

Cefroxadine (CGP-9000) の毒性試験

第2報：亜急性毒性試験

森本宏一・清水 充・田所 規・高橋昌三・宮地徹

日本チバガイギー株式会社

薬利安全性センター

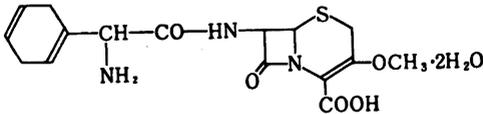
新しく開発された経口 Cephalosporin 系抗生物質 Cefroxadine (CGP-9000, CXD) のマウスおよびラットにおける3ヵ月連続経口投与亜急性毒性試験を行った。

マウスにおける実験では軟便、摂水量の増加、Hb, Ht および RBC の減少、盲腸拡大、腎重量増加がみられ、また組織学的検索では腎尿管上皮空胞化および尿管拡大が観察された。これらの変化は可逆的であった。

ラットにおいては下痢、軟便、腹部膨満、摂水量増加、尿量増加、尿比重低下、Hb および RBC の低下、GOT, ALP, BUN, 総蛋白量および血清カリウムの低下、腎、副腎、脾、肝の重量増加、盲腸拡大および腎腫大がみられた。組織学的検索では、腎尿管上皮に変化がみられた。これらの変化は可逆的であった。

1. 結 言

新しく開発された経口 Cephalosporin 系抗生物質 Cefroxadine (CGP-9000, CXD) は下記のような構造式をもっている。



7β-(D-2Amino-2(1,4-Cyclohexadienyl)-acetamido)-3-methoxy-ceph-3-em-4-carboxylic acid, M.W. 401

CXD は他の Cephalosporin 系抗生物質同様に広い抗菌スペクトルを有している。今回、著者らは3ヵ月経口投与亜急性毒性試験を、マウスおよびラットを用いて行ったので、その成績を報告する。

実験材料および方法

1. マウスの経口投与亜急性毒性

対照薬として Cephalexin (CEX) を用いた。

動物は6週令の ICR-JCL 系マウス雄 (29~34 g) および雌 (22~27 g) を用い、1群を25匹とした。飼育条件は急性毒性試験と同様とした¹⁾。

CXD の投与量は、経口投与による急性毒性試験の結

果、13,500 mg/kg 投与で死亡しなかったことから、継続投与可能な最大量を5,000 mg/kg とし、以下2,000, 800および320 mg/kg を設定した。また、CEX は投与開始時2,000 mg/kg を投与したが、投与翌日より雌雄に立毛、チアノーゼ、脱力状態および軟便がみられ、さらに雄9例および雌12例の死亡がみられた。その後漸次減量投与し、投与7日目より800 mg/kg としたところ上記症状はみられなくなったので、CEX の投与量を800 mg/kg とした。一方、対照動物には0.5% CMC 水溶液を0.2 ml/10 g 体重投与した。薬剤は0.5% CMC 水溶液に懸濁し、体重10 g 当り0.2 ml を投与した。

投与期間は3ヵ月とし、各群の一部の動物について3ヵ月の回復試験を行った。投与および回復期間中は、一般症状、体重および摂餌・摂水量を測定した。投与3ヵ月終了時および回復1, 2, 3ヵ月後に各投与群のマウスをネブタール麻酔下で頸動脈より採血し、RBC, WBC (以上 Coulter Counter D 型)、Hb (シアンヘモグロビン法)、Ht (毛細管法)、白血球分類、血小板数 (Thrombocounter) を測定した。放血屠殺したマウスは剖検後、肝、腎、心、肺、脾、脳、胸腺、精巣、卵巣、子宮、副腎、甲状腺、下垂体の重量を測定し、さらに胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、脾、膀胱、大腿骨髄、大腿部の筋、眼、涙腺、唾液腺、リンパ節 (顎下および腸間膜リンパ節)、気管、皮膚とともに組織学的検索を行った。

Table 1 Hematological findings in mice treated orally with CXD for 3 months

(mean±S.D.)

Sex	Group	Control	320 mg/kg	800 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg	CEX 800 mg/kg
Male	No. of animal	10	10	9	10	10	10
	Hb (g/dl)	13.6±0.7	13.4±0.9	13.2±1.2	13.4±0.4	13.0±0.7	12.6±1.0*
	Ht (%)	44±1	43±2	42±3	43±2	42±1*	40±1**
	RBC (10 ⁶ /mm ³)	996±75	891±37	918±94	947±48	946±51	882±49*
	Platelets (10 ³ /mm ³)	770±251	864±311	856±258	853±226	911±294	985±239
	WBC (10/mm ³)	579±150	492±107	505±225	519±198	492±127	368±171
	Differential blood counts (%)						
	Lymphocytes	77.6±12.1	78.0±5.5	76.6±5.5	80.4±5.6	78.4±9.1	72.0±7.6
	Band neutrophils	2.8±1.8	1.2±0.9	1.8±0.9	1.5±1.4	1.8±1.3	1.7±0.9
	Segment neutrophils	18.3±10.7	19.3±5.1	20.1±5.9	16.6±4.7	18.4±8.1	24.5±7.2
Eosinophils	1.0±0.9	1.4±0.9	1.2±1.0	1.3±1.4	1.0±0.4	1.7±1.4	
Monocytes	0.3±0.4	0.1±0.3	0.2±0.4	0.2±0.4	0.4±0.5	0.1±0.3	
Female	No. of animal	10	10	10	10	9	7
	Hb (g/dl)	14.5±1.4	13.9±0.5	13.7±0.8	3.9±1.0	13.1±0.9*	13.4±1.2
	Ht (%)	45±3	45±1	44±2	45±2	42±1	44±3
	RBC (10 ⁶ /mm ³)	1002±70	982±58	991±69	990±65	942±53	936±84
	Platelets (10 ³ /mm ³)	759±267	677±337	820±321	612±252	706±242	769±342
	WBC (10/mm ³)	502±133	455±98	457±66	448±133	502±120	512±156
	Differential blood counts (%)						
	Lymphocytes	83.1±4.2	81.9±9.3	85.7±4.1	84.5±4.7	86.0±3.8	88.0±3.5*
	Band neutrophils	1.8±1.0	2.5±2.4	2.2±2.1	1.7±0.8	2.3±1.4	1.6±0.7
	Segment neutrophils	13.2±4.0	14.0±6.5	10.5±3.6	12.9±4.1	10.0±4.0	8.1±3.7*
Eosinophils	1.7±0.8	1.3±0.9	1.4±1.3	0.9±0.9	1.4±1.0	1.7±0.7	
Monocytes	0.2±0.4	0.3±0.4	0.2±0.4	0	0.2±0.4	0.4±0.5	

*: Significantly different from control p<0.05

**: Significantly different from control p<0.01

2. ラット経口投与亜急性毒性試験

対照薬として CEX を用いた。動物は 6 週令の Wistar-JCL 系ラットの雄 (145~180 g) および雌 (125~155 g) を用い、1 群雌雄各 25 匹とした (ただし、対照群は 24 匹)。飼育条件は急性毒性試験の場合と同様である。

CXD の投与量は、マウスによる亜急性毒性試験の場合と同様に薬剤を 0.5% CMC 水溶液に懸濁し、体重 100 g 当り 2 ml を経口投与した。最大量は 5,000 mg/kg とし、以下 2,000, 800 および 320 mg/kg とした。また対照薬の CEX は 2,000 mg/kg とし、対照動物には 0.5% CMC 水溶液を投与した。投与期間は 3 ヶ月とし、また各群の一部の動物は 3 ヶ月の回復試験に供した。体

重、症状の観察は毎日、摂餌・摂水量は週 1 回測定した。血液学的検査は Hb, Ht, RBC, WBC および白血球分類を、また、血清生化学的検査は GOT, ALP, 血糖、総コレステロール、BUN, 血清総蛋白 (以下量 Technicon SMA 12/60), Cl, Na, K (イオン電極法)、蛋白分画および A/G 比 (セルロースアセテート膜電気泳動法) を測定した。採血はネプタール麻酔下で腹部大動脈より行った。また投与終了および回復試験の屠殺前に尿検査を行った。尿検査は 24 時間の尿量、比重 (屈折計)、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン (マルティスティックス、マイルスー三共 K.K.) および沈渣について行った。

Table 2 Organ weights (relative) in mice treated orally with CXD and cephalixin for 3 months

		(mean \pm S.D.)					
Sex	Group	Control	320 mg/kg	800 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg	CEX 800 mg/kg
Male	No. of animals	10	10	10	10	10	10
	Body weight g	41.1 \pm 1.6	42.4 \pm 3.4	40.0 \pm 3.3	41.1 \pm 3.1	41.6 \pm 2.6	39.1 \pm 3.1
	Liver g%	0.45 \pm 0.04	0.41 \pm 0.03	0.44 \pm 0.06	0.47 \pm 0.05	0.44 \pm 0.02	0.45 \pm 0.04
	Kidney mg%	158.9 \pm 14.3	149.9 \pm 7.5	160.7 \pm 26.2	168.0 \pm 24.0	153.6 \pm 9.9	157.8 \pm 18.5
	Heart mg%	48.9 \pm 5.7	47.0 \pm 3.9	46.3 \pm 7.5	46.4 \pm 4.6	40.5** \pm 2.7	44.6 \pm 4.9
	Spleen mg%	25.2 \pm 5.3	24.0 \pm 5.2	25.5 \pm 7.0	28.5 \pm 6.8	22.5 \pm 3.9	24.6 \pm 4.8
	Adrenal mg%	1.4 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2	1.4 \pm 0.3	1.0* \pm 0.1	1.4 \pm 0.1
	Lung, Brain, Thymus, Testis, Thyroid, Hypophysis : Not significantly different from control						
Female	No. of animals	10	10	10	10	9	7
	Body weight g	32.2 \pm 2.3	32.6 \pm 2.4	32.7 \pm 2.0	31.6 \pm 1.9	34.4 \pm 2.1	31.8 \pm 1.4
	Liver g%	0.46 \pm 0.03	0.49 \pm 0.05	0.46 \pm 0.04	0.47 \pm 0.02	0.49 \pm 0.04	0.51** \pm 0.04
	Kidney mg%	118.4 \pm 11.4	134.8** \pm 13.6	121.0 \pm 7.7	131.4* \pm 13.3	130.7* \pm 8.7	127.1 \pm 11.0
	Heart mg%	42.5 \pm 4.3	45.3 \pm 4.1	42.8 \pm 4.4	42.8 \pm 2.7	41.8 \pm 4.6	44.4 \pm 6.1
	Spleen mg%	36.3 \pm 4.9	39.7 \pm 9.7	35.7 \pm 10.4	31.7 \pm 5.6	36.7 \pm 3.7	41.9 \pm 9.0
	Adrenal mg%	2.7 \pm 0.3	2.6 \pm 0.2	2.9 \pm 0.4	2.8 \pm 0.4	2.3 \pm 0.5	2.8 \pm 0.7
	Lung, Brain, Thymus, Ovary, Uterus, Thyroid, Hypophysis : Not significantly different from control						

* : Significantly different from control $p < 0.05$ ** : Significantly different from control $p < 0.01$

実験成績

1. マウス経口投与亜急性毒性試験

(1) 一般症状

CXD 2,000 および 5,000 mg/kg 群では、投与翌日より軟便がみられ、5,000 mg/kg 群では投与期間中続いた。体重および摂水量は CXD 投与各群とも対照群に比し特に変化はみられなかったが、CEX 800 mg/kg 群では摂水量の著明な増加がみられ、回復試験期間も対照群より増加していた。

(2) 血液検査 (Table 1)

CXD 5,000 mg/kg 群および CEX 800 mg/kg 群の投与 3 ヶ月後で Hb, Ht および RBC の減少がみられた。CXD 5,000 mg/kg 群の回復 1 ヶ月後および CEX 800 mg/kg 群の回復 3 ヶ月後にはこれらの血液所見の異常はみられなかった。

(3) 剖検および臓器重量 (Table 2)

CXD 2,000, 5,000 mg/kg 群および CEX 800 mg/kg 群の投与 3 ヶ月後に盲腸拡大がみられ、CEX 800 mg/kg 群で腎表面が顆粒状を呈していた。盲腸拡大は各群とも回復 1 ヶ月後にみられなくなったが、CEX 800 mg/kg 群にみられた腎表面の顆粒状化は回復 3 ヶ月後にもみら

Table 3 Histological findings in mice treated orally with CXD for 3 months

Group mg/kg	Cont.		320		800		2000		5000		CEX 800	
	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f
Sex												
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney												
-Cellular infiltration	1	2	1	2	2	2				3	2	1
-Dilation of tubules		1		1	4	3	3	5	4	5	6	2
-Hypertrophy of tubules	2		1		1	1		1		1	2	3
-Casts				1		2		1		1	1	2
Lung												
-Hypertrophy of alveolar walls		1			1	1					1	
-Fibroma	1										1	
Hypophysis												
-Vacuolation		1		1								
Thyroid												
-Hyperplasia										1		1
Liver, Heart, Spleen, Brain, Thymus, Testis, Prostate, Ovary, Uterus, Adrenal, Esophagus, Stomach, Small and Large intestine, Urinary bladder, Pancreas, Bone marrow, Eye, Lacrimal gland, Skin, Muscle, Salivary gland, Lymph node, Trachea.					No pathological change.							

れた。

臓器重量は、投与3ヵ月後にCXD 2,000 mg/kg以上の投与群の雌に腎重量増加がみられ、CEX 800 mg/kg群の雌に肝重量増加がみられた。しかし、これらの所見は回復1ヵ月後にはみられなかった。

(4) 組織学的所見 (Table 3)

投与3ヵ月後、CXD 800 mg/kg以上の投与群およびCEX 800 mg/kg群に近位尿管の拡大がみられたが、回復2ヵ月後にはこの所見は消失した。途中死亡例では、CXD 5,000 mg/kg群およびCEX 800 mg/kg群に近位尿管上皮空胞化および心内腔拡大がみられた。その他の臓器に異常所見はみられなかった。

2. ラット経口投与亜急性毒性試験

(1) 一般症状

CXD 800 mg/kg以上の投与群およびCEX 2,000 mg/kg群の雌雄に投与翌日より軟便ないし下痢がみられ、また投与4日後よりこれらの各群に腹部膨満および動作緩慢が投与の全期間を通じてみられた。とくにCXD 2,000, 5,000 mg/kg群およびCEX 2,000 mg/kg群

では投与期間中軟便がみられた。しかしいずれの症状も投与中止後には消失した。途中死亡例はCXD 5,000 mg/kg群で雌4例、CEX 2,000 mg/kg群で雄3例が認められた。体重(Fig. 1)は、投与期間中CXD 2,000, 5,000 mg/kg群の雄およびCEX 2,000 mg/kg群の雌に増加の抑制がみられたが、投与中止後はこれら各群とも対照群との間に差がみられなくなった。摂餌量は各投与群とも何ら異常はみられなかった。摂水量は投与期間中CXDおよびCEX投与群の雌雄に増加がみられ、とくにCXD投与群では投与量に依存していたが、投与中止後は対照群に比し差はみられなくなった。

(2) 尿検査 (Table 4, 5)

CXD投与群で投与3ヵ月後で雌雄に投与量に依存して尿量が増加し、またCEX 2,000 mg/kg群の雌雄で尿量の増加がみられた。しかしこれらの所見は回復1ヵ月後には正常となった。尿沈渣は各群とも異常はみられなかった。

(3) 血液検査 (Table 6)

CXD 2,000 mg/kg群の雌および5,000 mg/kg群の雌

Fig. 1 Body weight changes in rats treated orally with CXD for 3 months

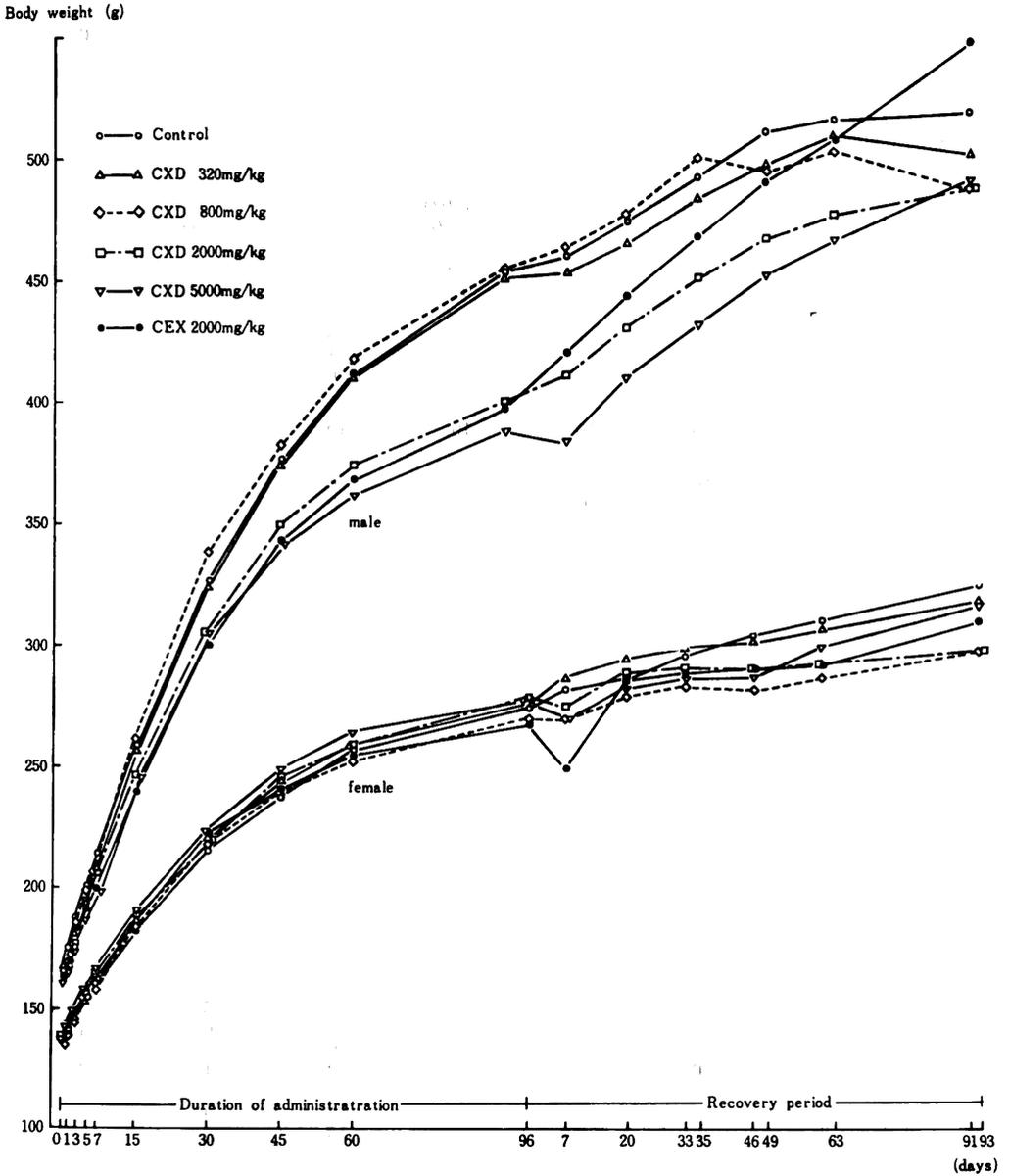


Table 4 Urinalysis in male rats treated orally with CXD for 3 months (mean \pm S.D.)

Group	Control	320 mg/kg	800 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg	CEX 2000 mg/kg
No. of animals	10	10	10	10	10	10
Body weights g	455.9 \pm 51.8	456.6 \pm 52.9	458.5 \pm 41.0	403.4** \pm 58.9	384.1** \pm 42.6	387.3** \pm 39.8
Urine volume ml/100g b.w.	2.4 \pm 0.7	3.4* \pm 0.6	5.2** \pm 2.1	8.5** \pm 3.0	9.6** \pm 3.2	11.1** \pm 5.5
Specific gravity	1.057 \pm 0.016	1.038** \pm 0.011	1.034** \pm 0.007	1.026** \pm 0.005	1.027 \pm 0.005	1.021** \pm 0.007
Test strips pH	7.7 \pm 0.5	6.6** \pm 0.5	6.6** \pm 0.6	7.1* \pm 0.6	6.2** \pm 0.2	6.6** \pm 0.4
Protein	\pm 5 + 5 ++ 0	7 3 0	7 2 1	9 1 0	8 2 0	8 2 0
Glucose	- 10	10	10	10	10	10
Ketone bodies	- 10 \pm 0 + 0 ++ 0 +++ 0	10 0 0 0 0	8 0 1 1 0	6 0 1 2 1	0 0 7 2 1	7 0 2 1 0
Bilirubin	- 10	10	10	10	10	10
Occult blood	- 9 \pm 1 + 0	10 0 0	10 0 0	10 0 0	9 0 1	10 0 0
Urobilinogen	\pm 8 + 2	4 6	4 6	6 4	5 5	6 4
Sediment Erythrocytes	- 10 \pm 0 + 0 ++ 0 +++ 0 ++++ 0	8 1 1 0 0 0	10 0 0 0 0 0	10 0 0 0 0 0	8 0 1 0 0 1	9 0 1 0 0 0
Leucocytes	- 2 \pm 2 + 5 ++ 1 +++ 0 ++++ 0	0 2 3 0 0	1 0 0 0 0	3 1 6 0 0	2 2 5 0 0	0 0 3 4 1 2
Epithelial cells	- 0 \pm 6 + 4	2 2 6	1 2 7	1 6 3	4 4 2	1 3 6
Renal cells	- 8 \pm 2 + 0	10 0 0	10 0 0	10 0 0	10 0 0	9 0 1
Casts	- 10	10	10	10	10	10

* : Significantly different from control $p < 0.05$ ** : Significantly different from control $p < 0.01$ Ketone bodies : False positive¹¹⁾

Table 5 Urinalysis in female rats treated orally with CXD for 3 months (mean±S.D.)

Group	Control	320 mg/kg	800 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg	CEX 2000 mg/kg
No. of animals	10	10	10	10	10	10
Body weights g	268.9 ± 18.2	263.2 ± 18.2	272.1 ± 14.1	279.6 ± 17.6	282.2 ± 16.3	275.6 ± 25.6
Urine volume ml/100g b.w.	4.0 ± 1.2	6.7** ± 1.8	9.2** ± 3.0	14.1** ± 2.5	15.1** ± 5.8	16.3** ± 7.2
Specific gravity	1.060 ± 0.012	1.039** ± 0.008	1.029** ± 0.005	1.020** ± 0.005	1.024** ± 0.009	1.021** ± 0.006
Test strips pH	7.5 ± 0.4	6.9** ± 0.4	7.3 ± 0.6	7.3 ± 0.4	6.8** ± 0.3	7.4 ± 0.4
Protein	± 6 + 4 ++ 0 +++ 0	± 9 + 1 ++ 0 +++ 0	± 10 + 0 ++ 0 +++ 0	± 7 + 3 ++ 0 +++ 0	± 4 + 5 ++ 0 +++ 1	± 10 + 0 ++ 0 +++ 0
Glucose	- 10	- 10	- 10	- 10	- 10	- 10
Ketones bodies	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0	- 7 ± 0 + 2 ++ 1 +++ 0	- 1 ± 0 + 6 ++ 2 +++ 1	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0
Bilirubin	- 10	- 10	- 10	- 10	- 10	- 10
Occult blood	- 10 ± 0 + 0	- 9 ± 0 + 1	- 10 ± 0 + 0			
Urobilinogen	± 1 + 9	± 6 + 4	± 3 + 7	± 7 + 3	± 4 + 6	± 4 + 6
Sediment erythrocytes	- 9 ± 1 + 0 ++ 0 +++ 0 +++ 0	- 9 ± 0 + 1 ++ 0 +++ 0 +++ 0	- 8 ± 1 + 1 ++ 0 +++ 0 +++ 0	- 6 ± 1 + 2 ++ 0 +++ 0 +++ 1	- 9 ± 1 + 0 ++ 0 +++ 0 +++ 0	- 9 ± 0 + 1 ++ 0 +++ 0 +++ 0
Leucocytes	- 8 ± 0 + 2 ++ 0 +++ 0	- 3 ± 3 + 3 ++ 1 +++ 0	- 2 ± 3 + 3 ++ 1 +++ 1	- 3 ± 2 + 3 ++ 0 +++ 1	- 3 ± 0 + 7 ++ 0 +++ 0	- 0 ± 3 + 6 ++ 1 +++ 0
Epithelial cells	- 4 ± 3 + 3	- 8 ± 1 + 1	- 6 ± 2 + 2	- 9 ± 0 + 1	- 5 ± 3 + 2	- 5 ± 2 + 3
Renal cells	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0	- 8 ± 1 + 0 ++ 0 +++ 1	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0	- 10 ± 0 + 0 ++ 0 +++ 0
Casts	- 10 + 0	- 10 + 0	- 10 + 0	- 9 + 1	- 10 + 0	- 9 + 1

* : Significantly different from control $p < 0.05$ ** : Significantly different from control $p < 0.01$ Ketone bodies : False positive⁽¹⁾

Table 6 Hematological findings in rats treated orally with CXD for 3 months
(mean \pm S.D.)

Sex	Group	Control	320 mg/kg	800 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg	CEX 2000 mg/kg
Male	No. of animal	10	10	10	10	10	10
	Hb (g/dl)	14.6 \pm 0.9	14.4 \pm 0.8	14.3 \pm 0.9	14.8 \pm 0.6	13.3 \pm 0.9**	12.2 \pm 0.5**
	Ht (%)	45 \pm 2	45 \pm 6	43 \pm 5	46 \pm 2	40 \pm 3**	37 \pm 3**
	RBC (10 ⁴ /mm ³)	799 \pm 59	820 \pm 68	777 \pm 63	790 \pm 57	742 \pm 58*	645 \pm 41**
	Platelets (10 ³ /mm ³)	510 \pm 215	692 \pm 286	543 \pm 149	573 \pm 202	541 \pm 129	757 \pm 218*
	WBC (10/mm ³)	670 \pm 263	644 \pm 144	525 \pm 125	655 \pm 110	576 \pm 137	637 \pm 188
	Min. Osmotic fragility(%)	0.52 \pm 0.02	0.51 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02	0.51 \pm 0.02
	Max. Osmotic fragility(%)	0.35 \pm 0.01	0.34 \pm 0.02	0.34 \pm 0.02	0.34 \pm 0.03	0.36 \pm 0.03	0.33 \pm 0.02
	Differential blood counts (%)						
	Lymphocytes	78.9 \pm 6.4	81.0 \pm 4.2	80.7 \pm 4.0	78.5 \pm 4.7	69.7 \pm 7.7*	78.3 \pm 8.2
	Band neutrophils	3.3 \pm 1.7	2.8 \pm 1.1	2.5 \pm 0.5	2.0 \pm 1.1	2.5 \pm 0.8	2.7 \pm 1.5
	Segment neutrophils	15.5 \pm 7.2	14.0 \pm 3.7	13.2 \pm 3.9	16.1 \pm 3.8	23.7 \pm 7.1*	15.8 \pm 7.1
	Eosinophils	1.5 \pm 0.9	1.4 \pm 0.8	2.9 \pm 1.4*	2.8 \pm 1.4*	3.2 \pm 0.7**	2.6 \pm 1.5
	Monocytes	0.8 \pm 0.6	0.8 \pm 0.6	0.7 \pm 0.4	0.6 \pm 0.7	0.7 \pm 0.6	0.6 \pm 0.9
Female	No. of animal	10	10	10	10	10	10
	Hb (g/dl)	14.1 \pm 0.6	14.1 \pm 0.8	14.4 \pm 1.1	13.3 \pm 1.0	12.8 \pm 0.7**	10.9 \pm 0.9**
	Ht (%)	44 \pm 1	43 \pm 1	45 \pm 3	40 \pm 2**	41 \pm 2**	36 \pm 3**
	RBC (10 ⁴ /mm ³)	833 \pm 31	762 \pm 22*	766 \pm 66*	711 \pm 69**	727 \pm 39*	611 \pm 44**
	Platelets (10 ³ /mm ³)	703 \pm 93	721 \pm 227	630 \pm 116	756 \pm 139	630 \pm 246	911 \pm 221*
	WBC (10/mm ³)	597 \pm 38	528 \pm 156	647 \pm 106*	680 \pm 171*	555 \pm 111	559 \pm 154
	Min. Osmotic fragility(%)	0.52 \pm 0.00	0.52 \pm 0.01	0.52 \pm 0.03	0.53 \pm 0.01	0.53 \pm 0.02	0.51 \pm 0.03
	Max. Osmotic fragility(%)	0.35 \pm 0.02	0.36 \pm 0.01	0.35 \pm 0.04	0.37 \pm 0.03	0.36 \pm 0.02	0.34 \pm 0.02
	Differential blood counts (%)						
	Lymphocytes	78.0 \pm 8.3	84.2 \pm 4.5	75.5 \pm 7.8	81.0 \pm 4.5	69.7 \pm 13.3	77.2 \pm 7.1
	Band neutrophils	1.7 \pm 0.6	2.2 \pm 1.6	1.8 \pm 0.9	1.9 \pm 0.9	2.0 \pm 0.6	1.9 \pm 0.8
	Segment neutrophils	17.6 \pm 7.9	11.5 \pm 5.5	19.7 \pm 8.1	13.7 \pm 3.9	25.0 \pm 13.9	18.3 \pm 6.9
	Eosinophils	2.0 \pm 1.0	1.7 \pm 0.9	2.4 \pm 1.4	2.8 \pm 1.5	2.4 \pm 1.9	2.1 \pm 0.9
	Monocytes	0.7 \pm 0.6	0.4 \pm 0.5	0.6 \pm 0.7	0.6 \pm 0.5	0.9 \pm 0.8	0.5 \pm 0.5

*: Significantly different from control $p < 0.05$

**: Significantly different from control $p < 0.01$

雄、ならびに CEX 2,000 mg/kg 群の雌雄に Hb, Ht および RBC の減少がみられたが、回復 1 ヶ月後には正常であった。

(4) 血清生化学的検査 (Table 7)

CXD 投与の雄ラット群および CXD 2,000, 5,000 mg/kg 群の雌ラットで血清総蛋白量の低下がみられた。A/G 比の上昇が CXD 5,000 mg/kg 群に、GOT および BUN の低下が CXD 2,000 および 5,000 mg/kg 群に、また ALP の低下が CXD 5,000 mg/kg 群にみら

れた。血清電解質に対する影響は、雄ラット群の CXD 2,000 mg/kg 以上の投与で Na の上昇および Cl の低下が、また 800 mg/kg 以上で K の低下がみられた。他方、雌群では比較的低用量で電解質への影響がみられ、CXD 320 mg/kg 以上の投与で Na の上昇、K および Cl の低下がみられた。以上の血清生化学的所見は CEX 投与群にも同様の傾向がみられ、CEX 2,000 mg/kg 群で雌雄ラットに総蛋白、GOT、ALP、K および Cl の低下がみられた。

Table 7 Blood chemical findings in rats treated orally with CXD for 3 months

(mean \pm S.D.)

Sex	Group	Control	320 mg/kg	800 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg	CEX 2000 mg/kg
Male	No. of animal	10	10	10	10	10	10
	GOT (RF. U)	87 \pm 23	96 \pm 19	87 \pm 19	64 \pm 12*	43 \pm 13**	55 \pm 6**
	GPT (RF. U)	34 \pm 6	41 \pm 9	33 \pm 4	32 \pm 4	36 \pm 4	34 \pm 6
	Al-P (KK. U)	19.0 \pm 3.6	19.1 \pm 4.0	16.4 \pm 3.7	15.5 \pm 4.5	13.8 \pm 3.7**	11.2 \pm 3.8**
	Cholesterol (mg/dl)	88 \pm 11	89 \pm 8	89 \pm 13	79 \pm 4	89 \pm 13	86 \pm 10
	BUN (mg/dl)	21 \pm 1	22 \pm 2	21 \pm 1	18 \pm 1**	19 \pm 2*	20 \pm 3
	Glucose (mg/dl)	182 \pm 22	186 \pm 36	165 \pm 25	191 \pm 29	175 \pm 20	175 \pm 30
	Total protein (g/dl)	6.2 \pm 0.3	5.9 \pm 0.2*	5.7 \pm 0.3**	5.6 \pm 0.3**	5.6 \pm 0.2**	5.6 \pm 0.3**
	Electrophoresis (%)						
	Alubumin	70.5 \pm 3.0	72.1 \pm 1.4	73.8 \pm 1.2**	72.6 \pm 2.6	72.4 \pm 1.8	72.1 \pm 3.2
	Globulin Alpha-1	9.3 \pm 1.6	9.8 \pm 0.9	9.3 \pm 0.5	9.7 \pm 0.7	10.1 \pm 1.0	9.6 \pm 1.2
	Alpha-2	5.8 \pm 0.5	5.6 \pm 0.5	5.3 \pm 0.7	5.9 \pm 0.6	5.7 \pm 0.4	5.5 \pm 0.8
	Beta	11.0 \pm 1.5	10.1 \pm 1.1	9.8 \pm 0.9	9.0 \pm 1.3**	9.6 \pm 0.8*	10.1 \pm 1.3
	Gamma	3.3 \pm 1.3	2.1 \pm 0.8	1.6 \pm 0.4**	2.6 \pm 1.8	2.0 \pm 0.8*	2.5 \pm 1.5
	A/G ration	2.42 \pm 0.32	2.60 \pm 0.17	2.83 \pm 0.19	2.68 \pm 0.31	2.64 \pm 0.25	2.62 \pm 0.39
	Na (mEq/l)	143 \pm 1	143 \pm 2	145 \pm 2	145 \pm 2*	145 \pm 2*	145 \pm 3
K (mEq/l)	4.5 \pm 0.5	4.3 \pm 0.4	3.9 \pm 0.4**	3.3 \pm 0.4**	3.2 \pm 0.3**	3.8 \pm 0.3**	
Cl (mEq/l)	106 \pm 3	105 \pm 2	104 \pm 2	102 \pm 3	101 \pm 3*	103 \pm 3	
Female	No. of animal	10	10	10	10	10	10
	GOT (RF. U)	98 \pm 25	100 \pm 26	93 \pm 18	65 \pm 36*	45 \pm 16**	68 \pm 16**
	GPT (RF. U)	35 \pm 12	41 \pm 16	35 \pm 19	28 \pm 7	35 \pm 28	24 \pm 14
	Al-P (KK. U)	15.6 \pm 4.6	13.0 \pm 4.0	13.0 \pm 3.1	10.2 \pm 2.6*	8.9 \pm 3.8**	10.9 \pm 2.6**
	Cholesterol (mg/dl)	69 \pm 8	74 \pm 8	73 \pm 8	72 \pm 6	96 \pm 6	72 \pm 13
	BUN (mg/dl)	22 \pm 2	20 \pm 1	20 \pm 6	19 \pm 5	17 \pm 2**	29 \pm 13
	Glucose (mg/dl)	187 \pm 37	167 \pm 30	165 \pm 31	180 \pm 24	175 \pm 47	157 \pm 19*
	Total protein (g/dl)	5.9 \pm 0.2	5.7 \pm 0.2	5.7 \pm 0.3	5.5 \pm 0.2**	5.6 \pm 0.2**	5.5 \pm 0.1**
	Electrophoresis (%)						
	Alubumin	69.3 \pm 5.3	71.6 \pm 5.1	71.4 \pm 4.0	71.7 \pm 5.5	73.9 \pm 3.9*	68.9 \pm 4.0
	Globulin Alpha-1	9.4 \pm 0.9	10.1 \pm 0.9	10.1 \pm 1.2	10.0 \pm 1.1	10.6 \pm 2.4	11.3 \pm 1.9*
	Alpha-2	5.5 \pm 1.1	5.2 \pm 0.8	4.9 \pm 0.9	6.0 \pm 1.6	5.5 \pm 0.9	6.1 \pm 0.5
	Beta	10.4 \pm 1.5	9.9 \pm 1.6	9.3 \pm 1.1	9.8 \pm 2.0	8.6 \pm 1.0**	10.9 \pm 1.4
	Gamma	5.1 \pm 3.3	3.0 \pm 3.2	4.0 \pm 3.0	2.3 \pm 2.7	1.2 \pm 1.4**	2.6 \pm 3.3
	A/G ration	2.34 \pm 0.56	2.61 \pm 0.56	2.56 \pm 0.46	2.64 \pm 0.59	2.92 \pm 0.57*	2.26 \pm 0.40
	Na (mEq/l)	141 \pm 1	142 \pm 1*	142 \pm 2	144 \pm 1**	144 \pm 1**	144 \pm 2**
K (mEq/l)	4.3 \pm 0.2	3.7 \pm 0.4**	3.3 \pm 0.2**	3.0 \pm 0.3**	3.1 \pm 0.3**	3.4 \pm 0.2**	
Cl (mEq/l)	106 \pm 3	104 \pm 2	99 \pm 4**	101 \pm 3**	100 \pm 4**	101 \pm 2**	

* : Significantly different from control $p < 0.05$ ** : Significantly different from control $p < 0.01$

Table 8 Organ weights (relative) in rats treated orally with CXD for 3 months

(mean \pm S.D.)

Sex	Group	Control	320 mg/kg	800 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg	CEX 2000 mg/kg
Male	No. of animals	10	10	10	10	10	10
	Body weights g	461.2 \pm 59.2	466.5 \pm 56.0	462.6 \pm 44.9	408.9 \pm 61.4	387.6** \pm 44.4	399.5** \pm 41.4
	Liver g%	3.44 \pm 0.22	3.62 \pm 0.29	3.76** \pm 0.26	3.75** \pm 0.21	4.34** \pm 0.51	3.71** \pm 0.26
	Kidney g%	0.64 \pm 0.03	0.67 \pm 0.06	0.78** \pm 0.08	0.85** \pm 0.05	0.97** \pm 0.12	1.09** \pm 0.16
	Heart g%	0.28 \pm 0.01	0.28 \pm 0.02	0.30** \pm 0.02	0.32** \pm 0.02	0.28 \pm 0.02	0.32** \pm 0.02
	Lung g%	0.30 \pm 0.03	0.29 \pm 0.03	0.33 \pm 0.03	0.33* \pm 0.03	0.35** \pm 0.03	0.35 \pm 0.04**
	Spleen g%	0.18 \pm 0.03	0.19 \pm 0.02	0.21* \pm 0.02	0.21* \pm 0.03	0.20 \pm 0.03	0.25** \pm 0.04
	Brain g%	0.46 \pm 0.04	0.44 \pm 0.04	0.45 \pm 0.05	0.51* \pm 0.06	0.50 \pm 0.05	0.49 \pm 0.03
	Thymus g%	0.09 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.06** \pm 0.01	0.06** \pm 0.01
	Testis g%	0.78 \pm 0.09	0.77 \pm 0.06	0.81 \pm 0.08	0.91** \pm 0.11	0.89** \pm 0.05	0.81 \pm 0.15
	Prostate g%	0.12 \pm 0.02	0.12 \pm 0.02	0.12 \pm 0.02	0.11 \pm 0.02	0.09* \pm 0.02	0.11 \pm 0.02
	Adrenal mg%	14.9 \pm 2.1	15.6 \pm 1.4	14.8 \pm 1.4	18.8** \pm 3.1	26.8** \pm 5.3	23.0** \pm 6.7
	Thyroid mg%	7.4 \pm 0.9	6.6 \pm 1.4	7.3 \pm 1.4	8.8 \pm 2.3	18.3** \pm 5.1	7.4 \pm 1.1
	Hypophysis mg%	3.3 \pm 0.2	3.1 \pm 0.5	3.3 \pm 0.2	3.9* \pm 0.7	4.3** \pm 0.6	3.5 \pm 0.3
	Female	No. of animals	10	10	10	10	10
Body weights g		274.3 \pm 17.7	268.5 \pm 17.4	273.7 \pm 18.2	281.9 \pm 16.8	279.3 \pm 15.9	281.4 \pm 27.7
Liver g%		3.22 \pm 0.39	3.64* \pm 0.31	3.80** \pm 0.21	4.15** \pm 0.33	4.50** \pm 0.50	4.27** \pm 0.48
Kidney g%		0.68 \pm 0.05	0.80** \pm 0.04	0.88** \pm 0.06	1.15** \pm 0.27	1.01** \pm 0.06	1.07** \pm 0.09
Heart g%		0.31 \pm 0.02	0.34** \pm 0.01	0.36** \pm 0.03	0.36** \pm 0.02	0.31 \pm 0.02	0.33 \pm 0.02
Lung g%		0.38 \pm 0.03	0.39 \pm 0.02	0.41 \pm 0.02	0.41 \pm 0.03	0.41 \pm 0.02	0.40 \pm 0.02
Spleen g%		0.21 \pm 0.02	0.25** \pm 0.03	0.28** \pm 0.03	0.30** \pm 0.03	0.26** \pm 0.03	0.36 \pm 0.04**
Brain g%		0.73 \pm 0.05	0.75 \pm 0.05	0.72 \pm 0.04	0.71 \pm 0.05	0.67** \pm 0.04	0.68 \pm 0.06
Thymus g%		0.11 \pm 0.02	0.11 \pm 0.02	0.13 \pm 0.01	0.09* \pm 0.02	0.08** \pm 0.01	0.10 \pm 0.03
Ovary mg%		37.9 \pm 5.5	43.7* \pm 6.4	39.5 \pm 3.4	40.5 \pm 8.0	35.9 \pm 8.0	42.6 \pm 7.6
Uterus g%		0.22 \pm 0.04	0.24 \pm 0.05	0.20 \pm 0.03	0.19 \pm 0.04	0.14 \pm 0.04	0.18 \pm 0.05
Adrenal mg%		28.2 \pm 2.7	31.7 \pm 5.9	34.8** \pm 5.7	37.7** \pm 3.0	39.7** \pm 4.0	38.4** \pm 5.9
Thyroid mg%		9.9 \pm 1.0	10.0 \pm 1.6	10.7 \pm 2.4	12.0** \pm 1.6	27.8** \pm 9.0	10.6 \pm 1.6
Hypophysis mg%		6.1 \pm 0.9	6.8 \pm 1.0	5.9 \pm 0.7	6.0 \pm 0.7	6.0 \pm 1.1	5.6 \pm 0.8

* : Significantly different from control $p < 0.05$ ** : Significantly different from control $p < 0.01$

Table 9 Histological findings in rats treated orally with CXD for 3 months

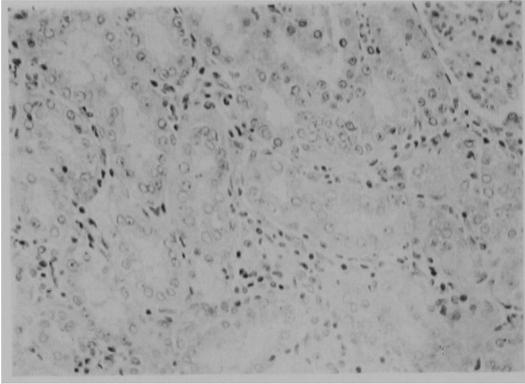
Group mg/kg	Cont.		320		800		2000		5000		CEX 2000	
	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f
Sex												
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney												
-Dilation of tubules		3	3	4	1	6	1	8	3	8	9	10
-Hydropic change of tubules or vacuolar change of tubules	2	2	1	3	7	4	6	5	8	6	6	7
-Casts	3		5		9		10		9		9	
-Cellular infiltration		5		2		4		6	1	2	6	10
-Scar	1	8		9	2	9	5	7	5	4	8	10
Heart												
-Fibrosis											4	2
-Cellular infiltration					1	1	4		2	3	1	
Lung												
-Atelectasis					1		1				1	
-Hypertrophy of arterial walls	1		2		2	1			1			
-Calcification	1				1							
Liver												
-Congestion	1											
-Cellular infiltration						2						
Pancreas												
-Hyperplasia of islets			6		1	2						
Testis												
-Atrophy											2	
Lymph node												
-Hyperplasia	1	1		1		2	2	1				1
Thyroid												
-Small follicles	4	3	3	5	5	5	3	3	7	10	8	6
Brain, Spleen, Thymus, Prostate, Ovary, Uterus, Adrenal, Hypophysis, Esophagus, Stomach, Small or Large intestine, Urinary bladder, Bone marrow, Eye, Lacrimal gland, Skin, Salivary gland, Trachea.	No pathological change.											

(5) 剖検および臓器重量 (Table 8)

剖検所見では、CXD 2,000 および 5,000 mg/kg 群の雌雄に投与 3 ヶ月で腎の腫大および表面の粗化が、また CEX 2,000 mg/kg 群の雌雄に腎の表面顆粒状化がみられた。さらに CXD 投与群および CEX 投与群の雌雄に投与量に依存した盲腸の拡大がみられた。また CXD 5,000 mg/kg 群の雌雄の甲状腺が暗赤褐色に肥大し、

回復 3 ヶ月後でもわずかに肥大がみられた。臓器重量は投与 3 ヶ月後で腎、副腎、脾および肝重量の増加が CXD 投与群および CEX 2,000 mg/kg 群の雌雄にみられ、CXD 投与群では投与量に依存していた。甲状腺は CXD 2,000 mg/kg 群の雌および 5,000 mg/kg 群の雌雄で増加していた。胸腺重量の減少が CXD 2,000 mg/kg 群の雌および 5,000 mg/kg 群の雌雄に、また CEX 2,000

Fig. 2 Kidney. Hydropic change of tubular epithelia (Rat, ♀, CXD 5000mg/kg, 3 months, H. E. stain)



mg/kg 群の雄にもみられた。腎および肝重量の増加は回復3ヵ月後でも CXD 2,000, 5,000 mg/kg 群および CEX 2,000 mg/kg 群にみられたが、その他に異常はみられなかった。

(6) 病理組織学的所見 (Table 9)

投与3ヵ月後に腎尿細管上皮の水腫様変化、近位尿細管拡大およびその周辺間質の線維化が CXD 2,000 mg/kg 群の雄、5,000 mg/kg 群の雌雄および CEX 2,000 mg/kg 群の雌雄にみられ、これらの所見は CEX 投与群で最も著明であった (Fig. 2)。この変化は CXD 投与群では回復1ヵ月後に軽減したが、CEX 投与群では回復3ヵ月後でもなお著明に変化が認められた。また投与3ヵ月において副腎束状層の脂肪滴の増加傾向が CXD 800 mg/kg 群の雄、同じく 2,000, 5,000 mg/kg 群の雌雄および CEX 2,000 mg/kg 群の雌雄にみられ、甲状腺小濾胞および上皮増生が CXD 5,000 mg/kg 群の雌雄にみられた。また心筋に Catarrhal 細胞の出現および限局性心筋炎が CEX 2,000 mg/kg 群の雌雄にみられた。しかしこれらの所見はいずれも回復2ヵ月後には全くみられなくなった。

総括および考察

(1) マウス経口投与亜急性毒性試験

一般症状では、投与期間中 CXD 2,000 および 5,000 mg/kg 群に軟便がみられ、また CEX 投与群では摂水量の増加がみられたが、これらは投与中止後にはみられなくなった。血液検査では、投与3ヵ月後の CXD 5,000 mg/kg 群および CEX 投与群に Hb, Ht および RBC の減少がみられた。CXD 5,000 mg/kg 群では投与中止1ヵ月後に回復したが、CEX 投与群ではこれら血液所

見は投与中止後3ヵ月で回復した。剖検では、投与3ヵ月後に CXD 各投与群および CEX 投与群とも盲腸拡大がみられ、また CEX 投与群では腎表面の顆粒化がみられ、投与中止3ヵ月後でも軽度ながら同様の所見がみられた。また投与3ヵ月後に腎重量増加が CXD 5,000 mg/kg 群にみられた。組織学的所見では、投与3ヵ月後の CXD 2,000 および 5,000 mg/kg 群および CEX 投与群に近位尿細管の上皮空胞化および内腔拡大がみられたが、上記所見は投与中止2ヵ月後には消失した。他方これらの所見は CXD 320 mg/kg 群では全くみられなかった。

(2) ラットにおける亜急性毒性試験

CXD のラットでの3ヵ月連続経口投与を行った結果、一般症状として下痢、軟便、腹部膨満、摂水量増加がみられ、尿検査では尿量の増加、尿比重の低下がみられた。血液検査では Hb および RBC の減少がみられ、血清生化学的検査では GOT, ALP, BUN, 総蛋白量の低下および血清Kの低下を主とする血清電解質の変化が認められた。臓器重量では腎、副腎、脾および肝の重量増加がみられ、剖検では盲腸拡大および腎腫大および表面の粗となるものがあり、その病理組織学的所見では近位尿細管上皮変性を主とする病変がみられた。以上の変化は CEX 投与群にもみられたが、CXD および CEX 投与中止により消失した。

(3) マウスおよびラットでの亜急性毒性試験において、下痢、軟便、腹部膨満の他、剖検により盲腸拡大がみられた。これらは各種抗生剤を投与することにより、腸内細菌叢および揮発性脂肪酸の変動することが報告されている²⁾ ことより、CXD によって腸内細菌叢が変化した結果生じたと考えられる。また病理組織学的検索によって腎近位尿細管上皮に変化がみられ、CXD は極めて大量の投与により他の Cephalosporin 系抗生剤³⁾⁻⁵⁾ と同様に腎に対してある程度の障害作用を示すものと考えられる。また投与中にみられた摂水量、摂餌量および尿量の増加、血清総蛋白量の減少、血清Kの低下は上記の消化器症状および腎障害によるものと考えられる。

血液検査所見において、CXD 投与群に Hb, Ht および RBC の減少が認められたが、しかし Cephalosporin 系抗生剤は一般に溶血性貧血を起こすことが知られ⁶⁾⁷⁾、CXD のこの作用は他の Cephalosporin 系抗生剤に比し、比較的高用量においてみられることから著明なものといえる。また脾重量の増加はこれに伴う脾の適応によるものと考えられる。

肝重量の増加がみられたが、組織学的検索および血清生化学的検査において肝障害を示す所見はみられなかった。また甲状腺重量の増加と、組織学的検索において甲

伏腺細胞の増生が認められたが、その原因は不明である。副腎重量の増加および胸腺重量の減少がみられ、これらの変化は薬物投与による非特異的ストレス反応と関連があると思われるが明らかではない。しかし以上の所見は投与中止後には消失しており、いずれも可逆的変化であった。

(4) 以上より Cefroxadine (CXD) の3ヶ月連続経口亜急性毒性試験におけるマウスの最大無作用量は 320 mg/kg と考えられ、ラットにおいては320 mg/kg 以下と考えられた。

文 献

1) 森本宏一, 清水 充, 田所 規, 高橋晶三, 宮地 徹: Cefroxadine (CGP-9000) の毒性試験, 第1報, 急性毒性試験. *Chemotherapy* 28(S-3): 98~102, 1980

2) 今井章浩: マウスの盲腸内細菌叢と盲腸内容の揮発性脂肪酸組成におよぼす各種抗生物質投与の影響. *Chemotherapy* 26, 3: 345~350, 1978

3) 長瀬光昌, 本田西男: 薬剤の副作用としての臓器障害, 薬剤と臓器障害. 腎: 総合臨床22, 10: 1938~1946, 1973

4) BRUCE M. TUNE: Relationships between the Transport and Toxicity of Cephalosporins in the Kindney. *J. Inf. Disease* 132, 2: 189~194, August 1975

5) FREDRIC J. SILVERBLATT: Antibiotic Nephrotoxicity. *Uro. Clin. North America* 2, 3: 557~567, Oct. 1975

6) 林 康之: セファロsporin系薬剤による臨床検査成績の異常. *ファルマシア* 15, 1: 41~44, 1979

7) 大久保 澁: 薬剤による溶血性貧血. *クリニカ* 6, 2: 132~135, 1979

SUBACUTE TOXICITY STUDY OF CEFROXADINE (CGP-9000)

KOICHI MORIMOTO, MITSURU SHIMIZU, TADASHI TADOKORO,
 SYOZO TAKAHASHI and TORU MIYAJI
 Drug Safety Laboratory, CIBE-GEIGY (JAPAN) Ltd.

Subacute toxicity study was performed in mice and rats, and the following results were obtained.

320, 800, 2,000 and 5,000 mg/kg/day of cefroxadine (CGP-9000, CXD) were orally administered to mice and rats respectively for three months and recovery tests for further three months were carried out.

In mice, soft feces, slight anemia and increase of the kidney weight in 5,000 mg/kg group, and dilation of the cecum in 2,000 and 5,000 mg/kg groups were observed, which disappeared after three months recovery.

In rats, slight diarrhea, atony of the abdomen, increase of water intakes and urinary volume, slight decrease of the body weight gain and anemia in 2,000 and 5,000 mg/kg groups, soft feces in 320 and 800 mg/kg, the disturbance of serum electrolytes in the groups more than 320 mg/kg, the increase of kidney, adrenal, spleen and liver weight depending on the dosage, and the dilatation of the lumen and slight hydropic change of epithelial cells of renal proximal tubules were observed, but these changes were not observed after 3 months without administration.