

Temafloracinの各種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症学*

(*現 国立療養所千石荘病院呼吸器科)

Temafloracin(TMFX)の各種抗酸菌に対する試験管内抗菌力をrifampicin(RFP), ciprofloxacin(CPFX)およびofloxacin(OFLX)と比較検討した。TMFXの*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae*に対するMICはOFLX, CPFXとほぼ同等であった。RFPとの比較では, *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium* complexの各菌に対しほぼ同等のMICを示した。*M. fortuitum*においては, RFPに比べ, OFLX, CPFXと並んで, より優れた抗菌力を示し, *M. tuberculosis*のRFP耐性株4株においても, RFPと交叉耐性は認められず, 良好な抗菌力が認められた。

現在, 抗酸菌感染症に対するニューキノロン剤の効果が期待されている。TMFXが結核菌, *M. kansasii*などに対してOFLX, CPFXとほぼ同等の優れた抗菌力を示し, またRFPの抗菌力がほとんど認められなかった*M. fortuitum*に対し強い抗菌力を示したことは, 有効な治療薬の無い同菌による感染症に対する治療薬としての可能性を示唆している。さらに, RFP耐性*M. tuberculosis*に対する試験管内抗菌力が認められたことは, 現在なお問題になっているRFP耐性*M. tuberculosis*の治療手段となる可能性をも示唆している。今後, *in vivo*においてTMFXの抗酸菌感染症に対する有用性に関して検討する価値があると考ええる。

Key words : temafloracin, 試験管内抗菌力, 非定型抗酸菌, 結核菌

抗酸菌感染症のうち*Mycobacterium tuberculosis*感染による結核症に対しては, 現在isoniazid(INH), rifampicin(RFP)を主軸とする有効な治療法が確立しているが, これらの薬剤に耐性を示す初回耐性結核と再治療耐性結核の治療については, 交叉耐性がなく卓効を示す薬剤が乏しく, 多くの問題点を残している。また, 非定型抗酸菌症, 特に*Mycobacterium avium* complex感染症は, わが国においては罹患率が高く, また増加傾向が認められており, この感染症が日和見感染症として肺に器質的障害を持つ宿主に, またHIV感染宿主をはじめとするimmunocompromised hostへ感染し易いことも報告されており, 卓効を示す薬剤がないこともあって, 本菌の感染症に対する有効な薬剤の開発が強く望まれている。

我々は, 各種ニューキノロン系合成抗菌剤の抗酸菌に対する試験管内抗菌力を測定し, ofloxacin(OFLX)およびciprofloxacin(CPFX)が*M. tuberculosis*と*Mycobacterium kansasii*に優れた抗菌力を示すことを報告してきた¹⁾。

Temafloracin(TMFX):1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-

7-(3-methylpiperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid hydrochloride)²⁾は米国ABBOTT社にて合成されたニューキノロン系の合成抗菌剤であり, 本邦では田辺製薬株式会社とダイナボット株式会社とで共同開発されている。その抗菌力は既存のニューキノロン剤と同様広域抗菌スペクトルを有し, 特にグラム陽性菌に対する抗菌力はOFLXおよびCPFXより優れていることが報告されている²⁾。

そこで我々は, *M. tuberculosis*, *M. avium* complex, *M. kansasii*, *Mycobacterium fortuitum*および*Mycobacterium chelonae*の5菌種に対するTMFXの試験管内抗菌力をOFLX, CPFXおよびRFPと比較検討したので報告する。

1. 実験材料と方法

1) 菌株

研究室にて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, *M. chelonae* 5株を用いた。なお, *M. tuberculosis* 20株のうち4株は, RFP耐性株を選択した。

2) 使用培地

既に報告している^{3,4)}, Modified Dubos Tween albumin液体培地(D培地と略す)および10%牛血清加Kirchner液体培地(K培地と略す)を使用した。

3) 検討薬剤

田辺製薬(株)より提供されたTMFXと、*M. tuberculosis* などに対する有効性が知られているOFLX[®], CPFXおよびRFPを対照とし、試験管内抗菌力を比較検討した。

4) MICの測定

各薬剤は、それぞれ初管で100 μ g/mlの濃度を有する液体培地を順次倍数希釈して19管作成し、第20管は薬剤を含まない対照培地とした。Modified Dubos Tween albumin液体培地で²⁾2代継代の1週間培養菌液を適宜希釈し、比濁にて1.0mg/mlの菌液を作成、その10倍希釈液の0.1ml(約0.01mg)を各試験に接種し、37 $^{\circ}$ Cにて4週間(*M. tuberculosis*, *M. kansasii*), 2週間

(*M. avium* complex), 1週間(*M. fortuitum*, *M. chelonae*)培養後肉眼判定により菌の発育が認められない最低濃度をMICとした。

2. 実験結果

Table 1に*M. tuberculosis*に対するTMFXおよび対照薬剤のMIC分布を示した。RFPのMIC分布は2種の液体培地で明らかな差を示し、D培地でRFP感受性菌に対して強い抗菌力を示したが、耐性菌には両培地とも高いMICを示した。TMFXのK培地における本菌種に対するMIC₉₀(Table 6)は0.78 μ g/mlでRFPの0.39 μ g/ml(RFP耐性菌を除く)とほぼ同程度の値を示した。なお、TMFXはRFP耐性菌に対しても強い抗菌力を示したのが注目された。また、TMFXのK培地におけるMIC₅₀は0.05 μ g/mlでRFPの0.02 μ g/mlよりやや高かったが、CPFXより低くOFLXと同程度であった。

Table 2に*M. avium* complexに対する各薬物のMIC分

Table 1. Antibacterial activity of temafloxacin and other antimicrobial agents against *Mycobacterium tuberculosis* (20 strains)

Drug	Medium	MIC (μ 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
Temafoxacin	D	8	7	3	1			1					
	K	1	3	7	1	3	2	2	1				
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	2
	K	7	3	1	1	2	2				1	1	2

D: Dubos Tween albumin liquid medium K: Kirchner's liquid medium with 10% bovine serum

Table 2. Antibacterial activity of temafloxacin and other antimicrobial agents against *Mycobacterium avium* complex (20 strains)

Drug	Medium	MIC (μ 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
Temafoxacin	D		1	1	2	1	3	4	3	2	3		
	K		1			3	2	1	2	3	2	5	1
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

布を示した。本菌種に対するRFPのMICは*M. tuberculosis*に対する値より高く、K培地におけるMIC₅₀は $\geq 25 \mu\text{g/ml}$ を示した (Table 6)。これに対してTMFXのMIC₉₀は $12.5 \mu\text{g/ml}$ 、MIC₅₀は $3.13 \mu\text{g/ml}$ であり、RFPより強い抗菌力を示した。一方、D培地におけるRFPのMICはK培地より低くTMFXとほぼ同程度の抗菌力であった。また、TMFXの本菌種に対する抗菌力はOFLXおよびCPFXとほぼ同程度であった。

Table 3に*M. kansasii*に対する各薬剤のMIC分を示した。本菌種に対するTMFXのMIC₉₀はD培地、K培地とも $0.78 \mu\text{g/ml}$ でRFPと同程度の値を示した。また、OFLXおよびCPFXに比べてもTMFXは同程度の抗菌力を有する傾向が見られた。

Table 4に*M. fortuitum*に対する各薬剤のMICの分布を示した。RFPは本菌種に対して*M. avium* complexと同様に感受性の低い菌株が多数認められた。しかし、

TMFXのMIC₉₀はK培地で $0.1 \mu\text{g/ml}$ でありOFLXおよびCPFXと共に極めて優れた抗菌力を示した。

Table 5に*M. chelonae*に対する各薬剤のMIC分布を示した。本菌種の場合、菌株数が少ないためMIC₅₀とMIC₉₀の算出はしなかったが、RFPにもっとも高い感受性を示した菌株でもMICは $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった。また、TMFXをはじめとするニューキノロン剤はMICが広範囲に分布したが、少数の菌株が比較的低いMICを示し、TMFXはOFLXおよびCPFXとほぼ同程度の抗菌力を示した。

3. 考察

現在までに報告されているように、結核に対するいわゆるニューキノロン系薬物の効果が期待され実際に治療も試みられつつある⁶⁻¹⁰⁾。今回、私達は、田辺製薬とダイナボット株式会社で共同開発したニューキノロン系薬物TMFXの提供を受け、試験管内抗菌力を検

Table 3. Antibacterial activity of temafloxacin and other antimicrobial agents against *Mycobacterium kansasii* (20 strains)

Drug	Medium	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
Temafloxacin	D		6	1	6	2	1	3		1			
	K		2	5	3	3	2	3		1	1		
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			

D: Dubos Tween albumin liquid medium K: Kirchner's liquid medium with 10% bovine serum

Table 4. Antibacterial activity of temafloxacin and other antimicrobial agents against *Mycobacterium fortuitum* (15 strains)

Drug	Medium	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
Temafloxacin	D	12	1	2									
	K	7	5	1	2								
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

討する機会を得た。

TMFXは今回抗菌力を検討した5菌種の抗酸菌のうち、*M. fortuitum*, *M. chelonae*を除く、*M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium* complexには抗結核薬であるRFPとほぼ同等の抗菌力を示し、すでに抗酸菌に対する抗菌力が検討されているOFLXおよびCPFX[®]ともほぼ同等の優れた抗菌力を示した。特記すべきことは、RFPの抗菌力のほとんど認められなかった*M. fortuitum*に対してTMFXなどのニューキノロン剤が極め

て優れた抗菌力を示したことであり、現在有効な治療薬のない同菌に対する治療薬としての可能性が強く示唆された。また、*M. tuberculosis*のRFP耐性菌に対してTMFXが試験管内抗菌力を示したことは、現在なお問題になっている耐性結核の治療に対してTMFXの投与がOFLX, CPFXと共に一つの治療薬となる可能性を示唆している。また両培地間での差異は、*M. tuberculosis*, *M. avium* complexにおいて認められたが、他の菌種ではほとんど差が認められなかった。

Table 5. Antibacterial activity of temafloxacin and other antimicrobial agents against *Mycobacterium chelonae* (5 strains)

Drug	Medium	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
Temafoxacin	D				1				2				2
	K				1								4
Ciprofloxacin	D			1				1	1	1			1
	K						1			2			2
Ofloxacin	D					1				1	1		2
	K										1	1	3
Rifampicin	D											1	4
	K												5

D: Dubos Tween albumin liquid medium K: Kirchner's liquid medium with 10% bovine serum

Table 6. Antimycobacterial activities of temafloxacin and reference drugs against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Drug	Dubos		Kirchner	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>M. tuberculosis</i> (20)	temafloxacin	0.02	0.05	0.05	0.78
	ofloxacin	0.02	0.10	0.05	0.20
	ciprofloxacin	0.02	0.10	0.10	0.20
	rifampicin	≤0.01	12.5	0.02	12.5
	rifampicin		(≤0.01)*		(0.39)*
<i>M. kansasii</i> (20)	temafloxacin	0.10	0.78	0.10	0.78
	ofloxacin	0.20	0.78	0.20	3.13
	ciprofloxacin	0.10	0.78	0.39	1.56
	rifampicin	0.20	1.56	0.39	1.56
<i>M. avium</i> complex (20)	temafloxacin	0.78	6.25	3.13	12.5
	ofloxacin	1.56	6.25	3.13	≥25
	ciprofloxacin	0.39	3.13	1.56	6.25
	rifampicin	0.20	3.13	≥25	≥25
<i>M. fortuitum</i> (15)	temafloxacin	≤0.01	0.05	0.02	0.10
	ofloxacin	≤0.01	0.02	0.02	0.10
	ciprofloxacin	≤0.01	0.02	≤0.01	0.05
	rifampicin	1.56	6.25	12.5	≥25

* : Parentheses show MIC₉₀s except for 4 rifampicin resistant strains.

(μg/ml)

以上の成績から、抗酸菌感染症においても原因菌によっては、TMFXの臨床における治療効果が期待され、今後臨床におけるTMFXの有用性を検討する価値があると考ええる。

文 献

- 1) 加藤元一, 鈴木克洋, 田中栄作, 久世文幸: ピリドンカルボン酸系11薬剤の抗酸菌に対する試験管内抗菌力。結核63: 360~361, 1988
- 2) Hardy D J, Swanson RN, Hensey D M, Ramer N R, Bower R R, Hanson C W, Chu D T W and Fernandes P B: Comparative Antibacterial Activity of Temafloracin Hydrochloride (A-62254) and Two Reference Fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother 31: 1768 ~ 1774, 1987
- 3) 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
- 4) Sakurai N and Kuse 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
- 5) 東村道雄, 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
- 6) Gay J D, DeYoung D R and Roberts G D: *In vitro* activities of norfloxacin, and ciprofloxacin against *M. avium* complex, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, and *M. kansasii*, Antimicrob Agents Chemother 26: 94~96, 1984
- 7) Tsukamura M: *In vitro* antituberculosis activity of a new antibacterial substance ofloxacin (DL 8280). Am Rev Respir Dis 131: 351, 1985
- 8) 齊藤 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
- 9) Tsukamura M: Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL 8280) on pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 131: 352~356, 1985
- 10) 中江一郎, 小沢真二, 坂谷光則, 田中茂治, 黒須 巧, 金井広一, 白井史朗, 竹中孝造, 久世文幸: 難治肺結核症例に対する ofloxacin の臨床効果並びに耐性獲得について。結核66: 299~307, 1991

In vitro antibacterial activity of temafloracin against mycobacteria

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

(*Present affiliation: Division of Pulmonary Medicine, National Sengokuso Hospital)

Antibacterial activities of temafloracin (TMFX) against mycobacteria were compared with those of rifampicin (RFP), ofloxacin (OFLX) and ciprofloxacin (CPFX). The antibacterial activities of TMFX against *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* were almost equal to those of OFLX and CPFX. In comparison with those of RFP, the antibacterial activities of TMFX against *M. tuberculosis*, *M. kansasii* and *M. avium* complex were almost comparable. However, the antibacterial activity of TMFX against *M. fortuitum* was superior to that of RFP, just as were those of OFLX and CPFX. Furthermore, TMFX showed potent antibacterial activity also against RFP resistant strains of *M. tuberculosis*.

These results suggest that TMFX merits further *in vivo* study and that clinical trials against mycobacterial infections may be worth conducting.