グルタチオンによるアミノ配糖体耳毒性軽減

西 田 功

Aminoglycoside Ototoxicity Reduced by Glutathione in Guinea Pigs

Isao Nishida

(WFAC Hiroshima General Hospital)

Aminoglycoside antibiotics are commonly used in the treatment of serious gram negative infections despite a high incidence of associated ototoxicity. Attempts to elucidate the mechanism of the toxicity or prevent the adverse effects have so far been unsuccessful. Recently the damaging effects of aminoglycoside on the inner ear have been shown to be caused by a metabolite of the drug, implying an enzymatic conversion of the parent compound and glutathione has been suggested to be closely related to the mechanism of detoxication of this metabolite. This study demonstrates the attenuation of aminoglycoside ototoxicity by glutathione. Guinea pigs were given amikacin or amikacin + glutathione by intramuscular injection. Pretreatment with glutathione significantly reduced damage to the outer hair cells of the organ of Corti. This finding suggests that glutathione can reduce aminoglycoside ototoxicity and that it can be considered for clinical use.

Key words : ototoxicity, amikacin, glutathione, the organ of Corti

はじめに

アミノ配糖体系薬剤のよく知られた副作用の1つとして、内耳ならびに腎毒性があり¹⁾²⁾、これらの副作用の発現のため、アミノ配糖体系薬剤の使用範囲が限定されているのが実状である。なかでも、耳毒性は、腎毒性が可逆的であり治療によく反応するのに対して、非可逆的であり、永続的な聴力障害や前庭機能障害を引き起こし、アミノ配糖体系薬剤を臨床的に使用するにあたっての大きな問題となっている。

耳毒性の発現には様々な要素が関係しており、障害の強さは薬剤の種類だけではなく、薬剤の投与期間、総投与量、投与方法などが密接に関与している。これらの点に関して、著者らは、すでにアミノ配糖体系薬剤の種類により、その耳毒性の発現頻度、程度に差が認められること、同一薬剤でも1日総投与量が同じ場合には、1日1回投与の方が1日2回投与に比較して、耳毒性の軽減が得られることを明らかにした^{3)~6)}。

しかし、投与方法、薬剤の種類により耳毒性は軽減するものの、完全にこの副作用を予防することは実現されていない。そのため、従来より、アミノ配糖体系薬剤の耳毒性を軽減するために、ホスホマイシン⁷⁾、セファランチン⁸⁾、ヘパリン⁹⁾、poly-L-aspartic acid¹⁰⁾をはじめとして、様々な薬剤、方法が試みられてきたが、いずれも満足なものとは言い難いのが現状である。今回、著者は、グルタチオンの生体内、特に内耳、腎での解毒作用に注目し^{11)~13)}、この薬剤によるアミノ配糖体系薬剤の耳毒性軽減の可能性を検討したので報告する。

研究方法

実験には体重350~500g プライエル反射正常の成熟、有色モルモット20匹を使用した。動物は投与方法により4群に分類した。Ⅰ群(5匹)は硫酸アミカシン(AMK)200 mg/kgを1日1回筋注、Ⅱ群(5匹)はグルタチオン200 mg/bodyを1日1回筋注、Ⅲ群(5匹)はAMK

200 mg を 1 日 1 回筋注に加えて、グルタチオン 200 mg/body を AMK 投与30分前に計28日間筋注した。Ⅳ群(5匹)はコントロールとして生理食塩水を同様に筋注した。最終投与後24時間にて、これらの動物をネブタール深麻酔下に、左心室より2.5%グルタルアルデヒド(0.1 M リン酸緩衝, pH 7.4)にて灌流固定後、側頭骨を摘出、中耳骨胞解放後、同液にて内耳灌流を行った。試料は、さらに24時間同液にて浸漬固定を行った後に、コルチ器を取りだし2%タンニン酸、2%オスミウム酸にて導電染色後、エタノール系列にて脱水、酢酸イソアミルにて置換後、臨界点乾燥(CO₂)を行い、白金スパッターコーティングを行い、走査電顕用試料とした。尚、観察にはHitachi S800 形走査電子顕微鏡を使用した。

蝸牛コルチ器有毛細胞の障害程度は、Johansson ら¹⁴⁾の分類を参考に Grade 1~3 に分類した。すなわち、Grade 1 は有毛細胞聴毛の10~50%の変性脱落をみたもの、Grade 2 は有毛細胞聴毛の50~100%の変性、脱落で一部正常な聴毛の残存しているもの、Grade 3 は有毛細胞聴毛の完全脱落を示したものとした(図1)。正円窓から1~18 mm の部位でのコルチ器を、各々1 mm ずつ

の部位に分け、蝸牛全回転を観察の後、各部位での内有毛細胞(約120個)、外有毛細胞(約450個)の障害程度を、内有毛細胞、外有毛細胞第1列、第2列、第3列に分け、先の分類に従い検索し、その割合を統計処理した³⁾。

結 果

4 群の有毛細胞聴毛障害を、先の Grade に従い詳細に観察し障害の程度を比較した。コントロール群ならびにグルタチオン単独投与群においては組織学的に正常で内外有毛細胞の障害は特に認められなかった(図2)。しかしながら AMK 単独投与群および AMK+ グルタチオン投与群においては僅かの有毛細胞聴毛の脱落からコルチ器すべての破壊といったような様々な程度の障害を認めた。

AMK 単独投与群では内外有毛細胞聴毛の脱落、変性といった高度の障害が認められ、軽度障害も含めると外有毛細胞では $36.2 \pm 29.1\%$ 、内有毛細胞では $2.7 \pm 4.6\%$ の障害を呈した。さらに AMK 投与群における外有毛細胞の障害の程度は下方回転により強く、上方回転に向

図1 蝸牛コルチ器有毛細胞の走査電子顕微鏡像
Grade 1, 2, 3 を示す。

図2 コントロール群の蝸牛コルチ器有毛細胞の走査電子顕微鏡像
内外有毛細胞の障害は認められない。

かうにつれて弱くなる傾向が認められた。また、その障害の程度は第1列に強く($46.6 \pm 31.5\%$), 2列($34.2 \pm 31.3\%$), 3列($27.9 \pm 25.4\%$)の順に軽度になっていた。しかし、内有毛細胞における障害は外有毛細胞に比較して非常に軽度でコントロール群との比較でも大きな差は認められなかった(図3~5)。

AMK+ グルタチオン投与群では、AMK 単独投与群に比較して内外有毛細胞、特に外有毛細胞の障害は軽度で、その障害の割合は外有毛細胞で $10.6 \pm 3.6\%$ 、内有毛細胞で $2.9 \pm 3.6\%$ といずれも基底回転でわずかに認められるのみであった。特に、Grade 3の高度障害を示した細胞の割合はAMK 単独投与群では外有毛細胞の $27.0 \pm 25.5\%$ であったのに対して、AMK+ グルタチオン投与群では $1.78 \pm 1.15\%$ と明らかに減少していた。さらにGrade 1+2の軽度障害を示した細胞の割合はAMK 単独投与群では外有毛細胞の $9.32 \pm 4.21\%$ に比較してAMK+ グルタチオン投与群では $5.88 \pm 3.30\%$ と相対的に軽度の障害が多く認められた。障害様式に関してはAMK 単独投与と異なり、障害の程度が全般的に

図3 AMK 単独投与群の走査電子顕微鏡像(正円窓より7 mmの部分)
外有毛細胞において聴毛の完全脱落を示した細胞(Grade 3)が著明に認められる(▼)。

図4 AMK 単独投与群の走査電子顕微鏡像(正円窓より17 mmの部分)
上方回転においてもGrade 3(▼), Grade 2(↓)などの強い障害を認める。障害の程度は外有毛細胞1列が最も強く2列3列の順に軽くなっている。

軽いためか、基底回転で障害の程度が強かったものの、各列間の比較ではその障害率は外有毛細胞第1列で $6.8 \pm 5.0\%$ 、第2列で $5.9 \pm 2.5\%$ 、第3列で $10.3 \pm 5.7\%$ と明らかな差は認められなかった(図6~8)。

以上の内外有毛細胞障害の程度を統計処理(Student's T-test)し、検定を行った。AMK+ グルタチオン投与群では、AMK 単独投与群に比較して外有毛細胞において有意に($p < 0.05$)障害の程度が軽減していた(図9)。内訳をみるとAMK+ グルタチオン投与群では、AMK 単独投与群に比較して有意に($p < 0.05$)Grade 3の高度障害を示した細胞の割合が減少していたがGrade 1+2の軽度障害を示した細胞の割合には有意差は認められなかった(図10)。

考 察

今日、多くの抗生物質が開発される中、アミノ配糖体系薬剤は、その広い抗菌スペクトル、特にグラム陰性桿菌に対する抗菌力により、重症感染症や耐性菌感染症

図5 AMK 単独投与群における蝸牛コルチ器有毛細胞の障害程度のグラフ

(縦軸は障害の割合(%), 横軸は正円窓(R.W.)からの距離を示す)

OHC; 外有毛細胞(数字は列), IHC; 内有毛細胞

に対して, 一般臨床上使用する機会の多い抗生剤である。しかし, その副作用として, 腎毒性および耳毒性を有していることにより臨床使用上, 使用範囲が限定されているのが実状である。そこで, これらの副作用の少ないアミノ配糖体系薬剤の開発が進められ, ネチルマイシンやイセパミシンといった腎毒性, 耳毒性の少ない薬剤が開発されてきたが, まったく腎毒性, 耳毒性を持たないアミノ配糖体系薬剤は開発されていない。そのため, これらの副作用を軽減させる方法の検討も極めて重要であり, これまでにも, アミノ配糖体系薬剤の投与量, 投与経路, 投与方法の検討がなされてきた。その結果, 最近では, アミノ配糖体系薬剤の投与方法において, 1日総投与量が同じ場合は, 1日1回投与のほうが1日2回, 3回の

図6 AMK+グルタチオン投与群の走査電子顕微鏡像(正円窓より4 mmの部分)

外有毛細胞に軽度の聴毛の障害 Grade 1, 2 (▼) を認める。

図7 AMK+グルタチオン投与群の走査電子顕微鏡像(正円窓より10 mmの部分)

上方回転では有毛細胞の障害はほとんど認められない。

図8 AMK+グルタチオン投与群における蝸牛コルチ器有毛細胞の障害程度のグラフ

図9 AMK単独投与群とAMK+グルタチオン投与群における内外有毛細胞障害(Grade 1+2+3)の割合
縦軸; 平均+標準偏差(%), (A); AMK単独投与群, (T); AMK+グルタチオン投与群, OHC; 外有毛細胞, IHC; 内有毛細胞

図10 AMK単独投与群とAMK+グルタチオン投与群における外有毛細胞障害のGrade別の割合
縦軸; 平均+標準偏差(%), (A); AMK単独投与群, (T); AMK+グルタチオン投与群

分割投与に比べて、有意に耳毒性の発現が軽減することが明らかとなっている^{3)~6)}。さらに、あるいはホスホマイシン⁷⁾、セファランチン⁸⁾、ヘパリン⁹⁾などの種々の薬剤による腎臓毒性、耳毒性の軽減についての試みがなされてきたが、薬剤による耳毒性の予防といった試みは成果を上げていない。具体的には、近年、ホスホマイシンによりラットにおいて腎、内耳毒性の軽減効果が認められたとの報告がなされ、耳毒性軽減への期待が高まっていたが、家兎においてはホスホマイシンによる耳毒性の軽減作用が認められず⁷⁾、セファランチンでは、耳毒性の軽減効果がアミノ配糖体系薬剤の投与量が少ない場合には認められない⁸⁾など効果にばらつきがあり、ヘパリンでは、カナマイシンに対しては耳毒性軽減作用を有するけれども、ゲンタシンでは耳毒性軽減効果が認められない⁹⁾など、現在のところ、臨床的に耳毒性の予防に使用できるかどうかは不明である。そこで、これらの薬剤による耳毒性軽減効果の機序について考察してみると、セファランチン、ホスホマイシンの作用の一部は膜の安定化⁷⁾⁸⁾、ヘパリンではカナマイシンとヘパリンの結合⁹⁾、またホスホマイシンでは、アミノ配糖体系薬剤の腎への蓄積抑制作用が主な作用と考えられており、いずれも直接的な耳毒性の障害予防とはなっていない。これらのことから考えると、アミノ配糖体系薬剤の耳毒性の発現機序に対して、それを直接的に阻害する方法の検討がなされるべきであると考えられる。

アミノ配糖体系薬剤による耳毒性の発現機序については、従来より様々な検討がなされている¹⁵⁾¹⁶⁾。現在、ア

ミノ配糖体系薬剤による耳毒性の発現機序には2つのことが考えられている。第1のものは、アミノ配糖体系薬剤そのものが、細胞外あるいは細胞内の一定の部位に直接作用することにより生じる、急性で可逆性の障害である¹⁷⁾。臨床の場合、アミノ配糖体系薬剤投与後、一過性の耳鳴やめまいなどを訴えることが時にあるが、このような急性の内耳障害はこの機構によるものと考えられる。この障害は、具体的にはアミノ配糖体系薬剤による外有毛細胞をはじめとする内耳感覚細胞細胞膜の、カルシウムイオンの置換と電位依存性カルシウムチャンネルの阻害により生じるものとされている¹⁸⁾。この機序は、ウシガエル球形囊の感覚細胞で認められたストレプトマイシンによる興奮伝達チャンネルの阻害と同様のものであり、*in vivo*での実験で可逆性であることが明らかになっている¹⁹⁾。この作用に関連するアミノ配糖体系薬剤のレセプターとしては、細胞膜の細胞質側で phosphatidylinositol-1,4-bisphosphate が関与していることが報告されており¹⁷⁾²⁰⁾、先に述べたセファランチンあるいはホスホマイシンなどの薬剤の作用の一部はこの機構を阻害することにより、耳毒性の軽減を計っているものと考えられる。

しかし、この理論のみでアミノ配糖体系薬剤の耳毒性のすべてを説明することはできない。例えば、動物実験あるいは実際の臨床例において、薬剤の投与終了後もかなりの長期間にわたって内耳障害が進行して行く、いわゆる delayed ototoxicity が認められること²¹⁾、あるいは、*in vivo*の実験で内耳、腎を障害するアミノ配糖体系薬剤が *in vitro* で単離蝸牛外有毛細胞や腎細胞を非可逆性に障害しないことが示されており^{22)~24)}、その理由は不明であった。そこで、第2の障害機序が提唱されることとなる。従来、アミノ配糖体系薬剤はその大部分が、体内よりそのままの形で回収されることから生体内で大きな代謝を受けないとされてきた²⁵⁾。しかしながら、近年、放射性トレーサーを使用した研究により生体内に投与したアミノ配糖体系薬剤が、体内で代謝され代謝産物が生成されることが明らかとなってきた²⁶⁾。加えて、アミノ配糖体系薬剤の一種であるゲンタマイシンの投与により、肝細胞細胞質より約 500 Da の分子量をもつ耳障害性の代謝産物が得られること、この代謝産物の主な作用は、病的な興奮伝達チャンネルの解放による K^+ イオンの細胞内への流入であることなどが解明された。これらにより、アミノ配糖体系薬剤が耳毒性を発現する機序として、アミノ配糖体系薬剤が生体内で代謝され、その代謝産物

の作用により耳毒性を起こすという第2の説が提唱されるようになった。さらに、ゲンタマイシン以外のアミノ配糖体系薬剤であるトブラマイシンやカナマイシンも同様の代謝産物を生成することより、この機構はアミノ配糖体系薬剤に共通したものであるという認識がなされるようになってきた¹⁵⁾²⁷⁾。

ここで、アミノ配糖体系薬剤の代謝経路について考えてみると、いまだ完全には明らかになっていないものの、これまでの古典的な解析の方法では、耳毒性を引き起こす代謝産物が検出できなかったことから考えると、生体内での代謝産物の濃度はその耳毒性の強さにもかかわらず比較的低いことが推測される。一般に、薬剤の代謝の主なもの、肝臓でなされるが、他の組織も関与していることが知られている²⁸⁾。実際、内耳へのアミノ配糖体系薬剤の直接投与²⁹⁾や、内耳の細胞を組織培養しその中にアミノ配糖体系薬剤を投与することでも耳毒性が生じること³⁰⁾より、内耳でもアミノ配糖体系薬剤の代謝が行われていると考えられ、内耳、腎でもアミノ配糖体系薬剤の毒性代謝産物は生成されるものと推察される¹⁵⁾。

つぎに、アミノ配糖体系薬剤が特異的に内耳、腎を障害することに関して考えてみると、解毒作用の面で臓器間に受傷性の差が存在することが原因と考えられる。例えば、肝臓は、グルクロン酸抱合、SH 化合物との結合による薬剤の解毒を行う主要な臓器であり³¹⁾、アミノ配糖体系薬剤によって障害を受けない臓器である。これは、肝臓では生成されたアミノ配糖体系薬剤の毒性代謝産物はその大部分が解毒され、一定のレベル以下に留まっているためと考えられる。一方、腎、内耳においては、この解毒作用が肝臓に比較して弱く、その結果代謝産物の濃度が一定のレベルを超えた場合には、毒性を発現すると思われる。

アミノ配糖体系薬剤の解毒作用に、主要な役割をはたしている物質の1つにグルタチオンがあげられている¹²⁾。グルタチオンは、細胞内に比較的多量に含有されている低分子量のトリペプチドで、蛋白、DNA 合成、細胞内輸送、細胞内還元、細胞保護といった重要な働きに、直接的あるいは間接的に関与していることが知られている³²⁾。なかでも、細胞保護作用は活性酸素化合物を生成する組織において、特に重要とされている。内耳、特に蝸牛は好気性酸化が盛んであり、過酸化水素、あるいはフリーラジカルの様な細胞障害性に働く多くの活性酸素化合物を生成する³³⁾。通常、生体内において、例えば

血管条の中間細胞では、カタラーゼを含むペルオキシゾームが存在し、好気性代謝により生成される過酸化水素を失活させている³⁴⁾ように、蝸牛中に存在するグルタチオンを中心とする酵素が活性酸素化合物の解毒を行い、蝸牛を保護していると考えられる。しかしながら、何らかの原因で、この解毒作用が障害された場合、内耳障害が発現すると考えられる。Hoffman ら¹²⁾は、細胞内のグルタチオンを減少させた場合、アミノ配糖体系薬剤の耳毒性が増強されることを明らかにし、グルタチオンが蝸牛内での細胞保護に働いている可能性があることを報告し、実験的にも、ラジカル捕獲剤がカナマイシンの耳毒性を軽減することより³⁵⁾、耳毒性に関するグルタチオンの関与は明らかなものとなってきている。実際、耳毒性薬剤のいくつかは、グルタチオンを枯渇させたりあるいはグルタチオン経路の酵素を失活させると考えられており、このグルタチオンの減少は、耳毒性薬剤あるいはその代謝産物、とくにフリーラジカルによる蝸牛の受傷性を増すとされている。

以上の結果をもとにした今回の研究により、アミカシンによる蝸牛有毛細胞の障害は、グルタチオンにより有意に軽減されることが明らかとなった。グルタチオンの耳毒性に対する影響について、Garetz ら¹³⁾は、*in vivo*で、単離外有毛細胞のゲンタマイシンの障害性がグルタチオンの存在下に有意に抑制されること、*in vitro*で、ゲンタマイシンの聴力低下がグルタチオンにより軽減することを報告しているが、今回の結果により、組織学的にもグルタチオンはアミノ配糖体系薬剤の耳毒性を有意に軽減することが証明された。さらに今回、グルタチオンは有毛細胞聴毛の完全脱落 (Grade 3) といった有毛細胞の高度な障害を特に軽減させることが明らかとなった。Grade 1 あるいは Grade 2 といった有毛細胞聴毛の部分的障害はアミカシンの膜に対する直接的な作用によっても生じることが知られている¹⁵⁾が、Grade 3 のような聴毛のすべて、あるいは細胞体も含めた高度障害には前述したようにアミカシンの毒性代謝産物による作用が大きく関与していると思われる。それゆえ、今回の実験結果はグルタチオンによりアミカシンの代謝産物による障害が軽減されたことを示しているものと考えられる。すなわち、アミノ配糖体系薬剤による永続的な耳毒性はアミノ配糖体系薬剤の耳毒性代謝産物により生じ、グルタチオンが、そのような永続的な内耳障害を予防する可能性を表しているものと考えられる。以上のことか

ら、グルタチオンは、臨床的にもアミノ配糖体系薬剤の耳毒性の予防という目的に大きく役立つ可能性があるものと考えられた。

結 語

アミノ配糖体系薬剤の1種であるアミカシンによる蝸牛コルチ器有毛細胞の障害は、グルタチオンにより有意に軽減されることが明らかとなった。その機序は、グルタチオンによるアミカシン代謝産物の解毒作用によるものと考えられた。このことにより臨床的にアミノ配糖体系薬剤の永続的な耳毒性が、グルタチオンにより軽減される可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました恩師、原田康夫広島大学長に深甚なる謝意を表します。また、本研究に際し、絶えず御指導と御助言を戴きました夜陣紘治広島大学医学部耳鼻咽喉科学教授に深く感謝致します。さらに、多くのご助言をいただいた鈴木 衛助教授、平川勝洋講師をはじめとする広島大学医学部耳鼻咽喉科学教室員と、工田昌矢広島総合病院耳鼻咽喉科主任部長に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) Wersäl J : Structural damage to the organ of Corti and the vestibular epithelia caused by aminoglycoside antibiotics in the guinea pig. Aminoglycoside Ototoxicity (ed by Lerner SA, et al). pp 197~214, Little, Brown and Company, Boston, 1981.
- 2) Wersäl J : Recent otological evaluation of aminoglycoside antibiotics. J Antimicrob Chemother Suppl 13 : 31~36, 1984.
- 3) 西田 功 : 硫酸イセパマイシンの耳毒性について. 耳鼻臨床 83 : 629~638, 1990.
- 4) Bamonte F, Barbara M, Dianisotti S, et al : Effect of dosing schedule on aminoglycoside ototoxicity in guinea pigs. J Drug Dev 1 : 97~108, 1988.
- 5) Shankar A and Sharma SD : Gentamicin as once-daily dose therapy in recurrent urinary tract infections in children. Curr Ther Res 41 : 599~603, 1987.
- 6) Cohen B, Saginur R, Clecner B, et al : Double-blind comparative trial of once-vs twice-daily netilmicin therapy in severe acute urinary tract infections. Curr Ther Res 38 : 880~884, 1985.
- 7) 大槻好正, 大谷 巖, 相川 通, 他 : アミノ配糖体抗生剤による聴器障害に対する Fosfomycin の軽減作用とその機序に関する研究. 日耳鼻 86 : 1488~1496, 1983.
- 8) 秋定 健, 折田洋造 : カナマイシン聴器毒性に対するセフ

- ァランチンの効果. *Ear Res Jpn* **19** : 250~252, 1988.
- 9) 斎藤武久, 斎藤 等, 真鍋恭弘, 他 : ヘパリンの特殊経路投与によるアミノ配糖体抗生剤耳毒性軽減に関する実験的研究. *Ear Res Jpn* **19** : 253~255, 1988.
 - 10) Hulka GF, Prazma J, Brownlee RE, et al : Use of poly-L-aspartic acid to inhibit aminoglycoside cochlear ototoxicity. *Am J Otol* **14** : 352~356, 1993.
 - 11) Zenner HP, Keiner S and Zimmermann U : Specific glutathione-SH inhibition of toxic effects of metabolized gentamicin on isolated guinea pig hair cells. *Eur Arch Otorhinolaryngol* **251** : 84~90, 1994.
 - 12) Hoffman DW, Whitworth CA, Jones-King KL, et al : Potentiation of ototoxicity by glutathione depletion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **97** : 36~41, 1988.
 - 13) Garetz SL, Rhee DJ and Schacht L : Attenuation of gentamicin ototoxicity by glutathione. 29th Inner Ear Biology Workshop. Abstract. pp 74, 1992.
 - 14) Johansson B, Fredelius L, Perols O, et al : Compound action potential threshold shift and cochlear damage in guinea pigs after pure tone acoustic trauma. *Hearing Loss and Dizziness* (ed by Nomura Y). pp 139~149, Igaku-Shoin, Tokyo · New York, 1985.
 - 15) Crann SH, Huang MY, McLaren JD, et al : Formation of a toxic metabolite from gentamicin by a hepatic cytosolic fraction. *Biochem Pharmacol* **43** : 1835~1839, 1992.
 - 16) Huang MY and Schacht J : Formation of a cytotoxic metabolite from gentamicin by liver. *Biochem Pharmacol* **40** : 11~14, 1990.
 - 17) Schacht J : Molecular mechanisms of drug-induced hearing loss. *Hear Res* **22** : 297~304, 1986.
 - 18) Duron D, Zajic G, Aran JM, et al : Aminoglycoside antibiotics impair calcium-entry but not viability and motility of cochlear outer hair cells. *J Neurosci Res* **24** : 338~346, 1989.
 - 19) Kroese A, Das A, Hudspeth A : Blockage of the transduction channels of hair cells in the bullfrog sacculus by aminoglycoside antibiotics. *Hear Res* **37** : 203~217, 1989.
 - 20) Schacht J : Isolation of an aminoglycoside receptor from guinea pig inner ear tissue and kidney. *Arch Otorhinolaryngol* **224** : 129~134, 1979.
 - 21) 世良公志 : ゲンタマイシンの前庭器・神経節に及ぼす影響. *耳鼻臨床* **82** : 1293~1306, 1989.
 - 22) Hawkins JE : Drug ototoxicity. *Handbook of Sensory Physiology* (ed by Keidel WD and Neff WD). pp 707~748, Springer, New York, 1976.
 - 23) Whelton A : Treatment of gram-negative infection in patients with renal impairment; new alternatives to aminoglycosides. *J Clin Pharmacol* **28** : 866~878, 1988.
 - 24) Hori R, Yamamoto K, Saito H, et al : Effect of aminoglycoside antibiotics on cellular functions of kidney epithelial cell line (LLC-PK1); a model system for aminoglycoside nephrotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* **230** : 742~748, 1984.
 - 25) Sande MA and Mandell GL : Antimicrobial agents. *The Aminoglycosides, The Pharmacological Basis of Therapeutics* (ed by Goodman AG, et al). pp 1150~1169, Macmillan, New York, 1985.
 - 26) Wilson TW, Mahon WA, Inaba T, et al : Elimination of tritiated gentamicin in normal human subjects and in patients with severely impaired renal function. *Clin Pharmacol Ther* **14** : 815~822, 1973.
 - 27) Huang MY and Schacht J : Non-microsomal metabolites of aminoglycosides are cytotoxic to cochlear outer hair cells. *Otolaryngol Head Neck Surg* **105** : 191, 1991.
 - 28) Ziegler DM : Flavin-containing monooxygenases; catalytic mechanism and substrate specificities. *Drug Metab Rev* **19** : 1~32, 1988.
 - 29) Takada A and Schacht J : Calcium antagonism and reversibility of gentamicin-induced loss of cochlear microphonics in the guinea pig. *Hear Res* **8** : 179~186, 1982.
 - 30) Anniko M, Takada A and Schacht J : Comparative ototoxicities of gentamicin and netilmicin in three model systems. *Am J Otolaryngol* **3** : 422~433, 1982.
 - 31) Nelson SD and Gordon WP : Mammalian drug metabolism. *J Nat Prod* **46** : 71~78, 1983.
 - 32) Meister A and Anderson ME : Glutathione. *Ann Rev Biochem* **52** : 711~760, 1983.
 - 33) Pierson MG and Gray BH : Superoxide dismutase activity in the cochlea. *Hear Res* **6** : 141~151, 1982.
 - 34) Spector GJ and Carr C : The ultrastructural cytochemistry of peroxisomes in the guinea pig cochlea; a metabolic hypothesis for the stria vascularis. *Laryngoscope* **89** : 1~38, 1979.
 - 35) Pierson M and Molleau A : Prophylaxis of kanamycin-induced ototoxicity by a radioprotectant. *Hear Res* **4** : 79~87, 1981.

(原稿受付: 平成 7 年 1 月 30 日
 原稿採扱: 平成 7 年 2 月 23 日 急載
 別刷請求先: 西田 功
 〒738 廿日市市地御前1-3-3
 JA 広島厚生連広島総合病院耳鼻咽喉科)