

Azthreonom (SQ 26,776) の安全性研究 (第3報)

ラットにおける皮下投与による亜急性毒性試験

川崎 一・三好幸二・野村 章・宇田文昭

丹羽卓朗・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 日間皮下投与による亜急性毒性試験を SD ラットを用いて行った。AZT 投与により 150 mg/kg 以上で摂水量の軽度な増加, 300 mg/kg 以上で赤血球数などの血色素系の減少, 肝臓, 盲腸重量の増加, カークス重量の減少, 600 mg/kg 以上で投与部位皮下の浮腫, 血清 Al-P 活性の低下, 腎臓重量の増加, 1,200 mg/kg 以上で投与部位皮下の出血, 血清 GPT 活性, 血糖値, 総蛋白量, 血清アルブミン値, Ca 値の低下, 脾臓重量の増加が認められた。2,400 mg/kg ではこれらの他に体重増加の抑制, 胸腺重量の減少がみられ, 雌雄ともに 10 例中 2 例が途中死亡した。病理組織学的検査では 600 mg/kg 以上で腎近位尿細管上皮細胞の空胞化と投与部位皮下の出血と炎症性所見, 1,200 mg/kg 以上で肝細胞の肥大, 赤脾髄での髄外造血の亢進, 2,400 mg/kg では骨髄での赤芽球系の軽度な増生が認められた。なお, 死亡例では肝細胞の空胞化, 腎近位尿細管直部の壊死が認められた。以上の所見はいずれも AZT の局所刺激作用に基づく変化と他の β -ラクタム系抗生物質に共通する変化であり, また, 休薬による回復性も高かった。また, 300 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 300 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 β -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¹⁾, ラットにおける 35 日間静脈内投与による亜急性毒性²⁾ 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 日間経皮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 AZ 040, 力価 947 μ g/mg) および溶解補助剤であるアルギニン (Lot 54811-009) は日本スクイブ株式会社より提供を受け使用した。投与量は用量設定のための予試験を参考にして決定した。予試験では局方注射用生理食塩水を対照として AZT を 1,000, 2,000, 4,000 mg/kg の投与量で 1 群雌雄各 5 匹の SD ラットに 14 日間皮下投与した。4,000 mg/kg 群では, 雌は全例, 雄は 5 例中 4 例死亡した。2,000 mg/kg 群では雌 1 例が死亡し, 生存例では背部の浮腫, 投与部位の硬結, 糞の黄色化, 軟便, 血色素量の減少, 肝臓, 腎臓および脾臓の重量増加が, また, 1,000 mg/kg 群では背部の浮腫, 糞の黄色化, 軟便, 血色素量の減少, 皮下, 肝臓および脾臓の重量増加が認められた。以上の結果よ

り本試験の最高用量を 2,400 mg/kg とし, 以下 1,200, 600, 300 および 150 mg/kg (公比 2) 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 μ) の後, 20 ml/kg の投与液量にて 1 日 1 回, 35 日間, ラットの背部皮下に注射した。なお, 対照群には局方生理食塩水を同様に注射した。

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 100 匹を選別し, 試験に供した。動物は室温 23 \pm 2 $^{\circ}$ C, 湿度 55 \pm 10%, 12 時間照明 (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 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 150 mg/kg 群, (3) AZT 300 mg/kg 群, (4) AZT 600 mg/kg 群, (5) AZT 1,200 mg/kg 群, (6) AZT 2,400 mg/kg 群の 6 群とし, 150 mg/kg 群と 2,400 mg/kg 群には雌雄各 10 匹, その他の群は雌雄各 16 匹を配した。

150 mg/kg 群と 2,400 mg/kg 群の 10 匹とその他の

群の 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 日間の検体投与後 35 日間の休薬を行なった。なお、150 mg/kg 群と 2,400 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的検査（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、投薬ならびに休薬した。

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：投薬第 29, 30 日および休薬第 29 日に尿量（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）の検出を行なった。

(3) 眼底検査：投薬第 29 日および休薬第 28~30 日に散瞳薬（ミドリン P[®]、参天製薬）処置後、小動物用眼底カメラ（興和株式会社、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（シアンメトヘモグロビン法：東亜医用電子製 HB-100 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（ライト染色法）、プロトンビン時間（Quick 1 段変法：DADE]社製 Auto-F 1 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（Al-P：PNP 法）、トランスアミナーゼ（GOT：Henry 変法および GPT：Wroblewski 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⁺⁺（OCPC 法）を ABBOTT VP Bicromatic Analyzer により、Na⁺ および K⁺（炎光光度法）を日立 775 型炎光光度計により、Cl⁻ を（電量滴定法）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脾臓、胃、十二指腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、顎下腺、甲状腺、骨髄、眼球（左側）、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（蝸牛および眼球はファン液）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 検査は各群の微細形態学検査用動物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ない、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ごとに平均値、標準偏差の算出を行ない、対照群と検体投与群との間の差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 の方法により行なった。その他、尿の定性検査に関する有意性の検定については χ^2 検定により行なった。

II. 結 果

1. 一般症状

投与期間中、雌雄ともに対照群、150 mg/kg 群および 300 mg/kg 群では雌の 300 mg/kg 群の 1 例が過誤により途中死亡した他は異常所見は認められなかった。600 mg/kg 群では背部の浮腫、投与部位の硬結、軟便、黄色便が少数例に認められた。1,200 mg/kg 群では 600 mg/kg 群とはほぼ同様の所見が認められたが、浮腫の部位が紫色を呈し、出血の疑われる場合があった。2,400 mg/kg 群では主として背部の浮腫、浮腫部位の紫色化、投与部位の硬結、軟便、黄色便が認められた。同群では投与第 3 日までに雌 2 例、雌 1 例、投与第 21 日に雌 1 例が死亡した。休薬期間中の雌雄では 600 mg/kg 群および 1,200 mg/kg 群で投与部位の硬結が投与期間中から継続してみられたが、休薬終了時までにはすべて回復し、他には異常所見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

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

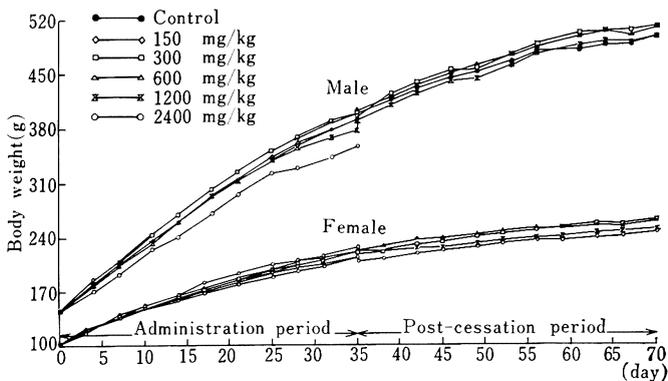


Fig. 2 Mean food intake changes in SD rats during the subacute toxicity study on Azthreonam by subcutaneous route

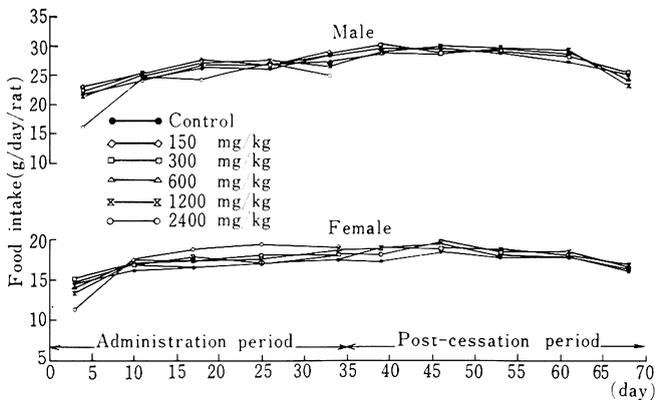
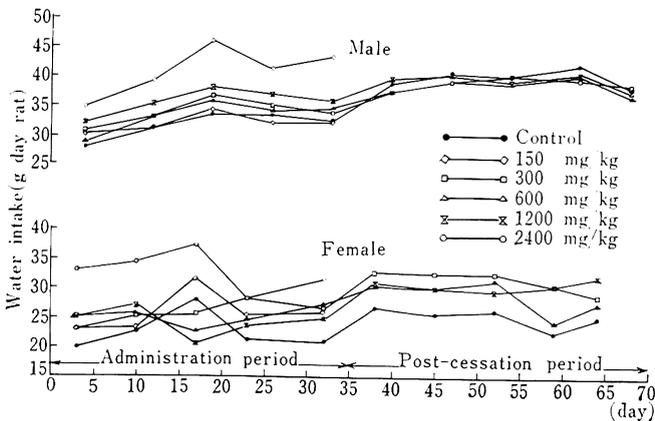


Fig. 3 Mean water intake changes in SD rats during the subacute toxicity study on Azthreonam by subcutaneous route



期間中、雌雄ともに 1,200 mg/kg 以下の投与群で、一時的かつ軽度な変動がみられる場合があったが、用量相関性はなく、検体投与に関連する変動はなかった。2,400 mg/kg 群では雌雄ともに体重増加の軽度な抑制が認められ、雄では 35 日間の体重増加量は対照群と比べて約 15% 減少した。休薬期間中は、雌雄ともに対照群との

間に差は認められなかった。

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。雌雄ともに投与期間および休薬期間を通じて軽度な変動がみられたが、検体投与の影響はほとんど認められなかった。

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

Compound		Control	Azthreonam				
Dose (mg/kg)		P. Saline	150	300	600	1,200	2,400
No. of animals		10	10	10	10	10	8
〈Quantitative〉 ¹⁾							
Volume (ml/kg/5 hr)		11±2	11±3	9±3	12±2	12±4	14±7
Na ⁺ (mEq/kg/5 hr)		0.67±0.37	0.64±0.29	0.43±0.23	0.78±0.20	0.58±0.39	0.98±0.57
K ⁺ (mEq/kg/5 hr)		1.18±0.23	1.13±0.29	0.96±0.35	1.26±0.33	1.31±0.90	1.53±0.65
〈Qualitative〉 ²⁾							
Physical appearance							
	Yellow	10	10	10	10	9	5
	Pale yellow	0	0	0	0	0	0
	Brownish yellow	0	0	0	0	1	3
	Turbid yellow	0	0	0	0	0	0
pH	5.0	0	0	0	1	3	3
	5.5	0	0	0	0	0	0
	6.0	0	3	1	2	2	2
	6.5	0	0	1	0	0	0
	7.0	3	2	4	3	3	1
	7.5	0	0	0	1	1	0
	8.0	6	5	3	2	1	2
	8.5	1	0	1	0	0	0
	9.0	0	0	0	1	0	0
Protein	—	7	3	1	0	5	4
	+	3	7	9	10	5	4
	++	0	0	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0	0	0
Glucose	—	10	10	10	10	10	8
	+	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0	0	0
Ketone body	—	10	10	10	10	10	8
	+	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0	0	0
Urobilinogen	—	10	10	10	10	10	8
	+	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0	0	0
Bilirubin	—	10	10	10	10	10	8
	+	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0	0	0
Occult blood	—	10	10	10	10	10	8
	+	0	0	0	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)

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、雄の 600 mg/kg 以下の投与群では対照群との間に検体投与の影響は認められなかったが、1,200 mg/kg 群では投与第 1 週から第 3 週にかけて、2,400 mg/kg 群では投与第 2 週以降投与終了時まで摂水量の増加が認

められた。雌では 150 mg/kg 群で投与第 4 週および第 5 週に、また 300 mg/kg 以上の投与群では投与期間中のほぼ全域にわたり、摂水量の増加が認められた。休薬期間中には、雌雄ともに対照群との間に検体投与に関する変動は認められなかった。

5. 眼底検査

Table 2 Urinalysis in female SD rats of a 35-day subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom				
Dose (mg/kg)	P. Saline	150	300	600	1,200	2,400
No. of animals	10	10	10	10	10	8
(Quantitative) ¹⁾						
Volume (ml/kg/5 hr)	6.9±2.8	7.2±2.8	7.0±4.6	4.3±2.6*	5.6±2.4	8.3±3.9
Na ⁺ (mEq/kg/5 hr)	0.18±0.11	0.28±0.16	0.28±0.18	0.28±0.09*	0.29±0.15	0.54±0.52
K ⁺ (mEq/kg/5 hr)	0.68±0.27	0.81±0.33	0.58±0.29	0.67±0.20	0.69±0.26	0.86±0.37
(Qualitative) ²⁾						
Physical appearance						
Yellow	10	10	10	8	8	6
Pale yellow	0	0	0	0	0	0
Brownish yellow	0	0	0	2	2	2
Turbid yellow	0	0	0	0	0	0
pH						
5.0	0	0	0	0	0	0
5.5	0	0	0	0	0	1
6.0	1	0	1	1	1	2
6.5	0	0	0	1	1	0
7.0	1	2	3	2	4	3
7.5	0	0	0	0	1	1
8.0	8	1	5	6	3	1
8.5	0	3	1	0	0	0
9.0	0	4	0	0	0	0
Protein						
—	8	9	8	8	10	7
+	2	1	2	2	0	1
++	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0
Glucose						
—	10	10	10	10	10	8
+	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0
Ketone body						
—	10	10	10	10	10	8
+	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0
Urobilinogen						
—	10	10	10	10	10	8
+	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0
Bilirubin						
—	10	10	10	10	10	8
+	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0
Occult blood						
—	10	10	10	10	10	8
+	0	0	0	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)

x P<0.05, **P<0.01

Significant difference from control (Chi-Square test)

投与試験群および回復試験群ともに検体投与による影響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。投与試験群および回復試験群ともに検体投与に関連すると思われる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 150 mg/kg 以上の群で MCH, MCV の増加, 300 mg/kg 以上の群で赤血球数の減少, 600 mg/kg 群以上ではこれらに加え、ヘマトクリット値, 血色素量の低下および網状赤血球比率の上昇, 1,200 mg/kg 群

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

Compound		Control	Azthreonam		
Dose (mg/kg)		P. Saline	300	600	1,200
No. of animals		6	6	6	6
〈Quantitative〉 ¹⁾					
Volume (ml/kg/5 hr)		12±4	10±4	9±1	11±3
Na ⁺ (mEq/kg/5 hr)		0.51±0.21	0.25±0.09*	0.29±0.13	0.27±0.09
K ⁺ (mEq/kg/5 hr)		1.16±0.43	0.90±0.20	1.08±0.22	1.15±0.43
〈Qualitative〉 ²⁾					
Physical appearance					
	Yellow	6	6	6	6
	Pale yellow	0	0	0	0
	Brownish yellow	0	0	0	0
	Turbid yellow	0	0	0	0
pH	5.0	0	0	0	0
	5.5	0	0	1	0
	6.0	0	3	2	1
	6.5	0	0	0	0
	7.0	2	1	1	3
	7.5	2	2	1	1
	8.0	2	0	1	1
	8.5	0	0	0	0
	9.0	0	0	0	0
Protein	—	3	1	1	1
	+	3	5	5	4
	++	0	0	0	1
	+++	0	0	0	0
Glucose	—	6	6	6	6
	+	0	0	0	0
	++	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0
Ketone body	—	6	6	6	6
	+	0	0	0	0
	++	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0
Urobilinogen	—	6	6	6	6
	+	0	0	0	0
	++	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0
Bilirubin	—	6	6	6	6
	+	0	0	0	0
	++	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0
Occult blood	—	6	6	6	6
	+	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)

以上ではさらに MCHC の低下がいずれも用量に相関して認められた。2,400 mg/kg 群ではこれらに加え血小板数および白血球数の増加, リンパ球比率の低下, 分節核球比率および桿状核球比率の上昇が認められた。雌では 1,200 mg/kg 群以上の投与群で白血球数の減少, ヘマトクリット値の低下, 血色素量の減少, MCHC の低

下および網状赤血球比率の上昇, 2,400 mg/kg 群ではこれらに加え MCH, MCV の上昇, 血小板数, 白血球数の増加, リンパ球比率の低下および分節核球比率の上昇が認められた。この他には用量に相関した変動は認められなかった。また, 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。

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

Compound	Azthreonom			
	Control	300	600	1,200
Dose (mg/kg)	P. Saline			
No. of animals	6	6	6	6
(Quantitative) ¹⁾				
Volume (ml/kg/5 hr)	6.5±4.9	6.8±2.6	6.4±3.5	6.5±4.3
Na ⁺ (mEq/kg/5 hr)	0.25±0.16	0.27±0.13	0.20±0.14	0.38±0.30
K ⁺ (mEq/kg/5 hr)	0.75±0.44	0.68±0.26	0.52±0.29	0.63±0.33
(Qualitative) ²⁾				
Physical appearance				
Yellow	6	6	6	6
Pale yellow	0	0	0	0
Brownish yellow	0	0	0	0
Turbid yellow	0	0	0	0
pH				
5.0	0	0	0	0
5.5	0	0	0	0
6.0	1	2	0	1
6.5	0	0	0	0
7.0	1	1	4	1
7.5	2	1	0	2
8.0	2	2	2	2
8.5	0	0	0	0
9.0	0	0	0	0
Protein				
-	0	0	0	2
+	5	6	6	4
++	1	0	0	0
###	0	0	0	0
Glucose				
-	6	6	6	6
+	0	0	0	0
++	0	0	0	0
###	0	0	0	0
Ketone body				
-	6	6	6	6
+	0	0	0	0
++	0	0	0	0
###	0	0	0	0
Urobilinogen				
-	6	6	6	6
+	0	0	0	0
++	0	0	0	0
###	0	0	0	0
Bilirubin				
-	6	6	6	6
+	0	0	0	0
++	0	0	0	0
###	0	0	0	0
Occult blood				
-	6	6	6	6
+	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 5 Hematological observations in male SD rats of a 35-day subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom					
		Dose (mg/kg)	150	300	600	1,200	2,400
No. of animals	P. Saline	10	10	10	10	10	8
RBC (10 ⁴ /mm ³)	872 ± 38	845 ± 30	838 ± 34*	805 ± 28**	759 ± 46**	537 ± 64**	
Hematocrit (%)	45.3 ± 2.0	44.9 ± 1.6	45.3 ± 1.7	42.9 ± 1.4**	40.9 ± 2.0**	35.8 ± 2.6**	
Hemoglobin (g/dl)	15.8 ± 0.8	15.8 ± 0.5	15.9 ± 0.6	15.1 ± 0.4 [†]	14.1 ± 0.7**	11.2 ± 0.9**	
MCH (pg)	18.2 ± 0.4	18.7 ± 0.5*	19.1 ± 0.6**	18.7 ± 0.6*	18.6 ± 0.6	21.0 ± 1.0 ^{††}	
MCV (μm ³)	51.9 ± 1.3	53.2 ± 1.1*	54.1 ± 1.5**	53.3 ± 1.6*	54.0 ± 2.2*	67.0 ± 4.6 ^{††}	
MCHC (%)	35.0 ± 0.3	35.1 ± 0.4	35.3 ± 0.4	35.1 ± 0.5	34.4 ± 0.5**	31.5 ± 0.7 ^{††}	
Reticulocyte (%)	32 ± 7	36 ± 6	35 ± 10	42 ± 8**	61 ± 17 ^{††}	187 ± 28 ^{††}	
Platelet (10 ³ /mm ³)	954 ± 75	909 ± 63	910 ± 84	928 ± 105	1,031 ± 155	1,331 ± 181 ^{††}	
Prothrombin time (sec)	11.4 ± 0.5	11.4 ± 0.5	11.7 ± 0.9	11.6 ± 0.8	11.3 ± 0.6	12.0 ± 1.0	
WBC (10 ² /mm ³)	100 ± 31	116 ± 36	92 ± 21	96 ± 20	104 ± 39	148 ± 28**	
Lymphocyte (%)	85 ± 5	88 ± 6	88 ± 6	87 ± 7	82 ± 2	66 ± 9 ^{††}	
Monocyte (%)	3 ± 2	3 ± 2	4 ± 3	3 ± 2	4 ± 1	6 ± 3	
Segneutrophil (%)	11 ± 4	8 ± 4	7 ± 3*	9 ± 4	13 ± 2	26 ± 6 ^{††}	
Stabneutrophil (%)	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 1	1 ± 1	1 ± 1*	
Eosinophil (%)	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 0	
Basophil (%)	0 ± 0	0 ± 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 6 Hematological observations in female rats of a 35-day subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom				
		Dose (mg/kg)	150	300	600	1,200
No. of animals	P. Saline	10	9	10	10	8
RBC (10 ⁴ /mm ³)	807 ± 40	800 ± 32	830 ± 32	797 ± 47	733 ± 50**	577 ± 70**
Hematocrit (%)	44.3 ± 1.7	43.8 ± 1.9	44.2 ± 1.7	43.6 ± 1.9	41.3 ± 1.9**	37.5 ± 2.8**
Hemoglobin (g/dl)	15.1 ± 0.6	15.0 ± 0.7	15.1 ± 0.5	14.8 ± 0.8	13.7 ± 0.7**	11.9 ± 1.1 ^{††}
MCH (pg)	18.7 ± 0.5	18.8 ± 0.5	18.2 ± 0.4*	18.5 ± 0.3	18.7 ± 0.5	20.7 ± 1.0 ^{††}
MCV (μm ³)	55.0 ± 1.5	54.7 ± 1.5	53.3 ± 1.5*	54.8 ± 1.2	56.4 ± 1.6	65.5 ± 4.7 ^{††}
MCHC (%)	34.1 ± 0.4	34.3 ± 0.4	34.2 ± 0.5	33.8 ± 0.6	33.2 ± 0.4**	31.6 ± 1.0 ^{††}
Reticulocyte (%)	22 ± 6	26 ± 9	24 ± 6	24 ± 8	51 ± 27 [†]	159 ± 72 ^{††}
Platelet (10 ³ /mm ³)	922 ± 101	853 ± 72	927 ± 86	906 ± 99	933 ± 111	1,057 ± 89**
Prothrombin time (sec)	11.0 ± 0.5	11.0 ± 0.5	11.4 ± 0.5	10.8 ± 0.5	11.2 ± 0.3	11.3 ± 0.5
WBC (10 ² /mm ³)	67 ± 16	100 ± 43 [†]	86 ± 31	87 ± 39	94 ± 39	103 ± 37 [†]
Lymphocyte (%)	87 ± 3	90 ± 5	89 ± 4	88 ± 7	89 ± 6	80 ± 6 [†]
Monocyte (%)	3 ± 2	2 ± 2	3 ± 2	2 ± 1	2 ± 1	4 ± 2
Segneutrophil (%)	8 ± 3	7 ± 4	7 ± 3	7 ± 5	7 ± 4	13 ± 5*
Stabneutrophil (%)	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 2
Eosinophil (%)	2 ± 2	1 ± 1	0 ± 1 [†]	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
Basophil (%)	0 ± 0	0 ± 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 7 Hematological observations in male SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom		
		Dose (mg/kg)	300	600
No. of animals	6	6	6	6
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	934 ± 30	946 ± 17	915 ± 23	971 ± 44
Hematocrit (%)	46.8 ± 1.0	45.9 ± 1.3	45.6 ± 1.1	48.5 ± 2.2
Hemoglobin (g/dl)	15.8 ± 0.3	15.8 ± 0.5	15.5 ± 0.4	16.5 ± 0.7
MCH (pg)	17.0 ± 0.4	16.6 ± 0.4	16.9 ± 0.3	17.0 ± 0.2
MCV (μm^3)	50.1 ± 1.9	48.5 ± 1.2	49.8 ± 0.7	49.9 ± 1.2
MCHC (%)	33.9 ± 0.6	34.3 ± 0.4	34.0 ± 0.5	34.0 ± 0.6
Reticulocyte (‰)	36 ± 5	36 ± 8	36 ± 11	35 ± 6
Platelet ($10^3/\text{mm}^3$)	951 ± 65	926 ± 55	1,008 ± 168	984 ± 82
Prothrombin time (sec)	10.8 ± 0.3	10.7 ± 0.1	10.7 ± 0.2	10.6 ± 0.2
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	93 ± 22	94 ± 24	103 ± 29	81 ± 15
Lymphocyte (%)	87 ± 5	88 ± 5	78 ± 10	84 ± 6
Monocyte (%)	3 ± 2	2 ± 2	5 ± 2	5 ± 2
Segneutrophil (%)	9 ± 4	8 ± 3	15 ± 8	9 ± 4
Stabneutrophil (%)	0 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 1
Eosinophil (%)	0 ± 1	1 ± 1	1 ± 2	1 ± 1
Basophil (%)	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 8 Hematological observations in female SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom		
		Dose (mg/kg)	300	600
No. of animals	6	6	6	6
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	840 ± 13	878 ± 51	900 ± 23**	880 ± 35+
Hematocrit (%)	44.3 ± 0.9	43.9 ± 1.3	45.0 ± 1.3	45.4 ± 0.9*
Hemoglobin (g/dl)	15.0 ± 0.3	15.1 ± 0.6	15.4 ± 0.5	15.6 ± 0.5*
MCH (pg)	17.9 ± 0.3	17.3 ± 0.4*	17.1 ± 0.6*	17.7 ± 0.7
MCV (μm^3)	52.7 ± 1.2	50.1 ± 1.7*	50.0 ± 1.7**	51.7 ± 1.7
MCHC (%)	34.0 ± 0.4	34.5 ± 0.4	34.3 ± 0.5	34.3 ± 0.4
Reticulocyte (‰)	28 ± 16	28 ± 12	20 ± 5	16 ± 3
Platelet ($10^3/\text{mm}^3$)	814 ± 188	895 ± 54	929 ± 44	867 ± 79
Prothrombin time (sec)	10.3 ± 0.1	10.1 ± 0.4	10.4 ± 0.4	10.0 ± 0.2*
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	80 ± 16	75 ± 23	76 ± 12	74 ± 14
Lymphocyte (%)	88 ± 5	90 ± 6	85 ± 6	85 ± 5
Monocyte (%)	3 ± 1	3 ± 3	4 ± 3	4 ± 2
Segneutrophil (%)	8 ± 5	7 ± 5	9 ± 5	9 ± 5
Stabneutrophil (%)	1 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	1 ± 1
Eosinophil (%)	0 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
Basophil (%)	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 subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom					
		Dose (mg/kg)	150	300	600	1,200	2,400
No. of animals	P. Saline	10	10	10	10	10	8
Al-P (IU/l)	324 ± 98	250 ± 83	295 ± 113	228 ± 65*	189 ± 51**	160 ± 39**	
GOT (IU/l)	93 ± 9	102 ± 23	85 ± 14	88 ± 11	83 ± 10*	100 ± 21	
GPT (IU/l)	34 ± 4	35 ± 4	33 ± 5	33 ± 5	28 ± 6*	24 ± 5**	
Glucose (mg/dl)	215 ± 12	199 ± 14*	204 ± 18	209 ± 18	195 ± 12**	167 ± 7**	
Protein (g/dl)	5.4 ± 0.1	5.4 ± 0.3	5.6 ± 0.3	5.5 ± 0.2	5.1 ± 0.2**	4.9 ± 0.2**	
Albumin (g/dl)	3.2 ± 0.1	3.2 ± 0.2	3.3 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.1 ± 0.1**	2.9 ± 0.1**	
A/G	1.49 ± 0.11	1.48 ± 0.08	1.46 ± 0.15	1.43 ± 0.09	1.49 ± 0.11	1.41 ± 0.10	
BUN (mg/dl)	18 ± 2	17 ± 3	18 ± 2	17 ± 2	17 ± 2	18 ± 5	
Creatinine (mg/dl)	0.61 ± 0.08	0.62 ± 0.09	0.59 ± 0.07	0.58 ± 0.04	0.54 ± 0.07	0.56 ± 0.09	
Uric acid (mg/dl)	1.5 ± 0.7	1.4 ± 0.4	1.2 ± 0.4	1.2 ± 0.4	1.3 ± 0.2	1.7 ± 0.2	
Bilirubin (mg/dl)	0.32 ± 0.16	0.27 ± 0.14	0.33 ± 0.18	0.31 ± 0.15	0.30 ± 0.13	0.27 ± 0.13	
Ca ⁺⁺ (mg/dl)	10.2 ± 0.3	10.1 ± 0.5	10.2 ± 0.3	9.9 ± 0.4	9.8 ± 0.2**	9.6 ± 0.3**	
Na ⁺ (mEq/l)	143 ± 1	144 ± 2	145 ± 1**	144 ± 2	145 ± 1**	145 ± 2	
K ⁺ (mEq/l)	4.6 ± 0.1	4.5 ± 0.4	4.4 ± 0.2*	4.4 ± 0.4	4.6 ± 0.3	5.0 ± 0.4*	
Cl ⁻ (mEq/l)	101 ± 1	101 ± 2	102 ± 1*	103 ± 1**	103 ± 1**	104 ± 2**	
Pi (mg/dl)	7.7 ± 0.7	7.7 ± 0.7	7.9 ± 0.8	7.5 ± 0.4	8.1 ± 0.6	9.1 ± 0.3**	

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 subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom					
		Dose (mg/kg)	150	300	600	1,200	2,400
No. of animals	P. Saline	10	9	10	10	8	
Al-P (IU/l)	172 ± 56	186 ± 78	165 ± 53	148 ± 57	155 ± 56	132 ± 32	
GOT (IU/l)	81 ± 8	92 ± 10**	83 ± 6	92 ± 12*	86 ± 11	92 ± 20	
GPT (IU/l)	29 ± 7	29 ± 5	27 ± 6	27 ± 2	21 ± 4*	23 ± 7	
Glucose (mg/dl)	202 ± 24	176 ± 17*	185 ± 16	185 ± 14	174 ± 18**	162 ± 16**	
Protein (g/dl)	5.3 ± 0.2	5.3 ± 0.2	5.3 ± 0.3	5.4 ± 0.3	5.2 ± 0.3	4.8 ± 0.3**	
Albumin (g/dl)	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.3 ± 0.2	3.2 ± 0.2	2.9 ± 0.2**	
A/G	1.65 ± 0.08	1.66 ± 0.08	1.67 ± 0.12	1.59 ± 0.13	1.62 ± 0.07	1.53 ± 0.11*	
BUN (mg/dl)	19 ± 3	20 ± 6	16 ± 1*	18 ± 2	17 ± 2	18 ± 3	
Creatinine (mg/dl)	0.57 ± 0.04	0.61 ± 0.07	0.55 ± 0.04	0.55 ± 0.06	0.54 ± 0.03*	0.55 ± 0.08	
Uric acid (mg/dl)	1.8 ± 0.4	1.7 ± 0.5	1.5 ± 1.1	2.0 ± 1.4	1.4 ± 0.4*	2.3 ± 0.9	
Bilirubin (mg/dl)	0.23 ± 0.05	0.22 ± 0.07	0.21 ± 0.06	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.07	0.25 ± 0.04	
Ca ⁺⁺ (mg/dl)	10.2 ± 0.3	10.2 ± 0.3	10.0 ± 0.2	10.2 ± 0.5	10.0 ± 0.3	9.8 ± 0.4*	
Na ⁺ (mEq/l)	139 ± 2	141 ± 1	140 ± 2	140 ± 3	141 ± 3	141 ± 3	
K ⁺ (mEq/l)	4.2 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.4 ± 0.4	4.2 ± 0.3	5.1 ± 0.5**	
Cl ⁻ (mEq/l)	103 ± 2	104 ± 1	103 ± 2	104 ± 3	104 ± 2	104 ± 2	
Pi (mg/dl)	6.9 ± 1.0	6.9 ± 1.6	6.9 ± 0.7	6.9 ± 1.4	7.3 ± 1.1	8.4 ± 0.9**	

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 subcutaneous administration of Azthreonom

Compound		Control	Azthreonom		
Dose (mg/kg)		P. Saline	300	600	1,200
No. of animals		6	6	6	6
Al-P	(IU/l)	224 ± 77	200 ± 41	189 ± 49	169 ± 66
GOT	(IU/l)	101 ± 18	98 ± 20	88 ± 24	94 ± 21
GPT	(IU/l)	37 ± 10	38 ± 9	33 ± 8	31 ± 9
Glucose	(mg/dl)	207 ± 23	200 ± 16	224 ± 48	206 ± 20
Protein	(g/dl)	5.6 ± 0.2	5.8 ± 0.3	5.8 ± 0.2	5.7 ± 0.1
Albumin	(g/dl)	3.2 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.1
A/G		1.37 ± 0.06	1.32 ± 0.03	1.34 ± 0.12	1.36 ± 0.10
BUN	(mg/dl)	19 ± 2	19 ± 2	21 ± 2	20 ± 3
Creatinine	(mg/dl)	0.71 ± 0.07	0.67 ± 0.05	0.71 ± 0.07	0.66 ± 0.07
Uric acid	(mg/dl)	2.4 ± 0.2	2.3 ± 0.5	2.9 ± 0.9	1.9 ± 0.3**
Bilirubin	(mg/dl)	0.33 ± 0.02	0.46 ± 0.09*	0.40 ± 0.12	0.44 ± 0.20
Ca ⁺⁺	(mg/dl)	9.4 ± 0.2	9.6 ± 0.3	9.8 ± 0.2*	9.5 ± 0.2
Na ⁺	(mEq/l)	144 ± 1	143 ± 1	143 ± 2	143 ± 1
K ⁺	(mEq/l)	4.9 ± 0.2	4.8 ± 0.4	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.3
Cl ⁻	(mEq/l)	103 ± 2	103 ± 3	102 ± 2	102 ± 1
Pi	(mg/dl)	5.5 ± 0.9	5.5 ± 0.6	5.7 ± 0.4	5.9 ± 0.5

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 subcutaneous administration of Azthreonom

Compound		Control	Azthreonom		
Dose (mg/kg)		P. Saline	300	600	1,200
No. of animals		6	6	6	6
Al-P	(IU/l)	193 ± 95	146 ± 30	136 ± 47	186 ± 67
GOT	(IU/l)	95 ± 57	75 ± 11	73 ± 5	79 ± 13
GPT	(IU/l)	46 ± 38	34 ± 4	29 ± 5	33 ± 6
Glucose	(mg/dl)	185 ± 14	185 ± 23	185 ± 17	180 ± 10
Protein	(g/dl)	5.7 ± 0.3	5.9 ± 0.4	5.7 ± 0.3	5.7 ± 0.3
Albumin	(g/dl)	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.5 ± 0.3
A/G		1.59 ± 0.04	1.55 ± 0.04	1.58 ± 0.10	1.60 ± 0.13
BUN	(mg/dl)	16 ± 3	16 ± 2	17 ± 2	18 ± 1
Creatinine	(mg/dl)	0.69 ± 0.06	0.68 ± 0.07	0.70 ± 0.04	0.69 ± 0.05
Uric acid	(mg/dl)	2.1 ± 0.8	1.6 ± 0.5	2.4 ± 0.6	2.0 ± 0.7
Bilirubin	(mg/dl)	0.31 ± 0.16	0.36 ± 0.15	0.30 ± 0.11	0.27 ± 0.04
Ca ⁺⁺	(mg/dl)	10.2 ± 0.4	10.3 ± 0.4	9.9 ± 0.4	10.0 ± 0.3
Na ⁺	(mEq/l)	144 ± 1	143 ± 2	143 ± 1	143 ± 1
K ⁺	(mEq/l)	4.3 ± 0.5	4.2 ± 0.4	4.5 ± 0.2	4.3 ± 0.2
Cl ⁻	(mEq/l)	106 ± 3	106 ± 3	107 ± 2	106 ± 2
Pi	(mg/dl)	4.8 ± 0.6	4.7 ± 0.9	4.6 ± 0.5	4.9 ± 0.5

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)

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 300 mg/kg 以上の投与群で Cl^- 値の上昇, 600 mg/kg 以上の投与群で $Al-P$ 値の低下, 1,200 mg/kg 以上の投与群で GPT 値および血糖値の低下, 総蛋白質およびアルブミン量の減少および Ca 値の低下, 2,400 mg/kg 群では K 値および無機リン値の上昇が認められた。雌では 1,200 mg/kg 以上の投与群で血糖値の低下, 2,400 mg/kg 群ではさらに総蛋白質およびアルブミン量の減少, A/G 比の低下, Ca 値の低下, K 値および無機リン値の上昇が認められた。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

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。投与試験群では雌雄ともに肝臓, 盲腸, 腎臓, 脾臓の絶対重量増加と雄ではカーカスの絶対重量の減少が, また雌では肝臓, 盲腸, 腎臓, 脾臓の絶対重量の増加がいずれも用量に相関して認められた。なお, 雄の 300 mg/kg 群および 600 mg/kg 群では肝臓の絶対重量の増加がみられたが, 1,200 mg/kg 以上の投与群では対照群との間に差は認められなかった。相対重量で比較すると雌では肝臓, 盲腸, カーカスが 300 mg/kg 以上, 腎

Table 13 Organ weight in male SD rats of a 35-day subcutaneous administration of Azthreonom

Compound	Control	Azthreonom				
	P. Saline	150	300	600	1,200	2,400
Dose (mg/kg)						
No. of animals	10	10	10	10	10	8
Brain (g)	2.02±0.08 (0.525±0.035)	2.04±0.08 (0.514±0.040)	2.06±0.05 (0.518±0.043)	1.99±0.06 (0.517±0.025)	1.97±0.07 (0.537±0.043)	2.00±0.05 (0.566±0.054)
Pituitary (mg)	13 ± 3 (3.4 ± 0.8)	14 ± 2 (3.6 ± 0.5)	14 ± 2 (3.4 ± 0.4)	14 ± 2 (3.5 ± 0.6)	11 ± 2 (2.9 ± 0.4)	12 ± 1 (3.4 ± 0.5)
Thyroid (mg)	10 ± 2 (2.6 ± 0.5)	11 ± 2 (2.9 ± 0.7)	12 ± 2 (2.9 ± 0.5)	10 ± 2 (2.5 ± 0.5)	10 ± 2 (2.7 ± 0.5)	10 ± 2 (2.8 ± 0.7)
Thymus (mg)	615 ± 72 (160 ± 27)	672 ± 148 (167 ± 30)	674 ± 102 (170 ± 30)	584 ± 90 (152 ± 27)	595 ± 192 (161 ± 45)	549 ± 182 (153 ± 43)
Lungs (g)	1.42±0.17 (0.367±0.025)	1.46±0.14 (0.367±0.029)	1.47±0.13 (0.368±0.024)	1.38±0.11 (0.356±0.027)	1.34±0.19 (0.365±0.046)	1.36±0.11 (0.383±0.026)
Heart (g)	1.29±0.20 (0.331±0.038)	1.27±0.14 (0.318±0.025)	1.22±0.13 (0.305±0.021)	1.20±0.06 (0.312±0.019)	1.17±0.11 (0.317±0.022)	1.16±0.10 (0.327±0.020)
Liver (g)	15.4 ± 1.6 (3.97 ± 0.23)	16.5 ± 2.2 (4.15 ± 0.46)	18.0 ± 2.8* (4.47 ± 0.51)*	19.0 ± 1.0** (4.92 ± 0.22)**	16.9 ± 3.0 (4.58 ± 0.48)**	15.3 ± 2.2 (4.30 ± 0.37)*
Kidneys (g)	2.84 ± 0.26 (0.735 ± 0.054)	2.98 ± 0.27 (0.747 ± 0.059)	3.05 ± 0.25 (0.764 ± 0.047)	2.93 ± 0.31 (0.758 ± 0.071)	2.96 ± 0.41 (0.805 ± 0.079)*	3.40 ± 0.40** (0.957 ± 0.094)**
Adrenals (mg)	60 ± 8 (15 ± 2)	60 ± 5 (15 ± 1)	63 ± 9 (16 ± 2)	62 ± 9 (16 ± 2)	59 ± 10 (16 ± 3)	59 ± 6 (17 ± 3)
Spleen (mg)	733 ± 116 (190 ± 28)	801 ± 118 (200 ± 22)	791 ± 125 (198 ± 24)	774 ± 102 (201 ± 27)	821 ± 161 (223 ± 36)*	1,456 ± 331** (408 ± 79)**
Testes (g)	3.02 ± 0.21 (0.783 ± 0.066)	2.98 ± 0.15 (0.750 ± 0.072)	2.97 ± 0.33 (0.749 ± 0.118)	2.98 ± 0.14 (0.771 ± 0.055)	3.04 ± 0.13 (0.831 ± 0.081)	3.02 ± 0.24 (0.853 ± 0.083)
Prostate (mg)	602 ± 152 (155 ± 36)	598 ± 156 (149 ± 32)	599 ± 114 (149 ± 22)	450 ± 78* (117 ± 22)**	489 ± 129 (132 ± 26)	478 ± 124 (135 ± 36)
Caecum(+)¹) (g)	5.99 ± 0.78 (1.54 ± 0.14)	6.71 ± 1.09 (1.69 ± 0.27)	7.96 ± 1.24** (2.00 ± 0.33)**	7.98 ± 1.62** (2.07 ± 0.44)**	8.20 ± 1.06** (2.23 ± 0.25)**	9.46 ± 1.88** (2.65 ± 0.47)**
Caecum(-)²) (g)	1.62 ± 0.21 (0.419 ± 0.049)	1.74 ± 0.35 (0.438 ± 0.093)	1.89 ± 0.32* (0.470 ± 0.055)*	1.82 ± 0.23 (0.471 ± 0.061)*	1.78 ± 0.38 (0.484 ± 0.091)	2.03 ± 0.40* (0.571 ± 0.087)**
Carcass (g)	292 ± 20 (75.5 ± 1.2)	300 ± 21 (75.2 ± 1.9)	297 ± 23 (74.2 ± 1.0)*	285 ± 12 (73.8 ± 1.1)**	272 ± 17* (73.9 ± 1.7)*	255 ± 26** (72.3 ± 9.6)

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)

¹) $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

¹) Caecum(+): Caecum weight with contents

²) Caecum(-): Caecum weight without contents

Table 14 Organ weight in female SD rats of a 35-day subcutaneous administration of Azthreonam

Compound	Control		Azthreonam				
	Dose (mg/kg)	P. Saline	150	300	600	1,200	2,400
No. of animals		10	10	9	10	10	8
Brain (g)		1.79±0.09 (0.832±0.069)	1.81±0.08 (0.848±0.058)	1.79±0.06 (0.809±0.058)	1.83±0.04 (0.826±0.079)	1.79±0.06 (0.813±0.083)	1.81±0.04 (0.803±0.044)
Pituitary (mg)		11 ± 2 (5.2 ± 0.9)	12 ± 2 (5.6 ± 1.1)	11 ± 2 (5.1 ± 0.7)	14 ± 2* (6.1 ± 0.5)	12 ± 2 (5.4 ± 0.8)	13 ± 2 (5.8 ± 1.0)
Thyroid (mg)		8 ± 1 (3.7 ± 0.6)	8 ± 2 (3.9 ± 0.7)	8 ± 2 (3.4 ± 0.7)	8 ± 2 (3.7 ± 0.9)	8 ± 1 (3.5 ± 0.7)	9 ± 2 (4.0 ± 1.1)
Thymus (mg)		503 ± 89 (233 ± 33)	481 ± 76 (225 ± 33)	469 ± 85 (210 ± 33)	508 ± 116 (227 ± 45)	495 ± 88 (222 ± 31)	420 ± 55* (186 ± 21)**
Lungs (g)		1.00±0.11 (0.463±0.052)	1.04±0.12 (0.485±0.029)	1.04±0.11 (0.468±0.034)	1.05±0.14 (0.470±0.043)	1.06±0.11 (0.480±0.047)	1.02±0.09 (0.453±0.039)
Heart (mg)		746 ± 76 (345 ± 20)	746 ± 83 (348 ± 26)	803 ± 50 (362 ± 30)	767 ± 96 (343 ± 18)	776 ± 64 (350 ± 24)	815 ± 56* (361 ± 22)
Liver (g)		8.54±1.15 (3.94±0.32)	8.58±0.88 (4.00±0.33)	9.02±0.94 (4.05±0.30)	9.48±1.03 (4.25±0.26)*	9.87±1.18* (4.43±0.29)**	10.61±0.83** (4.70±0.40)**
Kidneys (g)		1.61±0.18 (0.744±0.039)	1.66±0.20 (0.774±0.067)	1.72±0.20 (0.773±0.078)	1.76±0.16 (0.789±0.055)*	1.82±0.22* (0.820±0.073)*	2.34±0.23** (1.036±0.093)**
Adrenals (mg)		65 ± 8 (30 ± 3)	68 ± 13 (32 ± 6)	65 ± 5 (29 ± 3)	69 ± 9 (31 ± 5)	63 ± 6 (28 ± 2)	69 ± 7 (31 ± 4)
Spleen (mg)		498 ± 46 (231 ± 14)	482 ± 59 (226 ± 37)	474 ± 71 (212 ± 24)	542 ± 107 (244 ± 47)	578 ± 73** (260 ± 27)*	821 ± 177** (362 ± 70)**
Ovaries (mg)		87 ± 17 (40 ± 6)	91 ± 14 (42 ± 6)	88 ± 16 (40 ± 7)	95 ± 13 (43 ± 9)	96 ± 14 (43 ± 5)	95 ± 9 (42 ± 5)
Uterus (mg)		426 ± 112 (199 ± 58)	447 ± 121 (211 ± 65)	417 ± 112 (189 ± 54)	434 ± 61 (195 ± 27)	491 ± 122 (222 ± 59)	461 ± 103 (204 ± 45)
Caecum (+) ¹⁾ (g)		4.56±1.03 (2.10±0.32)	4.80±1.16 (2.24±0.51)	5.10±0.57 (2.29±0.20)	5.13±0.72 (2.31±0.30)	5.27±1.08 (2.37±0.45)	6.20±0.59** (2.75±0.33)**
Caecum (-) ²⁾ (g)		1.13±0.19 (0.522±0.074)	1.18±0.15 (0.550±0.062)	1.21±0.21 (0.546±0.109)	1.30±0.15* (0.585±0.043)*	1.24±0.15 (0.558±0.052)	1.42±0.23* (0.627±0.105)*
Carcass (g)		161 ± 13 (74.5 ± 1.8)	161 ± 12 (75.2 ± 1.4)	166 ± 10 (74.5 ± 1.2)	166 ± 15 (74.4 ± 2.1)	163 ± 15 (73.4 ± 1.8)	162 ± 8 (71.8 ± 1.2)**

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

臓、脾臓が 1,200 mg/kg 以上の投与群で、また、雌では肝臓、腎臓、盲腸が 600 mg/kg 以上、脾臓が 1,200 mg/kg 以上の投与群で変動した。この他に雌の 2,400 mg/kg 群では胸腺の相対重量の減少があったが、雄では認められなかった。回復試験群では検体投与に関連する変動は認められず、投与試験群に認められた所見はいずれも回復した。

(2) 剖検および病理組織学的検査

1) 生存例

肝臓、腎臓、脾臓、骨髄、投与部位には以下に示す所見 (Table 17~19) が認められたが、脳、眼球、蝸牛、下垂体、甲状腺、顎下腺、胸腺、心臓、肺、副腎、脾

臓、胃、十二指腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、膀胱、前立腺および精嚢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では 600 mg/kg 以上、雌では 1,200 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：肉眼的には肝臓の肥大が雄の 1,200 mg/kg 群の 1 例に認められただけであったが、病理組織学的には肝細胞の肥大 (Photo. 1) が雌では 2,400 mg/kg 群の全例、雌では 1,200 mg/kg 以上の投与群に用量に相関して認められた。肝細胞の肥大は小葉中心性であった

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

Compound	Control		Azthreonom		
	Dose (mg/kg)	P. Saline	300	600	1,200
No. of animals		6	6	6	6
Brain (g)		2.21±0.06 (0.437±0.026)	2.12±0.09 (0.406±0.025)	2.11±0.09* (0.422±0.025)	2.11±0.08* (0.413±0.025)
Pituitary (mg)		16±1 (3.2±0.3)	15±1* (2.8±0.3)*	15±2 (2.9±0.4)	14±2 (2.8±0.4)
Thyroid (mg)		14±3 (2.7±0.3)	13±3 (2.4±0.5)	13±2 (2.6±0.3)	14±2 (2.7±0.4)
Thymus (mg)		467±91 (93±21)	488±72 (94±17)	409±172 (82±32)	448±87 (88±16)
Lungs (g)		1.60±0.09 (0.317±0.035)	1.50±0.08 (0.286±0.012)	1.62±0.12 (0.325±0.026)	1.52±0.12 (0.297±0.013)
Heart (g)		1.46±0.10 (0.289±0.013)	1.50±0.18 (0.286±0.021)	1.40±0.09 (0.281±0.027)	1.54±0.10 (0.302±0.015)
Liver (g)		17.9±1.7 (3.54±0.19)	19.6±2.8 (3.72±0.33)	18.9±1.6 (3.78±0.15)*	19.3±2.3 (3.76±0.30)
Kidneys (g)		3.12±0.29 (0.620±0.087)	3.28±0.24 (0.628±0.057)	3.10±0.21 (0.621±0.033)	3.67±0.67 (0.721±0.142)
Adrenals (mg)		61±8 (12±2)	61±6 (12±1)	62±6 (12±1)	67±13 (13±2)
Spleen (mg)		874±128 (173±24)	946±93 (181±19)	829±79 (166±20)	845±80 (166±20)
Testes (g)		3.28±0.29 (0.648±0.029)	3.08±0.17 (0.590±0.055)*	2.88±0.61 (0.571±0.094)	3.58±0.65 (0.706±0.157)
Prostate (mg)		811±192 (161±42)	968±133 (185±24)	686±266 (137±51)	816±254 (160±53)
Caecum (+) ¹ (g)		6.18±0.85 (1.23±0.20)	6.17±0.53 (1.18±0.13)	7.17±0.82 (1.45±0.24)	6.80±1.09 (1.33±0.21)
Caecum (-) ² (g)		1.48±0.20 (0.294±0.050)	1.63±0.28 (0.311±0.057)	1.77±0.29 (0.357±0.074)	1.74±0.14* (0.341±0.031)
Carcass (g)		397±28 (78.4±1.2)	405±34 (77.3±5.3)	390±26 (78.0±0.4)	396±25 (77.5±1.0)

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 (SPIN-WELCH'S t-test)

¹ Caecum (+): Caecum weight with contents

² Caecum (-): Caecum weight without contents

が、脂肪沈着あるいはPAS陽性物質の増加は認められなかった。なお、EM検査では1,200 mg/kg以上の投与群で肝細胞内に脂質滴および粗面小胞体の軽度な増加(Photo. 2)が認められた。回復試験群では検体投与による影響は認められなかった。

腎臓：投与試験群では肉眼的な腎臓肥大が雄では1,200 mg/kg以上、雌では600 mg/kg以上の投与群に、また、病理組織学的には近位尿管上皮細胞の空胞化(Photo. 3)が雌雄の600 mg/kg以上の投与群に用量に相関して認められた。尿管上皮細胞にみられた空胞はSudan III染色、PAS反応ともに陰性であった。その他、中等度以上の近位尿管上皮細胞の再生像の増加、

尿管基底膜およびボーマン嚢基底膜の肥厚、間質細胞の浸潤が1,200 mg/kg以上の投与群に認められた。なお、EM検査では600 mg/kg以上の投与群で近位尿管上皮細胞内の空胞、1,200 mg/kg群でライソゾーム様顆粒の増加(Photo. 4)および幼若型上皮細胞の出現頻度の増加が認められた。回復試験群では病理組織学的検査で尿管上皮の軽度な再生像が1,200 mg/kg群の1例にみられた他には異常は認められなかった。

脾臓：投与試験群では肉眼的に脾腫が雄の2,400 mg/kg群、雌の1,200 mg/kg以上の投与群に、病理組織学的には赤芽球系の髓外造血の亢進、ヘモジリン沈着の減少(Photo. 5)が1,200 mg/kg以上の投与群

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

Compound	Control	Azthreonam			
		P. Saline	300	600	1,200
Dose (mg/kg)					
No. of animals	6	6	6	6	6
Brain (g)	1.87±0.05 (0.772±0.079)	1.92±0.06 (0.740±0.103)	1.96±0.05* (0.773±0.042)	1.88±0.08 (0.756±0.040)	
Pituitary (mg)	15±3 (6.1±1.3)	15±3 (5.8±1.2)	14±2 (5.6±0.7)	15±2 (6.1±0.9)	
Thyroid (mg)	7±1 (3.0±0.3)	10±1** (4.0±0.6)**	10±3 (3.7±0.9)	9±3 (3.7±1.4)	
Thymus (mg)	339±76 (140±33)	316±29 (121±17)	373±83 (147±32)	339±70 (137±30)	
Lungs (g)	1.12±0.15 (0.457±0.049)	1.08±0.12 (0.410±0.029)	1.12±0.11 (0.439±0.027)	1.07±0.07 (0.430±0.026)	
Heart (mg)	807±49 (332±28)	806±69 (308±26)	809±81 (318±21)	822±40 (332±23)	
Liver (g)	9.01±1.33 (3.67±0.20)	9.49±1.32 (3.61±0.29)	9.08±0.79 (3.57±0.19)	8.84±0.39 (3.56±0.18)	
Kidneys (g)	1.68±0.19 (0.690±0.065)	1.71±0.26 (0.652±0.062)	1.67±0.14 (0.657±0.041)	1.72±0.10 (0.693±0.044)	
Adrenals (mg)	72±8 (30±4)	70±11 (27±5)	66±16 (26±5)	68±12 (27±5)	
Spleen (mg)	522±64 (214±21)	521±91 (198±26)	568±89 (223±28)	575±60 (232±24)	
Ovaries (mg)	81±7 (33±3)	87±8 (33±5)	98±13* (38±4)*	88±13 (36±5)	
Uterus (mg)	628±223 (262±114)	590±330 (230±130)	586±121 (232±57)	487±31 (197±17)	
Caecum (+) ¹ (g)	4.24±0.79 (1.73±0.20)	4.71±0.65 (1.81±0.29)	5.22±0.75 (2.06±0.34)	5.06±0.82 (2.04±0.32)	
Caecum (-) ² (g)	1.12±0.39 (0.447±0.107)	1.17±0.32 (0.439±0.063)	1.28±0.18 (0.503±0.058)	1.19±0.17 (0.479±0.062)	
Carcass (g)	189±20 (77.3±0.9)	204±32 (77.1±1.8)	198±12 (77.8±1.3)	191±7 (76.7±1.6)	

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)

¹ P<0.05, ² P<0.01 Significant difference from control (SPIN-WELCH'S t-test)

¹ Caecum (+): Caecum weight with contents

² Caecum (-): Caecum weight without contents

に、白脾髄の増生、反応中心の活性化 (Photo. 6) が 2,400 mg/kg 群に認められた。なお、回復試験群では異常は認められなかった。

骨髄：投与試験群の雌雄 2,400 mg/kg 群の全例に赤芽球の軽度な増生 (Photo. 7) が病理組織学的に認められたが、回復試験群では異常は認められなかった。

投与部位：投与試験群では肉眼的に皮下出血あるいは血腫が、また、病理組織学的には皮下の出血、担鉄細胞の出現、肉芽組織の形成が 600 mg/kg 以上の投与群で用量に相関して認められた。回復試験群では肉眼的に投与部位の褐色斑が認められる場合があったが、病理組織学的には担鉄細胞の出現と肉芽組織の残存と皮下出血が

少数例に軽度認められただけであった。

2) 死亡例

300 mg/kg 群の雌 1 例には胸腔内および皮下に大量の出血があった他は肉眼的にも病理組織学的にも異常は認められず、投与時の過誤による失血死と判断された。2,400 mg/kg 群の死亡例には肝細胞の空胞化 (Photo. 8)、腎近位尿管上皮細胞の空胞化 (Photo. 9)、近位尿管直部の壊死 (Photo. 10)、投与部位皮下組織内の出血が共通して認められた。

III. 考 察

AZT 投与により 2,400 mg/kg 群の雌雄各 2 例が死亡した。病理組織学的には投与局所の出血、肝細胞の空

Table 17 Histopathological findings in male SD rats of a 35-day subcutaneous administration of Azthreonam

Findings	Compound	Azthreonam																																			
	Dose (mg/kg)	P. Saline						150						300						600						1,200						2,400					
	No. of animals	10						10						10						10						10						8					
	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								
Liver																																					
Hypertrophy of hepatic cell		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0								
Kidney																																					
Interstitial cell infiltration		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	1	0	0								
Regeneration of tubular epithelium		9	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0	3	6	1	0	1	4	2	1												
Thickening of Bowman's capsule		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	5	2	1	0												
Vacuolation of tubular epithelium		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	1	9	0	0	0	4	6	0	0	0	0	8												
Thickening of base. membrane of renal tubule		9	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0	2	3	2	1												
Spleen																																					
Hyperplasia of white pulp		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	1	6	1	0												
Extramedullary hematopoiesis		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	3	4	3	0	0	0	1	7												
Hyperactivity of germinal center		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	1	7	0	0												
Decrease in hemosiderin deposition		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	3	7	0	0	0	0	8	0												
Bone marrow																																					
Hyperplasia of erythropeis		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	8	0	0												
Injection site																																					
Hemorrhage		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	4	6	0	0	0	1	9	0	0	0	1	7												
Granulation tissue		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	2	8	0	0	0	0	8												
Siderophore		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	9	1	0	0	0	3	7	0	0	1	5	2												
Foreign body		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	3	7	0	0	0	8	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, thymus, heart, pancreas, stomach, duodenum, ileum, caecum, colon, mesenteric lymph node, adrenal, prostate, seminal vesicle, testis, epididymis and urinary bladder.

Photo. 1 Hypertrophy of hepatic cell (female, 2,400 mg/kg, $\times 80$, H. E. stain)

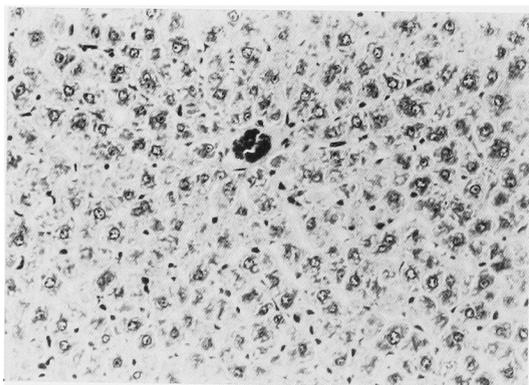


Photo. 2 Electron micrograph of hepatocyte. Increases in number of lipid droplets and rough endoplasmic reticulum (female, 1,200 mg/kg, $\times 4,000$, lead and uranium stain)

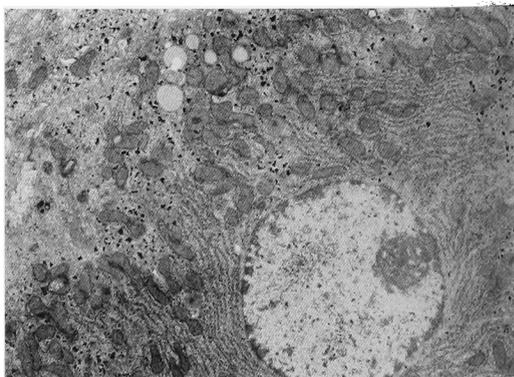


Table 18 Histopathological findings in female SD rats of a 35-day subcutaneous administration of Azthreonom

Findings	Compound	Control	Azthreonom														
	Dose (mg/kg)	P. Saline	150			300			600			1,200			2,400		
	No. of animals	10	10			9			10			10			8		
	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					
Liver																	
Hypertrophy of hepatic cell		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	0 10 0 0	0 1 7 0										
Kidney																	
Regeneration of tubular epithelium		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	9 1 0 0	3 2 3 0										
Thickening of Bowman's capsule		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	5 3 0 0										
Vacuolation of tubular epithelium		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	3 7 0 0	0 7 3 0	0 0 2 6										
Thickening of base. membrane of renal tubule		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	3 4 1 0										
Spleen																	
Hyperplasia of white pulp		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 5 3 0										
Extramedullary hematopoiesis		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	2 5 3 0	0 0 5 3										
Hyperactivity of germinal center		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 8 0 0										
Decrease in hemosiderin deposition		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	2 8 0 0	0 0 8 0										
Bone marrow																	
Hyperplasia of erythropoieis		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	10 0 0 0	0 8 0 0										
Injection site																	
Hemorrhage		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	5 5 0 0	0 2 7 1	0 0 2 6										
Granulation tissue		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	2 4 4 0	0 0 3 5										
Siderophore		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	1 5 4 0	0 0 5 3										
Foreign body		10 0 0 0	10 0 0 0	9 0 0 0	10 0 0 0	2 8 0 0	0 8 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, thymus, heart, lung, pancreas, stomach, duodenum, ileum, caecum, colon, mesenteric lymph node, adrenal, ovary, uterus and urinary bladder.

Photo. 3 Regeneration and vacuolation of renal proximal tubular epithelium (male, 2,400 mg/kg, $\times 80$, H. E. stain)

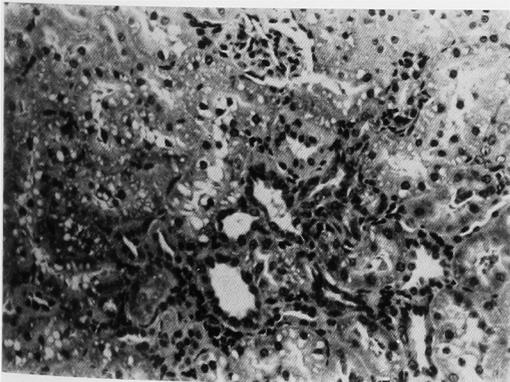


Photo. 4 Electron micrograph of renal proximal tubular epithelial cell. Appearance of vacuoles and increase in number of lysosome-like particles (female, 1,200 mg/kg, $\times 4,000$, lead and uranium stain)

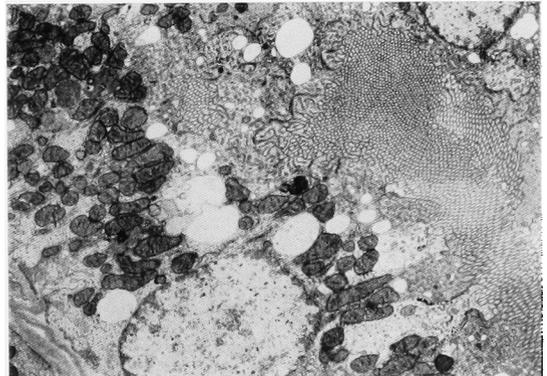


Table 19 Histopathological findings in SD rats of a 35-day recovery test after the 35-day subcutaneous administration of Azthreanam

Sex	Findings	Compound	Control	Azthreanam											
		Dose (mg/kg)	P. Saline	300			600			1,200					
		No. of animals	6	6			6			6					
		Grade*	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3								
Male	Injection site														
	Hemorrhage		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	4 1 1 0								
	Granulation tissue		6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 1 0	0 4 2 0									
	Siderophore		6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 1 0	0 3 3 0									
Female	Kidney														
	Regeneration of tubular epithelium		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	5 1 0 0									
	Injection site														
	Hemorrhage		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	5 1 0 0									
	Granulation tissue		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	3 2 1 0									
	Siderophore		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	2 4 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, thymus, heart, lung, liver, spleen, pancreas, stomach, duodenum, ileum, caecum, colon, mesenteric lymph node, adrenal, ovary, uterus, bone marrow and urinary bladder.

Photo.5 Hyperactivity of splenic extramedullary hematopoiesis (male, 2,400 mg/kg, ×40, H. E. stain)

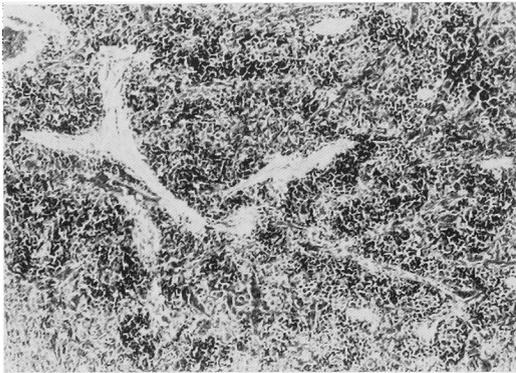
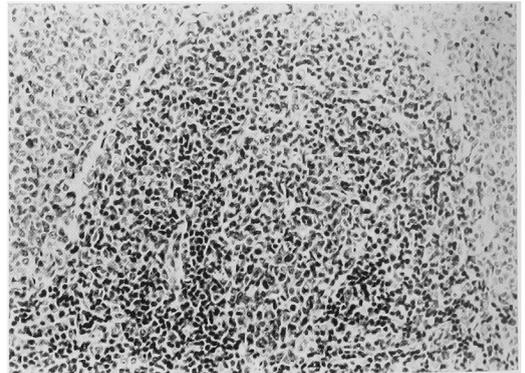


Photo.6 Hyperactivity of splenic germinal center (male, 2,400 mg/kg, ×80, H. E. stain)



胞化と腎近位尿管直部の壊死が認められ、直接の死因としては腎障害によるものと推定されたが、このような腎臓の変化は後述の如く、検体の直接的な腎障害作用によるものではなく、主として投与局所の炎症などによる全身状態の悪化に伴って出現した現象と考えられた。

300 mg/kg 以上の投与群で肝臓重量の増加があり、1,200 mg/kg 以上では病理組織学的には肝細胞の肥大が認められたが、血清生化学検査では GOT 活性、GPT

活性に肝障害を示唆する変動は認められなかった。したがって、本検体による肝細胞の肥大あるいは肝臓重量の増加は検体による肝障害による変化とは考えられず、AZT の静脈内投与試験²⁾ でみられたと同様に検体の肝細胞への取り込みが原因と推察された。また、肝臓の微細形態学検査では 1,200 mg/kg 群で粗面小胞体の増加傾向が認められ、肝臓での蛋白質合成の亢進が推察されたが、血清総蛋白量およびアルブミン量は検体投与によ

Photo.7 Slight hypertrophy of erythropoiesis in bone marrow (male, 2,400 mg/kg, $\times 160$, H. E. stain)

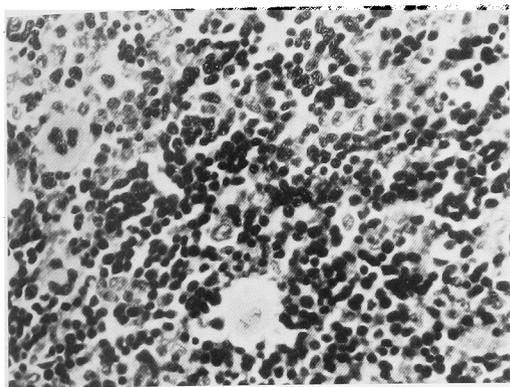


Photo.9 Necrosis and vacuolation of renal proximal tubular epithelium (dead male, 2,400 mg/kg, $\times 80$, H. E. stain)

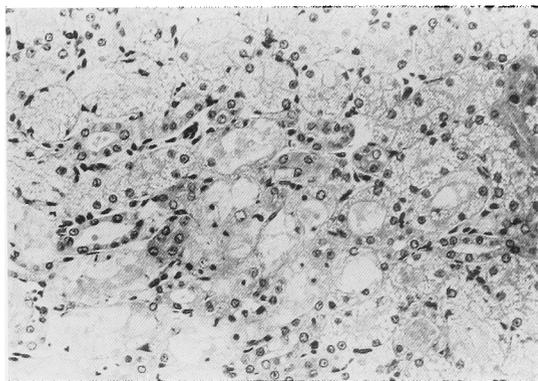


Photo.8 Vacuolation of hepatic cell (dead male, 2,400 mg/kg, $\times 40$, H. E. stain)

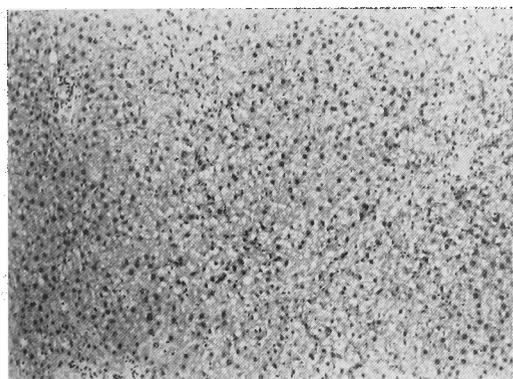
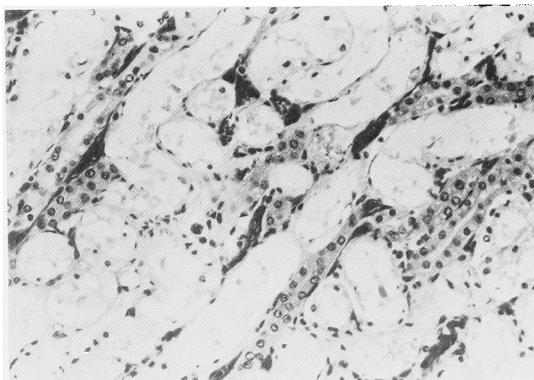


Photo.10 Necrosis at renal proximal tubule (pars recta) (dead male, 2,400 mg/kg, $\times 80$, H. E. stain)



り減少する傾向が認められた。従って、肝臓における蛋白質合成の亢進は血清蛋白量の減少に伴う代償性的変化と考えられた。血清総蛋白量の減少は投与部位に検体投与による重篤な炎症がみられており、投与部位における蛋白質の漏出が原因と考えられた。なお、GPT活性の低下が 1,200 mg/kg および 2,400 mg/kg 群の雌雄で認められたが、同様の所見は AZT の 35 日間静脈内投与²⁾によっても認められており、セファロsporin系抗生物質³⁻⁵⁾の場合と同様に検体の肝障害によるものとは考えられなかった。

投与期間中、雌雄とも 600 mg/kg 以上の投与群で軟便および黄色便が観察され、剖検時に盲腸重量の増加が雄の 300 mg/kg 以上の投与群および雌の 2,400 mg/kg 群で認められた。これらの所見は抗生物質を投与した場合に一般的にみられる変化であり、腸内細菌叢の変化⁶⁾に起因するものと考えられた。

この他、600 mg/kg 以上の投与群では雌雄とも背部の浮腫および皮下出血が認められた。投与終了時の剖検あるいは病理組織学的検査でも投与部位の出血とそれに伴う担鉄細胞の出現、肉芽組織の形成、血中分節核球比率の上昇が認められ、本検体による局所刺激作用が示唆された。一方、血液学検査では 300 mg/kg 以上の投与群で赤血球数の減少、600 mg/kg 以上の投与群でヘマトクリット値の低下および血色素量の減少、網状赤血球比率の増加が、また、病理組織学的検査では脾臓における髄外造血の亢進ならびに骨髄における赤芽球の増生が認められたが、これらはいずれも投与部位の出血とそれによる貧血傾向に対応した代償性的変化であると考えられた。なお、300 mg/kg 群では赤血球数の減少は極めて軽度であった。

雄では 1,200 mg/kg 以上、雌では 600 mg/kg 以上の投与群で腎相対重量の増加が、また、病理組織学的検

査では雌雄とも 600 mg/kg 以上の投与群で近位尿管上皮細胞の空胞化が認められた。尿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⁷⁾やセファロsporin系抗生物質⁸⁾と同様に検体の尿管上皮細胞内取り込みと貯留のためと推察された。なお、死亡例では近位尿管直部に壊死が認められたが、生存例では血清生化学検査でも尿検査でも腎の機能障害を示唆する所見は認められず、また、AZTの2,000 mg/kgの35日間静脈内投与²⁾によっても腎障害は認められていないことから、死亡例に認められた尿管の壊死は投与局所の強い炎症と出血などによる全身状態の悪化に伴う二次的な変化と考えられた。脾臓では白脾髄の増生および反応中心の活性化が2,400mg/kg群の雌雄で認められたが、原因は明らかではなかった。

以上のように AZT の 35 日間皮下投与による主な所見は本検体の局所刺激作用による変化と他の β -ラクタム系抗生物質に共通する変化であったが、いずれも休薬による回復性が高かった。また、300 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 300 mg/kg と推定された。

(試験期間：昭和 57 年 9 月～昭和 58 年 12 月)

文 献

- 1) 根田公一, 奥田香織, 仲吉 洋: Azthreanam の安全性研究 (第 1 報) ラットおよびマウスにお

ける急性毒性試験。Chemotherapy 33 (S-1): 143~148, 1985

- 2) 川崎 一, 三好幸二, 宇田文昭, 野村 章, 平尾地恵見, 仲吉 洋: Azthreanam 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。Chemotherapy 33(S-1): 149~168, 1985
- 3) DAHMI, M. S. I.; R. DRANGOVA, R. FARKAS, T. BALAZS & G. FEUER: Decreased aminotransferase activity of serum and various tissue in the rat after Cefazolin treatment. Clinical Chemistry 25: 1263~1266, 1979
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 今井章浩, 森下けい子: マウス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の影響。Chemotherapy 26: 345~350, 1978
- 7) LUFT, F. C. & S. A. KLEIT: Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside antibiotics in rats. J. Infect. Dis. 130: 656~659, 1974
- 8) BARZA, M.: The nephro-toxicity of cephalosporins: An overview. J. Infect. Dis. 137 (suppl.): S 60~S 73, 1978

TOXICITY STUDY ON AZTHREONAM (3)
35-DAY SUBACUTE TOXICITY BY SUBCUTANEOUS ROUTE IN RATS

HAJIME KAWASAKI, KOJI MIYOSHI, AKIRA NOMURA, FUMIAKI UDA
TAKURO NIWA, 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 subcutaneous injection in Sprague-Dawley rats. The following dose-related changes in clinical laboratory examinations were detected in the animals received AZT: slightly increased water intake (150 mg/kg or more), decreased RBC count (300 mg/kg or more), subcutaneous edema and hemorrhage at the injection site, lower levels of Al-P, GPT, glucose, total protein, albumin and Ca (600 mg/kg or more). Organ weight analysis showed increased weights of liver, caecum, carcass (300 mg/kg or more), kidney (600 mg/kg or more) and spleen (1,200 mg/kg or more). Histopathologic examination revealed vacuolation in the renal proximal tubular epithelial cells, subcutaneous inflammation at the injection site (600 mg/kg or more) splenic extramedullary hyper-hematopoiesis and hypertrophy of hepatocyte (1,200 mg/kg or more). Other than mentioned above, depressed growth, decreased thymus weight, hyperplasia of erythropoiesis in the bone marrow and each of two deaths out of ten of both sexes, which showed vacuolation of hepatocyte and renal proximal tubular epithelium, and necrosis of renal proximal tubule (pars recta), were observed in the animals received 2,400 mg/kg of AZT. The above dose-related changes except dead animals were returned to normal after 35 days cessation of treatment.