

Azthreonam (SQ 26, 776) の安全性研究 (第1報)

マウスおよびラットにおける急性毒性試験

根田 公一・奥田 香織・仲吉 洋
株式会社野村生物科学研究所

モノバクタム系抗生物質である Azthreonam のマウスおよびラットにおける急性毒性試験を行った。

LD₅₀ 値は経口投与ではマウスおよびラットの雌雄とも 10,000 mg/kg 以上、皮下投与ではマウスの雄で 3,906 mg/kg, 雌で 5,368 mg/kg, ラットの雄で 3,578 mg/kg, 雌で 3,154 mg/kg, 腹腔内投与ではマウスの雄で 2,897 mg/kg, 雌で 3,722 mg/kg, ラットの雄で 2,549 mg/kg, 雌で 2,964 mg/kg, 静脈内投与ではマウスの雄で 1,963 mg/kg, 雌で 2,068 mg/kg, ラットの雄で 2,882 mg/kg, 雌で 3,149 mg/kg であった。

症状および剖検において、経口投与ではマウスおよびラットとも下痢、軟便あるいは黄色軟便、剖検でマウスに盲腸の拡張がみられた。皮下投与および腹腔内投与ではマウスおよびラットとも自発運動の低下、体温低下、脱力および被毛粗剛、さらにラットでは黄色軟便および削瘦がみられ、剖検では死亡例でマウスおよびラットとも肝臓の退色、盲腸の拡張および胃の出血、生存例ではラットで腎臓の肥大および退色がみられた。静脈内投与ではマウスおよびラットとも痙攣、呼吸困難および鎮静、さらにラットでは四肢、尾、耳介の発赤および四肢の腫脹がみられ、剖検では死亡例でマウスおよびラットとも肺の鬱血、生存例ではラットで腎臓の肥大および退色がみられた。

Azthreonam(SQ 26, 776, 以下 AZT) は米国 Squibb Institute for Medical Research で開発されたモノバクタム系(単環β-ラクタム)抗生物質であり¹⁾, Fig. 1 の構造を有する。

AZT は特に *P. aeruginosa* を含むグラム陰性の桿菌および球菌に対し強い抗菌力を示すとともに、グラム陰性菌が産生する各種β-ラクタマーゼおよびデヒドロペプチダーゼに対して極めて安定であるという特徴を有する。また、マウスの実験的感染症に対しては、*in vitro* における抗菌力に優る生体内効果が認められている²⁾。

今回、著者らは AZT のマウスおよびラットにおける急性毒性試験を実施したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用検体および投与方法

AZT(Lot MB 008, 力価 955 μg/mg) および溶解補助剤であるアルギニン(Lot AR 005) は日本スクイブ株式会社より提供された。

AZT は用時アルギニンとともに(AZT:アルギニン=10:8) 局方注射用蒸留水に溶解して用いた。投与経路は経口、皮下、腹腔内および静脈内とし、投与量は予試験の結果を参考にして設定した。投与量はマウスおよびラットとも静脈内投与を除く各投与経路では 20ml/kg とし、静脈内投与では濃度一定(マウスおよびラッ

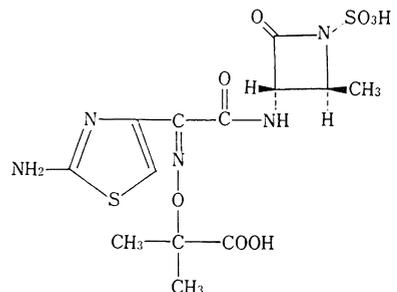
トとも 20% w/v) で投与液量を変えて投与した(投与速度:マウス 0.025 ml/秒, ラット 0.05 ml/秒)。

2. 実験動物および飼育条件

3.5 週齢の Crj: CD-1(ICR) マウスおよび Crj: CD (Sprague-Dawley; SD) ラット(日本チャールス・リバー)を予備飼育の後、健康状態が正常で発育良好な雌雄を5週齢で試験に供した。

動物は室温 23±2°C, 湿度 55±10%, 照明時間 12 時間(6:00 am~6:00 pm) に設定された飼育室で、木屑を入れたプラスチック製ケージにマウスでは各 10 匹、

Fig. 1 Chemical structure of Azthreonam



(-)-2-[(Z)-[1-(2-amino-4-thiazolyl)-2-[(2S,3S)-2-methyl-4-oxo-1-sulfo-3-azetidiny]amino]-2-oxoethylidene]amino]oxy]-2-methylpropionic acid

ラットでは各2匹収容し、固型飼料（オリエンタル酵母工業製 CRF-1）および水（水道水）をそれぞれ自由に摂取させて飼育した。

試験に供した動物は群別時の体重が全動物の平均値により近い体重の動物を選び、各群の体重の平均値および分散が均一になるように1群10匹として無作為に群別し、投与に際しては絶食せずに用いた。

3. 観察

1) 一般症状、死亡状況および死亡率

投与直後から6時間および投与翌日から投与後14日目まで、1日1回以上、外見、運動性および自律神経症状などの一般症状とその経過ならびに死亡状況を観察した。また、観察終了日までの累積死亡数から死亡率を求め、LD₅₀値は観察期間中の累積死亡率から Probit 法で算出した。

2) 体重測定

体重は投与日、投与翌日から投与後7日目までと投与

Table 1 Acute toxicity of Azthreonam in mice

Route	Sex	Dose (mg/kg)	Mortality	LD ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limits)
p.o.	Male	5,000	0/10	>10,000
		10,000	0/10	
	Female	5,000	0/10	>10,000
		10,000	0/10	
s.c.	Male	3,277	1/10	3,906 (3,592 ~ 4,247)
		4,096	6/10	
		5,120	10/10	
		3,227	0/10	
	Female	4,096	1/10	5,368 (4,809 ~ 5,993)
		5,120	6/10	
		6,400	6/10	
		8,000	10/10	
i.p.	Male	2,400	0/10	2,897 (2,705 ~ 3,102)
		2,880	6/10	
		3,456	9/10	
		4,147	10/10	
	Female	2,880	0/10	3,722 (3,424 ~ 4,046)
		3,456	5/10	
		4,147	6/10	
		4,977	10/10	
i.v.	Male	1,504	0/10	1,963 (1,823 ~ 2,115)
		1,729	3/10	
		1,989	6/10	
		2,287	7/10	
		2,630	10/10	
	Female	1,504	0/10	2,068 (1,929 ~ 2,217)
		1,729	2/10	
		1,989	3/10	
		2,287	7/10	
		2,630	10/10	

後9日目、11日目ならびに14日目にそれぞれ1日1回（午前中）測定した。

3) 剖検

死亡例は速やかに剖検し、生存例は投与後14日目にペントバルビタールナトリウム麻酔下で腹大動脈より放血致死せしめ、諸臓器の肉眼的異常の有無を観察した。

II. 実験成績

1. LD₅₀ 値

マウス、ラットの各投与経路の LD₅₀ 値を Table 1~2 に示した。

2. 一般症状および剖検所見

(1) マウス

1) 経口投与

Table 2 Acute toxicity of Azthreonam in rats

Route	Sex	Dose (mg/kg)	Mortality	LD ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limits)
p.o.	Male	5,000	0/10	>10,000
		10,000	0/10	
	Female	5,000	0/10	>10,000
		10,000	0/10	
s.c.	Male	3,074	0/10	3,578 (3,445 ~ 3,716)
		3,381	2/10	
		3,719	7/10	
		4,091	10/10	
	Female	2,540	1/10	3,154 (2,973 ~ 3,346)
		2,790	2/10	
		3,074	6/10	
		3,381	5/10	
		3,719	8/10	
		4,091	10/10	
i.p.	Male	1,729	0/10	2,549 (2,388 ~ 2,721)
		1,989	1/10	
		2,287	1/10	
		2,630	6/10	
		3,025	9/10	
	Female	3,478	10/10	2,964 (2,727 ~ 3,221)
		1,989	0/10	
		2,287	1/10	
		2,630	5/10	
		3,025	4/10	
i.v.	Male	3,478	9/10	2,882 (2,752 ~ 3,019)
		4,000	8/10	
		2,254	0/10	
		2,479	1/10	
		2,727	3/10	
	Female	3,000	5/10	3,149 (2,998 ~ 3,307)
		3,300	10/10	
		2,732	1/10	
		3,005	3/10	
		3,306	8/10	
	Female	3,636	8/10	
		4,000	10/10	

雌雄とも死亡例は認められなかった。一般症状では投与後5～6時間目以下痢が雌雄の全例、腹部膨満が雄の少数例にみられた。投与翌日には被毛粗剛が10,000mg/kg 投与群の雌雄の全例ならびに軟便が雌雄の少数例に観察されたが、投与後2～3日目までには正常に復し、以後著変は認められなかった。

体重推移においては雌雄とも順調な体重増加を示した。

剖検所見：雌の少数例に盲腸の拡張がみられた以外には、雌雄とも著変は認められなかった。

2) 皮下投与

死亡例は投与後3時間目から投与後4日目の間に認められた。これらの例では雌雄とも投与後30分より自発運動の低下、ひき続いて鎮静がみられ、さらに投与後1～3時間目より腹臥、眼瞼下垂、体温低下および脱力、また、投与翌日からはこれらの症状の他に被毛粗剛が認められた。

生存例では雌雄とも投与後30分より自発運動の低下、ひき続いて鎮静がみられたが、これらの症状は投与翌日までに消失した。投与翌日には雄の少数例に被毛粗剛がみられたが投与後2日目に消失した。なお、投与後4日目以降には雌の少数例に投与部位の脱毛が観察された。

体重推移においては雄で投与後1～2日目に体重減少がみられたが、生存例はその後順調な体重増加を示した。雌は観察期間中順調な体重増加を示した。

剖検所見：死亡例では雌雄とも投与部位の点状出血および肝臓の退色が約半数例に、腎臓の退色および盲腸の拡張が少数例にみられた。その他、雌雄とも腺胃部の出血が約半数例に、脾臓の退色および萎縮、ならびに胸腺の萎縮が少数例に認められた。生存例では雄の1例に肝臓の黄白色斑がみられた以外、雌雄とも著変は認められなかった。

3) 腹腔内投与

死亡例は大部分の例が投与後3時間目から投与後3日目の間に、1例が投与後7日目に認められた。これらの例では雌雄とも投与後30分より自発運動の低下、ひき続いて鎮静がみられ、さらに投与後2～3時間目より腹臥、眼瞼下垂あるいは体温低下、投与後4時間目～投与翌日には少数例に脱力および眼球の白濁が認められた。また、投与翌日からはこれらの症状の他に被毛粗剛がみられた。投与後7日目に死亡した雄の1例では投与後2日目以降も自発運動の低下、被毛粗剛あるいは削瘦、さらに投与後6日目には鎮静および振戦がみられた。

生存例では雌雄とも投与後30分より自発運動の低下、ひき続いて鎮静がみられたが、投与後5時間目頃よ

り回復傾向を示し、投与翌日までにはこれらの症状は消失した。投与翌日からは雌雄とも被毛粗剛がみられたが、雄では投与後4～5日目、雌では投与後2日目に消失した。

体重推移においては雌雄とも投与後1～2日目に体重減少がみられたが、生存例はその後順調な体重増加を示した。

剖検所見：死亡例では雌雄とも肝臓の退色が半数以下の例に、腎臓の退色が少数例に、また、雄の少数例に盲腸の拡張がみられた。その他、雌雄とも腺胃部の出血が約半数例に、脾臓の退色および萎縮が少数例に、さらに雄の少数例に胸腺の萎縮が認められた。生存例では雄のごく少数例に肝臓の黄白色斑がみられた以外、雌雄とも著変は認められなかった。

4) 静脈内投与

死亡例はすべて投与直後に認められた。これらの例は雌雄とも投与直後、痙攣、呼吸困難、眼球突出の後、鎮静を呈して腹臥または横臥の状態で死亡した。

生存例では雌雄とも投与直後死亡例と同様な症状がみられたが、投与後30分までにはほとんどの例が回復した。また、雄の少数例に投与後30分～1時間目に自発運動の低下がみられたが、以後著変は認められなかった。

体重推移においては、雌雄の生存例はほぼ順調な体重増加を示した。

剖検所見：死亡例では雌雄のほぼ全例に肺の鬱血がみられた。生存例では雌雄とも著変は認められなかった。

(2) ラット

1) 経口投与

雌雄とも死亡例は認められなかった。一般症状では投与後30分～1時間目より腹部膨満が雌雄の全例にみられたが、投与翌日には消失した。投与翌日には全例に下痢あるいは黄色軟便がみられ、下痢は投与後2日目には消失し、黄色軟便は徐々に頻度が減少して投与後4～6日目に消失した。以後雌雄の全例に著変は認められなかった。

体重推移においては雌雄とも投与翌日に軽度な体重減少が10,000 mg/kg 投与群にみられたが、その後は順調な体重増加が認められた。

剖検所見：雌雄とも著変は認められなかった。

2) 皮下投与

死亡例は投与翌日から投与後9日目の間に認められた。これらの例では雌雄とも投与後30分より自発運動の低下がみられ、さらに投与後4時間目～投与翌日より体温低下、振戦、鎮静、腹臥、被刺激性の低下あるいは脱力が認められた。投与翌日からは雌雄ともこれらの症

状に加えて黄色軟便、被毛粗剛、また、投与後2～8日目には少数例に削瘦、眼の退色あるいは眼瞼下垂が認められた。

生存例では雌雄とも投与後3～5時間目より自発運動の低下、さらに投与後5～6時間目には体温低下がみられたがこれらの症状は投与後1～4日目には消失した。投与翌日からは雌雄とも黄色軟便および被毛粗剛がみられ、黄色軟便は投与後2～7日目、被毛粗剛は投与後9～13日目に消失した。また、雌雄の少数例では削瘦が投与後3～8日目に、さらに雌の少数例では投与部位の脱毛が投与後6～7日目および眼の退色が投与後7～12日目にみられた。

体重推移においては、雌雄とも投与後5日目頃まで体重増加抑制あるいは体重減少がみられたが、生存例はその後順調な体重増加を示した。

剖検所見：死亡例では雌雄とも腎臓の腫脹、投与部位の皮下出血、肝臓の退色および盲腸の拡張が半数以上の例に、腎臓の肥大および退色が半数以下の例にみられた。その他、雌雄とも脾臓の退色および萎縮、ならびに前胃部の出血がほぼ半数以上の例に、腺胃部の出血、胸腺の萎縮および胸水貯留がほぼ半数以下の例に、また、雄の少数例に副腎の肥大が認められた。生存例では雌雄とも腎臓の肥大および退色が半数以上の例にみられ、他に雄のごく少数例に肝臓の退色がみられた。

3) 腹腔内投与

死亡例が投与後6時間目から投与後5日目までの間に認められた。これらの例では雌雄とも投与後30分～1時間目から自発運動の低下あるいは鎮静、また、投与後4～5時間目より体温低下がみられた。さらに雌では投与後4～5時間目から被刺刺激性の低下あるいは腹臥、少数例に脱力あるいは流涙がみられ、これらの症状は投与翌日より雄にも認められた。この他、投与翌日以降では雌雄とも被毛粗剛、黄色軟便および振戦が認められた。

生存例では雌雄とも投与後30分～4時間目より自発運動の低下がみられたが投与後1～3日目には消失した。投与翌日からは雌雄とも黄色軟便がみられ、この症状は雄では投与後4日目、雌では投与後9日目までに消失した。その他、雄あるいは雌の少数例では投与後3時間目～投与翌日に体温低下、下痢あるいは赤色軟便、投与後3～8日目に削瘦が認められた。

体重推移においては雌雄とも投与後2～5日目まで体重増加抑制あるいは体重減少がみられたが、生存例はその後順調な体重増加を示した。

剖検所見：死亡例では雌雄とも腎臓の腫脹、肝臓の退色および盲腸の拡張が半数以上の例に、腎臓の退色が少数例に、また、雌の少数例に腎臓の肥大がみられた。そ

の他、雌雄とも前胃および腺胃部の出血がほぼ半数以上の例に、胸腺の萎縮が少数例に、さらに脾臓の退色および萎縮ならびに胸水の貯留が半数以下の例に認められた。生存例では腎臓の肥大および退色が雌雄の少数例、ならびに盲腸の拡張が雌の約半数例に認められた。

4) 静脈内投与

死亡例では雌雄の大部分の例が投与中または投与直後、痙攣および呼吸困難を呈し、腹臥あるいは横臥の状態で死亡した。他に雌雄各1例ではこれらの症状を脱した後、投与後30分以内に四肢、尾、耳介の発赤、投与後30分頃から6時間目まで四肢の腫脹がみられ、雌の1例は投与後2日目に死亡した。また、雄の1例では投与後4～6日目には削瘦、被毛粗剛、眼の退色、耳介の蒼白あるいは自発運動の低下がみられ、投与後7日目に死亡が確認された。

生存例では雌雄とも投与直後に痙攣および呼吸困難、続いて腹臥あるいは横臥がみられ、その後は投与後6時間目まで鎮静あるいは自発運動の低下が認められた。さらに投与後30分以内より投与後4～5時間目に四肢、尾、耳介の発赤が、投与後30分頃より投与後6時間目に四肢の腫脹がみられた。しかしながら投与翌日にはいずれの症状も消失し、雌雄の全例とも著変は認められなかった。投与翌日以降では投与後4～10日目に雌雄の少数例に削瘦および被毛粗剛が認められたのみであった。

体重推移においては雌雄とも投与後2～5日目まで体重増加抑制あるいは体重減少がみられたが、生存例はその後順調な体重増加を示した。

剖検所見：投与直後の死亡例では肺の鬱血が雌雄の全例にみられた。遅延死亡例では雄で胸腺の萎縮、雌で肝臓の退色および胸水貯留が認められた。生存例では雌雄とも腎臓の肥大および退色がほぼ半数以上の例に、盲腸の拡張が少数例に認められた。

III. 考 察

モノバクタム系抗生物質である AZT をマウスおよびラットに経口、皮下、腹腔内および静脈内投与し、その急性毒性について検討した。

LD₅₀ 値はマウスおよびラットとも経口投与の LD₅₀ 値が最も高く、次いでマウスでは皮下、腹腔内および静脈内投与、ラットでは皮下、静脈内および腹腔内投与の順であった。また、これらの LD₅₀ 値はマウスの皮下および腹腔内投与では雄に比べて雌がやや高値を示した以外、各投与経路とも雌雄間に顕著な差はなかった。マウスおよびラット間では各投与経路ともほぼ同様な値を示し、差はなかった。

AZT 投与により、マウスおよびラットとも経口投与では投与可能最大量である 10,000 mg/kg でも死亡例は

みられず、経口投与の場合かなり低毒性であると思われた。非経口経路でも LD_{50} 値は、マウスでは 1,963~5,368 mg/kg, ラットでは 2,549~3,578 mg/kg の範囲にあり、本検体の毒性は低いものであった。

腎臓の肥大および退色が非経口経路の死亡例あるいは生存例に認められた。同様な変化は Cefuroxime⁹⁾, Cefroxadine⁴⁾ および 6059-S⁵⁾ などの β -ラクタム系抗生物質の急性毒性試験でも報告されていることから、このような腎臓の変化は β -ラクタム系抗生物質に共通した所見と考えられた。

肝臓の退色が主にマウスおよびラットの皮下および腹腔内投与における死亡例に認められた。しかしながら、生存例ではマウスの皮下および腹腔内投与で肝臓の黄白色斑がごく少数例に、ラットの皮下投与で肝臓の退色がごく少数例にみられた以外、肝臓に著変は認められなかった。

AZT 投与により、軟便および下痢、ならびに盲腸の拡張が認められたが、これらの変化は抗生物質に共通な腸内細菌叢の変化⁹⁾によるものと考えられた。

マウスおよびラットの皮下および腹腔内投与における死亡例では胃の出血、脾臓の退色および萎縮、あるいは胸腺の萎縮などが認められ、ストレス状態^{7,8,9)}にあったと考えられた。これらの所見から死因は全身状態の悪化と推測された。また、マウスおよびラットの静脈内投与の死亡例は投与直後に呼吸困難を示し、ほぼ全例に肺の鬱血がみられたことから死因は多量の高張検体溶液の静注による循環不全に起因するものと考えられた。なお、ラットの静脈内投与において、投与当日に観察された四肢、尾、耳介の発赤および四肢の腫脹は末梢血管の拡張作用によるものと推定されたが、その詳細については不明であった。しかし、このような症状は投与翌日までには回復し、一過性の変化であった。

(試験期間：昭和 57 年 2 月～昭和 58 年 8 月)

文 献

- 1) FERNANDES, P. B.; D. P. BONNER & R. B. SYKES: Aztreonam: A new concept in β -lactam antibiotics. *Comprehensive therapy* 9, 5: 21~26, 1983
- 2) 横田 健: β -Lactam薬剤の進歩 とくに Monobactam について。 *Jap. J. Antibiotics* 34, 12: 1525~1539, 1981
- 3) 田村 稷, 佐藤憲雄, 森脇 隆, 永沢麗子, 青石美恵子, 岡村千鶴子, 須藤三重子, 多々見 晃, 江崎洋志, 伊藤隆太: Cefuroxime の安全性に関する検討, 第 1 報: マウス, ラットおよびウサギにおける急性毒性。 *Chemotherapy* 27 (S-6): 124~129, 1979
- 4) 森本宏一, 清水 充, 田所 規, 高橋昌三, 宮地徹: Cefroxadine (CGP-9000) の毒性試験, 第 1 報: 急性毒性試験。 *Chemotherapy* 28 (S-3): 98~102, 1980
- 5) 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
- 6) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exp. Med.* 128: 97~110, 1968
- 7) 喜多富太郎, 秦 多恵子, 米田良三, 尾陰多津子: 環境温度リズムの変更によるストレス (SART ストレス) とマウス・ラットの生体機能変化。 *日薬理誌* 71: 195~210, 1975
- 8) 米田良三, 菅原國一, 喜多富太郎, 秦 多恵子, 飯田順子, 石田定廣, 大場康寛: SART ストレス動物の臓器および血液臨床化学的所見と牛痘ウイルス接種ウサギの炎症皮膚抽出物 (Neurotropic[®]) の作用。 *応用薬理* 18, 4: 587~596, 1979
- 9) 吉利 和, 山村雄一, 山田弘三, 林 譚, 島菌順雄編: 病気の生化学, 第 18 卷 B 感染・免疫 II, ストレスの生化学 (田多井吉之介), 249~282 頁, 中山書店, 1976

TOXICITY STUDY ON AZTHREONAM (1) ACUTE TOXICITY IN MICE AND RATS

KOICHI NEDA, KAORI OKUDA and HIROSHI NAKAYOSHI
NRI Life Science

Acute Toxicity Study of Azthreonom (AZT), a newly developed monobactam antibiotics, was studied in mice and rats.

LD₅₀ values of AZT were as follows : >10,000 mg/kg in both sexes of mice and rats by p. o. ; 3,906 mg/kg (male) and 5,368 mg/kg (female) in mice, and 3,578 mg/kg (male) and 3,154 mg/kg (female) in rats by s. c. ; 2,897 mg/kg (male) and 3,722 mg/kg (female) in mice, and 2,549 mg/kg (male) and 2,964 (female) in rats by i. p. ; 1,963 mg/kg (male) and 2,068 mg/kg (female) in mice, and 2,882 mg/kg (male) and 3,149 mg/kg (female) in rats by i. v. .

In the oral administration, general signs such as diarrhea, soft feces or yellowish soft feces were observed in both species, and no death occurred. At necropsy, dilatation of the caecum was found in mice.

In the subcutaneous or intraperitoneal administration, general signs such as decreased locomotor movement, hypothermia, collapse and rough hair were observed in both species, and yellowish soft feces and emaciation in rats. At necropsy, discoloration of the liver, dilatation of the caecum and hemorrhage of the stomach were observed in dead animals of both species, and enlargement and discoloration of the kidney in surviving rats.

In the intravenous administration, general signs such as convulsion, dyspnea and sedation were observed in both species, and reddening of extremity, tail and pinna, and swelling of the extremity in rats. At necropsy, congestion of the lung was detected in dead animals of both species, and enlargement and discoloration of the kidneys in surviving rats.