

# CRE/CPE マウス大腿部感染モデルにおける カルバペネム系抗菌薬および アミノグリコシド系抗菌薬の 併用療法の有効性評価

萩原真生<sup>1,2)</sup>, 山岸由佳<sup>1,4)</sup>, 加藤秀雄<sup>1,3)</sup>, 坂梨大輔<sup>4)</sup>, 塩田有史<sup>3,4)</sup>  
浅井信博<sup>1,4)</sup>, 末松寛之<sup>4)</sup>, 小泉祐介<sup>1,4)</sup>, 三嶋廣繁<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup>愛知医科大学感染症科

<sup>2)</sup>愛知医科大学分子疫学・疾病制御学寄附講座

<sup>3)</sup>愛知医科大学病院薬剤部

<sup>4)</sup>愛知医科大学病院感染制御部

## 要旨

【背景】カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）はカルバペネム系抗菌薬に加え、既存の抗菌薬の中に有効性が期待できるものはほとんどない。そのため、CRE 感染症に単独で有効な抗菌薬は限られており、現実的にはカルバペネム系抗菌薬を軸とした併用療法が推奨されている。実際、CRE はカルバペネム系抗菌薬への薬剤感受性が低下しているが、その程度はさまざまである。そのため、CRE における薬剤耐性の程度によっては、カルバペネム系抗菌薬の投与方法によって PK-PD 理論的にも有効性が期待され、臨床データでもその有効性が証明されている。一方、*in vitro* 試験の段階ではあるが、カルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系抗菌薬が有効という報告もある。そこで、CRE マウス大腿部感染モデルを用いて、CRE による皮膚軟部組織感染症におけるカルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系抗菌薬の併用療法の有効性について評価した。

【方法】CRE をカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）と non-CPE に分けて評価を行った。特に、カルバペネム耐性の拡大が懸念されている *Escherichia coli* (EC) と *Klebsiella pneumoniae* (Kpn) を用いたマウス大腿部感染モデルを用いた (EC と Kpn で 1. CRE/CPE, 2. non-CRE/CPE, 3. CRE/non-CPE, 4. non-CRE/non-CPE を各 1 株ごと)。なお、本研究では、メロペネム (MEPM) とアミカシン (AMK) を使用し、ヒトにおける PK-PD パラメータが得られるように調整した投与量を用いた (MEPM では %Time above MIC, AMK は  $C_{max}/MIC$  を考慮)。マウス大腿部感染モデルに、生理食塩水 (control), MEPM 単剤, AMK 単剤, MEPM + AMK 併用で薬剤を投与し、薬剤の投与開始から 24 時間後の大腿部の菌量と治療開始から 10 日 (240 時間) 後の生存率を確認した。

【結果】本研究で使用した EC と Kpn の MEPM と AMK に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は、0.016 ~ >32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2 ~ 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。特に、本研究で使用した MEPM の投与量 (200 mg/kg/q8h) で得られた血中濃度は、 $ACU_{0.24}$  79.53  $\mu\text{g}^*\text{h}/\text{mL}$ , 半減期 0.29 h を示し、予想される PK-PD ターゲット到達率は、56.7% と 21.4% (MIC = 1, 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合) であった。マ

ウス大腿部感染モデルを用いた抗菌活性の評価では、すべての菌株（8株）に対して、AMK単剤よりもMEPM+AMK併用療法が有意に高い抗菌活性を示した。また、ECとKpnともにCRE株（CPEであるかにかかわらず）に対してはMEPM単剤と比較するとMEPM+AMK併用療法は有意に高い抗菌活性を示した。その一方で、non-CRE/CPE株に対しては、MEPM単剤とMEPM+AMK併用療法では抗菌活性に差は認められず、両レジメンは同等の抗菌活性を示した。さらに、CRE/CPE株（EC）感染マウスに対して、MEPM+AMK併用療法群は、MEPM単剤投与よりも4倍高い生存率を示した（50.00% vs. 12.50%,  $p=0.13$ ）。

【考察】本研究では、CREによる皮膚軟部組織感染症を想定し、マウス大腿部感染モデルを用いて、カルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系抗菌薬の併用療法の有効性について評価した。その結果、MEPMとAMKの併用療法は、感染したECまたはKpnによるCRE感染症（CPEであるかにかかわらず）に対して有用な治療となることが示唆された。また、MEPMとAMKの併用療法はCREのMEPM高度耐性菌株（MIC>32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）においてもその抗菌活性を示したことからその有用性は高いと考察される。

## 1. 背景

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* : CRE）はカルバペネム系抗菌薬に加え、既存の抗菌薬の中に有効性が期待できるものはほとんどないという場合が多い。そのため、CRE感染症に単独で有効な抗菌薬は限られており、既存の治療薬としては、コリスチンやチゲサイクリンがある。しかし、両薬剤に対する耐性菌の報告が散見され、現実的にはカルバペネム系抗菌薬を軸とした併用療法も推奨されている。

実際、CREはカルバペネム系抗菌薬への薬剤感受性が低下しているが、その程度はさまざまである。そのため、CREにおける薬剤耐性の程度によっては、カルバペネム系抗菌薬の投与方法によってPK-PD理論的にも有効性が期待され、実際に臨床データでもその有効性が証明されている。しかし、カルバペネム系抗菌薬単剤による治療では、CREの薬剤感受性を低下させることが示唆されている。一方、*in vitro*試験の段階ではあるが、カルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系抗菌薬が有効であるという報告もある。そこで今回、CREマウス大腿部感染モデルを用いて、CREによる皮膚軟部組織感染症におけるカルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系抗菌薬の併用療法の有効性について評価した。

## 2. 試験目的

本試験では、マウス大腿部感染モデルを用いて、カルバペネム系抗菌薬であるメロペネム（MEPM）とアミノグリコシド系抗菌薬であるアミカシン（AMK）による併用療法のCRE/カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）感染症に対する有効性を評価する。

## 3. 方法

### 3.1. 使用薬剤

本試験に用いるMEPM（大日本住友製薬）とAMK（日医工）は、市販されている注射薬を用いた。*In vivo*試験での薬剤の溶解方法は添付文書に記載している方法を順守した。なお、この時の薬物濃度は活性体本体の値として表示を行った。白血球減少マウスの作成にはシクロホスファ

ミド (Sigma-Aldrich Japan) を用いた。また、動物の麻酔には三種混合麻酔薬 (ミダゾラム, 塩酸メドミジンと酒石酸ブトルファノール) を用い、その拮抗薬として塩酸アチパメゾールを用いた。

### 3.2. 微生物

#### 3.2.1. 菌株

本試験では、4種類の *Escherichia coli* と4種類の *Klebsiella pneumoniae* (臨床分離株と ATCC 基準株を含む) を用いた。選択する菌株は個々の phenotype (遺伝子型や他の抗菌薬剤感受性など) に基づいて、討議して決定した<sup>1)</sup>。

#### 3.2.2. 薬剤感受性試験

本試験で使用される抗菌薬の薬剤感受性試験は、CLSI 推奨ガイドラインに基づいた微量液体希釈法を用いて、最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) を測定した。

### 3.3. 動物感染モデル

#### 3.3.1. マウス

- 供給源：日本エスエルシー
- 系統：Slc:ICR [SPF], 雌性
- 購入時齢および体重：4週齢, 20~22 g
- 飼育条件：以下の条件で管理された飼育室にて、1ケージ当たり10匹以下で飼育する。飼料 (CE-2) および水道水を自由に摂取させる。
  - ✓ 温度基準値：20~26°C
  - ✓ 湿度基準値：30~70%
  - ✓ 照明時間：12時間
- 検疫・馴化期間：8~10日間

#### 3.3.2. 使用菌株

菌株の薬剤感受性：本研究では、4種類の *E. coli* (990599, 990842, 990611, ATCC 25922) と4種類の *K. pneumoniae* (ATCC baa-1705, 990645, 16-2183, ATCC 700603) を、Table 1 に示す MEPM と AMK に対する抗菌効果の比較試験に使用した (CRE/CPE 株, non-CRE/CPE 株,

Table 1. 4種類の *E. coli* (990599, 990842, 990611, ATCC 25922) と4種類の *K. pneumoniae* (ATCC baa-1705, 990645, 16-2183, ATCC 700603) の MEPM と AMK に対する薬剤感受性

type	species	strain	genotype	MIC of MEPM ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	MIC of AMK ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	No.
CRE/CPE	<i>E. coli</i>	990599	IMP-6 + CTX-M-2	>32	4	1
	<i>K. pneumoniae</i>	ATCC baa-1705 (990695)	KPC	>32	64	2
non-CRE/CPE	<i>E. coli</i>	990842	OXA-48 + CMY + CTX-M-9	1.0	4	3
	<i>K. pneumoniae</i>	990645	IMP-1 + DHA-1	0.5	4	4
CRE/non-CPE	<i>E. coli</i>	990611	CMY-2	8	4	5
	<i>K. pneumoniae</i>	16-2183	CTX-M-9	12	2	6
non-CRE/non-CPE	<i>E. coli</i>	ATCC 25922	—	0.016	2	7
	<i>K. pneumoniae</i>	ATCC 700603	SHV-18	0.064	2	8

CRE/non-CPE 株, non-CRE/non-CPE 株は *E. coli* と *K. pneumoniae* で各 1 菌株ずつ)。 *E. coli* に対する MEPM と AMK の薬剤感受性は MIC = 0.016 ~ >32 と 2~4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であり, *K. pneumoniae* に対する MEPM と AMK の薬剤感受性は MIC = 0.064 ~ >32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と 2~64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。

### 3.3.3. 免疫抑制マウス大腿部感染モデルの作成

本試験における, 動物を用いた検討は愛知医科大学が規定する実験動物倫理規定に従って実施した。マウス大腿部感染モデルには 5 週齢の ICR 系雌性マウスを用いた。

マウス大腿部感染モデルの作製には, 感染 4, 1 日前にシクロホスファミド (Sigma-Aldrich Japan) を 150, 100 mg/kg 腹腔内投与することにより, 白血球減少状態としたマウスを使用した。マウスへ接種する菌液の調整には, 好気培養には Mueller-Hinton 血液寒天培地 (Sigma-Aldrich Japan) により 37°C で一晚, 好気条件で培養を行い, 生育した菌体をさらに同条件で培養を繰り返した菌体を使用した。生育した *E. coli* または *K. pneumoniae* の菌体を生理食塩水中に懸濁し, この菌液をさらに生理食塩水で希釈した。接種菌液はそれぞれ  $10^9 \sim 10^{10}$  cfu/mL を目安に最適な菌量を予備試験により設定した。菌液の調整後, 3 種混合麻酔薬を腹腔内に投与し麻酔したマウスの大腿部へ菌液 100  $\mu\text{L}$  を注射で接種し感染を惹起させた。

### 3.3.4. 薬物動態学試験

上記の免疫抑制大腿部感染マウスを用いて, 細菌の接種から 1 時間後に MEPM の皮下投与を開始した。MEPM の投与開始から, 5 分, 15 分, 30 分, 60 分, 90 分と 120 分後に心穿刺にて採血 (各採血ポイントでマウス 3~4 匹) を行い, 血液 (血清) 中の薬物濃度を liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) を用いて測定した。なお, 採取した血清は測定まで -80°C で保管し, LC-MS/MS の測定条件は下記に示す条件を使用した。また, 得られた血中濃度は WinNonlin (ver. 6.3, Pharsight Inc.) を用いて解析を行った。

- 測定場所: 岐阜薬科大学
- LC-MS/MS システム: Waters 2695 Separations Module/Waters Quattro Micro Mass Spectrometer (Waters Corporation, Milford, MA, USA)
- カラム: Unison UK-C<sub>18</sub> column (2 mm × 100 mm, 3  $\mu\text{m}$ ; Imtakt Corporation, Kyoto, Japan)
- 温度: 30°C
- 移動層: 0.1% formic acid, 10-mM aqueous ammonium formate と 70% methanol
- モード: positive ionization mode
- Transition ions m/z 380.4 → 68.2 for MEPM, m/z 421.1 → 274.1 for internal standard (IS: doripenem)
- MS parameters: capillary, 2.5 kV; cone, 20 kV; source temperature, 110°C; desolvation temperature, 350°C
- ガス: Nitrogen gas (流量: desolvation 600 L/h, cone gas 50 L/h)
- システム: MassLynx system (Waters Corporation)
- MEPM の抽出方法: 固層抽出法; 100  $\mu\text{L}$  の血清に対して 200  $\mu\text{L}$  の蒸留水と 100  $\mu\text{L}$  の IS 含有の血清を添加し, サンプルを 1 mL のエタノールと蒸留水で平衡化した Oasis HLB columns (30 mg, 1 cc; Waters Corporation) に負荷した。その後, 0.5 mL の 10-mM aqueous ammonium formate で洗浄し, 1 mL の 30% methanol 含有 2.5-mM aqueous ammonium formate で溶出を行い, Millex-LG filters (0.2  $\mu\text{m}$ , 4 mm; Merck, Darmstadt, Germany) を通過させた後, 15- $\mu\text{L}$  のサンプルを LC-MS/MS システムに投与した。

### 3.3.5. 薬力学試験

上記の免疫抑制大腿部感染マウスを用いて, 菌液の接種から 1 時間後より Fig. 1 に示す投与ス

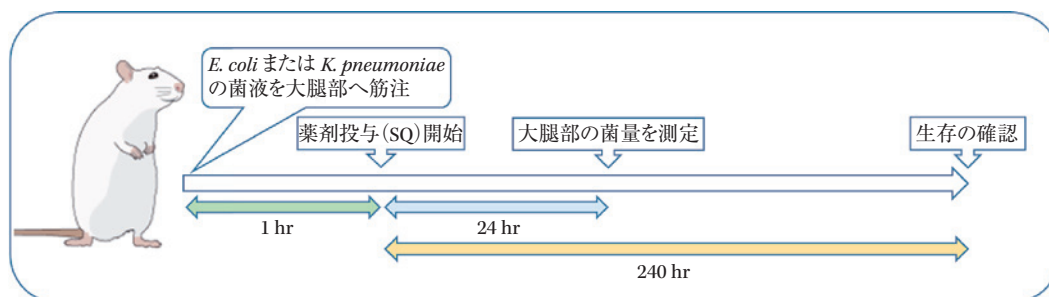


Fig. 1. 実験のスケジュール

スケジュールに従い各抗菌薬 (MEPM : 200 mg/kg/q8h, AMK : 7.5 mg/kg/q12h<sup>2)</sup>) の皮下投与を開始した (コントロール群には生理食塩水を皮下投与)。抗菌薬投与開始時 (0 時間) から 24 時間後にマウスから大腿部を可能な限り無菌的に摘出し、1.5 mL の生理食塩水の入った滅菌スピッツに入れ、ホモジナイズした。ホモジナイズした検体は、適宜、生理食塩水を用いて希釈し、好気性菌用培地へ塗抹した。塗布した培地は、35°C で 20~24 時間、好気培養した後に、出現した生菌数をそれぞれ算出した。この残存生菌数から抗菌薬の *in vivo* 活性を評価した。なお、マウスの安楽死には二酸化炭素を充満させたチャンバーを使用し、呼吸が停止したことを確認した後に大腿部の摘出を行った。

なお、本試験で使用したマウスは、コントロール群とおのおのの治療群につき 4~5 匹を使用し、コントロール群と治療群の比較には Student の *t* 検定もしくは Mann-Whitney の検定を用いた。

### 3.3.6. 生存試験

上記の免疫抑制大腿部感染マウスを用いて、菌液の接種から 1 時間後より Fig. 1 に示す投与スケジュールに従い各抗菌薬 (MEPM : 200 mg/kg/q8h, AMK : 7.5 mg/kg/q12h) の皮下投与を開始した (コントロール群には生理食塩水を皮下投与)。なお、抗菌薬の投与は 9 日目までを行い、10 日目までに生存したマウスの匹数を確認した。

## 4. 結果

### 4.1. マウス大腿部感染モデルにおける MEPM 投与による用量依存試験

*K. pneumoniae* (ATCC 700603, MEPM MIC = 0.064  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を用いたマウス大腿部感染モデルにおいて、MEPM を投与 (50~400 mg/kg/q8h) し、それぞれの投与量における抗菌効果を観察した。その結果、コントロール群の 0 時間の大腿部における菌濃度 (mean  $\pm$  SD) は  $6.80 \pm 0.23 \log_{10} \text{ cfu}/\text{mL}$  であった。また、24 時間後の大腿部における菌濃度は  $8.15 \pm 0.07 \text{ cfu}/\text{mL}$  であった。MEPM 投与群は、抗菌薬の投与から 24 時間後の大腿部における *K. pneumoniae* の菌濃度でコントロール群よりも MEPM の用量依存的に菌量の有意な減少を認めた ( $0.01 \pm 0.32$  から  $-2.22 \pm 0.38 \Delta \log_{10} \text{ cfu}/\text{mL}$ ) (Fig. 2)。なお、 $E_{\text{max}}$  モデルによる解析の結果、 $PD_{50}$  は  $151.03 \pm 51.48 \text{ mg}/\text{kg}/\text{q8h}$ ,  $I_{\text{max}}$  は  $-4.69 \log_{10} \text{ cfu}/\text{mL}$  であった。

### 4.2. マウス大腿部感染モデルにおける MEPM 単回投与 (200 mg/kg) による血中濃度の推移

*K. pneumoniae* (ATCC 700603, MEPM MIC = 0.064  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を用いたマウス大腿部感染モデルにおいて、菌液の接種から 1 時間後に MEPM を単回投与 (200 mg/kg) し、血中濃度の推移を観察した。その結果、 $C_{\text{max}}$  は投与後 15 分後に観察された ( $122.00 \mu\text{g}/\text{mL}$ )。解析の結果、得ら

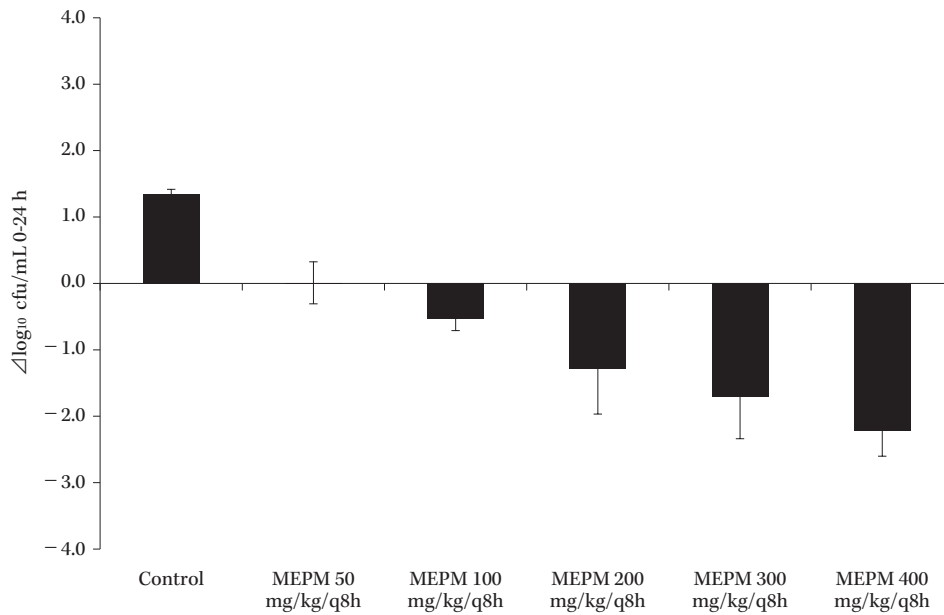


Fig. 2. *K. pneumoniae* (ATCC 700603) によるマウス大腿部感染モデルにおける, MEPM を投与 (50 ~ 400 mg/kg/q8h) した時の大腿部の菌量

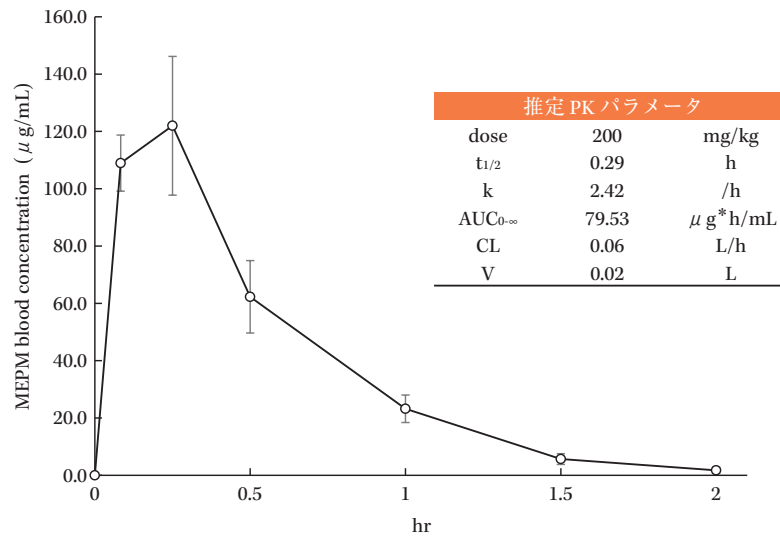


Fig. 3. MEPM を単回投与 (200 mg/kg) した時の血中濃度の推移

れた  $AUC_{0-\infty}$  は  $79.53 \mu\text{g}^*\text{h/mL}$ , 半減期は 0.29 時間であった (Fig. 3)。本結果から, MEPM を  $200 \text{ mg/kg/q8h}$  で投与した場合に得られる MEPM の PK-PD インデックスである %Time above MIC は MIC の上昇によって減少し, MIC が 4, 8,  $>32 \mu\text{g/mL}$  の場合, それぞれ, 21.36, 17.84,  $<10.79\%$  であった (Table 2)。

#### 4.3. 薬力学試験

4 種類の *K. pneumoniae* を用いたマウス大腿部感染モデルにおいて, 菌液の接種から 1 時間後に MEPM ( $200 \text{ mg/kg/q8h}$ ) と AMK ( $7.5 \text{ mg/kg/q12h}$ ) を投与し, 薬剤の投与終了後から 24



Table 2. MEPM 投与 (200 mg/kg/q8h) を行った際の予想PK-PDターゲット到達率

MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	%Time above MIC
128	0.00
64	5.55
32	10.79
16	14.91
8	17.84
4	21.36
2	24.56
1	56.72
0.5	78.36
0.25	89.18
0.125	94.59

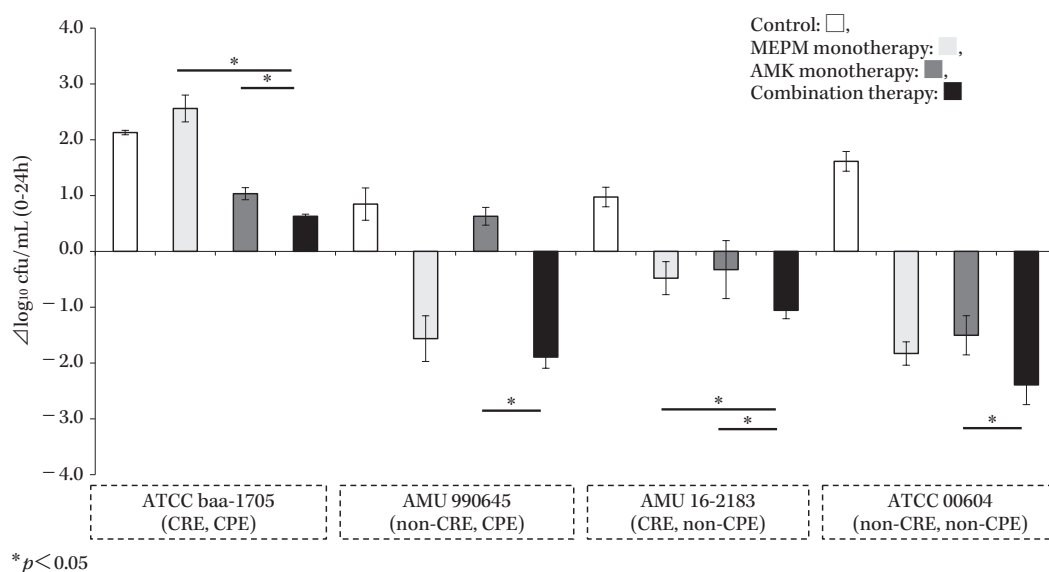


Fig. 4. *K. pneumoniae* によるマウス大腿部感染モデルにおける, MEPM (200 mg/kg/q8h) と AMK (7.5 mg/kg/q12h) を投与した時の大腿部の菌量

時間後のそれぞれの治療群における抗菌効果を観察した (Fig. 4)。その結果, コントロール群の 0 時間の大腿部における菌濃度は  $6.80 \pm 0.23 \log_{10} \text{ cfu/mL}$  であった。また, 24 時間後の大腿部における菌濃度は  $7.52 \pm 0.29$  から  $8.45 \pm 0.04 \text{ cfu/mL}$  であった。併用群は, MEPM 単剤投与群と比較して, 大腿部の CRE/CPE *K. pneumoniae* (ATCC baa-1705) を有意に減少させた ( $0.63 \pm 0.04 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$  vs.  $2.56 \pm 0.24 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ )。同様に, 併用群は AMK 単剤投与群よりも有意な菌量の低下を認めた ( $1.03 \pm 0.11 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ )。また, 併用群は CRE/non-CPE *K. pneumoniae* (AMU 16-2183) に対しても MEPM 単剤投与群 ( $-0.15 \pm 0.15 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$  vs.  $-0.48 \pm 0.30 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ ) や AMK 単剤投与群 ( $-0.33 \pm 0.52 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ ) よりも有意な菌量の減少を認めた。しかし, MEPM 単剤投与群は, non-CRE/CPE や non-CRE/non-CPE *K. pneumoniae* (AMU 990645) に対しては併用群と同等の効果を示した。

一方, 4 種類の *E. coli* を用いたマウス大腿部感染モデルにおいて, 菌液の接種から 1 時間後に

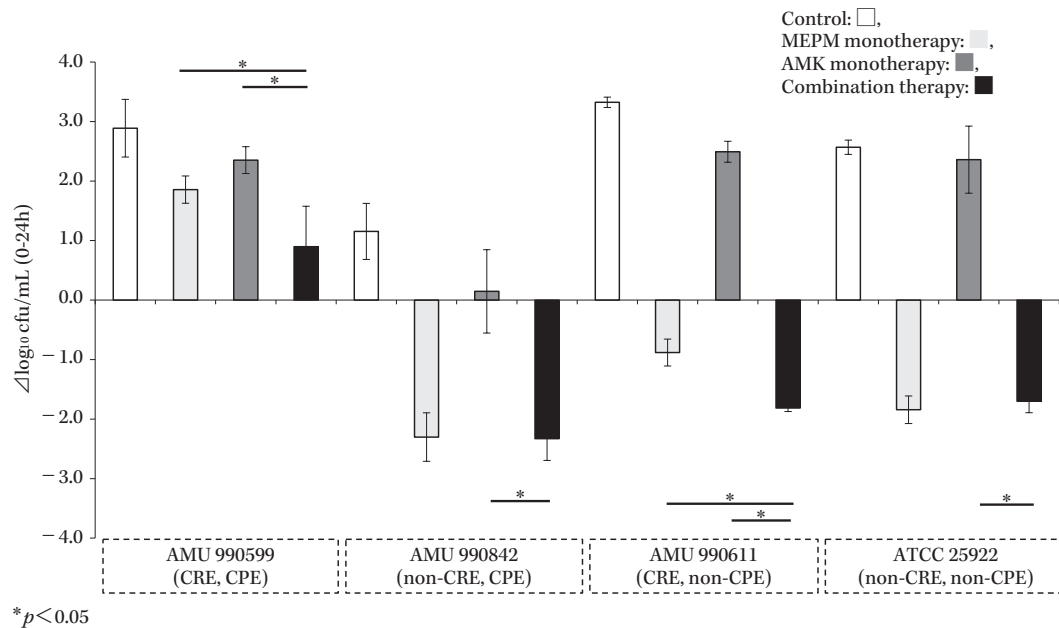


Fig. 5. *E. coli* によるマウス大腿部感染モデルにおける、MEPM (200 mg/kg/q8h) と AMK (7.5 mg/kg/q12h) を投与した時の大腿部の菌量

MEPM (200 mg/kg/q8h) と AMK (7.5 mg/kg/q12h) を投与し、薬剤の投与終了後から 24 時間後のそれぞれの治療群における抗菌効果を観察した (Fig. 5)。その結果、コントロール群の 0 時間の大腿部における菌濃度は  $6.09 \pm 0.29 \log_{10} \text{ cfu/mL}$  であった。また、24 時間後の大腿部における菌濃度は  $7.04 \pm 0.47$  から  $9.31 \pm 0.09 \text{ cfu/mL}$  であった。併用群は、MEPM 単剤投与群と比較して、大腿部の CRE/CPE *E. coli* (AMU 990599) を有意に減少させた ( $0.90 \pm 0.68 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$  vs.  $1.86 \pm 0.23 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ )。同様に、併用群は AMK 単剤投与群よりも有意な菌量の低下を認めた ( $2.35 \pm 0.23 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ )。また、併用群は CRE/non-CPE *E. coli* (AMU 990611) に対しても MEPM 単剤投与群 ( $-1.81 \pm 0.06 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$  vs.  $-0.88 \pm 0.23 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ ) や AMK 単剤投与群 ( $2.49 \pm 0.18 \Delta \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ,  $p < 0.05$ ) よりも有意な菌量の減少を認めた。しかし、MEPM 単剤投与群は、non-CRE/CPE や non-CRE/non-CPE *E. coli* (AMU 990842) に対しては併用群と同等の効果を示した。

#### 4.4. 生存試験

4 種類の *K. pneumoniae* を用いたマウス大腿部感染モデルにおいて、菌液の接種から 1 時間後より MEPM (200 mg/kg/q8h) と AMK (7.5 mg/kg/q12h) を投与し、薬剤の投与終了後から 240 時間後のそれぞれの群 (各群 6~8 匹) におけるマウスの生存の有無を観察した。その結果、本試験で使用した 4 種類の *K. pneumoniae* によるマウス大腿部感染モデルではコントロール群・抗菌薬投与群ともに死亡したマウスは認められなかった。

一方、4 種類の *E. coli* を用いたマウス大腿部感染モデルにおいて、菌液の接種から 1 時間後より MEPM (200 mg/kg/q8h) と AMK (7.5 mg/kg/q12h) を投与し、薬剤の投与終了後から 240 時間までのそれぞれの群におけるマウスの生存の有無を観察した (Fig. 6)。その結果、CRE/CPE *E. coli* (AMU 990599) による感染マウスの生存率は、MEPM 単剤投与群では 12.50% (1/8 生存)、AMK 単剤投与群では 0.00% (0/8 生存) であったが、併用群は 50.00% (4/8 生存) であり (Kaplan-Meier analysis Log rank test による群間の比較:  $p < 0.01$ )、併用群の生存率は MEPM 単



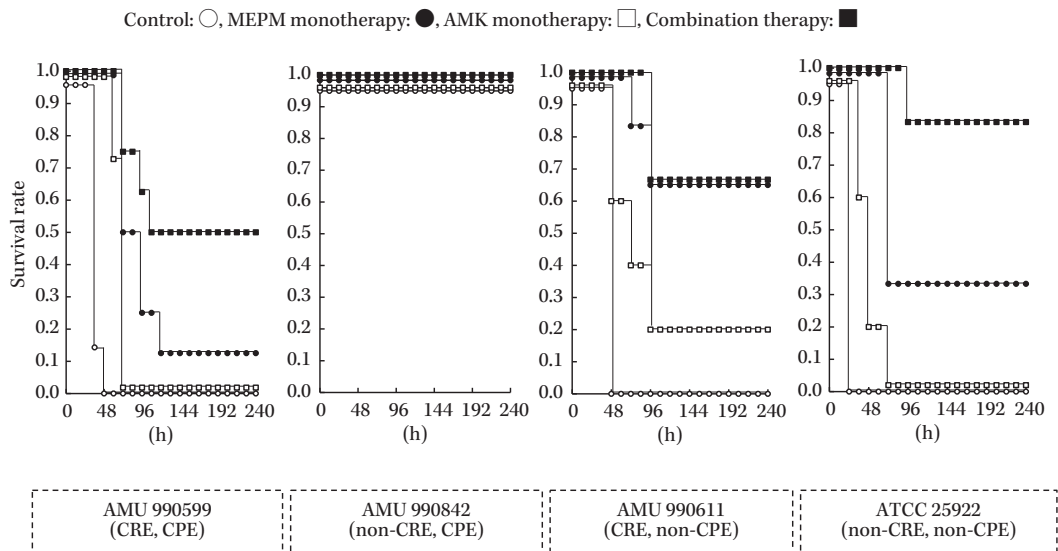


Fig. 6. *E. coli* によるマウス大腿部感染モデルにおける, MEPM (200 mg/kg/q8h) と AMK (7.5 mg/kg/q12h) を投与した時のマウスの生存率

剤投与群と比較しても4倍以上の上昇を認めた ( $p=0.13$ )。コントロール群は36時間後からマウスの死亡が認められ, 48時間後にはすべてのマウスが死亡した。しかし, AMK と MEPM 投与群では60時間, 72時間後からマウスの死亡を認めた。

CRE/non-CPE *E. coli* (AMU 990611) による感染マウスの生存率は, MEPM 単剤投与群では66.67% (4/6生存), AMK 単剤投与群では20.00% (1/5生存)であったが, 併用群は66.67% (4/6生存)であり (群間による比較:  $p<0.01$ ), コントロール群は0.00%であった (0/8生存) (群間による比較:  $p<0.01$ )。併用群の生存率はMEPM 単剤投与群と同等の死亡率を示した ( $p=0.85$ )。コントロール群は48時間後からマウスの死亡が認められ, 48時間後にはすべてのマウスが死亡した。しかし, AMK と MEPM 投与群では48時間, 60時間後からマウスの死亡を認めた。

Non-CRE and non-CPE *E. coli* (ATCC 25922) による感染マウスの生存率は, MEPM 単剤投与群では33.34% (2/6生存), AMK 単剤投与群では0.00% (0/6生存)であったが, 併用群は83.34% (5/6生存)であり (群間による比較:  $p<0.01$ ), コントロール群は0.00%であった (0/8生存) (群間による比較:  $p<0.01$ )。併用群の生存率はMEPM 単剤投与群と比較して有意に低い死亡率を示した ( $p=0.03$ )。コントロール群は24時間後にはすべてのマウスが死亡した。しかし, AMK と MEPM 投与群では36時間, 72時間後からマウスの死亡を認めた。Non-CRE/CPE *E. coli* (AMU 99082) はコントロール群も含めてすべてのマウスが生存を認めた。

## 5. 考察

本研究では, CRE/CPE による皮膚軟部組織感染症を想定し, マウス大腿部感染モデルを用いて, カルバペネム系抗菌薬である MEPM とアミノグリコシド系抗菌薬である AMK の併用療法の有効性について評価した。その結果, MEPM と AMK の併用療法は, 感染した *E. coli* または *K. pneumoniae* による CRE 感染症 (CPE であるかにかかわらず) に対して有用な治療となることが示唆された。また, MEPM と AMK の併用療法は CRE の MEPM 高度耐性菌株 (MIC >32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) においてもその抗菌活性を示したことからその有用性は高いと考察される。

## 6. 結論

MEPMとAMKによる併用療法は、CRE/CPEによる皮膚軟部組織感染症に対しても有効な抗菌薬療法であることが示唆された。

## 7. 参考文献

- 1) Sakanashi D, Kawachi M, Uozumi Y, Nishio M, Hara Y, Suematsu H, et al: Evaluation of commercial phenotypic assays for the detection of IMP- or New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in Japan. *J Infect Chemother* 2017; 23: 474-80
- 2) Zhou Y F, Tao M T, Feng Y, Yang R S, Liao X P, Liu Y H, et al: Increased activity of colistin in combination with amikacin against *Escherichia coli* co-producing NDM-5 and MCR-1. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 1723-30

## 8. COI

三嶋廣繁は、富士フィルム富山化学(株)より顧問料を受けている。

三嶋廣繁は、アステラス製薬(株)、MSD(株)、第一三共(株)、塩野義製薬(株)、大正富山医薬品(株)、大日本住友製薬(株)、ファイザー(株)、Meiji Seika ファルマ(株)、富士フィルム富山化学(株)、旭化成ファーマ(株)、ミヤリサン製薬(株)より講演料を受けている。

三嶋廣繁は、MSD(株)、大正富山医薬品(株)、ファイザー(株)より原稿料を受けている。

三嶋廣繁は、旭化成ファーマ(株)、アステラス製薬(株)、MSD(株)、エネフォレスト(株)、塩野義製薬(株)、第一三共(株)、大正富山医薬品(株)、大日本住友製薬(株)、武田薬品工業(株)、富士フィルム富山化学(株)、ファイザー(株)、富士フィルムファーマ(株)、ホロジックジャパン(株)、ミヤリサン製薬(株)、Meiji Seika ファルマ(株)より奨学寄付金を受けている。

山岸由佳は、大日本住友製薬(株)、大正富山医薬品(株)、MSD(株)より講演料を受けている。

山岸由佳は、MSD(株)、旭化成ファーマ(株)、アステラス製薬(株)、エネフォレスト(株)、塩野義製薬(株)、第一三共(株)、大正富山医薬品(株)、大日本住友製薬(株)、富山化学工業(株)、ファイザー(株)、富士フィルムファーマ(株)、ミヤリサン製薬(株)、Meiji Seika ファルマ(株)より奨学寄付金を受けている。

萩原真生は、寄附講座 [ミヤリサン製薬(株)] に所属している。

加藤秀雄、坂梨大輔、塩田有史、浅井信博、末松寛之、小泉祐介は申告すべきものなし。