

ST-95 (Fosfomycin) の基礎的・臨床的検討

安城更生病院泌尿器科 (部長: 和志田裕人)

和志田裕人, 渡辺 秀輝, 野口 幸啓

加藤 誠, 戸澤 啓一

安城更生病院中央検査部微生物検査室 (主任: 犬塚和久)

犬塚 和久

CLINICAL STUDIES AND MORPHOLOGICAL RESPONSE ON ST-95 (FOSFOMYCIN)

Hiroto Washida, Hideki Watanabe, Yukihiro Noguchi,
Makoto Kato and Keiichi Tozawa

From the Department of Urology, Anjo Kosei Hospital

Kazuhisa Inuzuka

From the Department of Clinical Laboratory, Anjo Kosei Hospital

Clinical effects of ST-95 (fosfomycin) on infections of the urinary tract were studied on the basis of morphological changes of the urinary bacteria. The subjects were 22 inpatients with complex infections of the urinary tract. ST-95 was dissolved in physiologic saline (2 g/100 ml) and administered intravenously by drip infusion over a 1-hour period twice daily for 5 days. According to the UTI criteria, the treatment was effective in 13 (81%) of the 16 evaluable cases. The present effectiveness in 8 patients with chronic catheterization was 75%. No side effects were observed in any patient. Among the laboratory data, GOT and GPT were slightly increased in 1 patient, but their relations with the treatment were unknown. In one patient (*P. vulgaris*; MIC: 12.5 µg/ml), changes in the urinary ST-95 concentration, viable bacterial count, and morphology of the bacteria were studied after the initial administration. The urinary viable cell count was 1.5×10^7 cells/ml before administration, but it was reduced to 1.6×10^4 cells/ml at the end of the 1-hour infusion, and decreased progressively thereafter to complete disappearance after 12 hours. Under differential interference microscopy, filamentous debris of bacteria and spherical bacteria with irregular surface were observed from immediately after the end of the administration. By transmission electron microscopy, the cell wall showed a number of projections with formation of vacuolar structures in the space between the cell wall and the irregularly-shaped cytoplasm. In conclusion, the results of administration of ST-95 in complex infections of the urinary tract were satisfactory. The morphological changes of the bacteria suggested that this agent acts at an early stage of cell wall synthesis. (Acta Urol. Jpn. 37: 321-326, 1991)

Key words: Fosfomycin, Morphological response, *Proteus vulgaris*

緒

言

臨床的検討

ST-95 は塩野義製薬株式会社にて, 研究・開発された分子量182.02 (分子式: $C_3H_5Na_2O_4P$) のFig. 1の構造式を有する fosfomycin (以下 FOM) である。1バイアル中に, 日抗基ホスホマイシンナトリウム 2g (力価) に含有する。

今回, われわれはこの FOM について複雑性尿路感染症に対する臨床的・基礎的検討を加えたのでその概略を報告する。

1. 対象・投与方法

1989年11月から1990年2月までに, 安城更生病院泌尿器科に入院した複雑性尿路感染症患者22例を対象とした。患者条件, 除外・脱落規定, 臨床効果の判定はUTI研究会の薬効評価基準(第3版¹⁾と同追補²⁾に準じた。薬剤の投与方法は, 1回2gを生理食塩水100mlに溶解して1時間で点滴静注することを, 1日2回朝と夕に5日間行った。

副作用は、自覚的副作用および投与前後における臨床検査値の推移について検討された。

2. 臨床成績

22例中16例において UTI 薬効評価基準による効果判定が可能であった。著効：1例、有効：12例で総合有効率は81%であった。膿尿に対する効果は、正常化1例、改善4例、不変11例であった。細菌尿に対する

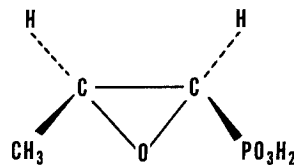


Fig. 1. Chemical structure of ST-95 (Fosfomycin)

Table 1. Overall clinical efficacy of ST-95 in complicated UTI 2g×2/day, 5-day treatment

Pyuria	Cleared	Decreased	Unchanged	Effect on bacteriuria
Bacteriuria				
Eliminated	1	2	9	12
Decreased				
Replaced		1	1	2
Unchanged		1	1	2
Effect on pyuria	1	4	11	patient total 16
Excellent		1	overall efficacy rate 13/16 (81%)	
Moderate		12		
Poor (including failure)		3		

Bacteriological response

Total no. of strains	Eradicated	Persisted*
22	20 (91%)	2

* regardless of bacterial count

Table 2. Overall clinical efficacy of ST-95 classified by the type of infection

Group		No. of (percent patients of total)	Excellent	Moderate	Poor	Overall efficacy rate
Monomicrobial infection	group1 (indwelling catheter)	5 (31%)		4	1	80%
	group2 (post-prostatectomy)	5 (31%)	1	3	1	80%
	group3 (upper UTI)					
	group4 (lower UTI)	2 (13%)		2		100%
	sub-total	16 (75%)	1	9	2	83%
Polymicrobial infection	group5 (indwelling catheter)	3 (19%)		2	1	67%
	group6 (no indwelling catheter)	1 (6%)		1		100%
	sub-total	4 (25%)		3	1	75%
Total		16 (100%)	1	12	3	81%

Indwelling catheter	No. of (percent patients of total)	Excellent	Moderate	Poor	Overall efficacy rate
Yes	8 (50%)		6	2	75%
No	8 (50%)	1	6	1	88%
Total	16 (100%)	1	12	3	81%

効果は、陰性化12例、菌交代2例、不変2例であった (Table 1)。疾患病態群別にみると (Table 2)、単独感染例は12例 (75%) で総合有効率は83%であった。その内訳は第1群が5例中4例有効で、総合有効率80%で、第2群が5例中1例著効、3例有効で、総合有効率80%であった。混合感染例は4例 (25%) で総合有効率は75%であった。その内訳は第5群が3例中2

例有効で、総合有効率67%で、第6群が1例中1例有効で、総合有効率100%であった。8例 (50%) の留置カテーテル例において、6例 (75%) に有効であった。

16例から分離された菌株は22株で、*P. cepacia* 1株とブドウ糖非醗酵菌1株以外すべて消失し、細菌消失率は91%であった (Table 3)。投与後新たに *S.*

Table 3. Bacteriological response to ST-95 in complicated UTI

Isolate	No. of strains	Eradicated	Persisted*
<i>S. aureus</i> (MRSA)	1	1	
<i>S. epidermidis</i>	1	1	
<i>E. faecalis</i>	2	2	
<i>E. faecium</i>	1	1	
Other GPC	1	1	
<i>E. coli</i>	1	1	
<i>C. freundii</i>	1	1	
<i>S. marcescens</i>	1	1	
<i>P. vulgaris</i>	1	1	
<i>P. aeruginosa</i>	1	1	
<i>P. putida</i>	1	1	
<i>P. cepacia</i>	2	1	1
<i>X. maltophilia</i>	1	1	
<i>A. calcoaceticus</i>	2	2	
<i>F. indologenes</i>	1	1	
Other NFGNR	4	3	1
	22	20 (91%)	2

*Regardless of bacterial count

Table 4. Strains* appearing after ST-95 in complicated UTI

Isolate	No. of strains
<i>S. marcescens</i>	1
<i>E. cloacae</i>	1
<i>P. aeruginosa</i>	1
<i>A. xylosoxydans</i>	1
<i>F. meningosepticum</i>	1
	5

No. of patients in whom strains appeared	2/16
Total no. of patients evaluated	(13%)

*Regardless of bacterial count

marcescens, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *A. xylosoxydans*, *F. meningosepticum* の各1株ずつが出現した (Table 4).

22例全例とも自他覚的副作用は認められなかった。臨床検査値の異常は, 1例に GOT: 23→38 U, GPT: 29→75 U が認められたが, 本剤との関連は不明であった。

基礎的検討

1. 対象・方法

前記臨床的検討のうち1例 (*P. vulgaris*; MIC: 1.25 $\mu\text{g/ml}$) について, ST-95 投与後の尿中濃度の推移と尿中生菌数変化の関係, さらにそのときどきの尿中細菌の形態変化を観察した。

投与直前に, 経尿道的に Foley's catheter を留置し, closed drainage system に接続し, この時に得られた尿を前尿とした。

本剤 2 g を生理食塩水 100 ml に溶解し, 午前9時から1時間かけて点滴静注した。終了直後, 12時, 14時, 16時, 18時, 21時に, system を交換し, system 内の尿の一部を凍結し, 尿中濃度測定に供した。また各時間において catheter より流出してくる尿を滅菌スビツに採尿し, 生菌数の測定と形態変化の検討に供した。

尿中濃度は, *Proteus* sp. MB 838 を検定菌とした薄層カップ法により測定した。生菌数の定量は, 寒天培地希釈法とディップスライド法の二方法により検討した。

尿は 1,000 回転/分にて10分間遠心し, この沈渣をあらかじめスライドグラス上に作成したトリプトソイ薄層寒天培地に, 1白金耳接種し, カバーグラスで寒天表面を覆い, 周囲をパラフィンで封じ, 微分干渉顕微鏡 (オリンパス光学) で観察, 撮影した。さらに沈渣を 0.5% パラホルムアルデヒド, 2.5% グルタルアルデヒド混合固定液で10時間前固定し, 0.05 M リン酸緩衝液で一夜洗浄後, 1% 四酸化オスミウムで2時間固定した。エタノール系列で脱水し, QY-1 で置換した試料は LUFT 法により Epon 812 に包埋した。LKB 型超ミクロームで超薄層切片を作成し, これに酢酸ウラニール・鉛の二重染色をほどこして透過電子顕微鏡 (日立 H-300) を用い加速電圧 75 KV で観察および撮影した。

2. 尿中濃度の推移と尿中生菌数の変化

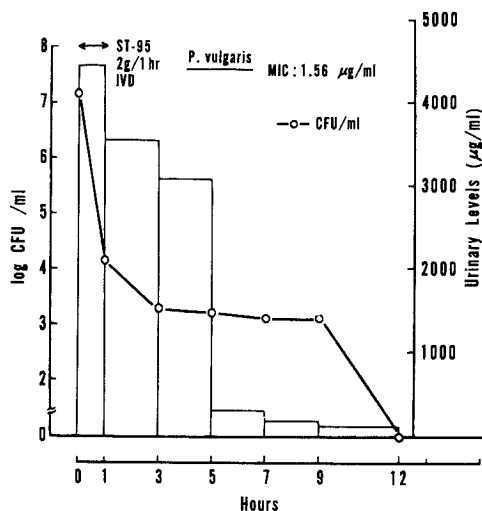
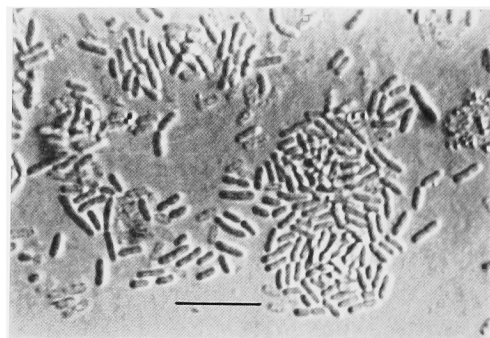
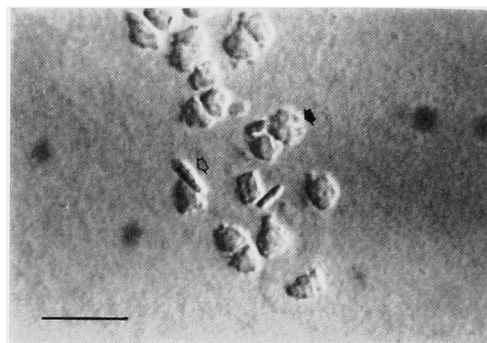


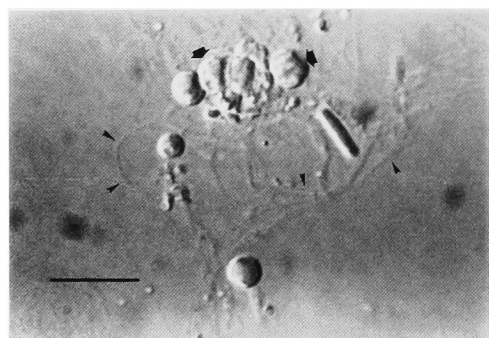
Fig. 2. Urinary levels and bacteriological effects



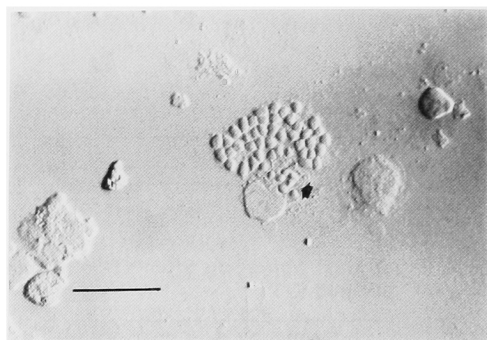
A



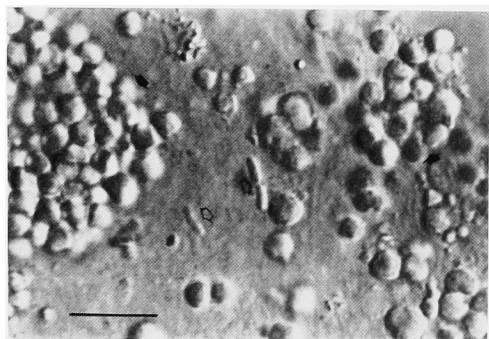
D



B



E



C

Fig. 3. Phase contrast micrographs of *P. vulgaris* in urine before and after administration of ST-95 2 g.

A: Before administration. B: and C: Immediately after 1 hour intravenous drip. Showing forming ovoid cells with uneven and irregular body (arrows), the wreckage of filamentous cells (arrowheads) and remaining rods (white arrow). D: 2 hours after end of administration. Showing expanded ovoid cells (arrows) and elongated rod with bulge formation (white arrows). E: 4 hours after end of administration. Showing gormandized ovoid cells (arrows). bar = 10 μ m in A to D and 25 μ m in E.

ST-95 は、投与後速やかに尿中に排泄された。尿中濃度は、投与終了時に一番高濃度であり (4,430 μ g/ml), 終了後4時間までに投与後12時間までの累積排泄量の94.8%は尿中に排泄された。投与後12時間までの累積排泄率は、88.4%であった。

尿中生菌数は、投与前には 1.5×10^7 cells/ml であったものが、投与直後には 1.6×10^4 cells/ml と減少した。その後は、 10^3 cells/ml 台の生菌数が、投与後8時間まで続き、投与後12時間で尿中細菌は消失した (Fig. 2)。

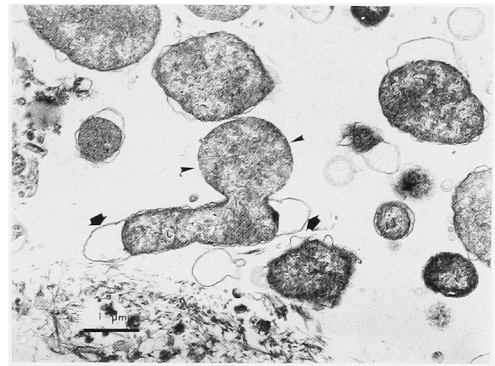
3. 尿中細菌形態変化

i. 微分干渉顕微鏡による観察

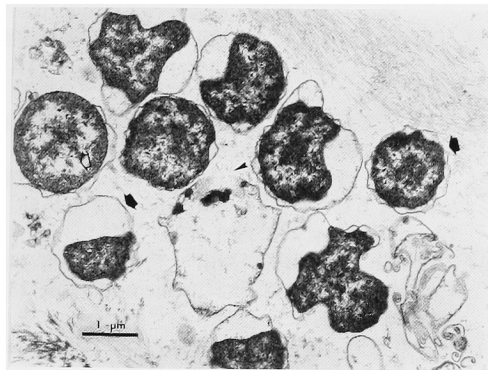
ST-95 投与前後の尿中 *P. vulgaris* の形態学的変化を Fig. 3 に示した。投与前は正常のグラム陰性桿菌の集塊を認める (Fig. 3A)。投与終了時において尿中へ高濃度に排泄されていたので、この時点で、溶菌に到る著明な菌体の障害が認められた。すなわち、フィラメントとなった菌体の残骸、凹凸不整な球形の菌体 (このような形態変化が最も多く観察された)、あるいはわずかに伸長した桿菌が認められた。



A



C



B

Fig. 4. Transmission electron micrographs of *P. vulgaris* in urine before and after administration of ST-95 2 g.

A: Before administration. Showing characteristic gram-negative rods: cell wall complex (arrows) and cytoplasmic membrane (arrowheads). B: Immediately after 1 hour intravenous drip. Showing irregular cell wall such as asterisks (arrows), plasmolysis (white arrows), bacteriolysis: rupture of cell wall and flowout cytoplasm (arrowheads), and vacuole-like structure and distorted cytoplasm. C: 2 hours after end of administration. Showing proplased cytoplasm with cytoplasmic membrane (arrowheads) and remained cell wall maintaining rod shape (arrows).

(Fig. 3B). また別の視野では, Fig. 3C に示したように, 凹凸不整な球形の菌体の集塊となっていた. 投与後2時間においては, 1視野の菌体数は粗となり, 菌体の障害は前の時間の観察より強度となっていた. 球形あるいは桿状菌の菌体は凹凸不整がより強くなった (Fig. 3D). このように変化した細菌を, 貪食している白血球も認められた (Fig. 3E).

ii. 透過電子顕微鏡による観察

投与前の尿中 *P. vulgaris* の超薄切片上での微細構造は, 典型的なグラム陰性桿菌の様相を呈した (Fig. 4A).

投与終了直後において, 細胞壁はコンペイ糖状となり, 細胞質との間に空胞様構造が形成され, 細胞質は不整形となり, あるいは細胞内容物が流出したと考えられる細胞壁と細胞質膜の残骸 (Fig. 4B); 菌体の桿状構造は細胞壁により保たれているが, 細胞質が菌体外に流出している spheloplast (Fig. 4C) など浴菌にいたるさまざまな菌体の変化が認められた.

考 察

FOM は, 市販後すでに約10年を経過した抗生物質であり, 新しい薬剤とはいえない. 抗生物質の多くは, 時間が経過すると耐性菌が増加して, 臨床効果が期待できなくなってくる.

FOM の市販開始前の臨床試験では, 70%前後の良好な成績であった^{3,4)} ST-95 の複雑性尿路感染症に対するわれわれの成績は, 前述の初期臨床効果とほぼ同等の臨床効果であり, 満足するものといえよう. その中でも留置カテーテル群の有効率 (75%) は, 特記されると考えられた.

1例ではあるが, 尿中排泄は良好であり, FOM は, 臓器, 組織への移行が良好で, 生体内で代謝されることなく活性のまま尿中へ排泄されることが臨床成績に反映したものと思われる.

細菌に対する効果として, 対象菌数が少ないので断言することはできないが, FOM の特長の一つであるグラム陽性菌, グラム陰性菌ともに優れた効果を示し, 除菌率は91%であった. しかし, 投与後出現菌が

5株あったことより、菌種によっては、長谷川らの指摘しているように⁵⁾、FOM 単独よりも他剤との併用が、より優れた効果を得られる可能性が示唆された。

FOM の蛋白結合率はきわめて低く、抗体産生能が低い。これは、使用に際して皮内反応を必要とせず、また β -lactam 系抗生物質にアレルギー歴のある患者に使用できるなど（今回の検討では経験していない）、実地臨床には便利である。

われわれは、抗菌剤の作用機序について、尿中細菌の形態変化より検討してきている^{6,7)}。近年繁用されている β -lactam 系抗生物質は、細胞質膜に存在する penicillin binding proteins (PBPs) に作用する。FOM の作用機序は、PBPs には作用せず、細胞壁合成の初期段階を阻害し、殺菌作用を示すので、 β -lactam 系抗生物質と FOM とはやや作用点が異なる。

今回の検討においては、光学顕微鏡的には菌体は球形となるものが多く、また電子顕微鏡的には、細胞壁の不整・細胞壁と細胞質の間に空胞様構造・細胞質内の空胞様構造などの菌体の障害が観察された。これらの所見は、spheoloplast 様あるいは rabbit ear's cell となる β -lactam 系抗生物質による形態変化とは違いがあり^{6,7)}、作用機序の差があることが推定された。

この作用機序の差からも、FOM と β -lactam 系抗生物質の併用療法は、より優れた効果を挙げることが期待されるので、近い将来に検討する予定である。

結 語

安城更生病院泌尿器科に入院した複雑性尿路感染症患者22例を対象とし、ST-95 の臨床的・基礎的検討を行った。

臨床的検討のまとめ：ST-95 の複雑性尿路感染症に対する成績は満足するものであり、その中でも留置カテーテル群の有効率（75%）は特記されたと考えられた。副作用は、自覚的に認められなかった。

基礎的検討のまとめ：ST-95 の尿中排泄は良好であり、12時間の累積排泄率は、88.4%であった。

尿中生菌数は、投与後経時的に減少し12時間後には消失した。

尿中細菌の形態変化は、透過型微分干涉顕微鏡では投与終了時より球形となって溶菌に至っていた。透過電子顕微鏡では細胞壁はコンベイ糖状となり、細胞質との間に空胞様構造が形成され、細胞質は不整形となった。plasmolysis がおこり、リボソーム粒子および核質部が粗になって菌体内部が希薄化した像、あるいは溶菌後細胞内容物が流出したと考えられる細胞壁と細胞質膜の残骸が認められた。

文 献

- 1) UTI 研究会（代表：大越正秋）：UTI 薬効評価基準。第3版。Chemotherapy 34：409-441, 1986
- 2) UTI 研究会（代表：大越正秋）：UTI 薬効評価基準。第3版 追補。1989
- 3) 広本宣彦，小野 浩，石部知行，ほか：尿路感染症に対する静注用 Fosfomycin の使用経験。Chemotherapy 23：3589-3592, 1975
- 4) 河田孝道，塩見陽子，栗山 学，ほか：静注用 Fosfomycin の臨床的検討。Chemotherapy 23：3589-3592, 1975
- 5) 長谷川裕美，渡辺忠洋，柴田雄介，ほか：MRSA 感染症における併用療法の投与方法についての検討。最新医学 44：2515-2521, 1989
- 6) 和志田裕人，阪上 洋，岩瀬 豊，ほか：Cefbutaperazone による急性単純性膀胱炎患者の E. coli の形態変化について。泌尿紀要 33：1712-1717, 1987
- 7) 和志田裕人，津ヶ谷正行，平尾憲昭，ほか：Cefotiam の急性膀胱炎に対する効果と尿中 E. coli の形態変化について。泌尿紀要 29：1373-1380, 1983

(Received on October 18, 1990)

(Accepted on November 5, 1990)

(迅速掲載)