

ニューキノロン系抗菌剤 temafloxacinのウサギ口腔組織への移行性について
—マクロオートラジオグラフィーによる検討—

佐藤田鶴子・柳井智恵・前川登志江・園山 昇

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室

第1講座*

武田勝男・佐久間由光・矢野 茂・大塚峯三

田辺製薬株式会社生物研究所*

(*現 田辺製薬株式会社薬理研究所)

Temafloxacin(TMFX)20mg/kgを健常および顎骨感染ウサギに経口投与した時の本剤の口腔組織移行について検討した。顎骨感染ウサギは*Streptococcus milleri*と*Bacteroides fragilis*を下顎骨内に複合感染させて作製した。

1. 健常ウサギにおける血清のピーク濃度は2.1 μ g/mlであった。一方、下顎骨、上顎骨、歯肉および耳下腺のピーク濃度は各々0.9, 0.9, 1.9および4.4 μ g/gであった。
2. 感染ウサギにおける上記組織への¹⁴C]TMFXの移行(対血液比)は健常ウサギとほぼ同じであった。
3. 感染巣周囲の炎症組織に血液中濃度を上回る高い放射能の分布が観察された。

Key words : temafloxacin, ウサギ, 口腔組織移行, 顎骨感染, マクロオートラジオグラフィー

Temafloxacin(TMFX)は米国アボット社(Abbott Lab., North Chicago)で合成された新規ニューキノロン系抗菌剤である。本剤はグラム陽性菌, グラム陰性菌, 嫌気性菌, マイコプラズマなどに優れた抗菌力を示し¹⁻⁴⁾, かつ, その体内動態は良好である⁵⁾。

本研究は口腔外科領域におけるTMFXの有用性を予測するため, 健常および顎骨感染ウサギにおける本剤の口腔組織内移行について検討した。以下にこれらの成績につき報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤およびその調整

実験に使用した¹⁴C]TMFX(Lot No. CSL-89-207-77-9)および非標識TMFX(Lot No. AJM-120)は米国アボット社より提供された。標識体の比放射能は2.33 MBq/mgで, 薄層クロマトグラフィーによる放射化学的純度は98.9%以上であった。投与液は¹⁴C]TMFXに非放射性的のTMFXを添加し, 超音波を用いて精製水に溶解させ, 20mg/3.97MBq/5ml/kgに調整した。非標識TMFXは滅菌水で溶解後, 20mg/5ml/kgに調整した。薬剤はネラトンカテーテル(7" The Health" IR. Cox., 出雲ゴム工業)を用いて胃内に強制投与した。ま

た, 投与直後に水10mlを与えた。

2. 使用動物

New Zealand White種ウサギ雄, 体重2.6~3.3kg(北山ラベス株式会社:KBL)を用いた。予備飼育は1週間行い, 実験開始24時間前より絶食して実験に供した。飼料は固形飼料(船橋GM-1)を用い, 水は自由に摂取させた。

3. 顎骨感染ウサギの作製

感染ウサギの作製はSato-Heimdahl法⁶⁾に準じた。すなわち, 耳静脈よりネプタール(大日本製薬)で麻酔(0.5ml/kg)し, 右側下顎下部より頬部を除毛後, 頬骨耳筋の筋線維の走行にそって約1cmの切開を加え, 骨膜に達するまで鈍的に剥離し, 骨膜を切開して骨面を露出させた。歯科切削用ラウンドバー(#8)を用いて下顎骨に半米粒大の骨腔を形成し, その骨腔内に10⁸CFU/mlに調整した*Streptococcus milleri* NCTC 7331(Public Health Laboratory Service分与)および*Bacteroides fragilis* NCTC 9343(Public Health Laboratory Service分与)の2種の菌液を浸潤させた小綿球を埋入し, 緊密に骨膜および皮膚縫合を行った。

術後に創部の局所の発赤, 腫脹, 膿瘍の形成につい

て観察を行い、およそ術後5～6日で創部に波動を触知し、膿瘍の形成を認める。実験には術後7日目の感染ウサギを使用し、しかも膿瘍が自壊していないものみに限定した。

4. 血液および組織の採取

健常ウサギにTMFX 20mg/kgを経口投与し、所定の時間(0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12時間)に耳静脈より採血し、遠心分離後、血清試料とした。組織は各時点のウサギにネブタールを耳静脈内に投与し、麻酔後、ウサギの大腿動脈を切断して脱血死させたのち下顎骨、上顎骨、歯肉、耳下腺を採取した。採取した組織に1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)を加えて、Polytron homogenizerでホモジネートし、遠心分離後得られた上清を測定試料とした。

5. 薬剤濃度測定法

TMFXの濃度測定は*Escherichia coli* Kpを検定菌に用いた薄層平板ディスク法によった。

6. データの解析

血清および組織内最高濃度(Cmax)およびその到達時間(Tmax)は実測値より求めた。生物学的半減期($T_{1/2}$)はTmaxから指定の時間の濃度を直線回帰した。濃度時間曲線下面積(AUC)は台形法によった。

7. マクロオートラジオグラフィ

前述の血液採取時間で感染ウサギの血清中濃度を測定したとき、TMFXのピーク濃度は投与後1時間であった。そこで、マクロオートラジオグラフィの作製時点は投与後1時間とした。

[14 C]TMFXを経口投与したウサギをネブタールで麻酔死させ、ドライアイスとアセトンの混液中(-70℃)にウサギの頭部を浸漬し、約30分間凍結し、切片作製まで-20℃に保存した。頭部薄切切片はオートクライオトーム(中川製作所, NA-200F)を用いて厚さ50 μ mに作製した。薄切切片を凍結乾燥後X線フィルム(Kodak, DEF-5)と密着させ、5℃で4週間露出したのちKodak GBX現像液および定着液を用いて現像、定着した⁷⁾。なお、組織内放射能濃度と血中放射能濃度の相対比較はバイオ・イメージアナライザーBAS 2000(富士フィルム)により求めた。

II. 実験結果

1. 血清および組織内濃度

TMFX 20mg/kgを健常ウサギに単回経口投与した時の血清および顎骨内濃度の薬物動態学的パラメータをTable 1に示した。血清および顎骨内濃度は投与後1.5時間でピークに達した。血清のピーク濃度は2.13 μ g/ml、下顎骨、上顎骨のピーク濃度はいずれも0.92 μ g/gであった。同様に歯肉、耳下腺内濃度は投与後

1.5時間にピークに達し、ピーク濃度は歯肉が1.93 μ g/g、耳下腺が4.38 μ g/gであった。

2. マクロオートラジオグラフィ

[14 C]TMFX 20mg/kgを健常および感染ウサギに経口投与した時の頭部のマクロオートラジオグラムをFig. 1に示した。また、主な組織の対血液比をTable 2示した。

健常ウサギの軟組織と腺組織における放射能は血液より高く、対血液比は歯肉が1.36、耳下腺が1.62であった。一方、顎骨の放射能はやや低く対血液比は上顎骨が0.60、下顎骨が0.50であった。感染ウサギは健常ウサギに比べて高い放射能の分布が観察された。感染ウサギにおける対血液比は歯肉が1.26、耳下腺が1.75、上顎骨が0.58、下顎骨が0.48、膿瘍中心部が0.13、膿瘍周辺部が1.56であった。

III. 考 察

ニューキノロン剤は広域な抗菌スペクトルと良好な組織移行性を示すことを特徴とし、口腔外科領域において β -ラクタム剤など他剤に無効例または難治性疾患の治療薬として位置付けられる⁸⁾。現在、国内ではofloxacin (OFLX), lomefloxacin (LFLX), tosufloxacin (TFLX)が歯周組織炎、歯冠周囲炎、顎炎の治療薬として既に臨床に供されている。

新規ニューキノロン剤のTMFXは同系抗菌剤の中でグラム陽性菌、嫌気性菌に対し優れた抗菌力を示し、かつ、体内動態も良好であることを特徴とする¹⁻⁶⁾。本研究は口腔外科領域におけるTMFXの有用性を予測するため本剤の口腔組織内移行についてウサギを用いて検討した。

まず、健常ウサギにTMFX 20mg/kgを経口投与した時、ウサギにおけるTMFXの血清中ピーク濃度(2.13 μ g/ml)はヒト常用量である300mg単回投与時の血清中ピーク濃度(2.49 μ g/ml)⁹⁾に相当した。

健常ウサギにおけるTMFXの口腔組織移行性を20mg/kg経口投与時の他のキノロン剤のOFLX^{10, 11)}, TFLX^{10, 12)}, sparfloxacin (SPFX)¹³⁾と比較すると、TMFXの血清中ピーク濃度はOFLXの約2/3と低いもののTFLXの約2倍、SPFXの約3倍と高い。下顎骨におけるTMFXのピーク濃度はOFLXに近似し、TFLXの約2倍、SPFXの約3倍高い。AUCから求めた下顎骨への移行率は、TMFX, OFLX, SPFXはいずれもほぼ同等であった(対血清比: 0.4~0.5)。一方、健常ウサギにおいてTMFXは口腔軟組織への移行が良好である。TMFXの歯肉中ピーク濃度はOFLXの約7倍、TFLXの約2.4倍高く、TMFXの移行率はOFLX, TFLXに比べて大きい。さらに、本剤は腺組織内濃度

が高く、TMFXの耳下腺中ピーク濃度はOFLXの約1.8倍、TFLXの約1.4倍高く、TMFXの移行率はOFLX、TFLXに比べて大きい。

化学療法を施す時に、目的とする炎症部位に抗菌剤が移行することが重要である。そこで、菌性感染症の感染の中心である下顎骨に*S. milleri*と*B. fragilis*を複

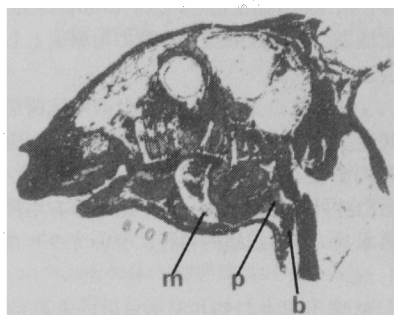
合感染させた顎骨感染ウサギを作製し、炎症部位への薬剤の移行をマクロオートラジオグラフィーで検討した。本モデルは感染後、下顎骨の外側下部に膿瘍が次第に大きく成長し、一週間後には下顎に顕著な腫脹が観察される(Fig. 1)。この時点でTMFXを投与した時、投与1時間後の膿瘍中心部への移行は対血液比0.13と

Table 1. Pharmacokinetic parameters of temafloxacin in rabbits after oral administration at 20 mg/kg

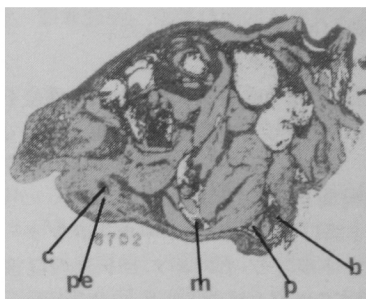
Tissue	Tmax (h)	Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	T _{1/2} (h)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	AUC ratio (tissue/serum)
Serum	1.5	2.13 \pm 0.34	3.8	13.5	—
Mandibula	1.5	0.92 \pm 0.10	4.3	6.0	0.44
Maxilla	1.5	0.92 \pm 0.13	4.2	6.8	0.50
Gingivae	1.5	1.93 \pm 0.24	3.8	11.8	0.87
Parotid gland	1.5	4.38 \pm 0.66	3.4	19.5	1.44

Tmax, Cmax (mean \pm SE): observed value, T_{1/2}: linear regression analysis (1.5~12 h), AUC: trapezoidal rule (0~12 h), n=2~5.

Normal rabbit



Infected rabbit



Pseudocolor displays of autoradiographs showing distribution of radioactivity in sagittal sections of rabbit head at 1 h after oral administration of [¹⁴C] temafloxacin.

Abbreviations: b, blood; m, mandibula; p, parotid gland; pe, periphery; c, core

Fig. 1. Autoradiography of normal rabbit MARGM and infected rabbit MARGM.

Table 2. Tissue-to-blood concentration ratios of [¹⁴C] temafloxacin in rabbits

Tissue	Normal animal	Infected animal
Blood	1.00	1.00
Mandibula	0.50	0.48
Suppurative lesion		
core	—	0.13
periphery	—	1.56
Maxilla	0.60	0.58
Gingiva	1.36	1.26
Parotid gland	1.62	1.75

Concentrations of radioactivity were determined by the Bio-Image Analyzer (Fuji, BSA-2000) at 1 h after administration of [¹⁴C] temafloxacin.

低い。膿瘍の周辺の炎症部位の対血液比は1.56と高い移行を示した(Table 2)。一方、対血液比で比較した感染ウサギの下顎骨、上顎骨、歯肉、耳下腺への移行率は正常ウサギとほぼ同等であった(Table 2)。

以上、TMFXは同系抗菌剤と比較した時口腔組織への移行は同等ないし優れていた。また、感染巣周辺の炎症部位へ良好な移行を示した。

文 献

- 1) 松下忠弘, 押田忠弘, 恩田時男, 内藤真智子, 山口東太郎: Temafloxacin *in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 41 (S-5): 67~80, 1993
- 2) 谷 佳都, 芝田和夫, 恩田時男, 山口東太郎: Temafloxacinのマウス実験感染症に対する治療効果。Chemotherapy 41 (S-5): 89~101, 1993
- 3) Hardy D J, Swanson R N, Hensey D M, Ramer N R, Bower R R, Hanson C W, Chu D T W and Fernandes P B: Comparative antibacterial activities of temafloxacin hydrochloride (A-62254) and two reference fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother 31: 1768~1774, 1987
- 4) Swanson R N, Hardy D J, Chu D T W, Shipkowitz N L and Clement J J: Activity of temafloxacin against respiratory pathogen. Antimicrob Agents Chemother 35: 423~429, 1991
- 5) 武田勝男, 矢野 茂, 佐久間由光, 小山八重子, 山口東太郎: Temafloxacinの各種実験動物における吸収, 分布および排泄。Chemotherapy 41 (S-5): 128~139, 1993
- 6) 佐藤田鶴子, Heimdahl A: 実験的家兎顎骨病巣形成に関する研究。歯学 76: 1520~1526, 1989
- 7) 松岡 理: 全身オートラジオグラフィ技術操作マニュアル。Soft Science Inc., 1989
- 8) 佐々木次郎: 口腔外科感染症。キノロン薬, p.258~263, ライフ・サイエンス(株)1991
- 9) 中島光好, 植松俊彦, 長嶋 悟, 小菅和仁, 金丸光隆: Temafloxacinの臨床第 I 相試験。Chemotherapy 41 (S-5): 242~259, 1993
- 10) 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
- 11) 簡 澤民, 佐藤田鶴子: 経口抗菌剤AmpicillinおよびOfloxacinの軟組織移行に関する研究。歯学 79: 2~21, 1991
- 12) 江端 洋, 佐藤田鶴子: 経口抗菌剤LenampicillinおよびTosufloxacin Tosilateのウサギ軟組織移行に関する研究。歯学 79: 315~334, 1991
- 13) 佐藤田鶴子, 菊池典久, 井下万也, 岩重洋介, 田中正司, 園山 昇, 宮崎 亀, 松永義正: 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-¹⁴C-sparfloxacinの分布について-。Chemotherapy 36(S-4): 131~137, 1991

Penetration of temafloxacin into rabbit oral tissues

Tazuko Satoh, Chie Yanai, Toshie Maekawa and Noboru Sonoyama
Department of Oral and Maxillofacial Surgery I,
The Nippon Dental University, School of Dentistry at Tokyo
2-3-16 Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102, Japan

Katsuo Takeda, Yoshimitsu Sakuma, Shigeru Yano and Minezo Otsuka
Pharmacological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co. Ltd., Saitama, Japan

The pharmacokinetics of temafloxacin (TMFX) following an oral dose of 20 mg/kg were studied in rabbits with and without jaw bone infection. The infection was induced by inoculating a mixed culture of *Streptococcus milleri* and *Bacteroides fragilis* into the mandibular cavity.

1. In normal rabbits, the peak level of TMFX in the serum was 2.1 $\mu\text{g/ml}$, whereas those in the mandibula, maxilla, gingiva and the parotid gland were 0.9, 0.9, 1.9 and 4.4 $\mu\text{g/ml}$, respectively. These levels exceeded the MIC_{90} (0.78 $\mu\text{g/ml}$) for the organisms isolated in odontogenic infections.

2. Autoradiograms of [^{14}C]TMFX showed that the tissue-to-blood concentration ratios of the mandibula, maxilla, gingivae and parotid gland were almost the same in normal and infected rabbits.

3. Autoradiograms of [^{14}C]TMFX showed that the radioactivity was well distributed to inflamed sites in the infected rabbits.