

## 実験的マウス肺炎に対するFleroxacinの治療効果について

二木芳人・渡辺正俊・田坂佳千・角 優  
岸本寿男・副島林造  
川崎医科大学呼吸器内科\*

*Klebsiella pneumoniae* B54株による実験的マウス肺炎に対するfleroxacinの効果と投与方法の上から検討し、次のような結果を得た。

1. Fleroxacinは、1日3回経口投与で実験的肺炎に対して優れた治療効果を示した。この効果は、ofloxacin及びciprofloxacinの約2倍であり、norfloxacin, piperimidic acid及びcefaclorの15倍以上であった。
2. Fleroxacinは1日1回、あるいは2回投与でも1日3回投与と同様に良好な治療効果を示した。
3. Fleroxacinの優れた治療効果は、他のニューキノロン系化合物よりも経口吸収性に優れ、高い血中濃度が得られることによるものと考えられた。

**Key words** : 実験的肺炎, Fleroxacin

Fleroxacinは杏林製薬(株)で新たに開発されたキノロンカルボン酸系合成抗菌剤であり、グラム陽性、陰性菌に対して幅広く強力な抗菌力を示し<sup>1)</sup>、ofloxacin(OFLX)<sup>2,3)</sup>やnorfloxacin(NFLX)<sup>4)</sup>などの既存の同系薬剤に比べて優れた経口吸収性と長い血中半減期を示すことが知られている<sup>5)</sup>。

Fleroxacinの人に対する臨床的有効性が現在本邦で検討されているが、今回われわれは、マウスの実験的肺炎桿菌性肺炎に対する本剤の有効性を投与方法の上から検討し、これを、OFLX, NFLX, ciprofloxacin(CPFX)<sup>6)</sup>等の治療効果と比較して若干の成績を得たので報告する。

### I. 材料と方法

#### 1. 使用薬剤

Fleroxacin(杏林製薬), NFLX(杏林製薬), OFLX(第一製薬), ciprofloxacin(CPFX, バイエル薬品), piperimidic acid(PPA, 大日本製薬)及びcefaclor(CCL, 塩野義製薬)を用いた。

#### 2. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定

日本化学療法学会標準法<sup>7)</sup>に従って測定した。

#### 3. マウス肺炎の作製

肺炎桿菌性マウス肺炎は、以前に報告した方法で作製した<sup>8,9)</sup>。感染菌には、*Klebsiella pneumoniae* B54株を用いた。B54株をハート・インフュージョン寒天培地で、37℃、一晚培養した後、滅菌生理食塩水で10<sup>8</sup>CFU/mlに調製し、感染菌を懸濁液とした。これをガラス製ネブライザーを用いて感染チャンバー内に1kg/cm<sup>2</sup>の圧力で30分間噴霧してマウスに吸入感染させた。マウスは雄性ICR系マウス(5週齢)を用いた。

#### 4. 感染治療実験

治療実験は3つのステップに分けて行った。

ステップ1: 感染18時間後より薬剤を8時間毎に1日3回3日間経口投与した。

ステップ2: fleroxacin, OFLX及びCPFXの3剤を用いて、感染18時間後より12時間毎に1日2回及び24時間毎に1日1回3日間の治療を行い、ステップ1の成績と比較した。

ステップ3: fleroxacin, OFLX及びCPFXの3剤を感染38時間後より12時間毎に1日2回3日間経口投与して治療開始時期の影響について検討を行った。各薬剤のED<sub>50</sub>値は、最終投与日から3日後のマウス生存率からProbit法により算出した。

#### 5. 肺内生菌数の測定

感染18時間後にfleroxacin, OFLX及びCPFXを5mg/kg 1回経口投与し、経時的にマウスの肺を無菌的に取り出してホモジナイズした後、寒天平板塗抹法により生菌数を測定した。測定用培地には、ハート・インフュージョン寒天培地を用いた。

#### 6. 血中濃度及び肺内濃度の測定

Fleroxacin, OFLX及びCPFXを10mg/kg 1回経口投与した後の血中及び肺内濃度の推移を*Bacillus subtilis* ATCC6633を検定菌としたBioassayにより測定した。

### II. 結果

#### 1. *K. pneumoniae* B54株の薬剤感受性

Table 1に各薬剤の*K. pneumoniae* B54株に対するMIC値を示した。Fleroxacin, OFLX及びNFLXのMICは0.05

\* 〒701-01 倉敷市松島577

$\mu\text{g/ml}$ であったが、CPFXのMICは0.0125  $\mu\text{g/ml}$ と最も良好であった。また、CCL及びPPAのMICは1.56  $\mu\text{g/ml}$ であった。

## 2. 感染治療実験

Table 1にステップ1の成績、すなわち、感染18時間後より薬剤を8時間毎に1日3回3日間経口投与したときの治療効果を示した。FleroxacinのED<sub>50</sub>値は1.1 mg/kg/doseであり、OFLX (2.3 mg/kg/dose) やCPFX (2.7 mg/kg/dose) に比べて、2倍以上、NFLX (18.2 mg/kg/dose) と比べると約20倍優れた効果であった。また、PPA及びCCLのED<sub>50</sub>値は20 mg/kg/dose以上で、治療効

果は認められなかった。

次に1日3回投与で比較的優れた治療効果が見られたfleroxacin, OFLX及びCPFXについて1日の投与回数が治療効果に及ぼす影響を調べ (ステップ2), その結果をTable 2に示した。3薬剤ともに1日2回投与は、1日3回投与と同程度の治療効果を示した。FleroxacinとOFLXについては1日1回投与での効果についても検討したが、両薬剤とも1日2及び3回投与とはほぼ同程度の効果を示していた。

Table 3には、fleroxacin, OFLX及びCPFXを感染38時間後から投与し、治療開始時期を遅くした場合の成績を

Table 1. Therapeutic effect of fleroxacin and other quinolones on experimental *Klebsiella pneumoniae* B 54 pneumonia in mice

(t.i.d.)

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	(mg/kg/dose) ED <sub>50</sub> [95% confidence limits]
Fleroxacin	0.05	1.1 [ 0.9 ~ 1.6]
Ofloxacin	0.05	2.3 [ 1.7 ~ 3.1]
Ciprofloxacin	0.0125	2.7 [ 1.9 ~ 3.8]
Norfloxacin	0.05	18.2 [10.5 ~ 40.1]
Pipemidic acid	1.56	>20
Cefaclor	1.56	>20

MICs were determined by the twofold agar dilution method.

Inoculum size:  $10^6$  CFU/ml

Treatment was initiated at 18 h after exposure.

Drugs were administered orally 3 times a day at 8 h intervals for 3 days.

Table 2. Effects of treatment schedules of fleroxacin, ofloxacin and ciprofloxacin on experimental *Klebsiella pneumoniae* B 54 pneumonia in mice

Drug <sup>a)</sup>	ED <sub>50</sub> (mg/kg/day) [95% confidence limits]		
	$\times 1/\text{day}^{\text{b)}$	$\times 2/\text{day}^{\text{c)}$	$\times 3/\text{day}^{\text{d)}$
Fleroxacin	2.4 [1.7 ~ 3.4]	2.6 [2.1 ~ 3.4]	3.4 [2.7 ~ 4.8]
Ofloxacin	5.1 [3.7 ~ 7.0]	4.7 [3.6 ~ 6.0]	6.9 [5.2 ~ 9.2]
Ciprofloxacin	—	3.9 [2.5 ~ 5.7]	8.2 [5.7 ~ 11.5]

<sup>a)</sup>Treatment was initiated at 18 h after exposure.

<sup>b)</sup>Drugs were administered every 24 h

<sup>c)</sup>every 12 h

<sup>d)</sup>every 8 h for 3 days

Table 3. Effects of starting time of treatment with fleroxacin, ofloxacin and ciprofloxacin on *Klebsiella pneumoniae* B 54 pneumonia

Drug <sup>a)</sup>	ED <sub>50</sub> (mg/kg/day) [95% confidence limits]	
	treatment started at 18 h	started at 38 h
Fleroxacin	2.6 [2.1 ~ 3.4]	4.9 [3.4 ~ 6.9]
Ofloxacin	4.7 [3.6 ~ 6.0]	9.0 [6.5 ~ 13.6]
Ciprofloxacin	3.9 [2.5 ~ 5.7]	7.4 [5.2 ~ 10.7]

<sup>a)</sup>b.i.d. treatment

示したが、感染18時間後から治療を開始した場合に比べて、いずれの薬剤も効果が悪くなっていた。しかし、このように肺炎が進展した時期から投与を開始した場合でも、floxacinの効果はOFLXやCPFXに比べて約2倍優れていた。

Fig. 1にはfloxacin, OFLX及びCPFXの5mg/kgを感染18時間後に1回経口投与した後のマウス肺内生菌数の推移を示した。投与8時間後までは3薬剤ともに生菌数が減少するが、OFLX及びCPFXでは、その後再増殖が見られ、48時間後にはほぼコントロールと同程度の肺内生菌数となった。一方、floxacinでは48時間後でも再増殖が強く抑制されていた。

### 3. Floxacinのマウス血中及び肺内濃度

Floxacin, OFLX及びCPFXを10mg/kg1回経口投与した後のマウス血中及び肺内濃度の推移をFig. 2に示した。Floxacinが最も高い血中濃度を示し、 $C_{max}$ でOFLXの2倍、CPFXの約6.5倍であった。肺内濃度もfloxacinが最も高く、投与1時間後では、floxacinは、OFLXの3倍、CPFXの約11倍の濃度を示した。また、floxacinのAUCは、OFLX及びCPFXのそれぞれ約3倍及び7倍大きい値を示した。

## Ⅲ. 考 察

*K. pneumoniae* B54株による実験的マウス肺炎に対するfloxacinの治療効果を投与方法の面から検討した。

感染18時間後から1日3回3日間経口投与した場合、floxacinの治療効果は、既存の同系薬剤であるNFLX, OFLX, CPFX及びPPAに比べて2~15倍以上優れていた。われわれは、以前に、NFLX, OFLX, CPFX及びenoxacin (ENX)<sup>10)</sup>の4剤について、*K. pneumoniae* B54株によるマウス肺炎に対する治療効果を比較し、1日3回、4~7日間経口投与での治療効果が、OFLX, CPFX, ENX, NFLXの順に良好であったと報告<sup>11)</sup>したが、今回の成績はその結果と一致していた。

1日3回投与で治療効果が優れていたfloxacin, OFLX及びCPFXについて、1日の投与回数が増えることで治療効果に及ぼす影響について検討を行った。3薬剤ともに1日2回投与は、1日3回投与と同程度の治療効果を示した。また、floxacinとOFLXについては1日1回投与での治療効果についても検討した結果、両薬剤ともに1日2回及び3回投与とほとんど変わらない効果が得られた。

このように、floxacinは1日1~3回投与のいずれの条件でもOFLXやCPFXに比べて治療効果が優れており、1日1, 2及び3回投与ともにほぼ同じED<sub>50</sub>値を示し、投与回数の影響をほとんど受けない薬剤と考えられた。

次に、感染38時間後からfloxacin, OFLX及びCPFXを投与し、肺炎が進行した状態での治療効果について検

討を行った。3薬剤ともに治療開始時期を遅くした場合では、感染18時間後から投与した場合に比べ治療効果が低下していたが、floxacinはこのような重篤な状態の肺炎でもOFLXやCPFXに比べて約2倍効果が優れていた。

Floxacinの効果が、他のキノロン系薬剤に比べて優れている理由を見出すために、薬剤投与後の肺内生菌数の推移と血中及び肺内濃度を測定し比較した。感染18時間後に、floxacin, OFLX及びCPFXを1回経口投与し、その後、経時的に肺内生菌数を調べた結果、3薬剤ともに投与8時間後までは、肺内生菌数が減少したが、OFLXとCPFXでは投与48時間後でも再増殖が見られ、非治療群と同程度の肺内生菌数となった。一方、floxacinでは、48時間後でも再増殖が抑えられており、OFLXやCPFXに比べ効果が優れていた。

またfloxacin, OFLX及びCPFXのマウス血中及び肺内濃度を測定した結果、floxacinの濃度は両薬剤の2倍以上高く、AUCも2倍以上高い値を示した。このことから、floxacinは経口吸収が良好で、高い血中及び肺内濃度が得られる薬剤であると考えられた。

以上の結果から、floxacinの優れた治療効果は、OFLXやCPFXに比べて優れた経口吸収性と肺内への移行性により、マウス肺内生菌数の著しい減少と長い増殖抑制を引き起こすことに基づくものと考えられた。

今回の実験のように、投与回数と*in vivo*効果の関係については、 $\beta$ -lactamやaminoglycosideの注射剤で検討が行われている。Leggett等<sup>12)</sup>は、白血球減少マウスで*K. pneumoniae*肺炎モデルを作製し、CEZ, IPM, CAZ, GM及びNTLの投与間隔と効果について検討した結果、 $\beta$ -lactamでは投与間隔をあけることにより効果が低下するが、aminoglycosideでは投与間隔が異なっても効果がほとんど変わらなかったと報告している。 $\beta$ -lactamは、*in vitro*でグラム陰性菌に対してほとんどpost antibiotic effect (PAE)を示さず、肺への移行性が悪いが、逆に、aminoglycosideは、強いPAEを示し、肺への移行性が良いことから、このような結果の違いとして表われ、 $\beta$ -lactamの効果はtime above MICに、aminoglycosideのそれはAUCに相関していると考えられた。

Floxacinは、aminoglycosideと同様にグラム陰性菌に対して殺菌力が強く、*in vitro*で強いPAEを示すことが知られている<sup>13)</sup>。Floxacinは経口投与により高い血中及び肺内濃度と大きなAUCを示すことから、他のキノロン系薬剤よりも*in vivo*でのPAE効果が優れ、そのことが治療効果に反映したのと考えられた。このように、floxacinの効果は、aminoglycosideと類似しており、 $C_{max}$ とAUCに相関しているものと考えられた。

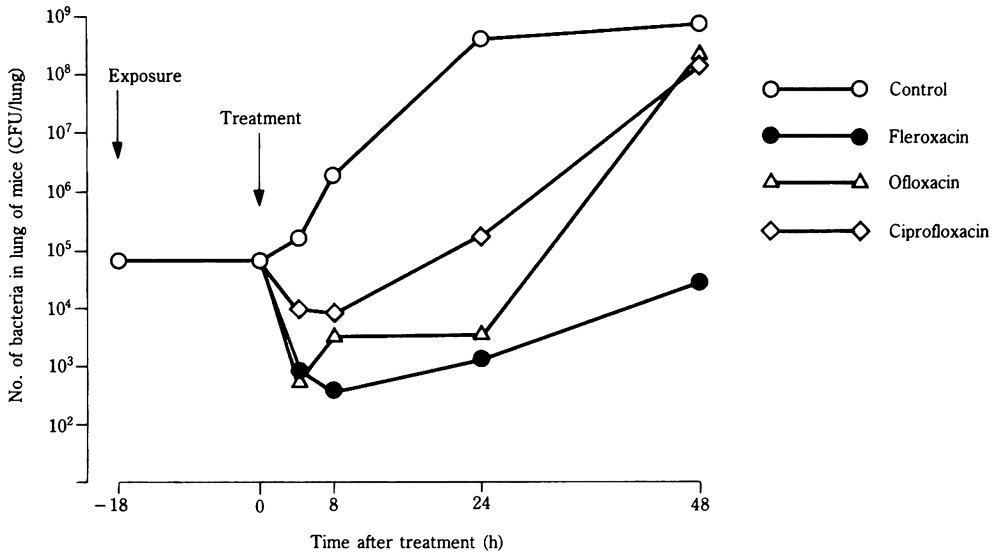


Fig. 1. Effects of single oral dose of fleroxacin, ofloxacin and ciprofloxacin on growth of *Klebsiella pneumoniae* B 54 in lungs of mice (dose: 5 mg/kg/p.o.).

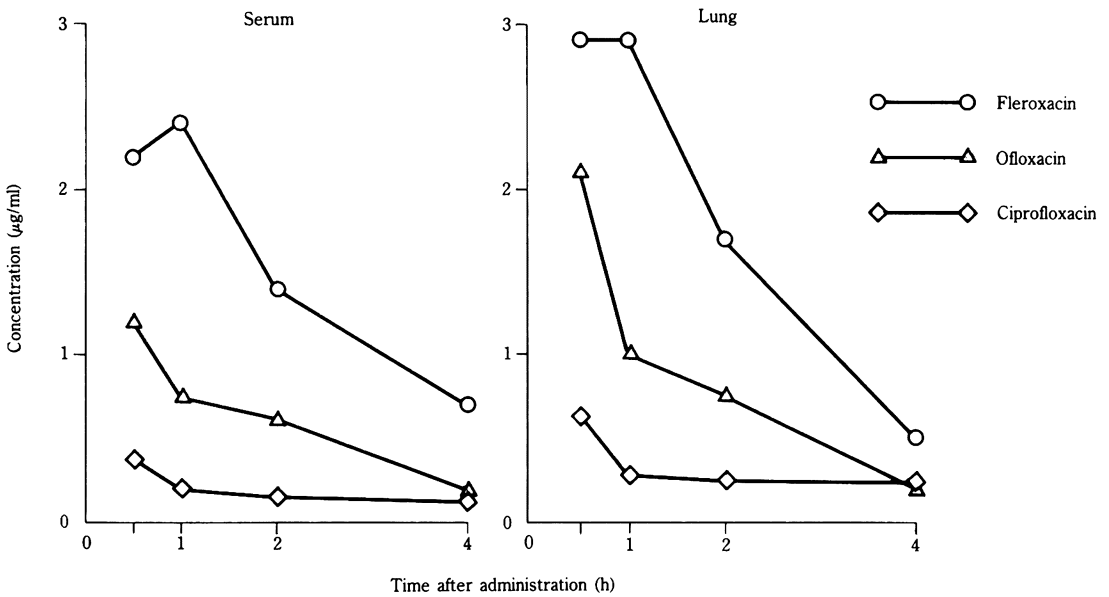


Fig. 2. Serum and lung levels of fleroxacin, ofloxacin and ciprofloxacin in mice (dose: 10 mg/kg, p.o.).

Fleroxacinはヒトにおいても、200mg単回投与時の最高血中濃度が3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $T_{1/2}$ が約10時間を示し、OFLX、CPFX及びNFLXに比べて高い血中濃度と長い半減期が得られることが報告されている。動物実験の成績が、そのままヒトでの臨床成績を反映するとは言いきれないが、これらの結果から、fleroxacinは1日1回投与でも臨床での良好な有効性が期待できるものと考えられた。

#### 文 献

- 1) HIRAI K, AOYAMA H, HOSAKA M, OOMORI Y, NIWATA Y, SUZUE S, IRIKURA T: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of AM-833, a new quinolone derivative. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 29: 1059-1066, 1986
- 2) 副島林造, 二木芳人, 川西正泰, 松島敏春, 中浜 力, 日野二郎: DL-8280に関する基礎的研究と主として呼吸器感染症に対する臨床的研究。 *Chemotherapy* 32 (S-1): 443-453, 1984
- 3) 二木芳人, 岸本寿男, 日野二郎, 中浜 力, 渡辺正俊, 副島林造: オフロキサシンの呼吸器感染症に対する臨床的検討。 *薬理と治療* 13: 209-218, 1985
- 4) 副島林造, 二木芳人, 川西正泰, 松島敏春, 日野吉彦, 加藤 収, 八木 晋, 原 宏紀, 莊田恭聖: AM-715に関する研究。 *Chemotherapy* 29 (S-4): 335-342, 1985
- 5) NAKAJIMA M, KANAMARU M, UEMATSU T, TAKIGUCHI A, MIZUNO A, HAYA T, KAWAHARA F, OIOE T, SAITO S, UCHIDA H, MASUZAWA K: Clinical pharmacokinetics and tolerance of fleroxacin in healthy male volunteers. *J. Antimicrobial Chemotherapy* 22 (S-D): 133-144, 1988
- 6) 二木芳人, 中川義久, 角 優, 岸本寿男, 日野二郎, 渡辺正俊, 松島敏春, 副島林造: BAy0 9867に関する臨床的研究—主として呼吸器感染症に対する有効性と安全性の検討。 *Chemotherapy* 33 (S-7): 475-485, 1985
- 7) MIC測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76-79, 1981
- 8) 二木芳人: NO<sub>2</sub>急性暴露マウスにおける肺の感染防御作用に関する研究—主として肺胞マクロファージ機能の障害と修復について。 *感染症学雑誌* 55: 71-82, 1981
- 9) MATSUSHIMA T, NIKI Y, KAWANISHI M, TANO Y, SOEJIMA R: Experimental study on the susceptibility to *Klebsiella pneumoniae* in the mice with injured lung. *Kawasaki Medical Journal* 7: 147-151, 1981
- 10) 二木芳人, 日野二郎, 渡辺正俊, 中浜 力, 川西正泰, 松島敏春, 副島林造: AT-2266の基礎的・臨床的研究。 *Chemotherapy* 32 (S-3): 554-561, 1984
- 11) NIKI Y, HINO J, MATSUSHIMA T, KAWANE H, NAKAHAMA C, WATANABE M, SOEJIMA R: Experimental and clinical studies on the effect of ofloxacin against respiratory tract infection; Ofloxacin; a new quinolone antibacterial agent. *Proceeding of a workshop held at the 14th international congress of chemotherapy* 57-63, 1985
- 12) LEGGETT J E, FANTIN B, EBERT S, TOTSUKA K, VOGELMAN B, CALAME W, MATTIE H, CRAIG W A: Comparative antibiotic dose-effect relations at several dosing intervals in murine pneumonitis and thigh-infection models. *J. Infect. Dis.* 159: 281-292, 1989
- 13) 谷村 弘, 副島林造: 第37回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム。AM-833 (Fleroxacin), 和歌山, 1989

## THERAPEUTIC EFFECT OF FLEROXACIN AGAINST EXPERIMENTAL PNEUMONIA IN MICE

YOSHIHITO NIKI, MASATOSHI WATANABE, YOSHIKAZU TASAKA, MASARU SUMI, TOSHIO KISHIMOTO and RINZOU SOEJIMA

Division of Respiratory Disease, Department of Medicine, Kawasaki Medical School,

577 Matsushima, Kurashiki 701-01, Japan

We examined the effects of treatment schedules of fleroxacin on experimental *Klebsiella pneumoniae* B54 pneumonia in mice and obtained the following results.

1. Fleroxacin, administered t.i.d. orally, showed high efficacy against the pneumonia, being about twice as effective as ofloxacin and ciprofloxacin, and more than 15 times more active than norfloxacin, pipemidic acid or cefaclor.
2. Once or twice daily administration of fleroxacin also showed outstanding therapeutic effect.
3. These results may be primarily attributed to better absorption and higher serum and lung levels of fleroxacin than with the other new quinolones.