

KW-1062 の抗菌作用と感染防禦能

勝亦瞭一・川辺晴英・倉茂達徳・三橋 進

群馬大学医学部微生物学教室

KW-1062 は協和醸酵工業株式会社で開発された *Micromonospora sagamiensis* var. *nonreducans* が生産する新しいアミノ配糖体系抗生物質である。本物質は gentamicin (GM) と類似した構造 (Fig.1) をもち、GM と同様に強い抗菌活性と広い抗菌スペクトルを有している¹⁻³⁾。今回、臨床分離株に対する抗菌活性、感染治療等の基礎的検討を行なったので報告する。

I. 実験材料および方法

1) 使用菌株：1970 年以降に分離された人病巣由来の *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Proteus* sp. の中から無作為的に選んで使用した。

2) 使用薬剤：KW-1062 は協和醸酵工業(株)から分与された粉末を用いた。また、対照薬剤として GM (gentamicin C complex), 3',4'-dideoxy-kanamycin B (DKB), kanamycin (KM) および一部に Amikacin (AMK) を使用した。

3) 薬剤感受性の測定：平板希釈法により測定した。被検菌のペプトン水 18 時間培養 100 倍希釈液 (菌数約 10^6 /ml) 1 白金耳を薬剤含有 Heart infusion (HI) 培地平板上に接種し、37°C 18 時間培養後、最小発育阻止濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$, MIC) を判定した。なお、*P. aeruginosa* の前培養には 1% KNO_3 を添加し、*S. pyogenes* の培

地は前培養、平板ともに Brain heart infusion (BHI) を使用した。

4) 抗菌機作の検索：Broth dilution method により Minimal bactericidal concentration (MBC) を MIC と比較した。被検菌のペプトン水 18 時間培養 100 倍希釈液 1 白金耳を 2 倍希釈系列薬剤含有 0.5ml BHI broth に接種 (約 10^4 /ml) し、37°C 18 時間培養後、肉眼観察で生育の認められない最小濃度を MIC とした。さらに、MIC 以上の高濃度の broth 各 0.01 ml を HI 平板に塗布し、37°C 18 時間培養後、平板上で生育のまったく認められない最小濃度を MBC とした。

なお、殺菌曲線は BHI broth にて 37°C 振盪培養を行ない、経時的な生菌数測定により調べた。

5) 感染治療試験：動物は 4~5 週齢、 19 ± 1 g の ICR 系マウスの雌雄を各薬剤濃度に対し 1 群 10~25 匹を用い、感染方法は生食水に適当な濃度に浮遊させた菌液 0.1 ml を腹腔内に接種した。治療は菌接種 1 時間後に 1 回、生食水に溶解した薬剤を 0.2 ml ずつ皮下注して

Fig. 1 Chemical structure of KW-1062

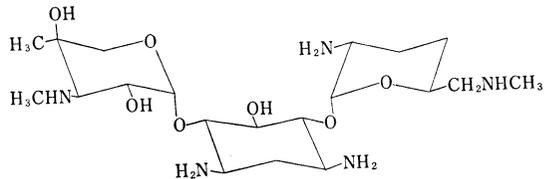
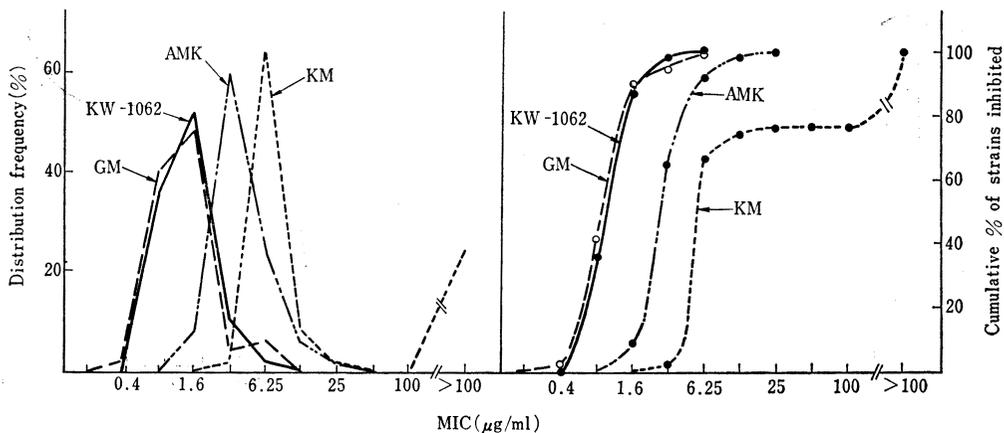
Fig. 2 Antibacterial activity of KW-1062 against *E. coli* (50 strains)

Fig. 3 Antibacterial activity of KW-1062 against *P. aeruginosa* (200 strains)

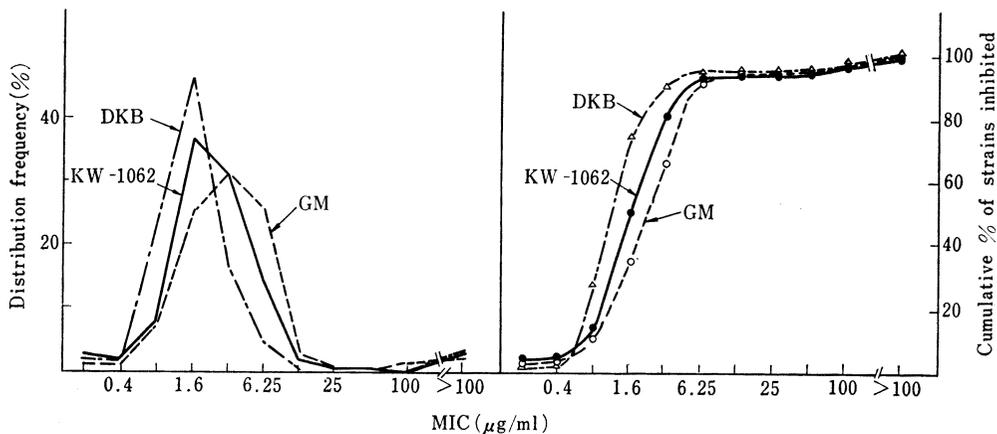


Fig. 4 Correlogram of MICs against 200 *P. aeruginosa* strains between KW-1062 and GM

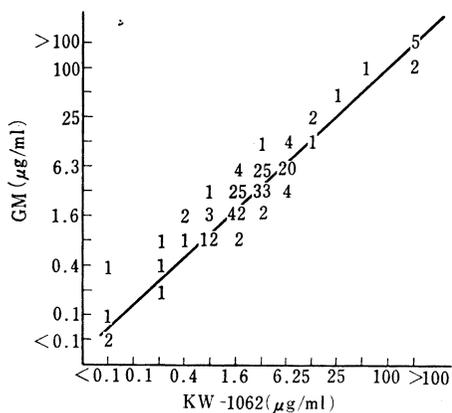


Fig. 5 Correlogram of MICs against 200 *P. aeruginosa* strains between KW-1062 and DKB

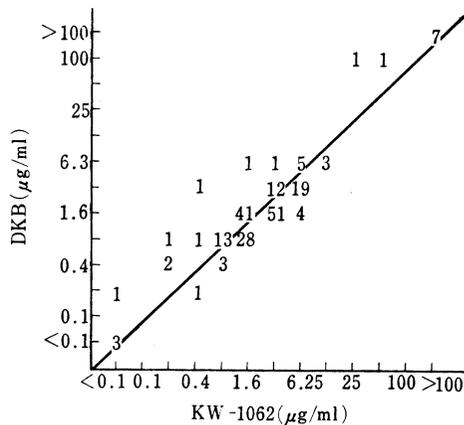


Fig. 6 Antibacterial activity of KW-1062 against *S. marcescens* and *K. pneumoniae*

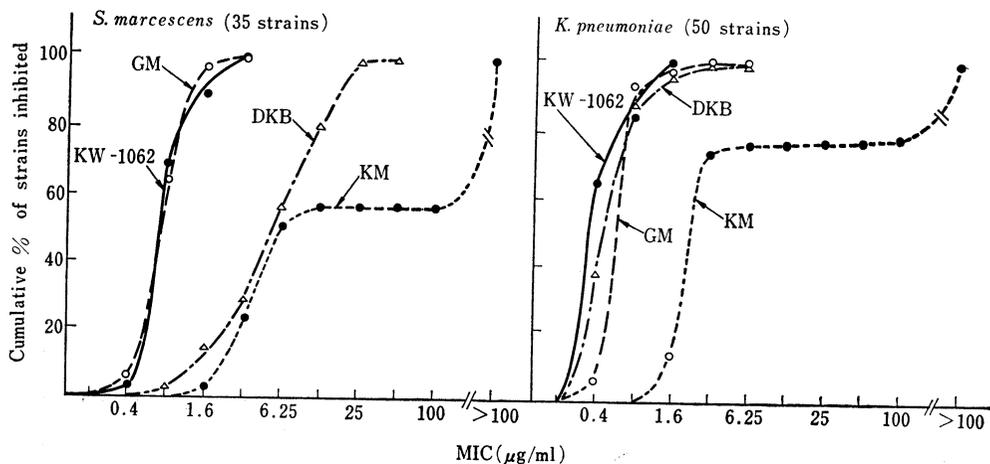


Fig. 7 Antibacterial activity of KW-1062 against *Proteus* sp.

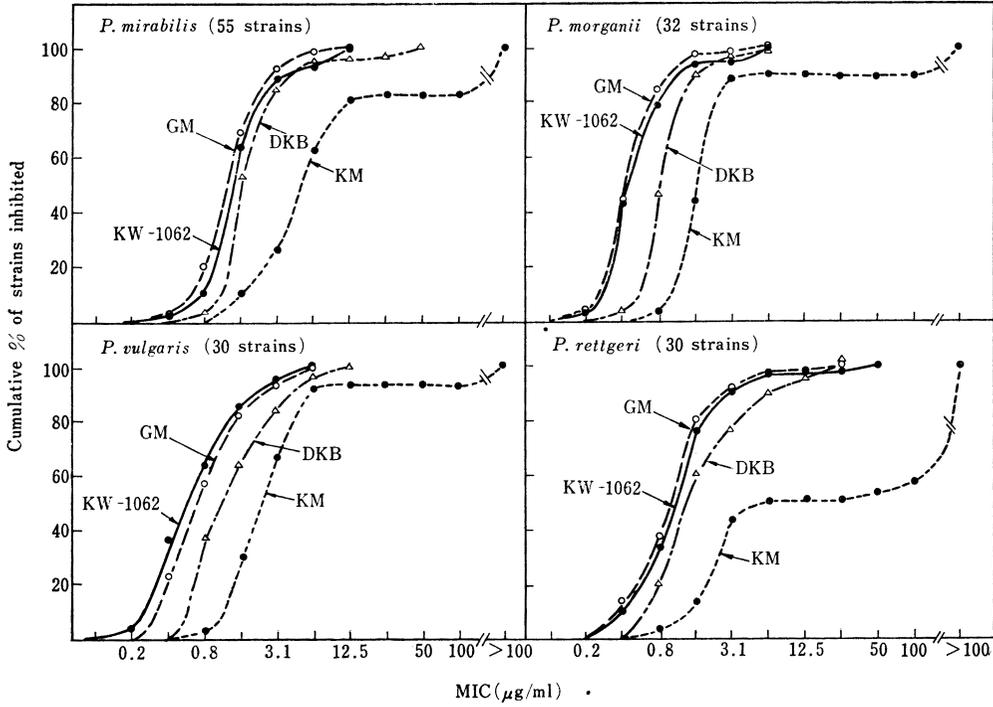


Fig. 8 Antibacterial activity of KW-1062 against Gram-positive cocci

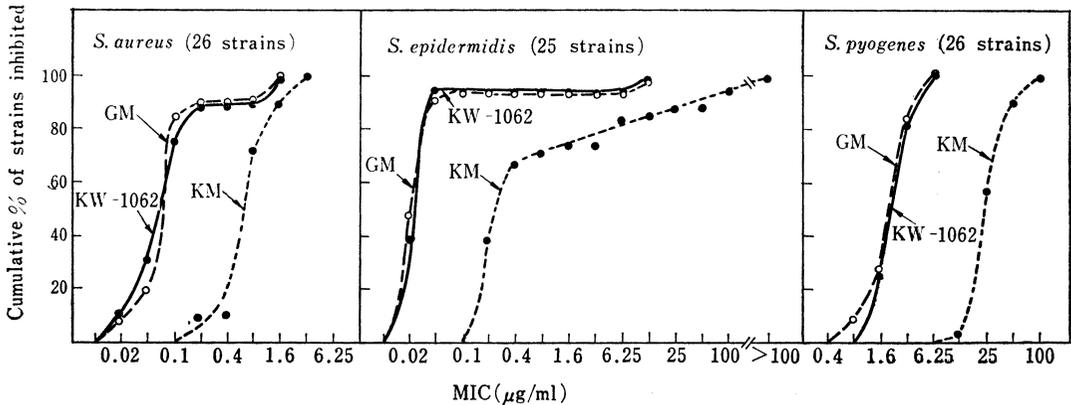


Fig. 9 Comparison of MIC and MBC of KW-1062 and GM against 20 *E. coli* strains

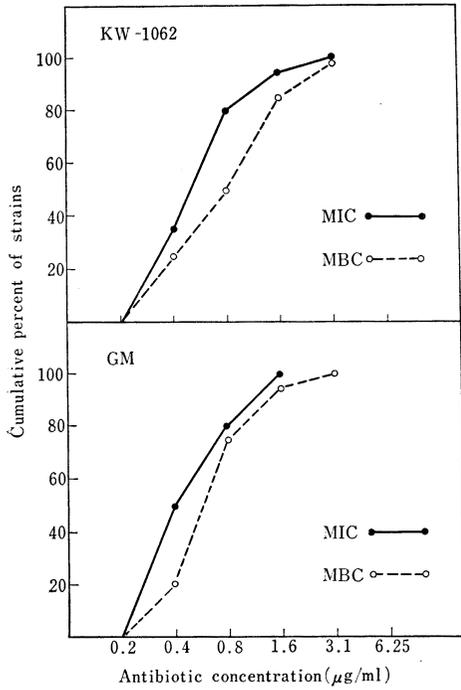


Fig. 10 Comparison of MIC and MBC of KW-1062 and GM against 20 *P. aeruginosa* strains

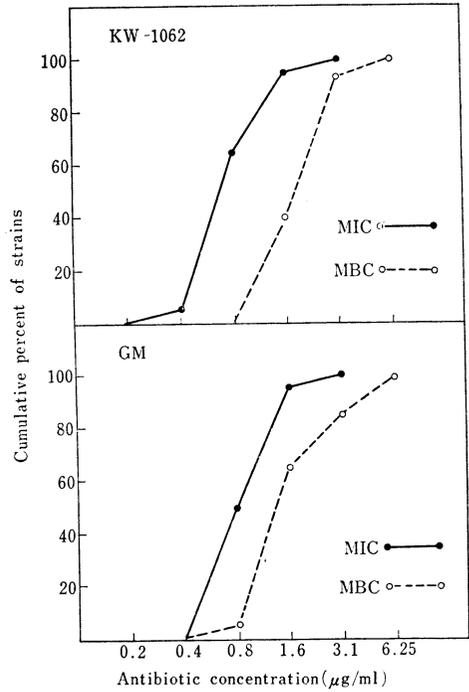


Fig. 11 Bactericidal activity of KW-1062 and GM against *E. coli* K-16

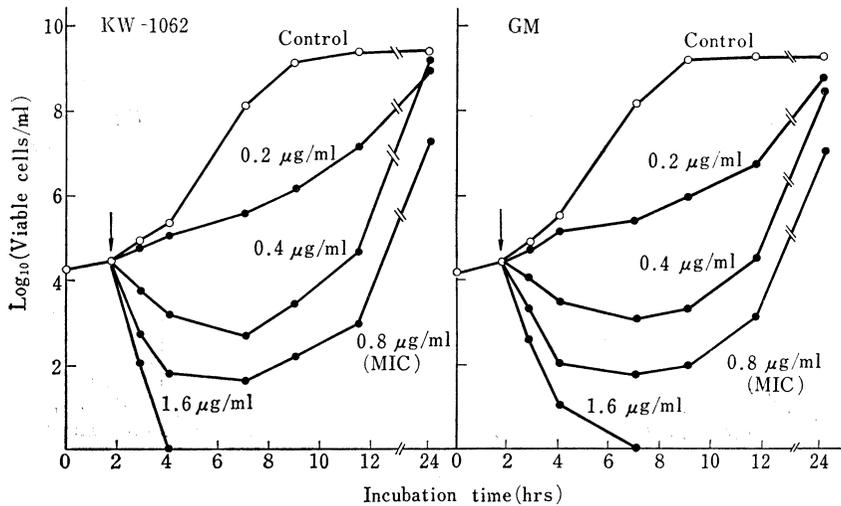
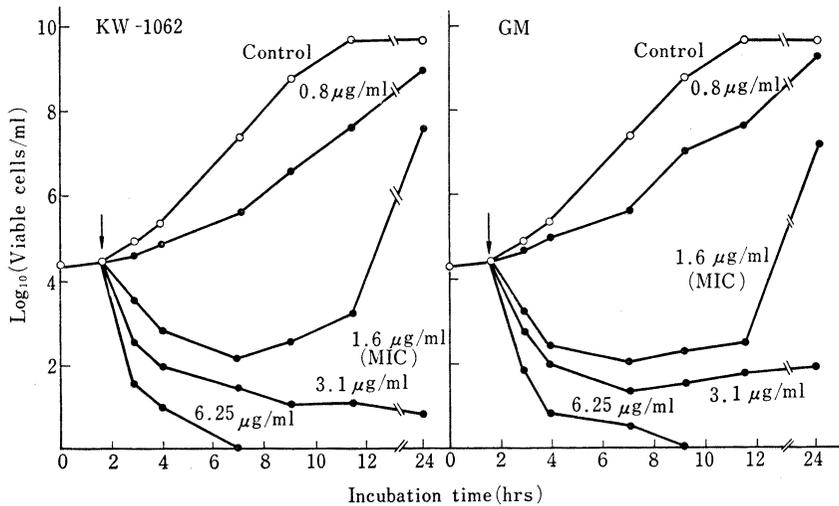


Fig. 12 Bactericidal activity of KW-1062 and GM against *P. aeruginosa* Nc-5Table 1 *In vivo* antibacterial activities of KW-1062, GM and DKB against experimental infections of mice

Test strain*	KW-1062		GM		DKB	
	ED ₅₀ (mg/kg)	MIC(µg/ml)**	ED ₅₀ (mg/kg)	MIC(µg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)	MIC(µg/ml)
<i>E. coli</i> K-16	0.98 (0.65—1.31)**	0.8	0.98 (0.75—1.21)	0.8	2.11 (1.82—2.39)	1.6
<i>P. aeruginosa</i> Nc-5	18.65 (13.25—24.55)	1.6	25.20 (20.10—30.35)	1.6	5.55 (5.10—6.05)	0.8

* Inoculum size : *E. coli* K-16, 3×10^8 ($6 \times LD_{50}$) *P. aeruginosa* Nc-5, 2×10^7 ($80 \times LD_{50}$)

** Confidence limit (95%)

*** Agar dilution method

行なった。2倍希釈系列ないしその間の濃度もとった数段階の投与により、7日後の生存率からプロビット法によってED₅₀とその信頼限界(95%)を算出し評価した。

II. 実験成績

1. 臨床分離株に対する *in vitro* 抗菌活性
グラム陰性桿菌は8菌種について調べた。

E. coli に対する感受性分布は Fig. 2 に示したとおり、いずれも1峰性のピークがみられ、KW-1062は52%が1.6 µg/mlのMICを示した。菌発育阻止の累積度数分布で明らかなようにKW-1062はGMと同等でAMK, KMより強い抗菌力を示した。なお、KMのみ>100 µg/mlの耐性株が24%存在した。

P. aeruginosa 200株に対してはKW-1062, GM, DKBとも主峰の他に>100 µg/mlのMICを示す耐性株が3.5%存在した。90%を阻止するのにKW-1062, GMは6.25 µg/ml, DKBは3.1 µg/mlであった(Fig. 3)。

なお、KW-1062はGMおよびDKBとの間で高度耐性株まで含めてMIC分布においてはほぼ完全な相関性が認められた(Fig. 4, 5)。

S. marcescens, *K. pneumoniae*の累積分布をFig. 6に示した。*S. marcescens*においてKW-1062, GMとも3.1 µg/mlで100%阻止したが同一濃度でのDKB, KMの阻害は各々27%, 23%であった。また、KMにのみ>100 µg/mlの耐性株が44%あった。*K. pneumoniae*に対してはKW-1062, GM, DKBとも1.6 µg/mlではほぼ100%阻止した。この場合もKMで>100 µg/mlの耐性株が22%みられた。

Proteus 属菌種に対しては4菌種(*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. morganii*, *P. rettgeri*)ともKW-1062, GM, DKBのMIC分布の最も大きい薬剤濃度は0.4~1.6 µg/mlにみられ、総じて抗菌活性の強さはKW-1062=GM>DKB>KMであった(Fig. 7)。

グラム陽性球菌は *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S.*

pyogenes について調べた。これらの MIC の累積分布を Fig. 8 に示した。*S. aureus* では KW-1062, GM とともに 0.2 $\mu\text{g/ml}$ で 90% を阻止し, 1.6 $\mu\text{g/ml}$ で 100% 阻止した。*S. epidermidis* では KW-1062, GM は 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で 90% 以上を阻止し, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で 100% 阻止した。*S. pyogenes* においても KW-1062, GM と同等で, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で 100% 阻止した。これら 3 菌種に対して KM の抗菌活性は KW-1062 および GM より約 3 段階弱かった。

2. 抗菌機作

臨床分離の *E. coli* および *P. aeruginosa* 各 20 株を用いて KW-1062 の抗菌機作を検索すべく, Broth dilution method で GM を対照として MBC と MIC を比較した (Fig. 9, 10)。KW-1062 は GM とほとんど同じ様相を示した。*E. coli* に対しては MBC は MIC と 1 段とは違わないわずかに高い値を示し, *P. aeruginosa* に対しては MIC より 1 段高い値を与えた。さらに, 生育抑制の様相を明らかにするため, *E. coli* K-16 および *P. aeruginosa* Nc-5 について KW-1062, GM 存在下での増殖を調べた。Fig. 11, 12 に示すように両菌株とも KW-1062 の 2 倍の MIC 濃度で経時的に生菌数の減少がみられ, 24 時間以内では再増殖は認められなかった。GM でもほぼ同様の結果であった。

3. 感染治療試験

E. coli K-16 および *P. aeruginosa* Nc-5 の実験的感染症に対する KW-1062 の治療効果を GM, DKB と比較検討した。Table 1 に示したように, KW-1062 は *E. coli* K-16 感染症に対して GM と同一の ED₅₀ 値 0.98 mg/kg を与え DKB より有効であった。一方, *P. aeruginosa* Nc-5 感染症に対しては KW-1062 は ED₅₀ 18.7 mg/kg で GM より若干優れていたが ED₅₀ 5.6 mg/kg の DKB よりやや劣っていた。

III. 総括および考察

KW-1062 はグラム陽性球菌中, *S. aureus*, *S. epidermidis* に GM と同等の強い抗菌力を示した。一般にアミノ配糖体系抗生物質は抗菌力が弱いことが知られる。*S. pyogenes* に対しても KW-1062 は GM と同等の強い抗菌活性を示した。グラム陰性腸内細菌に対しては抗菌活性の強さは総じて KW-1062 = GM > DKB > KM であり, この中で, KM の高度耐性菌は高頻度で存在するものの, 我々の検索した範囲では GM, DKB とともに KW-1062 の耐性菌は認められなかった。しかし, *P. aeruginosa* に対しては KW-1062 は GM と同等ないしはやや優れているが DKB よりやや劣っていた。また, 低頻度でみられる高度耐性株を含めて試験した *P.*

aeruginosa 200 株において KW-1062, GM および DKB の間ではほぼ完全な交叉耐性が認められた。KW-1062 の抗菌機作は GM と同様, MBC と MIC の差がわずかであることから殺菌的作用に基づくと思われる。

E. coli および *P. aeruginosa* の *in vivo* における感染治療試験の結果は *in vitro* の抗菌活性と一致していた。すなわち, *E. coli* に対しては KW-1062 は GM と同等で DKB より明らかに優れているが, *P. aeruginosa* については GM よりやや有効なもの DKB より劣っていた。

IV. 結 論

種々の病原細菌に対する KW-1062 の *in vitro* 抗菌作用及び感染防禦能を検討した。

(1) *E. coli*, *S. marcescens*, *K. pneumoniae*, *Proteus* に対する KW-1062 の抗菌活性は総じて DKB, KM より強く GM と同等であった。

(2) *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes* 等のグラム陽性球菌に対しても KW-1062 は GM と同等の抗菌活性を示した。

(3) *P. aeruginosa* に対しては KW-1062 は GM と同等ないしはやや優れているが DKB より若干劣っていた。また, KW-1062 は GM 及び DKB との間ではほぼ完全な交叉耐性が認められた。

(4) KW-1062 の抗菌機作は殺菌的作用に基づくと考えられた。

(5) *E. coli* 感染症に対して KW-1062 は GM と同等で DKB より優れた治療効果を示した。*P. aeruginosa* 感染症に対しては KW-1062 は GM よりやや有効であったが DKB よりやや劣っていた。

文 献

- 1) OKACHI, R.; I. KAWAMOTO, S. TAKASAWA, M. YAMAMOTO, S. SATO, T. SATO & T. NARA: A new antibiotic XK-62-2. I. Isolation, physicochemical and antimicrobial properties. J. Antibiotics 27: 793~800, 1974
- 2) NARA, T.; I. KAWAMOTO, R. OKACHI, S. TAKASAWA, M. YAMAMOTO, S. SATO, T. SATO & A. MORIKAWA: New antibiotic XK-62-2 (sagamicin). II. Taxonomy of the producing organism, fermentative production and characterization of sagamicin. J. Antibiotics 28: 21~28, 1975
- 3) EGAN, R. S.; R. L. DEVAULT, S. L. MUELLER, M. I. LEVENBERG, A. C. SINCLAIR & R. S. STANASZEK: A new antibiotic XK-62-2 III. The structure of XK-62-2, a new gentamicin C complex antibiotic. J. Antibiotics 28: 29~34, 1975

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND THERAPEUTIC EFFECT OF KW-1062

RYOICHI KATSUMATA, HARUHIDE KAWABE, SATONORI KURASHIGE
and SUSUMU MITSUHASHI

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

In vitro and *in vivo* antibacterial activities of KW-1062, a new aminoglycoside antibiotic, were examined using various species of bacterial strains isolated from clinical specimens. The results are summarized as follows:

- (1) The MIC levels of KW-1062 against *E. coli*, *S. marcescens*, *K. pneumoniae* and *Proteus* sp. were almost the same as those of GM and much lower than those of DKB and KM.
- (2) The MIC levels of KW-1062 against gram-positive bacteria, including *S. aureus*, *S. epidermidis* and *S. pyogenes*, were almost the same as those of GM.
- (3) The MIC levels of KW-1062 against *P. aeruginosa* were the same or less than those of GM, and slightly higher than those of DKB. Cross resistances among these three drugs were found to be well correlated.
- (4) The mode of action of KW-1062 was considered to be bactericidal.
- (5) Therapeutic effect of KW-1062 against experimental infection of mice with *E. coli* was nearly the same as that of GM and more active than that of DKB. However, *in vivo* antibacterial activity of KW-1062 against *P. aeruginosa* infection was slightly lower than that of DKB but slightly higher than that of GM.