

原 著

韓国におけるEnvironmental mycobacteria II. 分離菌感染マウスに対するOfloxacinの治療効果

斎 藤 肇・佐 藤 勝 昌・富 岡 治 明

島根医科大学微生物・免疫学教室

受付 昭和62年5月11日

ENVIRONMENTAL MYCOBACTERIA IN KOREA. — II. THERAPEUTIC EFFECTS OF OFLOXACIN AGAINST INFECTIONS DUE TO ISOLATES —

Hajime SAITO*, Katsumasa SATO
and Haruaki TOMIOKA

(Received for publication May 11, 1987)

Mice infected intravenously with *Mycobacterium fortuitum*, *M. chelonae* or *M. avium* complex isolated from the natural environment in Korea were subcutaneously given ofloxacin once daily, 6 times a week, from day 1 or 3 for up to 4 or 8 weeks after infection. In the case of *M. fortuitum* infection, incidence of the gross renal lesions and the number of organisms in the kidneys were reduced by the treatment with ofloxacin, indicating the proper efficacy of ofloxacin against *M. fortuitum* infection. In contrast, this agent failed to show a significant therapeutic efficacy against infections due to *M. chelonae* and *M. avium* complex.

Key words : Environmental mycobacteria, *M. fortuitum* infection, *M. chelonae* infection, *M. avium* complex infection, Ofloxacin

キーワード : 自然界抗酸菌, *M. fortuitum* infection, *M. chelonae* infection, *M. avium* complex infection, Ofloxacin

はじめに

ヒトの非結核性抗酸菌症は自然界由来の抗酸菌が日和見感染的に宿主に感染し、発症するものと考えられ、本菌群は一般に抗結核剤に対して耐性である¹⁾。最近、新キノロン系薬剤の一種である Ofloxacin が *Mycobacterium tuberculosis* や *M. fortuitum* に対して強い *in vitro* 並びに *in vivo* 抗菌活性を有することが報告されている^{2)~5)} が、*M. chelonae* や *M. avium* complex

に対しては未だ満足すべき抗菌剤の報告はなされていない。

先に我々⁶⁾は、韓国における自然界からの病原性抗酸菌の分離頻度は *M. fortuitum* complex が最も高く (*M. fortuitum* 30.1%, *M. chelonae* 2.3%), *M. avium* complex は 1.8% と極めて低かったことについて報告した。今回は、分離されたこれらの菌の実験的マウス感染症に対する Ofloxacin の抗菌活性について検討したので以下報告する。

*From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo 693 Japan.

材料と方法

- 1) 動物：5 週齢の ddY 系雌マウス（静岡実験動物農業協同組合）を使用した。
- 2) 薬剤：Ofloxacin（第一製薬）を供試した。
- 3) 供試菌：韓国で分離された *M. fortuitum* W-48 株（水系）、*M. chelonae* W-91 株（水系）及び *M. avium* complex SH-4 株（家屋塵埃）⁶⁾ を供試したが、これらの菌株の 1% 小川培地を用いての Ofloxacin の最小発育阻止濃度は、それぞれ 0.63, > 20 及び 20 µg/ml であった。なお、*M. chelonae* W-91 株はその後 の検討により subsp. *chelonae* と同定された。
- 4) 感染治療実験：*M. fortuitum*, *M. chelonae* 及び *M. avium* complex の Dubos Tween-albumin 液体培地中 37℃, 3~7 日培養菌のそれぞれ 3.1×10^7 , 1.1×10^6 及び 5.7×10^6 の生菌単位をマウスの尾静脈に接種し、その翌日あるいは 3 日後より生食水に溶解した Ofloxacin の 0.5, 1 あるいは 2 mg/0.1 ml ずつを 1 日 1 回、週 6 回、4 ないし 8 週間にわたって動物の背部へ皮下投与した。なお、対照群には生食水 0.1 ml を薬剤投与群におけると同様なプロトコールで与えた。そして、薬剤投与終了翌日に屠殺・剖検し、内臓の肉眼的病変の有無を観察後、先に報告した方法⁷⁾ に準じて、*M. fortuitum* では腎、*M. chelonae* では脾と腎、また *M. avium* complex では肺と脾をガラスホモジナイザーを用いて生食水によるホモジネートとし、0.4% NaOH（終末濃度）で約 20 秒間処理後、生食水で 10 倍階段希釈し、その 0.1 ml ずつを 1% 小川培地上に均等に拡げ、37℃ で *M. fortuitum* 並びに *M. chelonae*

では 1 週間、また *M. avium* complex では 5 週間培養後、臓器内生菌単位を計測した。

結 果

- 1) *M. avium* complex 感染に対する治療効果
薬剤治療群と対照群とを問わず肉眼的内臓病変のみられたものではなく（表省略）、また Table 1 に示すように、Ofloxacin を投与したいずれのマウスの肺及び脾よりの還元生菌単位も薬剤非投与対照マウスにおけるものと殆ど差はなかった。
- 2) *M. chelonae* 感染に対する治療効果
薬剤治療群と対照群とを問わず肉眼的内臓病変のみられるものではなく（表省略）、また Table 2 に示すように、感染 2 および 4 週後のマウスの脾及び腎における生菌単位は Ofloxacin 投与群においてその投与量を問わず対照マウスにおけるものと差はなかった。
- 3) *M. fortuitum* 感染に対する治療効果
Table 3 は *M. fortuitum* 感染マウスに対する Ofloxacin の治療効果を一括して示したものである。実験 1 は感染後 24 時間目より 4 週間にわたって Ofloxacin を投与したものであるが、薬剤投与量に依存して腎の肉眼的病変の発現頻度並びにそれよりの還元生菌単位の減少がみられた。実験 2 は腎内菌数の増加が始まり感染が明らかに成立したと思われる感染後 3 日目から 2 週間あるいは 4 週間にわたって薬剤を投与した場合であり、いずれの場合でも腎の肉眼的病変の発現頻度並びにそれよりの還元生菌単位は薬剤投与量に依存して減少した。なお、感染の翌日あるいは 3 日後から 4 週間にわたって薬剤投与を行った場合の治療効果は、腎の肉眼的病変の発現頻

Table 1. Effects of ofloxacin against *M. avium* complex-infected mice^{a)}

Time after administration of ofloxacin (w)	Drug dose (mg/mouse)	Log CFU/organ	
		Lungs	Spleen
0	0	5.50 ± 0.07	6.19 ± 0.11
	0	3.53 ± 0.08	5.18 ± 0.15
2	0.5	3.22 ± 0.43	5.49 ± 0.10
	1	3.22 ± 0.43	5.49 ± 0.10
	2	3.24 ± 0.09	5.17 ± 0.08
	0	2.36 ± 0.10	4.23 ± 0.14
	0.5	1.68 ± 0.48	4.33 ± 0.14
	1	2.61 ± 0.17	4.39 ± 0.14
4	2	2.51 ± 0.16	4.33 ± 0.15

a) Ten mice in each group were infected intravenously with 5.7×10^6 *M. avium* complex SH-4, and given ofloxacin subcutaneously once daily, 6 times a week, from day -1 after infection. Values are expressed as mean ± SE.

度並びにそれよりの還元生菌単位のいずれの点からみても、前者の方が優れているようであった。

考 察

Ofloxacin はヒトの肺結核症の治療に用いて有効であり^{8)~10)}、その治療効果は rifampicin よりもやや劣るものの、kanamycin, ethionamide あるいは cyclo-

serine よりも優れたものであることが報告されている⁸⁾。今回並びに先の我々の成績⁴⁾⁵⁾からみて Ofloxacin が *M. fortuitum* マウス感染症に対して有効であることが示唆され、また最近、本菌によるヒトの肺感染症に対する有効性を示唆した報告¹¹⁾もみられている。しかし、今回の検討の限りでは Ofloxacin は実験的 *M. chelonae* 及び *M. avium* complex マウス感染症に対して

Table 2. Effects of ofloxacin against *M. chelonae*-infected mice^{a)}

Time after administration of ofloxacin (w)	Drug dose (mg/mouse)	Log CFU/organ	
		Spleen	Kidneys
0	0	6.00 ± 0.07	4.47 ± 0.07
	0	4.87 ± 0.30	4.59 ± 0.17
2	0.5	4.89 ± 0.10	4.68 ± 0.18
	1	5.00 ± 0.15	4.60 ± 0.28
	2	4.96 ± 0.15	4.48 ± 0.18
	0	2.85 ± 0.08	4.06 ± 0.34
	0.5	2.89 ± 0.24	3.96 ± 0.31
	1	2.42 ± 0.15	4.07 ± 0.28
4	2	1.63 ± 0.53	3.40 ± 0.40

a) Ten mice in each group were infected intravenously with 1.1×10^6 *M. chelonae* W-91, and given ofloxacin subcutaneously once daily, 6 times a week, from day-1 after infection. Values are expressed as mean ± SE.

Table 3. Effects of ofloxacin against *M. fortuitum*-infected mice^{a)}

Expt.	Days starting regimen post infection	Time after administration of ofloxacin (w)	Drug dose (mg/mouse)	Renal lesions (%)	Log CFU/kidneys
I	1	0	0	0	4.80 ± 0.06
		4	0	100	3.93 ± 0.09
			0.5	80	1.65 ± 0.84 ^{b)}
			1	40 ^{c)}	1.22 ± 0.51 ^{c)}
			2	20 ^{c)}	0.25 ± 0.17 ^{c)}
			2	20 ^{c)}	0.25 ± 0.17 ^{c)}
II	3	0	0	0	5.16 ± 0.12
		2	0	100	5.44 ± 0.26
			1	80	3.75 ± 0.47 ^{c)}
			2	40 ^{c)}	2.35 ± 0.58 ^{c)}
		4	0	90	4.09 ± 0.75
			1	50	3.84 ± 0.39
			2	30 ^{c)}	2.33 ± 0.08 ^{c)}
			2	30 ^{c)}	2.33 ± 0.08 ^{c)}

a) Ten mice in each group were infected intravenously with 3.1×10^7 *M. fortuitum* W-48, and given subcutaneous injections of ofloxacin once daily, 6 times a week, from day-1 or 3 after infection. Values are expressed as mean ± SE.

b) Significantly different from controls at $P < 0.05$.

c) Significantly different from controls at $P < 0.01$.

は無効であった。

抗菌剤の臨床的応用を考える上に、薬剤の組織内分布が重要であることは周知のところである。Ofloxacinは特に肝及び腎への移行性が優れているといわれており¹²⁾、Tsukamura³⁾は、*M. tuberculosis* H₃₇Rv感染マウスに本剤を腹腔内投与することにより肝内の感染菌の増殖が抑制されたことを報告している。今回の成績はマウスの腎に病変を作る *M. fortuitum* 感染時に Ofloxacin が有効であったということは、本剤の腎内分布が高いという特性にその一因を置くことができよう。

現在のところ、*M. fortuitum* 並びに *M. chelonae* 症に対する的確な治療剤は知られていないが、その予後は比較的良好であるといわれている。これはこれらの菌が弱毒であるために宿主対寄生体のバランスが好転することによって自然治癒の転帰をとりやすいためであろうと思われ¹¹⁾、薬剤の治療効果の判定にあたっては慎重であらねばならない。これに関連して、我々は実験のマウス *M. chelonae* 感染が免疫賦活剤 (*Lactobacillus*, OK-432) の投与によって著しく軽減されることを見出している。このことより、免疫賦活剤の使用により宿主対寄生体のバランスを宿主側に有利な方向に転じ得た場合には、抗菌剤による治療効果がより高められることが考えられよう。

ま と め

韓国において自然界材料から分離された *Mycobacterium fortuitum*, *M. chelonae* 及び *M. avium* complex をマウスの尾静脈内接種後1あるいは3日目より、1日1回、週6回、4あるいは8週間にわたって Ofloxacin を皮下投与したところ、*M. chelonae* 及び *M. avium* complex 感染に対しては無効であったが、*M. fortuitum* 感染に対しては、腎の病変の軽減とそれよりの還元生菌単位の減少がみられた。

謝 辞

Ofloxacin の提供を頂いた第一製薬株式会社並びに供試菌を分与下さった大韓民国結核研究院の陳炳洵氏に謝意を表します。

文 献

- 1) Wolinsky, E. : Nontuberculous mycobacteria and associated disease, *Am Rev Respir Dis*, 119 : 107, 1979.
- 2) Tsukamura, M. : *In vitro* antimycobacterial activity of a new antibacterial substance DL-8280-Differentiation between some species of mycobacteria and related organisms by the DL-8280 susceptibility test, *Microbiol Immunol*, 27 : 1129, 1983.
- 3) Tsukamura, M. : Antituberculosis activity of ofloxacin (DL-8280) on experimental tuberculosis in mice, *Am Rev Respir Dis*, 132 : 915, 1985.
- 4) Saito, H. et al. : *In vitro* and *in vivo* susceptibilities of *Mycobacterium fortuitum* to ofloxacin (DL-8280), In Ishigami, J. (ed.), *Recent Advances in Chemotherapy, Antimicrobial section*, University Tokyo Press, Tokyo, p. 319, 1985.
- 5) 斎藤 肇他 : 諸種抗酸菌に対する norfloxacin, ofloxacin および ciprofloxacin の *in vitro* 並びに *in vivo* 抗菌活性, *結核*, 62 : 287, 1987.
- 6) Jin, B. W. et al. : Environmental mycobacteria in Korea. I. Distribution of the organisms, *Microbiol Immunol*, 28 : 667, 1984.
- 7) Saito, H. et al. : Activities of cefoxitin and cefotetan against *Mycobacterium fortuitum* infections in mice, *Antimicrob Agents Chemother*, 26 : 270, 1984.
- 8) Tsukamura, M. et al. : Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL-8280) on pulmonary tuberculosis, *Am Rev Respir Dis*, 131 : 352, 1985.
- 9) 束村道雄他 : 新抗菌物質 Ofloxacin (DL 8280) の肺結核に対する臨床効果 (1年間投与の成績), *結核*, 60 : 365, 1985.
- 10) 束村道雄他 : Ofloxacin の肺結核初回治療への適用, *結核*, 61 : 15, 1986.
- 11) 束村道雄他 : *Mycobacterium fortuitum* および *Mycobacterium chelonae* による肺感染症—*M. fortuitum* 症9例および *M. chelonae* 症4例の症例追加報告—, *結核*, 60 : 429, 1985.
- 12) 岡崎 治他 : DL-8280 の体内動態, 第2報, ¹⁴C-DL-8280 の各種動物における吸収分布, 排泄, *Chemotherapy*, 32 (S-1) : 1185, 1984.