

新セフェム薬, FK037 の痙攣誘発作用と GABA 受容体結合に及ぼす影響

堀 誠治¹⁾・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*

¹⁾現, 東京慈恵会医科大学第一薬理学教室)

セフェム薬が痙攣誘発作用を有することはよく知られている。我々は、セフェム薬が γ -アミノ酪酸 (GABA) 受容体結合を阻害することを示し、同系薬の痙攣誘発に GABA 受容体結合阻害の関与を示してきた。今回、我々は新セフェム薬 FK037 の痙攣誘発作用と GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討した。Cefazolin (CEZ), FK037, cephaloridine (CER), cefmetazole (CMZ) をマウス脳室内に直接投与する事により投与量依存的に痙攣が誘発された。FK037 の痙攣誘発作用は、CEZ のそれとほぼ同等であり、CER, CMZ より強かった。また、これらのセフェム薬は濃度依存的に GABA 受容体結合を阻害した。それらの IC_{50} 値は、CEZ: 1.4 mM, FK037: 2.7 mM, CER: 3.7 mM, CMZ: 10 mM であり、FK037 の GABA 受容体阻害作用の強さは CEZ と CER との間に位置していた。

以上の結果より、FK037 は中枢神経系に蓄積した際には GABA 受容体結合を阻害することにより痙攣を誘発する可能性のあることが示唆された。

Key words: セフェム薬, 痙攣, GABA 受容体, FK037

近年、多くのセフェム薬が開発されている。これらは優れた選択毒性と安全域の広さから、今日最もよく使用される抗菌薬の一つである。しかし、古くから β -ラクタム薬による中枢神経系副作用、とくに痙攣誘発の報告が認められる。セフェム薬では、cephaloridine (CER) を髄腔内に投与した際¹⁾、cefazolin (CEZ) を腎不全患者に投与した際^{2,3)} など痙攣が誘発されたとの報告が認められる。

γ -アミノ酪酸 (GABA) は中枢神経系において抑制性伝達物質と考えられている。何らかの理由により 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し、痙攣が誘発されると考えられている。例えば、痙攣薬の一つである bicucullin は、GABA 受容体結合を阻害することにより痙攣を誘発すると考えられている⁴⁾。我々は、CEZ, CER が濃度依存的に GABA の受容体結合を阻害することを示し、これらの薬物による痙攣の誘発に GABA 受容体結合阻害の関与の可能性を示してきた⁵⁾。FK037 は新しく開発されたセフェム薬である⁶⁻⁸⁾。本薬もセフェム薬である以上、痙攣誘発作用を有する可能性が考えられる。我々は FK037 の痙攣誘発作用を検討するとともに、本薬の GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討し、他のセフェム薬と比較検討した。

1 材料および方法

1. 薬物

FK037, CEZ は藤沢薬品工業株式会社より、cefmetazole (CMZ) は三共株式会社より供与された。³H] GABA (980.5 GBq/mmol) 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。

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⁾に従い薬液 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 150 mM Na⁺を含む 5 mM リン酸緩衝液の 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、0.32 M ショ糖液を用い 10% 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調製し、その粗ミトコンドリア分画を 20 倍量の 10 mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) を用いて低張処理・破壊した後、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 150 mM NaCl を含む 10 mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) 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(約0.3 g/ml)の10 mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) 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10 mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) にて3回洗浄した。400 μl の10 mM カリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中にシナプス膜、 $[^3\text{H}]\text{GABA}$ (最終濃度5 nM)、薬物を含む混液を 4°C にて15分反応させた。反応は、20,000 g, 15分遠心することにより停止させた。沈渣の表面を氷冷した脱イオン水1 ml にて素早く洗浄し、沈渣中

のラジオアイソトープ量を液体シンチレーションカウンターを用いて測定し、GABA 結合量とした。特異的結合量は、非特異的結合量(1 mM 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)を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セフェム薬の痙攣誘発作用

FK037, CEZ, CER および CMZ (Fig. 1) の脳室内

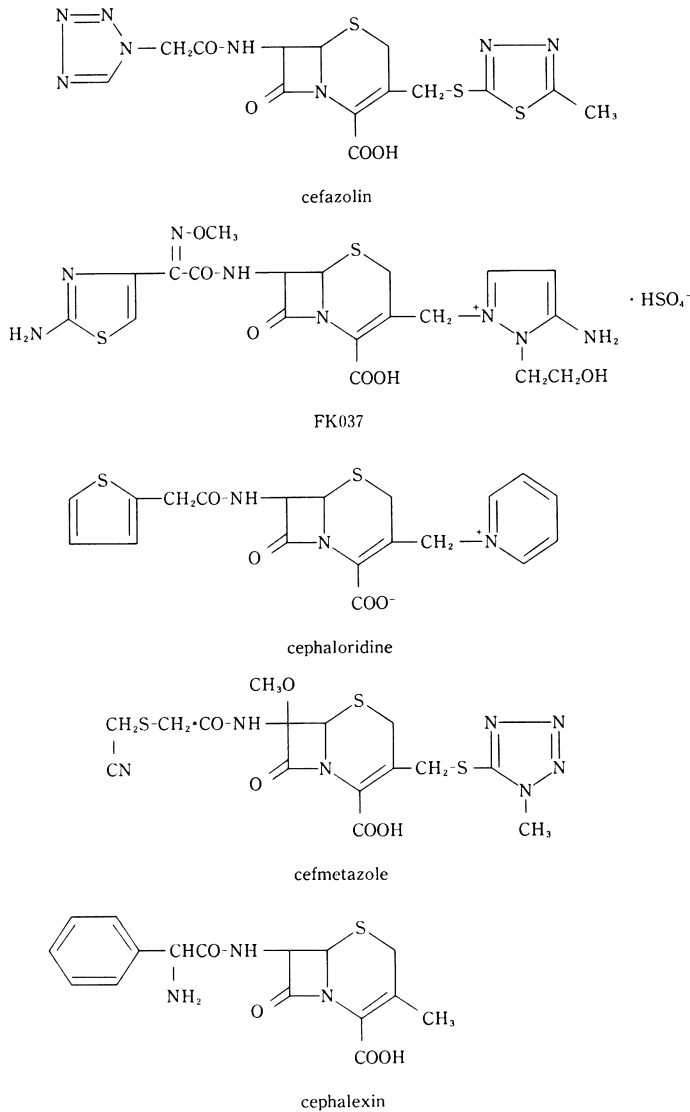


Fig. 1. Chemical structures of cepheids

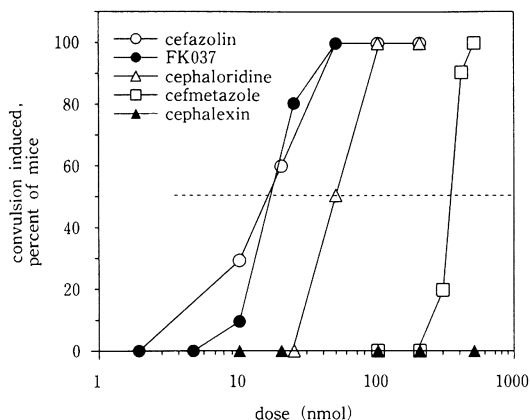


Fig. 2. Convulsant activity of intraventricular injection of FK037, cefazolin, cephaloridine, cefmetazole and cephalixin

Five μ l of saline solution containing suitable amount of cepems was injected in lateral ventricle of mouse brain. The mice were kept under constant observation for 2 hours to know whether the convulsions were induced. Ten mice were used for each dose.

投与によりマウスに投与量依存的に痙攣が誘発された (Fig. 2)。それらの ED₅₀ は CEZ : 12 nmol, FK037 : 16 nmol, CER : 50 nmol, CMZ : 340 nmol であった。しかし, cephalixin (CEX) は 500 nmol まで痙攣を誘発することはなかった。

2 セフェム薬の GABA 受容体結合に及ぼす影響

CEZ, FK037, CER, CMZ および CEX の GABA 受容体結合に及ぼす影響を *in vitro* で検討した。これらの薬物は濃度依存的に GABA 受容体結合を阻害した。これらの薬物が GABA 受容体結合を 50% 阻害するのに要する濃度 (IC₅₀) は, CEZ : 1.4 mM, FK037 : 2.7 mM, CER : 3.7 mM, CMZ : 10 mM, CEX : \geq 50 mM であった (Fig. 3)。

III. 考 察

近年, 多くの抗菌薬が開発され臨床の場で用いられている。とくに, β -ラクタム薬の発展には目覚ましいものがある。それらの副作用としては過敏反応によるものが多く認められているが, 本系薬に伴う中枢神経系副作用, 中でも痙攣誘発の報告が以前より認められている。セフェム薬に関しては, CEZ 投与時^{2,3)} に, また, CER の髄腔内投与時¹⁾ に痙攣が誘発されたという報告がある。さらに, セフェム薬の脳室内投与によりラットに痙攣状態を誘発できるとの報告がある¹⁾。しかし, その痙攣誘発機序を神経化学的に示したものは

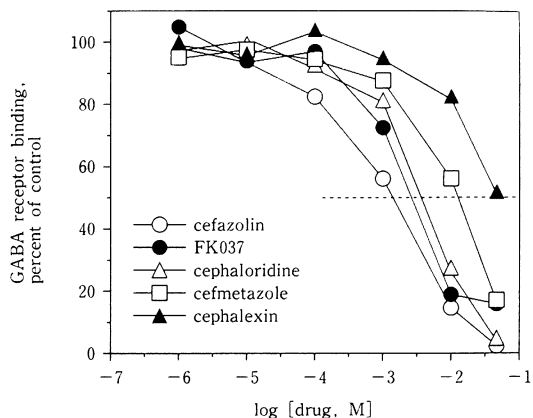


Fig. 3. Inhibitory effect of cefazolin, FK037, cephaloridine, cefmetazole and cephalixin on γ -aminobutyric acid receptor binding

Each point indicates the mean of 3 separate experiments.

少ない。我々は, CEZ, CER が GABA 受容体結合を阻害する事を示し, これによる痙攣誘発に GABA 受容体結合阻害の関与を示唆してきた⁵⁾。

FK037 は新しく開発されたセフェム薬⁶⁻⁸⁾ (Fig. 1) であり, 本薬を含めセフェム薬の痙攣誘発作用を検討することは重要である。そこで, FK037 をはじめとするセフェム薬をマウス脳室内に投与し, 痙攣誘発の有無を検討するとともに, GABA 受容体結合に及ぼす影響を検討した。痙攣誘発作用の強いセフェム薬では, GABA 受容体阻害作用も強く, その順は CEZ > FK037 > CER > CMZ >> CEX であった (Fig. 2, 3)。これらの薬物の脳室内投与による痙攣誘発作用の強さ (ED₅₀ : nmol) と GABA 受容体結合を阻害する強さ (IC₅₀ : mM) との間には正の相関 ($r=0.984$, $p<0.05$) が認められた。この事は, セフェム薬による痙攣の発現に GABA 受容体結合阻害の関与を強く示唆すると考えられた。従って, これらの薬物が中枢神経系に蓄積した際には, GABA 受容体結合阻害 \rightarrow GABA 作動性抑制性伝達の阻害 \rightarrow 中枢神経系における興奮性の増大 \rightarrow 痙攣誘発の一連の経過をたどる可能性が考えられた。

さらに, Fig. 1 に示す如く, 痙攣誘発作用を示し GABA 受容体結合阻害効果の強かった薬物 (CEZ, FK037, CER, CMZ) は 3 位の側鎖に陽性荷電を有す

る可能性のある官能基を持ち、痙攣誘発作用および GABA 受容体結合阻害作用の弱かった CEX では側鎖に陽性荷電を有する可能性のある官能基を持たないことが明らかとなった。この成績より、セフェム薬による痙攣誘発作用はその母核に特有のものではなく、側鎖との関連で認められるものである可能性が示された。

以上の *in vivo* および *in vitro* の成績より、セフェム薬は GABA 受容体結合を阻害することにより痙攣を誘発する可能性が示唆された。さらに、FK037 も中枢神経系に集積した際には、GABA 受容体結合を阻害し痙攣を誘発する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Yoshioka H, Nambu H, Fukita M and Uehara H: Convulsion following intrathecal cephaloridine. *Infection* 3: 123~124, 1975
- 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 and Moore T D: Seizures associated with high cerebrospinal fluid concentrations of cefazolin. *A J Hosp Pharm* 37: 271~273, 1980
- 4) Meldrum B S: Epilepsy and γ -aminobutyric acid-mediated inhibition. *Int Rev Neurobiol* 17: 1~36, 1975
- 5) Hori S, Kurioka S, Matsuda M and Shimada J: Inhibitory effect of cephalosporins on γ -aminobutyric acid receptor binding in rat synaptic membranes. *Antimicrob Agents Chemother* 27: 650~651, 1985
- 6) Ohki H, Kawabata K, Okuda S, Kamimura T, Sakane K: FK037, a new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum: synthesis and antibacterial activity. *J Antibiot* 46: 359~361, 1993
- 7) Mine Y, et al: *In vitro* antibacterial activity of FK037, a novel parenteral broad-spectrum cephalosporin. *J Antibiot* 46: 71~87, 1993
- 8) Mine Y, et al: Excellent activity of FK037, a novel parenteral broad-spectrum cephalosporin, against methicillin-resistant staphylococci. *J Antibiot* 46: 99~119, 1993
- 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 and 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) Kamei C, Sunami A and Tasaka K: Epileptogenic activity of cephalosporins in rats and their structure-activity relationship. *Epilepsia* 24: 421~439, 1983

Convulsant activity of FK037, a new cephem antibiotic, and its inhibitory effect
on γ -aminobutyric acid receptor binding

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 -lactams have been reported to induce convulsions, we studied the convulsant activity of FK037, a new cephem, as well as other cephem. We also studied the effect of these agents on the receptor binding of γ -aminobutyric acid (GABA), an inhibitory transmitter in the central nervous system. Intraventricular injection of FK037, cefazolin (CEZ), cephaloridine (CER), and cefmetazole (CMZ) induced convulsions in mice in a dose-dependent manner. Their ED_{50} values were as follows; 12 nmol for CEZ, 16 nmol for FK037, 50 nmol for CER and 340 nmol for CMZ. Cephalexin (CEX) did not induce convulsions up to 500 nmol. These cephem inhibited GABA receptor binding in a concentration-dependent manner *in vitro*. Their concentrations that inhibited 50% of the binding were; 1.4 mM for CEZ, 2.7 mM for FK037, 3.7 mM for CER, 10 mM for CMZ and >50 mM for CEX.

These results suggest that FK037 induces convulsions through the inhibition of GABA receptor binding, when accumulated in the central nervous system.