

## 7. ジョサマイシンについて

横地 良正

(山之内製薬株式会社)

Josamycin

Yoshimasa YOKOCHI

Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

### 1. 開発の経緯

ジョサマイシンは微生物化学研究所の梅沢浜夫博士と山之内製薬との共同研究により高知県下で採取した土壌より分離された放線菌の変種 *Streptomyces narbonensis* var. *josamyceticus*

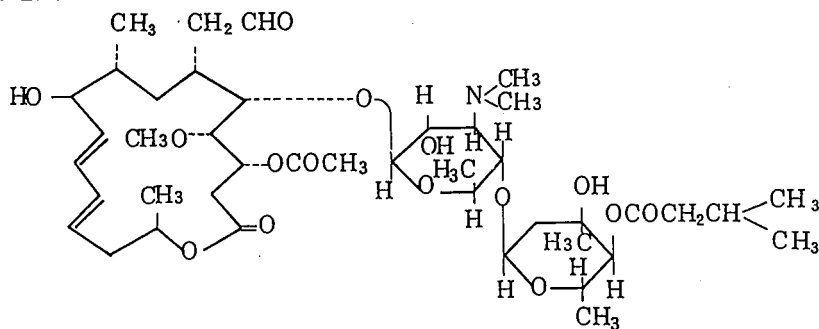
の培養ろ液から得られた国産のマクロライド系抗生物質で、ブドウ球菌、レンサ球菌等グラム陽性菌およびマイコプラズマに強い抗菌力を示し人体用としては1970年に発売され、1976年より日本薬局方に収載されている。

また、本品は外国にも輸出されヨーロッパを中心に世界各国において繁用されている。

一般名：ジョサマイシン (Josamycin)

化学名：8-formyl-4, 11-dihydroxy-5-methoxy-10, 17-dimethyl-2-oxooxacycloheptadeca-12, 14-dien-6-yl-3, 6-dideoxy-4-o-(2, 6-dideoxy-3-C-methyl- $\alpha$ -ribo-hexopyranosyl)-3-dimethylamino-3-D-glucopyranoside-4'-acetate-4'-isovalerate

構造式



分子式：C<sub>42</sub>H<sub>69</sub>NO<sub>15</sub> 分子量：828.00

図1 ジョサマイシンの構造式

マイコプラズマに対する抗菌力, ラット, マウス, 豚等に経口投与した時血漿, 肺臓によく分布することから豚流行性肺炎用薬として開発を進め, 有効性, 有用性が認められ, 1985年より発売されている。

## 2. 物理・化学

ジョサマイシン (以下JMと略) の一般名, 構造式, 分子式および分子量は図1に示す。

JMは白色~帯黄色の粉末で, においはなく, メタノール, エーテルに極めて溶けやすく, 水には極めて溶けにくく, 熱・光に対して安定な化合物である。

## 3. 毒性

JMの急性毒性について, ウイスター系ラット, ICRマウスをそれぞれ♂♀10匹ずつ用いて検討した (表1)。

臨床上の投与経路である経口投与では, ラット, マウスともLD<sub>50</sub>は体重1kg当たり7000mg以上であった (小谷ら: 社内資料)。

一般症状としては, 自発運動の低下がみられたが, 生存例では12時間後に回復した。また, ウイスター系ラットを用いて行った5週間亜急性毒性, および6カ月慢性毒性試験においても特記すべき変化はみられなかった<sup>2)</sup>。

催奇形作用について, ウイスター系ラット, ICR系マウスにJMを0.1gおよび3gを妊娠

7日目または8日目より1週間投与した。その結果, 胎児, 出産仔の外形, 内臓, 骨格について異常はみられなかった<sup>2)</sup>。

またJMの変異原性については修復試験, 小核試験, 復帰変異試験を実施した。

修復試験について *Bacillus. Subtilis* のM45株, H17株を用いて陰性対照の硫酸カナマイシン, 陽性対照にニトロフラゾンを用いてrec-assayを実施した。

ニトロフラゾンはDNA損傷性が認められたがJMは硫酸カナマイシンと同程度で, DNA損傷性は認められなかった。

次に小核試験は1群5匹のICRマウスにJMと陽性, 陰性対照化合物を投与して検討した。

JMを体重1kg当たり1g, 5gを1日1回2日間投与し, 多染性赤血球1000個当たりの小核をもつ細胞数の出現について調べた。その結果, ジョサマイシンは多染性赤血球1000個当たりの小核をもつ細胞数は溶媒対照と同程度であることから, 小核誘発作用はないものと思われた。

また, 大腸菌, サルモネラを用いた復帰変異試験においても復帰変異コロニーは溶媒対照と同程度の出現数であったことから遺伝子突然変異誘起性は認められなかった (大島稔: 社内資料)。

## 4. 安全性

子豚に対する安全性については, 生後1カ月

表1 ラットおよびマウスにおける急性毒性試験成績

(LD<sub>50</sub>)

動物 投与 経路	ラ ッ ト		マ ウ ス	
	♂	♀	♂	♀
経 口	>7,000mg/kg	>7,000mg/kg	>7,000mg/kg	>7,000mg/kg
皮 下	>3,000mg/kg	>3,000mg/kg	>3,000mg/kg	>3,000mg/kg
腹腔内	>3,000mg/kg	>3,000mg/kg	>3,000mg/kg	>3,000mg/kg

注) 未発表: 小谷ら (山之内)

表2 一般細菌に対する抗菌力-1 (大園ら<sup>1)</sup>) (JM と KT, SPM, EM の抗菌スペクトラム比較)

菌 株	MIC $\mu\text{g/ml}$			
	J M	K T	S P M	E M
<i>Bacillus megatherium</i> 10778	0.39	0.39	1.56	0.19
" A P F	0.39	0.39	1.56	0.19
<i>Bacillus cereus</i>	0.39	0.78	3.13	0.19
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.19	0.39	0.78	0.09
<i>Sarcina lutea</i> PCI 1001	0.04	0.04	0.09	0.04
<i>Micrococcus flavus</i>	0.09	0.19	0.19	0.39
<i>Staphylococcus citreus</i>	1.56	1.56	6.25	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> 寺島	1.56	1.56	6.25	0.78
" Smith	0.78	0.78	6.25	0.78
" FDA 209 P	1.56	1.56	6.25	0.78
" streptothricin 耐性	1.56	1.56	6.25	0.39
" amphomycin "	0.78	1.56	6.25	0.78
" penicillin "	1.56	1.56	6.25	0.78
" carbomycin "	>100	>100	>100	0.78
" telomycin "	0.78	1.56	6.25	0.78
<i>Torula utilis</i>	50	100	>100	50
<i>Mycobacterium</i> sp. 607	1.56	1.56	3.13	3.13
" phlei	1.56	3.13	3.13	0.78
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> Mac.	0.03			
<i>Mycoplasma</i> sp. Campo	0.1	0.3		10
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> c 30 as	0.03	0.03	0.03	< 0.01

齢の子豚に JM を体重 1 kg 当たり 10, 20 mg の割合で 1 日 1 回, 14 日間連続して経口投与し安全性について検討した。

その結果, 一般症状, 増体量, 飼料摂取量, 血液, 病理検査において異常は認められなかった (財畜産安全研)。

また, 生後 3 カ月齢の子豚に JM をエサ 1 トン当たり 200, 600, 1000 ppm の割合に添加して 21 日間連続して投与した。その結果, 一般症状, 増体量, 飼料摂取量, 血液, 病理検査において異常は認められなかった (財畜産安全研)。

### 5. 試験管内抗菌力試験

一般細菌に対する抗菌力について, 日本化学療法学会最小発育阻止濃度測定法に準じて実施し, JM の最小発育阻止濃度 (以下 MIC と略) について, キタマイシン (KT), スピラマイシン (SPM), エリスロマイシン (EM) と比較検討を表 2 に示した。

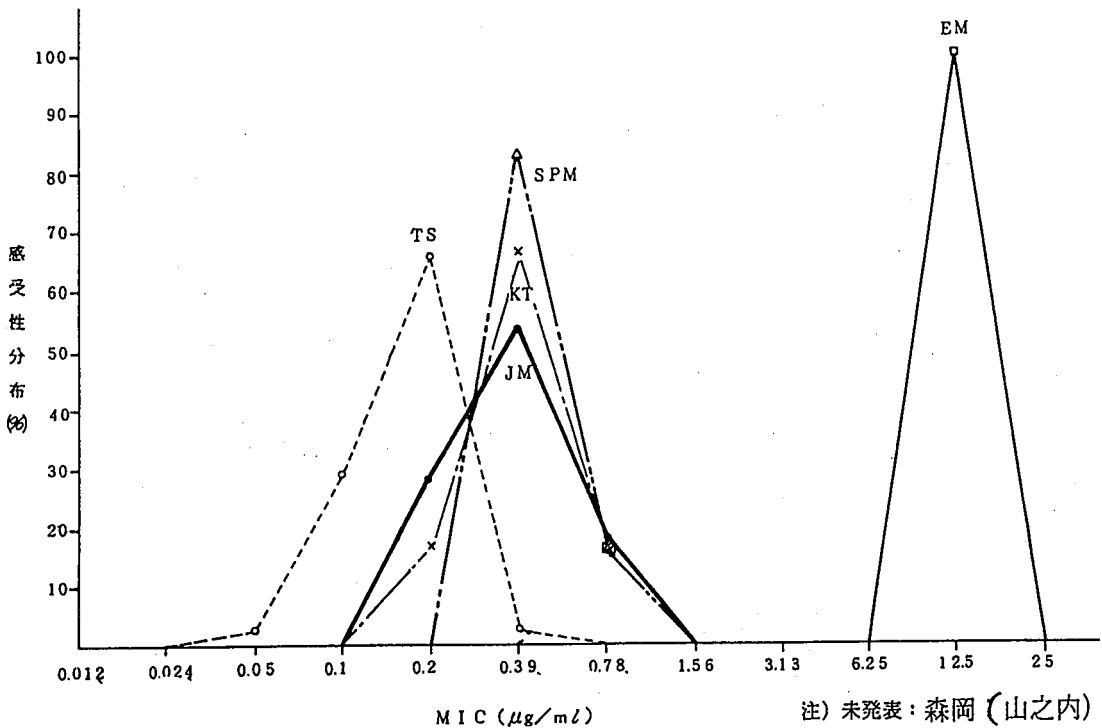
JM は *Bacillus* に対し 0.19~0.37  $\mu\text{g}$ , *Micrococcus* に対しては 0.09  $\mu\text{g}$ , *Staphylococcus* に対しては 0.78~1.56  $\mu\text{g}$ , *Mycoplasma* に対しては 0.03~0.1  $\mu\text{g}$  で他のマクロライド系抗生物質と同等の MIC を示していた<sup>1)</sup>。

また, JM とタイロシン (TS) の MIC の比較においても JM は *Streptococcus* に対し 0.02~1.56  $\mu\text{g}$ , *Bacillus* に対し 0.39  $\mu\text{g}$ , *Mi-*

表3 一般細菌に対する抗菌カー-2 (JM と TS の抗菌スペクトラム比較)

菌 株	MIC $\mu\text{g/ml}$	
	JM	TS
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID 552	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID 553	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID 554	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$
<i>Streptococcus faecalis</i> IID 682	1.56	3.13
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.39
<i>Bacillus cereus</i>	0.39	0.39
<i>Corynebacterium xerosis</i>	0.79	0.78
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$
<i>Micrococcus flavus</i> ATCC 10240	$\leq 0.20$	$\leq 0.20$
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	0.78	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.78	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	1.56	1.56
<i>Escherichia coli</i>	100	100
<i>Salmonella typhimurium</i>	100	100
<i>Salmonella cholerae-suis</i>	100	> 100

注) 未発表: 森岡ら(山之内)



注) 未発表: 森岡(山之内)

図2 *Mycoplasma hyopneumoniae* に対する感受性分布

*crococcus* に対し  $0.02 \mu\text{g}$  以下, *Staphylococcus* に対し  $0.78 \mu\text{g}$  の MIC を示し TS と同等の MIC を示した (表 3)。

また山本らは 55 株の *Mycoplasma hyopneumoniae* (M. hyo) に対する各種抗生物質の MIC

について実施した結果, JM の MIC は  $0.04 \sim 0.32 \mu\text{g}$  で強い抗菌力を示していた<sup>3)</sup>。また, 森岡らが実施した M. hyo に対する MIC は図 2 に示すように,  $0.2 \sim 0.78 \mu\text{g}$  で強い抗菌力を示していた。

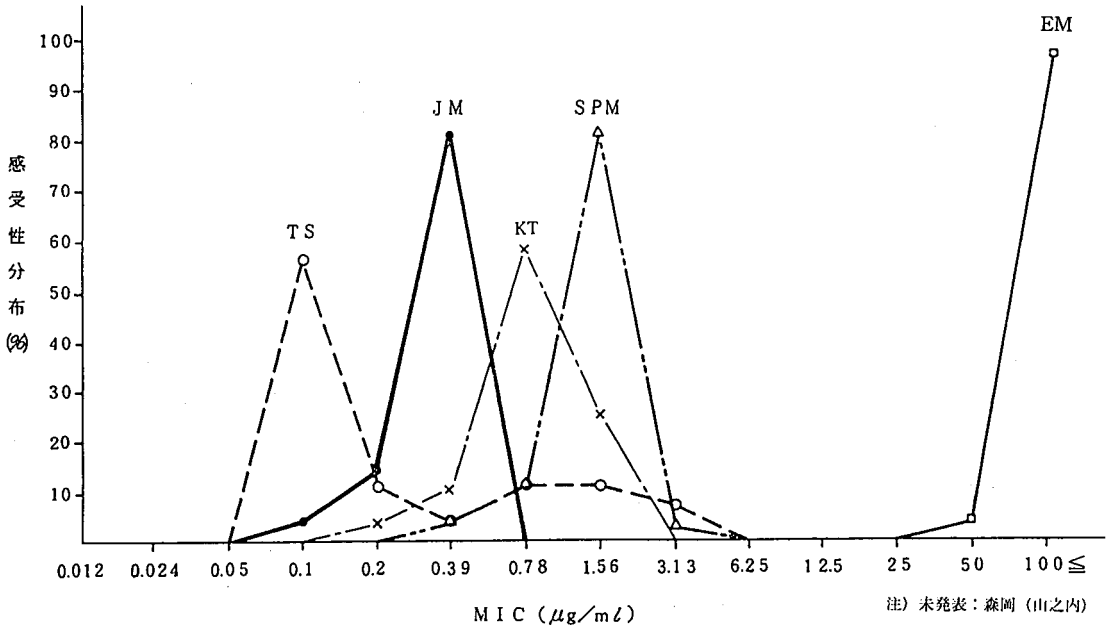


図 3 *Mycoplasma hyosynoviae* に対する感受性分布

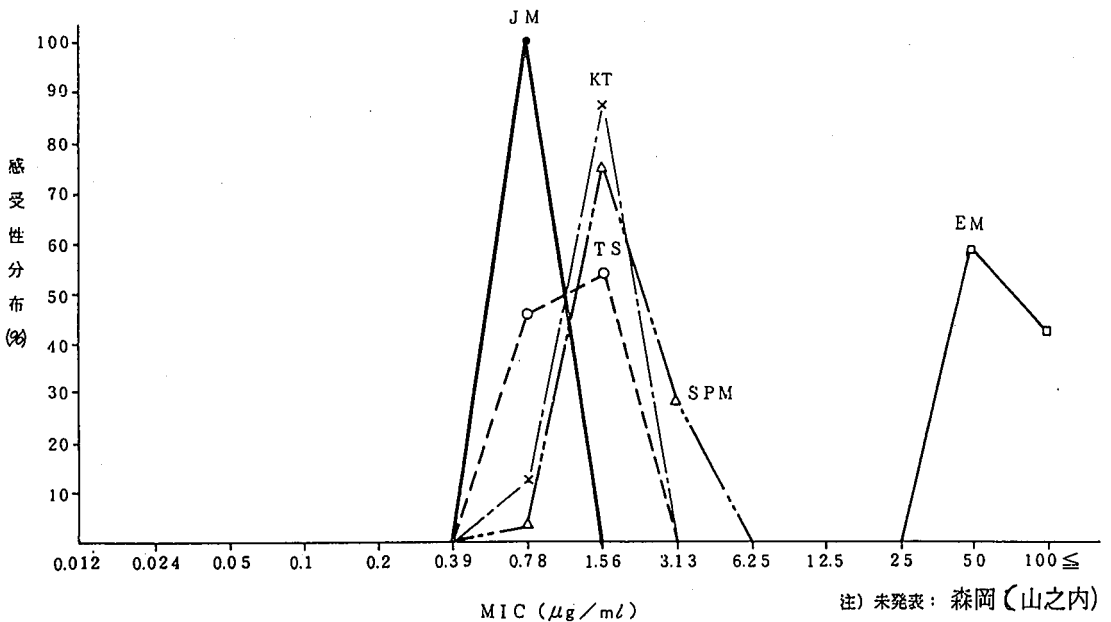


図 4 *Mycoplasma hyorhinis* に対する感受性分布

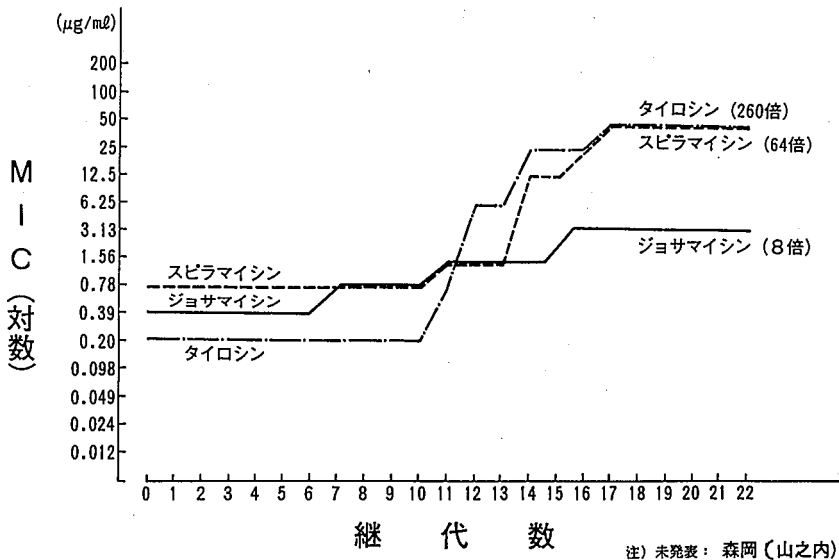


図5 *Mycoplasma hyopneumoniae* に対する耐性獲得

また、*M. hyosynoviae* に対する抗菌力について 27 株を用いて検討した。

その結果 27 株に対する JM の MIC は 0.1 ~ 0.39 µg と強い抗菌力を示していた (図 3)。

また、*M. hyorhinis* に対する抗菌力について 24 株を用いて検討した。

その結果、24 株に対する JM の MIC は 0.78 µg で強い抗菌力を示していた (図 4)。

### 6. 試験管内耐性獲得

*M. hyopneumoniae* の標準株 J 株を用いて JM, TS, SPM について耐性試験を実施した。

17 代継代による耐性獲得率は JM で 0.39 µg/ml から 3.13 µg/ml と 8 倍, SPM で 0.78 µg/ml から 5.0 µg/ml と 64 倍, TS で 0.2 µg/ml から 5.0 µg/ml と 260 倍で, JM は耐性獲得され難い薬剤と思われた (図 5)。

### 7. 吸収・分布・排泄

JM を静脈内に 10 mg, また 20 mg を経口投与した時の血清中濃度を検討した。

その結果, JM は経口投与により速やかに血

清中に吸収され, 血清中濃度は投与後 2 時間で

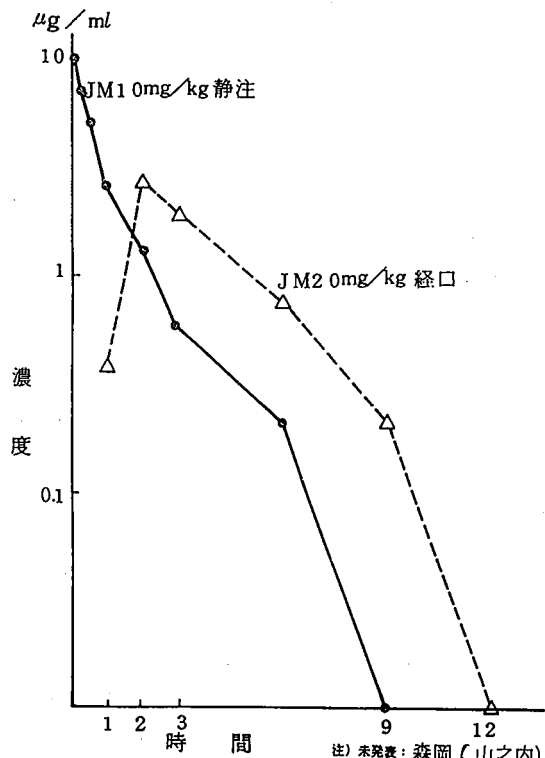


図6 ジョサマイシンを豚に静注, 経口投与した時の血清中濃度

最高に達し投与後9時間目まで検出された(図6)。

またJMをラットに、体重1kg当たり400mg1回経口投与した時の体内分布についてみると各組織とも投与後1時間後に最高濃度に達し、肺、脾、肝、腎、血漿の順によく分布していた(図7)。

さらに、JMとTSをマウスにそれぞれ体重1kg当たり200mgを1回経口投与し、血漿中、肺、における体内分布について比較検討を行った。

図8、9に示すようにJMはTSより血漿中、

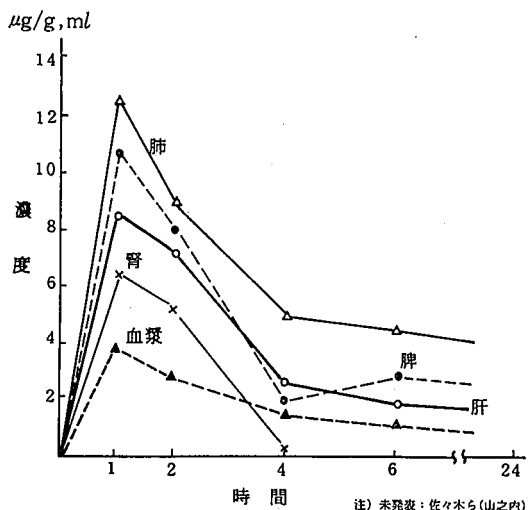


図7 ラットにおける臓器内濃度

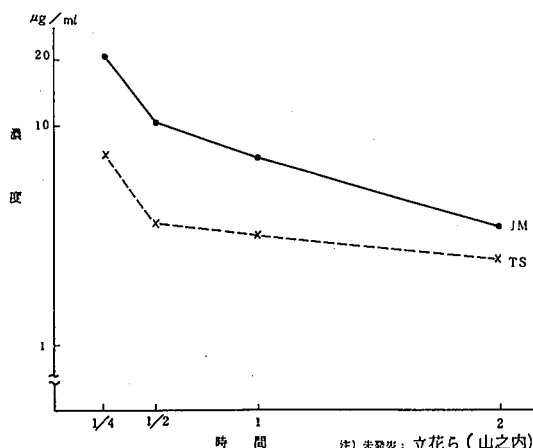


図8 ジョサマイシンとタイロシンをマウスに200mg/kg経口投与した時の血漿中濃度比較

肺臓中への移行が良好であった。特にJMの肺臓中濃度は血漿中濃度より高い値を示していた。

JMをラットに300mg/kg/経口投与した時の胆汁中排せつ量についてみると、3時間までに5.77%、24時間までに15.77%が胆汁中に排泄されていた。

尿中には24時間までに22.5%、糞中では24時間までに65.5%排泄されていた。

## 8. 豚流行性肺炎感染試験

山本らはSPF豚を用いて豚流行性肺炎(以下MPSと略)感染試験を行った。

28日齢のSPF豚30頭を一週間予備飼育した後、各区6頭ずつ5試験区とした。

薬剤の投与は*M. hyopneumoniae*を感染させる前日より行い、抗生物質無添加の飼料にJMを50~100ppm、3~7日間投与し、1区はJM無添加対照区とした。

接種は、*M. hyopneumoniae*のみを含む肺の乳剤 $5 \times 10^5$ ccu/mlを鼻腔内に5ml/日1回2日間注入した。

検査項目は、臨床症状、体重、飼料要求率、肺の肉眼病変、細菌検査について行い、肺の肉眼病変は屠殺時に肺全体の写真を撮影し、肺全体に対する病変部の面積比率を個体毎に測定して順位和検定を行った。

細菌学的検査は、屠殺時に肺の心葉又は尖葉の一部を採材し、一般細菌の分離には5%イーストエキス加血液寒天培地、マイコプラズマの分離には、m-Broth m-AgarおよびBHL-Brothを用い、いずれも10~20%乳剤を作製したのち10倍段階希釈し定量培養を行った。

屠殺・剖検は全頭とも2回目の乳剤接種後35日目に行った。

結果は表4に示すように肺全体に対する病変部の面積比率については、感染無投薬対照区で16.6%であったがJMの50ppm7日間投与では7.4%、100ppm5日間投与区では5.0%で、対照区に比べて有意または有意傾向で病変部が少なくなっていた<sup>4)</sup>。

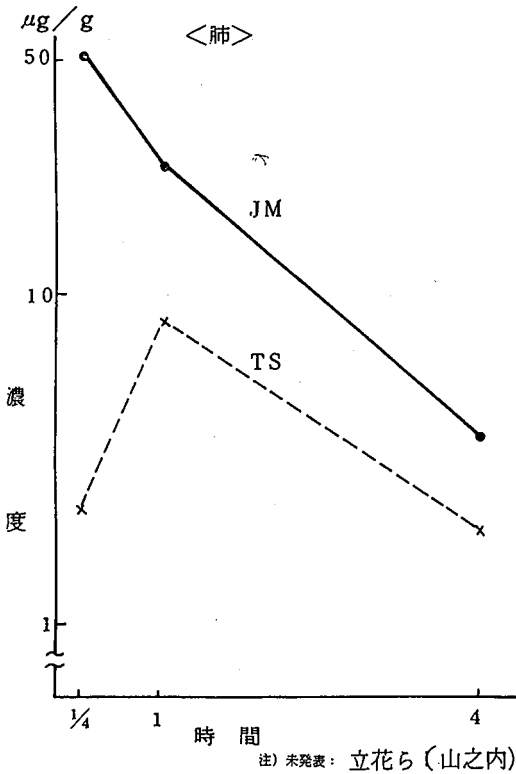


図9 ジョサマイシン、タイロシンをマウスに200 mg/kg 経口投与した時の体内分布比較—1

(注) 未発表：立花ら(山之内)

## 9. 臨床試験

豚流行性肺炎に対するJMの臨床試験は、全国9カ所の家畜保健衛生所で300頭余りの子豚を使用して実施した。

まず試験項目および検査実施時期については表5に示すように、体重は離乳時、離乳後60日、120日目前後および出荷時に個体別に測定した。

飼料摂取量は各区ごとに全期間通して計量した。

肺の肉眼病変検査、細菌検査は離乳時、離乳後60日目前後、出荷時に検査し、一般症状、副作用については試験期間を通して観察した。

肺の肉眼病変および細菌検査は先のMPS感染試験と同様の方法で行った。

50~100 ppm 7日間投与した臨床成績は表6、表7に示したとおりである。

増体量では無添加対照区で94.1 kgであったがJM投与区では100.6~101.3 kgで増体効果が認められた。

飼料要求率では対照区で2.99であったが、JM投与区では2.63~2.77で飼料要求率の改善が認められた。

次に肺病変部面積比率においては対照区で10.7%であったがJM投与区では1.4~1.7%と低くまた、*M. hyopneumoniae*の分離率においては対照区で74.2%と高率であったがJM投与区では30~31%と低い分離率であった(横田博, 都城家保, 武田文雄他: 山形中央家保)。

## 10. 残留試験

子豚にJMを200, 400, 1000 ppm飼料に添加して21日間投与した時の残留性について検討した。分析はアーガーウエル法で行い、検定菌には*Micrococcus luteus* ATCC9341を用い、検出限界は血清で0.1 µg, 胆汁で0.3 µg, 各臓器で0.04 µgであった。

その結果胆汁中からは休薬72時間目まで検出され、肝、肺、小腸、血清からは8時間目まで検出され、24時間目以降は検出されなくなりJMの休薬期間は3日間が妥当であると判断された(財畜産安全研)。

### (参考)

ジョサマイシンの製剤名と承認事項および使用上の注意は表8のとおりである。

### 謝辞

本報告の終りに当たり、ジョサマイシンの研究開発にご協力賜わった試験研究機関の先生方に深甚なる謝意を表します。

### 文献

- 1) 大園卓ら (1969) : ジョサマイシンの研究第3報 Jpn. J. Antibiotics XXII-2 Apr. 159~172.
- 2) 羽里彦左衛門ら (1969) : Josamycinの研究 VIII Jpn. J. Antibiotics XXII-3 June. 242~253.



- 3) Yamamoto K. et al (1985) : Invitro susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* to antibiotics. Jpn. J. Vet. Sci., 48, 1-5.  
 4) Yamamoto K. et al (1986) : Evaluation of

the effect of Josamycin on *Mycoplasma pneumoniae* of swine Proc. 9th Int. Congr. Pig Vet. Soc. Barcelona, Spain, 288.

表4 MPS 感染試験成績 (山本ら<sup>3)</sup>)

区分	豚 No.	M. hyo-			一般細菌	肺病変部の面積比 (%) (平均)
		pneumoniae	rhinis	synoviae		
感染無投薬 対照区	5	++	-	-	-	17.8
	9	++	-	-	-	24.3
	13	++	-	-	-	18.9 (16.6)
	17	++	-	-	-	3.6
	22	++	-	-	-	12.8
	26	++	-	-	-	22.1
-----						
50 ppm 7日投与	4	++	-	-	-	22.6
	8	+	-	-	++	1.6
	12	++	-	-	-	4.4 (7.4*)
	16	++	-	-	-	13.6
	21	+	-	-	-	0
	30	+++	-	-	-	2.4
-----						
50 ppm 5日投与	3	++	-	-	+	14.2
	7	++	-	-	-	23.4
	11	++	-	-	-	12.0 (14.6)
	20	++	-	-	-	14.1
	25	++	-	-	-	4.1
	29	++	-	-	-	19.5
-----						
100 ppm 5日投与	2	++	-	-	-	5.2
	6	++	-	-	-	4.0
	15	++	-	-	-	0 (5.0**)
	19	++	-	-	-	0
	24	++	-	-	-	16.4
	28	++	-	-	-	4.3
-----						
100 ppm 3日投与	1	+++	-	-	-	5.1
	10	+++	-	-	-	20.8
	14	++	-	-	-	18.0 (12.3)
	18	++	-	-	-	3.3
	23	++	-	-	-	14.1

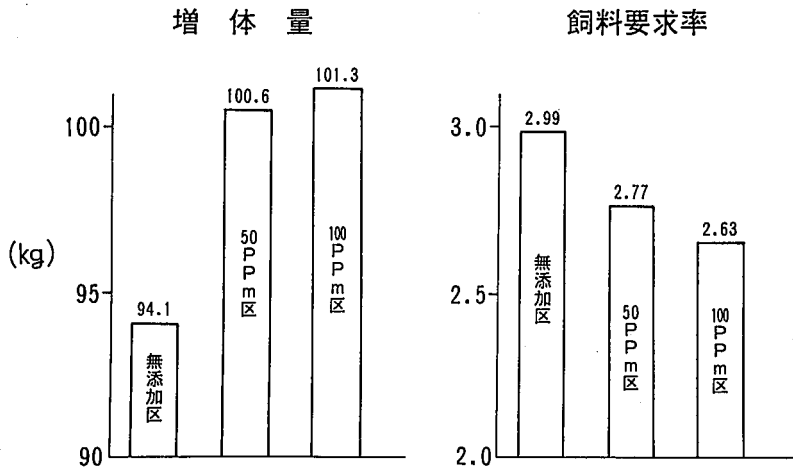
a) 菌量: +;  $10^{-1} \sim 10^{-2}$ まで陽性, ++;  $10^{-3} \sim 10^{-4}$ まで陽性, +++:  $10^{-5} \sim 10^{-6}$ まで陽性

\*  $p < 0.10$ , \*\*  $p < 0.05$

表5 試験項目および実施時期

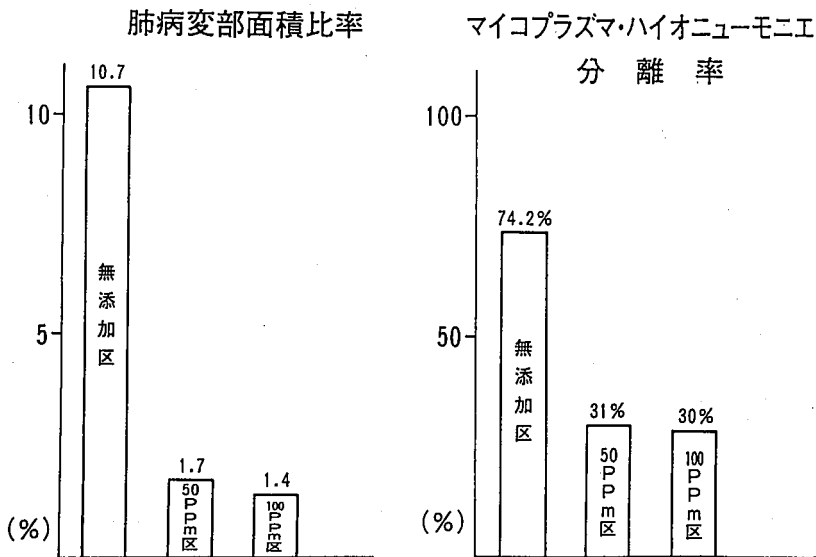
試験項目	実施時期				統計処理
	離乳時	離乳後60日目前後	120日目前後	出荷時	
体重	○	○	○	○	t検定
飼料摂取量	○	○	○	○	
肺肉眼検査	○	○		○	U検定
細菌検査	○	○		○	
一般症状	○	○	○	○	X <sup>2</sup> 検定
副作用	○	○	○	○	

表6 臨床試験まとめ(1)



注) 未発表: 横田 (都城家保), 武田他 (山形中央家保)

表7 臨床試験まとめ(2)



注) 未発表: 横田 (都城家保), 武田ら (山形中央家保)

討 論 (座長: 山本孝史・東大)

質問 (中根淑夫・科学飼料研究所) : 野外試験の際の供試豚および飼育方法についてどのように設定したか。

答 (横地良正・山之内製薬) : 一豚房に♂11頭、♀11頭を入れ隣接した5豚房を使用した。

質問 (武田植人・明治製菓・薬品研) : ①豚の実験的マイコプラズマ症で病変面積の求め方。②その病変部と病理組織所見との相関性。

答 (横地良正・山之内製薬) ①背面部の面積を求めて。

表 8 製剤名と承認事項および使用上の注意

	動物用ジョサマイシン20	動物用ジョサマイシン100
成分 分量	本品1g中 日局ジョサマイシン20mg(力価)を 含有する。	本品1g中 日局ジョサマイシン100mg(力価)を 含有する。
効能 効果	[有効菌種] マイコプラズマ ハイオニューモニエ マイコプラズマ ハイオシノピエ マイコプラズマ ハイオリニス [適応症] 豚：豚流行性肺炎	
用法 用量	通常飼料1t当たりジョサマイシンとして下記の量を均一に混じて7日間経口 投与する。 これを7～14日間の休薬期間をはさんでくり返し投与する。 豚：50～100g(力価)	
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. 本剤投与後、下記の期間は食用に供する目的で出荷等を行なわないこと。 豚：3日 注意—獣医師の処方せん・指示により使用すること。	
貯法	室温保存	
有効期間	国家検定合格の翌月より24ヵ月	
包装	20kg袋入	

②一部において両者の相関はみられなかった。

質問(阪野哲也・全農家衛研)：本剤の適応症は豚流行性肺炎であり、有効菌種は①マイコプラズマ・ハイオニューモニエ、②マイコプラズマ・ハイオシノピエ、③マイコプラズマハイオリニスの3菌となっている。②、③の菌種も、豚流行性肺炎の原因とを考えておられるか？

答(横地良正・山之内製薬)：MPSの直接の原因菌はハイオニューモニエで、二次感染としてのハイオシノピエ、ハイオリニスに有効。

質問(佐藤静夫・全農家衛研)：①耐性獲得試験の方法について教えて欲しい。②混合感染群(野外試験で)における効果判定(肺病変部面積の算出)などはどのように取扱われたか。③また、実用的に混合感染群に対する提案プログラムを考えてお

られるか。

答(森岡保・山之内製薬)

①液体培地による増量的継代法により試験した。

②MPS病変のみを対象として判定した。

③実用的にはMPS対策とヘモフィルス、パスツレラ対策は別々に行う必要がある。

質問(橋本和典・家畜衛試)：①臨床応用試験のレイアウトが大変結構な実験と思う。細菌性下痢の効果判定についても、一部このようなdataのとり方を組み入れたいものと思う。②治療効果は投与時期により、かなりの影響をうけると思うが、この試験はすべて予防を目的としたものであると見られるが。

答(横地良正・山之内製薬)

②今回の試験は予防投与である。