

ラットにおける T-1220 (Piperacillin) の聴器毒性とその安全性の評価について

— 病理組織学的検索 —

秋 吉 正 豊

東京医科歯科大学難治疾患研究所機能病理学部門

岩 崎 信 一

富山化学工業株式会社総合研究所

(昭和 53 年 3 月 15 日受付)

T-1220 は Aminobenzylpenicillin の誘導体で、広範な抗菌作用を有するが、とくに *Ps. aeruginosa*, *Kleb. pneumoniae* および *Proteus* に対しすぐれた抗菌力を有すると報告されている^{1,2,3)}。

著者らは、さきに、ラットでの周波数別耳介反射試験による、T-1220 の聴器毒性とその安全性の評価について報告した⁴⁾。今回の報告では、上記の周波数別耳介反射試験によって検索を行なった対照群 (生理食塩水注射)、T-1220 投与群および対照薬 Kanamycin(KM) 投与群の実験終了後になった内耳および腎臓、肝臓の病理組織学的所見について述べ、前回行なった周波数別耳介反射試験の結果と内耳の形態学的変化との比較検討を行ない、T-1220 の内耳に対する影響を検討したので、その結果について報告したい。

I. 実験材料および方法

実験動物として、周波数別耳介反射域値正常の 10 週間 Wistar 系ラット (雌、体重約 210g) 45 匹を用いた。各投与群の投与量と匹数は次のようである。

対照群 (生理食塩水)	10 ml/kg/day i. v.	5 匹
T-1220	500 mg/kg/day i. v.	10 匹
T-1220	1,000 mg/kg/day i. v.	10 匹
KM	200 mg/kg/day i. m.	10 匹

KM 400 mg/kg/day i. m. 10 匹
投与期間は 28 日間 (4 週間) で、連日投与した。

ラットの耳介反射測定は、200, 500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000, 6,000, 8,000, 10,000, 12,000, 15,000, 20,000 Hz の各周波数を用い、それぞれの周波数における耳介反射の域値と消失の周波数の拡がり投与開始前、投与 1 週目、2 週目、3 週目および最終投与終了後に行なった。

上記実験終了後、各群の動物をネブタール麻酔下に開胸し、左心室側壁からガラスカニューレを挿入し、大動脈上行部に結紮固定し、右心房には小孔を開けた。約 40cm の落差を利用し、37°C の生理食塩水で血管系を灌流して血液を洗い出し、WITTMAACK 固定液で灌流固定し、両側内耳を含む頭蓋骨を切除して、約 1 週間、同上の固定液で固定した。その後、通法にしたがって脱灰し、セロイジンに包埋した。

各動物のセロイジン包埋側頭骨は水平断面セロイジン連続切片を作成し、5 枚おきにヘマトキシリン・エオジン染色を施し、ラセン器および前庭器の障害を組織学的に検索した。また、腎臓および肝臓については、パラフィン切片にヘマトキシリン・エオジン染色および PAS 染色を施して、その変化を検索した。

Table 1 Hearing impairment and pathologic changes of inner ear in rats treated with physiological saline for 4 weeks, intravenously

Rat No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz—200 Hz)	Damage of cochlea (Basal end—Apex)				Damage of vestibulum	
		Range of OHC-loss	Range of IHC-loss	Loss of sp. ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of HC	Loss of vest. ganglion cells
1	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	S ±	—
4	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—

S : Macula sacculi

Table 2 Hearing impairment and pathologic changes of inner ear in rats treated with T-1200 at 500 mg/kg/day for 4 weeks, intravenously

Rat No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz—200 Hz)			Damage of cochlea (Basal end—Apex)				Damage of vestibulum		
				Range of OHC-loss		Range of IHC-loss		Loss of sp. ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of HC
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

OHC-loss : loss of outer hair cells

IHC-loss : loss of inner hair cells

II. 実験結果

1. 体重変化

対照群, T-1220 500 mg/kg/day, 1,000 mg/kg/day および KM 200 mg/kg/day の各投与群においては, 投与期間中ほぼ順調な体重増加傾向を示した。これに対して, KM 400 mg/kg/day 投与群は, 投与9日目から体重の減少傾向を示し, 12日目に2匹が死亡した (No. 3, No. 6)。しかし, その後, 投与16日目頃から, 急速に体重は増加し始め, 投与終了時には, 他の投与群とほぼ同程度の体重にまで回復した⁴⁾。

2. 内耳の病理組織学的所見

1) 生理食塩水を静脈内投与した対照群

Table 1 に示すように, 周波数別耳介反射試験では, 5匹のうち耳介反射消失をきたしたものは1匹もなかつた。

Table 3 Hearing impairment and pathologic changes of inner ear in rats treated with T-1200 at 1000 mg/kg/day for 4 weeks, intravenously

Rat No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz—200 Hz)			Damage of cochlea (Basal end—Apex)				Damage of vestibulum		
				Range of OHC-loss		Range of IHC-loss		Loss of sp. ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of HC
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

た。

これらの動物の内耳においては, 聴覚系末梢の蝸牛においても, また, 前庭系末梢の前庭器においても, 有毛細胞ならびにこれら有毛細胞に関連したラセン神経節および前庭神経節には, ほとんど障害像が見られなかった。ただ, 1匹の前庭器の球形囊斑において, 散発性に有毛細胞の消失が認められた (No. 3)。蝸牛管の血管条には, ほとんど障害像がみられなかった。

2) T-1220 500 mg/kg/day 静脈内投与群

Table 2 に示すように, 20,000 Hz から 200 Hz までの広範な周波数域で行なった周波数別耳介反射試験では, 耳介反射消失をきたした動物は 10 匹中 1 匹もなかった。

これらの動物の内耳について行なった病理組織学的検

Table 4 Hearing impairment and pathologic changes of inner ear in rats treated with KM at 200 mg/kg/day for 4 weeks, intramuscularly

Rat No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz—200 Hz)	Damage of cochlea (Basal end—Apex)				Damage of vestibulum	
		Range of OHC-loss	Range of IHC-loss	Loss of sp. ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of HC	Loss of vest. ganglion cells
1	—	BE→ 1 A	—	—	—	—	—
2	—	BE→ 1 A	—	—	—	U±, S±	—
3	—	BF	—	—	—	C±, S±	—
4	—	BE→ 1 A	—	—	A±	—	—
5	—	BE→ 1 A	—	—	A±	S+	—
6	—	BE(±)	—	—	—	—	—
7	—	BE-HU	—	—	—	—	—
8	—	BE-HU	—	—	—	—	—
9	—	BE→ 1 A	—	—	—	—	—
10	—	BE-HU	—	—	—	S±	—

BE: Basal end HU: Upper part of hook 1A: Anterior part of 1st turn A: Atrophy C: Cristae ampullaris U: Macula utriculi S: Macula sacculi

索では、蝸牛の外有毛細胞および内有毛細胞においても、また、ラセン神経節細胞においても、さらに、血管条においても、これらの細胞の消失は1匹もみられなかった (Fig.1, 2)。前庭器の三半規管の各膨大部稜および卵形囊ならびに球形囊においても、有毛細胞の障害ならびに消失は、いずれの動物においても認めることができなかった (Fig.3, 4, 5)。前庭神経節にも障害はみられなかった。

3) T-1220 1,000 mg/kg/day 静脈内投与群

Table 3 に示すように、周波数別耳介反射試験では、10匹の動物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。

聴覚系末梢の蝸牛においては、ラセン器の外有毛細胞ならびに内有毛細胞の消失は、基底回転から頂回転までに至る範囲内では、いずれの例にも認められなかった (Fig.6, 7, 8, 9, 10)。また、ラセン神経節細胞および血管条においても、障害をきたしたものは1匹もなかった。前庭系の末梢の前庭器においても、有毛細胞の消失および前庭神経節細胞の消失は、いずれの動物においてもみられなかった (Fig.11, 12)。

4) KM 200 mg/kg/day 筋肉内投与群

Table 4 に示すように、10匹のうち耳介反射消失をきたしたものは1匹もみられなかった。

しかしながら、これらの動物の聴覚系末梢の蝸牛では、外有毛細胞の消失が全例にみられた。外有毛細胞消失の障害は1回転下端部から1回転の前1/4部位くらいまでは拡大している場合が5匹 (50%) みられ (Fig.13, 14)、1回転の1/4の部位からやや下方のhookの上部まで外有毛細胞の消失が拡大したものが3匹 (30%) あ

った。残りの2匹では、外有毛細胞の消失は1回転下端に限局してみられた。しかしながら、これらの動物のラセン器においては、内有毛細胞の欠損は1匹もなかった。ラセン神経節には障害はみられなかったが、血管条においては2匹で2回転以上に部分的萎縮がみられた。前庭系末梢の前庭器においては卵形囊斑および球形囊斑に、軽度の散発性の有毛細胞消失が2匹にみられ、他の2匹では球形囊斑に軽度の散発性有毛細胞消失がみられた。前庭神経節においては障害はみられなかった。

5) KM 400 mg/kg/day 筋肉内投与群

Table 5 に示すように、10匹中2匹は実験終了を待たないで死亡した。

残った8匹のうち耳介反射消失をきたしたものが4匹あった。これらの動物のうち3匹は20,000 Hz から2,000 Hz または200 Hz にわたる広範な周波数域の耳介反射消失をきたしていた (No.1, No.2, No.5)。残りの1匹では、耳介反射消失は20,000 Hz から15,000 Hz の高周波域に限局していた。

これらのうち、20,000 Hz から2,000 Hz までの耳介反射の消失を示した動物 (No.1) の蝸牛では、1回転下端部から頂回転にいたる広範な外有毛細胞の消失とともに、1回転の下端部3/4からの部位にいたる内有毛細胞の消失を同時におこしていた。しかしながら、ラセン神経節とその末梢部の神経線維には障害像はみられなかった。血管条においては、上方回転に辺縁細胞の消失による中等度の萎縮がみられた。この動物では、さらに、前庭器においても、半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑に有毛細胞の軽度の散発性消失をきたしていた。しかし、前庭神経節には障害はみられなかった。次に、

Table 5 Hearing impairment and pathologic changes of inner ear in rats treated with KM at 400 mg/kg/day for 4 weeks, intramuscularly

Rat No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz—200 Hz)		Damage of cochlea (Basal end—Apex)					Damage of vestibulum	
	BE	AP	Range of OHC-loss	Range of IHC-loss	Loss of sp. ganglion cells	Loss of stria vas.	Loss of HC	Loss of vest. ganglion cells	
1	20K	2K	BE → AP	BE → 1P	—	A++	C+, U±, S+	—	
2	20K	200	BE → AP	BE → AP	—	A++ (hem)	C±, S+	—	
3*	—	—	—	—	—	—	—	—	
4	—	—	BE → AP	BE-HU	—	A+	C±, U±, S±	—	
5	20K	200	BE → AP	BE → AP	—	A++	C+, U±, S+	—	
6*	—	—	—	—	—	—	—	—	
7	20,15K	—	L: BE → AP R: BE → 2P	L: BE → AP R: BE → 1A	—	A++	C±, U±, S±	—	
8	—	—	L: BE → 2P R: BE → 2A	L: BE → 2A R: —	—	A++	C±, U±, S±	—	
9	—	—	BE → 1P	—	—	A+	S±	—	
10	—	—	BE → 2P	BE(±)	—	A+	—	—	

*: Death L: Left cochlea R: Right cochlea BE: Basal end HU: Upper part of hook 1A: Anterior part of 1st turn 1P: Posterior part of 1st turn 2A: Anterior part of 2nd turn 2P: Posterior part of 2nd turn AP: Apex A: Atrophy SV: Scala vestibuli hem: Hemorrhage C: Cristae ampullaris U: Macula utriculi S: Macula sacculi

20,000 Hz から 200 Hz までの広範な周波数域に耳介反射消失をおこした動物(No. 2, No. 5)では、動物の蝸牛の外有毛細胞の消失は、1回転下端部から頂回転までおよんでおり、さらに、同じく1回転下端から頂回転にわたる内有毛細胞の消失を伴っていた (Fig. 15, 16, 17, 18)。ラセン神経節および末梢の神経線維には、著しい障害はみられなかった。上方回転の血管条においては、辺縁細胞の消失による中等度の萎縮をきたしており、前庭階の一部は出血をおこしているものもあった。さらに、前庭器においては、半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑に有毛細胞の軽い散発性消失をおこしていた。しかし、前庭神経節には障害像はみられなかった。20,000 Hz と 15,000 Hz の耳介反射消失をきたしていた動物 (No. 7) の蝸牛においては、左耳では1回転下端から頂回転にいたる外有毛細胞と内有毛細胞の広範な消失をきたしていたが、右耳では外有毛細胞の消失は1回転下端から2回転の3/4にわたっており、内有毛細胞の消失は1回転下端部から1回転の1/4にとどまっていた (Fig. 19, 20, 21)。前庭神経節にはとくに変化はみられなかったが、血管条には上方回転において中等度の萎縮がみられた。前庭器では、三半規管膨大部稜、卵形囊斑、球形囊斑などにおいて、有毛細胞の軽い散発性消失をおこしていた。前庭神経節においては変化はみられなかった。耳介反射で消失の認められなかった残りの4匹の蝸牛では、外有毛細胞の消失は広範であって、No. 4においては、1回転下端から頂回転におよんでいたが、

内有毛細胞の消失は小範囲で、1回転下端から hook の上部にとどまっていた。また、No. 8 においては、外有毛細胞の消失はかなり広範であって、左耳では1回転下端から2回転の3/4にわたっており、さらに、1回転下端から2回転の1/4におよぶ内有毛細胞の消失を伴っていた。しかしながら、右耳では外有毛細胞の消失は1回転下端から2回転の1/4まで認められたが、内有毛細胞の消失を伴っていなかった。耳介反射消失を示していなかった残りの No. 9 および No. 10 においても、外有毛細胞の消失は1回転下端から1回転の3/4まで、あるいは2回転の3/4まで認められたが、内有毛細胞の消失はないか (Fig. 22, 23, 24, 25)、あるいは下端部に局限して片耳性にみられていた。これらの4匹の動物には、ラセン神経節の病変はなかった。しかし、血管条には軽度あるいは中等度の萎縮がみられ、さらに、前庭器では No. 4 および No. 8 に半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑の有毛細胞の軽い散発性消失を伴っていた。No. 9 においては、有毛細胞の散発性消失は球形囊にとどまっていた。前庭神経節にはとくに異常は認められなかった。

3. 腎臓および肝臓の病理組織学的所見

1) 生理食塩水を静脈内投与した対照群

Table 6 に示すように、腎臓においては近位尿細管上皮について、細胞の萎縮、変性(空胞)、壊死、再生について、また、糸球体においては、細胞の増生、消失(メザンギウム)などについて、また、間質においては

Table 9 Pathologic changes of kidney and liver in rats treated with KM at 200 mg/kg/day for 4 weeks, intramuscularly

Rat No.	Kidney								Liver
	Tubular epithelium				Glome- rulus	Interstitialium		Cast in tubule	Cell infiltration
	Atr.	Deg.	Nec.	Reg.		Cell infiltr.	Fibrosis		
1	—	—	—	+	—	+	+	—	—
2	+	—	—	+	—	+	+	±	—
3	—	—	—	+	—	—	—	±	—
4	+	—	—	+	—	—	—	—	—
5	+	—	—	+	—	—	—	±	—
6	—	—	—	+	—	+	—	±	—
7	—	—	—	+	—	—	±	±	—
8	+	—	—	+	—	—	—	—	—
9	—	—	—	+	—	+	±	—	—
10	—	—	—	+	—	—	±	±	—

Table 10 Pathologic changes of kidney and liver in rats treated with KM at 400 mg/kg/day for 4 weeks, intramuscularly

Rat No.	Kidney								Liver
	Tubular epithelium				Glome- rulus	Interstitialium		Cast in tubule	Cell infiltration
	Atr.	Deg.	Nec.	Reg.		Cell infiltr.	Fibrosis		
1	+	+	—	++	A+	++	+++	++	+
2	++	—	—	+	—	—	+	+	—
3*									
4	++	—	—	+	—	+	+	+	—
5	+	—	—	++	A+	++	++	+	—
6*									
7	+	—	—	+	—	+	+	+	—
8	+	—	—	+	—	+	+	—	—
9	+	—	—	+	—	+	+	±	—
10	+	—	—	+	—	+	+	±	+

* : Death A : Atrophy

近位尿細管の付近における細胞浸潤および線維増生などについて、さらに、尿細管腔における円柱などの諸点について、ヘマトキシリン・エオジン染色、PAS染色を施した切片について観察を行なった。対照動物においては、腎臓には、とくに明らかな病変はみられなかった。

肝臓においては、肝細胞の壊死、限局性細胞浸潤、肝小葉の構築像の変化などについて検索を行なった。対照動物においては、1匹に軽い限局性の細胞浸潤を示すものがあつた。

2) T-1220 500 mg/kg/day 静脈内投与群

Table 7 に示すように、腎臓においては尿細管上皮にも、糸球体にも、間質にも明らかな変化はみられなかった。肝臓においては、1匹に軽度の限局性細胞浸潤がみ

られた他は、著しい変化は認められなかった。

3) T-1220 1,000 mg/kg/day 静脈内投与群

Table 8 に示すように、腎臓においては、前群に比べると同様に、尿細管においても、糸球体においても、間質においても病変は認められなかったが、ただ1匹においてきわめて少量の硝子様円柱が認められた。肝臓においては、明らかな変化はみられなかった。

4) KM 200 mg/kg/day 筋肉内投与群

Table 9 に示すように、腎臓において近位尿細管上皮の一部に、尿細管上皮細胞または管腔の萎縮が4匹にみられた。しかし、上皮細胞の変性、壊死は明らかでなかった。さらに、上皮細胞に軽度ではあるが、不規則な再生像が全例に認められた。糸球体には、とくに異常はみ

Fig.1 Both outer hair cells (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ are present in the basal end of the first turn of the cochlea.

T-1220 500 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
Tangential section of the spiral organ.
X 400

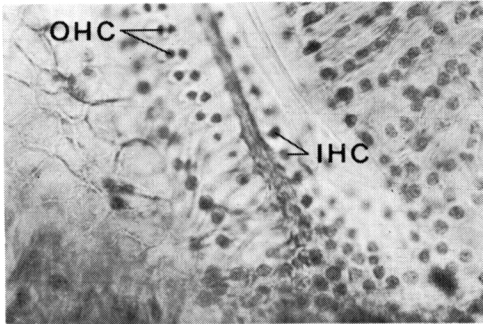


Fig.2 There is no missing of outer (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ in the apical turn of the cochlea.

T-1220 500 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 200

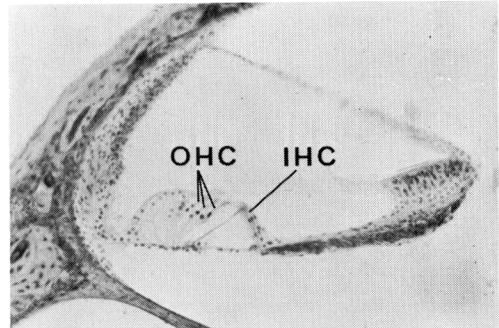


Fig.3 No missing of the hair cells (HC) of the crista ampullaris of the lateral semicircular canal.

T-1220 500 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 200

C: cupula

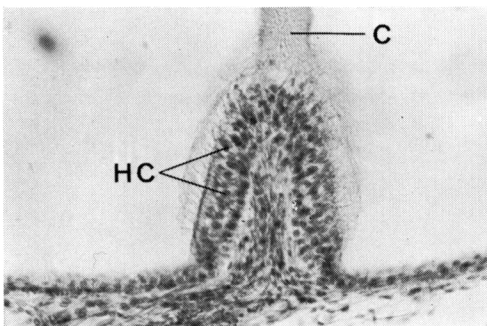


Fig.4 No missing of the hair cells (HC) of the macula utriculi.

T-1220 500 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 200

OC: otoconia

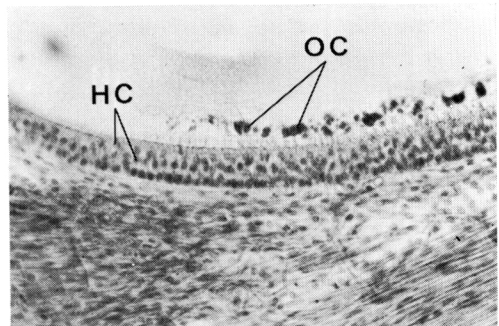


Fig.5 No missing of the hair cells (HC) of the macula sacculi.

T-1220 500 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 200

OM: otoconic membrane

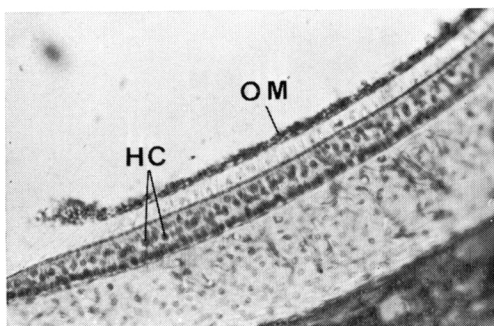


Fig.6 Both outer hair cells (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ are present in the basal end of the first turn of the cochlea.

T-1220 1,000 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
Tangential section of the spiral organ.
X 200

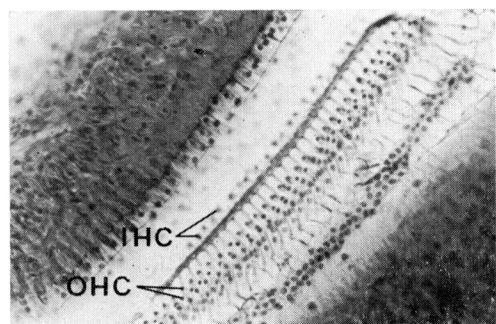


Fig.7 No missing of the outer (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ in 3/4 of the first turn.

T-1220 1,000 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 100

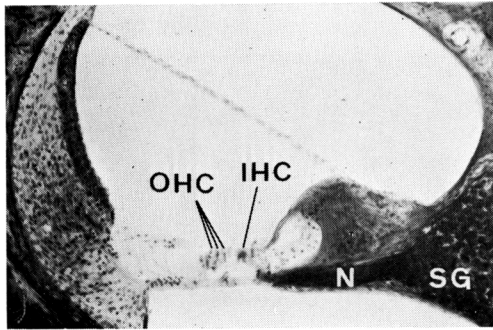


Fig.8 No missing of the outer (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ in 1/4 of the second turn.

T-1220 1,000 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 100

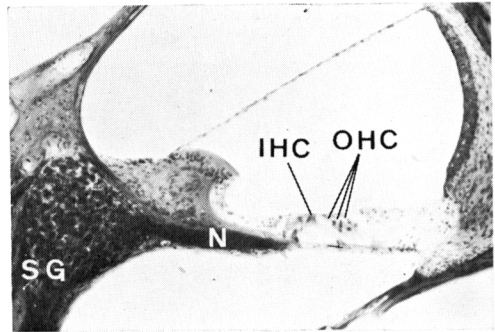


Fig.9 No missing of the outer (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ in 3/4 of the second turn.

T-1220 1,000 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 100

N: peripheral nerve fiber in the osseous spiral lamina
SG: spiral ganglia

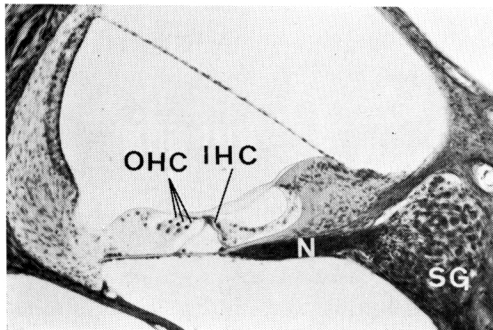


Fig.10 No missing of the outer (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ in the apical turn.

T-1220 1,000 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 100

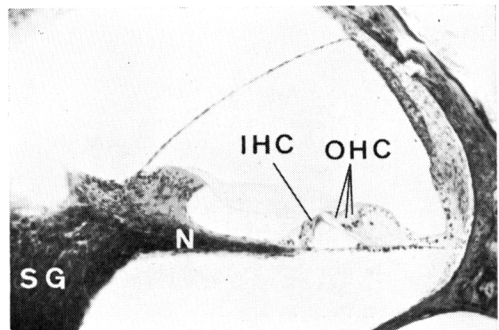


Fig.11 No missing of the hair cells (HC) in the crista ampullaris of the lateral semicircular canal.

T-1220 1,000 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 100

C: cupula

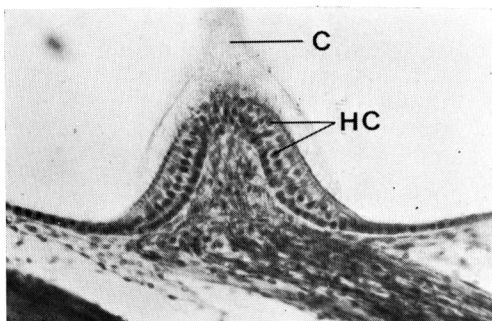


Fig.12 No missing of the hair cells (HC) in the macula sacculi.

T-1220 1,000 mg/kg/day for 4 weeks, i.v.
X 100

OM: otoconic membrane
SC: supporting cells

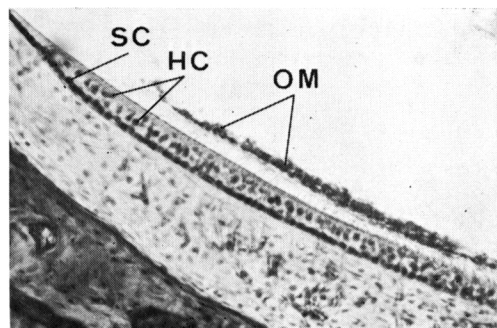


Fig.13 Missing of the outer hair cells
(arrow) is seen in the basal end of the
first turn. The inner hair cells (IHC)
are present.
KM 200 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
Tangential section of the spiral organ.
X 400

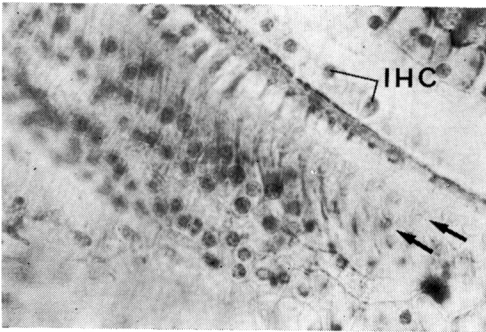


Fig.14 Missing of the outer hair cells
(arrow) extends from the basal end to the
1/4 of the first turn. The inner hair
cells (IHC) are present.
KM 200 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
X 100

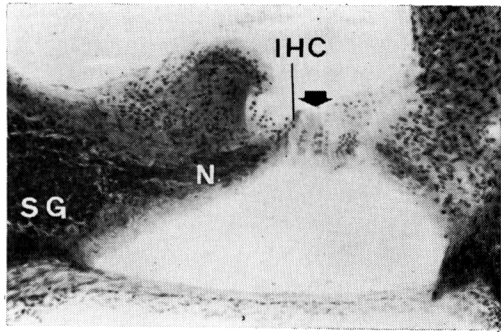


Fig.15 Missing of the outer and inner hair
cells (arrow) spreads to 1/4 of the first
turn. There is no missing of the spiral
ganglion cells.
KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.2 - Pinna reflex loss in wide frequen-
cy range.) X 100
SC: supporting cells

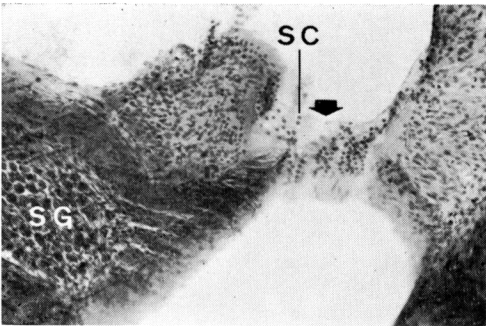


Fig.16 Missing of the outer (thick arrow)
and inner hair cells (thin arrow) of the
spiral organ in 3/4 of the first turn.
No atrophy in the peripheral nerve fibers
in the osseous spiral lamina and the spi-
ral ganglion.
KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.2) X 100

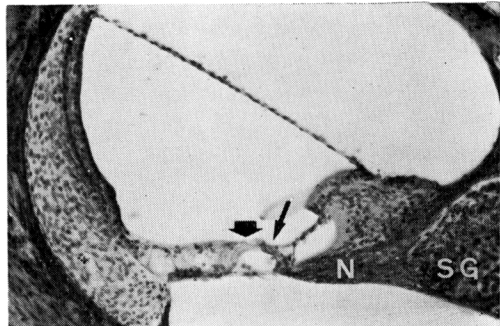


Fig.17 Missing of the spiral organ (arrow) in 1/4 of the second turn. No atrophy of the peripheral nerve fibers in the osseous spiral lamina and the spiral ganglion.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.2) X 100

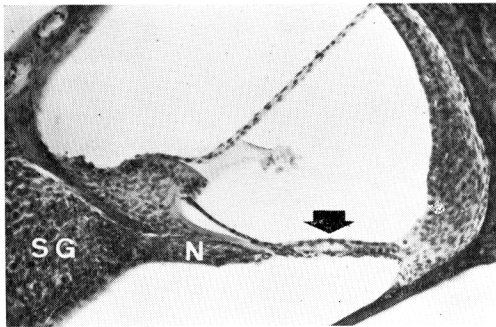


Fig.18 Missing of the outer (thick arrow) and inner hair cells (thin arrow) extends to the apical turn. Spiral organ is collapsed.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.2) X 100

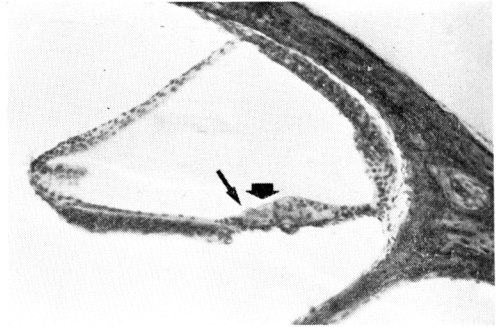


Fig.19 Missing of the outer (thick arrow) and inner hair cells (thin arrow) in the basal end of the first turn.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.7 - Pinna reflex loss in narrow-range from 20000 Hz to 15000 Hz)
Tangential section of the spiral organ.
X 400

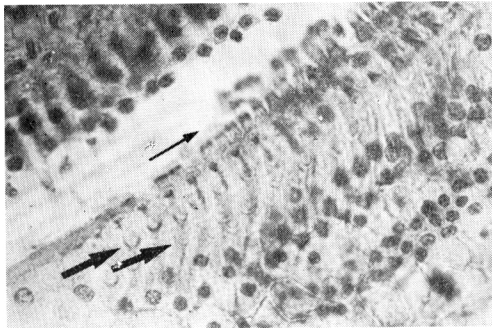


Fig.20 Missing of the outer hair cells (arrow) in 1/4 of the second turn. Inner hair cells (IHC) are present. No atrophy of the peripheral nerve fiber and spiral ganglion.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.7) X 100

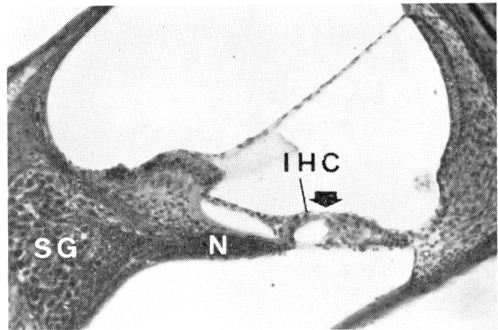


Fig.21 Missing of the outer hair cells (arrow) in 3/4 of the second turn. Inner hair cells (IHC) are present.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.7) X 100

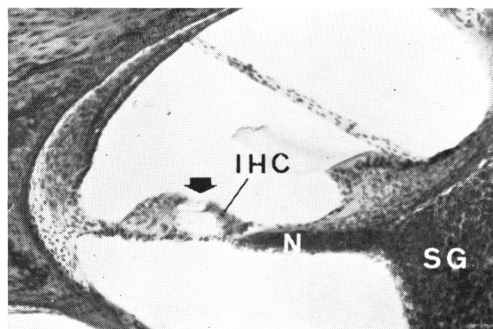


Fig.22 Bilateral missing of the outer hair cells (arrow) in 1/4 of the first turn. The inner hair cells (IHC) are present. No atrophy of the spiral ganglion.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.9 - Positive pinna reflex in entire frequencies treated.) right cochlea
X 100

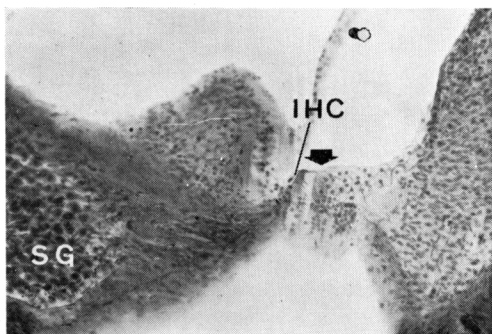


Fig.23 Bilateral missing of the outer hair cells (arrow) in 3/4 of the first turn. The inner hair cells (IHC) are present. No atrophy of the peripheral nerve fiber and spiral ganglion.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.9) right cochlea X 100

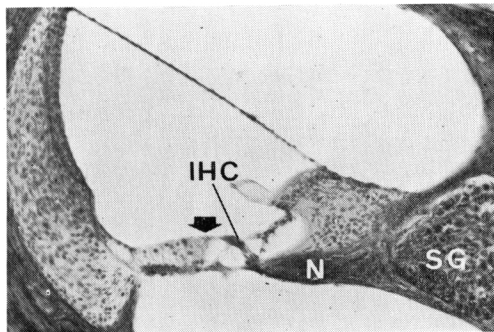


Fig.24 Bilateral missing of the outer hair cells (arrow) in 1/4 of the first turn. The inner hair cells (IHC) are present. No atrophy of the spiral ganglion.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.9) left cochlea X 100

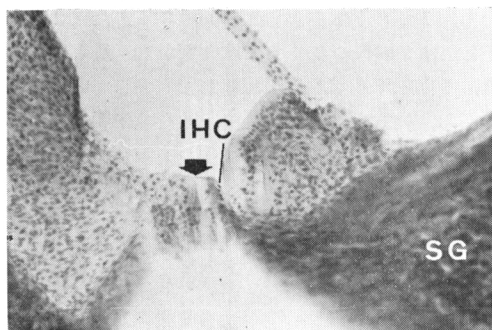
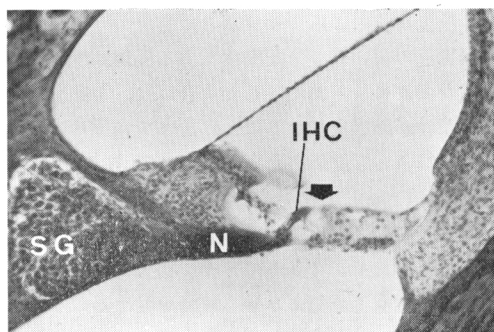


Fig.25 Bilateral missing of the outer hair cells (arrow) in 3/4 of the first turn. The inner hair cells (IHC) are present. No atrophy of the peripheral nerve fiber and spiral ganglion.

KM 400 mg/kg/day for 4 weeks, i.m.
(No.9) left cochlea X 100



られなかった。間質においては、きわめて軽度のまたは軽度の細胞浸潤または線維増生をきたしたものが6匹にみられた。尿細管内には、少量の硝子様円柱を入れているものが6匹にみられた。肝臓には、明らかな病変はみられなかった。

5) KM 400 mg/kg/day 筋肉内投与群

Table 10 に示すように、腎臓においては、近位尿細管上皮あるいは尿細管の萎縮が全例にみられ、そのうち2匹は中等度、残りの6匹は軽度であった。上皮細胞の変性は1匹を除いて明らかでなかった。明らかな壊死像は認められなかった。しかしながら、近位尿細管上皮には全例に上皮細胞の不規則な再生像がみられ、うち2匹はやや広範な広がりを示し、残りの6匹は小範囲の広がりを示していた。糸球体は、尿細管の再生が中等度の2匹では、一部に糸球体の萎縮がみられ、糸球体の縮小をきたしていた。尿細管に中等度の再生像を示していた2匹 (No. 1, No. 5) においては、近位尿細管周囲の間質の変化はやや広範な広がりを示しており、残りの6匹は比較的小範囲の広がりをきたしていた。尿細管内には、1匹を除き、すなわち、8匹中7匹に硝子様円柱の存在を認めた。そのうち1匹は比較的多数の円柱を入れており、他の4匹は少数、残りの2匹はきわめて少数の円柱を入れていた。肝臓においては、2匹に軽度の限局性細胞浸潤がみられた他は、著しい変化は認められなかった。

III. 考 案

1. 抗生物質によるラセン器の障害

聴器毒性の弱いアミノ配糖体である硫酸streptomycin (SM) をモルモットに投与した場合には、1回転の外有毛細胞だけが障害を受けることは、すでに Ruedi *et al.* (1952)⁹⁾ によって認められていたのであるが、ENGSTRÖM ら (1965, 1967)^{6,7,8)} はラセン器の剥離標本による観察法を用いて、KM, neomycin (NM), framycetin などを投与したモルモットのラセン器では、1回転の外有毛細胞が内毛細胞より早く障害を受けること、1回転の下端では、外有毛細胞列の最内列の外有毛細胞が早く障害を受け、障害が拡大する場合には、しだいに最外列の外有毛細胞へと障害が拡大し、さらに、1回転下端から上方の回転へ外有毛細胞の消失が拡大する傾向を示すこと、頂回転および4回転では、しばしば内毛細胞が外有毛細胞より早く障害を受けることがあること、さらに、有毛細胞に関係を持つ神経線維の萎縮および消失は有毛細胞が消失した後におこることなどを明らかにしている。その後、秋吉ら (1971)⁹⁾ は aminodeoxykanamycin, aminosidine, dihydrostreptomycin, gentamicin, lividomycin, KM および ribostamycin などのアミノ

配糖体抗生物質および capreomycin, enramycin, enviomycin, viomycin などのポリペプチド抗生物質などをそれぞれ投与したモルモットの内耳の連続切片で行なった組織学的検索の結果から、ラセン器に有毛細胞の消失をきたした動物では (87 匹)、外有毛細胞の消失は100%にみられること、外有毛細胞の消失はほとんど常に1回転下端部から始まり、そこから上方の回転へ向かって拡大する一般的傾向を示すこと、内毛細胞の消失は、4回転以上では、外有毛細胞の消失に先行することがあるが、そのような場合でも、常に、下方回転 (1回転) における外有毛細胞の消失を伴っていることを明らかにしている。一方、ラットにおいては KM 200 mg/kg/day を28日間投与した場合に、蝸牛の1回転下端部の外有毛細胞の消失は87% (8匹中)、1回転下端からやや上方の1回転の1/4まで外有毛細胞の消失をきたしたものは62%、外有毛細胞の消失が1回転の3/4以上まで広範な拡大をきたしたものは38%であった (秋吉ら, (1975)¹⁰⁾。

今回の実験においては、KM 200 mg/kg/day を4週間投与したラットでの外有毛細胞の消失は、1回転下端部で100%、さらに上方の hook 上部で80%、1回転下端から1回転の1/4まで拡大したものの50%であって、内毛細胞の消失は見られなかった。一方、400 mg/kg/day 投与した10匹のうち実験終了時まで生存した8匹においては、外有毛細胞の消失は、常に、1回転下端部から上方回転に向かって拡大する傾向を示していた。すなわち、1回転下端部から1回転の3/4または2回転の1/4または2回転の3/4まで拡大を示し、最も広範の場合には、1回転下端部から頂回転まで消失していた。しかしながら、内毛細胞の消失は、外有毛細胞の消失に比べると不規則であって、かならずしも平行関係を示していなかった。すなわち、これらの結果から、ラットにおいても聴覚に障害を与える抗生物質は、まずラセン器の1回転下端部に外有毛細胞の消失をきたし、さらに、外有毛細胞の消失は上方回転に向かって拡大する傾向のあることがわかる。T-1220 500 mg/kg/day ならびに1,000 mg/kg/day を投与した動物においては、蝸牛の1回転から頂回転にいたるまで、ラセン器の外有毛細胞および内毛細胞、さらに、ラセン神経節にも明らかな消失像を認めることができなかった。

また、前庭器においても、しばしば有毛細胞の消失がおこり、組織学的にも観察することができるが、今回の実験では、前庭器には KM 200 mg/kg/day 4週間投与の場合に、有毛細胞の極めて軽度の散発性消失が4匹に認められたにすぎなかった。このような有毛細胞の消失は、KM 400 mg/kg/day 投与の場合には、全例に認め

られた。しかし、T-1220 500 mg/kg/day, 1,000 mg/kg/day の各投与群においては、前庭器にも有毛細胞の消失は認められなかった。

このような内耳の組織学的検索の結果からみて、T-1220 には蝸牛のラセン器の有毛細胞および前庭器の有毛細胞に対する聴器毒性はほとんどないと考えられる。

2. ラセン器の有毛細胞の障害と耳介反射消失との関係

これまで、秋吉らが行ってきたモルモットについての聴器毒性薬剤、とくに、アミノ配糖体の短期(4週間)投与実験では、蝸牛ラセン器の外有毛細胞の消失は、対応する周波数域における耳介反射の消失を伴うことが明らかにされていた。前回、我々は、ラットで行なった周波数別耳介反射試験の結果から、生理食塩水投与群、T-1220 500 mg/kg/day, 1,000 mg/kg/day 投与群および KM 200 mg/kg/day 投与群においては、耳介反射の消失を認めなかった。また、KM 400 mg/kg/day 投与群においても、耳介反射消失を認めたものは、8匹中4匹にすぎなかった。しかしながら、これらの動物のラセン器におこる外有毛細胞および内有毛細胞の消失を観察すると、今回の検索においては、外有毛細胞だけが消失している動物では、消失範囲が広範な場合であっても、すなわち、1回転後半におよぶ場合であっても、耳介反射消失は認めることができなかった。一方、耳介反射消失をきたした動物のラセン器では、外有毛細胞の消失とともに、内有毛細胞の消失を示しており、内有毛細胞の消失範囲は、耳介反射消失範囲と比較的良く対応していた。これらの所見から、ラットにおいては外有毛細胞だけの消失では、耳介反射消失を認めることができないことが明らかになった。このことは、耳介反射消失によって内耳の障害を比較的良く察知し得たモルモットとは、かなり異なる点であって、ラットの耳介反射試験においては、充分注意を要すると考えられる。興味あることは、モルモットでは内有毛細胞が存在している場合でも、消失している場合でも、外有毛細胞がない場合には常に耳介反射は消失をきたしていたのであるが、ラットでは外有毛細胞と内有毛細胞の消失している場合に限りて耳介反射の消失をきたしていることがある。このことは、1つには、内有毛細胞の耳介反射に対する影響がモルモットとラットでは異なり、モルモットでは耳介反射に対する内有毛細胞の影響はラットにおけるほど強くない可能性が考えられる。この点については、今後の検索が必要である。

なお、前庭器の有毛細胞の消失に際しては、消失範囲が広範な場合には、機能障害として眼振などをとらえることができるが、障害の小範囲の場合には前庭機能障害

をとらえることは困難である(小川)¹¹⁾。今回は、特別の機能検査を行なわなかったが、KMによる前庭障害は軽度であったので、機能障害としてとらえることは困難であったと考えられる。

3. 内耳障害と腎障害および肝障害との関係

今回の実験では、KM 200 mg/kg/day を投与した動物のラセン器において、全例に1回転下端部および1回転下端からやや上方の hook 上部または1回転の1/4にわたる高音部の感受部位に相当する範囲の外有毛細胞だけの消失をきたしていた。これらの動物の腎臓では、近位尿管管に上皮細胞の再生像が全例に認められていた。しかしながら、尿管管上皮の変性および壊死は明らかでなかった。また、間質には軽度の細胞浸潤、線維の増生が散発的に認められた。さらに、硝子様円柱が少量ながら6匹に認められた。これらの腎臓およびラセン器における障害は、KMの聴器毒性および腎毒性によるものと思われる。有毛細胞の障害は、前庭器においては、ラセン器におけるよりも軽度であり、頻度も少なかったが、これは、聴覚系に対する毒性が前庭に対する毒性よりも強いことを示すものであろう。肝臓においては、明らかな障害像を認めることができなかった。

KM 400 mg/kg/day 筋注群では、近位尿管管の間質においては、細胞浸潤および線維化細胞の増生なども増強かつ広範な広がりを示す場合が認められた。また、円柱も増加しており、出現頻度も増していた。腎臓のこのような障害と聴器障害との間には、比較的密接な関係があるように思われた。前庭器における有毛細胞の消失も、ラセン器の障害に比較すれば軽度であったが、出現頻度は増していた。肝臓においては小さな円形細胞浸潤巣が2匹に認められた他は、明らかな壊死巣は認められなかった。

これらの結果から、KMは内耳に対しては、ラセン器と前庭器に毒性を持っているが、聴器毒性は前庭器に対しては弱いことがわかる。一方、腎臓に対しても毒性をもち、肝臓に対しては、今回の実験では毒性が弱いように思われる。そして、これらの聴器毒性と腎毒性は投与量の増加によって増強を示し、とくに、ラセン器および腎の尿管管に対しては障害の増強が認められた。

しかしながら、T-1220 500 mg/kg/day, 1,000 mg/kg/day の各投与群においては、腎臓および肝臓においても、明らかな障害は認められなかった。これは、高井ら¹²⁾の行なったラットにおける1カ月間静注の亜急性毒性試験の結果とも一致していた。したがって、T-1220は聴器すなわちラセン器および前庭器に対しても、また、腎臓および肝臓に対しても、毒性はほとんどないかあるいは極めて弱いものと考えられる。

IV. 要 約

10 週令 Wistar 系ラット 45 匹を用い、T-1220 500 mg/kg/day, 1,000 mg/kg/day と KM 200 mg/kg/day, 400 mg/kg/day および生理食塩水を 4 週間連続投与し、それらの動物の両側聴器および腎臓ならびに肝臓をセロイジン連続切片またはパラフィン切片で病理組織学的に検索し、次のような結論を得た。

1. KM 200 mg/kg/day 投与群では、全例に蝸牛 1 回転下端の外有毛細胞の消失が認められ、一部は 1 回転の 1/4 まで拡大をきたしていた。しかし、内毛細胞の消失はみられなかった。

2. KM 400 mg/kg/day 投与群においては、ラセン器の外有毛細胞の消失は広範にみられ、1 回転下端から頂回転にいたる消失は 50%、1 回転下端から 2 回転以上におよぶものは 37.5% にみられた。内毛細胞の消失は 87.5% で、消失範囲は 1 回転下端から頂回転にいたるもの 25% (2 匹) であった。

3. T-1220 では、500 mg/kg/day, 1,000 mg/kg/day の各投与群において、聴器ならびに前庭器の有毛細胞の消失は 1 匹もみられなかった。

4. 腎臓の障害については、KM 投与群では、100% に認められたが、T-1220 投与群では、1 匹に極めて少量の硝子様円柱が管腔に認められたにすぎなかった。

肝臓に対する障害はほとんど認められなかった。

5. すなわち、T-1220 の聴器毒性および腎毒性ならびに肝毒性はほとんど認められなかった。したがって、T-1220 の聴器および腎ならびに肝に対する安全性は大きいと考えられる。

謝 辞

稿を終るにあたり、実験中終始御協力を頂いた東京医科歯科大学難治疾患研究所機能病理学部門 田島たよ子、今沢孝喜、林 吉枝、今沢ゆき江の各氏に心から感謝の意を表します。

文 献

1) 植尾健次, 田井 賢, 林 敏雄, 福岡義和, 三橋進: T-1220 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について。Chemotherapy 25 (5) : 700~709,

1977

- 2) 西野武志, 大槻雅子, 渡辺泰雄, 戸田正人, 中沢昭三: T-1220 に関する細菌学的研究。Chemotherapy 25(5) : 731~746, 1977
- 3) 才川 勇, 保田 隆, 滝 秀雄, 渡辺泰雄, 加須屋興子, 安川久美子, 金川心子: T-1220 の細菌学的評価。Chemotherapy 25 (5) : 789~796, 1977
- 4) 秋吉正豊, 岩崎信一: ラットにおける T-1220 (Piperacillin) の聴器毒性とその安全性の評価について。Chemotherapy 25 (10) : 3006~3013, 1977
- 5) RUEDI, L. : W. FURRER, F. LUTHY, G. NAGER & B. TSCHIRREN : Further observations concerning the toxic effects of streptomycin and quinine on the auditory organ of guinea pigs. Laryngoscope 62(4) : 333~357, 1952
- 6) ENGSTRÖM, H. & A. KOHNONEN : Cochlear damage from ototoxic antibiotics. Acta oto-laryng. 59 : 171~178, 1965
- 7) KOHNONEN, A. : Effect of some ototoxic drugs upon the pattern and innervation of cochlear sensory cells in the guinea pigs. Acta oto-laryng. Suppl. 208 : 1~70, 1965
- 8) ENGSTRÖM, H. : The pathological sensory cell in the cochlea. Acta oto-laryng. 63(Appendix) : 20~26, 1967
- 9) 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
- 10) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 庄司 侃, 中田穂出美, 田島たよ子: 聴器毒性抗生物質による動物の聴器障害の再現性に影響を与える因子について。昭和49年度厚生省特別研究「医薬品の視聴覚神経系に及ぼす影響に関する研究」報告書: 179~182, 1975
- 11) 小川 明: 耳毒性抗生物質による内耳障害に関する機能的および組織化学的研究。Audiology Japan 18 : 1~19, 1975
- 12) 高井 明, 米田豊昭, 正谷博之, 柴田哲夫, 河村泰仁, 佐藤 盛, 中田弘子, 稲場淳子: T-1220 の毒性試験 (第 3 報) ラット静脈内投与における亜急性毒性試験。Chemotherapy 25 (5) : 857~868, 1977

EVALUATION OF OTOTOXICITY AND SAFETY OF T-1220 (PIPERACILLIN) IN RATS

MASATOYO AKIYOSHI

Department of Pathology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University

SHINICHI IWASAKI

Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

In the previous study (AKIYOSHI and IWASAKI), ototoxicity of T-1220 was evaluated by the differential frequency pinna reflex test in wide-frequency range in rats and compared with that of kanamycin (KM). Afterwards, histopathological examination of the inner ear was performed in the same rats as in the previous study.

Forty-five rats (10 weeks old) of Wistar strain were used. T-1220 was given i. v. to each group (10 rats) at dose level of 500 mg/kg/day and 1,000 mg/kg/day, respectively for 4 weeks. KM was administered i. m. to each group (10 rats) at dose level of 200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day, respectively for 4 weeks. Physiological saline was given i. v. to five rats for 4 weeks. These rats underwent the differential frequency pinna reflex test during the administration. After the end of the administration, the animals were subjected to intravital perfusion of physiological saline (37°C) followed by perfusion of fixative (modified WITTMAACK's fixative) under anesthesia with nembutal. The tissue blocks including the both-sided temporal bones were processed according to conventional procedure for decalcification and celloidin embedding. Mid-modiolar serial celloidin sections were stained with hematoxylin-eosin. At the same time, kidney and liver in these rats were also examined histopathologically to compare the damages of these organs with those of the inner ears.

In summary ; 1) In rats treated with KM at dose of 200 mg/kg/day, histopathologically the loss of outer hair cells confined to the basal end of the first turn of cochlea was found in all of the rats, but the inner hair cells were present in entire range of the spiral organ. In the vestibular organs, scattered loss of hair cells was in 4 out of 10 rats.

2) In rats treated with KM at dose of 400 mg/kg/day, histologically the loss of outer hair cells extended from the basal end to the apical end in 50% (4 out of 8 rats) and from the basal end to the area over the second turn in 37.5% (3 rats). The loss of inner hair cells was seen in 87.5% (7 rats). Two of them showed extensive loss of inner hair cells in total range of the cochlear turn.

3) In rats given T-1220 at dose of 500 mg/kg/day and 1,000 mg/kg/day, respectively, neither the loss of outer and inner hair cells in the spiral organ, nor the loss of hair cells in the vestibular organ occurred in any of rats treated.

4) The toxic damages of the kidney, such as atrophy and irregular regeneration of tubular epithelium in the proximal tubules associated with round cell infiltration and proliferation of fibroblasts in the interstitium of cortex and hyaline cast were seen in 100% of the rats treated with KM at dose of 200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day, respectively.

5) The slight toxic damage of the kidney (a small number of hyaline casts) was seen only in one of the 10 rats treated with T-1220 at dose of 1,000 mg/kg/day, but not found in any of the 10 rats treated with T-1220 at dose of 500 mg/kg/day.

6) In the liver, there was almost no toxic damage in any of the rats treated with KM and T-1220, respectively.

7) These data suggest that T-1220 does not have ototoxicity to the spiral and vestibular organs in intravenous administration.