

新経口用ニューキノロン剤 sparfloxacin の
実験的感染ウサギ下顎骨移行
— ^{14}C - sparfloxacin の分布について —

佐藤田鶴子・菊池典久・井下万也
岩重洋介・田中正司・園山 昇

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第1講座*

宮崎 亀・松永義正
大日本製薬株式会社総合研究所

New Zealand White 種ウサギを用いて下顎骨に感染モデルを作製し、これに対して sparfloxacin を投与し、血中および下顎骨移行を確認した。その後、同様に作製した感染モデルに [^{14}C] sparfloxacin 20 mg/kg を単回・経口投与し、投与3時間後（感染モデルの血中ピーク時間）および24時間後に屠殺し、下顎骨への移行をオートラジオグラフィにより検討した。

1. 薬動学的検討では、感染モデルの血清中移行は T_{max} 3.1 時間、 C_{max} 0.82 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、AUC 8.79 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$ 、下顎骨では T_{max} 3.4 時間、 C_{max} 0.48 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、AUC 5.00 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{g}$ であった。
2. オートラジオグラフィによる検討では、健常対照群では下顎骨の [^{14}C] sparfloxacin の皮質骨への取り込みは少ないが、骨髓および下顎の歯および歯髓、歯根膜への分布は高かった。
3. 感染モデル群では、とくに感染巣の周辺部にきわめて高い [^{14}C] sparfloxacin の分布がみられた。
4. 上記の結果から、本抗菌剤は感染の中心よりむしろ炎症の活発な周辺部へ分布することがわかり、抗菌剤として有用性のあることを期待された。

Key words : Sparfloxacin, Pharmacokinetics, Distribution, Mandibular infection, Rabbit

Sparfloxacin (SPFX) は大日本製薬(株)総合研究所で開発された新しい経口用ニューキノロン剤である。本剤はグラム陽性球菌をはじめ、緑膿菌を含むグラム陰性菌、ブドウ糖非発酵菌、嫌気性菌、マイコプラズマ、クラミジア、結核菌などの広い抗菌スペクトルをもち、しかも、従来のピリドンカルボン酸系抗菌剤に比して強い抗菌力をもっている^{1, 2)}。

著者らは、口腔領域感染症へ SPFX を臨床応用する前段階として、実験的下顎骨感染症ウサギに SPFX を単回投与し、その血中および下顎骨への移行を調べた。ついで、同様に感染症を発症させたウサギに [^{14}C] sparfloxacin ([^{14}C] SPFX) を単回投与し、その分布を検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 薬 剤

投与薬剤は大日本製薬(株)総合研究所で合成されたものを使用した。

また、標識薬剤としては、同じく大日本製薬(株)総合研究所で合成され³⁾、Fig. 1 に示すように [^{14}C] によりナフチジリン環の4位炭素を標識されたもので、放射化学的純度は99%以上で、非標識化合物による希釈後 278 kBq (7.5 μCi)/mg の比放射能として使用した。

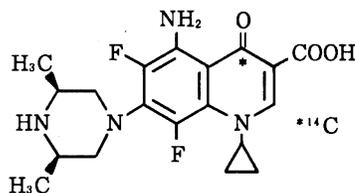


Fig. 1. Chemical structure of [^{14}C]sparfloxacin

2. 実験動物および投与量

約1週間の予備飼育をした体重2.5~3.5 kgのNew Zealand White種雄性ウサギを用い、薬剤投与前日夕方までは固形飼料CR-3(日本クレア)を投与し、その後は絶食とし、糞食防止首輪を装着し、飲水は自由にさせた。また、実験の1群は27羽であった。

投与量は組織移行に用いたSPFXおよび組織への分布を知るために用いた $[^{14}\text{C}]$ SPFXとも20 mg/kgとした。

薬剤は0.1% carboxymethyl celluloseに懸濁し、胃カテーテルを用いて経口投与した。

3. 実験的感染動物の作製

感染モデル作製はSato-Heimdahl法⁴⁾に準じpentobarbital Na (Somnopentyl, Pitman Moore社)の腹腔内麻酔(0.5 ml/kg)を行い、右側下顎下部から頬骨を除去後、頬骨筋筋の筋線維の走行にそって約1 cmの切開を加え、ついでその深部にある咬筋を後方に圧迫するようにして骨膜切開し骨面を露出した。露出骨を歯の切削用バー(#8)を用いて半米粒大の骨腔を形成し、その骨腔内に 10^8 CFU/mlに菌数調整した*Streptococcus milleri* NCTC 7331株(Public Health Laboratory Service 分与)、および*Bacteroides fragilis* NCTC 9343株(Public Health Laboratory Service 分与)の2菌種を小綿球に湿潤させ骨腔に埋入し、緊密に骨膜、皮膚の順に2層縫合した。

術後の創の観察を行い、局所の発赤、腫脹、膿瘍の形成について観察を行っている、およそ術後5~6日で腫脹部に波動を触知し、膿瘍の形成を認める。なお、この膿瘍形成はすべてのウサギではほぼ均一な状態が見られた。術後に全身感染によって衰弱して死亡するウサギはなく、感染をおこさせた局所以外に腫脹や発赤などの炎症々状を呈する部位は肉眼的には認められなかった。これらのものを感染モデル群とし、予備飼育1週間後に健康であったウサギで、しかも感染創を作製しないものを対照群としての健常群として実験に供した。

4. 生体材料の採取

1) 血液

SPFX単回投与後、耳静脈より所定時間(0.5~24時間, 10 points)に採血した。

2) 組織

SPFX単回投与後、採血と同様に各時点(0.5~36時間, 12 points)において屠殺し、ただちに下顎骨を採取した。感染モデル群では感染発症側を採取した。採取にあたっては可及的に血液の混入を防ぐようにし、下顎骨の感染部位を中心に1.0~1.5 g採取し、試料とし

た。抽出試料はpH7.0の1/15 Mリン酸緩衝液を用いてホモジナイズを行った。

5. 生物学的測定法

検定菌は*Esherichia coli* Kp株(大日本製薬(株)総合研究所分与)を用い、8 mmのthick paper disk(東洋製作所)を使用して薄層平板測定法で行った。

6. オートラジオグラフィー

感染モデルウサギおよび健常ウサギに $[^{14}\text{C}]$ SPFXを経口投与し、感染モデルウサギのbioassayによって得られた最高血中濃度に近い時間である投与後3時間、およびほぼ血中から代謝・排泄されていると考えた投与後24時間の2ポイントにおいて、耳静脈より採血後pentobarbital Naを用いて致死させた。ただちにこれらの動物をドライアイスアセトンに浸漬して凍結させた⁵⁾。各動物を電気ノコギリで断頭し、頭部を正中より切断し、CMCペーストで包埋して凍結した。なおあらかじめ、切片を作製時に組織の破損がないように口腔、耳孔内にCMCペーストを流し込み一塊の切片となるようにした。

凍結頭部標本をクライオミクローム450 MP(Palmstiernas Mekaniska Verstad AB)により40 μm 厚の切片を粘着テープ(サロテープ70, 久光製薬株式会社)上に切り出し、凍結乾燥後、X線フィルムSB-5(イーストマンコダック社製)に4週間密着させた。

7. 血中放射活性の測定

$[^{14}\text{C}]$ SPFX投与ウサギの耳静脈よりヘパリン存在下に採取した血液はそのままSoluene 350(パッカード社)に溶解してTricarb液体シンチレーションカウンター(パッカード社)にて放射能の測定を行った。クエンチングは外部標準法にて補正した。測定値は $[^{14}\text{C}]$ SPFXの比放射能よりSPFX濃度に換算した。

II. 実験結果

1. Bioassayの結果

1) 血清中濃度

血清中濃度は健常群のピークは6時間で $1.21 \mu\text{g/ml}$ 、感染モデル群では4時間で $0.99 \mu\text{g/ml}$ であった(Table 1)。移行パターンは健常群、感染モデル群ともほぼ同様であったが、感染群のほうがピーク時間が早く、ピーク値は健常群のほうが高かった。また、24時間後に、感染モデル群ではほとんど消失しているにもかかわらず、健常群では $0.17 \mu\text{g/ml}$ 残っていた。

2) 下顎骨内濃度

下顎骨内濃度は健常群のピークは6時間で $0.45 \mu\text{g/}$

Table 1. Concentration of sparfloxacin in rabbit serum and mandible after oral administration (20 mg/kg) ($\mu\text{g/ml}$ or $\mu\text{g/g}$)

Time (h)	0.5	1	2	3	4	5	6	8	12	24	36
Serum S. E. (Normal)	0.29 0.05	0.33 0.04	0.51 0.05	0.51 0.09	0.56 0.08	0.60 0.06	1.21 0.27	0.98 0.18	0.23 0.02	0.17 0.02	— —
Serum S. E. (Infection)	0.10 0.08	0.26 0.03	0.61 0.06	0.80 0.06	0.99 0.13	0.81 0.09	0.55 0.10	0.39 0.02	0.24 0.06	0.07 0.08	0.01 —
Mandible S. E. (Normal)	0.10 0.015	0.12 0.01	0.15 0.03	0.18 0.07	0.27 0.04	0.40 0.04	0.45 0.06	0.38 0.01	0.2 0.01	0.10 0.04	0.01 —
Mandible S. E. (Infection)	0.09 0.01	0.14 0.01	0.18 0.01	0.47 0.02	0.67 0.10	0.58 0.09	0.41 0.08	0.17 0.03	0.14 0.03	0.04 0.00	0.01 —

Table 2. Pharmacokinetic parameters of sparfloxacin in rabbit serum and mandible (20 mg/kg)

Tissue	State	T_{max} (h)	C_{max} ($\mu\text{g/ml,g}$)	$T_{1/2}$ (h)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml,g}$)
Serum	normal	5.3	0.77	6.8	12.96
	infection	3.1	0.82	6.3	8.79
Mandible	normal	5.6	0.34	9.2	6.74
	infection	3.4	0.48	4.8	5.00

g, 感染モデル群は4時間で $0.67 \mu\text{g/g}$ であった (Table 2)。下顎骨移行は血清中移行と逆で, 感染モデル群のほうが健常群より良好な移行がみられた。

下顎骨の移行量は血清に比べると約半量の移行量であった。

2. 薬動学的検討

井本⁶⁾, 佐々木ら⁷⁾のプログラムを用いて解析した薬動学的パラメータは Table 2 に示す。

血清中では, 健常群では T_{max} 5.3時間, C_{max} $0.77 \mu\text{g/ml}$, AUC は $12.96 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$, 感染モデル群では T_{max} 3.1時間, C_{max} $0.82 \mu\text{g/ml}$, AUC $8.79 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ であった。

下顎骨中では, 健常群では T_{max} 5.6時間, C_{max} $0.34 \mu\text{g/g}$, AUC は $6.74 \mu\text{g}\cdot\text{h/g}$ であった。感染モデル群では T_{max} 3.4時間, C_{max} $0.48 \mu\text{g/g}$, AUC $5.00 \mu\text{g}\cdot\text{h/g}$ であった。

3. 分布

[^{14}C] SPFX 20 mg/kg を各ウサギに経口投与したときの頭部における放射能の分布をオートラジオグラムの偽似カラーにて表示し, Fig. 2 に示す。オートラジ

オグラフィーに供したこれら3, 24時間の2時点は前項の薬動学的パラメータの感染モデル群の C_{max} が3時間であったため, また, ほとんど排泄されるのは24時間であったため, この2ポイントを解析時点として選択した。

a および b は健常ウサギへの分布を示し, 画像上では白色の部分ほど取り込みの多い部分である。

健常群では画面ほぼ中央の下顎骨の皮質骨への取り込みは少ないが, 骨髄および下顎歯の歯髄や歯根膜への分布が高い。

a ~ d は同じ条件下で偽似カラー表示したものであるが, 24時間後の Fig. 2 - b でも下顎骨骨髄になおかなり分布していることがわかる。感染モデル群ではその差はかなりはっきりしており, とくに感染巣の周辺 (矢印) は画面上で明瞭なように最も取り込みの多い腺組織 (耳下腺, 顎下腺, 頬骨腺) と同程度の分布がみられた (Fig. 2 - c)。また, 炎症の中心部は逆に分布が少なかった。この群での24時間後の結果 (Fig. 2 - d) では, 健常群に比して全般的にかなりの残存が認められた。

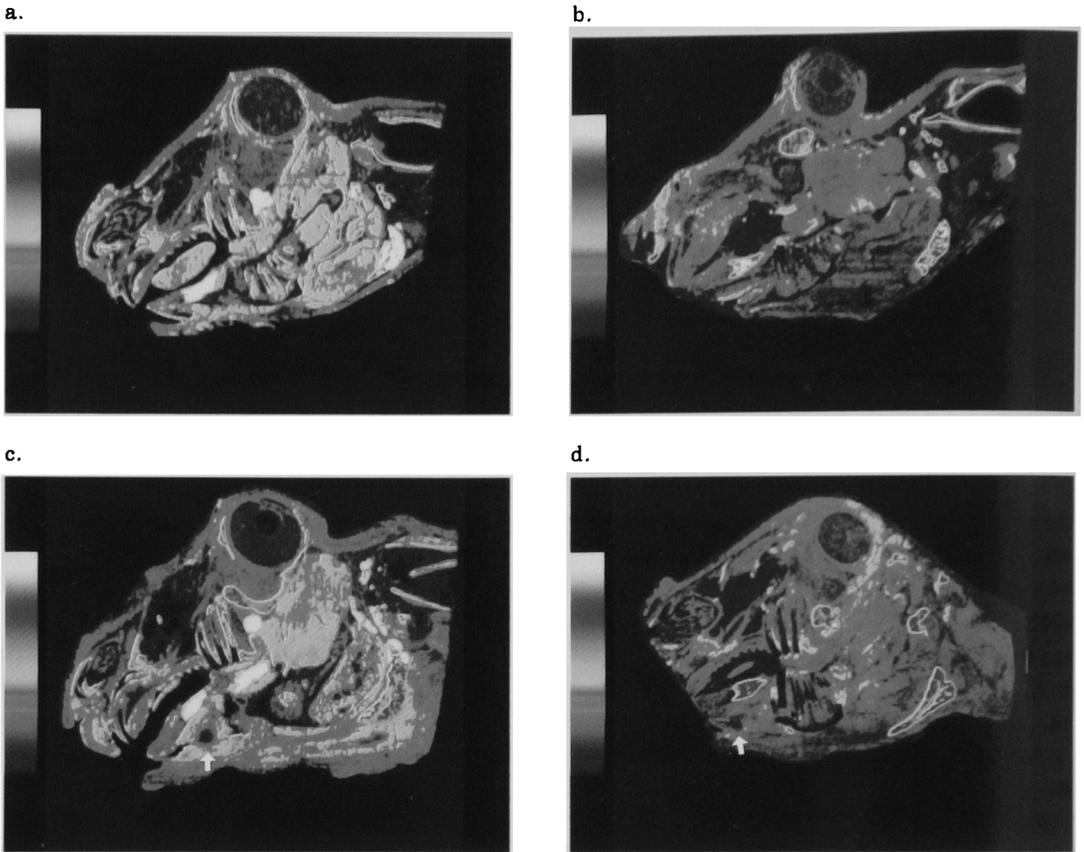


Fig. 2. Macroautoradiography of [^{14}C] sparfloxacin

Pseudocolor displays of autoradiographs showing the distribution of [^{14}C] sparfloxacin in sagittal sections of head of normal rabbits at 3 hr (a), 24 hr (b) and infected ones 3 hr (c) and 24 hr (d) after administration.

A white arrow indicates the focus of suppurative lesion in mandible.

For levels of radioactivity, see standard color measures in the left side of each autoradiograph.

は、健常群に比して全般的にかなりの残存が認められた。

そこで、この4図のもととなったウサギの屠殺時、つまりこの切片を表現している時点で採血し、その血中 [^{14}C] SPFX 放射活性濃度を測定して、画面上の血液のカラーと対比して濃度換算したものが Table 3 である。

血液中では健常群では数値上は画像解析値、液体シンチレーション測定値とも3時間、24時間後で多少の排泄が考えられる。また、感染群は健常群より多少吸収が良く、排泄に関しては液体シンチレーション測定値を考慮すると、上記健常群と類似したものであった。これら

を勘案すると、この傾向は下顎骨においても同様であると考えられる。

一方、感染巣の周辺部においてはきわめて取り込みが高く、下顎骨の約3倍の放射活性の移行がみられた。また、24時間後でも下顎骨濃度に比較してかなり残存していることがわかった。

さらに、感染巣の中心部においては、血中放射活性濃度より若干高く移行しているが、24時間後にはほぼ血中と同程度で減少している。この感染巣の中心部はその周辺部と比較すると、約半分の移行しかみられていない。

Table 3. Levels in blood, bone and infection focus

Tissue	Normal animal		Infected animal	
	time after administration (h)			
	3	24	3	24
	$\mu\text{g eq/g or ml}$			
Blood	0.26 \pm 0.00 (0.27)	0.24 \pm 0.00 (0.21)	0.30 \pm 0.00 (0.33)	0.32 \pm 0.01 (0.19)
Mandible	0.28 \pm 0.01	0.24 \pm 0.00	0.28 \pm 0.01	0.29 \pm 0.01
Suppurative lesion				
Periphery	—	—	0.83 \pm 0.07	0.38 \pm 0.01
Core	—	—	0.37 \pm 0.05	0.28 \pm 0.01
Whole	—	—	0.74 \pm 0.06	0.38 \pm 0.01

Values are means of 3 sections \pm S. E.

Values in parenthesis are those determined by liquid scintillation counting.

よる結果から、湯沢²¹⁾の下顎骨をはじめとする口腔領域の骨組織にもかなりの移行がみられるという報告があり、さらに著者ら⁹⁻¹²⁾はそこに炎症が存在すると、さらにその移行が良好であることを報告している。ところが bioassay では移行濃度を確実に示すことは困難であり、とくに局所的な炎症巣組織への移行を知ることはとくに難しい。

そこで、炎症巣へは抗菌剤が健全組織に比してより一層移行することから、今回投与したニューキノロン剤を [¹⁴C] 標識して投与し、その分布を見ることとした。

このような放射性標識化合物を使用しての移行の検討は吉武らをはじめほとんどはニューキノロン剤についてのものである¹³⁻²⁴⁾

しかし、本研究のように実験的感染モデルに放射性標識した抗菌剤を投与してその移行について研究しているのは、わずかに Steinkes²⁴⁾ にすぎない。Steinke²⁴⁾の研究では、実験的にラット後肢の筋肉内に *Staphylococcus aureus* を注入し、3日後に [¹⁴C] ciprofloxacin を投与し、その分布を見ている。投与後3時間で、膿瘍およびその周辺部にも分布が見られている。しかし、私共の結果からは、膿瘍の内部はほぼ血清と同等の移行であったが、炎症の拡大の活発な膿瘍の周辺部に最も高濃度で移行している分布状態が示され、抗菌剤本来の役割を果たす投与の意義についてもものがたっていた。

本剤は他のニューキノロン剤と異なり、血中および組織での滞留時間がかなり長く、殺菌的に働くことから、今回は単回投与の実験であったが、感染巣周辺でかなり長時間細菌と接触し、抗菌力をあらわすものと考えられ

た。

以上のことから、口腔領域感染症で主として菌性感染症の存在する顎骨の病巣に SPFX はかなり良好な移行を示し、しかも病巣周辺に選択的に高濃度に取り込まれることから臨床応用への発展の可能性を十分に示唆するものと考えた。

文 献

- 1) Miyamoto T, et al. : Synthesis and structure-activity relationships of 5-substituted 6, 8-difluoroquinolone, including sparfloxacin, a new quinolone antibacterial agent with improved potency. *J Med Chem* 33 : 1645~1656, 1990
- 2) Nakamura S, et al. : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of AT-4140, a new broad-spectrum quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 33 (8) : 1167~1173, 1989
- 3) Kagemoto A, Negoro T, Nakao M, Ochi T, Chiba K, Kataoka M and Sekine Y : *Arzneim Forsch* : (投稿中)
- 4) 佐藤田鶴子, Heimdahl A : 実験的家兔顎骨病巣形成に関する研究。歯学 76 : 1520~1526, 1989
- 5) 松岡 理, 鹿島正俊 : 凍結マクロオートラジオグラム法とその応用。Radioisotopes 15 : 195~207, 1966
- 6) 井本 隆 : 抗生剤の薬動力学に関する研究。歯薬療法 2 : 124~130, 1983
- 7) 佐々木次郎, 立花章男, 菊地康博, 井本 隆,

- 椎木一雄, 鷹背明剛, 森鼻健史: 抗菌性物質のモニタリングと臨床応用. 歯薬療法 5 : 181~196, 1986
- 8) 湯澤伸好: 家兎における抗菌剤 (ABPC and OFLX) の骨組織に関する研究. 歯学 75 : 1415~1442, 1988
- 9) 杉本力康, 佐藤田鶴子: 抗菌剤 Ampicillin (ABPC) および Ofloxacin (OFLX) の実験的家兎顎骨感染病巣および顎組織移行に関する研究. 歯学 76 : 1527~1554, 1989
- 10) 佐藤田鶴子, 田中正司, 江幡 洋, 前川登志江, 吉成伯夫, 野村 篤, 園山 昇: 新セフェム系抗菌剤セフロキシムアキセチル CXM-AX のウサギ感染モデルへの移行に関する研究. 歯薬療法 8 : 240~245, 1989
- 11) 高松和広, 佐藤田鶴子: 実験的家兎下顎骨感染モデルにおける抗菌性坐剤 (Ampicillin および Ceftrizoxime) の病巣中および骨組織への移行に関する研究. 歯学 78 : 21~26, 1990
- 12) 田中正司, 佐藤田鶴子: ウサギ下顎骨感染モデルにおける経口抗菌剤 (LAPC および TFLX) の病巣中および骨組織への移行に関する研究. 歯学 78 : 527~552, 1990
- 13) 吉武 彬, 川原一夫, 庄野文章, 井沢昭雄, 山森 芬, 小松敏昭: ^{14}C 標識 AB-206 の各種実験動物における吸収, 分布, 排泄. *Chemotherapy* 26 (S-4) : 77~82, 1978
- 14) 吉武 彬, 川原一夫, 庄野文章, 井沢昭雄, 小松敏昭, 山森 芬: ^{14}C 標識 AB-206 の各種実験動物における代謝. *Chemotherapy* 26 (S-4) : 83~89, 1978
- 15) 吉武 彬, 川原一夫, 庄野文章, 井沢昭雄, 小松敏昭: ^{14}C 標識 AB-206 のラット連続投与時の吸収, 分布, 排泄および代謝. *Chemotherapy* 26 (S-4) : 91~95, 1978
- 16) 森野直直, 宮崎 亀, 橋本昌久: モルモット聴器における ^{14}C -pipemidic acid の分布. *Radioisotopes* 27 : 135~138, 1978
- 17) 村井兼孝, 馬場駿吉, 森田誠治, 石上 誠: ^{14}C 標識抗菌剤の耳鼻咽喉科領域組織移行分布に関する実験的研究—とくに凍結マクロオートラジオグラフィ法の応用について—. *Radioisotopes* 31 : 413~418, 1982
- 18) Murai K and Baba S : Studies on distribution of two nalidixic acid analogs in otorhinolaryngological field. *Auris Nasus Larynx* 9 : 45~52, 1982
- 19) Nakamura S, Kurobe N, Kashimoto S, Ohue T, Takase Y and Shimizu M : Pharmacokinetics of AT-2266 administered orally to mice, rats, dogs and monkeys. *Antimicrob Agents Chemother* 24 : 54~60, 1983
- 20) 岡崎 治, 倉田忠司, 橋本浩一, 須藤賢一, 津村光義, 立澤晴男: DL-8280 の体内動態 第2報 ^{14}C -DL-8280 の各種動物における吸収, 分布, 排泄. *Chemotherapy* 32 (S-1) : 1185~1201, 1984
- 21) 須藤賢一, 橋本浩一, 倉田忠司, 岡崎 治, 津村光義, 立澤晴男: DL-8280 の体内動態 第3報 ^{14}C -DL-8280 の各種動物における代謝. *Chemotherapy* 32 (S-1) : 1203~1210, 1984
- 22) 藤井敏彦, 古川日出男, 宮崎 亀, 橋本昌久: ^{14}C 標識 AT-2266 のモルモット耳鼻咽喉組織における分布に関する研究. *Chemotherapy* 32 (S-3) : 142~146, 1984
- 23) Siefert H M, Maruhn D and Scholl H : Pharmacokinetics of ciprofloxacin. *Drug Res* 36 : 1503~1510, 1986
- 24) Steinke W, Haller O and Ruehl-Fehlert C : Distribution of [^{14}C]-ciprofloxacin in experimentally induced intramuscular abscess of rats. *Drug Res* 36 : 1663~1666, 1986

DISTRIBUTION OF [^{14}C] SPARFLOXACIN IN
JAW BONE OF EXPERIMENTALLY
INFECTED RABBITS AFTER ORAL ADMINISTRATION

Tazuko Satoh, Fumihisa Kikuchi, Kazuya Inoshita,
Yohsuke Iwashige, Masashi Tanaka and Noboru Sonoyama
The Nippon Dental University, School of Dentistry at Tokyo,
Department of Oral and Maxillofacial Surgery I
2-3-16 Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102, Japan

Hisashi Miyazaki and Yoshimasa Matsunaga
Research Laboratory, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.

Sparfloxacin (SPFX) was orally administered to New Zealand white rabbits locally infected with bacteria in the mandibular tissues, and its penetration from the blood into the mandibulae was confirmed.

On the basis of the preliminary result, [^{14}C] SPFX was administered in a single oral dose of 20 mg/kg to the similarly infected rabbits and the animals were killed at the time of the peak blood concentrations, 3 or 24 hours after the administration. The penetration of the labelled SPFX into the jaw bone was studied by autoradiography.

1. The pharmacokinetic parameters obtained in the infected animals were as follows :
For the sera : T_{max} , 3.1 hours ; C_{max} , 0.82 $\mu\text{g/ml}$; and AUC, 8.79 $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$. For the jaw bones : T_{max} , 3.4 hours ; C_{max} , 0.48 $\mu\text{g/g}$; and AUC, 5.00 $\mu\text{g} \cdot \text{h/g}$.

2. Autoradiography revealed that the penetration of [^{14}C] SPFX into the cortical bones was poor in the control rabbits, whereas distribution in the bone marrow, teeth, dental pulp and periodontal membrane in the submaxilla was excellent.

3. In the infected model group, extremely high levels of [^{14}C] SPFX were observed around the infected foci.

4. The above results indicate that SPFX distributes around the acutely infected tissues rather than the core part of the infected foci, suggesting SPFX's usefulness as an antimicrobial against odontogenic infections.