

オキシテトラサイクリン（効能追加）

渡辺直久¹⁾・岡村由紀子²⁾・久保瑩和成³⁾・豊田雅典⁴⁾・沼田厚子⁵⁾・元木弘昭⁶⁾

¹⁾ 共立製薬株式会社（〒102-0074 東京都千代田区九段南1-5-10）

²⁾ コーキン化学株式会社（〒579-8014 大阪府東大阪市石切町3丁目7番49号）

³⁾ あすか製薬株式会社（〒810-0001 福岡県福岡市中央区天神4-1-1）

⁴⁾ 株式会社インターベツト（〒300-0134 茨城県かすみがうら市深谷1103）

⁵⁾ 株式会社 トーヨー技術研究所（〒350-1332 埼玉県狭山市下奥富883）

⁶⁾ バイオ科学株式会社（〒779-1292 徳島県阿南市那賀川町工地246-1）

1. はじめに

オキシテトラサイクリン（OTC）は1950年に発見され、*Streptomyces rimosus* の培養液から分離された抗生物質である。米国では1951年に人用医薬品及び動物用医薬品として発売されている。

日本では1961年に動物用医薬品の飼料添加剤として承認され、その後、1981年に再評価が終了した。水産用医薬品としては、1971年にブリなどの数種類を対象魚として承認されている。1984年の再評価の終了後、8社共同開発によるギンザケのピブリオ病、9社によるヒラメの連鎖球菌症に対する適用拡大が行われ、それぞれ1988年及び1992年に承認が取得されている。

また、2003年の薬事法改正に伴い使用基準の一部が改正され、使用対象動物に関する規定が「種」から「目」単位に変更されたことにより、その当時、スズキ目、ニシン目（ただしアユを除く）、ウナギ目及びカレイ目がその使用対象魚種となった。また、同時に動物用医薬品等取締規則も一部改正になり、それまで代表的な養殖魚のみが薬事法の規制対象であったものが、食用に供す

るために養殖されているすべての水産動物へと拡大された。

当時、規制対象外であったフグ目魚類についても薬事法に基づく規制対象に含まれることとなったことから、フグ目魚類への効能拡大の申請を行い、2006年に承認が取得され、2年後の2008年に再審査期間が終了した。次に、ニジマス連鎖球菌症に対する効能追加の検討を行った。

養殖サケ科魚類の連鎖球菌症は *Streptococcus iniae* (*S. iniae*) を原因菌とし、1978年に鹿児島県で発病が確認されてから1993年までは数県で散発的に発生する程度で産業上重視すべき疾病ではなかった。しかしながら、1994年の長野県での流行以降、発病が確認された都道府県は10県にのぼり、発病件数も急増したため、養鱒業界にとって対策を要する重要な疾病となった。

このような状況において、ニジマスの連鎖球菌症に対して効能を持つ薬剤がなかったことから、全国養鱒技術協議会より水産用 OTC 製剤の本疾病に対する効能追加の要請があり、(社)日本動物用医薬品協会が窓口となって、水産用 OTC 製剤の製造販売会社6社が協議し、「ニジマスの連鎖球菌症に対する水産用 OTC 製剤の適応拡大承認申請に関する共同開発」を決定して開発を開始し、2009年に承認が取得された。

2. 試験成績

(1) 抗菌活性

2003年から2005年に全国の水産試験研究機関により分離された *S. iniae* 50株に対する OTC の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定結果を表1及び表2に示した。OTC の MIC は $\leq 0.125 \sim 0.5\text{mg/L}$ の範囲 ($\text{MIC}_{50}; \leq 0.125 \text{ mg/L}$ $\text{MIC}_{90}; 0.25 \text{ mg/L}$) に分布し、50株中48株が $\leq 0.25 \text{ mg/L}$ を示した。

(2) 臨床試験

ニジマス養殖場における連鎖球菌症自然発病群を用い、ニジマス (平均体重: 約 100g) を投薬区には 20,000尾、無投薬対照区には 10,000尾を収容した。投薬区には水産用 OTC 製剤を OTC として 50mg (力価) /kg・魚体重を、飼料添加により 1日1回、7日間連続投与した。なお、魚類病原体として β 溶血連鎖球菌と IHN ウイルスを検出したが、外観症状や剖検の結果、死亡の主因は連鎖球菌症と診断した。

投薬区の試験期間中の累積死亡率は 11.8%、対照区のそれは 19.0%と、投薬区の方が有意に低い (χ^2 検定 $p < 0.05$) 死亡率となった (表3)。なお、日間死亡率の推移を図1に示した。

この結果を基に投薬区、無投薬対照区の日間死亡率の推移を1次式で回帰すると、それぞれの回帰式は以下のように示された。

$$\text{投薬区: } Y = -0.0687X + 1.3832 \quad R^2 = 0.5791$$

$$\text{無投薬対照区: } Y = -0.0097X + 1.4737$$

$$R^2 = 0.0229$$

Y: 日間死亡率 (%)

X: 試験開始日を起点としたときの経過日数 (日)

それぞれの回帰直線について有意性を分散分析法により検討したところ、投薬区、無投薬対照区それぞれの有意水準 5% における分散比は 8.06, 0.49 となり、投薬区における回帰直線は有意であったが、無投薬対照区では有意ではなかった。すなわち、無投薬対照区の日間死亡率の変動には有意性はないが、投薬区における日間死亡率の減少は有意であることが示されたことから、OTC 製剤の有効性が確認された。

表1 各地で分離された *S. iniae* に対する OTC の MIC 分布

供試 株数	MIC (mg/L)											MIC_{50}	MIC_{90}	
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			≥ 256
50	29	19	2										≤ 0.125	0.25

表2 *S. iniae* に対する OTC の分離場所別 MIC

分離場所	分離年度	菌株数	MIC (mg/L)
静岡県	2004年	5	≤ 0.125 (5)*
	2005年	14	≤ 0.125 (7)・0.25 (5)・0.5 (2)
愛知県	2003年	2	≤ 0.125 (1)・0.25 (1)
	2004年	7	≤ 0.125 (6)・0.25 (1)
栃木県	2003年	3	≤ 0.125 (3)
	2004年	3	≤ 0.125 (2)・0.25 (1)
滋賀県	2004年	1	0.25 (1)
鹿児島県	2004年	2	≤ 0.125 (1)・0.25 (1)
長野県	2004年	5	≤ 0.125 (1)・0.25 (4)
大分県	2004年	8	≤ 0.125 (3)・0.25 (5)

* () 内は菌株数

表3 ニジマスの連鎖球菌症に対する OTC の臨床試験

区分	供試尾数		OTC 投薬期間 (7日間)	投薬後観察期間 (8日間)	全期間 (15日間)
投薬区	20,000	死亡数 (尾)	1,592	769	2361
		死亡率 (%)	8.0	4.2	11.8
無投薬区	10,000	死亡数 (尾)	977	925	1902
		死亡率 (%)	9.77	10.3	19.0

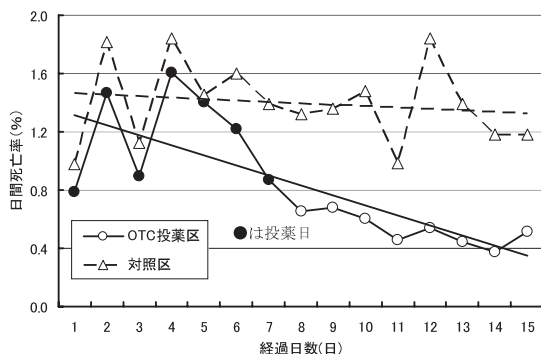


図1 臨床試験における日間死亡率の推移

なお、投薬区において、眼球突出などの明らかな連鎖球菌症の症状を呈しているものを除けば、全期間を通して、遊泳状態や行動、あるいは、体色や摂餌行動についての異常はみられず、対照区との相違はみられなかった。すなわち、全試験期間である15日間において、投薬に起因すると思われる副作用はみられず、安全性が確認された。

3. 謝辞

本試験を実施するにあたり多大なご協力を頂きました。岐阜県、静岡県、愛知県、栃木県、長野県、滋賀県、鹿児島県及び大分県の水産試験場、社団法人 日本動物用医薬品協会の関係各位の皆様に感謝の意を表します。

4. 参考

OTCの各社製剤名と承認事項及び使用上の注意は表4の通りである。

要約

養殖サケ科魚類の連鎖球菌症は *Streptococcus iniae* を原因菌とし、1994年の長野県での流行以降、発病が確認された都道府県は10県にのぼり、発病件数も急増したため、養鱒業界にとって対策を要する重要な疾病となった。このような状況において、ニジマスの連鎖球菌症に対して効果を持つ薬剤がなかったことから、水産用オキシテトラサイクリン製剤の製造販売業者6社にて適応拡大承認申請に関する共同開発をすることとなった。

試験は2004年から2006年にかけて実施し、にじます養殖が行われている岐阜県、静岡県、愛知県、栃木県、長野県、滋賀県、大分県及び鹿児島県の水産試験場の協力の下で、臨床試験並びに効力を裏付ける試験として薬剤感受性試験を実施した。

その結果、水産用オキシテトラサイクリン製剤に、ニジマスの連鎖球菌症による死亡率を低下させる有効性が確認され、また、原因菌に対しても低いMICを示し、耐性菌が認められなかったことから、ニシン目魚類（淡水中で養殖されているもの。ただし、アユを除く。）の連鎖球菌症に対する適応拡大の承認申請を行い、承認を取得した。

表 4 製剤名と承認事項及び使用上の注意

剤名	水産用 OTC20% 「あすか」	水産用 OTC 散 10% [KS] 水産用 OTC 散 20% [KS] 水産用 OTC 散 50% [KS]	水産用 OTC 散「コーキン」 水産用 OTC 散「コーキン」 200 水産用 OTC 散 1000W 水産用 OTC 散 2000W 水産用テラマイシン散 水産用テラマイシン散-200	水産用 OTC 散 20% [SP]	水産用 OTC 散 [TG] 10% 水産用 OTC 散 [TG] 20% 水産用 OTC 散 [TG] 40%	水産用 OTC20% 「バイオ」NC
製造販売元	あすか製薬株式会社	共立製薬株式会社	コーキン化学株式会社	セラケム株式会社	株式会社 トーヨー技術研究所	バイオ科学株式会社
販売	あすか製薬株式会社	共立製薬株式会社	コーキン化学株式会社	株式会社 インターベット	株式会社 トーヨー技術研究所	バイオ科学株式会社
成分・分量	本剤 1g 中、塩酸オキシテトラサイクリン 100, 200, 400 又は 500mg (力価) を含有する。					
用法・用量	魚体重 1kg 当たり 1 日量オキシテトラサイクリンとして下記の量を飼料に添加し投与する。 すずき目魚類 : 50mg (力価) にしん目魚類 (淡水中で養殖されているもの。ただし、あゆを除く。) : 50mg (力価) にしん目魚類 (海水中で養殖されているもの) : 50mg (力価) うなぎ目魚類 : 50mg (力価) かれい目魚類 : 50mg (力価) ふぐ目魚類 : 50mg (力価)					
効能・効果	オキシテトラサイクリン感受性菌に起因する下記疾病魚類の死亡率の低下 すずき目魚類 : ビブリオ病 にしん目魚類 (淡水中で養殖されているもの。ただし、あゆを除く。) : セッコウ病, ビブリオ病, 連鎖球菌症 にしん目魚類 (海水中で養殖されているもの) : ビブリオ病 うなぎ目魚類 : パラコロ病 かれい目魚類 : 連鎖球菌症 ふぐ目魚類 : ビブリオ病					
使用上の注意	(特に今回の追加適応症に関して重要な項目のみ記載する。) 【一般的な注意】 (1) 本剤は下表に掲げる対象魚種の対象魚種を治療するために使用し、下表に掲げる対象魚種以外の魚又は動物には使用しないこと。	対象魚種	対象疾病			
	すずき目魚類	ビブリオ病				
	にしん目魚類 (淡水中で養殖されているもの。ただし、あゆを除く。)	ビブリオ病, セッコウ病, 連鎖球菌症				
	にしん目魚類 (海水中で養殖されているもの)	ビブリオ病				
	うなぎ目魚類	パラコロ病				
	かれい目魚類	連鎖球菌症				
	ふぐ目魚類	ビブリオ病				

Oxytetracycline

Naohisa WATANABE¹⁾, Yukiko OKAMURA²⁾, Kazushige KUBONO³⁾,
Masanori TOYOTA⁴⁾, Atsuko NUMATA⁵⁾ and Hiroaki MOTOKI⁶⁾

¹⁾ *Kyoritsu Seiyaku Corporation, 1-5-10, Kudanminami, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0074, Japan*

²⁾ *Kohkin Chemical Co., Ltd., 7-49, 3 chome, Nakaishikiricho, Higashiosaka-shi, Osaka 579-8014, Japan*

³⁾ *ASKA Pharmaceutical Co., Ltd., 4-1-1, Tenjin, Chuo-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka, 810-0001, Japan*

⁴⁾ *Intervet K.K., 1103 Fukaya, Kasumigaura-shi, Ibaraki 300-0134, Japan*

⁵⁾ *TOYO R&D INC., 883 Shimookutomi, Sayama-shi, Saitama 350-1332, Japan*

⁶⁾ *BIO SCIENCE Co., Ltd., 246-1, Takumuji, Nakagawa-cho, Anan-shi, Tokushima 779-1292, Japan*

Outbreak of streptococcal disease in cultured salmonid, with *Streptococcus iniae* as the pathogen, has been confirmed in 10 prefectures since an epidemic in Nagano prefecture in 1994. With rapid increase in incidence, the disease was recognized as an important one requiring measures for the trout farming industry. As there were no agents effective on streptococcal disease in rainbow trout in this situation, 6 manufacturers dealing an oxytetracycline formulation for fishery decided to initiate a cooperative development for the purpose of application for indication expansion.

Studies including clinical studies and a drug sensitivity study as primary pharmacodynamic were performed from 2004 to 2006, with cooperation of fisheries experimental stations in Gifu prefecture, Shizuoka prefecture, Aichi prefecture, Tochigi prefecture, Nagano prefecture, Shiga prefecture, Ohita prefecture and Kagoshima prefecture, in which culture of rainbow trout was ongoing.

As the result, the oxytetracycline formulation for fishery demonstrated efficacy in reduction of mortality due to streptococcal disease in rainbow trout, with low MIC against the causal bacteria, and no resistant bacteria were observed. Therefore, we applied the drug for indication expansion against streptococcal disease in fish of Clupeiformes (those cultured in fresh water, excluding ayu), and as the result, succeeded in acquisition of approval.

討 論 (座長：片岡 康，日本獣医生命科学大学)

質問 (藤本修平，東海大学)

死亡した魚の死因は連鎖球菌感染症と考えてよいのですか？

答 (久保埜和成)

連鎖球菌感染症だけを数えた。

質問 (藤本修平，東海大学)

試験Ⅰの投与群で投薬開始3日間の日間死亡率が非投薬群に比べて高いのは副作用と考えなくて良いのですか。

答 (久保埜和成)

生簀単位で群分けするため，試験開始時の病勢が

投薬群の方が強かったための現象で副作用ではない。

質問 (片岡 康，日獣大)

魚類用の抗菌薬の効能は日間死亡率の低下で見ますが，臨床試験での有効スコアには反映しないのか。

答 (久保埜和成)

効能が死亡率の低下のため，臨床試験でも有効判定は死亡率が反映されます。但し，細菌疾病の中には，抗菌薬投与が有効（死亡減少）でも，疾病による外部症状が残ったため商品価値がない場合がある。今後，その魚を効果判定にどのように反映させるか検討する必要があるかもしれません。