抗結核劑 Tuberactinomycin-N의 Capreomycin과 Kanamycin에 대한 交叉耐性 試驗

大韓結核協會 結核研究院

裴 吉 漢 · 金 尙 材

=Abstract=

Crossresistance between Tuberactinomycin-N, Capreomycin and Kanamycin of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients with pulmonary tuberculosis

Gill-Han Bai and Sang-Jae Kim

Korean Institute of Tuberculosis, Korean National Tuberculosis Association

Three hundred and thirty three strains of *M. tuberculosis* isolated from patients with pulmonary tuberculosis who had no history of chemotherapy were completely inhibited at 50 mcg/ml of Tuberactinomycin-N and 98% or more strains, at 25 mcg/ml in Löwenstein-Jensen medium.

Of 183 strains from patients treated with KM for more than 6 months, 63 strains(34.4%) were resistant at 100 mcg/ml of KM. Of those KM resistant strains, 53(84.1%) were resistant to CPM while only 3 strains(4.8%) were resistant to TUM-N. The drug susceptibility pattern of 2,759 strains from patients whose chemotherapy history were not known indicated considerable cross-resistance between TUM-N and CPM and one-way cross-resistance from KM to CPM, meanwhile cross-resistance from TUM-N or CPM to KM were not significant.

序 論

Tuberactinomycin-N은 토양으로부터分離된 *Streptomyces griseovorticillatus*를 nitroguanidine으로處理하여 얻은 突然變異菌株로부터生産되는 水溶性, 鹽基性 peptide系 抗生劑로서, 이미 試驗管内 試驗이나 動物 및 臨床實驗을 거쳐 抗結核劑로서 널리 사용되고 있다^{1~4)}. 우리나라에서도 1980年代以後부터 再治療藥劑의 하나로 사용되어 왔다. 菌의 ribosome에結合하여 蛋白合成을 방해하는 抗結核抗生劑인 amino-glycoiside 및 polypeptide 抗生劑는 시험관내 실험을 통해 교차내성이 있음이 밝혀진 바 있으므로, 그러한 交叉耐性이 臨床的 分離菌에서는 TUM-N과 어떻게 나타나는지를 밝히며, 아울러 TUM-N에 대한 藥劑感受性檢査時의 判定基準濃度を 설정기 위해 本試驗을 실

시하였다.

1. 使用菌株—모든 抗結核劑를 사용한 經驗이 없는 肺結核患者로부터 分離한 菌 333株와 Tuberactinomycin-N(TUM-N), Capreomycin(CPM), Viomycin(VM), Streptomycin(SM)의 치료력은 없으나 KM을 포함한 다른 抗結核劑를 6個月以上 使用한 結核患者로부터 分離된 183株, TUM-N을 포함한 다른 항결핵제의 治療력이 불분명한 폐결핵환자로부터 유래한 菌 2,759株等, 총 3,275株의 한국인 폐결핵환자로부터 分離된 *M. tuberculosis*를 시험균주로 사용하였다.

2. 使用培地와 各 藥劑別 試驗濃度—Löwenstein Jensen(L-J) 계란배지를 利用, 응고전에 培地 ml當 各 藥劑를 表示된 力價에 따라 다음과 같은 농도로 함유시켰다.

Kanamycin(KM)- 25, 50, 100 mcg

Capreomycin(CPM)- 25, 50, 100 mcg
Tuberactinomycin-N(TUM-N)- 12.5, 25, 50, 100 mcg

3. 接種菌量과 感受性檢査判定 方法—試驗菌의 菌液을 MacFarland #No. 1으로 조정한 뒤, 27 SWG를 利用, 최종접종균량이 10^{-8} mg이 되도록 희석하여 接種하였다. 37°C에 4週 배양 후 대조배지상에 증분한 수의 균이 발육(2,000~10,000개)하고, 藥劑含有 培地上 20個以上 菌集落이 發育하면 그 藥劑 濃度에 대해 耐性으로 판정하였다.

結果 및 考察

1. TUM-N의 L-J培地上 菌發育抑制濃度-Table 1에서 보는 바와 같이 抗結核劑의 治療歴이 없는 結核患者로부터 分離된 *M. tuberculosis* 333株의 98%(328

株)以上이 TUM-N 25 mcg/ml含有 배지에서 균발육이 억제됨을 관찰할 수 있었는데, 既報告된 여러가지 시험관내 抗菌力 시험결과^{7,8,15~17)}나 TUM-N의 耐性樣狀을 감안하면¹⁸⁾, TUM-N 50 mcg/ml을 내성판정 기준농도로 설정함이 적절한 것으로 생각되었다.

2. KM과 TUM-N 및 CPM間 交叉耐性—TUM-N이나 VM 또는 CPM은 모두 streptomyces로부터 얻어지는 peptide系 抗生物質이며, 生物學的 活性, 아미노酸 組成, 物理化學의 特性 등이 매우 유사한 약제들이다. 더구나 VM이 TUM-B와 同一 物質인 것으로 밝혀짐으로써 TUM-N도 既存의 VM과 거의 同一한 抗結核劑로 간주되며, 이들 약제간의 交叉내성은 당연한 것으로 생각되어진다. 뿐만 아니라, 이 藥劑들은 毒作用 양상이 aminoglycoside系 抗生劑와 흡사할 뿐 아니라 作用機轉도 aminoglycoside系 藥劑처럼 菌의 ribosome과 結合, 단백질성을 저지함으로써 抗菌力을

Table 1. Susceptibility patterns of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients without previous history of antituberculous chemotherapy on Löwenstein-Jensen medium containing the various concentrations of TUM-N.

TUM-N(mcg/ml)	<12.5	12.5	25	50	100
Strains tested					
333(100.0%)	239*(71.8%)	89*(26.7%)	5*(1.5%)	0	0

* Asterisk indicates numbers of strains grown at the corresponding concentrations of TUM-N.

Table 2. Susceptibility patterns to KM, TUM-N and CPM of strains from patients treated with KM more than 6 months.

KM (mcg/ml)		<25	25	50	100	Total
TUM-N or CPM						
	<12.5	98(53.6)	4(2.2)	1(0.5)	42(23.0)	145(79.2)
TUM-N	12.5	11(6.0)	3(1.6)	1(0.5)	16(8.7)	31(16.9)
(mg/ml)	25	1(0.5)	0	0	2(1.1)	3(1.6)
	50	0	1(0.5)	0	2(1.1)	3(1.6)
	100	0	0	0	1(0.5)	1(0.5)
Total		110(60.1)	8(4.4)	2(1.1)	63(34.4)	183(100.0)
	<25	105(57.4)	4(2.2)	1(0.5)	7(3.8)	117(63.9)
CPM	25	4(2.2)	3(1.6)	1(0.5)	3(1.6)	11(6.0)
(mg/ml)	50	1(0.5)	0	0	10(5.5)	11(6.0)
	100	0	1(0.5)	0	43(23.5)	44(24.0)
Total		110(60.1)	8(4.4)	2(1.1)	63(34.4)	183(100.0)

()=percentage of numbers of strains grown at the corresponding drug concentrations.

Table 3. Susceptibility patterns of 2,759 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* to TUM-N, CPM, and KM.

KM \ TUM-N CPM	<12.5					12.5					25				
	<25	25	50	100	Sub-total	<25	25	50	100	Sub-total	<25	25	50	100	Sub-total
<25	1985	33	0	2	2,020	117	22	0	1	140	2	2	2	6	12
25	30	8	0	1	39	15	11	3	0	29	1	1	2	1	5
50	5	0	0	0	5	1	3	0	1	5	0	0	0	0	0
100	57	45	50	124	276	14	12	8	85	119	4	2	0	22	28
Total	2,077	86	50	127	2,340	147	48	11	87	293	7	5	4	29	45

KM \ TUM-N CPM	50					100					Total				
	<25	25	50	100	Sub-total	<25	25	50	100	Sub-total					
<25	0	1	0	6	7	0	0	2	9	11	2,190				
25	1	0	0	4	5	0	0	0	2	2	80				
50	0	0	2	0	2	0	0	0	1	1	13				
100	0	0	0	13	13	0	1	0	39	40	476				
Total	1	1	2	23	27	0	1	2	51	54	2,759				

발휘하는 것이므로¹⁹⁾, 내성발현에도 상호관련이 있을 것으로 생각되어 比較 研究되어 왔다. 그 중에서도 TUM-N, CPM, VM 등 peptide系 抗生劑와 KM間 교차내성 문제는 學者들間에도 부분적인 異見을 보이고 있다^{16, 18~20)}. 本試驗에서는 교차내성이 문제시 되지 않는 SM은 除外하고, 현재 결핵치료에 널리 使用되고 있는 KM을 中心으로, KM에 耐性인 환자에게도 TUM-N이 사용가능한지를 밝히고자 하였으며, 시험코자 하는 藥劑中 KM을 除外한 다른 약제들에서는 치료력이 分明한 환자로부터 유래한 균주의 수집이 어려웠으므로, 이들 약제간의 전반적 내성양상을 관찰하여 교차내성 관계를 알아보고자 하였다.

TUM-N, CPM, VM 등의 치료력은 없으나 KM으로 6個月이상 치료한 환자로부터 분리한 183株로부터 결핵균의 KM, TUM-N 및 CPM 含有 培地上 菌發育樣狀은 Table 2에서 보는 바와 같다. 183株中 34.4%(63株)만이 KM 100 mcg/ml 含有배지에서 발육하였고, 약 60%(110株)는 여전히 KM에 感受性菌으로 남아 있었다. 또한 KM 100 mcg/ml 이상에서 자랐던 63株 중 84%(53株)는 CPM에 耐性이었고, 95.2%(60株)는 TUM-N에 感受性으로 나타난 것으로 보아, KM에 耐性이 생긴 경우는 CPM에 交叉耐性이 현저하나, TUM-N에 대해서는 交叉耐性이 없는 것으로 보인다.

그리고 KM 使用으로 생긴 CPM 交叉耐性菌은 TUM-N과 交叉 耐性을 나타내지 않는 것으로 나타났다. 그러나 KM 치료를 받은 결핵환자로 부터 분리된 183菌株中 KM 25 mcg/ml 이상에서 발육하지 않는 KM 感受性菌들보다는 KM 100 mcg/ml 이상 내성인 균에서 TUM-N에 대한 感受性이 다소 저하되는 경향이 었다 ($p < 0.05$).

治療歷과는 관계없이 感受性檢査가 의뢰된 菌株들을 모아 TUM-N, CPM, KM에 대한 耐性을 관찰한 결과를 보면, Table 3 및 4, 5에 나타난 바와 같다. 즉, 2,759株中 1,985株(71.9%)는 최저발육억제농도가 TUM-N은 12.5, CPM과 KM은 25 mcg/ml 미만으로 나타났다.

KM 100 mcg/ml 이상 耐性인 菌株 476株中 423株(88.9%)가 TUM-N에 感受性이었으나, TUM-N 耐性菌 81株中에서 KM 耐性菌의 分布가 77.8%(63株)로 높게 나타난 것은 TUM-N 내성균의 KM에 대한 交叉耐性때문이라고 보기보다는 이 菌株들이 TUM-N 또는 TUM-N과 직접교차내성의 유도가 가능한 약제를 使用한 환자로부터 분리된 균이기 때문인 것으로 생각된다. 그리고 KM 100 mcg/ml 이상 내성균 중 CPM 耐性菌이 341株(71.6%)로 높게 나타난 것은, 역시 KM 治療로 CPM에 교차내성이 생긴 菌으로 해석된다.

KM에 感受性인 菌은 2,190株인데, 이중 TUM-N

Table 4. Comparison of drug resistance between KM and CPM.

KM(mcg/ml) CPM(mcg/ml)	<25	25	50	100	Total
<25	2,104(76.3)	47(1.7)	6(0.2)	75(2.7)	2,232(80.9)
25	58	20	3	60	141(5.1)
50	4	5	2	58	69(2.5)
100	24	8	2	283	317(11.5)
Total	2,190(79.4)	80(2.9)	13(0.5)	476(17.3)	2,759(100.0)

() = %

Table 5. Comparison of drug resistance between TUM-N and CPM in KM sensitive strains.

TUM-N(mcg/ml) CPM(mcg/ml)	<12.5	12.5	25	50	100	Total
<25	1,985	117	2	0	0	2,104(96.1)
25	33	22	2	1	0	58(2.6)
50	0	0	2	0	2	4(0.2)
100	2	1	6	6	9	24(1.1)
Total	2,020(92.2)	140(6.4)	12(0.5)	7(0.3)	11(0.5)	2,190(100.0)

에 耐性인 菌이 18株(0.8%)이고 TUM-N에 感受性인 菌이 2,172株(99.2%)이며 이 2,172株 가운데서 CPM 耐性菌은 11株 (0.5%)였다. KM에 感受性이면서 CPM에 耐性인 菌은 28株로 이 가운데서 17株(60.7%)가 TUM-N에 耐性이었다. 한편 KM에는 감수성이나 TUM-N에 耐性인 18株中 17株(94.4%)가 CPM에 耐性이었다. 표본수가 매우 제한적이고 服藥歴이 不分明하므로 정확히 알 수는 없으나 본 시험 결과로만 해석한다면, TUM-N 耐性菌은 거의 모두 TUM-N→CPM間 교차내성이 있는 것으로 보이지만, CPM 耐性菌에 의한 TUM-N間 交叉耐性 현상은 이 보다는 덜 顯著한 것으로도 생각된다. 즉, TUM-N 耐性菌中 CPM 내성 균의 비율이 높은 이유로서는, CPM에 의한 TUM-N의 交叉耐性보다 TUM-N→CPM間 交叉耐性 誘導率 이 더 높기 때문이라고도 할 수 있다. 그러나 실제로는 TUM-N 耐性菌 중에는 CPM 치료로 생긴 交叉耐性菌이 많이 포함되었을 것으로 추측된다. 왜냐하면, KM에 감수성이고, TUM-N이나 CPM에 내성이 생긴 환자들은 대개가 치료기간이 오래된 재치료 중의 환자 들일 것이므로, 치료시기로 보아, CPM에 비해 TUM-N이 극히 제한적으로 사용되었을 가능성이 높기 때문이다.

KM治療로 생긴 KM 耐性菌의 대부분이 TUM-N에

感受性を 보인다는 사실은 本試驗外에도 다른 報告¹⁶⁾가 있으나, control이 잘 된 임상시험 결과로부터 관찰된 TUM-N 치료에 의한 KM과의 교차내성에 관한 보고는 현재까지 없는 것 같다. 그리고 우리나라에서도 TUM-N을 포함하는 初治療에 失敗한 患者로부터 얻은 菌은 현재까지 없으므로, TUM-N 치료에 의한 KM 교차내성 문제는 정확한 파악이 곤란하다. 一部 시험 관내 시험결과에 의하면^{8,18)}, TUM-N 200 mcg/ml 이상에 耐性인 균은 KM에도 耐性を 나타낸다는 보고도 있어, 정확한 結論을 얻기 위해서는 追試를 要한다. 그러나 CPM으로 치료받은 환자로부터 분리된 CPM 耐性菌이 KM에 交叉耐性を 띄는 일은 매우 더 무나, KM에 대한 耐性程度를 다소 상승시키거나 KM 耐性を 促進시키는 경향이 있다는 報告^{16,20,21)}가 있음을 보아, TUM-N↔KM間, 그리고 CPM 치료에 의한 CPM↔KM間 교차내성 문제는, 같은 polypeptide系 抗生劑間 交叉耐性에서 볼 수 있는 것처럼 현재까지는 알을 것으로 추측된다.

結論 및 要約

L-J 배지상 TUM-N의 균발육억제농도와 TUM-N, CPM, KM間 交叉耐性を 밝히기 위한 시험을 실시한

결과는 다음과 같다.

1. L-J 배지상 TUM-N의 감수성 판정기준농도는 50 mcg/ml 이 타당함이 밝혀졌다.

2. KM 치료로 내성이 생긴 菌은 CPM 과 交叉耐性을 나타내나(81.5%), TUM-N 과의 交叉내성은 극히 적었다(4.6%). KM 耐性으로 유도된 CPM 耐性菌이 TUM-N 과의 交叉내성을 나타내는 일도 매우 드물었다.

參 考 文 獻

- 1) Nagata A., Hayano K., Hoshino Y.: Biological and pharmacological studies on tuberactin, a new antibiotic. *Tuberculosis* 43:249-253, 1968.
- 2) Nagata A., Ando T., Izumi R., Sakakibara H., Take T., Hayano K., and Abe J.: Studies on Tuberactinomycin. A new antibiotic. I. Taxonomy of producing strain isolation and characterization. *J Antibiotics* 21(12):681-688, 1968.
- 3) Ando T., Matsuura K., Izumi R., Nada T., Take T., Nagata A., and Abe J.: Studies on Tuberactinomycin II. Isolation and properties of Tuberactinomycin-N, a new tuberactinomycin group antibiotic. *J Antibiotics*, 24(10):680-686, 1971.
- 4) Izumi R., Noda T., Ando T., Take T., and Nagata A.: Studies on Tuberactinomycin III. Isolation and characterization of two minor components, tuberactinomycin B and tuberactinomycin O. *J Antibiotics* 25(4):201-207, 1972.
- 5) Nagata A., Ando T., Noda T., Take T., and Hayano K.: Tuberactinomycin-N-A new tuberactinomycin family antibiotic. *Advance Antimicrobial and Antineoplastic Chemo. Vol 1/2*: 1039-1041, 1971.
- 6) Toyohara M.: An experimental study on the antituberculous activity of Tuberactinomycin-N.: *Kekkaku* 47(6):181-187, 1972.
- 7) Shimizu T.: Study on Tuberactinomycin-N. 1. In vitro antibacterial activity of TUM-N on tubercle bacilli isolated from patients. *Jap J Antibiotics* 27(4):463-470, 1974.
- 8) Koseki Y., Okamoto S., and Murohashi T.: Antituberculous activities of the tuberactinomycins in vitro and in experimental animals. *Kekkaku* 48(5):189-196, 1973.
- 9) Akiyoshi M. and Saito K.: On the Ototoxicity of Tuberactinomycin-N. *Chemotherapy* 19(4):299-302, 1971.
- 10) Akiyoshi M., Sato K., Yoshizawa M., and Hayano K.: Ototoxicity of Tuberactinomycin-N in long-term experiment. *Audiology Japan* 15:69-79, 1972.
- 11) Akiyoshi M., Yoshizawa M., and Hayano K.: Histopathologic study on nephrotoxicity of Tuberactinomycin-N, with special reference to interrelation between nephrotoxicity. *Kekkaku* 49(7):217-227, 1974.
- 12) Hasegawa D., Sakurada T., Yamasaku F., Wada J., and Takeda H.: Toxicological studies of Tuberactinomycin-N on rat kidney. *Kekkaku* 49(5):127-133, 1974.
- 13) Cooperative Study Unit of Chemotherapy of Tuberculosis of National Sanatoria in Japan: Comparative study on regimens using Tuberactinomycin-N intermittent in combination with Rifampicin. *Kekkaku* 48(4):129-134, 1973.
- 14) Hamakawa H., Ohno H., and Shimizu T.: The general pharmacological studies of Tuberactinomycin-N, a new anti-tuberculous drug. *App Phar* 8(6):817-833, 1974.
- 15) Toyohara M.: On the sensitivity to TUM-N of tubercle bacilli isolated from tuberculous patients who had never employed TUM-N. *Kekkaku* 48(9):405-410, 1973.
- 16) Tsukamura M., Mizuno S., and Murata H.: Critical concentrations for resistances of tubercle bacilli to Tuberactinomycin-N, Viomycin, Capreomycin and Lividomycin in patients treated with these agents. *Kekkaku* 50(45):123-130, 1975.
- 17) 裴吉漢, 金成鎮: 抗結核劑 Tuberactinomycin-N 에 관한 基礎實驗. 第1報 TUM-N 의 試驗管内 抗菌力과 最低發育抑制濃度決定試驗. *결핵 및 호흡기질환*, 26(4):133-139, 1979.
- 18) Tsukamura M.: Resistance pattern to Tuberactinomycin-N.

- ctinomycin-N and cross-resistance-relationships between Tuberactinomycin-N, Lividomycin, Capreomycin, Viomycin, Kanamycin, and Streptomycin resistances of *Mycobacterium tuberculosis*(H₃,Rv). Chemotherapy 22(6):1115-1121, 1974.
- 19) Yamada T., Kawaguchi K., Masuda K., Shoji K, and Hori M.: Inhibition of polyphenylalanine synthesis on ribosomes of mycobacteria by Tuberactinomycin-N. Amer Rev Respir Dis 106(5):769-771, 1972.
- 20) Saito T.: Crossresistance of tuberde bacilli to KM, VM, CPM, LVM and TUM. Jap J Tuberculosis & Chest Diseases 18(1,2):7-19, 1972.
- 21) 裴吉漢, 金成鎭: 抗結核劑 Tuberactinomycin-N 에 관한 基礎實驗. 第2報. TUM-N 과 VM, CPM, KM, SM 간의 交叉耐性에 關한 實驗. 結核 및 呼吸기질환, 27(1):19-26, 1980.
-