

新しいアミノ配糖体系抗生物質 KW-1070 の細菌学的検討

北浦 皓三・皆川 治重・峯浦 和幸・丸茂 博大

協和醸酵工業株式会社 医薬研究所

新しいアミノ配糖体系抗生物質 KW-1070 (fortimicin) に関する細菌学的評価を行なった結果、以下の諸成績が得られた。

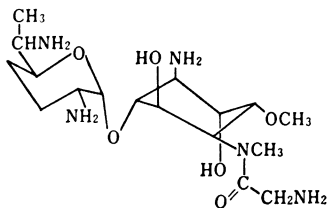
1. KW-1070 の抗菌スペクトラム、抗菌力は amikacin (AMK) に類似しているが、*Pseudomonas aeruginosa* に対する抗菌力は AMK よりも劣った。
2. KW-1070 は AAC(3)-I 以外のアミノ配糖体不活化酵素に安定であり、gentamicin (GM), AMK および Dibekacin (DKB) 耐性菌にも良好な感受性を示した。
3. *Pseudomonas aeruginosa* を除く臨床分離株に対して、KW-1070 は AMK とほぼ同程度かやや劣る感受性を示したが、高度耐性株はほとんど認めなかった。
4. KW-1070 は殺菌的に作用し、その作用は AMK よりも強かった。
5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響、耐性獲得、および自然耐性菌出現頻度などについて AMK と大差はなかったが、*Escherichia coli* では AMK に耐性菌が出現しやすい傾向がみられた。
6. 実験的感染症 (マウス、ラット) に対して KW-1070 は AMK と同様優れた治療効果を示し、また AMK を含むアミノ配糖体系抗生物質耐性菌にも優れた治療効果を認めた。

KW-1070 は放線菌 *Micromonospora olivoasterospora* の産生する新しいアミノ配糖体系抗生物質で分子式 $C_{17}H_{35}N_5O_6$ 化学名 4-amino-3-O-(2,6-diamino-2,3,4,6,7-pentadeoxy- β -L-lyxo-heptopyranosyl)-1,4-dideoxy-1-N-glycyl-6-O-methyl-1-methylamino-L-chiro-inositol、分子量 405.49 の水に易溶な白色粉末である^{1,2)}。本物質の化学構造式は Fig. 1 に示すとおりで、pseudo-disaccharide という新規な構造式を有する¹⁾。

本剤は amikacin 同様幅広い抗菌スペクトルを有し、グラム陰性桿菌には強い抗菌力を示す。特に、*Serratia marcescens* には amikacin よりも優れた抗菌力を示すが *Pseudomonas aeruginosa* に対する抗菌力は弱いことが報告されている^{4,5)}。また、本剤はアミノ配糖体不活性化酵素に抵抗性を示し、AAC(3)-I の酵素によってのみアセチル化されるだけであり、アミノ配糖体系抗生物質に耐性の諸菌種に抗菌力を認めることも大きな特徴の 1 つとしている⁶⁾。

今回、われわれはこの KW-1070 について既知アミノ

Fig. 1 Chemical structure of KW-1070



$C_{17}H_{35}N_5O_6$ (M.W.405.49)

配糖体系抗生物質である amikacin を主な対照薬剤として *in vitro* および *in vivo* の抗菌作用に関する基礎的検討を行なったので、その結果について報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

KW-1070 および KW-1062 は当社で製造された凍結乾燥品 (KW-1070 : 606 μ g 力価/mg, KW-1062 : 650 μ g 力価/mg) を用いた。対照薬として amikacin (AMK : 萬有製薬), dibekacin (DKB : 明治製薬), gentamicin (GM : 塩野義製薬), kanamycin (KM : 明治製薬) および ribostamycin (RSM : 明治製薬) のいずれも力価の明らかなものを用いた。

2. 使用菌株

当研究所保存株および、臨床材料より分離された各菌種の多数株を用いた。

3. 抗菌スペクトラム

日本化学療法学会標準法^{7,8)}に準じ、寒天平板希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。前培養に Tryptosoya broth (TSB, ニッスイ), 測定用培地に Heart infusion agar (HIA, 栄研) を用い、37°C, 18 時間培養後の MIC (μ g/ml) で求めた。なお、*Streptococcus* 属、*Corynebacterium diphtheriae* については 10% 馬血液加 HIA を用いた。

4. 殺菌作用

殺菌作用は以下の 2 通りの方法で AMK と比較検討

した。

1) 最小殺菌濃度 (MBC)

Mueller-Hinton broth (MHB, Difco) による microtiter broth dilution 法により MBC を求めた。MHB で2倍希釈した薬剤希釈系列 (2倍濃度) それぞれ 50 μ l ずつを microtiter plate (NUNCLON 製, ふた付, 96穴) に滴下する。TSB で 37°C, 18 時間培養菌液を MHB で 10^{-5} 希釈し, 上記薬剤希釈系列上に 50 μ l ずつ添加し十分に混合してから 37°C, 18 時間培養した。肉眼的に菌の発育がみられない最小薬剤濃度を MIC とした。MIC 近辺の各 well より 10 μ l をとり薬剤を含有しない MHB 50 μ l を滴下した別の新しい microplate 上に接種した。37°C, 18時間培養後, 肉眼的に菌の増殖が阻止されている最も低い薬剤濃度を MBC とした。

2) 増殖曲線に及ぼす影響

Staphylococcus aureus 209-P, *Escherichia coli* NIH JC-2 および *S. marcescens* T-55 を試験菌として生菌数測定により検討した。TSB で 37°C, 18 時間培養菌液を Heart infusion broth (HIB Difco) で希釈し, 37°C で振盪培養を行なった。培養2時間後に薬剤を添加し, 経時的に生菌数を測定した。

5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH, 接種菌量および馬血清添加の影響を *S. aureus* 209-P, *E. coli* NIH JC-2, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus vulgaris* ATCC 6897, *S. marcescens* T-55 および *P. aeru-*

ginosa BMH 1 を試験菌として HIA の寒天平板希釈法により 37°C, 18 時間培養後の MIC の変動により検討した。

6. 試験管内耐性獲得

E. coli NIH JC-2, *S. marcescens* T-55, *P. inconstans* F-435 および *K. pneumoniae* ATCC 10031 を試験菌として, 薬剤の2倍希釈濃度系列を含む HIB を用い 37°C, 18 時間培養後 MIC を測定した。薬剤を含まない対照培地と同程度の発育を示した薬剤含有培地発育菌を同濃度およびさらに高濃度の薬剤を含む培地に継代することをくり返し, 37°C, 18 時間培養を1世代とする増量継代法によって MIC の変動を調べた。

7. 自然耐性菌出現頻度

E. coli NIH JC-2, *K. pneumoniae* ATCC 10031, *S. marcescens* T-55 および *P. inconstans* F-435 を TSB で 37°C, 18 時間前培養してえられる菌液をさらに同培地で100倍希釈した。この菌液 1ml を 8 MIC および 16 MIC の薬剤濃度 (最終濃度) を含有する HIA 9ml で混釈して 37°C, 48 時間培養したのち生じたコロニー数を測定し, 耐性菌の出現頻度を算定した。

8. マウス実験的感染症に対する治療効果

実験動物は ddY 系, 雄マウス (体重 18 ± 1 g), 1群 5匹を使用した。TSB にて1晩培養した試験菌を 5% gastric mucin (Nutritional Biochemicals Corp.: NBC) 溶液に懸濁し, 所定の菌濃度に希釈調整する。この菌液をマウス腹腔内に 0.5 ml 接種した。接種菌量は各試験

Table 1 Antibacterial spectrum

Gram-positive bacteria	(10 ⁸ cells/ml)				
Test strain	KW-1070	AMK	DKB	KW-1062	GM
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	0.39	0.78	0.2	0.1	0.2
SMITH	0.2	0.39	0.1	0.1	0.1
TERAJIMA	1.56	1.56	0.2	0.78	0.39
NEUMANN	0.78	0.78	0.2	0.2	0.2
No. 80	0.78	0.39	0.2	0.2	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	0.39	0.2	0.2	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	6.25	25	12.5	3.13	3.13
COOK	3.13	1.56	0.78	1.56	0.78
<i>Streptococcus faecalis</i>	50	100	100	12.5	12.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I	12.5	50	25	6.25	6.25
type II	6.25	25	25	6.25	3.13
type III	6.25	12.5	12.5	3.13	3.13
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	1.56	0.78	1.56	0.78	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.2	0.2	0.1	0.05	0.05
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	3.13	1.56	3.13	1.56	0.78

MIC (μ g/ml)

Table 2 Antibacterial spectrum

Gram-negative bacteria	(10 ⁶ cells/ml)				
Test strain	KW-1070	AMK	DKB	KW-1062	GM
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.78	0.39	0.39	0.39	0.39
NIH	1.56	0.78	0.39	0.78	0.39
GN 2411-5	1.56	0.78	0.39	0.78	0.39
Juhl	1.56	0.78	0.39	0.78	0.78
<i>Salmonella typhi</i> E-9	0.39	0.78	0.39	0.2	0.39
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	0.78	1.56	0.78	0.39
<i>Salmonella enteritidis</i> G-14	1.56	1.56	3.13	1.56	0.78
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-3	0.39	0.78	0.2	0.2	0.2
<i>Shigella flexneri</i> 2 a	0.78	0.39	1.56	0.78	0.39
<i>Shigella boydii</i> EW-30	0.39	0.78	0.39	0.39	0.39
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	1.56	0.78	0.78	0.78	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 8045	0.78	0.39	0.2	0.2	0.1
ATCC 10031	0.78	0.39	0.2	0.39	0.2
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	1.56	1.56	0.39	0.39	0.39
<i>Serratia marcescens</i> UCLA 1484	1.56	0.78	12.5	>100	>100
1584	0.78	0.78	25	12.5	12.5
T-26	0.78	0.78	3.13	0.78	0.39
T-55	0.78	0.78	3.13	0.39	0.39
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6897	6.25	3.13	1.56	3.13	0.78
JJ	1.56	0.78	0.39	0.39	0.39
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	12.5	6.25	3.13	3.13	1.56
<i>Proteus morgani</i> KY-4298	1.56	0.78	0.39	0.78	0.39
<i>Proteus rettgeri</i> KY-4288	0.39	0.78	0.39	0.39	0.39
<i>Proteus inconstans</i> F-442	3.13	3.13	100	>100	>100
F-438	12.5	3.13	100	>100	50
F-435	1.56	1.56	100	>100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> BMH 1	12.5	0.78	0.2	0.78	0.39
Nc-5	12.5	1.56	0.78	1.56	1.56
E-2	6.25	1.56	0.39	1.56	0.78

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

菌とも最小致死量 (minimal lethal dose : MLD) になるように調整した。薬剤は感染1時間後に1回、皮下または静脈内に投与した。感染後7日間マウスの生死を観察し、BEHRENS-KÄRBER 法にて ED₅₀ (mg/kg) を算出した。

9. 実験的腎内感染症に対する治療効果

実験動物は ddY 系, 雄マウス (体重 20±1g) および Wistar 系, 雄ラット (体重 100~150g) をそれぞれ1群5匹として使用した。実験方法は近藤らのブドウ球菌の腎内接種法^{9,10)} に準じて行なった。すなわち, 感染前

24時間絶水した実験動物をエーテル麻酔下で腰背部から切開し, 左腎の実質部3ヵ所にぬい針で穿刺して菌を接種した。直ちに縫合し, 適宜薬剤を皮下 (マウス) あるいは筋肉内 (ラット) に投与した。菌接種4日後および6日後に腎を摘出し, 滅菌生理食塩水を加えてホモゲナイズし, 10倍希釈をくり返し生菌数を測定した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトラム

KW-1070 の抗菌スペクトラムを既知アミノ配糖体系抗生物質と比較検討し, その結果を Table 1, 2, 3 に示し

Table 3 Antibacterial spectrum

Aminoglycoside-resistant bacteria		(10 ⁸ cells/ml)				
Test strain	Mechanism of resistance	KW-1070	AMK	GM	DKB	KM
<i>Escherichia coli</i> 76-2	AAD (2')	3.13	3.13	25	50	>100
57 R/W 677	AAD (2')	6.25	12.5	100	>100	>100
R 5	APH (3')-1	3.13	3.13	0.78	1.56	>100
R 17	AAC (6')	1.56	3.13	0.2	6.25	25
R 19	AAC (3)-1	>100	1.56	12.5	0.78	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Y-58	AAD (2')	3.13	3.13	25	50	>100
Y-60	AAD (2')	6.25	3.13	50	50	>100
<i>Serratia marcescens</i> 1065	AAC (6')-IV	6.25	50	3.13	>100	>100
<i>Providencia</i> 164	AAC (2')	12.5	12.5	50	50	>100

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

た。

KW-1070 は既知アミノ配糖体系抗生物質と同様にグラム陽性菌およびグラム陰性菌の両者に対して幅広い抗菌作用を示す。いわゆる広域性抗菌スペクトルを有する物質であることが認められた。その抗菌力を比較するとグラム陽性菌に対しては KW-1070 はほぼ AMK と同程度の抗菌力を有し、*Staphylococcus* には 0.2~1.56 $\mu\text{g/ml}$ 、*Streptococcus* には 3.13~50 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示した。DKB, KW-1062, および GM の抗菌スペクトラムは KW-1070 に類似しているが抗菌力は優る成績であった。

一方、グラム陰性桿菌では、*E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* のいずれの菌に対しても 0.39~1.56 $\mu\text{g/ml}$ 、*Proteus* には 0.39~12.5 $\mu\text{g/ml}$ の感受性を示した。特に、*S. marcescens* と *P. inconstans* に対しては AMK と同等で DKB, KW-1062, および GM よりも優れた抗菌力を示した。しかしながら、*P. aeruginosa* に対しては 6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$ の感受性を示し、比較検討した対照薬に比べて明らかに弱い抗菌力を示した。

KW-1070 はアミノ配糖体系抗生物質耐性株に対しては優れた抗菌力を示し (Table 3), AAC(6')-IV の不活化酵素を産生して AMK を不活性化する *S. marcescens* 1065 に対して 6.25 $\mu\text{g/ml}$ の感受性を示した。AAD (2'), APH (3')-I, AAC (6') および ACC (2') の不活化酵素を産生する種々の菌種に対しても、KW-1070 は 3.13~12.5 $\mu\text{g/ml}$ の感受性を示した。しかし、AAC (3)-I を産生する *E. coli* R 19 に対しては >100 $\mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示し GM と同様本酵素により不活性化されることが認められた。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床分離株に対する KW-1070 の抗菌力を Table 4, 5 に示した。*E. coli* 80 株の場合、KW-1070 は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に、AMK と DKB は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有し、KW-1070 はこれらの薬剤に比べ 1 管悪い MIC を示した。KW-1062 と GM はほぼ同程度の抗菌力であり、AMK および DKB より優る活性を示した。*K. pneumoniae* 28 株の場合、KW-1070 は 1.56~3.13 $\mu\text{g/ml}$ 、AMK は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ にピークを示し、DKB, GM および KW-1062 より抗菌力は劣った。*S. marcescens* 59 株の場合、KW-1070, AMK および DKB とともに 3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$ にピークを示したが、AMK と DKB には高度耐性株 (MIC > 100 $\mu\text{g/ml}$) が多数認められた。GM と KW-1062 はともに 0.39~>100 $\mu\text{g/ml}$ と幅広く分布し、耐性株が多数認められた。

P. mirabilis 34 株の場合、KW-1070 は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 、AMK は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に 1 峰性の分布が認められた。DKB もほぼ同様の活性を示すが、耐性株が多数認められた。GM と KW-1062 は他剤よりも強い活性を示した。*P. vulgaris* 21 株の場合、KW-1070 と AMK はともに 3.13 $\mu\text{g/ml}$ にピークを示し、DKB は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ に GM と KW-1062 は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有し、いずれも KW-1070 および AMK よりも優れた抗菌力を示した。*P. inconstans* 18 株の場合、DKB, GM および KW-1062 には高度耐性株が数多く認められたが、KW-1070 と AMK はほとんどの株で 1.56~25 $\mu\text{g/ml}$ の感受性を示した。*S. aureus* 21 株の場合、KW-1070 と AMK とともに 1.56 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有し、両薬剤間に差はなかった。GM が最も強い抗菌力を有し、DKB と KW-1062 はほぼ同様の抗菌力を示した。

3. MBC 分布による抗菌力

臨床分離株に対する KW-1070 と AMK の MBC 分布

Fig. 2 Comparison of distribution of MIC and MBC of KW-1070 and AMK

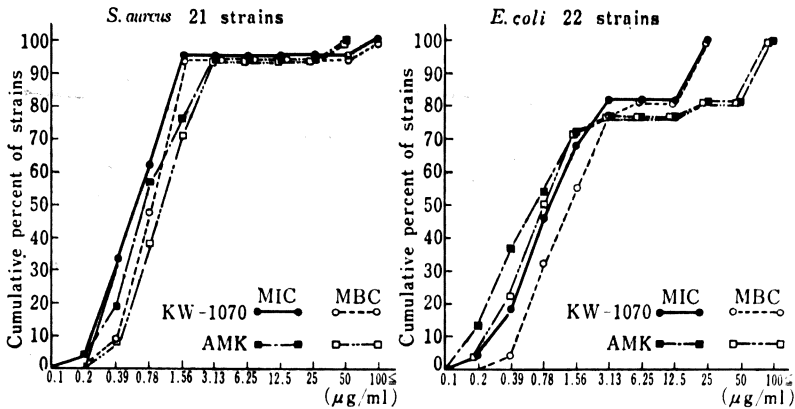
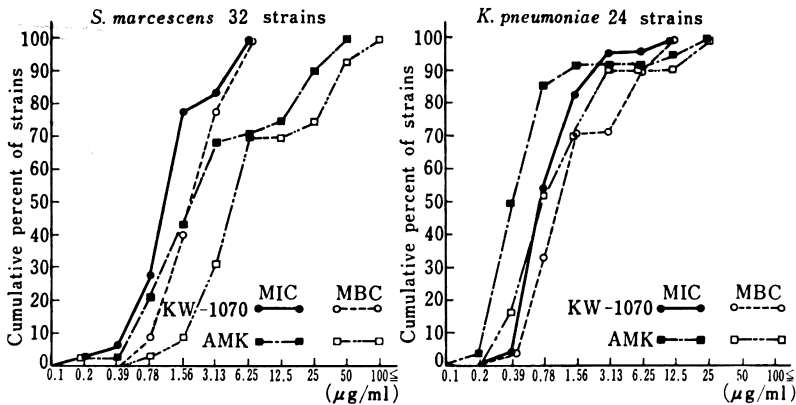


Fig. 3 Comparison of distribution of MIC and MBC of KW-1070 and AMK



を Fig. 2, 3 に示した。 *S. aureus* 21 株の場合、KW-1070 の MBC はほとんどの菌株に対し 1~2MIC を示し、全般的に強い殺菌作用を示した。AMK も同様の傾向を示すが MBC を指標とした抗菌力は KW-1070 よりもやや劣ると思われた。 *E. coli* 22 株の場合、KW-1070 の MBC はほとんど全ての菌株に対し 1~2 MIC を示し、この濃度関係は AMK の場合も同様であった。 *E. coli* に対する KW-1070 の抗菌力は AMK に比べてやや弱いと思われるが AMK には耐性菌が認められた。

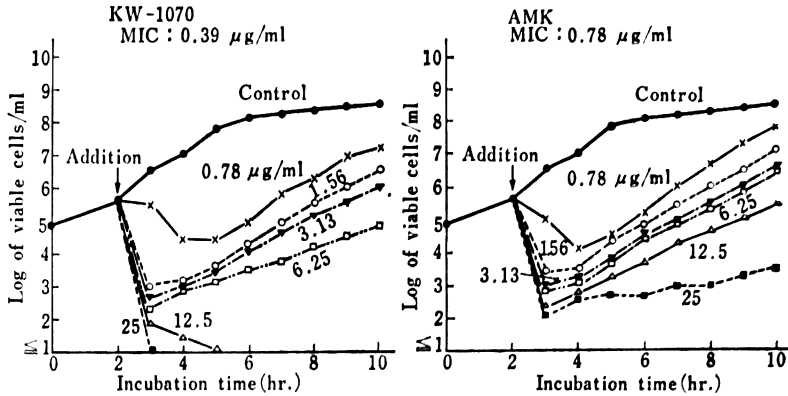
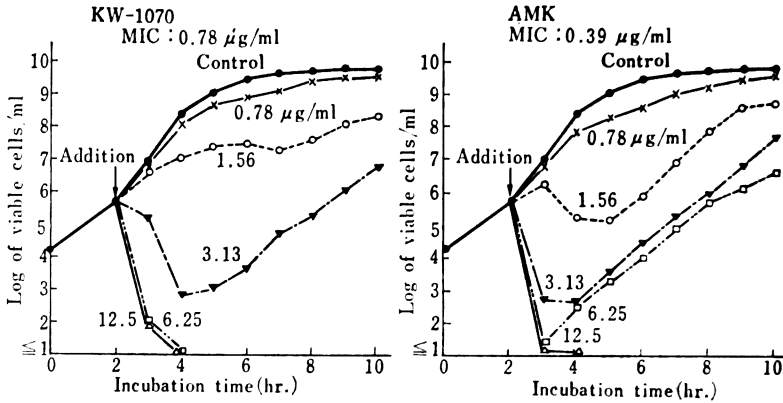
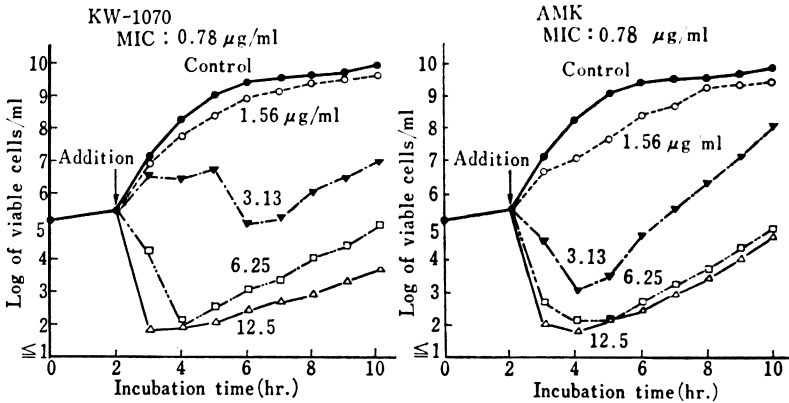
S. marcescens 32 株の場合には、KW-1070 の MBC はほとんどの菌株に対し 1~2 MIC を示し、強い殺菌作用をした。AMK もほぼ同様の濃度関係を示すが、その殺菌作用は明らかに KW-1070 より劣り、MIC を指標とした抗菌力の強さとよく平行する結果が認められた。 *K. pneumoniae* 24 株の場合、KW-1070 と AMK の MBC はほとんどすべての菌株に 1~2 MIC を示すが、KW-1070 の抗菌力は AMK に比べ若干弱いことが認められた。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus 209-P, *E. coli* NIH JC-2 および *S. marcescens* T-55 を用い対数期途上の菌に KW-1070 と AMK の種々の濃度を作用させ、両薬剤の殺菌作用を検討した成績を Fig. 4, 5, 6 に示した。 *S. aureus* 209-P では、MIC 以上の薬剤を作用させると、両薬剤ともに添加直後から急速な生菌数の減少がみられ著明な殺菌作用は認められるものの 2 時間後より菌が再増殖し始め、AMK では 12.5~25 $\mu\text{g/ml}$ 濃度でも再増殖が認められた。KW-1070 は 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では AMK よりも強い殺菌作用を示した。

E. coli NIH JC-2 の場合は、KW-1070 と AMK ともに 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 濃度で生菌数の減少が認められるものの添加 3 時間後より急速な再増殖が認められた。AMK では 6.25 $\mu\text{g/ml}$ でも同様な現象が認められ、 *S. aureus* 209-P の場合と同様に殺菌力は KW-1070 より劣ると思われた。

S. marcescens T-55 の場合には、3.13 $\mu\text{g/ml}$ では

Fig. 4 Bactericidal effect of KW-1070 and AMK on *S. aureus* 209-PFig. 5 Bactericidal effect of KW-1070 and AMK on *E. coli* NIH JC-2Fig. 6 Bactericidal effect of KW-1070 and AMK on *S. marcescens* T-55

KW-1070 は静菌的に働くが、AMK は添加直後より殺菌的に作用し生菌数は明らかに減少した。しかしながら検討した他の菌種と同様に、添加3時間後より急速な再増殖が認められた。6.25 µg/ml 以上の濃度では、両薬剤ともほぼ同様の傾向が認められた。

以上のことより、AMK は添加後短時間に殺菌力を発

揮するがその効果は持続せず再増殖を許しやすいが、KW-1070 は殺菌力を発揮するにはやや時間を必要とするが、その効果は持続的に作用すると推察された。

5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

S. aureus 209-P, *E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae* ATCC 10031, *P. vulgaris* ATCC 6897, *S. marcescens*

Table 6 Effect of medium pH, inoculum size and horse serum on antibacterial activity of KW-1070 and AMK

Factor		MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
		<i>S. aureus</i> 209-P		<i>E. coli</i> HIH JC-2		<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031		<i>P. vulgaris</i> ATCC 6897		<i>S. marcescens</i> T-55		<i>P. aeruginosa</i> BMH 1	
		KW-1070	AMK	KW-1070	AMK	KW-1070	AMK	KW-1070	AMK	KW-1070	AMK	KW-1070	AMK
pH	6	0.78	0.78	3.13	1.56	1.56	0.78	12.5	12.5	3.13	6.25	12.5	1.56
	7	0.2	0.39	1.56	0.39	0.78	0.78	1.56	1.56	1.56	0.78	6.25	0.78
	8	0.2	0.2	0.78	0.39	0.78	0.39	1.56	0.78	1.56	0.78	3.13	0.78
	9	0.2	0.2	0.39	0.39	0.78	0.39	0.78	0.78	0.78	0.78	3.13	0.78
Inoculum size (cells/ml)	10^5	0.2	0.2	1.56	0.78	0.78	0.39	1.56	0.78	0.78	1.56	3.13	0.78
	10^6	0.2	0.2	1.56	1.56	0.78	0.39	1.56	1.56	0.78	1.56	3.13	0.78
	10^7	0.2	0.39	1.56	1.56	0.78	0.78	3.13	1.56	0.78	1.56	6.25	0.78
	10^8	0.39	0.78	1.56	1.56	0.78	0.78	3.13	3.13	1.56	1.56	6.25	0.78
	10^9	1.56	1.56	1.56	3.13	1.56	1.56	6.25	6.25	1.56	1.56	12.5	1.56
Horse serum (%)	0	0.39	0.39	1.56	0.78	0.78	0.39	3.13	1.56	0.78	0.78	1.56	0.39
	10	0.2	0.39	0.78	0.39	0.39	0.39	0.78	1.56	0.78	0.78	1.56	0.39
	25	0.1	0.2	0.39	0.78	0.2	0.39	1.56	0.78	0.39	0.78	1.56	0.39
	50	0.39	0.39	1.56	0.78	0.39	0.39	1.56	0.78	0.78	0.78	3.13	0.78

Table 7 Frequency of natural resistant mutants to KW-1070 and AMK

Organism	Selected concentration	KW-1070	AMK
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	8 MIC	3.32×10^{-7}	2.09×10^{-6}
	16 MIC	$< 3.88 \times 10^{-8}$	6.86×10^{-6}
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	8 MIC	$< 1.16 \times 10^{-7}$	$< 1.16 \times 10^{-7}$
	16 MIC	$< 1.16 \times 10^{-7}$	$< 1.16 \times 10^{-7}$
<i>Serratia marcescens</i> T-55	8 MIC	1.05×10^{-6}	7.00×10^{-7}
	16 MIC	8.50×10^{-8}	2.65×10^{-7}
<i>Proteus inconstans</i> F-435	8 MIC	$< 2.62 \times 10^{-8}$	1.83×10^{-8}
	16 MIC	$< 2.62 \times 10^{-8}$	$< 2.62 \times 10^{-8}$

T-55, *P. aeruginosa* BMH 1 を用いて培地 pH, 接種菌量, 馬血清添加の抗菌力に及ぼす影響を検討し, その結果を Table 6 に示した。

培地 pH の影響については KW-1070, AMK ともアルカリ側で抗菌力の増殖が認められた。接種菌量による影響では *S. aureus* 209-P, *P. vulgaris* ATCC 6897 において接種菌量の増加に伴い両薬剤ともに抗菌力は低下する傾向が認められた。馬血清添加による影響では, 両薬剤ともにいずれの菌に対しても MIC の変動は比較的軽度であった。

6. 試験管内耐性獲得

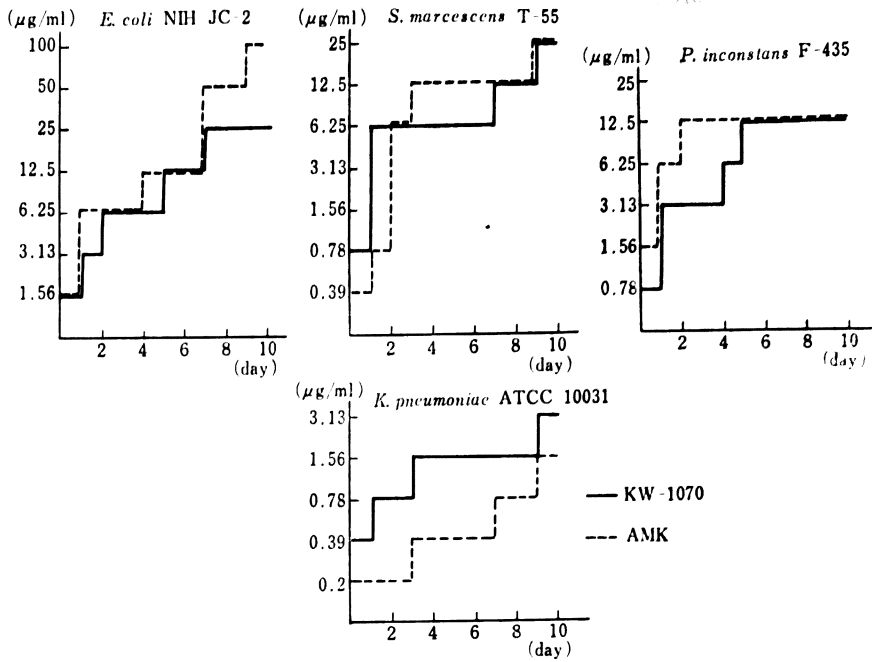
E. coli NIH JC-2, *S. marcescens* T-55, *P. inconstans*

F-435 および *K. pneumoniae* ATCC 10031 を用い, KW-1070 と AMK の試験管内耐性獲得について 10 代まで検討し, その結果を Fig. 7 に示した。*E. coli* NIH JC-2 では KW-1070 および AMK に対し, 7 代まではほぼ同様に段階的に耐性を獲得し, 以後 KW-1070 の感受性は変化しないが, AMK は $100 \mu\text{g/ml}$ まで上昇した。*S. marcescens* T-55, *P. inconstans* F-435 および *K. pneumoniae* ATCC 10031 の KW-1070 と AMK に対する耐性の獲得は段階的にほぼ同様に経過した。

7. 自然耐性菌出現頻度

E. coli NIH JC-2, *K. pneumoniae* ATCC 10031, *S. marcescens* T-55 および *P. inconstans* F-435 に対

Fig. 7 Development of resistance of bacteria of KW-1070 and AMK



する KW-1070 と AMK の自然耐性菌の出現頻度を 8 MIC と 16 MIC を選択濃度として検討し、その結果を Table 7 に示した。

K. pneumoniae ATCC 10031 と *P. inconstans* F-435 においては両薬剤ともに耐性菌の出現はほとんど認められなかった。一方、*S. marcescens* T-55 では両薬剤ともに耐性菌の出現が低頻度ではあるが認められた。*E.*

coli NIH JC-2 では、KW-1070 では極めて低頻度であるのに比べ AMK に対しては比較的高頻度に耐性菌が出現した。

8. マウス実験的感染症に対する治療効果

マウス腹腔内接種による各種感染症に対し、KW-1070 および種々の既知アミノ配糖体系抗生物質の皮下あるいは静脈内投与時の治療効果を Table 8, 9 に示した。アミ

Table 8 Protective effects of a single dose of KW-1070 and other aminoglycosides against experimental infections in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Route	ED ₅₀ (mg/kg)						MIC (µg/ml)					
			KW-1070	AMK	DKB	KW-1062	KM	RSM	KW-1070	AMK	DKB	KW-1062	KM	RSM
<i>S. aureus</i> SMITH	2.0 × 10 ⁴	s.c.	2.8	—	1.0	1.2	4.5	19.0	0.2	0.39	0.1	0.1	0.39	0.78
<i>K. pneumoniae</i> 8045	1.2 × 10 ⁴	s.c.	0.9	1.1	0.5	0.6	1.7	1.7	0.78	0.39	0.2	0.2	0.39	0.39
<i>P. aeruginosa</i> BMH 1	2.0 × 10 ⁶	s.c.	162	50.4	20.8	54.2	233	556	12.5	0.78	0.2	0.78	25	100
<i>E. coli</i> JUHL	2.0 × 10 ⁶	s.c.	4.5	5.0	2.5	1.7	6.7	16.7	1.56	0.78	0.39	0.78	1.56	1.56
	1.7 × 10 ⁶	i.v.	3.5	3.3	2.6	—	6.7	11.5						
<i>S. marcescens</i> T-26	2.3 × 10 ⁵	s.c.	2.6	3.3	3.7	1.2	2.7	22.6	0.78	0.78	3.13	0.78	1.56	12.5
	2.5 × 10 ⁵	i.v.	2.2	2.9	5.0	—	5.0	>55.6						
<i>S. marcescens</i> T-55	2.3 × 10 ⁶	s.c.	9.6	18.0	16.7	4.2	25.0	271	0.78	0.78	3.13	0.39	1.56	25
	2.4 × 10 ⁴	i.v.	7.2	9.4	13.5	—	25.0	>111						

Infection : i.p. injection, Treatment : s.c. or i.v. 1 hr after infection

Table 9 Protective effects of a single dose of KW-1070 and other aminoglycosides against experimental infections of mice with aminoglycoside-resistant strains

Organism	Mechanism of resistance	Challenge dose (cells/mouse)	Route	ED ₅₀ (mg/kg)					MIC (μg/ml)				
				KW-1070	AMK	DKB	KW-1062	GM	KW-1070	AMK	DKB	KW-1062	GM
<i>Serratia</i> sp. KY 4249	Unknown	3.4 × 10 ⁷	s.c.	7.50	>80.0	>200	27.8	7.50	6.25	100	>100	12.5	6.25
<i>E. coli</i> 48 LF	Unknown	2.4 × 10 ⁸	s.c.	4.00	18.8	15.0	9.00	7.88	25	100	12.5	50	25
<i>E. coli</i> 57R/W 677	AAD (2')	2.0 × 10 ⁸	s.c.	14.3	19.5	>400	41.3	38.4	6.25	3.13	100	12.5	12.5
<i>E. coli</i> R 16	APH (3')-I	1.3 × 10 ⁸	s.c.	3.75	7.88	5.25	NT	0.78	0.78	0.39	NT		
		1.1 × 10 ⁸	i.v.	6.75	39.0	18.8							
<i>K. pneumoniae</i> Y 58	AAD (2')	2.2 × 10 ⁷	s.c.	8.25	11.4	97.5	NT	3.13	3.13	50	NT		
		2.2 × 10 ⁷	i.v.	2.63	6.00	>40.0							
<i>K. pneumoniae</i> Y 60	AAD (2')	1.8 × 10 ⁸	s.c.	24.0	18.0	>400	NT	6.25	3.13	50	NT		
		2.8 × 10 ⁸	i.v.	7.50	11.3	>25.0							
<i>Providencia</i> 164	AAC (2')	2.0 × 10 ⁸	s.c.	19.2	27.0	13.5	NT	12.5	12.5	50	NT		
		1.6 × 10 ⁸	i.v.	5.60	7.30	5.70							

Infection : i.p. injection, Treatment : s.c. or i.v. 1 hr after infection, NT : not tested

Table 10 Protective effect of KW-1070 and AMK against experimental intrarenal infection with *E. coli* 3100

Drug	Viable cells (log ₁₀ /g kidney)		MIC (μg/ml)	Challenge dose (cells/g kidney)	Medication time (hr.)
	Dose (mg/kg)				
	10	5			
KW-1070	2.70 ± 1.50	3.98 ± 1.99	6.25	1.85 × 10 ⁴	2
AMK	1.60 ± 0.04	1.62 ± 0.03	3.13		
Control	6.11 ± 0.76		—		
KW-1070	1.58 ± 0.03	2.61 ± 1.67	6.25	1.06 × 10 ⁵	2, 24, 48, 72
AMK	1.63 ± 0.13	3.61 ± 1.94	3.13		
Control	5.48 ± 2.30		—		

Animal : ddY mice, male, 5 animals/group, Administration : s.c., Observation : 4 days after challenge

ノ配糖体系抗生物質感受性菌に対し (Table 8), KW-1070 は KM や RSM よりも明らかに優れた治療効果を有し, AMK とほぼ同様の治療効果を示した。特に *S. marcescens* T-55 に対しては, KW-1070 と AMK との *in vitro* の抗菌力が同じにもかかわらず, KW-1070 の治療効果が良い成績であった。しかしながら, *P. aeruginosa* BMH 1 に対しては明らかに治療効果は AMK, DKB および KW-1062 より劣り, *in vitro* 抗菌力と 관련된結果が得られた。また, 3 菌株について薬剤の投与ルート差による効果を比較したが, いずれの薬剤も静脈内投与の方が皮下投与よりも同じく良好な成績を示した。

一方, AMK 耐性菌を含む種々のアミノ配糖体系抗生物質耐性菌に対し (Table 9), KW-1070 は優れた治療効果を示し, *in vitro* の抗菌力の強さが十分に反映され

た成績を示した。

9. 実験的腎内感染症に対する治療効果

E. coli 3100, および *S. marcescens* T-26 によるマウスとラットの実験的腎内感染症に対する KW-1070 の治療効果を AMK および一部 GM と比較し Table 10, 11 に示した。

E. coli 3100 感染 (マウス) においては, KW-1070, AMK 投与群の腎内生菌数は無治療群に比べ大幅に減少し, 両薬剤の治療効果は, 5mg/kg と 10mg/kg 投与群とともに 1 回投与の場合は AMK, 連続投与の場合は KW-1070 がより強く認められた。

S. marcescens T-26 感染 (ラット) では, 1 回投与および連続投与で KW-1070 と AMK 両薬剤ともほぼ同様の治療効果を示した。また連続投与では 3 薬剤中 GM が最も強い効果を示した。

Table 11 Protective effect of KW-1070 and AMK against experimental intrarenal infection with *S. marcescens* T-26

Drug	Viable cells (log ₁₀ /g kidney)		MIC (μg/ml)	Challenge dose (cells/g kidney)	Medication time (hr.)
	Dose (mg/kg)				
	10	5			
KW-1070	2.41 ± 1.32	2.86 ± 0.83	0.78	1.36 × 10 ⁶	2
AMK	2.78 ± 1.01	2.40 ± 1.23	0.78		
Control	3.55 ± 0.76		—		
KW-1070	2.65 ± 0.29	3.10 ± 0.40	0.78	2.81 × 10 ⁶	24, 48, 72
AMK	3.21 ± 0.92	3.49 ± 1.13	0.78		
GM	2.30 ± 0.56	2.80 ± 1.24	0.39		
Control	4.56 ± 1.24		—		

Animal: Wistar rats, male, 5 animals/group, Administration: i.m., Observation: 6 days after challenge (single injection), 4 days after challenge (multiple injection)

III. 考 察

新しいアミノ配糖体系抗生物質 KW-1070 の細菌学的評価を既知アミノ配糖体系抗生物質である AMK^{11,12)} を主な対照薬剤として比較検討した。KW-1070 は AMK と同様、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に抗菌スペクトラムを有し、その抗菌力はほぼ AMK と同程度であるが緑膿菌に対する活性は AMK の方が優れていた。しかしながら、KW-1070 は pseudo-disaccharide という構造上の新規さから現在知られている^{13,14)} AAC (6'), AAC (2'), AAC (3), APH (3') および AAD (2'') 等の種々の不活化酵素産生菌のうち、ただ1つ AAC (3)-I 産生菌の *E. coli* R 19 に無効であり、他の耐性菌には感受性を示した。

一方、既知アミノ配糖体系抗生物質の中で耐性菌に広い効果を示すと報告されている^{6,12)} AMK は *E. coli* R 19 には抗菌力を示すが AAC (6')-N 産生菌の *S. marcescens* 1065 に効果を示さなかった。このことから、KW-1070 は既知薬剤である GM, DKB および AMK などとも交差耐性がほとんどなく、これらの薬剤に耐性である諸菌種にも好感受性であり、臨床効果が期待される。

本物質の臨床分離株に対する感受性分布を検討したところ、AMK とほぼ同程度か悪くとも 1 管程度劣る抗菌力を示した。また、最近臨床問題になっている *S. marcescens* や *P. inconstans* には、KW-1070 に対する高度耐性株は認められなかった。

KW-1070 と AMK の両薬剤とも殺菌力は強く、その MBC はほとんどの菌株に対し 1MIC~2MIC 値を示した。その殺菌力の発現をみると、AMK の殺菌力は持続せず、再増殖を許しやすいことが *S. aureus* 209-P と *E. coli* NIH JC-2 の生菌数測定で認められ、一方 KW-1070 は殺菌力を発揮するにはやや時間を要するがその

効果は持続的であり、両薬剤の作用の発現に差があることが推察された。

次に抗菌力に及ぼす諸因子の影響について検討したが、KW-1070 は AMK と同様に培地 pH がアルカリ側で抗菌力の増強がみられ、接種菌量が高くなるにつれて抗菌力が軽度低下した。また、血清添加による抗菌力の変動はわずかであった。

試験管内耐性獲得および自然耐性菌出現頻度では、KW-1070 と AMK はほぼ同程度であったが、*E. coli* では AMK に耐性菌が出現しやすい傾向を認めた。

マウス実験的感染症に対する治療効果については、*P. aeruginosa* 感染症を除き KW-1070 は AMK に比べ優るとも劣らない治療効果を示し、特に *S. marcescens* で顕著であった。また、KW-1070 は AMK 耐性菌を含む種々のアミノ配糖体系抗生物質耐性菌にも優れた治療効果を示し、総じて *in vitro* の抗菌力で考えられる以上に *in vivo* の治療効果が良いと思われる成績が得られた。また、マウス、ラットを用いた実験的腎内感染症に対しても KW-1070 は AMK に匹敵する治療効果を示し、両薬剤ともに腎内移行性が良いと思われた。

以上の諸実験から、KW-1070 は特に、緑膿菌を除く種々のアミノ配糖体系抗生物質耐性の諸菌種に有効であり、今後本物質のこれらの細菌感染症に対する臨床効果が期待される。

文 献

- 1) NARA, T.; M. YAMAMOTO, I. KAWAMOTO, K. TAKAYAMA, R. OKACHI, S. TAKASAWA, T. SATO & S. SATO: Fortimicins A and B, new aminoglycoside antibiotics. I. producing organism, fermentation and biological properties of fortimicins. *J. Antibiotics* 30: 533~540, 1977

- 2) OKACHI, R.; S. TAKASAWA, T. SATO, S. SATO, M. YAMAMOTO, I. KAWAMOTO & T. NARA : Fortimicis A and B, new aminoglycoside antibiotics. II. Isolation, physico-chemical and chromatographic properties. *J. Antibiotics* 30 : 541~551, 1977
- 3) EGAN, R. S.; R. S. STANASZEK, M. CIROVIC, S. L. MUELLER, J. TADANIER, J. R. MARTIN, P. COLLUM, A. W. GOLDSTEIN, R. L. DE VAULT, A. C. SINCLAIR, E. E. FAGER & L. A. MITSCHER : Fortimicin A and B, new aminoglycoside antibiotics. III. Structural identification. *J. Antibiotics* 30 : 552~563, 1977
- 4) GIROLAMI, R. L. & R. M. STAMM : Fortimicis A and B, new aminoglycoside antibiotics. IV. *In vitro* study of fortimicin A compared with other aminoglycosides. *J. Antibiotics* 30 : 564~570, 1977
- 5) JONES, R. L.; R. BARRY, P. C. FUCHS, T. L. GAVAN, H. M. SOMMERS & E. H. GERLACH : Fortimicin A : Collaborative *in vitro* susceptibility comparison with amikacin and gentamicin against 11,840 clinical bacterial isolates. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 16 : 823~828, 1979
- 6) OHASHI, Y.; H. KAWABE, K. SATO, N. NAKAMURA, S. KURASHIGE & S. MITSUHASHI : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of KW-1070, a new aminoglycoside antibiotic. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 17 : 138~143, 1980
- 7) 日本化学療法学会 MIC 小委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法, *Chemotherapy* 16 : 98~99, 1968
- 8) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について, *Chemotherapy* 22 : 1126~1128, 1974
- 9) 近藤 勇, 黒坂公生, 益田昭吾, 木村晃三, 長谷川紀子, 町田勝彦 : ブドウ球菌の "Intrarenal infection", *日本細菌学雑誌* 25 : 481~482, 1970
- 10) KONDO, I.: S. MASUDA K. KIMURA, K. KUROSAWA & N. HASEGAWA : Effects of intrarenal inoculation of *Staphylococcus aureus* on mice. *Infect. Immun.* 4 : 103~109, 1971
- 11) BODEY, G. P. & D. STEWART.: *In vitro* studies of BB-K 8, a new aminoglycoside antibiotic. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 4 : 186~192, 1973
- 12) PRICE, K. E.: D. R. CHISHOLM, M. MISIEK, F. LEITNER & Y. H. TSAI : Microbiological evaluation of BB-K 8, a new semisynthetic aminoglycoside. *J. Antibiotics* 25 : 709~731, 1972
- 13) SMITH, D. H.: R factors for aminoglycoside antibiotics. *J. Infect. Dis.* 119 : 378~380, 1969
- 14) BENVENISTE, R. & J. DAVIES : R-Factor mediated gentamicin resistance : A new enzyme which modifies aminoglycoside antibiotics. *FEBS Letters* 14 : 293~296, 1971

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF KW-1070, A NEW AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTIC

KOZO KITAURA, HARUSHIGE MINAGAWA, KAZUYUKI MINEURA
and HIROFUTO MARUMO

Pharmaceuticals Research Laboratory, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.

KW-1070, a new aminoglycoside antibiotic was bacteriologically evaluated. The results are summarized as follows:

- 1) The antimicrobial spectrum and activity of KW-1070 were similar to those of amikacin, except the activity was less active than that of amikacin against *Pseudomonas aeruginosa*.
- 2) KW-1070 was effective against bacteria capable of producing aminoglycoside-inactivating enzymes except for AAC (3)-I and therefore, it was active against various aminoglycoside-resistant strains.
- 3) In sensitivity test of clinical isolates, the antibacterial activity of KW-1070 was similar or slightly less active in comparison with amikacin. KW-1070-resistant strain was only rarely observed.
- 4) KW-1070 showed bactericidal activity, being superior to that of amikacin.
- 5) On the protective effects for experimental infections of various aminoglycoside-sensitive bacteria, KW-1070 showed similar effect to amikacin. Furthermore, KW-1070 was effective both *in vivo* and *in vitro* in experimental infections due to various aminoglycoside-resistant bacteria including amikacin-resistant strain.