

Panipenemの90日間連続静脈内投与によるラットに対する亜急性毒性試験

真鍋 淳・木村邦男・戸塚繁夫・松本悦嗣・松沼尚史・増田 裕
三共株式会社・安全性研究所*

新しいカルバペネム系抗生物質であるpanipenem (PAPM) の90日間連続静脈内投与によるラットに対する亜急性毒性試験を実施した。また、同時に90日間投与の後28日間休薬して変化の回復性を検索した。

7週齢の雌雄F344ラットに900, 300, 100および30mg/kgのPAPMを投与し、溶媒対照群(生理食塩液投与群)と比較した。

試験期間中の死亡例は900mg/kg群の雌1例(投与開始後5日目)のみであった。生存例では雌雄900mg/kg群で発赤, 呼吸不整, 動作緩慢および振戦などの症状がみられ, 体重増加の抑制が認められた。90日間投与終了後の検査では100mg/kg以上の雌の投与群で赤血球指数の一部に増加傾向, 300mg/kg以上の雌の投与群でアルカリホスファターゼ活性値の減少傾向が軽度認められたが, 検索したすべての臓器に病理組織学的異常はなかった。

一方, 28日間の休薬終了時には諸検査に異常は認められず, 900mg/kg群の体重も回復傾向を示した。

以上の結果, 死亡例は, 発現したものの特定の臓器を標的としたPAPMの特異的な毒性は検出されなかった。

Key words : Painpenem, 亜急性毒性試験, ラット

Panipenem (PAPM) は三共株式会社で開発されたカルバペネム系抗生物質である。本剤は β -lactamaseに安定で, その阻害活性も強く, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis* を含むグラム陽性菌, *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌さらに *Bacteroides fragilis*, *Clostridium difficile* を含む嫌気性菌などに強力な抗菌活性を示す。今回, PAPMの安全性評価の一環として, ラットに対する90日間連続静脈内投与試験を実施した。

I. 材料と方法

1. 実験動物および飼育条件

三共株式会社安全性研究所の生産施設で繁殖育成した4週齢のF344ラットを環境に約3週間馴化させたのち, 7週齢で実験に使用した。動物は, 室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$, 照明13時間/日, 換気回数15回/時間の条件に制御した試験室で, ブラケットケージ(テーパー式, 新東洋製作所)に1匹ずつ収容し, 放射線滅菌した固型飼料(NMF, オリエンタル酵母工業株式会社)および水(水道水)を自由に摂取させた。

対照群を含む5群を設け, 1群雌雄各15例とした。すなわち, 雌雄各75例, 合計150例のラットを用いた。

試験開始時の動物の体重範囲は, 雄155~196g, 雌117~140gであった。

2. 投与量および投与方法

今回の試験に先だって行った2週間連続静脈内投与による亜急性毒性試験¹⁾(投与量: 800, 400, 200, 100および50mg/kg/day)では, 800mg/kg投与群の雄で体重増加抑制, 血清中A/G比およびアルブミンの減少が観察されたが, 雌の全群と400mg/kg以下の雄の投与群に変化は認められず, さらに雌雄全投与群に検体の投与に起因した病理学的変化は検出されなかった。すなわち, 2週間連続静脈内投与試験において本剤の明確な毒性は検出されなかった。そこで本試験では明確な毒性の発現を意図して900mg/kgを最高用量として, 以下300, 100および30mg/kgの4用量を設定した。

PAPMを生理食塩液(大塚製薬株式会社)に溶解し, 18.0, 6.0, 2.0および0.6%溶液を作製した。これをそれぞれ900, 300, 100および30mg/kg投与群に0.5ml/100g(体重)の投与用量で投与した。投与検体は毎日投与直前に調製し, マイクロチューブポンプ(MP-3型: 東京理科機械株式会社)とタイマー(505型: DIMCO-GRAY COMPANY)で構成した自動注入装置を用い,

1.2ml/分の速度で尾静脈内に投与した。

3. 検査項目

1) 一般状態

試験期間中毎日、動物の示す行動、糞および尿の状態を観察した。

2) 体重

試験期間中週3回、自動天秤(ED-2000M, EB-2800M型：株式会社島津製作所)を用い測定した。

3) 摂餌量

試験開始日に給餌量を、その後は試験終了までの週1回、残餌量および給餌量を自動天秤(前述)を用いて測定した。測定値から計算によって1日1匹あたりの摂餌量を算出した。

4) 尿検査

投与78日目に各群雌雄5例の新鮮尿を採取して、マルチスティック検査紙(Ames社)を用い、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ビリルビンおよびウロビリノーゲンについて検査した。

5) 眼科的検査

投与80日目に対照群および900mg/kg投与群の雌雄各10例について、角膜を肉眼的に観察した後、角膜反射を調べ、さらに眼底カメラ(RC-2型：興和株式会社)を用いて眼底を検査した。

6) 血液学的検査

90日間投与終了の24時間後および28日の休薬終了時に、エチルエーテル軽麻酔下で腹部大動脈から採血し、以下の検査を実施した。

赤血球数(電気抵抗法^a)、ヘモグロビン(オキシヘモグロビン法^a)、ヘマトクリット値(MCV累積法^a)、平均赤血球ヘモグロビン量(計算法^a)、平均赤血球容積(計算法^a)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(計算法^a)、血小板数(電気抵抗法^b)、フィブリン濃度(散乱光法^c)、プロトロンビン時間(散乱光法^c)、活性化部分トロンボプラスチン時間(散乱光法^c)、白血球数(電気抵抗法^a)、白血球百分率(Wright染色^d)、好中球数(計算法^a)、リンパ球数(計算法^a)。

なお、測定には以下の機器を用いた。

a：CC-720カウンター(東亜医用電子株式会社)

b：PL-100(東亜医用電子株式会社)

c：コアグマスター(三共株式会社)

d：マイクロックスHEG-70A(オムロン)

7. 臨床生化学的検査

90日間投与終了24時間後および休薬28日間終了時に採取した血液(前述)の一部を室温に30分間放置した後、冷却遠心機(CD-100R型：トミー精工株式会社)で遠心分離(2000r.p.m., 10min)して得られた血清につい

て、以下の検査を実施した。

トランスアミナーゼ(GOTおよびGPT, UV法)、アルカリホスファターゼ(Kind-King変法)、総ビリルビン(blue alkali azo bilirubin法)、総コレステロール(酵素法)、グルコース(酵素法)、総蛋白(Biuret法)、アルブミン(bromocresol green法)、A/G比(計算法)、尿素窒素(urease indophenol法)、クレアチニン(Jaffe変法)、ナトリウム(flame photometry法)、カリウム(flame photometry法)、カルシウム(OCPC法)、無機リン(Fiske-Subbarow変法)。

ナトリウムおよびカリウムは蛍光光度計775型(株式会社日立製作所)により、他の項目は自動分析装置726型(株式会社日立製作所)により測定した。

8) 病理解剖学的検査および臓器重量測定

90日間投与終了24時間後および休薬28日間終了時に、腹部大動脈より大量採血して致死させたのち、解剖して肉眼的な異常を観察、次いで以下の臓器を摘出して自動天秤(ED-H60型, ED-200型, ED-200M型：株式会社島津製作所)にてそれぞれ重量を測定した。

重量測定臓器：脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、前立腺、精囊、卵巣、子宮。なお、腎臓、副腎、精巣、卵巣については左右別々に測定した。

9) 病理組織学的検査

90日間投与終了24時間後および休薬28日間終了時に重量測定用として採取した諸臓器に加え、膵臓、骨髄、胃、小腸、大腸、膀胱、脊髄、腸間膜リンパ節、顎下腺、内耳、眼球およびハーダー腺を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液(内耳と眼球はブアン液)で固定した。固定後、常法に従って組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、組織学的検索を行った。なお、内耳と眼球の採材および検査は、90日間投与終了24時間後および休薬28日間終了時とも対照群および900mg/kg群のみとし、90日間投与終了24時間後にはいずれも雌雄各3例、また休薬終了時には雌雄各2例とした。

10) 統計学的処理

体重、摂餌量、臓器重量の測定値および血液学的検査値、臨床生化学的検査値はコンピュータに入力し、所定のプログラムに従って、雌雄各群別の平均値と標準誤差を求めた。さらに、対照群と各投与群の平均値の差については、BMDP-3D法(BMDP Statistical Software, Inc.)によりその有意差を検定した。

II. 結果

1. 一般状態

一般状態の変化として、褐色尿の排泄、軟便、粘液

便の排泄が全投与群に、また雌雄900mg/kg群では発赤、呼吸不整、動作緩慢、振戦が認められた。

褐色尿の排泄は雌雄各投与群で毎投与後観察された。また、軟便、粘液便の排泄は低頻度ではあるが、各投与群で散発的に認められた。

一方、900mg/kg群にのみ観察された発赤および呼吸不整は雌雄ともに投与初日より毎投与直後に観察された。さらに動作緩慢および振戦は雌雄の数例に投与67日目より投与終了日までの毎日観察された。しかし、これらの一般状態の変化はいずれも休薬により回復し、休薬期間中には何らの変化も認められなかった。

試験期間を通じ、900mg/kg群の雌1例が死亡した。この死亡例は投与4日目の投与直後より発赤が10分間、呼吸不整が10時間継続してみられ、以後回復したが翌日投与前に死亡していた。また雄1例が切歯の異常発育により摂餌不能となったために投与45日目に安楽死させた。

2. 体重変化

対照群に比較して雄の300および900mg/kg群では、投与開始後、一過性の軽度な体重減少がみられ、その後体重増加が抑制される傾向を示した。

雌では900mg/kg群の体重増加が投与49日目頃から投与終了時まで抑制される傾向をみせた。しかし、雌雄とも休薬後、これらは徐々に回復した。

3. 摂餌量

対照群に比較して、雄の900mg/kg群で投与42日目以降、雌の900mg/kg投与群では投与56日目以降いずれも投与終了日まで摂餌が抑制される傾向を示した。しかし、雌雄ともこれらの傾向は休薬期間中に回復した。雌雄とも300mg/kg以下の投与群は対照群とほぼ同様の推移を示した。

4. 尿検査

雌雄各投与群のいずれの検査項目にも対照群との差は認められなかった。

5. 眼科的検査

対照群および900mg/kg群とも今回実施したすべての検査項目に異常を認めなかった。

6. 血液学的検査

検査結果をTable 1~4に示す。また対照群に比較して平均値が統計学的な有意差を示した項目および投与群を以下にまとめた。

1) 90日間投与終了後の検査

高い値を示した項目および投与群：平均赤血球ヘモグロビン量(雌30, 100, 300および900mg/kg)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(雌100, 300および900mg/kg)、血小板数(雌900mg/kg)。

低い値を示した項目および投与群：平均赤血球容積(雌300mg/kg)、フィブリン濃度(雄900mg/kg)。

2) 28日間休薬終了時の検査

高い値を示した項目および投与群：平均赤血球容積(雄900mg/kg)、フィブリン濃度(雌30mg/kg)。

7. 臨床生化学的検査

結果をTable 5~8に示す。また、対照群に比較して平均値が統計学的な有意差を示した項目および投与群を以下にまとめた。

1) 90日間投与終了後の検査

低い値を示した項目および投与群：アルカリホスファターゼ(雌300および900mg/kg)、総コレステロール(雌900mg/kg)、尿素窒素(雌300mg/kg)、カルシウム(雌900mg/kg)。

2) 28日間休薬終了時の検査

高い値を示した項目および投与群：アルカリホスファターゼ(雄900mg/kg)。

8. 病理解剖学的検査

1) 死亡例

雌900mg/kg投与群の1例が投与5日目に死亡した。この死亡例では肺がうっ血し、腎臓は軽度に褪色していた。

2) 生存例

90日間投与終了後および28日間休薬終了時の病理解剖学的検査では、雌雄各群とも異常は観察されなかった。

9. 臓器重量

対照群との比較で統計学的に有意差の認められた臓器および投与群を以下に示す。

1) 90日間投与終了後の検査

小さな値を示した臓器および投与群：胸腺の実測値(雌雄900mg/kg)。

大きな値を示した臓器および投与群：脳(雌900mg/kg)、心臓(雄900mg/kg)、腎臓(左右、雌雄900mg/kg)、脾臓(雌雄900mg/kg)、副腎(右、雄900mg/kg)および副腎(左、雌雄900mg/kg)の比体重値。

2) 28日間休薬終了時の検査

雌雄各投与群とも対照群との比較で有意差を示した臓器はなかった。

すなわち、90日間投与終了後および28日間休薬終了時の検査で、対照群に比較して実測値と比体重値の両者が統計学的に有意な変動を示した臓器はすべての投与群に認められなかった。

10. 病理組織学的検査

90日間投与終了後および28日間の休薬終了時のいずれにおいても病理組織学的な異常は認められなかった。

Table. 1 Hematological data in male rats treated intravenously with panipenem for 90 days.

Dose mg/kg	N	RBC $\times 10^9/\text{mm}^3$	HGB g/dl	HCT %	MCH pg	MCV μ^3	MCHC %	PLT $\times 10^4/\text{mm}^3$	FIB mg/dl	(Mean \pm S.E.M.)	
										PT Sec.	APTT Sec.
0	10	9.09 ± 0.04	15.64 ± 0.10	47.9 ± 0.2	17.2 ± 0.1	52.8 ± 0.2	32.6 ± 0.1	57.42 ± 1.27	274.7 ± 5.5	17.90 ± 0.06	24.09 ± 0.21
30	10	9.09 ± 0.07	15.67 ± 0.09	47.9 ± 0.3	17.2 ± 0.1	52.8 ± 0.2	32.7 ± 0.1	56.02 ± 2.68	257.9 ± 5.2	17.83 ± 0.06	23.88 ± 0.14
100	10	9.24 ± 0.05	15.86 ± 0.08	48.4 ± 0.3	17.2 ± 0.03	52.4 ± 0.2	32.8 ± 0.1	56.44 ± 1.39	272.3 ± 8.7	17.95 ± 0.06	24.03 ± 0.21
300	10	9.14 ± 0.04	15.78 ± 0.08	47.9 ± 0.2	17.3 ± 0.1	52.4 ± 0.2	32.9 ± 0.1	56.21 ± 1.89	258.5 ± 9.2	17.81 ± 0.08	23.91 ± 0.13
900	9 ^{a)}	8.89 ± 0.08	15.42 ± 0.12	47.2 ± 0.4	17.3 ± 0.1	52.9 ± 0.3	32.7 ± 0.1	56.49 ± 1.31	205.6* ± 8.2	17.62 ± 0.10	24.54 ± 0.19
Dose mg/kg	WBC $\times 10^3/\text{mm}^3$		Differential count of leukocytes %		MO		(NE)		(LY)		
	BA	EO	NE	EO	LY	MO	(NE)	(LY)	(NE)	(LY)	
0	4.31 ± 0.13	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.4	28.9 ± 2.6	67.1 ± 2.6	2.5 ± 0.5	1.2 ± 0.1	2.9 ± 0.1			
30	4.37 ± 0.19	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.2	29.7 ± 1.5	67.4 ± 1.8	2.2 ± 0.4	1.3 ± 0.1	3.0 ± 0.2			
100	4.14 ± 0.10	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.4	27.3 ± 1.5	68.3 ± 1.7	2.8 ± 0.6	1.1 ± 0.1	2.8 ± 0.1			
300	4.10 ± 0.13	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.3	28.0 ± 1.6	69.3 ± 1.8	1.7 ± 0.4	1.2 ± 0.1	2.8 ± 0.05			
900	3.99 ± 0.16	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.2	28.8 ± 2.4	67.8 ± 2.7	2.4 ± 0.4	1.1 ± 0.1	2.7 ± 0.2			

* ; Significant at 1% level compared with control

a) ; Except one rat from initial number as its abnormal dentation

RBC ; erythrocyte count HGB ; hemoglobin concentration HCT ; hematocrit value MCH ; mean corpuscular hemoglobin
MCV ; mean corpuscular volume MCHC ; mean corpuscular hemoglobin concentration PLT ; platelet count FIB ; fibrinogen
PT ; prothrombin time APTT ; activated partial thromboplastin time WBC ; leukocyte count BA ; basophil EO ; eosinophil
NE ; neutrophil LY ; lymphocyte MO ; monocyte (NE),(LY) ; absolute number

Table 2. Hematological data in female rats treated intravenously with panipenem for 90 days.

Dose mg/kg	N	RBC $\times 10^9/\text{mm}^3$	HGB g/dl	HCT %	MCH pg	MCV μ^3	MCHC %	PLT $\times 10^9/\text{mm}^3$	FIB mg/dl	PT Sec.	APTT Sec.	(Mean \pm S.E.M.)	
												PT	APTT
0	10	8.45 ± 0.09	15.44 ± 0.15	47.2 ± 0.4	18.3 ± 0.04	56.0 ± 0.1	32.7 ± 0.1	61.71 ± 0.90	164.3 ± 3.4	17.39 ± 0.11	22.16 ± 0.23		
30	10	8.42 ± 0.05	15.59 ± 0.07	47.1 ± 0.2	18.5* ± 0.1	55.9 ± 0.2	33.1 ± 0.1	57.73 ± 1.82	175.1 ± 8.7	17.48 ± 0.08	21.62 ± 0.23		
100	10	8.35 ± 0.08	15.54 ± 0.13	46.7 ± 0.3	18.6* ± 0.1	55.7 ± 0.2	33.3* ± 0.1	59.74 ± 1.65	170.1 ± 6.3	17.51 ± 0.11	21.95 ± 0.18		
300	10	8.42 ± 0.07	15.58 ± 0.11	46.6 ± 0.3	18.5* ± 0.1	55.3* ± 0.2	33.4* ± 0.1	61.57 ± 0.97	161.4 ± 4.6	17.30 ± 0.08	21.84 ± 0.20		
900	9 ^{a)}	8.21 ± 0.09	15.29 ± 0.17	46.0 ± 0.4	18.6* ± 0.03	56.1 ± 0.2	33.2* ± 0.1	67.92* ± 1.14	153.2 ± 5.0	17.40 ± 0.08	22.42 ± 0.29		
Dose mg/kg	WBC $\times 10^9/\text{mm}^3$	Differential count of leukocytes				(LY)							
		BA	EO	NE	MO	LY	NE	MO	LY				
0	5.15 ± 0.32	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.3	19.5 ± 2.3	76.8 ± 2.2	2.1 ± 0.4	1.0 ± 0.1	4.0 ± 0.3					
30	4.19 ± 0.20	0.0 ± 0.0	1.1 ± 0.2	15.6 ± 1.3	80.5 ± 1.5	2.6 ± 0.5	0.7 ± 0.1	3.4 ± 0.2					
100	4.33 ± 0.19	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.3	17.4 ± 1.2	78.6 ± 1.2	2.4 ± 0.4	0.8 ± 0.1	3.4 ± 0.2					
300	4.24 ± 0.21	0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.2	15.7 ± 0.6	80.4 ± 0.6	2.6 ± 0.4	0.7 ± 0.05	3.4 ± 0.2					
900	4.90 ± 0.17	0.0 ± 0.0	1.1 ± 0.3	17.6 ± 1.1	80.0 ± 1.0	1.4 ± 0.3	0.9 ± 0.04	3.9 ± 0.2					

* ; Significant at 1% level compared with control

a) ; Except one rat from initial number as its abnormal dentation

RBC ; erythrocyte count HGB ; hemoglobin concentration HCT ; hematocrit value MCH ; mean corpuscular hemoglobin
 MCV ; mean corpuscular volume MCHC ; mean corpuscular hemoglobin concentration PLT ; platelet count FIB ; fibrinogen
 PT ; prothrombin time APTT ; activated partial thromboplastin time WBC ; leukocyte count BA ; basophil EO ; eosinophil
 NE ; neutrophil LY ; lymphocyte MO ; monocyte (NE), (LY) ; absolute number

Table. 3 Hematological data in male rats after 28 days withdrawal period following intravenous treatment with panipenem for 90 days. (Mean \pm S.E.M.)

Dose mg/kg	N	RBC $\times 10^3/\text{mm}^3$	HGB g/dl	HCT %	MCH pg	MCV μ^3	MCHC %	PLT $\times 10^3/\text{mm}^3$	FIB mg/dl	PT Sec.	APTT Sec.
0	5	9.18 ± 0.08	15.62 ± 0.17	47.6 ± 0.3	17.0 ± 0.1	51.6 ± 0.2	32.8 ± 0.2	54.34 ± 0.99	263.3 ± 8.6	18.04 ± 0.07	23.26 ± 0.38
30	5	9.10 ± 0.05	15.44 ± 0.19	47.3 ± 0.5	17.0 ± 0.1	51.8 ± 0.2	32.6 ± 0.1	57.28 ± 0.70	265.1 ± 10.0	17.70 ± 0.11	23.02 ± 0.62
100	5	8.98 ± 0.08	15.42 ± 0.14	46.9 ± 0.4	17.2 ± 0.1	52.2 ± 0.2	32.9 ± 0.2	53.72 ± 1.98	265.8 ± 5.9	17.84 ± 0.15	24.32 ± 0.19
300	5	9.17 ± 0.08	15.78 ± 0.12	48.1 ± 0.4	17.2 ± 0.1	52.6 ± 0.4	32.8 ± 0.2	54.62 ± 1.31	273.3 ± 7.9	18.04 ± 0.11	23.66 ± 0.25
900	5	9.05 ± 0.06	15.66 ± 0.09	47.8 ± 0.2	17.3 ± 0.1	52.8* ± 0.2	32.8 ± 0.2	55.58 ± 2.06	261.7 ± 8.4	18.06 ± 0.07	24.40 ± 0.27
Dose mg/kg	WBC $\times 10^3/\text{mm}^3$	Differential count of leukocytes				(NE)		(LY)			
		BA	EO	NE	MO	%	$\times 10^3/\text{mm}^3$				
0	6.92 ± 0.42	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.4	11.4 ± 1.0	84.2 ± 1.6	3.4 ± 0.6	0.8 ± 0.1	5.8 ± 0.3			
30	6.16 ± 0.29	0.0 ± 0.0	0.7 ± 0.3	13.2 ± 1.7	83.1 ± 2.0	3.0 ± 0.4	0.8 ± 0.1	5.1 ± 0.2			
100	6.04 ± 0.28	0.0 ± 0.0	1.6 ± 0.3	14.4 ± 1.2	81.5 ± 1.5	2.5 ± 0.3	0.9 ± 0.04	4.9 ± 0.3			
300	6.28 ± 0.22	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.4	17.1 ± 2.7	79.6 ± 2.8	1.8 ± 0.3	1.1 ± 0.1	5.0 ± 0.3			
900	6.24 ± 0.24	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.4	15.0 ± 0.9	79.0 ± 1.7	4.7 ± 1.1	0.9 ± 0.1	4.9 ± 0.2			

* : Significant at 1% level compared with control

RBC ; erythrocyte count HGB ; hemoglobin concentration HCT ; hematocrit value MCH ; mean corpuscular hemoglobin
MCV ; mean corpuscular volume MCHC ; mean corpuscular hemoglobin concentration PLT ; platelet count FIB ; fibrinogen
PT ; prothrombin time APTT ; activated partial thromboplastin time WBC ; leukocyte count BA ; basophil EO ; eosinophil
NE ; neutrophil LY ; lymphocyte MO ; monocyte (NE), (LY) ; absolute number

Table 4. Hematological data in male rats after 28 days withdrawal period following intravenous treatment with panipenem for 90 days.

Dose mg/kg	N	RBC $\times 10^6/\text{mm}^3$	HGB g/dl	HCT %	MCH pg	MCV μ^3	MCHC %	PLT $\times 10^4/\text{mm}^3$	FIB mg/dl	PT Sec.	(Mean \pm S.E.M.)	
											AAPT Sec.	APTT Sec.
0	5	8.20 ± 0.05	15.16 ± 0.10	45.7 ± 0.2	18.5 ± 0.1	55.6 ± 0.2	33.2 ± 0.1	52.08 ± 2.97	216.6 ± 2.0	17.68 ± 0.14	21.74 ± 0.47	
30	5	8.45 ± 0.06	15.44 ± 0.13	46.7 ± 0.3	18.3 ± 0.1	55.2 ± 0.2	33.1 ± 0.1	58.56 ± 1.57	227.6* ± 0.7	17.42 ± 0.13	21.64 ± 0.40	
100	5	8.32 ± 0.08	15.18 ± 0.17	46.3 ± 0.4	18.2 ± 0.1	55.6 ± 0.2	32.8 ± 0.2	56.84 ± 1.39	236.4 ± 7.2	17.54 ± 0.17	21.36 ± 0.39	
300	5	8.47 ± 0.08	15.56 ± 0.09	47.1 ± 0.4	18.4 ± 0.1	55.6 ± 0.2	33.0 ± 0.1	60.32 ± 1.08	227.5 ± 5.8	17.42 ± 0.22	21.84 ± 0.32	
900	5	8.43 ± 0.10	15.38 ± 0.10	46.9 ± 0.5	18.2 ± 0.1	55.4 ± 0.5	32.8 ± 0.2	56.54 ± 1.46	214.8 ± 9.6	17.68 ± 0.19	23.20 ± 0.34	
Dose mg/kg	WBC $\times 10^3/\text{mm}^3$	Differential count of leukocytes				(NE) $\times 10^3/\text{mm}^3$		(LY)				
		BA	EO	NE %	MO	NE	LY	NE	LY			
0	4.92 ± 0.54	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.5	13.6 ± 2.7	81.8 ± 3.1	3.2 ± 0.3	0.6 ± 0.1	4.1 ± 0.6				
30	4.38 ± 0.19	0.0 ± 0.0	2.2 ± 0.7	18.3 ± 1.1	75.6 ± 1.4	3.9 ± 0.7	0.8 ± 0.1	3.3 ± 0.1				
100	4.08 ± 0.10	0.0 ± 0.0	2.3 ± 0.3	22.1 ± 1.6	72.2 ± 1.4	3.4 ± 0.9	0.9 ± 0.1	2.9 ± 0.1				
300	4.30 ± 0.15	0.0 ± 0.0	1.9 ± 0.4	17.6 ± 1.2	78.2 ± 1.1	2.3 ± 0.5	0.8 ± 0.1	3.4 ± 0.1				
900	4.86 ± 0.39	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.4	16.3 ± 1.5	79.0 ± 1.9	3.2 ± 0.8	0.8 ± 0.04	3.9 ± 0.4				

* ; Significant at 1% level compared with control

RBC ; erythrocyte count HGB ; hemoglobin concentration HCT ; hematocrit value MCH ; mean corpuscular hemoglobin
 MCV ; mean corpuscular volume MCHC ; mean corpuscular hemoglobin concentration PLT ; platelet count FIB ; fibrinogen
 PT ; prothrombin time APTT ; activated partial thromboplastin time WBC ; leukocyte count BA ; basophil EO ; eosinophil
 NE ; neutrophil LY ; lymphocyte MO ; monocyte (NE), (LY) ; absolute number

Table 5 Serum biochemical findings in male rats treated intravenously with panipenem for 90 days.

Dose mg/kg	N	(Mean \pm S.E.M.)														
		GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (KA-U)	T. BIL (mg/dl)	T. CHO (mg/dl)	GLU (mg/dl)	T. PRO (g/dl)	ALB (g/dl)	A/G	UN (mg/dl)	CRE (mg/dl)	NA (mEq/l)	K (mEq/l)	CAL (mg/dl)	IP (mg/dl)
0	10	105.90 \pm 6.30	33.60 \pm 2.90	48.99 \pm 1.44	0.10 \pm 0.00	54.80 \pm 1.06	170.70 \pm 3.13	5.98 \pm 0.04	2.64 \pm 0.02							
30	10	118.60 \pm 6.73	39.70 \pm 3.93	48.53 \pm 1.20	0.10 \pm 0.00	57.10 \pm 1.42	172.50 \pm 3.12	5.93 \pm 0.04	2.65 \pm 0.02							
100	10	118.40 \pm 10.49	38.70 \pm 5.55	51.95 \pm 1.31	0.10 \pm 0.00	53.70 \pm 0.80	176.10 \pm 4.73	5.92 \pm 0.02	2.64 \pm 0.02							
300	10	137.80 \pm 26.72	46.60 \pm 13.42	51.08 \pm 0.96	0.10 \pm 0.00	53.50 \pm 0.82	176.70 \pm 2.91	5.91 \pm 0.03	2.61 \pm 0.01							
900	9 ^{a)}	133.22 \pm 13.50	34.67 \pm 5.01	50.31 \pm 1.52	0.11 \pm 0.00	51.11 \pm 0.66	169.56 \pm 3.21	5.93 \pm 0.03	2.66 \pm 0.03							
0		0.79 \pm 0.01	23.51 \pm 0.33	0.56 \pm 0.01	141.20 \pm 0.51	4.01 \pm 0.10	10.27 \pm 0.07	5.11 \pm 0.24								
30		0.81 \pm 0.01	23.11 \pm 0.42	0.55 \pm 0.01	140.70 \pm 0.45	4.12 \pm 0.10	10.18 \pm 0.08	5.21 \pm 0.16								
100		0.81 \pm 0.01	23.49 \pm 0.41	0.56 \pm 0.02	141.90 \pm 0.38	3.97 \pm 0.09	10.21 \pm 0.06	4.98 \pm 0.27								
300		0.79 \pm 0.01	23.49 \pm 0.49	0.54 \pm 0.01	141.80 \pm 0.25	3.95 \pm 0.07	10.34 \pm 0.04	5.09 \pm 0.17								
900		0.81 \pm 0.01	23.36 \pm 0.59	0.53 \pm 0.01	141.56 \pm 0.53	3.92 \pm 0.10	10.43 \pm 0.05	5.29 \pm 0.19								

a) ; Except one rat from initial number as its abnormal dentation

GOT ; glutamic oxaloacetic transaminase activity GPT ; glutamic pyruvic transaminase activity
 ALP ; alkaline phosphatase activity T. BIL ; total bilirubin T. CHO ; total cholesterol GLU ; glucose
 T. PRO ; total protein ALB ; albumin A/G ; albumin/globulin ratio UN ; urea nitrogen CRE ; creatinine
 NA ; sodium K ; potassium CAL ; calcium IP ; inorganic phosphorus

Table. 6 Serum biochemical findings in female rats treated intravenously with panipenem for 90 days.

Dose mg/kg	N	(Mean \pm S.E.M.)														
		GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	AL-P (K _A -U)	T. BIL (mg/dl)	T. CHO (mg/dl)	GLU (mg/dl)	T. PRO (g/dl)	ALB (g/dl)	A/G	UN (mg/dl)	CRE (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Ca (mg/dl)	IP (mg/dl)
0	10	89.40 \pm 3.16	25.70 \pm 1.46	55.39 \pm 1.34	0.09 \pm 0.00	72.30 \pm 1.09	168.00 \pm 4.32	5.99 \pm 0.06	2.71 \pm 0.02							
30	10	103.50 \pm 8.48	36.60 \pm 5.50	51.52 \pm 1.53	0.09 \pm 0.00	71.90 \pm 1.57	168.90 \pm 4.80	5.98 \pm 0.06	2.72 \pm 0.02							
100	10	96.10 \pm 5.03	29.60 \pm 1.94	50.96 \pm 0.89	0.09 \pm 0.00	71.70 \pm 1.18	173.60 \pm 3.48	5.99 \pm 0.05	2.69 \pm 0.02							
300	10	87.70 \pm 1.60	23.20 \pm 0.35	49.85* \pm 1.37	0.10 \pm 0.00	70.00 \pm 1.01	164.80 \pm 3.20	6.02 \pm 0.05	2.74 \pm 0.02							
900	9 ^{a)}	99.67 \pm 6.17	26.11 \pm 3.66	49.02* \pm 1.26	0.11 \pm 0.00	65.78* \pm 1.05	166.67 \pm 1.48	6.06 \pm 0.04	2.71 \pm 0.03							
0		0.83 \pm 0.01	23.90 \pm 0.44	0.54 \pm 0.01	140.80 \pm 0.39	3.48 \pm 0.06	10.00 \pm 0.05	4.85 \pm 0.39								
30		0.84 \pm 0.01	22.79 \pm 0.39	0.54 \pm 0.01	140.30 \pm 0.26	3.54 \pm 0.07	10.01 \pm 0.10	4.96 \pm 0.20								
100		0.82 \pm 0.01	22.76 \pm 0.59	0.53 \pm 0.01	139.70 \pm 0.30	3.54 \pm 0.05	10.16 \pm 0.07	4.92 \pm 0.13								
300		0.84 \pm 0.01	21.89* \pm 0.25	0.53 \pm 0.01	140.40 \pm 0.22	3.70 \pm 0.09	9.97 \pm 0.05	4.87 \pm 0.16								
900		0.81 \pm 0.01	23.70 \pm 0.43	0.53 \pm 0.01	140.33 \pm 0.44	3.66 \pm 0.04	9.71* \pm 0.05	4.85 \pm 0.34								

* ; Significant at 1% level compared with control

a) ; One rat died at 5th day

GOT ; glutamic oxaloacetic transaminase activity GPT ; glutamic pyruvic transaminase activity

ALP ; alkaline phosphatase activity T. BIL ; total bilirubin T. CHO ; total cholesterol GLU ; glucose

T. PRO ; total protein ALB ; albumin A/G ; albumin/globulin ratio UN ; urea nitrogen CRE ; creatinine

NA ; sodium K ; potassium CAL ; calcium IP ; inorganic phosphorus

Table. 7 Serum biochemical findings in male rats after 28 days withdrawal period following intravenous treatment with panipenem for 90 days. (Mean \pm S.E.M.)

Dose mg/kg	N	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (KA-U)	T. BIL (mg/dl)	T. CHO (mg/dl)	GLU (mg/dl)	T. PRO (g/dl)	ALB (g/dl)
0	5	101.60 \pm 6.27	31.80 \pm 3.48	50.22 \pm 2.11	0.11 \pm 0.01	53.60 \pm 0.51	175.20 \pm 4.73	6.00 \pm 0.04	2.58 \pm 0.04
30	5	99.80 \pm 7.73	34.60 \pm 1.69	53.46 \pm 1.69	0.10 \pm 0.00	54.60 \pm 0.75	168.60 \pm 5.86	5.86 \pm 0.04	2.56 \pm 0.04
100	5	117.40 \pm 14.58	41.80 \pm 5.60	52.38 \pm 2.22	0.10 \pm 0.01	54.40 \pm 0.81	167.20 \pm 10.17	5.84 \pm 0.04	2.56 \pm 0.02
300	5	105.20 \pm 6.90	37.80 \pm 3.15	53.10 \pm 2.00	0.10 \pm 0.01	54.80 \pm 1.07	173.20 \pm 6.54	5.96 \pm 0.05	2.58 \pm 0.02
900	5	100.20 \pm 1.11	36.60 \pm 1.60	62.16* \pm 2.09	0.10 \pm 0.00	54.80 \pm 1.32	174.80 \pm 7.53	6.02 \pm 0.06	2.62 \pm 0.04

Dose mg/kg	A/G	UN (mg/dl)	CRE (mg/dl)	NA (mEq/l)	K (mEq/l)	CAL (mg/dl)	IP (mg/dl)
0	0.75 \pm 0.01	24.48 \pm 1.12	0.66 \pm 0.02	139.80 \pm 0.49	4.06 \pm 0.11	10.00 \pm 0.06	5.55 \pm 0.18
30	0.78 \pm 0.02	24.96 \pm 0.78	0.64 \pm 0.02	139.20 \pm 0.37	4.00 \pm 0.08	10.10 \pm 0.03	5.54 \pm 0.18
100	0.78 \pm 0.01	24.62 \pm 0.90	0.65 \pm 0.01	141.00 \pm 0.55	4.14 \pm 0.19	10.12 \pm 0.06	5.36 \pm 0.14
300	0.76 \pm 0.01	25.92 \pm 0.79	0.67 \pm 0.01	141.00 \pm 0.55	4.14 \pm 0.17	10.18 \pm 0.04	5.51 \pm 0.22
900	0.77 \pm 0.01	24.98 \pm 0.66	0.62 \pm 0.02	140.40 \pm 0.40	4.16 \pm 0.08	10.04 \pm 0.07	5.90 \pm 0.29

* ; Significant at 1% level compared with control

GOT ; glutamic oxaloacetic transaminase activity GPT ; glutamic pyruvic transaminase activity
 ALP ; alkaline phosphatase activity T. BIL ; total bilirubin T. CHO ; total cholesterol GLU ; glucose
 T. PRO ; total protein ALB ; albumin A/G ; albumin/globulin ratio UN ; urea nitrogen CRE ; creatinine
 NA ; sodium K ; potassium CAL ; calcium IP ; inorganic phosphorus

Table. 8 Serum biochemical findings in female rats after 28 days withdrawal period following intravenous treatment with panipenem for 90 days.
(Mean \pm S. E. M.)

Dose mg/kg	N	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (KA-U)	T. BIL (mg/dl)	T. CHO (mg/dl)	GLU (mg/dl)	T. PRO (g/dl)	ALB (g/dl)
0	5	112.20 \pm 13.49	40.20 \pm 5.29	53.90 \pm 1.33	0.10 \pm 0.00	72.00 \pm 2.68	164.80 \pm 2.75	6.04 \pm 0.10	2.72 \pm 0.05
30	5	96.20 \pm 7.15	33.60 \pm 2.25	52.98 \pm 3.08	0.09 \pm 0.00	74.20 \pm 1.88	161.80 \pm 4.04	6.16 \pm 0.07	2.76 \pm 0.02
100	5	96.00 \pm 6.80	34.40 \pm 3.14	52.10 \pm 3.37	0.09 \pm 0.00	69.60 \pm 2.56	162.80 \pm 3.17	6.12 \pm 0.09	2.76 \pm 0.02
300	5	100.40 \pm 8.20	38.80 \pm 5.45	53.24 \pm 2.14	0.09 \pm 0.00	72.80 \pm 1.43	166.60 \pm 1.03	6.18 \pm 0.04	2.76 \pm 0.02
900	5	89.80 \pm 5.45	31.20 \pm 1.83	59.04 \pm 1.75	0.10 \pm 0.01	68.80 \pm 0.80	170.20 \pm 3.02	6.06 \pm 0.07	2.72 \pm 0.04
Dose mg/kg	A/G	UN (mg/dl)	CRE (mg/dl)	NA (mEq/l)	K (mEq/l)	CAL (mg/dl)	IP (mg/dl)		
0	0.82 \pm 0.01	25.54 \pm 0.95	0.59 \pm 0.02	139.40 \pm 0.25	3.72 \pm 0.07	9.64 \pm 0.06	4.05 \pm 0.28		
30	0.81 \pm 0.01	23.20 \pm 0.48	0.60 \pm 0.01	139.40 \pm 0.51	3.74 \pm 0.07	9.54 \pm 0.05	3.82 \pm 0.12		
100	0.82 \pm 0.01	22.34 \pm 0.70	0.61 \pm 0.02	139.40 \pm 0.25	3.88 \pm 0.04	9.54 \pm 0.08	3.49 \pm 0.28		
300	0.81 \pm 0.01	22.94 \pm 0.65	0.62 \pm 0.03	139.60 \pm 0.40	3.76 \pm 0.05	9.84 \pm 0.05	3.94 \pm 0.13		
900	0.81 \pm 0.01	24.44 \pm 0.72	0.60 \pm 0.00	139.40 \pm 0.68	3.72 \pm 0.12	9.62 \pm 0.07	4.45 \pm 0.21		

GOT ; glutamic oxaloacetic transaminase activity GPT ; glutamic pyruvic transaminase activity
 ALP ; alkaline phosphatase activity T. BIL ; total bilirubin T. CHO ; total cholesterol GLU ; glucose
 T. PRO ; total protein ALB ; albumin A/G ; albumin/globulin ratio UN ; urea nitrogen CRE ; creatinine
 NA ; sodium K ; potassium CAL ; calcium IP ; inorganic phosphorus

さらに投与5日目に死亡した900mg/kg群の雌1例にも本化合物の毒性を示唆する特異的な病理組織学的変化は検出されなかった。

III. 考 察

当社で合成し、抗生物質として研究開発中のカルバペネム系化合物であるPAPMについて、その900, 300, 100および30mg/kg/dayを雌雄F344ラットに90日間連続静脈内投与する亜急性毒性試験を実施した。また、同時に90日間連続静脈内投与後28日間休薬してその影響を検索した。

その結果、900mg/kg群で雌1例が投与5日目に死亡した。この死亡例は毎投与後、発赤および呼吸不整が認められた以外一般状態に変化はなかった。さらに、剖検による肉眼的観察では肺のうっ血と腎臓の軽度な褪色がみられたのみで、病理組織学的には死因を直接示唆する形態学的な異常は観察されなかった。従って、この個体の死因はPAPMの大量投与によって発生した急性毒性死であると判断した。その他には試験期間を通じて死亡例はなかった。

一方、生存例において、PAPMの投与に起因したと考えられる変化は、投与期間中にみられた各群での尿の色調変化、各群の少数例に散見された軟便などの糞性状の変化、雌雄900mg/kg群で認められた発赤、呼吸不整、動作緩慢および振戦と体重増加の抑制などであ

った。尿の色調の変化は本剤の代謝物が尿中に排泄されたために出現したものと考えられ、尿検査に異常は認められなかった。さらに、これらの変化は休薬することで消失あるいは回復し、900mg/kg群における体重増加の抑制も回復傾向を示した。

また、投与終了後の検査では雌の100mg/kg以上の投与群で平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度の増加傾向、雌300mg/kg以上の投与群でアルカリホスファターゼ活性値の減少傾向などが認められた。しかし、これらの血液および生化学的検査における変化はいずれも対照群との差が軽度であり、投与量依存性も明確ではなかった。また、臓器重量では実重量と比体重値の両者がともに有意差を示して変動した臓器はなく、病理組織学的にも検索したすべての臓器に異常は認められなかった。

以上、本試験系における死亡例は1例のみであり、しかもこれは急性毒性死と判断された。さらに、900mg/kgという大量を90日間連続静脈内投与したにもかかわらず、特定の臓器を標的とした特異的な異常は発現しなかった。

文 献

- 1) 三共株式会社社内資料：NoTR131-040

SUBACUTE TOXICOLOGICAL STUDY IN RATS TREATED
INTRAVENOUSLY WITH PANIPENEM FOR 90 DAYS

Sunao Manabe, Kunio Kimura,
Shigeo Totsuka, Etsuji Matsumoto,
Naochika Matsunuma, and Hiroshi Masuda

Laboratory Animal Science and Toxicology Laboratories, Sankyo Co., Ltd.
717 Horikoshi, Fukuroi, Shizuoka 437, Japan

Newly developed carbapenem, panipenem (PAPM), was intravenously administered to rats for 90 days in order to clarify its subacute toxicity, followed by a 28-day recovery period.

Male and female F344 rats, 7 weeks of age, were used in this study. They were given saline (control), and 900, 300, 100 and 30mg/kg of PAPM.

In the 900mg/kg female group, only 1 of 15 animals died on the 5th day during the study period. In the survivors of the 900mg/kg group, erythema, abnormal breathing, decrease in spontaneous motor activities, tremor and suppression of weight gain were found. Slight increase of corpuscular constants in females given 100mg/kg or more, and slight decrease of alkaline phosphatase activity in females receiving 300mg/kg or more were observed at the end of administration. On the other hand, pathological examination revealed no toxic findings in all organs. In the recovery period, no abnormal findings were found in all examinations, and suppression of weight gain in the 900mg/kg group gradually disappeared.

In conclusion, the toxic target organ of PAPM could not be demonstrated in the present study, although 1 female from the highest dose group died.