

アミノ配糖体系抗生剤の腎組織内残留に関する研究

第2報：ヒト正常腎組織内および家兎感染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)

アミノ配糖体系抗生剤のヒト腎組織内への残留について検討した。Gentamicin (GM) 60 mg を筋肉内投与した場合、1週間以上にわたり一定量が残留し、家兎におけると同様に皮質に強い残留傾向を認めた。次に家兎の尿管に大腸菌を注入し、実験的に腎盂腎炎を発生させた後 GM を筋肉内投与し、その残留について健側との間で比較したが、炎症の著明な初期には皮質、髓質ともに患側が低値であった。家兎に GM を5日間連日筋肉内投与し、その腎組織内残留について単回投与の場合と比較したが、連投により残留期間は延長するものの GM の蓄積傾向は認めなかった。

アミノ配糖体系抗生剤 (AGs) は一般に腎組織内に長期間残留し、その結果、尿中へも持続的に排泄され続けるといわれているが、著者は第1報において家兎を用いて AGs の腎内残留の有無、その程度、尿中への排泄状態などについて検討し報告した。その結果、家兎の場合でも長期にわたる腎内残留や尿中排泄が認められ、しかも残留の様式が薬剤の種類によって異なることを証明した。

しかし、これらの検討は正常腎機能を有する動物における検討であった。実際に AGs が使用される対象はヒトであり、その際、腎が感染を起こしていることは少なくない。また臨床での使用時には単回投与ではなく連続して用いられる場合がほとんどである。したがって、このような実際の臨床の場に近い状況下での薬剤の動態を観察することは極めて意義深いと考えられる。

今回、このような観点からヒトにおける Gentamicin (GM) の残留の程度、家兎感染腎での残留および連続投与を行なった場合の腎内残留の程度について検討した。

I. 材料と方法

1. ヒト腎における GM の残留について

健康腎組織が広範囲に残存している腎腫瘍、腎盂腫瘍など腎摘出術予定の症例で、かつ、術前の患側腎機能が正常であった症例 (1群3例) に対して、手術の24時間、3日、5日、7日前に GM 60 mg を単回筋肉内投与した。その後は腎摘出術が施行されるまで抗生剤の投与はいっさい中止した。腎摘出後、健常部の皮質、髓質をそれぞれ約 1.0~1.5 g 切除し濃度測定に供した。濃度

の測定は組織片を Disperser (三田村理研) にてホモジネートしたのち薄層カッパ法による bioassay にて行なった。検定菌としては *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を用い、測定培地には 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. 家兎感染腎内における GM の残留について

白色成熟雄性家兎を1群3羽とし、エーテル麻酔下で経腹的に右尿管内へヒト尿路感染症由来の *Escherichia coli* (O:4, H:5) 10^8 CFU/ml 菌液を 0.3 ml 注入したのち、膀胱近接部尿管を絹糸にて直径 3 mm のリングができる程度にゆるく結紮し、患側尿管が軽度の尿流停滞状態となるようにして閉腹した。3日後の尿沈渣所見が 400 倍の鏡検で白血球数 10個/hpf 以上、末梢白血球数 $10,000/\text{mm}^3$ 以上、直腸温 39°C 以上の基準で腎盂腎炎の成立を確認した家兎に GM 10 mg/kg を単回筋肉内投与した。以後 24 時間、3日、7日、14日後に脱血層殺し、ただちに両腎を摘出したのち眼科用ターバーにて皮質、髓質に分けて濃度測定に供した。濃度の測定は bioassay にて行なった。

3. GM 連投後の家兎腎内残留について

白色成熟雄性家兎を1群3羽とし、GM 10 mg/kg を 24 時間々隔で5日間筋肉内に投与した。最終投与時より 24 時間、3日、7日、14日、21日後に脱血層殺し、ただちに腎を摘出後、眼科用ターバーで皮質、髓質に分けて濃度測定に供した。濃度の測定は bioassay にて行なった。

Fig. 1 GM concentrations in human renal cortex and medulla after single intramuscular injection of 60 mg

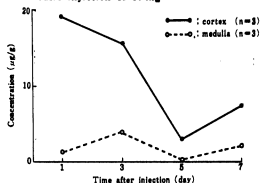
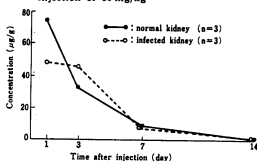


Fig. 2 A comparison of GM concentrations in renal cortex between normal and infected rabbit kidney after single intramuscular injection of 10 mg/kg



II. 成績

1. ヒト腎における GM 残留量の推移について

GM 60 mg を筋肉内投与して摘出した腎の健常部の皮質には、投与 24 時間後で 19.0 µg/g、3 日後で 15.6 µg/g、5 日後で 2.8 µg/g、7 日後では 7.3 µg/g と長期にわたる残留を認めた (Fig. 1)。一方、髓質には 24 時間後で 1.2 µg/g、3 日後で 3.8 µg/g、5 日後で 0.1 µg/g、7 日後で 2.1 µg/g と、皮質同様長期にわたる残留を認めたが、皮質、髓質残留濃度比をみると 3.5~28.0 で、7 日後を除き皮質への残留は髓質に比し有意に高値を示した ($P \leq 0.01 \sim 0.05$)。

2. 家兎感染腎内における GM の残留について：健常腎内残留との比較

家兎に腎盂腎炎を発症させたのち GM 10 mg/kg を筋肉内投与し、健常腎と感染腎について皮質内残留量を比較したところ (Fig. 2)、投与 24 時間後では健常腎の 73.9 µg/g に比し患側腎は 47.7 µg/g と有意に低い値を示した ($P \leq 0.05$)。しかし、この後には有意差はないもの

Fig. 3 A comparison of GM concentrations in renal medulla between normal and infected rabbit kidney after single intramuscular injection of 10 mg/kg

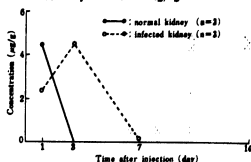
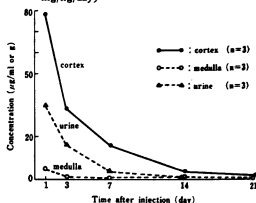


Fig. 4 GM concentrations in renal cortex, medulla and urine of rabbit after 5 days' consecutive intramuscular injection (10 mg/kg/day)



の 3 日後には患側腎 45.9 µg/g、健側腎 31.7 µg/g と患側の方が高値となり、2 週間後でも健側腎の 0.1 µg/g に対し患側腎は 0.7 µg/g の残留を認めた。一方、髓質内残留量の推移をみると (Fig. 3)、有意差はないものの 24 時間後で健側腎の 4.5 µg/g に対して患側腎は 2.3 µg/g と皮質同様炎症の著明な初期では患側は低い濃度を示した。しかし、3 日後には健側腎は測定限界以下となったのに比し患側腎は 4.5 µg/g で、さらに 1 週間後でも 0.1 µg/g の残留を認めた。

3. GM 連投後の家兎腎内残留について：単回投与群との比較

家兎に GM 10 mg/kg を 1 日 1 回、5 日間筋肉内投与し、最終投与後に尿中および腎皮質、髓質内濃度の推移を経日的にみた (Fig. 4)。尿中濃度は投与 24 時間後に 35.5 µg/ml を示し、以後経日的に減少していくが 1 週間後に 3.8 µg/ml、2 週間後に 0.2 µg/ml を示し 3 週間後

Fig. 5 A comparison of GM concentrations in renal cortex of rabbit between 5 days' consecutive intramuscular (10 mg/kg/day) and single injection (10 mg/kg)

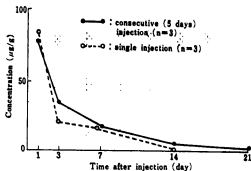
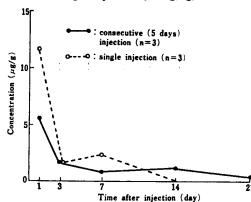


Fig. 6 A comparison of GM concentrations in renal medulla of rabbit between 5 days' consecutive intramuscular (10 mg/kg/day) and single injection (10 mg/kg)



には測定限界以下となった。皮質内濃度は 24 時間後に 77.8 $\mu\text{g/g}$ を示し、以後経日的に減少していくが 1 週間後でも 16.3 $\mu\text{g/g}$ と比較的高濃度の残留を認め、3 週間後でも 1.4 $\mu\text{g/g}$ の残留を示した。一方、髄質内濃度は 24 時間後に 5.6 $\mu\text{g/g}$ を示し、以後漸減していくものの 1 週間後に 0.8 $\mu\text{g/g}$ 、3 週間後に 0.3 $\mu\text{g/g}$ と、皮質に比し低値ではあるが長期にわたり残留する傾向を認めた。そこで、この連投による腎内残留を単回投与の場合と比較してみた (Fig. 5)。皮質内濃度についてみると、有意差はないものの投与 24 時間後に連投群は 77.8 $\mu\text{g/g}$ であったのに対して単回投与群は 84.7 $\mu\text{g/g}$ と、むしろ連投群の方が低値を示した。しかし 3 日後には各々 34.1 $\mu\text{g/g}$ 、21.2 $\mu\text{g/g}$ と連投群の方が高値となった。さらに 1 週間後はほぼ同値であったが、2 週間後では連投群の 3.5 $\mu\text{g/g}$ に対し単回投与群は 0.1 $\mu\text{g/g}$ 、3 週間後

には連投群の 1.4 $\mu\text{g/g}$ に対し単回投与群は測定限界以下となり、連投群の残留期間の方が延長する傾向を示した。一方、髄質内濃度も皮質と同様に有意差を認めなかったが (Fig. 6)、24 時間後に連投群の 5.6 $\mu\text{g/g}$ に対し単回投与群は 11.7 $\mu\text{g/g}$ 、3 日後には両群 1.6 $\mu\text{g/g}$ の同値であり 1 週間後には各々 0.8 $\mu\text{g/g}$ 、2.4 $\mu\text{g/g}$ と、単回投与群の方が高値を示した。しかし 2 週間以後では単回投与群は測定限界以下であったのに対し連投群は 2 週間後で 1.0 $\mu\text{g/g}$ 、3 週間後で 0.3 $\mu\text{g/g}$ と、皮質同様残留期間の延長傾向を認めた。

III. 考 察

1. ヒトにおける AGs の腎組織内残留について

ヒト腎内への AGs の蓄積について EDWARD^ら¹⁾は、死亡前に GM あるいは Amikacin (AMK) を投与していた 10 例の剖検例 (0~82 歳、腎機能正常~中等度障害) について腎皮質および髄質内濃度を酵素学的手法で測定しているが、総投与量は GM が 2~35.4 mg/kg、AMK が 8~3,217 mg/kg と相当の開きがあり、しかも最終投与時から死亡までの時間が 0.25~8 時間と短いのであった。皮質においては GM が 140~540 $\mu\text{g/g}$ 、AMK が 365~1,030 $\mu\text{g/g}$ に対して、髄質では GM が 128~230 $\mu\text{g/g}$ 、AMK が 270~718 $\mu\text{g/g}$ で全体としては両剤とも皮質に多く残留していた。しかし、この結果は症例数が 10 例と少ない上、年齢差、腎機能の程度、総投与量に大きな差があり、しかも最終投与時より死亡までの時間が最長でも 8 時間と短いためヒトにおける腎内残留を検討する上では不充分であろう。また SCHENTAG^ら²⁾は 6 例の剖検例の腎内濃度を bioassay と radio-immunoassay にて測定し、two compartment model によって simulate した理論値と近似したと述べているが、これも症例数の少ないことや、皮質、髄質に区別して検討していないなど、腎内濃度の推移について検討する上で問題がある。著者の検討では腎機能は正常であるが腎腫瘍、腎盂腫瘍などのために腎摘出術を施行する症例を、1 群 3 例として手術の 24 時間~7 日前に GM 60 mg を単回筋肉内投与し、摘出腎の健常部のみを皮質、髄質に分け bioassay にて濃度測定を行なったが、ヒト腎においても GM は 1 週間以上の長期にわたり残留し、しかも皮質に圧倒的に多いということが明らかになった。前報で家兎においては GM が腎皮質に極めて長期にわたって残留することを示したが、ヒトにおいても GM は腎皮質により多く残留し、しかも常用量の投与にもかかわらずかなり長い期間残留しているという成績は誠に驚くべきことである。

2. 腎組織内残留濃度に影響を与える因子について

腎に残留した実際の GM 濃度とその活性値との間に

開きがあるのではなからうかという問題については、これまで諸家によりいくつかの要因の検討がなされてきた。KUNIN⁴⁾は家兎、イヌ、サルの組織(肝、肺、腎、脳、心臓、筋)をホモジネートし、これを混入したGM、Kanamycin (KM)、Streptomycin (SM)の濃度を bioassay にて測定したところ薬剤の活性が著明に低下することを見出した。ちなみに家兎の腎組織を混入した場合のGMの活性低下は90%、KMは76%、SMは58%であったと報告している。この活性低下をもたらす要因として薬剤と組織との結合をあげているが、これには無に安定な cell fraction が関与していると述べている。BRYANT⁵⁾は pneumococcal emphysema の患者から採取した pus 中で GM、Polymyxin, Colistin, Carbenicillin を1時間 incubate し、上清中の薬剤濃度を bioassay にて測定したところ GM 100 µg/ml が 5.4 µg/ml に、Colistin 100 µg/ml が 4.8 µg/ml に、Polymyxin 100 µg/ml が 3.0 µg/ml と活性が低下したが Carbenicillin は不変であった。これらの活性低下は incubation の時間や温度には関係しないが pH の影響を受け、このうち GM の pus による活性低下は pH 7.0 の条件下が最も著明であったと述べている。このことは膿瘍を形成した感染症に対する治療の際には、排膿の重要性と同時に病巣部へ適切な量の薬剤を移行させるため、pus による活性低下を考慮した投与量が必要であることを示唆している。GLAUSER⁶⁾はラット腎に *E. coli* による上行性感染を作製し、GM を12時間ごとに計7回投与した後の腎内濃度を測定したところ、投与後12時間目の感染腎内濃度が健側に比し有意に低値であったと述べ pus による影響を指摘している。今回著者は、実験的に家兎に腎盂腎炎を作製し患側と健側の濃度を比較したが、GM 10 mg/kg 筋肉内投与24時間後では健側腎皮質内濃度の73.9 µg/g に対し患側は47.7 µg/g と低値を示した。急性腎盂腎炎の発症期、GMの腎皮質内への取り込みが健側と患側でこのように大きな差異を生じることは重要な意味をもつものと思われる。WEINSTEIN⁷⁾は片腎患者が急性細菌性腎盂腎炎を発症した際、一過性の腎不全になりやすいと述べている。また TULASSAY⁸⁾は急性腎盂腎炎の小児の尿中電解質(ナトリウム、リン酸)の変動について検討し、感染発症期、近位および遠位尿管の機能低下が起こることを指摘している。一方 CHIU⁹⁾はラットを用いた実験で、一過性に腎虚血を発生させると尿管障害をきたし、投与したGMの腎皮質への取り込みが低下すると述べている。これらのことから急性腎盂腎炎の発症期においては腎尿管の機能が一時的に障害され、GMの皮質すなわち尿管への取り込みが低下するものと考えられる。また pus による影響も

諸家が指摘するように充分考慮しなくてはならない。GM と pus との接触の機会については、原細菌細胞内に取り込まれる前に尿管腔に存在する pus と接触する可能性も考えられるが、このことよりもむしろ尿管腔に付着したGMが尿管腔に付着する際、GMが尿管腔、集合管腔さらに腎実質内の extracellular space に存在する pus と接触することでGMの活性低下がひきおこされるものと思われる。このほかにも薬剤の活性低下に関与する因子としてマグネシウム、カルシウムなどの電解質や¹⁰⁾浸透圧などの報告がある¹¹⁾。

3. AGsの腎盂腎炎に対する治療上の意義

AGsが数週間にわたり腎組織内に残留するという現象が、腎実質の炎症である腎盂腎炎の治療においていかなる意義をもつのであろうか。GLAUSER⁶⁾はラットにGMを投与してから尿管より *E. coli* を腎盂腔内に注入し、尿管を結紮し腎盂腎炎の発症の有無によりGMの感染予防効果を検討している。すなわち結紮3日前にGM 4 mg/kg を1回投与した群は control 群との間に有意差を認めなかったが、3日前まで12時間ごとに3回投与した群は有意に感染予防効果があり、さらに結紮12時間前までに12時間ごとに7回投与した群は8例中全例で感染を予防し得たと述べている。STAMEY^{12,13)}は尿路感染症の治療の上で尿中濃度の重要性を強調しているが、腎盂腎炎のように細菌感染が腎盂粘膜にとどまらず、腎実質にも及ぶ場合には当然腎実質の薬剤濃度が問題となる。この点について BILLE¹⁴⁾はラットに閉塞性腎盂腎炎を作製する3日前にGM、AMK、Tobramycin、Netilmicin を投与したところ、AGs間では腎盂腎炎発症の頻度に有意差を認めなかったものの control 群に比し有意な感染予防効果を認めており、AGsの腎組織内への残留が重要な役割を果たしていることを指摘している。また BERGERON¹⁵⁾はラットの腎盂腔内に *E. coli* を注入し腎盂腎炎を発症させたのちにGM 10 mg/kg を1回もしくは3回投与したところ、control 群との間に治癒率において有意差を認めなかったが、1日2回、2週間投与群は86%と高い治癒率を得たと述べている。腎盂腎炎の再発予防効果について GLAUSER⁶⁾はGMとAmpicillin (ABPC)の比較を行なうため、ラットに腎盂腎炎を発症させ、各薬剤を数日間投与したのち尿管を結紮して腎盂腎炎の再発の有無を観察している。その結果、腎組織への残留を認めないABPC投与群は10匹中8匹に再発をみたが、GM投与群は全例とも再発しなかった。すなわち抗菌活性を有する薬剤が腎組織内に長期間残留することは腎盂腎炎の再発防止の上においても重要であることを示唆している。

実際の臨床ではAGsは単回投与よりも短期間連続

される場合の方が多と思われるが、連投による AGs の腎組織内残留量の推移を単回投与群と比較するとどうであろうか。FABRE¹⁴⁾はラットに GM 4 mg/kg, Sisomicin 4 mg/kg を 1 週間連日投与し最終投与 6 時間後の腎組織内濃度を測定したところ、皮質は単回投与群の 3 倍、髓質は 2 倍の濃度を示し、治療日数が増すにつれ腎障害の危険性が増す一つの理由になることを指摘している。さらに、このことは投与終了後も高濃度の残留による副作用の進行の可能性を示唆している。しかし、著者は家兎に GM 10 mg/kg を単回または 5 日間連日投与し経日的に腎組織内残留濃度を比較してみたが、残留量には大きな差は認められなかった。その反面、連投群の方に残留期間の延長傾向を認めた。この結果より少なくとも腎機能正常例に常用量の AGs を投与する場合には、短期間の投与であれば腎障害をきたす危険性は少なく、しかも投与終了後も効果は持続し、腎盂腎炎の再発を予防する上でも十分な効果を期待できることが示唆された。しかし腎機能障害例では連投による投与後早期の腎組織内濃度の上昇の問題は軽視することはできない。近位尿管における AGs の集積の多い部位が必ずしも障害の著明な部位と一致しないことの意味や、細胞小器官レベルでの蛋白合成阻害のメカニズムを解明することが AGs の安全で効果的な投与方法を考える上で今後の課題となるであろう。

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 故西浦常雄教授、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 25 回日本腎臓学会および第 72 回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- EDWARD, C. Q.; C. R. SMITH, K. L. BAUGHMAN, J. F. ROGERS & P. S. LIETMAN: Concentrations of gentamicin and amikacin in human kidneys. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9: 925~927, 1976
- SCHENTAG, J. J.; W. J. JUSKO, M. E. PLAUT, T. J. CUMBO, J. W. VANCE & E. ABRUTYN: Tissue persistence of gentamicin in man. *JAMA* 238: 327~329, 1977
- KUNIN, C. M.: Binding of antibiotics to tissue homogenates. *J. Infect. Dis.* 121: 55~64, 1970
- BRYANT, R. E. & D. HAMMOND: Interaction of purulent material with antibiotics used to treat *Pseudomonas* infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 6: 702~707, 1974
- GLAUSER, M. P.; J. M. LYONS & A. I. BRAUDE: Prevention of pyelonephritis due to *Escherichia coli* in rats with gentamicin stored in kidney tissue. *J. Infect. Dis.* 139: 172~177, 1979
- WEINSTEIN, T.; D. ZEVI, U. GAFTER, A. CHAGNAC & J. LEVI: Acute renal failure in a solitary kidney due to bacterial pyelonephritis. *J. Urol.* 136: 1290~1291, 1986
- TULASSAY, T.; M. MILTENYI & M. DOBOS: Alterations of urinary carbon dioxide tension, electrolyte handling and low molecular weight protein excretion in acute pyelonephritis. *Acta Paediatr. Scand.* 75: 415~419, 1986
- CHIU, P. J. S. & J. F. LONG: Urinary excretion and tissue accumulation of gentamicin and paraaminohippurate in postischemic rat kidneys. *Kidney Int.* 15: 618~623, 1979
- GILBERT, D. N.; E. KUTSCHER, P. IRELAND, J. A. BARNETT & J. P. SANFORD: Effect of the concentrations of magnesium and calcium on the *in vitro* susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to gentamicin. *J. Infect. Dis.* 124: 37~45, 1971
- MEDEIROS, A. A.; T. F. O'BRIEN, W. E. C. WACKER & N. F. YULUG: Effect of salt concentration on the apparent *in vitro* susceptibility of *Pseudomonas* and other gram-negative bacilli to gentamicin. *J. Infect. Dis.* 124: 59~64, 1971
- MINUTH, J. N.; D. M. MUSER & S. B. THORSTEINSSON: Inhibition of the antibacterial activity of gentamicin by urine. *J. Infect. Dis.* 133: 14~21, 1976
- STAMEY, T. A.; D. E. GOVAN & J. M. PALMER: The localization and treatment of urinary tract infections: the role of bactericidal urine levels as opposed to serum levels. *Medicine (Baltimore)* 44: 1~36, 1965
- STAMEY, T. A.; W. R. FAIR, M. M. TIMOTHY, M. A. MILLAR, G. MIHARA & Y. C. LOWERY: Serum versus urinary antimicrobial concentrations in cure of urinary-tract infections. *N. Engl. J. Med.* 291: 1159~1163, 1974
- BILLE, J. & M. P. GLAUSER: Prevention of acute and chronic ascending pyelonephritis in rats by aminoglycoside antibiotics accumulated and persistent in kidneys. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19: 381~385, 1981
- BERGERON, M. G.; A. BASTILLE, C. LESSARD & P. M. GAGNON: Significance of intrarenal concentrations of gentamicin for the outcome of experimental pyelonephritis in rats. *J. Infect. Dis.* 146: 91~96, 1982
- FABRE, J.; M. RUDHARDT, P. BLANCHARD & C. REGAMEY: Persistence of sisomicin and gentamicin in rat kidney tissue. *J. Infect. Dis.* 146: 101~106, 1982

micin in renal cortex and medulla compared
with other organs and serum of rats. Kidney

Int. 10 : 444~449, 1976

STUDIES ON THE RETENTION OF AMINOGLYCOSIDES IN RENAL TISSUE

(II) RETENTION OF GENTAMICIN IN HUMAN AND INFECTED RABBIT KIDNEYS

YOSHIKAZU HASEGAWA

Department of Urology, Gifu University School of Medicine, Gifu
(Chief : Prof. Y. KAWADA)

We studied intrarenal retention of gentamicin (GM) in human and infected rabbit kidneys. We also compared intrarenal retention of GM after single-dose and consecutive daily administrations in rabbit. The following conclusions were obtained.

1. In human kidneys, retention of GM was observed in both cortex and medulla one week after intramuscular administration of 60 mg GM.
2. Residual levels of GM in severely infected rabbit kidneys were lower than those in contralateral normal kidneys at the first day, but the results were reversed at the third day.
3. Although consecutive administration caused no increase in GM levels in the rabbit kidneys, the retention period was longer than that after a single administration.
4. From these findings, we recommend limiting the consecutive administration of aminoglycosides to as short a period as possible to minimize side-effects.