

## 新規キノロン薬, grepafloxacinのGABA受容体結合に及ぼす影響

堀 誠治<sup>#</sup>・嶋田甚五郎

聖マリアンナ医科大学

難病治療研究センター臨床薬理部門\*

(\*現 東京慈恵会医科大学第1薬理学教室)

キノロン薬が痙攣誘発作用を有する可能性が指摘されている。我々はキノロン薬が中枢神経系において抑制性伝達物質と考えられているγ-アミノ酪酸(GABA)の受容体結合を阻害することを示し、キノロン薬による痙攣誘発にGABA受容体結合阻害の関与している可能性を示してきた。また、非ステロイド系消炎薬の共存下ではキノロン薬によるGABA受容体結合阻害効果が増強されることを示してきた。新キノロン薬であるgrepafloxacin (GPFX)の痙攣誘発作用の有無を検討する目的で、本薬のGABA受容体結合に及ぼす影響を検討した。GPFXは他のニューキノロン薬と同様濃度依存的にGABA受容体結合を阻害し、そのGABA結合阻害の強さは今回検討したニューキノロン薬の中で中間に位置していた。しかし、非ステロイド系消炎薬の共存によりGABA受容体阻害効果は殆ど増強されなかった。以上の*in vitro*の成績より、GPFXは単独では他のニューキノロン薬と同様に痙攣誘発作用を有する可能性が示唆された。その程度は他薬に比べ中等度であろうと考えられた。また、GPFXは非ステロイド系消炎薬の併用時でも痙攣誘発作用の増強されにくい薬物である可能性が示唆された。

**Key words:** キノロン薬, GABA受容体, 痙攣, grepafloxacin, 非ステロイド系消炎薬

近年、多くの抗菌薬が開発されている。その中でも、キノロン薬の開発には目ざましいものがある。その構造にフッ素とピペラジニル基を有するいわゆるニューキノロン薬では、抗菌スペクトルおよび適応疾患の拡大にともない、その使用量が増大している。使用量の増大にともない、種々の副作用、とくに、多彩な中枢神経系副作用の報告が見られるようになった。これらの中枢神経系副作用はキノロン薬の母体ともいえるナリジクス酸すでに報告されている<sup>1)</sup>。その中には痙攣誘発作用も認められ<sup>2,3)</sup>、キノロン薬にとって、中枢神経系副作用は宿命のとも考えられてきた。ニューキノロン薬においても多彩な中枢神経系副作用が見られている。その中で、enoxacin (ENX)<sup>4)</sup>、ciprofloxacin (CPF)<sup>5,6)</sup>、norfloxacin (NFLX)<sup>7)</sup>、lomefloxacin (LFLX)<sup>8)</sup>に関連すると考えられる痙攣発現の報告があり、これらの薬物による痙攣誘発機序が注目されている。さらに、1986年、ニューキノロン薬の一つであるENXと非ステロイド系消炎薬(NSAIDs)の一つであるフェンブフェン(FB)との併用時の痙攣誘発の報告<sup>9)</sup>がなされてより、キノロン薬単独およびNSAIDs併用時の痙攣誘発作用が注目されている。

γ-アミノ酪酸(GABA)は、中枢神経系において抑制性伝達物質と考えられており、何等かの機序によりGABA作動性抑制性伝達が阻害されれば、中枢神経系における興奮性が増大し、痙攣が誘発されるものと考えられてい

る。たとえば、bicucullineは、GABA受容体結合を阻害することにより痙攣を誘発すると考えられている<sup>10)</sup>。我々は、キノロン薬がGABA受容体結合を阻害することを示し、キノロン薬による痙攣誘発にGABA受容体結合阻害の関与の可能性を示してきた<sup>11)</sup>。さらに、NSAIDsの共存により、キノロン薬によるGABA受容体結合阻害効果が増強されることを示し、両系薬併用時の痙攣誘発にもGABA受容体結合阻害が関与している可能性を示してきた<sup>11)</sup>。Grepafloxacin (GPFX)は、新しく開発されたキノロン薬であり、本薬が痙攣誘発作用を有するか否かが注目される。そこで、本薬による痙攣誘発作用を推定する目的で、本薬をはじめとする各種キノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響をNSAIDs共存・非共存下に検討した。

## I. 材料および方法

## 1) 薬物など

GPFXは大塚製薬株式会社より、NFLX、およびfloxacin (FLRX)は杏林製薬株式会社より、ENXおよびsparfloxacin (SPFX)は大日本製薬株式会社より、ofloxacin (OFLX)は第一製薬株式会社より、CPFはバイエル株式会社より、tosufloxacin (TFLX)は富山化学工業株式会社よりそれぞれ供与された。[3H]GABA (980.5GBq/mmol)はNew England Nuclear Co. Ltd.より、NSAIDsはSigma Chemical Co. Ltd.より購入した。

## 2) マウス脳シナプス膜の調製

雄性マウス(ddy, 5週齢)を断頭、脳をすばやく取り出し、0.32Mシヨ糖液にて10%ホモジェネートを調製した。そのホモジェネートよりZukin<sup>12)</sup>らの方法に従い、脳粗シナプス膜を調製した。その膜を150mM NaClを含む10mMカリウム燐酸緩衝液にて洗浄し、マウス脳シナプス膜とした。シナプス膜は、適当量の10mMカリウム燐酸緩衝液(pH 7.4)に懸濁(〜0.3g brain/ml)し、−20℃にて保存した。

## 3) GABA受容体結合の測定

[3H]GABAのマウス脳シナプス膜における特異的結合を濾過法により測定し、GABA受容体結合とした。

測定に先立ち、シナプス膜を融解し10mMカリウム燐酸緩衝液(pH 7.4)にて2回洗浄した。400 $\mu$ lの10mMカリウム燐酸緩衝液(pH 7.4)中にシナプス膜、[3H]GABA(終濃度: 10nM)および薬物を含む反応混液を4℃、20分インキュベートした。反応は20,000g、15分遠心することにより停止した。上清を吸引除去したのち、沈渣の表面を氷冷した脱イオン水ですばやく洗浄した。沈渣中のアイソトープ量を液体シンチレーションカウンターにより測定した。特異的結合は、非特異的結合(1mM非標識GABA存在下の結合量)を全結合(非標識GABA非存在下の結合量)より差し引くことにより求めた。測定はduplicateで実施した。

## II. 結 果

## 1) ニューキノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響

GPFXをはじめとするキノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響を*in vitro*で検討した。

ニューキノロン薬は濃度依存的にGABA受容体を阻害し、その阻害作用の強さは、NFLX > CPFX > ENX  $\approx$  GPFX > TFLX  $\geq$  FLRX  $\geq$  SPFX > OFLXの順であった(Fig. 1, Table 1)。

## 2) 非ステロイド系消炎薬共存下におけるニューキノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響

GABA受容体結合に及ぼすニューキノロン薬とNSAIDsとの薬物相互作用を知る目的で、NSAIDs共存下

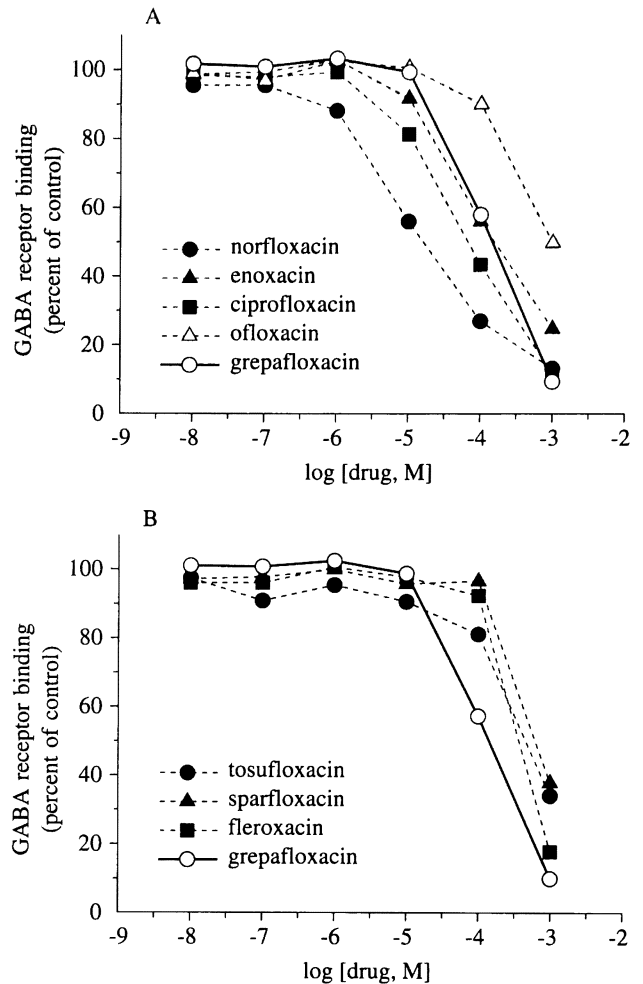


Fig. 1. Effect of fluoroquinolones on  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor binding.

Table 1. IC<sub>50</sub> values (M) of fluoroquinolones in the presence of antiinflammatory drugs

Drug	None	Antiinflammatory drugs (10 <sup>-4</sup> M)			
		acetylsalicylate	fenbufen	indomethacin	biphenylacetate
Grepafloxacin	1.4 × 10 <sup>-4</sup>	1.5 × 10 <sup>-4</sup>	5.0 × 10 <sup>-5</sup>	1.4 × 10 <sup>-4</sup>	1.0 × 10 <sup>-5</sup>
Norfloxacin	1.4 × 10 <sup>-5</sup>	1.4 × 10 <sup>-5</sup>	1.2 × 10 <sup>-7</sup>	1.9 × 10 <sup>-8</sup>	< 10 <sup>-8</sup>
Enoxacin	1.4 × 10 <sup>-4</sup>	8.3 × 10 <sup>-5</sup>	1.3 × 10 <sup>-6</sup>	5.3 × 10 <sup>-7</sup>	1.1 × 10 <sup>-8</sup>
Ciprofloxacin	7.6 × 10 <sup>-5</sup>	1.0 × 10 <sup>-4</sup>	1.3 × 10 <sup>-6</sup>	1.0 × 10 <sup>-4</sup>	3.0 × 10 <sup>-8</sup>
Ofloxacin	1.0 × 10 <sup>-3</sup>	7.6 × 10 <sup>-4</sup>	3.6 × 10 <sup>-5</sup>	1.2 × 10 <sup>-4</sup>	8.3 × 10 <sup>-7</sup>
Tosufloxacin	5.7 × 10 <sup>-4</sup>	> 10 <sup>-3</sup>	> 10 <sup>-3</sup>	> 10 <sup>-3</sup>	1.2 × 10 <sup>-4</sup>
Sparfloxacin	9.1 × 10 <sup>-4</sup>	1.0 × 10 <sup>-3</sup>	4.0 × 10 <sup>-4</sup>	2.8 × 10 <sup>-4</sup>	5.2 × 10 <sup>-5</sup>
Fleroxacin	7.6 × 10 <sup>-4</sup>	7.6 × 10 <sup>-4</sup>	5.8 × 10 <sup>-4</sup>	5.8 × 10 <sup>-4</sup>	1.0 × 10 <sup>-4</sup>

Each value represents the mean of two or three separate experiments.

にニューキノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響を検討した。非ステロイド消炎薬として、アセチルサリチル酸(ACE), フルルビプロフェン(FLU), インドメサシン(IND), FBおよびFBの活性代謝産物であるピフェニル酢酸(BPA)を用い、その共存下にGABA受容体結合を測定した。

NFLX, ENX, CPFXおよびOFLXでは、ACEを除くNSAIDsの共存によりGABA受容体結合を阻害する作用は増強され、とくにBPAの共存でその効果は著しかった。一方、GPFX, TFLX, FLRXおよびSPFXではNSAIDsの共存下でもGABA受容体結合阻害効果は増強されなかった。Fig. 2にBPA共存下におけるニューキノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響を示し、NSAIDsの共存下のニューキノロン薬の $IC_{50}$ 値をTable 1に示す。しかし、ACEは、これらのニューキノロン薬のGABA受容体結合阻害作用を増強することはなかった(Fig. 2, Table 1)。

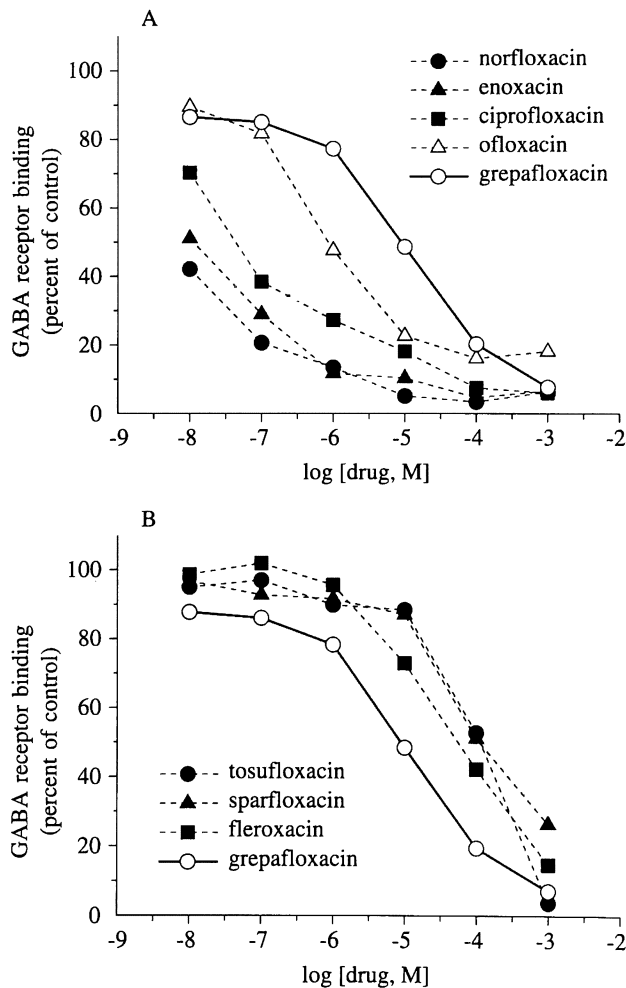


Fig. 2. Effect of fluoroquinolones on  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor binding in the presence of biphenylacetic ( $10^{-4}M$ ).

### Ⅲ. 考 察

近年、多くの抗菌薬が開発され、臨床応用されている。特にキノロン薬の開発とその発展には目ざましいものがある。しかし、キノロン薬による中枢神経系副作用、特に痙攣誘発の報告がなされてより、その誘発機序が注目されてきた。とくに、キノロン薬の母体ともいえるナリジクス酸の投与時にすでに痙攣誘発の報告<sup>2,3)</sup>があり、さらにピペミド酸を腎不全患者に投与した際に痙攣の発現がみられ<sup>13)</sup>、キノロン薬にとり中枢神経系副作用、とくに痙攣誘発副作用は宿命的なものとも考えられてきた。ニューキノロン薬においては、ENX<sup>4)</sup>、NFLX<sup>7)</sup>、CPFX<sup>6)</sup>、LFLX<sup>8)</sup>で痙攣誘発の報告がみられている。さらに、1986年、ENXとNSAIDsの一つであるFBとの併用時に痙攣が誘発されたとの報告<sup>9)</sup>がなされてより、両系薬物併用時の痙攣誘発機序が注目されている。野崎らはマウス経口投与により、非ステロイド系消炎薬の併用によりキノロン薬の痙攣誘発作用が増強されることを示している<sup>15)</sup>。

一方、GABAは中枢神経系において抑制性伝達物質と考えられており、GABAが受容体に結合するとクロールチャンネルを開き、クロールイオンを細胞内に流入させ、細胞を過分極にむかわせることにより抑制的に作用すると考えられている。そして、何らかの機序によりGABA作動性抑制性伝達が阻害されると中枢神経系における興奮性が増大し、痙攣が誘発されると考えられている<sup>10)</sup>。我々は、キノロン薬がGABA受容体結合を濃度依存的に阻害することを示し、キノロン薬による痙攣誘発にGABA受容体結合阻害の関与している可能性を示してきた<sup>11)</sup>。また、この受容体結合阻害は非ステロイド系消炎薬の共存により増強されることを示し、両系薬物併用時に見られるキノロン薬による痙攣誘発作用の増強は両系薬共存時に認められるキノロン薬のGABA受容体結合阻害作用の増強による可能性を示唆してきた<sup>11)</sup>。今回は、新キノロン薬であるGPFXが痙攣誘発作用を有するか否かを検討するために、またその程度を推測するためにGPFXをはじめとするニューキノロン薬のGABA受容体に及ぼす影響を検討した。

Fig. 1, Table 1に示すようにニューキノロン薬はGABA受容体結合を濃度依存的に阻害した。このことから、これらの薬物の脳内濃度が上昇した際にはGABA受容体結合を阻害することにより痙攣が誘発される可能性が示唆された。また、GPFXは、今回検討した薬物の中では中間に位置していた。

前述の様に、キノロン薬とNSAIDsとの併用時に痙攣が誘発されたという報告が見られている。さらに、マウスにおいて、キノロン薬とNSAIDsとを同時に経口投与すると、キノロン薬の痙攣誘発作用が増強されることが報告されている。そこで、NSAIDs共存下にGPFXをは

じめとするキノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響を検討した。FBの活性代謝産物であるBPA ( $10^{-4}$ M) 共存下におけるキノロン薬のGABA受容体結合に及ぼす影響をFig. 2に示す。NFLX, ENX, CPFXおよびOFLXではそのGABA受容体阻害効果が著しく増強された (Fig. 2, Table 1)。この成績より、これらの薬物はFBと併用した際には、FBの活性代謝産物であるBPAとのGABA受容体結合をめぐる薬物相互作用により痙攣を誘発しやすくなる事が示唆された。しかし、TFLX, FLRX, SPFXおよびGPFXではBPAの共存にもかかわらず、GABA受容体結合を阻害する作用は殆ど増強されなかった (Fig. 2)。このことから、TFLX, FLRX, SPFXおよびGPFXはFB併用時には対照の4薬より痙攣誘発作用の弱い薬物である事が示唆された。他のNSAIDsについても検討を加えた。Table 1に示すように、NFLX, ENX, CPFXおよびOFLXでは、ACEを除くNSAIDsの共存により、それらのGABA受容体結合阻害効果は増強された。このことより、これらのニューキノロン薬は、NSAIDsとの併用時にはその痙攣誘発作用が増強される可能性が示された。しかし、TFLX, FLRX, SPFXおよびGPFXではNSAIDsの共存下でもそれらのGABA受容体阻害効果は殆ど増強されなかった。これらの結果より、TFLX, FLRX, SPFXおよびGPFXはNSAIDs併用時にも、その痙攣誘発作用が増強されない可能性が示唆された。

以上の *in vitro* の成績から、GPFXは単独では他のニューキノロン薬と同様に痙攣誘発作用を有する可能性が示唆され、その程度は他剤に比し中等度であろうと考えられた。また、NSAIDsの併用によって、GPFXは痙攣誘発作用の増強されにくい薬物である可能性が示唆された。

#### 文 献

- 1) Kucers A and McBennet N: The use of antibiotics (4th ed.), Lippincot Co., Philadelphia, 1988
- 2) Islam M A and Srredharan T: Convulsions, hyperglycemia and glucosuria from ovetdose of nalidixic acid. JAMA 192: 1100~1101, 1965
- 3) Fraser A G and Harrower A D B: Convulsions and hyperglycemia associated with nalidixic acid. Brit Med J 2: 1518, 1977
- 4) Simpson K J and Brodie M J: Convulsions related to enoxacin. Lancet ii: 161, 1985
- 5) Arcieri G, Griffith E, Gruenwald G, Heyd A, O'Brien S, Becker N and August R: Ciprofloxacin; an update on clinical experience. Am J Med 82 (suppl 4A): 381~394, 1987
- 6) Fass R J: Efficacy and safety of oral ciprofloxacin in the treatment of serious respiratory infections. Am J Med 82(suppl 4A): 202~207, 1987
- 7) Anastatio G D, Mensder D and Little J M: Norfloxacin and seizures. Ann Intern Med 109: 169~170, 1988
- 8) 定光大海, 立石彰男, 副島由行, 松本美志也, 中島 研, 前川剛志: 塩酸ロメフロキサシンを大量に服用した1例。第2回中国四国中毒研究会プログラム・抄録集: 4, 1990
- 9) 厚生省薬務局: 医薬品副作用情報 No. 81, 1986
- 10) Meldrum B S: Epilepsy and  $\gamma$ -aminobutyric acid-mediated inhibition. Int Rev Neurobiol 17: 1~36, 1975
- 11) Hori S and Shimada J: Effects of quinolones on the central nervous system. In Quinolone Antimicrobial Agents, 2nd Ed., (ed. by D C Hooper and J S Wolfson), pp513~518, American Society for Microbiology, Washington D C, 1993
- 12) Zukin S R, Young A B and Snyder H: Gamma-aminobutyric acid binding to receptor sites in the rat central nervous system. Proc Natl Acad Sci USA 71: 4802~4807, 1974
- 13) 上田 泰, 他: Pipemidic acidに関する臨床的研究。Chemotherapy 23: 2798~2870, 1975
- 14) 梅澤 修: ニューキノロン系抗菌剤と酸性非ステロイド性消炎鎮痛剤との相互作用—痙攣。医薬品の副作用 Annual Report 1990 (伊藤宗元ほか編), pp157~163, 中外医学社, 東京, 1991
- 15) 野崎正勝: 特集「新しいキノロン剤治療の現状と将来」けいれんとの関係。化学療法の領域 7: 64~72, 1991

## Effect of grepafloxacin, a new fluoroquinolone, on $\gamma$ -aminobutyric acid receptor binding; A comparative study of fluoroquinolones

Seiji Hori<sup>#</sup> and Jingoro Shimada

Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine

2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki 216, Japan

(<sup>#</sup>Present address: Department of Pharmacology, Jikei University School of Medicine)

Fluoroquinolones have been reported to have potent convulsant activity. We have reported that fluoroquinolones inhibited the receptor binding of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA), an inhibitory transmitter in the central nervous system, and suggested that the onset of the convulsions induced by fluoroquinolones might be related to the inhibition of the receptor binding. Grepafloxacin (GPFX) is a newly developed fluoroquinolone. We studied the effect of GPFX and other fluoroquinolones on GABA receptor binding. GPFX, as well as other fluoroquinolones, inhibited GABA receptor binding in a concentration-dependent manner. The inhibitory activity of the compound was moderate among the fluoroquinolones tested in this study. However, the inhibitory activity of GPFX was hardly enhanced in the presence of NSAIDs. These *in vitro* results suggest that GPFX might have moderate convulsant activity, but that concurrent administration with NSAIDs might hardly enhance this activity.