

# インフルエンザ菌の細胞接着および細胞内侵入による抗菌薬感受性の変化

小上 真史<sup>1)</sup> 鈴木 正樹<sup>1)</sup> 保富 宗城<sup>1)</sup>  
田村 真司<sup>1)</sup> 藤原 啓次<sup>1)</sup> 富田 勉<sup>2)</sup>  
斉藤 夕絵<sup>2)</sup> 山中 昇<sup>1)</sup>

1 和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

2 シネ・サイエンス研究所

## The Change of Susceptibility on Cell-attached and Intracellular-infected *H.influenzae*

Masashi OGAMI<sup>1)</sup>, Masaki SUZUMOTO<sup>1)</sup>, Muneki HOTOMI<sup>1)</sup>, Shinji TAMURA<sup>1)</sup>,  
Keiji HUIHARA<sup>1)</sup>, Tutomu TOMITA<sup>2)</sup>, SachieSAITO<sup>2)</sup>, Noboru YAMANAKA<sup>1)</sup>

1) Department of Otolaryngology-Head&Neck Surgery Wakayama Medical University

2) Cine-science Institute

*Haemophilus. influenzae* is an important pathogen for both upper and lower respiratory tract infection. Recent studies strongly suggest the involvement of bacterial biofilm and/or intracellular-invasion for developing persistent infections. Drug delivery to the target infected organ is the most important factors for antimicrobial agents. In this study, we investigated the antimicrobial effect of AZM and CTRX against cell-attached or intracellular *H.influenzae* in comparison with those to planktonic bacteria. AZM showed better bactericidal effect to both cell-attached and planktonic *H.influenzae* than those of CTRX.

### はじめに

中耳炎や副鼻腔炎などの小児上気道感染症が反復・遷延した場合、鼻咽腔よりの菌検査でインフルエンザ菌が継続的に検出され、抗菌薬治療に抵抗し除菌されにくい症例に遭遇することがある。もともと鼻咽腔はこうした上気道感染症のcarrier focusとして働いており、インフルエンザ菌が生息する部位であることが以前より提唱されている<sup>1)</sup>。また、インフルエンザ菌が細胞内に寄生することも報告されており<sup>2)</sup>、アデノイド細胞に付着・侵入したインフルエンザ菌が宿主の持つ免疫能や抗菌薬治療から逃れていることが考えられ

る。15員環マクロライド系抗菌薬のアジスロマイシン (AZM) は組織移行性に優れるとともに、食細胞の遊走により組織内に寄生した細胞に作用するという特徴を持っており<sup>3)~5)</sup>、細胞内に寄生したインフルエンザ菌に対して殺菌的に働くことが示されている<sup>6)</sup>。今回われわれはAZMの細胞に付着・侵入したインフルエンザ菌に対する抗菌作用を比較した。

### 材料と方法

感染細胞にはヒト喉頭癌由来細胞であるHep-2細胞を使用し、感染菌にはnontypeableインフ

ルエンザ菌臨床分離株 (I-197株) を用いた。Hep-2細胞を24wellマルチプレートにてセミコンフルエント状態まで培養した後、 $2 \times 10^5$  CFUs/wellのインフルエンザ菌 (I-197株) を添加する。37°Cで2時間培養した後、培養上清およびHep-2細胞を得る。それぞれにAZM, CTRX, を1MBC (最小殺菌濃度) を添加し、0, 4, 8, 12時間作用させた後、細菌を回収しチョコレート寒天培地に散布し生存菌数をカウントした。今回用いたI-197株のMICはAZM  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ , CTRX  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$ , GM  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ であり、1MBCはAZM  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$ , CTRX  $200 \mu\text{g}/\text{mL}$ , GM  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

## 結 果

各薬剤を作用させたときの経時的なインフルエンザ菌の菌量の変化は、対照群に比べCTRXは浮遊菌はほとんど殺菌できたが、付着菌は殺菌できなかった (Fig. 1, 2)。一方、AZMは添加後4時間で浮遊菌、付着菌ともに殺菌された (Fig. 3)。

## 考 察

インフルエンザ菌を細胞付着菌と浮遊菌に分離してそれぞれに対する抗菌薬の抗菌作用の違いを調べた。その結果、対照群、CTRX群に比べてAZMは浮遊菌および細胞付着菌のいずれに対しても、良好な抗菌活性を示した。従来より $\beta$ -ラクタム系薬剤は細胞内移行性に乏しく、細胞内に寄生するインフルエンザ菌に対しては効果が弱いことが問題とされている。一方、マクロライド系抗菌薬やキノロン系抗菌薬は貪食細胞内への取り込みが良好といわれている。AZMは最も良好な組織移行性を示し、貪食細胞内での殺菌効果が優れている。

鼻咽腔からの菌検査で継続的にインフルエンザ菌が検出される遷延性・反復性の上気道感染症に対して $\beta$ -ラクタム系中心の抗菌薬治療に抵抗し除菌されにくい場合、インフルエンザ菌の細胞付着・細胞内寄生の状態を念頭に置く必要がある、

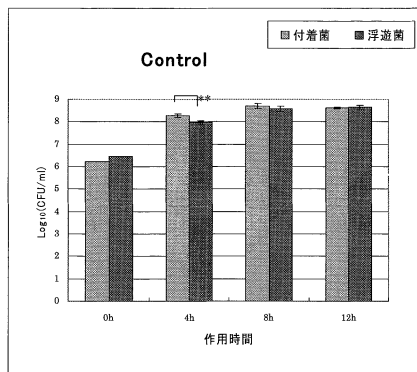


Fig. 1 Effect of antibiotics to cell-attached and planktonic *H.influenzae*

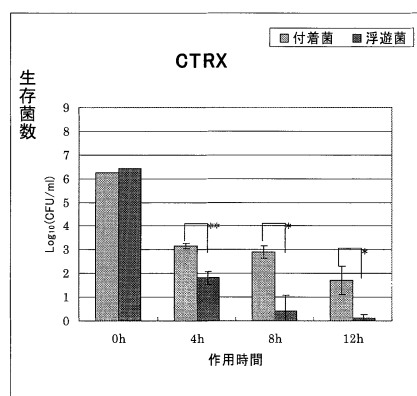


Fig. 2 Effect of antibiotics to cell-attached and planktonic *H.Influenzae* about CTRX.

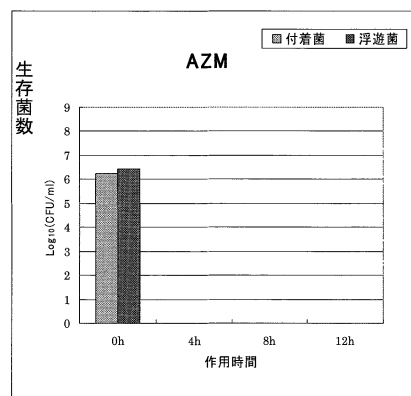


Fig. 3 Effect of antibiotics to cell-attached and planktonic *H.Influenzae* about AZM.

AZMに見られる組織への移行性すなわちDrug Delivery System (DDS) を視野に入れた, 抗菌薬治療を考えることが必要となる.

### 参 考 文 献

- 1) Goldmann JL, Bloom SM, Herschberger C. : Bacteriologic and clinical interpretation of the flora of the nose and nasopharynx in children. J Pediatr. 44(3) : 299-303, 1954.
- 2) Forsgen J, Samuelson A, Ahlin A, Jonasson J, Rynnel-Dagoo B, Lindberg A. : Haemophilus influenzae resides and multiplies intracellularly in human adenoid tissue as demonstrated by in situ hybridization and bacterial viability assay. Infect Immun. 62(2) : 673-9, 1994.
- 3) Gladue RP, et al : *In vitro* and *in vivo* uptake of azithromycin (CP-62, 993) by phagocytic cells : possible mechanism of delivery and release at sites of infection. Antimicrob Agents Chemother 33 : 277-282, 1989
- 4) Schentag JJ, et al : Tissue-directed pharmacokinetics. Am J Med 91 (Suppl 3A) : 3A5S-3A11S
- 5) McDonald PJ, et al : Phagocyte uptake and transport of azithromycin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 10 : 828-833, 1991.
- 6) Goldstein FW, et al : Bacteriostatic and bactericidal activity of azithromycin against *Haemophilus influenzae*. J Antimicrob Chemother 25 (Suppl A) : 25-28, 1990.

連絡先：小上 真史

〒641-0012

和歌山県和歌山市紀三井寺811-1

和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

TEL 073-441-0651

E-mail masashi@wakayama-med.ac.jp