

AB-206 の細菌学的評価

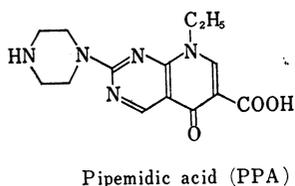
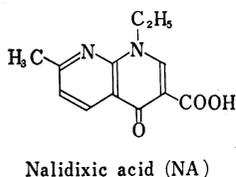
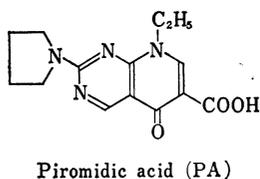
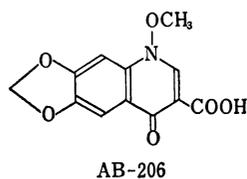
とくに *in vitro*, *in vivo* におけるグラム陰性桿菌に対する
抗菌作用について

五島瑳智子・小川正俊・辻 明良・金子康子・桑原章吾
東邦大学医学部微生物学教室

AB-206 は Nalidixic acid の類縁化合物で化学名を 5,8-dihydro-5-methoxy-8-oxo-2H-1,3-dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid といい、主としてグラム陰性桿菌にすぐれた抗菌力を有し、とくに緑膿菌、變形菌などにも抗菌力を示し、経口投与により消化管より吸収されることが特徴とされている。

本剤の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を主として腸内細菌およびブドウ糖非発酵菌群などのグラム陰性桿菌について、Nalidixic acid (NA) および Pipemidic acid (PPA) と比較したので、その成績を報告する (Fig.1)。

Fig.1 Chemical structures



I. 実験方法

1) 感受性測定法

日本化学療法学会感受性測定法¹⁾に準じて行なった。なお *Haemophilus influenzae* の場合は 10% ウマ脱繊維素血液を普通寒天培地に加えて作製したチョコレート寒天培地を用いた。

2) マウス実験感染症における治療効果

実験感染に用いたマウスは ddN 系雄 5 週齢、体重 20 ± 1g および ICR 系雄 4 週齢、体重 19 ± 1g で、感染菌として *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter calcoaceticus* を用いた。腹腔内に菌を接種し、感染 1 時間目に AB-206 を経口投与し、5 日間観察、マウスの生死により ED₅₀ を算出した。なお、感染には 5% の Mucin を添加して行なった。

対照薬として、PPA は経口投与、Gentamicin (GM) は皮下投与および Doxycycline (DOTC) は経口投与で用いた。

II. 実験成績

1. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された *E. coli* 42 株, *Klebsiella* 60 株, *P. vulgaris* 12 株, *P. mirabilis* 47 株, *P.morganii* 13 株, *P. rettgeri* 12 株, *P. inconstans* 36 株, *S. marcescens* 61 株, *P. aeruginosa* 81 株, *P. cepacia* 33 株, *P. maltophilia* 51 株, *Flavobacterium* sp. 40 株, *A. calcoaceticus* 49 株, *A. faecalis* 9 株, *A. xylooxidans* 58 株および *H. influenzae* 24 株の感受性分布を AB-206, NA, PPA の 3 薬剤について比較した成績を Fig.2~17 に示した。

E. coli, *Klebsiella* に対して AB-206 の抗菌力は NA, PPA よりすぐれ、接種菌量 10⁶ cells/ml での AB-206 の MIC のピークは 0.39 μg/ml であった (Fig.2, 3)。

Proteus 5 菌種 (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P.morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*) では、AB-206 の抗菌力は NA, PPA よりはるかにすぐれ、10⁶ cells/ml 接種での AB-206 の MIC のピークは 5 菌種とも 0.19 μg/ml 以下であり、NA, PPA のピークは 1.56~6.25

Fig.2 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* (42 strains)

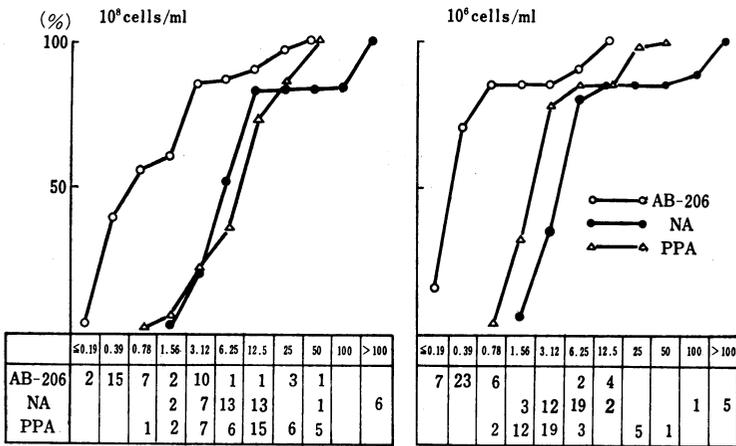


Fig.3 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella* (60 strains)

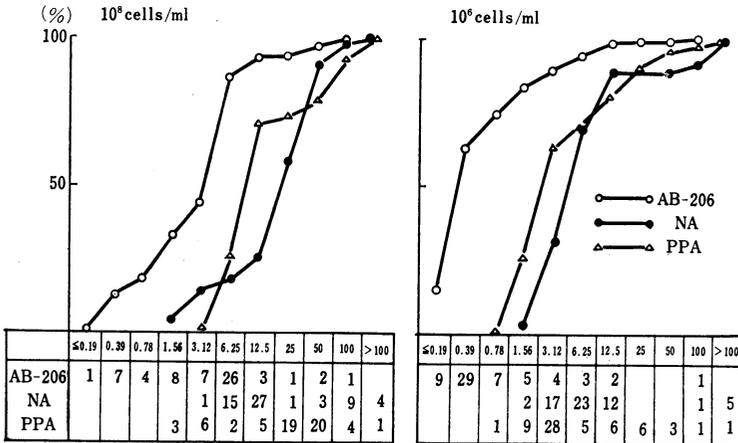


Fig.4 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* (12 strains)

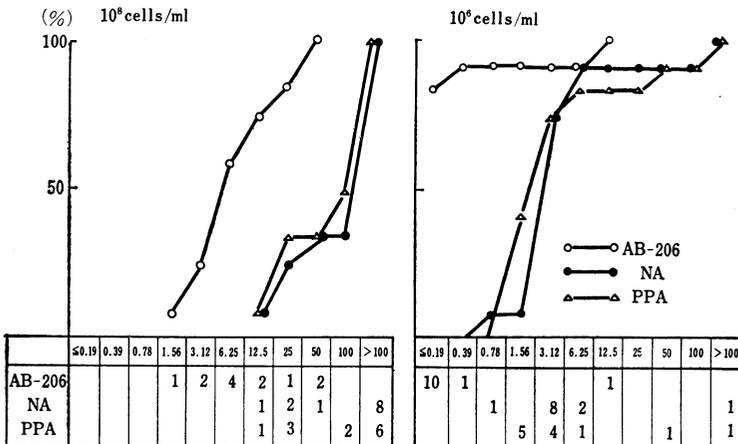


Fig.5 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. mirabilis* (47 strains)

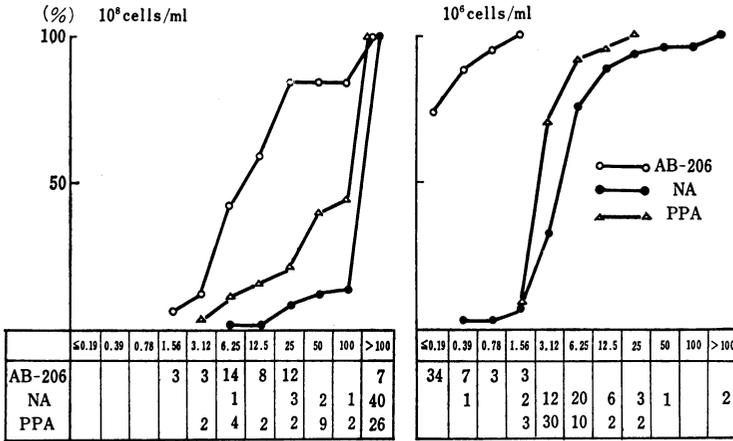


Fig.6 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. morgani* (13 strains)

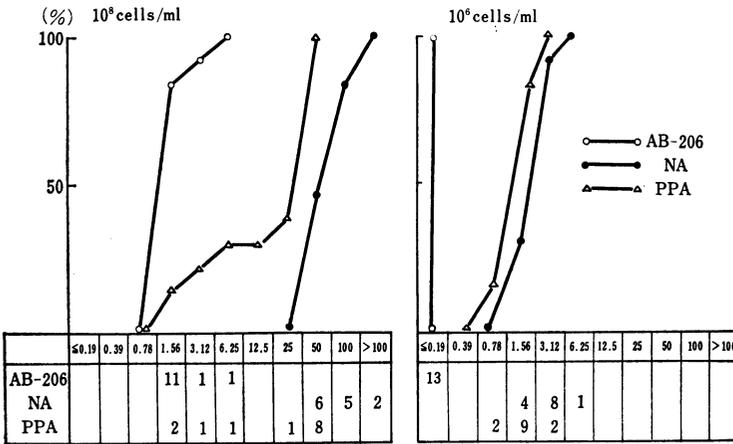


Fig.7 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. rettgeri* (12 strains)

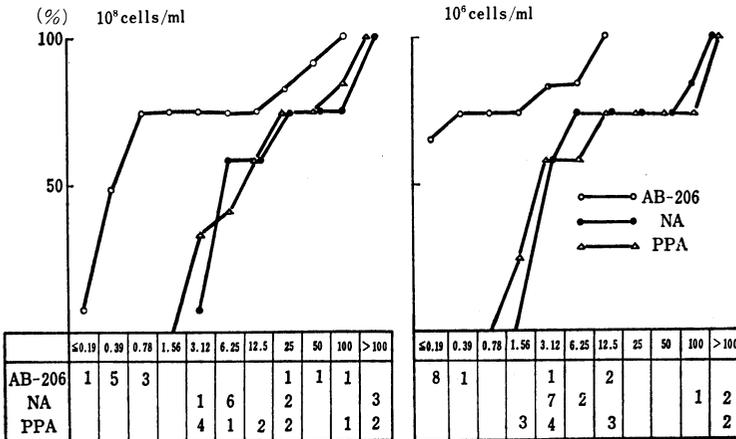


Fig.8 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. inconstans* (36 strains)

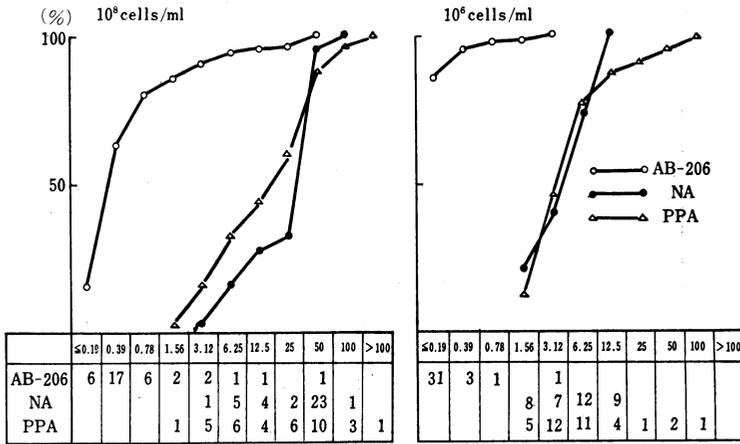


Fig.9 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. marcescens* (61 strains)

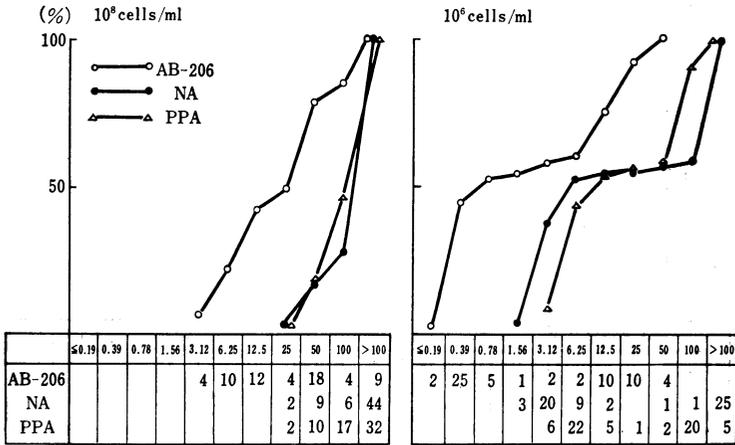


Fig.10 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. aeruginosa* (81 strains)

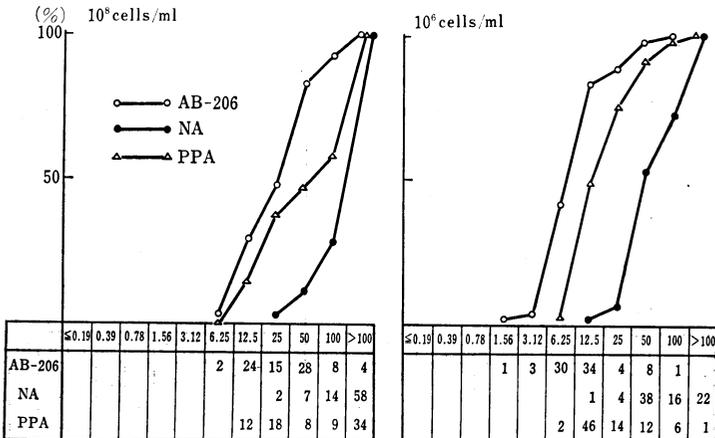


Fig.11 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. cepacia* (33 strains)

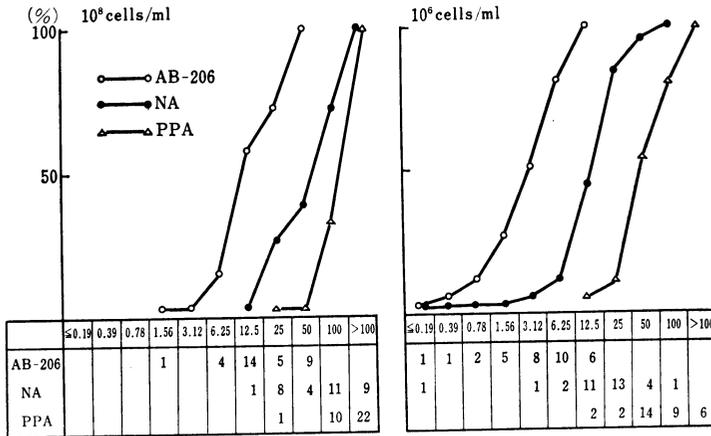
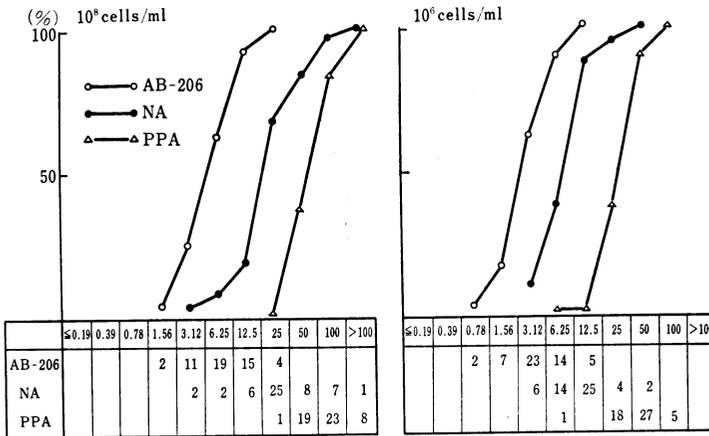


Fig.12 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. maltophilia* (51 strains)



μg/ml であった (Fig.4,5,6,7,8)。

S. marcescens では 10⁶ cells/ml 接種で 3 薬剤とも 2 峰性のピークを示し、AB-206 では 0.39 μg/ml と 12.5~25 μg/ml であり、NA, PPA では 3.12~6.25 μg/ml と 100 μg/ml 以上であり、AB-206 が NA, PPA よりすぐれていた (Fig.9)。

P. aeruginosa に対しても AB-206 がもっとも抗菌力がすぐれ、感受性のピークは 6.25~12.5 μg/ml を示し、ついで PPA で 12.5 μg/ml、NA は 50 μg/ml で菌株の約 50% は 100 μg/ml 以上であった (Fig.10)。

P. cepacia, *P. maltophilia* では AB-206 の抗菌力がもっともすぐれ、ついで NA, PPA の順序であった。AB-206 の MIC のピークは 3.12~6.25 μg/ml であった (Fig.11,12)。

Flavobacterium sp. では AB-206 の抗菌力がすぐ

れ、そのピークは 1.56 μg/ml であり、ついで NA の 3.12 μg/ml、PPA は 50~100 μg/ml であった (Fig.13)。

A. calcoaceticus でも AB-206 が NA, PPA より抗菌力がすぐれ、その感受性ピークは 0.78 μg/ml であった (Fig.14)。

A. xylooxidans は一般に 3 薬剤とも感受性が低く、10⁶ cells/ml 接種でも 1.56~100 μg/ml と広く分布していたが、その中でも AB-206 がすぐれ、感受性のピークは 25 μg/ml であった (Fig.15)。

A. faecalis においても AB-206 の抗菌力は他の 2 剤よりすぐれ、そのピークは 0.19~0.78 μg/ml であった (Fig.16)。

H. influenzae では 3 薬剤とも感受性がすぐれ、そのピークは AB-206 で 0.39 μg/ml、NA は 0.78~1.56

Fig.13 Sensitivity distribution of clinical isolates *Flavobacterium* sp. (40 strains)

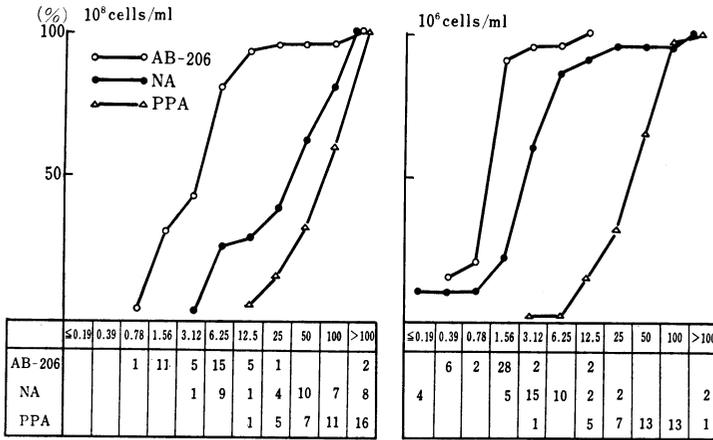


Fig.14 Sensitivity distribution of clinical isolates *Acinetobacter calcoaceticus* (49 strains)

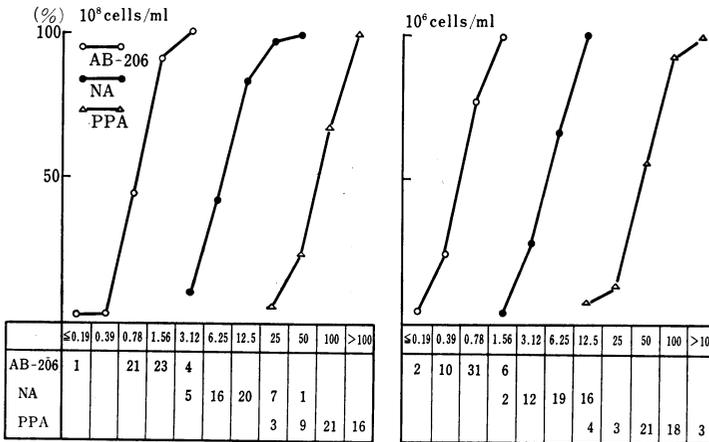


Fig.15 Sensitivity distribution of clinical isolates *Achromobacter xylosoxidans* (58 strains)

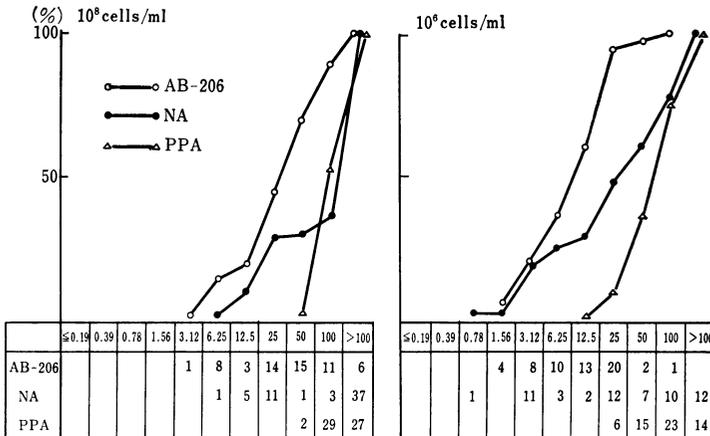


Table 1 Protecting effect of AB-206 and PPA against experimental *P. aeruginosa* infection in mice

Drug	Challenge dose (cells/mouse)	5% Mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection (hr.)	10 ⁸	10 ⁶	
AB-206	3.8×10^5	+	P. O.	1	1	25	3.12	1.984 (1.481~2.658)
PPA	3.8×10^5	+	P. O.	1	1	100	12.5	2.5 (1.833~3.408)

Strain : *P. aeruginosa* PI-21 (GM resistant)

Mouse : ddN, 5 W, ♂ (19~21g)

MLD : 1×10^8 cells/mouse (Mucin -) $\leq 8 \times 10^4$ cells/mouse (Mucin +)Table 2 Protecting effect of AB-206 and PPA against experimental *P. aeruginosa* infection in mice

Drug	Challenge dose (cells/mouse)	5% Mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection (hr.)	10 ⁸	10 ⁶	
AB-206	1.7×10^8	-	P. O.	1	1	25	3.12	>20
	8.0×10^4	+						5.0
	4.0×10^4	+						3.968 (3.065~5.137)
PPA	1.7×10^8	-	P. O.	1	1	50	12.5	>20
	8.0×10^4	+						≥ 7.938
	4.0×10^4	+						5.0

Strain : *P. aeruginosa* GNB 2-139

Mouse : ddN, 5 W, ♂ (19~20g)

MLD : $\leq 5 \times 10^7$ (Mucin -) $\leq 1 \times 10^8$ (Mucin +) $\mu\text{g/ml}$, PPA は $1.56 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig.17).

2. 薬剤感受性相関

Fig.18, 19 は腸内細菌である *P. mirabilis* 47 株と *P. inconstans* 36 株の感受性相関をみたものである。AB-206 は両菌種とも PPA, NA よりすぐれ、耐性を示す株は認められなかった。

Fig.20 は *P. aeruginosa* 81 株の感受性相関を示したものである。AB-206 は PPA との比較でほぼ相関していたが、わずかにすぐれ、また AB-206, PPA とともに $50 \mu\text{g/ml}$ 以上を示す株が 8 株 (約 10%) に認められた。

Fig.21 は *S. marcescens* 61 株の相関であるが、AB-206 は PPA, NA よりすぐれ、PPA, NA とともに耐性である 25 株 (約 4%) にも感性であった。

3. マウス実験感染における防御効果

1) *P. aeruginosa* 感染

P. aeruginosa P 1-21 株および *P. aeruginosa* GNB

2-139 株を感染菌として、同一条件下で AB-206 と PPA によって治療した成績を Table 1, 2 に示した。

AB-206 の ED₅₀ 値は PPA のそれより小さく、AB-206 の治療効果はすぐれていた。

2) *P. cepacia* 感染

P. cepacia 393 株を感染菌として AB-206, DOTC および GM で治療した成績を Table 3 に示した。

AB-206 の ED₅₀ 値は DOTC および皮下投与して用いた GM よりはるかに小さく、AB-206 の治療効果はすぐれていた。

3) *S. marcescens* 感染

S. marcescens No.8 株を感染菌とした場合の成績を Table 4 に示した。

大量菌攻撃および少量菌攻撃ともに AB-206 の治療効果は PPA よりすぐれていた。

4) *A. calcoaceticus* 感染

A. calcoaceticus 260 株および *A. calcoaceticus* 403

Table 3 Protecting effect of AB-206 against experimental *P. cepacia* infection in mice

Drug	Challenge dose (cells/mouse)	5% Mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection (hr.)	10 ⁸	10 ⁶	
AB-206	7.3×10^7	+	P. O.	1	1	12.5	3.12	1.983 (1.235~3.184)
DOTC	7.3×10^7	+	P. O.	1	1	50	25	>30
GM	7.3×10^7	+	S. C.	1	1	>100	>100	>2

Strain : *P. cepacia* 393

Mouse : ICR, 4 W, ♂ (19±1g)

MLD : 6.2×10^7 cells/mouse (Mucin +)Table 4 Protecting effect of AB-206 and PPA against experimental *S. marcescens* infection in mice

Drug	Challenge dose (cells/mouse)	5% Mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection (hr.)	10 ⁸	10 ⁶	
AB-206	1.4×10^8	—	P. O.	1	1	1.56	0.39	0.496 (0.34~0.72)
	2.0×10^5	+	P. O.	1	1			0.079 (0.0625~0.0992)
PPA	1.4×10^8	—	P. O.	1	1	12.5	3.12	1.575 (0.9204~2.694)
	2.0×10^5	+	P. O.	1	1			0.25

Strain : *S. marcescens* No. 8

Mouse : ddN, 5 W, ♂ (19~21g)

MLD : 9.3×10^7 cells/mouse (Mucin —) 1.3×10^4 cells/mouse (Mucin +)Table 5 Protecting effect of AB-206 against experimental *A. calcoaceticus* infection in mice

Test organisms	Drug	Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	Administration (route)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
					10 ⁸	10 ⁶	
<i>A. calcoaceticus</i> 260	AB-206	6.3×10^8 (+)	5.6×10^5 (+)	P. O.	1.56	0.78	0.6247
	DOTC			≤0.19	≤0.19	0.058 (0.042~0.081)	
	GM			6.25	3.12	0.031 (0.0229~0.0425)	
<i>A. calcoaceticus</i> 403	AB-206	2.4×10^7 (+)	7.9×10^6 (+)	P. O.	1.56	1.56	0.787 (0.5277~1.1745)
	DOTC			≤0.19	≤0.19	0.468 (0.322~0.68)	
	GM			6.25	6.25	<0.06	

Mouse : ICR, 4 W, ♂ (19±1g)

Infection : I. P. challenge

(+) : 5% Mucin.

株を感染菌として、AB-206, DOTC, GM で治療した成績を Table 5 に示した。

2 菌株とも皮下投与で用いた GM の治療効果をもっともよく、ついで DOTC であった。AB-206 の ED₅₀ 値は *A. calcoaceticus* 260 株では、0.6247 mg/mouse, *A. calcoaceticus* 403 株で 0.787 mg/mouse を示した。

III. 考 察

AB-206 は腸内細菌およびブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌に対し、すぐれた抗菌力を有し、その活性の程度は PPA および NA より強力であることが確認できた。とくに *Proteus* 5 菌種 (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. morgani*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*), *E. coli*, *Kl. ebsiella*, *P. maltophilia*, *P. cepacia*, *A. calcoaceticus*, *H. influenzae* に対しすぐれた抗菌力を示した。また, *P. aeruginosa* に対し経口用抗緑膿菌剤として報告されている PPA²⁾ より 1~2 段階すぐれた抗菌力を示した。

マウスの実験感染治療の成績は *in vitro* の成績と相関し, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* GNB 2-139 株および GM 耐性株である *P. aeruginosa* P 1-21 株で AB-206 は経口投与で PPA よりすぐれた治療効果を示した。*P. cepacia* では皮下投与した GM より、また DOTC よりはるかにすぐれた効果が認められた。しかし, *A. calcoaceticus* では DOTC よりわずかに劣る成績であった。これは用いた菌株の感受性の差によるものと思われる。

以上, AB-206 のすぐれた *in vitro*, *in vivo* 抗菌作

用が臨床での有効性にすぐ結びつくものではないが、体内分布、代謝、副作用などの点で重大な欠点がなければ、緑膿菌を含むグラム陰性桿菌感染性に対する数少ない経口剤の 1 つとして期待される物質であると考えられる。

IV. ま と め

AB-206 の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を検討し、次のような結果を得た。

1. AB-206 は主としてグラム陰性桿菌に抗菌力が強く、とくに腸内細菌および緑膿菌を含むブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌に対し、PPA, NA より強い抗菌活性を示す。

2. *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *P. cepacia* のマウス実験感染において、経口投与で良好な治療効果を示した。その ED₅₀ 値は PPA, DOTC, GM より小さい値であった。

(本研究期間は昭和 51 年 7 月から昭和 52 年 8 月である。)

文 献

- 1) 日本化学療法学会 MIC 測定法改定委員会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 22 : 1126~1128, 1974
- 2) 五島嵯智子, 堂ヶ崎勲, 金子康子, 小川正俊, 滝田聖親, 辻 明良, 高橋邦子, 桑原章吾 : Pipemidic acid の細菌学的評価, とくに *in vitro*, *in vivo* の抗緑膿菌作用について。Chemotherapy 23 : 2640~2645, 1975

A BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF AB-206 WITH A SPECIAL REGARD ON ITS *IN VITRO* AND *IN VIVO* ANTIBACTERIAL ACTIVITIES AGAINST GRAM-NEGATIVE ORGANISMS

SACHIKO GOTO, MASATOSHI OGAWA, AKIYOSHI TSUJI,
YASUKO KANEKO and SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

The present study was carried out in order to determine the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of AB-206 and following results were obtained.

1. AB-206 was found to exhibit potent antibacterial activity chiefly against gram-negative bacilli, and in particular its activity against enterococci and non-glucose fermenting gram-negative bacilli including *P. aeruginosa* was stronger than that of PPA or NA.

2. In experimentally induced infections of *Serratia*, *P. aeruginosa* and *P. cepacia* in mice, AB-206 was proven to be effective by oral route. Its ED₅₀ was lower than that of PPA, DOTC or GM.