

Temafloxacinの基礎的・臨床的検討

平井裕一・辻野守泰・中畑 久・青木留美子・武部和夫

弘前大学医学部第三内科学教室*

新しい新キノロン剤であるtemafloxacin(TMFX)について基礎的および臨床的検討を加え、以下の結果を得た。

Sub-MICのTMFXを加えたヒト多核白血球(PMN)の大腸菌に対する殺菌能は亢進がみられた。また高濃度のTMFXを浸透させた後のPMNでも殺菌能の増強がみられた。これらの効果はofloxacin, norfloxacinより著明であった。

7例の呼吸器感染症と1例の尿路感染症にTMFXを使用した。投与量は1日300mgを分2で用いた。投与期間は7~14日間であった。その結果、6例で有効、1例でやや有効、1例で無効で75.0%の有効率が得られた。副作用は軽度の蕁麻疹様皮疹が1例にみられた。臨床検査値の異常は認められなかった。

Key words : temafloxacin, 多核白血球(PMN), 臨床効果

Temafloxacin(TMFX)は新たに開発されたキノロン系薬剤で、従来の薬剤に比してグラム陽性菌と嫌気性菌への抗菌力が優れる、マウス実験感染での効果が優れる、経口により高い血中濃度が得られ持続的である、組織内移行が良好である等の特徴を有している。今回我々は本剤に関する基礎的検討としてヒト多核白血球(以下PMN)との協力的殺菌作用について、臨床的には呼吸器および尿路感染症での有用性について検討したので報告する。

I. 方 法

1. ヒトPMNとの協力的殺菌作用

ヒトおよびマウス血清に殺菌されがたい特徴を有する臨床分離菌、*Escherichia coli* No.59株を用い、PMNとsub-MICの薬剤を同時に作用させた場合と予めPMNにMIC以上の濃度の薬剤を浸透させた後で殺菌させた場合とで生菌数の変化をみた。PMNは健康成人より空腹時静脈血を採取し、6%デキストラン生食水1/5容量に混和しleukocyte rich plasmaを分離、Ficoll-paque比重遠心法にて分離し、Hanks Balanced Salt Solution (HBSS)に懸濁し実験に用いた。

1) PMNと薬剤を同時に被検菌に作用させた場合 (Fig. 1)

PMNを 0.25×10^6 , 0.5×10^6 /mlの2段階に調製、被検菌はHBSSに懸濁し、分光光度計で620nmの吸光度を0.14とし、約 10^8 CFU/mlに調製した。薬剤は最終濃度寒天平板希釈法のMICの1/16, 1/4, 1 MIC相当となるよう溶解しPMN, 被検菌とともにHBSS中で

37°Cで回転培養した。1, 2時間後にPMNを浸透圧破壊して残存生菌数をcolony counting methodで算定した。使用した薬剤および被検菌に対するMICは以下の通りである。

TMFX $0.125 \mu\text{g/ml}$, ofloxacin(OFLX) $0.125 \mu\text{g/ml}$, norfloxacin(NFLX) $0.25 \mu\text{g/ml}$ 。

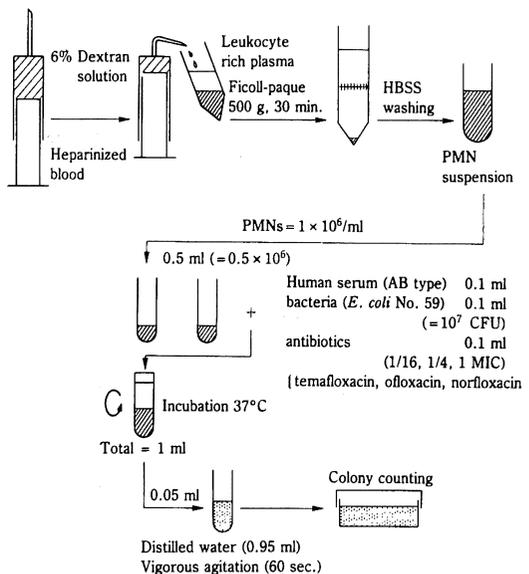


Fig. 1. Bactericidal assay with sub-MIC (1/16, 1/4, 1 MIC) of quinolones.

2) 予めPMNに薬剤を浸透させた場合(Fig. 2)

各薬剤を最終濃度1, 10¹/_{μg}/mlでPMN(1×10⁶, 2×10⁶/ml)とともに37℃で60分振盪した。その後HBSSに懸濁し、150×Gで遠心して細胞外の薬剤を除去した(2回)。このPMNを用いて殺菌能を測定した。被検菌と薬剤は1)と同様である。

2. 臨床試験

1990年4月から1991年3月に当科外来通院, または入院にて呼吸器あるいは尿路感染症と診断され同意を得られた8例を対象とした。その内訳は急性気管支炎4例, 慢性気管支炎の急性増悪2例, 肺炎1例, 急性膀胱炎1例であった。年齢は28歳から74歳で, 1例を除き60歳以上であった。性別は男性2例, 女性6例であった。特に問題となるような基礎疾患を有する症例はなかった。

TMFXの投与法は, 全例1日300mgを分2で経口投与し, 投与期間は7日から14日であった。

効果の判定は呼吸器感染症では発熱, 咳嗽, 喀痰量と性状, ラ音, 胸部X線写真, 赤沈, CRP値, 白血球数などで, 尿路感染症では排尿痛, 頻尿の程度, 尿所見などで行なった。

II. 結果

1. ヒトPMNとの協力的殺菌作用の成績

1) 薬剤とPMNを同時に被検菌に作用させた場合

Fig. 3は薬剤単独での増殖曲線である。今回の濃度設定では増殖の抑制は見られなかった。

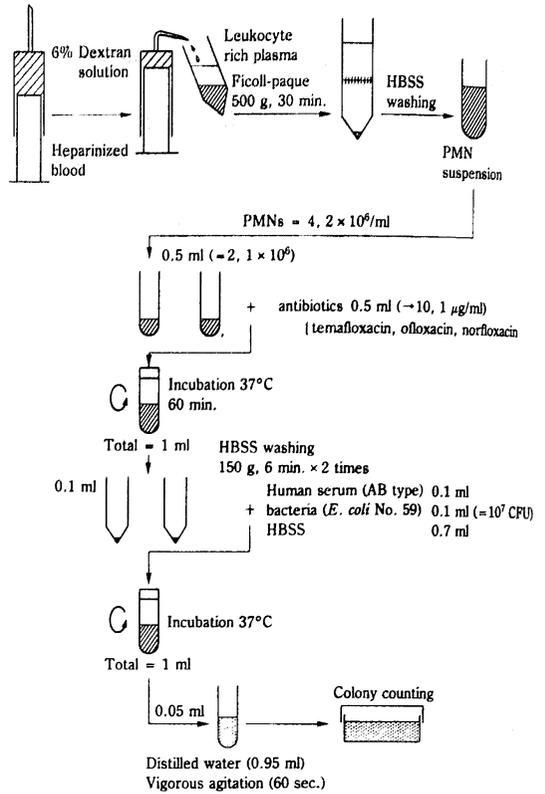
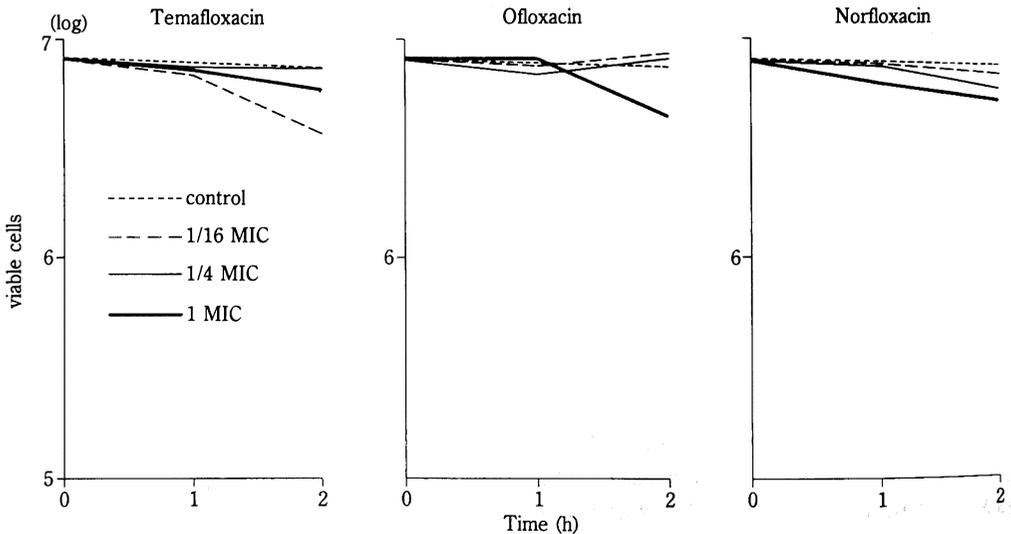


Fig. 2. Bactericidal assay with pre-treatment (1, 10 μg/ml, 60 min.) of quinolones.



PMN: polymorphonuclear leukocytes

Fig. 3. Killing of *Escherichia coli* No. 59 by sub-MIC of quinolones (without PMNs).

次にPMNを共存させた場合は、PMN単独($0.5 \times 10^6/\text{ml}$)に比べ生菌数の減少が見られた。生菌数の減少は薬剤1/4と1/16 MICでほとんど同程度であり、1 MICで明らかに大きかった。薬剤間ではTMFXはOFLXとほぼ同程度のPMNとの協力作用を示し、NFLXよりも優れていた(Fig. 4)。

2) 薬剤をPMNに浸透させた後の殺菌能

Fig. 5は薬剤無浸透のPMNの殺菌曲線である。PMN 1×10^6 、 $2 \times 10^6/\text{ml}$ ともほとんど殺菌を示さなかった。これに対し、TMFXで処理したPMNでは殺菌能の増強がみられた(Fig. 6)。TMFX $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ で処理した場合、PMNの数が 1×10^6 、 $2 \times 10^6/\text{ml}$ のいずれでも1時間後

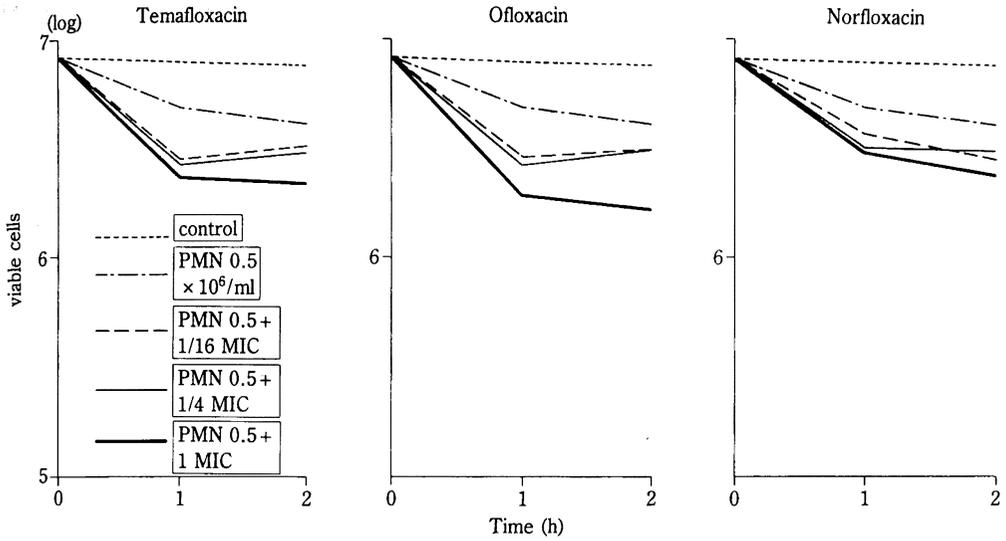


Fig. 4. Killing of *Escherichia coli* No. 59 by PMNs by sub-MIC (1/16, 1/4, 1 MIC) of quinolones.

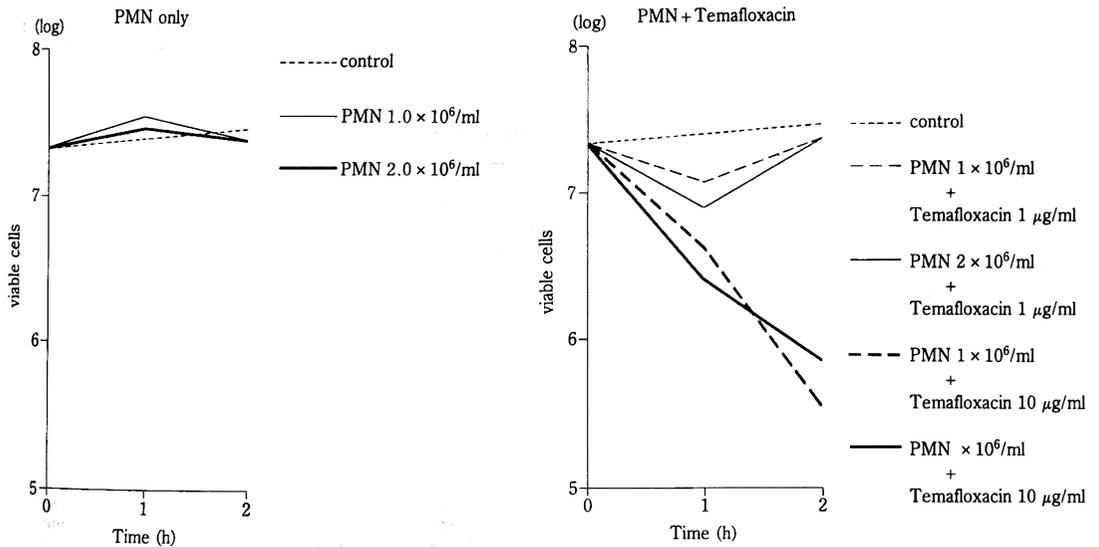


Fig. 5. Killing of *Escherichia coli* No. 59 by PMN alone.

Fig. 6. Killing of *Escherichia coli* No. 59 by PMN with pre-treatment (1, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 60 min.) of temafloracin.

の生菌数はコントロールに比して0.5 log程の減少を示した。2時間後は菌数は増加する傾向であった。TMFX 10 μ g/mlで処理した場合は1時間後で約1 log, 2時間後ではさらに約2 logの著明な生菌数の減少を認めた。PMN数による差は認められなかった。

OFLXの場合(Fig. 7)は、1 μ g/ml処理では1, 2時間ともPMNの殺菌に対する影響はみられなかった。10 μ g/ml処理では1時間後では影響が現われず、2時間後でPMN 1 \times 10⁶個では約0.7 log, 2 \times 10⁶個ではその倍の約1.5 logの生菌数減少がみられた。NFLXの場合

(Fig. 8) OFLXと同様の傾向であったが、菌数の減少の程度はOFLXに比しやや弱かった。以上、生菌数の減少は1時間後、2時間後ともTMFX処理PMNで他剤に比し顕著であった。

2. 臨床成績

各症例の概要をTable 1に示した。本剤投与前に症例3の喀痰から*Haemophilus influenzae*が、症例8の尿から*E. coli*が検出された。これらに対する本剤のMICはそれぞれ0.05 μ g/mlと0.025 μ g/ml以下であった。これらのうち症例3の*H. influenzae*はのちに消失した。臨

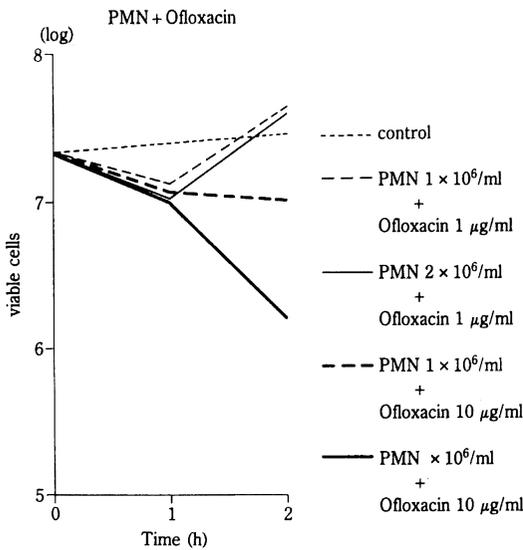


Fig. 7. Killing of *Escherichia coli* No. 59 by PMN with pre-treatment (1, 10 μ g/ml, 60 min) of ofloxacin.

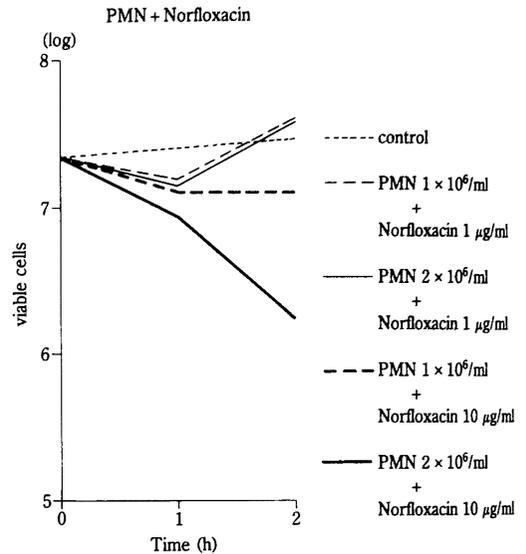


Fig. 8. Killing of *Escherichia coli* No. 59 by PMN with pre-treatment (1, 10 μ g/ml, 60 min) of norfloxacin.

Table 1. Clinical summary of temafloxacin

Case no.	Age (y)	Sex	Diagnosis	Temafloxacin			Isolated organism		Effect		Side effects
				dose (mg \times times)	duration (day)	total dose (g)	species	MIC (μ g/ml)	clinical	bacteriological	
1	71	F	acute bronchitis	150 \times 2	13	3.9	ND		good	unknown	none
2	69	F	acute bronchitis	150 \times 2	7	2.1	ND		good	unknown	none
3	74	M	acute bronchitis	150 \times 2	13.5	4.05	<i>H. influenzae</i>	0.05	good	eradicated	none
4	61	F	acute bronchitis	150 \times 2	7	2.1	ND		good	unknown	none
5	60	F	chronic bronchitis	150 \times 2	8	2.4	NF		poor	unknown	none
6	74	F	chronic bronchitis	150 \times 2	9	2.7	ND		fair	unknown	urticaria
7	73	M	pneumonia	150 \times 2	7	2.1	NF		good	unknown	none
8	28	F	acute cystitis	150 \times 2	7	2.1	<i>E. coli</i>	\leq 0.025	good	unknown	none

NF: normal flora ND: not determined

床効果は症例1, 2, 3, 4, 7および8で有効, 症例6でやや有効, 症例5で無効であった。本剤の有効率は75.0%であった。副作用では, 症例6に蕁麻疹様皮疹が認められたが, その程度は軽度であった。

TMFXの投与前後の臨床検査値をTable 2に示した。本剤投与により臨床検査値データに異常を示した症例は認められなかった。

Ⅲ. 考 察

TMFXは田辺製薬とダイナボット両社により開発された新キノロン系薬剤で, グラム陽性球菌, グラム陰性桿菌および嫌気性菌に広く抗菌活性を有している。またマウス実験感染で優れた成績を発揮し, 免疫低下状態の緑膿菌感染に対しても良好な治療成績を示す¹⁾。

これまで新キノロン剤がヒトやマウスの食細胞との協力作用を有することについてはいくつかの報告がある^{2,3)}。

よって本剤も生体防御能との協力作用を有することが考えられる。そこで今回はヒトPMNとの協力的殺菌作用について検討した。新キノロン剤は組織内移行が良好であることが知られる。本剤300mg 1回投与でのヒト最高血中濃度は2.01~2.25 $\mu\text{g/ml}$ である¹⁾。ラットでの検討では, 血清濃度に比べ肝臓・腎臓で約5~6倍, 肺では約2倍の移行率を示すとされる³⁾。PMNへの移行については, 一般に新キノロン剤では良好な成績を示すものが多く^{4,5)}, 対血清比2~10倍とされる。

よって, PMNへ移行した本剤はPMNに貪食された細菌に対し直接的殺菌作用を発揮する, あるいはPMNの殺菌機構を賦活する等の機序でPMNとの協力的殺菌作用を現わすことが考えられる。そこで今回の基礎的検討では, PMNとsub-MICの薬剤を同時に細菌に作用させることに加え, 予めMIC以上の薬剤をPMNに浸透させた場合の2通りについて実験を行なった。

まず, sub-MICの薬剤とPMNを同時に被検菌に作用させた場合であるが, TMFXはじめ今回の使用薬剤は被検菌に対するMICが0.125~0.25 $\mu\text{g/ml}$ と良好であったため, 薬剤のみでは殺菌されぬようsub-MICの濃度とPMN単独では殺菌しがたい $0.5 \times 10^6/\text{ml}$ の組合せで検討した。その結果, TMFXはOFLXとほぼ同等のPMNとの協力的殺菌を示しNFLXより優れる成績を示した。この成績は各薬剤のMICに平行するものであった。この機序としては, 薬剤により被検菌がPMNに貪食・殺菌を受けやすくなるような変化を生じたことが第一に考えられる。

一方, 薬剤をPMNに浸透させた後の検討では, 新キノロン剤の血中濃度と組織移行性から考え, 1, 10 $\mu\text{g/ml}$ という比較的高濃度で処理を行なった。その結果TMFXではPMN数が 1×10^6 , $2 \times 10^6/\text{ml}$ のいずれでも10 $\mu\text{g/ml}$ で処理した場合同程度(1時間後-1 log, 2時間後-2 log)の生菌数減少がみられた。OFLXとNFLXの10 $\mu\text{g/ml}$ 処理では1時間後では殆どPMN単独と差がなく, 2時間ではPMN単独よりも生菌数の減少

Table 2. Laboratory findings before and after administration of temafloracin

Case no.	B/A	RBC ($\times 10^4$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (/mm ³)	Plate ($\times 10^4$)	S-GOT (IU/l)	S-GPT (IU/l)	Al-Pase (IU/l)	LDH (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	TC (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	S-Cr (mg/dl)	CRP
1	B	424	13.1	37.7	10600	20.9	22	12	60	186	12	202	0.6	21	0.9	7.0
	A	393	11.6	35.4	5900	30.0	23	21	55	170	14	170	0.2	24	0.7	0.2
2	B	485	14.8	44.1	8800	26.9	27	26	108	173	159	262	0.9	17	0.8	3.0
	A	436	13.5	39.2	5600	25.1	23	22	91	145	108	248	0.6	19	0.8	0.0
3	B	482	14.5	44.8	8500	15.1	21	17	53	145	15	152	1.0	20	0.7	1.8
	A	470	14.6	42.8	8200	17.4	22	19	53	144	15	118	0.7	26	0.8	0.0
4	B	451	13.5	40.6	7000	16.6	17	15	95	180	18	225	0.3	14	0.7	0.1
	A	436	13.0	38.4	5100	14.7	17	11	86	204	19	233	0.4	17	0.8	0.0
5	B	427	13.5	38.9	9600	25.0	22	12	98	188	23	313	0.5	15	0.7	0.1
	A	411	12.3	37.8	7000	33.7	25	11	85	195	21	242	0.3	10	0.7	0.7
6	B	423	14.0	39.3	7400	29.2	22	13	50	177	15	306	0.5	15	0.7	0.1
	A						31	13	46	199	13	266	0.7	12	0.6	0.1
7	B	390	11.9	35.1	12700	27.7	19	11	73	181	24		0.3	13	0.8	3.3
	A	413	12.2	35.5	11400	24.3	29	12	69	197	23		0.3	18	0.9	0.8

A: after B: before

がみられたもののその大きさはTMFXに及ばなかった。またPMNの数に比例し 2×10^6 個では 1×10^6 個の約2倍の生菌数減少がみられた。PMN単独では 1×10^6 , 2×10^6 個のいずれもほとんど殺菌を示していなかったため、この結果は薬剤とPMNの間で協力的殺菌が行なわれたことを示すと考えられる。今回のPMNと菌数の設定ではPMN 1個あたり約5~10個であった。一般に正常人のPMNは1個あたり10個ほどまでは細菌を貪食するとされるので、実験開始2時間後までにはPMN 1×10^6 /ml, 2×10^6 /mlいずれの系でもほとんど全ての菌がPMN内に貪食されていたと思われる。よってTMFX $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 処理で1, 2時間ともPMN数が1, 2×10^6 /mlのいずれでも1, 2時間後ともほぼ同等の生菌数減少がみられたことは、TMFXが殺菌を示すのに十分な濃度で、しかも他剤よりすみやかにPMN内へ移行したため、貪食された菌に対し直接殺菌的に作用した結果と思われる。これら3剤の被検菌に対するMICに大きな差がないことから、PMN内への移行がTMFXが最も優れていたことが考えられる。

よって本剤は臨床上もヒト食細胞との協力が期待されられると思われた。実際に本剤を7例の呼吸器感染症と1例の尿路感染症に使用したところ75.0%の有効率を得、また副作用としては1例に軽度の蕁麻疹様皮疹を認めたが軽度であり、また臨床検査値の異常は認められなかった。

これらの結果から本剤は内科領域の細菌感染症に優れた臨床効果を示し副作用の少ない有用な薬剤と考えられた。

文 献

- 1) 那須 勝, 熊澤浄一: 第39回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム。Terafloxacin(TA-167), 大分, 1991
- 2) Boogaerts M A, Malbrain S, Scheers W and Verwilghen R L: Effects of Quinolones on Granulocyte Function *In Vitro*. *Infection* 14 Suppl. 4: 258~262, 1986
- 3) TA-167概要: 田辺製薬株式会社, p. 63~64
- 4) Van der Auwera P, Matsumoto T and Husson M: Intraphagocytic penetration of antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 22: 185~192, 1988
- 5) Van Rensburg C E J, Joone G and Anderson R: An *in vitro* Investigation of the Intraphagocytic Bioactivity of Difloxacin, Ciprofloxacin, Pefloxacin and Fleroxacin. *Chemotherapy* 35: 273~277, 1989
- 6) Pruul H and McDonald P J.: Lomefloxacin-induced modification of the kinetics of growth of gram-negative bacteria and susceptibility to phagocytic killing by human neutrophils. *J. Antimicrob. Chemother.* 25: 91~101, 1990

Basic and clinical studies on temafloxacin

Yuichi Hirai, Moriyasu Tsujino, Hisashi Nakahata, Rumiko Aoki and Kazuo Takebe

Third Department of Internal Medicine, Hirosaki University, School of Medicine

Zaifu-cho 5, Hirosaki-shi, Aomori 036, Japan

Laboratory and clinical studies were performed on a new quinolone derivative, temafloxacin (TMFX).

The bactericidal activity of human polymorphonuclear leukocytes (PMN) against *Escherichia coli* was increased by the addition of sub-MIC of TMFX. The activity was also augmented by pre-treatment with a relatively high concentration of TMFX. These effects of TMFX were more remarkable than those of ofloxacin (OFLX) and norfloxacin (NFLX).

TMFX was administered to seven patients with respiratory tract infection and one patient with urinary tract infection orally at a dose of 300 mg twice a day for 7 to 14 days. The results were good in 6, fair in 1 and poor in 1. The efficacy rate was 75.0%. One side effect observed was mild urticaria-like exanthema. No abnormal clinical laboratory findings were observed.