

【原著・基礎】

キノロン系 WQ-3034 および HSR-903 の *in vitro*
抗マイコバクテリウム活性小笠原圭子^{1,2)}・佐藤 勝昌¹⁾・富岡 治明¹⁾¹⁾島根医科大学微生物・免疫学教室*, ²⁾同 耳鼻咽喉科学教室

(平成 12 年 8 月 28 日受付・平成 12 年 11 月 6 日受理)

WQ-3034 および HSR-903 は、グラム陽性球菌に特に優れた抗菌力を有する新規キノロン薬であるが、今回は、これらの薬剤の *in vitro* 抗結核菌ならびに抗 *Mycobacterium avium complex* (MAC) 活性について、sitafloxacin (STFX), gatifloxacin (GFLX), sparfloxacin (SPFX), levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX) との比較検討を行った。まず、7H11 培地を用いた寒天平板希釈法で測定した MIC₉₀ の比較では、RFP 感受性結核菌に対しては STFX, GFLX (各 0.1 μg/mL) < SPFX (0.2 μg/mL) < LVFX (0.39 μg/mL) < WQ-3034, HSR-903, CPFX (各 0.78 μg/mL) の順であり、RFP 耐性結核菌に対しては STFX, GFLX (各 0.39 μg/mL) < SPFX, WQ-3034 (各 1.56 μg/mL) < LVFX, HSR-903 (各 3.13 μg/mL) < CPFX (6.25 μg/mL) の順であった。また、RFP 感受性 MAC に対する MIC₉₀ は STFX, GFLX (6.25 μg/mL) < SPFX, HSR-903 (各 12.5 μg/mL) < LVFX, WQ-3034, CPFX (各 25 μg/mL) の順であり、RFP 耐性 MAC に対しては STFX, SPFX (各 1.56 μg/mL) < GFLX, WQ-3034, HSR-903, CPFX (各 3.13 μg/mL) < LVFX (6.25 μg/mL) の順であった。なお MIC₉₀ 値についてもおおむね同様な成績が得られている。次に、供試薬剤を血中 C_{max} 濃度で添加した場合の Mono Mac 6 ヒトマクロファージ細胞株 (MM6-MΦ) および A-549 ヒト II 型肺胞上皮細胞株内局在結核菌 (93062 株) に対する抗菌活性についてみたところ、SPFX ≥ LVFX > WQ-3034 > CPFX の順の活性が認められた。また、MIC 濃度で加えた場合の MM6-MΦ 内局在結核菌 (Kuronon 株) に対する抗菌活性は WQ-3034 ≥ HSR-903 > LVFX の順であった。以上の成績より、WQ-3034 や HSR-903 の抗マイコバクテリウム活性は LVFX とほぼ同等と考えられる。したがって、キノロン薬においてはグラム陽性球菌に対する抗菌力の増強は、結核菌や MAC 菌に対する抗菌力の増強には必ずしもつながらぬものと考えられた。次に、WQ-3034, HSR-903 各単独ならびに他剤との併用での細胞外 MAC 菌に対する抗菌活性について検討したところ、両キノロン薬の抗菌力は clarithromycin や rifampicin との併用により、かえって減弱するものの、isoniazid との間には有意な併用効果が認められることが明らかになった。

Key words: 結核菌, *Mycobacterium avium complex*, キノロン薬, *in vitro* 抗菌活性

肺結核の初回治療においては、rifampicin (RFP) + isoniazid (INH) あるいは RFP+INH+pyrazinamide に streptomycin (SM) または ethambutol (EB) を併用する標準方式が確立されているが、多剤耐性菌による難治性肺結核の治療、短期化学療法あるいはそれに伴う再発の防止、さらには AIDS などでの宿主免疫能の低下に起因する結核 (特に多剤耐性結核) の増加や難治化に対処するためにも、既存のものよりも強力かつ交差耐性のない新しい抗結核薬の開発が望まれる¹⁻³⁾。

近年、多くのキノロン薬が開発されて来ているが、抗酸菌感染症への適用という観点からは、ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX) などがあげられる⁴⁻⁶⁾。これらキノロン薬は他の薬剤との間に交差耐性を示さないことから、米国を中心に多剤耐性結核などの難治性結核に対する併用療法に適用されてお

り^{2,5)}、最近では gatifloxacin (GFLX), sitafloxacin (STFX), moxifloxacin (MXFX) などの開発も進められてきている⁷⁻⁹⁾。さきにわれわれは、*Staphylococcus* や *Streptococcus* などのグラム陽性球菌に特に優れた抗菌力を有する新規キノロン薬である WQ-3034^{10,11)} および HSR-903¹²⁻¹⁴⁾ を入手する機会を得て、主にこれらの薬剤の *in vitro* 抗結核菌活性について、LVFX, CPFX, SPFX, GFLX, STFX との比較検討を行った。その結果、MIC 値やマクロファージ (MΦ) および A-549 II 型肺胞上皮細胞 (A-549 細胞) 内局在菌に対する殺菌力を指標とした場合のこれらキノロン薬の抗菌活性は、(1) 結核菌に対しては STFX ≅ GFLX ≅ SPFX > LVFX ≅ WQ-3034 ≅ HSR-903 ≅ CPFX の順であり、(2) *Mycobacterium avium complex* (MAC) に対しては、STFX ≅ SPFX ≅ GFLX ≅ CPFX ≅ WQ-3034 ≅ HSR-903 ≅ LVFX の順であることが明らかになった^{15,16)}。今回は、(1) その後新たに入

手した臨床分離株を追加してのこれらキノロン薬のMIC値の判定、(2) 前回報告のものとはビルレンスの異なる結核菌臨床分離株(93062株)を供試しての細胞内増殖菌に対するWQ-3034, HSR-903の抗菌活性の測定を行うとともに、(3) WQ-3034, HSR-903の各単独および他の抗菌剤との細胞外MAC菌に対する併用下での抗菌作用についても検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 供試菌

主に近畿ならびに中国地方の国立療養所の結核患者より分離された結核菌計55株を用いた。うち27株は従来の結核菌検査指針¹⁷⁾に準じての小川培地を用いての絶対濃度法(平成12年春より結核菌検査指針が改定され、比率法が標準法として採用されるに至っている¹⁸⁾)でRFP(50 μ g/mL)感受性、28株はRFP耐性(うち完全耐性株[薬剤含有培地上での集落発育程度が薬剤非含有対照培地でのそれとほぼ等しいもの]17株)であった。また、同様にMAC症患者より分離のMAC菌計40株を供試したが、これら菌株に対するRFPのMIC判定の結果、MIC \leq 6.25 μ g/mLとMIC \geq 12.5 μ g/mLの2峰性の分布がみられたので、前者のMICを示す22株をRFP感受性株、後者のMICを示す18株をRFP耐性株とした。

2. 供試薬剤

WQ-3034(湧永製薬), HSR-903(北陸製薬), LVFX, STFX, RFP(第一製薬), CPFX(バイエル薬品), SPFX(大日本製薬)およびGFLX(杏林製薬), clarithromycin(CAM)(大正製薬), EB(日本レダリー), SM(明治製薬), INH(和光純薬工業)を用いた。なおキノロン薬は0.1N NaOHに、RFPはdimethylsulfoxideに各2mg/mLの濃度で溶解したものを用時所定の培地で希釈して用いた。

3. MIC判定

各薬剤の供試菌株に対するMIC値は、既報のごとくMiddlebrook 7H11培地を用いての寒天希釈法か、あるいは7HSF培地を用いての微量液体希釈法により判定した^{19, 20)}。

4. 細胞外増殖MAC菌に対する抗菌力

MAC N-444株(DNAプローブテストで*M. avium*と同定)の 5×10^6 CFUをMIC値相当濃度の各薬剤を含む7HSF培地(0.5mL)に浮遊させ、37 $^{\circ}$ Cで3日間培養後、生残菌数を7H11寒天平板上で計測した。なお、各供試薬剤のMAC N-444株に対するMIC値(7HSF培地を用いての微量液体希釈法により判定)は、WQ-3034, 8 μ g/mL; HSR-903, 8 μ g/mL; CAM, 8 μ g/mL; RFP, 8 μ g/mL; INH, 64 μ g/mL; EB, 16 μ g/mL; SM, 4 μ g/mLであった。

5. 細胞内局在結核菌に対する抗菌作用

Mono Mac 6 ヒト M Φ 細胞株 (MM6-M Φ)²¹⁾ および A

-549細胞²²⁾を宿主細胞として、これらの細胞内に感染した結核菌(93062株およびKurono株)に対する供試キノロン薬の抗菌作用を以下の方法で測定した。すなわち、それぞれ0.2mLの5%牛胎児血清(FBS)加RPMI 1640培地またはF-12K培地に浮遊させたMM6-M Φ あるいはA-549細胞の 4×10^4 個をmicroculture wellにまき、次いで供試結核菌を加えMOI=10(MM6-M Φ)またはMOI=30(A-549細胞)で2時間インキュベートすることにより、MM6-M Φ あるいはA-549細胞に供試菌を感染させた。次いで非貪食菌を2%FBS加Hanks氏液で洗浄し除去した後(MM6-M Φ は150g, 5分の遠心洗浄)、所定濃度のキノロン薬を含む各々の培地(0.2mL)中で7日間にわたり培養した。所定時間後に0.07%SDSで感染細胞を溶解させ、さらに最終6%濃度の牛血清アルブミンでSDSを中和した後、得られた細胞lysate中の生菌単位を7H11寒天平板上で計測した。

II. 結果

1. 各種キノロン薬の結核菌株に対するMIC値

Table 1には、WQ-3034, HSR-903をはじめとする各種キノロン薬の結核菌およびMAC菌に対するMIC₅₀, MIC₉₀値を示した。RFP感受性結核菌株に対する活性ではSTFXがもっとも強く、MIC₅₀, MIC₉₀がそれぞれ0.1, 0.2 μ g/mLともっとも強い抗菌力を示し、次いでGFLX(0.1, 1.39 μ g/mL), SPFX(0.2, 0.39 μ g/mL), LVFX(0.39, 1.56 μ g/mL), さらにWQ-3034, HSR-903, CPFXがほぼ同等で0.78, 1.56 μ g/mLの順であった。他方、RFP耐性株(不完全耐性株を含む)に対するMIC₅₀, MIC₉₀値はSTFXとGFLXがそれぞれ0.39, 1.56 μ g/mLとほぼ同等で強い抗菌力を示し、次いでSPFX(1.56, 3.13 μ g/mL) \leq WQ-3034(1.56, 6.25 μ g/mL) \leq LVFX(3.13, 6.25 μ g/mL) \leq HSR-903(3.13, 25 μ g/mL) \approx CPFX(6.25, 12.5 μ g/mL)の順であり、RFP完全耐性株に対するMIC₅₀, MIC₉₀はGFLX(0.39, 1.56 μ g/mL) \leq STFX(0.39, 3.13 μ g/mL) \leq SPFX(1.56, 3.13 μ g/mL) \leq WQ-3034, LVFX(1.56, 6.25 μ g/mL) < CPFX(3.13, 12.5 μ g/mL) \leq HSR-903(6.25, 12.5 μ g/mL)の順であった。なお、RFP耐性株ではいずれのキノロン薬のMICともRFP感受性株に対するMICより4~32倍ほど高くなる傾向が認められたが、今回供試のRFP耐性結核菌の多くは、OFLXやCPFXなどのキノロン薬を含む多剤併用療法を比較的長期にわたり受けた患者より分離されたものであることから、RFP耐性獲得に連動してキノロン薬耐性が獲得されたものとは考えにくい。

次にMAC菌については、RFP感受性株に対するMIC₅₀, MIC₉₀値は、STFXとGFLXがそれぞれ6.25, 6.25 μ g/mLで抗菌力がもっとも強く、次いでSPFX, HSR-903(12.5, 12.5 μ g/mL) < WQ-3034, LVFX,

Table 1. MIC₅₀s and MIC₉₀s of various quinolones for *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and MAC isolates*

Strains	Number of strains	MIC ₅₀ (μg/mL)							MIC ₉₀ (μg/mL)						
		STFX	GFLX	SPFX	LVFX	WQ-3034	HSR-903	CPFX	STFX	GFLX	SPFX	LVFX	WQ-3034	HSR-903	CPFX
RFP ^a -MTB ^a	27	0.1	0.1	0.2	0.39	0.78	0.78	0.78	0.2	0.39	0.39	1.56	1.56	1.56	1.56
RFP ^b -MTB ^b	28	0.39	0.39	1.56	3.13	1.56	3.13	6.25	1.56	1.56	3.13	6.25	6.25	25	12.5
RFP ^c -MTB ^c	17	0.39	0.39	1.56	1.56	1.56	6.25	3.13	3.13	1.56	3.13	6.25	6.25	12.5	12.5
RFP ^d -MAC ^d	22	6.25	6.25	12.5	25	25	12.5	25	6.25	6.25	12.5	25	25	12.5	25
RFP ^e -MAC ^e	18	1.56	3.13	1.56	6.25	3.13	3.13	3.13	1.56	3.13	1.56	6.25	3.13	3.13	3.13

*MICs were determined by the agar dilution method in 7H11 medium. MIC₅₀ and MIC₉₀ mean the MICs at which 50% and 90% of the test strains were inhibited, respectively.

^a Susceptible to RFP (50 μg/mL) by the usual absolute concentration method on Ogawa-egg medium.

^b Resistant to RFP (50 μg/mL) by the usual Ogawa-egg method.

^c Completely resistant to RFP (50 μg/mL).

^d Susceptible to RFP by the agar dilution method on 7H11 medium: MIC ≤ 6.25 μg/mL.

^e Resistant to RFP by the agar dilution method: MIC ≥ 12.5 μg/mL.

STFX: sitafloxacin, GFLX: gatifloxacin, SPFX: sparfloxacin, LVFX: levofloxacin, CPFX: ciprofloxacin

CPFX (25, 25 μg/mL) の順であり、他方、RFP 耐性株に対する MIC₅₀, MIC₉₀ 値では、STFX と SPFX がそれぞれ 1.56, 1.56 μg/mL とともに抗菌活性が強く、次いで GFLX, WQ-3034, HSR-903, CPFX (3.13, 3.13 μg/mL) < LVFX (6.25, 6.25 μg/mL) の順であり、結核菌とは若干異なる MIC 分布を認めた。

2. 細胞内局在結核菌に対する抗菌活性

Fig. 1 は、WQ-3034 をヒトへの経口投与時での血中 C_{max} 値相当の濃度で培地中に添加した場合の MM6-MΦ および A-549 細胞内局在結核菌 (93062 株) に対する抗菌活性を、LVFX, CPFX, SPFX のそれと比較したものである。今回供試した 93062 株は前回の検討¹⁶⁾ で用いた Kurono 株に比べてビルレンスが低く、MΦ 内増殖能も弱い、前回と同様に MM6-MΦ および A-549 細胞のいずれにおいても SPFX ≥ LVFX > WQ-3034 > CPFX の順の抗菌活性が認められた。なお、いずれのキノロン薬についても A-549 細胞内局在菌に対する抗菌活性は、MM6-MΦ 内局在菌に対する抗菌活性に比べて有意に減弱する傾向が認められた (P < 0.05)。C_{max} 濃度の WQ-3034 および HSR-903 は、MM6-MΦ および A-549 細胞内局在結核菌に対してほぼ同等な抗菌活性を示した。

Fig. 2 は、WQ-3034, HSR-903 および LVFX を MIC 値相当の濃度で培地中に加えた場合の MM6-MΦ 内局在結核菌 (Kurono 株) に対する抗菌活性を比較したものであるが、WQ-3034 ≥ HSR-903 > LVFX の順の抗菌活性が認められた。

3. MAC 菌に対する WQ-3034 および HSR-903 の他剤との併用効果

Fig. 3 には、WQ-3034 と HSR-903 の単独ならびに他剤と併用時の抗 MAC 活性を示した。この実験では、マウスに対するビルレンスの強い *M. avium* N-444 株 (血清型 8) を用い、7HSF 培地中での増殖菌に対する

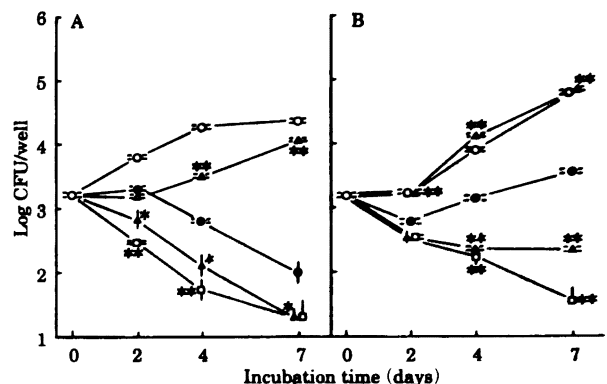


Fig. 1. Antimicrobial activity of WQ-3034 (●), ciprofloxacin (CPFX) (△), levofloxacin (LVFX) (▲), and sparfloxacin (SPFX) (□) against *Mycobacterium tuberculosis* 93062 strain residing in MM6-MΦs (A) and A-549 cells (B). The drugs were added to the culture medium of *M. tuberculosis*-infected cells at the C_{max} in the blood after oral administration: 3.7, 0.56, 2.0, and 0.39 μg/mL for WQ-3034, CPFX, LVFX, and SPFX, respectively. ○: Control culture without drugs. Each symbol indicates the mean ± SEM (n=3 [error bars were omitted when values were < 0.1]). ***, Significantly different between bacterial CFU recovered from cells treated with each comparison drug and cells treated with WQ-3034 (*, P < 0.05; **, P < 0.01; Student's *t*-test).

供試薬剤の抗菌活性を薬剤添加時での生残菌数の減少を指標として求めた。これらキノロン薬の抗菌力は CAM や RFP との併用によりかえって減弱したが、他方 INH との併用によっては、これらキノロン薬の抗菌力の弱いながらも有意な増強が認められた。さらに、WQ-3034 では EB との間にも有意な併用効果を認めた。

III. 考 察

今回新しく入手した臨床分離株を追加しての検討により、MIC 値を指標とした場合の WQ-3034 や HSR-903

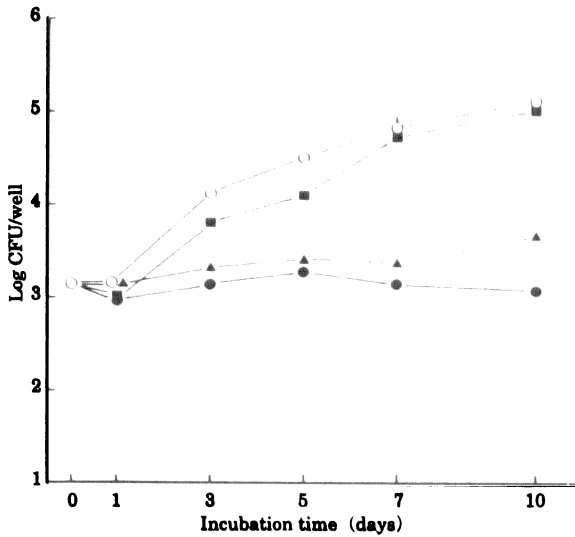


Fig. 2. Antimicrobial activity of WQ-3034 (●), HSR-903 (▲), and levofloxacin (■) against *Mycobacterium tuberculosis* Kurono residing in MM6-MΦs. These drugs were added to the culture medium of *M. tuberculosis*-infected cells at the MIC (1.0, 0.25, 0.25 μg/mL, respectively). ○: Control culture without addition of drugs. The other details are the same as in Fig. 1.

をはじめとする各種キノロン薬の結核菌に対する抗菌活性は、おおむね STFX ≧ GFLX ≧ SPFX ≧ WQ-3034 ≧ LVFX ≧ HSR-903 ≧ CPFX の順であること、さらに MAC に対する抗菌力は、STFX ≧ GFLX ≧ SPFX ≧ HSR-903 ≧ WQ-3034 ≧ CPFX ≧ LVFX の順であることが明らかになった。今回の成績は、主に以前から教室保存の臨床分離株を用いて行ったさきの検討で得られたもの^{15,16)}とおおむね軌を一にするものである。なお、MM6-MΦ および A-549 細胞内局在結核菌に対する抗菌活性については、C_{max} および MIC 濃度で添加した場合の成績をあわせて考えると、SPFX ≧ WQ-3034 ≧ LVFX ≧ HSR-903 > CPFX の順になり、MIC 値を指標としての抗結核菌活性のランキングとは若干異なる傾向が認められる。

ここで興味深いのは、グラム陽性球菌に対する抗菌力が SPFX や LVFX などのキノロン薬よりも数段勝っている WQ-3034^{10,11)} や HSR-903¹²⁻¹⁴⁾ にしても、結核菌や MAC に対する抗菌活性は SPFX や LVFX のそれに比較して特に優れたものではないということである。このことは、少なくともキノロン薬においてはグラム陽性菌に対する抗菌力の増強が、必ずしも結核菌に対する抗菌力の増強にはつながらないという可能性を物語るものであり、今後の抗結核薬としての用途を念頭にした新規キノロン薬のドラッグデザインおよびその開発にあたっては、特に留意しなければならない問題点の1つになり得るものと考えられる。

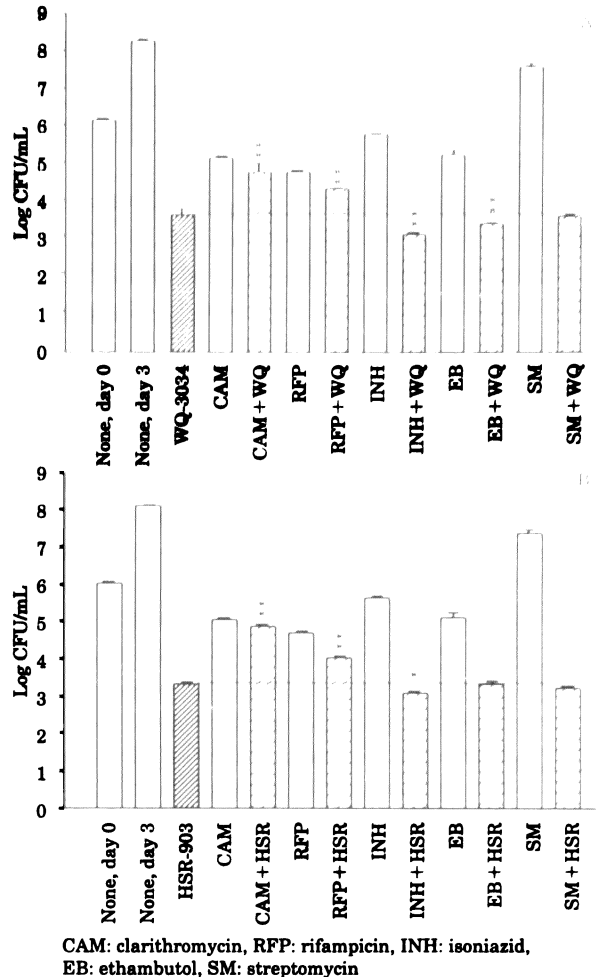


Fig. 3. Antimicrobial activities of WQ-3034 (A) and HSR-903 (B) alone and in two-drug combinations with other antimycobacterial agents against MAC N-444 strain growing in 7HSF medium. ***: Significantly different from the values of each quinolone alone (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; Student's *t*-test). Abbreviations: WQ, WQ-3034; HSR, HSR-903.

Fig. 3 の成績からも明らかなように、WQ-3034 や HSR-903 の細胞外 MAC 菌に対する抗菌力は CAM あるいは RFP との併用により、有意に減弱したが、別途 STFX, GFLX, LVFX について行った検討でも、これと同様な成績が得られている。しかしながら、STFX, GFLX, LVFX の MΦ 内局在 MAC 菌に対する抗菌力に関しての検討では、キノロン薬と RFP との間にはそのような相殺効果は認められていない (論文投稿中)。したがって、MAC 患者の化学療法においては、キノロン薬と CAM あるいは RFP との併用が特に不利な結果をもたらし得る可能性はさほど大きくはないものと考えられる。なお、別途に結核菌を供試して行った検討では、STFX, GFLX あるいは LVFX と rifamycin 誘導体 (RFP, KRM-1648) との間に有意なレベルの併用抗菌作用が認められており (論文投稿中)、WQ-3034 や HSR

-903についても rifamycin との間に同様な併用効果が期待される。現在 WQ-3034 と HSR-903 についても *in vivo* 活性との関連から同様な検討を行いつつあり、その成績については別の機会に報告したい。

謝 辞

供試菌株を分与いただいた河原 伸, 宍戸真司, 坂谷光則博士, ならびに供試薬剤を分与いただいた湧水製薬, 北陸製薬, 大正製薬, 第一製薬, 杏林製薬, 大日本製薬, バイエル薬品, 日本レダリー株式会社に深謝します。

文 献

- 1) Yew W W, Chau C H: New antimycobacterial agents. *Monaldi Arch. Chest. Dis.* 51: 394~404, 1996
- 2) Grassi C: New drugs for tuberculosis. *Exp. Opin. Invest. Drugs.* 6: 1211~1226, 1997
- 3) 富岡治明: 結核と非定型抗酸菌感染症に対する化学療法剤開発の現況と展望。感染と抗菌薬 2: 195~201, 1999
- 4) Garcia-Rodriguez J A, Garcia A C G: In-vitro activities of quinolones against mycobacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 32: 797~808, 1993
- 5) Alangaden G J, Lerner S A: The clinical use of fluoroquinolones for the treatment of mycobacterial diseases. *Clin. Infect. Dis.* 25: 1213~1221, 1997
- 6) Tomioka H: Prospects for development of new antimycobacterial drugs. *J. Infect. Chemother.* 6: 8~20, 2000
- 7) Tomioka H, Saito H, Sato K: Comparative antimycobacterial activities of the newly synthesized quinolone AM-1155, sparfloxacin, and ofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 1259~1263, 1993
- 8) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al.: In vitro and in vivo antimycobacterial activities of a new quinolone, DU-6859 a. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38: 2877~2882, 1994
- 9) Ji B, Louis N, Maslo C, et al.: In vitro and in vivo activities of moxifloxacin and clinafloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 2066~2069, 1998
- 10) Ohshita Y, Yazaki A: In vitro studies with WQ-3034, a newly synthesized acidic fluoroquinolone. abstr. F-164. *In Abstracts of 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* p.174, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1997
- 11) Ohshita Y, Hayashi N, Amano H, et al.: WQ-3034, a novel acidic fluoroquinolone: in vitro and in vivo antimicrobial activities. abstr. F-84. *In Abstracts of 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* p.254, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1998
- 12) Takahashi Y, Masuda N, Otsuki M, et al.: In vitro activity of HSR-903, a new quinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 1326~1330, 1997
- 13) Yoshizumi S, Domon H, Miyazaki S, et al.: In vivo activity of HSR-903, a new fluoroquinolone, against respiratory pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 785~788, 1998
- 14) Watanabe A, Tokue Y, Takahashi H, et al.: In vitro activity of HSR-903, a new oral quinolone, against bacteria causing respiratory infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 1767~1768, 1999
- 15) Tomioka H, Sato K, Kajitani H, et al.: Comparative antimicrobial activities of the newly synthesized quinolone WQ-3034, levofloxacin, sparfloxacin, and ciprofloxacin against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 283~286, 2000
- 16) Tomioka H, Sato K, Akaki T, et al.: Comparative in vitro activities of the newly synthesized quinolone HSR-903, sitafloxacin (DU-6859 a), gatifloxacin (AM-1155), and levofloxacin against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 3001~3004, 1999
- 17) 室橋豊穂, 工藤祐是, 伊藤忠雄, 他 (結核菌検査指針編集委員会): 薬剤感受性試験法。結核菌検査指針 (厚生省監修), p.49~62, 日本公衆衛生協会, 東京, 1979
- 18) 阿部千代治: 薬剤感受性試験。新結核菌検査指針 (日本結核病学会抗酸菌検査検討委員会編), p.96~106, 結核予防会, 東京, 2000
- 19) Saito H, Sato K, Tomioka H, et al.: In vitro antimycobacterial activity of a new quinolone, levofloxacin (DR-3355). *Tuberc. Lung Dis.* 76: 377~380, 1995
- 20) Yajuko D M, Nassos P S, Hadley W K: Broth microdilution testing of susceptibilities to 30 antimicrobial agents of *Mycobacterium avium* from patients with acquired immune deficiency syndrome. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31: 1579~1584, 1987
- 21) Wright E L, Quenelle D C, Suling W J, et al.: Use of Mono Mac 6 human monocytic cell line in parallel antimycobacterial drug studies. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 2206~2208, 1996
- 22) Bermudez L E, Goodman J: *Mycobacterium tuberculosis* invades and replicates within type II alveolar cells. *Infect. Immun.* 64: 1400~1406, 1996

Comparative *in vitro* antimicrobial activity of the newly synthesized quinolones WQ-3034 and HSR-903 and other quinolones against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex

Keiko Ogasawara^{1,2)}, Katsumasa Sato¹⁾ and Haruaki Tomioka¹⁾

¹⁾Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo, Shimane 693-8501, Japan

²⁾Department of Otorhinolaryngology, Shimane Medical University

WQ-3034 and HSR-903 are newly synthesized fluoroquinolones with potent antimicrobial activity against common gram-positive cocci. We assessed the *in vitro* activity of WQ-3034 and HSR-903 against *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and *Mycobacterium avium* complex (MAC) by using levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX), gatifloxacin (GFLX), and sitafloxacin (STFX) as reference drugs. First, the MICs of all of these drugs were determined by the agar dilution method with 7H11 medium. The MICs at which 50% and 90% of the test MTB strains were inhibited (MIC₅₀ and MIC₉₀, respectively) by the test quinolones were: rifampicin (RFP)-susceptible MTB, STFX (0.1, 0.2 µg/mL) ≤ GFLX (0.1, 0.39 µg/mL) ≤ SPFX (0.2, 0.39 µg/mL) < LVFX (0.39, 1.56 µg/mL) ≤ WQ-3034 ≅ HSR-903 ≅ CPFX (0.78, 1.56 µg/mL); RFP-resistant MTB, STFX ≅ GFLX (0.39, 1.56 µg/mL) < SPFX (1.56, 3.13 µg/mL) ≤ WQ-3034 (1.56, 6.25 µg/mL) ≤ LVFX (3.13, 6.25 µg/mL) ≤ HSR-903 (3.13, 25 µg/mL) ≅ CPFX (6.25, 12.5 µg/mL). On the other hand, the MIC₅₀ and MIC₉₀ of the test quinolones for MAC isolates were: RFP-susceptible MAC, STFX ≅ GFLX (6.25, 6.25 µg/mL) < SPFX ≅ HSR-903 (12.5, 12.5 µg/mL) < WQ-3034 ≅ LVFX ≅ CPFX (25, 25 µg/mL); RFP-resistant MAC, STFX ≅ SPFX (1.56, 1.56 µg/mL) < GFLX ≅ WQ-3034 ≅ HSR-903 ≅ CPFX (3.13, 3.13 µg/mL) < LVFX (6.25, 6.25 µg/mL). Second, we compared the antimicrobial activity of the test drugs against the MTB 93062 strain residing in the Mono Mac 6 macrophage cell line (MM6-MΦs) and the A-549 type II alveolar cell line (A-549 cells). When the drugs were added at the blood C_{max}, progressive killing or inhibition of the MTB residing in MM6-MΦs and A-549 cells was observed in the order: SPFX ≥ LVFX > WQ-3034 > CPFX. The efficacy of all of the quinolones against intracellular MTB was significantly lower in the A-549 cells than in the MM6-MΦs. WQ-3034, HSR-903, and LVFX at their MIC caused growth inhibition of intramacrophage MTB Kurono strain in the order: WQ-3034 ≥ HSR-903 > LVFX. These findings indicate that the anti-MTB and anti-MAC activity of WQ-3034 is greater than that of CPFX and comparable to that of LVFX, while the activity of HSR-903 is somewhat greater than or comparable to that of CPFX. It thus appears that an increase in the activity of a given quinolone against gram-positive cocci does not necessarily mean increased activity of that drug against MTB organisms. Third, we examined the activity of WQ-3034 and HSR-903 alone and in combination with other antimycobacterial drugs against extracellularly growing MAC. The activity of these quinolones was reduced by combination with either clarithromycin or RFP but significantly potentiated by combination with isoniazid.