

## 新マクロライド系抗生物質 RU 28965の細菌学的効果

坪井 靖<sup>1)</sup>・井上松久<sup>2)</sup>・三橋 進<sup>1)</sup>エビゾーム研究所<sup>1)</sup>群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設<sup>2)</sup>

新しい経口用マクロライド系抗生物質 RU 28965の細菌学的検討を行い、以下のような成績を得た。本剤の抗菌スペクトラムは従来のマクロライド系抗生物質と同様で、化療標準株のグラム陽性菌に対する MIC は 0.05~0.39  $\mu\text{g/ml}$  を示し、グラム陰性菌に対しては抗菌力を示さなかった。

臨床分離各菌種に対する抗菌活性は *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* において Josamycin, Midecamycin acetate より優れていたが, Erythromycin に比べて同等かやや劣るようであった。*S. aureus*, *S. pyogenes* の増殖曲線に及ぼす影響を検討したところ、本剤は 2 ないし 4 MIC 濃度で静菌的に作用した。また *S. aureus* マクロライド誘導型耐性菌に対する誘導能は Erythromycin と同様に認められた。

しかし、*S. aureus* を感染菌としたマウス全身感染症に対する本剤の治療効果は ED<sub>50</sub> 値で比較すると Erythromycin の 5 倍、Josamycin, Rokitamycin の 9 倍優れていた。さらに *S. pneumoniae* によるマウス実験的肺感染症においても Erythromycin より有意に優れた肺内除菌効果を示した。

RU 28965 はフランス、ルセル・ユクラフ社研究所で創製された Erythromycin A の 9 位のケトン基を 2-メトキシ-エトキシ-メチルオキシムで置換した半合成マクロライド系抗生物質である<sup>1)</sup>(Fig. 1)。本剤は 9 位ケトン基の化学修飾により分子内ケタール化がないため胃酸抵抗性に優れ、また従来のマクロライド系抗生物質よりも吸収が良く半減期も長いのが特徴とされている。さらに *Legionella* sp., *C. trachomatis* に対しても優れた抗菌力を示すことが報告されている<sup>3,4)</sup>。ここでは RU 28965 の臨床分離株に対する抗菌力、殺菌作用、耐性誘導能、マウス実験的感染症に対する治療効果などを検討したので、以下にその成績を報告する。

## I. 実験材料および方法

## 1. 使用菌株

標準株、臨床分離株の感受性測定には、当エビゾーム研究所保存の *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. pneumoniae*, *N. gonorrhoeae*, *B. fragilis*, *Peptostreptococcus* sp. を用いた。殺菌作用の測定には *S. aureus* MS 353, *S. pyogenes* COOK を供試菌として用いた。また耐性誘導の測定には *S. aureus* の A, B, C 群耐性菌を使用した。耐性獲得には *S. aureus* 209P JC-1, *S. aureus* SMITH, *S. epidermidis* IID 866, *S. pyogenes* COOK を、菌体内への取り込みには *S. aureus* MS 353 を、また実験的全身感染症には *S. aureus* SMITH を、また実験的肺感染症には *S. pneumoniae* HL-438(ヘキスト・ジャパン研究所より分与)を供試菌として使用した。

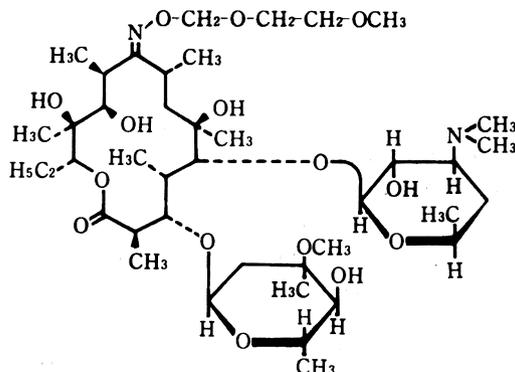
## 2. 使用薬剤

RU 28965 (965  $\mu\text{g/mg}$ : 日本ルセル株式会社), Erythromycin (EM, 942  $\mu\text{g/mg}$ : Polfa 社), Josamycin (JM, 970  $\mu\text{g/mg}$ : 山之内製薬), Rokitamycin (RKM, 969  $\mu\text{g/mg}$ : 東洋醸造), Midecamycin acetate (MOM, 995  $\mu\text{g/mg}$ : 明治製薬) を用いた。なお、薬剤は使用直前にメチルアルコールで溶解し使用した。

## 3. 使用培地

臨床分離株の感受性測定には感受性ディスク (SD) 寒天培地(日水製薬)を用いた。また被検菌株の前培養には感受性測定用 (ST) プイオン(日水製薬)を用いた。*S. pyogenes* については、前培養に Brain Heart Infusion Broth

Fig. 1 Chemical structure of RU 28965



9-[O-[(2-Methoxyethoxy)methyl]oxime]erythromycin

(BHIB, Difco), 感受性測定に5%馬血液加SD寒天培地を用いた。*N. gonorrhoeae*ではProteose No. 3 agar(Difco)に2% haemoglobin液を等量加え、さらにIso-vitale X(BBL)溶液を1%になるように調整した培地を使用した。*H. influenzae*では、前培養に2  $\mu\text{g/ml}$  NAD, 10  $\mu\text{g/ml}$  Hemin添加感受性測定用ブイオン, 感受性測定には2  $\mu\text{g/ml}$  NAD, 10  $\mu\text{g/ml}$  Hemin添加SD寒天培地を使用した。*B. fragilis*, *Peptostreptococcus* sp.では、前培養にGAMブイオン(日本製薬), 感受性測定には*B. fragilis*でGAM寒天(日本製薬), *Peptostreptococcus* sp.で5%馬血液加GAM寒天を使用した。

#### 4. 感受性測定

最小発育阻止濃度(MIC)は、日本化学療法学会標準法<sup>5)</sup>に従い寒天平板希釈法により求めた。つまり被検菌をSTブイオン培地で37°C 18時間培養した菌液を $5 \times 10^6$  cells/ml前後になるようにBuffered saline gelatin(BSG)で希釈し、その約5  $\mu\text{l}$ をマイクロプランター(佐久間製作所)を用いて薬剤含有寒天平板に接種した。その後、37°C, 18時間培養し、被検菌の発育が認められない最小濃度をもってMICとした。*S. pneumoniae*は前培養時間を5時間とし、この前培養液の100倍希釈したものを $3 \times 10^6$  cells/ml菌液として使用した。*N. gonorrhoeae*については、接種菌はプレート上に前培養を行い、これを白金耳でかきとりBSG 0.5 mlに懸濁し、マイクロプランターで10倍希釈したものを $3 \times 10^6$  cells/mlの菌量とし、培養はローソク培養で37°C, 18時間行った。また*B. fragilis*, *Peptostreptococcus* sp.はスチールウール法による嫌気培養で37°C, 48時間前培養を行い、この前培養液をBSG溶液で100倍希釈したものを $10^6$  cells/ml菌液として使用した。MICの判定は37°C, 24時間スチールウール法による嫌気培養後に行った。

#### 5. 殺菌作用測定

*S. aureus* MS 353株は感受性測定ブイオン(STB), *S. pyogenes* COOK株はBHIBを前培養培地として使用した。供試菌を37°C, 18時間前培養後、前培養と同じ培地に $10^5 \sim 10^6$  cells/mlとなるように加え、37°C, 2時間振盪培養を行った。その後、被験薬を添加し、添加0, 2, 4, 6, 8, 24時間後の生菌数を測定した。

#### 6. 耐性誘導

誘導型マクロライド耐性*S. aureus* MS 14714(B群菌)と*S. aureus* 15009(EM, SPC)(C群菌)を使用した。使用菌株は37°C, 18時間前培養を行った後、培地0.1 mlを5 mlのST brothに接種し、37°C, 3時間振盪培養した。その後、誘導能検索薬剤としてRU 28965あるいはEMを最終濃度、0.1, 1.0  $\mu\text{g/ml}$ となるようにそれぞれ加え、37°C, 1時間振盪培養する。次にこれらの菌液0.1

mlをRU 28965あるいはEMが各々50  $\mu\text{g/ml}$ 入った4.9 mlのST brothに接種し37°Cで振盪培養を続け、Photoelectric colorimeter(Erma Optical Works Ltd.)でO.D. 570 nmの吸収により菌の生育を調べた。

#### 7. RU 28965, EMおよびJMの*S. aureus*への取り込み

*S. aureus* MS 353を6.25~100  $\mu\text{g/ml}$ の薬剤を含むBHIBで37°C, 20分培養後、冷生理食塩水で3回遠心洗浄を行い、蒸留水に懸濁し5分間煮沸して菌体内濃度をペーパーディスク法で測定した。検定菌は*M. luteus* TCC 9341を用いた。

#### 8. マウス実験的全身感染症に対する治療効果

Std-ddY系雄性マウス(20  $\pm$  1 g)を1群10匹として使用した。感染菌株は*S. aureus* SMITHを使用した。接種菌液はBHIBで37°C, 18時間培養した菌液を用い、0.2 mlマウス腹腔内へ接種した。治療薬は、菌接種1時間後に1回経口投与した。50%生存率ED<sub>50</sub>値は、感染後7日までの生存率からProbit法<sup>6)</sup>により求めた。

#### 9. マウス実験的肺感染症に対する治療効果<sup>6)</sup>

動物はStd-ddY系雄性マウス(24  $\pm$  1 g)を用いた。*S. pneumoniae* HL-438を5%馬血液加HIA培地で37°C, 一晚培養したコロニーを生理食塩水に懸濁し感染菌とした。マウスをペントバルビタールナトリウム麻酔下で菌液の30  $\mu\text{l}$ を経鼻的に滴下吸入させて感染を惹起させた。治療は感染24時間後1回、0.5% CMCに懸濁させた薬剤を経口投与した。その後6日間の生死の観察を行いProbit法によりED<sub>50</sub>値を算出した。また感染24, 48, 72時間後に上記と同様に薬剤を投与し、経時的にマウスを屠殺し、肺内生菌数(cells/lung)を測定した。肺内生菌数測定は肺重量の10倍のBSG溶液を加えてホモジネイトし、5%馬血液加HIA培地を使用して生菌数を測定した。なおマウスは1群3匹とし、肺内生菌数はマウス1匹当たりの平均で表した。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトラム

グラム陽性菌, グラム陰性菌に対するRU 28965の抗菌スペクトラムをEM, JM, MOM, RKMと比較してTable 1, 2に示した。RU 28965は従来のマクロライド系抗生物質と同様にグラム陽性菌群に対して抗菌力を示し、グラム陰性菌群にはほとんど抗菌力を示さなかった。RU 28965の抗菌力は対照薬剤のそれと比較するとEMよりやや劣るもののJM, MOMと比べより優れ、RKMと同程度の抗菌力を示した。

### 2. 臨床分離株に対する感受性

臨床分離株各菌種に対するRU 28965の感受性を検討

し、薬剤感受性分布とその累積百分率を Fig. 2~11 に示した。

*S. aureus* では RU 28965 は 0.39  $\mu\text{g/ml}$  に、EM, JM, RKM, MOM はそれぞれ 0.2, 0.78, 0.39, 1.56  $\mu\text{g/ml}$  に感受性ピークを示した (Fig. 2)。

*S. epidermidis* では RU 28965 は 0.39  $\mu\text{g/ml}$  に、EM, JM, RKM, MOM はそれぞれ 0.2, 0.39, 0.39, 0.78  $\mu\text{g/ml}$  に感受性のピークを示した (Fig. 3)。

*S. pyogenes* では RU 28965, EM, JM, RKM, MOM の

感受性ピークは、それぞれ 0.05~0.1,  $\leq 0.025$ ~0.05, 0.1~0.2, 0.05~0.1, 0.2  $\mu\text{g/ml}$  であった (Fig. 4)。

*S. pneumoniae* では RU 28965 は 0.025  $\mu\text{g/ml}$  に、EM, JM, RKM, MOM はそれぞれ  $\leq 0.006$ ~0.013, 0.05, 0.05, 0.2  $\mu\text{g/ml}$  に感受性のピークを示した (Fig. 5)。

*E. faecalis* では RU 28965, EM, JM, MOM は、ともに 3.13  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で約 40% の菌株の発育を阻止した。しかし RKM は 3.13  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で約 80% の菌株の発育を阻止した (Fig. 6)。

Table 1 Antibacterial activity of RU 28965 against standard strains of bacteria

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	RU 28965	EM	JM	MOM	RKM
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	0.10	0.05	0.20	0.20	0.10
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	0.20	0.10	0.39	0.78	0.39
<i>S. aureus</i> MS 353	0.20	0.10	0.78	0.78	0.20
<i>S. aureus</i> SMITH	0.20	0.10	0.78	1.56	0.39
<i>S. epidermidis</i> IID 866	0.10	0.05	0.20	0.78	0.10
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.05	0.013	0.10	0.10	0.10
<i>S. pyogenes</i> IID 689	0.05	$\leq 0.006$	0.10	0.20	0.10
<i>E. faecalis</i> ATCC 8043	0.05	0.025	0.39	0.78	0.20
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.05	0.05	0.10	0.10	0.10
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.10	0.05	0.39	0.78	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-1	100	50	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> K12 C600	100	50	>100	>100	100
<i>E. coli</i> B	25	6.25	12.5	25	50
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	12.5	6.25	12.5	25	12.5
<i>S. typhimurium</i> IID 971	100	100	>100	>100	>100
<i>S. typhi</i> 901	>100	50	>100	>100	>100
<i>S. paratyphi</i> 1015	100	12.5	>100	>100	>100
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	>100	>100	>100	>100	>100
<i>S. enteritidis</i> G14	100	50	>100	>100	>100
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	>100	100	>100	>100	>100
<i>P. morgani</i> IFO 3848	>100	100	>100	>100	>100
<i>P. mirabilis</i> IFO 3848	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> OX-19	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> HX-19	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> IFO 3850	>100	100	>100	>100	>100
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	>100	100	>100	>100	>100
<i>E. cloacae</i> IFO 963	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	>100	>100	>100	>100	>100

*E. faecium* では RU 28965, EM, JM, RKM, MOM はそれぞれ 1.56~3.13, 0.78, 0.39, 0.39, 0.78  $\mu\text{g/ml}$  に感受性ピークを示した (Fig. 7)。

*N. gonorrhoeae* では RU 28965 の抗菌力は, EM に比べ 1 管程度劣り, 3.13  $\mu\text{g/ml}$  で 90% の菌株の発育を阻止した。また, RU 28965 に比べ JM, RKM は 1 管程度, MOM は 2 管程度劣っていた (Fig. 8)。

*H. influenzae* では RU 28965 は 3.13~6.25  $\mu\text{g/ml}$  に感受性ピークを示した。このとき EM, JM, RKM, MOM

はそれぞれ 1.56, 12.5~25, 6.25~12.5, 12.5~50  $\mu\text{g/ml}$  に感受性ピークを示した (Fig. 9)。

*B. fragilis* では RU 28965 は 1.56  $\mu\text{g/ml}$  に感受性ピークを示した。このとき EM, JM, RKM, MOM の感受性ピークはそれぞれ 0.78, 0.2, 0.05, 0.2  $\mu\text{g/ml}$  で, 抗菌力は RKM, JM=MOM, EM, RU 28965 の順であった (Fig. 10)。

*Peptostreptococcus* sp. では RU 28965 は 3.13  $\mu\text{g/ml}$  に感受性ピークを示した。このとき EM, JM, RKM, MOM

Table 2 Antibacterial activity of RU 28965 against standard strains of bacteria

Inoculum size:  $10^8$  cells/ml

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	RU 28965	EM	JM	MOM	RKM
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	0.20	0.10	0.20	0.39	0.20
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	0.20	0.10	0.78	1.56	0.39
<i>S. aureus</i> MS 353	0.20	0.20	0.78	1.56	0.39
<i>S. aureus</i> SMITH	0.20	0.10	0.78	1.56	0.78
<i>S. epidermidis</i> IID 866	0.20	0.10	0.39	0.78	0.20
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.05	0.025	0.20	0.20	0.10
<i>S. pyogenes</i> IID 689	0.05	$\leq 0.006$	0.10	0.20	0.10
<i>E. faecalis</i> ATCC 8043	0.05	0.05	0.39	0.78	0.20
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.20	0.10	0.39	0.78	0.39
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.20	0.10	0.39	0.78	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-1	100	100	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> K12 C600	>100	100	>100	>100	100
<i>E. coli</i> B	50	25	>100	>100	100
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	25	6.25	25	50	12.5
<i>S. typhimurium</i> IID 971	>100	>100	>100	>100	>100
<i>S. typhi</i> 901	>100	100	>100	>100	>100
<i>S. paratyphi</i> 1015	100	100	>100	>100	>100
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	>100	>100	>100	>100	>100
<i>S. enteritidis</i> G14	>100	50	>100	>100	>100
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. morgani</i> IFO 3848	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. mirabilis</i> IFO 3848	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> OX-19	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> HX-19	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> IFO 3850	>100	100	>100	>100	>100
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	>100	>100	>100	>100	>100
<i>E. cloacae</i> IFO 963	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	>100	>100	>100	>100	>100

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. aureus* (100 strains,  $10^6$  cells/ml)

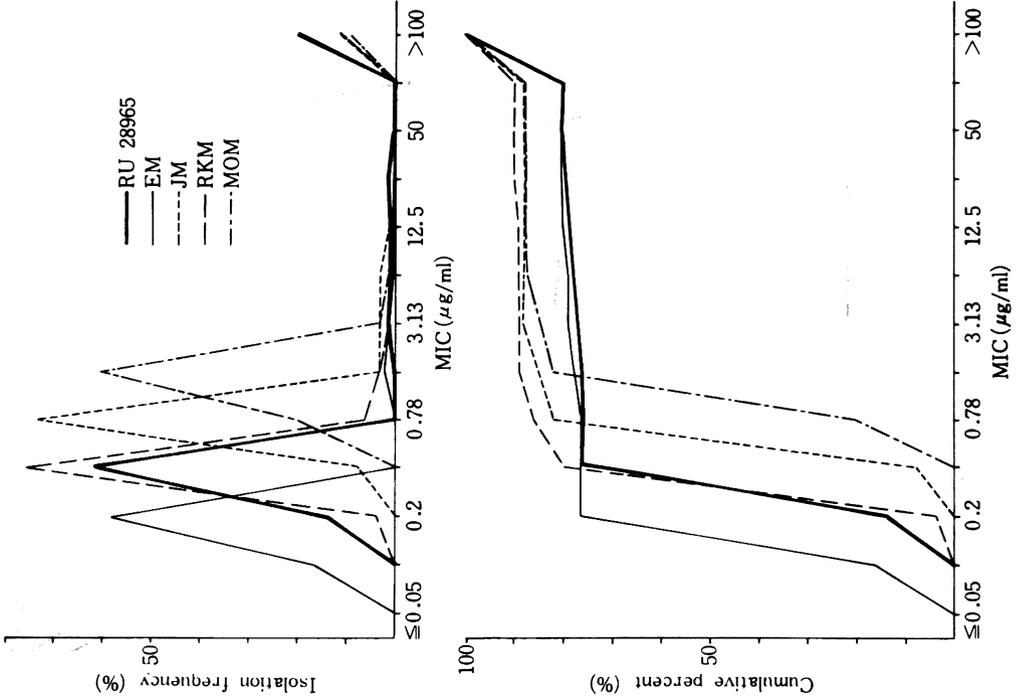


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. epidermidis* (100 strains,  $10^6$  cells/ml)

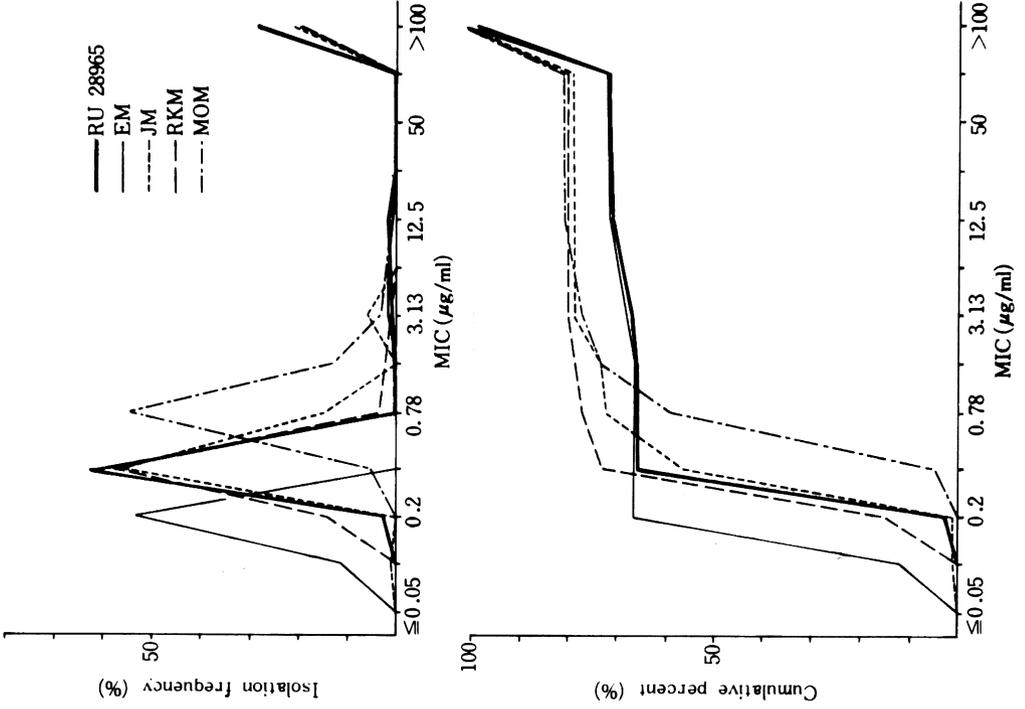


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. pyogenes* (97 strains, 10<sup>6</sup> cells/ml)

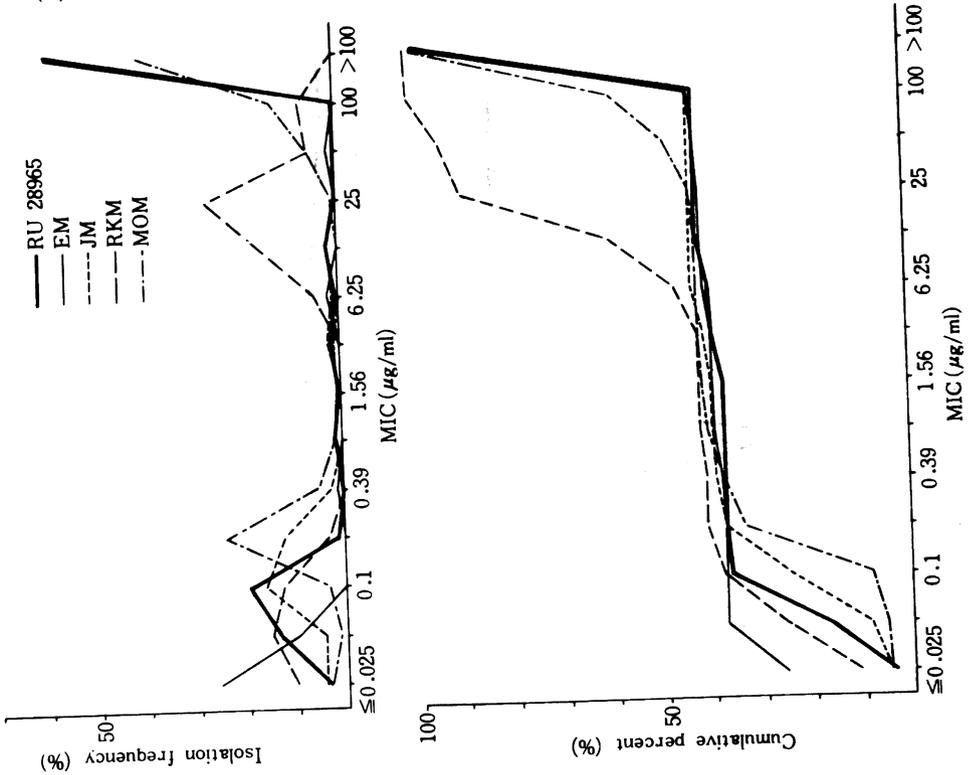


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. pneumoniae* (24 strains, 10<sup>7</sup> cells/ml)

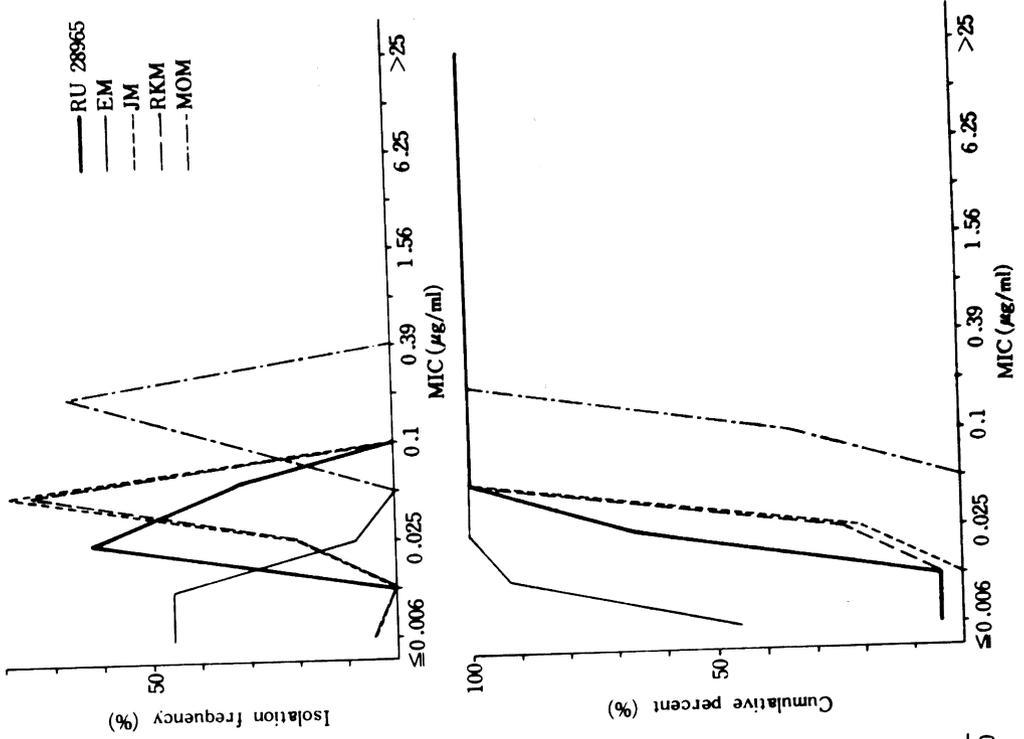


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates of *E. faecium* (27 strains,  $10^6$  cells/ml)

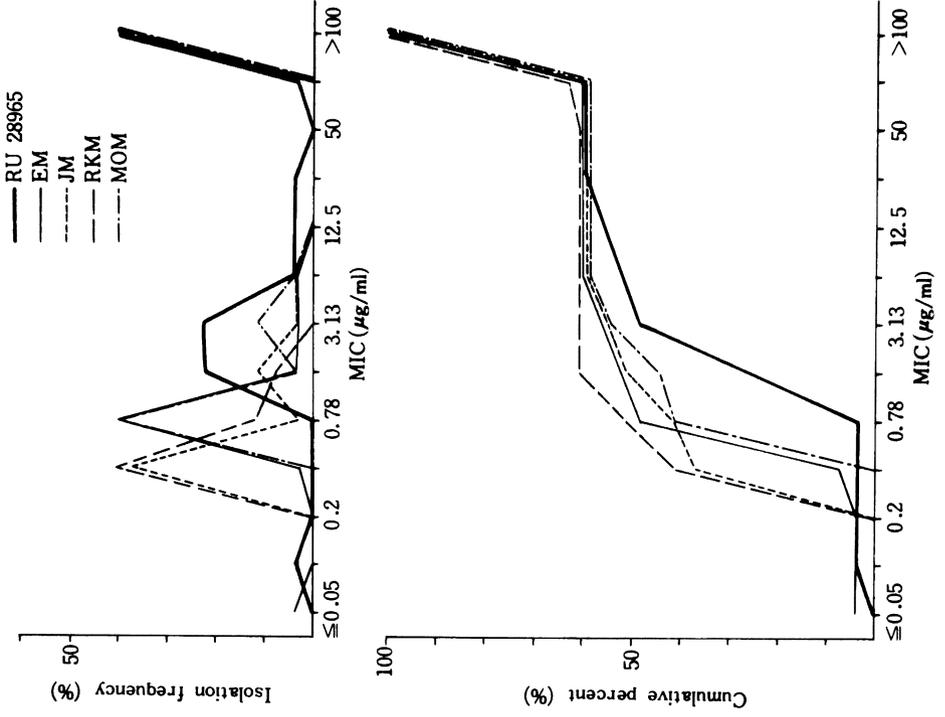


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates of *E. faecalis* (75 strains,  $10^6$  cells/ml)

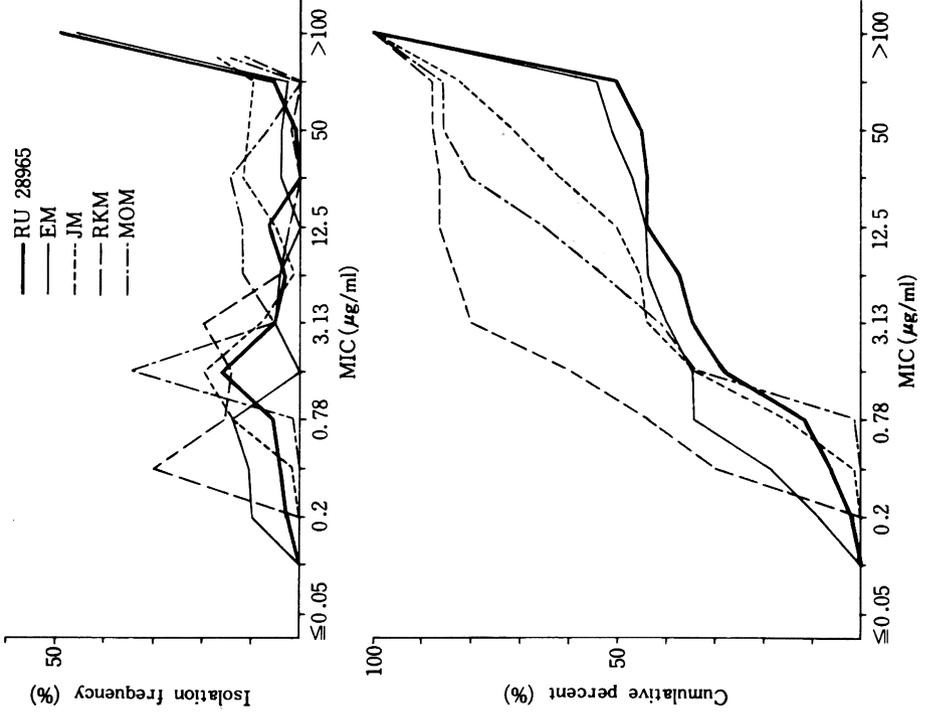


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates of

*H. influenzae* (50 strains,  $10^8$  cells/ml)

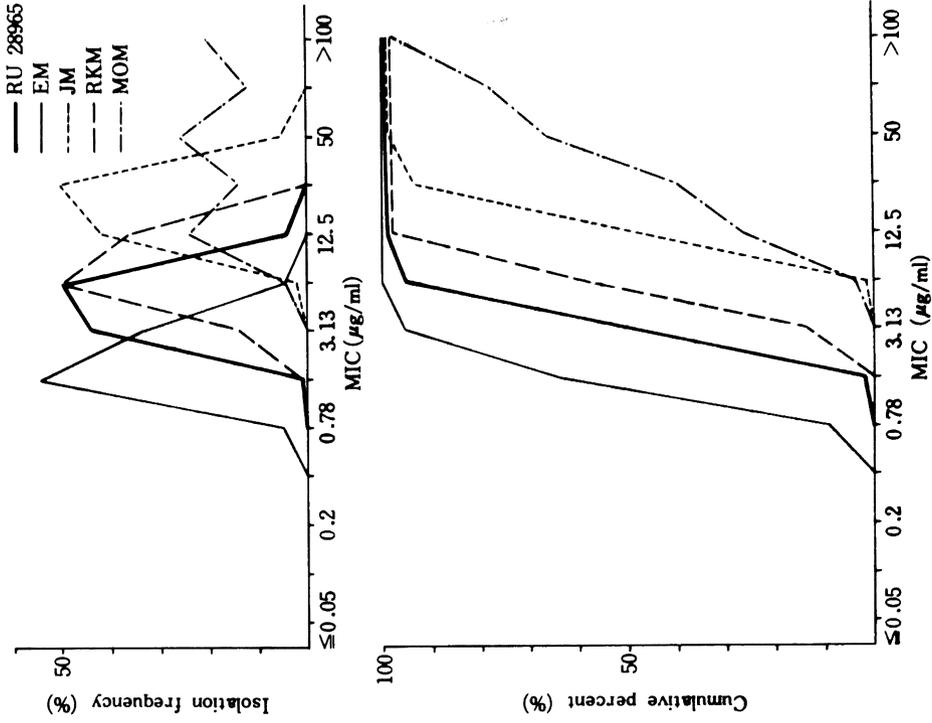


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates of

*N. gonorrhoeae* (20 strains,  $10^8$  cells/ml)

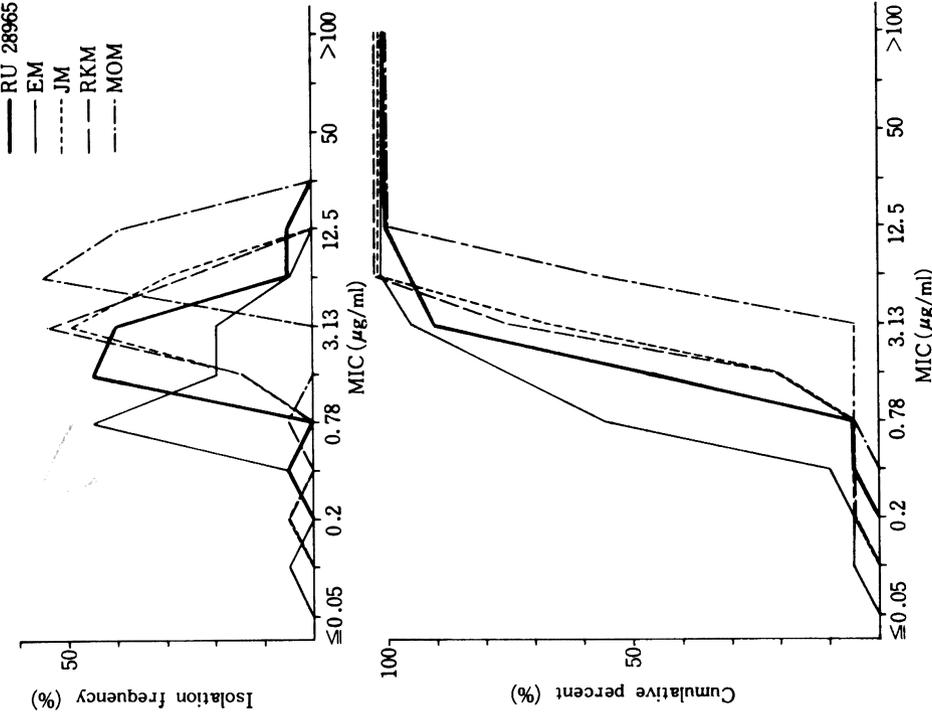


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates of *Peptostreptococcus* sp. (23 stains,  $10^6$  cells/ml)

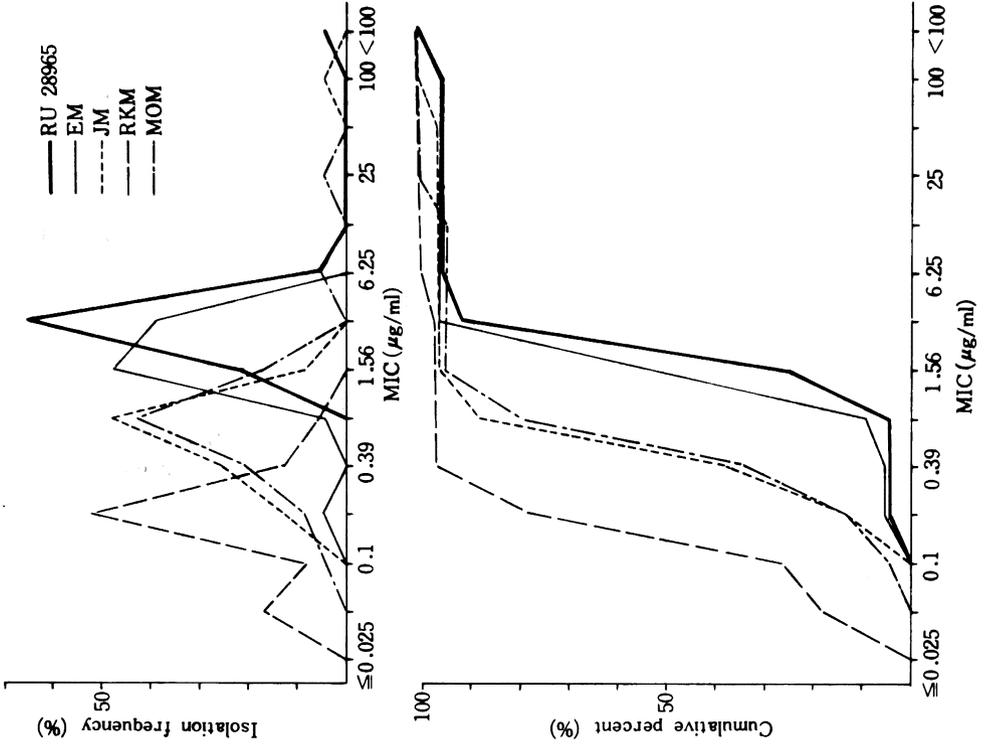
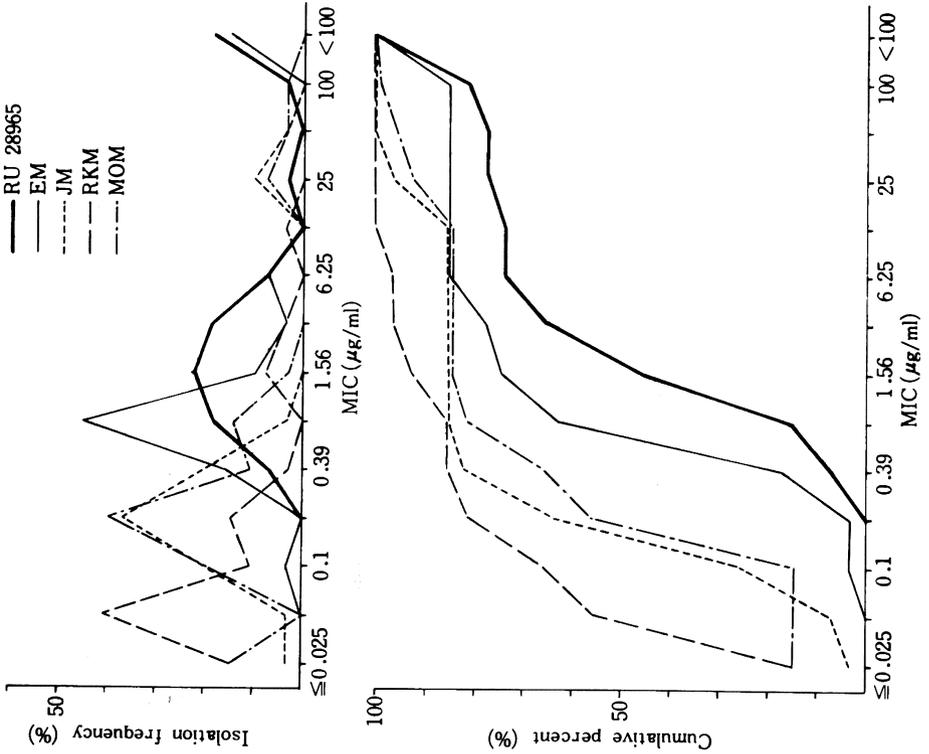


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates of *B. fragilis* (27 stains,  $10^6$  cells/ml)



の感受性ピークはそれぞれ1.56~3.13, 0.78, 0.2, 0.78  $\mu\text{g/ml}$ で, *B. fragilis* 同様抗菌力はRKM, JM = MOM, EM, RU 28965の順であった(Fig.11)。

### 3. 増殖曲線に及ぼす影響

*S. aureus* MS 353, *S. pyogenes* COOK に対する殺菌効果を Fig.12, 13に示した。*S. aureus* MS 353に対し2ないし4 MIC濃度のRU 28965を添加した場合, 8時間後まで静菌的に作用したが, 24時間後には2 MIC, 4 MICとも, 菌の再増殖が認められた。一方, EM, JMは4 MICのEMで24時間後, 4 MICのJMで8時間後まで静菌的に作用した。*S. pyogenes* COOKではEMが1 MIC以上で24時間静菌的に作用したのに対し, RU 28965は2ないし4 MIC濃度を用いた場合に8時間後まで静菌的に作用した。しかし, 1 MIC濃度では8時間後までゆっくりと菌の増殖が認められた。特に対照薬EMは2 MIC

で24時間後静菌的, 4 MICで殺菌的に, JMでは2 MICで24時間後まで殺菌的作用が認められた。

### 4. 耐性誘導能

*S. aureus*のマクロライドA群耐性菌, B群耐性菌, C群耐性菌に対する抗菌活性をTable 3, 4で示した。 $10^6$  cells/ml接種では, RU 28965はEMと同様にA, B, C群菌に対して抗菌力を示さなかったが,  $10^8$  cells/ml接種では, C群菌MS 12711, MS 12725, MS 12731, MS 12810, MS 15009(EM, SPC)に対してRU 28965はEMとはほぼ同様の抗菌力を示した。次に, B, C群菌から各々MS 14714, MS 15009(EM, SPC)を選び出し, 耐性誘導能時のRU 28965の薬剤濃度0.1, 1.0  $\mu\text{g/ml}$ を用い, 耐性誘導能の有無を検討した結果をFig.14, 15に示した。B群マクロライド耐性菌MS 12714では, 薬剤濃度が0.1あるいは1.0  $\mu\text{g/ml}$ の誘導処理後, 薬剤含有培地

Fig. 12 Bactericidal activity of RU 28965, EM and JM against *S. aureus* MS 353

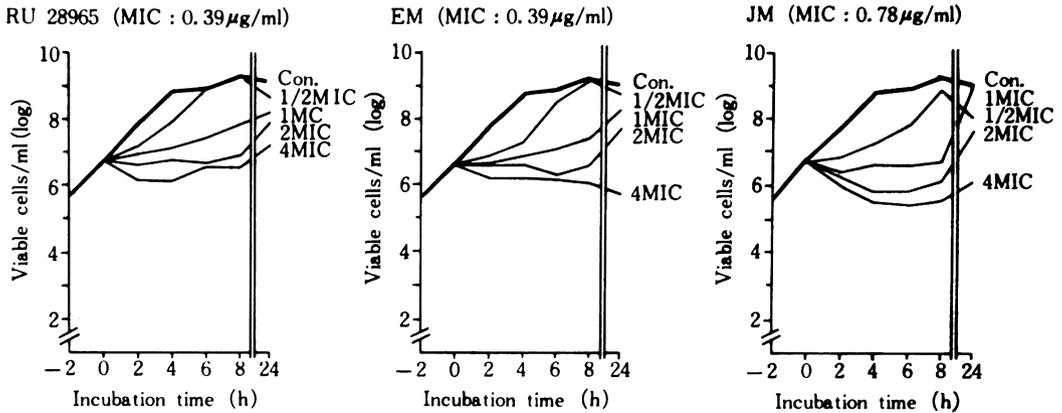
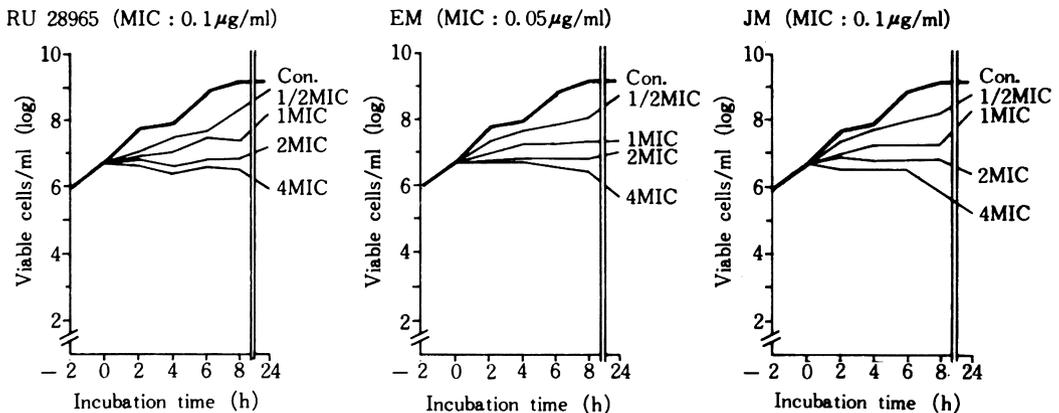


Fig. 13 Bactericidal activity of RU 28965, EM and JM against *S. pyogenes* Cook



で菌の増殖が観察された。またC群マクロライド耐性菌のMS 15009(EM, SPC)の場合も、薬剤誘導濃度0.1  $\mu\text{g/ml}$  処理によりEMあるいはRU 28965どちらを誘導剤として用いても薬剤含有培地で菌の増殖が観察された。さらに誘導濃度1.0  $\mu\text{g/ml}$  では、EMで誘導処理を行うと観測時間内では薬剤含有培地で菌の増殖は認められなかった。しかしRU 28965 1.0  $\mu\text{g/ml}$  での誘導処理では、6時間後薬剤含有培地で菌の増殖が観察された。

#### 5. 菌体内への取り込み

*S. aureus* MS 353(MIC RU 28965:0.2, EM:0.1, JM:0.78  $\mu\text{g/ml}$ )に対する取り込み薬剤濃度の成績をFig. 16に示した。接触薬剤濃度6.25, 25, 100  $\mu\text{g/ml}$  で、EMは各々0.025, 0.028, 0.033  $\mu\text{g/ml}$ , JMは0.042, 0.046, 0.055  $\mu\text{g/ml}$  と薬剤濃度とともにわずかであるが菌体内濃度の上昇がみられた。RU 28965の場合も同様で0.035~0.040  $\mu\text{g/ml}$  であり、この濃度はEMよりやや優れ、JMよりやや劣っていた。

#### 6. マウス実験の全身感染症に対する治療効果

マウスを用いた全身感染症実験は感染菌株として *S.*

*aureus* SMITH, 比較薬剤としてEM, JM, RKMを使用し、それぞれの治療効果, ED<sub>50</sub> 値をTable 5に示した。ED<sub>50</sub> 値でRU 28965は0.76 mg/mouseであったのに対し、EMでは4.00 mg/mouse, JMでは6.63 mg/mouse, RKMでは6.94 mg/mouseであった。RU 28965はEMと比較して、感染菌株のMICはやや劣るにもかかわらずEMの5.3倍, JM, RKMの9倍優れた効果を示した。

#### 7. マウス実験的肺感染症に対する治療効果

*S. pneumoniae* HL-438株を用いたマウス実験的肺感染に対する治療効果を比較薬剤にEMを用い検討した(Table 6)。RU 28965のED<sub>50</sub> 値が9.10 mg/mouseに対しEMでは14.84 mg/mouseと、肺感染に対してもRU 28965はEMより6倍優れた治療効果を示した。また感染24, 48, 72時間後に薬剤投与した時の肺内生菌数の消長をFig. 17に示した。感染24時間後では約 $4 \times 10^7$  cells/lungの菌が肺内に定着し、対照群の生菌数は以後徐々に増加を続け、感染96時間後には $10^8$  cells/lungに達した。RU 28965を5 mg/mouse/day 3回投与した群では、菌は減少の一途を辿り、感染72時間以降の肺内菌数は測

Table 3 Classification and MICs of macrolide-resistant *S. aureus* strains

Group	Strain	Inoculum size: $10^8$ cells/ml MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		RU 28965	EM	JM	RKM
A	MS 13125	>100	>100	>100	>100
	MS 13134	>100	>100	>100	>100
	MS 13148	>100	>100	>100	>100
	MS 13154	>100	>100	>100	>100
B	MS 12714	>100	>100	3.13	0.78
	MS 12747	>100	>100	1.56	0.78
	MS 12786	>100	>100	1.56	0.39
	MS 13003	>100	>100	1.56	0.78
	MS 13055	>100	>100	1.56	0.78
C	MS 15009 (EM, SPC)	3.13	1.56	0.39	0.20
	MS 12711	6.25	3.13	0.39	0.10
	MS 12725	6.25	3.13	0.20	0.20
	MS 12731	6.25	3.13	0.39	0.10
	MS 12810	6.25	3.13	0.20	0.20
Sensitive	209P JC-1	0.10	0.05	0.10	0.025
	TERAJIMA	0.20	0.10	0.20	0.20
	MS 353	0.20	0.10	0.39	0.20

A group : Macrolide-resistant (constitutive)

B group : EM, OL-resistant (inductive)

C group : EM-resistant (inductive)

定限界以下となった。しかし、EM を 5 mg/mouse/day 3 回投与した群では、感染72時間まで生菌数の減少が認められたものの、以降その数は増加傾向がみられた。

### Ⅲ. 考 察

*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes* に対して RU 28965 は EM に次ぐ抗菌活性を示し、MOM より優れていた。しかし、*E. faecalis*, *E. faecium* に対する抗菌力は比較薬剤の中ではやや劣っていた。また上記 5 菌種において、EM 耐性の株は RU 28965 に対しても同様耐性を示した。*S. pneumoniae*, *N. gonorrhoeae* に対する RU 28965 の抗菌力は EM よりやや劣るものの、JM, RKM, MOM よりやや優れていた。また、*H. influenzae* に対する RU 28965 の抗菌力は EM よりやや劣っていたが RKM と同等であり、JM, MOM よりも優れていた。しかし、嫌気性菌 *B. fragilis*, *Peptostreptococcus* sp. に対する RU 28965 の抗菌力は EM よりも MIC で 1 管程劣っていた。

RU 28965 の *S. aureus* MS 353, *S. pyogenes* COOK に対する増殖曲線に及ぼす影響では EM とほとんど同様であ

り、1 MIC 濃度以上で 8 時間までは静菌的效果を示した。このように、RU 28965 は従来のマクロライド系薬剤 EM, JM と同様の効果をもつものと思われる。マクロライド系薬剤耐性菌は、その耐性型により A・B・C 群に分類される。A 群耐性菌は表現型として全てのマクロライド系薬剤(LCMを含む)に耐性を示す構成型耐性菌で、B・C 群耐性菌は各々低濃度の EM, OL または EM のみに触れると LCM を含む全てのマクロライド系薬剤に耐性を示す誘導型耐性菌である。従って、マクロライド系薬剤の耐性誘導能の有無は、*in vitro* 抗菌力および臨床面で問題となるところである<sup>9)</sup>。*S. aureus* 耐性誘導株を用いた耐性誘導実験では RU 28965 は EM と同様に耐性誘導能をもっていることが示され、耐性誘導後にみられる菌の増殖曲線は RU 28965, EM 含有培地ともほとんど同じ曲線が得られた。誘導時の薬剤濃度 0.1  $\mu\text{g/ml}$  では RU 28965, EM とともに B・C 群マクロライド耐性菌に対し耐性誘導を示したが、C 群マクロライド耐性菌における薬剤誘導濃度 1.0  $\mu\text{g/ml}$  の場合、EM の耐性誘導後、菌の増殖は観測時間内では認められなかった

Table 4 Classification and MICs of macrolide-resistant *S. aureus* strains

Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

Group	Strain	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		RU 28965	EM	JM	RKM
A	MS 13125	>100	>100	>100	>100
	MS 13134	>100	>100	>100	>100
	MS 13148	>100	>100	>100	>100
	MS 13154	>100	>100	>100	>100
B	MS 12714	>100	>100	3.13	1.56
	MS 12747	>100	>100	3.13	1.56
	MS 12786	>100	>100	3.13	1.56
	MS 13003	>100	>100	3.13	1.56
	MS 13055	>100	>100	3.13	1.56
C	MS 15009 (EM, SPC)	>100	>100	0.78	0.39
	MS 12711	>100	>100	0.39	0.20
	MS 12725	>100	>100	0.39	0.20
	MS 12731	>100	>100	0.39	0.39
	MS 12810	>100	>100	0.39	0.39
Sensitive	209P JC-1	0.20	0.20	0.20	0.20
	TERAJIMA	0.20	0.20	0.39	0.20
	MS 353	0.20	0.20	0.39	0.20

A group : Macrolide-resistant (constitutive)

B group : EM, OL-resistant (inductive)

C group : EM-resistant (inductive)

Fig. 14 Inducer activity of RU 28965 and EM for Mac<sup>r</sup> strain *S. aureus* MS 12714

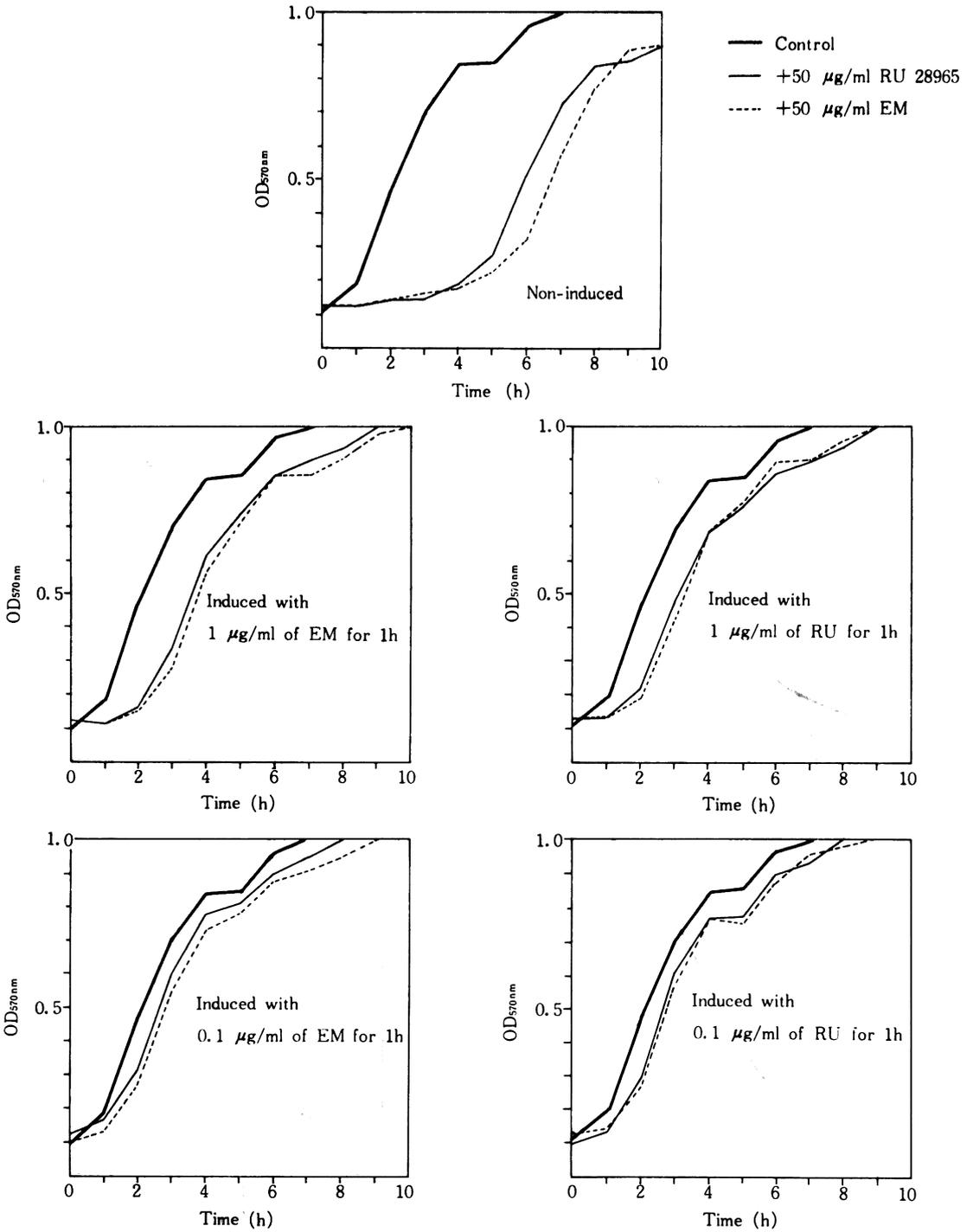


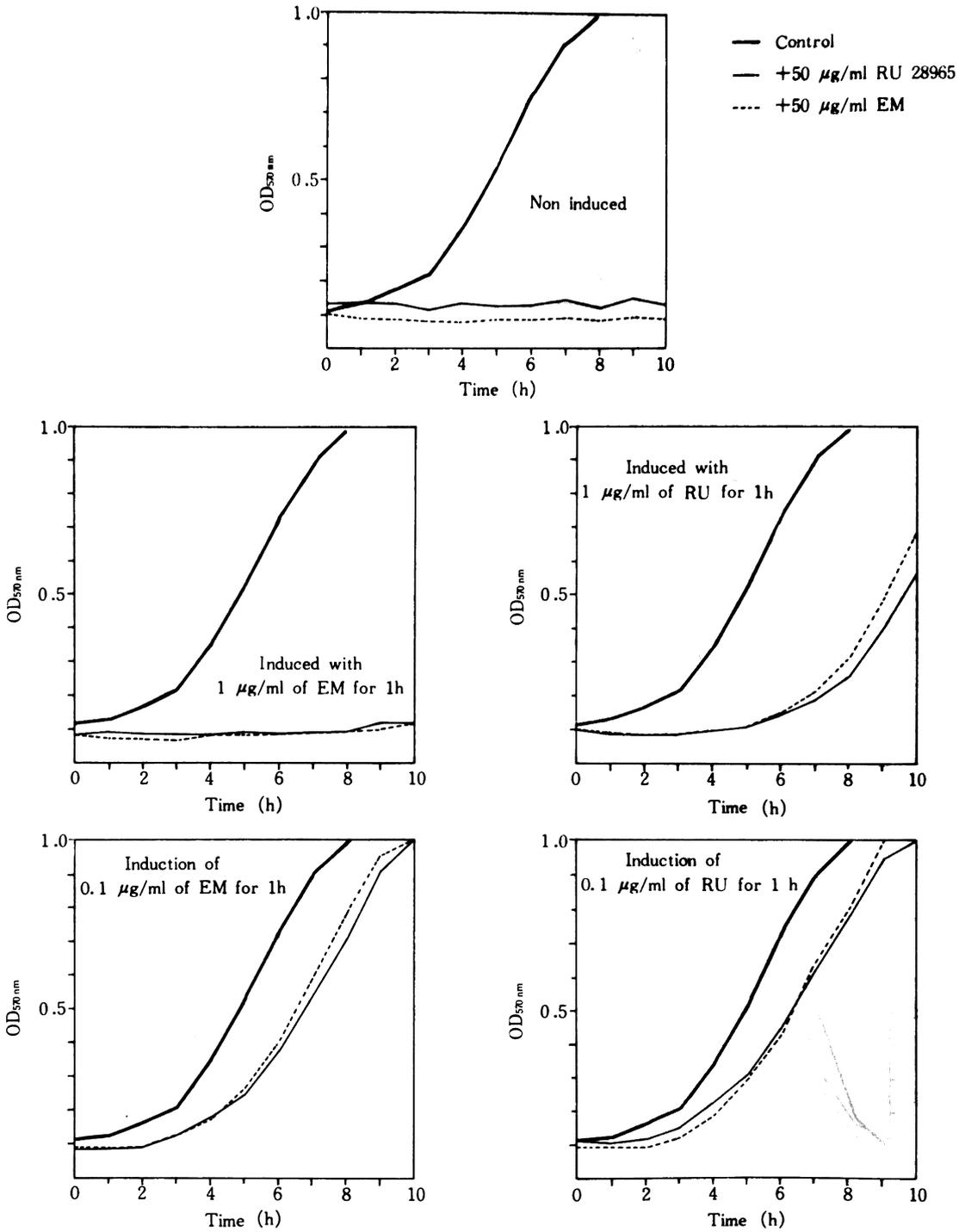
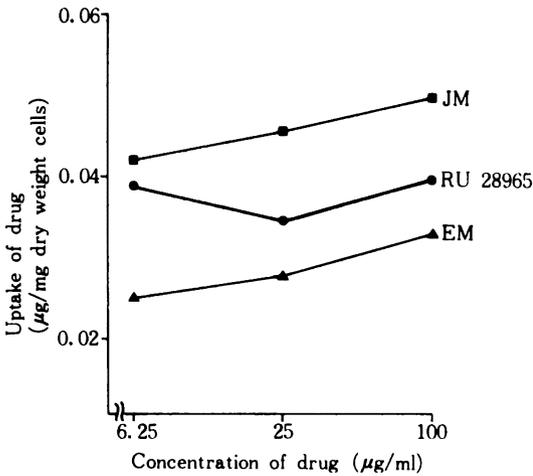
Fig. 15 Inducer activity of RU 28965 and EM for Macr strain *S. aureus* MS 15009 (EM, SPC)

Fig. 16 Drug-uptake into bacterial cells  
Test strain: *S. aureus* MS 353



が、RU 28965では薬剤含有培地接種6時間後、菌の増殖が認められた。耐性誘導に際してはその時の薬剤濃度が大切な問題の一つである。今回の実験に用いたC群マクロライド耐性菌に対して、EMの1.0 µg/mlは完全に誘導至適濃度を超えているが、同濃度のRU 28965では至適濃度は超えているものの依然誘導濃度内であると考えられる。また、*S. aureus* MS 353における菌体内への取り込みでは各接触薬剤濃度でRU 28965はEMより優れ、JMよりやや劣っていた。しかし三薬剤間の差はわずかなもので、比較薬剤間でそれほど違いはないと思われる。以上、*in vitro*におけるRU 28965の特徴はEMのそれとほぼ同じであると考えられた。しかし、マウス実験の全身感染症、肺感染症に対する治療実験では、RU 28965はEMと比較して、感染菌株に対するMICが劣るもののEMより優れた効果を示した。例えばED<sub>50</sub>値とMICを考慮すると、RU 28965はEMに比べ10倍程

Table 5 *In vivo* effect of RU 28965 against systemic infection with *S. aureus* SMITH in mice

Drug	Route	Dose (mg/mouse)	Survival/Tested*	Percent survival	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	MIC** (µg/ml)
RU 28965	p.o.	2.5	10/10	100	0.76*** (0.54~1.05)	0.39
		1.25	8/10	80		
		0.625	3/10	30		
		0.313	1/10	10		
EM	p.o.	5.0	6/10	60	4.00 (2.83~8.80)	0.20
		2.5	3/10	30		
		1.25	0/10	0		
JM	p.o.	20.0	10/10	100	6.63 (4.86~9.09)	0.78
		10.0	7/10	70		
		5.0	4/10	40		
		2.5	0/10	0		
RKM	p.o.	10.0	6/10	60	6.94 (3.91~32.6)	0.20
		5.0	4/10	40		
		2.5	2/10	20		
		1.25	2/10	20		
		0.625	0/10	0		
Infected control			0/10	0		

\* : Number of mice

\*\* : 10<sup>6</sup> cells/ml

\*\*\* : By probit analysis (95% confidence limit)

Experimental conditions

Mice : Std-ddY, male, 20±1 g

Infection : 1.86×10<sup>8</sup> cells/mouse without mucin

Medication : 1 h after infection

Observation of mortality : 7 days after infection

Table 6 *In vivo* effect of RU 28965 against experimental pneumonia in mice infected with *S. pneumoniae* HL-438

Challenge organism	Challenge size (cells/mouse)	Compound	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
<i>S. pneumoniae</i> HL-438	$7.8 \times 10^6$	RU 28965	0.05	9.10(5.51~15.86)
		EM	0.025	14.87(8.67~41.03)

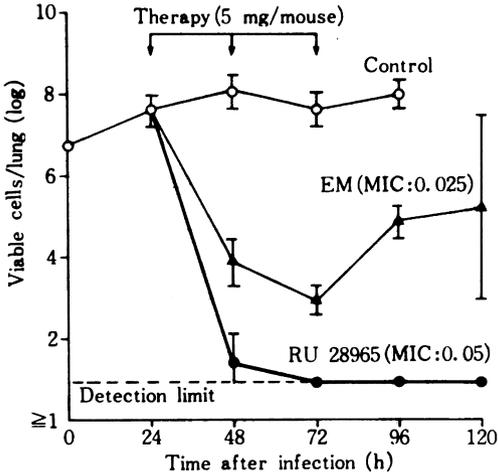
Mice : Std-ddY, male, 5 weeks old,  $24 \pm 1$  g, 8/group

Infection :  $30 \mu\text{l}$ /mouse, pernasal infection

Therapy : 24 h after challenge, p.o.

ED<sub>50</sub> : 6 days after infection

Fig. 17 Therapeutic effects of RU 28965 and EM on experimental pneumonia in mice infected with *S. pneumoniae* HL-438



度優れているといえよう。これらはRU 28965の良好な体内への吸収および臓器移行性が一つの要因と考えられよう。

## 文 献

1) JONES, R. N., A. L. BARRY & C. THORSBERRY : *In vitro* evaluation of three new macrolide antimicrobial agent, RU 28965, RU 29065 and RU 29072 and comparisons with other orally administered drugs.

Antimicrob. Agents, Chemotherapy 24 : 209~215, 1983

- 2) CHANTOT, J. F. & A. BRYSKIER : Pharmacokinetic Properties of the New Macrolide RU 28965 in Animal. Proc. the 14th International Congress of Chemotherapy, Antimicrobial Section 2, 1985
- 3) JONES, R. N. : Proc. the 14th International Congress of Chemotherapy, Abstr. ws-11-6, 1985
- 4) SAITO, A. : Proc. the 14th International Congress of Chemotherapy, Abstr. ws-11-7, 54, 1985
- 5) KHURANA, C. M. & P. A. DEDDISH : 25th Intersci. Conf. Antimicrob. Agent, Chemother., Abst. No. 204, 1985
- 6) 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度(MIC)測定再改訂について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981
- 7) MILLER, L. C. & M. L. TAINTER : Estimation of ED<sub>50</sub> and its error by means of logarithmic-probit graph paper. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57 : 261~264, 1944
- 8) KASAI, K., A. TSUJII, S. MIYAZAKI & S. ARAI : *In vivo* antibacterial activity of cefodizime, a new cephalosporin antibiotic. The Japanese Journal of Antibiotics. 37(7) : 1306~1312, 1984
- 9) MITSUHASHI, S. & INOUE, M. : Resistance to Macrolide and Lincomycins. In antimicrobial drug resistance (ed. by L. E. BRYAN), Academic Press Inc., p. 279, 1984

## BACTERIOLOGICAL STUDY ON RU 28965, A NEW ORAL MACROLIDE

YASUSHI TSUBOI, MATSUHISA INOUE\* and SUSUMU MITSUHASHI

Episome Institute and \*Laboratory of Drug Resistance in Bacteria, School of Medicine, Gunma University

We investigated the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of RU 28965 and compared it with those of EM, JM, MOM and RKM.

The spectrum of activity of RU 28965 was similar to that of EM. Its activity against clinical isolates of *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* and *N. gonorrhoeae* was superior to those of JM and MOM, but equal to or slightly less than that of EM. Against *S. aureus* and *S. pyogenes* RU 28965 was bacteriostatic at 2~4 MICs. It also actively induced staphylococcal ML-resistant strains, as does EM.

In systemic infection of mice, the 50% effective dose of RU 28965 by oral administration was about 1/5 that of EM and 1/9 those of JM and RKM. In experimentally induced pneumonia in mice, RU 28965 produced a steady decline in bacterial count in the lung.