

【原著・臨床】

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 の臨床効果河野 茂¹⁾・小林 宏行²⁾・馬場 駿吉³⁾・高畑 正裕⁴⁾¹⁾ 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学講座先進感染制御学分野*²⁾ 杏林大学名誉教授³⁾ 名古屋市立大学名誉教授⁴⁾ 富山化学工業株式会社総合研究所

(平成 19 年 6 月 13 日受付・平成 19 年 7 月 26 日受理)

新規な経口デスフルオロキノロン系抗菌薬である garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) の呼吸器感染症および耳鼻咽喉科領域感染症を対象とした臨床試験 (8 試験) から, *Streptococcus pneumoniae* を原因菌とする症例を対象として, 原因菌の各種抗菌薬に対する感受性を測定し, 多剤耐性肺炎球菌の同定, penicillin binding protein (PBP) 遺伝子変異およびマクロライド耐性遺伝子の解析を行い, *S. pneumoniae* の耐性別に臨床効果を検討した。GRNX が投与された症例から原因菌として 130 株の *S. pneumoniae* が分離され, このうち penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) が 20.8% (27/130 株) および penicillin-intermediate resistant *S. pneumoniae* (PISP) が 26.2% (34/130 株) と判定された。各種抗菌薬に対する耐性を検討するために, 106 株について再度感受性を測定した。*S. pneumoniae* に対する各種抗菌薬の MIC₉₀ は, GRNX 0.125 μg/mL, levofloxacin 2 μg/mL, gatifloxacin 0.5 μg/mL, moxifloxacin 0.25 μg/mL, cefuroxime 8 μg/mL, erythromycin >128 μg/mL, azithromycin >128 μg/mL, telithromycin 0.25 μg/mL, tetracycline 64 μg/mL および sulfamethoxazole-trimethoprim (ST) 2 μg/mL であり, GRNX は測定した薬剤のなかで最も強い抗菌活性を示した。各抗菌薬に対する耐性菌の頻度はキノロン耐性 2.8% (3/106 株), β-ラクタム耐性 44.3% (47/106 株), マクロライド耐性 79.2% (84/106 株), テトラサイクリン耐性 80.2% (85/106 株) および ST 耐性 9.4% (10/106 株) であり, 2 薬剤以上の多剤耐性菌は 78.3% (83/106 株) であった。GRNX の投与の有無にかかわらず, 臨床試験から分離されたすべての PRSP および PISP 72 株における PBP 遺伝子変異では *pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* 変異が 39 株と最も多く, マクロライド耐性遺伝子では *ermB* が 33 株と最も多く占めていた。GRNX は, 肺炎球菌感染症全体に対する臨床的有効率は 96.2% (102/106 例) であったが, 多剤耐性肺炎球菌に対する有効率が 96.4% (80/83 例), 菌消失率が 100% (81/81 株) と高い臨床効果であった。

Key words: garenoxacin, des-fluoro(6)-quinolone, multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae*

Garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) は富山化学工業株式会社で創製された新規な経口デスフルオロキノロン (des-F(6)-quinolone) 系抗菌薬である。GRNX は, 非臨床試験の結果, 多剤耐性肺炎球菌を含む呼吸器感染症の原因菌に対して, 強い抗菌活性を示した¹⁾。

Streptococcus pneumoniae は呼吸器感染症や耳鼻咽喉科領域感染症の主たる原因菌である。*S. pneumoniae* については世界の約 25% の株がペニシリン耐性であり, 中等度または高度耐性化率は米国で 15~30% で, 世界の他の国, 特にスペイン, 日本, イスラエル, 南アフリカおよび東ヨーロッパではさらに高く, ペニシリン耐性株の多くは他の抗菌薬に対しても耐性であると報告されている²⁾。また, マクロライド系抗菌薬やテ

トラサイクリン系抗菌薬に対する耐性化率は 70~90% という報告がなされている^{3,4)}。フルオロキノロン系抗菌薬に対する耐性化率は現時点で高くないが, 外国ではフルオロキノロン耐性菌の増加が報告されており⁵⁾, 今後, 日本でも増加する可能性も予測される。

今回, 日本で実施した GRNX の臨床試験から分離された *S. pneumoniae* について各種抗菌薬に対する耐性について検討し, そのうち多剤耐性肺炎球菌と判定された菌株に対する本薬の臨床効果, 抗菌活性および耐性と遺伝子変異との関係を検討したので報告する。

*長崎県長崎市坂本 1-7-1

I. 対象と方法

1. 対象

2001年から2005年に日本で呼吸器感染症および耳鼻咽喉科領域感染症を対象に実施したGRNXの臨床開発8試験から、原因菌として*S. pneumoniae*が分離された症例を検討対象とした(Table 1)。対象症例は肺炎、慢性呼吸器病変の二次感染、急性気管支炎、副鼻腔炎、咽頭・喉頭炎、扁桃炎および中耳炎であった。臨床第II相試験(Table 1, No.1)でのGRNXの用量は200または400 mg 1日1回で、投与期間は7~14日間であった。また、臨床第III相試験での用量は400 mg 1日1回で、投与期間は7~10日間であった。臨床効果判定基準は肺炎、慢性呼吸器病変の二次感染および急性気管支炎については、日本化学療法学会の「呼吸器感染症における新規抗微生物の臨床評価法(案)」⁶⁾、副鼻腔炎、咽頭・喉頭炎、扁桃炎および中耳炎については、耳鼻咽喉科領域感染症の臨床効果判定基準⁷⁾であった。細菌学的効果判定基準は、日本化学療法学会の微生物学的効果判定基準⁶⁾であった。各試験における臨床効果の判定は治験薬投与終了時または中止時(以下、投与終了時)および投与終了7日後に実施したが、本報告での臨床的有効性および細菌学的効果(菌消失率)は治験薬投与終了時の判定結果を用いた。

2. 使用菌株

GRNXが投与された症例から原因菌として130株の*S. pneumoniae*が分離された。そのうち、富山化学工業株式会社総合研究所に菌株を送付し培養が可能であった106株について各種抗菌薬の抗菌活性を再測定した。また、GRNXの臨床試験で比較対照薬のlevofloxacin(LVFX)群を含む投与前、投与中および投与終了後に収集されたすべての菌株のうちpenicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) および penicillin-intermediate resistant *S. pneumoniae* (PISP) と判定された72株について遺伝子変異の有無を検討した。

3. 使用薬剤および調製方法

原因菌106株について多剤耐性肺炎球菌を同定するために再度抗菌活性の測定を行った。使用薬剤は、GRNX(富山化学工業)および各種系統別抗菌薬の代表としてLVFX(LKT Laboratories), gatifloxacin(GFLX:杏林製薬, 市販品より抽出), moxifloxacin(MFLX:バイエル薬品, 市販品より抽出), cefuroxime(CXM:Sigma), penicillin G(PCG:萬有製薬), erythromycin(EM:大日本住友製薬), azithromycin(AZM:LKT Laboratories), telithromycin(TEL:サノフィン・アベンティス, 市販品より抽出), tetracycline(TC:Sigma), sulfamethoxazole(SMX:Sigma)およびtrimethoprim(TMP:Sigma)を選択した。これらの抗菌薬に対する感受性結果を基に、多剤耐性肺炎球菌の分離頻度、抗菌薬間での抗菌活性を検討した。

Table 1. Clinical studies

No.	Title of studies
1	Clinical phase II study of oral garenoxacin in patients with respiratory tract infection — open-label, multi-center, non-comparative —
2	Clinical phase III comparative study of oral garenoxacin versus levofloxacin in patients with bacterial pneumonia
3	Clinical phase III study of oral garenoxacin in patients with secondary infection of chronic respiratory disease — PK/PD study —
4	Penetration into sputum study of garenoxacin in patients with secondary infection of chronic respiratory disease
5	Clinical phase III study of oral garenoxacin in patients with community-acquired acute respiratory infection
6	Clinical phase III open-labeled study of oral garenoxacin in patients with respiratory tract infection by penicillin-resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i>
7	Clinical phase III open-labeled study of oral garenoxacin in patients with otorhinolaryngological infection
8	Clinical phase III open-labeled study of oral garenoxacin in patients with otitis media

また、遺伝子解析を行ったPRSPおよびPISP 72株について、薬剤耐性と遺伝子変異との関係を検討するために、GRNX, キノロン系抗菌薬LVFX, マクロライド系抗菌薬EMおよびTELならびにβ-ラクタム系抗菌薬 cefditoren (CDTR: 明治製薬, 市販品より抽出)の抗菌活性を測定した。

LVFX, GFLX, MFLX および SMX の溶解には0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を、AZMの溶解にはメタノールを、TEL および TC の溶解には0.1 mol/L 塩酸を、GRNX, EM, CXM, PCG, TMP および CDTR の溶解には滅菌蒸留水を使用した。各抗菌薬とも用時溶解後、感受性測定培地で希釈し所定濃度とした。また、TMP および SMX は合剤であるため、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の微量液体希釈法⁸⁾に準じ、1:19の濃度比になるように混合し、抗菌活性測定に供した。

4. 抗菌活性の測定方法

原因菌*S. pneumoniae* 130株について株式会社三菱化学ビーシーエルで同定し、測定したPCGのMICを基にPRSP, PISP および penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP)に分類した。治験実施施設からの原因菌未送付、送付されたが菌の生育がみられなかったなどの理由で、PCGの抗菌活性が測定できなかった11株については、耐性不明とした。また、富山化学工業株式会社総合研究所において*S. pneumoniae* 106株についてCLSIの微量液体希釈法⁸⁾に準じて各種抗菌薬に対する抗菌活性を改めて一括で測定した。前培養培地には5% 綿羊脱繊維血液(日本バイオテスト研究所)添加 Mueller-Hinton agar

(MHA: Difco) を、感受性測定培地には5% 馬溶血液(日本バイオテスト研究所) 添加 cation-adjusted MHB (CAMHB: CaCl₂ 溶液および MgCl₂ 溶液をそれぞれ 25 μg/mL および 12.5 μg/mL になるように添加) を用いた。35°C で 18~20 時間培養した 5% 綿羊脱繊維血液添加 MHA 上の被験菌体を滅菌生理食塩液で 0.5 McFarland 相当 (約 1×10⁸ CFU/mL) に懸濁した。これを滅菌生理食塩液で 10 倍に希釈 (約 1×10⁷ CFU/mL) し接種菌液とした。この菌液を、薬剤含有感受性測定培地に 5 μL 接種し、35°C で 20~21 時間培養後、被験菌の発育が認められない最小濃度を MIC とした。

5. 各薬剤の耐性基準

各抗菌薬に対する耐性区分は、以下の耐性基準に基づいて行った。

PISP および PRSP は、PCG の MIC がそれぞれ 0.125~1 μg/mL および 2 μg/mL 以上とした⁹⁾。各薬剤の耐性基準は CLSI に基づき、LVFX: ≥8 μg/mL, GFLX: ≥4 μg/mL, MFLX: ≥4 μg/mL, CXM: ≥2 μg/mL, EM: ≥1 μg/mL, AZM: ≥2 μg/mL, TEL: ≥4 μg/mL, TC: ≥8 μg/mL, TMP/SMX: ≥4/76 μg/mL とした⁹⁾。CDTR の耐性基準は ≥0.5 μg/mL とした¹⁰⁾。LVFX, CXM および EM 耐性菌をそれぞれキノロン耐性菌、β-ラクタム耐性菌およびマクロライド耐性菌とした。

6. 遺伝子解析

(1) 操作方法

ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) 遺伝子検出試薬 ver. 2.0 (湧永製薬) を用い、以下の操作手順に従い、富山化学工業株式会社総合研究所で PBP 遺伝子およびマクロライド耐性遺伝子に関する検討を行った。

(2) 鋳型 DNA の調製

被験菌株を 5% 綿羊脱繊維血液加 MHA にて 37°C 一夜培養後、コロニーを釣菌し、あらかじめ分注したキット添付の溶菌液 30 μL と混合した。この溶菌液をサーマルサイクラーにて [60°C 10 分, 94°C 5 分] の設定で加熱し、鋳型 DNA とした。

(3) PCR ミックス A~C の調製

キット添付のプライマーミックス A~C のそれぞれに Tth DNA polymerase 20 U (10 units/μL を 2 μL), 10× Reaction buffer (PCR buffer) 50 μL および滅菌超純水 348 μL を加え、PCR ミックス A~C を調製した。各調製液をそれぞれ 30 μL ずつ分注し、PCR 反応に使用した。調製した PCR ミックス A~C は、-20°C 以下で凍結保存し、4 日以内に PCR 反応に使用した。なお、使用時には氷上で溶解して使用した。

(4) PCR 反応

鋳型 DNA 2 μL ずつを PCR ミックス A~C の各チューブに添加後、[94°C 15 秒, 53°C 15 秒, 72°C 15 秒]×30 サイクルの設定で PCR 反応を行った。なお、陽

性コントロールとして陽性標準液 2 μL ずつを PCR ミックス A~C のそれぞれに加え、同様の反応を行った。

(5) DNA の検出

PCR 反応後の各反応チューブに電気泳動用色素 10 μL を添加混合した。この混合液 10 μL を 3% アガロースプレキャストゲルで電気泳動を行った。泳動終了後、ゲルを EtBr 溶液 (0.5 μg/mL) に浸し、滅菌超純水で洗浄した。その後、TRANSILLUMINATOR TM-36 を用いて DNA 泳動像を視覚化し、写真撮影した。

(6) 結果の判定

ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) 遺伝子検出試薬 ver.2.0 に添付の泳動図および陽性コントロールの PCR 増幅物のバンドと比較して、各遺伝子増幅物の有無を確認した。判定基準は各 DNA フラグメント増幅物の有無から、各株について以下のように判定した。

電気泳動で *lytA* のバンドが確認された株は、肺炎球菌であると判定した。PBP 遺伝子について *pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b* のバンドが確認された株は、それぞれ PBP1A, PBP2X, PBP2B の構造遺伝子が野生型である株と判定し、*pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b* の増幅が認められない株は PBP1A, PBP2X, PBP2B のそれぞれの構造遺伝子に変異を有する株と判定した。マクロライド耐性遺伝子について、*mefA*, *ermB* のバンドが確認された株は、それぞれ *mefA* 遺伝子、*ermB* 遺伝子を有するマクロライド耐性菌であると判定した。

7. 臨床効果の評価

臨床効果および原因菌の消長については、Table 1 に示した各臨床試験で評価された結果を用いて統合解析した。

II. 結 果

1. PRSP および PISP の分離頻度

GRNX の臨床試験で、GRNX が投与された症例から原因菌として 130 株の *S. pneumoniae* が分離され、その内訳は PRSP 27 株、PISP 34 株、PSSP 58 株および耐性不明 11 株であった (Table 2)。試験ごとの耐性肺炎球菌の分離株数は、「ペニシリン耐性肺炎球菌を起炎菌とする呼吸器感染症を対象とした経口薬 garenoxacin の第 III 相一般臨床試験」では PRSP 9 株および PISP 16 株、「中耳炎を対象とした経口薬 garenoxacin の臨床第 III 相オープンラベル試験」では PRSP 4 株および PISP 1 株、その他の臨床 6 試験では PRSP 14 株および PISP 17 株であった。分離された *S. pneumoniae* 全体での PRSP および PISP の分離頻度は、それぞれ 20.8% (27/130 株) および 26.2% (34/130 株) であった。疾患別の PRSP の分離株数および分離頻度は、肺炎が 17 株 (23.3%)、慢性呼吸器病変の二次感染が 4 株 (12.9%)、急性気管支炎が 1 株 (16.7%)、耳鼻咽喉科領域感染症が 5 株 (25.0%) であり、肺炎および耳鼻咽喉科領域感染症で高い頻度であった。

Table 2. PRSP and PISP incidence

Organisms	Number of isolates (The incidence %)				Incidence (%)
	Pneumonia	Secondary infection of chronic respiratory disease	Acute bronchitis	Otorhinolaryngeal infection	
PRSP	17 (23.3)	4 (12.9)	1 (16.7)	5 (25.0)	27 (20.8)
PISP	19 (26.0)	9 (29.0)	3 (50.0)	3 (15.0)	34 (26.2)
PSSP	30 (41.1)	14 (45.2)	2 (33.3)	12 (60.0)	58 (44.6)
Unknown	7 (9.6)	4 (12.9)	0 (0)	0 (0)	11 (8.5)
Total	73 (100)	31 (100)	6 (100)	20 (100)	130 (100)

Table 3. Susceptibility to various drugs

Drugs	MIC range ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Number of resistant strains (incidence %, N = 106)
GRNX	0.016 - 0.5	0.125	0 (0)
LVFX	0.5 - 16	2	3 (2.8)
GFLX	0.125 - 8	0.5	2 (1.9)
MFLX	0.0313 - 4	0.25	1 (0.9)
PCG	0.008 - 4	2	23 (21.7)
CXM	0.031 - 32	8	47 (44.3)
EM	0.0313 - >128	>128	84 (79.2)
AZM	0.031 - >128	>128	81 (76.4)
TEL	0.008 - 1	0.25	0 (0)
TC	0.125 - 128	64	85 (80.2)
ST	0.125 - 8	2	10 (9.4)
Resistant strains against ≥ 2 drugs excluding PCG			83 (78.3)
Resistant strains against β -lactam + quinolone			1 (0.9)
Resistant strains against β -lactam + macrolide			43 (40.6)
Resistant strains against β -lactam + macrolide + quinolone			1 (0.9)

2. 各種抗菌薬の感受性

抗菌活性を再測定した 106 株の *S. pneumoniae* に対する各種抗菌薬に対する MIC range, MIC₉₀ および耐性菌の分離頻度を Table 3 に示した。

GRNX の MIC₉₀ は 0.125 $\mu\text{g/mL}$ であり、測定した抗菌薬のなかで最も強い抗菌活性を示した。GRNX に対する耐性菌はみられなかったが、フルオロキノロン系抗菌薬の LVFX, GFLX および MFLX に対する耐性菌の分離頻度は、それぞれ 2.8% (3/106 株), 1.9% (2/106 株) および 0.9% (1/106 株) であった。 β -ラクタム系抗菌薬の CXM, マクロライド系抗菌薬の EM および AZM に対する耐性菌の分離頻度は、それぞれ 44.3% (47/106 株), 79.2% (84/106 株) および 76.4% (81/106 株) であった。また、TEL, TC および ST に対する耐性菌の分離頻度は、それぞれ 0% (0/106 株), 80.2% (85/106 株) および 9.4% (10/106 株) であった。さらに、2 薬剤以上の抗菌薬に対する多剤耐性肺炎球菌の分離頻度は 78.3% (83/106 株) であり、そのうち β -ラクタム系抗菌薬とマクロライド系抗菌薬の 2 薬剤に耐性を有する菌の分離頻度は 40.6% (43/106 株) で、 β -ラクタム系抗菌薬とフルオロ

キノロン系抗菌薬およびマクロライド系抗菌薬の 3 薬剤に耐性を有する菌の分離頻度は 0.9% (1/106 株) であった。

3. PBP 遺伝子変異およびマクロライド耐性遺伝子解析

GRNX の臨床試験で分離されたすべての PRSP および PISP 72 株の PBP 遺伝子変異およびマクロライド耐性遺伝子の解析結果を Table 4 に示した。PBP 遺伝子変異解析においては、*pbp1a+pbp2x+pbp2b* 変異の頻度が 54.2% (39/72 株) と最も多かった。マクロライド耐性遺伝子解析においては、*ermB* 遺伝子の頻度が 45.8% (33/72 株) と最も多かった。

PBP 遺伝子変異と薬剤感受性との関係を Table 5 に示した。 β -ラクタム系抗菌薬 CDTR に対する耐性菌の割合は、*pbp2x* 変異保有株 27% (3/11 株), *pbp1a+pbp2x* 変異保有株 83% (10/12 株), *pbp1a+pbp2x+pbp2b* 変異保有株 85% (33/39 株) であり、保有遺伝子変異数が増加するに従い、耐性菌の割合および MIC₉₀ の上昇がみられた。マクロライド耐性遺伝子と薬剤感受性の関係では、*mefA* または *ermB* 遺伝子による EM 耐性菌の割合

Table 4. PBP gene mutation and classification of macrolide-resistant genes

PRSP and PISP (N = 72)			
PBP gene mutation analysis		Macrolide-resistant gene analysis	
PBP gene mutation	Number of isolates (%)	Macrolide-resistant gene	Number of isolates (%)
Normal	0 (0)	None	7 (9.7)
<i>pbp1a</i>	0 (0)	<i>mefA</i>	29 (40.3)
<i>pbp2x</i>	11 (15.3)	<i>ermB</i>	33 (45.8)
<i>pbp2b</i>	3 (4.2)	<i>mefA</i> + <i>ermB</i>	3 (4.2)
<i>pbp1a</i> + <i>pbp2x</i>	12 (16.7)		
<i>pbp1a</i> + <i>pbp2b</i>	0 (0)		
<i>pbp2x</i> + <i>pbp2b</i>	7 (9.7)		
<i>pbp1a</i> + <i>pbp2x</i> + <i>pbp2b</i>	39 (54.2)		

Table 5. Relationship between PBP gene mutation in *S. pneumoniae* and susceptibility to drugs

PBP gene mutation	Number of isolates	Drug	MIC range ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Number of resistant isolates
<i>pbp2x</i>	11	GRNX	$\leq 0.06 - 0.125$	≤ 0.06	0
		LVFX	1 - 2	2	0
		EM	$\leq 0.06 - >128$	>128	7
		TEL	$\leq 0.06 - 0.5$	0.5	0
		CDTR	0.125 - 0.5	0.5	3
<i>pbp2b</i>	3	GRNX	≤ 0.06	—	0
		LVFX	1	—	0
		EM	1 - >128	—	3
		TEL	$\leq 0.06 - 0.125$	—	0
		CDTR	≤ 0.06	—	0
<i>pbp1a</i> + <i>pbp2x</i>	12	GRNX	≤ 0.06	≤ 0.06	0
		LVFX	0.5 - 1	1	0
		EM	$\leq 0.06 - >128$	>128	11
		TEL	$\leq 0.06 - 0.125$	0.125	0
		CDTR	0.25 - 1	1	10
<i>pbp2x</i> + <i>pbp2b</i>	7	GRNX	$\leq 0.06 - 0.5$	—	0
		LVFX	0.5 - 8	—	1
		EM	0.125 - >128	—	6
		TEL	$\leq 0.06 - 0.25$	—	0
		CDTR	0.125 - 0.5	—	2
<i>pbp1a</i> + <i>pbp2x</i> + <i>pbp2b</i>	39	GRNX	≤ 0.06	≤ 0.06	0
		LVFX	0.5 - 2	1	0
		EM	$\leq 0.06 - >128$	>128	38
		TEL	$\leq 0.06 - 1$	0.25	0
		CDTR	0.125 - 2	4	33

は100%であり、特に *ermB* 遺伝子保有株での MIC₉₀ は $>128 \mu\text{g}/\text{mL}$ と高値を示した (Table 6)。また、TEL では耐性菌はみられなかったが、*mefA* または *ermB* 遺伝子保有株で MIC の上昇傾向がみられた。GRNX は、これらの遺伝子変異株いずれに対しても MIC の上昇がみられなかった。

遺伝子解析を行った 72 株のうち、CDTR およびマクロライド系抗菌薬に耐性である多剤耐性肺炎球菌は 44 株あり、そのうち *pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* の変異保有株は 32 株を占め、すべての株は *mefA* または *ermB* 遺伝子のいずれかのマクロライド耐性遺伝子を有していた。また、

キノロン耐性菌の 1 株は *pbp2x* + *pbp2b* の変異と *ermB* の耐性遺伝子を有していた。

4. 肺炎球菌感染症に対する臨床効果

耐性肺炎球菌感染症に対する GRNX の臨床的有効率および原因菌の消失率を薬剤耐性別に示した (Table 7)。肺炎球菌感染症に対する GRNX の臨床的有効率は全体で 96.2% (102/106 例) であり、また、肺炎球菌感染症に対する菌の消失率は 100% (104/104 株) であった。抗菌薬別の耐性肺炎球菌感染症に対する GRNX の有効率は、キノロン耐性菌で 3/3 例、 β -ラクタム耐性菌で 93.6% (44/47 例)、マクロライド耐性菌で 96.4% (81/84 例) で

Table 6. Relationship between macrolide-resistant genes in *S. pneumoniae* and susceptibility to drugs

Macrolide-resistant gene	Number of isolates	Drug	MIC range ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Number of resistant isolates
None	7	GRNX	$\leq 0.06 - 0.125$	—	0
		LVFX	0.5 - 2	—	0
		EM	$\leq 0.06 - 0.125$	—	0
		TEL	≤ 0.06	—	0
		CDTR	0.125 - 1	—	4
<i>mefA</i>	29	GRNX	≤ 0.06	≤ 0.06	0
		LVFX	0.5 - 2	1	0
		EM	1 - 8	8	29
		TEL	$\leq 0.06 - 0.5$	0.125	0
		CDTR	$\leq 0.06 - 2$	1	25
<i>ermB</i>	33	GRNX	$\leq 0.06 - 0.5$	≤ 0.06	0
		LVFX	0.5 - 8	1	1
		EM	2 - >128	>128	33
		TEL	$\leq 0.06 - 1$	0.25	0
		CDTR	$\leq 0.06 - 1$	1	17
<i>mefA</i> + <i>ermB</i>	3	GRNX	≤ 0.06	—	0
		LVFX	0.5 - 1	—	0
		EM	>128	—	3
		TEL	0.125 - 0.5	—	0
		CDTR	0.125 - 2	—	2

あった。2薬剤以上の抗菌薬に対する多剤耐性菌は83株で、その有効率は96.4% (80/83例)と広範囲の耐性菌に対し高い有効率を示しており、 β -ラクタム系薬とマクロライド系薬の両方に耐性を有する菌に対しては93.0% (40/43株)であった。また、多剤耐性肺炎球菌に対する菌消失率は100% (81/81株)であった。

III. 考 察

既存の経口フルオロキノロン系抗菌薬は、呼吸器感染症を含む各種感染症に対して繁用されている。そのグラム陽性菌に対する抗菌活性は改善されてきているものの耐性菌、特に呼吸器感染症および耳鼻咽喉科領域感染症の主要な原因菌である *S. pneumoniae* の薬剤耐性が大きな問題となっている。また、既存薬では、臨床用量の不足から着実な有効性を得るための薬物動態は十分なものではなく、耐性菌や中等症以上の感染症に対する治療が課題となっている。

GRNXは多剤耐性肺炎球菌を含む呼吸器感染症および耳鼻咽喉科領域感染症の原因菌に対して強い抗菌活性を示し、かつ、優れた吸収率と高い血漿中濃度 (Cmax, AUC) を有していることから、多剤耐性肺炎球菌による感染症に対して有用性が期待される。そこで、GRNXの多剤耐性肺炎球菌に対する臨床的評価を行うことを目的として、本薬の全臨床試験で得られた *S. pneumoniae* を原因菌とする症例を対象に、多剤耐性肺炎球菌に対する抗菌活性を他の抗菌薬と比較し、また、GRNXの臨床効果に及ぼす影響について検討した。

今回実施したGRNX投与試験の原因菌と判定された

肺炎球菌のうちPRSPおよびPISPに分類された合算割合は47.0% (61/130株)であり、日本におけるペニシリン耐性 *S. pneumoniae* の分離頻度40~60%^{5,11)}とほぼ同じであった。キノロン耐性 *S. pneumoniae* の分離頻度は、今回の試験では2.8% (3/106株)であり、生方が1~2%と報告している成績¹²⁾とほぼ同じであった。また、マクロライド耐性菌およびテトラサイクリン耐性菌の分離頻度は、それぞれ79.2% (84/106株)および80.2% (85/106株)であったが、中野ら¹³⁾が報告しているマクロライド耐性 *S. pneumoniae* の分離頻度77.9%、Inoueら¹⁴⁾が報告しているテトラサイクリン耐性 *S. pneumoniae* の分離頻度84.1%とほぼ同じ結果であった。これらのことより、今回、GRNXの臨床試験で得られた *S. pneumoniae* の耐性別の分離頻度は、医療現場の原因菌の背景を反映しているものと思われる。

S. pneumoniae に対するフルオロキノロン系抗菌薬とGRNXの相違点は、LVFX, GFLXおよびMFLXに対する耐性菌の分離頻度が、それぞれ2.8% (3/106株)、1.9% (2/106株)および0.9% (1/106株)である一方、GRNXでは耐性菌がみられなかったことにある (Table 3)。JonesらはSENTRYサーベイランスで、1999年から2003年に分離された *S. pneumoniae* に対する抗菌活性を検討し、すべての測定菌株に対してはGRNX, LVFX, GFLXおよびMFLXはいずれも1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で95%以上の発育を阻止したが、ciprofloxacin (CPF)耐性 *S. pneumoniae* に対して、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度での発育阻止率はGRNX 97.8%, LVFX 37.4%, GFLX

Table 7. Clinical response to resistant *S. pneumoniae*

Resistance	Clinical efficacy (%)	Bacterial eradication rate (%)
Quinolone-resistant	3/3	3/3
β -lactam-resistant	93.6 (44/47)	100 (47/47)
Macrolide-resistant	96.4 (81/84)	100 (82/82)
Tetracycline-resistant	95.3 (81/85)	100 (83/83)
Sulfamethoxazole-trimethoprim-resistant	90.0 (9/10)	100 (10/10)
Multidrug-resistant	96.4 (80/83)	100 (81/81)
β -lactam and macrolide-resistant	93.0 (40/43)	100 (43/43)
All <i>S. pneumoniae</i>	96.2 (102/106)	100 (104/104)

76.1% および MFLX 80.7% であり, GRNX が最も高い阻止率と強い抗菌活性を示したことを報告している (15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease, Copenhagen 2005)。

GRNX は日本と外国で同時期に臨床試験を行っており, 両地域で分離収集された PISP および PRSP の PBP 遺伝子変異ならびにマクロライド耐性遺伝子の解析を行い耐性パターンの相違について検討した。日本の臨床試験から分離された PBP 遺伝子変異別の頻度は, *pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* 変異で 54.2% (39/72 株) と最も多く, 次に *pbp1a* + *pbp2x* 変異が 16.7% (12/72 株), *pbp2x* 変異が 15.3% (11/72 株), *pbp2x* + *pbp2b* 変異が 9.7% (7/72 株) および *pbp2b* 変異が 4.2% (3/72 株) であった (Table 4)。これは, 宮本ら¹⁵⁾が *pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* 変異 33.3%, *pbp1a* + *pbp2x* 変異 6.2%, *pbp2x* 変異 28.4%, *pbp2x* + *pbp2b* 変異 22.2% および *pbp2b* 変異 1.2% と報告している成績とおおむね類似していた。マクロライド耐性遺伝子については, 今回の GRNX の臨床試験では *ermB* 遺伝子保有株の頻度が 45.8% と最も多く, *mefA* および *ermB* + *mefA* 遺伝子の頻度はそれぞれ 40.3% および 4.2% であった (Table 4)。井上ら¹⁶⁾は *ermB*, *mefA* および *ermB* + *mefA* 遺伝子保有株の頻度をそれぞれ 62.4%, 34.1% および 2.9% と報告しており, *ermB* 遺伝子の割合は若干異なっていたが, おおむね類似した傾向にあった。

一方, 外国で実施された GRNX の臨床試験で収集された PRSP および PISP の 54 株において, PBP 遺伝子は *pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* 変異が 88.9% (48/54 株) と最も多く, 日本の頻度 54.2% (39/72 株) より高い割合であったが, 全体のプロファイルは類似していた。マクロライド耐性遺伝子については, *mefA* 遺伝子保有株が日本 40.3% (29/72 株) および外国 40.7% (22/54 株), *ermB* 遺伝子保有株が日本 45.8% (33/72 株) および外国 14.8% (8/54 株) で *ermB* 遺伝子保有株の割合が日本で高かったが, 両地域での耐性パターンは類似していた。以上, 日本および外国の原因菌の PBP 遺伝子変異, マクロライド耐性遺伝子パターンと GRNX に対する菌の薬剤感受性も類似していることから, GRNX の外国での臨床試験成績と日本の臨床試験成績を比較することが可能であると思われ

た。

多剤耐性肺炎球菌による感染症に対する GRNX の有効率および菌消失率は, それぞれ 96.4% (80/83 例) および 100% (81/81 株) であり多様なタイプの耐性菌に対しても高い効果を示した。

今回の臨床試験結果では, GRNX は臨床分離肺炎球菌に対して強い抗菌活性を示し, 遺伝子解析と薬剤感受性試験の結果から, GRNX の耐性肺炎球菌が認められず多様なタイプの肺炎球菌に対しても良好な抗菌活性を示していた。また, 臨床試験で分離された *S. pneumoniae* の MIC₉₀ 値は 0.125 μ g/mL であり, GRNX の蛋白結合率を加味した感染症患者投与時の fAUC₀₋₂₄/MIC₉₀ は 244 となり, GRNX の有効性の指標である fAUC₀₋₂₄/MIC 50 をはるかに上回っていた。また, *S. pneumoniae* に対する mutant prevention concentration (MPC) は 0.64~1 μ g/mL であり (Blondeau ら: 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease, Copenhagen 2005), 臨床試験で得られた MIC₉₀ 0.125 μ g/mL の 5.1~8.0 倍であること, GRNX の臨床第 I 相試験における 400 mg 反復投与時の血漿中トラフ濃度が 1.92 μ g/mL で MPC の 1.9~3.0 倍であることから, GRNX は耐性を誘導しがたいことが期待される。

成人市中肺炎診療ガイドラインでは *S. pneumoniae* による感染が疑われる場合に, レスピラトリーキノロン系抗菌薬が推奨されている¹⁷⁾。GRNX は, 従来のレスピラトリーキノロン系抗菌薬に比べ *S. pneumoniae* に対する抗菌活性が強く, 有効性の指標である AUC/MIC も大きく, また, 耐性を誘導しがたいことが明らかとなった。

以上, GRNX は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しても高い有効性を示していたことから, 有用な薬剤となりえるものと期待される。

謝 辞

GRNX 治験の実施に際し, ご参加いただいた施設の治験責任医師の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) Takahata M, Mitsuyama J, Yamashiro Y, Yonezawa M, Araki H, Todo Y, et al: *In vitro* and *in vivo* antimicro-

- icrobial activities of T-3811 ME, a novel des-F(6)-quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1077-84
- 2) 福島雅典 総監修, 6節 呼吸器疾患 73章 肺炎/肺炎球菌性肺炎。メルクマニュアル, 第17版。日本語版, 日経BP社, 東京, 1999
 - 3) 宮下修行, 深野浩史, 松島敏春: 市中肺炎の診療。薬局 2004; 5: 11-9
 - 4) 朝野和典: 耐性菌抑制のためのキノロン薬, テリスロマイシンの投与適応。治療 2005; 87(Suppl): 1283-6
 - 5) 前田光一, 笠原 敬, 三笠桂一: 呼吸器感染症の診療と治療: 3) 細菌感染症 1. 肺炎球菌。日本胸部臨床 2004; 63(11 Suppl): S112-6
 - 6) 日本化学療法学会抗菌薬臨床評価制定委員会呼吸器系委員会報告: 呼吸器感染症における新規抗微生物薬の臨床評価法(案)。日化療会誌 1997; 45: 762-78
 - 7) 馬場駿吉, 川端五十鈴, 川村正三, 板橋隆嗣, 椿 茂和, 渡辺 洋, 他: 耳鼻咽喉科領域感染症における Panipenem/betamipron (CS-976) の基礎的, 臨床的検討。耳鼻と臨床 1992; 38: 37-55
 - 8) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard-seventh edition. M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa., 2006
 - 9) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement. M 100-S16. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa., 2006; p.134-6
 - 10) Purdue Pharmaceutical Products L.P. Spectracef tablets (cefditoren pivoxil) Package Insert Text/OT 00617B300780-0B-001
 - 11) 杉田香代子, 上遠野保裕, 内田 博, 小林芳夫: 肺炎球菌に対する各種抗菌薬の抗菌力。日化療会誌 2003; 51: 13-7
 - 12) 生方公子: 主として市中感染で問題となる耐性菌・2肺炎球菌・インフルエンザ菌(基礎編)。臨床検査 2006; 50: 1051-6
 - 13) 中野竜一, 井上松久: 耐性菌の分子メカニズム 肺炎球菌の薬剤耐性機序。医学のあゆみ 2004; 209: 519-24
 - 14) Inoue M, Kaneko K, Akizawa K, Fujita S, Kaku M, Igari J, et al: Antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens in Japan during PROTEKT years 1-3(1999-2002). *J Infect Chemother* 2006; 12: 9-21
 - 15) 宮本仁志, 村瀬光春: *Streptococcus pneumoniae* における耐性遺伝子の解析。感染症学雑誌 2004; 78: 508-13
 - 16) 井上松久, 金子謙一, 中野竜一, 佐藤義則, 荒井 進: マクロライドおよびケトライド耐性肺炎球菌の分子解析による評価—Telithromycin の作用機序・耐性機序も含めて—。Jpn J Antibiot 2004; 57: 425-37
 - 17) 日本呼吸器学会呼吸器感染症に関するガイドライン作成委員会: 成人市中肺炎初期治療の基本フローチャート「呼吸器感染症に関するガイドライン」成人市中肺炎診療ガイドライン。日本呼吸器学会, 東京, 2005; p.4-5

Clinical response of garenoxacin against respiratory tract infection and otorhinolaryngological infection caused by multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae*

Shigeru Kohno¹⁾, Hiroyuki Kobayashi²⁾, Shunkichi Baba³⁾ and Masahiro Takahata⁴⁾

¹⁾ Division of Molecular and Clinical Microbiology, Department of Molecular Microbiology and Immunology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki, Japan

²⁾ Kyorin University School of Medicine

³⁾ Nagoya City University Medical School

⁴⁾ Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd.

Subjects with infection caused by *Streptococcus pneumoniae* were chosen from eight studies of garenoxacin mesilate hydrate (GRNX), a novel oral des-fluoroquinolone, for treatment against respiratory tract infection and otorhinolaryngological infection. Susceptibility to antimicrobial agents, gene analysis of penicillin binding protein (PBP) mutation and macrolide-resistant genes, and clinical response against multidrug-resistant *S. pneumoniae* were evaluated for subjects. In 130 *S. pneumoniae* isolates as causative organisms from subjects treated by GRNX, the incidence of penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) and penicillin-intermediate resistant *S. pneumoniae* (PISP) were 20.8% (27/130) and 26.2% (34/130). 106 *S. pneumoniae* susceptibility tests were redone to examine the degree of resistance to antimicrobial agents. MIC₉₀ values of antimicrobial agents against 106 *S. pneumoniae* were 0.125 µg/mL for GRNX, 2 µg/mL for levofloxacin, 0.5 µg/mL for gatifloxacin, 0.25 µg/mL for moxifloxacin, 8 µg/mL for cefuroxime, >128 µg/mL for erythromycin, >128 µg/mL for azithromycin, 0.25 µg/mL for telithromycin, 64 µg/mL for tetracycline and 2 µg/mL for sulfamethoxazole-trimethoprim (ST). Among these antimicrobial agents, GRNX showed the strongest activity. In 106 *S. pneumoniae* isolates, 2.8% (3/106) were quinolone-resistant, 44.3% (47/106) were β-lactam-resistant, 79.2% (84/106) were macrolide-resistant, 80.2% (85/106) were tetracycline-resistant, 9.4% (10/106) were ST resistant, and 78.3% (83/106) were multidrug-resistant. In the 72 isolates of PRSP and PISP isolated from all clinical studies in spite of GRNX treatment/notreatment, *pbp1a* + *pbp2x* + *pbp2b* mutation (39/72) regarding PBP and *ermB* presence (33/72) regarding the macrolide-resistant gene were observed most frequently. Against infections caused by multidrug-resistant *S. pneumoniae*, GRNX showed good clinical response as 96.4% (80/83) for clinical efficacy and 100% (81/81) for bacterial eradication.