Tobramycin の薬理作用（その2）：

Tobramycin の中枢神経系におよぼす影響

山本研一・吉村弘二・井上　譲
広野　悟・坂森美智子・松村彰一
森茂栄一
塩野義製薬株式会社研究所

緒　言

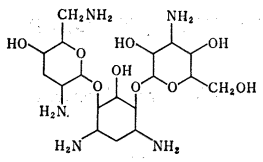
Eli Lilly 社で開発された Tobramycin は，*Streptomyces tenebrarius* から分離された新しい Aminoglycoside 系の抗生物質で[1]，グラム陰性菌に対して広範囲な抗菌作用スペクトルを有している[2)3)]。また，Tobramycin は，他の Aminoglycoside 系の抗生物質と同様に，動物実験において腎障害[4)5)]，聴覚系の異常などの副作用が報告されている[6)]。

本報告は，薬物安全性の立場から，Tobramycin の中枢神経系におよぼす影響を，動物の行動と脳波を指標に解析し，Gentamicin と比較を行なったものである。

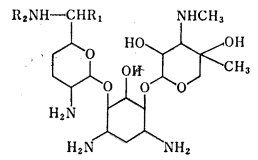
実験化合物

Tobramycin は $C_{18}H_{37}N_5O_9$ の組成をもつ白色の粉末で，水に溶けやすい。その水溶液は黄色透明で，強いアルカリ性を示し，pH により活性を異にするため，6 N の硫酸で pH を 5.8～6.0 に調製，使用した。なお，対照薬物の Gentamicin は蒸留水で溶解した（Fig. 1）。

Fig. 1 Chemical structures of tobramycin and gentamicin



(M. W. 467)
Tobramycin



Gentamicin C_1 ：$R_1=CH_3$・$R_2=CH_3$
〃 C_2 ：$R_1=CH_3$・$R_2=H$
〃 C_1a：$R_1=H$ ・$R_2=H$

(M. W. 425±21)
Gentamicin

実験成績

体重 18～26 g の DS 系雄性マウス，体重 150～350 g の Wistar 系雄性ラット，および体重 2.5～4.0 kg の雌雄のネコを使用した。薬物の投与液量は，マウスは体重 10 g 当たり 0.05 ml，ラットは体重 100 g 当たり，0.5 ml，脊髄反射の実験を除いてネコは体重 1 kg 当たり 1.0 ml をそれぞれ後肢大腿筋に注射した。なお，対照群には注射用蒸留水を投与した。

1．行　動

マウス，ラットおよびネコを用い，薬物投与後時間経過を追って 72 時間までの行動変化を，マウス，ラットでは Irwin[7] の Check list により，ネコでは山本ら[8] の方法にしたがって観察した。

1）マウスおよびラット：Tobramycin の筋肉注射によるマウスの行動変化は，用量の増加にともない著明になった。すなわち，150 mg/kg の用量では，投与5分頃から，軀幹，四肢および腹部筋肉の緊張の低下および前肢の把握力や懸垂力の低下などにみられる著しい骨格筋弛緩作用，軀幹と四肢の状態やその位置異常，自発運動，敏捷性，接触刺激に対する反応性の低下，歩行異常，立ち直り反射の消失などにみられる運動機能の抑制と passivity の増加，さらに体温低下，眼瞼下垂，皮膚の白色化，心拍数と呼吸数の減少などの自律神経症状が認められた。これらの症状は，1時間経過後までに最大に達し，2時間後より回復に向かった。死亡例が出現する 300 mg/kg の大量投与では，上記の症状に加えて，散瞳，痛みに対する反応性の低下および耳殻，角膜，後肢のひっこみ反射の消失が認められ，3例中1例は投与12分後に死亡した。対照薬物の Gentamicin も Tobramycin と同様の症状を示したが，用量的には Gentamicin のほうが強く，200 mg/kg では，3例中1例が30分後に死亡した。

ラットにみられる Tobramycin 投与後の行動変化は，マウスのそれと定性的に差がない。ただ，死亡例は，マウスの約2～3倍量（800 mg/kg）ではじめて発現した。同様に，Gentamicin の死亡例も，マウスのそれの約3倍量で発現する。

2）ネコ：Tobramycin 50 mg/kg の筋肉注射は，行動上なんら異常を生じなかったが，100 mg/kg では投

与15分頃より嘔吐が出現した。30分を経過すると，軽度の骨格筋弛緩作用が認められ，それにともない歩行障害および立ち直り反射の消失が認められた。さらに，軽度の散瞳，心拍数の増加などの自律神経症状が認められた。これらの症状は，投与3時間後には回復に向かった。200 mg/kg の注射では，投与15分頃より間歇的に著しい嘔吐が出現し，30分頃より社交性のわずかな消失，骨格筋の弛緩，歩行異常，立ち直り反射の消失を示した。さらに，軽度の散瞳，流涎を認め，心拍数はかなり増加した。1時間経過後より軽度の眼瞼下垂を示したが，3時間後には回復に向かった。食欲はわずかに低下した。400 mg/kg の注射では，投与15分頃より1時間位まで嘔吐が頻発した。社交性は消失し，骨格筋の著明な弛緩，歩行異常，立ち直り反射の消失が認められた。さらに，軽度の散瞳，流涎，心拍数の著しい増加，軽度の呼吸数の増加，わずかな下痢などの自律神経症状が認められた。1時間を経過すると，眼瞼下垂が認められ，鎮静的になった。しかし，これらの症状は3時間を経過すると回復に向かった。食欲は低下したが，2日目には回復した。3例中1例では，死亡直前に呼吸抑制が現われ，33分後に死亡した (Table 1)。Gentamicin においても，Tobramycin とほぼ同様に著しい骨格筋弛緩などの症状が出現したが，用量的には Tobramycin より約2倍強い。すなわち，200 mg/kg の投与では，3例中1例が25分後に死亡した (Table 1)。

2．急性毒性

マウスとラットに薬物を単回投与し，以後72時間の観察における死亡率を調べた。

1）マウス：マウス10例の Bliss 法[9]による Tobramycin の LD_{50} は 359.2 (315.5～408.8) mg/kg，Gentamicin の LD_{50} は 212.6 (172.7～261.8) mg/kg を示した。これらの成績から，以下のマウスの実験では，Tobramycin は 150 mg/kg，Gentamicin は 75 mg/kg を最高用量として投与した。

Table 1 Effects of Tobramycin and Gentamicin on gross behavior in cats

Gross behavior		Control	Tobramycin mg/kg, i.m.				Gentamicin mg/kg, i.m.		
			50	100	200	400	50	100	200
Consciousness from behavior	Sleep	+	+	±	±	±	+	+	±
	Sedateness	±	±	+	+	++	±	+	++
	Alertness	+	+	±	±	−	+	±	−
	Excitement	−	−	−	−	−	−	−	−
Emotional behavior	Disappearance of sociality	−	−	−	±	+	−	±	+
	Aggressive behavior	−	−	−	−	−	−	−	−
	Appetite (disappearance)	−	−	−	±	+	−	±	+
Somatic behavior	Vocaling	±	±	±	±	±	±	±	±
	Walking around	−	−	−	−	−	−	−	−
	Ataxia	−	−	±	+	+++	−	+	+++
	Righting reflex (disappearance)	−	−	±	+	+++	−	+	+++
	Skeletal muscle (relaxation)	−	−	±	+	+++	−	+	+++
Autonomic behavior	Pupil (mydriasis)	−	−	±	±	±	−	±	±
	Salivation	−	−	−	±	±	−	±	±
	Ptosis	−	−	−	±	+	−	−	+
	Vomiting	−	−	+	++	+++	±	++	+++
	Respiration (increase)	−	−	−	−	+→+ (D)	−	−	+→+ (D)
	Heart rate (increase)	−	−	±	+	++	±	+	++
	Diarrhea	−	−	−	−	±	−	−	±
Mortality		(21)	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	1/3

(D): Decrease −: none, ±: slight, +: moderate, ++: marked, +++: extreme

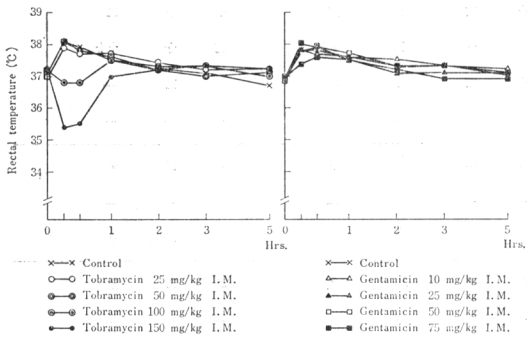
2）ラット：Tobramycin は，400 mg/kg では死亡例はみられなかったが，800, 1000 mg/kg の筋肉注射により，5例中それぞれ1および5例が死亡した。Gentamicin は，400 mg/kg では死亡例はみられなかったが，600, 800 mg/kg で，いずれも5例中全例が死亡した。両薬物とも，死亡例は投与1時間以内に現われた。これらの成績から，以下のラットの実験では，Tobramycin は 400 mg/kg, Gentamicin は 300 mg/kg を最高用量として投与した。

3．体　　温

25±1℃に調整された飼育室で，マウス1群8匹の直腸温をサミスター検温計により，薬物投与後時間経過を追って測定した。

Tobramycin 25, 50 mg/kg の用量では，体温の下降は認められなかったが，100, 150 mg/kg では著しい体温の下降作用が認められ，100 mg/kg では 15～30 分後に約 1℃，150 mg/kg では 15～30 分後に約 2.5℃ の体温下降を示した。Gentamicin では，75 mg/kg で 15～30 分値および3時間値にそれぞれ有意の体温下降を示した（Fig. 2）。

Fig. 2　Effects of tobramycin and gentamicin on rectal temperature in mice

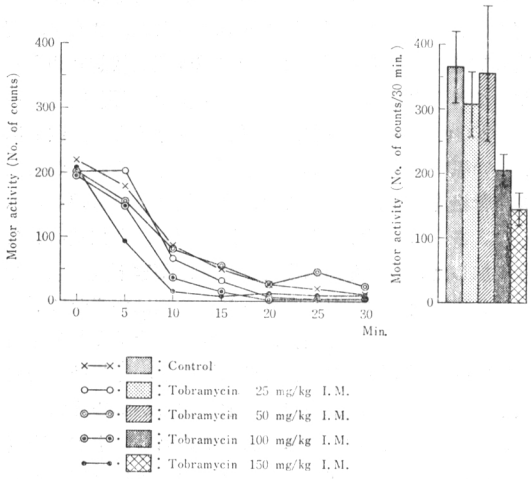


4．自発運動

Animex activity meter[10] を用い，薬物投与 15 分後に，マウスを1匹ずつ計量装置上の箱（23×37×30 cm）にいれ，以後5分間隔で 30 分間の運動量を1群 10 匹として測定した。

Tobramycin は，50 mg/kg の用量まで運動量の減少を認めなかったが，100, 150 mg/kg では，運動量が著しく減少した。すなわち，100 mg/kg では 15 分値，150 mg/kg では 5, 10, 15 分値にいずれも有意の自発運動の減少を示した。30 分間の総運動量においても，対照群 365 counts に対して，100 mg/kg では 204 counts, 150 mg/kg では 144 counts を示し，いずれも運動量が有意に減少した（Fig. 3）。

Fig. 3　Effects of tobramycin on spontaneous motor activity in mice



Gentamicin では，25～75 mg/kg の用量で 30 分間の総運動量は減少する傾向を示した。

5．懸垂試験

1群 10 匹のマウスを用い，Courvoisier ら[11]の方法にしたがい実験を行なった。

Tobramycin は，50 mg/kg の用量までは全く懸垂の抑制作用をきたさなかったが，100 mg/kg では 15 分値に 10 %，150 mg/kg では 15 分値に 40 %，以後1時間値まで 10 %の懸垂抑制作用を示した。Gentamicin は，75 mg/kg の用量で，15 分値に 20 %の懸垂抑制作用を示した。

6．回転棒試験

Dunham & Miya[12] の装置を用い，1群 10 匹のマウスを毎分 16 回の速度で回転している棒上にのせ，2分以内に落下したものを薬物作用有効とし，薬物投与後時間経過を追って測定した。

Tobramycin は，150 mg/kg の大量投与でも回転棒の抑制作用を示さなかった。Gentamicin は，75 mg/kg で 30 分値に 10 %の抑制作用を示した。

7．強化麻酔作用

1群 10 匹のマウスを用い，薬物投与 15分，30 分および1時間後に Thiopental-Na 35 mg/kg を静脈注射し，Girndt[13] の麻酔深度測定法により，深麻酔時間が 10 分以上続いたものを薬物作用有効とし，強化麻酔作用を検討した。

Tobramycin 150 mg/kg および Gentamicin 75 mg/kg の大量投与でも，両者は，いずれの時間値においても強化麻酔作用を示さなかった。

8．鎮痛作用

1）酢酸 Writhing：1群 10 匹のマウスを用い，Ko-

STER ら[14]の Writhing test にしたがって，酢酸 Writhing に対する抑制作用を検討した。

Tobramycin は 150 mg/kg, Gentamicin は 75 mg/kg の大量投与においても，Writhing の抑制作用は認められなかった。

2）HAFFNER 変法：1群10匹のマウスを用い，薬物の投与15分前に Morphine 3.5 mg/kg ($ED_{0\sim10}$) を皮下注射し，HAFFNER[15] の方法に基づいて鎮痛効果を検討した。

Tobramycin は 150 mg/kg, Gentamicin は 75 mg/kg の大量投与において，いずれも 10 %の鎮痛効果を示した。

9．抗痙攣作用

1）最大電撃痙攣：WOODBURY & DAVENPORT[16] の装置を使用，1群10匹のマウスを用い，薬物投与後15分，30分，1時間に電撃を与え，強直伸展性痙攣の発現を示さなかった場合を薬物作用有効とし，抗電撃痙攣作用を検討した。

Tobramycin は 150 mg/kg, Gentamicin は 75 mg/kg の大量投与でも，いずれの時間値においてもまったく抗電撃痙攣作用は認められなかった。

2）Pentetrazol 痙攣：Pentetrazol 85 mg/kg を皮下注射すると，対照マウスは2～10分経過後 100 %の間代性痙攣を発現する。1群10匹のマウスを用い，薬物投与後15分，30分，1時間に Pentetrazol を皮下注射し，以後1時間の観察における抗 Pentetrazol 痙攣作用を検討した。

Tobramycin は 150 mg/kg, Gentamicin は 75 mg/kg の大量投与でも，いずれの時間値においても，まったく抗 Pentetrazol 痙攣作用は認められなかった。

10．立ち直り反射

Tobramycin は 150 mg/kg, Gentamicin は 75 mg/kg の大量投与でも，立ち直り反射の抑制は認められなかった。

11．カタレプシー作用

1群10匹のラットを用い，COURVOISIER[11] の方法にしたがって，薬物の投与10，20，30分および1時間後にカタレプシー作用を検討した。

Tobramycin は 400 mg/kg, Gentamicin は 300 mg/kg の大量投与でも，まったくカタレプシー作用は認められなかった。

12．棒登り条件反応

COOK & WEIDLEY[17] の棒登り法を使用し，条件回避率が90 %以上のラットを選び，実験に供した。薬物投与後時間経過を追って，1群5匹のラット（1匹10試行）の条件回避，逃避反応の抑制率を求めた。

Tobramycin は，200 mg/kg の用量までは，条件回避および逃避反応の抑制作用はまったく認められなかったが，400 mg/kg の大量投与で，投与15～30分値に20～25 %の条件回避反応の抑制と15分値に16 %の逃避反応の抑制が認められた。Gentamicin は，300 mg/kg の大量投与で，投与15分，30分値にそれぞれ46%，18 %の条件回避反応の抑制と，34 %，8 %の逃避反応の抑制作用が認められた。

13．脊髄反射

エーテル麻酔下で気管カニューレを挿入，*d*-Tubocurarine chloride で不動化し，上丘，下丘間で吸引除脳したネコおよび胸髄（Th 7～8）を切断した脊髄ネコを作製した。L_7 か S_1 の部位で左側前根を切断し，その部位を誘導電極上に置き，矩型波電気刺激（0.5 Hz, 0.05 msec, supramaximal）を同側脛骨神経に加えて，脊髄反射電位を記録した。薬物は，手背静脈内に挿入したビニールチューブから投与した。

1）除脳ネコ

Tobramycin 2, 10 mg/kg の投与では，単シナプス，多シナプス反射のいずれに対しても著しい作用を示さなかったが，50 mg/kg では，1分以後，単シナプス反射電位を増大させる場合と，逆に減少する場合が各1例にみられ，多シナプス反射電位は，単シナプス反射電位の増減にかかわらず3例とも一過性に減弱した。Gentamicin 10, 50 mg/kg の投与では，約半数例において，一過性ないし持続的な単シナプス反射電位の増大と，逆に一過性の多シナプス反射電位の減少を示した。

2）脊髄ネコ

Tobramycin 2, 10 mg/kg の投与では，脊髄反射電位の変化はみられないが，50 mg/kg では，3例中2例において5分後まで単シナプス反射電位の軽度の増大，他の1例で逆に単および多シナプス反射電位の著明な減少を示した。Gentamicin 50 mg/kg の投与では，単シナプス反射電位の増大あるいは減少を示したが，多シナプス反射電位は，単シナプス反射電位の増減にかかわらず減少の傾向を示した。

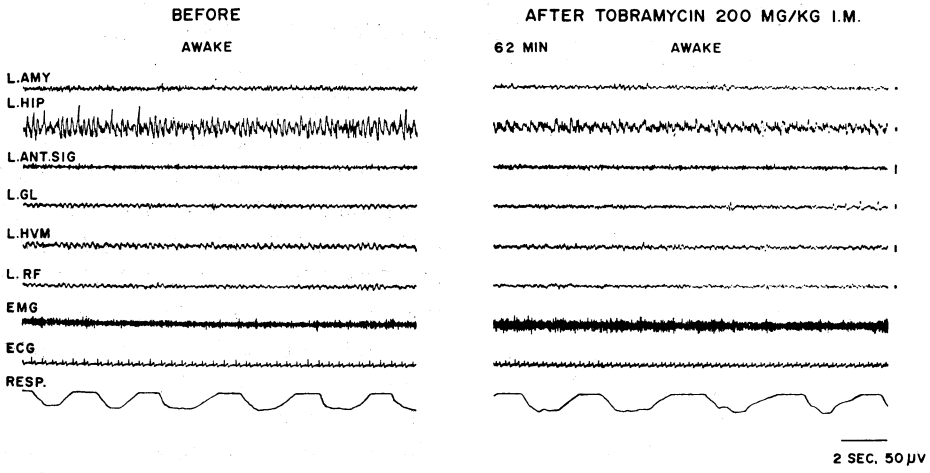
14．慢性電極植え込みネコの脳波

山本ら[18]の方法にしたがって，慢性電極を植え込んだネコ11匹を使用し，新皮質感覚運動野（ANT. SIG），扁桃核（AMY），海馬（HIP），外側膝状体（GL），視床下部腹内側核（HVM），中脳網様体（RF）などから導出される自発性脳波，心電図，呼吸運動の変化および睡眠—覚醒周期に対する作用を検討した。

1）ポリグラム：Tobramycin は，100 mg/kg の用量までは，脳波パターンにほとんど影響が現れなかったが，200 mg/kg では，投与30分経過後より覚醒時の海馬 θ

Fig. 4 EEG pattern before and after intramuscular injection of 200 mg/kg of tobramycin
Decrease of amplitude of hippocampal theta waves at 62 min

L. AMY : amygdala, L. HIP : hippocampus, L. ANT. SIG : anterior sigmoid gyrus, L. GL : lateral geniculate body, L. HVM : hypothalamus ventromedialis, L. RF : reticular formation, EMG : electromyogram of posterior neck muscle, ECG : electrocardiogram, RESP : respiration



波に軽度の振幅低下と周波数の減少傾向が認められた (Fig. 4)。この変化も，投与3～4時間後にはほとんど回復した。Gentamicin では，100 mg/kg の用量でも，脳波パターンにはほとんど変化が認められなかった。

2）睡眠—覚醒周期：Tobramycin 50 mg/kg の用量では，8時間記録中の睡眠—覚醒量に有意の影響が認められなかったが，100～200 mg/kg の用量では，2～4時間位まで徐波睡眠 (SWS) および速波睡眠 (FWS) の出現が抑制され，8時間記録中の速波睡眠量は有意に減少した (Table 2)。Gentamicin 50～100 mg/kg の注射では，1～2時間位まで徐波睡眠および速波睡眠の出現を抑制する傾向が認められたが，8時間記録中の睡眠—覚醒量には有意の影響は認められなかった (Table 2)。

15. 大量投与時のポリグラフによる死因分析

Tobramycin は 600 mg/kg をネコ4例に，いっぽう Gentamicin は 400 mg/kg を3例にそれぞれ筋肉注射し，大量投与時の死にいたる経過のポリグラムを観察した。

Table 2 Modification of EEG levels caused by Tobramycin and Gentamicin in cats

Drugs	Dose mg/kg i.m.	No. of exp.	Awake	Rest	Slow wave light sleep	Slow wave deep sleep	Fast wave sleep
Pooled control	–	22	35.1 ± 2.7 b)	12.1 ± 0.9	11.7 ± 1.0	28.9 ± 2.0	12.2 ± 1.4 (%)
Tobramycin	50	6	41.1 ± 4.1	9.5 ± 0.8	9.1 ± 0.5	30.7 ± 2.9	9.6 ± 2.1
	100 a)	6	43.3 ± 4.2	13.2 ± 1.8	12.6 ± 1.8	25.7 ± 2.4	5.3 ± 1.6*
	200 a)	6	46.7 ± 4.9	12.8 ± 1.8	10.1 ± 0.9	26.8 ± 5.0	3.7 ± 1.1**
Gentamicin	50	6	40.2 ± 3.1	12.2 ± 1.7	9.1 ± 1.3	29.9 ± 3.2	8.7 ± 1.9
	100 a)	6	40.4 ± 5.7	9.8 ± 1.8	9.3 ± 1.6	30.9 ± 4.2	9.7 ± 2.1

Each percentage indicates the value from 8 hour-tracing
a) Evident vomiting was seen during first 1 hour
b) Mean ± S.E.
*) Significant difference from control * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

Tobramycin 600 mg/kg の筋肉注射では，投与5分頃よりさかんに舌なめを行ない，7～30分の間に頻回に嘔吐が出現した。骨格筋は著しく弛緩し，ネコは歩行困難となり，腹位ないし側位の姿勢をとり，心拍数，呼吸数は著しく増加した。脳波では，海馬θ波の振幅低下と速波の重畳を示した (Fig. 5, 31 min)。投与42分頃より呼吸数は減少し (Fig. 5, 50 min, Fig. 6)，脳波停止直前の56分後には，行動上の変化は認められなかったが，脳波では一過性に棘波に富んだ徐波が現れた (Fig. 5, 56 min)。56分30秒後には，呼吸と脳波は，ほとんど同時に停止したが，心拍動はなお認められた (Fig. 5, 56 min 30 sec)。その後は，心拍数は急激に減少し，1時間21分後に心拍動の停止が認められた (Fig. 6)。他の3例も同様の経過をとり，呼吸≒脳波→心拍動の順で停止し，死亡した。Gentamicin の筋肉注射では，投与5分頃よりさかんに舌なめを行ない，8分後には嘔吐が出現し，その後は数回発現した。骨格筋は著しく弛緩し，ネコは歩行困難となり，腹位姿勢を示した。心拍数は増加し，不整脈が現れ，呼吸数も著しく増加した。30分後には，呼吸数は減少し，海馬θ波は低振幅化した。投与35分後には，行動上の変化は認められなかったが，脳波では周波数のおそい群発様波が一過性に現れた。35分30秒後には，呼吸と脳波がほとんど同時に停止したが，心拍動はなお認められた。心拍動は，68分後に停止した (Fig. 7)。他の2例も同様の経過をとり，呼吸≒脳波→心拍動の順で停止し，死亡した。

考　　察

Tobramycin の筋肉注射後に，マウス，ラットおよびネコの行動にみられた共通の変化は，著しい骨格筋弛緩

Fig. 5 EEG pattern after intramuscular injection of 600 mg/kg of tobramycin in the cat
Slow wave and spike discharges in all lead at 56 min were observed, and then initially cessation of respiratory- and EEG activity, followed by stopping of heart-beat

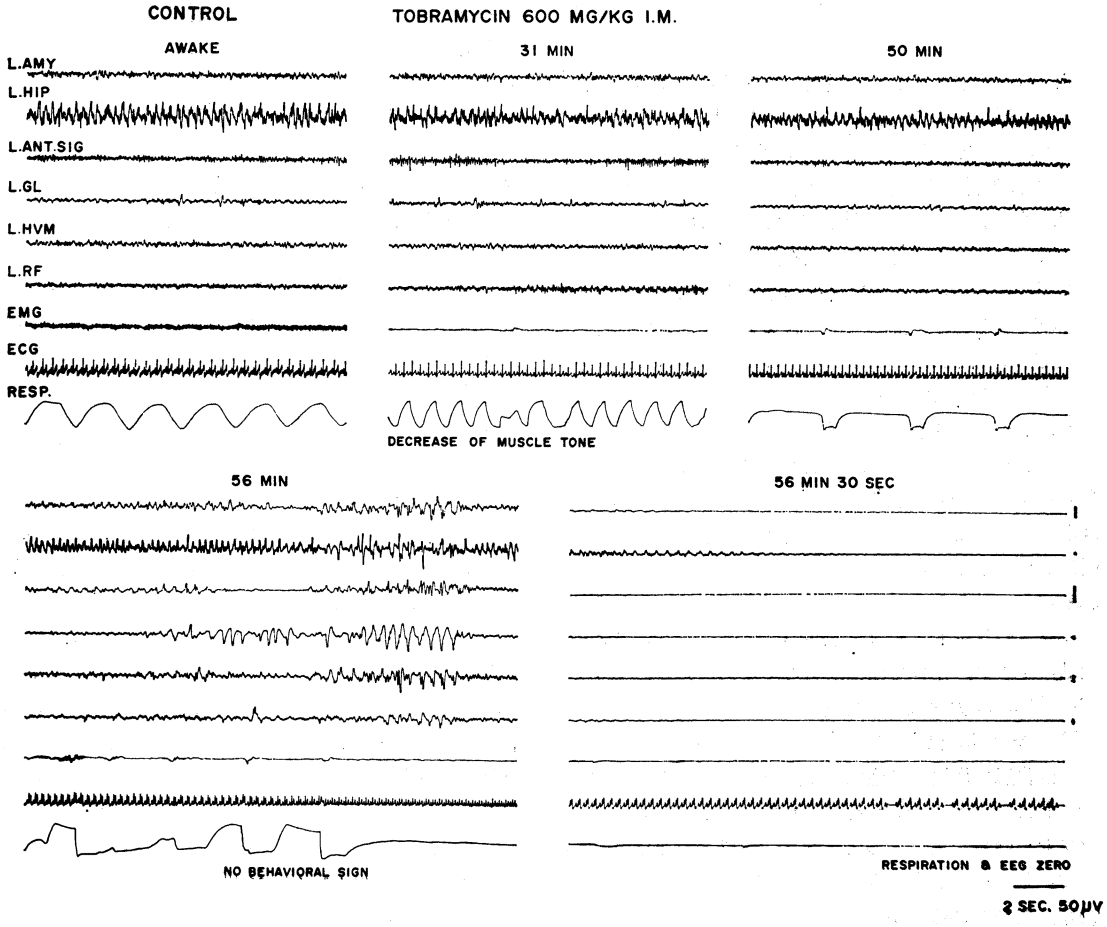


Fig. 6 Modification of sleep-wakefulness cycles and respiratory rates caused by intramuscular injection of 600 mg/kg of tobramycin in the cat

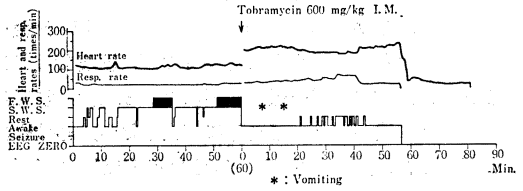
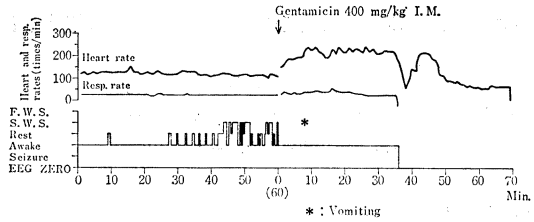


Fig. 7 Modification of sleep-wakefulness cycles and hear and respiratory rates caused by intramuscular injection of 400 mg/kg of gentamicin in the cat



作用，歩行障害などの運動機能抑制作用と軽度の鎮静作用であるが，ネコでは強い嘔吐が出現した。すでに，Gentamicin などの Aminoglycoside 系の抗生物質には Curare 様の神経筋接合部遮断作用が認められているが[19]，最近，WELLES ら[20]はネコのヒラメ筋を，武田ら[21]はラットの腓腹筋，横隔膜を用いて，Tobramycin にも Gentamicin と同様な神経筋接合部遮断作用を証明していることから，行動上みられる骨格筋の弛緩作用は，同様の作用機序に依存するものと考えられる。このように，Tobramycin の行動変化は Gentamicin とよく似ているが，3種動物のいずれにおいても Gentamicin のそれよりは作用が弱く，用量的には約 1/2 であった。Tobramycin を大量投与すると，Gentamicin と同様にほとんどの例で投与後1時間以内に死亡するが，その死因の1つとして，骨格筋の弛緩による呼吸麻痺が推定される。

マウス，ラット，ネコの急性毒性における死に至る用量は，マウス，ネコではほぼ同程度であったが，ラットでは Tobramycin が約2倍弱く現れた。

Tobramycin は，150 mg/kg を投与したマウスにおける強化麻酔作用，抗痙攣作用，立ち直り反射，鎮痛作用，および 400 mg/kg を投与したラットにおけるカタレプシー誘発作用に対してまったく影響をおよぼさなかった。しかしながら，Tobramycin は，100～150 mg/kg の用量で著しい体温下降作用と自発運動の減少を示した。いっぽう，Gentamicin では 75 mg/kg の用量で軽度の体温下降作用が認められたが，自発運動の有意な減少は認められなかった。懸垂試験に対しては，Tobramycin は 100～150 mg/kg で10～40％，いっぽう，Gentamicin は 75 mg/kg で 20％の懸垂抑制作用を示した。ラットにおける棒登り法の条件反応に対しては，Tobramycin は 400 mg/kg, Gentamicin は 300 mg/kg の用量で軽度に条件反応を抑制したが，回避，逃避両反応を同程度に抑制したことから，この抑制作用は，骨格筋の弛緩による運動抑制に起因するものと考えられる。このように，Tobramycin の諸作用は，用量的には Gentamicin より軽度ではあるが，大量投与によりマウスにおける体温の下降作用，自発運動の減少，懸垂抑制作用，およびラットの条件回避，逃避反応の抑制作用を示すことから，諸種の体性機能に対して，主として骨格筋の弛緩作用に由来する抑制をきたしたものと考えられる。

除脳および脊髄ネコの脊髄反射電位に対して，Tobramycin は，10 mg/kg 以下の用量ではほとんど作用を示さないが，50 mg/kg の静脈注射により，単シナプス反射の亢進，あるいは逆に抑制される例が1例ずつ観察された。また，多シナプス反射は，Tobramycin 50 mg/kg の静脈注射で抑制された。中枢性筋弛緩薬として知られている Mephenesin にも，多シナプス反射の抑制と同時に単シナプス反射の亢進をもたらす作用がしばしば観察されるが，Tobramycin の大量投与時の筋弛緩作用を Mephenesin-like の作用機作と同様に考えるほどには，多シナプス反射への抑制作用は強くない。むしろ，神経筋接合部への遮断作用のほうが原因としては強いと思われる。また，本作用は，Gentamicin の作用と質的な差異はなく，量的にやや弱いといえるが，心拍数の減少が同時にみられ，循環系機能の低下をきたす大量での作用の可能性があり，脊髄に対する直接作用は顕著なものではないかも知れない。

無麻酔，無拘束ネコの脳波におよぼす影響として，Tobramycin は，200 mg/kg の筋肉注射で覚醒時に海馬 θ 波の軽度の振幅低下を招来する。この海馬 θ 波の振幅低下は，投与30分後より出現し，3～4時間後にはほぼ正常に回復した。すでに明らかにされているように，ネコに Tobramycin 100 mg/kg を静脈注射すると血圧が下降する[4)20)]。海馬は，自律神経の高位の中枢として血圧の上昇や下降には敏感に反応するので[22]，Tobramycin 投与時にみられる海馬 θ 波の振幅低下は，一次的には血圧の下降作用に対応した変化とも推定される。

静穏な環境下におけるネコの睡眠―覚醒量は，ほぼ一定の値を示すことが知られている[23]。したがって，薬物

によるその変化は，薬物の中枢作用を知る手がかりの1つと考えられる[24]。Tobramycin は，100～200 mg/kg の用量において，Gentamicin 100 mg/kg に比較して速波睡眠を著しく減少したが，8時間観察中に著しい睡眠—覚醒周期の乱れは認められなかった。速波睡眠の抑制は，両薬物の投与初期に著しい嘔吐が出現し，投与後2～4時間まで全睡眠が抑制されたためと思われる。

薬物を大量投与したとき，いかなる経過で動物が死亡するかを知るために，ポリグラフにより詳細に観察した。Tobramycin 600 mg/kg の投与では，投与数分後より著しい嘔吐が頻発し，10分頃より骨格筋は弛緩し，歩行困難となり，ネコは完全に腹位ないし側位となった。この頃より海馬 θ 波の振幅は低下し，心拍数は著しく増加，呼吸は浅く速くなった。脳波が停止する直前には，呼吸数は減少し，行動上の変化は認められなかったが，一過性に棘波に富んだ徐波が現れた。このパターンは痙攣波によく似ているが，断定するには至らない。この徐波が出現した直後，呼吸と脳波はほとんど同時に停止し，かなりおくれて心拍動の停止が認められた。いっぽう，Gentamicin 400 mg/kg の投与でも，投与初期に著しい嘔吐が現れ，骨格筋は著しく弛緩した。脳波停止直前には，群発様波が一過性に現れたが，心拍動の停止はかなりおくれた。すなわち，呼吸≒脳波→心拍動の順で停止し，死に至った。

このように，Tobramycin を大量投与するときは，海馬パターンに変化を招来し，また，速波睡眠は著しく減少した。死に至る経過は，Gentamicin と同様に投与初期に著しい嘔吐，筋弛緩作用を示し，死亡直前には一過性に全誘導が徐波化した。脳波と呼吸はほとんど同時に停止するが，心拍動の停止はかなりおくれた。ネコに死を招く Tobramycin の用量は，Gentamicin のそれより大きい。

結　　語

マウス，ラットおよびネコを使用し，薬物安全性の立場から，Tobramycin の中枢神経系におよぼす影響を動物の行動と脳波を指標に解析し，Gentamicin と比較を行なった。

1．Tobramycin の筋肉注射による大量投与では，Gentamicin と同様に骨格筋の弛緩作用を主とする体性運動の抑制と鎮静作用が出現した。

2．Tobramycin の大量投与により，マウスの直腸温の下降，自発運動の抑制，懸垂抑制作用およびラットにおける棒登り条件回避，逃避反応の軽度の抑制が発現した。

3．Tobramycin 10 mg/kg 以下の用量では，除脳および脊髄ネコの脊髄反射電位に対しては作用を示さないが，50 mg/kg の静脈注射では，単シナプス反射の亢進あるいは抑制がみられ，多シナプス反射は抑制された。

4．Tobramycin 200 mg/kg をネコに筋肉注射すると，海馬パターンの低振幅化および速波睡眠の減少をきたした。

5．Tobramycin 600 mg/kg の筋肉注射時の致死経過のポリグラフをみると，脳波と呼吸のほぼ同時停止が現われ，心拍動の停止はかなりおくれた。

参 考 文 献

1) Higgens, C.E. & R.E. Kastner: Nebramycin, a new broad-spectrum antibiotic complex II. Description of *Streptomyces tenebrarius*. Antimicr. Agents & Chemoth. : 324～331, 1967

2) Black, H.R. & R.S. Griffith: Preliminary studies with nebramycin factor 6. Antimicr. Agents & Chemoth. : 314～321, 1970

3) Preston, D.A. & W.E. Wick: Preclinical assessment of the antibacterial activity of nebramycin factor 6. Antimicr. Agents & Chemoth. : 322～327, 1970

4) Welles, J.S.; J.L. Emmerson, W.R. Gibson, R. Nickander, N.V. Owen & R.C. Anderson: Preclinical toxicologic studies with tobramycin. Toxicol. Appl. Pharmacol. : 22: 332, 1972

5) De Rosa, F.; U. Buoncristiani, P. Capitanucci & R.F. Frongillo: Tobramycin: Toxicological and pahrmacological studies in animals and pharmacokinetic research in patients with varying degrees of renal impairment. J. Int. Med. Res. 2: 100～114, 1974

6) Brummett, R.E.; M.M. Meikle & J.A. Vernon: Ototoxicity of tobramycin in guinea pigs. Arch. Otolaryng, 94: 59～63, 1971

7) Irwin, S.: Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. Psychopharmacologia (Berl.) 13: 222～257, 1968

8) 山本研一，沢田　亨，内藤行雄，城戸良之助：Nitrazepam の中枢作用に関する神経薬理学的研究。脳と神経　21：488～502, 1969

9) Bliss, C.I.: The determination of the dosage-mortality curve from small numbers. Quart. J. Year Book Pharm. 11: 192～216, 1938

10) Svensson, T.H. & G. Thieme: An investigation of a new instrument to measure mototr activity of small animals. Psychopharmacologia (Berl.) 14: 157～163, 1969

11) Courvoisier, S.; R. Ducrot & L. Julou: Nouveaux aspects éxperimentaux de làctivité centrale des derivés de la phénothiazine. Psychotropic drugs: p. 373～391, Elsevier publishing Co., Amsterdam, 1957

12) Dunham, N.W. & T.S. Miya: A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. J. Am. Pharma. Assoc. 46: 208～209, 1957

13) Girndt, O.: Die Ermittlung der Wirkungsstärke von Schlafmitteln mit Hilfe der Körperstell- und Labyrinthreflexe. Arch. Exptl. Pathol. Pharmakol., 164: 118～157, 1932

14) Koster, R.; M. Anderson & E.J. de Beer: Acetic acid for analgesic screening. Fed. Proc. 18: 412, 1959

15) Haffner, F.: Experimentelle Prüfung schmerzstillender Mittel. Deut. Med. Wochenschr. 55: 731～733, 1929

16) Woodbury, L.A.& V.D. Davenport: Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. Arch. Int. Pharmacodyn. 92: 97～107, 1952

17) Cook, L. & E. Weidley: Behavioral effects of some psychopharmacological agents. Ann. N.Y. Acad. Sci. 66: 740～752, 1957

18) 山本研一，城戸良之助：慢性うえこみ電極ネコおよびイヌの脳波ならびに行動からみた精神安定薬 barbiturate, morphine の中枢作用および各薬物間の質的差異について。脳と神経 14：591～608, 1962

19) Barnett, A. & E. Ackermann: Neuromuscular blocking activity of gentamicin in cats and mice. Arch. Int. Pharmacodyn. 181: 109～117, 1969

20) Welles, J.S.; J.L. Emmerson, W.R. Gibson, R. Nickander, N.V. Owen & R.C. Anderson: Preclinical toxioclogy studies with tobramycin. Toxicol. Appl. Pharmacol. 25: 398～409, 1973

21) 武田　寛，中西弘則，松村彰一，松田三郎，川上勝，大谷弘一，宇野　攻，金城アキ子：Tobramycin の薬理作用（その 1）：Tobramycin の循環・呼吸・筋系ならびに尿排泄におよぼす影響。Chemotherapy：23 (3)：1440～1459, 1975

22) Torii, S. & H. Kawamura: Effects of amygdaloid stimulation on blood pressure and electrical activity of hippocampus. Jap. J. Physiol. 10: 374–384, 1960

23) Sterman, M.B.; T. Knauss, D. Lehmann & C.D. Clement: Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 19: 509～517, 1965

24) 山本研一：睡眠の神経薬理。最新医学，26：16～34, 1971

THE EFFECTS OF TOBRAMYCIN ON THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

KENICHI YAMAMOTO, KOHJI YOSHIMURA, YUZURU INOUE, SATORU HIRONO, MICHIKO SAKAMORI, SHŌICHI MATSUMURA and EIICHI MORISHIGE
Division of Neuropharmacology, Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

The effects of tobramycin on the central nervous system were studied behaviorally and electroencephalographically to examine centrally-induced side effects in mice, rats, and cats with indwellipg brain electrodes, and compared with the corresponding effects of gentamicin. The following results were obtained.

1. Like gentamicin, intramuscular injection of large doses of tobramycin in mice, rats, and cats caused such behavioral changes as inhibition of somatic acitvity induced by relaxation of skeletal muscle and sedation.

2. Intramuscular injection of large doses of tobramycin caused a fall of rectal temperature, decrease of spontaneous motor activity, inhibition in the traction test in mice, and a slight inhibition of the pole climbing avoidance-escape response in rats.

3. No effect on spinal reflex in either decerebrated or spinal cats was observed with intravenous injection of tobramycin in doses of up to 10 mg/kg. However, intravenous injection at a dose of 50 mg/kg caused increase or decrease of monosynaptic spinal reflex potentials and a decrease of polysynaptic spinal reflex potentials.

4. Intramuscular injection of tobramyin at a dose of 200 mg/kg caused EEG changes in the hippocampus such as a decrease in the amplitude of hippocampal theta waves in the waking state and a decrease of the fast wave sleeping state in cats.

5. Intramuscular injection of tobramycin into cats at a dose of 600 mg/kg initially caused cessation of respiratory- and EEG activity, followed by stopping of heart-beat.