

Gentamicin の骨髄におよぼす影響に関する実験的研究

外山 圭助*・藤山 順豊・陳 田柏
山田 幸寛・安藤 泰彦・長谷川弥人**

慶大内科

富 岡 一*

慶大中検

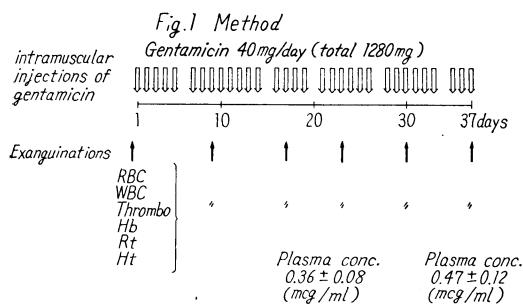
(昭和47年10月27日受付)

はじめに

最近重篤なグラム陰性桿菌感染症の頻度が増加し、その対策が重大な問題となつてゐる。とくに血液疾患では、しばしば肺炎や敗血症などを併發し、その起炎菌は肺炎桿菌、大腸菌、綠膿菌などのグラム陰性桿菌であることが多い^{1,2)}。Gentamicin(以下、GM)は綠膿菌や变形菌に有効な数少ない抗生素質の1つであり^{3,4,5)}、その上、penicillinase 產生プロテウス球菌にも有効であるので⁶⁾、GMを使用する機会が多く、GMの各臓器への分布や影響を知ることはひじょうに意義のあることといえる。その上、骨髄傷害が認められる血液疾患に使用する際は、この薬物の骨髄傷害の有無は極めて重要である。しかし、GMの副作用として、骨髄におよぼす影響については、まだ研究がきわめて少ない。本論文ではGMの骨髄におよぼす影響を動物実験によつて検討を加えた。

実験材料および方法

すべての実験は体重約3kgの成熟家兎を用いた。予じめ50mgのsorbitol鉄を筋注して、家兎に潜在する鉄欠乏状態を是正した。ついで、これらの家兎を2群にわけ、1群(6羽)にGM40mg(13mg/kg)を毎日筋注で連続32日間(日曜を除く)、計1,280mgを投与した(Fig. 1)。他群(9羽)は対照として同様に滅菌生食を筋注し、処置群と同じ環境において飼育した。両群とも



* 慶大医学部講師

** 慶大医学部教授

週1回、赤血球数、白血球数を標準法で、Hematocritを毛細管法で、血色素量はcyan-methemoglobin法、網赤血球はnew methylene blue法、栓球数をREES ECKER液を用いた直接法で測定した。

32日間のGM注射後、各群に2μCiの⁵⁹Fe-globulinateを静注で投与し、血漿鉄消失率[plasma iron disappearance(PID)]、血漿鉄交代率[plasma iron turnover rate(PITR)]、赤血球鉄利用率[red blood cell iron utilization(RBCIU)]を測定した。血清鉄も各群において測定した。また、GM投与後、後肢骨から骨髄標本を作製し、ギムザ染色をほどこして、骨髄形態を観察し、M:Eを検討した。そのほか、BUN、血清creatinine値を両群で測定した。

GMの血中濃度測定は、*Subtilis* ATCC 6633使用による鳥居・川上の重層法によつた。検体はGM注射群では、GM注射19回目と実験最終日の注射後24時間目に採血した血清を使用した。また、1群の正常家兎に40mgのGMを筋注した後、30分、1時間、3時間、6時間、9時間、24時間に採血して、血中濃度を同様に測定した。

実験成績

HematocritはGM投与群では $37.2 \pm 2.4\%$ で、対照群の $36.5 \pm 2.7\%$ と差はない。赤血球数はGM使用群は $431 \pm 52.1 \times 10^4/\text{mm}^3$ で、対照群 $443 \pm 35.5 \times 10^4/\text{mm}^3$ と差は認められない。血色素量はGM使用群で $11.0 \pm 0.7\text{ g/dl}$ であり、対照群では $11.1 \pm 0.1\text{ g/dl}$ で差はみられない。しかし、両群とも実験末期で低下の傾向にあつた。網赤血球数は経過中4~30%の間に、ばらつきがみられたが、全体として末期に上昇の傾向にあつた(Fig. 2, 3)。白血球数もばらつきが多いがGM使用群で $12,700 \pm 3,400/\text{mm}^3$ であり、対照群 $10,800 \pm 2,800/\text{mm}^3$ と差がない。栓球数も変動差が大であるが、GM群は $20.3 \pm 5.6 \times 10^4/\text{mm}^3$ 、対照群 $24.5 \pm 12.9 \times 10^4/\text{mm}^3$ で差を認めない(Table 1)。

⁵⁹Fe 使用による Ferrokinetics では、PIDはGM群

において 68.0 ± 8.6 分で、対照群（11羽） 64.22 ± 14.1 分と差は全くない。PITR は GM 群 1.64 ± 0.37 mgFe/day/dl 全血で対照群 1.54 ± 0.35 mgFe/day/dl 全血と差はない。RBCIU は GM 群で $63.6 \pm 10.9\%$ で対照群と全く同じである (Fig. 4, 5)。

骨髄形態的検索では、骨髓球系、赤芽球系、巨核球系にも異常なく、M:E は GM 群で $2.9 \sim 4.7$ で正常群 $2.1 \sim 4.6$ と大差がなかった (Table 1)。

GM 血中濃度は、体重約 3kg の家兎に GM 40mg を 1回筋注した場合、30分後、1時間後、3時間後、6時間後、9時間後、12時間後、24時間後は、それぞれ、 $40, 30, 8, 1, 0.4, 0.2, 0.1$ mcg/ml であつた (Fig. 6)。

Fig. 2 Hematocrit and hemoglobin levels in the rabbits treated with gentamicin 40mg daily for 32 days

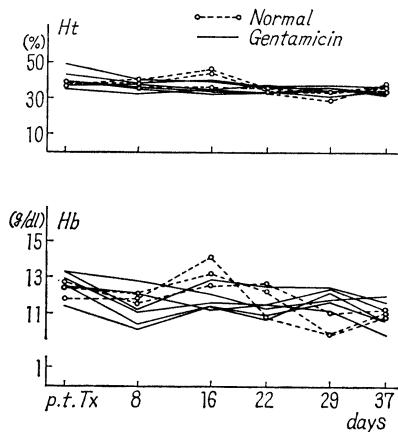
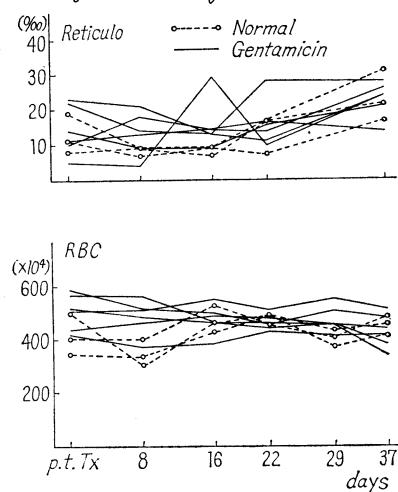


Fig. 3 Variations of reticulocytes and RBC in the rabbits treated with gentamicin 40mg daily for 32 days



しかし、40mg 毎日筋注群では、19回注射 24時間後は 0.36 ± 0.08 mcg/ml、32回注射 24時間後では 0.47 ± 0.12 mcg/ml と、やや血中濃度が高くなる傾向を認めた (Fig. 1)。

BUN は GM 群で 29.2 ± 6.2 mg/dl、対照群は 28.3 ± 5.9 mg/dl、血清 creatinine 値は GM 群で 1.2 ± 0.17

Fig. 4 Plasma iron disappearance and plasma iron turnover rate in the rabbits treated with gentamicin 40mg daily for 32 days

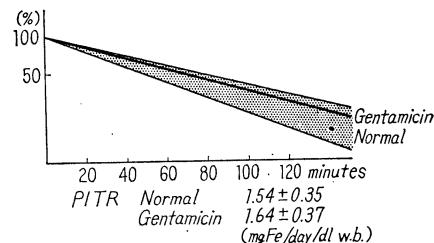


Fig. 5 RBC iron utilization in the rabbits treated with gentamicin 40mg daily for 32 days

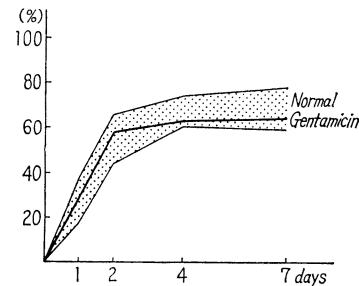


Table 1 WBC and platelet counts and bone marrow picture in normal and gentamicin treated rabbits

	Normal	Gentamicin
W B C	$10,800 \pm 2,800$	$12,700 \pm 3,400$
Platelet	$24.5 \times 10^4 \pm 12.9 \times 10^4$	$20.3 \times 10^4 \pm 5.6 \times 10^4$

Bone marrow

M : E	Normal	Gentamicin
4.6 : 1	4.7 : 1	
2.5 : 1	4.1 : 1	
3.6 : 1	2.9 : 1	
2.6 : 1	4.3 : 1	
3.5 : 1	4.3 : 1	
2.7 : 1		
2.1 : 1		
2.8 : 1		
4.1 : 1		

Fig. 6 Plasma levels of gentamicin after a single 40 mg intramuscular injection into rabbits

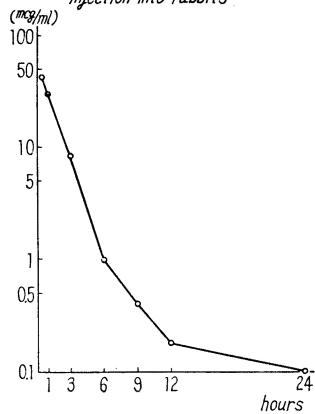


Table 2 Serum creatinine and BUN levels after 32 consecutive intramuscular injections of gentamicin

	Normal	Gentamicin
Creatinine	1.36 ± 0.20	1.20 ± 0.17
B U N	28.3 ± 5.9	29.2 ± 6.2

mg/dl, 対照群 1.36 ± 0.20 mg/dl であり, GM 群と対照群と差がなかつた (Table 2)。

考 按

一般に抗生物質には、種々の副作用のあることが知られている。副作用としては、肝機能および腎機能の障害、神経系に対する作用、骨髄におよぼす影響などがある⁷⁾。骨髄におよぼすものとして、Chloramphenicol (CP) による再生不良性貧血や顆粒球減少症、Penicillin による溶血性貧血などが知られている。いっぽう、Streptomycin, Kanamycin, GM などの抗生物質は、第Ⅷ 神経障害、腎機能障害などが知られており、その骨髄への影響は少ないとされている。

通常 GM の投与量は、成人の場合朝夕 40 mg ずつ、計 80 mg/day, すなわち 1.3~1.6 mg/kg/day であり、重篤な感染症の場合でも 80 mg ずつ 4 回、計 320 mg/day, すなわち最高約 5 mg/kg/day である⁸⁾。そして、投与期間はだいたい 3 週くらいである。本実験では、家兎に毎日 40 mg (13 mg/kg) の大量の GM を筋注し、しかも、投与期間は 32 日の長さにわたつている。この結果、血液学的変化は、Hematocrit 値と赤血球数には投与前と投与後とに変化は全くなく、かつ、GM 投与群と対照群とに差は全く認められない。また、血色素量も GM 投与群と対照群との間に差はないが、GM 投与群、対照群ともに、実験末期に血色素量のやや低下傾向を認め

る。これは、網赤血球においても、GM 投与群と対照群との間に差がないが、全体として実験末期に上昇の傾向を示していることと考え合せる時、採血による、あるいは市販の動物固型飼料で長期動物を飼育した時にみられる鉄欠乏状態が、多少影響しているものと推察される。

しかし、⁵⁹Fe を用いた Ferrokinetics の成績を参考にすると、GM 投与群、対照群とも、正常無処置家兎群の PITR, RBCIU と全く同様であることから、明らかに鉄欠乏状態があつたという証拠はない。

白血球系および栓球系に関しては、本実験では実験期間中、週 1 回測定を行なつたが、両者とも変動域が大きく、Table 1 のとおり実験終了時の値を、対照無処置正常群と比較しても有意の差は認められない。また、実験経過中、GM 投与群と対照群とに差を認めない。梶本と倉本⁹⁾はラット、犬を用いた亜急性中毒実験、およびラットを用いた慢性中毒実験で、血色素値、赤血球数、白血球数、白血球百分率のいずれにも、GM の毒性を認めていない。また BRAYTON & LOUISA¹⁰⁾は 0.5 mg/kg を 8 時間毎に筋注で 10 日間投与した場合に、血液異常を認めていない。長谷川ら¹¹⁾がさきに Thiophenicol の骨髄傷害を、家兎をもつて実験的に検査した時、通常の血液像(赤血球数その他)に変化が生じなくとも、Thiophenicol 投与家兎群には ⁵⁹Fe による Ferrokinetics では異常が検出された。すなわち、Ferrokinetics は薬物の骨髄傷害を証明するのに、鋭敏な方法といふことが出来よう。PID は GM 投与群と対照群とに差はなく、PITR にも両者の間に差を認めない。RBCIU も GM 投与群と対照群とに差はなかつた。以上のとおり、⁵⁹Fe を用いた Ferrokinetics には、GM を家兎 1 羽あたり 40 mg/day 32 日間投与した場合、全く障害を認めず、赤血球系に関するかぎり、CP にみられるような骨髄傷害は認められないといえる。

いっぽう、GM 投与実験終了時に、GM 投与家兎群の一部で骨髄像を形態学的に検査した結果、Table 1 のとおり、M : E にも異常は認められない。また、薬物による骨髄傷害時には、しばしば巨核球数の低下がみられ、さらに CP による傷害時には赤芽球の原形質の空泡変性が特徴的といわれているが、このような形態学的变化ももちろんみられていない。

GM の臓器分布は上田ら¹²⁾によれば、腎臓に最も多い。また、一般に腎障害が最も頻度の多い副作用と考えられているが^{3), 10), 13)}、本実験における腎障害に関しては、Table 2 に示すとおり、creatinine, BUN を指標とする限り腎障害を認めない。FALCO ら¹⁴⁾は腎障害は意外に少なく、172 例中 4 例 (2 %) にすぎない、すなわち、Streptomycin の腎障害と同頻度であると報告して

いる。上田ら¹²⁾によれば、正常人に 80mg 1回筋注投与(平均1.3~1.6mg/kg)では、血中濃度は最高 10mcg/ml で、半減期は 1.2 時間であると報告している。著者らの動物実験では、家兎に 40mg (13mg/kg) の大量を毎日投与した時に、血中最高濃度は同じく筋注 30 分後で 40mcg/ml に達し、半減期も同様 1.2 時間という結果を得た。また、上田ら¹²⁾はラットに GM 20mg/kg/day 30 日間筋注投与しても、電解質バランス、尿量、尿滲透圧に異常を認めず、蛋白尿の出現も認めていない。ただ、対照群と比較して、体重の自然増加が抑制されることが、BUN の軽度上昇を認めるだけであり、100mg/kg の極めて大量投与により、始めて著明な腎障害を認めている。したがつて、著者らの家兎の実験では、13mg/kg/day 30 日間の筋注投与であるから、家兎に腎障害を発生しないことは予想される。しかし、Fig. 6 に示すとおり、40mg/day 1回筋注の場合は、24 時間後にはほとんど血中濃度が証明されないので比して、Fig. 1 のとおり、連続投与時には血中濃度が 0.36 ± 0.08 mcg/ml とわずかに上昇しており、さらに投与期間が長くなると血中濃度が上昇する傾向がある。そのため、長期に使用する時は蓄積、あるいは、腎障害の出現の可能性は想像される。真下ら¹⁵⁾によれば、腎機能障害動物(犬)では、血中濃度が高度に持続するが、胆汁からの排泄が増加しない、すなわち、Streptomycin や Kanamycin と同様の態度をとることが認められている。したがつて、腎機能障害のある例に GM が投与されると、骨髄への移行が多くなることが予想されるが、人間の場合、著者らの実験と同程度、すなわち 40mcg/ml の高い血中濃度に達することは少なく、この程度の血中濃度に達することは、かなり腎機能の犯されている場合のみに限られる。

通常人間の感染症では、最高 180~320mg を 3~4 回に分けて筋注することが多く⁵⁾、血中濃度の最高は 10.45 mcg/ml くらいである¹²⁾。そこで現在感染症治療に普通に使用されているような方法で、GM が投与された時は、臨床的に問題となるような骨髄傷害は、起らないものといちらう考えられる。しかし、薬物による骨髄傷害の発生機序には、骨髄を直接傷害するもの、すなわち、投与量に関係するものと、投与量に関係なくアレルギー機序を介して起こるものとあり、本論文の実験方法では後者に関する骨髄傷害の有無を結論することは出来ない。

要するに、本実験では GM には骨髄を直接傷害する作用はないものといえる。

む　す　び

広域抗生素 Gentamicin (GM) の骨髄傷害に関して、家兎を用いて動物実験を行なつた。その結果、家兎

に 13mg/kg の GM を 32 日間筋注で投与した時、投与後 30 分で GM の最高血中濃度は 40mcg/ml の高濃度に達する。しかし、血液学的検査、Ferrokinetics を指標にした限りでは、GM による直接骨髄傷害は全く認められない。また、実験動物のいずれにも、BUN、血清 creatinine 値の上昇は認められなかつた。

本論文の要旨は第 19 回日本化学療法学会総会に報告した。

引　用　文　献

- 1) BODEY, G. P. ; B. A. NIES & E. J. FREIREICH : Multiple organism in adult leukemia. *Arch. Int. Med.* 116 : 266~277, 1965
- 2) 小川哲平、藤山順豊、池田康夫、小川聰、陳田柏：血液疾患における感染症の治療について。診断と治療 59 : 923~930, 1971
- 3) BULGER, R. J. ; S. SIDEL & W. M. M. KIRBY : Laboratory and clinical studies of gentamicin, a new broad spectrum antibiotic. *Ann. Int. Med.* 59 : 593~604, 1963
- 4) MARTIN, C. M. ; A. J. CUOMO, M. J. GERAGHTY, J. R. JAGER & T. C. MANDES : Gram-negative rod bacteremia. *J. Infect. Dis.* 119 : 506~517, 1969
- 5) COX, C. E. : Gentamicin. *Med. Clin. North Amer.* 54 : 1305~1315, 1970
- 6) KLEIN, J. O. ; T. C. EICKLOFF & M. FINLAND : Gentamicin : activity and observations in 26 patients. *Am. J. Med. Sci.* 248 : 528~544, 1964
- 7) VANOMMEN, R. A. : Adverse effects of antimicrobial agents on major organ system. *Cleveland Clin. Quart.* 37 : 59~71, 1970
- 8) SCHINPFF, S. ; W. SATTERLEE, V. M. YOUNG & A. SERPICK : Empiric therapy with carbenicillin and gentamicin for febrile patients with cancer and granulocytopenia. *New Engl. J. Med.* 284 : 1061~1065, 1971
- 9) 梶本義衛、倉本昌明：Gentamicin の毒性について。Chemotherapy 15 : 490~496, 1967
- 10) BRAYTON, R. G. & D. B. LOUSIA : Gentamicin in gram-negative urinary and pulmonary infections. *Arch. Int. Med.* 114 : 205~212, 1964
- 11) 長谷川弥人、桜井秀也、安藤泰彦：クロラムフェニコールとチオフェニコールの造血障害について。臨床血液 10 : 540~546, 1969
- 12) 上田泰、中村昇、松本丈夫、田所博之、斎藤篤、山県正夫、野田一雄、嶋田甚五郎、大森雅久、古屋千鶴子、中村喜典：Gentamicin の吸収・排泄およびその腎毒性にかかる研究。Chemotherapy 15 : 275~281, 1967
- 13) JAO, R. L. & G. G. JACKSON : Gentamicin sulfate, new antibiotic against gram-negative bacilli. Laboratory, pharmacological and clinical evaluation. *J. A. M. A.* 189 : 817~822, 1964
- 14) FALCO, F. G. ; H. M. SMITH & G. M. ARCIERI : Nephrotoxicity of aminoglycosides and genta-

- micin. J. Infect. Dis. 119 : 406~409, 1969
15) 真下啓明, 加藤康道, 斎藤玲, 富沢磨須美, 千秋
肇, 古川博, 小島愛司, 田中一志: Gentamicin
の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 15 : 293~
297, 1967

ANIMAL EXPERIMENT FOR THE EFFECT OF GENTAMICIN ON BONE MARROW

KEISUKE TOYAMA, NORITO FUJIYAMA, T. P. CHEN, YOSHIHIRO YAMADA,
YASUHIKO ANDO and MITSUTO HASEGAWA

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University, Tokyo
SUSUMU TOMIOKA

Central Laboratory, School of Medicine, Keio University, Tokyo

This experiment was performed on adult rabbits in order to detect bone marrow toxicity of gentamicin.

Thirty minutes after a 40 mg single intramuscular injection of gentamicin into rabbits (13mg/kg), the maximum concentration of gentamicin in plasma reached to the level of 40mcg/ml. No abnormalities were detected in blood counts, bone marrow morphology and ferrokinetics after intramuscular injections of gentamicin at dose of 13mg/kg daily for 32 days. BUN and serum creatinine level did not vary from the normal range at the termination of the experiment.

These results led us to assume that direct myelotoxicity is negligible in the clinical use of gentamicin.