

【原著・基礎】

Candida 属および *Aspergillus fumigatus* によるマウス全身感染に対する micafungin の防御効果

松本 哲¹⁾・若井 芳美¹⁾・渡部 悦子¹⁾・牧 克之¹⁾・池田 文昭¹⁾
俵 修一¹⁾・武藤誠太郎¹⁾・松本 文夫²⁾・桑原 章吾³⁾

¹⁾藤沢薬品工業株式会社薬理研究所*

²⁾神奈川県衛生看護専門学校付属病院

³⁾東邦大学医学部微生物学教室

Micafungin (MCFG) の *Candida* 属および *Aspergillus fumigatus* によるマウス全身感染に対する防御効果を amphotericin B (AMPH-B), fluconazole (FLCZ) および itraconazole (ITCZ) と比較した。MCFG は cyclophosphamide により顆粒球減少状態にしたマウスの *Candida albicans* による全身感染に対して 0.125 mg/kg 以上の投与量において有意な延命効果を示した (P<0.01)。また, *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii* および *Aspergillus fumigatus* によるマウス全身感染に対する MCFG の ED₅₀ 値は 0.14~1.61 mg/kg であり, FLCZ および ITCZ より小さかったが, AMPH-B とほぼ同等もしくは大きい値を示した。Cyclophosphamide, hydrocortisone または 5-fluorouracil により易感染状態にしたマウスの *C. albicans* 全身感染に対する MCFG の ED₅₀ 値は 0.14~0.33 mg/kg であり, FLCZ および ITCZ よりも小さい値を示したが, AMPH-B よりはやや大きい値であった。また, MCFG の 0.5 および 1.0 mg/kg を投与したときの *C. albicans* 全身感染マウスの感染 24 時間後の腎臓内生菌数は AMPH-B の 0.5 および 1.0 mg/kg 投与したときと同様に, 感染直後の生菌数と比較して有意に少なかった (P<0.01)。これらの結果から, 種々の条件で易感染状態にしたマウスの全身性 (播種性) カンジダ症およびアスペルギルス症に対して MCFG は FLCZ および ITCZ よりも優れ, AMPH-B と比較して同等ないしはやや劣る防御効果を示すことが示唆された。

Key words: micafungin, 全身感染, マウス, カンジダ症, アスペルギルス症

真菌に特異的な細胞壁の主要構成成分である 1,3-β-D-glucan の合成を選択的に阻害する物質は深在性真菌症の新しい治療薬となる可能性があると期待されている^{1,2)}。特に, echinocandin 系誘導体である anidulafungin (LY 303366) や類似の構造を有する pneumocandin 系誘導体 caspofungin (MK-0991) は, *Candida* 属および *Aspergillus* 属に対して優れた *in vitro* および *in vivo* 活性を示すことが報告されている³⁻⁹⁾。

Micafungin (MCFG) は藤沢薬品工業株式会社で見出された echinocandin と類似の構造を有する水溶性のリポペプチド系抗真菌薬である。1,3-β-D-glucan の合成を阻害することにより, 深在性真菌症の主要起因菌である *Candida* 属および *Aspergillus* 属などに対して幅広い抗真菌スペクトルを示すこと, ならびに *in vitro* および *in vivo* において AMPH-B に匹敵する抗真菌活性を示し, azole 系抗真菌薬 (fluconazole および itraconazole) よりも優れることが報告されている¹⁰⁻¹⁴⁾。

本研究では cyclophosphamide, その他の免疫抑制剤によって易感染化したマウスに, 臨床での分離頻度の高い

Candida 属の菌種および *Aspergillus fumigatus* を静脈内接種して作製した全身感染モデルに対する MCFG の防御効果について検討した。

I. 材料および方法

1. 使用薬剤および試薬

MCFG は藤沢薬品工業株式会社で合成されたものを用いた。また, 同効類薬として amphotericin B (AMPH-B; Fungizone[®], ブリストル・マイヤーズスクイブ株式会社, 東京), fluconazole (FLCZ; Diflucan[®], ファイザー製薬株式会社, 東京) および itraconazole (ITCZ; Itrizole[®], ヤンセン協和株式会社, 東京) を使用した。さらに, マウスの易感染状態に起するために cyclophosphamide (Acros organics, NH, USA), hydrocortisone (ナカライテスク, 京都) および 5-fluorouracil (Sigma Chemical, MO, USA) を使用した。

2. 使用動物

4 週齢の雄性 ICR 系マウスを日本エスエルシー株式会社 (浜松) から購入し, 給水および飼料は自由に与え

*大阪府大阪市淀川区加島 2-1-6

た。

3. 感染菌株および培養条件

Candida albicans FP 633 および *C. albicans* FP 1840 は、それぞれ順天堂大学試験部および東京大学・島田教授から分与された。また、*A. fumigatus* IFM 40835 および *A. fumigatus* TIMM 0063 は、それぞれ千葉大学・宮治教授および帝京大学・山口教授より分与された。その他、日本国内で1993年から1996年に分離された *Candida* 属の臨床分離株を用いた。

Candida 属は Sabouraud dextrose agar (SDA; 2% glucose, 1% polypepton, 1.5% Bacto agar) で 35°C, 24 時間好気培養し、*A. fumigatus* は potato dextrose agar (Difco) で 30°C, 7 日間好気培養した。

4. MIC (最小発育阻止濃度) 測定

MCFG, FLCZ, ITCZ および AMPH-B の *Candida* 属 および *A. fumigatus* に対する MIC は National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) の M 27-A に準拠して測定した^{15,16)}。なお、*Candida* 属に対する MCFG および AMPH-B の MIC は、スコア 0 を示した最小薬剤濃度とし、ITCZ および FLCZ の MIC は、スコア 2 を示した最小薬剤濃度とした。*A. fumigatus* に対する MCFG, AMPH-B, FLCZ および ITCZ の MIC は、スコア 2 を示した最小薬剤濃度とした。

5. マウス全身感染

マウスを易感染状態にするために、cyclophosphamide の 200 mg/kg を感染 4 日前および 1 日後に腹腔内に、hydrocortisone の 100 mg/kg を感染 1 日前、3 時間後、1 および 2 日後に皮下に、または、5-fluorouracil の 150 mg/kg を感染 4 日前および 75 mg/kg を感染 1 日後に静脈内投与した。培養した *Candida* 属の菌体または *A. fumigatus* の分生子を生理食塩液に懸濁し、最小致死菌量以上になるように生理食塩液で希釈し、その 0.2 mL をマウスの静脈より接種した。

6. 薬剤投与方法

MCFG および AMPH-B はそれぞれ生理食塩液および 5% ブドウ糖液にて溶解および希釈し、FLCZ は生理食塩液で希釈し、感染 1 時間後より 1 日 1 回 4 日間、マウス静脈内投与した。また、ITCZ は 0.5% メチルセルロースに懸濁し、他剤と同様の投与スケジュールで経口投与した。また、control 群は生理食塩液を静脈内投与した。各薬剤投与群および control 群は 1 群 8 匹のマウスを用いた。

7. 腎臓内生菌数測定

Cyclophosphamide の 200 mg/kg を感染 4 日前に腹腔内投与することにより顆粒球減少状態にした 1 群 6 匹の ICR 系雄性マウスに *C. albicans* FP 633 を静脈内接種し、1 時間後に MCFG および同効類薬を静脈内投与した。感染 24 時間後に無菌的に左右両腎臓を取り出

し、一定量の生理食塩液を加え均一にホモジナイズした。この原液および生理食塩液で 100 倍希釈した懸濁液を SDA に接種し、37°C で 2 日間培養した。増殖したコロニーを計測し、腎臓あたりの生菌数を求めた。

8. 統計解析方法

生存率におよぼす効果については感染 22 日後までマウスの生死を観察し、Kaplan–Meier plot し、control 群の生存率曲線に対する各 MCFG 投与群の生存率曲線の順位和検定を Wilcoxon rank sum test および Bonferroni の補正で行った。また、感染 15 日後の各投与群の生存数より probit 法により感染マウスを 50% 生存させる投与量 (ED₅₀ 値) を算出した。また、腎臓内生菌数については、個々値の対数を記述統計量の算出に用い、平均値±標準誤差で示した。また、感染直後の control 群の腎臓内生菌数に対する各薬剤投与群の腎臓内生菌数の有意差検定を、一元配置分散分析および Dunnett の多重比較で行った。

II. 結 果

1. *C. albicans* 全身感染の生存率に対する効果

Cyclophosphamide により顆粒球減少状態にした ICR 系雄性マウスに *C. albicans* 16001 を静脈内接種し、1 時間後より 1 日 1 回 4 日間、MCFG, AMPH-B, FLCZ または ITCZ を投与した時の生存曲線を Fig. 1 に示した。Control 群は感染 11 日後で全例死亡したが、MCFG は 0.125 mg/kg 以上の投与量で control 群と比較して有意な延命効果を示し (P<0.01)、1.0 mg/kg で観察を終了した感染 22 日後までマウスを全例生存させた。一方、AMPH-B および FLCZ は、それぞれ 0.0625 および 1 mg/kg 以上の投与量で control 群に比較して有意な延命効果を示し (P<0.01)、ITCZ は 20 mg/kg 以上の投与量で有意な延命効果を示した (P<0.0125)。

2. *Candida* 属および *A. fumigatus* による全身感染に対する防御効果

Cyclophosphamide により顆粒球減少状態にした ICR 系雄性マウスに *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii* または *A. fumigatus* を静脈内接種し、1 時間後より 1 日 1 回 4 日間、MCFG, AMPH-B, FLCZ または ITCZ を投与した時の感染 15 日後の生存数から推定した ED₅₀ 値を Table 1 に示した。*C. albicans* (4 株), *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* および *C. guilliermondii* によるマウス全身感染に対して、MCFG の ED₅₀ 値は 0.14~1.61 mg/kg であり、FLCZ および ITCZ よりそれぞれ 8.1~45 倍および 50~180 倍小さかったが、AMPH-B より 1.6~3.0 倍大きい値を示した。一方、*C. parapsilosis* による全身感染に対する MCFG の ED₅₀ 値は 3.21 mg/kg であり、FLCZ および ITCZ よりそれぞれ 1.4 倍および 5.7 倍小さかったが、AMPH-B よりは 40 倍大きい値を示した。

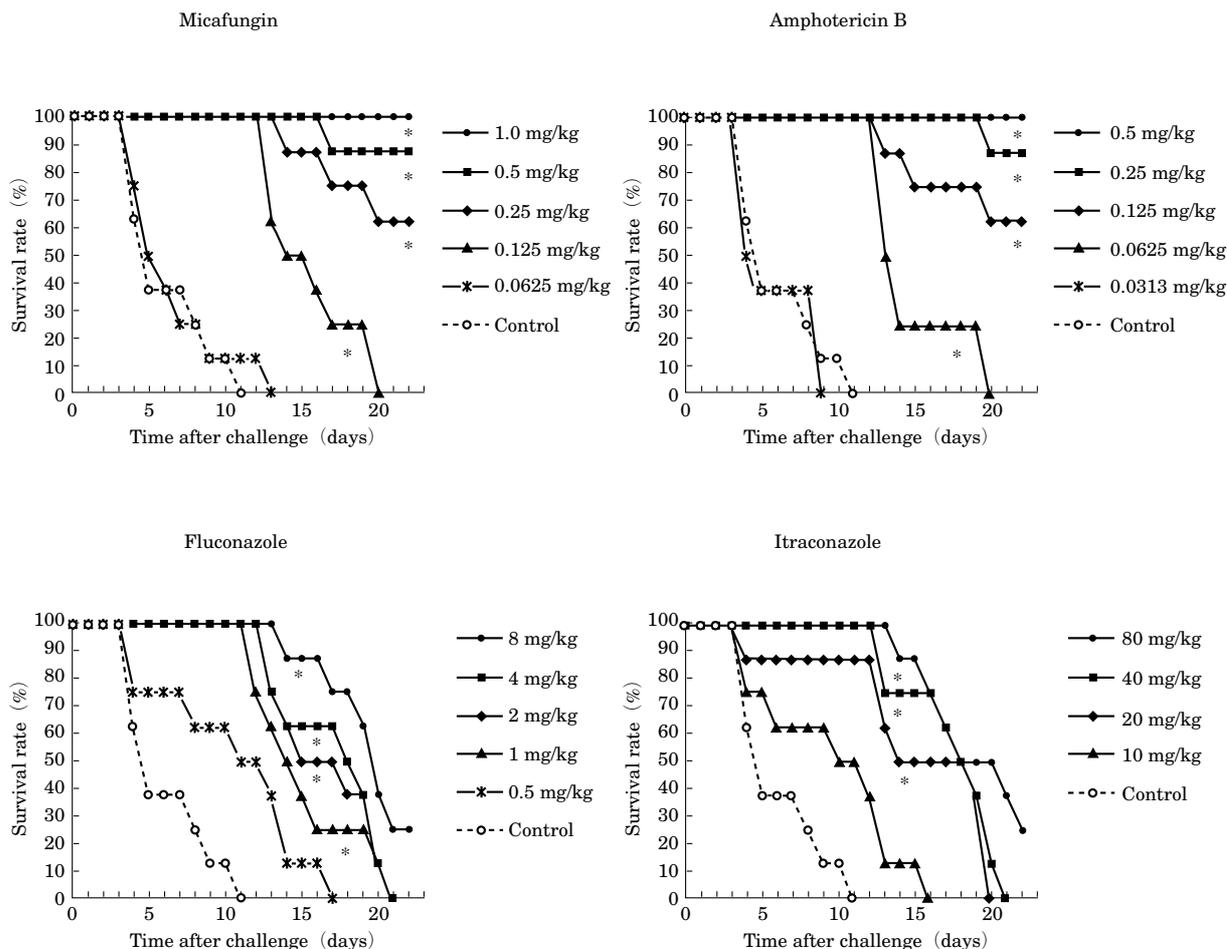


Fig. 1. Efficacy of micafungin (MCFG), amphotericin B (AMPH-B), fluconazole (FLCZ) and itraconazole (ITCZ) in mouse survival model of disseminated candidiasis.

*Statistical analysis was performed by Wilcoxon rank sum test against the control group (significantly different from the control (MCFG, AMPH-B and FLCZ; $P < 0.01$, ITCZ; $P < 0.0125$) by Bonferroni correction)

A. fumigatus (2株)によるマウス全身感染に対するMCFGの ED_{50} 値は0.23および0.36 mg/kgであり、FLCZより56倍以上、ITCZより220倍以上小さい値を示し、AMPH-Bとほぼ同等の値であった。

MCFGおよび同効類薬の感染菌株に対するMICをTable 2に示した。*C. parapsilosis*に対するMCFGのMICは、同効類薬よりも高値を示したが、その他の*Candida*属および*A. fumigatus*に対しては、同効類薬と比較して同等ないしは低いMICを示した。

3. 易感染マウスの*C. albicans*全身感染に対する防御効果

Cyclophosphamide, hydrocortisoneまたは5-fluorouracilにより易感染状態にしたICR系雄性マウスおよび正常マウスに*C. albicans* 16001を静脈内接種し、1時間後より1日1回4日間、MCFG, AMPH-B, FLCZまたはITCZを投与したときの感染15日後の生存数から推定した ED_{50} 値をTable 3に示した。易感染状態にしたマウスの*C. albicans*全身感染に対して、MCFGの ED_{50} 値は0.14~0.33 mg/kgであり、AMPH-Bより1.6

~1.8倍大きかったが、FLCZおよびITCZよりそれぞれ14~24倍および170~270倍以上小さい値を示した。一方、正常マウスの感染においては、MCFGの ED_{50} 値は0.13 mg/kgであり、AMPH-Bより1.9倍大きかったが、FLCZおよびITCZよりそれぞれ22倍および400倍小さい値を示した。

4. 感染防御効果におよぼす投与開始時期の影響

Cyclophosphamideにより顆粒球減少状態にしたICR系雄性マウスに*C. albicans* 16007を静脈内接種し、投与開始時間を感染1時間後と24時間後としたときの ED_{50} 値をTable 4に示した。感染24時間後から投与を開始したときのMCFGおよびAMPH-Bの ED_{50} 値はそれぞれ感染1時間後より投与を開始した時と大差はなかったが、FLCZの ED_{50} 値は3.6倍大きい値を示した。

5. 腎臓内生菌数におよぼす効果

Cyclophosphamideにより顆粒球減少状態にしたICR系雄性マウスに*C. albicans* FP 633を静脈内接種し、1時間後にMCFG, AMPH-BおよびFLCZを1回、静脈内投与したときの感染24時間後の腎臓内生菌数を

Table 1. Efficacy of micafungin in mouse models of disseminated candidiasis and aspergillosis

| Organism | Inoculum (CFU) | ED ₅₀ : mg/kg (95% confidence intervals) | | | |
|--------------------------------|-----------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | MCFG | FLCZ | ITCZ | AMPH-B |
| <i>C. albicans</i> FP 633 | 2.1 × 10 ⁴ | 0.18 (0.13–0.24) | 1.54 (1.08–2.12) | 24.0 (17.2–33.4) | 0.07 (0.04–0.10) |
| <i>C. albicans</i> 16001 | 3.0 × 10 ⁴ | 0.14 (0.10–0.19) | 2.00 (0.93–4.30) | 23.5 (11.9–39.4) | 0.09 (0.06–0.12) |
| <i>C. albicans</i> 16007 | 1.0 × 10 ⁴ | 0.18 (—) ^{b)} | 2.06 (1.14–3.49) | N. D. ^{a)} | 0.06 (0.03–0.09) |
| <i>C. albicans</i> FP 1840 | 8.4 × 10 ³ | 0.38 (0.27–0.54) | 17.2 (12.2–40.2) | 37.2 (25.9–55.7) | 0.16 (0.12–0.23) |
| <i>C. glabrata</i> 16011 | 4.0 × 10 ⁷ | 0.18 (0.12–0.26) | 4.89 (3.37–6.97) | 16.9 (10.2–24.0) | 0.10 (0.07–0.13) |
| <i>C. tropicalis</i> 16004 | 3.6 × 10 ⁴ | 0.35 (0.26–0.48) | 7.2 (—) | 62.0 (44.2–98.0) | 0.21 (0.15–0.29) |
| <i>C. krusei</i> 15001 | 7.2 × 10 ⁷ | 1.61 (1.11–3.98) | >20.0 | >80.0 | 0.71 (0.46–2.04) |
| <i>C. parapsilosis</i> 16005 | 1.4 × 10 ⁷ | 3.21 (2.22–7.96) | 4.57 (2.85–6.56) | 18.3 (11.4–26.3) | 0.08 (0.06–0.11) |
| <i>C. guilliermondii</i> 13003 | 1.2 × 10 ⁸ | 0.77 (0.55–1.08) | 6.27 (4.08–10.1) | 44.2 (31.9–63.6) | 0.32 (0.24–0.45) |
| <i>A. fumigatus</i> TIMM 0063 | 1.8 × 10 ⁵ | 0.36 (0.24–0.56) | >20.0 | >80.0 | 0.28 (0.20–0.40) |
| <i>A. fumigatus</i> IFM 40835 | 4.0 × 10 ⁴ | 0.23 (0.15–0.35) | >20.0 | >80.0 | 0.25 (0.18–0.36) |

^{a)}Not done, ^{b)}Not calculated

MCFG: micafungin, FLCZ: fluconazole, ITCZ: itraconazole, AMPH-B: amphotericin B

Table 2. MICs of micafungin for strains used for mouse infection

| Organism | MIC ^{a)} : µg/mL | | | |
|--------------------------------|---------------------------|-------|--------|--------|
| | MCFG | FLCZ | ITCZ | AMPH-B |
| <i>C. albicans</i> FP 633 | 0.0313 | 0.25 | 0.0313 | 0.25 |
| <i>C. albicans</i> 16001 | 0.0078 | 0.25 | 0.0625 | 0.5 |
| <i>C. albicans</i> 16007 | 0.0156 | 0.125 | 0.0156 | 0.5 |
| <i>C. albicans</i> FP 1840 | 0.0313 | 4 | 0.125 | 0.25 |
| <i>C. glabrata</i> 16011 | 0.0156 | 4 | 0.5 | 0.5 |
| <i>C. tropicalis</i> 16004** | 0.0313 | 0.25 | 0.125 | 0.5 |
| <i>C. krusei</i> 15001 | 0.125 | 64 | 1 | 1 |
| <i>C. parapsilosis</i> 16005 | 2 | 0.5 | 0.125 | 0.5 |
| <i>C. guilliermondii</i> 13003 | 0.25 | 2 | 0.25 | 0.5 |
| <i>A. fumigatus</i> TIMM 0063* | 0.0078 | >64 | 0.5 | 0.5 |
| <i>A. fumigatus</i> IFM 40835* | 0.0156 | >64 | 0.5 | 0.5 |

^{a)}MIC values were determined by broth microdilution method according to the M 27-A guideline.

Culture: 35°C, 2 days (*3 days, **1 day)

MCFG: micafungin, FLCZ: fluconazole, ITCZ: itraconazole, AMPH-B: amphotericin B

Table 5 に示した。 *C. albicans* による全身感染マウスの腎臓において、MCFG および AMPH-B の 0.5 mg/kg 以上を投与したときの 24 時間後の生菌数は、感染直後の生菌数に比較して有意に減少した ($P < 0.01$)。一方、MCFG の 0.25 mg/kg および FLCZ の 4.0 mg/kg を投与したとき、control と同様に腎内生菌数は増加していた。

III. 考 察

Cyclophosphamide により顆粒球減少状態にしたマウスの *C. albicans* 16001 による全身感染において、MCFG, AMPH-B, FLCZ および ITCZ の有意な延命効果を示す最小投与量は、0.125, 0.0625, 1.0 および 20 mg/kg であり、感染 15 日後の生存率から推定した各薬剤の ED₅₀ 値である 0.14, 0.09, 2.00 および 23.5 mg/kg

Table 3. Influence of immunosuppression on efficacy of micafungin in mouse models of disseminated candidiasis

| Host condition | Inoculum (CFU) | ED ₅₀ : mg/kg (95% confidence intervals) | | | |
|------------------|-----------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | MCFG | FLCZ | ITCZ | AMPH-B |
| Normal | 1.4 × 10 ⁶ | 0.13 (0.08–0.20) | 2.83 (1.56–5.12) | 51.4 (33.2–127) | 0.07 (0.05–0.11) |
| Cyclophosphamide | 3.0 × 10 ⁴ | 0.14 (0.10–0.19) | 2.00 (0.93–4.30) | 23.5 (11.9–39.4) | 0.09 (0.06–0.12) |
| Hydrocortisone | 4.0 × 10 ⁴ | 0.30 (0.20–0.44) | 6.88 (4.90–16.1) | >80.0 | 0.19 (0.14–0.26) |
| 5-fluorouracil | 1.9 × 10 ⁵ | 0.33 (0.23–0.45) | 7.84 (5.11–12.6) | 80.0 ^{a)} | 0.18 (0.12–0.26) |

^{a)}50% of mice survived at 80 mg/kg

MCFG: micafungin, FLCZ: fluconazole, ITCZ: itraconazole, AMPH-B: amphotericin B

Table 4. Influence of starting time on efficacy of micafungin in mouse models of disseminated candidiasis

| Organism | Inoculum (CFU) | Starting time of treatment after infection | ED ₅₀ : mg/kg (95% confidence intervals) | | |
|--------------------------|-----------------------|--|---|---------------------|---------------------|
| | | | MCFG | FLCZ | AMPH-B |
| <i>C. albicans</i> 16007 | 3.0 × 10 ⁴ | 1 hour | 0.13 (—) | 2.06 (1.14–3.49) | 0.07 (0.04–0.11) |
| | | 24 hours | 0.18 (0.10–0.30) | 7.51 (4.36–13.7) | 0.09 (0.05–0.15) |

MCFG: micafungin, FLCZ: fluconazole, AMPH-B: amphotericin B

Table 5. Effect of treatment by single administration of micafungin on fungal titers in kidneys of a mouse model of disseminated candidiasis

| Drugs | Dose (mg/kg) | Viable count (log CFU/kidney±S. E.) |
|-----------------|--------------|-------------------------------------|
| Control: 0 hour | — | 3.35±0.04 |
| 24 hours | — | 4.93±0.04 |
| MCFG | 1.0 | 1.73±0.07** |
| | 0.5 | 2.62±0.14** |
| | 0.25 | 4.20±0.05 |
| AMPH-B | 1.0 | 2.35±0.07** |
| | 0.5 | 2.98±0.08** |
| | 0.25 | 3.50±0.11 |
| FLCZ | 4.0 | 3.86±0.05 |

**Significant reduction from the control: 0 h (P<0.01); one way layout analysis of variance and Dunnett's multiple comparison test.

MCFG: micafungin, AMPH-B: amphotericin B, FLCZ: fluconazole

と比較的近似した値を示した。また、FK 463, AMPH-B, FLCZ および ITCZ の ED₅₀ 値近辺の投与量における生存曲線を比較すると、類似したパターンが認められることから、菌株、感染菌量および宿主条件などの相違により一概にはいえないが、ED₅₀ 値の比較から MCFG と同効薬との感染防御効果の優劣を推定することは可能であると考えられた。

Cyclophosphamide により顆粒球減少状態にしたマウスの *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* および *C. guilliermondii* による全身感染に対する MCFG の ED₅₀ 値は AMPH-B よりもやや大きい値であったが、FLCZ および ITCZ よりも小さい値を示した。また、hydrocortisone または 5-fluorouracil により易感染状態にしたマウスの *C. albicans* 全身感染に対しても、cyclophosphamide の場合と同様に MCFG の ED₅₀ 値は AMPH-B よりもやや大きい値であったが FLCZ および ITCZ よりも小さい値を示した。一方、*C. parapsilosis* によるマウス全身感染に対する MCFG の ED₅₀ 値は FLCZ とほぼ同等であったが、AMPH-B よりも著しく大きい値を示した。これは、*C. parapsilosis* が感染実験に使用した *Candida* 属の菌株のなかで MCFG にもっとも低感受性であることを反映した結果であると考えられた^{11,16)}。

また、正常マウスおよび各種免疫抑制剤により易感染化したマウスの *C. albicans* 全身感染に対する結果から、MCFG の防御効果が宿主の易感染状態によって極端に減弱するものではないことが示唆された。さらに、感染 24 時間後から投与を開始したときの MCFG および AMPH-B の ED₅₀ 値は、感染 1 時間後より投与を開始したときと大差なかったが、FLCZ の ED₅₀ 値は 3.6 倍大きい値を示したことから、MCFG は AMPH-B と同様に FLCZ よりも投与開始時期の影響を受け難いこと

が示唆された。

マウスの *C. albicans* 全身感染において、腎臓が標的臓器のひとつとして重要であり、TOKA (target organ kidney assay) は、抗真菌薬の有効性の指標として利用されている⁷⁾。今回のわれわれの結果において、FLCZ は顆粒球減少マウス腎臓内の *C. albicans* に対してコントロール群と比較して菌数の増加を抑制するもの、感染直後の菌数よりは明らかに増加していたのに対し、MCFG の 0.5 mg/kg は、AMPH-B の 0.5 mg/kg と同様に有意な菌数減少効果を示した。これらの結果は、MCFG が *in vitro* において *C. albicans* に対して低濃度から殺菌的に作用する^{11,16)}ことを反映しているものと考えられた。

MCFG は、*in vitro* において *A. fumigatus* に対してきわめて低濃度から菌糸の伸長阻害作用を示すがそれ以上の高濃度を作用させても完全な増殖阻止作用はみられず、本菌に殺菌的に作用する AMPH-B とは異なる作用様式であることが明らかにされている^{16,17)}。しかし、今回の結果では、*A. fumigatus* によるマウスの全身感染に対する MCFG の ED₅₀ 値は AMPH-B とほぼ同等の値を示した。同効類薬である MK-0991 および LY 303366 も同様に *in vitro* において *A. fumigatus* の完全な増殖阻止作用は示さない^{3,6)}が、動物感染モデルにおいては優れた防御効果を示すことが報告されており^{5,7,8)}、菌糸の伸長を阻害することが *A. fumigatus* の感染を防御する上で重要であることが示唆されている⁵⁾。

これらの結果から、MCFG が臨床で分離頻度の高い *Candida* 属菌種 (*C. parapsilosis* を除く) および *A. fumigatus* によるマウス全身感染に対して AMPH-B と同等かやや劣るが、FLCZ および ITCZ よりは明らかに優れた防御効果を有することが示唆された。

MCFG のマウスにおける体内動態は良好で、1 mg/kg を静脈内投与した場合の血漿中濃度半減期は 5.34 時間、血漿中濃度曲線下面積は 16.3 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ¹⁸⁾で、AMPH-B の同じ用量を投与したときよりも血中濃度は高く推移し、AUC も大きいと推定される¹⁹⁾。しかし、MCFG は *C. parapsilosis* 以外の感染実験に用いた菌株に対しては、AMPH-B よりも低い MIC を示すにもかかわらず、それぞれの菌株による全身感染に対する ED₅₀ 値は AMPH-B に比べ同等ないしはやや大きい値を示した。MCFG はヒトおよび各種動物の血清蛋白に対して高率に結合する¹⁸⁾ため、*Candida* 属および *A. fumigatus* に対する MIC はヒト血清や血清アルブミンの添加により著しく上昇する¹⁶⁾が、マウスの感染防御実験においても血清アルブミンとの結合が防御活性に影響をおよぼしていると考えられた。

マウスの全身感染モデルにおける同効類薬との薬効比較成績から、FK 463 は播種性のカンジダ症およびアスペルギルス症に対して有用性が示唆され、特に、

immunocompromised host の感染や治療が遅れた重篤な感染に対する有効性も期待された。

文 献

- 1) Denning D W: Echinocandins and pneumocandins — a new antifungal class with a novel mode of action. *J Antimicrob Chemother* 40: 611~614, 1997
- 2) Ghannoum M A, Rice L B: Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev* 12: 501~517, 1999
- 3) Zhanel G G, Karlowsky J A, Harding G A J, et al.: In vitro activity of a new semisynthetic echinocandin, LY-303366, against systemic isolates of *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis*, and *Aspergillus* species. *Antimicrob Agents Chemother* 41: 863~865, 1997
- 4) Petraitiene R, Petraitis V, Groll A H, et al.: Antifungal activity of LY 303366, a novel echinocandin B, in experimental disseminated candidiasis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 2148~2155, 1999
- 5) Petraitis V, Petraitiene R, Groll A H, et al.: Antifungal efficacy, safety, and single-dose pharmacokinetics of LY 303366, a novel echinocandin B, in experimental pulmonary aspergillosis in persistently neutropenic rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 2898~2905, 1998
- 6) Bartizal K, Gill C J, Abruzzo G K, et al.: In vitro preclinical evaluation studies with the echinocandin antifungal MK-0991 (L-743, 872). *Antimicrob Agents Chemother* 41: 2326~2332, 1997
- 7) Abruzzo G K, Flattery A M, Gill C J, et al.: Evaluation of the echinocandin antifungal MK-0991 (L-743, 872): efficacies in mouse models of disseminated aspergillosis, candidiasis, and cryptococcosis. *Antimicrob Agents Chemother* 41: 2333~2338, 1997
- 8) Abruzzo G K, Gill C J, Flattery A M, et al.: Efficacy of the echinocandin caspofungin against disseminated aspergillosis and candidiasis in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 2310~2318, 2000
- 9) Krishnarao T V, Galgiani J N: Comparison of the in vitro activities of the echinocandin LY 303366, the pneumocandin MK-0991, and fluconazole against *Candida* Species and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother* 41: 1957~1960, 1997
- 10) Tomishima M, Ohki H, Yamada A, et al.: FK 463, a novel water-soluble echinocandin lipopeptide: synthesis and antifungal activity. *J Antibiotics* 52: 674~676, 1999
- 11) Tawara S, Ikeda F, Maki K, et al.: In vitro activities of a new lipopeptide antifungal agent, FK 463, against a variety of clinically important fungi. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 57~62, 2000
- 12) Ikeda F, Wakai Y, Matsumoto S, et al.: Efficacy of FK 463, a new lipopeptide antifungal agent, in mouse models of disseminated candidiasis and aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 44:

- 614~618, 2000
- 13) Matsumoto S, Wakai Y, Nakai T, et al.: Efficacy of FK 463, a new lipopeptide antifungal agent, in mouse models of pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 619~621, 2000
 - 14) Maesaki S, Hossain M A, Miyazaki Y, et al.: Efficacy of FK 463, a (1,3)- β -D-glucan synthase inhibitor, in disseminated azole-resistant *Candida albicans* infection in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 1728~1730, 2000
 - 15) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. NCCLS document M 27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 1997
 - 16) 池田文昭, 大友寿美, 中井 徹, 他: キャンディン系抗真菌薬 micafungin の *in vitro* 抗真菌活性。日治療会誌 50 (S-1): 8~19, 2002
 - 17) 山口英世, 西山彌生, 内田勝久, 他: Micafungin の *Candida albicans* および *Aspergillus fumigatus* に対する作用機序の生化学的および形態学的研究。日治療会誌 50 (S-1): 20~29, 2002
 - 18) 山戸康弘, 金子勇人, 橋本知子, 他: マウス, ラットおよびイヌにおける micafungin 単回静脈内投与後の体内動態, *in vitro* 血清蛋白結合および血球移行性。日治療会誌 50 (S-1): 74~79, 2002
 - 19) Kim H, Loebenberg D, Marco L A, et al.: Comparative pharmacokinetics of Sch 28191 and amphotericin B in mice, rats, dogs, and cynomolgus monkeys. *Antimicrob Agents Chemother* 26: 446~449, 1984

Efficacy of micafungin, a new lipopeptide antifungal agent, in mouse models of disseminated candidiasis and aspergillosis

Satoru Matsumoto¹⁾, Yoshimi Wakai¹⁾, Etsuko Watabe¹⁾, Katsuyuki Maki¹⁾,
Fumiaki Ikeda¹⁾, Shuich Tawara¹⁾, Seitaro Mutoh¹⁾,
Fumio Matsumoto²⁾ and Shogo Kuwahara³⁾

¹⁾Medicinal Biology Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.,
2-1-6, Kashima, Yodogawa-ku, Osaka, 532-8514, Japan

²⁾Kanagawa Prefecture Nursing Hygienic School Hospital

³⁾Toho University School of Medicine

The efficacy of micafungin (MCFG), a novel water-soluble lipopeptide, was evaluated in mouse models of disseminated candidiasis and aspergillosis, and was compared with that of amphotericin B (AMPH-B), fluconazole (FLCZ) and itraconazole (ITCZ). In the candidiasis model in mice with granulocytopenia induced by cyclophosphamide, MCFG significantly prolonged the survival of mice infected intravenously with *Candida albicans* at doses of 0.125 mg/kg or higher ($P < 0.01$). In candidiasis and aspergillosis caused by *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii* and *Aspergillus fumigatus*, MCFG exhibited ED₅₀s in the range of 0.14-1.61 mg/kg. These data were comparable or inferior to those of AMPH-B, but superior to FLCZ and ITCZ. In disseminated candidiasis in mice immunosuppressed by cyclophosphamide, hydrocortisone or 5-fluorouracil, the ED₅₀s of MCFG were 0.14-0.33 mg/kg, superior to ITCZ and FLCZ, but inferior to AMPH-B. In a target organ kidney assay, a single injection of MCFG at a doses of 0.5 or 1.0 mg/kg significantly reduced the yeast viable cell counts in the kidney 24 hours after treatment compared to the yeast counts before treatment, with an efficacy comparable to AMPH-B. These results indicate that MCFG is a potent parenteral administered therapeutic agent for disseminated candidiasis and aspergillosis in immunosuppressed mice. The efficacy of MCFG was superior to that of FLCZ and ITCZ, but comparable or slightly inferior to that of AMPH-B.