

腎毒性を指標にした 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—

原田 喜男・豊島 久美子

塩野義製薬株式会社研究所

6059-S の静脈内投与による腎毒性を、家兎を用いた単回投与および7日間連続投与試験によって、他の Cephalosporin 系抗生剤投与により惹起される障害と比較した。単回投与試験の結果、6059-S 投与群および対照薬として用いた Cephalothin (CET) と Cefmetazole (CMZ) 投与群には 2,000 mg/kg/日の投与量において腎障害を認めなかった。これに対し、Cefazolin (CEZ), Cefotiam (CTM) および Cefotaxime (CTX) 投与群には BUN やクレアチニンの上昇、尿中への顆粒円柱・上皮円柱等の出現、蛋白・糖の出現、形態学的に腎皮質近位尿管上皮細胞の変性・壊死・石灰沈着、遠位尿管腔内に硝子様円柱の存在等の所見が認められた。7日間連続投与試験においても、6059-S および CET 投与群には腎障害を認めなかったが、CEZ 400 mg/kg/日群では尿中への顆粒円柱・上皮円柱の出現が軽度認められた。

以上の成績より腎障害作用を各薬剤間で比較すると、雄においては $CTM > CEZ > CTX \geq CMZ \approx CET \approx 6059-S$ であり、雌においては $CEZ \geq CTM \geq CMZ \approx CET \approx 6059-S$ であった。

緒 言

6059-S は、従来の Cephalosporin 系薬剤に比べて広いスペクトラムを有し、グラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に抗菌力を示す。Cephalosporin 系薬剤は、通常、腎毒性作用は少ない¹⁾とされているが、長期間大量投与する場合や、腎機能の低下した患者に投与する場合には、腎毒性を考慮する必要がある。実験動物の中で家兎は、Cephalosporin 系薬剤による腎毒性に最も感受性が高い²⁾ことから、家兎を用いて 6059-S の腎毒性試験を行なった。比較のため、Cephalosporin 系抗生剤である Cefazolin, Cephalothin, Cefotiam, Cefmetazole および Cefotaxime を対照薬として用いた。

実験期間：1977年9月～10月と1978年3月～10月

実験材料と方法

1. 実験動物および飼育条件

雌雄の JW-NIBS/RABITON 系白色家兎を、12～14週令(雄 2.36 ± 0.02 kg B. W., 雌 2.17 ± 0.02 kg B. W.) で購入し、2週間、飼育環境へ馴化させた後に実験を開始した。各動物は、室温 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ 、午前7時から12時間照明に調整された空調室で個別金属ケージ(W 35×L 48×H 35 cm) に収容して飼育し、固型飼料(CR-3, 日本クレア)を1日120 g 与え、飲料水として水道水を自由に摂取させた。

2. 使用薬剤および投与方法

使用した薬剤は、6059-S (雌雄とも Lot No. B 01), Cephalothin (CET, 雄は Lot No. KF 7057, 雌は Lot

No. KF 8002), Cefazolin (CEZ, 市販品), Cefotiam (CTM), Cefmetazole (CMZ), Cefotaxime (CTX) であった。

各薬剤は、投与直前に注射用蒸留水で 25% (w/v) の割合に溶解し、Sartorius membrane filter (Milipore, 0.45μ , HA) で濾過して用いた。対照群には、生理食塩液を投与した。薬剤の投与経路は、耳静脈から、KN 式自動注入装置(夏目製 KN-202 型)を用い、167 mg/min. の速度で注入した。

3. 実験群

1) 単回投与試験

実験群の構成・投与量を Table 1 に示した。投与量は Cefamandole (CMD) の家兎腎毒性試験³⁾ に用いられたと同一の 2,000 mg/kg を選び、各薬剤による障害性を比較した。6059-S, CET および CEZ に関しては、障害の用量作用関係をみるため、500 mg/kg の投与量も設定した。この投与量は臨床1日投与量を 40 mg/kg とした場合、500 mg/kg が 12 倍強、2,000 mg/kg が 50 倍に相当する。雌雄とも1投与量につき、2または3羽で構成した。CTXについては雄のみにて検討した。各薬剤を1回静脈内投与し、3日後に屠殺解剖した。

2) 7日間連続投与試験 (Table 2)

薬剤投与群には、6059-S, CET および CEZ 200 と 400 mg/kg/日、対照群には生理食塩液を、それぞれ1日1回7日間連続静脈内投与した。投与量は CMD の家兎7日間連続投与による腎毒性試験³⁾ に用いられた

Table 1 Comparative nephrotoxicity of 6059-S, CET, CEZ and several additional cephalosporins in rabbits
-single medication test

Experimental group:

Compounds	Dose (mg/kg)	No. of rabbits	
		Male	Female
Control (Saline)	-	3	3
6059-S	500	3	3
	2,000	3	2
CET	500	3	3
	2,000	3	3
CEZ	500	3	3
	2,000	3	3
CTM	2,000	2	2
CMZ	2,000	2	2
CTX	2,000	2	-

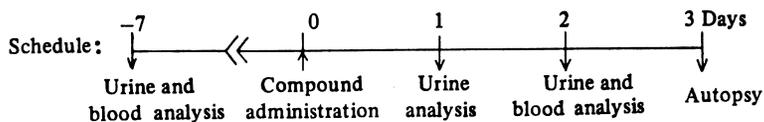


Table 2 Comparative nephrotoxicity of 6059-S, CET and CEZ in rabbits
- 7 days medication test

Experimental group:

Compounds	Dose (mg/kg/day)	No. of rabbits
Control (Saline)	-	4
6059-S	200	4
	400	4
CET	200	4
	400	4
CEZ	200	4
	400	4

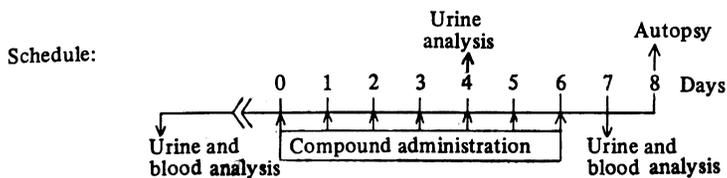


Table 3 Summary of urinalysis in male rabbits before and after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM, CMZ and CTX

Compounds Dose (mg/kg)		Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ		CTM	CMZ	CTX
			500	2,000	500	2,000	500	2,000	2,000	2,000	2,000
No. of rabbits		3	3	3	3	3	3	3	2	2	2
pH	-7 ^{a)}	7.7 ^{b)}	8.2	7.8	7.7	7.2	8.5	8.3	8.3	8.3	9.0
	1	8.3	9.0	8.3	8.7	8.3	8.2	8.2	8.5	8.5	5.8
	2	8.7	7.5	7.8	8.3	8.5	6.7	7.7	7.8	7.5	5.8
Urinary sediment*	-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	±	+1	+1	-	+3
	2	-	-	-	-	-	±	+1	+2	-	+3
Protein	-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	±	+2	±	+3
	2	-	-	-	-	-	-	+1	+2	-	+3
Glucose	-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-

a) Day examined b) Mean value

* Appearance of casts (Arbitrary grade): -, 5×10^2/ml, ±; 5 ~ 20 × 10²/ml, +1; 20 ~ 100 × 10²/ml, +2; 100 ~ 200 × 10²/ml, +3; >200 × 10²/ml

Table 4 Summary of urinalysis in female rabbits before and after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM and CMZ

Compounds Dose (mg/kg)		Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ		CTM	CMZ
			500	2,000	500	2,000	500	2,000	2,000	2,000
No. of rabbits		3	3	2	3	3	3	3	2	2
pH	-7 ^{a)}	8.3 ^{b)}	8.0	8.0	8.0	7.5	8.0	8.3	8.0	8.0
	1	8.3	8.0	8.5	8.2	9.0	7.8	7.3	8.0	8.5
	2	7.8	7.8	7.0	8.7	8.0	7.8	6.8	7.0	8.0
Urinary sediment*	-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	+1	±	-
	2	-	-	-	-	-	±	+2	+2	-
Protein	-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	±	+1	-
	2	-	-	-	-	-	±	+1	+1	-

a) Day examined b) Mean value

* Appearance of casts (Arbitrary grade): -, 5×10^2/ml, ±; 5 ~ 20 × 10²/ml, +1; 20 ~ 100 × 10²/ml, +2; 100 ~ 200 × 10²/ml, +3; >200 × 10²/ml

と同一の投与量であり、400 mg/kg/日は対照薬 CEZ による腎毒性発現の確実中毒量に相当する。6059-S 400 mg/kg/日はこの薬物の臨床 1 日投与量を 40 mg/kg/日とするとその 10 倍量に相当する。

4. 観察項目

実験期間中、各例について以下の諸検査を実施した。

1) 一般症状

一般状態・行動・運動・姿勢の異常の有無についての

観察、体重と摂餌量の測定等は毎日実施した。

2) 尿検査

導尿カテーテル (Sherwood 製 Disposable Rob-Nel catheter) を用いて、薬剤投与 1 週間前、単回投与試験では薬剤投与 1 日および 2 日後に、7 日間連続投与試験では、投与期間の中間値と最終投与 1 日後に、新鮮尿を採取した。検査項目は pH、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、蛋白、沈渣、浸透圧、比重である。

3) 血液検査

薬剤投与 1 週間前、単回投与試験では薬剤投与 2 日後、7 日間連続投与試験では最終投与 1 日後に耳静脈から採血して検査を行なった。

1) 一般血液検査

検査項目は赤血球数、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、赤血球形態、プロトロンビン時間である。

2) 血液生化学検査

検査項目は総蛋白、アルブミン、糖、総コレステロール、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、GOT、GPT、ALP、LDH、無機燐、尿酸、Na、K、Cl、Ca、Mg である。

4) 病理学的検査

単回投与試験では投薬終了 3 日後、7 日間連続投与試験では最終投与 2 日後に、Sodium pentobarbital 麻酔下にて、頸動脈より放血屠殺後ただちに解剖を行なった。

1) 肉眼所見および臓器重量測定

解剖時、諸臓器を肉眼的に観察し、単回投与試験では腎・肝・心・肺・脾・副腎・胸腺・膀胱・盲腸（糞を除いて）、7 日間連続投与試験ではこれらの他に卵巣・子宮・甲状腺の重量を測定し、臓器重量・体重比を算出した。盲腸については、重量の他に糞を含有した状態でラセン溝に平行な最大径を測定し、盲腸の大きさを表現した。

2) 組織学的検査

上記諸臓器の他に、胃・十二指腸を 10% 中性ホルマリン液に固定、パラフィン切片作製後、一般染色として H-E 染色を施した。この他、肝・腎については、PAS・Sudan III・Ca 染色 (Kossa) を施して、光顕的に検査した。

実験結果

1. 単回投与試験

1) 一般症状

6059-S をはじめ、CET、CTM、CMZ、CTX 投与群には投薬中および投与後を通じて、一般状態に変化はみられなかった。CEZ 2,000 mg/kg 群の雌の 1 例 (家兎 No. 27) に、投与 1 時間後より強度の四肢の筋弛緩による歩行不全がみられ、投与後 3 時間目までは、呼吸粗大、ときどき嗚叫する等の症状もみられた。四肢の筋弛緩は 3 日後の解剖日まで持続して認められた。

全ての薬剤投与群には、投与後より摂餌量の減少がみられ、投与 2 日後より実験終了時までほとんど絶食に近い状態になった。投与直後より摂食しなくなった CTX 投与群では、投与 1 日後に投与開始時体重の 5% 強減少し、解剖時には 10% 弱減少した。

雌の CEZ 2,000 mg/kg 群および CMZ 群では、解剖日には、投与開始時体重の 7% 程度減少した。6059-S、CET の各 500、2,000 mg/kg 群、CTM 群では雌雄とも解剖日には投与開始時体重の 2~3% の減少であった。

2) 尿検査 (Table 3, 4)

6059-S、CEZ、CTM および CMZ 投与群では投薬 2 日後に、CTX 投与群では投薬 1 日後から 2 日後に、投与量に関係なく尿の pH が 5.5~6.0 を示す例が散見された。しかし、CET 投与群では尿の酸性化は認められなかった。CEZ 投与群では雌は 500、2,000 mg/kg 群に、雄は 2,000 mg/kg 群に、さらに全例の CMT および CTX 投与群に投薬 1 日後から、小円形ないし多角形の上皮細胞および顆粒円柱・上皮円柱が多数出現し、尿蛋白も出現した。雄の CTM 投与群には、全例に尿糖も軽度に認めた。尿中への円柱の出現と蛋白反応陽性化は、CTX 群が最も強く、次いで CTM 群、CEZ 2,000 mg/kg 群の順であった。

3) 血液検査

1) 血液学的検査

6059-S を含むいずれの投与群にも、対照群に比し変化を認めなかった。しかし、CTX 投与群の 1 例 (No. 2) に血小板の凝集および血漿の白濁がみられた。

2) 血液生化学検査 (Table 5, 6)

雌では、6059-S を含む全ての薬剤投与群に総コレステロールの軽度の上昇がみられ、その傾向は、CET、CTM 群にやや強かった。CEZ 投与群では、GPT 活性の低下が用量作用関係をもって認められ、雌 2,000 mg/kg 投与群には BUN の軽度の上昇が認められた。雄 CTM 投与群では BUN とクレアチニンが上昇し、雄 CTX 群では、BUN とコレステロールが上昇した。CTX と CMZ の各 1 例 (雄) に GPT と GOT 両活性の上昇がみられた。

Table 5 Summary of biochemical analysis of plasma in male rabbits at 2 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM, CMZ and CTX

Compounds	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ		CTM	CMZ	CTX
		500	2,000	500	2,000	500	2,000			
	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2
Glucose (mg/dl)	146.0±5.9 ^{a)}	126.3±3.5*	143.3±3.8	133.0±5.8	136.0±4.5	138.3±8.7	139.0±5.0	141.0	144.0	148.5
T. protein (g/dl)	6.17±0.08	6.60±0.12*	6.70±0.15*	6.37±0.07	6.43±0.12	6.80±0.21*	6.70±0.10*	6.50	6.60	5.90
Albumin (g/dl)	3.77±0.09	4.13±0.07*	4.13±0.09*	3.83±0.17	3.97±0.13	4.33±0.18*	4.07±0.12	3.80	4.25	3.60
Urea-N (mg/dl)	11.3±0.9	13.3±1.5	13.7±1.3	16.3±1.9	11.7±0.3	13.7±1.7	13.0±1.0	37.0	13.5	22.0
Creatinine (mg/dl)	0.77±0.07	0.83±0.07	0.83±0.07	0.87±0.09	0.83±0.03	0.97±0.09	1.03±0.09	1.70	0.95	1.00
T. bilirubin (mg/dl)	0.20±0.00	0.20±0.00	0.20±0.00	0.23±0.03	0.30±0.00	0.30±0.00	0.23±0.03	0.35	0.25	0.15
GPT (mU/ml)	32.3±4.6	51.0±8.7	43.3±4.7	37.0±3.6	34.3±6.1	31.0±4.6	14.0±0.6*	45.5	58.0	71.0
GOT (mU/ml)	24.7±9.0	23.7±6.4	13.9±9.8	20.7±4.2	12.7±2.4	32.0±8.5	15.7±2.4	21.0	51.0	47.0
ALP (mU/ml)	94.3±17.5	83.3±12.5	92.0±11.5	77.7±13.6	86.7±7.8	120.0±19.7	88.0±15.6	83.5	85.0	139.5
LDH (mU/ml)	69.7±4.5	68.0±2.1	67.7±2.3	67.0±11.0	72.7±13.5	117.7±12.3*	96.3±11.8	92.0	128.0	73.0
T. cholesterol (mg/dl)	45.0±4.0	51.0±11.9	58.0±8.3	62.3±5.4	40.0±4.5	56.7±9.9	61.3±3.0*	62.5	68.5	145.5
Chloride (meq/L)	103.7±2.3	105.7±0.7	105.3±0.3	104.7±1.5	103.0±1.2	106.7±0.9	106.3±0.9	107.5	107.5	106.0
Inorg. P (mg/dl)	5.53±0.75	6.30±0.44	5.90±0.25	5.40±0.06	6.60±0.38	7.00±0.53	6.93±0.30	8.05	7.10	7.70
Uric acid (mg/dl)	0.24±0.02	0.23±0.01	0.22±0.00	0.23±0.02	0.25±0.03	0.28±0.03	0.25±0.02	0.35	0.31	0.24
Sodium (meq/L)	149.7±0.33	149.3±0.88	149.0±1.00	148.3±0.88	149.3±1.20	148.0±0.58	148.7±0.67	147.5	149.0	150.0
Potassium (meq/L)	4.13±0.07	4.43±0.19	4.27±0.09	4.43±0.23	4.17±0.09	4.30±0.12	4.23±0.07	4.75	4.70	4.70
Calcium (mg/dl)	13.83±0.07	13.37±0.23	13.53±0.44	13.63±0.03	13.60±0.06	13.40±0.21	13.53±0.12	13.65	13.50	10.3
Magnesium (mg/dl)	1.80±0.06	2.03±0.07	1.80±0.00	1.97±0.12	1.93±0.00	2.10±0.06*	2.00±0.06	2.00	2.00	1.8

a) Mean ± S.E.

Statistically significant against control: *;p < 0.05, **;p < 0.01

Table 6 Summary of biochemical analysis of plasma in female rabbits at 2 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM and CMZ

Compounds Dose (mg/kg)	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ		CTM 2,000	CMZ 2,000
		500	2,000	500	2,000	500	2,000		
No. of rabbits	3	3	2	3	3	3	3	2	2
Glucose (mg/dl)	137.7±9.5 ^{a)}	141.7±4.8	151.0	145.3±6.7	139.0±4.6	134.7±4.8	148.0±10.2	136.0	159.5
T. protein (g/dl)	5.97±0.13	6.27±0.09	6.55	6.03±0.20	6.10±0.06	6.20±0.00	6.10±0.10	6.40	6.50
Albumin (g/dl)	3.83±0.18	3.93±0.13	4.20	3.97±0.15	3.63±0.03	3.93±0.17	3.70±0.23	3.85	4.05
Urea-N (mg/dl)	12.3±1.2	15.7±1.2	17.0	19.0±0.6**	17.7±1.5*	13.3±0.9	22.3±3.3*	16.0	17.0
Creatinine (mg/dl)	0.90±0.06	0.90±0.00	1.05	1.00±0.12	1.00±0.06	0.87±0.03	1.13±0.19	0.95	1.10
T. bilirubin (mg/dl)	0.17±0.03	0.20±0.00	0.20	0.23±0.03	0.27±0.03	0.20±0.00	0.23±0.03	0.30	0.25
GPT (mU/ml)	56.0±9.5	44.0±8.1	58.5	52.3±14.8	35.7±9.9	26.7±7.5	12.7±4.9*	45.0	67.0
GOT (mU/dl)	35.0±11.2	17.3±5.6	25.5	14.3±7.0	15.3±8.8	24.3±7.9	41.0±34.5	19.0	26.5
ALP (mU/ml)	120.0±10.0	119.3±17.2	92.0	115.3±7.0	80.0±5.5*	116.0±10.4	84.0±16.2	75.5	118.0
LDH (mU/ml)	104.0±10.0	84.3±7.6	113.0	99.7±14.8	99.3±4.4	84.0±6.6	299.0±209.5	84.0	110.5
T. cholesterol (mg/dl)	52.0±0.6	71.0±6.0*	71.0	78.0±8.7*	96.3±6.3**	64.3±4.2*	78.0±11.5	81.5	65.0
Chloride (meq/L)	105.3±0.3	108.3±0.7*	108.5	104.0±1.5	108.3±0.9*	107.7±0.9	110.7±1.2*	109.5	104.5
Inorg. P (mg/dl)	6.17±0.41	5.30±0.12	4.85	4.97±0.09*	5.03±0.23	5.00±0.06*	5.10±0.63	5.50	5.90
Uric acid (mg/dl)	0.157±0.007	0.183±0.003*	0.195	0.217±0.029	0.170±0.010	0.163±0.012	0.210±0.021	0.175	0.225
Sodium (meq/L)	143.7±0.9	144.0±0.0	143.0	147.0±0.6*	143.3±0.7	143.0±0.6	142.7±0.3	147.5	143.5
Potassium (meq/L)	4.27±0.07	4.33±0.15	4.00	4.37±0.13	4.17±0.03	4.33±0.03	4.00±0.12	4.30	4.05
Calcium (mg/dl)	12.57±0.15	12.70±0.27	12.65	13.13±0.18	12.20±0.32	12.63±0.20	11.97±0.24	13.20	12.80
Magnesium (mg/dl)	1.90±0.00	1.80±0.06	2.10	1.67±0.09	1.90±0.21	1.80±0.00	2.00±0.21	1.90	1.95

a) Mean ± S.E.

Statistically significant against control: *₃p < 0.05, **₃p < 0.01.

Table 7 Summary of autopsy findings in male rabbits at 3 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM, CMZ and CTX

Compounds Dose (mg/kg)	Control (Saline)		6059-S		CET		CEZ		CTM		CMZ		CTX																								
	Rabbit No.	10	21	26	5	17	28	11	18	23	500	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000																				
Findings		10	21	26	5	17	28	11	18	23	3	9	14	13	16	22	8	12	29	20	24	30	6	19	4	27	1	2									
Kidney																																					
Surface																																					
Yellowish-white tint		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	+1	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
Fine granule		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	-	-	+1	+3	-	-	-	-	-	-						
Cortex		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	-	-	+1	+3	-	-	-	-	-	-						
Necrosis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
Medulla and Cortex		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Anemic tint		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Medulla		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Congestion		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Papillary tip		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Congestion		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cecum		-	-	-	+2	+2	+2	+2	+2	+1	+1	+1	+3	+2	+1	+2	+2	+1	+2	+1	+2	+1	+2	+2	+1	+3	+1	+3	+1	+3	+1	+3	+1	+3	+1	+3	
Dilatation with gas		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serosal congestion		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+1	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	±	+2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stomach		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Erosion		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Arbitrary grade: -; Normal, ±; Very mild, +1; Mild, +2; Moderate, +3; Severe changes

Table 8 Summary of autopsy findings in female rabbits at 3 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM and CMZ

Compounds	Control (Saline)	6059-S			CET			CEZ			CTM	CMZ											
		500	2,000	500	2,000	500	2,000	500	2,000														
Findings	No. of rabbits	3	11	16	22	28	14	23	32	1	21	25	9	13	15	20	24	27	7	10	2,000	2,000	
Kidney																							
Surface																							
Yellowish-white tint	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	+2	±	+1	±	-	-
Fine granule	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	+2	±	+1	±	-	-
Cortex																							
Necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+2	+2	±	+1	±	-	-
Thymus																							
Atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecum																							
Dilatation with gas	-	-	-	-	+3	+3	-	-	-	-	-	+2	-	-	-	-	+2	+3	+3	+3	+3	+3	+3

Arbitrary grade: -; Normal, ±; Very mild, +1; Mild, +2; Moderate, +3; Severe changes

Table 9-1 Mean relative organ weights in male rabbits at 3 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM, CMZ and CTX

Compounds Dose (mg/kg)	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ		CTM	CMZ	CTX
		500	2,000	500	2,000	500	2,000	2,000	2,000	2,000
		3	3	3	3	3	3	2	2	2
Organ No. of rabbits	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2
Heart (g)	0.249±0.020 ^{a)}	0.216±0.006	0.240±0.004	0.247±0.018	0.239±0.009	0.244±0.011	0.235±0.008	0.235	0.227	0.253
Lung (g)	0.259±0.020	0.313±0.009*	0.344±0.007	0.374±0.018	0.344±0.005	0.329±0.021	0.352±0.002	0.366	0.288	0.408
Liver (g)	3.033±0.044	2.599±0.086	2.604±0.361	2.841±0.227	2.719±0.166	2.515±0.247	2.490±0.074**	2.567	2.699	3.122
Spleen (g)	0.070±0.006	0.044±0.008	0.040±0.007*	0.075±0.006	0.042±0.004**	0.046±0.007	0.046±0.005*	0.046	0.031	0.058
Kidney (g)										
Left	0.330±0.017	0.292±0.007	0.327±0.021	0.318±0.008	0.311±0.022	0.336±0.027	0.330±0.016	0.341	0.316	0.394
Right	0.332±0.018	0.293±0.010	0.322±0.026	0.329±0.013	0.326±0.015	0.339±0.024	0.329±0.014	0.334	0.306	0.379
Total	0.662±0.034	0.586±0.014	0.649±0.046	0.647±0.020	0.636±0.036	0.675±0.050	0.660±0.030	0.674	0.622	0.773
Adrenal (mg)	11.8±1.1	13.1±1.5	13.7±1.9	13.6±1.4	11.1±0.4	11.0±0.9	9.6±0.5	10.2	12.2	12.3
Thymus (g)	0.114±0.014	0.118±0.019	0.118±0.011	0.110±0.024	0.133±0.004	0.138±0.018	0.114±0.009	0.088	0.137	0.095
Bladder (g)	0.070±0.005	0.062±0.001	0.074±0.004	0.085±0.001	0.076±0.001	0.078±0.007	0.074±0.005	0.090	0.086	0.067
Cecum										
Weight (g)	1.026±0.076	1.013±0.127	1.238±0.035	2.381±0.530	1.318±0.097	0.972±0.020	1.150±0.031	1.144	1.063	1.108
Diameter (cm)	0.163±0.009	0.209±0.009**	0.205±0.003**	0.193±0.011	0.202±0.002**	0.197±0.006*	0.208±0.003**	0.207	0.241	0.214

a) Per 100 g body weight, mean ± S.E.

Statistically significant against control: *, P < 0.05; **, p < 0.01.

Table 9-2 Mean absolute organ weights in male rabbits at 3 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM, CMZ and CTX

Compounds Dose (mg/kg)	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ		CTM	CMZ	CTX
		500	2,000	500	2,000	500	2,000			
Organ No. of rabbits	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2
Body weight (kg)										
Initial	2.52±0.07 ^{a)}	2.49±0.05	2.44±0.14	2.48±0.06	2.50±0.03	2.50±0.03	2.50±0.03	2.50	2.38	2.34
Final	2.52±0.09	2.43±0.05	2.36±0.12	2.44±0.06	2.43±0.05	2.43±0.05	2.44±0.03	2.49	2.29	2.13
Heart (g)	6.26±0.41	5.26±0.25	5.87±0.72	5.61±0.29	5.90±0.19	5.90±0.19	5.73±0.12	5.81	5.22	5.38
Lung (g)	9.04±0.29	7.62±0.34*	8.80±0.37	8.41±0.32	7.98±0.52	7.98±0.52	8.58±0.17	9.05	6.60	8.68
Liver (g)	76.52±3.88	63.08±1.01*	66.53±2.78	66.52±5.52	60.83±4.92	60.83±4.92	60.67±1.90**	64.27	61.98	66.34
Spleen (g)	1.76±0.17	1.07±0.22	1.77±0.22	1.03±0.09**	1.11±0.17	1.11±0.17	1.12±0.14*	1.13	0.73	1.23
Kidney (g)										
Left	82.7±0.13	7.09±0.04**	7.50±0.24*	7.57±0.44	8.14±0.57	8.14±0.57	8.04±0.32	8.45	7.24	7.57
Right	8.34±0.15	7.13±0.27**	7.74±0.30	7.93±0.23	8.21±0.47	8.21±0.47	8.02±0.27	8.24	7.00	8.06
Total	16.61±0.29	14.22±0.26**	15.23±0.52	15.50±0.67	16.35±1.04	16.35±1.04	16.06±0.59	16.68	14.23	16.44
Adrenal (mg)	298±24	318±30	317±20	271±4	268±22	268±22	235±13	254	279	262
Thymus (g)	2.88±0.38	2.89±0.51	2.65±0.65	3.24±0.17	3.32±0.37	3.32±0.37	2.77±0.22	2.22	3.13	2.01
Bladder (g)	1.76±0.09	1.50±0.05	2.02±0.32	1.84±0.05	1.89±0.13	1.89±0.13	1.80±0.12	2.33	1.95	1.42
Cecum										
Weight (g)	25.77±1.57	24.67±3.25	56.10±13.09	32.24±2.89	23.58±0.82	23.58±0.82	28.02±0.54	28.46	24.38	23.54
Diameter (cm)	4.1±0.3	5.1±0.2	4.5±0.1	4.9±0.1*	4.8±0.1	4.8±0.1	5.1±0.1**	5.2	5.5	4.6

a) Mean ± S.E.

Statistically significant against control: * ; p < 0.05, ** ; p < 0.01

Table 10-1 Mean relative organ weights in female rabbits at 3 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM and CMZ

Compounds Dose (mg/kg)	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ		CTM	CMZ
		500	2,000	500	2,000	500	2,000		
Organ	No. of rabbits	3	2	3	3	3	3	2	2
Heart (g)	0.227±0.010 ^{a)}	0.219±0.008	0.234	0.216±0.006	0.220±0.008	0.210±0.008	0.231±0.027	0.231	0.204
Lung (g)	0.324±0.005	0.322±0.004	0.306	0.337±0.011	0.332±0.011	0.302±0.005	0.317±0.001	0.310	0.322
Liver (g)	3.325±0.084	2.362±0.057	2.308	2.735±0.134	2.426±0.081	2.723±0.127	2.693±0.179	2.535	2.309
Spleen (g)	0.057±0.010	0.054±0.005	0.047	0.048±0.006	0.045±0.012	0.042 ^{b)}	0.035±0.005	0.046	0.031
Kidney (g)									
Left	0.296±0.001	0.304±0.013	0.298	0.289±0.016	0.292±0.014	0.302±0.012	0.318±0.024	0.319	0.312
Right	0.288±0.007	0.292±0.013	0.291	0.288±0.008	0.288±0.009	0.298±0.007	0.314±0.016	0.313	0.300
Total	0.585±0.010	0.595±0.026	0.588	0.577±0.024	0.580±0.021	0.600±0.019	0.632±0.039	0.633	0.612
Adrenal (mg)	10.1±0.9	8.2±0.6	7.9	9.8±0.8	8.7±1.2	9.3±0.2	9.7±1.2	9.3	9.9
Thymus (g)	0.150±0.007	0.146±0.009	0.093	0.127±0.022	0.139±0.020	0.134±0.003	0.079±0.025	0.144	0.088
Bladder (g)	0.120±0.035	0.090±0.007	0.101	0.093±0.012	0.088±0.008	0.075±0.010	0.081±0.009	0.087	0.075
Cecum									
Weight (g)	1.021±0.110	1.230±0.069	1.283	1.245±0.034	1.433±0.215	1.190±0.106	1.194±0.200	1.291	1.219
Diameter (cm)	0.159±0.009	0.222±0.009	0.235	0.187±0.010	0.197±0.008*	0.228±0.007	0.226±0.011	0.216	0.232

a) Per 100 grams body weight, mean ± S.E.

b) Consisted of 2 rabbits

Statistically significant against control: * ; p < 0.05, ** ; p < 0.01

Table 10-2 Mean absolute organ weights in female rabbits at 3 days after single I.V. infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM and CMZ

Compounds Dose (mg/kg) Organ No. of rabbits	Control (Saline) 3	6059-S			CET			CEZ			CTM		CMZ	
		500	2,000	500	500	2,000	2,000	500	500	2,000	2,000	2,000	2,000	
		3	2	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	
Body weight (kg)														
Initial	2.49±0.05 ^{a)}	2.48	2.52±0.03	2.56±0.04	2.55±0.04	2.53±0.06	2.62±0.05	2.47	2.55					
Final	2.54±0.07	2.43	2.48±0.05	2.55±0.06	2.49±0.01	2.53±0.06	2.43±0.13	2.44	2.37					
Heart (g)	2.75±0.12	5.69	5.45±0.30	5.51±0.14	5.48±0.19	5.32±0.20	5.54±0.32	5.62	4.83					
Lung (g)	8.25±0.25	7.44	7.99±0.23	8.61±0.49	8.26±0.27	7.64±0.18	7.69±0.39	7.56	7.62					
Liver (g)	84.62±3.67	56.15	58.71±2.50 ^{**}	69.88±4.83	60.40±2.12 ^{**}	68.83±1.74 ^{**}	64.88±0.78*	61.65	54.58					
Spleen (g)	1.46±0.27	1.34	1.33±0.16	1.21±0.15	1.13±0.29	1.03 ^{c)}	0.87±0.15	1.13	0.73					
Kidney (g)														
Left	7.52±0.23	7.23	7.55±0.41	7.35±0.24	7.26±0.32	7.66±0.47	7.70±0.56	7.78	7.40					
Right	7.33±0.34	7.05	7.25±0.40	7.34±0.02	7.18±0.21	7.55±0.33	7.59±0.37	7.63	7.10					
Total	14.88±0.59	14.23	14.79±0.80	14.69±0.26	14.43±0.51	15.21±0.80	15.29±0.92	15.41	14.50					
Adrenal (mg)	256±19	191	204±20	250±16	217±30	234±6	234±19	227	233					
Thymus (g)	3.81±0.27	2.22	3.63±0.29	3.27±0.64	3.47±0.49	3.39±0.16	1.95±0.68	2.76	2.09					
Bladder (g)	3.07±0.94	2.45	2.22±0.19	2.38±0.32	2.19±0.19	1.89±0.22	1.95±0.12	2.13	1.78					
Cecum														
Weight (g)	25.87±2.42	31.14	30.51±1.45	31.71±0.56	35.67±5.35	30.12±2.64	28.88±5.08	31.46	28.91					
Diameter (cm)	4.0±0.2	5.7	5.5±0.2 ^{**}	4.8±0.1*	4.9±0.2*	5.8±0.0 ^{**}	5.5±0.2 ^{**}	5.3	5.5					

a) Mean ± S.E.

c) Consisted of 2 rabbits

Statistically significant against control: * ; p < 0.05, ** ; p < 0.01

Table 12. Summary of histological findings in female rabbits at 3 days after single intravenous infusions of 6059-S, CET, CEZ, CTM and CMZ

Compounds	Control (Saline)	6059-S			CET			CEZ			CTM		CMZ												
		500	2,000	500	2,000	500	2,000	500	2,000	7	10	2,000													
Findings	5	12	29	3	11	16	22	28	14	23	32	1	21	25	9	13	15	20	24	27	7	10	2	30	
Kidney																									
Proximal tubular degeneration and necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+2	+2	+1	+2	+1	-	-	-
Calcium deposits in proximal tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+1	+1	±	+1	±	-	-	-
Casts in distal tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	±	+1	+1	+1	±	-	-	-
Liver																									
Parenchymal cell																									
Decrease in size	-	-	-	+1	+1	+1	+1	+1	±	-	-	+1	±	±	±	-	-	+1	+1	±	±	+2	+1	+1	+1
Decrease in PAS-positive material	-	-	-	+2	+1	+2	+2	+2	-	-	-	±	±	-	-	-	-	+2	+2	+1	+2	+2	+2	+1	+1
Increase in Sudan III-positive materials in peritubules	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	+1	-	±	±	-	+1	±	+1	-	-	±	+1	+2
Single cell necrosis in centrolobules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cell infiltration in																									
Glisson's sheath	+1	+1	-	-	-	±	+1	+1	+1	+1	+2	-	±	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	+2	-	+1
Polymorphocyte infiltration into sinusoids	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Proliferation of kupffer cell	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus																									
Atrophy of lobules	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decrease of lymphocytes in cortex	-	-	-	-	-	-	+1	+1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen, Heart, Lung, Adrenal, Bladder	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Arbitrary grade: -, Normal, ±; Very slight alterations, +1; Slight alterations, +2; Moderate alterations, +3; Marked generalized alterations

4) 病理学的検査

I) 肉眼所見 (Table 7, 8)

腎: 6059-S, CET および CMZ 群には、腎の表面および剖面に変化を認めなかった。CEZ 群では、500 mg/kg 群には変化を認めなかったが、2,000 mg/kg 群では雄は 3 例中 1 例、雌は全例、腎表面の色調が黄白色となり、微細な灰白色の顆粒状を呈した。剖面では、皮質に灰白色の壊死を認めた。CTM 2,000 mg/kg 群でも、全例に同様の所見が認められたが、その程度は CEZ に比べて軽度であった。CTX 群では、2 例中 1 例に、皮質の壊死と乳頭部先端のうっ血を認めた。

盲腸: 雄では全ての薬剤投与群の全例に、雌では CET および CEZ のそれぞれ 500 mg/kg 群を除いた薬剤投与群に、盲腸の拡張がみられ、水を多く含む便の含有とガスの貯留が特徴であった。

II) 臓器重量 (Table 9, 10)

全ての薬剤投与群の腎重量には、異常は認められなかった。肝相対重量の減少が全ての薬剤投与群に認められ、雄よりも雌においてやや強く用量依存性をもって認められた。盲腸の拡張を最大径の測定により表現すると、雌 CET 500 mg/kg 群を除く全ての薬剤投与群に増加が認められたが、盲腸の重量には変化を認めなかった。

III) 組織学的所見 (Table 11, 12) (Photo. 1~11)

腎: 6059-S, CET, CMZ 投与群には、組織学的に変化を認めなかった。これに対し、CEZ 投与群では、全例に近位尿管上皮細胞に軽度または中等度の変性あるいは石灰沈着を伴う壊死を認め、遠位尿管腔内に硝子様円柱の存在を認めた。雌 500 mg/kg の 1/3 例に雄にみられたと同様な変化が軽度のみられ、2,000 mg/kg 群では全例に中等度の変化が認められた。CTM 投与群では、皮質の近位尿管上皮細胞の著明な変性ならびに軽度から中等度の石灰沈着を伴う壊死を認め、遠位尿管腔内には硝子様円柱を顕著に認めた。CTX 群では、皮質の近位尿管上皮細胞に軽度の変性ならびに軽度の石灰沈着を伴う壊死と一部の上皮細胞分裂像を認めた。また、拡張した遠位尿管に、硝子様円柱の存在、集合管の上皮細胞の核濃縮および腎乳頭部のうっ血を軽度に認めた。

肝: いずれの薬剤投与群においても、全例に肝実質細胞の小型化、細胞内 PAS 陽性物質の著減および肝小葉周辺帯の実質細胞内に Sudan III 陽性物質の軽度ないし中等度の出現をみた。

他の臓器には、薬剤に起因すると思われる特記すべき変化は認められなかった。

以上の単回投与試験の結果を、腎障害の強さについて、一般症状・尿・血液の一般および生化学所見、肉眼ならびに組織学的な病理所見等の強弱により程度をつけ

Table 13 Summary of urinalysis in female rabbits after daily I.V. infusions of 6059-S, CET and CEZ for 7 days

	Compounds Dose (mg/kg/day) No. of rabbits	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ	
			200	400	200	400	200	400
			4	4	4	4	4	4
pH	-7 ^{a)}	8.4 ^{b)}	8.5	8.3	8.1	8.0	8.3	8.0
	4	8.5	7.8	7.1	8.0	8.0	8.0	7.6
	7	8.4	7.3	7.5	8.4	7.1	6.3	7.4
Urinary sediment*	-7	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	±
	7	-	-	-	-	-	-	±
Protein	-7	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-

a) Day examined b) Mean value

* Appearance of casts (Arbitrary grade): -, <5 × 10²/ml, ±, 5 ~ 20 × 10²/ml, +1; 20 ~ 100 × 10²/ml, +2; 100 ~ 200 × 10²/ml, +3; >200 × 10²/ml

Table 14 Summary of biochemical analysis of plasma in female rabbits after daily I.V. infusions of 60S9-S, CET and CEZ for 7 days

Compounds Dose (mg/kg/day)	Control (Saline)	60S9-S		CET		CEZ	
		200	400	200	400	200	400
No. of rabbits	4	4	4	4	4	4	4
Glucose (mg/dl)	152.5±4.1 ^{a)}	125.3±1.8**	134.3±0.8**	135.3±3.8*	137.0±4.1*	142.0±8.5	130.8±7.5*
T. protein	6.20±0.14	6.15±0.07	5.98±0.16	6.33±0.05	5.75±0.09*	6.28±0.10	6.18±0.21
Albumin (g/dl)	4.20±0.11	4.00±0.04	3.92±0.11	4.18±0.12	3.55±0.13*	4.08±0.05	4.15±0.12
Urea-N (mg/dl)	14.3±0.5	15.3±0.9	13.8±1.1	16.0±2.0	16.3±3.0	22.3±7.0	14.8±1.0
Creatinine (mg/dl)	1.00±0.04	1.15±0.05	1.08±0.08	1.03±0.10	0.95±0.05	1.45±0.12*	1.08±0.05
T. bilirubin (mg/dl)	0.20±0.00	0.30±0.00	0.30±0.00	0.20±0.00	0.20±0.00	0.25±0.03	0.28±0.03*
GPT (mU/ml)	52.3±9.4	31.5±3.1	44.5±3.8	43.8±10.1	42.8±13.8	8.5±2.9**	9.0±2.2**
GOT (mU/ml)	26.8±5.3	17.8±3.0	20.0±1.7	23.5±6.1	31.3±7.8	13.8±2.8	23.0±4.2
AIP (mU/ml)	81.0±5.8	53.0±4.0**	60.0±9.6	68.0±6.2	73.5±22.1	50.0±5.5**	62.0±5.7
LDH (mU/ml)	72.5±5.6	100.8±22.5	90.0±4.3*	80.5±13.3	63.8±7.2	91.0±22.7	69.0±4.4
T. cholesterol (mg/dl)	61.5±2.6	143.5±20.9**	132.3±19.9*	68.5±9.1	90.0±16.3	159.3±9.9**	126.5±16.3**
Chloride (mg/L)	101.5±1.7	107.0±1.4*	103.8±1.3	105.0±0.8	101.8±1.9	106.3±1.6	108.0±0.4**
Inorg. P (mg/dl)	4.73±0.30	5.45±0.12	5.30±0.27	4.68±0.11	4.98±0.26	5.30±0.25	5.03±0.39
Uric acid (mg/dl)	0.33±0.04	0.22±0.03	0.22±0.02	0.26±0.01	0.23±0.02	0.27±0.04	0.20±0.02*
Sodium (meq/L)	144.3±1.3	142.5±0.7	144.0±1.1	142.0±1.2	141.0±0.6	143.8±1.0	144.0±1.3
Potassium (meq/L)	4.65±0.17	4.40±0.11	4.45±0.10	4.40±0.15	4.15±0.13	3.95±0.12*	4.13±0.10*
Calcium (mg/dl)	13.58±0.38	12.73±0.29	12.40±0.24*	12.85±0.09	11.90±0.62	12.00±0.49*	12.40±0.38
Magnesium (mg/dl)	1.75±0.05	1.80±0.07	1.78±0.05	2.00±0.04**	1.78±0.08	2.05±0.12	1.80±0.07

a) Mean ± S.E.

Statistically significant against control: *, p < 0.05, **, p < 0.01

Table 15-1 Mean relative organ weights on autopsy in female rabbits after daily I.V. infusions of 6059-S, CET and CEZ for 7 days

Compounds Dose (mg/kg/day)	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ	
		200	400	200	400	200	400
Organ	No. of rabbits	4	4	4	4	4	4
Heart (g)	0.229±0.008 ^{a)}	0.202±0.006*	0.215±0.004	0.244±0.008	0.230±0.007	0.233±0.004	0.207±0.008
Lung (g)	0.303±0.008	0.287±0.013	0.298±0.016	0.295±0.010	0.310±0.009	0.358±0.018*	0.290±0.007
Liver (g)	3.51±0.35	2.10±0.08**	1.99±0.10**	2.72±0.20	2.88±0.08	3.10±0.27	2.26±0.07*
Spleen (g)	0.042±0.003	0.038±0.005	0.039±0.009	0.050±0.005	0.057±0.006	0.045±0.005	0.048±0.003
Kidney (g)							
Left	0.285±0.010	0.269±0.007	0.298±0.007	0.317±0.025	0.318±0.025	0.340±0.037	0.287±0.006
Right	0.289±0.014	0.273±0.006	0.286±0.006	0.315±0.027	0.319±0.027	0.338±0.044	0.290±0.008
Total	0.575±0.024	0.541±0.012	0.584±0.013	0.633±0.052	0.637±0.052	0.678±0.081	0.577±0.014
Adrenal (mg)	9.4±0.9	9.4±0.9	9.7±0.4	9.6±0.6	10.6±0.7	12.8±0.6*	10.1±1.1
Thymus (g)	0.103±0.029	0.086±0.009	0.050±0.008	0.101±0.019	0.047±0.025	0.059±0.004	0.074±0.011
Thyroid (mg)	7.1±0.6	6.6±0.4	7.5±0.7	6.8±0.5	7.9±0.6	7.1±0.6	7.7±0.3
Ovary (mg)	10.3±1.9	10.4±2.1	9.0±1.0	12.0±0.8	11.6±0.5	12.7±1.8	11.1±0.4
Uterus (g)	0.160±0.026	0.099±0.013	0.072±0.019*	0.178±0.016	0.166±0.037	0.132±0.017	0.092±0.015
Bladder (g)	0.067±0.005	0.077±0.011	0.073±0.004	0.087±0.027	0.078±0.003	0.076±0.005	0.069±0.003
Cecum							
Weight (g)	0.879±0.042	1.290±0.043**	1.112±0.100	1.158±0.053**	2.038±0.581	1.983±0.577	1.168±0.089*
Diameter (cm)	0.154±0.007	0.249±0.006**	0.237±0.008**	0.167±0.003	0.200±0.008**	0.223±0.008**	0.240±0.008**

a) Per 100 g body weight, mean ± S.E.

Statistically significant against control: *, p < 0.05, **, p < 0.01

Table 15-2 Mean absolute organ weights on autopsy in female rabbits after daily I.V. infusions of 6059-S, CET and CEZ for 7 days

Compounds Dose (mg/kg/day)	Control (Saline)	6059-S		CET		CEZ	
		200	400	200	400	200	400
Organ	No. of rabbits	4	4	4	4	4	4
Body weight (kg)							
Initial	2.58±0.09 ^{a)}	2.55±0.03	2.61±0.05	2.60±0.08	2.63±0.03	2.63±0.04	2.57±0.06
Final	2.69±0.09	2.53±0.08	2.46±0.05	2.65±0.08	2.55±0.15	2.26±0.09*	2.46±0.08
Heart (g)	6.17±0.32	5.11±0.20*	5.28±0.15*	6.46±0.23	5.85±0.36	5.25±0.20	5.08±0.24*
Lung (g)	8.16±0.33	7.21±0.22	7.30±0.40	7.80±0.25	7.87±0.43	8.05±0.28	7.12±0.31
Liver (g)	94.25±9.20	53.07±3.05**	48.89±3.22**	72.18±5.47	73.10±3.36	69.39±4.04*	55.29±1.26**
Spleen (g)	1.12±0.09	0.95±0.11	0.96±0.25	1.34±0.14	1.45±0.16	1.00±0.07	1.18±0.08
Kidney (g)							
Left	7.69±0.42	6.78±0.19	7.32±0.18	8.38±0.56	8.02±0.50	7.61±0.70	7.05±0.26
Right	7.80±0.49	6.87±0.11	7.01±0.08	8.34±0.65	8.04±0.55	7.57±0.84	7.11±0.22
Total	15.49±0.90	13.65±0.30	14.33±0.25	16.73±1.20	16.07±1.05	15.18±1.53	14.16±0.48
Adrenal (mg)	253±17	239±27	239±13	253±14	269±21	287±6	246±21
Thymus (g)	2.78±0.81	2.18±0.25	1.21±0.19	2.67±0.48	1.22±0.69	1.35±0.15	1.80±0.23
Thyroid (mg)	190±13	167±13	184±18	182±16	201±14	160±15	190±8
Ovarium (mg)	277±54	259±47	221±22	317±18	297±27	283±34	274±18
Uterus (g)	4.29±0.68	2.52±0.41	1.79±0.50*	4.73±0.51	4.40±1.18	2.96±0.33	2.26±0.36*
Bladder (g)	1.82±0.17	1.94±0.27	1.79±0.12	2.33±0.74	1.99±0.15	1.71±0.07	1.69±0.03
Cecum							
Weight (g)	23.57±0.72	32.60±1.70**	27.23±2.19	30.82±2.17*	49.40±11.03	44.14±12.37	28.65±2.09
Diameter (cm)	4.1±0.1	6.3±0.1**	5.8±0.1**	4.4±0.1	5.1±0.1**	5.1±0.3*	5.9±0.1**

a) Mean ± S.E.

Statistically significant against control: *, p < 0.05, **, p < 0.01

て比較すると、雄では CTM 2,000 mg/kg > CEZ 2,000 mg/kg > CTX 2,000 mg/kg、雌では CEZ 2,000 mg/kg = CTM 2,000 mg/kg > CEZ 500 mg/kg であり、6059-S, CET, CMZ 投与群には腎障害を認めなかった。

2. 7日間連続投与試験

1) 一般症状

薬物投与中から投与後を通じて、一般症状に異常を認めなかった。全ての薬剤投与群に、ほぼ用量作用関係をもって投与直後から摂餌量の減少がみられ、6059-S および CEZ 投与群では投与開始 2 日後頃から解剖時に至るまで、ほとんど絶食に近い状態になった。CET 投与群では、その減少の程度は軽度で約 50% 以内であった。

体重は、投与開始 3 日後より用量作用関係をもって減少し始め、実験終了時には 6059-S および CEZ の 400 mg/kg 群には、投与開始時の体重の 5% 程度の減少が、CET 400 mg/kg 群には、3% 程度の減少が認められた。CEZ 200 mg/kg 群では体重減少が著しく、投与開始時の体重の 14% の低下を示した。

2) 尿検査 (Table 13)

CET 400 mg/kg 群と 6059-S, CET のいずれの投与群にも投与量に関係なく、尿 pH の酸性化が経日的に認められた。4 日後の検査で CEZ 400 mg/kg 群の全例に、尿中に少数の顆粒円柱の出現が認められ、7 日後には顆粒円柱・上皮円柱の出現が増加する例がみられた。CET 200 mg/kg 群の 1 例に、採尿時の膀胱傷害による潜血反応と蛋白反応が認められた。

3) 血液検査

i) 血液学的検査

6059-S をはじめ、いずれの薬剤投与群にも異常を認めなかった。

ii) 血液生化学検査 (Table 14)

6059-S および CEZ 投与群に、総コレステロールの増加が認められた。CEZ 投与群には、GPT 活性の顕著な低下が認められた。

4) 病理学的検査

i) 肉眼所見

腎：6059-S, CET, CEZ のいずれの薬剤投与群にも異常を認めなかった。

盲腸：6059-S および CEZ 投与群には盲腸の拡張が

Table 16 Summary of histological findings in female rabbits after daily intravenous infusions of 6059-S, CET and CEZ for 7 days

Compounds Dose (mg/kg/day)	6059-S							CET							CEZ													
	Control (Saline)			200			400			200			400			200			400									
	1	4	12	15	6	19	22	27	2	3	14	18	21	24	26	30	8	11	16	20	5	9	23	28	7	10	15	17
Rabbit No.																												
Kidney	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Swelling of epithelial cells in proximal tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Casts in distal tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Parenchymal cell	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decrease in size	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decrease in PAS-positive material	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Increase in Sudan III-positive material in peritubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Granuloma containing multinucleated giant cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cell infiltration in Glisson's sheath	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema in submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemorrhage in submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pyknosis in mucous membrane epithelial cells with cell infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Colon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema in submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bladder	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Necrosis and hemorrhage in mucous membrane epithelial cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen, Heart, Lung, Thymus, Thyroid, Ovary, Uterus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Arbitrary grade: -, Normal, ±; Very slight alterations, +1; Slight alterations, +2; Moderate alterations, +3; Marked generalized alterations

あり、水分を多く含んだ便の含有と、ガスの貯留が特徴であった。CEZ 200 mg/kg 群の 2/4 例に軽度の水腫を認めた。CET 投与群では盲腸の拡張が少数例みられたが、400 mg/kg 群の 2/4 例に軽度または中等度の水腫および粘膜下織にうっ血がみられた。

II) 臓器重量 (Table 15)

いずれの薬剤投与群も、腎重量には変化を認めなかった。肝相対重量の減少が、6059-S および CEZ 投与群に用量作用関係をもって有意に認められた。盲腸の拡張を最大径の測定により表現すると、CET 200 mg/kg 群を除く全ての薬剤投与群に増加が認められたが、盲腸の重量には変化を認めなかった。

III) 組織学的所見 (Table 16)

腎: 6059-S, CET 投与群には、組織学的に変化を認めなかった。CEZ 投与群では、400 mg/kg 群の 1/4 例と 200 mg/kg 群の 2/4 例に、遠位尿管腔内に硝子様円柱の存在をごく軽度に認めた。他に 200 mg/kg 群の 1/4 例に近位尿管上皮細胞の著明な腫脹を認めた。

肝: 6059-S, CEZ 群には用量作用関係をもって、肝細胞の小型化・PAS 陽性物質の著減・Sudan III 陽性物質の出現がみられた。この他に、寄生虫感染によって生じた慢性炎症の変化をもつ家兎が散見された。

盲腸: CET 400 mg/kg および CEZ 200 mg/kg 群のそれぞれ 2/4 例の粘膜下織に軽度の水腫・白血球の浸潤・粘膜上皮細胞の核濃縮を認めた。CET 400 mg/kg 群の 1 例には、粘膜下織の出血、結腸の粘膜下織にも水腫を認めた。

その他に、CET 200 mg/kg 群の 1/4 例に採尿時のアーティファクトによると思われる膀胱粘膜上皮細胞に壊死と出血が認められたが、他の臓器には著変を認めなかった。

以上の 7 日間連続投与試験の結果を、腎障害の強さについて、一般症状・尿・血液の所見、肉眼ならびに組織学的な病理所見等を総合してみても、6059-S, CET 投与群には腎障害は認められず、CEZ 投与群にのみ腎に軽度の変化を認めた。

考 察

雌雄の家兎に、6059-S ならびに対照薬として CET, CEZ, CTM, CMZ および CTX (雄のみ) を、それぞれ単回静脈内注入した結果、① 6059-S, CET および CMZ では、腎毒性が 2,000 mg/kg 投与群まで全く認められなかった。これに対し、CEZ, CTM および CTX 群には、軽度から中等度の腎障害が雌雄に共通して認められた。この他に薬物投与と関係のある変化として、② 摂餌の抑制、③ 盲腸の拡張、④ CEZ 群にのみ特徴的な

血漿 GPT 活性の低下が認められた。

腎障害については、CTM では血液化学的に BUN およびクレアチニンの上昇と、尿中への蛋白・糖・上皮円柱および顆粒円柱の出現と、病理組織学的に近位尿管上皮細胞の変性・壊死・石灰沈着と、遠位尿管腔内に円柱の出現がみられた。CEZ においても、蛋白尿・上皮円柱および顆粒円柱の尿中への出現および病理組織学的には、CTM と質的に同様な変化が認められたが程度は弱かった。CTX においては、尿所見の変化および血中 BUN の上昇は CTM に比べて強かったが、近位尿管上皮細胞の障害は弱いのが特徴であった。

腎障害作用を各薬剤間で比較すると、雄では $CTM > CEZ > CTX \geq CMZ \approx CET \approx 6059-S$ であり、雌では $CEZ \geq CTM \geq CMZ \approx CET \approx 6059-S$ であった。BARZA によると、Cephalosporin 系薬剤の腎障害作用は Cephaloridine が最も強く、次いで CEZ であるとのべている。これに対し、CET は "minimally nephrotoxic" であり、家兎を用いた腎毒性試験においても、Cephalosporin 系抗生物質の中で最も腎障害の弱いものと報告されているので⁴⁻⁷⁾、今回の家兎による腎毒性試験の結果から、6059-S は CET と同様に腎障害の弱い薬物の範疇に入ると評価することができた。

今回の実験において全ての薬剤投与群に共通してみられた変化は、薬剤投与後の摂餌の抑制・体重の減少・肝重量の減少・肝細胞中の PAS 陽性物質の減少・Sudan III 陽性物質の軽度出現および尿の酸性化であったが、これらは絶食させた家兎に見られる変化と同一であった。盲腸の拡張は他の Cephalosporin 系抗生物質⁸⁻¹¹⁾、Penicillin 系抗生物質¹²⁾、Aminoglycoside 系抗生物質¹²⁾に共通してみられる所見であり、また無菌動物¹³⁾にも見られることから、おそらくこれら抗生物質による腸内細菌叢の変化によるものと思われる。この他、CEZ 投与群には、雌雄とも血漿中 GPT の活性の低下がみられ、これは家兎⁹⁾のみでなく、イヌ^{9,14,15)}、ラット^{9,16)}でも認められている現象で、その機序に関しては、血漿 GPT および肝組織内 GPT に対する CEZ の直接活性阻害と他の要因の関与とが考えられている¹⁷⁾。さらに、CEZ 2,000 mg/kg 投与群の雌 1 例に、四肢の筋弛緩が観察されたが、この現象は渡辺ら⁹⁾による家兎を用いた CEZ の急性毒性試験でも報告されており、CEZ の中枢作用をうかがわす所見とも考えられる。

次に、6059-S ならびに対照薬として CET および CEZ を 7 日間連続静脈内投与した結果においても、6059-S, CET 投与群には腎障害は認められなかった。これに対して、CEZ 投与群においては腎に軽度の変化を認めた。他に、単回投与試験で認められたと同様の摂餌

の抑制・盲腸の拡張・CEZ 群にのみ血漿 GPT 活性の低下が認められた。

以上の成績により、6059-S は、単回投与あるいは7日間連続投与しても、CET と同様、腎障害の認められない範疇に入る安全性の高い薬物であると結論できた。

謝 辞

稿を終えるに当たり、本報告に御協力いただいた弊社研究所の岡本孝夫、中野 暁、花房友行、森 聖、森山哲郎、水上万里子、吉崎敏夫の諸氏に深く感謝致します。

文 献

- 1) BARZA, M.: The nephrotoxicity of cephalosporins: An overview. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S60~S73, 1978
- 2) 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
- 3) 原田喜男, 岡本孝夫, 豊島久美子: 腎毒性を指標にした Cefamandole sodium の家兔における毒性試験——単回, 7日間連続投与試験およびその回復性試験——. *Chemotherapy* 27: 701~739, 1979
- 4) WOLD, J. S.; N. V. OWEN & D. M. MORTON: Comparative nephrotoxicity of cefamandole nafate, cephalothin sodium and several additional cephalosporins in the rabbit. *IND A-10146. Toxicology Report No. 14. from the Lilly Toxicol. Lab., Eli Lilly and Co., June, 1976*
- 5) 梶本義衛, 倉本昌明: Cephalothin および Cephaloridine の家兔に対する腎毒性の比較. *Jpn. J. Antibiot.* 21: 124~130, 1968
- 6) SILVERBLATT, F.; W. O. HARRISON & M. TURCK: Nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics in experimental animals. *J. Infect. Dis.* 128 (Suppl.): S367~S372, 1973
- 7) 青河寛次, 金尾昌明, 山路邦彦: 家兔腎肝機能におよぼす合成 Cephalosporin C 投与の影響. *Jpn. J. Antibiot.* 21: 336~341, 1968
- 8) 峰下鎮雄, 村岡義博, 矢原 功, 狗田忠義, 石川路夫, 土原今朝生, 川口順子, 岡田照子: Cephaloglycin の毒性について. *Chemotherapy* 18: 22~28, 1970
- 9) 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之: Cefazolin sodium の毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy* 18: 528~543, 1970
- 10) 林 裕造, 古川 仁, 川野祐次, 吉田 正: 静脈注射による Cephalothin のラットにおける亜急性毒性試験. *Jpn. J. Antibiot.* 28: 231~242, 1975
- 11) 二木力夫, 塩田尚三, 宇佐英正義, 野口午郎, 杉山 修, 大川広行, 高垣善男: Ceftazole の一般毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy* 24: 671~702, 1976
- 12) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exp. Med.* 128: 97~110, 1968
- 13) GORDON, H. A.: Morphological and physiological characterization of germ free life. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 78: 208~219, 1959.
- 14) WELLES, J. S.; D. W. GRISHAM, J. L. EMMERSON, W. J. GRIFING & G. F. KIPLINGER: An exploration of the effect of cephalosporin on serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) levels in dogs. *IND A-8624. Toxicology Report. No. 5 from the Lilly Toxicol. Lab., Eli Lilly and Co., February, 1973*
- 15) KOBAYASHI, F.; M. MATSUURA, T. HASEGAWA, T. YOSHIZAKI, T. MATSUBARA & Y. HARADA: The subacute toxicity of compound 6059-S in the dog. *Toxicology Report. No. 7 from the Lilly Toxicol. Lab., Eli Lilly and Co., October, 1978*
- 16) KOBAYASHI, F.; H. FURUKAWA, T. HASEGAWA, T. YOSHIZAKI, T. MATSUBARA & Y. HARADA: Subacute intravenous toxicity studies with compound 6059-S in the rat. *Toxicology Report No. 6 from the Lilly Toxicol. Lab., Eli Lilly and Co., October, 1978*
- 17) 松原尚志, 戸内 明: ラット血中および肝内酵素活性におよぼす Cefamandole の影響: GPT 活性低下機序の解析. *Chemotherapy* 27: 740~748, 1979

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

H. E. staining, $\times 63$

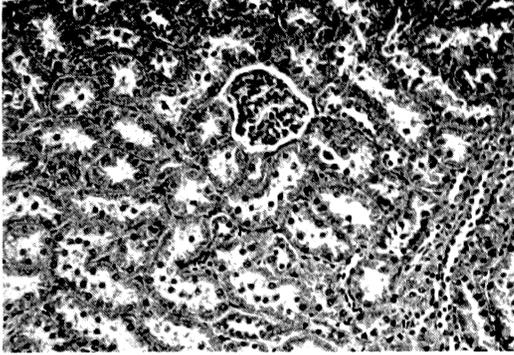


Photo. 2 Kidney of male rabbit given 6059-S (2,000 mg/kg).

No histological changes were observed as compared with the control.

H. E. staining, $\times 63$

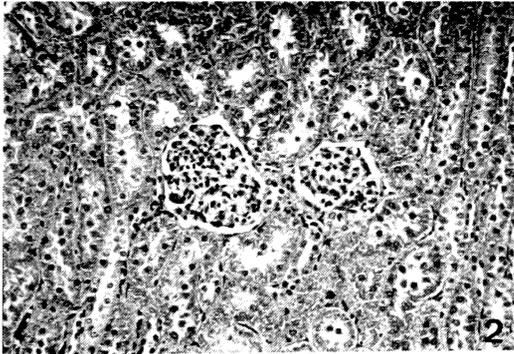


Photo. 3 Kidney of male rabbit given CET (2,000 mg/kg).

No histological changes were observed as compared with the control.

H. E. staining, $\times 63$

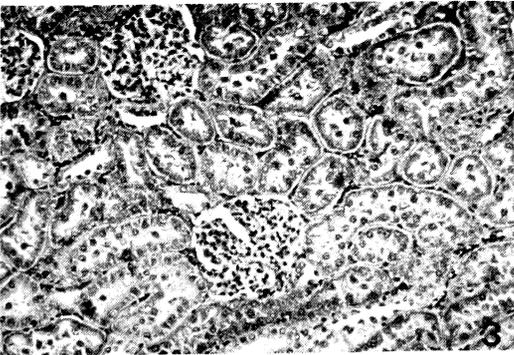


Photo. 4 Kidney of male rabbit given CEZ (2,000 mg/kg).

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

H. E. staining, $\times 63$

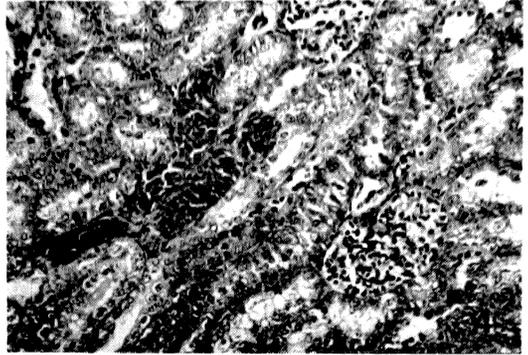


Photo. 5 Kidney of male rabbit given CTM (2,000 mg/kg).

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

H. E. staining, $\times 63$

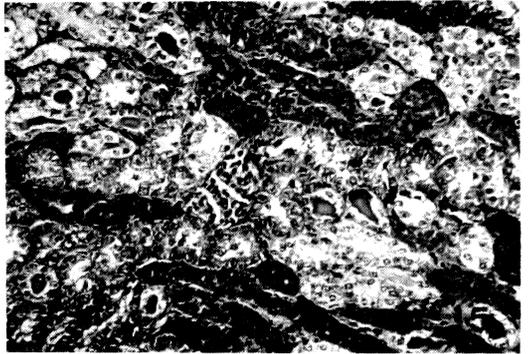


Photo. 6 Kidney of male rabbit given CMZ (2,000 mg/kg).

No histological changes were observed as compared with the control.

H. E. staining, $\times 63$

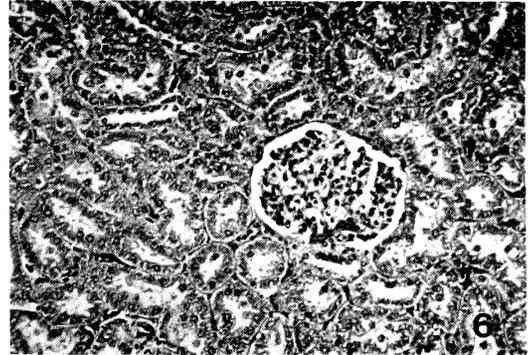


Photo. 7 Kidney of male rabbit given CTX (2,000 mg/kg).

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

H. E. staining, $\times 63$

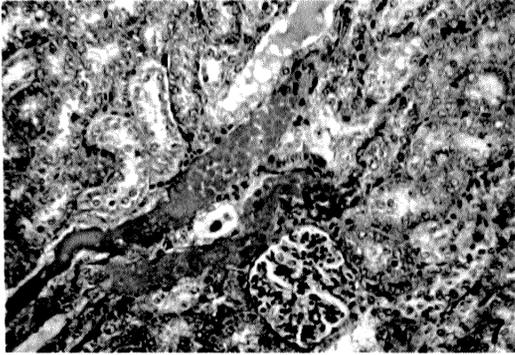


Photo. 8 Kidney of control female rabbit treated with physiological saline.

H. E. staining, $\times 63$

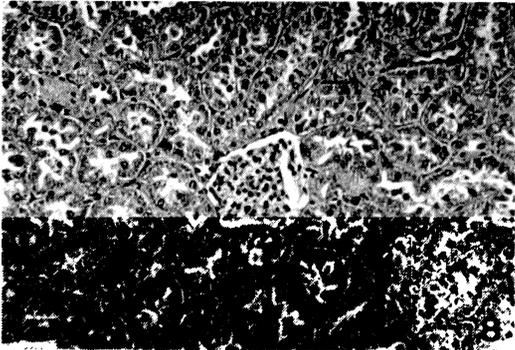


Photo. 9 Kidney of female rabbit given 6059-S (2,000 mg/kg).

No histological changes were observed as compared with the control.

H. E. staining, $\times 63$

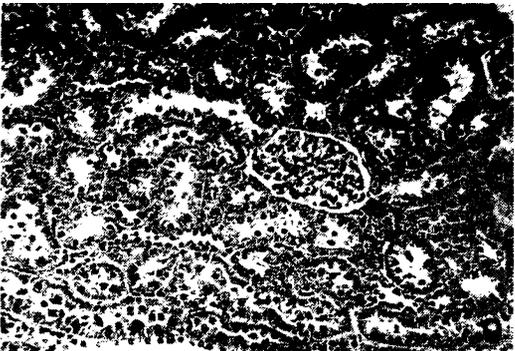


Photo. 10 Kidney of female rabbit given CEZ (2,000 mg/kg).

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

H. E. staining, $\times 63$

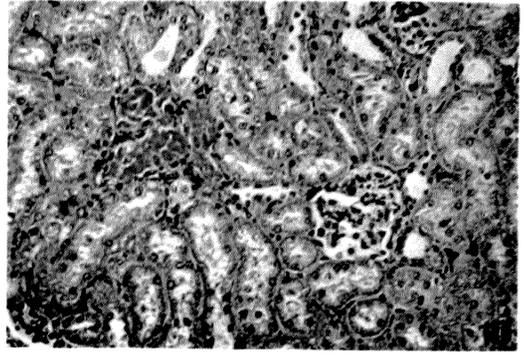
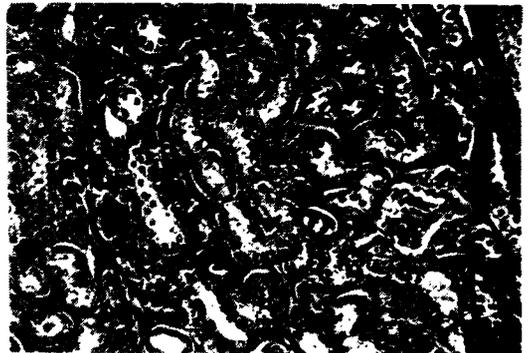


Photo. 11 Kidney of femal rabbit given CTM (2,000 mg/kg).

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

H. E. staining, $\times 63$



NEPHROTOXICITY OF 6059-S IN RABBITS

YOSHIO HARADA and KUMIKO TESHIMA

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

The nephrotoxic potential of compound 6059-S was evaluated in rabbits after intravenous administration of 500 and 2,000 mg/kg (ear vein). Effects on plasma chemistry parameters were determined. Histological examinations of kidney tissues of all animals were performed after 48 hours. Four rabbits were used at each dose level, and comparative studies were performed using several other injectable cephalosporins.

Compound 6059-S caused no nephrotoxicity after intravenous dosing. Compound 6059-S produced significantly less nephrotoxicity than cefazolin, a compound which has not produced significant nephrotoxicity in human chemotherapy. Intravenously, 6059-S was shown to be as minimally nephrotoxic as cephalothin, a compound which also has not shown nephrotoxicity in humans.

Comparison of the nephrotoxicity among diverse cephalosporins showed as follows, in male rabbits; $CTM > CEZ > CTX > CMZ \approx CET \approx 6059-S$, in female rabbits; $CEZ \geq CTM > CMZ \approx CET \approx 6059-S$.