ペニシリン及びセファロスポリン系薬剤の耐性菌に対する Synergistic Action の検討

第1篇 基礎的検討

慶応義塾大学泌尿器科学教室 鈴木 恵 三
(主任: 大越正秋教授)

STUDIES ON SYNERGISTIC ACTION AGAINST PENICILLIN AND CEPHALOSPORIN RESISTANT BACTERIA

Section I: Laboratory Studies

Keizo Suzuki

Department of Urology, Keio University, School of Medicine, Tokyo

(Director: Prof. M. Ohkoshi)

Studies on the synergistic action of derivatives of penicillin or cephalosporin were investigated *in vitro*, employing four strains of gram negative rod bacteria which were isolated from urinary tract infections and resistant against cephaloridine (CER) and ampicillin (AB-PC). The strains tested were Citrobacter 205, Klebsiella 343, E. coli K-12/R 743 (received R-factor carrying penicillin resistant marker from Rettgerella 743) and Pseudomonas 1050. The patterns of these strains were different from each other. The combinations of drugs in the studies presented were CER-methicillin (DMP-PC) and AB-PC—DMP-PC. The inhibitory effect of the combination on bacterial growth was investigated by turbidimetric assay of growth in broth, plate dilution test and disc test. Enzymological studies were performed employing DMP-PC as an inhibitor of hydrolytic β -lactamase action. Kinetic studies were done also. Synergistic action of CER and DMP-PC was well demonstrated in Citrobacter 205, which was moderately resistant against CER and showed weak cephalosporinase activity. Klebsiella 343 was highly resistant against CER and AB-PC and showed high cephalosporinase activity. On this strain the synergistic action of CER and DMP-PC was clearly demonstrated. However, the growth inhibitory effect of AB-PC and DMP-PC on the strain was only additive. It might be explained by lower affinity of CER to the enzyme and higher affinity of penicillin from the results of kinetic analysis of the enzyme produced by Klebsiella 343. On E. coli K-12/R 743, no synergistic action was observed even at a high concentration (4 mg/ml) of each drug. On Pseudomonas 1050, inspite of very low activity of β -lactamase, synergistic action was demonstrated in the combination of CER and DMP-PC. Generally, synergistic action was observed more clearly in the combination of CER and DMP-PC than in that of AB-PC and DMP-PC. The mechanism of synergistic action has been thought to be chiefly due to inhibitory effect of DMP-PC on β -lactamase action, but as in the case of Pseudomonas 1050, the above explanation might be incomplete. Further investigations are necessary.

緒 言

最近, 新種抗生物質及び化学療法剤の発見は数多い¹⁾. しかし, 一方こうした薬剤を乱用する結果, 耐性菌を生み, 新薬剤と耐性菌出現のいたちごつこを繰返すことになっているのが現状である. 特に尿路感染症においては, 薬剤が高濃度に尿中に排泄される結果, これが

selecting pressure として作用し, 高度耐性菌をみることが多い.

こうした難問に対処するには, 二つの方法が考えられる. 一つは耐性化の起き難い新しい薬剤を求めること. 又一つは, 耐性化機構を研究解明し, その機構を阻害することである.

筆者は後者の一つの応用問題として、薬剤の synergistic action (協力作用) をとりあげ、臨床的応用を前提として、種々の実験方法で基礎的検討を行った。

この場合、薬剤の協力作用ということは、二種又はそれ以上の異なる抗菌性薬剤の組合せによる、相加的效果を目的とした併用療法とは問題を異にする。即ちここでいう協力作用とは、抗菌性薬剤と酵素活性阻害剤とを併用することにより、単独使用では抗菌力を発揮し得なかつた薬剤の抗菌力を発揮せしめ、耐性レベルを引き下げることである。

この種の基礎的研究は、1963年頃より、Sutherland 等、Hamilton-Miller, Sabalh 等によつてなされていた^{2)~8)}。本邦でも、最近、峯等がこの種の報告に基づいた基礎的検討を報告している^{9)~12)}。これ等の報告によれば、細菌の産生する β -lactamase (penicillin 又は cephalosporin 系薬剤の構造の一部を成している β -lactam 環を、加水分解する酵素) は、或る種の合成 penicillin、即ち methicillin (Dimethoxyphenyl-isoxazolyl-penicillin, DMP-PC), cloxacillin (Methylchlorisoxazolyl-penicillin, MCI-PC) 等によつてその酵素活性が抑制されるといわれている。

一方合成 penicillin のうち、ampicillin (Aminobenzyl-penicillin, AB-PC)、合成 cephalosporin 剤の cephaloridine (CER)、cephalothin (CET) は本来広い抗菌スペクトラムを持つが、 β -lactamase によつて不活性化され、酵素産生菌には抗菌力を失つてしまう。

そこで、一方で methicillin 等の酵素阻害剤によつて酵素活性を抑え、その結果 ampicillin, cephalosporin の抗菌力が生かされれば、耐性レベルを引き下げることができると考えられる。こうした薬剤の併用の効果が協力作用である。

このような協力作用に関する基礎的報告は比較的多くみられ、未だ不明な点もあるが、その mechanism については、一応上述のような説明がなされている。

筆者はこうした報告を参考に、協力作用について基礎的検討を行い、この本態の追求と解析を試みたのでここに報告する。

実験方法

1. 被検菌 (表 1)

尿路感染症から分離したグラム陰性桿菌のうち、耐性 pattern の異なる 4 株を選んだ。Citrobacter 205, Klebsiella 343, E. coli K-12/R743 (Rettgerella 743 の PC 耐性因子を、E. coli K-12に移した株)¹³⁾, Pseudo-

表 1 4 株に対する MIC (平板希釈法)

被 検 菌	MIC 薬剤	MIC (mcg/ml)	
		CER * ⁽¹⁾	AB-PC * ⁽²⁾
Citrobacter 205		250	100
Klebsiella 343		4000<	4000
E. coli K-12/R 743		5	4000<
Pseudomonas 1050		250	2000

注 * (1) CER : cephaloridine

(2) AB-PC : ampicillin

monas 1050 がそれである。これ等 4 株の cephaloridine, ampicillin に対する最少発育阻止濃度 (MIC) は、表 1 に示した (以下の文中では、原則として Citrobacter 205 は、Citrobacter, Klebsiella 343 は Klebsiella, E. coli K-12/R 743 は E. coli, Pseudomonas 1050 は Pseudomonas と略す。)。

2. 被検薬剤

Ampicillin (Viccillin-明治, AB-PC), cephaloridine (Ceporan-鳥居, CER), methicillin (Staphcillin-万有, DMP-PC) を用いた (以下の文中における薬剤の記載は原則として略称を用いる。)。

3. 協力作用の観察方法

CER 又は AB-PC と、DMP-PC との併用の効果を観察するために、次の 4 つの方法で、*in vitro* での実験を行った。

1) 比濁法 (turbidimetric assay)

被検菌を Penassay broth (Difco) 中に、37°C overnight growth した後、更に容量の大きな L-tube (容量約 50ml) 内に、broth と混合、Monod-type の振盪培養器 (37°C) で増菌培養を行う。この菌液を、容量の小さな L-tube (容量約 15ml) 内に、broth で希釈、被検薬剤を各種の組合せ、濃度で混入し、optical density (O.D.) をほぼ一定にした後、振盪培養を開始する。菌の増殖は、経時的に一定の間隔をおいて、electrophotometer (伊藤超短波, KF 型) を用い、O.D. を測定することによつて観察した。用いた filter は 530m μ である。

2) 平板希釈法 (plate dilution test)

Penassay broth (Difco) に pre-culture した菌を生食水にて 100 倍希釈した後、1 白金耳 (約 10⁴ 個) の菌液を、ドリガルスキー平板培地 (栄研) に画線塗布し、37

37°C over-night growth した後、判定した。この平板内には、各種各濃度の組合せの薬剤が混合してある。判定方法は、薬剤を含みぬ平板上の菌の発育、即ち control と同じ発育を示したものを(卅)、それより菌数の少ないものを、数の減少に従つて、それぞれ(卅)、又は(十)と表わし、数コロニーのものを(土)とし、発育を認めないものを(一)とした。

3) ディスク法 (disc method)

使用したディスクは、直径 6 mm (栄研) で乾熱滅菌した後、CER, AB-PC, DMP-PC の薬剤を吸着、乾燥させたものである。菌混平板は、培地として、nutrient agar (栄研) を使用した。Overnight で pre-culture した被検菌を 0.1 ml とり、培地 10 ml に混合し、乾燥後、この平板上に、先に作製したディスクを置く。配置は、上下に、CER 又は AB-PC 単独と、DMP-PC を control として置き、中央に CER 又は AB-PC と DMP-PC のディスクを一定の間隔をおいて置く。この距離は予備実験から、4~7 mm が適当であると判明し、これに従った。判定は、37°C overnight 培養した後に行つた。

4) DMP-PC による酵素阻害効果 (enzyme inhibitory effect of DMP-PC on cephalosporinase)

被検菌を Penassay broth に増菌した後、遠沈濃縮したものを、音波破壊する。これを 20,000 G 遠沈後、その上清をとり、これを crude な β -lactamase として用いた。Substrate としては、CER を用いた。酵素活性測定法は、Perret による iodometric assay を modify したものである¹⁴⁾。その概略は、7 mM の CER 溶液を、0.2 M phosphate buffer で作製し、この液 2.5 ml に、1 ml の酵素を加え、30°C 振盪恒温槽内で 30 分反応を起させる。この後、iodo 試薬を 5 ml 加え反応を停止させた後に 1/60 N の thiosulfate で滴定する。DMP-PC は substrate と同時に、酵素反応を起す前に、予め各種濃度のものを加えておいた。

4. 酵素学的実験

被検に用いた 4 株より得た crude enzyme の、基質 CER 又は AB-PC に対する酵素活性を、前項 4) と同じように、Perret の iodometric assay で測定した。次いで、Novick の方法で K_m (Michaelis-Menten constant) と K_i (inhibitor constant) を *Klebsiella*, *E. coli* の酵素について測定した¹⁵⁾。

実験結果

1. 比濁法による成績

1) *Citrobacter* (図 (1))

CER 250 mcg/ml, DMP-PC 500 mcg/ml, それぞれ単独の場合には、control (薬剤を含みぬ tube) と同様の増殖を示す。CER を 500 mcg/ml に増しても、増殖は一時的に抑制されるが、やがては、前 3 曲線と同じように、増殖傾向を辿る。

一方両薬剤を併用した場合、即ち、CER 100 mcg/ml,

図 1 *Citrobacter* 205 の増殖曲線 (比濁法)

図 2 *Klebsiella* 343 の増殖曲線 (比濁法)

図3 *Klebsiella* 343の増殖曲線(比濁法)

DMP-PC, 10mcg/ml とした時の増殖曲線は、図中一番下の曲線にみるように、時間の経過共に溶菌現象を認めた。

2) *Klebsiella* (図 (2), (3))

CERと DMPP-Cとの併用による結果を図 (2)に示した。CER単独, 1mg/ml と DMP-PC 単独1mg/ml とは, control と同じような増殖曲線を描く。

一方, CER 1 mg/ml と DMP-PC 0.1mg/ml とを併用すると, 図中, 一番下の曲線にみるように, やがて溶菌現象を認めた。

次にAB-PC と DMP-PC の併用の結果は, 図 (3)に示した。この場合も, AB-PC 1mg/ml と DMP-PC 0.1mg/ml との併用では, CERの場合とほぼ同様な溶菌現象を呈している。しかし, AB-PC 単独1mg/ml でも control と比較して, かなりの増殖が抑制されており, CER との併用の場合と, やや異なつた態度を示した。

3) *E.coli* (図 (4))

この株の CER の MIC は 5 mcg/ml の感受性を示すが, AB-PC では 4,000mcg/ml 以上と高度耐性である。(表 (1))

従つて, AB-PC と DMP-PC による組み合わせでのみ, 検討を行つた。この場合, AB-PC 500mcg/ml 単独

図4 *E.coli* K-12/R 743の増殖曲線(比濁法)

と, 同濃度と DMP-PC 100mcg/ml との併用の増殖曲線は, ほぼ同様の発育傾向をみて, 溶菌現象は起さないので, やがては control と同じ level までの濁度の増加をみるに至る。

4) *Pseudomonas*

Pseudomonas は, 比濁法を用いた場合, 振盪培養中に, 徐々に菌糸状のものを形成し, やがて菌塊となり, 濁度測定には不適であることが判明した。表面滑生剤 Tween 80を混入しても効果は認められず, 結局, 本法での協力作用の実験は中止した。他の *Pseudomonas* 数株について, 同様の実験を行つたが, 同じ現象が認められた。

2. 平板希釈法による成績

1) *Citrobacter* (表 (2))

この株の MIC は CER で 250mcg/ml, DMP-PC で 1,000mcg/ml である。両薬剤を併用する場合は, 例えば, CER 10mcg/ml と DMP-PC 100mcg/ml の組合せ, CER 50mcg/ml と DMP-PC 50mcg/ml の組合せで, それぞれ菌の発育阻止が認められる。即ち, それぞれ単独の場合の1/25と1/10, 1/5と1/20の併用で発育が阻止された。

2) *Klebsiella* (表 (3), (4))

表 (3)は CER と DMP-PC, 表 (4)は, AB-PC と DMP-PC との組合せによる成績を示したものである。

CER の場合、単独では 4,000mcg/ml 以上の高度耐性である。併用の場合、例えば CER 4,000mcg/ml と DMP-PC 1 mcg/ml で発育阻止をみる。

AB-PC の場合も、単独では 4,000mcg/ml の高度耐性を示す。一方、併用では AB-PC 2,000mcg/ml と DMP-PC 100mcg/ml で辛うじて菌の発育阻止がみられ、CER の場合とはやや異つた態度を示している。

3) E.coli (表 (5))

この株は CER には感受性であるから、この組合せによる実験は行つていない。AB-PC との組合せでは、表 (5) に示したように、AB-PC 単独と併用群との差は殆んど認められず、僅かに両剤 4,000mcg/ml と極めて高濃度の場合に、発育の阻止がみられる。

表 6 Pseudomonas 1050 の感受性 (平板希釈法)

薬 剤		C E R (mcg/ml)					
		0	25	50	100	250	500
DMP-PC (mcg/ml)	0	+++	+++	+++	+++	—	—
	25	+++	+++	+++	—	—	—
	50	+++	+++	+++	—	—	—
	100	+++	+++	+++	—	—	—
	250	+++	+++	+	—	—	—
	500	+	+	—	—	—	ND
	1000	—	—	—	—	—	ND

表 7 Pseudomonas 1050 の感受性 (平板希釈法)

薬 剤		A B - P C (mcg/ml)								
		0	10	25	50	100	250	500	1000	2000
DMP-PC (mcg/ml)	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
	10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
	100	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	1000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
	4000	++	+	+	+	+	—	—	—	—

4) Pseudomonas 1050 (表 (6), (7))

表 (6)は CER と DMP-PC、表 (7) は AB-PC と DMP-PC との組合せによる結果を示したものである。CER の MIC は 250mcg/ml であるが、併用した場合、例えば CER 100mcg/ml と DMP-PC 25mcg/ml 又は50mcg/ml との組合せで菌の発育阻止をみる。

AB-PC の場合は、MIC が 2,000mcg/ml の高度耐性である。併用では、例えば AB-PC 1,000mcg/mlと、DMP-PC 100mcg/mlで菌の発育が抑制されている。し

かし、この場合は CER とは態度が異つていて、併用による効果が明らかでない。

3. ディスク法による成績

1) Citrobacter (図 (5))

図 (5) は、CER ディスク (濃度、2 mcg/disc) と DMP-PC ディスク (濃度、400mcg/disc) との並置して、併用効果をみたものである。平板内の上下に単独に置いたディスクは、control として、それぞれの薬剤の単独のものである。CER、DMP-PC 単独のディスクでは阻止帯は認められないが、両ディスクを並置した場合、図にみられるような、ほぼ楕円型の阻止帯がみられた。

2) Klebsiella (図 (6), (7))

図 (6) は、CER ディスク (濃度、2 mg/disc) と DMP-PC ディスク (濃度、0.4mg/disc) とを並置した場合、図 (7) は、AB-PCディスク (濃度、2 mg/disc) と DMP-PC ディスク (濃度、0.4mg/disc) とを並置した場合の、それぞれの菌発育阻止効果をみたものである。この場合、control として置いた CER、AB-PC ディスクに僅かながら阻止帯を認める。両薬剤ディスクを並置した場合、特に CER との場合、かなりはつきりした大きな阻止帯を認める。

3) E. coli (図 (8))

図 (8) は、AB-PC ディスク (濃度 2 mg/disc) と DMP-PC ディスク (濃度 4 mg/disc) とを並置した場合の結果である。僅かながら、並置した場合に阻止帯が認められる。この場合、このように両剤共に、高濃度なこの組合せにおいてのみこのような阻止帯がみられ、これより低濃度の各種組合せでは全く阻止帯がみられなかつた。

4) Pseudomonas (図 (9), (10))

図 (9) は、CER ディスク (濃度、200mcg/disc) と DMP-PC ディスク (濃度、400mcg/disc)、図 (10) はAB-PC ディスク (濃度、400mcg/disc) と DMP-PC (濃度、400mcg/disc) を並置した場合の結果である。並置した場合、どちらも同じような阻止帯がみられるが、AB-PCの場合は、ディスクの濃度が CER の倍である。

表 8 DMP-PC による cephalosporinase の阻害作用 (基質: C E R 7 mM)

DMP-PC (mM)	0	0.007	0.07	0.7	7	70
阻害効果 (%)	0	89.7	94.9	94.9	100	100

図5 *Citrobacter* 205に対する感受性(ディスク法)

(注) C : CER ディスク M : DMP-PC ディスク

図6 *Klebsiella* 343の感受性 (ディスク法)

図7 *Klebsiella* 343の感受性 (ディスク法)

(注) A : AB-PC ディスク

図8 *E.coli* K-12/R 743の感受性 (ディスク法)

図9 *Pseudomonas* 1050に対する感受性
(ディスク法)

図10 *Pseudomonas* 1050に対する感受性
(ディスク法)

表9 4株の酵素活性と Km と Ki

基 質 酵 素	酵 素 活 性 micro mole/hr./mg protein(unit)		Km or Ki (M)		
	C E R	AB-PC	C E R	AB-PC	DMP-PC
Citrobacter 205	3.1	N. D. ⁽¹⁾	N. D.	N. D.	N. D.
Klebsiella 343	1,440	5>	3.7×10^{-4}	1.2×10^{-5}	5.6×10^{-6}
E.coli K-12/R 743	1,524	1,784	3.8×10^{-4}	3.5×10^{-5}	N. D.
Pseudomonas 1050	1>	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.

注) (1), N. D. 実験未施行のもの

表10 4株の synergistic action

実 験 方 法	比 濁 法		平板希釈法		ディスク法	
薬 剤 菌 株	C E R	AB-PC	C E R	AB-PC	C E R	AB-PC
Citrobacter 205	+(¹)	N. D. ⁽⁴⁾	+	N. D.	+	N. D.
Klebsiella 343	+	-(?) ⁽³⁾	+	-(?)	+	-(?)
E.coli K-12/R 743	N. D.	-(²)	N. D.	—	N. D.	-(?)
Pseudomonas 1050	実験不適	実験不適	+	-(?)	+	-(?)

- (注) 1. (+) : synergistic action を認める
2. (—) : synergistic action を認めない
3. (—)? : synergistic action とは認め難く additive effect が考えられる
4. N. D. : 実験を行わざるもの。但し Pseudomonas 1050 は比濁法の実験を行つたが方法として不適の為実験不適とした
5. 酵素阻害剤としては全てDMP-PCを用いた

4) DMP-PC による酵素阻害効果 (表 (8))

DMP-PC の酵素括性阻害効果を百分率 (%) で表した。DMP-PC を CER の濃度の 1/1000加えると、89.7 %, 1/100, 1/10の濃度を加えた場合には、いずれも94.9 %, 同濃度又は10倍では 100%の酵素活性が阻害されることが認められた。

4. 酵素学的実験成績 (表 (9))

被検株より得られた crude enzyme の酵素活性は、表 (9)の左欄に示した。Citrobacter では、CER に対し弱い活性が認められる。Klebsiella では、基質が CER と AB-PC とでは酵素活性に著明な差が認められる。即ち、CER は非常によく分解するが、AB-PC はその数百分の一以下と、極めて低い。次に、E.coli の酵素は、CER, AB-PC 両基質に対し、ほとんど同じように極めて高い酵素活性を示した。

Pseudomonas は、CER に対する活性のみを検したが、1 unit 以下で極めて低いものと考えられた。

Kmについては、表の右欄に示したごとく Klebsiella と E.coli より得た酵素について測定を行なつたが、基質が CER の場合は、それぞれ殆んど同じ値を示し AB-PC ではその1/10~1/30であつた。Klebsiella より得た酵素では DMP-PC を基質とした時の Ki は CER の Km に比して、約1/150であつた。

実験成績総括

耐性 pattern の異なるグラム陰性桿菌 4 株について、比濁法、平板希釈法、ディスク法、DMP-PC による酵素加水分解阻害効果を、iodometric assayによつて測定した方法、以上 4 種の実験によつて、協力作用の態度を検討した。次いで 4 株の酵素活性と Klebsiella と E.coli の酵素について kinetic study を行つた。

酵素レベルでの実験を除いた結果を表 (10) に纏めて示した。Citrobacter では、各種の方法で協力作用が認められた。Klebsiella では、CER の場合は協力作用が認められたが、AB-PC では、相加的效果と考えられ

る結果であつた。しかし、E.coli では、協力作用は認められない。Pseudomonas では、比濁法による実験が不適で、平板希釈法とディスク法による結果で判定したが、CER と ABPC とでは差がみられ、CER の場合には協力作用が認められたが、AB-PC の場合には、協力作用があると断定し難い結果であつた。

考 察

第1に、被検菌4株の耐性 pattern と酵素学的実験との関係から、それぞれの協力作用に対する態度とその機構解析を試みる。

まず Pseudomonas は、 β -lactamase activity は極めて低く、intrinsic な耐性株と考えられる。Citrobacter, Klebsiella, E.coli の3株はいずれも β -lactamase を産生し、この酵素産性能が、耐性と関係ありと考えられる。しかしそれぞれ、基質を分解する能力は、異つており耐性 pattern を参考にすると、Citrobacter と Klebsiella は cephalosporinase, E.coli は penicillinase 産生株であると思われる。

次にこの4株に対する併用効果を検討すると、Citrobacter は、cephalosporinase activity が低く、耐性も中等度である。この中等度耐性株に対しては、強い併用効果が認められる。この場合、協力作用の mechanism は、基礎的実験から考えて、酵素阻害作用と併用効果、即ち協力作用と考えても矛盾しない。なお、Ohkoshi 等は、比濁法によつて、グラム陰性桿菌の耐性株16中8株に、CER と DMP-PC が協力的に働くことを報告しているが、このうちの多くは中等度耐性株である¹⁶⁾。

Klebsiella では、CER, AB-PC いずれにも高度耐性を示すが、酵素活性は CER に対し極めて高い水解性を示すものの、AB-PC に対するそれは低い。そして CER では、協力作用がみられるのに対し、AB-PC では相加的效果と考えられるような態度をみた。このように同じ酵素阻害剤を用いても、一方では協力作用がみられ、一方では著明には認め難いので、一概に酵素阻害効果と併用効果が結びつかないとの印象を受ける。そこで酵素作用の kinetic study を行なつてみると、表(9)のごとく酵素結合親和性が、CER と AB-PC とでは可成りの差があり、AB-PC は、DMP-PC に近い酵素結合親和性があることが判つた。従つて、CER と DMP-PC で協力作用は相乗効果的に表現され、AB-PC と DMP-PC では、相加的に見えると理解される。

Pseudomonas は、本来酵素活性が殆んどみられないので、協力作用の説明としては、酵素阻害作用、併用効

果と結びつけるのは不適当である。この場合には、DMPC が CER の bacterial cell membrane への通過又は取りこみを助けているのではないかとするのが、一つの可能な説明であらう。

E.coli では、協力作用が認められず、又未だこの現象に対する実験を行なつていないので、考察の対象から除外する。

第2に、協力作用を観察した方法の相違による併用効果の相関性について検討する。併用効果を認めた Citrobacter, Klebsiella, Pseudomonas (この場合は、平板希釈法とディスク法) は、比濁法、平板希釈法、ディスク法のいずれの実験方法でも協力作用が観察された。こうした異つた実験方法では、細菌の生理的状態の相違、薬剤の置かれる条件の相違等から、定量的相関々係としては表現出来ないが、相関的意義はあると考えられる。

結 論

グラム陰性桿菌の penicillin-cephalosporin 耐性株のうち、協力作用を認める株は多く存在する。しかしその *in vitro* での表現は、耐性 pattern の相違によつて差がみられた。

β -lactamase を産生する中等度耐性菌では、協力作用がよく認められ、その作用機序は、従来の説明のように酵素阻害効果と抗菌性薬剤の抗菌力発揮と結びつけても矛盾がない。

酵素活性が高く両薬剤高度耐性株では、協力作用がみられるものと、相加的效果をみたものがあるが、この差は酵素と基質の親和性の差によるものと考えられる。

酵素活性の極めて低い Pseudomonas でも、協力作用を認めたが、これは酵素阻害剤が、抗菌性薬剤の cell membrane のとりこみを助けている可能性が考えられる。

R 因子による高度耐性菌には、協力作用は認められない。

抗菌性薬剤としては、penicillin より cephalosporinの方が、協力作用がよく認められた。

協力作用の機構解明には、なお酵素学的解析を中心とした研究が必要である。

文 献

- 1) 大越正秋：日本医師会医学講座，680，昭44。
- 2) Sutherland, R. and Bathelor, F.R.: Nature, **201**, 868, 1963.
- 3) Hamilton-Miller, J.M.T.: Biochem. J., **87**, 207, 1963.
- 4) Smith, J.T. and Hamilton-Miller, J.M.T.:

- Nature, **197**, 976, 1963.
- 5) Hamilton-Miller, J.M.T. and Smith, J.T.: Nature, **201**, 999, 1964.
 - 6) Sabath, L.D. and Abraham, E.P.: Nature, **204**, 1066, 1964.
 - 7) Sabath, L.D., Jago, M. and Abraham, E.P.: Biochem. J., **96**, 1965.
 - 8) Hamilton-Miller J.M.T., Smith, J.T. and Knox, R.: Nature, **208**, 235, 1965.
 - 9) 峯靖弘, 西田実, 五島瑳智子: Chemotherapy, **17** (6), 974, 昭44.
 - 10) 峯靖弘, 西田実, 五島瑳智子: Chemotherapy, **17** (6), 979, 昭44.
 - 11) 峯靖弘, 西田実, 五島瑳智子: Chemotherapy, **17** (6), 986, 昭44.
 - 12) 藤井良知, 紺野昌俊, 岡田一穂, 熊谷道彦, 吉田昭雄, 松崎明紀: Chemotherapy, **17** (8), 1620, 昭44.
 - 13) 名出頼男: 慶応医学, **44** (6), 昭42.
 - 14) Perret, C.J.: Nature, **174**, 1012, 1954.
 - 15) Novick, R.P.: Biochem. J., **83**, 286, 1962.
 - 16) Ohkoshi, M., Naide, Y., Kawamura, T., Suzuki K., Kawakami, T. and Nagakubo, I.: Chemotherapy, **14**(7), 641, 1966
(昭和45年2月12日受付, 特別掲載)
-