

新キノロン系抗菌薬 gatifloxacin の *in vitro* および *in vivo* postantibiotic effect

戸塚恭一・柴田雄介・清水喜八郎[#]

東京女子医科大学内科*

([#]現 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター)

保坂雅喜

杏林製薬株式会社中央研究所

新キノロン系抗菌薬 gatifloxacin (GFLX) の各種細菌に対する *in vitro* postantibiotic effect (PAE) および *Klebsiella pneumoniae* によるマウス大腿感染における *in vivo* PAE を ofloxacin (OFLX) を対照として比較検討した。

1. *Staphylococcus aureus* Smith, *Streptococcus pneumoniae* IID552, *Enterococcus faecalis* IID682 および *K. pneumoniae* BK に GFLX の 4MIC を 1 時間作用させた時の *in vitro* PAE は 2.1 ~ 4.1 時間であった。*S. aureus* および *S. pneumoniae* に対する GFLX の *in vitro* PAE は OFLX とほぼ同等であったが, *E. faecalis* および *K. pneumoniae* BK に対する *in vitro* PAE は OFLX よりも長かった。

2. 白血球減少マウスを用いた *K. pneumoniae* BK 大腿感染において GFLX および OFLX を 4mg/kg 皮下投与した時の *in vivo* PAE はそれぞれ 4.5 および 1.2 時間であった。

3. *K. pneumoniae* BK によるマウス大腿感染において GFLX を 4 および 8mg/kg 投与した時の effective regrowth time (ERT) はそれぞれ 12 時間以上, 16 時間以上であり, OFLX 4mg/kg 投与時の ERT (6.6 時間) に比べ 2 倍以上長かった。

Key words : gatifloxacin, 新キノロン抗菌薬, PAE

感染症の治療において抗菌薬を有効に用いるためには使用する薬剤の抗菌力および薬物動態的特性などから適切な投与法を設定することが重要である。Postantibiotic effect (PAE) は薬剤の適正な投与法を考える上で重要な因子と考えられる。一般にキノロン系抗菌薬はグラム陽性菌および陰性菌に対し postantibiotic effect を有することが知られている^{1,2)}。

Gatifloxacin (GFLX) は杏林製薬株式会社で開発されたキノロン系抗菌薬で, グラム陽性菌および陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトルを示し, sparfloxacin とほぼ同等の抗菌力を有する^{3,4)}。今回われわれは, GFLX の *in vitro* および *in vivo* PAE について ofloxacin (OFLX) を対照薬として比較検討した。

I. 実験材料および方法

1. 薬剤

GFLX (1/2 水和物, Lot No. G3X5321, G155311 杏林製薬) および ofloxacin (第一製薬) を用いた。いず

れの薬剤も力価の明らかなものを使用し, 濃度は無水物換算して表示した。薬物は 0.1N NaOH に溶解し, 必要に応じて滅菌蒸留水で希釈した。

各薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) は日本化学療法学会制定の微量液体希釈法に準じて測定した。

2. 使用菌株

以下の各菌株を使用した。

Staphylococcus aureus Smith

Streptococcus pneumoniae IID552

Enterococcus faecalis IID682

Klebsiella pneumoniae BK

S. aureus および *K. pneumoniae* の培養には Mueller Hinton broth (Difco) を *S. pneumoniae* および *E. faecalis* の培養にはブレインハートインヒュージョン培地 (栄研) をそれぞれ用いた。

3. *In vitro* PAE の測定

In vitro PAE はメンブランフィルター法により測定した。すなわち, 対数増殖期の菌体を約 10^6 CFU/mL に懸濁し,

これを4MICのGFLXあるいはOFLXに1時間暴露した。メンブランフィルターにて薬剤除去後、薬剤を含まない新鮮ブロスで3回洗った後、さらに培養し、経時的に生菌数を測定した。PAEは薬剤除去後の生菌数が 1 Log_{10} CFU増殖する時間から、薬剤無添加のコントロールが 1 Log_{10} CFU増殖する時間を引いた値とした。

4. *In vivo* PAEの測定

In vivo PAEは*K. pneumoniae* BK株を用いたマウス大腿感染モデルにて検討した。ICR雌性マウス(6週齢、体重約25g)の腹腔内にcyclophosphamideを、感染4日前および1日前にそれぞれ150および100mg/kg投与して白血球を減少させた。対数増殖期の菌液0.1mLをこのマウスの大腿筋に約 1×10^6 CFU/thighになるよう接種した。感染2時間後のマウス後背部にGFLXの4および8mg/kg、OFLXの4mg/kgを皮下投与し、以後経時的に大腿部菌数を測定した。また、あらかじめ薬剤投与後1時間毎に新鮮な菌を接種し、この菌の大腿部における増殖を薬剤非投与群における菌の増殖と比較し、残存薬剤が菌の増殖に影響を及ぼさなくなる時間を求め、これを薬剤消失時間とした。*In vivo* PAEは薬剤消失時点を起点として、薬剤作用後の菌数が 1 Log_{10} CFU増殖するまでの時間から、薬剤非投与群の大腿部菌数が 1 Log_{10} CFU増殖するまでの時間を引いた値とした。さらに大腿部菌数が薬剤投与時のレベルにまで戻る時間をeffective regrowth time (ERT)として求めた。抗菌作用を示す

ひとつのパラメーターと考えられるsuppressive areaは大腿部菌数が薬剤投与時のレベル以下に抑制されている時間と減少した菌数の積とした(Fig. 1)。

II. 結 果

1. *In vitro* PAE

各試験菌株に対するGFLXおよびOFLXのMIC、*in vitro* PAEをTable 1に示した。GFLXの4MICを1時間接触させた時の*in vitro* PAEは*S. aureus* Smithで2.1時間、*S. pneumoniae* IID552で2.4時間、*E. faecalis* IID682で4.1時間、*K. pneumoniae* BKで2.3時間であった。*S. aureus* および*S. pneumoniae* に対するGFLXの*in vitro* PAEはOFLXとほぼ同等であったが、*E. faecalis* および*K. pneumoniae* に対する*in vitro* PAEはOFLXよりも長かった。

2. *In vivo* PAE

K. pneumoniae BKによる大腿感染マウスにGFLXを4および8mg/kg、OFLXを4mg/kgそれぞれ皮下投与した時の大腿部菌数の変動をFig. 2に、*in vivo* PAE、最大殺菌力、suppressive areaおよびERTをTable 2に示した。マウスの大腿部菌数はGFLX投与後、用量依存的に速やかに減少した。4および8mg/kgの両投与量群とも投与2時間後に最大殺菌力($1.7 \sim 2.8 - \Delta \text{Log}_{10}$ CFU/thigh)を示し、以後再増殖した。4mg/kg投与時のGFLXおよびOFLXの*in vivo* PAEはそれぞれ4.5および1.2時

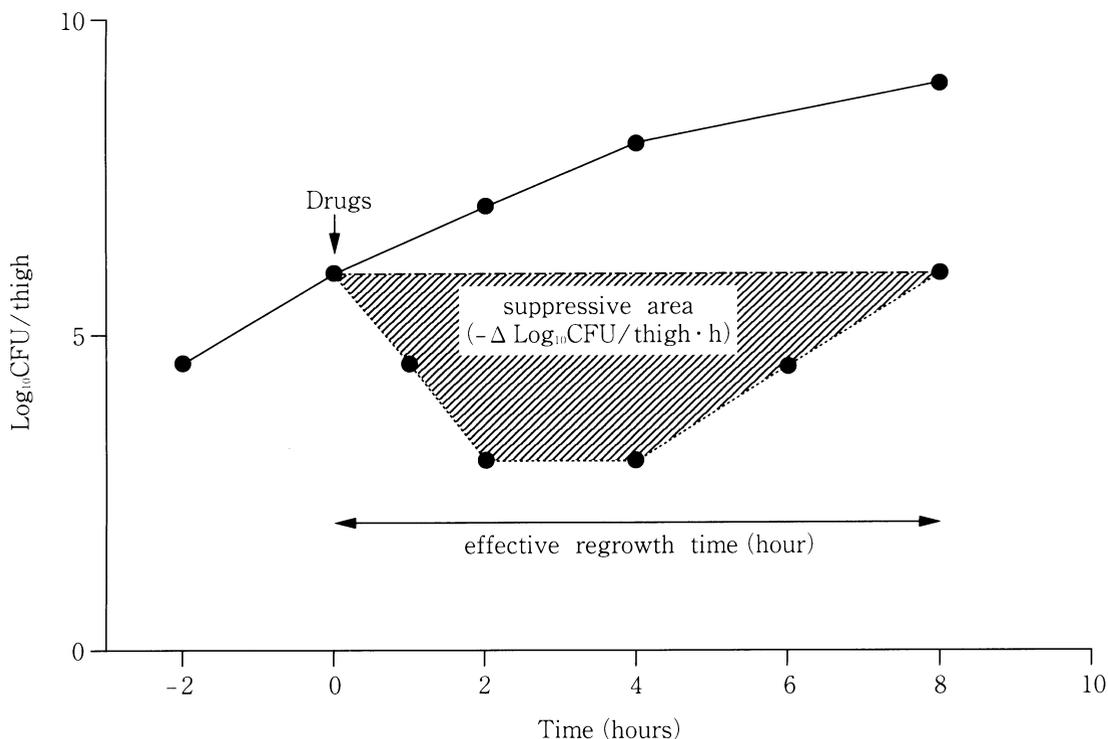
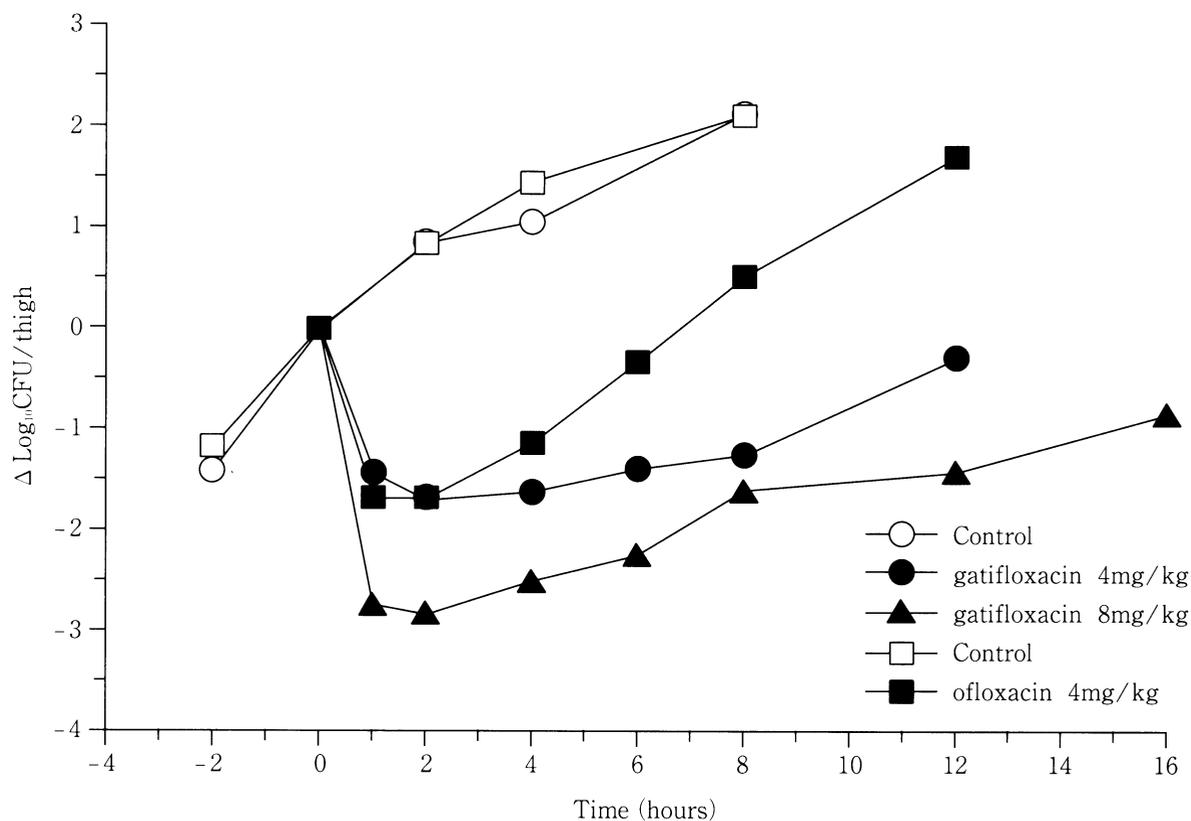


Fig. 1. Measurement of *in vivo* effective regrowth time and suppressive area.

Table 1. *In vitro* postantibiotic effect of gatifloxacin and ofloxacin

Organism	Gatifloxacin		Ofloxacin	
	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	PAE (h)	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	PAE (h)
<i>S. aureus</i> Smith	0.10	2.1	0.39	2.2
<i>S. pneumoniae</i> IID552	0.39	2.4	1.56	2.2
<i>E. faecalis</i> IID682	0.39	4.1	1.56	2.7
<i>K. pneumoniae</i> BK	0.20	2.3	0.20	1.1

4 MIC, 1 h

Fig. 2. *In vivo* time, kill-curve of gatifloxacin and ofloxacin against *K. pneumoniae* BK in neutropenic mice.Table 2. *In vivo* postantibiotic effect and effective regrowth time of gatifloxacin and ofloxacin against *K. pneumoniae* thigh infection in neutropenic mice

Drug	Dose (mg/kg)	Maximal killing ($-\Delta \text{Log}_{10} \text{CFU}/\text{thigh}$)	Suppressive area ($-\Delta \text{Log}_{10} \text{CFU}/\text{thigh} \cdot \text{h}$)	PAE (h)	ERT (h)
Gatifloxacin	4	-1.68	≥ 14.32	4.5	>12
	8	-2.82	≥ 28.56	-	>16
Ofloxacin	4	-1.67	6.89	1.2	6.6

間(薬剤消失時間はそれぞれ5および3時間), またERTはそれぞれ12時間以上および6.6時間であり, *in vivo* PAEで約3時間, ERTで5時間以上GFLXの方が長かった。この時のsuppressive areaはGFLXが $\geq 14.3 - \Delta \text{Log}_{10}$ CFU/thigh \cdot hであったのに対し, OFLXは $6.89 - \Delta \text{Log}_{10}$ CFU/thigh \cdot hであり, GFLXはOFLXの約2倍であった。なお, GFLXを8mg/kg投与した時の大腿部における薬剤残留時間は6時間以上におよび, PAEは算出できなかったが, この時のERTは16時間以上に達した。

Ⅲ. 考 察

新キノロン系抗菌薬GFLXの*in vitro*および*in vivo* PAEを測定し, OFLXと比較した。その結果, *S. aureus* Smith, *S. pneumoniae* IID552, *E. faecalis* IID682 および *K. pneumoniae* BKに対するGFLXの*in vitro* PAEは2.1~4.1時間で, グラム陽性菌および陰性菌ともにPAEがみとめられた。GFLXの*in vitro* PAEは*S. aureus* および *S. pneumoniae* ではOFLXと同等であったが, *E. faecalis* および *K. pneumoniae* BKに対するPAEはOFLXの1.5~2.1倍の値を示した。また, マウス大腿感染モデルを用いて *K. pneumoniae* BKに対する*in vivo* PAEを測定した結果, 4mg/kg皮下投与時にGFLXではOFLXの約4倍の4.5時間のPAEが観察され, 本薬剤がOFLXと同等以上のPAEを有するものと推察された。*K. pneumoniae* マウス大腿感染におけるGFLXのERTは12時間以上でありOFLXの2倍以上の長さであった。4mg/kg皮下投与時のGFLX及びOFLXの薬剤消失時間はそれぞれ5, 3時間であり, *K. pneumoniae* に対する両薬剤のMICが同等であることから, これらERT, 薬剤消失時間には半減期, 組織移行性など体内動態の違いが影響していると考えられた。われわれはこれまでに, キノロン系抗菌薬のERTについて今回と同じ条件で測定し, OFLX, LFLX, FRLXでは5~7時間, CPFX, TFLX, SPFXでは9~12時間という値を得ている⁵⁾が, GFLXのERTはそれらと比較しても長かった。これらのことからGFLXがマウス生体内においてすぐれた殺菌力, 長い血中半減期, あるいは良好な組織移行性を示す可能性が示唆された。

PAEは抗菌薬の投与間隔の設定に重要な要素と考えられているが, 感染症治療におけるその意義は必ずしも明らかではない。キノロン系抗菌薬と同様, 用量依存的な殺菌作用を有するアミノ配糖体系抗菌薬でもPAEはみとめられている⁶⁾。アミノ配糖体系抗菌薬では, 強い殺菌力と長いPAEから, その効果には1日の総投与量が重要と考えられ,

さらに腎毒性などの副作用の軽減も考慮して臨床では1日1回投与法が検討されている。このことは, PAEを有するキノロン系抗菌薬についても投与法を設定する上で検討の余地が残されていることを示唆するものと思われる。

臨床第1相試験の結果から, 健康成人にGFLXを200mg経口投与した時の血清中最高濃度は $1.7 \mu\text{g/mL}$ に達し, その後の消失半減期は7~8時間を示すことが報告されている⁷⁾。したがって, GFLX服用後の血中では多くの菌に対するMICを上回る薬剤濃度が長時間存在するものと予想される。

これらの結果はGFLXの臨床使用において1日1回あるいは2回投与の有効性を示唆するものである。

文 献

- 1) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 新合成抗菌薬 pazufloxacin の*in vitro* および*in vivo*における postantibiotic effect. *Chemotherapy* 43 (S-2): 34~37, 1995
- 2) Karlowsky J A, Zhanel G G, Davidson R J, et al.: *In vitro* postantibiotic effects following multiple exposures of cefotaxime, ciprofloxacin, and gentamicin against *Escherichia coli* in pooled human cerebrospinal fluid and Mueller-Hinton broth. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 37: 1154~1157, 1993
- 3) Wakabayashi E, Mitsuhashi S: *In vitro* antibacterial activity of AM-1155, a novel 6-fluoro-8-methoxy quinolone. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 38: 594~601, 1994
- 4) Hosaka M, Kinoshita S, Toyama A, et al.: Antibacterial properties of AM-1155, a new 8-methoxy quinolone. *J. Antimicrob. Chemother.* 36: 293~301, 1995
- 5) 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)。キノロン薬(上田 泰, 清水喜八郎, 紺野昌俊, 松本文夫編), p.121~126, ライフ・サイエンス, 東京, 1991
- 6) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 抗菌薬のPAEと投与法。総合臨床 37: 2187~2190, 1988
- 7) 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

In Vitro and *In Vivo* Postantibiotic Effects of Gatifloxacin, a New Quinolone

Kyoichi Totsuka, Yusuke Shibata, and Kihachiro Shimizu[#]

Department of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical College

8-1 Kawada, Shinjuku, Tokyo 162-8666, Japan

([#] Present address : Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine)

Masaki Hosaka

Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

In vitro and *in vivo* postantibiotic effects (PAE) of gatifloxacin (GFLX) were compared with that of ofloxacin.

1. *In vitro* PAE of GFLX for 4 MIC at 1 hour exposure to *Staphylococcus aureus* Smith, *Streptococcus pneumoniae* IID552, *Enterococcus faecalis* IID682 and *Klebsiella pneumoniae* BK were 2.1~4.1 hours. *In vitro* PAE of GFLX against *S. aureus* and *S. pneumoniae* was comparable to that of ofloxacin, whereas that of GFLX against *E. faecalis* and *K. pneumoniae* BK was more than that of ofloxacin.

2. *In vivo* PAE of GFLX and ofloxacin with a dose of 4 mg/kg against *K. pneumoniae* thigh infection in neutropenic mice were 4.5 and 1.2 hours, respectively.

3. Effective regrowth times (ERT) of GFLX with doses of 4 and 8 mg/kg against *K. pneumoniae* BK were more than 12 hours and more than 16 hours, respectively. That of ofloxacin with a dose of 4 mg/kg was 6.6 hours.