Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) のラットにおける急性ならびに 1 ヵ月亜急性毒性試験

村岡義博・矢原 功・渡辺 弘・松井信志・西部泰弘
中野 瞭・花房友行・松原尚志・吉﨑敏夫・原田喜男
塩野義製薬株式会社研究所

1. 急性毒性試験

6315-S (Flomoxef) のラットにおける静脈内投与による急性毒性試験を，対照薬 Cefazolin (CEZ)との比較のもとに実施した。致死量投与により，脱力，歩行失調，呼吸困難を示し，死亡例の大半は 30 分以内に強直性・間代性痙攣を示して死亡した。剖検では，死亡全例に肺のうっ血・水腫が認められた。6315-S の LD_{50} 値は雄 7,360 mg/kg，雌 8,550 mg/kg であり CEZ のそれの約 2.5 倍に相当した。

2. 亜急性毒性試験

6315-S 750 mg/kg，1,500 mg/kg，3,000 mg/kg を 35 日間連続静脈内投与による亜急性毒性試験を，ラットを用いて実施した。対照薬として CEZ 1,500 mg/kg を同様に投与した。

検体投与時毎に 6315-S 1,500 mg/kg/日 投与群で 5 分以内の抑制症状，3,000 mg/kg 投与群では，鎮静，脱力，眼瞼下垂および歩行失調がみられたがいずれも 40 分以内に回復した。他に，検体投与全群に，軟便および盲腸の拡張による腹部膨満がみられた。死亡例は 6315-S 1,500 mg/kg 投与群で 1/20 例みられたが，3,000 mg/kg 投与群では認められなかった。これに対し，CEZ 1,500 mg/kg 投与群においては 8/20 例の死亡がみられた。生存例は順調な体重増加を示した。

血液学的検査，血液生化学検査および尿検査において，6315-S に特異的変化はみられなかった。肝臓では薬物代謝酵素活性の軽度増加がみられ，6315-S 3,000 mg/kg 投与群では副腎重量の増加がみられ，小数例には副腎の出血・壊死が認められた。検体投与局所障害は，6315-S 1,500 mg/kg 以上の投与群で対照群より高頻度であった。これらの変化は CEZ 1,500 mg/kg 投与群でもみられた。

以上の成績から，6315-S の最大無影響量は 750 mg/kg/day と推定された。

6315-S (Flomoxef：FMOX)は，塩野義製薬研究所で新しく合成された oxacephem 系抗生物質である。本薬物の静脈内投与によるラットにおける急性毒性試験，ならびに 1 ヵ月間亜急性毒性試験を実施したのでその成績を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 実験動物および飼育条件

日本クレアより Jcl：SD 系ラットを 3 または 4 週齢で購入し，予備飼育の後 6 週齢で試験に用いた。投与開始時の体重は，急性毒性試験では雄 160〜206 g，雌 128〜160 g，亜急性毒性試験では雄 181〜201 g，雌 135〜161 g であった。

動物は，全試験期間中，温度 23±1℃，相対湿度 55±10%，換気回数 15 回/時間，午前 8 時から 12 時間照明に調節されたバリヤ飼育室で，急性毒性試験ではアルミケージ（W400×D500×H200mm）あたり 4 匹ずつ，亜急性毒性試験では透明プラスチックケージ（W262×D425×H200mm，日本クレア）あたり 2 匹ずつ収容して飼育した。高圧滅菌した固型飼料（CA-1，日本クレア）と濾過殺菌市水道水は自動給水装置（ただし 摂水量測定時はボトル給水）で自由に摂取させた。なお，急性毒性試験では投与 16〜20 時間前から投与 2 時間後まで絶食下においた。

2. 検体および調製法

6315-S (Flomoxef sodium) は，凍結乾燥品 Lot No. F 003 NN（急性毒性試験），Lot No. F 028 NN（亜急性毒性試験）を用いた。対照薬として Cefazolin sodium

(CEZ, 市販品) を用いた。両検体 (力価で表示) は, 用時局方注射用蒸留水で溶解し, 0.25 g (力価)/ml の溶液に調製した。

3. 急性毒性試験

雌雄各8匹を1群とし, あらかじめ絶食したラットに 6315-S あるいは CEZ の等比級数的用量をそれぞれ5 ml/min の速度で尾静脈内に1回投与した。

観察期間は2週間とし, 一般状態は毎日, 体重は投与日および投与後3, 7, 14日目に測定した。この間の死亡率から LD_{50}値を BLISS 法により算出した。生存例および全ての死亡例について解剖後, 主要器官の肉眼的観察を行ない, 一部の器官は常法によりパラフィン切片とし, ヘマトキシリン・エオジン染色を施して光顕的に観察した。

4. 亜急性毒性試験

1) 投与量設定の根拠および投与方法

6315-S の急性毒性試験における最小致死量 5,000~6,600 mg/kg を参考にして実施した静脈内2週間投与による予備試験 (750 mg/kg, 1,500 mg/kg, 3,000 mg/kg) において, 器官毒性は認められなかったが, 1,500 mg/kg 以上投与では投与毎に抑制症状が現われ, 3,000 mg/kg 投与ではさらに歩行失調, 頻呼吸が認められた。したがって, 確実に毒性症状を示し多数例が1ヵ月投与に耐え得ると考えられる 3,000 mg/kg を最高用量と定め, 以下公比2で減じた 1,500 mg/kg, 750 mg/kg の3用量を設定した。また対照薬の CEZ は 6315-S の中間用量に一致させ, 1,500 mg/kg とした。

雌雄各10匹で構成された各投与群に1日1回連続1ヵ月間 (雄35日, 雌36日), 6 ml/min の速度で尾静脈内に投与した。対照群には生理食塩液を 3,000 mg/kg 投与群と同容量すなわち 12.4 ml/kg の割合で投与した。投与容量の補正は毎日投与前に測定する体重により行なった。

2) 検査項目および実施日

(1) 一般状態

全期間を通じて毎日一般状態を観察し, 体重, 摂餌量, および摂水量は5日毎に測定した。

(2) 眼および聴覚検査

検体投与開始5日前と投与27日目に, 散瞳剤(Mydrin, P®, 参天製薬)を点眼し, 眼底カメラ(RC-2, Kowa)で, 眼底検査を行なった。検体投与開始2日前と投与28日目にガルトン笛音に対する Preyer 耳介反射により聴覚検査を実施した。

(3) 血液学的検査

検体投与33あるいは34日目に, 尾尖端切断により採血し, 白血球数, 赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, MCV, MCH, MCHC (以上7項目, Coulter Counter Model-S), 血小板数 (Coulter Counter Model-ZB), 白血球分画 (GIEMSA 染色), 網状赤血球数(BRECHER 法)を測定した。また, 最終投与の翌日の解剖時にペントバルビタール (Somnopentyl®, Pitman Moore) 麻酔下で開腹して後大静脈より採血してプロトロンビン時間 (Clotek®. Hyland) を測定した。

(4) 骨髄検査

剖検時, 大腿骨を採取して, 骨髄有核細胞数の測定を行ない, また, 骨髄塗抹標本 (MAY-GRUNWALD, GIEMSA 重染色)を作製して有核細胞分画を行なった。

(5) 血液生化学検査

剖検時, ペントバルビタール麻酔下で後大静脈からヘパリン加注射筒を用いて採血後, 血漿を分離して下記の項目を測定した。グルコース (グルコース・オキシダーゼ法), 総蛋白質 (ビウレット法), アルブミン (BCG 法), 尿素窒素 (ジアセチルモノオキシム法), クレアチニン (JAFFÉ 法), GOT, GPT および LDH (UV 法), ALP (BESSEY-LOWRY 法), 総コレステロール (LIEBERMANN-BURCHARD 法), 総ビリルビン (JENDRASSIK-GRÓF 法) および塩化物 (チオシアン酸第二水銀法) の以上12項目は Technicon Autoanalyzer, SMAPLUS MICRO system で, Na, K, Ca, Mg, およびFe は原子吸光法で, それぞれ測定した。

(6) 尿検査

検体投与29または30日目の投与直後に, ラットを個別代謝ケージに収容して, 4時間尿を絶食・絶水下で採取し, 尿量, pH (試験紙, 東洋濾紙), グルコース, 蛋白質, ケトン体, 潜血, ビリルビン, ウロビリノーゲン, 比重(以上7項目は, Multistix SG®, Ames) を検査した。

(7) 肝臓成分の分析

剖検時, 肝臓の一部を採取して, 次の項目を測定した。総蛋白質 (ビウレット法), 総コレステロール (ZAK-HENLY 法の北村変法), リン脂質 (湿式灰化, リンモリブデン青法), トリグリセライド (アセチルアセトン法), GOT および GPT (Rate assay, UV 法), チトクローム P-450 含量[1], アルコキシクマリン脱アルキル化酵素活性[2], アルデヒド脱水素酵素活性[3]。酵素活性は肝ホモジネートあるいはその遠心上清 (600×g, 5分間) を用いて測定した。

(8) 器官重量および病理組織学的検査

剖検時, 諸検査用採血を終えた後, 腹大動脈切断によ

Table 1 LD50 values of 6315−S in rate after single intravenous administration

Compound	Sex	No. of dose levels	No. of animals /level	Dose range (mg/kg)	LD_{50}, mg/kg (95%-confidence limit)	Distribution of death			
						No. of dead animals	After administration		
							< 5min	5∿30min	30min∿14days
6315-S	Male	6	8	5000 ∿ 10057	7360 (6610 ∿ 8200)	22	17	3	2
	Female	5	8	5750 ∿ 10057	8550 (7830 ∿ 9730)	13	4	8	1
CEZ	Male	4	8	2000 ∿ 3456	2760 (2540 ∿ 3000)	14	6	8	0
	Female	5	8	2400 ∿ 4976	3610 (3280 ∿ 3980)	18	7	11	0

り放血致死させて諸器官・組織を肉眼的に観察した。心臓，肺，肝臓，脾臓，膵臓，腎臓，脳，胸腺，眼球，副腎，甲状腺，下垂体，顎下腺（舌下腺を含む），精巣，前立腺（腹部），卵巣，子宮，膀胱，盲腸（内容物を含む）について，重量測定をした。これらに加えて食道，胃，十二指腸，空腸，回腸，結腸，耳下腺，気管，副甲状腺，胸大動脈，腸間膜リンパ節，精巣上体，精嚢，輸尿管，皮膚，乳腺（雌），大腿筋，大腿骨，坐骨神経，投与局所組織を摘出し，10％中性緩衝ホルマリン液（眼球は，3％グルタールアルデヒド・2.5％ホルマリン混合液）で固定し，常法に従いパラフィン切片作製後，ヘマトキシリン・エオジン染色を施すとともに必要な場合はPAS染色，Oil Red O染色，MALLORY−Azan染色，KLUVER−BARRERA染色を行ない光顕的に観察した。大腿骨は，包埋に先立ち，2％トリクロロ酢酸・2％ホルマリン混液で脱灰した。

各群雄2例ずつの肝臓と腎臓（皮質）は，グルタールアルデヒド・オスミウム酸固定し，常法に従ってEpon包埋した。超薄切片をウラン・鉛二重染色し，電顕的に観察した。

(9) 統計学的解析

各検体投与群の対照群に対する平均値の差の検定には，まず等分散の検定を行ない，有意差を認めたならばCOCHRAN−COXの検定を，有意差を認めなかった場合はSTUDENTのt検定を行なった。

II. 実 験 成 績

1．急性毒性試験

6315−S, CEZのラットにおける静脈内投与時のLD_{50}値をTable 1に示した。6315−SのLD_{50}値は雄7,360 mg/kg，雌8,550 mg/kgであり，CEZの約2.5倍の値を示した。

1）中毒症状と死亡経過

6315−S投与直後より脱力，歩行失調，呼吸困難などの抑制症状がみられた。一部の大量投与例では，これらの症状に加えて泣鳴を伴う跳躍，強直性・間代性痙攣を示した後，投与後30分以内に死亡した。死亡時，紅涙あるいは鼻腔より血性泡沫液を分泌する例もみられた。生存例は，投与1時間後にはおおむね諸症状の回復傾向を示したが，検体投与全例において，投与開始後2，3日目より盲腸の拡張による腹部の軽度膨大を認め，10日目頃まで軟便あるいは粘液便が見られた。なお，試験期間を通じて体重増加は順調であった。

CEZ投与でも6315−S投与群にみられたのと類似した変化がみられた。

2）解剖および病理組織学的所見

6315−S投与群の途中死亡例の剖検所見では，全例に肺のうっ血・水腫（Photo. 1），60〜70％の例に胸腺出血，腹水・胸水の増量，腎臓の蒼白化と軽度腫大，脳髄膜出血を認めた（Photo. 2）。

組織学的には，肝臓に，周囲に脂肪沈着を伴う小葉中心性の壊死（Photo. 3）および腎臓に尿細管の拡張を認めた。

生存例については，組織学的に，まれに粘膜固有層先端の水腫を伴った盲腸の軽度拡張が認められた以外に著変はなかった。

同様の所見は，CEZ投与群でも認められた（Photo. 4）。

2．亜急性毒性試験

1）一般状態

6315−S 3,000 mg/kg投与群では投与直後より，鎮静，脱力，眼瞼下垂および後肢筋麻痺を示し，なかには，一時的呼吸停止から痙攣を起こす例があった。これらの症状はいずれも40分以内に消失した。1,500 mg/kg

Photo. 1 Pulmanary edema of a rat that received i. v. 10,057 mg/kg of 6315-S and died 1 minute later. H-E, ×100

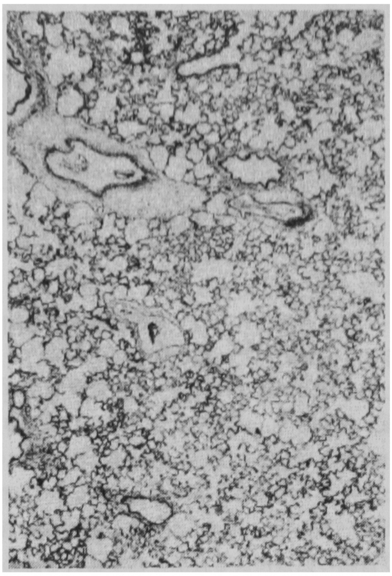


Photo. 2 Meningorrhagia of the cerebrum in a rat that received i. v. 10,057 mg/kg of 6315-S and died immediately afterward. H-E, ×100

Photo. 3 Centrilobular hemorrhagic necrosis of the liver from a rat that received i. v. 10,057 mg/kg of 6315-S and died 10 minutes later. H-E, ×100

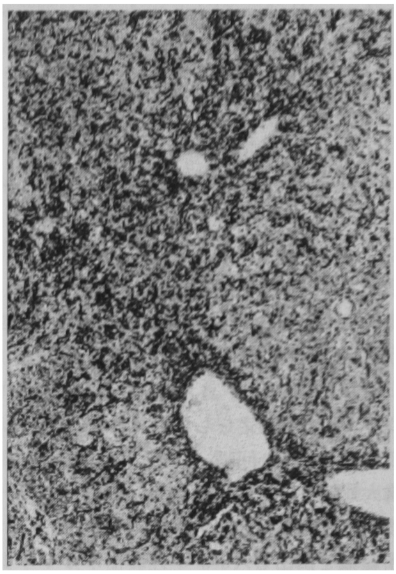


Photo. 4 Meningorrhagia of the cerebrum in a rat that received i. v. 4,967 mg/kg of CEZ and died 25 minutes. H-E, ×100

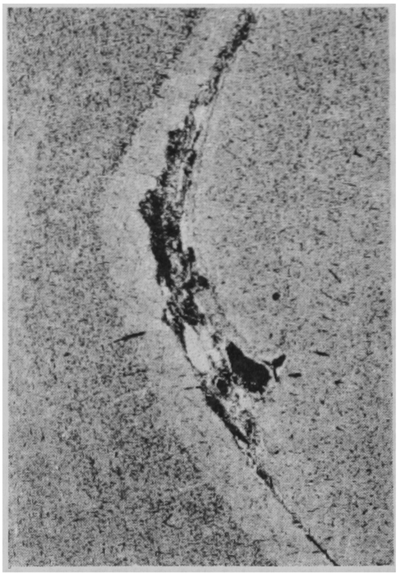


Fig. 1 Body weight changes of rats administered 6315-S intravenously for one month

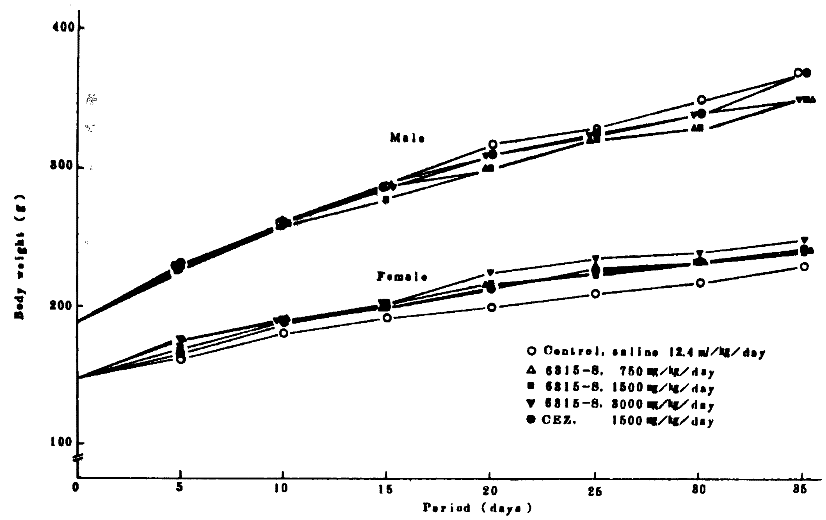
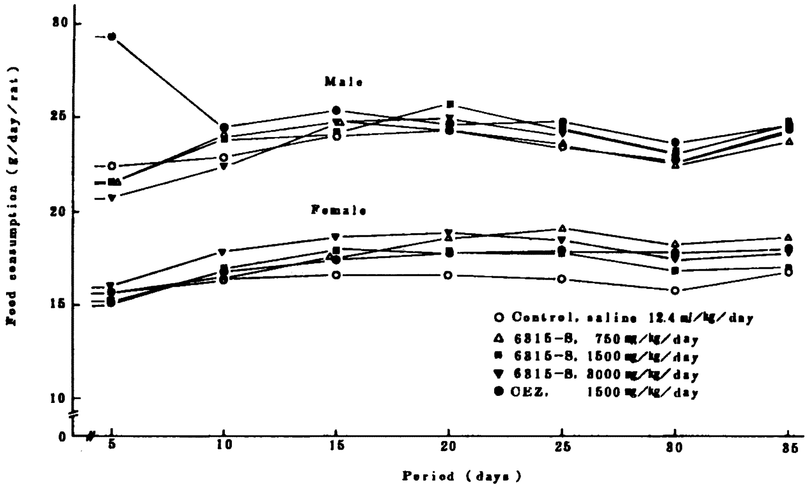


Fig. 2 Food consumption in rats administered 6315-S intravenously for one month



投与群では投与時，5分以内に軽度の抑制症状がみられ，ときには腹臥姿勢や頻呼吸を示したが，いずれも20分以内に消退した。750 mg/kg 投与群では雌 1/10 例のみが，時々，一過性の呼吸困難を示しただけであった。他に検体投与全群において軽度の軟便排泄，2～5日頃から軽度の腹部膨満，1,500 mg/kg 以上の投与群で時々，下痢が認められた。検体投与中にまれに流涎を示す例もみられた。これらの変化は，試験終了時まで持続したが，いずれも経時的に増強されることはなかった。なお 1,500 mg/kg 投与群雄 1 例が投与 9 日目に痙攣を起こして死亡した。

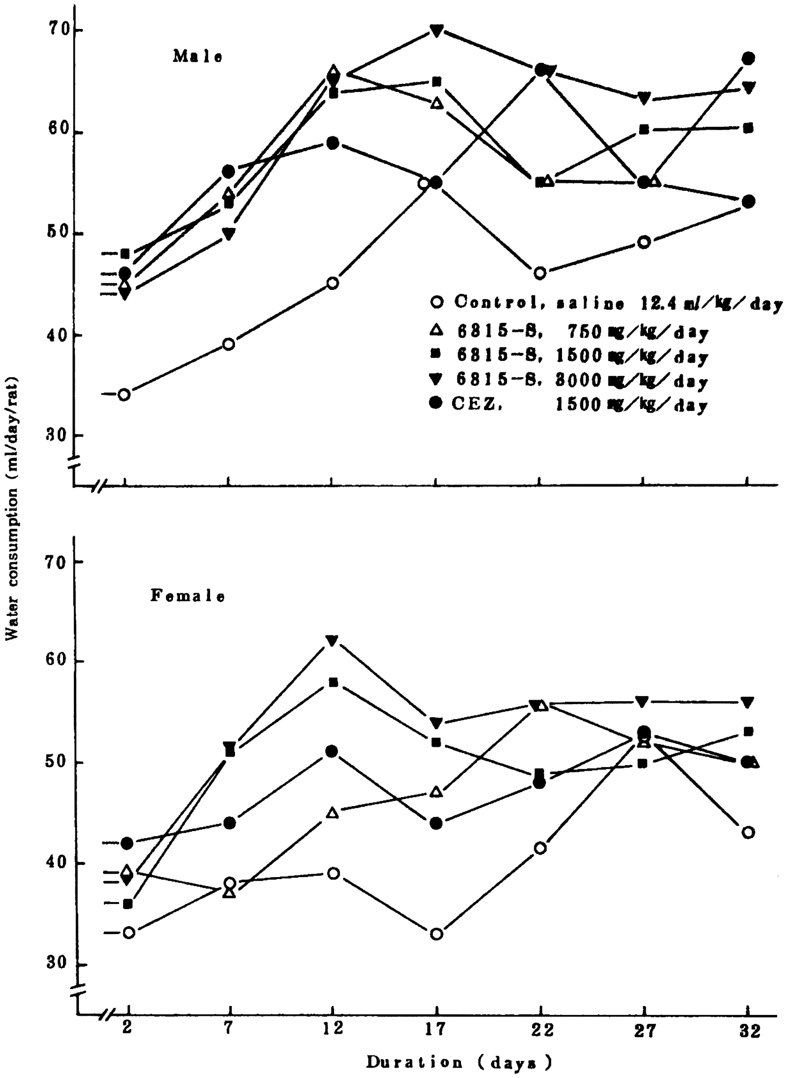
CEZ 投与群においても，6315-S 投与時にみられた症状所見が，同様の経過で認められた。なお，死亡例は，雄 6/10，雌 2/10 例であり，いずれも死亡前約 10 分間痙攣が頻発した。

2）体重および摂餌量

6315-S, CEZ いずれの投与群においても，雌群で対照群以上の成長が摂餌量増加とともに認められた。摂餌効率には対照群との間に差はみられなかった（Fig. 1, 2)。

3）摂水量

Fig. 3 Water consumption in rats administered 6315-S intravenously for one month



検体投与全群において用量依存性のない軽度の摂水量増加が雄では試験開始時から，雌では 10 日目から認められた（Fig. 3)。

4）眼および聴覚検査

眼底検査および聴覚検査において，6315-S, CEZ いずれの投与群においても異常は認められなかった。

5）血液学的検査

網状赤血球数の増加が 6315-S 3,000 mg/kg 投与群雌で，プロトロンビン時間の短縮が 6315-S 3,000 mg/kg 投与群雌および CEZ 1,500 mg/kg 投与群において認められたが，いずれも生理的範囲の変動と考えられ，血小板数，赤血球数には有意の差はなかった。その他はいずれの測定項目においても異常は認められなかった（Table 2）。

6）骨髄検査

6315-S, CEZ いずれの投与群においても骨髄単位重量あたり骨髄有核細胞数および骨髄細胞分画において，検体起因性と考えられる用量依存性の変化は認められな

Table 2 Hematological findings in rats administered 6315-S intravenously for one month

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	RBC counts ($\times10^6$/cmm)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Reticu-locyte (%)	WBC counts ($\times10^3$/cmm)	WBC differentiation Neutro (%)	WBC differentiation Lymph (%)	Platelet ($\times10^4$/cmm)	Proth-rombin time (sec.)
Male	Control (Saline)	—	10	7.25[a] ±0.17	15.2 ± 0.3	38.0 ± 0.7	3.00 ±0.15	19.6 ± 0.9	11.5 ± 1.4	83.1 ± 1.7	145 ± 6	15.4 ± 0.2
	6315-S	750	10	6.99 ±0.17	15.5 ± 0.2	38.4 ± 0.6	2.95 ±0.16	17.8 ± 1.2	13.2 ± 1.1	82.0 ± 1.7	147 ± 4	15.3 ± 0.2
	6315-S	1500	9	7.01 ±0.10	15.3 ± 0.2	38.1 ± 0.5	3.35 ±0.34	18.1 ± 0.3	14.2 ± 2.7	78.6 ± 3.3	136 ± 4	15.3 ± 0.2
	6315-S	3000	10	6.87 ±0.11	14.9 ± 0.2	36.7 ± 0.5	3.30 ±0.16	18.9 ± 0.8	14.3 ± 2.1	80.3 ± 2.4	141 ± 4	15.1 ± 0.2
	CEZ	1500	5	6.94 ±0.18	15.1 ± 0.3	37.8 ± 0.6	2.54 ±0.41	22.6 ± 2.1	17.0 ± 3.4	75.8 ± 3.3	150 ± 8	14.6 ± 0.3
Female	Control (Saline)	—	10	6.43 ±0.19	14.3 ± 0.3	35.9 ± 0.8	2.59 ±0.13	17.8 ± 2.4	12.5 ± 3.1	83.2 ± 3.4	160 ± 4	15.1 ± 0.2
	6315-S	750	10	6.54 ±0.14	14.7 ± 0.2	36.3 ± 0.5	2.83 ±0.19	18.0 ± 1.0	11.9 ± 1.5	82.8 ± 1.6	156 ± 5	14.7 ± 0.2
	6315-S	1500	10	6.43 ±0.11	14.4 ± 0.2	35.8 ± 0.5	3.09 ±0.21	14.3 ± 1.1	14.7 ± 1.5	78.8 ± 1.8	163 ± 5	15.0 ± 0.2
	6315-S	3000	10	6.49 ±0.07	14.4 ± 0.1	36.0 ± 0.3	3.26* ±0.22	16.1 ± 1.3	13.2 ± 2.6	76.3 ± 2.5	164 ± 6	14.5* ± 0.1
	CEZ	1500	8	6.38 ±0.09	14.2 ± 0.3	35.4 ± 0.6	3.05 ±0.25	21.5 ± 4.1	13.4 ± 4.2	73.9 ± 4.6	158 ± 10	14.2** ± 0.1

No remarkable changes were found in MCV, MCH, MCHC, and differential counts of eosinophils and monocytes.
a) Mean ± S E
Statistically significant against control, *$P<0.05$, **$P<0.01$

かった（Table 3)。

7）血液生化学検査

6315-S 投与群において，グルコースの低下が全投与量群で，GOT, GPT 活性の上昇が主として 3,000 mg/kg 投与群雄で認められたが，ごく軽度であった。その他，いくつかの項目で対照群との間に有意差がみられたが，いずれも用量依存性がみられず，また生理的変動範囲内の値であった。一方 CEZ 1,500 mg/kg 投与群では GPT 活性の低下が認められた（Table 4)。

8）尿検査

6315-S 750 mg/kg および 1,500 mg/kg 投与群雄において尿量の有意な減少が認められたが，この変化は投与容量すなわち媒体である水の量に相関関係があるように思われる。また尿蛋白質の用量依存的増加傾向が 6315-S 投与群にみられ，CEZ 1,500 mg/kg 投与群では 6315-S 3,000 mg/kg 投与に相当する増加がみられた。しかし，6315-S 750 mg/kg, 1,500 mg/kg 投与群での所見は，尿量が少ないために溶質の濃度が増加したことに起因すると考えられる。他に検体投与全群で尿の酸性化傾向がみられたが，蓄尿中のアンモニア醱酵が検体により抑制された結果と推察された。その他の項目については，対照群に比して差は認められなかった（Table 5)。

9）肝臓成分の分析

肝内薬物代謝活性の指標としてのアルコキシクマリン脱アルキル化活性の増大が 6315-S, CEZ いずれの投与群においても認められたが，6315-S 投与群雄では用量依存性が不明瞭であった。一方，単位肝重量あたりのチトクローム P-450 含量には大きな変動はみられなかった。

他に GOT の上昇が 6315-S 投与雄全群，雌 3,000 mg/kg 投与群に，GPT の低下が 6315-S 3,000 mg/kg 投与雄群および CEZ 1,500 mg/kg 投与雌雄で認められた。しかし，CEZ 投与群での GPT 低下を除いていずれもわずかな変動であり，6315-S 起因性とは考えられない成績であった（Table 6)。

Disulfiram 様作用をうかがう肝臓アルデヒド脱水素酵素活性は，6315-S の最高用量 3,000 mg/kg 投与群においても何ら変化を示さなかった（Table 7)。

10）器官重量

検体投与全群において盲腸重量が対照群の 3～4 倍に増加した。重量の減少は脾臓（6315-S 投与全群)，心臓と胸腺（6315-S 投与雄全群）および肝臓（6315-S, 雄 750 mg/kg, 1,500 mg/kg 投与群）にみられた。しかし，これらの減少は，いずれも軽度であり，用量依存性もなかった（Table 8, 9)。副腎重量は，6315-S 3,000 mg/kg 投与雄群において増加した。他にもいくつかの臓器において重量変化が認められたが，絶対あるいは相対重量のいずれかにおいてのみであり，これらの変動はいずれも体重変動による見かけ上のものと考えられた。

11）病理組織学的所見

(1）途中死亡例

6315-S 1,500 mg/kg 投与群の死亡 1 例は，肺のうっ血・水腫および胸水の蓄増を示し，心のう膜にはフィブリンが付着して肥厚していた。ほかに，腎皮質の出血，肝臓と胸腺のうっ血が認められた。CEZ 1,500 mg/kg 投与群では死亡 8 例全例に肺の充出血，7 例に肺水腫があり，4 例は胸腺出血を示した。

(2）試験終了時屠殺例

6315-S 3,000 mg/kg 投与群において，副腎皮質で壊死を伴う片側性出血（Photo. 5）が雄 1/10例，雌 4/10 例に，軽度の副腎球状層萎縮が雄 6/10例，雌 3/10例に認められた。胸腺の軽度出血あるいは皮質リンパ球減少を示す例は，6315-S 3,000 mg/kg, CEZ 1,500 mg/kg 投与の雄において高頻度であった。また検体投与群で肺と肝臓に単核細胞の集合がみられ，肺では注射時に切断されて血中に入ったと考えられる毛幹が存在し，異物巨細胞がこれに接していた（Photo. 6)。しかしこれらの所見は対照群でも認められ，その頻度においても両群に差を認めなかった。また検体投与局所の尾において血管内膜肥厚，血栓形成が認められ（Photo. 7），血管周囲には出血と水腫，毛幹を囲んだ異物巨細胞の出現を伴った肉芽組織の増生がみられた。これらの検体投与局所の障害は 6315-S 1,500 mg/kg 以上の投与でわずかに高頻度となり，CEZ 1,500 mg/kg 投与群では 6315-S 3,000 mg/kg 投与群に相当する頻度でみられた（Table 10)。

肝臓と腎臓の電顕的観察では，6315-S 投与群において対照群と異った所見は認められなかった（Photo. 8～10)。

III. 考　　察

1．急性毒性試験

急性毒性試験において，6315-S 致死量投与によりラットは脱力，歩行失調，呼吸困難，強直性・間代性痙攣を示し，大半が 30 分以内に死亡した。生存例では，検体投与翌日から軟便，盲腸拡張によると思われる腹部膨満がみられたのみで，いずれも順調な成長を示した。中毒症状，死亡発現の経過は対照とした CEZ 投与の場

Table 3 Bone marrow examination of rats administered 6315–S intravenously for one month

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	NBMC[a)] (×10^6/mg)	Myelogram				
					M/E ratio	Erythrocytic series(%)	Myelocytic series(%)	Lymphocytes(%)	Others (%)
Male	Control (Saline)	—	10	2.81[b)] ±0.18	1.29 ±0.11	38.5 ± 1.4	48.0 ± 2.0	11.5 ± 1.0	1.9
	6315-S	750	10	2.61 ±0.14	1.69* ±0.13	32.7* ± 1.5	53.5 ± 2.0	11.6 ± 1.2	2.2
	6315-S	1500	9	2.99 ±0.26	1.51 ±0.08	33.5* ± 1.1	50.1 ± 1.5	14.2 ± 1.7	2.1
	6315-S	3000	10	2.52 ±0.15	1.60 ±0.19	35.6 ± 2.8	52.3 ± 1.9	9.9 ± 1.8	2.1
	CEZ	1500	4	2.37 ±0.09	1.79 ±0.35	33.0 ± 3.5	55.4 ± 4.5	9.4 ± 2.2	2.5
Female	Control (Saline)	—	10	2.55 ±0.12	1.53 ±0.22	35.9 ± 2.5	50.6 ± 3.3	10.7 ± 1.8	2.7
	6315-S	750	10	2.52 ±0.11	1.38 ±0.15	36.6 ± 1.9	48.2 ± 1.9	13.1 ± 1.1	2.1
	6315-S	1500	10	2.39 ±0.10	1.34 ±0.14	38.1 ± 2.4	48.6 ± 2.3	10.9 ± 1.6	2.4
	6315-S	3000	9	2.42 ±0.06	1.47 ±0.15	36.0 ± 1.9	50.6 ± 2.6	11.7 ± 1.7	1.7
	CEZ	1500	8	2.40 ±0.14	1.88 ±0.19	31.2 ± 1.5	56.6 ± 2.6	10.7 ± 1.3	1.6

No remarkable changes were found in each constituent of erythrocytic and myelocytic series.

a) Nucleated bone marrow cell counts

b) Mean ± S E

Statistically significant against control, *$P < 0.05$

Table 4 Plasma components of rats administered 6315-S intravenously for one month

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Glucose (mg/dl)	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	Creatinine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	ALP (mU/ml)	LDH (mU/ml)	Total cholesterol (mg/dl)	Total bilirubin (mg/dl)	Na (mEq/ℓ)	K (mEq/ℓ)	Cl (mEq/ℓ)	Ca (mEq/ℓ)	Mg (mg/dl)	Fe (μg/dl)
Male	Control (Saline)	—	10	181[a] ± 4	5.3 ±0.0	3.1 ±0.0	1.4 ±0.0	0.52 ±0.02	26 ± 1	96 ± 5	37 ± 2	222 ± 13	112 ± 7	59 ± 3	0.16 ±0.02	150 ± 1	4.3 ±0.1	107 ± 0	11.2 ± 0.2	2.2 ±0.1	190 ± 9
	6315-S	750	10	177 ± 7	5.3 ±0.1	3.1 ±0.1	1.4 ±0.0	0.52 ±0.03	22* ± 1	116 ± 10	50 ± 6	219 ± 12	173 ± 39	61 ± 2	0.13 ±0.02	150 ± 1	4.3 ±0.1	103* ± 1	11.2 ± 0.2	2.2 ±0.1	206 ± 16
	6315-S	1500	9	156** ± 7	5.1 ±0.1	3.0 ±0.1	1.4 ±0.0	0.50 ±0.02	23 ± 1	102 ± 5	40 ± 2	194 ± 14	160 ± 20	58 ± 2	0.10** ±0.00	150 ± 0	4.5 ±0.2	108 ± 0	10.9 ± 0.2	2.2 ±0.0	191 ± 6
	6315-S	3000	10	162** ± 5	5.2 ±0.1	3.0 ±0.1	1.4 ±0.0	0.45* ±0.02	21* ± 1	186** ± 8	52* ± 4	161** ± 14	156* ± 15	59 ± 2	0.10** ±0.00	150 ± 1	4.3 ±0.1	107 ± 1	11.2 ± 0.2	2.2 ±0.0	188 ± 7
	CEZ	1500	4	182 ± 18	5.3 ±0.2	3.2 ±0.1	1.5 ±0.0	0.53 ±0.03	21* ± 1	96 ± 5	17** ± 2	170* ± 7	110 ± 14	61 ± 4	0.10** ±0.00	149 ± 1	3.7** ±0.1	107 ± 1	11.0 ± 0.4	2.1 ±0.1	180 ± 13
Female	Control (Saline)	—	10	159 ± 3	5.7 ±0.1	3.4 ±0.0	1.4 ±0.1	0.56 ±0.02	28 ± 3	99 ± 5	33 ± 2	132 ± 14	135 ± 14	60 ± 2	0.20 ±0.00	147 ± 0	4.5 ±0.2	110 ± 1	10.9 ± 0.2	2.1 ±0.0	263 ± 11
	6315-S	750	10	149* ± 3	5.5 ±0.1	3.3 ±0.1	1.4 ±0.0	0.54 ±0.02	25 ± 1	112 ± 9	41 ± 4	138 ± 14	146 ± 18	62 ± 2	0.19 ±0.01	146 ± 1	4.4 ±0.1	110 ± 1	10.7 ± 0.3	2.1 ±0.1	286 ± 24
	6315-S	1500	10	147* ± 4	5.6 ±0.1	3.3 ±0.1	1.4 ±0.0	0.53 ±0.03	25 ± 1	120 ± 11	42** ± 2	108 ± 11	129 ± 8	65* ± 2	0.20 ±0.00	149 ± 1	4.5 ±0.1	111 ± 1	10.8 ± 0.2	2.2 ±0.0	248 ± 16
	6315-S	3000	10	189** ± 8	5.6 ±0.1	3.3 ±0.0	1.5 ±0.0	0.51 ±0.02	27 ± 2	114 ± 11	37 ± 2	106 ± 14	110 ± 8	61 ± 2	0.20 ±0.00	149 ± 1	4.6 ±0.2	111 ± 0	10.5 ± 0.2	2.2 ±0.1	275 ± 21
	CEZ	1500	8	153 ± 6	5.3 ±0.1	3.4 ±0.1	1.4 ±0.0	0.49 ±0.03	21* ± 1	96 ± 6	12** ± 1	112 ± 13	117 ± 7	56 ± 2	0.20 ±0.00	148 ± 1	4.3 ±0.2	110 ± 1	10.3 ± 0.3	2.2 ±0.1	263 ± 17

a) Mean ± S E
Statistically significant against control, *$P<0.05$, **$P<0.01$

Table 5 Urinary findings of rats administered 6315-S intravenously for one month

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Volume (ml/4hrs)	Specific gravity	pH	Protein			Glucose	Ketone bodies	Bilirubin	Occult blood				Urobilinogen
							±	+	++	−	−	−	−	±	+	+++	±
Male	Control (Saline)	—	10	6.2[a] ±0.5	1.013 ±0.000	7.5 ±0.2	8[b]	2	0	10	10	10	8	1	1	0	10
	6315-S	750	10	2.9** ±0.4	1.019 ±0.001	6.6** ±0.1	7	2	1	10	10	10	6	3	0	1	10
	6315-S	1500	9	4.5* ±0.4	1.019 ±0.001	6.2** ±0.1	5	4	0	9	9	9	6	2	1	0	9
	6315-S	3000	10	5.8 ±0.8	1.016 ±0.001	6.1** ±0.1	4	4	2	10	10	10	8	2	0	0	10
	CEZ	1500	5	5.2 ±1.1	1.013 ±0.001	6.6* ±0.2	1	3	1	5	5	5	5	0	0	0	5
Female	Control (Saline)	—	10	2.7 ±0.4	1.013 ±0.001	7.4 ±0.3	7	2	1	10	10	10	6	2	0	2	10
	6315-S	750	10	2.0 ±0.2	1.019 ±0.001	6.4* ±0.1	3	7	0	10	10	10	8	2	0	0	10
	6315-S	1500	10	2.8 ±0.8	1.016 ±0.001	6.3* ±0.1	6	4	0	10	10	10	8	2	0	0	10
	6315-S	3000	10	4.0* ±0.3	1.018 ±0.001	6.0** ±0.1	1	6	3	10	10	10	8	1	0	1	10
	CEZ	1500	8	3.7 ±0.4	1.012 ±0.000	7.0 ±0.3	4	3	1	8	8	8	8	0	0	0	8

a) Mean ± SE
b) No. of rats with the findings
Statistically significant against control, *$P<0.05$, **$P<0.01$

Table 6 Liver components of rats administered 6315-S intravenously for one month

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Liver Weight (g)	Protein (mg/g)	GOT (mU/mg)	GPT (mU/mg)	Choles-terol (mg/g)	Phosph-olipids (mg/g)	Trigly-ceride (mg/g)	Cytochrome P-450 (nmol/g)	7-Alkoxycoumarin dealkylase DMase (unit/g)	DEase (unit/g)	DPase (unit/g)
Male	Control (Saline)	—	10	15.96[a)] ± 0.66	208 ± 1	228 ± 6	56 ± 2	2.87 ±0.08	33.0 ± 0.3	7.4 ±0.7	27.5 ± 1.1	63.6 ± 2.5	73.9 ± 4.2	83.6 ± 7.8
	6315-S	750	10	13.12** ± 0.52	216** ± 2	255** ± 6	56 ± 3	3.21 ±0.15	37.2** ± 0.7	5.6* ±0.5	31.1 ± 1.4	76.1** ± 2.2	93.3** ± 4.1	110.8* ± 6.3
	6315-S	1500	9	13.15** ± 0.45	212 ± 2	249** ± 5	56 ± 2	3.24** ±0.07	37.6** ± 0.9	5.8 ±0.3	32.3* ± 1.3	77.9** ± 1.7	90.2* ± 5.1	99.7 ± 9.3
	6315-S	3000	10	14.82 ± 0.74	216* ± 2	240* ± 4	48* ± 3	3.69** ±0.22	37.2** ± 0.4	7.0 ±1.0	31.8* ± 1.0	71.6* ± 2.7	76.9 ± 2.9	81.1 ± 3.2
	CEZ	1500	4	14.19 ± 1.19	211 ± 2	225 ± 15	38** ± 5	2.97 ±0.13	35.6 ± 1.4	5.9 ±1.2	28.9 ± 3.2	70.9 ± 3.3	77.2 ±16.6	76.2 ±21.9
Female	Control (Saline)	—	10	9.78 ± 0.55	222 ± 2	186 ± 4	44 ± 2	2.86 ±0.08	34.6 ± 0.3	6.6 ±0.7	29.5 ± 2.2	30.3 ± 1.8	24.5 ± 1.6	6.9 ± 0.8
	6315-S	750	10	9.34 ± 0.87	225 ± 5	199 ± 6	42 ± 2	2.93 ±0.06	35.8 ± 0.5	5.6 ±0.4	28.9 ± 0.6	37.9** ± 1.7	30.4** ± 1.2	8.4** ± 0.8
	6315-S	1500	10	9.07 ± 0.29	231* ± 3	195 ± 3	48 ± 2	2.94 ±0.06	35.1 ± 0.4	4.1** ±0.4	30.1 ± 1.6	44.6** ± 2.1	35.7** ± 1.5	10.4** ± 0.6
	6315-S	3000	10	9.97 ± 0.38	234 ± 10	202* ± 5	42 ± 1	2.89 ±0.05	37.5* ± 1.1	4.4* ±0.3	30.0 ± 1.2	44.4** ± 3.1	36.4** ± 2.8	10.8** ± 0.7
	CEZ	1500	8	10.88 ± 0.42	216 ± 2	190 ± 3	26** ± 1	2.84 +0.04	35.7 ± 0.7	4.9 ±0.5	29.2 ± 1.0	40.2** ± 2.0	31.7** ± 1.5	8.7** ± 0.4

a) Mean ± S E
Statistically significant against control, *P<0.05, **P<0.01

Table 7 Liver aldehyde dehydrogenase activity in rats administered 6315-S intravenously for one month

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	ALDH-activity (nmol/min./mg protein)	
				Enzyme I	Enzyme II
Male	Control (Saline)	—	5	9.18 ± 0.66[a)]	16.68 ± 0.60
	6315-S	3000	5	10.48 ± 0.55	17.27 ± 1.00
	CEZ	1500	4	8.88 ± 0.56	17.05 ± 0.54
Female	Control (Saline)	—	5	8.55 ± 0.54	15.91 ± 0.61
	6315-S	3000	5	8.40 ± 0.62	16.41 ± 0.88
	CEZ	1500	5	6.19 ± 0.21**	16.90 ± 0.78

a) Mean ± S E
Statistically significant against control, **P<0.01

合と類似していたが,6315-S の LD_{50}値は雄 7,360 mg/kg, 雌 8,550 mg/kg であり, CEZ の約 2.5 倍に相当した。6315-S 投与死亡例の剖検時肉眼所見では, 全例に死因と推定される肺水腫・出血が認められ, 他に腎臓の腫大, 脳髄膜出血, 腹水・胸水の増量, 肝臓の出血性壊死がみられた。これらの所見はいずれも 6315-S の特異的毒性を反映しているのではなく, むしろ低毒性ゆえに, 大量の高張溶液 (6315-S 25g(力価)/ml : 浸透圧 947 mOsm, CEZ 25g(力価)/ml : 浸透圧 497 mOsm) を投与されて惹起された循環障害, さらにその結果生じた低酸素状態などが原因となっていると思われる。

2. 亜急性毒性試験

6315-S 750 mg/kg, 1,500 mg/kg, 3,000 mg/kg を, 35 日間連続静脈内投与したところ, 1,500 mg/kg 以上の投与群で, 検体投与時毎に抑制症状, 眼瞼下垂, 後肢筋麻痺による歩行失調, 一時的呼吸不整などが用量依存的に発現した。1,500 mg/kg 投与群の雄 1 例が, 検体投与 9 日目に痙攣を起して死亡したが, 最高用量 3,000 mg/kg 投与群では死亡例は 1 例もみられなかった。対照薬 CEZ 投与群の検体投与後の一般状態では 6315-S 投与群のそれと大差なかったが, 1,500 mg/kg の用量で, 雄 6/10 例, 雌 2/10 例が発作性の跳躍や激しい痙攣に代表される急性中毒症状を示していずれも死亡した。死亡例の剖検では共通して肺の水腫とうっ血, 諸器官のうっ血が特徴的であったことから, 死因は大量の高張溶液による循環障害と考えられた。

検体投与の全期間を通じて認められたその他の所見は, 軟便と腹部の膨満が 6315-S の投与量に関係なく観察された。腹部の膨満は盲腸の拡張によるものであり, 下痢や軟便の誘発とともに他の各種抗生物質投与でもよく知られている事実[1]で, 対照とした CEZ 投与群でも共通してみられた。生存例はいずれの検体投与群においても順調な体重増加を示し, 雌では体重と摂餌量がむしろ増加した。摂水量は雌雄とも増加の傾向を示した。眼および聴覚検査においてはいずれも異常所見は認められなかった。

6315-S 3,000 mg/kg 投与群の雌に, プロトロンビン時間の短縮と網状赤血球数の軽度増加がみられたが, 骨髄には変化を認めなかった。

雄では 6315-S 1,500 mg/kg 以上, 雌では全投与群に血漿中グルコースの低下を, 主として 3,000 mg/kg

Table 8 Organ weights of male rats administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Absolute weight: Heart (g)	Lung (g)	Kidneys (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Submax. (g)	Thymus (mg)	Adrenals (mg)	Thyroids (mg)	Pituitary (mg)	Testes (g)	Brain (g)	Cecum[a)] (g)
Control (Saline)	—	10	369[b)] ± 7	1.16 ±0.08	1.81 ±0.02	2.68 ±0.06	15.96 ± 0.66	0.87 ±0.03	0.67 ±0.02	518 ± 35	58.9 ± 2.7	20.3 ± 0.7	11.0 ± 0.3	3.62 ±0.07	2.04 ±0.01	6.3 ±0.4
6315-S	750	10	347 ± 13	0.98** ±0.03	1.10** ±0.08	2.73 ±0.09	13.12** ± 0.52	0.66** ±0.08	0.62 ±0.02	366** ± 27	59.4 ± 2.8	18.6 ± 1.1	9.7** ± 0.3	3.22** ±0.09	1.95** ±0.02	24.1** ±1.4
6315-S	1500	9	350 ± 10	0.98** ±0.04	1.17** ±0.03	2.74 ±0.07	13.15** ± 0.45	0.69** ±0.04	0.60** ±0.01	351** ± 18	62.9 ± 3.3	17.4** ± 0.7	9.7** ± 0.2	3.45 ±0.11	1.95** ±0.02	21.1** ±1.2
6315-S	3000	10	358 ± 9	0.98** ±0.02	1.27 ±0.02	2.83 ±0.06	14.32 ± 0.74	0.78** ±0.03	0.62 ±0.02	390** ± 22	77.9** ± 2.5	17.8* ± 0.8	10.2 ± 0.4	3.38* ±0.07	1.97* ±0.02	24.5** ±0.6
CEZ	1500	4	371 ± 16	1.07 ±0.05	1.21* ±0.08	2.81 ±0.16	14.19 ± 1.19	0.86 ±0.05	0.65 ±0.02	370* ± 48	66.0 ± 7.8	20.6 ± 1.4	10.8 ± 0.6	4.25 ±0.62	2.00* ±0.01	24.9** ±3.0

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats		Relative weight: Heart (g%)	Lung (g%)	Kidneys (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Submax. (g%)	Thymus (mg%)	Adrenals (mg%)	Thyroids (mg%)	Pituitary (mg%)	Testes (g%)	Brain (g%)	Cecum (g%)
Control (Saline)	—	10		0.32 ±0.01	0.36 ±0.01	0.73 ±0.01	4.32 ± 0.13	0.24 ±0.01	0.18 ±0.01	138 ± 7	16.0 ± 0.6	5.5 ± 0.2	3.0 ± 0.0	0.98 ±0.02	0.56 ±0.01	1.71 ± 0.09
6315-S	750	10		0.28* ±0.01	0.32** ±0.01	0.79** ±0.01	3.78** ± 0.05	0.19** ±0.01	0.18 ±0.01	105** ± 5	17.1 ± 0.4	5.4 ± 0.3	2.8 ± 0.1	0.94 ±0.03	0.57 ±0.02	6.95** ± 0.26
6315-S	1500	9		0.28* ±0.01	0.33* ±0.00	0.79** ±0.01	3.76** ± 0.10	0.20** ±0.01	0.17 ±0.00	101** ± 5	18.1 ± 1.1	5.0 ± 0.3	2.8* ± 0.1	0.99 ±0.04	0.56 ±0.01	6.01** ± 0.27
6315-S	3000	10		0.28* ±0.01	0.36 ±0.01	0.80** ±0.02	4.04 ± 0.13	0.21** ±0.01	0.18 ±0.01	110** ± 5	22.2** ± 0.7	5.1 ± 0.2	2.9 ± 0.1	0.96 ±0.03	0.56 ±0.01	6.97** ± 0.21
CEZ	1500	4		0.29 ±0.01	0.33 ±0.01	0.76 ±0.03	3.81 ± 0.21	0.23 ±0.01	0.18 ±0.01	100* ± 11	17.7 ± 1.3	5.6 ± 0.3	2.9 ± 0.1	1.14 ±0.15	0.54 ±0.02	6.68** ± 0.68

No remarkable changes were found in pancreas, prostate, urinary bladder and eyes.

a) Gross weight

b) Mean ± S E

Statistically significant against control, *P<0.05, **P<0.01

Table 9 Organ weights of female rats administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Absolute weight: Heart (g)	Lung (g)	Kidneys (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Submax. (g)	Thymus (mg)	Adrenals (mg)	Thyroids (mg)	Pituitary (mg)	Ovaries (mg)	Brain (g)	Cecum[a] (g)
Control (Saline)	—	10	231[b] ± 4	0.79 ±0.03	1.07 ±0.03	1.81 ±0.20	9.78 ±0.55	0.79 ±0.06	0.47 ±0.01	374 ± 27	74.9 ± 3.0	15.7 ± 0.3	12.6 ± 0.6	92 ± 3	1.84 ±0.03	5.3 ± 0.8
6315-S	750	10	247* ± 5	0.74 ±0.02	1.01 ±0.03	1.77 ±0.04	9.34 ±0.37	0.58** ±0.02	0.45 ±0.01	389 ± 28	70.9 ± 2.6	15.3 ± 0.7	13.8 ± 0.6	93 ± 5	1.88 ±0.02	19.4** ± 1.4
6315-S	1500	10	244 ± 5	0.70* ±0.02	1.04 ±0.01	1.73 ±0.03	9.07 ±0.29	0.55** ±0.02	0.44 ±0.01	317 ± 19	70.6 ± 3.2	16.4 ± 1.0	13.6 ± 0.8	92 ± 5	1.85 ±0.02	20.6** ± 1.4
6315-S	3000	10	249* ± 6	0.73 ±0.02	1.23* ±0.06	1.81 ±0.04	9.97 ±0.38	0.61* ±0.03	0.47 ±0.02	331 ± 26	92.3 ± 7.7	15.5 ± 0.5	13.6 ± 0.5	90 ± 3	1.85 ±0.02	19.9** ± 2.0
CEZ	1500	8	245 ± 7	0.74 ±0.03	1.07 ±0.02	1.78 ±0.05	10.38 ±0.42	0.76 ±0.04	0.45 ±0.01	359 ± 18	77.1 ± 1.6	18.2 ± 1.7	13.8 ± 0.4	92 ± 3	1.87 ±0.02	15.7** ± 1.7

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats		Relative weight: Heart (g%)	Lung (g%)	Kidneys (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Submax. (g%)	Thymus (mg%)	Adrenals (mg%)	Thyroids (mg%)	Pituitary (mg%)	Ovaries (mg%)	Brain (g%)	Cecum (g%)
Control (Saline)	—	10		0.34 ±0.01	0.46 ±0.01	0.78 ±0.08	4.23 ±0.20	0.34 ±0.02	0.20 ±0.01	162 ± 12	32.5 ± 1.4	6.8 ± 0.2	5.4 ± 0.2	40 ± 1	0.80 ±0.02	2.26 ±0.32
6315-S	750	10		0.30* ±0.01	0.41** ±0.01	0.72 ±0.01	3.78 ±0.10	0.23** ±0.01	0.18* ±0.01	157 ± 10	28.8* ± 1.0	6.2 ± 0.2	5.6 ± 0.3	38 ± 2	0.77 ±0.02	7.83** ±0.50
6315-S	1500	10		0.29** ±0.01	0.43* ±0.01	0.71 ±0.01	3.73 ±0.10	0.23** ±0.01	0.18** ±0.01	130* ± 7	29.1 ± 1.4	6.7 ± 0.4	5.6 ± 0.3	38 ± 2	0.76 ±0.01	8.45** ±0.47
6315-S	3000	10		0.30** ±0.01	0.50 ±0.02	0.73 ±0.02	4.02 ±0.11	0.24** ±0.01	0.19 ±0.01	134 ± 10	37.4 ± 3.3	6.3 ± 0.2	5.5 ± 0.3	36 ± 2	0.75 ±0.02	7.91** ±0.65
CEZ	1500	8		0.30* ±0.01	0.44 ±0.01	0.73 ±0.02	4.23 ±0.11	0.31 ±0.02	0.19 ±0.01	147 ± 8	31.6 ± 0.9	7.5 ± 0.7	5.5 ± 0.2	38 ± 1	0.77 ±0.02	6.44** ±0.71

No remarkable changes were found in pancreas, uterus, urinary bladder and eyes.

a) Gross weight

b) Mean ± S E

Statistically significant against control, *P<0.05, **P<0.01

Table 10 Histological findings of rats administered 6315-S intravenously for one month

Findings \ Drug / Dose (mg/kg) / Sex / No. of rats	End of treatment period									
Drug	Control		6315-S						CEZ	
Dose (mg/kg)	—		750		1500		3000		1500	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
No. of rats	10	10	10	10	9	10	10	10	4	8
Heart										
mononuclear cell aggregation and fibrosis, slight	2		1		1		2			1
Lung										
mononuclear cell aggregation and appearance of foreign body giant cell and hair shaft	5	10	5	8	8	8	10	10	4	6
focal hemorrhage, slight	1		1	1	1		4			
Liver										
mononuclear cell aggregation	3	9	2	4	5	6	4	9	3	7
hemorrhagic necrosis, slight							1			
Kidney										
distal tubule dilatation, slight					2					
Adrenal										
hemorrhagic necrosis, severe, unilateral							1	4		
atrophy of z. glomerulosa							6	3		
Thymus										
decrease of cortical lymphocyte, slight		1	2		3		3	1	2	1
focal hemorrhage			1	1			6	1	1	1
Thyroid										
flattening follicular epithelium		8	1	1		2	2	3		
Injection site										
granulation tissue hyperplasia and / or hemorrhage, sometimes with edema around vessel	2	8	1	1		3	5	2	2	6
thrombus				1	1	1	1	8	1	
intimal hyperplasia					1	1		3	1	
Others										
depression of spermatogenesis, unilateral									1	
epithelial papillary hyperplasia with calculus in urinary bladder		1		1						
retinal degeneration, unilateral								1		

No remarkable changes were seen in spleen, pancreas, stomach, small intestine, cecum, colon, submaxillary gland, parotid gland, trachea, epididymis, prostate, seminal vesicle, ovary, uterus, parathyroid, aorta (thoracic), ureter, mesenteric lymphnode, skin, mammary gland, eye, sciatic nerve, brain, thigh muscle and femur.

Photo. 5 Hemorrhage accompanied by necrosis of the neighboring cortex in adrenal of a rat receiving i. v. 3,000 mg/kg/day of 6315-S for 1 month. H-E, ×20

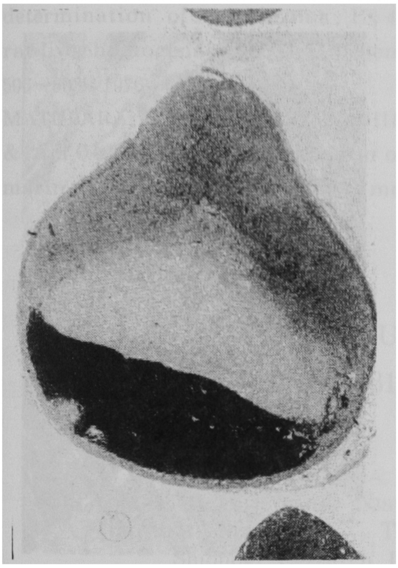


Photo. 7 Thrombosis at injection site of the tail in a rat receiving i. v. 3, 000 mg/kg day of 6315-S for 1 month H-E, ×100

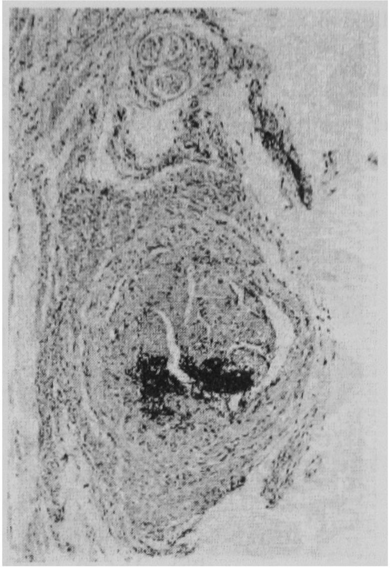


Photo. 6 Foci of granuloma and appearance of a foreign body giant cell surrounding the heir shaft in the lung from, a control rat receiving i. v. saline solution for 1 month. H-E, ×100

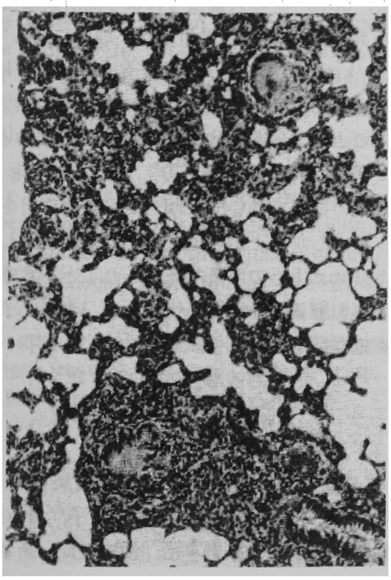


Photo. 8 Election micrograph of a hepatocyte from a rat receiving i. v. 3, 000 mg/kg/day of 6315-S for 1 month ; the structures are normal. ×7, 000

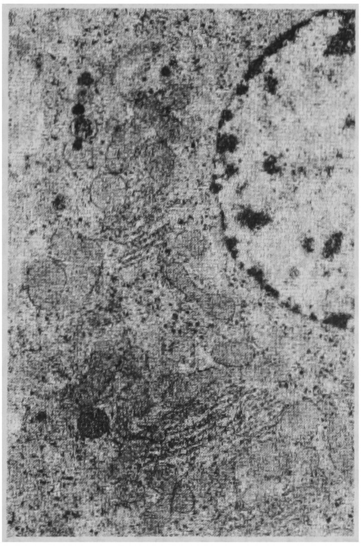


Photo. 9 Electron micrograph of a renal glomerulus from a rat receiving i. v. 3,000 mg/kg/day of 6315-S for 1 mouth ; the structures are normal. ×2,800

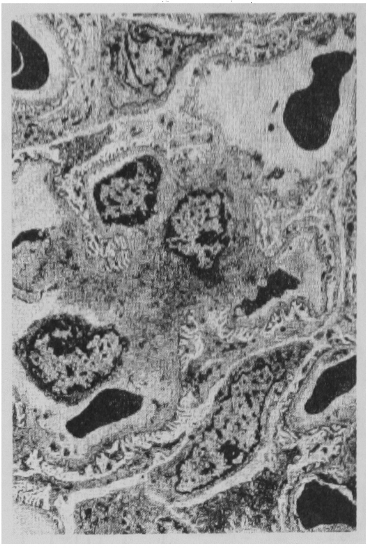
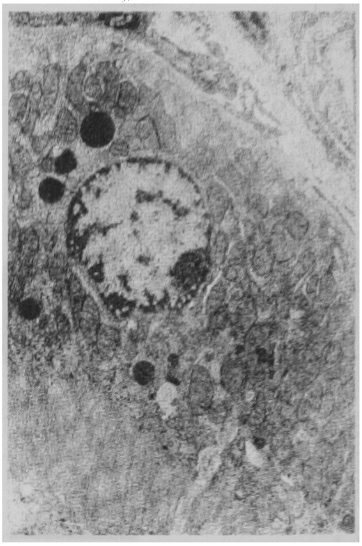


Photo. 10 Electron micrograph of a renal proximal tubule epithelium from a rat receiving i. v. 3,000 mg/kg/day of 6315-S for 1 month ; no abnormal structures are visible. ×4,500



投与群雄に GOT, GPT の軽度増加を認めたが, 肝臓にはこれらの変化を意味づけるような形態学的異常所見を光顕的, 電顕的に認めなかった。

尿検査では, 6315-S 3,000 mg/kg 投与群で蛋白尿が認められたが, 腎臓の機能を表わす血漿中尿素窒素, クレアチニン値および腎臓の組織学的所見に変化はみられなかった。

肝臓の成分では, 軽度ながら単位肝臓重量当り薬物代謝酵素活性の増加がみられた。しかし, 雄では肝臓重量の減少がみられたため, 肝臓あたりの活性は対照群に比して変りはなく, 雌では肝臓重量に変動がなかったので, 肝臓あたりの活性は軽度増加したが, 電顕的に滑面小胞体の増生を伴わず, これらの所見はいずれも軽度な変化と判断された。

器官重量および組織学的検査では, 盲腸の拡張を除いて特異的な変化はなく軽度の脾臓および心臓の重量変化は用量依存性もなく, 組織学的に異常を認めないので 6315-S の毒性を反映したものとは考えられなかった。6315-S 3,000 mg/kg 投与群の雄では, 胸腺に重量の減少, 軽度出血, 皮質リンパ球の減少, 副腎にも重量の増加がみられたので, この投与条件では, 若干のストレスが生じているものと考えられる。また, この群では副腎に出血と壊死が認められたが, 大量の高張液投与により副腎類洞壁の破綻をきたし, その結果, 局所循環障害を招いたためと思われる。対照群を含む全群に, 注射針刺入による検体投与局所の障害がみられ, 1,500 mg/kg 以上の投与群では対照群に比して高頻度にみられた。したがって, 6315-S の大量投与により局所刺激性がわずかながら発現するものと思われた。これに対して CEZ 1,500 mg/kg 投与群では, 6315-S 3,000 mg/kg 投与群に匹敵する局所刺激性が認められた。

以上のごとく, 6315-S は同用量で比較すると CEZ に比して明らかに低毒性であり, 1,500 mg/kg 以下の用量は盲腸の拡張を除いて, 明らかな中毒作用をもたらさなかった。しかし, 例外的に高い感受性を示した雄1例が 1,500 mg/kg の用量で死亡したことを考慮に入れて, 最大無影響量を 750 mg/kg/day と推定した。

(試験実施期間 : 急性毒性試験 1983 年 1 月～5 月
亜急性毒性試験 1983 年 2 月～10月)

謝　辞

本試験に御協力いただいた塩野義製薬研究所の奈良博, 伊藤文男, 佐藤誠二, 米谷益子, 豊島久美子, 堂崎猛, 原内敏夫, 高野享治, 池内滋郎, 新名直子,

水島敬夫，小川文子の諸氏に深謝します。

文　　献

1) MATUBARA, T. ; M. KOIKE, A. TOUCHI, Y. TOCHINO & K. SUGENO : Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. Anal. Biochem. 75 : 596~603, 1976
2) MATUBARA, T.; S.OTUBO, E.YOSHIHARA & A.TOUCHI : Biotransformation of coumarin derivatives (2). Oxidative metabolism of 7-alkoxycoumarin by microsomal enzymes and a simple assay procedure for 7-alkoxycoumarin O-dealkylase. Jpn. J. Pharmacol. 33 : 41~56, 1983
3) 松原尚志，大坪 龍，小川文子：6315-S のアルコール代謝系に及ぼす影響。Chemotherapy
4) GEORGE, W. L. ; R. D. ROLFE, V. L. SUTTER & S. M. FINEGOLD : Diarrhea and colitis associated with antimicrobial therapy in man and animals. Am. J. Clin. Nurt. 32 : 251~257, 1979

INTRAVENOUS ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY STUDIES OF 6315-S (FLOMOXEF) IN RATS

YOSHIHIRO MURAOKA, ISAO YAHARA, HIROSHI WATANABE, SHINJI MATSUI, YASUHIRO NISHIBE AKIRA NAKANO, TOMOYUKI HANAFUSA, TAKASHI MATSUBARA, TOSHIO YOSHIZAKI and YOSHIO HARADA
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & CO., Ltd.

Intravenous acute and one-month subacute toxicity studies of 6315-S (flomoxef), an oxacephem antibiotic, were carried out in rats. In the acute toxicity study, LD_{50} values of 6315-S were 7.4 and 8.6 g/kg for males and females, respectively. These values were about 2.5 times those of cefazolin (CEZ), a reference compound. Main toxic signs at lethal doses of 6315-S were exhaustion, ataxia, dyspnea and tono-clonic convulsions, and most deaths occurred within 30 min after administration. At autopsy, edema and congestion of the lungs were seen in all dead animals. These toxic signs, course of death and pathological changes were similar to those found in CEZ-treated rats.

In the subacute toxicity study using dose levels of 750 mg/kg, 1,500 mg/kg and 3,000 mg/kg of 6315-S and 1,500 mg/kg of CEZ, the 6315-S-treated rats showed transient depression within 5 min at 1,500 mg/kg and sedation, ptosis and ataxia up to 40 min after 3,000 mg/kg. Soft stools were seen in rats of all drug-treated groups throughout the dosing period. Mortality was 1/20 for the 1,500 mg/kg group of 6315-S and 8/20 for the CEZ group.

Cecal enlargement without histological changes was seen in all drug-treated rats. Adrenal weight increased in the 3,000 mg/kg group and some glands showed cortical hemorrhage and necrosis. Local irritation at the injection site in the tail was seen in many rats, including the controls, being more frequent in the 1,500 and 3,000 mg/kg groups of 6315-S and the CEZ group than in the control group.

These results indicate that in rats 750 mg/kg/day of 6315-S is a non-effect dose from the toxicological point of view.