

ラットにおけるセフォキシチンの聴器に対する影響

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

梶 村 哲 世

第一製薬株式会社研究所

(昭和 53 年 5 月 20 日受付)

Cefoxitin は 1972 年、米国 Merck Sharp & Dohme Research Laboratories で開発された β -ラクタム環の 7 位にメトキシ基をもつ Cephamycin 系抗生物質で、 β -ラクタマーゼの作用を受けにくく、しかも強い抗菌力と広い抗菌スペクトラムを持っている^{1,2)}。

本剤の副作用に関しては、これまでの欧米諸国における 2,000 例に及ぶ広範な臨床研究の結果および、わが国において行なわれた約 400 例についての内科、外科、泌尿器科および産婦人科の領域における臨床研究の結果でも、アミノ配糖体抗生物質にみられるような難聴や目まいなどの聴器障害および腎障害は、ほとんど認められていない。わが国の上述の臨床研究では、投与中、耳鳴を来した症例がわずかに 1 例報告されているにすぎない。したがって、本剤の聴器毒性については、臨床的にはほとんど問題がないといつてよい。

今回、我々は Cefoxitin が聴器に対して、どのような影響を与えうるものであるかを明らかにする目的で、すでにアミノ配糖体抗生物質の聴器毒性の評価法として用いられてきた 20 KHz から 1 KHz にいたる周波数別耳介反射試験と実験終了後の聴器の連続切片による組織学的検査とをラットについて行なった。今回ラットを用いたのは、毒性の検討に必要な Cefoxitin の投与量を一定期間投与した場合、モルモットでは途中死亡する動物が多く、聴器に対する影響を正しく評価するのに困難を感じたことが、大きな理由である。

I. 実験材料および方法

実験動物には、生後 6 週の雌 Wistar 系ラット (175g ~ 200g) を 45 匹用いた。今回投与した薬剤および投与量、投与期間ならびに匹数は以下のとおりである。

- | | |
|-------------------------------|------|
| 1. 対照群 | 5 匹 |
| 2. Cefoxitin(CFX) 400 mg/kg 群 | 10 匹 |
| 3. Cefoxitin(CFX) 800 mg/kg 群 | 10 匹 |
| 4. Kanamycin(KM) 200 mg/kg 群 | 10 匹 |
| 5. Kanamycin(KM) 400 mg/kg 群 | 10 匹 |

投与期間は、対照群の蒸留水投与群、CFX 投与群および KM の 200 mg/kg/day 投与群では 4 週間とし、

KM の 400 mg/kg/day 投与群の場合には 3 週間で投与を中止した。これは 3 週以後の投与では動物は衰弱を増し、死亡するものが多くなることが予想されたためである。

CFX は静脈内注射を行ない、対照群の蒸留水および KM では筋肉内注射を行なった。このような投与法の差異は CFX が臨床的には静脈内注射が適用され、また KM で筋肉内注射を行なったのは、これまでモルモットにおいて行なってきたアミノ配糖体抗生物質による聴器障害との比較を同じ注射法で行なうためである。CFX は注射用蒸留水に溶解 (15% 濃度) 後、milliporefilter (pore size 0.3 μ) で濾過滅菌し、尾静脈内に 3 ml/min. の速度で注射した。KM は注射用蒸留水に溶解 (25% 濃度) 後、腎筋内に投与した。対照群には注射用蒸留水を 0.1 mg/100 g の量で腎筋内に注射した。

実験動物の体重測定は注射前、注射期間中毎日行ない、同時に動物の一般症状の観察を行なった。

動物の聴覚検査には、モルモットについてこれまでに行なってきた最高 20 KHz から最低 1 KHz までの純音刺激に対する周波数別耳介反射試験を注射開始前および注射期間中ならびに注射終了後に行なった。また耳介反射域値の変動をオーディオグラムで比較観察した。測定周波数は 20 KHz, 15 KHz, 12 KHz, 10 KHz, 8 KHz, 6 KHz, 3 KHz, 1 KHz であった。

病理組織学的検査のために実験終了後にそれぞれ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た。一方、右心耳に小孔をもうけ、約 40 cm の落差を利用して 37°C の生理食塩水を注入し、血液を洗い出したのち少量のピクリン酸で着色した 10% ホルマリン液で灌流固定した。両側内耳を含む側頭骨を切除し、約 2 週間 10% ホルマリン液で固定し、PLANK-RYCHLD の迅速脱灰液で脱灰したのちセロイジンに包埋した。それぞれの動物のセロイジン包埋側頭骨から水平断面連続切片を作製し、5 枚おきにヘマトキシリン・エオジン染色を施し、組織学的にラセン器および前庭器の障害を検索した。

なお、腎および肝についても常法に従ってパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいはPAS染色標本について組織学的に検索した。

II. 実験結果

1. 体重

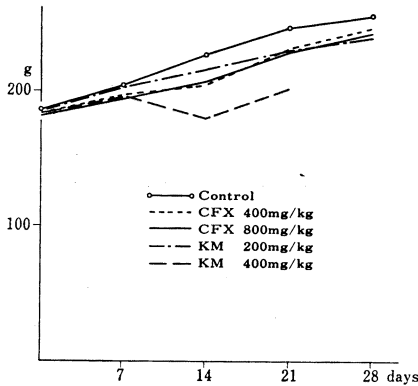
各群の平均体重の推移を Fig.1 に示した。

KM の 400 mg/kg/day を 21 日間筋注した群では、投与後 7 日から 14 日にかけて体重減少がみられたが、14 日以後は対照群と同等の体重増加率を示した。一方、KM 200 mg/kg/day ならびに CFX 400 mg/kg/day, 800 mg/kg/day の各投与群では、投与後 7 日から体重増加の軽度の抑制傾向が認められたが、14 日以後は対照群と同等の体重増加率を示した。なお、KM の 400 mg/kg/day 投与群の 1 匹が投与後 14 日に死亡した。

2. 耳介反射の変動と内耳の病理組織学的変化

a) 対照群：5 匹のラットについて行なった 20 KHz から 1 KHz までの周波数域における周波数別耳介反射試験では、注射開始前に比し 10 dB 以上の耳介反射の域値

Fig.1 Body weight of rats treated with cefoxitin intravenously or with kanamycin intramuscularly for 28 days (KM-400 mg/kg : 21 days)



上昇を示したものはなかった (Fig.2)。これらの動物のラセン器および前庭器の有毛細胞には、消失は認められなかった (Table 1)。

b) CFX 400 mg/kg/day 投与群：注射開始後 4 週ま

Fig.2 Pinna reflex audiogram in rats receiving distilled water (0.1 ml/100g) for 4 weeks i. m.

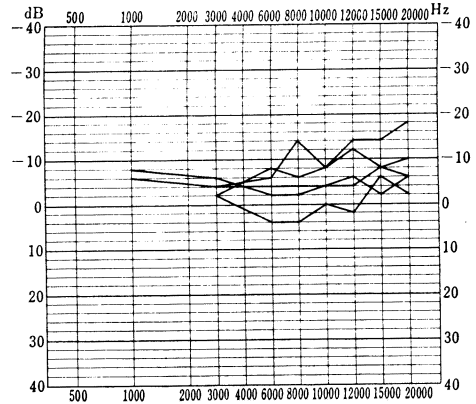


Fig.3 Pinna reflex audiogram in rats receiving cefoxitin at dose of 400 mg/kg/day for 4 weeks i. v.

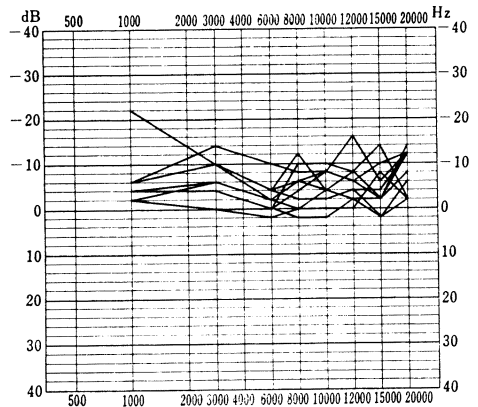


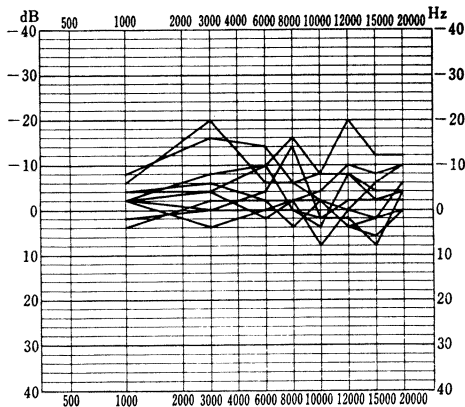
Table 1 Incidence of pinna reflex loss in frequency range from 20 KHz to 1 KHz and histopathologic change of the cochlea and vestibulum in rats receiving distilled water (0.1 ml/100g) for 4 weeks i. m.

No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz-1 KHz)	Damage of cochlea (from basal end to apex)				Damage of vestibulum (cristae and maculae)	
		Range of outer hair cell loss	Range of inner hair cell loss	Loss of spiral ganglion cell	Loss of stria vascularis	Loss of hair cell	Loss of vestibular ganglion cell
1	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—

Table 2 Incidence of pinna reflex loss in frequency range from 20 KHz to 1 KHz and histopathologic changes of the cochlea and vestibulum in rats receiving cefoxitin at dose of 400 mg/kg/day for 4 weeks i. v.

No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz-1 KHz)	Damage of cochlea (from basal end to apex)				Damage of vestibulum (cristae and maculae)	
		Range of outer hair cell loss	Range of inner hair cell loss	Loss of spiral ganglion cell	Loss of stria vascularis	Loss of hair cell	Loss of vestibular ganglion cell
1	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	—

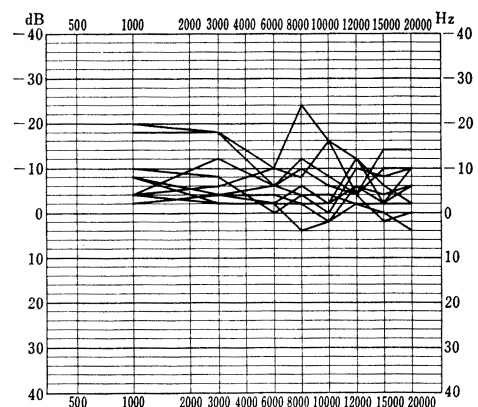
Fig.4 Pinna reflex audiogram in rats receiving cefoxitin at dose of 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v.



で、耳介反射の消失をきたした動物は1匹もなかった。また注射前と比較して、10 dB以上の域値の増加を示したのもなかった (Fig.3)。内耳の組織学的検索では、10匹の内耳のラセン器とラセン神経節、前庭器と前庭神経節には有毛細胞の消失も神経細胞の消失も認められなかった。またその他の部位にも病変はみられなかった (Table 2)。

c) CFX 800 mg/kg/day 投与群：4週間静注した10匹では、20 KHzから1 KHzまでの検査周波数域で耳介反射消失あるいは10 dB以上の域値の上昇をきたしたものは1匹もなかった (Fig.4)。組織学的には、いずれの動物の内耳においてもラセン器または前庭器の有毛細胞の消失や各々の付属神経節細胞の消失は全く認められなかった。その他の部位にも病変はみられなかった (Table 3)。

Fig.5 Pinna reflex audiogram in rats receiving kanamycin at dose of 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m.



d) KM 200 mg/kg/day 投与群：周波数別耳介反射試験によると、4週間の注射ではいずれの動物にも耳介反射の消失および10 dB以上の域値の上昇はみられなかった (Fig.5)。しかしながら組織学的検索では、10匹中1匹に蝸牛1回転下端部から1回転前半までの範囲のラセン器に外有毛細胞の消失がみられ、他の4匹では1回転下端部に外有毛細胞の消失がみられた。残りの5匹は、1回転下端部付近に限局した外有毛細胞だけの散発的消失を示していた。これらの動物のラセン器には内毛細胞の消失はなく、ラセン神経節にも障害像はみられなかった。前庭器には有毛細胞の散発性消失があったが、前庭神経節には明らかな異常は認められなかった (Table 4)。

e) KM 400 mg/kg/day 投与群：10匹のラットについて投与を開始する前に行なった耳介反射試験で、1匹

Table 3 Incidence of pinna reflex loss in frequency range from 20 KHz to 1 KHz and histopathologic changes of the cochlea and vestibulum in rats receiving cefoxitin at dose of 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v.

No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz-1 KHz)	Damage of cochlea (from basal end to apex)				Damage of vestibulum (cristae and maculae)	
		Range of outer hair cell loss	Range of inner hair cell loss	Loss of spiral ganglion cell	Loss of stria vascularis	Loss of hair cell	Loss of vestibular ganglion cell
1	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	—

Table 4 Incidence of pinna reflex loss in frequency range from 20 KHz to 1 KHz and histopathologic changes of the cochlea and vestibulum in rats receiving kanamycin at dose of 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m.

No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz-1 KHz)	Damage of cochlea (from basal end to apex)				Damage of vestibulum (cristae and maculae)	
		Range of outer hair cell loss	Range of inner hair cell loss	Loss of spiral ganglion cell	Loss of stria vascularis	Loss of hair cell	Loss of vestibular ganglion cell
1	—	(BE)	—	—	—	⊥	—
2	—	(BE)	—	—	—	—	—
3	—	BE-1A	—	—	—	—	—
4	—	BE	—	—	—	⊥	—
5	—	(BE)	—	—	—	⊥	—
6	—	BE	—	—	—	—	—
7	—	BE	—	—	—	⊥	—
8	—	(BE)	—	—	—	—	—
9	—	(BE)	—	—	—	—	—
10	—	BE	—	—	—	⊥	—

BE : bilateral loss of outer hair cell at the basal end of the cochlea (BE) : unilateral loss

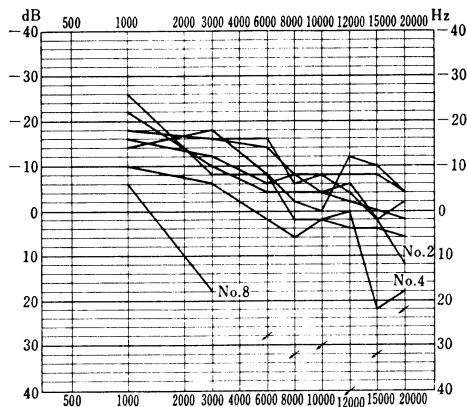
BE-1A : loss of outer hair cell extending from the basal end to anterior part of the 1st turn of the cochlea

⊥ : very slight scattered loss of cell

が 1 KHz, 5 KHz および 20 KHz の純音刺激に対して耳介反射陰性を示し、また他の 1 匹が投与期間中に死亡したので、これらの 2 匹は実験から除外された。残りの 8 匹の耳介反射についてみると、8 匹のうち 2 匹は 3 週間の注射で 20 KHz に限局した 12 dB の耳介反射の域値上昇と 20 KHz と 15 KHz に限局した約 20 dB の域値上昇とをそれぞれ示した。他の 1 匹では、2 週間の注射で 20 KHz に限局した 20 dB の域値上昇が起こり、3 週間の注射では、20 KHz から 6 KHz に及ぶ耳介反射消失が認められ 3 KHz に 18 dB の域値上昇を起こしていた (Fig. 6)。各動物では、1 KHz で域値の低下する傾向が

認められた。一方、病理組織学的には、8 匹のラットの全例にラセン器の外有毛細胞の消失が認められた。このうち 2 匹では、1 回転下端から 2 回転後半におよぶ広範な外有毛細胞の消失が起きていて、同時に 1 回転下端から 1 回転前半あるいは後半部までの内毛細胞の消失をきたしていた。この 2 匹 (No. 2, 8) は耳介反射試験でも高周波数における耳介反射の消失あるいは 12 dB の域値上昇を示していた。他の 5 匹では、1 回転下端から 2 回転前半までのラセン器に外有毛細胞の消失をきたし、このうち 2 匹は同時に 1 回転下端部に限局して内毛細胞の散発的消失を伴っていた。残りの 1 匹は 1 回転下端

Fig.6 Pinna reflex audiogram in rats receiving kanamycin at dose of 400 mg/kg/day for 4 weeks i. m.



から1回転後半部までの外有毛細胞だけの消失を示した。これらの動物の蝸牛のラセン神経節には神経細胞の消失は認められなかった。血管条においては、4回転以上に辺縁細胞の散発的消失がしばしばみられた。前庭器の半規管膨大部稜、卵形囊斑および球形囊斑には有毛細胞の軽度の散発的消失が、ほとんどすべての動物に認められたが、前庭神経節には神経細胞の消失はなかった (Table 5)。

3. 腎と肝の所見

対照群のラットの腎には、近位尿細管上皮と糸球体に

著しい変化はみられなかった (Table 6)。

CFX の 400 mg/kg/day または 800 mg/kg/day を投与した動物の腎には、近位尿細管上皮の軽い変性あるいは再生が限局性にみられたり、間質に軽度の線維芽細胞の増生があることがあった (Table 7, 8)。

KM の 200 mg/kg/day を筋注したラットの腎では、ほとんどの動物で散発性に近位尿細管上皮の空胞変性や刷子縁の不規則な脱落、散発性壊死あるいは再生などの変化が認められた。またこれらの尿細管に隣接した間質には、軽い細胞浸潤または線維の増生があった (Table 9)。

KM の 400 mg/kg/day を筋注したラットの腎では、近位尿細管上皮の空胞変性や壊死、脱落および再生は、KM 200 mg/kg/day 投与群に比較すると、より高度かつ広範であった。間質にも細胞浸潤を伴なう線維の増生が、ほとんどの例にみられた。また尿細管内には、エオジンで均質、硝子様を呈する円柱や脱落した上皮が認められた。これらの腎における近位尿細管と間質の変化は、耳介反射が 20 KHz から 6 KHz までの周波数域で消失をきたした No. 8 では、とくに強い所見を呈していた (Table 10)。

肝には、対照群を含む各群で、ジヌソイドあるいはグリソン鞘への軽度の細胞浸潤または集簇が散発性にみられたにすぎなかった。

III. 考 案

1. 抗生物質によるラットの聴器障害

Table 5 Incidence of pinna reflex loss in frequency range from 20 KHz to 1 KHz and histopathologic changes of the cochlea and vestibulum in rats receiving kanamycin at dose of 400 mg/kg/day for 4 weeks i. m.

No.	Frequency range of pinna reflex loss (20 KHz-1 KHz)	Damage of cochlea (from basal end to apex)				Damage of vestibulum (cristae and maculae)	
		Range of outer hair cell loss	Range of inner hair cell loss	Loss of spiral ganglion cell	Loss of stria vascularis	Loss of hair cell	Loss of vestibular ganglion cell
1	—	BE-2A	—	—	⊥	⊥	—
2	—	BE-2P	BE-2A	—	⊥	⊥	—
3	—	BE-2A	(BE)	—	⊥	⊥	—
4	—	BE-1P	—	—	⊥	⊥	—
5	—	BE-2A	(BE)	—	⊥	⊥	—
6	—	BE-2A	—	—	⊥	⊥	—
7	—	BE-2A	—	—	⊥	⊥	—
8	20 K-6 K	BE-2P	BE-1P	—	⊥	+	—

BE : basal end of the cochlea
 1A : anterior part of the 1st turn of the cochlea
 1P : posterior part of the 1st turn
 2A : anterior part of the 2nd turn
 2P : posterior part of the 2nd turn
 ⊥ : very slight scattered loss of cell
 + : slight scattered loss of cell

Table 6 Histopathologic changes of the kidney and liver in rats receiving distilled water (0.1 ml/100 g) for 4 weeks i. m.

Rat No.	Changes of kidney							Changes of liver		
	Tubular epithelium				Glomerulus	Interstitialium		Cast in tubule	Cell infiltration	Degeneration, necrosis
	Atrophy	Degeneration	Necrosis	Regeneration		Cell infiltration	Cell proliferation, fibrosis			
1	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	(+)	—	—	—	—	(+)	—	(+)	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(+) : circumscribed slight change

Table 7 Histopathologic changes of the kidney and liver in rats receiving cefoxitin at dose of 400 mg/kg/day for 4 weeks i. v.

Rat No.	Changes of kidney							Changes of liver		
	Tubular epithelium				Glomerulus	Interstitialium		Cast in tubule	Cell infiltration	Degeneration, necrosis
	Atrophy	Degeneration	Necrosis	Regeneration		Cell infiltration	Cell proliferation, fibrosis			
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	—
7	—	—	—	(+)	—	—	—	—	(+)	—
8	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(+) : circumscribed slight change

Table 8 Histopathologic changes of the kidney and liver in rats receiving cefoxitin at dose of 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v.

Rat No.	Changes of kidney							Changes of liver		
	Tubular epithelium				Glomerulus	Interstitialium		Cast in tubule	Cell infiltration	Degeneration, necrosis
	Atrophy	Degeneration	Necrosis	Regeneration		Cell infiltration	Cell proliferation, fibrosis			
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	(+)	—	—	(+)	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	(+)	—	—	(+)	—	—	—
9	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
10	(+)	—	—	(+)	—	—	(+)	—	(+)	—

(+) : circumscribed slight change

Table 9 Histopathologic changes of the kidney and liver in rats receiving kanamycin at dose of 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m.

		Changes of kidney							Changes of liver	
Rat No.	Tubular epithelium				Glome- rulus	Interstitial		Cast in tubule	Cell infil- tration	Degen- eration, necrosis
	Atrophy	Degene- ration	Necrosis	Regene- ration		Cell infil- tration	Cell pro- liferation, fibrosis			
1	—	—	—	+	—	+	+	+	(+)	—
2	—	—	—	—	—	+	+	—	(+)	—
3	+	—	—	+	—	+	+	+	—	—
4	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—
5	+	+	—	+	—	+	+	+	(+)	—
6	—	+	+	+	—	+	+	+	—	—
7	—	—	—	+	—	+	+	+	—	—
8	—	+	—	+	—	+	+	+	—	—
9	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—
10	—	—	—	+	—	+	—	+	(+)	—

+ : non remarkable change + : slight change (+) : circumscribed slight change

Table 10 Histopathologic changes of the kidney and liver in rats receiving kanamycin at dose of 400 mg/kg/day for 3 weeks i. m.

		Changes of kidney							Changes of liver	
Rat No.	Tubular epithelium				Glome- rulus	Interstitial		Cast in tubule	Cell infil- tration	Degen- eration, necrosis
	Atrophy	Degene- ration	Necrosis	Regene- ration		Cell infil- tration	Cell pro- liferation, fibrosis			
1	—	+	+	⦿	—	+	+	+	—	—
2	—	+	+	⦿	—	+	+	+	(+)	—
3	—	+	+	⦿	—	+	+	+	(+)	—
4	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—
5	—	+	+	+	—	+	+	+	(+)	—
6	—	+	+	+	—	+	+	+	(+)	—
7	—	+	+	⦿	—	+	+	+	(+)	—
8	—	⦿	⦿	⦿	—	⦿	⦿	⦿	—	—

— : non remarkable change + : slight change ⦿ : moderate change ⦿ : severe change (+) : circumscribed slight change

これまで行なわれたラットによる KM の投与実験では、聴器障害は、蝸牛のラセン器ではモルモットにおけると同じように、1回転下端部に最もしばしば認められる^{3,4)}。この部のラセン器では、外有毛細胞の消失が内毛細胞よりも早く起こり、外有毛細胞の障害が拡大する場合には、1回転の下端部から上方の回転へ向って拡大する傾向が認められている。したがって内耳における抗生物質の障害の程度を比較する場合には、外有毛細胞の消失の拡がりを比較することが重要であるように思われる。

モルモットにおいては、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と比較的密接な関連

を示していた⁵⁾。しかしラットにおける実験では、外有毛細胞だけの消失では対応する周波数域に耳介反射の消失はみられず、外有毛細胞と内毛細胞が同時に消失した場合に、はじめて対応する周波数域の耳介反射消失が認められた⁴⁾。このようにラットでは、外有毛細胞の消失だけでは、対応する周波数域に耳介反射の消失を起こしえないということが、どのような機序によるものであるかについては、今後の研究が必要である。

このような結果を考慮すると、ラットで聴力障害を判定する場合には、耳介反射の結果だけでは十分な評価が出来にくいことがわかる、すなわち内耳の組織学的検査が必要になる。

2. CFX の聴器毒性について

CFX の 400 mg/kg/day または 800 mg/kg/day を静脈内に 4 週間投与したラットにおいて行なわれた周波数別耳介反射試験では、検索した 20 KHz から 1 KHz までのいずれの周波数においても、耳介反射の消失をきたした動物はいなかった。

一方、KM を筋肉内に投与したラットのうち、200 mg/kg/day を 4 週間投与した場合には、耳介反射の消失はみられなかった。しかしながら KM の 400 mg/kg/day を 3 週間投与したラットでは、12 dB 以上の耳介反射の域値上昇が、20 KHz あるいは 20 KHz と 15 KHz の高周波域にみられることがあった。また 1 例ではあるが、20 KHz から 6 KHz にいたる耳介反射の消失と 3 KHz における 18 dB の域値上昇をきたしたものがあつた。

実験終了後に行なった内耳のセロイジン連続切片についての病理組織学的検索では、CFX の 400 mg/kg/day あるいは 800 mg/kg/day を投与した動物には、抗生物質の障害を最も受けやすいラセン器の 1 回転下端部をはじめ、すべての回転において外有毛細胞の消失はみられなかった。また蝸牛のラセン神経節にも、前庭器および前庭神経節にも障害像はみられなかった。

KM の 200 mg/kg/day 投与動物においては、蝸牛の 1 回転下端あるいは 1 回転前半部までのラセン器の外有毛細胞の消失が全例にみられていた。また KM の 400 mg/kg/day 投与群では、外有毛細胞の消失はさらに拡大を示し、一部の動物では、同時に内毛細胞の消失をも伴っていた。前庭器には、有毛細胞の散発性消失が、KM 投与群の多くの例に認められた。

以上の機能的、組織学的検索の結果、聴器に対する CFX の影響は、400 mg/kg/day あるいは 800 mg/kg/day の 4 週間投与では全く認めることができず、CFX は聴器毒性をほとんどもっていないと考えることができるであろう。

また今回の組織学的検索では、腎においても肝においても、薬物投与に関連した明らかな障害像を認めることができなかった。

3. 臨床投与量の安全性

臨床投与量は、80 mg/kg/day で用いられているので、今回の動物実験に用いた 400 mg/kg/day と 800 mg/kg/day の 4 週間にわたる静脈内投与試験の結果から考えると、聴器に対する安全性はきわめて大きいと考えられる。

IV. 総括

今回、CFX の聴器に対する影響を明らかにする目的で、ラットを用いて 400 mg/kg/day と 800 mg/kg/day の投与量で、4 週間の静脈内投与実験を行なった。同時

に比較のために、対照薬物として KM の 200 mg/kg/day を 4 週間あるいは 400 mg/kg/day を 3 週間筋肉内に投与した。

(1) CFX 投与群：20 KHz から 1 KHz までの周波数域で行なった周波数別耳介反射試験では、いずれの投与量においても、耳介反射消失または域値上昇をきたしたものはなかった。また内耳の病理組織学的検索では、ラセン器においても、また前庭器においても有毛細胞の消失は全くみられなかった。

(2) KM 投与群：機能的検査では、400 mg/kg/day 投与群の 2 匹が、20 KHz あるいは 15 KHz の高周波数域で耳介反射域値の上昇をきたし、他の 1 匹が 20 K-6 KHz の領域で耳介反射の消失をきたした。組織学的検査では、いずれの投与群にも、ラセン器の外有毛細胞の消失が認められ、消失の拡がりには 400 mg/kg/day 投与群ではより広範であった。

(3) 腎については、KM 投与動物においては、近位尿管上皮および付近の間質に軽度ないし中等度の障害をきたしており、障害の程度は、使用量群に比較して高用量群では増強されていた。一方、CFX 投与動物においては、腎にほとんど障害を認めることができなかった。

(4) すなわち、今回のラットにおける投与試験では、CFX は聴器に対しても腎に対しても障害を起さなかった。

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 今沢孝喜氏に心から感謝の意を表します。

文献

- 1) HORRBY, R. : J. E. BRORSSON & S. SEEBERG : Comparative study of the *in vitro* antibacterial activity of cefoxitin, cefuroxime, and cephaloridine. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 9(3) : 506~510, 1976
- 2) STEWART, D. & G. P. BODEY : Comparative *in vitro* activity of cephalosporins. *J. Antibiotics* 29 (2) : 181~186, 1976
- 3) 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」: 179~182, 1975
- 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* 26 (5) : 615~629, 1978
- 5) AKIYOSHI, M. : Evaluation of ototoxicity and safety of aminoglycoside antibiotics in the guinea pig. *Advances in clinical pharmacology* 13 : 374~386, Urban & Schwarzenberg, München, 1977

Fig.7 Basal end of the cochlea in rat given cefoxitin(CFX) at 400 mg/kg/day for 4 weeks i. v. The rows of outer hair cells(OHC) and one row of inner hair cells(IHC) are present in the spiral organ. $\times 400$

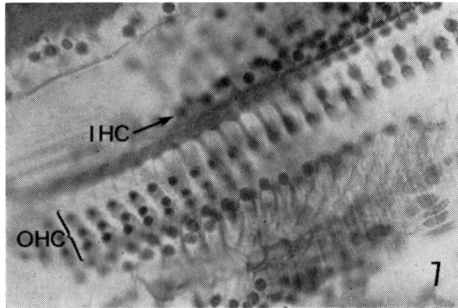


Fig.8 Crista ampullaris of lateral semicircular canal in rat given CFX at 400 mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no missing of hair cells (HC). $\times 200$

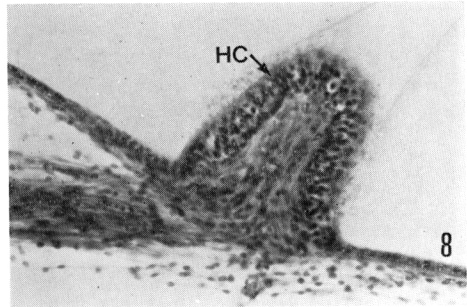


Fig.9 Macula utriculi in rat given CFX at 400 mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no missing of hair cells(HC) and otoconic membrane(OM). $\times 200$

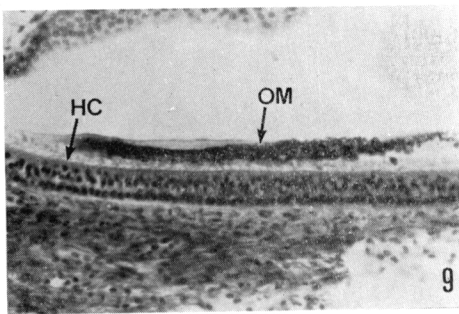


Fig.10 Macula sacculi in rat given CFX at 400 mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no missing of hair cells(HC) and otoconic membrane(OM). $\times 200$

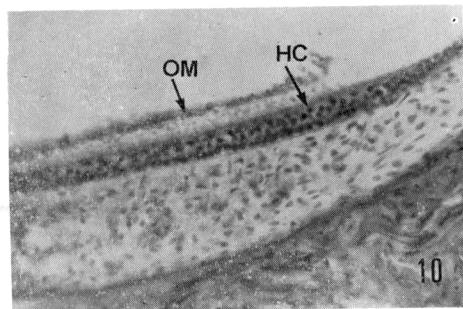


Fig.11 Basal end of cochlea in rat given CFX at 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no missing of hair cells in the spiral organ. The spiral organ consists of two rows of outer hair cells(OHC), one row of inner hair cells (IHC) and supporting cells. $\times 400$

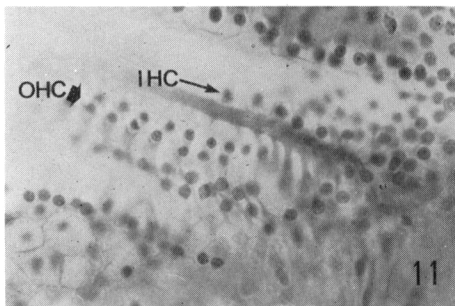


Fig.12 Lower part of the second turn of the cochlea in rat given CFX at 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no missing of outer (OHC) and inner hair cells (IHC) of the spiral organ. The spiral ganglion (star) does not show pathologic change. Normal structure of the stria vascularis. $\times 100$

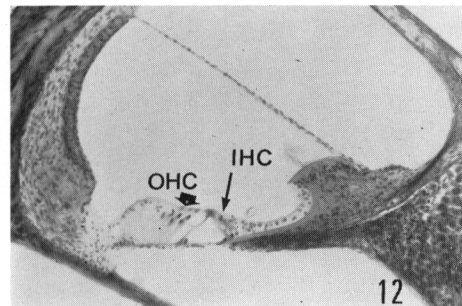


Fig.13 Crista ampullaris of lateral semicircular canal in rat given CFX 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no missing of hair cells (HC). $\times 200$

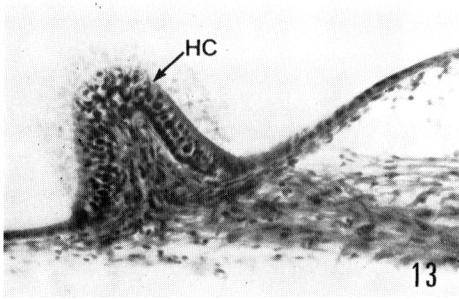


Fig.14 Macula utriculi in rat given CFX at 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no pathologic change in hair cells(HC)and otoconic membrane(OM). $\times 200$

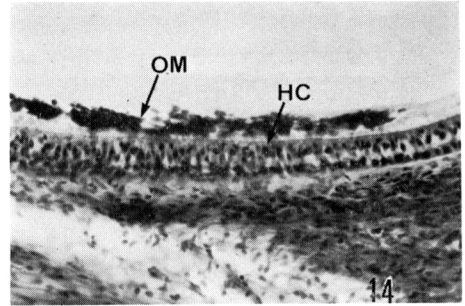


Fig.15 Macula sacculi in rat given CFX at 800mg/kg/day for 4 weeks i. v. There is no pathologic change in hair cells (HC) and otoconic membrane. $\times 100$

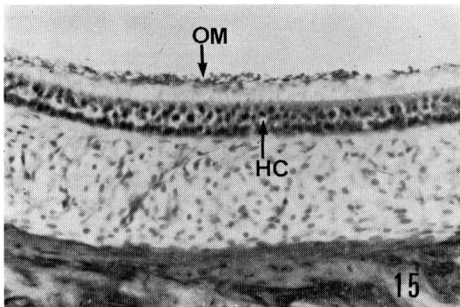


Fig.16 Basal end of the cochlea in rat given kanamycin (KM) at 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m. Outer hair cells are missing (arrow) in the spiral organ. On row of inner hair cells(IHC) is present. $\times 400$

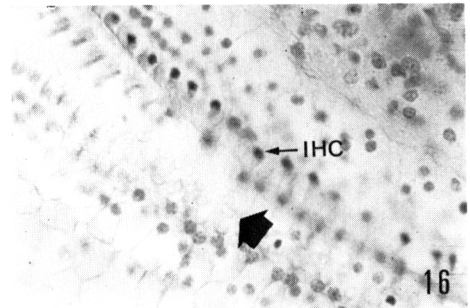


Fig.17 Lower part of the first turn of the cochlea in rat given KM at 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m. The missing of outer hair cells (arrow) are extend from the basal end. Inner hair cells(IHC)are present in the spiral organ. $\times 200$

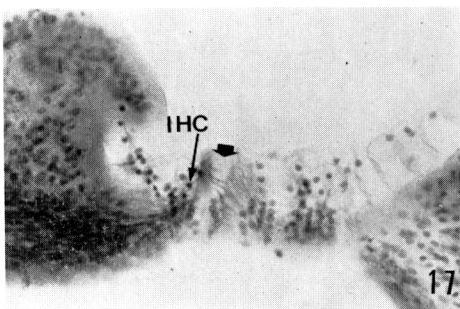


Fig.18 Crista ampullaris of lateral semicircular canal in rat given KM at 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m. There is no missing of hair cells (HC). $\times 200$

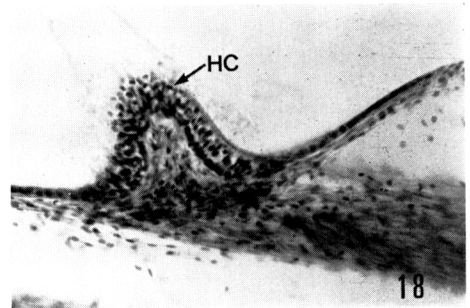


Fig.19 Macula utriculi in rat given KM at 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m. Scattered missing of hair cells(HC)and occasional appearance of larger otoconia (OM). ×200

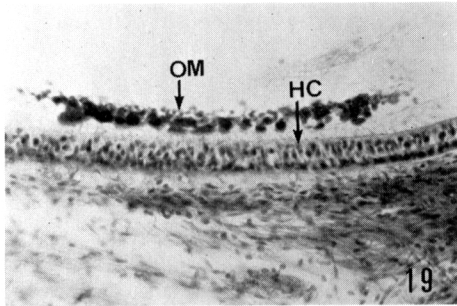


Fig.20 Macula sacculi in rat given KM at 200 mg/kg/day for 4 weeks i. m. Scattered missing of hair cells(HC). ×200

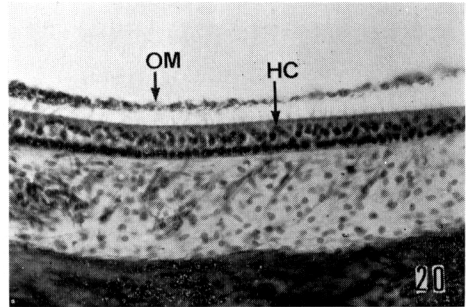


Fig.21 Basal end of the cochlea in rat given KM at 400 mg/kg/day for 3 weeks i. m. Both outer (arrow) and inner hair cells (star) are completely lost in the spiral organ. The supporting cells are present. ×400

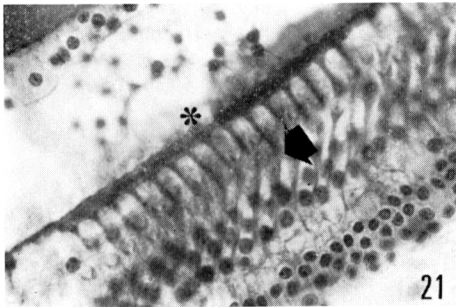


Fig.22 Upper part of the first turn of the same cochlea as in Fig.21 The spiral organ lost both outer (thick arrow) and inner hair cells (thin arrow). There is no change in spiral ganglion. Normal structure of the stria vascularis. ×100

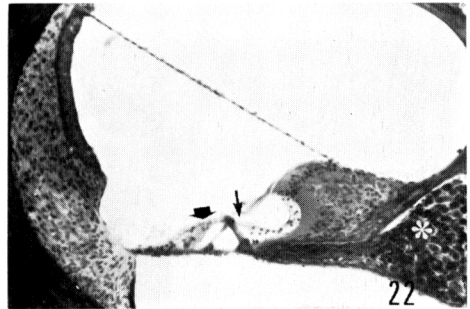


Fig.23 Upper part of the second turn of the same cochlea as in Fig.21 The spiral organ lost only outer hair cells (arrow). Inner hair cells (IHC) and supporting cells are present. ×100

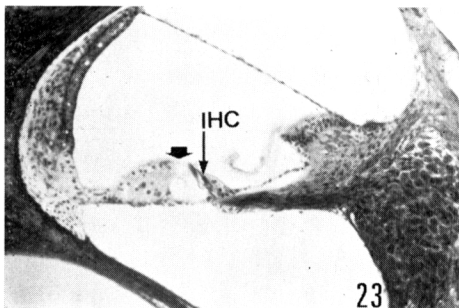


Fig.24 Apical turn of the same cochlea as in Fig. 21. The spiral organ is consisted of normal outer (OHC), inner hair cells (IHC) and supporting cells. ×100

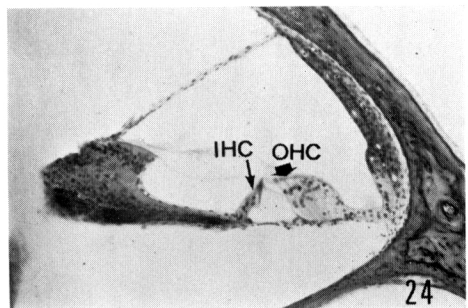


Fig.25 Crista ampullaris of the lateral semicircular canal in rat given KM at 400 mg/kg/day for 3 weeks i. m. Slight decrease in number of hair cells (star). $\times 200$

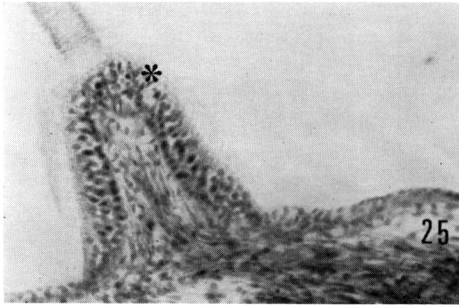


Fig.26 Macula utriculi in rat given KM at 400 mg/kg/day for 3 weeks i. m. Slight decrease in population of hair cells (star). Partial disappearance of otoconic membrane. $\times 200$

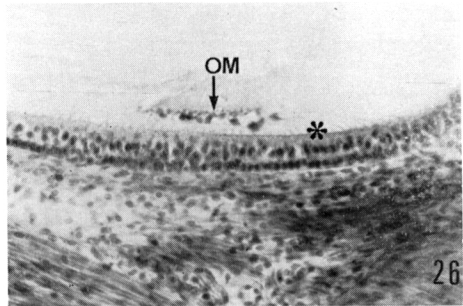


Fig.27 There is no remarkable change in kidney. CFX 800 mg/kg/day for 4 weeks i. v. $\times 100$

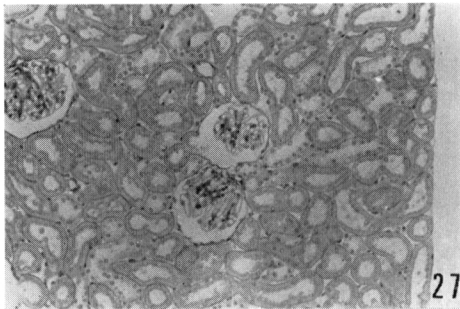
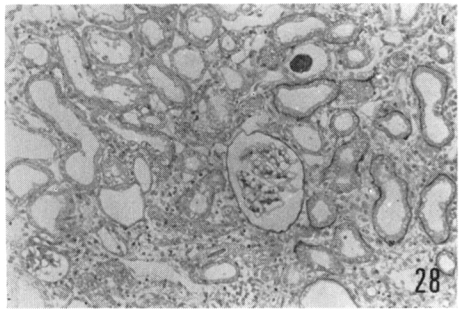


Fig.28 Extensive irregular regeneration of tubula epithelia of the proximal tubules. Proliferation of connective tissue cells and slight infiltration of round cells in interstitium of cortex. Some of the tubules contain hyaline cast. No remarkable change in glomerulus. KM 400 mg/kg/day for 3 weeks i. m. $\times 100$



EFFECT OF CEFOXITIN ON AUDITORY ORGAN IN RATS

MASATOYO AKIYOSHI

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

TETSUYO KAJIMURA

Research Institute, Daiichi Seiyaku Co., Ltd.

Cefoxitin is a new antibiotic of the cephamycin group. In the present study, cefoxitin was given to the Wistar rats at dose of 400 mg/kg/day and 800 mg/kg/day respectively for 4 weeks intravenously. Kanamycin was administered to the animals at dose of 200 mg/kg/day for 4 weeks and at dose of 400 mg/kg/day for 3 weeks intramuscularly.

The effect of these antibiotics on the auditory sensation was measured by differential frequency pinna reflex test for every frequency of 20 KHz, 15 KHz, 12 KHz, 10 KHz, 8 KHz, 6 KHz, 3 KHz and 1 KHz before, during and after the administration of these antibiotics. On the other hand, histopathological examination of the inner ears was performed on the serial celloidin sections.

The ototoxic effects were compared and evaluated functionally and histopathologically.

1) In the animals treated with cefoxitin at dose of 400 mg/kg/day and 800 mg/kg/day respectively, neither the increase more than 10 dB in the threshold of the pinna reflex nor the loss of the hair cells of the spiral and vestibular organ of the inner ear was seen.

2) In the animals treated with kanamycin at dose of 200 mg/kg/day, the increase in the threshold of the pinna reflex did not occur, but histopathologically the loss of the outer hair cells limited to the basal end of the cochlea was found in all animals. In the animals treated with kanamycin at dose of 400 mg/kg/day, two of ten animals showed the increase in the threshold (12 and 18 dB) of the pinna reflex in frequency of 20 KHz and another one indicated the pinna reflex loss in range from 20 KHz to 6 KHz. Histopathologically, the loss of the outer hair cells of the spiral organ was more extensive than in the animals treated with kanamycin at dose of 200 mg/kg/day. In the three animals above mentioned, the inner hair cells were also absent in the first turn of the cochlea. In addition, there was occasional loss of the hair cells in the hair cells in the vestibular organs.

3) In the animals treated with cefoxitin, there was almost no damage of the proximal tubules of the kidney. In the animals treated with kanamycin at dose of 200 mg/kg/day, there was slight injury in the kidney, but in the animals treated with kanamycin at dose of 400 mg/kg/day, the damage of the kidney and its incidence became increasing. Injury of the liver was not seen in any of the animals treated with these antibiotics.

4) These results indicate that cefoxitin does not have ototoxicity.