

腎毒性を指標にした Cefamandole の家兎における毒性試験

——単回および7日間連続投与試験とその回復性試験——

原 田 喜 男・岡 本 孝 夫・豊 島 久 美 子

塩野義製薬株式会社研究所

Cefamandole sodium (CMD) の静脈内投与による腎毒性を、家兎を用いた単回、7日間連続投与試験およびその回復性試験によって、他の Cephalosporin 系抗生物質投与により惹起された障害と比較検討した。その結果、単回および7日間投与試験ともに、薬剤による腎への直接障害を示す指標の変動、すなわち機能的に BUN や Creatinine の上昇、形態的に皮質近位尿管上皮細胞の変性、壊死、剝離および石灰沈着、遠位尿管腔拡張とその管腔内に硝子様円柱の存在等の所見が、CMD や Cefazolin sodium (CEZ) 投与群に認められたが、CMD による変化の程度は、CEZ のそれに比して軽度であった。それに対し Cephalothin sodium (CET) 投与群では、腎障害を認めなかった。また7日間投与試験では、CMD 投与群にみられた腎障害は、3週間の休薬によってほぼ完全な回復あるいは回復傾向を示した。一方、CEZ 投与群では休薬期間中にも下痢が頻発し、かつ休薬による回復性は、CMD 投与群のそれに比して劣った。7日間投与試験における途中死亡例は、休薬期間中に、CMD 400 mg/kg/day 群の雌・雄各1例、CEZ 400 mg/kg/day 群の雄2例と雌1例にみられたが、死因は、おそらく尿毒症または出血性浮腫性腸炎と思われる。CEZ 投与群では、組織学的に肝障害を認めたが、機能的には S-GPT が著明に減少した。

以上、今回の試験により薬剤間の腎毒性を比較すると、CEZ>CMD>CET、肝障害を比較すると、CEZ>CMD=CET となった。

Cefamandole sodium (以下 CMD と略す) は、アメリカ Eli Lilly 社にて開発された半合成 Cephalosporin 系の抗生物質であり、*in vitro* の抗菌スペクトラムによれば、緑膿菌を除くグラム陰性菌およびグラム陽性菌に有効で、特に Cephalothin sodium (以下 CET と略す) や Cefazolin sodium (以下 CEZ と略す) がほとんど無効の indole 陽性 *Proteus* 菌、*Enterobacter* 群に抗菌力を示すと言われている¹⁾。一方、*in vivo* の抗菌作用においても、CEZ と活性パターンはかなり類似しているが、*Proteus* の一部と *Enterobacter* 群および *H. influenzae* 感染症に対して、CMD は CEZ に比して明らかに勝る治療効果を示すと報告されている²⁾。

一般に Cephalosporin 系薬剤は、顕著な主作用に比して副作用は軽度であるとされているが、その中では腎障害が他の副作用に比べ注目されている。従って、腎障害を指標にした毒性面での検討は、Cephalosporin 系を含めた抗生物質を開発していく上において、非常に重要な課題となる。

ところで、抗生物質の腎毒性を検出するに当たって、ATKINSON³⁾ は Cephalosporin 系抗生物質 Cephaloridine (以下 CER と略す) の腎毒性比較試験の中で、使用動物として家兎が犬やラットに比して最も感受性の高い動物種であると報告している。そこで、今回我々は、動物実験レベルで障害部位を正確に、できれば短期の試験によって、より人に近い結果として捉えるためには、毒性の発現しやすい動物種の選択が必要であると考え、家兎を用いて CMD の腎障害を他の Cephalosporin 系薬剤、CET あるいは CEZ による障害と比較したので報告

する。

材 料 と 方 法

1. 使用動物および飼育条件

山県実験動物から体重 2~3 kg の雌・雄両性白色家兎 (conventional) 84 羽を購入し、2週間の飼育環境への馴化期間の後に実験を開始した。各動物は室温 22±1℃、湿度 50±5%、人工照明時間 12 hr/day の動物室に、個別ケージに収容し、1羽当たり 200 g/day の固型飼料 CR-1 (日本クレア) と水道水を自由に与えた。

2. 使用薬剤および投与方法

薬剤は、投与直前に注射用生理食塩水 (菱山製薬) にて 20% の濃度に溶解し、KN 式自動注入装置 (夏目製 KN-202型) を用いて、耳静脈より 167 mg/min. の速度で投与した。

使用した Cephalosporin 系抗生物質は、Cefamandole sodium (Lot No. S-68254) と、対照薬として Cephalothin sodium (Lot No. 7 HL 91 B) および Cefazolin sodium (Lot No. OBT 33) である。

3. 実験群

1) 単回投与試験

CMD は 500 と 2,000 mg/kg、CET は 2,000 mg/kg、CEZ は 500 と 2,000 mg/kg の各薬剤投与群、対

照群として注射用生理的食塩水投与の全 6 群、雌・雄各 3 羽計 36 羽を用いて、それぞれ 1 回静脈内投与し、その後 3 日間観察した。投与量の設定は、Eli Lilly 社で実施された家兎における腎毒性比較実験の用量⁴⁾と LD₅₀ 値⁴⁾を参考にした。この投与量は、最高臨床一日用量を 120 mg/kg^{5,6)}としても、500 mg/kg が 4 倍強、2,000 mg/kg が 17 倍弱に相当する。

2) 7 日間連続投与および回復性試験

実験は 6 群に分け、雌・雄各 4 羽計 48 羽を用い、薬剤投与群には CMD および CEZ 200 と 400 mg/kg/day, CET 400 mg/kg/day, 対照群には注射用生理的食塩水を、それぞれ 1 日 1 回 7 日間連続静脈内投与した。各群ともに雌・雄各半数の 2 羽を投与終了後屠殺解剖し、残りの雌・雄各 2 羽は 3 週間の休薬期間において回復性を検討した。400 mg/kg/day は、臨床一日用量を平均 80 mg/kg とすればその 5 倍量に相当し、かつ前述の単回投与試験の結果からも、ごく軽度の腎障害が、500 mg/kg の用量で発現していることから、7 日間連続投与による腎毒性発現の確実中毒量と考えられた。したがって、本実験の投与量は、以上の理由により、高用量には 400 mg/kg/day を、低用量にはその 1/2 量の 200 mg/kg/day を設定した。

4. 観察項目

実験期間中、各例について以下の諸検査を実施した。

1) 一般症状

行動の観察、体重と摂餌量の測定等は毎日行ない、途中死亡例については発見後速やかに剖検した。

2) 血液検査

薬剤投与 1 週間前、単回投与試験では投薬終了後 48 時間目、7 日間連続投与試験では最終投薬後 24 時間および休薬 3 週間目に耳静脈から採血して検査を行なった。

i) 一般血液検査

血色素量 (シアン・メトヘモグロビン法)、ヘマトクリット値 (毛細管遠心分離法)、赤血球数および白血球数 (トーア・マイクロセルカウンター)、血小板 (REES-ECKER 直接視算法)、白血球分画 (GIEMSA 染色)、網状赤血球数 (SCHILLING 複染色法) ならびに血漿プロトロンビン時間 (Hyland 社製 Clotex 使用, QUICK 一段法) について各々測定した。血小板および血漿プロトロンビン時間の測定には、抗凝固剤にクエン酸ナトリウム (3.13%) を、その他の検査項目にはヘパリン・ナトリウム (清水製薬) を用いた。

ii) 血液生化学検査

Alkaline phosphatase, Urea-N, Creatinine, S-GOT, Total-bilirubin (以上 Technicon 社製, Autoanalyzer

I および II 型使用), Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻ (以上 Toshiba-Beckman 社製, atomic absorption 装置 NF-IB 型使用), および S-GPT (REITMAN-FRANKEL 法) についてそれぞれ測定した。

3) 尿検査

導尿カテーテル (Sherwood 社製 Disposable Rob-Nel catheter) を用いて、薬剤投与 1 週間前、単回投与試験では投薬終了後経口的に、7 日間連続投与試験では、投薬期間の中間値と最終投薬後 24 時間目および休薬 2・3 週間目に、新鮮尿を採集した。一般検査として、pH, 蛋白, 糖, 潜血, ケトン体 (以上 Ames 社製, Labstix 使用), ビリルビン (同, Ictostix 使用) およびウロビリノーゲン (同, Urobilistix 使用) を定性的に、比重は屈折計 (アタゴ社製) を用いて各々測定した。なお、尿蛋白については、試験紙法は現在広く用いられている極めて簡易な方法であるが、強アルカリ尿の場合、擬陽性反応が生じる欠点があるので、スルホサリチル酸法や試験紙法に比して感度は鈍いが、煮沸法も併用した。

4) 病理学的検査

単回投与試験では投薬終了後 72 時間目、7 日間連続投与試験では最終投薬後 48 時間目および休薬 3 週間目に、Sodium pentobarbital 麻酔下にて、頸動脈より放血屠殺後ただちに剖検を行なった。

i) 肉眼所見および臓器重量測定

解剖時、諸臓器を肉眼的に観察し、単回投与試験では、腎、副腎、脾、肝、心、甲状腺および胸腺、7 日間連続投与試験では、これらの他に肺、生殖器の重量を測定し、臓器重量: 体重比を算出した。

ii) 組織学的検査

上記諸臓器の他、単回投与試験では盲腸および膀胱、7 日間連続投与試験ではさらに消化器、脾も含めて、10% 中性ホルマリン液に固定、パラフィン切片作製後、一般染色として H-E 染色、特殊染色として腎に PAS 染色、肝に Prussian blue 染色を施し、病理組織学的に検索した。なお、7 日間連続投与試験では、右大腿骨から骨髓を採取、塗抹標本を作製し、メタノール固定後 GIEMSA 染色を施し、骨髓細胞の百分率と、M/E ratio を算出した。

5. 機能検査

雄性動物の 7 日間連続投与試験では、腎機能を調べる目的で PSP 試験を行なった。測定は、0.6 mg/kg PSP 注射液 (第一製薬, 腎機能診断用) を静注後 15 min. 目に採血し、速やかに遠心分離 (3,000 r.p.m., 15 min.) によって血漿を分離し、比色計 (日立 624 型デジタル分光光度計) を用いて行なった。検査は、薬剤投与 1

Table 1 Summary of hematological findings before and after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg)	Control (Saline)			C M D				C E T				C E Z			
	--			2,000		500		2,000		2,000		500			
	before	after		before	after	before	after	before	after	before	after	before	after		
Body weight (kg)	2.71±0.37	2.64±0.10		3.19±0.12	3.21±0.13	2.50±0.17	2.52±0.17	2.95±0.11	3.04±0.12	3.24±0.13	3.29±0.10	2.53±0.16	2.45±0.14		
Blood Hb (g/100 ml)	9.29±0.55	10.69±0.39		12.17±0.62	12.59±0.08	11.09±0.52	11.79±0.53	11.74±0.40	11.67±0.38	10.71±0.68	11.4 ±0.26	11.24±0.56	11.71±0.36		
Hematocrit (%)	34.9±1.5	40.9±1.4		43.5±2.6	45.1±0.6	41.0±1.6	42.0±1.4	42.4±1.7	42.2±0.9	43.0±1.5	40.7±0.4	40.0±1.8	41.2±1.6		
RBC (millions)	4.41±0.37	5.28±0.14		5.85±0.26	6.26±0.28	5.74±0.05	6.12±0.33	5.94±0.27	5.89±0.25	5.28±0.25	5.87±0.21	5.41±0.24	5.67±0.13		
WBC (thousands)	19.20±5.15	14.13±0.43		12.10±0.50	12.03±1.31	14.03±4.39	10.93±2.31	12.60±1.62	13.40±1.80	11.40±0.46	13.70±1.25	12.17±2.05	12.60±3.26		
Platelets (thousands)	147.0±11.0	163.3±3.7		161.3±27.6	162.0±19.7	188.3±27.0	164.0±5.7	150.0±0	142.7±10.4	168.7±33.9	54.0±14.5	146.3 ±29.8	165.0±22.5		
Reticulocytes (%)	9.8±2.4	7.5±0.6		5.8±0.5	5.3±0.6	5.3±0.6	4.9±0.4	4.9±0.7	6.5±0.4	6.1±0.5	4.6±0.5	6.1±0.1	4.8±0.1		
Differential (%)	Lymphocytes			46.3±9.2	42.3±3.9	60.3±9.3	50.7±2.3	53.0±7.6	46.7±2.8	45.7±8.8	65.0±1.0	45.7±4.1	63.0±8.1	71.3±5.5	
	Neutrophils	NS		1.3±0.3	0.7±0.3	0.3±0.3	0.3±0.3	0	0.3±0.3	0.7±0.7	1.0±0.6	0.3±0.3	0.7±0.7	0.3±0.7	
		S		48.3±8.6	52.7±2.6	37.0±8.7	45.0±2.5	42.3±6.0	41.3±9.0	49.7±2.7	51.3±9.8	31.7±1.5	50.7±4.4	35.0±7.6	25.0±5.1
	Eosinophils			0.7±0.3	0.3±0.3	0	1.0±0.6	1.0±0.6	0.7±0.7	1.0±0	0.3±0.3	0.7±0.3	0.3±0.3	0	
	Basophils			0.7±0.3	1.3±0.3	1.3±0.3	1.7±0.3	1.0±0.6	1.3±0.9	1.3±0.7	1.0±0	1.0±0.6	0.7±0.3	2.0±0.6	
Myelocytes	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Blast forms	0.3±0.3	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Monocytes	2.3±0.9	2.7±1.2		1.0±0	1.3±0.7	2.7±1.7	0.7±0.3	0.7±0.3	0.3±0.3	1.3±0.3	1.7±0.3	0.7±0.3	1.0±0		
Normal	1	2		3	3	3	2	3	2	3	3	3	3		
Hypochromia	2	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Hyperchromia	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Anisocytosis	2	1		0	0	0	1	0	1	0	0	0	0		
Poikilocytosis	1	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Nucleated/100 WBC	1	0		2	1	2	1	1	0	0	1	0	0		
Prothrombin time (sec.)	6.6±0.2	6.4±0.1		6.6±0.1	7.0±0.3	7.0±0.1	7.0±0.2	7.2±0.3	6.7±0.0	6.5±0.3	7.2±0.2	7.3±0.3	7.2±0.3		

Value of mean ± s.e.
Each group consisted of 3 rabbits.

Table 2 Summary of hematological findings before and after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg)	Control (Saline)		CMD				CET				CEZ			
	-		2,000		500		2,000		500		2,000		500	
	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
Body weight (kg)	3.39±0.04	3.61±0.01	2.61±0.07	2.77±0.07	2.40±0.02	2.41±0.13	3.17±0.02	3.33±0.12	2.93±0.18	2.99±0.07	2.44±0.11	2.62±0.04	2.44±0.11	2.62±0.04
Blood Hb (g/100 ml)	11.43±0.52	11.05±0.31	9.52±0.65	11.48±0.52	9.98±0.42	11.52±0.99	11.43±0.21	11.14±0.27	10.57±0.33	11.21±0.68	10.74±0.03	10.64±0.72	10.74±0.03	10.64±0.72
Hematocrit (%)	40.5±1.8	40.4±0.8	35.1±2.1	43.1±2.3	36.5±1.5	42.7±3.7	41.0±0.1	41.3±1.8	37.6±0.9	42.2±2.2	35.3±1.9	38.6±2.5	35.3±1.9	38.6±2.5
RBC (millions)	5.24±0.24	5.01±0.28	4.76±0.16	5.31±0.17	4.76±0.34	5.39±0.54	5.92±0.29	5.14±0.17	5.56±0.39	5.33±0.39	5.50±0.38	4.68±0.32	5.50±0.38	4.68±0.32
WBC (thousands)	7.43±0.60	11.83±0.47	10.67±0.43	9.73±0.84	9.00±0.95	9.90±0.95	7.57±1.59	9.03±1.84	10.60±2.12	11.93±2.99	10.20±0.80	9.80±0.85	10.20±0.80	9.80±0.85
Platelets (thousands)	158.3±16.8	154.7±7.8	158.3±2.7	186.3±10.2	155.7±2.7	174.0±5.5	152.7±4.3	175.3±4.3	171.0±7.2	193.3±5.2	170.3±5.8	163.7±9.9	170.3±5.8	163.7±9.9
Reticulocytes (%)	6.2±0.2	6.3±0.1	6.5±0.0	6.1±0.2	6.1±0.3	6.2±0.4	5.8±0.6	6.0±0.0	5.5±0.5	5.8±0.5	5.6±0.3	6.2±0.2	5.6±0.3	6.2±0.2
Differential (%)	Lymphocytes		63.3±5.7	46.0±7.2	57.3±5.3	57.3±6.7	65.7±8.3	49.0±7.2	67.7±10.4	59.7±3.8	62.0±13.1	51.3±9.8	60.7±9.0	52.7±4.8
	Neutrophils		0.7±0.7	1.0±0	1.7±0.3	0.7±0.3	1.7±0.7	0.3±0.3	0.7±0.3	1.0±0.6	1.3±0.7	0	0.7±0.3	0.3±0.3
	S		33.3±5.8	48.0±7.0	37.7±5.3	37.3±7.1	30.3±8.0	47.0±7.4	29.0±9.5	36.0±2.9	33.0±11.5	45.7±8.3	35.7±8.8	42.7±5.2
	Eosinophils		0.3±0.3	1.3±0.3	0.3±0.3	0.3±0.3	0.3±0.3	1.0±0.6	0.7±0.3	1.0±0.6	1.3±1.3	0	0.3±0.3	1.0±0
	Basophils		1.0±0	2.0±0.6	2.3±0.3	3.7±1.2	1.3±0.9	1.7±0.3	1.0±1.0	1.7±0.7	1.3±0.9	1.7±1.2	2.3±0.3	2.3±0.7
	Myelocytes		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Blast forms		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Monocytes		1.3±0.3	1.7±0.3	0.7±0.3	0.7±0.3	0.7±0.3	1.0±0	1.0±0.6	0.7±0.7	1.0±0	1.3±0.7	0.3±0.3	1.0±1.0
	Normal		2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Hypochromia		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Red cell morphology	Hyperchromia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Anisocytosis		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Poikilocytosis		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nucleated/100 WBC		2	1	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0
	Prothrombin time (sec.)		6.5±0.2	6.5±0.1	7.1±0.4	6.7±0.0	7.3±0.5	7.7±0.4	7.1±0.1	6.8±0.1	6.8±0.2	7.0±0.2	6.6±0.2	7.5±0.3

Value of mean ± s.e.

Each group consisted of 3 rabbits.

Table 3 Summary of biochemical analysis of plasma before and after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg)	Control (Saline)			C M D				C E T				C E Z			
	-			2,000		500		2,000		2,000		2,000		500	
	before	after		before	after	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
Urea-N (mg/dl)	20.1±0.5	20.1±1.2		19.8±0.4	42.1±9.1	21.1±2.1	25.9±2.8	24.4±1.9	18.8±1.3	21.4±2.2	41.6±4.5	21.7±0.8	40.9±12.3		
Creatinine (mg/dl)	1.03±0.04	1.10±0.18		1.04±0.06	3.07±0.97	0.95±0.07	1.58±0.16	1.10±0.03	1.16±0.06	1.04±0.02	2.60±0.28	1.03±0.09	2.21±0.82		
A1-P (KA U/dl)	12.7±3.8	12.5±1.2		7.6±1.0	8.6±1.6	9.5±3.9	15.0±4.5	13.9±4.6	12.3±3.3	10.9±2.1	12.7±1.2	10.9±3.3	8.9±1.1		
GOT (KARMEN U/ml)	44±9	23±3		36±3	34±4	29±3	26±2	35±8	35±13	43±7	48±15	44±10	30±8		
GPT (KARMEN U/ml)	23±2	21±2		22±3	42±10	15±4	23±5	18±1	23±2	27±3	6±0	28±3	10±2		
Sodium (mEq/L)	147±2	133±1		147±1	142±7	143±2	141±4	146±1	147±4	145±1	135±4	145±1	146±3		
Potassium (mEq/L)	5.2±0.1	4.7±0.3		4.8±0.2	4.3±0.4	5.0±0.3	4.2±0.2	4.6±0.1	4.8±0.1	5.2±0.3	3.5±0.1	5.0±0.3	4.6±0.2		
Chloride (mEq/L)	110.5±1.9	109.8±1.7		109.1±1.0	113.3±1.9	106.8±1.4	110.9±0.6	110.7±2.5	107.3±1.9	108.5±4.4	109.9±0.5	106.5±2.0	108.6±3.0		
Calcium (mg/dl)	12.7±0.6	12.6±0.6		13.6±0.2	11.9±0.4	12.2±0.5	12.0±0.4	13.3±0.3	13.8±0.1	12.6±0.1	10.5±0.2	12.8±0.5	11.1±0.2		
Magnesium (mg/dl)	2.3±0.0	2.0±0.3		2.3±0.2	2.5±0.1	2.0±0.2	2.0±0.1	2.4±0.1	2.1±0.0	2.1±0.2	2.2±0.2	2.1±0.1	2.0±0.4		

Value of mean ± s.e.
Each group consisted of 3 rabbits.

Table 4 Summary of biochemical analysis of plasma before and after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg)	Control (Saline)			CMD						CET			CEZ					
	-			2,000			500			2,000			2,000			500		
	before	after		before	after		before	after		before	after		before	after		before	after	
Urea-N (mg/dl)	26.5±2.0	24.9±1.8		15.3±1.7	32.0±11.8	22.3±4.4	31.8±6.3	26.9±3.8		18.7±1.0	57.9±18.7		26.4±6.2	38.2±0.9		26.4±6.2	38.2±0.9	
Creatinine (mg/dl)	1.76±0.04 ¹⁾	0.95±0.12		1.07±0.07	1.24±0.10	1.07±0.07	1.31±0.15	1.32±0.12 ¹⁾		1.03±0.02	2.54±0.67		1.20±0 ¹⁾	1.95±0.23		1.20±0 ¹⁾	1.95±0.23	
Al-P (KA U/dl)	-	7.1±0.5		-	18.7±4.2	-	14.3±5.6	6.2±0.7		6.2±0.7	10.9±4.5		-	11.6±3.4		-	11.6±3.4	
GOT (KARMEN U/ml)	-	19±3		-	37±17	-	70±46	17±2		17±2	29±12		-	22±7		-	22±7	
GPT (KARMEN U/ml)	18±2	17±2		16±2	61±44	16±4	78±59	22±1		20±3	16±1		17±0	9±0		17±0	9±0	
Sodium (mEq/L)	-	143±1		-	145±1	-	143±3	145±3		145±3	142±1		-	144±1		-	144±1	
Potassium (mEq/L)	-	4.6±0.2		-	4.7±0.1	-	4.5±0.2	4.2±0.1		4.2±0.1	4.1±0.3		-	4.7±0.3		-	4.7±0.3	
Chloride (mEq/L)	-	107.3±2.7		-	110.5±2.4	-	109.1±1.7	108.1±1.9		108.1±1.9	112.9±2.3		-	110.0±2.3		-	110.0±2.3	
Calcium (mg/dl)	-	13.7±0.3		-	12.4±0.4	-	11.9±0.2	12.5±0.3		12.5±0.3	10.9±0.7		-	11.8±0.2		-	11.8±0.2	
Magnesium (mg/dl)	-	2.1±0.2		-	2.2±0.1	-	1.8±0.1	1.9±0.1		1.9±0.1	2.5±0.1		-	2.1±0.1		-	2.1±0.1	
Total bilirubin (mg/dl)	-	0.12±0.01		-	0.19±0.03	-	0.17±0.04	0.15±0.01		0.15±0.01	0.15±0.01		-	0.14±0.01		-	0.14±0.01	

Value of mean ± s.e.

Each group consisted of 3 rabbits.

1) The group consisted of 2 rabbits.

週間前、投薬期間の中間値および休薬 3 週間目の計 3 回実施し、測定値は PSP 血中残存量として求めた。

6. 溶血性試験

1. Negative control として注射用生理的食塩水 9 ml

2. 検体として CMD 最終濃度 2.5 および 5.0% 加注射用生理的食塩水 9 ml

3. Positive control として 1% サポニン加注射用生理的食塩水 9 ml

の 3 本の試験管を準備し、雄性白色家兎から得た血液を各試験管に 1 ml 加えて、穏やかに攪拌し、2 時間静置後および遠心分離 (2,500 r.p.m., 10 min.) 後に、上清の溶血の有無を判定した。

実験結果

A. 単回投与試験

1) 一般症状

実験期間中、全投薬群に行動上異常は認められず、また途中死亡例もなかった。

体重変化は、CMD 雄 2,000 mg/kg、CEZ 雌・雄の 2,000 mg/kg および雄 500 mg/kg の各投与群では摂餌量の急激な減少に伴い、軽度の体重減少がみられたが、CMD の他の群および CEZ 雌 500 mg/kg 群では体重の増減をみなかった。CET 投与群は対照群と同様に体重増加を示した。

摂餌量は、CMD、CEZ 両投与群ともに同程度に、対照群と異なり投薬の翌日から急激に用量・作用関係をもって減少しはじめ、特に 2,000 mg/kg 群ではそれが解剖時まで持続した。これに対し、CET 投与群では対照群と同様の摂餌量を示した。

2) 血液検査

i) 一般血液検査 (Table 1~2)

末梢血液像の白血球分画は、CEZ 雄 2,000 mg/kg 群では、リンパ球の低下を伴う好中球の上昇が、著明にみられたが、雌ではこれらの変化は軽度であった。その他の検査項目では、測定値が散発的に増減した値を示したが、いずれも用量・作用関係がなく、正常範囲内の変化であり、対照群との間に差を認めなかった。

ii) 血液化学検査 (Table 3~4)

CMD 雄 2,000 mg/kg 群で中等度の BUN, creatinine の増加、S-GPT の軽度増加および Ca⁺⁺ の軽度減少が、500 mg/kg 群では creatinine の軽度増加がみられた。また、雌 2,000 mg/kg 群に BUN の軽度増加が認められた。一方、CEZ 投与群では明らかな用量・作用関係をもって、BUN, creatinine の顕著な増加、S-GPT の著明な減少、Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ の軽度減少が認

Table 7 Urinalysis at 72 hours after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds	B (mg/kg)	Control (Saline)		CMD			CET			CEZ		
		-	-	2,000	500	500	2,000	2,000	2,000	2,000	500	500
Rabbit No.		1 2 3	4 5 6	7 8 9	7 8 9	7 8 9	10 11 12	13 14 15	16 17 18			
pH		8 8 8	8 8 8	8 8 8	8 8 8	8 8 8	7 8 8	7 5 5	8 8 8			
Protein	Paper test	± +3 ±	+2 ±	± +2	± +3	± +3	± ± +1	+1 ± +1	± ± ±			
	Boiling test	- +3	± -	- -	- ±	- ±	- - +2	- - -	± - -			
Occult blood		- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -			
Sugar		- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	+1 - +1	- - -			
Ketone body		- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -			
Bilirubin		- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -			
Urobilinogen		1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1			
Specific gravity		1.015 1.030 1.015	1.034 1.027	1.038 1.028 1.035	1.026 1.018 1.025	1.032 1.030 1.020						

Table 8 Summary of autopsy findings in male rabbits after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg)		Control (Saline)			C M D			C E T			C E Z								
		—			2,000			500			2,000			2,000			500		
Rabbit	No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Liver																			
	Small abscess (Coccidiosis)	—	+1	+2	—	+1	—	—	+1	—	—	—	—	+1	—	—	—	—	—
Kidney																			
	Edema	—	—	—	—	±	+2	—	—	—	—	—	—	+2	+3	+2	—	—	+1
	Greyish-white on surface	—	—	—	+2	+2	+3	+2	—	±	—	—	—	+2	+3	+3	+2	—	+1
	Fine granular surface	—	—	—	+1	+1	+2	+1	—	—	—	—	—	+1	+2	+2	+1	—	±
Thymus																			
	Atrophy	—	—	—	—	—	—	+1	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—
Gallbladder																			
	Enlargement													+1					
Cecum																			
	Dilatation	—	—	—	+1	—	+1	±	±	±	±	±	±	+2	+1	+2	±	±	±
	Hemorrhage in mucosa	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1	—	—	—	—

Normal: -, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

Table 9 Summary of autopsy findings in female rabbits after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg)	Control (Saline)			C M D						C E T			C E Z					
	—			2,000			500			2,000			2,000			500		
Rabbit No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Liver																		
Small abscess (Coccidiosis)	—	—	—	—	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1	—
Kidney																		
Edema	—	—	—	+1	+1	—	—	—	±	—	—	±	±	+2	±	+1	—	+2
Greyish-white on surface	—	—	—	—	+1	—	—	—	—	—	—	—	—	+3	+1	+1	±	+2
Fine granular surface	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2	+1	+1	—	+1
Petechial hemorrhage on surface	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1	—	±	—	+1
Congestion in medulla	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1	—	±	—	+1
Stomach																		
Edema	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—
Mucosal hemorrhage (Pin-head size)	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Colon																		
Hypertrophy	—	—	—	—	±	±	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gallbladder																		
Enlargement	—	—	—	+1	—	±	—	—	—	—	—	—	+3	—	+1	—	—	+1
Cecum																		
Dilatation	—	—	—	+1	+1	+2	+1	±	±	—	—	±	—	±	+2	—	+1	±
Congestion	—	—	—	±	—	—	+1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—

Normal: -, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

められた。これに対し、CET 投与群では血液化学検査において異常値を認めなかった。

3) 尿検査 (Table 5~7)

一般尿検査では、CMD、CEZ 投与群ともに投薬の翌日から解剖時まで、尿の pH が用量・作用関係をもって低下したが、この変化は雌より雄に著明であり、尿沈渣中に多数の上皮細胞や尿蛋白も出現した。しかし、CET 投与群では尿の酸性化はみられなかった。

4) 病理学的検査

i) 肉眼所見および臓器重量測定 (Table 8~11)

腎: CMD 雄 2,000 mg/kg 群の全例に、腎表面の微顆粒状硬化を伴った軽度の浮腫性肥大が、また皮質には中等度の灰白色変性とそれに伴う皮髄界の鮮明化が認められた。雄 500 mg/kg 群では、表面の微顆粒状硬化および皮質が灰白色となった軽度の変性を 1/3 に認めた。しかし、この様な腎の変化は、雌では全体的にはるかに軽度であった。

次に、CEZ 投与群では、雄 2,000 mg/kg 群で全例に中等度の浮腫性肥大が表面の微顆粒状硬化を伴って、また皮質では著明に灰白色化した変性・壊死部に由来する

Table 10 Absolute and relative organ weight on autopsy after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg)		Control (Saline)			C M D					C E T			C E Z						
					2,000		500						2,000			500			
Rabbit No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Body weight (kg)		2.57 0.100	2.63 0.100	2.85 0.100	3.03 0.100	3.04 0.100	3.38 0.100	2.30 0.100	2.42 0.100	2.87 0.100	3.08 0.100	3.20 0.100	2.80 0.100	3.01 0.100	3.48 0.100	3.20 0.100	2.50 0.100	2.21 0.100	2.52 0.100
Heart (g)		7.28 0.283	8.14 0.310	7.81 0.274	7.28 0.240	7.30 0.240	7.61 0.225	4.86 0.211	5.97 0.247	7.47 0.260	8.73 0.283	8.33 0.260	7.20 0.257	9.38 0.312	8.54 0.245	8.21 0.257	6.92 0.277	6.94 0.314	7.04 0.279
Liver (g)		104.97 4.084	106.08 4.033	109.36 3.837	65.51 2.162	74.82 2.461	80.30 2.376	50.20 2.183	62.55 2.585	96.77 3.372	92.81 3.013	81.63 2.551	81.05 2.895	101.45 3.370	82.29 2.364	94.12 2.941	71.44 2.850	64.72 2.929	84.84 3.367
Spleen (g)		2.52 0.098	2.70 0.103	1.92 0.067	0.82 0.027	1.63 0.054	1.43 0.042	0.88 0.038	1.59 0.066	1.45 0.051	2.38 0.077	1.62 0.051	1.21 0.043	2.93 0.097	2.00 0.057	2.75 0.086	0.62 0.025	1.07 0.048	1.82 0.072
Kidney (g)	Left	8.09 0.315	7.87 0.299	8.42 0.295	7.15 0.236	8.79 0.289	11.33 0.335	6.88 0.299	6.86 0.283	7.86 0.274	8.98 0.292	7.76 0.243	7.90 0.282	11.97 0.398	12.54 0.360	10.93 0.342	8.83 0.353	6.40 0.290	9.34 0.371
	Right	8.09 0.315	7.82 0.297	8.74 0.307	7.62 0.251	8.38 0.276	11.68 0.346	6.65 0.289	6.71 0.277	7.75 0.270	9.16 0.297	7.79 0.243	7.45 0.266	10.43 0.347	13.12 0.377	10.45 0.327	8.52 0.341	6.75 0.305	9.15 0.363
Adrenal (mg)		310 12.1	230 8.7	410 14.4	330 10.9	500 16.4	430 12.7	300 13.0	490 20.2	270 9.4	380 12.3	440 13.8	440 15.7	300 10.0	330 9.5	270 8.4	410 16.4	300 13.6	310 12.3
Thyroid (mg)		110 4.3	140 5.3	230 8.1	140 4.6	280 9.2	180 5.3	130 5.7	170 7.0	200 7.0	190 6.2	160 5.0	210 7.5	290 9.6	210 6.0	180 5.6	270 10.8	150 6.8	230 9.1
Thymus (g)		2.60 0.101	5.74 0.218	3.35 0.118	4.13 0.136	3.66 0.120	4.51 0.133	0.39 0.170	2.64 0.109	5.24 0.183	7.15 0.232	7.22 0.226	1.54 0.055	5.15 0.171	6.51 0.187	4.53 0.142	2.44 0.098	2.33 0.105	3.28 0.130

Upper line: Absolute organ weight,

Lower line: Relative organ weight

Table 11 Absolute and relative organ weight on autopsy after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg)		Control (Saline)			C M D						C E T			C E Z					
					2,000			500			2,000			2,000			500		
Rabbit No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Body weight (kg)		3.58	3.65	3.66	2.83	2.64	2.84	2.58	2.25	2.50	3.49	3.44	3.07	3.00	2.70	2.85	2.63	2.62	2.60
		0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Heart (g)		10.07	9.31	9.64	6.86	7.34	6.39	6.59	5.32	5.40	10.27	9.26	6.91	6.34	6.92	7.02	6.05	6.78	6.54
		0.281	0.255	0.263	0.242	0.278	0.225	0.255	0.236	0.216	0.294	0.269	0.225	0.211	0.256	0.246	0.230	0.259	0.252
Liver (g)		111.83	106.67	136.23	84.74	73.30	68.01	59.18	69.68	82.37	100.38	133.15	85.43	63.58	79.80	77.00	99.55	66.18	80.93
		3.124	2.922	3.722	2.994	2.777	2.395	2.294	3.097	3.295	2.876	3.871	2.783	2.119	2.956	2.702	3.785	2.526	3.113
Spleen (g)		3.09	4.74	2.86	2.41	1.50	1.43	2.06	1.36	1.70	2.53	2.63	3.13	1.18	2.25	1.12	2.32	1.11	1.36
		0.086	0.130	0.078	0.085	0.057	0.050	0.080	0.060	0.068	0.072	0.076	0.102	0.039	0.083	0.039	0.088	0.042	0.052
Kidney (g)		10.50	9.27	10.46	10.64	9.55	7.02	8.01	6.74	8.57	8.51	9.05	9.87	9.52	10.81	9.33	9.05	6.19	9.49
		0.293	0.254	0.286	0.376	0.362	0.247	0.310	0.300	0.343	0.244	0.263	0.321	0.317	0.400	0.327	0.344	0.236	0.365
Adrenal (mg)		10.37	9.09	9.69	10.15	9.43	7.00	7.76	6.91	8.75	8.80	8.53	9.57	9.17	10.40	9.79	8.51	6.33	10.16
		0.290	0.249	0.265	0.359	0.357	0.246	0.301	0.307	0.350	0.252	0.248	0.312	0.306	0.385	0.344	0.324	0.242	0.391
Thyroid (mg)		620	370	350	440	320	260	320	270	300	260	680	360	230	260	170	250	310	370
		17	10	10	16	12	9	12	12	12	12	7	20	12	8	10	6	10	12
Thymus (g)		290	240	280	180	230	220	160	160	150	260	190	260	190	240	210	140	140	110
		8	7	8	6	9	8	6	7	6	7	6	8	6	9	7	5	5	4
Thymus (g)		5.92	2.42	6.21	4.86	3.82	4.56	2.21	1.83	2.80	5.31	8.10	2.89	3.58	3.41	6.06	3.33	1.72	4.38
		0.165	0.066	0.170	0.172	-0.145	0.161	0.086	0.081	0.112	0.152	0.235	0.094	0.119	0.126	0.213	0.127	0.066	0.168

Upper line: Absolute organ weight, Lower line Relative organ weight

Table 12 Summary of histopathological findings in the kidney & liver of male rabbits after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg)	Control (Saline)			CMD						CET						CEZ					
	1	2	3	2,000			500			2,000			500			2,000			500		
Rabbit No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	16	17	18
Kidney																					
Dilatation of proximal tubules	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-	-	±	-	-	±
Cast in the distal tubules	-	-	-	+1	+1	+1	-	-	-	-	-	-	+1	+1	+1	-	-	+1	-	-	+1
Cortical tubular degeneration & necrosis	-	-	-	+1	+1	+3	±	±	±	-	-	-	+2	+3	+3	+1	+1	+2	-	-	+2
Calcification of proximal tubules	-	-	-	-	-	+1	±	-	-	-	-	-	+1	+2	+2	-	-	-	-	-	-
Dilatation of BOWMAN's space	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	±	+1	±	-	-	-	-	-	-
Multifocal cell infiltrations in interstitial area	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	±	+2	±	+2	-	-	-	-
Mitosis of collecting duct	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver																					
Liver cell	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Swelling	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	-	-
Nuclear enlargement	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	-	+1
Swelling of KUPFFER cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	+1	+1	+1	-	+1	+1	-	-	+1
Eosinophilic infiltration into sinusoid	-	-	-	-	+1	-	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+1	-	-	-	-
Focal necrosis	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+1	-	-	+2	-	+2	-	-	-	-	-	-
Localized necrosis of hepatic lobules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Giant cell formation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1
Diffuse vacuolations of hepatic cells with granulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1
GLISSON's capsule	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Small round cell infiltration	-	-	-	-	-	-	+1	±	-	+2	±	±	+2	+1	+1	-	±	±	-	±	±

Normal: -, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

Table 13 Summary of histopathological findings in the kidney & liver of female rabbits after a single intravenous infusion of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg)	Control (Saline)	CMD								CET			CEZ						
		2,000						500		2,000			2,000						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Rabbit No.																			
Kidney Dilatation of proximal tubules Cast in the distal tubules Cortical tubular degeneration & necrosis Calcification of proximal tubules Dilatation of BOWMAN's space Multifocal cell infiltrations in interstitial area Congestion & hemorrhage in medulla	-	-	-	±	±	±	-	-	±	-	-	-	±	+1	+1	+1	±	±	±
	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	±	±
	-	-	-	±	+1	±	±	±	±	-	-	-	±	+3	+2	+1	+1	±	+1
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	+1	±	-	±	±	±
	-	-	-	+1	-	-	-	-	±	-	-	±	-	+1	-	-	+2	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver Liver cell Proliferation of binucleated cells Swelling in central zone Single cell necrosis in intermediary and periportal zone Single cell necrosis in central zone Focal necrosis Mitosis Sinusoids Dilatation of sinusoids with congestion Proliferation of KUPFER cells Eosinophilic polynucleated cell infiltration into sinusoids GLISSON's sheath Round cell infiltration around bile ducts	-	-	-	-	+1	-	+2	-	-	-	±	-	-	±	±	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	+2	+1	-	±	±	±
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	+1	-	+2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	±	+1	±	-	-	-	-
	-	-	-	-	±	-	+1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	±	-	+1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Normal: -, Very mild: +, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

皮髄界の鮮明化等が認められた。雄 500 mg/kg 群でも、軽度ながら表面の微顆粒状硬化を伴う浮腫性肥大と皮質の灰白色化変性および壊死が 2/3 例にみられた。CEZ 投与群における腎障害は雄にやや強かった。

これに反して、CET 投与群では雌 2,000 mg/kg 群の 1 例にごく軽度の浮腫性肥大をみた以外は、特記すべき所見は認められなかった。

以上、腎の肉眼所見は CMD, CEZ 両投与群ともに同質の変化であったが、その変化の程度によって毒性の優劣を比較すれば、CEZ 投与群の方が明らかに著明であった。

盲腸：盲腸の拡張が、CMD および CEZ 投与群では、薬剤投与動物のほぼ全例に用量・作用関係をもって認められたが、その程度は CMD に比して CEZ に強かった。しかし、CET 投与群では、CMD, CEZ の低投与群と同程度のごく軽度な拡張にとどまった。盲腸の拡張には雌・雄差がほとんど認められなかった。盲腸の拡張以外に、CEZ 雄 2,000 mg/kg 群に粘膜面の軽度な出血が、雌 CMD 高・低投与群および CEZ 低投与群に軽度の充血が各 1 例みられた。

その他：肝表面に small abscess が対照群を含めて散見されたが、組織学的に coccidiosis による化膿巣であることが確認された。他の臓器において散発した所見は、いずれも用量・作用関係が明らかでないところから、薬剤投与に起因した特異的な変化ではないと判定した。

臓器重量では、CMD, CEZ 両投与群の腎にのみ肉眼所見の障害の程度に応じて重量増加が認められたが、CET 投与群では変化をみなかった。

ii) 組織学的検査 (Table 12~13)

腎：CMD 雄 2,000 mg/kg 群の 1/3 例では、皮質の近位尿細管上皮細胞に著明な変性・壊死と、壊死部に軽度の石灰沈着を認めた。この他に、遠位尿細管腔拡張、遠位尿細管腔内に硝子様円柱の存在、および BOWMAN 氏囊の拡張等のごく軽度な変化や、集合管上皮細胞に少数ながら核分裂がみられた。他の 2 例では、軽度な近位尿細管上皮細胞の変性・壊死と、遠位尿細管腔内の硝子様円柱の存在が認められた。雄の 500 mg/kg 群では、全例に皮質の近位尿細管上皮細胞にごく軽度の変性・壊死が認められた。なお、雌でも質的に同様な所見がみられたが、これらの変化は肉眼所見に一致して、おおむね雄よりも軽度であった。

次に、CEZ 雄 2,000 mg/kg 群では、2/3 例に皮質の近位尿細管上皮細胞に著明な変性・壊死と壊死部に中等度の石灰沈着が認められ、この他全例に軽度の間質への限局性細胞浸潤もみられた。雄 500 mg/kg 群では、全

例に軽度ながら近位尿細管上皮細胞の変性・壊死の他、2/3 例に間質への限局性細胞浸潤および 1/3 例に遠位尿細管腔拡張、遠位尿細管腔内に硝子様円柱の存在等がみられた。CEZ 投与群でも、肉眼所見と同様、腎障害は全体的に雄にやや強かった。

これらの変化に対し、CEZ 投与群では、間質へのごく軽度な限局性細胞浸潤が、雌の 1/3 例にみられたにすぎなかった。

以上組織学的な所見によって 3 薬剤の腎への障害を比較すれば、肉眼所見と同様、その発生頻度においても、変化の程度においても、CEZ 投与群に最も変化が顕著であった。

肝：肝細胞の変性および GLISSON 氏鞘への小円形細胞浸潤は、CEZ 投与群に最も強く、CMD や CET 投与群では軽度であった。肝障害には性差はほとんどみられなかった。

他の臓器には薬剤に起因すると思われる特記すべき変化は認められなかった。

以上の単回投与試験の結果を、腎障害の強さについて、一般症状、血液・尿の一般および生化学所見、肉眼ならびに組織学的な病理所見等の強弱により程度をつけて比較すると、雄では $CEZ\ 2,000\ mg/kg > CMD\ 2,000\ mg/kg > CEZ\ 500\ mg/kg > CMD\ 500\ mg/kg$ 、雌では $CEZ\ 2,000\ mg/kg > CEZ\ 500\ mg/kg = CMD\ 2,000\ mg/kg > CMD\ 500\ mg/kg$ となった。

B. 7日間連続投与試験および回復試験

1) 一般症状

実験期間後半から休業期にかけて、雄の CEZ 400 mg/kg/day 群では下痢が頻発した他は、一般症状に異常を認めなかった。

体重変化は、CMD では雌・雄ともに投薬開始の翌日から、用量・作用関係をもった減少が、実験終了時まで認められた。しかし、これらの変化は、休業試験によって、400 mg/kg/day 群の雌・雄各 1 例に途中死亡例の出現をみたのを除いて、ほとんど回復した。CEZ でも CMD と同様の傾向を示したが、休業試験期間中に 400 mg/kg/day 群の雄 2 例、雌 1 例の途中死亡例が出現し、CMD に比して体重減少の回復性がやや劣っていた。

摂餌量も、雌・雄ともに CMD では投薬開始の翌日から用量依存性をもって減少し、投薬終了時まで継続したが、投薬終了後の休業試験中には、死亡例を除いて、400 mg/kg/day 群でも回復がみられた。CEZ でも CMD とほぼ同様の傾向を示したが、やはり体重変化に一致して休業期間中の回復性は、CMD に比して CEZ の方がやや遅延した。一方、CET 投与群では、体重およ

Table 14 Hematological findings before and after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D				C E T		C E Z			
	before after		400		200		400		400		200	
			before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
Body weight (kg)	2.58±0.07	2.92±0.02	2.54±0.05	2.41±0.11	2.48±0.05	2.65±0.05	2.68±0.04	2.91±0.06	2.68±0.05	2.45±0.05	2.44±0.06	2.62±0.19
Blood Hb (g/100ml)	10.50±0.12	11.54±0.21	11.11±0.44	13.07±0.51	10.41±0.53	12.16±0.36	10.29±0.11	11.34±0.40	10.63±0.47	13.04±0.63	10.82±0.72	12.07±0.92
Hematocrit (%)	38.2±0.8	41.6±0.8	39.8±1.4	46.1±1.5	37.9±1.8	43.3±0.8	36.4±0.4	39.1±0.6	37.4±1.9	44.5±2.0	38.9±2.2	42.1±2.9
RBC (millions)	5.22±0.12	5.59±0.24	5.10±0.28	6.21±0.11	5.07±0.27	5.96±0.19	5.30±0.13	5.51±0.19	5.12±0.23	6.34±0.23	5.29±0.25	5.87±0.26
WBC (thousands)	12.5±1.3	11.7±0.9	11.4±0.5	16.2±1.5	11.9±1.8	11.6±1.0	13.4±0.7	10.6±0.7	9.5±1.3	13.6±2.0	11.1±1.0	10.2±1.4
Platelets (thousands)	162.5±13.7	137.3±6.3	168.3±13.9	157.5±21.7	160.8±14.2	145.8±2.5	166.5±10.6	141.8±3.0	149.5±21.2	190.0±13.1 ¹⁾	188.8±19.0	164.0±17.2 ¹⁾
Reticulocytes (%)	5.8±0.3	5.1±0.1	5.7±0.3	4.5±0.3	5.1±0.3	5.1±0.1	6.2±0.3	5.5±0.2	5.7±0.5	4.6±0.1	5.9±0.5	5.1±0.2
Differential (%)	Lymphocytes	52.3±5.2	62.3±4.0	60.5±2.3	47.3±9.6	54.0±9.2	61.3±7.3	59.8±5.1	60.8±1.3	45.0±7.8	55.3±5.9	62.5±8.4
	Neutrophils	1.0±0.4	0	1.0±0.6	0.5±0.5	0.5±0.5	0.3±0.3	0	0.8±0.3	0.5±0.3	1.8±0.4	0.8±0.5
	S	42.8±5.1	36.5±3.8	36.5±3.4	49.0±7.9	43.3±9.2	36.3±7.3	36.0±4.7	36.0±1.2	46.5±5.5	40.0±5.1	31.5±5.4
	Eosinophils	1.3±0.3	0.5±0.3	0.3±0.3	0.3±0.3	0	0	1.5±0.5	0.3±0.3	1.0±0	0.3±0.3	0.8±0.3
	Basophils	1.5±0.6	0.8±0.5	1.5±0.9	0.8±0.3	1.8±0.8	2.0±0.4	1.8±0.8	1.3±0.5	2.5±0.9	2.0±0.8	2.5±0.9
	Myelocytes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Blast forms	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Monocytes	1.3±0.6	0	0.3±0.3	2.3±2.3	0.5±0.3	0	0.3±0.3	1.3±0.6	3.3±1.4	1.8±0.9	1.0±0.7
	Normal	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	Hypochromia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Red cell morphology	Hyperchromia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Anisocytosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Poikilocytosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nucleated/100 WBC	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0
Prothrombin time (sec.)	6.7±0.1	6.7±0.0	6.8±0.2	6.8±0.1	6.8±0.1	6.9±0.0	6.5±0.0	6.5±0.1	6.7±0.1	7.8±0.1 ¹⁾	6.6±0.2	6.8±0.1 ¹⁾

Value of Mean ±s.e.
Each group consisted of 4 rabbits.
1) The group consisted of 3 rabbits.

Table 15 Hematological findings at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		CMD				CET			CEZ		
		-		400		200		400			400		200
Rabbit No.		1	2	5a)	6	9	10	13	14	17b)	18c)	21	23
Body weight (kg)		3.16	3.47		2.40	3.11	3.00	3.30	3.09			3.08	3.13
Blood Hb (g/100 ml)		11.79	12.36		10.71	11.93	12.00	12.07	12.29			11.86	12.00
Hematocrit (%)		41.0	43.9		38.3	43.0	41.6	41.0	41.9			42.3	43.0
RBC (millions)		5.61	5.91		5.81	5.59	6.04	5.61	6.06			5.91	5.94
WBC (thousands)		12.3	12.2		14.2	7.1	18.6	9.6	10.9			10.6	15.3
Platelets (thousands)		153	147		181	144	167	169	156			172	150
Reticulocytes (%)		5.1	5.3		4.0	5.6	5.4	5.6	4.4			4.8	4.9
Differential (%)	Lymphocytes	69	78		45	72	70	64	39			50	70
	Neutrophils	0	2		1	0	0	0	0			0	1
		S	30	20		51	26	29	35	58			46
	Eosinophils	0	0		0	0	1	0	0			3	2
	Basophils	1	0		3	2	0	1	3			0	0
	Myelocytes	0	0		0	0	0	0	0			0	0
	Blast forms	0	0		0	0	0	0	0			0	0
	Monocytes	0	0		0	0	0	0	0			1	0
Red cell morphology	Normal	+	+		+	+	+	+	+			+	+
	Hypochromia												
	Hyperchromia												
	Anisocytosis												
	Poikilocytosis												
Nucleated/100 WBC			1										
Prothrombin time (sec.)		6.8	6.3		6.7	6.6	6.9	6.7	6.9			6.6	7.3

a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.
b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.
c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

Table 16 Hematological findings before and after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)			CMD				CET				CEZ			
	-			400		200		400		200		400		200	
	before	after		before	after	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
Body weight (kg)	2.44±0.13	2.80±0.10		2.26±0.06	2.16±0.04	2.24±0.10	2.50±0.07	2.40±0.08	2.81±0.13	2.47±0.12	2.40±0.10	2.25±0.07	2.44±0.15		
Blood Hb (g/100 ml)	9.79±0.18	10.91±0.24		9.86±0.40	11.38±0.49	10.11±0.16	10.43±0.22	10.61±0.45	10.79±0.47	11.11±0.33	10.37±0.54	9.57±0.41	10.57±0.26		
Hematocrit (%)	35.0±1.0	39.5±0.9		36.2±2.0	42.9±1.8	36.7±0.6	38.7±0.8	39.9±1.9	39.5±1.8	41.8±1.1	37.6±1.6	36.7±1.7	39.1±1.5		
RBC (millions)	4.59±0.10	5.76±0.31		5.04±0.22	6.34±0.40	4.95±0.14	5.85±0.38	5.22±0.19	5.74±0.16	5.36±0.22	5.63±0.12	5.01±0.12	5.86±0.20		
WBC (thousands)	12.93±2.04	8.35±0.72		12.55±2.41	9.95±1.65	15.53±1.10	9.43±1.12	11.88±0.28	9.05±0.81	11.58±2.08	12.28±1.77	13.95±1.52	10.63±0.46		
Platelets (thousands)	153.8±9.6	178.5±6.0		168.0±14.4	170.8±4.9	186.8±7.2	179.3±1.8	175.8±14.0	184.0±4.7	159.3±9.0	170.3±6.3	177.3±4.1	152.5±5.9		
Reticulocytes (%)	6.6±0.1	5.9±0.2		6.0±0.4	5.1±0.3	6.5±0.2	5.6±0.3	5.7±0.4	5.8±0.2	5.8±0.3	5.1±0.2	6.1±0.3	5.1±0.2		
Lymphocytes	67.3±6.4	61.3±3.1		58.0±4.3	40.8±7.5	50.5±4.0	41.3±3.6	49.5±7.0	48.0±5.0	55.8±5.9	48.8±8.3	61.8±4.1	50.3±9.9		
Neutrophils	1.0±0.4	1.3±0.3		0.5±0.3	2.0±0.4	1.0±0.4	1.5±0.6	1.5±0.6	0.8±0.5	1.0±0.4	1.5±0.6	1.8±0.6	2.0±1.4		
Eosinophils	28.5±4.8	32.5±2.4		38.5±5.0	52.0±7.2	45.3±4.0	54.8±4.2	47.0±6.1	47.8±4.9	39.3±6.0	45.8±6.9	35.0±3.6	45.5±9.2		
Baophils	0.5±0.3	2.0±1.0		0.8±0.3	0.8±0.3	0.5±0.3	0.5±0.3	0.5±0.3	0.8±0.5	0.5±0.3	1.3±0.3	0.5±0.3	0.5±0.3		
Myelocytes	1.5±1.5	2.5±0.3		1.8±0.5	2.5±0.6	2.5±0.6	2.0±0.4	1.0±0.4	2.3±0.6	3.3±1.4	2.3±1.0	1.0±0.4	1.8±0.5		
Blast forms	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Monocytes	1.3±0.6	0.5±0.3		0.5±0.5	2.0±1.2	0.3±0.3	0	0.5±0.3	0.5±0.5	0.3±0.3	0.5±0.3	0	0		
Normal	3	4		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
Hypochromia	1	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Hyperchromia	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Anisocytosis	1	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Poikilocytosis	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Nucleated/100 WBC	2	2		4	0	0	0	0	0	1	0	1	0		
Prothrombin time (sec.)	6.8±0.1	6.6±0.1		6.7±0.1	6.7±0.4	6.7±0.0	6.4±0.1	6.8±0.3	6.6±0.0	6.8±0.1	6.7±0.1	6.6±0.1	6.6±0.1 ¹⁾		

Value of mean ±s.e.

Each group consisted of 4 rabbits.

1) The group consisted of 3 rabbits.

Table 17 Hematological findings at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		CMD				CET			CEZ			
	-		400		200		400		13	400		200	
	1	2	5	6a	9	10	13	14		17	18a	21	22
Rabbit No.	3.23	3.00	2.98		3.16	2.84	3.58	3.33		2.85		3.15	2.68
Body weight (kg)	11.93	11.29	10.00		11.86	11.29	11.50	11.43		10.36		12.21	10.79
Blood Hb (g/100 ml)	42.0	38.3	36.1		41.7	40.2	40.5	42.9		37.1		43.6	40.0
Hematocrit (%)	5.85	5.31	4.70		5.43	5.52	5.76	6.02		4.72		6.28	5.66
RBC (millions)	10.2	11.0	5.4		6.7	6.5	12.2	8.4		7.5		10.1	10.5
WBC (thousands)	158	164	181		175	164	169	169		164		194	169
Platelets (thousands)	5.2	6.1	5.4		6.1	6.2	5.9	6.4		6.6		5.5	5.5
Reticulocytes (%)	58	70	64		63	52	75	41		69		52	46
Differential (%)	Lymphocytes	1	1	0	0	0	1	0		1		1	0
	Neutrophils	NS											
	S	36	26	32		36	46	23		26		44	51
	Eosinophils	1	0	2		0	0	0		0		0	0
	Basophils	2	1	2		1	2	1		0		2	1
	Myelocytes	0	0	0		0	0	0		0		0	0
	Blast forms	0	0	0		0	0	0		0		0	0
	Monocytes	2	2	0		0	0	0		1		1	2
Red cell morphology	Normal	+	+	+	+	+	+	+		+		+	+
	Hypochromia												
	Hyperchromia												
	Anisocytosis												
	Poikilocytosis												
	Nucleated/100 WBC			8			1						
Prothrombin time (sec.)	7.7	7.2	6.7		6.4	6.8	6.5	6.3		6.9		6.9	6.9

a) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

び摂餌量ともにほとんど変動はみられなかった。

2) 血液検査

i) 一般血液検査 (Table 14~17)

末梢血液像の白血球分画では、リンパ球の低下に伴う軽度の好中球の上昇が、雌・雄の CMD および CEZ 400 mg/kg/day 群にみられたが、雄群では休薬による

回復期間中もその影響が若干残っていた。一方、CET 投与群には何ら変化を認めなかった。他の検査項目には薬剤に起因すると思われる変化をみなかった。

ii) 血液化学検査 (Table 18~21)

CMD では雄 400 mg/kg/day 群に BUN, creatinine の軽度増加がみられたが、CEZ では雄 400 mg/kg/day

Table 18 Biochemical analysis of plasma before and after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)			CMD			CET			CEZ		
	before	after	1	before	after	2	before	after	400	before	after	200
Urea-N (mg/dl)	17.6±0.5	21.7±1.7	24.6±1.2	43.5±23.2	21.3±0.8	23.5±2.2	18.9±0.2	24.3±0.7	21.8±0.6	23.4±2.1	19.0±1.0	41.9±19.9
Creatinine (mg/dl)	1.01±0.03	0.93±0.05	1.08±0.02	2.54±1.00	1.15±0.09	1.06±0.04	1.08±0.03	0.89±0.02	1.02±0.01	1.27±0.09	1.06±0.05	22.0±0.31
Al-P (KA U/dl)	20.8±3.2	17.8±2.4	16.4±2.5	10.3±2.51	18.8±6.0	13.6±3.2	21.1±2.3	18.1±1.9	17.2±3.5	9.1±3.8	20.5±1.4	11.7±0.35
GOT (KARMEN U/ml)	22±4	25±7	34±10	17±41	24±4	23±4	19±1	18±2	27±6	11±2	38±9	0.83±0.101
GPT (KARMEN U/ml)	22±4	25±8	30±7	22±11	19±2	30±4	17±1	19±1	25±5	5±1	31±5	14.2±2.5
Sodium (mEq/L)	140±3	148±2	143±4	149±2	144±1	147±2	142±2	149±1	148±2	150±3	148±2	23±4
Potassium (mEq/L)	5.2±0.1	5.3±0.2	4.8±0.1	4.8±0.3	4.7±0.1	4.6±0.1	4.8±0.1	4.6±0.1	5.1±0.2	4.5±0.3	5.0±0.3	9±2
Chloride (mEq/L)	110.5±1.0	110.3±0.9	114.0±2.3	109.7±0.4	111.6±0.8	109.3±0.9	111.0±2.7	108.1±2.2	114.4±1.4	112.0±0.3	107.4±1.7	149±1
Calcium (mg/dl)	12.1±0.4	13.8±0.6	12.4±0.7	12.2±0.12	12.4±0.2	14.0±0.4	12.8±0.5	13.9±0.1	13.0±0.4	12.9±0.5	13.2±0.2	4.9±0.11
Magnesium (mg/dl)	2.1±0.1	2.1±0.0	2.2±0.1	2.0±0.11	2.2±0.1	2.1±0.1	2.2±0.2	2.2±0.1	2.3±0.1	2.0±0.1	2.1±0.1	107.4±0.9
Total bilirubin (mg/dl)	0.14±0.00	0.14±0.001	0.14±0.001	—	0.14±0.001	0.16±0.011	0.15±0.01	0.15±0.01	0.14±0.01	0.183	0.14±0.01	14.2±0.61

Value of Mean ±s.e.
Each group consisted of 4 rabbits.
1) The group consisted of 3 rabbits.
2) The group consisted of 2 rabbits.
3) The group consisted of a rabbit.

Table 19 Biochemical analysis of plasma at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)			CMD			CET			CEZ		
	1	2	5a)	400	6	9	10	13	14	17b)	18c)	200
Urea-N (mg/dl)	18.3	21.2	26.3	27.6	21.8	23.9	19.8	20.3	19.8	20.3	19.8	23
Creatinine (mg/dl)	1.10	1.20	1.24	1.37	1.34	1.20	1.14	1.03	1.20	1.03	1.20	6.6
Al-P (KA U/dl)	21.2	17.5	15.1	12.5	23.8	17.5	13.0	15.1	13.0	15.1	13.0	17
GOT (KARMEN U/ml)	28	35	18	17	14	14	119	14	66	14	18	4.6
GPT (KARMEN U/ml)	25	32	15	13	18	25	66	14	14	14	18	4.6
Sodium (mEq/L)	146	147	142	143	150	147	143	4.3	4.3	4.3	4.6	106.4
Potassium (mEq/L)	4.6	5.0	4.8	5.1	5.4	4.8	4.5	104.7	102.1	104.7	106.4	13.6
Chloride (mEq/L)	113.2	109.4	108.7	108.8	111.2	106.2	102.1	13.3	14.2	13.3	13.6	2.1
Calcium (mg/dl)	13.3	13.6	12.5	13.1	13.6	13.3	14.2	1.9	1.8	2.1	2.1	0.13
Magnesium (mg/dl)	2.1	2.2	2.0	2.3	2.0	1.9	1.8	0.13	0.14	0.13	0.13	0.13
Total bilirubin (mg/dl)	0.13	0.14	0.13	0.13	0.14	0.13	0.14	0.13	0.14	0.13	0.13	0.13

a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.
b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.
c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

Table 20 Biochemical analysis of plasma before and after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		CMD				CET				CEZ			
			400		200		400		200		400		200	
	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
Urea-N (mg/dl)	15.6±1.1	20.3±1.6	13.2±0.8	38.0±12.8	15.2±0.9	18.6±1.8	18.0±4.5	18.2±1.5	15.5±0.8	19.5±1.8	15.9±1.9	18.4±0.7	15.9±1.8	18.4±0.7
Creatinine (mg/dl)	1.13±0.04	1.12±0.07	1.16±0.05	1.69±0.14	1.18±0.06	1.17±0.04	1.20±0.10	0.99±0.01	1.10±0.04	1.29±0.08	1.28±0.05	1.04±0.03	1.28±0.05	1.04±0.03
Al-P (KA U/dl)	11.6±2.9	12.0±0.3	13.5±2.9	7.7±0.5	11.4±1.5	9.2±1.0	14.1±3.0	13.3±2.3	14.1±1.9	9.1±3.6	12.4±1.5	13.0±3.0	12.4±1.5	13.0±3.0
GOT (KARMEN U/ml)	14±1	18±2	15±3	18±4	15±1	25±2	14±1	23±3	21±1	28±8	23±2	30±4	23±2	30±4
GPT (KARMEN U/ml)	16±2	18±2	13±2	16±4	16±1	24±2	16±0	25±3	22±1	8±2	22±1	10±2	8±2	10±2
Sodium (mEq/L)	153±0	149±1	153±1	147±1	153±2	147±3	150±1	145±1	153±3	151±2	152±2	143±1	151±2	143±1
Potassium (mEq/L)	4.8±0.1	4.7±0.1	4.7±0.1	4.6±0.2	4.7±0.2	4.2±0.1	4.5±0.3	4.6±0.2	4.9±0.3	4.5±0.2	4.8±0.2	4.6±0.1	4.5±0.2	4.6±0.1
Chloride (mEq/L)	106.5±2.7	107.1±3.4	96.4±4.2	109.3±1.4	111.3±0.4	107.8±2.3	105.3±2.9	109.8±2.3	111.3±0.5	111.9±2.0	108.8±1.7	110.4±5.2	111.9±2.0	110.4±5.2
Calcium (mg/dl)	13.9±0.5	13.6±0.6	14.3±0.5	12.3±0.2	14.1±0.2	12.9±0.2	13.5±0.3	12.9±0.2	14.5±0.5	13.0±0.2	14.2±0.1	12.5±0.5	13.0±0.2	12.5±0.5
Magnesium (mg/dl)	2.2±0.1	2.5±0.2	2.4±0.1	2.0±0.1	2.3±0.1	2.2±0.1	2.3±0.1	2.2±0.1	2.6±0.1	2.2±0.1	2.3±0.1	2.0±0.1	2.2±0.1	2.0±0.1
Total bilirubin (mg/dl)	0.11±0.01	0.12±0.01	0.11±0.01	0.19±0.01 ^a	0.11±0.01	0.13±0.01	0.10±0.00	0.12±0.01	0.12±0.01	0.15±0.01	0.11±0.01	0.11±0.01	0.12±0.01	0.11±0.01

Value of mean ±s.e.

Each group consisted of 4 rabbits.

1) The group consisted of 3 rabbits.

Table 21 Biochemical analysis of plasma at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		CMD				CET				CEZ			
			400		200		400		200		400		200	
	1	2	5	6 ^a	9	10	13	14	17	18 ^a	21	22	21	22
Urea-N (mg/dl)	18.3	21.2	25.2		16.7	25.6	15.6	15.4	25.0		23.6	13.6	23.6	13.6
Creatinine (mg/dl)	1.10	1.14	1.13		1.02	1.20	1.01	1.06	1.03		1.30	0.93	1.30	0.93
Al-P (KA U/dl)	11.0	12.2	10.8		9.2	6.3	13.1	15.3	4.3		15.3	9.2	15.3	9.2
GOT (KARMEN U/ml)	12	27	13		17	14	60	15	17		17	9	17	9
GPT (KARMEN U/ml)	15	22	8		20	18	43	21	16		19	14	19	14
Sodium (mEq/L)	145	156	158		152	141	149	146	148		149	153	149	153
Potassium (mEq/L)	4.2	5.2	4.6		4.5	4.2	4.4	4.4	4.2		4.9	4.3	4.9	4.3
Chloride (mEq/L)	105.1	101.0	90.6		104.3	104.7	100.9	101.4	98.9		97.4	106.4	97.4	106.4
Calcium (mg/dl)	12.9	14.5	12.6		13.7	12.6	13.7	13.9	12.6		13.9	12.9	13.9	12.9
Magnesium (mg/dl)	2.3	2.6	1.9		1.9	1.9	2.0	2.3	2.1		2.1	2.0	2.1	2.0
Total bilirubin (mg/dl)	0.12	0.14	0.14		0.13	0.13	0.12	0.12	0.12		0.12	0.10	0.12	0.10

a) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

Table 22 Urinalysis at 24 hours after 7 day-medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)				C M D								C E T			C E Z								
	-				400				200				400			400			200					
Rabbit No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
pH	8	9	8	9	7	8	5	8	8	9	8	9	8	8	8	8	6	5	5	9	9	5	8	8
Protein	±	+3	±	+2	-	+1	+1	+2	+1	+1	±	+2	+1	+1	±	±	±	±	±	+2	±	+2	±	±
	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+2	+1	-	-	-	-	-	-	+1	-	±	-	+2
Occult blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	-
Sugar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-
Ketone body	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urobilinogen	1	1	1	1	1	1	4	4	1	4	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Specific gravity	1.016	1.036	1.027	1.028	1.016	1.045	1.031	1.046	1.032	1.049	1.018	1.043	1.036	1.033	1.032	1.015	1.030	1.040	1.026	1.033	1.040	1.047	1.018	1.030

群で電解質の K^+ 値の減少が、雄 200 mg/kg/day 群では BUN の軽度増加が、さらに、著しい S GPT の減少が雌・雄ともに用量依存性をもって認められた。しかしながら、CET 投与群には異常値はみられなかった。上記変化のみられた検査値は、休業による回復性試験において、そのほとんどが回復傾向を示した。他の検査項目には特記すべき変化はみられなかった。

3) 尿検査 (Table 22~25)

一般尿検査では、尿の pH 酸性化は CMD, CEZ 両薬剤ともに雌・雄の高投与群には同程度に認められたが、単回投与試験に比して軽度であり、3 週間の休業期間をおくことによって生存例ではほとんど正常値レベルに回復した。一方、CET 投与群では尿 pH の酸性化をみなかった。

4) 機能検査 (Table 26)

雄 400 mg/kg/day 群にのみ PSP 試験を実施した。その結果、CMD 投与群では排泄の軽度な遅延がみられたが、生存例では休業によってほぼ回復をみた。一方、CEZ 投与群では逆に排泄の促進がみられた。これに対し、CET 投与群は、対照群に比べ差異を認めなかった。

5) 病理学的検査

i) 肉眼所見および臓器重量測定 (Table 27~34)

最も著明な変化は、単回投与試験と同様に、腎に認められた。

CMD 雄 400 mg/kg/day 群では皮質の灰白色化が 1 例に、腎表面の軽度な微顆粒硬化を伴う髓質のごく軽度な蒼白化が他の 1 例に認められた。雄 200 mg/kg/day 群では、皮質の軽度な灰白色化を伴った肥大が 1 例に、髓質のごく軽度の充血が全例にみられた。しかし、雌では上述の腎の変化は、単回投与試験同様、全体的にはるかに軽度であった。

一方、CEZ では、雄 400 mg/kg/day 群に皮質の中等度の灰白色化を伴った腎の軽度肥大が 1 例に、腎表面の中等度の微顆粒状硬化が他の 1 例に、髓質にごく軽度の充血が全例に認められた。雄 200 mg/kg/day 群では、腎表面のごく軽度な微顆粒状硬化、皮質の軽度の灰白色化を伴った肥大および髓質のごく軽度な充血が 1 例、皮質の軽度な灰白色化とごく軽度の髓質の充血が他の 1 例にみられた。CEZ 投与群においても同様、腎障害は雄において、やや強かった。

これに対し、CET 投与群ではごく軽度の肥大が雌に、皮質の灰白色化を伴ったごく軽度の変性および髓質の蒼白化が雄に各 1 例みられたにすぎなかった。

3 週間の休業期間をおくことによって、上述の腎の肉眼所見は、生存例ではそのほとんどが回復あるいは回復傾向にあると判明した。CMD 200 mg/kg/day 雌・雄

Table 23 Urinalysis at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D				C E T		C E Z			
		—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.		1	2	5 ^{a)}	6	9	10	13	14	17 ^{b)}	18 ^{c)}	21	23
pH		8	8		8	8	8	8	8			8	8
Protein	Paper test	+3	+1		+2	+1	+3	±	+1			+2	±
	Boiling test	+3	—		+3	±	+1	—	—			—	—
Occult blood		—	—		—	—	—	—	+2			—	—
Sugar		—	—		—	—	—	—	—			—	—
Ketone body		—	—		—	—	—	—	—			—	—
Bilirubin		—	—		—	—	—	—	—			—	—
Urobilinogen		1	1		1	1	1	1	1			1	1
Specific gravity		1.037	1.037		1.045	1.035	1.050	1.018	1.036			1.033	1.032

a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.

b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

群および 400 mg/kg/day 雌群では肉眼所見は完全に回復したが、CMD 400 mg/kg/day 雄群および CEZ 200 mg/kg/day 雌・雄群では腎表面のごく軽度の灰白色化が、さらに CEZ 400 mg/kg/day 雌群では腎表面に微顆粒状硬化を伴った灰白色化が残存していた。

他の臓器では、CMD・CEZ 両投与群において用量・作用関係をもった消化器系の粘膜出血や盲腸の拡張、胆嚢の肥大等の変化が、性差なくみられたが、いずれの変化も CMD 投与群の方がやや軽度であった。CET 投与群では盲腸の拡張や胆嚢の肥大はごく軽度であった。これら他の臓器にみられた変化も、休薬試験によって、CET 投与群や CMD 低投与群では完全な回復が、CMD 高用量および CEZ 高・低用量投与群でも回復傾向にあることが明らかになった。その他、肝に *Coccidium* 感染症による small abscess が散見されたが、薬剤投与に無関係な非特異的な変化と判断した。

なお、臓器重量は、雌・雄ともに薬剤投与群と対照群間に有意な差を認めなかった。

ii) 組織学的検査 (Table 35~38)

最も著明な変化は腎に認められたが、単回投与試験における変化に比して軽度だった。

CMD 400 mg/kg/day 雄群では、皮質の近位尿細管上皮細胞の軽度の変性・壊死および遠位尿細管腔内にごく軽度の硝子様円柱の存在が各 1 例、雌ではごく軽度ながら近位尿細管上皮細胞の変性・壊死と壊死部の石灰沈着が全例に認められた。200 mg/kg/day 雄群ではごく軽度の遠位尿細管腔拡張が全例に、遠位尿細管腔内にごく軽度の硝子様円柱が 1 例に認められ、雌では Bowman 氏囊のごく軽度の拡張が 1 例にみられた。

これに対して、CEZ 400 mg/kg/day 雄群で、皮質の

近位尿細管上皮細胞に中等度の変性・壊死と同部位の軽度の石灰沈着、硝子様円柱の存在する遠位尿細管あるいは Bowman 氏囊の軽度拡張および間質への限局性細胞浸潤を 1 例に認め、また皮質の近位尿細管上皮細胞の軽度の変性・壊死と同部のごく軽度の石灰沈着、遠位尿細管腔内の硝子様円柱の存在や間質への軽度な限局性細胞浸潤等が他の 1 例にみられた。雌では、近位尿細管上皮細胞の変性・壊死と軽度の石灰沈着が 1 例に、遠位尿細管腔および Bowman 氏囊の拡張と間質への限局性細胞浸潤等の変化が、ごく軽度ながら他の 1 例にみられた。200 mg/kg/day 雄群では、近位尿細管上皮細胞の変性・壊死と壊死部のごく軽度の石灰沈着、遠位尿細管腔内の硝子様円柱の存在および間質への中等度な限局性細胞浸潤が 1 例に、軽度ながら近位尿細管上皮細胞の変性・壊死および間質への限局性細胞浸潤や遠位尿細管腔内の硝子様円柱の存在が他の 1 例に認められた。雌では、ごく軽度の近位尿細管上皮細胞の変性・壊死と間質への軽度な限局性細胞浸潤が 1 例に、近位尿細管上皮細胞の変性・壊死、遠位尿細管腔および Bowman 氏囊の拡張、間質への限局性細胞浸潤等いずれもごく軽度な変化が他の 1 例にみられた。

他方、CET 投与群では、遠位尿細管腔内の硝子様円柱の存在が雌の 1 例に認められた以外、変化はみられなかった。

上述の腎における組織学的に著明な変化は、3 週間の休薬によって、途中死亡例を除く生存例では、おおむね回復あるいは回復傾向にあることが明らかになった。CMD 200 mg/kg/day 群では、雌・雄ともに組織学的な変化はまったく残存していなかったが、CMD 400 mg/kg/day と CEZ 200 mg/kg/day の雌・雄でもほとんど

Photo. 1 Kidney of control male rabbit treated with physiological saline.

H. E. staining, $\times 100$.

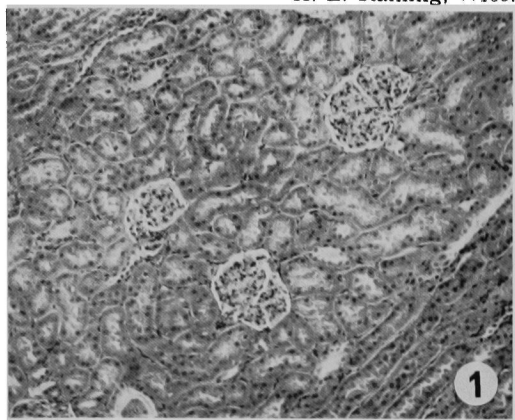


Photo. 4 Kidney of male rabbit given CET (2,000 mg/kg)

No histological changes were observed as compared with the control.

H. E. staining, $\times 100$.

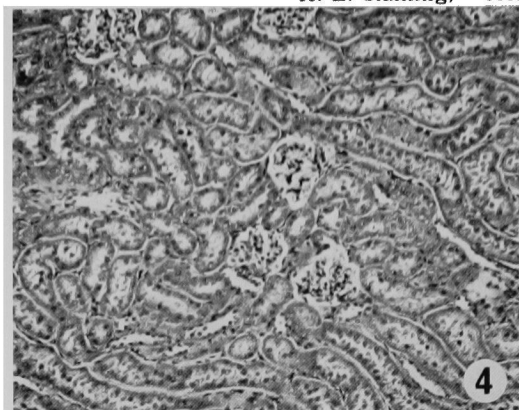


Photo. 2 Kidney of male rabbit given CMD (2,000 mg/kg)

Mild alterations were seen in the proximal tubular epithelium of the cortex. Hyaline casts were found in lumen of the distal tubulus.

H. E. staining, $\times 100$.

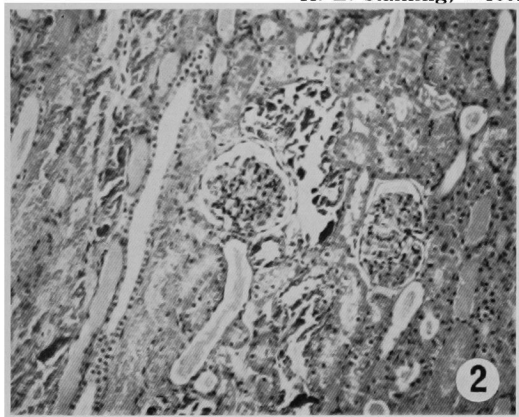


Photo. 5 Kidney of male rabbit given CEZ (2,000 mg/kg)

Marked alterations were seen in the proximal tubular epithelium of the cortex. Slight dilatation was also observed in the proximal tubulus.

H. E. staining, $\times 100$.

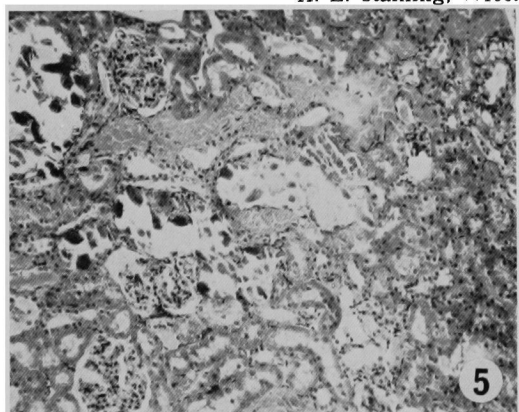


Photo. 3 Kidney of male rabbit given CMD (500 mg/kg)

Slight alterations were seen in the proximal tubular epithelium of the cortex.

H. E. staining, $\times 100$.

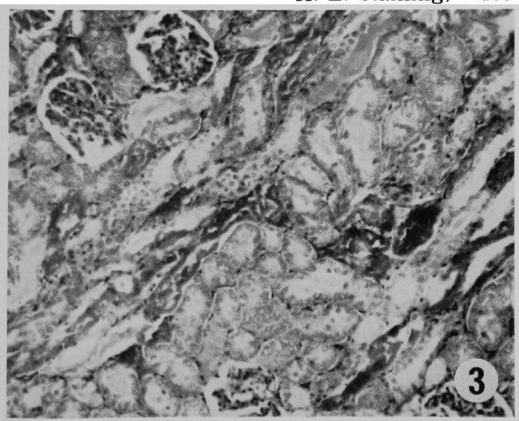


Photo. 6 Kidney of male rabbit given CEZ (2,000 mg/kg)

Calcification and necrosis were observed in the proximal tubular epithelium of the cortex.

H. E. staining, $\times 100$.

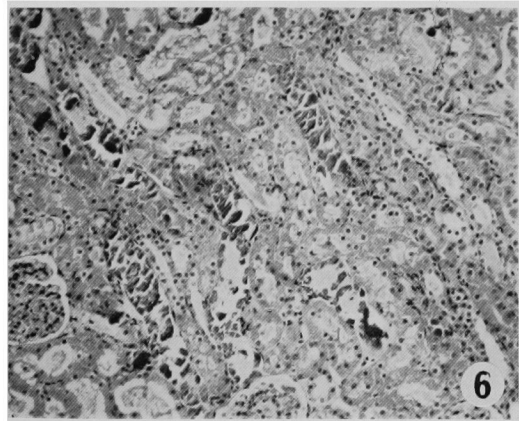


Photo. 7 Kidney of male rabbit given CEZ (2,000 mg/kg)

Multifocal cell infiltrations into the interstitial area were observed in the cortex. Hyaline casts were found in lumen of the distal tubulus.

H. E. staining, $\times 100$.

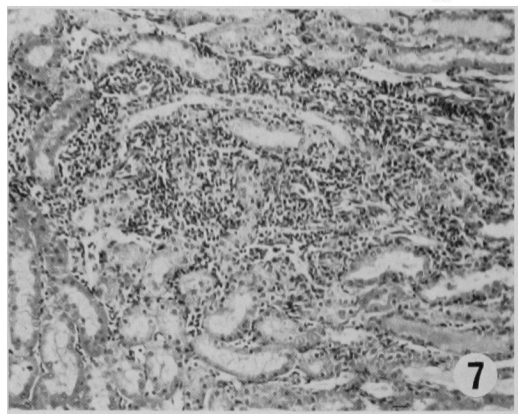


Photo. 8 Kidney of male rabbit given CEZ (500 mg/kg)

Mild alterations were seen in the proximal tubular epithelium of the cortex. Hyaline casts were found in lumen of the distal tubulus.

H. E. staining, $\times 100$.

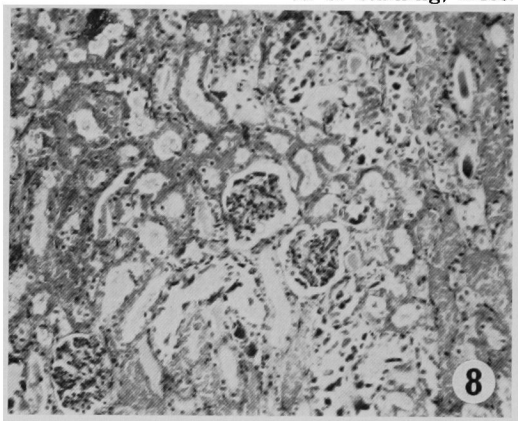


Photo. 9 Kidney of control female rabbit treated with physiological saline.

H. E. staining, $\times 100$.

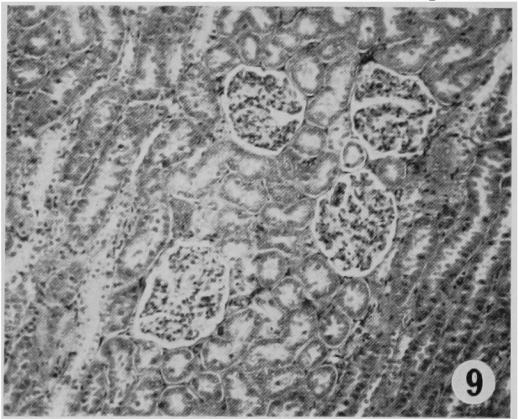


Photo. 10 Kidney of female rabbit given CMD (2,000 mg/kg)

Slight alterations were seen in the proximal tubular epithelium of the cortex.

H. E. staining, $\times 100$.

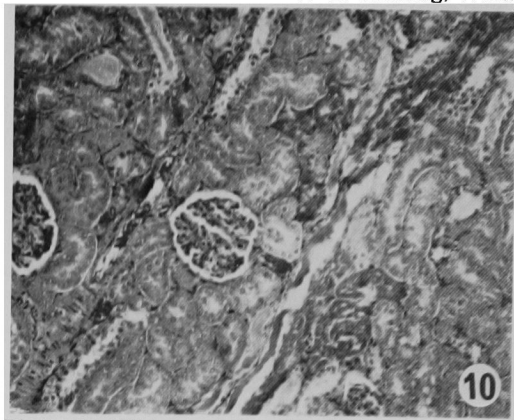


Photo. 11 Kidney of female rabbit given CMD (2,000 mg/kg.)

Multifocal cell infiltrations into the interstitial area were seen in the cortex. Slight dilatation was observed in the proximal tubulus.

H. E. staining, $\times 100$.

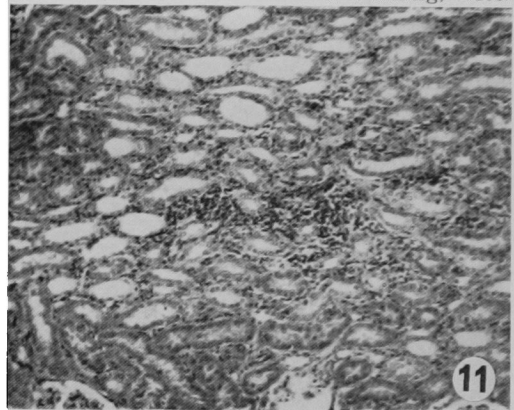


Photo. 12 Kidney of female rabbit given CEZ (2,000 mg/kg.)

Mild alterations were seen in the proximal tubular epithelium of the cortex. Slight dilatation was observed in Bowman's space and the proximal tubulus. Hyaline casts were found in lumen of the distal tubulus.

H. E. staining, $\times 100$.

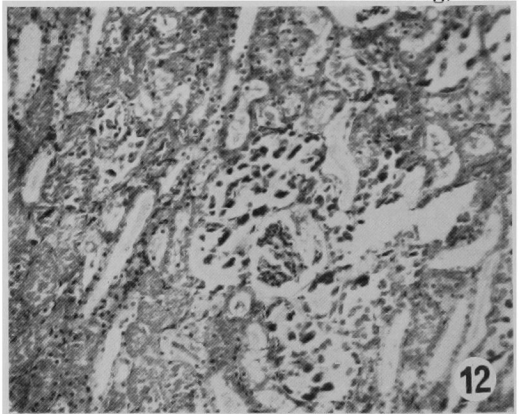


Table 24 Urinalysis at 24 hours after 7 days medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)				CMD				CET				CEZ			
					400				200				400			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Rabbit No.	8	8	8	8	5	5	9	8	8	8	8	8	17	18	19	20
pH	+1	+2	±	±	+1	+2	+1	±	±	±	±	±	±	±	+1	+1
Protein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Boiling test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Occult blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sugar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ketone body	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-
Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urobilinogen	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Specific gravity	1.025	1.042	1.015	1.023	1.044	1.043	1.030	1.021	1.013	1.015	1.034	1.010	1.026	1.015	1.011	1.018
													1.010	1.033	1.050	1.050
																1.022
																1.050
																1.039

回復している像がみられた。しかし、CEZ 400 mg/kg/day 雌群では、近位尿管上皮細胞に軽度な変性・壊死が残存していた。

以上 7 日間連続投与試験の結果を、腎障害の強さについてその回復性を含めて、一般症状、血液・尿の一般および生化学所見、機能検査、肉眼的ならびに組織学的な病理所見等の強弱により程度をつけて判定すると、雄では CEZ>CMD>CET、雌では CEZ>CMD>CET となった。

なお、途中死亡例の死因については、詳細は明らかではないが、組織学的に腎障害による尿毒症と出血性浮腫性腸炎の併発のため食欲不振に陥り、体重減少、全身衰弱をきたしたものと推察される。

骨髓の塗抹標本については、7 日間連続投与後に解剖した動物で、雄の CMD 400 mg/kg/day 群の 1 例および CEZ 200, 400 mg/kg/day 群の各 1 例の M/E ratio が上昇していたが、他の動物には異常を認めなかった。(Table 39~42)

6) 溶血性試験 (Table 43)

CMD の 2.5% および 5.0% のいずれの濃度においても、溶血は全くおこらなかった。

考 察

Cephalosporin 系 3 薬剤の家兎における単回投与試験の結果、今回の実験条件下では、一般症状の異常はいずれの薬剤投与群においても認められなかった。文献的には、Cefamandole nafate (以下 CMT と略す) 2,000 mg/kg を 8 分間で家兎に静脈内投与後ケイレン発作をおこして 1/4 例が死亡した報告があり⁹⁾、また CEZ には中枢作用のあることが言われており⁸⁾、人に CEZ を投与した際に、中枢作用に起因するケイレン発作が生じたとの報告もある^{9,10)}。今回の実験では、CMT の急速静注実験時に比して、167 mg/min. という比較的緩徐な投与速度で注入したためか、異常な臨床症状が発現し難かったものと考えられる。したがって、文献に報告されている CMT 投与によって発現した症状あるいは CEZ の中枢作用は、静脈内投与の速度差が一つの誘因となっているかもしれない。

CMD および CEZ 投与群では、単回、7 日間連続投与試験ともに投与量に相関した摂餌料と体重の減少がみられた。これらの現象は、一般的には抗生物質の投与によって腸内細菌叢に変化をきたし、そのために盲腸が膨満すること¹¹⁻¹⁷⁾ による二次的な食欲不振が原因で体重減少をひきおこすと考えられており、解剖の結果、CET に比して CMD, CEZ 両投与群では盲腸の膨満がより強く認められたことによって肉眼的な裏付けがなされ、

Table 25 Urinalysis at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D				C E T		C E Z			
		—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.		1	2	5	6 ^{a)}	9	10	13	14	17	18 ^{a)}	21	22
pH		9	8	8		8	8	8	6	9		7	8
Protein	Paper test	+1	+1	+1		±	±	±	±	+3		—	±
	Bolling test	—	—	—		+1	—	—	—	—		—	±
Occult blood		—	—	—		—	—	—	—	—		—	—
Sugar		—	—	—		—	—	—	—	—		—	—
Ketone body		—	—	—		—	—	—	—	—		—	—
Bilirubin		—	—	—		—	—	—	—	—		—	—
Urobilinogen		1	4	1		1	1	1	1	1		1	1
Specific gravity		1.030	1.045	1.025		1.038	1.032	1.021	1.038	1.042		1.015	1.037

a) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

Table 26 PSP retention¹⁾ in plasma of male rabbits given CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D		C E T		C E Z	
		—		400		400		400	
Rabbit No.		1	2	5	6	13	14	17	18
Before medication		288	240	306	360	272	270	357	313
After 5th day medication		285	225	337	418	269	265	202	260
3 weeks after cessation of medication		283	250	a)	323	273	195	b)	c)

1) Plasma concentration ($\mu\text{g/dl}$) in peripheral blood at 15 min. after injection of PSP 0.6 mg/kg.

a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.

b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

Table 27 Summary of autopsy findings in male rabbits at 48 hours after 7 days medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D				C E T		C E Z			
		—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.		3	4	7	8	11	12	15	16	19	20	22	24
Liver													
Small abscess (Coccidiosis)		—	+1	—	—	+1	—	—	—	+1	—	—	—
Kidney													
Edema		—	—	—	—	±	—	—	—	—	+1	+1	—
Greyish-white on surface		—	—	+1	—	+1	—	—	±	—	+2	+1	+1
Fine granular surface		—	—	—	+1	—	—	—	—	+2	—	±	—
Anemia in medulla		—	—	—	±	—	—	±	—	—	—	—	—
Congestion in medulla		—	—	—	—	±	±	—	—	±	±	±	±
Stomach													
Mucosal hemorrhage (Pin-head size)		—	—	—	—	—	—	—	—	+1	—	+1	—
Gallbladder													
Enlargement		—	—	—	—	—	±	—	+1	+1	—	+1	+2
Cecum													
Dilatation		—	—	+1	±	+1	±	+1	±	+1	±	+1	±

Normal: —, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

Table 28 Summary of autopsy findings in male rabbits at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D		C E T	C E Z	
	—		400	200	400	400	200
Rabbit No.	1	2	5 ^{a)} 6	9 10	13 14	17 ^{b)} 18 ^{c)}	21 23
Liver							
Small abscess (Coccidiosis)	—	—	— —	+1 —	— —	— —	— —
Kidney							
Edema	—	—	— —	— —	— —	— ±	— —
Greyish-white on surface	—	—	— ±	— —	— —	— —	± —
Anemia in medulla	—	—	— ±	— —	— —	— —	— —
Congestion in medulla	—	—	— —	— —	— —	— —	— ±
Stomach							
Mucosal hemorrhage (Pin-head size)	—	—	± —	— —	— —		— ±
Small intestine							
Hemorrhage in mucosa	—	—	+1 —	— —	— —		— —
Gallbladder							
Enlargement	—	—	—	— —	— —	+2	+1 +2
Cecum							
Dilatation	—	—	+1	± —	— —		— ±

Normal: —, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

- a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.
b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.
c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

Table 29 Summary of autopsy findings in female rabbits at 48 hours after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D		C E T	C E Z	
	—		400	200	400	400	200
Rabbit No.	3	4	7 8	11 12	15 16	19 20	23 24
Liver							
Small abscess (Coccidiosis)	±	—	± —	— ±	— —	± —	± ±
Kidney							
Edema	—	—	± —	— —	— ±	— —	— —
Greyish-white on surface	—	—	— —	— —	— —	+2 —	— —
Fine granular surface	—	—	— —	— —	— —	+1 —	— —
Anemia in medulla	—	—	— —	— —	— —	— +1	— —
Congestion in medulla	+1	—	— —	— —	— —	— —	— —
Colon							
Congestion	—	—	— —	— ±	± ±	— ±	— ±
Gallbladder							
Enlargement	—	—	— —	± —	— —	+2 —	— +1
Cecum							
Dilatation	—	—	+1 +1	— —	± —	+3 +1	— ±
Serosal hemorrhage (Pin-head size)	—	—	± —	— —	— —	— —	— —
Bladder							
Edema	—	—	— —	— —	± —	+1 ±	+1 —

Normal: —, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

Table 30 Summary of autopsy findings in female rabbits at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D		C E T	C E Z	
	-		400	200	400	400	200
Rabbit No.	1	2	5 6 ^{a)}	9 10	13 14	17 18 ^{a)}	21 22
Liver							
Small abscess (Coccidiosis)	-	-	- -	+1 -	- +1	+1 -	- -
Kidney							
Edema	-	-	- +1	± -	- -	- +1	- -
Greyish-white on surface	-	-	-	- -	- -	±	± -
Fine granular surface	-	-	-	- -	- -	+1	± -
Congestion in medulla	-	-	-	- -	- ±	-	- +1
Stomach							
Mucosal hemorrhage (Pin-head size)	-	-	- +1	- -	- -	-	- -
Gallbladder							
Enlargement	-	-	- ±	- -	± -	- +1	- -
Cecum							
Dilatation	-	-	+1 +1	- -	- +1	- +1	- ±
Diarrhea	-	-	- -	- -	- -	- +1	- -

Normal: -, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

a) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

一方 *in vitro* の殺菌効果の比較にても、CET に比べ CMD, CEZ の方が強力であり¹⁾、腸内細菌叢に対する効果からも盲腸への影響が推測できる。尿 pH の酸性化は、上述のとおり、抗生物質投与による盲腸への作用の結果、食欲減退をきたし、絶食に近い状態に陥ったために生じた尿の変化であることが、正常家兎を絶食にすることにより尿の pH が酸性となることでも明らかであり薬剤の直接作用ではないと思われる。

雄の単回投与試験の CMD および CEZ 高用量投与群では、試験終了時末梢血液中の白血球分画において、好中球とリンパ球の比率が逆転したが、血液化学の BUN や creatinine の増加および尿中の無機磷の増加等の所見を考慮すれば、これら高用量の薬物投与が惹起した尿毒症の所見の表現とも思われる。一方、林¹⁸⁾、倉本^{19,20)} は、犬やラットの CET 亜急性あるいは慢性毒性試験において、軽度の貧血を報告しており、犬やラットを用いた二木らの¹²⁾、CEZ と構造上酷似の Ceftezole sodium (以下 CTZ と略す)の亜急性毒性試験においても、同様な貧血をみている。しかし、今回の CMD 7 日間連続投与試験においては、貧血をうかがわせる所見はみられなかった。これは CMD 投与期間が短期であったことも考えられるが、CMD の溶血性試験の結果、家兎赤血球に対して溶血性が陰性であったこと、および骨髓に対しても影響がないことから、赤血球に対して極めて毒性が少ないものと推察される。

CEZ 投与群に特異的な変化として、S-GPT 酵素活性の著明な低下が、投与回数に関係なく、雌・雄ともに認

められた。渡辺ら¹¹⁾ は犬に CEZ を、二木¹²⁾ らはラットに CTZ をそれぞれ投与した際に同様な現象を認めているが、この酵素活性の低下の mechanism については言及しておらず、二木ら¹²⁾ は休薬によって酵素活性が比較的速やかに回復することや、肝に形態学的異常所見を認めないこと等から、肝組織での S-GPT 酵素の産生が抑制されたと考えるよりは、この酵素の血管外への遊出あるいは尿中への排泄促進による低下のためであろうと推論している。一方、GRIFFING ら²¹⁾ は、この現象を電子顕微鏡学的に検索し、肝細胞の r-ER やリソソームに微細構造上の変化を見出し、この酵素の肝細胞膜からの放出が CEZ によりリソソーム内に sequester されるためであろうと説明している。これに対し、松原²²⁾ は、CEZ を大量投与したラットの血漿中および肝組織中の数種の酵素活性の変動を詳細に検討した結果、S-GPT 活性だけを特異的に低下させる原因は、肝 cytosol の GPT に対する CEZ の活性阻害によることを明らかにした。

CMD および CEZ 投与による血液・尿検査の結果からも予想されたとおり、病理組織学的な所見は主として腎に集中し、中でも皮質の近位尿細管上皮細胞に変性・壊死が特徴的であった。今回の試験において腎毒性が、CEZ 投与群に最も著明であり、次いで CMD 投与群にも軽度認められたが、それに反して CET 投与群ではほとんど腎障害はみられなかった。この様な所見は、CMD の Nafate 型である CMT を使用した家兎における腎毒性比較試験の成績⁹⁾ でも明らかにされている。

Table 31 Absolute and relative organ weight on autopsy at 48 hours after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		CMD				CET			CEZ			
		3	4	7	8	11	12	15	16	400	19	20	22	24
Rabbit No.		2.91 0.100	3.01 0.100	2.03 0.100	2.59 0.100	2.55 0.100	2.65 0.100	2.88 0.100	2.89 0.100	2.35 0.100	2.35 0.100	2.60 0.100	1.99 0.100	2.95 0.100
Body weight (kg)		7.90 0.271	8.22 0.273	5.87 0.289	5.65 0.218	6.76 0.265	5.91 0.223	6.77 0.235	6.21 0.215	5.88 0.250	5.91 0.227	4.63 0.233	7.06 0.239	
Heart (g)		12.51 0.430	9.49 0.315	7.71 0.380	7.73 0.298	14.69 0.576	9.37 0.354	10.28 0.357	7.89 0.273	9.11 0.388	8.94 0.344	7.81 0.392	12.31 0.417	
Lung (g)		105.38 3.621	121.46 4.035	70.16 3.456	55.67 2.149	108.45 4.253	72.75 2.745	94.82 3.292	117.00 4.048	75.71 3.222	93.28 3.588	62.02 3.117	133.33 4.520	
Spleen (g)		1.49 0.051	1.63 0.054	1.42 0.070	1.28 0.049	4.05 0.159	1.43 0.054	2.16 0.075	0.85 0.029	1.53 0.065	1.68 0.065	1.20 0.060	1.85 0.063	
Kidney (g)	Left	9.16 0.315	8.94 0.297	9.76 0.481	7.83 0.302	10.96 0.430	7.49 0.283	8.53 0.296	10.67 0.369	8.15 0.347	7.79 0.300	10.75 0.540	9.20 0.312	
	Right	9.56 0.329	9.73 0.323	9.92 0.489	7.93 0.306	10.94 0.429	6.93 0.262	8.00 0.278	9.21 0.319	7.45 0.317	7.77 0.299	9.69 0.487	9.44 0.320	
Adrenal (mg)		230 7.9	240 8.0	500 24.6	170 6.6	330 12.9	270 10.2	250 8.7	260 9.0	250 10.6	330 12.7	320 16.1	290 9.8	
Thyroid (mg)		171 5.9	190 6.3	130 6.4	225 8.7	172 6.7	111 4.2	181 6.3	173 6.0	177 7.5	183 7.0	167 8.4	207 7.0	
Thymus (g)		8.33 0.286	8.71 0.289	1.84 0.091	2.73 0.105	7.83 0.307	6.50 0.245	4.49 0.156	6.82 0.236	2.65 0.113	3.86 0.148	1.06 0.053	8.06 0.273	
Testis (g)		3.76 0.129	2.16 0.072	2.74 0.135	2.28 0.088	2.25 0.088	3.79 0.143	2.40 0.083	3.65 0.126	2.60 0.111	2.45 0.094	3.49 0.175	3.80 0.129	
Prostate & seminal vesicle (g)		1.06 0.036	0.59 0.020	0.52 0.026	0.40 0.015	0.44 0.017	1.08 0.041	0.58 0.020	1.22 0.042	1.21 0.051	0.48 0.018	0.74 0.037	0.47 0.016	
Bladder (g)		4.20 0.144	2.21 0.073	1.75 0.086	1.79 0.069	2.08 0.082	3.23 0.122	1.91 0.066	2.56 0.089	2.43 0.103	1.74 0.067	1.38 0.069	1.77 0.060	

Upper line: Absolute organ weight, Lower line: Relative organ weight

Table 32 Absolute and relative organ weight on autopsy at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		CMD						CET		CEZ			
				400		200				400		400		200	
		1	2	5 ^a)	6	9	10	13	14	17 ^b)	18 ^c)	21	23		
Rabbit No.		3.17	3.48	1.53	2.41	3.15	2.99	3.32	3.09	2.04	1.73	3.12	3.09		
Body weight (kg)		0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100		
Heart (g)		7.51	8.66	4.08	5.18	7.47	6.52	7.13	7.72	15.14	6.33	6.40	6.51		
		0.237	0.249	0.267	0.215	0.237	0.218	0.215	0.250	0.742	0.366	0.205	0.211		
Lung (g)		10.23	11.56	11.44	9.49	13.35	8.63	10.58	10.60	21.23	10.60	13.60	13.11		
		0.323	0.332	0.748	0.394	0.424	0.289	0.319	0.343	1.041	0.613	0.436	0.424		
Liver (g)		91.67	100.15	53.97	65.87	113.73	76.82	103.70	73.50	78.71	67.85	128.53	94.76		
		2.892	2.878	3.527	2.733	3.610	2.569	3.123	2.379	3.858	3.922	4.120	3.067		
Spleen (g)		1.91	2.12	0.66	1.73	1.71	1.70	1.82	2.20	1.18	1.20	1.74	1.65		
		0.060	0.061	0.043	0.072	0.054	0.057	0.055	0.071	0.058	0.069	0.056	0.053		
Kidney (g)	Left	8.24	10.80	6.13	6.88	10.41	7.22	9.98	9.25	8.20	7.35	9.36	8.32		
	Right	8.35	10.67	6.58	6.78	10.86	7.14	9.92	0.78	8.49	7.25	9.51	7.42		
		0.263	0.307	0.430	0.281	0.345	0.239	0.299	0.284	0.416	0.419	0.305	0.240		
Adrenal (mg)		270	210	590	440	290	220	430	470	450	500	320	320		
		8.5	6.0	38.6	18.3	9.2	7.4	13.0	15.2	2.2	2.9	10.3	10.4		
Thyroid (mg)		245	378	240	190	195	164	233	224	200	210	234	192		
		7.7	10.9	15.7	7.9	6.2	5.5	7.0	7.2	1.0	1.2	7.5	6.2		
Thymus (g)		8.15	7.91	—	2.21	5.75	6.81	6.27	6.72	—	1.33	6.69	7.90		
		0.257	0.227	—	0.092	0.183	0.228	0.189	0.217	—	0.077	0.214	0.256		
Testis (g)		4.82	5.15	2.26	2.17	3.83	3.47	5.12	4.56	—	2.74	3.83	2.93		
		0.152	0.148	0.148	0.090	0.122	0.116	0.154	0.148	—	0.158	0.123	0.095		
Prostate & seminal vesicle (g)		1.17	0.84	1.16	0.51	0.75	0.61	0.70	0.49	—	0.81	0.57	0.40		
		0.037	0.024	0.076	0.021	0.024	0.020	0.021	0.016	—	0.047	0.018	0.013		
Bladder (g)		3.92	4.17	1.62	1.59	3.48	2.21	2.56	2.35	—	2.50	2.24	2.30		
		0.124	0.120	0.106	0.066	0.110	0.074	0.077	0.076	—	0.145	0.072	0.074		

a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.
b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.
c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

Upper line: Absolute organ weight, Lower line: Relative organ weight

Table 33 Absolute and relative organ weight on autopsy at 48 hours after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)			CMD			CET			CEZ		
	3	4	—	7	8	400	11	12	15	16	400	200
Rabbit No.	2.68	2.67		2.25	2.21		2.41	2.45	2.77	2.50	2.23	2.43
Body weight (kg)	0.100	0.100		0.100	0.100		0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Heart (g)	6.48	6.35		5.16	4.76		6.21	6.00	7.59	6.73	4.74	5.47
	0.242	0.238		0.229	0.215		0.258	0.245	0.274	0.269	0.213	0.225
Lung (g)	10.13	9.51		7.64	7.21		8.06	8.34	11.88	9.02	7.78	8.47
	0.378	0.356		0.340	0.326		0.334	0.340	0.429	0.361	0.349	0.349
Liver (g)	68.80	85.38		57.99	60.02		103.33	97.89	84.71	87.44	54.82	66.82
	2.567	3.198		2.577	2.716		4.288	3.992	3.058	3.498	2.458	2.750
Spleen (g)	2.21	1.59		1.05	1.67		1.99	1.78	1.94	1.17	1.87	1.47
	0.082	0.060		0.047	0.076		0.083	0.073	0.070	0.047	0.084	0.060
Kidney (g)	6.81	7.52		7.86	7.10		6.62	6.69	8.44	8.89	6.06	7.22
	0.254	0.282		0.349	0.321		0.275	0.273	0.305	0.356	0.272	0.297
Right	6.85	7.45		7.52	6.87		6.67	6.56	8.05	8.67	5.93	7.11
	0.256	0.279		0.334	0.311		0.277	0.268	0.291	0.347	0.266	0.293
Adrenal (mg)	290	210		190	230		200	160	200	560	240	250
	10.8	7.9		8.4	10.4		8.3	6.5	7.2	22.4	10.8	10.3
Thyroid (mg)	255	480		234	120		215	163	224	176	124	137
	9.5	18.0		10.4	5.4		8.9	6.7	8.1	7.0	5.6	5.6
Thymus (g)	4.89	4.65		2.86	2.41		4.48	2.73	3.11	3.13	2.96	4.59
	0.182	0.174		0.127	0.109		0.186	0.111	0.112	0.125	0.133	0.189
Ovary (mg)	390	750		160	170		330	240	340	270	150	280
	14.6	28.1		7.1	7.7		13.7	9.8	12.3	10.8	6.7	11.5
Uterus (g)	9.60	8.95		1.00	0.83		3.99	4.95	8.32	4.13	1.61	0.66
	0.358	0.335		0.044	0.038		0.166	0.202	0.300	0.165	0.072	0.027
Bladder (g)	2.85	2.39		1.65	1.44		1.35	1.51	2.17	1.43	1.54	1.50
	0.106	0.090		0.073	0.065		0.056	0.062	0.078	0.057	0.069	0.062

Table 34 Absolute and relative organ weight on autopsy at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)			C M D					C E T			C E Z			
	1	2	—	400	5	6a)	9	10	13	14	17	400	18a)	21	200
Rabbit No.	3.28	3.03		2.98	1.80		3.16	2.94	3.57	3.41	2.85	2.03		3.16	2.80
Body weight (kg)	0.100	0.100		0.100	0.100		0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100		0.100	0.100
Heart (g)	8.21	7.10		7.87	12.06		7.75	7.59	8.89	7.57	6.10			6.74	5.87
	0.250	0.234		0.264	0.670		0.245	0.258	0.249	0.222	0.214			0.213	0.210
Lung (g)	10.31	10.62		14.78	13.04		9.57	10.22	11.16	9.92	11.18			8.99	9.71
	0.314	0.350		0.496	0.724		0.303	0.348	0.313	0.291	0.392			0.284	0.347
Liver (g)	97.00	86.85		144.90	96.77		115.79	82.80	123.16	86.75	84.48	61.37		82.52	104.37
	2.957	2.866		4.862	5.376		3.664	2.816	3.450	2.544	2.964	3.023		2.611	3.728
Spleen (g)	2.31	2.36		1.82	0.63		2.00	1.47	5.16	2.47	2.48	0.85		1.87	1.63
	0.070	0.078		0.061	0.035		0.063	0.050	0.145	0.072	0.087	0.042		0.059	0.058
Kidney (g)	Left	7.29	7.48	8.96	8.25		9.70	7.36	9.08	9.25	7.76	8.91		7.81	8.16
	Right	0.222	0.247	0.301	0.458		0.307	0.250	0.254	0.271	0.272	0.439		0.247	0.291
	7.47	7.48		9.39	7.97		9.77	7.22	9.31	9.33	7.23	9.23		8.63	8.02
	0.228	0.247		0.315	0.443		0.309	0.246	0.261	0.274	0.254	0.455		0.273	0.286
Adrenal (mg)	250	440		500	160		350	180	330	330	200	710		320	230
	7.6	14.5		16.8	8.9		11.1	6.1	9.2	9.7	7.0	35.0		10.1	8.2
Thyroid (mg)	187	216		216	220		212	127	296	255	146			283	281
	5.7	7.1		7.2	12.2		6.7	4.3	8.3	7.5	5.1			9.0	10.0
Thymus (g)	6.27	4.81		4.56	—		4.85	5.58	8.78	6.13	3.59			6.95	5.26
	0.191	0.159		0.153	—		0.153	0.190	0.246	0.180	0.126			0.220	0.188
Ovary (mg)	530	220		360	—		300	410	340	430	470			270	290
	16.2	7.3		12.1	—		9.5	13.9	9.5	12.6	16.5			8.5	10.4
Uterus (g)	6.42	2.72		6.00	—		4.17	5.44	5.05	6.00	4.65			3.79	1.61
	0.196	0.090		0.201	—		0.132	0.185	0.141	0.176	0.163			0.120	0.058
Bladder (g)	3.00	2.70		2.86	2.26		1.54	2.18	2.87	2.28	1.76			1.60	1.57
	0.091	0.089		0.096	0.126		0.049	0.074	0.080	0.067	0.062			0.051	0.056

Upper line: Absolute organ weight, Lower line: Relative organ weight

a) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

Table 35 Summary of histopathological findings in the liver of male rabbits at 48 hours after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D		C E T	C E Z						
	—		400	200	400	400	200					
Rabbit No.	3	4	7	8	11	12	15	16	19	20	22	24
Kidney												
Dilatation of proximal tubules	—	—	—	—	±	±	—	—	+1	—	—	—
Cast in the distal tubules	—	—	±	—	—	±	±	—	±	±	±	±
Cortical tubular degeneration & necrosis	—	—	—	+1	—	—	—	—	+2	+1	+1	+1
Calcification of proximal tubules	—	—	—	—	—	—	—	—	+1	±	±	—
Dilatation of BOWMAN's space	—	—	—	—	—	—	—	—	+1	—	—	—
Multifocal cell infiltrations in interstitial area	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+1	+2	+2
Liver cell												
Atrophy in central zone	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Swelling in intermediary zone	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—
Single cell necrosis in periportal zone	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	±	—
Focal necrosis	—	—	±	—	±	—	—	—	±	—	—	—
Sinusoids and central veins												
Dilatation of sinusoids and central veins with congestion	—	—	±	—	—	—	—	—	±	—	±	—
Proliferation of KUPFFER cells	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Eosinophilic polynucleated cell infiltration into sinusoids	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	±	—
GLISSON's sheath												
Congestion of portal veins	—	—	±	±	—	—	—	—	±	—	±	—
Round cell infiltration around bile ducts	—	—	—	±	±	—	±	—	—	—	—	—
Proliferation of fibrocytes	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—

Normal: —, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe +3

Table 36 Summary of histopathological findings in the liver of male rabbits at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D		C E T		C E Z					
	—		400	200	400	400	200					
Rabbit No.	1	2	5 ^{a)}	6	9	10	13	14	17 ^{b)}	18 ^{c)}	21	23
Kidney												
Dilatation of proximal tubules	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Cast in the distal tubules	—	—	+1	±	—	—	—	—	±	+1	±	—
Cortical tubular degeneration & necrosis	—	—	+1	±	—	—	—	—	+1	—	±	—
Calcification of proximal tubules	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dilatation of BOWMAN's space	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Multifocal cell infiltrations in interstitial area	—	—	—	±	—	—	—	±	+1	—	—	—
Liver cell												
Atrophy in central zone	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
Swelling in central zone	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
Swelling in intermediary zone	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Single cell necrosis in periportal zone	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
Focal necrosis	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	±
Mitosis	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Giant cell formation	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
Sinusoids and central veins												
Dilatation of sinusoids and central veins with congestion	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
Proliferation of KUPFFER cells	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
Eosinophilic polynucleated cell infiltration into sinusoids	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Round cell infiltration into sinusoids	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	±
GLISSON's sheath												
Round cell infiltration around bile ducts	—	—	—	±	—	±	—	+1	—	—	—	±
Proliferation of fibrocytes	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—

Normal: —, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

- a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.
- b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.
- c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

Table 37 Summary of histopathological findings in the kidney & liver of female rabbits at 48 hours after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D		C E T		C E Z					
	—		400	200	400	400	200					
Rabbit No.	3	4	7	8	11	12	15	16	19	20	23	24
Kidney												
Dilatation of proximal tubules	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	—
Cortical tubular degeneration & necrosis	—	—	±	±	—	—	—	—	+1	—	±	±
Calcification of proximal tubules	—	—	±	±	—	—	—	—	+1	—	—	—
Dilatation of BOWMAN's space	—	—	—	—	±	—	—	—	—	±	±	—
Multifocal cell infiltrations in Interstitial area	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	+1
Liver												
Liver cell												
Atrophy in central zone	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Swelling in intermediary zone	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Single cell necrosis in periportal zone	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—
Focal necrosis	—	—	—	±	—	—	—	—	±	—	—	—
Sinusoids and central veins												
Dilatation of sinusoids and central veins with congestion	—	—	±	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Proliferation of KUPFFER cells	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GLISSON's sheath												
Congestion of portal veins	—	—	±	—	—	—	±	—	±	—	—	—
Round cell infiltration around bile ducts	—	—	—	+1	—	±	±	—	±	—	±	±
Proliferation of fibrocytes	—	—	—	±	—	±	—	—	—	—	—	—
Proliferation of small bile ducts	—	—	—	±	—	—	—	—	±	—	—	±

Normal: —, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

Table 38 Summary of histopathological findings in the kidney & liver of female rabbits at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ

Compounds (mg/kg/day)	Control (Saline)		C M D		C E T		C E Z					
	—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.	1	2	5	6 ^{a)}	9	10	13	14	17	18 ^{a)}	21	22
Kidney												
Dilatation of proximal tubules	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
Cortical tubular degeneration & necrosis	—	—	±	+1	—	—	—	—	+1	+2	±	±
Calcification of proximal tubules	—	—	—	±	—	—	—	—	±	+1	—	—
Multifocal cell infiltrations in interstitial area	—	—	—	±	—	—	±	—	—	—	—	—
Congestion & hemorrhage in medulla	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±
Liver												
Liver cell												
Focal necrosis	—	—	Focal	—	—	—	±	—	—	—	—	—
Sinusoids												
Round cell infiltration into sinusoids	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—
GLISSON's sheath												
Round cell infiltration around bile ducts	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—

Normal: —, Very mild: ±, Mild: +1, Moderate: +2, Severe: +3

a) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

文献によると、化学構造上 β -lactam 環を有する Cephalosporin 系抗生物質は、非常に稀ではあるが糸球体腎炎に特有の免疫原性の副作用すなわち糸球体腎炎をひきおこす性格をもつと報告されており¹³⁾、腎疾患を伴う患者や特異体質の患者に対する Cephalosporin 系および penicillin 系抗生物質投与に際しては、細心の注意が必要であると言われている。しかしながら、今回の実験に

供した CMD や CEZ は組織学的に糸球体には全く変化をみなかったことから、家兎における免疫原性の影響は少ないと判断できる。そこで、CMD や CEZ 投与によって腎障害が近位尿管上皮細胞に集中した mechanism について考えてみると、一般に薬剤投与による臓器障害特異性が腎に認められるのは、腎血流量・酸素消費量が相対重量に比して極めて大であること、腎が主たる

Table 39 Differential bone marrow counts at 24 hours after 7 days-medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D				C E T		C E Z			
		—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.		3	4	7	8	11	12	15	16	19	20	22	24
M/E ratio		0.78	1.74	7.67	1.77	1.36	1.37	0.91	0.50	8.96	1.80	3.23	0.55
Myelocytic series	Myeloblast (%)	0.9	1.2	0.8	0.2	2.6	0.4	0.8	0.6	3.6	2.8	3.2	1.6
	Promyelocyte (%)	2.5	3.4	7.8	1.2	3.4	3.4	0.8	0.6	6.6	3.8	4.0	2.4
	Myelocyte (%)	6.7	5.6	10.0	6.4	3.6	5.0	3.8	5.4	11.2	6.8	4.8	6.4
	Metamyelocyte (%)	9.4	5.2	33.0	10.4	6.0	9.4	8.0	6.6	24.8	13.0	22.8	10.6
	Mature												
	Neutrophil (%)	21.8	45.4	22.4	35.0	40.0	34.6	32.2	19.2	41.6	33.8	33.4	12.4
	Eosinophil (%)	0	0.2	0.4	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0.2
	Basophil (%)	0.3	0.6	0.8	0.6	0.6	0	0	0.2	0	0.4	0.8	0
Erythro-cytic series	Proerythroblast (%)	1.9	0.8	0	0.4	3.0	2.0	5.2	6.2	0.4	4.8	1.0	8.6
	Erythroblast (%)	51.6	34.0	9.8	30.0	37.8	36.0	45.0	58.8	9.4	28.4	20.4	52.4
	Normoblast (%)	0.1	0.6	0	0	0.4	0.6	0	0	0	0.4	0	0.2
Lymphocyte (%)		2.9	1.2	12.2	14.8	2.8	8.0	0.8	0.8	1.4	5.0	8.8	3.2
Monocyte (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Plasma cell (%)		0.7	0.4	1.4	0	0.4	0.2	0.2	0.4	0.8	0	0	0.2
Reticulum cell (%)		0	0	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0
Megakaryocyte (%)		0.2	0	0.4	0	0.3	0.2	0.2	0	0.2	0	0	0.2
Mast cell (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mitotic cell (%)		1.0	1.4	1.0	1.0	0.8	0.2	2.6	0.8	0	0.8	0.6	1.6
Unidentified (%)		0	0	0	0	0	0	0.4	0.4	0	0	0	0
Total count		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Table 40 Differential bone marrow counts at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in male rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D			C E T		C E Z				
		—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.		1	2	5 ^{a)}	6	9	10	13	14	17 ^{b)}	18 ^{c)}	21	23
M/E ratio		1.78	0.78	0.78		0.68 2.24		1.27 3.82				0.94 1.04	
Myelocytic series	Myeloblast (%)	2.0	2.0	1.2		1.4 1.6		3.6 2.6				1.4 1.8	
	Promyelocyte (%)	3.8	3.2	2.4		3.3 6.6		3.4 3.6				3.8 3.2	
	Myelocyte (%)	3.6	6.0	7.8		2.8 6.8		5.2 4.4				3.6 6.2	
	Metamyelocyte (%)	11.4	12.0	10.8		6.9 10.4		5.4 9.4				8.4 13.6	
	Mature												
	Neutrophil (%)	35.8	13.4	15.2		22.8 34.8		35.4 56.2				25.6 21.2	
	Eosinophil (%)	0.2	0.4	0.4		0.1 0.6		0.4 0.8				0.4 0	
	Basophil (%)	1.4	3.4	0.4		0.1 1.8		0.4 0.2				0.4 0.2	
Erythro-cytic series	Proerythroblast (%)	2.6	1.0	1.2		0.8 1.0		0.6 0.6				2.0 3.2	
	Erythroblast (%)	29.6	50.8	47.8		53.5 26.0		41.6 19.6				44.2 40.8	
	Normoblast (%)	0.6	0.2	0.4		0.3 1.0		0 0				0 0.4	
Lymphocyte (%)		7.4	5.6	40.4		5.0 6.4		3.0 2.0				8.4 9.0	
Monocyte (%)		0	0	0		0 0		0 0				0 0	
Plasma cell (%)		0.8	0.2	1.0		0.6 0.4		0 0				0.4 0	
Reticulum cell (%)		0	0.4	0.2		0.1 0		0 0.2				0.2 0	
Megakaryocyte (%)		0	0.4	0.2		0.3 0.6		0.2 0				0.4 0.2	
Mast cell (%)		0	0	0		0 0		0 0				0 0	
Mitotic cell (%)		0.8	1.0	0.6		0.7 2.0		0.8 0.4				0.8 0.2	
Unidentified (%)		0	0	0		0 0		0 0				0 0	
Total count		1,000	1,000	1,000		1,000 1,000		1,000 1,000				1,000 1,000	

a) A rabbit died on the 8th day after cessation of medication.

b) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

c) A rabbit died on the 6th day after cessation of medication.

Table 41 Differential bone marrow counts at 24 hours after 7 days medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D				C E T		C E Z			
		—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.		3	4	7	8	11	12	15	16	19	20	23	24
M/E : Ratio		1.02	0.71	2.34	1.41	0.91	1.12	2.03	0.64	1.11	0.69	3.12	0.73
Myelocytic series	Myeloblast (%)	0.6	2.0	1.7	2.1	1.2	2.3	1.7	0.2	2.4	1.6	2.4	1.1
	Promyelocyte (%)	2.5	2.3	4.1	5.7	1.6	2.0	3.1	2.5	4.4	1.3	6.7	2.7
	Myelocyte (%)	6.9	5.0	11.1	5.5	5.5	6.1	14.6	4.5	6.4	4.0	19.1	3.6
	Metamyelocyte (%)	8.5	6.1	20.0	13.6	8.5	6.2	11.1	3.9	11.8	8.4	22.2	3.7
	Mature												
	Neutrophil (%)	23.7	21.2	25.8	24.2	27.3	31.9	29.5	24.3	15.4	20.9	13.4	25.6
Erythro-cytic series	Eosinophil (%)	2.7	0.4	0.5	0.4	0.5	0.1	0.2	0.3	0.4	0.1	0.3	0.2
	Basophil (%)	1.0	1.2	0.8	0.9	0.6	0.8	1.0	0.9	1.1	0.3	2.7	1.1
	Proerythroblast (%)	0.9	1.2	0.9	0.9	2.4	1.0	0.9	2.3	0.7	2.7	0.4	3.3
	Erythroblast (%)	43.0	52.0	26.0	35.7	47.0	42.3	28.8	54.4	33.8	50.0	19.8	47.9
	Normoblast (%)	0.9	0.8	0.5	0.6	0.5	0.9	0.4	0.8	3.1	0.6	1.2	0.9
	Lymphocyte (%)	7.6	4.8	5.8	7.7	2.3	3.8	4.1	3.5	16.8	7.5	6.8	7.4
Monocyte (%)		0	0.1	0.5	0.3	0.5	0.2	0.3	0	1.7	0.9	1.5	0.3
Plasma cell (%)		0.5	0.7	0.4	1.0	0.2	0.8	1.3	0.3	0.5	0.3	1.5	0.3
Reticulum cell (%)		0.3	0.4	0.3	0	0.3	0.2	0.7	0.3	0.5	0.4	0.3	0.1
Megakaryocyte (%)		0.3	0.4	0.2	0.3	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.1	0.2	0.1
Mast cell (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mitotic cell (%)		0.6	1.4	1.4	1.1	1.4	1.2	1.8	1.5	0.7	0.9	1.5	1.7
Unidentified (%)		0	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0	0
Total count		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Table 42 Differential bone marrow counts at 3 weeks after cessation of medication of CMD, CET or CEZ in female rabbits

Compounds (mg/kg/day)		Control (Saline)		C M D				C E T		C E Z			
		—		400		200		400		400		200	
Rabbit No.		1	2	5	6 ^{a)}	9	10	13	14	17	18 ^{a)}	21	22
M/E ratio		1.02	0.83	1.50		0.85	2.04	1.39	0.61	1.17		1.10	1.17
Myelocytic series	Myeloblast (%)	1.9	2.3	0.9		1.8	2.2	0.7	1.1	1.5		2.9	1.5
	Promyelocyte (%)	3.5	2.0	3.1		2.1	3.3	2.5	4.1	3.2		3.5	2.3
	Myelocyte (%)	3.3	2.4	13.0		4.1	3.5	5.5	3.3	8.8		5.7	6.0
	Metamyelocyte (%)	6.8	6.2	10.4		10.0	9.5	12.7	4.7	8.3		9.1	8.3
	Mature												
	Neutrophil (%)	28.5	29.4	28.5		22.7	42.5	31.3	18.0	28.0		23.8	30.1
Erythro-cytic series	Eosinophil (%)	0.5	0.3	0.3		0.7	1.4	1.6	1.7	0.1		0.5	0.2
	Basophil (%)	1.2	0.1	0		0.9	0.8	0.4	0.7	0.3		0.9	0.7
	Proerythroblast (%)	1.3	2.9	0		0.7	0.7	0.6	0.5	0		1.5	0.7
	Erythroblast (%)	40.9	45.6	34.9		44.9	28.1	37.3	53.0	41.8		39.9	39.4
	Normoblast (%)	2.6	2.8	2.6		3.9	2.2	1.5	1.4	1.2		0.8	1.9
	Lymphocyte (%)	7.0	3.7	4.7		3.6	3.0	4.1	9.7	3.9		6.8	6.0
Monocyte (%)		0.6	0.6	0.1		0.8	0.3	0.3	0.2	0.5		1.3	0.4
Plasma cell (%)		0.2	0.3	0.4		0.5	0.7	0.2	0	0.4		0.9	0.1
Reticulum cell (%)		0.2	0.1	0.3		0.3	0	0.3	0.4	0.3		0.4	0.2
Megakaryocyte (%)		0.2	0.2	0		0.3	0.1	0.3	0	0.1		0.3	0.4
Mast cell (%)		0	0	0		0	0	0	0	0		0	0
Mitotic cell (%)		1.3	1.1	0.8		2.7	1.7	0.7	1.2	1.5		1.7	1.8
Unidentified (%)		0	0	0		0	0	0	0	0.1		0	0
Total count		1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000

a) A rabbit died on the 5th day after cessation of medication.

Table 43 *In vitro* hemolysis test

	Physiological saline	CMD 1)		1% Saponin solution
		2.5%	5.0%	
Before centrifugation	—	—	—	+++
After centrifugation	—	—	—	++++

1) CMD was dissolved with physiological saline.

— : No hemolysis, +++ : Extensive hemolysis, ++++ : Complete hemolysis

排泄臓器であり、薬剤が一時的に高濃度に腎に集中すること等に原因があると考えられている²⁰⁾。さらに CEZ は近位尿管上皮細胞での active transport によってその大部分が排泄され^{25,26)}、上皮細胞内あるいは尿管腔内に存在する薬剤が直接障害をひきおこすと報告されていること²³⁾、および今回の CMD 投与による腎障害と CEZ を含めた他の Cephalosporin 系抗生物質投与によって観察された家兎における腎障害^{3,4,11,12,27-31)}との間には機能的あるいは形態的な変化の上で質的な差をみなかったこと等から、CMD や CEZ は、これら薬剤の近位尿管上皮細胞への一時的な排泄のための集中による直接作用の結果、特異的な腎障害を上皮細胞に惹起させたものと思われる。

以上の観点から、CMD の腎障害作用は CEZ よりかなり弱いものと考えられたが、CET では、この様な腎毒性に対する感受性の高い家兎においても、今回の実験では腎障害をほとんど認めないことが判った。

謝 辞

本実験にご協力いただいた中野 瞭、森 聖、森山哲郎および河原佳子の諸氏に深謝いたします。

引 用 文 献

- 1) 吉田 正, 元川清司, 亀田康雄, 村上和久, 中野雅夫: Cefamandole の *in vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 27 (S-5): 70~106, 1979
- 2) 松浦真三, 島岡 登, 東山伊佐夫, 三和秀明: Cefamandole の *in vivo* 抗菌作用. *Chemotherapy* 27 (S-5): 107~111, 1979
- 3) ATKINSON, R. M.; J. P. CURRIE, B. DAVIS, D. A. H. PRATT, H. M. SHARPE & E. G. TOMICH: Acute toxicity of cephaloridine, an antibiotic derived from cephalosporin C. *Toxicol. & Appl. Pharmacol.* 8: 398~406, 1966
- 4) WOLD, J. S.; J. S. WELLES, N. V. OWEN, W. R. GIBSON & D. M. MORTON: Toxicologic evaluation of cefamandole nafate in laboratory animals. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S 51~S 59, 1978
- 5) LEVINE, L. R. & E. MCCAIN: Clinical experience with cefamandole for treatment of serious bone and joint infections. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S 119~S 124, 1978
- 6) LEVINE, L. R. & E. MCCAIN: Cefamandole in the treatment of infections due to *Enterobacter* and indole-positive *Proteus*. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S 125~S 132, 1978
- 7) WELLES, J. S.; W. R. GIBSON, P. N. HARRIS, C. C. KEHR, E. C. PIERCE & G. P. KIPLINGER: The toxicity of a formyl ester of cefamandole (Compound 106223). *Toxicology Report No. 1 from the Lilly Toxicol. Lab., Eli Lilly and Co., September, 1973*
- 8) 波多野宗利, ほか: Cefamandole のラットでの亜急性毒性試験. 公表予定
- 9) YOST, R. L.; J. D. LEE & J. P. O'LEARY: Convulsions associated with sodium cefazolin. A case report. *Amer. Surg.* 43: 417~420, 1977
- 10) GARDNER, M. E.; W. L. FRITZ & R. N. HYLAND: Antibiotic-induced seizures. A case attributed to cefazolin. *Drug Intell. & Clin. Pharm.* 12: 268~271, 1978
- 11) 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之: Cefazolin sodium の毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy* 18: 528~543, 1970
- 12) 二木力夫, 塩田尚三, 宇佐美正義, 野口午郎, 杉山 修, 大川広行, 高垣善男: Ceftezole の一般毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy* 24: 671~702, 1976
- 13) BOYD, E. M. & M. J. SELBY: The chronic oral toxicity of bentyl-penicillin. *Antibiotics & Chemotherapy* 12: 249~262, 1962
- 14) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exptl. Med.* 128: 98~110, 1968
- 15) WELLES, J. S.: Cephalosporins and penicillins. (edited by E. H. FLYNN) *Pharmacology and Toxicology of Cephalosporins*. pp 584~608, Academic Press, New York & London, 1972
- 16) WELLES, J. S.; R. O. FROMAN, W. R. GIBSON, N. V. OWEN & R. C. ANDERSON: Toxicology and pharmacology of

- cephalexin in laboratory animals. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1968: 487~496, 1969
- 17) 増田 裕, 鈴木善雄, 小此木 丘: Cephadrine の実験動物に対する毒性試験および胎仔に及ぼす影響について。 *Chemotherapy* 23: 37~68, 1975
- 18) 林 裕造, 松浦 稔, 奈良 博, 今井 清, 針原明弘, 石川路夫, 吉田 正: Sodium cephalothin の Beagle 犬における急性および亜急性毒性試験。 *Jap. J. Antibiot.* 28: 205~230, 1975
- 19) 倉本昌明, 石村泰子, 森本順子, 大久保孝明, 李 雄毅: Sodium cephalothin (CET) 大量投与による毒性について 第1報 急性毒性, 亜急性毒性。 *Jap. J. Antibiot.* 27: 746~765, 1974
- 20) 倉本昌明, 石村泰子, 森本順子, 李 雄毅, 香取恒男, 大久保孝明: Sodium cephalothin (CET) 大量投与による毒性について 第2報 慢性毒性。 *Jap. J. Antibiot.* 28: 195~203, 1975
- 21) WELLES, J. S.; D. W. GRISHAM, J. L. EMMERSON, W. J. GRIFFING & G. F. KIPLINGER: An exploration of the effect of cefazolin on serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) levels in dogs. An electron microscopic study of dog liver cells prior to, during, and after daily cefazolin administration. *Toxicology Report No.5* from the Lilly Toxicol. Lab., Eli Lilly and Co., February, 1973
- 22) 松原尚志, 戸内 明: ラット血中および肝内酵素活性に及ぼす Cefamandole の影響: GPT 活性低下機作の解析。 *Chemotherapy* 27(S-5): 740~748, 1979
- 23) BARZA, M.: The nephrotoxicity of cephalosporins. An overview. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S 60~S 73, 1978
- 24) SCHREINER, G. E. & J. F. MEHER: Toxic nephropathy. *Amer. J. Med.* 38: 409~449, 1965
- 25) TUNE, B. W.: Relationship between the transport and toxicity of cephalosporins in the kidney. *J. Infect. Dis.* 132: 189~194, 1975
- 26) BRODWALL, E. K.; T. BERGAN & O. ORJAVIK: Kidney transport of cefazolin in normal and impaired renal function. *J. Antimicrob. Chemoth.* 3: 585~592, 1977
- 27) 二木力夫, 柿本守夫, 宇佐美正義, 鈴木繁生, 高垣善男: Ceftezole のウサギ腎臓に対する影響, とくに cefazolin との比較検討を中心に。 *Chemotherapy* 24:703~721, 1976
- 28) 土屋院司, 田中紀子, 倉科宏彰, 織田 茂: Cephacetrile と既知セファロスポリンの腎および肝障害作用の比較。 *Chemotherapy* 24: 94~105, 1976
- 29) 上田 泰, 松本文夫, 中村 昇, 斉藤 篤, 野田一雄, 小林千鶴子, 大森雅久: Cefazolin に関する研究。 *Chemotherapy* 18: 564~570, 1979
- 30) SILVERBLATT, F.; W. O. HARRISON & M. TURCK: Nephrotoxicity of cefazolin antibiotics in experimental animals. *J. Infect. Dis.* 128(Suppl.): S 367~S 372, 1973
- 31) BIRKHEAD, H. A.; G. B. BRIGGS & L. Z. SAUNDERS: Toxicology of cefazolin in animals. *J. Infect. Dis.* 128 (Suppl.): S 379~S 381, 1973

COMPARATIVE NEPHROTOXICITY OF CEFAMANDOLE AND OTHER CEPHALOSPORINS IN THE RABBITS

—SINGLE ADMINISTRATION 7 DAYS-MEDICATION AND ITS RECOVERY TEST ———

YOSHIO HARADA, TAKAO OKAMOTO and KUMIKO TOSHIMA

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Nephrotoxicity study of cefamandole sodium (CMD) was conducted in comparison with those of cephalothin sodium (CET) and cefazolin sodium (CEZ) using the rabbits known to be particularly sensitive to the renal toxicity induced by cephalosporins. The toxicities of these compounds were examined by intravenous administration at the doses of 0, 500 or 2,000 mg/kg in single injection and at the doses of 0, 200 or 400 mg/kg/day in 7 days consecutive medication. In the latter, reversibility from the toxicity was also observed for 3 weeks after cessation of the medication.

Single or 7 days consecutive administration of CMD or CEZ induced the dose-related renal injuries; such as, elevation of plasma BUN and creatinine; degeneration, necrosis and calcification of the proximal tubular epithelium of the cortex, dilatation of the distal tubulus and hyaline casts in lumen of the tubulus. However, the renal toxicity by CMD was lower than that by CEZ. On the other hand, nephrotoxicity was not elicited by the administration of CET. Renal tubular alterations almost recovered in the animals received CMD, but reversibility from the nephrotoxicity by CEZ was not completed by 3 weeks after withdrawal of the compound.

Although the injection of CEZ induced hepatic injury, activity of S-GPT characteristically reduced in the animals.