

새로운 플루오로 퀴놀론계 항균제에 대한 내성 MRSA 균주의 *In Vitro* 선발과 그 내성 기전 분석

윤은정* · 김현지* · 이춘영 · 최응칠* · 심미자#

서울시립대학교 생명과학과, *서울대학교 약학대학종합 약학 연구소
(Received March 27, 2008; Revised April 25, 2008)

In Vitro Selection of MRSA Strains Resistant to Some New Fluoroquinolone Antibiotics and Characterization of their Resistance Mechanisms

Eun-Jeong Yoon*, Hyunjee Kim*, Chun-Yeong Lee, Eung-Chil Choi* and Mi-Ja Shim#

Department of Life Science, University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

*College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract — Clinically isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains were exposed to subinhibitory concentration of DW286, DW-224a, gemifloxacin, trovafloxacin, sparfloxacin and ciprofloxacin during 26- to 39-days period. Subculturing led to resistance development, and most of the selected mutants were above susceptible breakpoints. Selected mutants had broad cross resistance to other quinolone antibiotics and only one mutant was completely susceptible to all fluoroquinolones. Twenty five among 42 mutants revealed mutations on DNA gyrase and topoisomerase IV by sequencing. Also 16 mutants had fluoroquinolones MICs that were 4-32 times lower in the presence of reserpine. In conclusion, alterations in DNA gyrase or topoisomerase IV and action of efflux pumping out system are the resistance mechanisms of DW-224a.

Keywords □ quinolone, DNA gyrase, topoisomerase IV, MRSA, QRDR

플루오로 퀴놀론계 항균제는, ATP 의존 효소인 DNA gyrase와 topoisomerase IV의 작용을 방해하여 DNA 이중나선구조의 풀림 과정을 저지함으로써 살균 효과를 나타낸다. 이들 플루오로 퀴놀론계 항균제는 본래 그람 양성균을 포함하는 항균범위를 가진다. 새로이 개발되는 플루오로 퀴놀론계 항균제는 원내감염의 대표적 원인균인 메치실린 내성 황색포도상구균(Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)을 포함하는 다약제 내성 그람 양성균에 항균력을 가질 수 있도록 지속적으로 발전되고 있다.¹⁻³⁾ 그러나 퀴놀론계 항균제의 광범위한 사용으로, 기존에 사용되고 있던 항균제는 물론이고 새로이 개발되는 플루오로 퀴놀론계 항균제에 마저 내성을 가지는 황색포도상구균이 증가하고 있어 문제가 되고 있다.^{4,5)} 퀴놀론계 항균제에 내성을 보이게 되는 기전은 DNA gyrase의 일부인 *gyrA*와 *gyrB* 상의 염기

변이, topoisomerase IV의 일부인 *gylA*와 *gylB* 상의 염기 변이, 항균제 유출 펌프의 작동으로 인한 약물 투과력 변화의 3가지인 것으로 알려져 있다.^{6,7)} 이 중에서도 실험실이나 임상에서 분리된 퀴놀론계 항균제 내성 황색포도상구균(Quinolone Resistant *Staphylococcus aureus*, QRSA)의 경우 주로 DNA gyrase와 topoisomerase IV의 일정 구간에 점변이가 일어남으로써 내성이 나타나는 것으로 보고되고 있으며, 이 부분을 퀴놀론 내성 결정 부위(Quinolone Resistance Determining Region, QRDR)라고 부른다.^{6,7)}

DW-224a(1-cyclopropyl-6-fluoro-7-[8-(methoxyimino)-2,6diazaspiro[3,4]oct-6-yl]-4-oxo-1,4-dihydro[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid hydrochloride)는 국내 제약회사에서 개발중인 플루오로 퀴놀론 항균제이다(Fig. 1). DW-224a는 MRSA, QRSA 및 폐렴쌍구균을 포함하는 그람 양성 구균에 효과적인 *in vitro* 활성을 보이는 것으로 알려져 있으며, 그람 양성 구균에 의한 마우스의 전신 감염증에 대한 *in vivo* 적용에도 좋은 효과를 보인 바 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 본 실험에서는, 퀴놀론계 항균제에 감수성인 7개 MRSA

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-2210-2490 (팩스) 02-2210-2490
(E-mail) mjshim@uos.ac.kr

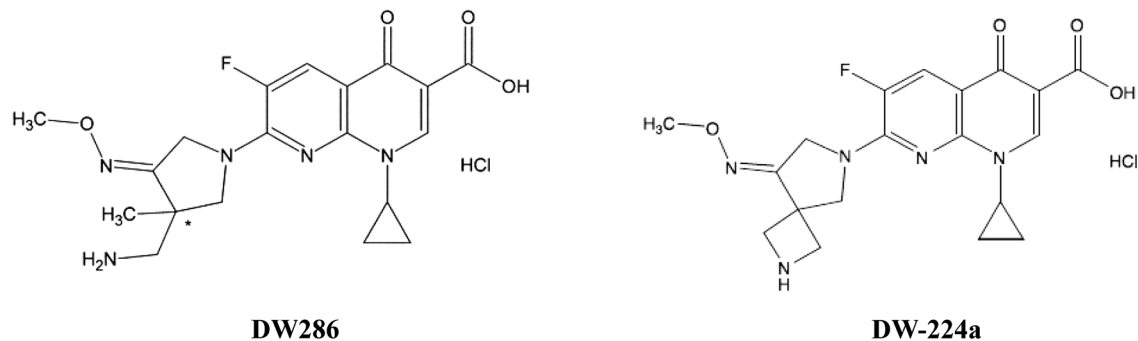


Fig. 1 – The chemical structures of DW286 and DW-224a.

균주를 DW-224a 및 다른 퀴놀론계 항균제에 순차적으로 노출시켜 내성을 유발하고,¹¹⁾ 이들을 대상으로 다른 퀴놀론계 항균제에 대한 교차내성을 관찰하고, DNA gyrase와 topoisomerase IV에 일어난 돌연변이를 관찰하여 내성의 분자생물학적 기전을 분석함으로써 감염증의 치료과정에서 발생할 수 있는 내성을 예측해 보고자 하였다.

실험 방법

항균물질

본 실험에 사용된 DW-224a와 DW286은 동화약품 주식회사(An-Yang, Korea)에서 합성한 것을 이용하였다. 비교를 위해, 기존에 이용되고 있던 플루오로 퀴놀론계 항균제인 ciprofloxacin(CIP, Bayer, Inc., West Haven, Conn.), gemifloxacin(GEM, LG Biotech, Seoul, Korea), sparfloxacin(SPX, Rhone-Poulenc Rorer, Collegeville, Pa.), trovafloxacin(TVA, Pfizer, Inc., New York, NY, USA)을 이용하였다.

세균 균주

서울의 3차 의료기관에서 1999년에서 2005년에 걸쳐 임상적으로 분리된 포도상구균 중 옥사실린에 내성(oxacillin MIC 4 µg/ml)이며 CIP에 감수성(CIP MIC 1 µg/ml)인 7주의 MRSA를 선발하여 이용하였다.

MIC의 측정

실험 대상 균종에 대한 항균물질에 대한 최소 억제 농도(Minimal Inhibitory Concentration, MIC)의 측정은, Clinical Laboratory Standard Institutes(CLSI)의 고체 배지 희석법에 의하여 실시하였다.¹²⁾ 각 항균제는, 최고 농도가 64 µg/ml가 되도록 하여, 이 농도에서부터 2배 계열 희석하여 최저농도가 0.06 µg/ml이 되도록 항균물질 희석계열을 만들었으며, 계열희석된 항균물질의 농도는 CLSI에서 권장하는 ATCC 균주를 이용하여 quality control 하였다. 여기에 전배양한 균액을 희석하여 최종

균액 농도가 10⁶ CFU/ml가 되도록 한 뒤, microinoculator(Sakuma Co., Ltd, Tokyo, Japan)를 이용하여 각 균액을 5 µl씩 접종하였다. 균의 성장을 관찰할 수 없는 최소 농도를 MIC로 결정하였고, 내성의 기준은 CLSI의 breakpoint 등에 따라 CIP≤2 µg/ml, GEM≤1 µg/ml, SPX≤0.5 µg/ml, TVA≤1 µg/ml, DW286≤1 µg/ml, DW-224a≤1 µg/ml로 하였다.¹³⁾

순차 계대 배양

항균제가 들어있지 않은 MH broth에 모균주를 접종하여 37°C에서 18시간 동안 배양하였다. 이 균액을 MIC의 전 후 2단계 계열희석 항균제를 포함하는 broth에 최종 10⁴ cfu/ml이 되도록 접종하였다. 37°C에서 24시간 동안 키운 후, 항균제가 들어있지 않은 배지와 같은 탁도를 가지는 최고 농도의 계열 희석액을 골라 같은 방법으로 계대 배양을 실시하였다. 이와 같은 순차 계대 배양은 약 40일간 반복하였다. 선발된 돌연변이주들은 항균제가 들어있지 않은 MH agar 배지에서 10번의 계대 배양을 거친 후에 15%의 glycerol을 포함하도록 하여 다음 과정을 진행하기 전까지 -70°C에 보관하였다.

퀴놀론 내성 결정 부위의 변이 분석

순차 계대를 통해 선발된 돌연변이체들의 퀴놀론계 항균제 표적부위에 어떤 변이가 있었는지를 확인하기 위하여 *gryA*, *gryB*, *gryA*와 *gryB*를 PCR 법으로 증폭하였다. *gryB-gryA*의 5'primer, CAGCGTTAGATGTAGCAAGC와 3'primer, CAGGACCTTCAATATCCTCC로 1401 bp의 PCR product를 얻었고, *gryB-gryA*의 5'primer, CGATTAAAGCACAAACAAGCAAG와 3'primer, CTTGATGGCAATACCATTGGTTTC로 1332 bp의 PCR product를 얻었다. PCR 반응은 95에서 5분간 초기 변성 후, 97°C에서 30초, *gryB-gryA*의 경우는 50°C, *gryB-gryA*의 경우는 54°C에서 30초, 72°C에서 1분의 반응을 30회 반복한 뒤, 72°C에서 10분간 최종 신장 및 마무리 하였다. 이렇게 얻어진 반응 산물을 PCR product purification kit(INtRON Biotechnology Inc.)를 이용하여 정제하고, 그 정제물을 Applied Biosystems automatic DNA

sequencer로 염기서열을 분석하였다.

항균제 유출 펌프

일정 균주의 MIC가 reserpine에 의해 4배 이상 낮아질 경우에, 항균제 유출펌프가 작동되고 있다고 판단한다.¹⁴⁾ 선발된 돌연변이체들과 모균주를, 20 µg/ml의 reserpine(Sigma, St Louis, MO, USA)이 포함되어있는 배지와 포함되어있지 않은 배지에서 각각 MIC를 결정하여 차이가 생기는지를 비교하였다.

실험결과 및 고찰

돌연변이체들은 26회에서 39회의 순차계대 배양을 거쳐 선발하였다. 순차 계대 배양에 사용한 MRSA 모균주의 MIC와 순차 계대를 통해 증가된 MIC를 Table I에 나타내었다. 각각의 모균주는, 순차 계대 배양에 사용했던 항균제에 따라 서로 조금씩 다른 내성 획득 양상을 보였다. TVA와 DW286으로 처리한 경우의 MIC가 가장 느리게 상승하였으며, CIP로 처리한 경우의 MIC

가 가장 빠르고 높게 상승하여 플루오로 퀴놀론계 항균제의 세대별 차이를 확인할 수 있었다. 돌연변이체들은 모두 항균제가 들어있지 않은 배지에서 10회의 계대 배양을 거치며 내성을 안정화시켰다. 안정화 과정을 거치면서, 42개의 돌연변이체중 24개 돌연변이체들의 MIC가 소폭 하락하였으며(Table I), 이렇게 얻어진 값을 최종 MIC로 결정하였다. CIP의 MIC는 순차 계대 후에 0.25~0.5 µg/ml에서 16~128 µg/ml로 6에서 11단계 상승하였고, SPX의 MIC는 0.03~0.06 µg/ml에서 1~2 µg/ml로 4에서 6단계 상승하였다. TVA의 MIC는 0.03~0.06 µg/ml에서 0.25~8 µg/ml로 2에서 6단계 상승하였으며, 7개 대상 균주 중 3개 돌연변이체만 breakpoint 이상으로 올라가고 나머지는 순차 계대가 끝날 때까지 감수성을 유지하였다. GEM의 MIC는 0.03~0.06 µg/ml에서 4~128 µg/ml로 6에서 11단계 상승하였고, DW-224a는 0.004~0.03 µg/ml에서 2~32 µg/ml로 7에서 10단계 상승하였다. DW286은 모든 대상 균주들에 대해 초기 MIC가 가장 낮았으며, 순차 계대 배양을 실시한 7개의 대상균주 중 2개 균주만 breakpoint 이상으로 올라갔다. 얻어진 최종의 MIC 값과 그

Table I – Initial and final MICs of strains for the serial passages and MICs of stabilized strains

Strain	Selecting agents		MIC (µg/ml)					
			DW286	DW-224a	GEM	TVA	SPX	CIP
SA1	MIC (µg/ml)	Initial	0.008	0.03	0.03	0.03	0.06	0.5
		Final	0.25	32	128	0.5	4	128
		Stabilized**	0.25*	8	4	0.5	2	128
	No. of passages	32	38	38	32	32	32	
SA2	MIC (µg/ml)	Initial	0.008	0.03	0.03	0.06	0.06	0.25
		Final	8	32	32	1	2	256
		Stabilized	2	8	4	0.25	2	32
	No. of passages	29	29	29	29	29	29	
SA3	MIC (µg/ml)	Initial	0.008	0.03	0.03	0.03	0.06	0.25
		Final	0.25	4	64	8	2	512
		Stabilized	0.25	4	64	8	2	16
	No. of passages	26	26	26	26	26	26	
SA4	MIC (µg/ml)	Initial	0.008	0.03	0.03	0.06	0.06	0.25
		Final	16	64	128	0.5	4	256
		Stabilized	4	8	128	0.5	2	128
	No. of passages	39	39	39	33	33	35	
SA5	MIC (µg/ml)	Initial	0.008	0.03	0.03	0.03	0.06	0.25
		Final	1	32	32	4	2	128
		Stabilized	1	32	4	2	1	64
	No. of passages	29	29	29	29	29	29	
SA6	MIC (µg/ml)	Initial	0.25	0.004	0.06	0.03	0.03	0.015
		Final	0.12	4	4	4	4	128
		Stabilized	0.12	2	4	2	2	32
	No. of passages	26	26	26	26	26	26	
SA7	MIC (µg/ml)	Initial	0.008	0.015	0.03	0.03	0.06	0.5
		Final	0.25	32	8	4	2	512
		Stabilized	0.12	4	8	1	1	128
	No. of passages	29	29	29	29	29	29	

*Bold numbers mean under the breakpoint.
 **All the mutants were stabilized by 10 antibiotic-free subcultures.

에 대한 susceptibility는 플루오로 퀴놀론계 항생제의 세대에 따라 차이를 보였다. 이에 따라 신규 플루오로 퀴놀론계 항균제, DW286은 최상위 단계의 세대로, DW-224a는 GEM과 같은 4세대로 판단하였다.

7개 모균주로부터 6가지의 퀴놀론계 항생제로 순차 계대 배양하여 선발한 42개 돌연변이체들에 대해 퀴놀론계 항균제에 대한 교차 내성을 확인한 결과, SA2에서 TVA로 선발한 돌연변이를 제외한 모든 균주가 순차 계대 배양 이전에 비해 다양한 플루오

Table II – Cross resistance and alterations in DNA gyrase and topoisomerase IV of selected mutants

Strain	Selecting agents	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						Alterations on enzymes of:			
		DW286	DW-224a	GEM	TVA	SPX	CIP	GyrA	GyrB	GrlA	GrlB
SA1	DW286	0.25	4	4	0.5	2	32	G82C		S80F	E590K
	DW-224a	0.5	8	4	0.5	2	32				
	GEM	4	64	64	8	64	>64				
	TVA	0.06	0.5	0.5	0.5	1	8				
	SPX	0.12	0.5	0.5	0.5	2	4				
	CIP	0.25	4	4	2	2	>64	S84del	S80F		
SA2	DW286	2	32	16	1	8	>64	ND	ND	ND	ND
	DW-224a	0.25	8	4	0.5	0.5	32				
	GEM	0.5	8	4	1	2	>64				
	TVA	0.06	0.06	0.12	0.25	0.25	1				
	SPX	0.25	2	2	2	2	16				
	CIP	0.06	1	0.5	0.5	0.5	32				
SA3	DW286	0.25	1	1	0.5	1	8	S84L		E84K	N584K
	DW-224a	0.06	4	2	0.25	1	16				
	GEM	2	64	64	8	64	>64				
	TVA	16	16	8	8	4	32				
	SPX	0.25	1	1	8	2	8				
	CIP	0.06	1	0.5	0.25	0.5	16				
SA4	DW286	4	64	64	16	64	>64	S84L	W592R	S80F	H633R
	DW-224a	0.5	8	8	4	8	>64	E88G		D79N	
	GEM	8	>64	>64	32	64	>64	S84L		A116L	
	TVA	0.06	1	1	0.5	1	16			D79N	
	SPX	0.12	0.5	0.5	0.5	2	8			M86I	
	CIP	1	8	16	4	8	>64	S84L		V87F	
SA5	DW 286	1	32	16	1	2	>64	S84L		A116P	P585T
	DW-224a	1	32	16	1	2	>64				
	GEM	0.5	8	4	1	1	>64				
	TVA	0.5	1	1	2	2	32				
	SPX	0.12	1	1	0.5	1	4				
	CIP	0.12	1	1	0.5	0.12	64				
SA6	DW 286	0.12	4	8	1	1	32	A120E	S84L	S80F	D79N
	DW-224a	0.12	2	1	0.5	0.5	32				
	GEM	1	64	4	1	2	32				
	TVA	0.12	0.5	0.5	2	0.5	8				
	SPX	1	4	2	1	2	8				
	CIP	0.06	4	1	0.5	0.12	32				
SA7	DW 286	0.12	1	1	1	0.5	8	E88G	A588E	S80F	S108N
	DW-224a	0.5	4	2	0.5	1	32				
	GEM	1	8	8	1	1	64				
	TVA	0.06	0.12	0.25	1	0.5	16				
	SPX	0.5	2	1	1	1	4				
	CIP	1	64	32	2	64	>64				

*Bold numbers mean cross resistance.

로 퀴놀론계 항균제에 교차 내성을 가지게 되었음을 확인하였다 (Table II). 이후의 돌연변이주에 대한 통계는 이 1개 균주를 제외한 나머지를 41개 주를 대상으로 하였다. 41개 돌연변이주 모두 CIP에 내성이었고, 32주(78.0%)는 SPX에 교차내성이었다. TVA는 13주(31.7%)에서 교차내성을 가지고 있었으며, 27주(65.9%)에서 교차내성을 보였던 DW-224a는 24주(58.5%)에서 교차내성이 나타난 GEM과 비슷한 정도였다. DW286은 교차내성 정도가 가장 낮아서, 6주(14.6%)에서만 교차내성이 발견되었다.

DNA gyrase와 topoisomerase IV에서 발견된 변이는 Table II에 정리하였다. 모균주는 모두 이들 효소에 아무런 변이도 가지고 있지 않음을 미리 확인하였다. DNA gyrase의 *gyrA* 유전자에서는, 총 6가지의 점 돌연변이와 1가지의 결손 돌연변이가 발견되었다. 22.0%에 해당하는 돌연변이가 S84에서 일어난 변이였으며, 그 중 하나는 S84의 결손 돌연변이였다. E88에서 일어난 변이는 4.9%에 달했으며, S84와 E88에서 일어나는 변이는 이미 *gyrA*에서 가장 많이 보고된 바 있다. 이 밖에도 A120E, G82C, S85P의 점 돌연변이가 발견되었다. 이전의 발표에 따르면, *gyrA* 유전자에 일어난 변이는 대부분의 균주에서 내성 발전의 주요한 요인이나, *gyrB*는 그렇지 않다고 알려져 있다.¹⁵⁾ 하지만 이번 실험에서는 전체 분석 균주 중 9.8%에서 *gyrB*의 변이가 발견되었다. 모든 변이는 처음 발견된 변이였으며, A588E, G623D와 W592R로 다양하였다. DNA topoisomerase IV에서는 L124의 silent mutation을 포함하여 14가지의 점 돌연변이가 발견되었다. S80F의 점 돌연변이와 E84에서 일어난 변이가 17.1%씩으로 가장 많았으며, 그 뒤를 이어 A116과 M86I, D79, S108에서 일어

난 변이가 각 9.8%, 9.8%, 7.3%, 2.4%로 나타났다. *griA*에는, 2가지 또는, 3가지의 점 돌연변이를 함께 가지고 있는 균주도 각 7.3%, 2.4%씩 발견되었다. *griB*에서는 E472K, E590K, H633R, L515F, N584K, P585T와 T557R의 변이가 각 1건씩(2.4%) 발견되었다. 임상에서 분리된 퀴놀론 내성 폐렴쌍구균에서도 이와 같은 분석이 시도된 바 있으며,¹⁶⁾ 본 실험에서 나타난 결과와 같이 그 작용부위로 보여지는 DNA gyrase 및 DNA topoisomerase IV에서 다양한 변이가 발견되었음이 보고되었다.

DNA gyrase와 topoisomerase IV의 *gyrA*, *griA*, *gyrB*, *griB*에서 아무런 변이도 발견되지 않은 돌연변이체는 41개 돌연변이주 중 16주였다. 이들에 대해 항생제 유출 펌프의 작동으로 인한 내성의 발전을 확인하고자 reserpine이 함유된 배지에서 플루오로 퀴놀론계 항균제에 대한 MIC에 차이가 생기는지를 확인하였고 그 결과를 Table III에 표시하였다. 이들 16주 모두 reserpine에 의해 플루오로 퀴놀론계 항균제 일부에 대해 4단계 이상의 MIC 하강이 관찰되었다. 이를 통해 항균제 유출펌프의 작용으로 인해 내성이 발전되었다는 것을 예측할 수 있었다. 막 결합 단백질인 NorA는 세균 안으로 들어온 항균제를 구조적 유사성과 관계 없이 세균막 밖으로 유출시켜 세균 안에 유효농도 이상의 항균제가 축적되지 않게 함으로써 내성을 유발한다.¹⁴⁾ 이 유전자에 의해 일어나는 항균제 내성은 식물 알칼로이드인 reserpine에 의해 저해되므로 reserpine에 의해 MIC가 하강하면 NorA에 의해 내성이 발전되었다고 생각할 수 있다. 즉 이들 16개 돌연변이체들은 DNA gyrase 및 topoisomerase IV의 변이가 아닌 NorA에 의해 내성이 발전된 것으로 볼 수 있었다. 또한 reserpine을 처리했을 경우 그 MIC에 영향을 가장 많이 받는 것

Table III – MIC determination with or without reserpine for the mutants having no alterations in DNA gyrase or topoisomerase IV

	reserpine	DW286			DW224a			GMFX			TVFX			SPFX			CPFX		
		(-)	(+)	R*	(-)	(+)	R	(-)	(+)	R	(-)	(+)	R	(-)	(+)	R	(-)	(+)	R
SA1	DW286	-	-	-	4	0.5	8	4	0.5	8	-	-	-	-	-	-	32	4	8
	DW-224a	0.5	0.12	4	8	0.5	16	4	0.5	8	-	-	-	-	-	-	32	4	8
SA2	GEM	-	-	-	8	2	4	4	1	4	1	0.25	4	-	-	-	>64	16	>8
	SPX	-	-	-	2	0.5	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CIP	-	-	-	1	0.25	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32	4	8
SA3	DW286	-	-	-	1	0.12	8	1	0.12	8	-	-	-	-	-	-	8	2	4
	DW-224a	-	-	-	4	0.25	16	2	0.25	8	-	-	-	-	-	-	16	4	4
	TVA	16	0.5	32	16	0.5	32	8	1	8	-	-	-	-	-	-	32	4	8
	SPX	-	-	-	1	0.25	4	1	0.12	8	8	0.5	16	-	-	-	8	2	4
SA5	DW 286	-	-	-	32	2	16	16	0.5	32	-	-	-	-	-	-	>64	4	>16
	CIP	-	-	-	1	0.25	4	1	0.12	8	-	-	-	-	-	-	64	4	16
SA6	DW-224a	-	-	-	2	0.25	8	1	0.25	4	-	-	-	-	-	-	32	1	32
	GEM	-	-	-	64	1	64	4	1	4	1	0.25	4	-	-	-	32	4	8
	CIP	-	-	-	4	0.06	64	1	0.12	8	-	-	-	-	-	-	32	2	16
SA7	GEM	1	0.25	4	8	0.5	16	8	0.5	16	1	0.25	4	-	-	-	64	4	16
	SPX	-	-	-	2	0.5	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*R means ratios MIC without reserpine/with reserpine.

이 DW-224a인 것으로 보여져 이에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 보인다.

결 론

DW-224a는 MRSA에 대해 효과가 좋은 플루오로 퀴놀론계 항균제이다. 하지만 MRSA가 DW-224a에 여러 계대에 걸쳐 노출되면, DW286이나 TVA 등의 플루오로 퀴놀론계 항균제들에 비해 빠르게 내성을 획득하였다. 다만 DW286은 *in vivo* 실험 후에 그 개발이 중단된 상태이며 TVA는 임상 적용이 중단된 상태임을 감안한다면, GEM과 비슷한 정도의 내성 발전 정도를 가지는, 임상에서 사용될 수 있는 가장 효과적인 플루오로 퀴놀론계 항균제라고 할 수 있겠다. DW-224a 내성 돌연변이주들은 DNA gyrase의 일부인 *gyrA*와 topoisomerase IV의 일부인 *gyrII*의 변이가 확인되었다. 이와 같은 결과는 DNA gyrase와 topoisomerase IV가 DW-224a의 이중 작용점을 가지고 있음을 증명하는 것이라고 할 수 있다.

감사의 말씀

이 논문은 서울시립대학교 2007년도 학술연구조성비에 의하여 연구되었습니다. 이에 서울시립대학교에 감사하는 바입니다.

참고문헌

- Chambers, H. F. : The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg. Infect. Dis.* **7**, 178 (2001).
- Daum, R. S. and Seal, J. B. : Evolving antimicrobial chemotherapy for *Staphylococcus aureus* infection: our backs to the wall. *Crit. Care Med.* **29 Suppl 4**, N92 (2001).
- Piddock, L. J. V. : Newer fluoroquinolones and Gram positive bacteria. *ASM News* **59**, 603 (1993).
- Acar, J. F. and Francoual, S. : The clinical problems of bacterial resistance to the new quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* **26 Suppl B**, 207 (1990).
- Hamett, N., Brown, S. and Krishnan, C. : Emergence of quinolone resistance among clinical isolate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Ontario, Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**, 1911 (1991).
- Tanaka, M., Wang, T., Onodera, Y., Uchida, Y. and Sato, K. : Mechanisms of quinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Chemother.* **6**, 131 (2000).
- Piddock, L. J. : Mechanisms of fluoroquinolone resistance: and update 1994~1998. *Drugs* **58 Suppl 2**, 11 (1999).
- Park, H. S., Kim, H. J., Seol, M. J., Choi, D. R., Choi, E. C. and Kwak, J. H. : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of DW-224a, a new fluoronaphthyridone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 2261 (2006).
- Kosowska-Shick, K., Credito, K., Pankuch, G. A., Lin, Gengrong., Bozdogzn, B., McGhee, P., Dewasse, B., Choi, D. R., Ryu, J. M. and Appelbaum, P. C. : Antipneumococcal activity of DW-224a, a new quinolone, compared to those of eight other agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 2064 (2006).
- Kwon, A. R., Min, Y. H., Ryu, J. M., Choi, D. R., Shim, M. J. and Choi, E. C. : *In vitro* and *in vivo* activities of DW-224a, a novel fluoroquinolone antibiotic agent. *J. Antimicrob. Chemother.* **58**, 684 (2006).
- Ince, D. and Hooper, D. C. : Mechanisms and frequency of resistance to premarloxacin in *Staphylococcus aureus*: novel mutations suggest novel drug-target interactions. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**, 3344 (2000).
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*; 15th informational Supplement. Document M100-S15, CLSI, Wayne, PA (2005).
- Kim, M. J., Yun, H. J., Kang, J. W., Kim, S., Kwak, J. H. and Choi, E. C. : *In vitro* development of resistance to a novel fluoroquinolone, DW286, in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* **51**, 1011 (2003).
- Aeschlimann J. R., Dresser, L. D., Kaatz, G. W. and Rybak, M. J. : Effects of NorA inhibitors on *in vitro* antibacterial activities and postantibiotic effects of levofloxacin, ciprofloxacin, and norfloxacin in genetically related strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**, 335 (1999).
- Yoshida, H., Bogaki, M., Nakamura, M., Yamanaka, L. M. and Nakamura, S. : Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**, 1647 (1991).
- Weigel, L. M., Anderson, G. J., Facklam, R. R. and Tenover, F. C. : Genetic analyses of mutations contributing to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 3517 (2001).