

# シヨサマイシンに関する基礎的研究

三 橋 進

群馬大学医学部微生物学教室

シヨサマイシン (Josamycin: JM) は、微生物化学研究所の梅沢浜夫博士と山之内製薬中央研究所との協同研究により開発されたマクロライド群抗生物質に属する新抗生剤であり、*Streptomyces narbonensis* var. *josamyceticus* によつて生産される、無色針状の結晶である。

現在までの基礎的、臨床的成績では、抗菌力の点では他のマクロライド群抗生物質とほぼ同様であるが、動物における感染防禦実験では、よりよい成績が得られているという。

本文は全国 29 研究機関の参加によつてなされた基礎的研究の成績を中心としてまとめたもので、その大要は第 16 回日本化学療法学会のシンポジウムにおいて報告された。報告を寄せられた研究機関は第 1 表に示した。

第 1 表 研究機関名および代表者名

日本大学外科	石山俊次
東京共済病院内科	中川圭一
順天堂大学臨床病理	小酒井望
慶応大学内科	五味二郎
国立東京第一病院検査科	中村正夫
東京大学皮膚科	川村太郎
横浜市立大学第一内科	福島孝吉
昭和大学小児科	中沢進
東京大学医学研究所内科	北本治
北海道大学第二内科	真下啓明
札幌通信病院耳鼻咽喉科	岩沢武彦
川崎市立病院内科	勝正孝
大阪市立大学第一内科	三木文雄
熊本大学徳臣内科	副島林造
岡山大学皮膚科	谷奥喜平
大阪市立大学第二外科	酒井克治
新潟大学眼科	三国政吉
東京大学分院小児科	藤井良知
順天堂大学産婦人科	水野重光
東北大学眼科	葉田野博
東邦大学微生物	桑原章吾
慈恵会医科大学上田内科	上田泰
名古屋市立大学第一外科	柴田清人
京都府立医科大学産婦人科	徳田源市
京都薬科大学微生物	中沢昭三

神戸大学泌尿器科 石神襲次  
関西医科大学第一内科 大久保 滉  
京都大学小児科 奥田六郎  
群馬大学微生物 三橋進

## 材料と方法

菌株：用いられた菌株は、参加研究機関においてそれぞれ分離された病巣由来の菌株である。また耐性測定用のスタンダード株も一部用いられた。

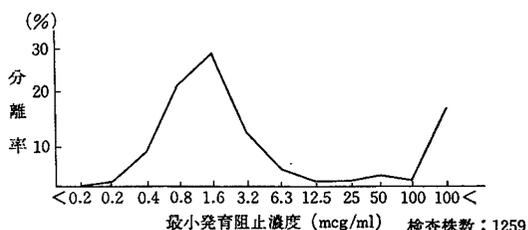
耐性の測定：化学療法学会誌によつて規定された方法に準じ、平板希釈法によつて耐性を測定した。用いた培地はハート・インフュージョン寒天である。

耐性の誘導：MS 537 およびその変異株を用い、各種薬剤の 0.1~1.0 mcg/ml で前処理することによつて行なつた。誘導による耐性の獲得は、選択薬剤 50 mcg/ml を含む液体培地中での増殖曲線を、薬剤を含まない培地中でのそれと比較して判定した。液体培地には半合成培地を用いた。増殖の測定には Simazu スペクトロニック 20 カラリメーターを用い、530 m $\mu$  の吸収によつて測定した。

## 結 果

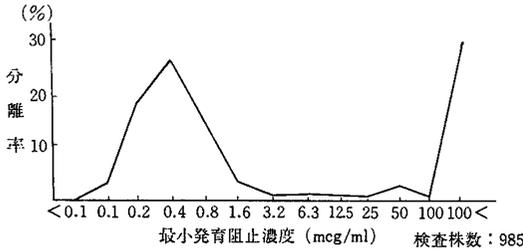
病巣分離ブドウ球菌 1,259 株に対する JM の抗菌力を第 1 図に示した。

第 1 図 JM の *S. aureus* に対する MIC の分布



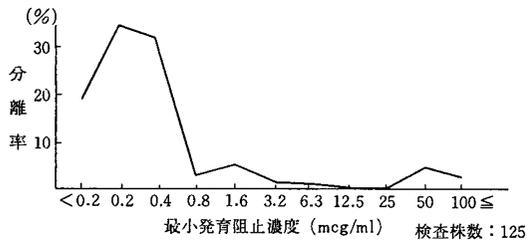
感受性菌群の MIC のピークは 1.6 mcg/ml にあり、耐性菌群の MIC は 100 mcg/ml 以上である。耐性菌群の MIC はその後の検査により、800 mcg/ml 以上という高いものであることが判明した。JM の抗菌力を他のマクロライド群抗生物質と比較してみると、エリスロマイシン (EM) よりは低いが、オレアンドマイシン (OM)、ロイコマイシン (LM) とほぼ同様であることがわかる。第 1 図の検査に用いた株の中、985 株について EM の抗菌力を検査した結果を第 2 図に示した。Strep-

第2図 EM の *S. aureus* に対する MIC の分布



*Staphylococcus* に対しては、*Staphylococcus* に対するより抗菌力が強い(第3図)。また種々の菌株に対する MIC を第2表に示した。グラム陰性菌に効果がないのは他のマクロライド群抗生物質と同様で当然のことである。

第3図 JM の *Streptococcus* に対する MIC の分布



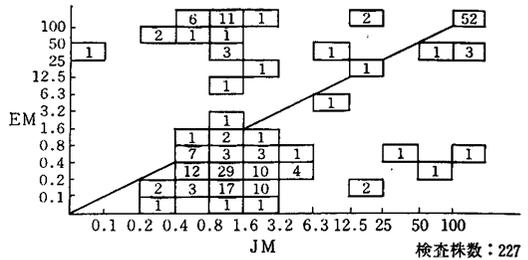
第2表 JM の種々の菌株に対する MIC

菌 株	MIC(mcg/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC10490	100<
<i>Escherichia coli</i> B	100<
BMW	100<
K12	100<
NIH	100<
C14	100<
<i>Proteus</i> OX 2	100<
<i>Micrococcus flavus</i>	25.0
<i>Streptococcus faecalis</i>	6.3
T12	0.005
mg	0.005
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	0.8
NEWMAN	1.6
TERAJIMA	1.6
SMITH	1.6
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	0.4
<i>B. cereus</i> var. <i>mycoides</i> ATCC 9634	0.2
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	0.8
PCI 1001	0.005

ついで他のマクロライドと比較するため、交叉耐性をみた。比較に用いた薬剤は EM と、マクロライド群抗

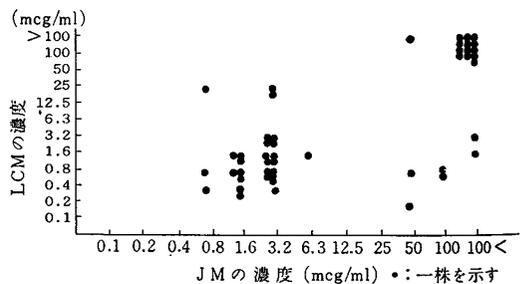
生物質ではないが、種々のマクロライド群抗生物質と交叉耐性のあることが知られているリンコマイシン(LCM)である。第4図に見られるように、JM に対して強い抵

第4図 JM と EM との交叉耐性 (*S. aureus*)

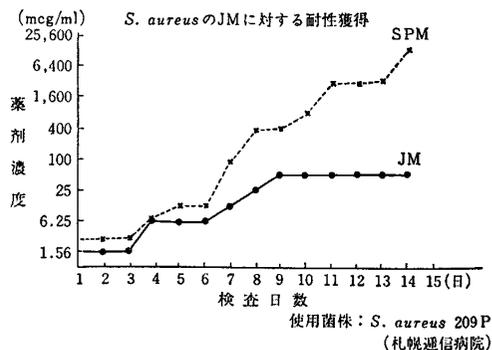


抗性を示す 52 株は EM に対しても強い抵抗性を持っている。また感受性菌群の分布からみても交叉耐性が明らかに認められる。ただし EM での MIC が高く、JM でのそれが低い 1 群の菌には注目しなければならない。これは既報<sup>2)</sup>の C 群に属する菌であつて、誘導耐性を示すものである。マクロライド群抗生物質耐性における耐性の誘導という現象は極めて興味ある問題であつて、このことについては後述する。LCM との交叉耐性をみると(第5図)、JM に高い耐性を示す株はやはり LCM に

第5図 JM と LCM との交叉耐性 (*S. aureus* 52 株)



第6図 *S. aureus* の JM に対する耐性獲得



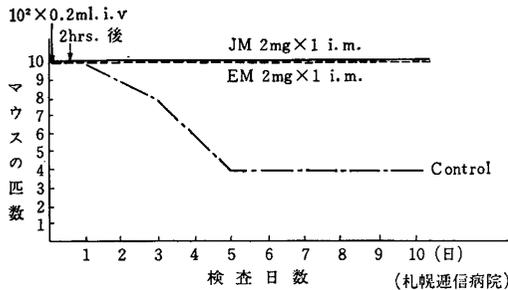
使用菌株: *S. aureus* 209 P  
(札幌運病院)

も高い耐性を示す。LCM は EM と異なり、耐性を誘導することはないので、JM に対して低い MIC をもち、LCM には高い MIC を示すような第 4 図でみられた菌群は、この場合認められない。

*S. aureus* 209 P 株の JM 耐性獲得をスピラマイシン (SPM) 耐性の獲得と比較した (第 6 図)。

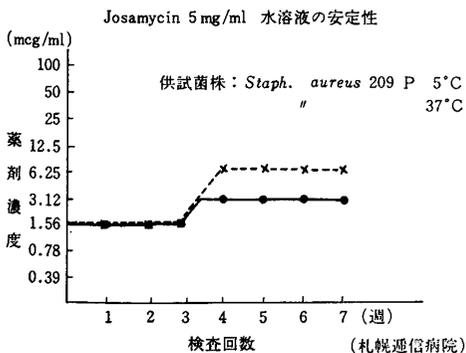
209 P 株は JM 耐性を SPM 耐性より獲得し難い。第 7 図はマウスの *S. aureus* 感染に対する JM の治療効果であるが、EM と同様な結果が得られた。また第 8 図から JM は水溶液の状態でもかなり安定であることがわかる。

第 7 図 マウスの *S. aureus* 感染に対する JM の治療



最後にマクロライド耐性の誘導について述べる。マクロライド群抗生物質耐性ブドウ球菌は第 9 図のように分類されている<sup>23)</sup>。A 群はすべてのマクロライドに耐性の菌群であり、これに属する菌は当然のことながら、第 4 図あるいは第 5 図にみられたように JM に対しても耐性である。B 群は EM と OM に高い耐性を示す菌群である。もつとも注目しなければならないのは C 群である。この群に属する菌群は低濃度の EM または OM に短時間触れることによって、EM, OM, LM, SPM さらには LCM にも 800 mcg/ml 以上という高い耐性を発現する。

第 8 図 JM の安定性について



第 9 図 ブドウ球菌におけるマクロライド群抗生物質耐性の分類

- A 群 {
  - 高度耐性 { LCM 耐性, LCM 感受性
  - (EM, OM, LM, SPM)
  - 中等度耐性 (EM, OM, LM, SPM, LCM)
- B 群: (EM, OM) 耐性
- C 群: EM または OM の誘導によつて耐性の発現 (EM, OM, LM, SPM, LCM)

EM で前処理したときの高い EM 耐性の獲得の例を示す。第 10 図は 0.1 mcg/ml の EM で前処理するときの時間をみたもので、40 分処理で 50 mcg/ml の EM

第 10 図 EM 誘導に及ぼす時間の影響

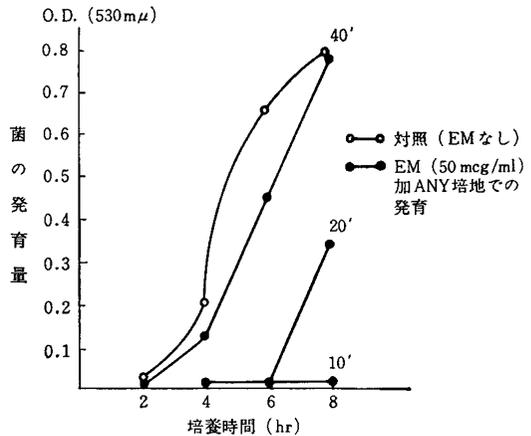
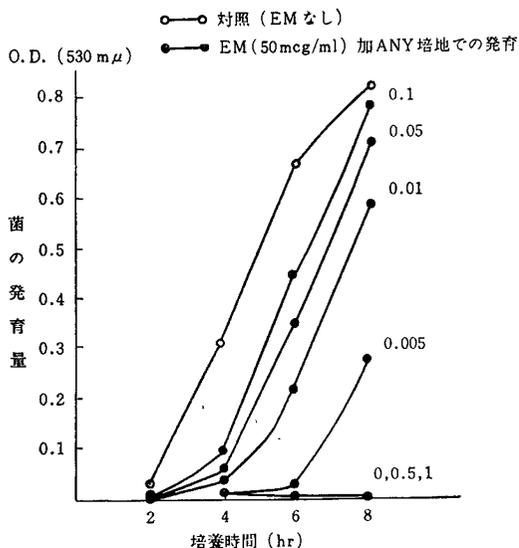


表 検 菌 : *S. aureus* MS 537  
誘 導 : EM 0.1 mcg/ml  
誘導効果 : EM (50 mcg/ml) 加 ANY 培地での発育を測定

を含む培地中で、EM を含まない対照とほぼ同様に増殖できるようになることを示している。50 mcg/ml の EM を含む液体培地中で増殖できる菌は、平板で耐性を測定してみると 800 mcg/ml 以上の MIC を示すことが確認されている。第 11 図は耐性誘導に及ぼす EM 濃度の影響である。前処理の時間は 30 分である。0.1 mcg/ml の EM 前処理が、耐性誘導にもつとも効果的である。0.01 および 0.05 mcg/ml の前処理でもかなり誘導することができる。0.005 mcg/ml では低濃度すぎ、0.5 および 1.0 mcg/ml では濃度が高過ぎて耐性の誘導はみられない。抗菌力を持つ物質が一方で耐性の誘導能を示すのであるから、高濃度処理では抗菌力の面が強く現われて

第11図 誘導に対する EM 濃度の影響

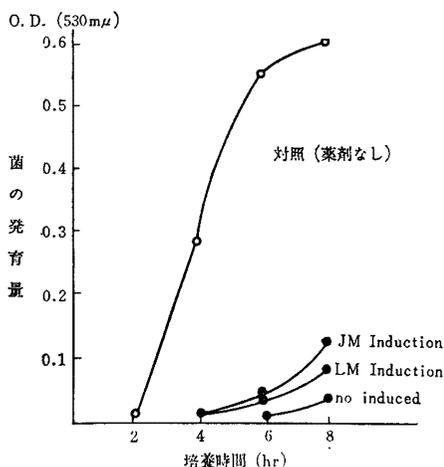


被検菌: *S. aureus* MS537  
 誘導: 表記の濃度で 30 分間処理  
 誘導効果: EM (50 mcg/ml) 加  
 ANY 培地での発育を測定

耐性の誘導はこの条件でおこなない。そのため誘導に対する至適濃度は極めて狭い巾に限定されることになる。

以上、マクロライド耐性の誘導について述べたが、最後に MS537 株から得られた変異株について、JM による耐性の誘導の結果を第 12 図に示す。この変異株 MS537-59 は LM によって耐性を誘導できる株として選択さ

第12図 JM による耐性の誘導



被検菌: MS 537-59 (LM, JM, Inducible)  
 Selection の濃度: JM 50 mcg/ml  
 Inducer の濃度: LM または JM 0.2 mcg/ml

れたものである。親株の MS 537 は前述したように、EM と OM によってのみ耐性を誘導できる。第 12 図

にみられるようにこの株は、誘導しないまま LM または JM 50 mcg/ml 加培地での増殖をみた場合 (no induced) に比較して、LM または JM 0.2 mcg/ml で前処理することによつて耐性は誘導される。LM で耐性誘導が可能な株として選択された変異株は、JM によつても耐性を誘導できるという結果から、耐性の誘導に関して JM は LM と異なるところはないと結論される。

### 考 察

JM は抗菌力においては、EM よりは弱いが OM や LM とほぼ同じである。耐性菌に対する効果をもて、これまでのすべてのマクロライド群抗生物質に耐性であるような A 群菌には JM も全然効果はない。しかし誘導耐性を示すような群菌においてのみ、JM の特徴を見ることができるのである。マクロライド耐性の誘導の機構をジャコブ・モノーの説に当てはめて考えると、一つの可能性として次のようなモデルを考えることができる。マクロライド耐性を支配する構造遺伝子 (mac) は調節遺伝子 (i) の生産物である Repressor の作用により、常にはその発現は抑制されている。そのような状態に Inducer (この場合は EM または OM) が与えられると、これが Repressor と結びつき、不活化する。そこでこれまで発現が抑制されていた mac 遺伝子が活性をもち、マクロライド耐性が発現してくる。一方、Inducer である EM または OM が mac 耐性の activator である可能性もある。現段階ではこれは仮説に過ぎないが、マクロライド耐性誘導の現象をかなりよく説明できそうである。この考え方に従うと、耐性の誘導がおこるか否かは、用いるマクロライド剤が Inducer となり得るか否かにかかっているといえる。このような面からこれ迄のマクロライド群抗生物質をみると、EM と OM は Inducer になり得るが、SPM と LM は Inducer になり得ない。そして JM も Inducer とはなり得ない薬剤である。これら Inducer とならない薬剤は、EM あるいは OM 耐性菌のうち、誘導耐性を示すような菌には抗菌力を有することになる。この点が大きい特徴である。

しかし最もマクロライド群抗生物質の生産および治療にたずさわる人々が注目しなければならない点は次の問題である。すなわち、EM または OM 以外のマクロライド群抗生物質は確かに C 群菌に有効である。しかしながら研究室において C 群菌を Inducer となり得ない LM, SPM, JM などの平板にまくと  $10^{-8}$  程度の変異率で A 群菌の出現することである。A 群菌は先に述べたように、すべてのマクロライド群抗生物質および LCM に耐性である。従つて新しく開発されるマクロライド群抗生物質は C 群菌に対して Inducer となり得ないことが重要な条件であるが、さらに使用に当つて C 群から A

群への変異を極力おさえる方法を講ずることが重要である。

### 結 論

病巣由来のブドウ球菌, その他のグラム陽性菌および陰性菌に対する JM の抗菌力を測定した。

1. これまでのマクロライド群抗生物質と同様グラム陰性菌には無効であつた。
2. これまでのマクロライド感受性菌には JM は有効である。
3. マクロライド群耐性菌の中の A 群菌には当然全く無効である。
4. マクロライド群耐性菌の中 EM, または OM によつて誘導される誘導型の耐性 (C 群) がある。JM は C 群に対し誘導剤となり得ない。従つて C 群菌に有効である。

5. C 群菌から A 群への変異について言及した。

### 引 用 文 献

- 1) OSONO, T.; Y. OKA, S, WATANABE, Y. NUMAZAKI, K. MORIYAMA, H. ISHIDA, K. SUZAKI, Y. OKAMI & H. UMEZAWA:  
A new antibiotic, josamycin. I. Isolation and physico-chemical characteristics. J. Antibiotics, Ser. A, 20: 174~180, 1967
- 2) KONO, M.; H. HASHIMOTO & S. MITSUHASHI:  
Drug resistance of *staphylococci* III. Resistance to some macrolide antibiotics and inducible system. Japan. J. Microbiol. 10: 59~66, 1966
- 3) KASUGA, T.; U. KAWAHARADA & S. MITSUHASHI:  
Classification of resistance to macrolide antibiotics in *staphylococci*. (in press)

## LABORATORY EVALUATION OF JOSAMYCIN

SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology, Gunma University School of Medicine

Laboratory investigations conducted in 29 nation-wide laboratories and institutions are summarized as follows.

The antibacterial activity of josamycin (JM) was studied on *staphylococci*, other Gram positive and negative organisms isolated from clinical materials, and it was observed:

- 1) JM was inactive against Gram negative bacteria as other usual macrolide antibiotics were;
- 2) JM was active against those strains which were sensitive to the usual macrolides;
- 3) JM was not active against A group strains among macrolide-resistant *staphylococci*, which were constitutively resistant to all the usual macrolides;
- 4) JM was active against C group strains of macrolide-resistant *staphylococci* which showed resistance to all the macrolides only after induction by EM or OM, as JM could not be an inducer in these strains.

Some mention was made on a mutation from C group *staphylococci* to A group.