

3. アプラマイシンについて

清水 良 浩

(日本イーライリリー株式会社)

Apramycin

Yoshihiro SHIMIZU

Eli Lilly Japan K.K.

1. 開発の経緯

アプラマイシン (APM) は、1967年メキシコの土壌より、W. M. Stark ら (イーライリリー社, 米国) により分離された放線菌 *Streptomyces tenebrarius* が産生する一群のアミノサイクリトール系抗生物質ネブラマイシンの Factor 2 である²⁾。ネブラマイシンの Factor 2 の中には、現在人体用に使用されているトブラマイシンも含まれる。

現在、我が国で子豚の育成上問題となる疾病としては下痢を主とする消化器病並びに肺炎を主とする呼吸器病があげられる。これらの疾病は、甚大な経済的損失を与える事が知られており、養豚業界が集約・省力化されるに伴い、こ

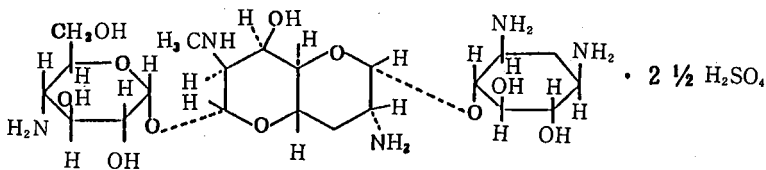
れらの疾病の対策がますます重要となってきた

いる。とりわけ子豚の細菌性下痢症には、これまで種々の抗菌性物質が使用されて相当の効果を挙げているが、その一方で大腸菌の多剤耐性化が大きな問題となってきた³⁾。このため、APM を動物専用医薬品として、子豚の細菌性下痢症に対して開発をすすめ、1985年6月に承認を得た。

また、APM は米国やヨーロッパをはじめとして世界 27 カ国以上で *Escherichia coli* (*E. coli*) および *Salmonella* による牛や豚の下痢症に対して販売されている。

2. 物理・化学的性状

1) 化学構造式



2) 分子式及び分子量

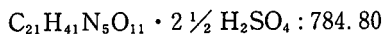


図1 化学構造式等

APMは、図1に示すように、化学構造的には二置換2-deoxystreptamineを有する従来のアミノサイクリトール系抗生物質(カナマイシン(KM)、フラジオマイシン(FRM))等と異なり、固定した二環性のoctadioseを含有する。この化学構造的な特異性から生物学的にも下記のような特長を有する。

a. 抗菌スペクトラムは幅広く、特にグラム陰性菌に対して強い抗菌作用を呈する。

b. 従来のアミノサイクリトール系抗生物質(KMやFRM等)耐性菌に対して強い抗菌力を示す。

c. 従来のアミノサイクリトール系抗生物質不活化酵素に対して安定である。

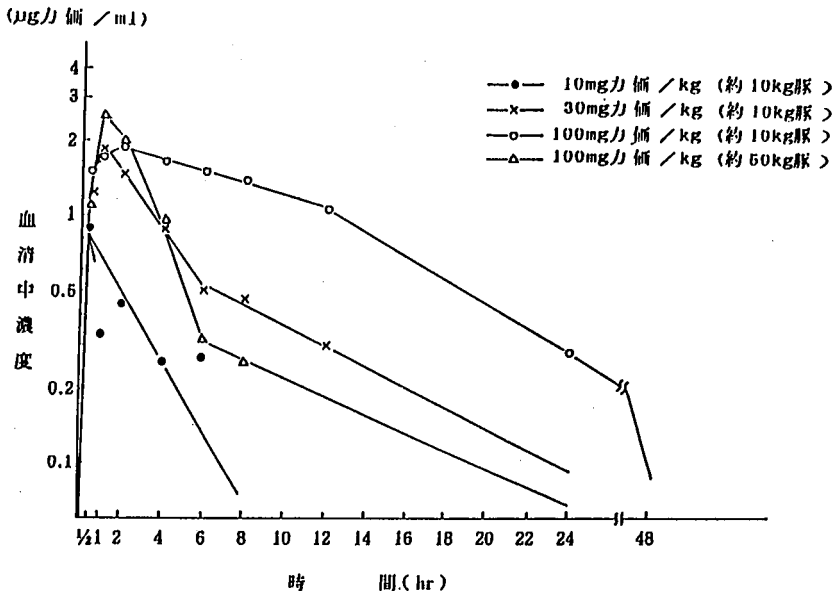
また、APMは硫酸アプラマイシンとして飼料添加剤並びに飲水投与剤の二剤型で製剤化されている(表5参照)。APMの融点は245~275°Cで、水には非常に良く溶け、低級アルコールには僅かに溶ける。

3. 体内吸収・分布・排泄

APMを10~100mg力価/kgで豚に単回強制投与した時の血清中濃度推移を図2に示す。

体重約10kgの豚では10mg力価/kg投与で投与0.5時間後に最高血中濃度0.89 μ g力価/mlを示し、8時間後には検出限界以下となった。また、30、100mg力価/kg投与ではそれぞれ1時間、2時間後に最高血中濃度(約1.9 μ g力価/ml)に達し、24時間後には検出限界以下となった。一方、体重約50kgの豚では、25mg力価/kg投与でAPMは血中に検出されず、100mg力価/kgでは投与1時間後に最高血中濃度2.6 μ g力価/mlを示し、その後生物学的半減期1.24時間で消失し、24時間後には検出限界以下となった。

また、体重約10kgの豚に¹⁴C-APMを5日間強制経口投与したところ、最高の放射能濃度を示した組織は腎臓で、次いで背脂肪、肝臓、筋肉の順であった。また、その際の糞中および尿中放射能の測定を行なった結果、放射能の殆どは糞中に排泄され、尿中には10%未満が排泄された。また、組織中、糞中および尿中の放射能性物質をカラムクロマトグラフィーで精製



(未発表; イーライリリー社、武田薬品)

図2 豚におけるAPM血清中濃度推移

し、オートラジオグラムおよびバイオオートグラムで分析したところ、肝臓では総放射能の2/3、腎臓では2/3、糞中および尿中ではいずれも3/4以上が未変化のAPMであった。このため、経口投与されたAPMの吸収は悪く、殆ど代謝を受けずに糞中に排泄されると考えられる。

4. 試験管内効力試験

APMの抗菌スペクトラムは表1に示すよう

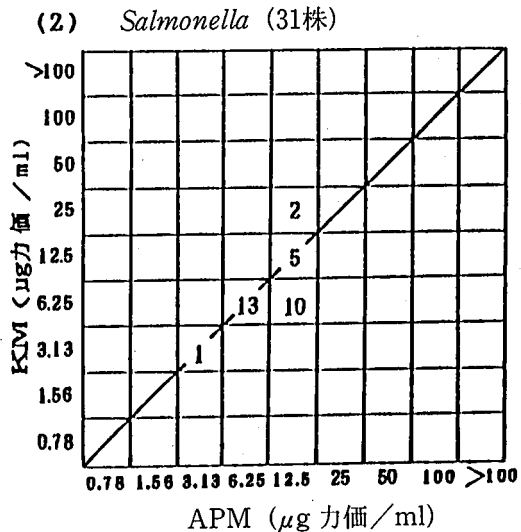
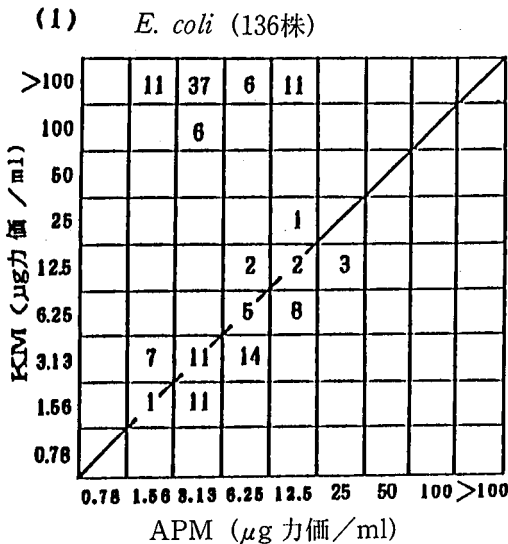
に幅広く、グラム陰性菌およびグラム陽性菌に対してKMと同様に優れた抗菌力を示した。また、他の同系の抗生物質と同様に嫌気性菌に対してはあまり効力を示さない。

また、我が国で豚から分離した *E. coli* 136株に対するAPMの最小発育阻止濃度(MIC)は、図3に示すように1.56~25 μg 力価/mlに分布し、ピークは3.13 μg 力価/mlにみられ、KMでは3.13 μg 力価/mlをピークとする1.56~12.5 μg 力価/mlに分布する群と $\geq 100 \mu\text{g}$ 力価/mlのMIC値を示す群があり、二

表1 各細菌に対するアブラマイシンのMIC値 (μg 力価/ml)

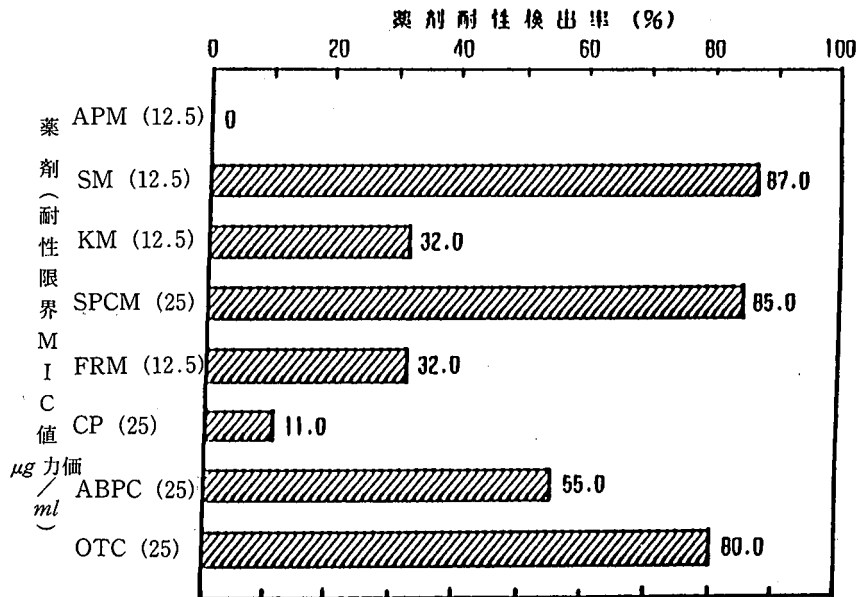
Gram-positive organisms		Gram-negative organisms	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.78	<i>Pasteurella multocida</i>	12.50
<i>Streptococcus uberis</i>	100.00	<i>Pasteurella hemolytica</i>	12.50
Group D streptococcus	32.00	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	1.56
Group E streptococcus	25.00	<i>Proteus species</i>	6.25
		<i>Treponema hyodysenteriae</i>	10.00
		<i>Arizona paracolon</i>	6.25
		<i>Escherichia coli</i>	3.12
		<i>Salmonella species</i>	6.25
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.78

(未発表：イーライリリー社)



未発表：武田薬品
佐藤品川 氏ら (帯広畜産大学)
品川邦汎 氏ら (岩手大学)

図3 感受性相関



注 アブラマイシン (APM)、ストレプトマイシン (SM)、カナマイシン (KM)、スペクトロマイシン (SPCM)、フラジロシリン (FRM)、クロラムフェニコール (CP)、アンピシリン (ABPC)、オキシテトラサイクリン (OTC)

(未発表；全農家畜衛生研究所)

図4 子豚下痢便由来 E. coli 100 株の薬剤別耐性検出率

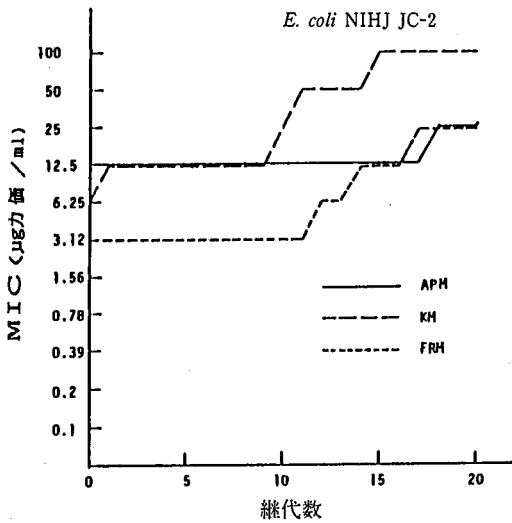
表2 Behavior of New Among Licosides Towards Inactivating Enzymes (米原¹⁾)

	APH (3')-I	APH (3')-II	ANT (2'')	AAC (2')	AAC (6')	AAC (3)-I	AAC (3)-II	AAC (3)-III	AAC (3)-IV	ANT (4')	APH (2'')
SGM	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
SDM	+	-	-	+	+	+	NT*	NT*	NT*	-	-
FTM	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
K M	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	±
GM-C1a	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
TBM	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	±
AMK	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	±
APM	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

* NT: Not tested

Sagamicin (SGM), Seldomycin (SDM), Fortimicin (FTM), Kanamycin (KM), Gentamycin C1a (GM-C1a), Tobramycin (TBM), Amikacin (AMK), Apramycin (APM), Phosphotransferase (APH), Neucleotidyltransferase (ANT), Acetyltransferase (AAC)

<米原の原表を示す>



〈未発表；武田薬品〉

図5 耐性獲得

峰性の分布がみられた。これまでのところ、我が国ではAPR耐性の豚由来 *E. coli* の報告は

見あたらない。一方、豚由来の *Salmonella* 31株に対するAPMのMICは、図3に示すように3.13~12.5 μg力価/mlに分布し、ピークは12.5 μg力価/mlにみられ、KMもほぼ同じ感受性分布を示した。

また、図4の例に示すように、アンピシリン (ABPC)、クロラムフェニコール (CP)、FRM、フラゾリドン (FZ)、ナリジクス酸 (NA)、KM、オキシテトラサイクリン (OTC)、サルファ剤 (SAs)、ストレプトマイシン (SM)、スペクチノマイシン (SPCM) 等による多剤耐性 *E. coli* に対してAPMは交差耐性を示さなかった。

アミノサイクリトール系抗生物質に対しては、これまでいくつかの不活化酵素が知られているが、APMは既知の不活化酵素であるO-リン酸転移酵素、O-アデニル転移酵素、N-アセチル転移酵素に対して安定であった。しかし、表2に示すようにAPR耐性菌から分離した3-N-アセチル転移酵素の1つであるAAC(3)-IV

表3 APM (飲水投与) の豚における残留性

臓器	投与量 mg/kg/日	最終投与後時間(日)					
		1/12	7	14	21	28	35
肝臓	12.5	ND ¹⁾	ND	ND	ND	ND	ND
	37.5	0.28 ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	12.5	0.62	0.10	ND	ND	ND	ND
	37.5	1.57	0.25	ND	ND	ND	ND
筋肉	12.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	37.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	12.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	37.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
小腸	12.5	0.09	ND	ND	ND	ND	ND
	37.5	0.29	ND	ND	ND	ND	ND

¹⁾ 検出限界 (0.0625 ppm) 以下

²⁾ 1頭の値、他の2頭ND

薬剤摂取量：12.5 mg/kg 群；10 mg/kg/日, 37.5 mg/kg 群；
29 mg/kg/日

〈未発表；畜産生物安全研究所〉

のみに APM は不安定であった。この酵素は 2-deoxystreptamine の二置換体抗生物質 (FRM, KM 等) にも作用する¹⁾。

耐性獲得については、増量継代培養法により APM, FRM および KM に対して *E. coli* を用いて検討したところ、APM の耐性獲得は FRM および KM よりも遅く、緩やかであった (図 5)。

5. 残留試験成績

a. 飲水投与剤

交雑種去勢豚に APM (40% 製剤; 表 5 参照) を 1 日当たり 12.5 および 37.5 mg 力価/kg (承認最高用量およびその 3 倍量) となるように添加した飲水を 7 日間給与し、残留試験を実施した。

その結果、APM は最終投与後 2 時間で 12.5 mg 力価/kg 群では腎臓と小腸に、37.5 mg 力価/kg 群では、肝臓、腎臓および小腸に残留し、また休薬 7 日目では両群とも腎臓から APM が

検出された。しかし、休薬 14 日目では採材したすべての試料から検出されなかった (表 3)。

b. 飼料添加剤

同様に、APM (10% 製剤; 表 5 参照) を 200 ppm または 600 ppm (承認用量の 2 倍と 6 倍量) で添加した飼料を 7 日間給与した。

その結果、APM は最終投与後 2 時間で 200 ppm 群では腎臓に、600 ppm 群では肝臓、腎臓および小腸に検出されたが、休薬 7 日目では採材したすべての試料から検出されなかった (表 4)。

以上の結果より、両剤型の休薬期間は 14 日間となった。

6. 臨床応用試験成績

a. 飲水投与剤

離乳子豚の細菌性下痢症を対象に APM (40% 製剤; 表 5 参照) の飲水投与による臨床応用試験を総計 859 頭を用いて行なった。病性鑑定

表 4 APM (飼料添加) の豚における残留性

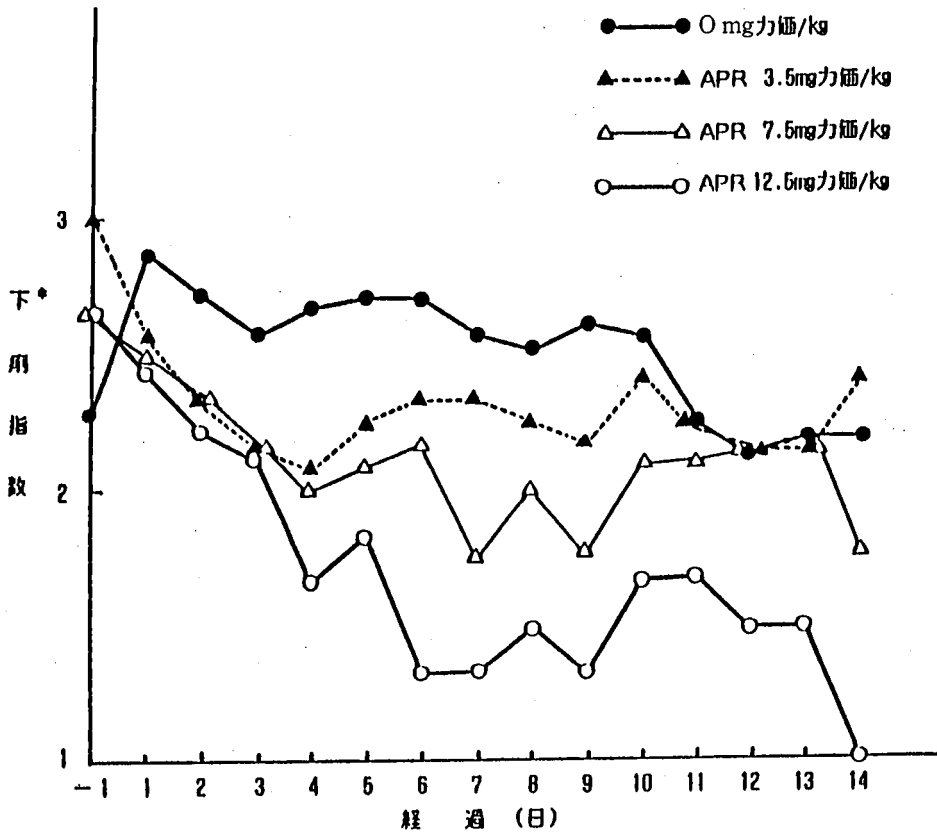
(n = 3, ppm)

臓器	投与量 %	最終投与後時間(日)					
		1/12	7	14	21	28	35
肝臓	0.02	ND ¹⁾	ND	ND	ND	ND	ND
	0.06	0.13 ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	0.02	0.45	ND	ND	ND	ND	ND
	0.06	1.24	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
小腸	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	0.06	0.15	ND	ND	ND	ND	ND

¹⁾ 検出限界 (0.0625 ppm) 以下

²⁾ 2 頭の値、他の 1 頭 ND

薬剤摂取量 : 0.02% 群 ; 12 mg/kg/日, 0.06% 群 ; 36 mg/kg/日



下痢指数の推移(飲水添加)

注 APMの投与は7日間(1~7日)。

• 1.0: 正常 2.0: 軽度の下痢 3.0: 中等度の下痢

未発表: 村上大蔵(岩手大学) 渡辺大蔵(山形共済) 有馬尋(宮崎開業)

図6 下痢指数の推移(飲水投与)

は、典型的な下痢症状を呈した子豚を鑑定殺し、腸管上部での *E. coli* の異常増殖を確認することにより行った。また、APM の治療効果は、下痢症状の程度を指数化して(正常; 1~重度の下痢; 4), その改善効果を市販薬剤と比較して判定した。

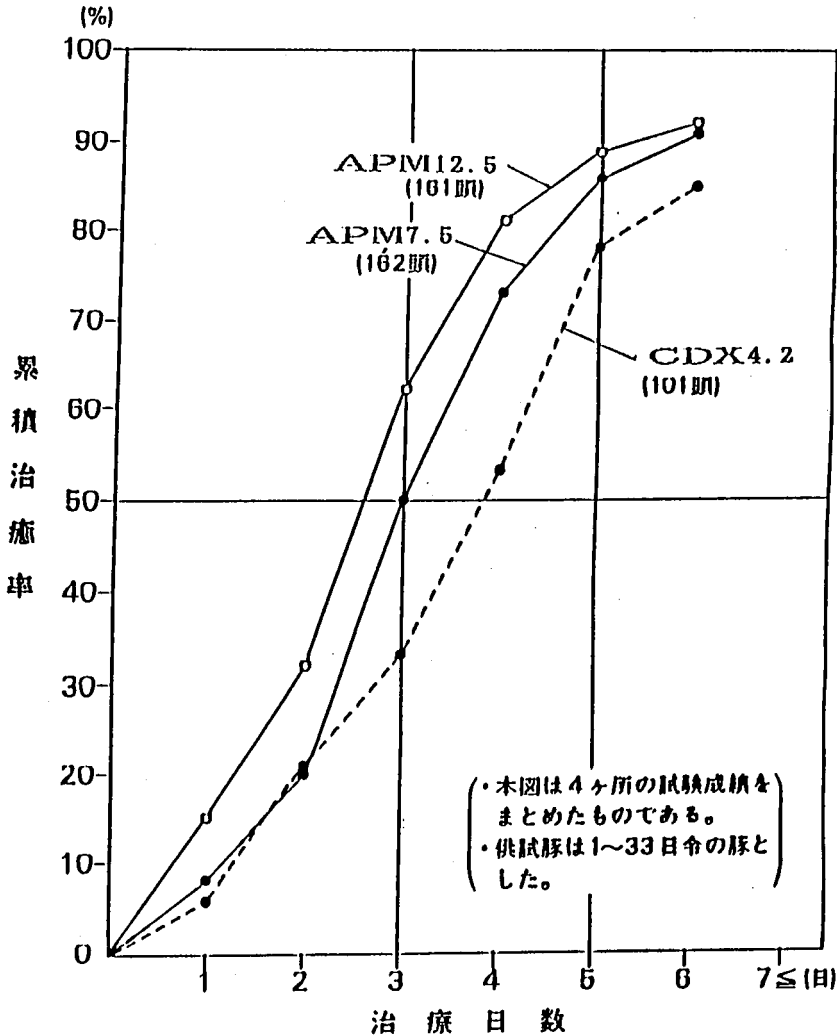
その結果、図6に示すように、下痢指数はAPM 7.5~12.5 mg 力価/kg 投与で有意に改善され、その効果は市販対照薬剤と比べて同等以上であった。また、その際の増体重はAPM

7.5~12.5 mg 力価/kg の投与で13.5~40.1%改善され、飼料要求率も16.5~22.5%改善され、これらの点も市販対照薬剤と比べて同等以上の効果であった。

また、APM を哺乳豚の細菌性下痢症に7.5~12.5 mg 力価/kg で強制経口投与したところ、同様に優れた治療効果を示した(図7)。

b. 飼料添加剤

APM (10%製剤; 表5参照) の飼料添加に



注 CDX:カルバドックス。薬剤名のあとの数字は投薬量を示す(mg/価/kg)。

(未発表; 武田薬品)

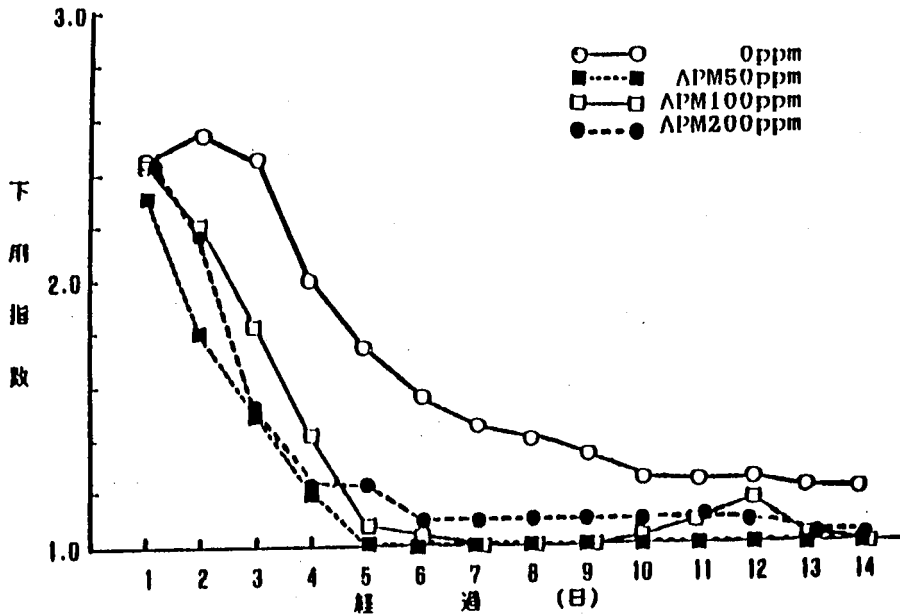
図7 強制経口投与試験

よる臨床応用試験も離乳子豚の細菌性下痢症を対象に総計844頭を用いて行った。病性鑑定および効果判定は飲水投与剤と同様に行った。

その結果、図8に示すようにAPMは100ppm以上の飼料添加で市販対照薬剤と同等以上の下痢指数の改善効果並びに発育成績に対する効果を示した。

7. 安全性

APM (40%製剤; 表5参照) を125mg/価/kg/日 (飲水投与剤の承認最高用量の10倍量) の強制経口投与, 或いはAPM (10%製剤; 表3参照) の2,000ppm飼料添加 (承認用量の20倍量) の投与により, その安全性を検



注 APM の投薬は7日間 (1~7日)。

• 1.0: 正常 2.0: 軽度の下痢 3.0: 中等度の下痢

未発表 ; 波邊大 作ら (山形共済連) 研究所
 大淵真 傳ら (家畜飼養科畜産農) 協
 山口真 俊ら (グリコ大中の) 湖
 宇野哲 安ら (大中の) 湖

図8 下痢指数の推移 (飼料添加)

討したところ、血液一般検査、血液生化学検査、尿検査、糞便の潜血反応、剖検所見、消化管の病理組織学的所見では APM 投与に起因すると思われる変化は認めなかった。

また、豚に APM (10% 製剤: 表5 参照) を 100 ppm で飼料添加し、8 週間給与し、条件付回避反応により聴覚反応を調べたところ、APM の聴覚毒性は認めなかった。

8. 使用上の注意点

APM の使用に際しては、下記の二点について注意が必要である。

- a. 本剤の過剰にわたる連続投与を避けること。
- b. 本剤投与後、下記の期間は食用に供する目的で出荷等を行わないこと。

豚: 14 日

APM の承認事項等は表5 にまとめて示した。

文 献

- 1) 米原 弘編著: アミノグリコシド抗生物質, pp. 139-167, 抗生物質, 地球社, 東京 (1981)
- 2) 中村政幸, 大前憲一, 小枝鉄雄: 1976 年に分離した牛, 豚由来大腸菌の薬剤耐性および R プラヌミドの分布. 動薬検年報, 15: 21-27 (1978)
- 3) O'connor, S., Lam, L. K. T., Jones, N. D., and Chaney, M. O.: Apramycin, a Unique Aminocyclitol Antibiotic. J. Org. Chem., 41: 2087-2092 (1976)

表5 承認事項および使用上の注意等

剤 型	飲水投与剤	飼料添加剤
品 名	アプラランソリブル「タケダ」 アプラランソリブル	アプラランプレミックス「タケダ」 アプラランプレミックス
成分分量	1 Kg中 硫酸アプラマイシンを400mg(力価)含有する。	1 Kg中 粗硫酸アプラマイシンを400mg(力価)含有する。
効能効果	有効菌種：大腸菌 適応症：豚；細菌性下痢症	
用法用量	通常1日に体重1Kg当たりアプラマイシンを7.5g(力価)投与する。	通常飼料1kg当たりアプラマイシンを100g(力価)投与する。
使用上の注意	1. 本剤は週余にわたる連続投与を避けること。 2. 本剤は投与後下記の期間中は食用に供する目的で出荷等を行わない豚；14日	
有効期間	製造後 36か月	
製造所名	イーライリリー社、リリーインダストリーズリミテッド スピーク、リバプール、英国	

注意 獣医師の処方箋・指示により使用すること。

討 論 (座長：高橋 勇・日獣大)

質問 (小野浩臣・日獣大)：アミノグリコシド系に属するとみて、アプラマイシンのR因子による耐性菌は如何。

答 (清水良浩・日本イーライリリー㈱)：現在のところ、アプラマイシンについては、不明である。

質問 (高橋勇・日獣大)：1) APM産生菌から同時にTOBも産生分離されるとのことであるが、APMとTOBとのMIC間にはどれぐらい差があるのか。 2) 哺乳期、離乳期の子豚の下痢症に有効とのことであるが、下痢症の原因菌(ある血清型

の大腸菌など)について検索されている例があったら教えてほしい。

答 (清水良浩)

- 1) TOBのMICはゲンタマイシンと同等であり、感受性菌のMIC値だけからは、TOBの方が低い。
- 2) 残念ながら、下痢症の原因菌である大腸菌の血清型などについては特に検索していない。臨床試験では、小腸上部の大腸菌の異常増殖により診断している。