

アミノ配糖体系抗生剤の腎組織内残留に関する研究

第1報：正常家兎の腎組織内残留について

長谷川 義和

岐阜大学医学部泌尿器科学教室

(主任：河田幸道教授)

(昭和62年8月20日受付)

家兎を用いてアミノ配糖体系抗生剤 (AGs) の腎組織内残留を中心とする体内動態の検討を行った。AGs のうち Gentamicin (GM), Amikacin (AMK) は投与後 1~3 週間にわたり腎組織内、とくに皮質に多く残留していた。Streptomycin (SM) は投与後 3 日まで腎組織内に残留したが、3 時間後で髄質において高濃度を示した以外は皮質、髄質間の差異を認めなかった。GM について投与量と残留量との関係を見ると、皮質においては dose response を認めたが、髄質ではこの傾向を認めなかった。蛍光抗体法および酵素抗体法の手法を用いて GM, AMK の局在部位をマウスの腎で観察したところ、いずれも近位尿管細胞内にその局在を認めた。

アミノ配糖体系抗生剤 (AGs) は 1944 年に発見された Streptomycin (SM) に始まり、Kanamycin (KM), Gentamicin (GM), Dibekacin (DKB), Tobramycin (TOB), Amikacin (AMK), さらに最近では Sisomicin (SISO), Netilmicin (NLT), Micronomicin (MCR), Astromicin (ASTM), Habekacin (HBK) など、つぎつぎに新しい薬剤が生み出されてきた¹⁾。SM, KM など初期の薬剤は主として抗結核菌作用が重視されたが、GM 以降の薬剤は広範囲の抗菌スペクトルと優れた抗菌力を有するため一般感染症に応用され、臨床的にはその切れあじの良さに定評がある。とくにグラム陰性菌の中でも多剤耐性を獲得しやすく、難治性感染症の原因菌として重要である *Pseudomonas* や *Serratia* などに対して強い抗菌力を示す一方、*Staphylococcus* などのグラム陽性菌に対しても優れた抗菌力を有している²⁾。一般に腫瘍、結石などの基礎疾患を有する尿路感染症の中でも、難治性といわれているカテーテル留置症例や複数菌感染症例に対しても AGs は有効な薬剤として評価を受け臨床に広く使用されている。このように優れた臨床効果を示す理由として、*in vitro* では抗菌スペクトルの広さと強い抗菌力、さらに minimum inhibitory concentration (MIC) と minimum bactericidal concentration (MBC) との差が小さいことなどがあげられているが、*in vivo* において一定期間にわたり抗菌活性を失わないで血中濃度および臓器内濃度が保たれることも重要な因子と考えられる。

AGs の臓器親和性は腎が最も高く、しかも長期間に

わたり残留していることが指摘されているが³⁻⁵⁾、この事實は AGs の腎毒性の問題と深いかかわりをもっている反面、組織内での抗菌活性の持続という点で極めて興味深く、腎に残留した薬剤が一定期間におたって尿中に抗菌活性を失わないで排泄されていることが考えられる。したがって尿路感染症の治療上、AGs の体内動態の特徴を把握することは腎毒性への配慮とともに適切な投与量、投与方法、投与間隔を決める上で重要であると思われる。

そこで今回、実験動物として家兎を用い、AGs の中から GM, AMK, SM の 3 薬剤を選び、体内動態、とくに腎組織内への残留を中心とした検討を行った。またマウスを用いて蛍光抗体法、酵素抗体法の手法により GM, AMK の腎組織内での残留部位の解明を行った。

I. 材料と方法

1. 腎組織内残留濃度の測定

実験動物として体重 2~3 kg の白色成熟雄性家兎を用いた。検討薬剤は代表的 AGs である硫酸ゲンタミシン (アメリカ・シェーリング社)、GM 耐性菌に対しても抗菌活性を有し腎毒性も比較的低い硫酸アミカシン (萬有製薬)、初代の AGs であるが腎毒性は低く現在なお抗結核剤としても使用されている硫酸ストレプトマイシン (萬有製薬) の 3 薬剤を選んだ。これらの AGs を 1 群 3 羽とし家兎大腿筋肉内に注射したが、投与量は GM が 10 mg/kg、AMK が 20 mg/kg と、それぞれ通常ヒトに単回投与する場合の約 10 倍相当量とし、SM は約 5 倍相当量にあたる 100 mg/kg とした。投与後 6

時間、12時間、18時間、24時間、3日、7日、14日、21日に脱血層殺し、ただちに腎を摘出した。この後、眼科用ターバーにて皮質と髓質に分離して冷凍保存(-20°C)し濃度測定に供した。なお24時間以内に層殺した群については血清内にAGsが存在していることを考慮し、腎動脈より生理食塩水で灌流してその影響を除いた。またGMについては投与量と残留濃度、残留期間との関係を検討するため、10mg/kg投与群のほかに1mg/kg、50mg/kgの筋肉内投与を1群3羽の家兔に対して行ない、24時間、3日、7日、14日、21日後に脱血層殺し、同様の方法で皮質、髓質に分けて濃度測定に供した。濃度の測定は組織片1.0~1.5gをDisperser(三田村理研)にてホモジネートしたのち、薄層カップ法によるbioassayにて行なった。検定菌には*Bacillus subtilis* ATCC 6633を用い、測定培地としてheart infusion agar(栄研)を使用した。また検体の希釈は1/15 M phosphate buffer (pH 7.0)にて行なった。

2. 血中、尿中濃度の測定

白色成熟雄性家兔(体重2~3kg)を1群3羽とし、GMは10mg/kg、AMKは20mg/kg、SMは100mg/kgを大腿筋肉内に単回投与し、血液は5、10、15、30分および1、2、4、6、8、12、18、24時間後に心腔穿刺にて採取し、尿は1、2、4、6、8、12、18、24時間および3、7、14、21日後にカテーテルによる導尿にて採取した。濃度測定は腎内残留濃度と同様、bioassayにて行なったが、血清の希釈には家兔血清、尿の希釈には1/15 M phosphate buffer (pH 7.0)を用いた。

3. 腎内残留部位の検討

1) 蛍光抗体法

ddy系マウス(体重20~30g)にGMあるいはAMK 100mg/kgを大腿筋肉内投与し、24時間後に屠殺したのちただちに腎を摘出して-60°Cで急速凍結後クライオスタットにて5μmの切片とし、アセトン固定後蒸留水にて5倍に希釈したウサギ抗GMあるいはAMK免疫グロブリン(大日本製薬)を滴下し37°Cにて1時間反応させた。これにFITC標識ヤギ抗ウサギ免疫グロブリン抗体(医学微生物学研究所)を滴下し、37°Cで1時間反応させて蛍光顕微鏡にて観察した。

2) 酵素抗体法

前述の方法と同様に-60°Cで凍結させた標本を5μmの切片とし、アセトン固定後蒸留水にて5倍に希釈したウサギ抗GMあるいはAMK免疫グロブリン(大日本製薬)を滴下し37°Cにて1時間反応させた。これにhorse radish peroxidase結合ヤギ抗ウサギ免疫グロブリン抗体(DACO社)を滴下して37°Cで1時間反応させ、diaminobenzidineに過酸化水素を加えた溶液中

Fig. 1 GM concentrations in renal cortex of rabbit after single intramuscular injection

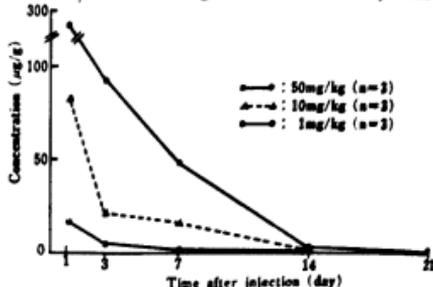
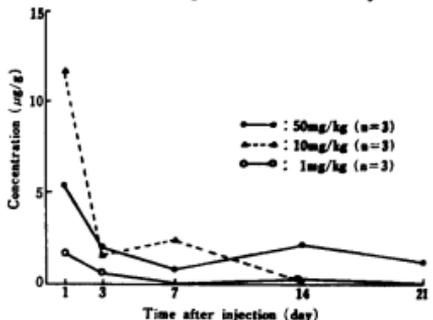


Fig. 2 GM concentrations in renal medulla of rabbit after single intramuscular injection



で反応後NaH₂で反応を停止させた。その後 methylene greenにて核染色も行なって光学的顕微鏡で観察した。

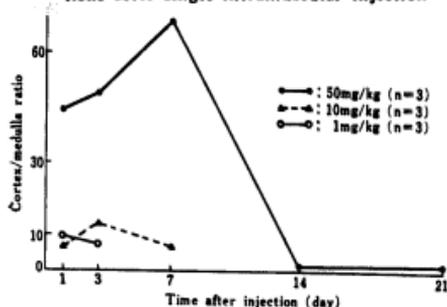
II. 成績

1. GMの投与量と腎組織内残留およびその推移

1) 腎皮質への残留

GMについては(Fig. 1), 投与24時間後には1mg/kg投与群で16.6μg/g、10mg/kg投与群で84.7μg/g、50mg/kg投与群で233.3μg/gと投与量に比例して高濃度の残留を認めた。以後漸減していくもの1週間後でも1mg/kg投与群は1.0μg/g、10mg/kg投与群は16.0μg/g、50mg/kg投与群は47.8μg/gの残留を認め、その後1mg/kg投与群はゆっくり減少してゆき2週間後で10mg/kg投与群と同じ0.1μg/gの残留濃度となった。一方、50mg/kg投与群は前2者に比し急速に減少し2週間後に2.3μg/gとなった。3週間後になると1mg/kg投与群と10mg/kg投与群の残留濃度は測定限界以下となったが、50mg/kg投与群は1.8μg/gの残留が認められた。これらのことから腎皮質においては投与量が1mg/kgと少ない場合でもかなり長期間(2週間)

Fig. 3 Cortex/medulla ratio of GM concentrations after single intramuscular injection



にわたり GM が残留し、その投与量が増すと残留薬剤濃度が高濃度になり、またより長期にわたって残留することが明らかとなった。

2) 腎髄質への残留

髄質内への残留をみると (Fig. 2), 24 時間後では 10 mg/kg 投与群が 11.7 $\mu\text{g/g}$ と高値であったが、3 日後になると 1 mg/kg 投与群が 0.6 $\mu\text{g/g}$, 10 mg/kg 投与群が 1.6 $\mu\text{g/g}$, 50 mg/kg 投与群が 1.9 $\mu\text{g/g}$ と、投与量の違いによる残留量の差異は比較的少なく、皮質におけるような投与量に比例する残留量の増加傾向は認められなかった。しかしこの後、10 mg/kg 投与群は 1 週間後で 2.4 $\mu\text{g/g}$, 50 mg/kg 投与群は 3 週間後でも 1.1 $\mu\text{g/g}$ の残留がみられ、髄質においても皮質と同様に長期にわたり薬剤の残留することが確認された。

3) 皮質・髄質内濃度比

投与量の違いにより GM の残留量が皮質と髄質との間でどれほどの差があり、これが経日的にどのように変化してゆくかについて検討した (Fig. 3)。皮質・髄質内濃度比は 24 時間後では 1 mg/kg 投与群が 9.8, 10 mg/kg 投与群が 7.2 と比較的近似していたが、50 mg/kg 投与群は 44.0 と前二者に比し皮質への残留傾向が著明であった。また 3 日後には 1 mg/kg 投与群が 7.7, 10 mg/kg 投与群が 13.3, 1 週間後には 10 mg/kg 投与群が 6.7 となったが、50 mg/kg 投与群は 3 日後で 48.4, 1 週間後で 68.3 と、皮質への残留傾向はやはり前二者に比し著明であった。しかし 50 mg/kg 投与群でも 2 週間後には 1.1, 3 週間後には 1.6 と、皮質内濃度は急速に低下し髄質内濃度との差がなくなっていく傾向がみられた。

2. 血中・尿中濃度と腎皮質・髄質内濃度との関係、およびその推移

1) GM に関する検討

GM の血中濃度は 10 mg/kg 投与後 30 分で 14.6 $\mu\text{g/}$

Fig. 4 GM concentrations in renal cortex, medulla, serum and urine of rabbit after single intramuscular injection of 10mg/kg

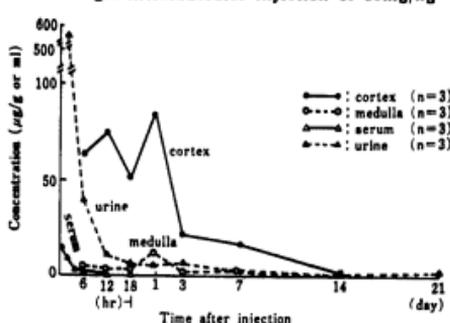
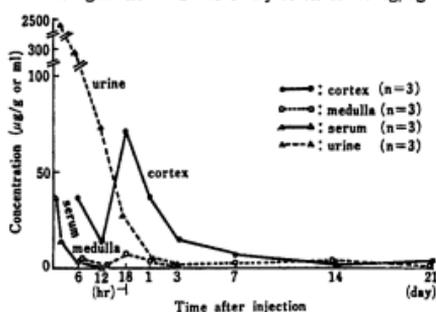
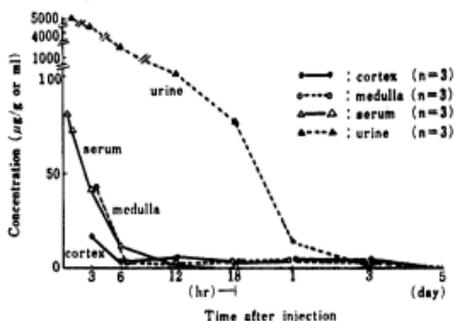


Fig. 5 AMK concentrations in renal cortex, medulla, serum and urine of rabbit after single intramuscular injection of 20mg/kg



ml のピークを示し、以後 2.3 時間の半減期で減少し、2 時間後で 9.5 $\mu\text{g/ml}$, 6 時間後で 1.5 $\mu\text{g/ml}$, 12 時間後で 0.4 $\mu\text{g/ml}$, 24 時間後には測定限界以下となった (Fig. 4)。また尿中濃度は投与 1~2 時間後で 535.4 $\mu\text{g/ml}$ のピークを示し、以後急速に減少してゆき 4~6 時間後に 39.3 $\mu\text{g/ml}$ となった。この 4~6 時間後の濃度は腎皮質内濃度と近似していたが、8~12 時間後になると 10.7 $\mu\text{g/ml}$ と皮質内濃度より低値となり、以後は漸減し 18~24 時間後で 5.9 $\mu\text{g/ml}$, 3 日後で 7.3 $\mu\text{g/ml}$, 1 週間後で 2.3 $\mu\text{g/ml}$, 3 週間後でも 0.2 $\mu\text{g/ml}$ の濃度を示した。一方、腎皮質内における GM の濃度をみると、6 時間後で 62.9 $\mu\text{g/g}$, 12 時間後で 75.0 $\mu\text{g/g}$, 18 時間後で 50.8 $\mu\text{g/g}$ となり、24 時間後には 84.7 $\mu\text{g/g}$ のピークに達した。24 時間以後は漸減してゆき 1 週間後に 16.0 $\mu\text{g/g}$ の残留を示し、その後急速に減少し 2 週間後で 0.1 $\mu\text{g/g}$, 3 週間後では測定限界以下となっている。

Fig. 6 SM concentrations in renal cortex, medulla, serum and urine of rabbit after single intramuscular injection of 100mg/kg



腎臓質内濃度をみると、6時間後で4.5 µg/g、12時間後で2.1 µg/g、18時間後で3.4 µg/gとほぼ横ばい状態が続き、皮質と同様24時間後に11.7 µg/gのピークを示した。以後は漸減してゆき1週間後に2.4 µg/gを示したものの2週間後には測定限界以下となっている。

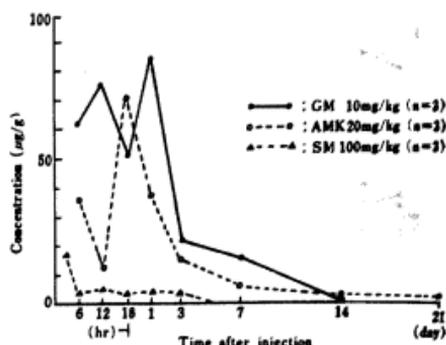
2) AMKに関する検討

AMKの血中濃度は20 mg/kg投与後15分で32.7 µg/mlのピークに達し、以後GMより短い1.7時間の半減期で減少し2時間後で13.5 µg/ml、6時間後で3.6 µg/ml、12時間後で0.3 µg/mlの濃度を示した(Fig. 5)。一方、尿中濃度は1~2時間後に2,302 µg/mlのピークに達し、2~4時間後で1,008 µg/ml、4~6時間後で289.2 µg/ml、12~18時間後で26.5 µg/ml、18~24時間後には4.3 µg/mlを示した。また経日的に尿中濃度の推移をみると、GMとは異なり3日後に0.5 µg/mlの濃度を示したものの1週間後には測定限界以下となった。皮質内濃度は投与6時間後で35.8 µg/g、12時間後で12.8 µg/gとなり、18時間後に70.7 µg/gのピークに達した。この時点で尿中濃度を越え、24時間後には36.3 µg/gと尿中濃度より高値を保持し、以後は経日的に漸減して3日後で14.8 µg/g、1週間後で5.5 µg/g、2週間後で1.6 µg/gとなり、3週間後でも1.5 µg/gの残留を認められた。一方、髄質内濃度の推移は6時間後で3.9 µg/g、12時間後で0.5 µg/gとなり皮質と同様18時間後で7.1 µg/gのピークを示した。24時間後では3.6 µg/gの濃度であったが、その後はゆっくりと減少し1週間後で1.5 µg/g、3週間後で1.1 µg/gと皮質内残留量に近似した値となった。

3) SMに関する検討

SMの血中濃度は100 mg/kg投与30分後で79.8 µg/mlのピークを示し、その後は2.0時間の半減期で減

Fig. 7 GM, AMK and SM concentrations in renal cortex of rabbit after single intramuscular injection



少してゆき3時間後で42.2 µg/ml、6時間後で13.1 µg/mlとなり、12時間後では1.5 µg/mlと皮質内濃度と近似し20時間後には測定限界以下となった(Fig. 6)。一方、尿中濃度は0~1時間後で5,000 µg/mlのピークに達し、2~3時間後で4,620 µg/mlとなり以後は急速に減少してゆき6~8時間後で638.9 µg/ml、8~12時間後で173.4 µg/ml、18~24時間後で13.4 µg/mlの濃度で、3日後においても0.1 µg/mlの濃度を示した。皮質内濃度をみると、投与3時間後で17.2 µg/gのピークを示し6時間後までは急速に減少し、以後、減少曲線は横ばいとなり3日後で3.4 µg/g、5日後には測定限界以下となった。髄質内濃度は皮質と同様に投与3時間後に42.2 µg/gのピークに達し6時間後までは急速に減少するが、その後は皮質同様横ばい状態となり3日後で2.9 µg/g、5日後には測定限界以下となった。GMとAMKは投与1週間後までは圧倒的に皮質に多く残留していたが、SMは投与3時間後に髄質が皮質の2倍以上の濃度を示し、6時間以後は皮質と髄質の濃度が接近し5日後には両者とも測定限界以下となった。

3. 3薬剤 (GM, AMK, SM) 間の比較

1) 腎皮質への残留

腎皮質における3薬剤の残留曲線を比較してみると(Fig. 7)、投与量がGMは10 mg/kg、AMKは20 mg/kg、SMは100 mg/kgと、この順に多くなっていくにもかかわらず残留曲線はこれとは逆にGMの曲線が最上で、次にAMK、かなり離れてSMの順になっている。GMは投与6時間後ですでに62.9 µg/gと高濃度になり24時間後には84.7 µg/gのピークに達し、その後経日的に減少したが2週間後まで測定し得ている。AMKはGMの2倍量の20 mg/kgが投与されたが、

投与6時間後で35.8 $\mu\text{g/g}$ の濃度になり18時間後に70.7 $\mu\text{g/g}$ のピークに達した後、GMと同様経時的に減少している。1週間後まではGMと類似した減少曲線を描いたが、以後はGMに比しゆっくりと減少し3週間後でも1.5 $\mu\text{g/g}$ の残留を認めている。SMはGMの10倍量の100 mg/kg が投与されたが3時間後に17.2 $\mu\text{g/g}$ のピークに達したものの6時間後には3.4 $\mu\text{g/g}$ と急速に減少し、24時間後まではほぼ横ばい状態で5日後には測定限界以下となっている。2薬剤間ごとに比較してみると、GMはSMに比し常に有意に高値を示し ($P \leq 0.01$)、AMKに対しても18時間後と3日後では有意差を認めなかったが、他は7日後までは有意に高値を示した ($P \leq 0.01 \sim 0.05$)。またAMKはSMに対して12時間後と24時間後以外は有意に高値であった ($P \leq 0.01 \sim 0.05$)。

2) 腎臓への残留

各薬剤の投与量が異なっているにもかかわらず24時間までの臓内濃度はSMの3時間後の値を除けば皮質にみられるような大差は認められなかった (Fig. 8)。また各薬剤の臓内濃度がピークに達するまでの時間は皮質のそれと一致していた。AMKはGMの2倍量を投与したにもかかわらず18時間後を除けば1週間後まではGMの残留量を下回っていた。しかし2週間後にGMは測定限界以下になったが、AMKは2.2 $\mu\text{g/g}$ の残留を示し3週間後でも1.1 $\mu\text{g/g}$ とAMKの残留は長期となる傾向を示した。SMは3時間後に42.2 $\mu\text{g/g}$ と高濃度を示したが6時間後には3.4 $\mu\text{g/g}$ と急速に減少し、24時間後まで横ばい状態でその後経時的に減少し5日後には測定限界以下となっている。すなわちAMK、GMの臓内濃度のピークは18時間および24時間後にあり、以後1ないし3週間後までは臓内に残留するのに対しSMは早期にピークに達し数日のうちに排泄されることが判明した。

3) 皮質、髄質内濃度比

3薬剤の皮質、髄質内濃度比を経時的にみたが (Fig. 9)、GMとAMKはSMと異なり1週間後までは4~36と皮質への残留が圧倒的に多く認められている。GMはいずれの時期でもSMよりは有意に高く、またAMKは12時間、24時間および1週間後の値以外はすべてSMより有意に高値となっている ($P \leq 0.01 \sim 0.05$)。なお皮質、髄質内濃度比の最高値はいずれの薬剤も投与12時間後にあり、GMが36、AMKが26、SMが1.7であった。このうちAMKは2週間以後も皮質、髄質ともに残留を認めているが、2週間後で0.73、3週間後で1.36というように1週間後までにみられた著明な差はなくなり、いずれも近似した値となっている。SMは12

Fig. 8 GM, AMK and SM concentrations in renal medulla of rabbit after single intramuscular injection

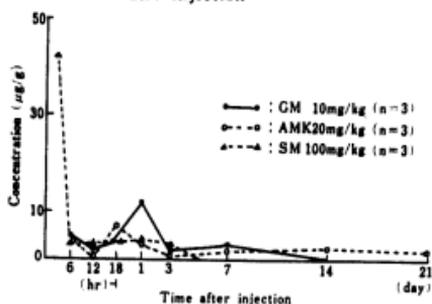
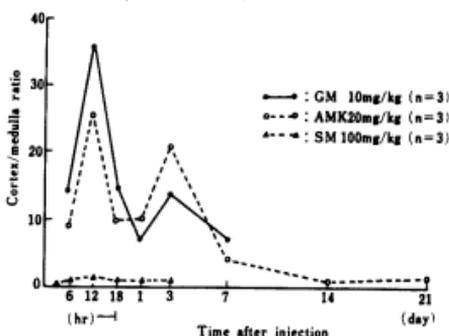


Fig. 9 Cortex/medulla ratio of concentrations of GM, AMK and SM



時間後で皮髄濃度比が1.7と皮質内濃度が高値 ($P \leq 0.01$)であったが、他の時点ではすべてこの比が1以下となり髄質に多く残留している。とくに3時間後には皮髄濃度比は0.41と、髄質内濃度が皮質の2倍以上に達している。すなわち腎臓内におけるAGsの主たる残留部位は薬剤の種類により異なり、SMの場合、皮質への残留は少ないことが明らかとなった。

4. 腎臓内での局在部位: GMおよびAMKについて

以上の結果からAGsが長期にわたり腎臓内に残留することが明らかとなったが、その局在部位について蛍光抗体法と酵素抗体法により検討した。Fig. 10はGM 100 mg/kgをマウスに筋肉内投与し24時間後の腎臓を蛍光抗体法で観察したもので、近位尿管細胞の細胞質内に一様に蛍光色素が沈着しており、当部がGMの局在部位と思われた。なお糸球体には蛍光色素の沈着をほとんど認めなかった。Fig. 11は同組織を酵素抗体法で観察したもので、残留したGMにhorse radish per-

Fig. 10 GM localization in mouse kidney. Retained GM can be seen in the proximal tubules of mouse kidney 24 hrs after injection. The specimen was stained by fluorescent antibody technique. ($\times 200$) $\times 2/3$

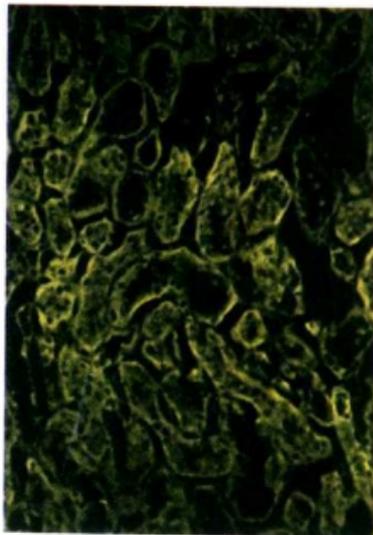


Fig. 12 AMK localization in mouse kidney. Retained AMK can be seen in the proximal tubules of mouse kidney 24 hrs after injection. The specimen was stained by fluorescent antibody technique. ($\times 200$) $\times 2/3$

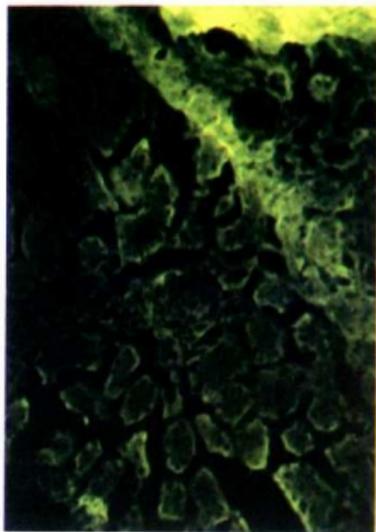


Fig. 11 GM localization in mouse kidney. Retained GM can be seen in the proximal tubules of mouse kidney 24 hrs after injection. The specimen was stained by enzymatic antibody technique. ($\times 1,000$) $\times 2/3$

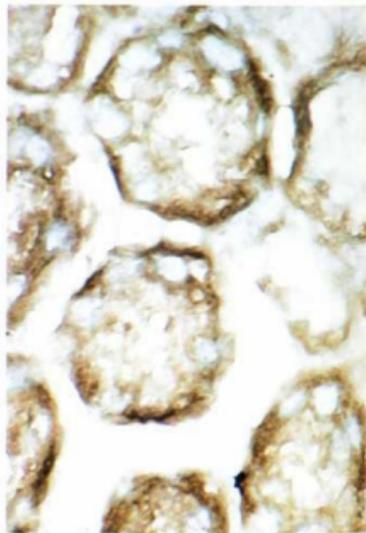
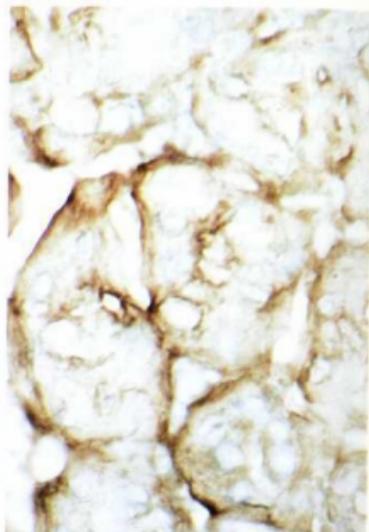


Fig. 13 AMK localization in mouse kidney. Retained AMK can be seen in the proximal tubules of mouse kidney 24 hrs after injection. The specimen was stained by enzymatic antibody technique. ($\times 1,000$) $\times 2/3$



oxidase (HRP) が結合し、この HRP の作用で diaminobenzidine が酸化されて褐色の反応物質が近位原細管細胞の細胞質内に沈着した。沈着の程度は原細管の内腔側より外側の方が強く、原細管細胞の核は methylene green により淡い緑色に染っていた。Fig. 12 は AMK 100 mg/kg をマウスに投与し 24 時間後の腎組織を蛍光抗体法で観察したもので、GM と同様に近位原細管細胞の細胞質内へ一様に蛍光色素の沈着を認め、当部が AMK の局在部位と思われた。Fig. 13 は同組織を酵素抗体法で観察したもので、GM と同様に近位原細管細胞の細胞質内に褐色の反応物質の沈着を認め、やはり原細管の内腔側に比し外側に濃い沈着を認めた。

III. 考 察

1. AGs の排泄について

抗生剤の体外への排泄機構は、1) 腎排泄型、2) 腎外排泄型、3) 腎および腎外排泄型に大別されるが⁷⁾、AGs の場合ほとんどが活性を失わずに腎より排泄される。GM, AMK はこの腎排泄型であるが、SM だけは例外で腎以外に胆汁からも排泄が行なわれると考えられている⁸⁾。また AGs のタンパク結合率は BARZA ら⁹⁾によれば、GM, AMK は 0% であるのに比し SM は 30~35% としており、これより AGs の腎からの排泄様式を推察すると GM, AMK はすべて糸球体濾過により排泄されているが、SM の排泄には原細管分泌も関与していることが示唆される。しかし、キニン投与による排泄率の低下から GM は原細管からも分泌されているとの説もあり、現在のところ断定的なことはいえないようである。各 AGs の腎クリアランスは BARZA ら⁹⁾によれば GM の 70~80 ml/min, AMK の 75 ml/min に対し、SM は 30~70 ml/min とされる。これらはイヌリンの腎クリアランスよりも低値であるため AGs は糸球体で濾過されたのち原細管で再吸収されていることが推測されるが、このことは AGs が腎組織内に残留するという事実と深いかわりをもっていると思われる。再吸収され原細管細胞内に取り込まれた AGs は、ここに残留し、徐々に尿中へ排泄されていると考えられているが¹⁰⁾、尿中濃度について著者の家兎における検討では GM が 21 日後、SM は 3 日後まで尿中濃度の測定が可能であり、各薬剤が腎内に残留している期間と一致しこの推論を裏づける結果であった。しかし、AMK は 7 日後も腎内に残留するにもかかわらず尿中濃度は測定限界以下であり、微量ではあるものの腎外排泄も行なわれている可能性が示唆された。

2. AGs の腎組織内残留について

1) AGs の投与量と残留量との関係

今回の検討で GM の場合、その投与量に比例して腎

組織とくに皮質内残留量が増加することが明らかとなったが、AGs の腎皮質内への蓄積は一定の飽和状態になるまで原細管からの再吸収が行なわれているものと考えられる。この飽和状態について LUFT ら¹¹⁾は、次に各種の AGs を投与した検討から AGs の腎内飽和量は 500~700 $\mu\text{g/g}$ に達すると述べている。これ以上の投与では AGs の原細管からの再吸収は行なわれずそのまま尿中に排泄されてくるが、これほどの投与量では原細管機能が障害され重篤な腎病変が発生しているものと思われる。

2) AGs 間の腎組織内残留量および残留期間の差異

今回の検討では投与量は GM が最も少なく AMK, SM の順で増量したにもかかわらず残留量は GM が最も多く、残留期間も AMK と同様数週間に及ぶことが明らかとなった。一方 SM は投与量が最も多いにもかかわらず残留量は最少で、残留期間も数日と短いのであった。残留量が AGs 間で異なる理由の一つとして原細管細胞の AGs に対する receptor が各 AGs にそれぞれ異なる親和性を持つことが考えられているが¹²⁾、この receptor についての詳細はまだわかっていない。

AGs の腎内残留期間が異なる理由として、AGs の原細管細胞への蓄積量や組織との結合力の差異などが考えられる。原細管細胞内の lysosome をはじめとする細胞小器官に蓄積されていく GM の動態について autoradiography を用いた電顕レベルの検討が諸家により行なわれているが^{13,14)}、これらは lysosome に取り込まれるまでの数時間から 24 時間の観察であり、さらに長期にわたる動態についての観察や他の AGs についての検討が必要と思われる。

3) AGs 間の腎内残留部位の相異

AGs の中でも GM, AMK が皮質に著明に残留するのに対し、SM は髓質側に皮質と同様もしくは多少多めに残留する事実が明らかとなったが、LUFT ら¹⁵⁾のラットにおける結果でも同様のことが指摘されている。この点について今回の検討で血清中濃度と髄質内濃度との関係を見ると、3 薬剤とも投与 12~18 時間後まではそれぞれ近似した値でしかも髄質内濃度は 3 薬剤間で大差を認めていない。また GM, AMK の場合、投与数日後までは皮質に著明に残留しているが 7 ないし 14 日以後ではそれぞれ皮質と髄質内残留量は近似してくる。これに対し SM は投与 3 時間後の値以外は皮質と髄質内濃度は近似したものとなっている。すなわち薬剤によって腎皮質と髄質への残留の割合が異なるのは皮質つまり腎原細管細胞への各薬剤の蓄積に差異があるためと考えられる。AGs 間で皮質への蓄積の程度に差異がある理由については前述のごとくまだ不明の問題が多いが、receptor

の解明等をはじめ今後の検討が必要であろう。

3. AGsの腎組織内における局在部位について

今回著者は、GMとAMKの腎組織内における局在部位を解明するために蛍光抗体法と酵素抗体法を用いて観察を行ない、近位原細管細胞内にこれらが集積していることを明らかにしたが、この事実は autoradiography の手法を用いた諸家の報告と一致していた^{10,14-17}。著者は実験動物としてマウスを用いたが、JUSTら¹⁰もマウスに³H-GMを投与し、5分から6時間後までのGMの集積について次のような観察を行なっている。すなわち光顕上では5分後で silver grain の強い集積が brush border と基底膜に認められ、20分後には原細管細胞の apical pole 付近へ集まり原細管腔の回りに silver grain の輪を作るが6時間後ではこの状態は変らないと述べている。また電顕上では5分後 silver filament が brush border と endocytic region に認められるが、1時間および6時間後には lysosome 上に強い filament clust が集まってくると述べている。SILVERBLATTら¹⁰はラットに³H-GMを投与し10分、1時間および24時間後の腎組織を光顕的、電顕的に観察するとともに細胞内器官中の grain 数から grain density を算出して、GM投与後早期に apical vesicle 上に grain が集積するのは蛋白質の再吸収と同様 pinocytosis によるもので、その後 lysosome 内へ移送されてくるのではないかと推論している。平田ら¹⁸はラットに³H-KM、³H-DKBを投与し通常の細胞分画法に従って各分画の濃度を測定したが、lysosome 分画ばかりでなく microsome 分画、なかでも ribosome 分画中にも非常に高濃度に分布していることを明らかにした。さらに KM、GMと結合した ribosome 内への³H-leucineの取り込みの低下から、AGsは ribosome において蛋白質合成阻害に関与している可能性があると推察している。これまで AGsは細菌の前核細胞内の ribosome には作用するもの、動物の真核細胞は ribosome の subunit が異なるため AGsの抗菌作用には選択毒性があるとされてきた見解とは矛盾するが、AGsの腎毒性のメカニズムを解明する上で lysosome の他にもこのような細胞小器官に対する障害への関与は極めて興味深い。

4. AGsの局在と腎毒性との関連について

AGsの中でも SMはGMやAMKに比べると腎毒性が少ない薬剤として知られているが、その理由として今回著者の検討でも明らかとなったように、他の AGsに比べ投与量の割に腎内残留濃度が低く、さらに早い時期に腎より排泄されること、また本剤の皮質内での残留は髓質内とあまり差がなく、腎毒性の場合問題となる近位原細管細胞への残留傾向が少ないということが考えら

れる。一方、GMが比較的腎毒性の強い薬剤である理由の一つとして、近位原細管細胞に高濃度の残留が長期間にわたり持続していることがあげられる。LUFTら¹⁹はラットに GM 60 mg/kg を15日間投与し、死亡させずに腎障害を起こさせた。光顕上、初期には近位原細管の曲部に原細管壊死が出現し、5日後で cloudy swelling、10日後で上皮細胞の壊死が進行し、15日後には間質の浮腫と線維化が出現すると述べている。また電顕では近位原細管細胞内に myeloid body を含有した cytosome が多数出現し、やがて myeloid body が近位原細管を壊めつくすようになると述べている。なお、この myeloid body を含む cytosome は HRUBANら²⁰によると、細胞質の退化の過程で形成され変性した lysosome であると結論している。このような原細管病変の主たる部位は曲部であるが^{12,20,21}、VANDEWALLら¹²の silver grain 数の測定結果では近位原細管直部に最も多く³H-GMの集積が認められ、原細管の障害部位とGMの集積量の多い部位とは必ずしも一致していない。この理由として彼らは、① cellular toxicity には薬剤の集積以外の因子が関与しているか、あるいは② GMに対する感受性が近位原細管のレベルにより異なるのではないかと推論しているが、これらの詳細は明らかではなく今後の研究の課題である。

以上のことから AGs の臨床における意義を体内動態の面から考えた場合、感染症に対する治療効果、再発予防、さらに腎毒性などに関し各薬剤間で相違があることがうかがえるが、この観点から実験的腎盂腎炎や実験ヒトの腎における薬剤の残留状態についても検討をすすめる必要があるものと思われる。

<謝辞> 稿を終るに臨み、御指導ならびに御校閲を賜りました恩師 放西浦常雄教授、河田幸道教授に感謝いたします。また本研究において数々の御協力をいただいた教室員諸兄に感謝いたします。

本論文の要旨は第29回日本化学療法学会西日本支部総会、第72回日本泌尿器科学会総会において発表された。

文 献

- 1) 上田 泰: 記念シンポジウム「日本化学療法学会30周年の回顧」、アミノ配糖体系抗生物質を中心として。Chemotherapy 31: 7~10, 1983
- 2) 上田 泰, 真下啓明: 今日の化学療法, I. アミノ配糖体系薬剤, 310~338頁, ライフ・サイエンス, 1980
- 3) LUFT, F. C. & S. A. KEIT: Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside antibiotics in rats. J. Infect. Dis. 130: 656~659, 1974
- 4) BERGERON, M. G. & S. TROTTER: Influence of

- single and multiple doses of gentamicin and netilmicin on their cortical, medullary and papillary distribution. *Antimicrob. Agents Chemother.* 15: 635~641, 1979
- 5) WHELTON, A.; G. G. CARTER, H. H. BRYANT, L. FOX & W. G. WALKER: Therapeutic implications of gentamicin accumulation in severely diseased kidneys. *Arch. Intern. Med.* 136: 172~176, 1976
 - 6) FABRE, J.; M. RUDHART, P. BLANCHARD & C. REGAMEY: Persistence of sisomicin and gentamicin in renal cortex and medulla compared with other organs and serum of rats. *Kidney Int.* 10: 444~449, 1976
 - 7) 上田 泰, 阿部 裕, 東條勝夫編: 臨床腎臓病講座第2巻, 抗生剤(斎藤 篤), 364~381頁, 金原出版, 1981
 - 8) GIUSTI, D. L.: The clinical use of antimicrobial agents in patients with renal and hepatic insufficiency: the aminoglycosides. *Drug Intell. Clin. Pharm.* 7: 540~556, 1973
 - 9) BARZA, M. & R. T. SCHEIFE: Drug therapy reviews: antimicrobial spectrum, pharmacology and therapeutic use of antibiotics—part 4: aminoglycosides. *Am. J. Hosp. Pharm.* 34: 723~737, 1977
 - 10) WHELTON, A. & W. G. WALKER: Intrarenal antibiotic distribution in health and disease. *Kidney Int.* 6: 131~137, 1977
 - 11) ALFTHAN, O.; O. V. RENKONEN & A. SIVONEN: Concentration of gentamicin in serum, urine and urogenital tissue in man. *Acta Pharmacol. Microbiol. Scand.* [B], (suppl.241): 92~94, 1973
 - 12) LUFT, F. C.; V. PATEL, M. N. YUM, B. PATEL & S. A. KLEIT: Experimental aminoglycoside nephrotoxicity. *J. Lab. Clin. Med.* 86: 213~220, 1976
 - 13) JOSEPOVITZ, C.; E. PASTORZA-MUNOZ, D. TIMMERMAN, M. SCOTT, S. FELDMAN & G. J. KALOYANIDES: Inhibition of gentamicin uptake in rat renal cortex *in vivo* by aminoglycoside and organic polycations. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 223: 314~345, 1979
 - 14) SILVERBLATT, F. J. & C. KUEHN: Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubule cell. *Kidney Int.* 15: 335~345, 1979
 - 15) JUST, M.; G. ERDMANN & E. HARBERMANN: The renal handling of polybasic drugs. 1. Gentamicin and aprotinin in intact animals. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 900: 57~66, 1977
 - 16) VANDEWALLE, A.; N. FARMAN, J-P. MORIN, J-P. FILLASTRE, P-Y. HATT & J-P. BONVALET: Gentamicin incorporation along the nephron: Autoradiographic study on isolated tubules. *Kidney Int.* 19: 529~539, 1981
 - 17) CHIU, P. J. S.; A. BROWN, G. MILLER & J. F. LONG: Renal extraction of gentamicin in anesthetized dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2: 214~216, 1972
 - 18) 平田耕造, 上田豊史, 百瀬俊郎, 平田寿恵: アミノ配糖体系抗生物質の腎毒性に関する実験的研究, 第1報 ラット腎細胞内取り込みおよび蛋白合成阻害作用. *Chemotherapy* 30: 910~925, 1982
 - 19) HRUBAN, F.; A. SLESERS & E. HOPKINS: Drug-induced and naturally occurring myeloid bodies. *Lab. Invest.* 27: 62~70, 1972
 - 20) HOUGHTON, D. C.; C. E. PLAMP, J. M. DE FEHR, W. M. BENNETT, G. PORTER & D. GILBERT: Gentamicin and tobramycin nephrotoxicity. *Am. J. Pathol.* 93: 137~152, 1978
 - 21) HOUGHTON, D. C.; M. HARTNETT, M. CAMPBELL-BOSWELL, G. PORTER & W. BANNETT: A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am. J. Pathol.* 82: 589~612, 1976

STUDIES ON THE RETENTION OF AMINOGLYCOSIDES IN RENAL TISSUE

(1) RETENTION IN THE NORMAL RABBIT KIDNEY

YOSHIKAZU HASEGAWA

Department of Urology, Gifu University School of Medicine, Gifu

(Chief: Prof. Y. KAWADA)

We studied intrarenal retention of aminoglycosides (gentamicin: GM, amikacin: AMK and streptomycin: SM) in rabbits, and the following conclusions were obtained.

1. GM and AMK remained in the rabbit kidneys for 1-3 weeks after a single intramuscular administration. The cortex contained markedly larger quantities of the agent than the medulla within the first week.

2. SM remained in the rabbit kidney for only 3 days after a single intramuscular administration. SM levels in the medulla were higher than in the cortex 3 hours after administration. However, the difference between those levels was not so great as GM and AMK.

3. GM levels in the rabbit cortex increased in proportion to the increase in dosage. No such retention was observed, however, in the medulla.

4. The location of retained GM and AMK in the mouse kidney was confirmed to be in the proximal tubules by both fluorescent and enzymatic antibody techniques.