

4. ミロサマイシン (別称, ミポラマイシン) について

渡辺 典夫 (東洋醸造(株)・動物薬品開発部)

1. 開発の経緯

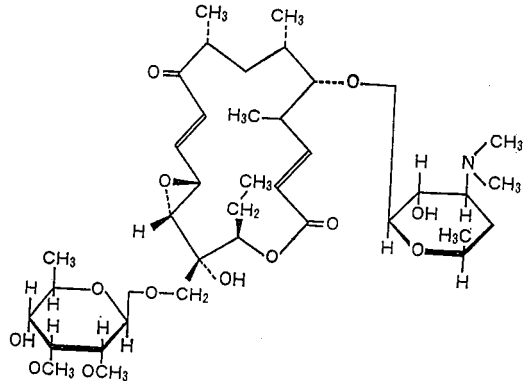
ミロサマイシンは1978年東洋醸造(株)研究所で *Micromonospora griseorubida* の培養液から発見された新規のマクロライド系抗生物質 (MLs) である¹⁾。これまで一般的名称は厚生省で承認された Japanese accepted name (JAN) であるミポラマイシン (MP) を使用してきたが、昨年 (1989年) 末に WHO により INN (国際一般的名称) がミロサマイシンに変更され、また1990年1月に JAN もミロサマイシン (MRM) に変更された。

MRM はマイコプラズマ、グラム陽性菌およびヘモフィルスのような一部のグラム陰性菌に抗菌力を示し¹⁾、また、鶏に投与すると高い体内利用率を有することが認められ、さらに残留性も少ないことが判明した。そこで、まず、世界各国で養鶏業界に大きな経済的被害をもたらしている鶏呼吸器性マイコプラズマ病 (CRD) および伝染性コリーザ (IC) の治療薬として開発を始め、1988年に飼料添加剤および飲水投与剤が承認、許可されて、飼料添加剤は「マイプラビン® プレミックス」、飲水投与剤は「マイプラビン® 散」の商品名で販売されている。

2. 理化学的性状

MRM の分子式は $C_{37}H_{61}NO_{13}$ 、分子量 727.9 である。その化学構造は図1に示すように16員環のラクトン部にマイシノースとデソサミンの2つの糖が結合しており、他の16員環 MLs と比べラクトン環の6位のアルデヒド基がメチル基になっている特徴を有している^{2,1)}。その性状は白色～

構造式



分子式 $C_{37}H_{61}NO_{13}$ 分子量 727.9

図1 ミロサマイシン (ミポラマイシン) の化学構造

帯黄白色の粉末で、においはない。メタノール、エタノール、アセトンまたはクロロホルムに極めて溶けやすく、酢酸エチルに溶けやすく、水に溶けにくく、n-ヘキサンにほとんど溶けない。

3. 安定性

飼料中の安定性は表1に示すように、各種鶏用飼料に MRM を常用量である 100 ppm 添加し、

表1 ミロサマイシンの各種鶏用飼料中での安定性試験成績 (室温保存)

鶏用配合飼料 ^{a)}	開始時	2週目	4週目
幼雛育成用	100 ^{b)}	98	97
中雛育成用	100	100	100
大雛育成用	100	101	97
ブロイラー肥育前期用	100	102	97
ブロイラー肥育後期用	100	96	93
成鶏飼育用	100	98	96
レイヤー種鶏飼育用	100	99	95
ブロイラー種鶏飼育用	100	99	98

^{a)} 飼料中の添加量は 100 ppm, ^{b)} 表中数字は%
注) 未発表: 東洋醸造 1986

室温で4週間保存した。その結果、いずれの飼料においても力価の低下は認められず、MRMの各種飼料中における安定性は良好であった。水溶液中の安定性はMRMを常用量である50および100 ppmになるように水に溶解し、40°Cで7日間保存した。その結果、7日目においても力価の低下は認められず、MRMは水溶液中でも安定であった。

また、MRMの飼料添加剤および飲水投与剤とともに室温39カ月保存しても力価の低下は認められず、また、薄層クロマトグラフィー (TLC) により分解物の検索を行ったが、変化は認められなかった。したがって、動物用医薬品としての有効期間は両製剤とも36カ月間と設定された。

4. 毒 性

急性毒性試験は、MRMを0.5% Carboxymethylcellulose (CMC) に懸濁しマウスおよびラットに強制経口投与して実施した。その結果、経口投与限界量であるマウス2,500 mg/kg、ラット2,000 mg/kgにおいても死亡が認められず、したがって、LD₅₀値はそれぞれ2,500 mg/kg以上および2,000 mg/kg以上であり、性差も認められなかった¹⁰⁾。

亜急性毒性試験はラットにMRMを28日間連続混餌投与し、その毒性を検討した。投与濃度は混餌可能最大濃度である50,000 ppmを最高投与濃度として、以下、20,000, 8,000, 3,200 ppmを設定した。その結果、各投与群とも死亡例はみられなかったが、50,000 ppm群で採食量低下による栄養性病変が観察されたため、無影響量は20,000 ppmと推定された⁷⁾。

慢性毒性試験はラットにMRMを6カ月間連続混餌投与し、投与濃度を1,280, 3,200, 8,000, 20,000 ppmとした。その結果、各投与群とも死亡例および異常所見は認められず、無影響量は20,000 ppmと推定された⁸⁾。

特殊毒性試験は、催奇形性、変異原性、および抗原性について検討した。

催奇形性はラットおよびウサギを用い胎子の器官形成期投与試験を実施した。その結果、MRM

の無影響量はラットにおいて母動物では40 mg/kg、胎仔では40 mg/kg、出生仔では1,000 mg/kgであり¹⁾、ウサギにおいて母動物および胎仔とも100 mg/kgであった⁴⁾。

変異原性は細菌を用いる復帰変異試験、哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験およびげっ歯類を用いる小核試験を行った。その結果、MRMはいずれの試験においても陰性であった¹²⁾。

抗原性はモルモットにおける能動性全身性アナフィラキシー反応および同種受動的皮膚アナフィラキシー反応 (PCA)、マウスにおける異種受動的皮膚アナフィラキシー反応を実施した。その結果、MRMはモルモットおよびマウスに対する抗原性ならびにモルモットに対する皮膚感作性を示さなかった⁹⁾。

5. 安 全 性

鶏に対する安全性試験はMRM飼料添加および飲水添加とも最高常用量100 ppmの2~10倍量を2倍期間である6日間投与して増体量、飼料摂取量および臨床症状について検査した。その結果を表2に示した。いずれの場合においても異常は認められなかった⁹⁾。なお、プロイラー後期試験においては病理組織学的検査および血清生化学検査も実施したが、MRM投与群は無投薬対照群と同等で異常は認められなかった。また、種鶏においても、MRMを常用量の2倍量(200 ppm)で2倍の期間(6日間)飼料添加投与しても産卵率、孵化率等すべての検査項目で異常は認められなかった³⁾。

MRMの飼料添加または飲水添加とポリエーテル系抗生物質飼料添加と併用して鶏に投与した結果、常用量の10倍量(1,000 ppm)のMRM飼料添加および飲水添加と飼料添加物であるモネンシン80 ppm飼料添加投与を6日間併用しても異常は認められなかった⁸⁾。したがって、MRMはポリエーテル系抗生物質と併用してもチアムリンのような副作用⁶⁾は示さないことが判明した。

植物に対する安全性試験は、双子葉植物である小松菜と単子葉植物である大麦に、MRMを200 ppm添加した飼料を給与した鶏の糞を最高2.5%

表 2 ミロサマイシンの各種安全性試験成績

(Hattori et al.³⁾, 鎌田ほか³⁾)

鶏種 ^{a)}	時期	最高投与量および期間		検査項目	結果
		飼料添加剤	飲水投与剤		
ブロイラー	前期	1,000 ppm 6日間	1,000 ppm (0.1%) 6日間	臨床症状, 体重, 増体量, 飼料摂取量, 飲水量	異常なし
	後期	1,000 ppm 6日間	1,000 ppm (0.1%) 6日間	臨床症状, 体重, 増体量, 飼料 摂取量, 飲水量, 血液・血清生 化学的検査, 病理解剖, 病理組 織学的検査	異常なし
レイヤー	幼雛	1,000 ppm 6日間	1,000 ppm (0.1%) 6日間	臨床症状, 体重, 増体量, 飼料摂取量, 飲水量	異常なし
	中雛	1,000 ppm 6日間	1,000 ppm (0.1%) 6日間	臨床症状, 体重, 増体量, 飼料摂取量, 飲水量	異常なし
	大雛	1,000 ppm 6日間	1,000 ppm (0.1%) 6日間	臨床症状, 体重, 増体量, 飼料摂取量, 飲水量	異常なし
	成鶏 (産卵鶏)	1,000 ppm 6日間	— (実施せず)	臨床症状, 体重, 飼料摂取量, 飲水量, 産卵率, 卵重量, 卵形態	異常なし
	種鶏 (産卵鶏)	2,000 ppm 6日間	— (実施せず)	臨床症状, 飼料摂取量, 産卵数, ヘンディ産卵率, 卵重量, 正常 卵数, 異常卵数, 孵化数, 孵化率	異常なし

^{a)} 供試羽数: ブロイラー前期, 後期…………… $n=20$
 レイヤー 幼雛, 中雛, 大雛…………… $n=20$
 レイヤー 成鶏 (産卵鶏) …………… $n=8$
 種鶏 成鶏 (産卵鶏) …………… $n=$ 平均 雌 130, 雄 10

土壌中に添加し, 発育に対する影響を調査した。その結果, 両植物の発育に対する悪影響は全く認められなかった。

6. 抗菌力

1) スペクトル

抗菌スペクトルを表3に示した。MRM はブドウ球菌, レンサ球菌などのグラム陽性菌に優れた抗菌力を認めた。また, 誘導型耐性菌である *Staphylococcus aureus* MS15009/PMS98 および *S. aureus* MS15028 も $0.05 \mu\text{g/ml}$ と高い感受性を示し, さらに *Haemophilus paragallinarum* (HPG), *Pasteurella multocida* および *Fusobacterium necrophorum* のような一部のグラム陰性菌に対しても優れた抗菌力を示した³⁾。

また, 表4に示すとおり, MRM は鶏の呼吸器性マイコプラズマ病 (CRD) の原因菌である *Mycoplasma gallisepticum* (MG) や原因菌の一種といわれている *Mycoplasma synoviae* (MS) に対して優れた抗菌力を有していた³⁾。MRM は MG に対して感受性株および耐性株ともに供試した他の MLs に比べ最も優れた抗菌力を示し, また MRM は MS に対しても良好な抗菌力を示した。

2) MG, MS, および HPG 野外分離株に対する抗菌力

CRD および伝染性コリーザ (IC) 罹患鶏を用いた野外臨床試験において分離同定された MG, MS および HPG に対する MRM の最小発育阻止濃度 (MIC) を表5~7に示した。

MG は 227 株が分離され, 供試した MLs に

表 3 ミロサマイシンの一般細菌に対する抗菌スペクトル

(Hattori et al.³⁾, 鎌田ほか⁵⁾, Sato et al.¹¹⁾)

分類	菌種	菌株	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}			
			MRM	TS	EM	SPM
グ ラ ム 陽 性 菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	MS353	0.10	0.39	0.10	1.56
		MS15009/PMS98	≤ 0.05	0.20	>100	0.10
		MS15028	≤ 0.05	0.39	>100	0.20
		Smith	0.20	0.78	0.10	6.25
グ ラ ム 陰 性 菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	sp-al-1	0.10	0.20	0.10	0.78
		ATCC27626	0.10	0.78	0.10	0.78
グ ラ ム 陰 性 菌	<i>Streptococcus pyogenes</i>	N.Y. 5	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	0.20
		S 23	≤ 0.05	0.10	≤ 0.05	0.20
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1020	≤ 0.05	0.10	≤ 0.05	0.39
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	P.W. 8	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05
	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	N-7	0.0125	0.10	0.10	0.78
	<i>Clostridium perfringens</i>	D-1	0.39	0.39	0.78	3.13
	<i>Haemophilus paragallinarum</i>	YK-1	1.56	6.25	3.13	25
グ ラ ム 陰 性 菌	<i>Pasteurella multocida</i>	Pm-198	0.78	12.5	0.78	25
△ 菌	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	Fn-69	0.20	1.56	6.25	12.5

^{a)} MRM: ミロサマイシン, TS: タイロシン, EM: エリスロマイシン, SPM: スピラマイシン

表 4 ミロサマイシンの鶏由来のマイコプラズマに対する抗菌力

(Hattori et al.³⁾, 鎌田ほか⁵⁾)

菌種	菌株	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		MRM	TS	EM	SPM
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	KP-13	0.0032	0.025	0.025	0.10
	S-6	0.0032	0.025	0.025	0.39
	396-S	0.0032	0.0125	0.0125	0.20
	3196-S*	0.39	0.78	50	25
	S-11-P*	0.39	0.78	>100	25
	C5PT*	0.78	1.56	>100	100
<i>Mycoplasma synoviae</i>	N15-1-2	≤ 0.1	≤ 0.1	50	0.39
	N39-3	≤ 0.1	≤ 0.1	25	0.2
	N45-3	≤ 0.1	≤ 0.1	25	0.1

* マクロライド耐性株

表 5 ミロサマイシンの野外分離 *M. gallisepticum* (227株: 1985~1987年分離) に対する MIC 分布

(鎌田ほか⁵⁾, Yamamoto et al.¹³⁾)

薬剤	MIC ($\mu\text{g/ml}$)																
	0.0016	0.0032	0.0063	0.0125	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	>100
ミロサマイシン	2 ^{a)}	97	40	4	1			3	8	34	30	8					
タイロシン				7	96	40	1		4	10	51	13	4	1			
エリスロマイシン				1	23	63	55	1	1								83
スピラマイシン						2	17	66	56	3							83

^{a)} 数字は分離株数

表 6 ミロサマイシンの野外分離 *M. synoviae* (139株: 1985~1987年分離) に対する MIC 分布

(鎌田ほか⁵⁾, Yamamoto et al.¹³⁾

薬 剤	MIC ($\mu\text{g/ml}$)												
	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	>50
ミロサマイシン		2 ^{a)}	6	32	82	17							
タイロシン	50	72	15	2									
エリスロマイシン											20	77	42
スピラマイシン			9	14	50	65	1						

^{a)} 数字は分離株数

表 7 ミロサマイシンの野外分離 *H. paragallinarum* (49株: 1985~1987年分離) に対する MIC 分布

(鎌田ほか⁵⁾, Yamamoto et al.¹³⁾

薬 剤	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
ミロサマイシン	28 ^{a)}	18	3					
タイロシン				20	26	3		
エリスロマイシン	13	30	6					
スピラマイシン					2	19	24	4

^{a)} 数字は分離株数

対して二峰性の分布であった。MRM は 0.0016 から 0.025 $\mu\text{g/ml}$ と 0.20 $\mu\text{g/ml}$ から 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、エリスロマイシンやスピラマイシンのような高度耐性菌は認められず、供試した MLs の中では感受性菌ならびに耐性菌ともに最も優れた抗菌力を示した^{5,13)}。

MS は 139 株が分離され、供試した MLs に対して一峰性の分布であった。MRM は 0.05 $\mu\text{g/ml}$ から 0.78 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、良好な抗菌力を示した^{5,13)}。

HPG は 49 株が分離され、供試した MLs に対して一峰性の分布を示し MRM は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ から 6.25 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、最も優れた抗菌力を示した^{5,13)}。

3) 殺菌作用および作用機序

MG KP-13株を用いて、1 MIC 濃度を添加した培地での菌数の推移を経時的に調査し、その結果を図 2 に示した。MRM は対照薬剤であるタイロシン (TS) に比べ低濃度 (0.0032 $\mu\text{g/ml}$) でかつ短時間 (44時間) で検出限界以下となり、強い増殖抑制効果を示し、MG に対し殺菌的作用を有していた⁸⁾。

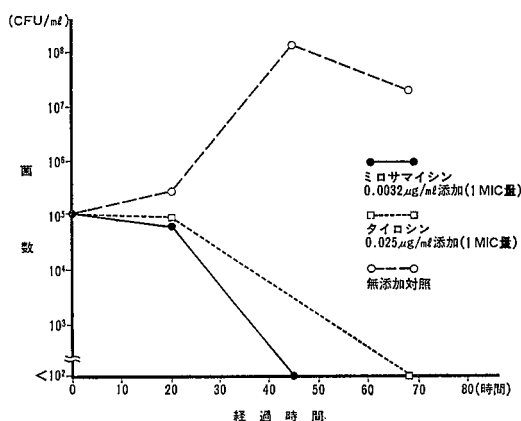


図 2 ミロサマイシンの *M. gallisepticum* に対する増殖抑制効果 (Hattori et al.⁸⁾, 鎌田ほか⁵⁾)

MRM の細菌に対する作用機序を調査するために、ポリウリジル酸依存ポリフェニルアラニン合成無細胞合成系を使用し MRM の蛋白質合成阻害を検討したところ、MRM がアミノ酸のポリペプチドへの取込み阻害効果を示した。このことから MRM の作用機序は他の MLs と同様に蛋白質合成阻害によると考えられた。

表 8 ミロサマイシンのマウス実験感染治療効果試験成績
(Hattori et al.³⁾, 鎌田ほか⁵⁾)

菌 株	薬 剤 名	ED ₅₀ (50%有効量: mg/kg)
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	ミロサマイシン	40.6
	タイロシン	263.0
<i>Streptococcus pyogenes</i> S23	ミロサマイシン	37.8
	タイロシン	246.0

4) マウス実験感染における感染防御効果

感染菌株は *S. aureus* Smith, *Streptococcus pyogenes* S23 を使用し, マウス 腹腔内に前者は 5×10^5 CFU/マウス, 後者は 2×10^8 CFU/マウスを投与し, 感染7日後の生存マウス数より Van der Waerden 法で ED₅₀ を算出した。その結果を表 8 に示した。MRM の ED₅₀ 値は *S. aureus* を感染菌にした場合, 40.6 mg/kg であり, また, *S. pyogenes* を感染菌にした場合, 37.8 mg/kg であり, 対照薬剤として用いた TS に比べいづれも約 1/6 量で有効であり, 優れた治療効果を認めた³⁾。

5) 耐性獲得

MRM は *S. aureus* の誘導型耐性菌 B 型および C 型菌に対して耐性誘導能は有していなかった。また, 試験管内継代法により *S. aureus*, *S. pyogenes*, MG および MS について MRM に対する耐性獲得試験を実施した。その結果, MRM はいずれの菌株に対しても高度な耐性獲得率は示さなかった。

7. 吸収, 分布, 代謝, 排泄

1) 吸 収

ブロイラーに MRM および TS を 50 mg/kg・体重経口投与し, 経時的に採血を行い血漿中の薬剤濃度を測定した。図 3 に示すように MRM および TS 投与とも投与後1時間目に最高濃度に達した。各測定時間において MRM 血漿中濃度は TS に比べ高い濃度で推移し, いずれの時間においても 5% 以下 (*t*-検定) の危険率で有意差が認められた。また, 血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) において MRM 投与は TS 投与の約 5

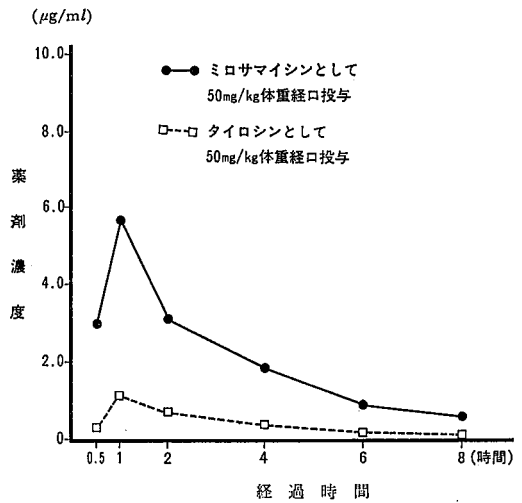


図 3 ミロサマイシンと酒石酸タイロシンの鶏血中濃度の比較 (Hattori et al.³⁾)

倍の値であり, AUC においても 5% 以下の危険率で有意差が認められた³⁾。

2) 分 布

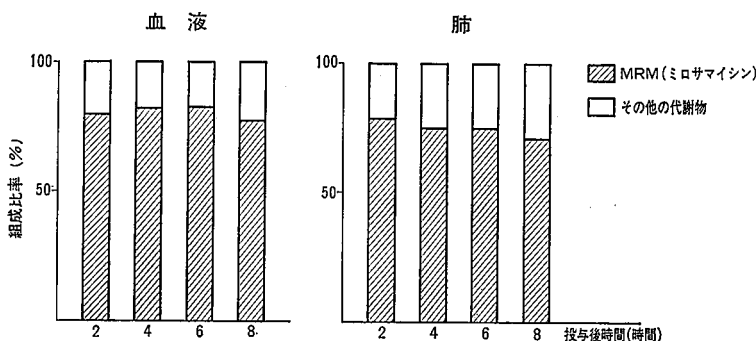
ブロイラーに MRM および TS を 50 mg/kg・体重経口投与し, 投与1時間後の血清ならびに臓器内の薬剤濃度を測定した。表 9 に示すように MRM は TS に比較し高い濃度で鶏体内に分布しており, その比率は血清で 6.5 倍, 肺で 4.0 倍, 肝臓で 2.1 倍, 腎臓で 2.8 倍と高く, いずれの臓器も 5% 以下の危険率で有意差が認められた³⁾。

以上の吸収, 分布試験の結果から鶏に対する MRM の体内利用性は良好であり, また血清中濃度より肺濃度が明らかに高いことから, CRD や IC のような呼吸器病に対して有用な薬剤であることが判明した。

表 9 ミロサマイシンならびにタイロシンの経口投与鶏^{a)}における臓器内濃度の比較 (投与1時間後)
(Hattori et al.³⁾)

供試薬剤	臓器内濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$ or g)					
	血清	心臓	肺臓	肝臓	腎臓	脾臓
ミロサマイシンとして 50 mg/kg 体重経口投与	4.24*	7.25*	9.40*	27.87*	21.01*	13.56*
タイロシンとして 50 mg/kg 体重経口投与	0.65	3.57	2.35	13.23	7.49	2.36
ミロサマイシン/タイロシン濃度比	6.5	2.0	4.0	2.1	2.8	5.7

* 5% 以下の危険率で有意差あり

^{a)} 供試鶏: プロイラー, 8週齢, $n=5$ 図 4 鶏^{a)}の生体内での MRM の組成比の経時的推移 (HPLC 法)^{a)} 供試鶏: プロイラー, 8週齢, $n=3$

投与方法: 20 mg (重量)/kg 体重 強制経口投与

(注) 未発表: 東洋醸造 (1986)

3) 代謝

プロイラーに MRM を 20 mg/kg・体重 経口投与し、血液および肺の MRM ならびに代謝物を高速液体クロマトグラフ法 (HPLC 法) で経時的に測定した。図 4 に示すように測定したいずれの時間においても、血液および肺ともに約 80% の高い割合で未変化体の MRM が主成分として存在していた。したがって、MRM は鶏体内ではほとんど代謝されないことが判明した。一般的に MLs 薬剤は体内で代謝され易いとされているが、MRM は代謝を受けにくいいため体内で抗菌力を減ずることなく優れた効果を発揮できると考えられた。

4) 排泄

排泄試験は人工肛門設着鶏に胆管瘻管を装着し、MRM を 10 mg/kg・体重 となるように静脈内投与し実施した。その結果、吸収された MRM は主に胆汁と尿を介して速やかに排泄されること

が判明した。

8. 臨床試験

1) MG 人工感染治療試験

MRM 飼料添加剤および飲水投与剤の 2 製剤で実施した。感染菌は飼料添加剤は MG KP-13 株、飲水添加剤は MG S6 株を用い、菌量は 10^8 CFU/ml を伝染性気管支炎 (IB) 生ワクチンとともに鼻腔内に接種した。投薬は接種後直ちに開始し、接種後 1 週および 2 週に臨床症状、気嚢病変を観察し、気管、気嚢、肺から MG を分離した。また、MG および MS 凝集診断液を用い抗体価も測定した。効果判定は各検査項目の 1 週および 2 週目の成績を合計し、統計的に総合判定した。

表 10 に飼料添加剤の試験結果を示した。MRM 100 ppm および 200 ppm 投薬区は検査したすべての項目で無投薬対照区と 1% の危険率で有意差

表 10 *M. gallisepticum* (MG) 人工感染鶏に対するミロサマイシン飼料添加剤の治療効果
(Yamamoto et al.¹³⁾)

試験区	菌接種後 1 週および 2 週目の成績				
	有効成分投薬量 および投薬日数	臨床症状 保有羽数	気嚢病変 保有羽数	気嚢病変値	MG 分離
ミロサマイシン飼料添加剤投与区	100 ppm, 5 日間	0/40 ^{**a)}	0/20 ^{**}	0.0 ^{**}	1/20 ^{**}
	200 ppm, 5 日間	0/40 ^{**}	0/20 ^{**}	0.0 ^{**}	0/20 ^{**}
タイロシン飼料添加剤投与区	550 ppm, 5 日間	2/40 ^{**}	4/20 [*]	0.25 ^{**}	3/20 ^{**}
無投薬対照区	—	21/40	13/20	1.1	17/20
非感染対照区	—	0/40 ^{**}	0/20 ^{**}	0.0 ^{**}	0/20 ^{**}

a) 陽性羽数/検査羽数

* 無投薬対照区に対して 5% 以下の危険率で有意差あり。

** 無投薬対照区に対して 1% 以下の危険率で有意差あり。

表 11 *M. gallisepticum* (MG) 人工感染鶏に対するミロサマイシン飲水投与剤の治療効果
(Yamamoto et al.¹³⁾)

試験区	菌接種後 1 週および 2 週目の成績				
	有効成分投薬量 および投薬日数	臨床症状 保有羽数	気嚢病変 保有羽数	気嚢病変値	MG 分離
ミロサマイシン飲水投与剤投与区	50 ppm, 3 日間	0/20 ^{**a)}	2/20 ^{**}	0.1 ^{**}	2/20 ^{**}
	100 ppm, 3 日間	0/20 ^{**}	0/20 ^{**}	0.0 ^{**}	0/20 ^{**}
タイロシン飲水投与剤投与区	500 ppm, 3 日間	3/20 ^{**}	5/20 [*]	0.3 ^{**}	3/20 ^{**}
無投薬対照区	—	14/20	15/20	1.8	18/20
非感染対照区	—	0/20 ^{**}	0/20 ^{**}	0.0 ^{**}	0/20 ^{**}

a) 陽性羽数/検査羽数

* 無投薬対照区に対して 5% 以下の危険率で有意差あり。

** 無投薬対照区に対して 1% 以下の危険率で有意差あり。

を認め、優れた治療効果を示した。また MRM 投薬区は対照薬剤である TS550 ppm 投薬区に比べ、各検査項目とも陽性羽数は少なく効果は優れていた¹³⁾。

表11に飲水投与剤の試験結果を示した。いずれの投薬区も各検査項目で無投薬対照区との間で統計的に有意差があり、治療効果を認めた。特に MRM 100 ppm 投薬区はすべての検査項目で陽性鶏を認めず、TS 500 ppm 投薬区より優れた治療効果を示した。なお、両試験ともに、MG および MS 急速凝集抗体価においても投薬区は陽性鶏を認めず、無投薬対照区との間で有意差を認めた⁵⁾。

2) 野外臨床試験

臨床試験は CRD および IC 罹患鶏を用い、MRM 飼料添加剤は日本国内 5 カ所、MRM 飲水投与剤は 3 カ所で実施した。

試験方法は、まず、疫学調査で鶏群を選定し、

臨床症状、MG、MS 急速凝集反応、菌分離および剖検を行い、マイコプラズマ感染群であることを診断し、試験群を決定した。投薬は診断の翌日より開始し、投薬開始 1 週後および 2 週後に MG 人工感染試験と同じ検査を実施し、効果判定も同様に統計的に処理して総合判定した。なお、飼料添加剤の試験は MRM として 100 および 200 ppm、ならびに TS として 550 ppm となるように飼料添加して 3 日間給与した。また飲水投与剤の試験は MRM として 50 および 100 ppm、ならびに TS として 500 ppm となるように飲水添加して 3 日間給与した。

表 12 は、5 カ所の機関で総数 7,970 羽を用いて実施された飼料添加剤による治療試験の総合成績である。それらの感染様式は MG 単独感染 1 カ所、MS 単独感染 1 カ所、MG、MS 混合感染 1 カ所ならびに MG、MS、HPG 混合感染 2 カ所であった。総合成績において、MRM 100 ppm

表 12 ミロサマイシン飼料添加剤の臨床試験総合成績（総供試羽数：7,970羽）

(Yamamoto et al.¹³²)

供 試 薬 剤		ミロサマイシン 飼料添加剤投与区	タイロシン 飼料添加剤投与区	無投薬対照区
有効成分投薬量および投薬日数		100 ppm, 3日間	550 ppm, 3日間	—
臨床症状保有率	投 薬 前		58.3%	
	投薬開始後1および2週	4.0%*	19.0%	78.0%
気嚢病変保有率	投 薬 前		84.4%	
	投薬開始後1および2週	11.1%*	35.6%	95.6%
平均気嚢病変値	投 薬 前		1.14	
	投薬開始後1および2週	0.10*	0.41	1.81
マイコプラズマ菌分離率	投 薬 前		57.8%	
	投薬開始後1および2週	11.1%*	30.0%	75.6%
<i>H. paragallinarum</i> 分離率	投 薬 前		20%	
	投薬開始後1および2週	7.5%*	25.0%	42.5%

* ミロサマイシン飼料添加剤投与区はタイロシン飼料添加剤投与区および無投薬対照区に対して1%以下の危険率で有意差あり。

表 13 ミロサマイシン飼料添加剤の臨床試験（*M. synoviae* 感染例）

供 試 薬 剤		ミロサマイシン 飼料添加剤投与区	タイロシン 飼料添加剤投与区	無投薬対照区
有効成分投薬量および投薬日数		100 ppm, 3日間	550 ppm, 3日間	—
臨床症状保有率	投 薬 前		65%	
	投薬開始後1および2週	0%**	30%*	70%
気嚢病変保有率	投 薬 前		85%	
	投薬開始後1および2週	20%**	55%**	100%
平均気嚢病変値	投 薬 前		0.95	
	投薬開始後1および2週	0.2%**	0.6%**	0.75
マイコプラズマ菌分離率	投 薬 前		35%	
	投薬開始後1および2週	10%*	15%*	50%

* 無投薬対照区に対して5%以下の危険率で有意差あり。

** 無投薬対照区に対して1%以下の危険率で有意差あり。

(注) 未発表, 宮崎大学, 1986

投薬区はすべての項目で無投薬対照区および TS 550 ppm 投薬区と1%の危険率で有意差を認め、CRD および IC の治療に有効であった。一方、TS 550 ppm 投薬区は CRD には有効であったが、HPG 分離羽数で無投薬対照区と有意差を認めず、IC には無効であった¹³²。

表13はMS感染症に対する飼料添加による治療成績であり、MSに対してMRM 100 ppm投薬区はTS 550 ppm投薬区よりすべての検査項目で低い値を示し、治療効果は優れていた。ま

た、その他の症例においても、MRM 100 ppm投薬区はTS 550 ppm投薬区よりいずれも優れた治療効果を示した。

表14は3カ所の機関で総数6,957羽を用いて実施された飲水投与剤による治療試験の総合成績である。それらの感染様式は、MG、MS混合感染1カ所、MG、HPG混合感染1カ所、MG、MS、HPG混合感染1カ所であった。総合成績においてMRM 50 ppmおよび100 ppm投薬区はすべての検査項目で無投薬対照区と有意差を認め、

表 14 ミロサマイシン飲水投与剤の臨床試験総合成績 (総供試羽数: 6,957羽)

(鎌田ほか⁵⁾)

供 試 薬 剤		ミロサマイシン 飲水投与剤投与区	タイロシン 飲水投与剤投与区	無 投 薬 対 照 区	
有効成分投薬量および投薬日数		50 ppm 3 日間	100 ppm 3 日間	500 ppm 3 日間	—
臨床症状保有率	投 薬 前	82.5%			
	投薬開始後1および2週	33.3%	8.3%	55.0%	91.7%
気嚢病変保有率	投 薬 前	83.3%			
	投薬開始後1および2週	45.0%	15.0%	50.0%	100%
平均気嚢病変値	投 薬 前	1.57			
	投薬開始後1および2週	0.68	0.15	1.10	2.53
マイコプラズマ菌分離率	投 薬 前	63.3%			
	投薬開始後1および2週	37.5%	7.5%	45.0%	100.0%
<i>H. paragallinarum</i> 分離率	投 薬 前	45.0%			
	投薬開始後1および2週	30.0%	3.3%	53.3%	80.0%

- (注) 1. ミロサマイシン 50 ppm および 100 ppm 投与区は無投薬対照区に比較して1%以下の危険率で有意差あり。
 2. ミロサマイシン 100 ppm 投与区はタイロシン飲水添加剤投与区に比較して1%以下の危険率で有意差あり。
 3. ミロサマイシン 50 ppm 投与区はタイロシン飲水添加剤投与区に比較して臨床症状において5%以下の危険率で有意差あり。

表 15 ミロサマイシン飲水投与剤の臨床試験 (*M. gallisepticum* および *H. paragallinarum* 混合感染症例)

供 試 薬 剤		ミロサマイシン 飲水投与剤投与区	タイロシン 飲水投与剤投与区	無 投 薬 対 照 区	
有効成分投薬量および投薬日数		50 ppm 3 日間	100 ppm 3 日間	500 ppm 3 日間	—
臨床症状保有率	投 薬 前	80%			
	投薬開始後1および2週	15%**	15%**	75%	100%
気嚢病変保有率	投 薬 前	80%			
	投薬開始後1および2週	30%**	20%**	80%	100%
平均気嚢病変値	投 薬 前	2.1			
	投薬開始後1および2週	0.5**	0.2**	1.9*	3.1
マイコプラズマ菌分離率	投 薬 前	50%			
	投薬開始後1および2週	20%**	10%**	30%	100%
<i>H. paragallinarum</i> 分離率	投 薬 前	50%			
	投薬開始後1および2週	20%**	0%**	70%	90%

* 無投薬対照区に対して5%以下の危険率で有意差あり

** 無投薬対照区に対して1%以下の危険率で有意差あり (注) 未発表, 宮崎大学 1987

CRD および IC の治療に有効と判定された。特に MRM 100 ppm 投薬区はすべての検査項目で TS 500 ppm 投薬区との間に有意差を認め、より優れた治療効果を示した⁵⁾。

表15は MG および HPG 混合感染症に対する治療成績である。この症例は CRD と IC の合併

症のため、投薬前の臨床症状保有率が80%と高く、かつ激しい症状であった。MRM 50 ppm および 100 ppm 投薬区は臨床症状、HPG 菌分離において投薬前と比べ顕著な減少を示し、無投薬対照区および TS 500 ppm 投薬区との間で有意差を認め、IC に対して有効であった。また、その

他の検査項目でも無投薬対照区と有意差を認め、CRDにも明らかに有効であった。一方、TS 500 ppm 投薬区は臨床症状、HPG 菌分離で無投薬対照区と有意差を認めず、ICには無効であった。また、その他の症例においてもMRM 50および100 ppm 投薬区は良好な治療効果を示した。

9. 残留性試験

MRM 飼料添加剤における残留性試験は、4週齢のブロイラーにMRMとして常用量である100 ppm, その2倍量である200 ppmを飼料添加して5日間連続投与した後、経時的にと殺し、生物学的検定法で分析した。その結果を表16に示した。休薬後、肝臓、小腸、腎臓で残留が認められ、最も残留が長く認められた肝臓においても常用量では休薬3日目に、2倍量では休薬5日目には検出限界以下となった⁹⁾。

MRM 飲水投与剤における残留性試験は6週齢のブロイラーにMRMとして最高常用量である100 ppm, その2倍量である200 ppmを飲水添加して3日間連続投与した後、経時的にと殺し、生

表 16 ミロサマイシン飼料添加剤の残留試験成績 (5日間投薬) (Hattori et al.⁹⁾)

試料	投与量 ^{a)} (ppm)	休薬後の日数					
		0	1	3	5	7	10
肝臓	100	+ ^{b)}	+	-	-	-	-
	200	+	+	+	-	-	-
腎臓	100	+	-	-	-	-	-
	200	+	+	-	-	-	-
筋肉	100	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-
脂肪	100	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-
皮膚	100	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-
小腸	100	+	-	-	-	-	-
	200	+	+	-	-	-	-
血液	100	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-

^{a)} 100 ppm : 常用量, 200 ppm : 2倍量

^{b)} + : 検出, - : 検出限界以下
 検出限界 : 0.04 μg/g または ml
 空欄 : 実施せず

表 17 ミロサマイシン飲水投与剤の残留試験成績 (6日間投薬) (鎌田ほか⁵⁾)

試料	投与量 ^{a)} (ppm)	休薬後の日数					
		0	1	3	5	7	10
肝臓	100	+ ^{b)}	+	+	-	-	-
	200	+	+	+	+	-	-
腎臓	100	+	+	-	-	-	-
	200	+	+	+	-	-	-
筋肉	100	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-
脂肪	100	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-
小腸	100	+	+	-	-	-	-
	200	+	+	-	-	-	-
血液	100	-	-	-	-	-	-
	200	+	-	-	-	-	-

^{a)} 100 ppm : 最高常用量, 200 ppm : 2倍量

^{b)} + : 検出, - : 検出限界以下
 検出限界 : 0.04 μg/g または ml

物学的検定法で分析した。その結果を表17に示した。休薬後、肝臓、小腸、腎臓で残留が認められ、最も残留が長く認められた肝臓においても常用量では休薬7日目には検出限界以下となった⁵⁾。

(参考)

MRMの製剤名と承認事項および使用上の注意は表18の通りである。

文 献

- 1) 古橋忠和ほか. 1989. Miporamycin のラットにおける胎仔の器官形成期投与試験. Jap. J. Antibiot. 42 : 2472-2487.
- 2) Hayashi, M. et al. 1980. Structures of mycinamycin. J.C.S., chem. Commun: 119-121.
- 3) Hattori, Y., et al. 1988. Myplabin® (miporamycin) A New Macrolide Antibiotic I. Antimicrobial Activity, Safety and Bioavailability of Chickens, Proceedings XVIII World's Poultry Congress: 1259-1261.
- 4) Hazelden, K. P. et al. 1989. Miporamycin のウサギにおける胎仔の器官形成期経口投与試験. Jap. J. Antibiot., 42 : 2488-2499.

表 18 製剤名と承認事項および使用上の注意等

剤 型	飼 料 添 加 剤	飲 水 投 与 剤
製 剤 名	マイプラビン® プレミックス20	マイプラビン® 散
製造所名	東 洋 醸 造 株 式 有 限 公 司	
成分・含量	本品は1g中, ミロサマイシン(ミポラマイシン) 20mg(力価)含有する。	本品は1g中, ミロサマイシン(ミポラマイシン) 100mg(力価)を含有するオレンジ色の散剤である。
効能・効果	[有効菌種] マイコプラズマ, ヘモフィルス・パラガリナルム 本剤感性の次の菌種: ブドウ球菌, レンサ球菌 [適応症] 鶏: 呼吸器性マイコプラズマ病, 伝染性コリーザ	
用法・用量	通常, 飼料1t 当りミロサマイシン(ミポラマイシン)として下記の量を均一に混じて3日間経口投与する。 鶏(産卵鶏を除く): 100g(力価) [本品として5kg]	通常, 飲水1ℓ 当りミロサマイシン(ミポラマイシン)として下記の量を均一に混じて3日間経口投与する。 鶏(産卵鶏を除く): 50mg ~ 100mg(力価) [本品として0.5g~1.0g] ※本剤50gを50ℓ~100ℓの飲水に溶解すれば上記の用量になる。
使用上の注意	1. 本剤は定められた用法・用量を厳守すること。 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わないこと。 鶏: 5日間 3. 本剤は産卵鶏(食用に供するために出荷する卵を産卵している鶏をいう)には使用しないこと。 注意—獣医師の処方せん指示により使用すること。	1. 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。 鶏: 7日間 2. 本剤は産卵鶏(食用に供するために出荷する卵を産卵している鶏をいう)には使用しないこと。 注意—獣医師の処方せん・指示により使用すること。
取扱い上の注意	1. 本剤の使用に際しては, 手袋, マスク等を使用すること。	1. 本剤の使用に際しては, 手袋, マスク等を使用すること。 2. 水に溶解後, 直射日光下での使用は避けること。 3. 開封後は吸湿しないように, 出来るだけ早く使用すること。
有効期間	国家検定合格の翌月から36か月(室温保存)	

- 5) 鎌田信一ほか. 1989. 新マクロライド系抗生物質ミポラマイシン飲水添加剤の鶏呼吸器性マイコプラズマ病および伝染性コリーザに対する治療効果. 第107回日本獣医学会講演要旨, 172.
- 6) Laber, G. and Schütze, E. 1979. Tiamulinein neues Antibiotikum beim Geflügel. Wien. Tierärztl. Monatschr. 66: 111-116.
- 7) 本山径子ほか. 1989. Miporamycin のラットにお

- ける28日間混餌投与と亜急性毒性試験. Jap. J. Antibiot., 42: 2422-2446.
- 8) 本山径子ほか. 1989. Miporamycin のラットにおける6か月間混餌投与と慢性毒性試験. Jap. J. Antibiot., 42: 2447-2471.
- 9) 中野雄司ほか. 1989. Miporamycin の抗原性及び皮膚感作性試験. Jap. J. Antibiot., 42: 2500-2505.

- 10) 佐々木真敬ほか. 1989. Miporamycin 及びその分解物，代謝物のマウス，ラットにおける急性毒性試験。Jap. J. Antibiot., 42 : 2412-2421.
- 11) Sato, S. et al. 1980. Mycinamicins new macrolide antibiotics. I. Taxonomy, production, isolation, characterization and properties. J. Antibiotics, 33, 364~376.
- 12) 園明ほか. 1989. Miporamycin の変異原性試験。Jap. J. Antibiot., 42 : 2506-2512.
- 13) Yamamoto, K. et al. 1988. Myplabin® (miporamycin), A New Macrolide Antibiotic II. Clinical Effects of Myplabin® Premix against Respiratory Mycoplasmosis and Infectious Coryza in Chickens, Proceedings XVIII World's Poultry Congress, 1256-1258.

Mirosamicin (Syn. Miporamycin)

Norio WATANABE

(TOYO JOZO Co., Ltd)

Mirosamicin (MRM), a new macrolide antibiotic, discovered in 1978 from filtrates of cultures of *Micromonospora griseorubida* sp. nov. at Research Laboratories of Toyo Jozo Co., Ltd.

World Health Organization recommended international nonproprietary name for the active substance of the drug as Mirosamicin, which had been used as generic name, Miporamycin given as Japanese Accepted Name (JAN) until the recommendation sequently, JAN changed the generic name to Mirosamicin on January 1990 as well.

MRM was shown to be active against Gram-positive bacteria and against *Mycoplasma*, particularly with profound activity against *Mycoplasma gallisepticum* (MG). The effect was bactericidal.

The 50% lethal dose (LD₅₀) of MRM was >2,500 mg/kg for male and female mice, and >2,000 mg/kg for male and female rats. Rats were dosed P.O. with MRM at concentration of 20,000 ppm in feed for 28 days and 6 months. There were no signs of toxic reactions to treatment or any adverse toxicologic findings among males and females.

Teratogenicity tests, mutagenicity, antigenicity and local irritation showed no effect of MRM. Safety tests of MRM on broiler, layer replacement chickens, flocks of laying hen, flocks of breeding stock were given MRM alone or in combination with a polyether antibiotic (monensin) in feed and water. This result on chickens reveal no adverse effects.

The bioavailability of MRM was compared with that of tylosin (TS) in chickens at equal dose levels. Plasma MRM concentration data revealed the peak plasma concentration (C_{max}) and area under the curve (AUC) values more than five times as great as those of TS, and yielded high drug concentration in the lungs and other tissues as well as in the plasma. Absorbed MRM was scarcely metabolized, and eliminated chiefly via bile and urine. MRM produced greater therapeutic effects than TS in mice experimentally infected with *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus pyogenes* and in chickens artificially infected with MG.

Clinical trials of MRM in feed at five institutions and in water at three institutions were performed to assess its therapeutic usefulness in mycoplasmosis (CPD) and infectious coryza (IC) of chicken.

Therapeutic responses to the treatment were rated according to incidence of bird with clinical signs, number of birds with positive MG or *Haemophilus paragallinarum* (HPG) isolation, and incidence of birds with air-sac lesions. Integrated evaluation of the efficacy of the drug was made by statistical analysis. The treatment with MRM at 100 ppm for 3 days in feed and with at 50 ppm for 3 days in water were obviously effective against CRD and also against IC.

Tests for drug residue in chicken performed at 100 ppm (usual dosage) of MRM in feed and in water orally for 3 days revealed that the concentration of drug in tissue became lower than the assay limit ($<0.04 \mu\text{g/ml}$) after withdrawal period of 3 days for in feed and of 5 days for in water.

討 論 (座長: 佐藤静夫・全農家衛研)

質問 (井上 勇, 日本大学): AIV と病原菌に対する抗菌力がほぼ同程度なのに投与量がなぜ異なるのか, 見解を聞きたい。

答 (渡辺典夫, 東洋醸造(株)): 一般にマクロライド系抗生物質は体内で代謝されやすい。ミノサマイシンはスライドで示しましたように体内でほとんど代謝を受けない性質を有しています。代謝物は一般的に抗菌力が低下するため, 代謝されやすい薬剤は必然的に投薬量が多くなります。

ミノサマイシンは生体内で代謝を受けにくいいため, TS や AIV より少ない投薬量で有効であったのだと考えています。

質問 (吉村昌吾)

ミノサマイシンの臨床試験において3日間投与後の菌の消長について完全に殺滅するものかどうか。

答 (渡辺典夫, 東洋醸造(株)): ミロサマイシンの臨床試験においては投薬後2週目において菌をほぼ殺滅しています。一般に野外の *Mycoplasma* および *Haemophilus* の常在・汚染農場では投薬による菌殺滅後に再び水平感染がおこりうる可能性も考えられるため, 間歇投薬プログラムが必要と考えられるが水平感染の可能性がない農場では確実におさえることができると考えています。

質問 (橋本信之, 山之内製薬(株)): 飼料添加と飲水投与との濃度変化の設定, 理由は何を基準としているのか。

答 (渡辺典夫, 東洋醸造(株)): 投薬量は, まず適応疾

病の原因菌に対する人工感染試験で効果が期待できる用量, 日数を設定します。そしてその期待できる用量, 日数を基準に用量, 日数を段階的に変えた試験区をいくつか設定し, 野外臨床例を用いて, 投与量設定試験を実施し決定します。

飼料添加と飲水投与の投薬量の違いは飼料摂取量はほとんど季節を問わず一定であるが, 飲水量は季節, 温度変化により変動するので幅があります。

質問 (井上 勇, 日本大学): MG 標準株に対する AIV の MIC 値を測定していれば教えてほしい。

答 (渡辺典夫, 東洋醸造(株)): 感受性株, 耐性株とも AIV とその代謝物である 3-ATS について実施しており, その MIC 値は以下の通りです。

菌株	<i>M. gallisepticum</i> に対する抗菌力				
	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}				
	MRM	TS	AIV	3-ATS	EM
KP-13	0.0032	0.0125	0.025	0.0125	0.025
S-6	0.0032	0.025	0.025	0.0125	0.025
C5PT	0.78	1.56	0.2	3.13	>100
S-11-P	0.39	0.78	0.2	3.13	>100

^{a)} MRM: ミロサマイシン, TS: タイロシン, AIV: 酒石酸酢酸イソ吉草酸タイロシン, 3-ATS: 3-アセチルタイロシン, EM: エリスロマイシン

質問 (井上 勇, 日本大学): 野外試験で Secondary agent の検索はされていますか。

答（渡辺典夫，東洋醸造㈱）：血液加寒天培地，DHL寒天培地を用い，*Mycoplasma* や *Haemophilus* 以外の一般細菌の分離を試みました。8カ所すべての症例で一定の傾向が認められた訳ではありませんが *Staphylococcus* や *Streptococcus* のようなグラム陽性菌の減少が認められました。

また *Haemophilus paragallinarum* との混合感染例では一部グラム陰性菌の減少も認められました。

質問（佐藤静夫，全農家衛研）：今年からMGのワクチンが日本でも使用できる見込みである。この新しい情勢に対して薬剤の使用はどのような影響がありますか。

答（渡辺典夫，東洋醸造㈱）：発売されるMGワクチンは産卵鶏の産卵率低下の防止を目的としたもので，MGの感染を完全に防御するものではありません。さらに当然ながらMS感染に対しては効果を発揮することはありません。従って，種鶏のマイコプラズマ対策には不十分な面があると考えられます。また，呼吸器病は，*Mycoplasma* だけでなく *Haemophilus* などの細菌が複合的に感染して発症します。このような疾病を予防，治療するためには，*Mycoplasma* ばかりでなく他の細菌にも抗菌力があるミロサマイシンのような薬剤は不可欠だと認識しています。