

3'-Propionylleucomycin A₅ (TMS-19-Q) の嫌気性菌および *Ureaplasma* に対する抗菌作用

渡辺邦友・加藤直樹・沢 赫代・青木 誠・上野一恵
岐阜大学医学部嫌気性菌実験施設

3'-propionylleucomycin A₅ (TMS-19-Q) の嫌気性菌および *Ureaplasma* に対する抗菌力を *in vitro*, *in vivo* にて検討した。

TMS-19-Q は, *Fusobacterium* の一部 (*F. varium*, *F. mortiferum*) と *Bacteroides fragilis* の一部の耐性菌を除く偏性嫌気性菌全般に強い抗菌力を示した。

TMS-19-Q は, *B. fragilis* の耐性菌に対し 10⁶CFU/ml 接種での MIC が 1.56 μg/ml から 50 μg/ml であり, JM, MDM の 50 μg/ml 以上~200 μg/ml 以上より著明に優れた。

ゴールデンハムスターを用いて行なった *B. fragilis* の実験的感染症のモデルにおいて, TMS-19-Q は, 特に肺内に分布した *B. fragilis* に強く作用することが知られた。

Ureaplasma に対する TMS-19-Q の *in vitro* での抗菌力は, Doxycycline のそれに匹敵するものであった。

TMS-19-Q は, 東洋醸造株式会社で新規に開発されたマクロライド系抗生物質である。

本剤はキタサマイシンの一成分であるロイコマイシン A₅ の 3' 位を化学的にプロピオニル化して得られた 3'-propionylleucomycin A₅ である。

著者らは, TMS-19-Q の偏性嫌気性菌に対する抗菌作用を Midecamycin, Josamycin, Clindamycin, Cefoxitin と比較検討した。また *Ureaplasma* に対する抗菌作用についても Doxycycline を比較薬剤として検討した。

I. 材料と方法

1. 供試菌株

施設保存の偏性嫌気性菌 92 株と *Ureaplasma* 34 株を用いた。偏性嫌気性菌 92 株は, American Type Culture Collection (ATCC) より入手した株と当施設で各種臨床材料より分離, 同定した株を含んでいて, 20% スキムミルク溶液中で -70°C に凍結保存されていたものである。

Ureaplasma 43 株は, 岐阜大学泌尿器科学教室において, 非淋菌性尿道炎または男子尿道および女子尿道より分離され, T-broth (pH 6.5) に保存されていたものである。T-broth は PPLO broth 80 ml, 馬血清 15 ml, 25% 自家製イーストエキス 5 ml, 10% 尿素液 1 ml, 0.4% フェノールレッド 1 ml から成る。

2. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

偏性嫌気性に対する MIC は, 日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会によって推奨された方法に

準じて求められた¹⁾。すなわち感受性測定用培地として GAM 寒天培地 (ニッスイ) を, 接種用菌液は GAM ブイオン中で 10⁸CFU/ml および 10⁶CFU/ml となるように調製したものをを用いた。菌の接種はマイクロプランターにて行ない, 嫌気培養は, 3 種混合ガス (H₂ 10%, CO₂ 10%, N₂ 80%) を用いたアネロビックチェンバー (Forma 社) 内で行なった。培養時間・培養温度は, それぞれ 37°C, 24 時間である。

Ureaplasma に対する MIC は, Brown らの方法²⁾ に準じて行なった。すなわち T-broth で 2 倍希釈した抗菌剤 0.1 ml と *Ureaplasma* 0.1 ml を加え 37°C で培養した。接種菌量は 10⁸ color changing unit (CCU)/ml と 10⁴ CCU/ml を用いた。判定は, initial MIC と final MIC の両者によった。initial MIC とは抗菌剤の入っていない control well が *Ureaplasma* の増殖により赤変した時点で, また final MIC とは抗菌剤による *Ureaplasma* の増殖抑制が一定の状態におちつき, それ以上時間が経過しても *Ureaplasma* の増殖による色調の変化が起きない時点で測定されたものである。

3. 供試薬剤

TMS-19-Q (3'-propionylleucomycin A₅), MDM (Midecamycin), JM (Josamycin) (以上いずれも東洋醸造株式会社から入手), CLDM (Clindamycin) (Upjohn から入手), CFX (Cefoxitin) (日本メルク万有株式会社から入手) および DOXY (Doxycycline) (台槽ファイザー株式会社から入手) は力価の明白なものを用いた。

4. *In vivo* における抗菌力の検討

Bacteroides fragilis (GAI-0588) を 10^8 CFU/ml となるように GAM 半流動培地で調整した菌液の 0.5 ml をゴールデンハムスター 80g (東洋醸造株式会社から入手) の腹腔内に注入し、その直後に TMS-19-Q 400 mg/kg を 1 回経口投与した。20 時間経過後、ゴールデンハムスターを、エーテル麻酔下で失血死させ、肝、肺、腎を摘出し、それぞれ一定方向に切開、断面をバクテロイデス培地 (ニッスイ) 上にスタンプした。断面当り生じた集落数をカウントし記録した。なお、対照として CLDM 400mg/kg 1 回経口投与、CFX 200mg/kg 1 回皮下投与を行なった。

II. 成績

1. 偏性嫌気性菌に対する抗菌スペクトラム

Table 1, 2, 3 にその成績を示した。対照薬剤には、MDM, JM を用いた。TMS-19-Q は、*Clostridium perfringens*, *C. difficile* および *C. ramosum* に対し、

0.05 μ g/ml 以下から 0.20 μ g/ml の範囲の MIC を示し、JM の 0.20 μ g/ml から 1.56 μ g/ml の範囲の MIC、および MDM の 0.20 μ g/ml から 6.25 μ g/ml の MIC よりも優れていた (Table 1)。

TMS-19-Q は、*Bacteroides* 4 菌種 6 株に対して < 0.05 μ g/ml から 0.78 μ g/ml の範囲の MIC を示し、JM の 0.10 μ g/ml から 0.78 μ g/ml, MDM の 0.20 から 3.13 μ g/ml より優れていた。また *Fusobacterium* 5 菌種 8 株に対しては、1.56 μ g/ml ~ 200 μ g/ml 以上の範囲の MIC を示した。特に *F. nucleatum*, *F. necrophorum* に対する MIC は、1.56 μ g/ml と低く、MDM および JM の 12.5 μ g/ml ~ 50 μ g/ml よりは 3 管以上の差が認められた。

F. varium に対しては、本剤も他剤と同様に 200 μ g/ml 以上の MIC を示していた。

Acidaminococcus fermentans に対しては 0.10 μ g/ml の MIC を示し、3 剤中最も優れた (Table 2)。

Table 1 Antimicrobial spectra of TMS-19-Q, MDM, JM (I)

Organism	MIC (μ g/ml)					
	TMS-19-Q		MDM		JM	
	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8
<i>Clostridium perfringens</i> (0885)	0.20	0.20	3.13	3.13	0.78	0.78
<i>C. perfringens</i> (ATCC13123)	0.20	0.20	6.25	6.25	1.56	1.56
<i>C. difficile</i> (0857)	0.10	0.10	0.78	0.78	0.20	0.39
<i>C. difficile</i> (0713)	0.20	0.20	0.78	1.56	0.20	0.20
<i>C. difficile</i>	0.10	0.10	0.78	0.78	0.20	0.39
<i>C. difficile</i>	0.10	0.10	0.78	1.56	0.39	0.39
<i>C. difficile</i>	0.10	0.10	0.78	0.78	0.20	0.20
<i>C. ramosum</i>	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20	0.20	0.20	0.20

Table 2 Antimicrobial spectra of TMS-19-Q, MDM, JM (II)

Organism	MIC (μ g/ml)					
	TMS-19-Q		MDM		JM	
	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8
<i>Bacteroides fragilis</i> (ATCC25285)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.78	0.78	0.10	0.10
<i>B. vulgatus</i> (ATCC29327)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20	0.20	0.10	0.10
<i>B. thetaiotaomicron</i> (WAL3304)	0.39	0.78	1.56	6.25	0.78	0.78
<i>B. thetaiotaomicron</i> (WAL2926)	0.78	0.78	3.13	3.13	0.78	1.56
<i>B. thetaiotaomicron</i> (0888)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20	0.20	0.10	0.10
<i>B. bivius</i>	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20	0.20	0.10	0.10
<i>F. nucleatum</i> (0477)	1.56	1.56	12.5	12.5	12.5	12.5
<i>F. necrophorum</i> (0467)	1.56	1.56	50	50	12.5	12.5
<i>F. mortiferum</i> (EGe)	100	100	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200
<i>F. mortiferum</i>	50	100	≥ 200	≥ 200	100	≥ 200
<i>F. varium</i> (ATCC8501)	100	100	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200
<i>F. varium</i> (0295)	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200
<i>F. varium</i>	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200
<i>F. varium</i>	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200	≥ 200
<i>A. fermentans</i>	0.10	0.10	1.56	1.56	0.39	0.39

Table 3 Antimicrobial spectra of TMS-19-Q, MDM, JM (III)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	TMS-19-Q		MDM		JM	
	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8
<i>Propionibacterium acnes</i> (ATCC11827)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.10	0.78	≤ 0.05	≤ 0.05
<i>P. granulosum</i> (ATCC25577)	≤ 0.05	0.10	≤ 0.05	0.20	≤ 0.05	0.10
<i>Eubacterium acrofaciens</i> (ATCC25986)	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05
<i>E. lentum</i> (H-1)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.10	0.10	≤ 0.05	≤ 0.05
<i>E. limosum</i> (ATCC8486)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.39	0.78	0.10	0.78
<i>P. indolicus</i> (M-17)	0.10	0.10	0.78	0.78	0.20	0.20
<i>P. indolicus</i> (M-18)	0.10	0.39	1.56	6.25	0.39	1.56
<i>P. magnus</i> (ATCC29328)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20	0.20	0.10	0.10
<i>P. magnus</i> (0241)	0.10	0.10	1.56	3.13	0.39	0.78
<i>P. prevotii</i> (0443)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20	0.20	≤ 0.05	0.10
<i>P. prevotii</i> (0444)	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20	0.78	0.20	0.20

Table 4 Distribution of MIC of TMS-19-Q and other macrolides to *B. fragilis* (Inoculum: 10^6 CFU/ml)

58 strains

Antimicrobials	MIC ($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	≥ 200
TMS-19-Q	15	28	7			2		2	3		1		
MDM	1	1	8	8	27	5						2	6
JM	2	2	26	15	4	1					2		6

Table 5 Distribution of MIC of TMS-19-Q and other macrolides to *B. fragilis* (Inoculum: 10^8 CFU/ml)

58 strains

Antimicrobials	MIC ($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	≥ 200
TMS-19-Q	13	29	6	1	1	2		1	3	1		1	
MDM	1		5	3	36	5						2	6
JM	2	2	26	15	4	1					2		6

無芽胞グラム陽性菌 8 菌種 11 株に対する MIC は、*Propionibacterium*, *Eubacterium* の 5 菌種 5 株に対して TMS-19-Q はすべて 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示し、JM とほぼ同等であった。*Peptococcus* 3 菌種 6 株に対しては TMS-19-Q, JM, MDM の順で優れた抗菌力を示した。TMS-19-Q は 0.10 $\mu\text{g/ml}$ で、JM は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ で、そして MDM は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ でこれらの菌株の発育を阻止した。

いずれの菌種、菌株においても 10^6 CFU/ml, 10^8 CFU/ml の接種菌液によって TMS-19-Q の MIC にの変化はほとんどみられなかった。

2. 臨床材料から分離された *B. fragilis* に対する抗菌力

Table 4, 5 に TMS-19-Q と対照薬 2 剤の臨床分離の

B. fragilis 58 株に対する MIC 分布を Fig. 1 には 10^6 CFU/ml の接種菌液使用時の MIC の累積百分率曲線を示した。

10^6 CFU/ml の接種菌液使用時の MIC をみると、TMS-19-Q では 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 以下から 50 $\mu\text{g/ml}$ の間に分布し感受性菌のピーク値は 0.10 $\mu\text{g/ml}$ にあった。1.56 $\mu\text{g/ml}$ から 50 $\mu\text{g/ml}$ の間により耐性の株が 8 株、全体の 14% に認められた。対照とした MDM および JM でも、TMS-19-Q の場合と同様により感性的集団とより耐性の集団から成っていたが、感受性集団のピーク値は、MDM では 0.78 $\mu\text{g/ml}$, JM では 0.20 $\mu\text{g/ml}$ にあり、TMS-19-Q よりはかなり劣った。また耐性株は、MDM では 100~200 $\mu\text{g/ml}$ 以上に 8 株、JM でも 50~200 $\mu\text{g/ml}$ 以上に 8 株みられ、TMS-19-Q よりも

Table 6 *In vivo* activity of TMS-19-Q against *B. fragilis* (GAI-0588)

Group	Organ	Hamster No.					Mean (Min. - Max.)
		1	2	3	4	5	
TMS-19-Q 400mg/kg p. o.	Liver	38*	11	20			23 (11-38)
	Kidney	2	16	15	N.D.	N.D.	11 (2-16)
	Lung	11	9	1			7 (1-11)
Clindamycin 400mg/kg p. o.	Liver	2	1	5	1	0	1.8 (0-5)
	Kidney	1	2	0	11	0	2.8 (0-11)
	Lung	14	3	5	2	0	4.8 (0-14)
Cefoxitin 200mg/kg s. c.	Liver	0	1	3	0	1	1 (0-3)
	Kidney	0	3	4	2	4	2.6 (0-4)
	Lung	0	1	2	1	4	1.6 (0-4)
Control	Liver	1	27	8	>50	25	22.2 (1->50)
	Kidney	8	7	8	22	7	10.4 (7-22)
	Lung	>50	>50	>50	>50	19	43.8 (19->50)

*CFU/stamped area N.D.; not done

Fig. 1 Susceptibilities of *B. fragilis* to TMS-19-Q and other macrolides

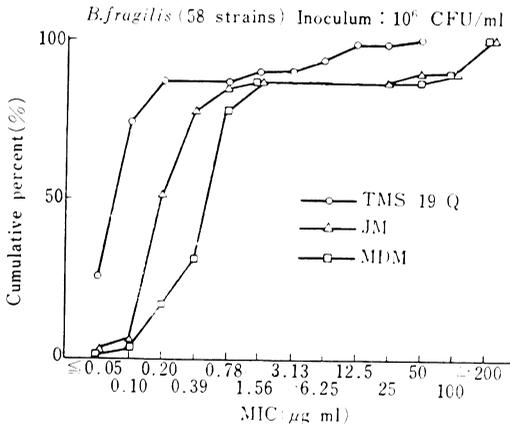


Fig. 2 Susceptibilities of *Ureaplasma* to TMS-19-Q and DOXY

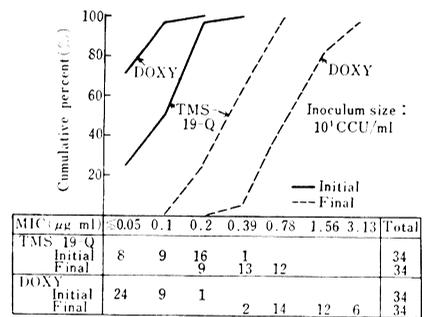
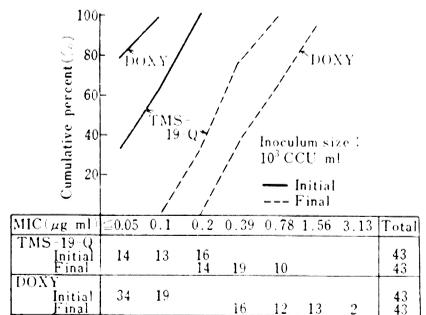


Fig. 3 Susceptibilities of *Ureaplasma* to TMS-19-Q and DOXY



かなり劣った。 10^6 CFU/ml の菌液使用時の MIC は 10^6 CFU/ml の菌液使用時の MIC とほぼ同等であった。

3. *In vivo* における抗菌力の検討

TMS-19-Q 400mg/kg の 1 回経口投与は、*B. fragilis* 10^6 CFU/ml を腹腔内に注入されたゴールデンハムスターの 20 時間後の肺内生菌数に著明な影響を示した。その効果は、CLDM 400mg/kg 1 回経口投与に匹敵した。なお、*B. fragilis* GAI-0588 に対する TMS-19-Q, CLDM, CFX の MIC は、 10^6 CFU/ml 菌液使用でそれぞれ 0.19 μg/ml 以下、0.19 μg/ml 以下、12.5 μg/ml であった (Table 6)。

4. *Ureaplasma* に対する抗菌力

Ureaplasma 34 株に対する TMS-19-Q の initial MIC は 10^4 CCU/ml の接種菌量で 0.39 μg/ml 以下に分

布し、そのピーク値は $0.20 \mu\text{g/ml}$ であった。一方 DOXY の initial MIC は $0.20 \mu\text{g/ml}$ 以下に分布しそのピーク値は、 $0.05 \mu\text{g/ml}$ 以下で、TMS-19-Q よりやや優れていた。しかし TMS-19-Q の final MIC は、 $0.20 \mu\text{g/ml}$ から $0.78 \mu\text{g/ml}$ に分布しており、DOXY の final MIC 分布すなわち $0.39 \mu\text{g/ml}$ から $3.13 \mu\text{g/ml}$ より優れていた (Fig. 2)。

10^8 CCU/ml, 10^4 CCU/ml の接種菌量による MIC 値への影響は 1 管程度と軽度であった (Fig. 3)。

III. 考 按

TMS-19-Q は、ロイコマイシン A₅ の 3'' 位を化学的に修飾して得られた誘導体である。本剤の抗菌スペクトラムは、既存のマクロライド系抗生物質と同様に偏性嫌気性菌、*Ureaplasma* にも及んでいた。

嫌気性菌に対する抗菌スペクトラムは、*Fusobacterium* の一部を除き、*Bacteroides*, *Peptococcus*, *Acidaminococcus*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium* と広範囲に及んだ。そしてその抗菌力は、JM, MDM より優れていた。特に JM は、前述した *Fusobacterium* の一部を除き、嫌気性菌に最も有効な抗菌剤の一つとされる CLDM にほぼ匹敵する抗菌力を示すことを考えると³⁾、その JM をしのぐ抗菌力を有した TMS-19-Q の力は評価に値する。

Fusobacterium に対する TMS-19-Q の抗菌力は、*F. varium*, *F. mortiferum* に対しては、JM, MDM と同様に弱かったが、*F. nucleatum* に対し、 $1.56 \mu\text{g/ml}$ の MIC をもち、JM, MDM の $12.5 \mu\text{g/ml}$ の MIC に比べ、相当優れていたことは一筆に値する。*F. nucleatum* は、*F. varium*, *F. mortiferum* と異なり、口腔内に常在する偏性嫌気性菌で、しばしば呼吸器、口腔内感染症において重要な病原的役割を演じることが知られていることがその理由である⁴⁾。

B. fragilis に対する MIC 分布は、成績に示したよ

うに二峰性であり、今回の実験では、供試菌の 14% が、耐性側の峰に位置した。これらの耐性は JM, MDM と交差していたが、TMS-19-Q のこれら耐性菌に対する MIC は $1.56 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ と、他剤の $50 \mu\text{g/ml}$ 以上に比べ、優れていた。

ゴールデンハムスターの腹腔内に人工的に注入された *B. fragilis* に対する TMS-19-Q の 400mg/kg 1 回経口投与は、20 時間後の肺内の *B. fragilis* 生菌数に強い影響を与えた。その力は、嫌気性菌の *B. fragilis* に優れた抗菌力を示す類マクロライドの CLDM の 400mg/kg 経口 1 回投与にほぼ匹敵すると考えられた。

今日、非淋菌性尿道炎の原因の一つとして注目されている *Ureaplasma* に対する本剤の抗菌力は DOXY に initial MIC ではやや劣るものの final MIC でややまさった。同一実験成績ではないが、Erythromycin はこれらの *Ureaplasma* に対し、 $0.20 \mu\text{g/ml}$ 以下の initial MIC をもち、 $0.78 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ の範囲の final MIC をもったことから、TMS-19-Q は *Ureaplasma* に対し、Erythromycin よりも優れた抗菌力をもつと推測された。ただし本剤が経口剤であること、その体内動態からみて *Ureaplasma* によるかもしれない非淋菌性尿道炎に対する *in vivo* での有効性は疑わしい。

文 献

- 1) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: Chemotherapy 27(3): 559~560, 1979
- 2) BROWN, P.; J. O. KLEIN & E. H. KASS: Susceptibility of genital mycoplasmas to antimicrobial agents. Appl. Microbiol. 19 (1): 62~70, 1970
- 3) 渡辺邦友, 他: Josamycin の嫌気性菌に対する抗菌作用. Jap. J. Antibiot. 31(8): 487~492, 1978
- 4) 小沢 敦他編: 臨床細菌学, 講義篇, 講談社サイエンティフィック, 1977

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TMS-19-Q (3"-PROPIONYL
LEUCOMYCIN A₅) AGAINST ANAEROBIC BACTERIA
AND *UREAPLASMA*

KUNITOMO WATANABE, NAOKI KATO, KAKUYO SAWA

MAKOTO AOKI and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University,
School of Medicine

The antibacterial activity of TMS-19-Q (3"-propionylleucomycin A₅) was determined against anaerobic bacteria and *Ureaplasma*. TMS-19-Q was very active with the MICs of 1.56 μ g/ml or less to many anaerobic bacterial species tested with a few exception and was superior to josamycin and midecamycin.

All the strains tested of *Fusobacterium varium/mortiferum* group were highly resistant to TMS-19-Q with the MICs of 50 μ g/ml or more. About 10% of *Bacteroides fragilis* strains were also resistant with the MICs of 6.25 μ g/ml or more, but 50 μ g/ml of this drug was sufficient enough to inhibit the growth of these resistant strains.

The *in vivo* activity of TMS-19-Q against *B. fragilis* (GAI-0588) was determined in an animal model using hamsters. TMS-19-Q was effective on the reduction of viable cells in the lungs of hamsters which were infected intraperitoneally with *B. fragilis* when a single dose of 400mg/kg was given orally immediately after the challenge of bacteria.

The activity of TMS-19-Q against *Ureaplasma* was very active with the final MICs of 0.78 μ g/ml or less and nearly equal to that of doxycycline. TMS-19-Q was superior to doxycycline, regarding the final MICs, but inferior regarding the initial MICs.