

試験管内膀胱モデルを用いた gatifloxacin の投与方法に関する検討

蟹本雄右*・河田幸道

岐阜大学医学部泌尿器科学教室

(現 掛川市立総合病院泌尿器科*)

Gatifloxacin (GFLX) は新しく開発されたニューキノロン薬でグラム陽性、陰性菌に幅広く、強力な抗菌力を有している。GFLX の体内動態は種々の投与量で血中濃度半減期が約7時間、24時間における尿中回収率は80%の成績である。

今回、試験管内膀胱モデルを用いてGFLX, fleroxacin (FLRX), ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), norfloxacin (NFLX) の尿中濃度の変化をモデル内で再現し、大腸菌2株の細菌増殖抑制効果を比較検討した。尿中濃度の推移は抗菌薬の100mg1日1回投与と50mgを12時間毎に2回投与する2つのパターンを用いた。

検討5薬剤の中でGFLXは被験大腸菌2株とも最も長い時間細菌の再増殖を抑制した。FLRXではいずれの菌株でも単回投与の抑制時間が2分割投与の抑制時間を明らかに上回ったが、GFLXは単回投与と2分割投与で抑制時間に明らかな差はなかった。

今回の膀胱モデルの実験条件では再増殖した大腸菌株の各薬剤に対する耐性化は認められなかった。

以上よりGFLXは尿路感染症の治療において1日1回投与でも2分割投与でも高い有効性が期待される薬剤と思われる。

Key words : gatifloxacin, 尿路感染症, 試験管内膀胱モデル, 投与方法

Gatifloxacin (GFLX) は杏林製薬研究所で新しく開発された経口キノロン系抗菌薬でキノロンカルボン酸を基本骨格とし、1位にシクロプロピル基、6位にフッ素、7位に3-メチルピペラジニル基、8位にメトキシ基を有し、従来のニューキノロン薬の抗菌力に加えて、肺炎球菌、ブドウ球菌などのグラム陽性菌や嫌気性菌、マイコプラズマにも強い抗菌力を持っている¹⁾。GFLXの血中濃度半減期は健常者で約7時間、24時間までの尿中排泄率は80%と高い経口吸収性と良好な腎排泄性を持ち、尿路感染症に対する優れた臨床効果が期待される²⁾。

今回、GFLXの尿路感染症における投与間隔を基礎的に検討する目的で試験管内膀胱モデルを使用して、被験菌の増殖抑制時間を他のニューキノロン薬と比較検討した。

I. 対象と方法

1. 被験菌

使用した菌株は尿路感染症由来の大腸菌 *Escherichia coli* EC-03, *E. coli* EC-01の2株である。*E. coli* EC-03, EC-01に対する検討薬剤の最小発育阻止濃度(MIC)は液体培地希釈法で*E. coli* EC-03はGFLX 0.25mg/L, fleroxacin (FLRX) 1mg/L, ofloxacin

(OFLX) 0.5mg/L, ciprofloxacin (CPFX) 0.12mg/L, norfloxacin (NFLX) 0.5mg/Lとニューキノロン薬に中等度感受性であり、EC-01はGFLX 2mg/L, FLRX 8mg/L, OFLX 4mg/L, CPFX 2mg/L, NFLX 8mg/Lと耐性株であった。

2. 試験管内膀胱モデル

膀胱モデルはヒトの膀胱機能に類似させた種々の機能を有する細菌培養装置で、膀胱における蓄尿(培養液の流入)と排尿(一定時間毎の排液)、さらに残尿(排液残量)を試験管内で再現し、細菌の増殖状態を濁度として自動測定する装置である^{3,4)}(Fig. 1)。

今回の検討では液体培地としてEugon-brothを使用し、蓄尿は1mL/min、排尿は1時間に1回、残尿は20mLに条件を設定した。またfull growth(濁度100%:生菌数 1×10^9 cells/mL)から6時間抗菌薬無添加培地のみで細菌を再増殖させ、6時間目から抗菌薬を添加する。抗菌薬の添加により濁度が一度低下し、再び50%(生菌数: 2×10^8 cells/mL)に達する時間までを細菌増殖抑制時間として各薬剤の抑制時間を比較検討した。

3. 抗菌薬

抗菌薬の添加パターンは検討薬剤100mg1回投与と50mg \times 2回投与(12時間毎)時の健常成人の尿中濃度

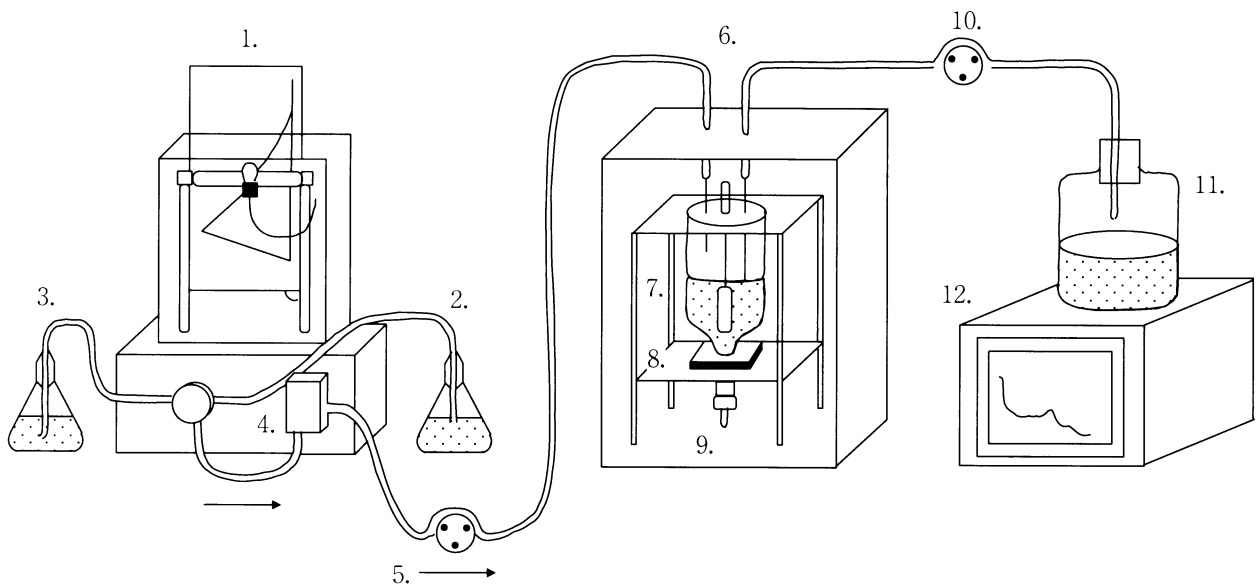


Fig. 1. Bladder model

- | | |
|---------------------------------|---------------------------------|
| 1. Concentration forming device | 2. Broth without antibiotics |
| 3. Broth with antibiotics | 4. Mixing chamber |
| 5. Inflow pump | 6. Incubator |
| 7. Container (bladder) | 8. Light path of the photometer |
| 9. Piston | 10. Outflow pump |
| 11. Drainage bottle | 12. Recorder |

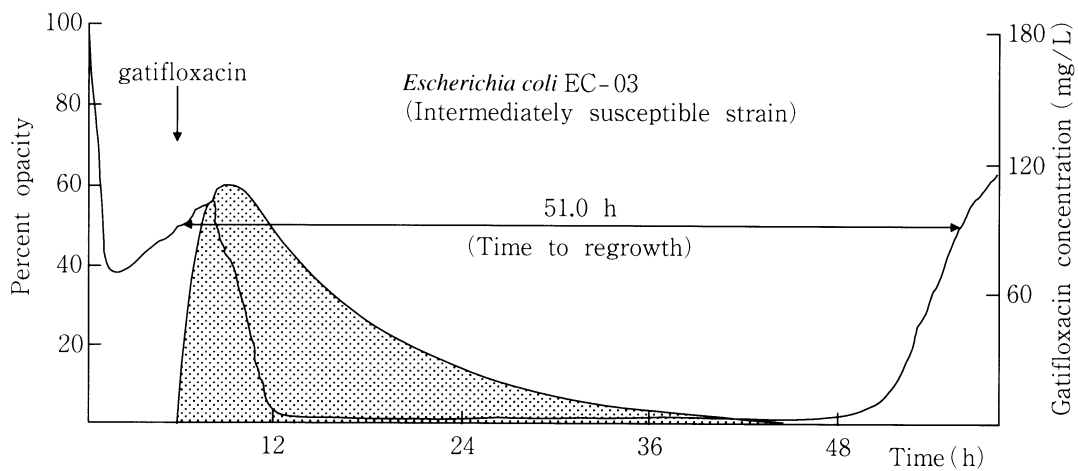


Fig. 2. Continuous opacity record under the conditions of the bladder model simulating the urinary concentration of gatifloxacin achieved after a single oral administration of 100 mg.

の推移を一日尿量 1440mL (1mL/min) で薬剤の phase 1 study の成績から薬物速度論的パラメーターを用いて simulate し, gradient former を使用して添加した^{7,8)}。

同一条件の実験をそれぞれ 3 回繰り返す, その平均値を増殖抑制時間とした。さらに再増殖株の MIC を親株の MIC と比較し, 耐性菌の出現, 交差耐性の有無を検討した。

II. 結 果

Full growth の細菌は膀胱モデル内で液体培地の添加

により濁度は一旦低下し, 時間の経過とともに再び活発な増殖状態に転ずる。薬剤の添加を開始すると, 1~2 時間濁度は上昇を続け, 次に急速に低下する。その後細菌の増殖は一定時間抑制され, 再び上昇に転ずる。

キノロン中等度感受性株 *E. coli* EC-03 に対する GFLX, 100mg 単回投与 (1 日 1 回投与を想定) の増殖抑制時間は前述の設定方法で平均 51.0 時間であり (Fig. 2), 50mg の 2 回投与 (1 日 2 回投与を想定) の 46.9 時間に比較して約 4 時間長い抑制時間であった (Fig. 3)。またキノロン耐性の *E. coli* EC-01 株では単回投与で 36.2 時間, 2 分

割投与で34.5時間とほぼ同じ抑制時間であった (Fig. 4, 5)。

GFLXと他剤 (FLRX, OFLX, CPFX, NFLX) の比較成績は Table 1, 2に示したように, GFLXが感受性株, 耐性株, 単回投与, 2分割投与のいずれの組み合わせでももっとも長い抑制時間を示した。

耐性株である *E. coli* EC-01の2分割投与ではGFLX, FLRXでは一定時間再増殖が完全に抑制されたが, OFLXでは濁度が最初に設定された0%に達しない状態で11.4時間不完全に抑制され, CPFX, NFLXでは増殖の抑制は認めなかった。

単回投与が明らかに2分割投与の抑制時間を上回った薬剤はFLRXで *E. coli* EC-03で6.6時間, EC-01で11時

間と大きな開きであった。逆に2分割投与の抑制時間が単回投与を上回ったのは *E. coli* EC-03株でNFLXを投与した組み合わせのみであった。

親株と再増殖株の各薬剤に対する感受性に関しては, 検討薬剤の親株と再増殖株でMICの変化はなく, また他剤に対しても明らかな感受性の変化を認めず, 今回の実験条件で薬剤投与による耐性化の傾向は認められなかった (Table 3)。

Ⅲ. 考 察

GFLXは従来のニューキノロン薬の抗菌力に加えて肺炎球菌をはじめとするグラム陽性菌に対する抗菌力を高め, 嫌気性菌, マイコプラズマ, 抗酸菌にも良好な抗

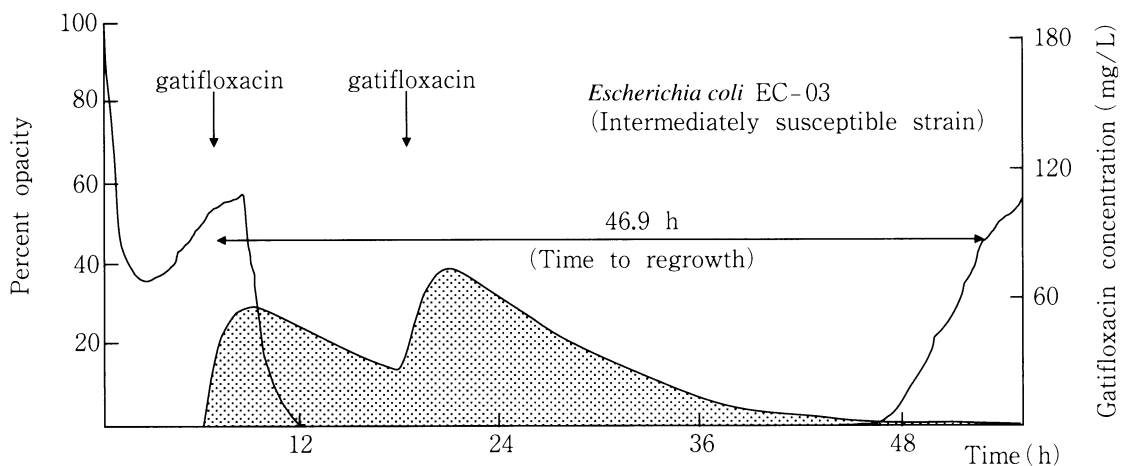


Fig. 3. Continuous opacity record under the conditions of the bladder model simulating the urinary concentration of gatifloxacin achieved after two oral administrations of 50 mg, 12 hours apart.

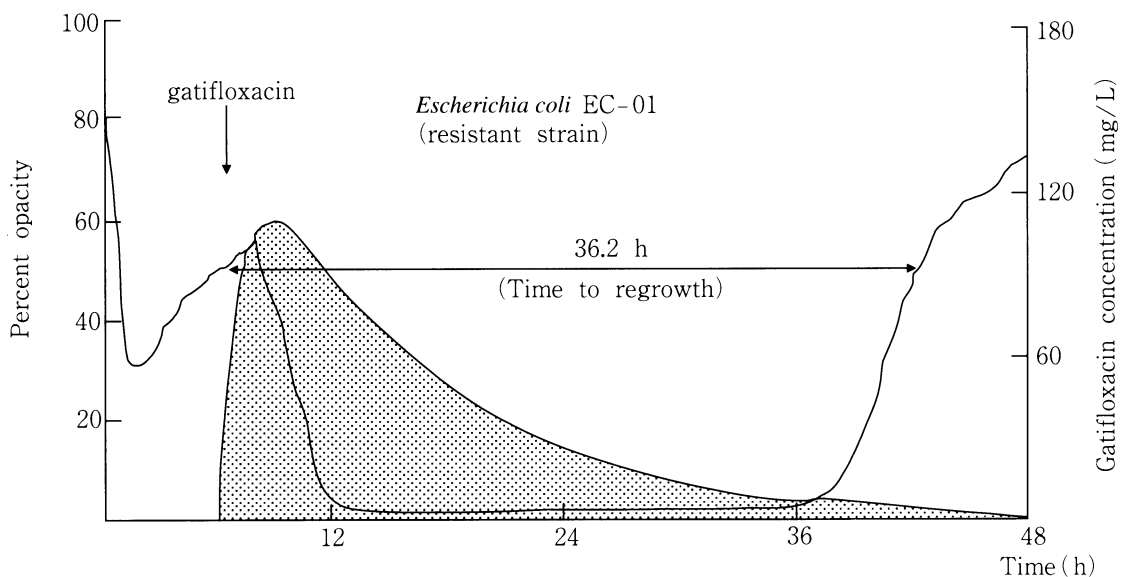


Fig. 4. Continuous opacity record under the conditions of the bladder model simulating the urinary concentration of gatifloxacin achieved after a single oral administration of 100 mg.

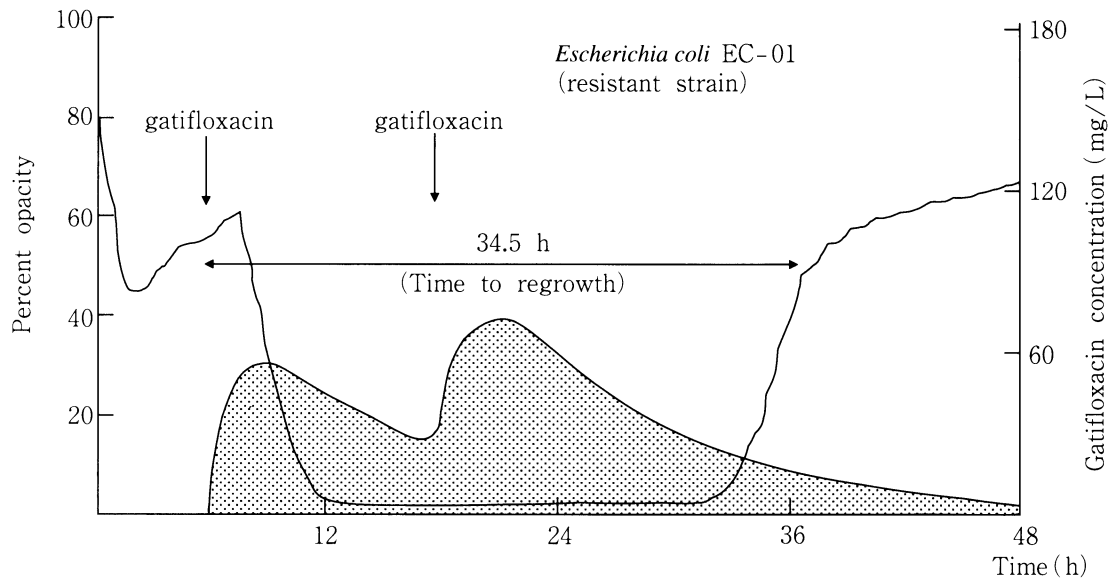


Fig. 5. Continuous opacity record under the conditions of the bladder model simulating the urinary concentration of gatifloxacin achieved after two oral administrations of 50 mg, 12 hours apart.

Table 1. Growth suppression of *Escherichia coli* EC-03 by a single and double cycle exposure to quinolones

Drugs	Time (h) to regrowth	
	single cycle	double cycle
gatifloxacin	51.0	46.9
floxacin	38.6	32.0
ofloxacin	45.2	44.0
ciprofloxacin	33.7	27.3
norfloxacin	23.1	30.2

Table 2. Growth suppression of *Escherichia coli* EC-01 by a single and double cycle exposure to quinolones

Drugs	Time (h) to regrowth	
	single cycle	double cycle
gatifloxacin	36.2	34.5
floxacin	28.5	17.5
ofloxacin	31.0	11.4*
ciprofloxacin	20.2	**
norfloxacin	13.5	**

* Suppression of bacterial growth was not complete photometrically

** Inadequate to evaluate in the present conditions of the bladder model

菌力を有するなど、抗菌スペクトラムが拡大されている²⁾。また健常成人における血中濃度半減期は約7時間とFLRXやsparfloxacinに比較して短いものの、OFLX, NFLX, CPMXに比べると長く、尿中に未変化体として80%以上が排泄されるなど尿路感染症における優れた臨床効果が期待される¹⁾。これらの良好な体内動態の成績をもとに尿路感染症における1日1回投与と2分割投与の比較を2株(感受性株, 耐性株)の大腸菌を用いて試験管内膀胱モデルにより検討した。

膀胱モデルにおける被験菌の増殖抑制時間は蓄尿量、排尿間隔、残尿などの前述の実験条件のほか、薬剤の抗菌力、モデル内抗菌薬のピーク濃度とその持続時間、耐性菌の出現の有無など種々の因子に影響され、それらの因子を総合した形で増殖抑制時間として測定される³⁾。

また、濁度と生菌数の関係は抗菌薬の種類により filamentation, spheroblast, ghost cell などの細菌

の形態変化が濁度を変化させ必ずしも生菌数を反映しないことも考えられる。しかし抗菌力や体内動態には差を認めるものの、基本的に同一の作用機序を持つニューキノロン薬の間では種々のMICと投与 pattern で膀胱モデルに apply した成績からも⁹⁾、濁度はほぼ生菌数を反映して変化し、増殖抑制時間として比較することは可能と考えられる。

今回の検討でGFLXは他の4剤に比較して、単回投与でも2分割投与でも耐性菌でも感受性菌でも優れた細菌増殖抑制効果を示した。これはGFLXの抗菌力が他剤に比較して1~2管程度優れていることに加え、経口吸収性が高く、主たる排泄経路が腎であることから尿中回収率が80%前後と高く、膀胱モデルに apply した薬剤のピーク濃度とその持続時間が他剤に比較して優れていることに由来していると思われる。

同一薬剤で100mg単回投与と12時間毎の50mg2回投

Table 3. Minimum inhibitory concentrations of quinolones for the test strains of *Escherichia coli* EC-03 and EC-01 before and after exposure in the bladder model

<i>Escherichia coli</i> EC-03		Gatifloxacin	Fleroxacin	Ofloxacin	Ciprofloxacin	Norfloxacin
Single cycle	parent	0.25	1	0.5	0.12	0.5
	gatifloxacin	0.25	1	1	0.12	0.5
	fleroxacin	0.25	1	1	0.25	0.5
	ofloxacin	0.5	1	0.5	0.25	0.5
	ciprofloxacin	0.5	2	1	0.25	1
	norfloxacin	0.25	1	0.5	0.12	0.5
Double cycle	gatifloxacin	0.25	1	1	0.12	0.5
	fleroxacin	0.5	1	1	0.25	0.5
	ofloxacin	0.25	1	0.5	0.25	0.5
	ciprofloxacin	0.5	1	1	0.25	1
	norfloxacin	0.25	1	0.5	0.12	0.5
	<i>Escherichia coli</i> EC-01					
Single cycle	parent	2	8	4	2	8
	gatifloxacin	2	8	4	2	8
	fleroxacin	2	8	4	1	4
	ofloxacin	2	8	4	2	8
	ciprofloxacin	2	8	4	2	8
	norfloxacin	2	8	4	2	8
Double cycle	gatifloxacin	2	8	4	2	8
	fleroxacin	2	8	4	2	8
	ofloxacin	2	8	4	2	8
	ciprofloxacin	2	8	4	2	8
	norfloxacin	2	4	4	1	4

与の比較は、臨床的に1日1回投与と12時間毎の2分割投与の基礎的検討の一部として行った。GFLXは感受性株で51時間と約4時間単回投与の方が長く増殖を抑制し、一方耐性株ではほぼ同じ抑制時間であった。この結果よりGFLXの尿路感染症での1日1回投与法は2分割投与法とほぼ同等、あるいはそれ以上の有効性が期待されるものと考えられた。

半減期の長いFLRXでの増殖抑制時間は感受性株で6時間、耐性株では11時間と明らかに単回投与の抑制時間が2分割投与を上回った。この結果は他の菌株を使用した膀胱モデルのFLRXの結果と同様であり¹⁰⁾、FLRXでは1日1回投与法が2分割以上の投与法に比較してより望ましい方法と思われる。しかし血中濃度半減期が4時間で尿中回収率が40%のNFLXと中等度感受性大腸菌株の組み合わせでは2分割投与が約7時間単回投与の抑制時間を上回っているなど、薬剤の抗菌力、体内動態を充分検討して、投与間隔を決定する必要があると考えられた。

またセフェム剤やfosfomycinを用いた大腸菌を使用した膀胱モデルで認められた再増殖株の親株に対するMICの上昇¹¹⁾は今回の検討では全く認められなかった。これはニューキノロン薬の特性とともに使用した大腸菌の親株のMICがすでにかなり高いこと、さらにピーク濃度ではMICの20倍~400倍の抗菌薬濃度となるなど耐性化が起りにくい実験条件であったためと考えられた。

文 献

- 1) Hosaka M, Yasue T, Fukuda H, et al.: In vitro and in vivo antibacterial activities of AM-1155, a new 6-fluoro-8-methoxy quinolone. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 36: 2108~2117, 1992
- 2) Nakashima M, Uematsu T, Kosuge K, et al.: Single- and multiple- dose pharmacokinetics of AM-1155, a new 6-fluoro-8-methoxy quinolone, in Humans. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 39: 2635~2640, 1995
- 3) 河田幸道, 説田 修, 西浦常雄: 試験管内膀胱モデル。 *Chemotherapy* 29: 1143~1149, 1981
- 4) Greenwood D: An *in vitro* model simulating the hydrokinetic aspects of the treatment of bacterial cystitis. *J. Antimicrob. Chemother.* 15: 103~109, 1985
- 5) 中島光好, 植松俊彦, 滝口祥令, 他: Fleroxacinの第1相臨床試験。 *Chemotherapy* 38 (S-2): 280~311, 1990
- 6) 小林宏行, 志村政文: BAY o 9867 (ciprofloxacin)の臨床第一相試験。 *Chemotherapy* 33 (S-7): 140~170, 1985
- 7) 一原規方, 立澤晴男, 津村光義, 他: DL-8280

- の第一相試験。Chemotherapy 32 (S-1) : 118~148, 1984
- 8) 安彦トヨ, 石浜淳美, 小川暢也, 他: AM-715の臨床第一相試験。Chemotherapy 29 (S-4) : 136~145, 1981
- 9) 徳山宏基: New quinolone薬の至適投与に関する研究—試験管内膀胱モデルを用いた検討—。Chemotherapy 42 (6) : 711~722, 1994
- 10) 蟹本雄右, 村中幸二, 岡田謙一郎, 他: 尿路感染症に対する Fleroxacinの基礎的, 臨床的検討および腎機能障害者における体内動態。Chemotherapy 38 (S-2) : 520~530, 1990
- 11) Kanimoto Y, Greenwood D: Activity of fosmidomycin in an *in vitro* model of the treatment of bacterial cystitis. Infection 15 (6) : 465~468, 1987

Administration of gatifloxacin in an *in vitro* model of the treatment of bacterial cystitis

Yusuke Kanimoto[#] and Yukimichi Kawada

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

([#] Present : Kakegawa Municipal General Hospital, Department of Urology)

40 Tukasa-machi, Gifu 500-8705, Japan

Gatifloxacin (GFLX) is a new quinolone with potent and broad antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Pharmacokinetic studies have shown that GFLX has a serum elimination half-life of approximately 7 hours, and a urinary recovery rate of 80% within 24 hours after various single oral doses.

In this study, the responses of two strains of *Escherichia coli* to GFLX, fleroxacin (FLRX), ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), and norfloxacin (NFLX) were investigated in an *in vitro* model of the urinary bladder simulating the dynamic conditions in which bacteria are exposed to antibiotics in the treatment of bacterial cystitis.

Two types of concentration profile, single cycle (100 mg once a day) and double cycle (50 mg twice a day), were employed.

In the conditions of the bladder model, GFLX suppressed the growth of two strains of *E. coli* for the longest period among the five agents tested. Although single cycle exposure to FLRX suppressed the growth of *E. coli* for a longer period than did double cycle exposure, no significant difference of growth inhibition period was observed between a single and double cycle exposure to GFLX. During exposure of two strains to five agents, no emergence of resistance was observed under the present conditions of this bladder model.

From the results obtained in this study, oral administration of GFLX once or twice a day appears to be appropriate in the treatment of the urinary tract infections.