

Cefotaxime の急性毒性ならびに亜急性毒性

森岡 浩・林 昌亮

ヘキストジャパン株式会社 総合開発研究所

新しい cephalosporin 系抗生物質である Cefotaxime のマウス、ラット、ウサギにおける急性毒性ならびに、ラットに1カ月間静脈内投与したときの亜急性毒性について検討した。

6週齢のラット、マウスではその LD₅₀ 値は静脈内投与時最も小さく、以下腹腔内、皮下、経口投与の順に大きかった。幼若動物(生後1週齢のラット、マウス)を用いた皮下投与時の急性毒性は、6週齢の動物の場合に較べやや強く、またウサギにおける静脈内投与時の急性毒性は、ラット、マウスの場合に較べ強くみられた。しかしながら、いずれの投与経路でも、マウス、ラット、ウサギにおいて性差は認められなかった。

Cefotaxime 投与後、投与経路に無関係に既知の cephalosporin 系薬剤の場合と同様の一般症状の変化がみられたにすぎなかった。

亜急性毒性実験では、連続投与しうる最大量である 1,000 mg/kg/day 投与群のほとんどの例で軽度から中等度の盲腸の拡大が認められ、病理組織学的検索においても出血あるいは炎症性の細胞浸潤がみられた。500, 125 mg/kg/day 適用動物の一部にも、軽度ながら同様の変化が認められた。

その他、投与部位の出血および炎症性変化に起因したと思われる軽度の変化が血液検査および病理組織学的検索時に認められた。

新しい cephalosporin 誘導体である Sodium 7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido] cephalosporanate(Cefotaxime: HR 756, CTX) のラット、マウス、ウサギにおける急性毒性ならびにラットに1カ月間連続静脈内投与したときの亜急性毒性について検討した。

I. 実験材料

動物: 実験には、日本クレア(株)より購入した Sprague-Dawley ラット、ICR マウスおよび自家繁殖したコクシジウムフリーの日本白色種ウサギを用い、1週間の予備飼育のち、健康で順調な発育を示した動物を選び実験に供した。また幼若動物における急性毒性では、当研究所で交配して得た Sprague-Dawley ラットおよび ICR マウスを使用した。実験には性差の検討を併せ行なえるよう雌雄の動物を用いた。

すなわち、急性毒性には、一群雌雄各々 10~15 例の生後6週齢のラット(体重、雄 169±15g、雌 137±13g) およびマウス(体重、雄 27.1±1.5g、雌 22.4±1.3g) を用い、また生後1週齢(6~8日齢)のラット(体重、雄 13.1±1.4g、雌 12.5±1.3g) およびマウス(体重、雌雄とも 3~5g) を使用した。ウサギを用いての実験には、一群雌雄各々 4~5 例(3~5カ月齢、体重 2.5~3.5kg) の動物を使用した。

亜急性毒性試験には、生後6週齢、体重、雄 160±5g、雌 139±6g のラットを用い、一群を雌雄それぞれ 15 例

とし、薬物は1カ月間連続静脈内投与した。

動物は予備飼育期間、実験期間を通じて、できる限り外部からの病原体による汚染を防止できるように設計した室温 23±1°C、相対湿度 55±5% の BS 動物室内で飼育した。動物は6週齢のラット、マウスの場合、急性、亜急性実験共にクリーンシート®(日本クレア(株))を床敷としたプラスチック製ケージで、またウサギの場合はアルミ製ケージでいずれも個別に飼育し、固型飼料[ラット、マウス: CA-1(日本クレア(株))、ウサギ: RC-4(オリエンタル酵母(株))]と水道水を自由に与えた。また1週齢のラット、マウスの場合は、ホワイトフレーク®(日本チャールズリバー(株))を床敷としたプラスチック製ケージで母獣と共に同居させ、自由に授乳させた。この時仔獣の数は 10~12 匹とし、出来る限り体重が一定の動物を使用した。なおケージ交換は、いずれの場合も週2回行った。

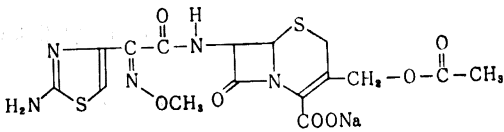
薬物: Cefotaxime は西独 Hoechst 社および仏ルセル社より提供された Fig. 1 に示す化学構造を有する分子量 477.44 の微黄白色の結晶性粉末で、水には易溶である。

Cefotaxime は経口投与の場合は2%濃粉液に懸濁し、非経口投与の場合は生理食塩液に溶解して使用した。

II. 実験方法

急性毒性: 薬物投与後、6週齢のラット、マウスおよ

Fig. 1 Chemical structure of cefotaxime



Sodium 7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]cephalosporanate

びウサギは14日間、1週齢のラット、マウスは7日間にわたり、全身症状の変化ならびに体重の推移を観察し、その間の死亡率より、LD₅₀値をLITCHFIELD-WILCOXON法で算出した。なお死亡例は、できる限りすみやかに、生存例は実験最終日にエーテル麻酔死させ剖検を行ない、肉眼的に主要臓器の異常の有無を検索した。

亜急性毒性：Cefotaximeの高濃度を連続尾静脈内に投与すると、注射局所に炎症性変化を生ずる可能性が、急性毒性試験の結果から推測されたので、予備的検討としてCefotaximeの15%溶液を用い、LD₅₀値の約1/4量にあたる2,000 mg/kg/day (1.33 ml/100 g B. W) および1,000 mg/kg/day (0.69 ml/100 g B. W) をラット尾静脈内に連投した。

その結果、投与1週間をすぎる頃から2,000 mg/kg/dayを投与した約半数例に、尾静脈の広範囲にわたり炎症性変化がみられるようになり、それ以上の投与の持続は困難となり、残りの動物にも軽度ながら同様の変化がみられるようになった。一方、1,000 mg/kg/dayの適用では、投与1週間後では、注射局所における炎症性の変化は軽微であった。

亜急性毒性試験は以上の予備的検討の成績をもととし、最高投与群を1,000 mg/kg/dayとし以下、500, 125 mg/kg/dayの用量で行なった。Cefotaximeの濃度は、いずれの投与群とも15%溶液を用い、投与液量を変えて連投した。対照群には、生理食塩液のみを同様に連投した。

1カ月間の連投終了後、各群雌雄それぞれ15例中5例について、薬物の影響からの回復状態を知るために、さらに2週間飼育観察を行なった。

一般症状の観察は毎日、体重測定は、投与開始1週間は毎日、それ以後は週3回測定した。また飼料摂取量は投与開始1週間は毎日、それ以後は週一度測定し、1日の平均摂取量を算出した。

血液学的検索は、投与開始1カ月目および投与終了2週間目に、また尿検査は、投与開始2週間目、1カ月目および投与終了2週間目に、いずれもわれわれの研究室で通常行なっている方法¹⁾に従って実施した。

各群10匹の動物を薬物投与終了後、また残余の5匹は投与終了2週間後に、軽いPentobarbital sodium麻酔下、ヘパリン加注射筒を用いて心穿刺により全採血を行ない、その後直ちに解剖し、肉眼的に内臓の異常の有無を観察した。主要臓器は秤量後、10%ホルマリン液にて固定し、主として、H & E染色により病理組織学的検索を行なったが、一部の臓器については凍結切片による脂肪染色(Oil red O)およびカルノア固定後、PAS染色を行ない観察した。

心穿刺により採取した血液は、3,000 rpm 15分間の遠心分離により血漿を分離し、この血漿を用いて当研究室の常法¹⁾により、次の生化学的検索を行なった。すなわち血漿ALP活性、血漿トランスアミナーゼ活性(G-OT, GPT)、血漿尿素窒素、血漿総蛋白、血漿アルブミン、血漿総コレステロール、血漿電解質(Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻)を測定した。また血漿尿酸は、Uric Acid-Test Wako[®]により、血中グルコースは、血液検査時に得た新鮮舌下静脈血を用いてGlucose Oxidase法²⁾により、それぞれ測定した。

III. 実験結果

1 急性毒性

ラット、マウス、ウサギの各投与経路におけるLD₅₀値はTable 1, 2, 3に示したとおりである。

ラット、マウスいずれにおいても、そのLD₅₀値は静脈内投与時が最も小さく、腹腔内、皮下、経口投与時の順で大きかったが性差はみられなかった。静脈内投与時のLD₅₀値はラット、マウスに較べウサギでは小さく、また1週齢のラット、マウスでは6週齢の動物に較べ、皮下投与時のLD₅₀値は小さかった。

1) 全身症状の変化

ラット、マウス：6週齢のラットに1回に投与可能な最高量である2,000 mg/kgを筋肉内適用したとき、何らの毒性症状も認められなかったが、静脈内、腹腔内、皮下、経口のいずれの投与経路でも適用後の全身症状の変化は類似していた。すなわち、投与後自発運動の抑制と呼吸の抑制がみられた。経口投与の場合には、非経口投与時に較べ全身症状の変化は軽度であったが、一部のマウスでは下痢が認められた。

非経口的に致死量を適用した6週齢の動物では、投与直後より自発運動の抑制は明らかとなり、次いで体温下降、チアノーゼを呈し、動物は腹臥したままとなり、ついには間代性および強直性痙攣を来したのち、呼吸麻痺により死亡した。投与後、症状の発現とその推移、死の転帰をとるまでの時間は投与経路によって異なり、静脈内適用時では最も早く、動物は2時間以内に死亡し、腹腔内、皮下適用時では、投与後2~7時間の間に死亡

した。経口投与時には、20,000 mg/kg を適用した雄ラットの1例が、投与3時間後に、非経口投与により死亡した動物と同様の症状を示して死亡したのみであった。

いずれの投与経路においても、生存例では、その症状の発現は死亡例と似ていたが、その後の経過は軽度で、投与後4～7時間以内にはすでに回復に向かい、投与翌日には正常に回復していた。

薬物投与後の体重の推移は、経口および筋肉内適用時においては、いずれも薬物投与翌日より順調な体重増加を示した。一方、静脈内、腹腔内、皮下適用動物の場合は、いずれも投与翌日、軽度な体重増加の抑制あるいは体重減少を示したが、その後は順調な体重増加を示した。

剖検時、静脈内投与後2時間以内に死亡した例では、肺臓に軽度のうっ血および胸腺に小出血点が認められた。皮下および腹腔内投与後、呼吸困難をきたし、2～7時間を経過した死亡例では、そのほとんど全例の脳表面に小出血点がみられた。また腹腔内適用動物においては腹水の貯留が認められた。一方、生存例では、経口投与時のラットで軽度の盲腸の拡大が、またラット、マウスともに静脈内、皮下投与時、軽度の炎症性変化が投与部位に認められた。

幼若なラット、マウス(生後1週齢)に本化合物を皮下投与した時、6週齢の動物の場合と同じく、自発運動ならびに呼吸の抑制がみられたが、生存例では30分～1時間以内に正常に回復した。一方、死亡例では、その症

状を持続したまま投与1.5～6時間以内に体温低下、チアノーゼを伴って死亡した。

生存例は、投与翌日より実験最終日まで順調な体重増加を示した。

剖検時、生存例、死亡例ともに Cefotaxime 投与に起因すると考えられる異常所見は全く認められなかった。

ウサギ：静脈内適用後1～2の間は特に全身症状に変化はみられなかったが、その後、250 mg/kg を適用した雄の1例および1,000 mg/kg 以上の適用で死亡した例は、いずれも次第に食欲不振を示し、下痢を伴ない、やがて自発運動を極度に減少し、体重減少をひき続き示したまま衰弱死した。一方、生存例はいずれも、投与3～7日にかけて軽度な自発運動の抑制がみられたが、そのほとんどの例が遅くとも投与7～10日目以後には正常状態に復し、体重もこの時点では、投与前の体重を越えて回復していた。

剖検時、生存例、死亡例ともに主要臓器の異常は観察されなかった。

2 亜急性毒性

1) 一般症状ならびに体重

いずれの薬物投与群でも全実験期間を通じて雌雄ともに毒性症状は全くみられず、死亡例も認められなかった。また Fig. 2 に示したごとく、いずれの Cefotaxime 投与群でも雌雄共対照群と同様に実験期間を通して順調な体重増加がみられた。

2) 飼料摂取量

Tabl 1 Acute toxicity of cefotaxime in mice

Route	Weeks of age	Dosage (mg/kg)	No. died/No. treated		LD ₅₀ (mg/kg)	
			Male	Female	Male	Female
i. v.	6	8,000	2/10	2/10	8,700 (8,130~9,310)	8,350 (7,680~9,090)
		9,000	6/10	9/10		
		10,000	8/10	8/10		
		12,000	10/10	10/10		
i. p.	6	8,000	0/10	1/10	10,000 (9,180~11,110)	11,000 (10,100~11,980)
		10,000	4/10	1/10		
		11,000	7/10	4/10		
		12,000	8/10	9/10		
s. c.	6	10,000	0/10	0/10	14,000 (13,200~14,830)	12,950 (11,880~14,120)
		12,000	0/10	1/10		
		13,000	1/10	7/10		
		15,000	9/10	8/10		
	1	5,000	0/10	2/15	6,300 (5,740~6,910)	6,100 (5,450~6,830)
		6,000	5/10	4/10		
		7,000	9/11	8/10		
		9,000	10/10	10/10		
p. o.	6	10,000	0/10	0/10	20,000<	20,000<
		20,000	0/10	0/10		

LD₅₀ values were calculated by the method of LITCHFIELD and WILCOXON.

Figures in parentheses represent the 95% confidence limits.

Table 2 Acute toxicity of cefotaxime in rats

Route	Weeks of age	Dosage (mg/kg)	No. died/No. treated		LD ₅₀ (mg/kg)	
			Male	Female	Male	Female
i. v.	6	4,000	—	0/10	7,000 (6,250~7,840)	7,000 (4,930~9,940)
		6,000	1/10	4/10		
		7,000	6/10	—		
		8,000	6/10	6/10		
		10,000	10/10	10/10		
i. p.	6	8,000	0/10	0/10	10,200 (9,580~10,860)	10,400 (9,740~11,110)
		10,000	3/10	3/10		
		11,000	5/10	7/10		
		12,000	10/10	9/10		
s. c.	6	15,000	0/10	0/10	18,400 (17,490~19,360)	19,400 (19,130~19,670)
		17,000	1/10	0/10		
		18,000	2/10	1/11		
		19,000	—	0/10		
		20,000	9/10	9/10		
	1	5,000	0/10	0/10	7,200 (6,380~8,460)	7,000~9,000*
		7,000	4/10	3/10		
		9,000	8/10	10/10		
		11,000	10/10	10/10		
		—	—	—		
i. m.	6	500	0/10	0/10	2,000<	2,000<
		1,000	0/10	0/10		
		2,000	0/10	0/10		
p. o.	6	10,000	0/10	0/10	20,000<	20,000<
		20,000	1/10	0/10		

LD₅₀ values were calculated by the method of LITCHFIELD and WILCOXON.

Figures in parentheses represent the 95% confidence limits.

* Not calculated exactly

Table 3 Acute toxicity of cefotaxime in rabbits

Route	Months of age	Dosage (mg/kg)	No. died/No. treated		LD ₅₀ (mg/kg)	
			Male	Female	Male	Female
i. v.	3~5	250	1/4	0/4	1,880 (752~4,700)	2,100 (1,167~3,780)
		500	0/5	0/5		
		1,000	3/5	2/5		
		2,000	2/4	3/4		
		4,000	3/4	2/4		

LD₅₀ values were calculated by the method of LITCHFIELD and WILCOXON.

Figures in parentheses represent the 95% confidence limits.

Fig. 3 に示したごとく、いずれの薬物投与群においても雌雄共実験期間を通じて、対照群と同様の摂餌量を示し、食欲不振は全くみられなかった。

3) 血液検査所見

Table 4 に Cefotaxime 連投 1 カ月後の血液検査所見を示した。1,000 mg/kg/day 投与群の雌雄ラットで、ごく軽度の Ca⁺⁺ 再加時間、プロトロンビン時間の短縮および血小板数の減少がみられた以外、いずれの薬物投与群においても雌雄共に異常所見は認められなかった。

4) 尿検査所見

投与後 2 週間目および 1 カ月目に尿検査を行なった

が、いずれの薬物投与群でも本化合物の投与によると思われる異常所見は全くみられなかった。

1 カ月目の尿検査所見は Table 5 に示した。

5) 血液生化学検査所見

Table 6 に示したごとく、いずれの薬物投与群においても、何ら本化合物によると思われる異常所見は認められず、すべて正常範囲内の値を示していた。

6) 肉眼所見

投与終了後に行なった剖検の結果、高用量群になるほど盲腸の軽度から中等度の拡大が雌雄共に多くみられ、この変化は投与終了 2 週間後に剖検した回復群において

Fig. 2 Body weight change of rats treated with cefotaxime intravenously for 1 month

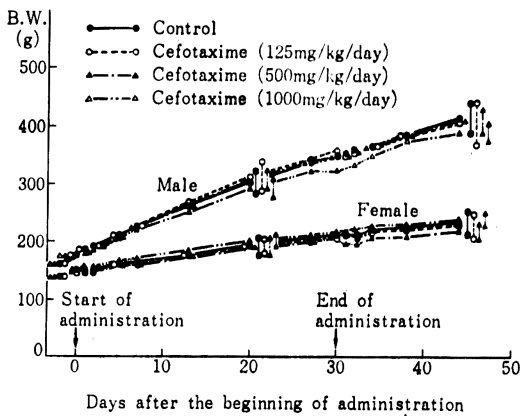
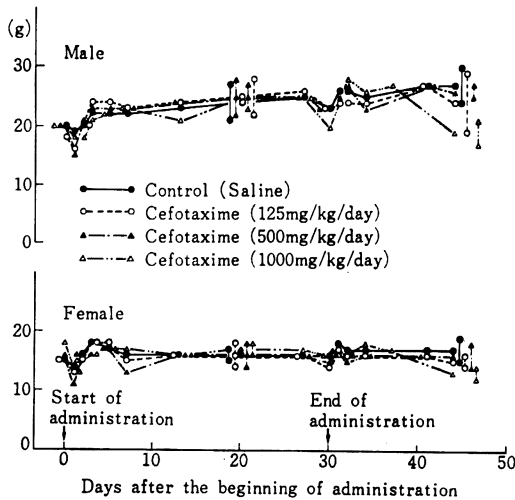


Fig. 3 Daily food consumption of rats treated with cefotaxime intravenously for 1 month



も 1,000 mg/kg/day 投与群の一部の例に軽度ながら認められた。その他、対照群を含めた各実験群で、注射部位に軽度の出血および炎症性変化が認められ、最高投与群ではその程度においてやや強かった。その他の臓器については肉眼的に何らの異常も認められなかった。

7) 臓器重量および体重比

Table 7 に示したごとく、主要臓器重量およびその体重比に Cefotaxime の 1 カ月間連続投与による影響は全くみられなかった。

8) 病理組織学的所見

軽度から中等度の盲腸の拡大を示した例では、盲腸粘膜に軽度の出血および炎症性細胞浸潤がみられた。

注射局所の皮膚真皮および皮下組織内への軽度の出血および炎症性細胞浸潤が、対照群においても認められた

が、薬物投与群、ことに最高用量投与群でやや強くみられた。その他、対照群を含めた各実験群の一部に脾臓における軽度のリンパ球増生像が観察された。

これら盲腸、脾臓および注射局所にみられた組織学的変化は、投与終了 2 週間後に屠殺した回復群においては、いずれも軽減していた。

肝臓および腎臓では S. D. ラットでしばしばみられるような自然発症的な変化が散見されたにすぎなかった。

脳、脊髄、心臓、肺、脳下垂体、甲状腺、胸腺、副腎臓、生殖器(睾丸、前立腺、精囊、子宮、卵巣)、膀胱、骨髄、眼球、大動脈には、いずれの薬物投与群においても何ら異常所見は認められなかった。

肝臓、腎臓、脾臓、盲腸、投与局所の各病理組織学的所見は Table 8 に総括して示した。

IV. 考 察

Cefotaxime の急性毒性はマウス、ラットのいずれでも、ATKINSON²⁾ らおよび渡辺⁴⁾の得ている Cephaloridine, Cefazolin のそれに較べて弱かった。また Cefotaxime 投与後の全身症状の変化は、これらの化合物の急性毒性実験でみられたものと同様の変化であり、投与経路によりその発現とその後の経過は異なるが、致死量では、いずれも自発運動および呼吸の抑制を来とし、腹臥し、体重低下、チアノーゼ、間代性および強直性痙攣を伴って呼吸麻痺により死亡した。しかし致死量以下では上記の症状は長時間持続することはなく、本剤の pharmacokinetic profile とよく一致していた。

また本化合物は臨床的には、小児に対しても、静脈内あるいは筋肉内への適用が考えられるので、われわれは今回、生後まもない(1週齢のマウスおよびラット)個体に皮下投与し急性作用を検討した。これらの1週齢の動物では、その急性毒性は6週齢の動物に較べ強く現われたが、その全身症状の変化は6週齢の動物の場合と類似していた。

ラットにおける静脈内投与時の亜急性毒性試験において、剖検時、盲腸の軽度から中等度の拡大が高用量群になる程しばしば認められ、病理組織学的にも盲腸粘膜に軽度の出血および炎症性の細胞浸潤がみられた。この盲腸の拡大およびそれに伴った病理組織学的変化は、いずれも2週間の回復実験では軽減しており、一過性的変化と考えられる。本化合物と同系列の抗生物質である Cefazolin や Ceftazole などにも同様の変化が報告されており^{4,5)}、恐らくこの原因は、本剤が cephalosporin 系抗生物質の一つであることを考えた時、本剤の抗菌作用に基づく腸内細菌叢の変化がもたらした二次的なものと考えられる。

注射局所に肉眼的にも、また病理組織学的にも出血あ

Table 4 Results of hematological tests in rats treated with cefotaxime intravenously for 1 month

Sex	Male						Female									
	Control (Saline)		125	500	1,000	Control (Saline)	125		500	1,000	Control (Saline)	125		500	1,000	
	10	10	10	10	10		10	10	10	10		10	10	10	10	
No. of rats																
RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	774 \pm 34	798 \pm 57	803 \pm 37	809 \pm 23	806 \pm 42	809 \pm 49	785 \pm 35	774 \pm 20								
Hematocrit (%)	47 \pm 1	46 \pm 1	44 \pm 1	46 \pm 1	45 \pm 1	45 \pm 2	44 \pm 2	45 \pm 1								
Hemoglobin (g/dl)	16.0 \pm 0.5	15.4 \pm 0.3	15.0 \pm 0.7	16.1 \pm 0.4	15.9 \pm 0.3	15.7 \pm 0.6	15.4 \pm 0.4	15.8 \pm 0.5								
Reticulocyte ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	4 \pm 2	4 \pm 2	3 \pm 2	4 \pm 2	3 \pm 1	3 \pm 1	3 \pm 1	4 \pm 2								
Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	86 \pm 17	79 \pm 17	69 \pm 20	56 \pm 23	74 \pm 26	71 \pm 18	75 \pm 15	52 \pm 26								
Plasma recalcification time (sec)	87.0 \pm 27.1	85.4 \pm 19.0	78.0 \pm 21.0	54.0 \pm 4.9	83.7 \pm 24.8	79.2 \pm 17.6	86.6 \pm 13.7	53.0 \pm 4.6								
Prothrombin time (sec)	17.6 \pm 2.6	17.6 \pm 2.0	18.1 \pm 2.2	16.3 \pm 1.4	17.4 \pm 1.9	17.4 \pm 3.9	17.0 \pm 0.8	15.3 \pm 0.9								
WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	136 \pm 20	112 \pm 17	108 \pm 21	104 \pm 22	70 \pm 12	61 \pm 11	64 \pm 16	74 \pm 14								
WBC differential (%)																
Baso.	0.2 \pm 0.2	0.5 \pm 0.5	0.0 \pm 0.0	0.2 \pm 0.3	0.6 \pm 0.4	0.6 \pm 0.6	0.0 \pm 0.0	0.4 \pm 0.3								
Eosino	0.8 \pm 0.7	0.8 \pm 0.7	0.6 \pm 0.6	0.8 \pm 0.8	2.1 \pm 1.2	1.0 \pm 0.9	1.4 \pm 1.3	1.0 \pm 0.7								
Stab.	2.9 \pm 1.0	1.4 \pm 0.6	0.8 \pm 0.4	2.0 \pm 0.7	3.0 \pm 0.9	1.8 \pm 0.4	1.3 \pm 0.8	1.6 \pm 0.8								
Seg. 2	2.3 \pm 0.8	1.6 \pm 0.7	2.2 \pm 1.0	2.0 \pm 0.8	2.8 \pm 0.9	1.4 \pm 0.3	2.5 \pm 1.2	1.6 \pm 0.6								
Seg. 3	1.9 \pm 0.7	1.4 \pm 0.5	2.9 \pm 2.2	1.8 \pm 0.8	1.9 \pm 0.6	1.4 \pm 0.5	1.9 \pm 1.2	1.5 \pm 0.5								
Seg. 4	1.3 \pm 0.3	1.4 \pm 0.5	0.4 \pm 0.5	1.6 \pm 0.5	1.5 \pm 0.6	1.2 \pm 0.3	0.6 \pm 0.5	1.5 \pm 0.5								
Seg. 5	0.7 \pm 0.4	0.9 \pm 0.4	0.2 \pm 0.3	1.0 \pm 0.5	0.9 \pm 0.5	0.8 \pm 0.5	0.2 \pm 0.3	0.9 \pm 0.5								
Lymph.	88.4 \pm 2.4	90.7 \pm 2.5	93.4 \pm 1.8	89.5 \pm 2.7	86.1 \pm 2.8	90.6 \pm 2.3	91.7 \pm 2.6	90.6 \pm 1.9								
Mono.	1.8 \pm 0.8	1.6 \pm 0.9	0.6 \pm 0.5	1.3 \pm 0.9	1.5 \pm 0.7	1.3 \pm 0.7	0.6 \pm 0.4	1.1 \pm 0.6								

Values represent means \pm S. D.

Table 5 Results of urinalyses in rats treated with cefotaxime intravenously for 1 month

Sex	Dose(mg/kg/day)	No. of rats	Appearance			Color		pH		Specific gravity	Protein	Glucose	Bili-rubin	Ketone body	Occult blood										
			CL	WT	WF	O	LY	Y	-5							-6	-7	-8							
Male	Control (Saline)	15	12	3	0	0	11	4	0	0	4	10	1	0	3	5	7	0	8	6	1	15	15	15	15
	125	15	12	3	0	0	7	8	0	0	2	11	2	3	1	6	5	0	9	6	0	15	15	15	15
	500	15	6	9	0	0	3	12	0	0	3	11	1	0	2	5	8	0	5	10	0	15	15	15	15
Female	Control (Saline)	15	14	1	0	0	6	9	0	0	14	1	0	0	3	4	8	0	11	4	0	15	15	15	15
	125	15	11	4	0	0	7	8	0	0	3	5	7	7	2	1	5	1	12	2	0	15	15	15	15
	500	15	10	5	0	0	8	7	0	0	1	7	7	5	4	2	4	0	14	1	0	15	15	15	15
Female	Control (Saline)	15	9	6	0	0	7	8	0	0	2	6	7	4	6	4	1	0	11	3	1	15	15	15	15
	125	15	10	5	0	0	7	8	0	0	0	9	6	5	5	2	3	0	12	3	0	15	15	15	15
	500	15	10	5	0	0	7	8	0	0	0	9	6	5	5	2	3	0	12	3	0	15	15	15	15

Sex	Dose (mg/kg/day)	No. of rats	Urine sediments																			
			Epithelial cells	Erythrocytes	Leuko-cytes	Bacteria	Crystals		Amorphous salts	Others												
							Phos. acid	Uric acid														
											-	±	+	±	+							
Male	Control (Saline)	15	0	12	3	15	0	0	0	15	15	2	3	4	5	3	0	10	4	1	5	10
	125	15	0	10	5	15	0	0	0	15	15	4	5	1	4	2	0	9	4	2	3	12
	500	15	0	6	9	15	0	0	0	15	15	2	7	2	5	1	0	8	5	2	3	12
Female	Control (Saline)	15	0	8	7	15	0	0	0	15	15	3	5	0	2	6	0	10	3	2	8	7
	125	15	0	8	7	15	0	0	0	15	15	6	3	0	6	2	0	12	3	0	15	—
	500	15	0	13	2	15	0	0	0	15	15	7	2	0	7	0	0	12	2	1	15	—
Female	Control (Saline)	15	0	13	2	14	0	0	1	15	15	7	2	0	7	0	0	10	4	1	15	—
	125	15	0	8	7	15	0	0	0	15	15	2	5	2	6	0	0	8	6	1	15	—
	500	15	0	8	7	15	0	0	0	15	15	2	5	2	6	0	0	8	6	1	15	—

Appearance : CL.....Clear, WT.....White turbidity, WF.....White floating materials
 Color : O.....Colorless and transparent, LY.....Light yellow, Y.....Yellow
 Grade : -Negative, ±Slight, +Moderate

Table 6 Results of blood chemical tests in rats treated with cefotaxime intravenously for 1 month

Sex	Male						Female								
	Dose (mg/kg/day)	Control (Saline)	125		500		1,000		Control (Saline)	125		500		1,000	
			10	10	10	10	10	10		10	10	10	10	10	10
	No. of rats														
Plasma ALP		32±8	27±8	34±9	35±8	17±4	15±6	14±4	17±4	14±4	17±6				
Plasma GOT		59±7	65±15	90±24	70±20	67±19	75±17	76±27	60±15	76±27	60±15				
Plasma GPT		13±3	13±2	14±4	14±2	10±2	9±2	9±2	11±2	9±2	11±2				
Plasma uric acid		1.9±0.9	0.9±0.3	0.7±0.2	1.7±0.8	0.6±0.3	0.9±1.1	0.5±0.3	0.7±0.1	0.5±0.3	0.7±0.1				
Blood glucose		113±6	111±5	112±6	104±4	104±7	108±5	103±4	106±4	103±4	106±4				
Plasma protein															
Total		6.1±0.3	6.2±0.3	5.8±0.3	6.3±0.5	6.3±0.3	6.1±0.4	6.1±0.5	6.4±0.5	6.1±0.5	6.4±0.5				
Albumin		3.4±0.2	3.5±0.2	3.4±0.3	3.1±0.2	3.7±0.2	3.8±0.3	3.7±0.4	3.3±0.4	3.7±0.4	3.3±0.4				
Globulin		2.7±0.3	2.7±0.3	2.4±0.3	3.2±0.4	2.6±0.3	2.3±0.2	2.4±0.2	3.1±0.2	2.4±0.2	3.1±0.2				
A/G		1.3±0.2	1.3±0.2	1.4±0.2	1.0±0.1	1.5±0.2	1.7±0.1	1.6±0.2	1.0±0.1	1.6±0.2	1.0±0.1				
Plasma urea nitrogen		29±3	31±4	32±3	28±4	28±3	31±5	24±5	29±5	24±5	29±5				
Plasma total cholesterol		55±12	60±8	65±13	56±5	57±4	55±8	49±4	53±7	49±4	53±7				
Plasma Na ⁺		147±3	146±3	146±3	148±3	147±3	144±2	146±2	147±3	146±2	147±3				
Plasma K ⁺		4.5±0.4	4.3±0.3	4.3±0.3	4.6±0.3	4.1±0.2	4.1±0.2	4.0±0.2	4.1±0.1	4.0±0.2	4.1±0.1				
Plasma Ca ⁺⁺		10.6±0.5	10.6±0.4	10.8±0.4	10.5±0.8	10.7±0.5	10.6±0.5	10.6±0.4	10.1±0.8	10.6±0.4	10.1±0.8				
Plasma Cl ⁻		106±2	108±4	105±3	107±3	108±3	107±4	108±4	106±2	108±4	106±2				

Units : ALP.....King Armstrong units, Transaminases.....Karmen units, Glucose, Urea nitrogen, Cholesterol, Uric acid & Ca⁺⁺.....mg/100 ml, Protein (albumin & globulin).....g/100 ml, Na⁺, K⁺ & Cl⁻.....mEq/l
 Values represent means±S. D.

Table 7 Average absolute organ wet weights (g) and relative organ weights (%) in rats treated with cefotaxime intravenously for 1 month

Sex	Male				Female			
	Control (Saline)		1,000		Control (Saline)		1,000	
	10	10	10	10	10	10	10	10
Dose (mg/kg/day)	345±17		323±19		212±14		213±14	
No. of rats	10		10		10		10	
Body weight (g)	362±28		347±18		206±14		211±11	
Brain (g) [*] (g %)**	1.64±0.05 0.455±0.031		1.64±0.09 0.473±0.035		1.52±0.06 0.720±0.030		1.52±0.06 0.739±0.048	
Pituitary (g) (g %)	0.010±0.002 0.0027±0.0004		0.010±0.002 0.0029±0.0005		0.009±0.002 0.0043±0.0009		0.010±0.001 0.0046±0.0004	
Thyroid (g) (g %)	0.013±0.003 0.0037±0.0010		0.013±0.003 0.0038±0.0010		0.011±0.001 0.0051±0.0006		0.012±0.002 0.0056±0.0008	
Thymus (g) (g %)	0.53±0.08 0.154±0.019		0.51±0.11 0.148±0.026		0.42±0.09 0.199±0.044		0.39±0.04 0.179±0.021	
Heart (g) (g %)	1.11±0.07 0.322±0.017		1.14±0.10 0.314±0.024		0.75±0.09 0.356±0.046		0.71±0.06 0.331±0.024	
Lungs (g) (g %)	1.25±0.11 0.364±0.025		1.19±0.07 0.342±0.008		0.94±0.12 0.444±0.051		0.89±0.10 0.433±0.025	
Liver (g) (g %)	14.88±1.19 4.32±0.23		15.64±1.85 4.51±0.46		7.94±0.60 3.74±0.12		8.00±0.99 3.88±0.31	
Spleen (g) (g %)	0.81±0.11 0.236±0.026		0.83±0.14 0.238±0.035		0.54±0.04 0.257±0.024		0.51±0.05 0.248±0.026	
Kidneys (g) (g %)	2.57±0.22 0.747±0.057		2.68±0.19 0.771±0.046		1.60±0.10 0.755±0.050		1.63±0.19 0.764±0.062	
Adrenals (g) (g %)	0.050±0.009 0.0146±0.0022		0.048±0.007 0.0137±0.0015		0.057±0.010 0.0267±0.0034		0.058±0.012 0.0291±0.0031	
Seminal vesicles (g) (g %)	1.27±0.15 0.370±0.039		1.37±0.21 0.395±0.059		—		—	
Testis (g) (g %)	3.26±0.32 0.947±0.106		3.40±0.33 0.893±0.119		—		—	
Ovaries (g) (g %)	—		—		0.089±0.008 0.040±0.005		0.084±0.017 0.041±0.006	
Uterus (g) (g %)	—		—		0.52±0.38 0.251±0.189		0.48±0.14 0.233±0.069	

Values represent means±S. D.

^{*} Average absolute organ wet weight^{**} Organ-to-body weight ratio; grams of organ wet weight per 100 g of body weight

Table 8 Histopathological findings in rats treated with cefotaxime intravenously for 1 month

Sex	Male				Female				
	Dosage (mg/kg)	Control	125	500	1,000	Control	125	500	1,000
No. of rats	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney									
Glomerular change	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Tubular atrophy	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Hyaline droplet change	5	6	9	8	0	0	0	0	0
Calcification	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Interstitial inflammation	1	0	0	2	0	0	0	0	1
Urinary cyst	3	1	1	2	5	1	2	2	2
Liver									
Degeneration & necrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Small round cell infiltration	4	4	3	4	2	1	6	4	4
Reduction of glycogen	0	5	5	6	6	5	4	5	5
Spleen									
Lymphoid hyperplasia	0	2	4	4	3	2	4	6	6
Atrophy	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Congestion	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Cecum									
Hemorrhage	0	0	1	2	0	0	0	0	0
Erosion	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Attenuation of the wall	0	0	1	2	0	1	0	0	0
Inflammatory cell infiltration	0	0	0	4	0	0	3	4	4
Skin (site of injection)									
Epidermis : Degeneration	0	0	0	0	0	0	2	4	4
Dermis & subcutaneous tissue :									
Hemorrhage	3	4	3	4	2	7	6	2	2
Edema	2	1	0	3	6	3	5	5	5
Inflammatory cell infiltration	3	1	1	4	5	4	4	3	3
Venous change	0	0	0	1	0	0	3	1	1

るいは炎症性の変化がもっとも強く認められた 1,000 mg/kg/day 投与群では、血液検査時、ごく軽度ではあるが Ca^{++} 再加時間、プロトンピン時間の短縮、および血小板数の軽度の減少が認められた。これらの変化は投与部位の炎症、出血性変化に基づく副次的な反応として現われたものと考えられ、Cefotaxime が直接骨髓などの造血臓器に作用したためでないことは、赤血球数の変動や骨髓での病理組織学的な変化が全くみられないことから明らかである。

また対照群を含めた各実験群で投与部位に炎症性変化のみられた 1 個体では、脾臓におけるリンパ球の軽度な増生像が認められたものが多かったが、この変化もまた投与部位の炎症性変化に起因する二次的変化と考えられ Cefotaxime の脾臓への直接作用とは考え難い。

最近 Cephaloridine など一部の cephalosporin 系抗生物質では、その腎毒性が軽度ながら認められたと報告されている^{9,10)}。今回の実験においても特にこの点に留意して Cefotaxime の腎への影響を検討したが、Cefotaxime が正常動物腎へ特に腎毒性を有することを示唆するような成績は得られなかった。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、終始御指導、御助言を賜った慶応大学医学部病理学教室の坂口弘教授に深謝するとともに、当研究所生物研究部、坂口孝博士に深く感謝いたします。また本研究の一部を担当された小林孝好、矢島隆二、佐藤昇、稲津水穂、横川一男、佐藤良一、後藤鋼星、小川隆、滝沢光男、皆川英孝、梁川嘉子、石井久美子、高橋裕子の諸氏に感謝します。

文 献

- 1) 水上浩司, 林 昌亮, 重栖幹夫, 森岡 浩: 6-Cyclohexyl-1-hydroxy-4-methyl-2(1H)-pyridone ethanalamine salt (Hoe 296) のラットにおける亜急性毒性試験。応用薬理 9: 67~81, 1975
- 2) HUGGETT, A. St. G. & D. A. NIXON: Use of glucose oxidase, peroxidase and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose. *Lancet* 2: 368~370, 1957
- 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) 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: 528~542, 1970
- 5) 二木力夫, 塩田尚三, 宇佐美正義, 野口午郎, 杉山修, 大川広行, 高垣義男: Ceftezole の一般毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 24: 671~701, 1976
- 6) ATKINSON, R.M.; J. D. CAISEY, J. P. CURRIE, T. R. MIDDLETON, D. A. H. PRATT, H. M. SHARPE & E. G. TOMICH: Subacute toxicity of cephaloridine to various species. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 8: 407~428, 1966
- 7) PERKINS, R. L., M. A. APICELLA, I. N. S. LEE, F. E. CUPPAGE & S. SASLAW: Cephaloridine and cephalothin: Comparative studies of potential nephrotoxicity. *J. Lab. Clin. Med.* 71: 75~84, 1968
- 8) 土屋皖司, 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

ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF CEFOTAXIME

HIROSHI MORIOKA and SHORYO HAYASHI

Development Laboratories, Hoechst Japan Limited

Cefotaxime (HR 756, CTX), a new cephalosporin, was examined for its acute toxicity in the mouse, rat and rabbit, and for its 1-month subacute intravenous toxicity in the rat.

In the acute toxicity test with mice and rats aged 6 weeks, intravenous LD₅₀ values were the lowest, and subsequently intraperitoneal, subcutaneous and oral ones followed in that order named. When examined in juvenile (1 week old) mice and rats by the subcutaneous injection, the drug toxicity was slightly greater than that in 6-week-old animals. The acute intravenous toxicity for rabbits was higher than that for mice and rats. By any dosage route, there was no sex difference in the drug acute toxicity for any species of the mouse, rat and rabbit, and toxic signs produced were only such behavioral changes as are known to be induced in common by cephalosporins.

In the subacute toxicity test, the drug given at a daily dose of 1,000 mg/kg, a feasible highest dose for consecutive intravenous injections, caused dilatation of the cecum of slight to moderate degrees in most of rats and histopathological examinations on them showed hemorrhage or inflammatory cell infiltration in the organ. In some animals dosed at 500 or 125 mg/kg/day, similar changes, though of a slight degree, were observed macroscopically and histopathologically. Except these changes, the findings were inflammatory changes noted at the injection site, and some hematological and histopathological changes of slight degrees considered to have subsequently resulted from those inflammatory changes.