

## 6059-S の赤毛ザルにおける亜急性毒性試験

村岡義博・矢原 功・吉崎敏夫・原田喜男

塩野義製薬株式会社研究所

1. 6059-S の亜急性毒性試験を、赤毛ザルを用いて実施するに先立って、6059-S の静脈内投与による pilot study を、雌雄各 1 頭の赤毛ザルを用いて実施した。6059-S の 500 mg/kg または 1,000 mg/kg の 4 日間連続投与では特記すべき変化は認められなかったが、5,000 mg/kg の 1 回大量投与では、注入量 2,500 mg/kg に達したときに、雌に嘔吐がみられ、投与終了後から約 30 分間にわたって 2 頭ともに鎮静状態がみられた。また、本投与量での解剖時の病理検査において、1 頭に肝細胞と腎尿細管上皮の軽度の腫脹が認められた。
2. 上記 pilot study の結果を参考にして、赤毛ザルにおける 6059-S の亜急性毒性試験を 100, 300 および 500 mg/kg の 30 日間静脈内投与により実施した。100, 300 および 500 mg/kg の 30 日間投与によっても途中死亡例は認められず、耐薬性は良好であった。軽度な変化として、投与初期から軟便あるいは下痢が観察されたが、投与継続中にそれらの症状の悪化は認められなかった。100 mg/kg 投与群の 1 例において、下痢、体重減少、血液生化学的所見の変化等の多彩な変化がみられたが、特異な個体であると考えられた。本例を除けば、6059-S 投与に起因すると考えられる明らかな変化は観察されなかった。なお本実験の赤毛ザルでの最大無作用量は 500 mg/kg/日であると結論された。

## I. 緒 言

6059-S は塩野義製薬研究所で開発された Oxacephem 系の新しい注射用抗生物質である。

本薬に関する亜急性毒性試験としては、既に小林らにより、ラット<sup>1)</sup> およびイヌ<sup>2)</sup> を対象動物とした亜急性毒性試験成績が報告されており、ラットおよびイヌのいずれの動物においても 6059-S の大量静脈内投与時の亜急性毒性は軽微で、最大無作用量は、それぞれラットでは 1,260 mg/kg/日、イヌでは 400 mg/kg/日と判断されると報告している。今回、我々は 6059-S の亜急性毒性試験について、更に赤毛ザルを用いて実施したので、その成績を報告する。

なお、試験の実施にあたっては、pilot study としてまず急性毒性試験を行ない、その結果を基にして 30 日間連続投与による亜急性毒性試験を実施した。

## II. 実験材料および方法

## 1. 実験動物

Pilot study には検疫済みの赤毛ザルの雌雄各 1 頭を、亜急性毒性試験には計 11 頭の赤毛ザル(推定年齢 2~3 才、初期体重 3.3~4.1 kg)を用いた。これらのサルは、成長曲線、血液学的検査、血液生化学的検査において健常であると判断されたものである。サルは個別に金属性格子扉付きケージに収容し、室温 24~26°C、相対湿度 40~60%、1 時間あたり新鮮空気 12 回換気、10 時間人工照明(300 ルクス、朝 8:00~夕 6:00)のもとで維持されたサル舎で飼育した。餌は 1 頭あたりサル

用固型飼料(AB, オリエンタル) 100 g と新鮮キャベツ 60 g を 1 日 1 回与え、水は常時自由に摂取させた。

## 2. 検体

6059-S (Lot No. B01) は、注射用蒸留水を用いて 25% (w/v) の濃度に溶解した。この溶液は、毎日新しく調製し、Sartorius membrane filter (Milipore, 0.45  $\mu$ , HA) にてろ過したのち使用した。

## 3. 検体の投与方法

検体は注入器(ペリスタミニポンプ、ミツミ)を用いて後肢伏在静脈より注入した。

## 4. 実験方法

## 4-1. Pilot study

実験は A, B, C の 3 段階からなり、雌雄各 1 頭の赤毛ザルを用いて行なった。検査用の血液は、すべて検体を注射した後肢の反対側の伏在静脈から採血した。

## 実験 A)

6059-S の 500 mg/kg を 2 ml/min. の注入速度で 1 日 1 回、4 日間投与し、投与終了後の翌日に体重測定、血液検査、血液生化学分析を行なった。

## 実験 B)

実験 A の終了後、10 日間の休薬期間をとおいてから、6059-S の 1,000 mg/kg を 1 日 1 回、4 日間連続投与した。検体の注入速度は、1 日目 2 ml/min.、以後 3, 4, 5 ml/min. として注入速度による影響をも検討した。3 回投与後の翌日に PSP 試験、4 回投与後の翌日に血

液検査, 血液生化学分析, BSP 試験を行なった。

#### 実験C)

実験Bの終了後, さらに4日間の休業期間を置いてから, 6059-Sの5,000 mg/kgを5 ml/min.の速度で注入し, 1回大量投与時の影響を検討した。投与翌日に血液検査, 血液生化学分析を行なったのち, ペントバルビタール・ナトリウム(0.4 ml/kg)麻酔下で放血・屠殺し, 諸臓器について顕微鏡的に観察した。

#### 4-2. 亜急性毒性試験

##### (1) 投与量, 投与方法および投与期間

投与量: 上記のごとく, 6059-Sの500, 1,000または5,000 mg/kgを投与したpilot studyの結果において, 500および1,000 mg/kgにおいては特記すべき変化が認められなかった。しかし, 5,000 mg/kgにおいては, 動物はこの大量の1回投与に耐えたが, 投与により断続的な嘔吐が観察されたことから, 5,000 mg/kgは30日間連続投与の亜急性毒性試験にはover doseであると判断した。他方, イヌでの亜急性毒性試験における最大無作用量は400 mg/kgであるとの報告<sup>3)</sup>と考へ合せて, 本試験での最大投与量を500 mg/kgと設定した。また, 6059-Sの予想される臨床での通常1日使用量(体重当り20~40 mg/kg/日)を考慮して, さらに300 mg/kgおよび100 mg/kgの2用量を設定した。

投与方法と投与期間: 6059-Sは, 1日1回定刻に伏在静脈内に5 ml/min.の注入速度で連続30日間投与し, 対照群には, 6059-Sの300 mg/kgの容量と同量の生理食塩水を1.2 ml/kgの割合で静脈内注入した。

##### (2) 採血

検査用の血液は, すべて検体投与反対側の伏在静脈から採血した。血液学的検査用にはEDTA処理, 血液生化学的検査用にはヘパリン処理採血管を使用した。

##### (3) 観察項目

###### 1) 一般状態, 摂餌量および摂水量

検体投与の2週間前から実験終了時にわたって毎日測定した。

###### 2) 体重

体重は1週間隔で, 投与前3回, 投与中4回にわたって測定し, さらに, 最終投与翌日の解剖時にも測定を行ない, 比体重臓器重量算出時の値とした。

###### 3) 血液検査

赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 白血球数, 白血球分類, 血小板数, 網状赤血球数, 好酸球数, 全血凝固時間, プロトロンビン時間, 骨髓有核細胞数および骨髓M/E比について検査した。これらの検査は, 投与前ならびに投与後7, 16, 28日目に実施したが, 血液凝固時間については投与前と投与後16日

に, 骨髓有核細胞数と骨髓細胞のM/E比については解剖時にそれぞれ測定した。

###### 4) 血液生化学的検査

投与前ならびに投与後9, 18, 30日目に, 血漿中のGOT, GPT, LDH, ALP, 総ビリルビン, クレアチニン, 尿素窒素, グルコース, 総コレステロール, アルブミン, 総蛋白, 磷脂質, トリグリセライド, 蛋白分画, ハプトグロビンおよび電解質(Na, Cl, K, Ca, Mg)の各項目について測定した。

###### 5) 尿検査

投与前ならびに投与後4, 15, 24日目に, 16時間尿(夕5:00~朝9:00)を集め, 尿量, 浸透圧, 蛋白, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲン, pHおよび沈渣の各項目について検査した。

###### 6) BSPおよびPSP試験

BSP試験およびPSP試験を, 投与前ならびに投与後19日目(BSP)または23日目(PSP)に実施した。BSPは10 mg/kg, PSPは2 mg/kgをそれぞれ静脈内に投与した。

###### 7) 血中濃度

投与前ならびに投与12, 26日目のそれぞれの時点で, 検体投与1, 3および24時間後に採血して, 6059-Sの血漿中濃度を測定した。測定は, *E. coli* 7437を試験菌とするband culture assay methodで行なった。

###### 8) 心電図

投与前および投与29または30日目に心電図を検査した。検査時, サルをモンキーチェアに固定し, 多極四肢誘導波形(I, II, III)を, 心電図用テレメーター(RZ-5, ZB-141 G, 日本光電)とハンディーモニター(VC-21 A, 日本光電)を介して記録した。

###### 9) 臓器重量および病理組織学的検査

最終投与の翌日にペントバルビタール・ナトリウム麻酔下で放血・屠殺し, 脳, 心, 肺, 腎, 肝, 脾, 膵, 顎下腺, 膀胱, 下垂体, 副腎, 甲状腺, 胸腺, 睪丸, 前立腺, 卵巣および子宮の各臓器について重量を測定した。

これらの臓器に加えて, 食道, 胃, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 尿道, 副甲状腺, 精のう, 坐骨神経, 大動脈, 腸間膜リンパ節, 精管, 骨および骨髓(肋骨, 胸骨), 眼, 胆のう, 耳下腺, 輸尿管, 腔, 皮膚, 乳腺ならびに注射局所の各組織を10%緩衝ホルマリン液で固定し(眼はグルタルアルデヒド固定), パラフィン包埋, H-E染色, 必要な場合には, PAS染色, Oil-red O染色, KLUVER-BARRERA染色を施した後, 光学顕微鏡下で病理組織学的に観察した。

Table 1 Clinical findings of monkeys in pilot study of 6059-S

Items	Before		Experiment A		Experiment B		Experiment C	
	1M	2F	1M	2F	1M	2F	1M	2F
Body weight (kg)	4.0	3.2	3.9	3.2	4.0	3.2	4.1	3.2
Hematology								
WBC ( $\times 10^3$ /cmm)	16.2	8.8	14.6	6.4	8.5	5.7	6.7	6.1
RBC ( $\times 10^6$ /cmm)	6.3	5.7	6.4	5.4	5.9	5.1	5.4	4.7
Hb (g/dl)	14.9	14.1	14.7	13.0	13.4	12.3	12.5	11.6
Ht (%)	44.8	43.0	44.8	40.4	42.4	38.1	39.7	36.4
Plasma chemistry								
GOT (mU/ml)	34	32	31	32	31	35	31	36
GPT (mU/ml)	24	30	37	45	23	43	30	58
LDH (mU/ml)	490	267	403	295	265	214	249	196
ALP (mU/ml)	447	508	480	468	462	393	358	375
Total bilirubin (mg/dl)	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
Creatinine (mg/dl)	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.7	0.7	0.7
Urea nitrogen (mg/dl)	17	19	16	18	11	20	14	17
Glucose (mg/dl)	126	90	95	87	85	87	76	87
Total cholesterol (mg/dl)	143	139	166	139	154	152	138	126
Albumin (g/dl)	4.6	4.7	4.7	4.4	4.6	4.6	4.5	4.3
Total protein (g/dl)	7.2	8.0	7.8	7.9	8.4	8.9	7.6	8.4
Chloride (mEq/L)	108	107	110	110	111	111	112	111
BSP and PSP tests								
BSP ( $\mu$ mol/dl) <sup>a</sup>	1.60	2.62			1.33	3.02		
PSP ( $\mu$ mol/dl) <sup>a</sup>	0.45	0.47			0.39	0.55		

a: Plasma concentration at 15 minutes after iv injection of BSP or PSP

Table 2 Histopathological findings of monkeys in pilot study of 6059-S

Monkey no. and sex	Gross findings	Microscopic findings
1M	Liver - slight enlargement	Liver - slight hydropic swelling of hepatocyte
	Kidney - slight enlargement with thickened cortex	Kidney - slight swelling and vacuolization of proximal convoluted tubule epithelium
2F	Normal	Normal

### Ⅲ. 実験結果

#### 1. Pilot study

##### (1) 実験A

初回投与翌日より2頭ともに軽度な軟便が観察されたが、最終投与6日目には回復した。体重、血液所見および血液生化学分析のいずれにおいても特記すべき変化は認められなかった (Table 1)。

##### (2) 実験B

いずれの注入速度においても一般症状の変化は認めら

れなかった。軽度な軟便ないし下痢が、投与期間中および最終投与後3日間にわたって観察された。血液検査では、赤血球数が雄で、白血球数が雄でそれぞれ減少を示したが、正常範囲内の変化であった。血液生化学分析では、雄で軽度のグルコース減少とLDH活性低下が認められた (Table 1) 以外には、体重ならびにその他の検査項目に特記すべき変化は認められなかった。

##### (3) 実験C

2頭ともに5,000 mg/kgの大量投与に耐えた。しか

し、検体を静脈内に注入中に投与量が約 2,500 mg/kg に達したときに、断続的な嘔吐が雌 1 頭にみられたが、注射完了とともにおさまった。さらに、2 頭ともに投与後鎮静状態を示したが、約 30 分後には正常化した。また、投与翌日に 2 頭ともに軽度の貧血がみられたが、体重および血液生化学分析には著変はみられなかった (Table 1)。

2 頭での病理組織学的検査では、雄にのみ肝実質細胞の軽度な水腫性腫脹が観察され、腎では近位尿管上皮の軽度な腫脹が空胞をともなってみられたが、その他の臓器については異常は認められず、また、雌にはなんらの異常も認められなかった (Table 2)。

## 2. 亜急性毒性試験

### (1) 一般状態

実験開始当初から、投薬群では軟便ないし下痢が継続して観察されたが、投与回数の増加にともなう症状の増強はみられなかった。100 mg/kg 群では、21 日目以降に連日下痢がみられた 1 頭 (No. 3) を除いて、他の 3 頭では 14 日目以後には正常便となった。300 mg/kg 群の 1 頭 (No. 7) において、全投与期間中に 3 回、それぞれ投与直後に嘔吐がみられた。

上記の他には、異常は認められなかった。

Fig. 1 Mean food consumption in monkeys administered 6059-S iv for one month

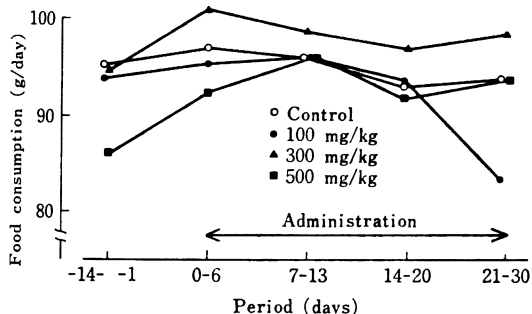
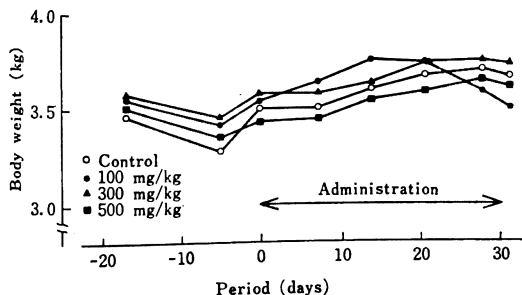


Fig. 2 Mean body weight changes in monkeys administered 6059-S iv for one month



### (2) 摂餌量および摂水量 (Fig. 1)

100 mg/kg 群の 1 頭 (No. 3) において、投与 3 週目以後に軽度の摂餌量減少がみられたが、その他の投与例には異常はみられなかった。

### (3) 体重 (Fig. 2)

100 mg/kg 群の 1 頭 (No. 3) で下痢と摂餌量の減少した時期に一致して体重減少がみられたが、その他の例では変化はみられなかった。

### (4) 血液検査 (Table 3)

500 mg/kg 群の 1 頭 (No. 9) の最終検査成績で赤血球数とヘマトクリット値の軽度な低下がみられ、100 mg/kg 群の 2 頭 (No. 3, 4) および 300 mg/kg 群の 1 頭 (No. 7) で、軽度な白血球数の増加がみられた。これらのうち、No. 3 を除く他の例での増加は一過性であった。No. 3 の軽度な白血球増加は、主として好中球の増加によるもので、解剖時の骨髄検査では顆粒球造成が亢進して M/E 比の上昇がみられた。上記以外では血液検査には異常は認められなかった。

### (5) 血液生化学的検査 (Table 4)

100 mg/kg 群の 1 頭 (No. 3) の最終検査成績で、グルコース、燐脂質およびトリグリセライドの高値、500 mg/kg 群の 1 頭 (No. 10) にコレステロールと燐脂質の一過性の高値がみられた。なお、尿素窒素の低値、GOT および ALP 活性の低値を示す例が散見されたが、一貫性のある変化ではなく、また、用量作用関係も見い出されなところから、投与検体による変化とは考えられなかった。

### (6) 尿検査 (Table 5)

蛋白およびケトン体の陽性反応が対照群をも含めて過半数にみられたが、No. 3 以外は投与前の検査成績でも陽性反応がみられていたものであった。なお、潜血の強陽性反応が散見された例があるが、これは性周期に関連した性器からの出血によるものであった。

### (7) BSP, PSP 試験 (Table 6)

BSP, PSP 試験では、対照群に比較して投薬群での血中からの消失が早く、排泄促進がうかがわれた。

### (8) 血中濃度 (Table 7)

いずれの投与群においても、初回投与時の血中濃度と 12 日目または 26 日目の血中濃度との間には有意な差はみられず、連続投与による血中濃度の蓄積性は認められなかった。

### (9) 心電図 (Table 8)

洞調律に異常をきたすような心拍数や、興奮伝導系に対する投与検体の影響はまったく認められなかった。心電図波形のうち、T 波に減高傾向が散見されたが、QRS, ST には変化がないことから、投与検体の心への



Platelet ( $\times 10^4$ /cmm)	Clotting time (min)	Pro- thrombin time (sec)	Reticulo- cyte (%)	Bone marrow	
				Nucleated cell ( $\times 10^4$ /mg)	Myeloid /Erythroid ratio
43.3 45.6 43.0 47.2	8.5 9.0	11.0 11.4 11.5 10.8	4 5 10 8	148	1.11
41.5 47.0 47.2 67.2	8.0 8.5	11.1 10.9 10.7 10.8	9 10 19 11	175	1.26
28.8 35.4 27.9 16.1	8.5 9.0	10.7 11.8 11.8 10.0	3 12 7 5	167	5.59
60.3 27.2 27.4 57.0	8.0 8.5	11.4 10.9 11.8 10.7	3 5 3 8	163	1.25
23.6 25.0 41.1 38.3	8.5 8.5	11.4 11.7 11.0 10.7	7 2 8 10	179	0.84
39.4 34.7 42.8 37.7	9.0 8.5	10.3 10.3 11.0 10.4	3 8 12 6	125	1.58
28.4 25.2 32.2 68.0	8.0 7.5	10.4 10.5 11.5 10.7	5 5 6 9	171	1.27
21.8 38.6 45.7 46.2	8.0 9.0	10.5 10.9 11.3 10.4	4 7 9 9	136	1.40
42.4 43.9 45.9 48.8	9.0 9.0	10.3 11.0 11.3 10.8	1 4 9 3	232	1.04
34.6 26.0 40.6 36.1	8.5 8.5	10.5 11.0 11.2 10.7	3 2 14 10	161	0.58
41.2 44.0 50.4 58.2	8.5 10.0	11.4 10.7 11.4 10.5	5 3 11 18	201	1.10

Table 4 Plasma analysis of monkeys administered 6059-S iv for one month

Dose (mg/kg)	Monkey no. and sex	Days after first administration	Glucose (mg/dl)	T.protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	T.bilirubin (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)
Control	1M	-10	74	7.9	4.1	0.2	0.8	21	32	13
		9	78	7.5	3.9	0.2	1.0	31	26	14
		18	78	7.5	4.5	0.2	0.8	21	33	34
		30	72	7.9	5.1	0.1	1.0	32	29	29
	2F	-10	75	7.3	4.3	0.2	0.8	21	30	17
		9	78	7.2	4.3	0.3	0.9	20	34	37
		18	75	7.6	4.6	0.3	0.8	16	23	29
		30	79	7.7	5.3	0.2	1.0	16	28	33
100	3M	-10	91	8.4	4.3	0.2	0.8	21	39	24
		9	89	8.1	4.0	0.3	0.9	18	28	24
		18	87	8.4	4.4	0.3	0.8	19	24	30
		30	122	8.0	4.5	0.2	1.0	21	19	27
	4F	-10	93	7.7	4.1	0.2	0.9	23	38	23
		9	83	7.7	3.7	0.2	0.8	15	28	24
		18	73	8.1	4.4	0.3	0.8	17	27	33
		30	83	8.5	5.1	0.1	0.9	16	30	31
	5F	-10	78	7.5	4.3	0.1	0.7	22	28	12
		9	74	7.3	4.0	0.2	0.7	19	31	33
		18	65	7.3	4.1	0.2	0.7	16	22	34
		30	69	7.6	4.7	0.1	0.8	19	23	26
300	6M	-10	80	7.3	4.0	0.1	0.7	15	30	17
		9	89	7.0	3.5	0.2	0.7	12	30	28
		18	86	7.5	4.2	0.2	0.6	14	25	36
		30	79	7.7	4.5	0.1	0.7	12	26	26
	7M	-10	90	7.6	4.2	0.1	0.8	30	28	13
		9	84	7.7	4.1	0.2	0.9	21	25	15
		18	78	7.8	4.0	0.3	0.8	24	18	18
		30	76	7.9	4.5	0.2	0.9	19	18	14
	8F	-10	81	8.0	4.4	0.2	0.7	17	36	33
		9	86	7.7	4.1	0.3	0.8	15	27	38
		18	83	7.7	4.0	0.2	0.6	13	23	41
		30	77	8.0	4.5	0.2	0.7	11	22	40
500	9M	-10	86	7.5	4.2	0.1	0.8	19	38	16
		9	82	7.5	4.0	0.2	0.8	14	45	72
		18	75	7.4	4.2	0.2	0.7	16	30	87
		30	76	7.8	4.6	0.1	0.7	14	27	45
	10M	-10	76	7.5	4.1	0.1	0.7	19	38	19
		9	73	7.6	4.1	0.2	0.7	15	34	24
		18	71	7.6	4.2	0.2	0.6	16	28	44
		30	72	8.2	4.8	0.1	0.6	14	34	41
	11F	-10	69	7.5	4.3	0.1	0.7	23	45	40
		9	78	7.3	4.1	0.2	0.7	12	36	66
		18	75	7.5	4.2	0.2	0.6	13	28	71
		30	73	7.6	4.4	0.1	0.7	11	25	46

影響はほとんどないものと考えられた。

(10) 臓器重量 (Table 9)

投薬群において、腎と副腎重量の軽度な増加がみられ、その他には、脾、膀胱、甲状腺等の重量の変動が散

見された。

(11) 病理組織学的所見 (Table 10)

検体投薬例の4例 (100 mg/kg-No. 3; 300 mg/kg-No. 6, 7; 500 mg/kg-No. 11) の腎において、肉眼的

LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	Hapto- globin (mg/dl)	T. cho- lesterol (mg/dl)	Phospho- lipids (mg/dl)	Tri- glyceride (mg/dl)	Sodium (mEq/L)	Potassium (mEq/L)	Calcium (mg/dl)	Magnesi- um (mg/dl)	Chloride (mEq/L)
216	501		147	230	21	148	4.6	10.0	1.7	109
222	516		152	227	35	149	4.6	9.5	1.7	107
216	450		146	224	32	147	4.5	9.7	1.8	104
231	558	56	170	219	25	145	4.7	10.0	1.8	105
167	435		132	203	17	153	4.3	9.5	1.5	111
231	414		127	181	19	150	4.1	9.5	1.6	108
171	362		136	189	14	150	4.5	9.5	1.7	105
178	450	73	137	152	14	148	3.8	10.2	1.6	106
254	723		154	216	20	147	5.2	10.4	1.7	110
276	534		165	224	26	152	4.4	10.0	1.7	107
187	402		150	207	20	152	4.7	10.6	1.6	103
274	287	109	139	274	9	144	4.4	10.2	1.9	96
263	618		168	217	13	154	5.0	9.7	1.7	112
321	558		149	220	24	150	4.5	9.5	1.7	108
232	528		165	237	15	151	4.6	10.0	1.8	104
303	564	83	167	248	20	144	4.6	9.5	1.6	106
146	795		173	256	28	153	4.2	10.4	1.7	111
207	654		175	249	29	152	4.2	10.0	1.9	109
157	522		165	226	18	147	4.1	9.3	1.9	105
178	618	58	176	237	16	148	3.7	10.0	1.6	105
204	405		155	245	16	150	4.8	9.5	1.7	111
288	319		148	220	21	150	4.0	8.9	1.8	107
189	279		155	220	16	148	4.5	9.3	1.9	104
270	195	40	170	178	19	146	4.5	9.3	1.7	105
196	546		141	180	13	154	4.6	9.5	1.8	110
270	444		151	206	27	152	4.3	9.3	1.8	110
146	334		140	187	23	150	4.0	10.0	1.9	105
175	444	88	167	193	24	148	4.1	9.7	1.9	106
209	429		135	201	15	153	4.6	10.0	1.6	110
216	296		126	188	17	150	4.1	9.5	1.6	109
124	273		119	175	15	146	4.1	9.5	1.6	106
168	291	77	137	145	16	145	4.2	9.5	1.6	107
97	492		165	199	13	156	4.3	10.0	1.7	110
281	345		140	178	27	149	4.6	10.0	1.8	111
168	307		137	160	13	147	4.3	9.3	1.6	107
225	299	47	156	138	17	149	4.5	9.7	1.7	108
222	453		148	223	38	153	4.2	10.0	1.8	110
216	420		179	265	40	152	4.3	9.7	1.9	109
146	345		174	275	34	156	4.3	10.0	2.0	106
211	367	51	206	193	34	148	4.2	10.0	1.9	107
243	456		182	234	25	153	4.3	10.0	1.9	111
265	444		157	225	21	151	4.7	9.5	2.0	108
168	341		155	188	18	149	4.3	9.3	1.9	105
223	341	51	175	184	14	150	4.1	9.7	1.8	107

には腎皮質が蒼白で、組織学的に近位尿管上皮の軽度肥大が観察された (Photo. 1, 2)。これらのうち、No. 6, 7 および 11 においては、肝小葉周辺部の肝細胞に軽度な腫脹がみられた。No. 3 では、肝細胞のグリコー

ゲン減少と軽度萎縮 (Photo. 3, 4) および胸腺の萎縮がみられた。100 mg/kg 群の 2 頭 (No. 3, 5) および 300 mg/kg 群の 1 頭 (No. 7) で副腎の束状層が軽度に肥厚していた (Photo. 5, 6)。上記の所見以外



Table 5 Urinary findings of monkeys administered 6059-S iv for one month

Dose (mg/kg)	Monkey no. and sex	Days after first administration	Volume (ml/16 hr)	Osmolarity (mOsm/kg)	pH	Protein	Glucose	Ketone bodies
Control	1M	-12	65	1,020	6.8	-	-	-
		4	100	838	6.6	-	-	-
		15	100	831	8.0	-	-	-
		24	86	630	8.2	-	-	-
	2F	-12	45	825	6.0	-	-	-
		4	160	587	7.6	-	-	-
		15	61	786	6.6	±	-	+
		24	95	678	7.8	-	-	-
100	3M	-12	105	899	7.4	-	-	-
		4	96	1,043	7.8	-	-	-
		15	102	987	8.0	-	-	-
		24	29	963	5.8	+	-	+++
	4F	-12	29	1,198	4.8	±	-	++
		4	56	1,214	8.0	±	-	-
		15	70	992	8.2	-	-	-
		24	51	998	6.8	-	-	-
	5F	-12	34	1,239	8.0	±	-	-
		4	33	1,244	6.0	±	-	-
		15	57	1,000	7.8	-	-	-
		24	41	1,066	6.6	-	-	-
300	6M	-12	55	908	5.8	-	-	+++
		4	77	1,053	6.6	-	-	-
		15	118	864	8.2	-	-	-
		24	82	923	8.2	-	-	-
	7M	-12	38	1,030	5.6	-	-	+
		4	58	1,124	6.2	-	-	-
		15	74	974	7.4	-	-	-
		24	56	998	7.8	-	-	-
	8F	-12	52	1,001	8.4	-	-	-
		4	76	754	6.6	-	-	-
		15	102	594	6.8	-	-	-
		24	102	671	6.8	-	-	-
500	9M	-12	35	1,044	5.8	±	-	++
		4	44	1,001	6.0	±	-	-
		15	75	913	8.0	-	-	-
		24	78	908	8.0	-	-	-
	10F	-12	30	860	5.6	-	-	+
		4	36	990	5.4	±	-	++
		15	36	1,001	5.8	±	-	-
		24	31	1,020	6.0	±	-	++
	11F	-12	57	931	4.8	±	-	++
		4	73	847	6.8	±	-	-
		15	136	712	7.2	-	-	-
		24	118	748	7.8	-	-	-



Table 6 BSP and PSP tests in monkeys administered 6059-S iv for one month

Dose (mg/kg)	Monkey no. and sex	BSP		PSP	
		Before 17 days	After 19 days	Before 18 days	After 23 days
Control	1M	5.01	4.28	0.68	0.79
	2F	4.24	3.79	0.95	0.73
100	3M	4.65	2.91	0.51	0.72
	4F	5.73	2.42	0.55	0.64
	5F	3.83	1.55	0.54	0.49
300	6M	4.03	2.51	0.66	0.37
	7M	2.44	1.82	0.65	0.44
	8F	2.93	1.54	0.53	0.43
500	9M	3.02	0.84	0.53	0.32
	10F	5.02	2.32	0.49	0.32
	11F	5.33	1.83	0.64	0.36

Plasma concentration ( $\mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ ) 15 minutes after iv injection of BSP or PSP

Table 7 Plasma levels of 6059-S in monkeys administered 6059-S iv for one month

Dose (mg/kg)	Monkey no. and sex	Plasma levels ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )								
		1st day			12th day			26th day		
		1	3	24hrs	1	3	24hrs	1	3	24hrs
100	3M	175.7	24.4	<0.1	178.8	19.1	<0.1	161.6	14.9	<0.1
	4F	121.2	20.0	<0.1	141.4	15.3	<0.1	153.5	17.2	<0.1
	5F	178.3	18.1	<0.1	138.4	17.9	<0.1	151.5	16.6	<0.1
300	6M	454.5	155.6	<0.1	388.3	44.4	<0.1	370.2	37.7	<0.1
	7M	629.1	57.6	<0.1	517.7	90.3	<0.1	535.8	69.9	<0.1
	8F	454.5	77.5	<0.1	442.5	45.4	<0.1	382.3	35.7	<0.1
500	9M	1,160	211	0.20	1,180	137	1.02	1,080	137	<0.1
	10F	1,100	151	<0.1	1,080	106	<0.1	1,220	117	<0.1
	11F	1,150	158	<0.1	1,050	102	<0.1	1,090	111	<0.1

には、その他の諸臓器において検体投与に起因したと考えられる病理組織学的変化は認められなかった。なお、対照群をも含めた全群で腸結節虫 (*Esophagostomum* spp.) あるいは肺ダニの感染例が散見されたが、それらの例での病理組織学的所見では、虫体を取り囲んで好酸球を主とする炎症性細胞浸潤および異物巨細胞の出現が観察された。

#### IV. 考 察

Oxacephem 系注射用抗生物質 6059-S の毒性試験と

しては、マウスおよびラットでの急性毒性試験<sup>1)</sup>、ラット<sup>2)</sup> およびイヌ<sup>3)</sup> での亜急性毒性試験ならびにラットでの慢性毒性試験<sup>4)</sup> が報告されており、これら動物での 6059-S の毒性は軽微で、同時に対照として比較した Cefazolin よりもその毒性は弱いとされている。

また、ウサギを対象とした腎毒性試験<sup>5)</sup> においても、6059-S の腎毒性は極めて弱く、Cephalosporin 系抗生物質のうちで腎毒性が最も弱いとされている Cephalothin とほぼ同程度であると報告されている。

今回、我々は 6059-S の亜急性毒性試験を赤毛ザルを

Table 8 Electrocardiographs of monkeys administered 6059-S iv for one month

Dose (mg/kg)	Monkey no. and sex	Heart rate (beats/min)		PQ interval (msec)		QT interval (msec)		T wave pattern	
		Before <sup>a</sup>	After <sup>b</sup>	Before <sup>a</sup>	After <sup>b</sup>	Before <sup>a</sup>	After <sup>b</sup>	Before <sup>a</sup>	After <sup>b</sup>
Control	1M	263	249	78.5	77.5	153.1	158.7	↑	↑
	2F	241	240	76.1	76.3	159.1	152.6	↑	↑
100	3M	239	234	69.5	61.5	155.1	137.5	↑	↓
	4F	230	239	70.7	63.2	166.9	132.5	↑	↔
	5F	240	225	72.8	65.7	159.9	142.1	↑	↔
300	6M	195	207	85.0	68.0	185.5	178.9	↑	↑
	7M	231	219	75.9	67.0	163.6	153.4	↑	↓
	8F	232	244	78.1	72.0	167.6	166.7	↑	↑
500	9M	202	197	75.2	75.1	172.9	171.8	↑	↔
	10F	233	220	71.8	75.6	157.0	159.0	↑	↔
	11F	213	221	80.1	71.6	150.0	143.4	↑	↔

Determined <sup>a</sup>18 or 17 days before and <sup>b</sup>24 or 25 days after the drug administration

↑: Positive, ↓: Negative, ↔: Flat

対象として実施したが、実験動物としてのサルは、Cephalosporin系抗生物質による腎障害に対しては感受性の高い種属であるとされており<sup>6)</sup>、事実、Cephaloridine<sup>7)</sup>やCephadrine<sup>8)</sup>の毒性試験においても、イヌでは腎障害が認められていないにもかかわらず、サルでは認められるとの報告がある。

6059-Sの亜急性毒性試験の実施に先立って、500および1,000 mg/kgの各4日間投与、ならびに5,000 mg/kgの1回投与によるpilot studyを行ない、亜急性毒性試験での投与量および投与方法の設定のための目安とした。

その結果、5,000 mg/kgの1回投与例で断続的な嘔吐が観察されたこと、ならびにイヌでの亜急性毒性試験<sup>9)</sup>での最大無作用量が400 mg/kgであることを考慮して、赤毛ザルでの亜急性毒性試験の投与量としては100, 300および500 mg/kgの3用量を設定した。

30日間の投与期間中の一般状態の変化としては、軽度な軟便あるいは下痢が投与量の大小と無関係に観察されたが、これはサルに抗生物質を投与したときに通常観察される変化として知られており<sup>9-11)</sup>、わずかながら胆汁中に排泄された6059-Sが腸内細菌叢に変化をもたらした結果によるものと考えられる。

その他の変化としては、100 mg/kg群の1頭(No. 3)に、下痢の他に、摂餌量と体重の減少、血液生化学検査でのグルコース、燐脂質、トリグリセライドの高値、組織学的検査での肝細胞と胸腺の軽度萎縮等の多彩な変化が観察された。種々の検査結果から判断すると、この例のみに実験後半に持続的な下痢と体重低下があ

り、これらの変化が6059-Sの投与によって招来したものでなく、むしろ特異的に感受性が高い個体側の要因が強く現れたためによるものと考えられる。なお、この例以外にも、いくつかの変化が観察されたが、いずれも軽度、かつ一過性であり、明らかな用量作用関係が認められないことから、6059-Sの投与に起因する変化とは考え難いと判断された。

病理組織学的所見では、腎について100 mg/kg群の1頭、300 mg/kg群の2頭および500 mg/kgの1頭に近位尿細管上皮の軽度な肥大が観察されたが、明らかな用量作用関係は認められなかった。その他の臓器についても、各個体に軽度の変化が散発的に観察されたが、いずれも用量作用関係もなく、本薬に起因する変化とは考えられなかった。従って、これらの結果から、本実験における6059-Sの最大無作用量は500 mg/kg/日であると結論した。

## 謝 辞

本実験に御協力いただいた、当研究所の次の諸氏に深謝いたします。水島敬夫、松原尚志、上田彦彦、吉田正、渡辺弘、伊藤文男、奈良博、前田ユミノ、戸内明、木本定利、春名正雄、木村靖雄。

## 文 献

- 1) 小林文彦, 古川 仁, 原田喜男, 波多野宗利, 石村勝正: 6059-Sのマウスおよびラットにおける急性毒性試験. *Chemotherapy* 28 (S-7): 1002~1006, 1980
- 2) 小林文彦, 古川 仁, 長谷川紀昭, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-Sのラットにおける亜急性毒性試験. *Chemotherapy*

Table 9 Organ weights of monkeys administered 6059-S-iv for one month.

	Daily dose mg/kg	Monkey no. and sex	Brain (g%)	Heart (g%)	Lung (g%)	Kidneys (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Pancreas (g%)	Submax. glands (g%)	Bladder (g%)	Hypophysis (mg%)	Adrenals (mg%)	Thyroid (mg%)	Thymus (g%)	Testes (g%)	Prostate (mg%)	Ovaries (mg%)	Uterus (g%)		
Relative weight	Control	1M	2.46	0.38	0.50	0.39	1.78	0.07	0.17	0.07	0.13	1.58	11.75	19.25	0.05	0.05	5.75				
		2F	2.32	0.45	0.49	0.37	1.83	0.05	0.19	0.05	0.12	1.80	14.14	10.23	0.03			6.79		0.07	
	100	3M	2.46	0.47	0.69	0.50	2.14	0.10	0.13	0.07	0.10	1.56	22.50	16.59	0.01	0.01	0.15	13.13			7.15
		4F	2.20	0.40	0.54	0.42	1.93	0.10	0.15	0.06	0.08	1.62	14.41	9.40	0.07	0.40	0.07				7.31
	300	5F	2.39	0.32	0.55	0.44	1.69	0.09	0.16	0.05	0.10	1.39	15.67	8.81	0.09	0.09	0.02				0.10
		6M	2.10	0.47	0.51	0.52	2.20	0.11	0.13	0.08	0.18	1.34	19.32	11.12	0.06	0.02	0.02	8.08			0.08
	500	7M	2.23	0.48	0.52	0.45	2.01	0.10	0.18	0.06	0.12	1.62	13.12	10.40	0.04	0.04	0.09	16.00			5.91
		8F	2.24	0.43	0.59	0.47	2.02	0.08	0.22	0.05	0.09	1.97	18.21	14.94	0.05	0.05	0.04	6.34			0.05
	Absolute weight	Control	1M	88.7	13.6	18.1	13.9	64.0	2.40	5.97	2.60	4.75	57.0	423	693	1.79	1.69	207			2.53
			2F	82.2	15.8	17.4	13.3	64.9	1.84	6.59	1.72	4.30	64.0	502	363	1.16			241		
		100	3M	78.6	15.0	22.1	16.1	68.4	3.23	4.24	2.09	3.28	50.0	720	531	0.28	4.70	420			3.19
			4F	80.3	14.6	19.7	15.5	70.4	3.48	5.49	2.15	2.98	59.0	526	343	2.62			261		
300		5F	86.1	11.6	19.9	15.7	60.7	3.09	5.67	1.83	3.99	50.0	564	317	3.13			263			
		6M	76.8	17.0	18.7	19.1	80.2	4.10	4.86	3.10	6.52	49.0	705	406	2.28	0.71	295			2.72	
500		7M	93.6	20.0	21.7	18.8	84.5	4.12	7.36	2.31	4.88	68.0	551	437	1.47	3.92	672			170	
		8F	74.0	14.2	19.5	15.5	66.8	2.62	7.21	1.79	3.01	65.0	601	493	1.61	1.56	241			252	
500		9M	83.9	18.1	20.3	17.7	77.5	3.12	6.75	1.16	3.28	52.0	577	303	2.08	2.43	241			1.76	
		10F	75.6	14.0	20.0	18.2	67.5	2.94	6.14	1.80	2.98	49.0	704	307	2.40					3.33	
			11F	79.4	14.8	21.8	19.1	73.3	1.94	6.21	2.85	3.49	60.0	684	356						

Photo. 1 Renal cortex from a male control monkey No. 1, showing no pathological changes. H-E,  $\times 200$ .

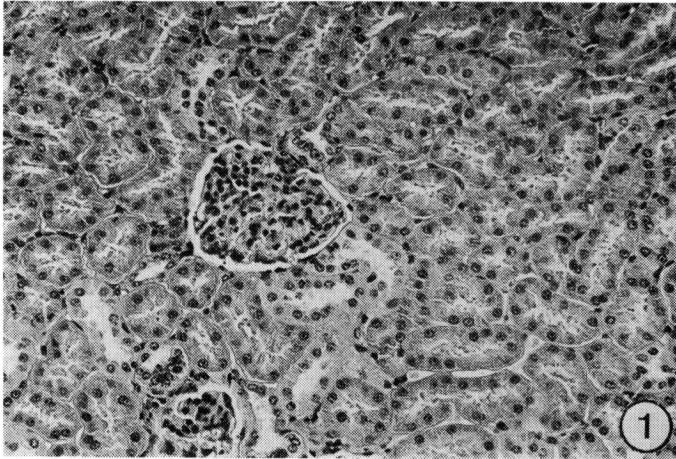


Photo. 2 Renal cortex from a female monkey No. 11 treated with 500 mg/kg/day of 6059-S iv for 30 days, showing slight hypertrophy of the proximal tubule epithelium. H-E,  $\times 200$ .

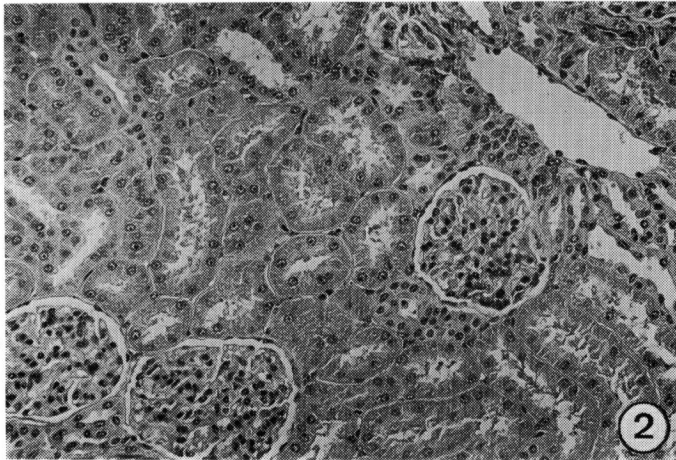


Photo. 3 Liver from a control male monkey No. 1, showing PAS-positive granules in the centrolobular hepatocytes. PAS,  $\times 100$ .

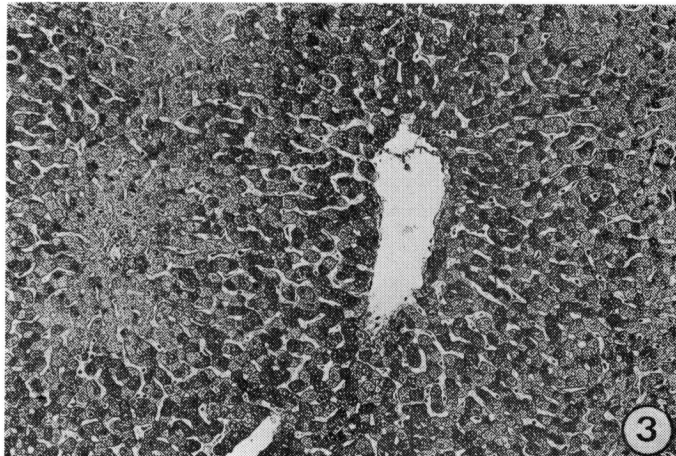


Photo. 4 Liver from a male monkey treated with 100 mg/kg/day of 6059-S iv for 30 days, showing decrease of PAS-positive granules in the hepatocytes. PAS,  $\times 100$ .

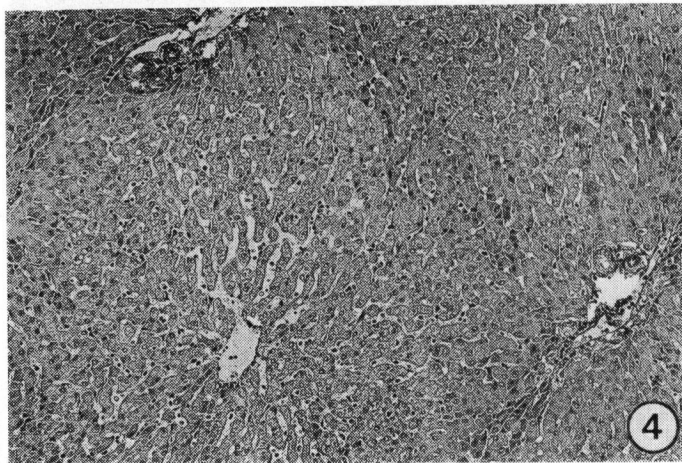


Photo. 5 Adrenal from a male control monkey No. 1, showing no pathological changes. H-E,  $\times 40$ .

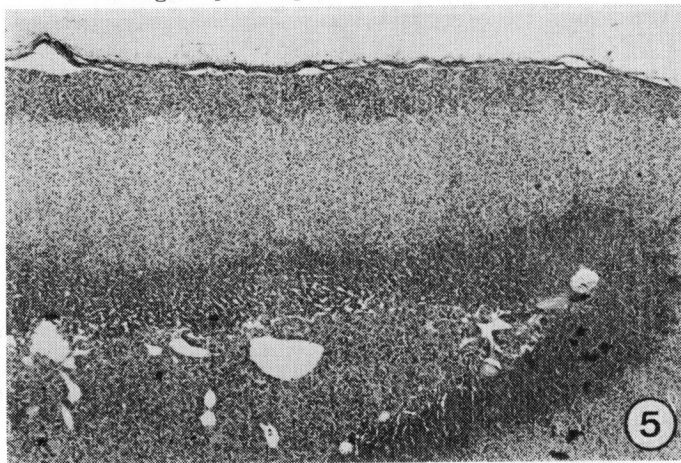


Photo. 6 Adrenal from a male monkey No. 7 receiving 300 mg/kg/day of 6059-S iv for 30 days, showing slight thickening of the zona fasciculata. H-E,  $\times 40$ .

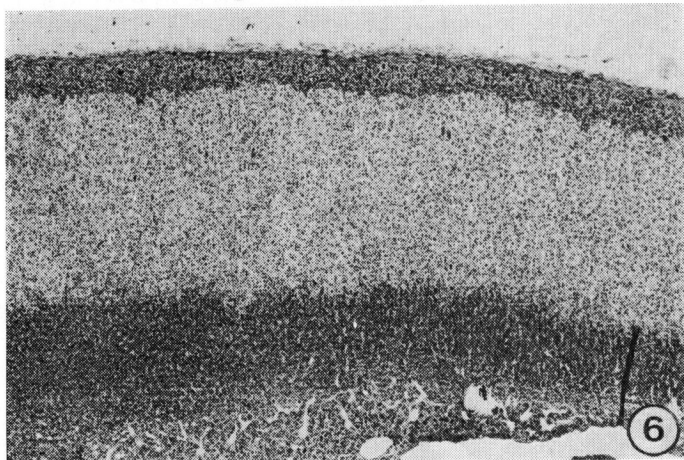


Table 10 Histological findings in monkeys administered 6059-S iv for one month

Findings	Control		100 mg/kg			300 mg/kg			500 mg/kg		
	1M	2F	3M	4F	5F	6M	7M	8F	9M	10F	11F
<b>Liver</b>											
Swelling of hepatocyte, very slight	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Atrophy of hepatocyte, slight	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Decrease of hepatocyte glycogen, marked	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>Kidney</b>											
Hypertrophy of proximal tubule epithelium, slight	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+
<b>Spleen</b>											
Atrophy of lymph follicle, slight	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
<b>Adrenal</b>											
Thickening of zona fasciculata, slight	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-
<b>Thymus</b>											
Decrease of cortical lymphocyte, moderate	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Bone marrow</b>											
Hypercellularity, moderate	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Arbitrary unit: -; Negative, +; Slight changes

- 28 (S-7): 1007~1028, 1980
- 3) 小林文彦, 松浦 稔, 長谷川紀昭, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-S のイヌにおける 亜急性毒性試験。Chemotherapy 28 (S-7): 1029~1071, 1980
- 4) 村岡義博, 伊藤文男, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-S のラットにおける 慢性毒性試験。Chemotherapy 28 (S-7): 1089~1107, 1980
- 5) 原田喜男, 豊島久美子: 腎毒性を指標とした 6059-S 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—。Chemotherapy 28 (S-7): 1202~1225, 1980
- 6) ROWLAND, G. N. & J. P. GIBSON: Comparative renal toxicity of several cephalosporins. Toxicol. Appl. Pharmacol. 37: 102, 1976
- 7) ATKINSON, R. M.; J. P. CURRIE, B. LAVIS, D. A. H. PLATT, H. M. SHARPE & E. G. TOMICH: Acute toxicity of cephaloridine, an antibiotic derived from cephalosporin C. Toxicol. Appl. Pharmacol. 8: 398~406, 1966
- 8) HASSERT, G. L.; P. J. DEBAECKE, J. S. KULESZA, V. M. TRAINA, D. P. SINHA & E. BERNAL: Toxicological, pathological and teratological studies in animals with cephradine. Antimicrob. Agents & Chemother. 3: 682~685, 1973
- 9) GEORGE, W. L.; R. D. ROLFE, V. L. SUTTER & S. M. FINEGOLD: Diarrhea and colitis associated with antimicrobial therapy in man and animals. Am. J. Clin. Nutr. 32: 251~257, 1979
- 10) WOLD, J. S.; J. S. WELLES, N. V. OWEN, W. R. GIBSON & D. M. MORTON: Toxicological evaluation of cephmandole nafate in laboratory animals. J. Infect. Dis. 137 (Suppl.): S 51~S 59, 1978
- 11) 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 & Chemother.: 489~496, 1968



## SUBACUTE TOXICITY OF 6059-S IN RHESUS MONKEYS

YOSHIHIRO MURAOKA, ISAO YAHARA, TOSHIO YOSHIKAZI and YOSHIO HARADA  
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Pilot study of 6059-S in rhesus monkeys did not reveal toxic effects at doses of 500 and 1,000 mg/kg for 4 days. In subacute study, 6059-S was administered intravenously via the saphenous vein to groups of 3 rhesus monkeys per dose level (mixed males and females) at 100, 300 and 500 mg/kg/day for 30 consecutive days (up to 25 times the estimated human daily clinical dose). All monkeys survived the study and a small number of toxic effects was observed. These included diarrhea and increased liver weight at 300 and 500 mg/kg, but no serum enzyme or histologic evidence of liver damage. Other transient effects were observed, but overall 6059-S showed a low profile of toxicity on repeated injection to monkeys at dose levels greatly in excess of proposed human doses.