

γ G-CSF の感染症治療における有用性の基礎的検討

—マウス *Klebsiella* 肺炎モデルに対する抗菌剤との併用効果—

多田羅 治, 木村 雅司, 橋口 浩二, 角 優, 岸本 寿男, 中浜 力
沖本 二郎, 二木 芳人, 副島 林造

マウス *Klebsiella* 肺炎モデルにおける γ G-CSF の治療効果を検討し、以下の結果を得た。

1) 1日当たり40 mg/kg の Cefmenoxime を感染後3日間、1日2回投与した場合、感染8日後の生存率は20.0%であるのに対し、感染前あるいは前後に1匹当たり100 μ g の γ G-CSF を連日 CMX に併用投与した場合の生存率は55~60%まで改善した。

2) 感染後の肺内生菌数の推移では、 γ G-CSF 併用群は菌の増殖がより抑制されることが示された。

3) 併用効果が最も大きかったのは γ G-CSF を感染前後に投与した場合であるが、感染後のみの併用でも生存率の改善傾向と肺内での菌の増殖抑制傾向が認められた。

以上の結果より、 γ G-CSF は重症感染症治療に対して、有効性の期待できる支持療法の一つと考えられた。

(平成3年10月28日採用)

Fundamental Study of the Effect of γ G-CSF on Treatment of Infectious Complications — Synergistic Effects with Antibiotics against Mice *Klebsiella pneumoniae* Pneumonia —

Osamu Tatara, Masashi Kimura, Koji Hashiguchi, Masaru Sumi,
Toshio Kishimoto, Chikara Nakahama, Niro Okimoto, Yoshihito Niki
and Rinzo Soejima

The therapeutic effect of γ G-CSF on experimental mice *Klebsiella pneumoniae* pneumonia was studied and the following results were obtained.

1) The survival rate of mice treated with Cefmenoxime (CMX) at a daily dose of 40 mg/kg b. i. d. for three consecutive days after the infection was 20% at day 8.

However the survival rates of animals treated with CMX and γ G-CSF before and/or after the infection at a daily dose of 100 μ g/mouse improved to 55-60%.

2) Quantitative viable bacterial counts of the lungs of the mice treated with CMX and γ G-CSF also indicated that the combination chemotherapy was effective in suppression of a proliferation of *K. pneumoniae* in the lungs after the challenge.

3) The best result was obtained when animals were treated with prophylactic and therapeutic doses of γ G-CSF. However even when mice were treated with γ G-CSF after the infection, the survival rate improved and inhibition of bacterial

growth in their lungs was observed.

Based on the above results, we can conclude that γ G-CSF might be a useful supporting therapy in the control of severe infections in humans. (Accepted on October 28, 1991) *Kawasaki Igakkaishi* 17(4): 329-333, 1991

Key Words ① γ G-CSF ② Synergistic effects ③ *Klebsiella pneumoniae* pneumonia ④ Experimental infection

結 言

recombinant human granulocyte colony stimulating factor (γ G-CSF) は、すでに多くの基礎的・臨床的研究成績によって裏づけられたその血液幹細胞分化促進作用、末梢血好中球の増多作用が臨床応用されるに至っており、主として抗癌剤投与後の好中球減少患者において高い有用性が示されている。^{1)~7)} さらに γ G-CSF は末梢好中球の量的増加のみならず、走化能、食食能、殺菌能などの機能を亢進させ、感染予防及び治療効果を示すことも *in vitro* 実験成績から明らかにされている。^{8)~13)} したがって今後本剤は好中球減少症例に限らず、従来の抗菌、抗生剤のみではコントロールし得ない種々の重症、難治性感染症にも応用され、免疫療法剤としての補助的役割を期待し得ると考えられる。

今回我々は、 γ G-CSF の感染症治療への応用の可能性を検討する目的で、動物肺炎モデルにおける抗生剤と γ G-CSF の併用治療効果の検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

実験材料及び方法

【動物】 Jcl:ICR マウス (雄性5週齢) を使用した。

【菌株】 感染菌株は長崎大学医学部熱研内科、松本慶蔵教授より分与された *K. pneumoniae* B54 株を使用した。

凍結乾燥保存した本菌を、heart infusion agar にて18時間培養後、Muller Hinton Broth にて18時間増菌培養後、遠心分離した。

滅菌生理食塩水にて2度洗浄後、吸光度を測

定。滅菌生理食塩水にて 1×10^9 cfu/ml の菌量に調整して感染菌液とした。

【感染】 アクリル製曝露チャンバーを使用し、ガラスネブライザーにて、上述の菌液をチャンバー内に噴霧して吸入感染させた (2気圧、空気流量 6l/min)。

感染直後の肺内生菌数は、 1×10^4 cfu/lung で、未治療群のコントロールは以後急速に肺炎病巣を形成し、7~10日で100%死亡する。

【治療】 抗生剤は、Cefmenoxime (CMX, 武田薬品株式会社より分与) を選択した。本剤の B54 株に対する MIC 及び MBC は $0.05 \mu\text{g/ml}$ 及び $0.1 \mu\text{g/ml}$ である。投与方法は 40 mg/kg/日 を感染18時間後より3日間、1日2回皮下筋注投与した。 40 mg/kg/日 の投与量は、本肺炎桿菌感染モデルを用いた過去の実験成績¹⁴⁾ から、1週間後に30%前後の生存率が得られると考えられる量であり、本実験では γ G-CSF の併用効果をみる目的で、あえて不十分量を選択した。

γ G-CSF (中外製薬株式会社より分与) の投与量は20及び $100 \mu\text{g/kg/日}$ とし、感染前投与 (感染前3日から感染日までの4日間)、感染後投与 (感染1日後から7日後までの7日間)、感染前及び感染後投与 (感染前3日から感染後7日までの11日間) の3群で各々1日1回皮下筋注投与とした。

【併用効果判定】 治療並びに併用効果は、(1) 感染8日目までの生存匹数の推移、(2) 感染4日目までのマウス肺内生菌数の推移にて行った。なお、肺内生菌数の算定は連日各群5匹のマウスを屠殺して、その肺をガラス製ホモジナイザーで均一破碎し、定量培養を行った。

【検定】 生存率の統計学的比較検討は χ^2 検定、肺内菌数の検討は Wilcoxon-Mann-Whit-

ney 検定にて行った。

結 果

【生存率の比較】 無治療対照群は、感染3日後より死亡を認め、8日後までに92.5%が死亡した。感染8日後の各治療群の生存率は、 γ G-CSF の投与量が $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ の場合、CMX 単独群が33.3%であるのに対し、感染前併用群では43.3%、感染後併用群では36.7%と γ G-CSF 併

用群で生存率の上昇傾向が認められたが、有意差は認めなかった。

次に γ G-CSF の投与量を $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ とした場合、CMX 単独治療群が8日目の生存率が20.0%であるのに対し、感染後併用群でも37.5%と生存率の上昇傾向が認められ ($p < 0.1$)、さらに感染前併用群では、55.0%、感染前後併用群では60.0%と各々CMX 群と比較して有意に高い生存率 ($p < 0.01$) が認められた (Fig. 1)。

【肺内菌数推移】 Figure 2 に示すごとく、無

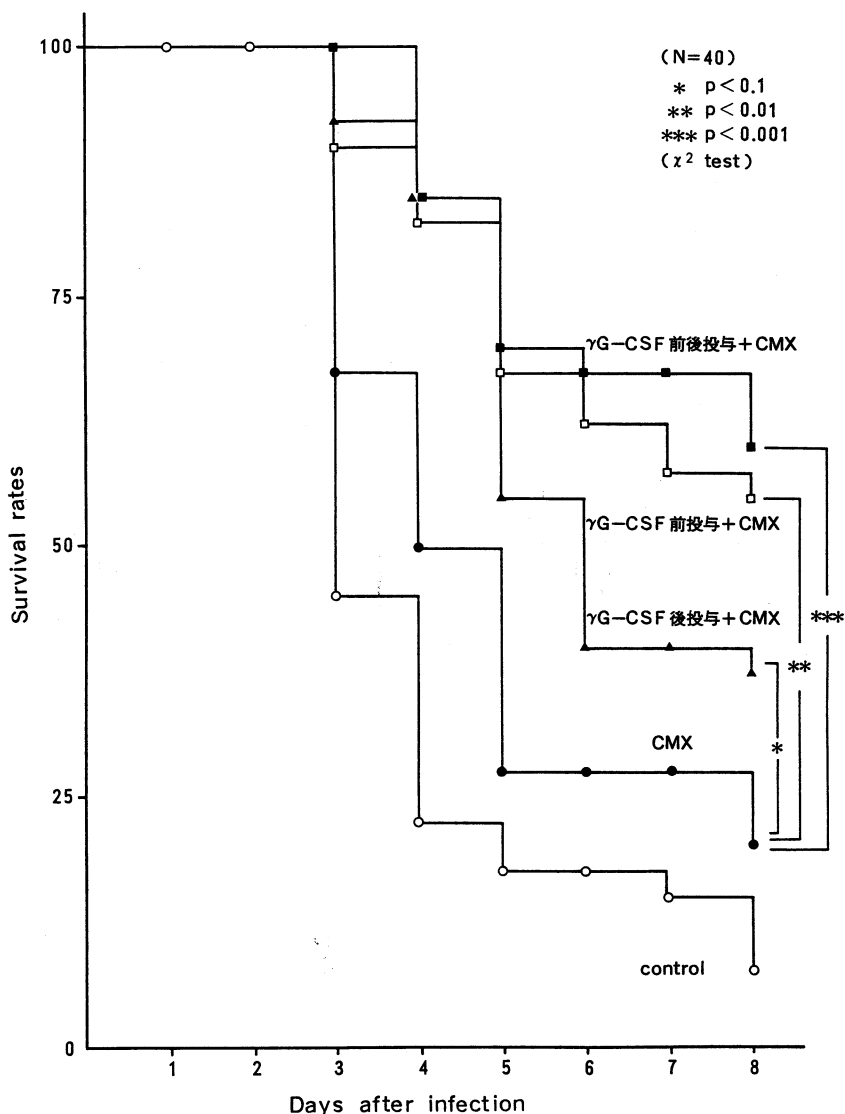


Fig. 1. Survival rates

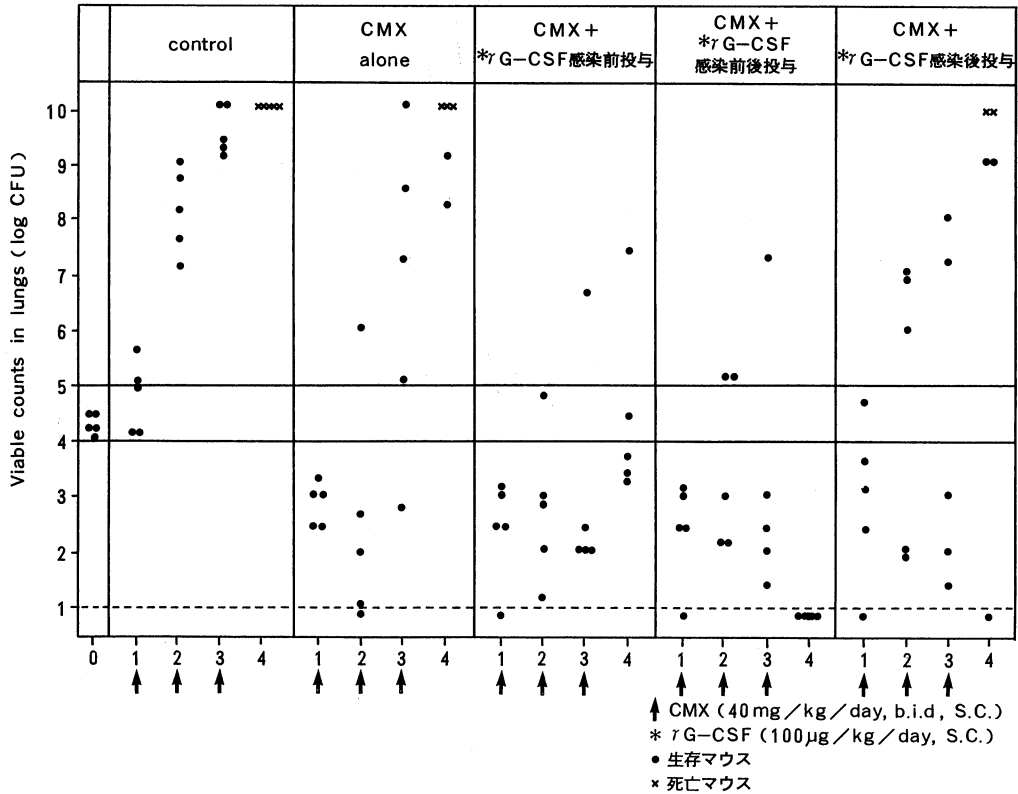


Fig. 2. Changes in viable bacterial counts in lungs

治療対照群では、感染後速やかに肺内生菌数は増加し、感染3日後には 10^9 cfu/lungに達した。CMX単独治療群においても、感染3日後には5匹中3匹のマウスで 10^7 cfu/lung以上に肺内生菌数は増加したのに対してγG-CSF併用群、特に感染前及び感染前後併用群では明らかな増殖の抑制が認められ ($p < 0.01$)、感染後の併用群でも、CMX単独治療群に比較して、菌数増加の抑制傾向 ($p < 0.1$) が認められた。

考 察

近年、医療の高度化や人口の高齢化に伴い、免疫低下宿主の感染症が増加している。¹⁵⁾ さらにMRSAをはじめ、各種耐性菌の増加により抗生剤治療のみではコントロール困難な難治性感染症は今後さらに増加すると考えられる。感染症に対するbiological response modifiers(BRM)

療法としては古典的なワクチン療法があるが、急性重症感染症に対する有効な治療としてはγグロブリン製剤しか存在しなかった。しかし現在、癌化学療法後の好中球減少症に対して、γG-CSFやRomurtide等の白血球増多作用をもつ薬剤が臨床応用を開始され、これらは、癌化学療法に伴う重篤な感染症に対する有効な支持療法としての地位を確立しつつある。^{2)~5)}

これらの薬剤は骨髄抑制の有無にかかわらず末梢血の好中球数を増加させるほか、個々の好中球や、単球の食細胞機能を直接または間接的に亢進させることも知られており、^{7)~11)} 広く感染症治療への応用が期待されている。

本実験で我々はマウス肺炎モデルを用いて、単独投与では治療効果が不十分な量の抗生剤とγG-CSFの併用治療実験を行ったが、生存率及び肺内生菌数の推移の検討結果より、γG-CSFは健常動物においても明らかに感染予防効果を

有するものと考えられた。さらに感染発症後の併用治療効果についても、有意差は得られなかったが、高投与量の γ G-CSF 併用では生存率や肺内生菌数増加抑制効果が示されており、治療内容の工夫によってはより高い効果も示し得る

のではないかと考えられた。

今後、さらに種々の投与方法、投与量の検討、さらにはその作用機序の詳細についての検討を進める予定である。

文 献

- 1) Souza, L. M., Boone, T. C., Cabrilove, J., Lai, P. H., Zsebo, K. M., Murdock, D. C., Chazin, V. R., Bruszweski, J., Lu, H., Chen, K. K., Barendt, J., Platzer, E., Moore, M. A. S., Mertelsmann, R. and Welte, K.: Recombinant human granulocyte colony stimulating factor: Effect of normal and leukemic myeloid cells. *Science* 232: 61, 1986
- 2) Tsubura, E., Nomura, T., Niitani, H., Osamura, S., Okawa, T., Tanaka, M., Ota, K., Nishikawa, H., Masaoka, T., Fukuoka, M., Horiuchi, A., Furuse, K., Ito, M., Nagai, K., Ogura, T., Kozuru, M., Hara, N., Hara, K., Ichimaru, M. and Takatsuki, K.: Restorative activity of murectasin on leukopenia associated with anticancer treatment. *Arzneim. Forsh./Drug Res.* 38: 1070, 1988
- 3) 大澤仲昭：特集・G-CSF の臨床応用 総論。化療の領域 7: 1457-1459, 1991
- 4) 今中文雄, 瀧本泰夫, 蔵本 淳：特集・G-CSF の臨床応用 血液(白血病)。化療の領域 7: 1461-1465, 1991
- 5) 長尾啓一, 栗山喬之：特集・G-CSF の臨床応用 固形癌(肺)。化療の領域 7: 1473-1478, 1991
- 6) 岡村清一, 仁保喜之：特集。白血球減少をどうするか 4. 白血球を増やす因子。日常診療と血液 1: 31-36, 1991
- 7) 高久史磨：特集。白血球減少をどうするか 5. G-CSF とその作用機序。日常診療と血液 1: 37-42, 1991
- 8) 廣田正毅, 門田淳一, 千住玲子, 福島喜代安, 平谷一人, 道津安正, 小森清和, 河野 茂, 原 耕平, 朝野和典, 山口恵三：顆粒球コロニー形成刺激因子 (G-CSF) の感染防御効果に関する研究 I。G-CSF による好中球 polarization の誘起。感染症誌 64: 425-429, 1990
- 9) 門田淳一, 廣田正毅, 朝野和典, 千住玲子, 福島喜代安, 平谷一人, 道津安正, 小森清和, 河野 茂, 山口恵三, 原 耕平：顆粒球コロニー形成刺激因子 (G-CSF) の感染防御効果に関する研究 II。好中球スーパーオキシド産生能に対する priming 効果。感染症誌 64: 430-435, 1990
- 10) 朝野和典, 古谷信彦, 平写洋一, 館田一博, 山口恵三, 森川伸雄, 千住玲子, 門田淳一, 河野 茂, 廣田正毅, 原 耕平：顆粒球コロニー形成刺激因子 (G-CSF) の感染防御効果に関する研究 III。緑膿菌肺炎感染マウスにおける感染防御効果とその作用機序について。感染症誌 64: 604-611, 1990
- 11) 横尾彰文, 熊本悦明, 広瀬崇興, 田仲紀明：ヒト granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) の感染予防効果に関する研究—糖尿病マウスにおける緑膿菌性腎盂腎炎での検討—。感染症誌 63: 738-747, 1989
- 12) 朝野和典：免疫抑制状態に発症する敗血症の発症機序と予防。第 2 報：BRM による緑膿菌性内因性敗血症の予防と発症の免疫学的機序の検討。感染症誌 63: 557-564, 1989
- 13) 高橋 淳：特集・G-CSF の臨床応用 感染症(呼吸器)。化療の領域 7: 1507-1514, 1991
- 14) Tatara, O., Niki, Y. and Nakahama, C.: Synergistic effects of romurtide and cefmenoxime against experimental *Klebsiella pneumoniae* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 1992 (in press)
- 15) 国井乙彦：特集・化学療法における難治性の諸因子。難治性疾患における宿主側の因子。化療の領域 7: 1305-1311, 1991