

カスガマイシンに関する基礎的ならびに臨床的研究

北 本 治・深 谷 一 太

高 山 久 郎・輪 島 豊 子

東大伝研内科(主任:北本 治教授)

(昭和 41 年 7 月 29 日受付)

ま え が き

わが国の梅沢博士らによつて 1964 年, 春日神社境内の土壌から分離された *Streptomyces* より稲のイモチ病に特効的に作用する新抗生物質が分離され, Kasugamycin (KSM と略す) と命名された。KSM はアミノ糖とイノシトールから成る物質で, 図 1 の如き構造を示すとされる。

KSM は緑膿菌に対して抗菌力を有し, 動物実験で感染防禦効果を認められて, 臨床的应用に供された。本剤は筋注後の尿中排泄率がとくに高く, この方面に使用価値があることが報告されている¹⁻⁴⁾。

著者らも KSM について 2, 3 の基礎的・臨床的検討を行なつたのでその成績を報告する。

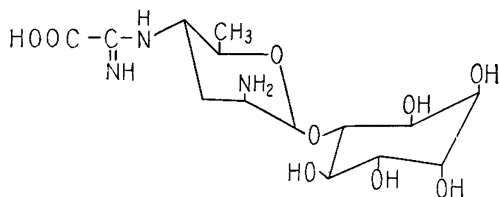
A. 研究方法ならびに成績

1. 薬剤感受性とくに使用培地の比較検討

a. 緑 膿 菌

緑膿菌の KSM に対する感受性値を, 平板希釈法により, 24 時間ブイヨン培養菌液の原液接種により肉水寒天とペプトン寒天(ポリペプトン 0.5% 含有の 2% 寒天 pH 7.0) の両培地を用いて比較検討した。その成績は表

図 1 KSM の構造式

表 1 Kasugamycin に対する *Pseudomonas* の感受性値培地の比較

肉 水 寒 天 (mcg/ml)	ペプトン寒天 (mcg/ml)	株 数 (%)
800	100	1
800	50	3(14)
400	100	4(18)
400	50	11(50)
400	25	3(14)
		22(100)

1 の如くで, 肉水寒天での MIC 値はペプトン寒天の値の 4~16 倍に上り, 大差がみとめられた。

b. その他の腸内細菌

各種腸内細菌の感受性値をペプトン寒天を用いて測定した成績は表 2 の如くで, だいたい 25~100 mcg/ml を示し, 緑膿菌のそれと等しかつた。肉水寒天での測定成績と比較すると図 2 の如くになり, 緑膿菌の場合と同様に肉水寒天での値が 4~16 倍大きく示された。図 3 は SM について同様な比較を行なつたときの成績であるが, KSM に比してさらに著しい両培地での感受性値の開きがみとめられた。CER で行なうと図 4 の如くで, 両培地のひらきは 0~4 倍に止まり, 差は明らかではなかつた。

2. 標準曲線の作製

ペプトン寒天を用い, *E. coli* 055 を試験菌とする重層法で KSM の標準曲線を作製した。pH 5.4, 6.6, 7.6

図 2 Kasugamycin に対する各種細菌の感受性値; 培地による比較

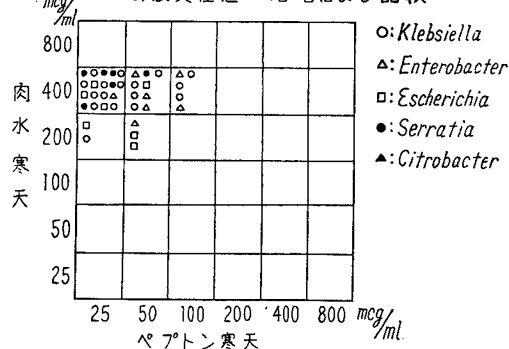


表 2 Kasugamycin に対する各種細菌の感受性値 (ペプトン寒天培地)

M. I. C. (mcg/ml)	25	50	100	200	400	株数
菌種						
<i>Pseudomonas</i>	3	21	8		1	33
<i>E. coli</i>	4	3				7
<i>Klebsiella</i>	9	4	3			16
<i>Enterobacter</i>	2	2	2			6
<i>Serratia</i>	5	1				6
<i>Citrobacter</i>		2				2

図3 SMに対する各種細菌の感受性値
培地による比較

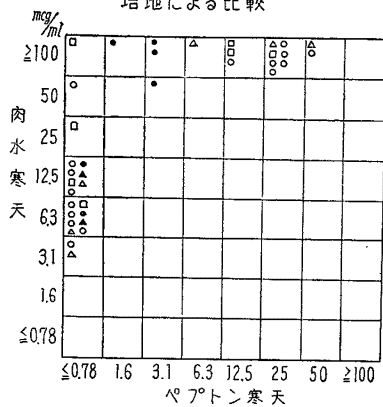


図4 CERに対する各種細菌の
感受性値 培地による比較

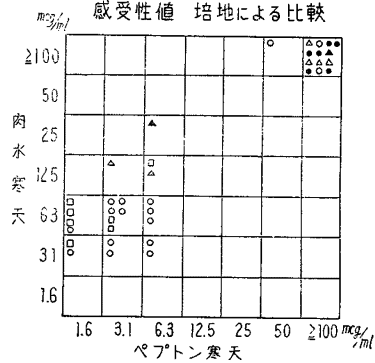


図5 Kasugamycin
標準曲線

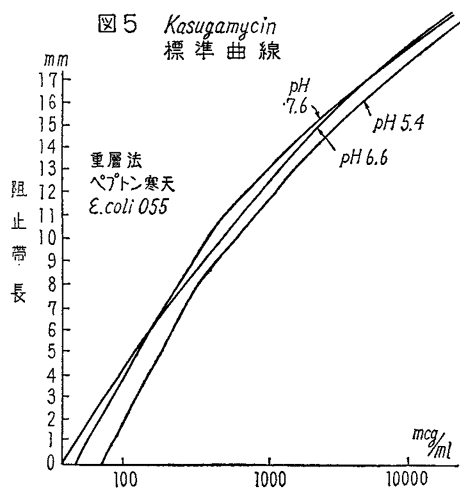


図6 Kasugamycinの
赤血球吸着

(吸着後の残存量で示す)
A, B, C: 薬剤濃度段階

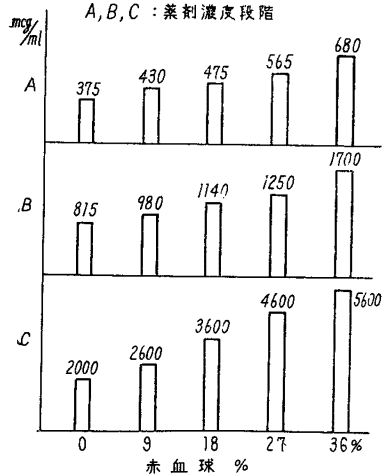


図7 Kasugamycinの
肝臓による不活化

A, B, C: 薬剤濃度段階

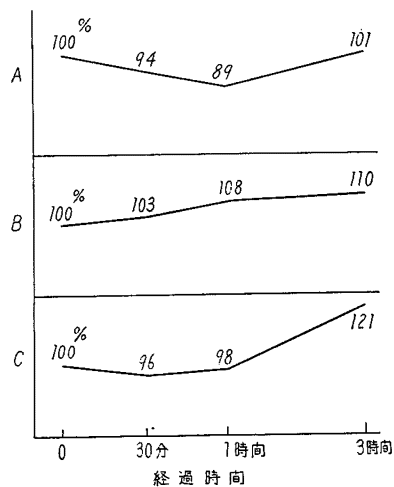
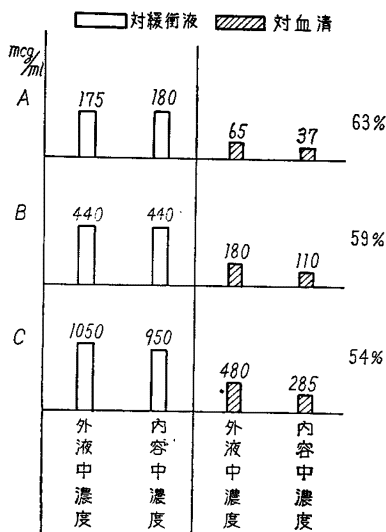


図8 Kasugamycinの
セロファン嚢による透析



の3種の緩衝液を用いたときの曲線を図5に示す。アルカリ側で幾分阻止帯が長くなるようであった。

3. 赤血球吸着性

めん羊赤血球の生理食塩水浮遊液の各種濃度段階のものと、薬剤のA (1,000 mcg/ml), B (Aの2倍), C (Aの4倍) 3濃度段階希釈液とを組合わせて室温30分放置後、遠沈上清中の薬剤濃度を測定した。その成績は図6の如くで、赤血球濃度の高い方に作用後の薬剤残存量が多く、赤血球吸着性は少いようであった。

4. 肝臓による不活化

マウス肝臓を1/15 M 磷酸緩衝液で10倍相当に希釈、ホモジナイズし、薬剤のA, B, C 3段階の濃度溶液と合わせて37°Cにおき、30分、1時間、3時間後にとり出し、沸騰水浴中で1分間煮沸除蛋白し、遠沈した上清について濃度を測定し、作用前に処理したときの値を100%として力価の変動を表現した。その成績は図7の如くで、3時間後にも力価の変動を認めず、不活化をうけないものと思われた。

5. セロファン嚢による透析

KSMの磷酸緩衝液溶液をセロファン嚢を用いて馬血清および前述緩衝液を内液として48時間透析したのち内外両液について濃度を測定した。その成績は図8の如く、外液中濃度の比較では対血清のものは著しい減少を示し、結合率は54~63%という数値を示した。

6. 臓器内濃度の消長

ddD マウスに KSM 5,000 mg/kg を筋注し、15分、30分、45分後に1群3匹のマウスの各臓器をとり出し、蒸留水で10倍相当に希釈し、ホモジナイズしたのち1分間煮沸除蛋白し、遠沈上清について濃度測定を行なつ

表3 Kasugamycin のマウス臓器内濃度
(5,000 mg/kg 筋注)

	15分後	30分後	45分後
肝	0	0	0
腎 (mcg/g)	2,250	2,500	2,000
肺	380	0	0
血清(備考) (mcg/ml)	1,470	1,020	990

表4 Kasugamycin 経口投与時の腸管内容濃度
(マウスに 5,000 mg/kg 経口投与)

	30分後	1時間後	3時間後
腸内容 (mg/g)	50	57.5	62.5
備考 { 腎	0	0	0
血清	0	0	0

表5 Kasugamycin の尿中濃度、尿中排泄量、排泄率 (附: 血中濃度1日2g分2, 筋注持続67jδ)

注射後日数	尿pH	尿量 (cc)	尿中濃度 (mcg/ml)	尿中排泄量 (mg/day)	排泄率 (%)	血中濃度 (mcg/ml)
3	5.0	450	2,450	1,098	54.9	74
5	8.2	500	1,825	913	45.6	
6	8.6	700	1,750	1,225	61.2	
7	7.6	500	2,700	1,350	67.5	
8	5.0	500	7,750	3,875	193.7	
9	5.0	580	4,050	2,349	117.4	53
10	5.0	300	3,150	945	47.2	
11	5.0	600	3,550	2,130	106.5	
12	4.8	350	5,900	2,065	103.2	63
14	4.6	200	7,100	1,420	71.0	
15	4.6	400	6,600	2,640	132.0	
投与総量: 30g				20,010	66.6	

た。その成績は表3の如くで、腎にのみ血中濃度を上廻る高濃度を認めたが、肺ではこれを下廻り、肝からは検出しえなかつた。

次に ddD マウスに KSM 5,000 mg/kg を経口投与して30分、1時間、3時間後に同様に腎、腸内容、血清中濃度を測定したが、表4の如く、腎・血清では薬剤を検出しえず、ただ腸内容からは大量を認めえた。ほとんど吸収されず腸管を通過してゆくものと思われた。

7. ヒトに筋注時の尿中排泄

67jδ (肺炎例) に1日2g分2筋注を持続したさい、24時間蓄尿したものについて尿中濃度を測定し、尿中排泄量と投与量に対する割合を算出した。そ

表 6 KSM. HCl Tablet
Case 1. 8 g oral (disc assay)

	Urine		Blood	
	mcg/ml	vol(ml)	total	mcg/ml
before	0	—	0	0
1 hr	<40	—	—	<40
2 hrs	<40	—	—	<40
3 hrs	230	80	18.4	<40
8 hrs	430	450	193.5	—
24 hrs	76	420	31.9	—

Total 243.8 mg
Recovery 3.05%

Case 2. 2.5 g oral (disc assay)

	Urine		Blood	
	mcg/ml	vol(ml)	total	mcg/ml
before	0	—	0	0
1 hr	<40	—	—	<40
2 hrs	<40	—	—	<40
3 hrs	104	90	9.36	<40
8 hrs	200	450	90.0	—
24 hrs	40	470	18.8	—

Total 118.16 mg
Recovery 2.36%

Case 3. 3 g oral (disc assay)

	Urine		Blood	
	mcg/ml	vol(ml)	total	mcg/ml
before	0	—	0	0
1 hr	<40	—	—	<40
2 hrs	<40	—	—	<40
3 hrs	<40	190	—	<40
8 hrs	<40	320	—	<40
24 hrs	<40	530	—	<40

図 9 Kasugamycin 経口投与後尿中濃度の推移

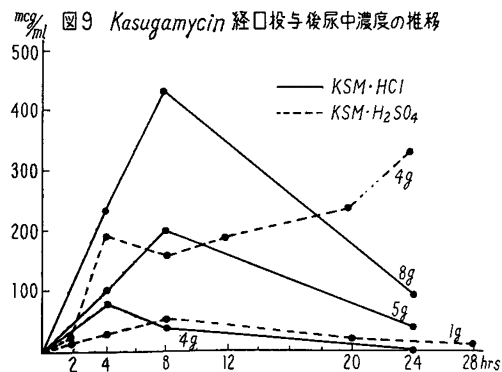


表 7 KSM. HCl Capsule
Case 1. 2 g Oral

	Disc assay				Dilution assay
	Urine		Blood		Blood
	mcg/ml	vol(ml)	total	mcg/ml	mcg/ml
before	0	—	0	0	0
4 hrs	320	100	32.0	—	<15.6
8 hrs	160	120	19.2	—	<15.6
24 hrs	<10	540	<0.54	—	<15.6

Total 51.2 mg
Recovery 2.56%

Case 2. 4 g Oral

	Disc assay				Dilution assay
	Urine		Blood		Blood
	mcg/ml	vol(ml)	total	mcg/ml	mcg/ml
before	0	—	0	0	0
4 hrs	80	130	10.4	—	<15.6
8 hrs	40	380	15.2	—	<15.6
24 hrs	0	410	0	—	<15.6

Total 25.6 mg
Recovery 0.64%

表 8 KSM. H₂SO₄ Tab.

Case 1. 4 g oral

	Urine				Serum
	vol(ml)	pH	mcg/ml	total	
before	—	4.8	0	0	0
2 hrs	290	5.4	2.5	0.725	0
4 hrs	100	4.8	194.8	19.48	0
8 hrs	280	5.0	160.0	44.80	0
12 hrs	50	5.0	194.8	9.70	0
20 hrs	320	5.0	240.0	76.80	0
24 hrs	70	5.0	330.0	23.10	0

Total 173.8 mg
Recovery 4.34%

Case 2. 1 g oral

	Urine				Serum
	vol(ml)	pH	mcg/ml	total	
before	—	4.8	0	0	0
4 hrs	120	4.8	23.5	2.82	0
8 hrs	110	4.8	47.5	5.22	0
20 hrs	50	4.8	19.0	0.95	0
28 hrs	280	5.0	14.2	3.97	0

Total 12.97 mg
Recovery 1.29%

の成績は表5の如くで、毎日の排泄率の平均は 66.6% となった。同時に注射後 3, 9, 12 日目午前 10 時に採血し、血中濃度を測定した成績も右端に示す。この成績から尿中濃度が高く、尿路感染症に対する有効性が推測される。

8. ヒトに経口投与時の尿中排泄

ヒトに KSM 塩酸塩錠剤またはカプセルを経口投与したときの尿中排泄量(微化研、竹内博士による)を測定した成績は表 6, 表 7 の如くで、錠剤では排泄率は 0~3% であり、カプセルでも 0.6~2.5% であった。血中濃度は測定不能であった。

次に 2 例の健康成人に KSM 硫酸塩錠剤を経口投与し、尿中排泄・血中濃度(竹内博士)を測定した。第 1 例は 4g, 第 2 例は 1g を投与した。その成績は表 8 の如くで、4g 経口投与時の尿中濃度は 24 時間後 330 mcg/ml に達したが、排泄率は 4.34% にすぎなかった。1g 投与ではさらに低く、血中濃度はともに検出しえなかった。

KSM 塩酸塩と KSM 硫酸塩の両者を経口投与したさいの尿中濃度を比較すると、図 9 の如くで完全なクロスオーバーではないが、塩酸塩の方が早期に高く、硫酸塩では遅れて高くなる傾向がみられた。また硫酸塩の方が高いピーク値をうるようであった。

B. 臨床例

症例 1 M.S. 67j, ♂

診断: 緑膿菌による肺炎+リウマチ様関節炎

リウマチに対しプレドニソン治療中、40 年 4 月より咳嗽・喀痰が増し、発熱あり、胸部 X 線上斑状陰影をみとめ、SM, INH, SA, PC など投与中、喀痰から緑膿菌を検出し、全身状態が悪化したので当院に入院した。

入院時より栄養不良、発熱 38.0°C、関節変形あり、胸 X 線撮影上両側に陰影あり、喀痰中より緑膿菌を多数認め、図 10 の如く、CP, CL に次いで KSM 1 日 2g の筋注を 14 日間、計 28g 行なった。同時に Paramethasone 3mg の内服を併用した。次第に喀痰中の緑膿菌は減少し、6 月 7 日には検出されなくなった。しかし全身衰弱は進行し、かつ 5 月 27 日頃より両側性の難聴が起り、6 月 7 日には図 11 の如く聴力低下 60~70 DB に到った。入院前(39 年 9 月)の成績と対比して示すと明らかである。

また入院中 KSM 注射開始後よりずっと食欲不振、嘔気、嘔吐の頻発に悩まされた。注射部位の疼痛はあまり訴えられなかった。

図 10 M.S. 67j, ♂

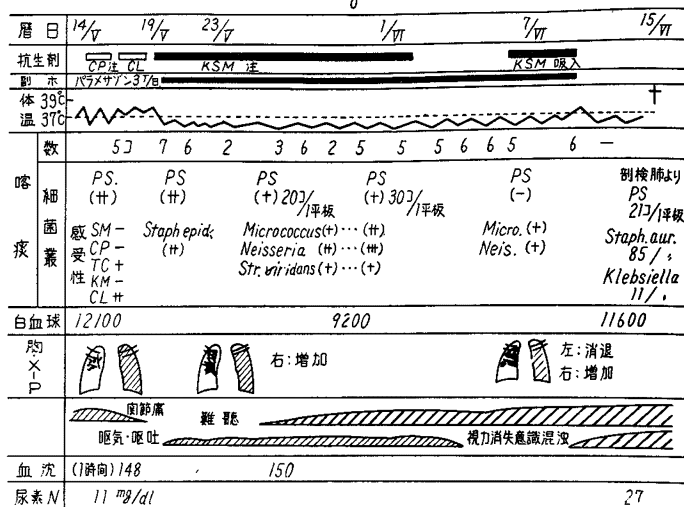
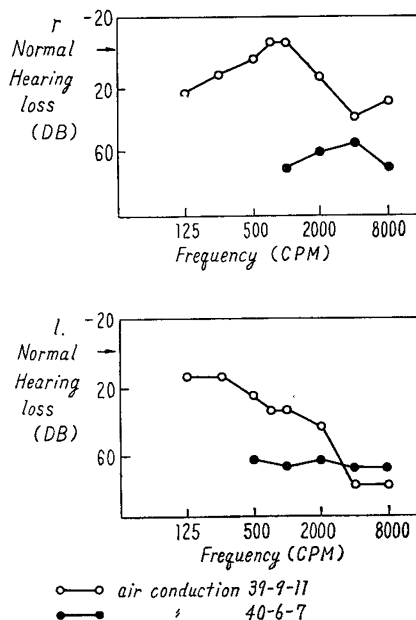


図 11 Audiogram



6 月 5 日より 10 日まで 500 mg (2.5 ml) 宛をネブライザーで吸入 8 回を試みたが、衰弱が加わって施行不能となり中止した。とくに不快感は訴えられなかった。なお緑膿菌は喀痰からは消失した如くであったが、剖検肺からはブドウ球菌、クレブシエラとともに検出された。

また自己分離生菌を抗原とした菌体凝集反応の成績では表 9 の如く、320× まで陽性を示し、有意の上昇と考えられた。

症例 2 S.E. 80j, ♂

表 9 菌 体 凝 集 反 応

希釈倍数	20	40	80	160	320	640
40-5-23 血清	+	+	+	+	+	-
40-6-14 血清	+	+	+	+	+	-

(自己分離生菌使用)

診断：腎膿瘍（腎癌に合併せる）

慢性の尿路感染症状を呈し、11月11日緑膿菌 5×10^8 /ml, 11月26日 1×10^8 /ml であったので、12月10日より KSM 1日1g 筋注を Furadantin 600mg, Prednisolone 10mg と併用し、12月19日まで計10g注射した。尿中細菌は12月12日 *Micrococcus* 4×10^8 /ml, 12月16日 *Prot. mirabilis* 1.5×10^6 /ml となり、緑膿菌は消失した。この間嘔吐1回あり、全身的には不変であった。やや傾眠状態で、副作用に関する聴取はこの例でも不充分であった。

C. 考 察

KSM は最初農薬として発見され、その毒性の低いことから医薬としての用途が探され、種々のグラム陰性桿菌に対して抗菌作用を有することが見出され、とくにそのうち緑膿菌のマウス感染実験で 50 mg/kg の注射により防衛に成功し、ヒトの尿路感染症に対する市川名誉教授の試用によつて有効性がみとめられた物質である。

抗菌力について：抗菌力試験において、培地の影響がみられることは梅沢博士らが既に指摘せられ、博士らはペプトン寒天を用い、菌液を希釈して塗抹してえられた値が臨床成績からみて比較的妥当なものであるとされ、さらに人血液 Slide cell culture 法で最も強い抗菌作用が示され、この方法がよく生体内の動態を反映しているであろうと述べている。

著者の成績でも従来多くの抗生剤について行なわれ、今迄左程問題とされることのなかつた HI 寒天またはふつう寒天平板法での成績で 400~800 mcg/ml の値を示し、あまり高い感受性とはいえないような成績であった。しかしヒトに注射時の尿中濃度測定の結果からみると、数千 mcg/ml の値に達することが知られ、感受性値の3~10倍以上の上昇をうることが知られ、この点ではとくに培地についての問題を取上げなくても、十分に尿路感染症に対する効果をうらづけすることができるものと考えられる。

KSM は SM と化学構造上類似点があるが、感受性試験時の培地の比較でこの両者が似かよつた態度を示し、構造上無関係な CER と異なつていたことは興味がある。

さらに掘下げるためには接種菌量・pH 値などの細か

い条件の相違についての検討も必要であろう。

吸収・排泄：マウスを用いた臓器内濃度の消長の観察では、5,000 mg/kg という大量が、その毒性の低いこともあつて筋注されたが、僅かに肺にみとめられたほか、専ら腎内濃度の上昇のみが顕著であつた。このことは KSM がほとんど尿路のみから排泄され、ヒトの成績でも 70~90% が尿中から回収されることと一致するものと思われる。著者の用いた濃度測定用標準曲線は、その使いやすさの点から大腸菌を用いたため、50 mcg/ml 程度以下は充分観測することができなかった。しかし肝から検出できなかったことは、この方面への移行、胆道系への排泄が微量であることを示唆しており、期待は少なからう。肺内濃度もかような大量筋注で、感受性値と同等止りであることから、やはりあまり期待はかけられないと思われる。

経口投与時にも腸管からの吸収はある程度行なわれるようである。このことはヒトの Volunteer の実験で血中濃度は測定不能であつたが、尿中から数 % 程度が回収されていることから知られる。とくに硫酸塩 4g 経口投与時の尿中濃度は肉水寒天法による抗菌力に近く、ペプトン寒天法のその5~10倍を示しているところから、尿路感染症の症例に KSM を経口投与したときの臨床成績の如何が、感受性検査法の妥当性の問題に解答を与えることになるかもしれない。マウスでの成績では腸管内からは高い有効濃度がえられ、KSM が不活化をうけることなく消化管を通過してゆくことが知られた。緑膿菌による腸管感染症に対しては有効に作用することが推測される。

副作用：著者の症例において副作用と考えられたのは食欲不振・嘔気・嘔吐を呈する胃症状と難聴を来した第8脳神経障害および尿素窒素の上昇傾向である。動物実験では極めて毒性が低いとのことであつたが、ヒトに用いたさいには、種々の臓器に副作用の発現を来すこともあるのを考慮しつつ使用しなければならない。著者の M.S. 例は全身衰弱があり、副作用の発来も強くなつたのかもしれない。臨床効果を保つたまま、注射量を減らすことができれば副作用の問題の解決はえられるものと思われる。

D. 結 論

新抗生物質カスガマイシンについて次の成績をえた。

1. 抗菌力試験では、緑膿菌は使用する培地により差をみとめたが、ペプトン寒天で 25~100 mcg/ml であり、その他の腸内細菌も同等の値を示した。
2. 赤血球吸着性は乏しいようであつた。
3. マウス肝臓による不活化をうけなかつた。
4. セロファン濾過析による血清蛋白結合率は比較的

大であつた。

5. 筋注後のマウス臓器内濃度の測定では腎にのみ高濃度を認め、肺では低く、肝では検出不能であつた。経口投与では腸内容にのみ高濃度を認めた。

6. 患者例に筋注後の尿中排泄率は60~70%であり、Volunteerに経口投与後のそれは数%止まりであつた。

7. 緑膿菌による腎膿瘍1例と、同じく肺炎1例の計2例に臨床試用した成績を示した。一応緑膿菌の消失を認めえたが、副作用として胃症状、難聴、尿素窒素上昇傾向をみとめた。

本論文の一部は第14回日本化学療法学会総会において代表者により発表された。また、M.S.例については

第4回日本胸部疾患学会関東地方会において発表された。

薬剤を提供された万有製薬KKおよび日本抗生物質学術協議会に感謝する。

文 献

- 1) 市川篤二：日本医事新報，No. 2139, 31, 1964.
- 2) UMEZAWA, H.: J. Antibiotics, Ser. A 18(2): 101, 1965.
- 3) TAKEUCHI, T.: ibid. 107, 1965.
- 4) HAMADA, M.: ibid. 104, 1965.
- 5) SUHARA, Y.: ibid. 182, 1965.
- 6) ガスガマイシン研究会報告集，万有製薬，1964, 1965.

KASUGAMYCIN—BASIC AND CLINICAL STUDIES

OSAMU KITAMOTO, KAZUFUTO FUKAYA,
HISAO TAKAYAMA & TOYOKO WAJIMA

The Department of Internal Medicine, The Institute for Infectious Diseases,
The University of Tokyo

(Director: Prof. O. KITAMOTO)

Summary

From the studies on a new antibiotic kasugamycin (KSM), the following results were obtained.

1. On the sensitivity test, M.I.C. values against *Pseudomonas aeruginosa* showed much difference according to medium used. By peptone agar the M.I.C. were 25 to 100 mcg/ml. Those of other enterobacteriaceae against KSM were similar to *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Adsorption to red blood corpuscle was poor.
3. KSM was not inactivated by mice liver homogenates.
4. By cellophane bag dialysis, KSM was considered to be highly bound with serum protein.
5. Organ level following intramuscular injection to mice was high only in kidney, was low in lung, and nil in bowel content.
6. The daily urinary recovery rates following intramuscular injection to one patient were from 60 to 70%, while after oral administration to volunteers they were generally 1 to 4%.
7. Clinical applications were performed to 2 cases, one kidney abscess with carcinoma and one pneumonia with rheumatoid arthritis, both due to *Pseudomonas aeruginosa*. In both cases *Pseudomonas* disappeared, once at least, following KSM injection, regardless of the course of primary diseases.

As untoward effects, gastric distress such as anorexia, nausea, vomiting, loss of hearing and tendency of elevation of blood urea nitrogen were experienced.