

Temafloxacin のマウス実験感染症に対する治療効果

谷 佳都・芝田和夫・恩田時男・山口東太郎

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)

マウスの各種感染モデルにおける temafloxacin (TMFX) の治療効果について ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), enoxacin (ENX) および norfloxacin (NFLX) を対照薬剤として比較検討し、次の成績を得た。

1. TMFX は黄色ブドウ球菌および連鎖球菌属のマウス腹腔内感染に対して対照薬剤よりもきわめて優れた治療効果を示した。緑膿菌の感染に対しては対照薬剤と同等または優れ、*Enterobacter aerogenes* 816 および *Citrobacter freundii* 916 の感染に対しては CPFX よりやや劣ったが、その他の対照薬剤よりも優れていた。*Acinetobacter calcoaceticus* 756 の感染に対しては対照薬剤よりも優れた治療効果を示した。白血球減少症マウスの *Pseudomonas aeruginosa* PI-67 感染では OFLX, NFLX および ENX よりも優れた治療効果を示し、他剤と同様に治療効果の低下はわずかであった。

2. *Klebsiella pneumoniae* B-54 によるマウス肺炎モデルでは、TMFX は OFLX および CPFX と同等の治療効果を示した。*Mycoplasma pulmonis* m-53 によるマウス肺炎モデルでは OFLX, CPFX, NFLX および ENX に比べて明らかに優れた治療効果を示した。

3. *Escherichia coli* 2004 による上行性尿路感染では、TMFX は OFLX および CPFX と同等の治療効果を示した。カラギナン投与マウスの *Proteus mirabilis* TU-1698 による腎感染では TMFX の治療効果は OFLX および CPFX より優れたが、*Enterococcus faecalis* 1227 および *P. aeruginosa* 169 では両剤と同等であった。

4. *Salmonella typhimurium* TPRL-10761 による腸管感染では、TMFX は OFLX と同等もしくは優れ、CPFX および NFLX よりは明らかに優れた治療効果を示した。

5. *Staphylococcus aureus* Y-14 (MRSA) および *S. aureus* CH-91 による皮下膿瘍モデルでは、TMFX は OFLX と同等の治療効果を示した。

Key words : temafloxacin, 実験感染症, 治療効果, *in vivo* 抗菌力

Temafloxacin (TMFX) はグラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対して強い *in vitro* 抗菌活性を示し、マイコプラズマ属、クラミジア属および抗酸菌に対しても優れた抗菌活性を示す¹⁾。さらに、レジオネラ属に対してもきわめて優れた抗菌活性を示すとされている²⁾。また、ヒト³⁾および動物⁴⁾において TMFX は優れた経口吸収性と長い血中半減期を示すことが報告されている。我々は臨床での細菌感染症における TMFX の治療効果を予測するために、マウスの各種感染症モデルを用いてその治療効果を ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), enoxacin (ENX) および norfloxacin (NFLX) を対照薬剤として比較検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用動物

腹腔内感染、呼吸器感染、尿路感染および皮下感染には Slc:ddY 系雄マウス(4週齢, 体重 20±1g)を使用した。白血球減少症マウスは同マウスに感染4日前にシクロホスファミド(ナカライテスク)の 250mg/kg を腹腔内投与して作製した。マイコプラズマ肺炎には Slc:ICR 系雄マウス(5週齢, 体重 28.5±1.4g)およびサルモネラ腸管感染には Jcr:BALB/c 系雄マウス(4週齢, 体重 19.9±1.6g)を使用した。

2. 使用薬剤

TMFX(Lot. 17-817-AL)は Abbott 社の合成品を用いた。対照薬剤は OFLX(第一製薬), CPFX(バイエル薬

品), ENX(大日本製薬)およびNFLX(杏林製薬)を用い、市販品より遊離塩に抽出精製して使用した。経口投与にはOFLX, ENX および NFLX は 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム(ナカライテスク)に懸濁し、その他は滅菌水に溶解または懸濁して用いた。MIC 測定には各薬剤とも 1/10 量の 0.1N-水酸化ナトリウムを添加し溶解して用いた。

3. 使用菌株

当研究所の保存菌株および臨床材料より分離された菌株の中から各感染に適したものを選んで使用した。なお, *Klebsiella pneumoniae* B-54 は長崎大学熱研内科松本教授より分与を受けた。

4. 感染および治療効果

1) マウス腹腔内感染

Streptococcus pneumoniae および *Streptococcus pyogenes* は 10% 馬血清加ハートインフュージョン寒天(HIA, 栄研)斜面培地で 37°C, 一夜培養した菌体を用いた。

Pseudomonas aeruginosa はハートインフュージョンイオン培地(HIB, 栄研)で、その他はトリプトソイブイオン培地(TSB, 栄研)で 37°C, 一夜培養して用いた。各菌液の所定の菌量を 6% ムチン(Difco)液に懸濁し、0.5 ml をマウス腹腔内に接種し感染させた。薬剤は感染1時間後に1回経口投与し、マウスの生死を5日間観察した。一群4または5匹のマウスを使用し、各試験を2~4回繰り返した後、各薬剤投与群の生存率からprobit法によりED₅₀値および95%信頼限界を求めた。

2) マウス呼吸器感染

(a)肺炎桿菌性肺炎

K. pneumoniae B-54 を HIA 斜面培地で 37°C, 一夜培養後、菌体を滅菌生理食塩液で約 1×10^9 CFU/ml に懸濁し、菌液 10ml を噴霧感染装置(池本理化工業)内のマウスにネブライザーを用いて 1 kg/cm^2 の圧力で約 40 分間噴霧し感染させた。薬剤は感染 18 時間後および 42 時間後に 2 回経口投与し、マウスの生死を 5 日後まで観察した。一群 8 匹のマウスを使用し、各薬剤投与群のマウス生存率から probit 法により ED₅₀ 値および 95% 信頼限界を求めた。なお、無治療対照群は 3 日後までに全例死亡した。

(b)マイコプラズマ性肺炎

Mycoplasma pulmonis m53 を PPLO プロス(Difco)で 37°C, 2 日間培養後、 1.0×10^8 CFU/ml 菌液を感染に用いた。マウスをネブタール(ダイナボット, 50 mg/kg, 腹腔内注射)麻酔後、鼻腔内に菌液 50 μ l を滴下し感染させた。薬剤は感染翌日から 1 回または 1 日 1 回 7 日間経口投与した。一群 5 匹のマウスを使用し、

治療効果は 1 回投与群では感染 14 日後、7 回投与群では感染 28 日後の肺病変ならびに鼻腔、気管、肺からの菌の分離培養により検討した。菌分離は鼻腔ぬぐい綿棒および組織を PPLO プロスおよび PPLO 寒天培地(Difco)で 1 週間培養後、培地の赤から黄色へのプロスの色調変化およびコロニー形成により判定した。

3) マウス尿路感染

(a)上行性尿路感染

Escherichia coli 2004 を TSB で 37°C, 一夜培養後、滅菌生理食塩液で希釈し、 1.2×10^6 CFU/mouse を感染菌量とした。24 時間給水制限したマウスをネブタール麻酔後、下腹部の小切開により膀胱を摘出し、残尿を排出後、菌液 0.1 ml を膀胱内に接種し感染させた。感染後外尿道口をクリップで 3 時間閉鎖し、給水は引き続き 24 時間制限した。薬剤は感染 24 時間後から 1 回または 1 日 2 回(10 時および 16 時)3 日間経口投与した。一群 9 または 10 匹のマウスを使用し、薬剤最終投与 1 日後に両腎を無菌的に摘出し、腎重量の 10 倍量の滅菌生理食塩液を加えて腎組織ホモジネートを作製した。HIA を用いた塗沫培養法によりホモジネート 1ml 当たりの生菌数を測定し、対数平均値 \pm SD で示した。

(b)カラゲニン投与マウスの血行性腎感染

カラゲニン投与マウスは感染 1 日前にカラゲニン type II (Sigma) の 30 mg/kg を静脈内投与により作製した。*Proteus mirabilis* TU-1698 および *Enterococcus faecalis* 1227 は TSB で、*P. aeruginosa* 169 は HIB で 37°C, 一夜培養後、滅菌生理食塩液で希釈し、それぞれ 4.0×10^6 CFU/mouse, 1.6×10^7 CFU/mouse および 3.6×10^5 CFU/mouse を感染菌量とした。マウス静脈内に菌液 0.2 ml を接種し感染させた。薬剤は *P. mirabilis* が感染 24 時間後に 1 回、*E. faecalis* 1227 が感染 72 時間後から 1 日 2 回(10 時および 16 時)3 日間、*P. aeruginosa* 169 が感染 72 時間後に 1 回、それぞれ経口投与した。一群 9 または 10 匹のマウスを使用し、薬剤最終投与 1 日後に両腎を無菌的に摘出し、腎重量の 10 倍量の滅菌生理食塩液を加えて腎組織ホモジネートを作製した。HIA を用いた塗沫培養法によりホモジネート 1ml 当たりの生菌数を測定し、対数平均値 \pm SD で示した。なお、*E. faecalis* 1227 感染の治療には ampicillin (ABPC, 明治製薬)を対照薬剤として加えた。

4) マウス腸管感染

Salmonella typhimurium TPRL-10761 を TSB で 37°C, 一夜培養後、リン酸緩衝塩液(PBS)で洗浄し、 5.8×10^7 CFU/mouse を感染菌量とした。マウスに

菌液 0.2 ml を経口接種し感染させた。薬剤は感染翌日から1日1回7日間経口投与し、感染後 31 日後までマウスの生死を観察した。一群5匹のマウスを使用し、治療効果は生存率および平均生存日数で判定した。

5) マウス皮下膿瘍

Staphylococcus aureus Y-14 (メチシリン耐性ブドウ球菌, MRSA)および *S. aureus* CH-19 を HIA 斜面培地で 37℃, 一夜培養後滅菌生理食塩液で洗浄し、それぞれ 4.0×10^8 CFU/mouse および 1.0×10^9 CFU/mouse を感染菌量とした。マウス背部皮下に菌液 0.1 ml を接種し感染させた。薬剤は感染1時間後に1回経口投与した。感染2日後に感染部位の皮膚を剝離し、膿瘍の長径および短径を計測し、その和の 1/2 を膿瘍の径、その積を膿瘍の面積とした。一群 10 匹のマウスを使用し、治療効果は径および面積から膿瘍形成抑制率(無治療群を 100% とした時の薬剤投与群の百

分率)を求めて判定した。

5. MIC の測定

感染菌に対する薬剤の MIC は日本化学療法学会標準法⁹⁾に従い、寒天希釈法により接種菌量 10^6 CFU/ml で測定した。なお、マイコプラズマの MIC は 96 ウエルマルチプレート(住友ベークライト)を用いた液体希釈法で測定した。*M. pulmonis* m53 の PPLO 液体培養液(10^6 CFU/ml)の 160 μ l に2倍階段希釈した薬剤液 40 μ l を加え、37℃, 1週間培養後、培地の色調が赤から黄に変化した濃度を発育陽性として MIC を測定した。

II. 実験結果

1. マウス腹腔内感染に対する治療効果

グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する TMFX および対照薬剤の経口1回投与による治療効果をそれぞれ Table 1 および Table 2 に示した。

Table 1. Protective effect of temafloxacin and reference drugs against experimental intraperitoneal infections due to gram-positive bacteria in mice.

| Test organism (challenge dose) | Drug | MIC (μ g/ml) | ED ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limit) |
|---|--------------------|----------------------|--|
| <i>Staphylococcus aureus</i> Smith (104 LD ₅₀ : 4.4×10^4 CFU/mouse) | temafloxacin | 0.05 | 0.62(0.33 ~ 0.93) |
| | ofloxacin | 0.2 | 3.15(2.00 ~ 4.58) |
| | ciprofloxacin | 0.1 | 5.90(4.26 ~ 8.18) |
| | enoxacin | 0.39 | 9.85(8.68 ~ 12.03) |
| | norfloxacin | 0.39 | 14.92(10.08 ~ 21.52) |
| | s.c. ^{a)} | temafloxacin | 0.05 |
| | ciprofloxacin | 0.1 | 0.76(0.57 ~ 1.03) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Y-14 (MRSA) (11.4 LD ₅₀ : 2.5×10^7 CFU/mouse) | temafloxacin | 0.2 | 3.50(2.58 ~ 4.50) |
| | ofloxacin | 0.39 | 12.50(10.96 ~ 14.26) |
| | ciprofloxacin | 0.78 | 32.53(26.82 ~ 40.06) |
| | enoxacin | 1.56 | 41.58(37.12 ~ 48.34) |
| | norfloxacin | 1.56 | 80.28(57.85 ~ 109.50) |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> type I (613 LD ₅₀ : 4.5×10^2 CFU/mouse) | temafloxacin | 0.39 | 38.38(27.12 ~ 53.78) |
| | ofloxacin | 1.56 | 82.29(59.14 ~ 114.06) |
| | ciprofloxacin | 0.78 | 163.63(122.57 ~ 247.59) |
| | enoxacin | 6.25 | 278.30(184.60 ~ 671.32) |
| | norfloxacin | 3.13 | >400 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> type III (114 LD ₅₀ : 7.5×10^1 CFU/mouse) | temafloxacin | 0.39 | 41.61(30.47 ~ 56.77) |
| | ofloxacin | 1.56 | 216.93(126.49 ~ 426.42) |
| | ciprofloxacin | 0.78 | >200 |
| | enoxacin | 6.25 | >400 |
| | norfloxacin | 6.25 | >400 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> C-203 (420 LD ₅₀ : 1.5×10^2 CFU/mouse) | temafloxacin | 0.39 | 39.08(34.61 ~ 47.09) |
| | ofloxacin | 0.78 | 91.91(68.67 ~ 123.45) |
| | ciprofloxacin | 0.39 | 175.88(153.05 ~ 219.83) |
| | enoxacin | 6.25 | >400 |
| | norfloxacin | 1.56 | >400 |

Male ddY mice (20 \pm 1 g) were infected intraperitoneally with cells of a test organism suspended in 6% mucin.

Drugs were administered orally 1 hour after infection.

ED₅₀ values were calculated by the probit method based on survival rate at the 5th day (n=9~15).

^{a)} Drugs were administered subcutaneously.

グラム陽性菌に対して、TMFX は *in vitro* 抗菌力 (MIC 値) を反映し、きわめて優れた治療効果を示した。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の *S. aureus* Y-14 に対して TMFX は他剤より優れた抗菌力を示し、治療効果も優れていた。また、*S. aureus* Smith 感染において TMFX および CPFX の皮下投与による治療効果を検討した。その結果、(皮下投与時の ED₅₀ 値/経口投与時の ED₅₀ 値) × 100 を経口効率とすると、TMFX が 69.3%、CPFX が 12.8% であった。

グラム陰性菌に対して、TMFX は *in vitro* 抗菌力を反映して優れた治療効果を示した。緑膿菌に対する TMFX の治療効果は CPFX と同等であったが、他剤よりも優れていた。 β -ラクタマーゼ産生性の *Enterobacter aerogenes* 816 および *Citrobacter freundii* 916 による感染に対しては CPFX に比べてその治療効果はやや劣るものの、他剤と同等または優れていた。また、

Acinetobacter calcoaceticus 756 の感染に対しては TMFX は抗菌力を反映し、優れた治療効果を示した。

感染4日前にシクロホスファミドを投与して作成した白血球減少症マウスの緑膿菌感染に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を Table 3 に示した。TMFX は白血球減少症マウスおよび正常マウスで他剤よりも優れた治療効果を示した。白血球減少症マウスではいずれの薬剤も正常マウスに比べ ED₅₀ 値は大きく、治療効果は低下したが、それらの治療低下率(白血球減少症マウスの ED₅₀ 値/正常マウスの ED₅₀ 値)は TMFX 1.63, OFLX 1.67, NFLX : 1.90, ENX : 1.35 であった。

2. マウス呼吸器感染に対する治療効果

1) 肺炎桿菌性肺炎

K. pneumoniae B-54 を噴霧して作成したマウス実験的肺炎に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を

Table 2. Protective effect of temafloxacin and reference drugs against experimental intraperitoneal infections due to gram-negative bacteria in mice.

| Test organism (challenge dose) | Drug | MIC (μ g/ml) | ED ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limit) |
|--|---------------|----------------------|--|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 169 (761 LD ₅₀ : 1.1 × 10 ⁴ CFU/mouse) | temafloxacin | 0.05 | 6.39 (4.74 ~ 8.58) |
| | ofloxacin | 0.78 | 26.03 (19.36 ~ 35.31) |
| | ciprofloxacin | 0.1 | 9.38 (6.53 ~ 12.70) |
| | enoxacin | 0.39 | 18.88 (14.03 ~ 25.44) |
| | norfloxacin | 0.39 | 37.94 (28.92 ~ 49.59) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> TU-408 (68 LD ₆₀ : 7.0 × 10 ³ CFU/mouse) | temafloxacin | 0.39 | 3.46 (2.57 ~ 4.92) |
| | ofloxacin | 0.78 | 12.44 (10.03 ~ 15.49) |
| | ciprofloxacin | 0.1 | 5.52 (4.35 ~ 7.23) |
| | enoxacin | 0.78 | 10.01 (7.92 ~ 12.60) |
| | norfloxacin | 0.39 | 19.51 (15.14 ~ 25.46) |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> 816 (145 LD ₅₀ : 1.0 × 10 ⁶ CFU/mouse) | temafloxacin | 0.1 | 2.43 (1.86 ~ 3.21) |
| | ofloxacin | 0.05 | 2.37 (1.83 ~ 3.04) |
| | ciprofloxacin | ≤ 0.013 | 1.31 (1.16 ~ 1.53) |
| | enoxacin | 0.1 | 4.42 (3.46 ~ 5.66) |
| | norfloxacin | 0.05 | 5.78 (4.28 ~ 8.16) |
| <i>Citrobacter freundii</i> 916 (246 LD ₅₀ : 6.0 × 10 ⁴ CFU/mouse) | temafloxacin | 0.025 | 0.89 (0.75 ~ 1.01) |
| | ofloxacin | 0.05 | 1.31 (1.15 ~ 1.63) |
| | ciprofloxacin | ≤ 0.013 | 0.52 (0.40 ~ 0.70) |
| | enoxacin | 0.1 | 1.31 (1.15 ~ 1.63) |
| | norfloxacin | 0.05 | 3.07 (2.28 ~ 4.21) |
| <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 756 (> 625 LD ₅₀ : 4.5 × 10 ⁶ CFU/mouse) | temafloxacin | 0.2 | 2.36 (1.75 ~ 3.18) |
| | ofloxacin | 0.39 | 8.84 (6.90 ~ 11.32) |
| | ciprofloxacin | 0.39 | 14.48 (10.84 ~ 19.30) |
| | enoxacin | 3.13 | 35.36 (27.60 ~ 45.29) |
| | norfloxacin | 6.25 | > 200 |

Male ddY mice (20 ± 1 g) were infected intraperitoneally with cells of a test organism suspended in 6% mucin.

Drugs were administered orally 1 hour after infection.

ED₅₀ values were calculated by the probit method based on survival rate at the 5th day (n = 10 ~ 20).

Table 4 に示した。感染 18 時間後および 42 時間後に 2 回投与した TMFX の ED₅₀ 値は MIC 値が CPFX より大きいにもかかわらず、CPF_X と同等であった。OFLX の ED₅₀ 値は他剤より低値を示したが、生存数では用量依存性が認められなかった。

2) マイコプラズマ性肺炎

M. pulmonis m-53 を経鼻感染して作成したマウス実験的肺炎に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を Table 5 に示した。

1 回投与の場合、TMFX は 300mg/kg のすべてのマウスで肺病変形成を抑制した。それ以下の投与量でも半数以上のマウスの肺病変形成を抑制した。また、体重の増加も良好で、TMFX の治療効果は他剤に比べて優れていた。マイコプラズマは鼻腔、気管、肺から TMFX の 300mg/kg 投与群を含めほとんどすべてのマウスから分離された。感染対照群および CPF_X, NFLX, ENX 投与群で死亡マウスが認められた。

7 回投与の場合、TMFX は 300mg/kg から 38mg/

Table 3. Protective effect of temafloxacin and reference drugs against experimental intraperitoneal infections due to *Pseudomonas aeruginosa* PI-67 in neutropenic mice.

| Mouse (bacterial challenge dose) | Drug | MIC (μ g/ml) | ED ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limit) |
|--|--------------|----------------------|--|
| Neutropenic mice (143 LD ₅₀ : 2.4×10^2 CFU/mouse) | temafloxacin | 0.2 | 8.84 (6.29 ~ 12.43) |
| | ofloxacin | 0.39 | 20.52 (15.07 ~ 28.02) |
| | enoxacin | 0.39 | 17.68 (13.43 ~ 23.26) |
| | norfloxacin | 0.2 | 67.26 (46.33 ~ 95.97) |
| Normal mice (171 LD ₅₀ : 1.2×10^6 CFU/mouse) | temafloxacin | 0.2 | 5.40 (3.40 ~ 8.62) |
| | ofloxacin | 0.39 | 12.22 (7.48 ~ 19.88) |
| | enoxacin | 0.39 | 13.01 (7.99 ~ 21.39) |
| | norfloxacin | 0.2 | 35.36 (23.52 ~ 53.14) |

Neutropenia was induced in male ddY mice (20 ± 1 g) by intraperitoneal injection with 250 mg/kg of cyclophosphamide. Neutropenic and normal mice were infected intraperitoneally with *Pseudomonas aeruginosa* PI-67 suspended in 6% mucin. Drugs were administered orally 1 hour after infection.

ED₅₀ values were calculated by the probit method based on survival rate at the 7th day (n=9 or 10).

Table 4. Therapeutic effect of temafloxacin and reference drugs on experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* B-54 in mice

| Drug | MIC (μ g/ml) | Dose (mg/kg/dose) | Survival /tested | ED ₅₀ (mg/kg/dose) (95% confidence limit) |
|---------------|----------------------|----------------------|---------------------|---|
| Terafloxacin | 0.05 | 200 | 7/8 | 30.85 (12.66 ~ 80.67) |
| | | 50 | 5/8 | |
| | | 12.5 | 3/8 | |
| | | 3.1 | 0/8 | |
| Ofloxacin | 0.05 | 200 | 6/8 | 14.56 (N.C. ^{a)}) |
| | | 50 | 7/8 | |
| | | 12.5 | 6/8 | |
| | | 3.1 | 0/8 | |
| Ciprofloxacin | ≤ 0.013 | 200 | 6/8 | 31.90 (11.58 ~ 101.46) |
| | | 50 | 6/8 | |
| | | 12.5 | 3/8 | |
| | | 3.1 | 0/8 | |

Pneumonia was induced in male ddY mice (20 ± 1 g, 4W) by the aerosol method (5×10^4 CFU/lungs) with *Klebsiella pneumoniae* B-54.

Drugs were administered orally 18 and 42 hours after infection.

ED₅₀ values were calculated by the probit method based on survival rate at the 5th day after administration.

^{a)} Confidence limit values could not be calculated.

kg 投与まですべてのマウスの肺病変形成を抑制し、他剤に比べてきわめて優れた治療効果を示した。体重の増加は各群とも良好で大差なかった。マイコプラズマは全マウスから分離された。感染対照群および NFLX 投与群で死亡マウスが認められた。

3. マウス尿路感染に対する治療効果

1) 上行性尿路感染

E. coli 2004 を膀胱内接種により作成したマウス上行性尿路感染に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を Fig. 1 および Fig. 2 に示した。1回投与の場合 (Fig. 1), TMFX は投与量依存的に腎内生菌数を減少させ、その治療効果は OFLX および CPFX と同等で

あった。つぎに、各薬剤を1日2回3日間連続投与した場合 (Fig. 2), 腎内生菌数は1回投与の場合より著しく減少し、治療効果が増強した。この治療効果の増強は TMFX および OFLX で顕著であった。

2) カラゲニン投与マウスの血行性腎感染

カラゲニン投与マウスに *P. mirabilis* TU-1698 を静脈内接種により作成した腎感染に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を Fig. 3 に示した。腎内生菌数を感染対照より 2 logs 以上減少した場合、統計学的に有意差が認められたことから、これを治療効果ありと判定すると、各薬剤とも 200 および 25 mg/kg 投与で治療効果が認められ、TMFX は 200 mg/kg 投

Table 5. Therapeutic effect of temafloxacin and reference drugs on experimental pneumonia caused by *Mycoplasma pulmonis* m53 in mice

| Drug | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | Dose (mg/kg /dose) | Administration | | | |
|--------------------|-----------------------------|--------------------------|--|------------------------------|--|--------------------|
| | | | single | | once a day for 7 days | |
| | | | gross lesion of lung (positive /tested) | body weight (g) | gross lesion of lung (positive /tested) | body weight (g) |
| Temafoxacin | 0.2 | 300 | 0/5 | 34.3 \pm 2.1 ^{a)} | 0/5 | 36.5 \pm 3.8 |
| | | 150 | 1/5 | 36.6 \pm 1.0 | 0/5 | 37.0 \pm 1.9 |
| | | 75 | 2/5 | 32.9 \pm 1.1 | 0/5 | 36.9 \pm 2.0 |
| | | 38 | 2/5 | 33.7 \pm 1.3 | 0/5 | 38.2 \pm 1.9 |
| Ofloxacin | 0.78 | 300 | 3/5 | 33.2 \pm 1.8 | 0/5 | 36.8 \pm 6.5 |
| | | 150 | 4/5 | 32.6 \pm 4.8 | 0/5 | 36.6 \pm 2.8 |
| | | 75 | 4/5 | 31.7 \pm 4.7 | 1/5 | 37.4 \pm 1.4 |
| | | 38 | 4/5 | 29.9 \pm 6.4 | 2/5 | 39.0 \pm 5.1 |
| Ciprofloxacin | 0.2 | 300 | 4/5 | 29.4 \pm 4.5 | 1/5 | 34.0 \pm 4.5 |
| | | 150 | 3/5 | 26.2 \pm 6.1 | 3/5 | 38.8 \pm 2.5 |
| | | 75 | 5/5 | 25.2 \pm 1.3 | 4/5 | 34.3 \pm 3.5 |
| | | 38 | 0/3 (2) ^{b)} | 26.8 \pm 8.6 | 5/5 | 32.7 \pm 6.3 |
| Enoxacin | 1.56 | 300 | 2/3 (2) | 32.5 \pm 6.5 | 4/5 | 38.2 \pm 3.3 |
| | | 150 | 3/4 (1) | 29.3 \pm 5.0 | 5/5 | 34.6 \pm 4.1 |
| | | 75 | 1/2 (3) | 25.2 \pm 9.3 | 5/5 | 30.9 \pm 6.0 |
| | | 38 | 0/2 (3) | 29.4 \pm 4.5 | 4/5 | 29.8 \pm 6.5 |
| Norfloxacin | 0.78 | 300 | 4/4 (1) | 27.8 \pm 2.8 | 1/5 | 32.6 \pm 5.7 |
| | | 150 | 2/4 (1) | 28.7 \pm 3.2 | 5/5 | 32.3 \pm 1.8 |
| | | 75 | 0/1 (4) | 36.8 | 3/4 (1) | 33.1 \pm 5.7 |
| | | 38 | 2/3 (2) | 27.8 \pm 7.1 | 1/2 (3) | 33.3 \pm 1.2 |
| Infected control | | | 2/2 (3) | 22.7 \pm 4.7 | 4/4 (1) | 27.0 \pm 6.1 |
| Uninfected control | | | 0/5 | 37.8 \pm 1.5 | 0/5 | 40.6 \pm 1.8 |

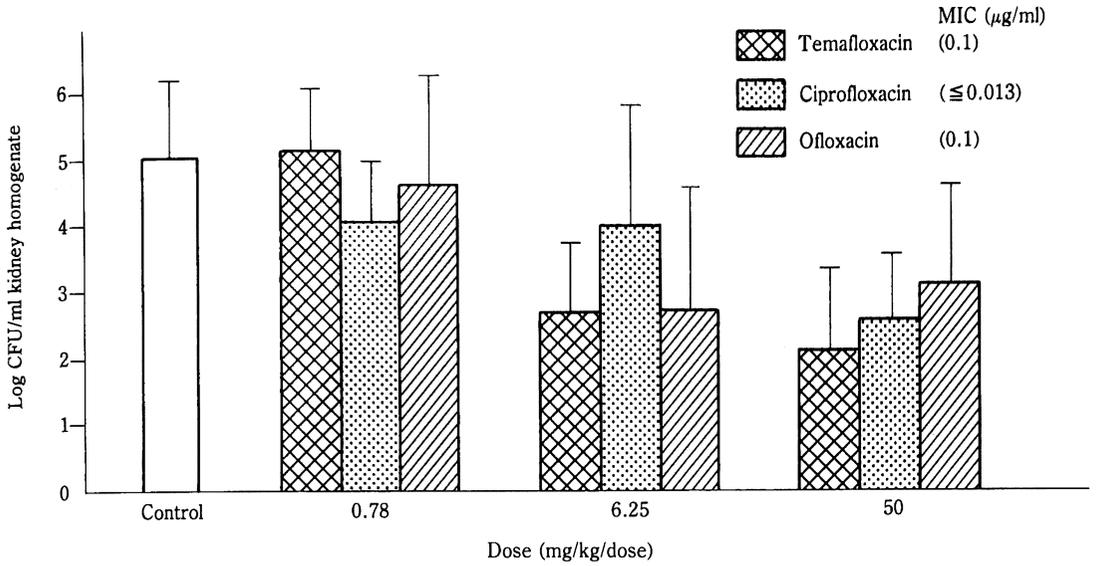
Pneumonia was induced in male ICR mice (28.5 \pm 1.4 g, 5W) by transnasal inoculation (50 μl , 5.0×10^6 CFU/mouse) with *Mycoplasma pulmonis* m53.

Drugs were administered orally, starting 1 day after infection.

Gross lesion of lung and body weight were examined at 14 days (single) or 28 days (once a day for 7 days) after infection.

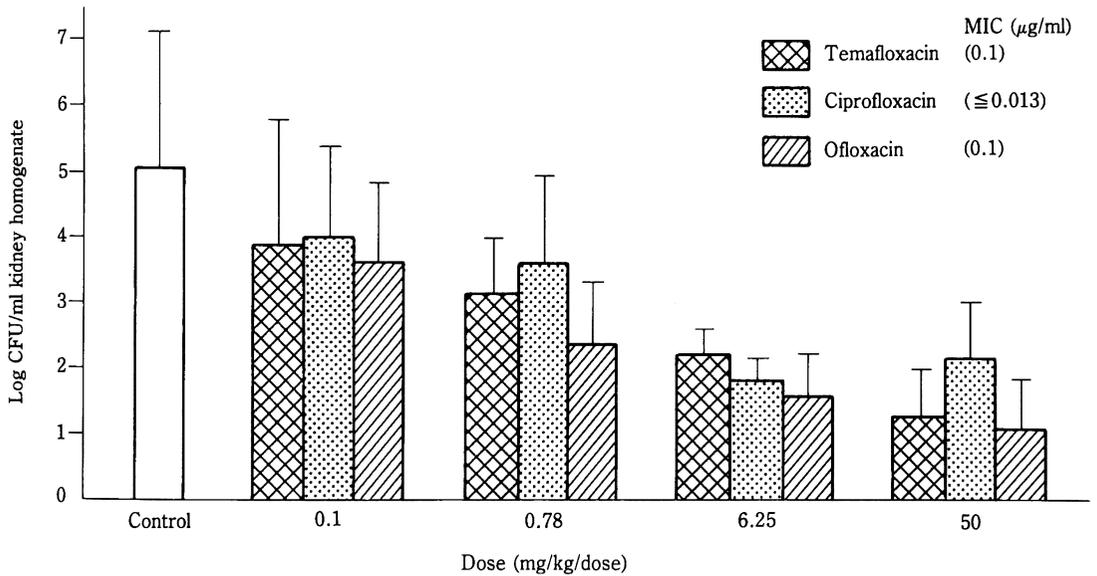
^{a)} Mean \pm SD of survival mice.

^{b)} Number of died mice.



Infection was induced in male ddY mice (20 ± 1 g) by inoculation with 1.2×10^6 cells of *Escherichia coli* 2004 into the bladder. Drugs were administered orally 24 hours after infection. Viable cells in a pair of kidneys were counted at 48 hours after infection (n=10).

Fig. 1. Therapeutic effect of single administration of temafloxacin and reference drugs on urinary tract infection caused by *Escherichia coli* 2004 in mice.



Infection was induced in male ddY mice (20 ± 1 g) by inoculation with 1.2×10^6 cells of *Escherichia coli* 2004 into the bladder. Drugs were administered orally twice daily for 3 days, starting 24 hours after infection. Viable cells in a pair of kidneys were counted one day after the final administration (n=9).

Fig. 2. Therapeutic effect of repeated administration of temafloxacin and reference drugs on urinary tract infection caused by *Escherichia coli* 2004 in mice.

与で OFLX および CPFX よりも優れた治療効果を示した。

E. faecalis 1227 の静脈内接種により作成した腎感染に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を Fig. 4 に示した。腎内生菌数が 2 logs 以上減少したのは TMFX および OFLX の 200 mg/kg 投与で、同等の治療効果が認められた。ABPC の経口投与による治療は一群6匹のマウスを用いて実施した。いずれの投与量でも著しく腎内生菌数を減少させ、本モデルが薬剤評価系として適していることが確認された。

P. aeruginosa 169 の静脈内接種により作成した腎感染に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を Fig. 5 に示した。腎内生菌数が 2 logs 以上減少したのは各薬剤の 200 mg/kg 投与と、CPFX の 50 mg/kg 投与であった。

4. マウス腸管感染

S. typhimurium TPRL-10761 をマウスに経口接種して作成した腸管感染に対する TMFX および対照薬剤の治療効果を Fig. 6 に示した。感染翌日から1日1回7日間経口投与した TMFX の 300 mg/kg 投与群は非投与対照群の平均生存日数 6.6 日に対して 26.2 日で OFLX と同等、150 mg/kg 投与群は 21.2 日で、他の

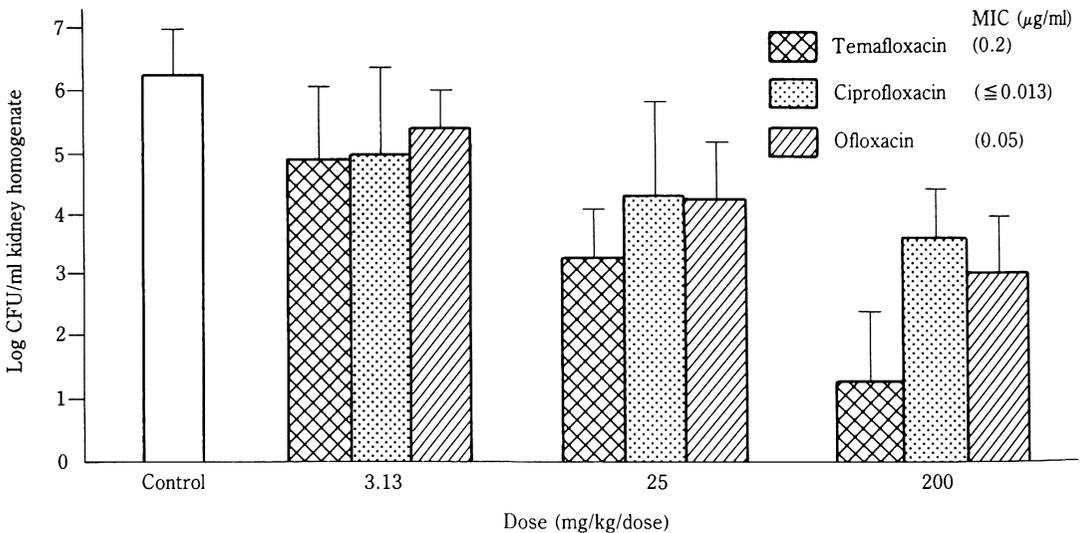
ニューキノロン剤に比べて著明な延命効果を示した。75 mg/kg では 15.1 日で OFLX より劣り、38 mg/kg では 15.7 日でわずかながら優れた治療効果を示した。

5. マウス皮下膿瘍

S. aureus Y-14 (MRSA) または *S. aureus* CH-19 をマウス皮下に接種して作成した膿瘍モデルに対する TMFX および OFLX の治療効果を Table 6 に示した。*S. aureus* Y-14 に対する TMFX の膿瘍形成抑制率は投与量に依存し、OFLX と同等の良好な治療効果を示した。また、TMFX は *S. aureus* CH-91 に対しても OFLX と同等の治療効果を示した。

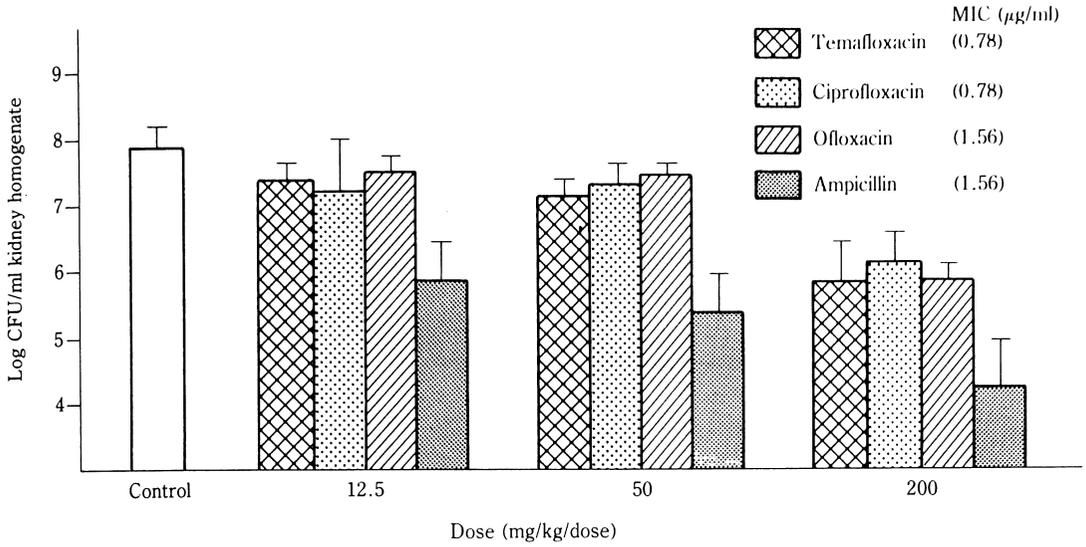
III. 考 察

S. aureus Smith によるマウス腹腔内感染を用いて、TMFX の経口効率を CPFX と比較した結果、TMFX が 69.3%、CPFX が 12.8% であった。三和ら⁴が *E. coli* 感染で報告している lomefloxacin : 44%、NFLX : 6.1%、OFLX : 34.1% および ENX : 27.2% に比べて TMFX は高い値を示しており、また、Hardy ら⁵の CPFX との比較データからも TMFX が高い経口効率を示している。したがって、TMFX はこれらのニューキノロン剤の中では最も高い経口吸収性を示す薬剤と



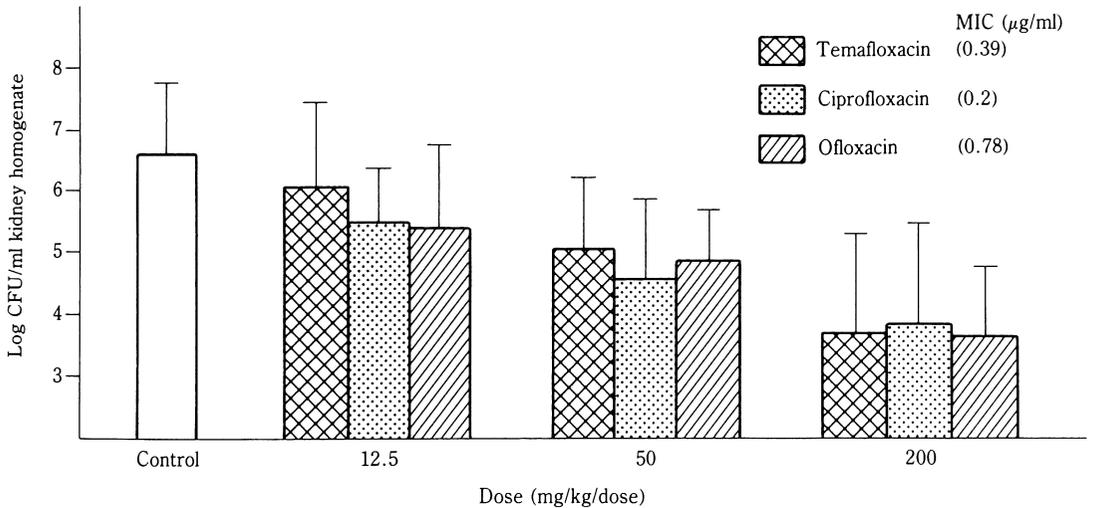
Mice were injected intravenously with 30 mg of carrageenan type II per kg. One day after injection, mice were infected intravenously with 4.0×10^6 cells of *Proteus mirabilis* TU-1698. Drugs were administered orally 24 hours after infection. Viable cells in a pair of kidneys were counted at 48 hours after infection (n=10).

Fig. 3. Therapeutic effect of temafloxacin and reference drugs on kidney infection with *Proteus mirabilis* TU-1698 in carrageenan treated mice.



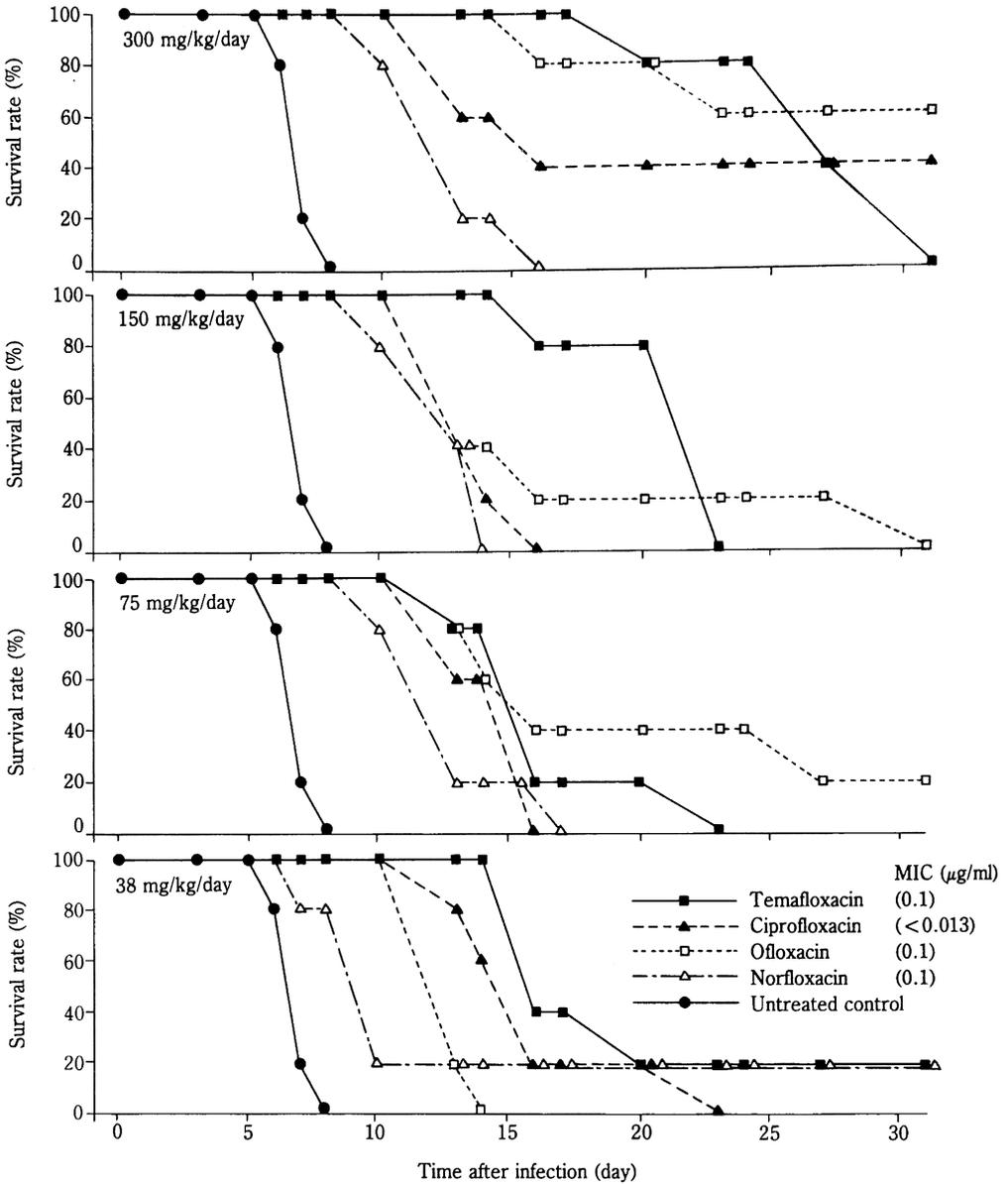
Mice were injected intravenously with 30 mg of carrageenan type II per kg. One day after injection, mice were infected intravenously with 1.6×10^7 cells of *Enterococcus faecalis* 1227. Drugs were administered orally twice daily for 3 days, starting 72 hours after infection. Viable cells in a pair of kidneys were counted one day after the final administration (n=9, n=6 for ampicillin).

Fig. 4. Therapeutic effect of temafloxacin and reference drugs on kidney infection with *Enterococcus faecalis* 1227 in carrageenan treated mice.



Mice were injected intravenously with 30 mg of carrageenan type II per kg. One day after injection, mice were infected intravenously with 3.6×10^5 cells of *Pseudomonas aeruginosa* 169. Drugs were administered orally 72 hours after infection. Viable cells in a pair of kidneys were counted at 96 hours after infection (n=10).

Fig. 5. Therapeutic effect of temafloxacin and reference drugs on kidney infection with *Pseudomonas aeruginosa* 169 in carrageenan treated mice.



Infection was induced in male BALB/c mice (19.9 ± 1.6 g) by oral inoculation with 5.8×10^7 cells of *Salmonella typhimurium* TPRL-10761. Drugs were administered orally once daily for 7 days, starting 24 hours after infection. Survival rates were examined until 31 days after infection (n=5).

Fig. 6. Therapeutic effect of temafloxacin and reference drugs on intestinal tract infection with *Salmonella typhimurium* TPRL-10761 in mice.

考えられる。

免疫低下宿主における感染モデルとして白血球減少症マウスの緑膿菌腹腔内感染を用いて治療低下率を検討した結果、TMFX : 1.63, OFLX : 1.67, NFLX : 1.90, ENX : 1.35 であった。著者ら⁸⁾が先に報告した各種セフェム剤の白血球減少症マウスの緑膿菌感染での治療低下率 (2.2~22.0) に比べるといずれのニューキノロン剤もその低下率は小さく、ニューキノロン剤の強い殺菌力が治療効果に反映したと考えられた。同様の成績は fleroxacin⁹⁾ においても示されている。これらの成績は近年注目されている compromised host へのニューキノロン剤の臨床効果を期待する上で興味のある知見である。

ニューキノロン剤は従来の同系薬剤に比べて広範囲な抗菌スペクトラムを持つようになったが、連鎖球菌

属やマイコプラズマ属に対する抗菌力は必ずしも十分でない¹⁰⁾とされていた。TMFX はこれらの菌種に対して既存のニューキノロン剤よりも優れた抗菌活性を示し¹¹⁾、ハムスターの実験的マイコプラズマ肺炎に対して良好な治療効果を示すことが報告されている¹²⁾。我々もこれらの菌種による実験的感染モデルを用いてその治療効果を検討した。その結果、連鎖球菌属のマウス腹腔内感染および実験的マイコプラズマ肺炎に対して、TMFX が既存のニューキノロン剤に比べて *in vitro* 抗菌力 (MIC) の差以上に優れた治療効果を示すことが明らかになった。TMFX が良好な成績を示す理由として、その薬動学的性質があげられる。すなわち、マウスにおいてTMFX は経口投与でよく吸収され、他剤よりも長い血中半減期と良好な組織移行を示すとされている¹³⁾。特に、肺組織への移行が優れて

Table 6. Therapeutic effect of temafloracin and reference drugs on subcutaneous abscess caused by *Staphylococcus aureus* in mice

(a) *Staphylococcus aureus* Y-14 (MRSA): 4.0×10^8 CFU/mouse

| Drug | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | Dose (mg/kg) | No. of tested mice | Abscess | | Suppression rate ^{a)} | |
|--------------|-----------------------------|-----------------|--------------------------|-----------------------|------------------------------------|--------------------------------|------|
| | | | | size (mm \pm SD) | area (mm ² \pm SD) | size | area |
| Temafloracin | 0.2 | 200 | 10 | 5.05 \pm 3.06 | 33.83 \pm 25.88 | 57.7 | 77.5 |
| | | 50 | 10 | 8.50 \pm 2.35 | 77.15 \pm 34.08 | 28.9 | 48.6 |
| | | 12.5 | 10 | 10.13 \pm 1.56 | 104.18 \pm 32.12 | 15.2 | 30.6 |
| Ofloxacin | 0.39 | 200 | 10 | 7.00 \pm 3.94 | 62.40 \pm 40.81 | 41.4 | 58.4 |
| | | 50 | 10 | 10.55 \pm 2.91 | 117.43 \pm 49.46 | 11.7 | 21.8 |
| | | 12.5 | 10 | 10.68 \pm 2.99 | 120.45 \pm 52.83 | 10.6 | 19.8 |
| Control | - | - | 10 | 11.95 \pm 3.18 | 150.10 \pm 76.12 | 0 | 0 |

(b) *Staphylococcus aureus* CH-91: 1.0×10^9 CFU/mouse

| Drug | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | Dose (mg/kg) | No. of tested mice | Abscess | | Suppression rate ^{a)} | |
|--------------|-----------------------------|-----------------|--------------------------|-----------------------|------------------------------------|--------------------------------|------|
| | | | | size (mm \pm SD) | area (mm ² \pm SD) | size | area |
| Temafloracin | 0.1 | 12.5 | 10 | 9.40 \pm 1.29 | 89.40 \pm 25.85 | 41.3 | 65.8 |
| | | 3.13 | 10 | 13.10 \pm 2.09 | 173.40 \pm 60.18 | 18.1 | 33.7 |
| | | 0.78 | 10 | 16.10 \pm 4.18 | 266.30 \pm 113.94 | -0.6 | -1.8 |
| Ofloxacin | 0.39 | 12.5 | 10 | 10.05 \pm 3.42 | 110.80 \pm 76.64 | 37.2 | 57.6 |
| | | 3.13 | 10 | 15.35 \pm 3.20 | 239.30 \pm 91.00 | 4.1 | 8.5 |
| | | 0.78 | 10 | 14.55 \pm 2.44 | 212.30 \pm 62.82 | 9.1 | 18.8 |
| Control | - | - | 10 | 16.00 \pm 3.53 | 261.50 \pm 107.50 | 0 | 0 |

Male ddY mice (20 \pm 1 g) were infected subcutaneously with cells of a test organism.

Drugs were administered orally 1 hour after infection.

Abscess size was examined at 2 days after infection.

^{a)} Suppression rate (%) = 100 - (mean abscess size or area of the treated group / mean abscess size or area of the control) \times 100.

いることが特徴とされ、その性質が治療効果に反映したと考えられる。

Hardy ら⁷⁾はカラゲニン投与マウスの緑膿菌尿路感染で TMFX の治療効果を報告している。我々もカラゲニン投与マウスが各種細菌に対して、とくに腎感染において、易感染化状態になっていることを確認した。そこで、そのカラゲニン投与マウスを用い、臨床由来株の *P. mirabilis* TU-1698, *E. faecalis* 1227 および *P. aeruginosa* 169 による腎感染モデルを作成し、TMFX, OFLX および CPFX の治療効果を検討した。その結果、これらのニューキノロン剤はいずれもマウス腎内生菌数を減少させ、易感染化状態の尿路感染に対しても優れた治療効果を示すことが明らかになった。

TMFX は既存のニューキノロン剤に比べ広範な菌種で抗菌力が強まっているが、今回検討した各種感染モデルでは *in vitro* 抗菌力が同等またはやや劣る場合にでも TMFX の方が優れた治療効果を示す場合が多かった。良好な治療効果を示す理由としては、TMFX が感染症治療に都合のよい薬動学的性質を示すことがその一部にあげられる。各種感染モデルにおけるこれらの結果は臨床での有効性を推測させるものである。

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 の *in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 41 (S-5): 67~80, 1993
- 2) 荒井澄夫, 合原幸子: *In vitro, in vivo* での temafloxacin の抗 *Mycoplasma pneumoniae* 活性。Chemotherapy 41 (S-5): 81~88, 1993

- 3) 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
- 4) 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
- 5) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 6) 三和秀明, 中清水弘, 堀 賢司, 松田早人, 松浦真三: NY-198 の *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 36(S-2): 112~119, 1988
- 7) Hardy D J, Swanson R N, Hebsey 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 33: 1768~1774, 1987
- 8) 石井信男, 谷 佳都, 春日 修, 芝田和夫, 山口東太郎: 白血球減少症マウスの緑膿菌感染症と ceftazidime の治療効果—全身オートバクテリアオグラフィーによる観察—: Chemotherapy 37: 1380~1388, 1989
- 9) 平井敬二, 保坂雅喜, 青山 博, 庭田 寧, 安江徳太郎, 福田秀行, 鈴江清吾, 入倉 勉: 新キノロン系抗菌剤 fleroxacin の *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 38(S-2): 80~87, 1990

Therapeutic effects of temafloracin on experimental infections in mice

Kato Tani, Kazuo Shibata, Tokio Onta and Totaro Yamaguchi
Pharmacological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co. Ltd.,
2-2-50 Kawagishi, Toda 335, Japan

The therapeutic effects of temafloracin (TMFX) on various experimental infection models in mice were studied in comparison with those of ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), norfloxacin (NFLX) and enoxacin (ENX).

1. TMFX was more effective than OFLX, CPFX, NFLX and ENX against intraperitoneal infections due to *Staphylococcus aureus* and streptococcal species in mice. TMFX was also superior to reference drugs against *Pseudomonas aeruginosa* infections. With infections due to *Enterobacter aerogenes* 816 and *Citrobacter freundii* 916, TMFX was inferior to CPFX and was equal or superior to OFLX, NFLX and ENX. The efficacies of TMFX, OFLX, ENX and NFLX in neutropenic mice were slightly reduced.

2. In experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* B-54 in mice, the therapeutic effect of TMFX was equal to those of OFLX and CPFX. However, TMFX showed a more potent therapeutic effect than OFLX, CPFX, NFLX and ENX against experimental pneumonic infections induced by *Mycoplasma pulmonis* m-53 in mice.

3. In ascending urinary tract infections caused by *Escherichia coli* 2004 in mice, the therapeutic effect of TMFX was equal to those of OFLX and CPFX. TMFX was more effective than OFLX and CPFX for kidney infections caused by *Proteus mirabilis* TU-1698 in carrageenan treated mice. Furthermore, the therapeutic effect of TMFX was equal to those of OFLX and CPFX in *Enterococcus faecalis* 1227 and *Pseudomonas aeruginosa* 169 infections.

4. In intestinal tract infections caused by *Salmonella typhimurium* TPRL-10781 in mice, the therapeutic effect of TMFX was equal or superior to that of OFLX and was superior to those of CPFX, ENX and NFLX.

5. In a subcutaneous abscess model caused by *Staphylococcus aureus* Y-14 (MRSA) and *S. aureus* CH-91 in mice, the suppressive effect of TMFX was equal to that of OFLX.