

## 【短報】

## カルバペネム系抗菌薬の緑膿菌に対するエンドトキシン遊離作用

横地 高志・高橋 和子

愛知医科大学医学部微生物・免疫学講座\*

(平成19年11月1日受付・平成19年11月19日受理)

カルバペネム系抗菌薬イミペネムは、その殺菌作用の発現に伴うエンドトキシン遊離が少ないことが知られている。今回、カルバペネム系抗菌薬イミペネム (imipenem : IPM), ドリペネム (doripenem : DRPM), メロペネム (meropenem : MEPM) の緑膿菌に対するエンドトキシン遊離作用について比較検討した。緑膿菌 PAO-1 に、IPM, DRPM, MEPM を作用させ、遊離エンドトキシンを測定した。1/2 MIC 8時間処理では、DRPM, MEPM は著しいエンドトキシン遊離を導き、その遊離量は非添加群より多かった。IPM のエンドトキシン遊離量はわずかであった。2 MIC では、IPM, DRPM, MEPM 群ともに著明なエンドトキシン遊離は認められなかった。1/2 MIC IPM で処理された緑膿菌は球形を呈したが、DRPM, MEPM ではフィラメント状を示した。IPM, MEPM, DRPM のエンドトキシン遊離量の差異は、菌の形態変化と密接に関連していることが示唆された。

**Key words:** carbapenem antibiotic, *Pseudomonas aeruginosa*, endotoxin, filament formation

グラム陰性菌感染症に伴う敗血症、エンドトキシンショックの致命率は相変わらず高いが、適切な抗菌薬治療によりかなり減少させることも可能になった。しかしながら、抗菌薬治療によってその病態が一層悪化することがある。抗生物質誘発エンドトキシン遊離 (antibiotics-induced endotoxin release) と呼ばれる現象である<sup>1)</sup>。すなわち、抗菌薬治療によって壊れた菌体からエンドトキシンが遊離するという難題である。エンドトキシンは、グラム陰性菌の細胞壁に存在する外膜を構成する菌体成分である。このため、菌が破壊されない限り大量には遊離されない。しかしながら、菌が分裂、増殖する過程で多少のエンドトキシンが遊離することも事実である。この遊離したエンドトキシンが生体に作用し、さまざまなメディエーターを産生させ、炎症反応を引き起こす。とりわけ、腫瘍壊死因子、インターフェロン、インターロイキン1, 6などのサイトカインが主要なものである。このように、エンドトキシンは、高サイトカイン血症をとおして細胞傷害、細胞死、臓器障害をもたらすと考えられている。抗菌薬治療に伴って起こる病態の悪化は、菌の破壊によって遊離したエンドトキシンが各種炎症性メディエーターの産生を誘発した結果の全身性の炎症反応と推測される。カルバペネム系抗菌薬であるイミペネム (imipenem : IPM) は、セフトジジム (ceftazidime : CAZ) と比較し緑膿菌からのエンドトキシン遊離を著明に抑えることが報告されている<sup>2-7)</sup>。この IPM の低いエンドトキシン遊離は、菌の球形化と密接に関係してい

る<sup>2-4)</sup>。今回、カルバペネム系抗菌薬である IPM, メロペネム (meropenem : MEPM), ドリペネム (doripenem : DRPM) のエンドトキシン遊離と形態的变化について緑膿菌を用いて比較検討した。

緑膿菌 PAO-1 株 ( $1 \times 10^6$ ) をエンドトキシン不含牛胎児血清 (1 mL) に浮遊し、各種抗菌薬を 2, 1/2 MIC で添加し、2, 4, 8 時間培養した。その培養液を  $0.22 \mu\text{m}$  フィルターで濾過し、培養濾液を作製した。その培養濾液中のエンドトキシンをエンドトキシン特異的リムルス反応試薬 (エンドスベック ES, 生化学工業, 東京) を用いて測定した<sup>2)</sup>。カルバペネム系抗菌薬として IPM, MEPM, DRPM を用いた。対照薬として、CAZ を用いた。牛胎児血清中における IPM, MEPM, DRPM, CAZ の緑膿菌 PAO-1 に対する MIC は、それぞれ 2, 0.5, 1,  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  であった。

1/2 MIC の各抗菌薬で緑膿菌 PAO-1 を 8 時間処理し、遊離エンドトキシンを測定した。DRPM, MEPM, CAZ は著しいエンドトキシン遊離を導き、その遊離量は抗菌薬非添加群より多かった。IPM の遊離量はわずかであった (Fig. 1)。他方、2 MIC 処理では、IPM, DRPM, MEPM, CAZ 群ともに著明なエンドトキシン遊離は認められなかった。非添加群では、明らかなエンドトキシン遊離が認められた。ついで、各抗菌薬によるエンドトキシン遊離を経時的に測定した。抗菌薬 1/2 MIC 処理後 2, 4 時間目ではほとんど遊離エンドトキシンは認められなかったが、8 時間目には明らかなエンドトキシン遊

\*愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又 21

離が認められた。ついで、各抗菌薬で8時間処理された緑膿菌の形態変化を観察した。1/2 MIC 処理群では、IPM で処理された緑膿菌は球形を呈したが、DRPM、MEPM ではフィラメント状を呈した(Fig. 2)。4時間目でも、類似の形態変化は認められた。

今回、1/2 MIC MEPM、DRPM は高いエンドトキシン

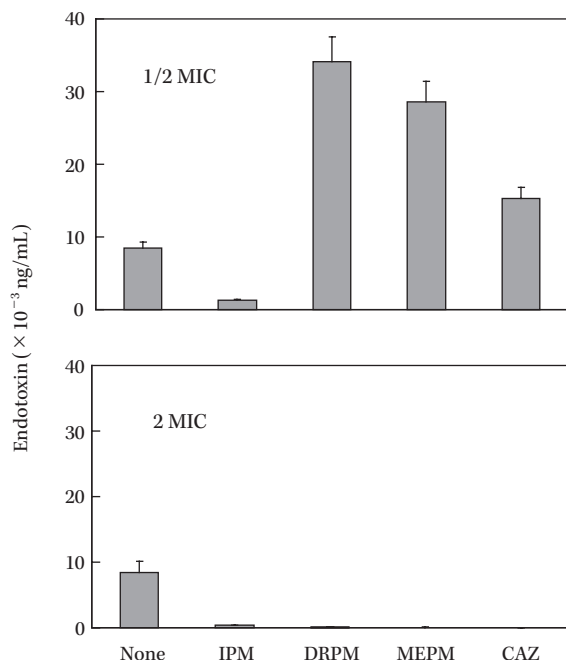


Fig. 1. Endotoxin release in *P. aeruginosa* PAO-1 treated with various antibiotics.

遊離を導いたが、IPM によるエンドトキシン遊離はわずかであった。このことは、同じカルバペネム系抗菌薬である IPM、DRPM、MEPM でもエンドトキシン遊離に差異が生じることを示している。2 MIC では、どの抗菌薬も短時間で殺菌するため、エンドトキシンの遊離は少ないと考えられる。

抗菌薬誘発性エンドトキシン遊離と菌の形態変化とは密接な関係がある<sup>2-6)</sup>。遊離量の少ない IPM は、菌の球形化を導き、遊離量の多い CAZ はフィラメント化を導く。今回、MEPM、DRPM の 1/2 MIC 処理で高いエンドトキシン遊離がみられた群で、菌のフィラメント化が観察された。このことから、カルバペネム系抗菌薬においても、菌の形態変化とエンドトキシン遊離との密接な関係が示唆された。菌の形態変化には、各抗菌薬が作用するペニシリン結合タンパク (PBP) の種類に依存する。PBP2 は、分裂誘導のための細胞伸長を導く作用をもち、この PBP2 の抑制は細胞伸長が阻止され、形態の球形化をもたらし、細胞壁の破壊はあまり起こらない。PBP3 の抑制は、細胞隔壁の合成を阻止するため、菌は分裂ができず長いフィラメント状になり、溶菌する。IPM は、PBP2 に作用するため、菌の伸長が阻害され、球形化される<sup>2,3)</sup>。他方、CAZ は、PBP3 に作用するため、フィラメント化を導く。MEPM、DRPM も 1/2 MIC では、PBP3 に作用し、フィラメント化を生じるものと推察される。

抗菌薬治療によって遊離したエンドトキシンが、炎症性メディエーターの産生に密接に関与している<sup>2,3)</sup>。このため、抗菌薬の選択が、臨床のエンドトキシンショック

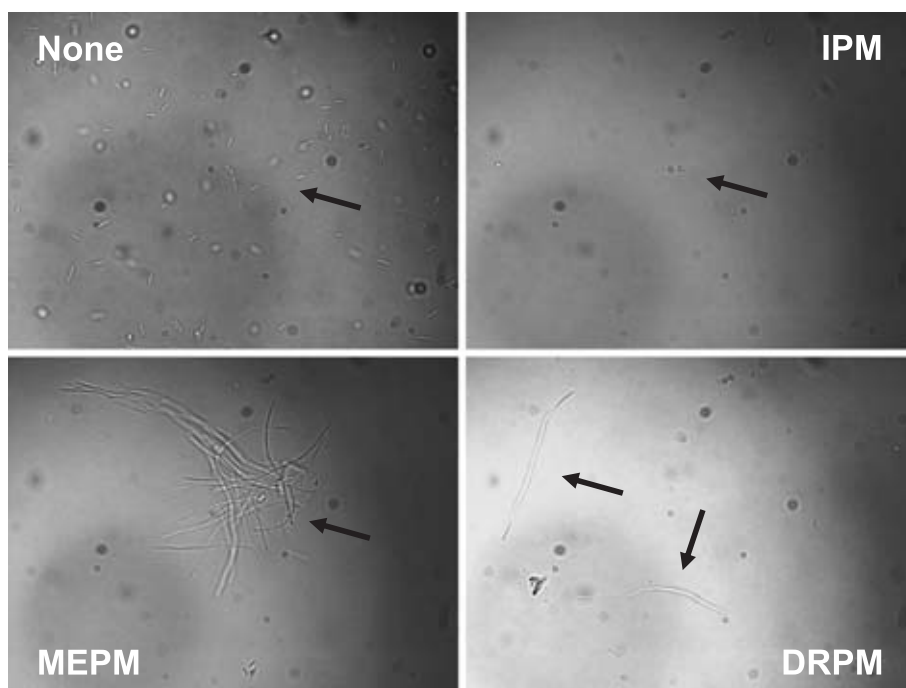


Fig. 2. Morphological changes of *P. aeruginosa* PAO-1 treated with various antibiotics at 1/2 MIC.

や敗血症の病態に影響を及ぼすことも容易に推測される<sup>8,9)</sup>。今回、ある種のカルバペネム系抗菌薬がMIC以下でエンドトキシンを遊離させるため、グラム陰性菌感染症対策にエンドトキシン遊離を防止するようなカルバペネム系抗菌薬の選択も考慮すべきかもしれない。

#### 文 献

- 1) Hurley J C: Antibiotic-induced release of endotoxin: A reappraisal. Clin Infect Dis 1992; 15: 840-54
- 2) Jackson J J, Kropp H:  $\beta$ -lactam antibiotic-induced release of free endotoxin: In vitro comparison of penicillin-binding protein (PBP)2-specific imipenem and PBP 3-specific ceftazidime. J Infect Dis 1992; 165: 1033-41
- 3) Yokochi T, Kusumi A, Kido N, Kato Y, Sugiyama T, Koide N, et al: Differential release of smooth-type lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa* treated with carbapenem antibiotics and its relation to production of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 2410-2
- 4) Yokochi T, Narita K, Morikawa A, Takahashi K, Kato Y, Sugiyama T, et al: Morphological change in *Pseudomonas aeruginosa* following antibiotic treatment of experimental infection in mice and its relation to susceptibility to phagocytosis and to release of endotoxin. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 205-6
- 5) Trautmann M, Heinemann M, Zick R, Mörnicke A, Seidelmann M, Berger D: Antibacterial activity of meropenem against *Pseudomonas aeruginosa*, including antibiotic-induced morphological changes and endotoxin-liberating effects. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17: 754-60
- 6) Horii T, Ichiyama S, Ohta M, Kobayashi M: Relationship between morphological changes and endotoxin release induced by carbapenems in *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol 1999; 48: 309-15
- 7) Tsuji M, Matsuda H, Miwa H, Miyazaki S: Antimicrobial-induced release of endotoxin from *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of in vitro and animal models. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 353-9
- 8) Holzheimer R G: Antibiotic induced endotoxin release and clinical sepsis. J Chemother 2001; 13: 159-72
- 9) Lepper P M, Held T K, Schneider E M, Bolke E, Gerlach H, Trautmann M: Clinical implications of antibiotic-induced endotoxin release in septic shock. Intensive Care Med 2002; 28: 824-33

### *In-vitro* effect of carbapenem antibiotics on endotoxin release from *Pseudomonas aeruginosa*

Takashi Yokochi and Kazuko Takahashi

Department of Microbiology and Immunology, Aichi Medical University School of Medicine,  
21 Karimata, Yasago, Nagakute, Aichi-gun, Aichi, Japan

It is well known that carbapenem antibiotic induces a low endotoxin release in the bacteriocidal action. In the present study we compared the endotoxin-releasing activity of imipenem (IPM), doripenem (DRPM) and meropenem (MEPM) against *Pseudomonas aeruginosa* PAO-1. *P. aeruginosa* PAO-1 was cultured in endotoxin-free fetal calf serum in the presence of the antibiotic. The endotoxin level was determined by an endotoxin-specific limulus assay. No significant endotoxin release was detected in any of the cultures containing IPM, DRPM, MEPM or ceftazidime (CAZ) at 2 MIC although high endotoxin levels were detected in the culture without any antibiotic. DRPM, MEPM and CAZ at 1/2 MIC induced marked endotoxin release, with the endotoxin level being higher than that in the untreated control. IPM at 1/2 MIC, however, induced much less endotoxin release. The endotoxin release was clearly detected at 8 h after the antibiotic treatment. IPM at 1/2 MIC converted the rod-shaped bacteria into spherical ones, whereas DRPM and MEPM at 1/2 MIC induced the formation of filaments. CAZ also induced long-filament formation in *P. aeruginosa*. It was suggested that the high endotoxin release induced by DRPM and MEPM at 1/2 MIC was closely associated with the filament formation.