

Grepafloracinの試験管内抗菌力, 血清補体・マウス培養Mφとの協力的殺菌作用及び動物細胞に対する影響

乗原京子・神田佳代子・横田 健[#]

順天堂大学医学部細菌学教室*

(*現 順天堂医療短期大学)

Grepafloracin (GPFX) の *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Streptococcus pyogenes*, β -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2(+), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin (ABPC)-resistant *Haemophilus influenzae* および *Bacteroides fragilis* の14~50臨床分離株に対するMIC₉₀は, それぞれ, 0.1, 0.2, 0.2, 0.39, 0.39, 0.39, 0.78, 6.25, 0.78, 0.1, 0.39, 0.78, 1.56, 12.5, 6.25, 1.56, 3.13, 12.5, 1.56, 0.78, 6.25, <0.013および6.25 μ g/mlであった。

GPFXのグラム陽性菌に対する抗菌力は, ciprofloxacin (CPF), ofloxacin (OFLX) および norfloxacin (NFLX) よりも強く tosfloxacin (TFLX) と同程度であった。グラム陰性菌に対しては OFLX と同程度であったが, *P. aeruginosa* に対しては, OFLX より優れていた。また *K. pneumoniae*, *X. maltophilia*, *A. calcoaceticus* および ABPC-resistant *H. influenzae* に対しては比較薬剤中最も優れていた。

血清・補体との協力作用は顕著ではなかったが, マウス培養Mφとの協力作用はGPFX 1/8 MIC以上の存在下で *E. coli* NIHJ JC-2の生細胞をよく食菌消化した。CHO-K1, HeLa および IMR32 細胞に対する細胞毒性はCPFよりも強く, GPFX 10 μ g/mlで各細胞増殖を50%抑制した。しかし, IMR32細胞にGPFX 5 μ g/mlを添加してもその神経突起に影響を与えなかった。

Key words : grepafloracin, MIC, マクロファージ, 細胞毒性, 神経突起

Grepafloracin (GPFX) は1位にcyclopropyle基, 5位にmethyl基, 7位に3-methyl-piperazinyl基を持つ4-quinoloneである。本剤の抗菌評価の成績を得るため, 試験管内抗菌力, 血清・補体およびマウス培養Mφとの協力的食菌作用, 動物細胞に対する細胞毒性およびヒトneuroblastomaの神経突起に対する影響について検討した。

I. 材料および方法

1. 使用薬剤

GPFXは, 大塚製薬から純末を分与された。対照薬として ofloxacin (OFLX: 第一製薬), norfloxacin (NFLX: 杏林製薬), ciprofloxacin (CPF: バイエル薬品) および tosfloxacin (TFLX: 富山化学) の純末を使用した。

2. 被検菌株

MICの測定には順天堂大学付属病院中央検査室および東京都老人研究所付属中央検査室から分与された23菌種14~50臨床分離株を使用した。また血清補体およびマウスMφ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

日本化学療法学会法¹⁾に準拠する平板希釈法で; すなわち被検菌をL-broth²⁾中で一夜振盪培養ム陽性菌は100倍に, グラム陰性菌は1000倍に希それを10⁶cfu/ml菌浮遊液としてマイクロプランター間製作所)でスポット接種した。37℃一夜培養後: 成の有無からMICを求めた。ただし, *Strept pyogenes*は, 前培養にHI-broth (Difco)を, MIC測定に羊脱繊維血液加HI-agarを使用した。*Strept pneumoniae*は, 5%羊血液寒天平板上に37℃一夜: た菌をかきとり, L-brothに10⁶cfu/mlに浮遊した希釈して接種菌液とし, MIC測定には5%羊血液: 板を使用した。*Haemophilus influenzae*は, 5% Filc richment (Difco)加HI-brothを前培養に, 5% Filc richment加HI-agarをMIC測定に用いた。*Bacteroides* *lis*は, 前培養にGAMブイヨン(日水)を, MIC測 GAM寒天を使用し, ガスパック法(BBL)で嫌気: た。

4. 血清・補体およびマウス培養MφとGPFXとの協力的殺菌作用

*E. coli*をL-broth 5ml中で37℃一夜振盪培養した。新鮮L-brothで1000倍に希釈し、4本の試験管に5mlずつ分注した。1本目には対照として、菌とL-brothだけ加え、2本目にはこの菌の増殖に影響を与えない最高補体量(0.5units/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GPFX (ID₅₀:0.03μg/ml)を加え、4本目には補体、ヒト血清およびID₅₀のGPFX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時間目の生残菌数を測定した。

Mφは、5週齢のICR♂マウス腹腔を8mlの10% fetal calf serum加F12培地(日水)で洗って採取し、同培地で1回洗浄後新鮮同培地中に10⁶cells/mlになるように浮遊した。その0.1mlを円形カバースリップを沈めたCORNING multi dish (24 well)に接種し、著者らの方法で20% L-CM (conditioned medium L929)を加えて活性化した。*E. coli* NIHJ JC-2の一夜振盪培養液を希釈し、Mφの50倍量(5×10⁵cfu/ml)を接種した。一部のwellにはGPFXを1~1/16 MICになる様に加えて培養した。37℃, 5%CO₂存在下4時間培養後、カバースリップを取りだしSaline Gで軽く洗浄後メタノール固定し、Giemsa染色を行ない

Table 1. *In vitro* activity of grepafloxacin against gram-positive clinical isolates

Organism (No. tested)	Antibiotic	MIC (μg/ml)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Staphylococcus aureus</i> (49)	grepafloxacin	0.025~0.39	0.1	0.1
	ofloxacin	0.39~0.78	0.39	0.78
	norfloxacin	0.78~12.5	1.56	0.2
	ciprofloxacin	0.2~1.56	0.39	1.56
	tosufloxacin	0.05~1.56	0.2	0.2
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (47)	grepafloxacin	0.05~0.39	0.1	0.2
	ofloxacin	0.05~1.56	0.78	1.56
	norfloxacin	0.39~50	3.13	25
	ciprofloxacin	0.39~3.13	0.78	3.13
	tosufloxacin	0.05~0.39	0.05	0.39
Coagulase-negative staphylococci (41)	grepafloxacin	0.025~0.39	0.1	0.2
	ofloxacin	0.2~3.13	0.78	1.56
	norfloxacin	0.05~6.25	0.78	1.56
	ciprofloxacin	0.2~1.56	0.39	0.39
	tosufloxacin	<0.013~1.56	0.1	0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> (48)	grepafloxacin	0.1~0.39	0.39	0.39
	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
	tosufloxacin			
β-streptococci (14)	grepafloxacin	0.1~0.39	0.2	0.39
	ofloxacin	0.78~3.13	1.56	3.13
	norfloxacin	0.2~1.56	0.39	0.78
	ciprofloxacin	0.39~1.56	0.78	1.56
	tosufloxacin	0.39~0.78	0.78	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (20)	grepafloxacin	0.2~0.78	0.39	0.39
	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
	tosufloxacin			
<i>Enterococcus faecalis</i> (37)	grepafloxacin	0.1~0.78	0.39	0.78
	ofloxacin	0.78~3.13	3.13	3.13
	norfloxacin	1.56~50	6.25	6.25
	ciprofloxacin	0.39~1.56	1.56	1.56
	tosufloxacin	0.2~6.25	0.78	1.56
<i>Enterococcus faecium</i> (42)	grepafloxacin	0.39~12.5	3.13	6.25
	ofloxacin	1.56~12.5	6.25	6.25
	norfloxacin	1.56~25	6.25	6.25
	ciprofloxacin	0.25~12.5	3.13	6.25
	tosufloxacin	1.56~12.5	6.25	12.5

光顕像を撮影した。

5. GPFXの動物細胞増殖抑制作用の検討

教室保存のCHO-K1細胞, HeLa細胞およびIMR32細胞をCORNING multi dishに 1×10^4 cells/wellずつ接種した。新鮮10% fetal calf serum加F12培地を各wellに1mlずつ加え, 37°C, 5%CO₂存在下4日間培養した。一部のwellにはGPFXを0.1, 1, 10, 50および100 μ g/mlになるように添加して培養した。培養終了後, 浮遊細胞を除き, Tripsin/EDTA処理で生細胞を剥がし, 低速遠心で集めた後ISOTON液に再浮遊してcoulter counterで細胞数を測定した。

6. GPFXのIMR-32再分化細胞の神経突起に対する影響の検討

著者らの方法⁴⁾で検討した。すなわち底面積25cm²のCORNING培養フラスコに10% fetal calf serum加F12培

地を用い, 1×10^6 cells/5mlになるよう接種した。37°C, 5%CO₂存在下で3日間培養し, 浮遊細胞を除いた後1mMのdibutyryl adenosin-3', 5'-cyclic monophosphate (DBcAMP)を含む5mlの新鮮fetal calf serum加F12培地を加えた。37°C, 5%CO₂存在下で培養を続け7日目に培地交換した後さらに3日間DBcAMP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, 観察箇所印を付け位相差倒立顕微鏡撮影装置で記録した。終末濃度5 μ g/mlになるようにGPFXを加え3時間後に同じ観察箇所の顕微鏡撮影を行ない, 薬剤添加前後における神経突起伸長の状態を比較した。

II. 成績

1. GPFXの各種細菌臨床分離株に対するMIC

Staphylococcus aureus 49臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は, Table 1のごとく0.1 μ g/mlでTFLXより1管,

Table 2-1. *In vitro* activity of grepafloxacin against gram-negative clinical isolates

Organism (No. tested)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Escherichia coli</i> CS2 (R+) (50)	grepafloxacin	0.1~0.78	0.39	0.78
	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>Klebsiella pneumoniae</i> (47)	grepafloxacin	0.025~1.56	0.05	0.1
	ofloxacin	0.05~12.5	0.1	1.56
	norfloxacin	0.05~0.25	0.1	1.56
	ciprofloxacin	0.025~6.25	0.1	0.39
<i>Proteus mirabilis</i> (48)	grepafloxacin	0.05~0.78	0.2	0.39
	ofloxacin	0.05~0.78	0.2	0.39
	norfloxacin	0.025~0.78	0.1	0.2
	ciprofloxacin	0.025~0.39	0.05	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> (35)	grepafloxacin	0.05~12.5	0.2	0.78
	ofloxacin	0.05~0.39	0.1	0.39
	norfloxacin	0.025~0.2	0.05	0.1
	ciprofloxacin	<0.013~0.1	0.025	0.1
<i>Morganella morganii</i> (50)	grepafloxacin	0.05~6.25	0.2	1.56
	ofloxacin	0.05~6.25	0.1	0.78
	norfloxacin	0.1~6.25	0.2	1.56
	ciprofloxacin	<0.013~1.56	0.025	0.2
<i>Providencia rettgeri</i> (27)	grepafloxacin	0.1~12.5	3.13	12.5
	ofloxacin	0.1~6.25	3.13	6.25
	norfloxacin	0.05~50	12.5	50
	ciprofloxacin	<0.013~12.5	1.56	12.5
<i>Citrobacter freundii</i> (50)	grepafloxacin	0.05~12.5	0.39	6.25
	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>Enterobacter cloacae</i> (50)	grepafloxacin	0.05~50	0.1	1.56
	ofloxacin	0.05~25	0.39	6.25
	norfloxacin	0.05~25	0.39	12.5
	ciprofloxacin	<0.013~12.5	0.1	3.13

OFLXより3管, CPFXより4管, NFLXより5管優れ, その抗菌力は比較薬剤中最も強かった。Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 47臨床分離株に対してもGPFXの抗菌力は他剤よりも強くそのMIC₉₀は0.2 µg/mlで, TFLXより1管, OFLXより3管, CPFXより4管強かった。Coagulase-negative staphylococci (CNS) 41臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は0.2 µg/mlでCPFXより1管, OFLXより3管強く, TFLXと同程度であった。*Streptococcus pyogenes* 48臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は, 0.39 µg/mlで, CPFXより2管強かった。*S. pyogenes*以外のβ-streptococciに対するGPFXのMIC₉₀は, 0.39 µg/mlでNFLXおよびTFLXより1管, CPFXより2管, OFLXより3管強かった。*Streptococcus pneumoniae* 20臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は, 0.39 µg/mlでCPFXより2管, OFLXおよびNFLXより3管強かった。*Enterococcus faecalis* 37臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は0.78 µg/mlでCPFXおよびTFLXより1管, OFLXより2管, NFLXより3管強かった。*Enterococcus faecium* 42臨床分離株に対す

るGPFXのMIC₉₀は6.25 µg/mlで, TFLXより1管強く, 他の比較薬剤と同等であった。*Escherichia coli* CS2株に種々のR plasmidを接合伝達した*E. coli* CS2 (R+) 50株に対するGPFXのMIC₉₀は0.78 µg/mlで, TFLXより1管, CPFXより2管弱かったが他の比較薬剤と同等であった。*Klebsiella pneumoniae* 47臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は, 0.1 µg/mlで, CPFXより2管, OFLXおよびNFLXより4管強かった。しかし, *Proteus mirabilis* 48臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は0.39 µg/mlで, NFLXおよびCPFXより弱く, OFLXと同等であった。

Proteus vulgaris 35臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は0.78 µg/mlで, CPFXおよびNFLXより3管弱く, OFLXより1管弱かった。*Morganella morganii* 50臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は1.56 µg/mlで, CPFXより3管, OFLXより1管弱く, NFLXと同等であった。*Providencia rettgeri* 27臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は12.5 µg/mlで, OFLXより1管弱かったがNFLXより2管強く, CPFXと同等であった。*Citrobacter freundii* 50臨床

Table 2-2. *In vitro* activity of grepafloxacin against gram-negative clinical isolates

Organism (No. tested)	Antibiotic	MIC (µg/ml)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Serratia marcescens</i> (50)	grepafloxacin	0.2~25	0.78	3.13
	ofloxacin	0.1~12.5	0.39	6.25
	norfloxacin	0.1~50	0.2	12.5
	ciprofloxacin	<0.013~6.25	0.05	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	grepafloxacin	0.2~50	0.78	12.5
	ofloxacin	0.78~100	3.13	25
	norfloxacin	0.39~50	1.56	12.5
	ciprofloxacin	0.1~25	0.39	3.13
<i>Pseudomonas cepacia</i> (33)	grepafloxacin	0.39~3.13	1.56	1.56
	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>Xanthomonas maltophilia</i> (47)	grepafloxacin	0.05~3.13	0.39	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
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (27)	grepafloxacin	<0.013~6.25	0.05	6.25
	ofloxacin	0.1~50	0.2	50
	norfloxacin	0.1~>100	1.56	>100
	ciprofloxacin	0.05~50	0.2	50
	tosufloxacin			
Ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> (21)	grepafloxacin	<0.013~<0.013	<0.013	<0.013
	ofloxacin	0.05~0.1	0.05	0.05
	norfloxacin	0.05~0.1	0.05	0.1
	ciprofloxacin	<0.013~0.025	<0.013	0.025
<i>Bacteroides fragilis</i> (38)	grepafloxacin	1.56~12.5	1.56	6.25
	ofloxacin	1.56~25	3.13	6.25
	norfloxacin	12.5~100	25	50
	ciprofloxacin	3.13~25	6.25	25

分離株に対するGPFXのMIC₉₀は6.25 μ g/mlで、OFLXおよびCPF_Xより1管弱く、NFLXと同等であった。*Enterobacter cloacae* 50臨床分離株に対するMIC₉₀は1.56 μ g/mlで、CPF_Xより1管、OFLXより2管、NFLXより3管強かった。*Serratia marcescens* 50臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は3.13 μ g/mlで、CPF_Xより2管弱く、OFLXより1管、NFLXより2管強かった。*Pseudomonas aeruginosa* 50臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は12.5 μ g/mlで、CPF_Xより2管弱く、NFLXと同等で、OFLXより1管強かった。*Pseudomonas cepacia* 33臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は1.56 μ g/mlで、OFLXより1管、NFLXより2管強く、CPF_Xと同等であった。*Xanthomonas maltophilia* 47臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は0.78 μ g/mlで、比較薬剤中最も強かった。*Acinetobacter calcoaceticus* 27臨床分離株に対してもGPFXは、比較薬剤中最も強く、そのMIC₉₀は6.25 μ g/mlであった。ampicillin (ABPC)-resistant *Haemophilus influenzae* 21臨床分離株に対するGPFXの抗菌力は強く、全株を<0.013 μ g/mlで抑えた。嫌気生菌の*Bacteroides fragilis* 38臨床分離株に対するGPFXのMIC₉₀は6.25 μ g/mlで、CPF_Xより2管、NFLXより3管強く、OFLXと同等であった。

2. GPFXと血清補体およびマウス培養M ϕ との協力的殺菌作用

ID₅₀量のGPFXと単独では増殖に影響を与えない最高

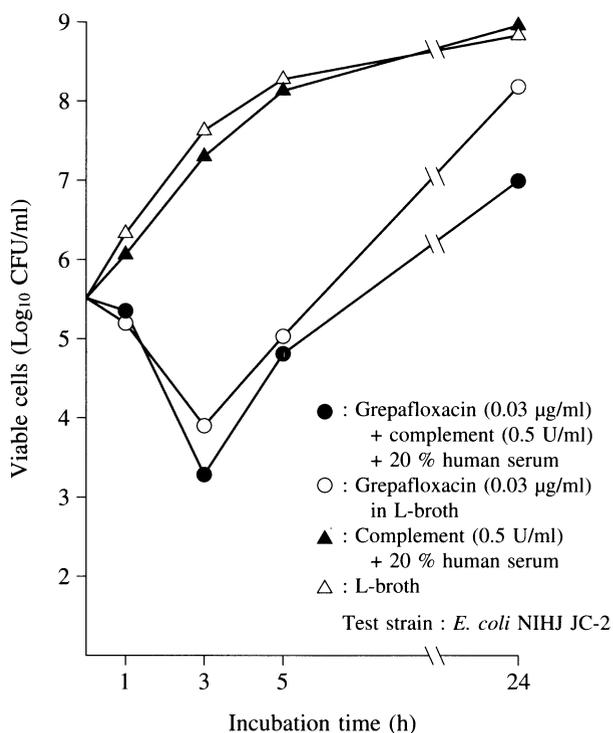


Fig. 1. Influence of ID₅₀ of grepafloxacin (0.025 μ g/ml) on the bactericidal effect of the serum complement on *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

量の補体とを共存させるとFig. 1のごとく培養3時間後、ID₅₀のGPFXと血清補体を添加したものの生菌数は、薬剤のみのものよりも1/4程度の低下しか認められず、顕著でなかった。

活性化されたM ϕ は、*E. coli* NIHJ JC-2をよく食菌するが、薬剤非存在下ではFig. 2aのごとく細胞内で増殖した菌がM ϕ を破壊して遊出した。1~1/4 MICのGPFXが存在するとFig. 2b~dのごとくフィラメント化した細胞はすみやかに消化され、消化後の大きな食空胞や染色性が弱くなった菌体が認められた。1/8 MIC存在下ではM ϕ の殺菌力と菌の増殖が平衡であった(Fig. 2e)。

3. GPFXの動物細胞増殖抑制作用

種々の濃度のGPFX、OFLXおよびCPF_Xの存在下で動物細胞を4日間培養した時の生細胞数の変動をFig. 3~5に示した。図は、薬剤非存在下での生細胞数を100%とした時の相対値を示した。CHO-K1細胞におけるCPF_XおよびOFLXは、10 μ g/mlまで増殖抑制はほとんど見られず、50 μ g/mlでは軽度の抑制が、100 μ g/mlでは約50%程度の抑制が見られた。しかし、GPFXは10 μ g/mlですでに約50%程度の抑制がみられ、100 μ g/mlでの生細胞数は5.8%であった。HeLa細胞においてもGPFXは10 μ g/mlで約50%程度増殖抑制が見られた。IMR32細胞においては、1 μ g/ml以下の濃度ではGPFXよりCPF_Xの方が増殖抑制が強く見られたが、10 μ g/mlではGPFXの方がCPF_Xより強く、約50%程度の増殖抑制が認められた。

4. 再分化したIMR32細胞の神経突起に対するGPFXの影響

1mMDBcAMP存在下で10日間培養を続け、十分に伸長したIMR32再分化細胞の神経突起はFig. 6のとおり5 μ g/mlのGPFXを添加しても神経突起の短縮などの細胞毒性に関する影響は特に認められなかった。

III. 考 察

GPFXのMRSA、CNSおよび*S. pneumoniae*を含むグラム陽性菌に対する抗菌力は、CPF_X、OFLXおよびNFLXよりも強く、TFLXに匹敵する強い抗菌力を示した。グラム陰性菌に対してはOFLXと同程度の抗菌力を示し、*K. pneumoniae*、*X. maltophilia*および*A. calcoaceticus*に対してはCPF_XおよびOFLXより強い抗菌力を示した。ABPC-resistant *H. influenzae*に対する抗菌力は最も強く、全株を<0.013 μ g/mlで抑えた。

血清補体との協力作用は、顕著ではなかったが、マウスM ϕ との協力作用は1/8 MICまでよく食菌消化した。

動物細胞に対する増殖抑制作用は、本剤10 μ g/mlでCHO-K1、HeLaおよびIMR32細胞を約50%程度抑制した。この増殖抑制に対する影響は比較的強かったが、神経細胞の神経突起に対する影響は特に認められなかった。これは、神経突起に対する影響の実験を5 μ g/mlで行なったためと考えられる。細胞毒性に関する影響は薬剤濃度

Test strain : *E. coli* NIHJ JC2

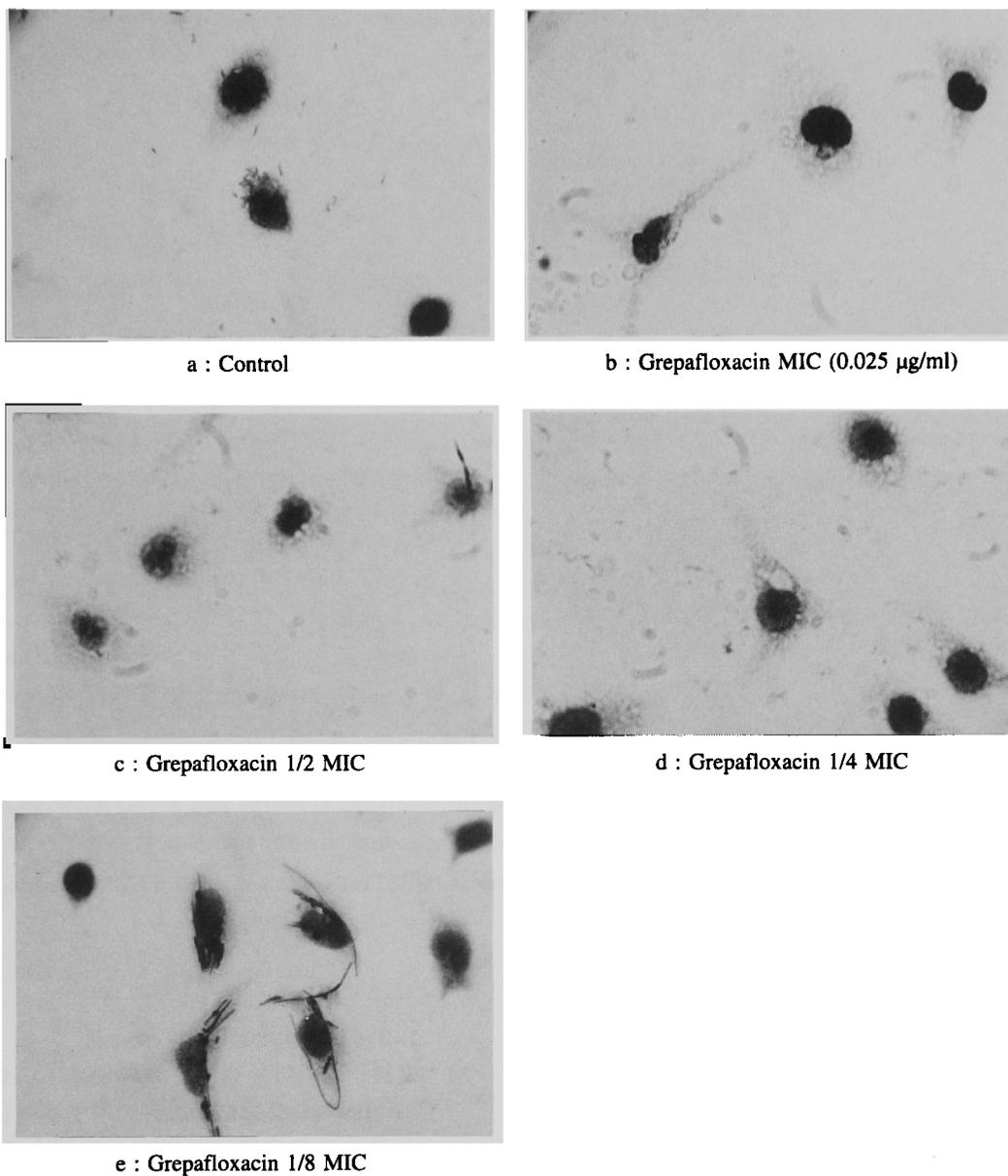


Fig. 2. Phagocytosis of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 by mouse cultured macrophage in the presence of subMIC of grepafloxacin.

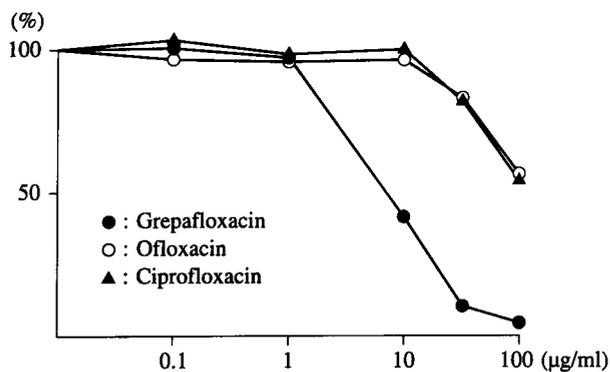


Fig. 3. Influence of grepafloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin on the growth of CHO-K1 cells.

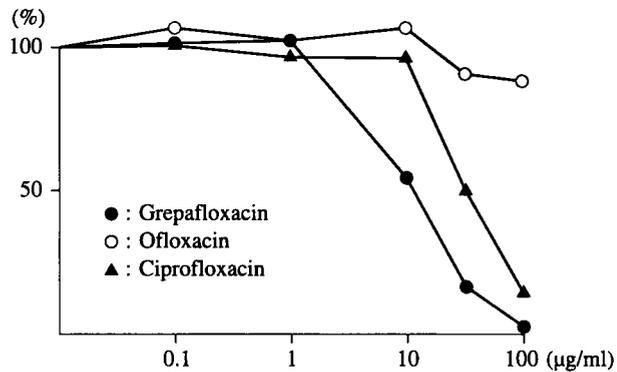


Fig. 4. Influence of grepafloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin on the growth of HeLa cells.

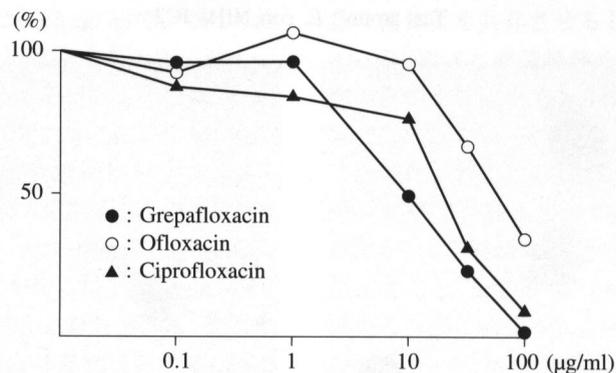


Fig. 5. Influence of grepafloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin on the growth of IMR32 cells.

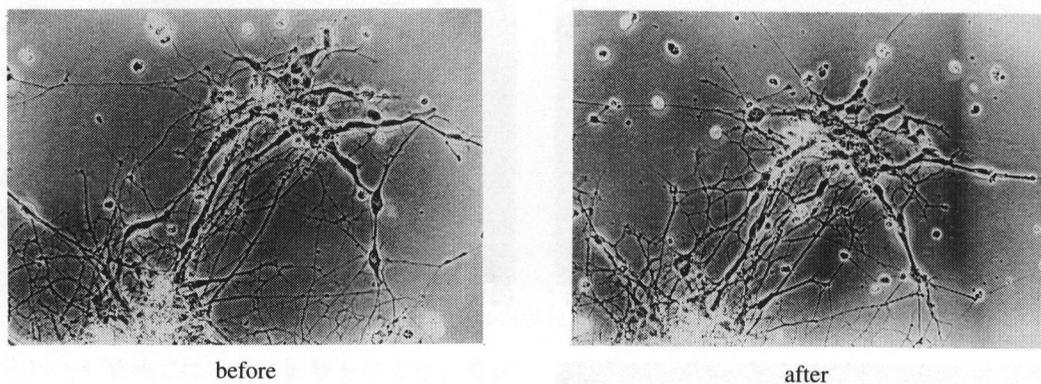


Fig. 6. The axon dendrites of redifferentiated human neuroblastoma IMR32 cells with 1 mM DB CAMP before (none) and 3 h after the addition of grepafloxacin.

に強く依存し、GPFX 10 µg/mlでは神経突起に対する影響も現れる可能性が推測される。通常投与での本剤の最高血漿中濃度は2 µg/ml以下であるので、投与量および投与方法に十分注意すれば本剤は、優れたニューキノロン薬となるであろう。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)測定再改訂について。Chemotherapy 29: 76～79, 1981
- 2) Lennox EG: Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. Virology: 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 and Kanda K: Influence of new quinolones on the extension of nerve fibers in redifferentiated human neuroblastoma IMR32 cells. The Reviews of Infectious Diseases vol. 11 (S-5): 1399～1400, 1989

In vitro activity of grepafloxacin, a new 4-quinoloneKyoko Kuwahara-Arai, Kayoko Kanda and Takeshi Yokota[#]

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University

2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

(* Present: Juntendo Medical College of Nursing)

Grepafloxacin (GPFX) is a 4-quinolone possessing cyclopropyl, methyl and 3-methyl-piperazinyl moieties at the 1, 5 and 7 positions, respectively. The MIC₉₀ of GPFX for 14~50 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, β -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2 (R+), *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 (ABPC)-resistant *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides fragilis* were 0.1, 0.2, 0.2, 0.39, 0.39, 0.39, 0.78, 6.25, 0.78, 0.1, 0.39, 0.78, 1.56, 12.5, 6.25, 1.56, 3.13, 12.5, 1.56, 0.78, 6.25, <0.013 and 6.25 μ g/ml, respectively. GPFX possesses almost the same strong activity against gram-positive bacteria as tosufloxacin, and against gram-negative bacteria as ofloxacin (OFLX) except for *P. aeruginosa*, *A. calcoaceticus* and ABPC-resistant *H. influenzae*. GPFX is more effective than ciprofloxacin and OFLX.

GPFX at 10 μ g/ml inhibited 50% of the growth of cultured CHO-K1, HeLa and IMR32 cells, but it had no influence on the axon dendrites of IMR32 neuroblastoma cells. No synergy in bactericidal effect was found between GPFX and serum complement. However, the cells of *E. coli* NIHJ JC-2 were well engulfed and rapidly digested by mouse macrophages in the presence of higher than 1/8 MIC of GPFX.