

## 耳鼻咽喉科領域感染症由来 *Streptococcus pneumoniae* に対する garenoxacin の mutant prevention concentration (MPC)

鈴木賢二<sup>1)</sup>・黒野祐一<sup>2)</sup>・小林俊光<sup>3)</sup>・西村忠郎<sup>4)</sup>・馬場駿吉<sup>4)</sup>・  
原渕保明<sup>5)</sup>・藤澤利行<sup>1)</sup>・山中 昇<sup>6)</sup>・生方公子<sup>7)</sup>・池田文昭<sup>8)</sup>

<sup>1)</sup> 藤田保健衛生大学医学部第二教育病院

<sup>2)</sup> 鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科学教室

<sup>3)</sup> 東北大学医学部耳鼻咽喉科学教室

<sup>4)</sup> 日本耳鼻咽喉科感染症研究会

<sup>5)</sup> 旭川医科大学耳鼻咽喉科学教室

<sup>6)</sup> 和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

<sup>7)</sup> 北里生命科学研究所感染情報学研究室

<sup>8)</sup> 三菱化学メディエンス株式会社化学療法研究室

(2010年3月1日受付)

2007年1月～6月に全国の医療機関において耳鼻咽喉科領域感染症患者から分離された *Streptococcus pneumoniae* 78株 (PSSP 45株, PISP 26株およびPRSP 7株) に対する garenoxacin (GRNX), levofloxacin (LVFX) および moxifloxacin (MFLX) の minimum inhibitory concentration (MIC) および mutant prevention concentration (MPC) を比較検討した。

対象の78株に対する GRNX の MIC<sub>90</sub> および MPC<sub>90</sub> は各々 0.06 および 0.12 μg/mL であり, LVFX および MFLX と比較して最も低い値を示した。また, GRNX の MPC/MIC 比は1～4に分布し, 77株(99%)は2以下であり, LVFX および MFLX の MPC/MIC に比較して最も低い値であった。

耳鼻咽喉科領域感染症の主要起炎菌である *Streptococcus pneumoniae* については β-ラクタム系およびマクロライド系抗菌薬に対する耐性株の蔓延に加えて, 最近ではキノロン系抗菌薬に対する耐性株の出現も報告されるようになった<sup>1,2)</sup>。S. *pneumoniae* による重症感染症の標的治療に用い

られるキノロン系抗菌薬については, 良好な治療効果を得るためだけでなく耐性菌の出現を防止するための薬剤の選択および至適用法用量の検討が必要である。

Garenoxacin (GRNX) は, 2007年に上市された新規キノロン系抗菌薬で6位のフッ素原子が水素

原子に置換されているなど従来のフルオロキノロン系抗菌薬と比較して極めて特徴的な化学構造を有し<sup>3)</sup>, 呼吸器・耳鼻咽喉科領域感染症の主要起炎菌に優れた抗菌活性を示すことから<sup>4,5)</sup>, レスピラトリーキノロンと位置づけられている。我々は、第4回耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランスとして2007年分離株のGRNXを含む各種抗菌薬に対する感受性を測定し、GRNXがこれらの菌株に対して優れた抗菌活性を示し、特に*S. pneumoniae*に対しては他のレスピラトリーキノロンと比較して最も優れた抗菌活性を示すことを報告した<sup>6)</sup>。

今回、我々はこれらの*S. pneumoniae*を対象にGRNXの mutant prevention concentration (MPC)を測定し、GRNXに対する耐性株出現の可能性について検討した。

## 材料と方法

試験菌株として第4回耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランスにおいて2007年1月~6月の期間に分離された *Streptococcus pneumoniae* 78株を用いた。なお、本研究については、文部科学省および厚生労働省より出された「疫学研究に関する倫理指針」および「疫学研究に関する倫理指針についてのQ & A」に従い、患者プライバシーには一切抵触しないことを遵守し、菌株のみを試験に使用した。

使用薬剤にはGRNX, levofloxacin (LVFX) および moxifloxacin (MFLX)の原末を用いた。また、ペニシリン耐性区分鑑別のために benzylpenicillin (PCG)の原末を用いた。

薬剤感受性測定は日本化学療法学会標準法に準じた微量液体希釈法にて実施した。2%ウマ溶血液, NAD (15 mg/L) および酵母エキス (5 g/L) を添加した cation-adjusted Mueller Hinton broth (CAMHB) を用い 35°C, 18~24時間, 好気条件

で培養後, 判定を行った。精度管理株として *S. pneumoniae* ATCC 49619 を用いた。ペニシリンに対する耐性区分は CLSI M100-S19 の経口ペニシリンの基準に従い, PCG の MIC 値が 0.06  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下のものを susceptible (PSSP), 0.12~1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  のものを intermediate (PISP), 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上のものを resistant (PRSP) とした<sup>7)</sup>。

MPC測定はBLONDEAUらの方法<sup>8)</sup>に従って実施した。すなわち, 5%ヒツジ血液寒天培地で35°C, 5% CO<sub>2</sub>条件下で18時間培養した菌体を, 約  $5 \times 10^{10}$  CFU/mL に調製し, その0.2 mL (約  $1 \times 10^{10}$  CFU) を対象の抗菌薬の2倍希釈系列7段階の濃度 (1/2~32×MIC, 上限: 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 下限: 0.015  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を含む5%ヒツジ血液加 Mueller Hinton agar に塗沫して35°C, 5%CO<sub>2</sub>条件下で48時間培養した。目視にてコロニーが認められない最小薬剤濃度をMPCとした。なお, MPC測定は3回実施し, 測定値が2回以上一致した場合にその値を採用した。

## 結果

*S. pneumoniae* 78株に対するGRNX, LVFX および MFLX の MIC および MPC を Table 1 に示した。これらの菌株に対するGRNXのMIC<sub>90</sub> および MPC<sub>90</sub> は 0.06  $\mu\text{g}/\text{mL}$  および 0.12  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であり, LVFX および MFLX の MIC<sub>90</sub> および MPC<sub>90</sub> と比較して最も低い値を示した。なお, PSSP に対するこれら3薬剤のMIC<sub>90</sub> および MPC<sub>90</sub> は PISP および PRSP に対する値と差は認められなかった。

GRNX の MPC/MIC 比は 1~4 に分布し, 77 株 (99%) に対しては 2 以下であった。LVFX の MPC/MIC 比は 2~8 に分布し, 75 株 (96%) に対しては 2~4 の範囲であったが, MPC/MIC が 8 となる株が 3 株 (3.8%) 認められた。MFLX の MPC/MIC 比は 2~16 に分布し 72 株 (92%) に対しては 2~8 の範囲であったが, MPC/MIC が 16 となる株が 6 株

Table 1. MIC and MPC for clinical isolates of *S. pneumoniae*.

Organism	Drug	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MPC range	MIC, MPC : µg/mL	
						MPC <sub>50</sub>	MPC <sub>90</sub>
Total (n=78)	GRNX	0.03 — 0.06	0.06	0.06	0.03 — 0.25	0.12	0.12
	LVFX	0.25 — 2	1	1	1 — 8	4	4
	MFLX	0.03 — 0.25	0.12	0.25	0.5 — 4	1	2
PSSP (n=45)	GRNX	0.03 — 0.06	0.06	0.06	0.03 — 0.25	0.12	0.12
	LVFX	0.5 — 2	1	1	2 — 8	4	4
	MFLX	0.06 — 0.25	0.25	0.25	0.5 — 4	1	2
PRSP+PISP (n=33)	GRNX	0.03 — 0.06	0.06	0.06	0.03 — 0.12	0.12	0.12
	LVFX	0.25 — 1	1	1	1 — 8	4	4
	MFLX	0.03 — 0.25	0.12	0.25	0.5 — 4	1	2

Table 2. Relationship between MIC and MPC for clinical isolates of *S. pneumoniae*.

Drug	No. of isolates having ratios of MPC/MIC				
	1	2	4	8	16
GRNX	21	56	1	0	0
LVFX	0	24	51	3	0
MFLX	0	1	33	38	6

(7.7%)存在した(Table 2)。

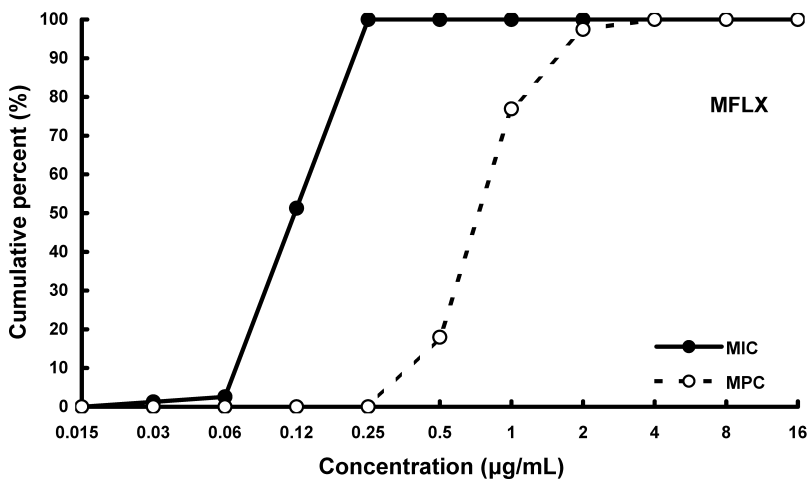
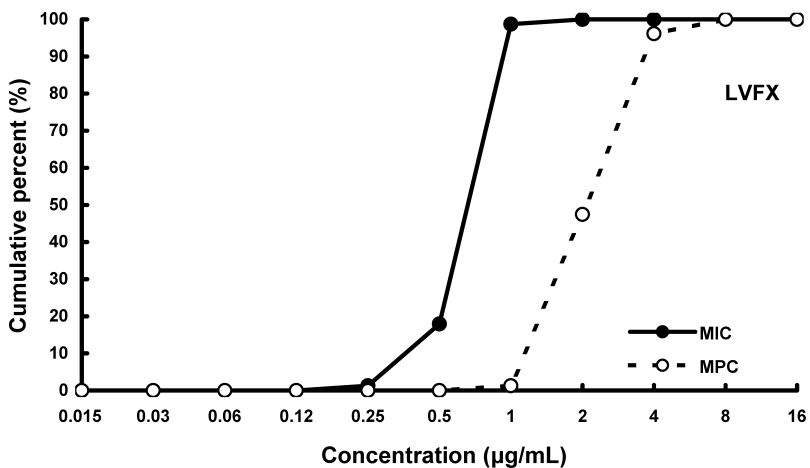
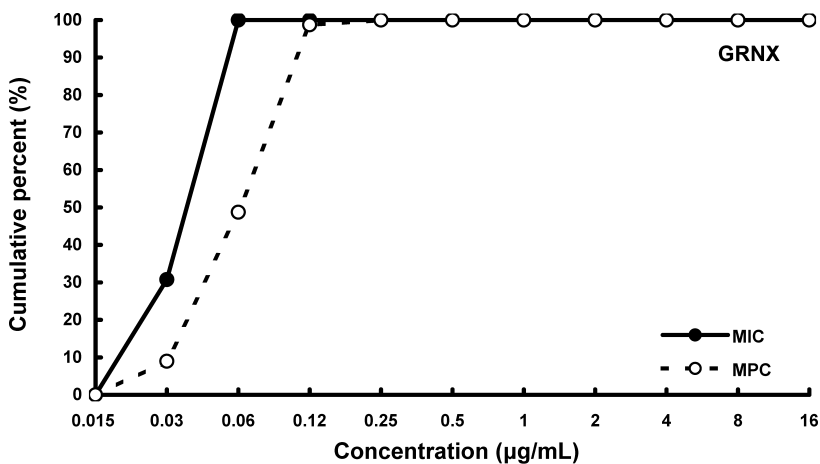
GRNX, LVFX および MFLX の MIC および MPC 累積分布を Fig. 1 に示した。GRNX の MIC および MPC は LVFX および MFLX と比較して最も低い値で推移し, mutant selection window (MSW ; MIC と MPC の幅) も最も狭かった。

## 考察

GRNX は耳鼻咽喉科領域感染症の主要起炎菌である *S. pneumoniae* に対し, 既存のレスピラトリキノロンよりも低い MIC および MPC を示した。GRNX は *S. pneumoniae* の topoisomerase IV および DNA gyrase に対して既存のキノロン系抗

菌薬よりも強い阻害作用を示すことが報告されており<sup>4)</sup>, 本菌に対する優れた抗菌活性を裏付けているものと考えられた。*S. pneumoniae* のキノロン耐性の主要な機序は染色体上に存在するキノロン耐性の標的分子である topoisomerase IV と DNA gyrase の構成遺伝子である *parC* と *gyrA* のキノロン耐性決定領域 (QRDR) の変異によることが証明されている<sup>9)</sup>。キノロン系抗菌薬の2つの標的酵素への阻害活性の相違から, 耐性変異は2段階のステップを経ると考えられるが, 第1段階ではキノロンに感受性の高い標的酵素の変異株の出現が報告されている<sup>10)</sup>。LVFX や ciprofloxacin (CPFX) は *S. pneumoniae* の topoisomerase IV に対して阻害活性が高く一次標的となっているため, まずは

Fig. 1. Cumulative distribution of *S. pneumoniae* isolates with respect to MIC and MPC.



*parC* 変異株が選択されてくる<sup>11)</sup>。この段階であれば *S. pneumoniae* に優れた活性を有するキノロン系抗菌薬は抗菌活性を保持しているが、さらに耐性が進むと *parC* と *gyrA* の双方に耐性変異が蓄積して高度耐性化することが報告されている<sup>12)</sup>。このような耐性変異の過程を考慮すると、*S. pneumoniae* の両標的酵素にバランスのとれた高い阻害活性を有する GRNX は耐性化の防止には有利なプロファイルを有していると考えられる。

最近、キノロン系抗菌薬耐性化の抑制に関する指標として MPC が用いられるようになってきており、*S. pneumoniae* に対しても各種キノロン系抗菌薬の MPC を測定した成績が報告されている<sup>8,13,14)</sup>。MPC は標的部位の点変異による一次耐性変異株の増殖を抑制する最小濃度のことで、実験的には  $10^{10}$  CFU/mL 以上の感受性ポピュレーションから出現してくる耐性変異株の増殖を阻止する最小薬剤濃度と定義されている<sup>15)</sup>。また、MIC と MPC の幅を mutant selection window (MSW) と言い、耐性変異株が選択されやすい濃度域と考えられている<sup>16)</sup>。今回対象とした *S. pneumoniae* に対する GRNX の MSW は LVFX や MFLX よりも狭い結果であった。LVFX や MFLX の場合には MIC 以上の濃度において一次耐性変異として *parC* 変異株が選択されてくるのに対して、GRNX では *parC* 変異株に対して感受性株と同等の優れた活性を示すため MIC と MPC にほとんど差が認められなかったものと考えられる。なお、今回対象とした *S. pneumoniae* 78 株は CLSI の基準ですべて LVFX および MFLX に感受性であったが、今後は LVFX または MFLX に中等度または耐性の株に対する GRNX の MPC や MSW も検討する必要があると考えられる。

PK-PD に基づく適正な用法用量が有効性及び安全性だけでなく耐性化防止のために重要であると考えられている。キノロン系抗菌薬では、一般に AUC/MIC や  $C_{max}/MIC$  が殺菌作用と相関するこ

とが実験的に証明され<sup>17)</sup>、高用量で短期間治療することが除菌には重要であることが示唆されている。また、MPC と pharmacokinetic (PK) パラメータを組み合わせて耐性菌の出現を防止する投与レジメの最適化が検討されるようになり、MPC に関連する PK-PD パラメータとして AUC/MPC および  $C_{max}/MPC$  が耐性化と関連すると報告されている<sup>18)</sup>。HOMMA らは、*S. pneumoniae* の臨床分離株 4 株を用いて MFLX および LVFX 投与時の血中濃度を再現した *in vitro* pharmacodynamic model を用いて MPC に関連する PK-PD パラメータについて検討したところ、AUC/MPC および  $C_{max}/MPC$  が各々 13.4 および 1.20 以上のときに完全殺菌が得られるが、各々が 0.84 および 0.08 以下の場合には低感受性化が認められたと報告している<sup>19)</sup>。GRNX の常用量である 400 mg 単回経口投与 2.65~3.33 時間後の中耳粘膜、口蓋扁桃組織および副鼻腔粘膜の平均組織薬物濃度は、それぞれ 5.89  $\mu\text{g/g}$ 、9.44  $\mu\text{g/g}$  および 6.01  $\mu\text{g/g}$  と報告されている<sup>20)</sup>。今回の *S. pneumoniae* の臨床分離株に対する GRNX の MPC<sub>90</sub> は 0.12  $\mu\text{g/mL}$  であったので GRNX の組織内濃度/MPC<sub>90</sub> は 49.1~78.7 となり、HOMMA らの成績に当てはめると完全殺菌が得られるのに十分なレベルであり耳鼻咽喉科領域感染症の治療中に低感受性ポピュレーションの選択が生じ難いと推察された。

GRNX の 1 日 400 mg の投与は、*S. pneumoniae* による耳鼻咽喉科領域感染症に優れた臨床効果を示すだけでなく、キノロン系抗菌薬に対する耐性化防止においても有用であると考えられた。

## 文献

- 1) 河野 茂, 小林宏行, 馬場駿吉, 他: 多剤耐性肺炎球菌による呼吸器感染症および耳鼻咽喉科領域感染症に対する garenoxacin の臨床効果。日本化学療法学会雑誌 55(S-1): 222~230, 2007
- 2) OSAWA, M.; Y. ITO, T. ISHIDA, *et al.*: Molecular

- characterization of quinolone resistance-determining regions and their correlation with serotypes and genotypes among *Streptococcus pneumoniae* isolates in Japan. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 14: 258~261, 2008
- 3) HAYASHI, K.; M. TAKAHASHI, Y. KAWAMURA, *et al.*: Synthesis, antibacterial activity, and toxicity of 7-(isoindolin-5-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid. Discovery of the novel des-F(6)-quinolone antibacterial agents garenoxacin (T-3811 or BMS-284756). *Arzeim-Forsch/Drug Res.* 2:903~913, 2002
  - 4) 高畑正裕, 福田淑子, 二口直子, 他: Garenoxacinの *in vitro* 抗菌活性. *日本化学療法学会雑誌* 55(S-1): 1~20, 2007
  - 5) JONES, R. N.; T. R. FRITSCH, H. S. SADER, *et al.*: Activity of garenoxacin, an investigational des-F(6)-quinolone, tested against pathogens from community-acquired respiratory tract infections, including those with elevated or resistant-level fluoroquinolone MIC values. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 58: 9~17, 2007
  - 6) 鈴木賢二, 黒野祐一, 小林俊光, 他: 耳鼻咽喉科領域感染症起炎菌に対する garenoxacin の抗菌力. *Jpn. J. Antibiotics* 62: 71~78, 2009
  - 7) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteen informational supplement M100-S19 Wayne, PA, 2009
  - 8) BLONDEAU, J. M.; X. ZHAO, G. HANSEN, *et al.*: Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 433~438, 2001
  - 9) WEIGEL, L. M.; G. J. ANDERSON, R. R. FACKLAM, *et al.*: Genetic analyses of mutations contributing to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 3517~3523, 2001
  - 10) DAVIES, T. A.; A. EVANGELISTA, S. PFLEGER, *et al.*: Prevalence of single mutations in topoisomerase type II genes among levofloxacin-susceptible clinical strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated in the United States in 1992 to 1996 and 1999 to 2000. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 119~124, 2002
  - 11) FUKUDA, H. & K. HIRAMATSU: Primary targets of fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 410~412, 1999
  - 12) STRAHILEVITZ, J. & D. C. HOOPER: Dual targeting of topoisomerase IV and gyrase to reduce mutant selection: direct testing of the paradigm by using WCK-1734, a new fluoroquinolone, and ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 1949~1956, 2005
  - 13) SMITH, H. J.; M. WALTERS, T. HISANAGA, *et al.*: Mutant prevention concentrations for single-step fluoroquinolone-resistant mutants of wild-type, efflux-positive, or *parC* or *gyrA* mutation-containing *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 3954~3958, 2004
  - 14) HERMSEN, E. D.; L. B. HOVDE, G. N. KONSTANTINIDES, *et al.*: Mutant prevention concentrations of ABT-492, levofloxacin, moxifloxacin, and gatifloxacin against three common respiratory pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 1633~1635, 2005
  - 15) DONG, Y.; X. ZHAO, J. DOMAGALA, *et al.*: Effect of fluoroquinolone concentration on selection of resistant mutants of *Mycobacterium bovis* BCG and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 1756~1758, 1999
  - 16) BLONDEAU, J. M.; G. HANSEN, K. METZLER, *et al.*: The role of PK/PD parameters to avoid selection and increase of resistance: mutant prevention concentration. *J. Chemother.* 16: 1~19, 2004
  - 17) CRAIG, W. A.: Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin. Infect. Dis.* 26:1~10, 1998



- 18) DRLICA, K.; H. HIASA, R. KERNS, *et al.*:  
Quinolones: action and resistance updated.  
*Curr. Top. Med. Chem.* 9: 981~998, 2009
- 19) HOMMA, T.; T. HORI, G. SUGIMORI, *et al.*: Phar-  
macodynamic assessment based on mutant  
prevention concentrations of fluoroquino-  
lones to prevent the emergence of resis-  
tant mutants of *Streptococcus pneumoniae*.  
*Antimicrob. Agents Chemother.* 51: 3810~  
3815, 2007
- 20) 馬場駿吉, 鈴木賢二, 山中 昇, 他: 耳鼻咽  
喉科領域感染症に対する garenoxacin の臨床  
効果と組織移行性試験。日本化学療法学会雑  
誌 55(S-1): 194~205, 2007

## Mutant prevention concentrations of garenoxacin against *Streptococcus pneumoniae* isolates from otorhinolaryngological infections

KENJI SUZUKI<sup>1)</sup>, YUICHI KURONO<sup>2)</sup>, TOSHIMITSU KOBAYASHI<sup>3)</sup>,  
TADAO NISHIMURA<sup>4)</sup>, SHUNKICHI BABA<sup>4)</sup>, YASUAKI HARABUCHI<sup>5)</sup>,  
TOSHIYUKI FUJISAWA<sup>1)</sup>, NOBORU YAMANAKA<sup>6)</sup>, KIMIKO UBUKATA<sup>7)</sup> and  
FUMIAKI IKEDA<sup>8)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Otolaryngology, the Second Hospital,  
Fujita Health University

<sup>2)</sup> Department of Otolaryngology, Kagoshima University

<sup>3)</sup> Department of Otolaryngology, Tohoku University

<sup>4)</sup> The Japan Society for Infectious Diseases in Otolaryngology

<sup>5)</sup> Department of Otolaryngology, Asahikawa Medical College

<sup>6)</sup> Department of Otolaryngology, Wakayama Medical University

<sup>7)</sup> Infectious Information Laboratory, Kitasato Institute for Life Science

<sup>8)</sup> Chemotherapeutic Laboratory, Mitsubishi Chemical Medience

The minimum inhibitory concentrations (MICs) and the mutant prevention concentrations (MPCs) of garenoxacin (GRNX), were compared to those of levofloxacin (LVFX), and moxifloxacin (MFLX) against 78 *Streptococcus pneumoniae* isolates from otorhinolaryngological infections in Japan during the period January 2007 to June 2007.

The MIC and MPC for 90% of the isolates (MIC<sub>90</sub> and MPC<sub>90</sub>) of GRNX were 0.06 and 0.12 µg/mL, respectively, and were the lower values than LVFX and MFLX MIC<sub>90</sub>s and MPC<sub>90</sub>s. The ratios of MPC/MIC of GRNX were the lower values than those of LVFX and MFLX.