

【原著・基礎】

Telithromycin のマウス肺炎球菌性肺炎モデルにおける治療効果

—投与後短時間での治療効果—

岡本 博樹・新井 進・野口 恵子・前田 巧・土田 晃彦

アベンティスファーマ株式会社開発研究所*

Telithromycin (TEL) の投与後短時間での治療効果 (*in vivo* 殺菌作用) を erythromycin (EM) 感受性 (HL 438 株) もしくは EM 耐性 (HL 3523 株) *Streptococcus pneumoniae* 性マウス肺炎モデルを用いて検討した。その結果, TEL は投与後 4 または 8 時間で *S. pneumoniae* 性肺炎に対して, clarithromycin (CAM), azithromycin (AZM) および levofloxacin (LVFX) よりも強い治療効果を示した。TEL は *in vitro* において, EM 感受性の HL 438 株に対して CAM, AZM および LVFX よりも強い短時間殺菌作用を示した。*S. pneumoniae* HL 438 による肺炎モデルにおける TEL, AZM, CAM および LVFX の AUC_{0-6}/MIC はそれぞれ, 5,355, 2,178, 15,504 および 20 であった。以上の結果から, TEL は *in vivo* において *S. pneumoniae* に対して対照薬よりも速く治療効果を示し, これは TEL の *in vitro* でみられた強い短時間殺菌作用および投与後短時間における肺内 AUC/MIC が高いことによるものと考えられた。

Key words: telithromycin, 肺炎球菌性肺炎モデル, erythromycin 感受性菌, erythromycin 耐性菌, 短時間殺菌作用, AUC/MIC

Telithromycin (TEL) は erythromycin A (EM) を化学修飾したケトライドと称される新規抗生物質である。TEL は EM 感受性あるいは耐性 *Streptococcus pneumoniae* に対して強い *in vitro* 抗菌活性を示す¹⁻⁵⁾とともに, 呼吸器感染動物モデルおよび臨床試験において治療効果を示すことが報告されている⁶⁻⁸⁾。TEL は *S. pneumoniae* 特に, EM 感受性株に対しては, 抗菌作用に加え, CAM および AZM よりも強い短時間殺菌作用を示すことが *in vitro* 試験で報告されている^{9,10)}。

そこで今回われわれは, EM 感受性あるいは耐性 *S. pneumoniae* によるマウス肺炎モデルを用いて TEL の単回投与後短時間での治療効果を検討し, 対照薬剤の azithromycin (AZM), clarithromycin (CAM) および levofloxacin (LVFX) と比較した。

I. 材料と方法

1. 使用薬剤

TEL, CAM, AZM および LVFX はいずれもフランスアベンティスファーマ社により合成された。

2. 使用菌株

EM 感受性 *S. pneumoniae* HL 438 (EM の $MIC=0.032 \mu\text{g/mL}$) および EM 耐性 *S. pneumoniae* HL 3523 (EM の $MIC>128 \mu\text{g/mL}$) を使用した。これらの試験菌は, 日本の臨床分離株である。

3. 感受性測定

MIC の測定は, 日本化学療法学会標準法¹¹⁾に準じた薬剤 2 倍希釈系列の微量液体希釈法で行った。MIC 測

定用液体培地は, 5% 馬溶血液 (日本バイオテスト研究所) を加えた Cation-adjusted Muller-Hinton broth (CAMHB; Muller-Hinton broth (Difco) に Ca^{++} , Mg^{++} を終濃度 50, 25 mg/L になるように加えたもの) を使用した。MBC の測定は, MIC 測定に供した各ウェルの液体培地 (菌液を接種して 37°C, 20 時間培養した MIC 測定用液体培地) を被験菌液とした。この菌液を薬剤を含まない寒天培地に 10 μL 接種した後, 37°C で 20 時間培養した。培養後, 菌の発育が認められない最小の薬剤濃度をもって MBC (99.9% 殺菌) とした。

4. *In vitro* 短時間殺菌作用 (殺菌曲線)

約 1×10^6 CFU/mL になるように調製した *S. pneumoniae* HL 438 もしくは HL 3523 の菌懸濁液を 5% 馬溶血液加 CAMHB で, 37°C 2 時間振盪培養した。培養終了後, 試験管に分注し, 各試験管に TEL, AZM, CAM あるいは LVFX の 1/4, 1/2, 1, 2 および 4 MIC 濃度 (終濃度) をそれぞれ添加し, 37°C で振盪培養した (*S. pneumoniae* HL 3523 に対しては, 8 MIC 濃度 (終濃度) まで検討した)。薬剤のかわりに溶剤 (メタノール: エタノール: 蒸留水 = 4.8 : 43.3 : 51.9) を加えたものをコントロールとした。薬物添加後 2, 4, 6, 8 および 24 時間に生菌数を測定した。

5. 呼吸器感染症モデル

ケタミン・キシラジン麻酔下で, 4 週齢の雄性 ICR マウス (1 群 12 匹) に *S. pneumoniae* HL 438 または HL 3523 懸濁液 ($1.48 \times 10^6 \sim 1.59 \times 10^7$ CFU/mL) を経

*埼玉県川越市南台 1-3-2

鼻接種した。薬剤（50または100 mg/kg）を感染12時間後に1回経口投与した。薬物投与4, 8および24時間後にケタミン・キシラジン麻酔下で肺を摘出してホモジネートし、肺内菌数を測定した。TEL投与群と対照薬投与群との有意差検定をDunnett法により行った。

6. 薬物動態試験

S. pneumoniae HL 438 感染12時間後に薬剤50 mg/kgをマウスに経口投与した。薬剤投与前, 投与後0.5, 1, 3, 6, 9および24時間に血漿と肺組織を採取し, その薬剤濃度をペーパーディスク法により測定した。TEL, AZMおよびCAMの測定は*Micrococcus luteus* ATCC 9431を検定菌とし, Heart Infusion培地(日本製薬)を用いた。LVFXの測定には*Escherichia coli* Kp

を検定菌とし, 感受性ディスク寒天培地(栄研化学)を用いた。TEL, AZM, CAMおよびLVFXの定量限界は, 血漿中ではそれぞれ0.02, 0.02, 0.08および0.00488 $\mu\text{g/mL}$, 組織中ではそれぞれ0.544, 0.544, 2.178および0.244 $\mu\text{g/g}$ であった。薬物動態学的パラメーターはWinNonlin (Belgium Science) プログラムにより測定した。

II. 結 果

1. *In vitro* 短時間殺菌作用(殺菌曲線)

試験菌に対するTELおよび対照薬のMIC, MBCおよびMBC/MICをTable 1に示した。TELの*S. pneumoniae* HL 438およびHL 3523に対するMBC/MICはそれぞれ1および8であった。

Table 1. MICs and MBCs of telithromycin and reference compounds against *Streptococcus pneumoniae* HL 438 and HL 3523

Strains	Compounds	($\mu\text{g/mL}$)		MBC/MIC
		MIC	MBC	
<i>S. pneumoniae</i> HL 438	telithromycin	0.004	0.004	1
	azithromycin	0.032	0.063	2
	clarithromycin	0.008	0.016	2
	levofloxacin	1	2	2
<i>S. pneumoniae</i> HL 3523	telithromycin	0.016	0.125	8
	azithromycin	128	>128	—
	clarithromycin	32	>128	—
	levofloxacin	1	2	2

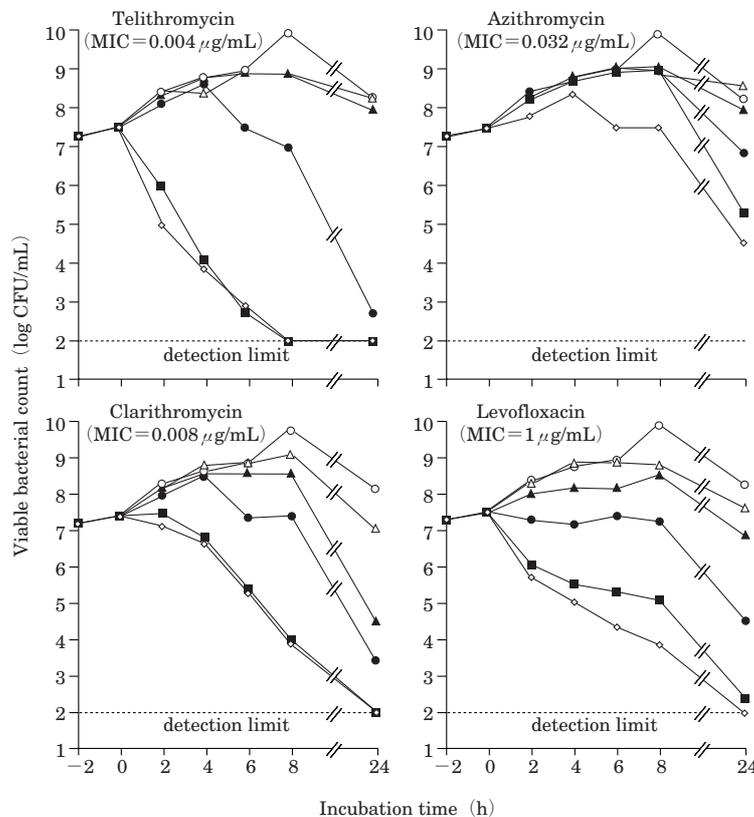


Fig. 1. Killing curve of telithromycin and reference compounds against erythromycin A-susceptible *Streptococcus pneumoniae* HL 438 (○: control, △: 1/4×MIC, ▲: 1/2×MIC, ●: 1×MIC, ■: 2×MIC, ◇: 4×MIC).

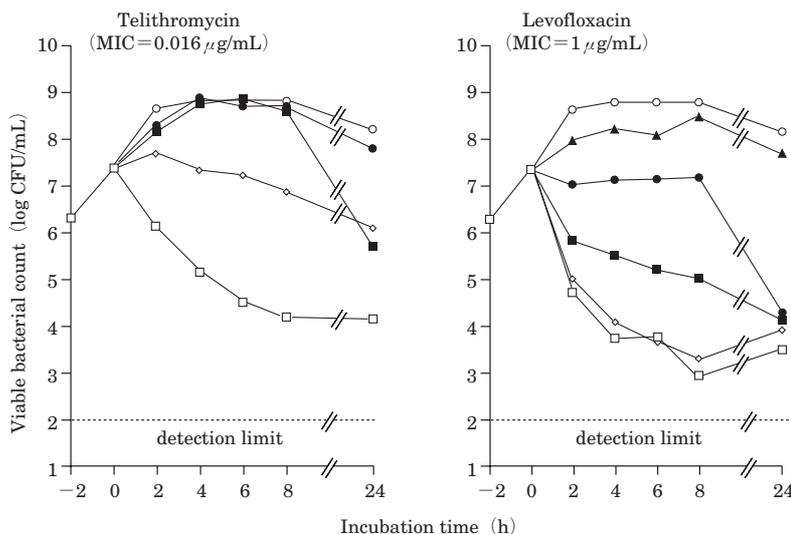


Fig. 2. Killing curve of telithromycin and reference compounds against erythromycin A-resistant *Streptococcus pneumoniae* HL 3523 (○: control, ▲: 1/2×MIC, ●: 1×MIC, ■: 2×MIC, ◇: 4×MIC, □: 8×MIC).

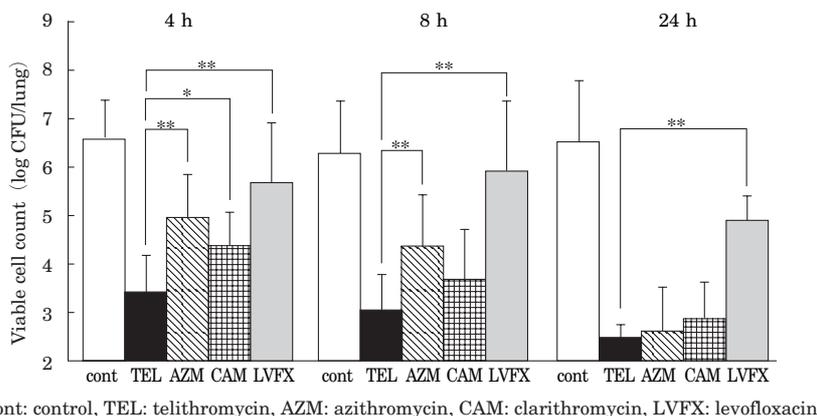


Fig. 3. Therapeutic effects of telithromycin and reference compounds on lung infection caused by erythromycin A-susceptible *Streptococcus pneumoniae* HL 438 in mice. Compounds (50 mg/kg) were orally administered 12 h after infection. The number of bacteria in lungs was determined 4, 8 and 24 h after compound administration. Values are the mean \pm S. D. of 12 animals. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ represent statistical significance in comparison with the telithromycin treated group.

EM感受性 *S. pneumoniae* HL 438 の増殖曲線に対し、TEL は 2 および 4 MIC 濃度で菌数を 4 時間培養により 3 log 以上、8 時間培養により検出限界以下まで減少させた (Fig. 1)。一方、AZM は 4 MIC 濃度でも、薬物添加後 24 時間のみ殺菌作用を示した (生菌数を 4.53 log CFU/mL まで減少させた)。LVFX および CAM の 4 MIC 濃度は、それぞれ 2 および 6 時間から殺菌作用を示したが、生菌数を 3 log CFU/mL 以上減少させるにはそれぞれ 6 および 8 時間、検出限界以下まで減少させるにはいずれも 24 時間を必要とした。したがって、この TEL の *in vitro* 殺菌作用は対照薬よりも速く発現した。

しかしながら、TEL の EM 耐性 *S. pneumoniae* HL

3523 に対する殺菌作用は LVFX よりも遅く弱かった (Fig. 2)。

2. 呼吸器感染モデル

S. pneumoniae HL 438 による呼吸器感染モデルにおいて、投与 4 時間後の TEL 投与群の肺内菌量は 3.39 ± 0.77 (log CFU/lung, 平均 \pm S. D.) であった。これは、AZM, CAM, LVFX 投与群よりも有意に低かった (Fig. 3)。同様に、投与 8 時間後における TEL 投与群の肺内菌量 (3.01 ± 0.75 log CFU/lung) は対照薬よりも低く、CAM に対して有意差はなかったが、AZM および LVFX に対しては有意差が認められた。投与 24 時間では TEL 投与群の肺内菌量 (2.43 ± 0.30 log CFU/lung) は LVFX よりも有意に低かったものの CAM および AZM と同等

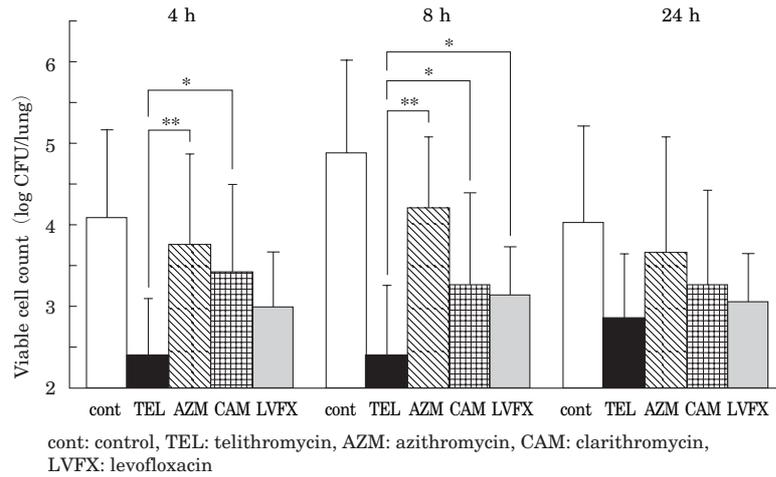


Fig. 4. Therapeutic effects of telithromycin and reference compounds on lung infection caused by erythromycin A-resistant *Streptococcus pneumoniae* HL 3523 in mice.

Compounds (100 mg/kg) were orally administered 12 h after infection. The number of bacteria in lungs was determined 4, 8 and 24 h after compound administration. Values are the mean \pm S. D. of 12 animals. *P < 0.05, **P < 0.01 represent statistical significance in comparison with the telithromycin treated group.

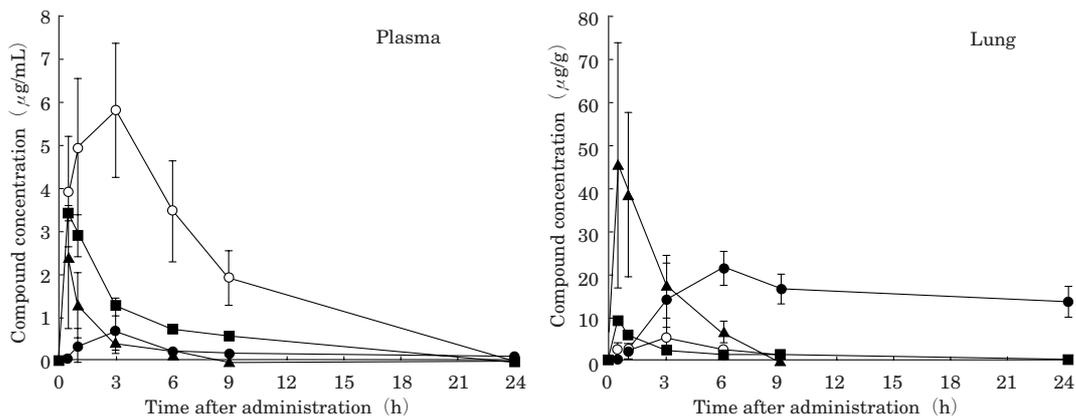


Fig. 5. Levels of telithromycin and reference compounds in plasma and lungs of infected mice (50 mg/kg, p. o.) Mean \pm S. D. n = 5 (○: telithromycin, ●: azithromycin, ▲: clarithromycin, ■: levofloxacin).

Table 2. Values of pharmacokinetic parameters for telithromycin and reference compounds in plasma and lung of *Streptococcus pneumoniae* infected mice (50 mg/kg, p. o.)

Specimen	Compounds	T _{max} (h)	C _{max} (µg/mL or µg/g)	AUC ₍₀₋₂₄₎ (µg·h/mL)
Plasma	telithromycin	3	5.80	36.00
	azithromycin	3	0.69	4.96
	clarithromycin	0.5	2.40	4.44
	levofloxacin	0.5	3.41	11.65
Lung	telithromycin	3	5.42	38.26
	azithromycin	6	21.30	353.78
	clarithromycin	0.5	45.58	133.94
	levofloxacin	0.5	9.18	32.63

であった。

S. pneumoniae HL 3523 モデルにおいて、TEL 投与群の肺内菌量は投与後4時間 (2.41 ± 0.71 log CFU/lung) では、CAM および AZM よりも有意に低く、投与後8時間後 (2.41 ± 0.86 log CFU/lung) では、すべ

ての対照薬よりも有意に低かった。

3. マウスにおける生体内動態

50 mg/kg を経口投与した後のマウスの血漿、肺内濃度を Fig. 5 に、その薬物動態学的パラメーターを Table 2 に示した。血漿において、TEL の C_{max} および投与24

Table 3. AUC/MIC of telithromycin and reference compounds in lungs of mice infected with *Streptococcus pneumoniae* HL 438

Strain	Compounds	AUCx/MIC				
		X=	0-3	0-6	0-9	0-24
<i>S. pneumoniae</i> HL 438	telithromycin		2,450	5,355	6,630	9,565
	azithromycin		524	2,178	3,952	11,005
	clarithromycin		11,030	15,504	15,504	15,504
	levofloxacin		14	20	24	34

時間の AUC₀₋₂₄ はそれぞれ、5.80 µg/mL および 36.00 µg·h/mL であり、対照薬よりも高かった。肺組織中では、TEL の C_{max} および AUC₀₋₂₄ は、それぞれ、5.42 µg/mL および 38.26 µg·h/mL であり、AZM および CAM よりも低かった。TEL の T_{max} は 3 時間であり、AZM よりも速かったが、CAM および LVFX よりも遅かった。

III. 考 察

EM 感受性 *S. pneumoniae* HL 438 による肺炎モデルにおいて、TEL の投与後 4 および 8 時間後の治療効果（すなわち、*in vivo* 殺菌作用）は対照薬に比べ強かった。この結果は TEL が EM 感受性 *S. pneumoniae* に対して対照薬よりも速く治療効果を示しうることを示唆している。この TEL の特性は既報^{9,10} および本試験において示されたような *in vitro* の殺菌作用の発現が他の対照薬よりも速いこと、もしくは吸収または肺への分布の速さなどの生体内動態学的な特徴により説明し得るものと考えられた。これらの薬物の治療効果は AUC/MIC の比率ともっとも相関することが報告されている¹³⁻¹⁶。TEL, AZM, CAM および LVFX をマウスに 50 mg/kg 経口投与した時の肺内 AUC₀₋₆/MIC はそれぞれ、5,355, 2,178, 15,504 および 20 であった (Table 3)。それゆえ、AZM および LVFX については、TEL との治療効果の発現の差は、AUC/MIC における差により説明しうる。一方、CAM については、AUC/MIC では説明は不可能であり、*in vitro* 試験のみでみられたような本質的な短時間殺菌能に起因するものと考えられた。

投与後 24 時間後における TEL の治療効果は既報⁷ と同様に、AZM および CAM とほぼ同じであった。

EM 耐性 *S. pneumoniae* HL 3523 による肺炎モデルにおいて、TEL は投与後短時間で、AZM, CAM および LVFX よりも優れた治療効果を示した。

しかしながら、EM 耐性 *S. pneumoniae* HL 3523 に対して、TEL は 8 MIC 濃度では *in vitro* 短時間殺菌作用を示したが、その作用は LVFX よりも遅く、弱かった。

TEL および LVFX をマウスに 100 mg/kg 経口投与した時の肺における AUC₀₋₂₄ 値はそれぞれ、118.4 および 60.6 であった⁷。*S. pneumoniae* HL 3523 に対する TEL および LVFX の MIC 値は 0.016 および 1 µg/mL であったことから、AUC₀₋₂₄/MIC 値はそれぞれ、7,400 および 61 であった。今回の *in vitro* 試験においては、2、

4 または 8 MIC の一定濃度の抗菌薬が 24 時間存在したと考え、それぞれの AUC₀₋₂₄/MIC を 2×24=48, 4×24=96, 8×24=192 と想定すると、TEL は *in vitro* 試験での 8 MIC 相当の効果を *in vivo* で示しうるのに対し、LVFX は *in vitro* での 2 MIC 相当の効果しか *in vivo* で示せなかったと考えられた。AZM および CAM の肺における AUC₀₋₂₄/MIC は 5 および 17 であった。したがって、TEL が対照薬と比べて投与後短時間に優れた治療効果を示すのは投与後短時間における肺内 AUC/MIC が高いことに起因するものと考えられた。

以上の結果より、TEL は AZM, CAM および LVFX に比べて、EM 感受性 *S. pneumoniae* に対する殺菌作用が本質的に速いことおよび、投与後短時間における肺内 AUC/MIC が高いことにより、EM 感受性および耐性 *S. pneumoniae* による肺炎に対して治療効果を速く現すものと考えられた。

文 献

- 1) Fuchs P C, Barry A L, Brown S D: *In vitro* activity of telithromycin against *Streptococcus pneumoniae* resistant to other antibiotics, including cefotaxime. *J. Antimicrob. Chemother.* 49: 399~401, 2002
- 2) Felmingham D, Zhanel G, Hoban D: Activity of the ketolide antibacterial telithromycin against typical community-acquired respiratory pathogens. *J. Antimicrob. Chemother.* 48 (Suppl. B): 33~42, 2001
- 3) Leclercq R: Overcoming antimicrobial resistance: profile of a new ketolide antibacterial, telithromycin. *J. Antimicrob. Chemother.* 48 (Suppl. B): 9~23, 2001
- 4) Morosini M I, Canton R, Loza E, et al.: *In vitro* activity of telithromycin against Spanish *Streptococcus pneumoniae* isolates with characterized macrolide resistance mechanisms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 2427~2431, 2001
- 5) Johnson A P, Henwood C J, Tysall L, et al.: Activity of the ketolide telithromycin (HMR-3647) against erythromycin-susceptible and -resistant pneumococci isolated in the UK. *Int. J. Antimicrob. Agents* 18: 73~76, 2001
- 6) Quintiliani R: Clinical management of respiratory tract infections in the community: experience with telithromycin. *Infection* 29 (Suppl. 2): 16~22, 2001
- 7) Okamoto H, Miyazaki S, Tateda K, et al.: *In vivo* efficacy of telithromycin (HMR 3647) against *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 3250~3252,

- 2001
- 8) Bonnefoy A, Guitton M, Delachaume C, et al.: *In vivo* efficacy of the new ketolide telithromycin (HMR 3647) in murine infection models. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1688~1692, 2001
 - 9) Odenholt I, Lowdin E, Cars O: Pharmacodynamics of telithromycin *In vitro* against respiratory tract pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 23~29, 2001
 - 10) Pankuch G A, Visalli M A, Jacobs M R, et al.: Susceptibilities of penicillin- and erythromycin-susceptible and -resistant pneumococci to HMR 3647 (RU 66647), a new ketolide, compared with susceptibilities to 17 other agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 624~630, 1998
 - 11) Japan Society of Chemotherapy: Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of aerobic bacteria by microdilution method. *Chemotherapy* 41: 183~189, 1993
 - 12) Dunnett C W: New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics* 20: 482~491, 1964
 - 13) Craig W A: Pharmacokinetic/Pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin. Infect. Dis.* 26: 1~12, 1998
 - 14) Drusano G L, Craig W A: Relevance of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the selection of antibiotics for respiratory tract infections. *J. Chemother.* 9 (Suppl. 3): 38~44, 1997
 - 15) Novelli A, Fallani S, Cassetta M I, et al.: *In vivo* pharmacodynamic evaluation of clarithromycin in comparison to erythromycin. 0997, p. 26 In Program and abstracts of the 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology, Washington, D. C. 1999
 - 16) Nicolau D P: Predicting antibacterial response from pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles. *Infection* 29 (Suppl. 2): 11~15, 2001

Therapeutic effect of telithromycin in mouse model of *Streptococcus pneumoniae*-induced pneumonia

—The effect during the short-term period after administration—

Hiroki Okamoto, Susumu Arai, Keiko Noguchi,
Takumi Maeda and Akihiro Tsuchida

Lead Optimization, Drug innovation & Approval Division, Aventis Pharma,
1-3-2 Minamidai, Kawagoe, Saitama, Japan

The fast therapeutic effect (i. e., *in vivo* bactericidal activity) of telithromycin (TEL) was investigated in murine model of pneumonia caused by either an erythromycin A (EM)-susceptible strain (HL 438) or a -resistant strain (HL 3523) of *Streptococcus pneumoniae*. During the short-term period (4 or 8 hours) after administration, TEL showed a therapeutic effect against pneumonia caused by *S. pneumoniae*, which was more potent than the effects of clarithromycin (CAM), azithromycin (AZM) and levofloxacin (LVFX). *In vitro* kill kinetic study showed that TEL expresses its bactericidal activity against *S. pneumoniae* HL 438 more rapidly than the reference compounds, but not against EM-resistant strain. The AUC_{0-6}/MIC ratios of TEL, AZM, CAM and LVFX in the lung of mice with *S. pneumoniae* HL 438-induced pneumonia were 5,355, 2,178, 15,504 and 20, respectively. These results indicates that TEL shows more rapid *in vivo* therapeutic effect against *S. pneumoniae*, because TEL shows *in vitro* bactericidal activity against the EM-susceptible strain more rapidly and/or high AUC/MIC in lung at short-term after administration is better in comparison with the reference compounds.