

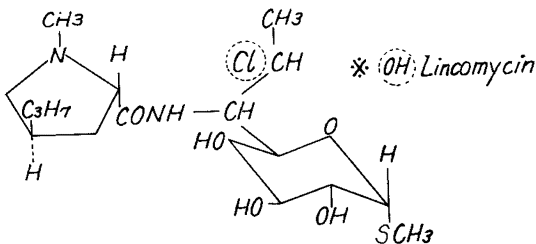
Clindamycin に関する細菌学的研究

中沢昭三 小野尚子・目片 勇・堯天昱枝・窪地純子

京都薬科大学微生物学教室

はじめに

Clindamycin (CLM) は 1963 年アメリカアップジョ
ン研究所において開発された Lincomycin (LCM) の 7
位の OH を Cl で置換した新しい Lincomycin 誘導体で
ある。



分子式 $C_{18}H_{33}O_5N_2ClSHCl \cdot H_2O$ 分子量 479.44
化学名

Methyl 7(S)-chloro-6, 7, 8-trideoxy-6-(trans-1-
methyl-4-propyl-L-2-pyrrolidine-carboxamido)-
1-thio-D-erythro- α -D-galacto-octopyranoside
hydrochloride

CLM の塩酸塩は白色結晶状の粉末で安定した水に溶
けやすい化合物である。

ビリジン、メタノールには溶け極性の低い有機溶媒に
は不溶である。可視光線、赤外線検査では結晶状態で
70°C 28 日間は安定である。また NMR 検定 D_2O 溶
液 25°C 最低 7 日間安定である。

今回、私どもの教室においては Lincomycin を対照と
してこの Clindamycin の細菌学的研究を実施し、次の
ごとき成績が得られたのでここに報告する。

I. 抗菌スペクトラム

研究室保存の諸種病原菌標準株に対する抗菌力を
Brain heart infusion agar を用いた日本化学療法学会感
受性測定法にしたがって実施した。なおレンサ球菌、肺
炎球菌、ジフテリア菌については 10% 血液を加え、また
淋菌、ズイ膜炎菌については GC 培地をまた医真菌群に
ついてはサブロー培地を使用した。いつぼう嫌気性菌群

である破傷風菌、ウェルチー菌、ボツリヌス菌については
チオグリコール酸塩培地を用い液体希釈法によつた。そ
の成績は表 1, 2 に示されるごとくで、対照の LCM と同
一の抗菌スペクトラムを有しており、おもにグラム陽性
菌および陰性の球菌に有効である。しかし CLM の特徴
はその抗菌力が LCM より一段と強力になつたことで、
例えば黄色ブドウ球菌群については LCM が 0.09~0.39
mcg/ml の MIC を示すのに対して CLM は 0.01~
0.02 mcg/ml とひじように増強されている。その他、レン
サ球菌、肺炎球菌、炭疽菌などについても LCM の MIC
の約 4~8 倍感受性が良くなつている。また LCM のあ
まり MIC の良好でないグラム陰性桿菌の一部について
も 2~4 倍感受性化の傾向が認められる。

II. 臨床分離病原ブドウ球菌に対する感受性分布

本邦各地の 11 大学附属病院において患者より分離さ
れた病原ブドウ球菌 64 株に対する感受性を日本化学療
法学会感受性測定法にしたがって実施したところ、表 3

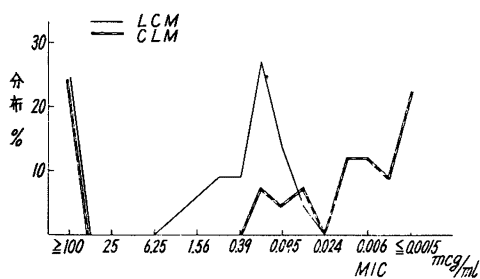
表 1 抗菌スペクトラム MIC (mcg/ml)

菌 種	LCM	CLM
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	0.39	0.02
<i>Staphy. aureus</i> E-46	0.09	0.02
<i>Staphy. aureus</i> Newman	0.19	0.02
<i>Staphy. aureus</i> Smith	0.09	0.01
<i>Staphy. albus</i>	12.5	0.39
<i>Staphy. citreus</i>	0.19	0.09
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	0.39	0.048
<i>Strept. viridans</i>	25	12.5
<i>Strept. faecalis</i>	25	12.5
<i>Sarcina lutea</i>	0.78	0.003
<i>Diplococcus pneumoniae</i> III	0.195	0.048
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	25	25
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	12.5	0.39
<i>Bacillus anthracis</i>	0.78	0.097
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6.25	6.25
<i>N. meningitidis</i>	25	6.25
<i>Proteus vulgaris</i>	12.5	3.12
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	≥ 100	25
<i>Serratia marcescens</i>	≥ 100	50

表2 抗菌スペクトラム MIC (mcg/ml)

菌種	LCM	CLM
<i>Aerobacter aerogenes</i>	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> 医科研	50	50
" " NIH	50	50
" " K-12	≧100	100
<i>Salmonella typhosa</i> T-287	50	12.5
" " O-901	50	25
" " H-901	≧100	≧100
<i>Salmonella enteritidis</i>	≧100	≧100
<i>Shigella dysenteriae</i>	25	12.5
" <i>flexneri-2a</i>	≧100	≧100
" <i>boydii</i>	50	12.5
" <i>sonnei</i>	≧100	≧100
" <i>sonnei</i> EW 33	≧100	≧100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12	>100	>100
" " 28	>100	>100
<i>Clostridium tetani</i>	0.195	0.024
" <i>welchii</i>	1.56	0.39
" <i>botulinum</i>	0.78	0.097
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12.5	12.5
<i>Candida albicans</i>	>100	>100
<i>Trichophyton rubrum</i>	>100	>100

図1 臨床分離ブドウ球菌に対する LCM, CLM の感受性分布



および図1に示されるごとき成績が得られた。すなわち、CLMの感受性は上記標準株の場合と同様にLCMに比し著しい抗菌力の増強が認められた。しかしながら、LCMの高度耐性株100 mcg/mlあるいは>100 mcg/mlについてはCLMに対してもやはり100 mcg/ml〜>

図2 Cross resistance

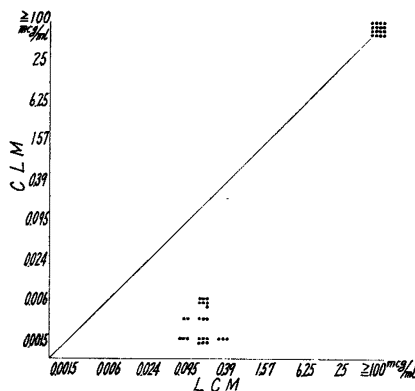
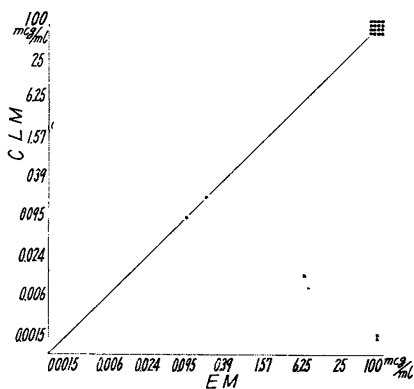


図3 Cross resistance



100 mcg/ml で完全な交叉耐性が認められた。

III. 交叉耐性

前述の臨床分離病原ブドウ球菌65株についてCLMとLCM間、またCLMとEMあるいはCLMとLM、LCMとOL、CLMとSPMなどのようにマクロライド群抗生物質とCLMの間の交叉耐性を検討した結果、図2~6に示されるごとくである。すなわちLCMとCLM間についてはLCMの高度耐性菌≧100 mcg/mlに対するCLMの感受性は全く同様≧100 mcg/mlで完全な交叉耐性が見られるがLCMの感受性菌に対しては先に述べたごとくCLMの感受性はさらに強力に

表3 臨床分離ブドウ球菌に対する LCM, CLM の感受性分布

MIC mcg/ml	≧100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.095	0.048	0.024	0.012	0.006	0.003	0.0015	≦	総数
LCM	16					2	4	6	6	18	9	3							64
CLM	16									5	3	5		8	8	6	13		64

図4 Cross resistance

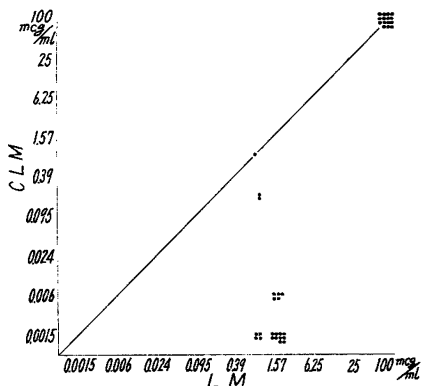


図6 Cross resistance

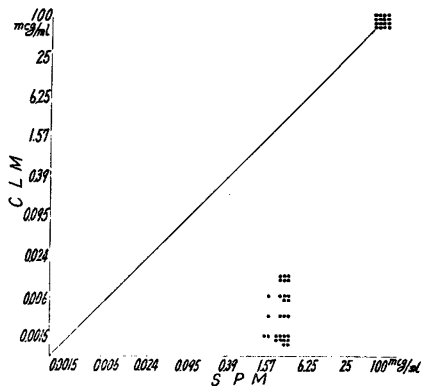
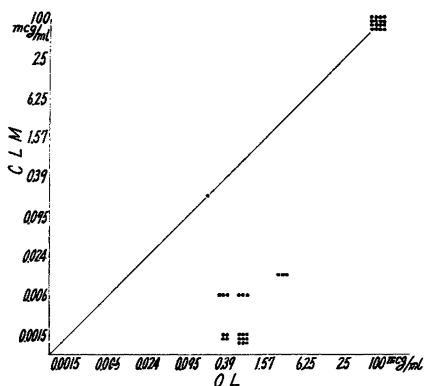


図5 Cross resistance



4~8 倍強い感受性化が見られる。次に EM と CLM 間については, EM 100 mcg/ml 耐性菌に対しては CLM も同様 100 mcg/ml の交叉耐性を示すグループと EM に 100 mcg/ml であつても CLM に 0.0015~0.024 mcg/ml と全く感受性を示すグループが見られる。LM と

CLM については LM 高度耐性菌は CLM と完全に交叉している。次に OL 高度耐性菌についてはほとんど CLM に高度耐性で交叉しているが一部 EM と同様 OL 高度耐性であつても CLM により感受性を示すものも見られた。SPM については LM の場合とほとんど同様である。

IV. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

LCM と CLM の試験管内抗菌力に及ぼす培地 pH, 血清蛋白, 接種菌量, 溶液の安定性などの影響を肉汁ブイヨンを用いた液体稀釈法において検討した。試験菌株として *Staphylococcus aureus* 209-P を用い 37°C 24 時間培養により判定した。

(a) pH の影響

その成績は表4 (その 1~2) に示されるごとくである。すなわち LCM および CLM いずれも同一傾向が見られた。すなわちアルカリ側で抗菌力の増強が認められる。

表4 (その 1) LCM の抗菌力に及ぼす諸因子 (pH 血清) の影響

(*Staph. aureus* 209-P 37°C 18~20 時間培養)

mcg/ml		12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.19	0.09	0.048	0.024	cont.
pH	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	6	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	7	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
血清	0%	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	50	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

表4(その2) CLMの抗菌力に及ぼす諸因子(pH 血清)の影響
(*Staph. aureus* 209-P 37°C 18~20 時間培養)

mcg/ml		0.78	0.39	0.19	0.09	0.048	0.024	0.012	0.006	0.003	0.0015	cont.
pH	5	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	7	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	8	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	9	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
血清	0%	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	10	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	25	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	50	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+

表5(その1) LCMの抗菌力に及ぼす諸因子(菌量)の影響
(*Staph. aureus* 209-P 37°C 20 時間培養)

mcg/ml		12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.095	0.048	0.024	cont.
菌量	4.1×10^9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^8$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^7$	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^6$	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	$\times 10^5$	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	$\times 10^4$	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+

表5(その2) CLMの抗菌力に及ぼす諸因子(菌量)の影響
(*Staph. aureus* 209-P 37°C 20 時間培養)

mcg/ml		0.78	0.39	0.19	0.095	0.048	0.024	0.012	0.006	0.003	0.0015	cont.
菌量	4.1×10^9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^8$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^7$	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^6$	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^5$	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	$\times 10^4$	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+

(b) 血清蛋白の影響

その成績は同じく表4(その1~2)に示されるごとくである。すなわちLCMについては血清添加による抗菌力の変動はほとんど認められないが、CLMの場合には10%血清添加により1/2、25~50%添加により1/4の抗菌力の減弱が認められた。

(c) 接種菌量の影響

接種菌量を $4 \times 10^4 \sim 10^9$ に変動させることにより感受性がどのように影響されるかを検討した結果、表5(その1~2)に示されるごとく成績が得られた。すなわちLCMの場合 $4 \times 10^4 \sim 10^6$ の間では全く同一の0.39 mcg/mlの

MICを示し 4×10^7 では0.78 mcg/mlと1/2に減弱し 4×10^8 では12.5 mcg/ml以上となつた。これに対しCLMでは 4×10^4 で0.024 mcg/ml、 $4 \times 10^5 \sim 10^6$ では0.048 mcg/mlと1/2に減弱、 4×10^7 では0.095 mcg/mlとさらに1/4減弱し、 4×10^8 では0.78 mcg/ml以上となつた。LCMとほぼ同様な傾向が認められた。

(d) 溶液の安定性

1,000 mcg/mlのCLM溶液を5、37°C、常温、常温遮光の4条件に保存し30日間その感受性の減少状態を観察したが全く抗菌力は変動せず力価の低下は認められなかつた。

図7 LCM の耐性獲得状態

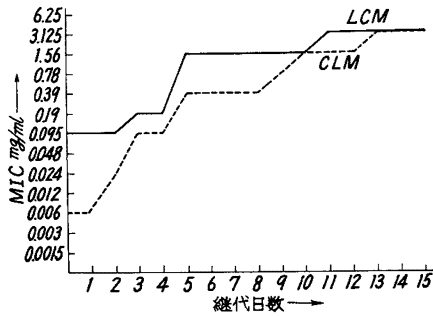
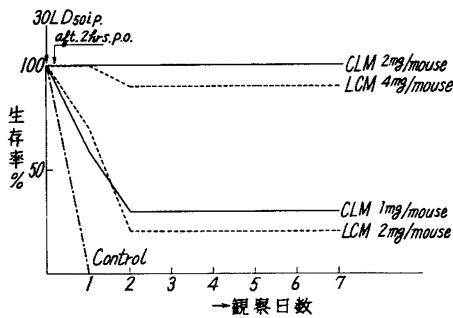


図8 マウス実験的ブドウ球菌感染症に対する治療効果
Staphylococcus aureus E-46



V. 耐性獲得状態

肉汁ブイヨンを用いた常法の増量的継代法により37℃ 24時間を1世代として15世代の *Staphylococcus aureus* (患者分離株)の試験管内耐性獲得状態を調べた。その成績は図7の示すごとくである。すなわち CLM の耐性獲得は LCM と同様段階的である。

VI. マウス実験的感染症に対する治療効果について

(a) ブドウ球菌感染症に対する効果

1群 10匹 (体重 17 ± 1 g) の dd 系マウスに対し *Staphylococcus aureus* E-46 (東大岩田教授分与株) の 30 LD₅₀ を腹腔内に接種し 2 時間後に LCM, CLM を 2~4 mg/mouse 1 回経口投与し 7 日間その延命効果を観察した。その成績は図8に示されるごとくである。すなわち CLM の効果は、LCM の約 2 倍程度の抗菌力の増強が認められた。

(b) 溶血レンサ球菌に対する効果

上記同様 100 LD₅₀ の *Streptococcus hemolyticus* S-23 株をマウス腹腔内に攻撃し 2 時間後に LCM, CLM を 2.5~5 mg/mouse 1 回経口投与し 7 日間観察した。その成績は図9に示されているごとくである。すなわち 2.5

図9 マウス実験的溶血連鎖球菌感染症に対する治療効果
Streptococcus hemolyticus S-32

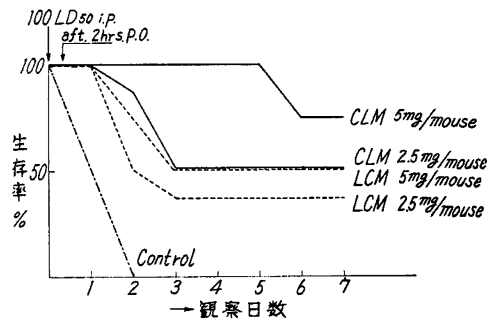


図10(その1) LCM のマウス実験的肺炎双球菌感染症に対する治療効果

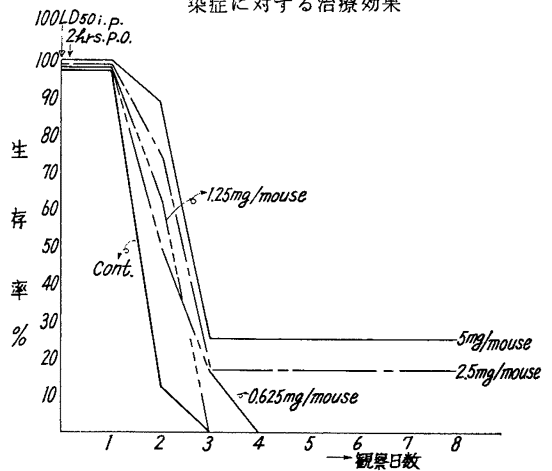
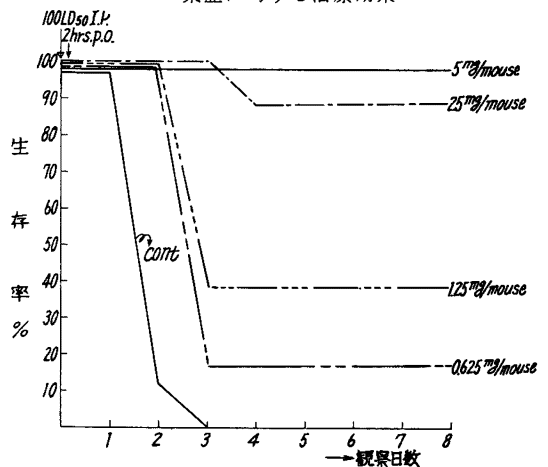


図10(その2) CLM のマウス実験的肺炎双球菌感染症に対する治療効果



mg/mouse 投与分については LCM の 1.5 倍, 5 mg/mouse については 1.4 倍の治療効果が得られた。

(c) 肺炎双球菌感染症に対する効果

同様に 100 LD₅₀ *Diplococcus pneumoniae*-III 株をマウ

ス腹腔内に攻撃し2時間後に LCM, CLM を 0.625~5 mg/mouse 1 回経口投与し 8 日間その延命効果を観察した。その成績は図 10 に示されているごとくである。すなわち 2.5 mg/mouse 投与分については LCM の 1.7 倍, 5 mg/mouse については 2.5 倍の治療効果が得られた。このように肺炎菌感染症の治療実験の結果は CLM が LCM に比し特に著明な効果を示した。

ま と め

新しい Lincomycin の誘導体である Clindamycin について細菌学的研究を行なった結果、Clindamycin は Lincomycin と同様の抗菌スペクトラムを示すがその試験管内抗菌力は Lincomycin よりも 4~8 倍強力となっており臨床分離のブドウ球菌についても同様である。しかしながら Lincomycin 耐性菌に対してはやはり完全な交叉耐性が認められた。また他のマクロライド系抗生物質耐性菌に対しては多くの場合交叉耐性が認められるが特に Erythromycin 耐性菌に対しては交叉を示す場合と示さ

ない場合が認められた。またその抗菌力に及ぼす pH, 接種菌量, 溶液の安定性については Lincomycin と同一傾向を示すが血清蛋白の影響については Lincomycin にくらべやや影響を受けやすい。また試験管内の耐性獲得状態は LCM と同様階段的である。生体内の抗菌力については試験管内と同様 LCM とくらべ著しく効果の増強がマウス実験的ブドウ球菌, 溶血レンサ球菌, 肺炎球菌感染症の治療実験に認められた。

参 考 文 献

- 1) 中沢昭三, 本間達子, 横田芳武, 南 亜夫, 堀川 浩子: 新抗生物質 Lincomycin に関する細菌学的研究. J. Antibiotics, Ser. B 18 (2): 56~60, 1965
- 2) MAGERLEIN, B.J., BIRKENMEYER R.D., & FRED. KAGAN: Chemical modification of lincomycin. Antimicrob. Agents & Chemoth. 1966: 727~736, 1967
- 3) Clinimycin Medical Brochure. June 1967, The Upjohn Company

BACTERIOLOGICAL STUDY ON CLINDAMYCIN

SHOZO NAKAZAWA, HISAKO ONO, ISAMU MEKATA, IKUE GYOTEN & JUNKO KUBOCHI

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

Bacteriological study on clindamycin, a new derivative of lincomycin, was performed. Clindamycin showed an antibacterial spectrum approximate to that of lincomycin, but the *in vitro* antibacterial activity is 2 to 4 times more potent. This was also applicable to the strains of clinically isolated *Staphylococcus aureus* tested. Nevertheless, a complete bacterial cross-resistance was observed between clindamycin and lincomycin. Clindamycin was also cross-resistant with the majority of the macrolides, though not with erythromycin in some cases.

Clindamycin demonstrated a same tendency as lincomycin regarding the stability of its aqueous solution and in the tests of the effect of pH and microbic inoculum size on its bacteriostatic activity. Only it bound slightly more easily to serum protein than lincomycin. The *in vitro* development of bacterial resistance to clindamycin was gradual as was the case with lincomycin.

As compared with lincomycin, clindamycin proved to be far more antibacterial *in vivo*, as was *in vitro*, in the treatment of mice experimentally infected with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus hemolyticus*: or *Diplococcus pneumoniae*.