

## 抗菌薬臨床評価の国際化の現状

国立東京第二病院小児科 砂川慶介

抗菌薬の開発の領域に於いても、国際的なハーモナイズが話題となってきた。

この機会に既に公表された欧・米の「抗菌薬臨床評価のガイドライン」と我が国の現行の「抗菌薬の臨床適応のガイドライン（案）」との相違点、また我が国の現行のガイドラインの問題点を整理し、可能な限り欧米のガイドラインとハーモナイズする、現行の問題点を解決することを目的に厚生科学研究事業の一環として日本化学療法学会、製薬企業のご協力で「抗菌薬臨床評価のガイドライン」（案）を作成し、本年4月厚生省に提出した。

この「抗菌薬の臨床適応のガイドライン（案）」は、現在関係各方面からの意見を聴取して最終案を作成する準備の段階にあると聞いている。

このガイドラインは従来のガイドラインを下敷きとして、以下の点について配慮がなされている。

- ① 対象とする抗菌薬をβラクタム以外にも拡大した。
- ② 欧米のガイドラインに従い我が国のガイドラインに記載の無かった事項を可能な限り追加記載した。
- ③ 同系統の類似薬剤の適応となる菌種・疾患の統一性をはかった。
- ④ 適応菌属・菌種の整理をした。
- ⑤ 試験の段階毎に対象患者の条件を示した。
- ⑥ 小児、妊娠可能な女性、高齢者など特殊な被験者集団に関する記述を追加した。
- ⑦ 外科系術後感染予防に関して別添を添付した。

一方国際化については、昨年日本で開催されたICH4

本会議の前後にステップ4に達した2つのICH臨床試験ガイドライン〔医薬品の臨床試験の実施に関する基準（ICH-GCP）、治験の総括報告書の構成と内容に関するガイドライン〕が公表され、ヨーロッパの作業部会が示した新抗菌物質の評価に関するノートを意見聴取の目的で関係領域に提示された。

医薬品の臨床試験の実施に関する基準（ICH-GCP）では用語の定義にはじまり治験審査委員会、治験責任医師、治験依頼者、治験実施計画書などが詳細に記載されている。

特に治験責任医師についてはその条件、役割について非常に詳しく解説されている。

治験の総括報告書の構成と内容に関するガイドラインでは総括報告書記載に必要な事項が詳しく解説されている。

ヨーロッパ作業部会のノートでは薬剤感受性測定に関する記載、臨床試験実施にあたっての注意事項が記載されている。

詳細な検討は現在実施していないが、新しいガイドライン（案）を大きく改訂しなくてはならない事項は現在のところ見あたらない。

今回はこのガイドラインの作成の経緯についての説明及び現在の海外の状況について紹介し、日本の新しいガイドライン（案）の位置づけについて考えてみたいと考えている。

## 抗癌剤併用における諸問題

県立愛知病院 有 吉 寛

癌化学療法単独で現在治癒を語れる癌種は白血病、悪性リンパ腫、睾丸腫瘍、絨毛癌、小児癌などであり、小細胞肺癌、卵巣癌、乳癌は将来治癒可能となる候補ではあるが、現状では、化学療法により一旦癌細胞が眼前から消えても、将来の再発確率が高い癌種である。その他の癌に対する化学療法の現状は緩和療法の枠を出るものでない。しかし、癌の治癒に果たす手術や放射線療法の役割はすでにプラトーに達していることから、今後癌の治癒率を向上させるためには進行癌の治療としての化学療法の進歩が大いに望まれる。

癌化学療法は抗癌剤の癌細胞に対する殺細胞効果に期待する治療戦略であり、したがって、抗癌剤そのものに極めて依存度が高い。こうした観点から癌化学療法の将来的展開を考慮すれば、化学療法の成績改善には効果的な新しい抗癌剤開発が必須であり、過去でそれを検証すれば、アンスラサイクリン、シスプラチン、エトポシドなどの開発後、ある種の癌に対する化学療法の成績は治癒が期待出来るなど大きく改善している事実が認められる。しかし、抗癌剤開発の困難さは化学療法約50年の歴史が示しており、その時間的空間を埋めて化学療法成績向上を計るためには、他の方法による化学療法の殺細胞効果増強や副作用防止の支持療法開発が重要な要素になる。各種抗癌剤の併用は化学療法の癌細胞多様性への対応として、あるいは薬剤耐性克服の方法として、化学療法の効果増強に属する戦略である。以上のような癌化学療法の現状分析と将来展望を基に、抗癌剤の併用(併用化学療法)における諸問題に言及する。

### ・多剤併用化学療法に関する基礎的理論

多剤併用化学療法は以下の基礎的理論に基づくものである。

#### (1) 癌細胞薬剤感受性の多様性

癌細胞の有する生物学的性格の特性の一つは多様性(cell heterogeneity)である。このことは薬剤感受性に

ついても当てはまり、実験的にも証明されている。抗癌剤が比較的 homogeneous な実験腫瘍細胞に感受性が高くても、それがヒトの臨床成績に反映し難いのはヒト癌細胞の多様性と解釈されている。この事実から、抗癌剤単剤より作用機序が異なる多剤併用により抗腫瘍スペクトルの拡大を計ることは癌細胞に対する抗癌剤の殺細胞効果を増強する戦略と考えられる。

#### (2) 細胞動態と薬剤感受性

癌細胞の細胞周期を検討すると、癌細胞は細胞分裂後にDNA合成を行わないG<sub>1</sub>期(静止期)に入り、さらに一部は非増殖期(G<sub>0</sub>期)に移行する。G<sub>0</sub>期の細胞は概ね抗癌剤に低感受性である。癌組織はこうした周期を含む種々の細胞周期の癌細胞が混在するため、細胞周期の異なる時期に作用点を有する抗癌剤の組み合わせは治療戦略的に有利である。

#### (3) 薬剤耐性

Goldie-Coldmanの仮説に基づき、耐性細胞の増加を抑制するには交差耐性のない薬剤を出来るだけ早期に投与すれば薬剤耐性細胞出現を抑制できるとする戦略である。

#### ・多剤併用化学療法の臨床

多剤併用化学療法が単剤化学療法より優れていることは臨床的にも多くの癌種で証明されている。こうした場合の併用薬剤選択とその投与方法の原則は ①作用機序が異なる薬剤 ②単剤で有効性がある薬剤 ③可能な限り毒性が重複しない薬剤 ④各選択薬剤をその理想的スケジュールで投与 ⑤一貫した薬剤投与間隔で投与 などである。こうした原則に基づき各種の多剤併用化学療法が考慮されているが、当然薬剤の相互作用も考慮される。それらの一つが癌化学療法の一戦略である biochemical modulation である。

以上の基礎理論と臨床的事実に基づき、抗癌剤併用の諸問題を述べる。

## 〈大腸菌 O-157 の基礎と臨床〉

### 1. 大腸菌 O-157 による出血性下痢症の問題点

岐阜大学医学部微生物学講座 江崎孝行

大腸菌 O-157 は出血性腸炎を起こすことが 1982 年に報告され、Vero 細胞に毒性を示すことから Vero 毒素、あるいは志賀様毒素を産生する大腸菌としてわが国の専門の細菌学者から警告されていた。しかし、一般の研究者の関心は低く 1990 年の浦和市での 2 名の死亡事例の後も一般細菌検査ではこの病原体の検索を行ってこなかった。今年度 (1996 年) 岡山、岐阜、および堺市で爆発的な集団発生が起きたことにより関心が、一気に高まり、日本国内の衛生研究所では食中毒事例が起きるとこの病原体を検索対象として調べる様になった。

この病原体は細菌学的には赤痢菌にきわめて類似し、赤痢菌が出す志賀毒素と類似した毒素を産生する。赤痢菌と大腸菌は現在の系統分類学的の基準に当てはめると同一菌種に区分される程、近接しており“姿を変えた赤痢菌”の逆襲と理解しても間違いではない。

臨床細菌学に携わっているものとして今回の集団発生は多くの問題点を浮き彫りにした。その主な点を箇条書きにすると、

#### 1) 食品の汚染状況

大腸菌は哺乳動物の腸管に生息する細菌であり、O-157 も牛の腸内から分離されていることが国内外から報告されている。わが国で飼育されている牛の保菌率および牛肉の汚染がどの程度進んでいるのか？

#### 2) 適切な分離培地が存在しない

O-157 の多くの株が乳糖を分解する事からわが国で実施されている SS 培地や DHL 培地を使用した従来の検査では見つけることはできない。

古典的な教科書ではこれらの選択培地で病原性大腸菌は乳糖非分解であるので乳糖分解菌は検査しない教育を行ってきたため SS 培地や DHL しか使用しない検査室では病原体の検出ができない。

今年度の事例の後、多くの培地メーカーが O-157 用の選択分離培地を発売した。これらの培地はソルビトールの分解性の有無で選択することになっている。しかしこれらの多くの培地は食品からの分離に利用できるが人の糞便からの分離培養に利用するにはいまだ多くの問題点がある。

#### 3) 溶血性尿毒症と化学療法

大腸菌 O-157 感染症の最も重要な病態は溶血性尿毒症 (HUS) でありこの病型は乳幼児に多い。発症すると 3 割から 5 割が死亡するとされる。除菌のために抗生物質を使用すると HUS を誘発するとの報告があるが、まったく関係が無いとする相反する意見が出されている。

現在の所、Vero 毒素と HUS の関係は、ほとんど解明されていないがいくつかの仮説が提案されているので紹介したい。

以上の問題に焦点を絞り大腸菌 O-157 による出血性下痢症を基礎の立場から眺めた問題点を紹介し、臨床医の先生に対策を考えていただく機会を提供したい。また日米コレラ専門部会ではこの問題を重視し、米国での問題点、今後の研究の展開、および対策について日米専門家による国際学会を 10 月末に長崎で開催する。その最新情報もあわせて報告したい。

## 2. 堺市で集団発生した腸管出血性大腸菌 O157 感染症の臨床

市立堺病院小児科 橋爪 孝雄・金野 雅子・水本 有紀・東 克己  
福島 久雄・田中 順子・森田 好樹

腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157 による感染症は 1982年に、アメリカのミシガン、オレゴン州で発生したハンバーガーによる集団食中毒患者から分離されて、注目を浴びるようになった。産生する毒素からベロ毒素産生性大腸菌 (VTEC) とも呼ばれている。

日本では 1984年に兄弟例の報告が最初である。1990年 9月に浦和市の幼稚園で集団発生が報告され、園児 2名が死亡した。その後、大阪、佐賀、奈良などで 8件の報告がされた。本年も岡山県邑久町での発生以来、広島県、岐阜県、愛知県などでも発生が続いた。大阪府の堺市でも 1996年 7月 12日から市内の小学校で学校給食が原因と思われる出血性大腸炎が集団発生した。本院でも多数の症例を経験したのでその臨床像を文献的考察を加えて報告する。

### 患者発生状況

患者総数は 9月 10日現在 6,553名である。その内、学童 6,309名、学童以外 160名、教職員 84名であった。入院患者 997名であった。HUSを含む重症患者は 103名であった。死亡者は 2名であった。市内小学校 91校中 62校で患者が発生した。

患者の発生は 7月 13日から市内医療機関から報告された。13日 255名、14日 2,436名、15日 1,100名、16日 543名、17日 928名の患者が発生した。17日までの最初の 5日間で延べ患者は 5,262名で、総患者の 83.4%が発症した。30日には学童患者数は 6,309名となった。その後は患者の発生は認めなかった。

堺市の入院患者は 13日 32名、14日 140名、15日 202名、16日 245名、17日 440名であった。26日までに延べ 857名が入院した (85.9%)。現在も重症患者が 2名入院中である。

市立堺病院にも 7月 12日 10名の患者が受診した。内 2名が入院した。13日には 108名、14日 283名、15日 147名であった。延べ外来患者数は 4,335名で、その内小児は 3,393名であった。実患者数は 1,450名であった。男 42.4%、女 57.6%であった。入院患者総数は 93名 (内小児 82名) であった。男 35名、女 47名と女児が多かった。7月 13日 13名、14日 26名、15日 7名が入院した。3日間で全体の約 60%が入院した。7月中に 77名入院した。外来患者で 40名を他院に紹介した。8月 12日に最後の患者が入院し、8月 28日に全例退院した。死亡例はなかった。

HUSは 4例であった。

### 「臨床像」

初発症状は倦怠感 (4.2%)、発熱 (20.5%)、下痢 (68%)、腹痛 (74.5%)、血便 (10.6%)、嘔気 (3.5%)、嘔吐 (2.8%) であった。経過中には倦怠感 (9.2%)、発熱 (49.6%)、下痢 (95.7%)、腹痛 (93.6%)、血便 (48.9%)、嘔気 (14.9%)、嘔吐 (12.7%) を認めた。血便は 2.5日、下痢は 5.4日、腹痛は 4.8日間持続した。

外来では 86%の患者に FOM、整腸剤を投与した。35.5%に輸液を実施した。抗生剤は症状改善まで使用した (平均 5.2日)。

入院患者の消化器合併症として腸重積 8例、虫垂炎 1例、膵機能障害を認めた。腸重積は全例、高圧浣腸で整復できた。膵機能障害は特別な治療は必要としなかった。

HUSの発症は 4例であった。4例とも一般的支持療法に加えて血漿交換と血液透析を併用した。血漿交換は最高 7日間実施した。

患者の便からは大腸菌 O157:H7 が分離された。VT1、VT2の産生を認めた。EMを除く ABPC、FOM、KMなどほとんどの抗生剤に感受性を示した。便培養陽性率は 39%であった。

## ニューキノロン耐性緑膿菌の臨床的意義

岐阜大学泌尿器科 河 田 幸 道

緑膿菌は複雑性尿路感染症の主要な感染菌のひとつであり、近年、その分離頻度は若干低下したとされているものの、なお複雑性尿路感染菌の10%程度を占めている。

緑膿菌性複雑性尿路感染症の治療には、経口剤であるニューキノロン薬が繁用されているが、近年、ニューキノロン耐性緑膿菌の増加が指摘されており、臨床的にも治療上の問題となりつつある。

緑膿菌のニューキノロン耐性機作については、基礎的に多くの検討がなされ、DNA ジャイレースの変化や外膜の変化などが報告されているが、その多くは実験室で耐性を獲得させた菌を用いての検討であり、臨床分離緑膿菌についての報告は少なく、したがって臨床分離株においてどのような耐性機作がどの程度でおきているか、また、治療との関係でどの耐性機作が臨床的に重要であるかについてはいまだ不明である。

そこで演者は、教室保存の尿路由来緑膿菌を用い、OFLX耐性の年次変遷を検討するとともに、臨床経過の明確な分離株について *gyrA* 変異と MIC との関係、また変異の有無と治療効果との関係を検討し、ニューキノロン耐性緑膿菌の臨床的意義について検討を加えた。

### 1. 緑膿菌に対する OFLX の MIC

本邦においてニューキノロン薬が発売される以前の1978年に分離され、教室に保存された緑膿菌103株、発売以後の1988年～1993年の6年間に分離された290株に対する OFLX の MIC を測定した。

MIC は 2 峰性分布を示し、12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  がトラフとなっていることから、25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上を耐性と考えると、耐性株の頻度は1978年には14.6%、1988～1989年には48.6%、1990～1991年には53.5%、1992～1993年には58.6%と確実に増加していた。

### 2. *gyrA* 変異の頻度

複雑性尿路感染症に対して OFLX、LVFX または AM-1155 を用いて 5～7 日間の治療を行った 53 例の投薬前後に分離された緑膿菌 77 株について、*gyrA* 遺伝

子のキノロン耐性決定領域内の Thr-83 および Asp-87 コドンにおける遺伝子変異の有無を検討した。

投薬前に分離された 47 株では 23 株にいずれか 1 個の、4 株に両者の変異を認め、全体では 57.4% の株に変異が認められた。投薬後に分離された 30 株では全株に変異が認められ、このうち 4 株は重複変異であった。

### 3. *gyrA* 変異と MIC との関係

同一症例から投薬前後に緑膿菌が分離された場合には投薬前の分離株のみを対象として、53 例から分離された 53 株について *gyrA* 変異の有無と MIC との関係を検討した。

MIC が 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以下の 21 株中変異を認めた株は MIC が 0.78  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の 1 株のみであり、他の 20 株 (95.2%) では変異を認めなかった。

一方、MIC が 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上の 32 株では全株に変異が認められた。また、MIC が 25～100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の 14 株に重複変異株は認められなかったのに対し、MIC が 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の 13 株中 2 株 (15.4%)、MIC が 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の 5 株中 3 株 (60.0%) は重複変異株であった。

### 4. *gyrA* 変異の有無と治療効果

47 例について検討可能であったが、変異を認めない 20 株中 18 株 (90.0%) が消失したのに対し、変異を認めた 27 株では 3 株 (11.1%) が消失したのみであった。なお、投薬前に変異を認めないにもかかわらず消失しなかった 2 株について AP-PCR を行ったところ、1 株では同一株が存続し、投薬後に変異が出現したものであったが、他の 1 株は変異を有する株への菌交代であることが判明した。

### 5. まとめ

尿路由来緑膿菌に対するニューキノロン薬の細菌学的ならびに臨床的ブレイクポイントはともに 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  付近にあり、*gyrA* 変異の発言もこの濃度と一致していることから、緑膿菌のニューキノロン耐性機作としては *gyrA* 変異が臨床的に最も重要と考えられた。

## 造血幹細胞移植併用による超大量化学療法の効果と安全性

司会 大阪府立成人病センター第五内科 平 岡 謙  
久留米大学産婦人科 西 田 敬

### 司会のことば

「造血幹細胞移植併用による超大量化学療法」は、化学療法に高感受性を示す悪性腫瘍に対して、治癒あるいは長期生存を期待した治療法であり、薬剤耐性克服の一治療法と位置付けられる。

当初は骨髄細胞を用いた骨髄移植がほとんどであったが、最近では、造血因子の臨床応用および細胞分離装置の開発により、末梢血造血幹細胞移植 (PBSCT) による超大量化学療法が癌治療における、ひとつの epoch としての可能性が期待されている。本シンポジウムでは6人の演者に各科領域における治療成績を報告していただく予定であるが、何れも大量化学療法から10日あるいは14日程度で顆粒球や血小板数の回復が観察され、本療法の安全性については確立されつつある。治療効果としては、薬剤感受性が高い急性骨髄性白血病、非ホジキンリンパ腫や胚細胞腫瘍を始め、乳癌などの固定癌でも良好な成績が示され、肺の小細胞癌や小児科領域の神経芽腫、脳腫瘍に対しても積極的な応用が試みられている。また、再発あるいは refractory となった卵巣癌に対しても一時的な効果が報告されている。このようにアルキル化剤に代表される、濃度依存性で骨髄抑制が投与量規制因子となる薬剤の作用増強を目的として、PBSCT は理にかなった手段であり、将来的には first line management に含まれるべき治療法と考えられる。

しかし、現在の問題点は、その至適応用法の確立にあ

ると考えられるが、それぞれの対象疾患に於いて、共通した問題点とともに、特有の問題点を有している。それらを列記すると以下の点などが考えられる。

- (1) 造血幹細胞採取の至適時期は？
- (2) 採取細胞内への腫瘍細胞の混入と再発との関連：purgung の意義は？
- (3) 移植後の骨髄回復：造血幹細胞の必要性は？
- (4) 超大量化学療法・移植実施の至適時期は？
- (5) 超大量化学療法の安全性：臓器障害は？
- (6) 単回の治療で充分か？
- (7) 治癒ないし長期生存を得るための重要なポイントとは？

本療法は、抗癌剤開発に例えるならば、第II相から第IV相くらの幅を持って、本療法の至適応用法の確立が追求されているのが現状である。本療法が、真に患者 benefit が得られるか否かについては、治癒率の向上をはかると共に、conventional な治療法との無作為比較試験が行われるべきであろう。

異なる対象疾患、異なる開発段階を経験している者が一同に会した本シンポジウムでは、共通の問題だけでなく、それぞれ特有の問題の解決に向けて、大きな刺激が与えられるものと期待される。

## 〈造血幹細胞移植併用による超大量化学療法の効果と安全性〉

### 1. 造血器腫瘍に対する自家末梢血幹細胞移植の効果と安全性

京都府立医科大学第二内科 島崎千尋

末梢血幹細胞移植 (PBSCT) は末梢血中に動員された造血幹細胞を採取保存し、これを骨髄破壊的治療後の血液学的再構築に利用する方法である。治療理念は自家骨髄移植 (ABMT) と同一であるが、ABMTと比較して幹細胞の採取に全身麻酔を必要としないこと、移植後の造血機能の回復が速やかであること、腫瘍細胞の混入が骨髄に比較が少ない可能性があることなどの利点を有し、近年、急速に普及しつつある。これまでの研究より、末梢血幹細胞 (PBSC) の採取、保存についてはほぼ確立されてきたが、造血器腫瘍の治療戦略におけるPBSCTの役割については未だ不明な点も少なくない。本講演では造血器腫瘍におけるPBSCTの安全性と治療戦略におけるPBSCTの位置付けについて、自験例を中心に最近の知見をまとめてみたい。

PBSC後の造血機能の回復が速やかであることは、すでにABMTとのrandomized studyにより明らかにされている。当科における延べ54回の移植でも、顆粒球 $>500/\mu\text{l}$ に回復するのに要した日数 (中央値) は移植後G-CSF投与例で10日、非投与例で14日であった。一方、血小板 $>50000/\mu\text{l}$ に回復するのに要した日数 (中央値) は14日で、急性骨髄性白血病 (AML) で血小板の回復が遅延する症例がみられた。治療関連毒性はいずれも耐えうるものであり、寛解症例における治療関連死亡はなく、PBSCTはABMTに比べ安全性は高いと考えられた。

AMLはPBSCTが開発された当初から試みられてきた疾患であるが初期の報告で再発が多かったことからいまだ多数例での報告は少ない。しかし、最近のAML第一寛解期 (CR1) におけるPBSCTの成績 (20例以上) では、2-3年のDFSが50-65%前後と改善している。失敗の原因はほとんどが再発である。これまでの多くの報告ではPBSCの採取は寛解導入、あるいは地固め療法後の血球回復期に施行されてきたが、当科ではPBSCの採取を3コースの地固め療法後にAra-C大量とG-CSFの併用により採取している。この方法では比較的大量のPBS

Cが採取可能であり、また移植後の再発は稀で3年DFSは70%と良好であった。このことはPBSCの採取時期が再発率に大きく関与すること、AML寛解期におけるG-CSF投与の安全性、PBSCTの寛解後療法としての有用性を示唆している。AMLに対するPBSCTの効果を明らかにするには化学療法とのrandomized studyが不可欠であり、現在計画中である。

一方、急性リンパ性白血病 (ALL) に対するPBSCTのまとまった報告はほとんどない。これまでの報告では早期再発が多いこと、1年以後の再発もみられることが指摘されており、当科における成績も同様である。ALLではCR1における同種骨髄移植と化学療法との優劣が明らかではなく、またCR1におけるABMTの位置付けも確立していないため、PBSCTの適応は慎重に検討すべきである。

悪性リンパ腫特に非ホジキンリンパ腫 (NHL) ではこれまでのABMTの成績からsensitive relapseや初回寛解導入における部分寛解例がもっとも良い適応と考えられるが、当科では予後不良因子を有する症例のCR1もPBSCTの適応としている。

上記の基準を満たす20例の解析では、寛解期移植 (CR18例、CR $>24$ 例) 12例中8例が無病生存中 (6-55M) であり、非寛解期移植例では8例中3例が生存中である。International Indexに基づく層別化でhigh, high/intermediate症例のCR1におけるPBSCTを今後、検討していく予定である。

これまでのPilot studyよりPBSCTは造血器腫瘍の中ではAML、NHLでその効果が期待される。しかし、その有効性を評価するには標準的化学療法やABMTとのrandomized studyが不可欠であり、今後綿密に計画された臨床試験により造血器腫瘍の治療戦略におけるPBSCTの位置付けを明らかにしていくことが重要である。

## 〈造血幹細胞移植併用による超大量化学療法の効果と安全性〉

### 2. 乳癌に対する造血幹細胞移植を併用した超大量化学療法

聖マリア病院血液内科 江上 康一郎

#### (対象)

対象は、進行再発乳癌11例（再発8例、adjuvant 3例）であり、年齢は33歳-61歳、performance statusは全例0-1であった。

#### (方法)

Induction chemotherapyとしてはADR,5-FUCYを基本とし、自家末梢血幹細胞採取が不十分な場合は、Ara-c, ETPを用いた化学療法とした。末梢血幹細胞移植前の大量化学療法は、CY6000mg/m<sup>2</sup>、thio-TEPA 600mg/m<sup>2</sup>を行った。

採取はCOBE SPECTRAにて平均3回行ない、採取された細胞は牧野らの方法に従い凍結保存した。

移植されたCFU-GM数は、 $2.4 \times 10^4$ /kgであり移植に際して、m-PSLを併用した。

患者管理は準無菌室にて加熱食とし、腸管内の真菌予防としてAMPHシロップは使用したが一般細菌抑制は行わなかった。

#### (合併症)

末梢血幹細胞採取時に低カルシウム血症によるしびれ感、再輸注時に溶血による赤色尿を認めたが臨床的には問題とならなかった。

移植経過中は、大量化学療法による粘膜障害、嘔気、嘔吐、感染症が高頻度に観察されたが致死的なものではなかった。しかし乳酸アシドーシスによる早期死亡が1例認められた。

#### (結果)

移植後の血液学的回復は白血球数1000/ $\mu$ l以上10日、血小板数 $5.0 \times 10^4$ / $\mu$ l以上13日と良好であった。

導入化学療法と大量化学療法により72.7%に効果を認め、ホルモンレセプター陽性群でやや効果が高い傾向にあった。

移植後再発は、再発症例、8例中 5例、adjuvant

症例3例中1例の計54.5%に認めた。

観察中央値22ヶ月の現時点の生存率は81.8%、無再発生存率45.5%である。

#### (まとめ)

今回、進行再発乳癌11例に自家末梢血幹細胞移植を行った。観察期間中央値は22ヶ月と短く、症例数も少ないことより今後の追跡、症例追加が必要である。

なお、1例に早期死亡を認めた。当施設では、現在までに約80例（のべ100例）の末梢血幹細胞移植を血液疾患、固形腫瘍に行ってきたが、早期死亡は他に3例あり、5%に認めている。

一般的に末梢血幹細胞移植は簡便かつ安全とされている。しかし、移植後にp,sが低下する症例や早期死亡例もあることを考慮し、十分な説明と同意のもと、慎重になされるべきと考えられる。

また、乳癌に対する末梢血幹細胞移植を併用した大量化学療法の位置づけとしては、再発例に対してのsalvage therapyとするのか、病期進行症例に対するadjuvant therapyとすべきか今後慎重に判断されるべき問題と思われる。

All cases

UPN	Age	meta site	ER/PR	response to induction Cx	response to high dose Cx	response to overall Cx	recurrence after overall Cx	prognosis	over all survival(day)
221	39	adjuvant	+	NE	CR	CR		alive	773+
254	48	LN	?	PR	NEX(CR)	NE	NE	dead	38
297	33	bone	+	PR	CR	CR		alive	749+
303	61	bone		PR	MR	PR	day136	dead	449
314	57	bone		PR	MR	PR	day86	alive	649+
318	33	liver	?	PR	NC	PR		alive	625+
336	41	LN,skin,pleura	+	CR	CR	CR	day128	alive	576+
322	49	LN	+	CR	NE	CR	day273	alive	455+
319	32	adjuvant		NE	NE	NE	day504	alive	650+
354	60	lung,pleura	?	PR	CR	CR		alive	453+
432	51	adjuvant	?	NE	NE	NE		alive	280+



## 〈造血幹細胞移植併用による超大量化学療法の効果と安全性〉

### 3. 肺癌に対する造血幹細胞輸注併用下の大量化学療法

九州大学胸部疾患研究施設 中西 洋一

肺癌は、臨床的・生物学的特徴から小細胞肺癌と非小細胞肺癌に大別される。全肺癌の約15%を占める小細胞肺癌は、進行が早く予後不良な反面、化学療法や放射線療法に感受性を示すため、造血幹細胞移植 (PBSCT) 併用下の大量化学療法の対象となるのは、主として小細胞肺癌である。

小細胞肺癌は、病変が1側胸郭内にとどまるlimited disease(LD)と、これを越えたextensive disease (ED)に分類される。標準的治療を施行した場合のLDの治療成績は、奏効率80-100% (CR 50-70%)、MST 14-18カ月、5年生存率3-8%といわれる。一方、EDの場合は、奏効率60-80% (CR 20-40%)、MST 8-12カ月、5年生存はほとんど期待できない。このように、現在一般的に施行されている治療では、治癒はほとんど見込めないのが現状である。

小細胞肺癌の治療には、マイルドな化療を頻回に繰り返すべきか、強い化療で一気に腫瘍の消失をはかるべきか議論がある。しかし、癌を治癒に導くための大原則はCR導入であることは自明のことである。1982年以降、自家骨髄移植併用下の大量化学療法が施行されてきたが、CR導入率は高いものの、生存の延長にはけっして結びつかないという報告が多数を占めていた。唯一施行された比較試験においても、生存は有意に延長したものの、治療関連死が多く、標準的治療にはなりえないと結論されている。しかし、これらの結果は、患者選択基準や選択薬剤が不適切であったこと、dose intensityや支持療法が不十分であったこと、大量化学療法の施行時期の問題、放射線療法の併用がなかったことなど、多くの改善すべき点を含んでいる。これらの点を踏まえてEliasらがLD症例を対象に行った集学的治療 (大量化学療法、放射線療法、予防的全脳照射) では、CR率79%、2生率53%と治療成績の大幅な改善が見られている。近年脚

光を浴びているPBSCTは、骨髄破壊的治療法の支持療法としてきわめて優れた方法である。肺癌領域におけるPBSCT併用の化学療法に関する報告はきわめて少ないものの、小細胞肺癌の治療応用が大いに期待されている。

我々の教室では、現在までに5例の小細胞肺癌患者 (42歳~62歳、男/女; 3/2、LD/ED; 2/3) に対し、計6回のPBSCT併用下大量化学療法を施行した。初回治療例の4症例に対しては、2コースの標準的用量の化学療法 (CDDP+CBDCA+VP-16) に続き、VP-16を軸とした強化化学療法を施行し、骨髄機能回復期にG-CSFを投与し幹細胞を採取した。その後、大量化学療法 (VP-16 1200mg/m<sup>2</sup>, CBDCA; Calbertの計算式にてAUC=20相当量) を施行した。前治療無効の1例と大量化学療法後再発した症例では、mobilizationの化学療法はcyclophosphamide (CY; 3-4 g/m<sup>2</sup>) を使用し、大量化学療法は、CY+epiADR+ACNUで行った。放射線治療は3例に施行した。骨髄機能の回復は白血球 (ANC>500) 9日、血小板 (>5万) 13.5日、発熱期間 (>37.5°C) 3.5日であった。全体の治療効果は、CR 1例、PR 5例であった。予後を論じる時期ではないが、1例は、初回治療から17カ月後に死亡、他の4例は7-28カ月目で生存中である。我々の成績では、CR導入率は満足できるものではなかった。以上の成績を踏まえて、現在、放射線療法の併用タイミング、dose intensity等について、再検討中である。

小細胞肺癌に対するPBSCT併用下の大量化学療法は、従来の標準的治療法を上回る治療効果が期待される。ただし、長期生存をもたらすためには、化学療法単独ではなく、集学的治療法の一環として認識されるべきであろう。特に、放射線療法との至適な組み合わせについての検討が必要と思われる。

## 〈造血幹細胞移植併用による超大量化学療法の効果と安全性〉

### 4. 卵巣癌におけるStem cell support (PBSCT) による超大量化学療法の現況

久留米大学産婦人科 杉山 徹・片岡 明生・西田 敬・薬師寺道明

卵巣癌は化学療法に感受性を有する固形腫瘍に区分されている。cisplatinを含んだ初回化学療法にて60-80%は奏効する。しかしながら、生存率への貢献が少ないことが認識され、paclitaxelやCPT-11に代表される新薬の導入とともにdose escalation、dose intensity強化の検討が進んでいる。

PBSCTの認識が得られるに伴い、Stem cell supportを併用した超大量療法はdose escalationの限界を広げ、化学療法のbreak throughとして期待されている。しかし、まだ十分な症例での検討が少なく、必ずしも良好な効果が報告されていない<sup>1-4)</sup>。今回は卵巣癌(上皮性腫瘍、胚細胞性腫瘍)の分野でのPBSCTを併用した超大量療法の現況につき、症例経過を含めて検討した。

#### 1. 上皮性卵巣癌

AMBTを用いた本邦での報告<sup>2)</sup>では、進行癌49例をcyclophosphamide (CPA) 1600-2400 mg/m<sup>2</sup>、doxorubicin 80-100mg/m<sup>2</sup>、cisplatin 100-150mg/m<sup>2</sup>あるいはcarboplatin900-1500mg/m<sup>2</sup>を2コース投与し、AMBTを48-72時間後に行い、22例は再発死亡し、8例は5年以内に再発し、19例(38%)が無病生存している。PBSCTでは、Benedetti-Panici P et al.<sup>1)</sup>は、進行癌(Ⅲ-Ⅳ期)で、cisplatin 100mg/m<sup>2</sup>、etoposide 1650mg/m<sup>2</sup>、carboplatin 1800mg/m<sup>2</sup>を投与し、84%に効果を認め、4年生存率は67%と報告している。

#### 2. 胚細胞性腫瘍

本腫瘍は我々の過去28例の悪性胚細胞性腫瘍(dysgerminoma 13例、immature teratoma 5例、yolk sac tumor 10例)治療を振り返ってみると、機能温存術後の標準的VAC、PVB、PEP療法にて、1例の死亡と1例の再発を経験しているのみであるように化学療法に高感受性を有する固形腫瘍群である。一般に、特異的な腫瘍マーカーにて経過管理されるが、進行癌では治療に再発を来すことも稀ではなく、この場合、PBSCTの応用が施行されつつある。文献的に、38例のre-

fractory cancerではcarboplatin 1500mg/m<sup>2</sup>+etoposide 400 mg/m<sup>2</sup>を投与し、45%に奏効したが、短期の生存期間しか認められていない<sup>3-6)</sup>。1995-1996年のAmerican Society of Clinical Oncologyの中でもPBSCTの応用した超大量化学療法が胚細胞性腫瘍を中心に報告されている。<sup>6)</sup>我々が経験した混合性胚細胞性腫瘍(14歳)は、標準的なPEP療法にて臨床的寛解を得るも、短期にて腫瘍マーカーの上昇を来し、carboplatin 1000mg/m<sup>2</sup>+etoposide 1000mg/m<sup>2</sup>で一時的な効果後、肝転移巣の増大を認めため、肝部分切除術施行し、明らかな肉眼的残存なしの状態、BSF 2 mg/day×4とThiotepa 200mg/m<sup>2</sup>×2投与し、PBSCTを行った。有核細胞数8.21×10<sup>7</sup>/ml×100mlと7.66×10<sup>7</sup>/ml×70mlを採取した。2回繰り返し、超大量化学療法を施行したが、有効な結果に至っていない。この腫瘍組織はヌードマウス移植株ではcisplatinは50%を越える抗腫瘍効果を示していたことも考えると、単にdose escalationのみではQOLも含めて考えると疑問が残る。文献的にみても、少なくとも残存腫瘍がminimumでかつ前化学療法が最小限のタイミングでなければ利点が得られないのではと推察される。また、一定の効果が明確になれば、不良な予後因子を有する症例へのfront lineとしての応用への道も骨髄DLFの新薬への期待も含めて開けてくると考える。

#### 文献

1. Benedetti-Panici et al. Annals of Med 27, 133, 1995
2. Muramatsu T et al. Int J Gynecol Cancer 5, 150 1995
3. Broun ER et al. Annals Int Med 117, 124, 1992
4. 西田敬、他 日婦病理コルポ誌 14, 69, 1996
5. Demirer T et al. Natl Cancer Bull 1, 1996
6. Shpall EJ et al. Am Soc Clin Oncol Educational book p360, 1995

## 〈造血幹細胞移植併用による超大量化学療法の効果と安全性〉

### 5. 精巣腫瘍に対する末梢血幹細胞移植 (PBSCT) 併用超大量化学療法

神戸大学泌尿器科 荒川 創一

PBSCTの適応となる固形腫瘍は、化学療法に高感受性で、PBSCTを併用することで強力な化学療法による高度の骨髄抑制を軽減し、抗腫瘍効果を高め治癒あるいは長期生存を期待しうる悪性腫瘍である。精巣腫瘍は強力な化学療法に耐えうる若年者に多く、しかも化学療法に高感受性を有することから、PBSCTの最も良い適応となる固形腫瘍とされている。

精巣腫瘍の治療成績はCDDPの導入以降劇的に向上し、進行性精巣腫瘍の70~80%は根治可能となった。しかし20~30%は難治例であり、これらがPBSCT併用超大量化学療法 (Super high-dose chemotherapy, SHDT) の適応となる。

SHDTが導入される前の従来の一般的な進行性精巣腫瘍の治療戦略は、まずfirst line chemotherapyとしてCDDPを含む多剤併用化学療法 (BEPなど) を3~4コース施行し、腫瘍マーカーが陰性化した時点で残存腫瘍があれば外科的に摘除するというものであった。腫瘍マーカーが陰性化しない治療抵抗例、あるいは完全寛解後の再発例に対してはsecond line salvage chemotherapyが施行されてきた。

しかしその奏効期間は短く、長期生存率は低かった。これらsalvage chemotherapy 抵抗性の難治例に対し自家骨髄移植 (ABMT) を併用したSHDT (CBDCA, VP-16) を用いることにより、長期生存率が向上し、しかも安全性の面でも有用との報告がなされた。さらに、CD DP抵抗性腫瘍に対してはfirst line chemotherapyの段階においてSHDTを早期導入し複数回施行するべきとの報告がみられている。そして近年、低侵襲、簡便で造血回復も良好なPBSCTが骨髄救済法としてABMTにとって変わりつつある。

現在我々は予後不良因子を有する進行性精巣腫瘍に対しては、まずfirst line chemotherapyとしてBEPを施

行し、その骨髄機能回復期にG-CSFを併用しPBSC (末梢血幹細胞) を採取し、BEPを2~3コース施行後、腫瘍マーカーの推移、腫瘍縮小率を検討し難治が予想される症例に対してはその後PBSCT併用SHDTを施行し、残存腫瘍を外科的に摘除するという治療戦略をたてている。PBSC採取に関しては、BEPでは骨髄抑制が弱く、十分量が得られないとの指摘もあったが、これまでの我々の検討では治療早期であればG-CSFの併用によりBEPで十分な幹細胞の採取が可能であった。

以下に現在までの当科での成績を略述する。これまで進行性胚細胞腫瘍6例 (初発5例、再発1例) に対し計10コース施行した。組織型は全例非セミノーマで病期はIIA1例、IIIA1例、IIIB2例、IIIC1例、縦隔原発性腺外胚細胞腫瘍1例であった。SHDTはCBDCA1250mg/m<sup>2</sup>、VP-16 1500mg/m<sup>2</sup>、IFO 7.5g/m<sup>2</sup>の5日間分割投与を原則とし、最終抗癌剤投与72時間後にPBSCTを施行した。輸注されたCD34陽性細胞数は $4.1 \times 10^6 \sim 16.0 \times 10^6$ /kg (中央値 $7.7 \times 10^6$ /kg) で、PBSCT後、白血球数が1000/ $\mu$ lに回復するまでの期間は8日から11日 (中央値9日)、血小板数50000/ $\mu$ l以上への回復は10日から15日 (中央値13日) と良好な結果を得た。必要とした血小板輸血は30~60単位 (中央値45単位) であった。10コース中6コースに3~7日間 (中央値5日間) の発熱を認めたが、白血球数の回復とともに速やかに解熱し、遷延化したものはなかった。その他にも重篤な副作用は認めなかった。治療効果は未だ観察期間 (8~23ヶ月、中央値10ヶ月、治療中の1例を除く) が短いものの、5例中4例がNEDで生存中である。

予後不良因子を有する進行性精巣腫瘍に対し、PBSC T併用超大量化学療法は、比較的簡便で安全に行い得、今後の発展が期待されるものと考えている。

## 〈造血幹細胞移植併用による超大量化学療法の効果と安全性〉

### 6. 小児固形腫瘍における幹細胞移植併用による大量化学療法の有用性と限界

三重大学小児科 川崎 肇・駒田 美弘・櫻井 実

(まえがき) 小児期にみられる固形腫瘍には、脳腫瘍、胚細胞系腫瘍、横紋筋肉腫、骨肉腫、ユーイング肉腫、肝芽腫を含む肝腫瘍、ウイルス腫瘍、神経芽細胞腫など様々である。このうち、手術方法、放射線治療の変化とともに、化学療法も、新しい薬剤、併用薬剤、大量療法の開発などがあり、これら腫瘍のいくつかは、その生存率の大幅な改善を認めている。例えばウイルス腫瘍については、NWTS (National Wilms Tumor Study) を中心に、既に手術、放射線に、Actinomycin D, vincristineを用いた併用化学療法による治療法が確立され、無病生存率は著しい向上を認めた。骨肉腫についても、Rosenらにより、術前、術後のMTX大量療法が開始され、さらにIFOS, CDDP, Anthracycline系薬剤の併用により、既に、5年無病生存率は、80%近くまでなりつつある。しかし、脳腫瘍、神経芽細胞腫、横紋筋肉腫、肝芽腫については、完全摘出が困難で、放射線療法に頼らざるを得ないが、小児の場合、放射線治療に伴う発育、神経発達などに対する晩期障害も考慮しなければならない。ここではこれら難治性小児期固形腫瘍に対する幹細胞移植併用による大量化学療法を中心に述べたい。

(幹細胞移植併用大量化学療法) 難治性小児固形腫瘍に対する化学療法では、新しい抗癌剤の開発、薬剤併用に依る効果増強、超大量療法など様々な試みがなされている。最近では、薬剤の用量依存性に認められる骨髄抑制を回避するため、幹細胞移植を併用した治療が行われている。(1)神経芽細胞腫；神経芽細胞腫は、予後の悪さのために、早期発見を期待して、乳児期のマススクリーニングが開始されているが、年齢により、その予後が異なる。すなわち、1才未満での発見例はstageIに関係なく90%以上が生存するのに対し、1才以上での発見例では、

stageIII、IVの進行例で、化学療法に対しても抵抗性を示す例が多く、予後が不良である。このような症例に、幹細胞移植を併用した厚生省神経芽細胞腫研究班治療プロトコールによる治療が開始され、年々その予後は、改善しつつある。三重大学でも、現在までに7例自家骨髄幹細胞移植を併用した大量化学療法を施行してきている。(2)脳腫瘍；脳腫瘍に対する放射線療法、手術、化学療法いずれも、その効果は組織型に大きく左右されるが、その治療成績は満足できるものではない。特に小児に多く見られる、小脳髄芽腫、脳幹部膠腫は、予後が悪い。これらの症例を中心に幹細胞移植併用による大量化学療法を施行してきたが、大量化学療法に伴う副作用、特に腎障害が多く認められた。これらの障害を回避しながら、治療を施行している。

(今後の展望) (1)SelectiveABMT;最近では胚細胞系腫瘍については、頭蓋内も含め完全摘出が出来なくても、化学療法有効例が多いが、組織型、進行例、再発例では依然として難治性の疾患である。ここでは、手術後、腹腔内播種、肺転移を合併したchoriocarcinomaについてCD34にて骨髄幹細胞を選択的に採取したselective ABMTを施行したケースについて述べたい。進行した胚細胞系腫瘍に対して幹細胞移植併用による大量化学療法が有効であった。特に骨髄の再構築に必要な骨髄幹細胞のみを選択的に採取することにより、骨髄浸潤を疑うような症例にも使用出来るかも知れない。(2)遺伝子治療；ヘルペスのチミジンキナーゼを選択的に、脳腫瘍細胞にtransfectionし、ヘルペスのチミジンキナーゼにより活性化されるgancyclovirを投与する試みがなされている。この遺伝子治療と幹細胞移植を用いた大量化学療法の組み合わせも今後考えていくべきかも知れない。

# シンポジウム (II)

## ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床

司会 京都薬科大学微生物 西野 武志  
九州大学泌尿器科 松本 哲朗

### 司会のことば

ニューキノロン系薬剤は経口抗菌剤としての評価も確立し、広く臨床に使用されている。しかし、同系薬剤の使用頻度の増加と共に、耐性菌も増加しつつある。本シンポジウムでは、臨床現場におけるニューキノロン耐性の現状とその耐性メカニズムの解析及び将来への展望について討論したいと考えている。シンポジストとして臨床系より、川崎医科大学 二木芳人先生、名古屋市立大学 鈴木賢二先生、岡山大学 秋山尚範先生、岐阜大学 出口隆先生、基礎系より、大日本製薬 山岸純一先生、京都薬科大学 後藤直正先生にお願いした。また、特別発言として九州大学 田中正利先生に追加をお願いした。

臨床系の各先生方には、臨床各科における主要起炎菌におけるニューキノロン系薬剤の耐性化傾向とその臨床的特徴及び耐性菌に対する対策等についての検討結果を述べて頂く。また、基礎系の先生方にはニューキノロン系薬剤の耐性化のメカニズムとその対応策についての検討結果を述べて頂く。

ニューキノロン系薬剤の耐性化傾向は、MRSA、緑膿菌、淋菌等に顕著に現われ、臨床現場ではニューキノロン系薬剤での治療失敗例も増加している。将来に対する対策と耐性菌増加抑制策について、フロアーの先生方を含めた討論を行いたいと考えている。

# シンポジウム(Ⅱ)

## 〈ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床〉

### 1. 臨床：呼吸器科領域

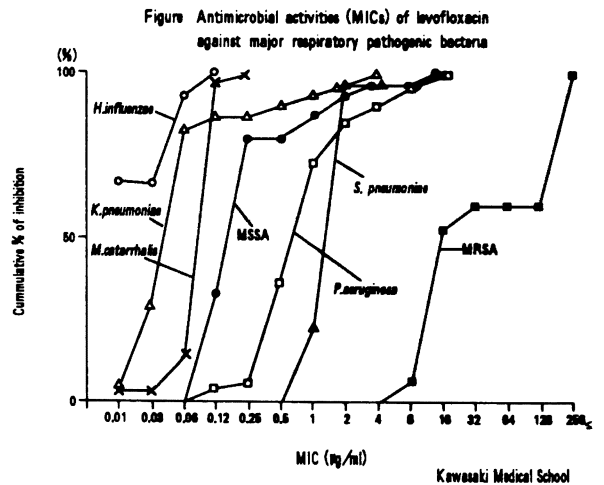
川崎医科大学呼吸器内科 二木 芳人

ニューキノロン剤(以下NQs)は、現在では呼吸器感染症、特に慢性気道感染症での重要な治療薬の一つとして欠くことの出来ない存在である。さらに今日臨床応用可能なNQs薬も9誘導体と多彩であり、その各々の抗菌活性の特長や、安全性などの配慮に基づき、種々の使い分けも行われている。他方、その12年間の臨床応用とともに、常に問題とされてきたものに、NQs耐性菌の出現と増加傾向がある。

Figureには、当院で最近1年以内に呼吸器病巣より分離された主要呼吸器病原体に対する、標準的NQsのlevofloxacin(LVFX)のMIC累積曲線を示した。1980年前後での、norfloxacin(NFLX)やofloxacin(OFLX)の開発当時のMICに比し、*P.aeruginosa*やMRSAでは明らかにその感受性は低下している。しかし、呼吸器病巣より分離される*P.aeruginosa*のNQs耐性化は、臨床使用開始当初から1980年代において急速にあるレベルまで進行したが、その後1990年代に入ってから尿中分離株などに比し、比較的動きが少ないようである。この現象は同時期より普及したマクロライド少量長期療法の効果や、適正なNQsの選択使用の実施によって、その使用頻度や使用量が一部で減少していることにもよるであろう。他方MRSAは、現在でも徐々にその耐性化は進行しているようであり、全国レベルでの呼吸器感染症分離菌調査(池本)では、1987年に1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であったMIC<sub>50</sub>値が、1994年では16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、MIC<sub>90</sub>では各々12.5、 $\geq 256$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ となっている。ここでも、NQsの適正使用の問題が考えられるべきであろう。これらの*P.aeruginosa*やMRSAでの耐性化のいまひとつの問題は、現在臨床使用されているほとんどのNQsが交叉耐性を示すことであ

る。NQsの新規誘導体が、今も尚10種類近く基礎的・臨床的検討に強されているが、より強い活性を有すると同時に、作用機序などの差異によって、これら耐性菌にも有効なNQsの登場が望まれる。

この2菌種以外の主要病原菌では、現時点で臨床的に問題となるようなNQsの耐性化は明らかでなく、*H.influenzae*や*M.catarrhalis*感染症などでは極めて良好な臨床効果が今も期待できる。さらに本来 $\beta$ -ラクタム系薬には活性面で遅れをとっていた*S.pneumoniae*などについても、むしろペニシリン耐性株の急増などによって、一部のNQsの有用性が期待されてもいる。しかし、近年の耐性機構の基礎的研究の成果をみれば、将来における新たな耐性菌の出現や、より高度耐性化の増加なども生じ得ると予測すべきであろう。従って、我々臨床医の立場としては、耐性化を助長することのないような、理論的かつ適正なNQsによる感染治療の実施と、注意深い疫学的検討の励行を心がける必要があるであろう。



# シンポジウム (II)

## 〈ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床〉

### 2. 臨床：耳鼻咽喉科領域

名古屋市立大学耳鼻咽喉科 鈴木 賢二・馬場 駿吉

目的:

その幅広い抗菌活性と良好な組織移行から、我々耳鼻咽喉科領域感染症においてニューキノロン剤は最も頻用される薬剤の1つと言えよう。今回、我々の領域の感染症において検出された種々の菌のニューキノロン剤に対する感受性の検討を行ない、耳鼻咽喉科領域感染症におけるニューキノロン剤耐性についての検討を行う。

対象および方法:

Study 1. 名古屋市立大学医学部付属病院および国家公務員等共済組合連合会名城病院における最近5年間の耳鼻咽喉科由来検体(耳漏、鼻汁、咽頭ぬぐい液、各種膿汁)より検出された菌のOFLX(ofloxacin)に対する感受性の年次推移につき検討する。

Study 2. 同施設における1996年4月以降の耳鼻咽喉科由来検体より検出された菌の各種ニューキノロン剤(CPFX, LVFX, OFLX, SPFX, TFLX)に対する感受性につき検討する。

結果および考察:

現在詳細につき検討中であるが、これまでに得られた preliminary dataによれば、最近5年間では、*S.aureus* のOFLXに対する耐性率の年次推移をみると、1992年度から本年度まで順に27.7%, 36.5%, 41.6%, 42.1%, 53.6%と着実に増加しており、感受性株の割合は逆に57.8%, 59.4%, 55.8%, 54.5%, 46.4%と減少しており、*S.aureus* の耐性化が進んでいるようである。*S.pneumoniae* のOFLXに対する耐性化率の年次推移では20%, 0%, 0%, 0%, 0%とほとんど耐性化は認められないと言えよう。

さらに、*P.aeruginosa* のOFLXに対する耐性化率の年次推移では49%, 23%, 37%, 24%, 25%とほぼ不変と言えよう。

一方、表に示したように本年度の耳鼻咽喉科由来検体より検出された菌の各種ニューキノロン剤(CPFX, LVFX, OFLX, SPFX, TFLX)に対する感受性の検討では、MSSAはいずれのニューキノロン剤に対しても耐性化率は約8%であり、MRSAは81%-88%と高度の耐性化率であった。その他*P.aeruginosa*はいずれのニューキノロン剤に対しても25%の耐性化率を示し、CNSは17%-50%と幅広い耐性化率を示した。さらに我々の領域で重要な*S.pyogenes*, *H.influenzae*, *M.catarrhalis*等のニューキノロン剤に対する耐性化はほとんど認められない結果となった。以上より各種ニューキノロン剤に対する感受性の検討から、我々耳鼻咽喉科領域においては*S.aureus*のニューキノロン剤に対する耐性化のみが進んでおり、これはMRSAの耐性化率上昇に規定されていると思われる。これらの詳細につき報告する。

表. 耳鼻咽喉科領域検出菌のニューキノロン剤に対する耐性化率(%)

Organism (strains)	New quinolones				
	CPFX	LVFX	OFLX	SPFX	TFLX
<i>S.aureus</i> MSSA (12)	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3
MRSA (16)	87.5	87.5	87.5	81.2	87.5
<i>S.pneumoniae</i> (3)	0	0	0	0	0
<i>S.pyogenes</i> (3)	0	0	0	0	0
$\alpha$ -Streptococcus (29)	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4
CNS (6)	33.3	16.7	33.3	16.7	50
<i>P.aeruginosa</i> (4)	25	25	25	25	25
<i>H.influenzae</i> (1)	0	0	0	0	0
<i>M.catarrhalis</i> (1)	0	0	0	0	0

# シンポジウム (Ⅱ)

## 〈ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床〉

### 3. 臨床：皮膚科領域

岡山大学皮膚科 秋山 尚範・神崎 寛子・荒田 次郎

皮膚科領域細菌感染症の二大起炎菌は黄色ブドウ球菌と化膿レンサ球菌である。黄色ブドウ球菌が最も多く約半数を占めており、MRSAは年度及び施設により異なるが約20-40%である。レンサ球菌感染症はアトピー性皮膚炎で化膿レンサ球菌によるレンサ球菌性膿疱疹例が増加しており、この場合、黄色ブドウ球菌との混合感染がほとんどである。アトピー性皮膚炎以外では化膿レンサ球菌・B群レンサ球菌 (*S.agalactiae*)による蜂窩織炎・膿瘍例が散見される。

最近二年間に分離された黄色ブドウ球菌の最小発育阻止濃度 (MIC) ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )はMIC 50ではCVA/AMPC 4, CFDN 0.5, MINO 0.5, OFLX 1, TFLX 0.12で、MIC 90ではCVA/AMPC 32, CFDN 128, MINO 32, OFLX 32, TFLX 4であった。MRSAのニューキノロン剤に対するMICはMIC 50ではOFLX 8, TFLX 0.5で、MIC 90ではOFLX 128 <, TFLX 128 <であったが、高度耐性MRSAに限るとMIC 50はOFLX 64, TFLX 16であった。1990-1993年に分離された黄色ブドウ球菌のニューキノロン剤に対するMICはMIC 50ではOFLX 1, TFLX 0.12で、MIC 90ではOFLX 64, TFLX 16であった。黄色ブドウ球菌に対するニューキノロン剤耐性は皮膚科領域では増加しておらず、ニューキノロン剤特にTFLXの黄色ブドウ球菌に対する抗菌力は経口抗菌薬の中では最も優れている。以上より重症のコンプロマイズド宿主感染症または高度耐性MRSA感染症など注射剤投与が必要な症例を除いて、ニューキノロン剤は皮膚科領域黄色ブドウ球菌感染症には現在でも十分対応できるものと考えられる。

$\beta$ -溶血性レンサ球菌のMIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )はMIC 50では

ABPC  $\leq$  0.06, CFDN 0.25, MINO 2, OFLX 2, TFLX 0.5で、MIC 90ではABPC  $\leq$  0.06, CFDN 0.25, MINO 8, OFLX 4, TFLX 2で $\beta$ -ラクタム剤に比べニューキノロン剤は感受性が劣る。アトピー性皮膚炎に発症したレンサ球菌性膿疱疹ではCFDNのMICは黄色ブドウ球菌・化膿レンサ球菌ともに $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であったが、OFLXでは黄色ブドウ球菌に対するMICは $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であるのに対し、化膿レンサ球菌のMICは $2\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。TFLXの黄色ブドウ球菌に対するMICは $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であるのに対して、化膿レンサ球菌のMICは半数が $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で残りの半数は $2\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。皮膚科では重症の成人型アトピー性皮膚炎が増加しており、地域によってはレンサ球菌性膿疱疹が多発している。われわれの施設ではレンサ球菌性膿疱疹が疑われた場合、黄色ブドウ球菌に感受性の優れた $\beta$ -ラクタム剤を選択するが、施設によってはMINOやニューキノロン剤を選択している点と関連があるものと考えられる。そのため以下の実験を行なった。アトピー性皮膚炎に発症した化膿レンサ球菌性膿疱疹二症例より分離した黄色ブドウ球菌と化膿レンサ球菌を各々混合し、4, 10, 24時間後に菌量を測定しOFLX  $1\mu\text{g}/\text{ml}$ を加えた影響を観察した。黄色ブドウ球菌の菌数が $10^7\text{cfu}/\text{ml}$ をこえると化膿レンサ球菌の増殖は抑制された。一方、OFLX  $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度存在下では黄色ブドウ球菌の発育は抑制され、逆に化膿レンサ球菌の菌数は増加した。レンサ球菌にはニューキノロン剤は耐性傾向にあるためレンサ球菌感染症への投与は慎重でなければならない。皮膚科領域におけるニューキノロン剤耐性の観点からの問題点は高度耐性MRSA感染症とレンサ球菌感染症である。



# シンポジウム (II)

## 〈ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床〉

### 4. 臨床：泌尿器科領域

岐阜大学泌尿器科 出口 隆

尿路感染症は比較的軽症例が多いことから、その多くは外来において治療され、その治療には経口剤が用いられることが多い。特に複雑性尿路感染症では、その原因菌は多岐にわたるが、ニューキノロン剤はそのほとんど全てをカバーする幅広い抗菌スペクトラムと強い抗菌活性を有し、しかも経口剤であることから、尿路感染症の治療において有用性の高い薬剤であり、多くの症例に用いられてきた。しかしながら、尿路感染症においてニューキノロン剤の繁用によりキノロン耐性菌の出現が新たな問題となってきた。表はニューキノロン剤開発以前に複雑性尿路感染症から分離された菌株に対する ofloxacin の MIC と 1992 年から 1994 年に複雑性尿路感染症から分離された菌株に対する MIC との比較を示したものである。*E. coli* においては、MIC<sub>50</sub> と MIC<sub>90</sub> とには変化を認めないものの、MIC 100 μg/ml 以上の高度耐性の菌株が出現している。他の菌株でも、ofloxacin に対する感受性の低下した菌株の増加とともに高度に耐性化した菌株の増加が認められる。

一方、キノロン耐性のメカニズムとして、DNA gyrase の変異、topoisomerase IV の変異、膜変化に伴う細胞内薬剤濃度の低下などが報告されており、臨床分離株においてもキノロン耐性とこれらの変化との間の関連が示されてきた。しかしながら、実際の尿路感染症に対するニューキノロン剤による治療に際して、どのような過程で起炎菌が耐性化して行くのかについては、まだ十分に解明されていない。そこで、ofloxacin、levofloxacin および AM-1155 のいずれかを 5 日ないし 7 日間投与し、投薬前後で同一菌種が分離され、投薬後の分離菌株が、投薬前の分離菌株に対する ofloxacin の MIC の 4 倍以上を示した *E. coli* 2 組、*K. pneumoniae* 2 組および *P. aeruginosa* 2 組について、その耐性化のメカニズムについて解析を行った。これらの 6 組のうち、*E. coli* の 2 組と *P. aeruginosa* の 1 組については Arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) での解析結果から同一菌種間での菌交代であることが判明した。

*K. pneumoniae* の 1 組ではキノロン剤の細胞内への取り込みの減少による耐性化と考えられ、もう 1 組では *parC* 遺伝子の single mutation から double mutation への変化による耐性化と考えられた。*P. aeruginosa* の 1 組では投薬前の菌株には *gyrA* 遺伝子の変異を認めないものの、投薬後では *gyrA* 遺伝子に single mutation を認め、*gyrA* 遺伝子の変化による耐性化と考えられた。

これらの結果から、尿路感染症に対するニューキノロン剤投与は、キノロン剤の取り込みの低下、*gyrA* 遺伝子の変異、*parC* 遺伝子の変異など *in vitro* において観察される耐性化メカニズムを介して起炎菌の耐性化を引き起こすことが示された。

今後、このような治療中に引き起こされる起炎菌の耐性化に関わる種々の要因の検討が重要である。

表 尿路由来臨床分離菌に対する ofloxacin の MIC の変化

菌種と分離時期 (菌株数)	MIC (μg/ml)		
	範 囲	50 %	90 %
<i>E. coli</i>			
1978 (n=80)	≤ 0.1-1.56	≤ 0.1	0.78
1992-1994 (n=229)	≤ 0.1-100 <	≤ 0.1	0.78
<i>K. pneumoniae</i>			
1978 (n=65)	≤ 0.1-1.56	0.2	0.78
1992-1994 (n=62)	≤ 0.1-100 <	≤ 0.1	3.13
<i>E. cloacae</i>			
1978 (n=8)	≤ 0.1-0.78	0.2	0.78
1992-1994 (n=34)	≤ 0.1-100 <	6.25	100
<i>P. aeruginosa</i>			
1978 (n=51)	1.56-100 <	3.13	25
1992-1994 (n=74)	0.39-100 <	12.5	100 <
<i>E. faecalis</i>			
1978 (n=86)	1.56-6.25	3.13	3.13
1992-1994 (n=155)	0.78-100 <	3.13	100
<i>S. epidermidis</i>			
1978 (n=8)	0.39-1.56	0.39	1.56
1992-1994 (n=45)	≤ 0.1-100 <	6.25	100 <

## 〈ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床〉

### 5. 基礎：標的酵素の変異によるキノロン耐性機構

大日本製薬創薬第二研究所 山岸 純 一

細菌のキノロン耐性機構として、薬剤の膜透過性低下や排出ポンプの機能亢進と共に、標的酵素の変異が知られている。キノロンの標的酵素は、これまでDNA gyrase (以下Gyraseと略す) のみが知られていたが、最近、DAN topoisomerase IV (以下Topo IVと略す) もキノロンの標的酵素であることが明らかになってきた。この様に、キノロンの作用点がdual targetsであることより、キノロン作用・耐性機構の考え方に、新しい進展が生じている。標的酵素の変異について、研究の進んでいる大腸菌と黄色ブドウ球菌を中心に、現在までの知見をまとめてみたい。

#### 1) Gyrase変異による耐性化

Gyraseは、1976年、Gellertらにより発見された、DNAをスーパーコイル化する酵素であり、*gyrA*遺伝子産物2分子と*gyrB*遺伝子産物2分子からなる4量体である。そのいずれのサブユニットの変異によってもキノロン耐性が惹起される。大腸菌の*gyrA*変異部位は、GyrA蛋白のN末端近傍のアミノ酸番号67~106番目までの比較的狭い領域 (キノロン耐性決定領域：以下QRDRと略す) に局在し、*gyrB*変異部位は、GyrB蛋白の中央部のアミノ酸番号426、447番目の2ヶ所に見出されている。この様なGyrase変異により、Gyrase・DNA複合体に対するキノロンの結合親和性が低下し、その結果、キノロン感受性が耐性化するものと考えられる。黄色ブドウ球菌のキノロン耐性変異部位は、大腸菌のQRDRに対応しており、更にアミノ酸の変化も大腸菌と同一あるいは類似している。このことは、グラム陽性菌とグラム陰性菌で、Gyrase変異による耐性メカニズムが類似していることを示唆している。

#### 2) Topo IV変異による耐性化

Topo IVは、1990年、加藤らにより発見された、DNA複製後の娘染色体をデカテネートする酵素であり、*parC*遺伝子産物2分子と*parE*遺伝子産物2分子からなる4量体である。ParC、ParE蛋白は、GyraseのGyrA、

GyrB蛋白とそれぞれ36%、40%のアミノ酸相同性を示す。Topo IV発見後、間もなく、キノロンがTopo IV活性を阻害することが、酵素レベルで見出されたが、キノロン耐性Topo IV変異株が分離されなかったことから、その抗菌作用との関係は不明であった。最近、Khodurskyらおよび熊谷らは、キノロン耐性*gyrA*変異株では、*parC*変異に依存してキノロンに高度耐性となるが、*gyrA*遺伝子が野生型の場合、*parC*変異と無関係にキノロン感受性を示すことを見出した。このことから、Topo IVおよびGyraseが共にキノロンの標的酵素であること、大腸菌の場合には、キノロンの一次標的酵素は、Gyraseであることが明らかになった。黄色ブドウ球菌のTopo IV遺伝子は、*gyrase-like genes*を略して、*grlA*および*grlB*遺伝子と呼ばれている。キノロン一段階選択により、*grlA*変異株が分離され、その変異部位は*gyrA*のQRDRに対応することから、Topo IVは、黄色ブドウ球菌の場合、キノロンの一次標的酵素であろうと推定された。その後、クローン化*grlA*遺伝子を保有する形質転換株を用いた実験より、多くのキノロンでは、Topo IVが一次標的酵素であるが、一部のキノロンではTopo IVとGyraseの両方が一次標的と考えられること、キノロン高度耐性を引き起こすためには、Topo IVとGyrase両方にキノロン耐性変異が起きる必要のあることが明らかになった。

これらのことより、キノロンはGyraseとTopo IVの両酵素に作用し、両酵素のうち、キノロンにより感受性の高い酵素が一次標的酵素となり、他方が二次標的酵素となると考えられる様になった。いずれの酵素が一次標的であるかは菌種やキノロンの種類により異なるが、両酵素に同程度に強く作用する薬剤では、キノロン耐性株が相対的に出現し難いことが理論的に予想され、実験結果もこれを裏付けている。今後キノロン耐性菌の蔓延を防ぐためには、使用薬剤の選択にも留意すべきである。

# シンポジウム (II)

## 〈ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床〉

### 6. 基礎：薬剤排出によるキノロン剤耐性機構

京都薬科大学微生物 後藤直正

最近のキノロン剤耐性の研究から、その作用標的であるDNA gyrase (Gyrase) やDNA topoisomerase IV (Topo IV) の変異に加えて膜蛋白質が関与する薬剤排出機構 (Efflux system) も重要な耐性因子であることが明らかになった。これは、細胞内に侵入したキノロン剤が標的酵素に到達する前に細胞外に排出される機構である。本シンポジウムでは、キノロン剤に対する耐性化が問題となっている *Pseudomonas aeruginosa* と *Staphylococcus aureus* に絞り、現在まで得られた知見を総括したい。

緑膿菌および黄色ブドウ球菌の薬剤排出システム

変異	薬剤排出システム	耐性化する主な抗菌剤	外膜蛋白質の変化
<i>P. aeruginosa</i>			
<i>nalB</i>	MexA-MexB-OprM	キノロン剤、イミペネムを除くβ-ラクタム剤	OprMの過剰産生
<i>nfxB</i>	MexC-MexD-OprJ	キノロン剤、セフピロムなどの一部のセフェム	OprJの新生
<i>nfxC</i>	MexE-MexF-OprN	キノロン剤、カルバペネム剤	OprNの新生とOprDの減少
<i>S. aureus</i>			
<i>norA</i>	NorA	キノロン剤、一部の消毒剤	

#### 1) *P. aeruginosa* のキノロン剤耐性をもたらし薬剤排出システム

*P. aeruginosa* の外膜が関与する耐性変異は、表に示したように外膜蛋白質の変化とキノロン剤を含めた多剤交差耐性が特徴的である。これらの耐性は、染色体上にコードされた内膜から外膜に連なる3つの蛋白質の共同作業により起こると考えられ、現在のところ3種の排出システムが同定されている。

① *nalB* 変異: MexA-MexB-OprM システムの発現昂進により、キノロン剤のみならず、多くβ-ラクタム剤にも緑膿菌は耐性化する。このシステムは感受性株でもわずかに発現し、本菌の特徴の一つである多剤自然耐性 (特にベネム剤やマクロライド剤) にも寄与している。

② *nfxB* 変異: 野生株では発現していない MexC-MexD-OprJ システムの発現により、キノロン剤とセフピロムなどの新しいセフェム間の交差耐性を引き起こす。

③ *nfxC* 変異: 野生株では発現していない MexE-MexF-OprN の発現を引き起こし、キノロン剤耐性をもたらす、それと同時に OprD の産生量を減少させるために、カルバペネムにも耐性化させる。

#### 2) *S. aureus* のキノロン剤耐性をもたらし薬剤排出システム

*S. aureus* の排出によるキノロン剤耐性は、染色体上にコードされ、野生株でも発現している NorA の産生昂進によって起こる。これは、キノロン剤を効率よく排出するが、それによるキノロン剤の耐性化 (MICの上昇) は、薬物間で異なっている。

#### 3) キノロン剤高度耐性化の機構

*P. aeruginosa* におけるキノロン剤耐性の機構は、野生型の Gyrase 遺伝子や *mexR* (*nalB*) および *nfxB* 遺伝子を含むプラスミドの導入によるキノロン剤耐性度の減少により調べることができる。この方法により、種々の耐性度を示す緑膿菌でのキノロン剤耐性機構を調べたところ、低度および中程度耐性株では、排出システムの昂進が観察され、高度耐性株ではそれに加えて DNA gyrase の変異が見られた。これは、薬剤排出機構の昂進に続いて、DNA gyrase の変異が起こっていると考えられた。一方、*S. aureus* では、NorA の発現昂進によりキノロン剤高度耐性化は起こった株も見られるが、その上に Topo IV や Gyrase の変異によりさらに高度耐性化した株も分離されている。

薬剤排出機構は、*P. aeruginosa* や *S. aureus* だけに特異的な機構ではなく、*Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. cepacia*, *Campylobacter jejuni* 等多くの病原細菌の染色体上にもコードされていることが最近頻りに報告されるようになってきた。

## シンポジウム (II)

### 〈ニューキノロン剤耐性の基礎と臨床〉

#### 7. 追加発言：ニューキノロン耐性淋菌に関する臨床的・基礎的検討

九州大学泌尿器科 田中正利

ニューキノロン薬は、経口投与で淋菌感染症に対し高い有効性を示すことにより、米国CDCやWHOの推奨薬に挙げられ汎用されてきた。しかしながら最近、世界各国でニューキノロン薬に感受性の低い株が分離されると共に、臨床的にも本系薬が無効の症例が報告され始めている。そこで、我々は我が国における淋菌のニューキノロン薬耐性化の現状ならびにその耐性機構について検討した。表に1981～84年に分離された27株、1992～93年に分離された79株、および1995～96年に分離された66株の淋菌の各種ニューキノロン薬に対する薬剤感受性成績を示した。NELX、CPF<sub>X</sub>、LVFX、SPFX、およびDU-6859aの1992～93年分離株および1995～96年分離株に対するMIC<sub>50</sub>値は、1981～84年分離株のそれよりそれぞれ4～16倍および8～32倍高い値を示している。このように我が国における淋菌のニューキノロン耐性化は顕著である。なお、ペニシリン系薬、セフェム系薬をはじめとする他系統薬に対する耐性化は認められなかった。また、基礎的検討として淋菌のキノロン耐性機構についても報告する。

表 淋菌のニューキノロン薬に対する感受性

Antibiotic	Year	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		50%	90%	Range
Norfloxacin	1981-84	0.063	0.25	0.004~2
	1992-93	0.25 (4x)	4 (16x)	0.004~8
	1995-96	0.25 (4x)	8 (32x)	0.016~16
Ciprofloxacin	1981-84	0.008	0.063	$\leq 0.001\sim 0.25$
	1992-93	0.031 (4x)	0.5 (8x)	$\leq 0.001\sim 1$
	1995-96	0.031 (4x)	1 (16x)	0.004~16
Levofloxacin	1981-84	0.016	0.031	0.002~0.125
	1992-93	0.031 (2x)	0.25 (8x)	$\leq 0.001\sim 0.5$
	1995-96	0.063 (4x)	1 (32x)	0.008~8
Sparfloxacin	1981-84	0.004	0.016	$\leq 0.001\sim 0.063$
	1992-93	0.016 (4x)	0.125 (8x)	$\leq 0.001\sim 0.5$
	1995-96	0.063 (16x)	0.25 (16x)	$\leq 0.001\sim 8$
DU-6859a	1981-84	0.002	0.004	$\leq 0.001\sim 0.031$
	1992-93	0.004 (2x)	0.016 (4x)	$\leq 0.001\sim 0.031$
	1995-96	0.008 (4x)	0.031 (8x)	$\leq 0.001\sim 0.25$