

## Azthreonom (SQ 26, 776) の安全性研究 (第 2 報)

## ラットにおける静脈内投与による亜急性毒性試験

川崎 一・三好幸二・宇田文昭・野村 章

平尾地恵見・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 Azthreonom (以下 AZT) の 35 日間静脈内投与による亜急性毒性試験を SD ラットを用いて行なった。AZT 投与により 100 mg/kg 以上で盲腸、肝臓重量の増加、血清 GOT 活性の低下、270 mg/kg 以上で一過性の軟便および黄色便、750 mg/kg 以上で血清 GPT 活性の低下、脾臓相対重量の増加が認められた。2,000 mg/kg ではこれらの他に投与直後一過性の四肢および顔面の腫脹、四肢および耳介の発赤、鎮静あるいは腹臥などが観察され、摂水量の増加、赤血球数および血色素量の低下が認められた。

病理組織学的検査では 270 mg/kg 以上で肝細胞の肥大、750 mg/kg 以上で腎近位尿細管上皮細胞の空胞化、赤脾髄での髄外造血の活性化、白脾髄の増生および反応中心の活性化が認められた。2,000 mg/kg 群の微細形態学的検査では肝細胞で脂肪滴とライソゾーム様顆粒の増加、腎近位尿細管細胞にライソゾーム様顆粒の増加と細胞質内の空胞が認められた。なお、750 mg/kg 群では雄 20 例中 1 例、2,000 mg/kg 群では雄 20 例中 8 例、雌 20 例中 9 例が途中死亡したが、いずれも大量の検体の静注投与による循環不全が原因であった。投与試験群で認められた検体の影響は 5 週間の休養により回復ないしは回復傾向を示した。また、270 mg/kg 以下では検体の毒性作用に起因すると考えられる所見は認められず、本実験条件下における毒性作用のない無影響量は 270 mg/kg と推定された。

Azthreonom (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  $\beta$ -ラクタム) 抗生物質であり、ラットおよびマウスにおける急性毒性についてはすでに報告した。今回、著者らは、AZT のラットにおける 35 日間静脈内投与による亜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  $\mu$ g/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を受け使用した。投与量は 1 群雌雄各 5 匹の SD ラットを用いた用量設定のための予試験の結果を参考にして決定した。すなわち、局方注射用生理食塩液を対照として AZT を 500, 1,000 および 2,000 mg/kg の投与量で 14 日間静脈内投与した所、500~1,000 mg/kg では四肢の発赤、糞の黄色化、肝臓および盲腸重量の増加などが認められただけであったが、2,000 mg/kg では雄 2 例が途中死亡した。これらの結果より最高投与量を 2,000 mg/kg とし、以下 750, 270 および 100 mg/kg (公比約 2.7) とした。AZT は用時

に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、濾過滅菌 (0.45  $\mu$ ) の後、10 ml/kg の投与用量にて 1 日 1 回、35 日間、ラットの尾静脈に注射した (投与速度 : 約 1 ml/20 秒)。なお、対照群には局方生理食塩液を同様に注射した。

## 2. 実験動物および飼育条件

3.5 週齢の 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各 96 匹を選別し、試験に供した。動物は室温  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 10\%$ 、12 時間照明 (6 : 00 a. m. ~ 6 : 00 p. m.) 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 2 匹ずつ入れ、固型飼料 (オリエンタル酵母工業製 CRF-1) および水 (水道水) を自由に摂取させて飼育した。

## 3. 群構成

群構成は (1) 対照群, (2) AZT 100 mg/kg 群, (3) AZT 270 mg/kg 群, (4) AZT 750 mg/kg 群および (5) AZT 2,000 mg/kg 群の 5 群とし、各群に雌雄各 16 匹を配した。16 匹中 10 匹は投与試験群とし 35 日間の検体注射を、また、残りの 6 匹は回復試験群とし 35 日間の検体注射後 35 日間の休養を行った。

なお、100 mg/kg 群を除く各群には肝臓および腎臓の電子顕微鏡による微細形態学検査（以下 EM 検査）のための動物（雌雄各 2 匹）を投与試験群、回復試験群ともに加え、投薬ならびに休薬を行った。

#### 4. 観察および検査

（1）一般状態：実験期間を通じて一般症状観察、体重の測定、摂餌量および摂水量の測定を行った。

（2）尿検査：剖検前 1 週間以内に尿量（5 時間尿）、色調、Na および K（炎光光度法）の測定、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビンおよび潜血（尿検査用試験紙 BM テスト 8、山之内製薬）の検出を行った。

（3）眼底検査：投薬第 28～30 日、休薬第 28～30 日に散瞳薬（ミドリン P<sup>®</sup>、参天製薬）処置後、小動物用眼底カメラ（興和、RC-2 model 621）を用いて眼底写真を撮影することにより行った。

（4）血液学検査：剖検時に腹大静脈より採取した血液について、赤血球数および白血球数（RBC および WBC：東亜医用電子製 CC-108 型自動血球計数装置）、血小板数（東亜医用電子製 PL-100 型自動血小板計数装置）、ヘマトクリット値（毛細管遠心法）、血色素量（東亜医用電子製 HB 型シアメトヘモグロビンカウンター）、網状赤血球比率（ニューメチレンブルー染色法）、型別白血球百分率（ライト・ギムザ染色法）、プロトロンビン時間（Quick 1 段変法；DADE 社製 Auto-F1 型自動凝固測定装置）を測定した。なお、Wintrobe の赤血球平均恒数、すなわち平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球色素量（MCH）、平均赤血球色素濃度（MCHC）の各値を赤血球数、ヘマトクリット値および血色素量の測定値より算出した。

（5）血清生化学検査：剖検時に腹大動脈より採取した血液より得た血清について、以下の項目を検査した。アルカリフォスファターゼ（A1-P：PNP 法）、トランスアミナーゼ（GOT：Henry 変法および GPT：Wroblewski 変法）、アルブミン（BCG 法）、尿素窒素（BUN：Urease 法）、クレアチニン（Jaffe 法）、総ビリルビン（Malloy-Evelyn 変法）、グルコース（Hexokinase 法）、総蛋白（Biuret 法）、無機リン（Pi：リンモリブデン酸還元法）、尿酸（Uricase・catalase 法）、Ca<sup>++</sup>（OCPC 法）を ABBOTT VP Bichromatic Analyzer により、Na<sup>+</sup> および K<sup>+</sup>（炎光光度法）を日立 775 型炎光光度計により、Cl<sup>-</sup>（電量滴定法）を平沼産業製 CL-5 M 型クロライドカウンターにより測定した。なお、アルブミン/グロブリン比（A/G 比）を次式より算出した：A/G=アルブミン/(総蛋白-アルブミン)。

（6）病理学検査：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後、内臓を肉眼的に精査し、脳、下垂体、甲状腺（右側）、胸腺、肺、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、前立腺、盲腸、卵巣、子宮の各臓器およびカーカスの重量を測定した。また、これらの各臓器重量を剖検日の体重で除して、相対重量とした。これらの各臓器ならびに甲状腺（左側）、脾臓、胃、十二指腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、顎下腺、骨髄、眼球、蝸牛、精巣上体、精囊、膀胱および投与部位について 10% 中性緩衝ホルマリン液（眼球はブアン液）で固定した後、H. E. 染色を施し、光学顕微鏡により病理組織学的検査を行った。EM 検査は雌の対照群と 2,000 mg/kg 群の 2 匹より肝臓および腎臓を摘出し、2% パラホルムアルデヒド-2.5% グルタルアルデヒド溶液および 1% オスミウム酸で二重固定し、酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を行い、日本電子製 100 CX 型電子顕微鏡を用いて観察を行った。

#### 5. 統計学的処理

本試験で得られた測定値は群毎に平均値と標準偏差の算出を行い、対照群と検体投与群との間の有意性については t 検定により検討した。なお、t 検定はあらかじめ測定値の分散を 95% 信頼限界で検定し、等分散の場合には STUDENT の方法、不等分散の場合には ASPIN-WELCH の方法により行った。この他、尿の定性検査に関する有意性の検定については  $\chi^2$  検定により行った。

## II. 結 果

### 1. 一般症状

投与期間中、雌雄ともに対照群および 100 mg/kg 群には異常は認められず、また 270 mg/kg 群では黄色便あるいは軟便が少数例に一時的に認められただけであった。750 mg/kg 群では黄色便、軟便、下痢あるいは粘液便が認められる場合があったが、投与第 16 日以降、これらの所見は認められず、正常に復した。しかし、同群では投与第 34 日に投与直後に雄の 1 例が全身性痙攣をひきおこしたのち死亡した。

2,000 mg/kg 群では投与開始翌日（投与第 1 日）より黄色便、軟便および投与直後一過性の四肢および顔面の腫脹と四肢および耳介の発赤、鎮静あるいは腹臥が多数例に認められたが、いずれも経日的に漸減した。この他、呼吸困難、体温低下、筋弛緩、痙攣、立毛、被毛光沢の消失、消瘦が認められる場合があり、同群では、EM 検査用動物を含めた 20 例中雄では 8 例、雌では 9 例が投与開始日から投与第 33 日までに死亡した。休薬期間中には、一般症状に異常は認められなかった。

### 2. 体重変動

各群の平均体重の推移について Fig. 1 に示した。投与期間中、雌雄ともに 100～750 mg/kg の投与群では

Fig. 1 Mean body weight changes in SD rats during the subacute toxicity study on Azthreonam by intravenous route

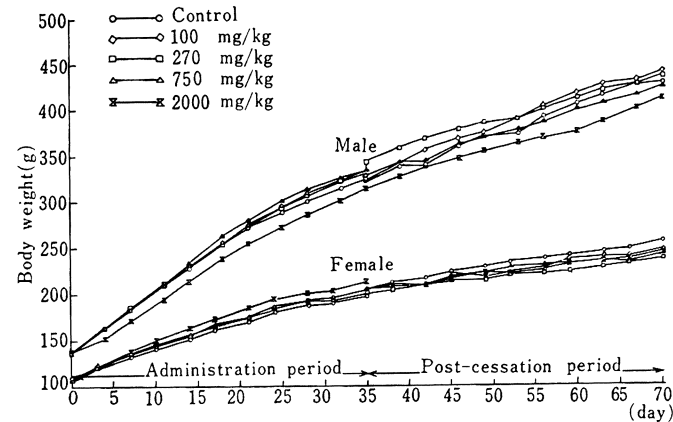


Fig. 2 Mean food intake changes in SD rats during the subacute toxicity study on Azthreonam by intravenous route

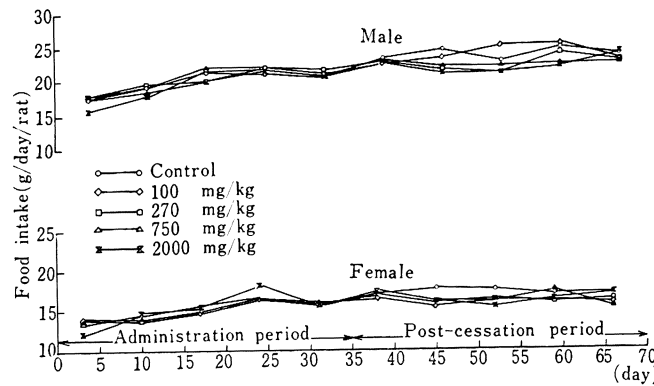


Fig. 3 Mean water intake changes in SD rats during the subacute toxicity study on Azthreonam by intravenous route

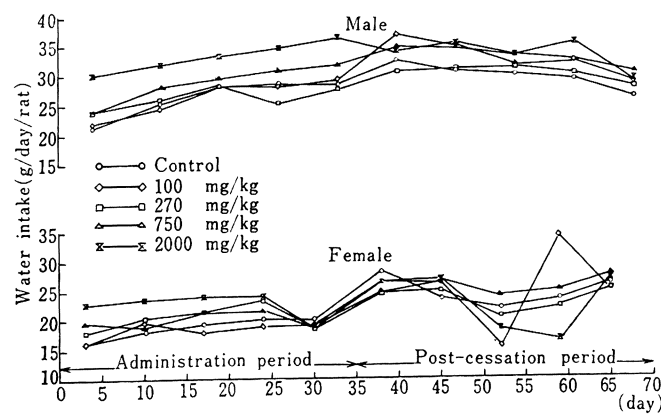


Table 1 Urinalysis in male SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	10	10	10	10	6
< Quantitative > <sup>1)</sup>					
Volume (ml/kg/5hr)	5.6±3.5	5.0±2.3	4.6±3.4	3.6±2.7	4.7±2.8
Na <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.48±0.35	0.57±0.23	0.50±0.43	0.31±0.15	0.56±0.47
K <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.99±0.44	1.19±0.34	1.06±0.50	0.74±0.17	1.11±0.64
< Qualitative > <sup>2)</sup>					
Physical appearance					
Yellow	10	10	7	10	5
Pale yellow	0	0	0	0	0
Brownish yellow	0	0	0	0	1
Turbid yellow	0	0	2	0	0
pH					
5.0	0	0	0	1	0
5.5	0	0	0	1	0
6.0	1	3	3	5	2
6.5	0	1	0	1	0
7.0	4	1	2	1	1
7.5	1	1	0	0	1
8.0	2	3	3	1	0
8.5	1	0	1	0	0
9.0	1	0	1	0	0
Protein					
—	1	1	1	0	0
+	8	7	8	9	4
#	1	1	1	1	0
##	0	0	0	0	0
Glucose					
—	10	9	10	10	4
+	0	0	0	0	0
#	0	0	0	0	0
##	0	0	0	0	0
Ketone body					
—	10	9	10	10	4
+	0	0	0	0	0
#	0	0	0	0	0
##	0	0	0	0	0
Urobilinogen					
—	10	9	10	10	4
+	0	0	0	0	0
#	0	0	0	0	0
##	0	0	0	0	0
Bilirubin					
—	10	9	10	10	4
+	0	0	0	0	0
#	0	0	0	0	0
##	0	0	0	0	0
Occult blood					
—	10	9	10	10	4
+	0	0	0	0	0
#	0	0	0	0	0
##	0	0	0	0	0

1) Mean ± S.D.

2) No. of animals

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, # P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

× P<0.05, ×× P<0.01 Significant difference from control (Chi-Square test)

\* : The difference between the figure at "number of animals" and sum of the number of animals listed on the table comes from the shortage of specimen for the examination



Table 2 Urinalysis in female SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	10	10	10	10	6
$\langle$ Quantitative $\rangle^1$					
Volume (ml/kg/5hr)	3.2 $\pm$ 2.0	3.3 $\pm$ 1.7	3.7 $\pm$ 3.9	3.0 $\pm$ 1.9	1.6 $\pm$ 1.4
Na <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.15 $\pm$ 0.13	0.27 $\pm$ 0.16	0.27 $\pm$ 0.33	0.25 $\pm$ 0.30	0.10 $\pm$ 0.08
K <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.51 $\pm$ 0.23	0.80 $\pm$ 0.32*	0.76 $\pm$ 0.42	0.78 $\pm$ 0.38	0.53 $\pm$ 0.31
$\langle$ Qualitative $\rangle^2$					
Physical appearance					
Yellow	8	10	9	3	5
Pale yellow	0	0	0	0	0
Brownish yellow	0	0	0	2	1
Turbid yellow	0	0	0	0	0
pH 5.0	0	0	1	0	0
5.5	5	0	0	1	0
6.0	3	3	5	4	4
6.5	0	0	1	0	0
7.0	1	2	1	2	0
7.5	1	1	0	1	0
8.0	0	2	0	2	1
8.5	0	2	0	0	0
9.0	0	0	2	0	0
Protein -	6	7	2	7	3
+	4	3	8	3	2
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Glucose -	10	10	10	10	5
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Ketone body -	10	10	10	10	5
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Urobilinogen -	10	10	10	10	5
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Bilirubin -	10	10	10	10	5
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Occult blood -	10	10	10	10	5
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0

1) Mean  $\pm$  S.D.

2) No. of animals

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

× P<0.05, ×× P<0.01 Significant difference from control (Chi-Square test)

\* : The difference between the figure at "number of animals" and sum of the number of animals listed on the table comes from the shortage of specimen for the examination

Table 3 Urinalysis in male SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	6	6	6	6	4
< Quantitative > <sup>1)</sup>					
Volume (ml/kg/5hr)	4.3±2.1	5.6±1.7	5.7±2.0	4.0±1.7	4.1±0.9
Na <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.34±0.21	0.45±0.24	0.54±0.19	0.35±0.24	0.34±0.27
K <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.73±0.45	0.79±0.21	0.85±0.27	0.72±0.31	0.66±0.56
< Qualitative > <sup>2)</sup>					
Physical appearance					
Yellow	5	6	6	6	3
Pale yellow	1	0	0	0	1
Brownish yellow	0	0	0	0	0
Turbid yellow	0	0	0	0	0
pH 5.0	0	0	0	0	0
5.5	0	0	0	0	0
6.0	0	0	0	0	0
6.5	0	0	0	0	0
7.0	1	2	0	1	0
7.5	0	0	0	0	1
8.0	3	2	3	1	1
8.5	0	0	0	0	0
9.0	2	2	3	4	2
Protein -	3	5	5	2	2
+	3	1	1	4	2
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Glucose -	6	6	6	6	4
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Ketone body -	6	6	6	6	4
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Urobilinogen -	6	6	6	6	4
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Bilirubin -	6	6	6	6	4
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
Occult blood -	6	6	6	6	4
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0

1) Mean ± S.D.

2) No. of animals

• P<0.05, \*\* P<0.01

Significant difference from control (STUDENT's t-test)

+ P<0.05, + P<0.01

Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

× P<0.05, ×× P<0.01

Significant difference from control (Chi-Square test)

Table 4 Urinalysis in female SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	6	6	6	6	2
〈 Quantitative 〉 <sup>1)</sup>					
Volume (ml/kg/5hr)	3.7±1.6	3.2±1.8	5.6±3.1	5.5±3.2	5.9
Na <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.12±0.08	0.23±0.17	0.51±0.33*	0.39±0.27	0.45
K <sup>+</sup> (mEq/kg/5hr)	0.31±0.09	0.48±0.18	0.59±0.33	0.66±0.32	0.60
〈 Qualitative 〉 <sup>2)</sup>					
Pysical appearance					
Yellow	6	6	6	6	2
Pale yellow	0	0	0	0	0
Brownish yellow	0	0	0	0	0
Turbid yellow	0	0	0	0	0
pH					
5.0	0	0	0	0	0
5.5	0	0	0	0	0
6.0	2	1	0	0	0
6.5	0	0	0	0	0
7.0	2	2	1	2	0
7.5	0	0	0	0	0
8.0	1	2	2	2	1
8.5	0	0	0	0	1
9.0	1	1	3	2	0
Protein					
—	4	5	5	4	2
+	2	1	1	2	0
⊕	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
Glucose					
—	6	6	6	6	2
+	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
Ketone body					
—	6	6	6	6	2
+	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
Urobilinogen					
—	6	6	6	6	2
+	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
Bilirubin					
—	6	6	6	6	2
+	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
Occult blood					
—	6	6	6	6	2
+	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0
⊕	0	0	0	0	0

1) Mean ± S.D.

2) No. of animals

\* P<0.05, \*\* P<0.01

+ P<0.05, ⊕ P<0.01

× P<0.05, ×× P<0.01

Significant difference from control (STUDENT's t-test)

Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

Significant difference from control (Chi-Square test)

体重の増加傾向がみられたが、統計学的な有意差は認められなかった。2,000 mg/kg 群の雄では体重増加の抑制、雌では体重増加の促進が認められた。また、同群の雌では 35 日間の体重増加量は対照群に比し、約 15% の増加を示し、検体投与による体重増加の促進が示唆された。休薬期間中の雄では対照群との間に差は認められず、また、雌では 270~2,000 mg/kg の投与群で休薬期間中の体重増加量の減少が最大 30% 認められたが、用量相関性は明らかではなかった。

### 3. 摂餌量

各群の平均摂餌量の推移について Fig. 2 に示した。投与期間中の雄では検体投与による影響は認められなかった。雌の 750 mg/kg 群では投与第 2 週に摂餌量の増加、2,000 mg/kg 群では投与第 1 週で摂餌量の減少、第 2 および第 4 週で増加が認められた。休薬期間中は雌雄ともに摂餌量の軽度な変動が散見されたが、用量に related した変動はみられなかった。

### 4. 摂水量

各群の平均摂水量の推移について Fig. 3 に示した。投与期間中、雌雄ともに 100~270 mg/kg の各投与群では検体投与の影響は認められなかったが、雌の 750 mg/kg 群および雌雄の 2,000 mg/kg 群で摂水量の増加が認められた。回復試験群では雄の 750 mg/kg 群で

一過性に摂水量の軽度の増加があった他は、雌雄ともに対照群との間に差は認められなかった。

### 5. 眼底検査

投与試験群および回復試験群の眼底検査では雌雄ともにいずれの投与群においても異常は認められなかった。

### 6. 尿検査

尿検査の結果を Table 1~4 に示した。投与終了時に実施した投与試験群の尿定量検査の結果、雄では対照群との間に差は認められず、また、雌では 2,000 mg/kg 群で尿量の減少傾向があった他は検体投与による明らかな差は認められなかった。定性検査では雌雄ともに検体投与に関連する異常は認められなかった。回復試験群では雌の検体投与群で尿量および電解質の排泄量の増加傾向があったが、明確な用量相関性は認められず、また、定性検査では雌雄ともに異常は認められなかった。

### 7. 血液学検査

血液学検査の結果を Table 5~8 に示した。投与試験群の雄では 100 mg/kg から 750 mg/kg 群に検体投与に関連する変動は認められず、2,000 mg/kg 群では赤血球数と血色素量の低下、MCV, MCH の上昇、リンパ球比率の減少および分節核球比率の上昇が認められたが、いずれも軽度な変動であった。一方、雌では検体投与群にヘマトクリット値と血色素量、分節核球比率の低

Table 5 Hematological observations in male SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	10	10	10	10	6
RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	834 $\pm$ 54	818 $\pm$ 81	822 $\pm$ 46	818 $\pm$ 39	762 $\pm$ 30*
Hematocrit (%)	45.0 $\pm$ 1.4	45.3 $\pm$ 2.0	44.4 $\pm$ 1.4	45.6 $\pm$ 1.7	44.0 $\pm$ 2.1
Hemoglobin (g/dl)	15.2 $\pm$ 0.4	15.1 $\pm$ 0.6	15.1 $\pm$ 0.5	15.3 $\pm$ 0.4	14.7 $\pm$ 0.4*
MCH ( $\mu\text{g}$ )	18.3 $\pm$ 0.8	18.6 $\pm$ 1.3	18.5 $\pm$ 0.5	18.8 $\pm$ 0.6	19.3 $\pm$ 0.5*
MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	54.1 $\pm$ 2.6	55.8 $\pm$ 4.7	54.2 $\pm$ 2.2	55.9 $\pm$ 2.4	57.7 $\pm$ 1.6**
MCHC (%)	33.9 $\pm$ 0.4	33.4 $\pm$ 0.9	34.1 $\pm$ 0.6	33.6 $\pm$ 1.0	33.4 $\pm$ 1.2
Reticulocyte (%)	26 $\pm$ 4	27 $\pm$ 4	28 $\pm$ 6	31 $\pm$ 7	35 $\pm$ 9
Platelet ( $10^3/\text{mm}^3$ )	931 $\pm$ 147	920 $\pm$ 99	829 $\pm$ 114	830 $\pm$ 122	909 $\pm$ 172
Prothrombin time (sec)	12.0 $\pm$ 0.4	12.2 $\pm$ 0.6	11.8 $\pm$ 0.2	12.1 $\pm$ 0.3	11.9 $\pm$ 0.4
WBC ( $10^3/\text{mm}^3$ )	103 $\pm$ 29	103 $\pm$ 38	82 $\pm$ 30	88 $\pm$ 24	109 $\pm$ 27
Lymphocyte (%)	94 $\pm$ 3	93 $\pm$ 5	91 $\pm$ 4	91 $\pm$ 6	87 $\pm$ 6*
Monocyte (%)	1 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2
Segneutrophil (%)	4 $\pm$ 2	5 $\pm$ 4	6 $\pm$ 4	6 $\pm$ 4	10 $\pm$ 5*
Stabneutrophil (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Eosinophil (%)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0*	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Basophil (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

Mean  $\pm$  S.D.

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  Significant difference from control (STUDENT's t-test)

+  $P < 0.05$ , ++  $P < 0.01$  Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

Table 6 Hematological observations in female SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	10	10	10	10	5
RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	783 $\pm$ 63	762 $\pm$ 67	778 $\pm$ 47	731 $\pm$ 63	717 $\pm$ 67
Hematocrit (%)	44.6 $\pm$ 1.5	42.2 $\pm$ 1.9**	43.0 $\pm$ 1.2*	41.3 $\pm$ 2.0**	41.2 $\pm$ 3.0
Hemoglobin (g/dl)	14.9 $\pm$ 0.7	14.4 $\pm$ 0.7	14.3 $\pm$ 0.5*	13.6 $\pm$ 0.6**	14.1 $\pm$ 0.7*
MCH (pg)	19.1 $\pm$ 0.8	19.0 $\pm$ 1.2	18.5 $\pm$ 0.9	18.7 $\pm$ 1.5	19.7 $\pm$ 0.9
MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	57.2 $\pm$ 2.7	55.6 $\pm$ 3.4	55.5 $\pm$ 2.7	56.9 $\pm$ 4.6	57.6 $\pm$ 1.4
MCHC (%)	33.4 $\pm$ 0.9	34.1 $\pm$ 1.1	33.3 $\pm$ 1.0	32.9 $\pm$ 0.8	34.2 $\pm$ 0.8
Reticulocyte (%)	27 $\pm$ 6	25 $\pm$ 6	28 $\pm$ 7	31 $\pm$ 7	31 $\pm$ 8
Platelet ( $10^3/\text{mm}^3$ )	854 $\pm$ 136	796 $\pm$ 90	837 $\pm$ 147	780 $\pm$ 123	859 $\pm$ 102
Prothrombin time (sec)	11.8 $\pm$ 0.4	12.1 $\pm$ 1.5	11.8 $\pm$ 0.8	11.8 $\pm$ 0.3	11.6 $\pm$ 0.2
WBC ( $10^2/\text{mm}^3$ )	65 $\pm$ 10	75 $\pm$ 24	81 $\pm$ 25	66 $\pm$ 20	82 $\pm$ 4**
Lymphocyte (%)	89 $\pm$ 5	93 $\pm$ 3	94 $\pm$ 3*	94 $\pm$ 4*	96 $\pm$ 3*
Monocyte (%)	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1**	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1
Segneutrophil (%)	8 $\pm$ 4	6 $\pm$ 3	4 $\pm$ 2*	5 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1**
Stabneutrophil (%)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Eosinophil (%)	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Basophil (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

Mean  $\pm$  S.D.\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  Significant difference from control (STUDENT'S t-test)+  $P < 0.05$ , ++  $P < 0.01$  Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

Table 7 Hematological observations in male SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	6	6	6	6	4
RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	902 $\pm$ 54	900 $\pm$ 62	887 $\pm$ 55	924 $\pm$ 69	911 $\pm$ 58
Hematocrit (%)	44.6 $\pm$ 1.5	45.8 $\pm$ 2.1	43.8 $\pm$ 1.3	45.8 $\pm$ 1.8	45.4 $\pm$ 0.8
Hemoglobin (g/dl)	15.2 $\pm$ 0.5	15.4 $\pm$ 0.9	14.6 $\pm$ 0.6	15.4 $\pm$ 0.6	15.3 $\pm$ 0.4
MCH (pg)	16.9 $\pm$ 0.5	17.2 $\pm$ 0.4	16.5 $\pm$ 0.7	16.7 $\pm$ 0.9	16.9 $\pm$ 0.9
MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	49.5 $\pm$ 1.7	51.0 $\pm$ 1.5	49.5 $\pm$ 1.7	49.7 $\pm$ 2.8	50.0 $\pm$ 3.2
MCHC (%)	34.1 $\pm$ 0.6	33.7 $\pm$ 0.9	33.4 $\pm$ 0.7	33.7 $\pm$ 0.4	33.8 $\pm$ 0.4
Reticulocyte (%)	25 $\pm$ 5	30 $\pm$ 3	27 $\pm$ 7	28 $\pm$ 6	28 $\pm$ 5
Platelet ( $10^3/\text{mm}^3$ )	741 $\pm$ 95	848 $\pm$ 148	802 $\pm$ 189	857 $\pm$ 78*	773 $\pm$ 83
Prothrombin time (sec)	11.3 $\pm$ 0.2	11.4 $\pm$ 0.3	11.2 $\pm$ 0.2	11.9 $\pm$ 1.2	11.3 $\pm$ 0.2
WBC ( $10^2/\text{mm}^3$ )	65 $\pm$ 21	94 $\pm$ 29	75 $\pm$ 13	67 $\pm$ 17	53 $\pm$ 13
Lymphocyte (%)	91 $\pm$ 3	87 $\pm$ 5	93 $\pm$ 3	91 $\pm$ 4	90 $\pm$ 4
Monocyte (%)	1 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1
Segneutrophil (%)	7 $\pm$ 3	10 $\pm$ 5	6 $\pm$ 2	7 $\pm$ 3	10 $\pm$ 4
Stabneutrophil (%)	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Eosinophil (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Basophil (%)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

Mean  $\pm$  S.D.\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  Significant difference from control (STUDENT'S t-test)+  $P < 0.05$ , ++  $P < 0.01$  Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

Table 8 Hematological observations in female SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	5	6	6	6	2
RBC (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	812 ± 37	808 ± 84	823 ± 115	844 ± 40	896
Hematocrit (%)	42.8 ± 1.3	40.1 ± 4.4	41.5 ± 3.4	43.1 ± 1.4	46.0
Hemoglobin (g/dl)	14.9 ± 0.2	14.1 ± 1.5	14.0 ± 1.4	14.8 ± 0.5	16.0
MCH (pg)	18.3 ± 0.7	17.5 ± 0.9	17.1 ± 0.9*	17.5 ± 0.7	17.9
MCV (μm <sup>3</sup> )	52.7 ± 0.9	50.0 ± 6.6	50.8 ± 3.4	51.1 ± 2.2	51.3
MCHC (%)	34.7 ± 0.8	35.4 ± 4.5	33.7 ± 1.1	34.3 ± 0.5	34.8
Reticulocyte (%)	21 ± 2	22 ± 8	44 ± 51	21 ± 4	28
Platelet (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	812 ± 110	780 ± 86	953 ± 218	837 ± 108	854
Prothrombin time (sec)	11.6 ± 0.3	11.7 ± 0.2	11.2 ± 0.1	11.4 ± 0.3	11.3
WBC (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	52 ± 22	58 ± 24	47 ± 17	57 ± 16	46
Lymphocyte (%)	88 ± 6	86 ± 9	83 ± 10	89 ± 3	90
Monocyte (%)	2 ± 2	2 ± 1	3 ± 2	2 ± 1	2
Segneutrophil (%)	10 ± 5	12 ± 10	13 ± 9	8 ± 3	7
Stabneutrophil (%)	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 1	1 ± 1	0
Eosinophil (%)	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	1 ± 1	2
Basophil (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0

Mean ± S.D.

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Table 9 Serum biochemical analysis in male SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	10	10	10	10	5
Al-P (IU/l)	302 ± 65	286 ± 44	315 ± 59	288 ± 83	328 ± 121
GOT (IU/l)	121 ± 20	108 ± 24	108 ± 23	86 ± 16**	78 ± 17**
GPT (IU/l)	37 ± 15	34 ± 15	30 ± 6	26 ± 3'	21 ± 1'+
Glucose (mg/dl)	204 ± 19	225 ± 37	200 ± 31	205 ± 28	189 ± 10
Protein (g/dl)	5.3 ± 0.2	5.2 ± 0.2	5.2 ± 0.2	5.3 ± 0.2	5.4 ± 0.2
Albumin (g/dl)	3.1 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.2 ± 0.1
A/G	1.43 ± 0.07	1.38 ± 0.03	1.44 ± 0.11	1.42 ± 0.10	1.48 ± 0.05
BUN (mg/dl)	19 ± 3	18 ± 3	18 ± 3	19 ± 3	20 ± 2
Creatinine (mg/dl)	0.53 ± 0.06	0.53 ± 0.07	0.49 ± 0.06	0.52 ± 0.04	0.51 ± 0.08
Uric acid (mg/dl)	1.6 ± 0.6	2.2 ± 1.5	2.1 ± 0.7	1.5 ± 0.5	1.2 ± 0.2
Bilirubin (mg/dl)	0.23 ± 0.06	0.23 ± 0.06	0.23 ± 0.07	0.18 ± 0.03	0.24 ± 0.10
Ca <sup>++</sup> (mg/dl)	9.8 ± 0.4	10.0 ± 0.4	9.7 ± 0.3	9.7 ± 0.2	10.0 ± 0.3
Na <sup>+</sup> (mEq/l)	141 ± 2	141 ± 2	141 ± 2	142 ± 3	141 ± 2
K <sup>+</sup> (mEq/l)	4.7 ± 0.3	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.4	4.5 ± 0.4	4.7 ± 0.2
Cl <sup>-</sup> (mEq/l)	103 ± 1	104 ± 2	104 ± 2	104 ± 1	105 ± 1**
Pi (mg/dl)	7.3 ± 1.1	7.5 ± 0.8	7.5 ± 0.9	7.5 ± 0.5	7.5 ± 1.0

Mean ± S.D.

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Table 10 Serum biochemical analysis in female SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonom

Compound		Control	Azthreonom			
Dose (mg/kg)		P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals		10	10	10	10	5
Al-P	(IU/l)	223 ± 77	206 ± 49	206 ± 68	243 ± 70	170 ± 53
GOT	(IU/l)	102 ± 21	85 ± 12*	85 ± 15	80 ± 18*	72 ± 5**
GPT	(IU/l)	34 ± 9	34 ± 9	30 ± 4	31 ± 10	25 ± 5*
Glucose	(mg/dl)	195 ± 21	199 ± 21	183 ± 24	170 ± 19*	177 ± 20
Protein	(g/dl)	5.4 ± 0.3	5.4 ± 0.3	5.5 ± 0.2	5.3 ± 0.3	5.4 ± 0.1
Albumin	(g/dl)	3.3 ± 0.2	3.2 ± 0.2	3.3 ± 0.2	3.2 ± 0.2	3.3 ± 0.1
A/G		1.58 ± 0.13	1.47 ± 0.09*	1.47 ± 0.14	1.53 ± 0.09	1.55 ± 0.14
BUN	(mg/dl)	21 ± 1	19 ± 3	21 ± 4	20 ± 2	18 ± 2
Creatinine	(mg/dl)	0.61 ± 0.06	0.61 ± 0.08	0.59 ± 0.03	0.54 ± 0.03**	0.57 ± 0.07
Uric acid	(mg/dl)	2.6 ± 0.9	2.0 ± 0.5	2.0 ± 0.6	1.6 ± 0.6**	1.6 ± 0.3**
Bilirubin	(mg/dl)	0.19 ± 0.07	0.15 ± 0.05	0.16 ± 0.03	0.20 ± 0.07	0.16 ± 0.02
Ca <sup>++</sup>	(mg/dl)	9.9 ± 0.2	9.8 ± 0.3	9.9 ± 0.2	9.8 ± 0.4	9.8 ± 0.3
Na <sup>+</sup>	(mEq/l)	140 ± 2	140 ± 2	140 ± 2	139 ± 2	140 ± 3
K <sup>+</sup>	(mEq/l)	5.2 ± 0.4	4.8 ± 0.6	4.9 ± 0.3	4.9 ± 0.3	4.8 ± 0.3
Cl <sup>-</sup>	(mEq/l)	106 ± 4	106 ± 2	105 ± 2	105 ± 2	104 ± 2
Pi	(mg/dl)	6.8 ± 1.4	6.1 ± 0.8	6.1 ± 0.7	6.4 ± 0.5	7.2 ± 1.2

Mean ± S.D.

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT's t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

Table 11 Serum biochemical analysis in male SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonom

Compound		Control	Azthreonom			
Dose (mg/kg)		P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals		6	6	6	6	4
Al-P	(IU/l)	281 ± 70	332 ± 77	258 ± 57	293 ± 58	201 ± 15
GOT	(IU/l)	100 ± 18	93 ± 11	98 ± 16	90 ± 9	101 ± 9
GPT	(IU/l)	40 ± 3	43 ± 8	39 ± 5	41 ± 5	40 ± 6
Glucose	(mg/dl)	194 ± 11	207 ± 15	197 ± 13	201 ± 19	191 ± 15
Protein	(g/dl)	5.2 ± 0.2	5.4 ± 0.2	5.3 ± 0.2	5.2 ± 0.2	5.1 ± 0.2
Albumin	(g/dl)	3.1 ± 0.1	3.1 ± 0.2	3.1 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.0 ± 0.1
A/G		1.42 ± 0.05	1.38 ± 0.12	1.47 ± 0.06	1.45 ± 0.10	1.49 ± 0.18
BUN	(mg/dl)	20 ± 2	21 ± 3	20 ± 3	21 ± 2	19 ± 3
Creatinine	(mg/dl)	0.69 ± 0.05	0.73 ± 0.10	0.69 ± 0.12	0.68 ± 0.05	0.66 ± 0.11
Uric acid	(mg/dl)	2.0 ± 0.8	2.8 ± 1.0	2.3 ± 0.5	2.2 ± 0.2	2.0 ± 0.4
Bilirubin	(mg/dl)	0.26 ± 0.03	0.33 ± 0.08	0.27 ± 0.06	0.25 ± 0.03	0.21 ± 0.06
Ca <sup>++</sup>	(mg/dl)	9.6 ± 0.3	9.9 ± 0.6	9.7 ± 0.3	9.6 ± 0.2	9.3 ± 0.2
Na <sup>+</sup>	(mEq/l)	144 ± 2	142 ± 2	143 ± 1	144 ± 2	143 ± 2
K <sup>+</sup>	(mEq/l)	4.9 ± 0.3	5.3 ± 1.2	4.7 ± 0.2	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.1
Cl <sup>-</sup>	(mEq/l)	105 ± 2	102 ± 2*	102 ± 2	104 ± 2	103 ± 3
Pi	(mg/dl)	5.8 ± 0.3	6.0 ± 0.9	5.9 ± 0.5	5.8 ± 0.7	5.9 ± 0.4

Mean ± S.D.

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT's t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

Table 12 Serum biochemical analysis in female SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound		Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)		P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals		6	6	6	6	2
Al-P	(IU/l)	228 ± 74	250 ± 78	249 ± 62	218 ± 64	143
GOT	(IU/l)	92 ± 23	95 ± 27	93 ± 18	85 ± 11	102
GPT	(IU/l)	38 ± 7	41 ± 7	40 ± 10	37 ± 4	34
Glucose	(mg/dl)	184 ± 32	186 ± 39	181 ± 14	161 ± 14	168
Protein	(g/dl)	5.5 ± 0.4	5.4 ± 0.2	5.6 ± 0.3	5.6 ± 0.3	5.4
Albumin	(g/dl)	3.4 ± 0.3	3.2 ± 0.1	3.5 ± 0.3	3.5 ± 0.3	3.1
A/G		1.59 ± 0.11	1.53 ± 0.13	1.67 ± 0.16	1.65 ± 0.17	1.33
BUN	(mg/dl)	19 ± 2	22 ± 2*	20 ± 4	21 ± 2	17
Creatinine	(mg/dl)	0.64 ± 0.01	0.71 ± 0.12	0.67 ± 0.07	0.64 ± 0.03	0.61
Uric acid	(mg/dl)	1.8 ± 0.1	2.2 ± 1.0	2.2 ± 0.5	1.7 ± 0.3	2.5
Bilirubin	(mg/dl)	0.24 ± 0.05	0.31 ± 0.12	0.24 ± 0.07	0.25 ± 0.05	0.25
Ca <sup>++</sup>	(mg/dl)	10.1 ± 0.4	10.3 ± 0.4	10.2 ± 0.5	10.0 ± 0.3	10.1
Na <sup>+</sup>	(mEq/l)	140 ± 4	141 ± 1	141 ± 1	141 ± 2	140
K <sup>+</sup>	(mEq/l)	4.9 ± 0.3	5.0 ± 0.4	5.2 ± 0.8	4.9 ± 0.4	5.1
Cl <sup>-</sup>	(mEq/l)	102 ± 7	106 ± 3	107 ± 1	106 ± 1	106
Pi	(mg/dl)	4.6 ± 0.3	5.4 ± 1.0	5.2 ± 0.3**	4.7 ± 0.4	4.7

Mean ± S.D.

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT's t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

下傾向、リンパ球比率の上昇の傾向がみられたが、いずれも軽度であった。回復試験群では雌雄ともに検体投与に関連する変動は認められなかった。

8. 血清生化学検査

血清生化学検査の結果を Table 9~12 に示した。投与試験群の雄では 100 mg/kg から 270 mg/kg までの投与群には対照群との間に差は認められなかったが、750 mg/kg 以上の群で GOT 値、GPT 値の低下が用量に相関して認められた。雌では、GOT 値の低下が 100 mg/kg 以上の投与群に、尿酸値の低下が 750 mg/kg 以上の投与群に用量に相関して認められた。この他、2,000 mg/kg 群では雄で Cl<sup>-</sup> 値の上昇、雌では GPT 値の低下が認められた。回復試験群では雌雄ともに検体投与に関連する変動は認められなかった。

9. 病理学検査

(1) 臓器重量

臓器重量および相対重量について Table 13~16 に示した。用量に相関し、かつ、相対重量でも変動が認められたのは投与試験群の雄では 100 mg/kg 以上の投与群で肝臓および盲腸重量の増加、2,000 mg/kg 群で腎臓および脾臓の重量の増加であった。雌では相対重量で比較した場合 100 mg/kg 以上の投与群で盲腸重量の増加、270 mg/kg 以上の投与群で肝臓重量の増加、750 mg/kg

以上の投与群で脾臓重量の増加が認められた。なお、カーカスには絶対重量の軽度な増加が 2,000 mg/kg 群で認められたが、相対重量では 750 mg/kg 以上の群で減少した。回復試験群の雄では 2,000 mg/kg 群で腎臓、精巣、盲腸の重量増加、雌では 100 mg/kg 以上の群で盲腸重量の増加、2,000 mg/kg 群で脾臓重量の増加が認められたが、雌雄ともに投与試験群で認められた変動はいずれも回復傾向にあった。

(2) 剖検および病理組織学的検査

1) 生存例

肝臓、腎臓および脾臓には以下に示す所見 (Table 17, 18) が認められたが、脳、眼球、蝸牛、下垂体、顎下腺、甲状腺、胸腺、肺、心臓、副腎、脾臓、胃、十二指腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、卵巣、子宮、膀胱、前立腺、精囊、精巣、精巣上体、骨髄および投与部位(尾)には検体投与による異常は肉眼的にも病理組織学的にも認められなかった。また、盲腸は肉眼的には雄の 270 mg/kg 以上、雌の 750 mg/kg 以上の投与群で肥大が認められたが、病理組織学的には異常は認められなかった。

肝臓：肉眼的には異常は認められなかったが、病理組織学的には投与試験群で肝細胞の肥大 (Photo. 1) が雄の 750 mg/kg 以上、雌の 270 mg/kg 以上の投与群に



Table 13 Organ weights in male SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	10	10	10	10	6
Brain (g)	1.89±0.08 (0.592±0.049)	1.97±0.09* (0.581±0.041)	1.94±0.05 (0.612±0.045)	1.96±0.10 (0.579±0.041)	1.88±0.11 (0.608±0.088)
Pituitary (mg)	12 ± 1 (3.7 ± 0.5)	14 ± 1** (4.1 ± 0.4)	12 ± 4 (3.9 ± 1.1)	13 ± 1 (3.8 ± 0.4)	12 ± 2 (4.0 ± 0.6)
Thyroid (mg)	10 ± 2 (3.2 ± 0.8)	11 ± 2 (3.2 ± 0.6)	11 ± 2 (3.6 ± 0.5)	12 ± 2 (3.6 ± 0.5)	12 ± 2 (4.0 ± 0.6)
Thymus (mg)	567 ± 119 (177 ± 34)	547 ± 99 (160 ± 25)	566 ± 108 (177 ± 31)	576 ± 95 (170 ± 31)	502 ± 78 (160 ± 14)
Lungs (g)	1.26±0.10 (0.395±0.035)	1.31±0.15 (0.386±0.047)	1.21±0.07 (0.380±0.025)	1.33±0.13 (0.394±0.032)	1.28±0.16 (0.412±0.052)
Heart (g)	1.07±0.07 (0.336±0.024)	1.06±0.12 (0.313±0.031)	1.05±0.10 (0.332±0.029)	1.07±0.09 (0.318±0.033)	1.05±0.13 (0.337±0.027)
Liver (g)	11.6 ± 1.3 (3.61±0.21)	13.3 ± 1.3** (3.92±0.27)*	12.3 ± 0.9 (3.86±0.21)*	14.1 ± 1.9** (4.15±0.34)**	14.5 ± 2.9 (4.59±0.49)*
Kidneys (g)	2.43±0.10 (0.763±0.064)	2.52±0.20 (0.745±0.070)	2.38±0.10 (0.752±0.057)	2.64±0.26* (0.779±0.047)	3.02±0.27** (0.970±0.072)**
Adrenals (mg)	51 ± 7 (16 ± 2)	50 ± 5 (15 ± 2)	56 ± 6 (18 ± 1)	55 ± 7 (16 ± 3)	55 ± 7 (18 ± 4)
Spleen (mg)	691 ± 130 (216 ± 40)	754 ± 78 (222 ± 19)	700 ± 110 (220 ± 36)	799 ± 113 (235 ± 26)	822 ± 139 (262 ± 25)*
Testes (g)	2.56±0.44 (0.798±0.129)	2.69±0.22 (0.795±0.073)	2.66±0.21 (0.840±0.089)	2.70±0.58 (0.796±0.165)	2.75±0.18 (0.884±0.072)
Prostate (mg)	422 ± 163 (130 ± 43)	500 ± 105 (147 ± 30)	498 ± 114 (157 ± 40)	473 ± 120 (141 ± 40)	479 ± 103 (152 ± 25)
Caecum (+) <sup>1)</sup> (g)	4.30±0.89 (1.34±0.24)	6.36±0.97** (1.88±0.28)**	7.08±1.48** (2.24±0.49)**	8.24±1.80** (2.43±0.44)**	9.43±1.73** (3.01±0.45)**
Caecum (-) <sup>2)</sup> (g)	1.15±0.18 (0.359±0.052)	1.36±0.12** (0.400±0.043)	1.48±0.31** (0.465±0.088)**	1.56±0.19** (0.464±0.068)**	1.76±0.30** (0.572±0.142)*
Carcass (g)	243 ± 19 (75.9 ± 2.9)	256 ± 17 (75.5 ± 2.6)	242 ± 17 (76.1 ± 0.8)	257 ± 18 (75.8 ± 1.6)	235 ± 29 (75.2 ± 6.0)

Mean ± S.D. The figure in the parenthesis means weight percent to the final body weight

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT's t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

<sup>1)</sup> Caecum(+): Caecum weight with contents

<sup>2)</sup> C cum(-): Caecum weight without contents

用量に相関して認められた。これらの肝細胞の肥大は小葉中心性であったが、脂肪沈着あるいはグリコーゲンの増加は認められなかった。なお 2,000 mg/kg 群の EM 検査では肝細胞内に脂質滴ならびにライソゾーム様顆粒の増加と糸粒体の異型 (Photo. 2), クッパー細胞内に比較的電子密度の低い大型の空胞とミエリン様構造物 (Photo. 3) が認められた。回復試験群では肝細胞の肥大は認められず、また EM 検査による所見も軽減しており、いずれも休薬により回復性がみられた。

腎臓: 投与試験群では雌雄ともに 2,000 mg/kg 群で

肉眼的な腎臓の肥大が少数例に認められ、病理組織学的には近位尿細管上皮細胞の軽度から中等度の空胞化 (Photo. 4) が 750 mg/kg 以上の投与群に用量に相関して認められた。尿細管上皮細胞にみられた空胞は SudanⅢ染色, PAS反応ともに陰性であった。この他、雄の 2,000 mg/kg 群では近位尿細管上皮の再生像とボーマン嚢および尿細管基底膜の中等度な肥厚が少数例に認められた。なお、2,000 mg/kg 群の EM 検査では近位尿細管上皮細胞内にライソゾーム様顆粒の増加と空胞 (Photo. 5) が認められた。回復試験群では近位尿細管上

Table 14 Organ weights in female SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	10	10	10	10	5
Brain (g)	1.73±0.06 (0.920±0.071)	1.79±0.07* (0.878±0.057)	1.81±0.07* (0.892±0.057)	1.77±0.06 (0.870±0.079)	1.83±0.06** (0.840±0.079)
Pituitary (mg)	12 ± 2 (6.4 ± 0.9)	13 ± 1 (6.4 ± 0.8)	12 ± 3 (5.9 ± 1.5)	13 ± 2 (6.4 ± 0.8)	14 ± 2 (6.6 ± 1.0)
Thyroid (mg)	8 ± 3 (4.2 ± 1.4)	7 ± 3 (3.6 ± 1.3)	8 ± 1 (3.8 ± 0.7)	8 ± 2 (3.8 ± 0.8)	9 ± 2 (4.3 ± 1.1)
Thymus (mg)	389 ± 68 (207 ± 33)	442 ± 53 (217 ± 30)	442 ± 89 (217 ± 39)	370 ± 45 (182 ± 23)	504 ± 88* (232 ± 48)
Lungs (g)	0.911±0.057 (0.484±0.033)	0.965±0.043* (0.473±0.032)	0.974±0.079 (0.481±0.043)	0.940±0.078 (0.461±0.034)	1.087±0.101** (0.497±0.046)
Heart (mg)	658 ± 51 (349 ± 10)	706 ± 51 (345 ± 16)	698 ± 54 (344 ± 29)	673 ± 43 (331 ± 33)	776 ± 96** (354 ± 28)
Liver (g)	6.84±0.88 (3.61±0.22)	7.73±0.65* (3.78±0.27)	7.92±0.59** (3.90±0.13)**	8.33±1.27** (4.06±0.32)**	10.48±1.86* (4.75±0.44)**
Kidneys (g)	1.51±0.15 (0.801±0.076)	1.55±0.10 (0.760±0.046)	1.63±0.19 (0.806±0.111)	1.58±0.13 (0.774±0.077)	1.95±0.18** (0.895±0.101)
Adrenals (mg)	61 ± 6 (33 ± 4)	56 ± 5 (28 ± 3)**	59 ± 10 (29 ± 5)	55 ± 9 (27 ± 4)**	63 ± 9 (29 ± 3)
Spleen (mg)	431 ± 78 (227 ± 31)	508 ± 78* (249 ± 43)	503 ± 79 (248 ± 36)	568 ± 66** (279 ± 32)**	680 ± 64** (314 ± 56)**
Ovaries (mg)	84 ± 10 (45 ± 7)	80 ± 10 (39 ± 5)	82 ± 16 (40 ± 7)	83 ± 14 (41 ± 6)	103 ± 23 (47 ± 11)
Uterus (mg)	374 ± 58 (199 ± 33)	451 ± 158 (221 ± 79)	450 ± 143 (221 ± 62)	417 ± 75 (204 ± 32)	460 ± 141 (209 ± 61)
Caecum(+)¹ (g)	3.16±0.43 (1.68±0.20)	4.66±0.85** (2.27±0.38)**	5.76±0.87** (2.84±0.46)**	5.65±1.06** (2.75±0.38)**	7.74±1.80** (3.51±0.66)**
Caecum(-)² (g)	0.873±0.122 (0.463±0.060)	1.219±0.178** (0.597±0.085)**	1.280±0.265** (0.631±0.130)**	1.201±0.224** (0.584±0.077)**	1.424±0.149** (0.651±0.063)**
Carcass (g)	147 ± 12 (77.8 ± 3.5)	156 ± 9 (76.3 ± 2.7)	153 ± 11 (75.3 ± 1.3)	153 ± 14 (74.6 ± 2.6)*	164 ± 19* (74.6 ± 0.6)*

Mean ± S.D. The figure in the parenthesis means weight percent to the final body weight

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

¹ Caecum(+) Caecum weight with contents

² Caecum(-) : Caecum weight without contents

皮の再生像とボーマン囊および尿管基底膜の肥厚，近位尿管上皮の軽度な再生像，間質の軽度な細胞浸潤が2,000 mg/kg 群に認められたが，尿管上皮細胞の空胞化は光顕的にも EM 検査でも認められなかった。

脾臓：肉眼的には異常は認められなかったが，病理組織学的には投与試験群の雌で赤脾髄での髄外造血の軽度な活性化 (Photo. 6)，白脾髄の増生および反応中心の活性化 (Photo. 7) が 750 mg/kg 以上の投与群に用量に相関して認められた。また，雄の 2,000 mg/kg 群でも雌と同様の変化が認められた。回復試験群では赤脾髄で

の髄外造血の活性化および白脾髄の増生が雌の少数例に認められた他は異常は認められず，投与試験群にみられた変化はいずれも回復性であった。

## 2) 死亡例

死亡例に共通した所見は肉眼的には肺の暗赤色化あるいは赤色斑，肝臓，腎臓，盲腸の肥大であり，また病理組織学的には肝小葉中心性の肝細胞空胞化 (Photo. 8)，腎近位尿管上皮細胞の空胞化 (Photo. 9)，肺の鬱血であったが，肺の鬱血の他は死因と関連する所見は認められなかった。

Table 15 Organ weights in male SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	6	6	6	6	4
Brain (g)	1.95±0.15 (0.449±0.048)	2.01±0.12 (0.457±0.039)	1.98±0.04 (0.456±0.024)	2.07±0.09 (0.486±0.037)	2.04±0.07 (0.500±0.028)
Pituitary (mg)	14 ± 1 (3.2 ± 0.3)	16 ± 2 (3.5 ± 0.3)	15 ± 2 (3.5 ± 0.4)	14 ± 3 (3.4 ± 0.7)	13 ± 1 (3.1 ± 0.3)
Thyroid (mg)	12 ± 2 (2.8 ± 0.5)	12 ± 3 (2.7 ± 0.7)	12 ± 3 (2.7 ± 0.7)	12 ± 2 (2.7 ± 0.5)	12 ± 1 (3.0 ± 0.2)
Thymus (mg)	324 ± 65 (74 ± 14)	454 ± 130 (103 ± 29)	449 ± 101* (103 ± 22)*	396 ± 47 (93 ± 9)*	353 ± 109 (86 ± 27)
Lungs (g)	1.36±0.05 (0.311±0.021)	1.52±0.08** (0.344±0.020)*	1.43±0.06* (0.329±0.020)	1.38±0.12 (0.324±0.031)	1.38±0.15 (0.338±0.031)
Heart (g)	1.26±0.10 (0.288±0.014)	1.15±0.12 (0.262±0.028)	1.19±0.07 (0.273±0.011)	1.20±0.07 (0.282±0.022)	1.27±0.05 (0.311±0.021)
Liver (g)	13.8± 1.0 (3.15±0.09)	14.8± 1.0 (3.36±0.09)**	14.7± 1.5 (3.38±0.24)	14.4± 2.1 (3.34±0.22)	13.3± 1.2 (3.26±0.32)
Kidneys (g)	2.70±0.31 (0.617±0.049)	2.82±0.09 (0.641±0.034)	2.85±0.29 (0.655±0.065)	2.70±0.20 (0.633±0.051)	2.99±0.03 (0.732±0.034)**
Adrenals (mg)	54 ± 4 (12 ± 1)	61 ± 9 (14 ± 2)	57 ± 6 (13 ± 1)	55 ± 6 (13 ± 2)	48 ± 5 (12 ± 1)
Spleen (mg)	806 ± 91 (185 ± 21)	762 ± 101 (173 ± 20)	786 ± 53 (180 ± 12)	749 ± 69 (175 ± 15)	773 ± 60 (189 ± 14)
Testes (g)	2.70±0.14 (0.620±0.036)	2.68±0.76 (0.608±0.170)	2.80±0.56 (0.643±0.120)	2.93±0.14* (0.689±0.073)	2.88±0.23 (0.704±0.033)**
Prostate (mg)	931 ± 223 (213 ± 50)	732 ± 99 (166 ± 19)	640 ± 262 (146 ± 59)	772 ± 84 (180 ± 9)	795 ± 307 (194 ± 76)
Caecum(+)¹ (g)	5.08±0.64 (1.16±0.14)	5.66±1.02 (1.29±0.27)	5.73±0.92 (1.32±0.22)	6.07±1.31 (1.42±0.31)	6.00±0.89 (1.47±0.21)*
Caecum(-)² (g)	1.39±0.27 (0.321±0.067)	1.49±0.24 (0.338±0.047)	1.64±0.16 (0.378±0.047)	1.59±0.34 (0.372±0.070)	1.60±0.23 (0.391±0.061)
Carcass (g)	344 ± 15 (78.7 ± 1.2)	342 ± 20 (77.4 ± 1.5)	337 ± 19 (77.3 ± 2.6)	332 ± 27 (77.7 ± 1.6)	321 ± 19 (78.4 ± 1.1)

Mean ± S.D. The figure in the parenthesis means weight percent to the final body weight

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

¹) Caecum(+) Caecum weight with contents

²) Caecum(-) Caecum weight without contents

III. 考 察

雄の 750 mg/kg 群で 1 例，雌雄の 2,000 mg/kg 群で 17 例，計 18 例の途中死亡例があった。死亡例は大多数が検体の投与中から投与直後にかけて死亡しており，また，病理組織学的検査では死亡例の多くに肺の鬱血が認められており，これらの所見より，大量の検体の静注投与による循環不全が直接の死因と推定された。この他，死亡例に共通した所見として肝小葉中心性の空胞化と腎近位尿細管上皮細胞の空胞化が認められた。生存例では，EM 検査により脂肪滴とライソゾーム様顆粒の増

加があったが，光顕的には空胞化は認められず，また，腎近位尿細管上皮細胞の空胞化も軽度から中等度であり，いずれも死亡例に比較するとより軽度であった。死亡例に認められた肝および腎における空胞化は投与開始日に死亡した個体にもみられること，また，35 日間連投翌日の生存例に肝，腎における空胞化は死亡例に比較すると軽度であることなどから，死亡例に認められた肝および腎における空胞化は検体の一時的な貯留によるものと推定された。

AZT の投与により生存例の肝臓の重量増加と肝細胞

Table 16 Organ weights in female SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonam

Compound	Control	Azthreonam			
Dose (mg/kg)	P. saline	100	270	750	2,000
No. of animals	6	6	6	6	2
Brain (g)	1.84±0.09 (0.730±0.058)	1.91±0.03 (0.776±0.063)	1.87±0.05 (0.813±0.046)*	1.88±0.04 (0.758±0.061)	1.87 (0.743)
Pituitary (mg)	15 ± 2 (5.8± 0.7)	17 ± 2 (6.7± 1.0)	15 ± 2 (6.4± 0.9)	17 ± 2 (6.6± 0.8)	16 (6.3)
Thyroid (mg)	9 ± 1 (3.6± 0.6)	10 ± 2 (4.1± 1.0)	9 ± 1 (3.9± 0.6)	12 ± 4 (4.6± 1.5)	10 (3.8)
Thymus (mg)	301 ± 60 (119 ± 23)	286 ± 41 (116 ± 14)	246 ± 36 (107 ± 17)	275 ± 72 (112 ± 35)	338 (133)
Lungs (g)	1.07±0.08 (0.423±0.040)	1.05±0.06 (0.428±0.028)	1.04±0.09 (0.452±0.027)	1.07±0.06 (0.431±0.041)	1.11 (0.440)
Heart (mg)	822 ± 76 (324 ± 28)	765 ± 43 (311 ± 18)	728 ± 63* (317 ± 33)	833 ± 81 (334 ± 30)	828 (328)
Liver (g)	8.78±0.88 (3.46±0.22)	8.85±0.63 (3.59±0.24)	8.00±1.11 (3.46±0.27)	8.59±0.53 (3.45±0.14)	9.07 (3.58)
Kidneys (g)	1.85±0.18 (0.729±0.052)	1.76±0.09 (0.717±0.045)	1.63±0.11* (0.706±0.023)	1.82±0.16 (0.731±0.042)	1.86 (0.740)
Adrenals (mg)	71 ± 10 (28 ± 4)	67 ± 10 (27 ± 4)	63 ± 7 (28 ± 4)	64 ± 13 (26 ± 5)	67 (26)
Spleen (mg)	484 ± 56 (191 ± 22)	486 ± 101 (196 ± 35)	488 ± 102 (212 ± 43)	548 ± 70 (221 ± 33)	723 (286)
Ovaries (mg)	89 ± 12 (35 ± 5)	88 ± 14 (36 ± 5)	81 ± 5 (36 ± 4)	87 ± 8 (35 ± 1)	96 (38)
Uterus (mg)	539 ± 120 (212 ± 40)	505 ± 73 (205 ± 32)	510 ± 69 (222 ± 36)	482 ± 116 (194 ± 51)	590 (236)
Caecum(+)¹ (g)	3.67±0.36 (1.44±0.08)	3.76±1.48 (1.52±0.59)	3.99±1.37 (1.73±0.58)	4.31±0.88 (1.74±0.38)	6.93 (2.71)
Caecum(-)² (g)	0.99±0.15 (0.388±0.038)	1.14±0.14 (0.463±0.050)*	1.13±0.09 (0.491±0.053)**	1.27±0.18* (0.512±0.079)**	1.48 (0.583)
Carcass (g)	194 ± 12 (76.6± 1.8)	190 ± 17 (76.8± 1.2)	178 ± 12* (77.3± 1.2)	188 ± 16 (75.4± 2.5)	194 (76.8)

Mean ± S.D. The figure in the parenthesis means weight percent to the final body weight

\* P<0.05, \*\* P<0.01 Significant difference from control (STUDENT's t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH's t-test)

¹) Caecum(+) Caecum weight with contents

²) Caecum(-) Caecum weight without contents

の肥大が認められた。しかし、休薬による回復性が高く、また、血清生化学検査では肝障害を示す所見は認められず、上述のように、検体の一時的な貯留による変化と推定された。また、2,000 mg/kg 群の微細形態学的検査では肝細胞に脂質滴やライソゾーム様顆粒の増加と糸粒体の異型が観察されたが、これも検体の細胞内取り込みによる変化と考えられ、いずれも肝障害作用を示唆する所見とは考えられなかった。なお、血清生化学検査では血清 GOT、GPT 値の低下が認められたが、正常血清に投与検体液を添加しても、両酵素活性の障害は起こ

らず、検体による直接的な活性阻害ではなかった。このような血清 GOT、GPT 値の低下の原因については明らかではなかったが、セファロsporin系抗生物質による血清 GOT 値<sup>3)</sup>および GPT 値<sup>3,4)</sup>の低下作用と同様に検体の肝障害作用によるものとは考えられなかった。

270 mg/kg 以上の投与群で軟便、黄色便などが観察されたが、100 mg/kg より盲腸重量の増加が認められた他には、消化管に対する影響は認められず、抗生物質に共通な腸内細菌叢の変化<sup>5)</sup>に起因するものと考えられた。

Table 17 Histopathological findings in SD rats of a 35-day intravenous administration of Azthreonom

Sex	Findings	Compound	Control	Azthreonom											
		Dose (mg/kg)	P. Saline	100	270	750	2,000								
		No. of animals	10	10	10	10	6(5)								
		Grade*	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3
Male	Liver														
	Hypertrophy of hepatic cell		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 0 10 0	0 0 6 0								
	Kidney														
	Thickening of base. membrane of Bowman's cap.		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	4 0 2 0								
	Regeneration of tubular epithelium		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	4 0 2 0								
	Vacuolation of tubular epithelium		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 10 0 0	0 0 6 0								
	Spleen														
	Hyperplasia of white pulp		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 6 0 0								
	Extramedullary hematopoiesis		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 5 1 0								
Female	Liver														
	Hypertrophy of hepatic cell		10 0 0 0	10 0 0 0	8 2 0 0	0 0 10 0	0 0 5 0								
	Kidney														
	Vacuolation of tubular epithelium		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 10 0 0	0 0 5 0								
	Spleen														
	Hyperplasia of white pulp		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	3 7 0 0	0 0 5 0								
	Extramedullary hematopoiesis		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	7 3 0 0	0 5 0 0								
	Hyperactivity of germinal center		10 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	3 4 3 0	0 0 5 0								

\* Degree of histopathological changes : (0) No lesion, (1) slight, (2) moderate and (3) marked.

No remarkable findings in cerebrum, cerebellum, pituitary, eye, cochlea, thyroid, submaxillary gland, lung, thymus, heart, pancreas, stomach, duodenum, ileum, caecum, colon, adrenals, mesenteric lymphnode, prostate, seminal vesicle, testis, epididymis, ovary, uterus, urinary bladder and bone marrow.

The figure in the parenthesis means number of animals in the female group received 2,000 mg/kg of Azthreonom.

Table 18 Histopathological findings in SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day intravenous administration of Azthreonom

Sex	Findings	Compound	Control	Azthreonom											
		Dose (mg/kg)	P. Saline	100	270	750	2,000								
		No. of animals	6	6	6	6	4(2)								
		Grade*	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3
Male	Kidney														
	Thickening of base. membrane of Bowman's cap.		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	0 0 4 0								
	Regeneration of tubular epithelium		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	0 0 4 0								
Female	Kidney														
	Interstitial cell infiltration		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	1 1 0 0								
	Regeneration of tubular epithelium		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	0 2 0 0								
	Spleen														
	Hyperplasia of white pulp		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	0 2 0 0								

\* Degree of histopathological changes : (0) No lesion, (1) slight, (2) moderate and (3) marked.

No remarkable findings in cerebrum, cerebellum, pituitary, eye, cochlea, thyroid, submaxillary gland, lung, thymus, heart, liver, pancreas, stomach, duodenum, ileum, caecum, colon, adrenal, mesenteric lymphnode, ovary, uterus, urinary bladder and bone marrow.

The figure in the parenthesis means number of animals in female group received 2,000 mg/kg of Azthreonom.

Photo. 1 Hypertrophy of hepatic cell (male, 2,000 mg/kg,  $\times 80$ , H.E. stain)

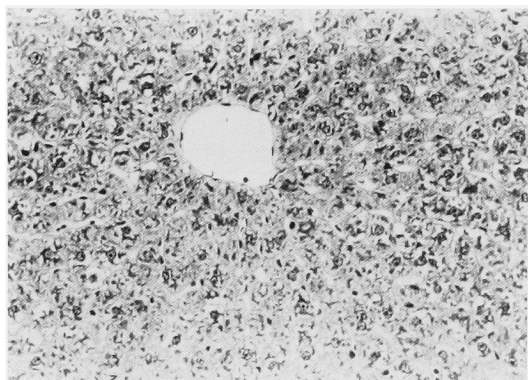


Photo. 2 Electron micrograph of hepatocyte. Increases in number of lipid droplets and lysosome-like particles, and heteromorphy of mitochondria (female, 2,000 mg/kg,  $\times 4,000$ , lead and uranium stain)

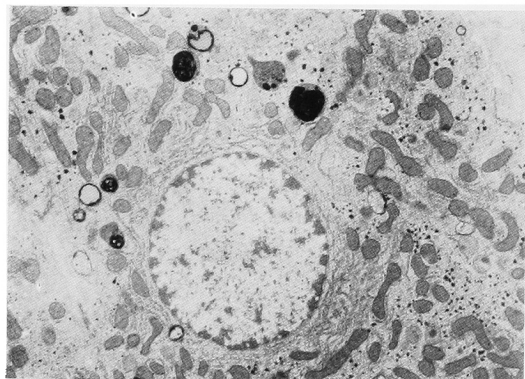


Photo. 3 Electron micrograph of Kupffer cell. Appearance of low dense large vacuoles and myelin-like structures (female, 2,000 mg/kg,  $\times 4,000$ , lead and uranium stain)

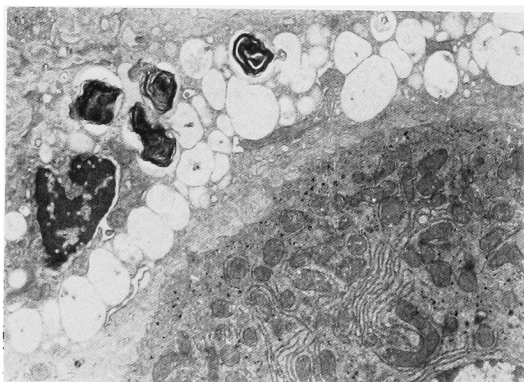


Photo. 4 Regeneration and vacuolation of renal tubular epithelium, and thickening of basement membrane and Bowmans' capsule (male, 2,000 mg/kg,  $\times 80$ , H.E. stain)

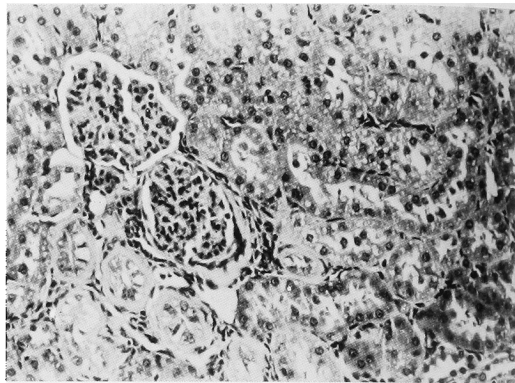


Photo. 5 Electron micrograph of renal proximal tubular epithelial cell. Increase in number of lysosome-like particles and vacuoles (female, 2,000 mg/kg,  $\times 4,000$ , lead and uranium stain)

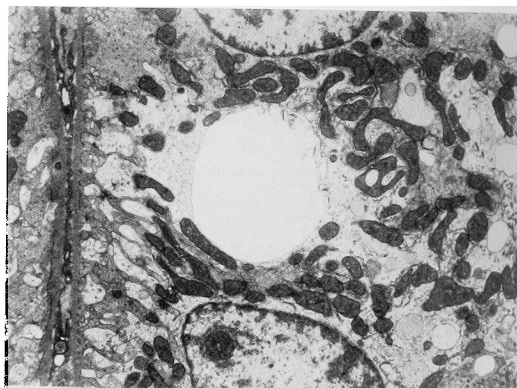


Photo. 6 Hyperactivity of splenic extramedullary hematopoiesis (male, 2,000 mg/kg,  $\times 40$ , H.E. stain)

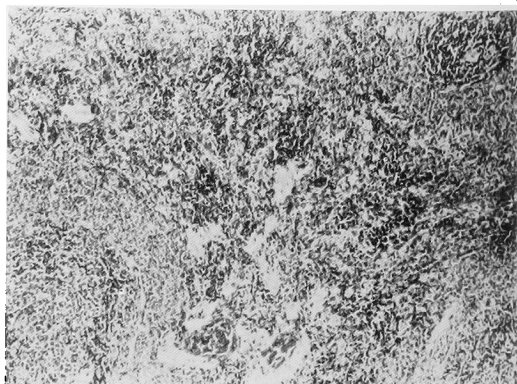


Photo.7 Hyperactivity of splenic germinal center (female, 2,000 mg/kg,  $\times 40$ , H. E. stain)

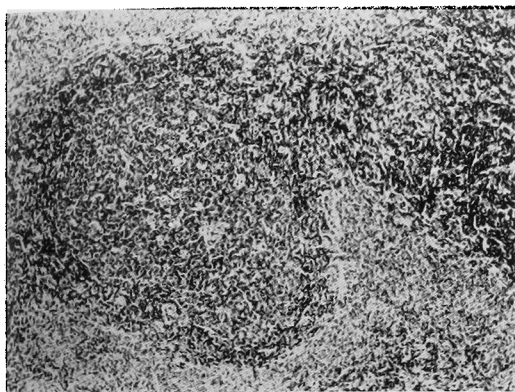


Photo.8 Vacuolation of hepatic cell (dead male, 2,000 mg/kg,  $\times 40$ , H. E. stain)

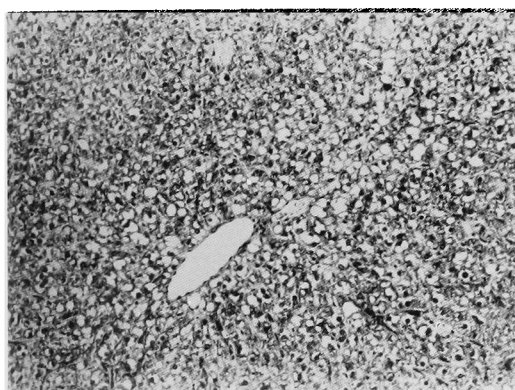
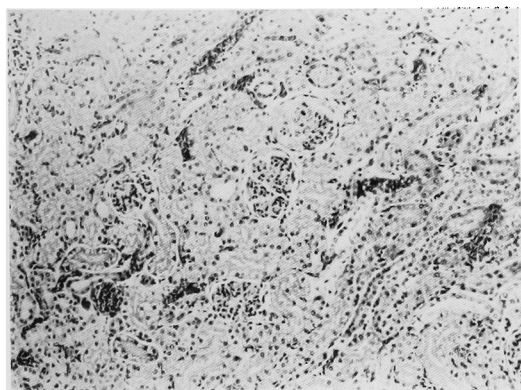


Photo.9 Vacuolation of renal tubular epithelium (dead male, 2,000 mg/kg,  $\times 40$ , H. E. stain)



750 mg/kg 以上の投与群で赤脾髄での髄外造血の亢進、白脾髄の増生および反応中心の活性化が認められた。赤脾髄での髄外造血の亢進は、雄の 2,000 mg/kg

群で赤血球数の軽度減少が認められており、赤血球数の減少に対応した反応と考えられた。検体投与による赤血球数の減少については、*in vitro* で血液 1 ml に対して AZT を 25 mg 添加し、37°C、45 分間静置しても溶血は起こらず、検体による直接の溶血によるものではなく、赤血球膜の構造変化による被貧食能の増加など他の原因によるものであろう。また、白脾髄の増生および反応中心の活性化の原因については明らかではなかった。

750 mg/kg 以上の投与群で腎近位尿細管上皮細胞の空胞化が全例に認められた。尿細管上皮細胞の空胞は脂質でもグリコーゲンでもないため、アミノグリコシド系抗生物質<sup>9)</sup>やセファロスポリン系抗生物質<sup>7)</sup>と同様に検体の尿細管上皮細胞内取り込みと貯留のためと推定された。この他に、雄の 2,000 mg/kg 群では腎近位尿細管の再生像と基底膜の肥厚が認められたが、血清生化学検査、尿検査とともに腎障害を示唆する所見はなく、本検体の腎臓に対する作用は比較的弱いと推定された。

一般症状観察により雌雄とも 2,000 mg/kg 群で検体注射直後に四肢および顔面の腫脹と四肢および耳介の発赤が一過性に観察された。これらは末梢血管の拡張によるものと推定されるが、このような症状は 750 mg/kg 以下では観察されなかった。

以上のように、AZT の 35 日間静脈内投与による所見はいずれも他の  $\beta$ -ラクタム系抗生物質に共通するものであり、また、休薬による回復性も高かった。また、270 mg/kg 以下では検体の毒性作用に起因すると考えられる所見は認められず、本実験条件下における毒性作用のない無影響量は 270 mg/kg と推定された。

(試験期間：昭和 57 年 2 月～昭和 58 年 8 月)

## 文 献

- 1) 根田公一、奥田香織、仲吉 洋：Azthreonam 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。Chemotherapy 33 (S-1) : 143~148, 1985
- 2) DAHMI, M. S. I. ; R. DRANGOVA, R. FARKAS, T. BALAZS & G. FEUER : Decreased aminotransferase activity of serum and various tissues in the rat after Cefazolin treatment. Clinical Chemistry 25 : 1263~1266, 1979
- 3) BALAZS, T. ; T. M. FARBER & G. FEUER : Drug-induced changes in serum alkaline phosphatase and alanine aminotransferase activities not related to hepatic injuries. Arch. Toxicol. suppl. 1 : 159~163, 1973
- 4) 松原尚志、戸内 明：ラット血中および肝内酵素活性に及ぼす Cefamandole の影響：GPT 活性低下機作の解析。Chemotherapy 27 : 740~748, 1979
- 5) 今井章浩：マウスの盲腸内細菌叢と盲腸内容の揮

- 発性脂肪酸組成におよぼす各種抗生物質投与の影響。Chemotherapy 26 : 345~350, 1978
- 6) LUFT, F. C. & S. A. KLEIT : Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside antibiotics in rats. J. Infect. Dis. 130 : 656~659, 1974
- 7) BARZA, M. · The nephro-toxicity of cephalosporins : An overview. J. Infect. Dis. 137 (Suppl.) : S 60~S 73, 1978

## TOXICITY STUDY ON AZTHREONAM (2)

### 35-DAY SUBACUTE TOXICITY BY INTRAVENOUS ROUTE IN RATS

HAJIME KAWASAKI, KOJI MIYOSHI, FUMIAKI UDA, AKIRA NOMURA,  
CHIEMI HIRAO and HIROSHI NAKAYOSHI  
NRI Life Science

A 35-day subacute toxicity study on Azthreonam (AZT), a newly developed monobactam antibiotic, was conducted by intravenous injection in Sprague-Dawley rats. The following dose-related changes in clinical laboratory examinations were detected in the animals received AZT: lower serum GOT level (100 mg/kg or more), soft and yellowish discoloration of feces (270 mg/kg or more), lower levels of hemoglobin and serum GPT (750 mg/kg or more), swelling and reddening of extremity after injection, increased water intake, decreased RBC count and death of 8 males and 9 females in highest dose group (2,000 mg/kg). Pathological examination revealed increased liver weight (100 mg/kg or more), hypertrophy of hepatocyte (270 mg/kg or more), increased spleen weight with such histopathological changes as hyperactivity of extramedullary hematopoiesis, hypertrophy of white pulp and hyperactivity of germinal center (750 mg/kg or more). The above dose-related changes except death of animals were returned to normal after 35 days cessation of treatment.