

## 第73回総会シンポジウム

## II. 結核治療における新薬の展望

座長 久世文幸 (京都大学)  
富岡治明 (島根医科大学)

The 73rd Annual Meeting Symposium

II. PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NEW ANTIMICROBIALS FOR  
CLINICAL CONTROL OF TUBERCULOSIS

Chairpersons: Fumiyuki KUZE\*  
Haruaki TOMIOKA\*\*

Symposium Topics and Presenters:

1. View of development of fluoroquinolones: Kenji NAMBA (Daiichi Pharmaceutical Co.)
2. Current status and perspectives on the development of rifamycin derivative antibiotics: Takayoshi HIDAHA (Kaneka Corporation)
3. *In vitro* antimicrobial activities of quinolones, rifamycins and macrolides against *Mycobacterium tuberculosis* and *M. avium* complex: Attempt to establish new assay methods which accurately reflect therapeutic effects of test agents *in vivo*: Katsumasa SATO and Haruaki TOMIOKA (Shimane Medical University)
4. Clinical evaluation of new quinolones as antituberculosis drugs: Shin KAWAHARA, Atsuhiko TADA, and Hitoshi NAGARE (National Minami-Okayama Hospital)
5. The need for new antituberculosis agents in Japan: Katsuhiko SUZUKI, Eisaku TANAKA, and Ryoichi AMITANI (Kyoto University Hospital)

The resurgence of tuberculosis (TB) in industrialized countries and the worldwide increase in the prevalence of atypical mycobacterial infections in immunocompromised hosts have promoted the quest for new antimycobacterial drugs. The appearance of multidrug-resistant (MDR) strains of *M. tuberculosis*, which exhibit *in vitro* resistance to at least two major antituberculous drugs (usually INH and RFP) and cause intractable TB, has greatly contributed to the increased incidence of TB. For instance, well-documented outbreaks or mini-epidemics of MDR-TB in the U.S. have indicated extremely rapid progression of the disease with high mortality, particularly in HIV-infected patients.

At present, the most effective therapy for TB is the use of the most active antituberculous drugs, such as INH, RFP, PZA, EB, and SM, in combination, and a cure

別刷り請求先:  
富岡 治明  
島根医科大学  
〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1

\* From Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8397 Japan.

\*\* From Shimane Medical University, Izumo, Shimane 693-8501 Japan.

(Received 5 Oct. 1998)

rate approaching nearly 100% can be achieved for drug-sensitive TB, using multi-drug regimens such as INH + RFP + SM (or EB) and INH + RFP + PZA + SM (or EB). However, because of the recent emergence of MDR-TB, some of which are significantly resistant to all known antimycobacterial drugs, the development of new potent antituberculous drugs without cross-resistance with known antimycobacterial agents is urgently desired. The principal classes of new antituberculous drugs that have been discussed in this symposium include the fluoroquinolones and rifamycin derivatives.

First, fluoroquinolones including OFLX, CPMX, and levofloxacin (LVFX) may be promising agents for the treatment of TB, particularly MDR-TB. The incidence of mycobacterial resistance to fluoroquinolones is relatively low at present, and there are no reports of cross-resistance or antagonism with other classes of antimycobacterial drugs. Fluoroquinolones can be administered orally with good absorption and favorable pharmacokinetics such as extremely efficient penetration into tissues and host macrophages. Moreover, the incidence and severity of adverse effects are generally low for the fluoroquinolones. Thus, fluoroquinolones may be used for long-term therapy of tuberculosis patients, especially those with HIV infection, in combination with other antimycobacterial drugs. Drs. Namba, Sato, Kawahara, and Suzuki have reviewed the *in vitro* and *in vivo* activities of new fluoroquinolones against *M. tuberculosis* and other mycobacterial pathogens, especially in terms of structure-activity relationship, structure-adverse effect relationship, *in vitro* antimicrobial activities against *M. tuberculosis* and *M. avium* complex (MAC) residing in professional and non-professional phagocytes, MICs for clinical isolates of *M. tuberculosis*, and clinical outcome of TB therapy using fluoroquinolones.

Second, rifamycins are among the most important anti-mycobacterial agents. RFP and rifabutin (RBT) are included in drug regimens for the treatment of TB and other mycobacterial infections in AIDS patients. RBT is about 4 to 6 times more active than RFP against *M. tuberculosis* by MIC determination, although there is partial cross-resistance between RBT and RFP. Moreover, RBT possesses favorable pharmacokinetic features such as a long half-life and good tissue penetration. Rifapentine (RPT) is also much more active than RFP *in vitro*, and has pharmacokinetic properties better than those of RFP, such as long half-life. This drug is in phase II trials as a new component of multi-drug regimens for the treatment of TB. A new benzoxazinorifamycin, KRM-1648, is about 100 times more active than RFP against *M. tuberculosis* and exhibits markedly potentiated therapeutic efficacies against *M. tuberculosis* and MAC infections induced in mice. This drug is in the preclinical or early phase II stages of development. Drs. Hidaka, Sato, and Suzuki have reviewed the status of these new rifamycins, especially KRM-1648, in terms of *in vitro* and *in vivo* antimycobacterial activities, adverse interactions with other drugs in relation to activities in inducing hepatic metabolism, *in vitro* antimicrobial activities against mycobacterial organisms residing in professional and non-professional phagocytes, and their clinical usefulness in treatment of TB patients.

This symposium has thoroughly reviewed the status of development of new antituberculous drugs. There are a number of difficulties in performing drug-design in development of new drug formulations with increased potential for antimycobacterial effects, excellent pharmacokinetics, and tolerability. Also, for the fluoroquinolones and rifamycins, further efforts are required to improve their properties as antimycobacterial drugs for clinical use. Moreover, it should be emphasized that the most urgent goal for

chemotherapy of TB, especially that associated with HIV infection, is to develop extremely active, low-cost agents which can be used not only in industrialized countries but also in developing countries, since the incidence of HIV infection-associated intractable TB is now rapidly increasing in the latter countries.

**Key words** : Multidrug-resistant tuberculosis, Antituberculous drug, Fluoroquinolone, Rifamycin

キーワードズ : 多剤耐性結核, 抗結核薬, 新キノロン剤, リファマイシン誘導体

## シンポジスト

1. キノロン剤の開発状況  
難波 憲司 (第一製薬創業第一研)
2. Rifamycin 誘導体薬剤開発の現状と展望  
日高 隆義 (鐘淵化学工業総合研)
3. キノロン, リファマイシン, マクロライド剤の *in vitro* 抗結核菌および抗 MAC 抗菌活性, 特に *in vivo* 治療効果との関連から  
佐藤 勝昌, 富岡治明 (島根医科大学微生物・免疫学)
4. 抗結核薬としてのニューキノロン剤の臨床的評価  
河原 伸, 多田 敦彦, 永礼 旬 (国療南岡山病院)
5. 結核診療における新薬の必要性  
鈴木 克洋, 田中 栄作, 網谷 良一 (京都大学胸部疾患研)

近年, 先進国での結核の再興や免疫不全宿主での非定型抗酸菌症の世界的な増加などが問題になっているが, これに関連して抗酸菌症に対する新しい薬剤開発がますます重要視されてきている。こうした結核の増加現象は一つには, すくなくとも 2 種以上の主要抗結核剤 (通常 INH と RFP) に耐性を有すると定義されるいわゆる多剤耐性結核菌の出現に拠るところが大きい, 例えば, 近年, 米国では多剤耐性結核の発生や小流行が報告されているが, 特に HIV 感染患者で発症したケースでは病状の進行が極めて速く致死率も高い。

現時点での結核治療においては, INH, RFP, PZA, EB, SM といった強力な抗結核剤の併用療法が有効であり, 薬剤感受性菌による結核症ではほぼ 100% に近い治療率が得られている。しかしながら, 近年出現してきた多剤耐性結核菌には, 既知の薬剤すべてに耐性を有するものもあり, これらの薬剤との間に交差耐性のない新規抗結核剤の開発が緊急の課題になっている。本シンポジウムでは, このような新たな抗結核剤の candidate として, 特に, 新キノロン剤とリファマイシン系薬剤を取り上げ, その開発状況と今後の展望について概観した。

まず, OFLX, CPFX およびレボフロキサシン (LVFX) などのキノロン剤についてであるが, 本薬剤

は特に多剤耐性結核などの難治性結核治療に対する有効性が期待されている。キノロン剤は他の抗マイコバクテリア抗菌剤との間に交差耐性あるいは相殺効果を示すことはなく, 経口投与下での良好な吸収性および組織・マクロファージ内移行性といった優れた pharmacokinetics をその属性として有している。また, キノロン剤の副作用は概して弱く, これらの事実からすると, キノロンを HIV 感染者などでの結核症の長期化学療法での多剤併用投与のレジメンに加えることはかなり有意義であると言えよう。そこで, 本シンポジウムでは, 難波, 佐藤, 河原, 鈴木の各博士に, 結核をはじめとする諸種抗酸菌に対する *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性, 構造・活性相関, 構造・副作用相関, professional および non-professional 貪食細胞中に局在する結核菌, *M. avium* complex (MAC) 菌に対する抗菌力の発現, 各種臨床分離結核菌に対する MIC 値, 結核治療での有効性などの問題を中心に, 抗結核剤としてのキノロン剤開発の現状と展望についての review をお願いした。

次に, リファマイシン誘導体についてであるが, これらは抗マイコバクテリア抗菌剤としては最も重要な薬剤の一つであり, RFP やリファブチン (RBT) は, 結核や AIDS 患者での非定型抗酸菌症の治療のための多剤併用

レジメンに加えられている。RBTは、RFPとの間に部分交差耐性を示すものの、そのMIC値からみて、結核菌に対する抗菌力はRFPの4~6倍に強化されており、さらに生体内での長い持続性や良好な組織移行性といった優れたpharmacokineticsを有している。次に、リファベンチン(RPT)についても、強力な*in vitro*抗菌活性や長い持続性といった優れたpharmacokineticsを有することが報告されており、現在、結核症の多剤併用レジメンへの適用を目標にしてのphase II臨床試験が進められている。また、新ベンゾキサジノリファマイシンKRM-1648は、結核菌に対してRFPよりも約100倍強力な*in vitro*抗菌活性を有しており、実験的マウス結核症やMAC感染症に対する治療効果にも優れている。KRM-1648については、現在、前期phase II臨床試験が進められている。そこで、日高、佐藤、鈴木の各博士には、*in vitro*および*in vivo*抗マイコバクテリア抗菌活性、肝臓代謝系・酵素系への作用との関連での他剤との相互作用、professionalおよ

びnon-professional 貪食細胞中局在抗酸菌に対する抗菌力の発現動態、ならびに結核の化学療法での有用性といった問題を中心に、リファマイシン系薬剤開発の現状とその展望についてのreviewをお願いした。

以上、本シンポジウムでは新規抗結核剤開発の現状と展望について考え、さまざまな討論を進めた訳であるが、抗菌力の増強、pharmacokineticsや許容度の改善に結びつく化学構造を有した薬剤のdrug-designを進めていくには多くの困難が立ちはだかっていることも確かな事実であり、今後の優れた抗結核剤の開発に向けては、薬剤開発に携わる多くの人々のさらなる努力が要求されている。

最後に、発展途上国におけるHIV感染者での結核発症の急増を鑑みた場合、新薬開発の究極の目標は、極めて強力な抗菌力を有する薬剤の一語に尽きるが、同時に、こうした薬剤は、これら発展途上国においても患者への投与が可能な程度に安価なものでなければならないことを付言したい。

## 第73回総会シンポジウム

## II. 結核治療における新薬の展望

## 1. キノロン剤の開発状況

難波 憲 司

第一製薬株式会社創薬第一研究所

The 73rd Annual Meeting Symposium

II. PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NEW ANTIMICROBIALS FOR  
CLINICAL CONTROL OF TUBERCULOSIS

## 1. VIEW OF DEVELOPMENT OF FLUOROQUINOLONES

Kenji NAMBA\*

The global resurgence of tuberculosis and the emergence of multidrug-resistant tuberculosis have emphasized an urgent need for new, effective antimycobacterial drugs. A new antimycobacterial drugs should have a different mechanism of action to the standard drugs and should not show cross-resistance with them. Favorable pharmacokinetic properties, low incidence of side effects and low cost are the characteristics that would make antimycobacterial drugs suitable for extensive use. The fluoroquinolones would appear to fulfill most of the criteria for an ideal class of antimycobacterial drugs. The fluoroquinolones have been proposed for the treatment of *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) infections, with the results of *in vitro*, animal model and clinical studies suggesting that ofloxacin, ciprofloxacin, sparfloxacin and levofloxacin are the most promising of these drugs. However, these fluoroquinolones should not be used as first-line drugs, but rather, they should be reserved for treatment of tuberculosis that is resistant to rifampicin and isoniazid. Recently, a new investigational fluoroquinolone derivative, AM-1155, DU-6859a and CS-940, have excellent *in vitro* activity against *M. tuberculosis*, further studies are required to assess its clinical activity.

We discussed the future of view of development of fluoroquinolones for mycobacterial diseases on the basis of structure-activity and structure-side-effect relationship studies. The comparative analysis enabled us to elucidate the structural requirements for the antimycobacterial activity and side-effects of fluoroquinolones. In addition, we summarized the newer methods for high-throughput screening of compounds against *M. tuberculosis* and discussed the problem of development of fluoroquinolones for mycobacterial diseases.

別刷り請求先：  
難波 憲司  
第一製薬株式会社創薬第一研究所  
〒134-8630 東京都江戸川区北葛西1丁目16-13

\* From the New Product Research Laboratories 1,  
Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd., 16-13, Kitakasai 1-  
chome Edogawa-ku, Tokyo 134-8630 Japan.  
(Received 10 Oct. 1998)

**Key words** : New drugs, Fluoroquinolones, Structure-activity relationship

**キーワードズ** : 新薬, ニューキノロン系薬, 構造活性相関

## はじめに

強化化学療法による肺結核の初回治療法が確立・普及した現在でも、結核菌の薬剤耐性獲得や薬剤の副作用による結核症治療の難治化、および HIV 感染者における多剤耐性菌による結核症が新たな問題となってきた。国内外を問わず、既存の抗結核薬よりも強力かつ副作用の少ない抗結核薬の開発が切望されている。

今回は主に、①市販キノロン剤の抗結核薬としての可能性、②新規キノロン剤の開発状況、③抗結核薬としてのキノロン剤開発における今後の展望・問題点について述べる。

### 1) 市販キノロン剤の抗結核薬としての可能性

Rifampicin (RFP) や Isoniazid (INH) の感受性結核菌に対する優れた試験管内抗菌力を凌駕する市販キノロン剤はないことから、肺結核治療における一次選択薬の可能性は低いと考えられる。加えて、一次選択薬としての市販キノロン剤の有効性についても未評価であり適応症として肺結核症を取得している薬剤もない。

一方、RFP・INH 耐性結核菌に対して、ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX), および levofloxacin は比較的強い試験管内抗菌力を示し、他の抗結核薬とは交差耐性を示さない<sup>1)</sup>。さらに、多剤耐性結核菌による結核症患者に対し、OFLX または CPFX の長期投与による臨床試験では、

その有効性と高い安全性が報告されている<sup>2)</sup>。以上の知見から、上述の4つの市販キノロン剤は多剤耐性結核菌による結核症患者に対して有効な治療薬となりうる可能性は高いと考えられる。ただし、試験管内においてキノロン剤と結核菌を培養すると、RFP とほぼ同じ頻度でキノロン耐性菌が出現し<sup>3)</sup>、他のキノロン剤に対して交差耐性を示すこと<sup>4)</sup>が報告されている。したがって、キノロン剤の投与には慎重を期すべきであろう。

### 2) 新規キノロン剤の開発状況

市販キノロン剤のグラム陽性菌に対する抗菌力はβ-ラクタム剤などに比較して総じて弱いことから、抗グラム陽性菌活性の増強が次世代のキノロン剤開発の大きな目標であり、最近、問題視されている各種薬剤耐性グラム陽性菌 [メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA), バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 等] に対して優れた抗菌力を示すキノロン剤の開発研究が製薬企業において積極的に進められている<sup>5)</sup>。

### 3) 抗結核薬としての新規キノロン剤開発の可能性

①優れた抗菌力と強い殺菌作用、②広域な抗菌スペクトル (抗結核菌活性を含む)、③良好な組織 (食細胞) および喀痰内移行性、④比較的少ない副作用の特徴を有するキノロン剤は抗結核薬としての資質を十分に有する薬剤であろう。そこで、抗結核薬としての新規キノロン剤開発の可能性について、抗菌力・体内動態・安全性な

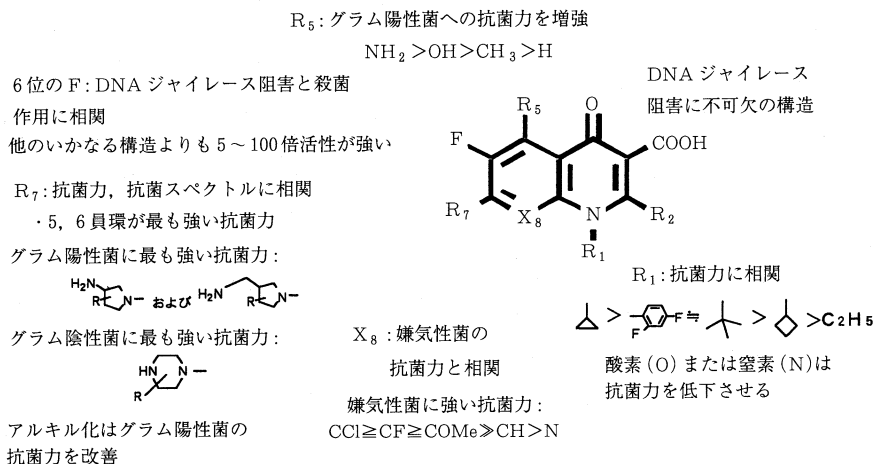
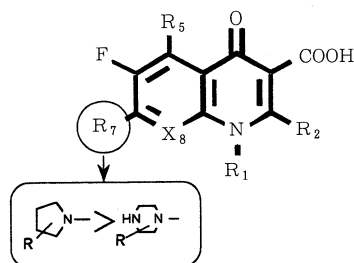


図1 ニューキノロン剤の化学構造と抗菌力の相関



R<sub>1</sub>とX<sub>8</sub>との構造活性相関

R<sub>1</sub>: (cyclopropyl) のとき

X<sub>8</sub>: COMe=CBr>CCl>CH=CF>N>CCF<sub>3</sub>

R<sub>1</sub>: (2,4-difluorophenyl) のとき

X<sub>8</sub>: N≡CH>CF>COMe

薬 剤	R <sub>1</sub>	R <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	
DU-6859a		F	ピロリジニル基	Cl
スパフロキサシ			ピペラジニル基	F
ガチフロキサシ			ピペラジニル基	OMe
CS-940			ピペラジニル基	OCF <sub>2</sub>

図2 ニューキノロン剤の化学構造と抗結核菌活性の相関

ど構造活性相関の知見を踏まえたドラッグデザインの視点から考察した。まず、Domagalaの総説<sup>6)</sup>からキノロン剤の化学構造と抗菌力の相関について図1に示した。また、キノロン剤の化学構造と抗結核菌活性に関する米国Parke-Davis研究所による研究の要約を図2左に示した。抗結核菌活性はキノロン母核1, 7, 8位置換基、とくに1位と8位との間に構造的相関性があると報告されている<sup>7)</sup>。そこで、現在開発中のキノロン剤の中で結核菌に対する有効性が期待されているDU-6859a, gatifloxacin, CS-940およびSPFXを抗結核菌活性の強さの順に示し、キノロン母核1, 7, 8位の置換基との相関を比較した。その結果、図2右に示したように、1位はすべてシクロプロピル基を有し、それに関連する8位置換基および7位側鎖構造と抗結核菌活性の強さとの傾向は、同図左の内容とよく一致していた。したがって、これまでの知見をもとに各位置換基と母核の組合せによって、より優れた抗結核菌活性を有する新規キノロン剤をドラッグデザインすることは十分に可能と考えられる。

市販キノロン剤はその化学構造から生体内においても安定で、良好な組織移行性が特徴である。抗結核薬としての新規キノロン剤も経口の投与が適していると考えられ、その経口吸収性および組織内移行性を向上させることが重要である。これらは、7位および8位の置換基のドラッグデザインによって可能と考えられている<sup>6)</sup>。また、感染細胞内および抗酸菌の菌体内移行性に関しては、化合物に適度な脂溶性を付与させることが重要であると報告されている<sup>8)9)</sup>。

図3にキノロン剤の化学構造と副作用との相関について示した<sup>6)</sup>。市販キノロン剤は副作用の発現頻度が比較的少なく、安全性が高いという臨床的評価がなされている。しかし、現在、グラム陽性菌に対して優れた抗菌力を有する一連のキノロン系化合物はその抗菌力の増強によって、安全性の面でも光毒性および遺伝毒性の懸念などがクローズアップされている<sup>10)</sup>。つまり、キノロン母核1, 7, および8位置換基の有する抗菌力の強さの順位と光毒性、遺伝毒性に関する置換基の潜在的危険度の強さの傾向が極めて相関することによる。したがって、抗結核薬としての新規キノロン剤を考慮した場合は、長期投与にも耐えうる安全性の高い化合物、すなわち抗菌力の増強と毒性の低減という構造活性相関の観点からは全く相反するドラッグデザインを考えていくことが必要となる。以上の観点から、結核菌および多剤耐性結核菌に対して有用と思われる新規キノロン剤は高い有効性を示すことと、安全性、ならびに良好な体内動態を併せ持つ薬物であることが必須条件である。

キノロン剤の作用は、細菌のDNA合成に必須な酵素であるDNAジャイレースとトポイソメラーゼIVの阻害によると考えられているが、キノロン耐性結核菌はDNAジャイレースのAサブユニットに生じた変異によって起こると報告されている<sup>11)</sup>。最近では、薬剤排出機構の関与により、さらにキノロン高度耐性になっている例も報告されている<sup>12)</sup>。したがって、結核菌およびキノロン耐性結核菌に対する新規キノロン剤の開発戦略を構築する場合、この標的酵素に対してより強い阻害活性を有する薬剤あるいは菌体膜透過性を考慮したドラッグ

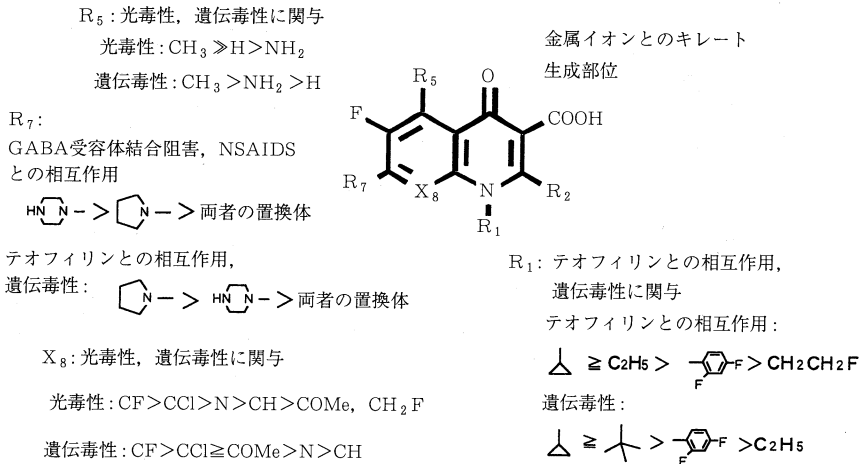


図3 ニューキノロン剤の化学構造と副作用の相関

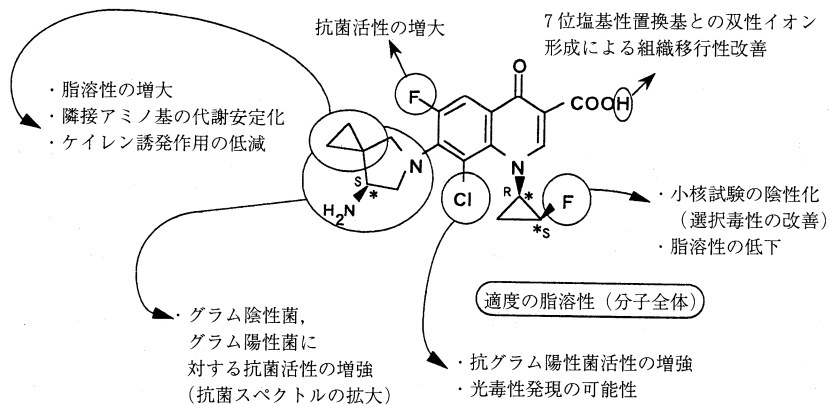


図4 DU-6859a の化学構造と薬理および物理化学的プロフィール

グデザインも重要と考えられる。

そこで、その具体例として DU-6859a の化学構造と薬理および物理化学的プロフィールを図4に示した<sup>10)</sup>。強い抗菌活性発現の1位置換基であるシクロプロピル基にフッ素を導入することにより小核試験の陰性化を達成した。また、7位の3-アミノピロリジンの4位にシクロプロパンを導入し、非ステロイド性抗炎症剤との併用時の痙攣誘発の可能性をほぼなくすことに成功した。同時にアミノピロリジンの導入によって抗菌活性の増強と抗菌スペクトルの拡大を、8位にC-クロルを導入することによって抗グラム陽性菌活性の増強を図ることに成功した。以上のデザインから分子全体に適度の脂溶性を付与することが可能となり、DNA ジャイレースやトポイソメラーゼIVに対して強い阻害活性を有することも明

らかになっている。

4) 今後の展望・問題点

近年、製薬企業は、HTS (High-Throughput Screening) というロボットによるランダムスクリーニングに注目している。HTSによって、新規作用機序の新薬をより早く開発しようという狙いが各製薬企業にある。HTSの成果を左右する鍵は、新規スクリーニング系の構築と、ライブラリーといわれる各製薬企業が所有するサンプル数とその多様性にある。さて、抗結核薬としてデザインした合成化合物も、従来の寒天あるいは液体培地を用いた方法では抗結核菌活性の測定および新規化合物の選抜に多大な時間を消費する。そこで、注目されるのがHTSを指向した抗酸菌に対する新規抗菌活性



表 HTSを指向した新規の抗酸菌活性評価法

検出法	使用菌株	判定時間	特長
レポータージーン導入			
・Luciferase	H37Rv M. bovis BCG M. avium	8 days 6 days 4 days	実験用途が多彩 ( <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> )
・Green fluorescent protein	H37Rv	7 days	安価, 簡便
・ $\beta$ -Galactosidase	M. smegmatis M. aurum	6 hours 4 hours	安価, 簡便, 迅速 ハザード施設不要
Alamar blue (色素)	H37Rv, MAC	5 days	安価, 簡便, 良感度
3H-ウラシル	M. aurum	2~3 days	迅速
寒天平板	抗酸菌	14~21 days	
BACTEC		5 days	多検体処理不適

測定法である。主な抗菌活性の新規検出法とその判定時間および特長を表に総括した<sup>13)~17)</sup>。いずれの方法にも一長一短はあるが、従来の寒天平板希釈法やBACTEC法に比較して、判定時間の短縮、実験のコストダウンおよび実験手技の簡便化が可能となり、今後これらの評価系を用いてキノロン剤のみならず新規構造をもつ化合物が選抜されてくるかもしれない。

最後に、抗結核薬としての新規キノロン剤開発の問題点とその展望について考察した。一般に1個の新薬が生まれ承認・上市されるまでには10年から15年の年月と人件費を含めて150から200億円の費用がかかるといわれている。抗結核薬としての新規キノロン剤開発を考えた場合、①可能な限り抗酸菌のみ(狭域)に優れた抗菌力、②長期投与に伴う安全性保持、③合成コストの低減(安い薬価)、④長期投与による抗酸菌およびそれ以外の細菌に対するキノロン耐性化などの諸問題点に対応できるかが重要な鍵になると推察される。

また、製薬企業側からみた問題点とその展望については、新GCP (Good Clinical Practice) が施行され、本邦における新薬の治験環境も大きく変わりつつある。すなわち、製薬企業の責任体制の強化と明確化、さらに治験品質の高度化が求められるようになった。将来、結核症に対する臨床治験は新GCPを遵守しつつ、いかに実施するのが重要な課題になると考えられる。事業性という点に関しては、医療費抑制への動きや申請・承認までの開発期間の延長などの諸事情により各製薬企業の体力が減耗しつつあり、抗結核薬のみならず新規抗菌薬開発の意欲減退化がおきつつあるのが現状である。

今後、抗結核薬としての新規キノロン剤の開発を進め

ていくためには、製薬企業のみならず官・学との連携下に、以上の問題点に対応していかねばならないであろう。

#### 文 献

- 1) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇: 新抗結核薬開発の現状. 資料と展望. 1996; 17: 27-41.
- 2) Alangaden GJ, Lerner SA: The clinical use of fluoroquinolones for the treatment of mycobacterial diseases. Clin Infect Dis. 1997; 25: 1213-1221.
- 3) Alangaden GJ, Manavathu EK, Vakulenko SB, et al.: Characterization of fluoroquinolone-resistant mutant strains of *Mycobacterium tuberculosis* selected in the laboratory and isolated from patients. Antimicrob Agents Chemother. 1995; 39: 1700-1703.
- 4) 永礼 旬, 北野裕子, 河原 伸: ニューキノロン剤 levofloxacin の *in vitro* 抗結核菌活性, 感染症学雑誌. 1994; 68: 794-795.
- 5) 早川勇夫, 竹村 真, 佐藤謙一: ニューキノロン剤の現況と未来. 化学療法領域. 1995; 11: 15-21.
- 6) Domagala JM: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. J Antimicrob Chemother. 1994; 33: 685-706.
- 7) Renau TE: Structure-activity relationships of quinolone agents against mycobacteria: effect of structural modifications at the 8 position. Antimicrob Agents Chemother.

- 1996 ; 40 : 2363-2368.
- 8) Klopman G, LiJY, Wong S, et al. : In vitro anti-*Mycobacterium avium* activities of quinolones : predicted active structures and mechanistic considerations. Antimicrob Agents Chemother. 1994 ; 38 : 1794-1802.
  - 9) Renau TE, Sanchez JP, Shapiro MA, et al. : Effect of lipophilicity at N-1 on activity of fluoroquinolones against mycobacteria. J Med Chem. 1995 ; 38 : 2974-2977.
  - 10) 早川勇夫 : キノロン系薬剤. 日本臨床. 1997 ; 55 : 254-259.
  - 11) Takiff HE, Salazar L, Guerrero C, et al. : Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations. Antimicrob Agents Chemother. 1994 ; 38 : 773-780.
  - 12) Takiff HE, Cimino M, Musso MC, et al. : Efflux pump of the proton antiporter family confers low-level fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium smegmatis*. Proc Natl Acad Sci. 1996 ; 93 : 362-366.
  - 13) Arain TM, Resconi AE, Hickey MJ, et al. : Bioluminescence screening in vitro (Bio-Siv) assay for high-volume antimycobacterial drug discovery. Antimicrob Agents Chemother. 1996 ; 40 : 1536-1541.
  - 14) Collins LA, Torrero MN, Franzblau SG : Green fluorescent protein reporter microplate assay for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 1998 ; 42 : 344-347.
  - 15) Srivastava R, Kumar D, Srivastava BS : Recombinant *Mycobacterium aurum* expressing *Escherichia coli*  $\beta$ -Galactosidase in high throughput screening of antituberculosis drugs. Biochem Biophys Res Commun. 1997 ; 240 : 536-539.
  - 16) Collins LA, Franzblau SG : Microplate alamar blue assay versus BACTEC 460 system for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. Antimicrob Agents Chemother. 1997 ; 41 : 1004-1009.
  - 17) Chung GAC, Aktar Z, Jackson S, et al. : High-throughput screen for detecting antimycobacterial agents. Antimicrob Agents Chemother. 1995 ; 39 : 2235-2238.

## 第73回総会シンポジウム

## II. 結核治療における新薬の展望

## 2. Rifamycin 誘導体薬剤開発の現状と展望

日 高 隆 義

鐘淵化学工業株式会社総合研究所・高砂研究所

The 73rd Annual Meeting Symposium

II. PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NEW ANTIMICROBIALS FOR  
CLINICAL CONTROL OF TUBERCULOSIS2. CURRENT STATUS AND PERSPECTIVES ON THE DEVELOPMENT OF  
RIFAMYCIN DERIVATIVE ANTIBIOTICS

Takayoshi HIDAKA\*

Rifampicin (RFP) was developed as one of the anti-tuberculosis drugs in 1966 and has been used for almost 30 years. Establishment of combination therapy using RFP has been contributing to the treatment/eradication of tuberculosis. A number of rifamycin derivatives, as post RFPs, have been synthesized/developed over the years. Chemical modification of rifamycins has largely been concentrated on the moiety of naphthalene ring because modification of the ansa chain moiety reduces the activity. In 1992, rifabutin was approved as a preventive drug for MAC infection in AIDS patients in the United States and in European countries. It is noteworthy that rifapentine (RPT) was approved as an anti-tuberculosis drug in 1998 by FDA in the United States.

A newly synthesized rifamycin derivative (KRM-1648, rifalazil) possesses a potent activity against both *M. Tuberculosis* and MAC, and it is now under clinical trial for the treatment of Tuberculosis in the United States. KRM-1648 is metabolized to 30-hydroxy KRM and 25-deacetyl KRM in the body, and its 30-hydroxylation is caused by liver cytochrome P450 3A. It is well known that RFP, RFB and RPT induce liver cytochrome P450 in animals and human, and these accelerate the metabolism of concomitant drugs such as HIV protease inhibitors resulting in lowering their blood levels. While KRM-1648 did not induce liver P450 in animals, but it is not examined yet in human.

Clinical study of DOT with intermittent therapy of RPT in combination with INH resulted in the preferable therapeutic effect comparable to the RFP therapy. Since KRM-1648 has a potent activity, a high tissue distribution and a long half-life, it may be also suitable for intermittent therapy.

For the future novel anti-tuberculosis drugs and therapy for tuberculosis, it is

別刷り請求先：  
日高 隆義  
鐘淵化学工業株式会社総合研究所・高砂研究所  
〒676-8688 兵庫県高砂市高砂町宮前町1-8

\* From the Takasago Research Laboratories, Kaneka Corporation, Miyamae-machi, Takasago-cho, Takasago-shi, Hyogo 676-8688 Japan.  
(Received 5 Oct. 1998)

prerequisite to develop new drugs with a preferable antimicrobial activity, to shorten further the treatment period, and to be effective against multi-drug resistant bacilli. It is expected that more effective novel rifamycin derivatives can be developed with the above view points.

**Key words** : Rifamycin derivatives, KRM-1648, Rifampicin, Rifabutin, Rifapentine, Tuberculosis

**キーワード** : リファマイシン誘導体, KRM-1648, リファンピシン, リファブチン, リファペンチン, 結核

## はじめに

Rifampicin (RFP) が抗結核薬として1966年に開発され30年以上が経過した現在, RFP を中心とした併用療法が確立し結核の治療・撲滅に寄与している。RFP に続く新 rifamycin 誘導体についても数多く合成・開発研究がなされてきた。開発が進められた代表的なものとして, rifapentine (RPT), rifabutin (RFB), SPA-S-565, rifaximin, CGP-7040等があげられる。特に1980年代には AIDS の出現とともにその合併症となった *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症や *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) 症に対する治療あるいは予防薬の開発研究が盛んに行われてきた。その中で RFB は AIDS 患者に対する MAC 症の予防薬として1992年に米国 FDA により承認され, イタリアをはじめヨーロッパ諸国では MAC 症治療・予防薬並びに結核治療薬として認可されている<sup>1)</sup>。さらに, RPT が抗結核薬として1998年6月に米国 FDA より認可されたことは特記すべきことであり<sup>2)</sup>, その詳細については後に述べる。

本稿では rifamycin 誘導体の開発状況, 開発中である KRM-1648の概要, 並びに今後の rifamycin 系抗結核薬の展望について述べる。

### (1) Rifamycin 誘導体の化学構造と抗菌活性

Rifamycin 類は, 構造的にみればアンサ鎖部分とナフタレン環部分に分けることができる。アンサ鎖部分の化学修飾は活性を大幅に低下させることから, これまでの rifamycin 誘導体の化学修飾は大部分がナフタレン環部分の修飾であった。その代表的な誘導体を Fig. 1 に示す。ナフタレン環部分の化学修飾は, ナフタレン環に修飾する基を直接導入したものと, ナフタレン環の3位と4位の炭素原子を結ぶ複素環を導入したものに大きく分けることができる。RFP, RPT, SPA-S-565, CGP-7040等はナフタレン環3位の水素原子を置換し, それぞれ目的とする構造の置換基を導入したものである。

この部位を修飾した誘導体の代表である RFP は, 出発原料の rifamycin SV に比べ MTB に対する *in vitro* 抗菌力は同等ないし, やや劣るものの経口吸収性が改良され, 優れた治療効果を示した。rifamycin 系の薬剤は, この RFP によって経口投薬が可能になり, 抗結核薬として広く普及した。RPT は RFP のピペラジン環のメチル基にサイクロペンチル基を導入したものであり, *in vitro* 抗 MTB 活性は RFP より強くなり, 経口投時の血中半減期が長くなっている<sup>3)~5)</sup>。SPA-S-565, CGP-7040 並びに CGP-29861の開発は中断された。

次に, ナフタレン環の3位と4位とを結ぶ複素環が導入された誘導体として RFB, rifaximin, KRM-1648等があげられる。RFB はスピロペリジル基導入の化学修飾により MTB および MAC に対して RFP より強い抗菌力を示すようになった<sup>6)7)</sup>。Rifaximin は結核を対象疾患とはしていないが, 経口吸収性の低いことから腸内細菌に着目し, 腸内細菌に起因する不良性消化器疾患治療薬とした新たなコンセプトの誘導体であり, イタリアで開発された<sup>8)9)</sup>。KRM-1648については, 後に詳細に述べる。

上記のごとくさまざまな rifamycin 誘導体の検討が行われてきたが実際に臨床に供された薬剤は数少なく, 他の主要な抗菌剤の開発状況に比べると決して活発であるとは言いがたい。その理由として RFP を凌ぐ優れた誘導体が容易に見いだせなかったこと, 出発原料の母核化合物が比較的高価であること等があげられる。また, 新薬開発の視点として, 効力, 安全性(副作用)とともにマーケットニーズ, 経済性(コスト)も要素になる。しかしながら, rifamycin 系薬剤の抗酸菌に対する優れた抗菌特性に着目すれば, より優れた誘導体の創製は可能であり期待できるであろう。以下に1998年米国 FDA から抗結核薬として承認された RPT 並びに現在, 開発中である KRM-1648について詳しく述べる。

### (2) Rifapentine (RPT)

RPT が rifamycin 誘導体として合成され開発をは

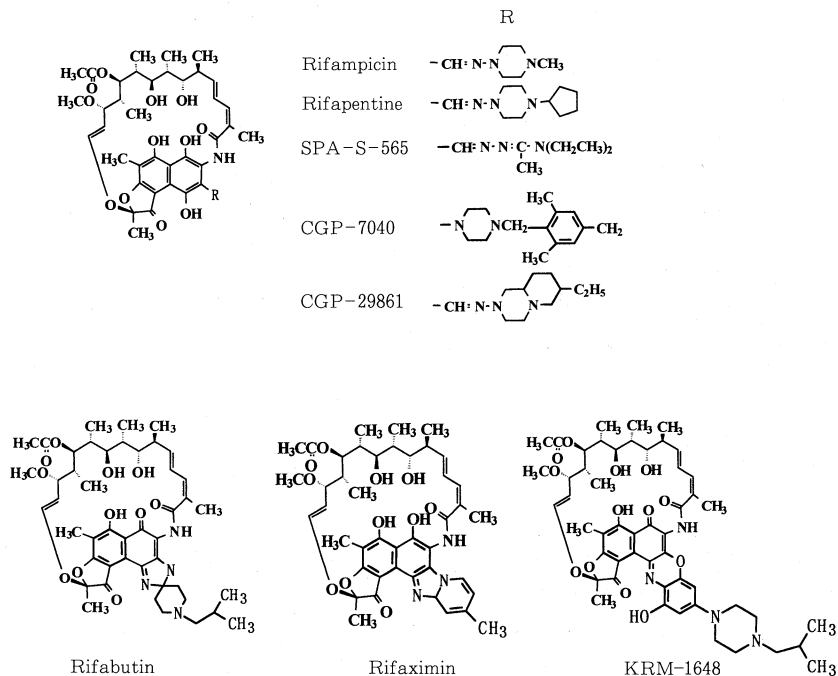


Fig. 1 Chemical Structures of Rifamycin derivatives

Table 1 Summary of MIC<sub>90</sub> values of KRM-1648 for *M. tuberculosis*

Investigator	MIC method	No. of strains	MIC <sub>90</sub> (μg/ml)	
			KRM-1648	Rifampicin
Yamamoto et al., 1990 <sup>11)</sup>	Kirchner	20	0.035	1.25
Saito et al., 1991 <sup>12)</sup>	7H11 agar	22 (rif <sup>s</sup> & rif <sup>r</sup> )	12.5	100
		16 (rif <sup>s</sup> )	≤0.0125	0.80
Luna-Herrera et al., 1995 <sup>13)</sup>	7H11 agar	13 (rif <sup>s</sup> )	0.0078	0.25
		11 (rif <sup>r</sup> )	4.0	>16
Hirata et al., 1995 <sup>14)</sup>	BACTEC	30 (rif <sup>s</sup> & rif <sup>r</sup> )	2.0	>128

rif<sup>s</sup>, rifampicin-sensitive; rif<sup>r</sup>, rifampicin-resistant

じめたのは1970年代後半からであるが、長年にわたる開発努力の結果、1998年に米国FDAにより抗結核薬として承認された<sup>2)</sup>。

RPTのMTBに対する*in vitro*活性はRFPより若干強く、経口投与時のヒト血中濃度の消失半減期が長いことを特長とする<sup>3)~5)</sup>。

今回行われた臨床試験のプロトコールは、初期2カ月間の強化療法ではINH, PZA, EBの連日投薬とRPT

(2回/週)またはRFP(連日)との併用投与を行い、その後RPT+INH(1回/週)またはRFP+INH(2回/週)で4カ月の維持療法を実施している。本試験での治療効果はRPT群とRFP群ではほぼ同等であったとしているが、治療終了直後の菌陰性化率はRPT群88%に対しRFP群は83%であった。また、6カ月間のフォローアップでの再発率はRPT群が11%に対し、RFP群は5%であった<sup>2)</sup>。

Table 2 Summary of MIC<sub>90</sub> values of KRM-1648 for *M. avium* complex

Investigator	MAC	Source	No. of strains	MIC <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) #		
				KRM	RBT	RFP
Yamamoto et al., 1990 <sup>11)</sup>	<i>M. avium</i> complex	Non-AIDS	20	0.07	5	40
				0.15		80
Tomioka et al., 1992 <sup>16)</sup>	<i>M. avium</i>	AIDS	77	0.1	0.8	25
		Non-AIDS	62	0.1	1.6	25
	<i>M. intracellulare</i>	AIDS	11	0.05	0.4	6.25
		Non-AIDS	49	0.05	0.8	3.13

# Yamamoto, Kirchner's liquid method; Tomioka, agar dilution method

Table 3 MICs of KRM-1648 or Rifampicin Against *Mycobacterium tuberculosis* Strains

Strain	Drug Susceptibility	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )*	
		KRM-1648	Rifampicin
Strains Sensitive to Rifampicin			
14	sensitive	0.0039	0.250
2235	sensitive	0.0009	0.125
2237	sensitive	0.0078	0.125
2242	sensitive	0.0078	0.125
2257	sensitive	0.0078	0.250
H37Rv	sensitive	0.0156	0.125
Strains Sensitive to Rifampicin but Resistant to Other Drugs			
11	EBT resistant	0.0019	0.250
12	PZA resistant	0.0019	0.125
13	INH resistant	0.0019	0.062
15	INH resistant	0.0039	0.062
28	SM resistant	0.0078	0.125
32	INH resistant	0.0039	0.250
2218	multidrug resistant	0.125	0.062
Strains Resistant to Rifampicin			
9	RFP resistant	4.0	>16.0
27	multidrug resistant	1.0	>16.0
29	multidrug resistant	4.0	>16.0
31	multidrug resistant	4.0	>16.0
33	RFP resistant	0.125	2.0
37	RFP resistant	0.50	>16.0
50	RFP resistant	0.125	>16.0
2219	multidrug resistant	2.0	>16.0
2215	multidrug resistant	4.0	>16.0
2227	multidrug resistant	0.062	4.0
2230	multidrug resistant	0.125	>16.0

\* BATEC Method  
(Luna-Herrera et al., 1995<sup>13)</sup>)

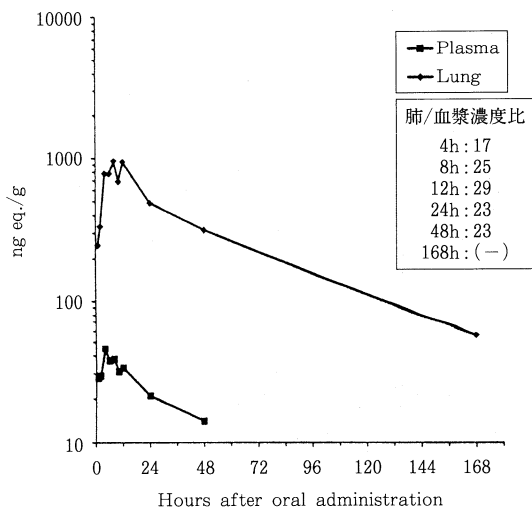


Fig. 2 Concentrations of KRM-1648 in plasma and lung in rats after oral  $^{14}\text{C}$ -KRM-1648 administration at 3mg/kg. Each point represents the mean of three animals.

(著者, 未発表データ)

RPTは血中消失半減期(RFPの5倍)が長いことから投薬回数を減少させられることをメリットとし、これが認められ新たな抗結核薬としてRPTが承認されたことは、長期間の治療を必要とする結核症においては、このような間歇投与が可能な薬剤が強く求められていることを物語っている。

### (3) KRM-1648 (Rifalazil)

著者らは新規 rifamycin 系抗結核薬の開発を目指し研究を進めてきた結果、MTB および MAC に対して強い抗菌活性を示す誘導体 (KRM-1648) を見いだした<sup>10)</sup>。KRM-1648 (3'-hydroxy-5'-(4-isobutyl-1-piperazinyl)-benzoxazinorifamycin) は rifamycin 骨格のナフタレン環にベンゾキサジン環を結合した新規誘導体である (Fig. 1)。

KRM-1648のMTBおよびMACに対する優れた抗菌活性は、多くの国内外の研究者により報告されている<sup>10)~26)</sup>。In vitro 抗菌試験の要約を Table 1 および Table 2 に示す。RFP 感受性 MTB 並びに MAC に対する in vitro 活性は RFP および RFB より明らかに強い。また、Table 3 に示すように RFP 耐性株に対しては、部分交叉耐性を示すことは、幾人かの研究者によって報告されている<sup>13)~15)</sup>。すなわち、KRM-1648のRFP耐性株に対する感受性は、RFP耐性度の程度、

あるいは rpoB 遺伝子の変異部分により差異がある。

KRM-1648はMTBあるいはMAC感染動物モデルにおいてもRFPやRFBに比較してはるかに優れた治療効果を示した。土井はMTBのマウス経気道感染モデルを開発し、本モデルを用いてKRM-1648の効果もRFP並びにRFBと比較検討した結果、KRM-1648の肺における優れた治療効果を報告している<sup>24)</sup>。また、本薬剤はマクロファージ内抗酸菌増殖に対する抗菌力も強いこと、並びに細胞内移行性が高いことが示されている<sup>18) 25) 26)</sup>。

KRM-1648はRPTと同様に長い血中半減期を示す。ラットにKRM-1648を経口投与したときの消失半減期は12~15時間と長いものであり<sup>27)</sup>、肺組織/血漿濃度比は10倍以上と組織移行性が高い (Fig. 2)<sup>28)</sup>。

KRM-1648の主な生体内代謝物は30位-水酸化体と25位-脱アセチル化体である<sup>29) 30)</sup>。RFPおよびRFBもほぼ同様の反応による代謝物が検出されており<sup>31) 32)</sup>、これらの薬剤の代謝は同様の経路で行われていると考えられる。この水酸化反応には肝チトクローム P450 (P450) 3A が関与していることから、他剤と併用する場合には薬物相互作用についての検討が重要課題である。

本薬剤は、現在抗結核薬としての臨床試験が米国で行われている。

### (4) Rifamycin 誘導体の肝酵素誘導能並びに薬物相互作用

Rifamycin 系薬物の副作用の一つに肝臓に対する影響が挙げられており、RFP、RFB、およびRPTが肝臓のP450を誘導することはよく知られた事実である<sup>33) 34)</sup>。中でもRFPは、そのP450誘導能の強さから、種々の薬剤との相互作用が報告されている<sup>35)~39)</sup>。例えば、HIV protease inhibitor との併用では、RFP、RFB並びにRPTは、肝P450の誘導によって薬物代謝活性を増加させた結果、HIV protease inhibitor の血中濃度が減少するため<sup>38)~40)</sup>、これらの薬剤との併用にあたっては細心の注意が必要である。また、P450分子種を阻害する薬剤との併用の場合は血中濃度が増加するので薬物相互作用は複雑である。

薬剤のP450誘導能を調べることは、rifamycin 系薬剤のように併用で用いられることが多い薬剤には、臨床重要な意味がある。P450誘導能についてラットを用いてKRM-1648、RFP、およびRFBを比較検討した結果を示す (Fig. 3)。RFPとRFBは、P450を強く誘導し、Erythromycin N-demethylase 活性を増加させたのに対し、KRM-1648はP450に対して酵素誘導を示さなかった<sup>41)</sup>。

同じ rifamycin 系薬剤でありながら KRM-1648のみ

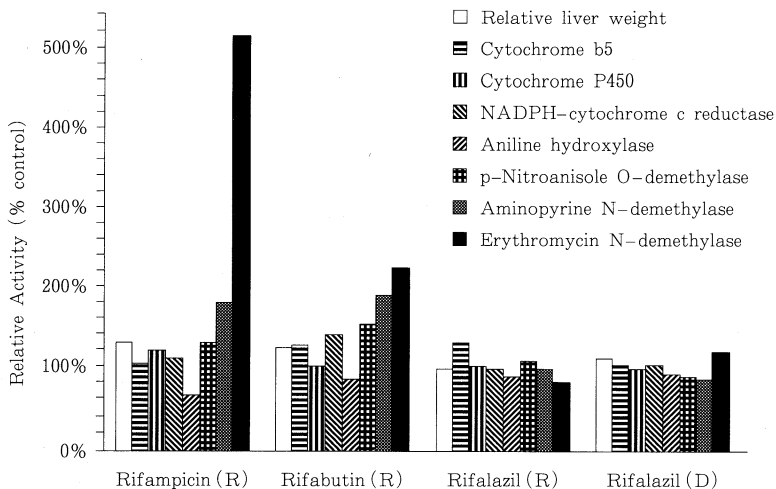


Fig. 3 Enzyme induction by rifampicin, rifabutin and rifalazil (KRM-1648) in rat (R) and dog (D). Each drug was administered orally at a daily dose of 300mg/kg for 10 days in rats, or for 13 weeks for in dogs. Relative activity of enzyme each is expressed as % control of mean ( $n=6$  for rat,  $n=3$  for dog) (Mae et al. Xenobiotica, 1998, より引用<sup>41)</sup>)

に酵素誘導がみられなかったことは、興味深いことであり、ヒトでも P450 を誘導しないのかどうか臨床での知見が待たれる。

#### (5) 直接監視下療法 (DOT) への対応

結核治療分野において世界的に直接監視下療法 (DOT) が推奨されている中で、前述のごとく RPT について INH との併用による間歇投薬の DOT 治験が行われ、RFP と同程度の治療効果を示したことが報告された。

本試験の結果、RPT は治療効果としては RFP を凌げなかったものの、投与回数を少なくできることが認められ、抗結核薬として FDA に承認された<sup>2)</sup>。投与回数の減少は、DOT での総医療コスト (ヘルスケア費用等) の軽減に繋がることも歓迎される理由の一つであろう。

KRM-1648 は抗菌力が優れ、組織移行性が高く、消失半減期が長いことから間歇療法に適している薬剤である。今後の臨床試験において、このような特長をいかに実証できるかが重要であり、今後の治験の成り行きが注目される。仮に、治療回数の減少だけでなく治療期間の短縮が可能になれば、今後の結核治療に大きく寄与できるであろう。

#### (6) 今後の展望 (rifamycin 誘導体)

今後望まれる新結核治療薬並びに治療法を考えたとき、抗菌力と体内動態に優れた新薬の開発による治療期間の更なる短縮化と多剤耐性菌に有効な薬剤の開発が必須であろう。

特に、間歇投与可能な薬剤の開発による DOT 下でのコンプライアンスの向上は結核撲滅に向けての必須条件であると考えられる。今回 RPT によって投与回数の減少が試みられ、RFP と効果の点で同等であったにもかかわらず、米国 FDA が抗結核薬として承認したことは、この考え方を支持している。

今後は、KRM-1648 等新たな化合物によってさらなる治療期間の短縮が試みられなければならない。

RFP 耐性結核菌に対しては、課題の克服はやや困難であると考えられる。それは、rifamycin 系の薬物の活性中心が共通していることから、rifamycin 誘導体で RFP 耐性株に有効なものを創製するのは容易ではないと考えられるからである。しかし、KRM-1648 は RFP 耐性株に対して交叉耐性を示したが、その程度は部分耐性であったことから、さらに有効な誘導体の創製についての可能性がほのかに見えてきたのではないだろうか。

一方、薬剤に対する結核菌耐性メカニズムの分子学的解明とともに構造・活性相関解析からのコンピューター



ケミストリーも急速に発展してきている。

このように、今後の結核治療の視点から、ドラッグデザインに基づく新たに有用な rifamycin 誘導体薬剤の創製が期待される。

### 謝 辞

KRM-1648の研究開発の推進にあたり、長年の間、ご指導とご協力を賜りました京都大学胸部疾患研究所(現付属病院)、島根医科大学微生物・免疫学教室並びに結核予防会結核研究所の諸先生方に深く感謝致します。研究開発に携わってきた鐘淵化学工業(株)開発部門並びに研究所の諸氏に深謝致します。

### 文 献

- 1) Tuberculosis, trends and opportunities. In Scrip Reports, Bloomfield G, ed. PJB Publication Ltd, 1995: 85-101.
- 2) Health News Daily: June 24, 1998; 10: 121.
- 3) Traxler P, Vischer WA and Zak O: New rifamycins. Drugs of the future. 1988; 13: 845-856.
- 4) Birmingham AT, Coleman AJ, Orme MLE, et al.: Antibacterial activity in serum and urine following oral administration in man of DL473 (a cyclopentyl derivative of rifampicin). Br J Clin Pharmacol. 1978; 6: 455-456p.
- 5) Arioli V, Berti M, Carniti G, et al.: Antibacterial activity of DL 473, a new semisynthetic rifamycin derivative. J Antibiot. 1981; 34: 1026-1032.
- 6) Della-Bruna C, Schioppacassi G, Ungheri, et al.: LM427, a new spiro-piperidylrifamycin: in vitro and in vivo studies. J Antibiot. 1983; 36: 1502-1504.
- 7) Heifets LB, Iseman MD, Lindholm-Levy, et al.: Determination of ansamycin MICs for *Mycobacterium avium* complex in liquid medium by radiometric and conventional methods. Antimicrob Agents Chemother. 1985; 28: 570-574.
- 8) Gillis JC, Brogden RN.: Rifaximin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic potentials in conditions mediated by gastrointestinal bacteria. Drugs. 1995; 49: 467-484.
- 9) Descombe JJ, Dubourg D, Picard M, et al.: Pharmacokinetic study of rifaximin after oral administration in healthy volunteers. Int J Clin Pharm Res. 1994; XIV: 51-56.
- 10) Yamane T, Hashizume T, Yamashita, et al.: Synthesis and biological activity of 3'-hydroxy-5'-aminobenzoxazinorifamycin derivatives. Chem Pharm Bull. 1993; 41: 148-155.
- 11) 山本 誉, 網谷良一, 久世文幸, 他: 新 rifamycin 誘導体の *Mycobacterium tuberculosis* と *M. avium* complex に対する *in vitro* 抗菌作用. 結核. 1990; 65: 805-810.
- 12) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al.: *In vitro* antimycobacterial activities of newly synthesized benzoxazinorifamycins. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35: 542-547.
- 13) Luna-Herrera J, Reddy MV, Gangadharam PR.: *In vitro* activity of the benzoxazinorifamycin KRM-1648 against drug-susceptible and multidrug-resistant tubercle bacilli. Antimicrob Agents Chemother. 1995; 39: 440-444.
- 14) Hirata T, Saito H, Tomioka H, et al.: *In vitro* and *in vivo* activities of the benzoxazinorifamycin KRM-1648 against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob. Agents Chemother. 1995; 39: 2295-2303.
- 15) Moghazeh SL, Pan X, Arain T, et al.: Comparative antimycobacterial activities of rifampin, rifapentine, and KRM-1648 against a collection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates with known rpoB mutations. Antimicrob Agents Chemother. 1996; 40: 2655-2657.
- 16) 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.
- 17) 久世文幸, 山本 誉, 網谷良一, 他: 新 rifamycin 誘導体の *Mycobacterium tuberculosis* と *M. avium* complex に対する *in vivo* 活性. 結核. 1991; 66: 7-12.
- 18) Inderlied CB, Barbara-Burnham L, Wu M, et al.: Activities of the benzoxazinorifamycin KRM-1648 and ethanbutol against

- Mycobacterium avium* complex *in vitro* and in macrophage. Antimicrob. Agents Chemother. 1994; 38: 1838–1843.
- 19) Bermudez LE, Kolonoski P, Young LS, et al.: Activity of KRM-1648 alone or in combination with ethambutol or clarithromycin against *Mycobacterium avium* in beige mouse model of disseminated infection. Antimicrob. Agents Chemother. 1994; 38: 1844–1848.
  - 20) Klemens SP, Grossi MA, Cynamon MH.: Activity of KRM-1648, a new benzoxazinorifamycin, against *Mycobacterium tuberculosis* in a murine model. Antimicrob. Agents Chemother. 1994; 38: 2245–2248.
  - 21) Klemens SP and Cynamon MH.: Activity of KRM-1648 in combination with isoniazid against *Mycobacterium tuberculosis* in a murine model. Antimicrob. Agents Chemother. 1996; 40: 298–301.
  - 22) Yamamoto T, Amitani R, Suzuki K, et al.: Activity of KRM-1648 alone or in combination with both ethambutol and kanamycin or clarithromycin against *Mycobacterium intracellulare* infection in beige mice. Antimicrob. Agents Chemother. 1996; 40: 429–432.
  - 23) Yamamoto T, Amitani R, Suzuki K, et al.: *In vitro* bactericidal and *in vivo* therapeutic activities of a new rifamycin derivative, KRM-1648, against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 1996; 40: 426–428.
  - 24) 土井教生: 実験のマウス結核症に対する benzoxazinorifamycin KRM-1648の *in vivo* 治療効果. 結核. 1998; 73: 53–64.
  - 25) Mor N, Simon B, Heifets L: Bacteriostatic and bactericidal activities of benzoxazinorifamycin KRM-1648 against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* in human macrophages. Antimicrob. Agents Chemother. 1996; 40: 1482–1485.
  - 26) Sato K, Akai T and Tomioka H: Antimicrobial activities of benzoxazinorifamycin KRM-1648, clarithromycin and levofloxacin against intracellular *Mycobacterium avium* complex phagocysed by murine peitoneal macrophages. J Antimicrob Chemother. 1998; 41: 77–83.
  - 27) Hosoe K, Mae T, Konishi E, et al.: Pharmacokinetics of KRM-1648, a new benzoxazinorifamycin, in rats and dogs. Antimicrob Agents Chemother. 1996; 40: 2749–2755.
  - 28) 未発表データ
  - 29) Hosoe K, Mae T, Yamashita K, et al.: Identification and antimicrobial activity of urinary metabolites of a rifamycin derivative in dog. Xenobiotica. 1996; 26: 321–332.
  - 30) Mae T, Hosoe K, Fujii K, et al.: *In vitro* metabolism of a rifamycin derivative by animal and human liver microsomes, whole blood and expressed human CYP3A isoform. Xenobiotica. 1996; 26: 793–802.
  - 31) Iatsimirdkaia E, Tulebaev S, Storozhuk E, et al.: Metabolism of rifabutin in human enterocyte and liver microsomes: Kinetic parameters, identification of enzyme systems, and drug interactions with macrolides and antifungal agents. Clin Pharmacol Ther. 1997; 61: 554–562.
  - 32) Jamis-Dow CA, Katki AG, Collins JM, et al.: Rifampin and rifabutin and their metabolism by human liver esterases. Xenobiotica. 1997; 27: 1015–1024.
  - 33) Li AP, Reith MK, Rasmussen A, et al.: Primary human hepatocytes as a tool for the evaluation of structure-activity relationship in cytochrome P450 induction potential of xenobiotics: Evaluation of rifampin, rifapentine and rifabutin. Chemico-Biol Interact. 1997; 107: 17–30.
  - 34) Strolin Benedetti M, Dostert P: Induction and autoinduction properties of rifamycin derivatives: A review of animal and human studies. Environ Health Perspect. 1994; 102 (Suppl 9): 101–105.
  - 35) Horn JR, Hansten PD: Drug interactions with antibacterial agents. J Family Practice. 1995; 41: 81–90.
  - 36) Gillum JG, Israel DS, Polk RE: Pharmacokinetic drug interactions with antimicrobial agents. Clin Pharmacokinetic. 1993; 25: 450–482.
  - 37) Grange JM, Winstanley PA, Davies PDO:

- Clinically significant drug interactions with antituberculosis agents. *Drug Safety*. 1994; 11: 242-251.
- 38) Strayhorn VA, Baciewicz AM, Self TH: Update on rifampin drug interactions, III. *Arch Intern Med*. 1997; 157: 2453-2458.
- 39) Antituberculosis agents. In: *AHFS Drug Information 97*, McEvoy, GK ed. The American of Health-system Pharmacists. 1997; 408-439.
- 40) Clinical update: Impact of HIV protease inhibitors on the treatment of HIV-infected tuberculosis patients with rifampin. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1996; 45: 921-925.
- 41) Mae T, Hosoe K, Yamamoto T, et al.: Effect of a new rifamycin derivative, rifalazil, on liver microsomal enzyme induction in rat and dog. *Xenobiotica*. 1998; 28: 759-766.

## 第73回総会シンポジウム

## II. 結核治療における新薬の展望

3. キノロン, リファマイシン, マクロライド剤の *in vitro* 抗結核菌  
および抗 MAC 抗菌活性, 特に *in vivo* 治療効果との関連から

佐藤 勝 昌 ・ 富 岡 治 明

島根医科大学微生物・免疫学

The 73rd Annual Meeting Symposium

II. PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NEW ANTIMICROBIALS FOR  
CLINICAL CONTROL OF TUBERCULOSIS3. *IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF QUINOLONES,  
RIFAMYCINS AND MACROLIDES AGAINST *MYCOBACTERIUM*  
*TUBERCULOSIS* AND *M. AVIUM* COMPLEX: ATTEMPT TO  
ESTABLISH NEW ASSAY METHODS WHICH ACCURATELY  
REFLECT THERAPEUTIC EFFECTS OF TEST AGENTS *IN VIVO*

Katsumasa SATO\* and Haruaki TOMIOKA

Profiles of expression of the antimicrobial activities of LVFX, KRM-1648 (KRM), and CAM against *M. tuberculosis* (MTB) and *M. avium* complex (MAC) residing in MONO-MAC-6 human macrophage like cells (MM6-M $\phi$ s) and A-549 human type II alveolar pneumocyte cells (A-549 cells) were determined. First, the antimicrobial activities of LVFX, KRM, and CAM against intracellular organisms of MTB Kurono and MAC N-444 strains were examined under conditions in which infected MM6-M $\phi$ s and A-549 cells were cultured for up to 7 days or longer in medium containing the antimicrobials at their Cmax in the blood, achievable after oral administration of clinical dosages of these drugs. The antimicrobial effects of LVFX and KRM against respectively MTB and MAC within A-549 cells were significantly less than the activities they displayed against the same organisms residing in MM6-M $\phi$ s. Notably, it was also found that KRM had a markedly larger MIC (0.25  $\mu$ g/ml) for MAC N-444 within A-549 cells than its MIC (0.008  $\mu$ g/ml) for the same strain residing in MM6-M $\phi$ s. Thus, the profiles of LVFX- and KRM-mediated killing or inhibition of intracellular MTB or MAC organisms in A-549 cells were markedly different from those observed for the organisms residing in MM6-M $\phi$ s. Second, invasive and multiplicative phenotypes of MTB and MAC organisms, which had been adapted to either an extracellular or intracellular environment

別刷り請求先:  
富岡 治明  
島根医科大学微生物・免疫学講座  
〒693-8501 島根県出雲市塩冶町 89-1

\* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo, Shimane 693-8501 Japan.  
(Received 5 Oct. 1998)

(designated as E- and I-type organisms, respectively), were studied. In the case of MTB, I-type organisms (retrieved from infected MM6-M $\phi$ s after bacterial growth within the M $\phi$ s during 5-day cultivation) were less efficient than E-type organisms (prepared by cultivating the organisms in 7H9 medium) in entering MM6-M $\phi$ s, whereas I-type organisms were more efficient than E-type organisms in invading A-549 cells. On the other hand, in the case of MAC, infectivity of I-type organisms not only in MM6-M $\phi$ s but also in A-549 cells was larger than that of E-type organisms. Next, while I-type organisms of MTB and MAC displayed more vigorous replication within MM6-M $\phi$ s than E-type organisms, the growth rate of E-type organisms within A-549 cells was more rapid than that of I-type organisms residing in A-549 cells. These findings indicate that there are significant differences between E- and I-type organisms of MTB or MAC in ability to invade and multiply within M $\phi$ s (professional phagocytes) and alveolar epithelial cells (nonprofessional phagocytic cells).

**Key words** : Levofloxacin, KRM-1648, Clarithromycin, Type II alveolar pneumocytes, A-549 cell, MONO-MAC-6 cell, *In vitro* antimicrobial activity, *In vivo* antimicrobial activity

**キーワード** : レボフロキサシン, KRM-1648, クラリスロマイシン, II型肺胞上皮細胞, A-549細胞, MONO-MAC-6細胞, *in vitro* 抗菌活性, *in vivo* 抗菌活性

## 1. はじめに

結核症の短期化学療法として RFP, INH, SM (または EB) および PZA の 4 剤併用術式が推奨されているが, 多剤耐性結核菌による結核症や *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症といった難治性抗酸菌症に対処するために, 既存の抗結核薬よりも強くかつ交差耐性のない新規抗結核・MAC 剤の開発が望まれている<sup>1)~3)</sup>。現在, 新しい抗結核・MAC 剤としては OFLX, CPFX, LVFX などのニューキノロン, KRM-1648 などのリファマイシン誘導体あるいは CAM や AZM などのニューマクロライドが有望視されている。例えば, ニューキノロン剤は RFP および INH に耐性を示す多剤耐性結核菌に対して比較的優れた抗菌活性を有することから, 難治性結核症や MAC 感染症への適用の可能性が模索されている<sup>1)~6)</sup>。また, KRM は RFP や RBT と交差耐性を有するものの, *in vitro* 抗結核菌活性がこれらに比べて著しく強いことから, 多剤耐性結核に対してもある程度の有効性が期待されているが, 本剤は MAC に対しても比較的強い抗菌活性を有している<sup>1)~3)6)~8)</sup>。さらに, CAM は結核菌に対しては余り有効とは言えないものの, 欧米では特に AIDS 患者での MAC 症に対する併用薬剤としての評価が高い<sup>1)~3)9)</sup>。

結核に対する新治療薬を開発するに当たっての薬効評価には, *in vitro* と *in vivo* において種々の方法があ

るが<sup>10)</sup>, われわれは特にマクロファージ (M $\phi$ ) や II 型肺胞上皮細胞内での抗菌活性を指標としての薬剤の感受性試験および適当な動物モデルでの評価に着目しての一連の研究を進めている。本稿では, まず近年開発されたつつある新しい薬剤感受性試験法について概観し, 次いで種々の細胞内での LVFX, KRM および CAM の抗結核菌あるいは抗 MAC 抗菌活性の発現の様相についての著者らの教室の成績を紹介したい。

## 2. 新しい薬剤感受性試験法の開発状況

臨床検体からの菌の分離・同定と薬剤感受性試験は, できるかぎり短時間に遂行されることが望ましい。最近, 多くの迅速分離・同定法が報告され, すでにこれらを導入している施設も多く見受けられるが, 薬剤感受性試験については従来の小川培地による絶対濃度法が主流であり, より迅速な薬剤感受性検査を可能とする方法の開発が望まれるところである。

表 1 には, ここ数年に報告されている新しい抗酸菌薬剤感受性検査法のうちの主なものを列挙した<sup>11)~14)</sup>。これらの方法の中には経済性や簡便性に問題のあるものや, あるいは未だ開発途上のものも少なくないが, 今後の研究によって大いに優れた検査手段となり得る可能性を秘めたものも見受けられ, 今後の実用化が期待される。

## 3. M $\phi$ を用いた薬剤の抗菌活性と治療成績

結核菌の場合, 小川培地での絶対濃度法や最近日本結

表1 新しい薬剤感受性検査法

- 1) BACTEC や MGIT などの迅速培養法の応用
- 2) AccuProbe を利用した方法
- 3) ミコール酸を HPLC で測定する方法
- 4) α 抗原を利用したラテックス凝集反応
- 5) Flow cytometry を用いる方法
  - (a) FDA 染色法
  - (b) Auramine 染色による gel microdrop encapsulation 法
- 6) PCR 増幅産物の遺伝子検査法
- 7) 生物発光法
  - (a) ATP 測定法
  - (b) Luciferase 発現遺伝子を組み込んだ菌を用いる方法
  - (c) Green fluorescent protein 発現遺伝子を組み込んだ菌を用いる方法
- 8) 酸化還元指示薬を用いる方法
  - (a) MTT 法
  - (b) Alamar blue 法
  - (c) MB-REDOX 法

核病学会薬剤耐性検討委員会より提案された比率法などにより測定された、患者分離菌の各々の抗結核薬に対する薬剤感受性検査成績と、その薬剤の結核症に対する治療効果との相関性は比較的良好であるが、MAC の場合には、本菌がそもそも多くの抗菌剤に対して自然耐性を有することもあって、感受性検査成績と治療効果との間には大きな“乖離現象”がみられる。

先にわれわれは LVFX, KRM および CAM の実験的マウス MAC 感染症に対する治療効果と *in vitro* 抗 MAC 抗菌活性との相関性について検討したが、これらの薬剤の MAC に対する MIC 値と治療効果の間には大きな乖離が認められるのみならず、マウス腹腔 Mφ 内局在菌に対する抗菌活性と治療効果との間にも、その程度はやや低下するものの、依然として乖離がみられることから、Mφ を用いた評価系によっても供試薬剤の治療効果の予測は依然として困難であるという成績が得られている<sup>15)</sup>。また、結核菌についても KRM についてのみ検討はあるが、MAC における場合ほどではないものの、本薬剤の Mφ 内局在菌に対する抗菌活性はマウスでの治療効果に比べて若干過大評価される傾向が認められている(未発表)。

このように、たとえ供試薬剤の抗菌活性の評価を Mφ を用いた検査法で行ったとしても、特に MAC の場合には、CAM などのマクロライド系薬剤では *in vitro* 抗菌活性と *in vivo* 治療効果との間に比較的良好的な相関性がみられるものの、KRM などのリファマイシン誘導体などの場合ではそうした相関性が低く、こうした評価法での成績をもってしても治療効果を予測することは困難であるように思われる。

4. Mφ並びに A-549ヒトII型肺胞上皮細胞株内での結核菌および MAC の増殖動態とこれら細胞内局在菌に対する LVFX, KRM, CAM の抗菌活性

かつて、Kanai ら<sup>16)</sup> はマウスに *M. bovis* の強毒株を静脈内感染させた場合、II 型肺胞上皮細胞に形態学的

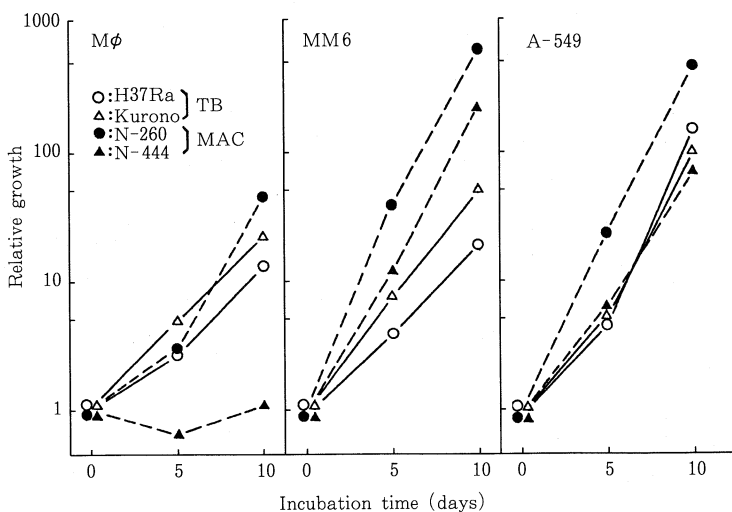


図1 マウス腹腔 Mφ, MM6-Mφ および A-549 細胞内での結核菌と MAC の増殖動態

表2 細胞外あるいは細胞内の結核菌およびMACに対するLVFX, KRM およびCAMのMIC値の比較

MIC測定のための培地・細胞	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )					
	結核菌 Kurono 株			MAC N-444株		
	LVFX	KRM	CAM	LVFX	KRM	CAM
細胞外 (7HSF 液体培地)	0.25	0.004	16	16	0.06	8
細胞内 (MM6-M $\phi$ )	1	0.004	4	32	0.008	4
細胞内 (A-549細胞)	2	0.002	2	32	0.25	1

変化が認められることを報告したが、これが *M. bovis* 感染に特異的であるのか、あるいは炎症の結果として肺に一般的にみられる非特異的な反応によるものか否かは不明であるとしている。他方、最近 McDonough ら<sup>17)</sup>, Bermudez ら<sup>18)</sup>, Mehta ら<sup>19)</sup> により、結核菌や MAC が A-549 ヒト II 型肺胞上皮細胞株 (A-549細胞) 内へ侵入し増殖し得ることが報告されている。現在までのところ、これらの菌が実際に *in vivo* で II 型肺胞上皮細胞内へ侵入し、増殖しているという証明はなされていないが、*in vitro* 実験系とはいえ、II 型肺胞上皮細胞株内への結核菌や MAC の侵入および細胞内増殖がみられるという事実からすると、抗酸菌感染症の発症と進展における肺胞上皮細胞の関与の可能性を全く否定してしまう訳にもいかないように思われる。

そこでまず、結核菌と MAC のマウス腹腔 M $\phi$ , MONO-MAC-6 ヒトマクロファージ様細胞株 (MM6-M $\phi$ ) および A-549 細胞内での増殖動態を比較検討してみた。結果は図1に示したとおりであるが、(1) 結核菌 [H37Ra 株 (弱毒株), Kurono 株 (強毒株)] および MAC [*M. avium* N-444株 (弱毒株), *M. intracellulare* N-260株 (強毒株)] のいずれの場合とも、これらの菌の A-549細胞内での増殖能はマウス腹腔 M $\phi$  内でのそれにくらべて旺盛であること、(2) 結核菌の A-549細胞内での増殖は MM6-M $\phi$  内でのそれよりも旺盛であること、(3) MAC は A-549細胞および MM6-M $\phi$  内での旺盛な増殖能を示すが、MM6-M $\phi$  内での増殖の方が A-549細胞内でのそれよりやや速やかであること、などが分かった。

以上のように、結核菌や MAC は A-549細胞内へ侵入し、MM6-M $\phi$  や J774, THP-1 細胞<sup>20)</sup> などの M $\phi$  細胞株内におけると同様に、旺盛な増殖動態を示すことが明らかとなったが、この成績は、これらの菌が生体内でも同様な挙動を示す可能性を示唆しているものと思われる。

最近、Mehta ら<sup>19)</sup> は、AMK は J774 マウス M $\phi$  株やヒト M $\phi$  に感染した結核菌に対しては良好な抗菌力

を示すものの、A-549細胞内感染菌に対する抗菌活性は減弱してしまうことを報告している。

このような知見に鑑みた場合、宿主の肺内に侵入した結核菌や MAC は、まず肺胞マクロファージに取り込まれ、その後、肺組織内で病巣を形成していく初期の過程では、感染菌は II 型肺胞上皮細胞にも感染し、一過性に増殖する可能性が考えられるが、この際、AMK のみならず他の抗菌剤の場合でも、II 型肺胞上皮細胞内に感染した結核菌あるいは MAC に対しては十分な効力を発揮し得ないという可能性が高いように思われる。例えば、先に述べた M $\phi$  内の抗酸菌に対する各種抗菌剤、特に KRM の抗菌活性とその *in vivo* 治療効果との“乖離現象”といった問題は、このようなことでも、あるいは説明がつく可能性がある。

そこで、この点について以下のような検討を試みた。まず、LVFX, KRM および CAM を培地中に添加した系での A-549細胞および MM6-M $\phi$  の各々に感染した結核菌と MAC に対する MIC 値を測定し、両細胞内での薬剤の抗菌活性の発現に差がみられるか否かについての検討を行った。

その結果は表2に示したごとくであるが、結核菌についてみると、(1) LVFX の細胞内増殖菌に対する MIC は、細胞外増殖菌に対する MIC に比べて 4~8 倍高いこと、(2) CAM では逆に細胞内増殖菌に対する MIC 値に比べて細胞外増殖菌に対する MIC 値の方が 4~8 倍高いこと、(3) KRM では細胞内・細胞外増殖菌の別なく MIC 値に変動はみられないこと、(4) いずれの薬剤とも A-549 細胞内局在菌に対する MIC 値は、MM6-M $\phi$  内局在菌における場合のそれとほぼ同程度であることが分かった。また、MAC の場合では、(1) LVFX や CAM では細胞内・細胞外増殖菌に対する MIC 値に大きな差はみられないが、(2) A-549細胞内局在菌に対する KRM の MIC 値は細胞外増殖菌や MM6-M $\phi$  内局在菌に対する MIC 値に比べて 4~32倍とかなり高くなることが分かった。

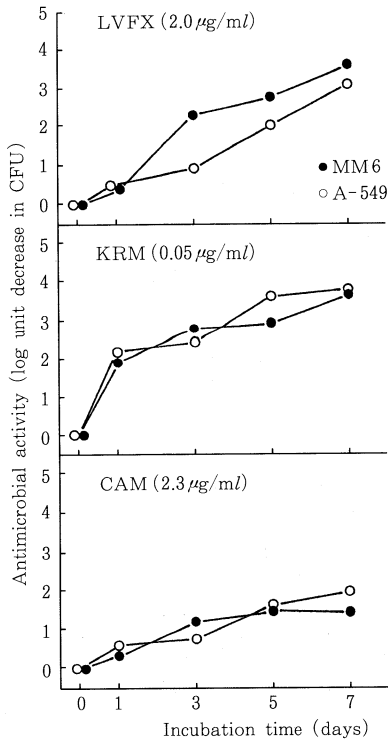


図2 MM6-MφあるいはA-549細胞内局在結核菌に対するLVFX, KRMおよびCAMの抗菌活性。各薬剤は臨床投与量投与時の血中Cmax濃度(LVFX, 2.0 µg/ml; KRM, 0.05 µg/ml; CAM, 2.3 µg/ml)で添加した。

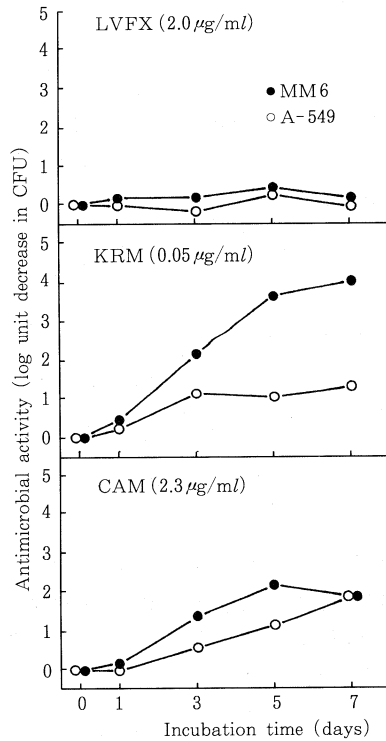


図3 MM6-MφあるいはA-549細胞内局在MACに対するLVFX, KRMおよびCAMの抗菌活性。各薬剤は臨床投与量投与時の血中Cmax濃度(LVFX, 2.0 µg/ml; KRM, 0.05 µg/ml; CAM, 2.3 µg/ml)で添加した。

図2, 3はヒトへの臨床投与量投与時に得られる血中Cmax値相当の濃度の薬剤を培地中へ添加した場合の結核菌 Kurono 株 (図2) および MAC N-444株 (図3) のMM6-MφおよびA-549細胞内局在菌に対する抗菌活性を、各薬剤添加による細胞内生細菌数の減少の度合いを指標としてみたものである。図2に示すように、LVFXの場合、A-549細胞内局在結核菌に対する抗菌活性はMM6-Mφ内局在菌に対するそれよりも有意に減弱するが、KRMとCAMの抗菌活性はいずれの細胞内局在菌に対しても同程度に発現されることが分かった。

また、図3に示すように、(1) LVFXはいずれの細胞内局在MACに対しても有意な抗菌力を示し得ないこと、(2) KRMについてはA-549細胞内局在MACに対する抗菌活性はMM6-Mφ内局在MACに対する抗菌力に比べて減弱してしまうこと、さらに、(3) CAMの場合でも弱いながら同様な傾向が認められることが明らかになった。これらの成績は、上述のMφ内局在菌に対

する供試薬剤の抗菌力と *in vivo* 治療効果との乖離という問題に対しての部分的な説明を与え得るものと思われる。

また、図3に示した成績から明らかなように、特にMACの場合、A-549細胞とMM6-Mφ内局在菌に対するこれら抗菌剤の抗菌活性には互いに大きな差異がみられ、また、これらの抗菌剤の肺胞上皮細胞内局在菌に対する抗菌力は、なべてMφ内局在菌に対する抗菌力よりも弱い傾向がうかがえるが、*in vivo* 治療効果の予測という観点からすると、抗菌剤の *in vitro* 抗菌活性の評価にはMφのみならず、A-549細胞などの肺胞上皮細胞を用いたアッセイ系をも併用していくことも一法であろうと考えられる。

なお、今回の成績からは、血中Cmax濃度の各薬剤の結核菌に対する抗菌活性は、いずれの細胞内局在菌の場合でもKRM>LVFX>CAMの順であり、他方MACの場合では、A-549細胞内局在菌ではCAM>KRM>LVFXであるのに対して、MM6-Mφ内局在



表3 MM6-M $\phi$ あるいはA-549細胞へのE型菌とI型菌の感染性と細胞内増殖能<sup>a)</sup>

供試菌	細胞	感染性			増殖能		
		感染菌数 (CFU/well)		I/E	CFU <sub>7d</sub> /CFU <sub>0d</sub>		I/E
		E型菌	I型菌		E型菌	I型菌	
結核菌	MM6-M $\phi$	$6.95 \times 10^2$	$4.27 \times 10^2$	0.6	18	41	2.3
	A-549細胞	$5.85 \times 10^2$	$9.40 \times 10^3$	16	82	64	0.8
MAC	MM6-M $\phi$	$2.05 \times 10^2$	$6.80 \times 10^2$	3.3	61	321	5.3
	A-549細胞	$2.65 \times 10^3$	$1.62 \times 10^4$	6.1	34	31	0.9

a) E型あるいはI型の結核菌とMACを各々 $1.2 \times 10^5$  CFU/well,  $4.0 \times 10^5$  CFU/wellの接種菌量でMM6-M $\phi$ およびA-549細胞に感染(A-549では3時間, MM6では4時間)させた後, 各細胞への感染菌数(CFU<sub>0d</sub>)を計測し, 次いで7日培養後に細胞内生菌数(CFU<sub>7d</sub>)を計測した。

菌ではKRM>CAM>LVFXの順であることが明らかとなった。

### 5. 結核菌とMACのM $\phi$ 細胞内順化(I型)菌のMM6-M $\phi$ およびA-549細胞への感染性と細胞内増殖能および細胞内局在I型菌に対する各種抗菌剤の抗菌活性

上述の一連の検討により, 結核菌やMACなどの抗酸菌感染症の発症と進展には, 菌の侵入・感染の場としての肺胞上皮細胞の部分的な関わりが示唆される。他方, 肺内に入った結核菌やMACは, まずは肺胞M $\phi$ や病巣に集積してきた単球由来のM $\phi$ に感染し, それらの細胞内で増殖し, 初感原発巣や所属リンパ節巣の形成へと進展するというschemeのもとに, 以下にM $\phi$ 内で増殖させた細胞内順化菌を用いての諸検討を行った。

表3は, 結核菌Kurono株およびMAC N-444株の各々の7H9液体培地中での培養菌, すなわち細胞外順化菌(E型菌)とこれらの菌をMM6-M $\phi$ 内で増殖させて得られた細胞内順化菌(I型菌)を, それぞれMM6-M $\phi$ あるいはA-549細胞に感染させた場合の供試菌の感染性と, それらの細胞内での増殖能を示したものである。結核菌の場合, MM6-M $\phi$ への感染性はI型菌<E型菌であるのに対して, A-549細胞への感染性はI型菌>E型菌であった。他方, MACの場合では, いずれの細胞への感染性についてもI型菌>E型菌であることが分かった。次にこれらの菌の細胞内増殖能についてみると, 結核菌, MACのいずれの場合とも, MM6-M $\phi$ 内ではI型菌>E型菌であるのに対して, A-549細胞内での増殖能はI型菌<E型菌であることが分かった。先にMcDonoughら<sup>17)</sup>は, 結核菌とBCG菌の各々J774マウスM $\phi$ 細胞内順化菌および7H9培地中での培養菌を用いて同様な検討を行い, A-549細胞への感染性はいずれの場合もI型菌>E型菌であることを報告

している。さらにBermudezら<sup>21)</sup>によるMACについての同様な検討でも, ヒトM $\phi$ 内順化菌は7H9培地培養菌よりもヒト単球由来培養M $\phi$ への感染性が高いことが見いだされている。

以上, 結核菌およびMACのI型菌とE型菌とでは, それらの細胞への感染性および細胞内増殖能に大きな差異が認められる訳であるが, 別途行った実験で, MM6-M $\phi$ やA-549細胞にI型菌あるいはE型菌を感染させた場合のLVFX, KRMおよびCAMのこれら細胞内局在菌に対する抗菌活性について検討してみたところ, 結核菌とMACのいずれの場合でも, I型菌およびE型菌をMM6-M $\phi$ やA-549細胞に感染させた場合では, LVFXやCAMの細胞内局在菌に対する抗菌力はI型菌 $\leq$ E型菌であるが, KRMの抗菌力はI型菌>E型菌であることが明らかになっている(成績省略)。

このようにI型菌とE型菌とを供試した場合では, 結核菌およびMACの別なく, M $\phi$ や肺胞上皮細胞内局在菌に対する抗菌剤の抗菌作用発現の様相は, 各々の薬剤の種類に応じて異なったものとなるものと考えられる。このようなことも抗結核・MAC剤の*in vitro*抗菌活性の評価の上においては念頭におくべきものと思われる。

### 6. おわりに

以上の成績は, 結核菌やMACの感染と増殖の場としての宿主細胞のいかんによっては抗菌剤の抗菌活性発現の様相が大きく影響を受けることを意味しており, 多剤耐性結核菌による結核症やMAC症といった難治性抗酸菌症の化学療法を考える上で興味深い知見といえよう。また, 今回の成績からすると, A-549肺胞上皮細胞株を用いての薬剤の*in vitro*抗菌活性のアッセイ系は, 特にMAC感染症での治療効果の予測の可能な薬効評価の開発を考える上では, それなりに有用な方法であるものように思われる。

また、今回の一連の検討を通して、*in vitro*のみならず、*in vivo*の系でも結核菌やMACがII型肺胞上皮細胞内に侵入し、一過性にせよ細胞内で増殖している可能性が示唆されたが、現在、抗酸菌感染症におけるII型肺胞上皮細胞への感染菌の侵入・増殖の場としての関わりについてさらに詳細な検討を進めつつあり、その成績については別稿にて報告したい。

## 7. 要 約

LVFX, KRMおよびCAMのMM6-MφおよびA-549細胞内局在結核菌、あるいはMACに対する抗菌活性の発現の様相について検討した。(1)細胞内局在菌に対する抗菌作用発現の様相は、宿主細胞によって差異がみられ、特に結核菌ではLVFXにおいて、またMACではKRMにおいてA-549細胞内局在菌に対する抗菌活性発現はMM6-Mφ内局在菌に対するよりも有意に減弱した。(2)A-549細胞内局在MACに対するKRMのMIC値はMM6-Mφ内局在菌に対するよりも著しく高かった。(3)細胞内順化(I型)菌と細胞外順化(E型)菌とでは、両細胞株への感染性とそれらの細胞内増殖能に著しい差異が認められた。

## 謝 辞

LVFX, KRM および CAM を御分与頂きました第一製薬株式会社、鐘淵化学工業株式会社および大正製薬株式会社に深謝致します。

## 文 献

- 1) 富岡治明：新抗結核剤への期待—ターゲッティング療法を含めて。結核。1993；68：723-730。
- 2) 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。
- 3) 富岡治明：MAC症の化学療法剤開発の現状。日本医事新報。1997；3841：48-50。
- 4) Hart CA, Beeching NJ, Duerden BI: Tuberculosis into the next century. J Med Microbiol. 1996；44：1-34。
- 5) 富岡治明，佐藤勝昌，斎藤 肇：第71回総会シンポジウム。II. 非定型抗酸菌症の化学療法—ニューマクロライド剤とニューキノロン剤—。2. *Mycobacterium avium* complex 症に対する治療薬剤の基礎的検討—ニューマクロライド剤とニューキノロン剤を中心として—。結核。1997；71：531-535。
- 6) 佐藤勝昌，赤木竜也，富岡治明：*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。結核。1997；72：449-452。

- 7) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al.: In vitro antimycobacterial activities of newly synthesized benzoxazinorifamycins. Antimicrob Agents Chemother. 1991；35：542-547。
- 8) 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。
- 9) Heifets LB: Clarithromycin against *Mycobacterium avium* complex infections. Tuberc Lung Dis. 1996；77：19-26。
- 10) Hopewell P, Cynamon M, Starke J, et al.: Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment and prevention of tuberculosis. Clin Infect Dis. 1992；15 (suppl 1)：282-295。
- 11) Palaci M, Yoko S, Ueki M, et al.: Evaluation of mycobacteria growth indicator tube for recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from respiratory specimens. J Clin Microbiol. 1996；34：762-764。
- 12) 山崎利雄，佐藤直樹，芳賀伸治，他：生物発光を用いた結核菌の薬剤感受性試験法（その2）ATP測定法の薬剤感受性試験への応用。結核。1998；73：251（第73回日本結核病学会総会講演集）。
- 13) Jacobs WR, Barletta RG, Udani R: Rapid assessment of drug susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* by means of luciferase reporter phages. Science. 1993；260：819-822。
- 14) Franzblau SG, Witzig RS, McLaughlin JC, et al.: Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate alamar blue assay. J Clin Microbiol. 1998；36：362-366。
- 15) Sato K, Akaki T, Tomioka H: Antimicrobial activities of benzoxazinorifamycin KRM-1648, clarithromycin and levofloxacin against intracellular *Mycobacterium avium* complex phagocytosed by murine peritoneal macrophages. J Antimicrob Chemother. 1998；41：

- 77-83.
- 16) Kanai K, Kondo E, Yasuda T: Ultrastructural changes in the alveolar epithelium in response to mycobacterial infection. *Japan J Med Sci Biol.* 1979; 32: 315-325.
  - 17) McDonough KA, Kress Y: Cytotoxicity for lung epithelial cells is a virulence-associated phenotype of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1995; 63: 4802-4811.
  - 18) Bermudez LE, Goodman J: *Mycobacterium tuberculosis* invades and replicates within type II alveolar cells. *Infect Immun.* 1996; 64: 1400-1406.
  - 19) Mehta PK, King CH, White EH: Comparison of in vitro models for the study of *Mycobacterium tuberculosis* invasion and intracellular replication. *Infect Immun.* 1996; 64: 2673-2679.
  - 20) 富岡治明, 佐藤勝昌, 清水利朗, 他: 第72回総会シンポジウム. II. 非定型抗酸菌症の現状と将来. 1. 感染における生体防御機構. *結核.* 1998; 73: 71-76.
  - 21) Bermudez LE, Parker A, Goodman, JR: Growth within macrophages increases the efficiency of *Mycobacterium avium* in invading other macrophages by a complement receptor-independent pathway. *Infect Immun.* 1997; 65: 1916-1925.

## 第73回総会シンポジウム

## II. 結核治療における新薬の展望

## 4. 抗結核薬としてのニューキノロン薬の臨床的評価

河原 伸・多田 敦彦

国立療養所南岡山病院内科

永 礼 旬

同 臨床検査科

The 73rd Annual Meeting Symposium

II. PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NEW ANTIMICROBIALS FOR  
CLINICAL CONTROL OF TUBERCULOSIS4. CLINICAL EVALUATION OF NEW QUINOLONES  
AS ANTITUBERCULOSIS DRUGS

Shin KAWAHARA\*, Atsuhiko TADA and Hitoshi NAGARE

Compared with the recent rapid advances in the diagnosis of tuberculosis, advances in the treatment of tuberculosis have been quite slow. For example, as long as six months are required for initial treatment, even with addition of pyrazinamide in the first two months to isoniazid, rifampicin, and streptomycin or ethambutol. Moreover, it is not always easy to treat patients who cannot receive standard agents including isoniazid and rifampicin due to adverse effects of these drugs or drug resistance. For these reasons, the development of new agents with potent antituberculous activities and fewer adverse effects is urgently desired. However, at present, few new antituberculosis agents are being developed, and new quinolones are considered the most promising new antituberculosis agents due to their lack of cross-resistance to previously existing antituberculosis agents, their excellent *in vitro* and *in vivo* antituberculous activities, and good pharmacokinetics.

We therefore reviewed experimental studies and clinical reports useful for evaluation of potential clinical use of new quinolones as antituberculosis drugs.

Our conclusions are summarized below:

- 1) Of nine new quinolones on the market, ofloxacin, ciprofloxacin, aparfloxacin and levofloxacin have excellent *in vitro* and *in vivo* antituberculous activities without cross-resistance to previously existing antituberculosis agents.
- 2) Ofloxacin appears to be useful clinically for intractable multidrug-resistant tuberculosis. The incidence and severity of adverse effects of ofloxacin were very low on long-

別刷り請求先：  
河原 伸  
国立療養所南岡山病院内科  
〒701-0304 岡山県都窪郡早島町早島4066

\* From the Department of Internal Medicine, National  
Minami-Okayama Hospital, 4066 Hayashima, Okayama  
701-0304 Japan.  
(Received 5 Oct. 1998)

term administration.

3) Ofloxacin resistance emerged from two to four months after initiation of administration of ofloxacin, and ofloxacin exhibited cross-resistance to other new quinolones.

4) The usefulness of new quinolones for initial treatment of tuberculosis is unclear.

5) New quinolones should be used to treat patients with drug-resistant tuberculosis and those patients for whom adverse effects have limited the use of standard agents. However, monotherapy with new quinolones is not recommended, due to the significant risk of emergence of quinolone resistance.

6) Not only ofloxacin, ciprofloxacin, sparfloxacin and levofloxacin, which are on the market, but also gatifloxacin, CS-940, Du-6859a and other newly developed new quinolones are candidates for new antituberculosis agents. However, careful study not only of antituberculous activities and pharmacokinetic but also drug interactions and chronic cumulative toxicities due to long-term administration are needed prior to clinical application of these drugs.

**Key words** : New quinolones, Antituberculosis drugs, Clinical evaluation

**キーワードズ** : ニューキノロン薬, 抗結核薬, 臨床的評価

## 1. 緒言

結核症の診断においては、近年核酸の相同性を利用した同定法、液体培地を用いた迅速培養法、核酸増幅法による迅速検出・同定法などの臨床への導入により著しい進歩がみられている。一方、その治療においては、初回治療例に対してINH, RFP, SMあるいはEBの3薬に初期2カ月間PZAを加える初期強化短期化学療法が標準的治療法として導入されたとはいえ、その治療期間は未だ6カ月の長期にわたり、また、副作用や薬剤耐性などにより、INH, RFPなどの主要薬剤が使用できない場合には治療に難渋することが多いため、強力でかつ副作用の少ない新たな抗結核薬の登場が切望されている。しかしながら、現時点では新たな抗結核薬の開発は乏しく、治療面において大きな進展は望めない。このような現状において、ニューキノロン薬は既存の抗結核薬とは交差耐性を示さずかつ優れた *in vitro* 抗結核菌活性を有しており、その優れた気道移行性から新たな抗結核薬として大いに期待されている薬剤である<sup>1)~7)</sup>。本シンポジウムでは、われわれの臨床成績も交えて抗結核薬としてのニューキノロン薬の臨床的評価を行ってみたい。

## 2. ニューキノロン薬の *in vitro* 抗菌活性

すでに多くの報告があるように、現在わが国で市販されている9種のニューキノロン薬の中では ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX), levofloxacin (LVFX) の4薬剤の *in*

*vitro*, *in vivo* 抗結核菌活性が評価されている<sup>4)~7)</sup> (Table 1)。これらの薬剤はいずれも気道を含め良好な体内動態を有していることより抗結核薬としての臨床効果が期待されている。

## 3. 多剤耐性難治肺結核に対するニューキノロン薬の臨床効果

ニューキノロン薬の臨床効果については OFLX 単独あるいは準単独投与による治療成績がいくつか報告されており、その臨床的有用性が示されている。すなわち、Table 2 に示すごとく1日300~800mg の OFLX 投与がなされ、14.3~59.1%の菌陰性化率が報告されている。その中で Yew ら<sup>8)</sup> は300mg 投与群より800mg 投与群に有効例が多いと報告しており、当然ながら用量依存性の結果であった。ただ、OFLX 耐性菌の出現は OFLX 投与2~4カ月後の早期より認められており<sup>2)~4)</sup>、さらには他のニューキノロン薬に対して交差耐性を獲得する<sup>4)</sup> ことより単独治療などは望ましくない。副作用については、Table 3 に示すごとく消化器症状、関節痛、不眠、振戦、皮膚症状などが認められているが、いずれの報告においてもその頻度は低く、いずれも重篤なものではなかったことより、OFLX はきわめて安全性の高い薬剤と思われた。また、ラセミ体である OFLX の光学活性1体で OFLX の活性本体とされる LVFX 1日300mg 投与と OFLX 1日600mg 投与の呼吸器感染症あるいは尿路感染症に対する比較試験の成績<sup>9)~11)</sup> では、LVFX の副作用は OFLX に比し明らかに低いこ

とより, LVFX 300mg 投与により OFLX 600mg 投与と同等の効果が得られ, 副作用がさらに少ないことが予想される。一方, 他のニューキノロン薬の臨床効果に関する報告は少なく詳細な評価は困難である<sup>12)~14)</sup>。

#### 4. 初回治療におけるニューキノロン薬の臨床的意義

初回治療からニューキノロン薬を加えた治療法の比較試験の結果を Table 4 に示す。Kohno ら<sup>15)</sup> は INH・RFP に EB を併用した群と OFLX を併用した群の治療成績を比較したところ, ほぼ同等の治療効果が得られたと報告しているが, INH・RFP という最も強力な治療法に併用したがゆえに EB, OFLX それぞれの効果を比較することは困難であると思われる。しかしながら, 副作用などにより EB が使用しえない症例に対して, INH・RFP に OFLX を併用しても同様の治療効果が期待できることも事実である。これについては東村ら<sup>16)</sup> も retrospective study ではあるが, 同様の考察をしている。一方, Mohanty ら<sup>17)</sup> は最初2カ月間 SM・INH・RFP・PZA の4薬を併用し, その後4カ月間 I NH・RFP の2薬を併用する regimen において, RFP を CPFX に置き換え RFP と CPFX の治療効果

を比較している。CPFX 群の治療開始6カ月後の菌陰性化率は RFP 群とほぼ同等であったが, 再発率がやや高い結果であり, 初回治療例においては CPFX の効果は RFP には劣ることが予想される。また, Kennedy ら<sup>18)</sup> は最初2カ月間 INH・RFP・PZA・EB の4薬を併用し, その後2カ月間 INH・RFP・PZA の3薬を,

Table 1 *In vitro* antituberculous activities of new quinolones on the market

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	Range	50%	90%
norfloxacin	6.25~25	12.5	25
ofloxacin	0.39~1.56	1.56	1.56
enoxacin	6.25~50	25	50
ciprofloxacin	0.2~0.78	0.39	0.78
lomefloxacin	3.13~12.5	12.5	12.5
tosufloxacin	>100	>100	>100
floxacin	1.56~12.5	6.25	6.25
sparfloxacin	$\leq 0.1$ ~0.39	0.2	0.39
levofloxacin	0.2~0.78	0.78	0.78

Table 2 Therapeutic effect of ofloxacin on multidrug-resistant pulmonary tuberculosis

Reporters (Year)	Dose (mg/day)	No. of patients	Negative conversion rate in sputum culture
Tsukamura et al. (1985)	300	19	26.3%
Yamazaki et al. (1987)	400	32	28.1%
Kawahara et al. (1988)	600	18	44.4%
Matsumoto et al. (1988)	300~600	63	14.3%
Yew et al. (1990)	300~800	22	59.1%
Nakae et al. (1991)	300~600	118	19.5%
HKCS* (1992)	800	17	17.6%

\* Hong Kong Chest Service

Table 3 Safety profile during long-term administration of ofloxacin

Reporters (Year)	No. of patients	Adverse effects and abnormal laboratory findings
Tsukamura et al. (1985)	19	none
Yamazaki et al. (1987)	32	G-I symptoms 1, arthralgia 1
Kawahara et al. (1988)	31	G-I symptoms 3, insomnia 1
Matsumoto et al. (1988)	63	arthralgia 1
Yew et al. (1990)	22	G-I symptoms 3, insomnia 3, hand tremor 1
Nakae et al. (1991)	118	G-I symptoms 1, arthralgia 1
HKCS (1992)	17	arthralgia 2, skin reaction 1

Table 4 Randomized controlled study of new quinolones for the initial treatment on pulmonary tuberculosis

Reporters (Year)	Chemotherapy regimen	No. of patients	Negative conversion rate in sputum culture	Relapse rate
Kohno et al. (1992)	9HRE	62	94% (3)	0%
	9HRO	62	98% (3)	0%
Mohanty et al. (1993)	2SHRZ4HR	17	100% (6)	6%
	2SHCZ4HC	18	94% (6)	17%
Kennedy et al. (1993)	2HRZE	11	100% (2)	—
	2HRC	9	67% (2)	—
Kennedy et al. (1996)	2HRZE2HRZ2HR	86	100% (6)	0%
	4HRC2HR	82	100% (6)	9%

H : isoniazid R : rifampicin E : ethambutol  
 S : streptomycin Z : pyrazinamide  
 O : ofloxacin C : ciprofloxacin

さらに2カ月間INH・RFPの2薬併用する regimen を対照としてPZA・EBとCPFLEXを比較しているが、CPFLEX群において有意に排菌停止に至るまでの期間が長く、再発率が高い結果であった。しかし、非HIV症例においては両群間に治療効果に有意な差を認めなかった。この研究においてもCPFLEX群がPZA・EB群より優れているとはいえない結果であり、初回治療におけるニューキノロン薬の役割は明らかではない。

### 5. 現在開発中のニューキノロン薬

わが国においてすでに市販されている薬剤と現在治験中の薬剤を合わせると約20種類のニューキノロン薬が開発されているが、当然ながらOFLX, CPFLEX, SPFX, LVFX以外のニューキノロン薬にも同様に抗結核薬としての可能性が秘められている。Table 5に示すように、最近開発されたGatifloxacin, CS-940, Du-6859aなどはOFLX, CPFLEX, LVFXと同等あるいはこれらよりさらに強力な*in vitro*抗結核菌活性を有しており、その臨床効果が大きい期待されている。しかしながら、その臨床応用についてはその抗菌活性と体内動態のみならず、他の薬剤との薬物相互作用、長期投与による蓄積毒性なども考慮して慎重なる今後の検討が必要と思われる。

### 6. まとめ

1) 市販されている9種のニューキノロン薬の中でOFLX, CPFLEX, SPFX, LVFXは既存の抗結核薬と交差耐性を示さず、優れた*in vitro*, *in vivo*抗結核菌活性を有していた。

Table 5 *In vitro* antituberculous activities of newly developed new quinolones

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	Range	50%	90%
grepafloxacin	0.78~3.13	1.56	3.13
pazufloxacin	3.13~25	6.25	12.5
prulifloxacin	0.78~6.25	3.13	6.25
gatifloxacin	0.2~0.78	0.39	0.78
trovafloxacin	12.5~100	50	50
CS-940	0.2~0.78	0.39	0.39
Du-6859a	0.2~0.39	0.39	0.39
HSR-903	0.78~3.13	1.56	3.13

2) OFLXには多剤耐性難治結核症に対して優れた臨床効果が認められ、長期投与にもかかわらず副作用は軽微であった。

3) OFLX耐性菌は投与2~4カ月後の早期に出現し、他のニューキノロン薬に対して交差耐性を示した。

4) 初回治療例に対するニューキノロン薬使用の意義については明らかではなかった。

### 7. 展 望

1) ニューキノロン薬は耐性菌あるいは主要薬剤が副作用により使用し得ない症例が適応となるものと思われるが、単剤投与などは推奨されない。

2) すでに市販されているOFLX, CPFLEX, SPFX, LVFXに加えて新たに開発されたGTFX, CS-940, Du-6859aなども抗結核薬の候補としてあげられるが、

臨床応用については薬剤の抗菌活性，体内動態のみならず，薬物相互作用，長期投与による蓄積毒性なども考慮して慎重に検討すべきである。

### 謝 辞

ニューキノロン薬の *in vitro* 抗結核菌活性を検討するにあたって原末を御提供いただきました杏林製薬株式会社，第一製薬株式会社，大日本製薬株式会社，バイエル薬品株式会社，塩野義製薬株式会社，富山化学工業株式会社，大塚製薬株式会社，日本新薬株式会社，ファイザー製薬株式会社，三共株式会社，北陸製薬株式会社の各位に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Tsukamura M: *In vitro* antituberculosis activity of a new antibacterial substance ofloxacin (DL8280). *Am Rev Respir Dis.* 1985; 131: 348-351.
- 2) Tsukamura M, Nakamura E, Yoshii S, et al.: Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL8280) on pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1985; 131: 352-356.
- 3) 河原 伸, 江尻東伍, 中村邦彦, 他: 肺結核症に対するピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 ofloxacin (OFLX) の基礎的研究と臨床的検討. *日本胸部臨床.* 1988; 47: 1016-1020.
- 4) 河原 伸, 永礼 旬: 第67回総会シンポジウム. 難治性肺結核の治療. 新抗結核剤—ニューキノロン系薬剤について. *結核.* 1992; 67: 679-682.
- 5) 永礼 旬, 河原 伸, 多田敦彦, 他: ニューキノロン剤の諸種抗酸菌に対する *in vitro* 抗菌活性. *結核.* 1994; 69: 280.
- 6) 河原 伸, 永礼 旬, 北野裕子: キノロン感性抗酸菌に対する諸種キノロン剤の最小発育阻止濃度の比較. *感染症学雑誌.* 1994; 68: 796-797.
- 7) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇: 新抗結核薬開発の現状. *資料と展望.* 1996; 7: 27-41.
- 8) Yew WW, Kwan SY, Ma WK, et al.: *In vitro* activity of ofloxacin against *Mycobacterium tuberculosis* and its clinical efficacy in multiply resistant pulmonary tuberculosis. *J Antimicrob Chemother.* 1990; 26: 227-236.
- 9) 副島林造, 川根博司, 沖本二郎, 他: 慢性下気道感染症に対する Levofloxacin と Ofloxacin の二重盲検比較試験. *Chemotherapy.* 1992; 40 S-3: 97-120.
- 10) 副島林造, 川根博司, 沖本二郎, 他: 細菌性肺炎に対する Levofloxacin と Ofloxacin の二重盲検比較試験. *Chemotherapy.* 1992; 40 S-3: 121-146.
- 11) 河田幸道, 熊本悦明, 阿曾佳郎, 他: 複雑性尿路感染症に対する levofloxacin と ofloxacin の比較検討. *Chemotherapy.* 1992; 40 S-3: 230-248.
- 12) Kahara LM and Spino M: Ciprofloxacin in patients with mycobacterial infections: experience in 15 patients. *DICP.* 1991; 25: 919-924.
- 13) Kennedy N, Fox R, Uiso L, et al.: Safety profile of ciprofloxacin during long-term therapy for pulmonary tuberculosis. *J Antimicrob Chemotherapy.* 1993; 32: 897-902.
- 14) Rao S: An uncontrolled trial of pefloxacin in the retreatment of patients with pulmonary tuberculosis. *Tuberc Lung Dis.* 1995; 76: 219-222.
- 15) Kohno S, Koga H, Kaku M, et al.: Prospective comparative study of ofloxacin or ethambutol for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Chest.* 1992; 102: 1815-1818.
- 16) 東村道雄, 吉井才司, 安田行信, 他: Ofloxacin の肺結核初回治療への適用. *結核.* 1986; 61: 15-17.
- 17) Mohanty KC and Dhamgaye TM: Controlled trial of ciprofloxacin in short-term chemotherapy for pulmonary tuberculosis. *Chest.* 1993; 104: 1194-1198.
- 18) Kennedy N, Berger L, Curram J, et al.: Randomized controlled trial of a drug regimen that includes ciprofloxacin for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Clin Infect Dis.* 1996; 22: 827-833.



## 第73回総会シンポジウム

## II. 結核治療における新薬の展望

## 5. 結核診療における新薬の必要性

鈴木 克洋・田中 栄作・網谷 良一

京都大学医学部附属病院感染症科

The 73rd Annual Meeting Symposium

II. PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NEW ANTIMICROBIALS FOR  
CLINICAL CONTROL OF TUBERCULOSIS

## 5. THE NEED FOR NEW ANTITUBERCULOSIS AGENTS IN JAPAN

Katsuhiro SUZUKI\*, Eisaku TANAKA and Ryoichi AMITANI

We discussed the need of new antituberculosis agents in Japan concerning drug adverse reactions in particular as well as drug interactions and drug resistance. We reviewed medical charts of hospitalized patients receiving standard antituberculosis chemotherapy (INH + RFP + EB/SM ± PZA), and analyzed all symptoms, signs and abnormal laboratory data presumably caused by the chemotherapy. About 48% of 228 cases analyzed had at least 1 episode of adverse reactions: 77 episodes of hepatotoxicity, 15 episodes of ototoxicity, 14 episodes of eruption, 14 episodes of ocular toxicity and so on. About 23% cases treated with RFP, 20% cases with SM, 12% cases with INH and 7.7% cases with EB had at least 1 episode of adverse reactions due to the corresponding agent. In 59 cases, at least one agent was stopped to administer because of adverse reactions. Finally, standard chemotherapy could not be completed in 23% of all cases, and in stead, the other agents, mainly new quinolones, were administered. RFP induces cytochrome P450 3A in the liver to decrease the activities of many drugs, such as cyclosporin A, tacrolimus, protease inhibitor, itraconazole, and clarithromycin. In some clinical settings, RFP cannot be administered in combination with such drugs. In conclusions, new antituberculosis agents that have strong activities with less adverse reactions and drug interactions are needed in Japan, even without considering drug resistance.

**Key words** : Antituberculosis drug, Adverse reaction, Drug interaction, New quinolone

キーワードズ : 抗結核薬, 副作用, 薬剤相互作用, ニューキノロン剤

別刷り請求先:  
鈴木 克洋  
京都大学医学部附属病院感染症科  
〒606-8397 京都市左京区

\* From the Department of Infectious Disease, Kyoto University Hospital, Sakyo-ku, Kyoto 606-8397 Japan.  
(Received 5 Oct. 1998)

## はじめに

1944年の Schatz・Waksman による SM の発見を嚆矢とする抗結核化学療法は、1952年の INH と PZA の発見、1961年の EB の発見、そして1966年の RFP の発見と引き続き大成功を収め、結核は早晩撲滅されるとの見方が60年代後半から70年代の世界の医学界を支配した。ところが80年代後半より世界的な HIV 感染の蔓延、発展途上国を中心とする都市化の進行と未発達な医療資源による不完全な治療等により、世界の結核は再び増加し猛威をふるい始めた。現在全世界において結核の既感染者は17億人、年間900万人が発病し、300万人が死亡していると推計され、さらにそれらの数字は年々増加すると予測されている<sup>1)</sup>。

本邦でも結核は、現在なお年間4万人以上が発病し3000人近くが死亡している重要な伝染病であり続けている<sup>2)</sup>。本邦における結核死亡の要因を分析すると、1) 手遅れ状態の重症結核、2) 多剤耐性菌による難治結核、3) 高齢かつ基礎疾患をもつ患者に生じた難治結核等が挙げられる。そのような現状も踏まえ、本邦での結核診療における新薬の必要性を考えると以下の諸点が理由として考えられよう。1) 多剤耐性結核、2) 副作用や薬剤相互作用による主要薬剤の使用困難、3) 基礎疾患・全身状態の悪化による経口摂取不能状態。

本稿では結核治療中の薬剤副作用の分析を中心に本邦における新薬の必要性を検討してみたい。なお、シンポジウム講演時には新リファマイシン系薬剤の臨床データの review も報告したが、本稿では紙面の都合で割愛した。

## 1) 薬剤耐性

わが国における患者分離結核菌の薬剤耐性の頻度を、1957年以来2年ないし5年毎に調査・報告している結核療法研究協議会の最新資料が、1996年に報告された<sup>3)4)</sup>。これは、日本全国の結核病棟を持つ主要な38施設で1992年6月から6カ月間に入院患者から分離された結核菌946株を結核予防会結核研究所に集め、小川普通法でINH・RFP・SM・EB・KMの5薬剤に対する感受性を調べた報告である。わが国における結核菌の耐性状況を示す最新の資料であるとともに、現在の薬剤感受性試験の問題点も浮き彫りにしている。以下この資料に沿って耐性結核の現状を概説する。

初回治療729例の分析では、INH 耐性1.5%・RFP 耐性0.7%・SM 耐性3.8%・EB 耐性0.1%・KM 耐性0.1%、いずれかの薬剤に耐性を示したものは計5.6%であった。またINH・RFP 両剤耐性以上のいわゆる多剤耐性菌は0.1%と報告されている。一方、再治療212例

では、INH 耐性17.9%・RFP 耐性15.1%・SM 耐性10.4%・EB 耐性1.9%・KM 耐性2.8%、いずれかの薬剤に耐性を示したものは計27.8%、INH・RFP 両剤耐性以上の多剤耐性菌は10.1%と報告されている。初回治療の耐性率は1977年以後ほぼ横ばい傾向、一方、再治療例の耐性率は漸減傾向を示している。初回と再治療を合わせた全体の耐性率は10.6%であった。これは米国の14.2%や韓国の25.3%よりは少ないが、わが国においても相当数の主要薬剤に対する耐性結核が存在すると認識すべきである。

初回耐性結核が5%を超える地域では全症例に薬剤感受性検査を実施すべきであるとの勧告が米国ではなされており、本邦もそれに該当している。多剤耐性結核を化学療法のみで治療することは現在極めて難しく、INH・RFP に匹敵する強力な新薬の開発が切望されている。

## 2) 薬剤副作用

たとえ全剤感受性菌による結核であっても、副作用のためINH・RFP 等が服用できないことがあり、その場合も薬剤耐性と同じく治療に苦慮することになる。特に高齢者では同時に複数薬剤に副作用が生じやすく<sup>5)</sup>、中途半端な治療が長期間続きやすいため、主要薬剤に対する耐性菌を誘導する結果を招くこともある。このように薬剤副作用は耐性菌と同様に重要な問題と思われるが、その報告は比較的少ない。そこで当科に結核として入院し治療を受けた患者の副作用をまとめてみた。

対象は1984年1月1日から97年12月31日までに京都大学胸部疾患研究所附属病院呼吸器感染症科に入院し、結核症として多剤併用化学療法をうけた228例(男性155

表1 全体の副作用内訳(全228例)

肝障害	77件 (高度17件, 軽度60件)
第8脳神経障害	15件
発疹	14件
視神経障害	8件
好酸球増多	8件
骨髄抑制	7件
末梢神経障害	2件
消化器症状	3件
腎障害	1件
抗核抗体上昇	1件
計	136件(109人=47.8%)
PZAによる高尿酸血症は除く	

名、女性73名)で、初回治療が186例、再治療が42例であった。副作用としては自覚症状の他にすべての臨床検査値異常も含めた。ただし、PZAによる高尿酸血症は必発のため除いた。肝障害についてはGOTまたはGPTが200を超えた場合を高度肝機能障害、それ以外を軽度肝機能障害とした。

副作用は228例中109人に延べ139件生じており、発現率は47.8%であった(表1)。最も頻度が高かったのが肝障害で77件生じ、うち17件が高度、残りの60件が軽度肝機能障害であった。次に第8脳神経障害15件、発疹14件、視神経障害8件、好酸球増多8件、骨髄抑制7件の順であった。主要薬剤ごとの副作用を表2に示した。最も頻度の高い薬剤はRFPで23.4%に副作用が生じており、そのうちの80%弱が肝機能障害であった。次いでSMが20.3%の副作用発現率であり、その大部分が第8脳神経障害で、平衡障害8件で聴力障害6件であった。INHの副作用発現率は11.5%で肝機能障害が多く、EBは7.7%と最も副作用が少ない薬剤であった。PZAは14例と使用症例が少ないため正確な分析はできないが、高尿酸血症を除くと2例14.3%に高度肝機能障害が生じ投与中止となっている。表3に性別による副作用の違いを呈示した。第8脳神経障害が女性で、視神経障害が男性で、また骨髄抑制が女性でやや多い傾向を認めたが、全体としては大きな性差は認めなかった。

表4に年齢と副作用の関連を呈示した。60歳未満の患者144名に延べ82件の副作用が、60歳以上の患者84名に延べ53件の副作用が生じており、60歳以上で副作用頻度がやや多い傾向であった。特に視神経障害は60歳以上の

表2 主要薬剤毎の副作用の件数

INH (226例)	全体	26例 (11.5%)
	肝機能障害	17件
	発疹	6件
	末梢神経障害	2件
	抗核抗体の出現	1件
RFP (218例)	全体	51例 (23.4%)
	肝機能障害	40件
	発疹	9件
	白血球減少	5件
	血小板減少	3件
	好酸球増多	3件
	発熱	3件
EB (194例)	全体	15例 (7.7%)
	視力障害	8件
	発疹	3件
	好酸球増多	2件
	汎血球減少	1件
	肝機能障害	1件
	発熱	1件
SM (74例)	全体	15例 (20.3%)
	平衡障害	8件
	聴力障害	6件
	発疹	1件
PZA (14例)*	全体	2例 (14.3%)
	肝機能障害	2件

\*高尿酸血症は必発なので除いた

表3 性別による抗結核薬剤副作用

	男性 (n=155)	女性 (n=73)	計 (n=228)
肝障害	52 (34%)	24 (33%)	76 (33%)
第8脳神経障害	7 (4.5%)	8 (11%)	15 (6.6%)
発疹	9 (5.8%)	5 (6.8%)	14 (6.1%)
視神経障害	7 (4.5%)	1 (1.4%)	8 (3.5%)
骨髄抑制	2 (1.3%)	5 (6.8%)	7 (3.1%)
好酸球増多	5 (3.2%)	3 (4.1%)	8 (3.5%)
消化器症状	1 (0.6%)	1 (1.4%)	2 (0.9%)
腎障害	0	1 (1.4%)	1 (0.4%)
高尿酸血症	1 (0.6%)	0	1 (0.4%)
抗核抗体上昇	0	1 (1.4%)	1 (0.4%)
末梢神経障害	0	2 (2.7%)	2 (0.9%)
計	84	51	135

表4 抗結核薬剤副作用と年齢との関係

	60歳未満 (n=144)	60歳以上 (n=84)	計 (n=228)
肝障害	47 (33%)	29 (34.5%)	76 (33%)
第8脳神経障害	10 (6.9%)	5 (6.0%)	15 (6.6%)
発疹	9 (6.3%)	5 (6.0%)	14 (6.1%)
視神経障害	1 (0.7%)	7 (8.3%)	8 (3.5%)
骨髄抑制	5 (3.5%)	2 (2.4%)	7 (3.1%)
好酸球増多	4 (2.8%)	4 (4.8%)	8 (3.5%)
消化器症状	2 (1.4%)	0	2 (0.9%)
腎障害	0	1 (1.2%)	1 (0.44%)
高尿酸血症	1 (0.7%)	0	1 (0.44%)
抗核抗体上昇	1 (0.7%)	0	1 (0.44%)
末梢神経障害	2 (1.4%)	0	2 (0.9%)
計	82	53	135

表5 治療途中で中止となった薬剤 (全228例中)

薬剤	全体	副作用	耐性	両者
INH	5	4	0	1
RFP	25	25	0	0
EB	15	14	1	0
SM	15	14	0	1
PZA	2	2	0	0
計	62 (51人)	59	1	2

高齢者に多く見られた。最終的に228例中51人 (22.4%) の患者で、延べ62薬剤が治療途中で中止となった (表5)。この中には、副作用で一時服薬を中止したが再投与可能であった場合は含んでいない。また耐性が理由で中止したのは治療途中で耐性菌と判明した場合のみで、最初から耐性が判明もしくは疑われて当該薬剤を投与していない場合は含んでいない。頻度的にはSMが74例中15例21.1%で最も多く、次いでRFPが218例中25例11.5%、EBが194例中15例7.7%、INHが226例中5例2.2%の順であった。延べ62件中59件は副作用が中止の理由であった。

入院中最終的に標準的な化学療法ができなかった症例が52例22.8%あった (表6)。ここでいう標準的的化学療法とは、INH + RFPにEBまたはSMを加える治療をいう (初期2カ月間PZAを投与する場合も含む)。初回治療186例中では31例16.7%で標準化療が実施不能であり、そのうち24例が副作用によるものであった。再治療42例では21例実に50%で標準化療ができなかった。

その理由としては薬剤耐性が9例と最も頻度が高く、次いで副作用が5例、耐性かつ副作用が4例の順であった。

ニューキノロン使用症例は228例中45例19.7%であった (表7)。使用45例中42例はオフロキサシンまたはレボフロキサシンを、2例はシプロフロキサシンを、1例はスパロフロキサシンを使用していた。初回治療では14%で、再治療では45%の症例でニューキノロンを使用していた。初回治療例では標準化学療法薬が副作用で使用できないとの理由が多く、再治療では薬剤耐性のため使用していた症例が多かった。ニューキノロン薬による副作用は2例4.4%で出現し、日光過敏症、好酸球増多各1件であった。

本稿では、薬剤副作用を自覚症状のみならず臨床検査値異常も含め広くとらえて検討した。そのためもあり、何らかの副作用が認められた症例が全体の47.8%に達した。対象を入院患者に限ったため外来患者と比べ副作用の検出感度が高くなったのも、頻度が高い理由の一つと考えられる。入院と外来での薬歴より抗結核剤の副作用を調べた山上らの論文では、副作用の頻度は714例中144例で約20.2%となっている<sup>6)</sup>。この論文では、薬剤の服用中止、併用薬の追加、減感作の実施などの薬歴から副作用の存在を疑い診療録で確認しており、薬歴に変化のない軽度の副作用を見逃している可能性が考えられる。われわれと同様に入院患者225例の副作用の分析を行った山田らの論文では、自他覚症状が23.6%、臨床検査値異常が41.8%に発生したと報告されている<sup>7)</sup>。症状のあった患者と検査値異常のあった患者の重なりが不明であるが、全体として今回の結果とほぼ同等の頻度と推

表6 標準化学療法ができなかった症例

	全228例中52例 (22.8%)	
	初回治療186例中31例 (16.7%)	再治療42例中21例 (50%)
耐性	4	9
副作用	24	5
両者	3	4
その他	0	3

表7 ニューキノロン使用症例\*

	全228例中45例 (19.7%)	
	初回186例中26例 (14%)	再治療42例中19例 (45%)
耐性	3	8
副作用	17	3
両者	5	4
重症	1	2
その他	0	2

\*OFLX or LVFX42例, CPFX 2例, SPFX 1例

測される。

副作用全体としては肝障害が過半を占めていた。最近の欧米の論文をみても抗結核剤の副作用による肝障害の分析を行ったものが多く<sup>8)~11)</sup>、何らかの肝障害が生じる頻度は20から27%と報告されている。この頻度は今回の検討における33%よりはやや少ない数字である。これは本稿が入院患者のみの検討で、軽度の肝障害も比較的検出可能であったためと考えられる。

副作用139件(109症例)中、延べ62薬剤(51症例)で最終的に服薬が中途終了となった。残りの過半の症例では、服薬継続やいったん中止のみで副作用は解消している。しかしEBとSMでは、副作用が出現した場合ほぼ全例で服薬中止となっている。これは両剤の副作用が比較的重篤であることと、EB・SMに加えニューキノ

ロン薬が代替薬として使用可能なためと考えられる。ニューキノロン薬の使用頻度は全体の19%であり、使用理由としては既存薬の副作用が最も多かった。

このように、結核で入院したかなりの患者が副作用等のため標準的な化学療法を実施できず、副作用の少ないニューキノロン薬を使用しているのが現状である。今後ニューキノロン薬を抗結核薬として制度的にも正当に位置づける必要があると考える。

### 3) 薬剤相互作用

基礎疾患を持った結核患者が増加しており、抗結核薬と他の薬剤との相互作用も今後は問題になると思われる。特にRFPは短期化学療法の柱として最も重要な薬剤であるが、肝臓で種々の薬剤の代謝に関わる酵素である

表8 RFPにより代謝が促進され作用が減弱する主な薬剤

抗 HIV protease 阻害剤：これは併用禁忌となっている
シクロスポリン、タクロリムス
黄体・卵胞ホルモン混合製剤
アゾール系抗真菌薬、クラリスロマイシン、ドキシサイクリン
クマリン系抗凝結剤、経口糖尿病薬、テオフィリン、ジギタリス製剤
副腎皮質ステロイド、抗不整脈薬、カルシウム拮抗剤、β遮断薬
フェニトイン、テルピナフィン、ベンゾジアゼピン系、三環系抗うつ薬

cytochrome P450 3A の強力な誘導作用があり、多数の薬剤の血中濃度を低下させることが知られている。

表8にRFPとの相互作用で血中濃度が低下する主な薬剤を呈示した。抗HIVプロテアーゼ阻害剤、移植後の免疫抑制剤であるシクロスポリンやタクロリムス、抗真菌薬のイトラコナゾールや抗菌薬であるクラリスロマイシン等は今後特に問題になるものと推測される。実際京大病院移植外科の木内らは、移植した肝臓に結核を発病した患児にRFPを投与したところ、タクロリムス濃度が著しく低下し拒絶反応の抑制が不能になった症例を報告している<sup>12)</sup>。またAIDS合併結核の治療時プロテアーゼ阻害剤との併用薬としてはRFPではなくrifabutinが推奨されている。このようにRFPより同酵素の誘導が少ないrifabutinやKRM-1648等の新リファマイシン系薬剤の臨床における必要性が、今後わが国でも増加するものと思われる。

#### 4) 経口摂取不能患者

脳梗塞後遺症・パーキンソン病・食道癌・全身状態の悪化等で経口摂取不能となった場合、非経口的に投与可能な薬剤は現在INHとSM等のアミノ配糖体のみである。その他の薬剤は経鼻チューブで投与している現状であるが、誤嚥性肺炎の頻度が高まる等の問題もあり、非経口的に投与可能な抗結核薬剤の開発が望まれている。

#### 文 献

- 1) World Health Organization. World Health Statistics Annual. WHO, Geneva, 1989, 11-12.
- 2) 「結核の統計1997」. 厚生省保険医療局エイズ結核感染症科監修, 財団法人結核予防会, 東京, 1997.
- 3) Hirano K, Kazumi C, Abe T, et al.: Resistance to antituberculosis drugs in Japan. *Tubercle Lung Dis.* 1996; 77: 130-135.
- 4) 鹿住祐子, 平野和重, 阿部千代治, 他: 入院時薬剤耐性に関する研究: 1992年度の各施設の成績と結研判定の比較. *結核.* 1996; 71: 29-38.
- 5) 鈴木克洋: 薬剤アレルギーのため化学療法が施行できず無治療で経過観察中の肺結核, 「結核」, 第3版, 泉 孝英・網谷良一編集, 医学書院, 東京, 1998, 351-353.
- 6) 山上方子, 中嶋 弘, 斉藤昌仁, 他: 薬歴から見た抗結核剤の副作用と服薬指導への応用. *病院薬学.* 1992; 18: 531-539.
- 7) 山田 洋, 安岡 彰, 笹山一夫, 他: 抗結核剤の副作用—出現時期と持続期間を中心に—. *結核.* 1990; 65: 563-568.
- 8) Ungo JR, Jones D, Ashkin D, et al.: Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157: 1871-1876.
- 9) Brande PVD, Steenbergen WV, Vervoort G, and Demedts M: Aging and hepatotoxicity of isoniazid and rifampic in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152: 1705-1708.
- 10) Thompson NP, Caplin ME, Hamilton MI, et al.: Anti-tuberculosis medication and the liver: dangers and recommendation in management. *Eur Respir J.* 1995; 8: 1384-1388.
- 11) Mitchell I, Wenden J, Fitt S, and Williams R: Anti-tuberculous therapy and acute liver failure. *Lancet.* 1995; 345: 555-556.
- 12) Kiuchi T, Inomata Y, Uemoto S, et al.: A hepatic graft tuberculosis transmitted from a living-related donor. *Transplantation.* 1997; 63: 905-907.