

ニューキノロン系抗菌薬 (sparfloxacin) の抗酸菌に対する試験管内抗菌力

加藤元一・久世文幸

京都大学胸部疾患研究所感染・炎症学*

ニューキノロン系薬物 sparfloxacin (SPFX) について、4 種の抗酸菌臨床分離株 *Mycobacterium tuberculosis* 20 株 (耐性菌 4 株を含む)、*Mycobacterium avium complex* 20 株、*Mycobacterium kansasii* 20 株、*Mycobacterium fortuitum* 15 株に対する試験管内抗菌力を ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), rifampicin (RFP) と比較検討した。

SPFX は、*Mycobacterium tuberculosis* については、OFLX, CPFX に比べより良好な MIC を示し、また RFP とほぼ同等の MIC を示した。また、RFP 耐性株についても有効であった。*Mycobacterium avium complex*, *Mycobacterium kansasii* についても、前記 3 薬物に比べ良好な MIC を示した。*Mycobacterium fortuitum* については、RFP は試験管内抗菌力をほとんど示さなかったが、ニューキノロン系薬物は全て有効な MIC を示し、SPFX はその中でも最も良好な累積 MIC を示した。

以上の結果より、SPFX が抗酸菌感染症の治療薬として期待され得る可能性が示唆された。

Key words : ニューキノロン, Sparfloxacin, 抗酸菌, MIC, 試験管内抗菌力

抗酸菌感染のうち *Mycobacterium tuberculosis* 感染症 (結核症) については、有効な治療法が確立し、初回治療の場合完治が十分望めるまでになった。しかしながら、現在でも耐性菌の問題は解決せず、排菌がとまらず長期間の入院を余儀なくされている患者は無視できない数である。また、いわゆる非定型抗酸菌症、特に *Mycobacterium avium complex* 感染症は、AIDS をはじめ immunocompromised host への感染の頻度が高いことから、有効な治療法確立が焦眉の問題である。

近年次々と開発されつつある、いわゆるニューキノロンに属する抗菌薬については、*M. tuberculosis* をはじめ、2~3 の抗酸菌に対する抗菌活性が報告され、臨床使用についても検討が加えられつつある¹⁻⁵⁾。私共も、既に norfloxacin (NFLX), enoxacin (ENX), ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), lomefloxacin (LFLX), tosufloxacin (TFLX) などについての抗酸菌に対する試験管内抗菌力を検討し、OFLX, CPFX に最も有望な MIC を認めたことを報告してきた⁶⁾。今回、新たに開発されたニューキノロン系薬物 sparfloxacin (SPFX) について抗酸菌 *M. tuberculosis*, *M. avium complex*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium fortuitum* の 4 菌種についての試験管内抗菌力を、OFLX, CPFX, rifampicin

(RFP) と比較検討し、SPFX に極めて良好な *in vitro* 抗菌活性が認められたので以下に報告する。

I. 実験材料及び方法

1. 菌 株

研究室において 1% 小川培地で継代保存している臨床分離株 *M. tuberculosis* 20 株、*M. avium complex* 20 株、*M. kansasii* 20 株、*M. fortuitum* 15 株を、実験直前に Modified Dubos Tween albumin 液体培地に継代し⁷⁾、2 週間培養したものを実験に供した。*M. tuberculosis* 20 株のうち 4 株は、RFP 耐性株を選択した。*M. avium complex* 20 株は、cornmeal agar 上で smooth thin-transparent を dominant に示すものを用いた。

接種菌液は、培養菌液を滅菌生理食塩水で希釈し、硫酸バリウムを用いた肉眼比濁法で 1.0 mg/ml の菌液を作成し、その 2 滴 (ca. 0.1 mg) を接種した。

2. 使用培地

既に報告している^{7, 8)}、Modified Dubos Tween albumin 液体培地及び 10% 牛血清加 Kirchner 液体培地を使用した。

3. 薬 物

大日本製薬(株)より提供された SPFX を、現在既に市

*〒606 京都市左京区聖護院川原町 53

Table 1. *In vitro* activities of agents against *Mycobacterium tuberculosis* (20 strains)

		MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.01	0.02	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	≥ 25
Sparfloxacin	D	20										
	K	18		2								
Ciprofloxacin	D	7	3	6	3	1						
	K	7	1	1	5	4	2					
Ofloxacin	D	6	4	4	6							
	K	6	2	5	4	3						
Rifampicin	D	16									1	1
	K	7	3	1	1	2	2				1	1

D: Dubos Tween albumin liquid medium

K: Kirchner's liquid medium with 10% bovine serum

販され抗酸菌に対する有効性が報告されている¹⁻³⁾ OFLX, CPFX 及び RFP を対照とし、試験管内抗菌力を比較検討した。

SPFX, OFLX 及び RFP は dimethylsulfoxide (DMSO) に、CPFX は蒸留水に溶解し 1 mg/ml の薬液を実験直前に作成し、培地量 2 ml の希釈系列にそれぞれ上記同一菌量を接種した。

4. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

試験管内抗菌力の比較は、MIC を用いた。即ち、各種薬物濃度は 100 $\mu\text{g/ml}$ を初管とし、倍数希釈系列を 19 管作成した。第 20 管は薬物を含まない対照培地とした。前述した接種菌液を 0.1 ml 各培地に接種し、37°C にて 4 週間 (*M. tuberculosis*, *M. kansasii*), 2 週間 (*M. avium* complex), 1 週間 (*M. fortuitum*) 培養後肉眼判定により菌の発育が認められない濃度を MIC とした。

II. 実験結果

1. *M. tuberculosis* に対する試験管内抗菌力

Table 1 に *M. tuberculosis* に対する各薬物の MIC を示した。RFP は、Modified Dubos Tween albumin 液体培地及び 10% 牛血清加 Kirchner 液体培地の両培地間で明らかな差を示す。Modified Dubos Tween albumin 液体培地では、RFP は極めて良好な MIC を示すが、耐性菌には当然の事ながら無効である。SPFX は同培地で RFP と同等の極めて良好な MIC を示し、RFP 耐性菌に対しても有効であることが示された。また、OFLX, CPFX と比較してもより良好な MIC が認められた。各薬物の MIC₉₀ を Table 5

に示した。

2. *M. avium* complex に対する試験管内抗菌力

Table 2 に *M. avium* complex に対する各薬物の MIC を示した。同菌種に対しては、RFP も有効な試験管内抗菌力を得られず、MIC₉₀ では、1.56~3.13 (Modified Dubos Tween albumin 液体培地), 12.5~ ≥ 25 (10% 牛血清加 Kirchner 液体培地) である。一方 SPFX は、それぞれ 0.78, 1.56 と比較的良好な MIC を示している。OFLX, CPFX 両薬物は、RFP とほぼ同等の MIC を示した。

3. *M. kansasii* に対する試験管内抗菌力

Table 3 に *M. kansasii* に対する各薬物の MIC を示した。この菌においても、SPFX は RFP より良好な MIC を示し、OFLX, CPFX と比較しても良好な成績を示した。

4. *M. fortuitum* に対する試験管内抗菌力

Table 4 に *M. fortuitum* に対する各薬物の MIC を示した。RFP は同菌種に対して全く無効であるが、SPFX, OFLX, CPFX 共に極めて有効な MIC を示した。同菌種に対してのニューキノロン系 3 薬物の示した MIC₉₀ は差を認めなかったが、累積 MIC 曲線グラフを見ると、SPFX, CPFX, OFLX の順で有効であった。

5. 2 培地間の差

前述したように、RFP においては 10% 牛血清加 Kirchner 液体培地では Modified Dubos Tween albumin 液体培地に比べて劣った MIC を示したが、ニューキノロン系薬物では、両培地の差はほとんど認められなかった。

Table 2. *In vitro* activities of agents against *Mycobacterium avium* complex (20 strains)

		MIC (μg/ml)											
		≤0.01	0.02	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	≥25
Sparfloxacin	D	3	1	1	4	3	4	2	2				
	K	2	2	1	1	4	3	1	4	2			
Ciprofloxacin	D	1			3	1	5	3	3	3	1		
	K			1		2	1	2	5	1	6	1	1
Ofloxacin	D	1				1	3	5	2	3	4	1	
	K					1	1	1	2	5	2	3	5
Rifampicin	D	3			1	6	5	2		3			
	K			1			1		1	2	3	1	11

D: Dubos Tween albumin liquid medium

K: Kirchner's liquid medium with 10% bovine serum

Table 3. *In vitro* activities of agents against *Mycobacterium kansasii* (20 strains)

		MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
		≤ 0.01	0.02	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	≥ 25
Sparfloxacin	D	10	2	4	1	2	1						
	K	8	2		6	2				2			
Ciprofloxacin	D	2	3	1	4	1	3	4	1	1			
	K	2	1		1	5	3	5	1	2			
Ofloxacin	D			4	5	6	2	2	1				
	K	1	1	2	2	6	4	1		3			
Rifampicin	D	2	1	5		5	2		4	1			
	K	1	1	1		6	3	3	2	1			2

D: Dubos Tween albumin liquid medium

K: Kirchner's liquid medium with 10% bovine serum

Table 4. *In vitro* activities of agents against *Mycobacterium fortuitum* (15 strains)

		MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
		≤ 0.01	0.02	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	≥ 25
Sparfloxacin	D	15											
	K	15											
Ciprofloxacin	D	13	2										
	K	13		1	1								
Ofloxacin	D	10	4		1								
	K	7	4	2	1	1							
Rifampicin	D		1		1	1	2	1	5	3	1		
	K					1					4	4	6

D: Dubos Tween albumin liquid medium

K: Kirchner's liquid medium with 10% bovine serum

Table 5. Antimycobacterial activities of sparfloxacin and reference compounds against clinical isolates

Organism (No. of strains)		Dubos		Kirchner	
		MIC ₈₀	MIC ₉₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀
<i>M. tuberculosis</i> (20)	sparfloxacin	≤0.01	≤0.01	≤0.01	≤0.01
	ofloxacin	0.02	0.05~0.10	0.02~0.05	0.10~0.20
	ciprofloxacin	0.02	0.05~0.10	0.05~0.10	0.20
	rifampicin	≤0.01	12.5	0.02	12.5
<i>M. kansasii</i> (20)	sparfloxacin	≤0.01	0.10~0.20	0.02	0.20
	ofloxacin	0.10~0.20	0.39~0.78	0.10~0.20	1.56~3.13
	ciprofloxacin	0.10	0.78	0.20~0.39	1.56
	rifampicin	0.10~0.20	0.78~1.56	0.20~0.39	3.13
<i>M. avium</i> complex (20)	sparfloxacin	0.10~0.20	0.78	0.20	1.56
	ofloxacin	0.78	3.13~6.25	3.13	12.5~≥25
	ciprofloxacin	0.39	1.56~3.13	0.78~1.56	6.25
	rifampicin	0.20	1.56~3.13	12.5~≥25	12.5~≥25
<i>M. fortuitum</i> (15)	sparfloxacin	≤0.01	≤0.01	≤0.01	≤0.01
	ofloxacin	≤0.01	≤0.01~0.02	≤0.01~0.02	0.05~0.10
	ciprofloxacin	≤0.01	≤0.01~0.02	≤0.01	0.02~0.05
	rifampicin	0.78~1.56	1.56~3.13	6.25~12.5	12.5~≥25

(μg/ml)

Ⅲ. 考 察

結核に対する化学療法術式は確立され、現在新規発生患者はよほどの合併症の有するものを除けば治癒可能な疾病となったと言える⁹⁾。しかしながら、現在でも結核病床のかんりの部分を占める耐性菌感染者の問題、また AIDS を筆頭とした immunocompromised host に対する *M. avium* complex を代表とする抗酸菌感染症の治療術式は、未だ確定しておらず、有効な治療薬の開発が待たれている。

近年、次々と開発され臨床に使用されつつある、いわゆるニューキノロン系薬物のうちいくつかのものに抗酸菌に対する試験管内抗菌力を持つものがある事が報告されている¹⁻⁵⁾。私共も、ニューキノロン系薬物を含めたピリドンカルボン酸系薬物 11 種 nalidixic acid (NA), piromidic acid (PA), pipemidic acid (PPA), miloxacin (MLX), cinoxacin (CINX), ENX, NFLX, OFLX, CPMX, LFLX, TFLX について、今回と同様の検討を加え、いわゆるニューキノロン系薬物の中では、OFLX, CPMX の 2 薬剤に、*M. tuberculosis*, *M. kansasii* などに対して良好な試験管内抗菌力が認められたことを報告してきた⁶⁾。

今回、私共が検討を加えた SPFX は、同時に検討した RFP, OFLX, CPMX よりも良好な成績を示し、その *M. tuberculosis* に対する抗菌力は RFP に劣らず、RFP 耐性菌にも効果を示す点から有効な結核化学療法薬の 1 剤となり得る可能性が示唆される。また他の薬剤耐性菌患者への治療薬剤ともなり得る可能性、併用薬の 1 剤として結核治療期間の短縮を計り得る可能性をも示すものと考えられた。

M. kansasii に対しても、SPFX は *M. tuberculosis* と同様に Modified Dubos Tween albumin 液体培地における MIC₈₀ が 0.10~0.20、10% 牛血清加 Kirchner 液体培地でも 0.20 と、RFP (それぞれ 0.78~1.56, 3.13) の 8 倍から 16 倍強い抗菌力を示し、同菌の感染症においても治療薬となり得る可能性を認めた。

しかしながら、*M. avium* complex については SPFX は、RFP, OFLX, CPMX などより良好な成績を示したとはいえ、前述した 2 菌種に比べ劣った試験管内抗菌力しか示し得ず、同菌感染症に対する治療の困難さを改めて痛感した。

M. fortuitum に対しては、SPFX, OFLX, CPMX

の3薬剤はいずれも極めて良好な MIC を示した。同菌による感染症は、その発生数が少ないとはいえ、抗結核薬は無効に近く、今まで有効な治療法は確立されていなかった。今回認められたように、同菌による感染症に対するニューキノロン系薬物の有効性が示唆されたことにより、はじめて基礎的な根拠に基づく臨床応用の可能性が示された。

今回検討した薬物のなかで、現在開発中の SPFX については、同系統の薬物である OFLX, CPMX と比較して、また RFP と比較してもより良好な試験管内抗菌力を証明し得た。今後抗酸菌感染症、特に *M. avium* complex を代表とする非定型抗酸菌感染症に対する治療法の確立、また耐性結核菌感染症に対する治療などを旨とし、臨床応用を検討していく価値のある薬剤であると考えらる。

SPFX は、大日本製薬(株)より提供されました。感謝致します。

文 献

- 1) 束村道雄, 水野松司, 外山春雄 Ofloxacin, Ciprofloxacin 及び Norfloxacin の抗酸菌発育阻止作用の比較。結核 61 : 453~459, 1986
- 2) Gay J D, DeYoung D R and Roberts G D : *In vitro* activities of norfloxacin, and ciprofloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium* complex, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, and *M. kansasii*. Antimicrob Agents Chemother 26 : 94~96, 1984
- 3) Tsukamura M : *In vitro* antituberculosis activity of a new antibacterial substance ofloxacin (DL 8280). Am Rev Respir Dis 131 : 348~351, 1985
- 4) 斎藤 肇, 佐藤勝昌, 富岡治明, 渡辺隆司 : 諸種抗酸菌に対する norfloxacin, ofloxacin 及び ciprofloxacin の *in vitro* 並びに *in vivo* 抗菌活性。結核 62 : 287~294, 1987
- 5) Tsukamura M : Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL 8280) on pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 131 : 352~356, 1985
- 6) 加藤元一, 鈴木克洋, 田中栄作, 久世文幸 : ビリドン・カルボン酸系 11 薬剤の抗酸菌に対する試験管内制菌力。結核 63 : 360~361, 1988
- 7) Kuze F, Kurasawa T, Bando K and Maekawa N : *In vitro* and *in vivo* susceptibility of atypical mycobacteria to various drugs. Rev Infect Dis 3 : 885~897, 1981
- 8) Sakurai N and Kuze F : *In vitro* and *in vivo* chemotherapeutic activity of rifabutin (LM 427) on *Mycobacterium avium-intracellulare* complex. Bulletin of the Chest Dis. Resear. Inst, Kyoto Univ. 20 : 50~60, 1987
- 9) 久世文幸 : 難治性病原体の感染と化学療法 3. 抗酸菌 (結核菌, 非定型抗酸菌)。日内会誌 79 : 1675~1679, 1990

IN VITRO ACTIVITIES OF A NEW QUINOLONE DERIVATIVE,
SPARFLOXACIN AGAINST *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*,
MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX,
MYCOBACTERIUM KANSASII, AND *MYCOBACTERIUM FORTUITUM*

Motokazu Kato and Fumiyuki Kuze
Department of Infection and Inflammation
Chest Disease Research Institute, Kyoto University
53 Shogoin-kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

The *in vitro* activities of sparfloxacin (SPFX), ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX) and rifampicin (RFP) against 20 clinical isolates each of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium kansasii*, and 15 clinical isolates of *Mycobacterium fortuitum* were evaluated by the agar dilution method using Kirchner's liquid medium supplemented with 10% bovine serum and modified Dubos Tween albumin liquid medium. The MIC₉₀ of SPFX against the isolates of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium kansasii*, and *Mycobacterium fortuitum* were ≤ 0.01 , 1.56, 0.20, and $\leq 0.01 \mu\text{g/ml}$ on Kirchner's liquid medium, respectively. Those of RFP were 12.5, 12.5 – ≥ 25 , 3.13, and 12.5 – ≥ 25 , respectively. The newly developed quinolone, SPFX, was more active against all four mycobacterial species than the other 2 quinolones and RFP.

This newly developed quinolone (SPFX) is a good candidate antimycobacterial agent for continued *in vivo* evaluation.