

## 8. ナナオマイシンAについて

島田 健次郎

(協和醗酵工業株式会社)

Nanaomycin A

Kenjiro SHIMADA

Reserch Laboratories for Biological Sciences Tsuchiura Plant  
Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.

### 1. 開発の経緯

ナナオマイシン (NNM) は、1974年北里研究所大村等<sup>2)</sup>により能登半島七尾市で得られた土壌から発見された放線菌 *Streptomyces rosa* var. *notoensis* が生産する新しいキノン系抗生物質で、主にグラム陽性菌、マイコプラズマおよび皮膚糸状菌に対して抗菌性である。

NNMには、構造式の異なる数種の異性体 (A, B, C, D, E) が知られている。これら

のうち A, B, C, Dには抗菌力があるが、Eには抗菌力がほとんどない。

協和醗酵工業(株)における、一連の応用研究によって抗酸化剤としてシステインを用いることによりナナオマイシン A (NNMA) は安定性が高く、皮膚糸状菌症に有効であることが判った。

獣医分野においては、*Trichophyton* (*T.*) *verrucosum* に起因する牛の皮膚糸状菌症 *M* (*M.*) *icrosporium canis* に起因する犬、猫の疾病等が各地で認められており、これらの疾病は

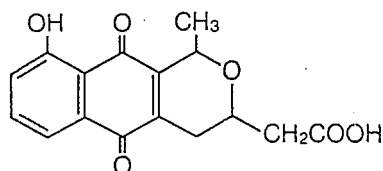
### 化学名

IS, 3R-3, 4, 5, 10-tetrahydro-9-hydroxy-1-methyl-5, 10-dioxo-1H-naphtho(2, 3-c)pyran-3-acetic acid.

### 一般名

Nanaomycin A (ナナオマイシン A)

### 構造式、分子式及び分子量



分子式：C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>

分子量：302.28

図1 ナナオマイシン A の構造式、分子式および分子量

人にも感染する人畜共通伝染病として公衆衛生上問題となっている。

最近、皮膚糸状菌症に対し2, 3の薬剤が大きな成果を上げているが、4~7日間連用しなければならず、牛飼養農家ではその労力が大きいため、1~2回の塗布で有効な薬剤の開発が望まれてきた。

NNMAは、これら実情に合致した薬剤で、

効果が優れ、安全性も高く、しかも残留性はほとんどないことから動物用として開発され、1985年に発売が開始された。

2. 物理化学的性状ならびに安定性

NNMAの化学名、一般名、構造式、分子式および分子量を図1に示した。

表1 急性毒性試験成績 (LD<sub>50</sub>: 14日間観察) (mg/kg)

動物	性 投与法	雄	雌
		皮下	60.7(46.7~78.9)
マウス	腹腔内	41.0(36.2~46.4)	37.4(35.0~40.0)
	経口	142.5(125.5~161.9)	134.9(122.5~148.6)
	皮下	29.5(25.2~34.6)	33.0(28.3~38.5)
ラット	腹腔内	22.6(19.4~26.5)	23.7(20.9~26.9)
	経口	220.0(194.4~249.1)	165.0(142.0~191.7)

(社内成績: 花井陳雄ら)

Litchfield & Wilcoxon法

表2 ナナオマイシン油剤の牛に対する安全性試験

群牛	検査日	一般臨床検査				尿 検 査								血液 検 査				体重 (kg)	
		脈	眼結膜	食欲	糞便	体温	pH	比重	蛋白	糖	ケトン体	血色素	ウロビルノーゲン	ビリルビン	赤血球数 (万)	白血球数	ヘマトクリット値 (%)		総蛋白 (%)
1群	塗布2日前	74	正	正	正	39.0	7.5	1.010	-	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	265
	最終塗布2日後	76	正	正	正	39.0	7.5	1.015	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	270	
	最終塗布14日後	76	正	正	正	38.2	7.0	1.015	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	
	塗布2日前	74	正	正	正	38.6	7.0	1.020	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	270	
	最終塗布2日後	68	正	正	正	39.1	6.8	1.015	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	276	
	最終塗布14日後	70	正	正	正	38.5	6.8	1.020	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	
2群	塗布2日前	78	正	正	正	39.4	7.5	1.025	±	-	-	-	-	816	7700	39	7.0	260	
	塗布開始6日目	84	正	正	正	39.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	985	9800	35	6.4	ND	
	最終塗布2日後	72	正	正	正	38.8	6.0	1.025	±	-	-	-	±	950	5100	38	6.2	265	
	塗布2日前	102	正	正	正	39.2	8.0	1.015	±	-	-	-	-	774	9100	38	6.4	280	
	塗布開始6日目	84	正	正	正	38.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	842	8200	36	6.0	ND	
	最終塗布2日後	72	正	正	正	38.4	7.0	1.020	±	-	-	-	±	882	5400	32	5.6	ND	
最終塗布7日後	72	正	正	正	38.8	8.0	1.025	±	-	-	-	±	788	5900	31	5.8	280		

ND: 未検査  
 -: 検出せず  
 ±: 微量検出

<注> 薬剤塗布量 (10,000倍油剤)  
 1群: 10ml/日 7日連続投与  
 2群: 100ml/日 7日連続投与

未発表: 大脇直人ら (松本家保)

1) 性状

黄色～帯だいたい黄色の粉末で、においはない。

アセトンにやや溶けやすく、メタノール、酢酸エチルまたはクロロホルムにやや溶けにくく、エタノールまたはエーテルに溶けにくく、水または石油エーテルにほとんど溶けない。

2) 安定性

原末および製剤ともに温度、湿度および光に対し極めて安定であり、通常の保存条件下では少なくとも36カ月間は安定である。

3. 毒性及び安全性

マウス (ICR系)、ラット (Wistar系) を用いて、皮下、腹腔内、経口投与による急性毒性 (LD<sub>50</sub>) を求めた。

結果は表1に示すとおりで、これらの値から比較的毒性の高い薬剤であろうと考えられる。

また、ラットを用いたNNMAの3カ月間の毒性試験において、皮下投与では0.89 mg/kg以下の群では特記すべき異常は認められず、経口投与では最大安全量が5 mg/kgであった。

ラットによる催奇形性試験では、胎仔、新生仔に対して特に異常所見はみられなかった。

ウサギに対する皮膚および眼の刺激性試験では実用使用濃度において特に刺激性はみとめられなかった。

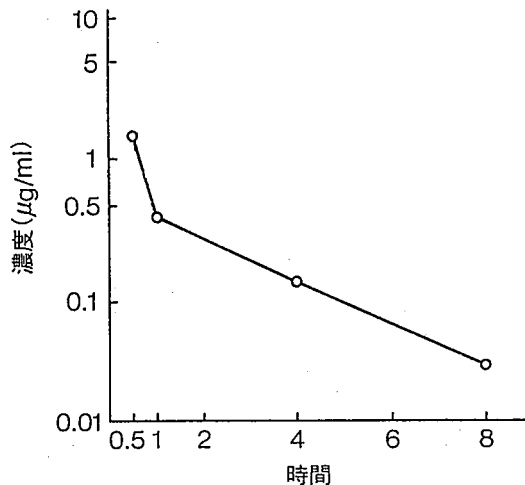
急性毒性の成績から比較的毒性の高い薬剤であろうと思われたが、牛4頭を用いてNNM油剤の牛に対する安全性試験ではその使用量は、通常最高塗布量でも1回100 cm<sup>2</sup>当たり1.0 mlであることから70倍である100 cm<sup>2</sup>当たり10 mlの7日連続投与をしたが、表2に示すとおり、一般臨床検査、尿検査、血液検査などに影響はまったく認められなかった。

4. 吸収、分布、排泄

NNMAをラットに体重kg当たり5 mg力

価を1回皮下投与したときの血清への経時的移行量を図2に示した。

血中には投与30分後にはすでに検出され、その後ゆっくりと減衰し、8時間後にはほとんど



(社内成績：井上顕信ら)

図2 血清中へのナノオマイシン A の移行量

表3 ナノオマイシン A の組織内分布

臓器	採取時間	ラット No.	臓器含量 (mg/g)	臓器含量 (mg/g) 平均値
肝臓	1時間目	1	370.9	} 361.1 ±
	1 "	2	351.2	
	8 "	15	±	
腎臓	1時間目	1	378.3	} 631.1 ±
	1 "	2	885.5	
	8 "	15	±	
胃	1時間目	1	128.5	} 105.4 ±
	1 "	2	82.2	
	8 "	15	±	
心臓	1時間目	1	140.6	} 167.3 -
	1 "	2	193.6	
	8 "	15	-	
脾臓	1時間目	1	33.9	} 38.8 -
	1 "	2	43.6	
	8 "	15	-	
脳	1時間目	1	52.4	} 46.4 -
	1 "	2	40.4	
	8 "	15	-	
肺	1時間目	1	270.8	} 229.9 ±
	1 "	2	189.0	
	8 "	15	±	

※ ±; 10mg/ml以下traceを表わす

-; 検出限界以下

<注> 社内成績：井上顕信ら

表4 ナノオマイシン A のラットにおける吸排試験成績 (臓器) (μg/g)

経過時間 (hr)	肝臓		腎臓		心臓		肺臓		筋肉		胃	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
1	0.88	2.0	1.1	1.6	0.17	0.77	0.17	0.58	0.090	0.20	62	90
3	0.72	0.63	0.49	0.39	0.06	0.11	0.084	0.14	<0.025	<0.025	40	43
6	0.59	0.78	0.36	0.35	—	0.091	0.059	0.096	<0.025	<0.025	23	22
24	<0.025	—	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	—	—	0.034	0.054

n=30 平均値

(注) 雄・雌とも10匹を1検体として、それぞれ3検体ずつサンプリングした。

(未発表: 荒木恵美子ら (日本食品分析センター) 大友昌夫ら (協和醸酵工業株式会社))

表5 ナノオマイシン A のラットにおける吸排試験成績 (血清および尿・糞)

経過時間 (hr)	血清 (μg/ml)		採取時間 (hr)	性別	尿 (μg/ml)	糞 (μg/g)
	雄	雌				
1	0.88	3.0	3	雄	1.35	9.86
3	0.43	0.56				
6	0.30	0.53	24	雌	2.09	9.90
12	0.14	0.16				
24	<0.025	<0.025				

n=6 平均値

(注) 投薬後3時間目から24時間後までの全尿、全糞を採取し3匹を1検体としてサンプリングし、2検体(6匹)の値を平均した。

(未発表: 荒木恵美子ら (日本食品分析センター) 大友昌夫ら (協和醸酵工業株式会社))

n=30 平均値

ど検出されず (26.7 ppb), 24 時間後には定量限界 (25 ppb) 以下となり検出されなかった。

同条件下における組織内分布を表3に示した。

投与1時間後には、肝臓、腎臓、胃、心臓など各部位から NNMA が検出されたが、8 時間後には各臓器からほとんど検出されなかった。

NNMA を体重 kg 当たり 20 mg 力価を1回強制経口投与したときの、肝臓、腎臓、心臓、肺臓、筋肉及び胃への経時的移行量を表4に示した。

その結果1時間後の値が最も高く、その後減少し、投与後24時間には胃を除き定量限界以下になった。

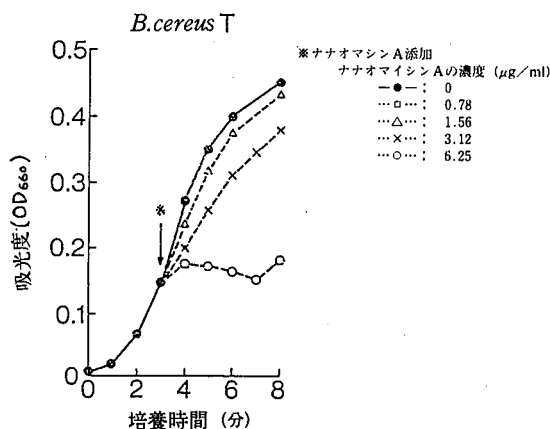
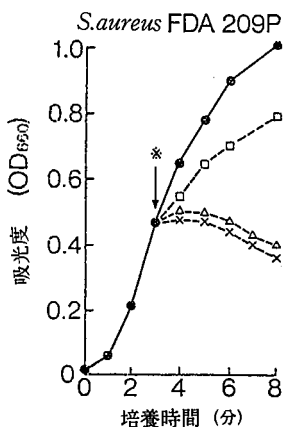


図3 *Staphylococcus aureus* FDA209P および *Bacillus cereus* T の発育に対するナノオマイシン A の効果 (丸茂ら<sup>4)</sup>)

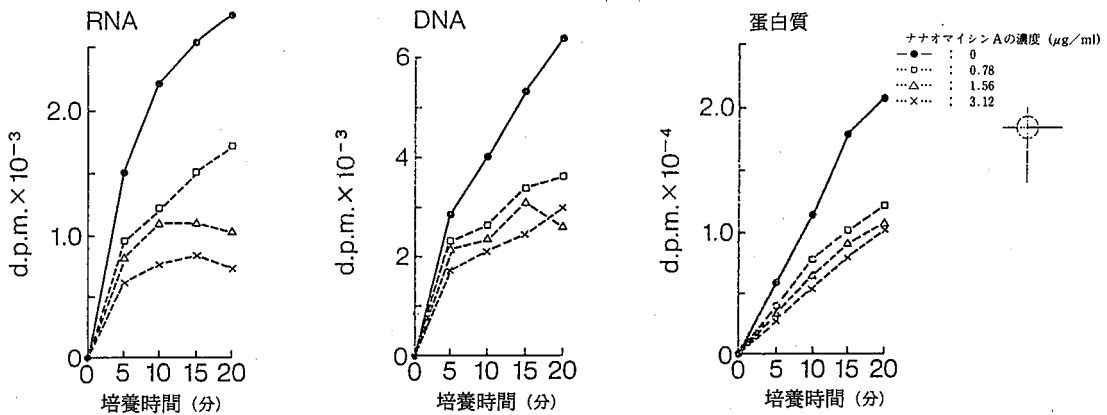


図4 *Staphylococcus aureus* FDA209P における核酸および蛋白質合成におよぼすナノマイシンAの効果 (丸茂ら<sup>4)</sup>)

同条件下における血清への経時的移行量と24時間後までの尿及び糞に移行した量を表5に示した。

血清では臓器と同様1時間後の値が最も高く、その後減少し投与24時間後には定量限界以下であった。

24時間後までに尿および糞にかなりの量のNNMAが検出され、排泄は速いと考えられた。また、NNMAの代謝物である類縁化合物NNMD, NNMEなどが尿中に検出された。

以上の成績から、吸収は速く、体内各部に移行されるが、体外への排泄も速いものと推察された。

なお、牛への塗布試験では、10,000倍油剤を毎日1頭当たり100mlあて7日間連続塗布し、血中への移行量を調べた結果、NNMAは血中にはほとんど吸収されず検出されなかった。

### 5. 抗菌作用機作

*Staphylococcus* (*S.*) *aureus*, *Bacillus* (*B.*) *cer-eus* に対する抗菌作用機作の検討をした。

薬剤濃度は、0, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ で行った。

#### 1) 菌に対する発育阻害 (図3)<sup>4)</sup>

NNMAによる、細菌の対数増殖期における発育阻害を調べたところ、*S. aureus* FDA

209P および *B. cereus* T. の発育は、それぞれ、1.56 および 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の NNMA により抑制された。

#### 2) *S. aureus* に対する核酸および蛋白合成への影響 (図4)<sup>4)</sup>

NNMA (1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) は、5分間の培養で *S. aureus* における RNA および DNA の生合成を抑制し、同一濃度において蛋白合成をも抑制した。しかし、生合成は、20分間持続した。

#### 3) *B. cereus* の細胞膜のペプチドグリカン中の (3H) の結合 (図5)<sup>4)</sup>

*B. cereus* の細胞壁への [<sup>3</sup>H] ジアミノピメリン酸の組み込みは、3.12  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の NNMA によって激しく抑制された。

#### 4) グルコース存在下における *S. aureus* の呼吸への影響 (図6)<sup>4)</sup>

NNMA は、濃度 3.12  $\mu\text{g}/\text{ml}$  でグルコースの存在下において呼吸を刺激し、その刺激は、NNMA を加えた直後明らかとなった。

以上の試験結果から抗菌機作は、核酸および蛋白の合成阻害と考えられる。

### 6. 試験管内抗菌力試験

田中等の試験成績は表6に示す通りで、*B.*

表 6 ナノオマイシン A, B, C, D および E の抗菌スペクトラム (田中ら<sup>5)</sup>)

供試菌株	ナノオマイシン ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	A	B	C	D	E
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	7.8	7.8	6.3	1.3	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	3.9	3.9	6.3	0.8	25
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P(JC-1)	2.0	2.0	3.1	0.4	—*
<i>Sartina lutea</i> PCI 1001	2.0	2.0	25	1.6	25
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 607	62.5	125	50	125	>125
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	31.3	15.6	100	—	50
<i>Escherichia coli</i> NIHJ (JC-2)	>125	>125	>100	100	—
<i>Salmonella typhimurium</i>	62.5	62.5	>100	50	100
<i>Shigella flexneri</i>	31.5	62.5	>100	50	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>125	>125	>100	>100	>100
<i>Candida albicans</i>	31.2	31.2	>100	100	>100
<i>Saccharomyces sake</i>	31.2	62.5	>100	100	>100
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	12.5	>100	>100	12.5	>100
<i>Piricularia oryzae</i>	7.8	15.6	100	0.8	100
<i>Microsporium gypsem</i> 704	0.8	12.5	100	<0.2	100
<i>Trichophyton asteroides</i>	1.6	12.5	—	<0.2	50
<i>Trichophyton interdigitale</i>	1.6	12.5	—	<0.2	50
<i>Trichophyton rubrum</i>	<0.1	3.1	—	<0.2	50
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	0.2	3.1	—	<0.2	50
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0.8	25	—	<0.2	50

\*未測定

それよりも弱い。真菌では *Piricularia oryzae*, *M. gypseum*, *Trichophyton* に対して A, B, D は抗菌力があり, 特に A および D は *Microsporium*, *Trichophyton* に対して強い抗菌力があるが E はほとんど持っていない。

北浦等が, 東京大学農学部附属家畜病院で分離した動物由来真菌 8 株に対する, NNMA の MIC 値について検討しているが, 表 7 に示す様に, *T. verrucosum*, *M. nanum*, *M. canis* に対する MIC 値は 0.1~0.2  $\mu\text{g/ml}$  で有効であった。

牛皮膚糸状菌症発症牛により分離した, *T. verrucosum* に対する抗菌力は表 8 のようにどの分離株に対しても強い値を示した。

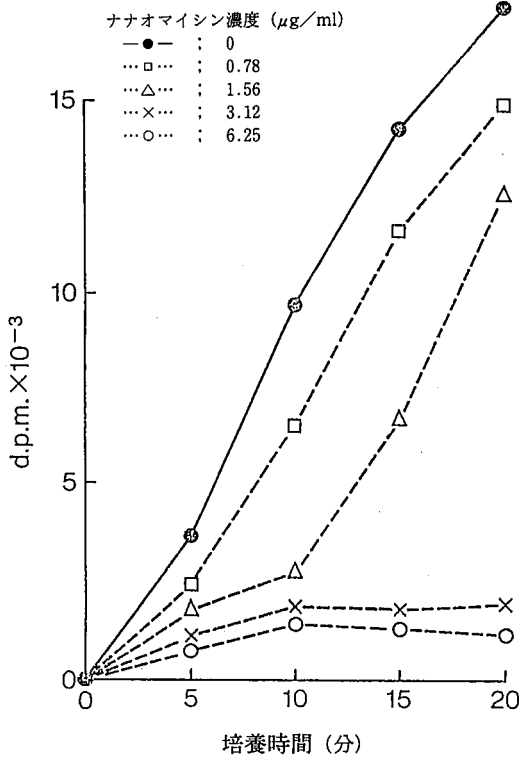


図 5 *Bacillus cereus* T における細胞壁ペプチドグリカンへの  $[^3\text{H}]$  シアミノピメリン酸とり込みに対するナノオマイシン A の効果 (丸茂ら<sup>4)</sup>)

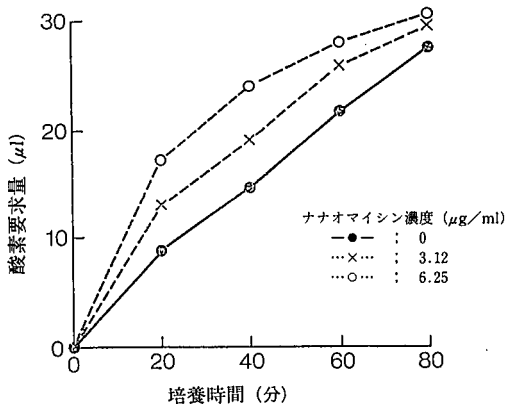


図 6 グルコース存在下における *Staphylococcus aureus* FDA209P の呼吸に対するナノオマイシン A の効果 (丸茂ら<sup>4)</sup>)

*subtilis*, *S. aureus*, *Sartina lutea* に対しては, A, B, C, D は抗菌力を持っているが, E は

表7 ナナオマイシン A の動物由来の真菌に対する MIC

菌 種	MIC(μg/ml)
<i>Trichophyton equinum</i> VUT-79045	1.56
<i>T. verrucosum</i> VUT-7019	0.1
<i>T. verrucosum</i> VUT-79026	0.1
<i>T. mentagrophytes</i>	0.2
<i>Microsporum nanam</i> VUT-4013	0.2
<i>M. nanum</i> VUT-70026	0.2
<i>M. gypseum</i> VUT-79004	1.56
<i>M. canis</i> VUT-79064	0.2

(社内成績：北浦皓三ら)

表8 *Trichophyton verrucosum* に対するナナオマイシン A の MIC

<i>T. verrucosum</i>	MIC (μg/ml)
松本株 -1	0.1
松本株 -2	0.2
松本株 -3	0.1
宮崎株 -1	0.4
宮崎株 -2	0.1
長崎株 -1	0.1
長崎株 -2	0.1
東大 VUT-7019	0.1
東大 VUT-79026	0.1

(社内成績：北浦皓三ら)

安里等<sup>1)</sup>は、牛乳房炎由来の真菌 16 株および人由来の真菌 6 株、合計 22 株に対する NNMA の MIC 値を検討した。

その結果、表 9 に示す様に、菌糸型の MIC 値の平均値は  $1.28 \pm 1.48 \mu\text{g/ml}$  で、酵母型は  $1.53 \pm 1.16 \mu\text{g/ml}$  であった。両者の MIC 値の平均値には差が認められなかった。

また、酵母様真菌に対して、NYS (菌糸型 35 株に対する MIC 値  $2.98 \pm 2.74 \mu\text{g/ml}$ ) と同等の抗菌力を有するものと考えられるので、真菌性牛乳房炎の治療応用が可能であろうと推察している。

池田等は、NNMA の各種病原菌に対する抗菌活性および *T. verrucosum* とそれ以外の皮膚糸状菌に対する代表的な抗真菌剤 8 薬剤の抗菌力を比較検討している。

表9 酵母様真菌に対するナナオマイシン A の最小発育阻止濃度 (MIC: μg/ml) (安里ら<sup>1)</sup>)

	菌 種	菌糸型	酵母型
牛	<i>Candida ethanolica</i>	4.62	5.00
	<i>Candida kefyri</i>	0.95	2.50
	<i>Candida krusei</i>	3.62	2.50
	<i>Candida pseudotropicalis</i>	0.87	1.25
	<i>Candida tropicalis</i>	N.T.**	1.25
	<i>Debaryomyces hansenii</i>	0.60	1.25
	<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	0.77	1.25
	<i>Kluyveromyces cicerisporus</i>	2.78	2.50
	<i>Pichia haplophila</i>	0.15	2.50
	<i>Pichia humboldtii</i>	0.33	0.16
	<i>Pichia norvegensis</i>	0.10	1.25
	由	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.79
<i>Saccharomyces cerevisiae*</i>		4.31	N.T.
<i>Torulopsis bovina</i>		N.T.	2.50
<i>Torulopsis glabrata</i>		2.21	2.50
<i>Torulopsis inconspicua</i>		0.17	0.63
来		<i>Candida albicans</i> type A	0.08
	<i>Candida parapsilosis</i>	0.14	0.15
	<i>Candida pseudotropicalis</i>	0.09	0.32
	<i>Candida tropicalis</i>	2.15	1.25
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	0.08	0.15
	<i>Trichosporon beigelii</i>	0.75	1.25

\* 胞子未形成菌種 (系統) \*\*未検査

表10 各種酵母様真菌および細菌に対するナナオマイシン A の薬剤感受性

Organisms	MIC(μg/ml)
<i>Candida albicans</i>	
AM 7810	1.6
AM 7903	3.2
<i>Cryptococcus neoformans</i>	
Human	<0.05
Dog	0.4
<i>Malassezia pachydermatis</i>	0.4-3.2
<i>Escherichia coli</i>	50
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P	0.2
<i>Salmonella thyphimurium</i>	50
<i>Bacillus anthracis</i>	1.6
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 8043	12.5
<i>Streptococcus</i> Group B	6.25
<i>Streptococcus</i> Group D	1.6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.6
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<0.05

<注> 投稿中 池田輝雄ら (麻布大学)

表 10 には、NNMA の酵母様真菌および細菌に対する MIC 値を示した。

その結果、特に *Cryptococcus neoformans*,

表 11 牛皮膚糸状菌症由来 *Trichophyton verrucosum* の薬剤感受性

薬 剤	系 統					
	No. 1	No. 2	No. 4	82-32-1	82-32-6	T. ver.
クロトリマゾール	6.25*	1.6	6.25	6.25	1.6	0.05
グリセオフラビン	1.6	0.8	0.8	12.5	0.1	0.4
ハロプロマジン	25	25	12.5	12.5	12.5	3.2
トリナフテート	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
アンホテリシン B	>100	>100	>100	>100	1.6	<0.05
5-フルオロシトシン	>100	>100	100	>100	>100	50
ナイスタチン	6.25	1.6	1.6	6.25	1.6	0.2
ナナオマイシン A	3.2	0.05	3.2	3.2	<0.05	<0.05

※MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )

使用培地: 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 塩酸チアミン添加 サブローテキストロース寒天培地  
投稿中: 池田輝雄ら (麻布大学)

表 12 哺乳動物由来の皮膚糸状菌 I に対する薬剤感受性

薬 剤	菌 株*															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
クロトリマゾール	0.4**	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.8	1.6	0.8	0.4	0.4	0.8	0.4
グリセオフラビン	25	25	100	50	50	50	100	>100	100	100	>100	50	0.8	>100	>100	0.8
ハロプロマジン	12.5	12.5	12.5	12.5	25	12.5	25	12.5	25	25	12.5	25	12.5	25	25	12.5
トリナフテート	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4	0.2	1.6	0.8	0.8	0.8	0.4	0.4	1.6	0.8	0.05
アンホテリシン B	50	12.5	12.5	12.5	50	50	12.5	50	25	>100	>100	>100	NT	50	100	NT
5-フルオロシトシン	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
ナイスタチン	6.25	6.25	50	50	50	25	6.25	12.5	25	50	50	50	6.25	6.25	6.25	6.25
ナナオマイシン A	1.6	1.6	3.2	1.6	3.2	3.2	6.25	3.2	3.2	6.25	3.2	1.6	0.05	3.2	1.6	0.4

Notes: \* 1: *Nautilia ota* (+), 2: *Nautilia ota* (-), 3: *Microsporum canis* AM 8212, 4: *Microsporum canis* AM 8303, 5: *Microsporum canis* 822-20, 6: *Microsporum canis* AM 8210, 7: *Microsporum canis* 622-1, 8: *Microsporum canis* AM 8303, 9: *Microsporum canis* AM 8301, 10: *Microsporum gypseum* AM 8219, 11: *Microsporum gypseum* S-207, 12: *Microsporum canis* 595-11, 13: *Microsporum equinum* 5267, 14: *Trichophyton mentagrophytes*, 15: *Trichophyton mentagrophytes* 76-AR-1, 16: *Trichophyton rubrum* VJ strain

\*\* MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )

使用培地: サブローテキストロース寒天培地 (投稿中: 池田輝雄ら <麻布大学>)

*S. aureus*, *Mycoplasma gallisepticum* に対して NNMA は強い抗菌力を示した。また, *Candida albicans*, *Malassezia pachydermatis* に対しても有効であった。

表 11 には, 牛の皮膚糸状菌症の原因菌である *T. verrucosum* 6 株に対する代表的な抗真菌剤の抗菌力を比較した成績を示した。

その結果, トリナフテート (<0.05  $\mu\text{g/ml}$ ) が最も有効で, NNMA (<0.05~3.2  $\mu\text{g/ml}$ ) も, グリセオフルビン (0.1~12.5  $\mu\text{g/ml}$ ) およびクロトリマゾール (0.05~6.25  $\mu\text{g/ml}$ ) と同様の強い抗真菌活性を示した。

表 12 に, *T. verrucosum* 以外の代表的皮膚糸状菌に対する抗真菌剤の効果を比較検討した

成績を示した。

やはり, *T. verrucosum* の場合と同様, トリナフテート (0.05~1.6  $\mu\text{g/ml}$ ) が最も有効で, それに次いで, クロトリマゾール (0.4~1.6  $\mu\text{g/ml}$ ), NNMA (0.05~6.25  $\mu\text{g/ml}$ ) の順であった。

以上のような試験管内効力試験の結果, NNMA は, グラム陽性菌, マイコプラズマ, 皮膚糸状菌, 特に *T. verrucosum* に対して, 強い MIC 値を示すことが明らかとなった。

### 7. 有効濃度設定試験

表 13 に, 早川等による牛の皮膚糸状菌症に



表 13 有効濃度設定試験

牛	薬剤塗布前の患部		※ 使用 薬剤 濃度	薬剤塗布後の観察結果	
	発生部位	患部の 大きさ (cm×cm)		5日目 (10月23日)	14日目 (11月1日)
ホル スタ イン 種	左 眼 下	10×5	A	好 転	治 ゆ
	左 耳 先	5×3	B	好 転	治 ゆ
	右 頸	3×2	C	好 転	治 ゆ
	右 頸	6×7	C	やや好転	好 転
	左 眼 横	2×3	D	無 効	無 効
黒毛 和 種	右 眼 上	4×3	A	やや好転	治 ゆ
	右 眼 上	3×2	B	好 転	治 ゆ
	左 眼 横	2×2	B	好 転	治 ゆ
	右前足付根	1×1 2ヶ所	C	やや好転	治 ゆ
	右 背 部	2×2	C	やや好転	治 ゆ
	右 背 部	3×3	C	やや好転	治 ゆ
	右 眼 下	3×2	D	やや好転	やや好転
	左 耳 下	3×4	E	無 効	無 効
	左 あご上	2×2	E	無 効	無 効
左 頸	2×2 4ヶ所	F	無 効	無 効	

(未発表：早川ら〈松本家畜保健衛生所病性鑑定室〉)

※ A：2000倍 B：5000倍 C：20000倍  
D：30000倍 E：40000倍 F：50000倍

(注) 薬剤の評価基準

無効：患部の良化が認められない場合  
やや好転：患部の変化が若干みられる場合  
好転：痂皮の一部が残っているが外見上発毛がみられる場合  
治ゆ：痂皮が取れ発毛がみられる場合

に対する NNM 油剤 (協和) の有効濃度設定試験成績を示した。

牛皮膚糸状菌症発症牛 15 頭に対して、NNM 油剤 2,000 倍、5,000 倍、20,000 倍、30,000 倍、40,000 倍、50,000 倍液を患部に 1 回塗布し、薬剤塗布後 5 日目と 14 日目の 2 回塗布部を観察し、基準を設けて薬剤の効果を判定した。

その結果

- 1) 40,000~50,000 倍油剤は無効である。
- 2) 30,000 倍油剤は効果が弱い。
- 3) 2,000~20,000 倍油剤は有効であったが、実際には 10,000 倍油剤が望ましい。などが明らかとなった。

表 14 牛の皮膚糸状菌症に対するナナオマイシンの臨床成績 (薬剤塗布後の経過)

試験者	頭数	判 定	塗布後の経過 (頭数)					
			1週	2週	3週	4週	5週	6週
松本家保	12	有 効	—*	2	—	12	—	—
		やや有効	—	10	—	0	—	—
		無 効	—	0	—	0	—	—
宮崎大	13	有 効	0	1	5	6	12	—
		やや有効	2	7	6	6	0	—
		無 効	11	5	2	1	1	—
山口大	30	有 効	—	0	—	20	—	28
		やや有効	—	25	—	10	—	2
		無 効	—	5	—	0	—	0
長崎家保	56	有 効	1	16	53	55	56	56
		やや有効	14	40	3	1	0	0
		無 効	41	0	0	0	0	0
茨城家保	9	有 効	—	0	—	4	—	—
		やや有効	—	9	—	5	—	—
		無 効	—	0	—	0	—	—
計	120	有 効		19		97		
		やや有効		91		22		
		無 効		10		1		

(注) 効果判定の基準

有効：完治又は治ゆしたもの

完治：患部とその周囲との区別がつかないもの

治ゆ：患部の発毛が進んでいるが周囲との区別がつかなくなるにはまだ数日を要するもの

やや有効：塗布前よりも患部が良化しており発毛が初期のもの

無 効：塗布前と患部の状態が変わらないもの

※：未調査

表 15 牛皮膚糸状菌症に対するナナオマイシン A の治療試験

供試牛 番 号	症 状		治療回数	回復期間(週)
	部位	程度		
1	頭頸部	中	2	3
2	頭頸部	中	1	3
3	頭頸部	中	1	3
4	顔 面	軽	1	1
5	顔 面	軽	1	1
6	顔 面	軽	1	1
7	顔 面	軽	1	1
8	顔 面	軽	1	1

投稿中：池田輝雄ら (麻布大学)

牛 8 頭 (ホルスタイン種) の治療試験成績を示した。

試験に用いた NNM 油剤は、原則的に 1 回塗布とし、効果判定は病変部の改善 (被毛の新生など) および逆培養を指標とし、3 週間観察した。

治療 1 週間には 1 例を除く 7 例は、いずれも症状が改善された。特に病変が軽度であった 5 例では、被毛の新生が認められ、病変部からの菌検出も陰性であった。しかしながら No. 2, No. 3 の 2 例からは菌が検出された。症状の改善が認められなかった No. 1 については、1 週後に再塗布を実施したところ、3 週間には被毛の新生を認め病変部からの菌も検出されなかった。

### 8. 臨床応用試験

松本家畜保健衛生所、宮崎大学<sup>3)</sup>、山口大学、長崎中央家畜保健衛生所・五島支所、茨城県北家畜保健衛生所の 5 カ所で総合計 120 頭の牛を用いて実施した。その総合試験成績を表 14 に示した。

NNM 油剤 10,000 倍液を塗布した場合の治療効果は、塗布 2 週間において 120 頭中、有効 19 頭 (15.8%)、やや有効 91 頭 (75.8%)、無効 10 頭 (8.4%) であったが、4 週間には、有効 97 頭 (80.8%)、やや有効 22 頭 (18.4%)、無効 1 頭 (0.8%) となった。

これらの結果から塗布後 4 週時点において塗布前よりも患部が軽快していれば、時間とともに治ゆまたは完治するものと推察した。また、4 週時において無効なものはその後も効果はみられないと考えられた。

塗布回数は 1 回のみが、120 頭中 107 頭、1 週后再塗布したのは 7 頭 (山口大学 2 頭、長崎家畜保健衛生所 4 頭、茨城県北家畜保健衛生所 1 頭)、週 1 度計 4 回塗布したのは 6 頭 (宮崎大学) であった。

表 15 に、肥育中に皮膚糸状菌症を発症した

### 9. 残留試験成績

表 16 に NNM 油剤を和牛 4 頭、乳牛 2 頭に塗布した場合の残留状況を示した。

NNM 油剤を牛の体表に 7 日間連続塗布し、主要臓器および乳汁を採取し、高速液体クロマトグラフで分析し NNMA 濃度を調べた (定量限界 25 ppb)。

薬剤塗布量は、使用量の約 10 倍を 1 日 1 回

表 16 ナナオマイシン油剤塗布による残留試験成績

種類	和牛				乳牛									
	1		2		3									
群														
年齢	7カ月♂	7カ月♂	7カ月♂	8カ月♂	2年♀				4年♀					
塗布部位	頭頸部	体側部	頭頸部	体側部	頭頸部				体側部					
面積 (cm <sup>2</sup> )	9×10	9×10	30×30	30×30	20×30				30×30					
塗布量	1回量/日 (mℓ)	10	10	100	100	100				100				
	期間 (日)	7	7	7	7	7				7				
	総量 (mℓ)	70	70	700	700	700				700				
最終塗布後の日数(日)	7	2	2	2	1	2	3	5	1	2	3	5		
部位	塗布直下筋肉	-*1	-	-	-	N.D.*2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	胸部筋肉	-	-	-	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	肝臓	-	-	-	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	腎臓	-	-	-	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	腎脂肪	-	-	-	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	血清	-	-	-	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
乳汁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

\*1; 検出せず \*2; 未検査

未発表: 早川源水ら (松本家保) 小波蔵政弘ら (協和醗酵工業株式会社)

表 17 ナナオマイシン油剤経口投与における血清および臓器中残留試験成績

分析部位	分析値 (pp <sup>b</sup> )			
	無投薬牛	最終投薬 1 日目 5 日目		
		牛 A	牛 B	牛 C
血清	—*	—	—	—
肝臓	—	—	—	—
腎臓	—	—	—	—
筋肉	—	—	—	—
第 4 胃	—	—	—	—
肺臓	—	—	—	—
心臓	—	—	—	—

\*; 検出せず  
(未発表: 武本宣教ら <協和醸酵工業株式会社>  
茨城県畜産試験場)

7 日間連用した。塗布部位は、頭頸部および体側部で塗布面積は 90 cm<sup>2</sup> と 900 cm<sup>2</sup> とした。

残留分析の結果、和牛では最終塗布 2 日後および 7 日後のどの部位からも NNMA は検出されず、乳牛においても最終塗布 1 日後より乳汁中には検出されなかった。

表 17 は残留試験の結果である NNM 油剤 2,000 倍液を体重 220 kg 前後のホルスタイン種雌牛 3 頭に 1 頭当たり 1 日 5 ml (50 mg 力価/100 ml) 当て 4 日間連続して飼料に添加して投与した。投与終了後、1 日目と 5 日目に屠殺し、血清および臓器について NNMA の残留

表 18 ナナオマイシン油剤経口投与における乳汁中残留試験成績

牛名	投薬前	投薬中(日目)				投薬後(日目)		
		1	2	3	4	1	2	3
		牛No.1	—*	—	—	—	—	—
牛No.2	—	—	—	—	—	—	—	
牛No.3	—	—	—	—	—	—	—	

\*; 検出せず  
(未発表: 武本宣教ら <協和醸酵工業株式会社>  
茨城県畜産試験場)

性を調べたところ、最終投与後 1 日目、5 日目のいずれにおいても血清および臓器からは検出できなかった。

表 18 は乳汁中への移行状況を示したものである。

NNM 油剤 2,000 倍液を、1 日当たりの泌乳量が 20 kg 程度で 2~4 産目の健康なホルスタイン種乳牛 3 頭に、1 頭当たり 1 日 10 ml 当て 4 日間連続して飼料に添加して投与し、投薬前、投薬中の 4 日間毎日、および投薬終了後 3 日間毎日一定の時間に搾乳した乳汁について検査した。

その結果、乳汁においても投薬中および投薬終了後 3 日間のいずれにおいても NNMA は検出されなかった。

表 19 製剤名と承認事項および使用上の注意

製剤名 : ナナオマイシン油剤協和  
製造所名: 協和醸酵工業株式会社富士工場  
用法・用量  
通常 1 回本剤を患部に 100cm<sup>2</sup> (10×10cm) 当たりナナオマイシン A として 0.05~0.1 重症の場合は、塗布 1 週間または 2 週間後に再塗布する。  
重症の場合は、塗布 1 週間又は 2 週間後に再塗布する。  
効能・効果  
有効菌種トリコフィートンベルコーザム  
適応症 牛: 皮膚糸状菌症

使用上の注意  
1. 本剤が使用者の皮膚等に付いたときは、石けんを用いてよく洗い落とすこと。  
2. 本剤は牛以外には使用しないこと。  
3. 本剤は搾乳牛の乳房に塗布しないこと。  
貯蔵方法  
しゃ光した気密容器、室温保存  
有効期間  
製造後 36 カ月

(参考)

NNMA の製剤名と承認事項および使用上の注意は表 19 の通りである。

参考文献

- 1) 安里 章, 瀬尾昌克: 乳牛の乳汁中の真菌に関する研究。(7) 酵母様真菌の菌糸型と酵母型に対する Nanaomycin A の薬剤感受性。家畜診療, 282:41-43 (1986)
- 2) OMURA, S., TANAKA, H., KOYAMA, Y., et al.: Nanaomycin A and B, new antibiotics produced by a strain of streptomyces. J. Antibiot., 27:363-365 (1974)

- 3) 浜名克巳, 津田知幸, 椎 信義: 牛皮膚糸状菌症に対する Nanaomycin A の治療効果。獣医畜産新報, 697:468-471 (1979)
- 4) MRUMO, H., KITAMURA, K., MORI MOTO, M., et al.: The mode of Nanaomycin A in grampositive bacteria. J. Antibiot., 33:885-890 (1980)
- 5) TANAKA, H., KOYAMA, Y., AWAYA, J., et al. KATAGIRI, M., NAGAI, T., and OMURA, S.: Nanaomycins, new antibiotics produced by a strain of streptomyces. I. Taxonomy, isolation, characteraization and biological properties. J. Antibiot., 28:860-867 (1975)

討 論 (座長:長谷川篤彦・東大)

質問 (高橋勇・日獣大): ①基剤として用いる油はどんなものか。 ②皮膚への浸透性がよい油なのか。 ③1回塗布で有効だという成績であるが、牛がなめたりこすりとれたりするような心配はないのか、(原因菌に抗菌力を発揮するまでの間との関係を考慮した場合)。

答 (島田健次郎・協和発酵)

- ①トリ (カプリル酸・カプリン酸) グリセリンである。
- ②浸透性よりも拡散性が高い。
- ③牛がなめても有効量は残存している (ごく微

量で有効なため)。

質問 (長谷川篤彦・東大): 1) 皮膚内濃度は? 2) 目への刺激性は? 3) 力価測定における血清や培地成分の影響は?

答 (島田健次郎)

- 1) 皮膚内濃度: 測定していない。
- 2) 目への刺激性: 兎を用いての成績では高濃度では一過性の炎症がみられるが、全く問題ないと考える。
- 3) ナナオマイシン A では全く問題ない。