

モルモットの白癬モデルに対する新規イミダゾール誘導体
oxiconazole nitrate クリーム剤の治療効果

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 29 日受付)

新規イミダゾール誘導体 oxiconazole nitrate (OCZ) の局所的抗真菌剤としての有用性を評価するために、モルモットにおいて作製した *T. mentagrophytes* 感染症(白癬)モデルを使用し、各種濃度のクリーム剤の塗布による治療効果を検討した。治療効果は局所症状の改善度ならびに局所皮膚組織の半定量的培養試験の成績に基づいて判定し、すべての実験に対照薬剤として市販の 1% clotrimazole (CTZ) クリーム剤を使用した。以下に実験成績を要約する。

- (1) 局所病変度と局所培養成績はほぼ対応した。
 - (2) 0.1, 0.5, 1 および 2% OCZ 剤を感染 3 ないし 5 日目から局所投与した場合、いずれの濃度でも有効な治療効果が認められた。効果の大きさは薬剤濃度とともに増したが、1% ではほぼ限界に達した。
 - (3) いずれの濃度の OCZ 剤の効果も治療期間に依存し、1 週間治療に比べて 2 週間治療の場合有意に高い治療効果を示した。しかし、2 週間治療と 3 週間治療の間には有意差は認められなかった。
 - (4) 同一の用量を 1 日 1 回投与した場合と 1 日 2 回分割投与した場合との比較では、後者がより優れた治療効果を示す傾向があり、これは特に低濃度薬剤で顕著であった。
 - (5) 1% OCZ 剤と 1% CTZ 剤の間には有意な薬効の差は見出されなかった。
- 以上の成績から OCZ クリーム剤、特に 1% 剤は白癬モデルに対して優れた治療効果をもつと評価された。

優れた抗真菌性化学療法剤の新たな出現を要望する声が高まっているなかにあつて、近年種々のイミダゾール系抗真菌剤が相次いで実用化された。これはこの系統の化合物が基本的に真菌症の治療、特に局所療法の上で有用な性質を備えていることを物語るものであろう。

Oxiconazole nitrate (以下 OCZ と略) は、スイス Siegfried AG で開発されたアセトフェノンオキシムイミダゾール誘導体であり、2',4'-dichloro-2-imidazol-1-ylacetophenone(Z)-[O-(2,4-dichlorobenzyl) oxime] nitrate の化学式をもつ¹⁾。この化学構造は、すでに外用抗真菌として実用化されているトリチルイミダゾール誘導体 clotrimazole またはフェニールエチルイミダゾール誘導体 miconazole, econazole, isoconazole のそれとは異なるタイプのものであり²⁾、生物学的活性にもある程度相違する特徴がみられる可能性が考えられる。

POLAK^{3,4)} およびわれわれ⁵⁾は OCZ の *in vitro* 抗真菌活性を詳細に検討し、広範囲の病原菌に対し強力でも特徴的な抗菌パターンを示すことを明らかにした。

加えて、POLAK はモルモットにおける白癬菌感染モデルに対する局所治療およびマウスでの *Candida albicans* または *Histoplasma capsulatum* 感染モデルに対する系統的治療が有効であったと報告している²⁾。OCZ の優れた抗真菌活性に加えて、ヒトの皮膚や爪に塗布した場合に角質層や爪の層に良好に浸透するという成績⁶⁾は、本剤が局所的抗真菌剤として表在性真菌症の治療に有用であることを期待させるに充分である。

本報においては、局所的に適用した OCZ の *in vivo* 抗真菌活性を評価するために、本剤のクリーム製剤がモルモットでの *Trichophyton mentagrophytes* 感染モデルに対しどの程度の治療効果を示すかを clotrimazole クリーム剤を対照薬にして比較検討した。

I. 実験材料と方法

動物：購入後数週間予備飼育した Hartley 系モルモット(雄性、体重 480~650 g)を実験に使用した。動物は 1 ケージに 1 匹ずつ入れ、固型飼料および水を自由に摂取させながら飼育した。

使用菌株：東京大学農学部長谷川篤彦博士によりハムスター病巣から分離され、当センターに保存されている *Trichophyton mentagrophytes* TIMM 1189 株を攻撃菌として使用した。この菌株に対する OCZ および clotrimazole の MIC 値は、標準的な寒天希釈法⁹⁾による測定でそれぞれ 0.63, 0.31 $\mu\text{g/ml}$ であった。

接種菌液の調製：上記菌株を 1/10 Sabouraud dextrose agar 斜面培地に 27°C, 4 週間培養した。成熟した分生子が充分量形成されたことを確かめた後、斜面部を 0.1% (w/v) Tween 80 加減菌生理食塩水で覆い、機械的振盪により分生子を液中に遊離させた。この液を駒込ピペットで回収し、滅菌ガーゼ濾過により菌糸塊や寒天片を除去した。得られた濾液の分生子濃度を血球計算板を用いて測定し、約 2×10^7 分生子/ml の濃度に調整した後、これを接種菌液として使用した。

感染方法：「科研法」とよばれ従来からわが国で多くの研究者により用いられてきた方法^{7,8)}を若干改変してモルモット感染を行なった。まず動物背部の毛を電気バリカンで刈りとり、適当な間隔で離れた 4 か所の部位を設定した。次に、各部位に約 2 cm 角のガムテープを貼りつけては急激にはがすという操作を 3~4 回くり返し、局所部位全体の抜毛に加えて皮膚角質層上部の剝離を行なった。さらに毛抜きを用いて残った毛を完全に除去した。このようにして抜毛処理された背部皮膚 4 か所の局所部位のそれぞれに接種菌液 0.05 ml (したがって局所当り 10^6 分生子) を塗布接種した。

治療薬剤：試験製剤として東京田辺製薬株式会社より提供された OCZ 0.1%, 0.5%, 1% および 2% 含有クリーム剤を、同じく基剤を使用した。対照薬剤には市販の clotrimazole (エンベシド) 1% クリーム剤を選んだ。

治療実施法：菌接種部位に軽度の発赤が現われる直前の時期(接種後 3 日目)または発赤が明瞭に認められるようになる時期(接種後 5 日目)に治療を開始し、1 日 1 回 300 mg または 1 日 2 回各 150 mg の薬剤塗布を 1 週、2 週または 3 週間連日行なった。

病変度の判定：各感染局所部位の病変度の肉眼的判定を、下記の方式により、菌接種の翌日から実験終了日まで毎日薬剤塗布前に行なった。病変度判定にはこれまで WEINSTEIN *et al.*⁹⁾ や GORDEE *et al.*¹⁰⁾ によるスコア方式が用いられてきたが、今回つくられた感染モデルにおいては病変極期にあっても出血、びらん、潰瘍などの激しい症状を呈するにいたらなかったため、この方式を一部改変して新しい基準を設けた。すなわち、局所病変がまったく認められない状態を 0 とし、病変を生じた場合にはその程度に応じて次のように +1 から +4 まで 4 段階方式でスコアを表示することとした。

+1：数個の小紅斑または紅斑性小丘疹が島状に散在するか、または病変が改善に向って新しい体毛の発育がみられる状態。

+2：紅斑性病変が局所全面に広がり、表皮の剝離を伴う状態。

+3：局所の一部に強い発赤、腫脹などの炎症症状がみられ、鱗屑が豊富に形成される状態。

+4：肥厚した垢皮の形成により局所全面が覆われる状態。

培養試験：最終治療日の 2 日後に、病変観察にひきまいてすべての動物をエーテル麻酔下で屠殺し、各局所部位の皮膚全面を切り取った。皮膚片をさらにほぼ均等な大きさの 10 個の小片に分割した後、各小片を cycloheximide 500 $\mu\text{g/ml}$, mezlocillin 50 $\mu\text{g/ml}$ および sisomicin 50 $\mu\text{g/ml}$ 含有 Sabouraud dextrose agar 平板にのせ、27°C で 14 日間培養した。培養期間終了後、皮膚小片の周囲に *T. mentagrophytes* のコロニーが 1 個以上生じたものを培養陽性と判定した。培養成績の表示に際しては、各実験群のすべての動物について培養陽性皮膚小片を 1 個以上含む感染部位の数ならびに各実験群の皮膚小片の総数に対する培養陽性小片数とその比率を指標として用いた。

推計学的処理：病変度については各実験群の平均スコアの MANN-WHITNEY U テストによる順位と検定を行なった。また、培養成績については、FISHER 直接確率計算法を用いて解析した。

II. 実験結果

治療実験-1

動物の背部局所当り 1.9×10^6 個 (1.0×10^6 cfu) の攻撃菌を接種した後、7 つの実験群に分け、感染(非処置)対照群を除く 6 群すなわち (i) 基剤処置群, (ii) 0.1% OCZ 治療群, (iii) 0.5% OCZ 治療群, (iv) 1% OCZ 治療群, (v) 2% OCZ 治療群, (vi) 1% CTZ 治療群のそれぞれについては感染 5 日目より処置を開始した。基剤または薬剤の 1 日用量は 300 mg とし、これを 1 日 1 回連日局所に塗布した。各実験群の動物を 3 分し、一部の動物については 7 日間、他の一部の動物については 14 日間、また残りの動物は 21 日間、それぞれ処置を続けた後、2 日間置いて屠殺し、局所皮膚を切除して培養試験を行なった。Fig. 1 は実験期間を通しての各実験群局所の症状の推移を平均病変スコアを指標に図示したものであり、そのなかで特に感染 11, 18 および 25 日目における各群の個々の感染局所の病変スコアを Table 1 に示した。また Table 2 にはこれと同じ時期に行なった局所皮膚組織片の培養成績をまとめた。

1) 感染の経過

Fig. 1 The therapeutic activities of various (0.1~2%) oxiconazole nitrate preparations and a 1% clotrimazole preparation in 21 days of the topical treatment of guinea-pigs experimentally infected with *T. mentagrophytes* (average daily lesion score)-Experiment 1.

●, Untreated, infected control; ○, treated with cream vehicle; ▲, treated with 0.1% oxiconazole nitrate(OCZ) cream; ■, treated with 0.5% OCZ cream; ★, treated with 1.0% OCZ cream; ×, treated with 2.0% OCZ cream; ⊙, treated with 1% clotrimazole cream.

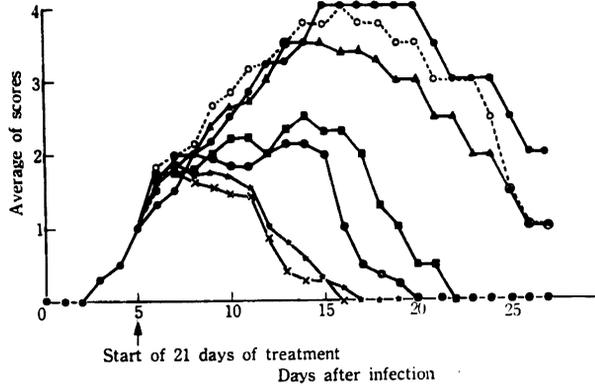


Table 1 Lesion scores of infected loci as influenced by topical treatment with various (0.1~2.0%) oxiconazole nitrate creams and a 1.0% clotrimazole cream of *T. mentagrophytes*-infected guinea-pigs at the 11th, 18th and 25th days postinfection. Treatment was started on the 5th day postinfection.

Days after infection	Treatment with:	No. of loci tested	No. of loci and lesion scores*					Average lesion score
			0	1	2	3	4	
11	I. control	6	0	0	2	3	1	2.83
	Vehicle	6	0	0	2	1	3	3.17
	OCZ 0.1%	14	0	2	3	5	4	2.79
	0.5%	14	0	3	5	6	0	2.21
	1.0%	14	0	7	6	1	0	1.57
	2.0%	14	0	8	5	1	0	1.50
18	CTZ 1.0%	12	0	4	6	2	0	1.83
	I. control	4	0	0	0	0	4	4.00
	Vehicle	4	0	0	0	1	3	3.75
	OCZ 0.1%	10	0	0	0	7	3	3.30
	0.5%	10	1	5	4	0	0	1.30
	1.0%	10	10	0	0	0	0	0.00
25	2.0%	10	10	0	0	0	0	0.00
	CTZ 1.0%	8	5	3	0	0	0	0.38
	I. control	2	0	0	1	1	0	2.50
	Vehicle	2	0	1	1	0	0	1.50
	CTZ 0.1%	4	0	2	2	0	0	1.50
	0.5%	4	4	0	0	0	0	0.00
25	1.0%	4	4	0	0	0	0	0.00
	2.0%	4	4	0	0	0	0	0.00
	CTZ 1.0%	4	4	0	0	0	0	0.00
	CTZ 1.0%	4	4	0	0	0	0	0.00

* Subjected to statistical analyses (see Table 3).

I. control, infected control; OCZ, oxiconazole nitrate; and CTZ, clotrimazole.

Table 2 The therapeutic activities of creams of oxiconazole nitrate and clotrimazole in the topical treatment of guinea-pigs experimentally infected with *T. mentagrophytes* (culture studies) Experiment 1.

Treatment with:	Days after infection	Total number of loci tested	Loci with positive culture	No. of blocks with positive culture / total No. of skin blocks from infected locus(%) ^a
I. control	13	2	2	20/20 (100)
Vehicle		2	2	20/20 (100)
OCZ 0.1%		4	4	33/40 (82.5)
OCZ 0.5%		4	4	32/40 (80.0)
OCZ 1.0%		4	4	28/40 (70.0)
OCZ 2.0%		4	4	19/40 (47.5)
CTZ 1.0%		4	4	19/40 (47.5)
I. control		20	2	2
Vehicle	2		2	20/20 (100)
OCZ 0.1%	6		6	36/60 (60.0)
OCZ 0.5%	6		5	14/60 (23.3)
OCZ 1.0%	6		3	6/60 (10.0)
OCZ 2.0%	6		1	2/60 (3.3)
CTZ 1.0%	4		2	3/40 (7.5)
I. control	27		2	2
Vehicle		2	2	18/20 (90.0)
OCZ 0.1%		4	4	18/40 (45.0)
OCZ 0.5%		4	2	6/40 (15.0)
OCZ 1.0%		4	1	1/40 (2.5)
OCZ 2.0%		4	0	0/40 (0.0)
CTZ 1.0%		4	1	1/40 (2.5)

^a Subjected to statistical analyses(see Table 4 and 5).

I. control, infected control; OCZ, oxiconazole nitrate; and CTZ, clotrimazole.

感染局所の病変の程度と推移は、動物個体または局所間で多少の相違はみられたものの、全体的には Fig. 1 にみられるように以下に述べる消長を辿った。

攻撃菌接種後 4~5 日目より少数の紅斑性小丘疹が生じ(病変スコア +1)、以後紅斑は次第に顕著となり、7~8 日目には局所全面に拡大した(病変スコア +2)。菌接種 11 日目頃から紅斑はさらに強度を増し、明瞭な炎症性皮膚反応を呈するとともに、豊富に鱗屑を形成した(病変スコア +3)。皮膚反応の増強はその後も続き、14~15 日目には厚い痂皮の形成が認められたが、出血性びらんや膿疱形成に至る例はまれであった(病変スコア +4)。この病変極期が 5~6 日持続した後、20 日目頃から徐々に自然治癒に向い、観察期間が終了する 27 日目には +2 程度の病変スコアに相当する紅斑が残るところまで症状は軽快した。また、それに伴って新しい体毛が発育し、次第に感染局所を覆うようになった。

Table 2 に示されるように、皮膚組織内の菌の消長の観点から眺めると、病変が極期に達する直前の感染 13 日目および極期を過ぎて消退に向い始める 20 日目の組織小片の培養陽性率は 100% であり、病変の強さに一致

して攻撃菌の旺盛な組織内発育が起こっていることを示唆している。一方、局所症状がかなり軽快しつつある 27 日目でもなお 85.0% の培養陽性率を示したことは、症状から推測される以上に局所組織内には菌が良好に持続し、したがって微生物学的な意味での感染は病変度からみたそれよりもかなり遷延することをうかがわせる。

2) 薬剤濃度と治療期間が治療効果に及ぼす影響

(a) 病変度からみた治療効果：攻撃菌接種 5 日後より各種濃度 (0.1~2%) の OCZ 剤および 1% CTZ 剤による治療を開始し、病変スコアに基づいて治療効果を追跡した。Fig. 1 に示されるように、両薬剤による症状改善効果は、薬剤濃度にかかわらず治療開始後 4~5 日目すなわち感染 9~10 日目から明らかになり、治療日数が進むとともにますます顕著になった。特に OCZ 剤の場合には、薬剤濃度が増すにつれて治療効果が上昇する傾向が明瞭に観察された。すなわち、0.1% OCZ の治療効果は軽微であったが、0.5% OCZ 治療群においては平均病変スコアは +2.5 より高くはならず、しかも感染 16 日目以後に急速に軽快し、22 日目に感染症状はすべての局所から完全に消失した。1% OCZ 治療群におい

ては、平均病変スコアが全経過を通じて +2 に達することではなく、軽度の病変も感染 11 日目以後速やかに軽快し、17 日目に症状はすべて消失した。2% OCZ 治療群の場合も、これとほぼ同様の経過で症状の改善、消失が認められた。一方、1% CTZ 治療群における病変度は OCZ 0.5% 剤と 1% 剤治療群の中間のコースを辿って軽快し、感染 20 日目にすべての局所で症状が消失した。

以上述べたような薬剤濃度ならびに治療期間に依存する治療効果が推計学的に有意か否かを知るために、感染後 11, 18 および 25 日目の各実験群の病変スコア (Table 1) について MANN-WHITNEY U テストによる検討を行なった。その成績を Table 3 に示す。感染対照群に対し 0.1% および 0.5% OCZ 治療群は 18 日目のみ有意な治療効果を示したのに対し、1% ならびに 2% OCZ および 1% CTZ 各治療群は感染対照群または基剤処置群のいずれに対しても 11 日目および 18 日目で有意な治療効果を示した。次に、異なる濃度の OCZ 剤間で比較すると、0.1% OCZ に対して 0.5% OCZ は 18, 25 日目で、また 1% および 2% OCZ はいずれの測定時点でも有意に優れた治療効果を示した。0.5% OCZ に対してそれを上回る 1% および 2% OCZ の治療効果には、11, 18 日目で有意差が認められた。一方、1% および 2% OCZ 間には 18 日目でもまったく有意差はみられなかった反面、いずれも 18 日目で治療効果は 1% CTZ のそれを有意にしにしていた。これに対して、感染 25 日目では 0.5~2% OCZ および 1% CTZ のそれぞれの間にまったく有意差が認められなかったのは、この時期には各治療群の局所病変がすべて消失していたことによるものである。Fig. 1 からは、感染対照群に比べて基剤処置群のほうが幾分速やかに症状軽快するようにも見受けられるが、検定の結果両群病変度にはまったく有意差がないことが知られた。

(b) 培養成績からみた治療効果: Table 2 から明らかのように、感染対照群においては高い培養陽性率で終始し、感染の持続が示唆された。また、この感染の経過は基剤処置によってもほとんど影響を受けなかった。これに対して、各種濃度 (0.1~2%) の OCZ および 1% CTZ はいずれも明らかな微生物学的治療効果すなわち局所皮膚組織片培養陽性率低下または完全な陰性化の効果を示し、しかもそれは局所症状改善効果と同様、薬剤濃度ならびに治療期間に依存することが認められた。

0.1% OCZ 治療の場合、いずれの感染局所においても培養陰性化は最後までみられなかったが、局所組織小片についての培養陽性率は明らかに低下に向い、3 週間治療後の感染 27 日目には感染対照に比べてほぼ 50% の低値を示した。1 週間治療後の 13 日目の培養成績ではす

べての治療群で感染局所の完全な培養陰性化はみられなかったのに対し、それより長く治療した後では薬剤濃度に応じてより強力な微生物学的治療効果が発揮された。すなわち、0.5% OCZ を用いた場合には、2 および 3 週間治療後、培養陰性化した局所の比率はそれぞれ 1/6, 2/4 と増加し、これに対応して局所組織小片を合せた培養陽性率もそれぞれ 23.3%, 15.0% と次第に低下した。1% OCZ 治療の場合には、局所培養陰性化率はそれぞれ 3/6, 3/4 とさらに高くなり、局所組織小片についての培養成績でも陽性率は 10.0%, 2.5% と著しく低値でしかも漸減傾向を示した。2% OCZ 治療群における局所培養陰性化率はそれよりもさらに高いようにみえ、特に 3 週間治療後には 100% 陰性率が得られた。1% CTZ 治療の成績は 1% OCZ 治療のそれとほぼ同程度であった。

Table 4 は各実験群について 1, 2 および 3 週間治療後、それぞれ 13, 20 および 27 日目の全局所皮膚小片の培養成績について行なった有意差検定の結果を示す。13 日目では 0.1% OCZ 治療群を除くすべての治療群の治療効果は感染対照群および基剤投与群のいずれに対しても有意 ($P < 0.05$) であった。20 および 27 日目の成績についての解析の結果は相互によく近似し、0.1% OCZ 治療群を含めてすべての薬剤治療群は双方の対照群に対して有意な治療効果を示した。これに加えて、0.5, 1 および 2% OCZ の治療効果は 0.1% OCZ のそれに対して有意にまさることが知られた。また、0.5, 1, 2% OCZ および 1% CTZ 間で治療効果を比較した結果、2% OCZ が 13, 20, 27 日目で、1% CTZ が 13 日目でいずれも 0.5% OCZ よりも有意に優れていたほかは、これらの各薬剤間または薬剤濃度間に有意な薬効の差は見出されなかった。

Table 5 は各治療群ごとに治療期間と薬効との間の関係について有意差検定を行なった結果を示す。いずれの治療群においても 1 週間治療に比べて 2 および 3 週間治療のほうが有意に高い効果をもつことが認められたが、その反面、2 週間治療と 3 週間治療とではいずれの薬剤または薬剤濃度間にも有意な薬効の差を見出すことができなかった。

治療実験-2

動物局所当り攻撃菌 1.8×10^6 個 (1.4×10^6 cfu) を接種した後、3 日目から 2 週間にわたって連日次の 2 通りの投与方法による局所療法を行なった。第 1 の投与方法においては、前実験と同様、1 日 1 回 300 mg を局所に塗布し、第 2 の方法では 1 日用量 300 mg を朝晩 2 回に分割して 150 mg ずつ塗布した。感染翌日より連日局所病変スコアを記録するとともに、治療終了後 2 日置いてすべ

Table 3 Statistical evaluation based on lesion scores of infected loci given in Table 2 of the therapeutic activities of creams of oxiconazole nitrate(OCZ) and clotrimazole (CTZ)- Experiment 1.

11th day

						Infected control
					Vehicle	*
				OCZ 0.1%	*	*
			OCZ 0.5%	*	*	*
		OCZ 1.0%	P<0.05	P<0.01	P<0.01	P<0.01
	OCZ 2.0%	*	P<0.05	p<0.01	P<0.01	P<0.01
CTZ 1.0%	*	*	*	P<0.05	P<0.05	P<0.05

18th day

						Infected control
					Vehicle	*
				OCZ 0.1%	*	P<0.05
			OCZ 0.5%	P<0.001	P<0.01	P<0.01
		OCZ 1.0%	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
	OCZ 2.0%	*	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
CTZ 1.0%	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.001	P<0.01	P<0.01

25th day

						Infected control
					Vehicle	*
				OCZ 0.1%	*	*
			OCZ 0.5%	P<0.05	*	*
		OCZ 1.0%	*	P<0.05	*	*
	OCZ 2.0%	*	*	P<0.05	*	*
CTZ 1.0%	*	*	*	P<0.05	*	*

Statistical significance was evaluated according of the MANN-WHITNEY U test.

* : Not significant (P>0.05)

Table 4 Statistical evaluation based on culture studies data given in Table 2 of the therapeutic activities of creams of oxiconazole nitrate (OCZ) and clotrimazole (CTZ) (comparison between different preparations)-Experiment 1.

13th day after infection

						Infected control
					Vehicle	*
				OCZ 0.1%	*	*
			OCZ 0.5%	*	P<0.05	P<0.05
		OCZ 1.0%	*	*	P<0.01	P<0.01
	OCZ 2.0%	*	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P<0.001
CTZ 1.0%	*	*	P<0.01	P<0.01	P<0.001	P<0.001

20th day after infection

						Infected control
					Vehicle	*
				OCZ 0.1%	P<0.001	P<0.001
			OCZ 0.5%	P<0.001	P<0.001	P<0.001
		OCZ 1.0%	*	P<0.001	P<0.001	P<0.001
	OCZ 2.0%	*	P<0.01	P<0.001	P<0.001	P<0.001
CTZ 1.0%	*	*	*	P<0.001	P<0.001	P<0.001

27th day after infection

						Infected control
					Vehicle	*
				OCZ 0.1%	P<0.001	P<0.01
			OCZ 0.5%	P<0.01	P<0.001	P<0.001
		OCZ 1.0%	*	P<0.001	P<0.001	P<0.001
	OCZ 2.0%	*	P<0.05	P<0.001	P<0.001	P<0.001
CTZ 1.0%	*	*	*	P<0.001	P<0.001	P<0.001

Statistical significance was evaluated according to the FISHER's exact test.

* : Not significant ($P > 0.05$).

Table 5 Statistical evaluation based on culture studies data given in Table 2 of the therapeutic activities of creams of oxiconazole nitrate (OCZ) and clotrimazole (CTZ) (comparison between duration of treatment) Experiment 1.

1) 0.1% OCZ		13th day after infection
	20th day after infection	P < 0.05
27th day after infection	*	P < 0.001

2) 0.5% OCZ		13th day after infection
	20th day after infection	P < 0.001
27th day after infection	*	P < 0.001

3) 1.0% OCZ		13th day after infection
	20th day after infection	P < 0.001
27th day after infection	*	P < 0.001

4) 2.0% OCZ		13th day after infection
	20th day after infection	P < 0.001
27th day after infection	*	P < 0.001

5) 1.0% CTZ		13th day after infection
	20th day after infection	P < 0.001
27th day after infection	*	P < 0.001

Statistical significance was evaluated according to the MANN-WHITNEY U test.

* : Not significant (P > 0.05).

での動物を屠殺し、すべての感染局所の皮膚組織小片を培養試験に付した。それぞれの実験成績を Table 6 および 7 にまとめた。

薬剤濃度と投与方法が治療効果に及ぼす影響

(2) 病変度からみた治療効果：この実験における感染対照群にみられる局所の病変度は前実験のそれよりは幾分早めに推移するものの、基本的には同一の強さと経時的パターンを示した。Table 6 には感染後 3, 6, 9, 12 および 16 日目の各実験群の病変スコアのデータが示されている。感染対照群においては、日数とともに平均病変スコアが次第に上昇し、また基剤処置の場合には、1 回投与または 2 回分割投与の別なくほとんど影響は認められなかった。これに対して、0.1~1% OCZ および 1% CTZ 治療群においては、いずれも治療開始後 6~9 日すなわち感染 9~12 日目以内に急速な病変の改善が認められた。この場合、OCZ 剤間では明らかな濃度依存性が成立し、感染 12 日目の時点で 0.5% OCZ, 1% OCZ および 1% CTZ の 1 日 1 回投与により局所症状が完全に消失した比率は、それぞれ 2/6, 5/6, 2/6 であ

り、また同じく 1 日 2 回分割投与による場合はそれぞれ 2/6, 3/6, 1/6 の値を示した。平均病変スコアからみた各治療群の治療成績もほぼこれに対応するものと判断されたが、全般に 1 回投与よりも 2 回分割投与のほうが優れた効果を示すように見え、特にこの傾向は 0.1% OCZ 治療の場合に顕著であった。

Table 8 は、各治療群について 1 回投与と 2 回分割投与の場合の治療効果を薬剤間で有意差検定を行なった成績を示す。治療開始後 3 日目 (感染後 6 日目) では、投与方法にかかわることなくいずれの薬剤も有意な治療効果を示さなかった。しかし、1 日 1 回投与の場合治療開始 6 日目 (同 9 日目) になると 1% OCZ が、また 9 日目 (同 12 日目) および 13 日目 (同 16 日目) にはさらに 0.1% および 0.5% OCZ を含むすべての薬剤治療群が感染対照群ならびに基剤処置群に対して有意な薬効を示した。前実験と同様、この実験においても OCZ 剤治療効果の濃度依存性は顕著であり、0.1% OCZ に対して 1% OCZ は感染後 9 日目から有意に優れた治療効果を発現した。この 9 日目は薬剤間または薬剤濃度間の治療効

Table 6 The therapeutic activities of creams of oxiconazole nitrate and clotrimazole in 14 days of the topical treatment of guinea-pigs experimentally infected with *T. mentagrophytes* (lesion score) - Experiment 2. Treatment was started on the 3rd day postinfection.

Treatment with:	Daily dose (mg)	Total number of loci tested	Day after infection	No. of loci and lesion score*					Average lesion score
				0	1	2	3	4	
I. control	0	10	3	9	1	0	0	0	0.10
			6	0	4	6	0	0	1.60
			9	0	0	5	5	0	2.50
			12	0	0	0	2	8	3.80
			16	0	0	0	3	7	3.70
Vehicle	1×300	5	3	4	1	0	0	0	2.00
			6	0	1	4	0	0	1.80
			9	0	0	1	4	0	2.80
			12	0	0	0	1	4	3.80
			16	0	0	0	2	3	3.60
OCZ 0.1%	1×300	6	3	5	1	0	0	0	0.17
			6	0	4	2	0	0	1.33
			9	0	0	3	3	0	2.50
			12	0	2	3	1	0	1.83
			16	2	3	0	1	0	1.00
OCZ 0.5%	1×300	6	3	5	1	0	0	0	0.17
			6	0	3	3	0	0	1.50
			9	0	1	2	3	0	2.33
			12	2	3	1	0	0	0.83
			16	5	1	0	0	0	0.17
OCZ 1.0%	1×300	6	3	6	0	0	0	0	0.00
			6	0	4	2	0	0	1.33
			9	0	5	1	0	0	1.17
			12	5	1	0	0	0	0.17
			16	6	0	0	0	0	0.00
CTZ 1.0%	1×300	6	3	5	1	0	0	0	0.17
			6	0	1	5	0	0	1.83
			9	0	1	4	1	0	2.00
			12	2	3	1	0	0	0.83
			16	6	0	0	0	0	0.00
Vehicle	2×150	5	3	4	1	0	0	0	0.20
			6	0	2	3	0	0	1.60
			9	0	0	3	2	0	2.40
			12	0	0	0	1	4	3.80
			16	0	0	1	1	3	3.40
OCZ 0.1%	2×150	6	3	6	0	0	0	0	0.00
			6	0	3	3	0	0	1.50
			9	0	0	3	3	0	2.50
			12	0	2	4	0	0	1.67
			16	3	1	2	0	0	0.83
OCZ 0.5%	2×150	6	3	6	0	0	0	0	0.00
			6	0	2	4	0	0	1.67
			9	0	2	3	1	0	1.83
			12	2	4	0	0	0	0.67
			16	6	0	0	0	0	0.00
OCZ 1.0%	2×150	6	3	5	1	0	0	0	0.17
			6	0	2	4	0	0	1.67
			9	1	3	2	0	0	1.17
			12	3	3	0	0	0	0.50
			16	6	0	0	0	0	0.00
CTZ 1.0%	2×150	6	3	5	1	0	0	0	0.17
			6	0	3	3	0	0	1.50
			9	0	1	4	1	0	2.00
			12	1	4	1	0	0	1.00
			16	6	0	0	0	0	0.00

* Subjected to statistical analyses (see Table 8).

I. control, infected control; OCZ, oxiconazole nitrate; and CTZ, clotrimazole.

Table 7 The therapeutic activities of creams of oxiconazole nitrate and clotrimazole in 14 days of the topical treatment of guinea-pigs experimentally infected with *T. mentagrophytes* (culture studies)-Experiment 2.

Treatment with:	Daily dose (mg)	Total number of animals tested	Animals with positive cultures	No. of blocks with positive cultures / total No. of skin blocks from infected locus (%) ^a
I. control	0	10	10	99/100 (99.0)
Vehicle	1×300	5	5	49/50 (98.0)
OCZ 0.1%		6	6	37/60 (61.6)
OCZ 0.5%		6	5	19/60 (31.6)
OCZ 1.0%		6	4	9/60 (15.0)
CTZ 1.0%		6	4	7/60 (11.6)
Vehicle	2×150	5	5	46/50 (92.0)
OCZ 0.1%		6	6	19/60 (31.6)
OCZ 0.5%		6	3	8/60 (13.3)
OCZ 1.0%		6	2	3/60 (5.0)
CTZ 1.0%		6	2	5/60 (8.3)

^a Subjected to statistical analyses (see Table 9).

I. control, infected control, OCZ, oxiconazole nitrate; and CTZ, clotrimazole.

果に最も大きな相違がみられる時期であり、1% OCZ の薬効は 0.5% OCZ および 1% CTZ のそれを有意に上回った。しかし、12 日目以後になると 0.5% OCZ, 1% OCZ および 1% CTZ の間にはほとんど有意差が認められなくなった。

1 日 2 回分割投与の場合の有意差検定の結果も、1 回投与の場合と基本的には同じであり、相違する点としては (i) 9 日目で 0.5% OCZ と 1% OCZ 間および 1% OCZ と 1% CTZ 間にいずれも有意差がないこと、(ii) 12 日目で 0.1% OCZ と 0.5% OCZ 間に有意差があるものの、16 日目で 0.1% OCZ と 1% OCZ または 1% CTZ 間にまったく有意差を認めないこと、のみであった。この結果から、1% OCZ の 2 回分割投与による治療効果が 1 回投与時のそれを上回ることが推計学的にも確認された。

さらに各治療群について 1 回投与と 2 回分割投与の場合との間で治療効果の有意差検定を行なった。その結果、いずれの薬剤または薬剤濃度についても、また治療期間の長さにかかわらず、有意差 ($P < 0.05$) を示した例はまったくなかった。

(b) 培養成績からみた治療効果：2 週間治療を終了して 2 日後すなわち感染 18 日目に行なった培養成績 (Table 7) から、いずれの投与方法を用いた場合も病変度の成績とほぼ対応して OCZ 剤の薬剤含有度の増加に伴って培養陽性率が明らかに低下することが認められる。すなわち 0.5% および 1% の OCZ 剤治療により培養陰性化した局所の割合は、1 回投与の場合それぞれ 1/6,

2/6 であり、2 回分割投与の場合にはそれぞれ 3/6, 4/6 であった。1% CTZ は 1% OCZ とほぼ同等の治療効果を示した。一方、0.1% OCZ 治療群においては、いずれの投与方法を用いても感染局所を培養陰性化することはできなかった。これらの成績とほぼ対応して、局所組織の半定量的培養試験は次の結果を示した。(i) OCZ の薬効は 0.1~1% の範囲で薬剤濃度に強く依存する。(ii) いずれの薬剤濃度においても OCZ の薬効は 1 回投与よりも 2 回分割投与を行なった場合のほうが優れている。(iii) 1% OCZ の薬効は 1% CTZ と同程度である。

本実験で 1 回投与方法を行なった場合の治療スケジュールは、開始時期が異なる以外前実験で 2 週間治療を行なった場合のそれと同一である。そこで感染後 5 日目で 3 日目の治療開始時期の相違がその後の治療効果 (培養成績) にどのように影響するかを知る目的で、Table 2 と 7 に含まれる該当データの間で有意差検定を行なった。その結果、すべての濃度の OCZ について両投与方法に有意差 ($P < 0.05$) を認めなかった。

Table 9 は各薬剤および薬剤濃度で得られた微生物学的治療効果の有意差検定の結果を示す。この表から明らかのように、1 日 1 回投与の場合、すべての治療群は感染対照群および基剤処置群に対し有意な治療効果を示した。また、0.1% OCZ に対して 0.5% ならびに 1% OCZ および 1% CTZ の治療効果は有意に優れていた。1% CTZ は 0.5% OCZ に対して有意差を示したが、1% OCZ との間には有意差が認められなかった。一

Table 8 Statistical evaluation based on lesion scores of infected loci of the therapeutic activities of creams of oxiconazole nitrate (OCZ) and clotrimazole (CTZ)-Experiment 2.

A. Treated once a day in 300 mg of daily dose

6th day after infection			9th day after infection		
	Vehicle	Infected control		Vehicle	Infected control
	OCZ 0.1%	*		OCZ 0.1%	*
	OCZ 0.5%	*		OCZ 0.5%	*
	OCZ 1.0%	*		OCZ 1.0%	*
CTZ 1.0%	*	*		CTZ 1.0%	*
				P < 0.01	P < 0.01
				*	*

12th day after infection			16th day after infection		
	Vehicle	Infected control		Vehicle	Infected control
	OCZ 0.1%	P < 0.001		OCZ 0.1%	P < 0.01
	OCZ 0.5%	P < 0.001		OCZ 0.5%	P < 0.001
	OCZ 1.0%	P < 0.001		OCZ 1.0%	P < 0.001
CTZ 1.0%	*	P < 0.001		CTZ 1.0%	P < 0.001
				P < 0.05	P < 0.01
				*	*

Statistical significance was evaluated according to the MANN-WHITNEY U test.

* : Not Significant (P > 0.05).

OCZ, oxiconazole nitrate; CTZ, clotrimazole.

B. Treated twice a day in 300 mg of daily dose

6th day after infection

		Vehicle	Infected control
	OCZ 0.1%	*	*
	OCZ 0.5%	*	*
OCZ 1.0%	*	*	*
CTZ 1.0%	*	*	*

9th day after infection

		Vehicle	Infected control
	OCZ 0.1%	*	*
	OCZ 0.5%	*	*
OCZ 1.0%	*	P<0.05	P<0.01
CTZ 1.0%	*	*	*

12th day after infection

		Vehicle	Infected control
	OCZ 0.1%	P<0.01	P<0.001
	OCZ 0.5%	P<0.05	P<0.001
OCZ 1.0%	*	P<0.05	P<0.001
CTZ 1.0%	*	P<0.01	P<0.001

16th day after infection

		Vehicle	Infected control
	OCZ 0.1%	P<0.05	P<0.001
	OCZ 0.5%	P<0.01	P<0.001
OCZ 1.0%	*	P<0.01	P<0.001
CTZ 1.0%	*	P<0.01	P<0.001

Statistical significance was evaluated according to the MANN-WHITNEY U test.

* : Not significant (P>0.05).

OCZ, oxiconazole nitrate; CTZ, clotrimazole.

方、1日2回分割投与の場合にも、すべての薬剤または薬剤濃度の治療が感染対照または薬剤処置に比べて有意に高い薬効を示し、加えて0.1% OCZ に対し残りの薬剤が有意差をもつ点で、1回投与の場合と相違しなかった。しかし、0.5% ならびに1% OCZ および1% CTZ の3群間で有意差を生じた例はまったくみられなかった。

次に、各薬剤または薬剤濃度について1回投与と2回分割投与の間で有意差検定を行なった。その結果、0.1% および0.5% OCZ では1回投与に比べて2回分割投与が有意に(それぞれ $P < 0.01$, $P < 0.05$) 優れた薬効をもつことが知られたが、1% OCZ および1% CTZ では二つの投与方法間にまったく有意差 ($P < 0.05$) を見出すことができなかった。

III. 考 察

一般に抗菌物質の *in vivo* 活性の評価には適応の対象となるヒト疾患に近似した病態をもつ適切な感染動物モデルの使用が不可欠とされている^{11,12)}。これは外用抗真菌剤についてもあてはまることであり、その治療実験には従来から動物、ことにモルモットにおける *T. mentagrophytes* 感染症が動物モデルとして賞用されてきた。しかし、これらの動物モデルの多くは、感染極期に膿疱、痂皮形成からさらに出血、びらんをいたるいわばツェルズス禿瘡様の激しい症状を呈し、紅斑や丘疹病巣を主症状とするヒトの体部白癬とは明らかに病態を異にするという欠点が指摘されている¹³⁾。加えて感染極期後速やかに自然治癒に向うことも比較的長期間の治療処置を必要とする局所的抗真菌剤の評価には不適である。この問題に対処するため、われわれはこれまでハムスター由来の *T. mentagrophytes* 継代保存株 TIMM 1189 を攻撃菌に用い、感染局所当り 10^6 分生子程度の比較的小さな菌量を接種することにより、膿疱、出血、びらんなどの重い症状を呈することなく、しかも4週間以上明らかな感染が持続するモルモットの白癬モデルをつくることに成功した。この動物モデルはしたがって外用抗真菌剤の治療実験に好適であり、すでに miconazole 液剤および bifonazole クリーム剤ならびに液剤など幾つかのイミダゾール誘導体の外用剤の基礎的評価に使用し、安定してしかも臨床的治療効果と良好に対応する実験成績が得られることを確認している^{14,15)}。したがって、同じ動物モデルを使用した今回の OCZ 治療実験の成績も充分信頼性に富むものと予想される。

POLAK⁹⁾ はモルモットにおける実験的 *T. mentagrophytes* 感染症に対する種々の濃度の OCZ クリーム剤の治療効果を検討している。それによれば、感染局所当り攻撃菌分生子 $10^5 \sim 10^6$ 個を接種した後、6時間目から

1日1回 500 mg 用量で 0.01~2% の範囲のさまざまな濃度の OCZ クリーム剤を連日局所に塗布した。感染11日目に局所感染病変の有無を肉眼的に判定した結果、OCZ の治療効果は濃度に大きく依存し、0.2% OCZ 治療群においてはすべての病巣部から感染性病変が消失すること、この濃度依存性の薬効を基準と比較すると OCZ の *in vivo* 活性は tolnaftate のそれより劣るものの、econazole および tioconazole に比べて幾分弱いながらもほぼ同等であり、miconazole や ketoconazole の薬効を上回ることなどを報告している。この実験成績から、OCZ クリーム剤が 0.2% 以上の濃度で有意な *in vivo* 抗白癬作用をもつことは明白となった。他方、攻撃菌接種6時間後から治療を開始している点を考慮するならば、実際に得られた成績は治療効果というよりむしろ予防的効果を反映したものであること、また薬効の判定基準の設定を局所病変の肉眼的所見のみに依存し、しかもその基準に定量性がないことなどの問題点が指摘される。

今回われわれはこれらの点に留意し、OCZ 外用剤の白癬に対する治療効果をより詳細にしかもより定量的に評価することを企画した。その目的に適う実験条件として第1に薬剤処置開始時期をすでに感染症状が発現している感染後3~5日目とし、予防的効果ではなく治療効果自体を測定できるように設定した。第2に、局所病変度を定量的に評価するために紅斑、丘疹、鱗屑、痂皮の主症状をこの順に重みをつけた4段階のスコアで表示した。この評価方式は従来から多くの研究者^{9,10,14,16)}によって採用されてきたが、われわれの用いた白癬モデルの症状が比較的軽度であるところから以前の方式を多少改変して適用することとした。第3は治療終了後の培養試験の実施法である。治療効果の判定法としては、局所症状の改善を指標とするよりも組織内残存生菌の量を重視すべきことは、臨床的薬効評価の場合を考えるまでもなく、当然の理というべきであろう。この点に関して従来用いられてきた培養試験法は、感染局所全体のレベルで菌が完全に陰性化したか否かを判定しように過ぎなかった。一般的にいて、かなり大きな感染局所から病原菌を完全に消失させることはかなり難事であり、よほど強力な抗真菌療法を長期間続けない限りその達成は期待できない。たとえ菌が完全に陰性化しなくとも、充分な菌数の減少がひき起こされれば、それは治療効果があることを証明するものであり、また菌数減少の程度によって薬効を定量的に評価することも可能となる。したがって、この方法がより実際的でより有用な微生物学的治療効果の評価法であると考えられる。しかし、それには皮膚組織内の白癬菌を定量培養することが必要となる。こ

の培養法は残念ながらもまだ確立されていないが、われわれは以前より1感染局所から切り出した一定面積の皮膚組織を10個の小片に分割し、個々の小片について培養試験を行なって陽性か陰性かを判定し、それを総合して陽性率を算出するという半定量的評価法を提案してきた。すでにこの方法は miconazole^{14,18)}, econazole¹⁷⁾, isoconazole¹⁹⁾, bifonazole¹⁵⁾ といったイミダゾール系抗真菌剤の局所療法効果の評価に使用されており、今回のOCZに関する成績からも明らかなように、比較的少数の局所数(動物数)で推計学的処理に充分堪えうる点で有用性が改めて確認されたと考える。

以上述べた実験条件ならびに薬効評価法を用い二つの治療実験を行なった。第1の実験においては、OCZ 0.1, 0.5, 1 および 2% 含量クリーム剤をいずれも感染5日目より1日1回 300 mg 用量を連日局所に塗布し、その経過を病変度ならびに培養成績の二つの点から追跡した。その結果、いずれの指標を用いて判定した場合にも、OCZ クリーム剤は薬剤濃度および投与期間の双方に依存した強力な治療効果を示すことが認められた。特に注目されるのは、1% OCZ 剤の優れた治療効果であり投与開始3日後から症状の改善が認められ、2週間以内に病変は完全に消失し、これに対応して2週間治療後の局所組織片培養成績も高い陰性率を示した。1% OCZ 剤の治療効果は0.5% 剤よりも有意に優れている一方、2% OCZ との間に有意差は認められなかった。また、OCZ 剤はその濃度にかかわらず、治療期間を2週間から3週間に延長しても治療効果にはほとんど影響のないことも知られた。したがって、少なくともこの実験条件下では、OCZ クリーム剤の治療効果は1%濃度でほぼ上限に達し、2週間の治療が必要かつ充分であることが示唆される。

近年 CTZ, miconazole, econazole, isoconazole などのイミダゾール誘導体がいずれも1%クリーム剤および(または)1%液剤として製品化され、臨床的に賞用されている。しかし、これらの外用剤の濃度が1%に規定された理由は必ずしも明確ではない。この点今回のOCZに関する本報の成績は、クリーム剤が1%薬剤を含有することが最大の治療効果を発揮する上で必要かつ充分な条件であることの理論的根拠を提示した唯一の例といえよう。

0.2%以上の濃度のOCZ クリーム剤が治療開始後11日目ですべての感染病巣から症状を完全に消失させたというPOLAK⁸⁾の成績に比べると、今回の治療実験成績は明らかに劣っているように見える。しかし、POLAKの実験では感染後6時間目という早期から処置を開始しており、したがってその効果は彼女自身も述べているよ

うに治療的というよりむしろ予防的なのとみなすべきであろう。これに対して、われわれの実験においては感染後5日を経過し、すでに紅斑性病変(病変スコア+1)が現われた後により早く処置を開始しているのであるから、まさしく治療的な処置を行なっていることになり、症状改善が遅れたり不完全になるのは当然ともいえよう。それよりもこれらの成績からOCZ投与が単に予防的な効果にとどまらず、真の治療効果も明らかに示すという事実に着目すべきである。動物の白癬モデルにおいて抗真菌療法開始時期が早ければ早いほど薬効もそれだけ速やかにしかもより効果的に発現されるという成績は、siccanin¹⁹⁾, Hoe 296 (ciclopiroxolamine)²⁰⁾, miconazole²¹⁾ などについて報告されており、早期治療による効果は、こうした感染モデルを使用した場合に多くの抗真菌剤に共通してみられることかもしれない。

実験-2においては、感染3日目から2週間にわたって連日治療を行なうという条件下で、1日用量 300 mg の1回投与と2回分割投与の間で治療効果にどのような相違を生じるかを検討することが主たる目的であった。実験の結果から、1回投与に比べて2回分割投与によるほうが高い治療効果を示すように判断され、特にこの傾向は低濃度のOCZ剤の場合ほど顕著であった。おそらくこれは分割投与を行なうことによって有効濃度閾値を越す皮膚組織(角質層)内の薬剤レベルの持続時間が1回投与に比べて長くなるためと推測される。一般に低濃度の薬剤を使用する場合や1日または1回用量が小さい場合には、分割投与は極めて有効と考えられ、この点は特に1回用量が制限される液剤の治療実験を行なうに当たってぜひとも留意する必要がある^{14,15)}。

実験-2の成績はまた前実験で示されたOCZ治療効果の濃度依存性を再確認させた。また、1日1回2週間連続投与の成績を前実験の対応する条件下での成績と比較した結果、双方の間にはまったく有意差が認められなかった。したがって、OCZ剤の濃度にかかわらず、治療開始日を感染後3日目にしてまた5日目にしても、治療効果にはほとんど影響しないことが知られる。

次に問題となるのは試験薬剤OCZと対照薬剤CTZの薬効の比較である。今回行なったすべての実験の成績を総合した結果からは、1%OCZ剤の治療効果は1%CTZ剤と基本的に異ならないと結論されよう。今回用いた攻撃菌 *T. mentagrophytes* TIMM 1189 は *in vitro* で $\geq 0.63 \mu\text{g/ml}$ のOCZ または $\geq 0.31 \mu\text{g/ml}$ のCTZにより完全に発育阻止された(「実験材料と方法」参照)。この成績と前報⁵⁾で報告したように *T. mentagrophytes* 試験菌10株に対するOCZとCTZの平均MIC値がそれぞれ $0.237 \mu\text{g/ml}$ および $0.118 \mu\text{g/ml}$ を

示したことを考え合わせるならば、(1) OCZ は大多数の *T. mentagrophytes* 株に起因する白癬に対して本攻撃菌による感染の場合以上に有効に働くこと、(2) OCZ は CTZ と比べて *in vitro* MIC 値の割合には、*in vivo* 治療効果が高いこと、の二つの可能性が強く示唆される。最近、楠²¹⁾は *T. mentagrophytes* および *T. rubrum* の新鮮臨床分離株に対する種々の抗真菌剤の *in vitro* 抗菌活性を比較検討し、それぞれの菌種に対する OCZ の平均 MIC 値が 0.47 および 0.08 $\mu\text{g/ml}$ であること、またこの抗菌活性は同時に比較した *isiconazole* と同等かむしろそれより強いことを報告している。この成績は、ヒト白癬の起因菌株、特に *T. rubrum* 菌株が極めて高い OCZ 感受性を有することを示しており、本剤が臨床的にも優れた治療効果を発揮する可能性を示唆するものであろう。

われわれは前報¹⁾において OCZ の *in vitro* 抗菌活性を種々検討し、TIMM 1189 その他の *T. mentagrophytes* 菌株の分生子に対して、本剤が 20 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で 95~99% 殺菌作用を、また、それ以下の濃度でも一定の有意な殺菌的效果を示すことを報告した。一方、STÜTTGEN & BAUER²⁾ は、1% OCZ クリーム剤を塗布したヒト皮膚の角質層で 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上、表皮深部でも 10 $\mu\text{g/ml}$ 以上の薬剤濃度に達することを認めている。この濃度は白癬菌に対する MIC 値をはるかに上回り、したがって発育を完全に阻止するのに充分足りる濃度ではあるが、反面強い殺菌的效果を得るには足りないように見える。これに対して、CTZ は、*T. mentagrophytes* 分生子に対し *in vitro* 条件下では 10 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で強力な殺菌的效果を速やかに発揮することが見出されている²³⁾。それにもかかわらず、同一濃度 (1%) の OCZ 剤と CTZ 剤とが動物の白癬モデルにおいてはほぼ同等の治療効果を示したことは、*in vitro* で測定された MIC 値のみならず殺菌作用もまたそのまま直接に *in vivo* 効果に外挿しえないことを示唆するものであろう。

OCZ は皮膚糸状菌のみならず他の大部分の表在性真菌症に対しても強力な *in vitro* 抗菌活性を有する³⁾。したがって、本剤は局所的抗真菌剤として広い適応をもち、有用性が高いと期待される。事実、これまで得られた予備的臨床治療実験の成績²⁴⁻²⁶⁾はいずれもこの可能性を裏付けており、早急な実用化が望まれる。

文 献

1) MIXICH, G. & K. THIELE: Ein Beitrag zur stereospezifischen Synthese von antimykotisch wirksamen Imidazolyloximäthern. Oxiconazole-nitrat (Sgd 301-76), ein neues Breitbandantimykotikum. *Arzneim.-Forsch.*

(*Drug Res.*) 29(II): 1510~1513, 1979

2) YAMAGUCHI, H.: Advances in research of mechanism of imidazole-antimycotics action. in *Filamentous Microorganisms-Current Topics of Infection, Toxicosis and Control* (ARAI, T., ed), Japan Scientific Societies Press, Tokyo (in press).

3) POLAK, A.: Oxiconazole, a new imidazole derivative. Evaluation of antifungal activity *in vitro* and *in vivo*. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* 32(I): 17~24, 1982

4) POLAK, A.: Antifungal activity *in vitro*, a phenylpropylmorpholine. *Sabouraudia* 21: 205~213, 1983

5) 平谷民雄, 内田勝久, 山口英世: 新規イミダゾール誘導体 Oxiconazole nitrate の *in vitro* 抗菌活性に関する検討. *Chemotherapy* 32: 568~584, 1984

6) STÜTTGEN, G. & E. BAUER: Bioavailability, skin- and nailpenetration of topically applied antimycotics. *Mycosen* 25: 74~80, 1981

7) SAKAI, S.; T. KADA, G. SAITO, N. MURAKA & Y. TAKAHASHI: Studies on Chemotherapy of *Trichophyton* infections. 1. Antifungal Properties of halogen phenol esters. *J. Sci. Res. Inst.* 46: 113~117, 1952

8) NOGUCHI, T.; A. KAJI, Y. IGARASHI, A. SHIGEMATSU & K. TANIGUCHI: Antitrichophyton activity of naphthiomates. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy-1962*, pp. 259~267, 1963

9) WEINSTEIN, M. J.; E. M. ODEN & E. MOSS: Antifungal properties of tolnaftate *in vitro* and *in vivo*. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy-1964*, pp. 595~601, 1965

10) GORDEE, R. S. & T. R. MATTHEWS: Evaluation of the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of pyrrolnitrin. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy-1967*, pp. 378~387, 1968

11) CLEELAND, R. & E. GRUNBERG: Laboratory evaluation of new antibiotics *in vitro* and in experimental animal infections. in *Antibiotics in Laboratory Medicine* (LORIAN, V., ed.), pp. 506~548, Williams & Wilkins, Baltimore/London, 1980

12) 山口英世: 抗真菌剤の作用機作と基礎的評価法に関する最近の研究一序言一。真菌誌 24: 188~193, 1983

13) 高橋 久: *In vivo* 系による外用抗真菌剤評価法の研究。真菌誌 24: 230~233, 1983

14) 内田勝久, 山口英世: モルモットの実験的白癬に対する硝酸ミコナゾール液剤の治療効果—クレーム剤との比較を中心に—。Chemotherapy (投稿中)

15) 内田勝久, 山下 悟, 山口英世: 局所的イミダゾール系抗真菌剤 Bifonazole の実験的白癬菌感染

- 症に対する治療効果。Chemotherapy(印刷中)
- 16) 江川朝生, 岩田和夫: モルモットの実験的白癬に対する Miconazole の治療効果。真菌誌 20: 10~19, 1979
- 17) 山崎良治, 内田勝久, 岩田和夫: Econazole の抗真菌活性に関する研究 第3報 実験的白癬菌感染に対する治療効果。真菌誌 19: 332~343, 1978
- 18) 岩田和夫, 内田勝久: Isoconazole の抗真菌作用に関する研究 第3報 実験的真菌感染に対する治療効果。Chemotherapy 30: 1216~1221, 1982
- 19) SUGAWARA, S.: Siccanin, a new antifungal antibiotic. II. *In vivo* studies. Antimicrobial Agents & Chemotherapy-1969, pp. 253~256, 1970
- 20) 桜井京子, 坂口 孝, 山口英世, 岩田和夫: 新合成抗真菌剤 Hoe 296 の抗菌作用 第1報 試験管内抗菌作用と実験的白癬菌感染に対する治療効果。真菌誌 16: 35~40, 1975
- 21) VAN CUTSEM, J. M. & D. THIENPONT: Miconazole, a broadspectrum antimycotic agent with antibacterial activity. Chemotherapy (Basle) 17: 392~404, 1972
- 22) 楠 俊雄: 臨床分離株に対する各種抗真菌剤の抗菌活性—皮膚糸状菌を中心に—。真菌誌 24: 222~229, 1983
- 23) 江川朝生, 山口英世, 岩田和夫: Miconazole の *in vitro* 抗菌活性 第3報 抗真菌作用に関する研究補遺。真菌誌 20: 20~30, 1979
- 24) KONZELMANN, M. & W. GRABER: Untersuchung ueber Wirkung und Vertraeglichkeit von Oxiconazol-creme an 100 Mykosepatienten. Acta Therapeutica 8: 361~365, 1982

OXICONAZOLE NITRATE, A NEW IMIDAZOLE-ANTIMYCOTIC : EVALUATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY *IN VIVO*

KATSUHISA UCHIDA and HIDEYO YAMAGUCHI

Research Center for Medical Mycology, Teikyo University School of Medicine

Using the animal model, a laboratory evaluation of a new imidazole oxiconazole nitrate (OCZ) as a topical antimycotic in human superficial mycosis was attempted. The guinea-pigs infected with *Trichophyton mentagrophytes* were treated with various concentration of OCZ creams. In all experiments, 1% clotrimazole (CTZ) cream was used as a reference drug preparation. The results are summarized as follows:

(1) The score of skin lesion was virtually comparable to the result of culture studies that were made at the end of observation period.

(2) When treatment was started on the 3rd to 5th day postinfection, 0.1, 0.5, 1 and 2% OCZ creams all showed good topical efficacy, the extent of which increased with increasing concentration of OCZ cream, reaching the maximal level with 1% cream.

(3) The therapeutic effectiveness of OCZ creams was dependent on the duration of treatment; two-weeks treatment was significantly more effective than one-week treatment. On the other hand, however, no significant difference was noted in the therapeutic effectiveness between two-weeks treatment and three-weeks one.

(4) There was a tendency especially with relatively low concentrations of OCZ preparations that effectiveness of treatment with OCZ creams given once a day was greater than that of divided treatment with the same daily dose given twice a day.

(5) No significant difference was seen in the therapeutic effectiveness between treatment with 1% OCZ cream and that with 1% CTZ cream.

All these results demonstrate a favorable topical efficacy of OCZ creams especially 1% preparation in a guinea-pig dermatophytosis model.