

Cefotetan (YM09330) のウサギにおける筋肉注射時局所障害性

塚 俊治・花田 貴宣・岡宮 英明・塩原 有一
山之内製薬株式会社開発研究所

要 旨

Cefotetan (CTT, YM09330) の筋肉内注射による局所障害性を、白色ウサギの外側広筋を用いて検討した。

生理食塩液あるいは塩酸リドカイン注射液で溶解して25%液とした Cefotetan を 1 ml, 1 回注射すると、両者とも陽性対照の0.75%および6%酢酸溶液の局所障害性よりも弱く、両者間にはほとんど差がなかった。また、塩酸リドカイン注射液で溶解して25%液とした Cefotetan を 1 回 1 ml, 1 日 1 回 5 日連続注射した場合、最終投与後14日目には筋再生像が著明で、強い回復性を示した。

一方、注射用蒸留水で溶解して25%液とした Cefotetan を 1.5ml, 1 回注射した時の局所障害性を他の Cephalosporin 系抗生物質、すなわち、Cephalothin, Cephaloridine, および Cefazolin と比較した。Cefotetan の局所障害性は、対照薬剤との間に質的な差がなく、Cephaloridine あるいは Cefazolin よりは強いが、Cephalothin よりは弱いものであった。

緒 言

Cefotetan (CTT, YM09330) は、従来の Cephamycin 系抗生物質に比し、indole 陽性 *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* などのグラム陰性桿菌に優れた抗菌力を有すること、血中濃度の持続時間が長いことを特徴とした注射用抗生物質である¹⁾。

今回は、ウサギに筋肉内注射し、その局所障害性を検討した。なお、対照薬剤として、Cephalosporin 系抗生物質である Cephalothin, Cephaloridine および Cefazolin を用いた。

実験材料および実験方法

1. 試験物質

CTT は、0.5g/バイアル (Lot No. L1F) と 1g/バイアル (Lot No. N3F) を用いた。

対照薬剤として Cephalothin (CET, 塩野義製薬(株)), Cephaloridine (CER, 塩野義製薬(株)) および Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業(株)) を用い、陽性対照として 0.75% および 6% 酢酸溶液を用いた。

2. 実験動物

日本白色種あるいはニュージーランド・ホワイト種雄ウサギを 1 週間以上馴化後、体重 2.5~3.5kg で健康なものを実験に供した。

動物は、温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ に調節され、7:00 から 19:30 まで人工照明された飼育室で、金属製のケージ (49×45×35 cm) に個別に収容し、固型飼料 (ORC-4, オリエンタル酵

母(株)) と上水道水を自由に与えて飼育した。

なお、実験 I および III には各群 6 匹、実験 II には 10 匹の動物を用いた。

3. 投与方法および投与量

CTT および対照薬剤は、各動物の左側外側広筋に注射し、反対側には同量の生理食塩液を注射して陰性対照とした。また、陽性対照の 0.75% 酢酸溶液は右側、6% 酢酸溶液は左側外側広筋にそれぞれ注射した。

注射はいずれもマント針を用いて、外側広筋のほぼ中央に注射した。

実験 I : CTT の溶解液を変えた場合の局所障害性の検討

CTT (0.5g/バイアル) を、使用直前に生理食塩液あるいは、0.5% 塩酸リドカイン注射液で溶解して 2ml (25%) とし、その 1 ml を 1 回注射した。陽性対照として 0.75% および 6% 酢酸溶液を用いた。

実験 II : CTT を 5 日間連続注射した場合の局所障害性の検討

CTT (0.5g/バイアル) を、使用直前に 0.5% 塩酸リドカイン注射液で溶解して 2ml (25%) とし、その 1ml を同一筋肉に 1 日 1 回、5 日連続注射した。

実験 III : CTT と CET, CER, CEZ との局所障害性の比較

CTT, CET, CER および CEZ は、1 g/バイアルのものをそれぞれ使用直前に注射用蒸留水で 4 ml (25%) と

し、その1.5mlを1回注射した。

4. 病理検査

投与後(実験IIは最終投与後)2日目および7日目(実験IIは14日目)に、各実験とも各群それぞれ半数の動物を屠殺放血後、該部筋肉を摘出し、表面を肉眼的に観察した。ついで、筋肉の走行に直角に4mm間隔で切断し、横断面における障害の程度を次のように0~4に分類した。

—肉眼的分類基準—

- 0: 局所作用が全く認められない。
- 1: 軽度の充血および投与部位に判別困難なほどの出血斑、わずかな腫脹が認められる。
- 2: 中等度の充血および小出血斑、わずかに白い変性、軽度の腫脹が認められる。
- 3: 強度の充血および出血斑、著明な白色変性、腫脹が認められる。
- 4: 壊死を伴う褐色変性が認められる。

また、横断面における最大の障害部の長径(mm)、短径(mm)および障害部の長さ(mm)を計測し、サイズ(長径×短径×長さ)を求めた(これは、実験IIでは省略した)。計測の終わった筋肉のうち代表的な部分をたたちに10%あるいは15%中性ホルマリン液に固定し、常法に従ってパラフィン切片を作り、Hematoxylin-Eosin染色を施して鏡検した。その障害の程度を次のように0~4に分類した。

—組織学的分類基準—

- 0: 障害が認められない。
- 1: 障害がわずかに認められる(壊死はみられない)。
- 2: 軽度の障害が認められる。
- 3: 中等度の障害が認められる。
- 4: 強度の障害が認められる。

実験結果

実験I: CTTの溶解液を変えた場合の局所障害性の

検討(Table 1)

CTTを注射した両群の投与後2日目の検査では、生理食塩液溶解群のサイズが、0.5%塩酸リドカイン注射液溶解群の約2倍と大きかったが、いずれにも白色変性と周囲の出血が明瞭で、その分類値にはほとんど差なかった。組織学的には、いずれにも筋壊死と周囲の出血が認められた。投与後7日目になると、白色変性と出血の範囲が約2分の1に小さくなり、組織学的にも壊死は小さく、周囲の線維化とともに筋再生像が認められた(Photo. 1)。

反対側の生理食塩液を注射した筋では、2日目に5例で線状出血あるいは小出血斑がみられたが1例には異常がなく、7日目の検査では、いずれにも異常がみられなかった。組織学的には、2日目の検査で全例に軽度の出血を認め、3例には小範囲に限局した筋壊死がみられた。しかし7日目には、1例で線状の壊死と石灰沈着がみられた(Photo. 2)だけで、他の例には異常がなかった。

陽性対照群では、0.75%および6%酢酸溶液注射例ともに2日目の検査で著明な白色変性と周囲の出血、そして中心部に褐色変性が認められた。7日目でも、6%酢酸溶液注射例は同様所見を呈したが、そのサイズは半減した。一方、0.75%酢酸溶液注射例は白色変性と出血のみとなり、そのサイズも大幅に小さくなった。組織学的には、2日目および7日目ともに広範な筋壊死がみられたが、7日目には線維化と筋再生像も明瞭であった(Photo. 3)。

実験II: CTTを5日間連続注射した場合の局所障害性の検討(Table 2)

CTTを5日間連続注射すると、投与後2日目の検査で著明な白色変性と中心部の褐色変性が認められた。組織学的には、広範な筋壊死があり、周囲には出血、線維化、リンパ球等の細胞浸潤、筋の再生像も認められた。14日目の検査でも白色変性が認められたが、程度は弱く、組織学的には壊死は2例のみで、それも小範囲に限局さ

Table 1 Macroscopic and microscopic findings of muscles in rabbits after a single injection

	Injection volume (ml)	2 Days after				7 Days after			
		No. of muscles	Size	Score		No. of muscles	Size	Score	
				Macro	Micro			Macro	Micro
Physiological saline	1	6	11.3	1.0	1.5	6	0	0	0.3
0.75% Acetic acid	1	3	4,470.0	4.0	4.0	3	996.3	3.0	3.7
6% Acetic acid	1	3	5,977.3	4.0	4.0	3	3,192.7	4.0	4.0
CTT (Physiological saline)	1	3	1,748.0	3.0	3.0	3	525.3	2.0	2.0
CTT (Lidocaine hydrochloride)	1	3	786.3	2.7	3.3	3	326.7	3.0	2.7

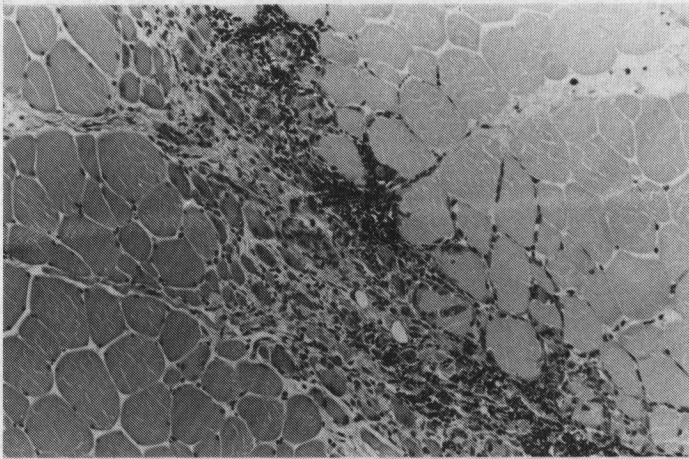
The values represent the group mean

Table 2 Macroscopic and microscopic findings of muscles in rabbits after the injection for 5 days

	Injection volume (ml)	2 Days after			14 Days after		
		No. of muscles	Score		No. of muscles	Score	
			Macro	Micro		Macro	Micro
Physiological saline	1	5	1.6	1.2	5	0.4	0.6
CTT (Lidocaine hydrochloride)	1	5	4.0	4.0	5	2.0	1.4

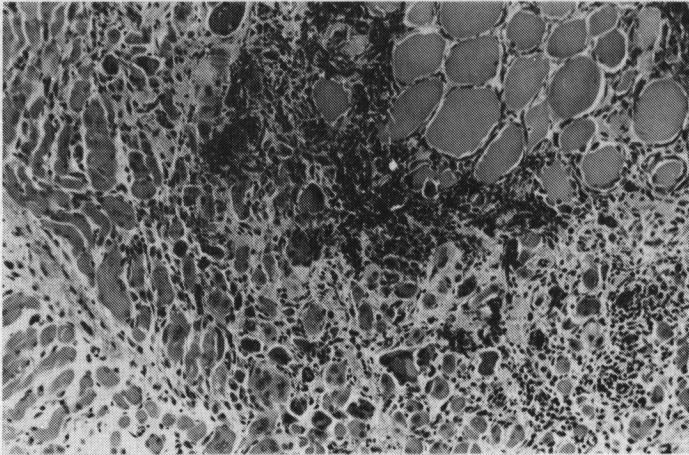
The values represent the group mean

Photo. 3 7 Days after single injection of 6% acetic acid (1 ml/site)



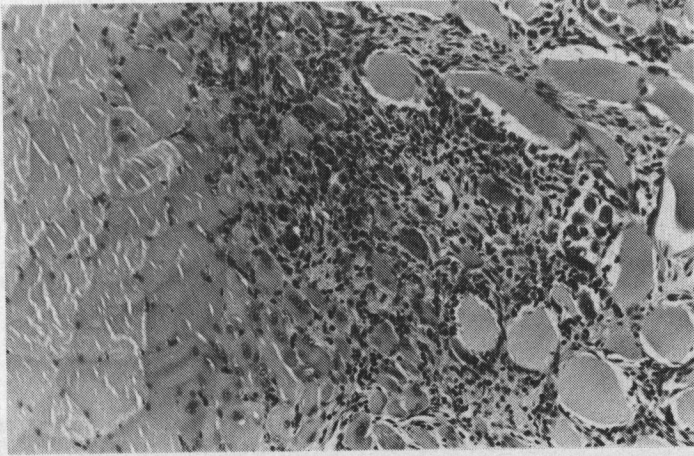
× 135, H.E.

Photo. 4 14 Days after the injection for 5 days of CTT in lidocaine hydrochloride (1 ml/site)



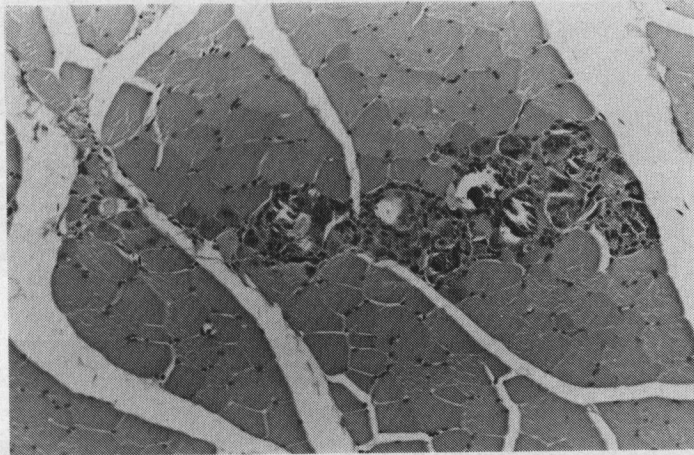
× 135, H.E.

Photo. 1 7 Days after single injection of CTT in lidocaine hydrochloride (1 ml/site)



× 135, H.E.

Photo. 2 7 Days after single injection of saline (1 ml/site)



× 135, H.E.

れた。この例も含めて線維化および筋再生像が著明であった(Photo. 4)。

対照の生理食塩液注射例では、2日目に4例で線状出血あるいは小出血斑がみられたが、組織学的に壊死が認められたのは2例のみで、残りの2例にはわずかな出血あるいは細胞浸潤のみみられたのであった。14日目になると、2例で筋膜面に小癍痕がみられたが、3例には異常がなかった。組織学的には3例で線維化、筋再生像がみられたが、2例には異常がなかった。

実験Ⅲ：CTTとCET、CER、CEZとの局所障害性の比較(Table 3)

陰性対照とした生理食塩液注射の投与後2日目の検査で異常がなかったのは1例だけで、他の例には出血斑、線状出血あるいは小癍痕が認められ、うち2例には線状の白色変性も認められた。組織学的には、2例では異常がみられなかったが、残りの例にはリンパ球等の細胞浸潤、出血、あるいは小範囲に限局した筋壊死が認められた。しかし、投与後7日目になると大部分の例では肉眼的に異常がなく、組織学的に壊死がみられたのは1例だけで、この例も含めて筋の再生像、線維化が6例にみられた。

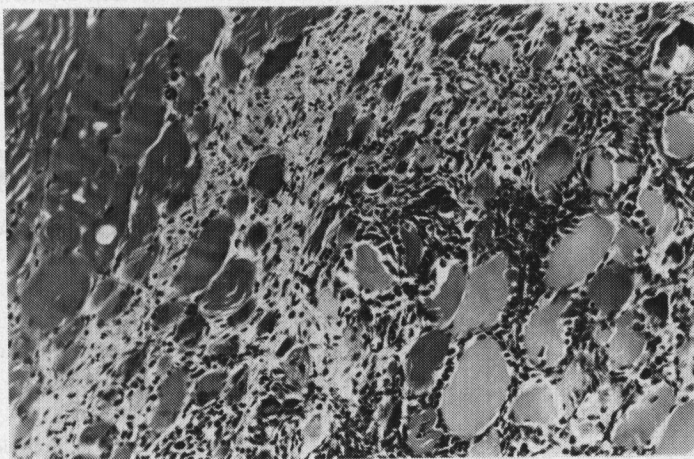
CTTを注射すると、投与後2日目には白色変性と強

Table 3 Macroscopic and microscopic findings of muscles in rabbits after a single injection

	Injection volume (ml)	2 Days after				7 Days after			
		No. of muscles	Size	Score		No. of muscles	Size	Score	
				Macro	Micro			Macro	Micro
Physiological saline	1.5	12	79.3	1.3	1.6	12	4.3	0.4	0.6
CTT	1.5	3	3,731.0	3.3	3.7	3	1,130.7	3.0	3.0
CET	1.5	3	4,676.7	4.0	4.0	3	772.0	3.3	3.3
CER	1.5	3	748.7	2.3	2.7	3	0	0.7	1.0
CEZ	1.5	3	1,562.3	3.0	3.7	3	997.3	2.7	1.7

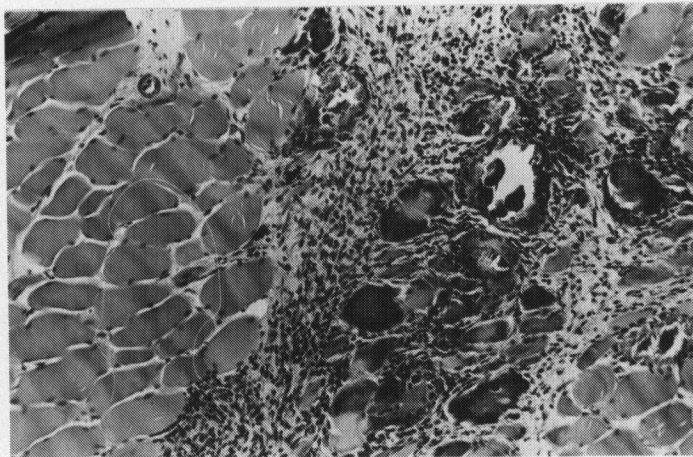
The values represent the group mean

Photo. 5 7 Days after single injection of CTT in distilled water (1.5 ml/site)



× 135, H.E.

Photo. 6 7 Days after single injection of CER in distilled water (1.5 ml/site)



× 135, H.E.

い出血がみられ、うち2例では褐色変性も認められた。組織学的には著明な壊死と出血などが認められた。7日目になると、白色変性と、褐色変性あるいは出血が残ったが、障害部のサイズは約3分の1に減じ、組織学的にも壊死巣は小さくなり、周囲に線維化、筋再生像といった修復像がはっきりとみられた(Photo. 5)。

対照薬剤注射例でも、投与後2日目の検査で、CERの1例を除いて白色変性がみられ、CET注射例では白色変性の中心部に褐色変性もみられた。7日目になると、CER注射例では、1例が白っぽくみえるだけで2例には異常がなく、回復性の良さを示した。CETあるいはCEZ注射例は、CTT注射例と同様にそのサイズがいずれも軽減したが、白色変性が残り、中心部に褐色変性がみられる例もあった。組織学的には、2日目の検査ではいずれもCTT注射例とほぼ同様の所見を呈し、また7日目の検査では、CETおよびCEZ注射例はCTTとほぼ同様であったが、CER注射例は早い回復性を示して壊死は消失し、線維化と筋再生像などがみられるだけであった(Photo. 6)。

考 察

CTTの筋肉内注射時局所障害性を、厚生省から示された「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」(1979年)に準じて、ウサギ外側広筋を用いて検討した。

CTTを生理食塩液あるいは、局所麻酔剤である0.5%塩酸リドカイン注射液で溶解して(25%)1回注射すると、いずれの場合にも投与後2日目の検査では壊死が認められたが、7日目になると障害の範囲は半減し、修復像が著明であった。CTTの局所障害性は、陽性対照の0.75%酢酸溶液のそれより弱いもので“グレード2”に相

当した。また、溶解液の違いによる障害性には、ほとんど差がなかった。0.5%塩酸リドカイン注射液で溶解したCTT(25%)を同一筋肉に5日連続注射すると、最終投与後14日目には一部の例で壊死がみられるだけで修復像が顕著となり、強い回復性を示した。

一方、CTTを注射用蒸留水で溶解(25%)して、その局所障害性を他のCephalosporin系抗生物質のそれと比較した。これら対照薬剤の局所障害性に関しては多くの報告^{2,4)}があるが、局所障害性が一番強いのはCETで、またいずれの場合においてもそれらの組織像にはほとんど差がないと考えられる。今回の実験においては、CTTと対照薬剤との間に質的な差は認められず、また、CTTの局所障害性はCERあるいはCEZよりは強いが、CETよりは弱いものであった。

謝 辞

本試験に御協力頂いた当研究所安全性研究部の諸氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 第28回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム, YM09330. 1980
- 2) 桜井真夫, 北川 寛, 田中幸子, 小峰 勇, 藤本和巳, 坂口 孝: 新セファロsporin系抗生物質 Cefotaximeの局所耐薬性について。Chemotherapy 28(S-1): 109~115, 1980
- 3) 中村昌三, 米田豊昭, 高井 明: Cefoperazoneの局所障害性試験。Jpn. J. Antibiot. 33: 1019~1027, 1980
- 4) 原田喜男, 岡本孝夫: 6059-Sの局所刺激性試験。Chemotherapy 28(S-7): 1226~1235, 1980

LOCAL IRRITATION OF CEFOTETAN (YM09330) AFTER INTRAMUSCULAR INJECTION IN RABBITS

TOSHIHARU SAKAI, TAKANORI HANADA, HIDEAKI OKAMIYA and YUICHI SHIOBARA
Institute of Research and Development, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

Local irritation of cefotetan (CTT, YM09330) was studied by injecting the drug to the *M. vastus lateralis* of rabbits.

Cefotetan was dissolved in normal saline or lidocaine hydrochloride for injection at a concentration of 250 mg/ml, and 1 ml of the solution was used in each injection. Local irritation was weaker than that caused by 0.75% or 6% acetic acid, whether the drug was dissolved in saline or lidocaine hydrochloride, and the irritating effect was virtually the same, whether saline or lidocaine hydrochloride was used to dissolve the drug.

When cefotetan dissolved in lidocaine hydrochloride at 250 mg/ml was dosed at 1 ml once daily for 5 consecutive days, extensive necrosis developed on day 2 post final dosing, but the necrosis was persistent only in some animals on day 14. Regeneration developed strongly, and the animals quickly recovered from the damage.

Cefotetan was dissolved in distilled water for injection, at 250 mg/ml, and 1.5 ml of the solution was injected to animals. The local irritating effect of the treatment was compared with those of other cephalosporins, such as cephalothin, cephaloridine and cefazolin. The severity of local irritation of cefotetan was slightly more severe than those of cephaloridine and cefazolin, and less than that of cephalothin.