

新 carbapenem 系抗菌薬, biapenem の痙攣誘発作用と γ -アミノ酪酸受容体結合に及ぼす影響

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 系抗菌薬が痙攣誘発作用を有する事は良く知られている。また、臨床応用された最初の carbapenem 系抗菌薬である imipenem が痙攣を誘発する事が報告されている。そこで、我々は、新しい carbapenem 系抗菌薬である biapenem (BIPM) の痙攣誘発作用を検討した。脳室内に高投与量の BIPM を投与することによりマウスに痙攣を誘発することができるが、その痙攣誘発作用は imipenem, panipenem, cefazolin に比べ弱いものであった。また、BIPM 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 γ -アミノ酪酸 (GABA) の受容体結合を阻害したが、その阻害の強さは imipenem, panipenem, cefazolin に比し弱いものであった。以上の *in vitro*, *in vivo* の結果より BIPM の痙攣誘発作用は弱いものと考えられた。また、非ステロイド消炎薬の共存によっても GABA 受容体結合阻害効果は増強されず、両薬剤の併用時にも本薬の痙攣誘発作用は比較的弱いであろうことが示唆された。

Key words: Carbapenem, Biapenem, GABA RECEPTOR, 痙攣

最近、多くの抗菌薬が開発され、臨床の場で使用されている。とくに、 β -lactam 系抗菌薬の発達には目ざましいものがある。しかし、その反面、種々の副作用の報告も見られるようになってきた。その主たるものは過敏反応によるものであるが、それらの中には中枢神経系副作用、特に痙攣誘発作用を有するものがある。Penicillin の大量投与時・髄腔内投与時などに痙攣が誘発されたという報告がある¹⁾。Cephalosporin 系抗菌薬では、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認められている。さらに、最初に臨床の場に導入された carbapenem 薬である imipenem でも痙攣誘発の報告が認められている⁵⁾。

一方、 γ -aminobutyric acid (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。何らかの理由で GABA 作動性抑制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⁶⁾。我々は、imipenem, cefazolin, panipenem の脳室内投与によりマウスに痙攣を誘発することができることを、さらにこれらの薬物が *in vitro* で GABA 受容体結合を阻害することを示し⁷⁾、これら薬物による痙攣の発現に GABA 受容体結合阻害の関与している可能性を示してきた。

Biapenem (BIPM) は新しく開発された carbapenem 系抗菌薬である。各種 β -lactam 薬による痙攣誘発が認められていることから、BIPM が痙攣誘発作用を有するか否

かが問題となる。本研究では、BIPM を始めとする carbapenem 系抗菌薬をマウス脳室内に投与することにより痙攣誘発作用を検討すると共に、これらの薬物の GABA 受容体結合に及ぼす影響を *in vitro* で検討した。

さらに、非ステロイド消炎薬の共存によりキノロン薬の痙攣誘発作用が増強されることが報告されている^{8, 9)}。しかし、非ステロイド消炎薬と β -lactam 薬と薬物相互作用を検討したものは少ない。そこで、今回我々は、BIPM の GABA 受容体結合に及ぼす影響を各種非ステロイド消炎薬の共存下に検討した。

材料および方法

1) 材料

BIPM は日本レグリー株式会社より、imipenem は万有製薬株式会社より、panipenem は三共株式会社より、cefazolin は藤沢薬品株式会社より供与された。 ^3H muscimol (495.8 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。

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¹⁰⁾により薬液 5 μl 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 μl 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群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、0.32M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・破壊したのち、Zukinらの方法¹¹⁾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℃にて保存した。

4) GABA受容体結合の測定

GABA受容体結合は、 $[^3\text{H}]$ muscimolのマウスシナプス膜における特異的結合量として求めた。

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 μ lの10mMカリウム・リン酸緩衝液(pH7.4)中にシナプス膜、 $[^3\text{H}]$ muscimol(最終濃度3nM)、薬物を含む反応混液を4℃にて15分反応させた。反応は、18,000g、15分遠心することにより停止した。沈渣の表面を氷冷した脱イオン水1mlにて素早く洗浄し、沈渣中のラジオアイソト

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、muscimol結合量とした。特異的結合量は、非特異的結合量(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。

結 果

1) Carbapenem系抗菌薬脳室内投与による痙攣誘発の検討

マウス脳室内に imipenem, panipenem, cefazolinおよびBIPMをマイクロシリンジを用い投与した。これら薬物は投与量依存的にマウスに痙攣を誘発した(Fig. 1)。それらの50%のマウスに痙攣を誘発する投与量ED₅₀値は imipenem : 13nmol(投与絶対量), panipenem 25nmol, cefazolin : 17nmol, BIPM:>200nmolであった(Fig 1)。

2) GABA受容体結合に及ぼす carbapenem系抗菌薬の影響

BIPMのGABA受容体結合に及ぼす影響を *in vitro* で検討した。BIPMは、濃度依存的にGABA受容体結合を阻害し、その50%阻害するのに要する濃度(IC₅₀)は7.1mMであった(Fig. 2)。一方、imipenem, panipenemおよびcefazolinは濃度依存的にGABA受容体結合を阻害した。それらのIC₅₀値はそれぞれ1.1, 0.41, 1.7mMであった。

さらに、各種非ステロイド消炎薬存在下にBIPM(最終濃度1mM)のGABA受容体阻害作用に及ぼす影響を検

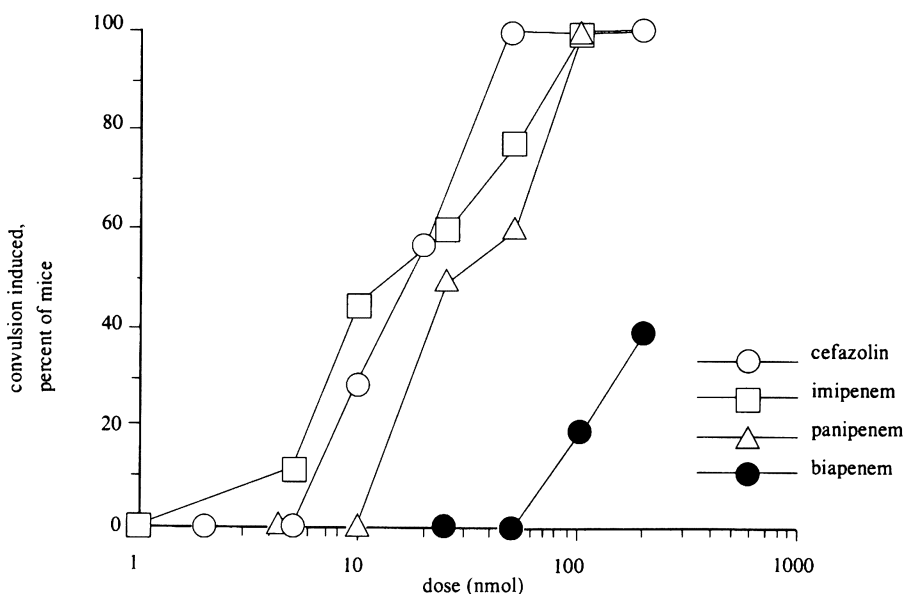


Fig. 1 Convulsant activity of cefazolin, imipenem, panipenem and biapenem. Intraventricular injection of these agents induced convulsions in a dose-dependent manner in mice. Ten mice were used in each dose.

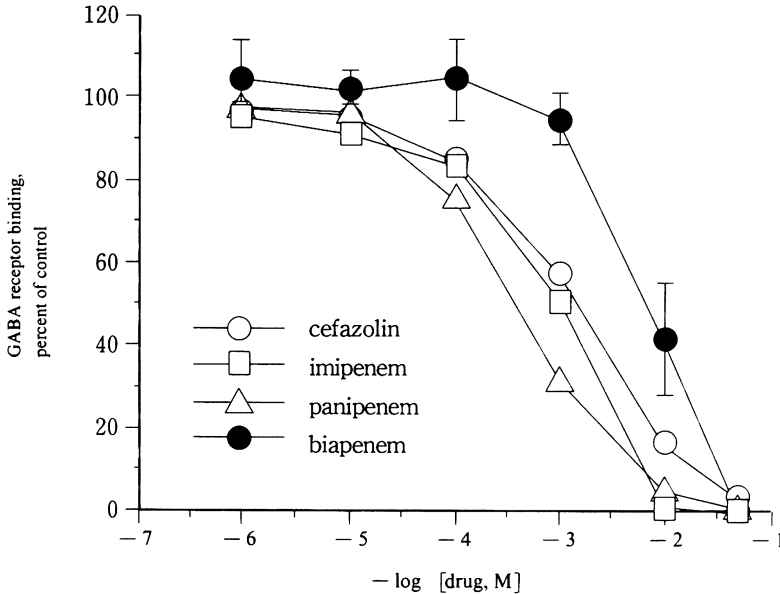


Fig. 2 Effect of cefazolin, imipenem, panipenem and biapenem on GABA receptor binding. These agents inhibited GABA receptor binding in a concentration-dependent manner. Each point represents mean \pm standard deviation for three separate experiments.

Table 1. Effect of biapenem on GABA receptor binding in the presence of non-steroidal anti-inflammatory drugs(NSAIDs).

NSAIDs(0.1mM)	GABA receptor binding	
	Biapenem(-)	Biapenem(1mM)
no NSAIDs	100 \pm 5.6	88.4 \pm 3.8
acetylsalicylate	96.6 \pm 0.8	90.5 \pm 4.7
indomethacin	79.2 \pm 5.4	74.8 \pm 3.1
flurbiprofen	91.4 \pm 2.4	87.3 \pm 3.9
ibuprofen	95.1 \pm 5.4	87.3 \pm 3.5.
biphenylacetate	90.9 \pm 1.8	83.2 \pm 2.0
piroxicam	95.2 \pm 0.9	88.6 \pm 3.8

Each value represents mean \pm standard deviation for three separate experiments (percent of control).

討した。BIPM(1mM)はGABA受容体結合をコントロールの89%とした。しかし、BIPMのGABA受容体阻害効果は非ステロイド消炎薬(1mM)の共存下でも影響を受けなかった(Table. 1)。

考 察

近年、多くの β -lactam系抗菌薬が開発され臨床の用に供されている。特に、imipenemを始めとする carba-

penem系抗菌薬はその抗菌スペクトルの広さと抗菌力の強さから今日開発の進んでいる抗菌薬である。また、 β -lactam系抗菌薬は安全域の広い抗菌薬として知られており、その主な副作用はアレルギー反応と考えられている。しかし、 β -lactam系抗菌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以前より知られている。Penicillin Gの大量投与¹⁾、腎機能低下時の cefa-

zolinの大量投与^{2, 3)}さらには未熟児でのcephaloridineの髄腔内投与⁴⁾などにより痙攣が誘発されたという報告が認められる。さらに、最初に臨床応用されたcarbapenem系抗菌薬であるimipenemは投与患者の約0.3%に痙攣が認められたという報告がなされている⁵⁾。これら β -lactam系抗菌薬、とくにcarbapenem系抗菌薬による痙攣の誘発機序が注目されている。

我々は、以前より抗菌薬による痙攣誘発機序に注目し、検討を加えてきた。抗菌薬の痙攣誘発作用を全身投与により検討した際には、血液・脳関門の透過性が加味され、薬物としての痙攣誘発作用を比較することが困難となる。そこで、我々は、cefazolin, imipenem, panipenemおよびBIPMをマウス脳室内に投与し、これら抗菌薬を中枢神経系に直接作用させ、痙攣誘発作用を検討した。cefazolin, imipenem, panipenemおよびBIPMは投与量依存的にマウスに痙攣を誘発した。それらの痙攣誘発作用はpanipenem・imipenem・cefazolinで強く、BIPMでは弱かった(Fig. 1)。

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、そのGABA作動性抑制性神経伝達が何らかの理由により阻害された際には中枢神経系における興奮性が増大し、痙攣を誘発するものと考えられている⁶⁾。我々は、GABA受容体結合に及ぼすこれら薬物の影響を*in vitro*で検討した。panipenem・imipenem・cefazolinおよびBIPMは濃度依存的にGABA受容体結合を阻害した(Fig. 2)。この結果は、以前のimipenem, panipenem, cefazolinを対象とした我々の成績^{7, 12)}とよく一致している。さらに、GABA受容体阻害作用の強さはpanipenem, imipenem, cefazolinで強く、BIPMでは比較的弱かった。GABA受容体阻害作用の強い薬物は痙攣誘発作用も強いことが明らかとなった。この事より本系薬による痙攣誘発にはGABA受容体結合阻害が関与している可能性が強く示唆されていると考えられる。

以前より β -ラクタム系抗菌薬による痙攣誘発が注目されてきた。Penicillinでは、その痙攣誘発作用は、GABA受容体に対する拮抗薬であるbicucullinとの構造上の類似による可能性を示唆する報告がある¹³⁾また、cephem系抗菌薬において、その脳室内投与により電気生理学的には痙攣脳波が、行動薬理的には痙攣が誘発されるとの報告がある¹⁴⁾。さらにその中でcefazolinによる痙攣はGABA作動性抑制性神経伝達を増強する薬物として知られているdiazepamの前投与により抑制されるとの報告¹⁵⁾があり、penicillinおよびcephem系抗菌薬による痙攣発現にはGABA作動性抑制性神経伝達の阻害が関与している可能性が示唆されてきた。今回の我々の成績は、 β -lactam系抗菌薬に含まれるcarba-

penem系抗菌薬による痙攣においても、その痙攣発現にGABA作動性抑制性神経伝達の阻害が関与している可能性を示しており、上述の報告と合わせ、 β -lactam系抗菌薬による痙攣誘発にはGABA作動性抑制性神経伝達が関与している可能性が示された。

さらに、痙攣誘発作用をその副作用として有することが知られているキノロン系抗菌薬は、非ステロイド消炎薬との併用時にその痙攣誘発作用が増強されるとの報告が認められる^{8, 9)}。我々は、キノロン系抗菌薬の痙攣誘発機序としてGABA受容体結合阻害を示し、さらに、非ステロイド消炎薬存在下ではキノロン系抗菌薬によるGABA受容体結合阻害が増強され痙攣誘発作用が増強される可能性を示してきた¹⁶⁾。Carbapenem系抗菌薬においても非ステロイド消炎薬併用時にその痙攣誘発作用が増強されるか否かが問題となる。そこで、非ステロイド消炎薬共存下にBIPMのGABA受容体結合に及ぼす影響を検討した。非ステロイド系消炎薬(0.1mM)単独では、GABA受容体結合効果は見られなかった。さらに、Table 1に示す様に、非ステロイド系消炎薬の共存下においてもBIPMのGABA受容体阻害効果は増強されなかった。同様の傾向はcephalosporin系抗菌薬においても認められている¹⁷⁾。このことよりBIPMは、非ステロイド系消炎薬の共存下でも痙攣誘発作用の弱い可能性が示唆された。

また、Yamashita et al.によれば、20mg/kgのBIPMを静脈内投与されたラットの脳では、BIPMは、ほとんど認められなかったとされ¹⁸⁾、BIPMの脳内移行は少ないものと考えられる。

以上の*in vivo*および*in vitro*の結果よりBIPMは、痙攣誘発作用の弱い薬剤である可能性が示唆された。

文 献

- 1) Raicle M E, Kutt H, Louis S and McDowell F: Neurotoxicity of intravenously administered penicillin. *G. Arch. Neurol.*, 25, 232~239, 1971
- 2) Yost R L, Lee J D and 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) Yoshioka H, Nambu H, Fukita M and Uehara H: Convulsion following intrathecal cephaloridine. *Infection* 3, 123~124, 1975
- 5) Calandra G, Lyock E, Carrigan J, Weiss L and 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) Meldrum B S: Epilepsy and γ - aminobutyric acid - mediated inhibition. *Int. Rev. Neurobiol.*, 17, 1~36, 1975
- 7) Shimada J, Hori S, Kanemitsu K, Shoji Y, Nakashio S and Yanagawa A: A comparative study on the convulsant activity of carbapenems and beta - lactams. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, 18, 377~381, 1992
- 8) 厚生省薬務局: エノキサシンとフェンブフェンの相互作用によるけいれん発作 医薬品副作用情報, No. 81, 1986
- 9) 武田憲明: 新キノロン薬の中樞作用, 特に抗炎症薬との薬物相互作用の薬理学的研究 岐阜大医紀, 38: 742~756, 1990
- 10) 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 昭和医学会誌 32, 17, 1984
- 11) 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
- 12) 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
- 13) Antoniadis A, Muller W E and Wollert U: Inhibition of GABA and benzodiazepine receptor binding by penicillins. *Neurosci. Lett.*, 18, 309~312, 1980
- 14) Kamei C, Sunami A and Tasaka K: Epileptogenic activity of Cephalosporins in rats and their structure - activity relationship. *Epilepsia.*, 24, 431~439, 1983
- 15) 亀井千晃, 池上信行, 木庭茂治, 于尻海, 三宅秀和, 田坂賢二: Cefazolin痙攣に対する二, 三の抗痙攣薬の抑制効果について最新医学. 38, 1876-1881, 1983
- 16) 金光敬二, 堀 誠治, 柳川 明, 嶋田甚五郎: キノロン薬の痙攣誘発作用に関する研究-特に非ステロイド系抗炎症剤との薬物相互作用について-臨床薬理, 24, 241~242, 1993
- 17) Hori S, Kanemitsu K and Shimada J: Effect of cephalosporins on γ - aminobutyric acid receptor binding with or without non - steroidal anti - inflammatory drugs. *J. Antibiotics* 46, 1145~1148, 1993
- 18) Yamashita N, Hirai T, Watanabe T, et al: Pharmacokinetics in Laboratory Animals of LJC 10,627, a novel 1 β - methyl carbapenem antibiotic. Abst. No. 223, 29th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and chemotherapy 1989, Houston

Relation between convulsant activity of biapenem, a new carbapenem, and its binding affinity to GABA receptor

Seiji Hori, Kenji Kanemitsu and Jingoro Shimada

Division of Clinical Pharmacology, Institute of Medical Science,

St. Marianna University School of Medicine,

1 - 16 - 1 Sugao, Miyamae - ku, Kawasaki 216, Japan

Beta - lactams have been well known to have convulsant activity. Specially imipemen, the first carbapenem introduced in the clinical field, have been reported to induce convulsions. We have demonstrated that cephalosporins inhibited the receptor binding of γ - aminobutyric acid(GABA), an inhibitory transmitter in the central nervous system, and we suggest that the inhibition of GABA receptor binding might be responsible for the onset of the convulsions induced by these agents. Then, we studied the convulsant activity of BIPM, a new carbapenem, and its effect on GABA receptor binding. Intraventricular injection of imipenem, panipenem and cefazolin induced convulsions in a dose - dependent manner in mice, and their ED₅₀ values were 13, 25, 17 nmol, respectively. On the other hand, BIPM induced convulsions in 40% of mice at its high dose(200nmol). Imipenem, panipenem, cefazolin and BIPM inhibited GABA receptor binding in a concentration - dependent manner, and their IC₅₀ values were 1.1, 0.41, 1.7 and 7.1 mM, respectively. These *in vivo* and *in vitro* results suggest that the inhibition of GABA receptor binding might be responsible for the onset of the convulsions induced by these agents and that BIPM might have weaker convulsant activity than other 3 referenced agents.