

## New quinolone 薬の至適作用法に関する研究

## 一試験管内膀胱モデルを用いた検討一

徳山 宏基

岐阜大学医学部泌尿器科学教室\*

(主任: 河田幸道教授)

(平成5年12月27日受付・平成6年3月7日受理)

New quinolone 薬の効果的な作用法を知る目的で, *in vitro* bladder model を用いて各種の作用法による細菌増殖抑制効果について検討した。抗菌薬は norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX) および ciprofloxacin (CPFX) を用い, 供試菌は尿路由来の *Escherichia coli* (ECSA-1) と *Citrobacter freundii* (GUT-1) を用いた。最高濃度の意義に関する検討では, 各薬剤の 1, 2, 5, 10, 20, 50, および 100 MIC 濃度を 4 時間作用させ, また維持濃度の検討では 1/2, 1 および 2 MIC 濃度を 8 もしくは 16 時間作用させた。細菌増殖抑制時間におよぼす最高濃度の効果は, どの薬剤も濃度の上昇につれて抑制時間が長くなったが, 特に 10 MIC 以上で顕著であった。一方, 必要最低維持濃度はおおむね 1/2~2 MIC 濃度であった。この結果を踏まえて, 総投与量を 36 mg および 72 mg に固定して, 各種の初期高濃度と維持低濃度の組み合わせで検討した結果, 投与初期に 8 MIC 程度の高濃度を 1 時間程作用させ, その後 1 MIC 程度の濃度を維持する方法がもっとも効果的であった。

**Key words:** The effective exposure schedules, new quinolones, bladder model

今日, 各種の抗菌薬が臨床で広く用いられており, この中には多くの系統の抗菌薬が含まれている。抗菌薬の効果的な作用法は薬剤の系統によって異なることが指摘されているが, 薬剤の系統と効果的な作用法という観点からの検討は比較的少ない。

Penicillin に関してはすでに 1940 年代に Eagle ら<sup>1,2)</sup> の詳細な検討がみられ, またその後開発された種々の新規系統の薬剤の中では,  $\beta$ -lactam 系および aminoglycoside 系薬剤についていくつかの報告がみられる<sup>3-9)</sup>。これらの検討によると,  $\beta$ -lactam 系薬剤は作用時間が重要であり, aminoglycoside 系薬剤は濃度が重要であることが指摘されている。

一方, 近年いわゆる new quinolone 薬が開発され臨床で頻用されているが, 本系薬剤に関する効果的な作用法の研究はほとんどみられない。

そこで, 今回 new quinolone 薬の効果的な作用法に関して膀胱モデル (bladder model) を用いて検討した。

## I. 材料と方法

## 1. 材料

## 1) 使用薬剤

いわゆる new quinolone 薬のうち norfloxacin (NFLX: 杏林製薬), ofloxacin (OFLX: 第一製薬), ciprofloxacin (CPFX: パイエル薬品) について検討した。

## 2) 使用菌株

尿路感染症から分離された *Escherichia coli* (ECSA-1) と *Citrobacter freundii* (GUT-1) を使用したが, これらの菌株に対する各薬剤の MIC は, *E. coli* (ECSA-1) に対しては NFLX: 0.1  $\mu$ g/ml, OFLX: 0.1  $\mu$ g/ml, CPFX: 0.05  $\mu$ g/ml, また *C. freundii* (GUT-1) に対しては NFLX: 50  $\mu$ g/ml, OFLX: 25  $\mu$ g/ml, CPFX: 25  $\mu$ g/ml であった。

## 3) 使用培地

使用菌株の増菌および bladder model の実験には Trypticase Soy Broth (TSB, BBL, Co.) を用い, MIC の測定は日本化学療法学会標準法<sup>10)</sup>に従い, 寒天平板希釈法で 36°C, 18 時間培養を行って判定した。なお, 接種菌量は 10<sup>6</sup> CFU/ml とした。

## 4) 使用機械

膀胱モデル (bladder model) はヒトの膀胱機能に

\* 岐阜市司町 40 番地

類似させた種々の機能を有する細菌培養器で、O' Gradyら<sup>11,12)</sup>によって考案され、その後河田ら<sup>13,14)</sup>によって改良が加えられた。本装置は尿路を想定した尿流量、排尿間隔、排尿量、残尿、薬剤濃度などを任意に設定することができ、本装置を用いることにより、種々の薬剤作用方法あるいは尿流動態と細菌の増殖態度などの関係を詳細に検討することができる。本装置の概略を Fig.1 (上段) に示した。

## 2. 実験方法

### 1) 膀胱モデルにおける種々の測定値

一定の増殖を示した細菌に薬剤を作用させると殺菌作用によって濁度がいったん低下し、薬剤濃度の減衰と共に再度増殖して元の濁度に復帰する (Fig.1: 下段)。抗菌薬作用を開始した時点から元の濁度に復帰するまでの時間を増殖曲線の実測により  $T_{OL}$  とした。一方、培地中に 1 MIC 以上の薬剤が保たれる時間は計算式により算出することができ、この時間を covering time (CT) とした。したがって、培地中の薬剤濃度が 1 MIC 以下になってから、細菌の再増殖に

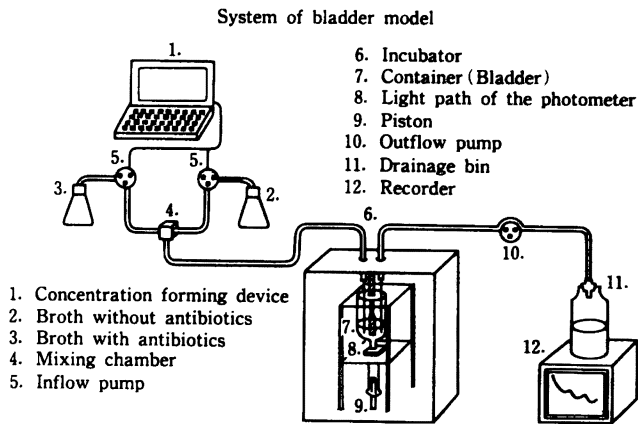
よって元の濁度に復帰するまでの時間は  $T_{OL}-CT$  として表わすことができる。

今回の実験で設定した尿流動態はすべて流速: 60 ml/h, 排出間隔: 1時間毎, 残尿: 20 ml とし, 薬剤作用方法のみ種々変更した。また, 一連の実験はいずれも 3 回以上行い, 各成績はこの平均値を求め, 成績の解析には paired-t 検定を行った。

### 2) 各種濃度の持続的作用 (4 時間) による細菌増殖抑制効果

まず, *E. coli* (ECSA-1) に NFLX, OFLX および CPFX の高濃度あるいは低濃度を作用させた場合の細菌増殖態度を検討した。薬剤濃度は供試菌に対する MIC の 1, 2, 5, 10, 20, 50 および 100 MIC 濃度とし, 4 時間連続作用させた。上記の濃度は尿管尿の濃度を想定したもので, 尿管尿の濃度パターンを Fig.2 の左側に示した。一方, この濃度は膀胱内では残尿や排尿の影響を受けて Fig.2 右側に示した濃度推移を示す。

このような環境下において各濃度が示す。  $T_{OL}$  およ



A typical opacity record of bladder model

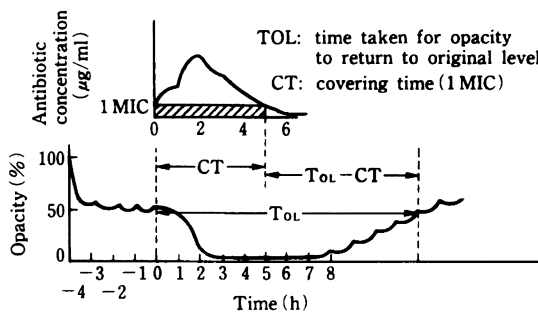


Fig. 1.

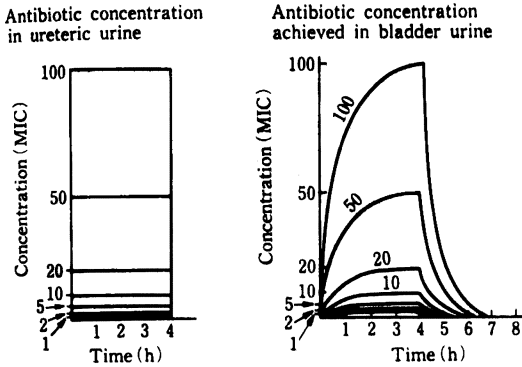


Fig. 2. Administration patterns in experiment with high concentration.

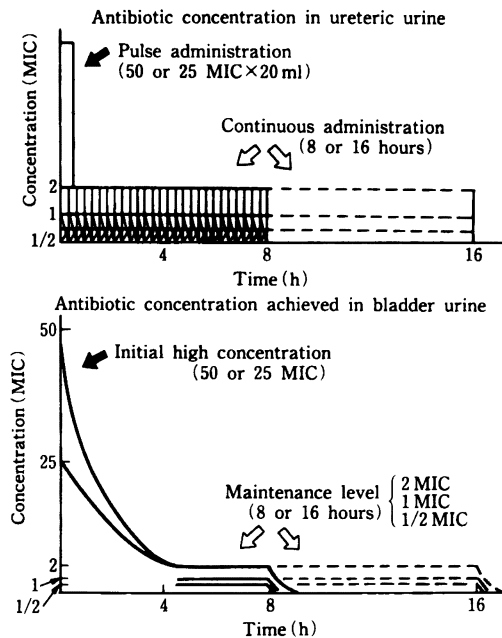


Fig. 3. Administration patterns in experiment with maintenance level.

び  $T_{0L}$ -CT を各々の薬剤について求めて比較検討した。

3) 作用初期に高濃度を一過性に作用させ、その後低濃度を持続的に作用させた場合の効果

供試菌は *E. coli* (ECSA-1) とし, NFLX, OFLX, CPMX について検討した。Fig. 3 で示したようにまず作用初期の濃度が 25 ないし 50 MIC になる量を最初に作用させ、ついで 1/2, 1 あるいは 2 MIC の濃度を

持続的に 8 時間あるいは 16 時間作用させた。

なお、この実験系の CT は 1 MIC 以上の濃度が持続した時間ではなく、各々の指定された維持濃度を上回っている時間とした。また薬剤作用前後の供試菌に対する MIC を測定し、作用方法と MIC の変化についても検討した。

4) 総作用量を 36 mg に固定した場合の至適作用方法の検討

NFLX 100 mg をヒトに経口作用した場合の尿中回収率は 24 時間で 30 数% (30 数 mg) である。

そこで、作用薬剤量をこの程度の量に固定して種々の作用方法と増殖抑制効果の関係を検討した。総作用量を 36 mg としたのは、今回の実験では時間尿量が 60 ml/h に規定してあるので、たとえば 100  $\mu$ g/ml の濃度を作用させると、1 時間当たりの排泄量は 6 mg になり、36mg を消費するのに必要な時間は 6 時間と整数になり、結果を評価する上で適しているためである。

a) 一定濃度を持続的に作用させる方法

NFLX, OFLX および CPMX の各薬剤について、100, 50, 25  $\mu$ g/ml の濃度をそれぞれ 6, 12, 24 時間 *E. coli* (ECSA-1) に持続的に作用させて細菌増殖抑制効果を検討した。

同様に耐性菌である *C. freundii* (GUT-1) に対する増殖抑制効果を OFLX, CPMX を用いて検討した。なお、これらの薬剤作用形式と尿管および膀胱尿中の濃度推移を Fig. 4 に示した。

b) 作用初期に一過性に高濃度を作用させ、その後は低濃度で維持する方法

OFLX を *C. freundii* (GUT-1) に以下のような濃度および方法で作用させて増殖抑制効果を検討した。

まず、初期高濃度として 100  $\mu$ g/ml (4 MIC), 200  $\mu$ g/ml (8 MIC) および 400  $\mu$ g/ml (16 MIC) の 3 濃度を設定し、これを 1 時間作用させたのち、各々の系について、50  $\mu$ g/ml (2 MIC) あるいは 25  $\mu$ g/ml (1 MIC) を 36 mg の薬剤量がなくなるまで持続的に作用させた。これらの作用形式のパターンを Fig. 4 に示したが、作用濃度 (MIC) と作用時間の関係は下記の 6 通りになる。

- ① 4 MIC (1h) → 1 MIC (20h)
- ② 4 MIC (1h) → 2 MIC (10h)
- ③ 8 MIC (1h) → 1 MIC (16h)
- ④ 8 MIC (1h) → 2 MIC (8h)
- ⑤ 16 MIC (1h) → 1 MIC (8h)
- ⑥ 16 MIC (1h) → 2 MIC (4h)

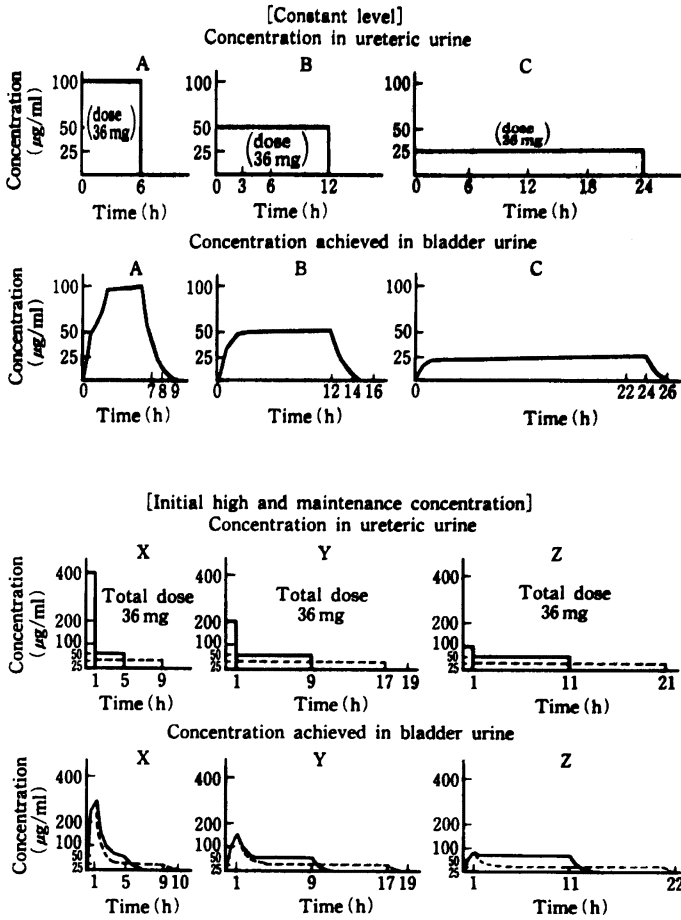


Fig. 4. Administration patterns in experiment with fixed dose of 36 mg.

なお 1 MIC を 24 時間持続的作用したものをコントロールとした。

5) 総作用量を 72 mg として、初期に高濃度、その後低濃度を作用させた場合

総作用量を 36 mg に設定した上記検討の場合は、初期作用の時間を 2 時間あるいは 4 時間に延長すると薬剤量が不足すること、および OFLX の 24 時間の回収率は 70~90% と NFLX より高いことより、総作用量を 2 倍の 72 mg に増量して検討した。

*C. freundii* (GUT-1) に OFLX の初期濃度として 8 MIC (200 µg/ml)、低濃度として 1 MIC (25 µg/ml) を以下に示す時間、作用させて増殖抑制効果を検討した。

① 8 MIC (4 h) → 1 MIC (16 h)

② 8 MIC (2 h) → 1 MIC (32 h)

③ 8 MIC (1 h) → 1 MIC (40 h)

6) Postantibiotic effect (PAE) の検討

NFLX, OFLX, CPFX および gentamicin (GM) の *E. coli* (ECSA-1) に対する PAE を検討した。

TBS 中で一昼夜培養した菌液を菌数が約  $10^7$  CFU/ml になるように TBS で調整した。この菌液に各薬剤の 5 MIC あるいは 50 MIC を 1 時間 37°C で作用させた後、この一部を TBS で 1,000 倍に希釈して、さらに 37°C で培養を継続した。この培養期間中は経時的に (1, 2, 3, 4, 5, 6 時間) 生菌数を調べた。

薬剤無添加のコントロールについても同様の検討を行い、各々の菌数が  $1 \log_{10}$  増加するに要した時間の

差をPAEとした<sup>14-16)</sup>。

## II. 実験結果

### 1. 各種濃度の持続的作用 (4時間) による細菌増殖抑制効果

NFLX, OFLX, CPFX について、供試菌に対する MIC の 1, 2, 5, 10, 20, 50 および 100 MIC 濃度の尿管尿を 4 時間連続して作用させた。この場合、膀胱モデル内の濃度は残尿や排泄の影響で濃度の上昇がやや鈍くなるが、早い時期から目的に近い濃度が得られた (Fig. 2)。それぞれの  $T_{OL}$  および  $T_{OL}-CT$  の値を Table 1 に一括して示した。

各薬剤とも濃度が高くなるにつれて  $T_{OL}$  および  $T_{OL}-CT$  が長くなる傾向がみられたが、1 および 2 MIC の延長程度は軽度で、10 MIC 以上の濃度になるとその程度が強くなった。 $T_{OL}$  の延長程度は、たとえば NFLX の 5 MIC と 100 MIC の間では、16.5 時間から 24.0 時間に約 1.5 倍延長し、同様に OFLX の場合は 1.2 倍、CPFX も 1.4 倍延長した。

一方、 $T_{OL}-CT$  は、NFLX の場合 1 MIC で 11.6 時間、20 MIC で 13.7 時間、100 MIC で 16.8 時間となり、1 MIC と 100 MIC の間で約 5.2 時間の差が生じ、1.4 倍延長した。同様に OFLX は 1 MIC で 12.5 時間、100 MIC で 16.9 時間となり、100 MIC の  $T_{OL}-CT$  は 1 MIC の 1.4 倍となり、CPFX は 1.8 倍になった。

$T_{OL}-CT$  は CPFX が 21.6 時間ともっとも長く、NFLX と OFLX はほぼ同様の 17 時間程度であった。また CPFX は濃度上昇に伴う  $T_{OL}-CT$  の上昇率も

もっとも大きかった。

なお、抗菌薬作用前後に *E. coli* (ECSA-1) の MIC を測定したが、1~100 MIC、4 時間の作用では MIC の変動をほとんど認めなかった。

### 2. 初期高濃度作用とその後の低濃度持続作用の効果

#### a) 初期の濃度が 25 MIC の場合

結果は Table 2 に一括して示したが、持続作用の時間を 8 時間から 16 時間に延長すると、 $T_{OL}$  はいずれの薬剤、いずれの濃度でも延長がみられ、その程度は 1.6~9.0 時間の延長であった。

これに対して  $T_{OL}-CT$  は一般に短縮がみられ、NFLX についてみると、1/2 MIC 作用の場合 9.1 時間から 5.8 時間に 3.3 時間短縮し、1 MIC では 12.8 時間から 6.4 時間に 6.4 時間の短縮、2 MIC では 13.9 時間から 11.4 時間に 2.5 時間の短縮がみられた。短縮の程度は 1 および 1/2 MIC 作用では有意あるいは有意の傾向であり、2 MIC では有意差が認められなかった。すなわち 1 および 1/2 MIC 作用の場合は、作用時間延長の意義がないが、2 MIC になると有意な短縮はみられず延長の意義があるものと思われた。したがって、この場合は維持濃度として意義のある最低濃度は 2 MIC と思われた。

OFLX の  $T_{OL}-CT$  場合は、1/2 および 1 MIC 作用では短縮したが、2 MIC ではむしろ 1 時間の延長がみられた。また、いずれの濃度でも  $T_{OL}-CT$  の変化は有意の短縮ではなく、したがってこの場合の最低必要濃度は 1/2 MIC と思われた。

Table 1. Effect of various concentrations of drug on regrowth-inhibition time

Peak conc. (×MIC)	Norfloxacin			Ofloxacin			Ciprofloxacin		
	$T_{OL}$ (h)	CT (h)	$T_{OL}-CT$ (h)	$T_{OL}$ (h)	CT (h)	$T_{OL}-CT$ (h)	$T_{OL}$ (h)	CT (h)	$T_{OL}-CT$ (h)
1	15.6	4.0	11.6	16.5	4.0	12.5	15.9	4.0	11.9
2	16.3	4.3	12.0	16.8	4.3	12.5	17.2	4.3	12.9
5	16.5	5.1	11.4	19.6	5.1	14.5	20.5	5.1	15.4
10	17.7	5.5	12.2	20.3	5.5	14.8	20.5	5.5	15.0
20	19.8	6.1	13.7	20.7	6.1	14.6	21.5	6.1	15.4
50	20.8	6.7	14.1	21.3	6.7	14.6	23.8	6.7	17.1
100	24.0	7.2	16.8	24.1	7.2	16.9	28.8	7.2	21.6

Test organism: *Escherichia coli* (ECSA-1)

Experiments were done in triplicate

Peak conc.: peak concentration

$T_{OL}$ : time taken for opacity to return to original level

CT: covering time

Table 2. Effect of initial high concentration and maintenance concentration on  $T_{OL}$  and  $T_{OL}-CT$ 

Drug	Maintenance conc.	$T_{OL}$ (h)				$T_{OL}-CT$ (h)			
		8h → 16h	extention time	t-test	8h → 16h	extention time	t-test		
[Initial conc.: 25 MIC]									
NFLX	1/2 MIC	17.1	21.8	4.7	NS	9.1	5.8	-3.3	+
	1 MIC	20.8	22.4	1.6	NS	12.8	6.4	-6.4	*
	2 MIC	21.9	27.4	5.5	NS	13.9	11.4	-2.5	NS
OFLX	1/2 MIC	18.8	24.3	5.5	NS	10.8	8.3	-2.5	NS
	1 MIC	19.7	24.8	5.1	NS	11.7	8.8	-2.9	NS
	2 MIC	20.4	29.4	9.0	NS	12.4	13.4	1.0	NS
CPFX	1/2 MIC	21.5	25.9	4.4	NS	13.5	9.9	-3.6	NS
	1 MIC	22.0	30.6	8.6	NS	14.0	14.6	0.6	NS
	2 MIC	23.3	29.8	6.5	NS	15.3	13.8	-1.5	NS
[Initial conc.: 50 MIC]									
NFLX	1/2 MIC	19.9	22.6	2.7	NS	11.9	6.6	-5.3	***
	1 MIC	21.1	25.2	4.1	NS	13.1	9.2	-3.9	NS
	2 MIC	21.4	28.3	6.9	NS	13.4	12.3	-1.1	NS
OFLX	1/2 MIC	19.0	24.4	5.4	NS	11.0	8.4	-2.6	*
	1 MIC	21.2	25.1	3.9	NS	13.2	9.1	-4.1	NS
	2 MIC	21.8	29.4	7.9	NS	13.8	13.4	-0.4	NS
CPFX	1/2 MIC	22.9	30.0	7.1	NS	14.9	14.0	-0.9	NS
	1 MIC	23.1	31.0	7.9	NS	15.1	15.0	-0.1	NS
	2 MIC	23.0	31.0	8.0	NS	15.0	15.0	0.0	NS

Test organism: *Escherichia coli* (ECSA-1)

$T_{OL}$ : time taken for opacity to return to original level

CT: covering time

Conc.: concentration

NFLX: norfloxacin, OFLX: ofloxacin, CPFX: ciprofloxacin

CPFX の場合も同様に 1 MIC 作用で若干の延長がみられたが、いずれの濃度も  $T_{OL}-CT$  の変化に有意差はみられず最低必要濃度は 1/2 MIC と思われた。

#### b) 初期の濃度が 50 MIC の場合

結果を Table 2 に一括して示したが、初期濃度が 50 MIC の場合も  $T_{OL}$  はいずれの薬剤、濃度とも 2.7 ~ 8.0 時間の延長がみられた。一方、 $T_{OL}-CT$  は一般に短縮がみられたが、NFLX と OFLX は、維持濃度が 1/2 MIC の場合に有意な短縮となり、CPFX はいずれの濃度でも有意な短縮にはならなかった。したがって、維持濃度として必要な最低濃度は NFLX と OFLX は 1 MIC、CPFX は 1/2 MIC と思われた。

これらの結果より、維持作用法として有効な濃度は薬剤によって多少異なるものの、おおむね 1/2 ~ 1 MIC の濃度であった。

抗菌薬作用前後に *E. coli* (ECSA-1) の MIC を測定したが、Table 3 で示したように初期作用濃度が 25 MIC の場合、NFLX の 1/2 MIC、16 時間作用後

のみ 0.1 から 0.8  $\mu\text{g/ml}$  に変化したが、他はすべて 1 管以内の変化であった。

初期濃度が 50 MIC の場合、NFLX の 1/2 MIC、16 時間作用で、MIC は 0.1  $\mu\text{g/ml}$  から 0.4  $\mu\text{g/ml}$  へ上昇が見られたが他の場合はすべて 1 管以内の変化であった。

#### 3. 総作用量を 36 mg に限定した場合の至適作用方法

##### a) 一定濃度を持続的に作用させた場合

成績は Table 4 に一括して示した。*E. coli* (ECSA-1) に NFLX を作用させた場合の  $T_{OL}$  は、100  $\mu\text{g/ml}$ 、6 時間作用で 41.1 時間、50  $\mu\text{g/ml}$ 、12 時間作用で 42.1 時間および 25  $\mu\text{g/ml}$ 、24 時間作用で 47.1 時間であり、 $T_{OL}$  は作用時間が長くなるほど長くなった。この傾向は他の薬剤および *C. freundii* (GUT-1) においても同様に認められた。

一方、 $T_{OL}-CT$  は NFLX の場合、100  $\mu\text{g/ml}$ 、6 時間作用で 31.2 時間、50  $\mu\text{g/ml}$ 、12 時間作用で 24.8

Table 3. Changes in MIC for *Escherichia coli* (ECSA-1) according to exposure to initial and maintenance concentrations of drugs

Maintenance conc.	Norfloxacin				Ofloxacin				Ciprofloxacin			
	8 h <sup>a)</sup>		16 h <sup>b)</sup>		8 h		16 h		8 h		16 h	
	pre.	post.	pre.	post.	pre.	post.	pre.	post.	pre.	post.	pre.	post.
[Initial concentration: 25 MIC]												
1/2 MIC	0.1→0.2		0.1→0.8		0.1→0.2		0.1→0.2		0.05→0.05		0.05→0.1	
	0.1→0.2		0.1→0.8		0.1→0.2		0.1→0.2		0.05→0.05		0.05→0.1	
	0.1→0.2		0.1→0.8		0.1→0.2		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.1	
1 MIC	0.1→0.2		0.1→0.2		0.1→0.2		0.1→0.2		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
2 MIC	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
[Initial concentration: 50 MIC]												
1/2 MIC	0.1→0.2		0.1→0.4		0.1→0.2		0.1→0.2		0.05→0.05		0.05→0.1	
	0.1→0.2		0.1→0.4		0.1→0.2		0.1→0.2		0.05→0.05		0.05→0.1	
	0.1→0.2		0.1→0.4		0.1→0.2		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
1 MIC	0.1→0.2		0.1→0.2		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
2 MIC	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	
	0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.1→0.1		0.05→0.05		0.05→0.05	

<sup>a)</sup> <sup>b)</sup>: Exposure time

Experiments were done in triplicate

時間および 25 µg/ml, 24 時間作用で 19.1 時間となり, T<sub>OL</sub> とは逆に作用時間は短くても高濃度の方が長い成績であった。

b) 作用初期に一過性に高濃度を作用させ, その後は低濃度で維持する方法

OFLX について, *C. freundii* (GUT-1) を用いて検討した結果, 維持濃度が 2 MIC (50 µg/ml) の場合は, 初期濃度に関係なく 27~28 時間の T<sub>OL</sub> しか得られなかった。これに対して維持濃度が 1 MIC (25 µg/ml) の場合はいずれの初期濃度においても, 維持濃度が 2 MIC の場合より長い T<sub>OL</sub> が得られた。この場合の T<sub>OL</sub> は初期濃度が 4 MIC の時, 37.6 時間, 8 MIC の時, 40.6 時間, 16 MIC の 31.6 時間でありこの中では初期濃度が 8 MIC の場合にもっとも長い時間が得られた。一方, コントロールとして 1 MIC を 24 時間作用させた場合の T<sub>OL</sub> は 37.3 時間であった (Fig. 5)。すなわち, 初期濃度として 8 MIC を 1 時間作用させ, その後は 1 MIC で薬剤が消失するまで作用させる方法がもっとも効果的であった。

4. 総作用量を 72 mg として, 初期に高濃度, その後低濃度で維持する場合

総作用量を 72 mg, 初期濃度を 8 MIC, 維持濃度を 1 MIC に固定して, 初期濃度の作用時間のみを種々変化させて T<sub>OL</sub> を検討した。

初期の作用時間が 4 時間, 維持時間が 16 時間の場合の T<sub>OL</sub> は 36.0 時間で, 初期作用の時間が 2 時間, 維持時間が 32 時間の場合は 44.7 時間, および初期作用 1 時間と維持時間 40 時間の場合は 61.6 時間であった。もっとも長い抑制時間を示した方法は, 8 MIC を 1 時間作用させた後に 1 MIC を 40 時間作用させたものであった (Fig. 5)。

#### 5. PAE の成績

いずれの薬剤も濃度依存性に PAE を認めたが, PAE の程度は NFLX は 0.6 時間, OFLX は 0.7 時間と同程度であり, CPFX は 1.0 時間と前者に比して長い PAE であった。GM は 5 MIC の場合は 0.8 時間で NFLX, OFLX とほぼ同程度であったが, 50 MIC の高濃度になると 3.1 時間になり, 各薬剤中も

Table 4. Regrowth-inhibition time according to various exposure patterns of drug with fixed drug volumes of 36 mg and 72 mg

Test organism	Drug	Exposure patterns		T <sub>OL</sub> (h)	T <sub>OL</sub> -CT (h)
		concentration	time		
[36 mg: constant conc.]					
<i>E. coli</i> (ECSA-1)	NFLX	256 MIC ( 25 µg/ml)	24 h	47.1	19.1
		512 MIC ( 50 µg/ml)	12 h	42.1	24.8
		1,024 MIC (100 µg/ml)	6 h	41.2	31.2
	OFLX	256 MIC ( 25 µg/ml)	24 h	44.6	16.6
		512 MIC ( 50 µg/ml)	12 h	38.8	21.5
		1,024 MIC (100 µg/ml)	6 h	38.7	27.7
	CPFX	512 MIC ( 25 µg/ml)	24 h	57.5	28.2
		1,024 MIC ( 50 µg/ml)	12 h	44.2	26.2
		2,048 MIC (100 µg/ml)	6 h	44.2	32.9
<i>C. freundii</i> (GUT-1)	OFLX	1 MIC ( 25 µg/ml)	24 h	37.3	13.3
		2 MIC ( 50 µg/ml)	12 h	29.5	17.1
		4 MIC (100 µg/ml)	6 h	24.8	17.8
	CPFX	1 MIC ( 25 µg/ml)	24 h	34.3	10.3
		2 MIC ( 50 µg/ml)	12 h	27.2	14.9
		4 MIC (100 µg/ml)	6 h	24.2	17.2
[36 mg: high→low conc.]					
<i>C. freundii</i> (GUT-1)	OFLX	4 MIC (1 h) →1 MIC (20 h)		37.6	
		4 MIC (1 h) →2 MIC (10 h)		27.8	
		8 MIC (1 h) →1 MIC (16 h)		40.6	
		8 MIC (1 h) →2 MIC ( 8 h)		27.5	
		16 MIC (1 h) →1 MIC ( 8 h)		31.6	
		16 MIC (1 h) →2 MIC ( 4 h)		28.2	
[72 mg: high→low conc.]					
<i>C. freundii</i> (GUT-1)	OFLX	8 MIC (1 h) →1 MIC (40 h)		61.6	
		8 MIC (2 h) →1 MIC (32 h)		44.7	
		8 MIC (4 h) →1 MIC (16 h)		36.0	

T<sub>OL</sub>: time taken for opacity to return to original level

CT: covering time

Conc.: concentration

NFLX: norfloxacin, OFLX: ofloxacin, CPFX: ciprofloxacin

つとも長い PAE であった。

### III. 考 案

抗菌薬の効果的な作用法に関しては penicillin が発見されたときに詳細な検討が数多くなされた<sup>1,2)</sup>が、その後に関与された種々の系統の抗菌薬については、この方面の検討は比較的少ない。その中で β-lactam 系薬剤あるいは aminoglycoside 系薬剤に関してはいくつかの報告がみられ、一般に β-lactam 系薬剤は作用時間が重要であり、aminoglycoside 系薬剤は濃度が重要であることが指摘されている。近年開発されたいわゆる new quinolone 薬については、きわめて多量に使用されているにもかかわらず、効果的な作用法

という点に関してはまだほとんど検討がなされていないといえる。そこで、尿路感染症をモデルとして、new quinolone 薬の至適作用法に関する検討を行った。また、本系薬剤には PAE がみられるが、aminoglycoside 系薬剤ほどではなく、この点が至適作用法にどのように影響するのにも興味を持たれる。

#### 1. 最高濃度と細菌増殖抑制効果

細菌に薬剤を一定時間作用させた場合の反応として、作用の初期には細菌は急速に菌数を減ずるが、その後は低菌数の状態が継続し、薬剤が消失した後も一定時間その状態が保たれた後、再度増殖を開始すると考えられる。Eagle ら<sup>1,2)</sup>は抗菌作用を構成する要素と



- Total dose: 36 mg -

Peak concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Maintenance concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	$T_{OL}$ (h)						
		0	10	20	30	40	50	60
4 MIC (100)	1 MIC $\times$ 20h (25)	37.6						
	2 MIC $\times$ 10h (50)	27.8						
8 MIC (200)	1 MIC $\times$ 16h (25)	40.6						
	2 MIC $\times$ 8h (50)	27.5						
16 MIC (400)	1 MIC $\times$ 8h (25)	31.6						
	2 MIC $\times$ 4h (50)	28.2						
1 MIC (25)	1 MIC $\times$ 23h (25)	37.3						

- Total dose: 72 mg -

Peak concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Maintenance concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	$T_{OL}$ (h)						
		0	10	20	30	40	50	60
8 MIC $\times$ 1h (200)	1 MIC $\times$ 40h (25)	61.6						
8 MIC $\times$ 2h (200)	1 MIC $\times$ 32h (25)	44.7						
8 MIC $\times$ 4h (200)	1 MIC $\times$ 16h (25)	36.0						

Fig. 5. Effect of various peak and maintenance concentrations on  $T_{OL}$ .

して、①細菌を最大限に殺菌する濃度: maximal bactericidal activity ②さらに殺菌作用の継続する濃度 (①から lowest concentration definity bactericidal level (LCDB)の間)、および ③LCDB 以下の濃度になっても細菌が再増殖を開始するまでに一定の lag phase のあることを指摘しており今回の実験でいう最高濃度とは①および②の一部の濃度に相当し、 $T_{OL}-CT$  は③に相当すると思われる。この  $T_{OL}-CT$  は薬剤の最高濃度に影響され、またその影響の程度は薬剤の系統によって異なるので、まず new quinolone 薬の最高濃度として 1~100 MIC にわたる各種濃度が細菌増殖抑制効果にどのような影響を及ぼすかについて検討した。この場合の膀胱モデル内濃度は Fig. 2 に示したように作用直後から目的とする濃度にはならないが、早い時期から目的に近い濃度が得られている。

結果は各薬剤とも濃度が高くなるにつれて  $T_{OL}$ ,  $T_{OL}-CT$  ともに長くなり、高濃度ほど細菌増殖抑制効果が強いが、この傾向は主に 10 MIC 以上の濃度で

みられることが判明した。また、増殖抑制時間の延長は直線的ではなく頭打ちになる傾向がみられた。

このような濃度の上昇程度と  $T_{OL}-CT$  の延長程度との関係について、同様の条件で行われた説田<sup>9)</sup>の ampicillin (ABPC) および gentamicin (GM) の成績と比較してみると、Fig. 6 に示したように、ABPC では濃度の上昇による再増殖抑制時間の延長が最大で 3.2 時間しか得られていないのに比べて、GM では 14.5 時間ときわめて長い延長がみられている。このことは ABPC は濃度が高くなっても  $T_{OL}-CT$  を延長させる効果は弱く、GM は濃度を高くすることによる  $T_{OL}-CT$  の延長効果が大きいことを意味している。これに対して new quinolone 薬は 4.4~9.2 時間の延長がみられ、ABPC と GM の中間の成績であった。

このような結果から、new quinolone 薬は penicillin 系薬剤の示す作用時間依存性、aminoglycoside 系薬剤の濃度依存性の性質に対して、両者の性質を合わせ持ち、中間的な性質を示すものと思われた。

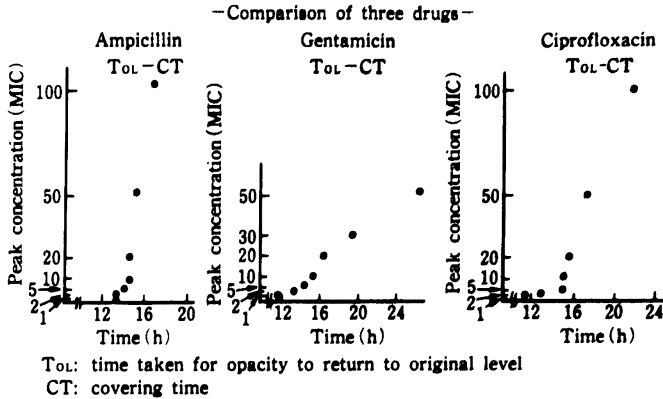


Fig. 6. Effect of peak concentration on T<sub>OL</sub>-CT.

一方、これらの薬剤の *E. coli* (ECSA-1) に対する PAE は、GM がもっとも強く、次いで new quinolone 薬という順であった (Fig. 6)。Penicillin 系薬剤は一般に PAE を示さないの、このような PAE の程度と対比してみると、濃度依存性あるいは作用時間依存性の性質は PAE の程度に左右され、両者に相関性のあることが判明した<sup>15,16)</sup>。

## 2. 初期高濃度投与後の低濃度持続投与の意義

作用初期に比較的高濃度の薬剤でいったん菌数を減少させれば、その後は低い濃度でも長時間細菌の再増殖を抑制できると考えられる。Eagle ら<sup>1,2)</sup>は penicillin の失活実験の中で、penicillin 失活後も penicillin の toxic effect が継続して、数十分から数時間は低い菌数の定常状態が続くと述べているが、この状態を効率よく維持するためには、それほど高い濃度は必要ないと考えられる。この点に関して、種々の低濃度持続作用の効果を検討したが、その結果、維持濃度として必要な最低濃度は、作用初期に 25 MIC を作用させた場合は NFLX: 2 MIC, OFLX と CPFX は 1/2 MIC であった。また初期に 50 MIC を作用させた場合は、NFLX: 1 MIC, OFLX と CPFX は 1/2 MIC であり、最初に菌数を減少させた後の維持濃度としてはおおむね 1/2~1 MIC 程度の低い濃度でも十分であることが判明した。実際のヒトの場合には *in vitro* の実験と異なり、生体の免疫機構が働くため、この間に菌数減少がさらに継続するものと思われる、必要維持濃度もさらに低濃度でもよいと考えられる。

一方、低濃度の薬剤を持続的に作用させることによる MIC の変化について、五島ら<sup>17)</sup>、西野<sup>18)</sup>らは、1/2, 1/4, 1/8 MIC などの低濃度で継代培養すると耐性化がみられることを報告している。本実験では

NFLX の 1/2 MIC 作用で 2~3 管 (0.1→0.4, 0.1→0.8 μg/ml) の上昇を認めたが、その他の薬剤あるいはその他の濃度では変化がないか 1 管程度の変化であった。今回は培養を継代していないので高頻度の MIC 上昇を認めなかったが、このような作用を繰り返せば MIC 上昇の可能性もあるものと思われた。

## 3. 総投与量を一定に固定した場合の至適投与方法について

作用薬剤の総量が同じであっても薬剤の作用方法により細菌増殖抑制時間が異なることが予想されるので、まず薬剤の総量を 36 mg に固定して、25 μg/ml を 24 時間、50 μg/ml を 12 時間および 100 μg/ml を 6 時間、*E. coli* (ECSA-1) に作用させたが、3 薬剤とも 25 μg/ml を 24 時間作用させたものがもっとも長い抑制時間 (T<sub>OL</sub>) であった (Table 4)。この結果は薬剤濃度は低くても作用時間が長いことの方が有意義であることを意味しており、またこの傾向は new quinolone 薬に感性的 *E. coli* (ECSA-1) も、耐性の *C. freundii* (GUT-1) でも同様に認められた。

さらに、PAE を利用する目的で、総量の一部を作用初期にやや多く配分して高濃度 (4~16 MIC) を 1 時間作用させたところ、総量が 36 mg と同じであっても、維持濃度として 2 MIC を作用させるより 1 MIC を作用させる方がよく、かつ初期に 8 MIC を 1 時間作用させ、その後に 1 MIC を 16 時間作用させたものがもっとも長い抑制時間 (40.6 時間) を示した。これは 1 MIC を連続して 24 時間作用させたものよりも長く、したがって同じ薬剤量であっても初期に一過性に高濃度を作用させる方法がより効果的であることが判明した。

つぎに初期濃度を 8 MIC に固定して (薬剤総量は

72 mg), 初期濃度の作用時間を1~4時間と種々変化させて $T_{0L}$ を検討したところ, 必ずしも初期濃度の作用時間の長い方が良いわけではなく, 8 MICを1時間作用させた後に1 MICを40時間作用させる方法がもっとも長い抑制時間(61.6時間)であった。このことは, 初期濃度の作用時間を無駄に長くするより, その分を抑制時間の延長に回す方が効果的であることを意味している。

以上より, new quinolone系薬剤の投与方法として, まず最初に高い濃度(今回の検討では8 MIC)を1時間程度作用させ, その後は1 MIC程度で, できるだけ長い時間作用させる方法がもっとも効率のよい投与方法といえる。このような方法は $\beta$ -lactam系とaminoglycoside系薬剤の両者の特性をうまく組み合わせた投与方法であり, これはPAEの程度と相関性があるものと思われる。

今回の至適作用法の結果から new quinolone 薬の臨床的な投与方法を考えると, 初回の投与量は多めにして維持投与量は少量で維持する方法が良いと思われる。

近年, feroxacin や sparfloxacin などの血中半減期の比較的長い new quinolone 薬が開発されているが, これらの薬剤の1日1回投与と1日2回投与の成績をみると, 1日投与量は同量でも, 1日1回投与の方が優れているものが多い<sup>19-21)</sup>。これは単に血中半減期が長いだけばかりでなく, 今回の実験結果で示したように, 初期に高い濃度が作用し, その後低い濃度が長時間持続するためとも考えられる。

抗菌薬を効果的に投与することは, 副作用の防止や経済的なメリットのみならず, 過剰投与による耐性菌の増加を防止する上においても重要であり, また今後増加が予想される高齢者やimmunocompromised hostは副作用に対する安全域が狭い反面, 迅速な効果が要求されるので, このような症例では効果的な作用法の意義が一層増すものと思われる<sup>22-26)</sup>。

#### 謝 辞

稿を終えるにあたり, 御指導と御校閲を賜った恩師河田幸道教授に深謝の意を表します。また, 直接本研究を始終御指導下さいました。坂 義人助教授, 羽島市民病院泌尿器科部長兼松 稔博士に深謝致します。さらに教室の諸先生方の御配慮に心より感謝いたします。

なお, 本論文の要旨は第38, 39回日本化学療法学会総会および第38回日本化学療法学会西日本支部総会において報告した。

#### 文 献

- 1) Eagle H, Musselman A D: The slow recovery

of bacteria from the toxic effects of penicillin. J Bact 58: 475~490, 1949

- 2) Eagle H: The recovery of bacteria from toxic effects of penicillin. J Clin Invest 28: 832~836, 1949
- 3) Pechere J C, Craig W A, Meunier F: Once daily dosing of aminoglycoside, one step forward. J Antimicrob Chemother 27: 149~151, 1991
- 4) 清水喜八郎: アミノ配糖体薬の1日1回療法。アミノ配糖体薬の新しい使い方(清水喜八郎編), p.85~110, 中外医学社, 東京, 1990
- 5) Greenwood D: The assessment of antimicrobial activity in an *in vitro* model of the treatment of bacterial cystitis. J Antimicrob Chemother 13: 43~48, 1984
- 6) Greenwood D, Slack R: Urinary tract infection. Br J Clin Pharmacol 13: 619~630, 1982
- 7) 坂 義人: 抗菌剤の投与方法に関する研究, 投与方法の試験管内実験による検討。日泌尿会誌 69: 1467~1486, 1978
- 8) 説田 修: 尿中抗生剤の濃度と細菌増殖抑制効果, Bladder modelによる検討。Chemotherapy 32: 985~999, 1984
- 9) Craig W A, Gudmundsson S: The postantibiotic effect. In Antibiotics in laboratory medicine. (Lorian V ed.), p.515~536, William & Wilkins, Baltimore, 1986
- 10) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 11) Greenwood D, O' Grady F: Dual-action cephalosporin utilizing a novel therapeutic principle. Antimicrob Ag Chemother 10: 249~252, 1976
- 12) Greenwood D, O' Grady F: An *in vitro* model of the urinary bladder. J Antimicrob Chemotherapy 4: 113~120, 1978
- 13) Kawada Y, Greenwood D, O' Grady F: Factors affecting antibiotic concentration in bladder urine. Invest Urol 17: 484~486, 1980
- 14) 河田幸道, 説田 修, 西浦常雄: 試験管内膀胱モデルについて。Chemotherapy 29: 842~847, 1980
- 15) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 抗菌薬のPAEと投与方法。総合臨床 37: 2187~2190, 1987
- 16) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 抗菌薬のPAE。感染症誌 19: 27~32, 1989
- 17) 五島睦智子, 藤元輝男, 辻 明良, 小川正俊, 宮崎修一, 金子康子, 桑原章吾: 新ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤DL-8280の*in vitro*および*in vivo*における細菌学的評価。
- 18) 西野武志, 田中真由美, 河端繁勝, 藪 千晶, 山中邦俊, 谷野輝雄: 新しい合成化学療法剤DL-8280に関する細菌学的評価。Chemotherapy 32 (S-1): 62~83, 1984
- 19) 河田幸道, 他 (16施設および関連施設): 複雑性尿

- 路感染症に対する feroxacin の臨床用量の検討。  
Chemotherapy 38 (S-2): 555~570, 1990
- 20) 河田幸道: 新薬シンポジウム (2) Sparfloxacin (AT-4140), IV. 臨床 2. 泌尿器科領域。第 38 回日本化学療法学会西日本支部総会 (演), 岐阜, 1990
- 21) 河田幸道: 新薬シンポジウム, AM-883 (Fleroxacin), III. 臨床 2. 泌尿器科。第 37 回日本化学療法学会西日本支部総会 (演), 和歌山, 1989
- 22) 清水喜八郎, 戸塚恭一, 深田智子: ニューキノロン薬の postantibiotic effect (PAE)。感染防御能と化学療法 (松本慶蔵編), p121~126, ライフ・サイエンス, 東京, 1991
- 23) 西村昌宏, 熊本悦明, 渋谷秋彦, 広瀬崇興, 塚本泰司, 大屋 哲: 尿中抗菌薬濃度自動シミュレーター装置を用いた *in vitro* における実験的複雑性膀胱炎治療の検討。感染症誌 64: 1004~1012, 1991
- 24) 坂 義人: 抗菌薬の上手な使い方, ニューキノロン剤。MEDICAMENT NEWS 1331: 9~10, 1990
- 25) 坂 義人, 兼松 穂, 土井達郎, 徳山宏基, 岡野学, 河田幸道: 新しいキノロン剤治療の現状と将来, 尿路感染症。化学療法の領域 7: 75~83, 1991
- 26) 中島光好, 植松俊彦, 金丸光隆, 長沼英夫: ピリドンカルボン酸系抗菌剤の臨床薬理学的検討, 健常人における体内動態と抗菌力の比較。Chemotherapy 38: 534~538, 1990

## A study on the effective exposure schedules of new quinolones

Experiments on growth inhibition of urinary bacteria  
with an *in vitro* model of the urinary bladder

Hiroki Tokuyama

Department of Urology, Gifu University School of Medicine, Gifu, Japan

(Director: Prof. Kawada Y, M. D.)

In order to study the most effective exposure schedules for new quinolones, I examined the relationship between the growth inhibition periods of bacteria and peak and/or maintenance concentrations of drugs using an *in vitro* model of the urinary bladder. The peak concentrations of drugs used were 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100×MIC or more against the test organisms, and the maintenance concentrations used were 1/2~2×MIC. Norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX) and ciprofloxacin (CPFX) were used as the test drugs, and as the test organisms *Escherichia coli* (ECSA-1) and *Citrobacter freundii* (GUT-1) were used. With increases in the peak level of drugs (especially when the concentration was over 10 MIC), growth inhibition time was markedly elongated, and the growth of bacteria was effectively suppressed by the elongation of maintenance level. That is, both peak and maintenance levels were important, resulting in the importance of the combination of such exposure patterns. Under the limitation of drug amounts to 36 or 72 mg, it was found that the best exposure schedule was to keep 1 hour of peak level around 8 MIC and to follow this by a maintenance level around 1 MIC of the drugs. This was superior to using the entire amount of drug to keep the maintenance level.