

## Temafloxacinの試験管内抗菌力および動物細胞に対する選択毒性

横田 健・神田佳代子・乗原(新井)京子

順天堂大学医学部細菌学教室\*

Temafloxacin(TMFX)の*Staphylococcus aureus* 49株, MRSA 47株, CNS 41株, *Streptococcus pyogenes* 48株, その他 $\beta$ -streptococci 13株, *Streptococcus pneumoniae* 20株, *Enterococcus faecalis* 36株, *Enterococcus faecium* 42株, *Escherichia coli* (R<sup>+</sup>)50株, *Klebsiella pneumoniae* 47株, *Proteus mirabilis* 50株, *Proteus vulgaris* 35株, *Morganella morganii* 50株, *Providencia rettgeri* 29株, *Citrobacter freundii* 50株, *Enterobacter cloacae* 50株, *Serratia marcescens* 50株, *Pseudomonas aeruginosa* 50株, *Xanthomonas maltophilia* 47株, *Pseudomonas cepacia* 33株, *Acinetobacter calcoaceticus* 29株, ampicillin(ABPC)耐性*Haemophilus influenzae* 21株, および*Bacteroides fragilis* 38株に対するMIC<sub>90</sub>はそれぞれ0.2, 0.78, 0.39, 0.78, 1.56, 1.56, 1.56, 6.25, 1.56, 0.78, 0.78, 0.78, 1.56, 12.5, 3.13, 3.13, 6.25, 6.25, 3.13, 6.25, 0.78,  $\leq 0.013$ , および3.13 $\mu$ g/mlであった。TMFXはCHO-K1, HeLa, およびIMR32の培養細胞に対し, 10 $\mu$ g/mlまで増殖抑制作用を示さず, 細胞毒性はofloxacin (OFLX)とほぼ同程度であった。TMFXは補体との協力的殺菌作用は認められないが, マウス培養M $\phi$ との協力は良好で, M $\phi$ はTMFX 1/8MIC以上の共存下で*E. coli* NIHJ JC-2の生細胞をよく食菌消化した。5 $\mu$ g/mlのTMFXは再分化したヒトneuroblastoma IMR32の神経突起を短縮したが, その程度はOFLXに近く, 強くはなかった。

**Key words** : TMFX, MICs, 培養動物細胞, 神経突起, マクロファージ

Temafloxacin(TMFX)は, Abbottおよび田辺製薬の開発した新しい4-quinoloneで, 1位にdifluorobenzen, 7位に3-methylpiperazineを有する。Tosufloxacin tosilate (TFLX)とはトシル酸塩でないこと, およびTFLXでは7位側鎖3-aminopyrrolidineである点が異なる。本報告は, TMFXの臨床効果を推定する基礎資料として23菌種13~50臨床分離株に対する最小発育阻止濃度を平板法で測定するとともに, 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を検討した。さらに動物培養細胞に対する増殖抑制作用と, 再分化したヒト神経芽細胞腫細胞の神経突起に対する影響を調べてTFLXの選択毒性を検討した。

### I. 材料および方法

#### 1. 使用薬剤

TMFXは田辺製薬株式会社から純末を分与された。対照薬剤としてofloxacin(OFLX:第一製薬), norfloxacin(NFLX:杏林製薬), ciprofloxacin(CPFX:バイエル薬品)およびtosufloxacin tosilate(TFLX:富山化学)の純末を使用した。

#### 2. 被験菌株

MICの測定には順天堂大学附属病院中央検査室およ

び東京都老人研究所附属病院中央検査室から分与された4年以内の23菌種13~50臨床分離株を使用した。また血清補体またはマウス培養M $\phi$ との協力的殺菌作用の検討には*Escherichia coli* NIHJ JC-2を使用した。

#### 3. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定法

日本化学療法学会<sup>1)</sup>に従い平板希釈法で測定した。ただし増菌培地としては各菌種に均当な発育がみられることからL-broth<sup>2)</sup>を使用した。被検菌をL-broth中で一夜振盪培養し, グラム陽性菌は100倍に, グラム陰性菌は1000倍に新鮮L-brothで希釈し, それを10<sup>6</sup>CFU/ml菌浮遊液として接種に使用した。ミクロプランター(佐久間製作所)を使い, 接種菌液の一金耳ずつを0.013~100 $\mu$ g/mlの薬剤を含むMueller-Hinton agar(Difco)の表面に接種し, 37 $^{\circ}$ Cで一夜振盪培養後, 菌発育の有無からMICを求めた。ただし*Streptococcus pyogenes*は前培養にHI-broth(Difco)を, MIC測定には5%ヒツジ脱線維血液加HI-agarを使用した。*Streptococcus pneumoniae*は, 血液平板上に37 $^{\circ}$ C一夜培養した菌をかき取り, L-broth中に10<sup>8</sup>CFU/mlに希釈したものを接種菌液とし, MIC測定にはヒツジ血液寒天平板を使った。*Haemophilus influenzae*は5% Fildes Extract(Oxoid)

\*〒113 東京都文京区本郷2-1-1

加HI brothを前培養に、Fildes加HI-agarをMIC測定に用いた。*Bacteroides fragilis*は前培養にGAMブイオン(日水)を、MIC測定にGAM寒天(日水)を使用しガスバク法(BBL)で嫌気培養した。

4. 血清補体またはマウス培養M $\phi$ とTMFXとの協力的殺菌作用の検討法

*E. coli* NIHJ JC-2をL-broth 5ml中で37℃一夜振盪培養した。新鮮L-broth中で10,000倍に希釈し、4本の中試験管中に5mlずつ分注した。4本1組とし、1本は対照、2本目にはこの菌の増殖に影響を与えない最高補体量(0.5 units/ml)と20%非働化ヒト血清を加えた。3本目には5時間後の生菌数が接種菌数の50%となるTMFX(ID<sub>50</sub>)を加え、4本目には補体、ヒト血清、およびID<sub>50</sub>のTMFXを添加した。37℃で振盪培養を続けながら0, 1, 3, 5および24時間目にそれぞれからサンプルをとり、適当に対数希釈して、HI平板上に0.1ml塗布して生菌数を測定した。

M $\phi$ は5週齢のICR♂マウス腹腔に8mlのSaline Gで洗って採取し、低速遠心で集め、10% fetal calf serum加F12培地(日水)で一回洗浄後、新鮮同培地中に10<sup>5</sup> cells/mlになるよう浮遊した。円形カバースリップを沈めたCORNING multidish 24穴に接種し、著者らの方法<sup>3)</sup>で20% L-CM(conditioned medium of L-929)を加えて活性化した。*E. coli* NIHJ JC-2のL-broth一夜振盪培養液を対数希釈し、M $\phi$ の50倍量(5×10<sup>6</sup> CFU/ml)を接種した。一部のwellにはTMFXを1~1/16MICになるように加えて培養した。5% CO<sub>2</sub>存在下37℃、5時間培養後、カバースリップを取り出しSaline Gで軽く洗浄した後、メタノール固定、Giemsa染色を行い光顕像を撮影した。

5. TMFXの培養動物細胞増殖抑制の検討

教室保存のCHO-K1細胞、HeLa細胞およびヒト神経芽細胞腫IMR32細胞をCORNING multidishに1×10<sup>4</sup> cells/wellずつ接種した。新鮮10% fetal calf serumを各wellに1mlずつ加え、37℃、5% CO<sub>2</sub>存在下4日間培養した。一部のwellにはTMFXを0.1, 1, 10, 50または100 $\mu$ g/mlになるよう添加して培養した。培養終了後、浮遊細胞を除き0.5mMのEDTA処理で生細胞をはがし、低速遠心で集めたのち、ISOTON液に再浮遊してCOULTER COUNTERで細胞数を自動測定した。

6. TMFXの再分化IMR32細胞の神経突起に対する影響の検討法

著者らの方法<sup>4)</sup>で検討した。すなわち底面積25cm<sup>2</sup>のCORNING培養フラスコに10% fetal calf serum加F12培地を用い、1×10<sup>6</sup> cells/5mlになるように接種した。37℃、5% CO<sub>2</sub>存在下で3日間培養し、浮遊細胞を除いた後、1mMのdibutyryl adenosine-3', 5'-cyclic monophosphate(DB-cAMP)を含む5mlの新鮮Fetal calf serum加F12培地と交換した。37℃、5% CO<sub>2</sub>で7日間培養し、培地交換後さらに3日間DB-cAMP存在下で培養を続けた。倒立顕微鏡で神経突起が十分伸長していることを確かめた後、観察箇所印をつけ、写真撮影した。終末濃度5 $\mu$ g/mlになるようにTMFXを加え、3時間後に同じ観察箇所の顕微鏡撮影を行い、薬剤添加前後の神経突起伸長の状態を比較した。

## II. 成 績

1. TMFXの各種細菌臨床分離株に対するMIC

TMFXの*Staphylococcus aureus* 49株に対するMIC<sub>90</sub>は、Table 1のごとく0.2 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLXおよびCPFYよりかなり強いがTFLXよりもわずかに弱かった。Methicillin-resistant *S. aureus*(MRSA)47株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は0.78 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLX, CPFYより強くTFLXにわずかに劣った。Coagulase-negative staphylococci(CNS) 41株に対してもTMFXのMIC<sub>90</sub>は0.39 $\mu$ g/mlで*S. aureus*に対する抗菌力と同様の傾向が認められた。*S. pyogenes* 48株にはTMFXのMIC<sub>90</sub>は0.78 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLXよりかなり強く、CPFYと同程度であった。*S. pyogenes*以外の $\beta$ -streptococci 13株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は1.56 $\mu$ g/mlでCPFYと同程度、TFLXよりわずかに劣った。*S. pneumoniae* 20株にはTMFXのMIC<sub>90</sub>は1.56 $\mu$ g/mlで、OFLX, NFLX, CPFYより優れていた。*Enterococcus faecalis* 36株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は1.56 $\mu$ g/mlで、OFLX, NFLXより強く、CPFYおよびTFLXと同程度であった。*Enterococcus faecium* 42株にはTMFXのMIC<sub>90</sub>は6.25 $\mu$ g/mlと中程度、OFLX, NFLXおよびCPFYと同程度TFLXよりわずかに強かった。*E. coli* CS2に50種のR-plasmidを伝達した垂株ではTMFXのMIC<sub>90</sub>は1.56 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLX, CPFYおよびTFLXより弱かった。*Klebsiella pneumoniae* 47株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は0.78 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLX, CPFYと同程度であった。*Proteus mirabilis* 50株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は0.78 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLXおよびCPFYより弱かった。*Proteus vulgaris* 35株に対してもTMFXのMIC<sub>90</sub>は0.78 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLXおよびCPFYより劣った。*Morganella morganii* 50株ではTMFXのMIC<sub>90</sub>は1.56 $\mu$ g/mlでOFLX, NFLXおよびCPFYより弱かった。*Providencia rettgeri* 29株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は12.5 $\mu$ g/mlで、NFLXより強いもののOFLXよりわずかに劣り、CPFYと同程度であった。*Citrobacter freundii* 50株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は3.13 $\mu$ g/mlでOFLXおよびCPFYと同程度でNFLXよりわずかに強かった。*Entero-*

*bacter cloacae* 50株にはTMFXは3.13 $\mu$ g/mlのMIC<sub>90</sub>を示し、NFLXよりは強いもののOFLXとCPFXXと同程度であった。*Serratia marcescens* 50株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は6.25 $\mu$ g/mlでMIC<sub>90</sub>をみる限りOFLXとNFLXと同程度、CPFXXよりわずかに弱い成績だが、MIC<sub>50</sub>

でみると他の3剤より抗菌力は弱い。*Pseudomonas aeruginosa* 50株には、TMFXのMIC<sub>90</sub>は6.25 $\mu$ g/mlでCPFXXと同程度、OFLXやNFLXより強かった。*Pseudomonas cepacia* 33株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>も6.25 $\mu$ g/mlでNFLXと同程度だが、OFLXおよびCPFXXより

Table 1-1. MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of temafloxacin and other new quinolones against clinical isolates

Species (no. of strains)	Drugs	MIC ( $\mu$ g/ml)		
		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>S. aureus</i> (49)	temafloxacin	0.05-1.56	0.1	0.2
	ofloxacin	0.39-0.78	0.39	0.39
	norfloxacin	0.39-12.5	1.56	1.56
	ciprofloxacin	0.2-1.56	0.39	1.56
	tosufloxacin	0.025-0.2	0.05	0.1
MRSA (47)	temafloxacin	0.05-0.78	0.2	0.78
	ofloxacin	0.05-1.56	0.78	1.56
	norfloxacin	0.39-25	3.13	12.5
	ciprofloxacin	0.39-3.13	0.78	3.13
	tosufloxacin	0.05-0.39	0.05	0.39
CNS (41)	temafloxacin	0.1-0.78	0.2	0.39
	ofloxacin	0.2-3.13	0.78	1.56
	norfloxacin	0.1-3.13	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.2-1.56	0.39	0.39
	tosufloxacin	$\leq$ 0.013-1.56	0.1	0.2
<i>S. pyogenes</i> (48)	temafloxacin	0.39-1.56	0.78	0.78
	ofloxacin	0.2-3.13	1.56	1.56
	norfloxacin	0.39-6.25	3.13	3.13
	ciprofloxacin	0.2-1.56	0.78	0.78
$\beta$ -streptococci (13)	temafloxacin	0.39-1.56	0.78	1.56
	ofloxacin	0.78-3.13	1.56	3.13
	norfloxacin	1.56-12.5	6.25	6.25
	ciprofloxacin	0.39-1.56	0.78	1.56
	tosufloxacin	0.39-0.78	0.78	0.78
<i>S. pneumoniae</i> (20)	temafloxacin	0.39-1.56	0.78	1.56
	ofloxacin	0.78-3.13	1.56	3.13
	norfloxacin	1.56-6.25	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.39-1.56	0.78	1.56
<i>E. faecalis</i> (36)	temafloxacin	0.2-3.13	1.56	1.56
	ofloxacin	0.78-3.13	3.13	3.13
	norfloxacin	1.56-25	3.13	6.25
	ciprofloxacin	0.39-1.56	1.56	1.56
	tosufloxacin	0.2-6.25	0.78	1.56
<i>E. faecium</i> (42)	temafloxacin	0.78-25	3.13	6.25
	ofloxacin	1.56-12.5	6.25	6.25
	norfloxacin	1.56-25	6.25	6.25
	ciprofloxacin	1.56-12.5	3.13	6.25
	tosufloxacin	1.56-12.5	6.25	12.5
<i>E. coli</i> CS2 (R+) (50)	temafloxacin	0.2-1.56	0.78	1.56
	ofloxacin	0.2-0.78	0.39	0.78
	norfloxacin	0.2-0.78	0.39	0.78
	ciprofloxacin	0.05-0.39	0.2	0.2
	tosufloxacin	0.1-0.78	0.2	0.39
<i>K. pneumoniae</i> (47)	temafloxacin	0.05-12.5	0.1	0.78
	ofloxacin	0.05-12.5	0.1	1.56
	norfloxacin	0.05-25	0.1	1.56
	ciprofloxacin	0.025-6.25	0.1	0.39

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

CNS: coagulase-negative staphylococci

Table 1-2. MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of temafloxacin and other new quinolones against clinical isolates

Species (no. of strains)	Drugs	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>P. mirabilis</i> (50)	temafloxacin	0.1 ~ 1.56	0.39	0.78
	ofloxacin	0.05 ~ 0.78	0.2	0.2
	norfloxacin	0.025 ~ 0.78	0.1	0.2
	ciprofloxacin	$\leq 0.013$ ~ 0.39	0.05	0.1
<i>P. vulgaris</i> (35)	temafloxacin	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78
	ofloxacin	0.05 ~ 0.39	0.1	0.39
	norfloxacin	0.025 ~ 0.2	0.05	0.1
	ciprofloxacin	$\leq 0.013$ ~ 0.1	0.025	0.05
<i>M. morgani</i> (50)	temafloxacin	0.1 ~ 25	0.39	1.56
	ofloxacin	0.05 ~ 6.25	0.1	0.78
	norfloxacin	0.025 ~ 1.56	0.05	0.39
	ciprofloxacin	$\leq 0.013$ ~ 1.56	0.025	0.2
<i>P. rettgeri</i> (29)	temafloxacin	0.2 ~ 12.5	1.56	12.5
	ofloxacin	0.1 ~ 6.25	3.13	6.25
	norfloxacin	0.05 ~ 50	12.5	50
	ciprofloxacin	$\leq 0.013$ ~ 12.5	1.56	12.5
<i>C. freundii</i> (50)	temafloxacin	0.05 ~ 25	0.78	3.13
	ofloxacin	0.1 ~ 12.5	0.39	3.13
	norfloxacin	0.2 ~ 12.5	0.39	6.25
	ciprofloxacin	0.025 ~ 6.25	0.2	3.13
<i>E. cloacae</i> (50)	temafloxacin	0.05 ~ 25	0.2	3.13
	ofloxacin	0.05 ~ 25	0.39	25
	norfloxacin	0.05 ~ 25	0.39	12.5
	ciprofloxacin	$\leq 0.013$ ~ 12.5	0.1	3.13
<i>S. marcescens</i> (50)	temafloxacin	0.1 ~ 12.5	0.78	6.25
	ofloxacin	0.1 ~ 12.5	0.39	6.25
	norfloxacin	0.1 ~ 50	0.2	12.5
	ciprofloxacin	$\leq 0.013$ ~ 6.25	0.05	0.78
<i>P. aeruginosa</i> (50)	temafloxacin	0.05 ~ 50	0.39	6.25
	ofloxacin	0.78 ~ > 100	3.13	25
	norfloxacin	0.39 ~ 50	1.56	12.5
	ciprofloxacin	0.1 ~ 25	0.39	3.13
<i>X. maltophilia</i> (47)	temafloxacin	0.05 ~ 6.25	1.56	3.13
	ofloxacin	0.2 ~ 3.13	1.56	3.13
	norfloxacin	0.78 ~ 25	6.25	12.5
	ciprofloxacin	0.2 ~ 25	1.56	6.25
	tosufloxacin	0.05 ~ 1.56	0.39	0.78
<i>P. cepacia</i> (33)	temafloxacin	1.56 ~ 12.5	6.25	6.25
	ofloxacin	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
	norfloxacin	1.56 ~ 12.5	6.25	6.25
	ciprofloxacin	0.78 ~ 1.56	0.78	1.56
<i>A. calcoaceticus</i> (29)	temafloxacin	0.025 ~ 25	0.05	0.78
	ofloxacin	0.1 ~ 50	0.2	0.78
	norloxacin	0.1 ~ > 100	1.56	12.5
	ciprofloxacin	0.05 ~ 50	0.2	0.78
ABPC-resistant <i>H. influenzae</i> (21)	temafloxacin	$\leq 0.013$ ~ $\leq 0.013$	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$
	ofloxacin	0.05 ~ 0.1	0.05	0.05
	norfloxacin	0.05 ~ 0.1	0.05	0.1
	ciprofloxacin	$\leq 0.013$ ~ 0.025	$\leq 0.013$	0.025
	tosufloxacin	$\leq 0.013$ ~ 0.05	$\leq 0.013$	0.025
<i>B. fragilis</i> (38)	temafloxacin	0.78 ~ 25	0.78	3.13
	ofloxacin	1.56 ~ 25	3.13	6.25
	norfloxacin	12.5 ~ > 100	25	50
	ciprofloxacin	3.13 ~ 25	6.25	25

ABPC: ampicillin

弱かった。*Xanthomonas maltophilia* 47株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は、3.13 $\mu$ g/mlでOFLXと同程度、NFLXやCPFXより強く、TFLXより弱かった。*Acinetobacter calcoaceticus* 29株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は0.78 $\mu$ g/mlでOFLXやCPFXと同程度、NFLXよりも強いが、MIC<sub>50</sub>で見ると他の3剤より強い抗菌力を示すことになる。ampicillin耐性*H. influenzae* 21株に対するTMFXのMIC<sub>90</sub>は $\leq$ 0.013 $\mu$ g/mlと極めて強い抗菌力を示し、OFLX、NFLX、CPFXおよびTFLXより強かった。嫌気性菌、*B. fragilis* 38株に対するTMFXの抗菌力は強く、MIC<sub>90</sub>は3.13 $\mu$ g/mlでOFLX、NFLXおよびCPFXより強かった。

## 2. TMFXと血清補体またはマウス培養M $\phi$ との協力的殺菌作用

Fig.1のごとくTMFXのID<sub>50</sub>と、増殖に影響を与えない最高補体量とを共存させるとTMFX単独存在時よりもむしろ殺菌作用は強くなかった。すなわちTMFXと補体との協力作用は、あまり良好でなかった。

マウス培養M $\phi$ に*E. coli* NIHJ JC-2を感染させるとM $\phi$ は菌細胞をよく食菌するが、培養M $\phi$ が生体内ほどの殺菌性を持たないためか、食菌された*E. coli*は細胞内で増殖し、5時間後には細胞を破壊して遊出する

(Fig.2-a)。この時1MICのTMFXを共存させると、Fig.2-bのごとく食菌された*E. coli*は速やかに消化され大きな食空胞がみられる。TMFX 1/2MIC共存下でもFig.2-cのごとく薬剤の影響でフィラメント化した*E. coli*はよく食菌消化された。TMFX 1/4MIC共存下でもフィラメント化した*E. coli*は、よく食菌され、よく消化された(Fig.2-d)。1/8MICのTMFXの共存下でもフィラメント化し食菌された*E. coli*は、菌体にバルジを形成しよく消化された(Fig.2-e)。1/16MICのTMFX共存下でも薬剤とM $\phi$ の協力作用は若干認められるが、M $\phi$ は障害された(Fig.2-f)。

## 3. TMFXの培養動物細胞増殖抑制作用

Fig.3-aのごとくTMFXは、CHO-K1細胞に50 $\mu$ g/mlでも増殖抑制作用を示さず、OFLXより細胞毒性が弱かった。しかし、HeLa細胞には50 $\mu$ g/mlでTMFXは、若干の増殖抑制作用を示し、OFLXと同程度の増殖抑制作用であった(Fig.3-b)。ヒト神経芽細胞IMR32細胞に対しても、TMFXの増殖抑制作用は、OFLXと同程度であった(Fig.3-c)。

## 4. 再分化したIMR32細胞の神経突起に対するTMFXの影響

Synergy of the bactericidal effect with serum complement

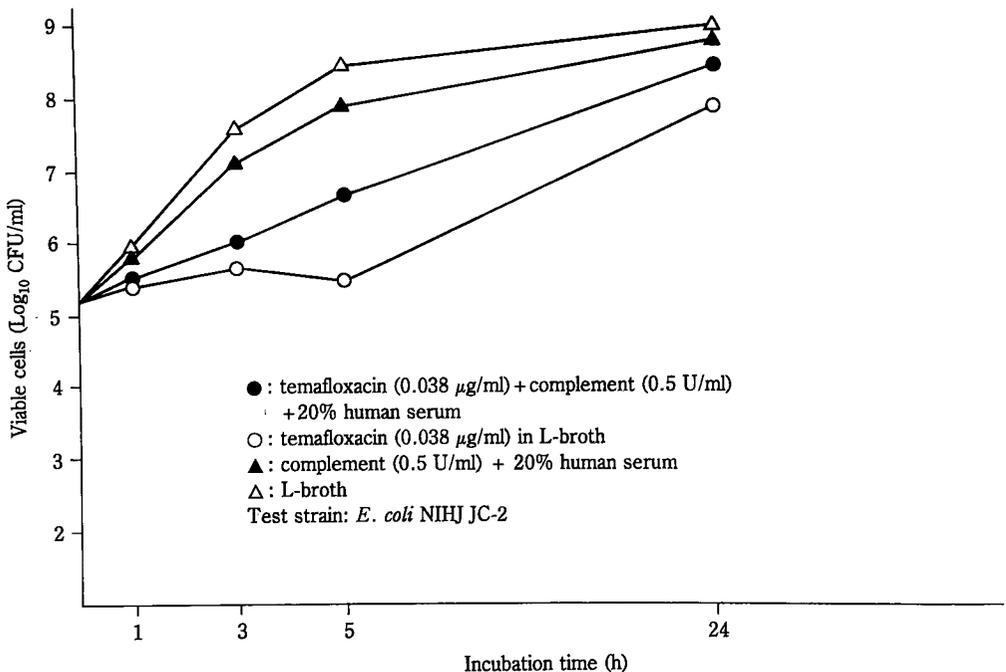


Fig. 1. Influence of ID<sub>50</sub> temafloxacin (0.038  $\mu$ g/ml) on the bactericidal effect of serum complement on *E. coli* NIHJ JC-2.

伸長に10日間を要したIMR32再分化細胞の神経突起は、Fig.4のとおり5 $\mu$ g/mlのTMFXを加えてもほとんど短縮せずむしろ若干の伸長が認められた。神経突起に対する影響は、NFLX、CPFXなどよりかなり弱くlevofloxacin(LVFX)と同程度であった。

### Ⅲ. 考 察

TMFXは、グラム陽性菌に対する抗菌力が強い。*S. aureus*、MRSAおよびCNSに対しては、OFLX、NFLXおよびCPFXより強い抗菌力を示したが、TFLXより若干劣った。*S. pyogenes*および*S. pneumoniae*にはCPFX

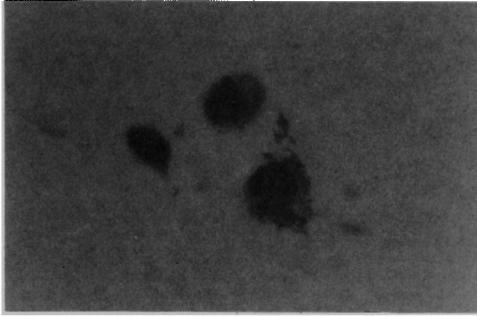


Fig. 2-a. Death of mouse macrophages phagocytizing normal *E. coli* NIHJ JC-2 cells grown without drugs 5 h after infection.

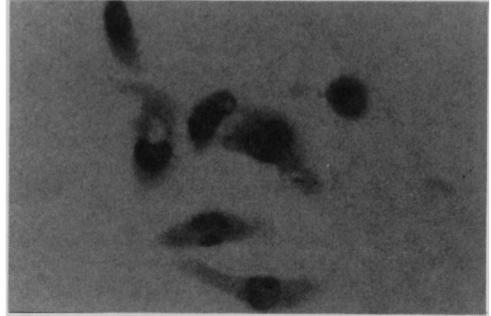


Fig. 2-b. Digestion of filamentous *E. coli* NIHJ JC-2 cells, grown with 1 MIC of temafloxacin, by cultured mouse macrophages 5 h after infection.

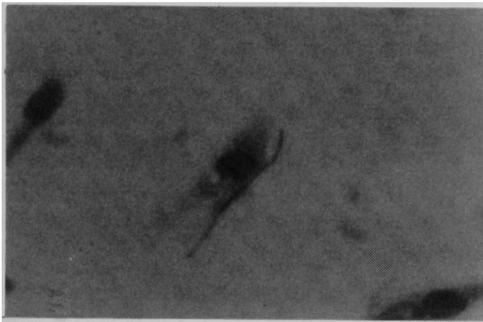


Fig. 2-c. Digestion of long filamentous *E. coli* NIHJ JC-2 cells, grown with 1/2 MIC of temafloxacin, by cultured mouse macrophages 5 h after infection.

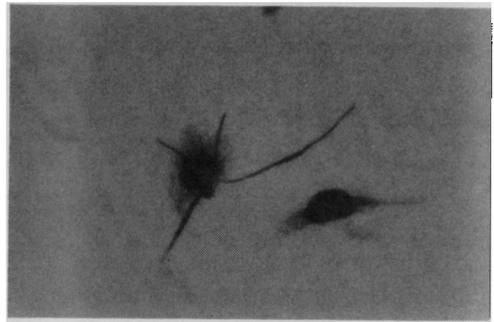


Fig. 2-d. Digestion of long filamentous *E. coli* NIHJ JC-2 cells, grown with 1/4 MIC of temafloxacin, by cultured mouse macrophages 5 h after infection.

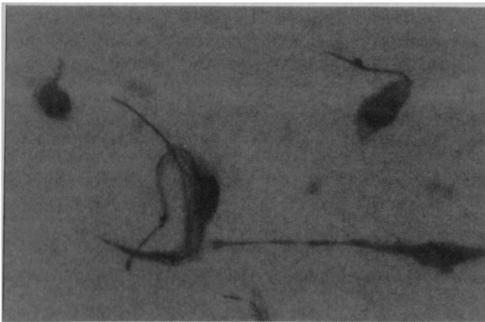


Fig. 2-e. Digestion of long filamentous *E. coli* NIHJ JC-2 cells, grown with 1/8 MIC of temafloxacin, by cultured mouse macrophages 5 h after infection.

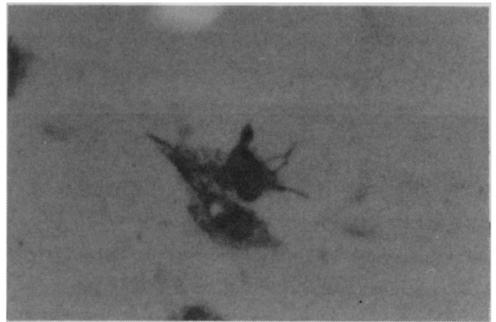
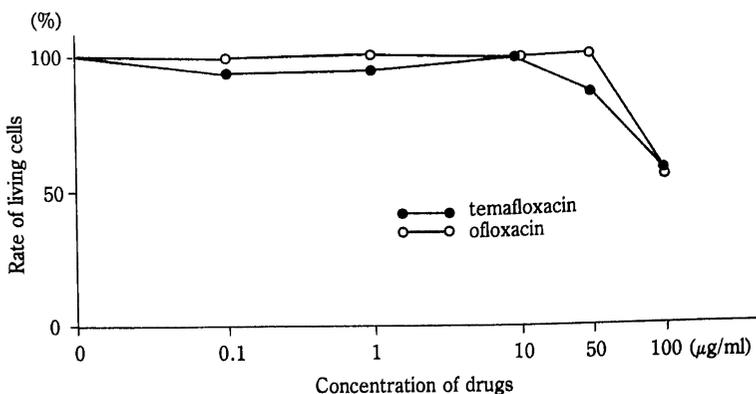
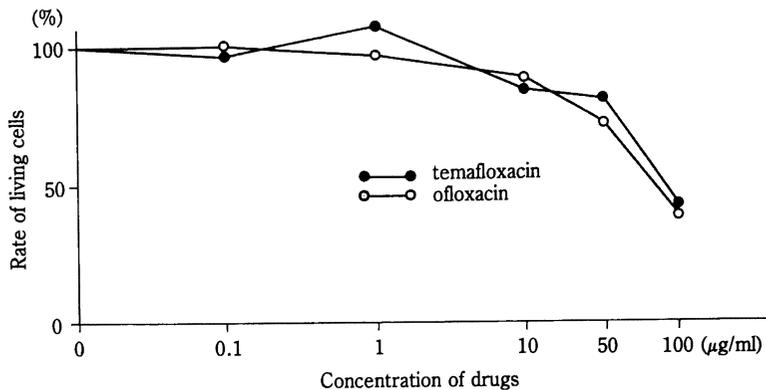


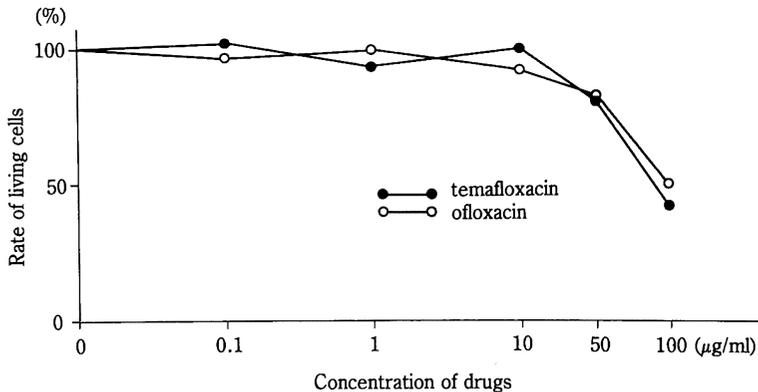
Fig. 2-f. Damaged mouse macrophages phagocytizing *E. coli* NIHJ JC-2 cells, grown with 1/16 MIC of temafloxacin, 5 h after infection.



3-a. Influence of temafloxacin and ofloxacin on the growth of CHO-K1 cells.



3-b. Influence of temafloxacin and ofloxacin on the growth of HeLa-cells.



3-c. Influence of temafloxacin and ofloxacin on the growth of IMR32 cells.

Fig. 3. Cytostatic activities of temafloxacin and ofloxacin against mammalian cells.

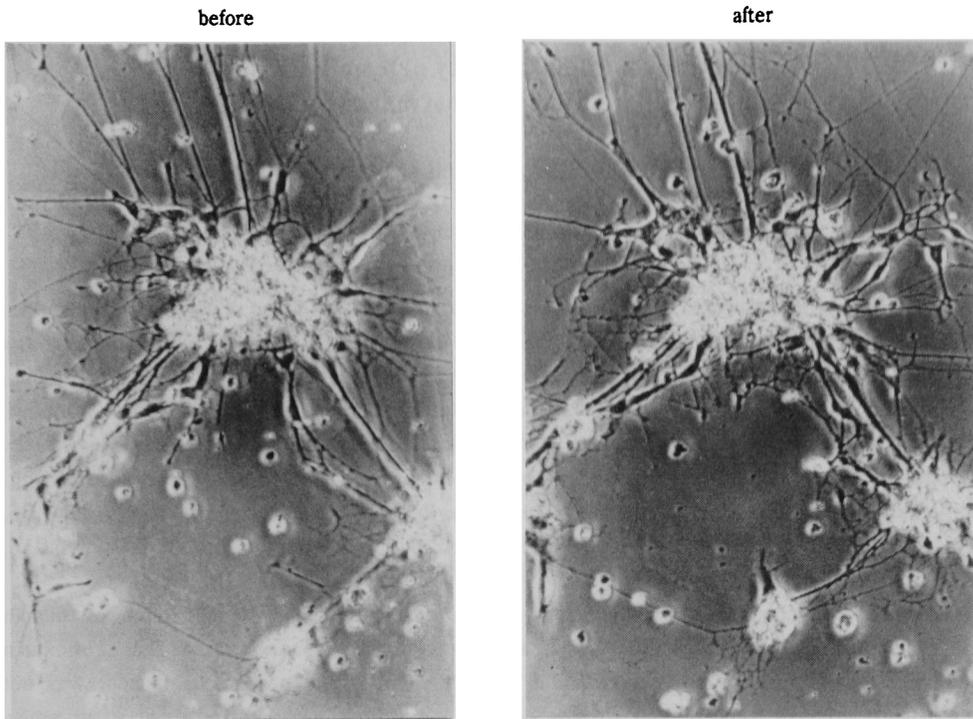


Fig. 4. Axons and dendrites of IMR-32 cells grown with 1mM DBCAMP before (none) and 3 h after the addition of temafloxacin.

およびTFLXに匹敵する強い抗菌力を示し、OFLXやNFLXより優れていた。しかし、グラム陰性菌、特に *E. coli*, *Proteus* 群に対する抗菌力は、OFLX, NFLX, CPFXおよびTFLXに劣った。*P. aeruginosa* に対する抗菌力はOFLXやNFLXより強く、CPFXと同程度であった。グラム陰性菌でも *A. calcoaceticus* と嫌気性菌 *B. fragilis* に対しては、TMFXは抗菌力が強く、OFLX, NFLXおよびCPFXより優れていた。

TMFXの補体との協力作用はほとんど認められないが、マウス培養M $\phi$ との協力作用は良好で1/8MICのTMFXが共存するとM $\phi$ はフィラメント化した細胞をよく食菌消化した。

動物細胞に対する増殖抑制作用はOFLXより若干弱いか同程度であり、再分化したヒト線維芽細胞腫IMR32の神経突起に対する影響は、調べた限りLVFXと並んで最も弱いものであった。

TMFXは、既存のニューキノロンのもつ大きな欠点であった *S. pneumoniae* に対する抗菌力が強化されており、補体との協力作用は認められないものの、培養マウスM $\phi$ との協力的殺菌効果が強く、選択毒性も明らかで、動物細胞に対する影響が少ないので、そのヒト

における生体内動態が良好であれば優れた経口ニューキノロンとなろう。

#### 文 献

- 1) 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
- 2) Lennox E G：Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. Virology 1：190～206, 1955
- 3) 横田 健, 新井京子, 鈴木映子：Cefotiam hexetilのペニシリン結合蛋白質に対する結合親和性およびマウス培養マクロファージとの協力的食菌・殺菌作用について。Chemotherapy 36(S-6)：37～45, 1988
- 4) Yokota T, Kanda K and Arai K: Influence of DR-3355 and other new quinolones on the extension of axones in redifferentiated human neuroblastoma IMR-32 cells. Extracted from the Proceedings of the 16th International Congress of Chemotherapy: 406. 1, 406. 2, 1989

*In vitro* antimicrobial activity of temafloxacin and  
its selective toxicity against mammalian cells

Takeshi Yokota, Kayoko Kanda and Kyoko Kuwahara (Arai)  
Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University  
2-1-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

The MIC<sub>90</sub> of temafloxacin (TMFX) against 13 to 50 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, other  $\beta$ -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* (R<sup>+</sup>), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas maltophilia*, *Pseudomonas cepacia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides fragilis* was 0.2, 0.78, 0.39, 0.78, 1.56, 1.56, 1.56, 6.25, 1.56, 0.78, 0.78, 0.78, 1.56, 12.5, 3.13, 3.13, 6.25, 6.25, 3.13, 6.25, 0.78,  $\leq 0.013$ , and 3.13  $\mu\text{g/ml}$ , respectively.

TMFX did not manifest cytostatic activity against cultured CHO-K1 HeLa, or human neuroblastoma IMR32 cells up to 10  $\mu\text{g/ml}$ , and its cytotoxicity was the same as that of ofloxacin (OFLX). Synergy between the bactericidal effect of TMFX and serum complement was not confirmed, although living *E. coli* NIHJ JC-2 cells were often engulfed and digested in mouse cultured macrophages in the presence of higher than 1/8 MIC of TMFX. TMFX caused the withdrawal of axon-dendrites of redifferentiated neuroblastoma IMR32 cells at a concentration of 5  $\mu\text{g/ml}$ , however, its neurotoxicity was as low as that of OFLX.