

短 報

Mycobacterium avium complex に対する KRM-1648,
クラリスロマイシンおよびレボフロキサシンの臨床投与後の
血中濃度に相当する *in vitro* 濃度での抗菌活性

佐藤 勝昌・赤木 竜也・富岡 治明

島根医科大学微生物・免疫学教室

受付 平成9年3月12日

受理 平成9年4月28日

ANTI-MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX ACTIVITIES OF KRM-1648,
CLARITHROMYCIN AND LEVOFLOXACIN IN 7HSF MEDIUM AT PEAK OR
AVERAGE BLOOD CONCENTRATIONS AFTER THEIR ORAL
ADMINISTRATION OF CLINICAL DOSAGES

Katsumasa SATO, Tatsuya AKAKI and Haruaki TOMIOKA*

(Received 12 March 1997/Accepted 28 April 1997)

We evaluated the anti-*Mycobacterium avium* complex (MAC) activities of KRM-1648 (KRM), clarithromycin (CAM) and levofloxacin (LVFX) in 7HSF medium at concentrations in human blood after their oral administration of clinical dosages. MAC organisms were inoculated into tubes containing the medium with or without the addition of test drugs at either 1/10 C_{max}, C_{max} or C_{0-8h} (average concentrations during the first 8 h) in the blood. KRM at C_{max} or C_{0-8h} showed strong bactericidal activity against MAC, CAM showed weak or moderate degree of bactericidal activity at C_{max} and C_{0-8h}, while LVFX added at C_{max} or C_{0-8h} showed only a weak bacteriostatic effect against *M. avium*, but did not show any effect against *M. intracellulare*.

Key words : MAC, KRM-1648, clarithromycin, levofloxacin

キーワード : MAC, KRM-1648, クラリスロマイシン, レボフロキサシン

結核症に対する使用抗菌剤の治療効果の予測は、抗菌剤に対する分離菌の感受性あるいは耐性の程度で経験的になされているが、*Mycobacterium avium* complex (MAC) 症に対する治療効果予測は極めて困難である。例えば、AIDS 患者での MAC 菌血症では、患者分離菌に対する諸種抗菌剤の MIC や MBC 値の大小と、そ

れら抗菌剤投与による血中 MAC 菌数の減少効果との間には、これといった相関は認められていない¹⁾。また、われわれの検討でも MAC 症患者分離菌株に対する諸種抗菌剤の MIC および MBC 値さらには MBC/MIC 比と、この MAC 菌株により惹起された実験的マウス感染症に対する当該抗菌剤の治療効果との間にも有

* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo, Shimane 693 Japan.

意な相関はみられていない。

われわれは、マウスを用いた MAC 感染症に対する抗菌剤の治療効果を予測するための *in vitro* パラメーターを設定することを目的として、これまで一連の検討を進めてきている。今回はこうした試みを実験的マウス感染症にとどめず、MAC 症患者の臨床治療という観点にも立脚して進めていくための一助として、ベンゾキサジノリファマイシン KRM-1648 (KRM), クラリスロマイシン (CAM) およびレボフロキサシン (LVFX) について、臨床投与下でのヒト血中 C_{max} 値の濃度に相当する薬剤を *in vitro* において MAC に作用させた場合の抗菌活性について比較検討を試みた。

供試菌株としては MAC 症患者より分離した *M. avium* N-444 株および *M. intracellulare* N-260 株を用いた。これらは 7H9 プロス (Difco Laboratories, 米国) で培養し、0.1% bovine serum albumin 加 phosphate buffered saline に浮遊した後に -80°C に保存した。

KRM (鐘淵化学工業) と CAM (大日本製薬) は dimethylsulfoxide で、また LVFX (第一製薬) は 0.1 N NaOH で 3 mg/ml の濃度になるように溶解し、用時、使用培地で希釈した。

抗菌活性の検討は以下のように行った。すなわち、臨床投与量の供試薬剤の経口投与後に得られる血中 C_{max} 値およびその 1/10 C_{max} 値、さらには投与 8 時間後までの平均血中濃度 (C_{0-8h}) 値を含有する 7HSF プロス (7H11 寒天培地に組成のほぼ等しい液体培地)²⁾³⁾

の 5 ml に MAC (2.5×10^6 CFU) を接種し、5 日間にわたって 37°C で培養した。経時的に菌液を採取し、蒸留水での 10 倍階段希釈を行い、その 0.1 ml を 7H11 寒天培地に拡げ、 37°C で 2 週間培養後に CFU を計測した。なお、供試菌株に対する各薬剤の MIC (7HSF プロス希釈法) は以下のごとくであった: *M. avium* N-444 株, KRM $0.06 \mu\text{g/ml}$, CAM $8 \mu\text{g/ml}$, LVFX $16 \mu\text{g/ml}$; *M. intracellulare* N-260 株, KRM $0.06 \mu\text{g/ml}$, CAM $4 \mu\text{g/ml}$, LVFX $16 \mu\text{g/ml}$ 。以上の MIC 値は以前に 7H11 寒天希釈法で得られた値とほぼ等しかった。

結果は Fig. 1 および 2 に示したが、各薬剤の臨床投与量下での血中 C_{max} および C_{0-8h} 値はそれぞれ以下のごとくである。KRM (1.0 mg/kg): $0.05 \mu\text{g/ml}$, $0.036 \mu\text{g/ml}$ (マウスの成績よりの推定値, 鐘淵化学工業よりの私信: マウスに 10 mg/kg で投与した場合の KRM の血中薬物動態 (C_{max} 値, $0.5 \mu\text{g/ml}$) よりの推定値); CAM (8.0 mg/kg): $2.3 \mu\text{g/ml}$, $1.5 \mu\text{g/ml}$ ⁴⁾; LVFX (4.0 mg/kg): $2.0 \mu\text{g/ml}$, $1.4 \mu\text{g/ml}$ (第一製薬私信)。なお、これら C_{max} 値は、KRM では供試 MAC に対する MIC 値にほぼ等しいが、CAM と LVFX では約 1/2 から 1/8 の値である。また、 C_{0-8h} 値については、KRM では MIC 値の約 1/2, CAM と LVFX ではその約 1/3 から 1/11 の値である。

Fig. 1 には *M. avium* に対する供試抗菌剤の抗菌活性を示した。KRM は 1/10 C_{max} という低濃度でも *M. avium* に対して殺菌的に働くこと、また C_{max} あ

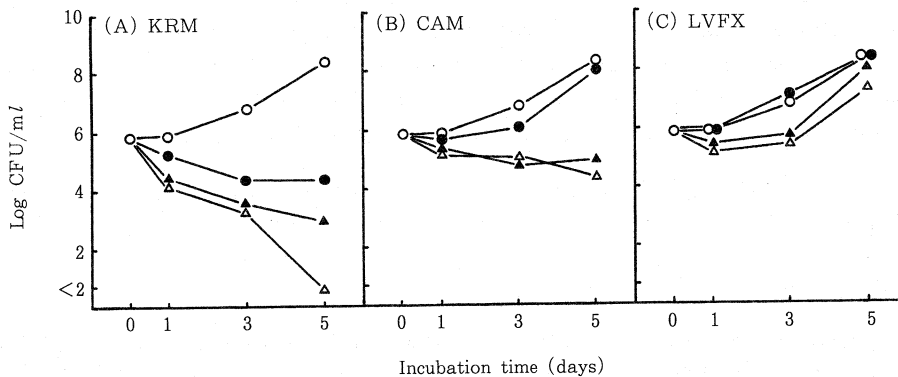


Fig. 1 Antimicrobial activity of KRM (A), CAM (B), and LVFX (C) against *M. avium* organisms in 7HSF medium. Each drug was added at 1/10 C_{max} , C_{max} , and C_{0-8h} in the blood after oral administration at the clinical dosage. The C_{max} and C_{0-8h} values of test drugs are indicated in the text. Representative results of repeated experiments are shown in this figure. ○, None added; ●, + drug at 1/10 C_{max} ; △, + drug at C_{max} ; ▲, + drug at C_{0-8h} .

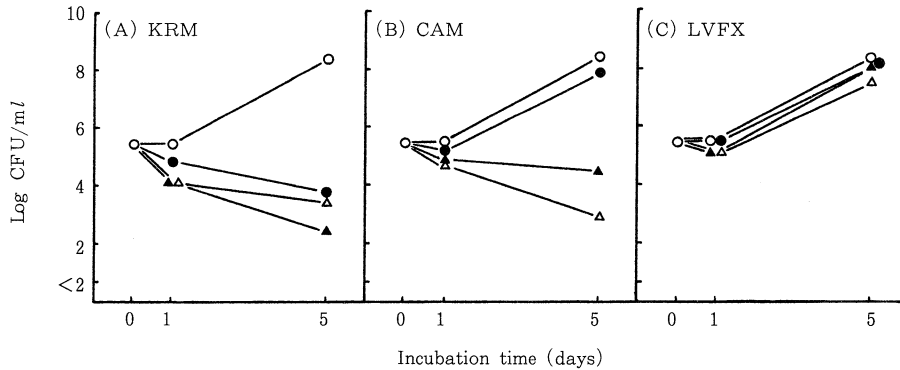


Fig. 2 Antimicrobial activity of KRM (A), CAM (B), and LVFX (C) against *M. intracellulare* organisms in 7HSF medium. Each drug was added at 1/10 Cmax, Cmax, and C_{0-8h} in the blood after oral administration at the clinical dosage. The Cmax and C_{0-8h} values of test drugs are indicated in the text. Representative results of repeated experiments are shown in this figure. ○, None added; ●, + drug at 1/10 Cmax; △, + drug at Cmax; ▲, + drug at C_{0-8h}.

るいは C_{0-8h} 相当の濃度では強い殺菌活性を示すことが明らかとなった。他方、CAM については、その Cmax あるいは C_{0-8h} 相当の濃度では KRM にはやや劣るものの *M. avium* に対して殺菌的に作用し得ること、また 1/10 Cmax 濃度では増殖抑制作用を有することが分かった。さらに、LVFX については、Cmax あるいは C_{0-8h} 相当の濃度では僅かながら増殖抑制作用を示した。

Fig. 2 には *M. intracellulare* に対する供試抗菌剤の抗菌活性を示した。KRM の Cmax あるいは C_{0-8h} 相当の濃度での殺菌活性は *M. avium* に対する場合よりも若干劣ること、また LVFX の *M. avium* に対する場合の増殖抑制作用は *M. intracellulare* に対してはほとんどみられないことが分かったが、総じて *M. intracellulare* に対する KRM, CAM あるいは LVFX の抗菌活性は *M. avium* における場合とほぼ同様な推移を示すことが明らかとなった。

今回の成績より、KRM, CAM, LVFX の各々の臨床投与下での血中 Cmax 相当の濃度で作用させた場合の *in vitro* 抗 MAC 抗菌活性は、KRM で最も強く、次いで CAM の順であり、LVFX にはそのような抗菌活性はほとんどみられないことが分かった。MAC 症に対する CAM の治療成績については多くの報告例⁵⁾⁶⁾があり、特に播種性 MAC 症に対する有効性が認められているが、他方 KRM についてはその臨床研究は端緒についたばかりであり、MAC 症患者への有効性については不明である。また、LVFX, OFLX, さらには

SPFX などのキノロン剤については他剤との併用投与の報告例はあるものの、単剤での評価は行われておらず、概して MAC 症に対する治療効果は期待薄である。そこで、今回は上述の *in vitro* 抗菌力についての成績と実験的マウス MAC 感染症に対するこれら薬剤の治療効果^{7)~12)} との比較を行ってみた。その結果、CAM や LVFX の抗菌活性とマウスでの *in vivo* 抗菌活性との間にはある程度の相関性が認められるものの、KRM についての *in vitro* 抗菌活性は、*in vivo* 活性に比べて過大評価されるということが分かった。

われわれは、実験的マウス MAC 感染症における治療効果予測のための *in vitro* パラメーターについて一連の検討を進めてきているが、現時点では、(1) 抗菌剤の肺での Cmax と MBC の比 (Cmax_(lung)/MBC) が 0.1 以上の薬剤であれば一応マウスでは治療効果が期待できること、(2) マウスマクロファージ内被貪食 MAC に対する Cmax_(lung) 濃度の抗菌剤の殺菌活性は、MAC 感染マウスに対する治療効果との間に相関性が高いこと、などを見いだしている。Sison ら¹⁾ は、AIDS での播種性 MAC 症患者よりの分離 MAC 菌をヒトマクロファージに貪食させた実験系でのエタンブトール、リファンピシン、クロファジミンなどの薬剤の抗 MAC 殺菌能は、当該患者の血中菌数の減少を指標としての治療効果とおおよそ相関することを見いだしており、彼らの実験系で得られた *in vitro* 抗菌力パラメーターは MAC 菌血症に対する治療効果を予測する上でかなり有用であると報告している。しかし、彼らの報告では培地

への薬剤の添加濃度設定のための根拠が不明である上に、その方法も極めて複雑な実験手技を必要とするものであり、その臨床的応用は容易ではないものように思われる。

現在、各種抗菌剤の細菌感染症に対する臨床での有用性の評価法として、ブレイクポイントの概念が米国のみならずわが国でも普及しつつあるが¹³⁾、MAC 症についてはその症例のほとんどに多剤併用療法が行われていることも相まって、Heifets¹⁴⁾の試みを除いては、未だ臨床的ブレイクポイント値の設定には至っていない。しかしながら、抗酸菌症とりわけ今後ますます増加するであろう MAC 症の治療を考える上では MIC や MBC 値のみに頼るだけでなく、今後は貪食細胞への取り込み、さらには貪食細胞内での局在を含めての各種薬剤の体内動態を加味した assay 系で得られる *in vitro* 抗菌力パラメーターを駆使しての治療効果の予測が重要になるものと思われる。

文 献

- 1) Sison JP, Yao Y, Kemper CA, et al.: Treatment of *Mycobacterium avium* complex infection: Do the results of *in vitro* susceptibility tests predict therapeutic outcome in humans? *J Infect Dis.* 1996; 173: 677-683.
- 2) Yajko DM, Nassos PS, Hadley WK: Broth microdilution testing of susceptibilities to 30 antimicrobial agents of *Mycobacterium avium* strains from patients with acquired immune deficiency syndrome. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987; 31: 1579-1584.
- 3) Klopman G, Wang S, Jacobs MR, et al.: Anti-*Mycobacterium avium* activity of quinolones: *In vitro* activities. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37: 1799-1806.
- 4) 諏訪俊男, 浦野英俊, 児玉智子, 他: TE-031 の体内動態 (第 8 報). ヒトにおける吸収および排泄 (bioassay 法). *Chemotherapy.* 1988; 36: 921-932.
- 5) Heifets LB: Clarithromycin against *Mycobacterium avium* complex infections. *Tubercle Lung Dis.* 1996; 77: 19-26.
- 6) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇: 新抗結核薬開発の現状. 呼吸器疾患・結核 資料と展望. 1996; 17: 27-41.
- 7) Bermudez LE, Inderlied CB, Kolonoski P, et al.: Activities of Bay Y3118, levofloxacin, and ofloxacin alone or in combination with ethambutol against *Mycobacterium avium* complex *in vitro*, in human macrophages, and in beige mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40: 546-551.
- 8) Bermudez LE, Kolonoski P, Petrofsky M, et al.: Roxithromycin alone and in combination with either ethambutol or levofloxacin for disseminated *Mycobacterium avium* infections in beige mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40: 1033-1035.
- 9) Tomioka H, Sato K, Saito H.: Comparative *in vitro* and *in vivo* activity of fleroxacin and ofloxacin against various mycobacteria. *Tubercle.* 1991; 72: 176-180.
- 10) Tomioka H, Saito H, Sato K, et al.: Chemotherapeutic efficacy of a newly synthesized benzoxazinorifamycin, KRM-1648, against *Mycobacterium avium* complex infection induced in mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36: 387-393.
- 11) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al.: *In vitro* and *in vivo* activities of clarithromycin against the *Mycobacterium avium* complex. *Int J Antimicrob Agents.* 1994; 4: 175-181.
- 12) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al.: Therapeutic effect of KRM-1648 with various antimicrobials against *Mycobacterium avium* complex infection in mice. *Tuberc Lung Dis.* 1995; 76: 51-58.
- 13) Medical Tribune 編集部: 抗菌薬のブレイクポイント. *Medical Tribune.* 1996年10月10日号.
- 14) Heifets L: Susceptibility testing of *Mycobacterium avium* complex isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996; 40: 1759-1767.