

産業医科大学病院における MRSA 分離状況と 薬剤感受性の変遷について

産業医科大学泌尿器科¹⁾、同病院中央検査室²⁾
○山田陽司¹⁾、生山俊弘¹⁾、松本哲朗¹⁾、田邊忠夫²⁾

【目的】産業医科大学病院にて分離されたメチシリン耐性ブドウ球菌（以下 MRSA）の薬剤感受性の変遷を調べるとともに、泌尿器科入院患者における MRSA 感染症の背景因子について検討した。

【対象】1993年1月から1997年12月までに産業医科大学病院中央検査室にて分離された MRSA 株を対象とし、薬剤感受性は MIC-2000 による微量液体希釈法を行った結果を検討した。泌尿器科入院患者については、1996年以後2年間の症例について、基礎疾患や分離検体について検討した。

【結果】病院全体の分離株数を年次別にみると1993年が526株で、その後1996年には622株に増加したが、1997年には510株と減少傾向がみられた。分離されたブドウ球菌における MRSA の割合は、1993年は80%であったが、1995年以降減少した。臨床分離株の年次別薬剤感受性の変遷に関しては、ABPC、MINO、GM、CLDM、OFLX、IPM、ABK、VCM について検討した。この5年間、当院で VCM 耐性株の分離はなく、ABK は高感受性であった。この他の薬剤では、ABPC は非感受性で、MINO、EM、OFLX においては経時的に感受性率の低下を認めた。次に泌尿器科病棟での MRSA 分離人数は、1996年に12人、1997年には7人で、年齢は20歳から81歳。基礎疾患は悪性腫瘍術後症例が8例で、検体材料は術創からの膿が5例、喀痰及び血液が3例であった。多臓器転移を有する悪性腫瘍例は6例で、喀痰や便からの分離が多かった。尿路閉塞性疾患3例では尿中より分離され、発熱を認めなかった。

【考察】院内感染対策が徹底されることによって MRSA 感染が減少する傾向はみられたが、重症 MRSA 感染症では、その多くが compromised host であり、治療には感受性の高い薬剤を速やかに使用されるべきである。しかし、最近では VCM 耐性株の本邦報告もみられ、種々の薬剤に対する感受性の変遷しており、当該病院全体での薬剤感受性モニターによって、その動向を把握しておくことは、重要と考えられた。

広島大学医学部付属病院における MRSA 感染症の 現況

広島大学第一外科¹⁾、同総合診療部²⁾、細菌検査³⁾
○坂下吉弘¹⁾、竹末芳生¹⁾、横山 隆²⁾、板羽秀之³⁾

【目的】1990年代前半に流行した MRSA 腸炎などの MRSA 重篤化例は、最近では減少傾向にあると言われている。そこで最近当院で検出された MRSA の疫学的調査を行い、腸炎流行時の株との比較を行ったので報告する。

【対象・方法】1996年4月～1997年3月までの1年間に検出された MRSA は、入院が159例、外来が33例であった。このうち追跡調査が可能であった101例を対象とした。MRSA の分類は、コアグララーゼ型、Staphylococcal enterotoxin（以下 SE）により行い、あわせて TSST-1 産生に関して検討した。

【結果】コアグララーゼ型分類は、Ⅱ型 78.2%、Ⅲ型 4.0%、Ⅶ型 12.9%、不明 5.0% であった。コアグララーゼⅡ型の SE 産生は、C型 57.0%、B型 17.7%、AC型 6.3%、A型 3.8%、AB型 1.3% であった。MRSA によると考えられる感染症は、68例 67.3% にみられ、その内訳は、肺炎 20例（Ⅱ型 13例、Ⅶ型 4例、Ⅲ型 1例、不明 2例）、創感染 18例（Ⅱ型 15例、Ⅶ型 2例、Ⅲ型 1例）、MRSA 下痢症 9例（Ⅱ型 7例、Ⅶ型 1例）、敗血症 9例（Ⅱ型 7例、Ⅶ型 2例）、腹腔内膿瘍 7例（Ⅱ型のみ）、ドレーン感染 3例、尿路感染 3例であった。MRSA 下痢症は以前みられたような重症腸炎ではなく、比較的軽微なものであった。これは当時の重症な腸炎を起こしていた MRSA は、コアグララーゼⅡ型、SE 産生は AC 型、TSST-1 産生株であったのに対し、現在下痢症を起こしているタイプはコアグララーゼⅡ型でも SE 産生は AC 型以外のものであることが原因と考えられた。

【結語】抗生剤の適正な使用、院内感染対策などにより以前に比べ、MRSA 感染重篤化例は減少していると言われているが、これは現在の MRSA はタイプが変化し病原性の低いものに変わっているため、実際には MRSA 検出患者数は減少しておらず、今後も厳重な MRSA 対策が必要と考えられた。

福岡大学病院および福岡市圏の病院・診療所より分離されたMRSA株の検討

福岡大学医学部第2内科

○武田誠司, 向野賢治, 荒川規矩男

【目的】福岡大学病院および福岡市圏の病院・診療所より分離されたMRSA株の細菌学的, 疫学的検討。

【方法】1997年9月から12月にかけて上記の施設の患者より分離されたMRSA株, 各々53株(喀痰由来30株, 膿由来18株, 血液由来5株)と46株(喀痰由来22株, 膿由来21株, 血液由来3株)の計99株について, coagulase型, β -lactamase産生能, 薬剤感受性およびpulsed field電気泳動法を用いた遺伝子型別について検討した。

【結果】coagulase型は, II型が院内株83.0%(44/53), 院外株73.9%(34/46)と, 共に最も多かった。 β -lactamase産生率は, 院内株は, 69.8%(37/53)で院外株は87.0%(40/46)であった。薬剤感受性では, 院内株, 院外株ともvancomycin耐性株はなく, arbekacin感受性株は院内は92.5%, 院外は74.5%であった。coagulase II型の院内株の63.6%が β -lactamaseを産生し, 産生株は非産生株に比べ, flomoxefやimipenemに対する感受性が高かった。また, β -lactamaseの産生は, 薬剤感受性や遺伝子型別と関連していた。

【考察】福岡市圏で分離されたMRSAのcoagulase型は, VII型からII型に推移していた。coagulase II型のMRSAは, arbekacinに高感受性であることから, 同剤は, vancomycinと同様にMRSA感染症の治療に有用であると考えられた。

職員鼻前庭における黄色ブドウ球菌の保有状況及び除菌方法別効果と病棟内MRSA発生状況

社会保険紀南総合病院薬剤部¹⁾, 検査部²⁾

小児科³⁾, 外科⁴⁾

○那須明弘¹⁾, 片井敬雄²⁾, 出沢亨³⁾, 永井 徹⁴⁾

【目的】黄色ブドウ球菌は, 院内感染の感染源の一つとして医療従事者の鼻前庭保菌が指摘され重要視されている。我々も当院における院内感染予防対策の一環として職員鼻前庭保菌調査と除菌に取り組み, 平成2年12月より, 平成9年6月迄計12回, 延人数5,478名実施している。今回これらの成績と, 手指用消毒剤の院内使用状況及び病棟でのMRSA分離患者数について報告する。

【検査方法】材料はスワブを用いて左右鼻前庭から別々に採取した。分離培地はエック・ヨーク寒天培地を使用し, 37°C 48時間培養後コクラーゼ試験で同定を行った。MRSAの判定はオキサリンのディスク判定(K-B法)により行った。

検査実施年・月(人数)は, ①H2.12(103)②H3.4(298)③H3.8(252)④H4.2(256)⑤H4.7(535)⑥H4.12(579)⑦H5.4(556)⑧H5.10(568)⑨H6.5(595)⑩H7.6(502)⑪H8.7(602)⑫H9.6(603)の, 計12回延人数は5,478名行った。

【除菌法】1. FOM散布 FOMに感受性の保菌者には, FOMの注射用製剤を20mg/mlの濃度に調整し点鼻容器を用いて両鼻腔に3回づつ朝夕2回3日間散布を1ヶ月とし, 1回目から11回目迄実施した。

2. Mupirocin軟膏 1日3回3日間の塗布を1ヶ月とした。

3. イソジンゲル イソジンゲルを1日3回3日間を1ヶ月とした。

各除菌結果の採取時期は, FOM散布とイソジンゲルは治療最終翌日から1週間以内に1回, Mupirocin軟膏では翌日と1週間後の2回(治験含)に亘って検査した。

【結果及び考察】第1回目の陽性率は, MSSAで32.0%, 12回目では, 22.4%に減少していた。MRSAは母数に問題あるが, 14.6%から2.4%に減少した。次に, 方法別による鼻腔内除菌の成績は, FOM散布とMupirocin軟膏塗布での除菌率は, 1ヶ月で80%を越す成績であったが, イソジンゲルは1ヶ月で24.4%であった。病棟でのMRSA分離患者数は, 平成4年のピーク時には年間278名より検出されたが, 平成9年では89名に減少した。減少の要因には, 院内感染予防対策として取り組んでいる手指消毒法や, tetracycline系抗生剤の適正使用法等が大きく寄与していると考えられる。

院内感染対策継続中の鼻腔・咽頭・喀痰由来黄色ブドウ球菌の薬剤感受性変化とコアグララーゼ型別

愛野記念病院内科¹⁾、長崎大学熱帯医学研究所内科²⁾
 ○麻生憲史¹⁾、真崎宏則²⁾、坂本 翔¹⁾、田尾 操¹⁾、
 貝田繁雄¹⁾、松本慶蔵¹⁾、渡辺貴和雄²⁾、大石和徳²⁾、
 永武 毅¹⁾

(研究経緯) 老人病棟において1980年代前半よりMRSAは重要な院内感染起炎菌である。1991年10月よりMRSA分離患者の専用室を内科老人病棟に設置し、手指消毒の徹底に加えて抗菌化学療法剤の適正使用(MINO, 1987; 第2,3世代セフェム, 1991) 褥瘡対策, 下気道感染防止対策, 環境菌対策等の総合的院内感染防止対策を日々継続することにより、院内肺炎および菌血症が著しく減少した。また、対策開始前に黄色ブドウ球菌のコアグララーゼ型別が2型優位から7型優位に変化していたが、対策開始後に2型優位にもどり、MINO感受性株(0.1 μg/ml)が出現したことを報告した。

(目的) 対策継続中の老人病棟入院患者より分離された黄色ブドウ球菌の薬剤感受性およびコアグララーゼ型別の変化を明らかにする。

(材料および方法) 1995年8月から1996年8月までに対策継続中の老人病棟入院患者より分離された黄色ブドウ球菌154株(鼻腔74株, 咽頭48株, 喀痰32株)について、薬剤感受性(25薬剤, 寒天平板法; 治療標準法)およびコアグララーゼ型別, エンテロトキシン型別, TSST-1産生(テカ生研)の有無を検討した。なお、菌株は1人1株に限定した。薬剤感受性成績およびコアグララーゼ型別については従来の成績(日治療誌45(1)1997, 感染症誌71(3), 1997)と比較し解析を行った。

(成績) 喀痰由来黄色ブドウ球菌32株の薬剤感受性成績ではMRSA(DMPPC: MIC ≥ 12.5 μg/ml)が93.7%を占めた。MINO感受性株(MIC ≤ 0.39)は25.0%であった。VCMは全て ≤ 1.56であったが29株(90.6%)がMIC 1.56であった。鼻腔・咽頭についても検討した。コアグララーゼ型別は2型優位(鼻腔93.2%, 咽頭97.9%, 喀痰100%)であった。エンテロトキシン型別は鼻腔, 喀痰ではC型(鼻腔66.1%, 喀痰68.7%)が多く、咽頭ではBC型(47.9%)とC型(45.8%)が多かった。TSST-1産生は鼻腔93.2%, 咽頭95.8%, 喀痰100%と高率であった。

(結論) 抗菌化学療法の適正化によりMINO感受性株は25.0%認められたが、βラクタム, カルバペネムは高度耐性株が依然多いのが現状であった。なお、VCMのMICはピーク値が1.56であり、今後のVCMの臨床的耐性化については十分な監視が必要である。コアグララーゼ型別は対策継続中に2型優位を維持していることが確認された。
 共同研究者: 鄭燦紅, 秋寄睦恵

ムピロシン中等度耐性MRSA検出例についての臨床的検討

長崎大学熱帯医学研究所内科

○渡辺 浩、真崎宏則、渡辺貴和雄、大石和徳、永武 毅

杏林病院内科、縄田廣朗、池田秀樹

【目的】既に我々は、1996年9月よりわが国でも臨床使用可能となったムピロシン鼻腔用軟膏の鼻腔内MRSAの除菌率は87.0%と高い効果であったものの、一方ムピロシンに対し中等度耐性を示すMRSAが存在したことを報告したが、今回ムピロシン耐性株の出現背景、臨床的意義を明らかにする目的で同菌検出例についての臨床的検討を行なった。

【対象と方法】1996年9月より1997年9月の間に当科および杏林病院では43症例54エピソードが鼻腔培養でMRSAが検出され、ムピロシン軟膏1日3回3日間鼻腔内投与がなされた。このうち26症例の気道(鼻腔、咽頭、喀痰)より分離された82株のMRSAの中でムピロシンに対しMIC 6.25~25 μg/mlの中等度耐性を示した18株(鼻腔4株、咽頭8株、喀痰6株)が分離された10症例(男性6例、女性4例、平均年齢71.2歳)を対象とし、臨床背景、ムピロシン使用歴・耐性菌分離前1ヶ月以内の抗生物質投与の有無およびムピロシン投与による鼻腔からの耐性株の除菌について検討した。

【結果】基礎疾患は脳血管障害5例、糖尿病3例の順で、10例中7例は中心静脈栄養あるいは鼻腔栄養の経口摂取不能例であり、IVH、尿道カテーテルなどの体内カテーテルも10例中8例に存在した。ムピロシン使用歴は10例中7例にあったが、耐性株分離前1ヶ月以内の抗生物質投与は10例中3例にすぎなかった。また、鼻腔より検出された4株の耐性株はムピロシン軟膏1日3回3日間鼻腔内投与により、いずれも除菌された。

【結論】耐性株はムピロシン使用歴のある症例で多く分離されており、短期間での同剤の繰り返し投与は慎重にすべきと考えられた。また、ムピロシン鼻腔内塗布後の局所濃度は高濃度であるため現在の耐性度では鼻腔からのMRSAの除菌は充分可能であるが、今後高度耐性株の出現に注意することが重要である。

共同研究者: 佐藤晃嘉、永尾敬美

薬剤感受性による計量疫学：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の伝播阻止のために

下関市立中央病院・国立下関病院 外科
○吉田順一

◆目的◆MRSAの伝播分析における指標は遺伝子解析が理想的だが、一般市中病院では難しい。一方、薬剤感受性の指標は簡便であるが、投与により耐性化するので少数剤では難点がある。しかし多剤につきクラスター解析を活用すると、簡易法として既存の大量のデータを安価かつ計量的に疫学調査が可能である。当地の2施設において、感受性や生化学型を基にして解析を行って成果があり、ここに報告する。

◆方法◆病院（A）：対象は1985-92年、部所は全病棟とした。患者重複を許したMRSA全786株の21剤に対する感受性と“ID Test SP-18”の生化学型を合計した39因子について、39次元Euclid距離によるクラスター解析を行い、判別因子分析を重ね、2因子の直交座標において年次・部所別の分析を行った。

病院（B）：対象は1996年の10-12月、部所は全ての病棟と外来とした。各患者の初出のMRSA全58株の14剤に対する感受性を基に同様のクラスター解析を行い、樹形図とした。また担当医に対して、各担当例が院内伝播か持込みかをアンケート調査した。

◆結果◆（A）：直交座標に6クラスターが表示され、全8年・全部所ではU字を呈した。部所別には東西に隣接する外科病棟で多く検出され、一般外科病棟ではU字の2頂点に、専門外科病棟ではU字全体に分布していた。年次別には、初期はU字の1頂点に、中期はU字の2頂点に、後期にはU字の全形に分布した。[J Clin Epidemiol 49:1447, 1996]

（B）：樹形図にてICUと特定1病棟に集積があった。検体別では膿・痰に集積があり、アンケート結果は樹形分布により裏付けられた。

◆考察・結論◆施設（A）では隣接する病棟間で伝播阻止の対策が立てられた。（B）では特定病棟を中心とした環境調査が行われ、その結果が伝播阻止に活用されている。簡便ではあるが、2施設においてクラスター解析がMRSA伝播阻止に実戦的であった。

開心術後のMRSA縦隔膜炎の治療方針について
-特に外科的治療を中心に-

社会保険中京病院心臓血管外科

○佐井 昇、前田正信、宮原 健、櫻井 一、
中山雅人、竹村春紀

開心術後縦隔膜炎は、一度発生すると難治性で重篤な場合が多い。さらに縦隔膜炎の中でもMRSA縦隔膜炎は組織破壊性が強く極めて死亡率が高い。当科施行した1994年4月から1997年12月までに589例の開心術を施行し、5例のMRSA縦隔膜炎（0.8%）が発生した。抗生剤投与、外科的治療にもかかわらず5例中4例（80%）が死亡し、開心術の合併症としては極めて重篤なものであった。（症例）後天性心疾患群：大動脈弁狭窄症に対して大動脈弁置換術（AVR）：1例、僧帽弁逆流兼三尖弁逆流に対して僧帽弁置換術+三尖弁輪形成術（MVR+TAP）：1例、狭心症兼心筋梗塞後僧帽弁逆流に対してA-Cバイパス術+僧帽弁置換術（CABG+MVR）：1例の3例と先天性心疾患群：完全型大血管転位症（III型）に対してRastelli型根治術：1例、心室中隔欠損症（VSD）兼心房中隔欠損症（ASD）に対して閉鎖術の2例に発生した。（結果）手術後MRSA縦隔膜炎と診断された期間は12-20日（平均20日）で、MVR+TAP、CABG+MVRの2例においては術前後の血行動態及び栄養状態は不良であったが、他3例は良好であった。施行した外科的治療は、AVR症例：縦隔膿腔+閉鎖持続洗浄、MVR+TAP、CABG+MVR、Rastelli's op.の3例：縦隔膿腔+閉鎖持続洗浄+大網充填術を施行したが、計4例はすべて感染が制御できず死亡した。5例目に発生したVSD+ASD症例は縦隔膿腔後閉鎖部を開放し、人工呼吸器下管理に開いた洗浄と細菌培養を施行し、MRSA陰性と判断された後、大網充填を行い救命できた。（まとめ）開心術後のMRSA縦隔膜炎に対して、速やかに感受性のある抗生剤の全身投与を行い、その後外科的治療として当初、縦隔膿腔後に閉鎖持続洗浄、ドレナージ及び大網充填を行ったがすべて死亡した。活動期のMRSA縦隔膜炎は膿瘍形成よりは周囲組織破壊性が強いので、外科的治療として縦隔閉鎖型の外科的治療では、洗浄、ドレナージが不十分であり、MRSA感染巣のコントロールには縦隔開放型の外科治療の方がより有効であると考えられた。

バンコマイシンのBayesian法に基づく投与設計の臨床的検討

聖マリアンナ医大・3内¹⁾，同病院薬剤部²⁾，

北里大学薬学部臨床薬学研究センター³⁾

○長山義明¹⁾，高橋 悟¹⁾，齋藤重彦¹⁾，高尾良洋¹⁾，山崎 颯²⁾，佐古兼一²⁾，篠崎公一²⁾

(目的) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対し抗菌力の強いバンコマイシン(VCM)を有効かつ安全に投与するため，Bayesian法に基づく投与設計を行い，その臨床評価を行った。

(方法) 対象は平成5年9月～9年9月迄，当院第3内科に入院中のMRSA感染症患者23例，24コース(男性14例，女性9例)で，年齢は39～88歳，体重は32～70kg，内因性クレアチンクリアランスは5.6～121.7ml/minであった。感染症の内訳は重複感染を含む肺炎16例，敗血症8例，9コース，尿路感染症2例，皮下膿瘍1例，髄膜炎1例であった。初回VCM，500～1,600mgを1～1.5時間かけて静注し，12～48時間毎の投与を開始した。原則として，投与開始後96時間以内に投与前および投与終了後1時間に血中濃度を測定し，投与法の検討を行った。two compartment modelに基づくRodvoldらの母集団パラメータ報告値を用いたBayesian法により，血中濃度が有効治療域(投与前値：5～10 μ g/ml，投与終了後1時間値：25～40 μ g/ml)となるように投与設計を行った。なお，個体内・残差変動は10%と設定した。測定は蛍光偏光免疫法により行った。

(結果) 初期投与時の投与量は9.09～27.03(16.03 \pm 5.46, mean \pm 1SD)mg/kg/doseで，投与前値は9コースが，投与終了後1時間値は8コースが有効治療域に位置した。一方，投与設計後の最終投与量は9.73～31.58(20.93 \pm 6.63, mean \pm 1SD)mg/kg/doseで，投与前値は18コースが，投与終了後1時間値は18コースが有効治療域に位置した。重症感染症患者を対象としており17コースで他の抗菌薬を併用しているが，58.3%に臨床効果が得られ，腎不全に陥った症例はみられなかった。

(結論) VCMを有効かつ安全に投与するためには，患者の病態によりパラメータが変動するため，血中濃度を測定し，Bayesian法に基づく投与設計を行い，投与間隔，投与量を設定することの重要性が示唆された。

臨床分離MRSA菌株に対するin vitroでのバンコマイシンによる選択の影響

東京女子医大感染対策科

○志関雅幸，松井由香，菊池 賢，戸塚恭一，内山竹彦

(目的) 近年，バンコマイシン低感受性MRSA菌株の存在が示され，その臨床上の意義が論じられている。当院入院患者から分離されたMRSA3菌株に関してin vitroでバンコマイシン含有寒天培地での選択を試みた。

(方法) 当院入院患者から分離されたMRSA3菌株(TJ-Ku株，TJ-32株，TJ-62株)を検討に用いた。Mueller-Hinton寒天培地上に形成された各菌株のコロニーをMueller-Hinton液体培地に懸濁，前培養し，約 1×10^9 CFU/mlの濃度となった各菌株の菌液100 μ lを，2 μ g/ml，4 μ g/ml，8 μ g/ml，16 μ g/mlの各濃度のバンコマイシン含有するMueller-Hinton寒天培地上に塗布した。37°Cで48時間培養した後，バンコマイシンの濃度が最も高い寒天培地上に形成されたコロニーを釣菌し，Mueller-Hinton液体培地へ懸濁した。以下同様の操作を20回繰り返し，5回，10回，15回，20回の時点でバンコマイシンに関するpopulation解析およびEテスト法によるMICの測定をおこなった。

(結果) 選択を繰り返すにつれて，MRSA3菌株(TJ-Ku株，TJ-32株，TJ-62株)のうちTJ-Ku株，TJ-62株ではpopulation解析でバンコマイシンを2 μ g/ml，4 μ g/ml，8 μ g/ml含有する寒天培地上で形成されるコロニー数の増加が認められたが，TJ-32株では著しい変化がみられなかった。TJ-Ku株，TJ-32株，TJ-62株に対するEテスト法によるバンコマイシンのMIC値は，選択をおこなう前はいずれも2 μ g/mlであったが，20回選択後では各々，6 μ g/ml，3 μ g/ml，8 μ g/mlとなった。

(結語) 臨床分離MRSA菌株についてバンコマイシンに関してin vitroで選択を行った。その結果3株中2株で選択を繰り返すに従ってバンコマイシンに対する感受性が低下する傾向が認められた。

バンコマイシン低感受性MRSAの検出 (続報)

福岡大学医学部微生物学教室¹⁾中村学園大学栄養学臨床細菌学研究室²⁾○野村秀一^{1), 2)}, 永山在明¹⁾

【目的】昨年12月の西日本化学療法学会(京都市)において福岡大学病院およびその関連病院において各種臨床材料から分離されるMRSAの中にバンコマイシン低感受性MRSAが存在することを確認し報告した。今回は菌株数を増やして検討した成績について報告する。

【方法】1997年6月から1997年12月の間に福岡大学病院および関連病院において分離されたMRSAの351株を対象とした。バンコマイシンに対するMIC値を寒天平板希釈法で接種菌量を日本化学療法学会標準法およびNCCLS法に準じて実施した。バンコマイシン低感受性MRSAの検出はディスク法、グラディエント法およびポピレイション解析法を用いて行ない、その結果をすでに分離されているバンコマイシン低感受性のMRSAであるホモタイプのMu50株およびヘテロタイプのMu3株の性状と比較して検討した。

【結果と考察】351株のMRSAのバンコマイシンに対するMIC値は日本化学療法学会標準法およびNCCLS法ともにすべての株が1~2μg/mlであり、すべての株はバンコマイシンに対して感受性を示した。

一方、バンコマイシン低感受性菌の検出法で得られた結果より、351株のうちバンコマイシン低感受性MRSAのホモタイプのMu50株と同じ結果を示す株は存在しなかったが、ヘテロタイプのMu3株とほぼ同じ結果を示す株が79株存在しており、本大学病院においてバンコマイシン低感受性MRSAが存在することが確認され、その分離頻度は22.5%であった。

今回の検討で検出されたヘテロタイプのバンコマイシン低感受性MRSAは通常の薬剤感受性試験では見かけ上バンコマイシンに対して感受性を示した。これらのヘテロタイプの株はバンコマイシンの長期暴露によって容易にホモタイプの株に移行する可能性があり十分な注意が必要である。今後これらのヘテロタイプのバンコマイシン低感受性MRSAについて詳細な検討を行う予定である。

バンコマイシン低感受性MRSAとその患者背景因子
東京慈恵会医科大学内科学講座第2

柏病院総合内科*

○吉田正樹、相澤久美子、中澤 靖、進藤奈邦子、
前澤浩美、吉川晃司、柴 孝也、細谷龍男、
斎藤 篤*

【目的】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、多剤耐性菌であり、現在も院内感染症の主要な菌種である。その治療にはバンコマイシン(VCM)が有効であるが、近年、VCMの使用量の増加に伴いVCM低感受性のMRSAが検出されるようになってきた。臨床におけるVCM低感受性MRSAの発生頻度を調査すると共に、そのような菌が発生してくる患者背景因子(基礎疾患、他の抗菌薬の使用等)について検討する。

【方法】MRSAのMIC測定を微量液体希釈法により行った。24時間判定後も72時間まで観察した。更にVCMの中で発育がみられた最大濃度の菌液を希釈し、その菌液でもう一度、微量液体希釈法によるMIC測定を行った。これらにより検出されたVCM低感受性MRSAの患者の背景因子として抗菌薬の使用歴、基礎疾患等の調査を行い、VCM感受性MRSAの患者の背景と比較する。

【結果】MRSAのMICは、VCM、アルベカシン(ABK)、テイコoplanニン(TECP)ではいずれも良好な感受性を示した。72時間まで観察すると約30%は4μg/mlまで菌の発育がみられた。さらにそれらのMICを測定した結果では、初回測定時のMICと変化がなかった。現段階では患者の背景因子による相違はみられていない。現在菌株数を増やし検討中である。

緑膿菌のβ-ラクタム薬に対する*in vitro*耐性獲得

国立療養所南岡山病院内科

○河原 伸、多田敦彦、高橋 清

【目的】緑膿菌に対して優れた抗菌活性を有する薬剤が数多く開発されているが、これらに対する耐性菌の出現が臨床問題となっている。そこで、今回われわれはβ-ラクタム薬のうち緑膿菌感染症に有効とされるいくつかの薬剤に対する*in vitro*耐性獲得について検討した。

【対象と方法】(1)菌株：標準菌株ATCC 27853と当院臨床分離菌株であるPsa-1,2,3,4,5の計6株を実験に用いた。(2)検討薬剤：CFPM, CZOP, CPR, CAZ, SBT/CPZ, IPM/CS, MEPMの計7剤について検討した。(3)方法：MICの測定は日本化学療法学会標準法（微量液体希釈法）に準じて行ったが、まず、緑膿菌株6株に対する各薬剤のMICを測定した後、1/2 MICの薬剤含有培地上に増殖した菌を用いて、再度MICを測定した。この操作を8代繰り返し、*in vitro*における耐性獲得ならびにセフェム薬に対する交差耐性を検討した。更に、8代継代後に薬剤を含有しない培地で7代継代し、耐性脱落についても検討した。

【結果と考察】(1)8代継代後に3管以上MICが上昇した菌株数は6株中CFPMでは2株、CZOPでは3株、CPRでは2株、CAZでは1株、SBT/CPZでは2株、IPM/CSでは1株、MEPMでは1株認められた。(2)8代継代後のセフェム薬に対する交差耐性についてPsa-4,5を用いて検討したところ、8代継代後の菌株に対する各セフェム薬のMICはいずれも親株に対するそれより高く、検討セフェム薬間に交差耐性が認められた。(3)薬剤を含有しない培地で7代継代後のMICの低下はただか2管であり、親株のMICまで感受性が復帰したものはPsa-1に対するSBT/CPZとPsa-2に対するMEPMだけで、薬剤感受性の復帰はほとんど認められなかった。

Cefoselis (CFSL)を含む各種注射用β-ラクタム薬に対する臨床分離菌の薬剤感受性

株式会社ビー・エム・エル総合研究所

○星野和夫、小川美保、岩井有紀、江田孝志
中村貞博、瀬戸 勇

（目的）臨床分離菌に対する抗菌力は、感染症に対する薬剤の臨床効果を裏付けるデータのひとつであり、また、抗菌力の測定は簡単に実施できる方法でもある。われわれは、3年前から代表的な注射用β-ラクタム薬について臨床分離菌の感受性変動を追跡してきたので、その成績を報告する。

（方法）1997年に関東地区の中規模病院より提供された臨床材料より分離同定をおこなった菌株を対象に、化学療法学会標準法のマイクロプロス法でMICを測定した。測定薬剤はCFSL, FMOX, CAZ, CZX, CTM, CEZの力価の明らかなものを用いた。

（結果）当研究所において分離された主要分離菌の頻度は、喀痰では*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *S. agalactiae*で、尿材料では、*E. coli*, *Enterococcus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*の順であった。この分離頻度は昨年と大きく変わらなかった。これらの菌種に対するCFSLのMIC80とMICrangeは以下に示す通りである。

MSSA(100株); 1 μg/ml (0.25~2 μg/ml), MRSA(50); 32 (4~64), *S. pneumoniae* (PSSP:50); ≤0.06 (≤0.06~0.5) *S. pneumoniae* (PRSP:50); 0.5 (≤0.06~4), *H. influenzae* (50); 0.13 (≤0.06~2), *E. coli* (50); ≤0.06 (≤0.06~0.13), *K. pneumoniae* (100); ≤0.06 (≤0.06~16), *P. aeruginosa* (50); 8 (1~32)であった。比較薬剤についても検討したので、合わせて報告する予定である。

（まとめ）CFSLをはじめ測定した薬剤に対する主要分離菌の薬剤感受性は、ここ3年間に著しい変動を認めた菌種はなかった。なお、毎年、同時期、同地区に限定して、感受性の測定を行って来たが、今後も継続の予定である。

Cefdinir (CFDN) を含む各種経口β-ラクタム薬の抗菌力の比較

藤沢薬品工業株式会社 開発本部

横田好子

株式会社ビー・エム・エル 総合研究所

小川美保 岩井有紀 江田孝志 星野和夫

中村貞博 瀬戸 勇

【目的】抗菌薬は感染症の治療というメリットをもたらす代わりに、乱用は耐性化を引き起こす原因にもなる。従って、開発当時の感受性が何年も継続される保障はなく、臨床分離菌の薬剤感受性の動向を定期的に監視する必要がある。そこで、ここ数年の間に上市された経口セフェム薬と、日常診療に頻用されている薬剤を対象に、主要起炎菌に対する抗菌力を測定したので報告する。

【方法】1996年に分離された臨床分離菌について、化学療法学会標準法の寒天平板希釈法に従いMICを測定した。使用薬剤は、cefdinir (CFDN), cefixime (CFIX), ceftoram (CFTM), cefpodoxime (CPDX), cefditoren (CDTR), cefcapene (CFPN), cefotiam (CTM), cefaclor (CCL), amoxicillin (AMPC), faropenem (FRPM) の10薬剤で、エステル薬の原体については、藤沢薬品・化学研究所で合成し、力価の明らかなものを使用した。なお、CFDNについてはマイクロブロス法でもMICの測定を行い、両法の相関性についても検討した。

【結果】寒天平板希釈法によるCFDNのMIC80とMIC rangeは、*S. aureus* (MSSA, 50株) ; 0.39 μg/ml (0.2-0.39 μg/ml), *S. pneumoniae* (PSSP, 49株) ; 0.1 (≤0.05-0.78), *M. catarrhalis* (48株) ; 0.2 (≤0.05-0.2), *H. influenzae* (48株) ; 0.39 (0.1-6.25), *E. coli* (50株) ; 0.2 (≤0.05-3.13), *K. pneumoniae* ; 0.1 (≤0.05-0.78)であった。上記10薬剤の抗菌力の比較を行った成績を報告する。なお、CFDNについては寒天平板希釈法とマイクロブロス法の測定法によるMICの相関は良く一致していた。

【まとめ】多数の薬剤について、同一条件下で測定したデータは真の抗菌力を比較する上で貴重なデータと考える。

PBP_s に対する結合親和性から見た多変量解析によるβ-ラクタム薬の評価

帝京大学医学部臨床病理

○ 生方 公子, 五十嵐 厚美, 村木 智子,

旭 泰子, 紺野 昌俊

【目的】Sprattらによって開発された細菌細胞のPBP_sに対する各種β-ラクタム薬の結合親和性の検討は、その評価に役立てられている。しかし、その評価は各PBPそれぞれに対する親和性についての評価に留まっており、各PBPに対する総合的な結合状況から、それぞれのβ-ラクタム薬の特性を評価するまでには至っていない。本研究は各PBPに対するβ-ラクタム薬の結合状況を多変量的に検討し、各種β-ラクタム薬が各種細菌に対して示す差異性を評価しようとしたものである。

【方法】被験菌は大腸菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌の3菌種、β-ラクタム薬はpenicillin系、cephem系、carbapenem系およびpenem系を含む16薬剤である。これらの薬剤を各細菌に対するMICを中心に、その前後に2²の5段階の濃度で膜面分に加え、型の如くに[³H]benzylpenicillinで飽和した後にSDS-PAGEを行い、fluorography操作後各PBPのdensityを測定し、薬剤の結合状況を測定した。一方、使用した細菌についてはMICの他に薬剤処理時の菌の形態変化や殺菌曲線を測定した。そしてMIC、菌の形態変化、あるいは殺菌効果を目的変数、各PBPに対する各薬剤の結合状況を説明変数とする多変量的解析を行った。

【結果】いずれの細菌においても、目的変数に有意な説明変数を求めることができた。例えば、大腸菌については、従来β-ラクタム薬のMICはPBP1Bと強く相関するといわれてきたが、多変量解析によるとPBP1B+PBP4とPBP3とPBP2が有意な偏相関係数を以って関わっていることが示された。これらの結果のすべてを時間内に提示することは不可能と考えているが、統計学的手法を用いたこのような検討方法は、今後のβ-ラクタム薬開発の上でその評価に役立つと考えられたので報告する。

IMP-1型メタロβ-ラクタマーゼ産生菌の解析
 《Pseudomonas aeruginosaの検討》

国立感染症研究所 細菌・血液製剤部
 保健科学研究所 第四検査部^{*)}
 黒川博史、山田光男^{)}、荒川宜親

我々は、IMP-1型メタロβ-ラクタマーゼ産生菌の調査の過程において、*Serratia marcescens*の予備調査(調査概要:1996年1月~1997年8月に臨床分離された3,222株のなかから141株(14都県32施設;4.4%)の bla_{IMP} (IMP-1型メタロβ-ラクタマーゼ産生遺伝子)陽性が確認された。:第44回日化学療法学会東日本支部総会における報告以降の再実験分の結果を含む)から、 bla_{IMP} 獲得耐性菌の、全国規模の広がり、院内感染的な検出施設の増加、多剤耐性化などの注目すべき実状を確認し、本耐性菌の重要性を明らかとした。さらに、我々が保管するカルバペネム剤低感受性や広域セフェム剤多剤耐性のグラム陰性菌(*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* sp., *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas putida*)から bla_{IMP} 陽性株を確認し、広く菌種間に伝播していることが確認された。今回、本酵素産生菌として、*S. marcescens*とともに注目されている*P. aeruginosa*に関する調査を報告する。

【材料・方法】

1997年12月に臨床分離された、2,533株(300施設)を調査対象とした。PCR対象株を以下の条件によって選別した。

- ・TIPC:>128 μg/ml, CVA/TIPC:>128 μg/mlである、
- ・SBT/CPZ:>64 μg/mlである、
- ・CAZ:>32 μg/ml また CAZ:S32 μg/mlはIPM:≥16 μg/mlであること。

MIC値測定は、日本化学療法学会標準法に準じ微量液体希釈法で実施した。

【結果・考察】

PCR対象株が、18都道府県48施設から88株(3.5%)確認された。材料別では、喀痰:37株、咽頭液:2株、鼻腔:2株、舌部:1株、尿:34株、便:1株、膿など:10株、血液:1株であった。また、入院患者由来が84株であった。

調査内容およびPCR法結果などの詳細については、総会において報告する。

メタロβ-ラクタマーゼ検出法についての検討
 昭和薬品化工(株)開発研究部¹⁾
 熊本労災病院 検査科²⁾
 北里大学 医学部 微生物³⁾
 ○小磯 剛^{1, 2)}、佐藤泰彦²⁾、岡本一³⁾
 井上松久³⁾

【目的】近年、メタロβ-ラクタマーゼ産生菌が数多く分離されるようになり、関心が高まってきている。その検出法としては、UV法での酵素活性による確認や、PCR法による産生遺伝子の検出がある。しかし、これらの方法を日常検査として行うことは難しいと考えられる。そこで、メタロβ-ラクタマーゼの簡便な検出法について検討を行った。

【方法】臨床より分離された*S. marcescens* 27株を使用した。MICの測定は寒天平板希釈法によった。検討した方法は、ディスク拡散法を応用し、試験菌株を接種した培地上にカルバペネム系薬剤ディスク(薬剤ディスク)と、EDTAを含浸させたディスク(EDTAディスク)を一定の距離で配置し培養した。メタロβ-ラクタマーゼ産生菌の場合、EDTAによりその活性が阻害されるため、薬剤ディスクとEDTAディスクとの間に、相乗的な発育阻止帯(相乗作用)が出現すると考えられる。また、一部の試験菌株については、PCR法およびUV法も実施した。

【結果】*S. marcescens* 27株中10株でIPMのMICが≥16 μg/mlを示す耐性菌であった。今回検討したディスク拡散法では、IPMに耐性を示した10株で相乗作用が確認された。一方IPM感受性菌では、相乗作用は確認されなかった。そこで、相乗作用が確認された10菌株と確認されなかった一部の菌株について、PCR法およびUV法を行った結果、相乗作用が確認された菌株は産生遺伝子とIPMの加水分解が確認された。

【考察】EDTAディスクを使用するディスク拡散法の応用で、メタロβ-ラクタマーゼの検出が可能であることが示唆された。

E. cloacae 由来 Class C 型 β -ラクタマーゼ多量産生変異株の遺伝解析

北里大学医学部微生物

○久我明男, 岡本了一, 佐藤優子, 井上松久

【目的】染色体性の class C 型 β -ラクタマーゼの構造遺伝子 *ampC* は多くの制御遺伝子によって制御されている。そのうち、*ampR* は *ampC* の発現に直接関与している遺伝子である。今回、我々は第三世代セフェムによって選択された酵素多量産生変異株における *ampC*、*ampR* の解析を行った。

【方法】① *E. cloacae* の *ampC*、*ampR* を含む領域を pACYC184 にクローニングして pMS161 を作成し、pMW218 にサブクローニングして pKU403 を得た。② AZT を 4~16MIC で、得られた変異プラスミドを pKU405 とした。pKU403 及び pKU405 由来の *ampR* を欠損させ、それぞれ pKU404、pKU407 とした。これらの酵素活性を UV 法により測定した。③ pKU403、405 の *ampC* 及び *ampR* の変異部位の検討をした。

【結果】AZT における耐性変異株は 4MIC (2 μ g/ml) で 4.6×10^{-6} 、8MIC で 3.1×10^{-6} 、16MIC で 1.7×10^{-7} の頻度で得られ、これらの変異株の MIC は 8-32 μ g/ml であった。変異株由来の pKU405 の酵素活性は元株 pKU403 に比べ、非誘導時では約 250 倍、誘導時 (IPM) では約 25 倍上昇していた。*ampR* を欠損した pKU404、pKU407 の酵素活性はいずれの株でも同じレベルであり、pKU403 の非誘導時の 2 倍の酵素活性を示した。以上の結果から pKU405 の変異部位は *ampR* 領域にあるものと推定された。次に *ampC* 及び *ampR* の遺伝子解析を行った結果、*ampR* 中の 1 塩基が変異し、アミノ酸配列で Asp-136 \rightarrow Asn の変異であった。これらの結果は酵素の多量産生変異株出現の理由の 1 つとして *ampR* の変異が関わっていることが示唆された。

IPM 分解性メタロ β -lactamase 産生大腸菌における β -ラクタム剤耐性発現について

富山化学工業株式会社 総合研究所¹⁾、
群馬大学医学部 薬剤耐性菌実験施設²⁾

○松村尚樹¹⁾、杉山寛行¹⁾、米沢爽¹⁾、南新三郎¹⁾、
渡辺泰雄¹⁾、伊藤部志津子²⁾

【目的】細菌菌における伝達性プラスミド由来 IPM 分解性メタロ β -lactamase (IPMase) の産生が三橋らによって初めて確認されて以来、大腸菌を含む各種腸内細菌においてもその存在が報告されている。また、IPMase 産生細菌菌では、外膜透過性が阻害された場合に IPM 高度耐性となることが明らかにされている。今回、我々は IPMase 産生大腸菌の β -ラクタム剤耐性発現に関与する因子を考察するために、薬剤の IPMase 安定性および外膜透過性と MIC の変化との関係を検討したので報告する。

【方法】*S. marcescens* W-313 由来の IPMase 遺伝子を有するプラスミド pSK313 を感受性株 *E. coli* MC4110 に導入し、日本化学療法学会標準法に準じて MIC を測定した。 β -ラクタム剤として、GER、GAZ、MEPM、PIPC を使用した。精製酵素を用い Lineweaver-Burk plots 法により K_m および GER の V_m を 100 とした相対 V_m を求め、相対 V_m/K_m を算出した。pSK313 の IPMase 遺伝子を pHS398 ベクターにクローニング (pHE313) し、MC4110 を形質転換した株を用いて、Zimmermann-Roscoelet の方法に従い外膜透過定数を求めた。

【結果】*E. coli* MC4110/pSK313 に対する PIPC、GAZ および MEPM の MIC はそれぞれ 1.56、50、0.39 μ g/ml であり、プラスミド導入前に比べてそれぞれ 2、9、5 倍上昇した。PIPC、GAZ および MEPM の相対 V_m/K_m 値はそれぞれ 0.13、0.14 および 3.21 で、IPMase に対する安定性は PIPC>GAZ>MEPM の順に、また、外膜透過定数はそれぞれ 3.00、0.304、2.79 であり、透過性は PIPC>MEPM>GAZ の順に優れていた。

【考察】今回の検討では、IPMase に対する安定性が同程度の場合 (PIPC と GAZ) には外膜透過性の違いが、また、外膜透過性が同程度の場合 (PIPC と MEPM) には IPMase に対する安定性の違いがそれぞれ MIC の変化に反映したと考えられた。現在、他の薬剤でも検討中であり、その結果も併せて考察する予定である。

主要臨床分離株の材料別 β -lactamase 産生性と
各種抗菌薬ディスク感受性

三菱化学ビーシーエル・化学療法研究室
○松崎薫、内野卯津樹、村岡宏江、雑賀威、
金山明子、長谷川美幸、大澤宏充、小林真話

【目的】全国から収集した主要臨床分離多数株の β -lactamase 産生性を調査し、臨床材料別に解析を行い各種 β -lactamase 薬ディスク感受性を測定し検討を行った。

【材料と方法】試験菌株として1997年5月から11月の間に全国の医療施設より収集した各種臨床材料から分離した *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* および *Moraxella catarrhalis* 各200株、計1200株を用いた。

β -Lactamase 産生性は β チェック“アシドメトリーディスク法”(日本生物材料センター)PC, CEの2種類を用いスクリーニングを行った。抗菌薬感受性は昭和1濃度法により測定した。なお、測定に使用した抗菌薬ディスクは SBT/CPZ, CAZ, CTM, CPZ, FMOX, IPM, PIPC, SBT/ABPC の8薬剤である。【結果と考察】各試験菌の β -lactamase 産生性は *E. cloacae* が96%と最も高く次いで *S. aureus* の72.5%、*M. catarrhalis* の57%であった。一方 *H. influenzae* は β -lactamase 産生の24株(12%)全てPC, CE両方で陽性で *S. aureus* はPCのみ陽性株がほとんどであった。また、これらの β -lactamase 産生性は各種臨床材料由来別で大きな差は認められなかった。ディスク感受性成績との関連では MSSA の β -lactamase 産生株に PIPC 低感受性を示す株が多く見られ、*E. cloacae* の β -lactamase 産生株は FMOX 低感受性株が多く存在した。またこれら β -lactamase 産生株を含む各種臨床分離株は SBT/CPZ に対し3+の感受性を示す株が多く存在し、他の抗菌薬の中でも最も良好な成績を示した。*P. aeruginosa* に対しても SBT/CPZ は CAZ, IPM とならび優れた感受性成績で1+, -の耐性株は10%未満と IPM のそれより少なかった。MRSA はいずれの抗菌薬に対しても2+以下で感受性を示す株はほとんど認められなかった。

臨床材料より分離された主要菌種の
薬剤感受性と β -ラクタマーゼ産生性

○中村文子¹⁾ 小栗豊子¹⁾ 三澤成毅¹⁾ 猪狩 淳²⁾
順天堂大学附属病院 臨床検査部¹⁾
順天堂大学 臨床病理学教室²⁾

【目的】近年、臨床分離菌において種々の抗菌薬耐性株が増加しており、特に β -ラクタム系薬では ESBL などの不活化酵素による耐性株が問題となっている。 β -ラクタマーゼ(以下 BL と記す)の検出は、日常の検査において使用抗菌薬を迅速に選択するうえで有用である。そこで臨床材料より分離された種々の菌種について BL の検出を行い、これらの成績と β -ラクタム系薬の MIC との関連について検討した。

【材料および方法】検討に用いた菌種は、1997年の1年間に当院検査部において各種臨床材料より分離された腸内細菌13菌種、ブドウ球菌、腸球菌、*H. influenzae*, *B. catarrhalis* の計300株である。薬剤感受性の測定は、MIC-2000 システムを用いた微量液体希釈法(日本化学療法学会標準法)にておこなった。使用抗菌薬は、PCG, MIPIC, ABPC, CEZ, CMZ, CTM, CTX, CAZ, CPZ/SBT, IPM などを用い、感性、耐性のブレイクポイントは NCCLS の判定基準に従った。BL の検出は、ニトロセフィン法(セフィナーゼ[®]: BBL)とアシドメトリー法(P/Cアーゼテスト[®]: 昭和薬品)にておこなった。

【成績】*B. catarrhalis* は、全ての株が BL 陽性であった。また *H. influenzae* では ABPC 耐性株(MIC 値 $4 \mu\text{g/ml}$ 以上)は全て BL 陽性であった。*E. faecalis* では ABPC 耐性株は認められず、全ての株が BL 陰性であった。ブドウ球菌、*H. influenzae*, *B. catarrhalis* では菌の発育が劣るため、MIC が低い値として判定される場合が認められ、このような例では BL 試験が有用であった。また *E. coli* と *Klebsiella* においては、ESBL 産生株は少ないものと思われた。ニトロセフィン法とアシドメトリー法を比較すると、前者で陽性でも後者で陰性を示す場合が認められた。

【結論】一部の菌種において β -ラクタム系薬の MIC 値と BL 産生性(アシドメトリー法)の不一致例が認められた。

β-ラクタマーゼ検査用剤PCaseTESTの問題点と その改良について

北里大・医・微生物

○岡本了一、小磯 剛、佐藤優子、久我明男、
井上松久

【目的】近年、わが国においてもペニシリン耐性に加えてセフェム耐性大腸菌が臨床分離されるようになった。これら耐性菌は、ESBLs(ES)を含むペニシリナーゼ型(PC)やセファロスポリナーゼ型(CS)の酵素を単数あるいは複数産生している場合が多い。我々は第44回東日本治療総会においてPCaseTEST(PC-TEST)と数種のβ-ラクタム薬のMICから酵素型を鑑別できることを報告した。しかし、PC-TESTにはCS産生菌の一部がPC+CS産生菌として判定される問題点があった。そこで偽陽性反応がおこらないように改良型PC-TESTを考案したのでその有用性を検討した。

【方法】β-ラクタマーゼ産生大腸菌73株を用いた。改良型PC-TESTを用いて産生酵素を分類するとともに、UV法で測定した酵素活性の結果から分類を行い、その両者を比較した。MIC測定は寒天平板希釈法によった。

【結果・考察】①酵素活性測定による73株の産生酵素の内訳は、PC:20株、CS:29株、PC+CS:6株、ES:17株、ES+CS:1株であった。②従来のPC-TESTでは鑑別が困難であったCSおよびPC+CS産生株35株について改良型PC-TESTでは100%鑑別可能であった。③PC産生株とES産生株、あるいはPC+CS産生株とES+CS産生株は改良型PC-TESTではそれぞれPC産生株あるいはPC+CS産生株として同定されるが、PC産生株とES産生株はCefepime(CFPM)のMICにより鑑別可能であった。すなわちMIC $\geq 2\mu\text{g/ml}$ の場合にはES産生菌と同定できた。④酵素活性測定による同定結果と改良型PC-TESTとCFPMのMICによる同定結果の一致率は98.6%であった。以上の結果から改良型PC-TESTはβ-ラクタマーゼの迅速診断法として用いることができると考えられる。

高齢者深在性カンジダ症の臨床病理学的検討

名古屋市厚生院 内科¹⁾, 外科²⁾

○山本俊信¹⁾, 鈴木幹三¹⁾, 鳥居正芳¹⁾,
山本俊幸¹⁾, 真下啓二²⁾, 品川長夫²⁾

【目的】高齢者深在性カンジダ症は、終末期感染のことが多く、その診断は困難であり、治療に難渋することが多い。今回私共は、高齢者における深在性カンジダ症の実態を明らかにする目的で臨床病理学的検討をおこなった。

【対象・方法】1989年1月から1997年7月までの8年7ヶ月間に当院で施行した65歳以上の剖検533例(男220例, 女313例, 平均年齢84.3歳)の中で病理組織学的に深在性カンジダ症と診断した22例(4.1%)を対象に、その臨床病理学的な背景を検討した。

【結果】1)22例の患者背景は、男8例, 女14例, 平均年齢は84.0歳、「寝たきり」の症例を13例(59.1%)に認めた。中心静脈カテーテル, 尿路カテーテル, 死亡前4週間の抗菌薬投与歴は全例に認め、人工呼吸器装着6例, ステロイドの投与6例, 手術後の症例4例などであった。2)基礎疾患は全例に認め、脳血管障害後遺症14例, 心疾患8例, 呼吸器疾患8例の順で、悪性腫瘍4例(胃癌, 直腸癌, 胆嚢癌, 胸腺癌), 悪性腫瘍術後3例, 糖尿病3例などであった。3)深在性カンジダ症の頻度を年齢別に比較すると(カンジダ症例/剖検例), 65-74歳2/85(2.4%), 75-84歳9/185(4.9%), 85-94歳9/197(4.6%), 95歳以上2/66(3.0%)であった。4)病理学的にカンジダを認めた臓器数は、1臓器5例, 2臓器1例, 3臓器6例, 4臓器6例, 5臓器3例, 6臓器1例であった。5)病理学的にカンジダを認めた臓器は、腎臓19例, 心臓18例, 脳17例, 肺6例, 甲状腺6例などの順であった。5)主な病理死因は、播種性カンジダ症10例, 肺炎(カンジダ以外)3例, 悪性腫瘍2例, 脳出血2例などであった。

【考案】高齢者深在性カンジダ症の背景要因として、基礎疾患の存在, 中心静脈や尿路カテーテルの留置, 抗菌薬の投与などが重要であった。また、血液疾患を基礎疾患に持たない高齢者深在性カンジダ症では、消化管の病変の頻度は少ないと思われた。

慢性リンパ性白血病の化学療法時に発症した放線菌症の一例検例

福井医科大学第一内科

○井上 仁, 三崎裕史, 岩崎博道, 吉尾伸之, 浦崎芳正,
福島俊洋, 津谷 寛, 上田孝典

深在性真菌症は日和見感染症として増加傾向にあり、また菌種も経時的に変化している。一方造血器腫瘍に対する抗腫瘍剤やステロイド剤を用いた化学療法下での発症は生命予後を大きく左右する。今回われわれは、慢性リンパ性白血病の化学療法時に放線菌症を併発した症例を経験したので報告する。
症例は66歳の女性で1994年2月皮疹が出現し近医受診した際に白血球が増加していたため当科へ紹介され慢性リンパ性白血病と診断された。1996年8月より腹部膨満感出現したため入院となった。入院時は意識清明で肺音は両下肺野にfine crackleを聴取した。腹部は、肝4横指、脾を3横指触知し表在リンパ節は両側頸部、腋窩部及び鼠径部に多数触知した。検査成績ではWBC $11.6 \times 10^4 / \mu\text{l}$ でLymph $7.6 \times 10^4 / \mu\text{l}$ と著明なリンパ球増加を認めた。CRP $3+$ 、免疫グロブリン分画には異常なかった。CAP療法(Cyclophosphamide + Adriamycin + Dexamethasone)3コース施行により原疾患に対するコントロール良好となったが、同時に右上下顎歯肉痛及び舌に白苔を認めるようになった。カンジテックは陰性であった。やがて頭部や前胸、上腕に隆起性皮疹が出現したため皮膚科にて皮膚生検を施行したところ肉芽腫性病変を認めた。また、CAP療法4コース目開始後肺炎の出現を認めAMK+PIPC+FLCZを投与したところ改善した。その後、中枢神経浸潤をきたし放射線療法を施行した。この間MINO+SBT/CPZを使用したのが両側下肺野に肺炎像を認めた。喀痰からは、緑膿菌及び肺炎球菌が検出されたため感受性のあるCZOP+CAZ+AZTに変更するも肺炎像はさらに増悪し原疾患の悪化とDICの合併等により死亡した。剖検が許され両肺に多発性放線菌のコロニ-が確認されたことにより、最終時の難治性肺炎及び口腔内、皮膚を含む全身性の感染が示唆された。放線菌症は当院開院後14年間の剖検888例で初めてであった。放線菌症は健康人でも口腔内に認める内在菌とされるが、抗菌療法の発達によりこれまでは報告が少ない。しかし、近年エイズや化学療法時の免疫低下状態での報告が散見される。喀痰培養からは検出が困難であり、切除標本や剖検により初めて見つかることも多く、今後留意すべきであると考えられた。

地球温暖化が日本のAnisakid感染症に及ぼす影響と同感染症の化学療法の基礎的実験の結果に就いて

札幌医科大学医学部病理学教室 寄生虫病学研究室¹⁾、札幌医科大学医学部附属病院臨床病理部²⁾
○石倉 肇¹⁾、高橋秀史²⁾

Anisakid 感染症 (Ad 症) の検討は、1958 年以来毎年 の発生数を調査、1997 年国内 32,266 が集計されて いる。そして 1983 年以降論文報告の例では 1994 年 までは年平均 2,000 例であったがそれ以降は特に九州 地方が強く減少した。1994 年までは、太平洋の温寒 流の接点のわずかの移動、その他中間宿主の季節的回 遊の変化や特に北方では anisakidae ((*A. simplex*), *Pseudoterranova decipiens* (*P. decipiens*)) の成虫で ある marine mammals 特に *P. decipiens* の終宿主で あるトドの回遊の変化が pseudoterranovosis (Pd 症) の発生に重大な影響があった。数年前より CO₂ の汚 染が国内の空と海で目立ち、その放出を抑制する必要 が生じた。ところが CO₂ の放出では偏西風によって 日本に 45 倍に及ぶ中国放出の CO₂、ダイオキシンや、 上流で放出された生活用水の汚染物質とそれが原因で 死んだ淡水魚が黄河から流れ出て黄海を汚染し、その 海水中にエルニーニョ現象で迷った多数のマイワシが 侵入し全滅し、これが黄海より東シナ海を埋め沖縄と 南シナ海をも汚染してしまった。その他中間宿主の変 化に日本で発生した Ad 症 Pd 症変遷について述べる。

続いて Ad 症の化学物質の治療実験について述べておく。 即ち Ruitenber g の寒天培地に幼虫を侵入させる方法 で化学物質は alcohol, allyl- & phenyl-isothiocyanate と胃液 (pH3.25) の混合液、酵素 (ジアスターゼ、他 2 種) (試験管内)、1, 4, 5, 6-tetrahydro-1-methyl-2- [(2-thienyl) vinyl] phrimidine pamoate で用いた 動物は (経口、腹腔内、開腹腸漿膜下) *A. simplex* 幼虫冷結乾燥粉末、粗抗原、Es 抗厚であった。その 結果及び効果の条件などについて述べる。しかし治療 より予防が大切で、国家的に老人等の医療費の赤字問 題がある。現在、オランダの如く魚介の水際に於ける 凍結法の法規制を行うべきである。学会はこの点で団 結してマスコミを動かす事を期待する。

アニサキ亜科線虫の特異的単クローン抗体の樹立とアニサキ症血清診断への応用

札幌医科大学医学部附属病院病理部¹⁾, 札幌医科大学医学部病理学寄生虫学研究室²⁾
○高橋秀史¹⁾, 石倉 肇²⁾

アニサキ症の原因線虫として、*Anisakis simplex* (*A. simplex*), *Pseudoterranova decipiens* (*P. decipiens*), *Contracaecum osculatum*, *Histerythylacium aduncum*, *Porrocaecum reciculatum*, などが知られている。北海道では、*A. simplex* について *P. decipiens* によるものが多く、アニサキ症の 20~30% が *P. decipiens* によって発生している。私共は、*A. simplex* 特異的な単クローン抗体 An2 を応用し、この抗体で抗原を精製し micro ELISA による健康保険適応の腸アニサキ症の血清診断キットを樹立した。1995 年以来 5,000 例以上の症例に用いられ、約 43% の陽性率を示した。しかし、この抗原は *A. simplex* に特異的であり、*P. decipiens* には認められず、*A. simplex* の腸アニサキ症の診断に有効だが、*P. decipiens* によるブソイドテラノーバ症では適切な血清診断法がない。そこで将来的な *P. decipiens* を含めたアニサキ症の血清診断法の樹立と虫体同定を目的として、*P. decipiens* に対する単クローン抗体の樹立を試みた。北海道産の鱈から、腸盲嚢などの形態学的特徴により *P. decipiens* 幼虫を採取し、粗抗原としてマウスに免疫し、hybridoma を樹立、*P. decipiens* 抗原による ELISA にてスクリーニングした。その結果 30 種あまりの単クローン抗体が樹立され、*P. decipiens* と *A. simplex* 共に反応する抗体と *P. decipiens* に反応するが *A. simplex* に反応しない抗体の 2 種類の単クローン抗体が得られた。これらの抗体に反応する抗原の解析とその応用による、血清診断の可能について報告する。

消化器外科領域における真菌感染偽陽性患者に対する至適抗真菌剤投与に関する検討

鳥取大学第一外科
○金子徹也、小林誠人、貝原信明

消化器外科領域における深在性真菌症に対する関心は少しずつ深まりつつあるが、特に *compromized host* では早期診断や適切な治療がなされずに致命的になりうることも少なくない。近年、感染症領域にも分子生物学的手法が導入され真菌感染症もその例外ではない。臨床においては真菌感染症を疑う症例がほとんどで、迅速な確定診断は容易ではないことが多い。

【目的】CAND-TEC 2 倍を真菌感染偽陽性症例とし、無作為試験にて真菌感染偽陽性症例に対する抗真菌剤投与の必要性を検討するとともに、分子生物学的検討を加えその診断および治療の問題点を検証した。

【方法】1995年1月より1997年12月まで鳥取大学第一外科にて経験したCAND-TEC 2 倍を真菌感染偽陽性症例とし、ファンギテックGテスト、エンドトキシンを測定した。同時に、無作為に抗真菌剤投与群、非投与群に分け、偽陽性例に対する抗真菌剤治療の効果、必要性を検討した。抗真菌剤の投与は7日間を原則とした。最近の症例に対しては全血、血清採血に対して *nested PCR* を行い迅速真菌血症の分子生物学的診断とした。【結果】期間中のCAND-TEC 2 倍陽性例は51例であり、抗真菌剤使用例27例、非使用例24例であった。背景因子では年齢、性別、手術、抗生物質の使用期間、数に両群間に差は認められなかった。抗真菌剤使用前の β -D-グルカン値、エンドトキシン値 (トキシカラー、エンドスペシー) にも差はなかったが、非投与群の8例に発熱の持続が認められた。いずれも経過を通じて β -D-グルカン値は10 pg/ml以上であった。背景として腹膜炎手術後、肝硬変合併例、膵頭十二指腸切除後、緩和医療期等と *immunocompromized* な状態であった。一方、抗真菌剤投与例には増悪傾向は認められなかった。CAND-TEC 2倍9症例における *nested PCR* では *Candida albicans* は検出できなかった。

【結語】CAND-TEC 2 倍の偽真菌陽性例にも抗真菌剤を投与しなければ症状が増悪する症例があることが判明した。いずれも *immunocompromized host* であったが、 β -D-グルカン値は10 pg/ml以上であった。真菌感染偽陽性患者に対する迅速早期診断においての *nested PCR* は、検出感度、primerの設定等に問題が残された。

深在性真菌症起因菌同定診断（検出）用
プライマーシステムの開発

帝京大学医真菌研究センター
○横村 浩一、内田 勝久、山口 英世

深在性真菌症例は今日も増加の一途にあるが、その臨床的対策は未だに途上である。現在使用されている抗真菌剤が広い抗真スペクトルを持つことから、臨床的真菌症対策上差し迫って要求されているのは、早期治療につながる迅速診断法の確立である。真菌症鑑別のための検査法としては、血漿を検体として(1-3)- β -D-グルカン測定するキットがあり、臨床的要請に充分応えられるレベルに達している。しかし、 β -グルカン測定系では一部真菌の検出が不能であり、また菌種同定が必要となった場合には無力である。この問題点を解決するために、迅速、高感度で特異性の高い検査法として、真菌症遺伝子診断法の確立が求められている。そこで我々は、第一段階のPCRによって真菌症の鑑別診断（深在性真菌症起因菌を含む多菌種の真菌検出・同定）、第二段階のPCR (nested PCR)によって属レベル・菌種レベルの同定が可能なPCRプライマー・システムを開発した。各々のプライマーは、演者らが既に報告した真菌症鑑別診断用PCRプライマー対(B2F, B4R)に挟まれた領域の、18S rDNA上に設計した。システム全体は3群のプライマー対：1) 真菌特異的プライマー対、2) 属特異的プライマー対（例、*Candida*属、*Aspergillus*属）、3) 菌種特異的プライマー対（例、*Cryptococcus neoformans*、*Candida glabrata*）より構成され、真菌界レベルから、属レベル、菌種レベルまでの段階的同定が可能となった。

このシステムの応用範囲は広く、単独使用によって、真菌の検出と菌株の同定を迅速正確に行うことができる。さらに、真菌特異的プライマー対による増幅産物に対して、属・種特異的プライマーを用いたnested PCRを行うことによって、単独のPCRに比較して微量検体からの高感度の検出が可能となり、その結果、検体としては、血清を含むすべての臨床検体、パラフィン切片を含む保存標本が利用可能となった。各種臨床検体に対する本法の適用例についても、併せて報告する。（会員外共同研究者：田村 美子）

外科における真菌血症PCR診断の臨床応用

和歌山県立医科大学第2外科
○紺谷忠司、谷村 弘、角田卓也、木下博之

（目的）深在性真菌症に対して臨床的に有用性の高い診断法を確立するために、われわれは、臨床検体に対するPCR法を用いた分子生物学的診断と血液培養や血清学的診断など従来の検査法と比較検討した。PCR診断の定量化は、competitorを新しく作製してcompetitive PCRを行った。

（方法）1) 臨床分離真菌の*C.albicans*、*C.glabrata*、*C.parapsilosis*、*C.tropicalis*、*C.kruzei*とヒト血液の混合物よりDNAを抽出し、*Candida sp.*の18s rRNAのV4regionに対するprimerを用いてPCRを行えば、5種類の*Candida*より明らかなPCR産物が得られ、真菌特異的であった。2) 不明熱をきたした66例の血液100検体に対し、PCR診断、血液培養、Cand-Tecおよび β -D-グルカン値の測定を行った結果、PCR陽性率は26%であったのに対し、血液培養で*Candida*陽性と判定されたのは5.7%であった。血液培養やPCR診断が陰性であるにもかかわらず、肝や腎の機能障害を有する症例では β -D-グルカン値が高くなる傾向を示した。3) PCRで陽性と判定され、fluconazole投与後陰性化した症例は7例あった。そのうち4例は β -D-グルカン値が正常であったことから、従来の検査法に比べPCR診断が有用であるといえる。4) target DNAに対するprimerを伸長し、competitor作製のprimerとして、全長227bpのheterogenous DNA competitor (comp V4)を作製した結果、定量測定が可能となった。（結語）従来の検査方法と比較し、PCR診断は臨床的に有用であった。今後は、多くの臨床検体に対してcompetitive PCRを行い、定量的診断を確立する必要がある。

抗真菌療法に対する血清(1→3)- β -D-グルカン値の反応性についての臨床的検討

川崎医科大学呼吸器内科

○吉田耕一郎、渡邊信介、中島正光、
二木芳人、松島敏春

【目的】血清(1→3)- β -D-グルカン(β -グルカン)は深在性真菌症の早期診断の観点から大変有用な検査で、既に広く臨床に応用されている。しかし血液透析患者や血漿分画製剤投与中の患者においては、偽陽性が存在することも確認されており、治療経過を追う場合など、その判断に注意を要することも少なくない。今回、我々は治療に対する β -グルカン値の推移を追い、その臨床背景や真菌抗原価と比較し、 β -グルカンの抗真菌療法に対する反応性について検討した。

【方法】川崎医科大学で診断された深在性真菌症の患者を対象として、その患者背景、臨床経過、炎症反応、胸部X線写真、種々の真菌抗原価などをレトロスペクティブに β -グルカン値と比較、検討した。 β -グルカンは生化学工業 GテストMK、和光純薬 β -グルカンテストワコーを用いて測定した。

【結果】 β -グルカン値は、多くの深在性真菌症例の治療経過をよく反映しており、他の炎症反応、胸部X線写真、真菌抗原価などと同様の推移を示していた。しかし、治療により真菌症が改善したと考えられた症例においても、依然、高値を示す症例が若干認められた。

【結論】検討症例中に認められた β -グルカン持続異常高値例は、現時点で知られる β -グルカン偽陽性の要因のみでは説明し難く、今後、さらに検討の必要がある。しかし、 β -グルカンは概ね深在性真菌症の臨床経過をリアルタイムに反映しており、治療効果の判定や薬剤中止の指標としても有用であると考えられた。

Malassezia 属酵母の薬剤感受性

帝京大学医真菌研究センター

○内田勝久、横村浩一、山口英世

Malassezia 属酵母は、健康人の皮膚に常在し正常菌叢を構成する一方、癬風、脂漏性皮膚炎、毛包炎およびアトピー性皮膚炎等の起因菌として知られている好脂質性酵母である。近年とくに易感染疾患において本菌による全身感染症が多数報告されるようになった。本菌属の分類については、従来の表現型に基づいて *M. furfur*、*M. pachydermatis* の2菌種からなるとされていた。しかし最近rDNAまたはrRNAの部分塩基配列に基づく分子系統分類から新たに *M. slooffiae*、*M. sympodialis*、*M. restricta*、*M. globosa*、*M. obtusa* が加えられ、現在7菌種に再分類されている。各菌種の疾患との関連性については未だ不明であり、一つの疾患に関連する菌種は必ずしも単一でないようである。一方、*Malassezia* 属酵母の感受性試験法は、*M. pachydermatis* を除くすべての菌種が発育に脂質を要求するため酵母の標準法がそのまま適用できないことが理由となって未だ確立されるに至っていない。

われわれは *Malassezia* 属酵母の薬剤感受性試験法の標準化を目指して、癬風、脂漏性皮膚炎またはアトピー性皮膚炎の患者および健康人分離菌46株 (*M. sympodialis* 21株、*M. furfur* 16株、*M. globosa* 5株、*M. slooffiae* 4株) を用いて、bifobazole(BFZ)、miconazole(MCZ)、ketoconazole(KCZ)、fluconazole(FLCZ) の4薬剤に対する感受性をDixon培地による寒天平板希釈法により測定した。その成績に基づいて4菌種間の感受性を比較した結果、次の傾向がみとめられた。*M. sympodialis* \approx *M. globosa* $>$ *M. furfur*、また *M. slooffiae* は、KCZとFLCZに対して *M. sympodialis* と同様の感受性、BFZに非感受性、MCZには *M. furfur* に近似の低感受性を示した。試験菌株数が不十分のため結論は導けないが、菌種によっては特定の薬剤についてのみ異なる感受性を示す可能性が示唆された。

胃・大腸癌の術後補助化学療法における
組織培養法抗癌剤感受性試験 (HDRA) の有用性

栄研化学 (株)¹⁾、慶應義塾大学医学部²⁾、
○古川智子¹⁾、久保田哲朗²⁾、湯浅智子¹⁾、
矢野喬史¹⁾

【目的】胃・大腸癌の術後補助化学療法の薬剤選択の指標として組織培養法抗癌剤感受性試験 (Histoculture Drug Response Assay ; HDRA) の有用性を検討した。

【方法】1994年4月より1997年12月までに関東・東北地区の施設より採取された胃癌235検体、大腸癌236検体を対象とした。無菌的に採取された組織をHanks'液中に保存し4℃にて48時間以内に当検査所まで輸送した。組織を約1-2mm角に細切しコラーゲンゲルの上に静置し、所定の濃度の抗癌剤を含有した20% FCS RPMI 1640を用いてCO₂インキュベーター中で7日間培養した。4種類の抗癌剤および接触濃度は既報、累積有効率曲線により設定されたカット濃度を用い、マイトマイシンC(MMC) 2 μg/ml、5-フルオロウラシル(5-FU) 300 μg/ml、シスプラチン(DDP) 20 μg/ml、7-トリマイシン(ADM) 15 μg/mlとした。さらにSN38 0.2 ~ 1 μg/mlと胃癌に対してピラルビシ(THP) 17 μg/mlを追加した。培養終了時にMTT試薬およびコラーゲンゼ溶液を添加し約16時間反応させた後、メディアムを除去してDMSOにて生成したMTT-formazanを抽出し、540nmの吸光度を測定した。組織1gあたりの対照群に対する吸光度の抑制をInhibition Index(%)で示し、50%以上を感受性ありとした。

【結果および結論】4薬剤のカット濃度に対する感受性陽性率は、胃癌ではMMC 36.4%(76/209)、5-FU 16.8%(31/184)、DDP 8.0%(17/212)、ADM 16.8%(31/184)、大腸癌ではMMC 24.2%(51/211)、5-FU 24.3%(57/235)、DDP 8.0%(17/213)、ADM 12.3%(21/171)でありカット濃度の妥当性が示された。またTHPに関しては濃度をADMと等しく設定して行ったところ感受性陽性率41.7%(35/84)と臨床奏効率と比較して高値であった。SN38に関してはその累積有効率曲線により、SN38 0.4 μg/mlがカット濃度と推測された。胃・大腸癌の術後補助化学療法の薬剤の選択として組織培養法抗癌剤感受性試験の有用性が示唆された。

前治療歴を有する転移性乳癌の制癌剤感受性と抗腫瘍効果

長崎大学医学部第二外科
○岩田 亨、兼松隆之

【目的】前治療歴を有する転移性乳癌において制癌剤感受性試験に基づくinduction chemotherapyを行い臨床効果、予後を検討した。(方法)1992年11月から1997年10月までに治療された転移性乳癌66例中生検可能な体表病巣を有する45例(全例女性)を対象とした。全例がアンストラサイクリン系薬剤による前治療歴を有していた。生検された癌組織を用いてコハク酸脱酸素酵素阻害法で制癌剤感受性試験を行った。制癌剤はアドリアマイシン(ADM)、シスプラチン(CDDP)、5-FU、メソトレキセート(MTX)、エトポシド(ETO)について検討した。薬剤添加濃度は臨床常用量使用時の最高血中濃度の10倍(ADM4 μg/ml, CDDP20 μg/ml, 5-FU100 μg/ml, MTX 4 μg/ml, ETO100 μg/ml)とした。制癌剤無添加群を対照とし、検討群の酵素活性が50%以下へ低下した場合を感受性陽性と判定した。最も高い感受性を示した薬剤の常用量でinduction chemotherapyを行った。CR, PRを有効例, NC, PDを無効例とした。維持療法としてCR例でヒスロンH400mg/body, PR, NC例でエンドキサン100mg/body, ヒスロンH400mg/body, フルツロン600mg/body (low dose CMpF), PD例ではhigh dose chemotherapyまたはlow dose CMpFを行った。(結果)転移病巣数は骨29例, 肺25例, 肝13例, 胸壁12例, 胸膜8例, 心臓3例で, 平均転移病巣数は2.1であった。感受性試験の陽性例は13例(ADM9, CDDP2, ETO4)であった。臨床効果はCR4例, PR10例, NC10例, PD21例であった。1, 2, 3, 4年生存率は有効例で100, 100, 88, 29%, 無効例で36, 20, 10, 0%であった(P<0.001)。予後に関しては臨床効果が, 臨床効果に関しては感受性と心臓転移が有為な因子であった。感受性試験のpositive sensitivity, negative sensitivity accuracy rateは各々73, 97, 89%であった。(結論)前治療歴を有する転移性乳癌に対するinduction chemotherapyにおいて感受性試験は無効な薬剤を選別しうる点で有用性がある。感受性陽性で抗腫瘍効果が得られた例ではlow dose CMpF療法が有効な維持療法である。

抗癌剤感受性試験の結果からみた再発乳癌の化学療法

谷野裕一¹⁾, 櫻井照久²⁾, 古川智子³⁾, 尾浦正二²⁾, 鈴間孝臣¹⁾, 吉村吾郎²⁾, 久保田哲朗⁴⁾, 櫻井武雄²⁾, 内藤泰顯¹⁾ (和歌山医大第一外科¹⁾, 紀北分院外科²⁾, 栄研化学(株)³⁾, 慶應義塾大学外科⁴⁾)

前治療歴を有する再発乳癌では、新鮮症例に対するCAF,CMF療法のような標準的治療の確立が困難である。本報では組織培養法抗癌剤感受性試験(HDRA)を用いて再発乳癌の薬剤感受性を検討するとともに、再発乳癌の治療薬剤選択におけるHDRAの有用性を報告する。【対象・方法】1994年5月～1997年12月に和歌山医大第一外科と紀北分院外科で手術が施行された原発乳癌202例と再発乳癌28例を対象とした。腫瘍片を細切し、24穴プレートのコラーゲンゲル上に静置した。抗癌剤添加の培養液で7日間培養後、MTT法により判定し、抑制率(IR)を算出した。薬剤はADM, 5-FU, MMC, CDDP, taxotere (TXT)を用いた。カットオフIRは、HDRAにおける有効率が単剤投与の臨床奏効率に近似するように設定した。評価可能病変を有する再発17例(肺5, 肝4, 局所8)のHDRAの結果と実際の化療効果を比較した。【結果】HDRAでは、少量の検体で多くの薬剤を検討でき、組織培養であるので、間質の多い乳癌組織の培養に適していた。原発性乳癌に比して再発乳癌のIRはTXTを除く4剤で有意に低かったが、TXTに対する感受性は変わらなかった(下表)。

抑制率(%)	ADM	5-FU	MMC	CDDP	TXT
原発性	60.7±17.4	48.1±21.1	63.8±19.8	36.5±19.6	46.5±20.9
再発	42.1±30.4	38.0±27.0	46.6±28.8	22.3±24.5	45.2±22.8
p (t検定)	0.0001	0.014	0.0001	0.0006	0.69

再発乳癌の85%はCAFによる治療歴があり、CDDPの治療がない症例においてADM,MMCだけでなくDDPの感受性が有意に低下していたことから、CAFがCDDP耐性を誘導した可能性が示唆された。HDRA結果と臨床効果との比較では、真陽性7、偽陽性3、真陰性7、偽陰性0で予見率は82.4%であった。【結論】TXTはCAFと交差耐性を持たず、再発例に対する有用な薬剤であると考えられた。HDRAの化療効果予測率は高く、HDRAの結果に基づいた化学療法は再発乳癌の治療戦略において有用であると考えられた。

高度進行・再発胃癌に対する抗癌剤感受性試験を用いた選択的化学療法の成績

国立病院東京医療センター外科

○磯部 陽、窪地 淳、島田 敦、島 伸吾
慶應義塾大学外科 久保田哲朗

【目的】抗癌剤の奏効率が比較的低いと考えられる高度進行・再発胃癌に対し、抗癌剤感受性試験により選択された化学療法を行い、その成績をprospectiveに検討した。

【対象および方法】対象は胃癌切除不能例、Stage IVb非治癒切除(根治度C)例および術後再発例で、抗癌剤感受性試験にはHistoculture Drug Response Assay (HDRA) (栄研化学)を用いた。手術または生検により原発巣あるいは転移巣から検体を採取し、mitomycin C (MMC), 5-fluorouracil (5-FU), adriamycin (ADM), cisplatin (DDP)の4薬剤に対する感受性を測定して、Inhibition Index 50%以上を陽性と判定した。抗癌剤は、感受性陽性例には陽性薬剤を単独または併用療法で投与し(感受性群)、陰性例には低感受性薬剤からなる標準的regimenか無投与を選択する(低感受性群)ことを原則として、両群の生存期間を比較した。

【結果】35例(進行25例、再発10例)が集積し、HDRAの判定可能率は85.7%であった。各薬剤に対する陽性率は、MMC 41%、5-FU 29%、ADM 32%、DDP 17%で、全体としての感受性率は53%であった。感受性群の全例に陽性薬剤が投与され、低感受性群との間に、年齢、性、performance status (PS)、組織学的分化度、進行/再発、腫瘍の遺残部位等の背景因子の差は認めなかった。感受性群と低感受性群の50%生存期間は9.8か月および4.7か月であり、感受性群の生存期間が低感受性群に比して良好であった(p=0.02)。また、各薬剤の総投与量を含む背景因子を説明変数としてCoxの重回帰分析を行うと、PS (p<0.0001)と抗癌剤感受性(p=0.02)のみが予後要因として有意であると選択された。

【結語】以上より、抗癌剤感受性試験により選択された化学療法が、高度進行・再発胃癌症例の生存期間を延長することが示唆された。

大腸癌のDoxorubicin感受性とP-glycoprotein発現

和歌山県立医科大学第2外科

○堀田 司、谷村 弘、山上裕機、岩橋 誠、
角田卓也、谷 眞至、野口浩平、溝端静馬、
有井一雄、西本憲生、中森幹人

(目的) 大腸癌は消化器癌のなかでも効果が期待し難い腫瘍である。消化器癌に対して頻用されてきたDoxorubicin (DOX)の耐性には、多剤耐性遺伝子(mdr1 gene)によりcodeされるP-glycoprotein (Pgp)が関与している。

今回、ヒト新鮮分離大腸癌細胞におけるPgp発現とDOX感受性を検討し新鮮分離胃癌細胞と比較した。

(方法) 大腸癌13例、胃癌16例の計29例から抽出した癌病巣から不連続密度勾配法により純化した新鮮分離腫瘍細胞を対象に、DOXの感受性をMTT assayにより検討し、Pgpの発現はflow cytometryにより定量化した。

(結果)

- 1)大腸癌においてMTT assayによる抗癌剤感受性試験によるDOXの感受性は、Pgp発現と負の相関を示した($p=0.0002$)。しかし、胃癌では相関を認めなかった($p=0.07$)。
- 2)大腸癌のDOX感受性は $59 \pm 19\%$ 、胃癌のDOX感受性は $62 \pm 18\%$ であった。また大腸癌におけるPgp発現は胃癌のPgp発現に比較して高値を示した($p < 0.05$)。
- 3) SD活性抑制率70%未満をDOX低感受性細胞と定義すると、大腸癌低感受性細胞群におけるPgp発現は大腸癌高感受性細胞群に比較して高値を示した($p < 0.05$)。しかし、胃癌では低感受性細胞群と高感受性細胞群にPgp発現の差は認めなかった。

(結語) 大腸癌におけるDOX低感受性は胃癌に比較しPgpの影響が強いと考えられ、Pgpの効果を抑制できれば大腸癌における化学療法効果を増強することが可能であると考えられた。

CPT-11と他の抗癌剤の併用効果に関するMTT assayによる組合せ選択

和歌山県立医科大学第2外科

○角田卓也、谷村 弘、山上裕機、岩橋 誠、
谷 眞至、菅野まりこ

CPT-11は強力な抗腫瘍作用を有する抗癌剤として臨床使用が始まっているが、確実な臨床効果を上げるためには他の抗癌剤と併用して強力な抗腫瘍活性を発揮することが必要である。われわれは、手術時得られた新鮮腫瘍細胞を用いてMTT assayによる抗癌剤感受性試験を1,000例以上施行してきた。今回、CPT-11と他の抗癌剤との併用効果についてin vitroで検討した。

【方法】検討した薬剤は、SN-38 (CPT-11のin vivo活性体)、CDDP、MMC、5-FU、ADMを単独あるいはSN-38と併用し、in vitro抗腫瘍活性はMTT assayによる抑制率(%INH)で判定した。新鮮腫瘍細胞は、大腸癌16例、胃癌2例、肺癌2例(1例は扁平上皮癌)、食道癌1例、肺腺癌1例の手術時抽出標本を酵素処理し、Ficoll 2段階にて分離後の腫瘍純度90%以上のものを用いた。

【結果】SN-38とCDDPの併用(22例)では、SN-38単独 $53 \pm 32\%$ 、CDDP単独 $65 \pm 25\%$ に対し、SN-38+CDDPでは $82 \pm 13\%$ と明らかに併用効果を認めた。MMCとの併用(16例)では、SN-38単独 $55 \pm 35\%$ 、MMC単独 $78 \pm 15\%$ に対し、SN-38+MMCでは $85 \pm 12\%$ と明らかな併用効果は認めなかった。また、5-FUとの併用(9例)でも、SN-38単独 $44 \pm 36\%$ 、5-FU単独 $71 \pm 17\%$ に対し、SN-38+5-FUでは $73 \pm 19\%$ と併用効果はなかった。さらに、ADMとの併用(7例)では、SN-38単独 $64 \pm 32\%$ 、ADM単独で $63 \pm 23\%$ に対し、SN-38+ADMでは $79 \pm 9\%$ と併用効果を認めた。

以上より、SN-38はCDDPやADMとの併用では効果が期待できることが判明したが、特にCDDPとの併用は臨床効果をあげる可能性が示唆された。

膀胱腫瘍細胞のFasを介したアポトーシスに対する感受性の抗癌剤による増強

京都大学医学部泌尿器科

○水谷陽一、吉田 修

(目的) Tリンパ球やNatural Killer細胞は腫瘍細胞上のFasを介して細胞傷害活性を示す。抗Fas抗体はFas ligandと同様、Fasを発現している腫瘍細胞にアポトーシスを誘導する。また、種々の抗癌剤は腫瘍細胞に対してアポトーシスを誘導する。そこで、抗Fas抗体と抗癌剤とを併用することにより腫瘍細胞に対してアポトーシスをさらに増強できる可能性が考えられる。そこで今回我々はこの仮説を検討した。

(方法) 標的細胞としてT24、J82、HT1197、KK47膀胱腫瘍株化細胞、4人の患者より手術時に採取した新鮮膀胱腫瘍細胞を用いて、細胞傷害活性を24時間のMTT試験にて検討した。

(結果) 膀胱腫瘍に対してよく用いられる種々の抗癌剤(Adriamycin [ADR], Cisplatin [CDDP], Mitomycin C [MMC], 5-Fluorouracil [5-FU], Methotrexate [MTX])に抗Fas抗体を併用したところ、ADR、CDDPとの組み合わせでT24細胞に対して相乗的な殺細胞効果を示したが、MMC、5-FU、MTXとの組み合わせでは相加的な殺細胞効果を認めた。ADRとの組み合わせがもっとも強い相乗的殺細胞効果を示した。この抗Fas抗体とADRとの組み合わせによる相乗的な殺細胞効果はADR耐性株であるT24/ADR細胞に対しても観察された。さらに他の膀胱腫瘍株化細胞であるJ82、HT1197、KK47細胞や、4人の膀胱腫瘍患者より手術時に得た新鮮膀胱腫瘍細胞を標的細胞に用いても同様に相乗的殺細胞効果が認められた。ADRの誘導体であるEpirubicinやPirarubicinと抗Fas抗体との併用によってもT24細胞に対して相乗的な殺細胞効果が認められた。T24細胞をADRで処理するとT24細胞上のFas抗原の発現が増強された。抗Fas抗体とADRとの併用時におけるT24細胞のアポトーシスをアクリジン-オレンジ染色にて検討すると、抗Fas抗体単独またはADR単独処理に比較して、明らかにアポトーシスを起こしている細胞が増加した。

(考察) 以上の結果から、膀胱腫瘍においてADR、CDDPはリンパ球のFasを介した腫瘍細胞傷害機構を増強する可能性が示唆された。

ヒト胆管癌細胞におけるetoposideによるapoptosisの誘導とhyperthermiaによるetoposideのapoptosis誘導作用の増強効果に関する検討

帝京大学医学部附属溝口病院外科

○丸野 要、阿部宏之、山川達郎

(目的) 胆管癌細胞において抗腫瘍剤により*in vitro*でapoptosisを誘導した報告はない。私共はヒト胆管癌細胞において、topoisomerase II inhibitorであるetoposide (VP-16)およびhyperthermiaによりapoptosisを誘導し、またhyperthermiaによりVP-16のapoptosis誘導作用を増強したので報告する。(方法) 1)ヒト胆管癌細胞HuCCT1に10 μ Mの濃度のVP-16を加えて24時間培養した細胞と、陽性コントロールとしてVP-16を加えずに24時間培養した後DNase Iを加えた細胞を、TUNEL法を用いてfluoresceinにより標識しflow cytometryにより測定した。2)VP-16またはhyperthermiaを加えて培養した細胞と無処置の細胞からisopropanolによりDNAを抽出し、agarose gelにより電気泳動した。3)4.0 \times 10⁵個の細胞に1.0 μ M, 10 μ M, 100 μ Mの濃度のVP-16を加えて1時間培養した後、VP-16を含まないmediumで培養した。また細胞に10 μ MのVP-16を加えて43 $^{\circ}$ Cで1時間培養した後、VP-16を含まないmediumで37 $^{\circ}$ Cで培養した。細胞にVP-16を加えず43 $^{\circ}$ Cで1時間培養した後、37 $^{\circ}$ Cで培養した。1、2、3日後に血球計算盤により生細胞数を測定した。(結果) 1)VP-16を加えた細胞では、細胞の自然蛍光を示すpeakと細胞へのfluoresceinの非特異的結合を示すpeakと、さらに強い蛍光を示す陽性コントロール細胞と同じ位置のpeakを認めた。2)VP-16またはhyperthermiaを加えた細胞では、ladder patternを認めたが、無処置の細胞ではladder patternを認めなかった。3)VP-16は用量依存性に、細胞数を1、2、3日間でそれぞれ最高66、48、34%まで減少させた。hyperthermia単独、VP-16単独またはその両者を加えると、細胞数をそれぞれ1、2、3日間で47、42、32%、64、66、34%および39、34、17%まで減少させた。(結論) VP-16とhyperthermiaはapoptosisを誘導することにより、ヒト胆管癌細胞に対してcytotoxicityを示し、hyperthermiaはVP-16の作用を増強することが明らかとなった。

胃癌化学療法と Apoptosis

栃木県立がんセンター外科¹⁾, 研究検査²⁾

○稲田高男¹⁾, 市川明²⁾, 尾形佳郎¹⁾

慶應義塾大学医学部外科

久保田哲朗

胃癌化学療法および遠隔成績における apoptosis の関与を基礎的・臨床的に検討した。

〈材料と方法〉基礎的検討は、ヌードマウス可移植性ヒト癌 3 株に, 5-fluorouracil(5-FU)を投与し, apoptosis 発現, thymidylate synthase (TS)抑制, cell phase fraction の変化と抗腫瘍効果を検討した。臨床的検討は胃癌 28 例に対し, 術前 5-FU を投与し, 腫瘍組織の apoptosis, bcl-2 蛋白発現, cell phase, 組織学的効果を評価し 101 例の術前未治療例と比較した。また臨床病理学的因子, 遠隔成績における apoptosis の関与については術前未治療+治癒切除例 84 例を対象として検討した。

〈結果および考察〉ヒト癌株 3 株においては, 5-FU 投与直後より TS 抑制が認められ, apoptosis は経時的に増加し, 抗腫瘍効果との間に正の相関関係が認められた。また apoptosis は腫瘍細胞の S 期への集積と同調していた。臨床例の検討では, apoptosis 発現および S-phase fraction は治療群において高値であった。治療群においては bcl-2 陰性例の apoptosis 発現は陽性例に比べ高く, bcl-2 による apoptosis 抑制が推察された。組織学的効果との関連でも, 化療効果と apoptosis, bcl-2 の三者間において, bcl-2 陰性群において apoptosis が高く, 化療効果が高い傾向が認められた。治癒切除例 84 例の検討では組織学的進行度と相関を有していたのは S-phase fraction であった。予後との関係では単変量解析では apoptosis が高い症例で予後好であり, 比例ハザードモデルによる検討では組織学的進行度および bcl-2 発現の関与が認められた。これらの成績は apoptosis が胃癌の予後を腫瘍増殖能とは独立して規定している事を示唆している。

ヒトスキルス胃癌細胞株のICE活性と抗癌剤感受性との関連について

大阪市立大学第一外科

○六車一哉、仲田文造、須浪 毅、柳川憲一、

八代正和、小野田尚佳、平川弘聖、曾和融生

〈目的〉種々の抗癌剤の作用は、単なる細胞毒ではなく、その大部分がアポトーシスによる細胞死であることがこれまでに明らかにされており、各種のアポトーシス関連蛋白が報告されている。このうち、インターロイキン1-β変換酵素 (ICE) は、細胞膜あるいは細胞質内に存在するシステインプロテアーゼであり、IL1-βの前駆体を活性化型に変換する作用を有する。近年、アポトーシスによる細胞死において、ICE がその最終段階を司ることが証明されてきている。今回我々は、ヒト胃癌細胞株を用いて各種抗癌剤に対する感受性とICE活性との関連について検討した。

〈対象・方法〉当科において樹立したヒトスキルス胃癌細胞株OCUM-2M(2M)と細胞内グルタチオン濃度の高いCDDP耐性亜株OCUM-2M/DDP(2M/DDP)の1セットの細胞株を対象とした。抗癌剤は、CDDP、5-FU およびSN-38の3種類を用い、抗癌剤に対する感受性はMTT法により測定した。ICE活性の測定は、ICEの合成基質でありそのカルボキシル末端に蛍光試薬である7-amino-4-methylcoumalin(AMC)が結合したAc-YVAD-AMCを用いてICEによって遊離されるAMCを測定する方法で行った。Bradford法にて蛋白補正し、単位蛋白当たりのICE活性として算出した。

〈結果〉CDDP、5-FU およびSN-38に対する50%阻害率(IC50)は、2M/DDPで2Mに比較し、それぞれ約10倍、約1.5倍、約2倍高かった。またICE活性は、2Mで2M/DDPより約1.6倍高値であった。

〈結論〉胃癌細胞株OCUM-2MおよびOCUM-2M/DDPにおいて、CDDP、5-FU およびSN-38に対するIC50とICE活性との間には、いずれも負の相関が認められた。このことから、ICE活性は抗癌剤の感受性を予測する指標になる可能性が示唆された。

アポトーシス誘導関連遺伝子導入による新しい
癌化学療法への検討

広島大学原医研腫瘍外科

○金 隆史, 大井裕子, 青儀健二郎, 峠 哲哉

(目的): 消化器癌に対する癌化学療法の新しい展開を目的として, アポトーシス誘導関連遺伝子gadd153、bcl-Xsおよびbaxの遺伝子導入による抗癌剤感受性の増強について比較検討を行った。(対象および方法): 胃癌細胞株は8株, 抗癌剤として、5-FU、ADM、CDDP、VP-16、Taxotereの5剤を用いた。転写因子の活性化はゲルシフト法, 関連遺伝子の発現はノーザン法, ウェスタン法, 抗癌剤感受性はMTT法, アポトーシスの誘導はDNAの断片化で判定した。遺伝子導入はpRc/CMVベクターに導入遺伝子cDNAを接続した発現ベクターを作成し, リポフェクション法で行った。クローンの選別は, ネオマイシン(G418)で行った。in vivoでは遺伝子導入細胞株をヌードマウスに移植し抗腫瘍効果の判定を行った。(結果および考察): 胃癌細胞株MKN45へのgadd153の遺伝子導入は, in vitroで転写因子AP-1活性化薬剤CDDP、VP-16に対して感受性の増加を認めた。bcl-Xsの導入はVP-16、Taxotereに対して, bax遺伝子の導入はCDDP、VP-16、Taxotereに対して感受性の増加を認めた。抗癌剤感受性の増加はアポトーシス誘導に一致していた。p53の遺伝子型(野生型または変異型)とアポトーシス誘導には関連はみられなかった。bax導入細胞株は, in vivoでも同様に抗腫瘍効果の増強を示した。誘導遺伝子相互間の関係では, gadd153 導入クローンはbcl-Xs、bax、bcl-Xs 導入クローンはgadd153、bax、bax導入クローンはgadd153、bcl-Xs各遺伝子の過剰発現を有していた。以上から, 抗癌剤によるアポトーシス誘導における関連遺伝子およびその活性化経路は複数にわたることが示され, アポトーシス誘導における関連遺伝子間の相互作用が示唆された。胃癌細胞に対するアポトーシス誘導に, gadd153、bcl-Xsおよびbax遺伝子活性化の関与が示され, 関連遺伝子導入による癌化学療法の効果増強の可能性が示唆された。

アポトーシス誘導関連遺伝子導入による多剤耐性
克服の試み

広島大学原爆放射能医学研究所腫瘍外科

○大井裕子, 金 隆史, 青儀健二郎, 峠 哲哉

【目的】 in vitroにおける抗癌剤耐性因子として, 腫瘍細胞膜に存在し抗癌剤をATP依存性に排出する膜糖蛋白質、MRP、P-gpの関与が報告されてきた。我々は, MRPが過剰発現している耐性細胞において, アポトーシス誘導関連遺伝子の発現が低下していることに着目し, アポトーシス誘導関連遺伝子導入による多剤耐性の克服の可能性について検討を行った。【対象および方法】 ヒト口腔類表皮癌KB、KB-3-1およびそれぞれの多剤耐性株KB-7d(MRP発現)、KB-C2(P-gp発現)の4種類を用いた。抗癌剤感受性はMTT法、in vitroにおける抗癌剤感受性規定因子の遺伝子発現はNorthern法、アポトーシスの判定は、DNA断片化によるDNA ladder formationを用いて検討を行った。アポトーシス誘導関連遺伝子の導入は、発現ベクターにBcl-X_s cDNAを組み込み、lipofection法により行った。【結果および考察】 KB-7dはMRPが過剰発現しており、ADM、VP-16、VCR、VDSに耐性を示した。さらに、アポトーシス誘導関連遺伝子Bcl-X_sの発現も低下していた。KB-C2はP-gpが過剰発現しており、ADM、VP-16、VCRに耐性を示した。アポトーシス誘導関連遺伝子Bcl-X_s、baxの発現はKB-3-1と比べて有意差を認めなかった。KB-7dの抗癌剤耐性には、MRPによる抗癌剤の排出に加え、アポトーシスの抑制が関与していることが予測された。現在、KB-7dにBcl-X_sを導入して得られた数種類のクローンを用いて、Bcl-X_s 遺伝子導入によるアポトーシスの誘導の増強、さらにMRP非修飾下での抗癌剤感受性の増強効果について検討中である。

切除不能および根治度C胃癌に対する 化学療法の検討

東京女子医科大学附属第二病院 外科

○齊藤正行、小川健治、勝部隆男、濱口佳奈子
野村芳樹、今野宗一、若杉慎司、島川 武
成高義彦、芳賀駿介、梶原哲郎

【目的】近年、我々は切除不能および根治度Cの胃癌に対してFP療法を中心とした化学療法を行っている。今回、その予後とQOLおよび副作用について検討した。

【対象と方法】1995-96年に当科に入院した胃癌患者161例のうち、予後の判明している非切除14例と根治度C11例を対象とした。

これをFP療法 (CDDP10~20mg/day+5FU500mg/day×5日間+CDDP10~20mg/week or 2 week) を施行したFP群11例(非切除3例、根治度C8例)と非治療のN群14例(非切除5例、根治度C9例)にわけ、生存日数、在宅日数および副作用の程度について比較検討した。

【結果】FP群の平均生存日数は265.4日、50%生存日数(MST)11.8ヶ月、N群は111.9日、3.6ヶ月であり、FP群の予後は有意に良好であった(p<0.01)。切除の有無でみると、非切除ではFP群235.2日、5.7ヶ月、N群94.0日、3.6ヶ月、根治度CではFP群299.4日、10.8ヶ月、N群141.7日、4.9ヶ月であり、両者ともFP群の予後が良好であった。(各p<0.05、p<0.1)。

一方、在宅日数はFP群160.4日、N群23.8日、FP群が長かった(p<0.1)。切除の有無でみると、非切除ではFP群107.5日、N群0日、根治度CではFP群231.0日、N群63.3日であった。副作用は、肝機能、腎機能、白血球数、悪心嘔吐の程度でみたが、いずれもGrade 0から1で軽度であった。

【考察】非切除、根治度C胃癌に対するFP療法は、生存日数の延長がみられることから、予後を改善すると考えられる。また、化学療法による重篤な副作用もないことから在宅日数も短縮せず、QOLの点からも有用な化学療法と考えられる。

進行再発胃癌に対するMFLP療法

京都桂病院外科、洛陽病院外科²、吉川病院外科³、京都大学腫瘍外科⁴、

○沖野孝^{1,4}、菅典道²、佐藤剛平³、井上一知⁴、今村正之⁴

【目的】進行再発胃癌に対する新しい治療として我々はMFLP療法を行ったので報告する。「患者および方法」現在まで19例の胃癌患者にMFLP療法を行った。男性12例女性7例で平均年齢は59歳であった。このうち15例で腹水貯留例を含む評価可能病変を有していた。また、2例に対しては術後補助療法として行った。治療第1日にMTXを30-60mg/m²静注し、4時間後に5-FUを500mg/m²静注、第2日午後から同量の5-FUを3日間連続で持続静注を行う。第2日からはロイコボリンを計45ないし90mg静注する。第5日に5-FUを中止し、第6日にCDDPを30-50mg/m²静注し、以上を1クールとしている。原則として2週間に1クール行い、少なくとも2クール施行し評価をした。「結果」奏効例は、固形の病変を有する評価可能14例のうちPRの8例があり(奏効率57%)、CRは経験していない。臓器別では原発巣に対しては67%(9病変中6病変、以下同様、複数病変保有例を含む)、肝転移では75%(3/4)、リンパ節に対しては50%(1/2)の奏効率であった。このほか腹水減少例を1例に認めた。副作用は、Grade3までの白血球減少、あるいは嘔吐をきたした症例があるが、いずれもG-CSF投与あるいは中止にて回復可能であり、Grade4は皆無であった。補助療法として行った2例を除く17例の1年生存率は57%であり、最長生存例は手術不能胃癌症例の46月であった。「結論」MFLP療法は、切除不能あるいは再発胃癌に対する有効な化学療法のプロトコルであり、奏効により生存延長につながる可能性があると考えられる。

進行・再発胃癌17例に対するフッ化ピリミジン、エトポシド、シスプラチン併用化学療法の検討。
 帝京大学第1外科

○長岡信彦、花谷勇治、金城頼哉、宜保淳一、
 浅越辰男、小平 進

近年、シスプラチンを含む多剤併用療法が胃癌に対し、優れた治療成績を挙げつつある。我々は、進行・再発胃癌17例に対しフッ化ピリミジン、エトポシド、シスプラチン併用化学療法(FEP)を行なったのでその成績を報告する。

【対象と方法】計測可能病変を有する進行・再発胃癌17例(リンパ節転移11、肝転移6、胃原発巣3、腹部腫瘍3、肺転移2、皮膚転移1)を対象とした。年齢は、45から80歳で、平均61.8歳であった。内男性14例、女性3例であった。フッ化ピリミジンは持続点滴静注または経口で連日投与とし、エトポシド70~100mg/m²とシスプラチン35~50mg/m²を2週毎に併用投与した。

【成績】抗腫瘍効果はCR1例(2病変)、PR8例(13病変)、NC7例(9病変)、PD1例(2病変)で、奏効率は17例中9例52.9%、26病変中15病変57.7%であった。病変部位別の奏効率は、リンパ節転移7/11、肝転移2/6、胃原発巣3/3、腹部腫瘍2/3、肺転移 1/2、皮膚転移0/1であった。17例中7例に12ヶ月以上の長期生存が得られており、50%生存期間は12.8ヶ月であった。

自他覚的副作用は、食欲不振が8件、悪心・嘔吐が7件、脱毛が6件、口内炎が3件、下痢・知覚異常が各1件であった。臨床検査異常としては、白血球減少を12件、貧血を3件、血小板減少を2件、肝機能障害を1件認めた。いずれの副作用も一過性であり、grade4は認めなかった。

【結語】シスプラチンの投与方法は、標準的には大量間歇投与だが、副作用の軽減や抗腫瘍効果の増強を目指して、種々の工夫が試みられつつある。我々は、中等量のシスプラチンを2週毎に投与するregimenでgrade4の副作用を認めることなく、良好な抗腫瘍効果を挙げることができた。

PMUE (CDDP, MMC, 5-FU, ETP)
 変法療法が有効であった進行胃癌の2症例

京都桂病院消化器センター内科¹⁾、外科²⁾
 ○上田真紀、西川温博、鳥居憲雄、三浦賢佑¹⁾
 川島和彦、沖野 孝、野口雅滋²⁾

(目的) 手術不能の進行胃癌に対し、PMUE変法療法を行ったところ有効であった症例を経験したので報告する。

(症例1) 57才、男性。腹痛、貧血を主訴に来院、上部消化管内視鏡にて、下部食道から胃角部に広がる3型進行胃癌を認め、脾臓への直接浸潤と腹腔内リンパ節転移を伴っていた。切除不能と判断されたため、PMUE変法療法を2コース施行したところ、原発巣は著明に縮小し、脾臓への浸潤を認めなくなった。その後、胃全摘術+脾臓、胆嚢合併切除を施行、現在外来にてMTX+5-FU療法を続けながら、仕事に復帰している。

(症例2) 60才、男性。腹痛と食物通過障害を主訴に来院、上部消化管内視鏡にて、下部食道から前庭部にかけて全周性に3型進行胃癌を認め、肺、腹腔内リンパ節転移、脾臓への直接浸潤を伴っていた。手術不能と判断、症状の軽減を図るためPMUE変法療法を2コース施行したところ、原発巣、転移巣ともに縮小を認めた。症状は著明に改善、経口摂取が可能となり退院となった。その後、外来にて5-FU持続投与を続けていたが、4ヶ月目よりregrowth認め、初診より1年5ヶ月目に死亡した。

(結論) 症例1、2とも初診時、外科的切除不能と診断され、PMUE変法療法を行ったところ、原発巣、転移巣ともに縮小し、前者では手術可能となり、後者ではQOLの改善が得られた。以上のように外科治療不能の進行胃癌に対し、PMUE療法は有効な治療であると考えられた。

胃癌術後補助化学療法としてのMTX/5FU
交代療法の検討

京都府立医科大学第二外科

○金城信雄、山岸久一、園山輝久、糸井啓純、
久保速三、上田祐二、伊藤剛、藤木博、
山下哲郎、奥川郁、池田純、原田佐智夫、
糸川嘉樹、岡隆宏

【目的】

進行胃癌（未分化型癌）における術後遠隔成績の向上をもとめて、術後補助化学療法としてのMTX/5FU交代療法とFEM療法を施行し、その予後を比較検討した。

【方法】

1990年1月から1996年12月までに当科で経験した胃癌切除症例は403例であり、未分化型癌の進行胃癌は54例であった。これらの症例に対して無作為にMTX/5FU交代療法およびFEM療法を術後に施行した。術後補助化学療法が完遂できた症例は38例であった。その内訳は根治度A：14例、根治度B：10例、根治度C：14例であり、深達度はt2：9例、t3：27例、t4：2例であった。n因子はn0：9例、n1：9例、n2：14例、n3：3例、n4：3例となっていた。P（-）：33例、P（+）：5例、H（-）：35例、H（+）：3例であった。これらの症例でMTX/5FU交代療法またはFEM療法を施行した両群を根治度Aまたは根治度Bの症例と根治度Cの症例に分けて検討した。なお、累積生存率はKaplan-Meier法で算出し、生存率の検定は一般化Wilcoxon検定をもちいた。

【結果】

（1）根治度Aまたは根治度Bの症例の生存率を比較検討すると、MTX/5FU交代療法の累積生存率は1年：85.7%、2年：50.0%、4年：21.4%であり、FEM療法の累積生存率は1年：90.0%、2年：50.0%、4年：20.0%であった。

（2）根治度Cの症例の生存率を比較検討すると、MTX/5FU交代療法の累積生存率は1年：28.6%、2年：14.3%であり、FEM療法の累積生存率は1年：50.0%、2年：25.0%であった。

【結語】

根治度Aまたは根治度Bの症例におけるMTX/5FU交代療法はFEM療法に比して、若干長期予後を改善する可能性が示唆された。

切除不能胃癌・大腸癌に対するPalliative
Chemotherapy

国立病院九州がんセンター 消化器部外科

○鴻江俊治、馬場秀夫、中島秀彰、武富昭信、
藤也寸志、瀬尾洋介、斎藤貴生、友田博次

【はじめに】切除不能胃癌・大腸癌にcureは望めない。したがって治療目標は、1) QOLの維持・向上、2) 症状の緩和、3) 人間的生存期間の延長であり、治療の基本はpalliative chemotherapyである。現在、われわれは切除不能胃癌・大腸癌に対する化学療法のfirst lineとしてLow dose CDDP/5-FU療法を、second lineとしてCPT-11/MMC療法を施行しており、そのpalliative chemotherapyとしての効果を検討した。

【症例と方法】1) Low dose CDDP/5-FU療法：対象は切除不能胃癌21例、CDDP（6mg/m²/日）の点滴静注（1時間）と5-FU（300mg/m²/日）の持続静注を5投2休で4週間投与するスケジュールを1コースとし、2コース治療を基本とした。2) CPT-11/MMC療法：切除不能胃癌・大腸癌を対象として第I・II相臨床試験を進行中である。CPT-11（60mg/m²/日より10mg/m²ずつ増量）の点滴静注（3時間）に続いてMMC（4mg/m²/日）の静注をD1とD15に投与し、1コースとした。

【結果】1) Low dose CDDP/5-FU療法：奏効率43%（9/21）、それを上回るPS改善率71%（15/21）であった。また、Grade3以上の血液毒性はいずれも10%未満、消化器症状は軽微であった。2) CPT-11/MMC療法：CPT-11を100mg/m²/日（レベル5）まで増量しているが、最大耐量に達していない。Grade4の血液毒性およびGrade3以上の嘔吐や下痢は1例も発生していない。奏効例はレベル3で初めて得られたが、レベル3～5の奏効率は25%（3/12）であった。

【まとめ】1) Low dose CDDP/5-FU療法は良好な抗腫瘍効果とQOLの維持・向上が得られる治療法であるが、今後の課題は有意な生存期間の延長である。2) CPT-11/MMC療法は安全に施行可能で、second lineであっても、ある程度の抗腫瘍効果が期待される。

再発胃癌・高度進行胃癌に対するMitomycin
C・5-FU・Cisplatin併用化学療法の試み

国立霞ヶ浦病院外科¹⁾、慶応義塾大学外科²⁾
○才川義明¹⁾、影山隆久¹⁾、有森正樹¹⁾、
久保田哲朗²⁾、北島政樹²⁾

【目的】われわれは従来より、Mitomycin C (MMC)とCisplatin (CDDP)の相乗的抗腫瘍性増強効果について基礎的に証明してきたが、近年報告されている5-FU・CDDP併用化学療法を応用し、新しい3剤併用化学療法を考案・実施し、良好な抗腫瘍性・軽度な副作用・患者QOLの向上を得ているので報告する。(対象と方法)高度進行胃癌5例、再発胃癌3例に対して行った。高度進行癌の内訳は術前術後投与1例、術後投与2例、非手術2例であった。抗癌剤投与にあたっては本人へのICを原則としている。投与方法はMMC 8 mg/m² iv Day 1、5-FU 500 mg/m²/day civ 5日間、CDDP 15 mg/m²/day div for 2hr 5日間を1Kurとして1-4回投与を副作用に応じて行った。制吐剤としてグラニセトロンを併用した。(結果)評価病変を有する7例ではPR 2例、NC 5例であったが、NC症例においても癌性腹膜炎症例3例全てに腹水の改善を認め明かなQOLの向上が得られた。毒性としては嘔気・食欲不振を5例に、また血小板減少を主とした血球減少を6例に認めたが、日本癌治療学会、固形癌化学療法直接効果判定基準によるGrade 1にとどまるものとともに臨床上問題とならなかった。(考察および結論)現在未だ施行症例数が少なく、本療法の評価は今後の結果を待たざるをえないものの、副作用が軽微であり治療中の患者QOLを下げることなく安全に相当量の抗癌剤を投与できる点で期待しうる方法である。本法はMMC・CDDP併用療法・CDDP少量持続投与の有用性および5-FUの様々なmodulationなど基礎的・実験的理論に基づいた多剤併用化学療法であり、従来の理論不在の化学療法より脱却したregimenとして、その臨床的有用性が期待される。

進行・再発大腸癌に対するlow dose
leucovorin(LV)/5-FU療法の検討
東京女子医科大学付属第二病院外科

梅原有弘、加藤博之、遠藤俊吾、勝部隆男、
芳賀駿介、小川健治、梶原哲郎

【目的】進行・再発大腸癌に対するlow dose LV/5-FU療法の効果、副作用および生存期間を検討し、その有用性について報告する。

【対象及び方法】対象は1992年以降にLV/5-FU療法を2クール以上施行し得た切除不能進行・再発大腸癌36例である。年齢は29歳から79歳(平均59.7歳)で男性22例、女性14例、評価対象病変は肝20、リンパ節10、肺8、腹膜5、局所3、その他3例であった。LV 30mg+5FU 500mg/bodyをbolusで5日間連日投与し1か月休薬、もしくは週一回×5回投与を1クールとして可能なかぎり繰り返した。効果および副作用の判定は、大腸癌取り扱い規約と固形がん化学療法効果増強の判定基準に従った。また、生存率に関してはKaplan-Meier法とLog-rank testを用いた。対照としてLV/5-FU療法施行以前に経験した、おもにMMC間欠および5-FU持続投与がなされた進行・再発大腸癌28例と比較検討した。

【成績】LV/5-FU療法は2から17クール(平均6.5クール)施行され、治療効果はCR2例、PR7例、NC11例、PD16例であり、奏効率は25.0%であった。CRは肝1例、リンパ節1例、PRは肝3例、局所2例、腹膜1例、肺2例であった(重複あり)。評価対象病変別に奏効率をみると局所66.7%、肝25%、肺25%、腹膜20%、リンパ節10%であった。また奏効例9例の奏効期間は平均10.3か月となっている。12例にgrade 3以上の副作用が認められ、1例にgrade 4の白血球減少、血小板減少、口内炎がみられた。累積2年生存率は36.7%、50%生存期間は17.7か月であり、対照例28例の累積2年生存率は10.7%、50%生存期間は8.2か月に比べ、retrospectiveな検討ではあるが、LV/5-FU療法施行例で良好であった(p<0.0001)。

【結語】進行・再発大腸癌36例に対しLV/5-FU療法を施行し、25%の奏効率を認めた。2例にCRが得られ、生存期間の延長も認め、有用性が示唆された。

FP療法による消化器進行癌の治療成績

大阪市大第一外科*, 藤井節郎記念大阪基医研究奨励会**

○井上透*, 山下好人*, 松岡翼*, 山本篤*, 澤田鉄二*, 仲田文造*, 平川弘聖*, 白坂哲彦**, 曾和融生*

【目的】continuous 5-FU + low dose cisplatin療法 (FP療法) はBiochemical modulation を利用した化学療法であり、消化器癌に対する有用性が報告されている。今回、当科における消化器進行癌に対するFP療法の成績を報告する。

【方法】対象は胃癌45例、食道癌10例、大腸癌7例、肺癌6例の計68例である。投与方法は、CDDP 10~15mg/body/dayを週の第1~5日点滴投与し、5-FUは500mg/body/dayを連日24時間持続投与とし、4週を1クールとした。

【結果】評価可能であった63例中2例にCR、28例にPRを認め、全体の奏効率は48%であった。原発巣別の奏効率は胃癌49%、食道癌60%、大腸癌29%、肺癌33%であり、胃癌・食道癌で高い奏効率を認めた。組織型別の奏効率は分化型47%、非分化型48%であり、差を認めなかった。腫瘍マーカーは異常を示した症例の65%に低下を認めた。胃癌においては血清CEA値の高い症例において奏効率が高く、また、IAP値の高い症例は奏効率が低い傾向が認められた。Kaplan-Meier法による生存曲線では奏効例と非奏効例の予後には差を認めなかったが、胃癌術前投与群での比較では、奏効例の予後が良好な傾向を認めた。副作用としては、悪心/嘔吐、口内炎等の消化器症状および骨髄抑制 (Grade 3以上の白血球減少は5%、血小板減少は7%) を認めたが、これらは治療にて容易に回復した。

【結論】消化器進行癌に対するFP療法は、副作用が軽度であり、比較的高い奏効率が得られることより、有用な化学療法であると考えられた。現在は術前化学療法としての有用性および、患者のQOLを考慮した外来での投与法を検討中である。

転移性肝腫瘍内5-FU代謝に対するIL-2の影響

近畿大学医学部第1外科

○平井紀彦、奥野清隆、安富正幸

(目的) ラット肝動注モデルを用いてIL-2が5-FU代謝に与える影響を検討しようとした。

(方法) ラットはFischer 344、腫瘍細胞はRCN-H4細胞 (同系ラット由来大腸癌高肝転移株、理研セルバンク、筑波より購入) を用いた。RCN-H4を門脈内に注入、約3週間後に結節性の転移巣が発生したときに開腹し各薬剤を肝動脈より注入した。5-FU群は50 mg/kg、併用群は5-FU(50 mg/kg)+IL-2(3500JRU/kg)とした。30分後に腫瘍部位1 g、正常肝組織1 gを摘出し、直ちに凍結して測定試料とした。それぞれ5-FU濃度、DPD活性、TK活性、TS阻害率を測定した。

(結果) ①5-FU単独群、5-FU/IL-2併用群とも5-FU濃度は正常肝組織内より腫瘍内に有意 ($p<0.05$) に上昇していた。しかし併用群に転移性腫瘍内の5-FU濃度の有意な上昇は認められず、逆に若干の低下を認めた。②転移性腫瘍内におけるTS活性を測定し、TS阻害率を算定した。転移性腫瘍内のTS阻害率は5-FU単独群に比べ5-FU/IL-2併用群で有意 ($p<0.01$) に上昇していた。③転移性腫瘍内のTK活性を測定したところ、5-FU/IL-2併用群では5-FU単独群に比べて統計学的有意差ではないものの ($p=0.11$)、TK活性が抑制される傾向が認められた。④転移性腫瘍内のDPD活性は5-FU単独群に比べ5-FU/IL-2併用群で有意 ($p<0.02$) に上昇していた。

(考察) 肝動脈内注入におけるIL-2の5-FUに対するBCMについて様々な酵素活性を測定したところ、興味あることにIL-2にはこれまでIFNで報告されたTS活性の阻害やTK活性の抑制など酷似した作用のあることが明らかとなった。しかしIL-2併用投与において5-FU分解酵素であるDPD活性は亢進し5-FU濃度はむしろ低下傾向にあり、IL-2は5-FUの異化亢進を示唆させる結果であった。

ヌードマウス可移植性ヒト膵癌株を用いた実験的
化学療法

川崎市立川崎病院外科¹⁾, 慶應義塾大学外科²⁾
○富川盛啓¹⁾, 久保田哲朗²⁾, 北島政樹²⁾

膵癌は、切除後に高率に局所及び肝での再発を認めることから、膵癌の治療においては局所発育と肝再発をコントロールすることが重要であると考えられる。今回、我々は、膵癌の局所発育及び肝転移に対する効果的な化学療法を探ることを目的として、ヌードマウス膵同所移植モデルを用いて検討を行った。【材料と方法】ヌードマウス可移植性ヒト膵癌株 PAN-12-JCK を用い、臨床の場で汎用されている代表的な抗癌剤としてマイトマイシンC (MMC) とシスプラチン (DDP) を使用し、その併用療法につき検討した。まず *in vitro* において、MIT assay により、MMC と DDP の単剤及び併用における抗腫瘍効果を測定し、isobologram によりその併用効果を検討した。その後、実際にヌードマウスの膵へ PAN-12-JCK を移植し、移植後7日目に対照群、単剤投与群、併用群に分けて抗癌剤を投与して95日間観察を行った後に剖検に腑し、その抗腫瘍効果を検討した。【結果】*in vitro* の検討では、isobologram を用いた解析の結果、PAN-12-JCK に対して MMC と DDP との併用に相乗効果が認められた。ヌードマウス膵同所移植モデルを用いた検討では、MMC と DDP はそれぞれ単独で PAN-12-JCK の肝転移を抑制し、マウスの生存期間を延長した。この2剤の併用投与により、PAN-12-JCK の局所発育と肝転移の完全な抑制が可能であった。【結論】MMC と DDP は、膵癌の化学療法において、中心薬剤となりうる可能性が示唆された。また、今回の検討に用いたヌードマウス膵同所移植モデルは、膵癌の局所発育と肝転移に対する抗腫瘍効果を判定するのに有用であると考えられた。

5FU少量持続及びCDDP頻回注入併用療法の
膵癌肝転移抑制効果

北里大学外科

○中村考伸、吉田宗紀、北村雅也、島田 謙
高橋 毅、比企龍樹、柿田 章

(目的) 膵癌は切除後の局所再発と肝転移をおこすことが多く予後不良の疾患である。このため我々は肝転移にたいし、5FU少量持続及びCDDP頻回注入併用療法を考案し補助療法としている。今回はこの方法と臨床成績を報告する。また非切除例に対して同様に行っており、剖検例も経験したのでその効果も報告する。

(方法) 薬剤投与経路として門脈及び肝動脈を選択した。カテーテルを門脈は術中に、肝動脈は術後経皮的に挿入した。薬剤投与量は2経路とも同量を投与し切除例では5FUを125mg/日で4週間持続注入し、CDDPは体表面積あたり10mgを週1回、計4回投与した。非切除例では5FUを125mg/日で2週間持続投与し、同様にCDDPは5mg/日連日投与した。

(結果) 1996年1月より行った膵癌開腹症例を対象とした。切除例は7例、非切除例は5例であった。

1) 切除例：1例が術後2ヵ月で肺と肝に転移し3.8ヵ月で死亡した。他の6例は術後5～21ヵ月の間に新たな肝再発はなく生存中である。2) 非切除例：4例が死亡し生存期間は最長6ヵ月である。全例とも経過中に新たな肝転移は出現しなかった。うち1例は術前の疼痛が消失し6ヵ月後の現在も通常の生活を送っている。3) 抗腫瘍効果：非切除例の5例中4例に血清CA19-9の低下を認めた。腹部CTにおいては原発巣に変化は認められないものの内部の低吸収域が拡大し、新たな肝転移も認めなかった。非切除例のうち2例に剖検を行ったが、原発巣及び肝転移巣において癌細胞の壊死と線維化が著明であった。

(結論) 門脈投与は新たな膵癌肝転移の予防を、肝動脈投与は既存の肝転移巣に対して行っている。今後症例の積み重ねを必要とするが剖検例での腫瘍の壊死所見例より抗腫瘍効果が認められたこと、1例を除いて新たな肝転移を認めていないことから、今後の遠隔成績向上が期待される。

肺癌におけるMetallothioneinの発現と補助化学療法の効果について

島根医科大学第1外科

○高村通生, 仁尾義則, 三成善光, 井口千景

佐々木晋, 平原典幸, 田村勝洋

【目的】Metallothionein(MT)は、亜鉛、カドミウム、銅、水銀などの重金属に親和性を有し、生体内で微量重金属の代謝に関与し、シスプラチンのような白金系抗癌剤や、アルキル化剤などに対する薬剤抵抗性に関与している可能性が報告されている。今回、化学療法抵抗性の肺癌におけるMTの発現と術後補助化学療法の意義について検討した。

【方法】ホルマリン固定パラフィン包埋ヒト肺癌組織(切除例中、浸潤性肺癌原発巣58例、リンパ節転移巣35例、および切除不能例の遠隔転移巣30例)を、抗MTモノクローナル抗体を用いSAB法にて免疫組織染色を行い、30%以上の細胞で細胞質が染色されているものを陽性(+)とした。

【結果】MTの陽性率は、肺癌原発巣で、45%(26/58)、リンパ節転移巣で、49%(17/35)、遠隔転移巣では、(+),67%(20/30)であり、肺癌原発巣とリンパ節転移巣、および遠隔転移巣との間には、MTの発現に差はみられなかった。MT発現と肺癌の臨床病理学的因子との関連を検討すると、MT発現と臨床病期、腫瘍径、リンパ節転移等との間に関連はみられなかった。そこで、術後補助化学療法の有無で生存率を検討すると、MT(+)症例では、術後補助化学療法群と非施行群の50%生存期間はそれぞれ8.5ヶ月と、9.7ヶ月で差がなかったのに対して、MT発現(-)症例では、補助化学療法群の50%生存期間は15.6ヶ月で、非施行群は9.2ヶ月と、生存曲線も補助化学療法群が有意に良好であった。

($p < 0.05$)

【結論】肺癌の薬剤抵抗性に、MTが重要な役割を果たしている可能性があり、その発現の有無により術後補助化学療法の効果を予測しうる可能性が示唆された。

結腸・直腸がん胸・腹水4症例に対するOK-432局所免疫療法

広島大学原爆放射能医学研究所腫瘍腫瘍外科

○山口佳之, 宮原栄治, 南一仁, 沢村明広,

峠哲哉

われわれは胸腹水の治療としてOK-432局所免疫療法(OK療法)を第一選択に施行してきた。結腸・直腸がん再発形式として、胸腹水再発は頻度の高いものではないが、4症例に本療法を施行しいずれも局所効果として著効を得たので症例を提示し、局所Tリンパ球受容体(TCR)の遺伝子解析を行ったので報告する。

症例1、71才男性、RcRc直腸がん、a2P0h1n3、低前切+肝部切後肝転移再発を認め、low dose FP療法に反応せず右胸水出現、5KE OK療法にて著効、再貯留なし。OK療法6ヶ月後肝不全死。

症例2、59才女性、S結腸がん、sep3h3n2、切除+肝動注腹腔注化学療法後腹水出現、2KE OK療法施行し著効、再貯留なし。OK療法4ヶ月後肝不全死。

症例3、59才女性、RbRc直腸がん、a3p1h3n2、Miles+肝動注化学療法後胸・腹水出現、それぞれ2、5KE OK療法施行し著効。OK療法1ヶ月1週後肝不全死。

症例4、39才男性、腹水貯留にて精査、盲腸上行結腸の壁不硬化化と細胞診で腺がんを認め大腸がん腹膜転移と診断、CEA 68。Low dose FP療法と0.2KE OK療法施行しCEAは正常化、腹水消失。1年3ヶ月で再貯留し2KE OK療法施行し著効、初回治療後1年7ヶ月生存中。

症例3局所細胞の解析では、OK-432投与により自己腫瘍細胞障害性が有意に増強され、TCRVβ20、13.2のoligoclonal expansionが観察され、自己腫瘍細胞障害性は抗TCRαβ抗体およびTCRVβ20抗体によって有意に抑制された。TCRVβ20をSSCP解析に展開するとクロナタイプが認められ、そのcomplementarity determining region(CDR)3の塩基配列を決定し3つのoligonucleotide(ON)を得た。

このONはOK-432反応性で自己腫瘍抗原を認識するTCRCDR3をコードする可能性がある。現在、これらのONを用いて結腸・直腸がん局所リンパ球のTCR遺伝子解析を行い、同定したTCRCDR3の意義を検討している。

ONO-4007誘導性TNF α の培養血管内皮細胞に対する作用及び腫瘍内TNF α 産生細胞の同定

小野薬品工業株式会社 福井安全性研究所
○笈田浩次, 松本範人

(目的) ONO-4007は高い抗腫瘍活性をもつlipid-A誘導体として開発中の化合物であり、腫瘍内でLPSよりも高いTNF産生能を有することが特徴とされる。また固形腫瘍増殖には腫瘍内及び近傍における血管新生が不可欠とされている。そこで本研究ではONO-4007により誘導された腫瘍内TNF α の、培養血管内皮細胞に対する作用について検討した。また*in situ* hybridization (ISH)法を用いて腫瘍内TNF α 産生細胞の同定も試みた。

(方法) KDH-8担癌ラットにONO-4007を10 mg/kg, i.v.投与し、腫瘍ホモジネート上清を得てTNF活性を測定した。次にウシ大動脈血管内皮細胞(BAEC)、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)及びヒト線維芽細胞(NHDF)において播種後24時間より、ONO-4007処置腫瘍ホモジネート上清を添加した調製mediumで培養し、細胞増殖抑制作用あるいはアポト-シス誘導作用について検討した。またKDH-8担癌ラットにONO-4007を10mg/kg, i.v.投与し、2時間後に腫瘍を摘出、ホルマリン固定後切片を作製し、ISHを行った。

(結果,考察) BAEC及びHUVECにおいて、腫瘍ホモジネート上清添加群(TNF活性; 200~5000 IU/ml)は培養3日目より細胞増殖抑制作用を示したが、NHDFに対してその作用はなかった。更に培養24時間目で、ONO-4007処置腫瘍ホモジネート上清を添加されたBAEC及びHUVECはアポト-シス特有のDNAラダーと核形態を示した。これらの作用はrhTNF α を添加しても確認された。

以上より、ONO-4007により誘導された腫瘍内TNF α は、腫瘍内あるいは近傍の血管内皮細胞に対して増殖抑制及びアポト-シスを誘導し、その結果腫瘍増殖を抑えているという一つの可能性が考えられた。またISH法を用いた結果、ONO-4007投与による腫瘍内TNF α 産生細胞はマクロファージ及び血管内皮細胞であることがわかった。

Lipid A 誘導体 ONO-4007 による担癌マウス及びマイトマイシンC処置マウスの免疫抑制の回復

小野薬品工業株式会社 福井安全性研究所
○松本範人, 笈田浩次

(目的) Lipid A 誘導体 ONO-4007 はマウスやラットにおいて優れた抗腫瘍効果を示すことが明らかとなっている。本研究では担癌状態やマイトマイシンC投与による免疫抑制状態に対するONO-4007の回復作用を検討した。

(方法) 担癌マウスはMeth A肉腫細胞をBALB/cマウスの皮内に移植することにより作製した。DTH反応は抗原としてヒツジ赤血球(SRBC)をマウスに静脈内投与して感作し、4日後にSRBCをfoot padに注射して惹起し、24時間後の惹起部位の腫脹を計測した。抗体産生は抗原としてKLHを1週間間隔で2回、マウスの皮下に感作し、最終免疫の1週間後の血中抗体価をELISA法で測定した。脾細胞からのTNF産生、Con A刺激下でのIL-2産生は培養上清をELISA法で測定した。脾細胞の増殖はBrdUの取り込みをcell ELISA法により測定した。

(結果) 担癌状態によりDTH反応および抗体産生は低下していた。ONO-4007を抗原免疫時に静脈内投与することにより、これらの低下した免疫反応は正常レベルに回復した。非担癌マウスではONO-4007は両反応に対し明らかな作用を示さなかったが、マイトマイシンC投与により低下したDTH反応および抗体産生を回復させた。ONO-4007は担癌マウスの脾細胞からのTNF産生を正常マウスよりも強く刺激した。担癌によりCon A刺激による脾細胞からのIL-2産生は低下したが、ONO-4007はCon A刺激下でのIL-2産生を増強した。また、ONO-4007は脾細胞の増殖を刺激した。

(考察) ONO-4007は担癌状態での免疫抑制を回復させた。この効果は抗腫瘍効果を示す用量よりも低用量から発現したことから、抗腫瘍効果発現に伴う二次的な変化ではなく、免疫系の刺激作用に基づくものと考えられる。担癌マウスおよび正常マウスの脾細胞を用いた*in vitro*での検討から、観察された免疫回復作用はONO-4007が担癌マウスのマクロファージを強く活性化することによるものと考えられる。

消化器癌患者における免疫抑制機構の化学療法による変動

日本大学第一外科

○柴田昌彦、根津 健、加納久雄、竹川本夫、木村知、永田靖彦、坂本明子、桜井健一、堀井有尚、天野定雄

〔目的〕癌の進行と共に宿主の細胞性免疫能は低下することが知られている。我々はこれまでこのメカニズムについて検討を重ねてきた結果、CD4(+)helper T cellのうちInterleukin-12(IL-12)により誘導されるTh1細胞

(Interferon- γ 産生)の低下とmacrophageが関与するとされる可溶性サイトカインレセプター(sTNF-R1, sIL-2R)の存在が重要と考えられた。また化学療法により宿主の免疫能が修飾されることもよく経験されることである。今回我々は癌の進行に伴うこれらの変化と、進行大腸癌に対して免疫化学療法(5FU+CDDP, 5'DFUR+PSK)を行いこれらの変動について検討した。

〔方法〕胃・大腸癌患者61症例及び健康成人39人の末梢血を採取し、末梢血単核球を分離し、Staphylococcus aureusまたはPHAにより刺激後24時間のIL-12, IFN- γ の産生をELISAにて測定した。また血清中のsTNF-R1, sIL-2RをEIA法にて測定した。これらの症例をnormal donor, localized, intermediate, widespread, cachexiaの5群に分け比較した。また、進行大腸癌症例で5FU+CDDP療法を5例、5'DFUR+PSK療法を7例に行い、無治療群を対象に経時的に比較検討した。

〔結果〕癌患者全体の検討では癌の進行に伴いIL-12産生能は低下し、癌患者でIFN- γ 産生能は健康人に比し低値であった。sTNF-R1, sIL-2R濃度はともに癌の進行と共に上昇し、悪液質患者で最高値を示した。IL-12, IFN- γ 産生能は5FU+CDDP療法後に共に上昇し、5'DFUR+PSK群ではその傾向を示した。sIL-2R値は無治療群では上昇するのに対し、5FU+CDDP群では低下した。sTNF-R1濃度に変化を認めなかった。このように担癌末期に顕著となる免疫抑制状態は化学療法により改善する傾向を示した。尚、これらの化学療法による明らかな臨床的効果は見られなかった。

胃癌術後補助療法の検討

— 予後と二次癌について —

島根医科大学第一外科

○平原典幸、仁尾義則、佐々木 晋、三成善光
高村遇生、井口千景、田村勝洋

〔目的〕消化性潰瘍に対する胃切除後に大腸癌の発癌リスクが高く、胃癌に対する術後でも大腸癌、頭頸部癌のリスクが高くなることが報告されており、長期生存例の増加にともない、胃癌術後の補助療法と2次癌発症との関係は重要な問題となっている。今回、我々は1979年から1995年までに当科にて胃癌切除術を施行した574例を対象に、予後と2次癌について追跡調査した。〔対象〕臨床病期は、1期, 308例(54%); 2期, 81例(7%); 3期, 80例(14%); 4期, 120例(21%); 不明25例(4.4%)で、術後補助療法は、手術単独群231例(40%)、化学療法群155例(27%)、免疫化学療法群163例(28%)、免疫療法群14例(2%)、不明11例(2%)であった。〔結果〕(1)予後の検討では、1期の症例では、各治療群間で有意差は認められなかったが、2~4期では、免化療群、化療群の予後は手術単独群よりも、有意に良好であった($p < 0.01$)。 (2)2次癌は全体で18例に認め、手術単独群9例(3.9%)、化療群3例(1.9%)、免化療群6例(3.7%)で、有意差はなかったが、化療群の発症率は低い傾向にあった。また、2次癌発症までの平均期間は、各々5.1年、9.3年、8.1年で、手術単独群では早期の発症が多かった。 (3)2次癌の癌種の内訳は手術単独群では大腸癌、頭頸部癌が多い傾向にあり、補助療法群では他の癌種が多かった。 (4)多変量解析では、2次癌発症について、年齢、免疫療法(PSK)が有意な危険因子で、予後については、年齢、病期が有意な危険因子で、一方、化学療法、特に経口FU剤は有意な予後の改善因子であった。〔結語〕胃癌の術後補助療法による延命効果が2~4期で認められたが、補助療法の有無による2次癌の粗発生率に差はなかった。手術単独群では術後早期に2次癌が発症したのに対し、術後補助療法群では術後5年以後に発症する傾向を認めた。以上、術後補助療法は予後の改善と早期の2次癌の予防に関与しており、今後、長期生存例に対して、2次癌を念頭に置いたfollow upが重要であると考えられた。

レンチナンに低用量化学療法剤を併用する
免疫化学療法の提唱

味の素(株)基礎研究所
羽室淳爾、村田幸恵、菊池とも子、須賀哲也、
鈴木学

【目的】がん患者の真のメリットであるQOLの改善と延命効果を得るのにどのような免疫化学療法が望ましいのか、現在の治療法に如何なる問題点が存在するのかを、動物モデルを用いて基礎的に検討する。

【方法/結果】S908D2繊維肉腫をマウスの皮内に移植し、移植10日にCY, MMC, 5FU, 5'DFURもしくはCDDPを腹腔内投与し、17日目よりレンチナン(LNT)を5日間腹腔内投与し、腫瘍増殖曲線および延命曲線により併用抗腫瘍効果を判定したところ、CY, 5FU, 5'DFURとの併用では完全治癒が得られたが、MMCとの併用では効果は全く認められなかった(LNTと化学療法剤の間には相性がある)。相性のよい化学療法剤5FUには至適用量が存在することが判明し、高投与量併用では、Tリンパ球の増殖応答、MΦの化学発光、耳介の発赤反応(VDH反応)の3種の生体応答が殆ど消失し、LNTの特性は化学療法剤の高投与量との併用では消失することが判明した。COLON26をマウス背部皮下に移植し無処置、CDDP処置、CDDP+LNT処置群の3群とし、治療をすり抜けた腫瘍を再度別のマウスに移植しCDDP単独治療を行ったところ、併用群においてのみ化学療法剤への感受性が維持向上すること、非併用群では、逆に耐性獲得となることが判明した。REGRESSOR腫瘍QR32をアドリマイシンで治療すると化学療法剤誘発性のがんの悪性化誘導が著明に認められるが、この悪性化誘導はLNT併用で完全に抑制された。悪液質状態にある末期がんモデル(S908D2/初回治療移植後27日目開始)では、LNT、5'DFURとIL2の3者併用群においてのみ完全治癒が認められた。以上観察された効果は、LNTによって誘導されるMΦが還元型GSH含量の高い還元型MΦであることによるためと考えられる。

マウス肺癌モデルにおけるclarithromycin(CAM)
の各種サイトカイン発現に及ぼす効果の検討

奈良県立医科大学第二内科¹、同 細菌学²

○植田勝廣¹、三笠桂一¹、坂本正洋¹、眞島利匡¹
濱田 薫¹、寺本正治¹、古西 満¹、前田光一¹、
辻本正之¹、森 啓¹、澤木政好¹、喜多英二²、
成田亘啓¹

【目的】我々はclarithromycin(CAM)長期投与により切除不能の原発性非小細胞肺癌患者の生存期間が延長し各種臨床パラメーターの改善を認める事を本学会で報告した。今回、その機序解明の為、動物モデルを用いて、CAM投与によるサイトカインmRNA発現の変動をReverse transcriptase-polymerase chain reaction(RT-PCR)法を用いて検討した。

【対象・方法】雌C57BL/6マウスにLewis肺癌細胞を腹壁に 3×10^5 個皮下接種したモデルを用い、検体として脾細胞を用いた。CAM投与群はCAM10mg/Kg/日強制経口投与した。

腫瘍接種群をCAM投与群、非投与群に分け腫瘍接種7、14、21日目で各群腫瘍径を測定後、犠牲死させIL-12mRNAの発現を検討した。

腫瘍接種群、非接種群に対しCAM投与群、非投与群について実験開始14日目で各種サイトカインの発現を検討した。

【結果】腫瘍接種群でCAM投与により有意に腫瘍増殖が抑制された。腫瘍接種21日目でCAM投与群が非投与群よりIL-12mRNAの発現が強かった。

腫瘍非接種群ではCAM投与、非投与でサイトカインmRNA発現に有意差を認めなかった。腫瘍接種群ではCAM投与群は非投与と比較してIL-4、IL-12p40、IFN- γ の発現増強認め、IL-6の発現低下を認めた。

【考察】CAMは担癌状態での各種サイトカイン産生を制御している可能性が示唆された。また、抗癌化学療法とCAMの影響についても報告する予定である。

非小細胞肺癌患者に対する clarithromycin(CAM)
の有用性 - NK 活性に与える影響 -

奈良県立医科大学第2内科¹ 同 細菌学²
○坂本正洋¹, 澤木政好¹, 三笠桂一¹, 濱田 薫¹
古西 満¹, 前田光一¹, 寺本正治¹, 森 啓¹
植田勝廣¹, 眞島利匡¹, 喜多英二², 成田亘啓¹

【目的】我々は14員環マクロライド系抗菌薬 clarithromycin(CAM)が BRM 活性を有し非小細胞肺癌患者の生存期間を有意に延長させ、その作用機序の1つとして IL-12 の生物活性増強による細胞性免疫能亢進を報告した。今回は更なる作用機序の解明と投与時期の決定のため、非小細胞肺癌患者及びマウス肺癌モデルで CAM 投与前後の NK 活性を測定した。

【対象・方法】①臨床検討：当科に初回入院した切除不能原発性非小細胞肺癌患者18例（腺癌11例、扁平上皮癌7例。Ⅲ期12例、Ⅳ期6例）を対象とした。CDDP を中心とする抗癌化学療法と放射線療法を施行し、抗癌療法終了4週後から CAM400mg/日を経口投与した。そして抗癌療法前、CAM 投与前、投与1カ月、3カ月後に NK 活性を測定した。②マウス肺癌モデル：6週令雌 C57BL/6 マウスにルイス肺癌を腹壁皮下接種したマウス肺癌モデルを用い、腫瘍接種7日後 (day7) に CDDP 6mg/kg、VDS 7mg/kg を静注し、同日より CAM 10mg/kg/day を連日強制経口投与した同時併用群と抗癌剤投与後7日目 (day14) より CAM を開始した群、溶媒対照群、抗癌剤も CAM も投与しなかった無治療群の4群に分け day-1 (腫瘍接種前日) day7、14、21 に脾細胞を取り出し NK 活性を測定した。

【結果】①臨床：Ⅲ期の12例中9例が CAM 投与1、3カ月後の時点で抗癌療法前より NK 活性が上昇していた。CAM 投与1カ月後には CAM 投与前と比較して NK 活性が上昇する傾向にあり、特にⅢ期の症例で有意に上昇した。Ⅳ期の症例では一定の傾向はなく、組織型による違いは認められなかった。②マウス肺癌：同時併用群では CAM 投与1週後 (day14) に溶媒対照群、無治療群と比較して有意に NK 活性が高かったが CAM 投与2週後 (day21) には溶媒対照群との差は認められなかった。抗癌剤投与7日後より CAM を開始した群では day21 においても、他3群と比較して有意に NK 活性は高かった。

【結語】CAM は非小細胞肺癌患者の NK 活性を上昇させるが、その投与時期に関しては抗癌療法と CAM の同時併用を行うより間隔をあけて投与する方が有効であった。

非小細胞肺癌患者における clarithromycin(CAM)投与前後の末梢血単核球中のサイトカインm-RNAの変動

奈良県立医科大学第2内科¹ 同 細菌学²
○眞島利匡¹, 澤木政好¹, 三笠桂一¹, 濱田 薫¹
古西 満¹, 前田光一¹, 坂本正洋¹, 寺本正治¹
森 啓¹, 植田勝廣¹, 喜多英二², 成田亘啓¹

(目的)我々はmacrolide系抗菌薬 clarithromycin(CAM)が切除不能非小細胞肺癌患者に対して TNF- α , IL-6, IL-1 などの各種サイトカインを制御し、BRM (生体応答修飾物質) 作用を有することとその作用により生存期間を有意に延長することを報告してきた。今回我々は非小細胞肺癌患者を対象に更に症例を増やし各種サイトカインm-RNAの測定を行い検討した。

(対象・方法)対象は切除不能の非小細胞肺癌患者10例でCDDPを中心とする抗癌化学療法と放射線療法を施行し、抗癌療法終了4週後からCAM400mg/dayを経口投与した。そしてCAM投与前と投与1カ月後、3カ月後の末梢血単核球中のIL-12, IFN- γ などの各種サイトカインm-RNAをRT-PCR法により測定した。

(結果)IFN- γ 、IL-12は投与前に比べ投与後に有意に上昇していた。また他のサイトカインm-RNAについても現在測定中であり、さらに比較定量法による評価を行う予定である。

(結語)CAMは抗腫瘍性サイトカイン IL-12, IFN- γ の産生を誘導することが明らかにされた。また他のサイトカインや体重、血中総蛋白、アルブミン、コリンエステラーゼ、ヘモグロビンなどの各種臨床パラメーターの変動と臨床病期、組織型、生存期間の関連についても検討中である。

プラチナ製剤または塩酸イリノテカンを含む化学療法施行後再発した非小細胞肺癌に対するドセタキセルのパイロットスタディ

近畿大学医学部第四内科

○家田泰浩、山本信之、吉田誠、野上壽二、中川和彦、福岡正博

「背景」非小細胞肺癌再発例に対する標準的治療は存在しない。近年、ドセタキセル $100\text{mg}/\text{m}^2$ 、3~4週間毎投与が非小細胞肺癌のプラチナ製剤既治療例に対して有効であるとの報告が吹米でなされている。しかし、わが国でのドセタキセルの投与量は $60\text{mg}/\text{m}^2$ であり、前治療としてプラチナ製剤のみならず塩酸イリノテカンが投与されていることが多い。そのような症例に対するドセタキセル $60\text{mg}/\text{m}^2$ 、3~4週間毎投与のpilot studyを行った。

「目的」非小細胞肺癌再発例に対するドセタキセル $60\text{mg}/\text{m}^2$ 、3~4週間毎投与の有効性と毒性の検討

「対象・方法」対象は、プラチナ製剤または塩酸イリノテカンを含む化学療法施行後再発した非小細胞肺癌でPS ≤ 2 、主要臓器機能が十分に保たれ、本人より文書による同意が得られた症例。方法は、ドセタキセル $60\text{mg}/\text{m}^2$ を3~4週間毎に少なくとも2コース投与する。

「結果」現在までに9例が登録され、いずれも抗腫瘍効果および毒性の評価が可能であった。前治療の効果は、NC: 4例、PD: 5例であった。治療コース数は中央値2コース(1~5コース)で、合計19コース行われ、13コース(68%)にGrade3以上の白血球減少が見られたもののneutropenic feverや重篤な非血液毒性は認めなかった。治療効果は、PR: 2例、NC: 7例(この内、MR: 1例)であった。「結論」再発例に対し、ドセタキセル $60\text{mg}/\text{m}^2$ 、3~4週間毎投与は十分耐用可能である。抗腫瘍効果は現時点で2/9例に認めているが、その有用性を検討するためには、症例の集積とそのfollow upが必要である。

進行尿路上皮癌に対するMEC(Methotrexate, Epirubicin, Cisplatin)化学療法を用いたPalliative Chemotherapyの試み

京都大学医学部泌尿器科

○水谷陽一、寺地敏郎、寛 善行、寺井章人、吉田 修

(目的) 現在進行尿路上皮癌に対して、Cisplatinを中心としたM-VAC療法(Methotrexate, Vinblastine, Adriamycin, Cisplatin)など多剤併用療法が主流となっている。当科では最近MEC療法を施行し、M-VAC療法に比べ、比較的満足のゆく結果を得ている。そこで我々は転移を有する尿路上皮癌に対するpalliative chemotherapyの試みとして、MEC療法を3~4カ月毎に1~2コース施行し、癌との共存、患者のQOLを保ちながら延命できないかどうかを検討しており、最近経験した2症例を示す。

症例1: 60歳、男性。右尿管腫瘍の診断にて右腎尿管全摘除術施行。その4カ月後、膀胱、尿道に再発し、膀胱全摘除術、インディアナバウチ造設術施行。1994年9月、肺に再発した。この肺転移に対してMEC療法を2コース施行したところ、肺転移巣は完全に消失した。我々はもう1コースMEC療法を追加しても根治や再発までの期間の延長はあまり期待できないと考え、ここで一旦退院とし、腫瘍再発の有無、患者の状態を考慮して定期的に入院の上化学療法を1~2コース施行する予定とした。その後3~4カ月毎にMEC療法を2コース施行するのを6回終了した時点で、脳転移が認められ、1997年4月に死亡した。

症例2: 69歳、男性。諸検査にて左尿管腫瘍、左副腎転移、Virchowリンパ節転移、傍大動脈リンパ節転移、両側鼠径リンパ節転移と診断された。根治は期待できないと考え、腫瘍の進展性、患者の状態を考慮し、palliative chemotherapyとしてMEC療法を3~4カ月に1~2コース施行する予定とした。1993年9月よりMEC療法を3~4カ月毎に1~2コース施行するのを3回順調に終了したが、その4回目は奏功せず、DICにて1995年1月死亡した。

(考察) この治療における問題点は、化学療法を重ねる毎にその効果が減少してくることと、化学療法後、再発までの期間が短くなることがあげられる。至適投与量、適切な投与期間などを明確に設定できるようさらに症例を重ねる必要があると考えられた。

癌化学療法剤投与による血小板減少マウスモデルに対する PEG-rHuMGDF の効果

キリンビール株式会社医薬探索研究所

○赤堀弘典, 渋谷和憲, 小村雅子, 井田ますみ,
加藤尚志, 宮崎 洋

(目的)我々がクローニングに成功したヒトトロンボエチン(TPO)は, 巨核球造血において, 巨核球コロニー形成刺激因子および巨核球成熟促進因子として作用する。TPO の活性領域である N 末端側のみを大腸菌に発現させてポリエチレングリコールを付加した PEG-rHuMGDF は強力な血小板増加作用を有している。今回我々は血小板減少モデルに対する PEG-rHuMGDF の効果を検討した。

(方法)Balb/c マウスにマイトマイシン C(MMC)投与, もしくは亜致死量の放射線照射とカルボプラチン投与を併用した血小板減少モデルマウスに処置翌日より PEG-rHuMGDF を連日投与して効果の比較を行い, 次に PEG-rHuMGDF の総投与量を一定にして, 単回, 隔日もしくは連日投与を行い効果を比較した。また, 投与開始日の検討も合わせて行った。

(結果)PEG-rHuMGDF はいずれの血小板減少モデルに対しても, 血小板減少防止作用および回復促進効果が認められ, 同時に貧血および好中球減少の改善効果も認められた。また, 投与間隔に関係なく血小板減少の防止作用および回復促進効果が認められ, なかでも単回投与が最も有効であった。貧血改善効果についても同様に単回投与が最も有効であった。その際, 骨髓中の巨核球系前駆細胞および巨核球数の回復促進もみられた。以上, PEG-rHuMGDF は処置翌日より投与を開始した場合には顕著な血小板減少改善効果がみられたが, 投与開始日を遅延させた場合にはその効果は減弱した。

(結論)以上, PEG-rHuMGDF は癌化学療法剤投与による血小板減少および貧血の改善に大変有効であり, 臨床においても有効性が期待される。

癌性腹膜炎に対する Cisplatin・Etoposide の腹腔内投与の実験的検討

東京慈恵会医科大学外科 1

○正岡直子, 又井一雄, 村井隆三, 河野修三,
保谷芳行, 平林 剛, 織田 豊, 山崎洋次

(目的) in vivo で CDDP と ETP の有効な投与方法を検討し, CDDP, ETP の細胞内濃度を測定することで細胞レベルでの相乗作用を検討した。腹水モデルは, 1×10^6 個の吉田肉腫を 7-8 週齢の Donryu rat の腹腔内に注入し作成した。

(実験 1) CDDP, ETP の総投与量 (CDDP 1.5×10^4 mg/kg, ETP 3.0×10^4 mg/kg) を一定とし, 高濃度・単回投与, 低濃度・繰り返し投与とその combination の 4 群を作製し, 生存率を比較し, 効果的な投与方法を検討した。30 日後の判定で, 高濃度・単回投与群が生存率 80%, 他群が 40% で高濃度・単回投与が有効であった。

(実験 2) 一定濃度の CDDP, ETP (CDDP 1.0×10^4 mg/kg, ETP 2.0×10^4 mg/kg) の投回数で生存率を比較した。15 日後の判定で生存率は, 単回投与群は 0%, 3 回投与群は 100% であった。

(実験 3) CDDP 単回投与群, ETP 単回投与群と CDDP, ETP 併用投与群の投与後 0.5hr, 1hr, 2hr 後の腫瘍組織内の薬物濃度を測定し, 細胞レベルでの相乗効果を検討した。CDDP は投与後 2hr 後, ETP は投与後 0.5hr 後の腫瘍内濃度が併用群で有意に高値であった。

(結果) 実験 1 より, 高濃度の CDDP, ETP を投与することが低濃度を繰り返し投与するより効果的であった。実験 2 で, 一定濃度の CDDP, ETP では単回投与に比較し繰り返し投与することで生存率が上昇した。実験 3 では, CDDP, ETP の細胞レベルでの相乗作用が認められた。

CDDP, ETP は相乗作用があり, 併用腹腔内投与により, 癌性腹膜炎の腹水コントロールに対して有効であると考えられる。全身投与に対して副作用も少なく, 高濃度で繰り返し投与することが有効であると考えられた。

MitoxantroneとVP-16を導入した成人急性骨髄性白血病化学療法の実績（多施設共同研究）

北陸造血管腫瘍研究会、○浦崎芳正、上田孝典、
滝口智夫、川瀬満雄、渡辺明治、山崎義龜、
河村洋一、松田 保、福徳雅章、神谷健一、加藤 勤、
羽場利博、中村 忍、中村 徹

【目的】Mitoxantrone (MIT)をkey drugとし強力な抗腫瘍効果の期待できるVP-16を導入し、従来本邦で使用されてきたPDSを少なからず認められる副作用と効果が疑問視されることにより除いた成人急性骨髄性白血病(AML)の多剤短期大量療法を考案し、多施設による共同研究を行い寛解導入、長期予後について検討した。

【方法】寛解導入はBHAC-MMV療法[MIT 4mg/m²Day1-3,(5)(7):VP-16 70mg/m² Day1-4,(7):BHAC 170mg/m² Day 1-10-(12):6MP 70mg/m² Day1-10-(12)の4剤併用によるresponse oriented療法]を行った。続いてBHAC-MMV、中等量ara-C [ara-C 1.0g/m²x2/日,5日間+MIT]、サルベージ療法としても用いられるBHAC-tripleV(VCR,VLB,VP-16)、の3コースによる地固め療法を行った。強化療法はMV-THP [MTX 300mg/m² Day1: VDS 2mg/m²+Pirarubicin 30mg/m² Day8]計4コースを4つのレジメ[BHAC-AMV(ACR,6-MP,VP-16)、中等量ara-C、BHAC-MMV、BHAC-tripleV]と交互に行い治療終了とした。この間3回MTX,ara-C,PDSの髄注を行った。このうちACRはDNR等との交差耐性が少なく再寛解導入にも適した薬剤として導入した。

【結果】評価可能症例は29例で年齢中央値59才(16~79才)、M0:1例, M1:5例, M2:13例, M3:2例, M4:5例, M5:2例, M6:1例であった。寛解率は83%であった。over all survival中央値は21ヶ月でCR duration中央値は29ヶ月であった。60ヶ月以上の長期生存は29%であった。本療法に特異的副作用は認めなかった。

【結論】寛解導入療法としてBHAC-MMV療法は多施設共同研究にもかかわらず優れた成績を示した。我々は以前AMLにおいて中等量ara-C療法が寛解期間を延長する傾向を報告してきたが、それを含み非交叉性の強化療法を取り入れた本protocolは長期予後についても優れた成績を得、症例数は少ないものの治癒の期待しうる有用なレジメと考えられた。また治療終了までの期間が短縮され社会復帰が早められ患者のQOLの向上が期待できた。

5FUの前駆体とその変換酵素を用いた消化器癌に対する自殺遺伝子治療の検討

大阪大学第2外科、同細胞生体工学センター*
○完山裕基、富田尚裕、山野智基、大植雅之、
関本貢嗣、門田守人、金田安史*

目的：Cytosine Deaminase (以下CD)はcytosineを加水分解により脱アミノ化しuracilに変換する酵素で細菌や酵母には存在するが哺乳動物には存在しない。5FC (5-fluorocytosine)は抗真菌剤として古くから用いられ、ヒトには全く毒性を示さないがCDにより細胞毒性をもつ5FU(5-fluorouracil)に変換される。我々は、遺伝子導入によってこの酵素を癌細胞内で発現させることにより、全身投与された5FCが癌細胞内で高濃度の5FUに変換され、癌局所のみでの高い抗癌作用を発揮する”自殺遺伝子治療”の可能性について検討を行った。

方法：発現ベクターpEBAcTnIIに酵母由来のCDのcDNAを挿入し、HVJ-liposome法を用いてヒト肺癌cell line BXPC3に遺伝子導入した。CD遺伝子の発現はRT-PCR法で確認した。得られた導入株においてWST-1 assay法を用いて5FUおよび5FCに対する感受性を検討した。またCD導入株における培養上清中の5FU濃度を測定した。

結果：CD遺伝子の発現はRT-PCRにて導入6日目まで確認できた。CD導入株では親株やコントロールベクター導入株と比較し、5FUに対する感受性に差はみられなかったが、5FCに対する感受性は約200倍の増強がみられた。また5FCを加えた培養上清中には5FCの濃度依存性で高濃度の5FUが検出された。

結論：①酵母由来のCD遺伝子を発現ベクターに挿入し、ヒト肺癌cell lineに遺伝子導入が可能であった。

②in vitroにおいてCDと5FUの前駆体を用いた自殺遺伝子治療が有効であり、現在HVJ-liposome法を用いたin vivoにおける効果を検討中である。

抗真菌薬 5-Fluorocytosine を抗癌剤 5-Fluorouracil に転換する *E. coli* cytosine deaminase 遺伝子を用いた癌に対する遺伝子治療の基礎的検討

和歌山県立医科大学第2外科

○中森幹人, 谷村 弘, 山上裕機, 岩橋 誠, 角田卓也, 上田健太郎

〔目的〕消化器癌の術後補助療法として期待されている遺伝子治療について抗真菌薬5-Fluorocytosine (5-FC) を抗癌剤5-Fluorouracil(5-FU)に転換する *E. coli* cytosine deaminase(CD)遺伝子を用いて基礎的検討を行った。

〔方法〕マウス大腸癌細胞株CT26を用い, I) *in vitro*でCD発現アデノウイルスベクター(Ax・CD)を用いて遺伝子を導入し, 1) 様々な m.o.i において CT 26 に CD 遺伝子を導入し, 5-FC (250 μ g/ml) 添加培養液で7日間培養後, MTT assay で増殖抑制効果を検討した. 2) Double chamber の上層にCD遺伝子細胞をseedし, 5-FC添加培養液で7日間培養し, 下層の親株CT26のコロニー数を計測した. 3) 遺伝子導入細胞と遺伝子非導入細胞の比率を変えて混合培養し, MTT assay で Bystander effect を検討した. II) *in vivo* 遺伝子治療の目的で, マウスの皮下腫瘍部に直接, Ax・CDを注入し, 5-FC (500mg/kg/body) を10日間腹腔内投与し, 生存期間を観察した。

〔成績〕1) m.o.i 7.5で約30%の増殖抑制効果を認め, その効果はm.o.i依存性であった. 2) Double chamber の上層で転換された5-FUが下層の親株CT26の増殖を抑制し, 上層の細胞数依存性であった. 3) 総細胞数のうち遺伝子導入細胞の割合が20%存在するだけで, 有意なbystander effect を認めた. 4) 担癌 マウスでは, Ax・CD+5-FC群で生存期間の延長傾向を認めた。

〔結論〕CD遺伝子を用いた消化器癌治療の基礎的検討として, 自殺遺伝子治療は期待できることがわかった。

腎癌および尿路上皮癌における PyNPase 活性と 5FU および 5'-DFUR に対する感受性に関する検討

浜松医科大学泌尿器科

○平野恭弘, 牛山知己, 鈴木和雄, 藤田公生

〔目的〕PyNPase 活性値が各腫瘍におけるFU系抗癌薬の効果および感受性を予測する指標となりうるかについて検討した。

〔方法〕1996年6月から1997年12月までに当科で手術を受けた腎癌症例20例, 尿路上皮癌症例20例から得られた臨床検体を対象とした(腎癌:腫瘍部;20検体, 正常部;17検体, 尿路上皮癌:腫瘍部;20検体, 正常部;10検体)。PyNPase 活性値はELISA法で測定した。5FUおよび5'-DFURの感受性について, 組織培養法を用いた *in vitro* 抗癌薬感受性試験であるhistoculture drug response assayを行った。PyNPase活性値と各病理組織学的パラメーターについて統計学的に比較, 検討した。さらに, PyNPase活性値と5FUおよび5'-DFURの感受性との間の相関の有無について検討した。

〔結果〕PyNPase 活性値は, 腎癌腫瘍部:160.4 \pm 250.1 Unit/mg prot., 正常部:14.9 \pm 10.0Unit/mg prot., 尿路上皮癌腫瘍部:47.4 \pm 34.2 Unit/mg prot., 正常部:36.6 \pm 27.6 Unit/mg prot.で, 腎癌において腫瘍部と正常部の間に有意差を認めた ($p=0.0222$)。また, 腎癌において腫瘍進展度, 浸潤度, 病期が増すにしたがい PyNPase 活性が高値となる傾向にあった。さらに, 腎癌では, 5FU, 5'-DFURに対する感受性とPyNPase 活性値の間に有意な相関関係を認めた (5FU: $r=0.726$, $p=0.0243$, 5'DFUR: $r=0.737$, $p=0.0074$)。しかし, 尿路上皮癌については2薬物の感受性の間には有意な相関関係を認めたが ($r=0.555$, $p=0.0099$)、PyNPase 活性値と2薬物それぞれの感受性の間には相関を認めなかった。

〔結論〕今回の検討からは, FU系抗癌薬が有効と思われる腎癌症例の存在が考えられた。また, PyNPase 活性値の測定のみではFU系抗癌薬の効果の予測を誤る場合もあると思われた。

胃癌、大腸癌、乳癌におけるPyNPase活性と
5'-DFUR感受性

岩手医科大学第1外科

○川村英伸、寺島雅典、滝山郁雄、入野田崇、
斎藤和好

【目的】5'-DFURの抗腫瘍効果を予測するために、胃癌、大腸癌、乳癌の切除標本におけるpyrimidine phosphorylase (以下PyNPase) 活性を測定し、5'-DFURのin vitro感受性との関連を検討した。

【対象と方法】胃癌22例、大腸癌10例、乳癌15例を対象とした。腫瘍摘出後、原発腫瘍組織(以下T)及び隣接正常組織(以下N)内のPyNPase活性値をELISA法にて求めた。5'-DFURのin vitro感受性は無血清培養によるATP法にて判定した。薬剤処置群の対照群に対する増殖抑制が50%以上の場合に感受性陽性とした。

【結果】PyNPase活性値(U/mg, mean±SD)は、胃癌でT 124.1±72.9 (range: 28.0~261.0)、N 49.0±19.0 (18.9~89.1)(T vs N, p<0.01)、大腸癌でT 60.0±19.1 (31.6~86.0)、N 36.7±12.9 (17.4~59.3)、乳癌でT 183.4±117.4 (14.7~479.8)であった。5'-DFURの感受性は、胃癌8例、大腸癌6例、乳癌4例で検討可能であった。感受性とPyNPase活性値との関連では、胃癌で感受性陽性群146.9±38.9:陰性例群55.0±27.1(p<0.01)、大腸癌で66.5±26.1:65.3±9.9、乳癌で251.0:55.6±39.6と、胃癌と乳癌の感受性陽性群でPyNPase活性が高値であった。

【結語】腫瘍組織内のPyNPase活性は、胃癌、乳癌において高い傾向を示し、特に胃癌では正常組織内に比較し有意に高値を示した。胃癌、乳癌では、PyNPase活性高値例で5'-DFURの高い抗腫瘍効果が予測された。

フッ化ピリミジン関連酵素TS,DPDおよびその
mRNAを対象とした新たな抗癌剤感受性試験

慶應義塾大学外科

○石川洋一郎、久保田哲朗、北島政樹

【目的】ヌードマウス可移植性ヒト腫瘍株を用いて、5-fluorouracil (5-FU)感受性と thymidylate synthetase(TS), dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 酵素活性および TS,DPD-mRNAの相関関係を検討した。【対象と方法】ヌードマウス可移植性腫瘍株 SC-1-NU, St-4, H-111 (胃癌株), Co-4, COL-3-JCK (大腸癌株), PAN-3-JCK(膵癌株), MX-1(乳癌株)の計7株を対象とした。上記腫瘍株をBALB/cAヌードマウス雄の両側背部皮下に接種し、対数増殖期の腫瘍を摘出し、TS,DPD酵素活性及びTS,DPD-mRNAを測定した。5-FUの投与法は60 mg/kg ip q.4.d.×3とし、感受性の判定は、相対平均重量比 (T/C) により行った。TSの測定にはSpearsらの方法、DPDの測定にはNaguibらの方法、TS,DPD-mRNA測定にはRT-PCR法(Gonzalesらの方法)を用いた。【結果】mRNAレベルと酵素活性の間には、ある程度の相関傾向が認められた。DPD活性、DPDmRNAと5-FUに対する感受性の間には正の相関関係が認められ、高いDPD活性および高いDPDmRNAは5-FU低感受性に関与する可能性が示された。一方、TSとT/C、TSmRNAとT/Cの相関は低かった。【結論】今回の検討では、5-FUの分解酵素(DPD)活性およびそのmRNAレベルの高値は5-FUの低感受性と関連する傾向を明らかにした。すなわち、5-FUからF-β-alanineへの分解酵素が高い腫瘍においては、局所における5-FUの分解が速やかであるため、磷酸化による活性化経路が抑制され、感受性が低下するものと考えられた。また、TSよりむしろDPDの方が5-FUの感受性に強く関与している可能性が示された。DPDmRNAのRT-PCRによる測定は、少量の検体によっても可能であり、今後内視鏡生検等による新たな抗癌剤感受性試験としても有用であろうと考えられた。

胃癌におけるTS活性及びDPD活性の測定による5-FUの効果及び副作用予測に関する検討

岩手医科大学第一外科

○寺島雅典、入野田 崇、中屋 勉、滝山郁雄、川村英伸、斎藤和好

【目的】腫瘍組織の酵素活性からみた5-fluorouracil (5-FU)の治療効果及び副作用予測の可能性について検索する目的で、胃癌におけるthymidilate synthase (TS)活性及びdihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)活性と5-FUの感受性との関連について検討した。

【方法】胃癌細胞株としてMKN-1、MKN-7、MKN-28、MKN-45、MKN-74、GT3TKB、GCIY、IS-1の8株及び胃癌臨床検体16検体を対象とした。これらの腫瘍において細胞をhomogenize後遠心し、上清を酵素溶液として採取した。この酵素溶液中のTS活性をSpearsらの方法にて、DPD活性をEtienneらの方法にて測定した。5-FUに対する感受性を細胞株ではMITT法にて、臨床検体では無血清培養によるATP法にて判定し、TS活性、DPD活性の結果と比較検討した。

【結果】胃癌細胞株のTS活性は111～2698 fmol/mg proteinに分布していた。DPD活性は全体に低値で8株中4株のみで検出可能であった。DPD活性が検出出来なかった細胞においては、5-FUのIC50値と、TS活性との間には有意な相関 ($r=0.995$) を認めた。しかし、DPD活性の検出可能であった4株では5-FUのIC50値とTS活性の間に関連を認めなかった。臨床検体では全ての検体でTS活性、DPD活性共に検出可能であり各々21.9～329.1 fmol/mg protein、3.0～1,225.6 pmol/mg/minに分布していた。16検体中8検体において5-FUに対する感受性が判定可能であったが、TS活性150 fmol/mg protein以下でかつDPD活性200 pmol/mg/min以下の検体でのみ5-FUに対する感受性が認められた。

【結語】腫瘍組織内のTS活性、DPD活性の両者を測定する事により5-FUの抗腫瘍効果が予測出来る可能性が示唆された。現在肝組織中のDPD活性も併せて測定し、副作用発現との関連について検討中である。

フッ化ピリミジン感受性に及ぼす活性化(PyNPase)、不活性化(DPD)酵素の検討

慶應義塾大学医学部外科

○小林直之、久保田哲朗、渡邊昌彦、大谷吉秀、寺本龍生、北島政樹

(目的)ヌードマウス可移植性ヒト癌株および大腸癌新鮮手術材料組織内を対象としてPyrimidine Nucleoside Phosphorylase (PyNPase)およびDihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD)活性を測定し、これらの酵素活性とフッ化ピリミジン抗腫瘍効果の関連性を検討した。

(方法)ヌードマウス可移植性ヒト癌株5株、大腸癌手術症例原発巣28例を対象とし、5-FUおよび5'-DFURの感受性をHistoculture Drug Response Assayにより検討した。検体の一部を凍結保存し、PyNPaseおよびDPD活性をHPLC法により測定した。

(結果と考察)5-FUと5'-DFURの*in vitro*抗腫瘍スペクトラムは全く同一ではなかった。PyNPaseおよびDPD活性は臨床病学的背景因子との間に統計学的に有意な相関を示さなかった。高いPyNPase活性は5'-DFUR感受性に帰結した($P=0.045$)が、5-FU感受性との間には相関関係は示されなかった。また、高いDPD活性は5-FU低感受性に相関した($P=0.035$)が、5'-DFUR感受性には関係しなかった。腫瘍組織におけるフッ化ピリミジン活性化および不活性化酵素はフッ化ピリミジン感受性に関与しており、これらの酵素活性値を指標とした各種フッ化ピリミジンの選択は臨床的に有用と考えられた。

膵癌におけるThymidine phosphorylase発現の臨床病理学的意義 - 薬剤感受性の多様性の一因として -

島根医科大学第一外科

三成 善光、仁尾 義則、平原 典幸、高村 通生、佐々木 晋、井口 千景、角 昭一郎、田村 勝洋

【目的】Thymidine phosphorylase (TdRPase)は核酸合成に関与し、各種の癌組織で活性が高く、腫瘍増殖への関与が示唆されてきた。また、FU系抗癌剤の代謝や、癌の薬剤感受性にも関与している。今回、我々は、膵癌におけるTdRPase発現と、その臨床病理学的意義、特に薬剤感受性との関連をretrospectiveに検討した。

【方法】ホルマリン固定パラフィン包埋ヒト膵癌組織(切除例の原発巣50例、切除不能例の転移巣30例)及び良性疾患(慢性膵炎11例、過形成3例、嚢胞腺腫2例)を用い、抗TdRPase抗体を用い免疫組織染色を行った。染色性は核染色陽性細胞数50%以上を陽性とし、TdRPase陽性率と膵癌の臨床病理学的因子、及びFU系薬剤による術後化学療法の効果との関連について生存率から検討した。

【結果】TdRPase陽性率は、膵良性疾患では13%(3/24)で、膵癌原発巣50例では72%(36/50)、転移巣30例では20%(6/30)であった。TdRPase発現は、膵良性疾患に比べ膵癌で有意に高く、原発巣に比べ転移巣で有意に低かった($p<0.01$)。臨床病理学的因子では、原発巣、転移巣のいずれも、TdRPase発現と生存期間、臨床病期、組織型等との関連はなかった。術後化学療法との関係では、TdRPase陽性群では、化学療法群と非施行群の間に生存率の差はないが、TdRPase陰性群では、化学療法群の1年生存率は80%、非施行群は20%と、化学療法群が有意に良好であった。

【結語】(1) TdRPase発現は膵癌では膵良性疾患に比べ高いが、膵癌原発巣に比べ転移巣では有意に低かった。(2) 膵癌のTdRPase発現は、術後生存率、他の臨床病理学的因子との関連はなかった。(3) TdRPase陰性群で術後化学療法が効果的であり、膵癌のTdRPase発現と薬剤感受性との関連が示唆された。以上、膵癌における核酸合成経路が原発巣と転移巣で異なり、また、TdRPase発現が膵癌における薬剤感受性の多様性と抵抗性の一因である可能性が示唆された。

ヒト腫瘍臨床検体におけるチミジル酸合成酵素(TS)とin vitro感受性試験の検討
癌研・癌化学療法センター・臨床部1)

新田ゼラチン(株)2)

杉山勝紀1), 水沼信之1), 宇野真二1), 大澤浩1), 柴田はるみ1), 堀越昇1), 谷坂圭造2), 小林昶運2), 相羽恵介1)

【目的】ヒト各種腫瘍組織を用いて、フッ化ピリミジン系抗癌剤(FP)の治療効果を予測する為、FPパラメーターを測定し、in vitro制癌剤感受性との比較検討を試みた。**【方法】**対象症例は固形腫瘍35例で、検体は手術時に腫瘍組織を採取し、測定時まで -80°C にて保存した。TS触媒活性は、Robertsらの方法に従い、又TP, TK, UP, UK及びOPRTは、Petersらの方法に従い測定した。in vitro感受性試験は、Collagen Gel Droplet Embedded Culture Drug Sensitivity test (CD-DST法)にて行った。CD-DST法で用いた5-FUの濃度は、24時間接触時:

1.0 $\mu\text{g/ml}$, 5日間持続接触時: 0.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。抗腫瘍効果の評価は、薬剤非処理群(C)と薬剤処理群(T)との比(T/C)をとり、T/C 50%以下を感受性ありと判定した。**【結果】**対象症例は、直腸癌4例、結腸癌7例、乳癌12例、胃癌4例、食道癌5例、その他3例であった。24時間持続接触において感受性試験を検討し得た32例中11例(34%)で5-FUに感受性を示し、大腸癌11例中2例(18%)、食道癌4例中1例(25%)で感受性を示した。更に、5日間持続接触においては、全体で32例中6例(19%)、大腸癌10例中1例(10%)、食道癌5例中2例(40%)で5-FUに感受性を示した。5-FU 24時間持続接触及びTS触媒活性を検討し得た9例において、TS触媒活性値は、T/C 50%以下(2例): $3.68 \pm 1.20 \text{ pmol/mg/min}$, T/C 50%以上(7例): $10.73 \pm 12.99 \text{ pmol/mg/min}$ を示した。又、5-FU 5日間持続接触及びTS触媒活性を検討し得た8例において、TS触媒活性値は、T/C 50%以下(1例): 4.53 pmol/mg/min , T/C 50%以上(7例): $10.73 \pm 12.99 \text{ pmol/mg/min}$ であった。**【考察】**CD-DST法における5-FU 24時間持続接触、5日間接触の双方において、TS触媒活性は、5-FU非感受性検体の方が、高値を示す傾向が認められた。

肺癌細胞に対する新規微小管阻害剤vinorelbineの放射線増感作用の検討

国立がんセンター研究所・薬効試験部¹⁾、同・中央病院²⁾、奈良県立医科大学第2内科³⁾

○福岡和也¹⁾²⁾、西尾和人¹⁾、官澤文彦¹⁾、福本久郎¹⁾、岩本康男¹⁾、白田実男¹⁾、成清一郎¹⁾、鈴木俊宏¹⁾、成田亘啓³⁾、西條長宏³⁾

【目的】新規微小管阻害剤であるvinorelbine (Navelbine, NVB)のヒト肺癌細胞(PC-9, SBC-3)に対する放射線増感作用を*in vitro*において検討した。【方法】放射線感受性は二重寒天培地を用いたclonogenic assayにて、増感作用はIC₁₀(Gy)より算出したsensitizer enhancement ratio (SER)にて評価した。NVBの投与方法は、A)各細胞にNVBを接触した後、直ちに放射線照射を行う方法(NVB・放射線照射同時併用)、B)各細胞にNVBを接触し、24時間後に放射線照射を行う方法(NVB先行持続・放射線照射異時併用)、C)各細胞にNVBを24時間接触した後、培養液からNVBを除き、放射線照射を行う方法(NVB先行24時間接触・放射線照射異時併用)とに分けた。【結果と考察】1)非小細胞肺癌株PC-9においてはNVB 10, 20 nMを放射線照射前24時間接触した場合に増感作用(SER 1.2-1.9)を認めた。2)小細胞肺癌株SBC-3においてはNVB 1 nMを何れの投与方法で併用した場合でも増感作用(SER 1.2-1.9)を認めた。以上より、NVBはヒト肺癌細胞に対して*in vitro*において放射線増感作用を示すことが明らかにされた。現在、増感作用のメカニズムについても検討中であり、併せて報告する予定である。

消化器癌の代謝を応用した新しい化学療法剤の作製とその効果

久留米大学外科¹⁾、医化学²⁾

○石井 博、山名秀明、吉田祥吾、白水和雄¹⁾、小俣義明、高橋研一、坂本 寛、野口正人²⁾

(目的)現在までに、methionine(Met)とmitomycinC(MMC)との結合体合成の報告はなく、その癌細胞に対する効果については未だ不明である。Metが細胞増殖の過程で最初に利用されるアミノ酸であることより、極めて高率に細胞内に取り込まれることが予想される。また、Met欠乏状態において腫瘍への外因性Metの取り込みが約2倍に亢進されることが、当教室の研究により判明している。そこでMet-MMC結合体は、細胞膜を通過する際に、制癌剤としての効果が減弱されたり失活する事なくDNAと結合し、細胞障害を引き起こすことが考えられ、薬剤耐性腫瘍に対してや、制癌効果の低い薬剤であっても有効に作用する可能性が高いものと考えられる。そこで、食道扁平上皮癌に対する感受性は低いもののcytotoxicな制癌剤であるMMCを用いてMetとの結合体を作製し、Met freeでの実験的研究を試みた。(方法)MetとMMCをdicyclohexylcarbodiimide(DCCD)で結合させ、Met-MMC conjugate(Conj)を作製し、高速液体クロマトグラフィーによりconjugateを精製し、質量分析およびNMRによって化学構造を確認後、薬物効果の濃度依存性及び薬物活性をbioassayにより検討する。*in vitro*実験ではヒト食道扁平上皮癌培養細胞株に各種濃度のMMCおよびConjを、それぞれ添加し、%生細胞数を算出し、殺細胞効果を判定した。*in vivo*実験ではヒト食道扁平上皮癌を移植した担癌ヌードマウスを用いMMCとConjを各種濃度で投与し、生体内分布及び腫瘍増殖抑制効果を検討した。(結果)*in vitro*実験では、食道扁平上皮癌培養細胞に対してConjはMMC単独投与と比べて有意に高い殺細胞効果を示した。また、ヒト食道扁平上皮癌細胞を移植した担癌ヌードマウスを用いた *in vivo*実験でも、ConjはMMC単独投与と比べて有意に腫瘍の成長を抑制した。(考察)外因性Met欠乏状態におけるConj投与は、MMC単独投与に比べて食道扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果が著明に増強し、補助療法としての効果増大が示唆された。

抗癌剤投与時の直流通電による薬理動態の変化

名古屋大学医学部第二外科、○安藤秀行、伊藤勝基、王莉、平井敏、須田賢、松井隆則、陳鶴祥、斉藤理、小田和重、藤原道隆、中村肇、関口宏之、笠井保志、秋山清次、高木弘。

「目的」Methotrexateはcytostaticな抗癌剤で、血中では電氣的に陰性に荷電している。経静脈的に投与した薬剤は陽極の方に集まり、薬理動態に著しい変化をもたらすことが推定できる。腫瘍の中心部に陽極の白金電極を置き、離れた健康な組織に陰極を置けば腫瘍部に著しく薬剤が集積し、全身に対する副作用を少なくし、より大きな抗腫瘍効果が得られると考えられる。このことを確認するために動物実験を行った。

「材料及び方法」230-250gm(8週齢)のWisterラット6匹をコントロール群と電気治療群の2群に分け、電気治療群のラットの、左右の腎臓に白金電極を穿孔し2.5 Volt、50uAmpの直流電流を両極の間に実験の間中(3時間)流した。両群のラットの、両側の尿管にカテーテルを入れ、各々の腎臓からの尿を別々に採取できるようにした。Methotrexate 1mg/Kgを静脈内注射し、30分毎に採血を行い、同時に尿量と尿の中に排泄されるMethotrexateの濃度を3時間測定した。測定方法はメトトレキサートII・ダイナパック(ダイナボット社製)を使い、蛍光偏光免疫測定法FPPIA(Fluorescence Polarization Immunoassay)を用いて行った。

「結果」陽極側の腎臓からのMethotrexateの排泄が陰極側の排泄より多かった(61.6±5.6, 50.1±6.5ugm, n=3, p<0.05)。電気治療群のMethotrexateの血中濃度が対象群に比して抑えられていた。

「まとめ」直流電流によりMetho—trexate投与時の薬理動態を変化させる(陽極の周りにより多くのMethotrexateを集める)ことが出来、末梢血中のMethotrexateの濃度を抑制することが出来た。

脂肪親和性陽イオンMKT-077の抗腫瘍効果に関する検討

足利赤十字病院外科

○千葉洋平、藤崎真人、高橋孝行

慶應義塾大学医学部外科

久保田哲朗、渡邊昌彦、寺本龍生、北島政樹

「目的」腫瘍細胞ミトコンドリアに選択的に集積し細胞傷害を起こす脂肪親和性陽イオン(Delocalized lipophilic cation)MKT-077の*in vitro*, *in vivo*における選択蓄積性、抗腫瘍性および毒性を検討した。

「方法」*in vitro*ではヒト癌培養細胞株8株、胃癌手術材料より得られたヒト胃癌細胞(n=22)、ヒト脾細胞(n=10)を用いて本剤の抗腫瘍性をMTTアッセイにより検討した。本剤のcutoff濃度を30 μg/mlとし、ヒト胃癌細胞、ヒト脾細胞の抑制率を算出し、比較検討した。胃癌新鮮手術材料については本剤と既存の抗癌剤の抗腫瘍スペクトラムとの比較対照を行った。*in vivo*ではヌードマウス可移植性ヒト腫瘍株5株をマウス両側背部皮下に移植し、MKT-077 7.5~40 mg/kg/dayを投与方法・期間を変えて投与し、本剤の抗腫瘍性、至適投与方法、最大耐容量、毒性について検討した。

「結果」MKT-077の*in vitro*抗腫瘍効果はAUCに依存していた。培養細胞株8株におけるIC50は8.4±4.6 μg/mlであった。cutoff濃度を30 μg/mlとした時の抑制率は培養細胞68.3±9.7%、胃癌細胞50.3±17.7%、脾細胞35.6±17.3%であり、いずれの群間にも有意の差が認められた。胃癌症例の背景因子とMKT-077の感受性との相関では、分化型が低分化型に比して感受性が高い傾向が認められた。胃癌細胞に対するMKT-077の抗腫瘍スペクトラムはadriamycinと部分的に交差したが、他の薬剤のスペクトラムとは相関しなかった。*in vivo*では、MKN45に対するMKT-077, 7.5 mg/kg/day隔日*ip*群は対照群に比して生存期間の延長を示した。Co-4に対してはMKT-077, 7.5mg/kg/day連日*ip*群が抗腫瘍性を示さなかったのに対し、皮下埋設型浸透圧ポンプによる持続*sc*群は最小0.58のT/Cを示した。

持続皮下投与方法における最大耐容量は20mg/kg/dayと推定され、本投与方法において被検5株のうちSt-4, Co-4, CRL1420の3株が感受性ありと判定された。

「考察」本剤は新たな作用機序を有し、正常細胞と腫瘍細胞の間に高い選択毒性を示すことから、更なる開発に有望な薬剤と考えられる。

薬剤耐性とその克服におけるテロメラーゼ活性の変化

広島大学原爆放射能医学研究所腫瘍外科
○青儀健二郎、金 隆史、大井裕子、峠 哲哉

【目的】近年癌診断の有効な指標として注目されているテロメラーゼ活性は、細胞周期により増減する（S期に最も高い）ことが報告されている。今回抗癌剤耐性細胞株を用いて、抗癌剤処理後のテロメラーゼ活性及び細胞周期の変化を観察し、耐性との関連性を検討した。【方法】実験にはマウス乳がん細胞株FM3Aと、その多剤耐性株50MT-1を用いた。本耐性株は親株に比べ、doxorubicin (DOX)に対し、MTT assayにおいて18倍耐性であり(4時間接触、72時間培養)、この耐性は非抗腫瘍効果発現濃度 (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) のビスコクラウリン型アルカロイド、セファランチン (CE) 併用により1.2倍に低下した。この現象に伴うテロメラーゼ活性の変化をtelomeric repeat amplification protocol (TRAP) assayにより検討した。【結果】50MT-1はFM3Aに比べてテロメラーゼ活性が低下しており、低濃度DOX (FM3AにおけるIC₃₀, 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 処理後3日目で、FM3Aは非処理群に比べ同活性の再増強が認められたが、50MT-1においては認められなかった。しかし高濃度DOX (50MT-1におけるIC₃₀, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 処理においてはFM3Aと同様の変化が認められた。50MT-1が耐性を示さないcisplatin処理では、2株においてテロメラーゼ活性の増減に差は認められなかった。さらにCE単独処理で同活性は増強され、低濃度DOXとの併用による同活性の再増強は、高濃度DOX単独処理と同程度であった。PI染色による細胞周期解析では、S+G₂/M期比率がFM3Aにおいてより高く、DOX処理により同比率の増加が認められた。CE単独処理では各群ともS+G₂/M期比率が増加したが、50MT-1においても低濃度DOXとCEの併用により、高濃度DOX単独処理と同様同比率が増加した。これらの現象はCEによりDOXの抗腫瘍効果発現ポイントであるS+G₂/M期に細胞が集積され、耐性細胞でもDOXによるG₂/M期ブロックが起きた結果と思われた。【結論】これらの耐性株におけるテロメラーゼ活性は、耐性とその克服、さらにそれに伴う細胞周期の変化に相関して変化した。

新規 ATP binding cassette(ABC)トランスポーターのクローニング

国立がんセンター研究所薬効試験部¹⁾、分子腫瘍学²⁾、中央病院³⁾、明治薬科大学衛生化学⁴⁾、東京医科歯科大学難治研遺伝疾患細胞遺伝⁵⁾、和歌山県立医科大学紀北分院内科⁶⁾、鈴木俊宏¹⁾⁴⁾、○西尾和人¹⁾⁶⁾、佐々木博己²⁾、寺田雅昭¹⁾²⁾、田辺信三⁴⁾、池内達郎³⁾、西條長安³⁾

抗癌剤を輸送する新規トランスポーターを検索する目的で、ヒト肺がんシスプラチン耐性細胞から新規 ABC スーパーファミリーの cDNA クローニングを行った。PC-14/CDDP 細胞の RNA から、ヒトMRP の C 末側 ABC 部位に相当する degenerate primer を用いて RT-PCR を行った。得られたフラグメントをプローブに cDNA ライブラリーのスクリーニングをおこない全長 cDNA を得、short type multidrug resistance protein homologue, SMRP と命名した。塩基配列からこの遺伝子産物は 946 のアミノ酸からなり Walker A, Walker B 配列を有し、ATP 依存的に働く ABC トランスポーターであることが推測された。FISH 法にて、SMRP 遺伝子は染色体 3q27 に位置することが明らかとなった。また多くの正常組織に発現するが、MRP 遺伝子と比し、脳に特異的に高いこと、各種アドリアマイシン等の耐性株において mRNA 発現の亢進がみられ、抗癌剤耐性に寄与する可能性が推測された。この遺伝子産物の機能について合わせて報告したい。

γ-グルタミルシステイン合成酵素ヘビーサブユニット
遺伝子(GCS h)のプロモーター領域の機能解析

国立がんセンター研究所薬効試験部¹⁾中央病院²⁾、和歌山県立医科大学脳神経外科³⁾、
友成章¹⁾、○横手秀行¹⁾³⁾、西條長宏¹⁾²⁾、西尾和人¹⁾⁴⁾

我々は GCS h の発現の亢進が GS-X ポンプ機能を介するシスプラチン耐性に関わることを見出してきた。そこで GCS h のプロモーター領域の機能解析を行った。GCS h の転写開始点より上流-1413 から+91bp までの DNA 断片をもつレポーター遺伝子を作成し、COS7 細胞で一過性に発現させる系における転写活性を測定した。この領域の欠損コンストラクトを用いて転写活性を比較した結果、-315 から-24bp の AP-1 配列を含む領域は GCS h の転写活性を正に、-241 から 192bp の AT リッチな配列は負に制御していること、-192 までの GC リッチな配列、特に-108 から 28bp の配列が GCS h の basal な転写活性に重要であることが明らかとなった。さらにシスプラチン処理により GCS h の転写活性は著明に上昇した。GCS h の-192 から+91bp までの断片、ことに-108 から 28bp および+34 から+91 までの領域がシスプラチンによる転写活性上昇に寄与していると示された。

テロメラーゼ活性の測定による制癌剤の効果予測に関する基礎的検討

岩手医科大学第一外科
○滝山郁雄、寺島雅典、川村英伸、中屋勉、
入野田崇、斎藤和好

【目的】テロメラーゼ活性は殆どの癌細胞が有しており、少数の細胞でも検出可能な事から、癌の存在診断に関する有用性が報告されている。今回、制癌剤の効果予測法としての本活性測定の有用性に関して基礎的に検討した。【方法】ヒト乳癌培養細胞株(MCF-7, ZR75-1, T47D)、ヒト胃癌細胞株(MKN28, MKN45, MKN74)を用い、培養前後のテロメラーゼ活性および細胞周期を測定した。また、制癌剤としてADM、5-FU添加後のテロメラーゼ活性及び細胞周期の変化を経時的に測定した。テロメラーゼ活性はTRAP法により、細胞周期はFCM法にて解析した。また、各薬剤に対する感受性をMTT法にて測定し、IC50値を算出した。【結果】薬剤無添加対照群においては培養前後で細胞周期に変動を認めなかったが、テロメラーゼ活性は培養開始と共に経時的に増加した。薬剤添加群では、テロメラーゼ活性は殺細胞効果に比例して経時的に減少した。テロメラーゼ活性と細胞周期には関連が認められなかった。各薬剤のIC50値と薬剤添加72時間後のテロメラーゼ活性の対照群に対する比率(T/C%)について検討すると、ADMに関しては有意な傾向を認めなかったが、5-FUにおいてはIC50値とテロメラーゼ活性のT/C%に有意な相関が得られた。

【結語】培養細胞を用いた基礎的検討では、テロメラーゼ活性は細胞のviabilityを反映する結果が得られ、特に5-FUの感受性とテロメラーゼ活性の減少程度が相関する事から、臨床における5-FU系薬剤の抗腫瘍効果判定法として応用できる可能性が示唆された。

再発乳癌にたいするCMF療法の成績

市立藤井寺市民病院外科

○藤本幹夫、井上直、伊東了、塚本泰彦

平成8年4月から乳癌に対してCMF療法が認められるようになった。現在までに12例の再発乳癌患者に本治療を行ったので、その成績ならびに副作用などについて報告する。投与法は原法どおりにday 1, day 8にmethotrexate(MTX) 30-40mg/m², 5-FU 500mg/m²点滴静注し、cyclophosphamide(CPA) 100mg/dayを14日間経口投与した後、14日間休業してこれを繰り返した。一応6クール行うことを原則としたが、副作用などで中断したものもある。また、ER(+)のものにはtamoxifenあるいはtremifenを、ER(-)あるいは不明のものにはmedroxy progesterone acetate(MPA)を併用投与した。対象は29才から78才、平均57.0才の女性で、再発部位をみると局所、鎖上リンパ節、肺、肝、骨、胸水、腹水などが単独あるいは複数で認められた。治療期間は1-6クールである。1クールで中断したのは副作用あるいは癌進行のため治療が続行できなくなったためである。効果はPR2例、NC3例、PD5例、不明2例となった。PRが得られた2例のうち1例は肝転移のみの症例で、腫瘍の縮小と全身状態の著しい改善を認めた。また、もう1例は胸水のみでの再発例で、まずドレナージを行い胸水を排除した後に本療法を加えたところ、胸水の再貯留を認めなくなった。PD例ではすでに多くの先行治療がなされており、なかでもアドリア系統の薬剤が使われている例が多かった。副作用としては骨髄障害が多かった。しかもその回復は遅いので、スケジュール通りの治療を行うにはG-CSFなどが必要と考えられた。その他の副作用として悪心、嘔吐、全身倦怠感などが認められた。

炎症性乳癌に対する集学的治療における化学療法の意義

島根医科大学第1外科

○井口千景 仁尾健則 三成善光

平原典幸 佐々木晋 高村通生 田村勝洋

[目的]炎症性乳癌の予後は非常に不良である。近年手術療法に化学療法や放射線療法(RT)を加えた集学的治療による治療成績の向上が報告されている。今回、当科における炎症性乳癌に対する集学的治療の効果について検討した。

[対象と治療方法]1982年7月から1996年8月までに当科で治療した炎症性乳癌7例に対し、初期の1例は手術療法のみ、1例はFurtulon(5'-DFUR), ADR, Norvadex(TAM)による術後補助療法、最近の5例に、術前術後に補助療法を施行。1例はCDDP, 5-FU, EPIR, Endoxaaによる化学療法、TAMによる内分泌療法、40GyのRTの三者併用療法を行い、1例は、術前に5'-DFUR+TAM+ADR軟膏による治療を行った。1例は胸郭浸潤、骨、肝への転移を認め、術前にTAM, 5'-DFUR, ADR軟膏及びFAC療法を施行。2例には内胸動脈よりMMC, 5-FU, CDDP, EPIRの動注化学療法を施行。うち1例はTAM, 40GyのRTを併用。何れも術前療法により腫瘍が縮小し、切除可能となった。5例とも術後も内分泌化学療法、RTの併用療法を行い、3例中1例は術後LAKによる免疫療法も併用した。

[成績]手術のみの1例は術後3ヶ月で、術後療法のみ1例は術後6ヶ月で、術前術後療法施行5例では、2例が31, 36ヶ月で死亡され、残りの2例は、術後22, 13ヶ月を経過しているが、再発の兆候なく健存中。1例は術後3ヶ月で局所再発したため内分泌化学療法+RTに加え、LAK療法を行い、再発巣が消失、26ヶ月後の現在も加療中である。以上、術前に集学的療法を行った場合にも、長期生存が得られている。

[結論]炎症性乳癌は外科的切除が困難な場合も多いが、術前の内分泌化学療法による集学的治療で根治手術も可能となり、さらに術後補助療法を追加することで長期予後の改善が期待できる。

再発乳癌に対する Biochemical modulation therapy

和歌山県立医科大学紀北分院外科

○尾浦正二、櫻井武雄、吉村吾郎、
玉置剛司、梅村定司、粉川庸三

(目的) アンスラサイクリン(A)系薬剤投与後の再発乳癌に対する5-フルオロウラシル(5-FU)と少量シスプラチンによるBiochemical modulation therapy (BMT)の有用性を臨床的に検討した。

(対象と方法) A系薬剤(アドリアマイシン, エピルピシン, ビラルピシン)の加療歴を有する再発乳癌31例を対象とした。11例が複数臓器再発を有しており、再発部位は、局所・領域再発が13例、遠隔再発が13例、局所・領域再発と遠隔再発を同時に有する症例が5例であった。A剤の投与に関しては、16例が術後補助療法、6例が再発後治療、9例が術後補助療法と再発後治療の両方でなされていた。BMTのregimenは、5-FU 300mgをdays1-14に経口投与し、シスプラチンは10mgを生理食塩水100mlに溶解しdays1-5, 8-12に30分点滴静注するのを1クールとし、4-6週間隔で繰り返した。支持療法として28例に制吐剤を併用し、酢酸メドロキシプロゲステロンないしメピチオスタンの加療歴を有する症例には、骨髄保護を目的として同一薬剤の投与を併用した。各症例のBMTの施行回数は、1-5回(中央値3回)であった。

(結果) 1. 他覚的奏効率: Docetaxel 無効の2例を含む11例で効果が認められ、奏効率は35%であった。再発部位別には、局所・領域再発例で1例(8%)のCRと4例のPR(31%)、遠隔転移例で5例(38%)、局所・領域および遠隔転移例で1例(20%)のPRが得られた。2. 奏効期間: 奏効例でBMTを中止した2例を除く9例の奏効期間は、1-17か月(平均7か月)であった。3. 自覚症状の改善: 有痛性の骨転移を有する8例中5例(63%)で疼痛軽減効果を認めた。4. 副作用: 嘔気・嘔吐が6例(grade3 3例)。白血球減少が6例(grade3 3例)。脱毛(grade1)が3例、血小板減少(grade2)が1例。

(結語) BMTは副作用が比較的軽微で、A系薬剤の加療歴を有する再発乳癌にも有用な治療法である。

ヌードマウス可移植性ヒト乳癌株に対するvinorelbineの抗腫瘍効果の検討

¹⁾北里研究所病院外科、²⁾同研究部

○山田好則¹⁾、横沼史樹¹⁾、山田高也¹⁾、
竹内修¹⁾、鈴木達夫¹⁾、河村栄二¹⁾

<目的>

半合成のvinca alkaloid系新薬であるvinorelbine (Navelbine) について、ヌードマウス可移植性ヒト乳癌株を対象として、抗腫瘍効果の検討を行った。

<方法>

腫瘍はヌードマウスに継代移植されているヒト乳癌株R-27およびMCF-7で、いずれもestrogen receptor陽性である。検討に用いた薬剤は、vinorelbineのほか、vinorelbine(VDS), vincristine(VCR)のvinca alkaloidで、MMC, ADM, epirubicin, 5-FU, CDDP, CPT-11, taxolなど他の系統の薬剤との比較もあわせて行った。in vitroの検討は、MTTを用いたSDI法(2日間培養)により行い、3-7の濃度希釈系列を用いて、増殖抑制率を求め、50%抑制濃度(IC₅₀値)を算出した。in vivoでは、腫瘍のヌードマウス皮下移植後、推定重量が100-300mgとなった時点で、各薬剤の最大耐用量を1回腹腔内(ADM, epirubicinは静脈内)投与し、継続的に増殖抑制率を求めた。

<結果および考察>

in vitroでvinorelbineのMCF-7およびR-27に対するIC₅₀値は、それぞれ2.39、2.95μg/mlであり、VDS(40.7、45.7μg/ml)、VCR(63.1、75.9μg/ml)より優れていた。他の薬剤のIC₅₀値は、CPT-11とepirubicinを除き10μg/ml以上であった。in vivoの検討では、他の多くの薬剤では認められない、腫瘍の退縮が投与後約3週にわたり認められた。R-27に対する抑制率は55.9%であった。

vinorelbineは乳癌に対する2次ないし3次の治療手段として有用である可能性が示唆された。

食道癌化学療法の効果と予後

名古屋大学第2外科

○関口宏之、秋山清次、藤原道隆、中村 肇、小田和重、松井隆則、斉藤 理、須田 賢、笠井保志、伊藤勝基、高木 弘

【目的】術前進行食道癌症例を中心に5-FU + low-dose CDDP (FLDP)の化学療法を施行し、効果、予後につき検討した。

【方法】投与法は1週間を1コースとし、5-FUは500mgを7日間、CDDPは10mgを5日間で、2コース終了1週間後に効果判定を行う。効果と副作用より追加投与を検討する。追加投与は2コースを基本とし、再度効果判定を行う。

【結果】対象は進行食道癌43例で、FLDP 2コース施行例は24例、3コースは4例、4コースは15例。効果判定はCR 1例、PR 24例、MR 9例、NC 9例で奏効率は58%であった。化療後の腫瘍切除例は27例、非切除例は16例で、非切除例は化療の効果に関係なく予後不良であった。切除例の予後を効果別にみるとCR+PR群、MR群、NC群の平均生存期間は各々19か月、17か月、8か月であり、NC群の予後は不良であった。

【考察】進行食道癌に対するFLDPは奏効率58%と比較的良好な結果が得られた。しかし腫瘍切除を施行したNC 4例は、全て組織学的根治度I以上であったが、予後は不良であり非切除例と大差はなかった。これら4例はいずれも術後早期に血行性転移を来し、1年以内に全例死亡した。抗癌剤は血管内皮細胞のセレクチンとそのリガンドである癌細胞の糖鎖抗原の発現を増強し、血行性転移を促進すると考えられている。NC 4例は化学療法の抗腫瘍効果よりもこのadverse effectが優位となり、さらに手術侵襲が加わり急速に転移を来したと考えられる。このような症例では化療前に制癌剤感受性試験にて効果が予測できていれば、治療方針が変更され、予後がいくらか改善されていた可能性がある。

食道癌における術前化学療法の問題点

自治医科大学消化器一般外科

佐久間和也、渋谷公行、細谷好則、上野勲夫、長島徹、高沢泉、小林伸久、腰塚史朗、土屋一成、和氣義徳、金澤暁太郎

【目的】われわれは、進行食道癌の治療成績の向上を目的に、術前化学療法を施行しており、その問題点と有用性の検討を行う。

【対象】①術前化学療法群：1993年1月より、97年11月までに経験した食道癌症例中、術前診断StageⅢ以上で、かつ切除可能と考えられるものとした。年齢は、75歳以下、CcrIは、60ml/min以上とし、56症例が、適応となった。②対照群：1992年5月から97年10月までの症例中、術前化学療法を行わなかったStageⅢ以上の症例を選んだ。

【方法】第1日目にCDDP約100mg/bodyを2時間で静注し、5-FU約1000mg/bodyを翌日より、5日間24時間持続投与した。8例を除き、他は1クール終了後平均21.6日で手術となった。切除標本の腫瘍の最大断面で、食道癌取扱規約の基準に基づいて、治療効果を組織学的に判定した。

【結果】術前化学療法は、白血球、血小板、およびCcrを有意に低下させた。また、化療群はコントロール群に比べ術後肺合併症の頻度が多かった。1生率と2生率は、化療群58.8%、47.5%、非化療群68.2%、48.3%であった。ただし、治療効果別で見るとG-0(n=26)では44.3%、34.5%、G-1(n=20)では66.3%、44.2%、G-2(n=8)では100%、100%、G-3(n=2)では100%、100%であった。以上より、G-2、G-3で、高い生存率が得られたが、逆にG-0、G-1では、非投与群と変わらない結果があるいは生存率の低下が認められた。特に、G-0で術前化療群は統計学的に有意差をもって生存率の低下が認められた。

【結語】以上より、術前に有効群と無効群を正確に判定した後、術前化療の有無を決定すること、術前化学療法による副作用を軽減することが、患者の生命予後、およびQOLの改善につながると考えられた。

進行食道癌に対する5-FU, CDDP併用術前化学療法の検討

東京女子医科大学付属第二病院外科

○島川 武、成高義彦、我妻義久、若杉慎司、
勝部隆男、芳賀駿介、小川健治、梶原哲郎

【目的】深達度A₂以上またはリンパ節転移N₂以上の進行食道癌に対して、5-FU、CDDPによる術前化学療法を施行し、その有用性、安全性について検討した。

【対象及び方法】対象は1995年5月以降、当科で本療法を施行した進行食道癌27例である。内訳は、年齢は35~74歳(平均61.3歳)、性別は男性25例、女性2例、腫瘍長径は4.0~10.0cm(平均6.8cm)、肉眼型は2型が11例、3型が16例、進行度はStageⅢが10例、StageⅣが17例であった。投与方法は、5-FUは750mg/日を第1~5日に持続点滴静注し、CDDPは同じく第1~5日に20mg/日を生理食塩水500mlに溶解して2時間で点滴静注した。その後16日間休業して3週間を1クールとした。1クール終了後効果判定し、progressive disease(PD)の場合を除いて、原則として2クール施行した。その後再び効果判定し、切除可能と判断した場合は手術を施行した。

【成績】本療法の施行回数は、1クールが3例、2クールが21例、3クールが3例であった。最終クール後の奏効度は、complete response(CR)はなく、partial response(PR)が11例、no change(NC)が14例(minor response:5例)、PDが2例で奏効率は40%であった。PRの7例とNCの6例の計13例に手術を施行し、切除率は48%であった。そのうち、7例は治療前にはA₃またはN₄と根治切除不能症例であった。切除標本での制癌剤の組織学的効果判定では、Grade0:1例、Grade1a:9例、Grade2:1例、Grade3:1例であった。副作用は、消化器症状がGrade1:3例、骨髄抑制がGrade1:4例、Grade2:4例で、腎障害はGrade1:1例といずれも軽度であった。切除例の予後は、未だ観察期間が短いため有意差はなかったが、術前化学療法のない手術例に比べて良好な傾向がえられた。

【結語】本療法は有効で安全性も高く、根治切除不能とされた進行食道癌に積極的に試みるべき治療法と考えられる。

胃癌に対する術前化学療法

一経口フッ化ピリミジンUFTを用いて

島根医科大学第1外科

○佐々木 晋、仁尾義則、平原典幸、井口千景、
高村通生、三成善光、田村勝洋

【目的】胃癌の治療成績向上のため様々な補助療法の試みがなされており、その1つである術前補助化学療法は、腫瘍の縮小、手術待機期間中の転移や進行の予防などを目的としている。今回、簡便で副作用が少なく、外来投与可能な経口フッ化ピリミジン製剤であるUFTで胃癌術前化学療法を行い、その効果と有用性を検討した。(方法)手術待機中の胃癌68例に対して、UFTによる術前化学療法を行った。投与方法は、100~600 mg/dayで、当科受診日より7~36日間連日投与とした。抗腫瘍効果判定は、上部消化管内視鏡、胃透視を用い、胃癌研究会の胃癌取り扱い規約の判定基準に基づいた。(結果)効果判定可能56例において、CR 2例、PR 18例、NC 36例、PD 0例で、奏効率は36%であった。また、早期胃癌では奏効率38%、進行胃癌では34%であった。投与量からみた肉眼的奏効率は、1回投与量、総投与量においては差を認めなかったが、投与期間が3週間以上の症例で奏効率が高い傾向にあった。組織学的奏効率は、Grade3、2例(3%); 2、9例(13%); 1b、9例(13%); 1a、22例(32%); 0、26例(38%)であった。組織内薬剤濃度は、正常胃粘膜内より腫瘍組織内で高く、FT濃度は総投与量が多いと高い傾向にあったが、5-FU濃度は、総投与量との関連を認めなかった。投与中の副作用は、食欲不振が9%、肝障害が6%にみられたが、重篤な副作用は認めなかった。生存率曲線では、Stage IV例で3年生存率が29%と良好であった。(結論)UFTによる胃癌の術前化学療法により、高い奏効率が得られ、手術待機期間中の癌の進行予防の効果が認められた。一方、重篤な副作用は認めなかった。UFTによる胃癌術前化学療法は、簡便で副作用も少なく、癌の進行予防、また、down-stagingを計りうることを示唆された。

女性患者の尿検査における採尿方法による差について

岡山赤十字病院 泌尿器科
○近藤捷嘉

【目的】女性患者の尿検査において自排尿と導尿の所見が一致しない症例を稀に経験する。そこで、自排尿と導尿の尿所見を比較して、どの程度の差がみられるかについて検討した。

【方法】まず自排尿と導尿の所見を比較した。ついで自排尿を前半と後半に分けて採取し、比較した。さらに後半尿と導尿の所見を比較した。なお、自排尿は湿性綿にて外陰部を清拭後、採取した。

【結果】自排尿で異常〔白血球数5個/hpf以上、細菌(+)以上〕を認めた20例について、導尿でみると白血球数は12例で正常(5個/hpf未満)となり、細菌は17例が(-)であった。この17例の導尿による尿培養はすべて陰性であった。つぎに前半尿と後半尿において白血球数を比較すると、50例中25例は前半尿、後半尿ともに正常であった。前半尿で異常を示した25例中11例は前半尿と同じ所見を示したが、10例は後半尿で正常であった。後半尿と導尿の尿所見を11例で比較したが、白血球数は8例がほぼ同じ所見であり、後半尿で異常を示した6例中1例は正常であった。後半尿の尿培養で菌数 10^4 個/ml以上であった7例中4例は導尿で 10^3 個/ml以下、あるいは陰性であった。

【考察】UTI薬効評価基準第4版(暫定案)では中間尿の所見に疑問がある場合は、カテーテル尿で再検査することとされている。今回の検討でも後半尿で白血球数、尿培養に異常所見をみとめた場合には、導尿での再検査が望ましいと考えられた。

Chlamydia trachomatis の抗菌薬耐性化と mutation に関する検討

札幌医科大学医学部泌尿器科¹⁾

国立感染症研究所ウイルス第一部²⁾

○高橋 聡¹⁾²⁾、萩原敏且²⁾、広瀬崇興¹⁾、塚本泰司¹⁾

(目的) *C. trachomatis* は性感染症(STD)などの原因菌として頻度が高く、HIV 感染の危険因子としても注目されている。同じSTDの原因菌として頻度が高い淋菌では抗菌薬の耐性化が問題になっているが、*C. trachomatis* では耐性の報告は少ない。また、ニューキノロン系抗菌薬に対しては、淋菌とは異なり耐性化の報告はない。そこで、われわれは、*in vitro* で *C. trachomatis* に対するニューキノロン系抗菌薬耐性化の検討を行ったので報告する。

(方法) *C. trachomatis* 血清型D型標準株(D/UW-3/Cx)に levofloxacin(LVFX; MIC: 0.5 μ g/ml) を4継代間 subMIC で作用させ、72時間の継代毎にMICを測定し、DNAを抽出した。そして、Rapid Amplification of Polymorphic DNA(RAPD)法で継代毎のDNA fingerprintingを比較し、mutationの有無を検討した。

(結果) 0.125 μ g/mlのLVFXを作用させた場合、3から4継代目にMICは一段階ほど上昇し、1 μ g/mlとなった。LVFXを除いた後では再び0.5 μ g/mlへと回復した。また、継代毎のDNA fingerprintingではLVFX作用直後より、その増幅産物のパターンには変化が見られた。これも、LVFXを除いた後では、LVFX作用前のパターンに戻っていた。

(考察) *in vitro* では、他の抗菌薬と同様に *C. trachomatis* は抗菌薬に耐性化しにくいのではないかと考えられた。MICとDNA fingerprintingとの関連は明らかではないが、抗菌薬作用直後より何らかのmutationが生じたと考えられた。また、LVFXを除いた後では、感受性が回復することより、*in vitro* では臨床分離時のMICを見ていない可能性が考えられた。さらに、mutationに関する詳細な検討を行っている。

(会員外共同研究者)

国立感染症研究所ウイルス第一部 志賀定詞

日立化成工業医薬品研究所 井筒 浩

Sparfloxacinが無効であった淋菌性尿道炎の基礎的・臨床的検討

九州大学泌尿器科¹⁾、三菱化学BCL化学療法²⁾
 ○田中正利¹⁾、高橋康一¹⁾、長藤達生¹⁾、熊澤淨一¹⁾
 小林實吉吉²⁾

【目的】 Sparfloxacin (SPFX) は、現在我が国で市販されているニューキノロン系薬の中では淋菌に対し最も強い抗菌力を示す薬剤であり、STDとしての淋菌感染症に幅広く使用されてきた。しかしながら、最近ではSPFXに対しても淋菌の耐性化が目立っている。最近我々が経験したSPFXが無効であった淋菌性尿道炎について基礎的・臨床的検討を行ったので報告する。

【対象・方法】 対象患者は、SPFXが無効であった男子淋菌性尿道炎4例である。平均年齢は28歳であった。感染地は全例とも福岡市で、感染源は2例が性風俗女性、2例が友人であった。SPFXは1日300 mg分3で、4～7日間投与されていた。各症例からSPFX投与前後に分離された合計8株の淋菌のSPFXをはじめとする各種ニューキノロン系薬に対する薬剤感受性を測定した。また、SPFX投与前後における*gyrA*遺伝子および*parC*遺伝子の変異を調べた。

【結果】 各症例からSPFX投与前後に分離された淋菌に対する本薬のMICはそれぞれ、case 1で0.25 μg/ml、4 μg/ml、case 2で0.25 μg/ml、1 μg/ml、case 3で0.25 μg/ml、0.5 μg/ml、case 4で4 μg/ml、4 μg/mlであった。すなわち、case 1では投与後分離株に対するSPFXのMICは投与前分離株に対するそれより16倍も高い値を示した。なお、他の3症例においては、投与後分離株に対するSPFXのMICは投与前分離株に対するそれより1～4倍高い値を示したに過ぎなかった。SPFX投与前分離菌4株は、全株とも*GyrA*に2カ所(Ser-91→Phe、Asp-95→Asn)、および*ParC*に1カ所(Ser-88→Pro)の合計3カ所に同じアミノ酸変異を有していた。一方、投与後分離株では、case 1から分離された株に*ParC*においてGlu-91→Glyへの新たなアミノ酸変異が加わっていたものの、他の症例の投与後分離株には新たなアミノ酸変異は認められなかった。

臨床分離淋菌株の新キノロンMICの年次推移

日赤医療センター 泌尿器科
 ○小島弘敬
 神奈川衛研 細菌病理部
 黒木俊郎

【目的】 1980年代淋菌性尿道炎は新キノロン投与により淋菌陰性化が得られたが、1990年代に入り陰性化不成功例が生じ、その後その頻度が増加しつつある。新キノロン耐性が遺伝子変異によることが田中らにより報告された。東京地方の臨床分離淋菌株の新キノロンMICの経時的推移を検討した。

【方法】 1983年から1994年までに日赤医療センターにて尿道炎、頸管炎症例から分離された淋菌株578株を対象とした。MIC測定は神奈川衛研にて、WHO法に従い接種菌量 10^6 CFUで行われた。

【結果】 OFLXに対するMICは1984年まで0.125 μg/ml以下であったが、1985年以後1 μg/mlの分離株、1992年以後8 μg/mlの分離株を生じた。0.195～1 μg/mlの分離株の比率は1990年には3%であったが急増して1991年以後30%以上となっている。0.125 μg/ml以下の分離株の比率は1990年まで70%以上を占めたが、1991年以後60%以下に減少している。

新キノロンの淋菌に対するMICはOFLXを1とすれば大体ENX 4～16、NFLX及びLFLX 2～4、CPFX及びTFLX 1/2、SPFX 1/4となっているが、OFLXについて認められた淋菌のMIC増加は各薬剤にも共通して認められた。

淋菌性尿道炎についての淋菌陰性化不成功例は、分離淋菌MICが1 μg/ml以上の症例に多く生じている。

OFLXのMICがたかい株はPCGのMICもたかい傾向が認められる。PCG-MIC 0.781以上の分離株の比率はOFLX-MIC 0.03以下群では約25%、0.048～0.125群では約40%、1.563～8群では70%であった。

【結論】 新キノロンに対する淋菌MICは1991年以後とくに増加し、陰性化不成功例を生じる1 μg/ml以上の分離菌比率は1994年、ENX 35.7%、NFLX、LFLX 25.0%、OFLX 7.1%、CPFX、TFLX、SPFX 0%であった。

尿路感染症分離菌に対する抗菌薬の抗菌力比較

札幌医大 ○熊本悦明, 塚本泰司, 広瀬崇興
 福島医大 萩原雅彦, 石橋 啓, 茂田士郎
 渡辺純子, 吉田 浩, 今福裕司
 慶應大 村井 勝, 渡辺清明, 小林芳夫, 内田 博
 順天堂大 藤目 真, 藤田和彦, 猪狩 淳, 小栗豊子
 江東病院 松田静治
 東邦大 山口恵三, 松本哲哉, 櫻谷総子
 京都第二赤十字病院 大江 宏, 前川幹雄, 西川美年子
 国立大阪病院 岡 聖次, 高野右嗣, 宮川 康, 古濱俊成
 長崎大 平淳洋一, 山口敏行, 泉川公一, 餅田親子

我々は1979年以来全国の施設と共同で尿路感染症分離菌を収集し、それらの各種抗菌薬に対する感受性、患者背景を経年的に調査してきた。

今回も1997年7月から10月までの間に尿路感染症と診断された患者から629株が収集されグラム陰性菌446株(70.9%), グラム陽性菌183株(29.1%)であった。内訳は、グラム陰性菌で*Escherichia coli*が198株(31.5%)と最も多く、次いで*Pseudomonas aeruginosa*が73株(11.6%)であった、又グラム陽性菌では、*Enterococcus* spp. が95株(15.1%)と最も多く、次いで*S.aureus*が42株(6.7%)であった。これは96年度とほぼ同様な傾向を示した。

本年度も、それらの患者背景および、各種抗菌薬に対する感受性について調査した。

患者背景については尿路感染症を単純性尿路感染症、カテーテル非留置複雑性尿路感染症、カテーテル留置複雑性尿路感染症の三群に区分して、分離菌種と性別、年齢との関係などについて検討した。感受性測定薬剤はPCs 3種, CEPs 19種, AGs 4種, NQs 3種他計33種で、菌種に応じ薬剤を選択した。MICは日本化学療法学会標準法(微量液体希釈法)により順天堂大学臨床検査部において一括して測定した。また感受性の経年的な推移についても検討を加えた。

岐阜大学泌尿科における尿路感染症分離菌19年間の検討

岐阜大学泌尿科

○石原 哲, 安田 樹, 仲野正博, 西野好則,
 米田尚生, 林 秀治, 伊藤康久, 出口 隆,
 兼松 稔, 栗山 学, 坂 義人, 河田幸道

「目的」尿路感染症起炎菌種の長期的な動向を検討することを目的とした。

「対象と方法」当科を受診した尿路感染症を単純性、複雑性に、さらに複雑性を外来と入院の計3群に分けて、1978年以降[複雑性(入院)は1983年以降]の分離菌種を集計した。細菌尿 10^4 CFU/ml以上、膿尿は単純性 10^5 /hpf以上、複雑性 5^5 /hpf以上を診断基準とし、各年毎に初感染の1症例1感染で集計を行った。

「結果」19年間[複雑性(入院)は14年間]の分離株数は、単純性 649株、複雑性(外来) 3,335株、複雑性(入院) 1,062株で、分離菌種の経年変化は複雑性(入院)で最も著明であった。単純性では、*E. coli*が全体の78.0%を占め大きな経年変化はないが、最近、*Staphylococcus*属の頻度がやや上昇している。複雑性では1989年頃から主としてCNS、*Enterococcus*属の頻度の上昇に伴ってグラム陽性球菌の分離頻度が上昇し、複雑性(入院)ではグラム陽性球菌の分離頻度がグラム陰性桿菌を上回るようになってきている。逆にNF-G NRの分離頻度は減少している。なお、1987、88年に*B. (P.) cepacia*のout breakを観察した。

「結論」分離菌の変遷には、細菌同定方法の進歩など技術的な要因、常用抗菌剤、複雑性では病態群の構成比の変化などが関与しているものと考えられるが、CNS、*Enterococcus*属などのグラム陽性球菌の増加は今後も留意すべきことと思われる。

尿管ステントカテーテル留置症例での尿路感染症の臨床的検討

藤田保健衛生大学医学部泌尿器科

○堀場優樹、安藤 慎、石川清仁、星長清隆、名出頼男

【目的】尿管ステントカテーテル留置法は、非侵襲的な治療として多く用いられているが、本法での尿路感染は少なくない。さらに、カテーテル留置時の感染予防としての抗菌薬投与についてその必要性は未だ明確ではない。第44回の本学会においてすでにステントカテーテル留置により惹起された尿路感染症について報告を行ったが、今回さらに症例を重ねカテーテル留置時の感染成立に関する因子について検討を行った。また、重症例についてもあわせて報告する。

【対象及び方法】ステントカテーテル留置を施行した尿路結石症、腫瘍浸潤による閉塞性病変を有する117例を対象とし、膀胱尿及びカテーテルの培養、抗菌薬使用の有無、留置期間等について検討を行った。

【結果】症例の平均年齢は52.2歳、尿路結石を中心とした良性疾患81例、悪性疾患による閉塞病変に対する使用例36例であった。117症例中、カテーテル及び尿より細菌が分離された症例が44例(37.6%)で、両者での分離頻度が最も多かったのは、*E. faecalis*(20.0/21.1%)であり、グラム陽性菌の *Staphylococcus* 属及び *Candida* 属が主として多く分離された。抗菌薬を使用した症例は25例(21.4%)、そのうち細菌が 10^4 CFU/ml以上分離された症例は13例(52.0%)であった。一方、抗菌薬を投与しなかった症例92例(78.6%)中で、細菌が分離された症例は31例(33.7%)と低率であった。重症例は僅かであった。腎尿管結石に対して内視鏡手術後にステントカテーテルを留置し、残石に対する体外衝撃波直後に敗血症を来した症例を報告する。

【考察】今回対象としたステントカテーテル留置症例での、尿路感染症予防法としての抗菌薬投与の必要性は見出せなかった。留置期間と感染との間に密接な関係があると思われた。留置中に重篤な感染を来した場合は速やかに他のドレナージ法に切り替えるべきであろう。

過去10年間の尿路感染症分離菌の変遷とそのβ-lactamase産生能および薬剤使用量の推移

岡山大学医学部泌尿器科

○門田晃一、石井亜矢乃、橋本英昭、那須良次、津川昌也、公文裕巳、大森弘之

【目的および方法】1988年から1997年の10年間に当科で分離同定された尿路感染症(UTI)分離菌を集計し年次推移を検討した。また当科病棟で使用された抗菌剤使用量とUTI分離菌のβ-lactamase産生能との関連について検討を加えた。対象は尿培養で総菌数 10^4 CFU/ml以上で、1患者1感染を原則とした。

β-lactamase産生能の判定はdisc法を用いて行なった。

【結果・考察】単純性尿路感染症では *E. coli* が主要分離菌種であり、全体の70~80%前後を占め、年次的に大きな変化を認めなかった。複雑性尿路感染症では、グラム陽性球菌の占める割合が徐々に増加しており、全体の半数近くを占めていた。各年度を通じて、*E. faecalis* が全体の20%前後を占め、またこの数年、MRSAの増加が顕著であり、97年には全体の10%近くを占めるに至った。グラム陰性桿菌では、全体の20~30%を占め主要分離菌であった *P. aeruginosa* が95年頃より減少傾向にあり、97年には全体の6.6%にまで低下していた。この結果、桿菌における菌種の多様化が進んだ。

当科病棟で使用された抗菌剤使用量は、この10年間減少傾向にあり、10年間で各年度の使用総量は約1/3にまで減少した。特に第3世代セフェム剤で顕著であり、88年には4000g使用されていたが、93年以降は1000g以下にまで減少していた。また使用される抗菌剤の種類に大きな偏りがなくなったのも特徴の一つである。β-lactamase産生能では、Penicillinase、Cephalosporinase産生菌共に減少傾向にあった。抗菌剤使用量とβ-lactamase産生能は正の相関をもって変動しており、特にグラム陰性桿菌においてその傾向は顕著であった。

クラミジアによる性器およびその他の部位の感染症に対する抗菌剤の短期日(5日間)投与の有効性について

長崎市 もとむら産婦人科医院
本村龍太郎

〔目的〕クラミジア(*Chlamydia trachomatis*)による性器および他の部位(眼結膜, 咽頭, 尿道, 直腸)の感染症に対する, 抗菌剤の短期日投与の有効性について検討した。

〔方法〕1 子宮頸管よりクラミジアが検出された53例より, 同時にその他の部位からもクラミジアの検出を試みた。クラミジア抗原検出は, Amplicor法で行なった。2 抗菌剤はMinocycline(MINO, 16例)200mg, Ofloxacin(OFLX, 15例)300mg, Josamycin(JM, 7例)1,200mgおよびClarithromycin(CAM, 15例)400mg/日, 5日間, 経口投与を1クールとした。3 1クール投与後, 約14日間の空白期間をおいて, クラミジア消失の確認をAmplicor法で行なった。

〔結果〕1 他の部位のクラミジア検出頻度は, 眼結膜0%, 咽頭 15%, 尿道 52%および直腸 75%であった。2 抗菌剤1クール投与後の, 各部位別のクラミジア消失率は次のとおりであった。1)咽頭では, MINO(3/3), OFLX(1/1)およびCAM(2/2) 100%, JM(1/2) 50%であった。2)尿道では, OFLX(9/9), JM(4/4)およびCAM(8/8) 100%, MINO(6/7) 85%であった。3)子宮頸管では, MINO(15/16)とCAM(14/15) 93%, OFLX(13/15) 86%, JM(6/7) 85%であった。4)直腸では, OFLX(12/12) 100%, MINO(12/13) 92%, CAM(7/8) 87%, JM(4/6) 66%であった。3 抗菌剤1クール投与後の, クラミジアの消失が早かった部位は, 尿道(27/28) 96%, 子宮頸管(48/53) 90%, 直腸(35/39) 89%, 咽頭(7/8) 87%の順であった。

〔結論〕適正な抗菌剤を用いれば, 短期日(5日間)の投与でも, クラミジアの高い消失率がみられた。

クラミジア子宮頸管炎に対する各種薬剤の必要投与期間の検討

岐阜大学産科婦人科¹⁾, 岐阜市民病院産婦人科²⁾

○川添香子¹⁾, 三嶋廣繁¹⁾, 佐藤泰昌¹⁾, 伊藤邦彦²⁾, 玉舎輝彦¹⁾

〔目的〕クラミジアトラコマチス(CT)感染に対する治療法として薬剤の投与期間, 投与量については基礎的見地から設定されているが, 臨床的には異なる可能性がある。今回, クラミジア子宮頸管炎に対し薬剤の5日間, 1週間, 2週間投与を行い, 投与期間の設定根拠を明らかにした。〔方法〕1993年1月から1997年6月に受診し, CT抗原が陽性であった患者のうち, 同意の得られた195例を対象とし, LVFX 300mg/日, TFLX 450mg/日, SPFX 300mg/日, EM 600mg/日, CAM 400mg/日を投与して治療した。パートナーの治療も必ず施行した。治療効果は薬剤投与終了後1週間以内と再発率を比較するために4~6週間後にも判定した。〔結果〕5日間投与では, 治療効果は, LVFX, TFLX, SPFX, EM, CAMそれぞれ48.3%, 47.4%, 57.1%, 40.0%, 50.0%で, 再発率は, 71.4%, 66.7%, 62.5%, 100%, 66.7%であった。1週間投与では, 治療効果は, LVFX, TFLX, SPFX, EM, CAMそれぞれ88.9%, 100%, 100%, 66.7%, 100%で, 再発率は, 12.5%, 0%, 0%, 25%, 0%であった。2週間投与では, 治療効果は, LVFX, TFLX, SPFX, EM, CAMそれぞれ88.9%, 100%, 100%, 66.7%, 100%で, 再発率は, 0%, 0%, 0%, 25%, 0%であった。〔考察〕CT感染に対しては適当な薬剤と投与量を選択すれば, 1週間の投与期間で十分な治療効果が得られることが示され, CT感染に対する治療の適切な投与期間を再考すべきであると考えられた。

産婦人科領域におけるカルバペネム薬の使用現状

岐阜大学産科婦人科

○早崎 容、三嶋廣繁、川添香子、佐藤泰昌、
玉舎輝彦

【緒言】イミペネム・シラスタチンに代表されるカルバペネム薬は、強い抗菌力と幅広い抗菌スペクトルを特徴とする抗菌薬で、産婦人科領域細菌感染症に対しても、近年頻用されてきている。その使用適応には十分な選択が必要であるが、現実的には、適切に使用されているとはいえない場面もある。今回、岐阜大学医学部産科婦人科におけるカルバペネム薬使用状況と使用選択基準を検討した。【方法】1988年から1996年までの岐阜大学医学部産科婦人科における感染症患者に対するカルバペネム薬の使用状況、使用適応、使用例における臨床効果、カルバペネム薬無効例の原因と無効例に対する二次治療方法について調査した。【結果】カルバペネム系抗菌薬の使用症例数、使用総量のいずれも1991年より3年連続で減少傾向を示した後、1994年より増加傾向に転じた。これは抗癌化学療法の進歩とともに、担癌患者の感染症が増加し、カルバペネム薬に頼らざるを得ない症例が増加したことに起因するものと考えられた。1995年にはパニペネム・ベタミプロンの使用症例数、使用総量が極端に増加していたが、これは当科において周産期感染症に対するパニペネム・ベタミプロンの有効性・安全性の検討が行われたことに起因するものであった。カルバペネム薬の使用適応としては、薬剤耐性菌、特に、緑膿菌感染症、エンテロバクター属による感染症や複数菌感染、原因菌は不明であるが他剤無効例があげられた。カルバペネム薬無効例の原因として、真菌感染の存在、クラミジア感染の存在、膿瘍形成例が多く認められた。【考察】カルバペネム薬の適応としては、セフェム薬、ペニシリン薬、アミノ配糖体薬などに対する適応感染で、好気性菌と嫌気性菌の複数菌感染であると考えられ、耐性菌の出現を早めることは好ましくないで、乱用は厳に慎むべきで切り札的な使用が望ましいと考えられる。

膣式子宮全摘出術の術後抗生剤予防投与の再検討～第一報～

旭川医大産婦人科

佐藤祐一、林 博章、柳沼裕二、小森春美、
石川睦男

「目的」近年、抗菌薬の乱用、誤用により耐性菌の出現、特にMRSAの出現が社会問題として取り上げられている。従来、婦人科手術、特に膣式子宮全摘出術の術後感染症に対する抗生物質の予防投与が機械的に行なわれてきたが、今回、その必要性につき再検討したので報告する。

「方法」旭川医大産婦人科で1996年1月から1997年12月までの2年間に行なわれた膣式子宮全摘出術149名を対象にした。予防投与の原則として1996年1月から12月までは術後3日間、第二世代セフェム系抗生剤の点滴静注、1日2回を施行した。また1997年1月から12月までは第二世代セフェム系内服抗生剤を4日間投与と膣洗浄、イソジン消毒、エストリール膣錠挿入を術後1日目から5日間施行した。術後感染症の判定は術後3日目のCRP(>3)、体温($\geq 37.5^{\circ}\text{C}$)、WBC(≥ 8000)の2項目以上とした。「結果」対象患者は、点滴静注群60名、内服群89名の計149名を対象にした。両群間(点滴群vs内服群)で手術適応(子宮筋腫55vs22例、子宮頸部前癌病変11vs21例、子宮脱7vs8例)、患者年齢(49.2 \pm 9.7vs50.1 \pm 11.5)、体重(56.3 \pm 13.9vs55.8 \pm 7.1)、手術時間(60.4 \pm 30.7vs60.6 \pm 37.7)、出血量(132.3 \pm 156.6 vs167.2 \pm 165.4)等の背景に差は認められなかった。術後感染症は点滴静注群3例(60=5.0%)に対して内服群8例(89=9.0%)と、術後4日目以後に感染症が発症した1例の計9例であった。しかし、統計学的に有意差は認められなかった。膣断端開放部位からの分離菌はEnteroccus Faecalis, BacteroidesFragilis, StreptococcusAgalac, PrevotellaBivia, Peptstreptococcus P, Corynebacteriumであった。尚、内服群に発生した術後感染症に対しては第二世代セフェム系点滴静注で1週間以内改善した。

「結論」術後感染症に対する予防抗生剤の投与は内服のみで十分管理が可能であり、さらに、内服抗生剤の予防投与関しても検討中である。

ペニシリン低感受性肺炎球菌に対する各種抗菌薬とスルホ化免疫グロブリン製剤の *in vitro* 併用効果について

三菱化学ピーシーエル 化学療法研究室

○小林寛祐、戸田陽代、内野卯津樹

Streptococcus pneumoniae はヒト気道に生息し、上、下気道感染症患者臨床材料から多く分離される代表的な起炎菌である。近年においてはペニシリン G に抵抗性を示す Penicillin Insensitive (Resistance), *S. pneumoniae* (PI,RSP) が増加傾向を示し問題視されている。特に小児科領域における本菌による感染症は深刻な問題である。PI,RSP はペニシリン G だけでなく種々の β -lactam 薬にも抵抗性を示すことから臨床の現場で抗菌薬の選択に苦慮している。

一方、スルホ化免疫グロブリン製剤 (GGS) が本菌に対し各種抗菌薬と相乗的に作用すると報告されている。過去に我々は臨床分離 MRSA に対し GGS が高凝集価を示し、各種 β -lactam 薬との併用により顕著に MIC が低く (高感受性化) なることを本学会で報告した。

今回我々は臨床分離 PRSP 8 株に対し 5% GGS の凝集抗体価を測定し、PCG, ABPC, CTX, CTRX, IPM, PAPM および VCM の 7 薬剤の 0.1, 0.5 および 1% GGS 存在下での MIC を測定した。

その結果 5% GGS に対し試験菌 8 株中凝集を示したのは 2 株で、残り 6 株中 3 株は加熱処理することによって凝集を示した。これらの凝集価は $64 \times - 2,048 \times$ であった。抗菌薬との併用では 0.5 および 1% GGS 存在下で 2~4 倍 MIC が低くなる傾向が見られペニシリン系抗菌薬でより効果が認められた。すなわちスルホ化免疫グロブリンは PRSP に対しても各種抗菌薬を相乗的に作用することが確認された。しかしその併用効果は凝集価との相関を示さなかったことから他の要因が考えられる。

県立広島病院におけるペニシリン耐性肺炎球菌の推移

県立広島病院 臨床研究検査科¹⁾ 呼吸器内科²⁾

○藤上良寛¹⁾ 桑原正雄²⁾ 室木邦生¹⁾ 栗屋幸一²⁾

(目的) 近年、ペニシリン耐性肺炎球菌の急増が臨床問題となっている。県立広島病院における本菌の動向を知る目的で検討した。

(方法) 臨床材料より分離後、速やかにスキムミルクにて -80°C に保存された肺炎球菌のうち、内科、小児科および耳鼻科由来株を無作為に抽出し供試菌株とした。内訳は、1 期 (1981~1985 年): 62 株, 2 期 (1991~1992 年): 58 株, 3 期 (1997 年): 53 株の計 173 株であった。供試薬剤は、PCG, ABPC, CCL, CFDN, CFIX, CFTM, CPDX, CDTR, EM, CLDM, MINO および LVFX を用い MIC を測定した。

(結果) 1 期では、PSSP 96.8% (60 株), PISP 3.2% (2) で PRSP はみられなかった。2 期では、PSSP 60.3% (35), PISP 36.2% (21), PRSP 3.5% (2)、さらに、3 期では、PSSP 43.4% (23), PISP 47.2% (25), PRSP 9.4% (5) と 2 期から 3 期にかけて耐性株が明らかに増加していた。これらを診療科別に検討すると、小児科由来株で、PISP が 1 期 4.3% (1), 2 期 56.3% (9), 3 期 61.9% (13) と明らかな増加がみられたが、PRSP の頻度は 2 期および 3 期でそれぞれ 6.2, 9.5% と同程度であった。耳鼻科由来株における PISP は 1 期 6.7% (1), 2 期 42.1% (8), 3 期 47.4% (9) と増加の程度は小児科由来株よりは低く、PRSP は 2 期 5.3% (1), 3 期 15.8% (3) と増加していた。内科由来株は、3 期までに PISP が漸増していたものの、PRSP は認めなかった。

(結語) ペニシリン耐性株は、明らかに増加しており、県立広島病院では PISP は 1984 年より、PRSP は 1991 年頃より検出され始めた。診療科検体別では、内科由来株での増加は少なかったものの、小児科由来株では PISP が急増しており、耳鼻科由来株では PISP, PRSP ともに増加していた。特に耳鼻科領域におけるペニシリン耐性肺炎球菌の今後の動向に注目する必要がある。

なお、他の抗菌剤に対する耐性株についても合わせて報告する。

肺炎球菌におけるβ-ラクタム剤耐性化について

富山化学工業株式会社 総合研究所

○北山理恵子, 南 新三郎, 瀧山順一, 山田 尚,
前花淳子, 渡辺泰雄

【目的】我々はβ-ラクタム剤耐性肺炎球菌(PISP)の PBP 遺伝子を PSSP に導入することによって、その耐性化を検討しており、本学会第 49 回西日本支部総会において、PBP2X が変異したオキシイミノセファロsporin 耐性 PSSP(ORSP)に PBP2B,1A の一方、または 2B と 1A の両方の変異が加わって PISP に至ることを報告した。今回、ORSP を経た耐性化以外の耐性経路について解析するために、PISP の PBP2B 耐性ブロック導入株をもとにした検討を行った。

【材料および方法】Host として D-993 株(PSSP), donor として PBP2B 耐性ブロックを有する D-1007 株(PISP)を用いた。D-1007 株の PBP2B,2X および 1A 部位を PCR で増幅した後、D-993 株に導入した。選択培地として 2MIC の PCG, CFTM または CTM 含有プレートを用いた。PCG プレート上に出現したコロニーの PBP2B を *Xba*I で切断後、泳動パターンより耐性ブロックの導入を確認した。また CFTM および CTM プレート上に出現し、これらの薬剤に対する MIC が 2 管以上上昇したコロニーを PBP2X または 1A 導入株とした。

【結果および考察】D-1007 の PBP2B 耐性ブロックを D-993 に導入した株に対する PCG, CFTM および CTM の MIC の上昇は 1 管であり、PSSP の MIC パターンを示した。この PBP2B 耐性ブロック導入株に PBP2X を導入したところ、CFTM, PCG の MIC はそれぞれ 4 管および 1 管上昇し、PISP の MIC パターンを示したが、D-1007 の MIC には至らなかった。さらに 1A を導入したところ各薬剤の MIC は D-1007 に対する MIC まで上昇した。

以上、肺炎球菌の中には PBP2B 耐性ブロックを有している PSSP が存在し、その PSSP の PBP2X と PBP1A が変異することによって高度耐性化することが示唆された。

肺炎球菌に対する TFLX の殺菌効果: 第 2 報
(殺菌効果に及ぼす母核、置換基の影響について)

1) 富山化学工業株式会社 総合研究所
2) 東邦大学医学部 微生物学教室
○瀧山順一¹⁾ 濱田朱美子¹⁾ 久田晴美¹⁾
高畑正裕¹⁾ 南新三郎¹⁾ 渡辺泰雄¹⁾ 成田弘和¹⁾
山口恵三²⁾

【目的】我々は TFLX がペニシリン耐性菌を含む肺炎球菌に対し、*in vitro*, *in vivo* で強い殺菌効果を有することをすでに報告している。

今回、我々は肺炎球菌に対する TFLX の母核、1 位、7 位を変換した周辺化合物の殺菌効果について検討したので報告する。

【方法】菌株: *S. pneumoniae* TMS-3 株を用いた。薬剤: TFLX, キノリン及びナフチリジン母核の 1 位をエチル基、シクロプロピル基、2,4-ジフルオロフェニル基、7 位をアミノピロリジニル基、ピペラジニル基に置換した化合物を用いた。MIC の測定: 微量液体希釈法 殺菌効果の測定: 1~48MIC の薬剤を 37℃ で 2 時間作用後の残存生菌数を求めた。

【結果及び考察】1~48MIC の薬剤を作用したところ、薬剤間で生菌数減少の程度に差が認められた。

1 位、7 位を共通にして母核を変換した場合、キノリン母核を有する化合物はナフチリジン母核のものより強い殺菌効果を示した。

母核、7 位を共通にして 1 位を変換した場合、2,4-ジフルオロフェニル基を有する化合物はエチル基、シクロプロピル基を有するものより強い殺菌効果を示した。

母核、1 位を共通にして 7 位を変換した場合、化合物間で明確な差は認められなかったが、ナフチリジン環を有する化合物の場合、アミノピロリジニル基を有するものの方がピペラジニル基を有するものより殺菌効果が強い傾向を示した。

殺菌効果に及ぼす母核、1 位、7 位の影響を比べた場合、母核、7 位変換より 1 位変換の影響の方が強かった。

以上、TFLX の肺炎球菌に対する強い殺菌作用の理由の一つとして 1 位の 2,4-ジフルオロフェニル基に起因する可能性が考えられた。

旭川厚生病院小児科における
ペニシリン低感受性肺炎球菌感染症の検討

旭川厚生病院小児科
○坂田 宏、丸山静男

【目的】近年、ペニシリン低感受性肺炎球菌による感染症が臨床的に問題となっているので、北海道旭川地区における同菌による市中感染症の現状を検討した。

【対象および方法】1997年9月から12月までに旭川厚生病院に入院した小児の感染症患者から各種培養検体（血液、後鼻腔、鼓膜切開排膿液、耳漏など）を採取した。ペニシリン低感受性肺炎球菌が分離された症例について、臨床症状や検査成績をまとめた。後鼻腔から分離された菌が原因かどうかについては、臨床症状やグラム染色の成績と併せて判断した。ペニシリン感受性はMICが0.06 μg/ml以下、高度耐性は2 μg/ml以上とした。

【方法】63名の小児から肺炎球菌が分離された。そのうち、26名（41.3%）がペニシリン低感受性であった。さらにその中で感染症の原因菌と判定されたのは16名であった。この16名から分離された菌は1株が1 μg/ml、1株が0.5 μg/ml、14株が0.13から0.25 μg/mlであり、高度耐性株はみられなかった。16名の疾患は肺炎が8名、肺炎と中耳炎の合併が3名、中耳炎が3名、敗血症が1名、上顎洞炎が1名であった。年齢は生後6か月から5歳までであり、14名は2歳未満であった。治療は第三世代cephem系抗生物質が14名、carbapenem系抗生物質が2名に投与され、全例治癒したが、第三世代cephem系抗生物質で治療した1例は1か月後に再燃した。16名中12名が入院前になんらかの抗生物質を内服していた。投与されていた抗生物質の多くはcephem系抗生物質であった。

【考案】今回の検討では高度耐性を示す菌は検出されず、ほとんどの症例が第三世代cephem系抗生物質投与で改善されたが、今後さらにペニシリン低感受性肺炎球菌感染症は増加する可能性があり、抗生物質の選択には注意が必要である。

肺炎球菌のPBP2X遺伝子におけるトランスペプチダーゼ領域の多様性

帝京大学医学部臨床病理
○旭 泰子、生方 公子、紺野 昌俊

【目的】最近、CTXに2 μg/ml以上のMICを示す耐性肺炎球菌(PRSP)の報告が欧米で散見され始めているが、本邦のPRSPの中にもごく少数ではあるが同様の菌が検出されつつある。PRSPの耐性に関するPBP遺伝子は*pbp1a*, *2x*, *2b*であるが、ペニシリン系薬剤耐性には*pbp1a*と*2b*が、セフェム系薬剤耐性には、*pbp2x*と*1a*と*2b*の順に重要である¹⁾。この様な成績に基づき、*pbp2x*遺伝子のトランスペプチダーゼ領域の塩基配列を解析し、セフェム系薬剤に対する耐性度とその変異との関連について検討した。

【方法】*pbp2x*解析の対象とした菌株は①*pbp2x*変異を有し(*pbp1a*と*2b*遺伝子には変異なし)、CTXに対するMICが≥0.063 μg/mlの12株、②*pbp1a*, *2x*, *2b*に変異を有し、CTXのMICが2.0~8.0 μg/mlの6株、③遺伝子変異を有しないPSSP10株である。トランスペプチダーゼ領域を含む958~2105bpの塩基配列を決定した。

【結果と考察】耐性菌の*pbp2x*遺伝子では、感性菌に比して遺伝子全体にわたって多くの変異がみられた。アミノ酸置換と耐性度との関係を見ると、下表に示した関係が認められた。すなわち、PBP2Xの3箇所の保存性アミノ酸配列(STMK, SSN, KSG)のうち、それに隣接するアミノ酸1~2箇所、または活性中心のセリンを含むSTMKの1箇所の置換が生じると、CTXに対する耐性度は0.125-0.25 μg/mlに上昇した。さらに、STMKとKSGの2箇所に置換が生じると、2 μg/ml以上の耐性になることが示された。

Group	MIC(μg/ml)		保存性アミノ酸配列		
	PCG	CTX	STMK	SSN	KSG
1 (n=5)	0.031	0.031-0.063	----	-----	-----
2 (n=4)	0.016	0.125	----	-----	-----A
3 (n=6)	0.063	0.063-0.125	----	-L----	V----
4 (n=5)	0.031	0.125-0.25	-A--	-----	-----
5 (n=5)	2.0	2.0-8.0	-AF-	-----	V----

【文献】1) Ubukata, K. et al., J. Infect. Chemother. 1997, 3:190-197.

肺炎球菌におけるマクロライド系薬耐性をコードする *ermAM* と *mefE* 遺伝子について

帝京大学医学部臨床病理

○ 村木 智子, 五十嵐 厚美, 旭 泰子,
生方 公子, 紺野 昌俊

【目的】本邦で分離される肺炎球菌に対するマクロライド系薬 (MLS) 感受性を調べると, EM, RXM, CAM等には明らかな3峰性, JM, MDM, RKMには2峰性分布を示す。最近, MLS耐性肺炎球菌において, 菌体内に取り込まれた薬剤を能動的に排出する耐性機構の存在が明らかにされた。この耐性遺伝子は *mefE* と呼ばれる。このようなことから, 我が国で分離される肺炎球菌がどのようなMLS耐性遺伝子を有しているのかをPCRによって検索し, 感受性との関連性について検討した。

【方法】実験に使用した肺炎球菌は, 肺炎, 中耳炎, 化膿性髄膜炎由来の215株である。 *ermAM* (23SrRNA・ジメチル化酵素をコードする遺伝子) と *mefE* 検索用のprimerは耐性遺伝子の塩基配列を基に作成した。PCR conditionは94℃:15sec, 53℃:20sec, 72℃:15secの30サイクル, 増幅されるDNA断片は *ermAM*が224bp, *mefE*は294bpである。

【結果と考察】被験菌株の30.7% (n=66) は耐性遺伝子を有していなかったが, 37.7% (n=81) は *ermAM*, 30.2% (n=65) は *mefE*, そして1.4% (n=3) は *ermAM+mefE* を保持していた。 *ermAM* を保持株は14, 15, 16員環MLSとリンコサミド系薬など, 既存のMLSにはすべて耐性であった。一方, *mefE* 保持株は14, 15員環MLSには0.5-4.0 μg/mlの耐性, 16員環MLSとリンコサミド系薬には感性菌と同じレベルのMICであった。

また, *ermAM* 保持株の血清型は3, 6, 23型が多く, ペニシリン耐性との関係では, PBP遺伝子 (*pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b*) のうち, *pbp2x* が変異したセフェム系薬軽度耐性株が有意に多かった。これに対し, *mefE* 保持株は血清型6, 14, 19型が多く, *pbp1a*, *pbp2x* および *pbp2b* のすべてが変異した明らかなPRSPが有意に多かった。

PRSPの増加と平行して14, 15員環MLS軽度耐性肺炎球菌の急速な増加がみられ, 臨床上それらを正しく識別する必要が生じている。

臨床分離 *Streptococcus pneumoniae* のニューキノロン耐性機構に関する検討 (第3報)

琉球大学医学部第一内科, *同附属病院検査部

○田場 秀樹, 新里 敬, 草野 展周*, 比嘉 太
健山 正男, 小出 道夫, 斎藤 厚

【目的】 *S. pneumoniae* 臨床分離株のなかには, ニューキノロン系抗菌薬 (NQs) に対する高度耐性株が既に存在することを我々は報告してきた。 *in vitro* 耐性株の検討結果から, *E. coli* や *S. aureus* などと同様, 肺炎球菌のNQs耐性にはDNA gyraseやDNA topoisomerase IV (topo IV) の変異が関与していることが報告されているが, 臨床分離株に関する検討は必ずしも十分ではない。今回, 我々は臨床分離 *S. pneumoniae* のNQs耐性機構に関する遺伝子学的検討を行ったので報告する。

【材料と方法】日本化学療法学会標準法に基づく薬剤感受性試験の結果, ciprofloxacin (CPFX) および sparfloxacin (SPFX) のMICが各々32, 16 μg/ml以上を示した *S. pneumoniae* 臨床分離株4株を対象とした。PCR法を用い, DNA gyraseおよびtopo IV蛋白の支配遺伝子である *gyrA* および *parC* 遺伝子上のキノロン耐性決定領域 (QRDRs) に相当する部位を増幅し, その塩基配列を解析・比較した。

【結果と考察】今回検討した4株全てに, *gyrA* および *parC* 遺伝子の変異が認められた。SPFXのMICが16 μg/mlを示した1株には, GyrA および ParC 領域にて, Ser-81→Phe および Ser-79→Pheの変異が認められた。一方, SPFXのMICが128 μg/mlを示した株では, GyrA および ParC に各々複数のアミノ酸変異の存在することが確認され, SPFXに対する高度耐性化とGyrA および ParC の multiple mutations との関連が示唆された。しかしながら, SPFXのMICが64 μg/mlを示した株において, 各サブユニットの解析領域内での多重変異が認められなかったことから, QRDRs 以外の領域での遺伝子変異, もしくは他のキノロン耐性機構の関与も考えられた。

Vancomycin耐性Enterococciの薬剤感受性

慶應義塾大学 中央臨床検査部¹⁾
医学部²⁾

○小林芳夫¹⁾ 矢島 聡²⁾ 萩原 董¹⁾

慶應義塾大学病院において平成9年11月から12月にかけて臨床材料から分離された*Enterococcus gallinarum* 2株および*Enterococcus casseliflavus* 3株のvancomycin(VCM)およびteicoplanin(TEIC)に対し感受性試験を行った。これらはいずれもPCR法によりvanC-1遺伝子あるいはvanC-2遺伝子を証明しvanA遺伝子およびvanB遺伝子は証明されなかった菌種・菌株である。なおコントロールとして以下の標準菌株*E. faecalis* ATCC19433、*E. faecalis* ATCC51299 (vanB遺伝子)、*E. faecium* ATCC51559 (vanA遺伝子)、*E. gallinarum* ATCC49573 (vanC-1遺伝子) および*E. casseliflavus* ATCC25788 (vanC-2遺伝子)を使用した。標準菌株を加えた*E. gallinarum* 3株および*E. casseliflavus* 4株のいずれもMueller-Hinton agar(MHA)を使用したKirby-Bauer法でのVCMの阻止円は18mm-20mmであった。一方培地にbrain-heart infusion agar(BHI)を用いた場合にはVCMの阻止円は15mm-18mmであった。EtestによるVCMのMICはMHAを使用した場合は3-4 μ g/mlでありBHI使用した場合には4-12 μ g/mlであった。VCMを6 μ g/ml含有したVancomycin screen agar(BBL)ではこれら7株はいずれも発育が見られた。なおこれら7株に対するTEICのMICをEtestによって測定したが、培地にMHAを使用した場合は0.38-1.0 μ g/mlであり、BHI場合は0.35-1.0 μ g/mlであった。Vancomycin耐性enterococciのなかではこれら2菌種に対するVCM感受性試験に関しての議論が十分になされているとはいいたい、平成10年に入ってもこれら2菌種が分離されており、さらに株数を増やして検討を加え報告する予定である。

ゲンタマイシン高度耐性腸球菌に対するアルベカシンの有効性

岡山大学医学部泌尿器科¹⁾
明治製菓(株)薬品総合研究所²⁾

○狩山玲子, 光畑偉子, 公文裕巳¹⁾
高田利彦, 田端麻紀子, 井田孝志²⁾

(目的) 欧米で心内膜炎の原因となる腸球菌においてaac(6)-aph(2^a)耐性遺伝子によるゲンタマイシン高度耐性が治療上の問題となっている。一方同様の耐性遺伝子を保有する腸球菌 *E. faecalis* が岡山大学医学部泌尿器科で過去3年間に78/171株(45.6%)分離された。これらの耐性菌に対するアミノ配糖体と細胞壁合成阻害剤の併用療法として、AAC(6)-APH(2^a)修飾酵素に比較的安定なアルベカシンが有効であると考えられるので、アンピシリンとの併用効果を基礎的に検討した。

(対象と方法) 尿路、血液由来ゲンタマイシン高度耐性腸球菌 (MIC \geq 2000 μ g/ml) *E. faecalis* 36株、*E. faecium* 2株; 岡山大学医学部泌尿器科保存株10株、Wayne State大学医学部感染症科(Detroit, USA)保存株28株を用いた。アンピシリン1X MICと血中のピーク濃度を考慮にいれたアルベカシン8と16 μ g/mlとの併用による24時間後の殺菌効果を検討した。

(結果) ゲンタマイシン高度耐性腸球菌38株 (MIC \geq 2000 μ g/ml) に対するアルベカシンのMIC(μ g/ml)は、16-64(12株)、128-256(20株)、512-1024(6株)であった。アンピシリンのMIC(μ g/ml)は*E. faecalis* 0.5-2、*E. faecium* 64であった。アルベカシンのMICが \leq 256 μ g/mlである32株中8株は8 μ g/mlアルベカシンとアンピシリン1X MICの併用で殺菌された。アルベカシンの濃度を16 μ g/mlにするとさらに8株が殺菌され、合計16株(50%)に殺菌効果が認められた。

(結論) 腸球菌に対するゲンタマイシンのMICが $<$ 500 μ g/mlであれば、細胞壁合成阻害剤との併用で殺菌効果が期待でき臨床的に有効であると報告されている。我々が得たデータはアルベカシンとアンピシリンの併用が重症腸球菌感染症に有効であることを示唆する。

(会員外共同研究者: Wayne State大学, Joseph W. Chow)

臨床由来腸球菌の消毒剤感受性

昭和薬科大学、微生物学研究室

○風間 仁、濱島 肇、笹津備規、新井武利

(目的) グラム陽性菌における消毒剤耐性菌の存在は、黄色ブドウ球菌を中心としたブドウ球菌にその存在が知られている。しかしながら、ブドウ球菌同様、院内感染症の起因菌であり、近年、分離頻度が増加してきている腸球菌については報告されていない。我々は、1996年、日本で臨床分離された腸球菌103株についての消毒剤感受性を測定した。又、本研究室が所有している消毒剤耐性及び感受性黄色ブドウ球菌との消毒剤感受性の比較を行った。

(方法) 実験に用いた臨床由来の腸球菌は、*Enterococcus faecalis* 87株、*E. faecium* 8株、*E. avium* 4株、*E. casseliflavus* 3株、そして、*E. durans* 1株の合計103株を用いた。消毒剤感受性の測定はMIC法に準じた。又、PCR法を用い消毒剤耐性遺伝子 $qacEA1$ の検出も行った。

(結果) 消毒剤感受性測定の結果、4級アンモニウム系消毒剤、ピグアナイト系消毒剤には感受性を示した。色素系消毒剤に対しては、MIC値100 mg/ml以上の低感受性株が存在した。*Enterococcus*属間での感受性に違いは見られなかった。黄色ブドウ球菌との比較の結果、腸球菌の方が全体に消毒剤に対する感受性が低かった。

(考察) 我々は、臨床分離の消毒剤感受性を測定した。その結果、ほとんどの消毒剤に感受性を示したものの、色素系消毒剤には耐性を示す株も存在した。黄色ブドウ球菌との比較の結果、感受性パターンは黄色ブドウ球菌とは異なり、消毒剤感受性黄色ブドウ球菌より低いことがわかった。又、本実験に用いた菌株の内、消毒剤に低度耐性示す消毒剤耐性遺伝子 $qacEA1$ が検出された菌株も存在した。今後さらに高度耐性化する可能性もあり、院内感染の原因菌として消毒剤感受性に注意する必要がある。腸球菌由来の $qacEA1$ については現在検討中である。

近畿地方における患者由来 Vancomycin 耐性 *Enterococcus faecium* の調査成績について

天理よろづ相談所病院臨床病理部¹⁾、国立循環器病センター²⁾、国立神戸病院³⁾、和歌山労災病院⁴⁾、日本医学臨床検査研究所⁵⁾、ファルコバイオシステムズ総合研究所⁶⁾

○相原雅典、島川宏一、小松 方¹⁾、浦 俊郎²⁾、田中美智男³⁾、山崎勝利⁴⁾、西田孝司⁵⁾、山下知成⁶⁾

<目的> Vancomycin (VCM) 耐性 *Enterococcus faecium* (以下VREF) は1988年にフランスで最初の感染例が報告されたが、本邦では藤田が尿路感染患者尿より *vanA* 型の菌株を検出した1例が報告されたにすぎない。われわれは近畿地方6施設において起炎菌として分離された *E. faecium* を収集しVCM耐性株の有無を調査し、同時に各種抗菌薬による感受性を測定した。
<方法> 当院を含む近畿6施設において1997年に患者より分離された *E. faecium* 155株を対象として、Apl 20 strepto (Bio Merieux) および的手法による再同定を行い、同時にVCM、Clarithromycin (CAM)、Roxithromycin (RXM)、Ampicillin (ABPC)、Gentamicin (GM) およびRP59500を用いて希釈法(日本化学療法学会標準微量液体法)で感受性を測定した。

<結果> 155株の最終同定菌名は *E. faecium* 119株、*E. avium* 3株、*E. faecalis* 8株、*E. mundtii* 1株、*E. gallinarum* 2株および同定不能22株であった。増殖不良であった1株を除く118株の *E. faecium* の薬剤感受性試験成績は、VCM および RP59500 で0.5 μ g/ml から8.0 μ g/ml までのMIC域に分布し、MIC80は何れも1.0 μ g/ml であった。両薬剤で8.0 μ g/ml を示した株は何れも1株(異なる菌株)であった。CAMでは16.0 μ g/ml 以上から0.13 μ g/ml まで、RXMでは64.0 μ g/ml 以上から0.25 μ g/ml まで、ABPCは128.0 μ g/ml 以上から0.25 μ g/ml まで、GMでは512.0 μ g/ml 以上から4.0 μ g/ml までの間に分布した。

<考察> 近畿地区において患者検体由来 *E. faecium* を収集しVREFの検出を試みた。収集し得た155株中 *E. faecium* と再同定された119株中、VCMで得られたMIC値の最高は8.0 μ g/ml で1株が検出されたが、高度耐性株は検出されなかった。尚VCMで8.0 μ g/ml のMIC値を示した菌株の耐性遺伝子は検索中である。

MRSA に対する Cefoselis(CFSL)と Imipenem(IPM)の *in vivo* 併用効果

藤沢薬品・薬理研究所
○若井芳美、若林亜紀子、松本佳巳、俵修一

【目的】MRSA に対する CFSL と IPM との併用による強い *in vitro* 相乗作用を報告した(第 44 回東日本化療)。今回、我々はこの作用を *in vivo* で更に確認するために、マウス全身感染及びヒトの血漿中濃度をマウスに再現した *In vivo pharmacokinetic model* を用いて MRSA 呼吸器感染症に対する CFSL と IPM の併用効果について検討した。

【方法】ICR 系、雄、4 週令マウスを使用した。感染 4 日前に Cyclophosphamide を 200mg/kg 腹腔内投与したマウスを用い、全身感染は MRSA の 5%ムチン懸濁菌液の腹腔内接種、1 時間後治療により、又、呼吸器感染は Saline 懸濁菌液の経鼻接種により検討した。尚、呼吸器感染に対する治療は感染 16 時間後から開始し、ヒトの血漿中濃度がマウスに再現できるように 0.5~1 時間毎に頻回投与した。各時点での投与量は同感染マウスの皮下単回投与時の血漿中濃度をもとにして、単純加算法でヒト血漿中濃度に近似するように設定した。投与 8,24 時間後に肺を摘出し、ホモジナイズ後生菌数を常法に従い測定した。

【結果及び考察】*S.aureus*14024(MIC;CFSL25,IPM12.5 μ g/ml)によるマウス全身感染に対し、CFSL 及び IPM 単独治療時の ED50 値は各々 19.7, 20.0mg/kg であるのに比べ、CFSL と IPM の 4:1 の併用により各々 6.13, 1.53mg/kg に減少した。相乗作用の指標となるこの時の FEDindex は 0.39 であった。又、呼吸器感染においても、無治療群の肺内生菌数(対数)が 7.23 の時、CFSL1g ヒト相当量及び IPM0.25g ヒト相当量単独時では各々 6.14, 7.04 であるのに比べ、両剤の併用により 4.57 と有意に菌数を減少させた。

以上、MRSA に対する CFSL と IPM の併用による相乗効果は *in vivo* においても確認できた。この成績は有効な治療法の限られた MRSA 感染症に対して CFSL と IPM の併用が有効な治療法の一つと成り得ることを示唆した。

MRSA に対する VCM+(FMOX,CPR,IPM)の *in vitro* 併用効果

塩野橋製薬創業第二研究所 抗菌Ⅱ研究部門
○地主 豊、木村 美司、宗景 正、吉田 勇、佐々木 繁

【目的】1995~1997 年の 3 年間に臨床分離された MRSA 560 株に対する VCM+(FMOX,CPR,IPM)の *in vitro* 併用効果について検討した。

【方法】全国の施設で臨床分離され、シオノギ研究所に分与された MRSA のうち FMOX,CPR,IPM の MIC がそれぞれ 2 μ g/ml 以上を示す株を選択し VCM+(FMOX,CPR,IPM)の併用効果を、微量液体希釈法による checker board 法により検討した。各年度の株数は 1995 年 164 株、1996 年 167 株および 1997 年 229 株であった。

【結果】使用菌株に対する各薬剤の MIC は、MIC₉₀ 値で FMOX は 128 μ g/ml、CPR が 64 μ g/ml、IPM が 64 μ g/ml、VCM が 1 μ g/ml を示し分離年度による変動は見られなかった。また、VCM の MIC が 4 μ g/ml 以上を示す菌株は無かった。

VCM との併用効果で、最小 FIC index が 0.5 以下の相乗効果を示す割合は、各年度でそれぞれ VCM+FMOX では 92.7,92.2,95.7%, VCM+CPR では 9.8,15.0,14.7%, VCM+IPM では 91.5,95.8,95.3% を示し、年度による大きな変動は無かった。3 年間の平均最小 FIC index では VCM+FMOX:0.39, VCM+CPR:0.59, VCM+IPM:0.33 であった。また、すべての組み合わせに拮抗作用を示す菌株は認められなかった。

併用時の MIC は単独時の MIC に比べ 90%の菌株に対してそれぞれ VCM+FMOX では VCM: \leq 1/4,FMOX: \leq 1/8、VCM+CPR では VCM: \leq 1/2, CPR: \leq 1/4、VCM+IPM では VCM: \leq 1/4,IPM: \leq 1/8 に低下した。

【考察】MRSA 感染症に対して VCM は優れた抗菌薬として使用されている。しかし、腎毒性等の副作用を考慮し VCM を低濃度に抑える場合、あるいは抗菌薬の移行が悪い組織等における MRSA 感染症に対し VCM 単独ではその効果が不十分な場合も考えられ、この様な場合に VCM の治療効果を高めるには VCM+FMOX あるいは VCM+IPM が有効であることが示唆された。

MRSA に対する vancomycin と teicoplanin
の殺菌力の比較

筑波大学臨床医学系内科¹⁾、東邦大学医療短期
大学²⁾
○青木泰子¹⁾、辻 明良²⁾

【目的】MRSA 感染症に対する vancomycin (VCM) と teicoplanin (TEIC) の有効性を評価する一手段として、両剤の殺菌力を比較した。

【方法】1987-98年に筑波大学附属病院で分離された100株のMICを微量液体希釈法で測定した。TEICのMICが異なる株について、両薬剤の殺菌曲線を比較し(接種菌量 10^6 CFU/ml)、接種菌量を 10^8 CFU/mlとした場合の影響も検討した。また、薬剤濃度シミュレーションシステムを用いて、標準的な臨床投与量(VCM: $1g \times 2$ /日、TEIC: $400mg \times 1$ /日)における血中濃度推移での殺菌効果を検討した。

【結果】100株に対するMICは、VCMが $0.5-2 \mu g/ml$ (MIC₈₀:1、MIC₉₀:2)、TEICは $0.125-4 \mu g/ml$ (MIC₈₀:0.5、MIC₉₀:1)であった。殺菌曲線では、両者とも短時間(3-9時間)の殺菌力は弱く、24時間後には、VCMはMIC以上で殺菌的効果を示したが、TEICでは殺菌効果がやや弱かった。TEICのMICが $0.125-4 \mu g/ml$ の範囲では、TEIC $10 \mu g/ml$ による殺菌曲線に株間の明らかな差は認められなかった。接種菌量 10^8 CFU/mlでは、両者とも殺菌効果は不良であった。薬剤濃度シミュレーションシステムを用いてVCM1日2回投与とTEIC1日1回投与の殺菌効果を比較すると、12時間まではVCMの方がやや殺菌効果がよく、12時間以降はほぼ同等であった。

【考察】現在の所、当院の臨床分離株には両剤に対する明らかな耐性株は見られていない。殺菌効果はVCMの方がやや優れているが、TEICは長い血中半減期を反映して、1日1回投与で十分な効果を示す可能性が示された。

持続硬膜外ブロックが誘因となったMRSA硬膜
外膿瘍の1例

新行橋病院外科¹⁾、大分赤十字病院外科²⁾
○石井祥裕、正久康彦、鶴崎直邦¹⁾、
福澤謙吾、岩松正義²⁾

【結言】硬膜外膿瘍は比較的まれな感染症であるが、診断が遅れると重篤な機能障害を残し、早期治療を行わなければ致命的となる疾患である。今回われわれは総胆管結石症術後に発症し、持続硬膜外カテーテルが感染源となった、MRSAによる硬膜外膿瘍の1例を経験したので報告する。【症例】患者は70歳、男性。平成7年9月11日、急性腹症にて入院し総胆管結石症と診断された。翌9月12日、急性閉塞性化膿性胆管炎を発症し緊急にPTCDを施行、膿性胆汁がドレナージされた。一般状態改善後の9月27日、硬膜外麻酔併用全身麻酔下に胆摘、総胆管切開切石、十二指腸乳頭形成術を施行した。術後に疼痛管理の目的でTh10/11より挿入されていた硬膜外カテーテルより0.25%ピバカインおよびブプレノルフィンによる持続硬膜外ブロックを3日間行った。9月29日MRSA腸炎を発症しVCMの投与にて軽快、10月4日MRSAによる創感染のため開放創とした。その後も発熱、白血球増多、CRP高値等の感染症徴候が遷延し、10月10日腰痛、10月25日歩行障害、11月2日右下肢の知覚鈍麻および弛緩性麻痺が出現し歩行不能となった。MRIにてTh10/11レベルの硬膜外に腫瘤が認められ、硬膜外膿瘍が疑われた。11月3日膀胱直腸障害が出現したため整形外科にて緊急手術を施行。留置カテーテルが感染源となった硬膜外膿瘍と判明し、胸椎椎弓切除術、膿瘍搔爬術が施行された。術中採取した膿瘍よりMRSAが検出された。術後右下肢の麻痺や膀胱直腸障害は早やかに改善したがMRSAによる背部創感染が再燃し、11月28日感染創再搔爬術が施行された。再手術後は硬膜外持続洗浄を行い感染はようやく鎮静化、神経症状も軽快し平成8年1月30日退院となった。【結語】硬膜外ブロックは外科手術における全身麻酔との併用および術後の疼痛管理の目的で広く行われているが、その重篤な合併症として硬膜外膿瘍の発症に留意する必要があると思われた。

伝染性膿痂疹から分離の黄色ブドウ球菌の感受性
および地域における感染状況について
高知県立安芸病院皮膚科
○池田政身

(目的) 伝染性膿痂疹から黄色ブドウ球菌(以下黄色
ブ菌)を分離し、各種抗菌剤に対する感受性を検討
し、患者の住所および保育園などからその地域性につ
いて検討した。

(方法) 1996年1月から1997年12月の間、安芸病院皮膚
科および小児科を受診した伝染性膿痂疹の患者から黄
色ブ菌を分離し、ABPC、CEZ、CTM、FMOX、CFDN EM、
MINO、GM、IPM、POM、VCM、LVFXについて1濃度ディス
ク法にて感受性を測定。MRSAはCZMの阻止円にて判定。
'97年は患者の住所および保育園なども調査。

(結果) '96年は16株、'97年は97株の黄色ブ菌を分
離。MRSAは'96年は0であったが、'97年は29.9%と急
増。感受性をみると'96年の株および'97年のMSSAIは感
受性はほとんどの抗菌剤に良好で、GMで約60%、EMで
約40%、ABPCで約90%が耐性。'97年のMRSAはVCMおよ
びMINOには耐性がなかったが、ABPCで100%、GMで96.6
%、CFDNで27.6%などの耐性を認めたが、EM耐性は
20.7%、LVFX耐性は6.9%と少なかった。MRSAのほとん
どが中等度耐性で、高度耐性株が2株あった。'97年の
地域別では()内はMRSA 安芸市内は63例(24例)、
市外は34例(5例)。保育園でみると安芸市内の隣接す
る2つの保育園で19例のMRSA患者が集団発生。

(結論) '96年に比し'97年では伝染性膿痂疹の患者が
急増。MRSAも0%から29.9%と急増したがほとんどが中
等度耐性株であり、院内感染で問題となる高度耐性株
は少なかった。地域別の検討から安芸市内の特定の保
育園における集団感染の結果MRSAが急増したと考え
た。このことより保育園などにおける感染予防対策が
重要であると思われる。

バンコマイシンヘテロ耐性黄色ブドウ球菌
(ヘテロ-VRSA) 検出法の検討

順天堂大学医学部細菌学教室

○花木秀明、岡崎朱美、稲葉陽子、
平松啓一

目的 バンコマイシンヘテロ耐性黄色ブドウ球菌

(ヘテロ-VRSA) は、従来の耐性菌検出方法を用いて
検出することは難しい。我々は、VRSAの耐性メカニ
ズムを応用した簡易検出法の確立を目的として検討し
た結果を報告する。

方法 ヘテロ-VRSA検出に適した培地の検討を行った
後、VCM耐性を誘導しやすい薬剤の検討を行った。方
法は、VCM 0~4 μ g/mlのgradient gelによる耐性度の比
較、population解析及びMIC値の比較で行った。

結果及び考察 VCM耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)の耐性
メカニズムは、細胞壁合成系の亢進に起因する。しか
し、細胞壁の合成は、培地の種類によって影響を受け
る。ヘテロ-VRSAを効率よく検出するためには、細胞
壁合成に必要な充分量の成分を含んだ培地が適切であ
り、検討した培地の中ではBHIAが最も適していた。ま
た、BHIAに細胞壁構成成分を添加した培地では、
BHIAのみよりヘテロ-VRSAの検出が明確になった。更
に、BHIAに β -lactam剤を添加した培地では、VCMの
耐性が増強された。これは、細胞壁合成系に關与する
抗菌剤、特に β -lactam剤は、positive feedbackにより細
胞壁合成を亢進している可能性を示唆している。

上記、BHIAに細胞壁構成成分を添加した細胞壁合成
系をサポートする培地と β -lactam剤によるVCM耐性の
誘導を組み合わせることにより、ヘテロ-VRSAの検出
が可能になった。

方法は、VCM 4 μ g/ml、細胞壁構成成分含有BHIA培
地(Mu3培地、BBL)に、被検菌を塗抹した後、 β -
lactam剤含有discを置き、37°Cで20時間培養する。ヘテ
ロVRSAであれば、disc周辺のみで生育円が認められ、
耐性度の高いヘテロVRSAもしくはVRSAは全面に生育
が確認できる。しかし、VCM感性菌は生育しない。

MU3寒天培地によるVRS Aの検出

江東微生物研究所¹⁾, 北海道大学医学部付属病院²⁾,
 東京大学医学部付属病院³⁾, 化学及血清療法研究所⁴⁾,
 順天堂大学医学部細菌学⁵⁾

○東出正人¹⁾, 清水義徳²⁾, 奥住捷子³⁾
 正木孝幸⁴⁾, 花木秀明⁵⁾, 平松啓一⁶⁾

(目的) 4施設におけるMRSAの臨床分離株についてMU3寒天培地(BBL)によるVCM耐性検査を試み, 若干の知見を得たので報告する。

(方法) 使用菌株1997年6月~12月の間に4施設で臨床材料より分離されたMRSA 1, 426株を用いた。VRS A検査は平松らの方法に従い, MU3寒天培地を用い, β -ラクタムディスクとしてCFM5, CNX30, ATM30(BBL)を使用した。判定はディスク周囲のみに発育が認められた株をヘテロVRS A:A群(以下ヘテロA群), ディスクに関係なく培地全体に発育した株をヘテロVRS A:B群(以下ヘテロB群), 発育の認めない株をVSSAとした。本法で検出されたヘテロVRS Aは日本化学療法学会標準法(微量液体希釈法)によりVCMのMIC測定および4 μ g/ml VCM添加BHI寒天培地における発育性テストを実施した。

(結果) 本法によるヘテロVRS Aの陽性率は108株/1, 426株(7.6%), その内訳はヘテロA群83株(76.9%), ヘテロB群25株(23.1%)であった。各施設のヘテロVRS Aの検出率は表1に示した。VCMのMICはヘテロA群2 μ g/ml以下, ヘテロB群は2-8 μ g/mlであった。4 μ g/ml VCM添加BHI寒天培地の発育テストはヘテロA群83株は発育しなかったが, ヘテロB群25株は全株発育が確認された。

表1:各施設のヘテロVRS A検出率

施設名	菌株数	ヘテロA	ヘテロB	ヘテロVRS A数
A 大学病院	404	19	5	24(5.9%)
B 大学病院	293	11	7	18(6.1%)
C 研究所	589	52	5	57(9.7%)
D 研究所	140	1	8	9(6.4%)
合計	1,426	83	25	108(7.6%)

中国の医療機関(4都市7病院)で分離した*S.aureus*の抗菌薬感受性

東邦大学医療短期大学¹⁾, 医学部微生物学教室²⁾

○小林明子¹⁾, 李秀華²⁾, 村井貞子¹⁾,
 辻明良¹⁾, 五島理智子¹⁾

(目的) 東邦大学医療短期大学では1996年より中国衛生部とヒトの常在菌に関する共同研究をしている。中国では1996年に5病院(哈爾濱2, 呼和浩特2, 北京1病院), 1997年に3病院(合肥2, 北京1病院)で医療従事者を含む健康者200名と入院患者200名について咽頭と鼻前庭粘膜の常在菌の検索を行った。

本報告ではこのうち*S.aureus*の分離状況と菌株に対する薬剤の抗菌活性について, 対照とした都内の1大学病院での結果と比較し, 報告をする。

(方法) 綿棒で採取した材料はペトリ皿培地に接種し, 発育した集落を卵黄加マシット食塩培地にスクリーニングし, 細菌学的性状とコクサラーゼ試験により*S.aureus*と同定した。血清学的にはテソカ生研の抗血清とキットを用いコクサラーゼ型別とエンテロキシン型別を行った。

薬剤感受性試験は微量液体希釈法によりMICを測定した。使用した薬剤はPenicillin G, Ampicillin, Methicillin, Cefazolin, Cefmetazole, Cefoperazone, Cefixime, Imipenem, Gentamicin, Erythromycin, Josamycin, Azithromycin, Ofloxacin, Tetracycline, Fosfomycin, Arbekacin, Vancomycinである。

(結果) *S.aureus*の分離率は中国で1996年43/499(8.6%), 1997年61/299(20.4%)であり, 日本では1996年に43/102(42.2%)であった。分離率は鼻前庭より咽頭で高い傾向があった。病院別に分離率を見ると, 中国では8病院で最低4/100から最高で24/100であった。一方, 日本では1病院のみではあるが, 43/100と高い分離率であった。分離された*S.aureus*の血清学的な特徴は, 中国でコクサラーゼVII型が多く, 1996年15/43(34.9%), 1997年25/61(40.0%)であるが, これとエンテロキシン型との関連に一定の傾向は見られなかった。これに対して日本では12/43(27.9%)がコクサラーゼII型エンテロキシンC型であり, TSST-1産生株であった。TSST-1の産生株は中国では1996年には分離されなかったが, 1997年には5株あり, エンテロキシンC型の菌株であった。分離菌株に対する薬剤の抗菌活性は中国菌株ではImipenemが最も高くErythromycin, Fosfomycin, Tetracyclineは低かった。MethicillinのMICが16 μ g/ml以上の菌株は1株であったが, 日本では18株(41.9%)であった。

新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の細菌形態に及ぼす影響, ペニシリン結合蛋白質に対する親和性, 定常期初期の細菌に対する殺菌作用
三共株式会社 第二生物研究所

○宇津井幸男, 角田正代, 阿部友美, 石井千加,
土門春樹, 大屋 哲

【目的】新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の抗菌作用を既存の経口用 β -ラクタム剤と比較するため, 細菌形態に及ぼす影響, ペニシリン結合蛋白質 (PBPs) に対する親和性, 定常期初期の細菌に対する殺菌作用を検討した。

【方法】細菌の形態変化は, 走査電子顕微鏡を用いて観察した。PBPs 親和性は, ^{14}C -PCG との競合実験で行なった。殺菌作用は, 薬剤添加後の経時的な生菌数の変動で調べた。

【結果】1. R-95867 は *S. aureus* に対して不完全な分裂を起こし, 溶菌像が観察された。経口用セファロスポリンは菌体の膨化, 溶菌を起こしたが, 形態への影響, 特に, 溶菌は R-95867 が顕著であった。また, *E. coli* に対し, R-95867 は長軸方向へ若干の伸長化, 菌体中央部の膨化, 菌体表層への障害, 溶菌を起こしたが, 経口用セファロスポリンは菌体を著しく伸長させたものの溶菌像はほとんど観察されなかった。

2. R-95867 は *S. aureus* (MSSA) の PBPs 1, 4 に高い親和性を示したが, 経口用セファロスポリンは PBPs 1, 2 に親和性が高かった。また, *E. coli* に対し, R-95867 は PBP 2 に親和性が最も高く, PBPs 1B, 3, 4 にも高い親和性を示したが, 経口用セファロスポリンは PBP 3 に親和性が最も高く, PBPs 1A, 1B にも親和性を示した。

3. R-95867 は定常期初期の細菌に対しても対数増殖期と同様に顕著な生菌数の減少を起こし, 対照薬より強力な殺菌作用が認められた。

【結論】R-95867 は経口用セファロスポリンと異なる PBP 結合パターンを示し, これが特徴的な形態変化, 強い殺菌作用に反映していると考えられる。また, 増殖速度の低下した細菌に対しても殺菌作用の強力な R-95867 は, 増殖が緩徐な状態にある病巣の細菌に対しても強い殺菌作用を示す可能性が示唆される。

新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の postantibiotic effect および血中濃度 simulate 条件下での殺菌作用

三共株式会社 第二生物研究所

○土門春樹, 石井千加, 坂川栄子, 増田修久,
角田正代, 阿部友美, 竹之内 俊, 宇津井幸男,
大屋 哲

【目的】新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の抗菌活性を既存の経口用 β -ラクタム剤と比較するため, postantibiotic effect (PAE) ならびに血中濃度 simulate 殺菌作用を検討した。

【方法】PAE は, 各薬剤の 4 MIC あるいはヒト血中 1 時間持続濃度を作用させて薬剤除去 (1000 倍希釈) した菌と薬剤非処理で 1000 倍希釈した菌が, 各々 10 倍増殖するに要する時間の差として求めた。血中濃度 simulate 殺菌作用は, 各薬剤単回服用時の血中濃度を 24 時間に亘って simulate した *in vitro* 実験系で, 1 時間ごとに生菌数の変動を調べた。

【結果】1. グラム陽性菌に対する PAE は, 4 MIC を作用させた場合, R-95867 が経口用セファロスポリンにやや及ばなかったが, ヒト血中 1 時間持続濃度を作用させた場合には, 経口用セファロスポリンを上回る傾向を示した。また, グラム陰性菌に対して, 経口用セファロスポリンは PAE を示さなかったが, R-95867 は 4 MIC, 血中 1 時間持続濃度処理とも PAE が認められた。

2. ヒト血中濃度 simulate 殺菌作用は, CS-834 の 100 mg (力価) \times 3 回/day 服用が cefdinir, cefditoren pivoxil, cefcapene pivoxil の各 100 mg (力価) \times 3 回/day および faropenem 150 mg (力価) \times 3 回/day 服用に匹敵する良好な結果が得られた。

【結論】R-95867 がグラム陰性菌に対しても PAE を有することは, 経口用セファロスポリンに認められない特長である。また, CS-834 の良好な血中濃度 simulate 殺菌作用は, R-95867 の抗菌力 (MIC), *in vitro* 殺菌作用, PAE の特徴を反映したものと考えられる。(会員外共同研究者: 石井千絵)

新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の β -ラクタマーゼ安定性および β -ラクタマーゼ産生菌に対する抗菌力

三共株式会社 第二生物研究所

○増田修久、竹之内俊、坂川栄子、大屋哲

【目的】耐性菌の選択は抗菌薬を使用する上で最も注意を払うべき点の一つである。 β -ラクタム剤においては、 β -ラクタマーゼによる分解が多くの菌種に共通した最も重要な耐性機構と考えられる。そこで新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の各種 β -ラクタマーゼに対する作用を他剤と比較検討した。

【方法】 β -ラクタマーゼ活性は UV 法により測定した。阻害活性は ampicillin あるいは cephaloridine をレポーター基質として測定した。誘導活性は対数増殖後期の菌に薬剤を 2 時間作用後集菌し、菌体破砕上清中の活性を cephaloridine を基質として測定した。また 50 μ g/ml の ceftazidime を含む寒天平板上で *E. cloacae* 臨床分離株から β -ラクタマーゼ産生亢進変異株を選択し、薬剤感受性を親株と比較した。

【結果および考察】R-95867 は検討したいずれのペニシリンナーゼおよびセファロスポリナーゼに対しても cefdinir および cefditoren よりさらに安定であった。一方メタロ β -ラクタマーゼに対しては他剤と同様分解された。またセファロスポリナーゼ阻害活性は強かったが、ペニシリンナーゼおよびメタロ β -ラクタマーゼ阻害活性は弱かった。*E. cloacae* および *S. marcescens* における β -ラクタマーゼ誘導活性は imipenem より著しく低かった。 β -ラクタマーゼ産生が亢進した *E. cloacae* 変異株は R-95867 に対し親株より 8 倍、cefdinir および cefditoren に対し 256 倍以上耐性化した。また *E. cloacae* 臨床分離株 21 株の β -ラクタマーゼ産生量と薬剤感受性を検討したところ、 β -ラクタマーゼ産生量増加に伴いセフェム剤感受性が低下したが、R-95867 に対する感受性の低下はわずかであった。以上の結果から、ペニシリンナーゼおよびセファロスポリナーゼに対する高い安定性および β -ラクタマーゼ誘導能の低さが R-95867 の優れた抗菌力の一因であると考えられる。また CS-834 はセフェム剤よりも β -ラクタマーゼ産生亢進株を選択しにくいと予想される。(会員外共同研究者：石井千絵)

新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の抗菌力 (MIC)、増殖曲線に及ぼす影響

三共株式会社 第二生物研究所

○角田正代、阿部友美、石井千加、土門春樹、宇津井幸男、大屋哲

【目的】新規経口用カルバペネム CS-834 の活性体 R-95867 の *in vitro* 抗菌活性を既存の経口用 β -ラクタム剤、ニューキノロン剤と比較するため、抗菌力 (MIC) ならびに増殖曲線に及ぼす影響を検討した。

【方法】各薬剤の抗菌力は、寒天平板希釈法による MIC 測定で検討した。増殖曲線に及ぼす影響は、対数増殖期の細菌に薬剤を添加、培養後の生菌数変動で調べた。

【結果】1. R-95867 は臨床分離の *S. aureus* (MSSA), *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. sanguis*, *S. pneumoniae*, *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*, *P. magnus*, *P. acnes*, *C. perfringens*, *N. gonorrhoeae*, *M. catarrhalis*, *E. coli*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. aerogenes*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *M. morgani*, *P. rettgeri*, *H. influenzae* に対して MIC₉₀ \leq 1 μ g/ml の強い抗菌力を有していた。R-95867 の抗菌力 (MIC₉₀) は、多くの菌種に対して対照に用いた経口用 β -ラクタム剤 (CFDN, CDTR, CFPN, FRPM)、ニューキノロン剤 (CPFV, LVFX) より優れていた。

2. R-95867 はペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (penicillin G の MIC \geq 0.5 μ g/ml) や、セファロスポリン高度耐性 (cefdinir の MIC \geq 128 μ g/ml) の *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. aerogenes* に対して良好な抗菌力を示した。また、R-95867 はニューキノロン耐性 (ofloxacin の MIC \geq 8 μ g/ml) の各種細菌に対しても良好な抗菌力を有し、ニューキノロン剤と交差耐性が認められなかった。

3. R-95867 は対数増殖期の細菌に対して短時間に顕著な生菌数の減少を起し、経口用 β -ラクタム剤、ニューキノロン剤と同等以上の強い殺菌作用が認められた。

【結論】R-95867 はグラム陽性菌、グラム陰性菌に幅広い抗菌スペクトルと、他剤耐性菌を含む各種感染症起炎菌に対して既存の経口セファロスポリン、ニューキノロンを概ね上回る抗菌力 (MIC) を有し、また、殺菌作用が強力な点も特長である。

臨床分離菌に対するカルバペネム系抗菌薬の
抗菌力サーベイ成績

抗菌薬感受性サーベイランス研究会(3年次報告)

○猪狩 淳, 井上松久, 西野武志

(目的) 平成6年より全国各地の施設で各種臨床材料から分離された主要病原菌を対象として、IPM と最近開発されたカルバペネム系抗生物質を中心に、抗菌力を比較してきた。

今回は平成8年(3年次)の成績を報告する。

(方法) 平成8年10月~12月の3ヶ月間に全国21施設で分離された *MRSA*, *MSSA*, *S.pneumoniae*, *E.faecalis*, *H.influenzae*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *E.cloacae*, *S.marcescens*, *P.aeruginosa*, *B.fragilis group* の11菌種1241株について、微量液体希釈法によりMICを測定した。供試抗菌薬は、IPM, PAMP, MEPM, BIPM。菌種により他系統の抗菌薬を組み合わせ検診に加えた。

(結果) カルバペネム系抗菌薬は、いずれも *MSSA*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae*, *E.coli*, *E.cloacae*, *K.pneumoniae* に対して強い抗菌力を示し、薬剤間で抗菌力に差はなかった。一方、*MRSA* に対し抗菌力は弱い。*E.faecalis* に対する IPM, PAMP, MEPM, BIPM の MIC₉₀ 値は、おのおの 2, 4, 8, 8 μg/ml, *S.marcescens* に対しては 1, 4, 2, 1 μg/ml, *P.aeruginosa* に対し、16, 32, 8, 32 μg/ml, *B.fragilis group* に対し 1, 4, 2, 1 μg/ml で、薬剤間で抗菌力に差が認められた。

最近、カルバペネム耐性緑膿菌が問題視され、本サーベイランスでも注目している。カルバペネム系抗生物質の MIC 16 μg/ml 以上の株を耐性とする (NCCLS) と、136 株中、IPM には 31 株 (22.8%)、PAMP 75 株 (55.1%)、MEPM 7 株 (5.1%)、BIPM 28 株 (20.6%) であり、いずれも前回 (平成7年サーベイ結果) よりやや増加した。

(結論) IPM は臨床分離菌に対し、他のカルバペネム系抗生物質と遜色のない MIC 値を示し、臨床応用 10 年を経ても耐性化が進んでいないことが確認された。

臨床分離株に対する Meropenem (MEPM) の
抗菌活性

東京総合臨床検査センター 研究部

○松本好弘, 鈴木由美子, 石井由紀子,
石原理加, 中澤ありさ, 出口皓一

【目的】カルバペネム系抗生物質は幅広い抗菌力を有することで知られており、多くの感染症に広く用いられていることから、臨床分離株に対する薬剤感受性の動向には、常に注意を払わねばならない。今回我々は、Meropenem (MEPM) を中心に最新の臨床分離株の感受性を測定し、過去第42回本学会総会にて発表した結果と比較することにより、その動向を検討した。

【方法】1997年1月~12月に、当所において分離・同定した好気性菌37菌種910株、嫌気性菌10菌種120株、合計47菌種1030株を対象とした。

MEPM以外の対照薬剤としては PIPC, CAZ, PMOX, CZOP, CFP, IPM, PAMP, VCM, CLDM, ABK, TOB とし、感受性測定は本学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定標準法及び嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に従い、寒天平板希釈法にて MIC を測定した。

【結果】カルバペネム系 3剤はグラム陽性菌、グラム陰性菌、嫌気性菌のいずれにも良好な感受性を示した。特にグラム陰性菌における MIC₉₀ では、*E.coli* では MEPM ≤ 0.025 μg/ml, IPM 0.2 μg/ml, PAMP 0.39 μg/ml, *K.pneumoniae* subsp. *pneumoniae* では MEPM 0.05 μg/ml, IPM 0.2 μg/ml, PAMP 0.39 μg/ml であり、MEPM が良好な感受性を示した。

【考察】最新の臨床分離株において、MEPM は良好な感受性を示した。また、過去の感受性結果と比較しても耐性化を懸念させるような傾向は認めなかった。

Faropenem の腸内細菌叢に及ぼす影響

—腸内細菌叢の変動と便性の变化に関する検討—

○岩田 敏^{*1}、佐藤吉壮^{*2}、寺嶋 周^{*3}、目黒英典^{*3}、
橋本 裕^{*4}、加藤達夫^{*5}、秋田博伸^{*6}、五島敏郎^{*6}、
横田隆夫^{*6}、豊永義清^{*7}、石原俊秀^{*7}、金村英秋^{*7}、
岩井直一^{*8}、中村はるひ^{*8}、砂川慶介^{*9}

#1国立霞ヶ浦病院小児科、#2富士重工業健康保険組合総合太田病院小児科、#3帝京大学医学部付属市原病院小児科、#4社会保険埼玉中央病院小児科、#5聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科、#6大和市立病院小児科、#7山梨赤十字病院小児科、#8名鉄病院小児科、#9国立病院東京医療センター小児科

新しいペネム系経口抗菌薬であるfaropenem (FRPM) について、小児の腸内細菌叢に及ぼす影響及び腸内細菌叢の変動と便性の变化との関係を検討した。

【対象および方法】対象は1996年11月から1997年5月の間に受診した小児感染症患者のうち、保護者の同意が得られた小児である。封筒法により、FRPM[®]「ライソップ」を単独で投与する単独群と、整腸剤を併用する併用群とに分け、単独群ではFRPM[®]「ライソップ」を1回5mg/kg、1日3回経口投与し、併用群ではFRPM[®]「ライソップ」に加え、耐性腸球菌を含有する整腸剤(インテロノール[®])を1回1g、1日3回経口投与し、投与開始前、中、後の便性を観察するとともに糞便内細菌叢の検討を行った。便性は5段階で評価し、投与前と比較して1段階以上悪化した場合に「変化あり」と判定した。糞便内細菌叢の検討は既報に従い行った。

【結果及び考察】投薬開始時および投薬期間中に3点以上の糞便採取がなされた単独群7例、併用群8例の15例を解析の対象とした。便性の变化については単独群7例全例、併用群8例中5例で変化が「あり」と判定され、これらの症例の多くで、投薬期間中に特に嫌気性菌数の著明な減少が認められた。腸内細菌叢の変動と便性との関係については、総菌数及び嫌気性菌総数と便性との間に相関が認められ、便性が悪いほど菌数の減少が著明であった。菌種別の検討では*Bacteroides*の菌数と便性との間に相関が認められた。以上の成績から、抗菌薬投与中の下痢の発現には、嫌気性菌総数の減少、特に*Bacteroides*の減少が関与している可能性が示唆された。

市中感染菌を対象とした新経口抗菌薬 Faropenem および Cefcapene の抗菌力測定成績

天理よろづ相談所病院 臨床病理部

○小松 方 相原雅典 島川宏一 岩崎瑞穂
長坂陽子 山中 亨

＜目的＞昨年新たに経口抗菌薬として上梓されたペネム系抗菌薬 faropenem (FRPM) およびエステル型セフェム系抗菌薬 cefcapene pivoxil (CFPN) の抗菌力を検討する目的で各種臨床材料から分離された菌種を用いて MIC を測定した。

＜方法＞菌株は 1997 年に市中感染症患者より分離された 251 株 (*Enterobacteriaceae* 90 株、no-fermenters 25 株、*Staphylococci* 43 株、*Streptococci* 61 株、*Enterococci* 14 株、*Haemophilus influenzae* 14 株および *Moraxella catarrhalis* 5 株) を使用した。抗菌薬は前二者の他に、cefdinir (CFDN) および levofloxacin (LVFX) を追加し、MIC 測定は日本化学療法学会標準法に従い、微量液体希釈法で行った。

＜結果＞251 株の MIC₅₀ は FRPM、CFPN、CFDN および LVFX で 0.5、0.5、1 および 1 μ g/ml、MIC₈₀ は各々 8、8、32 および 4 μ g/ml であった。グラム陽性菌に対する抗菌力は MIC₅₀ で ≤ 0.06 、0.5、0.25 および 0.5 μ g/ml、MIC₈₀ で 1、>128、8 および 4 μ g/ml であった。グラム陰性菌では MIC₅₀ で 2、0.5、1 および 0.13 μ g/ml、MIC₈₀ は 8、8、128 および 0.5 μ g/ml であった。

＜考察＞今回用いた全菌種の比較では FRPM、CFPN とほぼ同等の抗菌力であったが、グラム陽性菌では FRPM > LVFX > CFDN > CFPN、グラム陰性菌では LVFX > CFPN > FRPM > CFDN の順であった。以上の成績から FRPM、CFPN とともに市中感染起炎菌に対し良好な抗菌力をもつことが明らかとなったが、前者は陽性球菌に、後者は陰性桿菌に対し優れた抗菌力が特徴的であった。

臨床分離緑膿菌のカルバペネム耐性機構について

抗菌薬感受性サーベイランス研究会

○西野武志、後藤直正

(京都薬大・微生物)

【目的】近年、医療の進歩により延命率が向上した一方、易感染宿主の増加に伴い日和見感染症が問題となっている。その代表菌種の一つである緑膿菌に対してカルバペネム系のimipenemは良好な抗菌力を示していたが、最近、一部耐性化が認められその機序が注目されている。そこで私共は全国20施設で研究グループを組織し、臨床分離株を収集し、感受性測定および緑膿菌のカルバペネム耐性機構について検討した。

【方法】平成6、7、8年に分離された緑膿菌に対する抗菌力は、日本化学療法学会感受性測定法に従い、微量液体希釈法によりMICを測定した。またその耐性機構については、緑膿菌におけるカルバペネム特異的な透過孔OprDと排出に関与するOprMを、私共が作製したモノクロナール抗体を用いて検出することにより検討した。

【結果・考察】平成5年に分離されたカルバペネム耐性緑膿菌135株の内、抗菌力の特徴より35株を選択し検討した。その結果OprD欠損株は24株(68.6%)、OprM過剰産生株は7株(20%)であり、OprD欠損およびOprM過剰産生の両方を有する株は3株(8.5%)であった。また、平成6年に分離されたカルバペネム耐性緑膿菌の検討では、OprD欠損株は11株(78.6%)、OprM過剰産生株は9株(64.3%)であり、OprD欠損およびOprM過剰産生の両方を有する株は6株(54.5%)であった。いずれの場合もOprD欠損株の多くはimipenemやpanipenem等に対するMICが8μg/ml以上であり、OprM過剰産生株よりカルバペネム系に対する耐性度が高かった。

2年間の成績を比較すると、OprM過剰産生株とOprD欠損およびOprM過剰産生の両方を有する株の増加が顕著であり、今後もこの傾向が続くものと思われるが、この様な変化は使用されるカルバペネム系抗生物質の量および種類に由来すると推測され、さらに詳細な検討が必要と思われる。

gyrA 変異 *Neisseria gonorrhoeae* の迅速検出に関する検討三菱化学ピーシーエル 化学療法研究室¹⁾、岡・細胞遺伝解析部²⁾、九州大学医学部泌尿器科³⁾○金山明子¹⁾、小林實詰¹⁾、西田実¹⁾、島津光伸²⁾、田中正利²⁾、熊澤輝一³⁾

臨床分離 *N. gonorrhoeae* のキノロン系抗菌薬の主な耐性機構は *gyrA* 遺伝子の codon 91 のアミノ酸変異によるものである。実際にこの変異株による感染症患者に対する pazufloxacin の除菌率は 17.6% (3/17) と、wild 株に対する除菌率 100% (15/15) に比べ明らかに低い。すなわち、*N. gonorrhoeae* 感染症において *gyrA* の変異はキノロン系抗菌薬の治療に大きく影響する。

今回我々は患者試料から直接 *N. gonorrhoeae* の *gyrA* 変異を検出することを目的として基礎的および臨床的検討を行った。試験菌として、*N. gonorrhoeae* は *gyrA* 変異を認めない wild 株 1 株および codon 91 のアミノ酸が Ser → Phe に変異が認められている 5 株を用いた。その他の菌種としては α-hemolytic *Streptococcus*, Coagulase(-) *Staphylococcus* および *Escherichia coli* 各 5 株を用いた。*N. gonorrhoeae* 単独およびその他 3 菌種との混合菌液 (10⁴~10⁶CFU/ml) を作製し、pin-point sequencing 法にて検出を行った。まず各試験菌 DNA の codon 91 を含む周辺領域を PCR で増幅し、酵素反応により標識ダイデオキシ dXTP を検出用ピオチン標識プライマーに取り込ませた。これをストレプトアビジンをコートしたプレートに捕捉し、酵素抗体法により反応。発色を読み取り判定を行った。その結果、各試験菌液(単独、混合液)から *N. gonorrhoeae* の wild 株および変異株ともに分離検出が可能であった。また混合したその他の 3 菌種による影響も全く認められなかった。さらに臨床材料における検討において、用いた尿道分泌物 4 試料から wild タイプ 2 例、変異 2 例を検出し、後の培養成績と全て一致した。

本法は *N. gonorrhoeae* 感染症患者にキノロン系抗菌薬の治療を行う場合、その有効性を予測する上で極めて有用な方法であることが示唆された。

リン菌におけるキノロン薬の耐性機構について

京薬大・微生物 ○大槻雅子、西野武志
九大医学部・泌尿器科 田中正利、熊澤浄一
第一製薬・創薬第一研究所 小野寺宜郷

【目的】近年、リン菌のニューキノロン薬に対する耐性が急速に進んできている。*Neisseria gonorrhoeae*のニューキノロン薬に対する耐性と標的部位であるDNAジャイレースおよびトポイソメラーゼIVの変異部位については性感染症学会ですでに報告した。今回、私どもはニューキノロン薬に対する耐性と標的部位であるDNAジャイレースに対するキノロン薬の阻害活性について検討した。

【方法】感受性のATCC19424株およびニューキノロン高度耐性株の計5株を用いて、PCRにより増幅したgyrA遺伝子をマルトース結合蛋白融合蛋白発現ベクターpMAL-c2に接続することにより、DNAジャイレースを精製し、DNAジャイレースに対するキノロン薬の阻害活性を測定した。

【結果・考察】*N. gonorrhoeae* ATCC19424およびA-10株より得た様々な耐性度を示す菌株のgyrA遺伝子を用いて、各発現ベクターを導入した*E. coli*で融合蛋白の発現を調べた結果、全ての種類の発現ベクターで融合蛋白の発現が認められ、その大きさは約140-130kDaであり、GyrA、GyrBは約100-90kDaと推定された。阻害活性IC₅₀はATCC株のGyrAとATCC株のGyrBとの再構成でNA、NFLX、OFLX、CPFX、SPFX、DU6859aでそれぞれ66、5.7、5.3、3.2、4.0、2.6μg/mlであった。臨床分離株A-10のGyrAとATCC株のGyrBとの再構成ではIC₅₀はそれぞれ159、36.9、77.1、32.7、28.3、9.1μg/mlであり、この株から得られた高度耐性菌からのGyrAとATCC株からのGyrBとの再構成ではIC₅₀値はNAで2.9-4.5、NFLXで11-20、OFLX、CPFX、SPFXで6.6-13、DU6859aで2.3-4倍の上昇であった。*N. gonorrhoeae*に対するニューキノロン薬のMICとgyrA遺伝子のQRDR上の変異部位の増加とDNAジャイレースに対する阻害活性の間に相関性が認められたが、キノロン耐性にはこれら以外の因子の関与も考えられ、さらに検討中である。

*In vitro*で選択した淋菌キノロン耐性変異株におけるDNA gyrase gyrA遺伝子およびtopoisomerase IV parC遺伝子の変異について
岐阜大学泌尿器科¹⁾、杏林製薬中央研究所²⁾、
東京共済病院泌尿器科³⁾
○安田 満¹⁾、出口 隆¹⁾、福田 秀行²⁾、
齊藤 功³⁾、河田 幸道¹⁾

【目的】淋菌は各種抗菌剤に対して良好な感受性を示していたが、近年ニューキノロン剤に対して耐性を示す例が報告されており問題となりつつある。また、これまでわれわれは淋菌キノロン耐性臨床分離株において、キノロン剤のtarget enzymeであるDNA gyrase gyrA遺伝子およびtopoisomerase IV parC遺伝子の変異が重要な役割を果たしていることを報告してきた。そこで今回われわれは、*in vitro*において淋菌キノロン感性株を耐性化させ、gyrA遺伝子およびparC遺伝子の変異を検討した。

【方法】NA、NFLX、CPFXに対するMICがそれぞれ0.25、0.03、0.015 μg/mlであるWHO A株を用いた。WHO A株をNFLXあるいはCPFXにて順次選択し耐性株を作製した。gyrA遺伝子およびparC遺伝子の塩基配列は、PCR法によりgyrA遺伝子およびparC遺伝子のいわゆるキノロン耐性決定領域を増幅し、PCR産物を用いて決定した。MICはNCCLS法に準じ測定した。

【結果】gyrA遺伝子の解析では、Ser-91→Phe、Ser-91→Tyr、Asp-95→Asn、Asp-95→Tyrのアミノ酸の置換を伴う変異がみられた。parC遺伝子の解析では、Asp-86→Asn、Glu-91→Lysのアミノ酸の置換を伴う変異がみられた。最初の選択によりgyrA遺伝子に一カ所の変異を認め、さらに選択回数が増すとgyrA遺伝子やparC遺伝子に変異が加わった。また、MICは、変異の数が増す毎にキノロンに対して高度耐性を示した。

【考察】*in vitro*においてキノロン耐性株を作製したところ、アミノ酸の置換を伴うgyrA遺伝子およびparC遺伝子の変異がみられ、gyrA遺伝子およびparC遺伝子の変異によりキノロン耐性を獲得していると示唆された。

複雑性尿路感染症患者由来キノロン耐性
*Enterococcus faecalis*におけるGyrAおよびParCの
アミノ酸変化に関する検討
岐阜大学泌尿器科
○西野好則、出口 隆、安田 満、仲野正博、
兼松江日子、石原 哲、坂 義人、河田幸道

<目的>複雑性尿路感染症患者より分離された*E. faecalis*
に対するNFLXおよびOFLXのMICとGyrAおよびParCのアミ
ノ酸変化との関連について検討した。

<対象と方法>複雑性尿路感染症患者より分離された
E. faecalis 31株を対象とし、ニューキノロン剤のMICの測
定とgyrAおよびparC遺伝子のキノロン耐性決定領域に相
当する部位の解析を行った。

<結果>NFLXのMICが12.5 µg/ml以下、OFLXのMICが
6.25 µg/ml以下の12株には、GyrAとParCのアミノ酸変
化はともに認めず、NFLXが50 µg/ml、OFLXが12.5 µ
g/mlの1株では、ParCの80番のみにアミノ酸変化を認め
た。NFLXが50 µg/ml以上、OFLXが25 µg/ml以上の18
株中17株に、GyrAの83番あるいは87番のどちらか一方
とParCの80番にアミノ酸変化を認め、残りの1株にGyrA
の83番とParCの80番と84番の両者にアミノ酸変化を認
めた。

<考察>NFLXおよびOFLXのMICが低いキノロン感受性株
には、GyrAとParCのアミノ酸変化はともに認めず、
NFLXおよびOFLXのMICが上昇した株では、1株ではある
がParCのみにアミノ酸変化が認められた。さらにMICの
上昇した株では、GyrAとParCともにアミノ酸変化が認め
られた。*E. faecalis* 臨床分離株においても他の菌種と同
様にGyrAとParCのアミノ酸変化がキノロン耐性化に重要
な役割を果たすと考えられた。

nfxB 制御型多剤排出システムの基質特異性と
β-ラクタム高感受性化の機構

京都薬大・微生物

○後藤直正、辻元秀人、岡本清美、西野武志

【目的】緑膿菌の野生型の株から分離した *nfxB* 変異株は、
多剤排出システム MexCD-OprJ の過剰産生に伴って、キ
ノロン剤や第4世代セフェムに対して耐性化するが、通常
のセフェムなどを含むβ-ラクタム剤には高感受性化する。
この不思議な現象を解明するために、PAO1 から派生し
た *nfxB* 変異株で産生しているもう一つの排出システム
MexAB-OprM を欠失した *nfxB* 変異株を作成し、その性
状を調べた。

【材料および方法】野生株および *nfxB* 変異株の染色体か
ら部位特異的解離系を利用して *mexRAB-oprM* オペロン
を欠失させた。両排出システムを構成する蛋白質は特異抗
体を用いたウェスタンブロットにより検出した。
mexAB-oprM オペロンの発現は、*mexA-lacZ* 融合プラ
スミドを導入した細胞が産生するβ-galactosidase 活性
を測定することにより調べた。

【結果および考察】野生株および *nfxB* 変異株の染色体か
らから *mexAB-oprM* オペロンを欠失させ二つの株の感
受性を比較したところ、MexCD-OprJ がキノロン、第4
世代セフェムだけではなく、通常のセフェムの排出にも働
くが、MexAB-OprM が基質とする carbenicillin や
aztreonam には働かないことが示された。さらに、野生
株から派生した *nfxB* 変異株での *mexAB-oprM* オペロ
ンの欠失によりβ-ラクタム高感受性化が消失したことは、
この高感受性化が二つの多剤排出システムが同時に機能
していることが原因であると考えられた。事実、これは
nfxB 変異株での MexCD-OprJ の過剰産生に伴った
MexAB-OprM の減少および *mexA* の転写の減少により
裏付けられた。

Helicobacter pylori のクラリスロマイシン耐性機構 (II)

○池田和憲¹⁾、石垣雅子¹⁾、河合 隆²⁾、松本有右³⁾、濱島 肇¹⁾、笹津備規¹⁾、新井武利¹⁾
 昭和薬大 微生物学¹⁾、東京医大八王子医療センター 消化器内科²⁾、八王子薬剤センター薬局³⁾

【目的】消化性潰瘍は攻撃因子と防御因子のバランスの破綻という考えから *Helicobacter pylori* による感染症であるという概念に置き換えられようとしている。それに伴い治療も除菌療法が行なわれるようになり、良好な成績を挙げている。しかし、除菌療法においてクラリスロマイシン (CAM) 耐性株は除菌されにくいこと、また、その耐性機構について昨年の第44回日本化学療法学会東日本支部大会において発表した。今回はさらに症例数および菌株数を増やし、詳細に検討したので報告する。

【方法】東京医大八王子医療センターの消化管疾患患者の生検胃粘膜より *H. pylori* を分離し臨床分離株とした。薬剤感受性はMIC法により測定した。患者23名より分離されたCAM感受性株8株、耐性株42株について日立SQ-5500を用いたシーケンスまたはBsaI、MboIIの制限酵素反応断片から23S rRNAの突然変異の有無とその位置を調べた。

【結果、考察】1995年5月から1997年10月までの全臨床分離株のうちCAM耐性株は15%前後で推移している。治療前にCAM耐性株が検出された患者のうちPPIと抗生物質 (CAM、アモキシシリン: ABPC) で除菌可能な症例は16.6%だった。ABPC感受性であってもCAM耐性だと除菌が困難である。

また、感受性株は全てwild typeだが、耐性株は全て23S rRNAの2143か2144番目の塩基がAからGへ変異していた。耐性株のうち2143番目の変異が19%、2144番目の変異が81%だった。さらに、2143と2144番目の変異とではCAMに対する薬剤感受性に差が認められた。

大腸菌 DNA ジャイレース GyrA の Asp-82 残基の重要性

大日本製薬 創薬第2研究所

○浦 敦、藤本美佳、仁賀俊幸、吉田博明、服部宏昭、中村信一

DNA ジャイレースはDNA鎖の切断-再結合反応の反復によりDNAをスーパーコイル化する。キノロン存在下ではDNA ジャイレース-DNA-キノロン三者複合体が形成され、切断DNAの再結合が阻害される。大腸菌 GyrA におけるキノロン耐性変異部位は Ser-83 付近に集中しているが、Asp-82 は変異の報告がなく、Asp-82 に相当するアミノ酸は各種細菌間でよく保存されている。今回、大腸菌 GyrA:Asp-82 の変異の影響について、野生型 *gyrA* 遺伝子の同部位に変異を導入して検討した。【方法】部位特異的変異導入は Kunkel 法あるいは Mutan-Super Express Km キット (宝酒造) によって行った。変異を導入した大腸菌 *gyrA* 遺伝子を持つプラスミドにより大腸菌 KNK402 (*gyrA* 温度感受性で 30°C では生育可能だが 42°C で生育不能) 株を形質転換して、42°C における生育を調べた。

【結果】Asp-82(GAC)をGlu(GAA)に変換した *gyrA* プラスミドで形質転換した *gyrA* 温度感受性株は、野生型 *gyrA* の場合と同様に 42°C で生育し、野生型と同一のキノロン感受性を示した。しかし、Asp-82 を Asn(AAC) にすると 42°C で生育不能であった。Asp-82 を Gly, Ala, Tyr, Leu, Ile に変換する変異を野生型 *gyrA* 遺伝子に導入した場合も 42°C で生育不能であった。したがって、GyrA の 82 番目のアミノ酸残基のカルボキシル基が DNA ジャイレースの機能に極めて重要であり、この部位の酸性アミノ酸残基以外への変異は菌の生存に影響を及ぼすために、キノロン耐性変異株は分離されにくいと考えられる。GyrA:Gly-81→Asp、Asp-82→Gly 二重変異が報告されているが、この場合は Asp-81 が Asp-82 の役割を代替するために DNA ジャイレースが機能するのではないかと推察される。

E. faecalis におけるキノロンの一次標的分子

大日本製薬 創薬第二研究所¹⁾

北里大学 医学部 微生物学教室²⁾

○藤本孝一¹⁾, 山岸純一^{1,2)}, 小山田義博¹⁾, 小寺玲子¹⁾,
服部宏昭¹⁾, 中村信一¹⁾, 岡本了一²⁾, 井上松久²⁾

キノロンの標的分子は、DNA gyrase と DNA topoisomerase IVである。どちらの分子がキノロンの一次標的になるかは、菌種により異なることが知られている。私共は黄色ブドウ球菌、Fisherらは肺炎球菌を用いた実験から、たとえ同一菌種においてもキノロンの種類により一次標的分子は異なるという事実を見い出している。今回、多剤耐性化傾向を示すことから臨床問題となっている腸球菌について、遺伝学的な解析からキノロンの一次標的分子を推定したので報告する。

親株として *Enterococcus faecalis* ATCC29212 (MIC [μ g/ml] SPFX : 0.39, NFLX : 3.13)を用いた。耐性株の分離は、MICの2~4倍のキノロン(SPFXおよびNFLX)を含む血液寒天培地に適切な菌量を塗抹し、37°C、3日培養することにより行った。キノロン耐性変異は、腸球菌の *gyrA*, *parC* 遺伝子より、それぞれに特異的プライマーを作製し、PCR direct sequencing 法により決定した。

一段階目の変異株のMICは、選択キノロンの種類に関係なく、親株に比べ4倍高い値を示した(SPFX : 1.56, NFLX : 12.5)。これらの内、SPFX選択株QR12はGyrA、ParCいずれの変異も認められなかった。次にQR12を用いて二段階目の変異株を分離したところ、SPFX選択株QR12-26のMICは、SPFX : 6.25, NFLX : 12.5 μ g/mlであり、QR12に比べSPFXは、4倍高い値を示したが、NFLXは同一であった。NFLX選択株QR12-7では、逆の耐性パターンを示し、NFLXに4倍高い値であり、SPFXは変化がなかった。これらの株のGyrA、ParC変異を調べたところ、QR12-26は、GyrA変異としてGlu-88→Gly変異、QR12-7では、ParC変異としてSer-80→Ile変異が認められた。

以上のことより、*E. faecalis* の場合、DNA gyrase が SPFX の一次標的分子であり、DNA topoisomerase IVは、NFLX の一次標的分子であることが示唆された。

黄色ブドウ球菌の GrlB 変異トポイソメラーゼIVに対するキノロン剤の阻害活性

第一製薬(株)創薬第一研究所

○田中眞由美、小野寺宜郷、内田洋子、佐藤謙一

目的：我々は既に黄色ブドウ球菌 FDA 209-P 由来トポイソメラーゼIVおよび部位特異的変異導入によりサブユニットA (GrlA) に変異を有するトポイソメラーゼIVを精製し、これらに対するキノロン剤の阻害活性を報告した。今回はさらに、サブユニットB (GrlB) に変異を有する酵素に対するキノロン剤の阻害活性を測定したので報告する。

方法：部位特異的変異導入により Asp-432(GAT)→Asn (AAT) 変異を導入したトポイソメラーゼIV サブユニットB 遺伝子 *grlB* を作製した。この *grlB* を pMAL-c2 (NEB) に接続して構築した発現ベクターを大腸菌 MC1061 に形質転換した。これを対数増殖期まで培養後、IPTG 処理によりマルトース結合蛋白質 (MBP) との融合蛋白として発現を誘導した。集菌、洗浄後、リゾチーム処理し、超遠心沈清をアミロースレジンカラムに吸着し、10 mM マルトースにより溶出した。透析、濃縮後、Factor Xa により MBP を切断し、デカテネーション活性を測定した。

結果および考察：精製した GrlA および変異 GrlB を再構成し、キネトプラスチDNAを基質として、デカテネーション活性を確認した。この酵素活性に対するキノロン剤の阻害活性を測定した結果、レボフロキサシンおよびDU-6859aの変異酵素に対する50%阻害濃度(IC₅₀)は、それぞれ14および2.5 μ g/mlであり、変異を有さない野生型酵素に対するIC₅₀値の約6倍であった。即ち、このGrlBの変異がキノロン耐性に関与していることが明らかとなり、GrlAの変異に加えて、GrlBに変異を有する臨床分離株ではキノロン剤に対する耐性度が高いことが裏付けられた。

肺炎球菌 DNA ジャイレースおよびトポイソメレース IV に対する DU-6859a(シタフロキサシン)の阻害活性

第一製薬(株)創薬第一研究所

○小野寺 宜郷、田中 眞由美、佐藤 謙一

【目的】 DU-6859a は肺炎球菌に対して良好な抗菌作用を示す。そこでこの作用機構を解析する目的で本薬剤の標的と考えられる DNA ジャイレースおよびトポイソメレース IV に対する DU-6859a および既存キノロン剤の阻害活性を測定した。

【方法】 PCR を用いてキノロン感受性肺炎球菌 J24 株の *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* をそれぞれ増幅した。これらをそれぞれマルトース結合蛋白融合蛋白発現系を用いて、大腸菌内で蛋白の発現、精製を行った。得られた GyrA および GyrB, ParC および ParE を再構成し、DNA ジャイレースにおいてはスーパーコイル活性を、トポイソメレース IV においてはデカテネーション活性を阻害するキノロン剤の 50%阻害濃度(IC50)を測定した。

【結果および考察】 DU-6859a、レボフロキサシン(LVFX)、シプロフロキサシン(CPFX)、スパルフロキサシン(SPFX) およびトスフロキサシン(TFLX)の両酵素に対する阻害活性を測定した結果、それぞれの IC50 値は J24 株の各キノロン剤の MIC 値に相関した。また、LVFX、CPFX、SPFX、TFLX ではトポイソメレース IV に対する阻害濃度が DNA ジャイレースに対するそれよりも低い値となった。一方、DU-6859a は両酵素とも同等の低い濃度で阻害した。肺炎球菌はまずトポイソメレース IV(ParC)の変異が生じ、次に DNA ジャイレース(GyrA)の変異が生じることによって高度のキノロン耐性を獲得していくことが認められている。しかし DU-6859a は両酵素とも低濃度で阻害するので、キノロン耐性化を起し難く、さらに耐性変異を有する株にも良好な抗菌活性を有する薬剤であると考えられた。

臨床分離ホスホマイシン(FOM)耐性大腸菌の FOM 耐性化機構の解析

千葉大・薬・微生物薬品化学

○重信普律、清水正樹、小原康治、澤井哲夫

【目的】 臨床分離株のホスホマイシン(FOM)耐性機構については、FOM 取り込み系の変化とグルタチオン(GSH)を付加する薬剤不活化が知られている¹⁻⁴⁾。しかしながら、日本においては FOM 耐性の⁵⁾大腸菌は非常に少ないことも知られている。今回、研究室保存の臨床分離大腸菌の中に FOM 中等度耐性を示す菌株をみいだし、その耐性機構について検討した。

【材料と方法】 菌株: 研究室保存の臨床分離大腸菌 100 株を用いた。使用薬剤(化療略号): FOM, ABPC, CBPC, TC, CP, KM, GM, FRM, SM, sulphisomidine(SA)。最小発育阻止濃度(MIC)測定: 寒天平板希釈法(FOM MIC 測定小委員会法、1975)。粗酵素液: 一夜培養菌液を集菌、洗浄後、TMK 溶液(pH 7.8)に再懸濁し、超音波破砕後の超遠心上清を用いた。不活化反応: 粗酵素液を、4.3 μM FOM、補酵素(16 mM GSH 又は 8 mM ATP)とともに反応させ、経時的に採取したサンプルの薬剤残存活性を微生物検定法により測定した。菌体内への薬剤の取り込み: [³H]FOM 含有培地中での培養菌をミリポアフィルター(0.45 μm)に吸引濾過し、洗浄後、菌体内への FOM 取り込みを液シン(Aloka LSC-5100)で測定した。接合伝達実験: 供与菌と受容菌(W3110rif 又は ML1410)の一夜培養液を新鮮培地中で混合後、選択薬剤含有寒天平板上に塗布し、生育の有無を観察した。Lysozyme-DNase-RNase を用いた薬剤不活化簡便測定法(LDR法): 小原らの方法⁹⁾に従った。

【結果および考察】 臨床分離大腸菌から FOM の MIC が 50 μg/ml を示す CU301 株を見出した。この MIC 値は被験菌株中でもっとも高い値であり、ほかに ABPC, SA に対しても耐性を示した。FOM 耐性形質の液体培地中での接合伝達はみられなかった。本菌株の薬剤取り込み量は感受性菌と同等で、取り込み系変化による耐性はないと分かった。一方、LDR 法や粗酵素を用いた場合、GSH 存在下で FOM を速やかに不活化し、ATP を補酵素とした場合にも不活化が確認された。加熱処理粗酵素液では FOM の不活化は生じなかった。

1)ホスホマイシン(新たなる展開).95,1995. 2)J.J.A.49:533,1996. 3)FEMS Microb.Lett.114:9,1993.4)J.J.A.50:704,1997.5)Microb.90:177,1997.[共同研究者:陳 佳(千葉大・薬・微生物薬品化学)]

低濃度 OFLX との接触によるエンテロバクター
属の各種抗菌剤に対する耐性化

東京医科大学内科第一講座¹⁾，都立駒込病院
感染症科²⁾

○宮本大介¹⁾，増田剛太²⁾，市瀬裕一¹⁾，
外山圭助¹⁾

(目的) グラム陰性菌の多剤耐性化にはいくつかの機序が知られている。今回我々は、sub-MIC 濃度の抗菌物質が菌の感受性に与える影響について検討するため、エンテロバクター属を低濃度のオフロキサシン (OFLX) と接触させ、各種抗菌物質に対する感受性変化を検討した。

(方法) 臨床検体から分離されたエンテロバクター属を用いた。OFLX 感受性 27 株 (親菌株) を、低濃度 (1/4 MIC) の OFLX 中に 37℃ で一夜培養し、得られた菌株を娘菌株とした。親菌株と娘菌株の各種抗菌剤に対する MIC の比を求め、その比が ≥ 4 である場合を MIC 値上昇 (耐性化) とした。

(結果) 1/4 MIC 濃度の OFLX との接触により得られた娘菌株 27 株のうち、21 株は OFLX に耐性化した (中央値 8 倍)。これら耐性株の多くは、TFLX, MINO にも同時に耐性を獲得していたが、GM, CL には耐性化しなかった。PIPC, CTX, AZT に対しては、全体としては弱い耐性化の傾向を示すにとどまったが、とくに AZT に対しては高度に耐性化する菌株もみられた。

(結論) 低濃度 OFLX との接触により、構造的に関連の薄い多くの抗菌物質に耐性化したエンテロバクターの菌株が得られた。耐性化機序については、未解明な点が多いが、外膜透過性の変化や、能動的薬物排出機構等の関与が考えられる。

E. faecium のキノロン高度耐性獲得機構

(1) GyrA および ParC 変異の検出

大日本製薬 創薬第二研究所¹⁾

北里大学 医学部 微生物学教室²⁾

○小山田義博¹⁾，山岸純一^{1,2)}，藤本幸一¹⁾，小寺玲子¹⁾，
服部宏昭¹⁾，中村信一¹⁾，岡本了一²⁾，井上松久²⁾

近年、腸球菌が臨床材料から高頻度に分離され、その多くが、キノロンを含む多種類の抗菌薬に耐性を示すことから重要な問題となっている。腸球菌の中でも *Enterococcus faecium* は、多剤耐性化しやすいことが知られている。しかし、本菌に関するキノロン耐性機構の研究は、ほとんど行われていないのが現状である。私共は、第 45 回本学会において臨床分離腸球菌のキノロン高度耐性株に、GyrA と ParC の二重変異が認められることを報告した。今回、キノロン高度耐性獲得機構について詳細に検討するため、実験室内で段階的に耐性株を分離し、GyrA および ParC 変異を調べたので報告する。

親株として、*E. faecium* ATCC19434 (SPFX の MIC : 1.56, NFLX : 12.5 μ g/ml) を用い、MIC の 2~4 倍の SPFX あるいは NFLX を含む血液培地で、耐性株を分離した。SPFX で選択した耐性株は、SPFX に耐性を示したが、NFLX には感受性であった。一方 NFLX で選択した場合には、SPFX に交差耐性を示さなかった。これらの内、SPFX 選択株 QR7 (SPFX : 6.25, NFLX : 12.5 μ g/ml) は、GyrA 変異として、Glu-88 \rightarrow Lys 変異が認められたが、NFLX 選択株 QR19 (SPFX : 1.56, NFLX : 50 μ g/ml) では、GyrA, ParC のいずれにも変異は認められなかった。次に、QR7 を用い SPFX で選択したところ、得られた二段階目の変異株 QR7-11 (SPFX : 50, NFLX : 50 μ g/ml) は、QR7 由来の GyrA 変異のみで、ParC 変異は検出できなかった。また、QR7 より NFLX で選択した二段階目の選択株の場合、得られた高度耐性株 QR7-29 (SPFX : 100, NFLX : 400 μ g/ml) は、GyrA 変異に加えて、ParC 変異として、Ser-80 \rightarrow Ile 変異が認められた。

以上のことより、腸球菌 *E. faecium* のキノロン高度耐性化は、DNA gyrase と DNA topoisomerase IV の両標的酵素の変異が重複すること、更に他の耐性メカニズムが関与することが明らかになった。

E. faecium のキノロン高度耐性獲得機構 (2)キノロン排出ポンプ変異株の検討

大日本製薬 創薬第二研究所¹⁾
北里大学 医学部 微生物学教室²⁾

○小寺玲子¹⁾, 山岸純一^{1,2)}, 仁賀俊幸¹⁾,
小山田義博¹⁾, 藤本孝一¹⁾, 服部宏昭¹⁾,
中村信一¹⁾, 岡本了一²⁾, 井上松久²⁾

私共は、実験室内で段階的に分離したキノロン耐性 *Enterococcus faecium* 変異株の中に、GyrA および ParC 変異が認められないにもかかわらず、キノロン耐性を示す変異株を見出した。今回、これら変異株の性状につき 2, 3 の知見が得られたので報告する。

使用菌株として、QR19 (親株 *E. faecium* ATCC19434 より NFLX の一段階選択で得られた株で、GyrA および ParC に変異なし) および QR7-11 (親株より SPFX の一段階選択で得られた株 QR7 から、再度 SPFX で選択した二段階変異株で、QR7 の GyrA 変異以外に、加わった GyrA および ParC 変異なし) を用いた。菌体内キノロン蓄積量は、Celesk らの方法に従って測定した。

各種抗菌化合物の耐性度を isogenic strain 間で比較検討した。QR19 の MIC は NFLX : 50, CPFX : 25 μ g/ml であり、親株 ATCC19434 に比べ 4 倍高い値を示したが、SPFX の場合は親株と同一の感受性を示した。ethidium bromide (EB), acriflavine (AF) の MIC は親株に比べ 4~8 倍高い値を示したが、CP, TC, NB, RFP は感受性であった。この耐性プロフィールは、黄色ブドウ球菌の NorA 発現亢進株の場合と類似していた。QR7-11 の MIC は SPFX : 50, NFLX : 50, CPFX : 25 μ g/ml であり、いずれのキノロンに対しても QR7 に比べ 4 倍耐性化していた。しかし、EB, AF, CP, TC, NB, RFP の MIC は、すべて QR7 と同一であった。次に NFLX の菌体内蓄積量を調べたところ、QR19 の場合、菌体内濃度は、親株 ATCC19434 に比べ約 1/3 に減少していたが、CCCP 添加により、菌体内濃度は増加した。また、QR7-11 の場合、QR7 に比べ差が認められなかった。

以上のことより、腸球菌 *E. faecium* には、機能的に黄色ブドウ球菌の NorA 類似排出系が存在し、キノロン耐性株 QR19 では、その排出ポンプの発現亢進により、耐性化しているものと考えられる。

シタフロキサシン (DU-6859a) およびその光学異性体の II 型トポイソメラーゼに対する阻害効果

第一製薬 (株) 創薬第一研究所

○赤坂高明、黒坂誠子、内田洋子、田中眞由美、
佐藤謙一、早川勇夫

【目的】1 位フルオロシクロプロパンおよび 7 位アミノピロリジンを有する新規キノロン剤シタフロキサシン (DU-6859a) には、抗菌活性を有する光学異性体が存在する。そこでシタフロキサシンならびにその光学異性体 (DU-6856, DU-6857 および DU-6858) の細菌および哺乳類由来 II 型トポイソメラーゼ活性阻害における選択性を明確にすることを目的に、各種トポイソメラーゼ阻害活性を測定した。

【方法】使用した各種トポイソメラーゼ：大腸菌 KL-16 株由来の DNA ジャイレースサブユニット A ならびに B を、菌破砕液よりノボピオシニアフィニティカラムを用いて精製し、再構成して使用した。また、黄色ブドウ球菌 FDA 209-P 由来のトポイソメラーゼ IV サブユニット A ならびに B は、マルトース結合蛋白質との融合蛋白質として精製した後、Factor Xa でマルトース結合蛋白質を切断した。ヒト胎盤由来トポイソメラーゼ II は TopoGEN から購入した。酵素阻害活性測定：それぞれの酵素によるスーパーコイル活性、デカテネーション活性あるいはリラクシング活性に対する各化合物の阻害活性を測定し、50%阻害濃度 (IC₅₀) として算出した。

【結果および考察】シタフロキサシンは DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV に対し、最も強い阻害効果を示した。また、シタフロキサシンおよびその光学異性体の DNA ジャイレースならびにトポイソメラーゼ IV に対する IC₅₀ とそれらの大腸菌ならびに黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性 (MIC) の間では、正の相関が確認された ($r = 0.941, 0.981$)。一方、ヒト由来トポイソメラーゼ II に対し、シタフロキサシンは最も弱い阻害活性を示した。以上の結果より算出した選択毒性指数 (ヒト由来酵素に対する阻害活性 / 細菌由来 II 型トポイソメラーゼに対する阻害活性) では、シタフロキサシンがその光学異性体に比し最も高い値を示し、高い選択性を有することが明らかとなった。

セフィキシムの抗*Salmonella typhi*活性

藤沢薬品・薬理研究所

○松本佳巳、池本晶子、若林亜紀子、俵修一

【目的】近年、開発途上国において多剤耐性チフス菌の増加が問題となっている。多剤耐性株の蔓延する地域ではニューキノロン系薬が導入されてきているが、16才未満の小児に使えないことから、セフトリアキソンやセフトラジジムなどのセフェム系注射薬が、臨床で用いられ、それらの有用性が明らかにされている。一方、経口セフェム薬の中でグラム陰性菌に最も優れた活性を有するセフィキシムもパキスタンやエジプトでの臨床成績から、チフスに90%以上の有効性を示すことが報告された。その裏付けとすべく、セフィキシムの*S. typhi*に対する活性を*in vitro*で他剤と比較評価した。

【方法】*S. typhi*は感染症研究所(15株)、都衛研・松下先生(37株)、大阪市立病院・新美先生(9株)、および三菱化学BCL(6株)から分与を受け、当研究所の保存株を含めて計73株を用いた。MICはMueller-Hinton agarを用い、寒天平板希釈法及びE-testにより測定した。AMPC耐性株については、 β -lactamase産生の有無をチェックし、産生する β -lactamaseの等電点を測定した。

【結果および考察】用いた*S. typhi* 73株のうち、18株(25%)がクロラムフェニコール及びST合剤に耐性を示した。うち12株はAMPCにも耐性で、等電点5.4のTEM型と推定される β -lactamaseを産生していた。セフィキシムは β -lactamase安定性の良さを反映し、セフトリアキソン同様これらの耐性菌を含む全ての株に優れた抗菌力(MIC90: 0.25 μ g/ml)を示した。また、E-testの成績は寒天平板法での結果とほぼ相関していた。

β -lactam薬が、細胞内寄生菌に効くメカニズムは、不明であり、さらに研究が必要であるが、小児にも安心して投与できるセフィキシムは、多剤耐性株を含む*S. typhi*感染症に、新たな選択肢を提供する可能性が考えられた。

塩酸グレバフロキサシンの
ヒト培養肺由来細胞への取込み機構の検討

大塚製薬(株) 徳島研究所

○鈴木 敬、秋山 仁、宮本 剛八郎

【目的】塩酸グレバフロキサシン(GPFX)は、日本において現在開発中のニューキノロン剤である。GPFXは組織移行性、特に肺への移行性が高く、優れた効力を有している。今回、GPFXの肺への高い移行性の機構を検討する一環として、ヒト肺由来細胞を用いGPFXの取込み機構を検討し、OFLXおよびCPFVと比較したので報告する。

【方法】細胞は、ヒト肺由来繊維芽細胞であるWI-26 VA4(WI-26)を用い、抗生物質未添加MEM培養液にFCSを加えて常法により培養した。取込み試験に際しては、細胞を各種取込み阻害剤を添加または未添加のKHBに浮遊させ、これに¹⁴C-GPFXあるいはOFLX、CPFVを加えて所定時間インキュベートした。速度勾配法により細胞を分離後、LSC法あるいはHPLC法により細胞に取込まれたキノロン剤を定量した。

【結果および考察】阻害剤未添加、37℃でのWI-26細胞へのGPFXの取込みは、OFLXおよびCPFVの5.0および3.9倍であった。またGPFX、OFLXおよびCPFVの取込みは、阻害剤未添加、37℃での系に比べ、4℃ではそれぞれ16.24および33%に、ホルマリン処理後ではそれぞれ81.97および106%となり、GPFXの取込みが両系において最も低下した。2,4-ジニトロフェノール添加後ではGPFXの取込みのみが低下した。またヨード酢酸添加後ではいずれのキノロン剤の取込みも低下したが、シアン化ナトリウムあるいはウバイン添加後では、いずれの取込みも低下しなかった。取込みの濃度依存性を解析した結果、GPFXはWI-26細胞にその87%が受動輸送で、13%が担体の関与する機構で取込まれると考えられた。

以上の結果、GPFXのヒト培養肺由来細胞への取込みには酸化的りん酸化のエネルギーを必要とする機構が関与していることが示唆された。

フラノナフトキノン誘導体の 抗菌活性について

長田久美子¹、平井圭一²、小山淳子³、
和田恭直⁴、田村俊秀¹
(兵庫医大,¹細菌,⁴中臨検、²金沢医大、
解剖、³神戸薬大)

【目的】 南米産 Bignoniaceae 科植物の *Tecoma ipe* Mart. の樹皮から抽出した naphtho [2,3 b] furan 4,9 dione(フラノナフトキノン、FNQ) に抗腫瘍活性があることが報告されている。平井らは、FNQ 誘導体を化学合成し、そのうちいくつかは癌細胞に対し、正常細胞には影響のない3-5 μ g/mlの濃度で、選択的な抗腫瘍活性を示すことを報告した。今回我々は、FNQ誘導体の抗菌活性について検討した。

【方法】 菌株は、グラム陽性、陰性菌および真菌を含む約50 株を用いて、常法に従いMICを求めた。感染動物に対する延命効果については、Cyclophosphamide 処理マウスにアスペルギルス感染症させた系で検討した。

【結果および考察】 1. FNQ は、黄色ブドウ球菌や連鎖球菌など10 種のグラム陽性菌、16 株に対して抗菌活性を示し、そのMICは1.56-25 μ g/ml であった。

2. グラム陽性菌のなかで、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、感受性菌(MSSA)より低いMICを示した。

3. 低濃度のFNQは、MRSAのアンピシリン、バンコマイシンなどの抗生物質に対するMICを1/2-1/4 に下げた。

4. FNQ は、大腸菌やクレブシエラ菌など11 種のグラム陰性菌、13 株に対しては、MIC 100 μ g/ml でも抗菌活性は示さなかったが、インフルエンザ菌、カンピロバクター菌、ヘリコバクター菌は、FNQ に対して感受性があった。ヘリコバクターピロリ菌(Hp)に対しては、MIC は低く(0.1 μ g/ml)、その値は酸性(pH5.5)の培地でも同じであった。

5. FNQは、カンジダ、アスペルギルスなど11 種の真菌、28 株の増殖を阻害し、そのMIC は、従来から使用されてきた抗真菌剤であるアンホテリシンB などとほぼ同じ値を示した。

6. FNQは、アスペルギルス感染動物モデルの実験で延命効果を示した。以上の結果より、FNQは、MRSA, Hpおよび真菌に対して有用な化学療法剤になる可能性があることが示唆された。

HTLV-1 virus 感染細胞に対するホスホマイシンの作用

島根医科大学第一内科¹⁾、第一病理²⁾
○森川景子¹⁾、鳥井郁子²⁾、森川 茂²⁾

【目的】我々は、ホスホマイシン (FOM) が本来の抗菌作用以外に多彩な免疫修飾作用を有することを報告してきた。このような FOM の作用は臨床でも種々の疾患に認められつつあり、HTLV-1 感染症の一つである HTLV-1 virus associated myelopathy (HAM) 患者治療に有効であることが報告されている。しかしその作用機序については不明である。この点について明らかにする目的で、今回、我々は FOM の HTLV-1 感染細胞に対する作用を *in vitro* で検討した。【方法】 HTLV-1 感染細胞は ATL 患者末梢血より当教室で樹立された長期培養株細胞を用いた。T細胞はヒト末梢血より F/H法にて単核球を採取し、Eロゼット陽性細胞 (E⁺) を用いた。正常T細胞への感染実験はヒトE⁺細胞と、MMC-処理HTLV-1株細胞を4日間混合培養する MLR を指標とした。細胞増殖能は³H-TdRの取り込みにて判定した。TNF- α 産生は培養上清中に分泌されたTNF- α を高感度ELISA kitにて、またTNF- α mRNA 発現はRT・PCR法にて検討しサザンプロットにて特異性を確認した。HTLV-1 抗原の発現は抗 gag (p24、p19) 単クローン抗体を用いて、免疫蛍光染色し flow cytometry で解析した。薬剤は1.6 - 40 μ g/ml濃度で培養開始時に添加した。【結果】FOMはHTLV-1感染細胞が産生するTNF- α の産生を抑制したが、細胞増殖能は抑制しなかった。しかし、TNF- α mRNAの抑制作用はみられなかったのでFOMの抑制効果は転写後のレベルで生じると考えられる。HTLV-1 virus 抗原の発現についてはFOMの抑制作用はみられなかった。FOMは正常人T細胞のHTLV感染実験でも同様の結果を示した。【考察】以上の結果よりFOMはHTLV-1感染細胞により産生されるサイトカインの産生を抑制することよりサイトカインにより誘導される諸症状を改善することが示唆された。

日本における臨床分離 *Escherichia coli* 産生
マクロライド抗生剤構造変換酵素
千葉大学・薬学部・微生物薬品化学
○中村昭夫, 小原康治, 澤井哲夫

(目的) マクロライド抗生剤 (ML) は副作用が少ないことから、小児領域を中心に使用され、最近ではびまん性汎細気管支炎等にも使われている。近年、臨床分離 *E. coli* で ML を不活化するエステラーゼや ML リン酸化酵素 [MPH(2)] が見いだされている^{1,3)}。しかしながら、日本の臨床分離株における ML 高度耐性株の報告は殆どない。本研究は、1996 年度臨床分離 *E. coli* から ML 高度耐性株の検索を行い、得られた耐性菌株の ML 耐性機構について検討した。

(実験) 菌株：1996 年度臨床分離 *E. coli* 500 株、EM 耐性標準株の *E. coli* Tf481A, BM2506, BM694/pAT63 及び ML 感受性標準株の *E. coli* K12 W3110rif。薬剤 (化療略号)：EM, CAM, RXM, OL, TAO, AZM, LM, SPM, JM, MDM, RKM, MOM。MIC 測定：日本化学療法学会標準法。抗生剤不活化反応系：既報^{1,3)}に従った。残存力価測定：*B. subtilis* ATCC6633 による生物検定。

(結果) 臨床分離株の EM 感受性を調査した結果、MIC \geq 400 μ g/ml の耐性株は 18% (90 株) であり、そのうち MIC \geq 1600 μ g/ml の株は 2.6% (13 株) であった。1988 年の高度耐性株 (MIC \geq 1600 μ g/ml) 分離頻度 (0.5%) と比較すると頻度が約 5 倍に上昇していた。その原因として、近年の ML 使用量増加が考えられた。これら高度耐性菌から調製した粗酵素試料を用いて ML の不活化反応を行ったところ、1.2% (6 株) が ML 不活化株であった。この不活化株のうち、3 株は補酵素として ATP を必要とし、ML リン酸化酵素産生株と考えられた。残りの 3 株は薬剤不活化反応に補酵素を必要とせず、日本ではまだ報告のない加水分解酵素によることが示唆された。今回見いだされた不活性化酵素の性質については現在検討中である。

(文献) (1) *J. Antibiot.*, 41, 823, 1988 (2) *Microbios*, 79, 231, 1994 (3) *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 40, 1036, 1996
[共同研究者：千葉大・薬・微生物薬品化学 谷口和夫, 鶴淵和恵]

同一の遺伝子型を持ち、異なる glycopeptide 耐性パターンを示した *Staphylococcus capitis* について
東京女子医科大学 感染対策科¹⁾、臨床検査科²⁾、呼吸器外科³⁾

○菊池 賢¹⁾、松井由香²⁾、志関雅幸¹⁾、戸塚恭一¹⁾、内山竹彦¹⁾、毛井純一³⁾、前 昌宏³⁾

近年、vancomycin 耐性ブドウ球菌の出現を危惧する声が高まっているが、MIC 16 μ g/ml 以上の耐性菌の国内での臨床検体からの分離例はまだ知られていない。

今回、我々はベースメーカーのリードワイヤー感染創より vancomycin、teicoplanin の MIC が 16 μ g/ml、32 μ g/ml のコアグラゼ陰性ブドウ球菌を検出した。初代分離血液寒天には 4 種類の溶血性、コロニー性状の異なる菌が認められたのでその性状を検討した。

菌の同定は Kloos らの方法により、Api Staph, ID 32 Staph, N-ID テスト SP-18 を併用した。各種薬剤感受性は KB 法、E-test を用いた。Pulsed field gel 電気泳動は Tomasz らの方法で行った。

4 種類の溶血性、コロニー性状の異なる菌の生化学的性状はほぼ同一で、*Staphylococcus capitis* subsp. *ureolyticus* と同定され、バルスフィールド電気泳動パターンも全く同一であった。これらの溶血性、コロニー性状の異なる菌の glycopeptide 耐性パターンは vancomycin、teicoplanin 両者に耐性、両者に感受性、vancomycin 感受性で teicoplanin 耐性、vancomycin 感受性で、teicoplanin 1 μ g/ml で発育阻止されるが 32-64 μ g/ml で発育を示すダブルゾーン現象がみられる 4 種に分けられた。ダブルゾーン現象は安定で、阻止内部に生じたコロニーでも全く同じ現象を再現でき、5 代継代しても失われなかった。

遺伝子型が同じにもかかわらず、同一検体からこのような vancomycin、teicoplanin 感受性の異なる菌が分離されたことは、ブドウ球菌の glycopeptide 耐性獲得過程、耐性メカニズム解明に重要な示唆を与えるものと思われる。文献的に glycopeptide 耐性 *S. capitis* の報告はなく、これは世界最初の glycopeptide 耐性 *S. capitis* と思われた。

Klebsiella pneumoniae からの ESBL 産生菌
の検出とその性状解析について

公立野辺地病院検査科¹、北里大医微生物・医療
系院環境感染

○那須美行¹、小松洋子、岡本了一、井上松久

〔目的〕いわゆる第三世代セファロスポリン(CEPs)が使われて数年後ペニシリン(PCs)系薬に加えてCEPs耐性の *K. pneumoniae* が報告された。この酵素のほとんどがESBLsと言われる酵素産生による耐性菌である。日本でもかかるESBL産生による耐性菌の報告がなされているが、患者背景や菌株そのものの性状についてはまだ不明な点が多い。今回、入院患者からかかるESBL産生菌を分離し、解析したので報告する。〔方法〕1997年8月以降入院患者4名から分離したCEPs耐性 *K. pneumoniae* についてその薬剤感受性、耐性遺伝子の伝達性、粗酵素の性状、PFGE 型別などを常法に従い詳しく検討した。

〔結果・考察〕(1)入院患者A(91才)の喀痰・血液から9月9日、患者B(79才)尿から9月12日、患者C(61才)の便から9月16日、患者D(86才)の尿から11月25日にセファマイシン系薬とカルバペネム系薬(CPM)を除くPCs系薬とCEPs系薬耐性 *K. pneumoniae* がそれぞれ分離された。これらの患者はいずれも急性肺炎であり、患者の入院重複はA、B、CおよびC、Dであった。また、各患者に投与された抗菌薬は、順にCAZ、CPDX、CTRX、IPM、PIPC、IPMなどであった。(2)感受性結果からESBLs産生を疑い、*Escherichia coli* K12株に耐性を伝達させたところ 10^{-1} ~ 10^{-4} 頻度でPCs、CEPs、SM、SATC耐性が伝達され、これらの耐性は *E. coli* K12間に再伝達した。よってかかる耐性はプラスミド性と確認された。(3)伝達株から抽出した粗酵素の基質特異性はPCG(100)で比較した場合、ABPC(60~65%)、CTX(59~62%)であり、CAZおよびCTX+CVAは検出限界以下であった。また、本菌由来の酵素は、その活性がCVAとSBTによってほぼ完全に阻害されたことから class A型β-ラクタマーゼであることからESBLsに属するものと判定した。(4)分離菌のPFGEによるDNA解析やプラスミド型別から今回分離した菌株は同一菌と思われる、患者Aが何らかの理由によって保菌していたものと推定された(共同研究者:阿部 浩、数賀俊彦、吉池雅美¹)。

当院におけるESBLの検出調査成績

-*Escherichia coli*と*Klebsiella pneumoniae*を中心に-
天理よろづ相談所病院 臨床病理部

○小松 方 相原雅典 島川宏一 岩崎瑞穂

長坂陽子 山中 亨

〔目的〕1997年の1年間に各種臨床材料から分離された *E. coli* および *K. pneumoniae* の感受性パターンを調査しESBLが疑われる菌の検出状況を検索した。

〔方法〕1997年に当院で分離され、起炎菌として感受性検査が実施された株は *E. coli* 256株、*K. pneumoniae* 158株であった。当院における感受性検査はMicroscan WalkAway™(DADE)を用いNeg Combo 4J Panel (DADE)により測定した。ESBLと推測した菌の条件は井上らの推奨する方法に準拠した。すなわちPIPCに対して $128 \mu\text{g/ml}$ 以上のMICをもち、CVA添加で抗菌力の上昇がみられ、かつCAZ、CPZ、FMOXおよびAZTのいずれかのMICが $8 \mu\text{g/ml}$ 以上の菌株とした。

〔結果〕PIPCで $128 \mu\text{g/ml}$ 以上、TIPC/CVAが $64 \mu\text{g/ml}$ 以下であった菌種は *E. coli* 205株(80%)および *K. pneumoniae* 88株(56%)であった。これらのうち、それぞれにおけるMIC $8 \mu\text{g/ml}$ 以上の株(CAZ、CPZ、FMOXおよびAZTの順)は、*E. coli* で11株(4%)、35株(14%)、8株(3%)および22株(9%)であり、*K. pneumoniae* では3株(2%)、15株(10%)、8株(5%)および10株(6%)であった。

〔考察〕当院におけるESBLの検出頻度を調査する目的で、*E. coli* および *K. pneumoniae* のみを対象として感受性成績を検討した。対象としたセフェム薬のうち、MICが $8 \mu\text{g/ml}$ 以上の株はCPZで最も多く両菌種合わせて50株であり、このうちCPZ/SBTでMICの低下が認められたものは合わせて36株(72%)であった。これらの株はESBLを産生した菌種である可能性が高いと思われた。

現在SHV、TEM等を検出するプライマーを用いて検索中である。

Proteus vulgaris にみられる微量液体希釈法と寒天平板希釈法でのMIC値のギャップ現象についての検討

東邦大学医学部微生物学教室

○大野 章, 満山順一, 石井良和, 馬リン, 山口恵三

目的: ある種の第三世代セフェム薬において*P.vulgaris*に対するMIC値が、寒天平板希釈法に比べ微量液体希釈法で著しく高い現象が観察された(ギャップ現象と仮称)。この現象が見られる株ではβ-ラクタマーゼ誘導を示唆するスキップが微量液体希釈法だけに認められた。今回*P.vulgaris*に見られたこの現象は、MIC測定上の問題点として提起されるとともに、そのメカニズムにおいても興味もたれる。今回はギャップ現象に対する接種菌量や寒天濃度の影響、あるいは*P.vulgaris*染色体性Class A β-ラクタマーゼ誘導機構との関連性などについて検討したので報告する。

方法: 1996年に異なる地域より集められた*P.vulgaris*臨床分離株41株を用いた。MIC測定は微量液体希釈法、寒天平板希釈法ともに化療法に従った。β-ラクタマーゼ誘導能は、対数期の菌液にセフトキシム諸濃度を添加し、3時間振とう培養を続けた菌液を、超音波破碎、超遠沈などの処理でβ-ラクタマーゼ粗液を得、UVスペクトル法にてβ-ラクタマーゼ活性を測定することで求めた。

結果と考察: ギャップ現象は41株中36株に生じ(87.8%)、例外を除き7位側鎖にオキシイミノ基を有する第三世代セフェム薬に特徴的に見られた(CTX, CFTM, CPDX)。ギャップ現象を生じなかった5株の内、1株は両測定法ともにMIC値が低く、また残りの4株は両測定法ともに高いMIC値を示した。調べた限り前者の株ではβ-ラクタマーゼ活性は示されず、後者のグループではβ-ラクタマーゼは構成的に産生されていた。一方ギャップ現象を示す株は多くは誘導型を示したが、構成型産生株も存在した。ギャップ現象は、接種菌量の影響を受け、10⁹CFU/ml菌液接種では、寒天平板法でもMIC値は著しく高くなった。しかしβ-ラクタマーゼ誘導型株の10⁹CFU/ml菌液接種で、薬剤含有寒天平板上に生育し、pick upされたコロニーは、すべて構成型β-ラクタマーゼ産生変異株であった。またギャップ現象は寒天の種類には影響を受けず、寒天濃度の減少により消失した。これらの結果から、ギャップ現象を起こす原因の一つに、寒天によるβ-ラクタマーゼ誘導の阻害が関係している可能性が示唆された。

S. aureus *llm* 変異株における IS256 の転移とコロニーの性状及び溶菌活性の変化

塩野義製薬(株)創薬第二研究所

○巻秀樹, 村上和久

(目的) 高度MRSA由来の*llm* 変異株SRM563(中等度メチシリン耐性)をメチシリンで選択すると、*llm*上流へIS256が転移した株が得られた(J Bacteriol 179:6944-6948, 1997)。一方、*llm* 変異株をプレート上で長期間保存すると、ほとんどのコロニーは透明になるが一部透明にはならないコロニーが得られる。これらのコロニーについてIS256の転移を調べた。

(方法) 中等度MRSA SRM106株由来の*llm* 変異株SRM112(*llm*::Tn918)を薬剤を含まないプレートで培養後、4℃で10日以上保存した。透明でないコロニーを9個単離し、PCRにて*llm*の変化を調べた。自己溶菌速度は、50mM Glycine-0.01% Triton X-100 Buffer (pH 8.0)に懸濁した菌のOD₆₂₀経時変化で測定した。

(結果) プレート上で透明にならなかった9個のコロニーのうち、8個はIS256が*llm*の上流に挿入しており、残り1個はTn918が脱落していた。これらのIS256挿入部位は、SRM563株をメチシリンで選択して得られた、すでに報告済みのIS256挿入株とほとんどのものが同一であった(Ins1(2個)、Ins3(1個)、Ins4(4個)、Ins4の4bp上流(1個))。SRM112株はその親株SRM106に比べて、プレート上で透明になるのは遅いが、Glycine-Triton X-100 Buffer 中での溶菌は遅い。今回得られたIS256挿入株は、Glycine-Triton X-100 Buffer 中での溶菌は速く、SRM106株に近かった。

(結論) *llm* 上流へのIS256の挿入は、メチシリン耐性だけでなくコロニーの性状や溶菌活性などの表現型の回復にも寄与すること、及び、株に特異的な現象ではないことが確認できた。

抗アレルギー剤と漢方製剤の *Chlamydia pneumoniae* に対する抗菌活性

川崎医科大学 地域医療学¹⁾, 呼吸器内科²⁾,
微生物学³⁾, 川崎医療福祉大学⁴⁾
○岸本寿男¹⁾, 松島敏春²⁾, 松本 明³⁾,
副島林造⁴⁾, 美祢弘子⁴⁾

【目的】最近, *Chlamydia pneumoniae* (*C. pn*) の慢性潜伏感染が動脈硬化病変の発症や進展に関与する可能性が示唆されている。そこでクラミジアに選択的に効果があり, しかも長期投与が可能な薬剤は, その予防や治療に期待が持たれる。我々は抗アレルギー剤であるトラニラストが抗クラミジア作用 (30~50 $\mu\text{g/ml}$) をもつことを第45回化学療法学会総会で報告したが, 今回, その他の抗アレルギー剤と漢方製剤についても検討した。

【方法】MIC測定は治療標準法に準じた。細胞は HeLa229細胞を, *C. pn* はKKpn-1株を用いた。抗アレルギー剤は, トラニラストの他, オキサトミド, 塩酸エピナスチン, イブジラスト, セラトロダスト, 塩酸アゼラスチン, 塩酸オザゲレル, プランルカスト水和物, トシル酸スプラタスト, フマル酸エメダスチンの計10剤を, また漢方製剤は, ツムラの黄連解毒湯, 三黄瀉心湯, 黄連湯, 柴胡加龍骨牡蠣湯, 小青竜湯を用いた。またこれらの薬剤の培養細胞に対する細胞増殖抑制作用についても検討した。

【結果および考察】*C. pn* に対するMICと完全に細胞増殖を抑制する濃度 (MIC/細胞増殖抑制濃度) $\mu\text{g/ml}$ は, MICの低い順に抗アレルギー剤ではオキサトミド (16/64), 塩酸エピナスチン (32/256), イブジラスト (32/128), トラニラスト (64/512<), セラトロダスト (64/256), 塩酸アゼラスチン (64/128), 塩酸オザゲレル (256/512<), プランルカスト水和物 (256/512), トシル酸スプラタスト (512/512<), フマル酸エメダスチン (512/512<) であった。また漢方製剤は, 黄連解毒湯 (256/1024<), 三黄瀉心湯 (512/1024<), 黄連湯 (1024/1024<), 柴胡加龍骨牡蠣湯 (1024/1024<), 小青竜湯 (1024/1024<) であった。以上の結果から, MIC値が低く細胞増殖抑制濃度が高い薬剤の一部はクラミジア慢性疾患の予防治療剤になり得る可能性が示唆された。

Burkholderia pseudomallei の薬剤感受性成績

琉球大学第一内科¹⁾, 同附属病院検査部²⁾
○新里 敬¹⁾, 比嘉 太¹⁾, 宮城 啓¹⁾, 健山正男¹⁾,
川上和義¹⁾, 斎藤 厚¹⁾, 仲宗根 勇²⁾, 草野展周²⁾

【目的】海外渡航者数の増加に伴い, 各種輸入感染症の報告も増加してきている。*Burkholderia pseudomallei* によるメリオイドーシスは東南アジアで多く見られる疾患であるが, わが国でも輸入感染症2例が報告されている。今回, *B. pseudomallei* の薬剤感受性について検討したので報告する。

【対象と方法】タイ国チェンマイ大学から分与された *B. pseudomallei* 13株について, 本学会標準法 (微量液体希釈法) を用いて各種抗菌薬に対する薬剤感受性成績を調べた。

【結果】各種薬剤に対するMIC₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) は以下のとおりで, ペニシリン系抗菌薬 1~4 (ABPC は32), 第一・第二世代セフェム系 >128, CAZ 2, CPR 16, CZOP 32, CFPM 16, カルバペネム系 0.13~2, アミノグリコシド系 64, マクロライド系 64~128, テトラサイクリン系 1~2, ニューキノロン系 0.5~2, CP 16, ST合剤 32という成績であった。

【考察】*B. pseudomallei* に対して良好な抗菌活性を示したのは, 一部のペニシリン系やセフェム系, カルバペネム系, テトラサイクリン系, ニューキノロン系抗菌薬であった。*B. pseudomallei* は細胞内増殖菌であるため, *in vivo* では抗菌薬の細胞内移行度も問題となってくるため, 細胞内の *B. pseudomallei* に対する抗菌活性についても検討して報告する。

各種抗菌薬の *Mycoplasma pneumoniae* に対する
抗菌力の比較検討

聖マリアンナ医科大学 微生物学教室

○池島秀明、山本啓之、賀来満夫、國島広之、
竹村 弘、金光敏二、石田一雄、嶋田甚五郎

【目的】14員環マクロライド薬、テトラサイクリン薬
およびニューキノロン薬の *Mycoplasma pneumoniae*
に対する抗菌力の比較検討を行った。

【材料および方法】供試菌株は *M. pneumoniae* の標準
株である MAC 株、M129 株、FH 株と *M. pneumoniae*
の臨床分離20株で、比較検討薬は、14員環マクロラ
イド薬の Erythromycin (EM)、Clarithromycin (CAM)、
Roxithromycin (RXM)、テトラサイクリン薬の
Minocycline (MINO)、ニューキノロン薬の
Grepafloxacin (GPRX)、Ofloxacin (OFLX) である。
抗菌力の比較検討は、微量液体希釈法を用い、MIC
(Minimum inhibitory concentration) および MBC
(Minimum bactericidal concentration) を求め比較し
た。

【結果】EM、CAM、RXM、MINO、GPRX および
OFLX の MIC range は、それぞれ <0.0019 - 0.0078、
<0.0019 - 0.0039、0.0019 - 0.016、0.0625 - >8、
0.0625 - 0.25、1 - 4 $\mu\text{g/ml}$ であった。MIC90s は
それぞれ、0.0019、0.0019、0.0078、2、0.25、2 $\mu\text{g/ml}$
であった。また EM、CAM、RXM、MINO、
GPRX および OFLX の MBC range は、それぞれ
<0.0019 - 0.0625、0.0019 - 0.0625、0.0039 - 0.125、
0.5 - >8、0.125 - 2、2 - >8 $\mu\text{g/ml}$ であった。
MBC90s はそれぞれ、0.032、0.032、0.125、>8、2、
2 $\mu\text{g/ml}$ であった。

【考察】14員環マクロライド薬は MIC および MBC 共に
低い値を示していたものの、MIC と MBC には、平均で
約2~3管の開きが認められた。またニューキノロン薬
は、MIC および MBC 共に14員環マクロライド薬に比べ
やや高い値を示したものの、MIC と MBC の開きは、平
均で約0~1管と開きが小さかった。

ニューキノロン薬は、その殺菌効果および薬効力学の
点からもマクロライド系抗菌薬と同様 *M. pneumoniae*
感染症に対して有効と考えられた。

カンジダ抗原を用いたワクチン療法とフルコ
ナゾールの併用による相乗的な真菌感染防御作用

宝酒造株式会社バイオ研究所¹⁾

帝京大学医学部微生物学講座²⁾

○水谷滋利¹⁾、竹迫一任¹⁾、安部 茂²⁾、山口英世²⁾

【目的】我々は、これまでに *C. albicans* のプロトプラ
ストより調製した抗原 (CPA) が、マウスのカンジダ
感染モデルにおいて強い感染防御を誘導することを報
告した (第41回 日本医真菌学会等)。今回、CPA
によるワクチン療法を抗真菌化学療法剤であるフルコ
ナゾール (FLCZ) との感染防御作用を比較するととも
に両者の併用効果について検討した。

【方法】CPAは、*C. albicans* TIMM1768細胞を細胞壁溶
解酵素で処理しプロトプラストを得、これを低張液で
バーストさせた後、遠心で細胞膜画分を回収すること
により調製した。CPAを等量のIFAと混ぜ、その0.1ml
(20 $\mu\text{g protein/mouse}$) を1週間隔で2回、C57BL/6
あるいはICRマウスの皮下に免疫した。最終免疫の1
週間後に *C. albicans* TIMM1768を尾静脈内より接種し、
1週間後の腎臓内生菌数を測定した。アスペルギルス
感染モデルでは、CPAを等量のCFAと混ぜ、その0.1ml
をC57BL/6の皮下に免疫し、その1週間後より上記と
同様にCPAとIFAでさらに2回、皮下免疫した。最終免
疫より1週間後に *A. fumigatus* TIMM1766胞子懸濁液を
尾静脈より注入し、その後の生存日数を観察した。
FLCZ (ジフルカン注射液) は、感染当日4時間後を1
回目とし、連日4日間、3.1、12.5あるいは50mg/kgを
経口投与した。DTH反応は、腎臓摘出の1日前にCPA10
 $\mu\text{g protein/50 } \mu\text{l/mouse}$ をマウスのfootpadに注射し、
24h後の腫れを測定した。

【結果】カンジダ感染の腎臓内生菌数評価において、
CPAによる免疫はFLCZより強い感染防御作用を示した。
さらに、FLCZと併用することにより相乗的に感染防御
を示した。アスペルギルス感染においてもCPAはFLCZ
と併用することにより併用群では5匹とも30日以上
生存した。CPAに対するDTH反応はCPA免疫群とFLCZと
の併用群で差は認められなかった。

Candida albicans 微細構造に及ぼすアゾール系抗真菌剤とリゾチームの相乗的抗真菌作用の解析

帝京大学医真菌研究センター
○西山彌生、山口英世

【目的】*Candida albicans* に対するアゾール系抗真菌剤の作用は一般的に静菌的である。我々は生体内抗菌物質であるリゾチームとアゾール系抗真菌剤を併用すると、抗真菌活性が相乗的に増強され、殺菌的作用を示すことを報告してきた。しかし、併用時の真菌細胞微細構造の変化については十分知られていない。そこで、*C. albicans* を試験菌とし、リゾチームとアゾール系抗真菌剤ラノコナゾール各々の単独作用、および両剤併用後の微細構造の変化を電子顕微鏡を用いて解析した。

【方法】*Candida* 培養にリゾチーム(50~400 µg/ml)およびラノコナゾール (1.25 µg/ml)を各々単独作用、または併用後、経時的に集菌した。試料はグルタルアルデヒドと過マンガン酸カリウムで固定後、常法に従い作製した。

【結果と考察】リゾチーム単独作用の場合は、発育抑制効果を示した濃度 50~200 µg/ml で隔壁部位の異常肥厚が、また殺菌の効果が認められた 400 µg/ml 以上の高濃度では壁の断裂像が観察された。この結果から、リゾチームが細胞壁多糖成分であるキチンあるいはグルカンに量的、質的变化をもたらし、これを介して抗真菌活性を発揮することが示唆された。一方、低濃度のラノコナゾール単独作用では、微細構造に変化は認められないが、菌体の鎖状配列や菌塊などがみられた。

リゾチーム(50~100 µg/ml)とラノコナゾールを併用すると、リゾチーム単独の作用に比べ、より激しい壁の異常肥厚や断裂、破壊像が観察された。LCZ は真菌細胞のエルゴステロール合成を阻害することにより、細胞膜機能を障害し、壁多糖合成に異常をきたすと考えられている。これにリゾチームの壁障害作用が加わることにより、細胞壁の構造破壊作用が増強され、相乗的殺菌の効果が現れたものと推測された。

(会員外共同研究者：平谷民雄、仲間千代子)

カンジタ膣炎に対する各抗真菌剤の投与方法の検討

岐阜大学産科婦人科¹⁾、揖斐総合病院産科婦人科²⁾

○佐藤泰昌¹⁾、三嶋廣繁¹⁾、川添香子¹⁾、早崎容¹⁾、和泉孝治²⁾、玉舎輝彦¹⁾

【緒言】カンジタ膣炎は、産科婦人科の臨床の場でよく遭遇する疾患のひとつであり、*Candida albicans*、*C. glabrata*、*C. tropicalis* などその原因菌である。今回、カンジタ膣炎に対して、イトラコナゾール経口投与、クロトリマゾール経膣投与での、治療効果について比較検討し、投与方法について検討した。

【方法】1994年1月から1997年6月の間に受診した患者で、カンジタ膣炎と診断された患者のうち、同意の得られた150名を対象に、イトラコナゾール 200mg/day、3日間経口投与、フルコナゾール 150mg1回経口投与、クロトリマゾール100mg/day、6日間経膣投与の3群に分け、その治療効果を自覚症状と他覚所見の臨床症状、真菌学的所見について検討した。【結果】治療終了後、5-15日後と、30-60日後の検討では、カンジタ消失率は、それぞれイトラコナゾール投与群では、80%と74%、フルコナゾール投与群では、76%と70%、クロトリマゾール投与群では、72%と60%であった。また、臨床症状での有効率は、それぞれ、84%と78%、80%と76%、72%と58%であった。治療3群間で、有意差は認めなかった。【考察】今回の検討で、カンジタ膣炎に対して、イトラコナゾール経口投与、フルコナゾール経口投与も有効な方法になり得ると考えられた。

7⁺- β 耐性 *Candida albicans* 株におけるMDR阻害剤と抗真菌薬の併用効果

長崎大学医学部第2内科

○佐々木英祐、掛屋 弘、川村純生、光武耕太郎、平瀧洋一、前崎繁文、朝野和典、田代隆良、河野 茂

【目的】 AIDS患者の口腔内カンジダ症における7⁺- β 耐性 *Candida albicans* の分離頻度が増加し、その耐性機構の解析と治療法の研究が重要な課題となっている。その耐性機構の分子生物学的な解析から非選択的な薬剤排出機構 (multiple drug resistant efflux:MDR)が重要な役割を担っていることが示唆されている。今回、我々は*in vitro*で7⁺- β 耐性 *C. albicans* 株におけるMDR阻害剤と7⁺- β 系抗真菌薬の併用効果を検討した。

【方法】 MDR阻害剤 (verapamil, cyclosporin A, FK506) と7⁺- β 系抗真菌薬 (fluconazole, itraconazole, ketokonazole) の併用効果を日本医真菌学会の提唱する薬剤感受性試験によって測定した。C26、C48、C56、C82株はCaCDR1発現株、C40株はCaMDR発現株である。さらに、細胞内へのrhodamine 6Gの細胞内への取り込みを、flowcytometryにて測定し、MDRの関与を検討した。

【結果】 FK506とcyclosporin Aと7⁺- β 系抗真菌薬に相乗効果が認められ、10⁻³MのFK506とITCZの併用によってC26株で>8 μ g/mlが0.5 μ g/mlへ、C40株で1 μ g/mlが0.06 μ g/mlと薬剤感受性の回復が認められた。しかし、FLCZとMDR阻害剤の併用では薬剤感受性の変化は全く認めず、またverapamilもすべての菌株の薬剤感受性に全く影響を認めなかった。さらに、MDR阻害剤と7⁺- β 系抗真菌薬の併用は殺菌的な効果を示し、ITCZとFK506(10⁻³M)の併用におけるMFCはC26、C48、C56、C40株でそれぞれ1.0、0.5、0.06、0.13 μ g/mlであった。Flowcytometryにおける検討では、FK506とcyclosporin Aの添加によってCaCDR1株では細胞内のR6Gの取り込みが20%以上増加し、CaMDR株であるC40株では、取り込みに変化は認められなかった。

【結果】 以上の結果から7⁺- β 耐性 *C. albicans* 株ではMDRがその耐性機構に重要な働きをしていることが示唆され、今後の耐性菌感染症の予防と治療におけるMDR阻害剤の有用性が示唆された。

生体肝移植症例における深在性真菌症

京都大学移植外科

枝元良広、木内哲也、笹原群生、武市 幸之、阿曾昭 克弘、上本 伸二、猪股 裕紀洋、田中 敏一

強力な免疫抑制療法により compromised host となったレシピエントは細菌、ウイルス、原虫、真菌などあらゆる病原体に対して易感染性状態となり一度感染を引き起こすとその治療に難渋することが少なくない。今回確定診断の困難な深在性真菌症に対してエンドトキシンを利用した診断により治療を行った生体肝移植症例につき検討したので報告する。

(対象) 1996年3月より1997年6月までに生体肝移植術を施行した90名を対象とした。性別は男性40名、女性50名。疾患は胆道閉鎖症例61名(BA)、非胆道閉鎖症例29名(非BA) 平均年齢12.5歳、BA 7.3歳、非BA23.6歳であった。術前状態は自宅待機38例、入院43例、集中治療管理9例であった。(方法) 深在性真菌症の診断はToxycolor法とEndoscopy法の差を利用したFungal Index (FI)を用い20pg/ml以上を陽性として判断した。陽性例に対してはfluconazole(5mg/kg)の経口又は全身投与、miconazole(10-15mg/kg)の全身投与を行った。治療無効と判断された場合amphotericin B(0.25mg/kg)を投与した。移植後の免疫抑制剤はmethylprednisoloneの静注及びprednisoloneの内服とtacrolimusの内服とした。(結果) 手術前より術後一月以内のFI陽性例は90例中22例(24.4%)であった。疾患別ではBA11/61(18.8%)、非BA 11/29(37.9%)であった。FI陽性例中咽頭、尿、便の真菌培養にて15/22(68.1%)、BA8/11(72.7%)、非BA 7/11(63.6%)検出され、陰性例でも18/68(26.4%)あったが、血液又は中心静脈カテーテルよりの真菌検出率は1/22(4.5%)と低かった。術前状態間でのFI陽性率は自宅待機例13.5%、入院例27.3%、ICU管理例55.6%であった。FI陽性例の術後死亡率は14/22(63.6%)で、陰性例5/68(7.4%)に比し高率であった。陽性例ではBA、非BAでの死亡率の差はなかった。術前状態別でのFI陽性例の死亡率に差はなかった。FI陽性例の敗血症による死亡は7/22(31.8%)であった。(考察) FI陽性例の死亡率は高率であるが、真菌感染症が死亡の重要な要因ではなかった。しかし免疫低下を含めた全身状態を示す一つの因子として非常に重要と考えられた。真菌感染症はその対策に検討が必要であり、術前より合併症を有する症例、重症感染症または強い免疫抑制療法の必要な症例などでは深在性真菌症の存在を疑い preemptive therapyが必要と考えられた。

新しいAMPH封入lipid-microsphereの*Candida albicans*腹腔内感染モデルにおける評価

和歌山県立医科大学第2外科

○木下博之, 谷村 弘, 角田卓也, 紺谷忠司

われわれが試作したAmphotericin B封入lipid-microsphere(AMPH-LM)について, 外科真菌感染症に近似したモデルとして作成した*Candida albicans*腹腔内感染モデルに対する治療効果を評価した。

【方法】1) BALB/c系, 5週齢, 雄性マウス(n=6)を全身麻酔下に開腹し, 脾摘後の腹腔内死腔に*C.albicans* TIMM1768の菌株 1×10^4 cellsを接種した。菌液接種7日後まで血中PCR診断と4,7,14日後の脾尾部脾摘断端部に生じた組織の集塊を摘出して*C.albicans*の生菌数を計測し無治療群とした。2) この*C.albicans*の腹腔内感染モデルに対して(n=6), 菌接種1,4日後にAMPH-LMをマウス尾静脈から投与し, AMPHの市販製剤Fungizone[®]を対照(n=6)として, 感染7日後の腹腔内の組織集塊部に含まれる*C.albicans*生菌数を計測して, 治療効果を比較検討した。

【結果】1) 無治療群では感染14日後でも 10^4 の生菌が検出された。2) 真菌性腹腔内感染モデルに対する血中PCRはいずれも真菌特異的なPCR産物を検出した。3) 新しいAMPH-LMの最大投与量である8mg/kgは, Fungizoneの副作用が発現しないAMPHの最大投与可能量である1mg/kgよりも*C.albicans*の増殖を有意に抑制した。

【結論】われわれが試作したAMPH-LMは, 外科臨床例に近似した*C.albicans*の腹腔内感染モデルにおいても市販のFungizoneよりも*C.albicans*の増殖を有意に抑制できることが証明できた。

プレドニゾン投与マウスにおける
Candida 感染に対する生薬製剤の効果

○丹生 茂, 安部 茂, 小松靖弘, 山口英世
(帝京大・医・微生物, ツムラ・漢方生薬研)

深在性真菌症の宿主危険因子としては, 白血球減少のみならず, ステロイド剤投与等により誘導される白血球の機能低下も重要である。後者は, その有効な対策が未だ確立されていないところから漢方補劑補中益気湯の有効性を, ステロイド剤処置マウスの*Candida* 感染症モデルを用いて検討した。

【方法】 マウス: ICR雌性。Prednisolone(PRD)処置: 100mg/kgのPRDを, 菌接種4および2日前(days-4&-2)に皮下投与。補中益気湯エキス製剤(TJ-41ツムラ)を蒸留水に懸濁し, ゾンデにて, 感染前(day-4~day-1)または感染後(day0~day3)4日間連続に投与。感染:*C.albicans* TIMM1768を 5×10^4 個静脈内に接種。

【結果と考察】 感染対照マウスは感染後20日以内に全例死亡したが, 1g/kg/dayのTJ-41の感染後, または, 感染前・後投与を行うと, 統計的に有意な延命効果が認められた。一方, 感染前投与のみ, または感染後投与でも0.5g/kg/day以下の用量では, 明確な効果は認められなかった。感染後4日目の腎臓中の*Candida* 生菌数を測定した結果, TJ-41感染後投与群では, 生菌数の減少がみられる個体の増加傾向がみとめられた。また, *C.albicans* の試験管内での発育に対してTJ-41は測定可能な濃度(1~100 μ g/mlまで)で影響を与えなかった。これらの成績は, ステロイド剤投与によって真菌感染の危険性が増大した患者への予防・治療法として, 補中益気湯を適用しうる可能性を示している。(会員外共同研究者 石橋弘子 帝京大・医・微生物)

外科不明熱症例におけるカンジダの関与に関する
多施設共同研究

関西外科真菌感染症研究会

○平松義文、印牧俊樹、谷村 弘、角田卓也、
栗本修次、康 謙三、大内孝雄、泉 浩

(目的) カテーテル敗血症の起炎菌の50%以上がカンジダであることは周知の事実であるし、また周術期や術後合併症症例、癌化学・放射線療法施行症例あるいは末期癌症例などにおいては抗生剤不応性発熱がしばしば経験される場所である。今回われわれは、外科不明熱症例における真菌感染の実態を明らかにすべく多施設共同研究を行い、若干の知見を得たので報告する。(方法) 1996年10月より1997年7月までの10ヶ月間に近畿地区7施設の外科入院患者のうち、何らかのSeptic Episodeを呈した症例(明熱)あるいはカンジダ感染の疑いのある症例89例を対象として、以下の項目について検討を加えた。血清学的診断としてはCAND-TEC、G-test、PCRの3種を施行し、また血液、カテーテル、ドレーン、喀痰、尿、便培養を適宜施行し、カンジダ感染有りと判定された症例に対しては、抗真菌剤投与による治療効果および予後に関して判定した。(結果) 外科不明熱症例におけるCAND-TEC陽性率は2倍以上が58%、4倍以上が27%の高率であった。G-testでは10pg/ml以上が60%、20pg/ml以上が41%であった。一方、PCRは89症例中陽性例が18例(20%)で同定菌種は全てCandida albicansであった。不明熱症例におけるカンジダ血清診断法三種の何れかが陽性を示した症例は実に89例中58例(65%)の高率となった。また、retrospectiveな検討によりカンジダの関与ありと判定された症例38例の死亡率は15例39%であったのに対し、なしと判定された50例のそれは5例10%と両群間に統計学的有意の差が認められた。(結論) 外科不明熱症例においてはカンジダの関与が高率で、予後に重大な影響を及ぼし得るものと考えられた。

抗真菌剤の血中濃度に関する若干の検討

順天堂大学医学部内科(血液学)

森 健、松村万喜子、高橋まゆみ、小原共雄、

目的: 各種抗真菌剤の投与量に対する血中濃度を測定し、各種真菌症にたいする投与量を検討するためにを行った。

方法: 真菌症の抗原検索のために供された血清(漿)を用いて、使用中の抗真菌剤の血中濃度を測定すると共に、各種真菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)と比較した。

結果および考察: 検討した症例は男14例、女6例の計20例である。平均年齢は44歳(13~70歳)で、これらの症例の基礎疾患は白血病11例(急性骨髄性白血病8例、急性リンパ性白血病3例)、悪性リンパ腫2例、肺アスペルギローム2例、悪性胸腺腫1例、骨髄線維症1例、多発性筋炎1例、その他2例であった。

Amphotericin B(AMPH)はアスペルギルス症に対して血中濃度が1 μ g/mL以上に達するためには、0.5mg/kg/日以上が必要と考えられた。ただ1 μ g/mL以上では腎障害など副作用に注意する必要がある。

従来flucytosine(5-FC)は100-200mg/kg/日程度を用いるべきとされるが、83-100mg/kg/日でも30-120 μ g/mLと十分量の血中濃度が得られていた。また血中濃度の60-100%が髄液中へ移行した例があった。

fluconazole(FLCZ)は投与開始2週間程度で定常状態になるとされ、投与量依存性に血中濃度が上昇し、4mg/kg/日で最高34 μ g/mL、8mg/kg/日で66 μ g/mLに達していた。一方itraconazole(ITCZ)は、血中ではITCZとITCZの代謝産物であるhydroxy-ITCZ(OH-ITCZ)が測定できる。OH-ITCZはITCZの約2-3倍の濃度が認められた。OH-ITCZはITCZと同等の薬理作用を示すとされる。従って全体ではITCZの3-4倍程度の抗真菌濃度が得られ、アスペルギルス症に対しては4mg/kg/日以上を用いれば十分量の血中濃度が得られる。しかし症例の状態が悪い場合、吸収が悪く血中濃度が期待した程でなく、全身状態の改善と共に血中濃度の上昇した例があった。

真菌症の治療では副作用に注意し、適切な治療を行うためには、血中濃度をモニターすることも必要と考えられた。

抗真菌剤イトラコナゾールによるマウスマクロファージの活性化とそれを介した抗真菌作用

帝京大学医学部微生物¹⁾ 日本女子大学理学部²⁾
 ○安部 茂¹⁾、石島早苗²⁾、越智尚子²⁾、
 大隅正子²⁾、山口英世¹⁾

【目的】抗真菌剤イトラコナゾール(ITCZ)の特徴的生物活性として、マクロファージ(MP)の形態伸長およびMP細胞膜の性質変化をすでに報告してきた。ここでは、MPの活性化との関連でNOシンターゼ(NOS)誘導および、TNF α の産生に及ぼすITCZの効果を調べ、それが間接的に好中球の抗真菌活性に影響を与えるか検討した。

【方法】C3H/He Jマウスの腹腔MPを、牛胎児血清含有RPMI1640培地にてプラスチックプレートを用い培養した。NOSの発現は抗NOS単クローン抗体または同ポリクローン抗体と、FITC-抗マウスIg抗体または、FITC-抗ウサギIgG抗体を用いた蛍光抗体法で観察した。培地中へのTNF α の産生は生物活性及びELISA法で測定した。得られた培養上清は、ラテックスピーズ(SM-2)でITCZを吸着後、好中球に対する活性を調べた。好中球の活性は、*Candida albicans*の菌糸状発育を阻止する活性としてクリスタル紫染色法で測定した。

【結果】ITCZを、培地中に0.5 μ g/mlで添加して、MPを3時間培養すると、細胞質中にNOSの発現が認められた。また、MPをMP活性化能を有する腸球菌製剤FK-23存在下で培養するとTNF α を培地中に産生するが、ITCZは、その産生量を、20時間では数倍に増加させた。ITCZおよびFK-23存在下MPを培養して得たTNF α を含む培地は、ITCZを吸収除去しても、好中球の抗*Candida*活性を増強した。以上より、ITCZは単独および他の活性化物質と共同してMPを活性化させ、メディエーター産生を介して好中球の抗真菌活性を増強しうると考えられる。

*Candida albicans*と*Pseudomonas aeruginosa*の実験的混合感染マウスにおける病態の解析と抗生剤の投与効果について

帝京大学医学部微生物学講座
 ○池田達夫、末柄信夫、安部 茂、山口英世

「目的」*C. albicans*(CA)と*P. aeruginosa*(PA)の混合感染(混感)における病態の解明と抗菌薬投与の効果についての基礎的知見を得ることを目的として、CAとPAの混感モデルを作成して検討した。

「方法」混感マウスの作成：CA 3×10^8 cellsを接種し、その3時間後にPA(IID1117または5142) 1×10^7 cfuを接種して作成した。臓器内生菌数：経時的に腎、肝および脾を定量培養し、生菌数を算出した。腎機能：血清中クレアチニン値およびUN値を測定した。腎病理組織検査：感染48時間後の腎のPAS染色標本を鏡検観察した。抗菌薬投与による治療実験：IID5142(SBT/CPZ感受性株)接種と同時にSBT/CPZ 800または1600mg/kgを投与し、生存日数により有効性を判定した。

「結果」1)マウス致死性：混感群の平均生存日数は3.0日で、CA単独感染(単感)群(5.7日)よりも有意に短かく($p < 0.01$)、致死性の亢進が認められた。2)臓器内生菌数：①PA単感群では肝、腎および脾のPAは感染24時間後までに除菌された。②CA単感群では腎のCAは経時的に増加したが、肝または脾では減少した。③混感群では、腎、肝、脾のPAは48時間後までに除菌されるかまたは低レベルで検出された。CAは腎では経時的に増加、肝では減少を示し、脾では一定のレベル(10^6 cfu)で検出された。3)腎機能：クレアチニン値は混感群で高値を示す傾向がみられ、UN値も混感群で有意に高値を示した($p < 0.05$)。4)腎病理組織学的所見：腎糸球体内のCAは混感群で多数観察され、顕著な急性糸球体腎炎像を呈した。5)抗菌薬投与による治療効果：SBT/CPZ 1600mg/kg投与群で有意に延命効果が認められた($p < 0.01$)。

「考察および結論」1)混感群で単感群よりも感染の重篤化が認められた。この重篤化の原因として、腎におけるCAの発育促進、PAの排除遅延、腎の組織破壊・機能障害などに起因することが示唆された。2)混感群で抗菌薬投与により治療効果が認められた。この効果はCA感染の増悪因子となるPAの発育をSBT/CPZが抑制した結果と推察される。この成績から、CAとPAの混感症例における適切な抗菌薬投与がPA感染自体のみならず、CA感染増悪に対しても有効であることが示唆される。

早期診断されイトラコナゾールが奏効した非侵襲性肺アスペルギルス症の画像所見と病理組織所見の検討

国保那賀病院呼吸器科¹⁾、和歌山県立医大第3内科²⁾

○松永和人¹⁾、南方良章²⁾、湯川 進²⁾

(目的) 非侵襲性肺アスペルギルス症は静的な病態ではなく、肺組織を慢性進行性に破壊していく病態との理解がなされつつある。定型的なアスペルギローマを形成してからでは現在の抗真菌薬にて十分な臨床効果が得られないことも多く、同症の早期診断方法の確立のためにも早期診断され抗真菌剤が奏効した症例の集積が重要と考えられた。(対象, 方法) 当科で経験した非侵襲性肺アスペルギルス症の内、早期診断されイトラコナゾールが奏効した5症例を対象に画像所見, TBLB病理組織所見などをretrospectiveに検討した。

(結果) (1)全例アスペルギルス沈降抗体陽性と抗真菌剤有効を以て肺アスペルギルス症と診断した。喀痰, 気管支洗浄液およびTBLB組織の培養や組織中に菌体は証明されなかった。(2)病理組織像は全例が器質化肺炎, 肉芽腫, 線維化などの慢性炎症像を呈していた。(3)全例で気腫性変化などの先行する肺構造異常を認めた。airbronchogramを伴う, 部分的な陥凹を示すほぼ辺縁明瞭な高い肺野濃度の浸潤影が, 気管支分岐に沿って胸壁に接し存在していることが共通する画像所見であった。同所見は全例で肺尖部に認められた。また2例では高濃度の浸潤影に連続し淡い粒状網状影が中肺野にかけて認められた。典型的な菌球形成を呈した症例は存在しなかった。(結語) 初期の非侵襲性肺アスペルギルス症においては菌体の検出が困難で病理組織像も慢性炎症像を呈する場合もあり, 単なる器質化肺炎と診断される危険性があると考えられた。画像所見より同症を疑い, 血中アスペルギルス沈降抗体や気管支洗浄液および喀痰のアスペルギルス抗原を測定することが同症の早期診断につながるものと推察された。

外科領域における剃毛の意義

富山医科薬科大学第2外科

○笹原孝太郎、坂本 隆、清水哲朗、田内克典、
斎藤光和、榑原年宏、岸本浩史、竹森 繁、
新井英樹、塚田一博

(はじめに) 剃毛により術後創感染は増加するという研究がSeropian, Reynoldsにより1971年に報告された。以来、同様の報告が多数みられる。本邦でも剃毛と創感染の研究が散見されるが、そのほとんどは看護サイドのものである。現在でこそ外科の教科書に「術前処置において剃毛が創感染を増加させるという報告がある。」と記載されているが、数年前までは「剃毛は必要である。」と記述されていたものも多かった。当科においても数年前までは術前の習慣として剃毛がおこなわれていた。また依然として剃毛を行う施設もみられる。(目的) 剃毛の有無による術後創感染の比較研究をおこない、外科領域における剃毛の意義について検討した。(方法) 症例は1996年5月から1997年2月までの胃手術症例34例(男性29例、女性5例、平均年齢65.5歳)。無作為に剃毛群と非剃毛群とに分け、剃毛群は手術の24時間以内に剃毛をおこない、非剃毛群は除毛せずにそれぞれ手術を施行した。術後創感染との関係について検討を行った。(成績) 剃毛群(n=15)では2例の術後創感染を認めたが、非剃毛群(n=19)では術後創感染症例は認めなかった。創感染症例はいずれも早期胃癌症例であり、胃癌の進行度や根治度との関連性は明らかではなかった。術中出血量、抗生剤の種類や投与日数、検査成績等、特に創感染との関連性は明らかではなかった。(結論) 術前剃毛が創感染を増大させるという報告は多いが、我々の検討でも剃毛群では創感染を認めたのに対し、非剃毛群では創感染を認めなかった。剃毛が術後創感染に関わる因子としては、剃毛操作による皮膚角質層の損傷、防御機構の破壊、微小膿瘍の形成による消毒薬に対する抵抗性の増大等が考えられる。術野によっては除毛を必要とする手術もあるが、その場合は脱毛剤やカットによる除毛で十分と思われる。術前の習慣や儀式としての安易な剃毛は避けるべきであると思われた。

術前手指消毒法についての検討 もみ洗い法とブラッシング法の比較

鶴岡市立荘内病院外科
○三科武, 鈴木聡, 金田聡

【目的】術前手指消毒法として、より効果的で手荒れの少ないといわれているもみ洗い法の導入にむけてその効果について検討した。また消毒薬のヒビスクラブと手術用イソジンの効果についても比較した。【方法】対象は当院手術部に勤務する看護婦20名である。もみ洗い法は消毒薬を手に取り両手のひら, 甲, 指, 指間をもみ洗いし, さらに前腕から肘まで洗った。薬液を流した後に指先のみブラッシングを行い薬液を流した。ブラッシング法は従来の方法と同じようにブラッシングにて消毒を行った。これらの消毒法別に次の5群に分けた。各群の人数は20名とし, 同一人が二回以上参加した。検査当日の最初の手洗いのみを対象とし, 手荒れや傷のある人は除いた。

HB群:ヒビスクラブによるブラッシング3分を2回

HW群:ヒビスクラブを用いもみ洗い5分+ウェルバス

IB群:手術用イソジンによるブラッシング5分を2回

IW群:手術用イソジンを用いもみ洗い5分+ウェルバス

H群:ヒビスクラブによるもみ洗い5分のみ

それぞれの手指消毒を行い, 直後にサンプリングを行った。サンプリングはグローブジュース法に準じて行い, 普通寒天培地に塗布し48時間培養した。次に経時的な変化をみるためにHB群, HW群において消毒前, 消毒直後, 手術後にそれぞれ同様にサンプリングした。参加人数は両群でそれぞれ15名とし, 手術は3~5時間の手術とした。

【結果】消毒直後の細菌数が0の割合はHB群60%, HW群75%, IB群35%, IW群50%, H群70%であり, HW群とIB群, H群とIB群間に差を認めた。また細菌数1000以下の割合でもそれぞれ80%, 90%, 65%, 75%, 100%とHW群とIB群間, H群とIB群間に差を認めた。経時的にみると細菌数0の割合はHB群では消毒前0%, 消毒直後40%, 手術後46.7%であり, HW群ではそれぞれ6.7%, 80%, 66.7%とHW群で高くなった。【まとめ】術前手指消毒法としてもみ洗い法はこれまで行われてきたブラッシング法に比べ差はみられなかった。消毒薬はヒビスクラブが効果的と考えられた。

大腸癌における術前日経口抗菌薬投与による腸管処置の検討

広島大学第一外科¹⁾, 同総合診療部²⁾
○竹末芳生¹⁾, 横山隆²⁾, 松浦雄一郎¹⁾

【目的】以前大腸癌手術前の腸管処置は、経口抗菌薬術前3-4日間投与が行われてきた。しかしこの方法ではMRSAなどの耐性菌が腸内で優位になることが報告され、現在わが国ではポリエチレングリコール電解質溶液(ニフレック)を用いた機械的術前腸管処置単独が主流になっている。一方欧米では術前日のみの経口抗菌薬による腸管処置が再評価されており、今回適切な大腸術前処置について検討した。【方法】大腸癌待機手術94例を対象とし、機械的処置群:ニフレック服用のみ、術前日群:術前日抗菌薬(カナマイシン, メトロニダゾール 500mg 3回)+ニフレック、3日間群:3日間抗菌薬(各250mg 4回/日)+ニフレックに分け、腸粘膜拭い液、閉腹前腹腔内洗浄液の細菌培養を行い、術後感染率も併せて検討した。予防抗生剤はcefmetazoleを3日間使用した。【結果】術前糞便と術中腸粘膜拭い液の比較で3日間群では大腸菌などのEnterobacteriaの減少、グラム陽性菌(GP)、candidaの増加傾向が認められたが、機械的処置群では差を認めず、術前日群もその変化は軽度であった。術中汚染の示標となる腹腔内洗浄液菌陽性率は術前日群19%であり、3日間群64%や機械的処置群40%と比べ有意に低率であった。検出菌種は3日間群では100%GPであり、機械的処置群では嫌気性菌が78%に分離されたが、術前日群はGP50%、グラム陰性菌50%、嫌気性菌0%であった。予防抗生剤耐性菌は3日間抗菌群のみ64%と高率であったが、他は10%以下であった。洗浄液検出菌と術野感染起炎菌の一致は3日間群のみで認められたが、術野感染率は術前日群13%、3日間群18%、機械的処置群18%と差を認めなかった。【結語】術前日抗菌薬投与では、腸管での菌交代現象は少なく、術中汚染率も低率であった。しかし術後予防抗生剤3日間投与により術中汚染が高率であった機械的処置単独でも感染率の増加は認めなかった。

直腸手術後の感染発症予測－意義と限界

東京慈恵会医科大学外科

○畝村泰樹, 渡部通章, 小川匡市, 池内健二,
足利 建, 穴澤貞夫, 山崎洋次, 青木照明

【目的】外科手術後の抗菌薬の適正使用のために、感染発症予測は重要な意義をもつ。われわれは体温、脈拍、白血球数から成る簡便な指標を用い臍頭十二指腸切除術後の感染発症予知を行ってきたが、今回、本予知法を直腸手術に適応した。本予知法の、感染発症阻止薬（以下阻止薬）の終了・変更時期を判断する指標としての意義を検討した。【方法】1995年6月から97年12月までの2年7カ月間に施行した直腸前方切除術とHartmann手術79例のうち、評価可能な77例を対象とした。体温 38.0°C 以上または 36.0°C 未満、脈拍 $90/\text{min}$ 以上、白血球数 $12,000/\text{mm}^3$ 以上または $4,000/\text{mm}^3$ 以下の3項目中の2項目以上を満たすものを予知法陽性とし、感染発症の危険ありとした。術後第3、5病日での感染発症予測をretrospectiveに行ない、感染発症状況と対比することにより予知法の精度を検討した。術後感染は術後2週間以内に発症したものとし、術野外感染も含めた。【結果】術式は低位前方切除53例、高位前方切除17例、Hartmann手術7例であった。術後感染は20例(26%)に発症し、内訳は骨盤内感染11、創感染5、カテーテル菌血症4、ドレーン感染2、腹腔内感染1であった。術後第3病日での予測結果は偽陰性29%、偽陽性21%で、正診率78%と不良であった。とくに偽陰性が15例と多く、これらの術後平均発症日数は 7.0 ± 2.9 日と遅かった。第5病日では偽陰性12%、偽陽性20%、正診率81%と精度の若干の向上をみたが、満足できるものではなかった。また第3から第5病日にかけての予測結果の推移パターンから算出した精度も、第5病日での精度とほぼ同等であった。【結論】直腸手術における感染発症予知は困難である。本法による予測には限界があり、一旦陰性と判断されても臨床徴候には十分留意する必要がある。しかし第3病日で陰性であれば約80%の症例に阻止薬は不要であると考えられ、抗菌薬中止の指標となる。これにより総体的には抗菌薬適正使用へ導く効果が得られるものとする。

岡山大学泌尿器科における術後感染症の年次変遷

岡山大学泌尿器科

○楠本英昭, 石井垂矢乃, 渡辺豊彦, 門田晃一,
那須良次, 津川昌也, 公文裕巳, 大森弘之

【目的】術後感染症の発生は主として患者因子、手術術式、ならびに術後化学療法に大きく左右される。近年の抗菌薬の開発・普及ならびに手術術式の変化に伴い、術後感染症の発生頻度とその内容に変化が認められるか否かについて検討した。

【対象、方法】岡山大学泌尿器科において、1979年1月より1996年12月までの18年間に手術を行った6026例を対象とし、術後3週間以内の有熱性感染症ならびに創感染を中心に集計し、年次的に検討を加えた。

【結果】術後発熱性感染症としての感染症例の総手術症例に占める割合は1979年頃の10%前後から徐々に減少し1988年には3.1%となったが、1991年には6.1%と増加しその後徐々に減少傾向にある。感染症別にみると前立腺炎、精巣上体炎は減少傾向を示している。腎盂腎炎は年度によりその頻度にばらつきが認められるものの、術後の有熱性感染症として最も問題となる合併症であった。腎盂腎炎症例よりの分離菌種の変遷をみると*P.aeruginosa*がその半数以上を占め、その傾向は変わっていない。創感染に関しては約2%で横ばい傾向にあるがその分離菌種は1990年よりMRSAが半数近くを占めるようになっている。

【考察】1980年代の術後感染症の減少は、優れた抗菌薬の臨床応用と内視鏡手術の普及に負うところが大きであると考えられる。1989年頃よりMRSAの出現により再度増加傾向を示したが、院内感染対策の浸透、さらにはより低侵襲な手術手技の普及により最近では減少傾向にある。しかし、依然として*P.aeruginosa*、MRSAの関与する症例が少なくなく、さらなる対策が必要と考えられる。

腸管利用尿路変更術における術後感染阻止抗菌薬投与の検討

札幌医科大学医学部泌尿器科

○国島康晴、松川雅則、竹山 康、廣瀬崇興、塚本泰司

【目的】泌尿器科領域で術後感染が問題となる手術は、侵襲が強く術野に尿が暴露するという特徴を持つ、腸管利用尿路変更術である。当科ではこれらの手術に対する術後感染阻止抗菌薬の投与を、1996年1月より明らかな感染症の発症が無い場合、ペニシリン系または、第1、2世代セフェム系の抗菌薬を、原則として術後4日間以内のみとしている。そこで今回、抗菌薬の投与を規制した前後の症例における術後感染の発症、特に創感染について検討したので報告する。

【方法】1994年から1997年まで4年間に当科において腸管利用尿路変更術を施行した58例を対象とした。創感染は、手術創またはドレーンより膿あるいは膿性浸出液の排出を認めたものとした。

【結果と考察】抗菌薬の投与方法を規制前に主治医の判断により決定していた症例は30例（A群）、規制後の症例は28例（B群）であった。実際に抗菌薬が投与された期間はA群13.7日、B群8.7日であった。B群で4日以上抗菌薬の投与を必要としたのは42.8%であった。術後感染の発症率はA群33.3%（10/30例）、B群39.3%（11/28例）と有意な差はなかった。術後感染の分離菌は、A群で10例中6例、B群で11例中9例がMRSAであった。両群の術前1週間以内の尿培養陽性症例はそれぞれ5例、11例であり、MRSAは1例、6例であった。これらの症例では高率に術後感染が発症していた。仮にMRSAにより術後感染が発症した症例を除くと、両群の術後感染発症率はA群16.6%（4/24例）、B群9.5%（2/21例）であった。以上より、腸管利用尿路変更術における術後感染発症阻止抗菌薬の投与方法は、4日以内でもそれ以上と術後感染発症率に有意な差がなかったが、MRSAに関しては十分でなく、特に術前に尿路にMRSAが存在する場合、術後感染の発症を予防する事は困難であることが多いと考えられた。

泌尿器科無菌手術の術後感染予防

-腎・副腎手術における抗菌薬予防投与の検討-

鹿児島大学医学部泌尿器科

○北川敏博、後藤俊弘、遠見浩士、八木静男、川原元司、大井好忠

【目的】近年、抗菌薬の適正使用が求められているが、術後の抗菌薬予防投与についての基準は確立されておらず、主治医が経験的に投与しているのが現状であろう。今回、泌尿器科無菌手術の術後感染予防について、腎および副腎の手術症例を対象として、検討した。

【方法】対象は単純腎摘除術7例、根治的腎摘除術64例、腎尿管摘除術13例、副腎摘除術18例の計102例であった。①prospective studyとして、96年6月～97年8月に手術した62例を4群に割り付けた。A群16例は予防投与なし、B群15例には術前1回のみ、C群15例には術前1回とその12時間後の計2回、D群16例には術前1回と12時間毎に計6回とした。②比較のため、95年12月～96年5月に手術した40例を、術後に6～10回（平均6.5回）の予防投与を行なった14例をE群、術後に14回以上（平均17.3回）予防投与した26例をF群として、retrospectiveに検討した。これら6群における術後感染の頻度、術後感染の種類別のリスク・ファクター、炎症マーカーの推移を検討した。

【結果】術後感染の頻度は、創感染はA群3例（18.8%）、C群1例（6.7%）、E群1例（7.1%）、F群3例（11.5%）、肺炎はB群で2例（13.3%）だった。尿路感染は合計6例あったが、38℃を超える熱発が見られたのは1例のみであった。不明熱はA群2例（12.5%）、B群3例（20%）、C群1例（6.7%）、D群1例（6.3%）、F群2例（7.7%）であった。各群別の術後感染の発生率には、有意差はないものの、A群、B群にやや高い傾向が見られた。今回の結果からは、C群の術前1回、術後1回投与が最も合理的であると思われた。術後感染のリスク・ファクターの検討では、創感染例と術後感染のなかった例の間で手術時間および出血量に5%の有意差があり、またドレーンの留置期間に1%の有意差が見られた。

【結論】手術を短時間で終え、出血を減らし、ドレーンは早期に抜去するという基本原則が大事である。

膵障害時の薬物治療に関する基礎的検討

名古屋市立大学第1外科

○長谷川正光, 中村善則, 真辺忠夫

名古屋市厚生院外科

真下啓二

(目的) 我々は膵頭十二指腸切除患者のうち, 早期より膵液中サイトカインが高値のものは, 術後臓器障害と関わりが深い事を報告してきた。また膵炎と血中サイトカインの関係については種々の報告がされている。今回我々は膵液中高サイトカインのモデルとして膵液-血液混合系を設定, サイトカイン産生抑制作用を持つといわれる fosfomycin(FOM)を含め, 膵障害(膵炎)時の薬物治療の基礎的検討を加えたので報告する。

(材料) 当科で膵頭十二指腸切除術を受けた患者の膵管チューブより, 炎症症状の見られない時点で採取した膵液, 健康人よりEDTA採血をした血液。

(方法) (1)膵液200 μ lに0.5%の血液を混合しトリプシン基質であるChromozymの0.1%溶液50 μ lを加え, トリプシン基質の分解による吸光度の変化を測定した。(2)膵液と血液を3:1に混和, 37 $^{\circ}$ Cでインキュベート, 0, 5, 30, 180分後に上清を分離しinterleukin-6(IL-6), interleukin-8(IL-8)をELISA法で測定した。

上記(1)(2)に各種プロテアーゼインヒビター, ステロイド, FOMを加え反応の変化を検討した。

(結果) (1)基質混合直後より吸光度の変化を認めた。血液のうち遠心分離した多核顆粒球分画に関連があった。この反応はプロテアーゼインヒビターで抑制された。(2)180分でIL-6の産生が認められた。この反応はステロイド, FOMで抑制された。

(考察) 生体内で血液と膵液が混合した場合には(1)トリプシノーゲンの活性化が起こり, 続いて(2)サイトカインの産生が起こり, サイトカインによって(3)血球成分の集簇・活性化が起こり, このサイクルが循環し, 一定条件下で膵障害を引き起こすと考えられた。

(結語) 膵の障害時にプロテアーゼインヒビター単独のみならず, ステロイドやFOMを併用した治療の可能性が示された。

難治性びまん性肝臓癌に間欠的動注化学療法が著効した1症例

公立学校共済組合四国中央病院外科

○安藤 勤

〔緒言〕経皮経肝臓癌ドレナージ(以下PTAD)および全身的化学療法に抵抗を示した難治性肝臓癌症例に対し, リザーバーを用いた間欠的動注化学療法を施行し著効した1症例を経験したので報告する。

〔症例〕症例: 63歳、女性、主訴: 発熱、既往歴: 閉塞性黄疸にて平成7年4月7日入院し、同日入院する。PTCD施行後、諸検査にて膵頭部癌と診断し、平成7年5月17日、膵頭十二指腸切除術(PD-II.D0.PW(-).BDW(-).EW(-).Curability C)を施行した。(Ph.TS3.5.0x3.5cm.S0.RP0.CH3.Du1.PV0.A0.PL(-).H2.N(-).StageIVb)の手術所見であった。

現病歴: 術後第20病日から高熱が出現し、腹部CTおよび超音波検査より内側区域の肝臓癌と診断し第24病日PTADを施行し軽快した。第36病日から再度高熱が出現し同様の検査を施行し後区域の肝臓癌と診断し第40病日にPTADを施行し軽快した。第48病日から再度高熱が出現し、腹部CT検査より前区域の辺縁寄りに広範かつ境界不鮮明な低吸収域を認めびまん性肝臓癌と診断した。PTADは不能と考え全身化学療法を施行したが症状は改善せず、第60病日Seldinger法により総肝動脈内に動注用カテーテルを挿入しこれをリザーバーに接続し間欠的動注化学療法を行った。この結果自他覚症状の著明な改善を認めた。

〔考察〕本症例の様にPTADによる治療が困難と思われるびまん性肝臓癌に対しては、動注化学療法は有用な治療法と考えられた。

肝細胞癌に対する肝切除術後感染症の発症要因の検討

日本医科大学第1外科、

○丸山 弘、恩田昌彦、古川清憲、田尻 孝、吉田 寛、鈴木英之、秋谷行宏、松谷 毅、芦刈正幸、前澤勝美

【目的】肝細胞癌症例は術前より肝障害を合併することが多く術後感染症が発症しやすい。そこで今回我々は、肝細胞癌に対する肝切除術後感染症の発症要因を探ることを目的とした。

【対象】1993年1月から1997年2月までに肝細胞癌に対して肝切除術を施行した62例（平均年齢62才、男性52例、女性10例）を対象とした。

【方法】術後感染の発症群（A群）17例と非発症群（B群）45例の2群に分け以下の項目について検討した。

【検討項目】術前の要因として背景肝の状態（肝硬変、慢性肝炎の別）、耐糖能障害（糖尿病）の有無、術前TAEの有無、白血球数、血小板数、リンパ球数、Hb、GOT、GPT、T-bil、Alb、ICG15、ヘパラスチンテストなどについて比較した。術中の要因として出血量、手術時間、輸血の有無、輸液量について比較した。術後の輸液量は全例一定であり予防的抗菌剤は第一セフェム系抗菌剤を術4日から術6日まで投与した。

【成績】A群の感染症の内訳は肝臓断面膿瘍と敗血症が5例と最も多かった。また肝臓の切除範囲別の術後感染症発症率は、Hr0とHrSがそれぞれ25%、44.4%でHr1とHr2がそれぞれ20%、10%であり切除範囲の少ない症例で多く発症する傾向にあった。術前の要因をみるとA群では肝硬変を合併している症例がB群に比べ有意（ $P<0.05$ ）に多かった。また術前の血小板数がA群はB群に比べ有意（ $P<0.05$ ）に低値であった。術中の因子ではA群では術中に輸血を行った症例が有意（ $P<0.05$ ）に多かった。術前のHbと出血量には両群間に有意な差を認めなかった。

【まとめ】肝細胞癌における肝切除術の術後感染症の発症は切除範囲の小さい症例に多く発症していた。術前の要因では背景肝が肝硬変の症例と血小板数が少ない症例に多く発症していた。術中の要因では輸血が関与することが示唆された。

早期経腸栄養による肝切除術後管理の実験： 術後感染高危険例のスコア化と感染予防効果

藤沢市民病院外科

○望月弘彦、仲野明、小林俊介、笠岡千孝
横浜市立大学第2外科 渡会伸治

【はじめに】高度侵襲後早期からの経腸栄養が感染合併の危険率を低下させるといわれているが、肝切除術における検討は少ない。われわれは肝切除術後感染の高危険例を推測する判別式を作成し、高危険例に対し術後早期経腸栄養を行い、術後感染の発生頻度を低下させることができた。今回、症例を呈示して肝切除術後の早期経腸栄養について報告する。

【判別式】横浜市立大学第2外科において1992年1月～1994年12月に施行した、胆道再建や消化管再建を伴わない肝切除76例を対象に、術後感染症の発症要因を検討し、術後感染の高危険例を推測する判別式を作成した。術前因子、手術因子11項目から判別分析を行い、ICG15、血清アルブミン値（Alb）、肝切除率、手術時間の4項目が最終的に選択された。

感度74.1%、特異度82.1%、正診率78.2%であった。得られた判別式に平均手術時間を代入し、術前推測用の判別式を作成した。

判別式： $4.27 + 0.07 \times ICG15$

$- 1.64 \times Alb + 0.05 \times \text{肝切除率}$

Cut point $- 0.35$

さらに、術後感染高危険例に対し術後早期経腸栄養を行ったところ、術後感染の頻度が有意に低下した。

【症例】77歳男性、肝S4に径4cmの胆管細胞癌を認めた。術前ICG15は14%と上昇しており、ぎりぎり肝左葉切除が可能と判断したが、術後感染の判別値が1.58と術後感染の高危険例であった。このため術中に腸瘻を造設、術翌日から1cal/ml 10ml/hrで経腸栄養を開始、720cal/dayまで増量、術後8日目まで続行した。術後経過は良好で、経腸栄養の合併症はなく、術後感染も認めなかった。

【結語】術後早期経腸栄養は、肝切除術後感染の高危険例において感染の合併頻度を低下させることが可能であり、積極的に行うべきであると考えられた。

胃癌術後残胃のH.pyloriの陽性率と2剤併用療法の治療効果

横浜市立大学医学部第一外科

○塩澤 学, 利野 靖, 今田敏夫

目的: 胃癌術後の合併症の一つに残胃炎がある。その原因について近年、H.pylori (HP)感染による可能性が示唆されている。我々は胃癌術後残胃についてHP感染の実態と残胃炎の程度およびその治療について検討した。

方法: 胃癌術後86症例について胃内視鏡検査を行い、吻合部から約2cmの大弯及び小弯より生検し培養およびウレアーゼ活性テストともに陽性例をHP陽性症例とし、術式、再建別に比較検討した。除菌のプロトコールは、amoxicillin 750mg/day×2weeks, omeprazol 20mg/day×8weeksで行い、効果は治療1ヵ月後に、再度胃内視鏡にて培養およびウレアーゼ活性テストとともに陰性になったことを確認し、さらに尿素呼吸試験で陰性を確認した。

結果: HP陽性率はB-I法41.3%, B-II18.2%, 幽門輪温存胃切除術 (PPG) 58.3%であった。胃炎の分類であるRaw's scoreをつけるとHP陽性例で有意にscoreの上昇を認めた。食事摂取量は、HP陽性で低下傾向を認めた。残胃の24時間pHは、HP陽性で、高い傾向を認めた。治療症例は、全体で27例で、66.7%の治療効果を認めた。また、残胃の24時間平均pHをみると、有効例5.96、無効例6.16と差は認めなかった。

結語: 胃癌術後残胃炎には、HP感染が関与しているものがあることが示唆され、通常の胃炎と違い、術式再建 (アルカリ逆流) や酸分泌量、胃粘膜の量や血流などに影響を受ける。その治療として、胃炎の投与量より少ない量でのプロトコールで、ある程度の効果を見た。

周術期管理と胃癌術後感染症の変化

東邦大学外科学第三講座

○草地信也, 炭山嘉伸, 川井邦彦,

有馬陽一, 青柳 健, 吉田祐一

[目的] 胃癌手術の術後感染症の変化を術式、周術期管理、抗菌薬の面から検討した。

[対象・方法] 1987年9月から1999年8月までの10年間の教室胃癌手術701例を対象として、術式、手術期管理、抗菌薬の変化から術後感染症を検討した。対象期間を2年半づつA期～D期の4期間にわけて比較した。

[結果] 胃癌術式は、胃全摘術と胃部分切除術の割合には差はなかったがC期で膵体尾膵合併切除と左上腹部臓器全摘術が、それぞれ、10.3%、4.2%、D期でそれぞれ11.5%、5.1%と増加し、拡大郭清手術が徐々に増加してきた。一方で、侵襲が少ない腹腔鏡下手術がC期・D期で2.4%、2.5%に行われた。周術期管理では、完全静脈栄養による術前管理はA期からD期で、63.9%、40.4%、14.1%、15.9%と徐々に行われなくなった。術後感染予防の抗菌薬は、A期では、CMZ or CTM 37.7%、LMOX or CZX 18.8%、LMOX or CZX + AMK or DKB 33.5%であったが、B期以降では、CEZがそれぞれ96.9%、96.0%、88.9%であった。D期では、CEZの一回投与量を2gから1gに減量した。これらの薬剤の投与期間は、A期～D期それぞれ、平均7.2日、4.7日、5.3日、5.1日であった。A期～D期の術後感染発症率は、それぞれ、10.8%、13.3%、11.4%、8.9%と有意な差はなかった。感染症別では、創感染は各期間とも2%台で有意な差はなく、呼吸器感染は減少傾向であった。腹腔内膿瘍はそのほとんどが縫合不全を原因としており、A期1.0%、B期7.8%、C期6.0%と増加したが、手術手技の改良でD期3.8%と減少傾向だった。MRSA感染は、A期6.7%であったがB期0.6%、C期0.5%、D期0.6%と有意に減少した。A期ではMRSA腸炎が3.1%にみられたがB期以降発症していない。

[結論] 胃癌手術は拡大郭清に伴う大侵襲手術が増加したが、逆に術前完全静脈栄養施行率が低下し、抗菌薬の種類・使用量が減少し、周術期管理が簡略化された。術後感染発症率に有意な差はなく、MRSA感染が有意に減少した。

胃全摘術における術後感染について

日本大学医学部第三外科

○佐藤 毅、古畑 久、加藤高明、大塚一秀、中川良英、加藤るな、朱 烈、牛尾真由美、伊藤裕美子、岩井重富

(目的) 胃全摘術の術後感染について検討した。

(対象および結果) 1995年と1996年に板橋病院第三外科において切除された症例は35例で、これを1981-87年までの79例と感染の内訳、検出菌、合併切除臓器、抗菌薬などについて比較検討した。今回の検討では35例中7例(8件)20%に術後感染がみられ、内訳は創感染2、腹腔内膿瘍6であったが縫合不全に起因したものは1例のみであった。感染部位からの検出菌では創感染からはMRSAやStreptococcusなどが、腹腔内膿瘍からはE faecalisやP aeruginosaなどとともにFusobacterium nucleatumや嫌気性のGPC、GNRなどが検出された。合併切除された臓器は脾臓6、膵尾部4、胆嚢2、大腸1で開胸例も1例みられた。しかし術後感染のない群でも脾臓15、膵尾部9、胆嚢10などと切除臓器は多く開胸例も2例みられた。

これらを1981-1987年までに施行された全摘術79例と比較すると、術後感染率は30.4%と高く、尿路感染5例、呼吸器感染が4例と今回なかった感染がみられ、また縫合不全が7例と多かった。感染巣からの検出菌でも今回と異なりE coliやK pneumoniaeなどのグラム陰性桿菌が多く検出されていた。術中および術後使用抗菌剤は前回とあまり変化はなかったが今回が平均1-2日ほど長く使用されていた。

(結論) 縫合不全例は明らかに減少し、吻合器使用の影響が大きいものと思われた。根治度を高めるため合併切除臓器は多くなったが術後管理の向上で感染は増加せずむしろ減少した。予防的使用抗菌薬は前回と殆ど変化がなく術後感染も増加していないため、第二世代セフェムを中心とした薬剤を術中および術後4-5日の使用で十分であろうと思われた。

当教室の消化器術後におけるカルバペネム系抗菌薬使用状況と術後感染症の変遷

東邦大学医学部外科学第3講座

○有馬陽一、炭山嘉伸、草地信也、川井邦彦、青柳 健、吉田祐一

(目的) 消化器術後における、カルバペネム系抗菌薬の使用状況と、それに伴う術後感染症の変遷を検討した。

(方法) 期間は、当科にてカルバペネム系抗菌薬が使用され始めた1988年～1997年の10年間、対象は当教室の消化器術後のカルバペネム系抗菌薬投与症例全例とし、投与症例数の年次推移、原疾患の内訳、術後感染症の種類と感染起因菌の変化、感染症の重症度と転帰、術後感染およびMRSA感染発症率の変化につき検討した。

(結果) 過去10年間のカルバペネム系抗菌薬投与症例数は通算143例で、年次ごとに漸減し最低は1993年の5症例で、近年では再び増加傾向がみられ年間20例を越えていた。原疾患は、胃・大腸癌術後と穿孔性腹膜炎・腹腔内膿瘍が、また投与対象の感染症は、重篤な術後腹腔内膿瘍や敗血症が大半を占め、清潔手術・準汚染手術の術後感染発症阻止薬としての使用は避けられていた。感染起因菌は、主にP.aeruginosaやBacteroidesその他グラム陰性桿菌であったが、初期にはMRSAも認められた。転帰に関しては、重症度の高い症例に投与される割合が高いため死亡例もみられ、またカルバペネム無効例の要因は菌交代現象とホストの基礎疾患による易感染状態であった。術後感染発症率とMRSA感染発症率の変化については、とくに後期では重症MRSA感染症の減少が認められ、カルバペネム使用増加に伴う発症率増悪はみられなかった。

(考察) カルバペネム系抗菌薬は、術後感染発症阻止薬から治療薬へ変更を要する場合、とくに術後重症感染症例や再手術症例で、主に使用されていた。また、耐性菌の選択や薬剤関連性腸炎の発生状況などの随伴有害事象副現象の面から見て、妥当な選択・使用法がなされていた。ただし、術後感染発症のリスクが高い汚染手術や術前の状態が重篤な感染手術に対しては、第三世代以降のセフェムと同様、さらに積極的にカルバペネム系抗菌薬を初期から投与すべき症例もありうると考えられた。

OK432による末梢血中好中球機能賦活化による術後感染予防対策

和歌山県立医科大学第2外科

○有井一雄、谷村 弘、山上裕機、岩橋 誠、
角田卓也、平林直樹

【目的】消化器癌患者において末梢血中の好中球の貪食能と殺菌能を癌の進行度、感染症合併の有無で比較検討し、術後感染防止対策として術前に行える方法を考案した。

【対象】食道癌34例、胃癌84例、大腸癌60例、膵癌25例、肝癌25例、胆道癌15例の消化器癌患者243例と重症感染症9例を対象とし、胆石症と鼠径ヘルニアの良性疾患78例を対照とした。

【方法】好中球貪食能は、ヘパリン加採血した末梢血100 μ lにFITC標識したラテックスビーズを25 μ l添加し、37 $^{\circ}$ Cで45分間振盪して反応させ、反応停止後、赤血球を溶血し洗浄後、Flow cytometryで好中球1個当たりの蛍光強度を測定した。スーパーオキシド産生能(SOG)は、末梢血100 μ lに濃度依存性に好中球細胞質内に浸透する基質である5 μ M DCFH-DAを100 μ l添加し、37 $^{\circ}$ Cで15分間振盪して、DCFH-DAを好中球細胞質内に取り込ませ、好中球に対する直接刺激物質である0.5 μ g/ml PMAを100 μ l添加し、37 $^{\circ}$ Cで25分間振盪して、好中球内でスーパーオキシド産生反応を起こし、反応停止後、赤血球を溶血し洗浄後、Flow cytometryでDCFH-DA酸化物質の蛍光強度を測定した。

【結果】①術前の好中球貪食能は、食道癌で22.3、胃癌で21.2、大腸癌で16.6、膵癌で21.0、肝癌で21.1、胆道癌で26.9と、いずれも良性疾患の18.2と差がなかった。②術前のSOGは、食道癌で14.0、胃癌で17.1、大腸癌で14.3、膵癌で11.7、肝癌で11.8、胆道癌で16.9と、食道癌、胃癌、大腸癌、膵癌、肝癌で良性疾患の21.5に比較し低下していた($p<0.05$)。③胃癌のSOGは、stage Iの22.0からstage IVの8.9へと、stageが進むにつれて低下していた($p<0.05$)。④術前のSOGをretrospectiveに比較すると、胃癌で術後に感染症が起こった症例は、SOGが術前から起こらなかった症例より有意に低下していた($p<0.05$)。感染症が起こった7例は、すべてSOGが術前から12以下であった。⑤進行消化器癌患者の末梢血にOK432をin vitroで20 μ g/ml添加すると、SOGは有意に上昇した($p<0.05$)。⑥胃癌の術前でSOGが低下していた6例にOK432を投与すると、13.2から25.2へと上昇し($p<0.05$)、術後2週間の観察で術後感染症は発生しなかった。

【結語】消化器癌のなかでも胃癌はSOGが癌の進行に従って低下しており、術後に感染を発生した患者では、術前からSOGが低下していた。それ故術後感染の発症阻止対策として、術前のSOGが低下している患者に対しては、OK432の投与により好中球機能を高めることが有効であると示唆された。

塩酸ミノサイクリン注の肺組織、喀痰中および血清中移行に関する研究

東北大学加齢医学研究所胸部腫瘍内科¹⁾

竹田綜合病院呼吸器科²⁾

福島県立会津総合病院内科³⁾

聖隷三方原病院呼吸器センター内科⁴⁾

○渡辺 彰¹⁾、安西吉行²⁾、新妻一直³⁾、
柳瀬賢次⁴⁾、中村美加栄⁴⁾

【目的】テトラサイクリン系抗生物質であるMinocycline(MINO)は各種感染症に対して薬用されている。今回我々は、呼吸器系を中心に肺組織、喀痰中、および血清中への移行について適正使用につながる用法・用量の指標を得ることを目的にMINOの薬物動態を以下の方法を用いて検討した。

【方法】本研究は'96年10月~'97年3月にinformed consentを得た患者を対象にした。

血清→肺組織に関してはMINO 100mg 1回を、30分間かけて点滴静脈内投与し、手術後の組織、血清を14例から採取した。血清→喀痰中に関しては対象患者5例にMINO 100mgを1日2回(12時間ごと)1時間かけて点滴静脈内投与し、血清は投与3日目の第1回目の投与開始直前、1, 2, 4, 6時間後の5ポイントを、喀痰は投与3日目の投与開始1時間後に採取し、その後3時間毎に容器を取り替え排痰あるいは蓄痰させた(計4ポイント)。肺組織、喀痰は採取後、凍結保存した。血液は採取後直ちに遠心し、その血清を凍結保存した。MINOの濃度はHPLC法を用いて測定した。血清→肺組織に関してはモデル非依存的な解析を行い肺移行率を求めた。血清→喀痰中に関しては1-compartment modelによる解析を行い、薬物動態パラメーターと喀痰への移行率を求めた。

【結果】MINO肺組織濃度は血清中濃度と相関して推移した。その移行率は平均3.72(0.72~10.6)であり、MINOは血清中濃度よりもさらに高く肺に移行していた。喀痰中への移行率は測定し得た全時点での平均が 0.56 ± 0.47 ($n=20$)であり、MINO 100mg \times 2/1日投与の定常状態において、喀痰中に高濃度に移行することが示された。

術後肺炎の2例を契機に見えられたネブライザーの汚染

鹿児島大学泌尿器科

○速見浩士, 松下真治, 内田洋介, 常盤光弘
北川敏博, 川原元司, 後藤俊弘, 大井好忠

症例1は71歳男性。右腎細胞癌の診断で、97年3月28日に根治的右腎摘除術を施行した。術後2日目から40度の発熱と膿性喀痰が出現し、血圧低下、尿量減少、呼吸機能の低下が認められた。喀痰培養では *P. aeruginosa* と *E. aerogenes* が同定され、胸写上の肺炎像から術後肺炎による Septic shock と診断し、気管内挿管による呼吸器管理とした。胸部CTでは右肺S2、S6に鏡面形成をともなう pneumatocele が認められた。

症例2は70歳男性。症例1の手術から6日後の97年4月3日膀胱癌の診断で膀胱全摘術、回腸導管造設術を施行した。術後1日目から39度の発熱と膿性喀痰が出現し、術後2日目からは40度の発熱と血圧低下、尿量減少、呼吸機能の低下が認められた。喀痰培養で MRSA が同定され、胸写上の肺炎像から術後肺炎による Septic shock と診断し、同日ICUへ入室した。

術後早期に2例連続して呼吸器感染が発生したことから両症例に術後病棟で用いた超音波ネブライザーを細菌学的に調査したところ、気道粘液溶解剤から *Enterobacter* spp. が、超音波ネブライザー発生器の排液管から GNR が、また症例2ではネブライザーの噴霧から *S. aureus* が分離された。

術後に用いた超音波ネブライザーと薬液から多種の細菌が分離され、それらが肺炎の直接の原因とは断定はできないが、医療機器、薬液の清潔管理の重要性があらためて示唆された。

気管支肺胞洗浄液を用いたQ熱症例の検索

東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野¹⁾
宮城大学看護学部 基礎医学²⁾

○高橋 洋¹⁾、徳江 豊¹⁾、菊地 暢¹⁾、小林 隆夫¹⁾、藤村 茂²⁾、渡辺 彰¹⁾、貫和敏博¹⁾

(目的) 近年のいくつかの報告により、日本国内にも潜在的にQ熱症例が少なからず存在することが徐々に明らかになってきている。呼吸器領域においても、これまで原因不明の肺炎や胸部陰影とみなされてきた症例のなかにQ熱症例が含まれている可能性が十分に考えられる。

今回我々は、気管支肺胞洗浄液の凍結保存検体を用いて、原因不明の胸部陰影と判断されていた症例のなかにQ熱に起因するものがどの程度含まれていたかを retrospective に検索した。

(方法) 東北大学加齢医学研究所において1989年から1997年までの間に気管支肺胞洗浄を施行された症例における洗浄液の細胞成分沈渣の凍結保存検体を対象とした。これらの症例のなかから、肺炎様陰影や斑状影、間質性陰影等を呈しながらも診断が最終的に確定せず原因不明と判断されていた症例59例、およびコントロールとして健常人や他疾患確定例31例の検体を選択して検索の対象とした。各検体を解凍した後にDNAを抽出し、nested PCR法を用いて *Coxiella burnetii* 遺伝子の検索を試みた。PCRは *com1* 遺伝子をターゲットとして平井らが報告したプライマーを用いて行った。

(結果) 原因不明の胸部異常陰影を呈した59例のなかで2例がPCR陽性となった。一方コントロール群では全例がPCR陰性であった。

(結論) 原因不明の胸部陰影を呈する症例においてはQ熱も念頭において検索を進めるべきである。

喀痰塗抹陰性症例における気管支洗浄液MTD法の有用性に関する検討

国保那賀病院呼吸器科¹⁾、和歌山県立医大第3内科²⁾

○松永和人¹⁾、南方良章²⁾、湯川 進²⁾

(目的) 活動性肺結核が疑われても喀痰塗抹陰性にて早期に確定診断ができない症例を少なからず経験する。そこで気管支洗浄液MTD法の肺結核迅速診断における有用性を検討した。(対象, 方法) 初診時, 臨床的に活動性肺結核の可能性があり喀痰塗抹陰性であった101症例(男性56例, 女性45例, 平均年齢67.4歳)を対象に気管支鏡検査を行い, 気管支洗浄液の塗抹, 培養, MTD法を実施し, 喀痰による従来法と比較検討した。最終診断に正確を期すため初診後6ヵ月以上経過した症例のみを対象とした。(結果) 101症例の最終診断は活動性肺結核29例, 肺癌と活動性肺結核合併1例, 肺癌19例, 陳旧性肺結核9例, 非定型抗酸菌症7例, 器質性肺炎・BOOP7例, 肺炎・肺膿瘍5例, 肺真菌感染症5例, その他の疾患11例であった。活動性肺結核30例中気管支洗浄液MTD法陽性は26例で, 同法の活動性肺結核に対する感度は86.7%, 特異度は98.6%であった。検体および検査方法を(1)喀痰塗抹培養(2)喀痰・洗浄液塗抹培養(3)喀痰・洗浄液塗抹培養・MTD法の3つに分けそれぞれの診断時期を検討したところ, 迅速診断率は各々0%, 23%, 87%で, 待機診断率は各々43%, 83%, 90%であった。(3例は病理組織と気管支擦過塗抹にて診断) またMTD法陽性26例の内7例が洗浄液塗抹陽性で, 24例が培養陽性であった。従来法陰性MTD法陽性の2例は臨床経過より活動性肺結核と診断した。MTD法陰性培養陽性であった8例のうち7例は非定型抗酸菌症で1例が活動性肺結核であった。(結語) 気管支洗浄液MTD法は喀痰塗抹陰性である活動性肺結核の迅速診断に有用と考えられた。

呼吸器感染症に対する Imipenem/Cilastatin と他の β -lactam 系抗生剤の費用効果性の検討

北部九州肺感染症研究会

久留米大学第一内科¹⁾、福岡大学第二内科²⁾、
國療大牟田病院³⁾、九州大学胸部疾患研究施設⁴⁾、
敬天堂古賀病院⁵⁾、神戸大学都市安全研究センター⁶⁾
○大泉耕太郎¹⁾、吉田稔²⁾、石橋凡雄³⁾、原信之⁴⁾、
山田穂積⁵⁾、鎌江伊三夫⁶⁾

(目的) 呼吸器感染症に対する初回治療剤として、Imipenem/Cilastatin(IPM/CS)又はその他の β -lactam 系抗生剤(CAZ もしくは SBT/CPZ)を投与し、有用性及び費用効果性についてプロスペクティブに比較検討した。(対象及び方法)1995.10月～1997.3月に参加23施設に入院加療した呼吸器感染症例を対象に、封筒法によるIPM/CS群とその他の β -lactam 群(以下 β -lactam 群)の二群の無作為割付けを行った。臨床評価対象例はIPM/CS群73例、 β -lactam 群75例であり、両群間の症例背景に有意差は認められなかった。治療日数は原則として注射用抗生剤の開始から終了日までの日数とし、初回治療剤により感染症治癒に至らず抗生剤を切り替えた場合の治療日数は、最長4週間までを限度とした。また、直接費用は感染症治癒に要した薬剤費、入院費、検査費を含むものとし、モデルケースを用いて両群それぞれの直接費用を算出した。(結果・考察) 全体では治療日数と呼吸器感染症治癒に要する直接費用は、IPM/CS群で 12.9 ± 0.6 日、 31.1 ± 1.2 万円/人、 β -lactam 群で 14.5 ± 0.7 日、 34.1 ± 1.7 万円/人であり、いずれも有意な差は認められなかった。感染症重症度別では、軽・中等症においてはIPM/CS群(n=64)で 12.0 ± 0.6 日、 29.1 ± 1.1 万円/人、 β -lactam 群(n=70)で 14.3 ± 0.7 日、 33.4 ± 1.7 万円/人と、いずれもIPM/CS群で有意に治療日数の短縮と費用の低減化が認められた。この結果により増分分析を行えば、増分費用効果比は-18,830円/日であった。即ち、初回治療剤としてIPM/CSを用いた場合、他の β -lactam 剤に比べて治療日数の短縮一日あたり18,830円を節約できることとなる。しかし、重症例ではともに有意差は認めなかった。

呼吸器感染症におけるカルバペネム薬の評価

東京慈恵会医科大学内科学講座第二¹⁾、

同 内科学講座第四²⁾

○吉川晃司¹⁾、相澤久美子¹⁾、進藤奈邦子¹⁾、坂本光男¹⁾、中澤 靖¹⁾、前澤浩美¹⁾、吉田正樹¹⁾、佐藤哲夫²⁾、柴 孝也¹⁾、細谷龍男¹⁾

【目的】カルバペネム薬は、近年重症難治性感染症や日和見感染症に対するempiric therapyとして有用性が認識され使用頻度が急増している。呼吸器感染症においても難治性が予想される感染症に対し、本薬をempiric therapyとして用いる機会は少なくない。そこで今回我々は、当科の入院患者を対象に呼吸器感染症におけるカルバペネム薬の使用状況と臨床効果について検討したので報告する。

【材料と方法】対象は、1997年1月～12月の1年間に当科に入院した患者の中で呼吸器感染症を有した122例。そのうちカルバペネム薬 (IPM/CS、PAPM/BP、MEPM) が治療に用いられた72例 (単独投与39例、他剤と併用33例) について検討した。

【結果】カルバペネム薬が単独又は併用で治療に用いられた呼吸器感染症72例の内訳は、基礎疾患のない肺炎5例 (6.9%)、嚥下性肺炎4例 (5.6%)、肺癌を除く慢性呼吸器疾患に併発した呼吸器感染症23例 (31.9%)、肺癌に併発した呼吸器感染症28例 (39.0%)、膿胸・肺化膿症7例 (9.7%)、その他5例 (6.9%) であった。臨床効果は、有効例50例 (69.4%)、無効・不変例21例 (29.2%)、不明1例 (1.4%) で、各呼吸器感染症別の有効率は、それぞれ100.0%、100.0%、87.0%、57.1%、57.1%であった。本薬が投与された背景は、重症度別ではほとんどが中等症以上で、投与された時期では治療の始めから投与された例50例 (69.4%)、他剤無効のため投与された例22例 (30.6%) であった。一方、全122例の中で本薬が治療の始めから投与された頻度を各呼吸器感染症別にみると、それぞれ5.6%、16.7%、36.8%、65.7%、66.7%であった。カルバペネム薬による副作用は、皮疹が2例 (2.8%) に、臨床検査値異常では肝機能障害が12例 (16.7%) に認められた。

【結語】呼吸器感染症におけるカルバペネム薬3剤の使用状況と臨床効果について検討した。カルバペネム薬単独投与群と併用投与群の臨床効果についても比較検討し、報告する。

新規抗微生物薬の有効性判定基準に関する検討
川崎医科大学附属川崎病院呼吸器内科¹⁾、同附属病院呼吸器内科²⁾、川崎医療福祉大学³⁾

○中村淳一¹⁾、小橋吉博¹⁾、矢野達俊¹⁾、米山浩英¹⁾、狩野孝之¹⁾、大場秀夫¹⁾、藤田和恵¹⁾、沖本二郎¹⁾、松島敏春²⁾、副島林造³⁾

【目的】新規抗微生物薬の有効性を新旧の判定基準を用いて比較する。

【方法】平成元年から平成9年までの間に川崎医科大学附属川崎病院呼吸器内科において、新規抗微生物薬を使用した呼吸器感染症患者を対象とした。日本化学療法学会抗菌薬臨床評価法制定委員会呼吸器系委員会が作製した呼吸器感染症における新規抗微生物薬の臨床評価法 (案) に基づいて、急性上気道感染症群、肺炎、慢性肺疾患の急性増悪の各群それぞれについて、改めて臨床効果を有効、無効の2段階に判定し、従来の臨床効果と比較した。

【結果】試験抗菌薬は11種類であった。対象症例は172症例 (男性90症例、女性82症例) で、急性上気道感染症群は15症例 (男性9症例、女性6症例)、肺炎は119症例 (男性67症例、女性52症例)、慢性肺疾患の急性増悪は38症例 (男性14症例、女性24症例) であった。従来の著効例は急性上気道感染症群、肺炎、慢性肺疾患の急性増悪それぞれ5例、18例、3例であったが、新しい判定基準ではすべて有効であった。従来の有効例は急性上気道感染症群、肺炎、慢性肺疾患の急性増悪それぞれ9例、92例、31例であったが、新しい判定基準では同様にすべて有効であった。従来の無効例も同様に急性上気道感染症群、肺炎、慢性肺疾患の急性増悪それぞれ1例、6例、3例であったが、新しい判定基準では同様にすべて無効であった。やや有効例については、肺炎3例の内有効2例、無効1例で、慢性肺疾患の急性増悪1例は無効であった。したがって、有効率は従来の評価法での有効以上の有効率と新しい判定基準での有効率は等しかった。

【結論】我々の施設では新規抗微生物薬の臨床評価は従来の方法と呼吸器感染症における新規抗微生物薬の臨床評価法 (案) では差が認められなかった。

慢性下気道感染症に対するlevofloxacin
(LVFX)の1日1回投与の臨床的有用性の検討

岡山レボフロキサシン研究会

○河原 伸、多田教彦、渡辺洋一、佐藤利雄、
高橋 清

【目的】慢性下気道感染症に対するLVFXの1日1回投与の臨床的有用性について1日2回投与と比較検討した。

【対象と方法】慢性気管支炎の急性増悪、気管支拡張症、肺気腫、塵肺症、肺線維症、陳旧性肺結核の2次感染などの慢性下気道感染症患者を封筒法により無作為に2群に割り付け、1群にはLVFX 200mgを1日1回投与し(A群)、他の1群にはLVFX 100mgを1日2回投与した(B群)。平成7年4月から平成9年3月までに本研究に34例が登録されたが、肺炎であった1例を除き評価可能症例はA群15例、B群18例の計33例であった。A群は男性10例、女性5例、年齢は51~84歳(平均67.9歳)で、B群は男性15例、女性3例、年齢は43~83歳(平均66.6歳)であった。

【結果】有効以上の臨床的有効率はA群では86.7%、B群83.3%と両群間に有意差は認められなかった。また、喀痰中の菌消失率もA群80.0%、B群50.0%と差は認められなかった。副作用についてはA群15例、B群19例において評価したが、A群では嘔気・嘔吐、軽度のビリルビン値・BUNの上昇が1例に認められ投与を中止した。一方、B群ではHt・血清K値の低下が1例に、 γ -GTP・ALP・LAPの上昇が1例に、RBC・Hb・Htの減少ならびにGOTの上昇が1例に、下血が1例に認められ、下血をきたした症例は投与を中止した。

【結論】A群とB群に臨床的にも細菌学的にも同等の有効性が認められたことより、慢性下気道感染症の治療においてLVFXの1日1回投与法は、コンプライアンス、副作用、経済効果の面からも臨床的に有用な治療法であると考えられた。

ペンタミジン予防吸入中にカリニ肺炎を発症した
AIDS症例の検討

奈良県立医科大学第2内科

○古西 満、森 啓、善本英一郎、真島利区、
植田勝廣、寺本正治、坂本正洋、前田光一、三笠
桂一、澤木政好、成田亘啓

【目的】カリニ肺炎はHIV感染者に発症する肺感染症で最も頻度が高く、末梢血CD4陽性リンパ球数が200/ μ l未満の症例で発症率が高いことから、ST合剤やペンタミジン吸入による予防が行なわれている。しかしペンタミジン予防吸入中にはしばしばカリニ肺炎を発症することが報告されているので、今回ペンタミジン予防吸入中にカリニ肺炎を発症したAIDS症例で胸部画像所見を中心にその臨床像を明らかにする。

【対象・方法】対象はペンタミジン予防吸入中にカリニ肺炎を発症したAIDS症例6例(男性5例・女性1例、年齢22~47歳)であった。カリニ肺炎は3例が治療的診断、3例が気管支肺胞洗浄液塗抹グロコット染色標本で診断した。カリニ肺炎発症時の胸部X線写真と胸部CTの所見を中心に臨床像を解析した。

【結果】①ペンタミジン予防吸入期間は3~17カ月(平均8カ月)であった。②カリニ肺炎を発症・治療後に再発予防としてペンタミジン吸入を施行した(二次予防)症例は4例であった。③胸部画像所見は1例が両側気胸・胸膜直下ののう胞、1例が両側全肺野の間質性陰影、1例が両側下肺野優位な間質性陰影、1例が左側優位な間質性陰影と左側胸水、2例が両側上肺野優位な間質性陰影であった。④全例がST合剤内服またはペンタミジン点滴でカリニ肺炎は治癒した。

【結論】ペンタミジン予防吸入中にはしばしばカリニ肺炎を発症し、特に二次予防症例が多く、またその胸部画像所見も非特異的なことが多いので、临床上十分な注意が必要である。

HIV 感染侵淫地ウガンダにおける市中肺炎の
化学療法に関する研究
長崎大学熱帯医学研究所内科¹⁾、
ウガンダ、マケレレ大学医学部²⁾
○吉嶺裕之¹⁾、大石和徳¹⁾、渡辺貴和雄¹⁾、
天野秀明¹⁾、Roy Mugerwa²⁾、永武 毅¹⁾

【目的】我々はウガンダ共和国において市中肺炎 (Community-acquired pneumonia; CAP) の起炎菌に関する研究 (first step study) を実施し、ほとんどの起炎菌はペニシリン耐性を示していたことをすでに報告した。今回、CAP の起炎菌及びその薬剤感受性を検討し、CAP に対するampicillin (ABPC) を基本とする化学療法の臨床効果について評価した。

【方法】1996年11月から1998年3月までにマケレレ大学ムラゴ病院に入院し、急性肺炎を示唆する症状および胸部レントゲン所見を認めた患者を登録した。治療前に喀痰のグラム染色、血液寒天培地による定量培養、及び血液培養等を施行した。起炎菌については各種薬剤に対する薬剤感受性試験を行った。治療はABPC i.v. 1日2g 3日間投与、続いてAMPC p.o. 1日1.5g 4日間投与を基本とし、重症例では治療期間を延長した。とくに、*K. pneumoniae* ではGM、*M. catarrhalis* ではOFLXを併用した。

【結果】97年7月までに60症例が登録された。HIV-1抗体陽性者は47症例 (78.3%) であった。肺炎の起炎菌としては、*S. pneumoniae*、*S. aureus*、*M. catarrhalis*、*H. influenzae* の順に検出された。*H. influenzae* はβラクタマーゼ産生株が多かったが、ABPCには比較的低感受性であった。全症例に対するABPCを中心とした化学療法の有効率は74.5%であり、HIV-1抗体陽性者群では70%、HIV抗体陰性者群では100%であった。

【結論】first step study ではほとんどの起炎菌がペニシリン耐性であったが、今回も同様の結果であった。ABPCを中心とした化学療法は比較的高い有効性を示したが、HIV感染者では無効症例が認められた。その原因として、細胞性免疫能の低下、HIV以外の基礎疾患の存在、肺炎以外の日和見感染の関与等のほかに、ペニシリン耐性菌の関与などが考えられた。東アフリカにおけるCAP症例には高いHIV感染率が認められ、宿主状態、起炎菌に応じた化学療法の工夫が必要である。

呼吸器病棟における抗菌薬使用の実態

神奈川県立循環器呼吸器病センター 呼吸器科
○綿貫祐司、鈴木周雄、高橋宏、高橋健一、吉池保博、小倉高志、庄司晃、西山晴美、戸田万里子、小田切繁樹

【目的】昨年6月に日本化学療法学会より「呼吸器感染症における新規抗微生物薬の臨床評価法(案)」が報告され、新規抗菌薬の評価対象採用基準が示されたが、実際の診療現場では、感染症の有無判断が困難で、臨床効果が判定しにくい症例にも抗菌薬の投与が必要なことが多い。そこで、抗菌薬使用の実態を把握するため、呼吸器科の1病棟における入院患者の抗菌薬使用開始時の感染所見を、「同臨床評価法」の感染評価対象採用基準・重症度判定基準に照らしあわせて検討した。

【方法】平成9年4月及び12月に呼吸器科の1病棟 (44床) の入院患者を対象とした。抗菌薬使用開始時の体温・白血球数(分画)・CRP・胸部X線陰影・喀痰(性状・量)を「呼吸器感染症における新規抗微生物薬の臨床評価法(案)」の急性上気道感染症群、肺炎、慢性肺疾患の急性増悪における各々の評価対象採用基準に合致するか否かをretrospectiveに検討した。

【結果】症例数は130例で、50例に抗菌薬が投与されていた。疾患別の抗菌薬投与症例数/対象症例数は肺癌9/59、間質性肺炎7/17、気管支喘息3/13、肺炎・肺化膿症9/9、肺炎腫4/8、気管支拡張症2/5、DPB1/2等であった。抗菌薬開始時に感染所見を認めた症例は36例で、残りの14例はTBLB・VATS後の感染予防であった。感染予防例を除く36例のうち、新規抗微生物薬の臨床評価法の評価対象採用基準を満たした症例は14例(有効率86%)で、感染の程度がごく軽度で抗菌薬効果判定が困難な症例は8例で、残り14例は感染症自体の重症度が重症(2例:有効率50%)あるいは基礎疾患・合併症が重症(12例:有効率33%)で抗菌薬の効果が期待しにくい症例であった。

【結論】呼吸器病棟で抗菌薬使用症例(除、予防投与)の38.8%(14/36)は新規抗微生物薬の臨床評価法の評価対象採用基準を満たすが、基礎疾患・合併症が重症で治療薬が投与できない症例も同様に38.8%あるため、上市後の抗菌薬有効率の再評価は検討の余地がある。

薬剤性肺炎の病理組織学的検討

川崎医科大学呼吸器内科

○中島正光、渡辺信介、河端 聡、宮下修行、
玉田貞雄、吉田耕一郎、二木芳人、松島敏春

【目的】抗菌薬投与による薬剤性肺炎が診断されることは近年増加傾向にある。本症は感染症治療の目的で薬剤が使われたにもかかわらず、肺障害が引き起こし、時には致命的となることもある。しかし、本症の診断は未だ確立されたものはなく、まず疑うことが重要である。また、感染症、他の肺疾患との鑑別などを行う必要がある。そこで、我々は薬剤性肺炎における経気管支的肺生検 (TBLB) の病理組織像を検討し、本症診断における有用性を検討した。

【材料および方法】薬剤性肺炎の診断は服薬歴、臨床経過、DLST、感染症自体の否定などにより、診断でき、さらにTBLBがなされている8症例を対象とした。原因薬剤は抗菌薬によるものが4例、他の4例はいずれも漢方薬であった。TBLB組織を光学顕微鏡でHE染色、EVG染色を行い、肺における組織反応を観察した。

【結果】薬剤性肺炎の特徴はリンパ球性胞隔炎、肺胞Ⅱ型上皮の腫大増生、器質化肺炎、肉芽腫様病変、肺胞腔内にマクロファージの出現などが見られた。また、抗菌薬と漢方薬による薬剤性肺炎の組織像を比較すると、後者で比較的器質化肺炎が軽い傾向が認められた。

【考察】薬剤性肺炎を病理組織のみで診断することは困難であるが、感染症、他の病理学的に診断できる疾患の否定に有用であった。また、特徴的な病理像は臨床症状、経過、服薬歴、検査データなどと共に診断する上で重要な情報と考えられた。

Trovafloracin (CP-99,219) の
レジオネラに対する抗菌力の検討
琉球大学医学部第一内科○新垣紀子、比嘉 太、田場秀樹、新里 敬
宮良高維、仲本 敬、健山正男、小出道夫、
川上和義、草野展周、齋藤 厚

【目的】レジオネラは呼吸器感染症の重要な起因菌の一つであり欧米では市中肺炎の2~8%を占めると報告されている。本菌は細胞内寄生菌であるため、治療としては細胞内への移行性の高い薬剤を選択することが重要であり、通常、EMの静注に加えリファンピシン、テトラサイクリン系薬、ニューキノロン系薬が選択される。最近のニューキノロン系薬はEMより抗菌力が強く、細胞内移行も良好でレジオネラ症に優れた効果が示されている。今回我々は新規ニューキノロン系薬 Trovafloracin (CP-99,219) のレジオネラに対する抗菌力を他の薬剤と比較検討したので報告する。

【方法】MICは日本化学療法学会標準法に準じてMIC2000システムを用い微量液体希釈法で、レジオネラ標準株59菌種、レジオネラ臨床分離株22株を対象に各種抗菌薬 (Trovafloracin, LVFX, CPF, SPFX, EM) について測定した。さらに細胞内抗菌活性についても、*L.pneumophila* SG1 80-045 株を J774.1 マウスマクロファージ細胞株に感染させた系を用い、各種抗菌薬の菌増殖抑制効果および細胞障害性抑制効果を指標として、細胞内抗菌力の評価を行った。

【結果】レジオネラ標準株59菌種、臨床分離株22株に対するMIC₉₀ (ug/ml) は、Trovafloracin : 0.016、SPFX : 0.032、CPF : 0.032、LVFX : 0.063とTrovafloracinは他の3剤と比較し低値を示し、優れた抗菌力を示した。細胞内抗菌活性についてもTrovafloracinはCPF及びLVFXより強い抗菌活性を示し、SPFXとほぼ同等であった。さらにモルモットを用いたin vivoでの治療効果の成績も併せて報告する。

Legionella pneumophila の細胞内増殖に
対する抗菌薬の併用効果 (第2報)

琉球大学医学部第一内科

○比嘉 太、新里 敬、新垣紀子、宮良高維、
小出道夫、仲本 敦、健山正男、川上和義、
草野展周、斎藤 厚

【目的】レジオネラ肺炎は重症化する傾向が強く、その際に抗菌力の増強を目的として薬剤の併用投与が試みられることが多い。一方、レジオネラは通性細胞内増殖菌であり、本菌に対する抗菌の評価には通常のMICと共に抗菌薬の細胞内活性の測定が必須である。今回、私達はレジオネラの細胞内増殖に対する抗菌薬の併用効果を細胞障害性試験を応用した評価系を用いて測定したので報告する。

【方法】J774.1 細胞株を96穴マイクロプレートに培養し、これに*Legionella pneumophila* 臨床分離株を加えて、12時間培養した。細胞外を洗浄後、各種抗菌薬を加えた。各種抗菌薬の組み合わせはチェッカーボード法に準じて、マイクロプレートの各穴に添加した。72時間培養後にMTTを加え、J774.1 生存細胞数を吸光度計を用いて測定した。*Legionella* の細胞障害性を50%以上抑制する最小濃度をもって、各種薬剤の細胞内抗菌活性の指標 (MIEC) とした。細胞内抗菌活性における各種薬剤の協調効果は従来のFIC index の算定法に準じて検討した。

【結果および考察】*L. pneumophila* 臨床分離株 (80-045, 90-001, 91-003) の細胞内増殖に対するEM+RFP, EM+LVFX, EM+MINO, MINO+RFP, MINO+LVFX の併用時のFIC index はそれぞれ0.5~0.75, 1.0~2.0, 0.63~1.0, 0.63~0.75, 1.0~2.0であった。通常のMIC測定法におけるFIC index との比較ではEM+RFPは細胞内の方がより低いFIC indexを示す傾向にあった。

細胞内と細胞外における各薬剤の相互作用は若干異なる可能性も示唆され、さらに検討を加える予定である。

Legionella 属菌の各種抗菌薬に対する薬剤感受性の
検討

聖マリアンナ医科大学微生物学教室

○竹村 弘、山本啓之、池島秀明、國島広之、
石田一雄、金光敏二、賀来清夫、嶋田甚五郎

【目的】*Legionella* 属菌は呼吸器感染症の重要な起炎菌の一つであるが、わが国では、臨床材料より菌が分離培養された例は少なく、その大半が*L. pneumophila* の血清型1であるが、*L. pneumophila* の血清型2~6、*L. dumoffii*、*L. bozemanii*、*L. micdadei* 等の臨床分離例も散見される。今回、我々はこれらの*Legionella* 属菌の各種抗菌薬に対する薬剤感受性を微量液体希釈法を用いて検討した。

【方法】供試菌株は*L. pneumophila* の血清型1~6、*L. dumoffii*、*L. bozemanii*、*L. micdadei*、*L. gormanii*、*L. jordanii* の標準菌株と臨床分離株で、それらに対するマクロライド薬のerythromycin (EM)、clarithromycin (CAM)、azithromycin (AZM)、ニューキノロン薬のciprofloxacin (CPFX)、levofloxacin (LVFX)、grepafloxacin (GFPX)、およびclindamycin (CLDM)、rifampicin (RFP)のMICを、BYE- α 液体培地を用いた微量液体希釈法で測定した。また、このMIC判定用プレートより培養液の一部を採り、BCYE- α 寒天培地上に接種し、MBCを測定した。

【結果及び考察】マクロライド薬では、MICの値は、EM 0.25-2 μ g/ml、CAM 0.03-0.5 μ g/ml、AZM 0.06-1 μ g/mlで、3薬剤ともに*L. dumoffii*、*L. micdadei* に対するMICが比較的高い値であった。一方、CLDMは16-32 μ g/mlという高いMICを示した。ニューキノロン薬では、MICの値は、0.008-0.125 μ g/mlで、薬剤および菌種による差はあまり見られなかった。RFPは、 \leq 0.001-0.032 μ g/mlという低いMICを示した。EM、CAM、AZM、CLDMではMBCの値とMICの値の間に開きがみられた。一般に、*Legionella* 属菌は細胞内寄生細菌なので、実際の臨床的有用性の判断には、このような微量液体希釈法で測定したMICによる評価とともに、細胞内での菌の増殖抑制効果も併せて検討する必要がある、現在検討中である。

会員外協力者：寺久保繁美

Cefcapene の *S. pneumoniae* および *H. influenzae* に対する *in vitro* 殺菌力について

塩野義製薬創薬第二研究所 抗菌Ⅱ研究部門

○吉田 勇、西村 欣也、佐々木 繁

【目的】新規経口セフェム系抗生物質として発売された Cefcapene (CFPN) の *in vitro* 殺菌力について、PISP, PRSP を含む *S. pneumoniae* および *H. influenzae* に対して検討したので報告する。

【方法】対数増殖期の *S. pneumoniae* および *H. influenzae* に対し、HSA 無添加培地と 4.5% HSA 添加培地の両方で CFPN の一定濃度作用および auto-simulation 装置(シオノギ)を利用した CFPN のヒト血中濃度に simulate した時の殺菌作用について検討した。検討に用いた培地としては、*S. pneumoniae* では 5% 馬溶血液添加 CAMHB を、*H. influenzae* では CAHTM (Haemophilus Testing medium) 培地を使用した。

【結果】1996 年臨床分離株に対する感受性測定結果では PSSP, PISP, PRSP および *H. influenzae* に対して CFPN は優れた抗菌力を示した。

一定濃度殺菌作用においては、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* 両菌種に対する作用は同様であり、CFPN の殺菌力は 1MIC 濃度作用において、HSA 無添加に比べて 4.5% HSA を添加した培地中においては若干殺菌力が劣る程度であった。しかし、それ以上の濃度では HSA の有無に影響されず全く同様の優れた短時間殺菌作用を示した。すなわち 10^6 CFU/ml の菌量が *S. pneumoniae* では 6 時間後に約 10^4 CFU/ml レベルに、*H. influenzae* では 24 時間で検出限界以下に殺菌されていた。

CFPN の血中濃度に simulate した時の殺菌作用においては、PRSP に対しては 4.5% HSA を添加した培地中においては添加していない時に比較して短時間の殺菌力が若干低下していたが、その後は同等の殺菌曲線を示した。*H. influenzae* に対しては HSA の添加の有無に左右されず強力な短時間殺菌力を示し、 10^6 CFU/ml の菌が 8~10 時間後には検出限界以下になった。

【考察】CFPN は PRSP を含む *S. pneumoniae* および *H. influenzae* に対して優れた短時間殺菌作用を示し、これらの菌による感染症治療に有用である事を示唆する結果であった。以上の検討項目について cefditoren および faropenem 等との比較した結果についても報告する予定である。

小児より分離された *H. influenzae* に対する薬剤感受性の検討

久留米大学医学部小児科¹⁾、ゆうかり学園²⁾

○松尾勇作¹⁾、赤須裕子¹⁾、池澤 滋¹⁾、

長井健祐¹⁾、津村直幹¹⁾、山田 孝¹⁾、

織田慶子¹⁾、阪田保隆¹⁾、加藤裕久¹⁾、

本廣 孝²⁾

【目的】*H. influenzae* は小児期における細菌感染症の主要な起炎菌である。最近の分離株の抗菌薬に対する薬剤感受性試験を行い、選択薬剤を検討した。

【対象】最近 2 年間(1996 年~97 年)に当科および関連施設で主に気道より分離された *H. influenzae* 89 株、および過去 10 年間に当科において血液および髄液から分離された 11 株の計 100 株。

【方法】MIC 測定は日本化学療法学会標準法に準じて寒天平板希釈法で行なった。検討薬剤は ABPC, SBTPC, TAZ/PIPC, CCL, CTM, FMOX, CTX, CTRX, CPR, CPDX, CDTR, CFPN, IPM, PAMP, MEPM, BIPM, FRPM, AZT, CP, CAM, AZM, NFLX の 22 薬剤。

【結果】各抗菌薬の MIC₅₀ および MIC₉₀ (μg/ml) は ABPC(0.39, 1.56), SBTPC(0.78, 1.56), TAZ/PIPC(0.025, 0.2), CCL(6.25, 50), CTM(1.56, 12.5), FMOX(0.78, 3.13), CTX(0.025, 0.1), CTRX(0.025, 0.025), CPR(0.05, 0.2), CPDX(0.1, 0.39), CDTR(0.025, 0.05), CFPN(0.025, 0.2), IPM(0.78, 1.56), PAMP(0.39, 1.56), MEPM(0.05, 0.2), BIPM(0.39, 3.13), FRPM(0.39, 1.56), AZT(0.05, 0.39), CP(0.78, 0.78), CAM(12.5, 12.5), AZM(1.56, 3.13), NFLX(0.05, 0.1) であった。ABPC の MIC が 3.13 μg/ml 以上の株は 7 株(7%) であった。全薬剤のなかで CTRX が最も良好な MIC を示した。カルバペネムでは MEPM のみ全株感性、今回検討した経口抗菌薬では CDTR が最も良好であった。

【考察】ABPC 耐性株の増加傾向はみられず、経口薬では、CDTR, CFPN の抗菌力が良好で、小児期の *H. influenzae* による重症感染症に対しては CTRX, CTX が第 1 選択薬と考えられる。

最近における *H. influenzae* 菌の耐性化傾向について
 —— 検査室の立場から ——

BLNAR 研究会

神奈川県衛生看護専門学校付属病院

○高橋孝行、辻原佳人、松本文夫

明治製薬薬品総合研究所 原 哲郎

【目的】

学会等の発表で ABPC 耐性インフルエンザ菌が、 β -ラクタマーゼ産生のもの、 β -lactamase Negative *Haemophilus influenzae*(BLNAR) のものが、それぞれ 20% 前後あるといわれている。そこで一般医療機関と病院分離菌の耐性率の状況を調査するとともに、経口用 β -ラクタム薬の抗菌力を測定したので報告する。

【材料および方法】

菌 株：各種臨床材料より分離された *H. influenzae*

収集期間：1997 年 12 月 11 日～1998 年 1 月 20 日

使用薬剤：ampicillin(ABPC), cefaclor(CCL), cefotiam(CTM)

cefteram(CFTM), cefpodoxime(CPDX), cefdinir(CFDN)

cefditoren(CDTR), cefcapene(CFPN), faropenem(FRPM)

MIC 測定：化療標準法による寒天平板希釈法

10⁸CFU/ml, 35℃, 18hs

β ラクタマーゼ測定：ニトロセフィン法

【結果】

収集した *H. influenzae* 145 株の内訳はアンピシリン感性菌 108 株(74.5%)、 β -ラクタマーゼ産生菌 23 株(15.9%)、BLNAR 14 株(9.7%)であった。MIC の測定では病院よりの株 115 株において図に示すように、セフトレンの抗菌力が非常に優れ、次いでセフトラムであった。

Drug	Range	50	90
CCL	0.78～50	1.56	12.5
CTM	0.20～25	0.39	3.13
CFTM	≤ 0.003～0.78	0.013	0.05
CPDX	0.013～3.13	0.05	0.39
CFDN	0.10～6.25	0.20	0.78
CDTR	≤ 0.003～0.20	0.013	0.05
CFPN	≤ 0.003～3.13	0.013	0.20
FRPM	0.05～6.25	0.39	3.13

(μg/ml)

【参加施設】

国際親善総合病院	志村 等
済生会横浜市南部病院	高橋貞嗣
横浜国立市民病院	蜂谷かつ子
横浜労災病院	高橋重夫
保健科学研究所	原田雅明

反復性中耳炎患者におけるインフルエンザ菌外膜蛋白特異的免疫応答の検討

1和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科

2Wyeth-Arerst Laboratories, USA

○島田純¹ 保富宗城¹ 鈴木正樹¹ 山中昇¹

Bruce Green²

(目的) 急性中耳炎には、小児の約40～70%が2歳までに少なくとも1回罹患するとされ、3歳までに約40%の小児が3回以上の中耳炎を反復するとされる。この中耳炎の反復の要因としては、宿主の免疫能が重要となる。中耳炎の起炎菌としては *S. pneumoniae* *H. influenzae* (NTHI)、*M. catarrhalis* が高頻度に検出されている。NTHIの外膜蛋白は細菌と外界との接触面として重要な役割を担っており、約20種の蛋白より構成されている。このうちP1～P6が主要蛋白と考えられており、中でもP4およびP6はNTHIおよびHiのすべての分離株に認められる共通抗原である。今回我々は反復性中耳炎発症機序を検討する目的で反復性中耳炎患児における *H. influenzae* 外膜蛋白P4およびP6特異的免疫応答の検討を行った。

(方法) 反復性中耳炎患児26名について血清中総2抗体、抗 *H. influenzae* 外膜蛋白P4およびP6特異的IgGの検討を行った。

(結果) 血清中総IgG2が正常であるのに対しP6特異的IgGが低い例は、57%に存在した。一方P4特異的抗体価は正常を示す例が多く存在した。

(考察) 反復性中耳炎患児においては血清中IgG2が正常であっても、抗 *H. influenzae* 外膜蛋白P6特異的抗体が低値を示す症例が多く、IgGサブクラスの検索のみでなく特異的抗体の測定が必要であると考えられた。またP6特異的抗体が低値を示す一方でP4特異的が正常である例が多く、外膜蛋白P6の抗原認識がなされない可能性が考えられ、反復性中耳炎の病態には *H. influenzae* 外膜蛋白P6を介する免疫応答が深く関与することが示唆された。

MIC-2000とVITEKによる

薬剤感受性試験の比較検討

長崎大学医学部附属病院検査部○松田淳一、
餅田親子、伊折文秋、泉川公一、山口敏行、
平瀧洋一、上平 憲 同 第二内科
朝野和典、前崎繁文、田代隆良、河野 茂

【目的】抗菌薬の最小発育阻止濃度(MIC)の測定は、菌の発育に伴う比濁法が一般的であるが、菌の増殖曲線のハートンにより数時間でMIC値を算出する全自動薬剤感受性装置(bioMerieux-Vitek社)が開発されたのでその精度について検討した。

【対象及び方法】供試菌株は、長崎大学医学部附属病院で分離されたグラム陽性球菌11菌種110株、グラム陰性桿菌10菌種100株を用い、VITEK薬剤感受性カードと日本化学療法学会標準法に準ずるMIC-2000感受性プレート(栄研化学)により、oxacillin, piperacillin, ampicillin, ampicillin-sulbactam, cefazolin, cefotaxime, ceftazidime, cefmetazole, cefaclor, latamoxef, imipenem, aztreonam, amikacin, gentamicin, erythromycin, clindamycin, chloramphenicol, minocycline, vancomycin, fosfomycin, ofloxacin, sulfamethoxazole-trimethoprimの22薬剤のMICを測定し、NCCLSのプレテストカテゴリーによりS(susceptible)、I(intermediate)、R(resistant)に分別した。

【結果及び考察】グラム陽性球菌では、VITEK試験結果とMIC-2000試験結果の一致率は、82.1%であり、Very Major Error(MIC-2000試験結果がR、VITEK試験結果S)の発生率は0.6%と低値を示したものの、Major Error(MIC-2000試験結果がS、VITEK試験結果R)の発生率は9.8%とやや高い傾向を示した。その原因は、VITEK試験の場合、βラクタマーゼ陽性に基づきpiperacillinとampicillinは耐性、oxacillinが耐性であればpiperacillin, ampicillin, cefaclor, cefazolin, cefmetazole, imipenemは耐性と直接入力されるため、個々のデータと実測値が異なったためと考えられた。一方グラム陰性桿菌については、一致率が85.0%、Very Major Error 1.2%、Major Error 3.5%と良好な成績を示した。従って、VITEKの成績は、Very Major Errorの発生率が全体で0.9%以下と低く、かつ迅速性に優れている点で、日常細菌検査として有用であると思われる。

酸素電極を用いた細菌薬剤感受性検査法の開発

(第5報)

東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座
○奥村千晶、樋谷恵美、河野 縁、保科定頼、
町田勝彦

【目的】細菌の迅速薬剤感受性測定法の開発を電極式溶存酸素濃度測定装置を用いた方法で行っているが、今回は従来の微量液体希釈法のMIC値(Growth minimum inhibition concentration-GMIC)とよく一致するような呼吸阻害濃度(Respiration minimum inhibition concentration-RMIC)を得るため、接種菌濃度を微量液体法に合わせて行った。

【方法】使用菌株はATCC由来の基準株、*E. coli*, *P. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. faecalis*を用いた。使用薬剤はABPC, PIPC, AZT, CPZ, CFS, LMOX, GM, MINO, FOM, OFLXとPCG, CMZ, CTM, IPM, MINO, EM, CLDM, FOM, OFLX, ST, VCMの組み合わせで行った。BHI寒天培地で一夜培養した基準株をMcF0.5とMcF5に調整し、感受性ブイヨン培地でcfuが 10^5 /ml, 10^6 /mlになるように菌液を作製した。電極式溶存酸素測定装置(DOX-10)を用い、溶存酸素が0になる部位の酸素濃度直線の傾きが、抗生剤を加えない菌液コントロールの傾きの50%以下に抑制された濃度を呼吸阻害濃度としMIC値を求めた。

【結果】微量液体希釈法によるGMIC値と電極法RMIC値を比較すると接種菌量 10^5 /mlの場合、各基準株の各薬剤に対する測定結果は、陰性桿菌では全体の65%の組み合わせで、1管差内で一致した。陽性球菌では73%が1管差内に入ったことから、両法によるMIC値は一致するものと考えられた。所要時間は4~5時間であった。接種菌量 10^6 /mlの場合、一致率は50%と80%であり3~4時間で測定可能であった。今後、菌量を増量して迅速化を計ることと、酸素消費曲線の初速度からMIC値を求めることを検討していきたい。

ATP 法の迅速薬剤感受性試験への応用
 (その4) 臨床分離 *H.influenzae* および
P.aeruginosa を用いた実用性の評価

(株) ビー・エム・エル¹⁾
 キッコーマン(株) 研究本部²⁾
 千葉大・薬・微生物薬品化学³⁾
 ○霜島正浩¹⁾、由川英二¹⁾、水岡慶二¹⁾、
 服部憲晃²⁾、村上成治²⁾、
 小原康治³⁾、澤井哲夫³⁾

[目的] 我々は ATP 法の迅速性に着目し、臨床分離株による従来法との相関から実用性の評価を進めている。昨年の本大会において *E.coli* および *S.aureus* で良好な結果が得られたことを報告した。今回は、*H.influenzae* および *P.aeruginosa* を検査対象とした結果を報告する。

[方法] 使用菌株：臨床分離 *H.influenzae* 20 株および *P.aeruginosa* 20 株。薬剤(治療略号)：ABPC, CCL, CEZ, IPM/CS, FOM, AMK, MINO, OFLX。微量液体希釈法：日本化学療法学会標準法。ATP 法：微量液体希釈法に準じて白色の 96 穴マイクロプレート中の 100 μ l の培地で菌を 3 時間培養後、50 μ l の Filamentous cell treatment (0.5% 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol, 0.3 U/ml adenosine phosphate deaminase, 5 mM EDTA, 25 mM Tricine (pH 7.75)) を添加し 30 分室温放置、50 μ l の ATP 抽出試薬 (0.2% 塩化ベンザルコニウム) を添加、更に発光試薬 50 μ l を添加し発光量を ML-3000 で測定。感受性成績は昭和ディスクの濃度設定に準じて 4 段階 (-~3+) で判定、2 方法による判定結果を比較した。完全な判定結果の一致を Perfect Agreement (PA)、1 ランク差を Essential Agreement (EA) とし集計した。

[結果及び考察] *H.influenzae* の全薬剤に対する平均一致率は、PA 判定で 78.1%、EA 判定で 95.0% であった。*P.aeruginosa* は PA 判定で 58.8% と低かったが、EA 判定では 90.6% であり、相対的に優れた相関性が得られた。PA 判定で低い一致率が得られた検査結果も、EA 判定ではほとんどが 90% 以上の一致となり、実用上不足ない範囲で一致した。今後は更に幅広い菌種、薬剤を対象として ATP 法の評価を進め、実用化をふまえてその信頼性を検討していきたい。

ATP 法の迅速薬剤感受性試験への応用
 (その5) MIC 測定とその再現性の検討

キッコーマン(株) 研究本部¹⁾
 千葉大・薬・微生物薬品化学²⁾
 ○服部憲晃¹⁾、村上成治¹⁾、
 小原康治²⁾、澤井哲夫²⁾

[目的] 我々は 3 時間の培養で薬剤感受性が判定できる改良 ATP 法を開発し、昨年の本大会においてカテゴリー判定レベルで現行法と優れた相関が得られることを報告した。今回は本測定法を MIC 値の測定に応用し、測定精度および信頼性を詳細に検討したので報告する。

[方法] 菌株：*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *P. mirabilis* IFO 3849, *E. cloacae* IFO 13535, *P. aeruginosa* ATCC 27853。薬剤(治療略号)：ASPC, PIPC, IPM/CS, MINO, EM, CP, ST, CEZ。寒天平板希釈法および微量液体希釈法：日本化学療法学会標準法。ATP 法：微量液体希釈法に準じて白色の 96 穴マイクロプレート中の 100 μ l の培地で菌を 3 時間培養後、50 μ l の Filamentous cell treatment (0.5% 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol, 0.3 U/ml adenosine phosphate deaminase, 5 mM EDTA, 25 mM Tricine (pH 7.75)) を添加し 30 分室温放置、50 μ l の ATP 抽出試薬 (0.2% 塩化ベンザルコニウム) を添加、更に発光試薬 50 μ l を添加し発光量を ML-3000 で測定。薬剤含有 (A) および不含の発光量 (B) から ATP インデックス (A/Bx100 (%)) を求め、感受性と判定された最小濃度をその薬剤に対する MIC 値とした。

[結果及び考察] 4 日間にわたって日差再現性を検討した結果、ATP 法および微量液体希釈法による MIC 値の変動は 1 管差に納まった。これに対し、寒天平板希釈法による MIC 値には 3 管程度のばらつきが認められた。ATP 法と微量液体希釈法を相関性を検討するにあたり、測定誤差を考慮して 1 管差までを Perfect Agreement (PA)、2 管差までを Essential Agreement (EA) とし集計した。全 32 測定中 PA 判定では 25 測定 (78.1%)、EA 判定では 27 測定 (84.4%) で一致を見た。以上より、ATP 法は MIC 値の測定にも十分に適用可能であり、その高い信頼性が示された。

軽度腎不全ラットにおけるカルバペネム系
抗菌剤とセフェム系抗菌剤の体内動態
国立療養所箱根病院 泌尿器科

○原島康壽

東海大学病院大学病院 泌尿器科

渡辺 聡 木下英親 河村信夫

【目的】加齢等による軽度腎機能低下状態を想定しア
デニンによる軽度腎不全ラットを用いてセフェム系抗
菌剤とカルバペネム系抗菌剤の体内動態について調べ
た。

【対象及び方法】白色ラット140~200g雄性を使用し
0.5%のアデニンを添加した餌を4週間与えCr値1.9~
2.1mg/mlの軽度腎不全状態とした。これに各種抗菌剤
の腹腔内投与を行い正常対照と比較した。血清、尿、
肺、肝、腎、精巣、精巣上体における各種抗菌剤の組
織内濃度の変化を時間を追って測定した。今回、セフ
テム系抗菌剤としてはCefozopran及びCefamandole、
Cefocells、Cefpirome又、カルバペネム系抗菌剤とし
てMeropenemuを用いて実験を行った。

【結果】正常対照に比べアデニン食により軽度腎不全
状態となったラットにおける抗菌剤の濃度は各臓器に
おいて著明に上昇し、正常ラットとの格差は著しいも
のであった。特にセフェム系抗菌剤Cefozopran及び
Cefpiromeにおいては投与後長時間にわたり各組織内
に高濃度に認められている。又、Meropenemuでは投
与後1時間では明かな格差が有るものの6時間値からは
どちらも測定限界以下となった。

【考察】今回はセフェム系抗菌剤四種及びカルバペ
ネム系抗菌剤一種において比較したが、セフェムやカル
バペネム系抗菌剤の様に腎排泄が主である薬剤では比
較的軽度の腎機能低下であってもその影響を受けやす
い事が認められた。又、腎不全状態における組織内か
らの排出速度は各抗菌剤によって差が存在し高齢者等
の軽度腎機能低下患者への投与にはこれらに対する注
意が必要だと考えられた。

グルクロン酸抱合代謝型薬物に対する
パニペネムの影響

三共(株)分析代謝研究所

○井村 薫、山村直敏、長沼英夫

【目的】抗てんかん薬のバルプロ酸(VPA)は、カルバ
ペネム系抗生物質カルベニンの併用により体内消失が
促進し、その原因として薬効本体のパニペネム
(PAPM)が肝臓におけるVPAのグルクロン酸抱合代
謝を亢進することを明らかにした。今回、アセトアミノ
フェン(AA)に代表されるグルクロン酸抱合を代謝経
路とするVPA以外の薬物の体内動態に対するPAPMの
影響を検討したので報告する。

【方法】AA 20mg/kgまたはサリチル酸ナトリウム(SA-
Na) 50mg/kgをビーグル犬に静脈内投与した。また
PAPMは50mg/kgの投与量でAAまたはSA-Naと同時
に静脈内投与した。投与後6時間まで経時的に採血し、
血漿中AAまたはサリチル酸(SA)濃度を測定した。
同様にこれらのグルクロン酸抱合体(AA-Gluおよび
SA-Glu)についても検討した。

【結果】イヌにおけるAAおよびSAの薬物速度論的パ
ラメーター(AUCおよびt1/2)は、PAPMによる影響
を受けなかった。またAA-GluおよびSA-GluのAUCも
PAPMの併用によって変化しなかった。

【考察】PAPMによる影響は、消失過程におけるグルク
ロン酸抱合の寄与によって異なることが示唆された。今
後、主たる代謝経路がグルクロン酸抱合で、治療有効域
の狭い薬物についても検討し、カルバペネム剤との相互
作用の可能性について明確にする。

Fosfomycin (FOM) 経口投与時の生体内薬物動態
—腸管および腎組織内での組織形態学的検討—

- 1) 東北大学大学院医学系研究科 病理学講座
病理形態学分野
- 2) 明治製菓株式会社 薬物動態研究所
○安藤紀昭¹⁾、笹野公伸¹⁾、松元隆²⁾、三宮奈由²⁾、
名倉 宏¹⁾

【目的】 Fosfomycin(FOM) は抗菌活性以外にも抗炎症作用や免疫系への関与など種々な薬理作用を有することが示唆されている。しかし薬物動態の組織細胞レベルでの詳細な報告は少ない。そこで、FOM の生体内動態を解明することを目的として、FOM経口投与時のラット腸管組織および腎組織における³H-FOMの分布を経時的にautoradiographyにより検索した。

【材料および方法】 Sprague-Dawley 系雄ラット(8週齢)に³H-FOMを20mg/kg, 5ml/kg (400 μ ci/kg, 14.8MBq/kg)を経口投与後、0,15,30,60分後に腸管組織および腎組織を摘出しホルマリン溶液に固定した。パラフィン包埋組織切片を作製後、組織切片に乳剤を塗布し3週および6週後に現像し顕微鏡下に観察した。

【結果および考察】 腸管組織において、³H-FOM は上皮細胞表層、上皮細胞内、粘膜固有層の脈管内、筋層および漿膜内の脈管内に観察された。さらに固有層のマクロファージの胞体内にも認められた。³H-FOMの腸管内への取り込みは形態学的に投与後30分が最大であった。腎組織では近位尿管上皮細胞内にみられた。FOMは経口投与時に腸管から速やかに吸収され、脈管を介して各臓器に移行し、薬理作用を発現することが示唆された。また、マクロファージの胞体内にも観察されることから、免疫担当細胞への関与も推察された。

Levofloxacin (LVFX) の胆嚢組織内移行性の検討

- 新小倉病院内科¹⁾、外科²⁾
○野村秀幸¹⁾、堤 宣翁²⁾

【目的】 Levofloxacin (以下LVFX) は、強い抗菌活性と広い抗菌スペクトラムを有する経口のニューキノロン剤である。今回我々はLVFXの胆嚢組織内濃度を測定し、LVFXの胆嚢組織内移行性について検討を行ったので報告する。

【対象および方法】 対象は、新小倉病院で平成9年7月から11月までに、胆石または胆嚢ポリープで胆嚢摘出術をうけた34例とした。男性19例、女性15例であった。年齢は、24歳から90歳までで、平均年齢は、57.5歳であった。患者へは、手術前に本検討について十分なインフォームドコンセントを行い承諾を得た。

手術日の朝1回、LVFX 300mgを経口投与し、投与3時間後および胆嚢摘出時に採血した。血清分離後-20℃で保存し、後日血中のLVFX濃度を測定した。LVFX投与後約5～6時間以内に胆嚢を摘出した。胆嚢組織および胆汁を採取後、-20℃で保存し、後日胆嚢組織内および胆汁中のLVFX濃度を測定した。LVFX濃度測定は、高速液体クロマトグラフィー法で行った。

【結果】 LVFX投与3時間後の血中濃度は、3.66 μ g/mlで、5～6時間後の濃度は、2.93 μ g/mlと低下していた。胆嚢組織内濃度は23.24 μ g/g、胆汁中濃度は22.17 μ g/mlであった。胆嚢組織内および胆汁中のLVFX濃度は、投与3時間後の血中濃度の約6倍以上の高い成績であった。

【結論】 LVFXの胆嚢組織内および胆汁中濃度は高く、LVFXは良好な胆嚢組織内移行を示し、細菌性胆嚢炎に対して治療効果が期待されることが示唆された。

福岡大学病院における腸球菌菌血症例の検討

福岡大学病院臨床検査部 ○高田 徹
九州大学医療技術短期大学部 澤江義郎

【目的】近年VCM耐性腸球菌の出現が欧米を中心として臨床問題となっている。今回福岡大学病院における腸球菌菌血症について臨床的背景、分離菌の薬剤感受性について検討を加え報告する。

【方法】1981-1988年の間に当院検査部において血液培養より検出された腸球菌菌血症例83例(男性59例、女性24例)、計88株(*E. faecalis* 46株、*E. faecium* 25株、*E. avium* 8株、*E. casseliflavus* 2株、その他7株)を対象とした。薬剤感受性は日本化学療法学会標準法微量液体希釈法により、ABPC、CEZ、IPM、MEPM、OFLX、GM、ABK、CLDM、ST、MINO、VCM、RFPの12種類の抗菌薬について検討した。

【結果】単独菌感染が69例、複数菌感染が14例であり、基礎疾患は悪性血液疾患(19例)、肝胆道系疾患(14例)、消化管疾患(14例)などであった。72例で分離前に抗菌薬の前投与がなされていた。VCMのMICはすべて4μg/ml以下で、耐性株は認めなかった。*E. faecalis* 1株、*E. faecium* 7株、*E. avium* 2株はVCMのみ感受性であった。予後は1ヵ月以内の死亡例34例、軽快49例であった。今回の検索ではVCM耐性菌は認めなかったが、VCMの使用が増加してきている現在、今後も厳重な監視が必要である。なお、*vanA*、*vanB*遺伝子の検索も併せて報告する。

(会員外共同研究者；福岡大学病院臨床検査部
村上紀之、恵良文義、小野順子)

組織酸素代謝からみた重症グラム陰性菌感染症
に対するエンドトキシン吸着療法の評価

大阪府三島救命救急センター
○浜口伊久夫、秋元寛、小林正直、富士原彰

【目的】胃粘膜内pH(pHi)は、sepsis症例においてエンドトキシン(Et)刺激等による炎症性メディエーター活性化の結果としての組織酸素代謝障害を反映する簡便な指標として、救急集中治療領域で有用とされている。今回、Et吸着療法(PMX)施行症例においてpHiからみたPMXの効果とその病態とを評価した。【対象】1994年～97年にグラム陰性菌感染症(大腸穿孔等)でSIRSのsevere sepsisまたはMODSに合致し、PMXを行った30例。64±14歳、男26/女4例、生存17/死亡13例。【方法】PMX施行前後にEt、pHi、血管内皮活性化指標のPAI-1、血管内皮障害指標のトロンボモデュリン(TM)、IL-6を測定し、以下を検討した。

【結果】[1] pHiからみた、特に重症腹膜炎に対するPMXの評価：術後pHiが良好でPMX非施行の7例(全例severe sepsis)では、pHiはその後悪化せずEtも低値で全例救命した。術後pHiが低下しPMX施行後pHi改善の16例(severe sepsis8/MODS8例)では、Etも低下し救命率81%であったが、PMX施行後もpHi非改善の5例(全例MODS)ではEtは低下したものの全例死亡した。[2] pHiからみたPMX効果の病態：PMX施行前値でIL-6とpHiとは負に相関し、PMX施行前後でIL-6は有意に低下した。またpHiが低値時に、nonMODS症例ではPAI-1は高値でTMは低値であったが、MODS症例ではいずれも高値であった。【考察】sepsis症例では炎症性メディエーター活性化が結果として組織酸素代謝に影響し、PMXは間接的に炎症性メディエーター活性化を抑えることで組織酸素代謝障害を改善すると考えられた。しかしPMXが奏功しない症例の病態として、nonMODS症例では、まだ障害には至らない可逆的な血管内皮活性化でpHiが低下しPMXが奏功しやすいが、MODS症例では、すでに不可逆的な血管内皮障害に陥りpHiが低下しPMXが奏功しにくいと考えられた。【結論】重症グラム陰性菌感染症で、pHi良好症例ではPMXは必要ないが、pHi低下症例では、臓器障害が進展する前に早期にPMXを施行することがMODS対策として有用である。

血液から *Bacteroides* 属が検出された 9 症例の臨床的検討

日本大学医学部第三外科

○加藤高明、佐藤 毅、古畑 久、大塚一秀、中川良英、加藤るな、伊藤裕美子、牛尾真由美、岩井重富

〔目的〕 *Bacteroides* spp. が血液より検出された症例を対象に臨床的に検討し、報告する。

〔対象および方法〕 1989年1月より1996年12月までの8年間に日本大学板橋病院第三外科病棟において血液より菌が検出された症例は251例(279菌株)で、このうち嫌気性菌が検出された症例は12例(4.8%)であった。12例中9例に *Bacteroides* spp. が検出され、この9例において基礎疾患および背景因子、併存感染症、臨床像などについて検討を行った。

〔結果〕 症例は36歳~79歳(平均60.2歳)、男性6例、女性3例で、内訳は悪性腫瘍再発3例、準無菌手術2例、汚染手術4例であった。悪性腫瘍再発3例のうち2例は局所再発部に膿瘍を形成し、うち1例は膿から *Bacteroides* spp.、*S. constellatus*、血液から *Staphylococcus coagulase*(-)、*B. caccae* が検出された。1例は膿および血液から *P. aeruginosa* と *B. fragilis* が検出された。癌性腹膜炎を合併した他1例は血液から *B. fragilis* が検出された。準無菌手術に併発した感染症は左横隔膜下膿瘍と腎部膿瘍で、膿から *Bacteroides* spp.、*K. pneumoniae*、MRSA など複数菌が検出され、両症例とも血液より *B. thetaiotaomicron* が検出された。汚染手術4例のうち開腹症例は急性虫垂炎2例、S状結腸穿孔例1例で、前者では血液よりそれぞれ *B. thetaiotaomicron*、*B. fragilis* が検出され、後者ではドレーン排液および血液より *B. thetaiotaomicron* が検出された。その他1例は壊疽性筋膜炎で血液より *B. thetaiotaomicron*、*B. distasonis*、*C. albicans* が検出された。以上、血液から *B. thetaiotaomicron* 5株、*B. fragilis* 3株、*B. distasonis* 1株、*B. caccae* 1株が検出され、単独菌検出例6例、複数菌検出例3例であった。

血液疾患患者に伴う感染症に対する

Imipenem/Cilastatin と他の β -lactam 系抗生剤の有用性と費用効果性の検討

近畿造血管器感染症研究会

○長谷川廣文、鎌江伊三夫、手島博文、田嶋政郎、大熊 稔、堀内 篤、永井清保、内野治人、正岡 徹

(目的) 血液疾患患者に合併する感染症の初回治療として、Imipenem/Cilastatin(IPM/CS)と他の β -lactam 系抗生剤(カルバペネム系抗生剤以外)の有用性及び費用効果性についてプロスペクティブに比較検討した。

(対象及び方法) 1995.11月~1997.3月までに、21施設22科に入院加療した血液疾患に合併した感染症129例を対象に、封筒法によるIPM/CS群(66例)と、他の β -lactam 群(63例)(以下 β -lactam 群)の二群の無作為割付けを行った。平均年齢はIPM/CS群49.3±17.2歳、 β -lactam 群51.5±16.0歳であり、両群間の症例背景に有意な差は認められなかった。感染症の内訳では、敗血症・敗血症疑いがIPM/CS群48例、 β -lactam 群50例で、約8割を占めた。臨床効果、感染症治療日の判定は、主に熱型の変動に基づき効果判定会議にて行った。また、両群とも感染症治療に至った場合は治療日まで、また治療に至らなかった場合は第一選択薬から切り替えて最長4週間までの直接費用(薬剤費・検査費)を算出し、費用効果性を分析した。

(結果・考察) 全体の有効率は、IPM/CS群71.2%(47/66)、 β -lactam 群50.8%(32/63)で有意差が認められた。G-CSF使用例(58例)の有効率はIPM/CS群67.9%(19/28)、 β -lactam 群53.3%(16/30)であり、一方G-CSF未使用例(71例)の有効率はIPM/CS群73.7%(28/38)、 β -lactam 群48.5%(16/33)であり、未使用例では有意差が認められた。また、治療開始時の好中球数100/mm³未満の症例(63例)における有効率はIPM/CS群78.8%(26/33)、 β -lactam 群56.7%(17/30)であった。100人当たりの医療費(直接費用)は、IPM/CS群914万円、 β -ラクタム群1,198万円であった。この結果により増分分析を行えば、増分費用効果比は-139,271円/人でありIPM/CS群の優れた費用効果性が認められた。

造血器疾患に合併した重症感染症に対する
Panipenem/betamipron の臨床的検討

大阪医科大学第2内科¹⁾、近畿大学医学部²⁾、
第3内科³⁾、大阪府立成人病センター⁴⁾、

○長谷川稔¹⁾、陰山克¹⁾、堀内篤²⁾、長谷川廣文³⁾、
正岡徹⁴⁾ カルペニン血液研究会

(目的)造血器疾患に合併した重症感染症に対し PAMP
/BP を投与し、有効性と安全性を検討した。

対象：平成7年8月から平成9年2月までの19ヶ月
間に28施設に入院した造血器疾患患者で感染症を合
併した173例を対象とした。

(方法)パニベナムとして1日1~2gを2回に分割、
点滴静注し3日以上投与した。臨床効果判定は小委員
会にて決定し、以下の4分類とした。著効：投与開始
後3日以内に解熱し、さらに3日以上平熱が続き、感
染症に伴う臨床症状及び検査所見が改善したもの。有
効：投与開始後7日以内に解熱し、感染症に伴う臨床
症状及び検査所見に改善傾向がみられたもの。やや有
効：投与開始後7日以内に解熱傾向を示し、感染症に
伴う臨床症状及び検査所見に改善傾向がみられたもの。
無効：投与開始後7日以内に解熱効果がみられず、感
染症に伴う臨床症状及び検査所見の不変又は増悪した
もの。

(結果)1.有効性評価対象137例での臨床効果は、著効
35例、有効51例、やや有効7例、無効44例であり、
有効率は62.8%であった。2.先行抗菌薬投与のない症
例での有効率は71.9%、投与のあった症例での有効
率は41.5%であった。3.PAMP/BP投与前好中球数
が $100/\text{mm}^3$ 以下の症例での有効率は52.5%、投与後
好中球数が $100/\text{mm}^3$ 以下の症例での有効率は50.0%
であった。4.安全性評価対象173例中、副作用は19
例に認められたが、重篤なものはなかった。

(考察)造血器疾患、なかでも白血病や悪性リンパ腫に
おいては、強力な化学療法後に易感染症状態となり、
発症した感染症は重篤化しやすい。従って、早期に広
域スペクトルで抗菌力の強い抗生物質の投与が必要で
ある。今回の検討によりPAMP/BPは有効性、安全
性の面から第一選択の薬剤となり得ると考えられた。

血液疾患に伴う好中球減少時の感染症に対する
Sulbactam/Coloparasono, Amikacin sulfateの併
用療法の臨床的検討(G-CSFの併用効果も含めて)

埼玉医科大学第一内科¹⁾、健康管理センター²⁾

○福田正高、小林功幸、遠藤一博、川井信幸、
富永一則、別所正美¹⁾、平嶋邦彦²⁾

【目的】血液疾患に併発する感染症は、基礎疾患によ
る免疫能の低下や多量の抗癌剤、放射線療法などによ
り、難治的で重症化しやすい。このような感染症の発
症とその予後には好中球数とその変動が、最も密接に
関連している。今回我々は、血液疾患に伴う好中球減
少時の感染症に対して、sulbactam/coloparasonoと
amikacin sulfateの併用投与を行い、その有用性を検
討しG-CSFの併用効果についても検討した。

【対象と方法】対象は、1993年8月から1997年12月ま
での期間に埼玉医科大学入院中で血液疾患を基礎疾患
として有し、感染症によると思われる38℃以上の発熱
をきたし、SBT/CPZ・AMK投与開始時の好中球数が $1000/
\mu\text{l}$ 以下の症例を対象とした。原則として、SBT/CPZ 2g
とAMK 200mgを12時間毎に、1日3回点滴静注にて3日間
以上投与した。また、発熱の有無にかかわらず主治医
の判断にて好中球数 $1000/\mu\text{l}$ 以下の症例に対しては、
G-CSFを投与してもよいものとした。

【結果と考察】対象症例は、男性55例、女性68例の12
1例であった。基礎疾患としては、急性骨髄性白血病8
例、急性リンパ性白血病18例、悪性リンパ腫24例、
骨髄異形成症候群4例、多発性骨髄腫4例と血液腫瘍性
疾患が大部分を占め、全体での有効率は、66.1% (80
/121)であった。感染症別での有効率は、敗血症疑い6
5.5% (55/84)、敗血症50.0% (9/8)、肺炎33.3% (1/3)、
上気道炎91.7% (11/12)などであった。抗生剤投与開
始時と投与開始1週間後の好中球数が共に $100/\mu\text{l}$ 以下
での高度好中球減少時の症例の有効率は、50.0% (10/
20)であった。G-CSF併用群での有効率は67.1%で、非
G-CSF併用群では、64.6% (31/48)であった。副作用及
び臨床検査値異常としては、下痢3例、皮疹1例、肝障
害8例、腎障害3例、好酸球増多1例で合計14例(11.6%)
で重篤なものはなく、有効率も高く、副作用も少なく
て有用であった。

各種血液疾患におけるitraconazole血中動態の検討

埼玉医大第一内科¹⁾ 健康管理センター²⁾ 小児科³⁾
 ○富水一則¹⁾、遠藤一博¹⁾、小林功幸¹⁾、
 川井信孝¹⁾、山崎 勉³⁾、福田 正高¹⁾、
 別所正美¹⁾、平嶋邦猛³⁾

【目的】各種血液疾患は白血球減少、免疫能低下を合併する頻度が高く、真菌感染症の予防および治療は重要である。近年itraconazole (ITZ) が開発されその有用性は認められている。そこで我々は、当科入院中の各種血液疾患患者にITZを投与し、ITZおよび主活性代謝物hydroxy-itraconazole (OH-ITZ) の血中濃度を測定したので報告する。

【対象、方法】1996年2月以降当科入院中で白血球減少が予測される症例にITZが予防投与された各種血液疾患患者13例を対象とした。投与方法は全例昼に投与され投与前、4時間後、8時間後にITZ、OH-ITZの血中濃度を測定した。年齢は16～71歳中央値46歳で男/女は8/5であった。血液疾患は急性リンパ性白血病1例、急性骨髄性白血病8例、慢性骨髄性白血病2例、骨髄異形成症候群1例、再生不良性貧血1例であった。その内ITZ 100mg投与は8例、200mg投与は5例であった。併用薬としてH2ブロッカーは12例に投与されていた。

【結果、考察】100mg群 (n=8) 200mg群 (n=5)

投与前 ITZ	235±166 ng/ml	287±187
OH-ITZ	552±439	911±662
4時間後ITZ	403±247	461±189
OH-ITZ	656±403	950±660
8時間後ITZ	399±207	540±151
OH-ITZ	626±445	980±489 (Mean±SD)

①ITZの血中濃度の平均値は投与後4時間が最も高く既報と同様の結果を得た。しかしOH-ITZの血中濃度の平均値は投与後8時間が最も高値を示した。またITZ、OH-ITZの血中濃度は症例によりばらつきが大きく治療を行うにあたり血中濃度のモニタリングが必要と考えられた。②生化学検査ではGOT20±24、GPT28±17、BUN16±6、Crea0.7±0.2 (Mean±S. D.)と明らかな肝機能、腎機能異常は認めなかった。③ITZの副作用は認めず、明らかな真菌感染症も認めなかった。④食事とITZ、OH-ITZの血中濃度との関連は認めなかったが現在症例を重ね検討中である。

千葉県がんセンターにおける *Clostridium difficile* Colitis の臨床疫学的検討
—造血管腫瘍患者での持続的多発について—

千葉県がんセンター血液化学療法科
 ○酒井 力

【目的】われわれは以前 *Clostridium difficile* (C.d.) Colitis の患者における集中発生を経験し、癌化学療法と院内感染がその原因であると報告した (癌と化学療法 20:2413, 1993)。その後もわれわれの病棟 (造血管腫瘍と肺癌の患者が大部分を占める) では C.d. Colitis が多発しているが、この現象がわれわれの病棟に特異的なのか病院全体に共通して見られるのかを明らかにするために今回臨床疫学的検討を行った。

【方法】下痢があり、便の CD チェックが陽性で且つ便培養で C.d. (+) を C.d. Colitis とした。93年から97年までに千葉県がんセンターで観察された本感染症患者の発症時期、発症場所 (病棟名)、臨床像を検討した。

【結果】当該期間中の C.d. Colitis 患者総数は61例で、その内の44例 (72.1%) は E 4 病棟で発症した。他の17例は他の6つの病棟に1～5例づつ分散していた。E 4 病棟では93年に6例、94年に14例、95年に11例、96年に6例、97年に7例発症した。61例の基礎疾患は造血管腫瘍45例 (73.8%)、固形癌15例で、1例は基礎疾患のない偽膜性大腸炎であった。発症時の症状は下痢の外に発熱 (33例)、嘔吐 (18例)、腹痛 (2例) が見られた。C.d. Colitis 発症前の治療は、抗菌薬のみ17例、癌化学療法のみ10例 (全例が造血管腫瘍)、抗菌薬+癌化学療法30例 (この内27例は造血管腫瘍)、抗菌薬+放射線療法2例、無治療2例であった。C.d. Colitis に対して57例で VCM が投与され55例は改善し2例は死亡した。4例は特別な治療を受けることなく改善した。

【考察】今回の検討で固形癌患者と異なり造血管腫瘍患者では C.d. Colitis が持続的に多発していることが明らかになった。造血管腫瘍に対する強力な癌化学療法、頻繁な抗菌薬の使用、そして院内感染がその原因と考えられる。癌化学療法の日常化・強力化に伴い C.d. 対策は極めて重要な課題である。

近年分離された*Prevotella* spp.と*Porphyromonas* spp.の薬剤感受性について

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

○田中香お里、福井克仁、加藤はる、加藤直樹、渡邊邦友

近年、嫌気性菌に関する分離・培養・同定技術の向上に伴い本邦でも嫌気性グラム陰性桿菌の*Prevotella* spp.、*Porphyromonas* spp.などが幅広い感染症から分離されるようになってきた。これらは、口腔、腸管などの常在菌であり、内因性感染症から分離される。*Bacteroides*に比べると一般にこれらの菌に対する関心はまだ低く、薬剤感受性についての検討はあまりなされていない。さらに、一般的に検査室で利用されている微量液体希釈法では菌の発育が悪いため感受性測定が困難である菌種も多い。そこで演者らは、近年分離された*Prevotella* spp.および*Porphyromonas* spp.における各種化学療法剤に対する感受性を調べた。経口薬剤については先の西日本総会で発表したが、今回は注射剤の結果を中心に報告する。

(方法)平成7年以降に当施設と協力病院で分離、同定された*Prevotella* spp.および*Porphyromonas* spp.の計43株を対象とした。薬剤感受性は米国NCCLSの方法に準じ寒天平板希釈法で測定し、 β -ラクタム薬12剤に対する感受性を検討した。接種菌量は 10^5 cfu/spotとした。耐性の基準はNCCLSのブレイクポイントを利用した。

(結果及び考察)セフィナーゼディスクによる β -lactamase産生性の試験で陰性であった*Prevotella* spp.(11株)と*Porphyromonas* spp.(13株)は、いずれもPIPC、CTX、CZXを含む第三世代セフェム、CMZ、FMOX、IPM、 β -lactamase阻害剤との合剤に対して、MIC₉₀が0.0625~4 μ g/mlと良好な感受性を示した。一方、 β -lactamase陽性の*Prevotella*(19株)では、CMZ、IPM、SBT/CPZ、TAZ/PIPC以外の薬剤に対し β -lactamase陰性株に比べ明らかな感受性の低下がみられた。このことから、これらの菌種による感染症においては β -ラクタマーゼ産生性を検討して抗菌薬を選択する必要性が示唆された。

β -Lactamase非分解性 β -lactam薬と β -lactamase阻害剤を併用した場合における*Prevotella intermedia* MA1-V2の増殖阻害

大阪歯科大 細菌¹、口腔外科¹
○尾上孝利¹、西崎健生²、松本和浩²、
村田雄一²、白数力也²、佐川寛典¹

【目的】 β -Lactamase阻害剤(阻害剤)と β -lactamase分解性 β -lactam薬(分解性薬)を併用すると β -lactam薬の抗菌活性が上昇することは報告されている。しかし、 β -lactamase非分解性 β -lactam薬(非分解性薬)と阻害剤の併用効果は明らかにされていない。そこで、*Prevotella intermedia*を用いて検討した。

【材料と方法】供試菌株は β -lactamase産生性*P. intermedia* MA1-V2を用いた。 β -Lactam薬はABPC、CCL、CMX、LMOXおよびAZTを、阻害剤はCVA、SBT、TAZを使用した。供試菌株の増殖はheminとvitamin K1添加trypticase soy broth(HVTSB)に β -lactam薬を加え、供試菌を接種後、所定時間に阻害剤を添加して調べた。生菌数は薬剤で処理した菌液をCDC処方嫌気性菌用血液寒天培地に塗抹して測定した。 β -Lactamase活性はUV法で求めた。

【結果と考察】供試菌に対する β -lactam薬のMICは128~>256 μ g/mlと高かった。本菌の β -lactamaseはABPC、CCLおよびCMXを分解したが、LMOXとAZTを分解しなかった。HVTSBに25または100 μ g/mlの β -lactam薬を添加後、阻害剤(CVAとTAZでは1、SBTでは2 μ g/ml)を4時間までに添加すると、分解性・非分解性薬に関係なくOD_{550nm}の吸光度は薬剤無添加または β -lactam薬単独より減少するケースが多く、供試菌の増殖は阻止された。6~12時間後に阻害剤を添加すると、100 μ g/ml β -lactam薬添加区では、非分解性薬で吸光度は減少したが、分解性薬では減少しなかった。24時間後に阻害剤を添加すると、吸光度の減少は見られなかった実験区の生菌数を測定すると、4~12時間に阻害剤添加区では、LMOXとSBT、TAZ、AZTおよびCMXと3種阻害剤の間で集落は観察されなかった。阻害剤添加24時間区では、AZT、CMXと3種阻害剤の間で集落数は減少した。

以上の事実は、非分解性薬単独では、 β -lactamase産生性・ β -lactam薬高度耐性*P. intermedia*の増殖を阻止できないが、阻害剤を併用すると増殖の阻止と溶菌を引き起こすことを示唆している。

臨床材料からの嫌気性菌検出状況と薬剤感受性

長崎大学医学部臨床検査医学¹⁾、同 第二内科²⁾○泉川公一¹⁾、山口敏行¹⁾、松田淳一¹⁾、餅田親子¹⁾伊折文明¹⁾、平瀧洋一¹⁾、前崎繁文²⁾、朝野和典²⁾、田代隆良²⁾、河野 茂²⁾、上平 憲¹⁾

【目的】当院における各種臨床材料からの嫌気性菌検出状況および薬剤感受性の動向を把握する目的で、以下の検討を行った。

【方法】1991年から1996年の6年間の検体を対象とした。嫌気性菌検出培地は、アネロコロンピアウサギ血液寒天培地(BBL)、および増菌培地としてK₁Hチオグリコレート培地(BBL)またはHK半流動培地(極東)を併用した。必要に応じてBBE寒天培地(BBL)、PV加ブルセラHK寒天培地(極東)を加えた。便から*Clostridium difficile*の検出には、CCFA培地(栄研)またはCCMA培地(日水)を使用した。嫌気培養は1994年8月までは、嫌気培養装置(フォーマ)で行い、以降はアネロバックシステム(三菱ガス化学)を使用した。菌種の同定は、RapiD ANA II (アムコ)で行った。薬剤感受性はABCMBイオンを用いた微量液体希釈法で測定し、発育不良の菌種には馬溶血液を添加した。薬剤感受性はABPC、CMZ、LMOX、IPM、CLDM、MINOの6薬剤について1991年と1996年の*Bacteroides fragilis*、*Prevotella* spp.、*C. difficile*、*Peptostreptococcus* spp. 4菌種の成績を比較した。

【結果】6年間の総検体数は51054件で、総検出株数は36250株であった。そのうち嫌気性菌株数は1999株で、総検出株数に占める割合は、平均5.5%であり1994年を境にわずかではあるが増加していた。*Bacteroides* spp.が29.1%、*Prevotella* spp.が23.5%で、これらで約半数を占めた。ついで*Peptostreptococcus* spp.18.8%、*Clostridium* spp.が12.3%の順であった。いずれの菌種も多くの薬剤に対し耐性傾向を示したが、*C. difficile*において特に耐性化が顕著であった。

白血球遊走阻止試験による薬剤性血液障害の検討

水原郷病院・薬剤科¹⁾、内科²⁾○栗原敬子¹⁾、宇野勝次¹⁾、鈴木康稔²⁾、関根 理²⁾

【目的】薬剤性血液障害疑診患者の患者血清添加および無添加の2つの系に対して白血球遊走阻止試験(LMIT)による起因薬剤の検出同定を行い、薬剤性血液障害におけるLMITの有用性、細胞性免疫の関与、血清の意義、白血球遊走促進因子(LMAF)と同阻止因子(LMIF)の関与、並びに起因薬剤の頻度と潜伏期間について検討した。

【方法】薬剤性血液障害疑診患者は82例(男42例、女40例、平均年齢50.8歳)で、患者血清添加は全例、無添加は44例についてLMITを実施した。血液障害は顆粒球減少55例、血小板減少42例、赤血球減少6例(ただし、各検査値異常は重複し、このうち汎血球減少2例)で、随伴症状は皮疹22例、発熱18例、肝障害16例、好酸球増多13例、腎障害1例(各症状は重複する)であった。被疑薬剤は228剤で、LMITの方法はagarose plate法の間接法を用い、判定は正常人の遊走指数(MI)の平均値±2SDを正常範囲(NR)とし、患者のMI値がNRより高値をLMAF、NRより低値をLMIFの検出とし、両者を陽性とした。

【結果】対象患者82例中血清添加および無添加のどちらから一方にLMIT陽性を示した患者は58例で、陽性率は70.7%であった。また、LMITは血清添加群で59.8%(49/82)、無添加群で34.1%(15/44)の陽性率を示し、血清添加群が有意($p=0.006$, χ^2 -test)に高い陽性率を示した。LMIT陽性患者58例中LMAFを37例(63.8%)、LMIFを29例(50.0%)検出した。LMIT陽性薬剤は60剤(2症例で2剤陽性)で、抗菌剤38剤(63.3%)、中枢神経用薬13剤(21.7%)、循環器官用薬4剤(6.7%)、その他5剤(8.3%)であった。LMIT陽性薬剤の潜伏期間(平均日数±SE)は13.03±1.89で、抗菌剤が11.5±1.65、中枢神経用薬が8.6±1.86、循環器官用薬が41.5±18.66、その他が14.6±3.48で、循環器官用薬が抗菌剤($p=0.0002$, t-test)や中枢神経用薬($p=0.005$, t-test)に比べ長い潜伏期間を有した。

【考察】以上の結果から、薬剤アレルギー性血液障害の起因薬剤の検出にLMITは有効で、患者血清の意義は高く、起因薬剤は抗菌剤が大分部を占め、循環器官用薬の潜伏期間が長いことが示唆された。

新規カルバペネム系抗菌薬 S-4661 の肝機能に
及ぼす影響について

—実験的マウス腎盂腎炎モデルでの検討—

塩野義製薬研究所：○松田 早人、三和 秀明

神戸大学医学部泌尿器科：守殿 貞夫、荒川 創一

目的：カルバペネム系やセフェム系の注射用抗菌薬は、前臨床で肝機能異常が見いだされないにも拘わらず、臨床ではAST(GOT)やALT(GPT)の上昇を呈する症例が散見される。今回、実験的マウス尿路感染モデルを用いて、S-4661の肝機能に及ぼす影響について検討したので報告する。

方法：マウス(ICR、雌性)に *E. coli* を経尿道的に接種し腎盂腎炎を惹起した。薬剤はカルバペネム薬として S-4661 を、セフェム薬として FMOX を使用し、投与量は臨床常用量での最高血中濃度から S-4661 では 20 mg/kg、FMOX では 25 mg/kg とした。治療を感染 24 時間後より開始し、朝夕 2 回、3 日間継続した。最終投与翌日に腎内生菌数測定、血液生化学的検査ならびに肝病理組織学的検査を実施すると共に、最終投与 15 分後の血中濃度を測定した。

結果：1) 感染 4 日後の腎内生菌数は、薬剤非投与群で 10^9 レベルであったが、薬剤投与群では $10^6 \sim 10^7$ レベルと有意に減少していた。2) S-4661 の血中濃度は、非感染と感染マウスとではほぼ同じであったが、感染マウスにおける FMOX 濃度は非感染マウスに比べ有意に高かった。3) 非感染マウスでは薬剤投与による肝機能検査値異常は観察されなかった。感染マウス(薬剤投与群ならびに非投与群)では、血漿中 Glu, Alb, ALP の低下や血漿中 Crea, UN の上昇などの感染に関連した生化学検査値の変動があったが、薬剤投与による AST や ALT の上昇は見られなかった。4) 肝病理組織学的検査では、非感染マウス(薬剤投与群ならびに非投与群)の肝組織に異常は認められなかった。一方、感染マウスでは薬剤投与の有無にかかわらず、グリコーゲン顆粒減少を伴う肝細胞萎縮、Kupffer 細胞の活性化、肉芽腫、髄外性顆粒球形成や門脈域のリンパ管拡張を認めた。

結論：腎盂腎炎による腎機能異常や感染に関連した血液生化学検査値の変動は観察されたが、非感染マウスならびに感染マウス共に S-4661 投与による肝機能障害の誘発を示唆する変動は見られなかった。また、肝臓の病理組織検査でも同様の結果であった。

[会員外共同研究者]

塩野義製薬研究所：池内 滋朗、大野 浩司、古川 仁

整形外科領域におけるオキサセフェム系抗生物質
の術後肝機能検査値異常に関する薬剤疫学的研究

北里大学東病院薬剤部、同臨床薬理試験部¹⁾

○黒山 政一、尾島 勝也、青砥 広幸、澤田 美花、

矢後 和夫、橋田 慎一¹⁾、熊谷 雄治¹⁾、渡辺 朋恵¹⁾

(目的) 整形外科領域における手術後の GOT、GPT の上昇は、しばしば経験する検査値異常である。その要因の一つとして、術後感染予防のために用いられる抗生物質が考えられる。そこで、手術後に使用された抗生物質に焦点を置き、手術前後の肝機能検査値の変動について、retrospective に調査した。

(方法) 1988年から1993年までの期間に、上三川病院の整形外科において、術後にフロモキシセフが投与された患者531名を対象とした。そして、日本化学療法学会が制定した“抗菌薬による治験症例における副作用、臨床検査値異常の判定規準”に準じて、手術前後(フロモキシセフ投与前、投与7日後)の GOT、GPT の異常変動を判定した。

(結果) 対象患者の平均年齢は39.48歳、フロモキシセフの1日平均投与量は2.42gであった。手術前の GOT、GPT の平均は各々23.88U/L、24.13U/Lで、手術後は各々26.24U/L、GPT は31.66U/Lであった。手術後の肝機能検査値異常(上昇)は全体の14.31%(GOT:3.58%、GPT:13.18%)の患者にみられた。肝機能検査値異常は男性(男性:18.82%、女性:6.76%)、手術前 GOT 値が高値を示した患者(手術前 GOT 値190/L以下:5.52%、200/L以上390/L以下:22.90%、400/L以上:36.98%)に多くみられた。しかし、患者の年齢、フロモキシセフの1日投与量、手術前 GPT 値の違いによる肝機能検査値異常の発現率には殆ど差はみられなかった。

(考察) 比較的全身状態の良いと思われる整形外科領域の手術施行患者を対象として、フロモキシセフ投与前後の肝機能検査値の変動について調査した。肝機能検査値異常は全体の14.31%の患者にみられ、承認時までの調査、使用成績の調査結果と比較し、著しく多かった。フロモキシセフの投与に際しては、投与前後の肝機能検査値のチェックが重要と思われた。

Rifampicin の血清中 glucocorticoid level に及ぼす影響

東京慈恵会医科大学 薬理学第1¹⁾, 内科学第2²⁾

○中澤 靖^{1, 2)}, 佐藤淳子¹⁾, 堀 誠治¹⁾, 川村将弘¹⁾, 柴 孝也²⁾, 細谷龍男²⁾

〔目的〕

近年, macrolide (ML) 薬が抗炎症作用を有する可能性が示されている。我々は, ML 薬, 特に 14 員環 ML 薬が内因性 glucocorticoid (GC) を上昇させる事を明らかとし, これらの薬物の抗炎症作用の機序の一つとなる可能性を示唆してきた。抗結核薬である rifampicin (RFP) も macrocyclic な構造を有している。また, 最近, RFP が GC 受容体と結合するとの報告がなされた。RFP が内因性 GC に影響を与えるかに興味を持たれる。そこで, RFP の血清 GC level に及ぼす影響を検討した。

〔方法〕

マウス腹腔内に RFP を投与し, 一定時間後に断頭・採血, 血清 corticosterone level を HPLC 法を用いて測定した。

〔結果および考察〕

RFP (5, 10, 50, 100 mg/kg) を腹腔内に投与し, 1 時間後に血清 corticosterone を測定した。RFP (5, 10, 50 mg/kg) では, 血清 GC level の若干の上昇傾向が認められた。RFP (100 mg/kg) では, 血清 GC level の上昇 (320 mg/ml) が認められたが, 従来報告してきた 14 員環 ML 薬よりは弱いものであった。

以上の成績より, RFP は, 内因性 GC を上昇させ抗炎症作用を有する可能性が示されたが, その作用は 14 員環 ML 薬より弱いものであることが示唆された。

フルオロキノロン薬の眼毒性に関する総括
- 日本眼感染症学会によるまとめ -

信楽園病院眼科

○大石正夫

〔目的〕フルオロキノロン薬がつよいメラニン親和性を持ち, 眼組織に大量に補足されて長期間滞留することが判明し, サルで長期投与して眼障害が発生する可能性が示唆された。よって日本眼感染症学会では本剤の眼内動態を有色動物で再検討し, 眼に対する安全性実験を実施することを各メーカーに要請した(1991年)。以降, 各メーカーでは本剤の眼毒性試験に精力的に取り組んで, 逐次それらの成績が報告されてきた。

そこで実験を要請した日本眼感染症学会では, これらの成績をまとめさせていただき, フルオロキノロンの眼毒性について学会としての見解を述べたいと思う。

〔方法〕薬剤はNFLX, OFLX, CPFX, LFLX, TFLX, FLRX, SPFX, LVFX, TMFX, PZFX, AM-1155, DR-3355の12剤である。実験動物は各薬剤によって有色ウサギ, ビーグル犬, ネコ, サルが使用された。投与法は, 眼局所(点眼, 硝子体内注入), 全身投与(経口)により, 2週間から1年にわたる長期投与が行われた。

投与中, 投与後に眼機能(ERGなど), 眼組織学的検査, 全身検査を施行して, 薬剤の影響が検討された。

〔結果〕一部薬剤には眼局所ならびに全身投与により, ERGの変化, 眼組織に異常所見をみとめたが, 全般的にはとくに重篤な眼障害を示唆する所見はみとめられなかった。

〔結論〕今回は最長1年間の投与による結果であるが, 今後ともフルオロキノロン薬の開発, 臨床使用に際しては眼の安全性に留意する必要があると考えられた。

*In vitro*評価系を用いた新キノロン系抗菌薬の光毒性に関する検討

杏林製薬（株）中央研究所
○山本隆雄、武井雅也、保坂雅喜

【目的】新キノロン系抗菌薬の中には、実験動物やヒトに光毒性を引き起こすものがあることが報告されているが、その発症メカニズムについては十分解明されていない。光毒性発現の可能性を推測する *in vitro* 評価系として様々な方法が知られており、これらを組み合わせることによりキノロンの光毒性発症メカニズムの解明につながる事が期待される。

今回我々は、3種の *in vitro* 評価系を用いてガチフロキサシン (AM-1155) を含む新キノロン系抗菌薬の光毒性発現との関連を比較検討した。

【材料及び方法】試験薬物としてガチフロキサシン、シプロフロキサシン、ロメフロキサシン、エノキサシンなど数種類の新キノロン系抗菌薬を用いた。 *in vitro* 評価系として、HeLa細胞を用いた細胞毒性試験はクリスタルバイオレット法によりIC₅₀値を、羊赤血球を用いた溶血性試験はDrabkin's試薬により遊離ヘモグロビン量を、また、プラスミドDNAを用いた一本鎖DNA切断試験はアガロースゲル電気泳動により開環状DNA量を測定し、UV-A照射による変化を調べた。

【結果及び考察】新キノロン系抗菌薬存在下での光溶解及びDNAの光切断はUV-A照射量や薬物濃度に依存して増大した。実験動物において高い光毒性誘発能を有する化合物では、特にUV-A照射によるDNAの切断が増強される傾向にあった。また、UV-A照射による細胞毒性の増強とDNAの光切断の間に相関性が認められることから、DNA損傷が細胞毒性の光による増強と関連している可能性が示唆された。ガチフロキサシンは、細胞毒性、光溶解性およびDNAの光切断のいずれの評価系においてもUV-A照射による影響を受けなかった。これらの結果は、ガチフロキサシンが *in vivo* において光毒性を誘発しないという成績¹⁾ を支持するものであった。

1)20th ICC, No.5318

会員外共同研究者；弦巻葉子

注射用キノロン系抗菌薬 T-3762 のヒスタミン遊離作用

富山化学工業株式会社 総合研究所
○沢海啓二、古畑邦一、福田淑子、福田均、
荒井博敏、渡辺泰雄、成田弘和

【目的】T-3762 のイヌ皮内投与部位における血管透過性亢進作用は CPFX および OFLX に比較して弱いことをすでに報告している。本作用はヒスタミンが原因物質と考えられるため、今回、T-3762 の皮膚片および肥満細胞からのヒスタミン遊離作用について検討した。

【方法】皮膚片からのヒスタミン遊離：イヌ大腿部の皮膚を細片とした。この細片 200 mg を Tyrode-HEPES buffer (pH 6.5) 中でプレインキュベーション (37℃, 15 min) した後、上清を除去した。さらに、被験薬 (50~800 μg/ml) を含む同 buffer 中でインキュベーション (37℃, 60 min) し、上清中に遊離したヒスタミンを HPLC 法で定量した。

肥満細胞に対する作用：ラット腹腔浸出細胞より肥満細胞を分離し、HEPES buffer (pH6.5) 中で被験薬 (100~800 μg/ml) とともにインキュベーション (37℃, 5 min) した。冷却、遠心分離後、上清および肥満細胞中のヒスタミンを HPLC 法で定量し、ヒスタミン遊離率を算出した。また、肥満細胞の形態観察を行い、生存率および脱顆粒細胞の割合を測定した。

【結果および結論】皮膚片からのヒスタミン遊離： CPFX および OFLX はヒスタミン遊離量を濃度依存的に増加させたが、T-3762 は 800 μg/ml においても遊離作用を示さなかった。

肥満細胞に対する作用： CPFX は肥満細胞の生存率に影響を及ぼさなかったが、脱顆粒細胞の含有率を増加させ、ヒスタミン遊離率を上昇させた。しかし、T-3762 は生存率、脱顆粒細胞含有率およびヒスタミン遊離率の何れに対しても影響を及ぼさなかった。

以上、T-3762 のヒスタミン遊離作用は CPFX および OFLX に比較して弱いことが示された。

胆道感染症における門脈血行性経路の重要性、
特に閉塞性黄疸の影響

和歌山県立医科大学第2外科

○岡 正巳, 谷村 弘, 内山和久

【方法】門脈内接種菌が胆道に移行することを、

Wistar系8週齢の雄性ラットに外胆汁瘻を作成した後、
盲腸静脈から薬剤耐性菌を接種し、経時的に血液、胆
汁、肝組織をサンプリングし、24時間培養にて生菌数
を測定し、その検出菌について、薬剤耐性菌用培地を
用いて胆汁中細菌の同定を行った。

【結果】1) 臨床分離由来株の緑膿菌を門脈内接種後、
120分間追跡した結果、胆汁中で肝機能正常(C群)
では $10^1 \sim 10^2$ /mlであったのに対し、閉塞性黄疸(J群)
では $10^2 \sim 10^3$ /mlと増加した。

2) Ofloxacin(OFLX)耐性緑膿菌を閉塞性黄疸状態で
門脈内接種しOFLX含有培地で選択培養すると、 1×10^7
または 1×10^8 門脈内接種で、胆汁中に $10^1 \sim 10^2$ /
mlの接種菌が出現した。

3) Cefixime(CFIX)耐性大腸菌を門脈内接種して、2、
6、24時間後に血液、胆汁、肝組織をサンプリングし、
CFIX含有培地で培養した結果、胆汁中生菌数は、①
C群では2、6時間後に 10^1 /mlであったのに対し、J群
では $10^2 \sim 10^3$ /mlと増加した。② 24時間後には、C群
が $10^3 \sim 10^4$ /mlにとどまったのに対し、J群は $10^6 \sim 10^7$ /
mlまで増加した。③ 肝組織内生菌数は、両群とも、
2、6時間後が $10^4 \sim 10^5$ /g、24時間後が $10^5 \sim 10^7$ /gと
差はなかった。

4) 肝動脈結紮後にCFIX耐性大腸菌を門脈内接種し
ても、胆汁中に生菌数を検出し、全身感染からの波及
でないことが明らかになった。

【結語】門脈内から侵入した菌は、肝組織に到達後増
殖し、閉塞性黄疸など胆管上皮の破綻が起こっている
場合には胆汁中へ移行し易くなることがわかり、胆道
感染の治療を考える上で重要な所見である。

新規経口用カルバペネム CS-834 の *in vivo* 抗菌
力評価—特に PRSP によるマウス肺感染系での治
療効果—

三共株式会社 第二生物研究所

○川田晴美、北山暁子、福岡隆、古賀哲文、
大屋哲、安田紘

【目的】近年臨床ではペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP)
の増加が問題となっており、呼吸器感染症の起炎菌
に占める本菌の割合も増加してきている。経口剤として
開発中の CS-834 の臨床での使用は呼吸器感染症が大
きな比重を占めると思われる。そこで PRSP を含む肺炎
球菌によるマウス肺感染モデルを作成し、その治療効果
について経口セフェム剤 (CFDN, CPDX-PR, CFDN,
CDTR-PI) と比較検討を行った。また、マウス全身感染
系に対する治療効果についても検討を行った。

【方法】 ddY 系、4 週令、雄、マウスを用い全身感染お
よび肺炎球菌を用いた肺感染モデルを作成した。全身感
染系では腹腔内に菌液を接種し、その直後および 4 時間
後に薬剤を投与した。菌接種後 5 日目の生存率からプロ
ビット法を用い ED_{50} 値を算出し、対照薬と治療効果の
比較検討を行った。肺感染系ではケタラルを静注した
マウスに *S. pneumoniae* 9601, 9605 株 (PCG に対する
MIC は共に $1.56 \mu\text{g/ml}$) の菌液を $50 \sim 75 \mu\text{l}$ (約 5×10^5
CFU/ml) 点鼻接種し感染を惹起した。菌接種後 18 時間
目から 1 日 2 回、2 日間薬剤を経口投与し (9601 株に
は 10 mg/kg/dose 、9605 株には $2, 10, 50 \text{ mg/kg/dose}$) 治
療した。菌接種後 72 時間目に解剖し、肺および血液内
の生菌数を測定することによって治療効果を評価した。

【結果および考察】 CS-834 は、マウス全身感染系にお
いて対照薬と同等以上の良好な治療効果を示した。*S.*
pneumoniae 9605 株を用いた肺感染系において、CS-834
は 10 mg/kg/dose 以上で肺内生菌数をコントロール群の
 $1/1000$ 以下まで減少させる良好な除菌効果を示し、 10
 mg/kg/dose での肺内生菌数は対照薬投与群の $1/10$ 以下
であった。また、9601 株を用いた場合にも CS-834 は
肺内生菌数をコントロール群の $1/10000$ 以下、対照薬投
与群の $1/10$ 以下にまで減少させた。これは、PRSP 対
する CS-834 の良好な *in vitro* 抗菌力を反映した結果
と考えられる。

新規経口用カルバペネム CS-834 の実験的マウス尿
路感染に対する治療効果

三共株式会社 第二生物研究所

○窪田幹江、北山暁子、福岡隆、大屋哲、安田絃

【目的】尿路感染症に対する経口用治療薬としてニューキノロン剤が多く用いられている。しかし、近年、泌尿器科領域でのキノロン系抗菌剤の使用量の増加に伴う耐性菌の出現と増加が問題となってきた。新規経口用カルバペネム CS-834 はニューキノロン剤に匹敵する強い抗菌力と尿路感染症起炎菌をカバーする広い抗菌スペクトラムを有する。今回、CS-834 の実験的マウス尿路感染に対する治療効果を ciprofloxacin (CPFX) および ofloxacin (OFLX) と比較検討した。

【方法】感受性測定：尿路感染主要起炎菌である *E. coli*, *S. marcescens*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* に対する CS-834 (活性体 R-95867), CPFX, OFLX の人工尿中および MHB 中における抗菌活性を微量液体希釈法により測定した。感染実験：18 時間絶水させた ddY 系雌性マウスに菌液を経尿道的に膀胱内接種し、4 時間外尿道口を閉塞して感染を惹起させた。マウスに各薬剤 10 mg/kg (*P. aeruginosa* の場合は 50 mg/kg) を経口投与し、菌接種から 24 時間後のマウス腎内生菌数を測定した。

【結果】CS-834 は MHB および人工尿中とでほぼ同等の MIC 値を示した。一方、CPFX, OFLX の抗菌活性は人工尿中で、MHB 中の 1/4 ~ 1/32 に減弱した。CS-834 は *P. aeruginosa* 以外の菌種ではキノロン感性菌による感染に対して CPFX, OFLX とほぼ同等の治療効果を示した。また、キノロン耐性菌による感染に対しては、CS-834 は CPFX, OFLX よりも優れた治療効果を示した。

【考察】CS-834 は、キノロン系抗菌薬で治療困難な尿路感染症に対して優れた治療効果をもたらす可能性が示唆された。

急性閉塞性化膿性胆管炎と

ヒドロキシラジカル

和歌山県立医科大学第2外科、化学*

○中谷佳弘、谷村 弘、内山和久、堂西宏紀

山崎茂樹、岩橋秀夫*

（目的）近年、組織における微小循環障害に対する研究が進み、活性酸素・脂質ラジカルなどフリーラジカル連鎖反応が虚血再灌流時に起こる細胞障害の主役であるとされる。今回、われわれは、胆道疾患のなかでも、胆道減圧処置が遅れると致命的となる急性閉塞性化膿性胆管炎の病態に最も酸化作用の強いヒドロキシラジカルがフリーラジカルとしてどのように関与しているかを検討した。

（方法）ウサギの総胆管に *E. coli* および *B. fragilis* を単独または混合接種したのち総胆管を結紮して急性閉塞性化膿性胆管炎モデルを作成した。サリチル酸を灌流させる Microdialysis 法を用いて、in vivo にて肝組織内で発生するヒドロキシラジカルの反応物質である 2,5 および 2,3-dihydroxybenzoic acid (DHBA) を電気化学検出器を装備した HPLC にて測定した。総胆管に前もって挿入しておいたチューブを解放することにより胆道減圧処置を行ない、フリーラジカル発生量の変化を追跡した。

（結果）1) 急性閉塞性化膿性胆管炎では肝組織内に炎症早期から 2,5 および 2,3-DHBA が対照群と比較して有意に多く検出された。2) これら 2,5 および 2,3-DHBA は、胆道減圧処置にて速やかに減少することがわかった。

（結論）急性閉塞性化膿性胆管炎では、炎症早期よりヒドロキシラジカルが肝組織内に発生しており、その治療法として、抗菌薬投与前から胆道減圧処置を行い、ヒドロキシラジカル発生量を速やかに減少させるべきであることが判明した。

DU-6859a経口投与のラット盲腸内細菌フローラに対する影響

○加藤直樹、加藤はる、渡邊邦友
(岐阜大・医・嫌気性菌実験施設)

【目的】最近、開発中の抗菌薬の中には、嫌気性菌、好気性菌を問わず、幅広く強い抗菌力を有することから、腸内フローラの乱れを誘い、下痢症/腸炎を誘発することが懸念される薬剤がある。実験動物を用いて抗菌薬の腸内フローラに対する影響を検討することは、ヒトの腸内フローラに対する影響を知り、それに対する治療・予防法を検討するうえで、貴重な情報を与えてくれるものと思われる。ラット盲腸フィステル法(阪田と金子、1997)は、小動物において同一個体での腸管フローラの変動を観察することを可能にした。今回、この方法を用いてニューキノロンであるDU-6859aの経口投与による腸内フローラの変動を検討した。

【材料と方法】ラットはFischer系とWistar系(日本エスエルシー)を各3匹用いた。盲腸フィステルの作製手術は先の報告に準じた。フィステル作製後の飼料はタンパク質40%含有食(日本クレア)とした。フローラの検討は術後1ヶ月以上経過した後に行った。DU-6859aは10mg/kg、1日2回経口投与した。培地は嫌気性菌用としてはBrucella HK血液寒天培地、BBE培地などを、好気性菌用としては血液寒天培地、MacConkey培地などを用いた。採取した盲腸内内容は好気下で10倍段階希釈し、定量培養に供した。嫌気培養には嫌気チェンバーを用いた。菌の同定は、一般的な同定法で行うとともに、嫌気性菌では終末代謝産物の解析も行った。

【結果】投与前の盲腸内フローラに2系統間に特に差は見られず、嫌気性菌では*Bacteroides fragilis* group, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*が、好気性菌では*Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*が最優勢菌として検出された。嫌気性菌と好気性菌の総菌数は5~10倍、嫌気性菌の方が高かった。DU-6859aの投与により、嫌気性菌を中心に多くの菌は減少したが、enterococciは変動せず、一部のラットでは*Bacillus*の出現が見られた。しかし、投与終了2週間後にはほぼ元の菌数に復していた。*Clostridium difficile*は投与前に3匹に認められたが、本剤投与による菌数増加はなく、便は軟化した。下痢などにより斃死するラットはいなかった。

【考察】今回の実験条件ではDU-6859aの投与は主にenterococciを除く菌の減少を招くことが明らかとなった。ラット・盲腸フィステル法は個体別に経時的なフローラ変動の検討を可能にする優れた方法であることが再確認された。投与量を増量した場合の影響については、現在検討中である。

非学会員共同研究者：劉承旭(岐阜大・嫌気性菌)

腹膜炎における腸管吻合部強度低下に対する実験的検討

滋賀医科大学第一外科

○龍洋三、谷徹、薦本慶裕、荒木浩、鉛野弘之、岡浩、小玉正智

【目的】縫合不全は消化器外科手術において重要な合併症であり、特に腹膜炎などの異常環境下においては、腸管吻合部の強度低下が報告されている。そこでその強度低下防止対策を、吻合法および薬物投与の面から実験的に検討した。

【方法】腹膜炎モデルとして腸管吻合の24時間前に0.1N HClを腹腔内に投与した。雑種成犬の大腸に2ヶ所の端々吻合を器械吻合およびGambee法にて行い、直後、3日後、7日後に吻合部腸管を摘出、耐圧力を測定した。両吻合法を、無処置のコントロール群と、腹膜炎群と比較検討した。続いて蛋白分解酵素阻害剤であるnafamostat mesilate(N.M.)の投与効果を検討した。ラットの回腸に結節全層一層の端々吻合を作製し、3日後に吻合部腸管を摘出、その抗張力を測定した。コントロール群、腹膜炎群さらに腹膜炎モデルでN.M.を投与した3群で比較検討した。さらに吻合部の病理組織学的検討を行った。N.M.は5mg/bodyを手術時、術後1日目、術後2日目の3回腹腔内投与した。

【結果】器械吻合、Gambee法との比較では、両吻合法に有意な差は認められなかった。Gambee法ではコントロール群1例、腹膜炎群2例に縫合不全が認められたが、器械吻合では認められなかった。ラットでのN.M.投与効果の検討では術後3日後の吻合部抗張力は、コントロール群の56gfに比べ、腹膜炎群は26gfと有意に抗張力が低下した。N.M.投与群では85gfと有意に抗張力低下防止効果が認められた。病理組織学的検討では、N.M.投与群で吻合部のcollagenの変性が軽度であった。

【結語】器械吻合、Gambee法ともに腹膜炎モデルでは耐圧力は低下し、腸管吻合部強度低下防止という面では、吻合法による差は認められなかった。また、吻合部間質のfibrinolysisが吻合部抗張力低下の一因である可能性が示唆され、腹膜炎に合併した敗血症やDICで使用されるN.M.が、吻合部強度低下を防止し、術後縫合不全の予防に役立つ可能性が考えられた。

Helicobacter pylori マウス感染モデルにおける
アモキシシリンの治療効果

藤沢薬品工業、薬理研究所

○松本哲、松本佳巳、池田文昭、儀修一

【目的】 *Helicobacter pylori* はヒトの胃粘膜に棲息し、胃炎や消化性潰瘍さらには胃癌との因果関係について注目されている。その結果、胃および十二指腸疾患の患者に対して *H. pylori* を除菌すべく、抗生物質による治療法の検討が世界中で行われている。しかし、感染モデルを用いた治療実験に関する報告は少ない。よって、in vivoでの薬剤の作用を明らかにすべくマウスモデルにおいて検討した。

【方法】 *H. pylori* CPY2052 を経口感染させた ICR マウスに感染4日目から1日2回4日間アモキシシリン (AMPC)、メトロニダゾール (MNZ) およびクラリスロマイシン (CAM) を経口投与し、投与終了2週間後に解剖して胃粘膜中の残存生菌数を測定した。また、オメプラゾール (OPZ) を同時投与してその治療効果を単剤の場合と比較した。さらに、皮下投与と経口投与の治療効果と比較した。

【結果と考察】 80%のマウスを除菌した投与量は、AMPC (3.2 mg/kg), MNZ (10mg/kg), CAM (32mg/kg) となり、各薬剤の MIC (0.05, 1.56, 0.025 μ g/ml) と比較すると、3剤の治療効果は MIC と相関しなかった。また、OPZ を併用すると 0.32 mg/kg の AMPC で完全に除菌され、臨床同様、治療効果が増強されることがわかった。経口および皮下投与での除菌率を比較すると、AMPC では経口投与のほうが優れていたが、MNZ, CAM ではほぼ同等であった。つまり、AMPC は胃腔内から直接作用 (topical action)、MNZ と CAM は血流を介して作用 (systemic action) することがわかった。以上、マウス感染モデルは *H. pylori* に対する薬剤の作用を調べるうえで有用であることがわかった。

会員外共同研究者；荻田 幹夫 (防府温泉病院)

[³H]-FosfomycinのColor-autoradiographyおよび
感染部位への移行について

日本大学医学部第三外科¹⁾、同細菌研究室²⁾

○中山一誠¹⁾、山地恵美子、平田浩子、川口 広²⁾

【目的】 Fosfomycin (FOM) は、抗菌活性ばかりでなく種々の生物活性を有する事が知られている。FOMの感染組織への移行性を検討すべく、局所感染モデルマウスを用いて、Color-autoradiographyを作成した。

【方法】 ICR系SPF雄性マウス (4週齢) の背部皮下に菌液 (*S. aureus* 3x10⁶CFU/ml) を浸み込ませた paper disc を埋め込み、術後、5日目に空腹時に [³H]-FOM 20 mg/kg を経口投与した。投与後1時間、2時間、6時間および24時間後にエーテル麻酔死させ、CMCにて包埋し、ドライアイス・アセトン中で凍結した。マイクロームにより凍結切片30 μ mを作製した。乾燥後、イメージングプレート (富士写真フィルム) に72時間露光し、BAS-2000型BIO-IMAGE ANALYZER (富士写真フィルム) により、Color-autoradiogramを作成し、解析した。

【結果】 [³H]-FOMは、投与後1時間で、腸管への移行が認められ、全身的には、低濃度の移行が認められた。投与後2時間では、腸管への移行が著明となり、腎臓への移行、特に皮質への移行が高濃度に認められた。一方、感染巣周辺への移行は低濃度であった。投与後6時間では、腸管、次いで腎臓への移行が認められ、感染巣周辺への移行は低濃度に認められた。投与後24時間では、腸管、腎臓のみに [³H]-FOMの残存が認められ、感染巣周辺では認められなかった。

【考察】 背部皮下に感染巣を形成したマウスに対する [³H]-FOM単独経口投与では、感染巣周辺への特異的な移行は認められなかった。腸管、腎臓への移行が良好である事から、腸管感染症及び、尿路感染症に対して有用であると考えられる。同様な検討を [³H]-azithromycinにて行った結果、経口投与後24時間でも感染巣への移行が高濃度に認められた。

腸結核2手術症例の経験

関西労災病院外科

大阪通信病院外科*、第2内科**

○丸山博英、福永 隆、門田卓士*、小幸田 清**

初発症状がそれぞれイレウス、大量出血であった腸結核の2症例を経験したので若干の文献の考察を加えて報告する。(症例1) MS: 42才、男。主訴: 腹痛。'90年12月13日より間欠的に右下腹痛を繰り返していたが、腹痛が増強するため、91年2月13日緊急入院となった。注腸検査、小腸造影では上行結腸にapple-core appearance、回腸に全周性の狭窄と中心部のnicheが認められ、結腸、小腸の多発性狭窄よりみて腸結核が疑われた。腹痛が軽快しないため、'91年2月14日手術を施行した。手術所見: 小腸はTreitz靱帯より肛門側210 cmから510 cmの範囲で計12カ所の輪状狭窄が認められた。また、回盲部にも狭窄が認められた。口側2カ所および他7カ所狭窄の著明な部位を含めて小腸切除術(計145 cm長の小腸切除)を施行した。腸間膜リンパ節腫大も認められ、切除小腸、リンパ節の迅速病理検査では腸結核(チールネルゼン染色: 肉芽結節に抗酸菌を認める)の診断であった。回盲部狭窄に対しては回腸末端と横行結腸を側側で吻合した。術後10日目より92年5月まで抗結核剤を投与し、現在健在である。なお、術前胸部X線検査で肺野に活動性の空洞(ガフキー4号)が認められ、2次性の腸結核と考えられた。(症例2) MM: 63才、女性。主訴: 下血。現病歴: '86年4月より慢性腎不全にて血液透析導入となり、コントロール良好なるも90年11月より94年5月まで計6回の大量下血があり、その都度600-1000 mlの輸血を行っていた。大腸内視鏡検査では、Bauchin弁と回腸末端部にpunched out ulcerが認められ、biopsyでは悪性所見はなく、回腸単純性潰瘍と診断された。手術所見: 94年6月23日手術を施行した。回盲部には病変を触知しなかったが、Bauchin弁より口側60 cmと80 cmの部位に白色の粒を伴った輪状の硬結が認められた。上行結腸・回盲部・回腸部分切除術を施行した。組織所見では、クローン病を否定できなかったが、便培養で結核菌が陽性と判明したため腸結核と診断された。切除標本で口側の潰瘍底に血管拡張や出血が目立つので、この部位が出血源と考えられた。術後経過良好で2周目より抗結核剤を投与した。(まとめ) 今日、結核はいろいろな形で臨床の現場に再登場してきた。下血や狭窄症状があった場合、鑑別診断として腸結核を疑うことは極めて重要なことを強調したい。

クロキサシリン大量を用いた内科的治療で治癒した黄色ブドウ球菌(MSSA)による原発性縦隔膿瘍と肺動静脈瘻感染の2症例

聖路加国際病院内科

○古川恵一、丹治和世、大曲貴夫

(症例1) 79歳男性。入院1日前からの突然の左上背部痛と発熱(39°C)を主訴に96年2月12日入院。脈拍96/分、呼吸数40/分、心肺は聴診で異常なし。白血球数14700、CRP 26 mg/dl、血液培養でMSSAが陽性であった。ガリウムシンチで上縦隔に集積像あり。CTで後縦隔に右4×2.5 cm、左2×3 cmの2個の膿瘍あり、MSSAによる原発性縦隔膿瘍および敗血症と診断した。CT下のドレナージは不能で、クロキサシリン12 g/日、さらにリファンピシン600 mg/日を併用した結果、順調に改善した。薬剤過敏症のために3月21日よりクリンダマイシン単独に変更したが、4月10日CTで膿瘍の消失がみられ、治癒した。

(症例2) 58歳男性。入院1週間前からの悪寒を伴う発熱(39°C)を主訴に入院。血圧86/54 mmHg、脈拍96/分、呼吸数24/分、聴診で左側胸部と胸骨右縁第4肋間に収縮期血管雑音あり。胸部X線で左下葉に径約5 cm、右下葉に径約3 cmの腫瘤陰影あり。白血球数12400、CRP 13 mg/dl、血液培養でMSSAが陽性であった。肺血管造影等で肺動静脈瘻が2個あり、ガリウムシンチで左下葉腫瘤に集積像があり、左の肺動静脈瘻部のMSSA感染および敗血症と診断した。また入院翌日に右手2指MP関節の疼痛、腫脹も出現し、敗血症性塞栓による関節炎と考えた。クロキサシリン12 g/日を計6週間投与して、治癒した。

(考案) 黄色ブドウ球菌による原発性縦隔膿瘍および肺動静脈瘻感染は比較めまねな疾患であるが、いずれも敗血症を伴った重症感染症である。我々はMSSAに対する抗菌力の最も優れたβラクタム剤であるクロキサシリンの大量投与を用いて、また縦隔膿瘍の症例では膿瘍への移行性の優れたリファンピシンを併用して治癒した。今後、MSSA感染症に対するクロキサシリンの高い有効性を見直すべきであり、また重症例や膿瘍のある例でのリファンピシン併用の有効性についてもさらに検討すべきである。

最近経験した薬剤耐性傾向を呈した粟粒結核の2例

聖路加国際病院 内科¹⁾
○星 哲哉¹⁾ 古川 恵一¹⁾

(目的)薬剤耐性傾向を示した粟粒結核の2例を報告する。
(症例1)インドから来日中の26歳男性。来日6ヶ月目に1ヶ月持続する発熱を主訴に当院を受診。胸部レントゲン写真、胃液抗酸菌染色より粟粒結核と診断しINH+RFP+EB+PZAで治療を開始したが反応は不良であったため、SM筋注も併用。その後、薬剤耐性検査でSM、PZAへの完全耐性及び、RFPに対する耐性傾向を認めたために治療をINH+EB+TH+LVFX 600mg/日に変更したところ症状は改善し、順調に経過している。

(症例2)生来健康な65歳女性。2ヶ月間持続する右頸部リンパ節腫脹を主訴に当院を受診。胸部レントゲン写真、自壊したリンパ節からの膿の抗酸菌染色より粟粒結核、リンパ節結核と診断し、INH+RFP+PZAで治療を開始したが治療への反応は不十分であった。その後の薬剤耐性検査でPZAへの耐性、更にINH、RFP、EBに対しても耐性傾向を認めたためINH 400mg/日+RFP 600mg/日+EB 1000mg/日と多めの使用に加え、TH 300mg/日も追加したところその後は良好な臨床経過が得られた。

(考察)2症例とも一次抗結核薬に対する薬剤耐性度は定義上は高くなかったが、耐性基準濃度以下の低濃度では耐性傾向を呈し、臨床的にも治療耐性を呈していた。このため、一次抗結核薬を多めに使用するとともに、耐性結核に準じTH、LVFXといった二次抗結核薬を早期から併用することによって良好な臨床経過を得ることができた。結核、とりわけ粟粒結核のように菌が全身に播種しているような場合、*in vitro*上の薬剤感受性を認めても、低濃度培地で菌の発育がある時は、臨床治療耐性を疑い、早期より二次抗結核薬やニューキノロン薬の使用を考慮すべきであると思われた。

血液透析中の人工弁置換術後患者にみられた腸球菌による髄膜炎合併感染性心内膜炎の1例

聖路加国際病院 内科¹⁾
○那須 英紀¹⁾、古川 恵一¹⁾

人工弁置換術後に発症した感染性心内膜炎は内科的加療が奏功しない場合、外科的加療がしばしば必要とされ、また外科的治療が不可能な場合は致死的となりうる。今回我々は人工弁置換術後患者で、かつβラクタム剤に過敏歴のある患者に発症した腸球菌による髄膜炎合併感染性心内膜炎に対し、内科的に治癒できた1例を経験したので若干の文献的考察を加え報告する。

(症例)61歳女性

(既往歴)6年前より慢性腎不全で当院腎内科にて血液維持透析をうけ、同年大動脈弁輪拡張症に対して大動脈弁および上行大動脈置換術を施行されている。セフェム系抗生剤(CTM)に対して発疹の既往あり。

(現病歴)入院2週間前に歯科処置を受け、入院前日より39度台の発熱があり、当科入院。入院時の血液培養5セットすべてから *Enterococcus faecalis* が検出され、感染性心内膜炎と診断した。βラクタム剤に過敏歴があるため、入院時からVCM+GMの点滴静注を開始したが解熱傾向はみられず、頭痛の増悪がみられ第14病日の腰椎穿刺では細胞数2488(好中球1972)と髄膜炎の合併がみられた。改善傾向が得られないため減感作によるABPC+GM併用療法を開始したところ開始翌日より著明な解熱をみた。治療経過中に薬剤過敏と考えられる発疹がみられたが、短期間の副腎皮質ステロイド併用で発疹は消失し、計6週間の抗生剤治療にて治癒した。

(考察)人工弁置換術後(+グラフト術後)、血液維持透析下、βラクタム剤の過敏歴の存在から予後不良な患者と考えられたが、減感作によるABPC+GM併用療法を用いて内科的に治癒せしめたという点で貴重な症例であった。

千葉大学病院における臨床分離菌の現況

¹⁾ 千葉大学医学部臨床検査医学講座

²⁾ 千葉大学医学部附属病院検査部

○菅野治重¹⁾, 高橋公毅²⁾, 渡辺正治²⁾,
村田正太²⁾,

〔目的〕臨床分離菌における抗菌薬耐性株の動向を把握するため、当院の分離菌について検討を行った。

〔材料と方法〕1997年1月～12月に起炎菌検出を目的として当検査部に検査が依頼された検体から分離され、同定と感受性検査を行った菌株について抗菌薬耐性株の検出状況調べた。MIC測定は *S.pneumoniae*, *Haemophilus* spp., 嫌気性菌には MIC-2000 system (Dynatec, 栄研化学) を、その他の菌種は Wark-Away (デイド) を用いた。耐性の判定は主に NCCLS の指針 (M7-A4, 1997) に従った。

〔成績〕上記期間に外来患者検体 4553 件 (3038 名)、入院患者検体 15457 件 (2470 名) が提出され、同定と感受性検査を行った菌株は外来患者株 1509 株、入院患者株 4579 株であった。同一患者の同一材料から連続して検出された株は月毎に 1 回のみ集計した。外来および入院患者検体からの検出菌の内訳は、各々、腸内細菌 278 株 (18%), 843 株 (18%), 非発酵菌 154 株 (10%), 1093 株 (24%), その他のグラム陰性菌 196 株 (13%), 178 株 (4%), ブドウ球菌 304 株 (21%), 1043 株 (23%), 連鎖球菌 295 株 (20%), 302 株 (7%), 腸球菌 102 株 (6%), 522 株 (11%), グラム陽性桿菌 73 株 (5%), 99 株 (2%), 嫌気性菌 93 株 (6%), 48 4 株 (11%) であった。外来患者検体からは *E.coli* 148 株 (10%), MSSA 133 株 (9%), *P.aeruginosa* 98 株 (6%), *S.pneumoniae* 87 株 (6%) 等が、入院患者検体では *P.aeruginosa* 672 株 (15%), MRSA 411 株 (9%), *E.faecalis* 350 株 (8%), *S.epidermidis* 302 株 (7%) 等が多く分離された。感受性は入院患者株の成績を示す。CAZ と IPM の耐性株 (MIC: CAZ: $\geq 32 \mu\text{g/ml}$, IPM: $\geq 16 \mu\text{g/ml}$) は、グラム陰性菌では、各々、*E.coli* (0%, 1%), *K.pneumoniae* (0%, 0%), *E.cloacae* (43%, 3%), *S.marcescens* (11%, 3%), *P.aeruginosa* (12%, 23%) であった。なお ESBL 産生が疑われた株は *E.coli* 4 株 (2%), *K.pneumoniae* 3 株 (3%), *Koxytoca* 5 株 (10%) であった。グラム陽性菌では、MRSA は *S.aureus* の 71% を占め、MINO 耐性株 (MIC: $\geq 8 \mu\text{g/ml}$) は 47%, GM 耐性株 (MIC: $\geq 8 \mu\text{g/ml}$) は 36% であった。腸球菌の ABPC 耐性株 (MIC: $\geq 16 \mu\text{g/ml}$) は *E.faecalis* (0%), *E.faecium* (81%), *E.aium* (56%) であった。これらの菌種には VCM 耐性株 (MIC: $\geq 16 \mu\text{g/ml}$) は検出されなかった。外来株では *S.pneumoniae* の PCG 耐性株 (MIC: $\geq 0.1 \mu\text{g/ml}$) は 47%, *H.influenzae* の β ラクターゼ⁻産生株は 16%, β ラクターゼ⁻非産生 ABPC 耐性株 (BLNAR) は 3% であった。

〔考察〕全体的には菌種の分離率と感受性に大きな変化は認めなかったが、入院株では *P.aeruginosa* の増加、外来株では *Hinfluenzae* の BLNAR の増加が目された。

糖尿病における皮膚軟部組織感染症の臨床的検討

神奈川県衛生看護専門学校附属病院

内科 桜井 馨、石田裕一郎、松本文夫

外科 岡部紀正

検査科 高橋孝行、辻原佳人

目的: 糖尿病患者は免疫機構が障害されているために弱毒菌による感染症を発症することが特徴で、ひとたび感染症を発症すると重症化する。

今回われわれは糖尿病患者で皮膚軟部組織感染症を呈した症例の臨床的検討を行ったので報告する。

対象と方法: 調査対象は 1992 年 1 月から 1997 年 12 月迄の 6 年間に当院を受診した糖尿病患者のうちの皮膚軟部組織感染症合併 40 例を対象に、検査所見、抗菌薬療法効果および予後について臨床的検討を行った。

結果: 皮膚軟部組織感染症の内訳は膿疽 19 例、蜂巣炎 7 例、深部膿瘍 4 例、皮下膿瘍、膿、感染粉瘤各 2 例、丹毒、火傷の 2 次感染各 1 例であった。分離菌種は *S.aureus* 6 例 (23.1%), MRSA 5 株 (19.2%), *P.aeruginosa* 4 株 (15.4%), *E.faecalis* 2 株 (7.6%), *S.epidermidis*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *E.cloacae*, *Peptostreptococcus* sp., *C.diversus*, *X.maltophilia* 各 1 株 (3.8%) 計 26 株で、複数菌は 5 件であった。併存している主な基礎疾患は、悪性腫瘍、肝障害、膠原病、胆石症、脳血管障害であった。なお下肢、足趾切断は 5 例であり、死亡は 7 例であった。糖尿病の合併症には、腎障害、神経症、網膜症などがみられ、腎不全例での予後は不良であった。抗菌薬療法としては、ブドウ球菌に対しては、 β -ラクタム系薬、MINO を第一選択として、 β -ラクタム系薬を第二選択として使用した。MRSA に対しては VCM, ABK を主に使用した。グラム陰性菌には広域ペニシリン系薬、 β -ラクタム系薬およびニューキノロン薬を使用した。

臨床効果は 40 例中抗菌薬療法のみを施した保存療法症例 34 例については有効 24 例で有効率 70.6% であった。無効症例は重篤 (悪性腫瘍、悪性関節リウマチなど) な基礎疾患を有し、敗血症などに進展して、死亡した症例が多い。

考察: 今回の検討から糖尿病患者は、易感染性であることから皮膚軟部組織感染症例では下肢、足趾切断を要したり、敗血症に進展する結果、予後の不良であることが示され、適正抗菌薬療法にもかかわらず約 70% の有効率であった。このことから、さらなる適正かつ十分な抗菌薬療法とともに血糖コントロールをはじめ、全身管理が必要であることを痛感した。

化膿性腹腔内感染症の細菌学的検討

岐阜赤十字病院・消化器内科¹⁾、
 岐阜大学・医・嫌気性菌実験施設²⁾
 ○伊藤陽一郎¹⁾、加藤直樹²⁾、加藤はる²⁾、
 渡邊邦友²⁾

目的：一般的に腹腔内感染症は嫌気性菌と好気性菌の複数菌感染症であると思われる。しかし、通常、医療現場では嫌気性菌の検査を行わず、好気性菌のみの検査結果より、抗菌薬の投与が行われることが多く、原因菌の把握が正確に行われていないのが現状であると思われる。演者らは、一般公立病院において見られる腹腔内感染症における原因菌を探る目的で、岐阜赤十字病院にて採取された腹腔内膿瘍および感染性腹水の嫌気および好気培養を行い、細菌学的検討とともに臨床的検討を行った。

対象および方法：対象は、1996年5月より1997年12月の間に、急性腹症をきたし、化膿性腹腔内感染症と診断された20例の入院患者である。内訳は、十二指腸潰瘍穿孔性腹膜炎4例、小腸穿孔性膿瘍4例、虫垂または回盲部穿孔性膿瘍4例、結腸穿孔性の膿瘍または腹膜炎3例、穿孔部位不明の骨盤腔内膿瘍1例、穿孔部位不明の後腹膜膿瘍と皮下膿瘍を併発した1例および肝膿瘍3例である。培養検体は、開腹手術または穿刺により採取した膿瘍または腹水とし、大半は6時間以内に嫌気および好気培養を行った。培地は嫌気性菌用にはプルセラHK RS寒天培地（極東）、PV加プルセラHK寒天培地（極東）、BBE寒天培地（極東）を、好気性菌用には血液寒天培地（BBL）、BTB寒天培地（極東）、食塩卵黄寒天培地（日水）を、真菌用にはカンジダGS培地（栄研）を用いた。

結果および考察：検出された一症例当たりの菌種数は、小腸穿孔例では、好気性菌2.5、嫌気性菌3.5、虫垂または回盲部穿孔例では、好気性菌3.0、嫌気性菌4.0、結腸穿孔例では、好気性菌3.0、嫌気性菌3.3で、嫌気性菌を多数認めた。肝膿瘍では3例すべてが単独菌感染で、*Klebsiella pneumoniae* 2例、*Streptococcus intermedius* 1例で嫌気性菌は検出されなかった。十二指腸穿孔例では菌陰性が2例認められた。菌種別には、肝膿瘍と十二指腸を除く消化管穿孔例では*Bacteroides fragilis* groupが17株と最も多く、ついで、*Escherichia coli*を含む*Enterobacteriaceae*が13株、*enterococci*と*streptococci*がそれぞれ8株分離された。十二指腸穿孔と肝膿瘍症例以外では、解熱や血中白血球数の正常化までに日数を要する傾向を示した。

十二指腸穿孔と肝膿瘍を除く腹腔内感染症で、多数の嫌気性菌が関与していることが、改めて明らかとなった。

消化器外科領域における嫌気性菌の検出状況と臨床的検討

日本大学医学部第三外科

○加藤高明、佐藤 毅、古畑 久、大塚一秀、
 中川良英、加藤るな、伊藤裕美子、牛尾真由美、
 岩井重富

〔目的〕消化器外科領域での嫌気性菌の検出状況と嫌気性菌感染症の臨床的特徴について検討する。

〔対象および方法〕日本大学板橋病院第三外科病棟において、1987年から1996年までの10年間に膿、胆汁から細菌が検出された検体はそれぞれ1111検体、415検体で、このうち嫌気性菌は359検体（32.3%）、34検体（8.2%）から検出された。今回、この嫌気性菌の検出率の年次推移を検索した。また、嫌気性菌、とくに*Bacteroides* spp.が検出された症例における背景因子、臨床像などの検索を行い、病原性について検討を加えた。

〔結果〕膿からの嫌気性菌の検出率は、1987年から年毎に31.9%（22検体/69検体）、37.2%（36/97）、38.3%（36/94）、29.2%（54/185）、27.9%（41/147）、32.1%（34/106）、44.0%（44/100）、25.6%（34/134）、23.3%（18/77）、38.8%（40/102）であった。嫌気性菌が検出された359検体（1987～1996年）から867菌株が分離され、このうち*Bacteroides* spp.は366菌株（42.2%）であった。

次に、胆汁からの嫌気性菌の検出率をみると、1987年から2年毎に6.8%（6検体/88検体）、15.7%（11/70）、8.4%（8/95）、6.8%（5/74）、4.5%（4/88）であった。

今回、これに加えて嫌気性菌分離症例、とくに*Bacteroides* 検出症例について検討し、臨床的特徴を述べる。

第1回重症感染症臨床分離菌薬剤感受性全国サーベイランス

○平満洋一、上原信之、高橋長一郎、金子陽子、
森伴雄、林 和、一山智、黒川幸徳、根ヶ山清、
山中喜代治、山口恵三

CPFX 重症感染症全国サーベイランス研究会世話人

【目的】 シプロフロキサシン (CPFX) 注射用の市販前に、重症感染症患者由来分離菌に対する CPFX 並びに各種注射用抗菌薬の最少発育阻止濃度(MIC)を把握するために、「重症感染症臨床分離菌薬剤感受性全国サーベイランス」を実施したのでその結果を報告する。

【方法】 全国 58 医療施設の細菌検査室を主体とする研究班から 1997 年 1～3 月の期間に 16 歳以上の入院患者で、発熱 (37℃以上)、CRP 陽性、末梢白血球数の増加及び検体中の炎症細胞の増加 (貪食細胞の浸潤等) 等の検査所見を呈した検体又は主治医より重症感染症と判定された患者から得られた新鮮臨床分離株のうち、尿路、上気道及び腸管感染症以外の感染症由来株を用いた。試験薬剤は、CPFX、PZFX、CEZ、CTM、CMZ、FMOX、CAZ、SBT/CPZ、PIPC、MIPIC、ABPC、IPM、PAPM、MEPM、AMK、GM、ABK、AZT、VCM、TEIC、EM、MINO の 22 薬剤で、これらの中から菌種によって適宜選択した。MIC 測定は、化学療法学会標準法に則り微量液体希釈法により希釈系列 0.06～128μg/ml の 12 段階で行った。

【結果】 3,974 株の分離菌が収集され、そのうちプロトコルに合致しない株を除いた 3,254 株について菌種毎に MIC 分布を集計した。*Pseudomonas aeruginosa* に対する CPFX の MIC₉₀ は、2μg/ml であり他剤に比べて最も強い抗菌力を示した。次いで PZFX の MIC₉₀ が 4μg/ml、MEPM、AMK および GM の MIC₉₀ がいずれも 16μg/ml であった。その他のグラム陰性菌に対する CPFX の MIC₉₀ は、カルバペネム系抗菌薬と同程度であり優れた抗菌力を示した。*Streptococcus pneumoniae* に対する CPFX の MIC₉₀ は、PSSP、PISP、PRSP のいずれに対しても 2μg/ml 以下であり、他系統薬にみられる PRSP の耐性化傾向は認められなかった。MRSA に対する CPFX の MIC₉₀ は、256μg/ml 以上であり VCM、TEIC、ABK を除く他剤と同様に MRSA に対しては抗菌力は弱かった。また、血液由来株および呼吸器感染症由来株に対する MIC 分布とブレイクポイント MIC との関係についても発表する。

【考察】 CPFX は、重症感染症患者由来の分離菌に対して MRSA 等の一部のグラム陽性菌を除いて強い抗菌力と幅広い抗菌スペクトルを持った薬剤と思われる。今後、CPFX 注射用の市販後においても経時的に耐性菌動向調査を実施する予定である。

東邦大学医学部附属大森病院における臨床分離株の検出状況と薬剤感受性検査について

東邦大学医学部微生物学教室

○古谷信彦、松本哲哉、石井良和、大野章、
館田一博、宮崎修一、山口恵三
東邦大学附属大森病院中央検査部 I 部
森千佳子、櫻谷総子、岩田守弘

【目的】 病院内における臨床分離株の検出状況と薬剤感受性検査による耐性菌の疫学情報は、エンピリックセラピーや院内感染をコントロールする上で極めて重要となる。今回我々は、当院における臨床分離株の検出状況と薬剤感受性検査の成績について報告するとともに、耐性菌の現況について検討した。

【方法】 1997 年度に当院で分離された株を対象に、菌種別、検体別、入院・外来別に各菌種の分離頻度を検討した。薬剤感受性検査の検討は MRSA、肺炎球菌、腸球菌、緑膿菌、腸内細菌科(大腸菌、クレブシエラ、セラチア)について行い、当院検査部にて薬剤感受性検査を行った株を対象とした。MIC の測定は日本化学療法学会の微量液体希釈法で実施し、耐性度の判定は NCCLS のガイドラインに従った。

【結果】 MRSA の薬剤感受性検査の成績ではすべての株で VCM の MIC 値が 2μg/ml 以下であった。一方、ABK では約 6% の株が 16μg/ml 以上の MIC 値を示していた。緑膿菌では全体で約 25% の株が IPM/CS に耐性(MIC 値 ≥ 16μg/ml)で、入院、外来別での耐性株の頻度の比較では前者が約 35% に対して、後者は約 7% にすぎなかった。大腸菌の第三世代セフェム剤(CZX、CPR CZOP)に対する薬剤感受性検査では 16μg/ml 以上の株がいずれの薬剤に対しても約 1% みられた。他の菌種についても報告する予定である。

【考察】 今回の検討では当院における主要な耐性菌の分離頻度が明らかとなった。今後はさらに現在問題となりつつある ESBLs やクラス Bβ-ラクタマーゼ産生菌の分離頻度とそのスクリーニング検査の確立が必要と思われる。

臨床分離菌の各種抗生物質に対する感受性率の推移 [I] - グラム陽性球菌、グラム陰性球菌について -

北里大学東病院 薬剤部

○岡本恵美子、難波昭雄、黒山政一、矢後和夫

(目的および方法) 臨床の場における抗菌薬選択の一指標とするために、厚生省が実施した「抗生物質感受性状況調査報告」を用いて、代表的なグラム陽性球菌、グラム陰性球菌について、種々の抗菌薬に対する感受性率の年次推移 (1993年1月、2月調査から1995年7月調査) を一覽としてまとめ、適応菌種との関連を考察した。

(結果) 調査した3年間における主な抗菌薬の感受性率は、OFLX及びSTの *Streptococcus pyogenes* (group A) と *Streptococcus agalactiae* (group B) に対する感受性率がやや増加し、CCLの *Streptococcus pneumoniae* と *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* に対する感受性率がやや低下したものの、各年次とも殆ど変化なく一定していた。

また、グラム陽性球菌、グラム陰性球菌が適応として認められている主な抗菌薬の感受性率は、各年次とも比較的良好な値を示した。しかし、一部の抗菌薬は、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis* 及び *Enterococcus faecalis* に対して低い感受性率を示した。

一方、CMZ、VCM、LMOX、ST及びMINOは、適応としては認められていない一部のグラム陽性球菌、グラム陰性球菌に対して、良好な感受性を示した。

(結論) 抗菌薬の選択に際しては、原因菌の同定を行い、そして、その感受性試験を実施することが原則である。しかしながら、時間的な余裕がなく、迅速な選択が必要となる場合には、今回の調査結果 (臨床分離菌の各種抗菌薬に対する感受性率の推移のグラフ化) が一目でわかる抗菌薬選択の際の一指標となり、臨床に役立つことを期待する。

臨床分離菌の各種抗生物質に対する感受性率の推移 [II] - グラム陰性桿菌について -

北里大学東病院 薬剤部

○難波昭雄、岡本恵美子、黒山政一、矢後和夫

(目的および方法) 前報告に引き続き、厚生省が実施した「抗生物質感受性状況調査報告」を用いて、代表的なグラム陰性桿菌について、種々の抗菌薬に対する感受性率の年次推移 (1993年1月、2月調査から1995年7月調査) を一覽としてまとめ、適応菌種との関連を考察した。

(結果) 調査した3年間における主な抗菌薬の代表的なグラム陰性桿菌に対する感受性率は、FOMの *Escherichia coli*、*Citrobacter freundii*、*Enterobacter aerogenes* 及び *Proteus mirabilis* に対する感受性率、MINOの *Citrobacter freundii*、*Klebsiella pneumoniae* 及び *Enterobacter aerogenes* に対する感受性率がやや増加し、CMZの *Haemophilus influenzae* と *Haemophilus parainfluenzae* に対する感受性率がやや低下しているものの、各年次とも殆ど変化なく一定していた。

また、グラム陰性桿菌が適応として認められている主な抗菌薬は、各年次とも比較的良好な感受性率を示した。しかし、一部の抗菌薬は、*Enterobacter cloacae*、*Enterobacter aerogenes*、*Serratia marcescens* 及び *Pseudomonas aeruginosa* に対して低い感受性率を示した。一方、ST、CMZ、LMOX、GM及びAMKは、適応としては認められていない一部のグラム陰性桿菌に対して、良好な感受性を示した。

(結論) 抗菌薬の選択に際しては、原因菌の同定を行い、その感受性試験を実施することが原則である。しかしながら、時間的な余裕がなく、迅速な選択が必要となる場合には、今回の調査結果 (臨床分離菌の各種抗菌薬に対する感受性率の推移のグラフ化) が一目でわかる抗菌薬選択の際の一指標となり、臨床に役立つことを期待する。

薬剤アレルギーにおける白血球遊走促進因子 とIL-1 α , IL-1 β およびTNF- α の相関性

水原郷病院・薬剤科¹⁾, 内科²⁾
○宇野勝次¹⁾, 栗原敬子¹⁾,
鈴木康稔²⁾, 関根 理²⁾

(目的) 薬剤アレルギーにおいて白血球遊走促進因子(LMAF)とIL-2の産生に高い相関性があることを当施設で既に報告した。そこで、今回は薬剤過敏症疑診患者に対して白血球遊走促進因子の検出、IL-1 α , IL-1 β およびTNF- α の測定を行い、薬剤アレルギーにおけるLMAFと各サイトカインの産生の相関性について検討した。

(方法) 薬剤過敏症疑診患者は19例(男17例, 女2例)を対象とし、その平均年齢は56歳、過敏症状は皮疹10例、肝障害7例、発熱2例、血小板減少1例、顔面浮腫1例、吐気・嘔吐1例であった(重複する)。被疑薬剤は注射剤11剤、経口剤8剤で、薬効分類では抗生物質製剤11剤、中枢神経用薬3剤、循環器官用薬3剤、呼吸器官用薬2剤であった。

白血球遊走阻止試験(LMIT)は、Agarose平板法の間接法を用い、患者血清無添加群と添加群の2つの系で行い、正常人白血球の遊走指数(MI)の平均値 \pm 2SDを正常範囲とし、患者のMI値が正常範囲より高値をLMAFの検出とした。IL-1 α , IL-1 β およびTNF- α の測定はサンドイッチ法による酵素免疫測定法を用い、基質にO-フェニレンジアミンを使用し、波長492nmの吸光度で測定した。なお、統計処理はt-testで行った。

(結果) LMITは患者血清無添加群で10例(MIの平均値:132.2, P<0.001)、患者血清添加群で8例(MIの平均値:129.6, P<0.001)にLMAFを検出した。IL-1 α は患者血清無添加のLMAF検出群(産生比率:7.09)と患者血清添加のLMAF検出群(産生比率:5.63)で薬剤無添加群およびLMAF非検出群に比べ有意(P<0.05)に高い産生を認めた。IL-1 β は患者血清無添加および添加のLMAF検出群とも高い産生を認めなかった。TNF- α は患者血清無添加のLMAF検出群では高い産生を認めなかったが、患者血清添加のLMAF検出群では薬剤無添加群に比べ有意(P<0.05)に高い産生を認めた。

(考察) 以上の結果から、薬剤アレルギーでLMAF産生にIL-1 α の産生が関与し、患者血清によりTNF- α の産生が亢進されることが示唆される。

ウサギ下顎骨感染モデルの多形核白血球遊走能に 及ぼす抗菌剤の影響

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第1講座
○大村真基、佐藤田鶴子、阿部 葵、藤城建樹、
北原和樹

(目的) 白血球は細菌感染症に対する生体防御機構において重要な働きをするが、治療に用いられる抗菌剤がその機能にどのような影響を与えるかを知ることは重要である。そこで我々は、ウサギ下顎骨感染モデルを応用し、日常の歯科臨床の場で多用されている抗菌剤が、好中球機能、なかでも遊走能にどのような影響を与えるかを比較検討してきた。今回は感染モデルの慢性炎症期を中心に検討を行ったので発表する。

(方法) New Zealand white 種ウサギ雄に、佐藤-Heimdhahl法に準じて *Streptococcus milleri*, *Bacteroides fragilis* の2菌種を接種して下顎骨感染モデルを作製した。また、菌を接種しない外科的侵襲のみ加えたものを対照群とした。菌接種後、3日目、7日目、21日目、8週目、12週目において採血、多形核白血球(PMN)を分離し、それを 1×10^6 cells/mlに調製した後に、各種濃度(1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml)の抗菌剤 cefteram (CFTM)、clarithromycin (CAM)、sparfloxacin (SPFX)と作用させ、FMLP (10^{-6} M)を走化性因子として96穴ケモタキスチャンバーを用いて遊走能を測定した。

(結果) CFTMは、1, 10, 100 μ g/mlの各濃度では好中球遊走能に影響を与えなかった。CAMは、1 μ g/mlの濃度では影響を与えなかったが、10および100 μ g/mlでは、遊走能を抑制させた。SPFXは、1 μ g/mlの濃度では影響を与えなかったが、10 μ g/mlでは促進、100 μ g/mlでは抑制させた。

(考察) 抗菌剤が好中球機能に及ぼす影響は、各薬剤また、各濃度によりまちまちであるが、臨床血中濃度のレベルでは抑制的に働く薬剤はなかった。

TGF- β 様作用を示すホスホマイシンの作用機構の解析

奈良県立医科大学寄生虫学

○木本 誠、斎藤真実、石坂重昭

(目的) ホスホマイシン (FOM)は抗炎症作用や免疫抑制作用を有していることが報告されている。そこで、FOMによるマウスを用いた免疫調節作用について解析を行った。

(方法) 実験動物は主としてC3H/HeNマウスを用い、細胞培養は 10^6 /mlのマウス脾細胞をRPMI1640 medium (5% FBSを含む)にて96穴プレート内で培養した。抗羊赤血球 (SRBC)抗体産生細胞数はJerneのプラーク法にて行い、ポリクローナル抗体産生細胞数はprotein Aプラーク法にて計測した。

(結果) FOMは *in vitro*培養系では7日目に抗体産生を抑制するが、10日目では逆に増大させる作用を示し、TGF- β の作用と類似していた。またFOMの免疫抑制作用は可溶性TGF- β レセプター (sR β)の添加により消失した。そこでFOMのTGF- β 様作用機構を解析したところ、潜在型TGF- β を活性型へ変換する plasminの活性はFOMにより増大しなかった。しかし、FOMは細胞のTGF- β に対する感受性を増大させることにより、細胞膜上のTGF- β レセプターの発現についてFOMの作用を調べると、特にFOMにより増大しなかった。それ故、FOMはTGF- β 刺激による細胞内伝達系を促進するものと考えられる。またFOMによる抗体産生の抑制は ICE inhibitorであるZVADにより消失することより、この抑制作用にはアポトーシスが関係していると考えられたので、FOMによるリンパ球のアポトーシスを検討すると、FOMによりアポトーシスは促進することが認められた。

(結論) FOMはTGF- β の作用の感受性を増大することにより、TGF- β 様作用を示した。かつ、FOMによる免疫抑制作用にはアポトーシスが関係していると考えられる。

マウスの肥満細胞依存性、非依存性遅延型アレルギー反応におけるFOMの効果：惹起注射後のFOMの生体内動態の解析

島根医大第一病理¹⁾、第一内科²⁾

○鳥井郁子¹⁾、森川 茂¹⁾、森川景子²⁾

(目的) マウス遅延型アレルギー反応 (DH)は、メチル化ヒト血清アルブミン (MHS A)とフロイント完全アジュバント (CFA)で誘導され、効果発現に肥満細胞 (MC)を必要としないMC非依存性DHとMHS Aとフロイント不完全アジュバント (IFA)で誘導され効果発現にMCを必要とするMC依存性DHに分けられ、FOMはMC非依存性反応を増強し、MC依存性反応を抑制すること明らかにした。両DHに対するFOMの作用機構を明らかにする為、効果発現時早期におけるFOMの生体内での動態を比較解析した。(方法) C57BL/6の左足底部皮下をCFA又はIFA併用MHS Aで感作し両DHを誘導した後、MC非依存性は8日目、MC依存性は約4週目に³H-FOM (2 μ Ci/10g BW)をipし直ちに右足底部に惹起注射を行った。10分-120分の一定時間に脾、左足底部 (感作部)、右足底部 (惹起部)、左リンパ節 (感作流域LN)を取り出し各組織を溶解後その放射活性を測定した。対照として無感作マウスに同様の処理を行った。(結果) ①MC依存性DH群はMC非依存性DH群、対照群に比べ脾、感作部への集積が少なかったが、惹起部への集積はMC非依存性群と同程度であった。②MC非依存性DH群は感作部と感作流域LNでの集積パターンが相関していたが、MC依存性DH群では脾と感作部での集積パターンが相関し、感作部と感作流域LNの集積パターンに相関は認めなかった。③両DH群共とも惹起部への集積は対照群に比べ早い時期に出現した。④MC依存性DH群では惹起部に集積した³H-FOMの消失遅延を認めた。

(考案) 両DH反応におけるFOMの生体内動態の相違が明らかとなった。又FOMによるMC依存性DHの抑制は④の結果と関連することが示唆された。

シェーグレン症候群モデルマウスにおけるホスホマイシン投与の影響

徳島大学歯学部口腔病理学講座
○石丸 直澄、林 良夫

【目的】シェーグレン症候群は、慢性唾液腺炎・乾燥性角結膜炎による乾燥症候群を主徴とする難治性の自己免疫疾患である。我々はヒト・シェーグレン症候群に極めて類似した疾患モデルNFS/sldマウスを確立し、その病態発症のメカニズム、唾液腺特異的な自己抗原の同定など詳細な病態解析を行ってきた。今回、この疾患モデルマウスにホスホマイシンを投与することにより涙腺・唾液腺における自己免疫病変への影響を検討した。さらに、エフェクター細胞に対するホスホマイシンの影響について*in vivo*にて解析を加えた。

【材料および方法】雌NFS/sldマウスに4週齢から8週齢および12週齢までホスホマイシン(300mg/kg/week)を腹腔内投与後、8週齢(FOM投与群; n=4, Control群; n=5)および12週齢(FOM投与群; n=5, Control群; n=5)にてそれぞれ屠殺し、全身各臓器の病理組織学的検索を行った。また、脾臓におけるリンパ球の活性化マーカーをフローサイトメトリーにて解析した。さらに、唾液腺特異的抗原である120kD α -fodrinに対する血清中の自己抗体をウエスタンブロットにて検出した。

【結果および考察】ホスホマイシンを8週間投与した群では、唾液腺・涙腺における自己免疫病変の有意な抑制効果が認められた。脾細胞におけるフローサイトメトリー解析では、エフェクター細胞の活性化マーカーであるCD44, L-selectin (Mcl-14), CD45RB, CD25がホスホマイシン投与によりメモリー型からナイーブ型にシフトすることが判明した。また、 α -fodrinに対する自己抗体の産生はホスホマイシン投与により抑制されることが明らかとなった。ホスホマイシンが唾液腺・涙腺に発症する自己免疫病変に対して抑制的に作用することが判明し、そのメカニズムとしてエフェクター細胞の活性化と自己抗体産生にホスホマイシンによる調節・制御機構が存在する可能性が示唆された。

各種抗菌薬の多クローン性免疫グロブリン産生能に及ぼす影響

帝京大学医学部内科学講座
○宮下 琢、斧 康雄、島本祐子、加藤淳子、川俣圭子、伊藤 匡、杉山 肇、西谷 肇、国井乙彦

【目的】抗菌薬の臨床効果は、薬剤の抗菌スペクトラムや体内動態以外にも、宿主感染防禦能など多くの因子が複雑に絡んでいると考えられる。近年、抗菌薬の免疫担当細胞に及ぼす効果が注目されているが、リンパ球に及ぼす影響についてはまだ十分に検討されていない。今回、各種抗菌薬のT細胞依存性、多クローン性液性免疫応答に及ぼす影響を、*in vitro* で比較・検討した。

【方法】リンパ球は、健常成人の末梢血から分離した。マイトマイシンC (最終濃度40 μ g/ml) で処理して増殖能を抑制したT細胞を、B細胞と一緒に培養した。細胞増殖能はMTT assay 法¹⁾で解析し、B細胞分化能は、10日目の培養上清中の免疫グロブリン (Ig) 濃度をELISA法で測定して検討した。今回の実験では、エリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、トブラマイシン(TOB)、アミカシン(AMK)、オフロキサシン(OFLX)、シプロフロキサシン(CPFX)、トスフロキサシン(TFLX)、グレパフロキサシン(GPFX)を、種々の濃度で実験系に添加し、未添加の場合と比較した。

【結果】最終濃度1 μ g/mlとなるように抗菌薬を添加した場合は、いずれの薬剤もIg産生に対して有意な影響を及ぼさなかった。一方、より高濃度(10 μ g/ml)の薬剤存在下では、TFLXとGPFXはIg産生を抑制した。他剤は、明らかな変化を及ぼさなかった。高濃度のTFLXとGPFXは、B細胞の増殖能も抑制した。

【考察】TFLXとGPFXは、高濃度で Bystander B 細胞の増殖を抑制し、その結果非特異的Ig産生を抑制すると考えられた。

1) Mosmann T : J Immunol Methods 1983, 65:55-63

ヒト好中球の活性酸素産生能に及ぼす
grepafloxacin の影響

帝京大学医学部内科学講座

芹 康雄, ○島本 祐子, 宮下 琢, 伊藤 區,
加藤淳子, 川俣圭子, 大谷津 功, 杉山 肇,
青木ますみ, 西谷 肇, 国井 乙彦

[目的] grepafloxacin(GPFX)がヒト好中球の活性酸素(ROS)産生能に影響を及ぼすかどうかを, ルミノール依存性化学発光法(CL)を用いて *in vitro* で検討した. また好中球のROS産生能の増強がみられる敗血症患者の好中球に及ぼす本薬の影響についても検討した.

[方法] 健康成人(15名), 敗血症患者(5名)の末梢血より得た好中球浮遊液(5×10^5 cells/ml)に種々の濃度のGPFX(0.1~50 $\mu\text{g/ml}$)を添加し, ルミノール存在下に37℃で10分間保温後, zymosan, FMLPを刺激物として20分間のCLを測定した. 好中球細胞内のCL活性の測定は, ルミスフェア-粒子を用いておこなった. また, cell-free系での活性酸素の産生はxanthine-xanthine oxidase(X-XO)系でのCL反応を測定し検討した.

[結果] 健康成人の好中球CL活性は, GPFX 5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で10分間前処理することにより濃度依存的に有意なCL活性の増強が認められ, 50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では, 薬剤未添加の場合に比較してzymosan刺激で約1.4倍, FMLP刺激で約1.7倍のCL活性の増強が認められた. また, 好中球の細胞内のCL活性も同様に濃度依存的に増強が認められた.

一方, 好中球のCL活性が増強した敗血症患者の好中球においてはGPFXによる好中球CLの増強効果は減弱していた. X-XO系でのCL反応に対しては, 今回検討した薬剤濃度のGPFXは有意な影響を与えなかった.

[考案] GPFXは *in vitro* において直接的に健康成人の好中球に作用して活性酸素産生能を高めることが明かとなった. しかし, 既に活性化した好中球に対してはG-CSFやTNFのようなサイトカインやLPSと同様にpriming効果の減弱を認めた. 今後はCL活性が低下した易感染宿主の好中球を用いて本薬の影響を検討する予定である.

ESBL産生菌の病原性に関する研究

: ヒト食細胞に対する抗食菌性の検討

帝京大学医学部内科, 岡中 俊*, 北里大学微生物**

○芹 康雄, 加藤淳子, 伊藤 區, 島本祐子,
杉山 肇, 宮下 琢, 西谷 肇, 国井 乙彦, 松村 充*,
山本美和*, 川上小夜子*, 宮澤 幸久*, 岡本一**,
井上松久**

[目的] 近年我が国においても*E. coli*や*Klebsiella* spp.においてESBL産生菌の分離頻度が増加し(主に尿や便由来), これらの新たな薬剤耐性菌による院内感染症も懸念されている. 今回, ESBL産生菌のヒト好中球に対する抗食菌性を感性菌と比較した. また, surgical ICUにおける易感染性宿主の中で大量出血を伴う肝破裂, 腸管損傷などの腹部外傷患者の好中球を用いてルミノール依存性化学発光(CL)を測定し患者の殺菌能も解析した. [方法] 当院で分離されCTXに対するMIC 800 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示すESBL産生の*E. coli*及び*K.pneumoniae*それぞれ10株を試験に使用した. 対象として両菌の薬剤感性菌それぞれ10株を使用した. 全血CLの測定は健康成人の末梢血を培養液で10倍希釈した全血1 mlを試料とし, 細菌浮遊液100 μl (2×10^7 cfu)を添加し, 20~60分間のCLを測定した. 好中球(5×10^5 cells)のCLは, 血清存在下で同様な方法で行ない, *K.pneumoniae*については好中球の貪食殺菌能も検討した.

[結果・考案] *E. coli*においてESBL産生株(耐性株)と感性株は健康人の全血CL及び好中球CL誘導能に差を認めなかった. 同様に*K.pneumoniae*においてもCL活性に差を認めず, 好中球の殺菌に対する抵抗性も耐性菌と感性菌に有意差を認めなかった. CL誘導能における*E. coli*と*K.pneumoniae*の比較では, 菌株により多少異なるが*K.pneumoniae*のCL誘導能は*E. coli*よりも有意に低く(約1/2~1/3), 本菌の抗食菌性を示唆する成績であった. 腹部外傷患者においては*E. coli*や*K.pneumoniae*などの腸内細菌による感染症のリスクが高く, またオプソニン活性の低下により食作用に付随する全血CLは著明に低下していることから, これら患者にESBL産生菌感染症が発症した場合は宿主側の食菌能の低下が存在するため, 抗菌薬の選択に際しては特に注意が必要である.

LPS 低応答性 C3H/HeJ マウスマクロファージの
IL-1 α 産生に及ぼすホスホマイシンの影響

明治製菓(株)薬品総合研究所

○三國谷 雄、渡部宏臣

【目的】Lps 遺伝子の変異した C3H/HeJ (*Lps^d*) マウスは、Lps 遺伝子が正常な C3H/HeN (*Lpsⁿ*) マウスに比べ、LPS のもつ様々な生物活性に低応答性で、ネズミチフス菌や大腸菌の感染に対してより高い感受性をしめすことが報告されている。我々はこれまでにホスホマイシン(FOM)がマウスマクロファージ(M ϕ)の NO やサイトカインの産生を修飾することを報告してきた。今回は C3H/HeJ マクロファージ (J-M ϕ) の IL-1 α 産生に及ぼす FOM の影響の有無を明らかにすることを目的として、C3H/HeN マクロファージ (N-M ϕ) と比較しながら in-vitro で検討した。

【方法】マウスは C3H/HeJ および C3H/HeN (雄、8~10 週齢、日本クレア) を使用した。チオグリコレート誘導腹腔マクロファージを LPS(*E.coli* O111:B4) で刺激した後、培養上清中および細胞内の IL-1 α を ELISA で、膜結合型 IL-1 α の活性を C3H/HeJ マウス胸腺細胞の増殖反応でそれぞれ測定した。IL-1 α mRNA の発現量は Competitive PCR 法で測定した。

【結果】N-M ϕ は LPS 刺激量依存的に細胞外に IL-1 α を産生し、FOM 共存下ではその産生量が上昇した。J-M ϕ では LPS 刺激による細胞外 IL-1 α の産生は認められなかったが FOM 共存下では LPS 刺激量依存的に細胞外 IL-1 α の産生が認められた。一方、FOM は LPS 刺激 N-M ϕ および J-M ϕ の細胞内 IL-1 α 、膜結合型 IL-1 α 量と IL-1 α mRNA の発現量に影響しなかった。

【考察】FOM は遺伝的に LPS に低応答な C3H/HeJ マクロファージの IL-1 α 産生を C3H/HeN マクロファージと同程度にまで上昇させることが確かめられた。FOM は、細胞内および膜結合型の IL-1 α 量および IL-1 α mRNA の発現量には影響しないことから、IL-1 α の細胞外への分泌過程に影響を与えていることが示唆された。

U937 細胞の LPS 刺激後の Ca 取り込みに及ぼす
ホスホマイシンの影響

東邦大学医学部微生物学教室

○松本哲哉、館田一博、古谷信彦、宮崎修一、
山口恵三

【目的】ホスホマイシン (FOM) は本来の抗菌作用以外に、抗アレルギー作用、難治性疾患の症状緩解効果など特殊な作用を有している。これらの作用は総括すると抗炎症作用が主体であると考えられるが、その機序を始め詳細はいまだ十分に解明されていない。

我々は昨年(第 44 回) 東日本化学療法学会総会シンポジウムにおいて、マウス緑膿菌内因性敗血症モデルを用いて、FOM の投与によって生存率の有意な上昇を認めること、抗菌作用を有しない FOM 鏡像体を用いても同様の効果が得られること、さらにその機序として FOM は白血球の LPS レセプターや接着分子の発現を抑制することによって、サイトカインの産生抑制、ひいては敗血症性ショックの防御効果をもたらしていることなどを報告した。

今回はさらに細胞レベルにおける FOM の作用をより明らかにするために、LPS 刺激後の細胞の Ca 取り込みに及ぼす FOM の影響について検討を行った。

【方法】ヒトのマクロファージ/単球系の cell line である U937 細胞を、RPMI1640 培地 (Nissui) を用いて、FOM 存在下あるいは非存在下に培養を行った。さらに蛍光色素として fura-2 を加え、一定時間培養後に蛍光光度計を用いて細胞内 Ca²⁺濃度の測定を開始した。測定中、LPS (*E. coli* O55: B5, Difco) を加え、LPS 刺激による U937 細胞の Ca 取り込みを測定した。

【結果および考察】FOM 非存在下で認められた U937 細胞の Ca 取り込みが、FOM 存在下では明らかに抑制された。この結果から FOM は LPS 刺激による細胞の Ca 取り込みを抑制し、それによって細胞の活性化を修飾しているものと推測された。

LPS病態における内因性サイトカインにおよぼすマクロライドの実験的影響

杏林大学第一内科

○酒寄 享、河合 伸、中川朋幸、井上 玄
渡辺秀裕、小林宏行

〔目的〕肺癆やDPBなどに対するマクロライドの有効性は諸家により有用となる報告を見ることができ。しかし、LPS病態における内因性サイトカインに対するマクロライドの影響を知るところは少ない。今回私どもは、マクロライド(特にアジスロマイシン)を中心にLPS病態における内因性サイトカイン特にTNF,IL-10に関して実験的検討を行ったので報告する。〔方法〕正常人末梢血リンパ球をFicoll-Paqueにて分離、 1×10^6 /mlに分けLipopolysaccharide(LPS:E.coli由来)10ng/wellを刺激としてAzythromycin(AZM) 100,10,5 μ g/ml、Erythromycin, Clarithromycinを各濃度で添加し24時間培養して上清中のTNF,IL-10を測定した。〔結果〕1)AZM添加群では、LPS単独添加群に比しTNFは有意な低下を認め濃度依存的にこの傾向が強かった。一方、IL-10では、LPS単独添加群に比しAZM添加群では濃度が低下するほど産生量の増加が観察された。他の薬剤についても報告する予定である。〔考案〕LPSの存在下において、in vitroではTNFは増強し、IL-10は不変であった。そこにAZMを添加することによりTNFの産生は抑制され、IL-10の産生は維持される傾向が観察された。これらのことから、LPS病態下におけるマクロライドの意義は抗菌作用というよりは、宿主に対する内因性サイトカイン特にTNFの抑制及びIL-10の濃度維持によるLPS病態下における過剰な炎症反応に対して抑制的に働いているものと考えられた。他の員環のマクロライドについても報告する予定である。

LPS病態における内因性サイトカインにおよぼす各種薬剤の影響

杏林大学第一内科

○中川朋幸、河合 伸、酒寄 享、井上 玄
渡辺秀裕、小林宏行

〔目的〕重症感染症とくにLPS病態下におけるサイトカインとくにTNF,IL-10の産生に及ぼす薬剤の影響について実験的検討を行った。〔方法〕1)正常人末梢血リンパ球をFicoll-Paqueにて分離、 1×10^6 /mlに分けLipopolysaccharide(LPS:E.coli由来)10ng/wellを刺激として Fosfomycin(FOM) 1.49,7.48,37.4 μ g/ml、Azythromycin(AZM) 100,10,5 μ g/ml,Urinastatin(UST)500,250,100 U/mlを各濃度で添加し24時間培養して上清中のTNF,IL-10を測定した。2)ICRマウスを用いてLPS12mg/kgを24時間間隔で2回に静脈内注射しFOM,AZM,USTを腹腔内に注射して時間経過で血清中のTNF,IL-10を測定した。〔結果〕1)FOM添加群では、LPS単独添加群に比しTNFは有意な低下を認め濃度依存的にこの傾向が強かった。AZM,USTにおいても同様な傾向が観察された。一方、IL-10では、LPS単独添加群に比しFOM添加群、AZM添加群、UST添加群いずれの例でも有意な上昇が観察されたが、AZM添加群では濃度が低下するほど産生量の増加が観察された。2)FOM投与群では1日目ではコントロール群と比較して有意な変化は認められなかったが2日目の6時間でTNFは有意な抑制が認められた。また、各群における死亡率はコントロール群で25%、FOM群5%、AZM群15%であった。〔考案〕以上の結果から、FOM,AZM,USTは重症感染症のLPS病態下においてTNFの増加を抑制しIL-10の血中濃度を維持することによって、過剰な炎症反応を抑制することが示唆されました。

重症感染症例における免疫抑制：サイトカイン
アンタゴニストによる解析

岡山大学医学部第一外科¹⁾、麻酔蘇生科²⁾

○岩垣博巳¹⁾、日伝晶夫¹⁾、五藤恵次²⁾、猶本良夫¹⁾、
合地明¹⁾、高倉範久¹⁾、平川方久²⁾、田中紀章¹⁾

【目的】重症感染症例における免疫抑制状態を、血中の炎症性サイトカインとそのアンタゴニストの変動から解析する。

【対象と方法】消化器疾患術後、重症感染を併発し、呼吸不全等にて集中治療室にて管理を余儀なくされた25症例を対象とし、健常成人を対照群とした。血中cortisolはRIA法、endotoxinはtoxicolor法、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-1ra (IL-1 receptor antagonist)、sIL-2R (soluble IL-2 receptor)、sICAM-1 (soluble intercellular adhesion molecule-1)はELISA法でそれぞれ測定した。

【結果】Endotoxinの陽性率は28% (7/24)、炎症性サイトカインであるTNF- α 、IL-1 β の陽性率はそれぞれ20% (5/25)、16% (4/25)でいずれも高くはなかった。抗炎症性サイトカインであるIL-6、IL-10の陽性率はそれぞれ16% (4/25)、32% (8/25)であり、IL-10において高い傾向があった。炎症性サイトカインの拮抗物質であるcortisol、IL-1ra、sIL-2Rは、健常群に比較し感染群で有意に高値であった。免疫応答に欠かせない接着因子であるICAM-1の可溶性分子であるsICAM-1も有意に感染群で高かった。

【結論】重症感染の状態においては必ずしも炎症性サイトカインそのものは高くはなく、陽性率も低い。これに比し、抗炎症性サイトカインであるIL-10の陽性率は比較的高く、またサイトカインアンタゴニストであるcortisol、IL-1ra、sIL-2Rはいずれも健常群に比し感染群で高値であり、sICAM-1も感染群で有意に高値であった。重症感染の病態においては、炎症性サイトカインのカスケードではなく、むしろ抗炎症性サイトカインのシステムとカスケードが活性化され、結果としてTNF、IL-1、IL-2の作用が抑制されるといった免疫抑制状態にあるものと考えられる。こういった免疫抑制状態が感染の持続を招来し、結果として臓器不全への進行をもたらすものと推察される。

Burkholderia pseudomallei に対するIFN- γ 刺激
マウスマクロファージの殺菌作用における一酸化
窒素及び活性酸素の役割

琉球大学医学部第一内科

○宮城 啓、川上 和義、新里 敬、比嘉 太、
健山 正男、斎藤 厚

同検査部

草野 展周

【目的】メリオイドーシスの病原菌である

Burkholderia pseudomallei は細胞内生存菌であることが確認されているが、今回我々は*B.pseudomallei* に対する感染防御機構、特にマクロファージ(M ϕ) による殺菌機構を検討したので報告する。

【材料と方法】使用菌株は*B.pseudomallei* 臨床分離株 H1354 を用いた。M ϕ はマウスM ϕ 細胞株 J774.1 を、細胞培養液はDMEMを用いた。また、M ϕ の刺激はリコンビナントマウスIFN- γ を用いて行った。IFN- γ 刺激M ϕ による細胞内殺菌活性を調べるため1x10⁶/mlのM ϕ をIFN- γ の存在または非存在下で24時間培養した後、1X10⁷ CFU/mlの*B.pseudomallei* と1時間接触させた。その後、細胞外の非食細胞を洗浄により排除し再びIFN- γ を加え、経時的に細胞内生存菌数を測定した。なお、残存している細胞外菌の殺菌のため本菌に対して優れた感受性を有し、細胞内へ移行しない imipenem を10 μ g/ml (20MIC) 添加した。また、NO合成阻害剤 (L-NMMA)、superoxide dismutase (SOD) 及びカタラーゼ投与の影響を検討した。

【結果・結論】IFN- γ 投与群では非投与群に比べ経時的、濃度依存的にM ϕ の抗菌活性の増強及びNO産生量の上昇がみられた。また、L-NMMAの投与によってNO産生の消失及びM ϕ の抗菌活性の部分的な抑制がみられた。一方、SOD、カタラーゼの併用投与によってもM ϕ の抗菌活性の部分的な抑制がみられたが、さらにL-NMMAを併用することでほぼ完全に抗菌活性が阻害された。以上の結果より*B.pseudomallei* は他の細胞内増殖細菌と同様に、IFN- γ によって活性化されたM ϕ によって殺菌されることが明らかとなった。

尿管上皮細胞における尿路病原性大腸菌のIL-8誘導

神戸大学泌尿器科

○李 勝、酒井 豊、米本洋次、中野雄造、樋口彰宏、宮崎茂典、松井 隆、荒川創一、守殿貞夫

大阪大学微生物病研究所細菌感染分野
本田武司

【目的】尿路感染症においては尿路上皮への種々の程度の好中球浸潤が認められ、尿中に好中球が出現する。この好中球遊走に関与する代表的な因子としてIL-8が知られている。今回我々は、培養正常ヒト腎近位尿管上皮細胞 (HRPTEC) を用いたin vitro実験系において、尿路病原性大腸菌の尿管上皮局所でのIL-8産生を検討した。

【方法】HRPTECは継代培養 (3~7代) したものを、菌株は尿路病原性大腸菌C85 (*pap+*, *hly+*) を用いた。HRPTEC (10^5 /well) を24-well microplateに培養後、C85培養上清を添加し1、3、6、12、24時間incubate後、培養上清を採取した。また限外濾過により分子量別に分けて加熱処理 (100℃、10分) したC85培養上清ならびにLPS ($1\mu\text{g/ml}$)、TNF- α (100U) も同様に添加、incubate後に培養上清を採取した。これら培養上清中のIL-8産生量をELISA法により測定した。また細胞のRNAも回収し、RT-PCR法によりIL-8mRNAの発現を経時的に観察した。

【結果と考察】ELISA法によるIL-8産生量は、C85培養上清添加後3時間より増加を認めた。また加熱処理したC85培養上清添加においてもIL-8産生は認められ、その量に変化はみられなかった。分子量別では5kDa以上で有意にIL-8産生量が増加していた。LPSによるIL-8産生増加は認められなかったが、TNF- α 添加では著明な増加がみられた。RT-PCR法ではC85培養上清添加後1時間の早期よりIL-8mRNA発現の増強が認められ、3時間後でピークを示した。以上より、HRPTECに対する尿路病原性大腸菌培養上清によるIL-8誘導がmRNAと蛋白レベルで確認され、誘導物質として耐熱性で分子量5kDa以上のものが存在することが示唆された。

RSウイルス感染におけるICAM-1, IL-6, IL-8発現誘導機序 - 肺Alveolar type II を用いて -

Dept. of Pediatrics, University of Texas Medical Branch at Galveston¹⁾, 和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科²⁾

○園本 優^{1),2)}, J. Patel¹⁾, P. L. Ogra¹⁾, 山中 昇²⁾

(目的) ウイルス感染において、気道上皮細胞にICAM-1, IL-6, IL-8 が発現されることが知られている。しかし、この発現機序についての詳細な検討はほとんど報告されていない。今回我々はRSウイルス感染におけるICAM-1, IL-6, IL-8 の発現機序について得た知見を報告する。

(方法及び対象) A549細胞 (肺alveolar type II cell line) にウイルスを感染、ICAM-1, IL-6, IL-8の経時的变化をELISA, RT-PCRで調査した。RSウイルス感染細胞培養上清を紫外線処理後、別の未感染細胞に加え培養上清中のcytokine等がICAM-1, IL-6, IL-8の発現に及ぼす影響を経時的にELISAで調査した。また、この培養上清を抗TNF-alpha抗体、抗IL-1 alpha抗体、抗IL-1 beta抗体で中和処理した後に別の未感染細胞に加え、ELISA, RNase Protection AssayでIL-8, ICAM-1の発現抑制を調査した。

(結果) 肺のウイルス感染モデルでは、ICAM-1, IL-6, IL-8はautocrine systemにより誘導され、RSウイルスにおいては主にIL-1 alphaにより誘導されていると推測された。

腸管出血性大腸菌の薬剤耐性メカニズムの解析

国立国際医療センター研究所

感染・熱帯病研究部

○脇阪紀子、山本達男

【目的】第45回化学療法学会総会において、1996年に全国で分離された腸管出血性大腸菌の薬剤耐性について報告した。耐性菌は全国各地に、そして各血清型に分布していた。今回は各薬剤に対する耐性メカニズムの解析を行った。

【材料と方法】腸管出血性大腸菌は、1996年に18都道府県で分離された192株で、そのうちtetracycline耐性株17株、kanamycin耐性株3株、nalidixic acid耐性株1株についてメカニズム解析を行った。

【結果】Tetracycline耐性株のMICは64-128 μ g/mlであった。血清型O157 13株中7株が *tetA* を、6株が *tetB* を、血清型O26 3株中2株が *tetA* を、1株が *tetB* を、そして血清型O111の1株が *tetA* を持っていた。Kanamycin耐性株は血清型O157、O26、O111で各々1株ずつ存在した。MICは ≥ 256 μ g/mlであった。3株ともaph(3)-I遺伝子を持つことが明らかとなった。このaph(3)-Iは現在報告されているサブタイプaph(3)-IaとIcの中間型のタイプでId、Ieと命名した。Nalidixic acid耐性株は血清型O157の1株で、MICは64 μ g/mlであった。この耐性株のGyrAはhot spotである87番目のアミノ酸がアスパラギン酸からチロシンに変化していた。なお、nalidixic acid感受性の血清型O157のGyrAは*Escherichia coli* K12のものと同様であるが、7つのコドンの塩基が異なっていた。

【結論】Tetracycline耐性は*tetA*、*tetB*遺伝子が確認され、effluxポンプの発現によるものであった。Kanamycin耐性は新しい配列のAph(3)-Iの産生によるもので、nalidixic acid耐性はGyrAのhot spotである87番目のアミノ酸変異によるものであった。現在fosfomycin耐性メカニズムについて解析中である。

腸管出血性大腸菌流行株(1996年株)がもつ薬剤耐性プラスミドの解析

国立国際医療センター研究所、感染・熱帯病

○山本達男、脇阪紀子

【目的】1996年にわが国で発生した腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*)感染症は、その流行の規模で世界最大のものであった。すでに、各地で分離された腸管出血性大腸菌について薬剤感受性を調べ、耐性菌出現の動向を解析して報告した。薬剤耐性は、散発例からの分離菌に多く、流行例からの分離菌では稀で、盛岡での流行例でのみ多剤耐菌が確認された。今回は、この多剤耐性流行株がもつ薬剤耐性(R)プラスミドを解析した。

【材料と方法】薬剤耐性腸管出血性大腸菌：1996年に盛岡での流行時に分離された4株(M1-M4)を用いた。最小発育阻止濃度(MIC)の測定：日本化学療法学会標準法に準じて、寒天希釈法により測定した。プラスミドの解析：Kado & Liuの方法で行った。プラスミド伝達：L broth中、37°Cで行った。不和合性の解析：不和合性の標準Rプラスミドを導入して、共存の有無を検討した。

【結果】流行株4株の耐性パターンとプラスミド含有パターンは全く同じで、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン、スルファメトキサゾールに耐性を示し、130 kbp、86 kbp、約5 kbpの3種類のプラスミドを保有していた。プラスミドのうち、130-kbpプラスミドが不和合性P群のRプラスミドで、86-kbpプラスミドはヘモリジンとセリンプロテアーゼをコードする病原性プラスミドであった。Rプラスミドの伝達頻度は、約 1×10^{-5} で、transconjugantsは常に約5-kbpのプラスミドを同時に保有していた。

【結論】わが国で分離された唯一の多剤耐性流行株は、不和合性P群の接合伝達性Rプラスミドを保有していた。一般に、不和合性P群の接合伝達性Rプラスミドは広い範囲に伝達するので、その宿主域について検討中である。また、常に約5-kbpプラスミドを伴って接合伝達した。この遺伝現象についても解析中である。

マクロライド抗菌薬のVTECに対するvero毒素産生およびLPS遊離に対する効果
大分医科大学第2内科、同付属病院検査部¹⁾
○村上純子、平田範夫、岸 建志、竹岡香織、
平井一弘、平松和史、山上由理子
山崎 透¹⁾、永井寛之、那須 勝

【目的】Verotoxin producing *E. coli* (VTEC) に対する抗菌薬の作用については、これまで多くの報告がされている。マクロライド系抗菌薬は、その抗菌活性の他に酵素などの種々の蛋白合成抑制効果が知られている。今回私達は、この効果に着目し、VTECの主要病原因子であるverotoxin、さらにLPSに対するマクロライド系抗菌薬の効果について*E. coli* 0157:H7株を用いて検討を行ったので報告する。

【方法】臨床分離株 (*E. coli* 0157:H7 VT1, VT2 positive) を用いたMueller-Hinton broth内にて培養後、各マクロライド系抗菌薬を作用させ、経時的に菌液上清中のverotoxin 量およびLPS量を測定した。サンプル中のverotoxin 量は、MTTによるVero細胞変性試験およびラテックス凝集反応にて測定し、比較検討した。LPSの定量は、endospeyにて行った。

【結果および考察】高濃度マクロライド薬添加群では、抗菌薬非添加群と比べ、弱いもののその生菌数の抑制効果が観察された。上清中のverotoxin量は、マクロライド系抗菌薬添加群において、著明な抑制効果が観察された。LPS量は、抗菌薬非添加群にて、時間の経過とともにその上清中の量が増加した。一方、マクロライド系抗菌薬添加群では、一部の薬剤において、上清中のLPS量は抑制する傾向が観察された。LPSとverotoxinは、その細胞障害活性において相乗作用を有することが指摘されている。今回の我々の検討では、一部のマクロライド系抗菌薬にてLPS、およびverotoxin量の抑制が観察され、臨床上の有用性が示唆された。

喀痰分離*Pseudomonas aeruginosa* に対する fosfomycin と他剤抗菌薬の併用効果

国立療養所南岡山病院内科
○多田敦彦、河原 伸、高橋 清

【目的】Fosfomycin(FOM)は併用する他の抗菌薬のMICを低下させることが知られている。FOMを含むより効果的な併用療法について*in vitro*で検討するために、喀痰より分離された*P. aeruginosa* に対する各種抗菌薬の単独でのMICとFOMとの併用時のMICを測定した。

【対象と方法】使用した菌株は、喀痰より分離された*P. aeruginosa* 20株であり、FOM, SBT/CPZ, CAZ, AZT, OFLX, PAPM/BP, IPM/CS, PIPC, DKBの単独薬剤のMICとFOMとの併用時のMICを日本化学療法学会標準法に従って測定した。併用時のMICの測定は各薬剤の常用量を投与後3時間血液中薬剤濃度の混合比にて行った。

Fractional inhibitory concentration (FIC) indexは、(併用時の薬剤AのMIC/単独時の薬剤AのMIC)+(併用時の薬剤BのMIC/単独時の薬剤BのMIC) の式にて計算した。

【結果】FOMと各抗菌薬との併用により、いずれの併用薬においてもMIC₈₀の低下が認められ、FOMのMIC₈₀も低下が認められた。FOMと各抗菌薬との併用によるFIC indexの平均値は、SBT/CPZ 0.38, CAZ 0.42, AZT 0.46, OFLX 0.56, PAPM/BP 0.64, PIPC 0.65, IPM/CS 0.66, DKB 0.77であり、SBT/CPZ, CAZ, AZTにおいて最も良好な併用効果が認められた。

MICが投与後3時間血液中濃度以下であった菌株の割合は、単独薬剤時とFOM併用時では、それぞれSBT/CPZ 55→100%, CAZ 70→95%, AZT 80→95%, DKB 20→90%, PAPM/BP 20→85%, IPM/CS 50→85%, OFLX 10→85%, PIPC 40→80%であった。FOMのMICが投与後3時間血液中濃度以下であった菌株の割合は、FOM単独時では55%であったが、SBT/CPZ併用時では100%, CAZ, AZTとの併用時ではそれぞれ95%であり、その他の薬剤との併用時では80%から90%であった。

【結論】FOMは*in vitro*における各種抗菌薬との併用により喀痰分離*P. aeruginosa* に対する抗菌力を増強したが、SBT/CPZ, CAZ, AZTとの併用効果が最も良好であった。

カルバペネム耐性緑膿菌に対するカルバペネム薬とアミノグリコシド薬の併用効果の検討

住友製薬株式会社・創薬第三研究所
○金澤勝則、住田能弘

【目的】カルバペネム薬(CBs)は抗緑膿菌活性に優れ、緑膿菌感染症に対する切り札的な薬剤として用いられている。しかしながら、臨床効果を考えると全ての緑膿菌感染症に対し、必ずしもCBs単独の治療で十分とは言えないのが実状であり、その様な難治性の症例には、CBsと他剤の併用療法が行われ、アミノグリコシド薬(AGs)との併用も有用なもの一つとされている。

しかしながら、CBsとAGsの緑膿菌に対する併用効果の基礎検討報告は少なく、特に近年その増加が懸念されているCBs耐性緑膿菌に対する検討やCBs間での併用効果の比較検討などについては殆ど報告されていない。

そこで今回、臨床分離のCBs耐性株を中心とした緑膿菌に対するCBsとAGsの併用効果について比較検討を行ったので報告する。

【方法】菌株：緑膿菌のCBs耐性株を中心とした近年臨床分離株、標準株および実験室分離のCBs耐性株；培地：MHA, MHB；薬剤：meropenem(MEPM), imipenem(IPM), amikacin(AMK), tobramycin(TOB)；併用効果の検討法：①治療標準の寒天平板希釈法によるChecker board法(相乗効果(相乗)：最小FIC index \leq 0.5；相加効果(相加)：0.5 < 最小FIC index \leq 1.0；不関：1.0 < 最小FIC index \leq 2.0；拮抗：最小FIC index > 2.0), ②殺菌曲線。

【結果・考察】Checker board法における併用効果

	相乗	相加	不関	拮抗
MEPM+AMK	10	15	0	0
IPM+AMK	0	11	14	0
MEPM+TOB	10	15	0	0
IPM+TOB	1	19	5	0

Checker board法を用いた検討の結果、MEPMの場合、AMKあるいはTOBのいずれとの併用においても25株中10株で相乗、15株で相加が認められた。これに対し、IPMの場合、AMKとの併用では相乗が認められた株は無く、11株で相加、14株で不関、TOBとの併用においては1株で相乗、19株で相加、5株で不関が認められた。また、殺菌曲線による検討においてもChecker board法の結果を反映した併用効果が認められた。

【結論】CBs耐性株を含む緑膿菌に対してMEPM+AGsの併用はIPM+AGsを上回る優れた併用効果を示した。(会員外共同研究者：平井康子、兼西ゆか、浜口恵里子)

Biofilm形成緑膿菌に対するpanipenemとfosfomycinの併用効果

東邦大学医療短期大学、東邦大学医学部微生物*
○辻 明良、福家 淳、小林明子、李 秀華*、
五島瑛智子

(目的) Biofilm形成菌は、食細胞による貪食や抗菌薬に抵抗し、難治性となることが知られている。今回、biofilm形成緑膿菌に対するpanipenem(PAPM)とfosfomycin(FOM)の併用効果を、濃度シミュレーション・システムを用いて検討した。

(方法) Biofilm形成：ポリ塩化ビニル製カテーテルチューブ(径5mmX10mm)の入ったMueller-Hinton brothにP. aeruginosa E7を接種し、約7日間培養し作製した。

併用効果の測定：Mueller-Hinton brothを用い、ボトル内にbiofilmを形成させたチューブを入れ、薬剤を添加した。薬剤の濃度推移はヒト血中濃度を使用し、PC-9801(NEC)で制御させた。経時的に生菌数を測定し、薬剤の殺菌効果を検討した。併用については、PAPMとFOMの同時投与、PAPM先行投与後、FOMを投与する場合、あるいはFOM先行投与後、PAPMを投与する時差投与についても検討した。また、浮遊緑膿菌についても検討し比較した。

(結果) Biofilm形成菌と浮遊菌に対する薬剤単独作用時の殺菌効果は、PAPMにおいては浮遊菌に比べbiofilm形成菌では弱く、FOMではほぼ同等な効果を示した。Biofilm形成菌に対するPAPMとFOMの併用効果は、同時投与より、時差投与の方がやや優れていた。すなわち、PAPMあるいはFOMを先行投与後、4時間目にFOMあるいはPAPMを投与する方が、殺菌維持時間、殺菌曲線下面積(AAKC)とも大きな値を示した。また、浮遊菌についても、同時投与より時差投与の方が優れ、PAPM先行投与後、4時間目にFOMを投与する群が、優れた殺菌効果を示した。

P.aeruginosa バイオフィームに対する
TFLX-CVA の併用効果
- Robbins device を用いた解析 -

富山化学工業株式会社 総合研究所¹⁾, 長谷川 病院²⁾
岡山大学 医学部 泌尿器科³⁾
○山田 博司¹⁾, 高畑 正裕¹⁾, 南 新三郎¹⁾, 渡辺 泰雄¹⁾,
長谷川 真常²⁾, 公文 裕己³⁾

【目的】我々はラット実験的膀胱結石に定着した *P.aeruginosa* バイオフィームに対し、tosufloxacin(TFLX)は殺菌効果を示し、clavulanic acid(CVA)を併用するとさらにその効果が増大することを報告してきた。今回、Robbins device を用い、*P.aeruginosa* バイオフィームに対する TFLX と CVA の併用効果発現メカニズムについて基礎的な検討を試みたので報告する。

【材料と方法】*P.aeruginosa* は尿路感染症患者由来の S-1305 株を用いた。人工尿に終濃度が 10^8 CFU/ml となるよう菌を接種し、Robbins device 内を灌流させ、装着したシリコンディスクにバイオフィームを形成させた。灌流 8 時間後から TFLX (12.5 μ g/ml) 単独、CVA (100 μ g/ml) 単独、および TFLX と CVA 併用時における殺菌作用を菌体内 ATP 量の測定による bioactivity の変化で調べた。また、薬剤作用時の菌の形態を走査型電子顕微鏡で観察した。

【結果及び考察】Robbins device に装着したシリコンディスクに形成された *P.aeruginosa* バイオフィームに対し、TFLX と CVA は単独でほとんど殺菌作用を示さなかったが、TFLX 作用時に CVA を併用することで強い作用が認められた。走査型電子顕微鏡を用いた観察で、CVA 単独作用時では殺菌像はほとんど見られなかったが、菌体外 glycoalyx の減少が認められた。TFLX 単独時では filament 化した菌体や一部に殺菌像が見られたが、TFLX-CVA 併用時にはさらに強い殺菌像が認められた。TFLX-CVA の併用効果は主として CVA の作用により TFLX の細胞内取り込み量が増大することによるものと考えられるが、その詳細は不明である。現在、菌体外 glycoalyx 量の変化、TFLX の菌体内取り込みなどを測定中であり、併せて報告する予定である。

千葉大学病院における緑膿菌の薬剤感受性と
抗菌剤の併用効果

千葉大学医学部附属病院検査部
○高橋公毅, 菅野治重

【目的】我々は緑膿菌に対する抗菌剤の薬剤感受性と併用効果を検討したので、その成績を報告する。

【実験材料と方法】(1) 供試菌株：1994年1月から1997年10月の間に、千葉大学病院検査部で臨床材料から分離した緑膿菌計2,689株を用いた。(2) 使用薬剤：AMK, AZT, CAZ, CFPM, CFS, CPR, CZOP, FOM, GM, IPM, ISP, MEPM, OFLX, PAPM, PIPC, TOB の16薬剤を用いた。(3) 緑膿菌に対する *in vitro* の併用効果の検討：上記の各薬剤の MIC の測定と *in vitro* での併用効果は、cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) を用い、微量液体希釈法により検討した。接種菌量は、 5×10^8 ($10^8 \sim 10^9$) cfu/ml, 35°C で24時間培養後 MIC を測定した。併用効果の強さは、最小 FIC index で表した。

【結果と考察】PIPC, CAZ, CFS, IPM, AZT, GM, TOB, AMK, ISP, FOM, OFLX の耐性率は、それぞれ 21.9, 10.7, 13.3, 19.3, 17.7, 14.7, 9.9, 27.3, 19.0, 81.1, 24.1% であった。TOB と CZA が低い耐性率を示し注目された。CAZ, CPR, CFPM, CZOP, IPM, MEPM, PAPM, TOB の MIC₉₀ は、それぞれ 32, 64, 16, 16, 8, 32, 2 μ g/ml であった。緑膿菌 70 株に対する CAZ と TOB, MEPM と TOB, および CZOP と TOB の併用効果をみると、相乗作用はそれぞれ 59 株 (84.3%), 55 株 (78.6%), 47 株 (67.1%) に認められ、臨床での有用性が示唆された。

緑膿菌に対するMEPMとABKの併用効果と効果的投与法の検討 —IPM、CPRとABK併用時との比較—

東京女子医科大学第二病院 小児科¹⁾
みさと健和病院 小児科¹⁾ 北里研究所²⁾
○長谷川裕美¹⁾ 乙黒一彦²⁾ 清水喜八郎²⁾

【目的】緑膿菌に対する β -lactamとアミノ配糖体の併用療法では、併用する β -lactamのPAEが効果的併用順序に影響を及ぼすことをIPMとCPRの比較にて報告したが(第44回総会)、今回、IPMとCPRの中間的な抗菌作用(殺菌作用、PAE、PA SME)を示したMEPMにおけるABKとの併用効果を同様の方法にて検討し、IPMまたはCPRとABK併用時の抗菌効果と比較した。

【材料】薬剤：MEPM, IPM, CPR, ABK。菌株：緑膿菌臨床分離 K1株 [MIC(μ g/ml):MEPM 6.25, IPM 12.5, CPR 25, ABK 3.13]。

【方法】(1)ABK作用後、洗浄除去した菌液に β -lactamを作用し、ABK前処理の有無による β -lactamの抗菌効果を比較した。(2)同様の方法にて β -lactam前処理の有無によるABKの抗菌効果を比較した。(3)Simulation systemを用い、 β -lactam+ABKの血中濃度動態での抗菌効果を投与順序を変えて比較した。

【結果】(1)いずれの β -lactamもABK前処理の有無による抗菌効果の差は認めなかった。(2) β -lactam \rightarrow ABKでは、IPM、MEPM前処理時にABK above-MICの殺菌効果が減弱したが、MEPMはIPMに比べ著明な減弱作用を示さなかった。また、CPR前処理時には、上記作用は認めなかった。(3)IPM、MEPM先行併用時の抗菌効果が、他の順序比べ劣る結果となったが、MEPMはIPMに比べ投与順序による併用効果の差は著明ではなかった。

【考案】緑膿菌に対する β -lactamとアミノ配糖体の併用では、カルバペネム系薬前処理時にアミノ配糖体のabove-MICの殺菌効果が減弱し、これがカルバペネム系薬先行作用時の併用効果減弱に関与するものと考えられた。またこの現象は、カルバペネム系薬の種類によりその程度が異なることより、緑膿菌に対する β -lactamのアミノ配糖体の投与順序による併用効果の差異は、使用する β -lactam抗菌効果、特にPAEの特徴に影響されることが示唆された。

形態学的観察を中心とした新規消毒剤 OPB-2045 の *Pseudomonas aeruginosa* に対する殺菌機構の検討

大阪府立公衆衛生研究所 ○坂上吉一、梶村計志
横山 浩、西村公志

【目的】院内感染の発生予防に貢献する消毒剤は、近年、製剤設計等の改良がなされ、より良い製剤が市場に登場しているが、新規製品の開発が望まれているのも事実である。今回、演者らはピグアナイド系の新規消毒剤 OPB-2045 の緑膿菌に対する殺菌機構の解明を主目的として、電子顕微鏡による形態学的観察を行い、知見を得たので報告する。

【実験方法】OPB-2045 の *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13275 に対する MIC 値及び MBC 値を常法に従い測定した。次に、MIC 値及び MBC 値前後での OPB-2045 の *Pseudomonas aeruginosa* に及ぼす殺菌効果を透過型及び走査型電子顕微鏡を用い検討した。なお、その際、OPB-2045 の作用時間(37°C、30分間及び6時間)の差異が形態学的変化に及ぼす影響についても合わせ検討した。

【結果】OPB-2045 に対する *Pseudomonas aeruginosa* の MIC 値及び MBC 値はいずれも 12.5 μ g/ml と同じ値を示した。

透過型電子顕微鏡による観察結果から、37°C、30分間の OPB-2045 処理で、菌に空洞ができ内容物が漏出した Empty cell (細胞壁のみの細菌)数が顕著に増加したが、対照群ではほとんど認められなかった。添加濃度が高くなるに従い、Empty cell 数がさらに増加したが、10MIC 濃度では菌の凝集像や溶菌像が観察された。

一方、37°C、6時間の OPB-2045 処理では30分間処理の場合よりも影響が顕著に表れ、1/2MIC 濃度でも Empty cell の出現を認めた。

走査型電子顕微鏡による観察では、処理群で一部細菌表面に空洞の出現を認めたが、対照群では形態変化は認められなかった。さらに、添加濃度の増加で、空洞のある細菌数の増加が観察された。2MIC 値及び 10MIC 値濃度では中が空になった細菌を多数認めた。

【結論】OPB-2045 の *Pseudomonas aeruginosa* に対する殺菌効果並びに電子顕微鏡による形態学的側面からの殺菌機構の検討から、本製剤が有用な消毒剤となる可能性が示唆されたと考えられる。

増殖期および定常期の*P. aeruginosa*に対する
T-3762の*in vitro*, *in vivo*殺菌効果

富山化学工業株式会社 総合研究所
○中田光人、山田博司、満山順一、高畑正裕、
南新三郎、渡辺泰雄、成田弘和

【目的】ニューキノロン剤とβ-ラクタム剤は、いずれも増殖期の*P. aeruginosa*に対し殺菌的に作用する。しかし、生体内感染では様々な生育相の菌が存在する可能性があり、両系統薬剤では作用機作や体内動態が大きく異なることから、生体内殺菌力にも違いがあるものと考えられる。そこで今回、ニューキノロン系注射剤として開発中のT-3762とβ-ラクタム系注射剤ceftazidime (CAZ)について、ヒト血中Cmaxに近似した濃度を作用させた時の、増殖期と定常期*P. aeruginosa*に対する*in vitro*および*in vivo*殺菌効果を比較したので報告する。

【方法】菌株：臨床分離株*P. aeruginosa* S-1299を用いた。
殺菌曲線：ヒト投与時(T-3762:0.5g/body 30min. d.i., CAZ:1g/body 1hr. d.i.)の血中Cmaxに近似した濃度、すなわちT-3762では8μg/ml、CAZでは64μg/mlを対数増殖期(約10⁷ CFU/ml)、または定常期(約10⁹ CFU/ml)の菌に作用させ、経時的に生菌数を測定した。感染実験：Wistar系雄性ラットの背部皮下に菌液50μlを染み込ませたペーパーディスクを挿入し、その直後または6時間後にT-3762(20mg/kg)、CAZ(40mg/kg)を静脈内投与し、経時的にディスク中菌数を測定した。

【結果】寒天平板希釈法により測定したT-3762、CAZの本菌株に対するMICはそれぞれ0.39、3.13μg/mlであった。*In vitro*殺菌効果を検討した結果、増殖期および定常期の菌に対しT-3762はCAZより強い短時間殺菌効果を示した。ラット背部皮下感染系では、薬剤非投与群の生菌数は感染直後から増加し、6時間以降ほぼ一定となった。T-3762は感染直後および6時間後のいずれに投与した場合も、CAZより強い殺菌効果を示し、この*in vivo*殺菌効果は*in vitro*の結果をほぼ反映するものと考えられた。

多剤耐性緑膿菌が尿から分離された症例の
臨床的検討

札幌医科大学泌尿器科

○竹山 康、国島康晴、松川雅則、高橋 聡、
広瀬崇典、塚本壽司

【目的】最近、各種抗菌薬に対して耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌が問題となっている。他科領域ではこの敗血症による死亡例も報告されている。しかし尿分離症例の臨床経過を検討した報告はみない。そこで昨年初めて当科において多剤耐性緑膿菌が3例の尿から分離されたのでそれらの臨床的背景について検討した。多剤耐性緑膿菌の定義に関しては未だ定まっていないが、今回の検討ではペニシリン系(PIPC)、セフェム系(CAZ)、カルバペネム系(IPM)、アミノグリコシド系(DKB)、ニューキノロン系(OFLX)の全ての薬剤に耐性であった緑膿菌を多剤耐性菌と定義した。

【結果と考察】昨年当科入院症例中、尿より10⁴/ml以上の菌数で分離された緑膿菌は18株であり、そのうち3株が多剤耐性株であった。患者背景については全例が膀胱癌であった。そのうち2例は膀胱全摘、回腸利用新膀胱造設術後の症例で、残り1例は不整脈とコントロール不良の糖尿病による手術不能例であった。3例とも分離時には尿路にカテーテルが留置されていた。全例で尿流の停滞によると思われる急性腎盂腎炎を発症していた。結果的に非感受性ではあったが抗菌薬の投与と、腎臓造設やカテーテルの開放などによる尿流の改善により解熱を認めたが直後は除菌はされなかった。また3例の分離時期が重なりあっており、血清型を調べたところ全てM型であったことから院内交差感染の可能性があった。特に分離状況を調べると、最初に分離された症例は他院からの転院症例で入院当初からの持ち込み例であった。その後同時期に入院中の2例から分離されたことから、この多剤耐性菌が病棟内の環境又は医療スタッフを介して尿路カテーテルから交差感染したことが考えられた。幸いにしてその後の出現はなかった。さらに交差感染を明らかにするために現在AP-PCR typingによりこれら3株のDNAゲノム型解析を行い検討中である。

緑膿菌*parC*遺伝子におけるキノロン耐性関連変異の簡易検出法の開発

岐阜大学泌尿器科

○仲野正博、山羽正義、出口 隆、安田 満、
西野好則、石原 哲、坂 義人、河田幸道

【目的】以前我々は緑膿菌*gyrA* 遺伝子変異の簡易検出法を報告した。今回、緑膿菌*parC*遺伝子におけるキノロン耐性関連変異の簡易検出法を開発し、複雑性尿路感染症由来株における*gyrA*、*parC*遺伝子変異株の分離頻度を簡易検出法で検討した。

【対象】複雑性尿路感染症患者より分離された緑膿菌57株を対象にした。

【方法】緑膿菌*parC*遺伝子のキノロン耐性決定領域であるSer-80、Glu-84のコドン内の変異を検出するため、ミスマッチの1塩基を含むプライマーをデザインし、PCR法によるDNA断片の増幅と、PCR産物の制限酵素での切断によるRFLP法で判定した。*gyrA* 遺伝子の変異は、以前報告した簡易検出法を利用した。

【結果】今回検討した菌株では、54.4%に*gyrA*および*parC*遺伝子に変異を認めた。共に変異のない株のOFLXのMIC($\mu\text{g/ml}$)は0.1~12.5に分布し、*gyrA*遺伝子だけに単独変異を有する株のMICは0.78~200に分布した。両遺伝子に単独変異を有する株のMICは25~400に分布し、*gyrA* 遺伝子に二重変異を有し、かつ*parC*遺伝子に単独変異を有する株のMICは50~400に分布した。*gyrA*および*parC*遺伝子に変異のない株に対するMIC分布は変異を有する株より有意に低いMIC分布を示した。*gyrA* 遺伝子に二重変異を有し、かつ*parC*遺伝子に単独変異を有する株に対するMIC分布は、*gyrA* 遺伝子だけに単独変異を有する株あるいは*gyrA*、*parC*遺伝子共に単独変異を有する株より有意に高いMIC分布を示した。

【考察】尿路感染症由来緑膿菌においては、*gyrA*および*parC*遺伝子変異の共存がキノロン系抗菌剤の高度耐性に関与する事が示唆された。今回開発した*parC*遺伝子変異の簡易検出法は、検出部位に限界はあるが、一度に多数の菌株で容易にかつ迅速に変異の検出が可能で、ニューキノロン系抗菌剤耐性機序の解析に有用な方法になりうると思われた。

抗生物質による緑膿菌由来のIL-8誘導因子
Pseudomonas nitrite reductaseの放出

長崎大学熱帯医学研究所内科(熱研内科)¹⁾

十善会病院内科²⁾ 虹ヶ丘病院³⁾

○土橋佳子²⁾、大石和徳¹⁾、森本浩之輔³⁾、
渡辺貴和雄¹⁾、永武 毅¹⁾

【目的】Pseudomonas nitrite reductase (PNR)は緑膿菌のペリプラスムに存在する酸化還元酵素であり、分子量60kDaのヘム蛋白である。我々はこのPNRが種々の呼吸器系細胞における強力なIL-8誘導因子であることを明らかにした(LAI.65:2648,1997)。今回はPNRの菌体外への放出機序を明らかにするため、in vitroにおいて以下の検討を実施した。

【方法】1) in vitro殺菌実験；臨床分離の非ムコイド型(It-1株、M-2株)、ムコイド型(5276株)の緑膿菌 2×10^8 cfu/mlをIPM, MEPM, CAZの10MIC濃度あるいはMediaのみとMedium 199中でインキュベーションし、経時的な菌数を定量した。2) 殺菌実験反応液をフィルター滅菌し、LPS刺激に反応しないヒト気道上皮細胞(BET-1A cell line)系に添加し、IL-8誘導活性を測定した。3) 殺菌実験反応液中のPNRの存在をイムノブロット法にて解析した。

【結果】1) IPM, MEPMは緑膿菌株を殺菌したが、CAZの殺菌作用は軽度であった。2) IPM, MEPMによるPNRの放出は2時間後より明らかで、CAZではPNR放出は4h後でもわずかしら認められなかった。3) BET-1A cell培養系におけるIL-8産生活性はIPM, MEPMでは2.0 ng/ml以上であったが、CAZはコントロール(抗生物質なし)と同等(0.5 ng/ml程度)であった。

【結論】βラクタム剤でも殺菌力の優れたカルバペネム系抗生物質はPNRを効率よく緑膿菌菌体から放出し、IL-8産生を誘導する。セフェム系であるCAZの作用は静菌的であり、PNR放出およびIL-8誘導能は低かった。緑膿菌感染においてβラクタム剤による殺菌に伴い、菌体からPNRが放出され、感染局所におけるIL-8産生に伴う好中球炎症を惹起されることが推察される。(共同研究者：熱研内科、ボラン・サー、田川恵子、寺井陽子、秋寄陸恵、東京大学医学部、松島綱治)

臨床分離緑膿菌の薬剤感受性成績

広島大学医学部附属病院検査部¹、第1外科²、
総合診療部³

○板羽秀之¹、竹末芳生²、横山 隆³

【目的】近年カルバペネム耐性緑膿菌の分離頻度の増加傾向が報告されている。そこで臨床分離された緑膿菌における各抗菌剤感受性を測定し、カルバペネム耐性株の他剤に対する感受性について比較検討した。

【方法】1997年1月から12月に当院で臨床から分離された緑膿菌201株を対象とした。薬剤感受性測定は本学会標準法の微量液体希釈法により行い、MIC2000で測定した。使用薬剤はIPM、MEPM、CAZ、CZOP、AMK、CPFX、PIPC他11薬剤を用いた。

【成績】各抗菌剤のMIC80($\mu\text{g/ml}$)はIPM:8、MEPM:2、CAZ:8、CZOP:8、AMK:4、CPFX:2、PIPC:16、であり、IPMは緑膿菌に対し比較的高いMIC値を示した。IPMのMIC16 $\mu\text{g/ml}$ 以上の株は201株中35株(17.4%)に認め、この35株中、MEPM、CZOPのMIC 8 $\mu\text{g/ml}$ 以下の株は29株(82.9%)、28株(80.0%)であり、CAZ、PIPCの24株(68.6%)、20株(57.1%)より高率であった。AMKのMIC、8 $\mu\text{g/ml}$ 以下の株は30株(86.0%)、CPFXの1 $\mu\text{g/ml}$ 以下の株は23株(65.7%)であった。

IPMで16 $\mu\text{g/ml}$ 以上のMICを示した株は喀痰からの検出が多く、また血液から検出された5株の中、4株は16 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。

【結語】IPMに対する高いMICを示す株が増加している。しかしこれらの株も耐性機構の異なる新セフェム、アミノ配糖体系では比較的良好な感受性を示した。同じカルバペネム系抗菌薬であるMEPMの低いMICに関しては今後の検討を要すると考える。

口腔レンサ球菌の薬剤感受性分布

いわき市立総合磐城共立病院歯科口腔外科¹
臨床検査部細菌室²

○椎木一雄、内藤博之、青木隆幸¹、
富沢真澄²

【目的】当院における口腔由来臨床分離口腔レンサ球菌の各種抗菌薬に対する感受性について検討した。

【対象と方法】検査材料は喀痰および口腔内の閉塞膿を穿刺により採取し、直ちに変法嫌気ポーターに注入、血液加寒天培地とガム半流動寒天培地にて増菌培養後、当院検査室にて細菌の分離同定を行い、その後スキムミルク培地にて凍結保存した。MICの測定は寒天平板希釈法にて行った。すなわち凍結保存した菌を血液加寒天培地およびトリプトソイブロスで培養、菌数を 10^6cfu/ml に調整し、マイクロランターを使用してMICの測定を行った。

分離された口腔レンサ球菌は、*S.oralis* 54株(検出頻度62.1%)、*S.mitis* 23株(26.4%)、*S.constellatus* 8株(9.2%)、*S.intermedius* 2株(2.3%)、入院患者由来57株(64.8%)、外来患者由来31株(35.2%)であった。被験抗菌薬はアンピシリン(ABPC)、セファクロル(CCL)、セフテラム(CFTM)、セフジニル(CFDN)、フロベネム(FRPM)、レボフロキサシン(LVFX)、Du-6859aの7剤である。

【結果】今回分離された口腔レンサ球菌全菌株に対する各薬剤のMIC測定の結果は、Du-6859aは0.2 $\mu\text{g/ml}$ で全株の発育を阻止したが、他薬剤では耐性傾向がみられた。MIC90値では、ABPCは12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、CCLは $>25\mu\text{g/ml}$ 、CFTMは $>25\mu\text{g/ml}$ 、CFDNは25 $\mu\text{g/ml}$ 、FRPMは $>25\mu\text{g/ml}$ 、LVFXは1.56 $\mu\text{g/ml}$ 、Du-6859aは0.05 $\mu\text{g/ml}$ であった。

Oral Streptococci におけるニューキノロン薬
耐性の経年的推移と菌種間差について

足利赤十字病院歯科口腔外科¹⁾、
三菱化学ピーシーエル・化学療法研究室²⁾、
東海大学医学部口腔外科学教室³⁾
○山根伸夫¹⁾、高倉淳¹⁾、白井卓¹⁾、小林實詔²⁾
金子明寛³⁾、佐々木次郎³⁾

歯科口腔外科領域にニューキノロン薬が使用されたのは1988年のOFLXが最初である。その後10年が経過し同系統の適応抗菌薬は6種にもものぼる。本来ニューキノロン薬は歯性感染症の主な起炎菌であるOral Streptococci に対しペニシリン系抗菌薬ほど強い抗菌活性を有していなかった事から当初の本薬剤の使用頻度はさほど高くなかった。特に最近では、ペニシリンアレルギーやペニシリン低感受性化に伴いペニシリン系抗菌薬に代わってニューキノロン薬が広く応用されるようになった。近年開発されたニューキノロン薬の一部はグラム陽性菌への抗菌スペクトラムも拡大されペニシリン系抗菌薬もしのぐ活性を有するものもある。一方、使用量に伴ったニューキノロン耐性化も問題視されている。

今回我々は過去10年前にさかのぼり、Oral Streptococci のニューキノロン薬感受性推移を詳細に検討し興味ある知見を得たので報告する。

試験菌株は1989年から1997年に歯科口腔外科領域で分離されたOral Streptococci 多数株を用い、ニューキノロン薬のOFLXに対する感受性を調査した。

その結果Oral Streptococci 全般では1995年分離株より若干耐性化傾向を認め、同時期にOFLX高度耐性株も検出された。また菌種別に解析すると*S. milleri* groupには今回調査した中でOFLX耐性株は全く存在しなかった。これとは対照的に*S. sanguis*, *S. mitis*等のいわゆるviridans groupでは95年、97年とMIC50以上の耐性株が認められた。これら耐性株は程度は異なるものの他のニューキノロン薬にも交叉耐性を示し、その耐性機構について検討した結果*gyrA*の変異が主な要因であった。この様にOral Streptococci の中でも菌種により耐性化傾向も異なる事は興味ある現象である。

一般歯科診療所における抗菌薬の使用状況

足利赤十字病院 口腔外科
○山根伸夫、高倉淳、白井卓

(目的)

近年色々な抗菌薬が開発され、臨床の場での使用に選択幅があることは患者にとっても有益である。しかしその有用性はそれらの抗菌薬が適正に使用されていることが前提になることは言うまでもない。重症歯性感染症に移行してから送られてくる症例を診ると必ずしも適正に使用されているとは言い難い症例もある。そこで今回我々は当院に紹介していただいている一般歯科診療所における抗菌薬の使用状況や薬剤の相互作用に対する認識などを調査しその動向を報告する。

(結果)

調査はアンケート用紙を郵送し回答してもらった。解析は回収できた127施設について行った。

96%の歯科診療所が院内での処方であり、2剤を常備している施設が約8割であった。ほぼ全施設でβ-ラクタム剤は常備されていた。しかしcephalexinのみしか常備していない施設も数施設あった。また使用抗菌薬の主流はcefaclorとampicillinのprodrugであった。

歯性感染症に対する抗菌薬の使用開始時期は約80%の施設で歯肉の腫脹と疼痛が出現した時期であり、その使用期間は3日間が圧倒的に多かった。使用している抗菌薬の有効性は3～5日間との回答が多かった。

なお自施設において注射用抗菌薬を使用する施設は2施設であった。

一方薬剤の相互作用などに対してはあまり認識されてなかった。

抜歯時菌血症に対する予防投与の提案

- 1) 東海大学医学部口腔外科
 - 2) 同付属病院中央検査センター
 - 3) 三菱化学ビーシーエル化学療法研究室
- 佐々木次郎¹⁾、山崎純子¹⁾、佐藤智明²⁾、小林寅吉³⁾

抜歯を含む歯科の手術時には、一過性の菌血症が起こることが知られている。そこで、リスクのある患者には、歯科鎮血処置がI Eの誘因とならないために予防投与が必要である。今までに私たちは、注射用の薬剤を点滴静注して、抜歯時の血液培養の陽性率を検討してきた。その結果、アンピシリン点滴後の血培陽性率が、1992年の4%から1997年には22%に増加したこと、ならびにバンコマイシンやクリンダマイシンでは血培陽性率が38%以上と高いことを報告した。また、現在の市販薬の中では、カルバペネム系注射剤3剤の血培陽性率が低く、なかでもメロペネムは4%と最低の陽性率であったことも本学会に報告した。すでに注射剤における血培陽性率の比較は、ほぼ把握できている。今後もリスクの高い患者に対しては、注射剤の優れたものを用いるという原則は変わらないが、それほどリスクの低い患者に対しての予防投与として、開業の歯科医が容易に用いることのできる経口の抗菌薬で、ある程度の予防効果を示すものを探すという目的で、検討を始めた。以前に検討したアンピシリンプロドラッグ 500mgの抜歯前45分投与では、血培陽性率を低くすることはできなかった。今回は、新しいタイプの経口薬ファロペネムについてスクリーニングテストを始めた。その結果、150mgの抜歯前投与では、4例中3例で血培陽性であった。200mgの投与では6例中4例が陽性であった。さらに1回量を増量して検討する予定である。

後鼻漏および鼻漏の細菌学的考察

名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科
○鈴木賢二、馬場駿吉

(目的) 後鼻漏の訴えは日常臨床で比較的頻繁に経験するものであるが、これまでその細菌学的検討はほとんど為されていない。今回当教室および関連施設において後鼻漏の細菌学的検討を行い、あわせて一部の症例につき鼻漏との検出菌の異同について比較検討した。

(対象および方法) 当教室および関連施設を受診した1週間以上無治療の、他覚的に後鼻漏を認める患者185症例を対象とし、無菌的に咽頭後壁に付着する後鼻漏を採取し菌検出に供した。またそのうち87症例では鼻漏も採取し細菌学的に比較検討を行った。

(成績ならびに考察) これまでの我々の検討では健康人の咽頭後壁からは口腔内常在菌が検出されるのが常であるが、明らかな後鼻漏を認める症例では *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, 腸内細菌等を検出することが多く、これらは鼻漏よりの検出菌と一致していた。この結果は当然と言えば当然かも知れない、すなわち他覚的に明らかな後鼻漏は主として慢性鼻副鼻腔炎急性増悪あるいは急性鼻副鼻腔炎で鼻漏を認めるときにみることが多いので、その検出菌は慢性鼻副鼻腔炎急性増悪あるいは急性鼻副鼻腔炎の検出菌に準ずると考えられる。これらの詳細につき報告する。

腫瘍表面へのbacterial colonization、
頸部リンパ節へのbacterial translocationからみた
口腔癌術後感染例の検討

1) 東海大学医学部口腔外科

2) 総合磐城共立病院口腔外科

○坂本春生¹⁾、内藤博之^{1) 2)}、青木隆幸^{1) 2)}、
渡辺大介¹⁾、佐々木次郎¹⁾、椎木一雄²⁾

【目的】私たちは以前から、口腔癌表面へのbacterial colonization、頸部リンパ節への bacterial translocation および術後感染について報告してきた。今回は、症例を追加して口腔癌手術時の予防的投与方法を検討するために、それぞれの培養結果と術後感染例について比較検討した。

【方法】口腔外科にて手術を行った口腔癌患者のうち、原則として抗菌薬の術前投与を行った30症例を対象とした。予防投与は全例アンピシリン1gを手術開始時、および8時間を経過したものについては再度追加投与した。頸部郭清時に一塊にして採取した頸部組織から計156個(平均5.5個)の所属頸部リンパ節を摘出し、

各リンパ節および腫瘍組織を細菌学的、病理学的検討に供した。これらの結果を術後感染例と比較検討した。

【結果】術後感染は30例中、4例に見られた。4例のうち、3例は術後感染からの検出菌と腫瘍およびリンパ節から分離された菌とが一致した。

検出菌は、*S. aureus*、*K. pneumoniae*、*Enterobacter aerogenes*、*MRSA*などであった。これらの検出菌は口腔常在菌ではなく、また、予防投与に使用したアンピシリンに対して低感受性のものが多かった。

【考察】今回の結果から、口腔常在菌以外の菌が腫瘍表面に定着し、さらに translocationを生じている可能性が考えられた。口腔常在菌をtargetとした予防投与とともに術前のsurveillance culture、あるいは腫瘍培養の結果を参考とした抗菌薬の選択の必要があると思われた。

PCRによる急性中耳炎患児鼻咽腔よりのペニシリン耐性肺炎球菌の検出

(1和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科
2帝京大学医学部臨床病理 3ニューヨーク州立大学小児科)

○保富宗城¹ 島田純¹ 鈴木正樹¹
山中昇¹ 生方公子² 紺野昌俊² Howard Faden³

(目的)急性中耳炎は、小児において最も頻繁に罹患する上気道感染症であり、3歳までに50~70%の小児が少なくとも1回の急性中耳炎に罹患する。しかしながら本邦において、急性中耳炎に対する治療ガイドラインが確立されていないのが現状である。起炎菌として*H. influenzae* *S. pneumoniae* *M. catarrhalis*が報告されており、中でも*S. pneumoniae*は近年ペニシリン耐性菌の増加が問題とされている。PCR法は優れた特異性と感度を持つ分子生物学的手法であり、病原体検出から遺伝子解析まで様々な応用がなされている。我々は、初診時所見により急性中耳炎の重症度を分類し、鼻咽腔細菌検査とPCR法によるペニシリン耐性肺炎球菌の検出をい。治療経過と比較検討した。

(方法)対象：和歌山県立医科大学および関連施設を受信した0~5歳までの小児急性中耳炎67例を対象とした。初診時、臨床症状(発熱、啼泣、耳痛)および鼓膜所見により軽症例と重症例に分類するとともに、上咽頭細菌培養検査を施行した。さらに、*S. pneumoniae*検出例については微量液体希釈法によるMICの測定に加え、PCR法によるペニシリン感受性遺伝子の検討を行った。臨床経過は、AMPCを初回投与し、5日後での改善度を検討した。

(結果および考察)培養法にて*S. pneumoniae*が54%、*H. influenzae*が14%、*M. catarrhalis*が23%に検出された。またPCR法にて*S. pneumoniae*の約27%にペニシリン耐性菌が検出された。さらに重症例においては、5日後での治癒率は62.5%で軽症例の80.0%を大きく下回るものであった。以上のことより急性中耳炎の発症および経過には上咽頭における細菌が重要な要因であり、ペニシリン耐性肺炎球菌が多く存在すると考えられ、早期の治療ガイドラインの作成が望まれると考えられた。