

論文内容要旨

New Quinolone 系抗菌剤（以下 NQs）は抗菌スペクトルが広範囲で、かつ組織移行性が良好であるという特徴を有することから種々の感染症に対し汎用されており、これまでに抗菌活性または作用時間の異なる数種類の薬剤が開発されている。NQs の臨床使用の増大に伴い様々な相互作用が報告されるようになり、中でも金属カチオン含有製剤との相互作用に関しては、血中濃度低下に基づく感染症の悪化や治療期間の延長が問題点として挙げられている。このような臨床における相互作用の程度とその体内動態を迅速に把握するためには、NQs の簡便・迅速な測定法の開発が必要となる。従来の NQs の測定法は、生体試料の前処理に固相抽出法を用い、イオンペアー試薬を添加した移動相にて行われていたが、これらの測定法は抽出操作の煩雑さ、測定に時間を要すること、カラム洗浄などのメンテナンスが必要であること、また再現性が必ずしも良好ではないことなどの課題が残されていた。一方、測定系に抽出操作過程を組み込んだカラムスイッチング法はプレカラムと分析カラムを装着したものであり、前者は直接 HPLC に付した生体試料中の夾雑物の除去に、後者は測定対象化合物の分離といったそれぞれの役割を果たすことによりオンラインでの固相抽出が可能であり、生体試料の前処理操作が除タンパクのみと非常に簡便となる利点を有している。そこで著者は、先ず NQs のヒト生体試料中の薬物動態を簡便にモニタリングすることを目的とした HPLC による測定法を確立した。次いで本測定法を用いて、NQs と金属カチオン含有製剤を同時併用した際の健常人における NQs の体内動態を解析、評価した。

一方、NQs はその優れた組織移行性のため、外科領域などにおいて手術時の二次感染予防の目的に投与されているが、皮膚組織中濃度と血中濃度との相関性に関する検討はこれまでなされていなかった。そこで著者は、NQs の代表的な薬剤である ofloxacin を例に取り上げ、ヒト皮膚組織への移行性を明らかにし、血中濃度と皮膚組織中濃度との関係を検討した。

はじめに NQs のヒト生体試料中の薬物動態を簡便にモニタリングするための HPLC による測定法の開発を試み、ofloxacin をはじめとする 9 種類の NQs を測定対象または内部標準物質として検討した。NQs の測定法を開発する際の基礎検討項目は、1) 移動相の組成および pH、2) 移動相の比率、3) プレカラムおよび分析カラム、4) UV 検出器の検出波長、5) 内部標準物質の 5 項目とした。生体試料、特に血液試料を HPLC により分析するには、除タンパクと抽出という前処理操作が必要であるが、本測定法では簡便な前処理操作のみで分子量 10,000 以上のタンパク質を除去しうる Molcut II[®] メンブランフィルターを用いた簡便な前処理法により遂行し、HPLC に直接注入し測定した。この操作方法により、前処理に要する時間はおよそ 10 分程度であった。次に本測定法の精度・正確度の検証を目的として添加回収試験を行い、いずれの NQs に関しても相対的な回収率は 96.1 ~ 101.4% の範囲であった。また、日内での 6 回繰り返し測定における変動係数に関しても 2% 前後と良好な結果が得られ、本測定法の高い精度、正確度および良好な再現性を証明した。以上の結果から、本測定法は汎用される臨床用量で NQs を経口投与した際の血中濃度測定が可能であり、後述する薬物相互作用を検討する上で有用であると思われる。

続いて、NQs と金属カチオンとの相互作用について検討を加えた。NQs は、抗菌活性を発揮する上で必須であるとされる 3 位の carboxyl 基および 4 位の carbonyl 基を有している。しかしながら、制酸剤や鉄剤などの金属カチオン含有製剤と併用した場合、この 2 つの必須部位と金属カチオンとの間で難溶性のキレートが形成され、NQs の腸管からの吸収が著しく阻害されることが報告されている。また、抗菌剤の効果と関係するパラメータには最高血中濃度 (C_{max})、最小発育阻止濃度 (MIC) 以上を維持する時間 (time above MIC)、血中薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC) などがあるが、NQs に関しては濃度依存的に抗菌力を発揮することが知られており、 C_{max} と MIC の比 (C_{max}/MIC) あるいは AUC と MIC との比 (AUC/MIC) が効果を予測する良いパラメータになる。そこで、前述した測定法を NQs と金属カチオン含有製剤との薬物相互作用の解析に応用し、その両者を同時服用した際の NQs の体内動態に関して、AUC および C_{max} の薬物動態パラメータに及ぼす金属カチオンの影響を検討した。金属カチオン含有製剤との相互作用は lomefloxacin, tosufloxacin, sparfloxacin および fleroxacin の 4 剤について検討し、これまでの報告で相互作用の程度が大きいとされる Al^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} の 3 種類の金属カチオンを含有する製剤を選択した。本研究に同意の得られた健常成人男性 6 名を対象に、(1) NQs 単独 (control)、(2) sucralfate 併用、(3) magnesium oxide 併用および (4) sodium ferrous citrate 併用の 4 群により検討した。測定および解析結果より、NQs と金属カチオンとのキレート形成による吸収阻害の程度には、NQs や金属カチオンの種類によって大きな差異が認められることが明らかとなり、NQs に関しては概ね TFLX > LFLX > SPFX > FLRX の順で吸収阻害の程度が大きかった。この差異の要因としては NQs の化学構造上の差異が影響していると考えられる。一方、最高血中濃度到達時間 (T_{max}) および消失半減期 ($T_{1/2}$) など、その他の薬物動態パラメータには有意な影響を及ぼさなかった。

引き続き、NQs の皮膚組織と血中濃度との相関性について検討を加えた。一般的に表在性二次感染の原因菌としてグラム陽性菌の黄色ブドウ球菌や表皮ブドウ球菌が挙げられ、消化器外科領域での手術時にはグラム陰性菌の緑膿菌などが二次感染の原因菌として考えられる。NQs は抗菌スペクトルが広範囲であるため、これらの原因菌に対しても治療効果が大きく、経口投与により手術創部の各組織へ速やかに移行するため、外科領域などにおける手術時の二次感染予防目的に投与されている。しかしながら、NQs の各組織への移行性が良好であるという事実は広く知られているものの、皮膚組織中濃度と血中濃度との相関性に関する研究は、これまでラットの他にヒトで報告されてはいるが、症例数が少数であることから皮膚組織中濃度と血中濃度との相関性に関するデータの統計学的解析はなされていなかった。そこで前述した HPLC を用い、皮膚組織中の ofloxacin 濃度を迅速かつ簡便に測定する方法を確立し、当院形成外科との共同研究により、手術時の二次感染予防目的に ofloxacin が投与された患者 30 名を対象として、ofloxacin の皮膚組織中濃度と血中濃度を測定することにより、両者の相関性について統計学的に解析し、治療効果に応用した。ヒト皮膚組織中 ofloxacin 濃度の測定条件を種々検討した結果、次の条件が得られた。すなわち、1) 移動相: 0.5% CH_3COONa (pH 2.5): $CH_3CN=87:13$, 2) カラム: プレカラム; Develosil Ph-5 (5 μm , 50 mm \times 4.6 mm I.D.), 分析カラム; Develosil ODS-5 (5 μm , 150 mm \times 4.6 mm I.D.), 3) 検出波長: 300 nm にて測定した。また、ヒト皮膚切片からの ofloxacin の抽出方法と測定時に

必要となる前処理方法としては、先ずヒト皮膚切片を2～3 mm² (約0.2 g) の大きさにカットし、移動相および内部標準物質を添加後、POLYTRON[®] ホモジナイザーにてホモジナイズし、遠心分離にて得られた上清を前述した血漿試料と同様の方法で処理し、HPLC に直接注入して測定した。本測定法における絶対回収率は74.3 ± 1.6% 以上であり、変動係数は4.6% 以下と高い精度および再現性が示された。また皮膚組織中の検出限界は100 ng/g であり、実際の臨床投与量での測定に充分対応可能な感度であった。当院形成外科にて手術を実施した患者のうち本研究に同意の得られた30名の患者には、二次感染予防目的に ofloxacin が手術開始前に経口投与された。サンプルの採取時間は、血液、皮膚組織ともに ofloxacin 投与後0.5～3時間であった。皮膚組織サンプルは、癒痕組織、ヘマンジオーマ(血管腫)、肉芽組織、熱傷皮膚および腫瘍周囲の正常皮膚から成り、手術の際に切除した皮膚の一部をサンプルとした。皮膚組織中 ofloxacin 濃度と血清中 ofloxacin 濃度との相関係数 r は0.8407、 $p < 0.001$ であり、皮膚組織中濃度と血中濃度との間には有意な相関性が得られ、皮膚組織中濃度が治療効果に寄与することが示された。

以上の結果より、次の結論を得た。各 NQs に関して、本測定法により血漿中濃度を測定した結果、血漿由来の妨害物ピークの影響を全く受けることなく、前処理が簡便で、かつ精度および正確度においても信頼性のある測定法の開発が可能となった。

NQs と金属カチオン含有製剤との相互作用の解析に本測定法を応用したところ、NQs の構造学上の違いによって金属カチオンの影響の受け易さに差異が見られ、sparfloxacin および fleroxacin が比較的金属カチオンの影響を受けにくいことが明らかとなった。また、金属カチオンによっても NQs とキレートを形成しやすい種類があることが認められ、相互作用の強度は $Al^{3+} > Mg^{2+} \geq Fe^{2+}$ の順であった。NQs と金属カチオンとの相互作用に関するこれらの結果は臨床的に有用であり、これら併用時は臨床に即した総合的な判断をし、かつ予想することが重要である。

また、本測定法を ofloxacin のヒト皮膚組織中濃度に応用し、血中濃度との相関性を検討したところ有意な相関性が得られ、ofloxacin の良好な皮膚組織移行性が証明された。このことは、手術時の二次感染予防としての ofloxacin 経口投与が有効であることを証明し、さらに血中濃度測定により皮膚への浸透度が予測可能であることを示した。

審査結果の要旨

臨床において、投与医薬品の相互作用発生は大きな問題であり、その回避は患者の QOL の獲得の上からも大切な課題である。また、投与医薬品の血中濃度と作用部位である組織における濃度が相関するかどうかは適正使用の観点から極めて重要である。

New Quinolone 系抗菌剤 (NQs) は、抗菌スペクトルが広く、組織移行性もよいことから臨床の場で広く使用されている。しかし、これら NQs については、非ステロイド性抗炎症薬や theophylline、さらには金属含有製剤との併用による相互作用が知られている。このうち全 2 者との相互作用は、痙攣の誘発、theophylline 血中濃度の上昇といった副作用発現に直結するに対し、金属含有製剤との併用では NQs の吸収阻害であり、表面上顕著な変化が見られないことから見のがされやすい。しかしながら、これに関して臨床という観点からの詳細な検討は加えられていない。一方、本医薬品は、手術時における二次感染予防として外科領域でも広く用いられるが、ヒトに関して血中濃度と皮膚中濃度の相関は明らかにされていない。こうした観点から本論文では、生体試料中 NQs 測定法を構築して、金属含有製剤との併用時における吸収阻害の様相に検討を加えるとともに、血中濃度と皮膚中濃度との相関関係に吟味を加えたものである。

まず、UV 検出高速液体クロマトグラフィを用い、代表的 NQs 9 種のヒト生体試料中測定法の開発を検討した。その結果、Molcut II を用いるクリーンアップ法と逆相型分離カラムをオンライン化したカラムスイッチング HPLC による簡便かつ信頼度の高い測定法を構築した。

次いで、本測定法を用い、健常成人 6 人を対象として NQs と金属カチオンとの相互作用について検討を加えた。その結果 NQs の構造によって相互作用の強さに差異が認められ、検討した 9 種の中では tosufloxacin が最も吸収阻害を受けやすかった。しかし、Tmax、T1/2 などの薬物動態パラメーターに対する優位な影響は認められなかった。

引き続き ofloxacin を用い、経口投与時における血中と皮膚組織中濃度の相関について、前述の測定法を駆使し、30 名の患者を対象として吟味を加えた結果、相関係数は 0.8407 と優位な相関の認められることを見い出した。

以上、本研究は生体試料中 NQs の体内動態を解析し、金属カチオンとの相互作用、さらには皮膚組織移行性に検討を加え、新たな知見を見い出したものである。よって、本論文は博士 (医療薬学) の学位論文として合格と認める。