サノフィ株式会社

# スピラマイシン錠 150 万単位「サノフィ」

## CTD 第二部 ー 非臨床概要

## 2.6.1 緒言

---

Total number of pages: 5

# 目　　次

**1　　緒言** ..... **4**

# 表　目　次

表 1 - スピラマイシンの各成分の R 側鎖、分子量及び含量.....5

# 1　緒言

スピラマイシンは 1951 年に Rhône– Poulenc Research Laboratories にて単離された 16 員環のマクロライド系抗生物質であり、マクロライドに特徴的な抗菌スペクトルを示し、海外において種々の領域の感染症治療薬として使われている。また、スピラマイシンはトキソプラズマ（*Toxoplasma gondii*）に対して抗原虫活性を示し、妊娠動物から胎児への垂直感染を予防することが非臨床薬理試験で示されている。臨床においては、急性感染した妊婦から子宮内の胎児への垂直感染率を下げることが報告されており、フランスでは 1980 年代から、スピラマイシンが妊婦のトキソプラズマ症に対して使用されている。スピラマイシンの抗トキソプラズマ活性の作用機序は明らかになっていない。以前はリボソームのタンパク質合成阻害又はミトコンドリアタンパク合成阻害の関与が考えられたが、最近では、トキソプラズマに特異的に存在する細胞小器官であるアピコプラストにおける 50S リボソームを介するタンパク合成阻害作用が作用機序である可能性が示唆されている。

一般名：スピラマイシン（JAN）、spiramycin (INN)

化学名：スピラマイシンは 3 種の有機塩基（スピラマイシン I、スピラマイシン II 及びスピラマイシン III）の混合物である。

主成分であるスピラマイシン I の化学名は、以下のとおりである。

(3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,8*R*,9*R*,10*E*,12*E*,15*R*)-5-[2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl-(1→4)-3,6-dideoxy-3-dimethylamino-β-D-glucopyranosyloxy]-9-(2,3,4,6-tetradeoxy-4-dimethylamino-β-D-*erythro*-hexopyranosyloxy)-6-formylmethyl-3-hydroxy-4-methoxy-8-methylhexadeca-10,12-dien-15-olide

構造式：

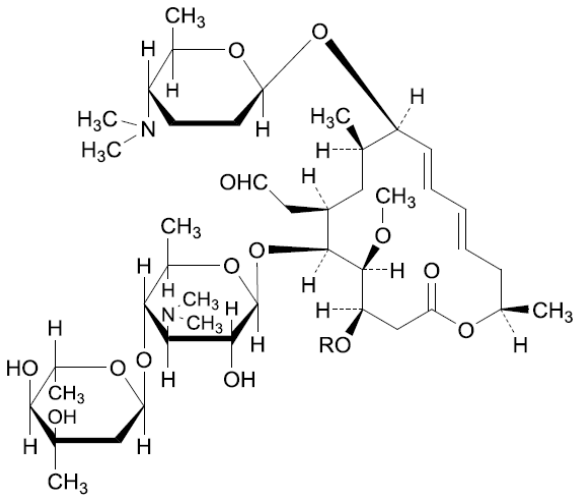


表 1 - スピラマイシンの各成分の R 側鎖、分子量及び含量

| 成分名 | R | 分子量 | %[a] |
|---|---|---|---|
| スピラマイシン I | H | 843.05 | ≥ 80.0 |
| スピラマイシン II | $COCH_3$ | 885.09 | ≤ 5.0 |
| スピラマイシン III | $COC_2H_5$ | 899.12 | ≤ 10.0 |

*a* 欧州薬局方 6.4 版 2009 年

【効能又は効果】先天性トキソプラズマ症の発症抑制

【用法及び用量】通常、妊婦には 1 回 2 錠（スピラマイシンとして 300 万国際単位）を 1 日 3 回経口投与する。

サノフィ株式会社

# スピラマイシン錠 150 万単位「サノフィ」

## CTD 第二部 ー 非臨床概要

## 2.6.2 薬理試験の概要文

---

Total number of pages: 40

# 目　　次

**略号と用語の定義 ..... 6**

**1　まとめ ..... 8**

**2　効力を裏付ける試験 ..... 11**

2.1　効力を裏付ける試験 - *in vitro* ..... 12

2.1.1　トキソプラズマ感染ヒト HeLa 細胞における効果 ..... 12

2.1.2　トキソプラズマ感染ヒト線維芽細胞株における効果 ..... 14

2.1.3　トキソプラズマ感染ヒト線維芽細胞株における効果の時間依存性 ..... 15

2.1.4　ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株を用いた *in vitro* トキソプラズマ感染モデルにおける効果 ..... 16

2.1.5　トキソプラズマ感染サル VERO 細胞における効果 ..... 19

2.1.6　トキソプラズマ感染マウスマクロファージにおける効果 ..... 20

2.2　効力を裏付ける試験 - *in vivo* ..... 21

2.2.1　トキソプラズマ感染マウスにおける効果 ..... 21

2.2.2　トキソプラズマ感染妊娠マウス及び新生児における効果 ..... 23

2.2.3　トキソプラズマ感染妊娠ブラジルヨルマウスにおける効果 ..... 25

2.2.4　トキソプラズマ感染妊娠アカゲザル及び新生児における効果 ..... 26

2.3　作用機序 ..... 27

2.4　耐性 ..... 28

**3　副次的薬理試験 ..... 30**

3.1　免疫細胞系に及ぼす作用 ..... 30

3.1.1　免疫細胞機能に及ぼす作用 ..... 30

3.1.2　サイトカイン放出に及ぼす作用 ..... 30

**4 安全性薬理試験 31**

4.1 中枢神経系 31

4.2 心血管系及び呼吸系 31

4.2.1 イヌ 31

4.2.2 サル 31

4.3 自律神経系 32

**5 薬力学的薬物相互作用試験 33**

**6 考察及び結論 34**

**7 図表 37**

**参 考 文 献 38**

# 表　目　次

表 1 -薬理試験 ..... 11
表 2 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用：細胞外トキソプラズマ数減少係数 ..... 13
表 3 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用： トキソプラズマ感染 HeLa 細胞数減少係数 ..... 14
表 4 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用： トキソプラズマ感染 VERO 細胞数減少係数 ..... 19
表 5 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用 ..... 21
表 6 - トキソプラズマ Bev 株感染妊娠マウスモデルの母体及び出生児における効果 ..... 24
表 7 - トキソプラズマ Bev 株感染妊娠マウスモデルの出生児（5 ヵ月齢）の抗トキソプラズマ抗体応答 . 24
表 8 - スピラマイシン投与群と感染対照群間での出生時まで感染が持続する確率の比較 ..... 27
表 9 - マクロライド耐性トキソプラズマの他のマクロライドに対する交差耐性 ..... 29

# 図　目　次

図 1 - スピラマイシンによるトキソプラズマ増殖抑制作用 ..... 15
図 2 - スピラマイシンによるトキソプラズマ増殖抑制作用の時間依存性 ..... 16
図 3 - トキソプラズマ感染ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株における効果 ..... 17
図 4 -非感染及びトキソプラズマ感染ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株の MIF 発現に対する作用 ..... 18
図 5 -非感染及びトキソプラズマ感染ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株の TNF-α、IFN-γ、IL-10 及び IL-4 発現に対する作用 ..... 18
図 6 - トキソプラズマ Me49 株急性感染モデルにおけるマウスの推定生存確率 ..... 22
図 7 - トキソプラズマ Me49 株急性感染モデルにおける感染 6 ヵ月後のマウス脳内シスト数 ..... 22
図 8 - トキソプラズマ Me49 株慢性感染モデルにおけるマウス脳内シスト数 ..... 23

図 9 - トキソプラズマ感染妊娠ブラジルヨルマウスの胎盤及び胚における効果..... 26

# 略号と用語の定義

| 略語 | 定義 |
|---|---|
| CBA | Cytometric bead array（サイトメトリックビーズアレイ） |
| $C_{max}$ | Maximum blood concentration（最高血中濃度） |
| DNA | Deoxyribonucleic acid（デオキシリボ核酸） |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay（酵素結合免疫吸着測定法） |
| fMLP | Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine, formylmethionylleucylphenylalanine（ホルミルメチオニルロイシルフェニルアラニン） |
| GLP | Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準） |
| $IC_{50}$ | 50% inhibitory concentration（50%抑制濃度） |
| $IC_{90}$ | 90% inhibitory concentration（90%抑制濃度） |
| IFN-γ | Interferon-γ（インターフェロン-γ） |
| IL-1 | Interleukin-1（インターロイキン-1） |
| IL-2 | Interleukin-2（インターロイキン-2） |
| IL-4 | Interleukin-4（インターロイキン-4） |
| IL-5 | Interleukin-5（インターロイキン-5） |
| IL-10 | Interleukin-10（インターロイキン-10） |
| IU | International unit（国際単位） |
| LPS | Lipopolysaccharide（リポポリサッカライド） |
| LVP | Left ventricular pressure（左心室圧） |
| MIF | Macrophage migration inhibitory factor（マクロファージ遊走阻止因子） |
| MNL | Mononuclear leukocyte（単核白血球） |
| PCR | Polymerase chain reaction（ポリメラーゼ連鎖反応） |

| 略語 | 定義 |
|---|---|
| PHA | Phytohaemagglutinin（フィトヘマグルチニン） |
| PMN 又は PMNL | Polymorphonuclear leukocyte（多形核白血球、そのほとんどは好中球） |
| RNA | Ribonucleic acid（リボ核酸） |
| rRNA | Ribosomal RNA（リボソーム RNA） |
| SD | Standard deviation（標準偏差） |
| SE | Standard error（標準誤差） |
| TNF-α | Tumor necrosis factor-α（腫瘍壊死因子-α） |
| tRNA | Transfer RNA（転移 RNA） |

# 1　まとめ

ヒトのトキソプラズマ感染は、トキソプラズマ原虫（*Toxoplasma gondii*（*T. gondii*））に感染したネコ（終宿主）の排便後の糞便中にある配偶子嚢（オーシスト）や、汚染した生肉や加熱が不十分な肉（中間宿主、ウシ、ブタ、トリ等の家畜肉）にある嚢胞（シスト）、血中の急増虫体（タキゾイト）を摂取することによる。摂取されたシストから消化管内で放出された緩増虫体（ブラディゾイト）及び胞子虫体（スポロゾイト）は、消化管壁から細胞内に侵入し、タキゾイトに分化して活発に増殖する。感染細胞はその後破壊され、隣接する細胞や血液を介して、タキゾイト及びブラディゾイトが脳、心臓などあらゆる臓器に広範囲に散在するようになる。原虫は単球及び好中球により殺傷されるが、マクロファージ内で生存し、血液循環によって拡散する。急性感染期に宿主が妊娠中であれば原虫は胎盤を通過して胎児に移行する (1)。

トキソプラズマ感染は世界的にみられる感染症であり、世界の人口の約 25～30%がトキソプラズマに感染している (1)。特に問題なのは、妊娠中に母体が初感染し胎児に垂直感染することによって生じる先天性トキソプラズマ感染症であり、出生児は典型的な症状として水頭症、大脳石灰化、網脈絡膜炎、精神障害、運動障害などの重篤な障害を引き起こす (2), (3)。

スピラマイシンは 1951 年に *Streptomyces ambofaciens* の培養液から単離された 16 員環のマクロライド系抗生物質（以下、マクロライド）であり、マクロライドに特徴的な抗菌スペクトルを示し (4)、*Streptococcus pneumoniae*、*S. pyogenes*、*S. agalactiae*、*Bordetella pertussis*、*Neisseria gonorrhoeae*、*N. meningitidis* 、*Mycoplasma pneumoniae* 等に抗菌活性を示す(4)。

スピラマイシンはカナダ、フランス、ドイツ等で、気道、口腔、皮膚及び軟組織の感染症治療を適応として使用されている。また、綿密に計画された前向き試験での成績ではないが、スピラマイシンは急性感染した妊娠女性から子宮内の胎児への垂直感染率を下げることが報告されている (5)。ヨーロッパにおいては、長年にわたり妊娠女性から胎児への垂直感染を予防する試みが行われており (4)、フランスでは 1980 年代から、妊婦のトキソプラズマ症に対して使用されている (1)。スピラマイシンは、日本及び米国においては承認されていない。米国ではトキソプラズマ症の治療に妊婦を登録する例外的使用プログラムが現在実施されている。

急性トキソプラズマ感染の妊娠女性における胎児の垂直感染リスクは、妊娠初期から妊娠後期に向かって高くなるが、逆に感染出生児の臨床兆候の発生は妊娠早期での感染で最も高いため、妊娠早期からの抗原虫薬の投与が重要であり催奇形性のないスピラマイシンの投与が多くの研究者から推奨されている（妊娠 18 週まで）(5)。なお、18 週以降ではピリメタミン/スルファジアジン/folinic acid への切替えが推奨されている。

以下に、トキソプラズマに関して実施した効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験成績の要約を記載した。

効力を裏付ける試験 – *in vitro*

ヒト由来 HeLa 細胞若しくは線維芽細胞を用いた試験では、スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用には時間依存性がみられた（2.1項）。スピラマイシンは、1 日処理では非常に弱い作用しか示さなかったが、4 日若しくは 7 日以上の処理では 5 µg/mL 以下でも増殖抑制作用がみられた。ヒト線維芽細胞株 MRC5 を用いた試験では、4 日間処理により低濃度で増殖抑制作用が認められ、その $IC_{50}$ は 40 ng/mL であった。（2.1.3項）。スピラマイシンはサル由来細胞を用いた試験においても、時間依存性のトキソプラズマ増殖抑制作用を示した（2.1.5項）。

効力を裏付ける試験 – *in vivo*

マウスの急性及び慢性トキソプラズマ感染モデルにおいて、スピラマイシンはマウスの生存率を高め、脳内シスト数を顕著に低下させた（2.2.1項）。トキソプラズマ感染妊娠マウスにおいては、スピラマイシンの妊娠マウスへの投与により、出産したマウス数や産児数、新生児体重や出生 5 ヵ月後の生存率が感染対照群より増加し、出生 5 ヵ月後の抗トキソプラズマ抗体陽性子マウス数は低下した（2.2.2項）。トキソプラズマ感染妊娠ブラジルヨルマウスにおいては、スピラマイシンは胎盤及び胚組織中のトキソプラズマのタキゾイト及びブラディゾイトをアジスロマイシンと同様に顕著に低下させた（2.2.3項）。トキソプラズマ感染妊娠サルにおいても、胎児への感染の確認時点から出産までの母サルへのスピラマイシンの投与により、出産時に感染が確認された新生児は 5 例中 0 例であった（2.2.4項）。

作用機序

スピラマイシンを含めたマクロライドの抗トキソプラズマ活性の作用機序は明らかになっていない（2.3項）。作用機序として、抗菌活性の機序と同様のリボソームのタンパク合成阻害、ミトコンドリアでのタンパク合成阻害、トキソプラズマに特異的に存在する細胞小器官であるアピコプラストにおけるタンパク合成阻害作用が考えられる。また、白血球の抗トキソプラズマ活性の増強作用など、免疫系への作用がスピラマイシンの抗トキソプラズマ活性に寄与している可能性も考えられる。

耐性

ヒト線維芽細胞内で増殖中のトキソプラズマを突然変異誘発剤であるエチルニトロソ尿素で処理し、生存した原虫をスピラマイシン存在下で培養した結果、*in vitro* においてスピラマイシンに耐性のトキソプラズマが出現した（2.4項）。このスピラマイシン耐性株はアジスロマイシンに対して交差耐性を示し、クリンダマイシンに対しては野生株と同様の感受性を示した。

副次的薬理試験

スピラマイシンは *in vitro* 及び *ex vivo* でヒト白血球機能及びサイトカイン遊離に対して作用を示し、その作用は、いずれの試験でも比較対照薬であるエリスロマイシンを主としたマクロライドとほぼ同様であった（3.1項）。

安全性薬理試験

カニクイザルの 5 日間静脈内投与毒性試験での一般症状の変化から中枢神経系への影響を検討した。本毒性試験において、スピラマイシンアジピン酸塩の 0.24 MIU（= 68.8 mg ）/kg/日以上で流涎、嘔吐発作が、0.54 MIU（= 154.8 mg ）/kg/日で筋緊張低下、呼吸困難がみられた（4.1項）。

心血管系及び呼吸系に関して、麻酔イヌへの 0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg（4 例）の静脈内持続投与により、血圧の低下（4 例）、左心室圧（LVP）の最大増加速度（dLVP/dt）の変化（1 例で上昇、2 例で低下）並びに呼吸数及び呼吸流量が増加（4 例）した（4.2.1項）。0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg（3 例）では 2 例で収縮期圧が上昇した。麻酔サルへの 0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg（雌雄各 2 例）の静脈内持続投与により、雄の 1 例に軽度の血圧低下、雌の 2 例に血圧、心拍数及び dLVP/dt の上昇、投与中の呼吸困難期が観察された（4.2.2項）。0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg（雌 2 例）では全例に軽度の血圧上昇、1 例で心拍数、dLVP/dt の上昇、別の 1 例で呼吸数、呼吸流量の一過性の低下がみられた。

# 2　効力を裏付ける試験

スピラマイシンの非臨床薬理を複数の *in vitro* 及び *in vivo* 試験結果から評価した。評価した薬理試験の概要を表 1に示す。

表 1 -薬理試験

| 試験の種類 | 投与経路、他 | 試験系 | 試験番号又は著者（年） |
|---|---|---|---|
| 効力を裏付ける試験 | *In vitro* | トキソプラズマ感染ヒト HeLa 細胞株における効果 | [Module 4.2.1.1-1] IBP/AN+BIOL643 |
| | *In vitro* | トキソプラズマ感染ヒト線維芽細胞株における効果 | Derouin F(1988)(6) |
| | *In vitro* | トキソプラズマ感染ヒト線維芽細胞株における効果の時間依存性 | Pfefferkorn ER(1994)(7) |
| | *In vitro* | ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株を用いた *in vitro* トキソプラズマ感染モデルにおける効果 | Franco PS(2011)(8) |
| | *In vitro* | トキソプラズマ感染サル VERO 細胞株における効果 | [Module 4.2.1.1-2] IBP/AN+BIOL842 |
| | *In vitro* | トキソプラズマ感染マウスマクロファージにおける効果 | Chang HR(1988)(9) |
| | 経餌投与（21 又は 28 日間） | トキソプラズマ感染マウスにおける効果 | Grujic J(2005)(10) |
| | 飲水投与（接種 5 日後から出産まで） | トキソプラズマ感染妊娠マウス及び新生児における効果 | Nguyen BT(1985)(11) |
| | 経口投与（妊娠 4 日～20 日まで） | トキソプラズマ感染妊娠ブラジルヨルマウスにおける効果 | Costa IN(2009)(12) |
| | 静脈内投与（胎児の感染時から出生時まで） | トキソプラズマ感染妊娠アカゲザル及び新生児における効果 | Schoondermark-Van de Ven(1994a)(13) |
| | *In vitro* | スピラマイシン耐性株の交差耐性 | Pfefferkorn ER(1994)(7) |

| 試験の種類 | 投与経路、他 | 試験系 | 試験番号又は著者（年） |
|---|---|---|---|
| 副次的薬理試験 | *In vitro* | ヒト PMN 機能に及ぼす作用 | Prieto-Prieto J(1988)(14) |
| | *In vitro* | ヒト PMN の酸化的バーストに及ぼす作用 | Labro MT(1989)(15) |
| | *In vitro* | ヒト PMN の殺菌活性（スーパーオキサイドアニオン産生）に及ぼす作用 | Moutard I(1998)(16) |
| | *In vitro* | ヒト MNL 増殖に及ぼす作用 | Roche Y(1986)(17) |
| | *Ex vivo* | ラット PMNL の走化性に及ぼす作用 | Eyraud A(1986)(18) |
| | *In vitro* | ヒト単球 IL-1 放出に及ぼす作用 | Roche Y(1988)(19) |
| | *In vitro* | ヒト単球からのサイトカイン放出に及ぼす作用 | Bailly S(1991)(20) |
| 安全性薬理試験 | - | サルの中枢神経系に及ぼす影響（毒性試験データを元に考察） | - |
| | 静脈内投与 | 麻酔イヌの心血管系及び呼吸系に及ぼす影響 | [Module 4.2.1.3-1]ST/CRV/Biol. No. 7, ST/DMS/ERI ref. DN90.1 |
| | 静脈内投与 | 麻酔サルの心血管系及び呼吸系に及ぼす影響 | [Module 4.2.1.3-1]ST/CRV/Biol. No. 7, ST/DMS/ERI ref. DN90.1 |
| | 静脈内投与 | イヌの自律神経系に及ぼす影響 | [Module 4.2.1.3-1]ST/CRV/Biol. No. 7, ST/DMS/ERI ref. DN90.1 |

## 2.1　効力を裏付ける試験 - *in vitro*

ヒト、サル及びマウスの細胞にトキソプラズマを感染させ、スピラマイシンの *in vitro* での作用を検討した。

### 2.1.1　トキソプラズマ感染ヒト HeLa 細胞における効果

[Module 4.2.1.1-1]

仔ウシ血清 10%を加えた MEM 培地が 1 枚当たり 6 mL 入ったペトリ皿に、$0.2\times10^6$ 個の HeLa 細胞を注入し、5% $CO_2$ 存在下 37°C で培養を開始した。培養 4 日目（HeLa 細胞数 N は平均で $0.5\sim1\times10^6$ 個）に、トキソプラズマを加えて 2 時間培養した。培養後、培養液をスピラマイシン非含有若しくは、5～200 µg/mL を含んだ仔ウシ血清 10%加 MEM 培地に置換して培養を続けた。その後、2、3、4、7 及び 9 日目に、培地の上澄み液中の細胞外（遊離）トキソプラズマ数、及び HeLa 細胞のトキソプラズマ感染率を測定した。細胞外トキソプラズマ数減少係数（対照群のトキソプラズマ数／スピラマイシン群のトキソプラズマ数）及びトキソプラズマ感染 HeLa 細胞数減少係数（対照群の感染細胞率／スピラマイシン群の感染細胞率）を算出した（表 2及び表 3）。3 試験実施した。

スピラマイシンは、細胞外トキソプラズマの累積数及び HeLa 細胞のトキソプラズマ感染率を抑制した。この作用は 4 日目から、5～200 µg/mL の濃度で認められた。3 試験中 2 試験において、7 及び 9 日目に、検討した全てのスピラマイシン濃度で顕著なトキソプラズマ増殖抑制作用が認められた。

トキソプラズマ接種量（HeLa 細胞 21 個に対し、トキソプラズマ 1 個の割合、他の 2 試験は 6 個に 1 個の割合）を少なくして実施した試験（No.2 試験）では、スピラマイシンの低濃度（5 µg/mL）での作用も認められた。

以上の結果から、スピラマイシンはトキソプラズマの増殖を抑制するがその作用発現には時間を要することが示された。

**表 2 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用：細胞外トキソプラズマ数減少係数**

| 試験 No. | 時間（日） | スピラマイシン濃度（µg/mL） | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 5 | 10 | 20 | 50 | 100 | 200 |
| 1 | 2 | - | - | 3.8 | 3.2 | 2.9 | 1.7 |
| | 3 | - | - | 1 | 0.9 | 0.9 | 0.6 |
| | 4 | - | - | 75 | 84 | 112 | 212 |
| | 7 | - | - | 1100 | 894 | 1009 | 791 |
| | 9 | - | - | 512 | 332 | 300 | 769 |
| 3 | 2 | 0.5 | 0.6 | 1.4 | 2.3 | 3.5 | - |
| | 3 | 0.9 | 1.1 | 1.8 | 1.1 | 1.4 | - |
| | 4 | 4 | 12 | 15 | 20 | 23 | - |
| | 7 | 199 | 201 | 285 | 298 | 181 | - |
| | 9 | 589 | 1325 | 662 | 1767 | 4417 | - |
| 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | - | - |
| | 3 | 1.7 | 1.6 | 1.2 | 2.9 | - | - |
| | 4 | 1.6 | 2 | 2.1 | 2.7 | - | - |
| | 7 | 63 | 114 | 79 | 140 | - | - |
| | 9 | 77 | 224 | 404 | 295 | - | - |

-: 未実施

表 3 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用：トキソプラズマ感染 HeLa 細胞数減少係数

| 試験 No. | 時間（日） | スピラマイシン濃度（μg/mL） | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 5 | 10 | 20 | 50 | 100 | 200 |
| 1 | 2 | - | - | 1.2 | 1.7 | 1.9 | 2.1 |
| | 3 | - | - | 0.9 | 2.6 | 1.4 | 1.5 |
| | 4 | - | - | 1.7 | 1.7 | 1.5 | 2.1 |
| | 7 | - | - | 9.4 | 9.1 | 15.2 | 7.6 |
| | 9 | - | - | 29.4 | 15.6 | 25.0 | 26.3 |
| 3 | 2 | 1.4 | 2.0 | 2.0 | 2.3 | 3.1 | - |
| | 3 | 1.1 | 1.3 | 7.8 | 3.9 | 4.8 | - |
| | 4 | 1.9 | 1.1 | 1.1 | 1.5 | 1.7 | - |
| | 7 | 6.1 | 7.2 | 5.7 | 10.1 | 27.3 | - |
| | 9 | 10.8 | 15.4 | 37.0 | 35.7 | 43.5 | - |
| 2 | 2 | 1.1 | RT | 2.7 | RT | - | - |
| | 3 | 0.5 | 0.7 | RT | 1.6 | - | - |
| | 4 | 3.3 | 0.7 | 5.8 | 2.9 | - | - |
| | 7 | 5.8 | RT | RT | RT | - | - |
| | 9 | RT | RT | RT | RT | - | - |

RT＝スピラマイシン群で感染細胞が認められなかった（完全な減少）-: 未実施

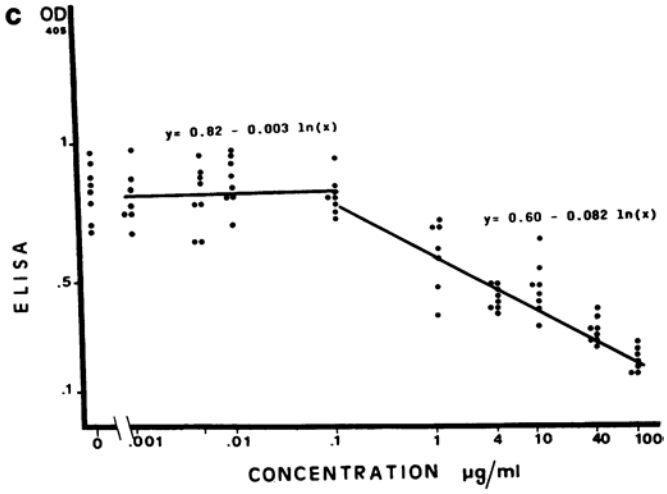
### 2.1.2　トキソプラズマ感染ヒト線維芽細胞株における効果

Derouin F ら(1988)(6)

ヒト線維芽細胞株 MRC5（$2\times10^4$ 細胞）を 96 ウェルプレートに入れてコンフルエントになるまで単層培養し、トキソプラズマ RH 株の栄養型（トロフォゾイト；$10^3$ 個）を加え 4 時間感染させた後、スピラマイシンを加えて 72 時間インキュベートした。インキュベート後、ウェル内の細胞層をメタノール固定し、過免疫ウサギ抗トキソプラズマ抗体を用いた ELISA 法でトキソプラズマを定量した。

その結果、スピラマイシンは 1～100 μg/mL の範囲で、感染 MRC5 細胞中のトキソプラズマ量を濃度依存的に有意に抑制した（図 1）。

図 1 - スピラマイシンによるトキソプラズマ増殖抑制作用




縦軸：$OD_{405}$；波長 405 nm での吸光度、横軸：スピラマイシン濃度（文献の図 2C を引用）

### 2.1.3　トキソプラズマ感染ヒト線維芽細胞株における効果の時間依存性

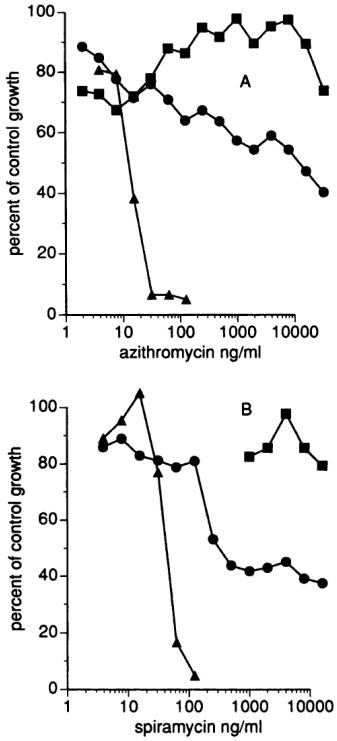
Pfefferkorn ER ら(1994)(7)

マイクロプレートで単層培養しコンフルエントになったヒト線維芽細胞株にトキソプラズマ RH 株（1、2 及び 4 日間培養でそれぞれ $10^5$、$1.5\times10^4$ 及び $2\times10^2$ 個/ウェル）を加え、種々の濃度のアジスロマイシン又はスピラマイシン存在下で 1、2 及び 4 日間培養した。各々の培養終了の 4 時間前に培養液に加えた[$^3$H]uracil の取り込みを指標にトキソプラズマの増殖を測定した。

スピラマイシンは 1 日間処理では 10000 ng/mL 以上の高濃度でもほとんど増殖を抑制しなかったが、2 日間処理では 1000 ng/mL 付近で部分的な増殖抑制作用を示し、4 日間処理では 10～100 ng/mL の低濃度で濃度依存的な増殖抑制作用（$IC_{50}$=40 ng/mL）を示した（図 2）。アジスロマイシンも同様の結果（4 日間処理の $IC_{50}$=12 ng/mL）であった。

スピラマイシンはトキソプラズマの増殖に対して、処理時間が長くなるに従い増殖抑制作用の効力が強くなる時間依存的な抗トキソプラズマ活性を示した。

図 2 - スピラマイシンによるトキソプラズマ増殖抑制作用の時間依存性




A：アジスロマイシン、B：スピラマイシン
■：1 日間培養、●：2 日間培養、▲：4 日間培養（文献の図 1 を引用）

## 2.1.4 ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株を用いた *in vitro* トキソプラズマ感染モデルにおける効果

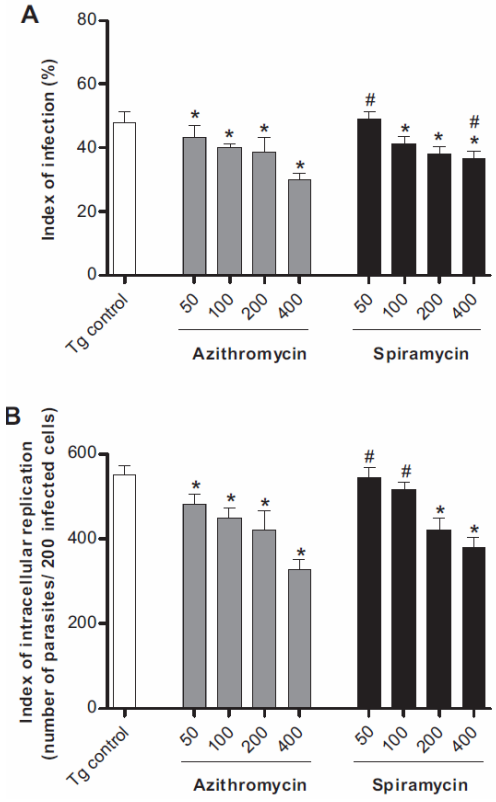
Franco PS ら(2011)(8)

胎盤は胎児の感染防御において主たる役割を果たしている。胎盤栄養芽細胞は先天性トキソプラズマ感染症の発症に直接関与していることが知られており (21)、その細胞由来で、培養細胞株として十分確立している BeWo 絨毛がん細胞株を用いて、細胞内寄生虫感染下での胎盤栄養芽細胞の妊娠免疫における役割が研究されている。BeWo 絨毛がん細胞株を用いてトキソプラズマ感染におけるスピラマイシンの抗トキソプラズマ活性を検討した。

BeWo 絨毛がん細胞株（$5\times10^4$ 細胞/ウェル）を 24 ウェルプレートに入れ 37°C で 24 時間培養した後洗浄し、細胞数の 3 倍のトキソプラズマ RH 株を加え 24 時間培養して感染させた。洗浄後、スピラマイシン又はアジスロマイシン（いずれも 50、100、200 及び 400 µg/mL）を加えてさらに 24 時間インキュベートした。培養後に細胞をホルマリン固定、トルイジンブルー染色し、顕微鏡下で 200 細胞当たりの感染細胞の割合（%）（感染の指標）及び感染細胞当たりの原虫数（細胞内原虫増殖の指標）をカウントした。また、培養上清中のサイトカイン（MIF、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IFN-γ 及び TNF-α）を ELISA（MIF）又は CBA 法（MIF 以外）で測定した。

スピラマイシンは 100～400 µg/mL（細胞に毒性を示さない濃度）で濃度依存的に感染細胞の割合及び感染細胞当たりの原虫数を有意に低下させた（図 3）。抗トキソプラズマ活性は一部の濃度でアジスロマイシンの方が有意に大きかった。

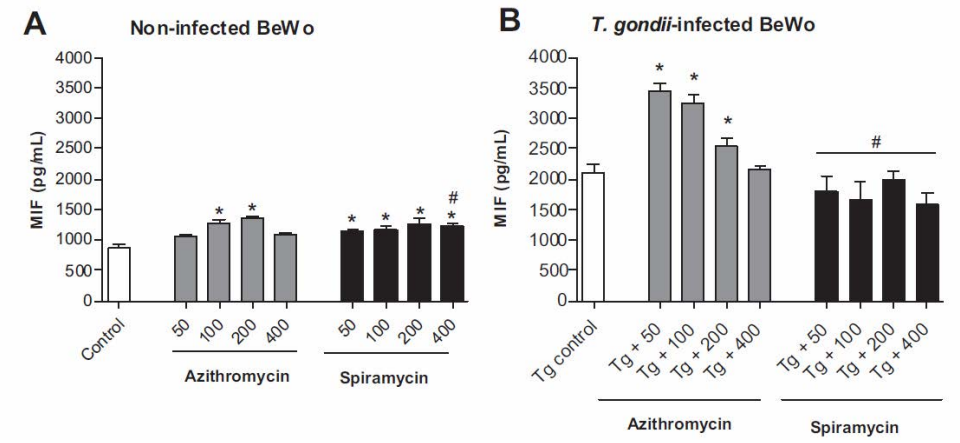
**図 3 - トキソプラズマ感染ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株における効果**




A：感染細胞の割合（%）、B：感染細胞当たりの原虫数（いずれも mean±SD、n=3）
＊：トキソプラズマ感染対照と比べて p<0.05、#：同濃度のアジスロマイシンと比べて p<0.05
（文献の図 2 を引用）

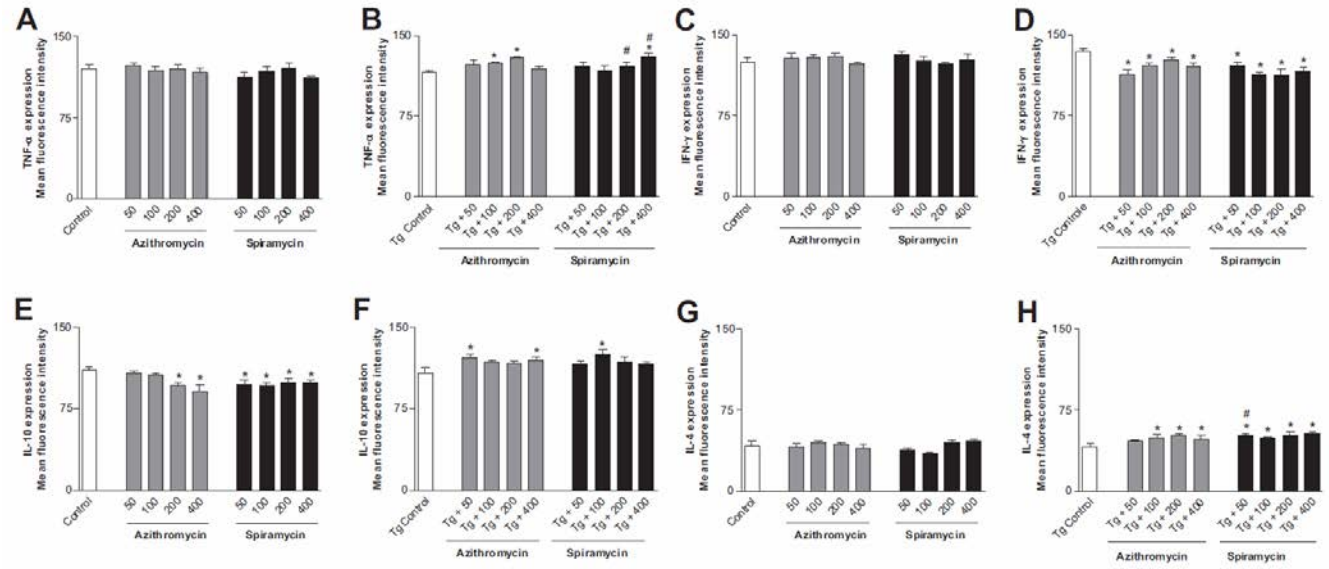
非感染細胞ではスピラマイシン（50～400 µg/mL）及びアジスロマイシン（100 及び 200 µg/mL）は対照に比べて MIF 産生を有意に増加させた（図 4）。一方、トキソプラズマ感染細胞では、アジスロマイシン（50～200 µg/mL）は MIF 産生をより大きく増加させたのに対して、スピラマイシンは有意な増加を示さなかった。その他のサイトカイン産生に関しては、全体的にみて、スピラマイシン及びアジスロマイシンは非感染細胞では IL-10 産生を有意に低下させ、TNF-α、IFN-γ 及び IL-4 には有意な作用を示さなかったのに対して、感染細胞では TNF-α、IL-10 及び IL-4 発現を有意に上昇させ、IFN-γ 発現を有意に低下させた（図 5）。IL-2 及び IL-5 に対しては両マクロライドともいずれの条件でも作用を及ぼさなかった。

図 4 -非感染及びトキソプラズマ感染ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株の MIF 発現に対する作用




A：非感染細胞、 B：感染細胞（いずれも mean±SD、n=3）
＊：非感染又はトキソプラズマ感染対照と比べて p<0.05（ANOVA 及び Dunnett ポストホック多重比較検定）
#：同濃度のアジスロマイシンと比べて p<0.05（Student's *t*-検定）
（文献の図 4 を引用）

図 5 -非感染及びトキソプラズマ感染ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株の TNF-α、IFN-γ、IL-10 及び IL-4 発現に対する作用




A、C、E 及び G：非感染細胞、B、D、F 及び H：感染細胞
A 及び B：TNF-α、C 及び D：IFN-γ、E 及び F：IL-10、G 及び H：IL-4
＊：非感染又はトキソプラズマ感染対照と比べて p<0.05（ANOVA 及び Dunnett ポストホック多重比較検定）、
#：同濃度のアジスロマイシンと比べて p<0.05（Student's *t*-検定）
（文献の図 5 を引用）

### 2.1.5　トキソプラズマ感染サル VERO 細胞における効果

[Module 4.2.1.1-2]

仔ウシ血清 10%を加えた MEM 培地が 1 枚当たり 6 mL 入ったペトリ皿に、$0.05\times10^6$ 個の VERO 細胞を注入し、5% $CO_2$ 存在下 37°C で培養を開始した。培養 4 日目（VERO 細胞数 N は平均で $0.1\sim0.7\times10^6$ 個）に、トキソプラズマを加えて 2 時間培養した。培養後、培養液をスピラマイシン非含有若しくは、1～100 µg/mL を含んだ仔ウシ血清 10%加 MEM 培地で置換して培養を続けた。その後、2、3、4、7 及び 9 日目に、VERO 細胞のトキソプラズマ感染率を測定した。トキソプラズマ感染 VERO 細胞数減少係数（対照群の感染細胞率／スピラマイシン群の感染細胞率）を算出した。5 試験実施した。

全ての試験において、4～9 日目までの間に細胞内トキソプラズマが除去された。5 試験中 3 試験における最小発育阻止濃度（MIC 100%）は、5 µg/mL であった。1 試験においては、1 µg/mL の濃度でも 9 日目に強い抑制作用が認められた。

表 4 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用：トキソプラズマ感染 VERO 細胞数減少係数

| 試験 No. | 時間（日） | スピラマイシン濃度（µg/mL） | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 | 20 | 50 | 100 |
| 1 | 3 | - | - | 2.8 | 4.2 | 3.6 | RT | RT |
| | 6 | - | - | 144 | RT | RT | RT | RT |
| | 7 | - | - | 85 | 85 | RT | - | - |
| 2 | 2 | 1 | - | 1.1 | 0.9 | 0.9 | 2.3 | - |
| | 3 | 1.4 | - | 1.4 | 7.6 | 3.9 | 5.9 | - |
| | 4 | 2.4 | - | 3.4 | 10 | 4.6 | RT | - |
| | 7 | 63.1 | - | - | RT | 252 | RT | - |
| | 9 | RT | - | - | - | - | - | - |
| 3 | 2 | 11.2 | - | 3.7 | 7.4 | 7.4 | 33.5 | - |
| | 3 | 0.5 | - | 0.8 | 4 | RT | 6.7 | - |
| | 4 | 6.2 | - | RT | RT | RT | RT | - |
| | 7 | 1.4 | - | RT | RT | RT | RT | - |
| | 9 | 2.4 | - | RT | RT | RT | RT | - |
| 4 | 2 | 0.8 | 0.6 | 1.2 | 3.5 | - | - | - |
| | 3 | 1.4 | 2.4 | 3 | 4.8 | - | - | - |
| | 4 | 1.6 | 13 | 6.2 | 11.1 | - | - | - |
| | 7 | 1.6 | 7.8 | RT | RT | - | - | - |
| | 9 | 2 | 1.6 | RT | RT | - | - | - |

| 試験 No. | 時間（日） | スピラマイシン濃度（μg/mL） | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 5 | 10 | 20 | 50 | 100 |
| 5 | 2 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | 1 | RT | RT | RT | - | - | - |
| | 4 | 0.3 | 1.2 | RT | 1.2 | - | - | - |
| | 7 | 4.9 | RT | RT | RT | - | - | - |
| | 9 | 1.6 | 3.7 | RT | RT | - | - | - |

RT＝感染細胞の不在（完全な減少）、-: 未実施

## 2.1.6 トキソプラズマ感染マウスマクロファージにおける効果

Chang HR ら(1988)(9)

雌 Swiss-Webster マウスから単離した不活化腹腔内マクロファージ（$2\times10^6$ 細胞）を、24 ウェルプレートに入れ 37°C で 1～4 時間インキュベートしプレート上に接着させた後、病原性のトキソプラズマ RH 株のタキゾイト（$2\times10^6$ 個）を加えて 37°C で 1 時間インキュベートして感染させた。細胞を洗浄した後、種々のマクロライド存在下で 20 時間インキュベートし、[5,6-$^3$H]uracil を加えてさらに 20 時間インキュベートした。[$^3$H]uracil はトキソプラズマに存在するウラシルフォスフォリボシルトランスフェラーゼにより代謝され DNA に取り込まれるが、宿主細胞では代謝されないため取り込まれず、トキソプラズマの増殖を選択的に測定できる。インキュベーション後に細胞を溶解し、トリクロロ酢酸処理後の沈渣の[$^3$H]放射線量を測定しトキソプラズマ増殖の指標とした。また、非感染マクロファージを被験物質存在下、37°C で 40 時間インキュベートした後トリパンブルー染色によりマクロライドの細胞毒性を測定した。

スピラマイシンは[$^3$H]uracil 取り込みを指標としたトキソプラズマの増殖を抑制し、増殖抑制作用の $IC_{50}$ は平均で 246.32 μmol/L（207.66 μg/mL：MW=843.05 で算出）（95%信頼区間：186.61～325.15 μmol/L（157.32～274.12 μg/mL））、$IC_{90}$ は 338.98 μmol/L（285.78 μg/mL）であり、その効力は比較対照としたマクロライドのうちアジスロマイシン及び A-56268 と同程度であり、ロキシスロマイシンよりも弱かった（表 5）。また、スピラマイシンはマクロファージに対して、$IC_{90}$ の 2 倍濃度まで明らかな細胞毒性を示さず、$IC_{90}$ の 2 倍濃度での細胞毒性はロキシスロマイシンと同程度、アジスロマイシン及び A-56268 より低かった。

表 5 - スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用

| マクロライド | [$^3$H]uracil 取り込み抑制 | |
|---|---|---|
| | $IC_{50}$ (µmol/L, 平均値, n≥3) (95%信頼区間) | $IC_{90}$ (µmol/L) |
| スピラマイシン | 246.32 (186.61-325.15) | 338.98 |
| ロキシスロマイシン | 53.76 (38.48-72.84) | 69.29 |
| アジスロマイシン | 140.18 (97.61-201.30) | 333.77 |
| A-56268 | 147.25 (101.40-213.81) | 368.13 |

（文献の表 1 を改変引用）

## 2.2 効力を裏付ける試験 - *in vivo*

### 2.2.1 トキソプラズマ感染マウスにおける効果

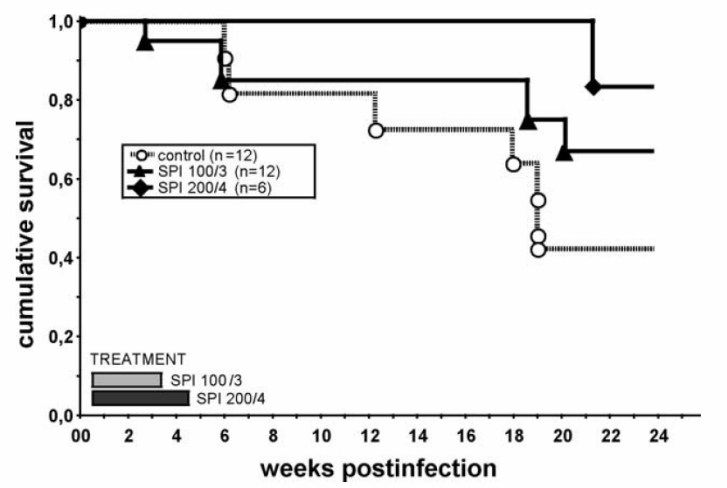
Grujic J ら(2005)(10)

急性感染モデルとして、6 週齢の雌 Swiss-Webster マウス（6～12 例/群）にシスト形成型のトキソプラズマ Me49 株（type 2）のシストを 10 又は 20 個食道内に接種し、感染 4 日からスピラマイシンの 100 mg/kg/日を 21 日間又は 200 mg/kg/日を 28 日間経餌投与して感染後 24 週間マウスの生死を観察した。6 ヵ月後にマウス脳内のシスト数をカウントした。

シストを 10 個接種した感染対照では 24 週間後に 42%の動物しか生存しなかったのに対して、スピラマイシンの 100 mg/kg/日、3 週間投与では 67%、200 mg/kg/日、4 週間投与で 83%といずれも生存率が有意に上昇した（それぞれ P=0.025 及び 0.007、Student's *t*-検定）。一方、推定生存確率は 200 mg/kg/日の 4 週間投与で感染対照に比べて有意に高く、100 mg/kg/日の 3 週間投与では有意な差はみられなかった（それぞれ P=0.011 及び 0.424、Peto-Peto 検定）（図 6）。両投与条件とも、感染 6 ヵ月後において、マウスの脳内シスト数は有意に低下した（図 7）。シストを 20 個接種したときには、200 mg/kg/日の 4 週間投与で生存率、推定生存確率及び脳内シスト数に有意な作用はみられなかった。

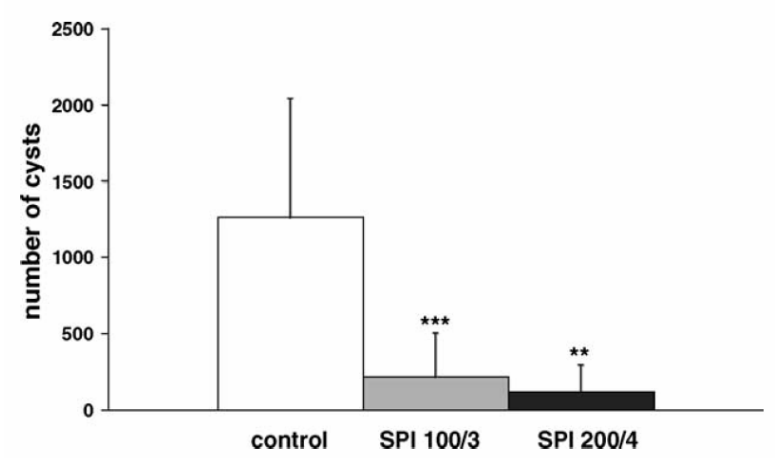
別の急性感染モデルとして、マウスで感染力の高いトキソプラズマ RH 株（type 1）のタキゾイト（$10^2$ 個）をマウスに接種し 24 時間後からスピラマイシンの 100 又は 200 mg/kg/日を 1 週間投与したときには、感染対照群及びスピラマイシン投与群ともに全てのマウスが感染 7 及び 8 日目に死亡し、推定生存確率に有意な差は認められなかった。

図 6 - トキソプラズマ Me49 株急性感染モデルにおけるマウスの推定生存確率




SPI 100/3：スピラマイシン 100 mg/kg/日 3 週間投与、SPI 200/4：スピラマイシン 200 mg/kg/日 4 週間投与
（文献の図 2 を引用）

図 7 - トキソプラズマ Me49 株急性感染モデルにおける感染 6 ヵ月後のマウス脳内シスト数

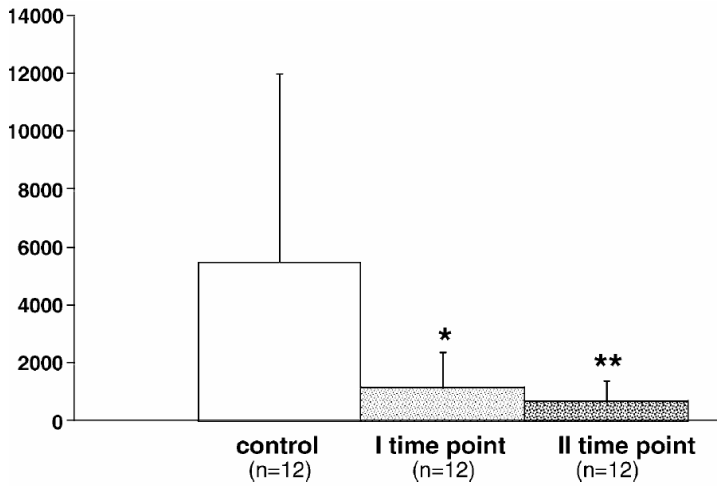



SPI 100/3：スピラマイシン 100 mg/kg/日 3 週間投与、SPI 200/4：スピラマイシン 200 mg/kg/日 4 週間投与
**及び***：control と比べてそれぞれ p<0.01 及び p<0.001、mean±SD（Student's *t*-検定）
（文献の図 3 を引用）

慢性感染モデルとして、急性感染モデルと同様にマウス（6～24 例/群）にトキソプラズマ Me49 株（type 2）のシストを 10 個接種した。12 週間後からスピラマイシンの 200 mg/kg/日を 3 週間投与し、その後 9 週間マウスを観察して、最後に脳内シストをカウントした。

その結果、スピラマイシンは接種 17 週間（投与終了 2 週間）後及び 6 ヵ月後の脳内シスト数をいずれも有意に低下させた（図 8）。

図 8 - トキソプラズマ Me49 株慢性感染モデルにおけるマウス脳内シスト数




縦軸：脳内シスト数、I time point：投与終了 2 週間（接種 17 週間）後、II time point：接種 6 ヵ月後
*及び**：control と比べてそれぞれ p<0.05 及び p<0.01、mean±SD（文献の図 4 を一部引用）

## 2.2.2 トキソプラズマ感染妊娠マウス及び新生児における効果

Nguyen BT ら(1985)(11)

雄と交配させて 5～8 日後の雌 NMRI マウスにトキソプラズマ Beverley 株のシスト（慢性感染マウスの脳エマルジョン）を皮下に接種し、5 日後から出産までスピラマイシン（10 mg/mL）又はコトリモキサゾール（CTX）（9.6 mg/mL、陽性対照薬）を飲水投与した。母マウスの生存数、産児数、新生児の生存数、体重等を出産 5 ヵ月後まで観察した。

感染対照群では、出産した雌マウス数、産児数、出生後 5 ヵ月間生存した子マウス数及び体重、並びに出産時まで生存した雌マウス数がいずれも非感染対照群より有意に低下した（表 6）。一方、スピラマイシン投与感染群では、いずれのパラメータも感染対照群より高値であり、特に、産児数、出生後 5 ヵ月間生存した子マウスの体重、及び出産時まで生存した雌マウス数は非感染対照群と同程度であった（対非感染対照群と有意差なし）。また、陽性対照薬のコトリモキサゾールと比べて産児数及び出生 5 ヵ月後に生存した子マウス数は少なかったが、他のパラメータでは同程度の作用を示した（表 6）。スピラマイシン投与群において出生後 5 ヵ月間生存した子マウス中の抗トキソプラズマ抗体陽性マウス数は、コトリモキサゾール投与群と同様に、対照感染群より有意に少なかった（表 7）。

表 6 - トキソプラズマ Bev 株感染妊娠マウスモデルの母体及び出生児における効果

| トキソプラズマ接種 | 被験物質 | 接種後の投与開始時期 | 出産母体数/交配数[b] | 産児数[a] (mean±SE) | 出生 5 ヵ月後の生存数/出生数[b] | 出生 5 ヵ月後の体重[a] (mean±SE) | 母マウスの生存数[b] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 非接種 | なし | - | 25/28 | 10.68±0.31 | 267/267 | 28.81±0.26 | 28/28 |
| | スピラマイシン | - | 25/28 | 10.04±0.31 | 251/251 | 29.23±0.22 | 28/28 |
| | CTX | - | 26/28 | 11.04±0.26 | 287/287 | 28.20±0.34 | 28/28 |
| 交配 5～8 日 | なし | - | 8/28* | 6.25±1.25$^{+}$ | 20/50* | 21.43±1.37$^{+}$ | 20/28$^{+}$ |
| | スピラマイシン | 5 | 15/28$^{+}$ | 8.73±0.77 | 120/131* | 28.62±0.43 | 26/28 |
| | CTX | 5 | 24/28 | 11.13±0.41 | 261/267$^{\$}$ | 29.35±0.20 | 28/28 |

$^{\$}$、$^{+}$及び*：非感染対照群と比べてそれぞれ p<0.05、p<0.01 及び p<0.001

*a* Student's *t*-検定（two-tailed）

*b* 連続性の Yates 補正を伴うカイ二乗検定（two-tailed)

CTX：コトリモキサゾール（文献の表 1 を改変引用）

表 7 - トキソプラズマ Bev 株感染妊娠マウスモデルの出生児（5 ヵ月齢）の抗トキソプラズマ抗体応答

| 母体群 | 新生児の相互抗トキソプラズマ抗体力価（例数/検討数）（%） | | | | | 陽性数/検討数 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 陰性 | 64-128 | 256-512 | 1024-2048 | >4096 | |
| 非投与 | 5/20 | 0/20 | 1/20 | 3/20 | 11/20 | 15/20 |
| | (25) | (0) | (5) | (15) | (55) | (75) |
| スピラマイシン | 76/120 | 1/120 | 1/120 | 15/120 | 27/120 | 44/120$^{+}$ |
| | (63.3) | (0.8) | (0.8) | (12.5) | (22.5) | (36.7) |
| CTX | 197/261 | 27/261 | 5/261 | 4/261 | 28/261 | 64/261* |
| | (75.5) | (10.3) | (1.9) | (1.5) | (10.7) | (24.5) |

$^{+}$及び*: 非感染対照群と比べてそれぞれ p<0.01 及び p<0.001（連続性の Yates 補正を伴うカイ二乗検定、two-tailed）

CTX：コトリモキサゾール（文献の表 2 を改変引用）

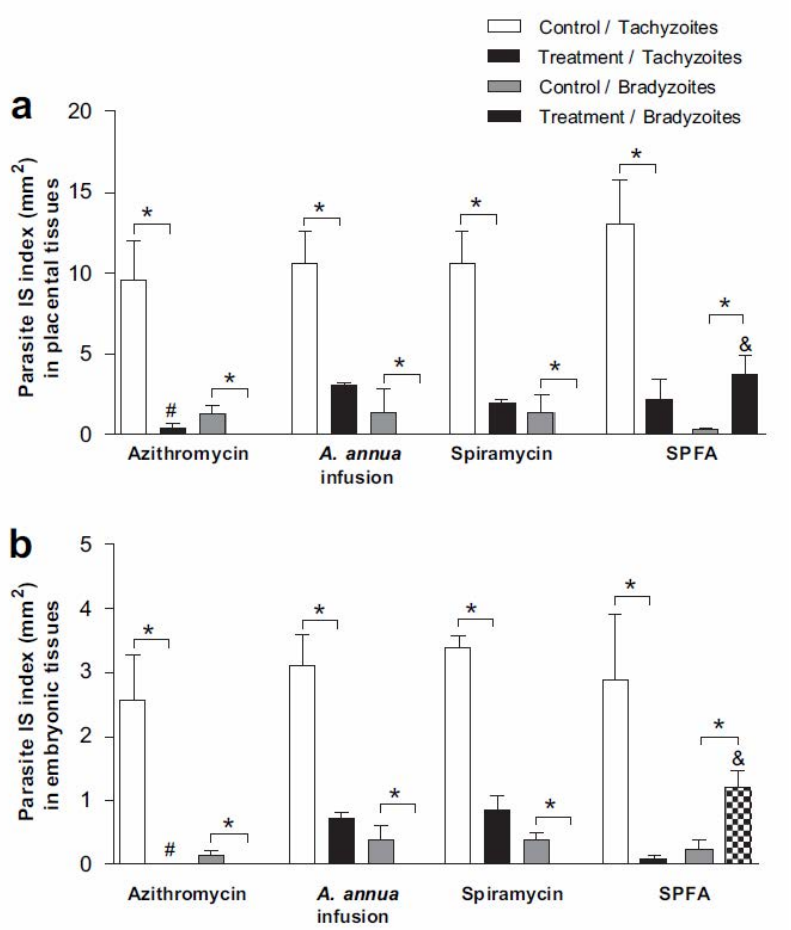
### 2.2.3　トキソプラズマ感染妊娠ブラジルヨルマウスにおける効果

Costa IN ら(2009)(12)

3 ヵ月齢の雌ブラジルヨルマウス（*Calomys callosus*）を雄と交配させ、膣栓が確認された日を妊娠 1 日として、その日にトキソプラズマ ME49 株のシスト（20 個）を経口的に接種した。妊娠 4 日に、スピラマイシンの 0.15 mg を 8 時間ごとに妊娠 15～20 日まで経口投与した。比較対照薬として、スルファジアジン／ピリメタミン／フォリン酸配合薬（SPFA）、クソニンジン（*Artemisia annua* L、抗マラリア薬のアルテミシニン含有）熱水抽出液又はアジスロマイシンを経口投与した。動物は、妊娠 15～20 日に安楽死させ、胎盤及び胚組織を摘出し、組織内のトキソプラズマを、種々の検出法（顕微鏡による形態学的な検出、過免疫ウサギ抗-トキソプラズマ又は抗-BAG5（ブラディゾイト抗原-5）抗体を用いた免疫組織学的検出法、マウスに感染させ抗トキソプラズマ抗体を検出するバイオアッセイ、PCR 法によるトキソプラズマ DNA の検出及び抗-トキソプラズマ IgG 抗体を使った ELISA）により定量した。

妊娠 1 日にトキソプラズマ ME49 株を感染させた雌ブラジルヨルマウスにおいて、スピラマイシンは、妊娠 4 日から妊娠 15～20 日まで 0.15 mg を 1 日 3 回投与したときに、投与最終日に摘出した胎盤及び胚組織中のトキソプラズマのタキゾイト及びブラディゾイトをアジスロマイシンと同様に顕著に低下させた（図 9）。一方で、アジスロマイシンは最終投与日（妊娠 15～20 日）に摘出した胎盤及び胚組織において、免疫組織学的検出、バイオアッセイ及び PCR 法のいずれの方法でもトキソプラズマが検出されなかったのに対して、スピラマイシンではいずれの方法でもトキソプラズマが検出された。

図 9 - トキソプラズマ感染妊娠ブラジルヨルマウスの胎盤及び胚における効果




a：胎盤、b：胚（いずれも mean±SD、n=6）
*：それぞれの対照群のタキゾイト又はブラディゾイト免疫染色指数と比べて p<0.05（ANOVA 及び Bonferroni 多重比較検定又は Student's *t*-検定）
#：他の薬物投与群のタキゾイト免疫染色指数と比べて p<0.05
&：他の薬物投与群のブラディゾイト免疫染色指数と比べて p<0.05
（文献の図 3 を引用）

## 2.2.4　トキソプラズマ感染妊娠アカゲザル及び新生児における効果

Schoondermark-Van de Ven ら(1994a)(13)

妊娠 90 日のアカゲザルにトキソプラズマ RH 株（$5\times10^6$ 個）を静脈内接種し、接種 10、25 及び 40 日に羊水を採取して羊水中のトキソプラズマの有無を、羊水をマウスに接種して感染性をみるバイオアッセイ及びネステッド PCR 法に基づいてトキソプラズマリボソーム DNA 遺伝子が検出されるか否かにより確認した。トキソプラズマが羊水中に検出され胎児感染が確認された時点から、スピラマイ

シンの 20 mg/kg/日を出産（妊娠 160 日で帝王切開それ以前は自然分娩）まで母サルに 1 日 2 回静脈内投与し、出産時点での新生児のトキソプラズマ感染の有無を確認した。

対照感染群 9 例及びスピラマイシン投与群 8 例のうち、胎児への感染が確認されたのはそれぞれ 4 例及び 5 例であった。そのうち出産時点で感染が確認された新生児は、感染対照群で 75%（3/4 例）であったのに対して、スピラマイシン投与群では、0%（0/5 例）であり、出生時まで感染が持続する確率は有意に低かった（表 8）。

**表 8 - スピラマイシン投与群と感染対照群間での出生時まで感染が持続する確率の比較**

| 新生児のトキソプラズマ感染 | 動物数（%） | |
|---|---|---|
| | スピラマイシン投与群 | 感染対照群 |
| あり | 0 (0%) | 3 (75%)* |
| なし | 5 | 1* |
| 総数 | 5 | 4 |

*：スピラマイシン投与群と比べて P=0.048、Fisher's 直接確率検定（文献の表 3 を引用）

## 2.3 作用機序

スピラマイシン等のマクロライドの種々の細菌に対する抗菌活性の標的は、原核細胞のリボソームの 50S サブユニットであり、ペプチド結合の形成の阻害、形成されたペプチドが通過するリボソーム鎖内の転位の阻害、又はリボソームからのペプチジル tRNA の解離の促進を介してタンパク合成を阻害すると考えられている (4), (22)。最近の報告では、マクロライドの全般的な作用機序は、リボソームにおけるタンパク合成の非選択的阻害ではなく、ドナー基質とレシピエント基質との特異的な組み合わせの間でみられるペプチド結合形成の選択的阻害である可能性が考えられている (23)。

一方、トキソプラズマに対するマクロライドの活性を説明する作用機序はいくつかの標的が考えられているものの、明確にはなっていない。

第 1 に、前述したようにマクロライドは、細菌のリボソームと相互作用するが (22)、原虫のリボソームとも同様に相互作用を有する可能性が考えられる。トキソプラズマから抽出した RNA 分画には、細菌とは異なり、24S、19S 及び 4～5S で沈殿する 3 つの主要な RNA 成分があり、その中にマクロライド結合部位の存在が示唆された (9)。しかし、トキソプラズマのマクロライド存在下での培養で作成した耐性株と野生株間で、マクロライドによるリボソームのタンパク合成阻害作用の効力がほぼ同じであったことから、マクロライド耐性化に関与するターゲットは細胞質リボソーム上のタンパク合成に関与する因子ではないことが示唆され (7)（2.4項）、原虫のリボソームとの相互作用を介するタンパク合成抑制作用がマクロライドの作用機序ではない可能性が考えられる。

第2に､マクロライドはミトコンドリアでのタンパク合成に影響を及ぼす可能性が提唱されている。しかし、トキソプラズマの野生株から単離したミトコンドリアの機能は、クリンダマイシン及びアジ

スロマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用の $IC_{50}$ 濃度で実質的に低下しなかった (7)（2.4項）ことから、ミトコンドリアタンパク合成阻害もマクロライドの真の作用機序ではないことが示唆された。

提唱されている第 3 の作用機序は、トキソプラズマが属するアピコンプレクサ属に存在するアピコプラストと呼ばれる細胞小器官（プラスチド）におけるタンパク合成に対する阻害作用である。トキソプラズマ及びその他のアピコンプレクサ属は、第 2 の染色体外ゲノムを有する。最もよく知られているのは、熱帯熱マラリア原虫（*Plasmodium falciparum*）の 35 キロベース（kb）環状ゲノムである (24)。トキソプラズマでも同様の 35-kb ゲノムが同定され (25)、その後、ミトコンドリアゲノムと同様にゲノム中の rRNA 遺伝子が同定されており (7)、そのゲノムによりコードされる、RNA を含有する大小のリボソーム（アピコプラストリボソーム）上で自身のタンパク合成を行うと考えられている。したがって、アピコプラストリボソームは、マクロライドの機能的な標的である可能性がある (26)。実際に、クリンダマイシンや機能的に関連する化合物の処理後最初の作用はプラスチドの複製阻害であり、この細胞小器官が抗原虫薬の効果的な標的であると考えられた (27)。最近では、アピコプラストリボソームのタンパク合成を阻害する低分子化合物が抗トキソプラズマ活性を示すこと、マクロライドもアピコプラスト 50S リボソームサブユニットに結合し抗トキソプラズマ活性を示すことが報告されている (28)。さらに、アジスロマイシン結合細菌リボソームの結晶構造の分子モデルを基にエリスロマイシン A の誘導体を作成し、抗菌活性を変えずに高い抗トキソプラズマ活性を示す化合物を見出している (28)。したがって、アピコプラスト 50S リボソームサブユニットへの結合性と抗トキソプラズマ活性間には構造活性相関が示唆され、アピコプラストがマクロライドの抗トキソプラズマ活性の標的である可能性が示唆された。

また、治療用量の血漿中濃度での活性化 PMN の殺菌活性（スーパーオキサイドアニオン産生）促進作用など、スピラマイシンの免疫系への作用もスピラマイシンの抗トキソプラズマ活性に寄与している可能性が考えられた（3.1項）。

## 2.4　耐性

Pfefferkorn ER ら(1994)(7)

スピラマイシンに耐性のトキソプラズマを *in vitro* で作成するため、ヒト線維芽細胞内で増殖中のトキソプラズマ RH 株を、突然変異誘発性のエチルニトロソ尿素で 4 時間処理し、生存した約 30%の原虫をアジスロマイシン又はスピラマイシンの 100 ng/mL 存在下で 3 日間培養した。培養終了 4 時間前に培養液に加えた[$^3$H]uracil 取り込みを指標にトキソプラズマの増殖を測定した。

その結果、原虫の増殖はほとんど抑制されたが、さらにこれらのマクロライド存在下で培養を続けることにより、アジスロマイシン又はスピラマイシンに耐性のトキソプラズマが出現した。スピラマイシン耐性株（$Spr^R$-1）に対するスピラマイシンの阻害作用（$IC_{50}$）は野生株の約 60 倍であり、アジスロマイシン耐性株（$Azi^R$-1）に対するアジスロマイシンの $IC_{50}$ は、野生株の 40 倍であった（表 9）。また、$Spr^R$-1 はアジスロマイシンに対して、$Azi^R$-1 はスピラマイシンに対してそれぞれ交叉耐性を示

したが、クリンダマイシンに対しては野生株と同程度の感受性を示した。一方、クリンダマイシンに対する耐性株 $Clin^R$-2 は、3 種のマクロライド全てに交差耐性を示した。

**表 9 - マクロライド耐性トキソプラズマの他のマクロライドに対する交差耐性**

| トキソプラズマ | $IC_{50}$ （ng/mL, n=2～3 の平均値）[a] | | |
|---|---|---|---|
| | スピラマイシン | アジスロマイシン | クリンダマイシン |
| 野生株 | 12 | 10 | 0.9 |
| $Spr^R$-1 | 700 | 500 | 1.6 |
| $Azi^R$-1 | 700 | 400 | 1.3 |
| $Clin^R$-2 | 110 | 1200 | 120 |

*a* ：感染及びマクロライド処理 3 日後に測定した。（文献の表 1 を改変引用）

トキソプラズマのマクロライド耐性化の標的を確認するため、リボソームにおけるタンパク合成（$[^3H]$ロイシン取り込みを指標に測定）に対するアジスロマイシン及びクリンダマイシンの阻害作用を野生株とそれぞれの耐性株（$Azi^R$-1 及び $Clin^R$-2）を用いて比較した。その結果、マクロライドの短時間（2 時間）処理によるタンパク合成阻害作用はトキソプラズマ野生株と各マクロライド耐性株とでほぼ同じであった。したがって、アジスロマイシン、クリンダマイシン等のマクロライド耐性化に関与するターゲットは細胞質リボソームにおけるタンパク合成に関わる因子ではないことが示唆される。

# 3　副次的薬理試験

## 3.1　免疫細胞系に及ぼす作用

マクロライドは白血球に浸透し濃縮されることから、それらの細胞の機能に影響を与える可能性がある (17)。スピラマイシンもヒトの肺胞マクロファージ (29)に浸透し血清中の 10～20 倍の濃度になることから、白血球の機能に影響を及ぼすことで抗トキソプラズマ活性に関与する可能性がある。また、有害事象に関与する可能性も考えられた。スピラマイシンの免疫細胞に及ぼす作用をまとめた。一部作用濃度や有意性に違いがあるものの、全体的にみてスピラマイシンのヒト白血球への作用はいずれの試験でも比較対照薬であるエリスロマイシンを主としたマクロライドと同様であった。

### 3.1.1　免疫細胞機能に及ぼす作用

スピラマイシンは *in vitro* でヒト PMN の接着能（5 及び 50 µg/mL）、走化性（0.5 及び 5 µg/mL）及び抗カンジダ（*Candida albicans*）活性（50 µg/mL）を有意に増加させた。一方、50 µg/mL まで貪食能には作用を及ぼさなかった(14)。ヒト PMN の酸化的バーストに対しても、100 µg/mL まで作用を及ぼさなかった(15)が、治療用量の血漿中濃度（約 3 µg/mL）付近で fMLP 又は細菌（黄色ブドウ球菌、$9\times10^7$ 個）刺激によるスーパーオキサイドアニオン産生を増加した(16)。また、スピラマイシン（1～100 µg/mL）は *in vitro* で PHA 刺激及び PWM 刺激ヒト MNL の増殖を濃度依存的に抑制した(17)。スピラマイシン（25 mg/kg を 1 日 2 回 5 日間）投与後にラット血液から単離した PMNL は、*ex vivo* において走化性が約 10%低下した(18)。

### 3.1.2　サイトカイン放出に及ぼす作用

スピラマイシンは 100 µg/mL で LPS 刺激ヒト単球の *in vitro* 培養上清中の IL-1 活性を有意に増加させたが、同じ濃度で単球に細胞毒性を示した(19)。同様の LPS 刺激ヒト単球の *in vitro* 培養において、培養上清中の IL-6 産生を 10 及び 50 µg/mL で濃度依存的に増加させたが、IL-1α、IL-1β 及び TNF-α 産生には影響を及ぼさなかった(20)。

# 4　安全性薬理試験

中枢神経系への影響は検討していないため、カニクイザルの 5 日間静脈内投与毒性試験の一般状態の所見から考察した。また、心血管系及び呼吸系への影響を検討する試験は、安全性薬理試験ガイドライン通知（2001 年）以前の 19[redacted]年に実施されており、非 GLP 試験である。

## 4.1　中枢神経系

カニクイザルの 5 日間静脈内投与毒性試験において、カニクイザル（1 群雌雄各 1～2 例）にスピラマイシン（アジピン酸塩）の 0.12、0.18 及び 0.27 MIU/kg（それぞれ、0.24、0.36 及び 0.54 MIU（= 154.8 mg）/kg/日）を 5 時間間隔で 1 日 2 回、5 日間静脈内投与したときに、一般状態の変化として、スピラマイシン 0.24 MIU（= 68.8 mg）/kg/日以上で流涎、嘔吐発作が、0.54 MIU（= 154.8 mg）/kg/日で筋緊張低下、呼吸困難がみられた（[Module 2.6.6.3.7]）。

## 4.2　心血管系及び呼吸系

[Module 4.2.1.3-1]

### 4.2.1　イヌ

麻酔下のビーグル犬に、スピラマイシン（アジピン酸塩）の 0.025 MIU（= 7.2 mg）/kg（3 例）、0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg（3 例）及び 0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg（4 例）を静脈内持続（2 mL/分で 33～58 分間）投与し、心電図（D2 誘導）、大腿動脈血圧、左心室圧（LVP）及び最大増加速度（dLVP/dt）並びに呼吸数及び呼吸流量を投与 180 分後まで測定した。0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg では、全動物に投与中から投与後 2 時間あるいはそれ以上持続する明らかな血圧（収縮期圧及び拡張期圧）の低下がみられ、dLVP/dt は 4 例とも投与開始後 5 分で上昇した後、1 例は投与終了後 30～60 分まで持続的に上昇、1 例はすぐに投与前のレベルに戻り、2 例は投与開始後 15 分から投与終了後 30～60 分まで顕著に低下（最大約 60%の低下）した。呼吸数及び呼吸流量は全動物で増加した。また、全動物に腫脹及び紅斑様の症状が誘発されたこと、これらの症状及び血圧低下はともに抗ヒスタミン剤プロメタジンの前投与により消失したことから、スピラマイシンによる影響はヒスタミンの関与が示唆された。0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg では、2 例で収縮期圧が上昇した。

### 4.2.2　サル

イヌと同様の試験を実施した。麻酔下のアカゲザルに、スピラマイシン（アジピン酸塩）の 0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg（雌 2 例）及び 0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg（雌雄各 2 例）を静脈内持続投与し、各パラメータを測定した。0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg では、雄の 1 例で投与終了後に血圧が軽度低下した。雌の 2 例では、ともに投与中から持続的に血圧が上昇し、心拍数及び dLVP/dt も上昇、また、持続投

与中に呼吸困難期が観察された。0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg では、雌の 2 例でともに軽度の血圧上昇がみられるとともに、1 例で心拍数及び dLVP/dt の上昇、もう 1 例で呼吸数及び呼吸流量の一過性の低下がみられた。

## 4.3　自律神経系

[Module 4.2.1.3-1]

麻酔下のイヌ（雄 2 例、雌 1 例）に以下の自律神経系刺激を与えた後、スピラマイシン（アジピン酸塩）の 0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg を静脈内持続投与したときに、アセチルコリン静脈内投与又は迷走神経電気刺激後の低血圧（副交感神経系経由）及び起立性反射、総頸動脈両側閉塞又はノルアドレナリン静脈内投与後の高血圧（交感神経系経由）のいずれに対しても影響を及ぼさなかった。

# 5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施されていない。

# 6　考察及び結論

（1）薬理試験

1）薬理作用

ヒト由来 HeLa 細胞若しくは線維芽細胞を用いた試験では、スピラマイシンのトキソプラズマ増殖抑制作用には時間依存性がみられた（2.1項）。スピラマイシンは、1 日処理では非常に弱い作用しか示さなかったが、4 日若しくは 7 日以上の処理では 5 µg/mL 以下でも増殖抑制作用を示した。ヒト線維芽細胞株 MRC5 を用いた試験では、4 日間処理では低濃度で増殖抑制作用が認められ、その $IC_{50}$ は 40 ng/mL であった。（2.1.3項）。スピラマイシンはサル由来細胞を用いた試験においても、時間依存性のトキソプラズマ増殖抑制作用を示した（2.1.5項）。

*In vitro* においてスピラマイシンが 1 日程度の処理時間により抗トキソプラズマ活性を発揮する濃度は、*in vivo* での血中濃度（例えばヒトで 1～3.5 µg/mL (6)）より高く、さらに血中から高濃度に移行することで血中濃度より高くなる細胞内や組織中の濃度よりも高かった (4)。しかし、*in vivo* での投与ではトキソプラズマは長期間にわたってスピラマイシンに曝露されるため、生体内での抗トキソプラズマ活性は、1 日程度の短時間処理による *in vitro* での抗トキソプラズマ活性ではなく 4～7 日間以上の処理による低濃度の抗トキソプラズマ活性に近いことが推定された。

*In vivo* 試験では、マウスの急性及び慢性トキソプラズマ感染モデルにおいて、スピラマイシンはマウスの生存率等を高め、脳内シスト数を顕著に低下させた（2.2.1項）。トキソプラズマ感染妊娠マウスにおいては、スピラマイシンの妊娠マウスへの投与により、出産したマウス数や産児数、新生児体重や出生 5 ヵ月後の生存率が感染対照群より増加し、出生 5 ヵ月後の抗トキソプラズマ抗体陽性子マウス数は低下した（2.2.2項）。トキソプラズマ感染妊娠ブラジルヨルマウスにおいても、スピラマイシンは胎盤及び胚組織中のトキソプラズマのタキゾイト及びブラディゾイトをアジスロマイシンと同様に顕著に低下させた（2.2.3項）。トキソプラズマ感染妊娠サルにおいても、胎児への感染の確認後から出産までの母サルへのスピラマイシンの投与により、出産時に感染した出生児は 5 例中 0 例であった（2.2.4項）。以上のことから、スピラマイシンは *in vivo* トキソプラズマ感染モデルにおいて抗トキソプラズマ活性を示し､感染妊娠個体への投与により､胎児への感染を抑制することが示唆された。マウスの試験では、スピラマイシンは経餌投与（2.2.1項）又は飲水投与（2.2.2項）であるため、投与時の薬剤曝露量をヒトでの曝露量と比較することは難しい。一方、アカゲザルでは、20 mg/kg/日の 1 日 2 回静脈内投与で抗トキソプラズマ活性を示しており、それに近い用量（約 16.7 mg/kg/日）を妊娠アカゲザルに 1 日 2 回 24 日間静脈内投与し、25 日目に約 8.3 mg/kg を静脈内投与したときの定常状態での血清中スピラマイシン濃度は $C_{max}$ で約 1.6 µg/mL、トラフ値で 0.24 µg/mL であった（n=1） (30)。一方､若年被験者に 0.5 g を 1 日 3 回反復静脈内投与したときの最終投与後のスピラマイシンの血清中濃度は $C_{max}$ で 3.10 µg/mL、$C_{min}$ で 0.37µg/mL（各 10 例の平均値）であり (31)、トキソプラズマ感染者への治療目的で投与したときに通常得られる血清濃度は 3.0～3.5 µg/mL であった (30)。したがって、

アカゲザルの母子においてトキソプラズマ感染に対する有効性が得られた用量におけるスピラマイシンの血清中濃度はヒトへの投与で十分得られる濃度であり、この動物データは、ヒトへの有効性が期待できる根拠になると考えられる。

2）作用機序

スピラマイシンを含めたマクロライドの作用機序は明らかになっていない。考えられる機序としては、抗菌活性と同様のリボソームのタンパク合成阻害又はミトコンドリアでのタンパク合成阻害であるが、前者に関しては耐性株を用いた検討等において、抗トキソプラズマ活性と必ずしも一致しなかったこと、後者に関しては抗トキソプラズマ活性を示す濃度でミトコンドリア機能に影響を及ぼさないことから、これらがマクロライドの作用機序である可能性は低いと考えられる。最近考えられている機序は、トキソプラズマに特異的に存在する細胞小器官であるアピコプラストにおけるタンパク合成阻害作用である。エリスロマイシン A の誘導体を用いた試験において、アピコプラスト 50S リボソームサブユニットへの結合性と抗トキソプラズマ活性間に構造活性相関があることが示唆されており(28)、アピコプラストがマクロライドの抗トキソプラズマ活性の標的であることが推察される。また、スピラマイシンは、白血球の殺菌活性の増強作用など、リボソームを介さない二次的な機序を介して抗トキソプラズマ活性を発揮する可能性も考えられる。

3）耐性

ヒト線維芽細胞内で増殖中のトキソプラズマを突然変異誘発剤であるエチルニトロソ尿素で処理し、生存した原虫をスピラマイシン存在下で培養した結果、*in vitro* においてスピラマイシン耐性のトキソプラズマが出現した（2.4項）。このスピラマイシン耐性株はアジスロマイシンに対して交差耐性を示し、クリンダマイシンに対しては野生株と同様の感受性を示した。

（2）副次的薬理試験

スピラマイシンは *in vitro* 若しくは *ex vivo* でヒト白血球の機能に作用を示した。また、スピラマイシンは *in vitro* でヒト単球のサイトカイン産生にも作用を示した。これらの作用は、一部作用濃度や有意性に違いがあるものの、全体的にみてスピラマイシンのヒト白血球への作用はいずれの試験でも比較対照薬であるエリスロマイシンを主としたマクロライドと同様であった。

（3）安全性薬理試験

中枢神経系に関して、カニクイザルの 5 日間静脈内投与毒性試験において、一般状態の変化として 0.24 MIU（= 68.8 mg ）/kg/日（0.12 MIU/kg、1 日 2 回）以上で流涎、嘔吐発作が、0.54 MIU（= 154.8 mg ）/kg/日（0.27 MIU/kg、1 日 2 回）で筋緊張低下、呼吸困難がみられた。スピラマイシンはカニクイザルにおいて脳内に移行しないことが示されており (13)、これらの変化は、中枢神経系への直接作用ではないと考えられた。

心血管系及び呼吸系に関して、麻酔イヌへの 0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg（4 例）の静脈内持続投与により、血圧の低下（4 例）、dLVP/dt の変化（1 例で上昇、2 例で低下）並びに呼吸数及び呼吸流量が増加（4 例）した。血圧の変化は抗ヒスタミン剤で消失したことから、ヒスタミンの関与が示唆された。また、0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg（3 例）では 2 例で収縮期圧が上昇した。麻酔サルへの 0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg（雌雄各 2 例）の静脈内持続投与により、雄の 1 例に軽度の血圧低下、雌の 2 例に血圧、心拍数及び dLVP/dt の上昇、投与中に呼吸困難期が観察されたが、主要な変化は動脈圧の軽度の変化であった。0.125 MIU（= 35.8 mg）/kg（雌 2 例）では全例に軽度の血圧上昇、1 例で心拍数、dLVP/dt の上昇、別の 1 例で呼吸数、呼吸流量の一過性の低下がみられた。

0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg の約 1/8 の用量である約 8.3 mg/kg をサルに反復静脈内投与したときの $C_{max}$ は約 1.6 µg/mL であり (30)、若年被験者に 0.5 g を反復静脈内投与したときの $C_{max}$（3.10 µg/mL） (31) の約 1/2 である。したがって、サルへの 0.25 MIU（= 71.6 mg）/kg 投与はヒトの数倍の用量であると考えられるが、スピラマイシンは既に海外で多くの患者に投与されており、サルで認められた血圧変動等に関する安全性上の懸念は認められていない（[Module 1.6 CCSI]参照）。

# 7　図表

図表は本文中に提示した。

# 参 考 文 献

1. Robert-Gangneux F, Darde ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. Clinical Microbiology Reviews. 2012;25 (2):264-96.
2. 産婦人科診療ガイドライン 産科編 2017: 日本産科婦人科学会／日本産婦人科医会編集・監修. 2017:345-9.
3. 矢野明彦; 先天性トキソプラズマ症. 矢野明彦編. 日本におけるトキソプラズマ症. 福岡: 九州大学出版会. 2007:25-67.
4. Labro MT. Pharmacology of spiramycin a comparison with other macrolides. Drug Invest. 1993;6 (Suppl. 1):15-28.
5. Montoya JG, Remington JS. Management of Toxoplasma gondii infection during pregnancy. Clin Infect Dis. 2008;47:554-66.
6. Derouin F, Chastang C. Enzyme immunoassay to assess effect of antimicrobial agents on Toxoplasma gondii in tissue culture. Antimicrob Agents Chemother 1988;32 (3):303-7.
7. Pfefferkorn ER, Borotz SE. Comparison of mutants of Toxoplasma gondii selected for resistance to azithromycin, spiramycin, or clindamycin. Antimicrob Agents Chemother.1994;38 (1):31-7.
8. Franco PS, Gomes AO, Barbosa BF, Angeloni MB, Silva NM, Teixeira-Carvalho A, et al. Azithromycin and spiramycin induce anti-inflammatory response in human trophoblastic (BeWo) cells infected by Toxoplasma gondii but are able to control infection. Placenta. 2011;32:838-44.
9. Chang HR, Pechre JCF. In vitro effects of four macrolides (roxithromycin, spiramycin, azithromycin [CP-62,993], and A-56268) on Toxoplasma gondii. Antimicrob Agents Chemother. 1988;32 (4):524-9.
10. Grujic J, Djurkovic-Djakovic O, Nikolic A, Klun I, Bobic B. Effectiveness of spiramycin in murine models of acute and chronic toxoplasmosis. Int J Antimicrob Agents. 2005;25:226-30.
11. Nguyen BT, Stadtsbaeder S. Comparative effects of cotrimoxazole (trimethoprim-sulphamethoxazole) and spiramycin in pregnant mice infected with Toxoplasma gondii (Beverley strain). Brit J Pharmacol. 1985;85:713-6.
12. Costa IN, Angeloni MB, Santana LA, Barbosa BF, Silva MCP, Rodrigues AA, et al. Azithromycin inhibits vertical transmission of Toxoplasma gondii in Calomys callosus (Rodentia: Cricetidae). Placenta. 2009;30:884-90.
13. Schoondermark-Van de Ven E, Melchers W, Camps W, Eskes T, Meuwissen J, Galama J. Effectiveness of spiramycin for treatment of congenital Toxoplasma gondii infection in rhesus monkeys. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(9):1930-6.

14. Prieto-Prieto J, Minguez F, Ortega P, Corrales I, Ledesma V. Comparative study of the effects of roxithromycin and other macrolides on polymorphonuclear white cells in vitro. Brit J Clin Pract. 1988; 42 (Suppl. 55):38-9.
15. Labro MT, Benna JE, Babin-Chevaye C. Comparison of the in-vitro effect of several macrolides on the oxidative burst of human neurophils. J Antimicrob Chemother. 1989;24:561-72.
16. Moutard I, Gressier B, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Templier F, et al. In vitro interaction between spiramycin and polymorphonuclear neutrophils oxidative metabolism. Pharmacol Res. 1998;37 (3):197-201.
17. Roche Y, Gougerot-Pocidalo MA, Fay M, Forest N, Pocidalo JJ. Macrolides and immunity: effects of erythromycin and spiramycin on human mononuclear cell proliferation. J Antimicrob Chemother. 1986;17:195-203.
18. Eyraud A, Descotes J, Lombard JY, Laschi-Loquerie A, Tachon P, Veysseyre C, et al. Effects of erythromycin, josamycin and spiramycin on rat polymorphonuclear leukocyte chemotaxis. Chemother. 1986;32:379-82.
19. Roche Y, Fay M, Gougerot-Pocidalo MA. Interleukin-1 production by antibiotic-treated human monocytes. J Antimicrob Chemother. 1988; 21: 597-607.
20. Bailly S, Pocidalo JJ, Fay M, Gougerot-Pocidalo M-A. Differential modulation of cytokine production by macrolides: interleukin-6 production is increased by spiramycin and erythromycin. Antimicrob Agents Chemother. 1991;35(10):2016-9.
21. Ferro EAV, Bevilacqua E, Favoreto-Junior S, Silva DAO, Mortara RA, Mineo JR. Callomys callosus (Rodentia: Cricetidae) trophoblast cells as host cells to Toxoplasma gondii in early pregnancy. Parasitol Res 1999;85:647-54.
22. Brisson-Noël A, Trieu-Cuot P, Courvalin P. Mechanism of action of spiramycin and other macrolides. J Antimicrob Chemother. 1988;22(Suppl B):13-23.
23. Kannan K, Kanabar P, Schryer D, Florin T, Oh E, Bahroos N, et al. The general mode of translation inhibition by macrolide antibiotics. Proc Natl Acad Sci USA. 2014;111(45): 15958-63.
24. Wilson RJM, Gardner MJ, Feagin JE, Williamson DH. Have malaria parasites three genomes? Parasitol Today.1991;7(6):134-6.
25. Borst P, Overdulve JP, Weijers PJ, Fase-Fowler F, Van den Berg M. DNA circles with cruciforms from Isospora (Toxoplasma) gondii. Biochim Biophys Acta. 1984;781:100-11.
26. Beckers CJM, Roos DS, Donald RGK, Luft BJ, Schwab JC, Cao Y, et al. Inhibition of cytoplasmic and organellar protein synthesis in Toxoplasma gondii. Implications for the Target of Macrolide antibiotics. J Clin Invest. 1995;95:367-76.
27. Fichera ME, Roos DS. A plastid organelle as a drug target in apicomplexan parasites. Nature. 1997;390(6658):407-9.
28. Lee Y, Choi JY, Fu H, Harvey C, Ravindran S, Roush WR, et al. Chemistry and biology of macrolide antiparasitic agents. J Med Chem. 2011;54:2792-804.

29. Brook I. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of spiramycin and their clinical significance. Clin Pharmacokinet. 1998;34(4):303-10.
30. Schoondermark-Van de Ven E, Galama J, Camps W, Vree T, Russel F, Meuwissen J, et al. Pharmacokinetics of spiramycin in the rhesus monkey: transplacental passage and distribution in tissue in the fetus. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(9):1922-9.
31. Frydman AM, Le Roux Y, Desnottes JF, Kaplan P, Djebbar F, Cournot A, et al. Pharmacokinetics of spiramycin in man. J Antimicrob Chemother. 1988;22 (Suppl B):93-103.

サノフィ株式会社

# スピラマイシン錠 150 万単位「サノフィ」

## CTD 第二部 ー 非臨床概要

## 2.6.3 薬理試験概要表

---

Total number of pages: 10

# 目　　次

**表　目　次** ..... 3

**略号と用語の定義** ..... 4

**1　　薬理試験一覧表** ..... 5

**2　　効力を裏付ける試験** ..... 7

**3　　副次的薬理試験** ..... 8

**4　　安全性薬理試験** ..... 9

**5　　薬力学的薬物相互作用試験** ..... 10

# 表　目　次

表 2.6.3.1 - 試験一覧表 ..... 5
表 2.6.3.4.1 - 安全性薬理試験 ..... 9

# 略号と用語の定義

| 略語 | 定義 |
|---|---|
| GLP | Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準） |
| IL-1 | Interleukin-1（インターロイキン-1） |
| IU | International Unit（国際単位） |
| LVP | Left ventricular pressure（左心室圧） |
| MNL | Mononuclear leukocyte（単核白血球） |
| PMN 又は PMNL | Polymorphonuclear leukocyte（多形核白血球、そのほとんどは好中球） |

# 1　薬理試験一覧表

表 2.6.3.1 - 試験一覧表

被験物質：スピラマイシン

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 試験番号／文献名 | 記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1.1 効力を裏付ける試験 | | | | | |
| *T. gondii* 感染ヒト HeLa 細胞株における抗トキソプラズマ活性 | ヒト子宮頸がん由来細胞株 | *In vitro* | Rhône-Poulenc, Antony（フランス） | IBP/AN+BIOL643 | 4.2.1.1-1 |
| *T. gondii* 感染ヒト線維芽細胞株における抗トキソプラズマ活性 | ヒト線維芽細胞株 | *In vitro* | 不明 | Antimicrob Agents Chemother. 1988;32:303-7 | 4.3 |
| *T. gondii* 感染ヒト線維芽細胞における抗トキソプラズマ活性の時間依存性 | ヒト線維芽細胞株 | *In vitro* | 不明 | Antimicrob Agents Chemother.1994;38:31-7 | 4.3 |
| ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株を用いた *in vitro T. gondii* 感染モデルにおける抗トキソプラズマ活性 | ヒト胎盤栄養芽細胞由来細胞株 | *In vitro* | 不明 | Placenta. 2011;32:838-44 | 4.3 |
| *T. gondii* 感染サル VERO 細胞株における抗トキソプラズマ活性 | サル腎臓由来細胞株 | *In vitro* | Rhône-Poulenc, Antony（フランス） | IBP/AN+BIOL842 | 4.2.1.1-2 |
| *T. gondii* 感染マウスマクロファージにおける抗トキソプラズマ活性 | マウスマクロファージ | *In vitro* | 不明 | Antimicrob Agents Chemother. 1988;32:524-9 | 4.3 |
| *T. gondii* 感染マウスにおける抗トキソプラズマ活性 | マウス | 経餌 | 不明 | Int J Antimicrob Agents. 2005;25:226-30 | 4.3 |
| *T. gondii* 感染妊娠マウス及び新生児における抗トキソプラズマ活性 | マウス | 飲水 | 不明 | Brit J Pharmacol. 1985;85:713-6 | 4.3 |
| *T. gondii* 感染妊娠ブラジルヨルマウスにおける抗トキソプラズマ活性 | ブラジルヨルマウス | 経口投与 | 不明 | Placenta 2009;30:884-90 | 4.3 |

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 試験番号／文献名 | 記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|
| *T. gondii* 感染妊娠アカゲザル及び新生児における抗トキソプラズマ活性 | アカゲザル | 静脈内投与 | 不明 | Antimicrob Agents Chemother. 1994;38:1930-6 | 4.3 |
| スピラマイシン耐性株の交差耐性 | ヒト線維芽細胞株 | *In vitro* | 不明 | Antimicrob Agents Chemother.1994;38:31-7 | 4.3 |
| 1.2 副次的薬理試験 | | | | | |
| ヒト PMN 機能に及ぼす作用 | ヒト PMN | *In vitro* | 不明 | Br J Clin Pract. 1988;42 (Suppl. 55):38-9 | 4.3 |
| ヒト PMN の酸化的バーストに及ぼす作用 | ヒト PMN | *In vitro* | 不明 | J Antimicrob. Chemother. 1989;24:561-72 | 4.3 |
| 活性化ヒト PMN の殺菌活性（スーパーオキサイドアニオン産生）に及ぼす作用 | ヒト PMN | *In vitro* | 不明 | Pharmacol Res. 1998;37:197-201 | 4.3 |
| ヒト MNL 増殖に及ぼす作用 | ヒト MNL | *In vitro* | 不明 | J Antimicrob Chemother. 1986;17:195-203 | 4.3 |
| ラット PMNL の走化性に及ぼす作用 | ラット PMNL | *Ex vivo* | 不明 | Chemother. 1986;32:379-82 | 4.3 |
| ヒト単球 IL-1 放出に及ぼす作用 | ヒト単球 | *In vitro* | 不明 | J Antimicrob Chemother. 1988; 21: 597-607 | 4.3 |
| ヒト単球からのサイトカイン放出に及ぼす作用 | ヒト単球 | *In vitro* | 不明 | Antimicrob Agents Chemother. 1991;35: 2016-9 | 4.3 |
| 1.4 安全性薬理試験 | | | | | |
| 中枢神経系 | （サルの毒性試験データを基に考察） | | | | |
| 心血管系及び呼吸系 | 麻酔イヌ、麻酔サル | 静脈内投与 | [redacted]（フランス） | ST/CRV/Biol. No. 7, ST/DMS/ERI ref. DN90.1 | 4.2.1.3-1 |
| 自律神経系 | 麻酔イヌ | 静脈内投与 | [redacted]（フランス） | ST/CRV/Biol. No. 7, ST/DMS/ERI ref. DN90.1 | 4.2.1.3-1 |

# 2　効力を裏付ける試験

試験結果は Module 2.6.2 に記載した。

# 3　副次的薬理試験

試験結果は Module 2.6.2 に記載した。

# 4　安全性薬理試験

表 2.6.3.4.1 - 安全性薬理試験

被験物質：スピラマイシン

| 評価対象となる組織 | 動物種/系統 | 投与方法 | 投与量 MIU/kg (mg/kg) | 性別及び動物群/群 | 特記すべき所見 | GLP適用 | 試験番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 中枢神経系 | （サルの毒性試験データを元に考察） | | | | | | |
| 心血管・呼吸系 | 麻酔イヌ（ビーグル） | 静脈内持続投与 | 0.025, 0.125, 0.25 (7.2, 35.8, 71.6) | 雌雄無作為 3, 3, 4 | 0.025: 影響なし<br>0.125: 収縮期圧上昇(2)<br>0.25: 持続的血圧 低下(4), dLVP/dt の持続的上昇(1), 一過性の上昇(1)及び一過性の上昇後顕著な低下(2), 呼吸数, 呼吸流量の増加(4), 腫脹及び紅斑様の症状(4) | 非適 | ST/CRV/Biol. No. 7, ST/DMS/ERI ref. DN90. 1 |
| 心血管・呼吸系 | 麻酔サル（アカゲ） | 静脈内持続投与 | 0.125, 0.25 (35.8, 71.6) | 2(雌), 4(雌雄各2) | 0.125: 軽度の血圧上昇 (2), 心拍数及び dLVP/dt の上昇(1), 呼吸数及び呼吸流量の一過性の低下(1)<br>0.25: 軽度の血圧低下(雄 1), 血圧, 心拍数, dLVP/dt 上昇, 投与中に呼吸困難期あり(雌 2) | | |
| 自律神経系 | 麻酔イヌ（ビーグル） | 静脈内持続投与 | 0.125 (35.8) | 雄 2, 雌 1 | アセチルコリン又は迷走神経刺激誘発の低血圧及び起立性反射、総頸動脈両側閉塞又はノルアドレナリン誘発の高血圧に対して影響なし | | |

# 5　薬力学的薬物相互作用試験

該当なし