

## Sulbactam および Sulbactam/Cefoperazone の 毒性試験

野口 晏弘・橘 正克・菜畑 博司

飯島 護丈・山河 静子・大槻 勲夫

台糖ファイザー株式会社新薬開発センター薬理研究所

SBT および SBT/CPZ について急性毒性、亜急性毒性および慢性毒性試験を実施した。

①ラット、マウスにおける SBT, SBT/CPZ の LD<sub>50</sub> 値は、静脈内、腹腔内、皮下投与のいずれにおいても 6000mg/kg 以上であり、急性毒性は弱かった。

②ラット静脈内亜急性毒性試験では SBT 単独 30~1200mg/kg, SBT/CPZ 併用の 300/300, 600/600mg/kg を 30日間投与した。SBT 300mg/kg 以上の群では肝重量の軽度増加がみられ、肝細胞内に PAS 陽性物質の沈着が用量に相関して認められた。その程度は、雌では雄よりも軽度であった。しかし、GOT, GPT などには影響はみられず毒性的な意義は低いと考えられた。一方、SBT/CPZ 併用群 (300/300, 600/600mg/kg) では肝重量の増加もなく、PAS 陽性物質の沈着も SBT 単独よりも少なかった。

盲腸膨大が SBT 群, SBT/CPZ 群で認められたが、その程度は SBT 群では SBT/CPZ 群に比較して明らかに軽度であった。SBT の最大無作用量は 100mg/kg であった。

③ラット慢性毒性試験では、SBT 単独 25~500mg/kg, SBT/CPZ 併用 500/500, 500/250, 250/500mg/kg, CPZ 単独 250, 500mg/kg を 6 ヶ月間腹腔内投与した。成績は亜急性毒性試験と本質的な差はみられなかった。すなわち、肝重量の増加が SBT 500, 250mg/kg 群 (雄) で認められたが、SBT/CPZ 群 (500/500mg/kg) では軽度であり、SBT 500, 250mg/kg 群での肝細胞内 PAS 陽性物質の沈着も SBT/CPZ 群では軽微であった。また、SBT 群では盲腸の膨大が認められたが、その程度は SBT/CPZ 群よりも軽度であった。この試験での SBT の最大無作用量は 50mg/kg であった。また、SBT と CPZ とを併用した場合、毒性は増強されないことを確認した。

Sodium sulbactam (以下、SBT と略す) は米国ファイザー社が開発した  $\beta$ -lactamase 阻害作用を有する薬物であり、単独では弱い抗菌力を示すにすぎないが、cefoperazone (CPZ) などの  $\beta$ -lactam 系抗生物質を併用すると、その抗生物質の  $\beta$ -lactamase による失活を防ぎ、抗菌力を増強することが知られている<sup>1)</sup>。臨床的には CPZ と 1 : 1 に併用して使用される。今回、われわれは、SBT, SBT/CPZ 併用時のマウス、ラットでの急性毒性、ラットでの亜急性および慢性毒性試験を実施したのでその成績を報告する。

### I. 実験材料および方法

#### 1. 動物

急性毒性試験には、ICR 系マウスおよび Sprague-Dawley (SD) 系ラットの雌雄を用いた。亜急性、慢性毒性試験には SD 系ラット雌雄を用いた。動物は静岡実験動物農業協同組合より 5 週令で購入し、当所で 1 週間飼育したのち実験に供した。動物は室温 23 ± 2℃、相

対湿度 55 ± 5% の動物室で飼育し、固型飼料 (CE-2, 日本クレア) および水は自由に摂取させた。

#### 2. 薬物

SBT は水によく溶けるため、最初、注射用蒸留水を用いて 25% 液を調製し、さらに、生理食塩液で希釈し所定の濃度 (力価表示) とした。CPZ は生理食塩液に溶解し、所定の濃度 (力価表示) とした。SBT/CPZ 併用の比率として急性毒性、亜急性毒性試験には 1 : 1、慢性毒性試験には 1 : 1, 2 : 1, 1 : 2 の 3 種を設け、上記の SBT, CPZ 溶液を混合して調製した。

##### 1. 急性毒性

マウス、ラットとも 1 群雌雄各 10 匹を用いた。SBT, SBT/CPZ (1 : 1) とも投与経路は静脈内、腹腔内、皮下とした。薬物投与後 10 日間観察し、この間の死亡率より LD<sub>50</sub> 値を Litchfield-Wilcoxon 法<sup>2)</sup>により求めた。

##### 2. ラット静脈内亜急性毒性

SBT 単独または SBT/CPZ 併用 (1 : 1) を 1 日 1

回、30日間静脈内投与した。実験は2回に分けて実施した。投与群の構成は Table 1 に示す通りである。

SBT の投与量は急性毒性の成績を参考とし、尾静脈内に1ヵ月間連続投与し得る最大量として1200mg/kg を設定した。以下600, 300, 100, 30 および 0 mg/kg (対照群) を設けた。SBT/CPZ 群としては600/600 および 300/300mg/kg の2群を設けた。各群の動物数は雌雄各10匹とした。

検査項目：一般症状を毎日観察し、体重は週2回、飼料摂取量は週1回、全例について測定した。尿は投与2週、4週目に全例について採取し、外観、比重(屈折計)、pH (pH 試験紙)、潜血・蛋白・糖・ウロビリノーゲン(ウロラプスティックス試験紙) および沈渣(顕微鏡的観察)について調べた。また、尿量(屠殺前約17時間蓄尿量)を測定した。

投与31日目に全例を屠殺した。ラットを20~24時間絶食させた後、ペントバルビタールで麻酔し、大腿静脈および腹大動脈より採血し、血液学的検査および臨床化学的検査を行った。血液学的検査は、赤血球数、白血球数、血小板数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血液凝固時間、プロトロンビン時間、網状赤血球数および血液像を調べた。臨床化学的検査は、血糖、血中尿素窒素、アルカリホスファターゼ、GOT、GPT、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン(総蛋白-アルブミン)、A/G 比(アルブミン/グロブリン) および総コレステロールを日立500型自動分析装置により測定し、他にナトリウムおよびカリウム(炎光法)、クロール(Chloride Meter 法)を測定した。屠殺後すみやかに剖検し、心臓、肺臓、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、副腎、甲状腺、脳、下垂体、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、盲腸(内容物を含む)を摘出、秤量した。病理組織学的に検査し

た臓器は秤量した臓器のほか、眼球、大動脈、気管、唾液腺、食道、胃、腸管(盲腸を含む)、腸間膜リンパ節、膵臓、膀胱、精囊腺、骨髓(大腿骨、胸骨)、脊髄、皮膚(胸部乳腺域) および投与部位(尾静脈)である。副腎、甲状腺、下垂体、眼球、腸間膜リンパ節はグルタルアルデヒド液に、その他の臓器は10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法により、ヘマトキシリン-エオジン(HE)染色を施し、鏡検した。さらに、肝臓については Periodic acid Schiff (PAS) 染色、脾臓は Berlin blue 染色も行い、鏡検した。

### 3. ラット腹腔内慢性毒性

SBT, CPZ または SBT/CPZ を1日1回、6ヵ月間腹腔内投与した。投与群の構成を Table 2 に示した。

SBT の投与量は前項の亜急性毒性試験の成績を参考として、500mg/kg を最高用量に、以下 250, 50, 25 mg/kg 群を設けた。SBT 単独の場合と CPZ を併用した場合の毒性の差異を知ることを目的とし、SBT/CPZ 500/500, 500/250, 250/500mg/kg 群および CPZ 単独 500, 250mg/kg 群を設けた。他に生理食塩液を投与した対照群を設け、計10群とした。

各群の動物数は雌雄24匹ずつとした。

検査項目：一般症状を毎日観察し、死亡例はその都度剖検した。体重は週1回、飼料摂取量は2週に1回、全例について測定した。尿検査は3ヵ月、6ヵ月目に全例について亜急性毒性試験に準じて実施した。このほか、眼科学的検査として投与3ヵ月、6ヵ月目に SBT 500 mg/kg 群、CPZ 500mg/kg 群および SBT/CPZ 群について細隙灯顕微鏡および眼底カメラによる検査を行った。

3ヵ月、6ヵ月目に各群雌雄5例および10例ずつを屠殺し、亜急性毒性試験に準じて諸検査を実施した。

Table 1 Experimental design of 1-month intravenous toxicity study in rats

	Compounds	Dose (mg/kg)	Concentration (w/v%)	Volume (ml/100 g B.W.)
Exp. I	Saline (Control)	0	0	0.6
	SBT	30	2.5	0.12
	SBT	100	2.5	0.4
	SBT	300	5	0.6
Exp. II	Saline (Control)	0	0	0.8
	SBT	600	10	0.6
	SBT	1200	15	0.8
	SBT/CPZ	300/300	5/5	0.6
	SBT/CPZ	600/600	7.5/7.5	0.8

Table 2 Experimental design of 6-month intraperitoneal toxicity study in rats

Compounds	Dose (mg/kg)	Concentration (w/v%)	Volume (ml/100 g B.W.)
Saline (Control)	0	0	1.0
SBT	25	0.5	0.5
SBT	50	0.5	1.0
SBT	250	5.0	0.5
SBT	500	5.0	1.0
SBT/CPZ	250/500	2.5/5.0	1.0
SBT/CPZ	500/250	5.0/2.5	1.0
SBT/CPZ	500/500	5.0/5.0	1.0
CPZ	250	5.0	0.5
CPZ	500	5.0	1.0

## II. 結 果

### 1. 急性毒性

ラット：

SBT の静脈内 LD<sub>50</sub> 値は雄 6500mg/kg, 雌6750mg/kg であった。SBT/CPZ では雄 6900mg/kg, 雌7400mg/kg であり, SBT 単独と SBT/CPZ 併用とでほとんど差はなかった。腹腔内および皮下投与では, SBT または SBT/CPZ 6000mg/kg を投与したが, 雌雄ともに死亡例はほとんど認められず, LD<sub>50</sub> 値はいずれも 6000mg/kg 以上とみなされた。

静脈内投与後の症状は SBT 群および SBT/CPZ 群ともに投与直後に呼吸数減少, チアノーゼ, 抑うつ状態が続き, 死亡した例では間代性痙攣がみられた。死亡例は SBT 群, SBT/CPZ 群とも投与直後より発生した。腹腔内および皮下投与では, SBT 群, SBT/CPZ 群ともに投与後10~20分に自発運動の減少, 眼瞼下垂が認められたが, 投与後48時間目までにはほぼ回復した。

死亡例 (静脈内投与の場合) および投与10日後の生存例の剖検では, SBT 群, SBT/CPZ 群ともに, いずれの投与経路でも特に異常は認められなかった。

マウス：

投与後の症状はラットの場合と大差はなかった。

SBT 群, SBT/CPZ 群ともに静脈内, 腹腔内, 皮下投与の LD<sub>50</sub> 値は, 6000mg/kg 以上であった (Table 3)。

### 2. ラット静脈内亜急性毒性

#### (1)死亡率

SBT 群, SBT/CPZ 群ともに死亡例はなかった。

#### ②一般症状

SBT 600, 1200mg/kg 群では, 投与2~3日後より2週目頃まで約半数例に軽度な軟便が認められた。2週

以降には対照群との差はなかった。300mg/kg以下の群では特記すべき症状は認められなかった。SBT/CPZ 群では, 投与約1週後より約半数例に軽度の軟便がみられ, 投与期間中持続した。

注射部位の尾の外観は, SBT 群, SBT/CPZ 群ともに対照群と差はみられず, 投与局所に炎症は認められなかった。

#### (3)体重変化

SBT 600, 1200mg/kg 群, SBT/CPZ の300/300, 600/600mg/kg 群ともに体重変化には, 対照群との差は認められなかった (Fig. 1)。SBT 300mg/kg 以下の群でも対照群との差は認められなかった。

#### (4)飼料摂取量

SBT 群, SBT/CPZ 群ともに, 対照群との間に差は認められなかった。

#### (5)尿所見

尿量, 比重, pH を含めて, 尿所見には SBT 群, SBT/CPZ 群と対照群との間に差は認められなかった。

#### (6)血液学的所見

成績を Table 4 に示した。

投与群では, 多少変動がみられる検査値が散見されたが, いずれも正常変動範囲内の値であった。

#### (7)臨床化学的所見

成績を Table 5 に示した。

いずれの検査項目も投与群では対照群と著変はみられなかった。

#### (8)臓器重量

臓器重量には SBT 群, SBT/CPZ 群で著変はみられなかったが, SBT 300mg/kg 以上の群で肝重量の増加が認められた。SBT/CPZ 群の肝重量は 300/300, 600/600mg/kg のいずれの群においても対照群との差

Table 3 Acute toxicity study of SBT and SBT/CPZ in rats and mice

Compound	Animal	Sex	LD <sub>50</sub> (mg/kg)		
			IV	IP	SC
SBT	Rat	Male	6500 (6229 - 6783)	>6000	>6000
		Female	6750 (6290 - 7244)	>6000	>6000
	Mouse	Male	>6000	>6000	>6000
		Female	>6000	>6000	>6000
SBT/CPZ (1:1)	Rat	Male	6900 (6701 - 7105)	>6000	>6000
		Female	7400 (6962 - 7865)	>6000	>6000
	Mouse	Male	>6000	>6000	>6000
		Female	>6000	>6000	>6000

はなく、重量増加は認められなかった。

盲腸重量（内容物を含む）は、SBT 群では用量に相関して増加が認められたが、この盲腸重量の増加はSBT/CPZ 群でより著明であった（Table 6）。

(9)剖検所見

SBT/CPZ 群の盲腸は明らかに膨大していた。SBT 群の高用量群でも、盲腸の膨大が認められたが、その程度は SBT/CPZ 群よりも軽度であった。

投与部位の尾には、腫脹、発赤などの炎症はほとんどみられなかった。

(10)病理組織学的所見

肝臓では、SBT 300mg/kg 群雄、600mg/kg 群雌雄、1200mg/kg 群雌雄の肝小葉中間から周辺域の肝細胞質に PAS 染色陽性の小滴が沈着していた。この小滴はジアスターゼ処理により消失した。この PAS 陽性物質の沈着は SBT 600、1200mg/kg 群の雄では著明で、HE 染色では、肝細胞質はやや明るかった。SBT/CPZ の 300/300、600/600mg/kg 群雄でも同様の沈着が認められたが、SBT 300、600mg/kg 群に比べて明らかに軽度であった。

SBT/CPZ 群雌では 600/600mg/kg 群でも沈着はほとんど認められなかった。

尾の投与部位には、対照群、投与群を通じて、血管周囲に軽度の肉芽織の形成などがみられたが、両群間に差は認められなかった。

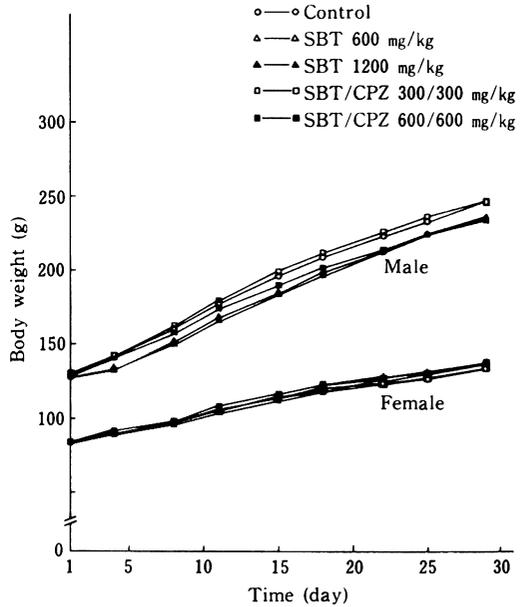
他の臓器では、対照群と投与群とで差は認められなかった。

3. ラット腹腔内慢性毒性

(1)死亡率

薬物に起因する死亡例は認められなかったが、投与過誤によると判断された死亡例は SBT 250、500mg/kg

Fig. 1 Average body weight in rats treated intravenously with SBT or SBT/CPZ for 1 month



群、SBT/CPZ 250/500 および 500/500mg/kg 群に 1 例ずつ認められた。

(2)一般症状

SBT 250、500mg/kg 群では、投与 2～3 日目頃より数週間、時おり軽度の軟便がみられたが、その後は正常に復した。SBT/CPZ 群および CPZ 群では、投与期間中を通じて、時おり軟便が認められた。

(3)体重変化

SBT 群雄では、対照群との差は認められなかった。

Table 4 Hematology in rats treated intravenously with SBT or SBT/CPZ for 1 month

Drug	SBT				SBT			SBT/CPZ	
	Control	30	100	300	Control	600	1200	300/300	600/600
<b>Male</b>									
RBC (× 10000/cmm)	798.8 ±11.5	809.3 ±7.2	764.1 ±15.8	813.1 ±10.2	872.2 ±11.3	883.1 ±12.4	851.4 ±8.7	877.5 ±9.6	856.1 ±8.9
Hb (g/100 ml)	15.5 ±0.1	15.6 ±0.1	14.9* ±0.2	15.5 ±0.2	16.7 ±0.1	16.8 ±0.2	15.9** ±0.1	17.0 ±0.1	16.5 ±0.1
Ht (ml/100 ml)	45.8 ±0.3	46.5 ±0.4	44.5 ±0.7	46.1 ±0.5	49.4 ±0.3	49.4 ±0.5	48.0** ±0.3	49.6 ±0.4	48.3* ±0.4
WBC (× 100/cmm)	59.8 ±4.1	67.6 ±4.4	55.0 ±3.3	58.5 ±2.8	84.7 ±3.8	85.2 ±3.4	83.7 ±6.6	68.9** ±6.0	63.8** ±3.0
Prothrombin time (sec.)	20.0 ±0.7	19.4 ±0.6	19.3 ±0.5	19.6 ±0.5	21.3 ±1.8	21.7 ±1.2	14.1** ±0.3	22.0 ±1.1	16.3* ±0.4
<b>Female</b>									
RBC (× 10000/cmm)	756.3 ±11.1	756.2 ±7.4	739.8 ±11.4	742.3 ±13.1	836.6 ±9.8	826.6 ±8.9	757.1** ±12.5	834.2 ±12.2	819.0 ±8.7
Hb (g/100 ml)	15.0 ±0.1	15.1 ±0.1	14.9 ±0.1	14.7 ±0.2	16.6 ±0.2	16.8 ±0.2	15.1** ±0.2	16.8 ±0.1	16.6 ±0.1
Ht (ml/100 ml)	43.9 ±0.5	44.2 ±0.3	43.7 ±0.4	42.6 ±0.4	48.0 ±0.5	47.5 ±0.5	44.0** ±0.6	47.7 ±0.4	47.1 ±0.6
WBC (× 100/cmm)	40.0 ±3.4	48.0 ±3.5	45.5 ±3.9	48.5 ±3.9	58.8 ±4.7	65.6 ±2.9	60.4 ±5.1	55.7 ±2.4	64.0 ±3.0
Prothrombin time (sec.)	13.9 ±0.2	13.5 ±0.1	13.3 ±0.2	13.4 ±0.2	11.6 ±0.1	12.5** ±0.2	11.3 ±0.1	12.7** ±0.2	11.1** ±0.1

Values are the means and standard errors of 10 rats.

\* and \*\* indicate significant levels of 5 and 1 percent, respectively.

Table 5 Clinical chemistry in rats treated intravenously with SBT or SBT/CPZ for 1 month

Drug	SBT				SBT			SBT/CPZ	
	Control	30	100	300	Control	600	1200	300/300	600/600
<b>Male</b>									
GOT (karmen unit)	99.8 ±4.9	95.0 ±2.5	93.2 ±2.9	98.0 ±2.7	97.1 ±4.5	127.7** ±3.8	121.5** ±6.1	111.8 ±8.0	102.8 ±3.4
GPT (karmen unit)	29.8 ±1.9	30.6 ±1.8	26.6 ±1.5	27.5 ±0.9	25.0 ±2.7	26.8 ±1.4	27.8 ±1.7	29.0 ±3.2	24.8 ±1.2
T. Protein (g/100 ml)	5.7 ±0.1	6.0** ±0.1	5.9* ±0.1	6.0** ±0.1	5.4 ±0.1	5.3 ±0.1	5.6 ±0.0	5.3 ±0.1	5.1** ±0.1
T. Cholesterol (mg/100 ml)	50.0 ±2.3	49.6 ±1.8	55.7* ±2.1	56.1* ±2.1	32.4 ±3.6	44.5 ±4.6	31.8 ±5.0	38.1 ±3.4	44.0* ±2.5
<b>Female</b>									
GOT (karmen unit)	85.7 ±2.6	82.6 ±2.4	82.5 ±1.9	91.3 ±2.2	103.6 ±3.7	113.2 ±5.2	116.2* ±4.2	100.7 ±4.7	108.2 ±3.4
GPT (karmen unit)	19.2 ±0.9	19.1 ±0.9	19.6 ±1.1	18.2 ±0.6	18.1 ±0.9	20.5 ±0.8	19.4 ±0.8	20.0 ±0.9	20.6* ±0.5
T. Protein (g/100 ml)	5.7 ±0.1	5.6 ±0.1	5.7 ±0.1	5.6 ±0.0	5.5 ±0.1	5.3 ±0.1	5.1** ±0.1	5.1** ±0.1	4.9** ±0.0
T. Cholesterol (mg/100 ml)	62.5 ±4.9	61.8 ±4.1	64.5 ±3.0	74.1* ±3.3	61.0 ±1.9	60.4 ±3.9	47.2** ±3.1	49.9* ±3.1	46.9** ±1.8

Values are the means and standard errors of 10 rats.

\* and \*\* indicate significant levels of 5 and 1 percent, respectively.

Table 6 Absolute organ weight in rats treated intravenously with SBT or SBT/CPZ for 1 month

Drug Dose (mg/kg)	SBT				SBT			SBT/CPZ	
	Control	30	100	300	Control	600	1200	300/300	600/600
<b>Male</b>									
Liver (g)	8.9 ±0.2	9.3 ±0.1	9.4 ±0.2	9.8* ±0.3	8.3 ±0.2	9.1 ±0.4	9.9** ±0.2	7.8 ±0.3	7.6 ±0.3
Kidneys (mg)	2202.8 ±65.6	2313.3 ±37.3	2294.5 ±55.7	2273.5 ±48.4	2070.9 ±37.2	2097.6 ±45.0	2090.4 ±56.4	2056.4 ±46.5	2070.4 ±51.8
Spleen (mg)	617.0 ±18.1	601.0 ±20.8	642.0 ±17.5	640.2 ±24.3	614.9 ±20.4	615.2 ±27.7	623.8 ±22.2	561.6 ±27.7	561.8 ±19.3
Cecum (g)	3.7 ±0.2	5.0** ±0.4	7.2** ±0.6	7.1** ±0.3	3.2 ±0.1	7.5** ±0.4	8.8** ±0.4	16.7** ±0.9	15.0** ±0.8
<b>Female</b>									
Liver (g)	5.1 ±0.0	5.4* ±0.1	5.3 ±0.0	5.6* ±0.2	4.7 ±0.1	5.4** ±0.1	5.4** ±0.1	4.4 ±0.1	4.7 ±0.1
Kidneys (mg)	1521.2 ±22.0	1555.3 ±29.4	1499.8 ±35.0	1571.3 ±42.4	1354.2 ±24.1	1468.0* ±32.4	1488.5* ±49.6	1364.5 ±26.3	1424.3 ±39.2
Spleen (mg)	446.0 ±15.1	454.1 ±12.6	466.2 ±19.2	515.7* ±29.1	441.8 ±19.3	447.8 ±13.0	506.3* ±17.3	414.5 ±26.1	453.8 ±17.9
Cecum (g)	3.0 ±0.2	4.2** ±0.2	4.3** ±0.3	5.1** ±0.2	3.2 ±0.2	6.6** ±0.3	7.6** ±0.6	17.8** ±0.6	17.5** ±0.4

Values are the means and standard errors of 10 rats.

\* and \*\* indicate significant levels of 5 and 1 percent, respectively.

雌では、250, 500mg/kg 群で投与8週目頃より体重増加抑制傾向が認められた (Fig. 2)。

SBT/CPZ 群では、軽度の体重増加抑制がみられた (Fig. 3)。

CPZ 250, 500mg/kg 群では雌雄とも、投与15~20週目より軽度の体重増加抑制が認められた。

#### (4) 飼料摂取量

飼料摂取量 (体重当り) は、SBT 群、SBT/CPZ 群および CPZ 群のいずれも対照群と差はなかった。

#### (5) 尿所見

SBT 群、SBT/CPZ 群および CPZ 群ともにいずれの項目にも異常は認められなかった。

#### (6) 眼科学的所見

SBT 群、SBT/CPZ 群および CPZ 群のいずれも特記すべき変化は認められなかった。

#### (7) 血液学的所見

血液学的検査成績では、いずれの検査項目にも多少の変動が散見されたが、投与用量との関連性はなく、いずれも正常変動範囲内の値であった (Table 7)。

#### (8) 臨床化学的所見

いずれの検査項目も投与群では対照群と著しい差はみられず、3ヵ月、6ヵ月の検査成績ともに正常変動範囲内の値であった (Table 8)。

#### (9) 臓器重量

肝重量の増加が3ヵ月、6ヵ月目に SBT 250mg/kg 群雄、500mg/kg 群雌雄に認められた。SBT/CPZ 500/250, 500/500mg/kg 群雄では軽度な増加を示したのみであり、SBT/CPZ 群での肝重量増加は SBT 群に比べ軽度であった。脾重量のごく軽度の増加が6ヵ月目に、SBT 250, 500mg/kg 群、SBT/CPZ 500/500 mg/kg 群の雄に認められた。内容物を含む盲腸重量は3ヵ月、6ヵ月目ともに SBT, SBT/CPZ, CPZ のいずれの群でも増加したが、その程度は CPZ, SBT/CPZ 群では著明であり、SBT 群では軽度であった。その他の臓器重量には、対照群と投与群とで特に差異はなかった (Table 9)。

#### (10) 剖検所見

投与3ヵ月、6ヵ月目ともに CPZ 群および SBT/CPZ 群の盲腸膨大は明らかであり、一方、SBT 250, 500mg/kg 群ではわずかに大きい程度であった。盲腸が著しく膨大した例の多くには、盲腸漿膜に出血斑や腹腔内の脂肪織との癒着などがみられたが、これらの変化は薬物投与時の穿刺によるとみなされた。SBT 500mg/kg 群雄の肝臓はやや大きかったが、色調、形状などの外観には異常はなかった。他には特記すべき病変は認められなかった。

Fig. 2 Average body weight in rats treated intraperitoneally with SBT for 6 months

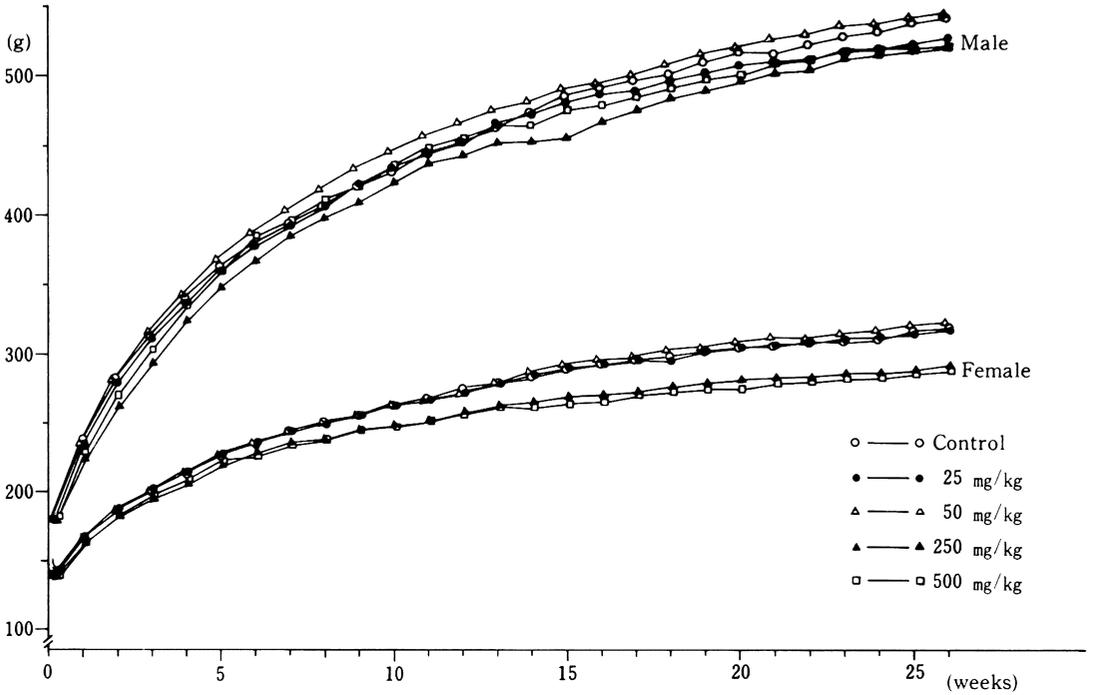


Fig. 3 Average body weight in rats treated intraperitoneally with SBT/CPZ for 6 months

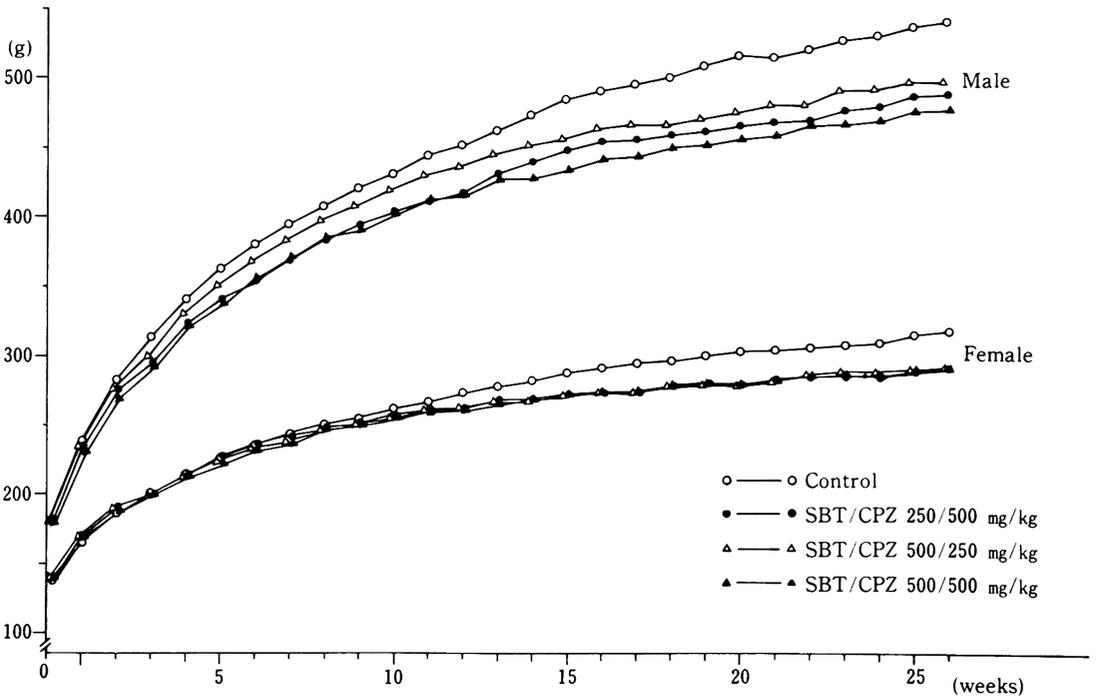


Table 7 Hematology in rats treated intraperitoneally with SBT, CPZ or SBT/CPZ for 6 months

Drug	SBT					CPZ		SBT/CPZ		
	Control	25	50	250	500	250	500	250/500	500/250	500/500
<b>Male</b>										
RBC (× 10000/cmm)	891.2 ±9.5	853.2* ±12.0	885.8 ±12.6	874.2 ±7.5	820.7** ±20.5	875.9 ±15.0	864.4 ±14.5	871.4 ±9.9	853.7 ±23.2	837.3* ±16.5
Hb (g/100 ml)	16.3 ±0.2	15.5* ±0.2	16.2 ±0.2	15.3* ±0.3	13.8** ±0.2	16.1 ±0.3	15.6 ±0.3	15.8 ±0.2	15.2* ±0.4	14.6** ±0.3
Ht (ml/100 ml)	47.5 ±0.6	46.0 ±0.5	47.3 ±0.5	45.3** ±0.3	43.1 ±1.3	46.3 ±1.1	45.9 ±1.2	45.2* ±0.7	43.7** ±0.9	41.7** ±0.8
WBC (× 100/cmm)	73.4 ±3.6	65.0 ±3.1	72.8 ±4.5	71.6 ±3.6	77.0 ±4.3	62.1 ±4.4	59.9 ±5.7	52.7** ±2.7	59.2* ±3.5	66.4 ±3.5
Prothrombin time (sec.)	21.9 ±2.3	19.5 ±1.1	21.7 ±1.6	23.7 ±2.3	19.7 ±2.0	26.2 ±1.9	28.0 ±1.7	29.1 ±2.3	24.1 ±1.6	26.0 ±2.0
<b>Female</b>										
RBC (× 10000/cmm)	809.0 ±12.3	808.4 ±12.9	810.4 ±9.5	831.4 ±11.9	841.6 ±12.6	832.2 ±19.0	811.6 ±12.7	777.4 ±25.9	850.0* ±11.5	776.4 ±29.8
Hb (g/100 ml)	16.5 ±0.2	16.0 ±0.2	16.4 ±0.2	16.6 ±0.2	16.1 ±0.1	16.6 ±0.3	16.3 ±0.2	15.6 ±0.4	16.5 ±0.2	15.6 ±0.4
Ht (ml/100 ml)	46.8 ±0.6	45.8 ±0.6	46.2 ±0.5	46.9 ±0.5	46.2 ±0.4	46.9 ±0.8	45.2 ±0.6	44.8 ±0.9	46.3 ±0.6	43.8* ±1.1
WBC (× 100/cmm)	58.2 ±2.6	51.2 ±2.3	55.1 ±1.9	58.6 ±2.7	57.1 ±3.2	44.1* ±4.1	51.2* ±1.6	49.8* ±2.3	54.8 ±2.1	46.5* ±1.9
Prothrombin time (sec.)	15.6 ±0.4	15.7 ±0.3	16.0 ±0.3	15.0 ±0.6	15.4 ±0.4	16.3 ±0.4	17.0 ±0.6	16.0 ±0.3	15.9 ±0.4	15.9 ±0.5

Values are the means and standard errors of 10 rats.

\* and \*\* indicate significant levels of 5 and 1 percent, respectively.

Table 8 Clinical chemistry in rats treated intraperitoneally with SBT, CPZ or SBT/CPZ for 6 months

Drug	SBT					CPZ		SBT/CPZ		
	Control	25	50	250	500	250	500	250/500	500/250	500/500
<b>Male</b>										
GOT (karmen unit)	95.3 ±15.3	86.1 ±4.6	96.2 ±7.2	93.3 ±4.6	119.5 ±17.0	65.2 ±3.5	63.1 ±3.3	87.4 ±4.6	85.8 ±2.9	104.5 ±24.2
GPT (karmen unit)	52.1 ±16.0	40.0 ±5.2	56.0 ±7.2	38.2 ±2.9	63.1 ±17.0	25.8 ±1.5	22.7 ±1.1	31.5 ±1.6	26.3 ±2.0	43.7 ±16.9
T. Protein (g/100 ml)	6.4 ±0.1	6.3 ±0.1	6.6 ±0.1	6.4 ±0.1	6.3 ±0.1	6.2 ±0.1	6.1 ±0.1	6.1 ±0.1	6.3 ±0.1	5.9** ±0.1
T. Cholesterol (mg/100 ml)	69.5 ±6.6	70.5 ±4.3	76.9 ±2.7	72.1 ±6.8	47.6* ±5.0	63.5 ±5.4	62.2 ±4.5	65.3 ±7.2	36.8** ±3.5	45.5* ±4.8
Triglyceride (mg/100 ml)	72.0 ±7.7	65.2 ±6.2	62.8 ±8.1	13.9** ±2.4	14.3** ±4.1	38.2** ±4.7	46.7* ±5.8	22.7** ±2.1	8.4** ±1.1	10.9** ±2.2
<b>Female</b>										
GOT (karmen unit)	69.6 ±3.9	81.5 ±5.2	82.8 ±8.2	92.0** ±4.7	91.3** ±3.3	67.0 ±3.0	87.9* ±4.7	94.7* ±8.6	97.5** ±3.4	101.3* ±13.7
GPT (karmen unit)	32.8 ±3.3	39.7 ±5.1	42.4 ±6.7	31.3 ±3.1	26.2 ±1.8	21.2** ±1.2	27.8 ±2.4	32.1 ±3.4	29.5 ±2.1	32.8 ±7.4
T. Protein (g/100 ml)	6.9 ±0.2	6.9 ±0.1	7.1 ±0.1	6.8 ±0.1	7.0 ±0.1	6.6 ±0.1	6.5 ±0.1	6.5 ±0.2	6.6 ±0.1	6.5* ±0.1
T. Cholesterol (mg/100 ml)	102.2 ±7.5	99.9 ±3.7	103.8 ±6.2	116.4 ±7.8	116.8 ±7.6	93.2 ±4.1	93.7 ±9.2	93.1 ±6.7	77.3* ±3.8	80.3* ±2.6
Triglyceride (mg/100 ml)	28.4 ±5.2	24.8 ±3.6	28.9 ±3.2	24.7 ±3.2	21.4 ±2.4	25.0 ±4.2	21.4 ±3.4	22.9 ±2.9	16.6 ±1.9	14.3* ±1.5

Values are the means and standard errors of 10 rats.

\* and \*\* indicate significant levels of 5 and 1 percent, respectively.

Table 9 Absolute organ weight in rats treated intraperitoneally with SBT, CPZ or SBT/CPZ for 6 months

Drug	SBT					CPZ		SBT/CPZ		
	Control	25	50	250	500	250	500	250/500	500/250	500/500
<b>Male</b>										
Liver (g)	12.7 ±0.6	12.2 ±0.4	13.3 ±0.4	16.7** ±0.6	18.9** ±0.8	11.8 ±0.4	11.8 ±0.3	13.5 ±0.3	15.7** ±0.8	15.0* ±0.7
Kidneys (mg)	3141.4 ±148.5	3008.2 ±94.3	2958.0 ±129.1	3322.3 ±78.2	3553.1 ±147.8	3145.5 ±110.3	3131.3 ±79.4	3218.0 ±46.9	3244.6 ±122.4	3423.3 ±109.2
Spleen (mg)	797.6 ±36.5	772.0 ±32.7	805.5 ±17.7	970.0* ±50.6	1085.1** ±49.2	744.9 ±44.2	817.2 ±40.9	822.9 ±37.0	858.1 ±31.3	918.7 ±44.9
Cecum (g)	6.6 ±0.6	6.3 ±0.5	7.4 ±0.4	8.8 ±0.7	9.0 ±0.8	15.4** ±1.2	16.3** ±1.1	20.2** ±0.8	20.0** ±1.5	20.6** ±1.3
<b>Female</b>										
Liver (g)	7.3 ±0.2	7.4 ±0.2	7.9 ±0.3	7.7 ±0.3	8.5** ±0.2	6.9 ±0.3	7.2 ±0.4	6.9 ±0.3	7.1 ±0.2	7.3 ±0.2
Kidneys (mg)	1944.3 ±56.5	1970.1 ±40.5	2031.0 ±62.3	1928.4 ±67.6	1984.0 ±64.0	1948.4 ±53.3	2082.6 ±77.2	2060.9 ±56.2	1918.1 ±56.1	2048.7 ±47.3
Spleen (mg)	583.4 ±29.7	588.1 ±28.7	583.3 ±24.8	560.8 ±28.0	593.0 ±23.2	542.6 ±36.5	541.8 ±27.9	542.0 ±19.7	491.7 ±30.2	533.3 ±19.4
Cecum (g)	3.8 ±0.3	5.5** ±0.2	5.6** ±0.4	6.4** ±0.3	7.2** ±0.6	15.9** ±1.4	16.6** ±1.1	17.9** ±1.2	19.3** ±2.0	22.2** ±1.6

Values are the means and standard errors of 10 rats.

\* and \*\* indicate significant levels of 5 and 1 percent, respectively.

#### (1) 病理組織学的所見

肝臓では、3ヵ月、6ヵ月目ともに SBT 250, 500mg/kg 群および SBT/CPZ 群の肝小葉中間帯から周辺域の肝細胞質に PAS 染色陽性の小滴が沈着していた。この PAS 染色陽性物質の沈着は SBT 500mg/kg 群の雄において特に目立った。雌では軽微であった。SBT/CPZ 群では SBT 群に比較して、その程度は軽かった。

他に对照群の一部で実質に穿刺によるとみられる肉芽織形成があり、また、对照群、投与群を通じて門脈域の単核細胞浸潤、小肉芽腫、小葉間胆管増生などを認めた。

その他、3ヵ月、6ヵ月目ともに、腎臓では对照群、投与群の雄の多数例に皮髄境界部に石灰様物沈着を認めた。また、对照群、投与群を通じて、一部の動物の脾臓には軽度の髄外造血巣、ヘモジデリン沈着、心臓には心筋に小線維化巣、膵臓には限局性の慢性炎症像が認められた。

盲腸では漿膜下、粘膜下織にヘモジデリン沈着、肉芽織形成、出血巣などが SBT 群の一部に、SBT/CPZ 群、CPZ 群の多くにみられた。これらの変化の程度は盲腸膨大の著しい SBT/CPZ 群、CPZ 群で特に著明であり、薬物投与時の穿刺によるものとみられた。

その他の臓器には、特に変化は認められなかった。

#### III. 考 察

SBT の静脈内 LD<sub>50</sub> 値は、マウス、ラットの雌雄とも 6000mg/kg 以上であり、急性毒性は弱かった。腹腔内、皮下投与でも LD<sub>50</sub> 値は 6000mg/kg 以上であり、SBT/CPZ 併用の場合でもこれらの値はほとんど変わらなかった。CPZ のラット静脈内 LD<sub>50</sub> 値は 4260(雌)~4310(雄) mg/kg と報告<sup>3)</sup>されており、SBT の急性毒性は CPZ より弱いと考えられる。SBT は CPZ と併用することにより、CPZ の毒性を増強することはない。

静脈内亜急性毒性試験では、肝実重量および相対重量の増加が SBT 300mg/kg 以上の群で認められたが、GOT, GPT などには異常は認められなかった。肝の病理組織学的検査では、SBT 300mg/kg 群の雄および 600mg/kg 以上の群で肝小葉中間ないし周辺域の肝細胞質にグリコーゲン様 PAS 染色陽性物質の小滴が認められた。その程度は投与量の多い群で目立ち、かつ、雄では雌よりも明らかであった。

この肝臓での PAS 陽性物質の沈着は、飽食条件下では通常のグリコーゲンと顕微鏡像の上からは区別しがたく、絶食した場合の PAS 染色標本で認められたものである。また、電顕所見およびジアスターゼ消化試験でも、通常のグリコーゲン顆粒と差は認められていない。また、

このPAS陽性物質はSBTの投与を中止することにより、数週間以内に消失することが確認されている。

類似の現象は他の $\beta$ -lactamase阻害薬 clavulanic acidについても寺嶋ら<sup>4)</sup>、GREENら<sup>5)</sup>により報告されており、この種の薬物に共通した性質ともみられ、PAS陽性物質沈着の毒性的な意義は低いものと考えられる。

なお、SBT/CPZの300/300、600/600mg/kg群では、肝重量の増加もみられず、SBT単独群に比べてPAS陽性物質の沈着の程度は明らかに軽度であり雌ではほとんど認められなかった。

一般に抗生物質の投与により認められる盲腸の膨大<sup>6,7)</sup>がSBT群、SBT/CPZ群で投与量に対応してみられたが、SBT群ではSBT/CPZ群に比べて明らかに軽度であった。この現象は、SBT/CPZのもつ抗菌力はSBT単独よりも強いことに関連していると思われ、一概に毒性発現の指標とは考えられない。

これらの知見から、亜急性毒性試験における最大無作用量は肝重量の増加を伴わない100mg/kgと判断される。

ラットでの慢性毒性試験は腹腔内投与によって行った。この場合、ヒトにおける臨床的投与経路の静脈内投与を選ばなかったのはラットの静脈内に、6ヵ月間連日薬液を投与することは実際上困難なためである。

慢性毒性試験の成績は、亜急性毒性と比べて質的な差異はなく、6ヵ月間の長期投与によって薬物投与に関連した新たな変化が加わることはなかった。

肝重量の増加がSBTの高用量群(250、500mg/kg)で認められたが、これらの変化は亜急性毒性試験の場合と同様に、SBT/CPZ群(500/250、500/500mg/kg)では軽度となり、これに対応して肝細胞内のPAS陽性物質の沈着も、SBT/CPZ群ではSBT単独群に比べて明らかに軽微であった。

体重増加抑制は、SBT 250、500mg/kg群(雌)、CPZ 250、500mg/kg群およびSBT/CPZ併用群に認められたが、この体重増加抑制は、米田ら<sup>8)</sup>がCPZのラット腹腔内毒性試験で述べているように毒性の発現ではなく、腹腔内に大量の薬物を直接注入したことによる局所刺激作用の結果と考えられる。

なお、SBT、SBT/CPZ、CPZいずれの群において

も、プロトロンビン時間、血液凝固時間には影響はみられず、血液学的検査成績には異常はみられなかった。

以上の結果より、SBTの慢性毒性試験における最大無作用量は、肝重量増加を伴わない50mg/kgと判断される。

また、亜急性、慢性毒性試験ともにSBTとCPZとを併用した場合、毒性は増強されず、むしろ、SBTによる肝グリコーゲン様物質の沈着は軽減することが明らかになった。

## 文 献

- 1) ENGLISH, A. R.; J. A. RETSEMA, A. E. GIRARD, J. E. LYNCH & W. E. BARTH: CP-45,899, a beta-lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of  $\beta$ -lactams: Initial bacteriological characterization. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14: 414-419, 1978
- 2) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON: A simplified method of evaluation dose-effect experiment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99-113, 1949
- 3) 米田豊昭, 他: Cefoperazone (T-1551)の毒性試験(第1報)マウス、ラットおよびイヌでの急性毒性試験. *Chemotherapy* 28 (S-6): 179-188, 1980
- 4) 寺嶋祥亘, 倉片康雄, 日浦謙一郎, 芝田敏勝, T. L. HARDY: BRL 14151 K および BRL 25000 の急性毒性および亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 31 (S-2): 113-141, 1983
- 5) GREEN, O. P. et al.: BRL 14151 K および BRL 25000のラットにおける慢性毒性試験. *Chemotherapy* 31 (S-2): 180-202, 1983
- 6) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exptl. Med.* 128: 97-110, 1968
- 7) BOYD, E. M. & M. J. SELBY: The chronic oral toxicity of benzylpenicillin. *Antibiot. Chemotherapy* 12: 249-262, 1962
- 8) 米田豊昭, 他: Cefoperazone (T-1551)の毒性試験(第2報)ラット腹腔内亜急性、慢性毒性試験. *Chemotherapy* 28 (S-6): 189-219, 1980

## ACUTE, SUBACUTE AND CHRONIC TOXICITY STUDIES OF SULBACTAM AND SULBACTAM/CEFOPERAZONE

YASUHIRO NOGUCHI, MASAKATSU TACHIBANA, HIROSHI NABATA,  
MORITAKE IJIMA, SHIZUKO YAMAKAWA  
and ISAO OHTSUKI

Nagoya Pharmacology Laboratory, New Product Research Center, Pfizer Taito, Co., Ltd.

Acute, subacute and chronic toxicities of sulbactam (SBT), a new  $\beta$ -lactamase inhibitor, and SBT/CPZ were evaluated in Sprague-Dawley rats or ICR mice.

The acute intravenous  $LD_{50}$  of SBT or SBT/CPZ were estimated to be greater than 6000 mg/kg in rats and mice.

In the subacute intravenous toxicity tests, all rats treated with SBT (30, 100, 300, 600, 1200 mg/kg) or SBT/CPZ (300/300, 600/600 mg/kg) for 1 month were well tolerated, and non-toxic dose of SBT is considered to be 100 mg/kg. The higher dose levels (300, 600, 1200 mg/kg) of SBT produced slight increases of the liver and cecum weights and a deposition of glycogen-like droplets in the hepatic cell cytoplasm without any functional abnormality and morphological lesions. SBT/CPZ groups, however, showed less degree of deposition than those of SBT groups, and the combination groups had no evidence of increase in liver weight.

In the chronic toxicity test, the rats treated intraperitoneally with SBT (25, 50, 250, 500 mg/kg), CPZ (250, 500 mg/kg) or SBT/CPZ (250/500, 500/250, 500/500 mg/kg) for 6 months were well tolerated and the results were comparable to those in the subacute toxicity tests. The non-toxic dose in the chronic intraperitoneal toxicity test with SBT is considered to be 50 mg/kg, and SBT did not enhance the toxicity when combined with CPZ.