

Imipenem/Cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) の 安全性に関する研究 (第5報)

MK-0787 の腎毒性に及ぼす MK-0791 の防御効果

白居敏仁・久野博司・来原兄忠・小林速雄
日本メルク萬有株式会社研究所

ウサギに imipenem (MK-0787) と cilastatin sodium (MK-0791) の配合比を連続的に変化させて投与し, MK-0787 の腎毒性に及ぼす MK-0791 の抑制効果を腎の機能および器質両面から検討した。MK-0787 の 160 mg/kg は, 腎の機能および器質の障害を生じ, 明らかな腎毒性発現用量であった。MK-0787 と MK-0791 の配合群では, MK-0791 の用量が増加するに従い MK-0787 の腎毒性は軽減もしくは防御された。MK-0787 と MK-0791 の配合比が 1:0.6 以上の場合には, 腎の障害性は全く認められなかった。

以上の結果から, MK-0787 と MK-0791 の臨床使用配合比 1:1 は, 腎毒性に関して安全域が十分にあることが確認された。

Imipenem (MK-0787) は米国メルク社研究所で開発された新規の carbapenem 系抗生物質で, 広範囲の菌種に対し, 強い抗菌力を示す。Cilastatin sodium (MK-0791) は腎の dehydropeptidase-I 阻害剤であり, MK-0787 の代謝を抑制して MK-0787 の尿中回収率を増加させるために開発された^{1),2)}。

MK-0787 に関する広範な毒性試験が各種動物を用いて実施され, 腎以外の臓器には毒性所見は認められていない³⁾。MK-0787 の腎毒性の程度は, 使用する動物種により異なりウサギでは cephaloridine と同程度であり, サルでは cephaloridine より軽度であった⁴⁾。MK-0787 の腎毒性は, MK-0791 との配合により軽減または防御され, 両薬剤を 1:1 の配合率で 6 か月間投与した場合でも MK-0787 による腎毒性は認められていない⁵⁾。さらにその防御作用は, MK-0791 の投与総量ではなく, 両薬剤の配合率に依存することが確認されている⁴⁾。

今回, 我々は両薬剤の配合率を 1:0.5 から 1:1 まで連続的に変えて投与し, MK-0787 の腎毒性に及ぼす MK-0791 の抑制効果の閾値を検討したので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用薬物

Imipenem (MK-0787) および cilastatin sodium (MK-0791) は, いずれも米国メルク社研究所より入手した。MK-0787 溶液は 0.3% 炭酸水素ナトリウムと混和し, 注射用蒸留水に加熱溶解した。MK-0787/MK-0791 溶液は, MK-0791 を予め注射用蒸留水に溶解し, それを MK-0787 と 0.3% 炭酸水素ナトリウムに混和したのち加熱溶解した。調製液は, 0.22 ミクロンの

Millex[®]-GS フィルターを用いて濾過し, 調製後 30 分以内に使用した。

2. 使用動物および飼育方法

(1) 種と系統: KBL: JW ウサギ (日本白色種, 北山ラベス株式会社)

(2) 実験開始時の週齢と体重: 雄が 18 週齢で 3.0~3.4 kg, 雌が 20 週齢で 3.5~4.0 kg であった。

(3) 飼育環境: 恒温恒湿室 (22±2°C, 55±10%), 12時間照明 (午前7時から午後7時) で代謝ケージに個別に収容飼育した。

(4) 飼料および水道水: 固型飼料 (CR-I, 日本クレア株式会社) および水道水を自由に摂取させた。

3. 実験計画

群構成は Table 1 のとおりである。なお, MK-0787 および MK-0791 の投与量は遊離化合物の量で表わした。所定の濃度の薬液を耳介辺縁静脈より, 注入ポンプを用いて毎分約 1.8 ml の速度で単回投与した。

すべての動物を毎日観察するとともに, 投与前と投与 48 時間後に体重を測定した。

24 時間尿を投与前, 投与 24 時間後および 48 時間後に氷冷下に採取し, 尿量の測定, 定性検査 (糖, 蛋白, 潜血と尿沈渣) および *N*-acetyl- β -*D*-glucosaminidase (NAG, Lockwood および Bosmann⁶⁾ の変法), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP, Szasz の変法) と lysozyme (Litwack⁷⁾ の変法) の尿中酵素活性の測定を実施した。

すべての動物から投与前および投与 24 時間後と 48 時間後に無麻酔下で耳介動脈より採血し, 血清尿素窒素

Table 1 Experimental group

Compounds	Dosage level (mg/kg)	Dosing volume (ml/kg)	Number of animals	
			Males	Females
Control (saline)	0	2.7	3	3
MK-0787/MK-0791	160/0	2.7	3	3
	160/80	2.7	3	3
	160/96	2.7	3	3
	160/112	2.7	3	3
	160/128	2.7	3	3
	160/144	2.7	3	3
	160/160	2.7	3	3

Table 2 Renal function in females in a pretest period

Group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg)							
	0/0	160/0	160/80	160/96	160/112	160/128	160/144	160/160
No. of animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Urine volume, ml/24hrs	199.3±19.4 ^a	194.5±132.0	175.0±71.3	256.3±89.0	173.8±17.8	158.8±64.0	107.0±49.5	125.7±32.7
Protein, -	0 ^b	0	1	1	0	0	0	0
±	1	2	2	0	1	0	0	0
+ 1	2	1	0	2	2	3	3	3
Glucose, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Occult blood, -	2	3	3	3	3	3	3	2
±	0	0	0	0	0	0	0	1
+ 1	1	0	0	0	0	0	0	0
Erythrocytes, -	2	3	3	3	3	3	3	3
+ 1	1	0	0	0	0	0	0	0
Leukocytes, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Epithelial cells, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Casts, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Lysozyme, mg/24hrs	0.13±0.01 ^a	0.06±0.07	0.05±0.08	0.12±0.14	0.06±0.07	0.35±0.21	0.02±0.03	0.31±0.51
mg/l	0.6±0.2	0.5±0.4	0.4±0.7	0.5±0.6	0.4±0.4	2.8±2.0	0.3±0.6	2.1±3.5
NAG, units ^c /24hrs	0.60±0.58	1.21±0.72	1.63±0.76	3.68±2.51	0.95±1.16	1.74±1.20	1.13±0.29	0.77±0.69
units/l	3±3	7±1	10±5	13±6	6±7	13±12	11±3	5±5
γ-GTP, IU/24hrs	3.91±1.74	2.03±0.60	2.37±0.46	2.54±0.59	3.48±2.81	2.99±0.24	2.62±1.08	2.27±0.08
IU/l	19±8	14±9	14±3	11±5	20±16	20±6	31±27	19±5
BUN, mg/100ml	21.4±8.4	20.2±1.3	18.9±2.8	20.3±1.7	19.5±0.5	17.7±3.3	20.4±2.6	19.7±1.9
Creatinine, mg/100ml	1.41±0.28	1.28±0.13	1.23±0.08	1.44±0.16	1.20±0.06	1.22±0.08	1.32±0.15	1.50±0.12

^a : Mean ± S.D.^b : Number of animals^c : 1 unit = 1 μM of *p*-nitrophenol per hour

- : Negative or normal, ± : Very slight, + 1 : Slight

Table 3 Renal function in females at 24 hours post-dosing

Group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg)							
	0/0	160/0	160/80	160/96	160/112	160/128	160/144	160/160
No. of animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Urine volume, ml/24hrs	202.0±10.6 ^a	296.0±111.0	162.0±64.1	196.7±51.0	129.3±10.0	105.2±23.4	134.5±70.2	149.0±52.6
Protein, -	0 ^b	0	0	0	0	0	0	0
±	1	0	1	0	1	1	0	0
+1	1	0	0	3	1	2	3	3
+2	1	3	2	0	1	0	0	0
Glucose, -	3	1	3	3	3	3	3	3
±	0	2	0	0	0	0	0	0
Occult blood, -	3	2	3	3	3	3	3	2
±	0	1	0	0	0	0	0	1
Erythrocytes, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Leukocytes, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Epithelial cells, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Casts, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Lysozyme, mg/24hrs	0.18±0.15	0.13±0.08	0.03±0.02	0.03±0.02	0.28±0.43	0.06±0.03	0.11±0.07	0.06±0.04
mg/l	0.9±0.7	0.5±0.4	0.2±0.1	0.2±0.1	2.1±3.3	0.6±0.4	0.8±0.3	0.4±0.1
NAG, units ^c /24hrs	1.68±1.28	27.19±17.53	10.91±2.58	6.16±3.80	35.84±44.97	8.43±5.17	7.80±3.06	7.97±2.42
units/l	8±6	86±24	84±63	35±30	275±346	75±32	62±12	54±5
γ-GTP, IU/24hrs	3.85±1.29	22.49±14.92 ^a	3.77±1.00	3.00±0.40	2.20±0.29	2.37±1.10	3.16±0.51	3.32±0.95
IU/l	19±8	71±39 ^a	26±10	16±3	17±2	22±6	29±18	23±5
BUN, mg/100ml	24.3±6.2	56.4±2.8 ^a	22.0±3.5	22.1±2.1	21.4±0.4	17.6±3.7 ^a	20.1±0.6	18.2±2.2 ^a
Creatinine, mg/100ml	1.30±0.33	3.00±0.15 ^a	1.29±0.19	1.35±0.04	1.24±0.07	1.22±0.10	1.24±0.22	1.29±0.23

^a : Mean±S.D.

^b : Number of animals

^c : 1 unit = 1 μM of *p*-nitrophenol per hour

- : Negative or normal, ± : Very slight, + : Slight, + 2 : Moderate

^{*} : Statistically significantly different from the controls at $p \leq 0.05$ (LSD Test)

(BUN, 酵素法) およびクレアチニン (JAFPE 法) を測定した。

すべての動物を投与 48 時間後にネプタール® 麻酔下に放血致死させ、腎を摘出して臓器重量を測定したのち、病理学的検査に供した。尿細管上皮細胞の壊死を以下の基準に従い評価した；著変なし(スコア 0), 極めて軽度(スコア 1, 1~10% の尿細管の変化), 軽度(スコア 2, 10~25% の尿細管の変化), 中等度(スコア 3, 25~50% の尿細管の変化), 高度(スコア 4, 50~75% の尿細管の変化) および重度(スコア 5, 75% 以上の尿細管の変化)。

実験結果は、分散分析および最小有意差限界法 (LSD Test) を用いて統計学的に解析した。すべての統計学的検定は有意水準 5% で実施した。

II. 実験成績

1. 一般状態の観察

一般状態の観察ではいずれの群にも異常は認められなかった。

2. 尿検査

160/0 mg/kg 群の投与 24 時間後と 48 時間後の尿量は、対照群の 1.4 倍から 1.9 倍であり、投与 24 時間後の雄の尿量の増加は統計学的に有意であった (Table

Table 4 Renal function in females at 48 hours post-dosing

Group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg)							
	0/0	160/0	160/80	160/96	160/112	160/128	160/144	160/160
No. of animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Urine volume, ml/24hrs	131.3±74.0*	210.0±95.7	164.7±64.3	164.3±67.9	117.3±28.6	103.3±55.3	122.3±26.5	93.3±9.9
Protein, -	0 ^b	0	0	0	0	0	0	0
±	1	0	1	0	1	0	1	0
+ 1	2	0	0	2	1	2	1	2
+ 2	0	1	2	1	1	1	1	1
+ 3	0	2	0	0	0	0	0	0
Glucose, -	3	0	3	3	3	3	3	3
±	0	1	0	0	0	0	0	0
+ 1	0	1	0	0	0	0	0	0
+ 2	0	1	0	0	0	0	0	0
Occult blood, -	3	0	2	3	3	3	3	3
±	0	1	0	0	0	0	0	0
+ 1	0	2	1	0	0	0	0	0
Erythrocytes, -	3	3	2	3	3	3	3	3
±	0	0	1	0	0	0	0	0
Hyaline casts, -	3	3	3	3	3	3	3	3
±	0	0	0	0	0	0	0	0
Fine granular casts, -	3	2	3	3	3	3	3	3
±	0	1	0	0	0	0	0	0
+ 1	3	2	3	3	3	3	3	3
Leukocytes, -	0	0	0	0	0	0	0	0
+ 1	0	1	0	0	0	0	0	0
Lysozyme, mg/24hrs	0.02±0.02	0.08±0.06	0.03±0.01	0.10±0.10	0.07±0.07	0.10±0.03	0.15±0.08	0.06±0.06
mg/l	0.1±0.2	0.6±0.6	0.2±0.2	0.5±0.4	0.5±0.5	1.2±0.8	1.1±0.5	0.6±0.4
NAG, units ^c /24hrs	0.08±0.13	36.76±12.94*	2.33±3.15	0.13±0.23	0.94±1.22	0.18±0.62	0.63±0.55	0.07±0.12
units/l	0±1	209±142*	12±13	1±2	7±8	12±12	6±5	1±1
γ-GTP, IU/24hrs	1.58±0.85	19.78±5.13*	3.86±0.91	2.34±0.28	3.58±1.32	3.91±1.35	3.56±0.78	2.51±0.72
IU/l	12±2	117±86*	26±10	15±4	30±7	41±9	3±10	27±6
BUN, mg/100ml	22.5±7.4	79.4±13.5*	19.7±2.7	23.5±2.4	21.6±1.7	19.1±2.3	20.1±1.8	21.9±0.9
Creatinine, mg/100ml	1.36±0.23	3.89±0.56*	1.16±0.09	1.31±0.09	1.19±0.04	1.20±0.13	1.21±0.18	1.39±0.18

^a : Mean ± S.D.

^b : Number of animals

^c : 1 unit = 1 μM of *p*-nitrophenol per hour

- : Negative or normal, ± : Very slight, + 1 : Slight, + 2 : Moderate, + 3 : Severe

* : Statistically significantly different from the controls at $p \leq 0.05$ (LSD Test)

Table 5 Renal function in males in a pretest period

Group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg)							
	0/0	160/0	160/80	160/96	160/112	160/128	160/144	160/160
No. of animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Urine volume, ml/24hrs	161.3±66.0 ^a	127.8±73.6	168.5 ^b	144.7±40.3	114.0±34.7	126.7±44.7	151.3±23.1	135.3±77.5
Protein, -	0 ^c	1	0	0	0	0	0	0
±	1	1	1	0	0	1	1	1
+ 1	1	1	1	2	3	1	1	1
+ 2	1	0	0	1	0	1	1	1
Glucose, -	3	3	2	3	3	3	3	3
Occult blood, -	3	2	2	3	3	3	3	3
±	0	1	0	0	0	0	0	0
Erythrocytes, -	3	3	2	3	3	3	3	3
Leukocytes, -	3	3	2	3	3	3	3	3
Epithelial cells, -	3	3	2	3	3	3	3	3
Casts, -	3	3	2	3	3	3	3	3
Lysozyme, mg/24hrs	0.31±0.11	1.05±1.58	0.86	0.48±0.68	0.11±0.05	0.37±0.27	1.24±1.58	0.82±1.25
mg/l	2.4±1.9	7.2±9.8	4.5	2.8±3.7	1.0±0.6	2.8±1.9	7.7±9.2	4.1±5.4
NAG, units ^d /24hrs	0.84±0.89	4.56±7.28	5.00	0.50±0.86	0.28±0.14	2.25±2.88	3.00±3.97	7.58±6.63
units/l	8±11	33±45	24	3±5	2±2	22±27	18±23	70±78
γ-GTP, IU/24hrs	2.89±2.21	1.29±0.71	1.51	1.73±0.72	1.07±0.14	2.02±1.36	1.44±0.72	1.36±0.72
IU/l	16±11	10±1	10	12±3	10±2	15±7	9±4	11±3
BUN, mg/100ml	19.5±0.5	22.4±1.5	20.2 ±2.4	20.1±2.9	19.3±1.1	18.0±1.6	21.5±3.0	19.9±0.3
Creatinine, mg/100ml	1.17±0.10	1.20±0.07	1.13±0.03	1.12±0.16	0.99±0.04	1.09±0.10	1.09±0.10	1.15±0.11

: Mean±S.D.

: No urine sample of one animal from this dosage group

: Number of animals

: 1 unit = 1 μM of *p*-nitrophenol per hour

: Negative or normal, ± : Very slight, + 1 : Slight, + 2 : Moderate

Table 6 Renal function in males at 24 hours post-dosing

Group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg)							
	0/0	160/0	160/80	160/96	160/112	160/128	160/144	160/160
No. of animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Urine volume, ml/24hrs	152.7±68.9 ^a	291.2±66.4 ^a	133.3±90.2	144.0±52.9	137.0±26.8	102.7±9.8	137.7±16.3	124.8±40.3
Protein, -	0 ^b	0	0	0	0	0	0	0
±	1	0	0	0	0	0	0	0
+ 1	2	1	2	2	1	2	3	3
+ 2	0	2	1	1	2	1	0	0
Glucose, -	3	0	3	3	3	3	3	3
±	0	3	0	0	0	0	0	0
Occult blood, -	3	0	3	3	3	3	3	3
±	0	3	0	0	0	0	0	0
Erythrocytes, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Leukocytes, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Epithelial cells, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Hyaline epithelial casts, -	3	2	3	3	3	3	3	3
+ 1	0	1	0	0	0	0	0	0
Lysozyme, mg/24hrs	0.33±0.10	1.20±0.91	0.33±0.47	0.23±0.24	0.24±0.21	0.13±0.07	0.35±0.26	0.29±0.11
mg/1	2.2±0.3	4.0±2.5	1.8±1.8	1.5±1.3	1.6±1.2	1.4±0.8	2.4±1.6	2.3±0.6
NAG, units ^c /24hrs	2.00±2.31	26.00±21.06 ^a	2.85±2.18	6.11±2.51	11.04±10.21	10.92±1.01	7.76±0.74	9.86±0.41
units/1	18±25	87±59	22±7	54±46	77±67	107±19 ^a	57±11	85±28 ^a
γ-GTP, IU/24hrs	1.83±1.23	43.78±14.90 ^a	3.28±1.85	1.44±0.53	2.45±1.98	1.80±0.82	2.40±0.73	1.47±0.48
IU/1	15±12	153±47 ^a	26±3	10±0	17±13	18±9	18±7	12±3
BUN, mg/100ml	17.6±1.0	58.5±11.7 ^a	20.5±2.7	19.6±3.5	18.3±10	17.1±1.0	14.8±3.6	18.5±1.7
Creatinine, mg/100ml	1.16±0.08	2.71±0.69 ^a	1.20±0.22	1.16±0.13	1.01±0.08	1.10±0.07	1.01±0.07	1.12±0.09

^a : Mean ± S.D.

^b : Number of animals

^c : 1 unit = 1 μM of *p*-nitrophenol per hour

- : Negative or normal, ± : Very slight, + 1 : Slight, + 2 : Moderate

* : Statistically significantly different from the controls at $p \leq 0.05$ (LSD Test)

Table 7 Renal function in males at 48 hours post-dosing

Group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg)							
	0/0	160/0	160/80	160/96	160/112	160/128	160/144	160/160
No. of animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Urine volume, ml/24hrs	143.2±73.3 ^a	194.2±33.3	42.5±33.3 ^a	108.3±51.6	133.7±48.3	82.5±14.8	138.0±32.0	122.3±81.3
Protein, -	0 ^b	0	0	0	0	0	0	0
±	0	0	0	0	1	0	0	1
+ 1	2	1	1	1	1	0	2	0
+ 2	1	2	1	2	1	2	1	2
+ 3	0	0	1	0	0	1	0	0
Glucose, -	3	0	3	3	3	3	3	3
±	0	2	0	0	0	0	0	0
+ 1	0	1	0	0	0	0	0	0
Occult blood, -	3	1	2	3	3	3	3	3
±	0	1	0	0	0	0	0	0
+ 1	0	1	0	0	0	0	0	0
+ 2	0	0	1	0	0	0	0	0
Erythrocytes, -	3	3	2	3	3	3	3	3
±	0	0	1	0	0	0	0	0
Leukocytes, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Epithelial cells, -	3	3	3	3	3	3	3	3
Hyaline casts, -	3	1	3	3	3	3	3	3
±	0	2	0	0	0	0	0	0
Lysozyme, mg/24hrs	0.24±0.26	1.13±1.07	0.12±0.14	0.45±0.39	0.54±0.29	0.15±0.16	1.00±0.88	0.51±0.10
mg/l	1.8±2.4	5.3±4.2	5.4±6.3	4.7±4.9	5.1±4.2	1.7±1.6	7.2±7.2	5.3±2.7
NAG, units ^c /24hrs	2.56±2.56	18.57±19.58	2.55±3.26	51.68±88.83	9.70±13.16	0.68±0.57	8.54±10.08	0.23±0.40
units/l	15±8	86±81	40±42	310±529	65±76	8±6	54±56	1±2
γ-GTP, IU/24hrs	1.66±0.68	10.39±5.76 ^a	1.23±1.00	2.09±2.26	3.19±2.67	1.32±0.61	3.56±2.12	1.10±0.26
IU/l	12±3	51±20 ^a	25±8	16±10	23±14	16±6	27±20	12±7
BUN, mg/100ml	15.8±1.0	74.7±23.6 ^a	19.4±2.9	17.5±2.9	19.5±5.8	15.6±1.9	20.5±5.8	18.1±0.9
Creatinine, mg/100ml	1.10±0.07	3.55±1.22 ^a	1.27±0.14	1.13±0.19	0.97±0.11	0.6±0.07	1.12±0.18	1.08±0.05

^a : Mean±S.D.

: Number of animals

: 1 unit = 1 μM of *p*-nitrophenol per hour

: Negative or normal, ± : Very slight, + 1 : Slight, + 2 : Moderate, + 3 : Severe

: Statistically significantly different from the controls at $p \leq 0.05$ (LSD Test)

Table 8 Pathological changes of kidneys in females

MK-0787/MK-0791 (mg/kg)	No. of animals	Kidney weight (% body wt.)	Tubular necrosis score							
			0	1	2	3	4	5	Mean	
0/0	3	0.454±0.058	3	0	0	0	0	0	0	0
160/0	3	0.612±0.030*	0	0	0	0	2	1		4.3
160/80	3	0.515±0.085*	2	1	0	0	0	0		0.3
160/96	3	0.484±0.012	3	0	0	0	0	0		0
160/112	3	0.455±0.018	3	0	0	0	0	0		0
160/128	3	0.467±0.021	3	0	0	0	0	0		0
160/144	3	0.497±0.025*	3	0	0	0	0	0		0
160/160	3	0.458±0.012	3	0	0	0	0	0		0

Degree of renal tubular necrosis was graded and scored by the following criteria; 0 : not remarkable, 1 : very slight (1~10% of tubules affected), 2 : slight (10~25% of tubules affected), 3 : moderate (25~50% of tubules affected), 4 : marked (50~75% of tubules affected) and 5 : severe (>75% of tubules affected)

* : Statistically significantly different from the controls at $p \leq 0.05$ (LSD Test)

Table 9 Pathological changes of kidneys in males

MK-0787/MK-0791 (mg/kg)	No. of animals	Kidney weight (% body wt.)	Tubular necrosis score							
			0	1	2	3	4	5	Mean	
0/0	3	0.532±0.050	3	0	0	0	0	0	0	0
160/0	3	0.684±0.092*	0	0	0	2	1	0		3.3
160/80	3	0.549±0.078	2	1	0	0	0	0		0.3
160/96	3	0.555±0.042	3	0	0	0	0	0		0
160/112	3	0.593±0.032*	3	0	0	0	0	0		0
160/128	3	0.596±0.021*	3	0	0	0	0	0		0
160/144	3	0.569±0.033	3	0	0	0	0	0		0
160/160	3	-0.576±0.019*	3	0	0	0	0	0		0

Degree of renal tubular necrosis was graded and scored by the following criteria; 0 : not remarkable, 1 : very slight (1~10% of tubules affected), 2 : slight (10~25% of tubules affected), 3 : moderate (25~50% of tubules affected), 4 : marked (50~75% of tubules affected) and 5 : severe (>75% of tubules affected)

* : Statistically significantly different from the controls at $p \leq 0.05$ (LSD Test)

2~7)。また 160/80 mg/kg 群雄の投与 48 時間後の尿量は、対照群より統計的に有意に減少した。

薬物投与群に蛋白尿、ヘモグロビン尿または血尿が散見されたが、これらの変化は投与開始前の動物においても観察された (Table 2~7)。160/0 mg/kg 群では、大多数の動物が尿糖陽性を示し、さらに雌 2 例と雄 2 例の尿沈渣の鏡検において、硝子円柱、硝子上皮円柱または細顆粒円柱が観察された。

尿中酵素活性 (Table 2~7) では、160/0 mg/kg 群の投与 24 時間後と 48 時間後の NAG 活性 (Units/24 時間) の平均値は、雌雄ともに対照群の約 7 倍以上であり、雄の投与 24 時間後と雌の投与 48 時間後の NAG

活性の変動は統計的に有意であった。NAG 活性の上昇は、160/80、160/96、160/112 および 160/128 mg/kg 群においても認められたが、大多数の個別データは正常変動範囲内にあった。160/0 mg/kg 群の投与後 24 時間尿と 48 時間尿の γ -GTP 活性 (IU/24 時間と IU/L) は、雌雄ともにその平均値が対照群の約 5 倍以上であり、いずれも統計的に有意な変化であった。配合剤投与群では、 γ -GTP 活性の有意な変動は認められなかった。また lysozyme 活性には、薬物投与に関連する変動は認められなかった。

3. 血清生化学的検査

160/0 mg/kg 群では、雌雄ともに BUN およびクレア

チニンの平均値が対照群と比べ統計学的に有意に増加した (Table 3, 4, 6, 7)。MK-0787 と MK-0791 の配合群では腎障害を示唆する変動は認められなかった。

4. 病理学的検査

剖検において、160/0 mg/kg 群では腎の褪色が認められた。同群の腎の体重比重量は雌雄ともに対照群に比べ有意に増加した (Table 8, 9)。また 160/80, 160/112, 160/128, 160/144 および 160/160 mg/kg 群雄または雌の腎重量は、対照群と比べ有意に増加したが、程度が軽度であり、雌雄に共通した変化ではなく、さらに用量に依存した変化ではなかった。

腎の組織学的検査においては、160/0 mg/kg 群のすべての動物の尿細管上皮細胞に中等度から重度の壊死が認められた。160/80 mg/kg 群では雌雄各 1 例の尿細管上皮細胞に極めて軽度の壊死が認められた。他の配合剤投与群では、尿細管の壊死は全くみられなかった。

III. 考 察

ウサギおよびサルを用いた MK-0787 の毒性試験において、腎障害性が認められ、その程度はウサギでは cephaloridine と同程度、サルでは cephaloridine より軽度であると報告されている⁴⁾。MK-0791 は腎の dehydropeptidase-I 阻害剤であり、MK-0787 の腎での代謝を抑制し、その尿中回収率を増加させるために開発された。その後 MK-0791 は、MK-0787 の尿中回収率を増加させると同時に腎障害をも完全に防御することが確認された⁴⁾。MK-0791 が MK-0787 の腎毒性を防御する機序の検討は、広範に実施され、その結果 MK-0791 は尿細管上皮細胞内への MK-0787 の取り込みを競合的に抑制し、MK-0787 が上皮細胞内に移行することを抑制しているのではないかと示唆されている⁹⁾。すなわち、MK-0791 は、dehydropeptidase-I 阻害作用に加えて尿細管への MK-0787 の移行阻止効果があると報告されている。一方 MK-0791 の腎毒性防御効果は両薬剤の配合比に依存することが報告されている⁴⁾。すなわち、MK-0787 の腎毒性用量である 140 mg/kg または 360 mg/kg と種々の用量の MK-0791 を配合して投与すると、MK-0787 のいずれの用量においても腎毒性は MK-0791 の用量の増加に伴い軽減され、配合比 1:1 では腎毒性は全く観察されなかった。この報告では、使用した配合比は 1:0.07, 1:0.21, 1:0.25, 1:0.42, 1:0.50, 1:0.62, 1:1 および 1:2 であり、1:0.62 以下においては腎の形態学的変化が認められた⁴⁾。我々は、さらに臨床使用配合比から腎毒性が完全に防御される配合比までの幅を検討することが、両薬剤の安全性を確認するために重要であると考え、本実験を実施した。抗生物質の腎障害の感受性が高いことが知られているウサギ

に MK-0787 と MK-0791 を 1:0, 1:0.5, 1:0.6, 1:0.7, 1:0.8, 1:0.9, 1:1 の配合比で静脈内投与し、48 時間後に剖検したのち腎の病理学的検査を実施した。また、尿の定性的検査、尿中酵素活性、BUN およびクレアチニンの測定も合せて行った。

MK-0787 単独で 160 mg/kg を投与した動物の腎機能面の検討結果では、尿量の増加、尿中 NAG 活性と γ -GTP 活性の上昇、尿糖陽性、円柱の排泄、BUN とクレアチニンの増加がみられ、明らかに高度の腎機能障害が示唆された。薬物による腎障害時に各種尿中酵素活性が変動すると報告^{9)~11)}されているように、本実験においても NAG と γ -GTP の変動がみられた。しかし、近位尿細管障害時の良い指標とされている lysozyme の排泄量には著明な変動は認められなかった。一方、MK-0787 と MK-0791 の配合群では MK-0787 単独群にみられた各種腎機能パラメーターの著明な変動は観察されなかった。NAG の排泄量が増加した群が散見されたが、高値を示した動物においても尿糖、円柱、BUN などに変動は認められず、さらに腎の組織学的検査でも変化はみられなかった。

腎の組織学的検査結果では、MK-0787 を単独で投与した動物すべてに近位尿細管上皮細胞の壊死が広範に観察された。両薬剤を 1:0.5 で配合した群では、尿細管壊死は明らかに軽減されたものの、一部の動物に極めて軽度の変化が認められており完全な防御ではなかった。1:0.6 以上の配合群では尿細管の壊死は全く認められなかった。

以上の腎の機能的、器質的検討結果から、MK-0787 と MK-0791 の臨床使用配合比 1:1 は、腎毒性に関して安全域が十分にあることが確認された。

(実験期間：昭和 59 年 8 月 14 日～同年 8 月 30 日)

文 献

- 1) KROPP, H.; J. G. SUNDELLOF, D. L. BOHN & F. M. KAHAN: Improved urinary tract bioavailability of MK-0787 when coadministered with the inhibitor of renal dehydropeptidase I. Abstract No. 270. 20th ICAAC. New Orleans, Louisiana, 1980
- 2) NORRBY, S. R.; K. ALESTIG, B. BJORNEGARD, L. BURMAN, F. FERBER, J. HUBER & K. H. JONES: Enhanced urinary recovery of *N*-formimidoyl thienamycin (MK 0787) by coadministration of MK 0791. Abstract No. 592. Program and Abstracts of the 21 ICAAC. Chicago, Illinois, 1981
- 3) MACDONALD, J. S.; D. L. BOKELMAN & R. S. ROSENTHAL: Imipenem: cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) marketing authorization

- application (MAA) general toxicity. January, 1984 (unpublished)
- 4) ZACCHEI, A. G.; J. S. MACDONALD, L. L. WEIDNER, J. D. POGERS & K. HAYASE: Pre-clinical disposition, metabolism and safety assessment of imipenem and cilastatin. Reviews of Infectious Diseases (submitted)
 - 5) 白居敏仁, 花見正幸, J. S. MACDONALD, D. L. BOKELMAN, C. A. STONE: Imipenem/Cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) の安全性に関する研究 (第3報) アカゲザルにおける亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy 33 (S-4): 181~206, 1985
 - 6) LOCKWOOD, T. D.; H. B. BOSMANN: The use of urinary *N*-acetyl- β -glucosaminidase in human renal toxicology I. partial biochemical characterization and excretion in humans and release from the isolated perfused rat kidney. Toxicol. Appl. Pharmacol. 49: 323-336, 1979
 - 7) LITWACK, G.: Photometric determination of lysozyme activity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89: 401-403, 1955.
 - 8) KAHAN, F. M.; H. KROPP, J. G. SUNDELOF & J. BIRNBAUM: Thienamycin: development of imipenem-cilastatin. J. Antimicrob. Chemother. 12 (Suppl. D): 1~35, 1983.
 - 9) BALAZS, T.; R. R. ROEPKE: Lysozymuria induced in rats by nephrotoxic agents. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 123: 380~385, 1966.
 - 10) LOCKWOOD, T. D.; H. B. BOSMANN: The use of urinary *N*-acetyl- β -glucosaminidase in human renal toxicology. II. elevation in human excretion after aspirin and sodium salicylate. Toxicol. Appl. Pharmacol. 49: 337~345, 1979
 - 11) NGAHA, E. O.; PLUMMER, D. T.: Toxic renal damage: changes in enzyme levels. Biochem. Med. 18: 71~79, 1977

TOXICOLOGICAL STUDY OF IMIPENEM/CILASTATIN SODIUM (V)

—PROTECTION BY CILASTATIN SODIUM AGAINST THE NEPHROTOXICITY OF IMIPENEM IN RABBITS—

TOSHIMI USUI, HIROSHI KUNO, YOSHITADA KURUHARA and HAYAO KOBAYASHI
 Research Laboratories, Nippon Merck Banyu Co., Ltd.

The study was undertaken to evaluate at various combination ratios the protective potential of cilastatin sodium (MK-0791) against the nephrotoxicity induced by imipenem (MK-0787). Animals treated with MK-0787 at a dose of 160 mg/kg showed functional and morphological changes in the kidney. The nephrotoxicity induced by MK-0787 was decreased or prevented as the dose of MK-0791 was increased. No evidence of renal damage was observed in animals treated with the two compounds at a combination ratio of 1:0.6 or greater. The combination of the two compounds at the ratio of 1:1 for clinical use was considered to offer a sufficient margin of safety in respect to nephrotoxicity.