

Aminodeoxykanamycin (2'-Amino-2'-deoxy-kanamycin) の細菌学的研究

五島 嗟智子・桑原 章 吾

東邦大学医学部微生物学教室

安部 政弘 川崎 豊明

明治製菓株式会社川崎工場薬品開発部

野宮 文三

明治製菓株式会社中央研究所

カナマイシン同族体の1つとして単離された2'-アミノ-2'-デオキシ-カナマイシン(アミノデオキシカナマイシン)は、その生成量がきわめて少ないために性状や応用面についての詳細な研究はほとんど行なわれず今日に至っていた。

ところがカナマイシンの培養変換に関する一連の研究過程において、本物質の大量生産方法が確立され、あらためて抗菌活性、薬理作用ならびに毒性、さらに臨床効果を検討する機会ができた。

この報告はその *in vitro* および *in vivo* の抗菌活性に関する実験成果のあらましをまとめてある。

実験材料および実験方法

1. 試料

アミノデオキシカナマイシン*(以下 AKM と略す)は特に記載したもの以外は、すべて遊離塩基純品 1,000 mcg^B/mg** を用い、単位力価をもつて表示した。その他、下記の薬剤を対照として使用した。

カナマイシン (KM)	800 mcg ^B /mg
ユリスロマイシン (EM)	980 mcg ^B /mg
クロラムフェニコール (CP)	997 mcg ^B /mg
テトラサイクリン (TC)	1,000 mcg ^B /mg
ストレプトマイシン (SM)	780 mcg ^B /mg
フラジオマイシン (FR)	670 mcg ^B /mg
ペニシリン G (PC-G)	1,600 u/mg

2. 使用培地

特に記載したもの以外は、一般細菌には Heart Infusion Broth (Difco), 真菌には 2% glucose 加 Sabouraud Broth, 脛トリコモナスには 15% コウシ血清加浅見培地を用いた。

実験条件の詳細は該当する表の脚註に付記してある。

新鮮分離株の感受性分布の調査にはカンテン培地を用い、日本化学療法学会規定の標準法にしたがつた。

* アミノデオキシカナマイシンの明治製菓株式会社の商標はカネンドマイシンである。

** mcg^B/mg は mcg(力値)/mg を示す。

3. 使用菌種

抗菌スペクトルの検討には、細菌群 35 種 39 株, 真菌群 23 種 31 株, 脛トリコモナス 3 株を用いた。

また感受性分布の検討については、新鮮病巣分離株として黄色ブドウ球菌 100 株, 大腸菌およびシゲラ各 50 株, サルモネラ 9 株を用いた。

4. *in vitro* 試験の実験方法

a. 抗菌スペクトラム

上記の液体培地の 2 倍系列希釈法により最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。また対照薬剤として近縁抗生物質の KM をえらび、同一条件で MIC を測定して両者を対比した。

b. 殺菌性

試験菌に対する AKM の MIC を測定した後、2 倍段階系列試験管の最小菌発育濃度試験管から高濃度側へ 5 段階の試験管を 100 倍希釈し、それぞれカンテン培地に移植して 37°, 48 時間培養後、菌発育の有無を判定し、最小殺菌濃度 (MBC) と MIC の比を算出した。

c. 抗菌活性におよぼす諸因子の影響

AKM の抗菌活性におよぼす諸因子の影響を、黄色ブドウ球菌 209P と大腸菌 IAM 1253 に対する MIC を指標として KM と比較した。

(1) pH による影響

pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 の 4 段階に調整した Heart Infusion Broth (Difco) を用い、2 倍段階系列希釈法にしたがつて MIC を測定した。接種菌量は *St. aureus* 209P 1.8×10^4 /ml, *E. coli* IAM 1253 3.9×10^4 /ml, 37°, 24 時間後および 48 時間後に判定した。

(2) 血清添加による影響

血清はヒト血清 (A 型) を用い、5% から 50% まで 4 段階の濃度になるように Heart Infusion Broth (Difco) に添加し、培地は pH 7.2 に調整した。菌量は *St. aureus* 209P は 2.1×10^4 /ml, *E. coli* IAM 1253 は 3.6×10^4 /ml を接種し、37°, 24 時間後に MIC を判定した。

(3) 塩化ナトリウム添加による影響

Heart Infusion Broth (Difco) に塩化ナトリウム 0.01, 0.1, 1.0 モルをそれぞれ添加し、pH を 7.2 に調整した。Heart Infusion Broth (Difco) には塩化ナトリウムが 0.5% (0.085 モル) 含有されているため、実際には各段階では 0.095 モル (0.6%), 0.185 モル (1.1%), 1.085 モル (6.3%) がそれぞれ含有されていることになる。

接種菌量は *St. aureus* 209P は 1.8×10^4 /ml, *E. coli* IAM 1253 は 3.6×10^4 /ml を用い、37°, 24 時間培養後の各 MIC を測定した。

(4) 培地種による影響

Heart Infusion Broth (Difco), Brain Heart Infusion Broth (Difco), Nutrient Broth (Difco) の 3 種の液体培地によるブドウ球菌および大腸菌の MIC の変動を調べた。

接種菌量は *St. aureus* 209P 2.1×10^4 /ml, *E. coli* IAM 1253 3.6×10^4 /ml, MIC の測定は 37°, 24 時間培養後に行なった。

(5) 接種菌量による影響

St. aureus 209P および *E. coli* IAM 1253 を用い、培地 1 ml 当り $10^6 \sim 10^1$ 個の各段階の菌量を接種し、37°, 24 時間培養後、各 MIC を測定した。

d. 耐性獲得

試験菌は *St. aureus* 209P と *E. coli* IAM 1253 をえらび、培地は Heart Infusion Broth (Difco) を用いた。18 時間前培養した菌液を 10,000 倍希釈し、薬剤 2 倍段階希釈系列に接種、37°, 72 時間静置培養後、最大発育濃度の培養を継代し、ブドウ球菌では 24 代まで、大腸菌では 21 代まで耐性上昇を測定し、同様にし行なった PC-G, SM, FR および KM のそれと比較した。

e. 交差耐性

各種抗生物質に対し実験的に耐性を獲得せしめたブドウ球菌と、大腸菌およびブドウ球菌の自然耐性株を用い、AKM とこれら抗生物質との間の交差耐性の有無を検討した。

培地は Heart Infusion Broth (Difco) を用い 2 倍段階系列希釈法により、*St. aureus* 209P は 2.0×10^4 /ml, *E. coli* IAM 1253 は 3.5×10^4 /ml を接種、37°, 24 時間後の MIC を測定比較した。

5. マウスにおける感染防御試験

被検動物として日本クレア K.K. より購入した生後 4 週令、体重 20 g 前後の ICR-JCL 系雄マウスを毎投薬用量ずつ 1 群 10 匹または 5 匹として用い、室温 $22 \pm 1^\circ$, 相対湿度約 60% に調節された動物舎内で日本クレア K.K. 製固型飼料 CA-1 と水を自由に与えて実験を行な

つた。

AKM および対照薬剤とした KM は、いずれも滅菌蒸留水に溶かし、磷酸塩緩衝液を用いて pH を 7.0 に調整した所要濃度溶液を菌接種 1, 4 および 7 時間後の計 3 回被検動物の大腿筋肉内に注射した。なお、投薬用量は 3 回に注射した全量をもつて表わした。

本実験に用いた試験菌は

A 菌: *Staphylococcus aureus* 209P

B 菌: *Staphylococcus aureus* No. 26 (PC, SM, TC, EM 耐性)

C 菌: *Diplococcus pneumoniae* Type 3 IID

D 菌: *Klebsiella pneumoniae* 602

E 菌: *Proteus vulgaris* OX 19

で、用いた培地は Brain Heart Infusion Broth (Difco) と Brain Heart Infusion Agar (Difco) (ただし、C 菌ではウマ血液 2% を添加) である。

これら菌株を上記培地を用い、37°, 18~20 時間培養し、これを原液として 10 倍倍数希釈したものを 0.2 ml ずつ被検動物の腹腔内に注射して LD₅₀ 値を求めた結果、A 菌は 14×10^8 /ml, B 菌は 77×10^9 /ml, C 菌は 43×10^4 /ml, D 菌は 13×10^6 /ml および E 菌では 14×10^9 /ml であつた。これらの成績にもとずき A 菌, C 菌および D 菌ではその LD₅₀ 値の 100 倍の菌量を、B 菌および E 菌では 10 倍の菌量を 0.2 ml の液量で各被検動物の腹腔内に注射し実験的に感染せしめた。ただし、A 菌, B 菌および E 菌の場合には、さらに 10% の gastric mucin-Bacteriological (NBC) 0.2 ml を同時に注射した。

菌接種と投薬の処置を受けた被検動物は処置後 6 日間の生死の確認、体重測定および一般症状の観察を行ない、実験終了後ただちに屠殺し、肝臓、脾臓および腎臓の切片を塗抹培養し、生菌の確認を行なった。

実験成績

1. 抗菌スペクトラム

AKM の抗菌スペクトルのあらまきは KM とまったく差がない。すなわち、レンサ球菌、乳酸菌、クロストリジウム属などの弱嫌気菌および嫌気菌を除き、抗酸性菌を含むグラム陽性および陰性の各菌群に強い抗菌活性を示し (表 1), *Aspergillus*, *Microsporum*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichophyton*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Cryptococcus* などの真菌および *Trichomonas* には無効であつた。

有効菌株に対する抗菌活性については、AKM 結核菌を除くすべての試験株で KM と同程度以上の強い活性を示し、多数の菌株で 1/2~1/16 の MIC 値を示した。抗酸性菌だけは KM と同等ないし 4 倍の MIC を示し

表1 各種細菌に対する最小発育阻止濃度
(単位: mcg^B/ml)

Organisms	接種菌量 (/ml)	AKM	KM
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	6.4×10 ⁴	0.62	1.25
" " TERASHIMA	3.5×10 ³	0.039	0.156
<i>albus</i> PCI 1200A	6.5×10 ³	0.078	0.31
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC8043	1.9×10 ⁵	31.2	62.5
" <i>haemolyticus</i> D-90	2.2×10 ⁵	31.2	62.5
" <i>salivarius</i> 9758 IID	1.4×10 ⁵	15.6	31.2
<i>Sarcina lutea</i> PCI 1001	3.5×10 ⁴	0.039	0.62
<i>Diplococcus pneumoniae</i> Type 3 IID	2.5×10 ⁴	0.31	5.0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	4.5×10 ⁵	0.078	0.31
" " PCI 219	1.0×10 ³	0.039	0.156
" <i>agri</i>	6.5×10 ³	0.078	0.31
" <i>ceruus</i> IAM 1110	6.5×10 ³	1.25	5.0
" <i>mycoides</i>	9.5×10 ³	1.56	6.25
<i>Lactobacillus arabinosus</i> ATCC 8014 ^{a)}	4.5×10 ¹	500	>500
" <i>casei</i> ATCC 7469 ^{a)}	1.0×10 ⁴	250	500
" <i>fermenti</i> ATCC 9338 ^{a)}	1.0×10 ⁴	250	500
<i>Escherichia coli</i> IAM 1253	5.8×10 ⁴	1.25	2.5
<i>Aerobacter aerogenes</i> IAM 1102	6.5×10 ⁴	0.156	0.62
<i>Alcaligenes faecalis</i> IAM 1015	1.4×10 ⁴	0.039	0.039
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 602	5.5×10 ⁴	0.156	0.62
<i>Hemophilus influenzae</i> IBATA ^{b)}	1.3×10 ³	1.56	12.5
<i>Bordetella pertussis</i> TOHMA ^{b)}	1.2×10 ³	6.25	12.5
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> MEGURITA	2.2×10 ³	1.56	3.13
" <i>meningitidis</i> 13102	1.2×10 ³	1.56	0.8
<i>Proteus vulgaris</i>	5.8×10 ⁴	7.8	15.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1007	2.3×10 ⁴	15.6	31.2
<i>Salmonella paratyphi</i> A	2.8×10 ⁴	0.31	0.62
" " B	4.1×10 ⁴	1.25	2.5
" " C	5.5×10 ⁴	1.25	1.25
<i>Shigella flexneri</i> EW:10 2a	1.8×10 ⁴	0.039	0.078
<i>Clostridium tetani</i> RIKU-3 ^{c)}	7.5×10 ³	15.6	62.5
" <i>perfringens</i> ^{c)}	6.0×10 ³	62.5	250
" <i>novyi</i> ^{c)}	3.0×10 ³	250	500
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37R ^{d)}	1.4×10 ⁴	25.0	3.12
" <i>phlei</i> No. 56 ^{e)}	1.0×10 ⁵	0.62	0.156
" " MS ^{e)}	2.0×10 ⁵	0.62	0.62
" " SEKIGUCHI ^{e)}	4.5×10 ⁵	0.31	0.31
" 607 ^{e)}	4.6×10 ⁴	0.31	0.156

方法: 液体培地 2 倍系列希釈法。特に明記しないものは Heart Infusion Broth (Difco) 使用, 37°, 24 時間後判定。

a) Tomato juice Broth 使用, 37°, 48 時間後判定

- b) 5% 血清加 Heart Infusion Broth 使用, 37°, 24 時間後判定
 c) チオグリコール酸培地使用, 24 時間後判定
 d) 10% コウシ血清加 Kirchner Broth (0.1% Agar) 使用, 4 週間後判定
 e) Glycerine Bouillon 使用, 37°, 5 日後判定

た。

2. 新鮮病巣分離株の AKM 感受性分布

病巣から分離された *Staphylococcus aureus* 100 株の各種抗生物質に対する感受性分布は表 2 に示すとおりである。また、この成績をグラフ化すれば図 1 のとおりである。

表 2 病巣分離 *Staphylococcus aureus* の感受性分布

MIC (mcg ^B /ml)	PC	TC	GM	SM	KM	AKM
400<	/	/	/	38	/	/
400	/	/	/	8	/	/
200	/	/	/	4	/	/
100<	49	20	1		6	6
100	9	4	6	3		
50	9	4	5	7	3	
25	3	4	2	4		
12.5	1	1	1	18	1	1
6.25	3	1		17	62	
3.12	3	1	24	1	19	
1.56	6	2	40		8	1
0.78	4	25	15		1	66
0.39	8	13	6			22
<0.19	5	25				4

菌 種: *Staphylococcus aureus* 100 株 (病巣分離)

培 地: カンテン培地 pH 7.2

接種菌量: プイオンに 1 夜培養の菌液 1 白金耳量

方 法: 上記菌液を薬剤含有培地 (寒天平板) 上に画線培養し 37°C, 24 時間で判定

図 1 黄色ブドウ球菌新鮮分離株の主要抗菌剤に対する感受性分布

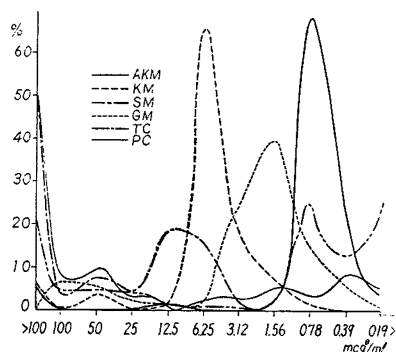


表3 病原分離 *E. coli* の主要抗菌剤に対する感受性分布

MIC (mcg ^B /ml)	AKM	KM	SM	TC	CP
100<			8	8	8
100				1	
50		2		1	
25		22	3	3	5
12.5	12	21	18	3	16
6.25	25	4	21	4	14
3.12	10	1		14	4
1.56	3			11	3
0.78				5	
0.39					
<0.19					

実験方法：表2と同じ

表4 患者分離 *Shigella* の主要抗菌剤に対する感受性分布

MIC (mcg ^B /ml)	AKM	KM	SM	TC	CP
100<			8	10	6
100				1	2
50			1		1
25			5	1	
12.5		43	22		
6.25	31	5	14	1	8
3.12	11	1			9
1.56	5	1		13	7
0.78	2			21	17
0.39				3	
<0.19					

実験方法：表2と同じ

AKM の感受性のピークは 0.78 mcg^B/ml にあり、100 株中 93 株は 0.19 以下～1.56 mcg^B/ml の感受性範囲に入る。残り 1 株は 12.5 mcg^B/ml、8 株は 100 mcg^B/ml 以上の強い耐性を認めた。これに対し、KM のピークは 6.25 mcg^B/ml にあり、約 3 希釈段階程度の感受性差を認めるが、その分布パターンはきわめて類似しており、AKM と KM 間の密接な交差耐性の存在を示している。

表3～5には *E. coli*、*Shigella* および *Salmonella* の AKM、KM を含む各薬剤に対する感受性分布を表示した。いずれのグループにも SM 高度耐性菌が含まれているが、これらの菌株に対しても KM、AKM は強い抗菌力を示した。すべての菌株で AKM は KM と同等以上

表5 *Salmonella* の主要抗菌剤に対する感受性

MIC (mcg ^B /ml)	AKM	KM	SM	TC	CP
100<			3		
100			2		
50					
25			1		
12.5		2	3		
6.25	1	3			6
3.12	1	4			2
1.56	6			7	1
0.78	1			2	
0.39					
<0.19					

菌種：*Salmonella typhi* 5 株、*S. pullorum* 3 株、*S. enteritidis* 1 株を含む

実験方法：表2と同じ

の抗菌力を示したが、両者の差はグラム陽性菌の場合ほど明りようではない。

3. AKM と他の抗生物質との交差耐性

AKM と、これに近縁の KM、SM との交差耐性を人工耐性株および自然耐性株についてしらべてみた。表6に示すとおり、前項の患者分離多剤耐性ブドウ球菌 (SM 耐性) 50 株中 44 株は KM、AKM 感性であり、SM、KM に強耐性の 6 株だけが AKM にも強い耐性を示した。なお、別に人工耐性株を用いての試験から、PC-G、CP、TC、EM と AKM の間に交差耐性は認められなかったが、FR との間には密接な耐性の交差が認められた (表7)。

4. AKM の殺菌性

表8に示すとおり、AKM の殺菌活性はかつてわれわれが報告した KM の活性よりも 1～3 希釈段階強く、その活性比 (最小殺菌濃度/最小発育阻止濃度) は *D. pneumoniae* における 8、*St. albus* ならびに *Mycobacterium* No. 56 の4を除けば、すべて 1～2 であり、MIC の付近の濃度で殺菌的に作用することが明らかにされた。

5. AKM の抗菌活性におよぼす諸因子の影響

(1) 培地の pH による影響

実験の成績は表9に示すとおりで、pH 7 および 8 ではほとんど MIC に影響を与えないが、酸性側に傾くにつれ、抗菌活性の低下傾向を認めた。

(2) 血清添加による影響

成績は表10に示すとおりである。

St. aureus 209P では、血清 25% 添加までは1段階程度の影響にすぎないが、50% 添加で3段階の低下を認めた。また、*E. coli* では血清添加の影響は明りようには

表6 KM, SM 耐性 *Staphylococcus aureus* の AKM に対する感受性

No.	AKM	KM	SM	No.	AKM	KM	SM
1	100<	100<	400	26	0.78	3.12	400<
2	100<	100<	400	27	0.78	3.12	400<
3	100<	100<	400	28	0.78	3.12	400<
4	100<	100<	400	29	0.78	3.12	400<
5	100<	100<	400	30	0.78	3.12	400<
6	100<	100<	200	31	0.78	6.25	400<
7	0.78	6.25	400<	32	0.78	1.56	400<
8	0.78	6.25	400<	33	<0.19	1.56	400
9	0.78	6.25	400<	34	0.39	3.12	400<
10	0.78	1.56	400<	35	0.78	6.25	400<
11	0.78	6.25	400<	36	0.39	6.25	400<
12	0.78	6.25	400<	37	0.78	6.25	400<
13	0.78	6.25	400	38	<0.19	3.12	400<
14	0.78	1.56	400<	39	1.56	12.5	400<
15	0.78	3.12	400<	40	0.78	6.25	400
16	0.78	6.25	400<	41	0.78	6.25	400<
17	0.78	6.25	400<	42	0.78	6.25	400<
18	0.78	3.12	400<	43	0.39	6.25	400<
19	0.78	6.25	400<	44	0.78	6.25	400<
20	0.78	6.25	400<	45	0.78	6.25	400<
21	0.78	6.25	400<	46	0.78	6.25	400<
22	0.78	6.25	400<	47	0.78	3.12	400<
23	0.78	1.56	400<	48	0.78	6.25	200
24	0.78	3.12	400<	49	0.78	3.12	200
25	0.78	6.25	400<	50	0.78	6.25	200

菌種: *Staphylococcus aureus* 50 株 (病果分離)

培地: カンテン培地 (pH 7.2)

接種菌量: ブイヨンに1夜培養の菌液1白金耳量

方法: 上記菌液を薬剤含有培地(カンテン平板)上に画線培養し, 37° 24 時間後判定

認められなかつた。

(3) 塩化ナトリウム添加による影響

成績は表 11 に要約したとおりで, ブドウ球菌においては 0.095 モル (0.6%) の塩化ナトリウムの存在では無影響であるが, 0.185 モル (1.1%) 以上で抗菌力の低下が認められた。これに対し, 対照とした KM では, 0.095 モル (0.6%) の塩化ナトリウムの存在で 2 段階程度の低下が認められている。

大腸菌では AKM, KM いずれも 0.095 モルの存在で影響されず, 0.185 モルにおいて 1 段階程度の MIC の低下を認め, ブドウ球菌にくらべて塩化ナトリウム添加の影響は少ないように思われた。

(4) 培地種による影響

成績は表 12 に示すとおりで, ブドウ球菌では Heart

表7 抗生物質人工耐性株に対する AKM の抗菌活性

Organisms	最小発育阻止濃度 (mcg ² /ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> 有富 (PC, SM, TC, CP 耐性患者分離株)	1.25
<i>Staphylococcus aureus</i> 馬場 (")	0.31—2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 長田 (")	0.31—2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 久家 (")	0.62—1.25
<i>Staphylococcus aureus</i> 玉川 (")	1.25—2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P (SM 試験管内耐性菌)	2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P (EM ")	0.31—1.25
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P (KM ")	62.5—125
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 (KM ")	62.5—250
<i>Escherichia coli</i> K-12 CS-2	0.31—0.62
<i>Escherichia coli</i> K-12 CS-2 R-5 (KM 試験管内耐性菌)	1.56—5
<i>Escherichia coli</i> K-12 ML-1629 (")	500
<i>Escherichia coli</i> K-12 ML-1630 (")	500
<i>Shigella sonnei</i> 191-66 (")	500

試験方法: Heart Infusion Broth (Difco) 使用, 2 倍系列稀釈法により, 37°C 24 時間後判定

Infusion Broth (Difco) および Nutrient Broth (Difco) はほぼ同様の MIC を示すに対し, Brain Heart Infusion Broth (Difco) では 3 希釈段階程度の MIC 上昇を認めた。また, 大腸菌では Brain Heart Infusion Broth, Heart Infusion Broth, Nutrient Broth の順におおの 2 希釈段階程度の MIC の低下を認めた。

(5) 接種菌量による影響

成績の要約は表 13 に示してある。ブドウ球菌, 大腸菌のいずれにおいても $\times 10^5$ /ml 以上の接種で MIC の上昇傾向を認めた。これらの成績は同一条件で行なつた KM のそれとほぼ同様であつた。

6. 試験管内の耐性獲得

ブドウ球菌と大腸菌の AKM に対する耐性獲得状態は, 図 2 (1)~(2) に示すとおりである。

ブドウ球菌では, AKM と FR, KM の間に耐性ならびに耐性上昇パターンに差を認めなかつたが, PC-G ではすみやかな耐性の上昇を認めた。

また, 大腸菌では, SM にきわめてすみやかな耐性の獲得を認めたのに対し, AKM は KM とほぼ同様の耐

表8 各種細菌および真菌に対する殺菌性

Organisms	菌量 (/ml)	MIC (A) mcg ^B /ml	MBC (B) mcg ^B /ml	B/A
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	6.6×10 ⁴	2.5	2.5	1
" " TERASHIMA	4.8×10 ³	0.039	0.078	2
" <i>albus</i> PCI 1200A	6.8×10 ³	0.156	0.63	4
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 8043	1.8×10 ⁵	15.6	31.2	2
" <i>hemolyticus</i> D-90	2.2×10 ⁵	31.2	31.2	1
" <i>salivarius</i> 9758 IID	1.5×10 ⁵	15.6	31.2	2
<i>Sarcina lutea</i> PCI 1001	2.8×10 ⁴	0.31	0.31	1
<i>Diplococcus pneumoniae</i> Type 3 IID	2.4×10 ⁴	1.25	10	8
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	3.0×10 ³	0.039	0.078	2
" " ATCC 6633	5.1×10 ⁵	0.078	0.078	1
" <i>agri</i>	6.7×10 ³	0.156	0.156	1
" <i>cereus</i> IAM 1110	5.7×10 ³	3.1	3.1	1
" <i>mycoides</i>	8.0×10 ³	6.3	6.3	1
<i>Lactobacillus arabinosus</i> ATCC 8014 ^{a)}	2.6×10 ⁴	>500	>500	
" <i>casei</i> ATCC 7469 ^{a)}	2.0×10 ⁴	500	500	1
" <i>fermenti</i> ATCC 9338 ^{a)}	2.0×10 ⁴	500	500	1
<i>Escherichia coli</i> IAM 1253	5.9×10 ⁴	1.56	1.56	1
<i>Aerobacter aerogenes</i> IAM 1102	6.7×10 ⁴	0.31	0.31	1
<i>Alcaligenes faecalis</i> IAM 1015	1.5×10 ⁴	0.078	0.078	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 602	5.7×10 ⁴	0.156	0.156	1
<i>Proteus vulgaris</i>	6.3×10 ⁴	7.8	15.6	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1007	2.2×10 ⁴	31.3	31.3	1
<i>Salmonella paratyphi</i> A	2.5×10 ⁴	0.62	0.62	1
" " B	3.6×10 ⁴	0.78	0.78	1
" " C	5.1×10 ⁴	1.56	3.1	2
<i>Shigella flexneri</i> EW: 10 2a	1.7×10 ⁴	0.039	0.039	1
<i>Candida albicans</i> ^{b)}	2.2×10 ³	>500	>500	
" <i>krusei</i> IAM 4801 ^{b)}	5.5×10 ³	>500	>500	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IAM 4626 ^{b)}	9.0×10 ³	500	500	1
<i>Torula utilis</i> ^{b)}	7.1×10 ⁴	>500	>500	

<i>Mycobacterium phlei</i> No. 56 ^{e)}	2.0×10 ⁵	0.31	1.25	1
" " MS ^{e)}	2.5×10 ⁵	0.63	1.25	2
" " SEKIGUCHI ^{e)}	4.0×10 ⁵	0.31	0.62	2
" " 607 ^{b)}	3.9×10 ⁴	0.31	0.62	2

培地・特に明記しないものは Heart Infusion Broth (Difco)

a) Tomato Broth

b) Sabouraud Broth

c) Glycerine Bouillon

培養: いずれも 37° 48 時間後判定。ただし b) は 27° 48 時間, c) は 37° 5 日後判定

表9 AKM の抗菌活性におよぼす pH の影響 (単位: mcg^B/ml)

Organisms	<i>St. aureus</i> 209P		<i>E. coli</i> IAM 1253		
	判定	24時間	48時間	24時間	48時間
pH					
5.0		20.0	20.0	20.0	20.0
6.0		5.0	5.0	5.0	5.0
7.0		1.3	1.3	0.6	1.3
8.0		0.6	2.5	0.6	1.3

表10 AKM の抗菌活性におよぼす血清添加の影響 *Staphylococcus aureus* 209P (単位: mcg^B/ml)

血清添加	<i>Staphylococcus aureus</i> 209P				
	対照 (0%)	5%	10%	25%	50%
AKM	0.39	0.78	0.78	0.78	3.12
KM	1.56	1.56	3.12	3.12	6.25

Escherichia coli IAM 1253 (単位: mcg^B/ml)

血清添加	<i>Escherichia coli</i> IAM 1253				
	対照 (0%)	5%	10%	25%	50%
AKM	0.78	1.56	0.78	1.56	1.56
KM	3.12	3.12	6.25	6.25	6.25

性上昇パターンを示し, FR よりもやや耐性上昇の遅延傾向を認めた。

7. マウスの実験感染に対する効果

各試験菌によつて発症した実験的感染症マウスの AKM または KM 処置後の生存率推移から VAN DER WAERDEN 法に準じて ED₅₀ を算出した結果は次のとおりである (表 14)。

すなわち, B 菌を除き MIC と ED₅₀ はほぼ平行し, AKM は KM よりやすぐれた治療効果を示した。なお, 実験終了後の生存マウスの肝臓, 脾臓, 腎臓の還元

表11 AKMの抗菌活性におよぼす塩化ナトリウムの影響

Staphylococcus aureus 209P (単位: mcg ^B /ml)					
薬剤	接種菌量	対照 (0.085 モル= 0.5%)	0.095 モル (0.6%)	0.185 モル (1.1%)	1.085 モル (6.3%)
AKM	6.0 ×10 ⁴ /ml	0.62	0.62	2.5	10.0
KM	6.0 ×10 ⁴ /ml	1.25	5.0	5.0	10.0

Escherichia coli IAM 1253 (単位: mcg ^B /ml)					
薬剤	接種菌量	対照 (0.085 モル= 0.5%)	0.095 モル (0.6%)	0.185 モル (1.1%)	
AKM	5.6 ×10 ⁴ /ml	2.5	2.5	5.0	
KM	5.6 ×10 ⁴ /ml	5.0	5.0	10.0	

表12 AKMの抗菌活性におよぼす培地種の影響

Staphylococcus aureus 209P (単位: mcg ^B /ml)					
培地	接種菌量	AKM	KM		
Brain Heart Infusion Broth (Difco)	7.7 × 10 ⁴ /ml	1.56	6.25		
Heart Infusion Broth (Difco)	7.6 × 10 ⁴ /ml	0.20	0.78		
Nutrient Broth (Difco)	6.2 × 10 ⁴ /ml	0.10	0.20		

Escherichia coli IAM 1253 (単位: mcg ^B /ml)					
培地	接種菌量	AKM	KM		
Brain Heart Infusion Broth (Difco)	1.2 × 10 ⁵ /ml	6.25	12.5		
Herat Infusion Broth (Difco)	6.8 × 10 ⁴ /ml	1.56	3.12		
Nutrient Broth (Difco)	6.1 × 10 ⁴ /ml	0.39	0.78		

培養所見では、いずれもほとんどの菌陰性化が認められた。

表14 マウス実験感染症に対するAKMの効果

菌株名	LD ₅₀ ¹⁾ (i.p.)	接種量	AKM		KM	
			ED ₅₀ ²⁾	MIC ³⁾	ED ₅₀ ²⁾	MIC ³⁾
Staphylococcus aureus 209P	2.1 × 10 ⁸	100LD ₅₀	3.70 (3.10~4.42)	0.62	4.46 (3.73~5.33)	1.25
Staphylococcus aureus No. 16	1.5 × 10 ⁹	10LD ₅₀	13.6 (12.7~14.6)	1.56	22.7 (19.4~29.9)	3.12
Diplococcus pneumoniae Type 3 IID	8.1 × 10 ⁴	100LD ₅₀	13.2 (11.3~21.3)	0.31	14.4 (11.0~19.6)	5.0
Klebsiella pneumoniae 602	2.1 × 10 ⁶	100LD ₅₀	1.14 (0.95~1.36)	0.156	2.44 (2.10~2.82)	0.62
Proteus vulgaris OX 19	2.1 × 10 ⁹	10LD ₅₀	42.1 (35.6~50.0)	7.8	73.1 (63.7~83.9)	15.6

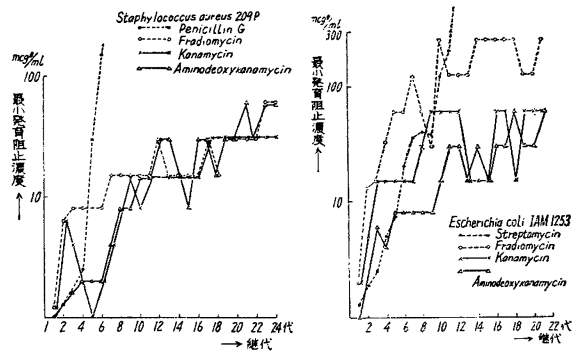
(註) 1. cells/mouse 2. mg^B/kg 3. mcg^B/ml

表13 AKMの抗菌活性におよぼす接種菌量の影響

菌株	接種菌量	AKM	KM
Staphylococcus aureus 209P	4.9 × 10 ⁶ /ml	3.15	6.25
	5.6 × 10 ⁵ /ml	3.15	3.15
	4.2 × 10 ⁴ /ml	0.16	0.62
	3.8 × 10 ³ /ml	0.16	0.62
	3.6 × 10 ² /ml	0.16	0.62
Escherichia coli IDM 1253	4.0 × 10 ⁶ /ml	3.15	12.5
	5.8 × 10 ⁵ /ml	1.25	5.0
	5.9 × 10 ⁴ /ml	0.62	2.5
	3.7 × 10 ³ /ml	0.62	2.5
	5.9 × 10 ² /ml	0.32	0.62
	4.8 × 10 ¹ /ml	0.32	0.62

図2-(1) ブドウ球菌の継代培養による耐性の上昇

図2-(2) 大腸菌の継代培養による耐性の上昇



考 察

2'-アミノ-2'-デオキシン-カナマイシンはカナマイシン同族体の一つであつて、カナマイシンBとして報告されている¹⁾。しかし当時はその純品を得ることが困難であつたため、*in vitro* 抗菌作用と急性毒性に関するものを除

き、化学構造の決定はもちろん、他の詳細な研究も行なわれておらず、むしろ不純物として、カナマイシン製剤中の含量の増加を制限していた。しかし、今回純粋な形で得られたものについての広範な検討によれば、従来の知見とやや異なる結果が得られている。

本物質の抗菌スペクトルのパターンは *Mycobacterium* を除くならば、カナマイシンのそれとまったく同様であるが、感性菌に対する MIC 値は一般にカナマイシンにくらべて小さく、大部分の菌で 1/2~1/8 であり、グラム陽性菌に対してはグラム陰性菌の場合よりも抗菌力の差が著明であつた。また、抗酸性菌に対してはカナマイシンと同程度またはそれ以下の抗菌力を示した。以上の成績は WAKAZAWA *et al.*¹⁾ (1961) の報告とよく一致している。

本剤は pH 6 以下の酸性側、大量の菌接種の場合、感受性の低下を示したが、これらの成績はカナマイシンと同様の傾向であつた。

また、本剤はブドウ球菌、肺炎球菌、肺炎桿菌、プロテウスによるマウス実験感染に対し、ほぼ MIC 値と平行する治療効果を示し、ED₅₀ 値はカナマイシンと同程度またはそれ以下であつた。

別の検討によれば、本剤のマウスに対する急性毒性 (LD₅₀) は静脈内投与 113~128 mg/kg、皮下投与で 817~941 mg/kg とカナマイシンの約 1/2 の値を示すが、マウスに 100, 200, 400 mg/kg を 30 日間筋肉内投与しても 400 mg/kg 投与群に体重増加の抑制傾向を認めただけ、諸臓器重量比は各群間に有意の差を認めず、病理組織学的検索においても異常所見を示さなかつた。また、モルモットに対する聴器毒性もカナマイシンとほぼ同程度であり、WAKAZAWA *et al.* の報告とやや異なる成績であつた。

以上の実験結果から、本剤はむしろパロモマイシン、フラジオマイシン、ゲンタマイシンなどのアミノ配糖体系抗生物質よりは毒性が少なく、確実な治効を期待でき

ると考えてよい。

結 論

2'-アミノ-2'-デオキシ-カナマイシン (AKM) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を検討し、つぎの結論を得た。

(1) AKM はグラム陽性および陰性菌、抗酸性菌に広範な活性を示し、弱嫌気菌および嫌気菌、真菌および原虫には不活性であつた。本剤の抗菌スペクトルはカナマイシンとまったく同じである。

(2) AKM の感性菌種に対する抗菌力は、抗酸性菌を除き、カナマイシンと同等かまたはさらに強く、MIC 値はカナマイシンの 1/2~1/8 であつた。抗酸性菌に対しては同程度か、やや弱い抗菌力を示した。

(3) AKM とカナマイシンの間に密接な交差耐性が成立することが確認された。

(4) AKM は pH 6.0 以下の酸性側、大量菌接種の場合に抗菌力の低下を示した。

(5) ブドウ球菌、肺炎球菌、肺炎桿菌、プロテウスのマウス実験感染に対し、AKM は MIC 値と平行する治効を示し、ED₅₀ 値はカナマイシンと同等またはそれ以下である。

参 考 文 献

- 1) WAKAZAWA, T., SUGANO, Y., ABE, M., FUKATSU, S. & KAWAJI, S.: Studies on kanamycin B. (I) Isolation of kanamycin B and its chemical and biological properties. *J. Antibiotics, Ser. A* 14: 180~186, 1961.
- 2) KUNIN, C.M., WILCOX, C., NAJARIAN, A. & FINLAND, M.: Susceptibility and cross-resistance of bacteria to four related antibiotics: kanamycin, paromomycin, neomycin and streptomycin. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 99: 312~316, 1958.

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON AMINODEOXYKANAMYCIN, A NEW BASIC AND WATER-SOLUBLE ANTIBIOTIC

SACHIKO GOTO & SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine, Tokyo

MASAHIRO ABE & TOYOAKI KAWASAKI

Department of Pharmaceutical Products Development, Kawasaki Plant, Meiji Seika
Kaisha, Ltd., Kawasaki

BUNZO NOMITA

Pathology and Pathogenic Microbiology Section, Research Laboratories, Meiji Seika
Kaisha, Ltd., Yokohama

In vitro and *in vivo* studies on the anti-microbial action of 2'-amino-2'-deoxy-kanamycin (AKM) have been carried out and the following results were obtained:

1) AKM was found broadly effective against Gram positive or negative, acid-fast bacilli, but was ineffective against facultative or obligate anaerobic bacteria, fungi and protozoa. The antibacterial spectrum of AKM was the same as that of kanamycin.

2) The anti-bacterial activity of AKM against the susceptible strains except those of acid-fast bacilli was no more or more than that of kanamycin and its minimum inhibitory concentration was within the range of one second and eighth of kanamycin. On the contrary, in the case of acid-fast bacilli, its minimum inhibitory concentration was the same or a little less than that of kanamycin.

3) It was confirmed that there would be the distinct cross-resistance between AKM and kanamycin.

4) AKM was shown to lose its anti-bacterial activity in the medium with acidity of less than 6.0 of pH value, and with larger size of inocula.

5) In the studies with mice experimentally infected with *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus vulgaris*, AKM showed the curative effects which were parallel with its minimum inhibitory concentration values, its ED₅₀ being found no more or less than that of kanamycin.