

新しいペネム系抗菌薬, SY5555 の痙攣誘発作用に関する神経化学的研究

堀 誠治・金光 敬二・嶋田甚五郎
 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター*

β -lactam 系抗菌薬がその大量投与時に痙攣を誘発する危険性を有することはよく知られている。我々は、新しい penem 系抗菌薬である SY5555 の痙攣誘発作用の有無について *in vivo* および *in vitro* で検討し、数種の β -lactam 系抗菌薬と比較検討した。Imipenem, cefazolin, panipenem, cephaloridine の *in vivo* 脳室内投与によりマウスに投与量依存的に痙攣が誘発された。それらの ED_{50} はそれぞれ、12, 16, 25, 39nmol であった。しかし、cephalexin, SY5555 では200nmol まで痙攣の誘発は見られなかった。一方、imipenem, cefazolin, panipenem, cephaloridine, cephalexin の *in vitro* で濃度依存的に GABA 受容体結合を阻害した (IC_{50} 値はそれぞれ1.0, 1.4, 1.0, 2.8, >50mM であった) が, SY5555 は50mM まで阻害作用を示さなかった。

以上の結果より SY5555 は痙攣誘発作用の極めて弱いペネム系抗菌薬である可能性が示唆された。

Key words : SY5555, GABA 受容体, 痙攣, ペネム系抗菌薬, β -lactam 系抗菌薬

近年、多くの抗菌薬が開発され、臨床の場で利用されている。特に β -lactam 系抗菌薬 (β -lactam 薬) の開発には目ざましいものがある。さらに、 β -lactam 薬はそのすぐれた選択毒性と安全域の広さから広く臨床の場で用いられている。しかし、一方で、 β -lactam 薬が中枢神経系副作用、とくに痙攣誘発作用を有することも良く知られている¹⁾。cefazolin の大量投与時^{2,3)}、cephaloridine の髄腔内投与時⁴⁾などに痙攣が誘発されたとの報告がある。さらに、最初に臨床導入された carbapenem 系抗菌薬である imipenem においても痙攣誘発の報告が見られている⁵⁾。これら β -lactam 薬は実験動物においても痙攣ないし痙攣状態を誘発することができるとの報告が認められる⁶⁻⁸⁾。しかし、これらの薬物による痙攣誘発機序を神経化学的に示した報告は少ない。我々は、cefazolin, cephaloridine が中枢神経系において抑制性伝達物質と考えられている γ -アミノ酪酸 (GABA) の受容体結合を阻害することを示し、これら薬物による痙攣誘発に GABA 受容体結合阻害の関与する可能性を示してきた⁹⁾。

SY5555 は、サントリー株式会社、山之内製薬株式会社で開発された新しい経口 penem 系抗菌薬であり、原体吸収を特徴としている。本薬も β -lactam 薬であり、痙攣誘発作用を有する可能性が考えられる。そこで、今回我々は、SY5555 の痙攣誘発作用および GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討するとともに、類似構造

を有する抗菌薬と比較検討した。

I. 材料および方法

1. 材料

SY5555 は山之内製薬株式会社より、cefazolin は藤沢薬品工業株式会社より、imipenem は万有製薬株式会社より、panipenem は三共株式会社より供与された。³H]muscimol は New England Nuclear Co, Ltd. より購入した。その他の試薬は Sigma Chemical Co, Ltd. より購入した。

また、マウス (ddY, 体重22~25g) は、日本生物材料株式会社より購入した。

2. マウス脳室内投与による痙攣誘発作用の検討

マウスを無麻酔・非動下に頭皮を切開し、中島の方法⁹⁾により薬液5 μ l をマイクロシリンジを用いて、マウス側脳室内に注入した。薬物は150mM Na⁺を含む5mM リン酸緩衝液にその5 μ l 中に所定の薬物量が含まれるように調製した。マウスは投与後2時間観察し、痙攣誘発の有無を検討した。1投与量に対し、10匹のマウスを用いた。

3. マウス脳シナプス膜の調製

マウスを断頭、脳をすばやく取り出し、9倍量の等張ショ糖液を用いホモジェネートを作製した。ホモジェネートより遠心分離により粗ミトコンドリア分画を得た。粗ミトコンドリア分画を20倍量の10mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH7.4) を用いて低張処理・破壊

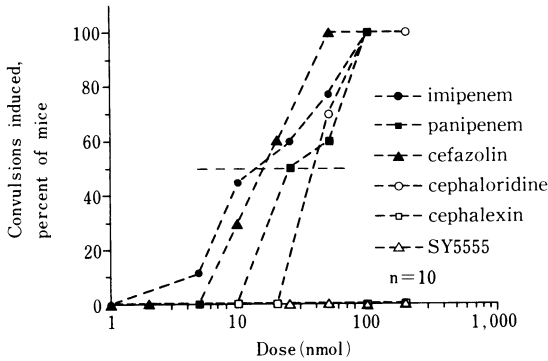


Fig. 1. Convulsant activity of cefazolin, imipenem, panipenem, cephaloridine, cephalixin and SY5555 (intraventricular injection)

したのち、Zukinらの方法¹⁰⁾により粗シナプス膜を調製した。その後、20倍量の150mM NaClを含む10mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH7.4) にて5回洗浄し、マウス脳シナプス膜標品とした。得られた膜標品は、適当量 (0.3g/ml) の10mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH7.4) に懸濁し、 -20°C にて保存した。

4. GABA 受容体結合の測定

測定に先立ち、マウス脳シナプス膜を10mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH7.4) にて3回洗浄した。400 μl の10mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH7.4) 中にシナプス膜、 $[^3\text{H}]\text{muscimol}$ (最終濃度3nM)、薬物を含む混液を 4°C にて15分反応させた。反応は、減圧下にグラスフィルター (ワットマン GF/B[®]) 上に濾過し停止させた。その後、グラスフィルター上の放射エネルギーを液体シンチレーションカウンターにより測定した。特異的結合は、非特異的結合 (1mM 非ラベル GABA 存在下の結合量) を全結合量 (非ラベル GABA 非存在下の結合量) より差し引くことにより求めた。測定は全て duplicate で行った。

II. 結 果

1. マウス脳室内投与による β -lactam 薬の痙攣誘発作用

マウス脳室内に cefazolin, imipenem, panipenem, cephaloridine を投与することにより投与量依存的に痙攣が誘発された (Fig. 1)。それらの薬物の50%のマウスに痙攣を誘発する投与量 (ED_{50}) は、それぞれ16, 12, 25, 39nmolであった。しかし、cephalexin, SY5555では、200nmol (投与絶対量) まで痙攣の誘発を認めなかった (Fig. 1)。

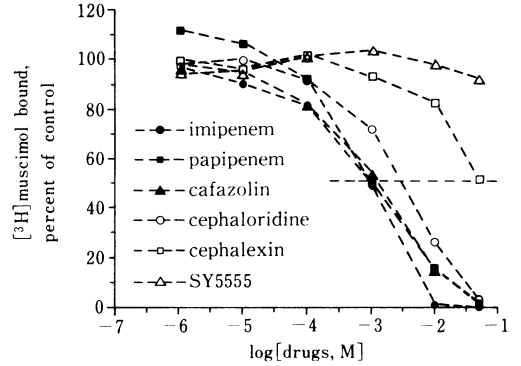


Fig. 2. Effect of cefazolin, imipenem, panipenem, cephaloridine, cephalixin and SY5555 on the receptor binding of γ -aminobutyric acid

2. β -lactam薬のGABA受容体結合に及ぼす影響 cefazolin, imipenem, panipenem, cephaloridine, cephalixin は、濃度依存的に GABA 受容体結合を阻害したが、SY5555は $5 \times 10^{-2}\text{M}$ まで GABA 受容体結合を阻害することはなかった (Fig. 2)。cefazolin, imipenem, panipenem, cephaloridine の GABA 受容体結合を50%阻害する濃度 (IC_{50}) は、それぞれ1.4, 1.0, 1.0, 2.8mMであった。Cephalexinは、50mMで GABA 受容体結合を49%阻害した。

III. 考 察

近年、多くの抗菌薬が開発され、感染症の治療に用いられている。とくに、 β -lactam薬は、安全域の広いことから、最もよく用いられている抗菌薬の一つである。しかし、 β -lactam薬が、中枢神経系副作用、特に痙攣誘発作用を有することはよく知られている¹⁾。cefazolinの大量投与時^{2,3)}、cephaloridineの髄腔内投与時⁴⁾に痙攣が誘発されたという報告がある。さらに、最初に導入されたカルバペネム系抗菌薬であるイミペネムでもその使用中に痙攣が誘発されたという報告⁵⁾が見られている。SY5555は、新しいベネム系抗菌薬である。本薬も痙攣誘発作用を有するか否かが問題となる。

一方、GABAは中枢神経系において抑制性伝達物質と考えられており、何らかの理由でGABA作動性抑制性伝達が阻害されると、中枢神経系における興奮性が増大され痙攣が誘発されるものと考えられている。例えば、bicucullineは、GABA受容体結合を阻害することにより痙攣を誘発するものと考えられている¹¹⁾。Curtisらは、penicillin Gが痙攣誘発作用を有することを示し、その痙攣発現機序として penicillin G と bicuculline との構造的な類似を指摘している¹²⁾。

我々は, imipenem, panipenem, cefazolin, cephaloridine の脳室内投与によりマウスに痙攣が誘発されることを, さらにこれらの薬物が GABA 受容体結合を阻害する事を示し, これらによる痙攣誘発に GABA 受容体結合阻害の関与している可能性を示してきた^{8,13)}。今回, 我々は, 新しい経口 penem 薬である SY5555 の痙攣誘発作用および GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討し, 既存のペネム系抗菌薬, セファロsporin系抗菌薬の痙攣誘発作用および GABA 受容体結合阻害効果と比較・検討した。

Fig. 1に示すように, cefazolin, imipenem, cephaloridine, panipenemの脳室内投与により, マウスに投与量依存的に痙攣を誘発することができた。しかし, SY5555 および cephalixin では, 200nmol (注入絶対量) まで痙攣を誘発することはなかった。また, cefazolin, imipenem, cephaloridine, panipenem は, 濃度依存的に GABA 受容体結合を阻害した (Fig. 2)。しかし, cephalixin では, その GABA 受容体結合阻害効果は弱く, SY5555 では $5 \times 10^{-2} M$ まで GABA 受容体結合を阻害することはなかった。これら薬物の痙攣誘発作用の強さの順と, GABA受容体結合を阻害する強さの順はよく一致している。このことから, これらの抗菌薬による痙攣の発現には, 同系薬による GABA 受容体結合阻害が強く関与している可能性が示唆された。さらに, SY5555 は痙攣誘発作用の弱い薬物である可能性が示された。

これらの薬物の全身投与時の痙攣誘発作用に関しては, 今回検討した中枢神経系内における痙攣誘発作用に加え, 中枢神経系への移行性 (血液・脳関門の透過性) を考慮する必要がある。金井らのラジオアイソトープを用いた検討¹⁴⁾によると, SY5555 をラットに経口投与 (57.1mg/kg) した際の大脳への移行率は血漿中の約 2% と低く, 大脳内の SY5555 はそのピーク時で 0.8nmol/g brain と算出され, その中枢神経移行は低いものと考えられた。

in vivo および *in vitro* の結果, さらに中枢神経系への移行性を考慮しても, SY5555 は痙攣誘発作用の弱い薬物である可能性が示された。

文 献

1) Neu H C : Penicillins. In Principles and Practice of Infectious Diseases (Mandel D L, Douglas R G Jr. and Bennet J E ed.), pp. 230~246, Churchill

Livingstone, New York, 1990

- 2) Yost R L, Lee J D, O' Leary J P : Convulsions associated with sodium cefazolin : a case report. *Am Surg* 43 : 417~420, 1977
- 3) Bechtel T P, Slaughter R L, Moore T D : Seizures associated with high cerebrospinal fluid concentrations of cefazolin. *Am J Hosp Pharm* 37 : 271~273, 1980
- 4) Yoshioka H, Nambu H, Fukita M, Uehara H : Convulsion following intrathecal cephaloridine. *Infection* 3 : 123~124, 1975
- 5) Calandra G, Lyock E, Carrigan J, Weiss L, Guess H : Factors predisposing to seizures in seriously ill infected patients receiving antibiotics. Experience with imipenem/cilastatin. *Am J Med* 84 : 911~918, 1988
- 6) Kamei C, Sunami A, Tasaka K : Epileptogenic activity of cephalosporins in rats and their structure-activity relationship. *Epilepsia* 24 : 421~439, 1983
- 7) Nistico G, de Sarro G B, Rotoroti D, Naccari F, Calo M, Silvestri G, Pisanti N : Behavioral and electrocortical effects after intrastriatal cefazolin in rats are antagonized by drugs enhancing GABA-ergic transmission. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 29 : 445~458, 1980
- 8) Hori S, Kurioka S, Matsuda M, Shimada J : Inhibitory effect of cephalosporins on γ -aminobutyric acid receptor binding in rat synaptic membranes. *Antimicrob Agents Chemother* 27 : 650~651, 1985
- 9) 中島晋介 : Vitamin B₆拮抗体による痙攣とその抑制効果について。昭和医会誌 32 : 9~17, 1984
- 10) Zukin S R, Young A B, Snyder S H : Gamma-aminobutyric acid binding to receptor sites in the rat central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 71 : 4802~4807, 1974
- 11) Meldrum B S : Epilepsy and γ -aminobutyric acid-mediated inhibition. *Int Rev Neurobiol* 17 : 1~36, 1975
- 12) Curtis D R, Game C J A, Johnston A R, McCulloch R M, MacLachlan R M : Convulsive action of penicillin. *Brain Res* 43 : 242~245, 1972
- 13) Shimada J, Hori S, Kenemitsu K, Shoji Y, Nakashio S, Yanagawa A : A comparative study on the convulsant activity of carbapenems and beta-lactams. *Drugs Exptl Clin Res* 18 : 377~381, 1992
- 14) 金井 靖, 諸住なおみ, 米本儀之, 杉田 修, 大沼規男, 安達栄樹, 菊地康博 : [¹⁴C]SY5555 の実験動物における体内動態—単回投与試験—。Chemotherapy 42 (S-1) : 254~268, 1994

A neurochemical study on convulsant activity of SY5555,
a new penem antibiotic

Seiji Hori, Keiji Kanemitsu and Jingoro Shimada
Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine
2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki 216, Japan

Since β -lactam antibiotics have been reported to induce convulsions in patients and experimental animals, we studied the convulsant activity of SY5555, a new penem antibiotic, as well as other β -lactam antibiotics. Intraventricular injection of cefazolin, imipenem, panipenem and cephaloridine induced convulsions in a dose-dependent manner in mice, and their ED_{50} values were 16, 12, 25 and 39 nmol, respectively. Intraventricular injection of cephalexin or SY5555 did not induce convulsions in mice up to 200 nmol. Cefazolin, imipenem, panipenem and cephaloridine inhibited the receptor binding of γ -aminobutyric acid (GABA), an inhibitory transmitter in the mammalian central nervous system, and the concentrations that inhibited 50% of the binding were 1.4, 1.0, 1.0 and 2.8 mM, respectively. Cephalexin inhibited GABA receptor binding at a high concentration (50 mM), whereas SY5555 did not inhibit GABA receptor binding up to 50mM. These results suggest that SY5555 might have weak convulsant activity.