

## Mikamycin の 抗 菌 作 用

藤井敏男・渡辺 健・森 弘道・三橋 進

群馬大学医学部微生物学教室

(昭和 45 年 2 月 20 日受付)

ペプチド抗生物質 Mikamycin は 1956 年梅沢らによつて土壌から分離した放線菌 *Streptomyces mitakensis* の培養液から得られた抗生物質で、主成分 Mikamycin A および副成分 Mikamycin B の 2 成分からなっている<sup>1,2,3)</sup>。Mikamycin A は大腸菌の蛋白合成における translocation を、Mikamycin B は peptide elongation ないしは transference を阻害し、A と B の合剤に相乗作用のあることが報告されている<sup>4-9)</sup>。Mikamycin はグラム陽性菌に著効を示し、他の抗生物質との交叉耐性はなく、また低い毒性、高い安定性といった特長が報告されている<sup>10,11)</sup>。Mikamycin AB 合剤の抗菌力はその単剤に比して相乗作用を示すので投与量

が少なくすみ、耐性菌の出現頻度も低い故に<sup>12,13)</sup>、家禽および家畜の疾病の治療ならびに予防、家禽の成長促進および飼料効率の改善に使用されている。ヒトの治療用に用いられる抗生物質が家畜の治療および肥育用、食品の防腐用など、場合によつては不必要なまでに使用されたために耐性菌が増加し、これらの耐性菌の多くは伝達性の薬剤耐性因子 (R 因子) によることから、今日ヒトの治療に用いられる抗生物質はそれ以外の使用が制限されようとしている。Mikamycin はその意味からも、大きな価値がある。

本報においては、ヒトの病巣由来のグラム陰性桿菌、ヒトおよびニワトリの病巣由来の黄色ブドウ球菌に対する Mikamycin A, B 単剤および AB 合剤の抗菌力、試験管内耐性菌の出現頻度、この耐性菌の交叉耐性の有無について調べた。

## 材料および方法

菌株：ヒトの病巣由来のグラム陰性桿菌 23 株、ヒトおよびニワトリの病巣由来の黄色ブドウ球菌 8 株を用いた (表 1, 2)。ニワトリから分離されたブドウ球菌 5 株は理化学研究所 光岡知足氏から分与を受けた。なおこの他に、病院検査室において検査を依頼されたヒト由来のブドウ球菌 350 株を用いた。

薬剤：Mikamycin A (MK-A)、Mikamycin B (MK-B)、Mikamycin AB 合剤 (A 841 mcg/ml, B 139 mcg/ml) いずれも全量 980 mcg/ml とした。溶剤として Dimethylholamide を使用した。

方法：耐性値の測定：1 夜培養液 (1 ml ペプトン水) の原液 (黄色ブドウ球菌) および 100 倍稀釈液 (大腸菌) から 1 白金耳ずつを接種した Heart infusion agar 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濃度を耐性値

表 1 グラム陰性桿菌に対する Mikamycin の抗菌力

菌 株	耐 性 型	Mikamycin 耐性値 (mcg/ml)		
		AB	A	B
<i>S. paratyphi</i> A 1015		50	50	100
B 8006		100	100	100
<i>S. typhi</i> (vi) 901		100	100	100
<i>S. enteritidis</i> 11554		100	100	100
<i>Sh. flexneri</i> 2a JS 700		100	100	100
2a JS 2997	R(CM. TC. SM. SA)	50	50	100
3a JS 833		50	50	100
3a JS 2529	R(CM. TC. SM. SA)	25	25	100
<i>Sh. sonnei</i> JS 1337		50	100	100
JS 949	R(CM. TC. SM. SA)	25	50	100
<i>E. coli</i> O 26		100	100	100
NIHJ		12.5	12.5	100
K 12 W 3630		25	50	100
	R(CM. TC. SM. SA. KM)	25	50	100
<i>E. freundii</i> Bal 107		1.6	3.1	100
315 F		50	100	100
<i>Arizona</i> BC 5		25	50	100
SO 50		50	100	100
<i>Proteus</i> OX 2		100	100	100
19		100	100	100
<i>Klebsiella</i> GN 343		100	100	100
350		100	100	100
<i>Pseudomonas pyogenes</i> GN 83		100	100	100

表 2 黄色ブドウ球菌に対する Mikamycin の抗菌力

菌 株	由来および耐性型	Mikamycin 耐性値 (mcg/ml)		
		AB	A	B
<i>S. aureus</i> 209 P	ヒ ト	0.4	0.4	1.6
FS 1	(SA. PC. SM. TC. Mac. KM)	0.4	0.4	25
MS 353	"	0.2	0.2	1.6
CH 81	ニワトリ	1.6	1.6	3.1
83	"	0.2	0.2	3.1
85	"	0.8	1.6	6.3
91	"	0.2	0.4	1.6
94	"	0.4	0.4	1.6

とした。

試験管内耐性化の頻度測定：1夜培養液(10 ml ペプトン水)を 3,000 r. p. m. 10分遠心分離し、 $10^9$  cells/ml に濃縮した菌液を A, B 単剤または AB 合剤を含む HI Agar にぬつた。この平板を 37°C, 2日間培養後、平板上に生じたコロニーを耐性菌として数え、出現頻度を調べた。この耐性菌の耐性値を純粋培養後、平板希釈法で調べ、交叉性の有無をみた。

#### 結 果

抗菌作用：, Mikamycin A, B 単剤または AB 合剤のグラム陰性桿菌 23 株, 黄色ブドウ球菌 8 株に対する抗菌力を調べた。Mikamycin は黄色ブドウ球菌 8 株に著効を示したが、大腸菌 3 株, 赤痢菌 5 株, サルモネラパラチフス菌 1 株, フロイド菌 1 株, アリゾナ菌 1 株を除く、グラム陰性桿菌 12 株には無効であった。Mikamycin 類の抗菌力は AB 合剤, A 単剤, B 単剤の順に有効性を示した。すなわち相乗効果が見られた。Mikamycin AB 合剤および A 単剤の抗菌力は赤痢菌において R<sup>-</sup> 菌より R<sup>+</sup> 菌に強かつた (表 1, 2)。

赤痢菌および大腸菌において、Mikamycin は CP, TC, SM, SA, KM と、黄色ブドウ球菌において、SA, PC, SM, TC マクロライド抗生剤, KM などと交叉耐性がなかつた。すなわち、Mikamycin は赤痢菌, 大腸菌および黄色ブドウ球菌において、他の抗生物質との交叉耐性を示さなかつた (表 1)。

ヒト由来のブドウ球菌 350 株が Mikamycin に示す

表 3 ヒトから分離された黄色ブドウ球菌に対する Mikamycin の抗菌力

菌 株 数	耐性値の分布 (mcg/ml)					
	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2
350	0	48	270	30	2	0

Mikamycin AB を用いた

耐性分布は表 3 に示した。衆知のとおりヒトの病巣由来のブドウ球菌は極めて多くの薬剤に耐性を示す。0.4 mcg/ml にピークを示す耐性分布を示し、3.2 mcg/ml 以上の耐性菌は全く分離されなかつた。

耐性菌の出現頻度：Mikamycin AB 合剤のヒト由来の大腸菌 4 株, ヒトおよびニワトリの病巣由来の黄色ブドウ球菌 6 株に対する試験管内耐性菌の出現頻度を調べると、いずれも  $10^{-9}$  以下であつた (表 4)。

ヒトおよびニワトリの病巣由来の黄色ブドウ球菌それぞれ 1 株 (209 と CH 91) に対する Mikamycin A, B, 単剤および AB 合剤の試験管内耐性菌の出現頻度を調べると、209 のそれはいずれも  $10^{-9}$  以下であつたが、CH 91 の Mikamycin 耐性菌の出現頻度は AB 合剤, A, B の 3 者間に差がなく、それぞれ  $10^{-7}$  であつた。すなわち Mikamycin 耐性菌の出現頻度は著しく低い (表 5)。

耐性菌の交叉耐性：黄色ブドウ球菌 CH 91 から A 剤, B 剤, AB 合剤のそれぞれから得られた耐性菌を用いて、3 者間における交叉耐性の有無を調べた。これらの平板上で得られた耐性菌の Mikamycin 耐性値は、A 単剤および AB 合剤それぞれ 25, B 単剤 400 mcg/ml の耐性値を示す耐性菌と、A および AB にそれぞれ 50, B に対し 400 mcg/ml 耐性を示す 2 種類の耐性菌のあること

表 4 Mikamycin AB 平板上で得られた耐性菌の分離頻度

菌 株	MK-AB (mcg/ml)			
	400	100	25	6.3
<i>S. aureus</i> FS 1	—	—	—	—
MS 353	—	—	—	—
CH 81	—	—	—	—
83	—	—	—	—
85	—	—	—	—
94	—	—	—	—

  

菌 株	MK-AB (mcg/ml)			
	400	200	100	50
<i>E. coli</i> O-27	—	—	—	—
W 4630	—	—	—	—
W 3630 R	—	—	—	—
NIHJ	—	—	—	—

—：耐性菌の分離頻度が  $10^{-9}$  以下を示した

表 5 Mikamycin A, B および AB 平板上で得られた耐性菌の分離頻度

菌 株	平板上で得られた耐性菌の分離頻度										
	MK-AB				MK-A				MK-B		
	400	100	25	6.3	400	100	25	6.3	400	100	25
<i>S. aureus</i> 209 P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CH 91	—	10 <sup>-7</sup>	—	—	—	10 <sup>-7</sup>	—	—	10 <sup>-7</sup>	—	—

表 3 の脚註を参照せよ

表 6 平板上で得られた変異株の耐性値

株数	Mikamycin 耐性値		
	AB	A	B
8	25	25	400
22	50	50	400

黄色ブドウ球菌 CH 91 を用いて、Mikamycin AB および A 100, B 400 mcg/ml 平板上から得られた変異株、それぞれ 10 株計 30 株を使用した

が分つた。すなわち、黄色ブドウ球菌 CH 91 において、それぞれ A または B 単剤平板上で得られた耐性菌は A と B にそれぞれ交叉耐性を示した (表 6)。

#### 討 議

Mikamycin は本邦で発見された抗生剤でペプタイド系に属する興味ある抗生物質である<sup>1-3)</sup>。その作用は蛋白合成阻害にあるといわれている<sup>4-11)</sup>。特に興味あることは、Mikamycin 製剤に含まれる component A, B の synergistic action にある。単剤よりも合剤が著るしく抗菌力が高まる1つの代表例として知られている<sup>10, 12, 13)</sup>。

本薬剤の1つの特徴は *in vitro* の試験において耐性菌が出現しにくいことである。吾々がテストした菌の中、僅かに1株ブドウ球菌 CH 91 から 10<sup>-7</sup> の頻度において耐性菌が得られた。AB 合剤は、A, B 単剤より抗菌力が秀れているが、耐性菌出現頻度に差はみられなかつた。

Mikamycin 蛋白合成阻害の機構は蛋白合成阻害にあることが知られている<sup>5-9)</sup>。Aは大腸菌の蛋白合成の translocation を、Bは蛋白合成の peptide elongation または transference を阻害すると報告されている<sup>4-9)</sup>。しかし、なおその詳細は今後の研究に残されている。

A, B 平板上で得られたそれぞれの耐性菌が、A, B それぞれに交叉耐性を示すことについては膜透過性の低下による耐性か、蛋白合成阻害部位の耐性とすれば、Mikamycin A, B の抗菌作用の解明を待つて検討すべき問題と考えられる。

#### 要 約

ペプタイド抗生物質 Mikamycin の A, B 単剤および AB 合成の人の病巣由来のグラム陰性桿菌 23 株、ニワトリの病巣由来の黄色ブドウ球菌 5 株、および人由来のブドウ球菌 353 株に対する抗菌力を調べた。黄色ブドウ球菌には著効を示したが、赤痢菌および大腸菌を除くグラム陰性桿菌にはあまり有効でなかつた。

Mikamycin の抗菌力は、A, B 合剤、A 単剤、B 単剤の順に有効性を示した。

Mikamycin の黄色ブドウ球菌 8 株および大腸菌 4 株に対する試験管内耐性菌の出現頻度を調べた。大腸菌 4 株および黄色ブドウ球菌 7 株のそれは 10<sup>-9</sup> 以下であつた。すなわち、耐性菌の出現頻度は著しく低い。ただし、例外的に黄色ブドウ球菌(CH 91) 1 株のそれは 10<sup>-7</sup> であつた。CH 91 において得られたそれぞれの耐性菌は A と B にそれぞれ交叉耐性を示した。

#### 文 献

- 1) ARAI, M., S. NAKAMURA, Y. SAKAGAMI, K. FUKUHARA & H. YONEHARA : A new antibiotic mikamycin. J. Antibiotics, Ser. A 9(5) : 193, 1956
- 2) OKABE, K., H. YONEHARA & H. UMEZAWA : Alkaline hydrolysis of mikamycin A. J. Antibiotics, Ser. A 12(4) : 192~193, 1959
- 3) WATANABE, K. : Studies on mikamycin. VII. Structure of mikamycin B. J. Antibiotics, Ser. A 14(1) : 14~17, 1961
- 4) YAMAGUCHI, H. : Action mechanism of mikamycins. I. Effects of mikamycins on protein and nucleic acid metabolism. J. Antibiotics, Ser. A 14(6) : 313~323, 1961
- 5) TANAKA, N., H. YAMAGUCHI & H. UMEZAWA : Mechanism of action of mikamycin. J. Antibiotics, Ser. A 14(1) : 60, 1961
- 6) YAMAGUCHI, H. & N. TANAKA : Site of action of mikamycin A and B in polypeptide synthesizing systems. J. Biochemistry 61(1) : 18~25, 1967
- 7) YAMAGUCHI, H., N. TANAKA & H. UMEZAWA : Effects of biopolymers and magnesium on the mikamycins inhibition of polyphenylalanine synthesis and the synergistic action of mikamycin A and B. J. Antibiotics, Ser. A 20(1) : 41~48, 1967

- 8) YAMAGUCHI, H., Y. YOSHIDA & N. TANAKA : Inhibition by mikamycins of polypeptide synthesis directed by native messengers and synthetic polynucleotides. *J. Biochemistry* 60(3) : 246~255, 1966
- 9) YAMAGUCHI, H. & N. TANAKA : Selective toxicity of mikamycins, inhibitors of protein synthesis. *Nature* 201(4918) : 499~501, 1964
- 10) TANAKA, N., N. SHINJO, N. MIYAIRI & H. UMEZAWA : Biological studies on mikamycin. *J. Antibiotics, Ser. A* 11(4) : 127~133, 1958
- 11) OKOSHI, S., N. KITANO, I. TOMODA, M. USUI, M. TAKASHIO, N. SUZUKI & T. KONISHI : Pharmacological studies of mikamycin on dogs. *J. Antibiotics, Ser. A* 13(2) : 137~142, 1960
- 12) TANAKA, N., N. MIYAIRI, K. WATANABE, N. SHINJO, T. NISHIMURA & H. UMEZAWA : Biological studies on mikamycin. II. Laboratory investigation of mikamycin A and mikamycin B. *J. Antibiotics, Ser. A* 12(6) : 290~297, 1959
- 13) WATANABE, K. : Studies on mikamycin. V. *In vitro* synergistic action and differential assay of mikamycin components. *J. Antibiotics, Ser. A* 13(1) : 62~69, 1960

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MIKAMYCIN

TOSHIO FUJII, KEN WATANABE, HIROMICHI MORI  
and SUSUMU MITSUHASHI

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

Antibacterial activity of mikamycin was examined by using mikamycin AB complex, A and B. Five strains of staphylococci were isolated from fowl. Other strains, *i.e.*, 353 strains of staphylococci and 23 strains of gram-negative rod bacteria, were isolated from clinical specimens of human being.

1) Antibacterial activity of mikamycin was very effective against staphylococci and was followed by *Shigella* and *E. coli* strains, but not effective against other gram-negative bacteria. Antibacterial activity of mikamycin AB complex was more effective than that of either mikamycin A or B.

2) It is known that many strains of staphylococci isolated from clinical sources are multiple-resistant to many antibacterial agents, but mikamycin was found to be not cross-resistant to such drugs.

3) Eight strains of staphylococci and 4 strains of *E. coli* were tested for their mutation frequency resistant to mikamycin. It was found that the mutation frequency of 11 strains was less than  $10^{-9}$ , indicating very low frequency of mutation. Only one strain of *S. aureus* CH 91 exhibited  $10^{-7}$  mutation frequency, and the resistant mutants, obtained on either mikamycin A or B plate, were found to show cross resistance against each other.