

Furosemide とアミノ配糖体薬剤との併用による 内耳・腎障害の激化について

(大内仁教授開講二十周年記念論文)

大谷 巖・大槻好正・尾股丈夫・大内 仁

福島県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

斎 藤 武 郎

東北歯科大学病理学教室

(昭和 51 年 10 月 21 日受付)

緒 言

Furosemide (FM) は Ethacrynic acid (EA) と同様に強力な利尿作用のある塩類排泄性利尿剤である。これらの薬剤は腎において近位および遠位尿細管で Na の再吸収を阻害することにより利尿効果を発揮している。これらの薬剤による難聴については、1965 年 MAHER & SCHREINER¹⁾ が 38 名の浮腫患者に EA を使用し、1 名に急性一過性の難聴をきたしたことを報告して以来、EA による一過性あるいは持続性難聴に関する臨床報告が多数みられる²⁻⁴⁾。FM についても HEIDLAND ら⁵⁾ が FM の大量投与により、一過性の難聴をきたした症例を報告したのにはじまり、その後多くの報告がみられる⁶⁻¹¹⁾。EA は大量投与時に持続性難聴を起しやすいが、FM による難聴は一過性の場合が大部分で、持続性難聴の報告^{9,11)}は少ない。実験的には EA や FM は蝸牛血管条に作用を及ぼすことが知られており¹¹⁻¹⁴⁾、その変化は FM より EA で著しいが、いずれの変化も可逆的であるといわれている¹⁵⁾。

一方、アミノ配糖体薬剤は、内耳蝸牛、とくに外有毛細胞に特異的に障害を起すことが知られている¹⁶⁾。内耳に対してこのような作用機序の異なる塩類排泄性利尿剤とアミノ配糖体薬剤とを同時に使用した場合に高度の持続性難聴を起しやすく、この 2 種薬剤の相互作用については 1969 年 MATHOG & KLEIN¹⁷⁾ により報告され、その後多くの臨床報告¹⁸⁻¹⁹⁾ や実験的研究^{15,20-22)} がなされてきた。2 種薬剤併用時の内耳障害は、アミノ配糖体薬剤の大量長期投与時の変性像に類似し、外有毛細胞に高度の障害を起してくる^{15,20,22)}。上記 2 種薬剤併用によるこれまでの実験的報告は、主に薬剤 1 回投与時の内耳障害を検討したものであり、長期間投与による検討はなされていない。さらに 2 種薬剤併用時の内耳障害増強性の原因については解明されていない。

本研究は上記 2 種薬剤を連続投与した場合の外有毛細胞

の障害を系統的に追求するとともに、内耳障害増強性の本態を解明するために、アミノ配糖体薬剤の血清、髄液、内耳液移行に対する塩類排泄性利尿剤の影響を Bioassay 法により追求し、さらに併用による腎に及ぼす影響を病理組織学的に検討した。その結果、上記 2 種薬剤の併用により、内耳だけでなく腎においても激的な障害が惹起されるという興味ある知見を得ることが出来たので報告する。塩類排泄性利尿剤としては、EA よりも不可逆的内耳障害を起しにくい FM を使用し、アミノ配糖体薬剤としては、主に Kanamycin sulfate (KM) を使用し、一部 Streptomycin sulfate (SM) および Gentamicin sulfate (GM) を使用した。

実験方法

体重 2.2~2.8 kg の白色家兎 83 羽を実験動物として使用した。このうち 60 羽を病理組織学的検索に供し、残り 23 羽を KM 濃度の測定に供した。KM と SM は注射用蒸留水で 200 mg/ml に溶解して使用し、FM は 10 mg/ml、GM は 40 mg/ml のを使用した。

病理組織学的検索：上記家兎 60 羽を FM 群、KM 群、FM・SM 併用群、SM 群、FM・SM 併用群、GM 群、FM・GM 併用群および対照群の 8 群に分けて使用した。各群、各動物の薬剤投与量、投与期間および投与終了後の生存期間を Table 1 に一括した。いずれの薬剤も 24 時間毎に腹腔内注射、あるいは筋注により投与した。併用群ではそれぞれの薬剤を別々に注射した。投与期間は主に 5 日から 10 日間で、一部 30 日および 60 日間の投与をも行なった。投与終了後から固定までの期間は、30 日および 60 日間投与動物では 1 日、それ以外の動物では 10 日間とした。しかし併用群の動物の中には実験途中で死亡するものや、全身状態悪化のため、予定生存期間以内に固定せざるを得ないものがみられた。

各動物を局麻下に断頭し、1% veronal buffered osmium tetroxide solution で蝸牛を固定した。各回転か

Table 1. The dosage schedule and survival times of rabbits of histopathological findings

Group	Rabbit No.	Drug & Dose/day	Duration of treatment	Survival time
FM	5 days F-1, F-2	FM 30 mg/kg i. p.	5 days	10 days
	10 days F-3, F-4, F-5, F-6, F-7, F-8	"	10 days	"
	60 days F-9, F-10	FM 3 mg/kg i. p.	60 days	1 day
KM	5 days K-1, K-2, K-3, K-4	KM 200 mg/kg i. p.	5 days	10 days
	10 days K-5, K-6, K-7, K-8, K-9, K-10	"	10 days	"
	30 days K-11, K-12, K-13, K-14, K-15	"	30 days	1 day
	60 days K-16, K-17	KM 20 mg/kg i. m.	60 days	"
FM & KM	5 days {FK-1, FK-2, FK-3, FK-4 FK-5	FK 30 mg/kg i. p. & KM 200 mg/kg i. p.	5 days	10 days
		" "	"	2 days(died)
	7 days {FK-6, FK-7, FK-8 FK-9	" "	7 days	10 days
		" "	"	2 days
		" "	6 days(died)	
	10 days {FK-11, FK-12, FK-13, FK-14 FK-15	" "	10 days	10 days
		" "	"	2 days
		" "	"	4 days
	60 days FK-17, FK-18	FM 3 mg/kg i. p. & KM 20 mg/kg i. m.	60 days	1 day
SM	10 days S-1, S-2	SM 200 mg/kg i. m.	10 days	10 days
FM & SM	10 days {FS-1 FS-2	FM 30 mg/kg i. p. & SM 200 mg/kg i. m.	4 days(died)	
		" "	6 days(died)	
		" "	7 days	
	FS-3, FS-5	FM 30 mg/kg i. p. & SM 100 mg/kg i. m.	10 days	10 days
GM	10 days G-1, G-2	GM 20 mg/kg i. m.	10 days	10 days
FM & GM	10 days FG-1, FG-2, FG-3	FM 30 mg/kg i. p. & GM 20 mg/kg i. m.	10 days	10 days
Control	C-1, C-2, C-3	Saline 4 ml/kg i. p.	10 days	10 days

FM=Furosehide, KM=Kanamycin, SM=Streptomycin, GM=Gentamicin

ら連続的に膜迷路を採取し、蝸牛膜迷路、とくに外有毛細胞の状態を位相差顕微鏡下に観察し、ENGSTRÖM¹⁶⁾のいういわゆる collapsed cell をもって障害細胞とした。腎はホルマリンで固定後、H-E 染色、PAS 染色、Azan-Mallory 染色、PAM 染色、Fibrin 染色などにて観察した。

KM の濃度の測定 : KM の血清、髄液、内耳液への移行に対する KM の影響を家兎 23 羽を用いて検討した。すなわち KM 群には KM 200 mg/kg を、FM・KM 併用群には FM 30 mg/kg と KM 200 mg/kg とを、それぞれ 1 回注射し、注射後 4 時間および 24 時間に血清および内耳液（前庭階および鼓室階外リンパ液）を採取し、Bioassay 法により KM の定量を行なった。また 4 時間群の約半数の動物では髄液の採取測定をも行なった。前庭階および鼓室階外リンパ液は、それぞれ両耳から別々に採取し、定量後に両耳の濃度値を平均した。検体の採

取および KM の定量は既報告の方法²³⁾に従って行なった。

実験成績

全身所見 : 薬剤投与による全身への影響を観察するため、病理組織学的検索に供した動物の体重を測定した。FM 群、KM 群、SM 群および GM 群では全動物で体重が増加し、対照群と差を認めなかった。一方、FM とこれらのアミノ配糖体薬剤との併用動物では体重の減少するものが多く、実験途中で死亡するものや、全身状態の悪化のため、予定生存期間以内に固定せざるを得ないものがみられた。すなわち FM・KM 併用群では 2 羽が死亡し、1 羽 (FK-5) は投与終了後 2 日目に死亡し、内耳および腎の検索は行わず、他の 1 羽 (FK-10) は 6 回注射後に死亡したが、死亡直後であったため腎だけ検索を行なった。また FK-9, FK-15, FK-16 の 3 羽は高度の全身状態悪化のため、FK-9 および FK-15 は投与終

了後2日目に、FK-16は4日目に固定した。FM・SM併用群ではFM・KM併用群に比して全身への影響が強く、SM 200mg/kg 投与の3羽のうち2羽が4回(FS-1)および6回(FS-2)の注射で死亡したため病理組織学的検索は行わず、他の1羽(FS-3)は全身状態悪化のため7回注射後に固定した。FM・GM併用群でも全動物で体重の減少をきたしたが、本実験条件下では死亡する動物はみられなかった。

内耳所見：FM群は対照群と同様に外有毛細胞には障害は認められなかった(Fig. 1, 2)。KM群では5日間および10日間投与群には障害は認められなかった(Fig. 3), 30日間投与群では全動物に外有毛細胞の障害を認め、その障害は基底回転で強く、上方回転に向うにつれ

て軽くなっていた(Fig. 4, 5)。障害範囲は基底回転の一部に局限しているものから、全回転に波及しているものまで、大きなバラツキを示していた。一方、FM・KM併用群では、5日間投与群には外有毛細胞の障害は認められなかったが、7日間投与群では全動物に障害を認め、その障害範囲はKM 30日間投与群に匹敵していた。10日間併用群では障害はさらに高度となり、頭頂回転まで障害が波及しているものが多くみられた(Fig. 6)。臨床使用量に近い投与量(FM 3mg/kg, KM 20mg/kg)では併用群にも外有毛細胞の障害はみられなかった。

SM群では外有毛細胞に障害はみられなかった。FM・SM併用群では、SM 200mg/kg 投与群の内耳検索は1羽にすぎないが、基底回転の約1/8まで外有毛細胞に障

Fig. 7. Damage of the outer hair cells (1)

■ : represented an extent of the outer hair cell damage.
R : right cochlea. L : left cochlea.

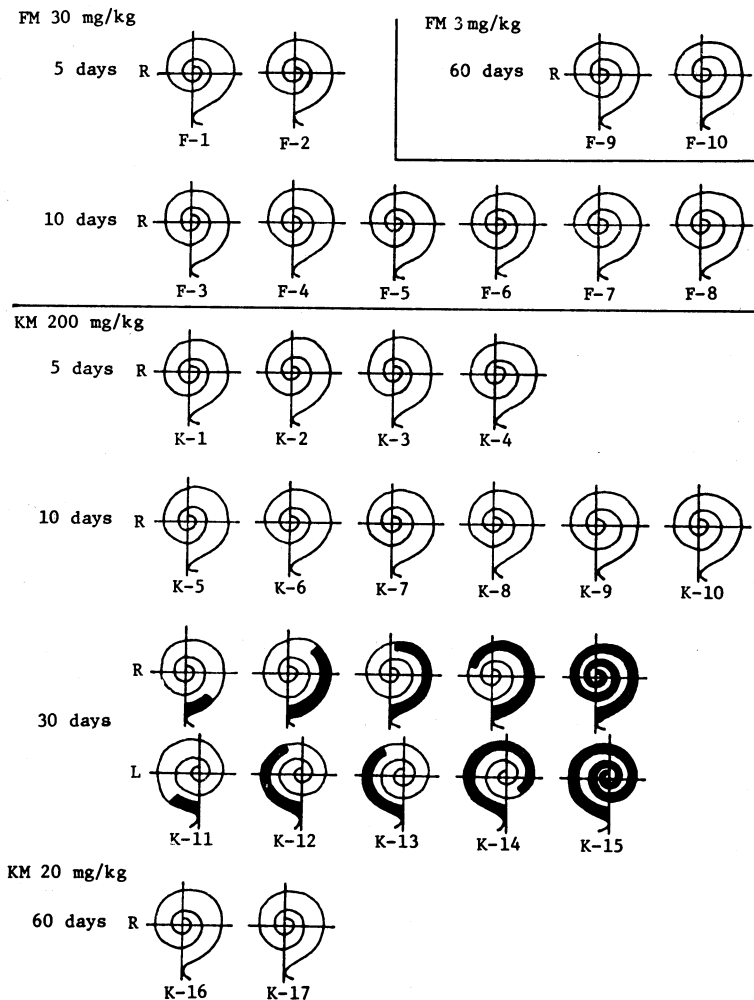
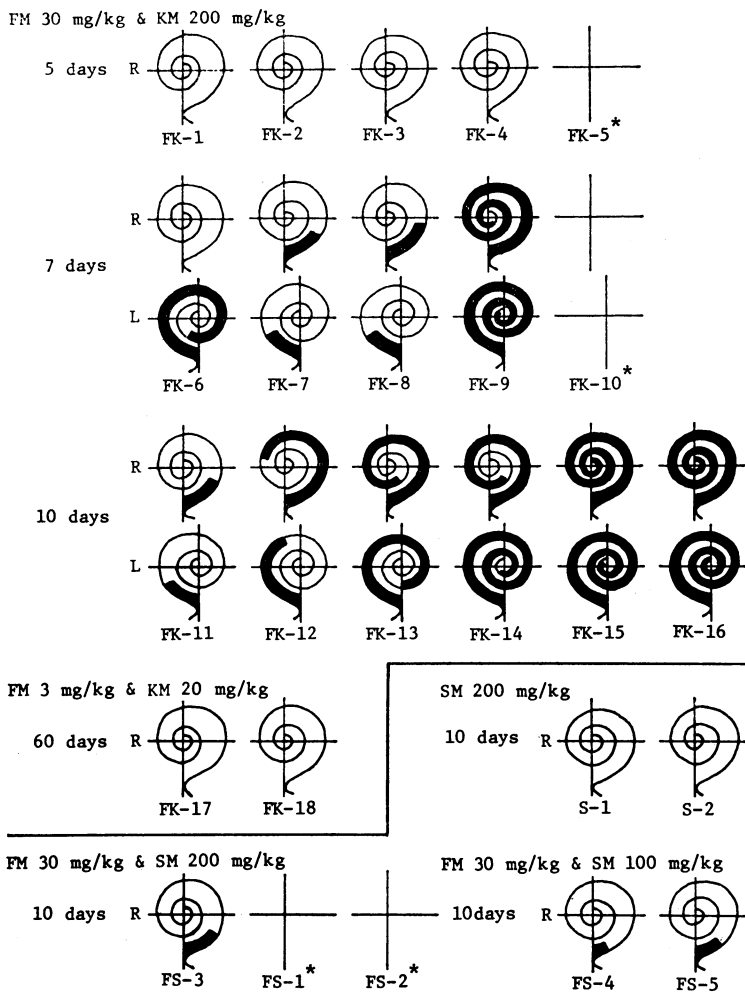


Fig. 7 Damage of the outer hair cells (2)

■ : represented an extent of the outer hair cell damage.

R : right cochlea. L : left cochlea.

* : omitted from histopathological findings being dead.



害が認められた。SM 200 mg/kg での併用では、全身に及ぼす影響が著明なため、SM 100 mg/kg での併用も行なったが (FS-4, FS-5)、この投与量でも外有毛細胞に障害がみられた。

GM 群および FM・GM 併用群では、今回の実験条件下では外有毛細胞に障害は認められなかった。以上の各群のうち対照群、GM 群および FM・GM 併用群以外の動物について、外有毛細胞の障害範囲を Fig. 7 に示した。

KM の血清・髄液・内耳液中濃度 : KM 群と FM・KM 併用群について、薬剤 1 回投与後 4 時間および 24 時間の血清、髄液、内耳液 (前庭階および鼓室階外リンパ液) の KM 濃度を Table 2, 3 に示した。4 時間値では、

血清、髄液、外リンパ液の全てで、FM・KM 併用群が KM 群よりも非常に高い KM 濃度を示し、併用群では KM 群の血清で 2.03 倍、髄液で 2.08 倍、前庭階外リンパ液で 1.81 倍、鼓室階外リンパ液で 2.33 倍となっていた。24 時間値でも外リンパ液の KM 濃度は、4 時間値と同じく併用群が KM 群の約 2 倍の濃度を示していた。また両群の間に前庭階外リンパ液と鼓室階外リンパ液との KM 濃度に興味ある差異がみられた。すなわち KM 群では 4 時間および 24 時間値とも、前庭階外リンパ液の KM 濃度のほうが鼓室階の濃度よりも高かったが、これに反して FM・KM 併用群では 4 時間値が鼓室階外リンパ液の濃度のほうが高いのが注目された。KM 群の

Table 2. Distribution of kanamycin in body fluids 4 hours after a single intraperitoneal injection

	Kanamycin ($\mu\text{g/g}$)	Furosemide & Kanamycin ($\mu\text{g/g}$)
Serum	254.58 \pm 35.13(8)	516.92 \pm 42.03(8)
CSF	7.63 \pm 1.93(5)	15.85 \pm 4.66(4)
Perilymph (Scala vestibuli)*	29.25 \pm 3.29(8)	52.81 \pm 6.62(8)
Perilymph (Scala tympani)*	25.88 \pm 3.51(8)	60.37 \pm 9.11(8)

1. The values are expressed as mean \pm standard error.
 2. The number in parenthesis indicates the number of rabbits.
- * Results of right and left ear averaged.

Table 3. Distribution of kanamycin in body fluids 24 hours after a single intraperitoneal injection

	Kanamycin ($\mu\text{g/g}$)	Furosemide & Kanamycin ($\mu\text{g/g}$)
Serum	0.00 (3)	0.00 (4)
Perilymph (Scala vestibuli)*	4.27 \pm 0.23(3)	8.49 \pm 1.47(4)
Perilymph (Scala tympani)*	2.88 \pm 0.23(3)	6.28 \pm 0.76(4)

1. The values are expressed as mean \pm standard error.
 2. The number in parenthesis indicates the number of rabbits.
- * Results of right and left ear averaged.

各体液の KM 濃度は、これまでに行なった実験成績とほぼ一致していた²³⁾。

腎の肉眼的所見：FM 群、KM 5 日間および 10 日間投与群では、対照群と比較して差を認めなかった。KM 30 日間投与群では全動物で軽度の灰白色を呈していた。FM・KM 併用群では、5 日間投与群で軽度ないし中等度の灰白色を呈し、7 日間および 10 日間投与群では高度の灰白色腫脹を呈しているものが多かった。SM 群や GM 群にはとくに異常を認めなかったが、FM との併用群では軽度ないし中等度の灰白色腫脹を呈していた。

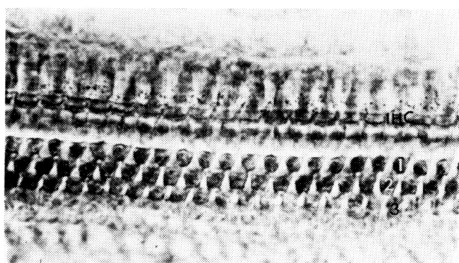
腎の病理組織学的所見：FM 群では全動物が対照群と比較して著差を認めなかった。KM 群では 10 日間投与の 6 羽中 1 羽 (K-10) にだけ近位尿細管直部で、上皮の核の減少と上皮の剥離・再生がみられ、30 日間投与した 5 羽では全例に以上の変化のほかに、胞体内の空胞変性、刷子縁の不規則な消失が認められた (Fig. 9)。FM・KM 併用群では投与期間と病変の程度とは必ずしも平行

しないが、早期から病的所見が認められた。すなわち 5 日間投与のものでも近位尿細管直部の上皮が腫大し、核の消失したものが多く、胞体の空胞化が著しく泡沫状を呈し、管腔内には剥離した上皮も多かった (Fig. 10)。7 日間投与では変性が高度となり、近位尿細管直部だけでなく曲部でも上皮の腫大、泡沫化、硝子滴変性、壊死などが認められ、遠位尿細管や集合管内にはエオジンで均質、硝子様を呈する円柱や壊死物質の塞栓がみられた (Fig. 11)。10 日間投与の 2 羽 (FK-15, FK-16) では腎障害はさらに高度となり、壊死物質の多くは石灰沈着を伴ない、髓質の集合管や遠位尿細管内に塞栓していた (Fig. 12)。そのため介在部やヘンレ係蹄は拡大し、そのところどころにエンジンで均質、PAS 陽性に染まる物質が認められ Nephrohydropy といえる像を呈していた。なお Azan-Mallory 染色標本では、対照群の近位尿細管は全体に赤染する好酸性顆粒で充満しているが、KM 10 日間投与の一部 (K-10) と 30 日間投与の全動物では、全体に好酸性が消失して橙黄色を呈し、さらに併用群では壊死に陥っている上皮は淡青色を呈し、変性の著しい細胞には大小の赤色顆粒がみられ、胞体は泡沫状を呈していた。こういう大小の赤色顆粒は H-E 染色上の硝子滴変性の顆粒に一致していた。臨床使用量に近い投与量では、KM 群 (K-16, K-17) には近位尿細管上皮の膨化、核の減少を認めたが、併用群 (FK-17, FK-18) ではこれらの変化のほかに上皮の空胞変性、剥離などを認めた。糸球体や尿細管周囲の毛細血管系には一般に著変を認めないが、7 日間および 10 日間併用群では糸球体の高度の充血と、Bowman 嚢内出血、拡張が認められた。SM 群、GM 群では著変を認めなかったが、FM・SM 併用群および FM・GM 併用群では、近位尿細管の著明な変性壊死と糸球体毛細血管や Bowman 嚢の拡張などが認められた。これらの障害像は FM・KM 併用群にみられたものと類似していた。以上、全動物の尿細管の障害程度を Table 4 に一括した。

考 按

1) 併用による内耳障害増強について

塩類排泄性利尿剤とアミノ配糖体薬剤との併用による難聴発現については、1969 年 MATHOG & KLEIN¹⁷⁾ が EA とアミノ配糖体薬剤 (SM, KM, Neomycin) を使用し、永続的難聴をきたした尿毒症患者の 3 症例を報告したのにはじまり、その後 JOHNSON & HAMILTON¹⁸⁾ は EA と KM や SM との併用、MERIWETHER ら¹⁹⁾ は EA と KM や GM との併用による難聴症例を報告している。また EA による難聴の発現を報告した SCHNEIDER & BECKER²⁴⁾、NG ら²⁵⁾、および MATZ ら²⁶⁾ の症例では、いづれもアミノ配糖体薬剤が使用されているので、各論

Fig. 1 Magnification $\times 400$.Fig. 2. Magnification $\times 1000$.

Figs. 1 and 2. The organ of Corti, $1/4$ coil from base. This animal (F-6) was injected with 30mg/kg of furosemide for 10 days and sacrificed 10 days after the last injection. This specimen shows no damage to both outer and inner hair cells.

IHC=Inner hair cells. 1, 2, 3=First, second and third rows of outer hair cells.

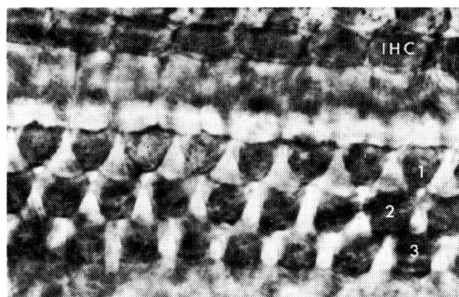
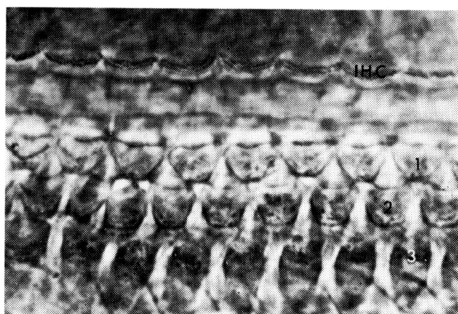
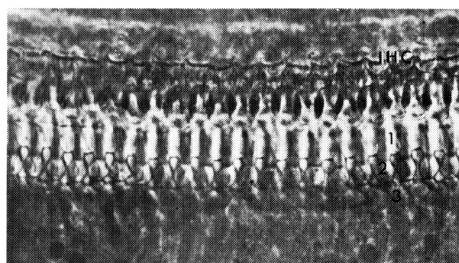


Fig. 3. The organ of Corti, $1/4$ coil from base, focussed on plane of the hairs of inner hair cells. This animal (K-5) was injected with 200mg/kg of kanamycin for 10 days and sacrificed 10 days after the last injection. This specimen shows no damage to both outer and inner hair cells.

IHC=Inner hair cells. 1, 2, 3=First, second and third rows of outer hair cells. Magnification $\times 1000$.

Fig. 4. Magnification $\times 400$.Fig. 5. Magnification $\times 1000$.

Figs. 4 and 5. The organ of Corti, $1\frac{1}{2}$ coil from base. This animal (K-15) was injected with 200mg/kg of kanamycin for 30 days and sacrificed a day after the last injection. All outer hair cells are damaged but inner hair cells are intact.

IHC=Inner hair cells. 1, 2, 3=First, second and third rows of outer hair cells.

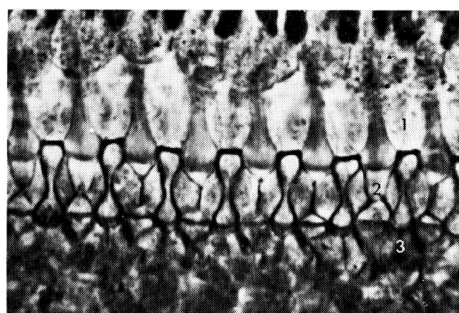


Fig. 6. The organ of Corti, $1/2$ coil from base. This animal (FK-13) was injected with 30 mg/kg of furosemide and 200mg/kg of kanamycin for 10 days respectively and sacrificed 10 days after the last injection. All outer hair cells are damaged. Outer hair cell damage of combined administration rabbits for 10 days is severer than that of kanamycin administration rabbits for 30 days. 1, 2, 3=First, second and third rows of outer hair cells. Magnification $\times 1000$.

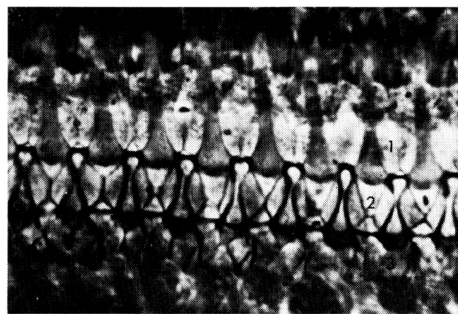


Fig. 8. Proximal tubules of normal rabbits kidney stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$.

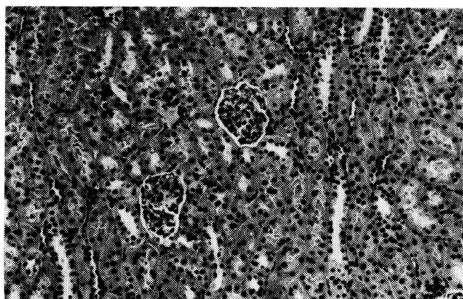


Fig. 9. Proximal tubules. This animal (K-11) was injected with 200 mg/kg of kanamycin for 30 days and sacrificed a day after the last injection. The figure shows decrease of epithelial cell nuclei, irregular desquamation of tubular epithelia and brush borders, and vacuolar degeneration of tubular epithelia.

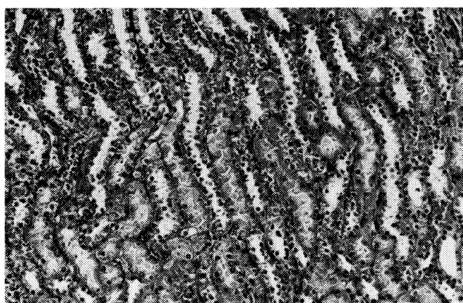


Fig. 10. Proximal tubules. This animal (FK-3) was injected with 30 mg/kg of furosemide and 200 mg/kg of kanamycin for 5 days respectively and sacrificed 10 days after the last injection. Tubular lesion is approximately equal to that of Fig. 9 which shows tubules receiving 200 mg/kg of kanamycin for 30 days.

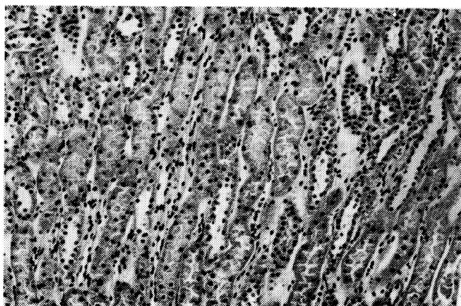


Fig. 11. Proximal tubules. This animal (FK-9) was injected with 30 mg/kg of furosemide and 200 mg/kg of kanamycin for 7 days respectively and sacrificed 2 days after the last injection. The figure shows diffuse degeneration of proximal tubules; *i. e.*, cloudy swelling and hyaline droplet degeneration of epithelia, desquamation and destruction of epithelia, and hyaline casts in some tubules.

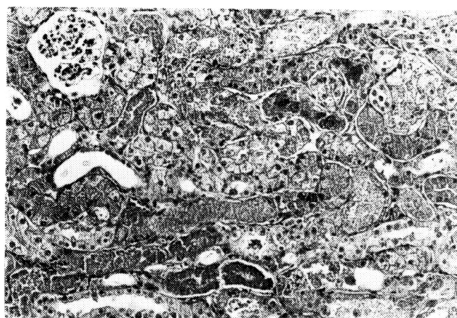


Fig. 12. Proximal tubules. This animal (FK-16) was injected with 30 mg/kg of furosemide and 200 mg/kg of kanamycin for 10 days respectively and sacrificed 4 days after the last injection. This figure shows severe extensive necrosis of tubules. Tubular lumina are filled with degenerated masses with calcification. These masses can be seen in not only proximal tubules but distal tubules and collecting tubules of the medulla.

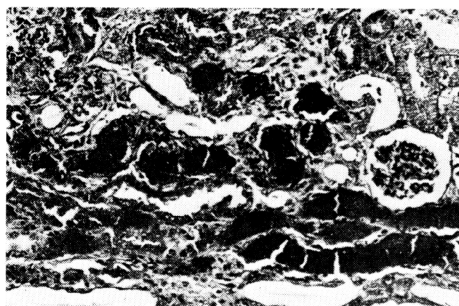


Table 4. Summary of renal histopathological damage

Drug administration and rabbit No.	Renal damage	Drug administration and rabbit No.	Renal damage	Drug administration and rabbit No.	Renal damage
FM 30 mg/kg		K-13	+	FK-18	++
5 days F-1	—	K-14	+	SM 200 mg/kg	
F-2	—	K-15	+	10 days S-1	±
10 days F-3	—			S-2	—
F-4	—	KM 20 mg/kg		FM 30 mg/kg & SM 200 mg/kg	
F-5	—	60 days K-16	±	10 days FS-1*	/
F-6	—	K-17	±	FS-2*	/
F-7	—	FM 30 mg/kg & KM 200 mg/kg		FS-3*	++
F-8	—	5 days FK-1	+		
FM 3 mg/kg		FK-2	+	FM 30 mg/kg & SM 100 mg/kg	
60 days F-9	—	FK-3	+	10 days FS-4	++
F-10	—	FK-4	++	FS-5	+
		FK-5*	/		
KM 200 mg/kg		7 days FK-6	++	GM 20 mg/kg	
5 days K-1	—	FK-7	+++	10 days G-1	—
K-2	—	FK-8	+	G-2	—
K-3	—	FK-9*	+++	FM 30 mg/kg & GM 20 mg/kg	
K-4	—	FK-10*	+++	10 days FG-1	+
10 days K-5	—	10 days FK-11	+	FG-2	+
K-6	—	FK-12	+	FG-3	+
K-7	—	FK-13	+		
K-8	—	FK-14	+	Control (Saline 4 ml/kg)	
K-9	—	FK-15*	+++	10 days C-1	—
K-10	±	FK-16*	+++	C-1	—
30 days K-11	+	FM 3 mg/kg & KM 20 mg/kg		C-3	—
K-12	+	60 days FK-17	+		

* FK-5 died 2 days after the dosage completion. FK-10 and FS-2 died after 6 injections, and FS-1 died after 4 injections. FK-9 and FK-15 sacrificed 2 days and FK-16 4 days after the dosage completion. FS-3 sacrificed after 7 injections.

文の表題にもかかわらず難聴は2種薬剤併用によることも否定出来ない。以上の臨床報告の中には少量のアミノ配糖体薬剤の併用で永続的難聴を起している症例のあることが注目される。実験的には WEST ら²⁰⁾ がモルモットに EA 40 mg/kg と KM 400 mg/kg とを1回投与し、内耳障害の発現することを報告している。また PRAZMA ら²¹⁾ は EA と KM で電気生理学的に、中井ら¹⁵⁾ は EA と DKB で病理組織学的に内耳障害の増強することを報告している。この中で中井らは EA と DKB の併用時にみられる高度の内耳障害の障害様式は、DKB 単独大量長期間投与時の変性像に類似し、血管条には殆んど障害をきたさないとのべている。

一方、FM とアミノ配糖体薬剤とを併用した場合の臨床報告は現在のところ見当たらないが、実験的には BRUM-METT ら²²⁾ は FM と KM 400 mg/kg 1回投与で外有毛細胞に障害の起ることを報告している。この中で著者

は FM が 50 mg/kg では障害はごく軽度であるが、100 mg/kg では高度であること、EA 40 mg/kg で起った高度の障害と同程度の障害を FM を用いて起すには、さらに大量の投与が必要であることをのべ、このことが臨床報告をみない理由ではないかとのべている。今回の実験では、FM 30 mg/kg および KM 200 mg/kg をそれぞれ単独10日間投与では外有毛細胞に障害は認められないが、これらの薬剤を併用すると7日間ですでに高度の障害が惹起され、その障害範囲は KM 30日間投与時の障害に匹敵しており、10日間の併用ではその障害はさらに高度となっている。また SM の場合も単独では外有毛細胞に障害を起さない量であっても、FM と併用すると明らかに障害を起してくる。しかし GM の場合は今回の実験条件では併用群においても外有毛細胞に障害を認めず、FM 3 mg/kg と KM 20 mg/kg の臨床使用量に近い投与量でも、併用時にも外有毛細胞に障害は認められ

ないが、それにもかかわらず腎には併用時に高度の障害の惹起される事実、2種薬剤の併用によって内耳障害の増強する可能性を示唆するものと考えられる。

一般にアミノ配糖体薬剤による内耳障害は外有毛細胞に特異的に起ってくるが、その障害は基底回転で強く、上方回転に向うにつれて軽度となる¹⁶⁾。今回の実験でみられた成績も KM 群および FM・KM 併用群ともにこれらの報告に一致するものであり、外有毛細胞の障害様式には両群の間に原則的な差異はなく、従って両群を特徴づけるものは認められなかった。なお、内耳血管条については後日電顕的に検討し報告する予定である。

2) 併用による内耳障害増強の原因について

塩類排泄性利尿剤とアミノ配糖体薬剤との併用による内耳障害増強の原因についてはまだ解明されていないが、現在まで次のようなことが考えられてきた。すなわち、ATPase は腎のほか内耳血管条に多く存在しているが、EA や FM は Na, K-ATPase を阻害し²⁷⁾、また一方、KM も血管条の ATPase を阻害するという事実から²⁸⁾、2種薬剤の同一酵素系への阻害が、内耳障害増強の原因ではないかとする説がある^{18,21)}。またアミノ配糖体薬剤の内耳細胞に対する物質代謝阻害作用に、利尿剤の膜 ATPase 阻害作用を主とする薬理作用の相加、あるいは利尿剤によるアミノ配糖体薬剤の内耳液への高濃度の移行・停滞などがその原因をなすという考えもある¹⁶⁾。

今回の KM 濃度の定量実験で、1回投与時の内耳液の KM 濃度は、FM・KM 併用群では4時間値および24時間値とも KM 群に較べて約2倍の濃度を示していた。さらに併用群では、4時間値の内耳液 KM 濃度は鼓室階のほうが前庭階よりも高濃度であった。先に報告した著者の KM の内耳移行の実験²⁹⁾では、鼓室階 KM 濃度が、投与後1時間までは前庭階よりも高濃度となり、4時間以後では相対的にこれらの関係は逆転することが示された。このことは、内耳液 KM 濃度のピークが4時間よりやや以前にあることを考えさせる事実で、今回の実験でも KM 群では前報告と一致する成績を示した。しかし FM・KM 併用群にあっては、その4時間値をみると KM 群とは反対に鼓室階濃度のほうが高い。このことは併用時の内耳液 KM 濃度のピークが4時間よりも遅く出現することを考えさせる。さらに24時間後も併用群では KM 群の2倍の濃度を維持していた事実から、併用によって内耳液への KM 移行量の増加および内耳液からの排泄遅延が顕著に起ることが考えられる。一方、同時に測定した血清、髄液の KM 濃度についてみると、内耳液の場合と同様に併用群が KM 群の約2倍の濃度となっている。すなわち内耳液 KM 濃度の上

昇は、FM が内耳に作用して KM 透過性の亢進あるいは排泄障害などを来した結果として起ったことも、いっそう考慮に入れねばならないことはいうまでもないが、それにもまして FM の腎への作用によって、KM の腎からの排泄が阻害され、血中濃度を上昇させたことによると考えねばなるまい。換言すれば、内耳液の KM 濃度の上昇について果す役割についていえば、FM の腎への作用のほうが、その内耳への作用よりもはるかに大であり、主たるものであろうと考える。一方、連続投与の場合に、KM 群では30日間投与でも体重の減少するものはみられないが、併用群では全身状態の悪化が著しく、ごく少ない投与回数で死亡する動物がみられた。また腎は併用群では単独投与群に較べて、その障害は非常に高度で、5日間の併用ですでに KM 30日間投与時に匹敵する腎障害がみられ、7日間以上の併用では激烈な変性壊死が認められ、併用時の全身状態の悪化は腎不全によるものと推測された。WEST³⁰⁾は EA と KM とを1回投与した場合、短期間では内耳外有毛細胞には障害を認めないが、30日後には高度の障害を認めており、BRUMMETT³¹⁾も FM と KM との併用投与で同様の所見を認めており、これらの報告はいずれも併用による薬剤の著しい排泄障害の起っていることを示唆しているものと思われる。1回の併用投与ですでに KM の排泄障害が生ずるのであるから、連続併用によって起った腎障害はさらに高度に KM の排泄を阻害し、ここに急速な悪循環が形成され進行していくものと考えられる。抗生物質の血中濃度半減期は一般に腎障害のある場合に遅延し、とくにアミノ配糖体薬剤では、いっそう著明で、その半減期は正常時に比して20~30倍以上にも遅延するといわれている²⁹⁾。本実験でみられた FM とアミノ配糖体薬剤併用時の高度の内耳障害増強性は、FM による内耳への影響や腎障害による Urämetoxin³⁰⁾ などの影響も考えねばならないが、以上の実験成績から、FM によるアミノ配糖体薬剤の血中濃度の上昇が重要な因子と考えられ、これに激烈な腎障害が加わって急速に悪循環が進行していくためと考えられる。

3) 内耳障害と腎障害との関係について

FM・KM 併用5日間投与動物では、内耳障害のみみられた KM 30日間投与動物とほぼ同程度の腎障害が惹起されているにも拘らず、内耳障害は認められなかった。これは秋吉³¹⁾が報告しているように、内耳障害を起すにはある程度の日数が必要であることを示しているものと思われる。

内耳と腎とに障害の認められた動物で両者の関係を検討してみると、KM 30日間投与動物では内耳障害は軽度のものから高度のものまで大きなバラツキがみられた

が、腎は全動物ではほぼ同程度の障害を示しており、両者間に関連性は認められない。FM・KM 併用群では、内耳障害が頭頂回転まで及んでいる高度障害動物 (FK-9, FK-15, FK-16) では、腎障害も高度であり、両者間に関連性が認められる。しかし腎障害の高度のものでも内耳障害の軽度のもの (FK-7) もみられる。このことから、KM に対する内耳と腎の感受性は同一動物においても、必ずしも平行するものではないと考えられる。従って高度障害動物にみられる内耳障害と腎障害との間の強い関連性は、おそらく内耳における感受性の個体差をうち消すような高度の腎障害が惹起されたためではないかと考える。しかしこの点に関しては、薬剤投与量や投与期間を変えて、さらに検討する必要がある。

4) 併用による腎障害の増強について

おどろくべきことであるが、FM とアミノ配糖体薬剤との併用による障害の増強について警告した臨床報告は皆無といってよい。これに関しては、わづかに LAWSON³²⁾が行なった実験の報告をみるだけである。すなわち彼らは Glycerol で一過性の腎障害を起させたラットに、腎毒性を有する抗生剤 (Cephaloridine, Cephalothin, Colistin, KM, GM) を FM と同時に投与すると、GM をのぞくこれらの抗生剤の腎毒性が増強されることを報告した。

一方、FM の腎毒性について、MUSCHAWECK & HAJDÚ³³⁾ はイヌに 50mg/kg を 14 日間静注した場合、および 50mg/kg を 24 日間経口投与した場合に、病理組織学的に腎障害は起らないとのべ、SNASHALL³⁴⁾ は、ネフローゼ症候群患者に大量投与した場合の腎生検の結果から、FM が直接腎毒性的に作用することは考えられないと報告した。本実験においても、FM 群では対照群と比較して著明な差はなかった。もちろん詳細に検索すると、糸球体および近位尿管にごく軽度の病的所見があり、病理組織学的には、FM 大量投与時の腎障害の発現を完全には否定出来なかったが、何れにせよ FM 単独では高度の腎障害を起すには到らないようである。

またアミノ配糖体薬剤が耳毒性とともに腎毒性を有していることは周知のとおりである。しかし足立³⁵⁾は家兎に 200mg/kg を 30 日間筋注しても病理組織学的に著変を認めないとし、川岸³⁶⁾はラットに 200mg/kg 14 日間の筋注で尿管上皮の変性を認め、21 日間の筋注で著明な変性壊死を認めている。本実験でも、200mg/kg 10 日間の投与ではほとんど障害を認めず、30 日間の投与で軽度の変性像を呈する程度であり、KM 単独では相当量の投与でも重篤な腎障害をきたすことはないようである。

すなわちそれぞれ単独では障害を起さない 2 種薬剤が併用投与されると、すでに示したような思いがけない高

度の障害を起すことが明らかになった。すなわち 5 日間の併用投与ですでに KM 30 日間投与時に匹敵する変性像を呈し、7 日間の併用では高度の尿管の変性壊死を呈し、激烈な腎障害が惹起された。それぞれ臨床使用量に近い投与量—FM 3mg/kg と KM 20mg/kg—の併用の場合でも、近位尿管上皮に高度の変性が認められたことは注目すべきことである。SM や GM も FM と併用すると同様に著しい腎障害がみられることから、FM との併用により高度の腎障害を起すことは、アミノ配糖体薬剤に共通するものと考えられる。

5) 併用による腎障害増強の原因について

前項において、FM とアミノ配糖体薬剤との併用により、激烈な腎障害のひき起されることをのべたが、その発現機転の解明は興味あり、かつ临床上重要なテーマであろう。前記 LAWSON³²⁾は薬剤相互作用による腎障害増強の原因として、Renin-Angiotension の関与、重合物によるアレルギー作用、それに循環血量減少による抗生剤の血清レベルの上昇などを推論した。しかしわれわれの検索が未だ中途にある現在の段階では、腎障害増強の事実が確実に存在することを指摘し、その発生機転について 2, 3 の推論を述べるに止めたい。

われわれは FM による抗生剤の積極的な排泄阻害が重要な因子になっているのではないかと考える。すなわち FM は尿管で Na の再吸収を阻害することにより、強力な利尿効果を発揮しているといわれており、一方、腎における O₂ 消費量は Na 再吸収と極めて密接な相関関係があり、Na 再吸収を増加させると O₂ 消費量が増し、逆に O₂ を低下させると Na 再吸収量も低下し、この直線関係を逸脱することはないといわれている³⁷⁾。従って FM による Na 再吸収の阻害は同時に腎組織呼吸の低下をきたしていることが考えられる。FM と KM の 1 回の併用投与で著明な KM の排泄障害を起している事実から、O₂ 消費量低下の状態が KM の排泄を阻害させていることが推測され、KM の蓄積が腎障害の重要な因子になっているのではないかと考える。次にこのような排泄機構における薬剤の相互作用のほかに、2 種薬剤による複合体の形成、それによる腎障害も考えねばならない。KM とアルギン酸ナトリウムとの併用による腎障害の増強については周知の事実であるが、百瀬³⁸⁾はこれらの薬剤を試験管内で混合させると白濁沈澱を生じ、その反応は酸性で著明となり、このことは通常酸性を呈している近位尿管尿中では、この反応が容易に起こることを示唆しており、尿管内にみられた PAS 陽性物質との関連性を推測している。FM とアミノ配糖体薬剤の場合も、混合させると白濁沈澱を生じ、この反応は酸性で増強されることから、尿管内での複合体の形成が推測され

る。しかし FM と KM の併用時に多数認められた PAS 陽性物質は、KM 単独でも腎障害が高度の場合には出現することから、PAS 陽性物質の出現が併用時の特異的な病変とは考えられないが、何らかの関連性は否定出来ない。

以上、FM とアミノ配糖体薬剤との併用時に発生する激烈な内耳および腎障害の原因について推論を加えたが、さらに未知の因子も加わって複雑かつ急速に悪循環が展開され、高度の障害へと進展するものと考えられる。本研究は動物実験であり、直ちに臨床に結びつけることは出来ないが、上記実験条件下に内耳だけでなく、激烈な腎障害の発現する事実は、FM が腎障害患者に使用される機会が多い薬剤であるだけに、臨床における併用時の腎障害の発現について重大な関心を払う必要性を示唆するものと考えられる。

結 語

FM とアミノ配糖体薬剤 (KM, SM, GM) との併用時における内耳障害増強性について、系統的に追求するとともに、その本態を解明するために、KM の血清、髄液、内耳液移行に対する FM の影響を追求し、さらに腎に及ぼす影響を病理組織学的に検討した。

1. FM やアミノ配糖体薬剤 (KM, SM) の単独投与では、内耳外有毛細胞に全く障害を起さない量であっても、これらの 2 種薬剤を併用すると、外有毛細胞に高度の障害が惹起された。

2. KM の濃度は上記体液の全てで、併用投与時に KM 単独投与時の約 2 倍の濃度を示し、KM の排泄が FM により著しく阻害されていることを示していた。

3. 腎は FM とアミノ配糖体薬剤 (KM, SM, GM) との併用時に高度の変性壊死を起し、その主病変は近位尿管にみられたが、糸球体や Bowman 嚢にも変化がみられた。

4. 併用時の内耳障害増強性は、FM によるアミノ配糖体薬剤の血中濃度の上昇が重要な因子であると考えられ、これに激烈な腎障害が加わって急速に悪循環が進行していくためと考えられる。

5. 上記 2 種薬剤の併用により、内耳だけでなく腎においても激烈な障害の発現する事実は、臨床における併用時の腎障害の発現について重大な関心を払う必要性を示唆するものと考えられる。

稿を終るにあたり、Kanamycin の濃度測定に際して御協力を戴いた明治製菓薬品開発研究所の安部政弘氏に深く感謝致します。また実験に際して終始御協力を戴いた当教室主任技師 佐藤祐吉氏に感謝致します。

なお本論文の要旨は、第 20 回日本オージオロジー学会総会、第 23 回日本内耳生化学研究会、第 24 回日本化

学療法学会総会において発表した。

文 献

- 1) MAHER, J. F. & G. E. SCHREINER : Studies on ethacrynic acid in patients with refractory edema. *Ann. Intern. Med.* 62 : 15~29, 1965
- 2) SLONE, D. *et al.* : Intravenously given ethacrynic acid and gastrointestinal bleeding. *JAMA* 209 : 1668~1671, 1969
- 3) HANZELIK, E. & M. PEPPERCORN : Deafness after ethacrynic acid. *Lancet* 1 : 416, 1969
- 4) PILLAY, V. K. G. *et al.* : Transient and permanent deafness following treatment with ethacrynic acid in renal failure. *Lancet* 1 : 77~79, 1969
- 5) HEIDLAND, A. *et al.* : Möglichkeiten und Grenzen hochdosierter Diuretikatherapie bei hydropischer Niereninsuffizienz. *Dtsch. Med. Wschr.* 31 : 1568~1574, 1969
- 6) HEIDLAND, A. & M. E. WIGAND : Einfluss hoher Furosemiddosen auf die Gehörfunktion bei Urämie. *Klin. Wschr.* 48 : 1052~1056, 1970
- 7) SCHWARTZ, G. H. *et al.* : Ototoxicity induced by furosemide. *New Eng. J. Med.* 282 : 1413~1414, 1970
- 8) VARGISH, T. *et al.* : Deafness from furosemide. *Ann. Intern. Med.* 72 : 761, 1970
- 9) LLOYD-MOSTYN, R. H. & I. J. LORD : Ototoxicity of intravenous furosemide. *Lancet* 2 : 1156, 1971
- 10) VENKATESWARAN, P. S. : Transient deafness from high doses of furosemide. *Brit. Med. J.* 4 : 113~114, 1971
- 11) QUICK, C. A. & W. HOPPE : Permanent deafness associated with furosemide administration. *Ann. Otol.* 84 : 94~101, 1975
- 12) QUICK, C. A. & A. J. DUVAL : Early changes in the cochlear duct from ethacrynic acid. An electron microscopic evaluation. *Laryngoscope* 80 : 954~965, 1970
- 13) 中井義明, 他 : 薬物中毒及び先天ろう動物蝸牛の成立機転に関する電子顕微鏡的研究. *Audiology Japan* 14 : 504~512, 1971
- 14) 笠島和子 : Ethacrynic acid 投与による血管条の変化の電顕的観察. *日耳鼻* 76 : 338~346, 1973
- 15) 中井義明, 他 : アミノ配糖体系薬物および利尿剤との併用による内耳病態. *Audiology Japan* 18 : 290~298, 1975
- 16) ENGSTRÖM, H. *et al.* : Structural pattern of the organ of Corti. *Almqvist & Wiksell, Stockholm*, 1966
- 17) MATHOG, R. H. & W. J. KLEIN, Jr. : Ototoxicity of ethacrynic acid and aminoglycoside antibiotics in uremia. *New Eng. J. Med.* 280 : 1223~1224, 1969
- 18) JOHNSON, A. H. & C. H. HAMILTON : Kanamycin ototoxicity—Possible potentiation by other

- drugs. South Med. J. 63 : 511~513, 1970
- 19) MERIWETHER, W. D. *et al.* : Deafness following standard intravenous dose of ethacrynic acid. JAMA 216 : 795~798, 1971
- 20) WEST, B. A. *et al.* : Interaction of kanamycin and ethacrynic acid. Arch. Otolaryngol. 98 : 32~37, 1973
- 21) PRAZMA, J. *et al.* : Ethacrynic acid ototoxicity potentiation by kanamycin. Ann. Otol. 83 : 111~118, 1974
- 22) BRUMMETT, R. E. *et al.* : Cochlear damage resulting from kanamycin and furosemide. Acta Otolaryngol. 80 : 86~92, 1975
- 23) OHTANI, I. *et al.* : Experimental study on kanamycin concentration in blood, cerebrospinal fluid and perilymph in rabbits. Fukushima J. Med. Sci. (in press)
- 24) SCHNEIDER, W. J. & E. L. BECKER : Acute transient hearing loss after ethacrynic acid therapy. Arch. Intern. Med. 117 : 715~717, 1966
- 25) NG, P. S. Y. *et al.* : Deafness after ethacrynic acid. Lancet 1 : 673~674, 1969
- 26) MATZ, G. J. *et al.* : Ototoxicity of ethacrynic acid. Arch. Otolaryngol. 90 : 152~155, 1969
- 27) HOOK, J. B. & H. E. WILLIAMSON : Lack of correlation between natriuretic activity and inhibition of renal Na-K-activated ATPase. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 120 : 358~360, 1965
- 28) IINUMA, T. *et al.* : Possible effects of various ototoxic drugs upon the ATP-hydrolyzing system in the stria vascularis and spiral ligament of the guinea pig. Laryngoscope 71 : 22~26, 1967
- 29) KUNIN, C. M. : A guide to use of antibiotics in patients with renal disease. Ann. Intern. Med. 67 : 151~158, 1967
- 30) MITSCHKE, H. *et al.* : Symmetrische Hörsenken als Restzustand der urämischen Hörstörung nach erfolgreicher Nierentransplantation. Wschr. Ohr. Hk. 108 : 281~284, 1974
- 31) 秋吉正豊, 他 : 抗生物によるモルモットの内耳障害と腎障害との関係について. Audiology Japan 12 : 435~436, 1969
- 32) LAWSON, D. H. *et al.* : Effect of furosemide on antibiotic-induced renal damage in rats. J. Infect. Dis. 126 : 593~600, 1972
- 33) MUSCHAWECK, R. & P. HAJDÚ : Die salidiuretische Wirksamkeit der Chlor-N-(2-furylmethyl)-5-sulfamyl-anthranilsäure. Arzneimittelforsch. 14 : 44~47, 1964
- 34) SNAHALL, P. D. : Gross oedema in the nephrotic syndrome treated with frusemide in high dosage. Brit. Med. J. 6 : 319~321, 1971
- 35) 足立信一 : 抗生剤の腎毒性に関する研究. 第I部 動物実験. 慈恵医大誌 80 : 332~344, 1965
- 36) 川岸弘賢, 他 : Vistamycin の腎におよぼす影響についての実験的研究. Chemotherapy 20 : 122~129, 1972
- 37) 藤本 守 : 膜の生物物理, 生物物理学講座. 第9巻, 吉岡書店, 1973
- 38) 百瀬俊郎 : 急性腎不全の発生病理. 日泌尿会誌 60 : 823~833, 1969

POTENTIATION OF COCHLEAR AND RENAL DAMAGE RESULTING FROM FUROSEMIDE AND AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS

IWAO OHTANI*, KOHSEI OHTSUKI*, TAKEO OMATA*

JIN OUCHI* and TAKEO SAITO**

Department of Otorhinolaryngology, Fukushima Medical College* and

Department of Pathology, Tohoku Dental University**

The purpose of this study is to make the precise observation of the severe ototoxic interaction following the long-term combined administration of furosemide, one of the new potent diuretics, and aminoglycoside antibiotics (kanamycin, streptomycin and gentamicin), and to make clear the mechanism of the ototoxic interaction using rabbits. In order to confirm the mechanism, the concentration of kanamycin in body fluids (inner ear perilymph, serum and cerebrospinal fluid) after single injection of kanamycin with or without furosemide is studied, and histopathological findings of the kidney with long-term administration of drugs are carried out. The results obtained are as follows.

1. Severe outer hair cell damage has been shown to occur in rabbits following the combined administration of furosemide and aminoglycoside antibiotics (kanamycin and streptomycin). At the doses used no damage of the outer hair cells was detectable with furosemide or aminoglycoside

antibiotics alone.

2. The kanamycin concentration in each of above-mentioned fluids was very high in the group receiving furosemide and kanamycin as much as that in the group receiving kanamycin alone.

3. Histopathological examination of the kidneys showed severe tubular necrosis in rabbits that received both furosemide and aminoglycoside antibiotics compared with rabbits that received furosemide or aminoglycoside antibiotics alone.

4. The mechanism of the ototoxic interaction following combined administration of furosemide and aminoglycoside antibiotics was discussed from the antibiotic concentration in body fluids and from the renal histopathological points of view.

5. Severe damage occurred in not only the inner ears but also kidneys when both furosemide and aminoglycoside antibiotics were administered to rabbits in even small dosage. Therefore, the administration of both drugs may be dangerous in patients.