

## Fleroxacinの試験管内抗菌力, 補体, マウス培養マクロファージ(M $\phi$ )との協力的殺菌作用, 動物細胞に対する増殖抑制作用および神経線維に対する影響

横田 健・鈴木映子・新井京子・神田佳代子

順天堂大学医学部細菌学教室\*

新しいニューキノロン剤, fleroxacinの*Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*(MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2(R<sup>+</sup>), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*および*Bacteroides fragilis*の20~52臨床分離株に対するMIC<sub>90</sub>はそれぞれ10<sup>6</sup>cfu/ml菌液の1スポット接種による化療法で, 0.78, 3.13, 0.78, 6.25, 12.5, 12.5, 12.5, 1.56, 0.2, 0.39, 0.2, 0.39, 1.56, 0.39, 1.56, 3.13, 3.13, 12.5, 1.56, 0.78, 0.05および6.25  $\mu$ g/mlでofloxacin(OFLX)に近い抗菌力を示した。CHO-K1細胞, HeLa細胞およびヒトneuroblastoma IMR-32に対する50%抑制濃度(ID<sub>50</sub>)は, 100  $\mu$ g/ml以上でOFLX同様低い細胞毒性であった。Fleroxacinの補体との協力的殺菌作用は認められなかったが, 食細胞との協力作用は良好で, 本剤1/8MICおよび1/2MIC存在下でもマウス培養M $\phi$ は, *E. coli*および*S. pneumoniae*の生細胞をそれぞれよく食菌, 消化した。

**Key words:** Fleroxacin, 抗菌力, 細胞毒性, 神経突起に対する影響, M $\phi$ との協力

Fleroxacinは, 新たに開発されたニューキノロンで, 経口吸収が高く, 半減期が長いと言われている<sup>1)</sup>。本剤の抗菌力, 選択毒性および生体内効果を基礎的に検討する為22菌種の臨床分離株に対する試験管内抗菌力をMICとして測定すると共に, 動物培養細胞, HeLa, CHO-K1およびIMR-32に対する増殖抑制作用を検討した。また, 本剤の生体内効果に影響する血清補体またはマウス培養マクロファージ(M $\phi$ )との協力的殺菌作用の強弱も調べた。さらに, 再分化したヒトneuroblastoma IMR-32の神経突起に対する影響も追求した。

### I. 材料および方法

#### 1. 使用菌株

*Staphylococcus aureus* 50株, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 45株, coagulase-negative staphylococci (CNS) 43株, *Streptococcus pyogenes* 27株, *Streptococcus pneumoniae* 20株, *Enterococcus faecalis* 37株, *Enterococcus faecium* 41株, *Escherichia coli* CS2(R<sup>+</sup>) 52株, *Klebsiella pneumoniae* 50株, *Proteus mirabilis* 50株, *Proteus vulgaris* 46株, *Morganella morganii* 51株, *Providencia rettgeri* 36株, *Citrobacter freundii* 48株, *Enterobacter cloacae* 44株, *Serratia marcescens* 49株, *Pseudomonas aeruginosa* 50株, *Pseudomonas cepacia* 41株, *Xantho-*

*nas maltophilia* 46株, *Acinetobacter calcoaceticus* 41株, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* 24株および*Bacteroides fragilis* 50株は, 各種臨床材料から分離されたものを順天堂大学付属病院中央検査室および東京大学医科学研究所付属病院中央検査室から分与された。R因子保有*E. coli*は, *E. coli* CS2に順天堂大学付属病院中央検査室の臨床分離株から得られた51種類のR因子を当教室で接合伝達したものである。

#### 2. 使用薬剤

Fleroxacinとnorfloxacin(NFLX)は, 杏林製薬株式会社から, lomefloxacin(LFLX)は北陸製薬株式会社, tosufloroxacin tosilate(TFLX)は, 富山化学工業株式会社から, ciprofloxacin HCl(CPFX)は, バイエル薬品株式会社から分与された。CPFX以外の抗菌力測定は, 0.1N NaOH液を用いて1mg/ml原液を作製し, それを培地で希釈して使用した。CPFX HClは, 蒸留水で溶解した。動物細胞に対する細胞毒性や, 神経突起に対する影響を測定する為には, 10% fetal calf serum 加F12培地で100  $\mu$ g/mlの薬剤液を調製し, 同培地で適当に希釈して, 培養細胞に加えた。

#### 3. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定法

日本化学療法学会法<sup>2)</sup>による平板希釈法で測定した。

\* 〒113 東京都文京区本郷2-1-1

被検菌をL-broth<sup>3)</sup>中で、1夜振盪培養した。グラム陽性菌は、滅菌生理食塩水で100倍に、グラム陰性菌は、1000倍に希釈し、接種菌液とした。ただし、*S. pyogenes*はHeart infusion(HI)brothで、*H. influenzae*はHI brothにFildes Extract(Oxid)を5%加えたもので前培養し、また*B. fragilis*はGAM brothで嫌気培養した。*S. pneumoniae*の接種菌液は、1夜血液寒天上で培養した集落をかきとり、HI brothに吸光度0.8OD(600nm)になる様に懸濁し、100倍に希釈して作った。

2倍段階希釈濃度の薬剤を含むMuellar Hinton寒天(Difco)に、接種菌液をマイクロプランター(佐久間製作所)でスポット接種し、37°Cで1夜培養して菌増殖の有無からMICを求めた。ただし、*Streptococcus*属の菌は全て血液寒天を、*H. influenzae*はFildes Extract加HI寒天を使用して37°Cで1夜培養し、*B. fragilis*には、GAM寒天を使用し、ガスバック法(BBL)で37°C1夜嫌気培養した。

4. 血清・補体およびマウス培養マクロファージとの協力的殺菌作用の検討

*E. coli* NIHJ JC-2を10mlのL-brothで37°C1夜振盪培養した。新鮮L-brothで10000倍に希釈し、5mlずつ中試験管に分注した3本を1組とし、1本に20%ヒト非働化血清とこの菌の増殖に影響を与えない最高濃度のモルモット補体(0.75units/ml)を加え、他の1本に5時間後の生菌数が50%になる濃度(50%殺菌濃度:ID<sub>50</sub>)のfleroxacinを、残りの1本に補体とfleroxacinの両方を加えた。37°Cで振盪培養を続けながら培養開始後、1, 3, 5および24時間目にそれぞれの1部を採取し平板法で生菌数を測定した。

Mφは、6週齢のICR♂マウスの腹腔を10mlの10% fetal calf serum加F12培地(日水)で洗い採取した。これをガラスのカバースリップを沈めたCORNINGマルチウェルディッシュ(24穴)中で5%CO<sub>2</sub>下で培養し、さらに20%のLCM培地<sup>4)</sup>を加えて活性化した。著者らの方法<sup>5)</sup>でMφの50倍量の*E. coli* NIHJ JC-2または、*S. pneumoniae* 4の生細胞を加えると同時に一部のwellにfleroxacinを所定の濃度になるように加え、さらに5時間37°C 5%CO<sub>2</sub>下で培養を続けた。カバースリップを取り出しbuffered salineで洗浄し、メタノール固定の後ギムザ染色した。これを光学顕微鏡で観察し、fleroxacinとMφとの協力的食菌、殺菌作用を調べた。

5. 培養動物細胞に対するfleroxacinの増殖阻止作用の検討

教室保存のCHO-K1細胞, HeLa細胞, およびヒトneuroblastoma IMR-32細胞を10% fetal calf serum加F12培地中で、5%CO<sub>2</sub>存在下7日間CORNING培養瓶中で培養した。0.5mM EDTA加0.05%トリプシン液で、37°C10分

間処理し、細胞を浮遊させた。遠心分離によりトリプシン液を除き、10% fetal calf serum加F12培地中に1×10<sup>4</sup>cells/mlになる様に調整し、24穴CORNINGマルチウェルディッシュの各wellにCHO-K1, HeLa, またはIMR-32を含む上記細胞浮遊液を1mlずつ接種した。各wellに1mlの新鮮培地あるいは、0.2~200 μg/mlのfleroxacinまたは、OFLXを含む同培地1mlを添加し、5%CO<sub>2</sub>存在下で37°C4日間培養を続けた。各wellに0.5mlのEDTA加トリプシン溶液を加え細胞を浮遊させた。その0.4mlを3.6ml ISOTON II溶液に加え、Coulter counterで細胞数を自動測定した。薬剤無添加時の細胞数を100とし薬剤添加時の相対的細胞数を求めた。

6. 再分化したIMR-32neuroblastoma細胞の神経突起伸長に対するfleroxacinの影響

IMR-32細胞をCORNING培養瓶を使用し10% fetal calf serum加F12培地中で2週間培養した。培地を捨て4°Cのbuffered saline 2mlで、ゆるやかに動かし細胞を浮遊させた。25cm<sup>2</sup>のCORNING培養瓶に1×10<sup>4</sup>cells/mlの浮遊液5mlを加え、37°C 5%CO<sub>2</sub>存在下、48時間培養した。これに最終濃度1mMになる様にdibutyryl cyclic AMP(DB-cAMP)を加え、さらにCO<sub>2</sub>存在下で37°C14日間培養を続けた。十分神経突起が伸長したことを確かめた後、倒立顕微鏡で観察する場所を決め、ポラロイドで顕微鏡撮影し、培養瓶に印をつけた。Fleroxacinを最終濃度5 μg/mlになる様に加え、3時間培養後、瓶に印をつけた観察場所の写真を撮り、薬剤添加前後の形態を比較した<sup>6)</sup>。

## II. 成 績

### 1. Fleroxacinの試験管内抗菌力

FleroxacinのMIC range, MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>をTable 1に示した。Fleroxacinは*S. aureus* 50株に対しOFLXと同程度の感受性累積百分率を示し、そのMIC<sub>90</sub>は0.78 μg/mlであった。これは、NFLXやLFLXよりも強いが、TFLXやCPF<sub>X</sub>には劣った。MRSA 45株には、*S. aureus*より耐性度が高いものがわずかに認められ、そのMIC<sub>90</sub>は3.13 μg/mlであった。CNS 43株にはMIC<sub>90</sub>が0.78 μg/mlで*S. aureus*に対するのと同様の傾向を示した。*S. pyogenes* 27株にはfleroxacinのMIC<sub>90</sub>は、6.25 μg/mlで、LFLXと同程度でありその他のニューキノロンより抗菌力が弱かった。*S. pneumoniae* 20株にはMIC<sub>90</sub>が12.5 μg/mlでLFLXよりは強いものの他剤より抗菌力が劣った。*E. faecalis* 37株および*E. faecium* 41株に対しては、fleroxacinのMIC<sub>90</sub>は、いずれも12.5 μg/mlでLFLXと同程度で他剤よりも劣った。R因子を保有する*E. coli* CS2 52亜株に対するfleroxacinのMIC<sub>90</sub>は、1.56 μg/mlであり、LFLXより若干強いものの他剤には劣った。*K. pneumoniae* 50株に

に対する本剤のMIC<sub>90</sub>は0.2 µg/mlで、CPFXやTFLXより少し弱いものの良好な抗菌力であった。本剤は*Proteus* groupには良好な抗菌力を有した。すなわち*P. mirabilis* 50株にはCPFXより弱いものの他剤と同程度の抗菌力を示し、*P. vulgaris* 46株にはMIC<sub>90</sub>が、0.2 µg/mlでCPFX以外の対照薬より抗菌力が強かった。*M. morgani* 51株に対する本剤のMIC<sub>90</sub>は、0.39 µg/mlでTFLXより強く、CPFXには劣った。*P. rettgen* 36株に対する本剤のMIC<sub>90</sub>は1.56 µg/mlで、CPFXとNFLXより若干弱かった。*C.*

*freundii* 48株には本剤のMIC<sub>90</sub>は0.39 µg/mlで他剤と大差がなかった。*E. cloacae* 44株には、fleroxacinのMIC<sub>90</sub>は1.56 µg/mlで、CPFXとTFLX以外の対照薬より抗菌力が強かった。しかし*S. marcescens* 49株には、そのMIC<sub>90</sub>は3.13 µg/mlで他剤より若干劣った。*P. aeruginosa* 50株に対しては、本剤のMIC<sub>90</sub>は3.13 µg/mlで、OFLX、LFLXと同程度でありCPFX、TFLX、およびNFLXには劣った。*P. cepacia* 41株に対して本剤のMIC<sub>90</sub>は12.5 µg/mlであり、NFLXよりは若干強いもののCPFXやTFLXには

Table 1-1. Antibacterial activity of fleroxacin and other quinolones

Organism (no. of strains)	MIC (µg/ml)	floxacin	norfloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	lomefloxacin	tosufloxacin tosilate
<i>Staphylococcus aureus</i> (50)	range 50% 90%	0.2~3.13 0.39 0.78	0.39~12.5 1.56 1.56	0.2~0.78 0.39 0.78	0.1~0.39 0.2 0.78	0.39~1.56 0.78 1.56	0.025~0.2 0.05 0.1
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (45)	range 50% 90%	0.39~3.13 0.78 3.13	0.39~25 1.56 12.5	0.05~1.56 0.78 1.56	0.39~3.13 0.78 3.13	0.39~3.13 0.78 3.13	0.05~0.39 0.05 0.39
Coagulase-negative staphylococci (43)	range 50% 90%	0.1~6.25 0.78 0.78	0.1~>100 1.56 3.13	0.2~>100 0.78 1.56	0.2~>100 0.39 0.78	0.2~>100 1.56 3.13	≤0.013~25 0.1 0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> (27)	range 50% 90%	1.56~12.5 6.25 6.25	1.56~12.5 3.13 12.5	0.78~3.13 1.56 3.13	≤0.013~1.56 0.39 1.56	3.13~25 6.25 25	0.2~0.78 0.39 0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (20)	range 50% 90%	3.13~12.5 6.25 12.5	3.13~12.5 6.25 12.5	1.56~3.13 3.13 3.13	1.56~3.13 1.56 3.13	6.25~12.5 12.5 12.5	0.2~0.78 0.39 0.78
<i>Enterococcus faecalis</i> (37)	range 50% 90%	1.56~12.5 6.25 12.5	1.56~50 6.25 6.25	0.78~3.13 3.13 3.13	0.39~1.56 1.56 1.56	1.56~12.5 6.25 6.25	0.2~6.25 0.78 1.56
<i>Enterococcus faecium</i> (41)	range 50% 90%	6.25~25 6.25 12.5	1.56~25 6.25 6.25	1.56~12.5 6.25 6.25	0.78~12.5 3.13 6.25	6.25~50 6.25 12.5	0.78~6.25 3.13 3.13
<i>Escherichia coli</i> CS2 (R <sup>+</sup> ) (52)	range 50% 90%	0.39~1.56 0.78 1.56	0.2~0.78 0.39 0.78	0.2~0.78 0.39 0.78	0.05~0.39 0.2 0.39	0.39~1.56 1.56 1.56	0.025~0.78 0.39 0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (50)	range 50% 90%	0.05~1.56 0.1 0.2	≤0.013~1.56 0.1 0.2	0.05~1.56 0.1 0.39	≤0.013~0.78 0.05 0.05	0.05~3.13 0.2 0.2	≤0.013~0.78 0.05 0.2
<i>Proteus mirabilis</i> (50)	range 50% 90%	0.1~1.56 0.2 0.39	0.05~0.78 0.1 0.39	0.1~1.56 0.2 0.39	0.05~0.78 0.05 0.1	0.1~3.13 0.39 0.78	0.1~1.56 0.2 0.39
<i>Proteus vulgaris</i> (46)	range 50% 90%	0.05~1.56 0.1 0.2	0.39~1.56 0.78 0.78	0.1~1.56 0.2 0.39	≤0.013~0.78 0.05 0.1	0.2~1.56 0.39 0.78	0.1~0.78 0.39 0.39
<i>Morganella morgani</i> (51)	range 50% 90%	0.05~3.13 0.1 0.39	0.05~1.56 0.1 0.39	0.05~6.25 0.1 0.39	≤0.013~1.56 0.025 0.1	0.05~3.13 0.1 0.39	0.2~6.25 0.78 0.78

劣った。Fleroxacinの*X. maltophilia* 46株に対する抗菌力は良好であった。MIC<sub>90</sub>は、1.56 µg/mlでありTFLXには劣るもののNFLXなどよりかなり強かった。*A. calcoaceticus* 41株に対する本剤のMIC<sub>90</sub>は0.78 µg/mlであり、TFLXより弱く、NFLXよりかなり強かった。ABPC耐性*H. influenzae* 24株に対して本剤は0.05 µg/mlのMIC<sub>90</sub>を示し、他剤同様抗菌力が強かった。嫌気性菌*B. fragilis* 50株に対する本剤のMIC<sub>90</sub>は、6.25 µg/mlであり、TFLXやOFLXより弱く、NFLXより強かった。

## 2. Fleroxacinと血清補体またはマウスMφとの協力的殺菌作用

*E. coli* NIHJ JC-2に対しID<sub>50</sub>のfleroxacinと0.75units/mlのモルモット補体を共存させると、Fig. 1の通りそれぞれ単独で添加した時より殺菌作用は低下した。

補体との協力作用も生体内効果の良否に影響する1因子ではあるがより重要なのは、食細胞との協力作用である。マウス培養マクロファージ(Mφ)に*E. coli* NIHJ JC-2または*S. pneumoniae* 4を感染させるとFig. 2およびFig. 3のごとく、感染5時間後には、Mφは菌により破壊された。これに対しFig. 4~7のごとく、fleroxacinが1ないし1/8MIC共存すると、*E. coli*は薬剤の影響で若干フィラメント化し、しかもよく食菌、消化される像が得られた。*S. pneumoniae*に対しては、fleroxacinとMφとの協力作用は*E. coli*に対するほど強くはないが、Fig. 8および9のごとくfleroxacinの1/2MIC共存下まで明らかな協力作用が認められた。

## 3. Fleroxacinの動物培養細胞に対する影響

本剤の大きな特徴は動物培養細胞に対する増殖抑制効

Table 1-2. Antibacterial activity of fleroxacin and other quinolones

Organism (no. of strains)	MIC (µg/ml)	fleroxacin	norfloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	lomefloxacin	tosufloxacin tosilate
<i>Providencia rettgeri</i> (36)	range	0.05~3.13	0.05~12.5	0.05~6.25	≦0.013~3.13	0.05~12.5	0.025~3.13
	50%	0.39	0.1	0.39	0.05	0.2	0.2
	90%	1.56	1.56	3.13	0.78	3.13	3.13
<i>Citrobacter freundii</i> (48)	range	0.05~6.25	0.025~6.25	0.025~6.25	≦0.013~3.13	0.05~12.5	≦0.013~3.13
	50%	0.1	0.1	0.1	0.05	0.1	0.05
	90%	0.39	0.39	0.39	0.2	0.39	0.39
<i>Enterobacter cloacae</i> (44)	range	0.05~3.13	0.2~3.13	0.1~1.56	≦0.013~0.78	0.2~1.56	≦0.013~1.56
	50%	0.1	0.78	0.2	0.05	0.39	0.05
	90%	1.56	0.78	0.78	0.1	1.56	0.2
<i>Serratia marcescens</i> (49)	range	0.1~12.5	0.1~6.25	0.1~6.25	0.025~3.13	0.1~6.25	0.05~12.5
	50%	0.39	0.2	0.39	0.1	0.39	0.39
	90%	3.13	3.13	1.56	0.78	3.13	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	range	0.78~12.5	0.39~6.25	0.78~6.25	0.1~1.56	0.78~12.5	0.2~1.56
	50%	1.56	0.78	1.56	0.2	1.56	0.39
	90%	3.13	3.13	3.13	0.78	6.25	1.56
<i>Pseudomonas cepacia</i> (41)	range	6.25~12.5	3.13~25	3.13~12.5	1.56~3.13	1.56~12.5	0.39~6.25
	50%	6.25	12.5	6.25	1.56	6.25	3.13
	90%	12.5	12.5	6.25	3.13	6.25	3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (46)	range	0.1~3.13	0.78~25	0.2~3.13	0.2~25	0.2~6.25	0.05~1.56
	50%	0.78	6.25	1.56	1.56	0.78	0.39
	90%	1.56	12.5	3.13	3.13	3.13	0.78
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (41)	range	0.1~3.13	0.1~12.5	0.025~1.56	0.1~3.13	0.05~3.13	≦0.013~0.78
	50%	0.39	1.56	0.39	0.39	0.39	0.05
	90%	0.78	6.25	0.39	0.78	0.78	0.1
Ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> (24)	range	≦0.013~0.1	0.05~0.1	0.05~0.1	≦0.013~0.025	0.05~0.1	≦0.013~0.05
	50%	0.05	0.1	0.05	≦0.013	0.05	≦0.013
	90%	0.05	0.1	0.05	0.025	0.1	0.025
<i>Bacteroides fragilis</i> (50)	range	3.13~12.5	25~100	0.78~6.25	0.39~12.5	6.25~25	0.39~1.56
	50%	6.25	25	3.13	3.13	12.5	0.78
	90%	6.25	100	3.13	12.5	12.5	0.78

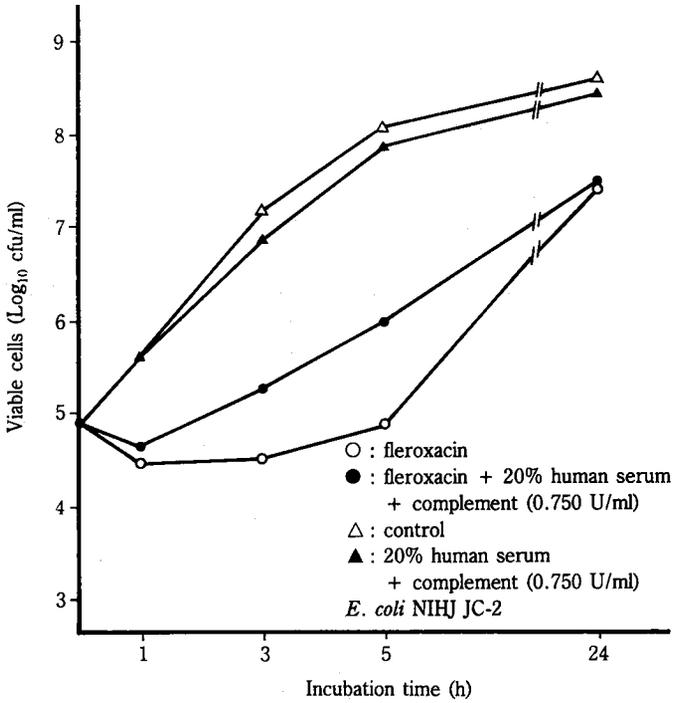


Fig. 1. Influence of ID<sub>50</sub> fleroxacin (0.0562 µg/ml) on the bactericidal effect of serum complement on *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

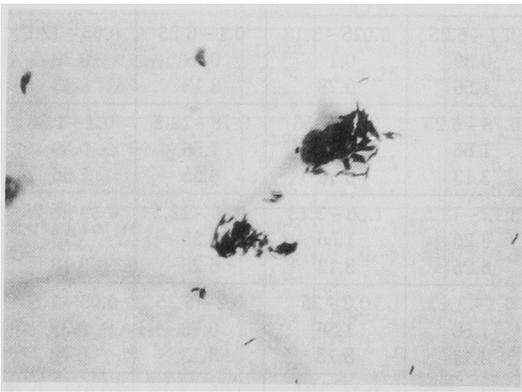


Fig. 2. Death of mouse macrophages phagocytizing normal cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown without drug, at 5 h after infection.

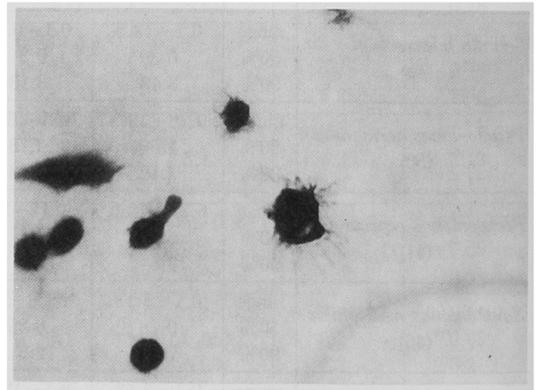


Fig. 3. Death of mouse macrophages phagocytizing normal cells of *Streptococcus pneumoniae* 4 grown without drug, at 5 h after infection.



Fig. 4. Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1 MIC of fleroxacin, at 5 h after infection.

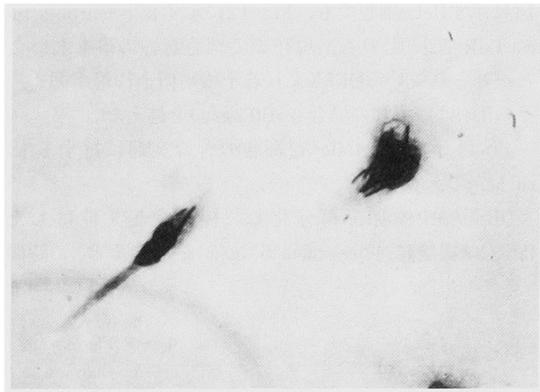


Fig. 7. Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/8 MIC of fleroxacin, at 5 h after infection.

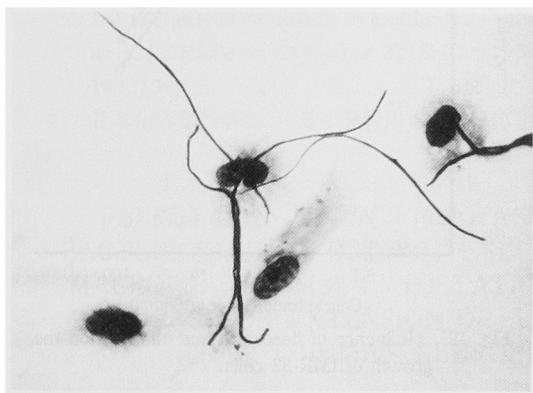


Fig. 5. Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/2 MIC of fleroxacin, at 5 h after infection.

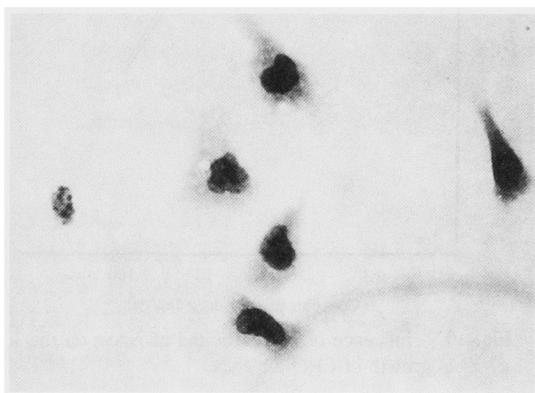


Fig. 8. Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *Streptococcus pneumoniae* 4 grown with 1 MIC of fleroxacin, at 5 h after infection.

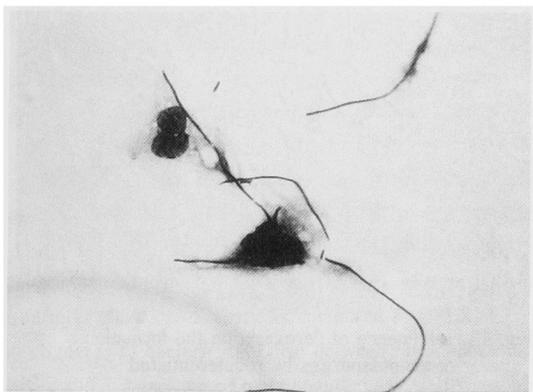


Fig. 6. Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/4 MIC of fleroxacin, at 5 h after infection.

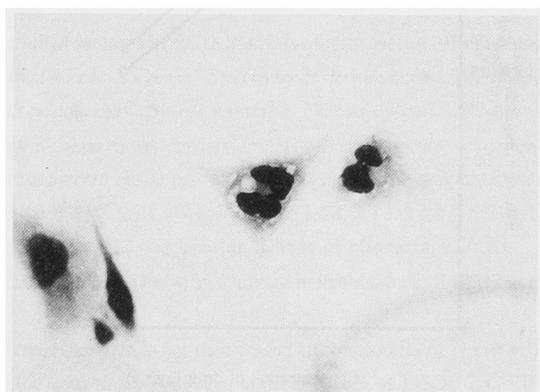


Fig. 9. Mouse macrophages phagocytizing filamentous cells of *Streptococcus pneumoniae* 4 grown with 1/2 MIC of fleroxacin, at 5 h after infection.

果が弱い点にある。Fig. 10に示すCHO-K1細胞でもFig. 11に示すHeLa細胞でも、Fig. 12に示すヒトneuroblastoma IMR-32細胞でも、現在まで細胞毒性の最も弱いことが知られているOFLXより若干増殖阻止作用が弱く、そのID<sub>50</sub>はいずれの場合も100 μg/mlを越えた。

4. 再分化したIMR-32細胞の神経突起に対する fleroxacinの影響

DB-cAMP添加で再分化し、神経突起を伸ばしたIMR-32細胞に、fleroxacin 5 μg/ml添加すると、3時間

後に矢印で示した部分の神経突起が、明らかに短縮した (Fig. 13)。この神経突起に対する影響は、NFLX, CPFXと同程度の強さであった。

Ⅲ. 考 察

Fleroxacinの試験管内抗菌力は、ほぼOFLXに匹敵する。抗菌力の点ではCPFEXやTFLXに及ばないが、動物培養細胞に対する増殖抑制効果が、TFLXやCPFEXよりかなり弱い。したがって、本剤の体内動態が優れていれば、多くの細菌感染症に有用な化学療法剤となる可能性

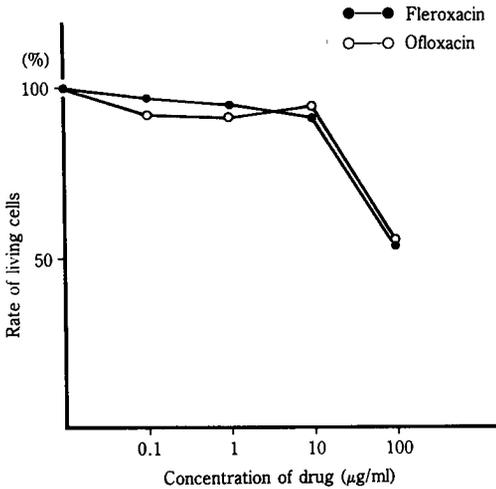


Fig. 10. Influence of fleroxacin and ofloxacin on the growth of CHO-K1 cells.

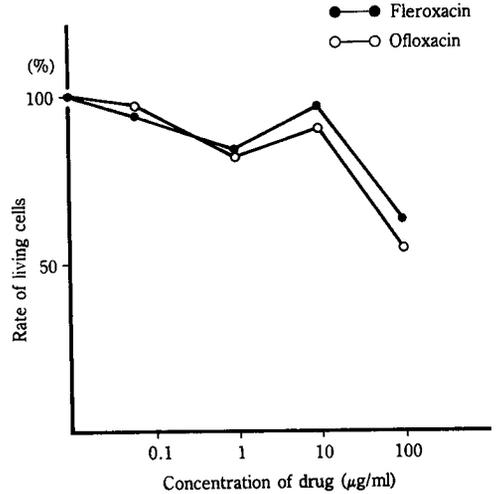


Fig. 12. Influence of fleroxacin and ofloxacin on the growth of IMR-32 cells.

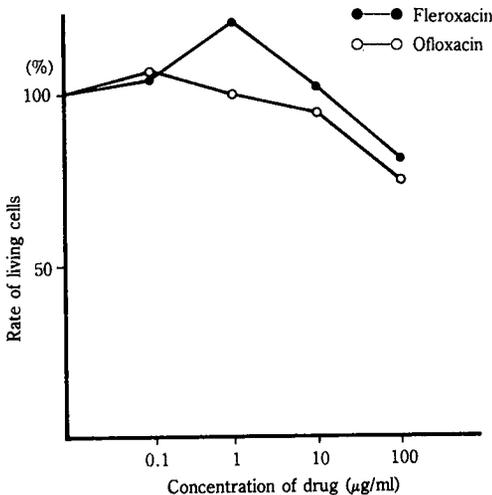


Fig. 11. Influence of fleroxacin and ofloxacin on the growth of HeLa cells.

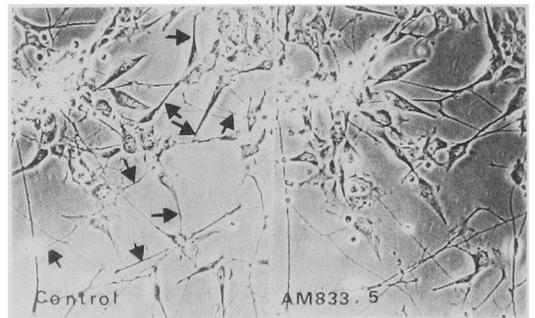


Fig. 13. Influence of fleroxacin on the formation of axon-dendrites by redifferentiated human neuroblastoma IMR-32 cells.

がある。我々の研究では、動物細胞に対する増殖抑制効果と*in vitro*における神経突起短縮効果とは、必ずしも並行せず、神経線維短縮作用は、細胞毒性を示す濃度よりかなり低い所で起こることが明らかになった。神経線維短縮効果と臨床でみられる不眠、頭痛、めまい等のニューキノロン特有の副作用との関係はまだ明らかでないが、神経線維短縮効果からみると、少なくとも5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ の薬剤が髄液中に移行する様な投与方法は、ニューキノロン全体にわたって望ましくないのではないかと考えられる。いずれにしても、髄液移行の点を考慮しさえすれば、fleroxacinは各種細菌感染症に安心して使える内服化学療法剤となるであろう。

#### 文 献

- 1) NAKASHIMA M, KANAMARU M, UEMATSU T, TAKIGUCHI A, MIZUNO A, ITAYA T, KAWAHARA F, OOIE T, SAITO S, UCHIDA H, MASUZAWA K : Clinical pharmacokinetics and tolerance of fleroxacin in healthy male volunteers. J Antimicrob Chemother 22(S-D) : 133~144, 1988
- 2) 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度(MIC)測

定法再改訂について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981

- 3) LENNOX E S : Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. Virology 1 : 190~206, 1955
- 4) NOZAWA R T, YOKOTA T : Inhibition by glucocorticoids and cholera toxin of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of newborn hamster liver and lung (Hormonal control of macrophage growth) Cell Physiol 100 : 351~364, 1979
- 5) 横田 健, 鈴木映子, 新井京子, 神田佳代子 : T-3262の試験管内抗菌力, 血清蛋白の影響, 細胞増殖抑制作用(細胞毒性), およびマウス培養マクロファージとの協力的殺菌作用。Chemotherapy 36(S-9) : 19~29, 1988
- 6) YOKOTA T, KANDA K : Influence of new quinolons on the extension of nerve fibers in redifferentiated human neuroblastoma IMR-32 cells. Rev Infect Dis 11 Supl.5 : S1399~1400, 1989

### FLEROXACIN, ITS *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY, SYNERGY OF BACTERICIDAL EFFECT WITH SERUM COMPLEMENT OR MOUSE CULTURED MACROPHAGES ( $M\phi$ ), CYTOSTATIC ACTIVITY IN MAMMALIAN CELLS, AND INFLUENCE ON EXTENSION OF AXON DENDRITES OF REDIFFERENTIATED HUMAN NEUROBLASTOMA IMR-32 CELLS

TAKESHI YOKOTA, EIKO SUZUKI, KYOKO ARAI and KAYOKO KANDA  
Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University,  
2-1-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113, Japan

The MIC<sub>90s</sub> of fleroxacin, a new quinolone, against 20 to 52 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2(R<sup>+</sup>), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides fragilis* were 0.78, 3.13, 0.78, 6.25, 12.5, 12.5, 12.5, 1.56, 0.2, 0.39, 0.2, 0.39, 1.56, 0.39, 1.56, 3.13, 3.13, 12.5, 1.56, 0.78, 0.05, and 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively. The antibacterial activity of fleroxacin was similar to that of ofloxacin (OFLX).

Fleroxacin proved to have an ID<sub>50</sub> of more than 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  against CHO-K1, HeLa and human neuroblastoma IMR-32 cells, namely, a low cytotoxicity as compared to OFLX.

Synergy of bactericidal effect between fleroxacin and serum complement was not confirmed, although cells of *E. coli* NIHJ JC-2 and *S. pneumoniae* 4 were engulfed and well digested by mouse cultured macrophages in the presence of 1/8 MIC and 1/2 MIC of fleroxacin.

Some parts of axon dendrites of redifferentiated human neuroblastoma IMR-32 cells were withdrawn within 3 h by the addition of 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of fleroxacin.