

2. チルミコシンについて

中 元 弘 次 (塩野義製薬株式会社
動物薬品開発部)

1. 開発の経緯

チルミコシン (TMS) は動物専用の新しいマクロライド系の抗生物質である。本抗生物質は、すでに動物用医薬品として汎用されているタイロシンの C-20 位のアルデヒド基を還元的にアミノ化することにより本来マクロライド系抗生物質が有する抗菌スペクトラム (*Mycoplasma* および各種グラム陽性菌) に加えて *Actinobacillus pleuropneumoniae* および *Pasteurella multocida* にも強い活性を有する誘導体として発見されたものである。

豚の肺炎の原因菌として *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* および *P. multocida* が複合して感染することはよく知られている。

したがって、肺炎の治療剤としては、これら 3 種の細菌に抗菌力を有することが望まれる。

塩野義製薬 (株) では、TMS のリン酸塩であるリン酸チルミコシンの飼料添加剤について豚肺炎の治療剤として開発を進め、動物用プルモチル® プレミックスとして製品化に至ったものである。

2. 物理化学的性状

チルミコシンの化学構造式は図 1 のとおりである。また分子式は $C_{46}H_{80}N_2O_{13}$ 、分子量は 869.15 である。

〈安定性〉

動物用プルモチルプレミックス-10 [1 kg 中リン酸チルミコシン 10 g (力価) を含有する製剤] をポリエチレン内装クラフト紙袋に包装し、室温で 27 ヶ月保存した時、力価およびその他の試験項

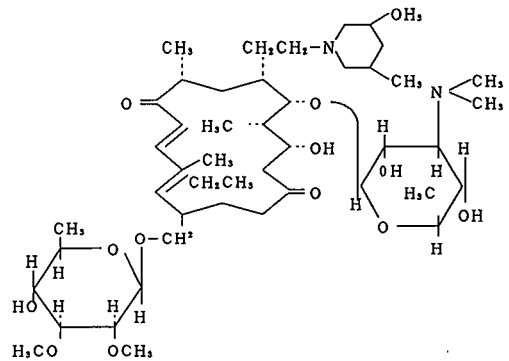


図 1 チルミコシンの化学構造式

目についてほとんど変化は認められず、安定であった。(日高哲郎ら；社内資料, 1993)

3. 毒性

1) 急性毒性

マウスおよびラットを用いた急性毒性試験の結果 (LD₅₀値) は表 1 のとおりであった。

2) 亜急性および慢性毒性

ラットを用いた 4 週間連続経口投与および 3 ヶ月間連続経口投与における無毒性量は、それぞれ

表 1 チルミコシンの急性毒性 (LD₅₀)
[mg (力価)/kg]

動物\投与経路	経口	皮下	腹腔内	
マウス	雄	>644	73	70
	雌	>644	54	60
ラット	雄	>644	91	77
	雌	>644	100	80

(注) 未発表：山本譲ら (畜安研)

32 mg(力価)/kg, 50 mg(力価)/kgであった。(伊藤義彦ら; 畜安研, 1991, W. H. Jordan ら; イーライリリー社, 1988, 以上, いずれも未発表)

3) 特殊毒性

復帰変異試験, 染色体異常試験の結果, 変異原性は認められなかった。

またラット, ウサギでの試験で催奇形性は認められなかった。(小熊義宏ら; ピー・エム・エル, 1992, 野田篤ら; 畜安研, 1991, W. H. Jordan ら; イーライリリー社, 1987, 野田篤ら; 畜安研, 1993, 以上, いずれも未発表)

4. 安全性

豚にチルミコシンとして 200 ppm (常用最高量), 400 ppm (2 倍量) および 2,000 ppm (10 倍量) の濃度に添加した飼料を 7 日間連続投与し, その安全性を調べた。その結果 2,000 ppm の投与でも一般症状, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 剖検所見, 臓器重量, 病理組織学的検査では, チルミコシン投与に起因すると思われる変化は認められなかった。(中村實ら; 畜安研, 1992)

5. 吸収・分布

体重約 15 kg の豚 3 頭にチルミコシンとして 50 mg (力価)/kg を単回強制経口投与した時の血中濃度の推移を図 2 に示す。血中濃度は経時的に上昇し, 投与後 2 時間目に平均 1.88 μg (力価)/g とピークに達した後, 初期には急速に, 8 時間目以降は徐々に減少したが, 投与後 24 時間目でも平均 0.09 μg (力価)/g が検出された。

本データを基に算出した薬物動態学的パラメーターは, AUC が 12.22 μg (力価) $\cdot\text{hr/g}$, C_{max} が 1.88 μg (力価)/g, T_{max} が 2.0 hr および $T_{1/2}$ は 2.30 hr であった。

また, 体重約 30 kg の豚にチルミコシンを 200 ppm 添加した飼料を与え, 給与開始後 2, 4, 7, 10, 14 日目に 4 頭ずつと殺し, 肺組織中濃度を測定した結果を図 3 に示す。肺組織中濃度は 2 日目から 4 日目にかけて有意に上昇したが, その後,

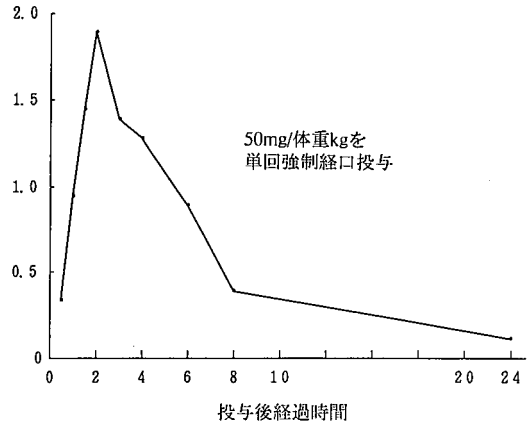


図 2 豚におけるチルミコシン血中濃度の経時的推移

(注) 未発表: 岡田真理子ら (畜安研)

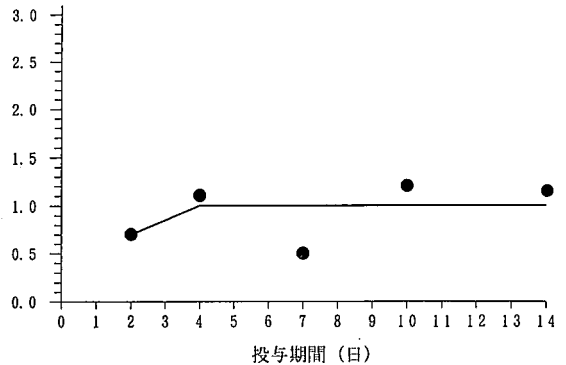


図 3 豚に飼料添加 (200 ppm) 投与時の肺組織中濃度

(注) 未発表: T. D. Thompson ら (イーライリリー社)

表 2 豚におけるチルミコシンの組織内分布 ($\mu\text{g/g, ml}$)

試料	組織内濃度	試料	組織内濃度
血漿	1.27	脾臓	38.65
筋肉	1.09	心臓	8.30
脂肪	0.68	気管	3.65
肝臓	55.21	肺	10.18
腎臓	50.88	胃	41.50
小腸	23.03	胆汁	224.18

50mg/体重 kg を単回強制経口投与後 2 時間目に採材

(注) 未発表: 岡田真理子ら (畜安研)

ほぼ同等の濃度で推移した。

体重約 15 kg の豚 3 頭にチルミコシンとして

50 mg (力価)/kg を単回強制経口投与後 2 時間目に殺処分し、各組織内濃度を測定した (表 2)。本剤が効能を示す肺炎の標的組織である肺組織中濃度は 10.18 μg (力価)/g で、血中濃度と比べると約 8 倍高い濃度を示した。

6. 抗菌活性

1) 抗菌スペクトラム

各種家畜病原細菌のチルミコシンに対する試験管内感受性を表 3 に示す。チルミコシンの *in vitro* 抗菌活性は主に特定のグラム陰性菌, グラム陽性菌, 嫌気性菌およびマイコプラズマに対するものであった。

さらに、チルミコシンは *A. pleuropneumoniae* に対しても抗菌活性を示しており、これは従来のマクロライド系抗生物質にはみられない特性である。

2) 肺炎豚由来 *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* および *P. multocida* に対する抗菌活性

野外の肺炎豚より分離した *M. hyopneumoniae* 25 株, *A. pleuropneumoniae* 35 株, *P. multocida* 61 株についてチルミコシンに対する感受性を調べた。チルミコシンは、肺炎由来の上記 3 菌種のいずれに対しても抗菌活性を示した (表 4)。

7. 生体内効力試験

A. pleuropneumoniae の実験感染 (実験的胸膜肺炎) に対するチルミコシンの 25, 50, 100, 200 各 ppm 投与後における効果を調べた。成績は表 5 のとおりで、チルミコシンの飼料中 50 ppm 以上の投薬で有効であった。

表 3 チルミコシンの抗菌スペクトラム

Microorganisms	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ^a	Microorganisms	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.78	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1.56
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3.12	<i>Pasteurella multocida</i>	6.25
<i>S. suis</i>	3.12	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	12.50
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	0.195	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	0.78
<i>Actinomyces pyogenes</i>	0.024	<i>M. hyorhinis</i>	12.50
<i>Clostridium perfringens</i>	3.12	<i>M. gallisepticum</i>	0.048
<i>C. sordellii</i>	3.12	<i>M. dispar</i>	0.097
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	3.12	<i>M. alkalescens</i>	0.048
<i>Treponema hyodysenteriae</i>	>50.00	<i>M. bovirhinis</i>	0.024
<i>Escherichia coli</i>	50.00	<i>M. bovoculi</i>	0.048
<i>Salmonella typhimurium</i>	>50.00	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	0.024
<i>S. choleraesuis</i>	>50.00	<i>A. modicum</i>	0.048

^a: 調査した菌株のうち最も多い分布を示した MIC を示す
E. E. Ose; J. Antibiotics, 40, 190-194, (1987)

表 4 野外から分離された *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* および *P. multocida* に対するチルミコシンの MIC 分布

菌種	供試菌種	最小発育阻止濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)											
		≤ 0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	≥ 25	
<i>M. hyopneumoniae</i>	25	7		8	2	8							
<i>A. pleuropneumoniae</i>	35						1	22	10				2
<i>P. multocida</i>	61			1		1	1	6	29	12	9		2

(注) 未発表: 稲本民夫ら (東北大学)

表 5 実験的胸膜肺炎に対するチルミコシンの効果

飼料中濃度	供試頭数	臨床症状スコア値	肺病変				菌分離	
			-	+	++	+++	肺病変部	気管支周囲リンパ節
0	5	37.0	0	0	2	3	5/5	5/5
25 ppm	5	33.2	0	0	3	2	5/5	5/5
50 ppm	5	8.0	2	1	2	0	3/5	0/5
100 ppm	5	2.6	2	3	0	0	1/5	0/5
200 ppm	5	1.0	2	3	0	0	0/5	0/5

- ・10週齢の豚を用い攻撃株として *A. pleuropneumoniae* II型 SpH-I株 (TMSのMICは6.25 µg/mg)を1頭当たり 2×10^8 CFU/ml 鼻腔内接種した。
 - ・TMSの投薬は攻撃2日前から9日間投薬した。(攻撃後7日目に剖検)
 - ・臨床症状は1頭当たりの平均スコアの7日間の合計値(スコアの算出法は本文参照)
- (注) 未発表: 中西信夫ら(京動検)

8. 臨床応用

1) 京都府下養豚場での試験例

<試験方法>

供試豚: 体重約30~35 kgの豚で、臨床症状(腹式呼吸, 異常姿勢, 元気や食欲の喪失, 発咳など)から肺炎症状が見られ, 剖検所見, 細菌分離から *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* および *P. multocida* が関与することが確認された豚群から1区20頭ずつを供試した。

試験区: 無投薬区, TMS 50 ppm区, TMS 100 ppm区, TMS 200 ppm区

投薬: 飼料添加で7日間投薬

観察:

(1) 臨床症状

臨床症状は次に示す基準に従ってスコア化し, スコアは-: 0, +: 1 および ++: 2 として数値化し, 合計スコア値を算出した。

項目/指数	0	1	2
元気	-: 正常	+: 倦怠	++: 沈鬱
食欲	-: 正常	+: 不振	++: 廃絶
呼吸	-: 正常	+: 軽度腹式呼吸	++: 重度腹式呼吸
発咳	-: 無し	+: 軽度	++: 重度
姿勢	-: 正常	+: 犬座・腹臥	
発熱	-: 正常	+: 発熱	
	(40°C未満)	(40°C以上)	

(注)・死亡例には最高スコア値(10)を与えた。・体温は毎日測定した。

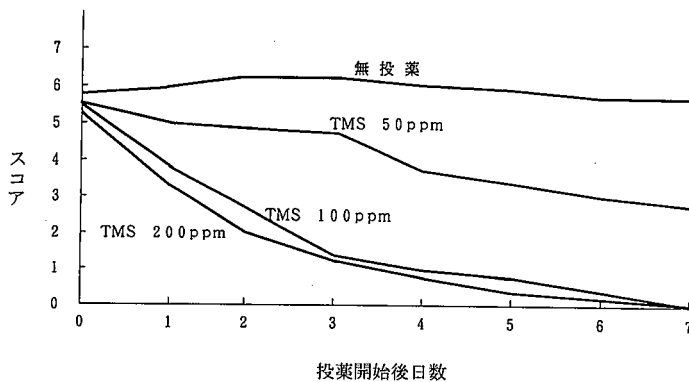


図 4 野外応用試験における臨床スコア

(注) 実験条件等は本文参照。未発表: 中西信夫ら(京動検)

(2) 増体重, 飼料要求率

投薬期間中(7日間)について測定

(3) 肺病変からの菌分離

投薬終了後(7日間)に殺処分し, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* および *P. multocida* を分離

〈試験結果〉

臨床スコア: 投薬開始3日目で無投薬区が6.4で

あったのに対し, チルミコシン 100 ppm 区, 200 ppm 区では1.3と顕著に臨床症状の改善がみられた(図4)。

体温: 無投薬区では40°C以上の発熱が持続したが, チルミコシンの100 ppm 区, 200 ppm 区は投薬開始2日目には体温が平熱に下がり, 無投薬区とは約1°Cの差が認められた(図5)。

増体重: 試験期間(7日間)の一頭当たり平均

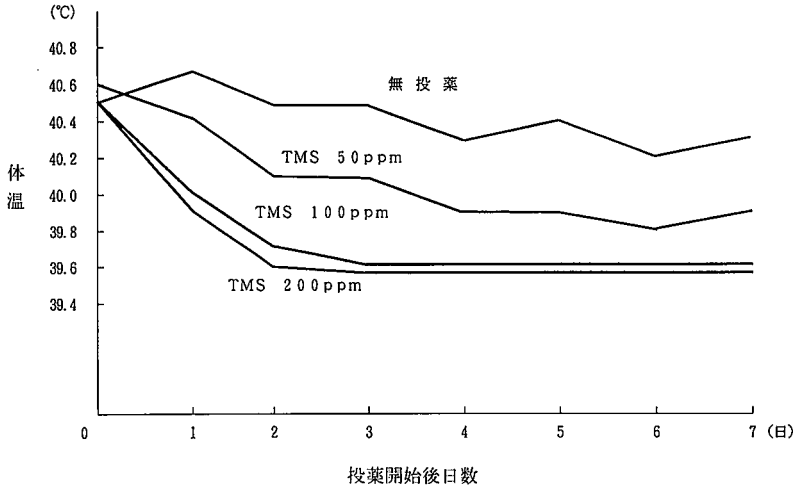


図5 野外応用試験における体温
(注) 実験条件等は本文参照。未発表: 中西信夫ら(京動検)

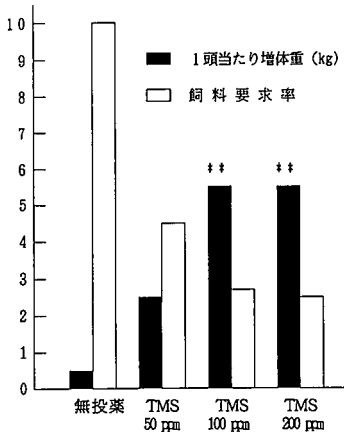


図6 野外応用試験における増体重・飼料要求率(7日間)
*: 無投薬区に対し $P < 0.05$ で有意差あり
*: 無投薬区に対し $P < 0.01$ で有意差あり
飼料要求率は統計処理なし
(注) 実験条件等は本文参照。
未発表: 中西信夫ら(京動検)

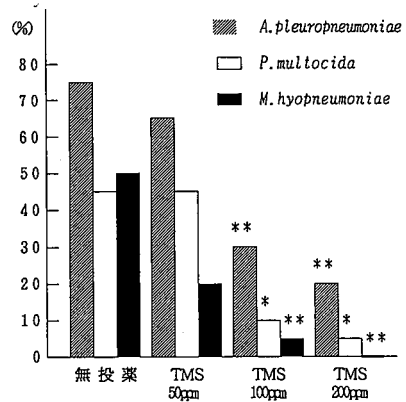


図7 野外応用試験における肺病変からの菌分離
*: 無投薬区に対し $P < 0.05$ で有意差あり
*: 無投薬区に対し $P < 0.01$ で有意差あり
(注) 実験条件等は本文参照。
未発表: 中西信夫ら(京動検)

増体重は、無投薬区が 0.6 kg でであったのに対し、チルミコシンの 100 ppm 区で 5.4 kg, 200 ppm 区で 5.5 kg と有意に大きい増体重を示した (図 6)。

肺病変からの菌分離：チルミコシンの 100 ppm 区, 200 ppm 区では *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* および *M. hyopneumoniae* の 3 菌種の分離率は無投薬区に比べて有意に低かった (図 7)。

<要約>

以上の成績から *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* および *M. hyopneumoniae* の複合感染した豚の肺炎に対し、チルミコシンの飼料中 50 ppm, 100 ppm および 200 ppm の 7 日間投薬はい

ずれも有効で特に 100 ppm および 200 ppm ではその効果は顕著であった。(中西信夫ら, 京動検, 1993)

2) 上記 1) の試験と別に行なわれた臨床試験 (群別は上記と同様で各群 10 頭) の, 臨床症状のスコアを判定基準とする試験でもほぼ同様の成績が得られた (未発表: 久保一弘ら, AHC)。

3) 野外臨床試験のまとめ

表 6 に以上 1) 2) の野外臨床試験のまとめを示す。

チルミコシン 50 ppm, 100 ppm および 200 ppm それぞれの投与群の有効率は 73%, 90% および

表 6 野外臨床試験成績

飼料添加濃度*	供試頭数	臨床効果判定 (症例数)			効果判定
		著効	有効	無効	有効率 (%)**
200 ppm	30	25	2	3	90
100 ppm	30	24	3	3	90
50 ppm	30	12	10	8	73
無投薬対策	30	2	3	25	17

* TMS としての添加濃度, 投与期間は 7 日間

** 有効率 = (著効例数 + 有効例数) / 供試頭数 × 100

著効: 投与終了直後のスコア値 (合計) が投与開始直前のスコア値の 30% 未満となったもの

有効: 投与終了直後のスコア値 (合計) が投与開始直前のスコア値の 30% 以上で 70% 未満になったもの

無効: 上記以外のもの

(注) 未発表: 中西信夫ら (京動検), (注) 未発表: 久保一弘ら (AHC)

表 7 チルミコシン飼料添加投与 (7 日間) 休止後の残留

投与量	投薬後日数	血清	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
200 ppm (常用最高量)	3 時間目	<0.05	<0.05	<0.05	0.36	0.61	0.06
	7 日目	<0.05	<0.05	<0.05	0.09~ <0.05	0.07~ <0.05	<0.05
	21 日目				<0.05	<0.05	<0.05
	28 日目				<0.05	<0.05	
400 ppm (2 倍量)	3 時間目	<0.05	0.09	0.08	1.70	2.32	0.16
	7 日目	<0.05	<0.05	<0.05	0.14	0.11	<0.05
	21 日目		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	28 日目				<0.05	<0.05	

表中の数値は 3 頭の平均値 ($\mu\text{g/g}$)

(注) 未発表: 岡田真理子ら (畜安研)

90%といずれも高い有効率を示した。

9. 残 留

体重約 15 kg の豚にチルミコシン 200 ppm (常用最高量) および 400 ppm (2 倍量) 添加した飼料を 7 日間連続投与し、Microbioassay により残留を測定した。その結果は表 7 のとおりで肝臓、腎臓に長く残留する傾向がみられたが投薬休止後 21 日目には全試料が検出限界 (0.05 ppm) 以下となった。

10. チルミコシンの肺胞マクロファージ内への取り込み

上述した試験成績に加えてチルミコシンの肺胞マクロファージ内への取り込みを調べた試験成績を表 8 に示す。これは飼料中 200 ppm 投与での肺中濃度がほぼ 1 μg/ml (図 3) でこの濃度は必ず

しも *A. pleuropneumoniae* および *P. multocida* の MIC (表 4) をカバーしない。これで肺炎に対する有効性が示されるのかという疑問に対する検討の一つとして実施された試験である。チルミコシンは肺胞マクロファージ内に高濃度に取り込まれ、細胞外濃度の 75 倍に達する成績が示されている。

すなわち高濃度にチルミコシンを取り込んだ肺

表 8 豚肺胞マクロファージ内へのマクロライド系抗生物質の取り込み試験成績
(20 μg/ml の抗生物質含有培養液中で培養)

Time (h)	Intracellular concentration (μg/ml) ^a	
	Tilmicosin	Erythromycin
0.25	20.50 ± 0.80	27.38 ± 2.18
2.00	110.92 ± 5.38	114.68 ± 2.50
6.00	245.06 ± 28.36	91.44 ± 1.02
24.00	1500.72 ± 0.64	124.00 ± 3.06

^a: 2 試験の平均値 ± 標準偏差
(S. Chamberland; 第13回 IPVS, 1994)

表 9 チルミコシンの製剤名と承認事項および使用上の注意

〔製剤名・含量・剤型〕	
製剤名・含量	動物用ブルモチルプレミックス-10 1kg 中リン酸チルミコシン 10 g (力価) を含有, 同-20, 同-50, 同-100 は, それぞれ 20 g (力価), 50 g (力価), 100 g (力価) を含有
剤 型	各製剤とも灰白色～淡褐色の粉末である。
〔効能・効果〕	
有 効 菌 種	マイコプラズマ・ハイオニューモニエ, アクチノバチルス・ブルロニューモニエ, パスツレラ・マルトシーダ
適 応 症	豚: 肺炎
〔用法・用量〕	
	通常飼料 1t 当たりリン酸チルミコシンとして下記の量を均一に混ぜて 7 日間経口投与する。
豚	: 50~200 g (力価)
〔使用上の注意〕	
(1)	本剤を, 飼料に混合するときは, 不浸透性手袋, 防塵マスク, 防塵メガネを使用すること。取扱い後, 顔や手を石鹼と水で洗うこと。万一眼に入った場合には, 直ちに水で洗うこと。万一刺激が持続するようであれば, 医師に相談すること。
(2)	妊娠に対する安全性を確認する試験が実施されていないので, 妊娠又は妊娠している可能性のある豚には, 慎重に投与すること。
本剤は薬事法第83条の2に基づき使用者が遵守すべき基準が定められた動物用医薬品である。	
使用禁止期間: [豚: 食用に供するためにと殺する前28日間]	

胞マクロファージが *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* および *M. hyopneumoniae* による肺炎を治療する上で重要な役割を演じているのはいかかと推論される。

11. 参 考

チルミコシンの製剤名と承認事項および使用上の注意は表 9 のとおりである。

Tilmicosin

Koji NAKAMOTO

*Animal Health Products Development Dept., Shionogi & Co., Ltd.
1-8, Dosyomachi, 3-chome, Cyuo-ku, Osaka 541, Japan*

Tilmicosin (TMS) is a new macrolide antibiotic only for animal use. It was discovered as a derivative originated in tylosin, which has been used as an animal health product in the world. It was obtained by reductive amination of the C-20 aldehyde from desmycosin, which was readily produced from tylosin by mild acid hydrolysis. It has strong activities against *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida* in addition to the typical antimicrobial spectrum of macrolides, e.g. against mycoplasma and Gram-positive bacteria. Shionogi and Co. obtained an approval of TMS phosphate for the feed use for the control of swine bacterial pneumonia in November, 1994.

It has been well known that *Mycoplasma hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* and *P. multocida* make complex infections, which are all causative agents of pneumonia in swine. Therefore, it is desired that products to control the swine pneumonia should have antibacterial spectrums against all these pathogens. In the clinical trials, the test animals were selected from herds with clinical pneumonia symptoms, e.g., abdominal breathing, loss of vigor and/or appetite and coughing, and with the result of bacteriological isolations of *A. pleuropneumoniae* and *P. multocida* and/or *M. hyopneumoniae*. By the medication of TMS at 200 ppm, 100 ppm and 50 ppm in feed for 7 consecutive days, it showed the good effectiveness of 90%, 90% and 73% recoveries, respectively.

MIC of TMS to inhibit the growth of 90% of the isolates was 1.56 active ingredient (a. i.) / ml with *A. pleuropneumoniae* and *P. multocida* and 0.2 μ ga.i./ml. With the good results of the TMS' MIC and the effectiveness judged by the clinical symptoms, it is considered that TMS has the desirable features as one of antibiotics to control the swine pneumonia. On the other hand, its blood level in swine after the 200 ppm feed medication was 1 μ ga.i./ml, which did not exceed all of the MIC levels stated above. To explain this point, it is reported that the uptake of TMS by alveolar macrophages was demonstrated, in which its level reached to 75 times the MIC level. Therefore, it is considered that the alveolar macrophages by uptake of TMS at the high level have an important role to control the pneumonia caused by *A. pleuropneumoniae* and *P. multocida*.

There was no specific findings on its toxicity, safety, tissue residue and others.

討 論 (座長: 金井 久, 群馬県中部家保)

質問 (末永 格, 武田薬品)

妊娠豚への投与は慎重に行うとは具体的にはどのようにするのですか。

答 (中元弘次)

処方していただく獣医師にお願いして症状観察を詳細にみていただくと解釈している。

質問 (小野浩臣, 日獣畜大)

1) TMSの組織親和性と残留性から想像して注射の方がより少量で有効と思われるが、飼料添加先行の理由は？

2) マクロライド系抗生物質の乳汁移行が良く、グラム陽性菌に活性のあることと、マクロファージ内透過性の良いことから、将来乾乳期の乳房炎製剤として検討の余地は？

答 (中元弘次)

1) 諸外国では注射剤が先行して承認使用されているが、これは牛の肺炎の適用のみで、豚については諸外国でも承認使用の例はない。リリー社からの情報では豚に経口投与した場合は安全域は広いが、注射の場合は安全域が狭いためということである。

2) 現在データはないが、今後検討してみたい。

質問 (吉村昌吾, コーキン化学)

1. 人工感染攻撃試験で、投薬を攻撃2日前とした理由は？

2. 野外での実際の投薬の時期は？

答 (中元弘次)

1. 人工感染試験は、野外応用試験へのおおよその用量をみる試験と位置付けているので、安定した成績が得られる感染前からの投薬とした。

2. 現在検討中である。

質問 (乾 隆志, 田辺製薬)

肺胞マクロファージ中に血清中の百数十倍の濃度が移行するというが、他の臓器・組織の細胞ではどうか、同様に移行するのか、また、このことは肺胞マクロファージに特異的なことか。

答 (中元弘次)

肺胞マクロファージ以外の検討はなされていない。今後検討したい。

質問 (植田祐二, 武田薬品)

1. 豚のマイコプラズマ性肺炎に対して、*M. hyopneumoniae*分離率は示されたが、肺病変についての成績はどうですか？

2. 豚のマイコプラズマ性肺炎の場合、臨床症状に乏しいが、野外ではどのようなタイミングで投薬しますか？

答 (中元弘次)

1. 臨床試験は治療試験であり(7日間の投薬)、マイコプラズマ性肺炎の肺病変については観察しているが対照群との間に大きな差は認めていない。

2. 現在検討中である。