

Meropenemのラット、マウスおよびイヌにおける急性毒性試験

甲田 彰・三崎義則・花井幸次・井上 薫
加藤暉成・山田宏彦
住友化学工業株式会社
生物環境科学研究所*

Meropenem (MEPM)の急性毒性試験をラット、マウスおよびイヌを用いて検討し、次の結果を得た。

1) ラット、マウスでのLD₅₀値は、静脈内投与ではラット雄2850 mg/kg、雌3200 mg/kg、マウス雄2650 mg/kg、雌2950 mg/kgであった。経口および皮下投与ではいずれも5000 mg/kgを上回った。

イヌでは静脈内投与を行ったが、2000 mg/kg投与で2例中1例に死亡を認めた。

2) 症状では、ラット、マウスの静脈内投与で自発運動減少、歩行失調、呼吸不規則などを認め、更に死亡例では痙攣も認めた。経口および皮下投与では異常を認めなかった。イヌでは投与直後に顔面の潮紅・浮腫、自発運動減少などを認めた。

3) ラット、マウスの体重では、ラットの高用量の皮下投与で一過性の増加抑制を認めたほかには異常はなかった。

イヌでは生存例で一過性の体重減少を認めた。また、イヌで実施した臨床検査では白血球数の増加、GPTおよびALPの上昇などをいずれも投与後1日目に、死亡例では死亡前に尿素窒素、クレアチニンの増加も認めた。

4) 病理学的検査では、マウスおよびイヌの高用量の静脈内投与の生存例で、腎臓の尿細管上皮の再生像を認めた。ラットでは皮下投与の投与部位の皮下に出血を認めたほかには異常はなかった。

Key words : Meropenem, 急性毒性試験, ラット, マウス, イヌ

Meropenem (MEPM)は住友製薬株式会社で新しく合成されたカルバペネム系の抗生物質であり、幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌活性を有している。

今回、MEPMの安全性評価の一環として、ラット、マウスおよびイヌを用いて急性毒性試験を行ったのでその結果を報告する。

なお、これらの試験は昭和63年1月より63年12月にかけて行った。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

MEPMは淡黄色の結晶性粉末である。本試験には住友製薬株式会社より提供された1バイアル中に2.5 g (力価)含有の粉末充填製剤(Lot No.U204)を用いた。

2. 実験動物および飼育条件

1) ラットおよびマウス

6週齢のSprague-Dawley系の雌雄ラット(Crj:CD, 日本チャールス・リバー)および5週齢のICR系の雌雄

マウス(Crj:CD-1, 日本チャールス・リバー)を購入したのち、検疫馴化期間を経て試験に供した。

ラットは金属ケージ(φ315×^D415×^H190 mm)に、マウスはプラスチック製ケージ(φ310×^D360×^H175 mm)に各々5匹ずつ収容した。飼育室の環境は室温24±2℃、湿度55±15%、換気回数は10回以上/時とし、照明は午前8時から12時間に設定した。飼料は、ラットには粉末飼料(CE-2, 日本クレア)を、マウスには固型飼料(CE-2, 日本クレア)を、飲料水(ラットには浄化井戸水、マウスには水道水)は流水殺菌灯照射していずれも自由摂取させた。ただし、経口投与では投与前20時間絶食させ、水は投与後から給水を止め、投与4時間後に再給餌、再給水した。投与時の体重は、ラットの場合、経口では雄226~250 g、雌147~170 g、皮下では雄259~289 g、雌164~189 g、静脈内では雄250~296 g、雌170~203 gであった。マウスの場合、経口では雄28.0~33.2 g、雌20.5

*〒554 大阪市此花区春日出中3丁目1-98号

～24.0 g, 皮下では雄32.6～38.2 g, 雌24.7～27.6 g, 静脈内では雄29.8～37.7 g, 雌21.9～27.1 gであった。

2) イヌ

Ridglan Research Farm Inc.(U.S.A)より購入した雌雄のビーグル犬を検疫, 馴化して試験に供した。これらの動物は試験開始時に14ヶ月齢で, 投与時の体重は雄12.3～14.3 kg, 雌7.9～10.8 kgであった。

動物は個別にアルミ製ケージ("700×900×800 mm)に収容し, その飼育環境は, 温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55 \pm 15\%$, 換気回数は8回以上/時とし, 照明時間は午前8時からの12時間に設定した。

飼料はイヌ用固型飼料(Lab Diet[®], ピュリナ大洋ペットフード)300 gを1日1回給餌し, 飲料水(水道水)は自動給水装置により自由に摂取させた。

3. 実験群の構成および投与方法

1) ラットおよびマウス

ラットおよびマウスともに経口投与, 皮下投与および静脈内投与の3投与経路とした。経口および皮下投与では2500および5000 mg/kgの2用量, 静脈内投与についてはラットでは500～4000 mg/kgの9用量(ただし雌は8用量)を, マウスでは1000～4000 mg/kgの6用量を用いた。また, いずれの経路においても媒体のみを投与する対照群を設けた。いずれも動物数は雌雄とも1群5匹とした。

経口投与の場合は, 金属製胃ゾンデを用いて1.25あるいは2.5 ml/100 g体重の投与液量で胃内に1回投与した。皮下投与の場合は, ラットでは25 G注射針, マウスでは27 G注射針を装着した注射器を用いて, 1.25あるいは2.5 ml/100 g体重の投与液量で背部皮下に1回投与した。静脈内投与の場合は, ラットでは25 G注射針, マウスでは27 G注射針を装着した注射器を用いて, 0.25～2 ml/100 g体重の投与液量で尾静脈より約5 ml/分の速度で1回投与した。

なお, 被験物質は注射用蒸留水(扶桑薬品)を媒体として, 20%(w/v)溶液に用時調製した。

2) イヌ

投与経路は, 臨床での適用経路である静脈内投与とした。

投与量は, 投与液量および被験物質の溶解濃度を考慮して2000 mg/kgを高用量群に設定し, 以下1000および500 mg/kgの3用量とした。1群の動物数は雌雄各1頭とした。

被験物質は注射用蒸留水(扶桑薬品)を媒体として20%(w/v)溶液に用時調製した。投与液量はそれぞれ2.5, 5.0および10.0 ml/kgであり, 橈側皮静脈より1回静脈内投与(投与速度は10 ml/分)した。

更に高用量群と同投与液量(10.0 ml/kg)の注射用生理食塩液(扶桑薬品)を投与する対照群を設けた。

4. 観察および検査項目

1) ラットおよびマウス

(1) 症状観察

投与当日は投与後10分, 30分, 1, 2, 4時間, 翌日からは1日1回, 14日間観察した。静脈内投与のみ投与後10分間は連続的に観察した。

(2) 体重測定

投与日と投与後3, 7, 14日目および死亡動物発見時に測定した。生存例については平均値および体重増加量を算出し, 対照群との有意差検定をt-検定により行った。

(3) 病理学的検査

死亡例では発見直後に, 生存例は投与後14日目にエーテル麻酔下にて放血屠殺して, 全例について剖検し, 全身の主な臓器・組織を肉眼的に観察した。マウスでは, 全生存例の腎臓を摘出し, 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し, 常法に従ってパラフィン切片を作製, H・E染色および過ヨウ素酸シッフ(PAS)染色を施して光学顕微鏡により観察した。

(4) LD₅₀値

LD₅₀値および95%信頼限界は14日間の累積死亡率からLitchfield and Wilcoxon法¹⁾により算出した。

2) イヌ

(1) 症状観察

投与当日は投与後4時間までは連続して, それ以降は1～2時間の間隔で投与後8時間頃まで観察し, 翌日からは1日3回以上, 14日間観察した。

(2) 摂餌量および体重

摂餌量は投与前5日から投与後14日まで毎日, 体重は投与前6, 3, 1日および投与後2, 5, 8, 11, 14日に測定した。

(3) 血液学的検査

投与前日, 投与後1, 7および14日に投与と反対側の橈側皮静脈より採血し, EDTA-3Kで抗凝固処理を行い, 赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 平均赤血球ヘモグロビン量, 平均赤血球容積, 平均赤血球ヘモグロビン濃度, 白血球数および血小板数(多項目自動血球計数装置 CC-800, 東亜医用電子), 赤芽球数および白血球分類(ライト染色血液塗抹標本, 血液像自動分類装置ヘマトラック 590型, Geometric Data)について測定を行った。

(4) 血液生化学的検査

血液学的検査と同時期に血清を分取し, 総蛋白, アルブミン, A/G比, 血糖, 総コレステロール, トリグ

リセライド、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、総ビリルビン、GOT、GPT、ALP、CPK、LDH、 γ -GTP、ナトリウム、カリウムおよびカルシウム(SMAC, Technicon)について測定を行った。

(5) 病理学的検査

死亡例については死亡を認めた直後に、生存例は観察期間終了後にペントバルビタール麻酔下にて放血屠殺して剖検し、全身の主な臓器の肉眼的観察を行い、脳、下垂体、顎下腺、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮について重量を測定し、病理解剖時の体重に対する比率(対体重比)を算出した。その後、上記臓器を含む主な臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

腎臓および肉眼的観察から必要と考えられた臓器について常法に従って脱水、パラフィン切片を作製し、H・E染色を施し、光学顕微鏡により観察した。また、腎臓については、過ヨウ素酸シッフ(PAS)染色も行った。

II. 実験結果

1. ラット

1) 経口投与

(1) LD₅₀値(Table 1)

雌雄とも死亡例を認めず、LD₅₀値は5000 mg/kgを上回った。

(2) 症状、体重および病理学的所見

雌雄とも症状に異常を認めず、体重および剖検においても異常を認めなかった。

2) 皮下投与

(1) LD₅₀値(Table 1)

雌雄とも死亡例を認めず、LD₅₀値は5000 mg/kgを上回った。

(2) 症状、体重および病理学的所見

雌雄とも症状に異常を認めなかった。体重では雄の5000 mg/kg群で一過性に増加抑制を認めた。剖検では少数例の投与部位の皮下に出血を認めたほかに異常はなかった。

3) 静脈内投与

(1) LD₅₀値(Table 1)

死亡は雄2500 mg/kg以上、雌2800 mg/kg以上で発現し、LD₅₀値は雄2850 mg/kg、雌3200 mg/kgであった。死亡の発現は投与後10分までに認められた。

(2) 症状、体重および病理学的所見

投与直後より1000 mg/kg以上の群で自発運動減少、歩行失調、呼吸不規則を認めた。さらに2500 mg/kg以上の群では四肢麻痺、正向反射消失、呼吸困難も認

Table 1. Mortality and LD₅₀ values in rats treated with meropenem

Sex		Male		Female	
Route	Dose (mg/kg)	No. of rats ^{a)} dead/used	LD ₅₀ value ^{b)} (mg/kg)	No. of rats ^{a)} dead/used	LD ₅₀ value ^{b)} (mg/kg)
PO	0	0/5	> 5000	0/5	> 5000
	2500	0/5		0/5	
	5000	0/5		0/5	
SC	0	0/5	> 5000	0/5	> 5000
	2500	0/5		0/5	
	5000	0/5		0/5	
IV	0	0/5	2850 (2550 ~ 3190)	0/5	3200 (2670 ~ 3840)
	500	0/5		0/5	
	1000	0/5		0/5	
	1600	0/5		0/5	
	2200	0/5		0/5	
	2500	1/5		0/5	
	2800	2/5		2/5	
	3100	2/5		—	
	3400	5/5		2/5	
	4000	5/5		5/5	

^{a)} Cumulative mortality during 14 days after treatment.

^{b)} LD₅₀ values were calculated by Litchfield & Wilcoxon method.

Parentheses represent 95% confidence limits.

—: Not examined

めた。また、死亡例のほとんどに強直性痙攣を認めた。生存例ではすべて4時間以内に正常に回復した。体重では雌の3400 mg/kg群の平均値および平均体重増加量が高値を示した。剖検では異常を認めなかった。

2. マウス

1) 経口および皮下投与

(1) LD₅₀値(Table 2)

雌雄とも死亡例を認めず、LD₅₀値は5000 mg/kg以上であった。

(2) 症状、体重および病理学的所見

雌雄とも症状に異常を認めず、体重、剖検および腎臓の病理学的検査においても異常を認めなかった。

2) 静脈内投与

(1) LD₅₀値(Table 2)

死亡は雄2200 mg/kg以上、雌2800 mg/kg以上で発現し、LD₅₀値は雄2650 mg/kg、雌2950 mg/kgであった。死亡の発現は投与後10分以内に認められた。

(2) 症状、体重および病理学的所見

投与直後より1600 mg/kg以上の群で四肢麻痺、呼吸不規則、さらに2200 mg/kg以上の群で自発運動減少、歩行失調、正向反射消失、呼吸困難を認めた。また、死亡例のほとんどに強直性痙攣を認めた。生存例ではすべて4時間以内に正常に回復した。体重では雌の2800 mg/kgおよび3400 mg/kg群で一過性の増加抑制を認めた。剖検では、生存例の雌の2200 mg/kg以上の群で腎臓に褪色を認め、病理組織学的検査では近

位尿管を主座とした尿管の再生像を2200 mg/kg群の1例、2800 mg/kg群の雌雄各1例および3400 mg/kg群の2例に認めた。

3. イヌ

1) 死亡および症状

2000 mg/kg群の2例中1例(雄)で投与後8日目に死亡を認めた。この例では、投与後3日まで認めた自発運動減少、嘔吐、粘血便などの症状は一旦回復したが、食欲は認めず、投与後5日目から再び自発運動減少を認め、嘔吐、粘血便が頻発し、脱水状態も認めた。その後、鼻汁、呼吸促進および皮温低下も認め、自発運動が著しく減少するなど衰弱状態となり、投与後8日目には、吐血、痙攣を認めた後死亡した。

生存例を含めた症状では、500 mg/kg群の雄で耳介の浮腫を認めた。1000 mg/kg群では雌雄ともに自発運動減少、流涎をわずかに認め、2000 mg/kg群では雌雄ともに自発運動減少、可視粘膜の充血、耳介、顔面の潮紅あるいは浮腫を、雄では軽度な流涎も認めた。これらの症状は投与中あるいは投与直後から発現した。そのほかに投与当日に各群ともに嘔吐を認め、1000および2000 mg/kg群では粘血便も認めた。これらの症状は、死亡例を除いて投与翌日には回復した。

2) 体重(Table 3)および摂餌量

体重では、1000 mg/kg群の雄で投与後2日に一過性の減少を認めたほかに異常はなかった。死亡例では体重の明らかな減少を認めた。

Table 2. Mortality and LD₅₀ values in mice treated with meropenem

Sex		Male		Female	
Route	Dose (mg/kg)	No. of mice ^{a)} dead/used	LD ₅₀ value ^{b)} (mg/kg)	No. of mice ^{a)} dead/used	LD ₅₀ value ^{b)} (mg/kg)
PO	0	0/5	> 5000	0/5	> 5000
	2500	0/5		0/5	
	5000	0/5		0/5	
SC	0	0/5	> 5000	0/5	> 5000
	2500	0/5		0/5	
	5000	0/5		0/5	
IV	0	0/5	2650 (2190 ~ 3210)	0/5	2950 (2460 ~ 3540)
	1000	0/5		0/5	
	1600	0/5		0/5	
	2200	1/5		0/5	
	2800	3/5		3/5	
	3400	5/5		3/5	
	4000	5/5		5/5	

^{a)} Cumulative mortality during 14 days after treatment.

^{b)} LD₅₀ values were calculated by Litchfield & Wilcoxon method.

Parentheses represent 95% confidence limits.

摂餌量では、生存例で1000 mg/kg以上の群の投与後1日のみに減少を認めた。死亡例では投与後にほとんど摂餌を認めなかった。

3) 血液学的検査 (Table 4)

投与群では、投与後1日のみに白血球数の増加を認め、白血球分類では好中球比の上昇およびリンパ球比の低下を認めた。死亡例ではこの変化は投与後7日にも認め、更に投与後7日に脱水状態に起因すると考え

Table 3. Body weights (kg) of dogs treated intravenously with meropenem

Sex	Dose (mg/kg)	Day after treatment							
		-6	-3	-1	2	5	8	11	14
Male	Control	12.1	12.1	12.3	12.3	12.3	12.5	12.3	12.2
	500	13.0	13.1	13.1	13.1	13.1	13.0	13.0	13.0
	1000	14.2	14.2	14.3	13.4	14.0	13.9	14.0	13.9
	2000	12.6	12.7	12.5	11.7	10.9	died on day 8		
Female	Control	10.2	10.1	10.2	10.0	10.0	10.2	9.9	9.9
	500	11.2	11.0	10.8	10.6	10.7	10.7	10.8	10.9
	1000	8.2	8.1	7.9	8.0	8.2	8.2	8.1	8.2
	2000	9.2	9.5	9.2	9.3	9.3	9.0	8.9	9.0

Table 4-1. Hematological data of dogs treated intravenously with meropenem

Index	Sex	Day	Male				Female			
			Dose (mg/kg)				Dose (mg/kg)			
			Control	500	1000	2000 ^{a)}	Control	500	1000	2000
Erythrocyte count ($10^4/\text{mm}^3$)		0	711	573	712	623	546	627	624	586
		1	723	627	667	647	599	609	667	592
		7	742	617	744	913	591	591	614	613
		14	692	619	725	—	586	591	607	580
Hemoglobin (g/dl)		0	18.0	14.2	17.2	16.1	13.9	16.0	15.3	14.8
		1	18.3	15.4	15.9	16.2	15.1	15.5	16.0	14.6
		7	18.5	15.2	17.4	22.8	14.6	14.9	14.6	14.9
		14	17.7	15.6	17.5	—	15.1	15.3	14.8	14.5
Hematocrit (%)		0	49.5	39.5	48.0	44.0	38.5	44.5	41.5	40.0
		1	51.0	43.5	45.0	46.0	42.0	43.5	45.5	41.5
		7	52.0	43.0	49.5	63.5	42.5	42.5	41.5	42.5
		14	48.5	43.5	49.0	—	42.5	42.5	41.5	41.5
Mean cell hemoglobin (pg)		0	25.3	24.8	24.2	25.8	25.5	25.5	24.5	25.3
		1	25.3	24.6	23.8	25.0	25.2	25.5	24.0	24.7
		7	24.9	24.6	23.4	25.0	24.7	25.2	23.8	24.3
		14	25.6	25.2	24.1	—	25.8	25.9	24.4	25.0
Mean cell volume (μm^3)		0	70	69	67	71	71	71	67	68
		1	71	69	67	71	70	71	68	70
		7	70	70	67	70	72	72	68	69
		14	70	70	68	—	73	72	68	72
Mean cell hemoglobin concentration (%)		0	36.4	35.9	35.8	36.6	36.1	36.0	36.9	37.0
		1	35.9	35.4	35.3	35.2	36.0	35.6	35.2	35.2
		7	35.6	35.3	35.2	35.9	34.4	35.1	35.2	35.1
		14	36.5	35.9	35.7	—	35.5	36.0	35.7	34.9
Erythroblast count (/100 WBCs)		0	1.5	1.5	1.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0
		1	0.5	2.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		7	1.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0
		14	1.0	0.0	0.0	—	1.5	0.5	0.0	0.5
Leucocyte count ($10^2/\text{mm}^3$)		0	89	90	72	77	105	72	55	88
		1	102	136	191	257	159	131	148	130
		7	86	99	71	174	168	65	57	81
		14	86	100	101	—	168	83	67	90

^{a)} Died on day 8

られる赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の増加も認められた。

4) 血液生化学的検査 (Table 5)

投与後1日に投与群でGPTおよびALPの上昇を認め、また、 γ -GTPの軽度な上昇を示す例もあった。1000 mg/kg以上の群ではカリウムの減少も認めたが、生存例ではこれらいずれの変化も投与後7日以降には回復傾向にあった。

死亡例では、このほかに投与後1日にGOTの上昇および尿素窒素、クレアチニンの増加を軽度に認め、死亡前の投与後7日には、これらの項目での変化が明らかとなったほかに尿酸、総蛋白、血糖、総コレステロールおよびカリウムの増加、CPK、LDHの上昇、A/G比、カルシウムの減少も認めた。

5) 病理学的検査

(1) 臓器重量

生存例では、いずれの臓器においても異常を認めなかった。死亡例では、肺重量が大きいほかには明らか

な異常はなかった。

(2) 肉眼的所見

生存例では、被験物質投与に関連すると考えられる変化を認めなかった。死亡例の主な所見としては、腎臓では皮質が白色で髄質が暗赤色を呈していた。肺では全葉に斑状暗赤色部を認め、気管および気管支内に泡沫液の充満を認めた。また、消化管粘膜には赤色ないし暗赤色部や陥凹巣の散在を認めた。このほかに、胸腺などに赤色点散在を認めた。

(3) 病理組織学的検査

腎臓では生存例の2000 mg/kg群の雌でエオジン染色性の胞体と多数の核を認める近位尿細管の小領域を散在性に認め、これは尿細管上皮の再生がほぼ終了した像と考えられた。このほかの生存例では、被験物質投与に関連すると考えられる異常を認めなかった。

死亡例では、両側に広範な近位尿細管の壊死を認めた。これは曲部と考えられる近位尿細管上皮の消失、管腔内の微細顆粒状石灰沈着、一部尿細管上皮の壊死

Table 4-2. Hematological data of dogs treated intravenously with meropenem

Sex		Male				Female			
Index	Day	Dose (mg/kg)				Dose (mg/kg)			
		Control	500	1000	2000 ^{a)}	Control	500	1000	2000
Band neutrophil (%)	0	0.5	1.5	0.5	0.5	1.0	2.5	1.0	1.5
	1	0.5	2.5	6.0	6.0	4.5	1.0	3.0	7.0
	7	1.0	4.0	0.5	1.0	0.5	2.5	0.0	1.0
	14	0.5	7.0	3.5	—	3.0	2.0	3.0	1.5
Segmented neutrophil (%)	0	65.0	64.0	70.0	61.0	52.0	60.0	50.5	52.5
	1	63.0	77.5	88.0	84.5	66.5	76.5	84.0	74.5
	7	63.5	60.0	62.5	93.5	67.5	59.0	52.0	65.0
	14	69.0	64.0	66.0	—	66.0	63.0	48.0	58.0
Basophil (%)	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	14	0.0	0.0	0.0	—	0.0	0.0	0.0	0.0
Eosinophil (%)	0	2.5	1.5	3.5	2.0	7.0	1.0	4.5	3.0
	1	3.5	1.5	0.0	1.0	3.0	2.0	1.0	2.5
	7	1.0	2.0	6.5	0.0	3.0	2.5	6.0	4.0
	14	1.5	2.5	3.5	—	1.0	1.0	6.0	3.0
Lymphocyte (%)	0	28.5	30.5	24.5	32.0	37.0	31.0	40.0	38.5
	1	27.0	16.0	5.5	5.5	22.0	19.0	10.5	13.0
	7	30.0	30.5	26.5	1.5	27.0	32.0	38.0	24.5
	14	26.5	24.5	22.5	—	26.0	31.0	37.0	35.0
Monocyte (%)	0	3.5	2.5	1.5	4.5	3.0	5.5	4.0	4.5
	1	6.0	2.5	0.5	3.0	4.0	1.5	1.5	3.0
	7	4.5	3.5	4.0	4.0	2.0	4.0	4.0	5.5
	14	2.5	2.0	4.5	—	4.0	3.0	6.0	2.5
Platelet count (10 ³ /mm ³)	0	16.7	18.4	17.9	22.0	20.9	20.8	25.4	25.2
	1	16.6	22.2	14.1	19.6	22.2	20.5	20.9	21.9
	7	16.9	12.3	28.9	25.6	19.2	23.9	25.1	26.0
	14	15.4	14.4	17.5	—	20.5	23.0	22.5	21.8

^{a)} Died on day 8

あるいは再生より構成される広範な病変であった。遠位尿細管、ヘンレ係蹄および集合管には、蛋白様円柱、硝子様円柱を多数認めたが、これは近位尿管障害に伴った変化と考えられた。糸球体には異常を認めな

った。

腎臓以外の臓器では、生存例では異常はなく、死亡例の胃の胃底腺部粘膜の粘膜固有層表層部に中等度のび慢性出血およびうっ血を認め、粘膜上皮に小壊死巣

Table 5-1. Blood biochemical findings in dogs treated intravenously with meropenem

Sex		Male				Female			
Index	Day	Dose (mg/kg)				Dose (mg/kg)			
		Control	500	1000	2000 ^{a)}	Control	500	1000	2000
Total protein (g/dl)	0	5.7	5.6	6.1	6.0	6.0	6.2	5.4	6.6
	1	5.8	5.9	6.1	6.0	6.3	6.2	5.6	6.7
	7	6.0	5.9	6.0	7.5	6.3	6.4	5.6	7.0
	14	5.9	5.9	5.8	—	6.4	6.4	5.7	6.8
Albumin (g/dl)	0	3.0	2.8	3.2	3.1	2.8	3.4	2.9	3.0
	1	3.1	2.9	3.2	3.0	3.0	3.3	2.9	3.1
	7	3.2	2.9	3.0	3.2	3.0	3.4	2.9	3.1
	14	3.1	2.9	3.1	—	3.0	3.4	3.0	3.1
A/G ratio	0	1.11	1.00	1.10	1.07	0.88	1.21	1.16	0.83
	1	1.15	0.97	1.10	1.00	0.91	1.14	1.07	0.86
	7	1.14	0.97	1.00	0.74	0.91	1.13	1.07	0.79
	14	1.11	0.97	1.15	—	0.88	1.13	1.11	0.84
Glucose (mg/dl)	0	90	99	93	93	88	95	92	87
	1	107	94	92	101	91	89	94	87
	7	110	95	93	238	93	100	97	92
	14	99	92	85	—	90	90	92	82
Cholesterol (mg/dl)	0	140	134	153	137	198	240	149	257
	1	142	144	211	174	214	244	174	283
	7	147	143	192	329	195	278	197	316
	14	142	139	163	—	178	307	204	312
Triglycerides (mg/dl)	0	49	24	57	45	47	36	21	43
	1	54	29	27	24	14	48	102	34
	7	91	31	39	26	20	58	51	26
	14	32	27	31	—	14	92	60	47
Urea nitrogen (mg/dl)	0	14	15	17	19	15	15	16	16
	1	18	17	9	23	16	11	19	18
	7	18	12	15	344	14	15	17	17
	14	13	15	18	—	12	15	14	18
Uric acid (mg/dl)	0	0.5	0.4	0.4	0.6	0.4	0.4	0.3	0.5
	1	0.3	0.3	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2	0.3
	7	0.5	0.4	0.3	1.4	0.5	0.4	0.5	0.3
	14	0.4	0.4	0.3	—	0.4	0.3	0.3	0.5
Creatinine (mg/dl)	0	1.0	0.8	0.9	0.9	0.8	0.7	0.9	0.7
	1	0.8	0.7	0.7	1.4	0.8	0.7	0.8	0.7
	7	0.9	0.7	1.0	21.0	0.9	0.8	0.8	1.0
	14	0.9	0.8	1.0	—	0.8	0.5	0.7	0.7
Total bilirubin (mg/dl)	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2
	7	0.0	0.1	0.0	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
	14	0.1	0.1	0.0	—	0.1	0.0	0.1	0.1

^{a)} Died on day 8

Table 5-2. Blood biochemical findings in dogs treated intravenously with meropenem

Sex		Male				Female			
Index	Day	Dose (mg/kg)				Dose (mg/kg)			
		Control	500	1000	2000 ^{a)}	Control	500	1000	2000
GOT (U/l)	0	34	21	28	31	27	23	31	25
	1	23	28	33	71	22	21	21	19
	7	24	26	25	86	22	16	23	21
	14	30	29	27	—	27	19	26	23
GPT (U/l)	0	50	45	58	40	31	43	48	46
	1	50	69	274	54	33	113	84	80
	7	50	52	95	48	33	59	54	58
	14	64	48	77	—	33	61	46	46
ALP (U/l)	0	47	137	63	48	152	59	60	74
	1	46	162	277	193	162	77	130	272
	7	45	157	138	188	137	65	72	133
	14	45	149	90	—	127	67	67	103
CPK (U/l)	0	94	52	104	78	96	99	81	66
	1	58	60	139	90	59	85	37	51
	7	82	62	109	754	76	57	75	91
	14	78	62	101	—	77	50	76	77
LDH (U/l)	0	88	60	112	168	211	136	104	102
	1	63	114	101	221	128	74	72	84
	7	98	81	143	270	140	67	71	169
	14	67	96	133	—	214	104	136	143
γ-GTP (U/l)	0	3	2	3	4	5	5	5	4
	1	1	6	9	4	7	9	0	10
	7	1	3	4	9	5	5	6	5
	14	2	2	3	—	2	1	4	4
Sodium (mEq/l)	0	145	147	147	146	147	148	149	147
	1	147	148	144	145	147	148	148	146
	7	149	149	149	144	149	149	151	148
	14	147	148	147	—	147	149	149	147
Potassium (mEq/l)	0	4.8	4.1	4.6	4.5	4.6	4.4	4.3	4.6
	1	5.1	4.5	3.8	4.0	4.4	4.2	4.3	3.9
	7	5.1	4.4	4.9	10.3	4.5	4.4	4.7	4.4
	14	4.7	4.3	4.5	—	4.3	4.4	4.4	4.3
Calcium (mg/dl)	0	9.9	10.3	10.9	10.4	10.4	11.0	10.8	10.8
	1	10.3	10.4	10.3	10.3	10.7	11.0	10.2	10.3
	7	10.3	10.4	11.2	8.0	10.5	11.2	11.3	11.1
	14	10.2	10.3	11.2	—	10.5	11.2	10.8	10.8

^{a)} Died on day 8

を散見した。また、粘膜下組織には、中等度の水腫性肥厚を認めた。幽門腺部粘膜では粘膜固有層表層部の小領域に出血およびうっ血を認めた。小腸では絨毛うっ血、大腸では粘膜固有層のうっ血および出血、腸陰窩腔の嚢胞様拡張などの変化を認めた。また、気管粘膜組織下の出血や、肺ではうっ血、肺水腫および散在性の血管周囲性の急性炎症性細胞浸潤を認めた。これらのほかの臓器では動物が衰弱状態にある場合に出現

する変化が散見された。

Ⅲ. 総括および考察

MEPMの急性毒性をラット、マウスおよびイヌを用いて検討した。

ラットおよびマウスでは、経口投与および皮下投与とともに5000mg/kgまでに死亡例はみられず、ラットの5000mg/kgの皮下投与で一過性の体重増加抑制および投与部位の皮下出血を認めた以外に、症状、体

重、剖検所見ともに異常はなかった。これらの動物種での静脈内投与では、LD₅₀値は概ね3000mg/kg前後と明らかな差を認めなかった。症状にもラットとマウスで差はなく、呼吸不規則、自発運動減少、歩行失調、正向反射消失、四肢麻痺などを認め、死亡例では強直性痙攣も認めた。マウスでは死亡の発現する投与群の雌で一過性の体重増加抑制を認めたほかに、剖検では2200mg/kg以上の群の生存例で腎臓の褪色を認めた。これは組織学的には尿細管の再生像を主体とした変化であり、障害を受けた尿細管上皮に壊死が生じた場合にはその修復に2週間程度を要することが知られている²⁾ことから、被験物質投与に起因した尿細管壊死の修復過程を示すものと考えられた。ラットの剖検所見には異常はなかった。

イヌでは静脈内投与により検討した結果、最高用量の2000mg/kg群の2例中1例で投与8日目に死亡を認めた。この例の死亡までの症状経過や臨床検査結果から尿毒症を発現したものと考えられた。病理学的には腎臓で近位尿細管壊死像を、肺でうっ血や水腫、消化管ではうっ血・出血性の変化を認めた。また、全身状態の悪化を示す所見も得られており、尿毒症による全身の衰弱が死因と考えられた。

生存例のうち2000mg/kg群の雌では臨床検査には異常はなかったが、腎臓の病理学的検査で近位尿細管

上皮の再生像を認め、マウスと同様に投与後初期に被験物質投与による尿細管上皮に対する影響があったことを示唆するものと考えられた。2000mg/kg群の雌雄での変化の程度の大きな差は、死亡した雄では投与後の症状の回復が遅く、また、消化管や呼吸器に対する影響を含めた一般状態の著しい悪化を認めており、これらの影響が腎臓の障害を増強させたことによるものと考えられた。

そのほかに生存例では、症状として投与中・直後に顔面の潮紅・浮腫、自発運動減少、嘔吐あるいは粘血便などを認め、摂餌量、体重でも1000mg/kg以上で投与後に一過性の減少を認めた。また、投与後1日に白血球数の増加あるいはGPT、ALPの上昇なども認めしたが、投与後2週の病理学的検査結果では、これらの変化に関連すると考えられる所見は認められなかった。

文 献

- 1) Litchfield J T, JR, and Wilcoxon F: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Therap.*, 96: 99~113, 1949
- 2) Krus S and Zaleska-Rutczynska Z: Morphological counterparts of the genetically determined resistance of mice to chloroform poisoning. *Experientia* 26: 101~102, 1970

ACUTE TOXICITY STUDY OF MEROPENEM IN RATS, MICE AND DOGS

Akira Kohda, Yoshinori Misaki, Koji Hanai, Kaoru Inoue,
Terushige Kato and Hirohiko Yamada

Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co. Ltd.

1-98 Kasugade-naka, 3-chome, Konohana-ku, Osaka 554, Japan

An acute toxicity study of meropenem (MEPM) in rats, mice and dogs was performed, and the following results were obtained.

1) The LD₅₀ values of MEPM were 2850 mg/kg (male) and 3200 mg/kg (female) in rats, 2650 mg/kg (male) and 2950 mg/kg (female) in mice treated intravenously and more than 5000 mg/kg in rats and mice treated orally and subcutaneously.

One of two dogs treated intravenously at 2000 mg/kg was died.

2) As toxic signs, decrease in spontaneous motor activity, ataxic gait and irregular respiration were observed in rats and mice treated intravenously. Moreover, convulsion was found in the animal that died. No abnormal signs were seen with oral and subcutaneous administration.

In dogs, flush and edema of the face and a decrease in spontaneous motor activity were obtained immediately after treatment.

3) No abnormality was seen in the body weight of rats and mice, except for a transient inhibition of the increase in body weight in the high dose group of rats treated subcutaneously.

Body weight decreased transiently in the surviving dogs. A clinical pathological study in dogs showed an increase in leucocytes, GPT and ALP on day 1. Blood urea nitrogen and creatinine were also increased before death in the dog that died.

4) In pathology, regeneration of the renal tubular epithelium was observed in surviving animals in the high dose groups of mice and dogs treated intravenously.

No abnormality was seen in rats except for hemorrhage of the subcutaneous tissue at the injection site.