

RU 28965の基礎的・臨床的検討

片平潤一・深田智子・熊田徹平・清水喜八郎
東京女子医科大学内科学教室坂本保巳
青梅市立総合病院

RU 28965はエリスロマイシンから半合成されたマクロライド系抗生物質であり、胃酸抵抗性であるために腸管よりの吸収が良いことをその特質とする。エリスロマイシンよりも半減期が長く高い血中濃度が持続するが、抗菌力は同程度であるといわれる。第1相試験や臨床試験でヘモグロビンが低下する症例がみられたため、コロニー法によるクロナールアッセイを行ってこの原因を検討したところ、RU 28965は赤血球系造血幹細胞を選択的に抑制した。

呼吸器系疾患について臨床的検討を行った結果、有効率が65%という良好な結果が得られた。

RU 28965の第1相試験においてヘモグロビン値の低下をみる症例があった。投与前値からいずれの時でもヘモグロビンが1 g/dl以上の低下があったときをヘモグロビン減少とし、網状赤血球が40%以上上昇している時を網状赤血球増加とした。RU 28965の単回あるいは頻回投与をうけた症例82人のうち、ヘモグロビン値は52% (43/82)で減少しており、網状赤血球は50% (41/82)で増加していた。また、双方共に変化していたのは28% (23/82)であった(Table 1)。その変化は必ずしも長期間投与の後に現れたり、投与後直ちに起こる訳ではなく、かなり不定の変動といってもよいものである。また、投与量には依存していない。しかし白血球や血小板ではそうした異状変動が見られていないので、これら赤血球系に対するRU 28965の関わりを明らかにするのは意味のあることと思われる。

I. 基礎的検討

1. 方法

*In vitro*でsemisolid cultureを用いてcolony assayを行い、各種造血幹細胞に対するRU 28965の影響を検討した。正常ヒト骨髓血を防腐剤の混入していないヘパリン加シリンジで採取し、これをフィコールコンレイ(比重1.077)に重層して比重遠心し、単核細胞を分離した。

この 2×10^5 /mlをPHA刺激ヒト白血球培養上清(PHA-LCM)、ヒトAB血漿、牛血清アルブミン(BSA)、エリスロポイエチン(EPO)、2-メルカプトエタノールと共にメチルセルロース中に植え込んで5% CO₂, 5% O₂下に14日間培養した。*In situ*で顆粒球由来コロニー、マクロファージ由来コロニー、赤芽球バースト、巨核球由来コロニーおよびこれらの混合コロニー数を倒立位相

差顕微鏡で算定した(Fig. 1)。後期赤芽球コロニー(CFU-E)については、プラズマクロット法で牛胎児血清(FCS)、BSA、EPO、L-アスパラギンなどと共に7日間培養してベンチジン染色してコロニーを算定した(Fig. 2)。RU 28965、Erythromycin(EM)またはCephalothin(CET)は培養前に血清と共に一定濃度で 2×10^5 の細胞と37℃で30分間孵置して洗浄後植え込むか、または直接細胞と共に培養した。

2. 結果

顆粒球コロニー、マクロファージコロニー、前期赤芽球コロニー、巨核球コロニーおよび混合コロニーについては、薬剤の前処置と直接添加で結果に有意な変化はなかった。顆粒球コロニー、マクロファージコロニー、前期赤芽球コロニー、巨核球コロニー数はEMとRU 28965で1 μ g/mlから10 μ g/mlの範囲で差がなかった(Fig. 3~6)。混合コロニー数はEM 10 μ g/mlで軽度減少したが、有意ではなかった(Fig. 7)。CETは、顆粒球コロニーとマクロファージコロニーを抑制したが、他前駆細胞由来コロニーには影響しなかった。ところが、赤芽球系幹細胞でも後期赤芽球コロニーについては、EM、RU 28965共に直接添加でみると添加濃度に比例して増殖が抑制された。しかしながら、抑制の度合は60%程度とそれほど強くはなかった(Fig. 8)。CETはCFU-Eには影響しなかった。

II. 臨床試験

1. 対象および投与方法

対象患者は昭和60年12月から昭和61年10月までに来院し、同意の得られた患者22名である。男性11名、女性11名で、疾患の内訳は咽喉頭炎1名、急性扁桃炎1名、急

性気管支炎9名、肺炎8名、慢性気管支炎1名、びまん性汎細気管支炎1名、急性咽頭炎からの壊死性リンパ節炎1名である。うち壊死性リンパ節炎は対象疾患外として除外した残り21名について検討した。全例軽症から中等症であった。起炎菌は *P. aeruginosa* が2例、*S. pneumoniae* が2例、GNRが1例で検出されたが残りは全例正常菌叢であった。

投与方法は1日150 mg×2回が18例、1日100 mg×2回が1例、1日100 mg×3回が2例であった。投与日数は5日から22日で平均12.1日であり、総投与量は1500 mgから6600 mgで平均3400 mgであった。年齢は27歳から77歳で平均54.3歳であった(Table 2)。

2. 成績

効果判定は以下の如く行った。細菌学的には起炎菌が消失し、臨床症状、検査所見の改善が著しかったものを著効、起炎菌が消失または著明に減少し、臨床症状、検査所見に改善が認められたものを有効、起炎菌の消失ま

たは減少を認めるが臨床症状、検査所見の改善がなかったもの、あるいは起炎菌の消失は認められないが、臨床症状、検査所見に改善が認められたものをやや有効、起炎菌および臨床症状、検査所見に改善の認められなかったものを無効と判定した。

結果の概要は図示する通りである(Table 2)。咽頭炎、急性扁桃炎は有効各1例、急性気管支炎は著効1例、有効5例、やや有効3例で有効率67%、肺炎は著効1例、有効4例、やや有効2例、無効1例で有効率63%で、慢性気管支炎急性増悪はやや有効、びまん性汎細気管支炎は効果判定不能であった。全体としての有効率は65%であった。細菌学的にはGNRと *P. aeruginosa* 1例が除菌できたが、他は不明であった。副作用は1例で胃部不快感を認めた。臨床検査値では、1例でBUNがRU 28965投与19日間のうち8日目まで17.3 mg/dlから22.6 mg/dlに上昇し、投与終了後11日目まで17.4 mg/dlに戻った。しかしSerum creatinine(S-Cr)は正常であった。他

Table 1 Decrease of Hb value in Phase I

Administration				Number in cases	Decrease in Hb	Elevation in Rets	Decrease in Hb and elevation in Rets	
Single	RU 28965	100 m	(fasting)	cross-over	12	9	9	6
	RU 28965	150 m	(fasting)					
	RU 28965	300 m	(fasting)					
	RU 28965	150 mg	(fasting)	cross-over	12	8	7	3
	RU 28965	150 mg	(after meal)					
	RU 28965	150 mg	(fasting)	cross-over	12	6	5	2
	EM	400 mg	(fasting)					
	JM	400 mg	(fasting)					
	RU 28965	300 mg	(fasting)	cross-over	12	8	4	4
	RU 28965	600 mg	(fasting)					
RU 28965	300 mg	(fasting)	cross-over	12	5	3	3	
RU 28965	300 mg	(after meal)						
EM	300 mg	(fasting)						
RU 28965	150 mg	(fasting)	cross-over	8	3	4	2	
RU 28965	150 mg	(30 min before meal)						
RU 28965	150 mg	(after meal)						
Repeat	150 mg, 1 time/day for 7 days			7	1	5	1	
	150 mg, 2 times/day for 14.5 days			7	3	4	2	
	Total			82	43 (52%)	41 (50%)	23 (28%)	

Hb : Hemoglobin

Rets : Reticulocytes

の1例でRU 28965, 14日間のうち3日目でS-Crが1.3 mg/dl から1.4 mg/dl になり, 14日目で1.5 mg/dl となった。BUNは21.2から23.4 mg/dl と殆ど動いておらず, S-Crのその後のフォローアップもなされなかったので, S-Crの増加の意味は不明である。その他に好酸球の絶対数が $101/\mu\text{l}$ から $434/\mu\text{l}$ と, $0/\mu\text{l}$ から $385/\mu\text{l}$ と軽度の増加を示した2例があった。またこのうちの1例では好塩基球も6%, 絶対数として $330/\mu\text{l}$ と増加していた。また1例では直接および間接クームス反応が陽転し, 他の1例で直接クームス反応が陽転した。ヘモグロビンの低下は22人中5人でみられたが, 総てその後のフォローアップはなされなかった。白血球は1例でRU 28965投与15日間で投与終了後7日目で $5000/\mu\text{l}$ から $3100/\mu\text{l}$ と減少したが, 顆粒球, リンパ球ともに減少していた。さらに血小板は, 1例で投与22日間のうち, 14日目で前値 $16.5 \times 10^4/\mu\text{l}$ が $13.3 \times 10^4/\mu\text{l}$ となったが, その後のフォローアップはなされていない(Table 3)。

Ⅲ. 考 察

RU 28965はEMとほぼ同様の抗菌力, 抗菌スペクトルをもっているが, 胃酸抵抗性で吸収が良く, *in vivo* 抗菌力は従来のマクロライド系抗生剤をかなり上回って

いる¹⁾。われわれも急性気管支炎, 肺炎を中心として少数例ではあるが, 本剤の臨床効果を確認した。また副作用は, 1例で胃部不快感をみたのみで, 充分な忍容性があるものと思われた。臨床検査値では2例で腎機能検査値が異常であった。これらは2例とも高齢患者であり, しかも中等度感染症であるため, 脱水症さらに炎症性疾患そのものの影響も考慮にいれなければならない。白血球, 血小板の減少をみたものは各1例ずつであったが, ヘモグロビン減少例は22人中5人, 約20%にみられた。その内容は $13.4 \rightarrow 11.9$, $12.9 \rightarrow 11.5$, $13.5 \rightarrow 12.4$, $11.8 \rightarrow 10.9$, $14.6 \rightarrow 12.8\text{g/dl}$ であった。最初の例は直接・間接クームス反応が陽性であり, 他の1例の直接クームス反応陽転例はヘモグロビン値のフォローがなされていない。もちろん脱水症の影響や, むしろ上昇した例が3例見られたことからテクニカルな誤差範囲内の変化であることは否定できない。しかし初期第1相試験においてやはりヘモグロビンの減少する例が52%で見られ, それに対応するように網赤血球が増加している例が50%でみられたことは興味深い。この場合もむしろ増加する例や, プラセボ投与群でも減少する例が見られたことは事実ではあり, 臨床例での評価はより多数の例で, 長期的なフォローアップのもとに行う必要がある。

こうした*in vivo*におけるほぼ赤血球に限った造血系への影響をより明らかにし, その原因を探るために*in vitro*でコロニー法を用いてヒト造血幹細胞に対する本剤の影響を調べた。その結果, 本剤は顆粒球系, マクロファージ, 巨核球系前駆細胞には影響せず, またより幼若と考えられる混合コロニー形成細胞にも影響しなかった。ところが赤血球系前駆細胞には後期前駆細胞(CFU-

Fig. 1 Colony assay method

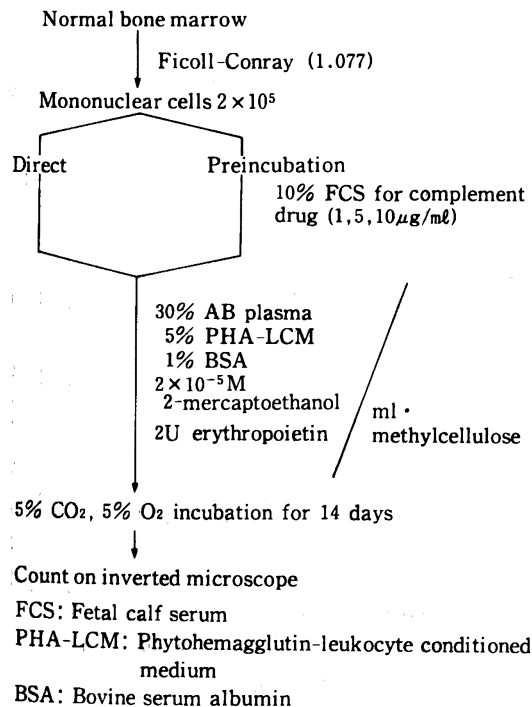


Fig. 2 Colony assay method for CFU-E

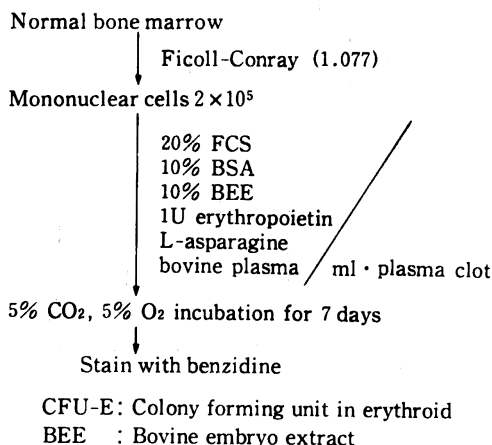
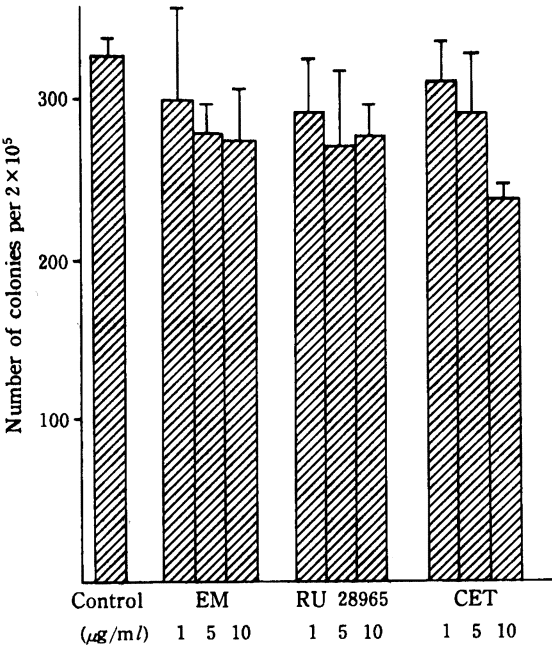
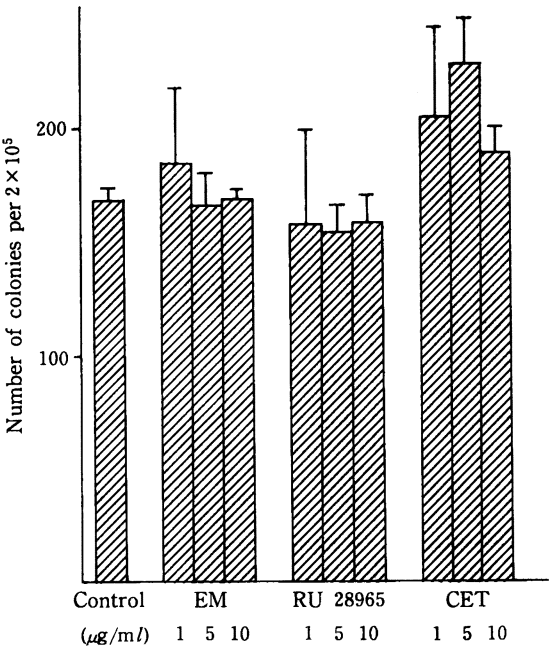


Fig. 3 Influence on CFU-G colony growth



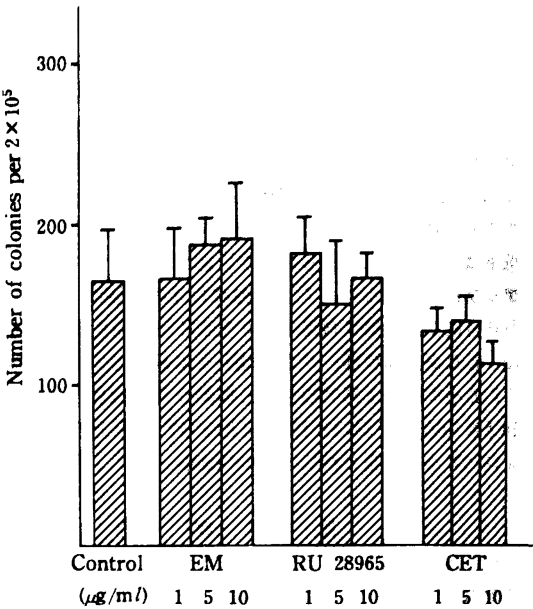
CFU-G: Colony-forming unit in granulocyte

Fig. 5 Influence on CFU-MgK colony growth



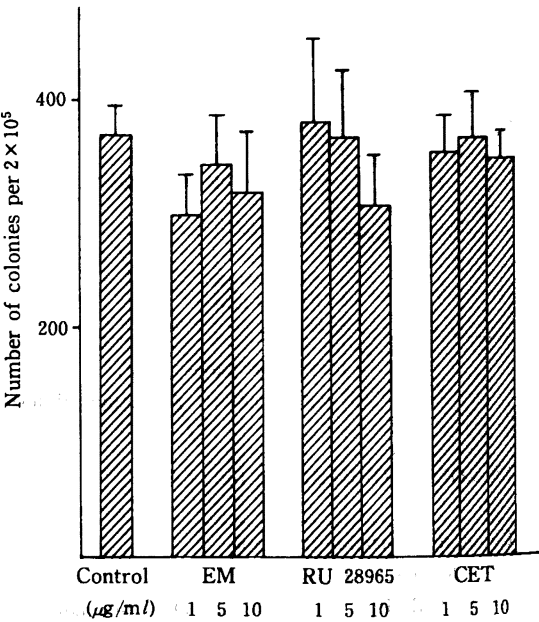
CFU-Mgk: Colony-forming unit in megakaryocyte

Fig. 4 Influence on CFU-Mφ colony growth



CFU-Mφ: Colony-forming unit in macrophage

Fig. 6 Influence on BFU-E colony growth



BFU-E: Burst-forming unit in erythroid

E)レベルで抑制した。直接添加でも、30分間の前孵置でもこの傾向は同じであったので、RU 28965は短時間の接触でCFU-Eを抑制すると考えられる。CETは顆粒

球系前駆細胞のみを抑制したが、この事は臨床的によく見られる顆粒球減少症をよく説明し、また既報告とも一致する結果である。こうしたRU 28965の*in vitro*における赤血球系前駆細胞抑制は*in vivo*の結果を裏付けるものである。

さらに臨床試験でクームス試験の陽性になったヘモグロビン減少例がみられたことは、本剤による赤血球系細胞に対する作用が二つのメカニズムで起こっていることをも推測させる。EMの*in vitro*試験での結果は、ほぼRU 28965と同様であった。EMの血液濃度は経口投与の場合約1 $\mu\text{g/ml}$ にしか上昇しない。しかしRU 28965は150 mgで5 $\mu\text{g/ml}$ 、300 mgで8 $\mu\text{g/ml}$ まで上昇するため¹⁾、EMよりかなり赤血球系前駆細胞への影響が大きいことが推察され得る。臨床上也EMの場合は特に問題にはなっていないが、本剤の場合には今後充分な観察を必要とする。骨髓中濃度の報告はみられないので前駆細胞に働いている濃度は不明であるが、RU 28965の組織内濃度はEMよりかなり高いので、今後特に投与量との兼ね合いで注意深い観察が必要であろう。

文 献

- 1) 第35回日本化学療法学会総会，新薬シンポジウムⅣ。RU 28965，盛岡，1987

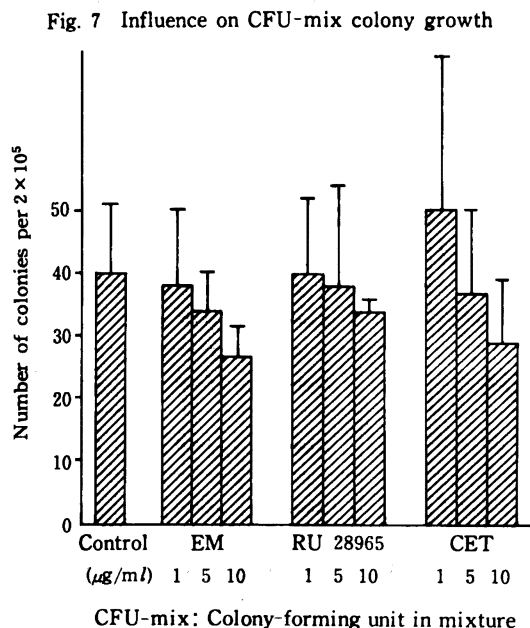


Fig. 8 Influence on CFU-E colony growth

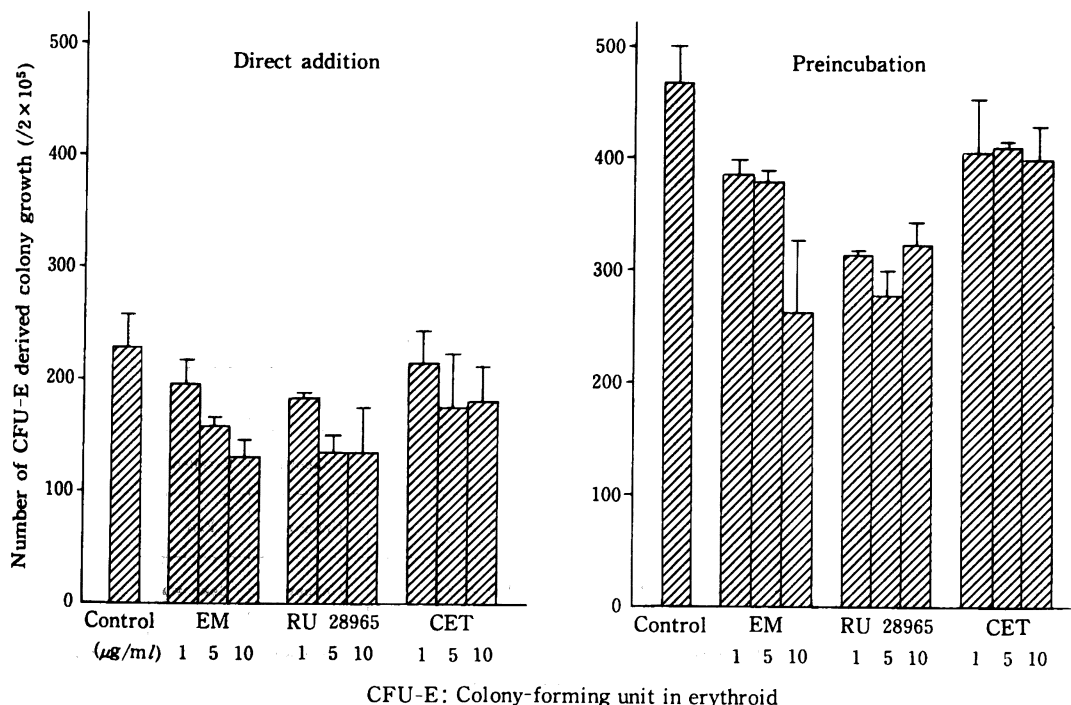


Table 2 Clinical summary

Case No.	Age • Sex	Diagnosis	Severity	Isolated organism	Treatment		Bacteriological effect	Clinical effect	Side-effects
					mg × times	Days			
1	55 • F	Laryngopharyngitis	Moderate	Normal flora	150 × 2	15	Unknown	Good	(-)
2	29 • F	Acute tonsillitis	Mild	N.D.	150 × 2	7	Unknown	Good	(-)
3	36 • F	Acute bronchitis	Mild	<i>P. aeruginosa</i>	150 × 2	7	Eradicated	Good	(-)
4	34 • F	Acute bronchitis	Mild	Normal flora	150 × 2	8	Unknown	Excellent	(-)
5	27 • M	Acute bronchitis	Mild	Normal flora	100 × 2	14	Unknown	Good	(-)
6	67 • M	Acute bronchitis	Moderate	N.D.	100 × 3	14	Unknown	Fair	(-)
7	66 • F	Acute bronchitis	Moderate	<i>S. pneumoniae</i>	150 × 2	7	Unknown	Good	(-)
8	74 • M	Acute bronchitis	Moderate	Normal flora	150 × 2	7	Unknown	Good	(-)
9	31 • M	Acute bronchitis	Moderate	N.D.	150 × 2	7	Unknown	Good	(-)
10	67 • M	Acute bronchitis	Mild	Normal flora	100 × 3	14	Unknown	Fair	(-)
11	43 • M	Acute upper respiratory tract infection	Moderate	N.D.	150 × 2	5	Unknown	Fair	(-)
12	76 • M	Bronchopneumonia	Moderate	N.D.	150 × 2	14	Unknown	Good	(-)
13	56 • F	Bronchopneumonia	Mild	N.D.	150 × 2	15	Unknown	Poor	(-)
14	76 • M	Pneumonia	Moderate	Normal flora	150 × 2	19	Unknown	Fair	(-)
15	65 • M	Pneumonia	Mild	GNR	150 × 2	22	Eradicated	Good	(-)
16	73 • F	Pneumonia	Mild	N.D.	150 × 2	15	Unknown	Good	Stomach discomfort
17	48 • M	Pneumonia	Moderate	Normal flora	150 × 2	17	Unknown	Good	(-)
18	34 • F	Pneumonia	Moderate	Normal flora	150 × 2	11	Unknown	Fair	(-)
19	35 • F	Pneumonia	Moderate	<i>S. pneumoniae</i>	150 × 2	14	Unknown	Excellent	(-)
20	77 • F	Chronic bronchitis	Moderate	N.D.	150 × 2	15	Unknown	Fair	(-)
21	71 • F	Diffuse panbronchiolitis	Mild	<i>P. aeruginosa</i>	150 × 2	7	Unknown	Unknown	(-)
22	36 • M	Lymphadenitis	Moderate	Normal flora	150 × 2	7	Unknown	Unknown	(-)

N.D.: Not done

Table 3 Laboratory findings

Case No.		RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC ($/\text{mm}^3$)	Eosino (%)	Platelets ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	GOT (U)	GPT (U)	Al-P (U)	T-Bil (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Coombs test	
														Direct	Indirect
1	Before	428	13.5	42.0	8900	0	20.7	20	9	8.0	1.2	12.4	0.9		(-)
	After	392	12.4	39.0	4500	1	27.9	16	9	6.1	0.7	13.8	0.9		(-)
2	Before	438	13.4	39.5	2600	1	15.2	12	7	4.7	0.6	15.8	0.8	(-)	(-)
	After	402	11.9	36.5	4700	6	30.9	10	8	4.1	0.5	13.4	0.7	(+)	(+)
3	Before	387	11.4	34.4	11000	3	88.3	21	12	5.6	0.4	18.1	0.9		
	After	403	11.9	37.7	15000	3	69.3	24	13	5.2	0.5	16.5	0.9		
4	Before	323	7.0	21.1	4200	1	21.0	13	10	4.3	0.7	14.1	0.9		
	After	336	6.9	21.7	4000	4	25.5	20	15	3.9	0.7	15.6	0.9		
5	Before	477	14.4	44.9	10100	1	33.8	16	8	8.5	1.0	18.7	1.2		
	After	455	14.3	42.6	6200	7	40.1	13	7	8.9	0.7	12.9	1.1		
6	Before	437	13.3	39.5	5200	6	19.1	14	7	10.3	0.6	18.1	1.0	(-)	(-)
	After	435	13.4	40.5	5500	4	18.1	17	12	9.1	0.8	20.0	1.0	(-)	(-)
7	Before	451	11.9	38.0	4600	0	20.3	31	17	8.3	0.4	14.7	0.8	(-)	(-)
	After							39	24	12.1	0.3	14.8	0.9	(+)	(-)
8	Before	474	14.9	45.5	10200	1	39.3	19	10	8.8	1.6	15.5	1.3	(-)	(-)
	After	468	14.8	45.0	6100	1	29.3	24	14	9.8	1.1	17.6		(-)	(-)
9	Before	528	15.8	48.5	7700	0	43.9	12	10	5.1	0.8		1.2	(-)	
	After							9	7		0.4				
10	Before	464	15.0	47.0	9400	1	30.0	13	6	7.6	1.0	10.8	1.1	(-)	(-)
	After	461	15.5	47.0	6700	5	28.6	6	4	7.5	0.7	10.6	1.0	(-)	(-)
11	Before	534	17.0	51.0	4600	1	16.3	19	13	6.1	0.4	8.3	1.1	(-)	(-)
	After	545	17.2	52.0	4300	1	18.3	19	14	6.4	0.7	13.9	1.1	(-)	(-)
12	Before	533	16.0	51.0	9900	2	23.5	9	6	7.7	0.7	21.2	1.3	(-)	(-)
	After	553	16.0	52.5	7700	1	30.5	13	2	7.2	0.4	23.4	1.5	(-)	(-)
13	Before	509	12.3	41.5	5000	2	32.0	13	11	10.1	0.5	18.8	1.0	(-)	(-)
	After	490	13.7	39.5	3100	1	19.4	21	22	9.5	0.6	17.1		(-)	(-)
14	Before	298	10.0	30.1	3400	19	34.4	21	6	6.0	0.7	17.3	1.2		
	After	314	10.6	31.2	3200	13	27.8	22	10	7.0	0.5	17.4	1.0		
15	Before	395	13.0	39.0	7100	5	16.5							(-)	(-)
	After	444	14.4	44.5	7000	2	13.3							(-)	(-)
16	Before	417	12.9	39.5	10000	1	22.0	23	12	4.1	1.3	25.3	1.1	(-)	(-)
	After	372	11.5	34.5	5000	0	30.3	15	7	3.5	0.5	23.1	1.1	(-)	(-)
17	Before	430	14.6	44.5	13000	0	32.7	19	15	6.6	0.8	10.8		(-)	
	After	440	14.5	45.0	4300	0	27.7	23	18	6.2	0.5		1.1	(-)	(-)
18	Before	408	12.4	37.5	7100	0	42.7	9	7	7.3	0.6		0.7		
	After														
19	Before	371	11.2	34.0	10100	0	21.8	12	11	5.0	0.3	10.8	0.8		
	After	427	13.2	38.5	5500	7	24.3	14	11	7.3	0.6	13.2	1.0	(-)	(-)
20	Before	422	11.9	36.5	8300	7	22.1	6	2	8.0	0.4	9.7	0.8	(-)	(-)
	After	416	11.2	35.5	8100	2	19.2	9	5	8.6	0.4	8.0	0.6	(-)	(-)
21	Before	365	11.8	36.5	6800	3	33.9	15	10	6.9	0.7	16.2	0.8	(-)	(-)
	After	339	10.9	33.0	4800	1	26.9	10	5	6.2	0.9	18.0	0.9	(-)	(-)
22	Before	479	14.6	44.4	3200	3.5	11.7	27	13	5.5	0.4	19.1	1.2		
	After	415	12.8	38.3	3300	1.5	15.5	41	24	4.9	0.7	8.1	1.1		

LABORATORY AND CLINICAL STUDIES ON RU 28965

JUNICHI KATAHIRA, TOMOKO FUKUDA, TEPPEI KUMADA and KIHACHIRO SHIMIZU

Department of Medicine, Tokyo Women's Medical College, Tokyo

YASUMI SAKAMOTO

Department of Medicine, Ohme City General Hospital

We carried out laboratory and clinical studies on RU 28965, a new macrolide antibiotic, with the following results. Decrease in hemoglobin was noted in about 50% of subjects in a phase I study and in about 20% of patients treated with RU 28965. Accordingly, the effect of RU 28965 on hematopoietic stem cells was investigated by *in vitro* clonal assay using the methylcellulose culture method. RU 28965 inhibited only hematopoietic stem cells of red blood cells (CFU-E) at concentrations above 5 $\mu\text{g/ml}$.

RU 28965 was administered to 22 patients: 9 with acute bronchitis, 8 with pneumonia, and 1 each with laryngopharyngitis, acute tonsillitis, chronic bronchitis, diffuse panbronchiolitis and necrotizing lymphadenitis. Clinical response was excellent in 2 patients, good in 11, fair in 6, poor in 1 and unknown in 1. The clinical efficacy rate was 61%. The patient with lymphadenitis was excluded from the analysis, since this disease did not meet the inclusion criteria. Only one adverse reaction, gastric discomfort, was noted.

RU 28965 has been reported to produce high plasma concentrations. Although its concentration in bone marrow is not known at present, patients treated with an increased dose of RU 28965 may need careful monitoring of its effects on the hematopoietic system.