

新規ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 OPC-7251 に関する細菌学的評価

—第2報 クリーム剤を用いての実験的マウス感染症モデルに対する治療効果について—

河端 繁勝・榎田 浩・分部 浩和・大森 和則・玉岡 寿

大塚製薬株式会社徳島新薬第二研究所*

(平成元年1月30日受付)

新規ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 OPC-7251 クリームの *in vivo* での治療効果を、熱傷による易感染化マウスに *Propionibacterium acnes* および *Staphylococcus epidermidis* を接種した皮下感染症モデル、*Staphylococcus aureus* を接種したマウス皮下感染症モデルおよび *Pseudomonas aeruginosa* を接種したマウス熱傷創感染モデルを用いて外用塗布により検討した。その結果、次の菌種による皮下感染症に対し、以下に示す成績が得られた。

(1) *P. acnes* では、OPC-7251 は 1%, 0.5%, 0.25% クリームの順に優れた治療効果を示した。特に 1% クリームは対照薬とした 1% erythromycin (EM) 軟膏よりも強い効果を示した。

(2) *S. epidermidis* では、OPC-7251 の 1%, 0.5% および 0.25% クリームは 1% EM 軟膏よりも優れた治療効果を示した。

(3) *S. aureus* では、OPC-7251 の 1% および 0.5% クリームは 2% fusidic acid (FA) 軟膏および 1% EM 軟膏よりも強い治療効果を示した。

(4) *P. aeruginosa* 熱傷創感染に対し、OPC-7251 の 1%, 0.5% および 0.25% クリームは優れた治療効果を示したが、0.1% gentamicin (GM) 軟膏および 1% sulfadiazine silver (Ag SD) クリームでは効果が認められなかった。

Key words : OPC-7251, 皮下感染症モデル, 熱傷創感染モデル, 外用抗菌剤

OPC-7251 は、尋常性痤瘡の発症要因¹⁾の1つである *Propionibacterium acnes* および *Staphylococcus epidermidis* に対し、また皮膚感染症^{2,3)}および熱傷感染症⁴⁻⁶⁾からの分離頻度が最も高い *Staphylococcus aureus* や難治性の感染症へと移行しやすい *Pseudomonas aeruginosa*⁶⁾等の種々の細菌に対し、優れた抗菌力を有する新規ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤である⁷⁾。本剤は尋常性痤瘡および皮膚科領域の感染症をはじめとする各種感染症に対する外用治療薬として、クリーム製剤で開発を進めている外用抗菌剤である。

今回、OPC-7251 の 0.25%, 0.5% および 1% クリームについて、*P. acnes*, *S. epidermidis*, *S. aureus* の実験的マウス皮下感染症モデルおよび *P. aeruginosa* の実験的マウス熱傷創感染モデルに対する治療効果を検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

OPC-7251 の 0% (クリーム基剤), 0.25%, 0.5% およ

び 1% クリームは大塚製薬で調製したものを使用した。対照薬として市販のエリスロシン[®]軟膏 (1% EM 軟膏: 大日本製薬), フンジシロ[®]軟膏 (2% FA 軟膏: 三共), ゲンタミシン[®]軟膏 (0.1% GM 軟膏: 塩野義製薬) およびゲーベン[®]クリーム (1% AgSD クリーム: 東京田辺製薬) を使用した。

2. 使用動物

ICR 系雄マウス (静岡実験動物協同組合) の 6~7 週齢, 体重 30±2g を使用した。

3. 使用菌株および使用培地

Staphylococcus epidermidis C-90 および *Staphylococcus aureus* No. 100 は前培養に heart infusion broth (HIB: DIFCO) を, 菌数測定に heart infusion agar (HIA: DIFCO) を使用した。*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 は前培養に普通ブイヨン (NB: 栄研) を, 菌数測定にセラーズ培地 (ニッスイ) を使用した。*Propionibacterium acnes* ATCC 6919 は前培養に GAM ブイヨン (GAMB: ニッスイ) を, 菌数測定に GAM 寒天

* 徳島県徳島市川内町加賀須野 463-10

培地 (GAMA: ニッスイ) を使用した。

4. 実験的感染症モデルの作成および治療スケジュール

1) *P. acnes* 実験的皮下感染症モデル

菌接種前日にペントバルビタール (Somnopentyl: PITMAN・MOORE) 麻酔下でマウスの背部を電気バリカンで剪毛した。菌接種日に麻酔下で、マウス背部に直径 2 cm, 約 100°C の電気ゴテ (多田製作所) を 10 秒間当て熱傷創を作成した。GAMB 37°C 2 日間嫌気培養した *P. acnes* ATCC 6919 の 2.0×10^8 cells/mouse を熱傷創皮下に接種し感染症を惹起した。菌接種後から OPC-7251 の 0%, 0.5%, 1% クリームおよび 1% EM 軟膏の 0.2 g を塗布し、薬剤を舐めない様にカバー (コスモサイエンス) を装着した。薬剤の塗布は 1 日 1 回 5 日間の計 5 回行なった。

2) *S. epidermidis* 実験的皮下感染症モデル

1) と同様の方法で熱傷創を作成した後、HIB で 37°C, 18 時間培養した *S. epidermidis* C-90 の 1.1×10^7 cells/mouse を熱傷創皮下に接種し、皮下感染症を惹起した。この後、OPC-7251 の 0%, 0.25%, 0.5%, 1% クリームおよび 1% EM 軟膏の 0.2 g を塗布し、カバーを装着した。薬剤の塗布は 1 日 1 回 3 日間の計 3 回行なった。

3) *S. aureus* 実験的皮下感染症モデル

剪毛したマウスの背部に、HIB で 37°C, 18 時間培養した *S. aureus* No. 100 の 2.1×10^7 cells/mouse を皮下に接種し、皮下感染症を惹起した。この後、OPC-7251 の 0%, 0.25%, 0.5% および 1% クリームと 1% EM 軟膏および 2% FA 軟膏の 0.2 g を塗布し、カバーを装着した。薬剤の塗布は 1 日 1 回 5 日間の計 5 回行なった。

4) *P. aeruginosa* 熱傷創感染モデル

1) と同様の方法で熱傷創を作成後、NB で 37°C, 18 時間培養した *P. aeruginosa* ATCC 10145 の 3.4×10^6 cells/mouse を熱傷創の皮下に接種し、感染症を惹起した。この後、OPC-7251 の 0%, 0.25%, 0.5% および 1% クリームと 0.1% GM 軟膏および 1% AgSD クリームの 0.2 g を塗布し、カバーを装着した。薬剤の塗布は、1 日 1 回 5 日間の計 5 回行なった。

4. 皮膚内生菌数の測定

各実験的マウス感染症モデルに対する OPC-7251 クリームの治療効果を感染病巣の皮膚内の生菌数の消長で検討するために、以下の方法で生菌数を測定した。*P. acnes*, *S. aureus* および *P. aeruginosa* 感染症においては感染直後、1, 3 および 5 日後に、*S. epidermidis* 感染症においては感染直後、1 および 3 日後に経時的に感染

病巣の皮膚 (直径約 2 cm 範囲) を摘出し、ポトリロン (KINEMATICA) を用いて 3 ml の生理食塩水中でホモジナイズした。*P. acnes* は 37°C, 4 日間嫌気培養、*S. epidermidis*, *S. aureus* および *P. aeruginosa* は 37°C, 2 日間好気培養した後、生菌数を測定した。これらの結果を Tukey's 法を用いて統計処理を行ない、control 群および対照薬群との群間比較を行なった。

II. 結果

1) *P. acnes* マウス皮下感染症モデルに対する治療効果

P. acnes ATCC 6919 のマウス皮下感染症モデルに対する OPC-7251 クリームの治療効果を Fig. 1 に示した。OPC-7251 は、1%, 0.5% および 0.25% クリーム塗布群の順に、濃度依存的に菌数の減少が認められた。特に OPC-7251 の 1% クリーム塗布群は感染 1 日以降直接的に減少し、感染 5 日後には 1.70×10^2 cells/skin にまで減少した。この治療効果は対照薬とした 1% EM 軟膏塗布群よりも優れており、control 群と比較しても有意に優れていた。

2) *S. epidermidis* マウス皮下感染症モデルに対する治療効果

S. epidermidis C-90 のマウス皮下感染症モデルに対する OPC-7251 クリームの効果を Fig. 2 に示した。OPC-7251 はいずれの濃度のクリーム塗布群においても control 群と比較し顕著な治療効果を示した。0.5% および 1% クリーム塗布群の感染 3 日後の生菌数は共に測定限界以下であり、1% EM 軟膏塗布群と比較しても有意な治療効果が認められた。

3) *S. aureus* マウス皮下感染症モデルに対する治療効果

S. aureus No. 100 のマウス皮下感染症モデルに対する OPC-7251 クリームの治療効果を Fig. 3 に示した。対照薬として用いた 2% FA 軟膏および 1% EM 軟膏塗布群は Control 群と同様の生菌数の推移を示し、治療効果が認められなかった。これに対し、OPC-7251 クリーム塗布群では、感染 5 日後に 0.5% と 1% クリーム塗布群との間に生菌数の逆転が認められるものの、濃度依存的に生菌数の減少が認められた。0.5% および 1% クリーム塗布群の感染 5 日後の生菌数はそれぞれ 7.91×10^2 cells/skin と 3.7×10^3 cells/skin であった。OPC-7251 の 0.5% および 1% クリーム塗布群の治療効果は control 群、2% FA 軟膏および 1% EM 軟膏塗布群と比較しても有意に優れていた。

4) *P. aeruginosa* マウス熱傷創感染モデルに対する治療効果

OPC-7251 クリームの *P. aeruginosa* ATCC 10145 の

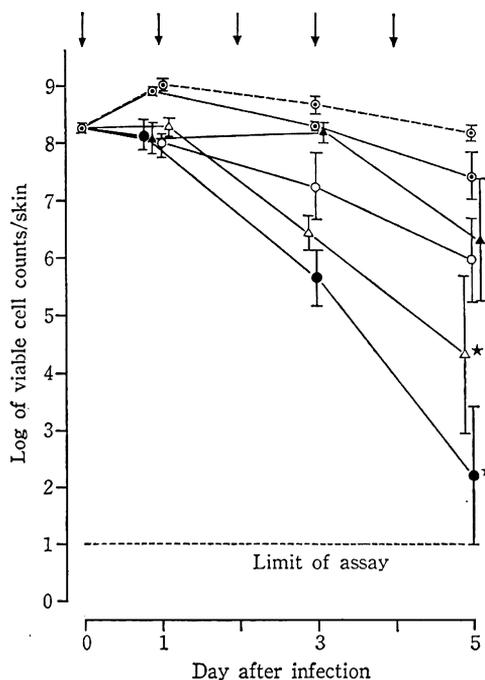


Fig. 1. Effect of OPC-7251 cream and 1% EM ointment on lesions subcutaneously infected with *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 in mice (n=6, Mean±S.E.). Symbols: (●): Control, (○--○): Cream base, (▲): 0.25% OPC-7251 cream, (○): 0.5% OPC-7251 cream, (●): 1% OPC-7251 cream, (△): 1% EM ointment, (↓): Applied drug (0.2 g/mouse), ★: P<0.01 (control), ☆: P>0.01 (reference drug)

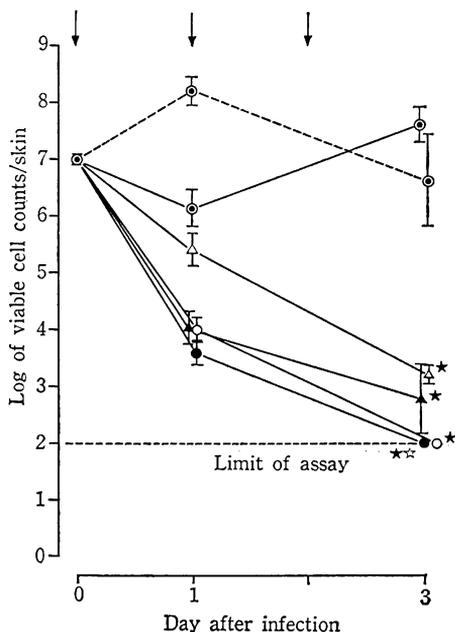


Fig. 2. Effect of OPC-7251 cream and 1% EM ointment on lesions subcutaneously infected with *Staphylococcus epidermidis* C-90 in mice (n=6, Mean±S.E.). Symbols: (●): Control, (○--○): Cream base, (▲): 0.25% OPC-7251 cream, (○): 0.5% OPC-7251 cream, (●): 1% OPC-7251 cream, (△): 1% EM ointment, (↓): Applied drug (0.2 g/mouse), ★: P<0.01 (control), ☆: P>0.01 (reference drug)

マウス熱傷創感染モデルに対する治療効果を Fig. 4 に示した。対照薬とした 1% AgSD クリームおよび 0.1% GM 軟膏塗布群では治療効果が認められなかったのに対し、OPC-7251 の 0.25%、0.5%、1% クリーム塗布群は濃度依存的に顕著な生菌数の減少が認められ、感染 5 日後の生菌数はそれぞれ 3.4×10^2 、 1.3×10^2 cell/skin および測定限界以下であった。この治療効果は control 群、1% AgSD クリームおよび 0.1% GM 軟膏塗布群と比較し有意に優れていた。

また、治療終了 3 日後 (感染 7 日後) に、感染病巣内の菌の再増殖の有無を検討した。その結果、OPC-7251 クリーム塗布群では菌の再増殖は認められなかった。

III. 考 察

尋常性痤瘡の病態モデルとして、ウサギの耳での面皰形成⁸⁻¹¹⁾や、角化症マウス^{12,13)}を用いたものの報告はあるが、*P. acnes* や *S. epidermidis* 等の細菌が関与してい

るものについては報告がない。そこで、尋常性痤瘡の病態モデルの代りとして、これらの菌を用いた皮下感染症モデルを作成し、OPC-7251 クリームの治療効果を基礎的に検討を行なった。*P. acnes* および *S. epidermidis* の皮下感染症モデルの作成において、種々検討したが、菌の感染力が弱いこともあり、感染症の成立が困難であった。そこで熱傷により、生体の免疫が低下し易感染化が起こるとの報告^{5,14)}があることから、前処置としてマウスの背部に熱傷創を起こすことにより皮下感染症モデルを作成した。OPC-7251 の 0.5% および 1% クリームは *P. acnes* および *S. epidermidis* マウス皮下感染症モデルに対して、対照薬とした 1% EM 軟膏に比べて良好な治療効果を示した。特に、*S. epidermidis* 皮下感染症モデルに対しては、3 回の塗布で顕著な治療効果が得られた。この様な優れた治療効果は OPC-7251 の殺菌的な作用と強い抗菌力によるものと考えられる。これらの感染症モデルは実際の病態を反映しているとは言えない

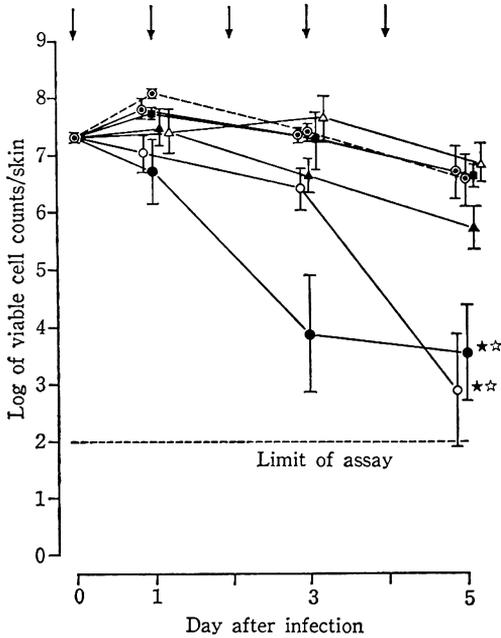


Fig. 3. Effect of OPC-7251 cream, 1% EM ointment and 2% FA ointment on lesions subcutaneously infected with *Staphylococcus aureus* No. 100 in mice ($n=6$, Mean \pm S. E.). Symbols (●): Control, (○---○): Cream base, (▲): 0.25% OPC-7251 cream, (○): 0.5% OPC-7251 cream, (●): 1% OPC-7251 cream, (△): 1% EM ointment, (■): 2% FA ointment, (↓): Applied drug (0.2 g/mouse), ★: $P < 0.01$ (control) ☆: $P < 0.01$ (reference drug)

が、外用塗布で優れた治療効果を示したことから、尋常性痤瘡に対する外用治療薬として臨床での効果が期待される。

さらに、OPC-7251 は *S. aureus* をはじめとするグラム陽性菌や *P. aeruginosa* を含むグラム陰性菌に対しても抗菌力を有していることから⁷⁾、人における浅在性化膿性疾患や熱傷感染症に対しても治療効果が期待され、*S. aureus* および *P. aeruginosa* のマウス皮下感染症およびマウス熱傷創感染に対する治療効果についても検討を行なった。その結果、*S. aureus* 皮下感染症に対しては0.5%および1%クリームで、また *P. aeruginosa* 熱傷創感染に対しては0.25%、0.5%および1%クリーム塗布において顕著な生菌数の減少が認められ治療効果が得られた。なお、*S. aureus* 皮下感染症において、感染5日後に OPC-7251 の0.5%と1%クリーム塗布群との間に生菌数の逆転が認められたが、それは有意な差ではなく、個体差の範囲内にあった。この実験系では、両

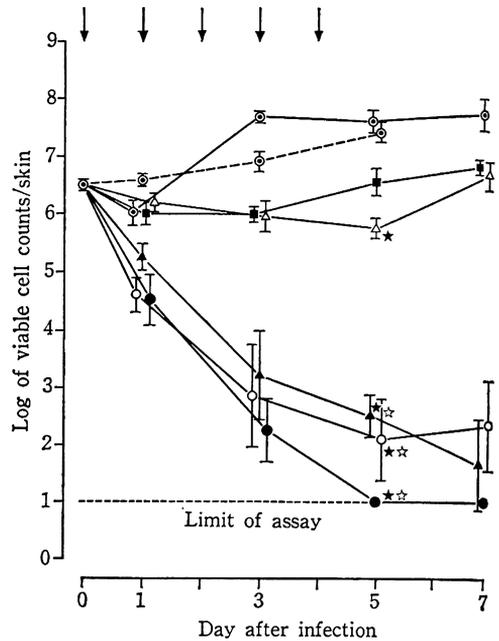


Fig. 4. Effect of OPC-7251 cream, 0.1% GM ointment and 1% AgSD cream on burn infected with *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 in mice ($n=6$, Mean \pm S. E.). Symbols (●): Control, (○---○): Cream base, (▲): 0.25% OPC-7251 cream, (○): 0.5% OPC-7251 cream, (●): 1% OPC-7251 cream, (△): 0.1% GM ointment, (■): 1% AgSD cream, (↓): Applied drug (0.2 g/mouse), ★: $P < 0.01$ (control) ☆: $P < 0.01$ (reference drug)

塗布群共に感染5日後に最も強い治療効果が得られており、分離される菌数も少なく、個体間の差による影響が比較的大きく反映されたものと考えられる。

現在、臨床の場で問題となる MRSA や GM 耐性菌、また *P. aeruginosa* に効果を有する外用抗菌剤の不足等を考え合わせると、OPC-7251 がこの両菌種を用いた感染症モデルに対し優れた治療効果を示したことは、浅在性化膿性疾患や熱傷感染症に対する外用抗菌剤としての有用性をも示すものである。

文 献

- 1) 朝田康夫: にきび (尋常性痤瘡)。新臨床医学文庫, 金原出版: 1983
- 2) 荒田次郎: 皮膚感染症。薬物療法 7: 802~805, 1974
- 3) 洲脇正雄, 山本康生, 荒田次郎: 皮膚一般細菌感染症に対する化学療法の基礎的検討。Chemotherapy 26(3): 324~327, 1978
- 4) 大浦武彦, 吉田哲憲: グラム陰性桿菌感染症。熱

- 傷における感染症を中心にして。救急医学 2 : 395~402, 1978
- 5) 相川直樹, 石引久弥, 阿部令彦, 奥田 誠 : 外傷・熱傷患者の免疫不全と感染。臨外 39(3) : 325~330, 1984
- 6) 富沢尊儀 : 熱傷における緑膿菌感染。最新医学 36(9) : 1731~1738, 1981
- 7) 河端繁勝, 大黒綱枝, 向井典江, 大森和則, 宮本寿, 玉岡 寿 : 新規ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 OPC-7251 に関する細菌学的評価—第 1 報 *In vitro* における抗菌活性—。Chemotherapy 37 : 1160~1178, 1989
- 8) WOO-SAM P C : Cohesion of horny cell during comedo formation. Br J Dermatol 97 : 609~615, 1977
- 9) WOO-SAM P C : A quantitative study of membrane coating granules in follicles undergoing experimental comedo formation. Br J Dermatol 99 : 387~394, 1978
- 10) KLINGMAN A M, TILLIE K : An improved rabbit ear model for assessing comedogenic substances. Br J Dermatol 100 : 699~702, 1979
- 11) MOTOYOSHI K : The correlation between surface microscopy and dermal histology in tetradecan-induced comedones in rabbit ear skin. Br J Dermatol 108 : 573~579, 1983
- 12) THORNE E G, SHEA L M, MEZICK J A : Lack of comedogenicity of tretinoin creams. J Am Acad Dermatol 11 (5) : 902~903, 1984
- 13) MEZICK J A, BHATIA M C, CAPETOLA R J : Topical and Systemic Effects of Retinoids on Horn-Filled Utricle Size in the Rhino mouse. A Model to Quantify "Antikeratinizing" Effects of Retinoids. J Invest Dermatol 83 : 110~113, 1984
- 14) 石引久弥, 川原英之, 村山信篤, 八木田旭邦, 高見 博, 池内駿之, 牛島康栄, 相川直樹, 阿部令彦, 角本陽一郎 : 熱傷患者の免疫不全。熱傷 2 (3) : 244~251, 1977

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF OPC-7251, A NEW PYRIDONE CARBOXYLIC ACID ANTIMICROBIAL AGENT

2. THERAPEUTIC EFFECT OF OPC-7251 CREAM ON EXPERIMENTAL INFECTION MODEL IN MICE

SHIGEKATSU KAWABATA, HIROSHI MASADA, HIROKAZU WAKEBE,
KAZUNORI OHMORI and HISASHI TAMAOKA

Second Tokushima Institute of New Drug Research, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.,
463-10 Kagasuno Kawauchi-cho Tokushima 771-01, Japan

We evaluated the antibacterial activity of OPC-7251, a new synthetic antibacterial agent for topical use, using an experimental mouse model of infection subcutaneously induced with *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, and an experimental *Pseudomonas aeruginosa* burn wound infection model in mice.

(1) 0.25%, 0.5% and 1% OPC-7251 cream showed potent and concentration-dependent antimicrobial activity in the experimental *P. acnes* subcutaneous infection in mice. In particular, the 1% cream was more active than 1% EM ointment used as a reference.

(2) 0.25%, 0.5% and 1% OPC-7251 cream showed more potent antimicrobial activity than 1% EM ointment in the experimental *S. epidermidis* subcutaneous infection in mice.

(3) 0.5% and 1% OPC-7251 cream showed more potent antimicrobial activity than 2% FA ointment and 1% EM ointment in the experimental *S. aureus* subcutaneous infection in mice.

(4) 0.25%, 0.5% and 1% OPC-7251 cream showed potent antimicrobial activity in the experimental *P. aeruginosa* burn wound infection in mice. In contrast, 0.1% GM ointment and 1% silver sulfadiazine cream did not show any definite antimicrobial activity.

We therefore anticipate that OPC-7251 cream will show efficacy in treating acne vulgaris and other skin infections.