

新しいキノロン薬, pazufloxacin の痙攣誘発作用と GABA 受容体結合に及ぼす影響

堀 誠治[#]・金光敬二・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*

([#]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。本稿では新キノロン薬である pazufloxacin (PZFX) の GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討した。PZFX は、 10^{-3} M まで GABA 受容体結合を阻害しなかった。また、ビフェニル酢酸共存下でもその GABA 受容体阻害効果は増強されなかった。さらに、マウス脳室内投与により痙攣誘発作用を検討した。PZFX の痙攣誘発作用は弱く、またビフェニル酢酸同時投与によってもその痙攣誘発作用は増強されなかった。以上より PZFX は痙攣誘発作用の極めて弱いキノロン薬である可能性が示された。

Key words : PZFX, GABA receptor, 痙攣, キノロン薬, 非ステロイド系消炎薬

近年、多くのキノロン薬が開発され、臨床に供されている。その使用量の増大に伴い、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。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ですでに報告されている。その中には痙攣誘発作用も認められ^{1,2)}、キノロン薬にとって、中枢神経系副作用は宿命的とも考えられてきた。enoxacin (ENX)^{3,4)}、ciprofloxacin (CPFX)⁵⁾、norfloxacin (NFLX)⁶⁾、lomefloxacin (LFLX)⁷⁾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⁸⁾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。さらに、他のニューキノロン薬と NSAIDs との併用時に痙攣誘発の報告⁹⁾があり、その両薬剤の併用時の痙攣誘発の可能性が注目されている。

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¹⁰⁾。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¹¹⁾。さらに、非ス

テロイド系消炎薬の共存により、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¹¹⁾。Pazufloxacin (PZFX) は、新しく開発されたキノロン薬であり、本薬の痙攣誘発作用を有するかが注目される。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。さらに、本薬の痙攣誘発作用を直接検討する目的でマウス脳室内に投与し、その痙攣誘発作用をも検討した。

I. 材料および方法

1) 薬物など

PZFX は富山化学工業株式会社より、NFLX、および fleroxacin (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、CPFX 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 (980.5 GBq/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 ショ糖液にて 10% ホモジネートを調製した。そのホモジネートより Zukin らの方法¹²⁾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 カリウムリン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 カリウムリン酸緩衝液 (pH 7.4) に懸濁 (約 0.3g brain/ml) し、 -20°C 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遠心法により測定し、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 カリウムリン酸緩衝液 (pH 7.4) にて 2 回洗浄した。400 μl の 10mM カリウムリン酸緩衝液 (pH 7.4) 中にシナプス膜、[^3H]GABA (最終濃度: 10nM) および薬物を含む反応混液を 4°C , 15 分インキュベートした。20,000g, 15 分間 (4°C) 遠心し、反応を停止した。上清を吸引・除去したのち、氷冷した脱イオン水 1ml を用いペレットを 2 回洗浄した。ペレット内のアイソトープ量を液体シンチレーションカウンターを用いて測定し結合量とした。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。

4) マウス脳室内投与

マウス (ddY, 5 週齢, ♂) を無麻酔・非動下に頭皮を開き、中島の方法¹³⁾に従い薬液 (5 μl) をマイクロシリンジを用いて側脳室内に注入した。マウスは、薬液注入後 2 時間観察し、痙攣発現の有無を検討した。1 群に 10 匹のマウスを用い、痙攣が誘発されたマウスを percent で示した。

II. 結 果

1) PZFX および他のキノロン薬の GABA 受容体結合に及ぼす影響

PZFX 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。Fig. 1 に示すように、NFLX, ENX, CPFX は濃度依存的に GABA 受容体結合を阻害した。OFLX, SPFX, FLRX, TFLX ではその阻害作用は弱く、PZFX では 10^{-3}M まで、GABA 受容体結合を殆ど抑制しなかった。

さらに、FB の活性代謝産物であるビフェニル酢酸 (BPA) の共存下 (最終濃度 10^{-4}M) にこれらキノロン薬の GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討した。BPA の共存により、NFLX, ENX, CPFX および OFLX の GABA 受容体結合阻害作用は著しく増強された。SPFX, FLRX, TFLX ではその阻害効果に若干の増強効果が認められたが、PZFX では増強効果は認められなかった。NFLX, ENX, CPFX, OFLX, SPFX, FLRX, TFLX の GABA 受容体結合を 50% 阻害する濃度 (IC_{50}) は、それぞれ、 $<10^{-8}\text{M}$, $1.1 \times 10^{-8}\text{M}$, $3.0 \times 10^{-8}\text{M}$, $8.3 \times 10^{-7}\text{M}$, $5.2 \times 10^{-5}\text{M}$, $1.0 \times 10^{-4}\text{M}$, $1.2 \times 10^{-4}\text{M}$ であった。また、PZFX では $>10^{-4}$ であった (Fig. 2, Table 1)。

また、acetylsalicylic acid, flurbiprofen, indomethacin

(それぞれ最終濃度 10^{-4}M) は PZFX の GABA 受容体結合に対する作用を変化させなかった (Fig. 3)。

2) マウス脳室内投与による痙攣誘発の検討

マウスの側脳室内に ENX を投与する事により投与量依存的に痙攣が誘発された。その痙攣誘発作用は BPA (絶対量 5nmol) の同時投与により増強された。一方、PZFX 単独の痙攣誘発作用は ENX に比べ弱く、BPA (絶対量 5nmol) の同時投与でも痙攣誘発作用の増強は認められなかった (Fig. 4)。

III. 考 察

近年、多くのキノロン薬が開発され臨床に供されている。しかし、その多くが、潜在的に痙攣誘発作用を有する可能性は良く知られている。ENX, CPFX, NFLX, LFLX に関連すると考えられる痙攣誘発の報告¹⁻⁷⁾が認められている。さらに、NSAIDs との併用時にキノロン薬の痙攣誘発作用が増強されるとの報告⁸⁻⁹⁾がなされてより、キノロン薬が痙攣誘発作用を有するか否か、NSAIDs の併用により痙攣誘発作用が増強されるか否かが注目されている。今回、我々は、新しいキノロン薬である PZFX の GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討しその痙攣誘発作用を推定するとともに、NSAIDs の影響をもあわせて検討した。初期に開発されたキノロン薬のなかで、NFLX, ENX, CPFX は濃度依存的に GABA 受容体結合を阻害した。しかし、OFLX と最近開発されたキノロン薬

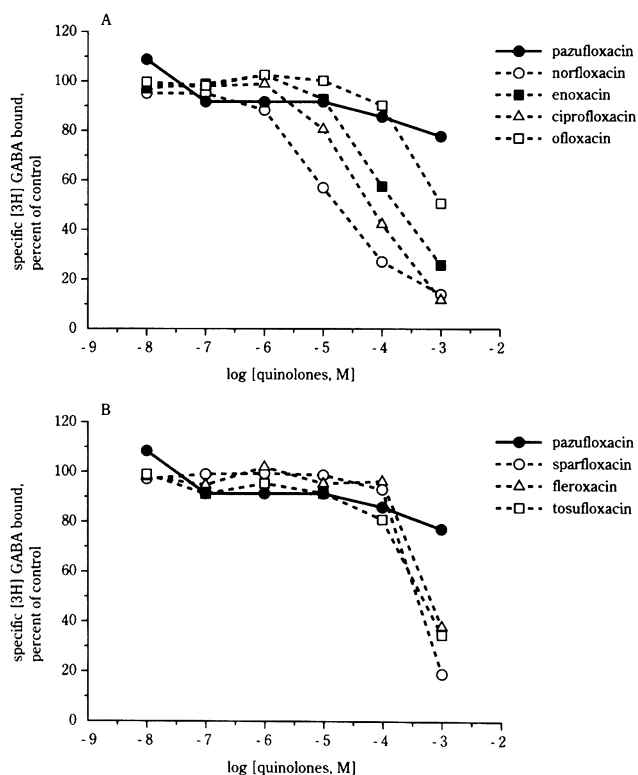


Fig. 1. Effect of quinolones on GABA receptor binding.

(SPFX, FLRX, TFLX)ではそれらのGABA受容体結合に対する阻害効果は弱かった。これらの成績よりNFLX, ENX, CPFXは脳内濃度が上昇した際にはGABA受容体結合を阻害し、痙攣を誘発する可能性が示唆された。一方、PZFXはGABA受容体を殆ど阻害せず、痙攣を誘発しにくい薬物であろうことが示唆された。

さらに、NSAIDs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が知られている。我々は、両系薬併用時に痙攣誘発作用が増強される機序として、NSAIDs共存下でキノロン薬のGABA受容体結合阻害作用が増強されることを示してきた。Fig. 2に示すように、NFLX, ENX, CPFX, OFLXのGABA受容体阻害作用は、

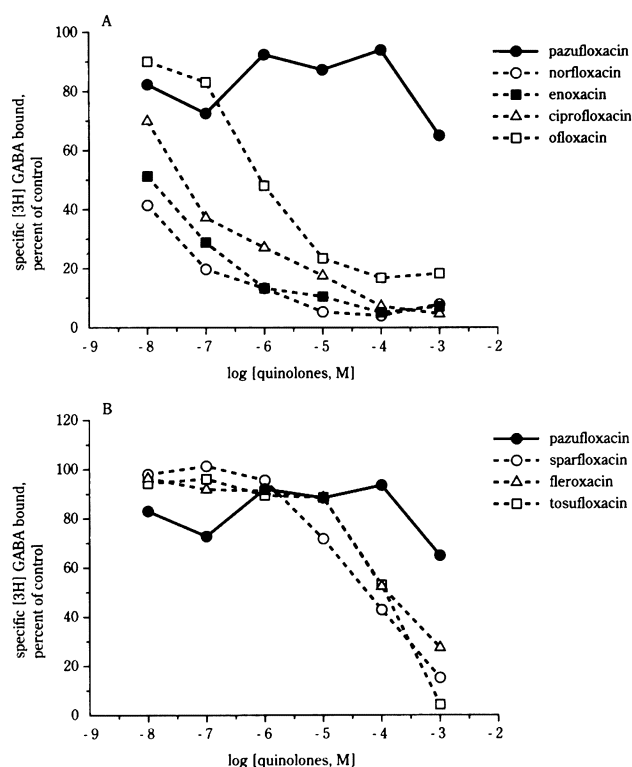


Fig. 2. Effect of quinolones on GABA receptor binding in the presence of 4-biphenylacetic acid (10⁻⁴ M).

Table 1. IC₅₀ values of quinolones with or without 4-biphenylacetic acid (10⁻⁴ M)

Quinolone	4-biphenylacetic acid	
	(—)	10 ⁻⁴ M
pazufloracin	> 10 ⁻³	> 10 ⁻³
norfloxacin	1.4 × 10 ⁻⁵	< 10 ⁻⁸
enoxacin	1.4 × 10 ⁻⁴	1.1 × 10 ⁻⁸
ciprofloxacin	7.6 × 10 ⁻⁵	3.0 × 10 ⁻⁸
ofloxacin	1.0 × 10 ⁻³	8.3 × 10 ⁻⁷
sparfloracin	5.7 × 10 ⁻⁴	5.2 × 10 ⁻⁵
floxacin	9.1 × 10 ⁻⁴	1.0 × 10 ⁻⁴
tosufloxacin	7.6 × 10 ⁻⁴	1.2 × 10 ⁻⁴

Each value represents mean of two or three separate experiments.

BPAの共存により著しく増強された。この成績から、これらの薬物がBPAと同時に投与された際には、GABA受容体結合阻害効果を増強し、より低濃度のキノロン薬で痙攣が誘発される可能性を示唆している。しかし、PZFXは、上述の如く、単独ではGABA受容体結合を殆ど阻害せず、また、NSAIDsの共存下でもそのGABA受容体結合阻害効果は増強されなかった (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3)。そのことより、PZFXはNSAIDs併用時にも痙攣誘発作用の弱い薬物であろうことが示唆された。

さらに、PZFXの薬物としての痙攣誘発作用を検討するために、マウス脳室内に投与し、痙攣誘発の有無を検討した。Fig. 4に示されているように、PZFXの痙攣誘発作用はENXに比べ弱く、さらに、BPAの同時投与によってもその痙攣誘発作用は影響されなかった。しかし、ENXでは、BPAの同時投与により痙攣誘発作用の増強が認められている。この*in vivo*の成績は、PZFXがGABA受容体結合を殆ど阻害せず、またNSAIDsの共存によってもその受容体に対する効果は影響されなかったという*in vitro*の成績を反映しているものと考えられる。

以上より、PZFXは痙攣誘発作用の極めて弱いキノロン薬である可能性が示唆された。

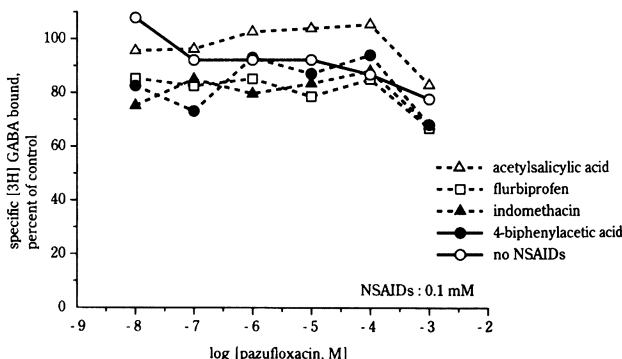


Fig. 3. Effect of pazufloracin on GABA receptor binding in the presence of non-steroidal anti-inflammatory drugs (10⁻⁴ M).

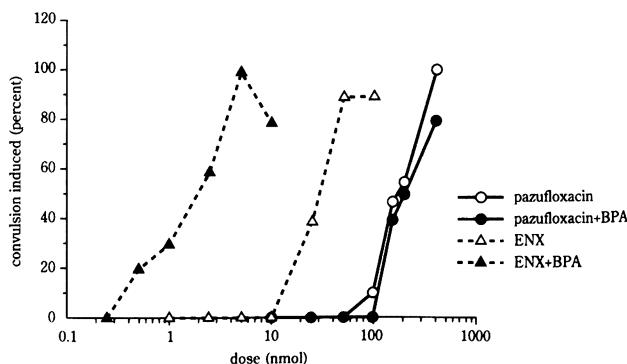


Fig. 4. Convulsant activity of intraventricular injection of enoxacin and pazufloracin with or without 4-biphenylacetic acid (5 nmol) in mice.

文 献

- 1) Islam M A and Sreedharan T: Convulsion, hyperglycemia and glucosuria from over dose of nalidixic acid. JAMA, 192, 1100~1101, 1965
- 2) Fraser A G and Harrower A D B: Convulsions and hyperglycemia associated with nalidixic acid. Brit Med J 2, 1518, 1977
- 3) Simpson K J and Brodie M J: Convulsions related to enoxacin. Lancet ii, 161, 1985
- 4) 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
- 5) 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
- 6) Anastasio G D, Mensder D and Little J M: Norfloxacin and seizures. Ann Intern Med 109, 169~170, 1988
- 7) 定光大海, 立石彰男, 副島由行ほか: 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
- 8) 厚生省薬務局: 医薬品副作用情報 No. 8, 1986
- 9) 梅沢 修: ニューキノロン系抗菌薬と酸性非ステロイド性消炎鎮痛薬との相互作用—痙攣 pp157~163 in 医薬品の副作用 Annual Report 1990, (伊藤宗元ほか編), 中外医学社, 東京, 1991
- 10) Meldrum B S: Epilepsy and γ -aminobutyric acid-mediated inhibition. Int Rev Neurobiol 17, 1~36, 1975
- 11) Hori S and Shimada J: Effect of quinolones on the central nervous system. pp. 513~518, in Quinolone Antimicrobial Agents, 2nd ed. (Hooper D C and Wolfson J S ed.), American Society for Microbiology, Washington D C, 1993
- 12) Zukin S R, Young A B and Snyder S H: Gamma-aminobutyric acid binding to receptor sites in the rat central nervous system. Proc Natl Acad Sci USA, 71, 4802~4807, 1974
- 13) 中島晋介: Vitamin B6 拮抗体による痙攣とその抑制効果について, 昭和医学会誌 32, 9~7, 1984

Convulsant activity of pazufloxacin, a new quinolone, and its effect on the receptor binding of γ -aminobutyric acid

Seiji Hori^{*}, Keiji Kanemitsu and Jingoro Shimada

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

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

(*Present address: Department of Pharmacology, Jikei University School of Medicine)

Since quinolones have been reported to have potent convulsant activity, we studied the effect of pazufloxacin (PZFX) on the receptor binding of γ -aminobutyric acid (GABA). PZFX hardly inhibited GABA receptor binding in its high concentration (10^{-3} M). And non-steroidal anti-inflammatory drugs did not affect the inhibitory activity of PZFX. And the intraventricular injection of PZFX induced convulsion in mice in its high doses, and concurrent administration of 4-biphenylacetic acid (5 nmol) did not affect the convulsant activity of PZFX. These results suggest that PZFX might have very weak convulsant activity.