

## Cefoperazone (T-1551) の利尿剤併用時における腎障害作用

米田豊昭・岩崎信一・佐藤 盛・中川重仁・林 智栄・高井 明

富山化学工業株式会社総合研究所

Glycerol (G) と利尿剤 furosemide (F) を皮下投与したラットに対して cefoperazone (CPZ, T-1551), CET, CEZ のおのおの 250 mg/kg, 1000 mg/kg を静注し, 24時間後に腎におよぼす影響を比較検討した。また, それぞれの検体の 1000 mg/kg 単独静注投与についても同様の検討を行なった。

1) 投与後 5~24時間にあたって採取した尿中 lysozyme 量は, CEZ, CET 投与群で投与量に比例した著しい増加がみられたが, CPZ 投与群では増加の程度が他の 2 剤より少なく, 投与量との関係も明瞭でなかった。

2) 24時間後に採血検査した BUN とクレアチニンでは, 3 薬剤とも投与量に比例した上昇を示し, その程度は BUN が CEZ>CET>CPZ の順に強く, クレアチニンでは CET≒CEZ>CPZ の順であった。

3) 腎の組織学的検索では各薬剤投与群に皮質尿細管上皮の変性, 壊死, 尿細管腔内の好酸性円柱の出現が認められ, その尿細管障害の強さはほぼ CEZ≒CET≧CPZ の順であったが, 明瞭な差ではなかった。腎の電子顕微鏡的観察でも近位尿細管上皮細胞に変性像, 壊死像を認めた。

4) CPZ, CET, CEZ の 1000 mg/kg 単独静注投与では上記異常所見は認められなかった。

Cephalosporin 系抗生物質のなかでは, cephaloridine が臨床的に腎障害をきたすことが知られており<sup>3,2)</sup>, 動物実験においてもウサギ, ラット, マウスなどを使用して, このことが確かめられている<sup>3,4)</sup>。しかし, 最近比較的腎毒性が弱いとされていた CET などにも, 利尿剤 (furosemide) と併用投与した場合, 腎障害が出現する危険性のあることが動物実験(ラット)の結果から推定されるに到った<sup>5-7)</sup>。このことから臨床的に軽い腎疾患を有する患者に対する利尿剤との併用使用には, 十分な注意が必要になってきた。

新しい cephalosporin 系抗生物質である cefoperazone (CPZ, T-1551) については, すでにラットにおける 1 カ月および 6 カ月の連続腹腔内投与実験を行なっているが<sup>8)</sup>, 単独投与では 2000 mg/kg の 6 カ月間腹腔内連続投与でも, 軽い近位尿細管上皮の硝子滴変性以外, 腎に重篤な障害をきたさないことが明らかになっている。今回は, さらに CPZ と furosemide あるいは glycerol-furosemide を併用投与した場合の腎毒性を cefazolin (CEZ), cephalothin (CET) を対照薬として検討した。

## I. 実験材料および方法

実験動物として, 10週齢雌性 Wistar 系ラット (日本クレア産, 体重 210~240 g) 120 匹を用いた。Glycerol (G) と furosemide (F) の投与法は LAWSON ら<sup>5)</sup>, LINTON ら<sup>6)</sup>の方法に準じ, 予備実験の結果から glycerol

は生理食塩液で 50% に稀釈したものを 4 ml/kg 皮下投与し, furosemide は生食懸濁として 50 mg/kg 皮下投与した。検討薬剤の投与経路は, その臨床使用方法に準じて静脈内投与とし, すべて生理食塩液に溶解して投与した。投与群および匹数は Table 1 に示す通りである。

Table 1 Experimental groups

Drugs	No. of rats
Control (Saline)	8
Glycerol (G)	8
Furosemide (F)	8
G + F	8
CPZ 250 mg/kg + G + F	8
CPZ 1000 mg/kg + G + F	8
CET 250 mg/kg + G + F	8
CET 1000 mg/kg + G + F	8
CEZ 250 mg/kg + G + F	8
CEZ 1000 mg/kg + G + F	8
CPZ 1000 mg/kg	8
CET 1000 mg/kg	8
CEZ 1000 mg/kg	8
CPZ 250 mg/kg + F	8
CPZ 1000 mg/kg + F	8

Saline: 5 ml/kg, iv Glycerol: 50% sol., 4 ml/kg, sc  
Furosemide: 1% sol., 50 mg/kg, sc  
CPZ, CET, CEZ: 20% sol., iv

Table 2 Urinalysis of 0-5 hr. urine and 5-24 hr. urine in rats treated with CPZ or other cephalosporins alone or in combination with furosemide and glycerol

Group	0-5 hr. urine						5-24 hr. urine					
	Volume (ml)	pH	Pro.	Bld.	Ket.	Glu.	Volume (ml)	pH	Pro.	Bld.	Ket.	Glu.
Control	1.1±0.09	6.5	±	—	—	—	7.0±0.82	6.0	±	—	—	—
Glycerol (G)	2.6±0.39*	5.0	+	±	—	—	5.0±1.08	6.0	+	+	—	—
Furosemide (F)	13.3±0.65**	6.0	±	—	—	—	8.4±1.00	5.5	±	—	—	—
G + F	11.2±0.78**	5.0	+	±	±	—	11.6±1.18**	5.5	+	±	—	—
CPZ 250 mg/kg + G + F	13.4±1.00**	5.0	+	±	±	—	15.4±1.34**	5.5	+	±	—	—
CPZ 1000 mg/kg + G + F	13.5±0.90**	5.5	+	±	±	—	19.7±1.75**	5.5	+	±	—	—
CET 250 mg/kg + G + F	13.7±1.21**	5.5	+	±	±	—	12.9±1.41**	5.5	+	±	—	—
CET 1000 mg/kg + G + F	13.4±0.46**	5.5	+	±	±	—	9.7±0.84*	6.0	±	±	—	—
CEZ 250 mg/kg + G + F	13.4±0.88**	5.5	+	±	±	—	16.5±2.04**	6.0	+	±	—	—
CEZ 1000 mg/kg + G + F	11.5±0.89**	5.0	+	±	±	—	11.6±0.96**	6.0	±	±	—	—
CPZ 1000 mg/kg	1.3±0.12	6.0	±	—	—	—	3.2±0.38**	6.0	±	—	—	—
CET 1000 mg/kg	3.2±1.01	6.0	±	—	—	—	7.8±1.11	6.0	±	—	—	—
CEZ 1000 mg/kg	1.6±0.25	6.0	±	—	—	—	5.5±0.74	6.0	±	—	—	—
CPZ 250 mg/kg + F	14.7±0.43**	5.5	±	—	—	—	10.1±1.64	6.0	±	—	—	—
CPZ 1000 mg/kg + F	16.7±1.12**	6.0	±	—	—	—	13.6±1.96**	6.0	±	—	—	—

Pro.: Protein, Bld.: Blood, Ket.: Ketones, Glu.: Glucose

—: Negative, ±: Very slight, +: Slight, ±: Moderate, ±: Severe

\*: Statistically significant difference from control (p&lt;0.05)

\*\*: Statistically significant difference from control (p&lt;0.01)

CPZ, CEZ, CET の G と F の併用投与群は G と F を同時にラットの背部皮下に注射した後、ただちにおのおのの検討抗生剤の20%生理食塩水溶液を尾静脈より注射した。

ラットは投与前に個別の代謝ケージ中で24時間予備飼育した。薬剤投与後、ラットを直ちに代謝ケージにもどし採尿を開始した。投与後24時間尿を0～5時間、5～24時間に分けて採取し、それぞれの尿について尿量、lysozyme (LZM; Litwack<sup>9</sup>) および OSSERMAN<sup>10</sup>) の方法を測定した。他に pH, 蛋白, 潜血, ケトン体, 糖 (マルチスティックス; マイルス・三共) を検査した。採尿中は絶食とした。

薬剤投与24時間後に動物をエーテル麻酔下で開腹し、後大静脈より採血し血清を分離して、BUN およびクレアチニンの測定を行なった。採血後、左心室側壁より10%リン酸緩衝ホルマリンで腎臓の灌流固定を行なった。ついて、腎臓はパラフィン切片とし、hematoxylin-eosin染色, PAS染色を施して組織学的に検索した。各群2匹の腎臓については、さらに10%リン酸緩衝ホルマリンで前固定し、1%オスミウム酸固定を行なった後、エポキシ樹脂に包埋し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛の二重染色を施し、電子顕微鏡で微細構造の検索を行なった。

## II. 実験結果

### 1. 尿検査結果

各投与群の尿量および pH, 蛋白, 潜血, ケトン体, 糖の検査結果を Table 2 に示した。各実験群のうち F を併用投与したすべての群では、F の利尿作用に基づく著しい尿量の増加が認められ、特に0～5時間尿においてこの傾向が著しかった。尿の定性試験については、G 単独投与群および G を併用した各群において0～5時間尿で著しい潜血反応が認められた。5～24時間尿でも上記の各群で潜血反応が認められたが、0～5時間尿に比べてやや弱い傾向にあった。また、CET, CEZ のおのおの1000 mg/kg + G + F 併用群の5～24時間尿に中等度の蛋白陽性反応がみられた。pH, ケトン体, 糖には著しい変化は認められな

Table 3-a Amount of lysozyme ( $\mu\text{g}$ ) of 0-5 hour urine in rats treated with CPZ or other cephalosporins alone or in combination with furosemide and glycerol

Group	Rat No.								Mean $\pm$ S. E.
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Control	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
Glycerol (G)	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
Furosemide (F)	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CPZ 250 mg/kg + G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CPZ 1000 mg/kg + G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CET 250 mg/kg + G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CET 1000 mg/kg + G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CEZ 250 mg/kg + G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CEZ 1000 mg/kg + G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CPZ 1000 mg/kg	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CET 1000 mg/kg	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CEZ 1000 mg/kg	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CPZ 250 mg/kg + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CPZ 1000 mg/kg + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0

n. d.: Not detectable

Table 3-b Amount of lysozyme ( $\mu\text{g}$ ) of 5-24 hour urine in rats treated with CPZ or other cephalosporins alone or in combination with furosemide and glycerol

Group	Rat No.								Mean $\pm$ S. E.
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Control	4.7	n. d.	0.6 $\pm$ 0.59						
Glycerol (G)	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	8.6	n. d.	n. d.	n. d.	1.1 $\pm$ 1.08
Furosemide (F)	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
G + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	11.2	n. d.	n. d.	n. d.	1.4 $\pm$ 1.40
CPZ 250 mg/kg + G + F	10.7	7.7	n. d.	9.1	14.5	n. d.	n. d.	16.6	7.3 $\pm$ 2.36*
CPZ 1000 mg/kg + G + F	n. d.	17.1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	11.3	12.2	5.1 $\pm$ 2.55
CET 250 mg/kg + G + F	71.0	n. d.	9.8	n. d.	12.4	n. d.	n. d.	n. d.	11.7 $\pm$ 8.67
CET 1000 mg/kg + G + F	11.3	145.2	53.8	19.5	13.6	71.3	8.5	9.1	41.5 $\pm$ 16.96*
CEZ 250 mg/kg + G + F	n. d.	n. d.	15.4	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	203.8	27.4 $\pm$ 25.27
CEZ 1000 mg/kg + G + F	21.0	15.3	44.6	127.6	n. d.	49.6	36.9	60.7	44.5 $\pm$ 13.78**
CPZ 1000 mg/kg	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CET 1000 mg/kg	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CEZ 1000 mg/kg	n. d.	n. d.	n. d.	3.2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0.4 $\pm$ 0.40
CPZ 250 mg/kg + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0
CPZ 1000 mg/kg + F	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0

n. d.: Not detectable

\*: Statistically significant difference from control ( $p < 0.05$ )\*\*: Statistically significant difference from control ( $p < 0.01$ )

Table 4 Blood urea nitrogen and serum creatinine in rats treated with CPZ or other cephalosporins alone or in combination with furosemide and glycerol

Group	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Control	9.8±0.08	0.75±0.043
Glycerol (G)	9.3±0.38	0.86±0.041
Furosemide (F)	14.3±0.68** <sup>1)</sup>	1.00±0.045** <sup>1)</sup>
G + F	17.4±1.25** <sup>1)</sup>	1.07±0.035** <sup>1)</sup>
CPZ 1000 mg/kg	9.5±0.74	0.83±0.038
CET 1000 mg/kg	9.9±0.55	0.84±0.034
CEZ 1000 mg/kg	8.6±0.31	0.82±0.047
G + F	17.4±1.25	1.07±0.035
CPZ 250 mg/kg + G + F	26.6±4.34	1.59±0.210* <sup>2)</sup>
CPZ 1000 mg/kg + G + F	32.4±4.73** <sup>2)</sup>	1.99±0.234** <sup>2)</sup>
CET 250 mg/kg + G + F	29.6±5.51* <sup>2)</sup>	1.70±0.261* <sup>2)</sup>
CET 1000 mg/kg + G + F	44.1±5.76** <sup>2)</sup>	2.77±0.427** <sup>2)</sup>
CEZ 250 mg/kg + G + F	31.9±5.21* <sup>2)</sup>	1.95±0.243** <sup>2)</sup>
CEZ 1000 mg/kg + G + F	52.0±2.78** <sup>2)</sup>	2.33±0.169** <sup>2)</sup>
Furosemide (F)	14.3±0.68	1.00±0.045
CPZ 250 mg/kg + F	17.3±1.36	1.08±0.058
CPZ 1000 mg/kg + F	15.8±1.05	1.12±0.092

1) Statistically significant difference from control \*= $p < 0.05$ , \*\*= $p < 0.01$

2) Statistically significant difference from group G + F \*= $p < 0.05$ , \*\*= $p < 0.01$

かった。

## 2. 尿中 lysozyme (LZM) 活性

0～5時間尿および5～24時間尿の LZM 値をそれぞれ Table 3-a, Table 3-b に示した。

0～5時間尿では、各群の各個体とも LZM 値は検出限界以下であった。5～24時間尿では、control 群、G 群、F 群、G + F 群、CPZ、CET、CEZ の各単独投与群および CPZ + F 群においては、LZM は散発的にわずかに検出されたにすぎず、ほとんどの個体で検出限界以下であった。また、CPZ 250 mg/kg あるいは 1000 mg/kg と G + F の併用群では、おのおの 7.3 μg, 5.1 μg の平均値が得られたが、CPZ の投与量の増加に伴う上昇は認められなかった。これに対して CET、CEZ の G + F 併用群では投与量に比例した尿 LZM の活性増加が認められた。すなわち、CET + G + F 群では 250 mg/kg 投与での 11.7 μg に対して 1000 mg/kg 投与では 41.5 μg であり、CEZ + G + F 群では 250 mg/kg 投与での 27.4 μg に対して、1000 mg/kg 投与では 44.5 μg であった。

## 3. BUN およびクレアチニン値

各投与群の BUN およびクレアチニン値は Table 4 に

示す通りである。

CPZ、CET、CEZ の各 1000 mg/kg 単独投与群と G 群では、BUN、クレアチニンとも control 群と差がなかった。しかし、F 群と G + F 群は control 群より幾分高い値を示した。CPZ、CET、CEZ のおのおの 250 mg/kg, 1000 mg/kg を G + F と併用投与した群では、すべての群で BUN、クレアチニンとも明らかな上昇が認められた。BUN については、CPZ、CET、CEZ それぞれ 1000 mg/kg と G + F との併用群のすべてにおいて、G + F 群との間に有意差が認められた。250 mg/kg の併用群では、CET、CEZ に有意差がみられたが、CPZ 250 mg/kg + G + F 群のみ G + F 群との間に有意差が認められなかった。クレアチニンでは、CPZ、CET、CEZ それぞれと G + F 併用群のすべてが G + F 群との値の間に有意差を示し、3 薬剤とも投与量に依存した上昇が認められた。上昇の程度の比較では、BUN が CEZ > CET > CPZ の順であり、クレアチニンは 1000 mg/kg の併用投与で比較すると CET > CEZ > CPZ の順であったが、250 mg/kg 併用投与群では CET と CEZ の順位が逆転しており、ほぼ CET = CEZ > CPZ の順であろうと思われた。

Table 5-a Histological examinations of the kidney in rats treated with CPZ or other cephalosporins alone or in combination with furosemide and glycerol

	Control								Glycerol (G)								
	Rat No.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline droplet degeneration in the proximal tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline casts in the tubular lumen		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Necrosis of the cortical tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Furosemide (F)								G + F								
	Rat No.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±
Hyaline droplet degeneration in the proximal tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline casts in the tubular lumen		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±
Necrosis of the cortical tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	+	+

	CPZ 250 mg/kg+F								CPZ 1000 mg/kg+F								
	Rat No.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Hyaline droplet degeneration in the proximal tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline casts in the tubular lumen		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Necrosis of the cortical tubular epithelium		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

—: Negative, ±: Slight and focal, +: Slight, ++: Moderate, +++: Marked

Table 5-b Histological examinations of the kidney in rats treated with CPZ or other cephalosporins alone in combination with furosemide and glycerol

	CPZ 250 mg/kg+G+F								CPZ 1000mg/kg+G+F								
	Rat No.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	##	+	+	+	+	-
Hyaline droplet degeneration in the proximal tubular epithelium	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	±	+	-	-	±	±	-
Hyaline casts in the tubular lumen	-	-	##	+	+	-	-	+	+	+	±	-	-	-	-	-	+
Necrosis of the cortical tubular epithelium	+	+	##	##	##	±	-	+	+	-	##	##	##	##	##	##	+

	CET 250 mg/kg+G+F								CET 1000 mg/kg+G+F								
	Rat No.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium	##	-	+	-	+	±	±	-	±	±	##	##	##	##	##	##	+
Hyaline droplet degeneration of the proximal tubular epithelium	+	-	-	-	+	±	-	-	-	±	+	+	+	-	±	-	-
Hyaline casts in the tubular lumen	+	±	±	##	##	±	-	-	+	+	+	##	+	±	##	±	±
Necrosis of the cortical tubular epithelium	+	+	+	+	##	±	±	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##

	CEZ 250 mg/kg+G+F								CEZ 1000 mg/kg+G+F								
	Rat No.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium	±	-	+	##	##	##	+	+	±	##	##	##	##	##	##	##	-
Hyaline droplet degeneration of the proximal tubular epithelium	-	-	-	+	-	-	-	±	+	±	±	±	±	-	±	+	+
Hyaline casts in the tubular lumen	±	+	-	+	+	-	±	±	##	±	±	±	±	±	±	±	±
Necrosis of the cortical tubular epithelium	±	+	+	##	##	±	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##

-: Negative, ±: Slight and focal, +: Slight, +, #: Moderate, ##: Marked

Table 5-c Histological examinations of the kidney in rats treated with CPZ or other cephalosporins alone or in combination with furosemide and glycerol

Rat No.	CPZ 1000 mg/kg								CET 1000 mg/kg							
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline droplet degeneration in the proximal tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline casts in the tubular lumen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Necrosis of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Rat No.	CEZ 1000 mg/kg								-	Negative
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline droplet degeneration in the proximal tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hyaline casts in the tubular lumen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Necrosis of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4. 腎の組織学的観察および電子顕微鏡による微細構造の観察

G と F を併用投与した CPZ, CET, CEZ 各投与群とも、腎に種々の程度に皮質尿細管上皮の変性や限局性崩壊像が認められた。これらの近位尿細管上皮の所見は、水腫変性、硝子滴変性などの変性像 (Photo. 1), あるいは尿細管上皮の核濃縮, 核消失, 細胞質の好酸化, 上皮細胞の基底膜からの剥離と崩壊など (Photo. 2) であったが、その変化には薬剤間の質的相違はみられなかった。また皮質、髓質尿細管腔には好酸性円柱の出現が認められた (Photo. 3)。このような所見をその強さと広がりから 5 段階に評価して、各実験群の各個体の結果をそれぞれ Table 5-a, Table 5-b, Table 5-c に示した。

腎尿管障害は、CPZ, CET, CEZ とも投与量にほぼ比例して現われていたが、検体間の比較では、250 mg/kg 投与群には薬剤間に差が認められなかった。1000 mg/kg 投与群の急性尿細管変性は、いずれの薬剤も中等度から高度に認められ、その程度は CEZ=CET ≥ CPZ であり、明瞭な差ではなかった。このような CPZ, CET, CEZ と G + F 併用投与によって得られた変化と類似した軽度の急性尿管障害の像は G + F 群にも軽度に現われていた。

Control 群 (Photo. 4), G 単独投与群, F 単独投与群, CPZ, CET, CEZ のおのおの 1000 mg/kg 単独投与群には、これらの異常所見は全く認められなかった。CPZ 1000 mg/kg と F のみを同時に投与した群では、8 例中 2 例に近位尿細管上皮の硝子滴変性がみられた。

腎の電子顕微鏡による観察では、G + F 投与群の近位尿細管上皮細胞にはすでに若干の変化がみられた。これらの変化は細胞基質の淡明化, 小空胞の出現, ミトコンドリアの膨化などであり (Photo. 5), 光顕下における水腫変性に相当する像と一致するものと思われるが、刷子縁の配列や他の小器官はおおむね正常であった。CPZ, CET, CEZ を G + F と併用投与した群の近位尿細管上皮では、上記の変化にとどまらず壊死変性像が明瞭に観察された。すなわち管腔内は上皮細胞質内より突

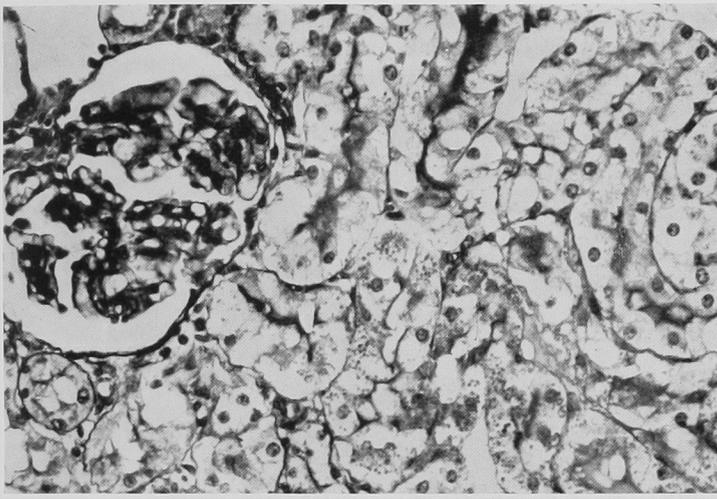


Photo. 1 The kidney from a rat given 1000 mg/kg of CPZ in combination with glycerol-furosemide. Hydropic degeneration and hyaline droplets of the proximal tubular epithelium are observed.  $\times 850$ , PAS staining.

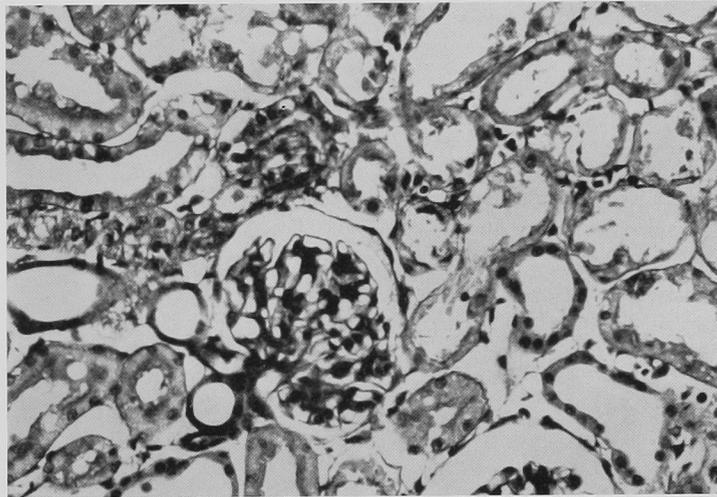


Photo. 2 The kidney from a rat given 1000 mg/kg of CEZ in combination with glycerol-furosemide. Acute focal renal tubular necrosis is noted on the right side.  $\times 850$ , PAS staining.

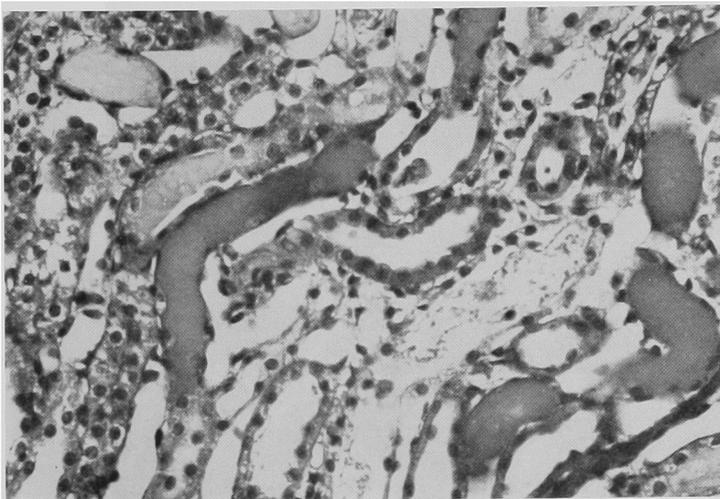


Photo. 3 The kidney from a rat given 1000 mg/kg of CEZ in combination with glycerol-furosemide. Hyaline casts are seen in the collecting tubular lumen.  $\times 850$ , PAS staining.

Photo. 4 The kidney from a rat of control group. No significant changes are seen.  $\times 850$ , PAS staining.

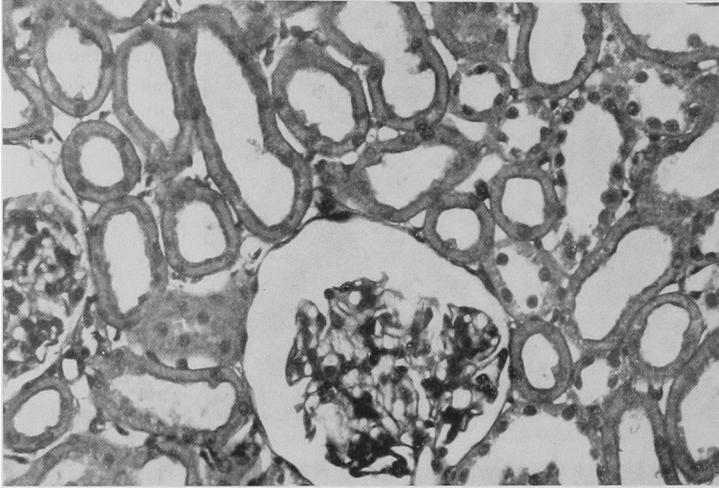


Photo. 5 Electron micrograph of the proximal tubular epithelial cells from a rat treated with glycerol and furosemide. Clear hyaloplasm of the upper portions of the cytoplasm is observed and brush borders are normal.  $\times 7000$ .

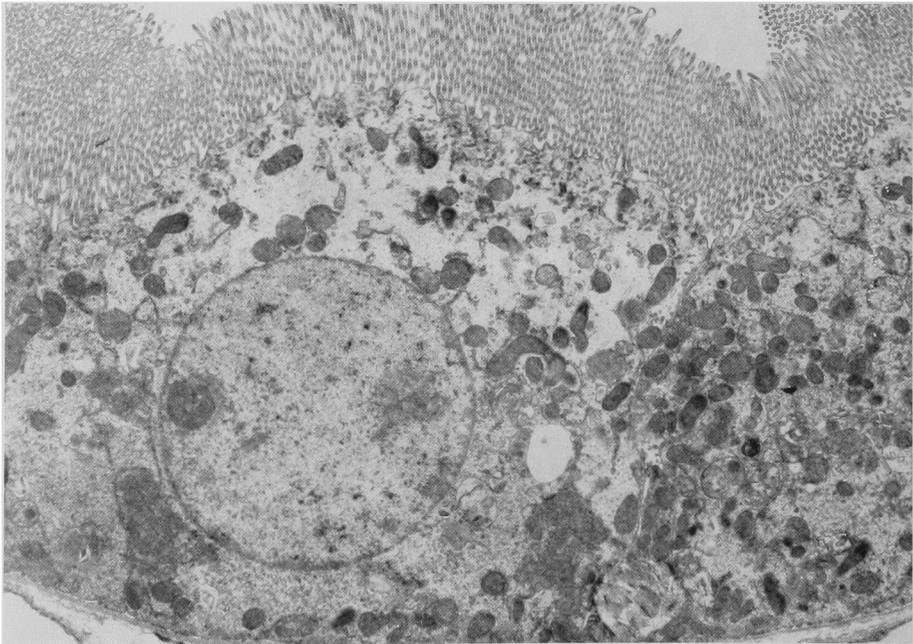


Photo. 6 Electron micrograph of the proximal tubular epithelial cells from a rat treated with 1000 mg/kg of CPZ in combination with glycerol-furosemide. Less-dense cytosomes are protruded into the lumen (arrow 1) and some brush borders on the luminal surface are lost (arrow 2). Dilatation of intercellular space of the epithelium (arrow 3) and rupture of nuclear membrane are noted (arrow 4).  $\times 2600$ .

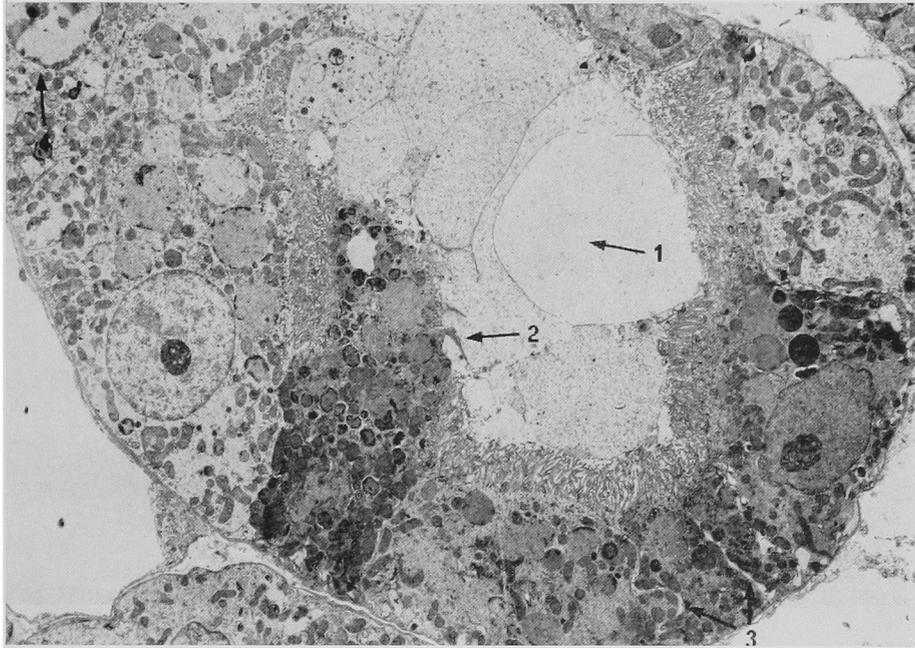


Photo. 7 Electron micrograph of the proximal tubular epithelial cells from a rat treated with 1000 mg/kg of CEZ in combination with glycerol-furosemide. Several lysosomes are present in the cytoplasm and a part of the lysosomal membrane is not observed (arrow).  $\times 7800$ .

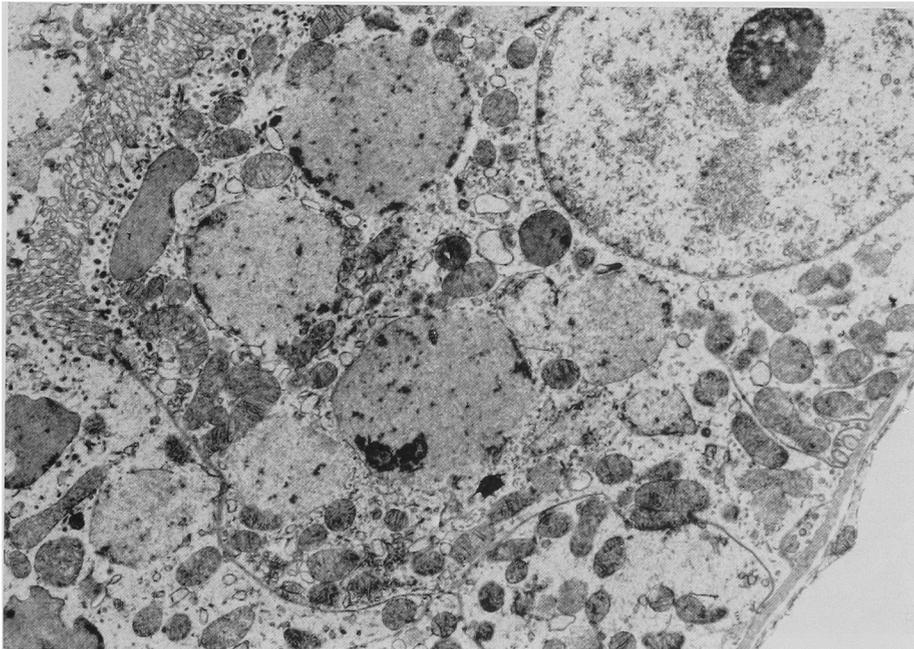


Photo. 8 Electron micrograph of severely damaged epithelial cells of the proximal tubules from a rat treated with 1000 mg/kg of CET in combination with glycerol-furosemide.  $\times 9000$ .

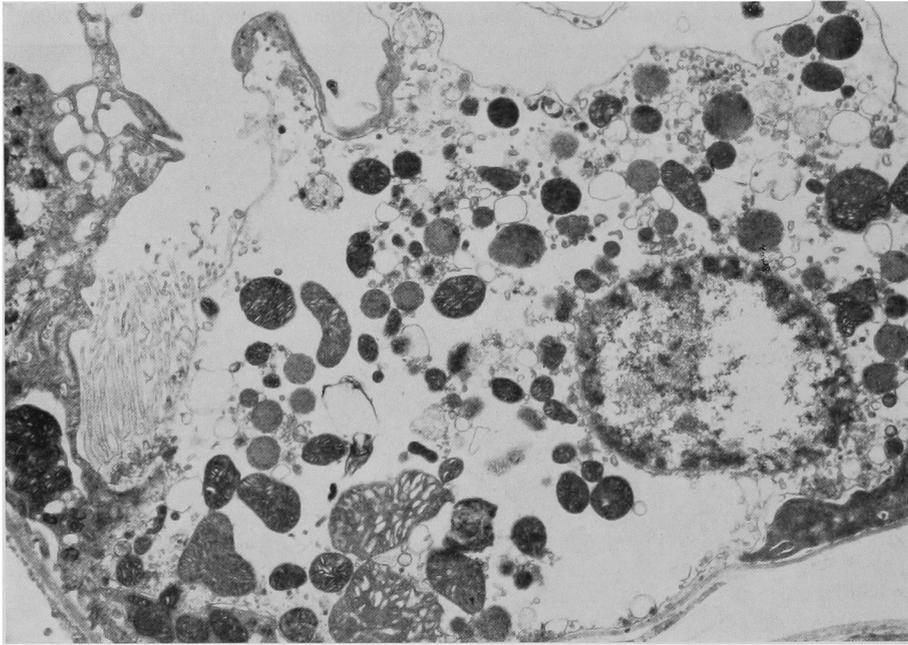


Photo. 9 Electron micrograph of the proximal tubular epithelial cells from a rat treated with 1000 mg/kg of CPZ alone. No remarkable changes are seen.  $\times 6000$ .

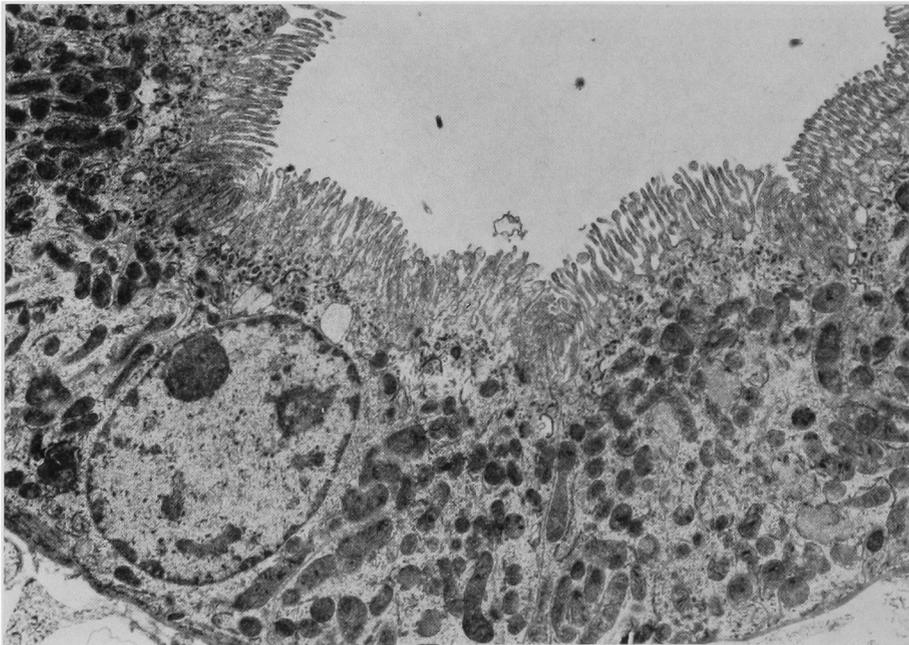


Photo. 10 Electron micrograph of the distal tubular epithelial cells from a rat treated with 1000mg/kg of CPZ in combination with glycerol-furosemide. No remarkable changes are observed.  $\times 7000$ .

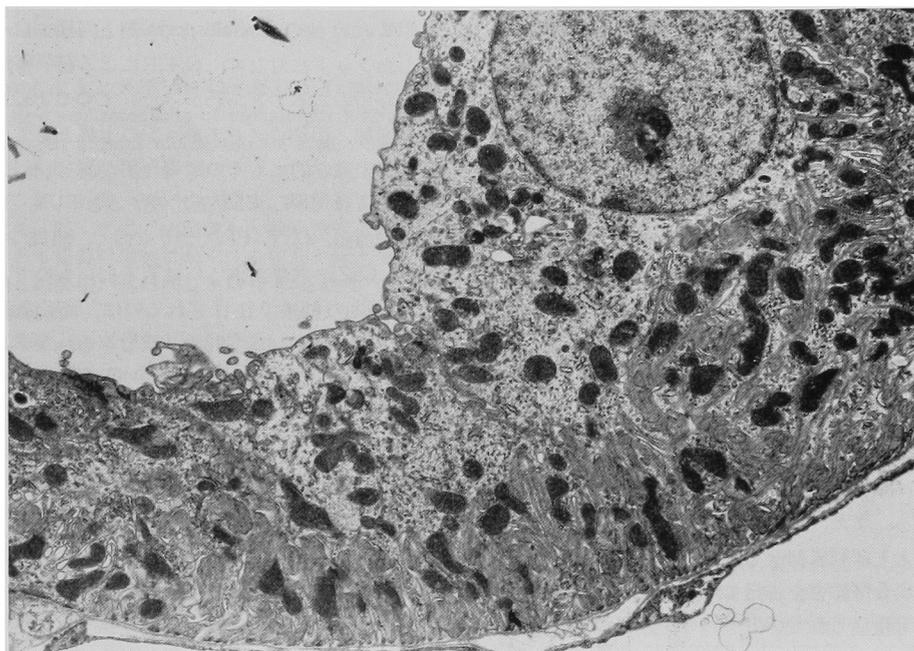
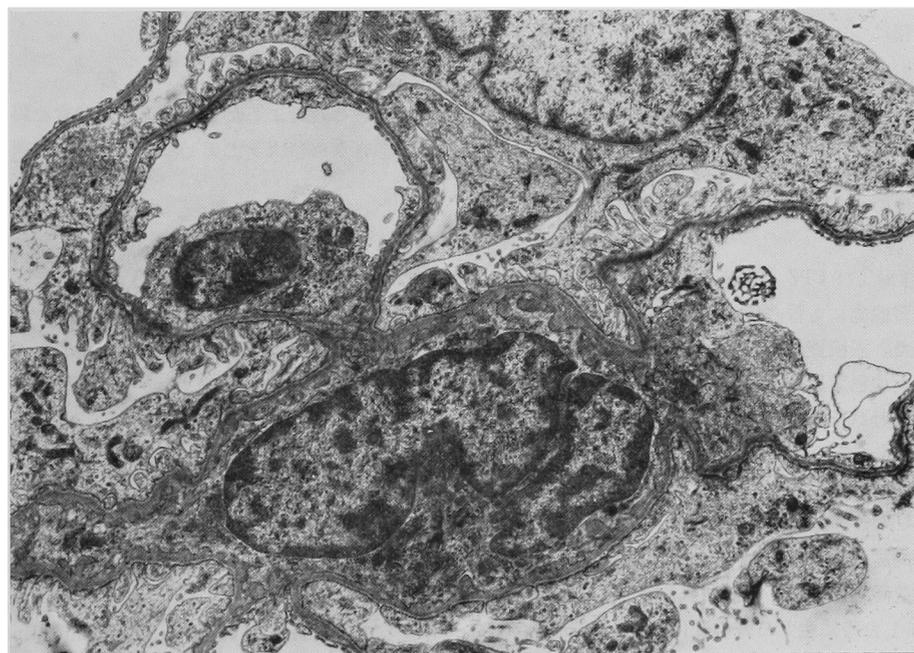


Photo. 11 Electron micrograph of the glomerulus from a rat treated with 1000 mg/kg of CPZ in combination with glycerol-furosemide. No significant changes are seen.  $\times 7800$ .



出した less-dence cytosome<sup>19)</sup> と思われる構造でうまり、刷子縁は脱落し、核には hyperchromatosis や核膜の断裂があり、また intercellular space の開大、ミトコンドリアの膨化などが認められた (Photo. 6)。細胞質内には、微細顆粒状物質を含む lysosome の出現とその膜の断裂 (Photo. 7) がみられたほか、多くの壊死像 (Photo. 8) が認められた。このような尿細管上皮細胞の壊死変性像は各抗生剤間に質的相違はみられず、ほぼ同程度出現していた。各抗生剤 1000 mg/kg 単独投与群には近位尿細管上皮の異常所見は全く認められなかった (Photo. 9)。各薬剤の G + F 併用投与群の遠位尿細管上皮細胞や糸球体の観察では明瞭な異常をとらえることができなかった (Photo. 10, 11)。

### III. 考 察

抗生物質特にアミノ配糖体<sup>11~13)</sup>、セファロスポリン系抗生剤<sup>1~4)</sup>のなかには、臨床においても動物実験においても、腎臓に障害をきたす傾向をもつ薬剤のあることが知られている。また、抗生物質は臨床においてしばしば他の薬剤たとえば利尿剤などと併用されることがあり、このような場合腎障害を誘発したりさらに増大させたりする可能性も指摘されている<sup>2, 14)</sup>。一方 LAWSON<sup>5)</sup> は少量の G の皮下注射によって引き起こされるラット腎の軽度の可逆的急性尿細管障害は、レニン-アンジオテンシン系を介して生じるもので、臨床的に軽度の尿細管障害を有する患者の実験モデルとして適切であると考え、こうした前処理を施した動物に各種抗生物質と F とを併用投与した影響について検討し、単独投与では腎に障害をおよぼさない量である CET 500 mg/kg, 1000 mg/kg 投与でも明瞭な腎障害の現われることを報告している。今回、われわれはこれらの実験系に従ってラットを用い、CPZ と glycerol-furosemide 併用時の腎毒性を検討するとともに、他の cephalosporin 系抗生剤と腎障害を比較した。

Control 群および CPZ, CET, CEZ の各単独投与群においては、腎機能にも腎の組織学的観察にも異常は認められなかった。尿検査の結果で、G を投与したすべての群にみられた血色素尿は、G 投与時に現われる血管内溶血によると思われる特徴的な症状であった<sup>15, 16)</sup>。また、F を投与したすべての群には F の利尿作用に基づく尿量の増加が観察された。G + F 群では、control 群に比べやや高い BUN, クレアチニン値が得られ、光学顕微鏡下の組織学的観察でも限局性の軽度のしかも可逆的範囲内の尿細管障害像を認めた。これにさらに CPZ, CET, CEZ を投与した時に生じる腎の変化は上記 G + F 群の腎変化を基準にすると、腎障害の増加作用としてとらえ

られた。本実験ではさらに尿中 LZM の測定を試みた。これは、石本<sup>17)</sup>や小林<sup>18)</sup>によって報告されているように比較的早期に尿細管障害を知るのに有用な方法である。

CPZ には他の cephalosporin 剤と同様に G + F で前処理したラットに対して、G + F による軽い腎障害を拡大する作用のあることがわかった。このことは尿中 LZM 活性増加, BUN, クレアチニンの上昇として現われ、さらに組織学的にもその障害作用が認められた。しかし、CPZ は CET, CEZ と比較すると BUN, クレアチニンの増加が、CET, CEZ よりも弱く、組織学的変化も CET, CEZ と同等かあるいは若干弱いものであった。また本実験の結果で注目されるのは、腎組織変化と尿中 LZM 活性の増加の相関が CPZ でみられないことおよび尿中 LZM には 250 mg/kg と 1000 mg/kg 投与群との用量依存性がみられないことであったが、その原因については明らかではない。電子顕微鏡下で観察された CPZ, CET, CEZ と G + F 併用群の諸変化は、WATANABE<sup>19)</sup> によるラットの cephaloridine 2000 mg/kg, 4000 mg/kg 単独 1 回投与によって観察された変化と同様の性質のものと考えられ、抗生剤などの投与によって引き起こされる尿細管上皮細胞の変性、壊死にともなう微細構造レベルでの特徴的な像であると思われる。また、CPZ, CET, CEZ 3 剤の間では、これらの変化に質的な差異はなかった。

以上の事実から、CPZ の F 併用による腎に対する障害作用は、CET, CEZ のそれに比べて同等かあるいは若干弱いと判断される。

### 謝 辞

本実験の遂行にあたり御指導、御助言を賜りました東京慈恵会医科大学上田 泰名誉教授に感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) HOLLOWAY, W. J. & E. G. SCOTT: Clinical experience with cephaloridine. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1965: 916~921, 1966
- 2) FOORD, R. D.: Cephaloridine and the kidney. *Progress in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy I*: 597~604, 1969
- 3) ATKINSON, R. M.; J. P. CURRIE, B. DAVIS, D. A. H. PRATT, H. M. SHARPE & E. G. TOMICH: Acute toxicity of cephaloridine, an antibiotics derived from cephalosporin C. *Toxicol. & Appl. Pharmacol.* 8: 398~406, 1966
- 4) WELLES, J. S.; W. R. GIBSON, P. N. HARRIS, R. M. SMALL & R. C. ANDERSON: Toxicity, distribution and excretion of cephaloridine in laboratory animals. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1965

- : 863~869, 1966
- 5) LAWSON, D. H. ; R. F. MACADAM, H. SIGH, H. CAVRAS, S. HARZ, D. TURNBULL & A. L. LINTON : Effect of furosemide on antibiotic-induced renal damage in rats. *J. Infect. Dis.* 126 : 593~600, 1972
  - 6) LINTON, A. L. ; R. R. BAILEY & D. I. TURNBULL : Relative nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics in an animal model. *Canad. Med. Assoc. J.* 107 : 414~416, 1972
  - 7) 上田 泰, 斉藤 篤, 松本文夫, 嶋田甚五郎, 大森雅久, 柴 孝也, 山路武久, 井原裕宣 : 薬剤併用による腎毒性増強にかんする研究, 抗生剤と利尿剤との併用。第19回日本腎臓学会総会予稿集 p. 306, 1976
  - 8) 米田豊昭, 柴田哲夫, 正谷博之, 佐藤 盛, 河村泰仁, 岩崎信一, 永井章夫, 滝本陽子, 長沢峰子, 高井 明 : Cefoperazone(T-1551)の毒性試験(第2報)ラット腹腔内投与亜急性, 慢性毒性試験。 *Chemotherapy* 28 (S-6) : 189~219, 1980
  - 9) LITWACK, G. : Photometric determination of lysozyme activity. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 89 : 401~403, 1955
  - 10) OSSERMAN, E. F. & D. P. LAWLOR : Serum and urinary lysozyme (muraminase) in monocytic and monomyelocyte leukemia. *J. Exp. Med.* 124 : 921~955, 1966
  - 11) KLEEMAN, C. R. & M. H. MAXWELL : The nephrotoxicity of antibiotics, a review in biology of pyelonephritis. Edited by QUINN, E. L. and KASS, E. H. BASTON, Little Brown Ltd., 1960
  - 12) WINFIELD, M. ; G. O. CRISP, H. MAXWELL & C. R. KLEEMAN : Nephrotoxic effects of kanamycin : A preliminary report. *Ann. New York Acad. Sci.* 76 : 140~148, 1958
  - 13) FLANDRE, O. : Experimental study of the nephrotoxicity of gentamicin in rats. *Gentamicin First International Symposium*. Paris, p. 47~61, 1967
  - 14) LAWSON, D. H. ; R. F. MACADAM, H. SIGH, H. CAVRAS & A. L. LINTON : The nephrotoxicity of cephaloridine. *Postgrad. Med. J.* 46 : 36~38, 1970
  - 15) FINCKH, E. S. : Experimental acute tubular nephrosis following subcutaneous injection of glycerol. *J. Path. Bact.* 73 : 69~85, 1975
  - 16) CAMPBELL, J. A. H. : Subcutaneous fat necrosis, hemolysis without siderosis and renal tubular atrophy following repeated glycerol injections. *J. Path. Bact.* 76 : 473~481, 1958
  - 17) 石本二見男 : 主要症状からみた中毒, 腎症状。 *新内科学大系*第60卷A中毒I (別冊) p. 133~150, 1976
  - 18) 小林千鶴子 : 抗生剤の腎毒性にかんする実験的研究。 *慈恵医大誌* 89 : 46~61, 1974
  - 19) WATANABE, M. : Drug-induced lysosomal changes and nephrotoxicity in rats. *Acta Path. Jap.* 28 : 867~889, 1978

## INFLUENCE OF CEFOPERAZONE (T-1551) IN COMBINATION WITH FUROSEMIDE ON THE KIDNEY

TOYOAKI YONEDA, SHINICHI IWASAKI, SHIGERU SATO,  
SHIGEHITO NAKAGAWA, TOMOE HAYASHI and AKIRA TAKAI

Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

The present study was carried out to evaluate an influence of cefoperazone (CPZ, T-1551), cephalothin (CET) and cefazolin (CEZ) in combination with glycerol-furosemide on rat renal function and morphology. Since a mild degree of renal impairment is known to be induced with glycerol (4 ml/kg) in rats, CPZ, CET or CEZ was given intravenously to rats at dose levels of 250 mg/kg and 1000 mg/kg, respectively, in combination with furosemide (50 mg/kg) plus glycerol (4 ml/kg) simultaneously. In addition, each antibiotic, mentioned above, was given alone to rats at 1000 mg/kg, intravenously.

The following results were obtained.

1) In rats receiving CPZ, CET or CEZ at dose levels of 250 mg/kg and 1000 mg/kg in combination with glycerol+furosemide, increase in amount of urinary lysozyme (LZM) of 5-24 hr following their administration, BUN and serum creatinine at 24 hr after their administration was observed, and degenerative changes and focal necrosis of the renal proximal tubular epithelium were noted. These changes except LZM in rats given CPZ+G+F revealed the dose-response.

2) The renal functional damages, particularly reflected by value of urinary LZM, were milder in rats given CPZ+G+F than either in rats given CET+G+F or in rats given CEZ+G+F at both doses of 250 mg/kg and 1000 mg/kg. In rats given CET+G+F and in rats given CEZ+G+F, the damage was almost the same degree at each dose level of 250 mg/kg and 1000 mg/kg, respectively.

3) Histologically, the renal tubular damages were virtually the same in rats given 250 mg/kg of CPZ+G+F, that of CET+G+F and that of CEZ+G+F respectively, and at dose level of 1000 mg/kg, the damage was slightly milder in rats given CPZ+G+F than either in rats given CET+G+F or in rats given CEZ+G+F.

4) In rats given CPZ, CET or CEZ alone at 1000 mg/kg, no significant changes were observed.