

Sodium colistin methanesulfonate の視覚器におよぼす影響

辻谷 典彦・山崎 直則・土屋 重俊

神奈川県大学薬理学教室

(主任：伊藤春生教授)

大内 勝・斉藤 太郎・松本 朋徳

科薬抗生物質研究所開発部

薬理研究センター

佐 藤 博

佐々木研究所病理部

(昭和 55 年 7 月 22 日受付)

Sodium colistin methanesulfonate (CLM) の安全性研究の一環として、CLM の視覚器におよぼす影響について検討を加えた。CLM を、雄性 Wistar 系ラットに 25 mg および 40 mg/kg、雄性日本白色種ウサギと雄性 beagle 犬にそれぞれ 80 mg/kg を、35 日間隔日を除く毎日静脈内に投与した。そして、各動物の一般症状ならびに行動の観察、体重推移の観察、ラットの網膜心電図 (ERG) の記録、ウサギおよび beagle 犬の眼底検査、ラットおよびウサギの眼球について病理組織学的検索を行ない、以下の成績を得た。

1. ラット、ウサギおよび beagle 犬のいずれの動物においても、CLM 投与による中毒症状の発現ならびに死亡例は認められなかった。体重推移に対しても影響は認められず、動物の一般行動および動作に異常は認められなかった。

2. ラットの ERG に対し、CLM 投与の影響は認められなかった。

3. CLM 投与は、ラットおよびウサギの眼球に病理組織学的変化を与えなかった。

4. ウサギおよび beagle 犬の眼底所見に、CLM 投与による異常は認められなかった。

以上のように、ラット、ウサギおよび beagle 犬において、CLM 投与によると思われる機能的また病理組織学的な異常が認められないことから、本実験条件下では CLM は視覚器に対して特異的な作用を示さず、影響をおよぼすものでないという結論を得た。

序 言

Colistin (以下、CLと略) は、1950 年小山ら¹⁾によって *Bacillus polymyxa* var. *colistinus* の培養濾液から発見された polypeptide 系の抗生物質である。Gram 陰性菌に対して強い抗菌作用を有しており²⁾、臨床的にも種々の感染症に優れた治療効果をあげ、それに対する報告も数多くなされている³⁻⁵⁾。

一方、sodium colistin methanesulfonate (以下、CLM と略) は、CL の遊離の γ -amino 基を methanesulfonate 化 ($-\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-SO}_3^-$) した colistin derivative で、CL に比較して、その毒性はより軽減され、胆汁および血清などによって不活化され難く^{6,7)}、また体内 histamine 様物質の遊離による血圧下降作用がない⁸⁾、などの利点を有している。このため、臨床応用における使用頻度は CL に比してより高い。

しかしながら、近年医薬品の長期使用によると思われる視覚系障害が惹き起されることは少なくなく、それについての報告も多い⁹⁻¹¹⁾。

そこで、今回著者らは CLM の安全性研究の一環として、ラット、ウサギおよび beagle 犬を用いて、CLM の視覚器におよぼす影響について検討したので、その成績を報告する。

実験材料および方法

1. 使用薬物

実験に使用した CLM は、*Bacillus polymyxa* var. *colistinus* の培養濾液から分離精製された白色粉末 (12,000 単位/mg：科薬抗生物質研究所) である。CLM は、使用に際し滅菌生理食塩水に溶解し、投与容量をラットで体重 100 g 当り 0.5 ml、ウサギでは体重 1 kg 当り 1 ml そして beagle 犬においては体重 1 kg 当り

0.5 ml として、それぞれ所要濃度になるよう調整した。なお、CLM の投与量は各動物における亜急性毒性試験において中毒症状を示さない最大量を使用濃度とした。

2. 実験動物

実験動物は、生後 5 週令体重 100~130 g の雄性 Wistar 系ラット (東京実験動物)、生後約 5 カ月令体重 2.8~3.2 kg の雄性日本白色種ウサギ (東京実験動物) および生後 10~18 カ月令の雄性 beagle 犬 (日本クレア) を使用した。動物の飼育は全て、室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の恒温恒湿環境下で、ラット飼育用固型飼料 (CE-2: 日本クレア)、ウサギ飼育用固型飼料 (ラボ R ストック: 日本農産工業)、イヌ飼育用固型飼料 (ラボ R ストック: 日本農産工業) を、それぞれ水と共に自由に摂取できるようにして行なった。

3. 実験方法

1) ラットに対する実験

ラットを 1 群 7 匹とし、実験群は CLM を 25 mg および 40 mg/kg 投与の 2 群として、他の 1 群に生理食塩水を投与して対照群とした。薬物は 1 日 1 回 35 日間日曜日を除く毎日尾静脈内に投与した。投与期間中は、一般症状ならびに行動、動作の観察および体重測定を毎日行ない、最終投与の翌日、すなわち投与開始後 36 日目に網膜電図 (以下、ERG と略) を記録した。その後屠殺して眼球を摘出し、10% formalin 液で固定し、paraffine 包埋、hematoxylin-eosin 染色を行ない、病理組織学的検索に供した。

ERG の記録は、ラットを 12 時間シールドルーム内で暗順応させ、atropine (ミドリリン P®: 参天製薬) を点眼し散瞳させ、procaine (ペノキシール®: 参天製薬) で表面麻酔し、保定器に入れ ERG 誘導用コンタクトレンズ型電極を装置すると共に、不関電極用の電極針を耳介に刺入した。光刺激は、ERG 用光刺激装置 (MSR-2R: 日本光電) を用い、眼前 30 cm からキセノンランプにより行ない、刺激強度は 0.3 および 2 joule、刺激時間は 100 μsec の単回刺激とした。なお、刺激を反復して与える時は、その間隔を 5 分とした。導出した電位は時定数 0.1 sec、掃引時間 20 あるいは 50 msec/div. でブラウン管オシロスコープ (VC-9: 日本光電) を介して、30 回の単回刺激の反応を、反応加算解析装置 (ATAC-250: 日本光電) で加算し、その結果をポラロイドカメラで撮影した。ERG の構成波の検討は、掃引時間 50 msec/div. で得られた記録を、小林らの方法¹⁰⁾に準じて計測し、a 波ならびに b 波の振幅と頂点潜時を求め統計学的に検討した。

2) ウサギに対する実験

ウサギを 1 群 3 匹とし、実験群に CLM 80 mg/kg、対

照群には生理食塩水を、1 日 1 回 35 日間日曜日を除く毎日耳介静脈内に投与した。投与期間中は、一般症状ならびに一般行動の観察を毎日、体重測定を週 1 回、眼底検査は投与開始前、投与開始 18 日目および最終投与終了時の 36 日目にそれぞれ行なった。

眼底検査は、予め atropine (ミドリリン P®: 参天製薬) を前眼部に 2~3 滴滴下し散瞳させた後、眼底カメラ (RC-2: 興和) を用いて眼底撮影を行ない検索した。なお、フィルムはサクラカラー II (ASA 100) を用いた。その後屠殺し眼球を摘出し、ラットと同様の方法で処理し病理組織学的に検索した。

3) Beagle 犬に対する実験

Beagle 犬を 1 群 3 匹とし、実験群に CLM 80 mg/kg、対照群には生理食塩水を 1 日 1 回 35 日間日曜日を除く毎日前腕頭静脈内に投与した。投与期間中は、一般症状ならびに一般行動を毎日観察し、体重測定を週 1 回、眼底検査を投与開始前、投与開始後 18 日目および最終投与終了時の 36 日目にそれぞれ行なった。なお、眼底検査の実施要領はウサギと同様にして行なった。

実験成績

1. ラットの視覚器におよぼす影響

1) 一般症状、一般行動および体重変化

投薬期間中、対照群および各 CLM 投与のいずれの群にも中毒症状は観察されず、死亡例も認められなかった。また、一般行動ならびに動作において、視覚障害に関連した異常は見られなかった。また、平均体重の推移は各 CLM 投与群とも対照群とほぼ同様の体重増加を示した (Fig. 1)。

2) ERG 所見

0.3 および 2 joule の光刺激に対して、薬物投与終了

Fig. 1 Mean body weight of male rats administered intravenously with CLM for 35 days

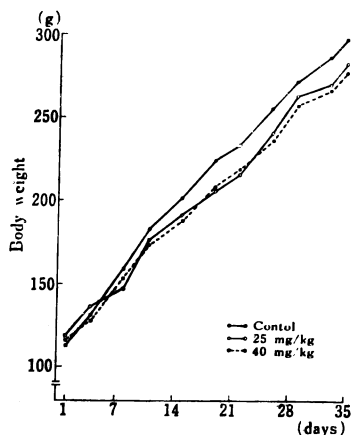


Table 1. Effects of CLM on each component of ERG in male rats

Intensity of photo-stimulus	0.3 joule			2.0 joule		
Doses (mg/kg)	Saline	25	40	Saline	25	40
(Left eye)						
Amplitude (μv)						
a-wave	88.5 $\pm$ 11.0	84.5 $\pm$ 4.0	85.9 $\pm$ 4.8	93.8 $\pm$ 11.9	92.6 $\pm$ 6.0	91.5 $\pm$ 4.1
b-wave	334.6 $\pm$ 23.2	322.5 $\pm$ 18.5	320.3 $\pm$ 10.2	339.9 $\pm$ 24.7	343.7 $\pm$ 20.0	341.4 $\pm$ 12.4
Latency (msec)						
a-wave	28.6 $\pm$ 3.9	27.9 $\pm$ 2.3	27.9 $\pm$ 2.3	32.6 $\pm$ 4.7	30.2 $\pm$ 2.1	30.2 $\pm$ 2.1
b-wave	52.1 $\pm$ 3.3	50.2 $\pm$ 3.3	51.4 $\pm$ 4.1	61.2 $\pm$ 3.7	61.4 $\pm$ 4.6	59.1 $\pm$ 4.5
(Right eye)						
Amplitude (μv)						
a-wave	82.0 $\pm$ 9.8	84.8 $\pm$ 5.0	82.6 $\pm$ 8.8	88.5 $\pm$ 9.6	90.4 $\pm$ 8.5	91.5 $\pm$ 9.0
b-wave	315.1 $\pm$ 19.1	330.4 $\pm$ 16.3	313.6 $\pm$ 16.1	343.3 $\pm$ 42.1	343.8 $\pm$ 16.4	340.4 $\pm$ 11.8
Latency (msec)						
a-wave	27.3 $\pm$ 2.7	26.8 $\pm$ 2.3	29.0 $\pm$ 2.2	30.0 $\pm$ 3.2	27.9 $\pm$ 2.3	29.0 $\pm$ 1.5
b-wave	50.8 $\pm$ 4.8	50.2 $\pm$ 3.8	50.2 $\pm$ 2.9	60.4 $\pm$ 6.5	59.4 $\pm$ 4.4	60.3 $\pm$ 4.1

Numbers of animals : 7 Mean $\pm$ S. E.

Fig. 2 ERG of male rats administered intravenously with CLM for 35 days. (2.0 joule)

1. Control (Saline)
2. CLM 25 mg/kg/day
3. CLM 40 mg/kg/day

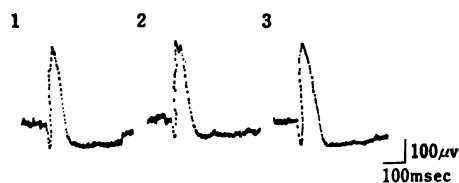


Fig. 3 ERG of male rats administered intravenously with CLM for 35 days (3.0 joule)

1. Control (Saline)
2. CLM 25 mg/kg/day
3. CLM 40 mg/kg/day



時の各 CLM 投与群と対照群の左右両眼の ERG には大きな変化はなく、CLM 投与によると思われる ERG の異常所見は見られなかった。また、ERG の構成波である a 波および b 波の振幅ならびに頂点潜時のいずれにも、各 CLM 投与群と対照群の間に統計学的な有意の差は認められなかった (Fig. 2, 3 および Table 1)。

3) 病理組織学的所見

薬物投与終了時における眼球の病理組織学的所見には、対照群および各 CLM 投与群のいずれにおいても、なんら異常は認められなかった。すなわち、角膜に潰瘍や浸潤はなく、毛様体にも 特別な 浸潤および出血はなく、虹彩にも特記すべき変化は認められなかった。網膜においても、圧迫による被薄化などは見られず、出血そ

の他の細胞浸潤も認められなかった (Photo 1~4)。

2. ウサギの視覚器におよぼす影響

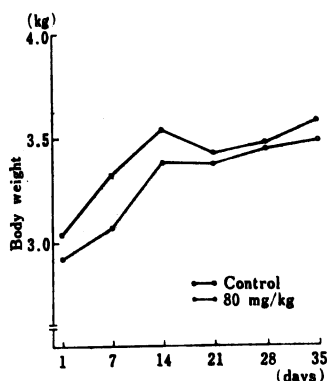
1) 一般症状、一般行動および体重変化

薬物投与期間中、対照群および CLM 投与群のいずれにも中毒症状は観察されず、死亡例も認められなかった。また、ウサギの行動にも視覚障害と関連した異常は見られなかった。投与期間中の平均体重の推移も、対照群とほぼ同様の増加傾向を示し差違は見られなかった (Fig. 4)。

2) 眼底所見

薬物投与開始前、投与期間中および投与終了時の眼底所見には、対照群ならびに CLM 投与群において、なんら特記すべき異常は認められなかった (Photo 5, 6)。

Fig. 4 Mean body weight of male rabbits administered intravenously with CLM for 35 days



3) 病理組織学的所見

薬物投与終了時における眼球の病理組織学的所見は、対照群および CLM 投与群のいずれのウサギにおいても、角膜、虹彩、毛様体および網膜いずれの組織にも、なんら異常は認められなかった (Photo 7~10)。

3. Beagle 犬の視覚器におよぼす影響

1) 一般症状、一般行動および体重変化

薬物投与期間中、対照群および CLM 投与群に中毒症状は観察されず、また死亡例も認められなかった。さらに、beagle 犬の一般行動ならびに動作においても、CLM によると思われる視覚障害と関連した異常は見られなかった。投与期間中の CLM 投与群の平均体重の推移は、対照群とはほぼ同様の傾向であり著しい差は認められなかった (Fig. 5)。

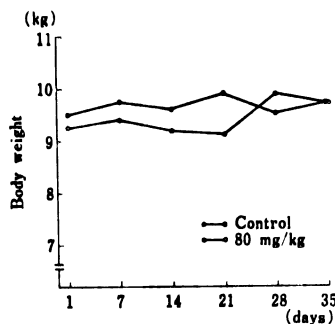
2) 眼底所見

対照群と CLM 投与群において、薬物投与開始前、投与期間中および投与終了時の眼底所見には、なんら異常は認められなかった。すなわち、視神経乳頭の形態、生理的陥没および色調に変化はなく、網膜血管の蛇行、拡張、口径不同、念珠状拡張、狭窄などの異常は認められなかった。また、tapental fundus や non-tapental fundus の明るさや色調にもとくに変化は見られず、その他、乳頭部にうっ血はなく、網膜においても出血や浮腫などは認められなかった (Photo 11, 12)。

考 察

近年、医薬品の長期連用によると思われる、視覚機能系への副作用発現が問題視されてきている。鋭敏な感覚器官である視覚器に障害を惹き起こす医薬品についての報告は、これまでに臨床¹³⁻¹⁵⁾、動物試験^{16,17)}を含めて数多くなされている。したがって、新しく開発される医薬品はむろんのこと、すでに広く臨床応用されている医

Fig. 5 Mean body weight of male beagle dogs administered intravenously with CLM for 35 days



薬品においても、副作用の発現を予知することは、その医薬品の安全性を高める上からも重要であり、視覚系障害に対する十分な配慮が必要となってくる。この点から、医薬品の視覚系への安全性の確認は急がれるものである。

そこで、今回著者らは sodium colistin methanesulfonate (CLM) の安全性研究の一環として、CLM の視覚器におよぼす影響について検討した。

一般に、動物の視覚器は種類により解剖学的にも機能的にも種差があり、また薬物の吸収、分布、代謝、排泄にも当然差があるので、視覚器に対する薬物の感受性にも差が生じる。このことから、動物の CLM に対する感受性を考慮して、実験には3種類の動物を用いた。CLM をラットに 25 mg および 40 mg/kg、ウサギと beagle 犬には 80 mg/kg を 35 日間日曜日を除く毎日静脈内に投与し、投与期間中の各動物の一般症状ならびに一般行動そして体重推移を観察し、ウサギおよび beagle 犬の眼底所見、またラットおよびウサギの投与終了時における眼球の病理組織学的所見、さらにラットの ERG 所見について、それぞれ生理食塩水投与動物を対照として比較検討した。

CLM 投与期間中、ラット、ウサギおよび beagle 犬のいずれにおいても中毒症状の発現はなく、死亡例も認められなかった。また、平均体重の推移についても、CLM 投与群と対照群との間に著しい差は見られなかった。さらに、動物の運動あるいは動作の中で視覚障害に関連した特異な変化、たとえば瞬目、閉目、目をこする、またうずくまる、不活発、転倒などの異常も認められなかった。

ERG は、網膜の活動電位を記録したもので、光刺激に対する網膜機能をよく反映することから、薬物の視覚機能への影響を検索するのに用いられる。ラットにおい

て、CLM 投与終了後に光刺激に対応する ERG の誘発電位を記録した結果、その構成波の a 波および b 波、さらに振幅ならびに頂点潜時のいずれにも、CLM 投与群と対照群の間で統計学的に有意差は認められなかった。したがって、CLM は網膜機能に対して影響をおよぼさないものと考えられる。

次に、ウサギにおける眼底検査の結果を見ると、CLM 投与開始 18 日目および投与終了時の眼底所見は、投与開始前と比較して著しい変化は認められず、また beagle 犬においても同様で、視神経乳頭の形態や生理的陥没および色調をはじめ、網膜血管の走行や形態ならびに tapental fundus や non-tapental fundus の明るさや色調に、CLM 投与によると思われる変化は認められなかった。また、CLM 投与終了時における眼球の病理組織学的検査においても、ラットおよびウサギの角膜、虹彩、毛様体および網膜になんら異常は認められなかった。これらのことは、CLM が視覚器に対して器質的、形態的变化を与えるものでないことを示唆している。

一般に、医薬品による視覚系の障害は、投与期間ならびに総投与量にはば比例し、慢性中毒症状の 1 つとして発現することが多い⁽¹⁾。しかも、一般的な視覚系への障害は機能的障害が形態的变化に先行して発現するとされている。しかし、今回実施した投与期間および総投与量では、CLM によると思われる視覚器の機能的ならびに病理組織学的異常所見が、ラット、ウサギおよび beagle 犬において、なんら認められなかったことから、CLM は視覚器に対して重篤な影響をおよぼさないものと考えられる。

結 論

Sodium colistin methanesulfonate (CLM) の視覚器におよぼす影響を検討する目的で、CLM の 25 mg および 40 mg/kg を雄性 Wistar 系ラットに、その 80 mg/kg を雄性日本白色種ウサギおよび雄性 beagle 犬に 35 日間毎日（日曜日は除く）静脈内に投与し、一般症状、行動および体重推移の観察、網膜電図（ERG）の記録、眼底検査および眼球の病理組織学的検査を行ない、以下の結果を得た。

1. ラット、ウサギ および beagle 犬のいずれにおいても、中毒症状の発現ならびに死亡例は見られず、体重推移にも CLM 投与の影響は認められなかった。また、視覚障害に関連した異常行動も見られなかった。
2. ラットの ERG 誘発電位の構成波に、CLM 投与の影響は認められなかった。
3. ウサギおよび beagle 犬における眼底検査、ラットおよびウサギにおける眼球の病理組織学的検査、いずれにおいても CLM 投与による異常所見は認められな

った。

4. 以上の結果から、CLM はラット、ウサギ および beagle 犬の視覚器に対して、本実験条件下では影響をおよぼさないものと考えられる。

文 献

- 1) 小山康夫, 黒沢秋雄, 土屋 厚, 高久田金助: 土壌芽胞細菌の生産する一新抗菌性物質 colistin に就て. *J. Antibiotics, Ser. B* 3: 457~458, 1950
- 2) SCHWARTZ, B. S.; M. R. WARREN, F. A. BARKLEY & L. LANDIS: Microbiological and pharmacological studies of colistin sulfate and sodium colistin methanesulfonate. *Antibiotics Annual 1959/1960*: 41~60, 1960
- 3) 高田道夫, 上野雅清, 上山卓也, 久保田武美: 尿路感染症に対する静注用コリスチンメタンスルホン酸ナトリウムの応用. *産婦人科の世界* 27: 791~795, 1975
- 4) 平野章治, 勝見哲郎, 黒田恭一: 複雑性尿路感染症における静注用メタコリマイシンの使用経験. *Chemotherapy* 22: 1413~1417, 1974
- 5) 南条昭一: 緑膿菌を抽出した耳漏に対するコリスチンメタンスルホン酸ナトリウムの局所使用経験. *診療と新薬* 13: 617~620, 1976
- 6) 小山康夫, 黒沢秋雄: Colimycin メタンスルホン酸誘導体の生体内に於ける抗菌性に就て. *東京医事新誌* 77: 355~356, 1960
- 7) 東海林純一, 浜田 雅, 渡辺純江, 千葉勝一, 黒沢秋雄, 小山康夫: Colistin sodium methanesulfonate の諸性状について. *J. Antibiotics, Ser. B* 12: 365~367, 1959
- 8) 松本朋徳: Colistin およびその誘導体による Histamine 様物質の遊離. *日本薬理学会誌* 66: 284~291, 1970
- 9) 高杉益光: 目に障害を及ぼす薬剤. *薬事新報* 71: 478~489, 1971
- 10) 落合富士也: 向精神薬によると思われる角膜, 水晶体の変化について. *眼科* 17: 701~703, 1975
- 11) 中島 章: 医薬品による眼障害に関する全国調査の結果について. *日本の眼科* 47: 743~754, 1976
- 12) 小林 勝, 日比野豊, 桑波田十九男, 富山嘉六: Econazole nitrate の視覚器に及ぼす影響. *医薬品研究* 10: 307~315, 1979
- 13) 中川 喬, 伊藤 進: Chloramphenicol 投与による両側性急性球後視神経炎の 2 症例. *臨牀* 19: 59~63, 1965
- 14) 三根 亨: エタンブトールによる眼障害. *眼科* 11: 801~816, 1969
- 15) 渡辺郁緒: クロロキン網膜症について. *眼薬* 16: 727~734, 1974
- 16) 松岡幸彦, 向山昌邦, 祖父江逸郎: 実験的 ethambutol neuropathy の病理組織学的研究. *臨床神経* 12: 453~460, 1972
- 17) 今井弘子: 有機磷剤の毒性性に関する研究, 第 1 報, バイテックス 1 回投与によるラット ERG 及

Photo. Histopathological findings in male rats administered intravenously with 40 mg/kg/day of CLM for 35 days (H. E. Stain)

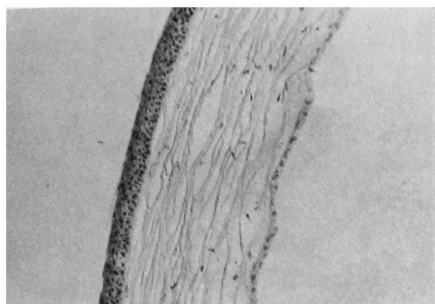


Photo 1. Cornea ($\times 100$)



Photo 2. Ciliary body ($\times 100$)

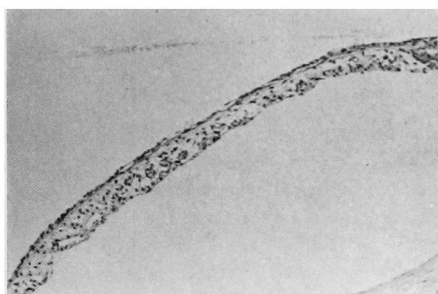


Photo 3. Iris ($\times 100$)

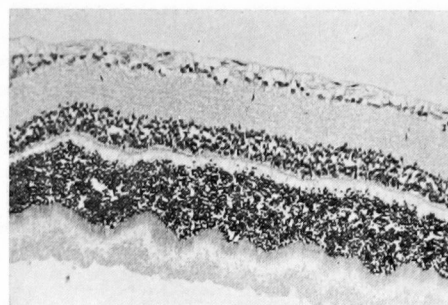


Photo 4. Retina ($\times 100$)

Fundus oculi of male rabbit administered intravenously with 80 mg/kg/day of CLM for 35 days

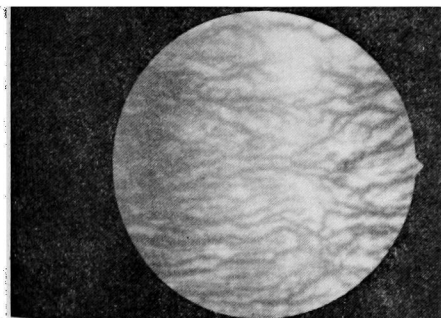


Photo 5. Control

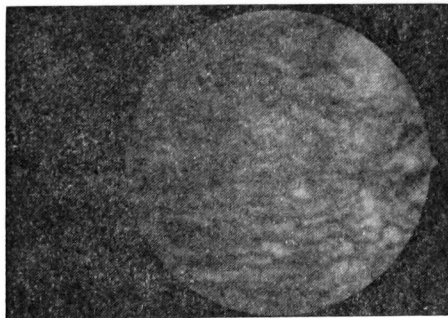


Photo 6. 36 days

Histopathological findings in male rabbits administered intravenously with 80 mg/kg/day of CLM for 35 days (H. E. Stain)

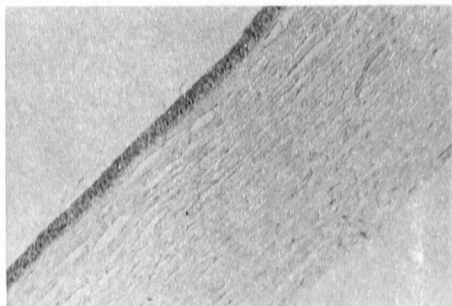


Photo 7. Cornea ($\times 100$)

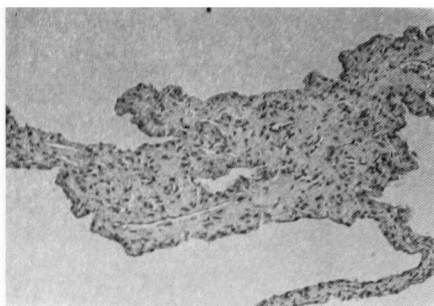


Photo 8. Ciliary body ($\times 100$)

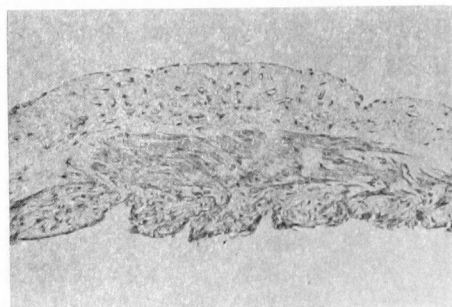


Photo 9. Iris ($\times 100$)

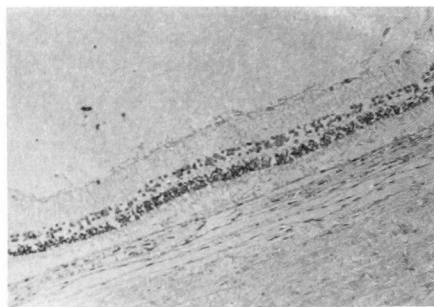


Photo 10. Retina ($\times 100$)

Fundus oculi of male beagle dog administered intravenously with 80 mg/kg/day of CLM for 35 days

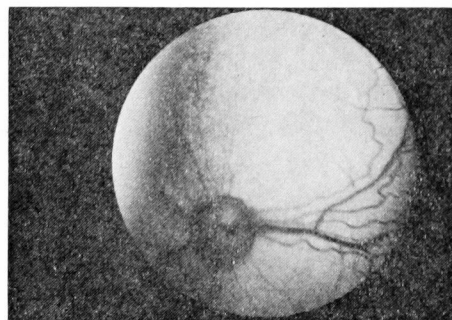


Photo 11. Control

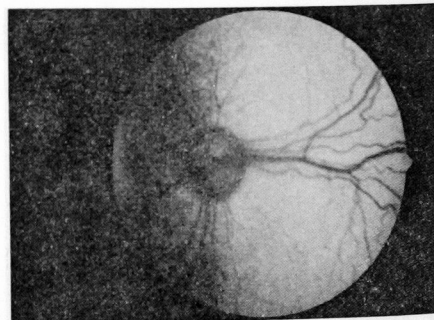


Photo 12. 35 days

ピコリンエステラーゼに関する生化学的研究。日
本眼科学会雑誌 78: 163~172, 1974

視覚系毒性の作用機序を中心として一。脳と神経
27: 809~820, 1975

18) 向野和雄, 石川 哲: 中毒性眼疾患について, —

EFFECTS OF SODIUM COLISTIN METHANESULFONATE ON THE VISUAL ORGAN

MICHIHIKO TSUJITANI, NAONORI YAMAZAKI and SHIGETOSHI TSUCHIYA

Department of Pharmacology, Kanagawa Dental College

(Director.: Prof. HARUO ITOH)

MASARU OHUCHI, TARO SAITOH and TOMONORI MATSUMOTO

Pharmacological Research Center,

Kayaku Antibiotic Research Co., Ltd.

HIROSHI SATOH

Department of Pathology,

Sasaki Institute, Sasaki Foundation

Ocular toxicity of sodium colistin methanesulfonate (CLM) on visual organs was studied histopathologically, funduscopically and electroretinographically (ERG) in Wistar strain rats, rabbits and beagle dogs. CLM (25 mg, 40 mg/kg in rat; 80 mg/kg in rat, rabbit and beagle dog) dissolved in pyrogen free physiological saline was administered intravenously daily for 35 days except every Sunday. In the control group, the same volume of physiological saline was administered.

Results were given as follows;

1. Throughout the experiment, no toxic symptoms and abnormal behaviors by CLM administration were observed. There was no significant changes of body weight gain in the groups treated with CLM. No deaths occurred in any of the groups.

2. ERG measured at the day after the final application of the drug was no remarkable difference between the CLM treated and control rats.

3. No statistic difference of histopathological alterations of eye ball was observed in any treated groups.

4. Toxicological influence of the CLM on the funduscopy of rabbits and beagle dogs was not observed.

In consequence, CLM has no toxicological influences and specific effects on visual organs under these experimental conditions.