

アミノグリコシド腎毒性に対するセファロスポリンの影響の研究

石川清文

北海道大学医学部第二内科

(主任：中川昌一教授)

(昭和 56 年 5 月 7 日受付)

重症難治感染症の治療にしばしば aminoglycoside 系抗生物質 (AG) と β -lactam 系抗生物質の併用が行なわれる^{1,2)}。このうち、AG に cephalosporin 系抗生物質 (CEP) を併用すると、AG 単独投与時に比べ、腎障害が増強したという臨床例が報告されている³⁻⁶⁾。これは AG の腎障害作用に加えて、大量投与で腎障害を起こしうる CEP の腎への負荷が加わるためと考えられる。これに対し、主に rat での動物実験では、CEP の併用は AG の腎障害を軽減、不変、時に増強するなど種々の結果が報告されており、一定していない⁷⁻⁹⁾。

本研究では、rat を用いて、CEP 併用時の AG の腎組織内濃度および腎機能への影響、さらに furosemide をも併用した場合の AG 濃度の変化、その機序の一部としての CEP による AG の不活化の有無などについて実験的に検討を加えた。

I. 実験方法

1. 使用抗生物質 AG としては、Gentamicin (GM, アメリカシェリング), Tobramycin (TOB, 塩野義製薬), CEP としては、Cephalothin (CET, 塩野義製薬), Cephaloridine (CER, 鳥居薬品), Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品) をそれぞれ提供を受け使用した。

2. 実験動物 4~5 週令の Wistar 系雄性 rat を用いた。その他の場合は別記した。

3. 投与方法 ethyl ether 吸入麻酔下に 1 日 1 回、大腿部筋肉内に注射し、2 剤以上同時投与の際には、1 剤を反対側に投与した。

4. 検体 最終投与 20 時間後に、ether 吸入麻酔下に断頭脱血し (ただし、実験 3 は心臓穿刺)、両側腎を採取した。血液はそのまま、また、腎組織は 2 ないし 5 倍量の 1/15 mol, pH=8.0 の phosphate buffer (P-B) にて希釈、homogenate とし、ともに 10 分間、3,000 cps 遠沈後、 -20°C に凍結保存し、測定に供した。

5. 測定 測定培地は medium 5 (Difco) を用いた。その他の場合は別記した。検定菌は、AG 単独投与の場合は、*Bac. subtilis* ATCC 6633 を、AG と CEP 併用の場合は *Ps. aeruginosa* NCTC 10490 または *Ps. aerug.* ATCC 27853 を用いた。測定は WHATMAN disc II (直径 6 mm) を使用、薄層 disc 法で行なった。血清 standard には、Moni Trol I を、その他の場合は、主に 1/15 mol, pH=8.0 の P-B を用いた。それ以外の場合は別記した。

II. 予備実験

予備実験 1 CET 単独投与時の腎組織内および血清濃度を測定した。2 匹の rat に CET 800 mg/kg/日 \times 5 日間投与後の CET 濃度を測定した。腎 homogenate は pH=7.2 の P-B を 2 倍量加えて作製した。standard は P-B 希釈を用いた。《結果》(Table 1) CET 濃度はいずれもきわめて低値であった。

予備実験 2 GM 濃度測定に及ぼす CET 共存の影響をしらべた。予備実験 1 と同じ P-B にて GM は 100 および 25 $\mu\text{g/ml}$ に、CET は 200 から 25 $\mu\text{g/ml}$ まで、2 倍階段希釈して box を組み、両者混合直後の GM の

Table 1 Serum and renal concentration of CET of rats given daily for 5 days

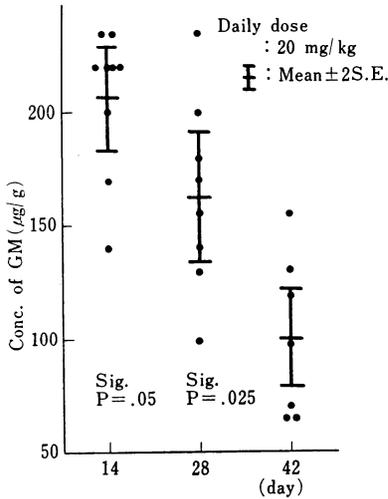
	Rat 1	Rat 2	Mean
Renal conc. ($\mu\text{g/g}$)	0.54	0.45	0.50
Serum conc. ($\mu\text{g/ml}$)	1.4	0.45	0.93

Dose : 800 mg/kg/day \times 5 days

Table 2 Influence of coexistence of CET on the diameter of the inhibition zone of GM

CET GM	($\mu\text{g/ml}$) 200	100	50	25	0	Cor. coeff.
($\mu\text{g/ml}$) 100	12.0	11.7	10.7	10.7	11.2	$r = .809$
25	9.1	9.0	8.5	8.8	9.4	$r = .047$
6.3	7.9	7.4	7.8	7.6	8.4	$r = -.096$
0	0	0	0	0	0	

Fig.1 Renal concentration of GM of the rats i.m. injected daily for 2,4,or 6 weeks



力価を測定した。《結果》(Table 2) GM=100 µg/mlで、かつ、CET ≥ 100 µg/ml の場合に阻止円径に CET の影響が認められ、直径がやや大きくなる傾向を認めた。GM ≤ 25 µg/ml, または、CET ≤ 50 µg/ml の範囲では、阻止円径はGM濃度をそのまま示すと考えて差しつかえないものと思われた。

予備実験 3 GM連続投与時の腎組織内濃度の時間的推移を検討した。rat 27 匹を3群、各9匹に分け、GM 20mg/kg を毎日投与した。投与期間は各群それぞれ2, 4, 6 週間とした。投与終了後の腎組織内および血清濃度を測定した。なお、投与期間中に4, 6 週群で、それぞれ1および2匹のratが死亡したが、いずれも麻酔の不手際によるものと考えられた。《結果》(Fig. 1) 投与後2週間では腎組織内GM濃度はきわめて高値を示したが、投与期間の延長とともにその低下がみられ、推計学的に有意であった (P=0.005)。

III. 実 験

実験 1

実験 1-1 AG の腎組織内および血清濃度に及ぼす CET 併用の影響

CET 同時投与時のGMの腎組織内および血清濃度を測定し、影響の有無をしらべた。rat 10 匹を5匹づつ2群に分け、1群はGM 10 mg/kg と CET 400 mg/kg とを同時に、他群は同量のGMのみを5日間投与し、GMの濃度を測定した。《結果》(Fig. 2) GMの腎組織内濃度は、単独投与時、77.5~100 (平均92.0) µg/g, CET 併用時、47.0~82.5 (平均60.5) µg/g で、併用時により低値であった (P=0.025)。また、血清濃度は両群間に差を認めなかった。

Fig.2 The effects of the coexistence of CET on renal and serum concentration of GM

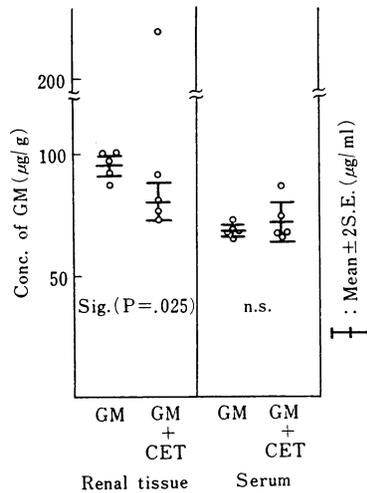
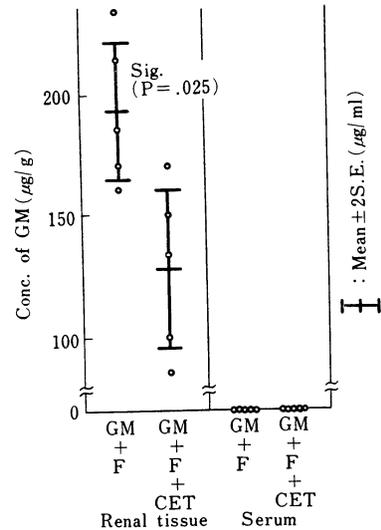


Fig.3 The effects of the coexistence of CET with furosemide on the concentration of GM



実験 1-2 AG 単独および CET 併用時の AG 濃度に対する furosemide の影響

10 匹の rat を5匹づつ2群に分け、1群はGMのみを、他群はGMと CET とを併用投与した。投与量、期間は実験 1-1 に同じ。これに、さらに furosemide 4 mg/kg を同時に投与し、腎組織内および血清GM濃度を測定した。《結果》(Fig. 3) 腎組織内濃度はGM単独群で160~235 (平均193) µg/g, CET 併用群で86~170 (平均128) µg/g となり、furosemide 併用時も CET 併用群で、より低値を示した (P=0.025)。血清

Fig. 4 Renal tissue concentration of GM of the rat coinjected with or without CET serially 14 time in 15 days

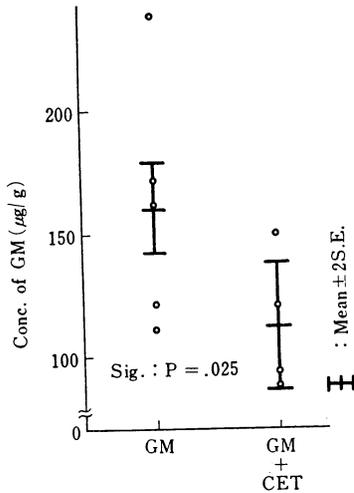
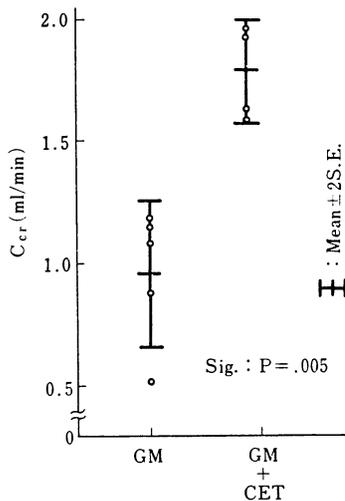


Fig. 5 Creatinine clearance of the rat injected GM serially with or without CET

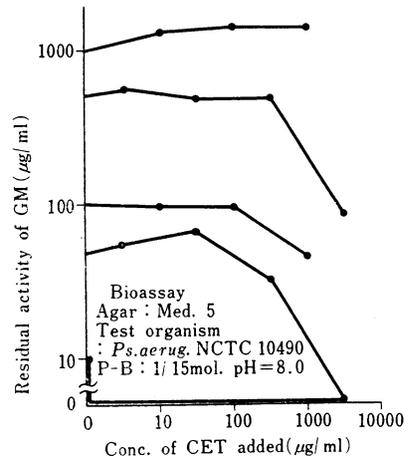


GM濃度は両群ともに測定限界値以下であった。

実験 1-3 AG 単独および CEP 併用時の GM の腎組織内濃度と腎機能との関係

9匹の rat をメタボリックケージ内で飼育し、これに15日間に14回、1日1回、10mg/kgのGMを、また、このうち4匹は、GM投与開始後5日目よりCET 800mg/kgを、他の5匹は蒸留水を、GMと同時に投与し、最終投与後20時間目の腎組織内および血清GM濃度と、内因性 creatinine clearance (C_{cr}) とを測定した。 C_{cr}

Fig. 6 Reduction of GM activity after incubation with CET (37°C, 24 hr.)



は24時間尿をプールし、尿および血清 creatinine 濃度とから算出した。また、GM投与開始後、5、7、9日目の尿中GM排泄量を測定した。その場合、尿はP-Bにて10倍に希釈して測定した。《結果》(Fig. 4, 5) (1) 血清GM濃度は全例測定限界値以下であった。(2) 腎組織内濃度はGM単独群では111~240(平均161) µg/g、併用群では87~150(平均112.5) µg/gと、併用群で有意に低値であった($P=0.025$)。(3) C_{cr} は単独群では0.52~1.18(平均0.96) ml/min、併用群では1.58~1.96(平均1.79) ml/minとなり、併用群で有意により高値を示した($P=0.005$)。(4) 尿中GM排泄率は両群間に大きな差を認めなかった。

実験 2

*In vitro*でのAGとCEP併存によるAG不活化の検討。

前述したようにratにGMとCETとを同時投与すると、GMの腎組織内濃度が低下する。この原因の一つとして、Carbenicillin (CBPC) など penicillin 系薬剤によるAGsの不活化に類した現象が、CEPとAGとの間でも生じるのではないかと考え、以下の実験を行なった。

実験 2-1 *In vitro* (P-B内)でのCEPによるGMおよびTOBの不活化

GMの最終濃度が1,000~50 µg/ml、CETのそれが5,000~5 µg/mlとなるように、両剤をP-Bで階段希釈し、boxを組み、37°Cに24時間放置後のGMの残存力価を測定した。TOBとCETとの組み合わせで同様の実験を行なった。《結果》(Fig. 6, 7) GM、TOB い

Fig. 7 Reduction of TOB activity after incubation with CET (37°C, 24 hr.)

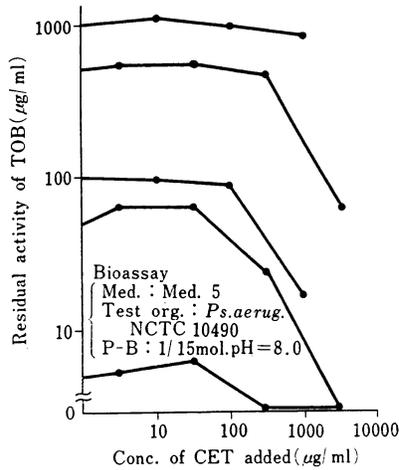
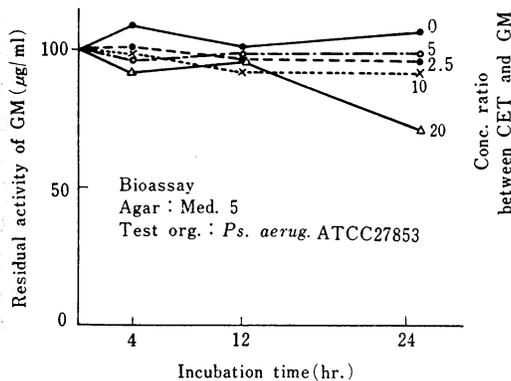


Fig. 8 Reduction of GM activity after incubation with CET in the homogenate of the renal tissues of rats



れの場合でも、CET : AG の濃度比が 10 : 1 以上の場合に、AG の残存力価の著明な低下を認めた。残存力価は GM の場合、混合前の 17~64 (平均 50.3)%, TOB の場合、16.5~63 (平均 42.5)% であった。また、両剤とも、CET との incubation の時間が 4 時間の場合、力価の低下を認めなかった。

実験 2-2 rat 腎 homogenate 内での検討

実験 2-1 と同様の実験を rat 腎 homogenate 内で行った。rat 腎 homogenate 遠沈上清 (3 匹の rat 腎を混合、P-B で 8 倍に希釈) 中で 100 µg/ml の GM と、2,000~250 µg/ml の CET とを混合、37°C に 4, 12, 24 時間放置後の GM の残存力価を測定した。《結果》(Fig. 8) CET と GM の濃度が 20 : 1 の場合に GM の力

Fig. 9 Bioautograms of GM after incubation with CER, CET or CEZ-Reduction of GM activity

Med.	HIA					
	Med. 5		ATCC 27853		ATCC 27853	
Test org.	<i>Ps.aeruginosa</i> ATCC 27853					
Preincubation	20hrs		3days		5days	
Dilution	Moni Trol 1		P-B, 1/15mol. pH=8.0		P-B, 1/15mol. pH=8.0	
Conc.	GM 1mg/ml CER 10		1 20		1 10	
Spot	30µl		20		30	
Diamet. (mm)	12.7 ×	16.5 ×	0 ×	10.0 ×	12.7 ×	18.0 ×
Origin	○	○	○	○	○	○
	GM CER	GM	GM CET	GM	GM CEZ	GM

価の低下が軽度に認められたのみで、10 : 1 以下の場合には認められなかった。

実験 2-3 Thin-layer chromatography (TLC) による検討

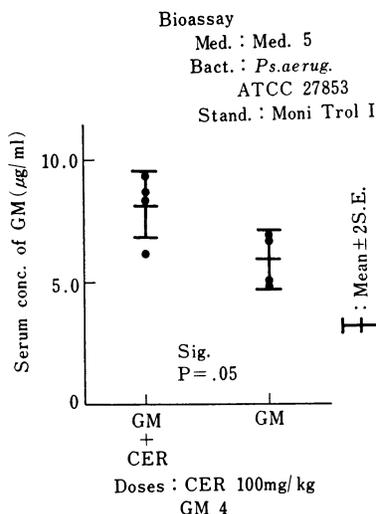
GM と CEP (CER, CET, CEZ のそれぞれ) とを最終濃度が 1 : 20, または 1 : 10 となるように、P-B または Moni Trol I 血清でそれぞれを希釈し、混合、37°C に 20 時間ないし 3 日間放置した。その後、TLC にて展開、autobiography を行ない、GM による阻止円の大きさをしらべた。chromatogram sheet は Eastmann chromatogram sheet 6060 を、展開溶媒は MacLAUGHLIN らに準じ、N-butanol : acetic acid : water = 12 : 3 : 5 のものを、培地は HIA および medium 5 を、検定菌は *Ps. aerug.* ATCC 27853 および *Bac. sub.* ATCC 6633 を用いた。《結果》(Fig. 9) GM の spot は origin に留まった。各 CEP の Rf 値は、CER=0.12, CET=0.72, CEZ=0.37 であった。(1) CER 10 mg/ml と GM 1 mg/ml の場合、20 時間 incubation にて GM 阻止円径の明らかな縮小を認めた。血清希釈の場合は縮小の程度が弱かった。CET, CEZ との場合も同様に GM 阻止円径の縮小を認めた。(2) 3 種の CEP いずれの場合も *Bac. sub.* を検定菌として用いた場合は、阻止円径は control とほぼ同じか、時により大きかった。

実験 3

腎門部結紮 rat における GM の体内動態の検討。

体重 350~450g の Wistar 系雌性 rat 8 匹を ether 吸入麻酔下に開腹、両側腎門部を結紮した。これを 4 匹づつ 2 群に分け、1 群には GM 4 mg/kg と CER 100

Fig. 10 Serum concentration of GM of the rat after 20 hrs ligation of the renal hili followed immediately by the injection with or without CER

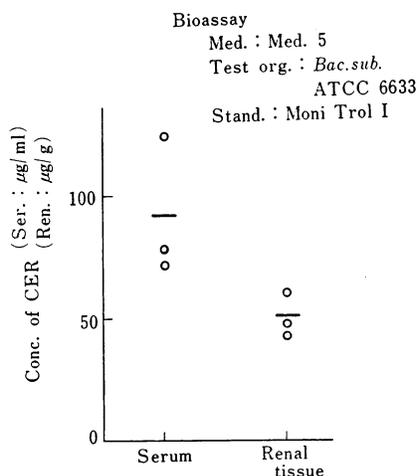


mg/kg とを同時に、他群には同量の GM のみを投与し、20 時間後の腎組織内および血清 GM 濃度を測定した。また、同様に処置した 3 匹の rat に CER を単独投与し、CER の腎組織内および血清濃度を測定した。《結果》(Fig. 10, 11) 血清 GM 濃度は CER 併用群で 6.2~9.4 (平均 8.15) $\mu\text{g/ml}$, GM 単独群で 4.8~7.0 (平均 5.9) $\mu\text{g/ml}$ と、併用群においてむしろ高値を示した ($P=0.05$)。腎組織内 GM 濃度は両群ともに約 2 $\mu\text{g/g}$ で、差は認められなかった。CER 単独投与時の腎組織内および血清濃度は、50.7 $\mu\text{g/g}$ および 91.7 $\mu\text{g/ml}$ であった。この実験での CER および GM 単独投与時の血清濃度を比べると、約 15:1 となり、実験 2-3 の場合の 10:1 より大であった。

IV. 考 按

GM は腎において糸球体から排泄された後、一部が近位尿細管上皮細胞内へ再吸収される。この細胞内への取り込みには、細胞内外の GM の濃度差に基く単純な拡散と、高エネルギーリン酸結合の消費を伴う能動輸送との両方の機序が考えられており、細胞表面の receptor の存在や、pinocytosis による取り込みも報告されている。細胞内に取り込まれた GM は、細胞質膜、lysozyme, mitochondria などの細胞内諸器官と結合し、長時間残存すると考えられている。たとえば rat での GM 腎組織内半減期は、血中のそれが約 30 分であるのに比べ、110 時間余に及ぶと報告されている。このため、腎組織、特に皮質内に GM が高濃度に蓄積し、これが腎毒性の発現

Fig. 11 Serum and renal tissue concentration of CER of the rat after 20 hrs ligation of renal hili immediately followed by the injection of CER (doses: 100 mg/kg)



に大きく関与していると考えられている¹⁰⁻¹⁵。

一方、rat での実験では GM を連続投与した場合、その腎組織内濃度は 1~2 週投与時が最高で、その後は投与を続けても次第に低下し、それに伴い、腎機能障害も増強から改善に向うといわれる¹⁶。予備実験 3 でも、投与期間が長くなると、腎組織内 GM 濃度が低下することを認めた。この理由としては、AG の特に蓄積した部位、すなわち近位尿細管上皮が壊死脱落し、その後再生した幼若な上皮は AG をあまり取り込まず、その毒性作用を受け難くなると考えられている¹⁷。しかし、臨床例での AG 長期投与の影響については、現在のところほとんど不明である。

一方、AG と CEP との併用時、例えば GM に CET を併用した場合、臨床例では腎障害増強の報告が多いが、動物実験では逆に、CET の併用では腎障害が増強されないか、むしろ軽減されるとの報告が多い⁷⁻⁹。すなわち、LUFT らは、CEP 併用時、GM の腎組織内濃度は変化しないが、腎障害の軽減は認められることを報告し⁹、また、DELLINGER らは、CET と GM の同時投与の 4 時間後、すでに単独投与時に比べ、腎組織内 GM 濃度の低下の認められることを¹⁸、また、別の実験で、CET と GM の同時投与時に、GM による腎障害が軽減されることを報告した⁷。このような臨床例と動物実験の違いの理由は現在のところ不明である。rat での実験に限ってみた場合、GM の腎障害作用が、その近位尿細管上皮細胞内への蓄積と関係があるとすれば、本実験

1-1のように、CET併用時に腎組織内GM濃度が低下し、さらに実験1-2のように、furosemide併用時にも同様にGM濃度が低下し、実験1-3のように、CET併用群ではGM単独群よりも C_{cr} の低下が軽度であるという結果は、前述のDELLINGERらの報告を支持しているように思われる。現在、CET同時投与時の腎組織内GM濃度低下の機序としては、

(1) CETが近位尿細管内で非吸収性のanionとして働き、静電的に同部位からのGMの再吸収を妨げる⁷⁾

(2) 大量のCET投与により、Naが体内に貯溜し、GMのdistribution volumeを増加させる¹⁹⁾

などが考えられている。また、WHELTONらは、イヌでの実験で、CETの同時投与はGMの腎皮質内濃度に影響しなかったが、アミノ酸を尿細管の再吸収能を飽和する割合で投与すると、GMの腎皮質内濃度を著明に低下せしめることを示し、近位尿細管上皮において、アミノ酸とGMとが拮抗的に取り込まれることを報告した²⁰⁾。また、D-glucarate併用時に、GMの腎からの排泄が促進され、腎組織内GM濃度の低下、腎障害の軽減が認められるという報告²¹⁾、また、他のAGを同時投与すると、GMの取り込みが低下する¹⁰⁾、との報告なども、近位尿細管でのactive transportの、また、他剤との拮抗現象の存在を示しているものと思われる。

一方、本実験2で、*in vitro*で示したように、CETとGMとの相互作用により、GMが不活化される可能性も否定はできないと思われる。furosemideをAGと同時投与した場合、AGの腎毒性が増強され、またfurosemide併用時にGMの腎組織内濃度が上昇することも知られており、前者は後者の結果と考えられる。この機序としては、furosemideの利尿作用によるdistribution volumeの減少や、GFRの低下により、GMの腎clearanceが低下し、血清や腎組織内の濃度が上昇することなどが考えられている²²⁻²⁵⁾。本実験1-2では、血清濃度はfurosemide非併用時と比べ、より低下し、腎組織内濃度はより上昇した。GMの尿中排泄量が確定し得なかったため、確実なことはいえないが、排泄量が増加した可能性は考えられる。これにCETを併用した場合、GMの腎組織内濃度の低下を認めたことは興味がある。すなわち、この場合もCETは毒性軽減の方向に作用すると考えられる。現在までに、penicillinの場合、GM力価のCBPCによる著明な低下が、*in vitro*において、また、慢性腎不全時の人体内において認められている²⁶⁾。また、TicarcillinとGMとの間でも類似の現象が報告されている²⁷⁾。これに対し、CEPの場合、GMとの*in vitro*での混合で、時に沈殿を生ずることが報

告されているが、GMの力価に及ぼす影響については充分には明らかにされていない²⁸⁾。

今回の実験(2-1)では、CEPについても、CBPCの場合と同様、例えばCETの濃度がGMのその10倍以上の場合、1昼夜37°Cにincubateすれば、明らかなGMの力価の低下が認められた。一方、同様の実験をrat腎homogenate遠沈上清中で行なった場合、GMの力価の低下は著明でなかった(実験2-2)。GMが不活化される場合、GM分子中のアミノ基が、 β -lactam剤と結合し、両者の結合物が形成されるのではないかと考えられるが、腎homogenate上清内では、蛋白結合率の高いCETとGMとの結合率が低下するため、このような結果が得られたのではないかと考えられる。また、bioautogramでも、CEPによるGM力価の低下が認められ、特に蛋白結合率の低いCERでは、血清内での反応でもGM力価の低下を認めた(実験2-3)。これら*in vitro*での実験結果から、腎門部を結紮して腎からの排泄を抑制したratでの、GM力価の低下を予測したのであるが、腎組織内GM濃度は、CER併用群で、単独投与群に比べ、低下を示さなかった。また、血清GM濃度はむしろ上昇した(実験3)。これはNOONEやRIFFらの臨床dataと類似し、高度の慢性腎不全でない場合は、CBPCの場合と同様、*in vitro*でのようなGMの力価の低下は出現しがたいものと思われた^{29,30)}。機序は不明であるが、両薬剤の体内分布の違い、組織蛋白との結合の影響、慢性腎不全時における薬物の蛋白結合率の低下、腎からの排泄機序の違いなどのほか、実験モデルの問題が複雑に関連しているものと思われる。

一方、DELLINGERらの報告で、投与4時間後には、すでにCETによるGMの血清濃度の低下が認められた¹⁸⁾ことからすれば、生体内でのGM濃度の低下には、CETとのinteractionによる結合物の生成以外の要因が主役を勤めているとも考えられる。しかし、腎組織へのGMの蓄積が徐々に、累積的に行なわれ、ここへ、たとえば毎日数回、くり返し高濃度のCETが作用するであろうことを考えると、inactivationの関与も否定できないのではないかとと思われる。

V. 結 論

ratを用いてAG連続投与時の腎組織内濃度と腎毒性に関するCEP併用の影響を検討した。

1) CETとGMの連続併用時、GM単独投与時に比べ、GMの腎組織内濃度の有意の低下と、これに伴う C_{cr} 値低下の抑制を認めた。血清GM濃度には違いを認めなかった。

2) GMとfurosemideの併用時、腎組織内GM濃度は上昇したが、これにさらにCETを併用することに

より、GM濃度の有意の低下を認めた。

これらの事実から、rat では、GM 投与時、CET 併用によりGMによる腎機能障害が軽減され、これは腎組織内GM濃度の低下と関連があると考えられた。

3) *In vitro* で、P-B または血清中で、AG を CEP と混合すると、CEP 濃度が AG 濃度に比べ高い場合 (10 : 1 以上)、AG 力価の著明な低下を認めた。しかし、腎 homogenate 遠沈上清内では力価の低下は認められなかった。これには CEP の蛋白結合率の大小が関係すると思われるが、いずれにしても、AG と CEP との interaction により、両者の結合物が形成され、AG の力価が低下する可能性が考えられた。

4) 腎障害を想定したモデル実験で、腎門部を結紮した rat に GM と CER とを同時投与後、20 時間目の血清 GM 濃度は低下を認めなかった。

おわりに、本論文を御校閲下さった中川教授と、本実験中から種々御助言下さり、また、本論文を御校閲下さった第 2 内科加藤康道講師に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) KLASTERSKY, J.; R. CAPPEL, G. SWINGS & L. VANDENBORRE : Bacteriological and clinical activity of the ampicillin/gentamicin and cephalothin/gentamicin combinations. *Amer. J. Med. Sci.* 262 : 283~290, 1971
- 2) HAHN, D. M.; S. C. SCHIMFF, V. M. YOUNG, C. L. FORTNER, H. C. STANDIFORD & P. H. WIERNIK : Amikacin and cephalothin : Empiric regimen for granulocytocenic cancer patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 12 : 618~624, 1977
- 3) KLASTERSKY, J.; C. HENSGENS & L. DEBUSSCHER : Empiric therapy for cancer patients : Comparative study of ticarcillin-tobramycin, ticarcillin-cephalothin, and cephalothin-tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 7 : 640~645, 1975
- 4) BOBROW, S. N.; E. JAFFE & R. C. YOUNG : Anuria and acute tubular necrosis associated with gentamicin and cephalothin. *JAMA* 222 : 1546~1547, 1972
- 5) SCHWARTZ, J. H. & P. SCHEIN : Fanconi syndrome associated with cephalothin and gentamicin therapy. *Cancer* 41 : 769~772, 1978
- 6) PLAGER, J. E. : Association of renal injury with combined cephalothin-gentamicin therapy among patients severely ill with malignant disease. *Cancer* 37 : 1937~1943, 1976
- 7) DELLINGER, P.; T. MURPHY, V. PINN, M. BARZA & L. WEINSTEIN : Protective effect of cephalothin against gentamicin induced nephrotoxicity in rats *Antimicrob. Agents Chemother.* 9 : 172~178, 1976
- 8) HARRISON, W. O.; F. J. SILVERBLATT & M. TURCK : Gentamicin Nephrotoxicity : Failure of three cephalosporins to potentiate injury in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 8 : 209~215, 1975
- 9) LUFT, F. C.; V. PATEL, M. N. YUM & S. A. KLEIT : Nephrotoxicity of cephalosporin-gentamicin combinations in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9 : 831~839, 1976
- 10) KUO, C. H. & J. B. HOOK : Specificity of gentamicin accumulation by rat renal cortex. *Life Sci.* 25 : 873~878, 1979
- 11) LUFT, F. C.; V. PATEL, M. N. YUN, B. PATEL & S. A. KLEIT : Experimental aminoglycoside nephrotoxicity. *J. Lab. Clin. Med.* 86 : 213~220, 1975
- 12) BAYLIS, C.; H. R. RENNKE & B. M. BRENNER : Mechanisms of the defect in glomerular ultrafiltration associated with gentamicin administration. *Kidney Int.* 12 : 344~353, 1977
- 13) CHIU, P. J. S. & J. F. LONG : Urinary excretion and tissue accumulation of gentamicin para-aminohippurate in post ischemic rat kidneys. *Kidney Int.* 15 : 618~623, 1979
- 14) SILVERBLATT, F. J. & C. KUEHN : Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal-tubule cell. *Kidney Int.* 15 : 335~345, 1979
- 15) SCHENTAG, J. J.; T. J. CUMBO, W. J. JUSKO & M. E. PLAUT : Gentamicin tissue accumulation and nephrotic reactions. *JAMA* 240 : 2067~2069, 1979
- 16) GILBERT, D. N.; D. C. HOUGHTON, W. M. BENETT, C. E. PLAMP, K. REGER, & G. A. PORTER : Reversibility of gentamicin nephrotoxicity in rats : recovery during continuous drug administration. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 160 : 99~103, 1979
- 17) GILBERT, D. N.; C. PLAMP, P. STARR, W. M. BENETT, D. C. HOUGHTON & G. PORTER : comparative nephrotoxicity of gentamicin and tobramycin in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 13 : 34~40, 1978
- 18) DELLINGER, P.; T. MURPHY, M. BARZA, V. PINN & L. WEINSTEIN : Effect of cephalothin on renal cortical concentrations of gentamicin in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9 : 587~588, 1976
- 19) BENETT, W. M.; M. N. HARTNETT, D. GILBERT, D. HOUGHTON & G. A. PORTER : Effect of sodium intake on gentamicin nephrotoxicity in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 151 : 736~738, 1976
- 20) WHELTON, A.; G. G. CARTER, T. J. CRAIG, H. H. BYANT, D. V. HERBST & W. G. WALKER : Comparison of the intrarenal disposition of tobra-

- micin and gentamicin : therapeutic and toxicologic answers. *J. Antimicrob. Chemother.* 4 (Suppl. A) : 13~22, 1978
- 21) FURUNO, K. ; S. MATSUBARA, K. ANDO & S. SUZUKI : Preventive effect of D-glucarate against renal damage induced by kanamycin. *J. Antibiot.* 29 : 950~953, 1976
- 22) DODDS, M. G. & R. D. FOORD : Enhancement by potent diuretics of renal tubular necrosis induced by cephaloridine. *Brit. J. Pharmac.* 40 : 227~236, 1970
- 23) ADELMAN, R. D. ; W. L. SPANGLER, F. BEASON, G. ISHIZAKI & G. M. CONZELMAN : Furosemide enhancement of experimental gentamicin nephrotoxicity : Comparison of functional and morphological changes with activities of urinary enzymes. *J. Infect. Dis.* 140 : 342~352, 1979
- 24) TILSTONE, W. J. ; P. F. SEMPLE, D. H. LAWSON & J. A. BOYLE : Effects of furosemide on glomerular filtration rate and clearance of practolol, digoxin, cephaloridine, and gentamicin. *Clin. Pharm. Therap.* 22 : 389~394, 1977
- 25) CHIU, P. J. S. & J. F. LONG : Effects of hydration on gentamicin excretion and renal accumulation in furosemide-treated rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14 : 214~217, 1978
- 26) McLAUGHLIN, J. E. & D. S. REEVES : Clinical and laboratory evidence for inactivation of gentamicin by carbenicillin. *The Lancet*, Feb. 6 : 261~264, 1971
- 27) ERVIN, F. R. ; W. E. BULLOCK JR. & C. E. NUTTALL : Inactivation of gentamicin by penicillins in patients with renal failure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9 : 1004~1011, 1976
- 28) WHITELY, J. E. ; J. R. BROWN & D. N. ELLIOT : A potential interaction between gentamicin and cephalexin. *J. Pharm. Pharmac.* 30 : 201~203, 1978
- 29) NOONE, P. & J. R. PATTISON : Therapeutic implications of interaction of gentamicin and penicillins. *The Lancet*. Sept. 11 : 575~578, 1971
- 30) RIFF, L. J. & G. G. JACSON : Laboratory and clinical conditions for gentamicin inactivation by carbenicillin. *Arch. Int. Med.* 130 : 887~891, 1972

THE EFFECTS OF COMBINATION OF CEPHALOSPORINS
ON MURINE RENAL TISSUE DISTRIBUTION AND
TOXICITY OF AMINOGLYCOSIDES

KIYOBUMI ISHIKAWA

The Second Department of Internal Medicine,
Hokkaido University School of Medicine (Chief : Professor Dr. S. NAKAGAWA)

The effects of coinjection of cephalosporine (CEPs) on renal tissue distribution and toxicity of aminoglycosides (AGs) in the rat were investigated after multiple i. m. administrations and following results were obtained.

1) Following daily administration of cephalothin (CET) and gentamicin (GM), a significant reduction in renal tissue concentration of GM associated with maintenance of endogenous creatinine clearance was observed. However, serum concentration of the latter was not affected.

2) After combined administration of GM and furosemide, renal tissue concentration of GM increased. Furthermore, additional administration of CET suppressed this change significantly.

From these observations, it was concluded that coinjection of CET may ameliorate the renal impairment due to AG and this may be attributable to reduction of renal tissue accumulation of the latter.

3) Following 24 hrs *in vitro* incubation of AG with CEP in phosphate buffer solution or serum, in case above 10 fold concentration of CET that of AG, a marked reduction of AG activity was observed. Same results were also obtained from the thin layer chromatographic study. But these were not shown in supernatant of murine renal tissue emulsion. These results seems to be due to the different affinities of protein binding of CEPs.

After all, AG may combine with CEP and forms new products. Activity of the former may be reduced by such a mechanism.

4) As a model experiment for renal failure, rats were ligated their renal hili and GM was injected with CET. No influence on serum level of GM was shown.