

## 3',4'-Dideoxykanamycin Bに関する 2, 3 の実験および臨床経験

河 盛 勇 造・西 沢 夏 生

国立泉北病院内科

## 1. 緒 言

梅沢博士<sup>1)</sup>は Kanamycin(KM) 耐性菌による KM 不活化機構の解析の結果、耐性菌による磷酸化を受けない誘導体として、3',4'-Dideoxykanamycin B(DKB) を合成し、本物質が KM 耐性ブドウ球菌、緑膿菌などに強い抗菌力を有することを報告した。

私共も DKB の提供を受け、2, 3 の実験を行なった上、緑膿菌感染症に用いる機会を得たので、その成績を報告する。

## 2. DKB の緑膿菌に対する試験管内抗菌力

日本化学療法学会標準法<sup>2)</sup>により希釈寒天平板法を用いて、DKB の緑膿菌に対する抗菌力を測定して、Table 1 の成績を得た。被検菌株 14 株のうち、飯島株は業室保存株で、他の 13 株は患者から分離したものである。なお対照として、Gentamicin(GM) についても同時に MIC を測定した。

すなわち DKB による MIC が 1.56 mcg/ml を示したものの 8 株、3.13 mcg/ml のもの 5 株であつたのに対し、GM はそれぞれ 8 株および 3 株で、2 株は 6.25 mcg/ml の MIC が得られた。なお柳楽株は DKB には 100 mcg/ml にも耐性、GM にも 50 mcg/ml により発育阻止を呈し、両物質にも耐性であつた。

## 3. DKB 筋注後の血清中濃度および抗菌力

Table 2 に示した 2 症例について、DKB 50 mg および 100 mg 筋注後 1, 2 および 4 時間における血清中濃度を測定した。なお 2 症例ともに肝・腎機能には異常を認めない。

測定は枯草菌 PCI-219 株を指示菌とした重層法を用い、pH 7.0 の磷酸緩衝液による DKB 溶液を、標準線作成に用いた (Table 2)。

すなわち両例ともに筋注 1 時間後に最高値が得られ、50 mg 注射後は約 6 mcg/ml、100 mg 注射後は約 9 mcg/ml に達している。また 4 時間後にもそれぞれ 1.5 mcg/ml、3 mcg/ml の濃度を保つていた。

次にこれらの血清のうち、投与 1, 2 時間後のものを用い、それぞれの症例から分離した緑膿菌の自家菌株に対する抗菌力を測定した。実験方法は各血清を中性ブイヨンによつて 4, 8, 16 および 32 倍に希釈し、各菌株の中性ブイヨン 20 時間培養の 100 倍希釈液を、血清希釈液 1 ml に対して 0.1 ml の割合で接種、血温 20 時

間培養後に増殖の状態を肉眼的に判定した。対照として血清を加えないブイヨンを用いた。

なお各自家菌に対する DKB の MIC はともに 1.56 mcg/ml であつた。

Table 1. Antibacterial activity of DKB against *Pseudomonas aeruginosa*

Strain	MIC (mcg/ml)		Strain	MIC (mcg/ml)	
	DKB	GM		DKB	GM
	1.56	1.56		100<	50
	1.56	1.56		3.13	1.56
	1.56	1.56		1.56	1.56
	1.56	1.56		1.56	1.56
	3.13	6.25		1.56	3.13
	1.56	1.56		3.13	3.13
	3.13	3.13		3.13	6.25

Table 2. Serum levels of DKB after intramuscular injection

Case	Dosage	Serum concentrations (mcg/ml)		
		1 hour	2 hours	3 hours
1. f. 43 y. 58 kg	50 mg 100 mg	5.8 9.0	4.5 7.0	1.5 3.1
2. m. 40 y. 45 kg	50 mg 100 mg	5.8 9.4	4.1 6.2	1.5 3.0

Table 3. Anti-*Pseudomonas* activity of serum after intramuscular injection of DKB

Case	Dosage	Time after injection (hr.)	Growth of bacteria				
			Con-trol	4×	8×	16×	32×
1	50 mg	1	##	-	+	+	##
		2	##	+	+	+	##
	100 mg	1	##	-	±	+	##
		2	##	+	+	+	##
2	50 mg	1	##	-	+	+	##
		2	##	-	+	+	##
	100 mg	1	##	-	+	+	##
		2	##	-	+	+	##

成績は Table 3 に示したとおりで、症例 1 の 1 時間後血清および症例 2 の 1 および 2 時間後血清はともに 4 倍希釈において、完全に自家緑膿菌株の発育を阻止していた。また 8 倍および 16 倍希釈において、両例の 1, 2 時間後血清はともに、対照に比して明らかに菌増殖が劣っており、ある程度の発育阻止が認められた。

#### 4. DKB 吸入後の血清中濃度

Table 4 に示した 2 症例について DKB を吸入させた後の血清中濃度を測定した。吸入には DKB 50 mg を蒸留水 4 ml に溶解したものをを用い、約 10 分間にて吸入を終るように調節した (Table 4)。

成績は表のとおりで、吸入後の血清中濃度は極めて低く、血清中濃度が 5 mcg/ml に達するのに対して、吸入直後および 1 時間後はともに、0.25~0.3 mcg/ml にとどまっていた。

#### 5. DKB 筋注後の喀痰中濃度

前項の 2 症例について、DKB 50 mg および 100 mg 筋注後の喀痰中濃度を測定した。喀痰は 3 時間づつ蓄痰

Table 4. Serum levels of DKB after inhalation

Case	Serum levels (mcg/ml)		
	Inhalation (50 mg)		I. M. (50 mg)
	Immediately after	1 hr. after	1 hr. after
1. f. 43 y. 58 kg	0.25	0.25	5.0
2. m. 29 y. 53 kg	0.25	0.3	5.2

Table 5. Concentrations of DKB in sputum after intramuscular injection

Case	Dosage	Concentration in sputum (mcg/ml)					Serum level (hr.)
		-3 hr.	-6 hrs.	-9 hrs.	-12 hrs.	-15 hrs.	
1	50 mg	0.3	0.3	0.4		0.45	5.0
	100 mg	0.4	0.78	0.8	0.78	0.2	8.6
2	50 mg	0.3	0.28	0.28	0.2	0.4	5.2
	100 mg	0.4	0.6	0.7	0.4	0.3	8.2

Table 6. Cases treated with DKB

#### (a) : Clinical results

Case	Sex	Age	Diagnosis	Dosage	Duration of treatment	Total dose (g)	Clinical results		Side effects
							Symptoms	Effectiveness	
1	f.	43	Pulmonary tuberculosis, bronchiectasis	I. M. 50 mg × 2 100 mg × 2 Inhal. 50 mg (divided in 2)	10 14 10	4.3	Sputum decreased	Effective	Tinnitus at i. m. injection
2	m.	40	Pulmonary tuberculosis, bronchiectasis	I. M. 50 mg × 2	10	1.0	Sputum decreased	Effective	Anorexia
3	m.	73	Pulmonary tuberculosis (mixed infection)	I. M. 50 mg × 2	10	1.0	Unchanged	Ineffective	None
4	m.	29	Pulmonary tuberculosis (mixed infection)	Inhal. 50 mg I. M. 50 mg × 2	10 11	1.6	Sputum decreased, fever reduced	Effective	None
5	f.	57	Bronchiectasis	I. M. 50 mg × 2	10	1.0	Sputum decreased	Effective	None

#### (b) : Bacteriological results

Case	Causative organism	Specimen	Number of bacteria			MIC (mcg/ml)		
			Before dose	During dose	After dose	Before dose	During dose	After dose
1	<i>Pseudomonas aerug.</i>	Sputum	+++	after I. M. ++ after inhal. —	++	1.56	after I. M. 1.56	6.25
2	<i>Pseudomonas aerug.</i>	Sputum	++		++	1.56		1.56
3	<i>Pseudomonas aerug.</i>	Sputum	+++		+++	1.56		1.56
4	<i>Pseudomonas aerug.</i>	Sputum	+++	after inhal. ++	after I. M. —	3.13	after inhal. 3.13	
5	<i>Pseudomonas aerug.</i>	Sputum	+++			1.56		

し、膿様部分を集めてパパイン液で消化後加熱滅菌し、これを試料として測定する三瀬博士<sup>9)</sup>の方法に従い、血清中濃度と同様に枯草菌を指示菌とする重層法によって定量した。

成績は Table 5 に示したように、DKB 筋注後の喀痰中濃度は低く、100 mg 注射後においても 1 mcg/ml に達していなかった。

#### 6. DKB 投与症例についての検討

私共は Table 6 に示した 5 症例に対して、DKB を投与し、その臨床効果を、症候的ならびに細菌学的に検討した。症例は何れも緑膿菌による呼吸器感染症で、内 2 例は陳旧性肺結核とこれに伴った気管支拡張症に緑膿菌感染を起こしたもので、他の 2 例は肺結核経過中に緑膿菌感染を来した混合感染例、および 1 例は気管支拡張症に認められた緑膿菌感染である。

DKB の投与は 50 mg 筋注 1 日 2 回を原則としたが、症例 1 では 10 日の経過を観察した後 100 mg 1 日 2 回に増量し、さらに 50 mg の蒸縮水溶液を 1 日 2 回に分けて吸入させる方法も用いた。また症例 4 では先ず吸入によって投与し、後筋注に変えた。投与日数は症例 1 の 34 日、症例 4 の 21 日の他は、10 日で打切つた。総量は 1g~4.3g となつている。

臨床症状の改善は 4 例にみられ、何れも咳および痰の減少を認めており、症例 4 では解熱を来した。症例 1 では 50 mg 筋注時には症状の改善がなく、100 mg に増量したが不変で、かえつて耳鳴を訴えたので、吸入を試み咳・痰の減少が見られた。しかし症例 4 では逆に吸入時には全く症状の改善を見ず、筋注に変更した後、咳・痰の減少と解熱を見ている。

喀痰からの緑膿菌の検出状況ならびにその DKB に対する感受性は、Table 6(b) に示したとおりで、2 例において菌消失を認めており、症例 1 では吸入後一時菌の消失をみたが 10 日後に再び検出され、その菌株は DKB の MIC が 6.25 mcg/ml と、投与前に比して上昇していた。他の 2 例では全く菌の減少は認められておらず、また MIC も不変であつた。

#### 7. 総括ならびに考察

DKB は KM 耐性のブドウ球菌だけでなく、緑膿菌に対してもすぐれた抗菌力を有することは、すでに発見の当初から梅沢博士によって強調されており、最近増加しつつある緑膿菌感染症の治療について、有力な武器を加えるものとして、注目されている。

私共の試験管内実験によつても、主として患者由来の緑膿菌 14 株のうち、1 株を除いて何れも 1.56~3.12 mcg/ml の DKB で、発育が阻止されており、これは従来から抗緑膿菌作用が強いとされている GM に比して、

全く遜色のない成績であつた。私共が検査に用いた菌株中の 1 株が、GM にも感受性が低く、また DKB にも 100 mcg/ml に耐性であつた事実は興味があり、今後本菌株の DKB に対する作用を検索したいと考えている。

DKB 筋注後の血清中濃度は 50 mg 注射後では約 6 mcg/ml、100 mg 注射後では 9 mcg/ml に達しており、これらは明らかに大多数の緑膿菌株に対する MIC を上廻つていた。また 100 mg 筋注によると、4 時間後にもなお MIC に匹敵する濃度を維持している。これらの血清を用い、患者由来の緑膿菌株に対する抗菌力を希釈法によつて検したところ、投与 1 時間後の血清では、4 倍希釈まで発育阻止を来し得ており、症例によつては 2 時間後にも同様の効果が認められた。これは各菌株に対する DKB の MIC から換算しても推測し得ることではあるが、同時に 8 倍または 16 倍希釈血清でも相当な程度に菌の増殖度を減少させている事実も知られ、DKB の筋注による緑膿菌感染症治療の有効性を予知し得たのである。

私共は DKB を患者に用いている間に、これを吸入によつて投与し、呼吸器の緑膿菌感染症を治療することを試みた。その際、吸入後の患者血清について、DKB の濃度を測定したところ、血清中濃度に較べて極めて低度で、MIC をはるかに下廻ることが知られた。

いづれも筋注後に患者喀痰中の DKB 濃度を追及したが、これも低濃度にとどまつており、1 mcg/ml に達するものがなく、他のアミノ配糖体系抗生物質と同様に、DKB もまた肺組織移行の低いことがうかがわれた。

私共が行ない得た DKB の臨床応用は、極めて少数例に過ぎないが、いずれも緑膿菌による呼吸器感染症であり、肺結核の陳旧化に伴なつている気管支拡張症、長期間の化学療法が施されている肺結核、ならびに気管支拡張症に、それぞれ緑膿菌が感染して症状を呈しているものであつた。これら 5 例のうち、4 例では咳・痰の減少などの症候的改善が見られたが、喀痰中緑膿菌の消失を来し得たものは 2 例に過ぎなかつた。

しかしすべての症例が、原疾患によつて気管支および肺実質に形態的变化を来しているものだけであることを考えると、DKB による化学療法が効果を示しにくかつたことも、やむを得ないかと考える。

また DKB をこのような呼吸器感染症に使用する方法についても、今後さらに検討を要すると考えられ、ことに用量に関して今後経験を加えたいと思うものである。すなわち筋注後の喀痰内移行の低度である点などを勘案すると、1 回の投与量を多くすることも試みるべきであり、既に報告されている本物質の毒性に関する動物実験の成績から見ても、不可能ではないと思える。

私共は2例について吸入による投与を試みたが、1例ではいつたん菌消失を見たものの、中止後に再排菌を認め、他の1例では全く無効で筋注に変換してから、菌消失を来し得ている。吸入によつては血清中DKB濃度上昇を認めないことを考え合せると、当然の成績とも思われ、たとえ呼吸器系の感染症であつても吸入は適当な投与方法ではないと考えている。

以上の私共の実験成績ならびに臨床観察結果から、DKBは緑膿菌感染症に用いる価値のある、新抗生物質と信じるものである。

#### 8. 摘要

私共はDKBの緑膿菌に対する抗菌性について、実験的ならびに臨床的検討を行なつた結果、下記のような成績を得た。

1) DKBの緑膿菌に対する試験管内抗菌力を、希釈寒天平板法を用いて検討した結果、14株の内1株を除いて、1.56~3.12 mcg/mlで発育阻止が認められ、この成績は同時に行なつたGMによる抗菌力とほぼ同程度、または多少上廻つていた。

2) DKB 50 mg および 100 mg 筋注後の血清中濃度は1時間後が最高で、それぞれ約6または9 mcg/mlに

達しており、1および2時間後血清は4倍希釈まで、緑膿菌の発育を阻止し、8または11倍希釈でも相当程度に発育を遅延させていた。しかしDKBの吸入では、ほとんど血清中DKB濃度は上昇しなかつた。

3) DKB筋注後の喀痰中濃度は低度で、ほとんどMICに達しなかつた。

4) 気管支拡張症、肺結核などに伴つた緑膿菌の気道感染症に対して、DKBを投与し、5例中2例に菌の消失を認め、これらを含む4例に臨床症状の改善を見た。副作用として、1例に耳鳴があつた。

DKBを吸入によつて投与したが、有効ではなかつた。

DKBの提供を受けた明治製菓株式会社に対して、謝意を表す。

本論文の要旨は、第20回日本化学療法学会東日本支部総会(昭和47年11月、仙台)にて発表した。

#### 引用文献

- 1) 梅沢浜夫：第18回日本医学会総会誌，p.7，東京，昭46
- 2) 日本化学療法学会効果判定基準研究会 MIC小委員会：Chemotherapy 16, 98, 1968
- 3) 三瀬貞博：Chemotherapy 14, 381, 1966

## SOME EXPERIMENTS AND CLINICAL EXPERIENCE WITH 3',4'-DIDEOXYKANAMYCIN B

YUZO KAWAMORI and NATSUO NISHIZAWA

Clinic of Internal Medicine, Senboku National Hospital

Laboratory and clinical investigations were performed on 3',4'-dideoxykanamycin B (abbr. DKB), and the results were obtained as follows.

(1) Thirteen strains among 14 of *Pseudomonas aeruginosa* were inhibited the growth by 1.56~3.12 mcg/ml of DKB.

(2) Fifty mg or 100 mg of DKB were injected intramuscularly once, and a peak of blood concentration was exhibited 1 hour after the administration, showing 6 or 9 mcg/ml respectively. The above serum after 1 and 2 hours. inhibited the growth of *Pseudomonas aeruginosa* till 4 fold dilution. The blood concentration rose scarcely by inhalation of 50 mg of DKB dissolved in 4 ml of distilled water.

(3) The concentration of DKB in sputum did not attain 1 mcg/ml both after 50 mg or 100 mg of the drug were injected intramuscularly.

(4) DKB was administered to 5 cases of respiratory tract infection due to *Pseudomonas aeruginosa* combined with bronchiectasis or pulmonary tuberculosis, and the bacteria disappeared in 2 cases, while the clinical symptoms improved in 4 cases including the above. No favorable effect was obtained by inhalation of DKB.

As the side effect with DKB, 1 case complained of a tinnitus.