結果では全国の成績と比べて CFCL, CAZ いずれも 1～2 管抗菌活性が劣った。