

KW-1062 の聴器毒性および安全性の評価に関する動物試験

秋吉正豊・矢野三郎・庄司 侃

田島たよ子・今沢孝喜

東京医科歯科大学難治疾患研究所・機能病理学部門

原 卓 司・清水 源 昭

協和醸酵工業技術研究所・安全性研究室

KW-1062は*Micromonospora sagamiensis* var. *non-reducans* MK-62によって産生された新しいアミノ配糖体抗生物質であって、Gentamicin (GM) に極めて類似した物理化学的性状と抗菌スペクトルをもっており、グラム陽性菌および緑膿菌、変形菌、セラチア、肺炎桿菌などのグラム陰性桿菌に対して強い抗菌力を示すことが明らかにされている (OKACHI et al. 1974)¹⁾。しかしながら、これまで行なってきたわれわれの検索の結果では、聴器毒性に関しては、KW-1062はGMに比較して著しく弱い聴器毒性をもっているように考えられる。

今回われわれは、KW-1062の聴器毒性と、投与量の聴器に対する安全性を評価検討する目的で、大量投与量での急性毒性実験と、少量投与量での慢性毒性実験と、妊娠の前期と後期における大量投与量での急性毒性実験とをそれぞれ、モルモットについて行ない、それらの動物と、妊娠動物から生れた新生モルモットについて、20 kHz から 0.2 kHz または 0.5 kHz までの広範な周波数域における周波数別耳介反射試験を行ない、さらに実験終了後にそれぞれの聴器を切除して内耳の病理組織学的検索を行なったので、これらの結果を報告したい。

I. 実験材料および方法

Hartley系の幼若モルモット(300g前後)100匹および妊娠モルモット85匹ならびにそれらの妊娠モルモットから生れてきた209匹の新生モルモットを用いた。

投与薬剤および投与量

急性毒性実験

KW-1062	50, 100 mg/kg	28日間投与
GM	50, 100 mg/kg	28日間投与

慢性毒性実験

KW-1062	2.5, 25 mg/kg	3カ月間投与
対照 蒸留水	0.1ml/100g	3カ月間投与

妊娠モルモットにおける急性毒性実験

妊娠直後から4週間投与

KW-1062	50 mg/kg, 100 mg/kg
GM	25 mg/kg, 50 mg/kg
蒸留水	0.1 ml/100 g

妊娠6週目より分娩までの4週間

KW-1062	25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg
GM	12.5 mg/kg, 25 mg/kg
蒸留水	0.1 ml/100 g

以上の薬剤はいずれも筋肉内に連日、体重測定後に投与した。

聴力障害を測定するために20k, 15k, 12k, 10k, 8k, 6k, 4k, 3k, 2k, 1k, 0.5 kHz または 0.2 kHz のそれぞれの周波数における耳介反射試験、すなわち周波数別耳介反射試験を行ない、抗生物質によってきたした耳介反射消失の周波数の拡がりを測定した。なお、周波数別耳介反射試験は、注射開始前に行ない、さらに注射期間中は毎週1回づつ行なった。妊娠モルモットにおける急性毒性実験では、妊娠中と、分娩後2週まで行なった。新生モルモットは出生後1週と2週とにそれぞれ周波数別耳介反射試験を行なった。

各動物は実験終了後にNembutal麻酔下で正中線上で開胸し、ガラスカニューレを左心室側壁から挿入し、大動脈起始部で絹糸によって結紮固定し、約40cmの落差を利用して、37°Cの生理的食塩水で血管系を灌流し、血液を完全に洗い去った後に、WITTMACKの固定液でさらに灌流し、結膜、粘膜、耳介などが黄色に着色するまで灌流固定した。なお、灌流にあたっては、右心房心耳に小孔を作り、血液および固定液の流出孔とした。上記の固定を行なった後に、大脳と小脳とをとり出し、両側の側頭骨を含む頭蓋底を切除し、さらに同じ固定液をいれた容器内で2〜3週間固定した。固定終了後に、PLANK-RYCHLOの迅速脱灰液で脱灰し、通法にしたがい水洗後、脱水、セロイジン包埋とし、両側側頭骨の水平断面連続セロイジン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、前庭、および蝸牛を組織学的に検索した。

II. 実験結果

1. 急性毒性実験

1) 体重変動

(1) KW-1062 50 mg/kg を28日間筋注した10匹

のモルモットのうち4日目から12日目にかけて3匹が1時的に体重の減少(6~52gまで)をきたしたが4週後は全例とも体重の増加を示した。

(2) GM 50mg/kg を28日間筋注した10匹のモルモットのうち8日目から16日目にかけて7匹が体重の減少をきたした。これらの動物の体重減少は12~16日間持続し、体重の増加が遅れる動物が多かった。4週後では体重は大体回復を示していたが、2匹は体重減少のままであった。

(3) KW-1062 100mg/kg を28日間筋注した11匹のうち注射開始後4日目から12日目にかけて8匹が体重減少をきたした。これら動物の体重の増加は KW-1062

50mg/kg を投与した動物におけるよりも多少悪く、4週後でも11匹中4匹は依然として体重減少をきたしたままであった。しかしながら、投与期間中に死亡したのは1匹もなかった。

(4) GM 100mg/kg を28日間筋注した10匹のうち、注射開始後4日目から8日目にかけて7匹が体重減少をきたし、16日目には6匹が全身衰弱で死亡した。生存した4匹のうち1匹は4週後に軽度の体重増加を示したが、残りの3匹はすべて体重減少をきたしたままであった。

以上の体重の変動の推移を比較すると、KW-1062による全身障害は、50mg/kg と100mg/kg の投与量では、

Table 1 Pinna reflex loss (20k~0.2kHz) and damage of inner ear in guinea pigs given KW-1062 50mg/kg for 28 days

Guinea pig	Hearing impairment	Damage in cochlea BE—Ap			Damage in vestibulum C. A. L. P ; M. U. S.		Tubular damage		
No.	Pinna reflex loss 20k~0.2kHz	OHC loss	Sg. C. loss	Str. vas.	Hair cell loss	Vg. C. loss	Nec.	Rg.	Int.
1 1~1	—	—	4 P ±	Ap-4 p	—	—		+	+
2 1~3	—	—	—	Ap-4A	—	—	+		+
3 1~4	—	—	—	—	—	—		+	+
4 1~5	—	—	—	—	—	—		+	+
5 1~6	—	—	—	—	—	—		+	+
6 1~7	—	—	—	—	—	—	+		+
7 1~8	—	—	—	—	—	—		+	+
8 1~9	—	BE, 2 ±	Atrophy	Ap-2 ¹ / ₄ ±	—	—		+	+
9 1~10	—	—	—	—	—	—		+	+
10 1~12	—	—	—	Ap-3	—	—		+	+
10	0/10	1/10 +	2/10 +	4/10 $\frac{1}{4}$	0/10	0/10			

Table 2 Pinna reflex loss (20k~0.2kHz) and damage of inner ear in guinea pigs given GM 50mg/kg for 28 days

Guinea pig	Hearing impairment	Damage in cochlea BE—Ap			Damage in vestibulum C. A. L. P ; M. U. S.		Tubular damage		
No.	Pinna reflex loss 20k~0.2kHz	OHC loss	Sg. C. loss	Str. vas.	Hair cell loss	Vg. C. loss	Nec.	Rg.	Int.
21 3~1	20k~0.2k	BE-3 ³ / ₄	—	Ap-3 ¹ / ₃	A, L, P ±, U +	—	+	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$
22 3~2	(0.2k) —	BE	—	—	—	—	+	+	+
23 3~4	20k	BE-HU	—	Ap	—	—	+	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$
24 3~5	—	BE	—	Ap	U ±	—	+	+	+
25 3~6	—	—	—	—	—	—			
26 3~8	20k	BE-(HL ±)	—	Ap	P +, U ±	—	+	+	+
27 3~9	20k	BE	—	Ap	P ±	—	+	+	+
28 3~10	—	BE-HL	—	Ap-3 ³ / ₄	—	—	+	+	+
29 3~11	—	BE	—	Ap-4	—	—	+	+	+
30 3~12	—	BE	—	Ap-3 ¹ / ₄	—	—	+	+	+
10 (9)	4/10 $\frac{1}{4}$	9/9 $\frac{1}{4}$	0/9	8/9 $\frac{1}{4}$	4/9 ±	0/9			

同じ投与量の GM を与えたモルモットにおけるより軽いことが示唆された。

2) 周波数別耳介反射試験

(1) 注射開始前の測定値

41 匹のモルモットについて行なった、最高 20 kHz から最低 0.2 kHz までの周波数域における純音刺激に対する耳介反射の陽性頻度は、20 kHz, 15 kHz, 12 kHz, 10 kHz, 8 kHz, 6 kHz, 4 kHz, 3 kHz, 2 kHz, 1 kHz, 0.5 kHz のそれぞれの周波数ではすべて 100% 陽性の耳介反射がえられたが、最低周波数の 0.2 kHz では 95% が陽性反射を示し、残りの 5% では耳介反射は陰性であった。

(2) 4 週間投与後の耳介反射

KW-1062 50mg/kg を 28 日間筋注した 10 匹のモルモットのうちで耳介反射消失をきたしたものは 1 匹もなかった (Table 1)。

GM 50mg/kg を 28 日間筋注した 10 匹のうち 4 匹は高音における耳介反射消失をきたして、そのうちの 1 匹は 20 kHz から 0.2 kHz におよぶ広範な周波数域の耳介反射消失をきたしていた (Table 2)。なお残りの 6 匹は、注射開始前からすでに 0.2 kHz に限局した耳介反射陰性を示していた 1 匹を除いて、すべて耳介反射陽性であった。

Table 3 Pinna reflex loss (20k~0.2kHz) and damage of inner ear in guinea pigs given KW-1062 100mg/kg for 28 days

Guinea pig No.	Hearing impairment Pinna reflex loss 20k~0.2kHz	Damage in cochlea BE—Ap			Damage in vestibulum C. A. L. P ; M. U. S.		Tubular damage		
		OHC loss	Sg. C. loss	Str. vas.	Hair cell loss	Vg. C. loss	Nec.	Rg.	Int.
11 2~1	—	—	—	—	—	—	+		++
12 2~2	—	BE(±)	—	Ap-3 ¹ / ₄	P±	—	+	++	++
13 2~3	—	BE	—	Ap-3 ¹ / ₄	P±	—	++		+
14 2~5	—	BE-300μ	—	Ap-2 ¹ / ₄	A, L±, U+	—	+	+++	+++
15 2~7	—	—	—	Ap-3	A±, U±	—	+	+++	+++
16 2~8	—	—	—	Ap	A, P±, U±	—	+	+	++
17 2~9	—	—	—	Ap	—	—	+	+	++
18 2~10	—	BE(±)	—	Ap	U±	—	+	+	++
19 2~11	—	—	—	Ap	L±, U±	—	+	+	++
20 2~12	—	—	—	Ap-4±	—	—	+	+	++
21 2~4	—	BE(±)	—	—	U±	—	+		+
11	0/11	5/11 +	0/11	9/11 +++	8/11 ±	0/11			

Table 4 Pinna reflex loss (20k~0.2kHz) and damage of inner ear in guinea pigs given GM 100mg/kg for 28 days

Guinea pig No.	Hearing impairment Pinna reflex loss 20k~0.2kHz	Damage in cochlea BE—Ap			Damage in vestibulum C. A. L. P ; M. U. S.		Tubular damage		
		OHC loss	Sg. C. loss	str. vas.	Hair cell loss	Vg. C. loss	Nec.	Rg.	Int.
31 4~1	20k~0.2k	BE-4 ¹ / ₄	4 Atrophy	Ap-3 ¹ / ₄	A+, U+	—	+	++	++
32 4~2	20k~0.2k	BE-HU	—	Ap	A, P±	—	±	+++	+++
33 4~3	20k~0.2k	BE-4	4 P	Ap-BE±	L, P+, U+	—	++	++	++
34 4~4	20k~0.5k	BE-4	—	Ap-BE±	A, L, P+, U+	—	+++	±	±
35 4~5	20k~10k	BE-1/4	—	Ap-BE±	A, L±	—	±	±	±
36 4~6	20k~1k	BE-4	—	Ap-BE±	P+	—	++	+	+
37 4~7	20k~0.5k	BE-4 ¹ / ₄	Ap-4 ¹ / ₄	Ap-2 P	A, L±, U±	—	±	+++	++
38 4~9	20k~0.5k	BE-3 ³ / ₄	—	Ap-3 ³ / ₄	A±, U±	—	+++	±	±
39 4~10	20k, 15k	BE-HL	—	Ap-3	±	—	+++	—	—
40 4~11	20k~0.2k	BE-3 ³ / ₄	—	Ap-3	±	—	+++	—	—
10	10/10 +++	10/10 +++	3/10 +	10/10 +++	10/10 +	0/10			

KW-1062 100 mg/kg を 28 日間筋注した 11 匹のうち、耳介反射消失をきたしたものは 1 匹もなかった (Table 3)。

GM 100 mg/kg を 28 日間筋注した 10 匹では全例が耳介反射消失をきたしていた (Table 4)。耳介反射消失の周波数の拡がりには 20 kHz から 10 kHz までの高音域のもの 2 匹を除いては、残りの 8 匹は 20 kHz から 1 kHz または 0.5 kHz あるいは 0.2 kHz にいたる広範な周波数域における耳介反射消失をきたしていた。

3) 内耳の病理組織学的所見

KW-1062 50 mg/kg を 28 日間筋注した 10 匹のうち 9 匹はラセン器の外有毛細胞の消失を示さなかったが、残りの 1 匹では蝸牛の 1 回転下端部に限局したラセン器の外有毛細胞の消失と、2 回転における外有毛細胞の散発性消失がみられた (Table 1)。なお、この群では、さらに、4 回転後部のラセン神経節に軽い萎縮がみられた。さらに、4 回転以上あるいは 3 回転以上に血管条に消失像がみられたり、または毛細血管壁の表面で被覆する辺縁細胞の散発性消失がみられた。前庭の半規管膨大部後、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の消失はほとんどみられなかった。前庭神経節にも明らかな障害はなかった。なお、これらの動物の腎には散発性壊死あるいは上皮の再生像が近位尿細管にしばしばみられ、同時に付近の間質に軽度の細胞浸潤と線維増生とがあった。

GM 50 mg/kg を 28 日間筋注した 10 匹のうち 9 匹について組織学的検索を行なった。これらの 9 匹はいずれも蝸牛 1 回転下端部に始まる外有毛細胞の消失をきたしていた (Table 2)。これらのうち 5 匹では、外有毛細胞の消失は 1 回転下端部に限局していた (Fig. 1)。また他の 3 匹では 1 回転下端部から hook の下部あるいは上部にいたる外有毛細胞の消失があった。残りの 1 匹では、外有毛細胞の消失は 1 回転の下端部から 3 回転後部までおよんでいた。ラセン神経節には明らかな萎縮はみられなかった。血管条にはしばしば 3 回転以上に高度の消失像がみられた。前庭器の半規管膨大部後、卵形囊斑および球形囊斑 (Fig. 2) には有毛細胞の散発性消失がみられた。しかし前庭神経節には明らかな萎縮も神経節細胞の消失もなかった。腎の近位尿細管上皮には散発性に壊死がみられ、さらに不規則な再生像も認められた。付近の間質には細胞浸潤をとともなう線維の増生が中等度または高度にみられた。

KW-1062 100 mg/kg を 28 日間筋注した 11 匹のうち、1 回転下端部およびその付近に限局した外有毛細胞の消失は 2 匹にみられ (Fig. 3)、他の 3 匹では 1 回転下端部に限局した外有毛細胞の散発性消失がみられた (Fig. 4) (Table 3)。残りの 6 匹には外有毛細胞の消失

Fig. 1 Complete loss of outer hair cells (arrow) confined to the basal end of the spiral organ in guinea pig given GM 50 mg/kg i. m. for 28 days. Inner hair cells (IHC) are present. Peripheral nerve fibers (N) remain unchanged.

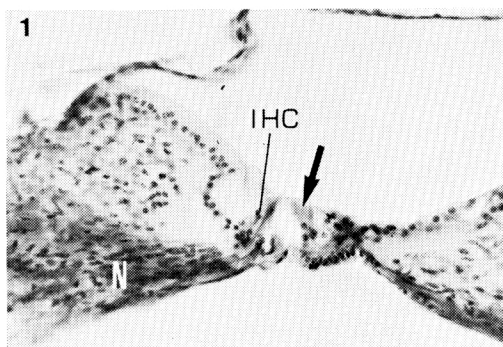


Fig. 2 Scattered loss of hair cells (arrow) of macula utriculi associated with extensive loss of otoliths in guinea pig given GM 50 mg/kg i. m. for 28 days. Otolitic membrane (OM) is present.

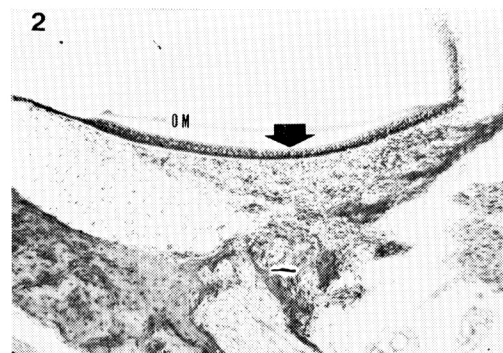


Fig. 3 Complete loss of outer hair cells (arrow) confined to the basal end of the spiral organ in guinea pig given KW-1062 100 mg/kg i. m. for 28 days. Inner hair cells (IHC) are present. Peripheral nerve fibers (N) remain unchanged.

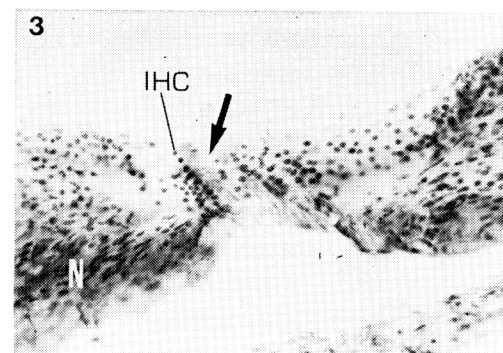


Fig. 4 Incomplete loss of outer hair cells (arrow) confined to the basal end of the spiral organ in guinea pig given KW-1062 100 mg/kg i.m. for 28 days. Inner hair cells (IHC) are present. Peripheral nerve fibers (N) remain unchanged.

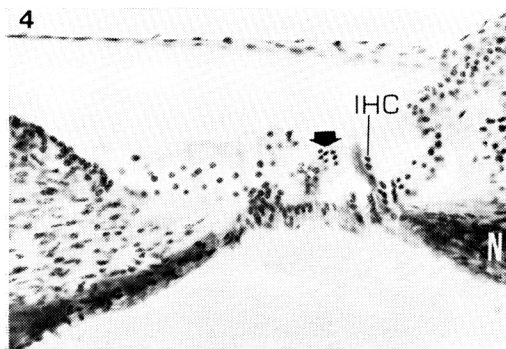
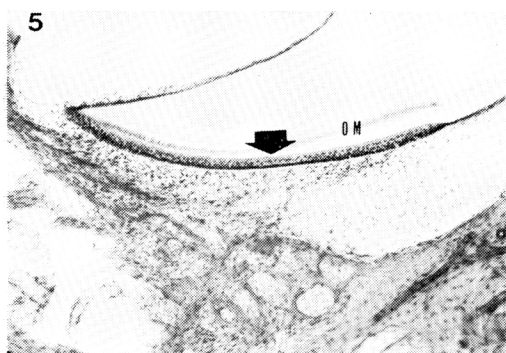


Fig. 5 Scattered loss of hair cells of macula utriculi associated with extensive loss of otoliths in guinea pig given KW-1062 100 mg/kg i.m. for 28 days. Otolitic membrane (OM) is present.



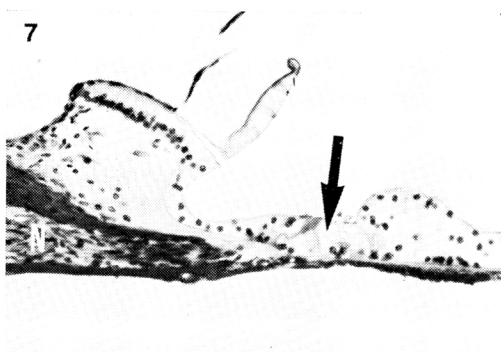
はなかった。これらの動物のラセン器の内毛細胞には消失はみられなかったし、またラセン神経節にも神経節細胞の消失はなかった。血管条には、しばしば2回転以上あるいは3回転以上に辺縁細胞の散発性消失があった。前庭器の半規管膨大部稜および卵形囊斑 (Fig.5) ならびに球形囊斑には有毛細胞の散発性消失がみられた。しかし前庭神経節では萎縮は明らかでなかった。これら動物の腎では、近位尿細管の上皮細胞の単発性壊死が散在性にみられ、同時に不規則な上皮再生や、隣接部の間質に中等度から高度の円形細胞浸潤をとまう結合組織繊維の増生があった。

GM 100 mg/kg を 28 日間筋注した 10 匹ではラセン器の外毛細胞の消失は全例にみられ、消失範囲も1回転下端部から上方の3回転以上まで拡大していたものが7匹あり (Fig.6~10)、残りの3匹では外毛細胞の消

Fig. 6 Extensive loss of outer hair cells (basal end) : complete loss of outer hair cells (arrow) in the basal end region of the spiral organ in guinea pig given GM 100 mg/kg i.m. for 28 days. Inner hair cells are present. Peripheral nerve fibers (N) remain almost unchanged.



Fig. 7 Extensive loss of outer hair cells (upper part of 1st turn) : complete loss of outer hair cells (arrow) followed by loss of DEITER's cells resulting in collapse of the spiral organ in guinea pig given GM 100 mg/kg i.m. for 28 days. Inner hair cells are atrophic. Peripheral nerve fibers (N) remain almost unchanged.



失は1回転下端部から1回転後部までおよんでいた。また外毛細胞の消失が3回転以上まで拡大していた場合には、しばしば1回転あるいは2および3回転で同時に内毛細胞の不規則な消失を起こしていた (Fig.9) 部分的にラセン器の消失をきたしていることもあった。ラセン神経節では3匹に4回転以上で神経節細胞の消失をきたしていた (Fig.11, 12)。血管条においても辺縁細胞の散発性消失が広範にみられ、3回転以上では血管条がほとんど消失していることもあった。前庭では、半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑に散発性に有毛細胞の消失がみられた。このような有毛細胞の消失の程度は、KW-1062 100mg/kg を投与した場合にみられた変

Fig. 8 Extensive loss of outer hair cells(upper part of 2nd turn) : complete loss of outer hair cells (larger arrow) and inner ones (smaller arrow) associated with collapse of the spiral organ in guinea pig given GM 100mg/kg i.m. for 28days. Peripheral nerve fibers (N) show incipient atrophy.

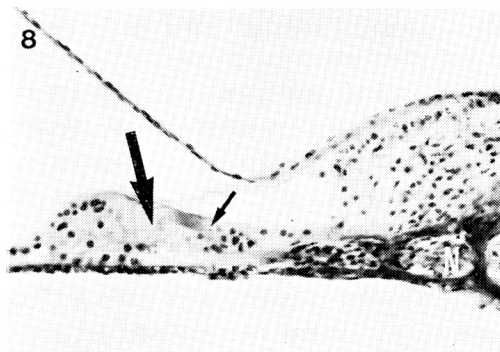
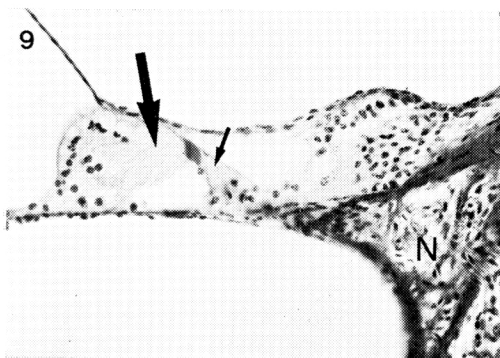


Fig. 9 Extensive loss of outer hair cells (upper part of 3rd turn) : complete loss of outer hair cells (larger arrow) and inner ones (smaller arrow) of the spiral organ associated with slight atrophy of peripheral nerve fibers (N) in guinea pig given GM 100mg/kg i.m. for 28 days.



化よりも一般にやや高度であった。前庭神経節には明らかな萎縮はみられなかった。腎では、近位尿細管の上皮細胞の壊死の拡がり、GM 50 mg/kg 投与あるいは KW-1062 を 50 mg/kg または 100 mg/kg 投与した動物におけるよりも広範であった。近位尿細管にはまた不規則な再生像がみられ、付近の間質には中等以上の円形細胞浸潤をとともう結合繊維の増加があった。

2. 慢性毒性実験

1) 体重変動

KW-1062 を 3 カ月間、2.5 mg/kg 筋注した 19 匹、および 25 mg/kg 筋注した 20 匹では、体重曲線は蒸留水を 0.1 ml/100 g 筋注した 20 匹と同様の増加を示していて、KW-1062 によって体重減少を起こしたものは 1 匹もな

Fig. 10 Loss of inner hair cell (arrow) in the upper part of 4th turn associated with secondary of peripheral nerve fibers(star) in guinea pig given GM 100 mg/kg i.m. for 28 days. Outer hair cells are present.

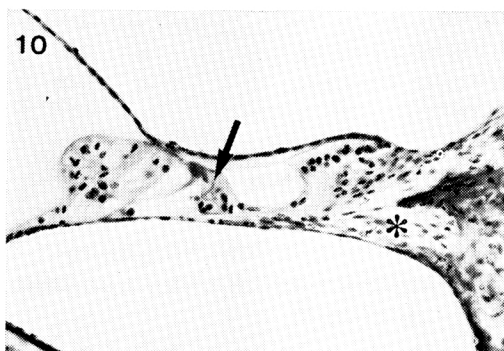


Fig. 11 Marked atrophy of the spiral ganglion (star) in the upper part of modiolus of cochlea associated with loss of inner hair cells in 4P, 4A and 3P of the cochlea in guinea pig given GM 100mg/kg i.m. for 28 days.

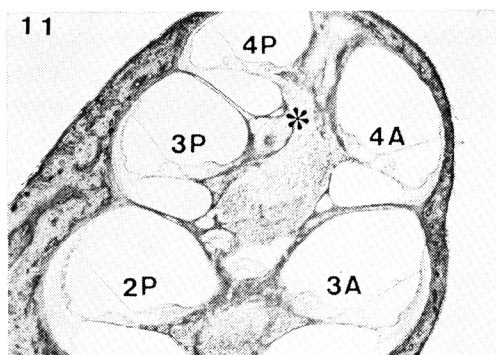


Fig. 12 Marked atrophy of spiral ganglion(star) associated with loss of inner hair cells (arrow) in 4P. Higher magnification of Fig. 11 (4P).

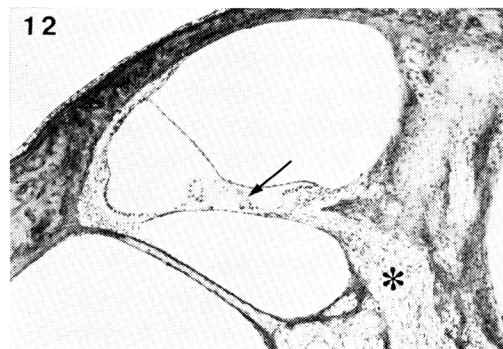


Table 5 Incidence of pinna reflex loss and cochlear and vestibular damages in guinea pigs given distilled water or KW-1062 for 3 months

Drug, dose	Incidence of pinna reflex loss (20k~0.5 kHz)	Cochlear damage (Basal end → Apex)			Vestibular damage (Cristae & maculae)	
		OHC loss	Sg. C. loss	Str. loss	HC. loss	Vg. C. loss
Control 0.1 ml/100g	0/20	3(±)/20	0/20	0/20	3(+)/20	0/20
KW-1062 2.5 mg/kg	0/19	4(±)/19	0/19	0/19	9(+)/19	0/19
KW-1062 25 mg/kg	0/20	6(±)/20	0/20	4(+)/20	10(+)/20	0/20

かった。

2) 周波数別耳介反射試験

KW-1062 2.5 mg/kg を3カ月間筋注した20匹では20kHzから0.5kHzまでの広範な周波数域において、周波数別耳介反射試験で耳介反射消失をきたした動物は1匹もなかった (Table 5)。

KW-1062 25 mg/kg を3カ月間筋注した20匹でも、同様に耳介反射消失をきたした動物は1匹もなかった。

対照として蒸留水 0.1 ml/100g を同様に投与した20匹においても耳介反射消失は1例もみられなかった。

3) 内耳の病理組織学的所見

KW-1062 2.5 mg/kg を3カ月間筋注した19匹のうち4匹には1回転下端部に限局した外有毛細胞の散発性消失がみられた。残りの15匹にはラセン器の外有毛細胞消失はなかった。ラセン神経節および血管条には明らかな障害像は1匹もみられなかった。前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の散発性消失が9匹に軽度に見られたが、残りの10匹には有毛細胞消失はなかった。前庭神経節には明らかな萎縮はなかった。

KW-1062 25 mg/kg を3カ月間筋注した20匹のうち1回転下端部に限局した外有毛細胞の散発性消失が6匹にみられた。残りの14匹には外有毛細胞の消失も、内有毛細胞の消失もなかった。またラセン神経節にも明らかな神経節細胞の消失はなかった。血管条では、4匹に辺縁細胞の散発性消失がみられた。前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の軽度の散発性消失が10匹にみられた。しかしながら前庭神経節には明らかな神経節細胞の消失はなかった。

蒸留水 0.1 ml/100g を同期間筋注した20匹のうち3匹では、1回転下端部に限局した外有毛細胞の散発性消失があり、また前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑にも有毛細胞の軽度の散発性消失があった。

3. 妊娠中の急性毒性実験

A. 妊娠前期の急性毒性実験

細胞診でモルモットの腔内に精子の存在を確認した日から抗生物質の筋注を始め、28日間の急性毒性実験を行ない、妊娠モルモットと在胎モルモットの聴器に対する

影響をみるために、妊娠モルモットは分娩後2週まで、また新生モルモットも出生後2週まで、それぞれ週1回ずつ周波数別耳介反射試験を行ない、実験終了後に、生体灌流固定を行なった後に、側頭骨の組織標本を作成して、内耳の病理組織学的検索を行なった。

1) 周波数別耳介反射試験

(1) KW-1062 50 mg/kg を28日間筋注した9匹の妊娠モルモットのうち、中耳炎を併発した1匹に、20 kHz, 15 kHz, 8 kHz, 4~0.5 kHz の不連続的な耳介反射消失を起こした以外には1匹も耳介反射消失をきたした動物はなかった (Table 6)。またこれらの妊娠モルモットから生れた23匹の新生モルモットにおいても耳介反射消失を起こしたものは1匹もなかった。

(2) GM 25 mg/kg を28日間筋注した12匹の妊娠モルモットでは耳介反射消失をもたしたものは1匹もなかった。またこれから生れた31匹の新生モルモットにも耳介反射消失は1例もなかった (Table 7)。

(3) KW-1062 100 mg/kg を28日間筋注した6匹の妊娠モルモットのうち1匹だけが20 kHzに限局した耳介反射消失を起こした (Table 8)。残りの動物には耳介反射消失はみられなかった。また14匹の新生モルモットにも耳介反射消失をきたしたものは1匹もなかった。

(4) GM 50 mg/kg を28日間筋注した5匹の妊娠モルモットでは、全例が20 kHzを含む耳介反射消失を起こしていた。耳介反射消失をきたした周波数の拡がりには、20 kHzに限局したものが1匹であって、残りの4匹では、20 kHzから1 kHz以下までおよぶ広範な耳介反射消失を起こしていた (Table 9)。しかしながら、これから生れた12匹の新生モルモットには耳介反射消失をきたしたものは1匹もなかった。

(5) 対照 蒸留水 0.1 ml/100g を28日間筋注した4匹の妊娠モルモットでは耳介反射消失は1匹もなかった。これから生れた11匹の新生モルモットのうちで、1匹には0.5 kHzと1 kHzとに耳介反射消失がみられ、他の2匹の中耳炎を併発したもので、2 kHzから1 kHzまたは0.5 kHzまでの耳介反射消失を起こしていた (Table 10)。

Table 6 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given KW-1062 (50 mg/kg) i.m. for 28 days in early period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
1	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	3	±	0
2	0	0	0	3P	±	0
3	0	0	0	3	±	0
7	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	4	±	0
2	0	0	0	0		0
9	20,15,8,4~0.5k*	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	2P ±	±	0
3	0	0	0	4P	±	0
21	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
22	0	0	0	4P	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	4	±	0
23	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
24	0	0	0	4P	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
4	0	0	0	0	±	0
25	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
26	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	4P	±	0
Mother guinea pigs 9	11.1% (1/9)	0% (0/9)	0% (0/9)	22.2% (2/9)	88.9% (8/9)	0% (0/9)
New born guinea pigs 23	0% (0/23)	0% (0/23)	0% (0/23)	43.5% (10/23)	100% (23/23)	0% (23/23)

* Chronic otitis media

Table 7 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given GM (25 mg/kg) i.m. for 28 days in early period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
1	0	0	0	2	±	0
1	0	0	0	3P	±	0
2	0	0	0	3P	±	0
3	0	0	0	3P	±	0
8	0	BE	0	3	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
9	0	BE-1A	0	3	±	0
1	0	0	0	4	±	0
2	0	0	0	3P	±	0
3	0	0	0	4	±	0
4	0	0	0	3	±	0
10	0 +	0	0	4	±	0
1	0	0	0	3P	±	0
11	0	0	0	4P	±	0
1	0	0	0	3P	±	0
12	0	BE-HL	0	3P	±	0
1	0	0	0	4	±	0
2	0	0	0	4P	±	0
3	0	0	0	4	±	0
4	0	0	0	4	±	0
5	0	0	0	4	±	0
13	0	0	0	4	±	0
1	0	0	0	4	±	0
2	0	0	0	4	±	0
3	0	0	0	4P	±	0
14	0	0	0	3	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	3	±	0
3	0	0	0	4	±	0
15	0	0	0	3	±	0
1	0	0	0	3	±	0
2	0	0	0	3	±	0
17	0	0	0	3	±	0
1	0	0	0	3	±	0
2	0	0	0	3P	±	0
3	0	0	0	3P	±	0
18	0	0	0	4	±	0
1	0	0	0	4	±	0
2	0	0	0	4	±	0
3	0	0	0	4	±	0
19	0	BE	0	4P	±	0
1	0	0	0	4	±	0
2	0	0	0	3	±	0
Mother guinea pigs 12	0% (0/12)	33.3% (4/12)	0% (0/12)	91.7%(11/12)	91.7%(11/12)	0% (0/12)
New born guinea pigs 31	0% (0/31)	0% (0/31)	0% (0/31)	100%(31/31)	93.5%(29/31)	0% (0/31)

Table 8 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given KW-1062 (100 mg/kg) i.m. for 28 days in early period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
1	0	0	0	3	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
15	0	0	0	4	±	0
1	0	0	0	3	±	0
2	0	0	0	3	±	0
3	0	0	0	3	±	0
4	0	0	0	2P	±	0
18	0	BE, 4P	0	4	±	0
1	0	0	0	3	±	0
2	0	0	0	4	±	0
24	0	BE-HL	0	0	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	4	±	0
3	0	0	0	0		0
25	20 k	BE-HL	0	4	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	4	±	0
26	0	BE-HL	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
Mother guinea pigs 6	16.7% (1/6)	66.7% (4/6)	0% (0/6)	66.7% (4/6)	100% (6/6)	0% (0/6)
New born guinea pigs 14	0% (0/14)	0% (0/14)	0% (0/14)	71.4%(10/14)	100%(14/14)	0% (0/14)

2) 内耳の病理組織学的所見

(1) KW-1062 50mg/kg を筋注した 9 匹の妊娠モルモットとこれらから生じた 23 匹の新生モルモットでは、ラセン器に外有毛細胞の消失を起こしたものは 1 匹もなかった (Table 6)。

これらの動物のラセン神経節には萎縮も神経節細胞の消失もなかった。前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑には、ほとんどすべての動物において有毛細胞の軽度の散発性消失がみられた。しかしながらこれらの動物の前庭神経節には神経節細胞の消失はなかった。

(2) GM 25mg/kg を筋注した 12 匹の妊娠モルモットのうちで、4 匹は 1 回転下端部およびその付近に限局した外有毛細胞だけの消失を起こしていたが、残りの 8 匹では外有毛細胞の消失はなかった (Table 7)。これらから生れた 31 匹の新生モルモットでは、外有毛細胞

の消失はみられなかった。ラセン神経節にも神経節細胞の消失はなかった。血管条においては、4 回転以上あるいは 3 回転以上にしばしば血管条の消失がみられた。前庭では、妊娠動物においても、新生動物においても、有毛細胞の軽度の散発性消失があったが、前庭神経節にはいずれの動物にも神経節細胞の消失はみられなかった。

(3) KW-1062 100 mg/kg を筋注した 6 匹の妊娠モルモットでは、4 匹に 1 回転下端部付近に限局した外有毛細胞だけの消失がみられた (Table 8)。そのうちの 1 匹は 4 回転後半においても外有毛細胞の消失を示していた。一方、14 匹の新生モルモットには外有毛細胞の消失はなかったが、前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の軽度の散発性消失がほとんどすべての動物にみられた。しかしながら、前庭神経節には明らかな萎縮はみられなかった。

Table 9 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given GM (50 mg/kg) i. m. for 28 days in early period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
6	20, 15, 10~4, 1~0.5 k	BE-4 P	1~3 P	3	++	±
1	0	0	0	3	+	0
2	0	0	0	4	+	0
7	20~0.5 k	BE-3	0	4	++	0
1	0	0	0	3	+	0
2	0	0	0	3	+	0
3	0	0	0	2	+	0
10	20 k	BE-1A	±	3P	+	0
1	0	0	0	4P	+	0
2	0	0	0	3P	+	0
3	0	0	0	3P	+	0
12	20, 10~1 k	BE-2 P	1A	4	++	0
1	0	0	0	3	+	0
15	20~0.5 k	BE-4P	1-4	2	+	0
1	0	0	0	3	+	0
2	0	0	0	4P	+	0
3	0	0	0	4P	+	0
Mother guinea pigs 5	100% (5/5)	100% (5/5)	80% (4/5)	100% (5/5)	100% (5/5)	20% (1/5)
New born guinea pigs 12	0% (0/12)	0% (0/12)	0% (0/12)	100% (12/12)	100% (12/12)	0% (0/12)

(4) GM 50mg/kgを筋注した5匹の妊娠モルモットの全例に、1回転下端部から上方回転へ向って拡大する外有毛細胞の消失がみられた(Table 9)。このうちの1匹では、外有毛細胞の消失は1回転下端から1回転前部までおよんでいたが、残りの4匹は1回転下端から2回転後部以上までおよぶ広範な外有毛細胞の消失をきたしていて、さらに1回転および2回転における不規則な内毛細胞の消失を起こしていた。一方、12匹の新生モルモットには、外有毛細胞の消失は1匹もなかった。しかしながら、ラセン神経節には4匹の妊娠動物の3回転以上あるいは1回転において、神経節細胞の部分的消失がみられた。しかしこのような変化は新生モルモットにはなかった。血管条では、3回転以上にしばしば消失がみられた。前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑、および球形囊斑には有毛細胞の中等度までの散発性消失が3匹の妊娠モルモットに認められた。その他の動物には有毛細胞の軽度の散在性消失が認められた。この群の妊娠動物では

前庭神経節に神経線維の軽度の消失を示すものがあった。

(5) 対照 蒸留水 0.1 ml/100gを筋注した4匹の妊娠モルモットでは、2匹に1回転下端部に限局した外有毛細胞の散発性消失がみられた(Table 10)。しかしながら、その他の妊娠モルモットおよび11匹の新生モルモットでは外有毛細胞の消失はなかった。前庭には有毛細胞の軽度の散発性消失がかなりしばしば認められたが、前庭神経節には萎縮は明らかでなかった。

B. 妊娠後期の急性毒性実験

妊娠確認後6週目から分娩までの28日間、それぞれの抗生物質を筋注した後に、分娩後2週までと、それから生れた新生モルモットについて週1回ずつ、最高20kHzから0.5kHzまでの周波数域での周波数別耳介反射試験を行なった。内耳の病理組織学的研究としては、実験終了後に中耳腔を開き、生体内灌流固定を行なって、内耳の組織学的検索を行なった。

1) 周波数別耳介反射試験

Table 10 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given distilled water (0.1 ml/100g) i. m. for 28 days in early period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
1	0	BE±	4±	3	0	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	4	±	0
4	0	0	0	3	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	3P	±	0
3	0	0	0	3P	±	0
7	0	BE±	4P	3	±	0
1	1~0.5 k	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	3	0	0
8	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	2~1 k*	0	0	0	0	0
3	0.5 k*	0	0	3	±	0
Mother guinea pigs 4	0% (0/4)	50% (2/4)	50% (2/4)	75% (3/4)	75% (3/4)	0% (0/4)
New born guinea pigs 11	27.3% (3/11)	0% (0/11)	0% (0/11)	45.5% (5/11)	81.8% (9/11)	0% (0/11)

(1) KW-1062 25 mg/kg を筋注した 9 匹の妊娠モルモットでは、0.5 kHz に耳介反射消失をきたした 1 匹を除いては、いずれの周波数にも耳介反射消失はみられなかった (Table 11)。また 26 匹の新生モルモットにおいても耳介反射消失 1 匹もみられなかった。

(2) GM 12.5 mg/kg を筋注した 9 匹の妊娠モルモットでは、20 kHz と 2~0.5 kHz に耳介反射消失を起こした 1 匹を除いては、耳介反射消失をきたしたものは 1 匹もなかった (Table 12)。一方、20 匹の新生モルモットにも耳介反射消失は 1 例もなかった。

(3) KW-1062 50 mg/kg を注射した 10 匹の妊娠モルモットでは 2 匹が 20 kHz の耳介反射消失をきたし、他の 1 匹は、20k, 15k, 10k, 8k, 4k, 2 kHz の耳介反射消失をきたしていた (Table 13)。なお、最後の例は中耳炎を合併しており、外有毛細胞の消失がみられなかったもので中耳炎による聴力障害による可能性が考えられた。25 匹の新生モルモットでは 0.5 kHz に限局した耳介反射消失を起こした 1 匹を除いては、耳介反射消失はいずれの動物にもみられなかった。

(4) GM 25 mg/kg を投与した 9 匹の妊娠モルモ

ットでは、2 匹が 20 kHz に限局した耳介反射消失をきたし、他の 1 匹は 20-10 kHz の耳介反射消失を、また他の 1 匹は 20 kHz から不連続的に 4 kHz まで耳介反射消失を起こしていた (Table 14)。さらに他の 3 匹では耳介反射消失は 20 kHz から連続的または不連続的に 2 kHz あるいは 0.5 kHz まで広範な拡大をきたしていた。19 匹の新生モルモットでは、1 匹に 1~0.5 kHz までの耳介反射消失がみられたほかは、耳介反射消失をきたしたものはなかった。

(5) KW-1062 75 mg/kg を投与した 8 匹の妊娠モルモットのうち、3 匹は 20 kHz に限局した耳介反射消失を起こしたが、残りの動物には耳介反射消失はみられなかった。また 17 匹の新生モルモットでも耳介反射消失をきたしたものは 1 匹もみられなかった (Table 15)。

(6) 対照 蒸留水 0.1 ml/100g を投与した 4 匹の妊娠モルモットでは耳介反射消失をきたしたものは 1 匹もなかった (Table 16)。また 11 匹の新生モルモットにも耳介反射消失を起こしたものはみられなかった。

2) 内耳の病理組織学的所見

(1) KW-1062 25 mg/kg を投与した 9 匹の妊娠モ

Table 11 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given KW-1062 (25mg/kg) i. m. for 28 days in later period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
4	0	0	0	0	±	0
1	0	BE	0	4P	±	0
2	0	0	0	4	±	0
3	0	0	0	3	±	0
7	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
8	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
9	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
10	0.5 k	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
11	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
13	0	0	0	4P	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	4	±	0
3	0	0	0	0	±	0
14	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
16	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
Mother guinea pigs 9	11.1% (1/9)	0% (0/9)	0% (0/9)	11.1% (1/9)	100% (9/9)	0% (0/9)
New horn guinea pigs 26	0% (0/26)	3.8% (1/26)	0% (0/26)	19.2% (5/26)	96.2% (25/26)	0% (0/26)

Table 12 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given GM (12.5mg/kg) i. m. for 28 days in later period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	4P	0	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	BE	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	4P	0	0
4	0	BE	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	4P	±	0
9	20, 2~0.5 k*	BE-HL	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	4P	±	0
3	0	0	0	4	±	0
10	0	BE-HL	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	±	0
13	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	±	0
14	0	BE	0	0	±	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
Mother guinea pigs 9	11.0% (1/9)	55.6% (5/9)	0% (0/9)	11.1% (1/9)	44.4% (4/9)	0% (0/9)
New born guinea pigs 20	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	20% (4/20)	60% (12/20)	0% (0/20)

ルモットでは蝸牛のラセン器に外有毛細胞および内有毛細胞の消失をきたしたものは1匹もなかった (Table 11)。26 匹の新生モルモットのうち1匹が1回転下端部に限局した外有毛細胞のみの消失を示したほかは、外有毛細胞の消失を起こしたものはなかった。ラセン神経節には、母モルモットにおいても新生モルモットにおいて

も、神経節細胞の消失はなかった。血管条の消失も母モルモットでは1匹に、新生モルモットでは4匹に4回転以上にみられたにすぎない。しかしながら、前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の軽度の散発性消失が、母モルモットと新生モルモットのほとんど全例にみられていた。前庭神経節には、母モルモ

Table 13 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given KW-1062 (50 mg/kg) i. m. for 28 days in later period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
3	0*	BE	0	3A	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	3P	±	0
3	0	0	0	4P	0	0
7	0	BE	0	4P	±	0
2	0	0	0	4P	±	0
10	0*	BE±	0	3P	±	0
1	0	0	0	4	0	0
2	0	0	0	4P	±	0
3	0	0	0	4P	±	0
4	0	0	0	3P	±	0
16	20,15,10,8,4,2 k*	0	4P	3P	0	0
1	0	0	0	3P	±	0
2	0	0	0	3P	0	0
3	0	0	0	3P	0	0
17	20 k*	BE±	0	0	+	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
18	0	BE-HL	4P	4P	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	0	0
19	20 k	BE-1P	0	0	+	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
20	0	BE-HL	0	4P	++	0
2	0	0	0	4	±	0
3	0	0	0	0	0	0
21	0	BE±	4P	4P	+	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	±	0
1	0.5 k	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
Mother guinea pigs 10	30% (3/10)	80% (8/10)	30% (3/10)	70% (7/10)	90% (9/10)	0% (0/10)
New born guinea pigs 25	4% (1/25)	0% (0/25)	0% (0/25)	48% (12/25)	72% (18/25)	0% (0/25)

Table 14 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given GM (25 mg/kg) i. m. for 28 days in later period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
4	20~12, 8, 4 k	BE-2A	0	0	++	0
1	0	0	0	0	+	0
2	0	BE-HL±	0	0	+	0
10	0	BE	0	0	+	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	+	0
15	0	BE-HU	0	4P	+	0
1	0	0	0	0	+	0
2	0	0	0	4P	±	0
16	20~2 k	BE-1P	0	0	+	0
1	0	0	0	4P	+	0
2	0	0	0	4P	±	0
17	20~0.5 k	BE-3A	1, 2	4P	+	0
1	0	BE-1A	0	0	+	0
19	20 k	BE-HU	0	0	+	0
1	0	0	0	4P	+	0
2	1~0.5 k	0	0	0	+	0
3	0	0	0	4P	+	0
4	0	0	0	4P	+	0
20	20, 15, 10~2 k	BE-2A	0	0	+	0
1	0	2	0	0	+	0
2	0	BE	0	0	+	0
3	0	0	0	0	+	0
21	20 k	BE-HU	0	4P	+	0
1	0	0	0	4P	+	0
2	0	0	0	4	+	0
23	20~10 k	BE-HL	0	0	+	0
1	0	0	0	0	+	0
Mother guinea pigs 9	77.8% (7/9)	100% (9/9)	11.1% (1/9)	33.3% (3/9)	100% (9/9)	0% (0/9)
New born guinea pigs 19	5.3% (1/19)	15.8% (3/19)	0% (0/19)	36.8% (7/19)	94.7% (18/19)	0% (0/19)

ットでも新生モルモットでも神経節細胞の消失はみられなかった。

(2) GM 12.5mg/kgを投与した9匹の妊娠モルモットのうち5匹は1回転下端部またはそこからhookの下部までの外有毛細胞の消失を示していたが、その他の母モルモットと20匹の新生モルモットには外有毛細胞の消失も、内毛細胞の消失もみられなかった (Table

12)。ラセン神経節には母モルモットでも新生モルモットでも神経節細胞の消失はなかった。血管条では母モルモットで消失を示したものはなかったが、新生モルモットでは稀に4回転以上で消失をきたしていた。前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑では母モルモットの4匹に有毛細胞の散発性消失がみられ、新生モルモットでは12匹に同様の変化が認められた。しかしなが

Table 15 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given KW-1062 (75 mg/kg) i. m. for 28 days in later period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
2	20 k *	BE-HL	0	3	⊥	0
1	0	0	0	3P	0	0
2	0	0	0	3P	⊥	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	⊥	0
1	0	0	0	0	⊥	0
2	0	0	0	0	⊥	0
4	0	BE-HL	0	0	⊥	0
1	0	0	0	0	⊥	0
9	20 k	BE-1 A ±	4P	4P	⊥	0
1	0	0	0	0	⊥	0
2	0	0	0	4	0	0
11	0	BE-HL	0	4P	+	0
1	0	0	0	0	⊥	0
2	0	0	0	0	⊥	0
3	0	0	0	4P	±	0
13	20 k	BE-1 A	0	0	⊥	0
1	0	0	0	0	⊥	0
3	0	0	0	4P	⊥	0
14	0	BE-HU	0	4P	⊥	0
1	0	0	0	0	⊥	0
15	0	BE	4P	4	⊥	0
1	0	0	0	0	⊥	0
2	0	0	0	4P	⊥	0
Mother guinea pigs 8	37.5% (3/8)	87.5% (7/8)	25% (2/8)	62.5% (5/8)	100% (8/8)	0% (0/8)
New born guinea pigs 17	0% (0/17)	0% (0/17)	0% (0/17)	35% (6/17)	76.5% (13/17)	0% (0/17)

ら、前庭神経節には母モルモットにおいても新生モルモットにおいても神経節細胞の消失はなかった。

(3) KW-1062 50 mg/kg を投与した 10 匹の妊娠モルモットのうち 8 匹は 1 回転下半部あるいはそこから hook の下部または 1 回転後半部までの外有毛細胞だけの消失をきたしていたが、他の母モルモットおよび 25 匹の新生モルモットには外有毛細胞の消失も内有毛細胞の消失もなかった (Table 13)。ラセン神経節では 3 匹の母モルモットの蝸牛 4 回転後半に神経節細胞の消失を起こしていた以外には、残りの母モルモットでも新生モル

モットでも神経節細胞の消失はみられなかった。血管条では 7 匹の母モルモットに 3 回転後半部以上に消失がみられ、また新生モルモットにもしばしば同様の変化が認められた。前庭の半規管膨大部後、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の軽度の散発性消失がしばしば母モルモットと新生モルモットにみられた。しかしながら、前庭神経節には神経節細胞の明らかな消失は母モルモットにおいても、また新生モルモットにおいても認めにくかった。

(4) GM 25 mg/kg を投与した 9 匹の妊娠モルモッ

Table 16 Pinna reflex loss and damage of inner ear in mother guinea pigs given distilled water (0.1ml/100g) i.m. for 28 days in later period of gestation and their new born guinea pigs.

No. of mother & new born guinea pigs	Frequency range of pinna reflex loss (20k~0.2 kHz)	Damage of inner ear				
		Damage of cochlear duct (Basal end to apical end)			Damage of vestibulum (Cristae & maculae)	
		Loss of outer hair cells	Loss of spiral ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of hair cells	Loss of vestib. ganglion cells
4	0*	0	0	4P	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	3P	0	0
9	0	0	0	0	±	0
1	0	0	0	0	±	0
2	0	0	0	0	±	0
3	0	0	0	0	±	0
4	0	0	0	4	±	0
10	0	0	0	4	±	0
1	0	0	0	4P	±	0
2	0	0	0	4	±	0
3	0	0	0	4	±	0
11	0+	0	0	0	0	0
2	0	0	0	4P	0	0
3	0	0	0	4P	0	0
Mother guinea pigs 4	0% (0/4)	0% (0/4)	0% (0/4)	50% (2/4)	75% (3/4)	0% (0/4)
New born guinea pigs 11	0% (0/11)	0% (0/11)	0% (0/11)	72.7% (8/11)	72.7% (8/11)	0% (0/11)

トの全例が外有毛細胞の消失をきたしており、そのうち3匹は1回転下端から2回転以上にわたる外有毛細胞の消失を起こしていた。他の1匹は1回転下端から1回転後半部まで、また残りの5匹は1回転下部あるいはそこから、hook 上部までの外有毛細胞の消失をきたしていた (Table 14)。19匹の新生モルモットでは3匹が1回転下端部と hook 下部または1回転前部にいたる外有毛細胞の消失を起こしていた以外には、外有毛細胞の消失をきたしたものはなかった。ラセン神経節では母モルモットの1匹に1回転と2回転にラセン器の有毛細胞の消失に関連した神経節細胞の軽度の消失がみられた以外には、消失はなかった。新生モルモットでは神経節細胞の消失はみられなかった。血管条ではときとして、4回転以上の消失が母モルモットおよび新生モルモットにみられた。前庭の半規管膨大部後、卵形囊斑および球形囊斑では有毛細胞の散発性消失がほとんど常に認められたが、消失の程度は母モルモットにおいて強い傾向を示した。前庭神経節には母モルモットにおいても新生モルモットにおいても神経節細胞の消失はみられなかった。

(5) KW-1062 75mg/kg 投与した8匹の妊娠モルモットのうち7匹に1回転下端部あるいはそこからhook 下部または上部、ときに1回転全部に至る外有毛細胞だけの消失がみられた (Table 15)。残りの母モルモットおよび17匹の新生モルモットには外有毛細胞の消失はみられなかった。ラセン神経節では2匹の母モルモットの4回転後部に神経節細胞の消失がみられた以外には、母モルモットにおいても新生モルモットにおいても消失はなかった。血管条では母モルモットの5匹に3回転以上の消失がみられ、新生モルモットでは6匹に同様の変化がみられた。前庭の半規管膨大部後、卵形囊斑および球形囊斑では母モルモットに100%、新生モルモットの13匹に有毛細胞の散発性消失がみられた。有毛細胞の消失は一般に軽度であるが母モルモットではときとして増強を示していた。前庭神経節では神経節細胞の消失は母モルモットにおいても新生モルモットにおいてもみられなかった。

(6) 対照 蒸留水 0.1ml/100g を投与した4匹の妊娠モルモットおよび11匹の新生モルモットには外有毛

細胞および内有毛細胞の消失は1例もみられなかった (Table 16)。ラセン神経節においても神経節細胞の消失はいずれの群でもみられなかった。血管条においては母モルモットの2匹と新生モルモットの8匹に3回転後部または4回転以上の消失がみられた。前庭の半規管膨大部後、卵形囊斑および球形囊斑にはしばしば有毛細胞の軽度の消失がみられた。前庭神経節ではいずれの群においても神経節細胞の消失はみられなかった。

III. 考 案

1) アミノ配糖体抗生物質の聴器毒性

これまで行なってきた、著者ら²⁻⁷⁾のアミノ配糖体抗生物質の聴器毒性試験の結果では、モルモットに筋肉内注射した場合には、耳介反射の消失はほとんど常に、20 kHz の高音部に始まり、拡大する場合にはそこから連続的に、稀には不連続的により低い周波数へ向って拡大する傾向が認められている。聴器障害の強い場合には耳介反射消失は 20 kHz-3 kHz 以下まで拡大するが、聴器障害が軽い場合には耳介反射消失は 20 kHz に限局しているか、あるいは 10 kHz または 8 kHz まで拡大していることが多い。また、聴覚系末梢のラセン器では1回転下末端部における外有毛細胞の消失が内有毛細胞に先行して起こり、障害が強まる場合には、下末端部の外有毛細胞の消失は上方回転へ向って拡大する傾向が認められている⁹⁾。すなわち聴器障害の強い場合には、外有毛細胞の消失は1回転下末端部から2回転以上あるいは、3回転以上まで拡大しているが、聴器障害の軽い場合には外有毛細胞の消失は1回転下末端部に限局しているかあるいは、1回転全部まで拡大していることが多い。耳介反射消失の広がり是对應する周波数感受部位に外有毛細胞の消失を起こしていることが多い。また前庭の半規管膨大部後、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の散発性消失を併発することが多い。しかしながらこのような前庭系末梢部における有毛細胞の散発性消失は、対応する前庭器の障害をあきらかに示すことは少ない。これは聴覚系におけるラセン器の外有毛細胞消失部位に対応する耳介反射消失の発現と異なるところであって中枢側における代償が前庭系に起こるためと考えられる。

2) KW-1062 の聴器毒性

今回行なった急性毒性実験では 50 mg/kg 投与量では KW-1062 は耳介反射消失を1例も起こしていないのに対し、GM は10匹中4匹が耳介反射消失を起こし、そのうち1例は 20 k~0.2 kHz にわたる広範な耳介反射消失を示していた。またラセン器においては KW-1062 を投与した10匹中1匹に1回転下末端部と2回転の一部における外有毛細胞のみに消失がみられたのに対して、GM を投与した9匹では全例に外有毛細胞に消失がみら

れ、生前に広範な耳介反射消失をきたした1匹では1回転下末端部から回転後部にいたる外有毛細胞の消失を示していた。前庭器における有毛細胞の散発性消失は KW-1062 投与群にはほとんどみられなかったが、GM 投与群には4匹にみられた。すなわち、50 mg/kg の投与量では KW-1062 による聴器障害は GM による聴器障害よりもはるかに軽度であった。100 mg/kg に増量した場合には聴器障害は KW-1062 投与群では、軽度の増強がみられたのに対し GM 投与群では高度の聴器障害が高頻度に発現した。この結果は 50 mg/kg 投与量における聴器障害が倍量投与量において、GM では著明な増強を示したのに対し KW-1062 ではきわめて軽度の増強を起こすことを示すものである。すなわち KW-1062 は GM に比較してかなり弱い聴器毒性を持っており、その毒性は腎機能障害にさいして起こる抗生物質の排泄障害においても聴器障害の増強を起こす危険の少ないことを示すものである。

このことはまた、腎の近位尿細管およびその付近の間質における病変が 100 mg/kg 投与量では 50 mg/kg 投与量におけるよりも増強を示したのにもかかわらず KW-1062 投与群では聴器障害の増強が、きわめて軽かった所見ともよく一致すると考えられる。

これまで著者ら⁹⁾の行なったアミノ配糖体抗生物質の毒性実験における耳介反射消失の周波数の広がりおよび頻度ならびに時間的推移およびラセン器における外有毛細胞の消失の広がりおよび頻度などにもとずいて、抗生物質の聴器毒性を評価すると、Table 17 に示すようになる。すなわち、50 mg/kg および 100 mg/kg、200 mg/kg、400 mg/kg および 600 mg/kg のそれぞれの投与量における4週間の急性毒性実験の成績では、GM が最も強い聴器毒性をもっており KW-1062 は Kanamycin (KM) よりも弱く Amikacin よりもやや強い聴器毒性をもっているように考えられる。

3) 妊娠時の急性毒性実験

(1) 母モルモットの聴器障害 妊娠確認直後から4週間投与した場合には KW-1062 50 mg/kg を投与した妊娠モルモットでは抗生物質による耳介反射消失と外有毛細胞消失は1例もみられなかった。しかしながら、GM 50 mg/kg 投与した場合には耳介反射消失および外有毛細胞の消失は100%に認められ、非妊娠モルモットの急性毒性試験と比較して、あきらかな聴器障害の増強を示した。KW-1062 は 100 mg/kg の投与量では外有毛細胞消失の頻度において、非妊娠モルモットの急性毒性実験と比較して、わずかながら増強を示していた。

妊娠確認後6週目から分娩までのほぼ4週間投与した場合には、Tobramycin 投与の場合におけるように、一

Table 17 Evaluation of ototoxicity of the aminoglycoside antibiotics and aminocyclitol* according to ototoxicosis in guinea pig test. Ototoxicity becomes decreased in descending order. Parenthesis indicates clinical dose or clinically expected dose per day.

GM (80~120 mg/day)	
SISO. (100~200 mg/day), NM	
animal test	TOB (120~180 mg/day)
at 50 and 100 mg/kg for 4 weeks	
AKM (400~600 mg/day)	
DKB (100 mg/day), KM (1,000~2,000 mg/day)	
AMD (350~700 mg/day)	
KW-1062 (80~160 mg/day)	
AMK (100~200 mg/day)	
SM (1,000~2,000 mg/day), Butirosin	
animal test	Spectinomycin* (2,000~4,000 mg/day)
at 200 mg/kg for 4 weeks	
animal test	VSM (1,000 mg/day)
at 400 and 600 mg/kg for 4 weeks	

般に等量の投与量の場合には妊娠前期に比較して耳介反射消失の拡大および頻度の増加、外有毛細胞の消失の拡がりや頻度の増加が認められた。このような変化はKW-1062を投与した場合には軽度であった。これに対しGM投与の場合には、このような変化は著明に認められた。

(2) 新生モルモット 妊娠確認後4週間投与された母モルモットから生まれた新生モルモットでは、KW-1062を投与した場合には1例も耳介反射消失および外有毛細胞の消失をきたしたものはみられなかった。また、GMを投与した場合でも新生モルモットには同様な変化は1例もみられなかった。妊娠6週目から分娩時までのおおよそ4週間を投与した場合でもKW-1062を投与した母モルモットの新生モルモットのうち、25mg/kg投与群の1匹だけが1回転下端部に限局した外有毛細胞の消失を認めたほかは、いずれの投与量においても外有毛細胞および内毛細胞の消失はみられなかった。GM投与群においては12.5mg/kg投与の場合には、新生モルモットに耳介反射消失と外有毛細胞の消失はみられなかったが、25mg/kgを投与した場合の新生モルモットでは19匹中1匹が1k~0.5kHzの耳介反射消失と、3匹が1回転下端部より1回転前部に至る外有毛細胞の消失を起こしていた。このような結果から、母モルモットに聴器障害を起こしている新生モルモットにおける聴器障害の発現は稀であって、その程度は軽いことがわかる。

4) KW-1062の聴器に対する安全性

非妊娠モルモットにおける急性毒性実験ではKW-1062を50mg/kg投与した場合には1週目から4週目まで、20kHz~0.2kHzまでの検査周波数において耳介反射消失はみられなかった(Table 18)。しかしながらGM

Table 18

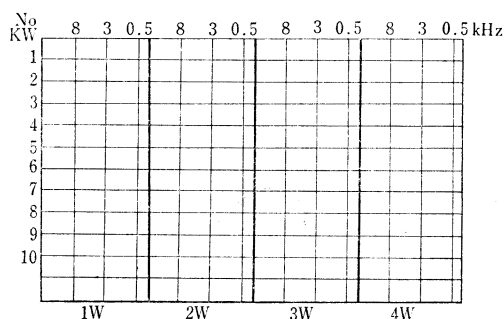
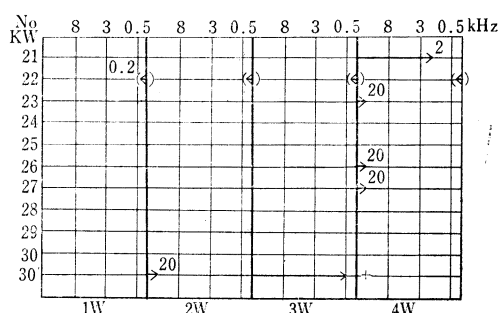


Table 19



50mg/kgを投与した場合には3週目に1匹、20k~0.5kHzの耳介反射消失がみられ、さらに4週目には4匹耳介反射消失をきたし、そのうちの1匹は20k~2kHzの耳介反射消失をきたしていた(Table 19)。100mg/kgの投与量においてはKW-1062による耳介反射は4週までみられていないが(Table 20)、GM投与の場合にはTable 21におけるように20kより0.2kHzにいたる耳

Table 20

No	8	3	0.5	8	3	0.5	8	3	0.5	8	3	0.5	8	3	0.5	kHz
KW																
11																
12																
13																
14																
15																
16																
17																
18																
19																
20																
20'																
	1W			2W			3W			4W						

Table 21

No	8	3	0.5	8	3	0.5	8	3	0.5	8	3	0.5	8	3	0.5	kHz
KW																
31																
32																
33																
34																
35																
36																
37																
38																
39																
40																
	1W			2W			3W			4W						

介反射の消失が2週以後高頻度にみられた。また、KW-1062 を 2.5mg/kg および 25mg/kg 3 カ月間投与した場合でも耳介反射消失は1例もみられず、外有毛細胞の散発性消失が1回転下端部に少数認められたにすぎない (Table 5)。

ヒトにおける聴力障害は一般に検査音域の最高周波数である 8 kHz あるいは 10 kHz の聴力障害として始まり障害が拡大する場合には低音域へ拡大してゆき 3 kHz 以下の会話音域まで聴力障害が拡大すると会話に障害をきたすようになる。モルモットにおいても 3 kHz 以下まで拡大する耳介反射消失はヒトにおける聴力障害との関連で大きな意味をもつものとみなすことができる。このような考えから KW-1062 の聴器障害を GM のそれと比較すると 50 mg/kg および 100 mg/kg では KW-1062 の聴器に対する安全性は、GM に比較して大きいことがわかる。臨床投与量についてみると KW-1062 の成人1日の投与量と GM の投与量とはほとんど同じであるので (Table 17)、臨床的にもヒトの聴器に対する安全性は KW-1062 がかなり大きいことが考えられる。また投与量を倍量にした場合あるいは妊娠後期の急性毒性実験の結果からみても腎障害時における KW-1062 の聴器に対する安全性は大きいことが考えられる。

5) 前庭器に対する障害

非妊娠モルモットにおける急性毒性実験および、慢性毒性実験ならびに妊娠時投与をうけた、母モルモットか

ら生まれた新生モルモットの検索結果から明らかなように KW-1062 の投与によって前庭の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑には、しばしば、有毛細胞の散発性消失がみられた。このような有毛細胞の散発性消失は 50 mg/kg 4 週間投与の場合にはみられなかったが 100 mg/kg 4 週間投与の場合にはしばしば認められた。また 3 カ月の投与の場合には 2.5 mg/kg および 25 mg/kg の投与量でもしばしば認められた。さらに妊娠時には後半に 50 mg/kg および 75 mg/kg を投与した場合軽度の増強がみられた。新生モルモットにおいては高頻度に軽度の有毛細胞の散発性消失がみられた。このような所見からみて KW-1062 は弱い前庭器毒性をもっていることが考えられるが、今回行なった投与量においては GM に比較して強い障害はみられなかった。

IV. 総 括

モルモットの聴器に対する KW-1062 の影響を、最高 20 kHz から最低 500 Hz または 200 Hz までの広範な周波数域での周波数別耳介反射試験と、生体灌流固定した内耳の病理組織学的検索の両面から検討し、筋肉内注射による大量投与の急性毒性実験、少量投与の慢性毒性実験および妊娠の前期と後期における大量投与の急性毒性実験の結果をもとに KW-1062 の聴器毒性の評価と聴器に対する安全性を検討して、次の点を明らかにした。

1) KW-1062 は他のアミノ配糖体抗生物質と同じように、聴覚系末梢と前庭系末梢の感覚上皮を障害する性質をもっているが、等量投与の比較では KW-1062 の聴器毒性は GM におけるよりもはるかに弱い。これまで行なってきたわれわれの実験結果では、50 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg、400 mg/kg、600 mg/kg の筋肉内投与の急性毒性実験では、KM よりも弱く、アミノ配糖体抗生物質のなかでは比較的聴器毒性の弱い部位に位置づけられる。

2) 50 mg/kg を 28 日間投与した場合には KW-1062 による耳介反射消失はみられなかった。外有毛細胞の消失は1回転下端部に限局した1匹を除いては他の動物にはみられなかった。前庭器にも障害はみられなかった。

3) KW-1062 100 mg/kg を 28 日間投与した場合には耳介反射消失はみられなかったが、外有毛細胞の消失は1回転下端部に限局して認められることがあった。また、前庭器に軽度の障害がしばしばみられた。

4) 3 カ月間の少量慢性毒性試験では KW-1062 による著しい聴器障害はみられなかった。

5) 妊娠時に投与した急性毒性実験では、妊娠モルモットに聴器障害の軽度の増強がみられ特に妊娠後半期において明らかである。しかしながら増強の程度は KW-1062 50 mg/kg および 75 mg/kg および 100 mg/kg の場

合においても軽度であった。

6) 新生モルモットにおける聴器障害は、KW-1062を投与した場合にはほとんど障害はみられなかった。ただ25mg/kgを妊娠後半に投与した場合の新生モルモットの1匹に1回転下端に局限した外有毛細胞の消失がみられた。

7) 聴器の安全性については、等量の投与量ではKW-1062の安全性はGMにおけるよりかなり大きいと考えられる。

文 献

- 1) OKACHI, R.; I. KAWAMOTO, S. TAKASAWA, M. YAMAMOTO, S. SATO, T. SATO, and T. NARA: A new antibiotic XK-62-2 (Saganicin). I. Isolation, physicochemical and antibacterial properties. *J. Antibiotics* 27 (10): 793~800, 1974
- 2) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 中田穂出美, 田島たよ子: 3',4'-Dideoxykanamycin B(DKB)の聴器毒性について。 *Jap. J. Antibiotics* 27 (1): 15~26, 1974
- 3) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 中田穂出美, 奈良哲次, 田島たよ子, 佐々木和則, 小川幹男: Tobramycinの聴器毒性について (第1報)。 *Chemotherapy* 23 (3): 1522~1543, 1975
- 4) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 中田穂出美, 奈良哲次, 田島たよ子, 佐々木和則, 小川幹男: Tobromycinの聴器毒性について (第2報)。聴器の安全性, 妊娠モルモットと在胎モルモットの聴器の変化。 *Chemotherapy* 23(12): 3707~3720, 1975
- 5) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 中田穂出美, 田島たよ子, 鈴木健, 岸本勝次: Amikacin(BB-K 8)の聴器毒性について。 *Jap. J. Antibiotics* 28 (3): 288~304, 1975
- 6) 秋吉正豊, 矢野三郎, 田島たよ子, 松崎明紀, 阿久津, 岸本勝次, 前田昌彦: 妊娠中に投与したAmikacin(BB-K 8)の在胎モルモットの聴器におよぼす影響。 *Jap. J. Antibiotics* 30 (2): 185~196, 1977
- 7) 秋吉正豊: 医薬品の視聴覚神経系に及ぼす影響に関する研究。聴覚系 153頁, 昭和49年度厚生省特別研究
- 8) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 庄司 侃, 菅広敬: 耳毒性抗生物質によるコルチ器有毛細胞の障害の拡がりかた。 *Audiology Japan* 14(5): 530~541, 1971
- 9) AKIYOSHI, M.: Evaluation of ototoxicity and safety of aminoglycoside antibiotics in the guinea pigs. in press.

ANIMAL TEST FOR EVALUATION OF OTOTOXICITY AND SAFETY OF KW-1062

MASATOYO AKIYOSHI, SABURO YANO, TADASHI SHOJI,

TAYOKO TAJIMA and TAKAYOSHI IMAZAWA

Department of Pathology, Medical Research Institute

Tokyo Medical and Dental University

TAKUJI HARA and MOTOAKI SHIMIZU

Section of drug safety evaluation, Tecnical Research Laboratory

Hofu Plant, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.,

Three series of animal tests were performed on 394 guinea pigs of Hartley strain to evaluate the ototoxicity and safety of a newly developed aminoglycoside antibiotic KW-1062.

Series I. Animal test for acute ototoxicosis. KW-1062 and Gentamicin(GM) were given to 41 guinea pigs i. m. at dose of 50 mg/kg, and 100 mg/kg, respectively for 28 days. Differential frequency pinna reflex test in range from 20 kHz to 200 Hz was carried out before the experiment and during the administration of the antibiotics for measurement of frequency range of pinna reflex loss. After the end of the experiment, individual animals underwent intravital perfusion fixation with Wittmaack's fixative according to the procedure previously reported. Bilateral temporal bones were removed en bloc and decalcified. After washing of the temporal bones in running water the bones were dehydrated and embedded in celloidin. Serial horizontal sections were prepared and every 5th sections were stained with hematoxylin-eosin.

Series 2. Animal test for chronic ototoxicosis. KW-1062 was given to 39 guinea pigs i. m. at dose of 2.5 mg/kg and 25 mg/kg, respectively for 3 months. Additionally distilled water was given to 20 guinea pigs at dose of 0.1 ml/100g for 3 months. The differential frequency pinna reflex test weekly carried out before and during the administration. After the end of the experiment histological

sections of the temporal bones of the individual animals were prepared in the same way as in the series 1.

Series 3. a) Animal test for acute ototoxicosis in early period of gestation. KW-1062 was given to 15 pregnant guinea pigs i.m. at dose of 50 mg/kg and 100 mg/kg, respectively for 28 days since the first pregnant day. The pregnancy was confirmed by presence of sperms in vaginal smear. GM was given to 17 pregnant guinea pigs i.m. at dose of 25 mg/kg and 50 mg/kg, respectively for 28 days since the first pregnant day. Distilled water was given to 4 pregnant guinea pigs i.m. at dose of 0.1 ml/100g for 28 days since the first pregnant day. The differential frequency pinna reflex test was carried out on the pregnant guinea pigs before, during and after the administration until 2nd week after delivery. The differential frequency pinna reflex test was also performed on 91 new born guinea pigs one and two weeks after birth. After the end of the experiment histological sections of the temporal bones of the individual animals were prepared in the same way as in the series 1.

b) Animal test for acute ototoxicosis in later period of gestation. KW-1062 was given to 27 pregnant guinea pigs i.m. at dose of 25 mg/kg, 50 mg/kg and 75 mg/kg, respectively for 28 days since the 6th week of gestation. GM was given to 18 pregnant guinea pigs i.m. at dose of 12.5 mg/kg and 25 mg/kg, respectively for 28 days since the 6th week of gestation. Distilled water was administered to 4 pregnant animals i.m. for 28 days since the 6th week. The differential frequency pinna reflex test was carried out on the pregnant animals before, during and after the administration until 2nd week after delivery. The differential pinna reflex test was also performed on 118 new born guinea pigs from the pregnant animals treated with the antibiotics one and two weeks after birth. After the end of the experiment histological sections of the temporal bones of the individual animals were prepared in the same way as in the series 1.

The results obtained are as follows ;

1) In animal test for acute ototoxicosis. The differential frequency pinna reflex test and histopathological examination revealed that KW-1062 is much less ototoxic than GM at dose of 50 mg/kg and 100 mg/kg, respectively. These data suggest that KW-1062 has much less ototoxicity to the end organs of the auditory and vestibular systems than GM.

2) In animal test for chronic ototoxicosis. The differential frequency pinna reflex test and histopathological examination revealed that there was almost no remarkable difference in ototoxicosis due to KW-1062 and distilled water. These data suggest that KW-1062 is sufficiently safe at dose of 2.5 mg/kg and 25 mg/kg in guinea pigs.

3) a) In animal test for acute ototoxicosis in early period of gestation. The differential frequency pinna reflex test and histopathological examination revealed that KW-1062 is much less ototoxic than GM at dose of 50 mg/kg in the pregnant animals. Ototoxicosis of KW-1062 at 100 mg/kg was much milder than that of GM at 50 mg/kg in the pregnant animals. There was no animals with ototoxicosis in later among the new born ones from the pregnant guinea pigs. b) In animal test for acute ototoxicosis period of gestation. The differential frequency pinna reflex test and histopathological examination revealed that KW-1062 is much less ototoxic and more safer than GM at dose of 25 mg/kg in the pregnant animals. Ototoxicosis of KW-1062 at dose of 75 mg/kg in the later period of gestation was slightly increased than that of KW-1062 at dose of 100 mg/kg in the early period of gestation and non-pregnant animals. There were no animals with ototoxicosis among new born animals from the pregnant guinea pigs treated with KW-1062.

4) Ototoxicosis due to GM became much enhanced at double dose level, 100 mg/kg in animal test for acute ototoxicosis in non-pregnant animals than at dose of 50 mg/kg. In contrast ototoxicosis due to KW-1062 did not show any enhancement at the double dose level, 100 mg/kg in the same animal test than at dose of 50 mg/kg. These data suggest that KW-1062 has a mild ototoxicity.

5) KW-1062 can be classified into aminoglycoside antibiotics with less ototoxicity than KM.