

## マウスにおける急性細菌感染症の Doxycycline による治療実験

川上正也 三橋 進

群馬大学医学部微生物学教室

Doxycycline( $\alpha$ -6-Deoxyoxytetracycline, 以下 DOTC と略す)は動物の急性感染症を治療することが ENGLISH (1966) および ENGLISH & LYNCH (1967) によつて報告されているが、わが国におけるその有効性の報告はない。今回マウスの急性感染症における DOTC の治療効果を Tetracycline (TC) のそれと比較したので、報告する。

## 実験方法

**菌株:** *Staphylococcus aureus* 2089 株は本教室に保管されていたもので、TC を加えた寒天平板上の発育試験の結果、TC の最高発育許容濃度は 1.6 mcg/ml で、この菌は TC 感受性菌とみなされた。この菌の約 0.1 mg をマウスの尾静脈内に感染させ、腎に保留された菌を円形培地上で分離し、更に 3 回動物を通過させた菌を感染実験に用いた。

*Escherichia coli* 799-2 株は家畜衛生研究所より分与された株で、マウス腹腔細胞内で増殖する傾向が強いとされている株である。寒天平板上 TC 3.2 mcg/ml で増殖抑制がみられた。この菌のマウス腹腔感染および分離培養により 5 代通過させたものを感染実験に使用した。

菌量測定のためには光電比色計による比濁法を用いて、乾燥菌量一吸光度標準曲線から算定した。

**動物:** 群馬大学医学部純系動物舎で繁殖させた ddN 系マウス、生後 4~7 週、体重 15~20g のものを用いた。実験中はこのマウスを 20~24°C の室に置き、12 匹ずつ 1 つのケージに分離し、オリエンタル酵母工業 MF 飼料と水道水を与えて飼育した。

**感染:** *S. aureus* 2089 株の 0.2 mg の生菌 (10 MLD) をマウス尾静脈より感染させ、各薬剤によつて治療し、感染後 3 日目の生死を判定した。治療しない対照群のマウス 24 匹は感染 3 日以内にすべて死亡した。

*E. coli* 799-2 株の生菌 0.03 mg (3 MLD) をマウスの腹腔内に感染させ、各薬剤によつて治療し、感染後 2 日目の生死によつて治療効果を判定した。非治療群 23 匹は 2 日以内にすべて死んだ。

**治療および効果判定:** TC および DOTC として、台糖ファイザー株式会社より供与された Tetracycline 塩酸塩 (960 mcg 力価/mg) および Doxycycline 塩酸塩 (862

mcg 力価/mg) のバルクをそれぞれ使用した。乾燥した薬剤は 4°C に保存し、水溶液を作つた場合には 2 時間以内に使用した。

TC または DOTC 生理食塩水溶液を段階的に希釈し、それぞれの希釈液を 1 群 24 匹前後のマウスの皮下または胃内に投与した。胃内投与の場合にはマウス用金属製経口ゾンデを用いた。各薬剤の 9.5~4800 mcg 力価の間の種々量を 1 匹のマウスの全投与量とし、全投与量を 3 等分して感染後 30~40 分、6 時間、24 時間に与えた。

薬剤の治療効果測定のためには、2 日または 3 日目の生残率 (%) を probit-log dose 統計紙にプロットし、MILLER & TAINTER (1944) の方法に従がつて 50 パーセント有効量 (ED<sub>50</sub>) を求め、その標準偏差を計算した。

表 1 マウスにおける *Staphylococcus aureus* 感染に対する Tetracycline と Doxycycline の治療効果

動物群	全投与量 (mcg 力価)	投与回数	生残率 a) (%)	ED <sub>50</sub> b) (mcg)
非治療対照	0		0	
Tetracycline 皮下投与	19	3	4.2	151 (±39.4)
	75	3	39	
	300	3	62.5	
Tetracycline 経口投与	75	3	16.7	740 (±390)
	300	3	16.7	
	1200	3	45.9	
Doxycycline 皮下投与	9	3	4.2	61.5 (±11.8)
	38	3	33.3	
	150	3	75	
Doxycycline 経口投与	600	3	100	94.3 (±19.5)
	38	3	26.1	
	150	3	60	
Doxycycline 経口投与	600	3	95.8	94.3 (±19.5)
	2400	3	100	
	2400	3	100	

*Staphylococcus aureus* 2089 株 0.2 mg (10 MLD) を尾静脈内に感染させ、40分、6時間、24時間後にそれぞれ各薬剤全投与量の 1/3 ずつを治療のため投与した。

a) 感染後 3 日目の生残マウスの使用動物数に対する割合。

b) カッコ内は標準偏差。

### 実験結果

マウスに *S. aureus* 2089 株を静脈感染させた後、TC または DOTC の皮下または経口投与によつて治療し、各薬剤間および投与法の差による効果をそれぞれ比較した。その結果を表 1 に示した。

まず治療経路による効果の差をみると、いずれの薬剤を用いた場合にも皮下治療の方が経口治療の場合よりも少量の薬剤投与により有効であつた。

皮下注射による両薬剤の効果と比較すると、両者の ED<sub>50</sub> には 2 倍の開きしかないが、信頼限界の重複はなく、DOTC の方がやや有効であるといえる。これに対し経口治療では、両者の効果の差は著しく、DOTC の有効性が認められた。

*E. coli* 799-2 株腹腔感染において、同様の治療効果の比較を行なつたところ、表 2 に示すような結果が得られた。

表 2 マウスにおける *Escherichia coli* 感染に対する Tetracycline と Doxycycline の治療効果

動物群	全投与量 (mcg) (力価)	投与回数	生残率 a) (%)	ED <sub>50</sub> <sup>b)</sup> (mcg)
非治療対照	0		0	
Tetracycline 皮下投与	19	3	16.7	408 (± 405)
	75	3	29.1	
	300	3	43.5	
	2400	3	83.3	
Tetracycline 経口投与	300	3	16.7	1650 (± 593)
	1200	3	41.6	
	4800	3	72.7	
Doxycycline 皮下投与	38	3	25.0	171 (± 99.6)
	150	3	39.2	
	2400	3	91.7	
Doxycycline 経口投与	38	3	20.8	620 (± 166)
	300	3	37.5	
	1200	3	58.3	
	4800	3	96	

*Escherichia coli* 799-2 株 0.03 mg (3 MLD) を腹腔内に感染させ、30分、6時間、24時間後にそれぞれ各薬剤全投与量の 1/3 ずつを治療のため投与した。

a) 感染後 2 日目の生残マウスの使用動物数に対する割合。

b) カッコ内は標準偏差。

この菌の感染においても *S. aureus* 感染の場合と同様に、皮下注射治療は経口治療よりも有効であつた。

皮下治療群における両薬剤の効果と比較すると、ED<sub>50</sub>

値に差が見られるが、TC 治療群の ED<sub>50</sub> 標準偏差は大きく、その信頼限界は DOTC 群のそれと重複している。従つて両薬剤の効果の間に有意の差は認められない。また TC および DOTC の経口治療では両者の ED<sub>50</sub> の信頼限界に重複がないが、この場合も標準偏差が大きいため、両薬剤の効果の差は結論的ではない。

### 考 察

マウスの急性細菌感染症において DOTC は TC よりも有効であり、殊に経口投与において DOTC の有効性が認められるという今回の実験結果は ENGLISH (1966) の報告とほぼ一致している。今回の実験は彼の結果と比較するために、なるべくこれと同じ実験条件で行なつた。しかしまた、自然の感染状態に少しでも近づけるために、*E. coli* および *S. aureus* のうち、なるべくマウスにウイルレンスの高い株を選び、ムチンなどの感染増強剤を使用せずに感染実験を行なつた。

予備的な実験として、TC および DOTC の 1 回治療を行なつてみたが、その場合には今回示した頻回治療におけるような治療効果の差はほとんど認められず (未発表)、1 回治療でも両薬剤の治療効果に差があるとする ENGLISH (1966)<sup>1)</sup> の報告とは一致しなかつた。また *E. coli* 感染では今回の成績に示された通り、3 回治療においても TC と DOTC の効果の間に強い有意差は認められなかつたが、これは上述のような、ややウイルレンスの強い株を使用したためであろう。実際にウイルレンスの極めて強い *Salmonella enteritidis* 116-54 株をマウスに感染させ、全量 4 mg の DOTC を 3 日間に分けて投与したが、肝内菌数の低下はなく、その感染死を防ぐこともなかつた。

しかしながら今回示されたように、*S. aureus* 感染に対しては DOTC はかなり有効であつた。皮下注射群においては DOTC は TC の 1/2 の投与量で *S. aureus* 感染を治療することが示されたが、これは TC 感受性 *S. aureus* に対する DOTC の最高発育許容濃度が TC のそれに較べて 1/2 であるという試験管内で示される事実<sup>2)</sup> の生体内における反映であろう。また DOTC は、殊に経口投与において TC に較べ ED<sub>50</sub> が 1/6 以下であるという結果は、この薬剤を経口的に投与した時の吸収速度が大きく、血中半減期が長いということ (SCHACH & YEARY 1963; SCHACH & DELAHUNT 1966)<sup>3)</sup> に由来しているのかもしれない。

### 結 論

マウスの *Staphylococcus aureus* による実験的急性感染を Doxycycline ( $\alpha$ -6-Deoxyoxytetracycline, DOTC) により治療し、Tetracycline (TC) の治療効果と比較した。

皮下投与による治療では DOTC は TC よりも効果がやや大であり、経口投与においては DOTC は TC よりもかなり有効で、両者の ED<sub>50</sub> に 6 倍以上の差があつた。

*Escherichia coli* の感染に対しては両薬剤共有効であるが両薬剤の治療効果の間に著明の差は認められなかつた。

#### 参考文献

- 1) ENGLISH, A. R.:  $\alpha$ -6-Deoxyoxytetracycline, I. Some biological properties. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 122: 1107~1112, 1966
- 2) ENGLISH, A. R. & J. E. LYNCH:  $\alpha$ -6-Deoxyoxytetracycline, II. Activity in chemotherapeutic studies in the mouse. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 124: 586~591, 1967
- 3) 橋本 一, 三橋 進: 病巣由来の各種細菌に対する Doxycycline の抗菌作用について。Chemotherapy 17 (2); 1969
- 4) MILLER, L. C. & M. L. TAINTER: Estimation of the ED<sub>50</sub> and its error by means of logarithmic probit graph paper. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 57: 261~264, 1944
- 5) SCHACH, V. M. & C. S. DELAHUNT: The distribution of tetracyclines in tissues of dogs after repeated oral administration. J. Exp. Pharmacol. 152: 164~169, 1966
- 6) SCHACH, V. M. & R. YEARY: The excretion and distribution in body fluids of tetracyclines after intravenous administration to dogs. J. Pharmacol. & Exp. Therap. 140: 258~266, 1963

## EXPERIMENTAL CHEMOTHERAPY BY DOXYCYCLINE IN ACUTE BACTERIAL INFECTION IN MICE

MASAYA KAWAKAMI & SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology, Gunma University  
School of Medicine

Therapeutic effect of doxycycline ( $\alpha$ -6-deoxyoxytetracycline, DOTC) was compared with that of tetracycline (TC) in experimental acute infection of *Staphylococcus aureus* in mice.

The ED<sub>50</sub> of DOTC was half of that of TC in subcutaneous therapy and the former was one sixth of the latter in oral therapy.

No significant difference was observed between the effect of both drugs in the infection with *Escherichia coli*.