

短 報

実験的 *Mycobacterium avium* complex 感染に対する化学的予防

¹斎藤 肇 ¹村上 和保 ²小林 和夫 ²儀同 政一
³日高 隆義 ⁴権 赫 僊

¹広島県環境保健協会, ²国立感染症研究所ハンセン病研究センター,
³鐘淵化学工業総合研究所高砂研究所, ⁴韓国ソウル保健大学

CHEMOPROPHYLAXIS AGAINST *MYCOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX
INFECTION INDUCED IN MICE

¹Hajime SAITO, ¹Kazuyasu MURAKAMI, ²Kazuo KOBAYASHI, ²Masaichi GIDOH,
³Takayoshi HIDAKA, ⁴Hyuk Han KWON

¹*Hiroshima Environment and Health Association, ²Leprosy Research Center, National Institute of
 Infectious Diseases, ³Takasago Research Laboratories, Kaneka Corporation, ⁴Seoul Health College, Korea

M. avium complex (MAC) is one of the important causative agents of opportunistic infections among AIDS patients. Recent evidence showed that the entry of infection is through the gastrointestinal tract. In the present study, we compared the prophylactic effect of some antimicrobials against MAC infection induced in mice. Different groups of beige mice were fed with pellets containing 0.0067% (10mg/kg) of KRM-1648, rifabutin (RFB) and clarithromycin (CAM). Seven days after the administration of drugs, the mice were infected with *M. intracellulare* N-241 (5×10^8 CFU) orally, five times, every other day and killed one and 126 days after the last infection. The effect of drug was evaluated using the frequency and severity of gross lung lesions in the mice and by the total CFU recovered from the lungs and spleen. MAC infection was not likely to be established since there was no macroscopic evidence of lesion in organs and the recovery of cultures from lungs and spleen tested was negative, in 3 of 10 mice in the control group, 2 of 9 in the CAM group, 4 of 9 in the RFB group and 4 of 10 in the KRM group. These mice were excluded from the analysis of the study results. Thus, we examined 7 mice in the control group, 7 in the CAM group, 5 in the RFB group, and 6 in the KRM group.

Tubercle-like lesions were observed in the lungs of all 7 mice in the control group (severity: 3+ in 5 mice; 4+ in 2 mice), in 5 of 7 mice (71%) in the CAM group (severity: 2+ in 1 mouse; 3+ in 4 mice), and in 4 of 5 mice (80%) in the RFB group (severity: 1+ in 1 mouse; 2+ in 1 mouse; 4+ in 2 mice), while only slight lesions (severity: 1+) were observed in 4 of 6 mice (67%) in the KRM group. There was no macroscopic evidence of lesion in spleen, liver and kidneys.

*〒730-8631 広島市中区広瀬北町9-1

* 9-1 Hirosekita-machi, Naka-ku, Hiroshima 730-8631
 Japan.

(Received 19 Apr. 1999/ Accepted 16 Jun. 1999)

The log CFU was determined at the next day of the completion of the last infection. The log CFU of the lungs was 2.49 and 2.28 in the control group and the CAM group, respectively. The bacteria were not recovered either from the lungs in the RFB and KRM groups, nor from the spleen in all the groups. The order of efficacy of the drugs on the basis of the CFUs recovered from the lungs and spleen in each group determined 126 days after the completion of the last infection was as follows; KRM>CAM>RFB in the lungs and KRM>CAM≒RFB in the spleen, although there was no significant difference among the three drugs ($P<0.05$). However, the significantly preferable effect was obtained in the three drug groups as compared with the control group.

Key words : *Mycobacterium avium* complex infection, Chemoprophylaxis, Clarithromycin, Rifabutin, KRM-1648

キーワーズ : トリ型菌群感染, 化学的予防, クラリスロマイシン, リファブチン, KRM-1648

Mycobacterium avium complex (MAC) は進行した AIDS 患者における主要な日和見感染症の原因菌である¹⁾が, それに対する適切な治療薬がなく予後は一般に不良である²⁾ため, 米国では rifabutin³⁾⁴⁾, clarithromycin⁵⁾ や azithromycin⁴⁾ による化学的予防が行われている。

今回, われわれは優れた抗 MAC 活性を有することが明らかにされている KRM-1648⁶⁾⁷⁾ の実験的マウス MAC 感染に対する予防効果を rifabutin および clarithromycin のそれと比較検討し, 以下に述べるような知見を得たので報告する。

供試マウスとしては日本クレアから購入した 4-6 週齢, 雌の beige マウスを用いた。飼料はマウス・ラット用粉末飼料 (CE-2, 日本クレア) を基礎飼料とし, これに KRM-1648 (KRM), rifabutin (RFB) あるいは clarithromycin (CAM) を 0.0067% になるように添加し, 精製水を加えて練合した後, 成型, 乾燥した。また, 薬剤非添加 (対照) 飼料を上記の方法に準じて調製した。供試マウスは KRM, RFB あるいは CAM 含有並びに非含有の固型飼料で全実験経過中飼育した。今, マウス 1 匹当たりの 1 日摂餌量を 3g と仮定すると, 各薬剤の 1 日投与量は 0.2mg/マウス (10mg/kg/マウス) となる。感染は *M. intracellulare* N-241 株 (SmT 型) の Middlebrook 7H9 培地中 37°C, 7 日培養菌を OD₅₄₀ = 1.0 (5.3×10⁸ CFU) に調整し, その 0.1ml を薬剤含有あるいは非含有飼料で給餌開始前 7 日目から隔日, 5 回にわたって胃チューブで経口的に行った。そして, 最終感染終了 1 日並びに 126 日後に剖検し, 内臓の肉眼的病変の有無ないし程度を観察後, 肺および脾からの還元菌単位 (CFU) を 7H11 寒天培地を用いて測定した。

1. 検討マウス数 : 最終感染 126 日後における内臓の肉眼的病変並びに肺および脾からの還元 CFU が共に陰性で, 感染が成立しなかったと考えられた動物が対照群 10 匹中 3 匹にみられたため, 治療群中同様の所見の得られた KRM 群 10 匹中 4 匹, RFB 群 9 匹中 4 匹, CAM 群 9 匹中 2 匹についてもその可能性があると考えられ, したがってこれらを除いた対照群 7 匹, KRM 群 6 匹, RFB 群 5 匹, CAM 群 7 匹の動物を対象として下記の点について比較検討した。

2. 内臓の肉眼的所見 : 最終感染 1 日後では内臓に肉眼的病変のみられたものはなかったが, 126 日後では Table 1 に示すように, 肺では結核結節様病変が, 対照群では 7 匹中全動物 (病変度 : 3+, 5 匹; 4+, 2 匹) に, CAM 群では 7 匹中 5 匹 (71%) (病変度 : 2+, 1 匹; 3+, 4 匹) に, RFB 群では 5 匹中 4 匹 (80%) (病変度 : 1+, 1 匹; 2+, 1 匹; 4+, 2 匹) にみられたのに対して, KRM 群では 6 匹中 4 匹 (67%) にいずれも軽度の病変 (1+) がみられたにすぎなかった。なお, いずれの動物群においても脾, 肝, 腎では肉眼的病変のみられたものは皆無であった。

3. 還元 CFU : 表は省略したが, 各動物群 (各群 2 匹) の感染終了翌日における肺内 Log CFU は対照群 2.49, CAM 群 2.28 で RFB 群, KRM 群の肺並びに全供試群の脾よりは, いずれにおいても菌の還元されたものはなかった。次に感染終了 126 日後における各実験群の肺および脾より還元された CFU は Table 2 に示すようであった。すなわち, CFU よりみた薬剤の効果は肺では KRM>CAM>RFB, また脾では KRM>CAM≒RFB のようであったが, 3 薬剤間には有意差は見いだせなかった。しかし, いずれの薬剤投与群でも薬剤非投与対照群に比べると有意に優れた抗菌効果が得られた ($P<0.05$)。

Table 1 Gross lung lesions in *M. intracellulare* N-241 infected mice treated with or without antimicrobial drugs^a

Drug	No. of mice	Gross lesions ^b				
		-	1+	2+	3+	4+
None	7	0	0	0	5	2
KRM-1648	6	2	4	0	0	0
Rifabutin	5	1	1	1	0	2
Clarithromycin	7	2	0	1	4	0

^a126 days after infection.^bSymbols: -, no macroscopic lesion; 1+, less than 20 small nodules; 2+, more than 20 small nodules; 3+, many small nodules with a few large nodules; 4+, many large nodules.**Table 2** Prophylactic effects of KRM-1648, rifabutin and clarithromycin on the lungs and spleen of beige mice^a

Drug	Log CFU		Mean±SE	
	Lungs	Spleen	Lungs	Spleen
None	7.15	5.80		
	6.18	4.30		
	6.43	5.00		
	7.54	6.51	7.07±0.21	5.81±0.32
	7.34	6.11		
	7.46	6.48		
	7.41	6.45		
KRM-1648	6.83	5.00		
	3.56	3.98		
	1.60	1.30	4.18±0.85 ^b	3.27±0.53 ^b
	3.48	2.60		
	3.04	2.82		
	6.54	3.89		
Clarithromycin	5.04	4.23		
	5.23	4.36		
	6.04	4.00		
	2.08	2.89	4.79±0.56 ^b	4.20±0.51 ^b
	6.20	5.34		
	3.38	2.30		
	5.26	6.26		
Rifabutin	6.41	5.30		
	6.11	5.40		
	3.43	2.78	5.21±0.64 ^b	4.29±0.54 ^b
	6.32	5.15		
	3.86	3.20		

^a126 days after the last challenge.^bSignificantly different from controls ($P < 0.05$).

AIDS患者におけるMAC症の多くは腸管内に存在するMAC, なかなく *M. avium* による内因性感染で, 菌の腸管への定着が菌血症に先行すると考えられている⁸⁾。播種性MACはAIDS患者の生存率の低下と生存期間を6カ月も短縮させると報告されている²⁾⁹⁾¹⁰⁾。AIDS患者における播種性MAC感染の治療はその症状を軽減させ, あるいは生存日数を延長させるが, それにもましてその感染予防することが患者の予後を左右するきわめて重要なことと思われる。MAC感染の化学的予防についてはNightingaleら³⁾はRFB300mg, 連日の予防的投与によりCD4細胞数 $\leq 200/\text{mm}^3$ のAIDS患者における播種性MAC症の発症頻度を偽薬群の1/2に低下させることができたとして報告しており, またPierceら⁵⁾は進行したAIDS患者にCAM1日2回, 500mg, 10カ月の予防的投与によりMAC感染が効率的に予防できただけでなく, 死亡率を偽薬群よりも有意に低下させることができたという。またHavilirら⁴⁾はCD4細胞数 $\leq 100/\text{mm}^3$ のHIV感染者における播種性MAC感染に対する予防効果はazithromycin (AZM) 週1回, 1200mg投与の方がRFB1日300mg投与よりも優れ, かつ耐性菌出現も低かったこと, またこれら両者の併用ではより効果的ではあったが, 副作用がAZM単独におけるものよりも高頻度であったという。

他方, マウスモデルを用いたMAC感染の化学的予防効果の検討成績についてみるとBermudezらはAZM¹¹⁾あるいはCAM¹²⁾にその効果を認めている。今回, われわれは優れた *in vitro* 並びに *in vivo* 抗MAC活性を有するKRM-1648⁶⁾⁷⁾, CAMおよびRFBの実験的マウスMAC感染に対する予防的効果を各薬剤含有飼料であらかじめ給餌後, *M. intracellulare* N-241株を経口感染させ, その後も剖検時まで給餌を続ける系を用いて検討した。その結果, 供試薬剤間に有意差こそ見いだせなかったが, 対照群よりも有意に優れた抗菌効果を有することが分かり, なかでもKRMが最も優れているようであった。

文 献

- 1) Masur H: *Mycobacterium avium-intracellulare*: another scourge for individuals with the acquired immunodeficiency syndrome. JAMA. 1982; 248: 3013.
- 2) Ellner JJ, Goldberger MJ, Parenti DM: *Mycobacterium avium* infection and AIDS: a therapeutic dilemma in rapid evolution. J Infect Dis. 1991; 163: 1326-1335.
- 3) Nightingale SD, Cameron DW, Gordin FM, et al.: Two controlled trials of rifabutin prophylaxis against *Mycobacterium avium* complex infection in AIDS. N Engl J Med. 1993; 329: 828-833.
- 4) Havilir DV, Dubé MP, Sattler FR, et al.: Prophylaxis against disseminated *Mycobacterium avium* complex with weekly azithromycin, daily rifabutin, or both. N Engl J Med. 1996; 335: 392-399.
- 5) Pierce M, Crompton S, Henry D, et al.: A randomized trial of clarithromycin as prophylaxis against disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in patients with advanced acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med. 1996; 335: 384-391.
- 6) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al.: In vitro antimycobacterial activities of newly synthesized benzoxazinorifamycins. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35: 542-547.
- 7) Tomioka H, Saito H, Sato K, et al.: Chemotherapeutic efficacy of a newly synthesized benzoxazinorifamycin KRM-1648, against *Mycobacterium avium* complex infection induced in mice. Antimicrob Agents Chemother. 1992; 36: 387-393.
- 8) Damsker B, Bottone EJ: *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* from the intestinal tracts of patients with the acquired immunodeficiency syndrome: concepts regarding acquisition and pathogenesis. J Infect Dis. 1985; 151: 179-180.
- 9) Jacobson MA, Hopewell PC, Yajko DM, et al.: Natural history of disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in AIDS. J Infect Dis. 1991; 164: 994-998.
- 10) Jones JL, Hanson DL, Chu SY, et al.: Surveillance of AIDS-defining conditions in the United States. AIDS 1994; 8: 1489-1493.
- 11) Bermudez LE, Petrofsky M, Young LS: Azithromycin for prophylaxis of disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in mice. Program and abstract of the 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (p.388). American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 12) Bermudez LE, Inderlied CB, Kolonoski P, et

al.: Clarithromycin, dapsone, and a combination of both used to treat or prevent disseminated *Mycobacterium avium* complex

infection in beige mice. Antimicrob Agents Chemother. 1994; 38: 2717-2721.