

魚病薬に関する実験—V

アユに対するピロミド酸の基礎的研究* (速報)

高橋 誓

ピロミド酸はマス類¹⁾およびウナギ²⁾の細菌性感染症に対し、すぐれた効果を示すことが知られている。そこでピロミド酸のアユの細菌感染症への応用を指向して、その組織内濃度、急性毒性および安全性について基礎的検討を行なったので得られた成績について報告する。

材料および方法

1. 組織内濃度：実験は1977年7月15日から7月18日にかけて行なった。供したアユは琵琶湖産、稚アユを当场で養成したもので、体重30～58gであった。ピロミド酸は0.5% CMC溶液に懸濁させ、10mg/kgおよび40mg/kgになるよう経口投与針を用いて1回強制経口投与した。投与後水温19.6～22.4℃の流水水槽で飼育し、所定の時間（投薬後1, 3, 6, 9, 24, 48時間目）に5尾ずつ取り上げ、MS-222で軽く麻酔を行なった後、血液、肝臓、腎臓および筋肉を採取した。血液は尾柄切断により採血した。各試料は採取後直ちに-20℃のフリーザーで凍結し保存した。定量用試料としては、血液は採集全血液を、その他は凍結試料1gを3mlの $\frac{1}{15}$ Mリン酸緩衝液（pH6.0）でホモジナイズし、肝臓の場合はさらに沸騰水中で10分間加熱後冷却して遠心しそれぞれの上清を分離して得た。得られた上清は $\frac{1}{15}$ Mリン酸緩衝液（pH6.0）で適宜希釈して用いた。ピロミド酸の定量は大腸菌Kp株を指示菌とする薄層カップ法³⁾で行なった。
2. 急性毒性試験：実験は1977年7月29日から8月6日にかけて行なった。用いたアユは琵琶湖産稚アユを当场で養成したもので平均体重は9.3gであった。ピロミド酸はフィードオイルに懸濁し、1000mg/kgおよび2000mg/kgになるよう経口投与針を用いて1回経口投与した。投薬後試験魚は水温20.2～22.4℃の流水水槽で7日間飼育し、生死の観察を行なった。
3. 安全性試験：実験は1977年7月15日から8月30日にかけて行なった。供試アユは琵琶湖産稚アユを当场で平均体重7gに養成したものを、1群2kgとしてコンクリート水槽（2m×1m×0.5m）に2区設定した。1区はピロミド酸を1日80mg/kg、10日間、飼料に添加し投薬しもう1区は対照区として薬剤無添加の飼料を与え、摂飼量の変化や摂飼行動など魚群の状況を観察し、死亡魚の有無を記録し、投薬終了後に総魚体重を測定した。薬剤の添加は、飼料重量の10%のフィードオイルに懸濁させ、市販のアユ用クランプルに吸着させた。投薬は1日1回とし投飼量は魚体重の2%とした。用水は地下水の流水で、投薬期間中の水温は19.6～20.8℃であった。なお、試験前後の供試魚はホルマリン固定し、三重大学窪田三朗教授による組織学的検討の用に供した。

結 果

1. 組織内濃度

Table 1. に示した通り、ピロミド酸10mg/kgを投与したアユの血中濃度は投与1時間後で3.39 μ g/gの値を示し、3時間後には最高値6.75 μ g/gに達した。ピロミド酸は9時間後まで

* 本研究は新薬研究会の一員として行ない、結果の一部は組織学的研究と合わせて、昭和53年日本水産学会春季大会において三重大学窪田三朗教授により口答発表された。

Table 1. Tissue levels of piromidic acid in ayu
(10 mg/kg, po, single dose)

Tissue	Fish no.	Time after administration (hour)				
		1	3	6	9	24
Blood	1	4.78*	8.03	4.78	4.60	<0.43
	2	6.49	7.92	4.54	3.52	<0.43
	3	0.58	6.84	2.60	1.82	<0.43
	4	2.34	6.24	2.97	-	<0.43
	5	2.74	4.72	3.73	-	<0.43
	average	3.39	6.75	3.72	3.31	<0.43
	SD SE	2.29 1.02	1.36 0.61	0.95 0.43	1.40 0.81	
Liver	1	7.62	10.95	7.41	6.45	<0.49
	2	10.22	10.55	6.72	6.07	<0.49
	3	1.52	10.56	4.02	4.32	<0.49
	4	6.27	10.15	5.62	-	<0.49
	5	10.22	6.71	5.30	-	<0.49
	average	7.17	9.78	5.81	5.61	<0.49
	SD SE	3.59 1.61	1.74 0.78	1.31 0.59	1.14 0.66	
Kidney	1	7.72	8.38	7.12	7.42	<0.59
	2	8.91	13.14	8.05	6.04	<0.59
	3	<0.59	9.47	4.45	2.84	<0.59
	4	3.48	8.73	4.73	-	<0.59
	5	3.86	12.61	5.24	-	<0.59
	average	4.79	10.47	5.92	5.43	<0.59
	SD SE	3.57 1.60	2.24 1.00	1.58 0.71	2.35 1.36	
Muscle	1	3.70	4.29	4.54	4.75	<0.19
	2	5.26	6.93	3.30	3.60	<0.19
	3	0.20	6.08	2.50	2.01	<0.19
	4	1.09	5.74	4.10	-	<0.19
	5	1.36	2.77	3.25	-	<0.19
	average	2.32	5.16	3.54	3.45	<0.19
	SD SE	2.09 0.93	1.64 0.73	0.80 0.36	1.38 0.79	

* concentration of piromidic acid in tissue($\mu\text{g/g}$)

Table 2. Tissue levels of piromidic acid in ayu
(40 mg/kg, po, single dose)

Tissue	Fish no.	Time after administration (hour)					
		1	3	6	9	24	48
Blood	1	8.81*	15.18	14.39	7.51	<0.43	<0.43
	2	4.48	9.16	11.33	9.73	0.84	<0.43
	3	4.16	18.28	13.65	9.16	<0.43	<0.43
	4	6.75	13.65	8.24	4.24	0.78	<0.43
	5	11.95	10.47	8.75	-	<0.43	<0.43
	average	7.23	13.35	11.27	7.66	<0.43	<0.43
	SD SE	3.24 1.45	3.66 1.64	2.78 1.24	2.47 1.23		
Liver	1	22.46	19.08	26.44	12.78	2.27	<0.49
	2	12.98	11.18	18.52	23.48	3.74	<0.49
	3	8.96	21.48	19.94	21.80	0.75	<0.49
	4	15.28	22.14	12.70	10.86	1.31	<0.49
	5	23.14	22.80	16.46	-	2.77	<0.49
	average	16.56	19.34	18.81	17.23	2.17	<0.49
	SD SE	6.13 2.74	4.77 2.13	5.06 2.26	6.33 3.17	1.18 0.53	
Kidney	1	11.60	28.18	29.46	13.83	<0.57	<0.57
	2	4.35	12.65	21.58	16.52	2.13	<0.57
	3	5.55	22.23	24.66	13.62	<0.57	<0.57
	4	9.00	23.24	16.77	4.48	1.60	<0.57
	5	18.06	17.79	18.33	-	1.23	<0.57
	average	9.71	20.82	22.16	12.11	0.99	<0.57
	SD SE	5.47 2.45	5.87 2.63	5.09 2.28	5.26 2.63	0.96 0.43	
Muscle	1	5.99	13.34	11.20	7.24	<0.19	<0.19
	2	1.69	7.79	9.27	11.37	0.62	<0.19
	3	1.28	15.43	14.99	10.27	<0.19	<0.19
	4	5.41	14.35	6.54	5.26	0.33	<0.19
	5	6.44	12.05	8.14	-	0.34	<0.19
	average	4.16	12.59	10.03	8.54	0.26	<0.19
	SD SE	2.48 1.11	2.96 1.32	3.25 1.45	2.80 1.40	0.26 0.12	

* concentration of piromidic acid in tissue($\mu\text{g/g}$)

検出されたが、24時間後には定量限度(0.43 $\mu\text{g/g}$)以下となった。肝臓、腎臓および筋肉において類似した型を示し、投与後3時間で最高値に達し、24時間後にはいずれも定量限度以下となった。しかし肝臓および腎臓のピロミド酸濃度は血中濃度よりも高い値を示していた。筋肉中のピロミド酸濃度は血中濃度とほぼ同等の値を示した。

ピロミド酸40 mg/kg を投与した場合の組織内濃度の推移も10 mg/kg 投与の場合と類似した型を示した(Table 2)。組織中のピロミド酸濃度は10 mg/kg を投与した場合の約2倍の値を示しており、24時間後においてもわずかにピロミド酸が検出されたが、48時間後には検出されなかった。

2. 急性毒性試験

ピロミド酸のアユに対する急性毒性試験結果をTable 3.に示した。アユはピロミド酸1,000 mg/kg および2,000 mg/kg 投与において、7日間の観察期間中に死亡することなく、一般状況にも異常は認められなかった。アユにおけるピロミド酸のLD₅₀値は2,000 mg/kg 以上である。

3. 安全性試験

ピロミド酸80 mg/kg を1日1回、飼料に添加して10日間連続投与を行なったが、投薬期間中死亡魚はみとめられず、生存魚の一般状況にも異常は認められなかった(Table 4.)。また、肝臓、腎臓および脾臓等の組織学的観察においても、薬剤によると思われる異常は認められなかった。

結 論

アユに対するピロミド酸の基礎的研究を行ない次のような結論をえた。

1. ピロミド酸は経口投与によりすみやかに吸収され、広く魚体内に分布するが、特に肝臓および腎臓に高濃度で分布していた。
2. ピロミド酸のアユに対する毒性は弱く、LD₅₀値は2,000 mg/kg以上であった。
3. ピロミド酸は混飼により1日1回80mg/kgを10日間連続投与しても死亡魚または異常魚が認められず、アユに対する安全性は高いものと思われる。

謝 辞

組織学的観察の労を賜った三重大学水産学部窪田三朗教授および宮崎照雄助手、ならびに薬剤の供与、組織内濃度測定に関してお世話いただいた大日本製薬中央研究所の職員の方々に深謝の意を表します。

文 献

- 1) 岐阜県水産試験場(未発表):アマゴの癰瘍病に対するピロミド酸の化学療法的研究
- 2) 静岡県水産試験場浜名湖分場(未発表):ウナギのパラコロ病に対するピロミド酸の治療効果
- 3) 清水当尚・他 1971:新抗菌剤Promidic Acidの研究-I, 吸収, 分布, 排泄および代謝。Chemotherapy, 19(5), 387~393。

Table 8. Acute toxicity of piromidic acid in ayu

Dose (mg/kg)	Body weight mean(g)	Experimental period(day)									Mortality (%)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
2000	9.3	20*	20	20	20	20	20	20	20	20	0
1000	9.4	20	20	20	20	20	20	20	20	20	0
Control	9.3	20	20	20	20	20	20	20	20	20	0

* Number of survivals

Table 4. Subacute oral toxicity of piromidic acid in ayu

Group	Body weight(kg)		Survived Tested
	initial	terminal	
80 mg/kg/day for 10 days	2.0	2.35	283/283
Control	2.0	2.45	293/293