

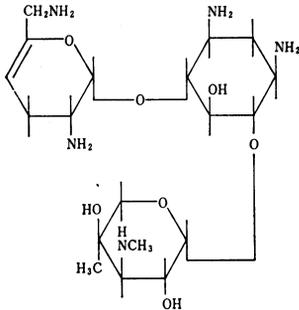
新しいアミノ配糖体抗生物質 Sisomicin に関する細菌学的評価

大槻雅子・山岸純一・西野武志・故中沢昭三

京都薬科大学 微生物学教室

Sisomicin は、放線菌 *Micromonospora inyonensis* の産生する新しいアミノ配糖体系抗生物質で分子式 $C_{19}H_{37}N_5O_7$ 、化学名 0-2, 6-diamino-2, 3, 4, 6-tetradeoxy-2-D-glycero-hex-4-enopyranosyl-(1→4)-O-[3-deoxy-4-C-methyl-3-(methylamino)-β-L-arabinopyranosyl-(1→6)]-2-deoxy-D-streptomine, 分子量447.5の水に易溶な粉末である^{1,2)}。Sisomicin の化学構造式は Fig. 1 に示すとおりで Gentamicin C_{1a} に類似している^{3,4)}。

Fig. 1 Chemical structure of Sisomicin



本剤は Gentamicin 同様幅広い抗菌スペクトルを有し、*Pseudomonas aeruginosa* に対しては Gentamicin より強い抗菌力を有し、*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* に対する殺菌率は Gentamicin, Tobramycin より優れていると報告されている^{5,6,7,8,9)}。

今回、私どもは Gentamicin¹⁰⁾ を比較薬剤とし Sisomicin に関する細菌学的評価について検討を行ない、2, 3 の知見を得たので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1) 使用菌株

教室保存のグラム陽性菌20株、グラム陰性菌28株および臨床材料から分離された *Staphylococcus aureus* 53株、*Escherichia coli* 65株、*Klebsiella pneumoniae* 41株、*Enterobacter* 13株、*Serratia marcescens* 112株、*Proteus vulgaris* 29株、*Proteus mirabilis* 23株、*Proteus morgani* 27株、*Proteus rettgeri* 13株、*Pseudomonas aeruginosa* 82株を使用した。

2) 使用薬剤

Sisomicin, Gentamicin (GM) を主に、その他 Streptomycin (SM), Kanamycin (KM), Lividomycin (LVDM), Dibekacin (DKB), Tobramycin (TOB), Amikacin (AMK) のいずれも力価の明らかなものを用いた。

3) 感受性測定法

3) 感受性測定法

前培養に Tryptosoy broth (TSB, ニッスイ) 測定用培地に Heart infusion agar (HIA, ニッスイ) を用いて、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に従い 37°C 20時間培養後の MIC (μg/ml) で求めた。なお、*Streptococcus* 属、*Corynebacterium diphtheriae* については10%馬脱繊維血液加 Heart infusion agar を用い 37°C 20時間培養後の MIC を *Neisseria* については Gonococcus medium (栄研)、*Clostridium* には Thioglycolate medium (ニッスイ) を用い 37°C 48時間培養後の MIC を求めた。

4) 殺菌作用

Heart infusion broth (HIB, ニッスイ) で 37°C 20時間培養した *Pseudomonas aeruginosa* No. 12 株の菌液を Heart infusion broth で希釈、菌数が 10⁶ cells/ml と 10⁸ cells/ml になるまで更に培養を続け、10⁶ cells/ml に達した時には Sisomicin, GM をそれぞれ 0.19, 0.39, 0.78, 1.56 μg/ml 作用、10⁸ cells/ml に達した時には 0.39, 0.78, 1.56, 3.13 μg/ml 作用させ、作用後6時間までの生菌数を経時的に測定した。

5) 電子顕微鏡による観察

TSB で培養を行なった *Pseudomonas aeruginosa* No. 12 の菌液を1%の割合に HIB に接種し、37°C で振とう培養を行なった。対数期途上の 10⁸ cells/ml で薬剤を作用させ1, 2, 4時間後に生菌数を測定すると同時に菌体を集菌し、電子顕微鏡の試料とした。すなわち KELENBERGER らの方法¹¹⁾ に従い1% OsO₄ で固定後、エタノール系列で脱水を行い、走査電子顕微鏡用試料作製の場合には酢酸イソアミルに置換後、臨界点乾燥装置 JCFD-3 (JEOL, LTD.) を用いて乾燥した^{12,13)}。その後カーボン、金で蒸着を行い、走査電子顕微鏡 JSM-35 (JEOL, LTD.) を使用し、菌体の表面構造を観察した。超薄切片による透過型電子顕微鏡用試料作製の場合には、脱水後、Luft の方法¹⁴⁾ により Epoxy 樹脂に包埋

し、LKB ultramicrotome 4801 A を用いて切片を作製した。これを酢酸ウラニール、クエン酸鉛で二重染色¹⁵⁾を行ない透過型電子顕微鏡 Akashi S-500 で観察した。

6) マウス実験的感染症に対する治療効果

ddYS ♀マウス (体重 17±1g) 1群10匹を用い Gastric mucin と等量混合した菌液を 0.5 ml マウス腹腔内に接種し、2時間後に1回 Sisomicin, GM で皮下治療を行なった。5日間マウスの生死を観察し、5日目の生存率より ED₅₀ を求めた。なお、治療薬剤の投与回数および投与間隔を種々組み合せた場合の治療効果については菌接種後2時間目1回の治療を投与回数1、投与間隔0とし、その後投与間隔を3、6時間、投与回数を2、4回として検討を行なった。

a) *Escherichia coli* No. 29 感染症

臨床分離の *Escherichia coli* No. 29 を Nutrient broth (NB, ニッスイ) で 37°C 14時間振とう培養後 NB で希釈し、4% gastric mucin (control No. 5844 Nutritional Biochemicals Corp.: NBC) と等量混合した。この菌液 1000 LD₅₀ (1.4×10⁸ cells/mouse) をマウス腹腔内に接種した。

b) *Serratia marcescens* T-55 感染症

臨床分離の *Serratia marcescens* T-55 を上記 a) と同様の方法で調製し、1000 LD₅₀ (1.9×10⁸ cells/mouse) をマウス腹腔内に接種した。

c) *Pseudomonas aeruginosa* E-2 感染症

臨床分離の *Pseudomonas aeruginosa* E-2 を HIB で 37°C 12時間振とう培養し、これを HIB で希釈後、4% gastric mucin (NBC) と等量混合し、1000 LD₅₀ (2.8×10⁸ cells/mouse) をマウス腹腔内に接種した。

d) 接種菌量の影響

臨床分離 *Pseudomonas aeruginosa* E 2 を上記 c) と同様の方法で培養し、マウス当り最終菌量が 2.8×10⁸, 2.8×10⁶ cells/mouse となるように HIB で希釈後4% gastric mucin (NBC) と等量混合し、マウス腹腔内に接種した。

e) ムチンの影響

臨床分離 *Pseudomonas aeruginosa* E-2 を上記 c) と同様の方法で調製し、6% gastric mucin (Type W-1701 Wilson: Wilson) と等量混合後 500 LD₅₀ (8.3×10² cell/mouse) をマウス腹腔内に接種した。

f) 投与間隔と投与回数

臨床分離 *Pseudomonas aeruginosa* E-2 を HIB に10%の割合に接種し、37°C で2時間振とう培養後、これを HIB で希釈、6% gastric mucin (Wilson) と等量混合した。この 500 LD₅₀ (1.1×10⁸ cells/mouse) をマウス腹腔内に接種した。

II. 実験結果および考察

1) 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性および陰性菌群に対する試験管内抗菌力について検討した結果は Table 1, 2 に示すとおりである。すなわち、Sisomicin は GM 同様グラム陽性菌、陰性菌に広い抗菌スペクトラムを有している。その抗菌力を比較すると、*Staphylococcus* では Sisomicin は 0.022~0.39 μg/ml, GM では 0.045~0.39 μg/ml に感受性を示し、*Penicillin* 耐性ブドウ球菌も感受性であった。*Streptococcus faecalis* および *viridans* には Sisomicin は >100, GM は 25 μg/ml と感性を示さなかった。一方、グラム陰性菌では *Neisseria*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa* のいずれの菌も、両剤には 0.39~3.13 μg/ml に感受性を示した。以上のことより Sisomicin は GM とほぼ同等の抗菌力を有しており、グラム陽性菌、陰性菌に有効であるが、両剤ともグラム陰性菌に対する作用の方が優れているように思われる。

Table 1 Antibacterial spectrum
Gram-positive bacteria

Test strain	Sisomicin	GM
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.022	0.045
" Smith	0.19	0.19
" Terajima	0.045	0.045
" Neumann	0.39	0.19
" E-46	0.39	0.39
" No. 80(PC-R)	0.19	0.19
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.09	0.09
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	3.13	3.13
" Cook	6.25	6.25
<i>Streptococcus faecalis</i>	>100	25
<i>Streptococcus viridans</i>	>100	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I	12.5	12.5
" type II	12.5	12.5
" type III	12.5	12.5
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	1.56	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.09	0.09
<i>Bacillus anthracis</i>	0.19	0.19
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.39	0.39
<i>Clostridium tetani</i>	12.5	25
<i>Clostridium perfringens</i>	6.25	12.5

MIC (μg/ml)

Fig. 4 Cross sensitivity of Sisomicin and GM
Staph. aureus 53 strains
(10⁸ cells/ml)

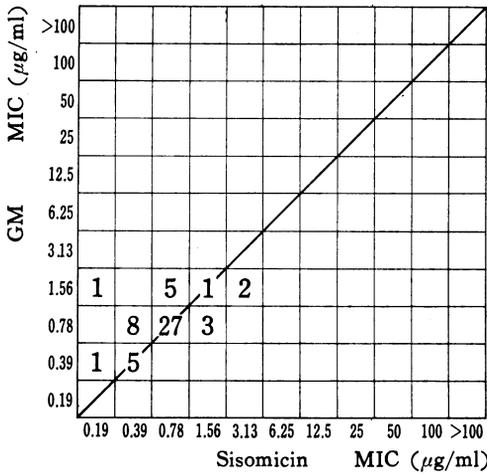
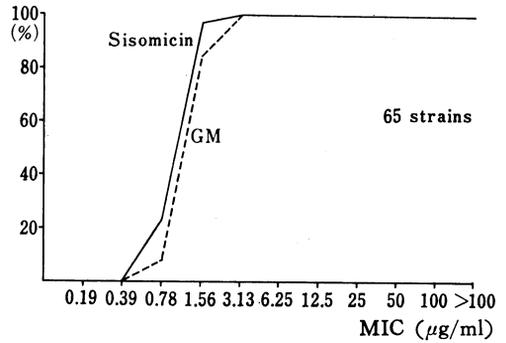


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates
E. coli (10⁸ cells/ml)



クは 1.56 μg/ml に存在し、両剤間の差は認められなかった。また Fig. 7 に示すように両剤間に相関関係が認められた。

感受性相関は Fig. 4 に示すとおりで、Sisomicin, GM 間に相関関係が認められた。

Escherichia coli 65株の場合は Table 4, Fig. 5, 6 に示すとおりで、10⁸ cells/ml 接種時の感受性分布のピー

Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates
E. coli (10⁸ cells/ml)

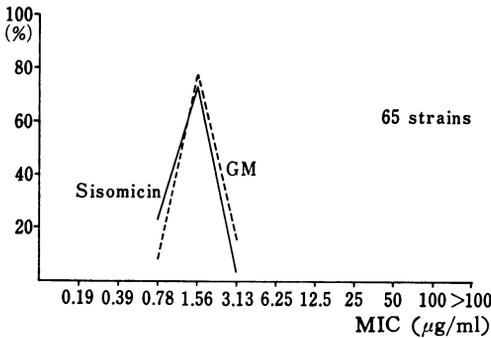


Fig. 7 Cross sensitivity of Sisomicin and GM
E. coli 65 strains
(10⁸ cells/ml)

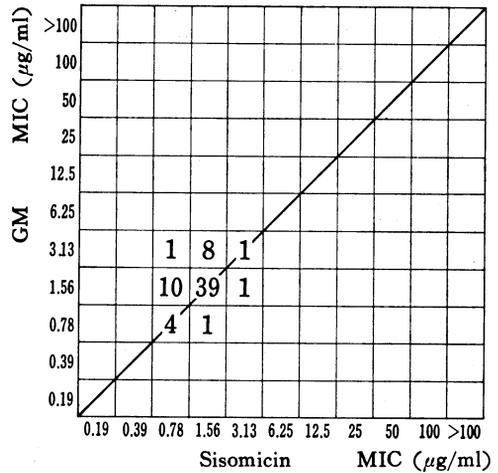


Table 4 Sensitivity distribution of clinical isolates
E. coli

Inoculum size	Drug	MIC (μg/ml)										Total strains
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	
10 ⁸ cells/ml	Sisomicin			15	48	2						65
	GM			5	50	10						65
10 ⁶ cells/ml	Sisomicin	1	8	52	3	1						65
	GM		7	51	6	1						65

た。相関関係は Fig. 13 に示すようにやはり Sisomicin, GM 間に相関性が認められた。

Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobacter group* (10^8 cells/ml)

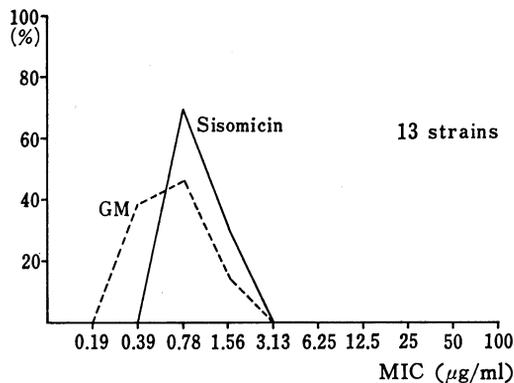


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobacter group* (10^8 cells/ml)

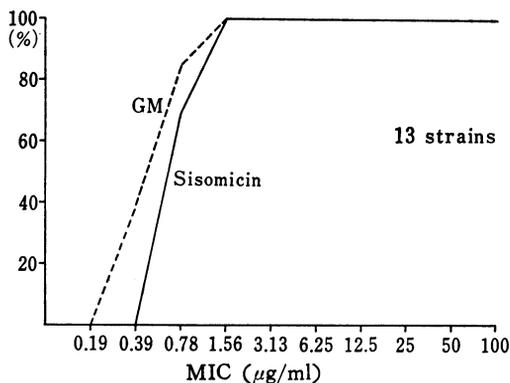
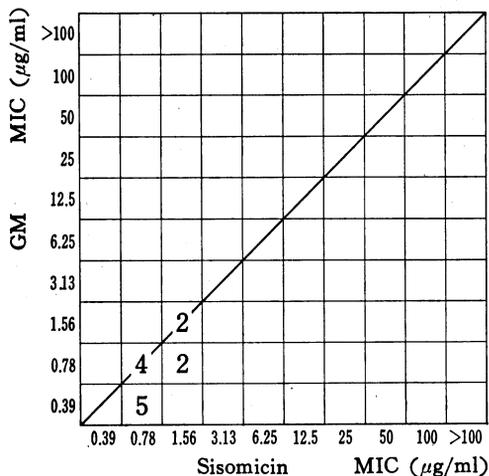


Fig. 13 Cross sensitivity of Sisomicin and GM *Enterobacter group* 13 strains (10^8 cells/ml)



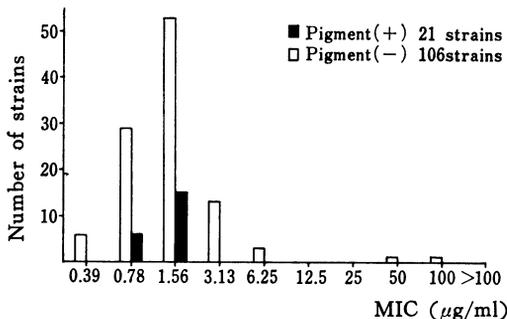
Serratia marcescens 112株の場合は Table 7, 8, Fig. 14~17 に示した。 10^8 cells/ml 接種時についてみると、GM のピークは $1.56 \mu\text{g/ml}$ 、Sisomicin は $1.56\sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ で、他の Aminoglycoside 剤と比較した成績は Fig. 16 である。*Serratia marcescens* に対する Aminoglycoside 剤の抗菌作用についてはすでに報告している¹⁶⁾が、私どもはその感受性型式から Aminoglycoside 剤を3つの Type (GM type, DKB type, SM type) に分類した。Sisomicin は、GM type に属し、*Serratia marcescens* に対しては有効な Aminoglycoside 剤であると思われる。しかし、これら112株の中には GM に100又は $50 \mu\text{g/ml}$ を示す GM 耐性菌が2株認められ、この2株は、GM 同様 Sisomicin にも100又は 50

Table 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia marcescens* (10^8 cells/ml)

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total strains
	≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
Sisomicin		17	15	34	34	4	4	1	2	1		112
GM		6	35	68	13	3		1	1			127
DKB		1	15	6	16	35	40	6	4	2	2	127
TOB		2	14	15	27	42	16	7	2	2		127
AMK			4	41	41	30	9	1		1		127
SM				15	37	19	5	2	10	11	28	127
KM			4	30	46	10	7		1	2	27	127
LVDM				8	47	38	7	2			25	127

を示す菌は色素非産生株であった。また、Fig. 19, 20は菌株の由来と感受性について検討したもので、この表から判るように Sisomicin, GM 耐性株は、尿路由来株であった。現在 *Serratia* 感染症には Aminoglycoside 剤が多く使用されているが、これらの薬剤に耐性を示す株は、尿路由来、色素非産生株であり、これら耐性菌の出現に注意を払うべきであると考えられる。

Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates Gentamicin (GM)



Proteus group 92株 (indole 陽性65株, indole 陰性27株) の場合の成績を Table 9~12, Fig. 21~23 に示した。indole 陽性, 陰性菌を合わせた場合には Fig. 21, 22 のように Sisomicin は0.78と 6.25 µg/ml にピークを有する2峰性の分布を示した。しかし、GM との間に

Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates Sisomicin

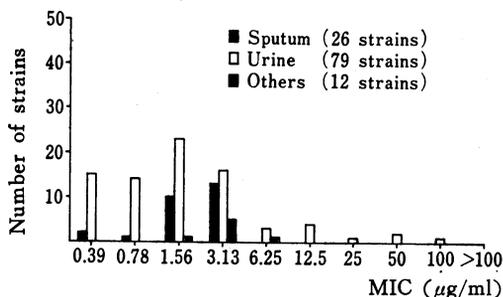
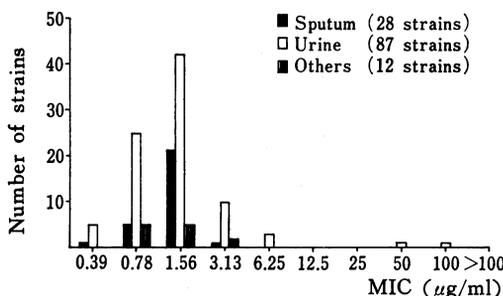


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates Gentamicin (GM)



差は認められなかった。また、両剤間に相関性が認められた。

Table 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris*

Inoculum size	Drug	MIC (µg/ml)										Total strains
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	
10 ⁸ cells/ml	Sisomicin		1	3	1	9	11	2		2		29
	GM		1		3	7	15	1	1	1		29
10 ⁶ cells/ml	Sisomicin	5	7	5	6	5	1					29
	GM	3	9	5	6	3	3					29

Table 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis*

Inoculum size	Drug	MIC (µg/ml)										Total strains	
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100		
10 ⁸ cells/ml	Sisomicin					5	17				1		23
	GM				1	4	17	1					23
10 ⁶ cells/ml	Sisomicin	1	5	5	8	3	1						23
	GM		3	6	13		1						23

Table 11 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus morganii

Inoculum size	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										Total strains
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	
10^8 cells/ml	Sisomicin		2	17	6	2						27
	GM		1	15	10	1						27
10^6 cells/ml	Sisomicin	1	13	7	5	1						27
	GM	1	18	6	1	1						27

Table 12 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus rettgeri

Inoculum size	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										Total strains
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	
10^8 cells/ml	Sisomicin		1	5		4	1		2			13
	GM		1	3	3	3	1		2			13
10^6 cells/ml	Sisomicin	5	4		3			1				13
	GM	2	7	1	1	1		1				13

Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus group (10^8 cells/ml)

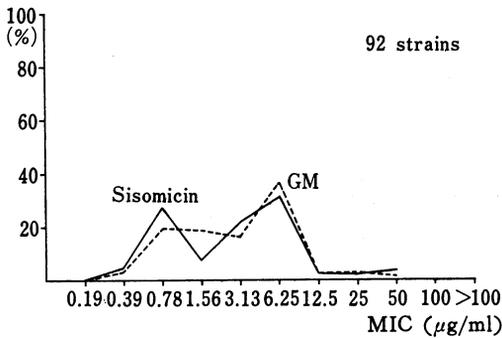


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus group (10^8 cells/ml)

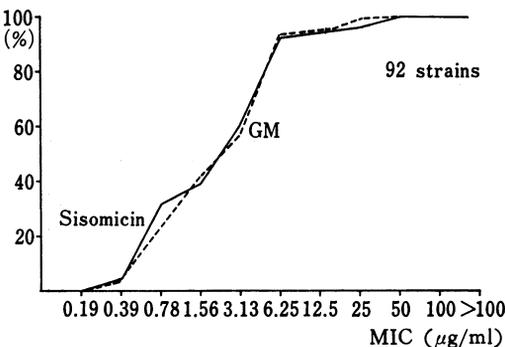
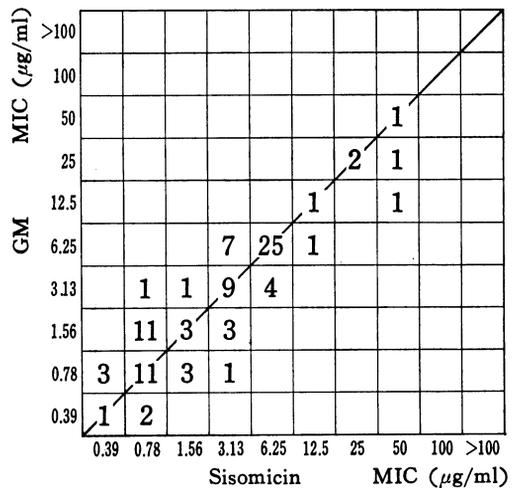


Fig. 23 Cross sensitivity of Sisomicin and GM
Proteus group 92 strains (10^8 cells/ml)



Pseudomonas aeruginosa 82株の場合は Table 13, Fig. 24~27 に示した。 10^8 cells/ml 接種では Sisomicin は $3.13 \mu\text{g/ml}$, GM は $6.25 \mu\text{g/ml}$ に、 10^6 cells/ml 接種では Sisomicin は $1.56 \mu\text{g/ml}$, GM $3.13 \mu\text{g/ml}$ に感受性のピークを有し Sisomicin の方が良好な成績を示した。感受性相関は Fig. 28 に示すように、GM 耐性株

Table 13 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa

Inoculum size	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total strains
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
10 ⁸ cells/ml	Sisomicin		1		12	44	20	1				4	82
	GM			1	2	11	38	24	2			4	82
10 ⁶ cells/ml	Sisomicin	1	2	7	52	14	2				1	3	82
	GM		1		14	47	14	2				4	82

Fig. 24 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa (10⁸ cells/ml)

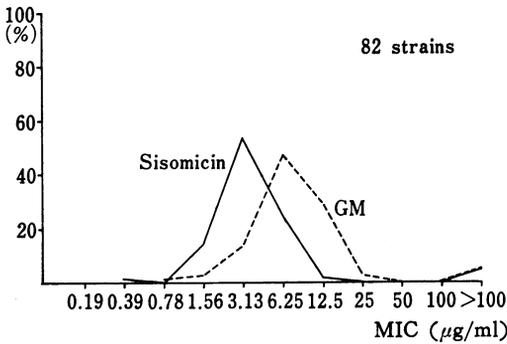


Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa (10⁸ cells/ml)

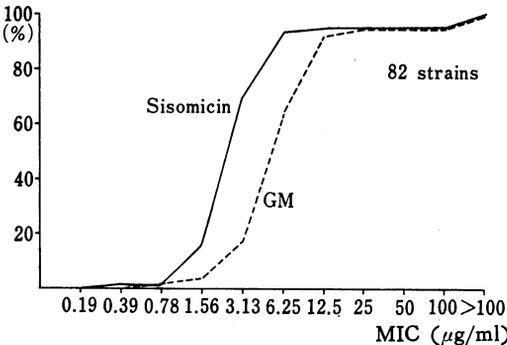


Fig. 26 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa (10⁶ cells/ml)

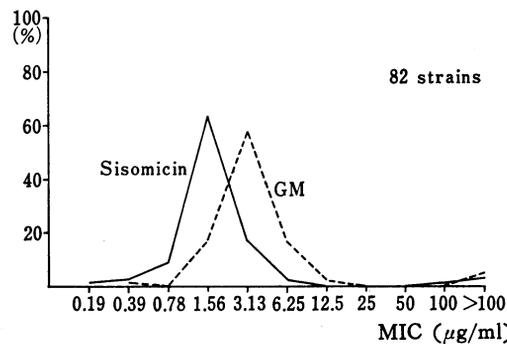


Fig. 27 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa (10⁶ cells/ml)

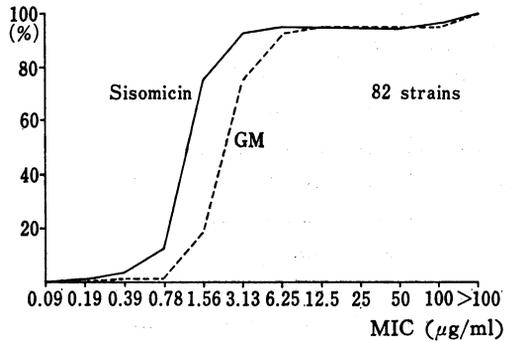
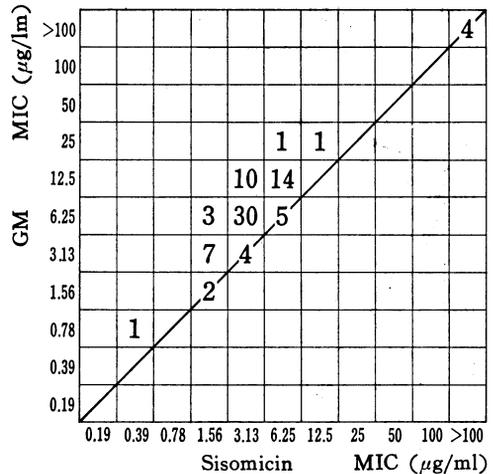


Fig. 28 Cross sensitivity of Sisomicin and GM
Pseudomonas aeruginosa 82 strains
(10⁸ cells/ml)



は Sisomicin も耐性を示し、耐性株では相関性が認められたが感性株では相関性が認められず、Sisomicin の方が良好な MIC を示した。

YOUNG らの報告⁹⁾によると本剤は *Pseudomonas aeruginosa*, indole 陽性 *Proteus* に対して GM より抗菌力が強いとされているが、今回の私どもの実験結果からは、*Pseudomonas aeruginosa* を除く菌種においては GM との間に差を認めず、*Pseudomonas aeruginosa* のみにおいて GM よりやや優れた成績が得られただけであった。一方、WAITZ ら^{8,9)}が本剤の抗菌力は接種菌量によりわずかに変動することを報告しているが、私どもも、日本化学療法学会最小発育阻止濃度測定法により 10^8 cells/ml 接種と 10^6 cells/ml 接種の2種の菌量について検討を行い、いずれの菌種においても 10^6 cells/ml 接種時には 10^8 cells/ml 接種時に比べ、2倍程度抗菌力が増すことを認めた。

3) 殺菌作用

Pseudomonas aeruginosa No. 12 の対数増殖期の 10^6 cells/ml と 10^8 cells/ml の菌量のときに Sisomicin, GM の種々の濃度を作用させ、両剤の殺菌作用を検討した成績は Fig. 29~32 に示すとおりである。Fig. 29, 30 は 10^8 cells/ml の時に作用させた場合で、いずれも $0.39 \mu\text{g/ml}$ の MIC 濃度で殺菌作用が認められた。しかし、1時間目までの殺菌作用は Sisomicin の方がやや強いようである。Fig. 31, 32 は 10^6 cells/ml 接種時の成績であるが $1/2$ MIC 作用でも殺菌作用が認められた。次にこの結果から99.9%の細菌が死滅するのに必要な時間を求め Fig. 33, 34 に示した。 10^8 cells/ml, 10^6 cells/ml いずれの菌量においても $0.78 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では Sisomicin

と GM の間に差は認められず、それ以下の濃度では Sisomicin の方が短い時間で99.9%の殺菌作用を発現した。この結果から Sisomicin の殺菌作用は GM のそれに比べ数倍優れているということが判り、このことは以下のマウス実験的感染症における治療効果にも影響を与えていると考えている。

Fig. 30 Bactericidal activity of GM against *Ps. aeruginosa* No. 12

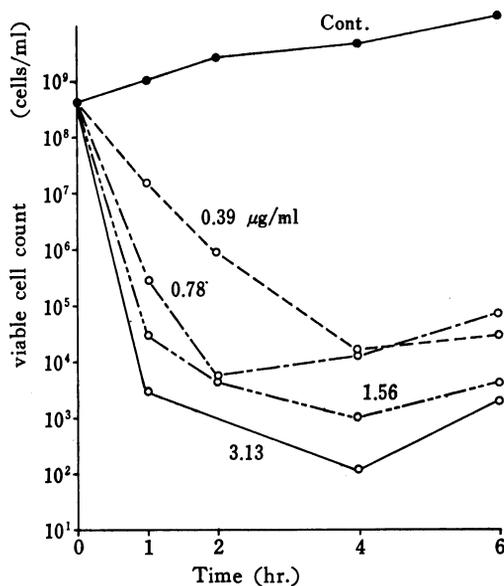


Fig. 29 Bactericidal activity of Sisomicin against *Ps. aeruginosa* No. 12

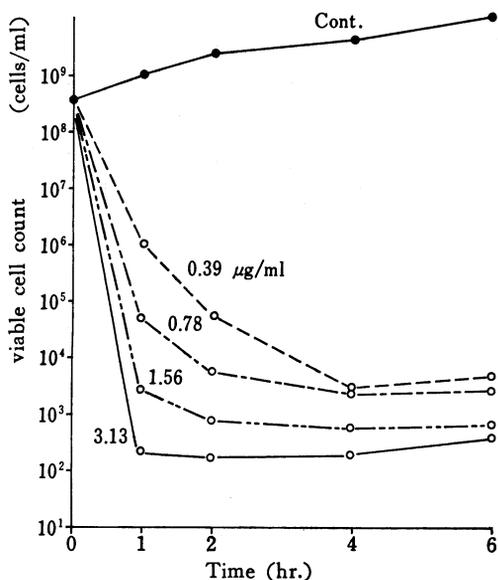


Fig. 31 Bactericidal activity of Sisomicin against *Ps. aeruginosa* No. 12

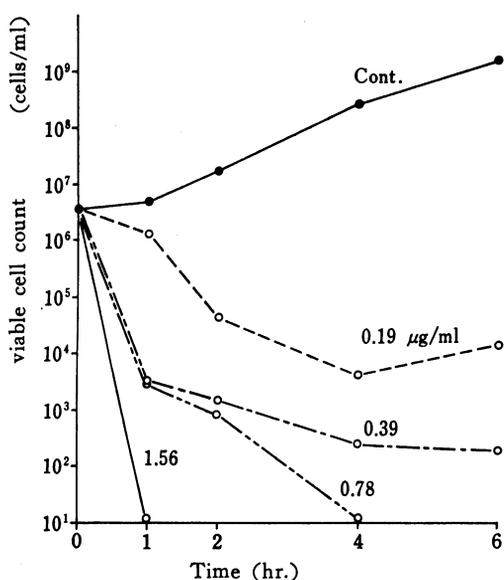


Fig. 32 Bactericidal activity of GM against *Ps. aeruginosa* No. 12

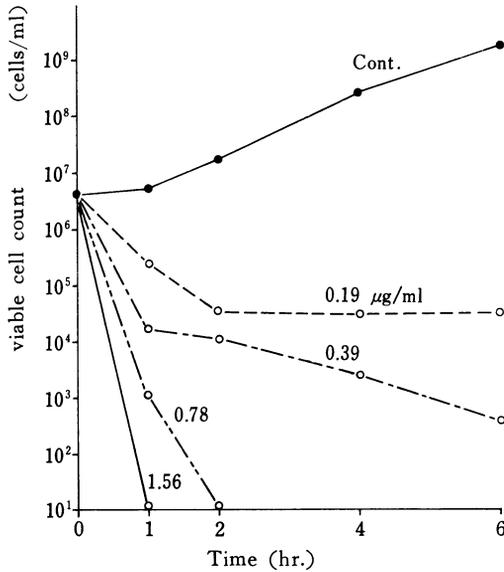


Fig. 34 Time in hours to kill 99.9% of organisms *Ps. aeruginosa* No. 12 (10⁶ cells/ml)

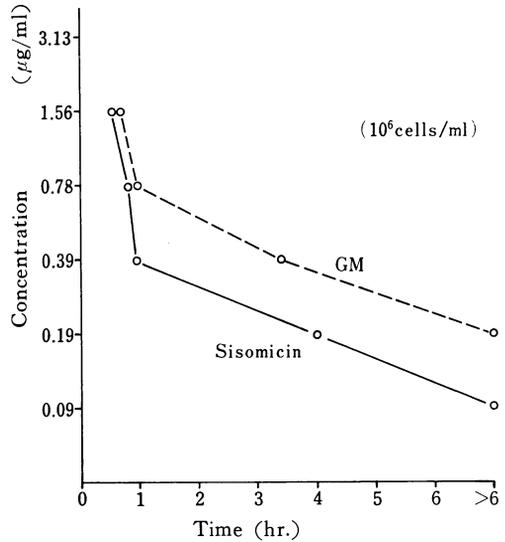
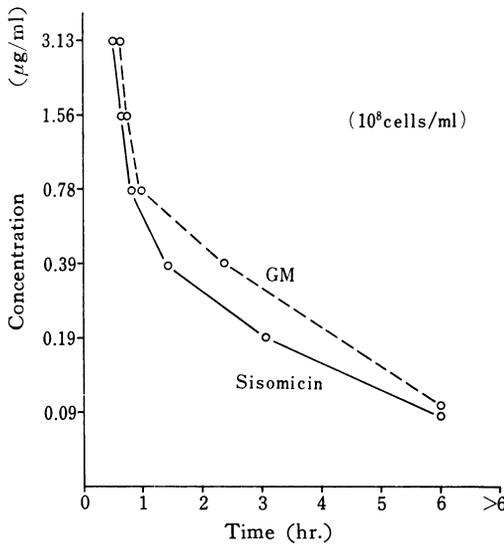
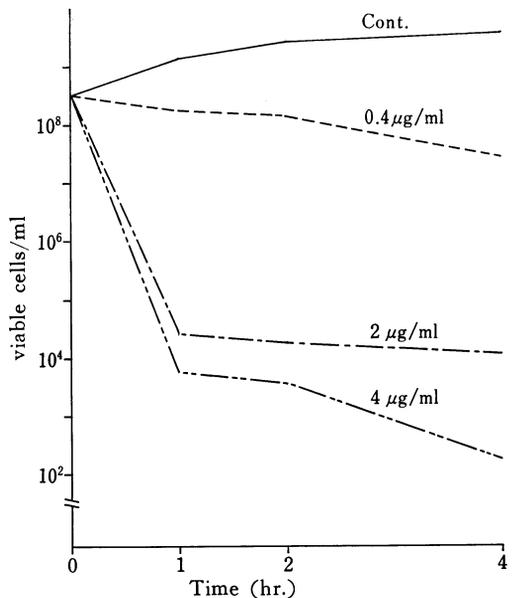


Fig. 33 Time in hours to kill 99.9% of organisms *Ps. aeruginosa* No. 12 (10⁸ cells/ml)



somicin を作用させた1時間目の像である。菌体の表層に少し変化が見られる。Fig. 38 は Sisomicin 作用後2時間目の像で、丸くなった細胞が出現し、若干伸長化した細胞も認められる。Fig. 39 は Sisomicin の 10 MIC 濃度 4 μg/ml を作用させた1時間の像で、MIC 作用よりも早い時間に丸くなった細胞を観察することができた。

Fig. 35 Effect of Sisomicin on the viability of *Ps. aeruginosa* No. 12



4) 電子顕微鏡による観察

電子顕微鏡試料作製時の菌数変化は Fig. 35 に示すように Sisomicin の MIC 濃度 0.4 μg/ml ではほぼ静的な作用が見られ、10 MIC 濃度 4 μg/ml では著しい殺菌作用が認められた。この菌数変化時の形態変化を検討した成績が Fig. 36~41 である。Fig. 36 は走査電子顕微鏡で観察した *Pseudomonas aeruginosa* No. 12 の正常な像である。Fig. 37 は MIC 濃度 0.4 μg/ml の Si-

Fig. 36 Untreated *Ps. aeruginosa* No. 12 cells observed by scanning electron microscope.

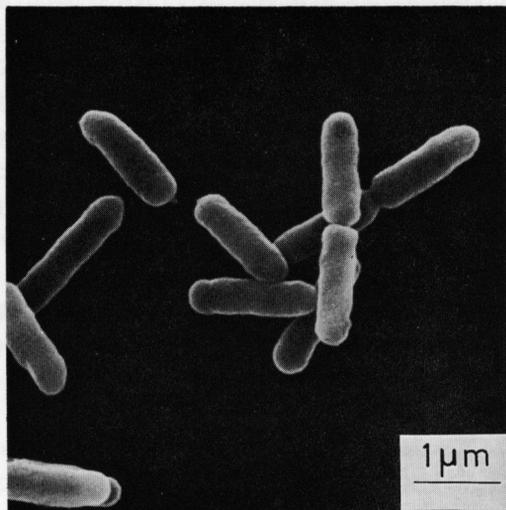


Fig. 38 Scanning electron micrograph of *Ps. aeruginosa* No. 12 exposed to 0.4 μg/ml of Sisomicin for 2 hour.

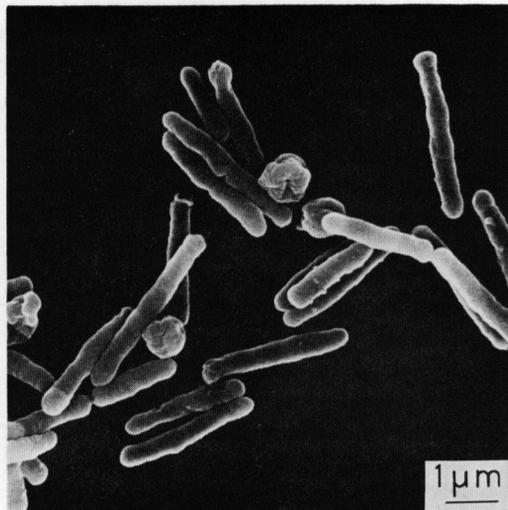


Fig. 37 Scanning electron micrograph of *Ps. aeruginosa* No. 12 exposed to 0.4 μg/ml of Sisomicin for 1 hour.

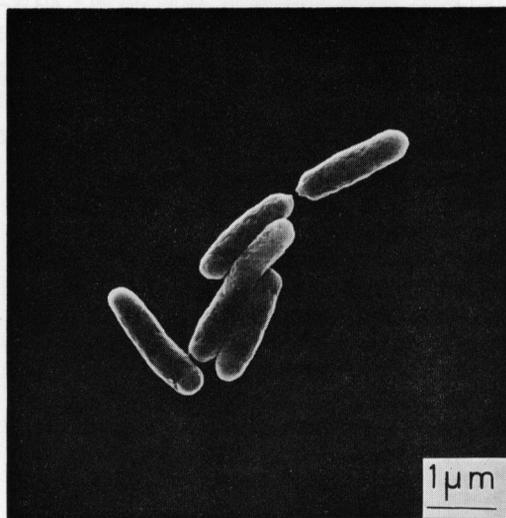
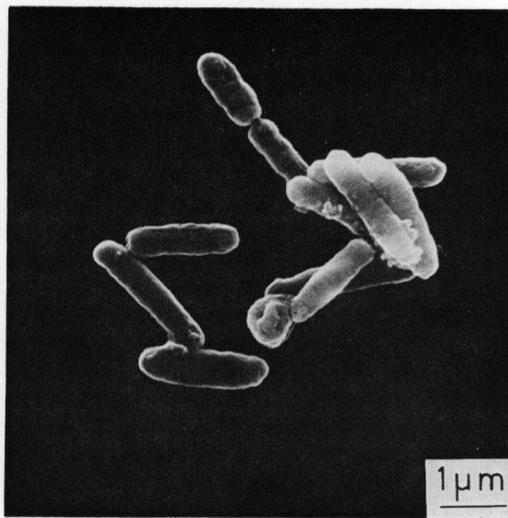


Fig. 39 Scanning electron micrograph of *Ps. aeruginosa* No. 12 exposed to 4 μg/ml of Sisomicin for 1 hour.



次に透過型電子顕微鏡により観察を行なった成績を Fig. 40, 41 に示した。Fig. 40 は正常な *Pseudomonas aeruginosa* の超薄切片像である。Fig. 41 は Sisomicin MIC 作用 4 時間目の観察像で cell wall の outer layer の切断が各所で認められた。

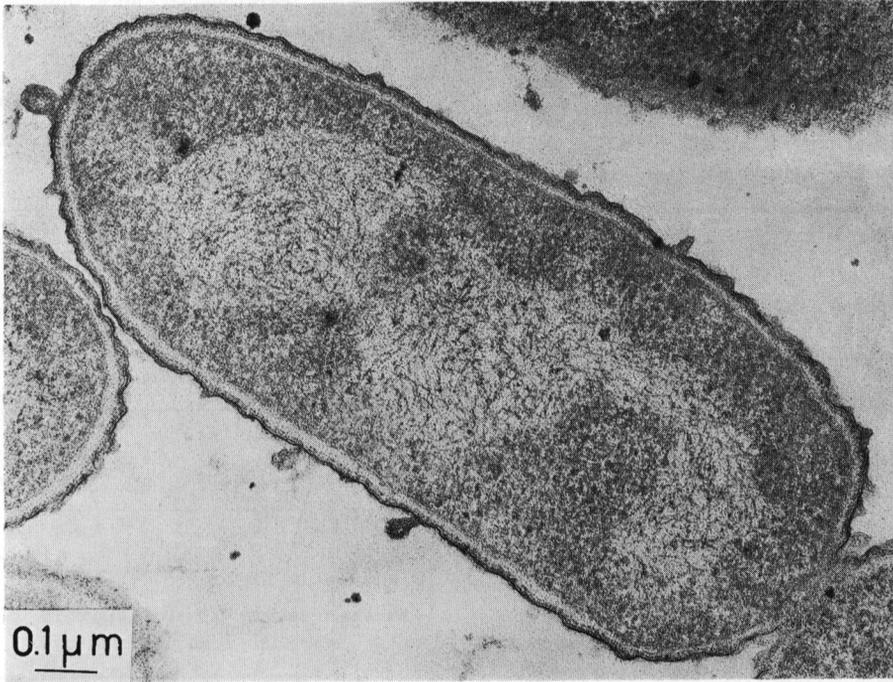
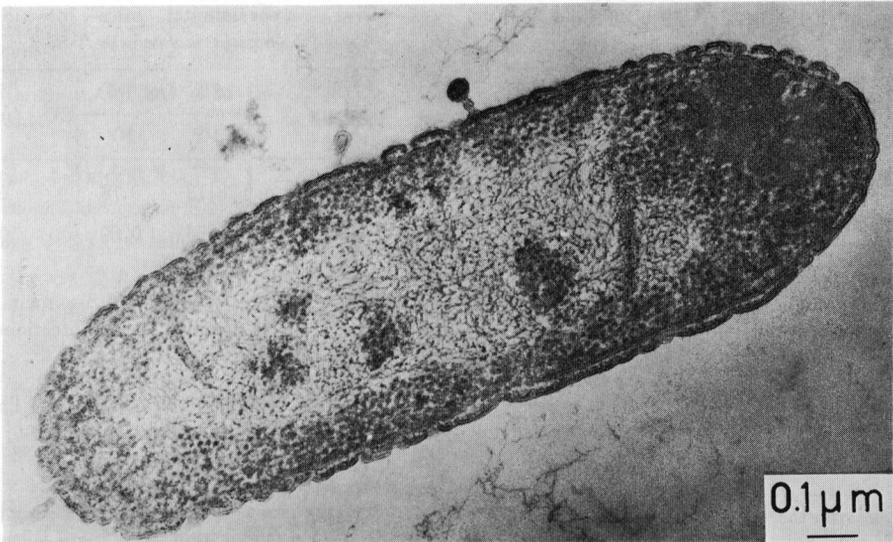
これらの走査、透過型電子顕微鏡による形態観察の結果 Sisomicin は私どもがすでに報告している^{17,18,19,20)} GM, DKB, TOB と同様の変化を示すことが判った。

Sisomicin は他の Aminoglycoside 剤と同様蛋白合成阻害作用を有すると思われるが細菌細胞の cell wall の outer layer に障害を示し、その原因については現在の所全く不明である。

5) マウス実験的感染症に対する治療効果

a) *Escherichia coli* No. 29 感染症

Escherichia coli No. 29 感染症に対する治療効果は Fig. 42, 43, Table 14 に示すとおりである。この場合の

Fig. 40 Ultrathin sections of untreated *Ps. aeruginosa* No. 12 cells.Fig. 41 Ultrathin sections of *Ps. aeruginosa* No. 12 exposed to 0.4 μg/ml of Sisomicin for 4 hour.

ED₅₀ を比較すると Table 14 に示すように Sisomicin 0.03 mg/mouse, GM 0.06 mg/mouse と両剤の試験管内 MIC が同じ値を示すにもかかわらず, GM に比べ Sisomicin の治療効果の方が優れていた。

b) *Serratia marcescens* T-55 感染症

Serratia marcescens T-55 感染症に対する治療効果は

Fig. 44, 45, Table 15 である。Table 15 に示すように Sisomicin と GM の MIC はそれぞれ 3.13, 1.56 μg/ml と GM の方がやや良い値を示しているにもかかわらず ED₅₀ は Sisomicin 0.18 mg/mouse, GM 0.17mg/mouse とほぼ同等な治療効果を示した。

c) *Pseudomonas aeruginosa* E-2 感染症

Pseudomonas aeruginosa E-2 感染症に対する治療効果は Fig. 46, 47, Table 16 に示すとおりである。Table 16 に示すように MIC は Sisomicin 3.13 $\mu\text{g/ml}$, GM

Fig. 42 Protecting effect of Sisomicin against experimental mice infections with *E. coli* No. 29

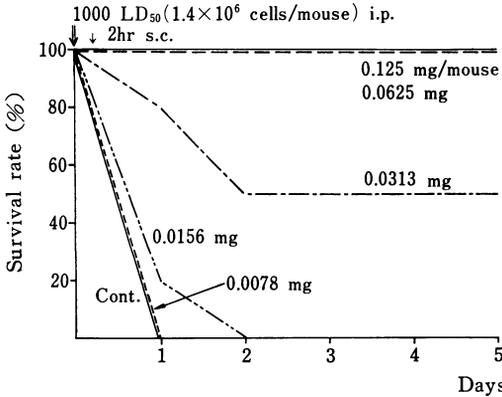


Fig. 43 Protecting effect of GM against experimental mice infections with *E. coli* No. 29

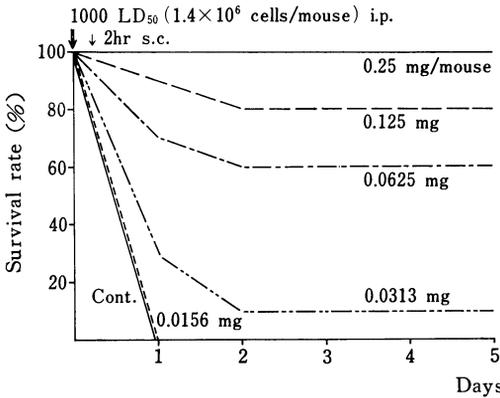


Fig. 44 Protecting effect of Sisomicin against experimental mice infections with *Serratia marcescens* T-55

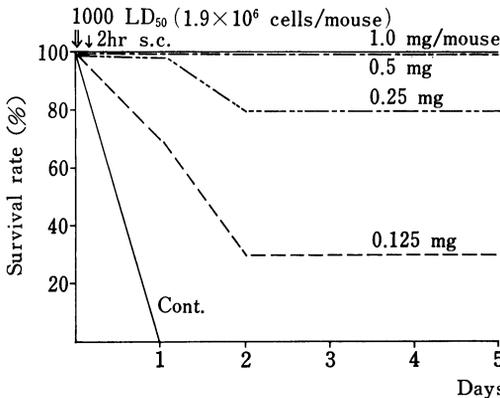


Table 14 Protecting effect of Sisomicin against experimental mice infections with *E. coli* No. 29

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
	10 ⁸	10 ⁶	
Sisomicin	1.56	0.78	0.03
GM	1.56	0.78	0.06

Fig. 45 Protecting effect of GM against experimental mice infections with *Serratia marcescens* T-55

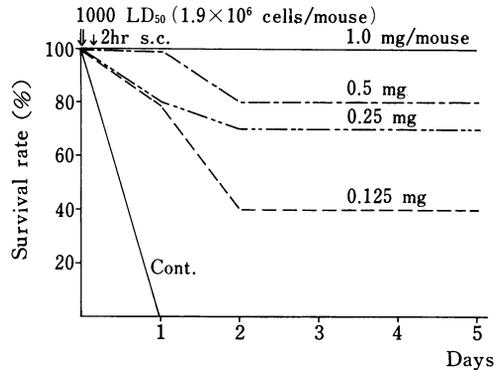
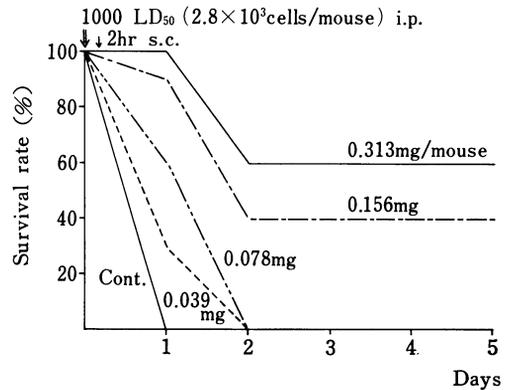


Table 15 Protecting effect of Sisomicin against experimental mice infections with *Serratia marcescens* T-55

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
	10 ⁸	10 ⁶	
Sisomicin	3.13	0.78	0.18
GM	1.56	0.39	0.17

Fig. 46 Protecting effect of Sisomicin against experimental mice infections with *Ps. aeruginosa* E-2



6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり、 ED_{50} は Sisomicin 0.24 mg/mouse, GM 0.62 mg/mouse で Sisomicin の方が良好な治療効果を示した。

Fig. 47 Protecting effect of GM against experimental mice infections with *Ps. aeruginosa* E-2

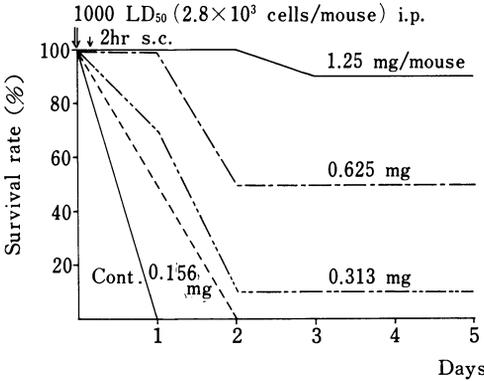


Table 16 Protecting effect of Sisomicin against experimental mice infections with *Ps. aeruginosa* E-2

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED_{50} (mg/mouse)
	10^8	10^6	
Sisomicin	3.13	1.56	0.24
GM	6.25	3.13	0.62

d) 菌量による治療効果の変動

Pseudomonas aeruginosa E-2 の感染菌量を 2.8×10^3 cells/mouse と 2.8×10^5 cells/mouse の 2 種とした場合の ED_{50} を求めた成績が Table 17 である。Sisomicin, GM いずれの治療においても Sisomicin の方が良好な成績を示した。しかし、両剤とも攻撃菌量が増すと治療効果 (ED_{50} 値) は低下した。

Table 17 Influence of challenge dose on ED_{50} *Ps. aeruginosa* E-2

Inoculum size (cells/mouse)	ED_{50} (mg/mouse)	
	Sisomicin	GM
2.8×10^3	0.24	0.62
2.8×10^5	4.25	>10.0

e) ムチンの治療効果に及ぼす影響

Pseudomonas aeruginosa E-2 感染症において添加す

る gastric mucin を NBC から Wilson に変えた場合の治療効果の成績を Table 18 に示した。gastric mucin が NBC から Wilson に変わっただけで両剤の ED_{50} は Table 16 の Sisomicin 0.24 mg/mouse, GM 0.62 mg/mouse から Sisomicin 0.077 mg/mouse, GM 0.27 mg/mouse と大きく変動した。しかし、Sisomicin と GM の治療効果の比は 2.6 から 3.5 倍とさほど大きな変化を示さなかった。

Table 18 Protecting effect of Sisomicin against experimental mice infections with *Ps. aeruginosa* E-2

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED_{50} (mg/mouse)
	10^8	10^6	
Sisomicin	3.13	1.56	0.077
GM	6.25	3.13	0.27

f) 薬剤の投与間隔と投与回数

Pseudomonas aeruginosa E-2 感染症における薬剤の投与間隔と投与回数について検討した成績を Table 19, 20 に示した。この表はすべて ED_{50} を薬剤の投与総量で示している。Sisomicin の場合、投与総量が最も少ないのは 0.051 mg/mouse の投与間隔 0 時間、投与回数 1 回の治療群で最も大きいのは、投与間隔 6 時間、投与回数を 4 回とした場合の 0.154 mg/mouse である。投与間隔 0 時間、投与回数 1 回の治療群に近い ED_{50} を示す群は、投与間隔—投与回数が 1—2, 3—2 の群であり、投与間隔が 6 時間と長くなるほど又、投与回数が増すほど、すなわち 1 回の投与量が減少するほど、その治療効果は低下するようであった。これらの結果より Sisomicin の治療効果を左右する大きな要因は有効濃度の持続時間より、むしろ有効濃度の高さであると思われる。こ

Table 19 Effect of the schedule of administration on the therapeutic efficacy of Sisomicin in an infection with *Ps. aeruginosa* E-2 in mice

Interval (hr.)	Frequency		
	1	2	4
0	0.051		
1		0.067	0.117
3		0.067	0.102
6		0.134	0.154

ED_{50} (mg/mouse)

の傾向はすでに報告している GM (Table 20) や KW-1062²¹⁾ と同様であり、これら殺菌作用の優れている Aminoglycoside 剤に共通の効果と考えている。

Table 20 Effect of the Schedule of Administration on the Therapeutic Efficacy of GM in an Infection with *Ps. aeruginosa* E-2 in Mice

Frequency Interval	ED ₅₀ (mg/Mouse) S. C.		
	× 1	× 2	× 4
0 hr	0.38		
1		0.60	0.58
3		0.75	1.28
6		0.64	0.83

infective inoculum : 1.8×10 Mouse i. p.
2% Mucin

III. ま と め

新しいアミノ配糖体抗生物質 Sisomicin に関する細菌学的評価を既知 Gentamicin を比較薬剤として検討し、次のごとき成績を得た。

1. 抗菌スペクトラムは Gentamicin と同様でその抗菌力もほぼ同等であった。

2. 臨床分離株に対する感受性分布を検討した結果、ブドウ球菌、大腸菌、肺炎桿菌、エンテロバクター、変形菌では Gentamicin と同様の成績であった。しかし、緑膿菌の場合には Sisomicin が良好な成績を示し、セラチアについては Gentamicin の方がやや良好であった。

3. 緑膿菌の増殖曲線に及ぼす影響を検討し99.9%の菌が死滅する時間を比較すると 10⁸ cells/ml で薬剤作用を行なった場合 0.78 μg/ml 以上では 2 剤間に差は認められなかったが、それ以下の濃度においては Sisomicin の方が短時間で殺菌作用を発現し、10⁶ cells/ml で薬剤を作用するとその差はより大きくなった。

4. 緑膿菌に Sisomicin を作用させた場合の形態変化を走査電子顕微鏡により観察すると、MIC 濃度作用では、菌体表層の凹凸、球状細胞が認められ、透過型電子顕微鏡観察では細胞壁の outer layer の切断を認めた。これらの変化はすでに報告している Gentamicin, Dibekacin, Tobramycin の変化と同様であった。

5. マウス実験的感染症に対する治療効果は大腸菌、緑膿菌では Gentamicin に比べ優れた成績を示したが、セラチアには両剤ともほぼ同等な効果を示した。緑膿菌を用いて接種菌量と ED₅₀ の関係を求めると両剤とも菌量が増すと、治療効果も低下したが、2 剤間の効果を比較すると Sisomicin の方が優れていた。また緑膿菌を用いて治療効果を投与回数と投与間隔の面から検討した結

果は、薬剤の投与総量で比較すると、1 回投与が最も低値で、投与回数が増すほど、また投与間隔が長いほど治療効果は低下し、Gentamicin と同様な傾向を示した。

文 献

- WEINSTEIN, M. J.; J. A. MARQUEZ; R. T. TESTA; G. H. WAGMAN; E. M. ODEN & J. A. WAITZ: Antibiotic 6640, a new *Micromonospora*-Produced aminoglycoside antibiotic. J. Antibiotics 23: 551~554, 1970
- WAGMAN, G. H.; R. T. TESTA & J. A. MARQUEZ: Antibiotic 6640. II Fermentation, isolation & properties. J. Antibiotics 23: 555~558, 1970
- REIMANN, H.; R. S. JARET & D. J. COOPER: Sisomicin; Stereochemistry & attachment of the unsaturated sugars moiety. J. Chem. Soc. 16: 924~925, 1971
- COOPER, D. J.; R. S. JARET & H. REIMANN: Structure of sisomicin, a novel unsaturated aminoglycoside antibiotic from *Micromonospora inyoensis*. J. Chem. Soc. 7: 285~286, 1971
- WAITZ, J. A.; E. L. MOSS, JR.; E. M. ODEN & M. J. WEINSTEIN: Antibiotic 6640 III Biological studies with antibiotic 6640, a new broad-spectrum aminoglycoside antibiotic. J. Antibiotics 23: 559~565, 1970
- WAITZ, J. A.; E. L. MOSS, JR.; C. G. DRUBE & M. J. WEINSTEIN: Comparative activity of Sisomicin, gentamicin, Kanamycin & tobramycin. Antimicrob. Agents Chemother. 2: 431~437, 1972
- CROWE, C. C. & E. SANDERS: Sisomicin: Evaluation in vitro & comparison with gentamicin & tobramycin. Antimicrob. Agents Chemother. 3: 24~28, 1973
- HYAMS, P. J.; M. S. SIMBERKOFF & J. J. RAHAL, J. R.: In vitro bactericidal effectiveness of four aminoglycoside antibiotics, Antimicrob. Agents Chemother. 3: 87~94, 1973
- YOUNG, L. S. & W. L. HEWITT: Activity of five aminoglycoside antibiotics in vitro against gram-negative bacilli & *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 4: 617~625, 1973
- 中沢昭三, 横田芳武, 金森政人, 吉田進彦, 石田邦子: 新抗生物質 Gentamicin に関する細菌学的研究. Chemotherapy 15: 477~482, 1967
- KELLENBERGER, E.; A. RYTER & J. SECHAUD: Electron microscope study of DNA-containing plasmids. II. Vegetative & mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in

- different physiological states. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4 : 671~678, 1958
- 12) ANDERSON, J. F.: Techniques for the preservation of three-dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. Trans. S. Y. Acad. Sci. 13 : 130~134, 1951
- 13) HORIDGE, G. A. & S. L. TAMM: Critical point drying for scanning electron microscopic study of ciliary motion. Science 163 : 817~818, 1969
- 14) LUFT, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9 : 409~414, 1961
- 15) REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17 : 208~212, 1963
- 16) 中沢昭三, 大槻雅子, 平井芳美, 尾花芳樹, 久保田満寿代, 杉原芳樹, 戸田正人, 山田作夫: *Serratia marcescens* に関する実験的化学療法, 第1報, 抗菌剤の in vitro 感受性. Chemotherapy 25 : 357~363, 1977
- 17) NAKAO, M. & S. NAKAZAWA: Action mechanism of 3', 4'-dideoxykanamycin B and gentamicin as observed by electron microscopy. Chemotherapy 22 : 1108~1110, 1974
- 18) 中沢昭三, 大槻雅子, 中尾雅文, 塚沢志津代, 那波久彰, 二木克己: 3', 4'-Dideoxykanamycin B の細菌学的研究—とくに電子顕微鏡応用による作用機序研究—. Chemotherapy 22 : 779~785, 1974
- 19) NISHINO, T. & S. NAKAZAWA: Morphological alteration of *Pseudomonas aeruginosa* by amino glycoside antibiotics. J. Electron Microscopy 24 : 73~86, 1975
- 20) 井口博史, 西野武志, 山田泰造, 堀川哲夫, 中沢昭三: 新しいアミノ配糖体抗生物質 Tobramycin の細菌学的評価. Chemotherapy 23 : 843~858, 1975
- 21) 皆川治重, 西野武志, 中沢昭三: 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析 5. 緑膿菌に対する KW-1062 の効果. Chemotherapy 25 : 1839~1843, 1977

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF SISOMICIN, A NEW AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTIC

MASAKO OHTSUKI, JUNICHI YAMAGISHI, TAKESHI NISHINO and SHOZO NAKAZAWA

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy.

Sisomicin, a new aminoglycoside antibiotic was bacteriologically evaluated and compared with Gentamicin. The results are summarized as follows:

1. In vitro studies of antibacterial spectrum and activity showed no significant differences between Sisomicin and Gentamicin.

2. Sensitivity tests with clinical isolates did not show significant differences between Sisomicin and Gentamicin against *Staphylococci*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* and *Proteus sp.* However, *Pseudomonas aeruginosa* was more sensitive to Sisomicin, whereas *Serratia* was slightly more sensitive to Gentamicin.

3. On the growth curve of *Pseudomonas aeruginosa*, no significant difference between Sisomicin and Gentamicin was observed. Comparing the speed of a 99.9% killing of *Pseudomonas aeruginosa* at 0.78 $\mu\text{g/ml}$ or more with an inoculum size of 10^8 cells/ml, the killing curve showed a more rapid action with Sisomicin than with Gentamicin. Differences between both drugs were greater when an inoculum size of 10^6 cells/ml was used.

4. Scanning electron-microscopy for morphological changes of *Pseudomonas aeruginosa* cells caused by the antibacterial action of Sisomicin revealed irregular cell surface and globular cells at MIC. With transmission electron-microscopy, perforations of the outer layers of cell walls were seen. These morphological changes are similar to those already reported with Gentamicin, Dibekacin and Tobramycin.

5. Therapeutic effects of Sisomicin and Gentamicin were compared in experimentally infected mice. Sisomicin was more effective than Gentamicin in protecting animals infected with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Both drugs were equally effective in *Serratia* infections. Interrelationship between inoculum size and ED_{50} was studied on *Pseudomonas aeruginosa*. A larger inoculum resulted in a lower activity of both drugs, but Sisomicin was more active. The therapeutic effectiveness in relation to frequency and interval of administration was assessed. Comparison of the total dose administered showed that the therapeutic activity was lowest after a single dose. The longer the interval, the lower was the therapeutic activity. A similar tendency had been seen with Gentamicin.