

## Rifampicin の 抗 菌 作 用

藤井敏男・小原康治・渡辺 健

森 弘道・三橋 進

群馬大学医学部微生物学教室

(昭和 44 年 8 月 21 日受付)

半合成抗生物質 Rifampicin (RFP) は放線菌 *Streptomyces mediterranei* より産生される抗生物質 Rifamycin SV の誘導体である。RFP の特長はグラム陽・陰性菌、結核菌に抗菌力を有し、特に陽性菌には既知抗生物質に比し最高、結核菌には INH につき SM より優る活性を有すること、他の抗生物質とは交叉耐性がみられず、殺菌作用を有することが知られている<sup>1,2)</sup>。また、吸収が良く、経口投与で速かに血中濃度があらわれ、持続的であること、副作用の少ないことが報告されている<sup>3)</sup>。これらの結果から種々の細菌感染症に対して臨床的効果が期待される。

RFP の作用機序は RFP が DNA 依存 RNA 合成酵素に結合して、RNA 合成を阻害する。RFP 耐性菌になると、この酵素が変異して RFP と結合せず、RNA 合成を阻害しないと報告されている<sup>4,5)</sup>。本報においては、RFP の黄色ブドウ球菌、赤痢菌およびグラム陰性桿菌 (GNB) に対する抗菌力および抗菌性について報告する。

## 材料および方法

菌株：当教室に保存されている病巣由来の黄色ブドウ球菌、赤痢菌およびグラム陰性桿菌 (GNB) のなかから、それぞれ 100 株を選んだ (表 1, 2, 3)。

薬剤：Rifampicin (RFP), Rifampicin SV の 3-(4-methyl-1-piperazinyl-iminomethyl) 誘導体。

耐性値の測定：1 夜培養液 (1 ml ペプトン水) の 100 倍稀釈液から 1 白金耳をつつを接種した HI 寒天による平板稀釈法で、薬剤を加えない対照平板と同等に発育をみた薬剤の最大濃度を耐性値とした。

抗菌性の測定：黄色ブドウ球菌 209 P 株および大腸菌 NIHJ 株の 1

夜培養液 (Penassay broth) の 100 倍稀釈液 (図 3) または 10 倍稀釈液を 2 時間培養後、その 100 倍稀釈液 (図 4) に RFP を適当な時間に加えた後、Biophotometer を用いて経時的に透過率をみた。

## 結 果

**Rifampicin の抗菌力：**黄色ブドウ球菌 100 株の RFP 耐性値の分布曲線は 1 峯性の分布を示し、その頂は 0.006 mcg/ml で、100 株中 63 株 (63%) を占めた (図 1)。赤痢菌 100 株の RFP 耐性の分布曲線は 1 峯性の分布を示し、その頂は 6.3~12.5 mcg/ml で、全体の 67 株 (67%) を占めた (図 2)。

GNB 100 株の RFP 耐性値をみると、大腸菌および

表 1 使用した黄色ブドウ球菌

ファージ型	耐 性 型								計
	SA PC SM TC	SA PC SM	SA PC TC	SA SM TC	SA PC	SA	PC	感性	
I	7	0	3	0	2	2	0	0	14
II	0	0	1	0	4	4	0	0	8
III	3	0	1	1	0	0	1	1	7
型別 不能	14	1	11	3	19	20	2	1	71
計	24	1	16	4	24	26	3	100	100

表 2 使用した赤痢菌

血清型	耐 性 型							計
	SA SM TC CM	SA SM CM	SA TC CM	SA SM	SA TC	SA	感性	
<i>sonnei</i>	26	1	0	2	1	22	11	63
<i>flexneri</i> 1b	2	0	1	0	0	1	0	4
2a	5	0	0	0	0	5	3	13
2b	0	0	0	0	0	2	0	2
3a	2	0	0	0	0	0	1	3
3b	0	0	0	0	0	0	1	1
4a	1	0	0	0	0	0	6	7
X	2	0	0	0	0	1	0	3
Y	1	0	0	0	0	3	0	4
計	39	1	1	2	1	34	22	100

表 3 使用したグラム陰性桿菌

菌種	耐性型*					計
	4剤	3剤	2剤	1剤	感性	
<i>E. coli</i>	4	4	4	5	3	20
<i>Pseudomonas</i>						20
<i>K. pneumoniae</i>	3	2	1	1	8	15
<i>K. ogeanea</i>	2	1	0	0	2	5
<i>P. vulgaris</i>	0	0	0	1	4	5
<i>P. mirabilis</i>	1	0	0	3	1	5
<i>P. morgani</i>	0	1	1	0	3	5
<i>P. rettgeri</i>	2	3	0	0	0	5
<i>A. aerogenes</i>	1	1	1	0	1	4
<i>A. cloacae</i>	2	0	1	0	1	4
<i>E. freundii</i>	2	0	0	0	3	4
<i>Serratia</i>						4
<i>Arizona</i>						4
計						100

\* 4剤: SA SM TC CM. 3剤: SA SM TC, SA SM CM, SA TC CM, SM TC CM. 2剤: SA SM, SA TC, SM TC, SM CM, TC CM. 1剤: SA, SM, TC.

表 4 Rifampicin のグラム陰性桿菌に対する抗菌力

菌種	耐性値 (mcg/ml)					計
	50	25	12.5	6.3	3.1	
<i>E. coli</i>	1	2	1	14	2	20
<i>Pseudomonas</i>	2	18	0	0	0	20
<i>K. pneumoniae</i>	2	11	0	2	0	15
<i>K. ogeanea</i>	3	2	0	0	0	5
<i>P. vulgaris</i>	1	0	1	3	0	5
<i>P. mirabilis</i>	0	0	0	5	0	5
<i>P. morgani</i>	1	0	0	4	0	5
<i>P. rettgeri</i>	0	1	0	4	0	5
<i>A. aerogenes</i>	3	1	0	0	0	4
<i>A. cloacae</i>	1	2	0	1	0	4
<i>E. freundii</i>	2	2	0	0	0	4
<i>Serratia</i>	1	2	0	1	0	4
<i>Arizona</i>	1	1	0	2	0	4
計	18	42	2	36	2	100

図1 黄色ブドウ球菌の Rifampicin 耐性値の分布

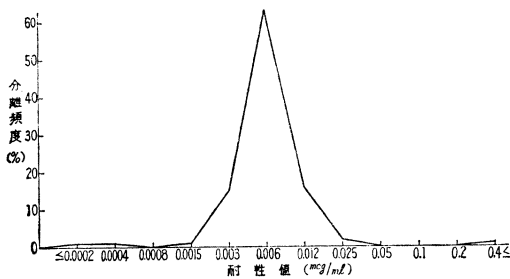
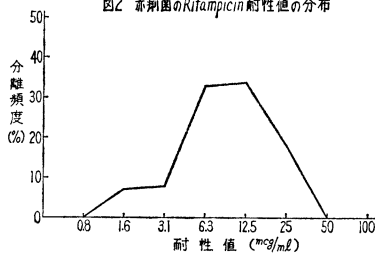


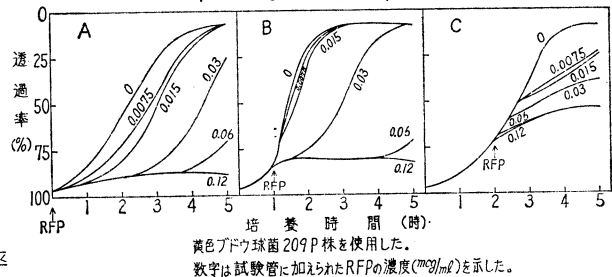
図2 赤痢菌の Rifampicin 耐性値の分布



プロテウスは 6.3 mcg/ml, 緑膿菌およびクレブシエラは 25 mcg/ml, *A. aerogenes*, *A. cloaca*, *Serratia*, *Arizona* は 25~50 mcg/ml を示した株が多かった (表 4)。

黄色ブドウ球菌のフェージ型, 耐性型, 赤痢菌の血清型, 耐性型および GNB の耐性型と RFP 耐性値とは相関関係がなかった。また RFP はこれらの菌において,

図3 Rifampicin の log, late log, log phase における抗菌効果



黄色ブドウ球菌 209P 株を使用した。数字は試験管に加えられた RFP の濃度 (mcg/ml) を示した。

図4 Rifampicin の log phase における抗菌効果

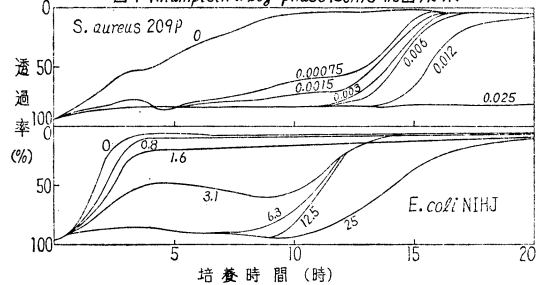


図3の下部参照

SA, SM, TC, CP と交叉耐性がなかった。RFP は黄色ブドウ球菌において, PC, Mac(マクロライド系抗生物質), NB と, GNB において, CL, FRM, KM, FT (フラトリジン), AB-PC(アミノベンジルペニシリン), NA(ナリデシク酸) と交叉耐性がなかった (表 5)。

表 5 種々の耐性型, フェージ型および血清型の細菌の Rifampicin 耐性値

菌 種	菌 株 名	耐 性 型	フェージ型または血清型	RFP耐性値 (mcg/ml)
<i>S. aureus</i>	FS 332	SA, PC, SM, TC, Mac	I	0.006
	327	SA, PC, TC	II	0.006
	309	SA, PC, SM, TC, Mac, CP	III	0.003
	335	SA, PC, CP, NB	型別不能	0.006
	383	SA	"	0.006
<i>Shigella</i>	JS 3001	SA, SM, TC, CP	<i>sonnei</i>	12.5
	3065	SA, SM, TC, CP	<i>flexneri</i> 2 a	6.3
	3071	SA	2 b	6.3
	3016	SA, SM, TC, CP	3 a	3.1
	3057		3 b	25
<i>E. coli</i>	GN 2990	SA, SM, TC, CP, KM, APC		50
<i>Pseudomonas</i>	2353			25
<i>P. vulgaris</i>	2318	TC, CP, CL, FT, APC		6.3
<i>K. pneumoniae</i>	2985	SA, SM, TC, CP, FRM, KM, APC		25
<i>A. aerogenes</i>	2910	SA, SM, TC, CP, APC		50

**Rifampicin の抗菌性:** 黄色ブドウ球菌 209 P 株を用いて, 各 phase における RFP の抗菌効果をみると, late lag phase(B) は lag phase(A) に比し, 菌量が3倍多いにもかかわらず抗菌力は下がらない。log phase (C) は A に比し, 菌量は7倍であるが抗菌力は A より強い(図 3)。黄色ブドウ球菌 209 P 株および大腸菌 NIHJ 株を用いて lag phase と菌量を等しくして(図 3A), log phase における抗菌効果をみると, 黄色ブドウ球菌 209 P 株では RFP 0.006 および 0.012 mcg/ml で 11 時間および 13 時間後に増殖がみられたが, RFP 0.025 mcg/ml では 21 時間後に死滅していた。大腸菌 NIHJ 株では 25 mcg/ml で 10 時間増殖が阻止された(図 4)。

#### 論 議

これまでの結果から RFP の抗菌作用は黄色ブドウ球菌に著効, 赤痢菌を含む GNB には有効であった。これらの菌において RFP 耐性菌はなく, 他の抗生物質との交叉耐性はなかつた。これらの事実はこれまでの RFP に関する報告と一致し, 細菌感染症に対して臨床上的効果が期待できる。

RFP は黄色ブドウ球菌, 209 P 株において, lag phase の細菌を5時間増殖抑制するのに 0.12 mcg/ml 必要であるのに比し, log phase の細菌では 0.0003 mcg/ml であることから, lag phase よりも log phase の細胞に 40 倍つよい抗菌力を示した。細菌の age による抗菌力の差は RFP が DNA 依存 RNA 合成酵素に作用し, RNA 合成の initiation を阻害することから<sup>6)</sup>, 細菌の細胞が活発に RNA 合成をしている時期(log phase) に最も良く抗菌力を発揮するのであろう。

黄色ブドウ球菌, 209 P 株および大腸菌 NIHJ 株において, それぞれ RFP 0.006 mcg/ml で 11 時間, 25 mcg/ml で 10 時間増殖が阻止された後, 菌の増殖が開始した。この原因として, 薬剤が培地中で分解する, 菌が薬剤をこわす, 耐性への誘導現象, 耐性変異菌の選択または出現などが考えられ, 現在解明中である。

#### 結 論

Rifampicin (RFP) の黄色ブドウ球菌, 赤痢菌およびグラム陰性桿菌(GNB)それぞれ 100 株に対する抗菌作用, および黄色ブドウ球菌 209 P 株および大腸菌 NIHJ 株を用いて, 抗菌性を調べた。

RFP の抗菌作用は黄色ブドウ球菌に著効, 赤痢菌を含む GNB に有効であった。これらの菌において, RFP 耐性菌はなく, 他の抗生物質との交叉耐性はなかつた。

RFP の黄色ブドウ球菌および大腸菌における抗菌性は高濃度で殺菌作用, 低濃度で静菌作用を示した。

#### 文 献

- 1) ARIOLI, V., R. PALLANZA, S. FURESZ & G. CARNITI: Rifampicin: A new rifamycin. I. Bacteriological studies. *Arzneim. Forsch.* 17: 523~529, 1967
- 2) PALLANZA, R., V. ARIOLI, S. FURESZ & G. BOLZONI: Rifampicin: A new rifampicin. II. Laboratory studies on the antituberculous activity and preliminary clinical observations. *Arzneim. Forsch.* 17: 529~534, 1967
- 3) FURESZ, S., R. SCOTTI, R. PALLANZA & E. MAPELLI: Rifampicin: A new rifamycin. III. Adsorption, distribution and elimination in man. *Arzneim. Forsch.* 17: 534~537, 1967

- 4) WEHRLI, W., KNUSEL, K. SCHMID & M. STAHERIN : Interaction of rifamycin with bacterial RNA polymerase. Proc. Natl. Acad. Sci. 62: 667~673, 1968
- 5) EZEKIEL, D.H. & J.E. MUTCHINS : Mutation affecting RNA polymerase associated with rifampicin resistance in *Escherichia coli*. Nature 220 : 276~277, 1968
- 6) MAURO, E. DI., L. SNYDER, P. MARINO, A. LAMBERTI, A. COPPO & G.P. TOCCHINI-VALENTINI : Rifampicin sensitivity of the components of DNA dependent RNA polymerase. Nature 222 : 533~537, 1969

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF RIFAMPICIN

TOSHIO FUJII, KOJI OHARA\*, KEN WATANABE,  
KODO MORI and SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology, School of Medicine, Gunma University, Maebashi, Japan

\* Department of Microbiology, Tokyo College of Pharmacy, Tokyo

Antibacterial activity of rifampicin (RFP) against *Staphylococcus aureus*, *Shigella*, and other gram negative bacteria was examined, which were all isolated from clinical sources. It was found that RFP has high activity against staphylococci; its activity being bacteriocidal. Antibacterial activity of RFP against gram negative bacteria including shigellae was found to be effective but lower than that against staphylococci. Many strains used for this experiment are multiply resistant but RFP has no cross resistance to other drugs which are widely used in clinical wards.