NY-198のウサギでの腎毒性試験

小林文彦・小川幹男・松浦稔・吉崎敏夫
塩野義製薬株式会社研究所神崎川分室

キノロン・カルボン酸系抗菌剤であるNY-198の50mg/kgおよび200mg/kgを経口で，また，12.5mg/kgおよび50mg/kgを静脈内に，いずれも，日本白色種ウサギに7日間連続投与して腎毒性を調べ，以下の成績を得た。

(1) NY-198 200mg/kg経口投与群でのみ摂餌量の著減，それに伴う体重減少がみられた。その他の各投与群では体重への影響はなく，一般状態に全く異常はみられなかった。

(2) NY-198の経口および静脈内投与群ともに，尿検査，血液生化学検査および病理組織学的検査で，腎障害を示唆する変化は全く認められなかった。

(3) 以上の成績よりNY-198は腎障害作用を有しないと考えられた。

NY-198は，北陸製薬株式会社で新規に合成されたキノロン・カルボン酸系の抗菌剤で，グラム陰性菌，陽性菌に対しすぐれた抗菌作用を有している。今回，本剤の安全性評価の一環として，ウサギを用いて経口および静脈内投与により腎毒性試験を実施した。

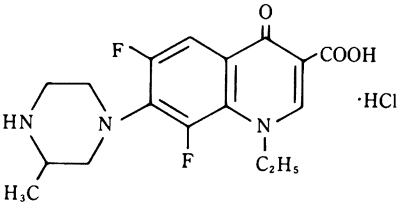
I 実験材料および方法

1. 実験動物および飼育条件

12週齢の日本白色種ウサギ（KBL：JW, SPF, 北山ラベス）雄30匹を購入（入荷時体重：2.48～2.69kg）使用した。これら動物は，2週間の予備飼育後実験飼育室に移動し，個体別アルミ製ケージ（W400×D550×H350㎜）に1匹ずつ収容して，さらに1週間の馴化飼育を行なったのち，15週齢で実験に用いた。動物は，全実験期間を通じて，室温23±1℃，相対湿度55±10%，新鮮空気による15回/時間の換気，午前8時から12時間照明に条件設定されたバリア環境飼育室で飼育した。飼料はウサギ用固形飼料（CR-1，日本クレア）をオートクレーブ処理（121℃，7分間）して1日200g／動物を供給し，飲料水は豊中市上水を孔径30μおよび3μフィルターで濾過後，流水殺菌燈を照射して自動給水装置にて供給した。飲料水は実験期間を通じて自由摂取させた。実験期間中，飼育室の環境条件，自動給水装置などに異常は生じなかった。

2. 試験物質および投与検体調製法

a) 試験物質：NY-198は，Fig. 1に示す化学構造および化学名を有する黄白色の結晶性粉末で，においはなく，常温では水にほとんど溶けない。使用したNY-198 (Lot No. ZB690) は塩酸塩なので，投与量は分子量換算で遊離酸として算出した。



$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3 \cdot HCl$

1-ethyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid hydrochloride

Fig. 1. Chemical structure of NY-198

b) 投与検体調製法：経口投与用のNY-198投与検体は，媒体に0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液（CMC, Lot No. M6B0326, 半井化学）を用いて，乳鉢，乳棒で10% (W/V) 懸濁液に調整した。静脈内投与用のNY-198投与検体は，沸騰水浴中にてNY-198を蒸留水に溶解させ，冷却後0.1N水酸化ナトリウム溶液でpHを5.25に調製し，さらに，注射用蒸留水（製造番号 6E780. 大塚製薬）を加えて3%（W/V）溶液に調製した。これをさらに孔径0.45μミリポアフィルター（日本ミリポアフィルター工業）で濾過して投与した。これら投与検体はいずれも用時調製し，調製後4時間まで安定であることが確認されているので，調製後3時間

以内に投与した。対照群には，生理食塩液（静脈内投与群）または，0.5% CMC溶液（経口投与群）を投与した。

3．投与量，投与方法および群構成

a） 投与量：NY-198と類似構造を有するofloxacin (OFLX) のウサギ腎毒性試験[1]では，1日400または800mg/kg投与で体重減少が生ずることから，最高投与量は200mg/kgに設定されている。NY-198もウサギへの連続経口投与により体重減少が生ずる[2]ことが明らかになっているので，本実験の経口投与量をOFLXと等しい200mg/kgを高用量とし，50mg/kgを低用量と設定した。静脈内投与では，さらに毒性が強く現われると考えられるので，経口投与の低用量と同じ50mg/kgを高用量とし，12.5mg/kgを低用量とした。

b） 投与方法：NY-198の予定臨床投与経路である経口投与群のほかに，投与検体全量を血中に入れる目的で静脈内投与群を設定した。経口投与群では，ネラトンカテーテル（出雲ゴム）を用いて検体を強制投与し，静脈内投与群ではペリスタ・ミニ・ポンプを用いてウサギ耳介静脈内投与を行なった。経口投与群の投与容量は，200mg/kg投与群では2ml/kg，50mg/kg投与群では0.5ml/kgであった。対照群には媒体の0.5% CMC溶液を2ml/kg投与した。静脈内投与群の投与容量は，50mg/kg投与群では1.7ml/kg，12.5mg/kg投与群では0.42ml/kgであった。対照群には，生理食塩液1.7ml/kgを投与した。なお，静脈内投与群の投与速度は0.67ml/min (40ml/h) に条件設定して投与した。これら経口および静脈内投与は1日1回7日間連続して行なった。

c） 群構成：ウサギは投与開始7日前に体重別層化無作為抽出法で1群4匹ずつの6群に群分けし，一連番号の耳標をつけて個体標識した。投与開始時のウサギ体重は3.11～3.43kgであった。

4．観察項目

a） 一般状態，体重および摂餌量：一般状態は毎日1～2回観察し，体重は検体投与開始6日前に1回，検体投与開始後は毎日測定した。摂餌量も検体投与開始6日前に1回，検体投与開始後は毎日餌の供給量，残量を測定して求めた。

b） 尿検査：検体投与5日前（前値）および投与開始3日後，6日後に導尿カテーテル(Disposable Rob-Nel® Catheter, Sherwood)を用いて膀胱尿を午前中に採取し，色調，pH（pH試験紙，東洋濾紙），蛋白（煮沸法），糖，ケトン体，ビリルビン，潜血，ウロビリノーゲン（BMテスト8-II，塩野義），比重(手持屈折計，アタゴ)および沈渣の観察を行なった。

c） 血液生化学検査：検体投与5日前（前値）および投与開始3日後，7日後に外頸静脈からヘパリン添加真空採血管（テルモ）を用いて5ml採血し，遠心分離後，血漿中の下記成分をTechnicon SMAC III (C9100) システムを用いて測定した。アルブミン（BCG法），総蛋白質（ビュウレット法），グルコース（ヘキソキナーゼ法），クレアチニン(Jaffé法)，尿素窒素(ジアセチルモノオキシム法)，GOT(UV法)，GPT(UV法)，ALP（Bessey-Lowry法），LDH(UV法)，総コレステロール（酵素法），総ビリルビン（アルカリアゾビリルビン法），Na（イオン選択ガラス電極法），K（イオン選択バリノマイシン電極法），Cl（チオシアン酸第2水銀法），Ca（クレゾールフタレインコンプレクソン法）である。

d） 器官・組織重量および病理学的検索：ウサギを検体投与開始後7日目にペントバルビタールナトリウム（Somnopentyl®, Pitman-Moore）麻酔下に頸動脈より放血，致死させ，諸器官・組織を肉眼的に観察後，腎臓，肝臓，心臓，肺，脾臓，胸腺，副腎，盲腸（内容物除去後）の各重量を測定した。また，盲腸については重量測定前に内容物を含んだ状態でラセン溝に平行な最大径をノギスを用いて測定した。これら器官・組織および投与局所を10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。腎臓，肝臓，投与局所および肉眼的に異常を認めた組織について，常法によりパラフィン包埋・薄切後，ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し光顕的に観察した。また，一部の腎臓および肝臓については脂肪染色(Sudan III) を行なった。

5．統計学的解析

数値データについては，平均値と標準誤差を計算し，各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，等分散仮説が棄却された時は，Cochran-Coxの検定を行ない，棄却されない時は，Studentのt検定を行なった。

II 実験成績

1．一般状態

経口投与群および静脈内投与群とも，NY-198に起因したと考えられる一般状態の異常は認められなかった。NY-198 12.5mg/kg静脈内投与群の1例が初回投与中の事故により後肢股関節脱臼と思われる歩行異常を呈し，軽度な体重増加抑制および摂餌量の減少傾向を示した。

2．体重（Table 1）

NY-198の12.5および50mg/kg静脈内投与群および50mg/kg経口投与群の体重推移は，いずれも，対照群と差がなかった。これに対し，NY-198 200mg/kg経口投与群では，投与1日目から体重減少がみられ，投与4日以降は対照群に比し有意な体重減少を示した。

3．摂餌量（Table 2）

NY-198 50mg/kg静脈内投与群で投与4日および6日

Table 1. Body weight changes in male rabbits given NY-198 intravenously or orally for 7 days

Compound	Dose (mg/kg)	Route	No. of rabbits	Day of administration								
				−6	0	1	2	3	4	5	6	7
Control (saline)	—	I.V.	4	3.19[a] ±0.05	3.28 ±0.49	3.30 ±0.06	3.29 ±0.05	3.28 ±0.05	3.27 ±0.05	3.27 ±0.06	3.27 ±0.05	3.32 ±0.05
NY-198	12.5	I.V.	4	3.19 ±0.05	3.30 ±0.07	3.29 ±0.07	3.31 ±0.08	3.28 ±0.09	3.27 ±0.09	3.28 ±0.11	3.26 ±0.13	3.26 ±0.13
NY-198	50	I.V.	4	3.15 ±0.04	3.26 ±0.04	3.25 ±0.04	3.24 ±0.05	3.21 ±0.04	3.21 ±0.05	3.25 ±0.05	3.21 ±0.05	3.23 ±0.07
Control (0.5% CMC)	—	P.O.	4	3.18 ±0.04	3.29 ±0.06	3.29 ±0.07	3.32 ±0.07	3.29 ±0.06	3.32 ±0.06	3.33 ±0.06	3.32 ±0.06	3.34 ±0.07
NY-198	50	P.O.	4	3.20 ±0.06	3.30 ±0.06	3.31 ±0.07	3.33 ±0.08	3.33 ±0.08	3.36 ±0.07	3.37 ±0.08	3.36 ±0.08	3.38 ±0.08
NY-198	200	P.O.	4	3.12 ±0.06	3.25 ±0.07	3.17 ±0.07	3.09 ±0.09	3.01 ±0.11	3.00* ±0.10	2.98* ±0.10	2.94* ±0.11	2.91** ±0.09

[a] Mean ± S.E. Day 0 : Starting day of administration Day 7 : Day of autopsy

*, ** Statistically significant against control at $p<0.05$ and $p<0.01$

Table 2. Food consumption in male rabbits given NY-198 intravenously or orally for 7 days

Compound	Dose (mg/kg)	Route	No. of rabbits	Day of administration								
				−6	0	1	2	3	4	5	6	7
Control (saline)	—	I.V.	4	156[a] ± 20	177 ± 9	154 ± 12	152 ± 6	148 ± 10	144 ± 3	145 ± 9	158 ± 10	139 ± 6
NY-198	12.5	I.V.	4	176 ± 15	187 ± 12	138 ± 42	142 ± 34	138 ± 39	113 ± 12	149 ± 24	146 ± 23	140 ± 21
NY-198	50	I.V.	4	159 ± 11	170 ± 9	146 ± 13	140 ± 14	131 ± 6	74** ± 9	124 ± 9	120* ± 10	119 ± 11
Control (0.5% CMC)	—	P.O.	4	179 ± 9	180 ± 13	173 ± 12	167 ± 15	164 ± 15	133 ± 20	151 ± 15	159 ± 18	158 ± 19
NY-198	50	P.O.	4	180 ± 14	180 ± 12	168 ± 19	154 ± 23	166 ± 20	136 ± 21	154 ± 18	155 ± 21	158 ± 21
NY-198	200	P.O.	4	175 ± 3	175 ± 10	59* ± 26	33* ± 24	27** ± 25	9** ± 9	20** ± 17	19** ± 13	7** ± 5

[a] Mean ± S.E. Day 0 : Starting day of administration Day 7 : Day of autopsy

*, ** Statistically significant against control at $p<0.05$ and $p<0.01$

Table 3. Urinalysis in male rabbits before and during intravenous administration of NY-198 for 7 days

Compound		Control				NY-198							
Dose (mg/kg)		−				12.5				50			
Rabbit No.		A 1M	A 2M	A 3M	A 4M	B 5M	B 6M	B 7M	B 8M	C 9M	C10M	C11M	C12M
Color	−5[a]	YT[b]	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT
	3	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT
	6	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT
pH	−5	8.6	8.2	8.2	8.8	8.6	8.4	8.2	8.4	8.4	8.2	8.2	8.6
	3	8.6	8.6	8.6	8.4	8.4	8.6	8.6	8.6	8.2	8.4	8.4	8.6
	6	8.6	8.8	8.6	8.8	8.8	8.6	8.8	8.6	8.6	8.8	8.4	8.8
Protein	−5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	6	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Glucose	−5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	6	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Occult	−5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
blood	3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	2+	−	−
	6	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

[a] Day examined [b] YT : Yellow and turbid

− : Negative ± : Very slight + : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked

Table 4. Urinalysis in male rabbits before and during oral administration of NY-198 for 7 days

Compound		Control (0.5% CMC)				NY-198							
Dose (mg/kg)		−				50				200			
Rabbit No.		D13M	D14M	D15M	D16M	F17M	E18M	E19M	E20M	F21M	F22M	F23M	F24M
Color	−5[a]	YT[b]	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	Y	TY
	3	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	B	Y	Y	YT
	6	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	YT	CG	YT	DB	YT
pH	−5	8.4	8.6	8.2	8.2	8.2	8.6	8.4	8.2	8.4	8.8	8.4	8.4
	3	8.6	8.6	8.4	8.4	8.2	8.6	8.4	8.2	4.8	4.8	4.8	5.2
	6	8.2	8.6	8.6	8.6	8.8	8.6	8.6	8.8	4.6	7.4	4.0	8.0
Protein	−5	−	−	−	−	−	±	−	−	−	−	−	−
	3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	±	−
	6	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Glucose	−5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	6	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Occult blood	−5	−	−	−	−	−	3+	−	−	−	−	−	−
	3	−	−	−	−	−	−	−	+	−	2+	−	−
	6	−	+	−	−	−	−	−	−	+	3+	−	−

[a] Day examined [b] YT : Yellow and turbid Y : Yellow B : Brown DB : Dark brown CG : Clear and gelatinous
− : Negative ± : Very slight + : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked

Table 5-1. Blood biochemistry in male rabbits given NY-198 intravenously for 7 days

Compound	Control			NY-198					
Dose (mg/kg)	−			12.5			50		
No. of rabbits	4			4			4		
Day examined	−5	3	7	−5	3	7	−5	3	7
Glu. (mg/dl)	148± 6[a)]	152±4	151±6	156±4	159±3	145±4	154±4	159±2	149±2
T. Pro. (g/dl)	5.9±0.1	6.2±0.1	6.0±0.1	5.8±0.0	5.9±0.1	5.9±0.1	6.2±0.2	6.1±0.1	5.9±0.1
Alb. (g/dl)	4.2±0.1	4.3±0.1	4.3±0.1	4.2±0.0	4.3±0.1	4.3±0.1	4.5±0.1	4.5±0.1	4.3±0.1
Crea. (mg/dl)	1.00±0.02	1.06±0.06	1.07±0.06	0.94±0.06	1.00±0.04	0.97±0.05	0.95±0.08	1.01±0.06	0.95±0.04
BUN (mg/dl)	18±1	18±2	17±2	18±2	19±1	18±1	18±1	16±1	15±1
GOT (U/L)	15±2	22±6	24±10	27±11	30±10	29±12	26±9	48±16	34±9
GPT (U/L)	51±19	52±21	52±13	48±14	42±7	53±14	49±10	54±9	52±13
ALP (U/L)	218±16	203±29	206±27	245±11	220±24	196±32	212±16	186±15	167±18
LDH (U/L)	71±11	63±14	51±5	67±12	56±13	64±23	75±7	88±23	90±27
T. Cho. (mg/dl)	27±2	27±3	24±2	28±3	24±4	25±4	38±6	41±9	39±8
T. Bil. (mg/dl)	0.05±0.00	0.06±0.01	0.11±0.01	0.05±0.00	0.06±0.01	0.09±0.00	0.05±0.01	0.05±0.01	0.08±0.01
Na (mEq/dl)	146±1	147±1	147±0	146±1	145±0	147±0	146±1	147±0	147±1
K (mEq/dl)	4.9±0.2	5.3±0.3	4.9±0.2	5.1±0.1	5.2±0.1	4.5±0.1	5.1±0.3	5.1±0.1	4.6±0.1
Cl (mEq/dl)	102±1	103±1	104±2	101±1	105±2	102±2	102±2	106±1	105±1
Ca (mg/dl)	15.8±0.1	15.5±0.2	15.4±0.1	15.9±0.2	15.3±0.5	15.4±0.4	16.0±0.4	15.0±0.1	14.7±0.2*

[a)] Mean ± S.E.

*, ** Statistically significant against control at $p<0.05$ and $p<0.01$

Table 5-2. Blood biochemistry in male rabbits given NY-198 orally for 7 days

Compound	Control			NY-198					
Dose (mg/kg)	−			50			200		
No. of rabbits	4			4			4		
Day examined	−5	3	7	−5	3	7	−5	3	7
Glu. (mg/dl)	154±7[a)]	158±9	152±7	155±6	161±6	147±4	150±4	162±7	140±5
T. Pro. (g/dl)	5.8±0.1	6.0±0.1	5.9±0.1	5.8±0.0	5.9±0.0	6.0±0.1	6.1±0.1	5.9±0.2	5.8±0.1
Alb. (g/dl)	4.3±0.1	4.4±0.1	4.3±0.1	4.2±0.1	4.3±0.0	4.3±0.1	4.4±0.1	4.3±0.0	4.2±0.1
Crea. (mg/dl)	0.96±0.05	1.04±0.06	0.94±0.07	1.01±0.01	1.10±0.07	1.00±0.02	0.96±0.06	1.38±0.22	1.38±0.14*
BUN (mg/dl)	18±1	16±1	16±0	16±0	16±0	15±1	17±1	19±4	13±1*
GOT (U/L)	32±6	33±5	26±6	19±3	29±9	24±5	18±1	14±3*	12±3
GPT (U/L)	45±6	40±6	43±4	40±9	40±5	51±8	34±8	31±7	32±5
ALP (U/L)	197±20	192±18	180±20	214±25	210±20	207±17	236±12	195±18	154±13
LDH (U/L)	82±8	75±11	56±7	75±2	64±11	80±20	52±3*	57±12	37±2
T. Cho. (mg/dl)	43±5	38±4	36±5	30±9	32±11	31±8	38±2	62±6*	94±20
T. Bil. (mg/dl)	0.08±0.04	0.06±0.00	0.08±0.01	0.05±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.04±0.01	0.07±0.01	0.09±0.02
Na (mEq/dl)	146±1	147±1	147±1	145±0	147±1	147±1	146±1	149±0*	148±0
K (mEq/dl)	5.0±0.2	5.4±0.3	4.6±0.2	4.7±0.2	5.5±0.3	4.9±0.1	4.9±0.2	4.7±0.2	4.2±0.3
Cl (mEq/dl)	103±1	106±0	104±1	102±1	107±1	104±0	102±1	108±1	107±1
Ca (mg/dl)	15.6±0.2	15.6±0.3	15.3±0.2	15.2±0.1	15.6±0.3	15.0±0.2	15.6±0.3	13.5±0.5*	13.9±0.1**

a) Mean ± S.E.

*, ** Statistically significant against control at $p<0.05$ and $p<0.01$

Table 6-1. Organ weights in male rabbits given NY-198 intravenously for 7 days

Compound	Control		NY-198			
Dose (mg/kg)	−		12.5		50	
No. of rabbits	4		4		4	
Organ weight	Absolute	Relative	Absolute	Relative	Absolute	Relative
Final B. W. (kg)	3.32± 0.05[a)]		3.26± 0.13		3.23± 0.07	
Heart (g)	8.37± 0.27	2.53±0.08	7.78± 0.54	2.38±0.09	8.03± 0.23	2.50±0.11
Lung (g)	9.79± 0.16	2.95±0.03	9.11± 0.25	2.80±0.06	9.73± 0.23	3.02±0.10
Kidney (R), (g)	9.02± 0.65	2.72±0.19	9.02± 0.69	2.77±0.15	9.41± 0.36	2.92±0.09
(L), (g)	9.26± 0.63	2.79+0.17	9.21± 0.81	2.82±0.17	9.38± 0.62	2.90±0.15
Liver (g)	105.46±10.53	31.73±2.77	100.50±12.10	30.71±2.94	93.97± 7.06	29.14±2.19
Spleen (g)	1.55± 0.20	0.47±0.06	1.24± 0.04	0.38±0.02	1.51± 0.23	0.47±0.08
Thymus (g)	4.85± 0.51	1.46±0.16	4.70± 0.73	1.43±0.17	4.11± 0.68	1.27±0.19
Adrenal (R), (mg)	123 ± 7	37.05±1.69	98 ±14	30.14±4.54	131 ± 8	40.51±1.96
(L), (mg)	140 ± 6	42.11±1.43	111 ±15	34.28±5.43	136 ±10	42.17±2.53
Cecum (Wt), (g)	48.48± 5.56	14.63±1.69	44.62± 1.74	13.71±0.12	47.68± 1.33	14.81±0.60
(Di), (mm)	32.3 ± 1.4		35.6 ± 1.1		38.9 ± 3.1	

[a)] Mean ± S. E.

*, ** Statistically significant against control at $p<0.05$ and $p<0.01$

Table 6-2. Organ weights in male rabbits given NY-198 orally for 7 days

Compound	Control		NY-198			
Dose (mg/kg)	−		50		200	
No. of rabbits	4		4		4	
Organ weight	Absolute	Relative	Absolute	Relative	Absolute	Relative
Final B.W. (kg)	3.34± 0.07[a)]		3.38± 0.08		2.91± 0.09**	
Heart (g)	8.38± 0.24	2.51±0.08	7.78± 0.23	2.30±0.07	6.95± 0.26**	2.40±0.08
Lung (g)	11.47± 0.48	3.44±0.17	12.25± 2.36	3.68±0.82	11.27± 2.10	3.92±0.80
Kidney (R), (g)	9.56± 0.59	2.86±0.15	9.56± 0.20	2.84±0.10	7.51± 0.38*	2.58±0.07
(L), (g)	9.93± 0.47	2.97±0.13	9.63± 0.25	2.86±0.11	7.68± 0.48*	2.63±0.08
Liver (g)	103.41±14.54	30.78±3.73	94.34± 6.10	27.95±1.76	60.48± 2.59	20.85±0.92
Spleen (g)	1.32± 0.07	0.40±0.02	1.46± 0.23	0.44±0.08	1.36± 0.05	0.47±0.02*
Thymus (g)	3.67± 0.69	1.10±0.21	4.92± 1.00	1.45±0.28	2.37± 0.46	0.82±0.17
Adrenal (R), (mg)	97 ± 7	29.23±2.57	103 ± 8	30.48±2.02	124 ±15	42.30±4.21*
(L), (mg)	98 ± 6	29.52±2.33	105 ±14	30.83±3.72	128 ±20	43.55±5.72
Cecum (Wt), (g)	46.24± 1.85	13.85±0.49	47.33± 3.38	14.07±1.17	49.66± 2.96	17.05±0.52**
(Di), (mm)	36.9 ± 1.4		38.9 ± 1.5		42.3 ± 2.2	

[a)] Mean ± S. E.

*, ** Statistically significant against control at $p<0.05$ and $p<0.01$

Table 7. Pathological findings in male rabbits given NY-198 intravenously or orally for 7 days

Pathological findings	Compound	Control				NY-198 (i.v.)								Control			NY-198 (p.o.)								
	Dose (mg/kg)	—				12.5				50				—			50				200				
	Rabbit No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Gross findings																									
Kidney : whitish in outer medulla		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±	−
Liver : atrophy		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	±	+	−
yellowish		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±	±	+	−
Microscopic findings																									
Kidney : fatty deposition of distal orhenle tubulus		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	±
Liver : atrophy of hepatocytes		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	±
fatty deposition of hepatocytes		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	±	−

− : Normal ± : Very slight + : Slight ± : Moderate ± : Marked

に一過性の摂餌量減少がみられた。一方，NY-198 200 mg/kg経口投与群では，投与1日後から著しい摂餌量の減少がみられ，投与期間中継続した。その他の静脈内および経口投与群の摂餌量は対照群と差がなかった。

4. 尿検査（Table 3，4）

NY-198の12.5mg/kgおよび50mg/kg静脈内投与群では，いずれの検査項目にも本剤投与によると考えられる変化はみられなかった。

NY-198の200mg/kg経口投与群では，尿の酸性化および尿の色調異常（褐色透明化，一部ゼラチン状）がみられ，極く軽度な蛋白陽性例と潜血反応陽性例がみられた。また，対照群，NY-198の経口および静脈内投与群ともに尿沈渣検査では，腎障害を示唆する変化はみられなかった。

5. 血液生化学検査（Table 5-1，5-2）

NY-198 12.5mg/kgおよび50mg/kg静脈内投与群では，血漿中のクレアチニン，尿素窒素などは，投与開始後のいずれの検査でも対照群と差がなかった。これに対し，NY-198 200mg/kg経口投与群では，血漿中のクレアチニンが3日間投与後に2例（F21M，F22M）で軽度増加を示し，7日間投与後には有意差がみられた。しかし，尿素窒素は，逆に軽度な低下がみられた。その他には総コレステロールの増加，GOT活性，Caの低下がみられた。NY-198 50mg/kg投与群では，これらの値はいずれも対照群と差がなかった。

6. 器官・組織重量（Table 6-1，6-2）

NY-198 12.5mg/kgおよび50mg/kg静脈内投与群の器官・組織重量では，対照群との間に有意差を示すものはみられなかった。NY-198 50mg/kg経口投与群でも対照群との間に有意差を示す器官・組織はなかったが，NY-198 200mg/kg経口投与群では，腎臓の絶対重量の減少，心臓の絶対重量の減少および肝臓の絶対・相対重量の減少傾向がみられた。また，副腎および盲腸の相対重量の軽度な増加傾向を認めた。

7. 病理学的検索（Table 7）

腎臓では，NY-198の200mg/kg経口投与群の1例（F23M）で肉眼的に髄質外帯の極く軽度な白色化がみられたが，光顕的には軽度な脂肪沈着が遠位尿細管およびヘンレー係蹄の上皮細胞にみられたのみであった。これら以外の経口および静脈内投与群の腎臓には，肉眼的および病理組織学的にNY-198起因性と考えられる変化を認めなかった（Fig. 2，3）。NY-198 200mg/kg経口投与群では，肝臓の軽度な黄色化と萎縮が3例（F21M～F23M）にみられ，病理組織学的には，対照群に比し，肝細胞の軽度な萎縮が全例（F21M～F24M）に，脂肪沈着を伴った空胞化が2例（F21M，F23M）にみられた。NY-198静脈内投与群の投与局所で，出血，浮腫および壊死な

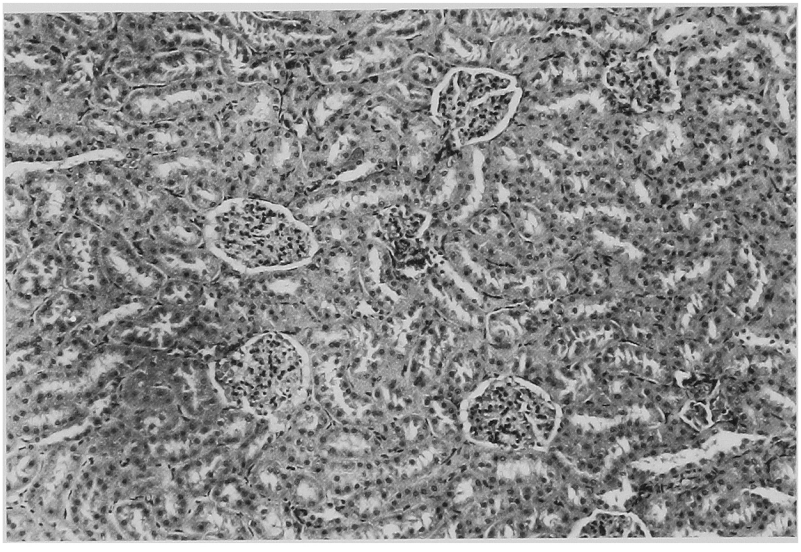


Fig. 3. Kidney from male rabbit given 200 mg/kg of NY-198 orally for 7 days. (H-E stain, × 125)

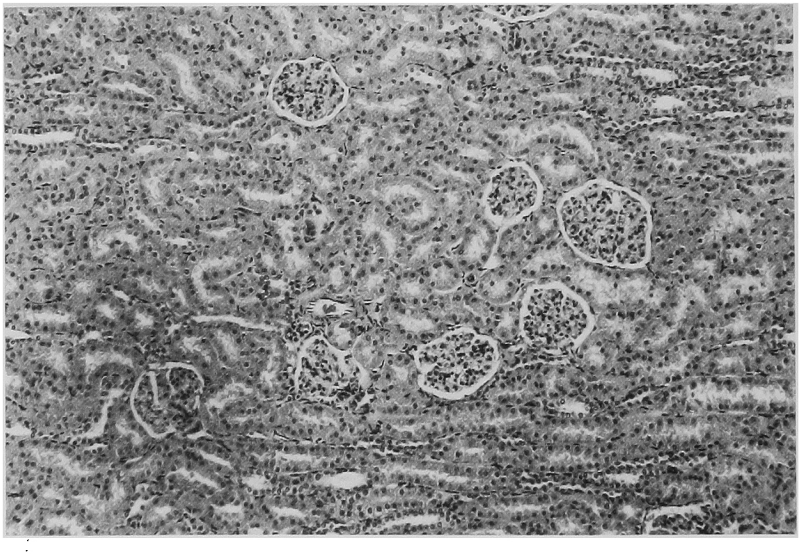


Fig. 2. Kidney from control male rabbit given CMC orally for 7 days. (H-E stain, × 125)

どが投与量と無関係にみられ，対照群にも同様の投与局所の出血を認めた。また，対照群およびNY-198経口投与群では，肺門部の黒っぽい例が散見され，光顕的には肺門部の出血や出血を伴った肺水腫などであった。

III 考 察

NY-198の200mg/kg経口投与群では著しい摂餌量の減少と有意な体重減少が認められたが，50mg/kgの経口投与群および12.5mg/kg，50mg/kgの静脈内投与群では，体重への影響はみられなかった。また，これらいずれの投与群でも投与期間中の一般状態に著変を認めなかった。NY-198静脈内投与群では，投与局所に出血を伴った浮腫および壊死を認めた。

NY-198 200mg/kg経口投与群でみられた摂餌量の減少および体重減少は，抗生物質投与時にウサギでよく生ずることが知られており[3~5]，また，NY-198と類似構造を有するofloxacinのウサギ腎毒性試験[1]やイヌ亜急性毒性試験[6]でも大量投与で同様の変化が報告されている。従って，このような摂餌量の減少，それに伴う体重増加抑制は，抗菌剤をウサギに大量投与した際にみられる変化で，NY-198に特異的な変化ではないと考えられる。

NY-198静脈内投与群で認められた投与局所の出血を伴った浮腫および壊死性の変化は，本剤の静脈内投与によるラット急性毒性試験[7]でもみられている。このことは，静脈内投与するために特別に調製したNY-198投与検体が酸性であったため局所刺激性を示したものと考えられる。

NY-198 200mg/kg経口投与群で尿の酸性化および尿の褐色透明化がみられたが，これらは抗生物質投与後，腸内細菌叢の変化から食欲減退をきたし，絶食に近い状態に陥ったために生じた尿の変化であり[4]，正常ウサギを絶食状態にしても尿の酸性化が生ずる。従って，尿の酸性化および尿の褐色透明化は，NY-198の直接作用ではないものと考えられる。また，NY-198経口投与群でみられた極く軽度な蛋白陽性は，尿沈渣および腎臓の病理組織学的検査で腎障害を示唆する変化がみられなかったことから，導尿時の尿路障害による潜血反応陽性に起因した変化と考えられる。

NY-198 200mg/kg経口投与群において，血中のクレアチニンの軽度な増加，尿素窒素の軽度低下，コレステロールの増加，GOT活性の低下を認めたが，クレアチニンの増加は軽度であり，しかも，尿素窒素は逆に減少していたことから，クレアチニンの軽度増加は腎障害を反映したものとは考えがたく，むしろ，摂餌量の著減に基づく変化と考えられる。腎臓，心臓の絶対重量減少および肝臓の絶対・相対重量の減少傾向なども，摂餌量減少を反映したものと考えられる。病理組織学的検索でも，腎臓および肝臓に器質的変化はみられず，肝細胞の萎縮，脂肪沈着および腎臓の遠位尿細管，ヘンレー係蹄上皮細胞への脂肪沈着を認めたのみであった。これらの変化は，高橋ら[8]が報告した，急性飢餓状態下のラットで肝臓の萎縮や脂肪沈着および腎臓の脂肪沈着が生じるという変化と同質のものと考えられる。また，摂餌量に影響がみられなかったNY-198静脈内投与群では，これら諸指標には何の変化も生じなかった。従って，NY-198 200mg/kg経口投与群でみられた上記の諸変化は，検体起因性の変化とは考えがたく，摂餌量減少時に生ずる二次的なものと考えられる。

以上の成績から，NY-198をウサギに50mg/kg/day連続7日間静脈内投与，又は，200mg/kg/day連続7日間経口投与しても腎臓への悪影響はないと考えられる。

謝 辞

本実験に御協力いただいた池内滋郎，丸山敏之，山県英弘の諸氏に感謝する。

文 献

1) 古濱和久，赤羽浩一，加藤道幸，山田明甫，小野寺威：合成抗菌剤DL-8280のウサギにおける10日間腎毒性，Chemotherapy 32 (S-1)：1142~1147，1984
2) 梅村建夫：NY-198のウサギにおける器官形成期経口投与試験．Chemotherapy 36 (S-2)：391~410，1988
3) 原田喜男，豊島久美子，岡本孝夫：腎毒性を指標にした6059-Sの家兎における毒性試験，(単回および7日間連続投与試験)．Chemotherapy 28 (S-7)：1202~1225，1980
4) 原田喜男，岡本孝夫，豊島久美子：腎毒性を指標にしたCefamandoleの家兎における毒性試験，(単回および7日間連続投与試験)．Chemotherapy 27 (S-5)：701~739，1979
5) 松澤利明，吉田俊夫，堺俊治，塩原有一：Cefotetan (YM09330) のウサギにおける静脈内投与腎毒性試験。Chemotherapy 30 (S-1)：267~277，1982
6) 野村 護，稲毛富士郎，赤羽浩一，加藤道幸：合成抗菌剤DL-8280のイヌにおける4週間経口亜急性毒性．Chemotherapy 32 (S-1)：1105~1121，1984
7) 猪俣哲行，青木康治，山崎光雄：NY-198のマウスおよびラットにおける急性毒性試験。Chemotherapy 36 (S-2)：338~342，1988
8) 高橋日出彦：くすりの毒性。南江堂，1973

NEPHROTOXICITY STUDY OF NY-198 IN RABBITS

FUMIHIKO KOBAYASHI, MIKIO OGAWA, MINORU MATSUURA and TOSHIO YOSHIZAKI
Kanzakigawa Laboratory, Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd., Toyonaka, Japan

We studied the nephrotoxic potential of NY-198 in rabbits by giving the compound once daily for 7 days. Toxicity was examined after gavage at the doses of 50 and 200 mg/kg and after intravenous administration of 12.5 and 50 mg/kg. Marked decrease in food consumption and body weight were observed only in the rabbits given 200 mg/kg of NY-198 by gavage. Rabbits in the other groups did not show any change in body weight. Neither oral nor intravenous administration of NY-198 induced any changes suggesting nephrotoxicity in urinalysis, blood biochemical analysis or histopathological observation of the kidney. These results suggest that NY-198 does not have nephrotoxic potential in rabbits.