

## マウス実験的カンジダ症における miconazole 注射剤の治療効果

内田 勝久・山口 英世

帝京大学医学部医真菌研究センター

(昭和 59 年 3 月 26 日受付)

致死の播種性カンジダ症のマウスモデルを使用し、miconazole の静脈内投与により *in vivo* 抗菌活性を検討した。50 mg/kg/日 1 日 1 回または 2 回、7 回連続投与群においては基剤対照群に比べて 2 週後に有意に高い生存率が得られた。この効果は感染 24 時間後に治療を開始した場合にも認められた。感染とほぼ同時期に初回投与を行なった場合には、12.5 mg/kg/日の用量で明らかな治療効果が認められた。生存率の上昇に対応して治療群においては臓器内菌数の低下が培養試験から示された。50 mg/kg を正常マウス静脈内に投与した後に血中濃度を 15 分後から追跡した結果、30 µg/ml から急速に低下する曲線が得られた。

近年世界的にみられる深在性真菌症増加の傾向のなかであって、わが国においてもカンジダ症、クリプトコッカス症、アスペルギルス症を主体とする深在性真菌症が年々増加している<sup>1,2)</sup>。しかも症例の大半は血液疾患、細菌感染症、悪性腫瘍、膠原病、糖尿病など正常な免疫応答を失わせる基礎疾患に続発する通性感染症として現われるため、放射線、副腎皮質ホルモン、抗腫瘍剤または免疫抑制剤による療法や中心静脈カテーテル、心弁膜手術、腎透析などの近代医療技術が大きな誘因となっている。

深在性真菌症の治療に最も多く使用される系統的抗真菌剤は、amphotericin B と flucytosine である。しかし、前者は強い腎毒性その他の副作用をもち、また後者には病原菌の耐性獲得が容易に起こるという欠点がある<sup>3,4)</sup>。こうした背景のなかであって、新しい系統的抗真菌剤の必要性は一層高まるばかりである。

Miconazole (1-[2, 4-dichloro-β-(2, 4-dichlorobenzyl)oxy]phenethyl]imidazole) は、ベルギー Janssen 社が開発したイミダゾール系抗真菌剤であり<sup>5)</sup>、現在その硝酸塩製剤が外用剤および腔剤として市販され、表在性真菌症の局所療法に使用されている。しかし、miconazole は広範囲抗真菌スペクトルを有し、ほとんどすべての深在性真菌症原因菌に対しても強い *in vitro* 抗菌活性を示すため<sup>5-11)</sup>、深在性真菌症の治療薬としての有用性が開発当初から期待されてきた。硝酸の潜在的毒性を考慮するならば、系統的適用には miconazole 硝酸塩よりも遊離型塩基 (base) のタイプのほうが好適であり、最近界面活性剤ポリエチキシル硬化ヒマシ油 (HCO-60) で安定化されたコロイド分散液が注射用製剤

としてつくられている。

われわれはこの製剤の *in vivo* 抗菌活性を評価するため、深在性真菌症の動物モデルのなかでは病態ならびに再現性の点で最も優れているとして賞用されているマウスでの播種性カンジダ症を実験系として選び、治療効果を検討した。

## I. 実験材料と方法

## 1. 薬剤

Miconazole 遊離型塩基 (MCZ) は持田製薬 (株) より分与されたミコナゾール注射剤 (MJR-1761; Lot No. 10904) を用いた。

## 2. 使用菌株

マウスの実験的系統感染には、当センター保存の *Candida albicans* TIMM 0239 (カンジダ血症患者の動脈血からの新鮮分離株、serotype A、典型的な生物学的性状を示す) を使用した。本菌株の MCZ に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は Sabouraud glucose agar において 5 µg/ml で、*C. albicans* として標準的感受性を示す。

MCZ の生物学的測定法の検定菌には、当センター保存の *Blastomyces dermatitidis* TIMM 0126 を用いた。

## 3. 実験動物

SPF マウス Crj: CD-1 (ICR) 系、4 週齢、雌性、体重 18±1 g を使用した。温度 25±1°C の実験室でマウス用固型飼料 (MF; オリエンタル酵母工業) および蒸留水により 1 週間予備飼育ののち同条件下にて実験に供した。

## 4. 菌液の作製および菌接種法

Sabouraud glucose agar 斜面にて培養した *C. albi-*

*cans* TIMM 0239 株を 0.5% 酵母エキス加 Sabouraud glucose broth に白金耳菌接種し、37°C、18 時間振盪培養したのち、滅菌生理食塩水で二度洗浄し、再び同液に浮遊して BURKER-TURK 計算板により全菌数を数えた。所定の菌数に調整し、その 0.2 ml をマウス尾静脈内に接種した。この際の接種菌液について Sabouraud glucose agar による 37°C、48 時間培養の colony forming unit (cfu) を測定し、接種菌量は全菌数と cfu の両者で表わした。

#### 5. 使用菌株の毒力の測定

1 群 10 匹のマウスに 1 匹当り  $5 \times 10^6$  個、 $1 \times 10^6$  個、 $5 \times 10^5$  個、 $5 \times 10^4$  個、 $5 \times 10^3$  個 (全菌数) の 5 段階の菌量を尾静脈内接種したのち、3 週間観察して毎日死亡数を記録するとともに、死亡マウスを剖検ののち、カンジダ GS 培地平板にて血液および各実質臓器の逆培養試験を行なった。

#### 6. 治療実験

実験は試験菌のマウス接種量、薬剤投与量とその時間的關係などの条件を異にする 4 種に分けて行なった。

実験 I *C. albicans* TIMM 0239 株  $5 \times 10^5$  個 ( $4.2 \times 10^5$  cfu) 菌接種したのち、次の日から治療を開始した。薬剤は基剤 (HCO-60) にて希釈し、0.1 ml 中にマウス体重 1 kg 当り 25 mg となるように調整し、これを尾静脈内に 1 日 2 回、計 7 回連続して投与した。対照群マウスには薬剤を含まない基剤のみを 0.1 ml ずつを同回数投与した。観察期間は菌接種後 2 週間とし、毎日の体重測定と死亡マウスおよび耐過マウスの腎臓逆培養試験を行なった。

実験 II. 接種菌量を増量して  $5 \times 10^6$  個 ( $3.9 \times 10^6$  cfu) 接種し、30 分後に第 1 回目の薬剤投与を開始した。薬剤投与量、投与回数、観察期間は実験 I と同様である。

実験 III. 薬剤投与開始時期の影響について検討を行な

った。4 群に分けたマウスの 1 群については菌接種 1 時間前に薬剤を投与した。他の 2 群ではそれぞれ菌接種 1 時間後と 24 時間後に薬剤投与を開始した。残りの 1 群には薬剤のみを 24 時間後から投与した。薬剤はマウス当り各回 25 mg/kg 体重を 0.1 ml の量で、1 日 1 回、計 5 回投与し、対照群マウスには同量の基剤を投与した。菌接種量は  $1 \times 10^6$  個 ( $8.3 \times 10^5$  cfu) で、観察期間は 2 週間とした。

実験 IV. 薬剤投与量の検討を行なった。接種菌量は実験 III と同量とし、菌接種 1 時間後第 1 回目の薬剤投与を行ない以後 1 日 1 回、7 回にわたって、6.25 mg/kg、12.5 mg/kg、25 mg/kg、50 mg/kg の 4 段階用量で薬剤投与を行ない、観察期間を 2 週間とした。

#### 7. マウスにおける血中濃度の測定

マウス体重 1 kg 当り 50 mg の MCZ を 1 回静脈内注射したのち、一定時間おきに各 3 匹ずつエーテル麻酔下に開胸し、注射器で心血を採取した。その血清を分離して各時間ごとにプールし、MCZ の血中濃度を *Blastomyces dermatitidis* 酵母形細胞を検定菌とする寒天平板拡散法に基づく生物学検定法により測定した<sup>12,13</sup>。

#### 8. 統計学的処理

実験データの統計学的解析を基剤対照群の全例死亡時または観察期間終了時における治療群の死亡数について行ない、FISHER の直接確率計算法により有意差を検定した。

## II. 実験結果

### 1. 使用菌株のマウスに対する毒力の検討

*C. albicans* TIMM 0239 株はマウスに強い病原性を示した。Fig. 1 に示したように、 $3.7 \times 10^6$  cfu 尾静脈内接種により接種 3 日後に全例死亡し、 $7.4 \times 10^5$  cfu 接種で 9 日後、 $3.7 \times 10^5$  cfu では 15 日後にそれぞれ全例死亡した。 $3.7 \times 10^4$  cfu 接種群は 2 週間ないし 3 週間に 60% が死亡したが、 $3.7 \times 10^3$  cfu では死亡例はみられず全

Fig. 1 Mortality of mice intravenously challenged with *C. albicans* TIMM 0239

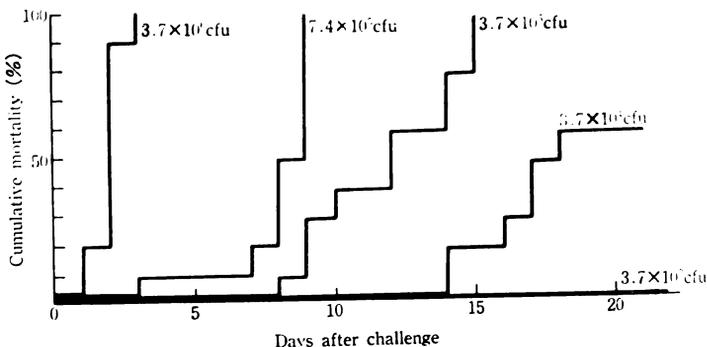


Fig. 2 Results of miconazole therapy (50 mg/kg per day) in mice challenged with  $4.2 \times 10^5$  cfu of *C. albicans*.

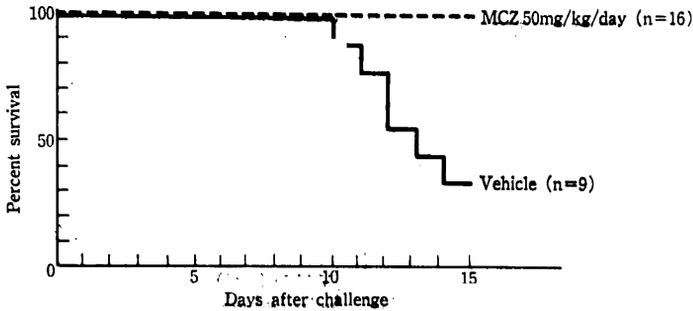
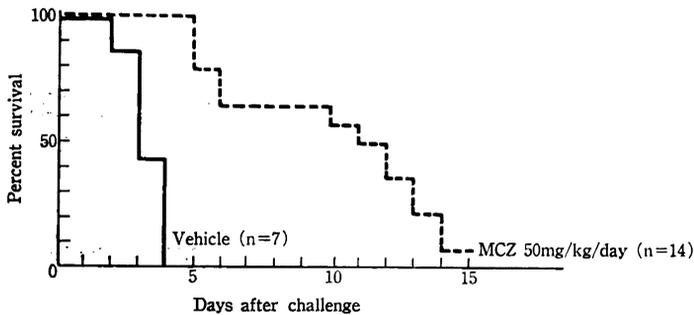


Fig. 3 Results of miconazole therapy (50 mg/kg per day) in mice challenged with  $3.9 \times 10^6$  cfu of *C. albicans*.



例生存した。

1週間以内に死亡したマウスにおいては、血液および主な実質臓器すべてから菌が分離され、特に腎臓は白色斑点状に多数の膿瘍の形成がみられ、臓器 1g 当り  $10^6 \sim 10^7$  cfu の菌が培養された。また脾臓で  $10^4$  cfu/g、脳では  $10^4 \sim 10^5$  cfu/g が培養された。また、病理組織的検査の結果、特に腎皮質において酵母状細胞を主とする菌要素の旺盛な発育と強い宿主組織反応がみられ、脳、脾においても多くの酵母状細胞が認められた。

さらに時期が進んで、菌接種後 10 日ないし 2 週間目に死亡したマウスでは、通常の *C. albicans* 株の感染でみられると同様、腎盂を主病巣とする典型的な感染像を示した。

以上の結果から、本菌株は急性期において敗血症タイプの感染を成立させるという点でヒトの深在性カンジダ症と対応する病態を示した。

## 2. マウスの実験的カンジダ系統感染に対する MCZ 注射剤の治療効果

上述の所見から、本試験菌によるマウスの実験的感染はカンジダ症治療実験の好適な動物モデルとして使用できることが知られた。そこでこの実験系による MCZ 注

射剤の治療効果を検討した。

実験 I. Fig. 1 に示される実験成績に基づいて、マウスを全例感染死させることができるがそれまでに 10 日以上の経過を必要とする接種菌量として  $5 \times 10^5$  個 ( $4.2 \times 10^5$  cfu) の菌量を選んだ。これを各マウスに接種したのち、24 時間経ってから第 1 回目の薬剤投与を行ない、以後 1 日 2 回各 25 mg/kg を 4 日間にわたって 7 回連続して静脈内に注射した。得られた結果を Fig. 2 上段に示した。2 週間の観察期間中、基剤投与対照群においてもなお 9 匹中 2 匹の生存マウスがみられたが、これもその後 2 日にして全例死亡した。一方、薬剤投与群マウスは全例生存し、極めて高い有意差 ( $P < 0.0005$ ) で明らかな治療効果を認めた。

薬剤投与群の生存マウスは、無処置正常マウスより体重の増加が少なく、菌の逆培養試験の結果では、腎臓における菌の陰性化はみられなかったが、基剤対照群に比べて菌数が少なく、増殖の抑制が認められた。

実験 II. 接種菌量を実験 I におけるよりも 10 倍増量してより急性型の感染をつくり、早期に治療を開始した。Fig. 3 に示されるように、基剤投与群マウスは 4 日以内に全例死亡したが、MCZ 治療群では菌接種後 5 日

Fig. 4 Results of various treatment regimens of miconazole therapy (50 mg/kg per day) in mice challenged with  $8.3 \times 10^5$  cfu of *C. albicans*

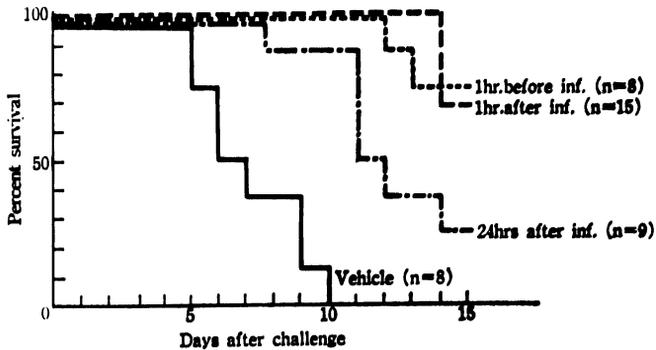
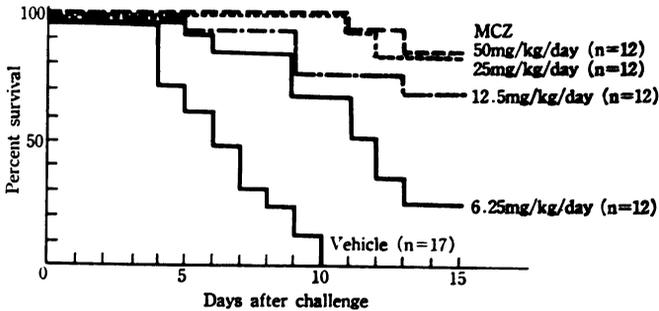


Fig. 5 Results of miconazole therapy in various doses in mice challenged with  $8.3 \times 10^5$  cfu of *C. albicans*



目にして初めて死亡例がみられ、その後逐次死亡数が増加し、2週間の実験期間終了時には14匹中1匹の生存を認めるにすぎなかった。しかしながら、平均死亡日数を比較すると、基剤投与群の3.28日に対し、MCZ治療群は9.69日以上となり、3倍以上の延命効果が認められた。

実験Ⅲ. 菌接種後5日から10日の間に全例死亡するような亜急性致死感染の系をつくり、菌接種と薬剤投与の時間的間隔によって治療効果がどのように影響されるかの検討を行なった。本実験におけるMCZの用量および治療スケジュールは前2回の実験のいずれとも異なり、1回量25mg/kgを1日1回投与した。結果をFig. 4に示す。対照の基剤投与群マウスの平均死亡日数は7.12日であった。MCZ治療群のうち、菌接種1時間前に投与を開始した場合に治療効果が最も顕著に現われ、2週間の観察期間終了時の生存率は80%に達した。また、菌接種1時間後に初回投与を行なった場合でも、これに匹敵する優れた治療効果を認めた。一方、初回薬剤投与が菌接種後24時間経過してから行なわれた場合には、その治療効果はかなり低下したがなお20%

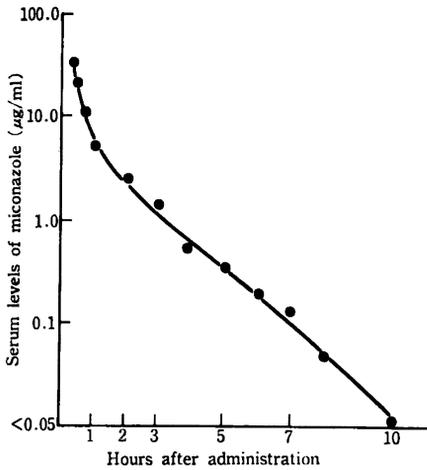
に近い生存率が確保された。また、菌接種10日目における死亡数に関しては、基剤投与群と各MCZ治療群のいずれの間にも極めて明瞭な有意差( $P < 0.0005$ )がみられ治療効果が立証された。なお、各治療群の間には有意差は認められなかった。

実験Ⅳ. 実験Ⅲと同量の菌接種を行なった実験系を用いて、MCZの投与量が治療効果に及ぼす影響について検討を行なった。その結果をFig. 5に示す。25mg/kg投与群と50mg/kg投与群とにおける治療効果はほぼ同程度であり、2週間後に80%以上の生存率が得られた。12.5mg/kg投与群は、対照の基剤投与群が全例死亡した10日目において75%、2週間後でも66%のマウスが生存し、いずれも対照に比べ有意差(前者では $P < 0.0001$ 、後者では $P < 0.0005$ )を認めた。6.25mg/kg投与群では10日目でも66%の生存がみられ、明らかな有意差( $P < 0.0005$ )をもって有効性が示されたが、その後徐々に死亡数が増加し、2週間後には12匹中2匹が生残したに過ぎなかった。

### 3. 血中濃度の測定

感染および治療実験に用いたマウスと同週齢、同体重

Fig. 6 Miconazole serum concentrations normal mice after a single intravenous dose of 50 mg/kg



の動物を用い、MCZ 50 mg/kg 1回投与後、経時的に血中濃度を測定した。Fig. 6 に示されるように、測定値は投与後 15 分で 30 µg/ml、30 分で 20 µg/ml、45 分で 11 µg/ml、1 時間目 5.6 µg/ml を示し、その後、3 時間 1.4 µg/ml、5 時間 0.32 µg/ml、7 時間 0.12 µg/ml、8 時間 0.06 µg/ml と減少し、投与後 10 時間で測定限界 (0.05 µg) 以下になった。

### III. 考 察

MCZ が広範囲の病原真菌に対して強い *in vitro* 抗菌活性を示すことは、多くの研究者の報告から明らかである<sup>9-11)</sup>。しかしながら、抗細菌性化学療法剤と異なり、抗真菌剤の場合には *in vitro* 感受性試験法が標準化されておらず、その成績は臨床的効果との相関性に乏しいきらいがある<sup>14,15)</sup>。したがって、抗真菌剤の臨床的有用性の評価に際しては、*in vivo* 抗菌活性の検討が極めて重要となる。

MCZ の *in vivo* 抗菌活性については、従来から種々の深在性真菌症の動物モデルを用いて検討されてきた。LEVINE *et al.*<sup>16)</sup> は、MCZ の皮下または腹腔内投与がマウスの実験的パラコキシオイデス症に対し著効を示すと報告している。その反面、同じ研究グループは、同様に MCZ でマウスの実験的クリプトコッカス症を処置しても、ほとんど治療効果が得られず、その理由の一つとして動物モデルの不適切なことをあげている<sup>17)</sup>。

*In vivo* 抗菌活性と臨床的治療効果との相関性を高めるためには、適切な動物モデルを選んで治療実験を行なうことが不可欠である。そうした動物モデルとしては、その病型ならびに病態が対応するヒト疾患のそれらと近似し、高い再現性を持ち、しかも比較的短期間に明確な

基準で治療効果の判定が可能なのが望ましい。

われわれは今回の *in vivo* 実験に先立って、種々の深在性真菌症の実験モデルを比較検討した結果、播種性カンジダ症 (カンジダ血症) 患者の血液から分離された *C. albicans* の 1 株 (保存菌株名 TIMM 0239) のマウス静脈内接種によってつくられた実験的カンジダ症が最もよくその条件を満足することを知った。カンジダ症は本邦における最も代表的な深在性真菌症の一つであり<sup>1,2)</sup>、一方、以前から多くの研究者により種々の実験動物において感染実験が行なわれてきた。最も研究の多いマウスの実験モデルについてみれば、そのほとんどは病原菌株の静脈内接種によってつくられた致死感染である。これまでの研究成績は一致して、腎が最も主要な感染臓器であり、敗血症型の急性感染死を免れた動物では諸臓器から菌が速やかに除去され、腎にほぼ限定して感染が持続することを示している<sup>18-27)</sup>。したがって、このタイプの実験モデルを使用する限り、amphotericin B のように大部分が活性型のまま腎から排泄されるような薬力学的特徴をもった薬剤では治療効果が充分発揮されるとしても、MCZ の場合には尿中に排泄された量の 99% までは活性のない代謝物である<sup>28)</sup>ことを考慮するならば、有効性はあまり期待できないことも予測されよう。マウスに比べてモルモット、ラット、ウサギなどより大型の実験動物においては、ヒトカンジダ症の主要病型である急性で播種性のカンジダ症により類似した病態を示す感染が成立することが示されている<sup>18,22,29,30)</sup>。ラットまたはウサギにおける実験的カンジダ症に対する MCZ の治療効果については、幾つかの研究グループにより検討された。HALLER & PLEMPFEL<sup>31)</sup> は、ラットの実験モデルにおいて MCZ 100 mg/kg、1 日 2 回の経口投与で何ら有効な成績を得られなかったと報告している。これは MCZ の腸管からの吸収が不良なこと<sup>32)</sup>に原因があったと考えられる。これに対して、BALK *et al.*<sup>33)</sup> は、ラットの播種性カンジダ症に対して MCZ 50 および 75 mg/kg/日筋肉内注射が生存率を著しく高めることを認めている。また、COSTA *et al.*<sup>34)</sup> は、ウサギの *C. albicans* 感染モデルを使用し、80 mg/kg 1 日 1 回静脈内投与が生存率、培養成績のいずれの点でも有効性を示したと報告している。彼らは MCZ が *C. tropicalis*, *Aspergillus*, *Geotrichum* などによる感染ラットでも同様の治療効果を示したとしているが、実験方法や成績の記述が不完全であり、その信頼性には疑問が残る。

ラットやウサギの実験モデルについては、動物の均一性、飼育、実験上の物理的、経済的制約などの点で問題があり、マウスのモデルがより適切なことはいままでもない。ヒト患者由来の TIMM 0239 はマウスに対して

5×10<sup>5</sup> 個接種（静脈内）で15日以内にすべての動物を殺すという強い毒力をもつのみならず、感染動物においては多発性の腫瘍が腎のみならず心、脳にもみられるというヒトの播種カンジダ症の病理組織像<sup>39,41</sup>と極めて類似した所見を示し、これが病態モデルとして優れていることが知られた<sup>40</sup>。

このマウスの実験モデルを使用し、ヒトでのふつうに用いられる投与経路である静脈内に投与したMCZの治療効果を検討したのが今回の実験である。マウス尾静脈が細いために、注射回数は7回程度が限度であり、用量、治療期間ともかなり制限されたにもかかわらず、50 mg/kg/日の投与により、感染とほぼ同時期に治療を開始した場合は無論のこと、感染24時間後から治療を開始した場合にも有意な治療効果を示した。また、用量を12.5 mg/kg/日まで減らしても有効性が認められた。この治療効果は、感染2週間後の生存率のみならず、剖検所見および実験Iにおいては臓器の培養試験からも確認された。一方、これらの投与量では非感染対照マウスではまったく毒性は認められなかった。MCZの*in vitro* 抗菌活性にてらして、本剤の静脈内投与は*C. albicans* 以外の病原真菌に起因する深在性真菌症に対しても治療効果をもつと推定される。

MCZの優れた治療効果を説明する目的で、50 mg/kg 静脈内投与後のマウス血中濃度を追跡測定した結果、15分後の30 µg/mlをピークに1時間後5.6 µg/ml、3時間後1.4 µg/ml、8時間後0.06 µg/mlと漸次低下した。Boelaert *et al.*<sup>42</sup>は、健康者に522 mgのMCZを15分以上時間をかけて静脈内に点滴し、点滴終了時の2~9 µg/mlから8時間後には0.1~0.2 µg/mlに低下したと報告している。両者でほぼ対応する濃度-時間曲線が得られた点が注目される。一方、今回試験菌として用いたTIMM 0239に対するMCZのMIC値は5 µg/mlであり、50 mg/kg/日を1日1回または2回に分けて注射した場合でも、このMIC値を上回る血中レベルが持続する時間は極めて短いはずである。それにもかかわらず、明らかな治療効果が得られたことから、MIC値と血中濃度との関係が単純でないことが示唆される。*in vitro* 抗菌活性については、これが接種菌量の増大とともに低下すること、静止期細胞に比べて発育期細胞の感受性が高いことが示されている<sup>39,40</sup>。したがって、組織（血液）量当り比較的少量の病原菌が良好に発育しつつあるという感染時の生体内においては、*in vitro* 感受性試験の条件下よりも強い抗菌効果が発揮される可能性がある。加えて、miconazoleは種々の真菌に対してMIC値以下の幅広い濃度域で部分的な発育阻止作用を示すことが知られており<sup>9</sup>。これが臨床効果に及ぼす影

響も無視できない。ROBINSON<sup>41</sup>は、ある種の感染症においては、病原菌の発育速度を低下させるだけで十分な治療効果が得られ、したがって治療剤の濃度は部分的阻止濃度でも事足りると指摘している。

今回得られたマウスの致死性播種カンジダ症のモデルでの実験的成績から明らかのように、MCZは優れた非経口の抗真菌剤であり、臨床的適用に関する研究の進展が期待される。

なお、本実験結果は1983年10月16日に第27回日本医真菌学会総会第102席にて発表した。

<謝辞> Miconazole注射剤をご分与頂いた持田製薬株式会社に感謝します。

## 文 献

- 1) 伊藤 章：本邦における深在性真菌症の統計的観察。真菌誌 21：239~248, 1980
- 2) 福島孝吉, 伊藤 章：真菌感染症。日本臨床 41：84~97, 1983
- 3) KOLDIN, M. H. & G. MEDOFF: Antifungal chemotherapy. *Ped. Clin. North Am.*, 30: 49~61, 1983
- 4) GRAYBILL, J. R. & P. C. CRAREN: Antifungal agents used in systemic mycoses. Activity and therapeutic use. *Drugs* 25: 41~62, 1983
- 5) GODEFROI, E. F.; J. HEERES, J. VAN CUTSEM & P. A. J. JANSSEN: The preparation and antimycotic properties of derivatives of 1-phenethyl-imidazole. *J. Med. Chem.* 12: 784~791, 1969
- 6) VAN CUTSEM, J. M. & D. THIENPONT: Miconazole, a broad spectrum antimycotic agent with antibacterial activity. *Chemotherapy (Basel)* 17: 392~404, 1972
- 7) HOLT, R. J.: Recent developments in antimycotic chemotherapy. *Infection* 2: 95~107, 1974
- 8) 江川朝生, 山口英世, 内田勝久, 平谷民雄, 山本容生, 岩田和夫: Miconazole *in vitro* 抗菌活性。真菌誌 18: 65~72, 1977
- 9) SHADOMY, S.; L. PAXTON, A. ESPINEL-INGROFF & H. J. SHADOMY: *In vitro* studies with miconazole and miconazole nitrate. *J. Antimicrob. Chemother.* 3: 147~152, 1977
- 10) DIXON, D.; S. SHADOMY, H. J. SHADOMY, A. ESPINEL-INGROFF & T. M. KERKERING: Comparison of the *in vitro* antifungal activities of miconazole and a new imidazole. *R 41, 400. J. Infect. Dis.* 138: 245~248, 1978
- 11) 平谷民雄, 山口英世: イミダゾール系抗真菌剤 miconazole (base) の *in vitro* 抗菌活性。Chemotherapy 32: 534~540, 1984
- 12) 岩田和夫, 内田勝久, 山口英世, 平谷民雄, 山本容生, 山崎良治: Econazole の *in vitro* 抗菌活

- 性並びに血中濃度測定法。真菌誌 250~251, 1977
- 13) 内田勝久, 山口英世: Miconazol の生物学的検定法およびそれによるヒト体液内濃度の測定。Chemotherapy 32: 541~546, 1984
- 14) HOLMBERG, K.: Laboratory tests of antifungal drugs in treatment of systemic mycoses. Scand. J. Infect. Dis. 16: 65~73, 1978
- 15) ODDS, F. C.: Problems in the laboratory assessment of antifungal activity. Postgrad. Med. J. 55: 677~680, 1979
- 16) LEVINE, H. B.; D. B. STEVENS, J. M. COBB & A. H. GEBHARDT: Miconazole in coccidioidomycosis. I. Assays of activity in mice and *in vitro*. J. Infect. Dis. 132: 407~414, 1975
- 17) GRAYBILL, J. R.; L. MITCHELL & H. B. LEVINE: Treatment of experimental murine cryptococcosis: a comparison of miconazole and amphotericin B. Antimicrob. Agents Chemother. 13: 277~283, 1978
- 18) WINBLAND, B.: Experimental renal candidiasis in mice and guinea pigs. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 83: 406~414, 1975
- 19) ADRIANO, S. M. & J. SCHWARZ: Experimental moniliasis in mice. Am. J. Pathol. 31: 859~873, 1955
- 20) HURLEY, R. & H. I. WINNER: Experimental renal moniliasis in the mouse. J. Pathol. Bacteriol. 86: 75~82, 1963
- 21) LOURIA, D. B.; R. G. BRAYTON & G. FINKEL.: Studies on the pathogenesis of experimental *Candida albicans* infection in mice. Sabouraudia 2: 271~283, 1963
- 22) LOURIA, D. B.; N. FALLON & H. G. BROWNE: The influence of cortisone in experimental fungus infection in mice. J. Clin. Invest. 39: 1435~1449, 1960
- 23) ROGERS, T. & E. BALISH.: Experimental *Candida albicans* infection in conventional mice and germfree rats. Infect. Immun. 14: 33~38, 1976
- 24) HURLEY, R.: Experimental infection with *Candida albicans* in modified hosts. J. Pathol. Bacteriol. 92: 57~67, 1966
- 25) HASENCLEVER, H. F. & W. O. MITCHELL: Acquired immunity to candidiasis in mice. J. Bacteriol. 86: 401~406, 1963
- 26) MARRA, S. & E. BALISH: Immunity to *Candida albicans* induced by *Listeria monocytogenes*. Infect. Immun. 10: 22~32, 1974
- 27) 塚田 修: マウスのカンジダ症に発生する片側性腎病変とその成因について。日泌誌 73: 446~461, 1981
- 28) BRUGMANS, J.; J. VAN CUTSEM, J. HEYKANTS, V. SCHUERMANS & D. THIENPONT: Systemic antifungal potential, safety, biotransport and transformation of miconazole nitrate. Eur. J. Clin. Pharmacol. 5: 93~99, 1972
- 29) HURLEY, D. L. & A. S. FAUCI: Disseminated candidiasis. J. Infect. Dis. 131: 516~521, 1975
- 30) EDWARDS, J. E.; J. E. MONTGOMERIE, R. Y. FOOS, V. K. SHAWQ & L. B. GUZE: Experimental hematogenous endophthalmitis caused by *Candida albicans*. J. Infect. Dis. 131: 649~657, 1975
- 31) HALLER, I. & M. PLEMPER: Experimental *in vitro* and *in vivo* comparison of modern antimycotics. Current Medical Research and Opinions 5: 315~327, 1978
- 32) BOLAERT, J.; R. DANEELS, H. VAN LANDUYT & J. SYMOENS: Miconazole plasma levels in healthy subjects and in patients with impaired renal function. Chemotherapy (Basel) 6: 165~170, 1976
- 33) BALK, M. W.; M. H. CRUMRINE & G. W. FISCHER: Evaluation of miconazole therapy in experimental disseminated candidiasis in laboratory rats. Antimicrob. Agents Chemother. 13: 321~325, 1978
- 34) COSTA, A. L.; A. VALENTI, L. E. LOTETA & S. MIDILI: Antimycotic activity of miconazole (R 18134) *in vitro* and *in vivo*. Mykosen 20: 431~440, 1977
- 35) BRAUDE, A. & J. A. ROCK: The syndrome of acute disseminated moniliasis in adults. Arch. Intern. Med. 104: 91~100, 1959
- 36) LOURIA, D. B.; D. P. STIFF & B. BENNETT: Disseminated moniliasis in the adult. Medicine Baltimore 41: 307~337, 1962
- 37) SALTARELLI, C. G.; K. A. GENTILE & S. C. MANCUSO: Lethality of *Candida* strains as influenced by the host. Canad. J. Microbiol. 21: 648~654, 1975
- 38) 内田勝久, 山口英世: マウスにおける播種性カンジダ症実験モデル。真菌誌 (投稿中)。
- 39) VAN DEN BOSSCHE, H.; G. WILLEMSSENS & J. M. VAN CUTSEM: The action of miconazole on the growth of *Candida albicans*. Sabouraudia 13: 63~73, 1975
- 40) 江川朝生, 山口英世, 岩田和夫: Miconazole の *in vitro* 抗菌活性 第2報 MIC 値ならびに MCC 値におよぼす諸因子の影響。真菌誌 19: 303~315, 1978
- 41) ROLINSON, G. N.: Subinhibitory concentration of antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 3: 111~113, 1977

## LABORATORY ASSESSMENT OF A SYSTEMIC ANTIMYCOTIC MICONAZOLE (BASE) : *IN VIVO* ACTIVITY

KATSUHISA UCHIDA and HIDEYO YAMAGUCHI

Research Center for Medical Mycology, Teikyo University School of Medicine

Therapeutic efficacy of miconazole (base) administered parenterally was tested in the model of disseminated candidiasis in mice. Seven miconazole intravenous doses of 12.5 to 50 mg/kg/day once or twice daily in *C. albicans*-infected mice significantly increased the survival rate compared with a placebo injection during the two-weeks postinfection observation period. Sufficiently favorable results were also obtained when intravenous administration was delayed for 24 hours after infection. Comparable with the increase of the survival rate, colony counts from the kidney of miconazole-treated mice were markedly reduced compared with those of untreated controls. After intravenous injection of 50 mg/kg of miconazole in normal mice, the serum concentration of 30  $\mu\text{g/ml}$  was occurred after 15 minutes, thereafter decreasing rapidly.