

## 【短 報】

モルモットの播種性カンジダ症および肺アスペルギルス症モデルにおける  
micafungin の治療効果池田 文昭<sup>1)</sup>・松本 哲<sup>2)</sup>・若井 芳美<sup>2)</sup>・中井 徹<sup>2)</sup>・波多野和男<sup>2)</sup>・牧 克之<sup>2)</sup><sup>1)</sup>アステラス製薬育薬研究所\*<sup>2)</sup>同 薬理研究所

(平成 17 年 12 月 14 日受付・平成 18 年 3 月 3 日受理)

モルモットを用いて致死性の播種性カンジダ症および肺アスペルギルス症モデルを作製し、micafungin (MCFG) および voriconazole (VRCZ) の延命効果を検討した。感染したモルモットに MCFG を 1 日 2 回、9 日間皮下投与して vehicle 投与群と生存数変化を比較したところ、播種性カンジダ症：0.32 mg/kg 投与群、肺アスペルギルス症：1.0 mg/kg 投与群において有意な延命効果が認められた。また、VRCZ も 1 日 2 回、9 日間経口投与して生存数変化を無治療群と比較したところ、播種性カンジダ症：1.0 mg/kg 投与群、肺アスペルギルス症：3.2 mg/kg 投与群で有意な延命効果が認められた。モルモットに両薬剤の 5 mg/kg を皮下または経口投与したときの血漿中  $C_{max}$  および AUC はヒトに MCFG を 50~75 mg/body (ヒトの体重を 50 kg としたとき 1.0~1.5 mg/kg) またはヒトに VRCZ を 3.0~4.0 mg/kg 静脈内投与したときと近似していることから、MCFG および VRCZ の臨床投与量において播種性カンジダ症および肺アスペルギルス症に対して有効性を示すことが示唆された。

**Key words:** *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, animal model, micafungin, voriconazole

キャンディン系抗真菌薬 micafungin (MCFG) は深在性真菌症の 2 大疾患であるカンジダ症およびアスペルギルス症に対する治療薬として 2002 年に本邦で発売され、約 2 年が経過し臨床での有効性および安全性が証明されつつある。また、最近、米国において食道カンジダ症の治療および造血幹細胞移植時の侵襲性カンジダ症の予防薬としても承認され、今後は米国でのさらなる適応症の取得や欧州での申請も予定されている。

これまで MCFG の感染モデルでの評価は主にマウスを用いて既存の抗真菌薬である amphotericin B, fluconazole および itraconazole を対照薬として行われてきた<sup>1~4)</sup>。一方、最近本邦で発売された新規アゾール系抗真菌薬 voriconazole (VRCZ) はマウスにおいては著しく代謝が早い<sup>5)</sup>ため、その *in vivo* 効果はヒトにおける体内動態と比較的類似しているモルモットを用いて検討されている<sup>5~8)</sup>。そこで、モルモットの播種性カンジダ症および肺アスペルギルス症モデルを作製し、MCFG および VRCZ の延命治療効果を検討したので、モルモットにおける両薬剤の血中濃度推移の成績とあわせて報告する。

使用薬剤：MCFG (藤沢薬品化学研究所で合成) および VRCZ (ナード社にて合成) の力価の明らかなものを用いた。

使用菌株：2002 年に本邦の医療施設で播種性カンジダ症の患者血液より分離された *Candida albicans* No.

20027 および慢性壊死性肺アスペルギルス症の患者喀痰より分離された *Aspergillus fumigatus* No. 20025 を感染実験に使用した。*C. albicans* は Sabouraud dextrose agar (SDA) で 35°C、1 日間、*A. fumigatus* は Potato dextrose agar で 30°C、7~14 日間培養した。

使用動物：6 週齢の雄性モルモット (hartley 系) をオリエンタル酵母より購入して使用した。

血漿中濃度測定：MCFG は生理食塩水に溶解し、モルモットの伏在静脈内および皮下投与した。VRCZ は 2HP- $\beta$ -CD 溶液を伏在静脈内投与し、20%PEG 溶液を経口投与した。投与後 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 および 24 時間後に、炭酸ガスで窒息死させ、心臓より採血した。モルモット血漿を除蛋白後、20 mmol/L リン酸二水素カリウム水溶液を加え 3 倍 (MCFG) および 2 倍 (VRCZ) 希釈した。MCFG は高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いて励起波長 273 nm、蛍光波長 464 nm における蛍光により、また、VRCZ は UV 255 nm で測定した<sup>9,10)</sup>。得られた血漿中濃度推移からモデルによらない方法で pharmacokinetics (PK) パラメータ ( $C_0$ ,  $t_{1/2}$ ,  $AUC_{0-t}$ ) を求めた。

播種性カンジダ症モデル：Cyclophosphamide の 100 mg/kg を感染 4 日前と 1 日後に腹腔内に投与し、さらに dexamethasone の 2 mg/kg を感染 4 日前から感染 16 日後まで経口投与し、モルモットに易感染状態を惹起した。*C. albicans* No. 20027 を生理食塩水に懸濁し、0.5 mL

\*大阪府大阪市中央区道修町 3-4-7

Table 1. Pharmacokinetic parameters of micafungin and voriconazole in guinea pig following single administration

	Route	C <sub>0</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	t <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)	AUC <sub>0-t</sub> ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ )
MCFG	iv	16.7	—	—	4.6	83.5
	sc	—	7.25	2	4.8	80.6
VRCZ	iv	3.58	—	—	7.0	11.2
	po	—	2.01	1	3.2	10.3

Male animals (n = 3 per time point) were used for single dose (5 mg/kg) study.

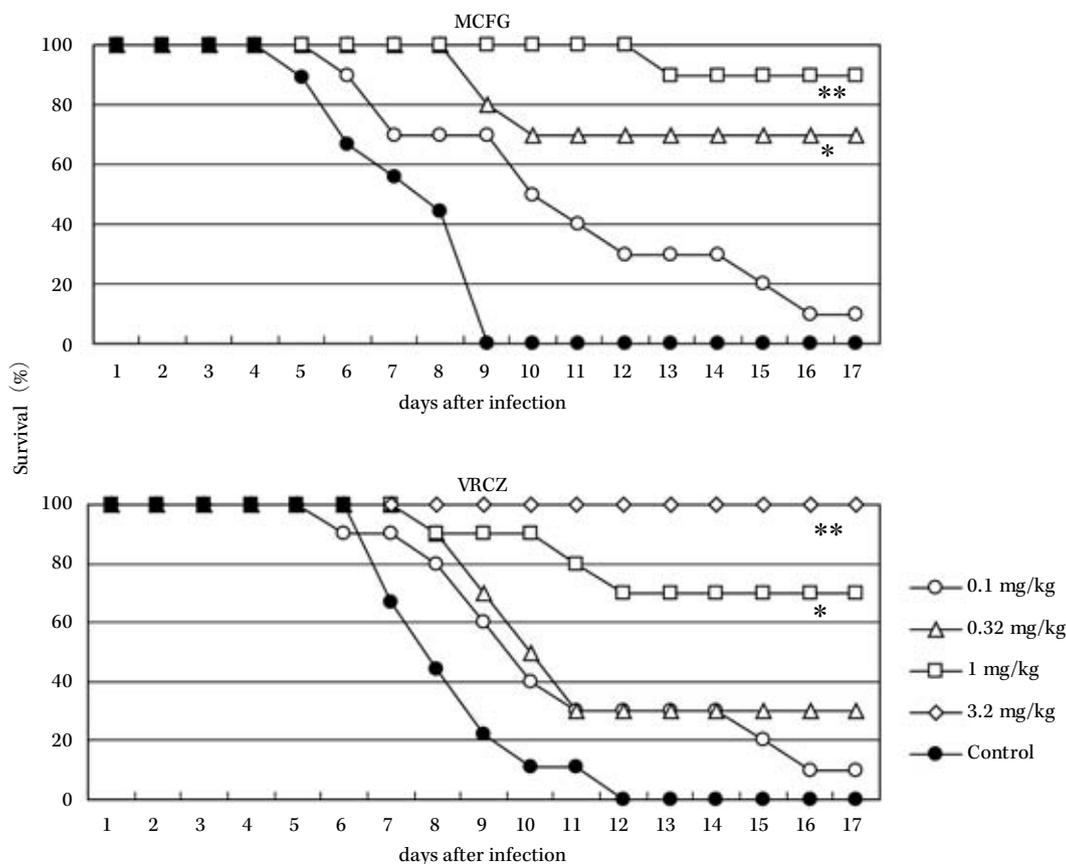


Fig. 1. Efficacy of micafungin (MCFG) and voriconazole (VRCZ) in guinea pig survival model of disseminated candidiasis.

\* and \*\* indicate significant difference ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively) from the controls assessed by Peto test.

( $1.3 \times 10^5$  cfu) を伏在静脈内に接種した。

肺アスペルギルス症モデル：播種性感染と同様に免疫を抑制させ、*A. fumigatus* No. 20025 の分生子を生理食塩水に懸濁し麻酔下のモルモットの気管内に 0.2 mL ( $8.1 \times 10^6$  cfu) を接種した。なお、細菌感染予防のため doxycycline HCL (0.3 mg/mL) の水溶液を飲水に使用した。

感染治療：MCFG は生理食塩水に溶解し、VRCZ は 20% polyethylene glycol 200 (PEG200) 水溶液に懸濁させ、*C. albicans* 感染 2 時間後または *A. fumigatus* 感染 4 時間後より 1 日 2 回 9 日間、MCFG は皮下投与、VRCZ は経口投与した。各薬剤投与群と vehicle 投与群は 9 匹

または 10 匹とした。感染後 17 日間の生存数変化をもとに、Peto の生存検定により、各薬剤投与群の vehicle 投与群に対する有意差を検定した。

#### 1. 血中濃度

MCFG の 5 mg/kg を静脈内投与および皮下投与、VRCZ の 5 mg/kg を静脈内投与および経口投与した時の血漿中濃度推移からモデルによらない方法で求めた PK パラメータを Table 1 に示した。MCFG の皮下投与時の t<sub>max</sub> は 2 時間でこれ以降の血漿中濃度は静脈内投与とほぼ同様であり、AUC もほとんど差はなかった。また、VRCZ の経口投与時の t<sub>max</sub> は 1 時間でこれ以降の血漿中

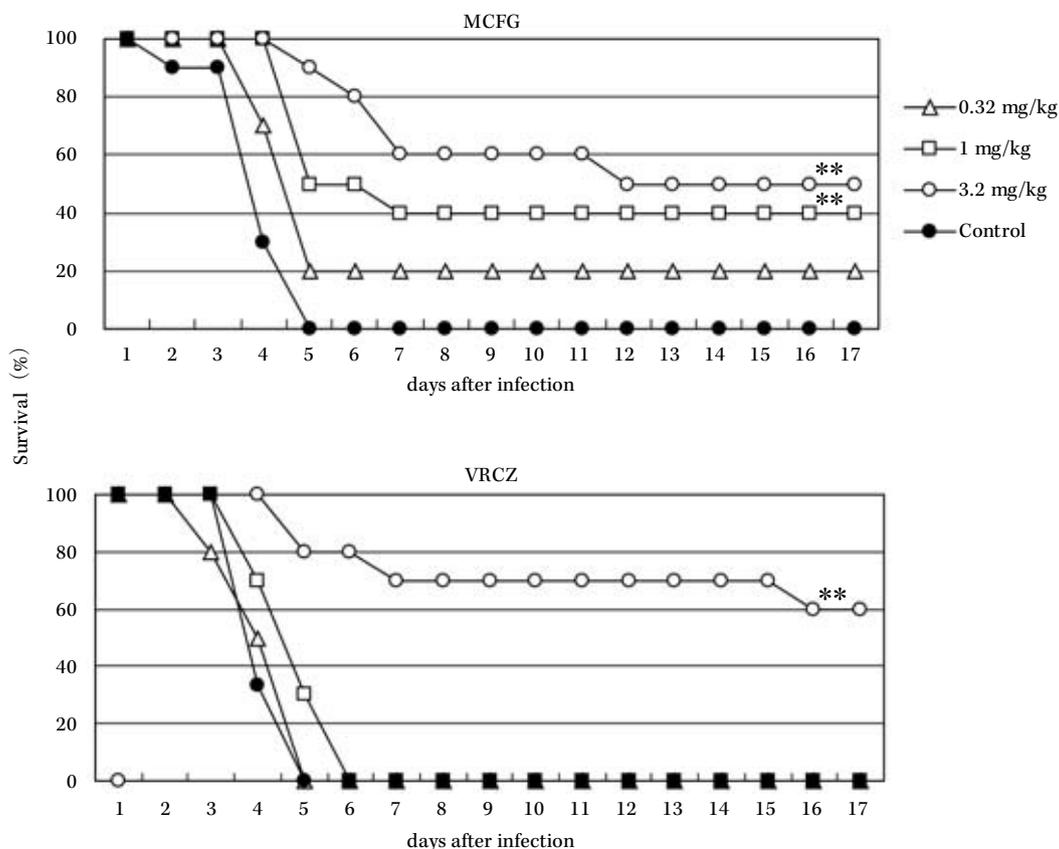


Fig. 2. Efficacy of micafungin (MCFG) and voriconazole (VRCZ) in guinea pig survival model of pulmonary aspergillosis.

\*\* indicate significant difference ( $p < 0.01$ ) from the controls assessed by Peto test.

濃度は静脈内投与とほぼ同様であり、AUCにもほとんど差はなかった。

## 2. 感染防御効果 (延命効果)

感染後1日2回、9日間、MCFGは皮下投与、VRCZは経口投与で実験を実施し、有効性を比較した。

*C. albicans*によるモルモット播種性感染に対してMCFGおよびVRCZともに用量依存的な延命効果を示す傾向が認められ、MCFGの0.32および1 mg/kg投与群、VRCZの1および3.2 mg/kg投与群においてvehicle投与群と比較して有意な延命効果が認められた (Fig. 1)。*A. fumigatus*によるモルモット肺感染に対しても、MCFGは用量依存的な延命効果を示し、1および3.2 mg/kg投与群においてvehicle投与群と比較して有意な延命効果を示した。一方、VRCZでは、3.2 mg/kg投与群においてのみvehicle投与群と比較して有意な延命効果を示したが、1 mg/kg以下の投与量においてはvehicle群と同様に全例が死亡した (Fig. 2)。

感染に用いた*C. albicans*に対するMCFGおよびVRCZのMICは米国臨床検査標準委員会 (NCCLS)の酵母に対する標準法であるM27-A2の微量液体希釈法<sup>11)</sup>で測定した結果、各々0.0156  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (スコア0で判定)、および0.0313  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (スコア2で判定)であった。また、

*A. fumigatus*に対するMCFGおよびVRCZのMICはNCCLSの糸状菌に対する標準法であるM38-Aの微量液体希釈法<sup>12)</sup>で測定した結果、各々0.0313  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (スコア2で判定)、および0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (スコア0で判定)であった。

近年、カンジダ感染モデルを用いて各種抗真菌薬のpharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD)解析の結果が報告されており、キャンディン系抗真菌薬では $C_{\text{max}}$ およびAUCが、アゾール系抗真菌薬ではAUCが有効性を最も反映するPKパラメータであることが報告されている<sup>13,14)</sup>。一方、アスペルギルス感染に対する抗真菌薬のPK/PD解析についての報告は限られているが、マウス肺感染モデルにおいてキャンディン系抗真菌薬であるcaspofunginが一括投与するより分割投与した方が治療効果が減弱すると報告されており<sup>15)</sup>、アスペルギルス感染においてもキャンディン系抗真菌薬の $C_{\text{max}}$ やAUCが薬効を反映することが示唆されている。

臨床におけるMCFGの投与ルートは点滴静注でありVRCZは点滴静注および経口投与であるが、モルモットの静脈内に薬物を反復投与することは技術的に困難であるためMCFGは皮下投与、VRCZは経口投与で感染防御効果を検討した。モルモット感染モデル実験の結果から

臨床での MCFG および VRCZ の有効性を推定するため、モルモットの血漿中 PK パラメータを両薬剤の Phase I 試験における成績と比較した。モルモットに MCFG の 5 mg/kg を皮下投与した時の  $C_{max}$  および  $AUC_{0-t}$  はヒトに 50 ないし 75 mg を単回静脈内投与 (1.0~1.5 mg/kg; 体重を 50 kg とした場合) した時の値と近似した<sup>16)</sup>。一方、モルモットに VRCZ の 5 mg/kg を経口投与した時の  $C_{max}$  はヒトに 3 mg/kg を単回静脈内投与した時の値とほぼ同等であったが、 $AUC_{0-t}$  はモルモットの方が約 2 倍高い値であった<sup>17)</sup>。すなわち、MCFG および VRCZ の  $C_{max}$ , AUC をモルモットとヒトで比較すると、およそ MCFG ではモルモット < ヒト、VRCZ ではモルモット = ヒトとなることが明らかになった。

ヒトの真菌症の病態や感染病巣は多様であり、基礎疾患やその病勢にも患者間で差があるため比較的均一なモルモットの感染モデルから臨床有効用量を正確に推定することは困難であるが、少なくとも血中濃度と延命効果との関係から MCFG のカンジダ症に対する通常の臨床用量 (50 mg を 1 日 1 回投与) で播種性カンジダ症に対する有効性は期待される。また、VRCZ についてもその臨床用量 (初日は 6 mg/kg を 1 日 2 回、2 日目以降は 3~4 mg/kg を 1 日 2 回投与) においてカンジダ症に対する有効性は得られるものと推察される。

MCFG はモルモット肺アスペルギルス症に対しても、カンジダ症の場合と同様、用量依存的な延命効果 (1 mg/kg および 3.2 mg/kg で有意差) を示し、アスペルギルス症に対する臨床用量 (50~150 mg, 1 日 1 回投与) での有効性が期待される。これに対して、VRCZ では 3.2 mg/kg では有意な延命効果を示すが 1 mg/kg 以下の用量においては vehicle 群と同様に全例死亡してしまうことから、効果を示す用量の幅が狭く有効濃度に到達しなければまったく効果がみられない可能性もあり、VRCZ の臨床用量である 3~4 mg/kg は薬効を発現するうえできわめて critical な用量であると考えられる。

MCFG は病原性真菌の主要な細胞壁構成成分である 1,3- $\beta$ -D-glucan 合成の選択的な阻害薬で既存の抗真菌薬とは異なる作用メカニズムを有するため<sup>18)</sup>、他薬剤との併用効果が期待できる。特に、重篤で治療が困難な侵襲性肺アスペルギルス症に対して、MCFG と VRCZ の併用は今後の有力な治療法となりえるものと考えられる。実際に、欧米で発売されている caspofungin と VRCZ との併用療法により侵襲性肺アスペルギルス症に対する優れた効果が基礎的にも臨床的にも証明されている<sup>19,20)</sup>。今後は、今回検討したモルモット肺アスペルギルス症モデルを用いて MCFG と VRCZ の併用効果についても検討する予定である。

#### 文 献

1) 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

2) 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

3) 松本 哲, 若井芳美, 渡部悦子, 他: *Candida* 属及び *Aspergillus fumigatus* によるマウス全身感染に対する micafungin の防御効果。日化療会誌 50 (Suppl 1): 30~36, 2002

4) 松本 哲, 若井芳美, 渡部悦子, 他: *Aspergillus fumigatus* によるマウス呼吸器感染に対する micafungin の防御効果。日化療会誌 50 (Suppl 1): 37~42, 2002

5) Roffey S J, Cole S, Comby P, et al: The disposition of voriconazole in mouse, rat, rabbit, guinea pig, dog and human. *Drug Metab Dispos* 31: 731~741, 2003

6) George D, Minter P, Andorile V T: Efficacy of UK-109496, a new azole antifungal agents, in an experimental model of invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 86~91, 1996

7) Kirkpatrick W R, Mcatee R K, Fothergill A W, et al: Efficacy of voriconazole in a guinea pig model of disseminated invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 2865~2868, 2000

8) Chandrasekar P H, Cutright J, Manavathu E: Efficacy of voriconazole against invasive pulmonary aspergillosis in guinea-pig model. *J Antimicrob Chemother* 45: 673~676, 2000

9) 山戸康弘, 金子勇人, 谷本 薫, 他: ヒト血漿中 micafungin およびその代謝物濃度の高速液体クロマトグラフィーによる定量法。日化療会誌 50 (Suppl 1): 68~79, 2002

10) Perea S, Pennick G J, Modak A, et al: Comparison of high-performance liquid chromatographic and microbiological methods for determination of voriconazole levels in plasma. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 1209~1213, 2000

11) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. NCCLS document M27-A2. NCCLS, Wayne, Pa, 2002

12) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A. NCCLS, Wayne, Pa, 2002

13) Andes D: In vivo pharmacodynamics of antifungal drugs in treatment of candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 1179~1186, 2003

14) Andes D, Marchillo K, Stamstad T, et al: In vivo pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new triazole, voriconazole, in murine candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 3165~3169, 2003

15) Wiederhold N P, Kontoyiannis D P, Chi J, et al: Pharmacodynamics of caspofungin in a murine model of invasive pulmonary aspergillosis: evidence of concentration-dependent activity. *J Infect Dis* 190: 1464~1471, 2004

- 16) 東 純一, 中原邦夫, 加賀山彰, 他: Micafungin の高用量での薬物動態試験。日化療会誌 55 (Suppl 1): 155~184, 2002
- 17) Purkins L, Wood N, Greenhalgh K, et al: The pharmacokinetics and safety of intravenous voriconazole—a novel wide-spectrum antifungal agent. Br J Clin Pharmacol 56: s2~9, 2003
- 18) Hatano K, Morishita Y, Nakai T, et al: Antifungal mechanism of FK463 against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. J Antibiot 55: 219~222, 2002
- 19) Kirkpatrick W R, Perea S, Coco B J, et al: Efficacy of caspofungin alone and in combination with voriconazole in guinea pig model of invasive aspergillosis. Antimicrob Agents Chemother 46: 2564~2568, 2002
- 20) Marr K A, Boeckh M, Carter R A, et al: Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis. Clin Infect Dis 39: 797~802, 2004

## Efficacy of micafungin, a candidin antifungal agent, in guinea pig models of disseminated candidiasis and pulmonary aspergillosis

Fumiaki Ikeda<sup>1)</sup>, Satoru Matsumoto<sup>2)</sup>, Yoshimi Wakai<sup>2)</sup>,  
Toru Nakai<sup>2)</sup>, Kazuo Hatano<sup>2)</sup> and Katsuyuki Maki<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Post Marketing Product Development, Astellas Pharma Inc.  
3-4-7, Doshomachi, Chuo-ku, Osaka, Japan

<sup>2)</sup>Pharmacological Research Laboratories, Astellas Pharma Inc.

The efficacy of micafungin (MCFG) and voriconazole (VRCZ) was evaluated in guinea pig models of disseminated candidiasis and pulmonary aspergillosis. MCFG and VRCZ were administered twice daily for 9 days starting at 2-4 hour after infection by subcutaneous injection and oral administration, respectively. MCFG and VRCZ significantly prolonged the survival of guinea pigs infected intravenously with *Candida albicans* at doses of 0.32 and 1 mg/kg, respectively ( $p < 0.05$ ). MCFG and VRCZ significantly prolonged the survival of guinea pigs infected intratracheally with *Aspergillus fumigatus* at doses of 1.00 and 3.2 mg/kg, respectively ( $p < 0.01$ ).

These results supported the efficacy of clinical doses of MCFG and VRCZ in treating disseminated candidiasis and pulmonary aspergillosis.