

Cefclidin のビーグルにおける静脈内投与による4週間反復投与毒性試験

岩田達男, 中野渡純一, 野口正義, 知本忠士,
山中宏志, 早川和宏, 見上 孝, 山津清實
エーザイ株式会社 安全性研究部*

ビーグル犬にcefclidin(CFCL)の30, 100, 300および1000mg/kgを1日1回4週間静脈内投与した。300, 1000mg/kg群については, 投与終了後4週間の回復試験を実施した。

1. いずれの群においても死亡例は認められず, 体重, 摂餌量, 摂水量および生理機能検査にも変化は認められなかった。
2. 30および100mg/kg群では投薬に関連した変化は認められなかった。
3. 300および1000mg/kg群では尿中NAGおよび腎尿細管上皮における好酸性顆粒(電顕観察ではlysosomal dense body)の増加が認められた。
4. 1000mg/kg群では舌なめずり, 嘔吐, 流涎がみられ, 血小板数, 赤血球数, ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少, 血液沈降速度(ESR)の亢進, 尿中 γ -GTPの増加が認められた。腎の退色, 腎および胸腺重量の増加, 尿細管上皮の変性と再生, 間質の細胞浸潤が観察された。これらの変化は, いずれも4週休薬により回復あるいは回復傾向を示した。なお, 休薬後3週以降に1000mg/kg群(雌雄各1頭)で瞬膜弛緩, 縮瞳がみられたが, 病理組織学的検査では眼球, 視神経に変化は認められなかった。

以上の結果により, 好酸性顆粒および尿中NAGの増加が300mg/kgよりみられたが, これらの変化は生体の適応反応に起因するものであり, 無影響量は300mg/kgと考えられた。

Key words : cefclidin(CFCL), イヌ, 4 週間反復投与毒性試験

ラクタム系抗生物質であるcefclidin(CFCL)はグラム陽性菌および陰性菌に対して, 広範囲の抗菌スペクトルを有し, 各種感染症の治療剤として, その開発が期待されている。今回, ビーグル犬による4週間静脈内投与毒性試験および4週間回復試験を実施したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

CFCLは下記の化学構造を有し, 白色ないし淡黄色の結晶性粉末である。

本試験にはエーザイ化学㈱にて合成されたLot No. 06030301, 06030402, 06031003を用いた。

2. 投与検体の調製

CFCLは生理食塩液にて1.5, 5, 15および20%(w/vol.)濃度に溶解し, 0.22-0.45 μ mのメンブレンフィルターにて除菌濾過した。投与検体は2-3日に1回調製して, 使用時まで冷蔵暗所に保存した。

3. 供試動物, 飼育条件および群構成

動物は㈱シー・エス・ケー実験動物研究所で生産されたビーグル犬で, 5ヶ月齢で導入し, 2週間の検疫および14週間の予備飼育ののち, 健康な雌雄各19頭を選出した。投与開始時の月齢は7-8ヶ月齢で, 体重は雄8.6-10.5kg, 雌7.7-9.0kgであった。動物は入墨番号により識別し, ステンレス製個別ケージに収容した。飼育は温度22 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C, 湿度55 $\pm$ 10%, 12時間照明(7:00-19:00), 換気回数10回/時以上に設定された飼育室にて行った。飼料はイヌ用固型飼料DS(オリエンタル酵母K.K.)を毎日250g/頭与え, 水は自由に摂取させた。各群の動物数は雌雄各3頭とし, 300, 1000mg/kg群には回復試験に供する雌雄各2頭を加えた。

4. 投与量および投与方法

投与量はCFCLのビーグルにおける1週間静脈内投与による予試験(100, 300, 1000, 2000mg/kg)の結果, 300mg/kg以上で舌なめずり, 嘔吐などがみられ, 2000mg/kg群では投与初日より血液の混入する激しい嘔吐が認められた。従って, 嘔吐等による衰弱の程度が

*〒501-61 岐阜県羽島郡川島町竹早町

激しくなく、4週間の継続静注が可能と考えられる1000 mg/kgを最高投与量とし、300、100および30mg/kgを設定した。投与検体は12ml/minの投与速度で、1日1回4週間連続してペリスタポンプを用いて機側皮静脈から投与した。投与容量は1000mg/kg群では5ml/kg、その他の群は2ml/kgとした。対照群には5ml/kgの生理食塩液を同様に投与した。

なお、回復試験の休薬期間は4週間とした。

5. 観察項目および方法

1) 一般観察

(1) 一般症状、体重、摂餌量および摂水量

一般症状は毎日1回以上、観察した。体重は週1回、摂餌量は毎日測定した。摂水量については投与開始前2週、投与開始後1週、3週および休薬開始後4週に測定した。

(2) 眼科学的検査

投与開始前2週、投与開始後1週、3週および休薬開始後3週に検査した。瞳孔反射、眼瞼反射は肉眼的観察にて、眼底検査は散瞳剤(Mydrin-P[®], 参天製薬)を点眼後、眼底カメラ(RC-2型, 興和)を用い、前眼房および水晶体はライト付ルーペ、スリットランプ(SL型, 興和)を用いて観察した。

(3) 生理機能検査

投与開始前2週、投与開始後1週、3週および休薬開始後4週に心拍数および心電図を測定した。動物は無麻酔懸垂保定下でイヌ用自動計測心電計(503FB-D, フクダエム・イー工業)を用いてA-B誘導にて測定した。

2) 血液学的検査

投与開始前2週、投与開始後1週、3週および休薬開始後4週に無麻酔下で機側皮静脈から採血して、以下の項目について検査した。動物は採血の前日から一夜絶食した。なお、骨髓像の観察は一部の標本について実施した。

赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血小板数および白血球数は多項目自動血球計数装置(SYSMEX E-3000, 東亜医用電子)にて測定した。なお、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)については算出した。網赤血球数、白血球百分率は血液像自動分類装置(HEMATRAK 590, Geometric社)、プロトンビーム時間は血液凝固時間測定装置(Clotek TM system, Hyland社)にて測定した。骨髓像はメイ・ギムザ染色後鏡検し、血液沈降速度(ESR)はWestergren法にて測定した。

3) 血液生化学的検査

投与開始前2週、投与開始後1週、3週および休薬開始

後4週に無麻酔下で機側皮静脈から採血して、以下の項目について検査した。動物は採血の前日から一夜絶食した。

ALP, LAP, GPT, GOT, 総コレステロール, リン脂質, トリグリセライド, グルコース, 尿素窒素, 無機リンおよびCaはクリナライザー(JCA-HS6, 日本電子K.K.)にて測定した。LDH, CPK, 総タンパク量, クレアチニンおよび尿酸は臨床生化学分析装置(IMPACT 400, ギルフォード社)にて、Cl⁻はクロライドカウンター(CL-6MP, 平沼産業), Na⁺およびK⁺は炎光光度計(model 343, IL社), アルブミン, α_1 -グロブリン, α_2 -グロブリン, β -グロブリン, γ -グロブリンおよびA/G比はデンスitometer(OZMOR 82, 明日香工業)および電気泳動装置(64型, ATAGO社)を用いて測定した。IgG, IgMおよびIgAはSRID法キット(Miles Lab.)にて測定した。

4) 尿検査

投与前2週、投与後1週、3週および休薬後4週に自然排泄尿(24時間)を採取し、以下の項目を測定した。

尿量はメスシリンダーで、色調、混濁は肉眼的に、比重は屈折計(ユリコン, アタゴK.K.)にて測定した。タンパク, ケトン体, 潜血, グルコース, ビリルビンおよびpHはマルチスティックスIII(マイルス三共)にて、沈渣はS-M染色後鏡検した。 γ -GTPおよびALP総排泄量はクリナライザー(JCA-HS6, 日本電子), クレアチニン総排泄量およびクレアチニン クリアランスはIMPACT 400(ギルフォード社), β -N-acetyl-D-glucosaminidase総排泄量(U-NAG)は分光光度計(UV-240, 島津), Na⁺およびK⁺総排泄量は炎光光度計(model 343, IL社), Cl⁻総排泄量はクロライドカウンター(CL-6MP, 平沼産業)を用いて測定した。

5) 薬物動態学的検査

血漿中濃度は投与初日および投与最終日に各群雌雄各2頭について、投与前、投与直後、投与後30、60分、3、6および24時間に血液1mlを採取し、Bioassayにて測定した。腎臓内濃度は、剖検時に腎皮質および髄質の一部を採取してBioassayにて測定した。

6) 剖検

反復投与群は投与開始後4週に、回復群は休薬後4週に全例、ペントバルビタールNaで静注麻酔し、頸動脈より放血致死せしめた。

肉眼的に外表、皮下ならびに以下の摘出臓器について精査した。

肝*, 胆嚢, 腎*, 脳*, 延髄, 頸髄, 胸髄, 坐骨神経, 喉頭, 気管, 肺*, 横隔膜, 心*, 大動脈, 脾*, 胸腺*, 副腎*, 甲状腺*, 上皮小体, 下垂体*,

Table 1. Hematological findings in dogs treated intravenously with cefclidin for 4 weeks

	Dose (mg/kg)		RBC($\times 10^4/\text{mm}^3$)				HT(%)				HB(g/dl)				MCH(pg)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	740.3	692.3	733.3		50.83	47.50	50.43		16.80	15.93	16.83		22.70	23.07	22.97	
		$\pm$ S.E.	27.3	44.1	42.5		1.77	2.47	2.23		0.46	0.86	0.87		0.35	0.46	0.29	
	30	Mean	733.7	686.7	683.0		51.07	47.83	47.77		17.03	16.07	16.00		23.17	23.40	23.43	
		$\pm$ S.E.	24.2	10.2	11.8		2.41	1.54	1.34		0.83	0.35	0.45		0.50	0.30	0.49	
	100	Mean	697.7	679.3	667.7		46.73	45.97	45.10		15.70	15.07	15.03		22.50	22.17	22.53	
		$\pm$ S.E.	19.6	19.7	18.6		1.48	1.56	1.46		0.53	0.59	0.49		0.15	0.27	0.18	
	300	Mean	782.6	721.6	696.2	765.5	52.38	48.66	47.04	51.65	17.48	16.18	15.66	18.00	22.36	22.46	22.56	23.55
		$\pm$ S.E.	18.1	15.6	22.6	14.5	1.31	0.49	0.68	0.25	0.40	0.14	0.29	0.00	0.46	0.43	0.40	0.45
	1000	Mean	749.8	667.4	649.4	719.5	51.12	45.28	44.72	48.75	16.94	14.80	14.66	16.60	22.62	22.20	22.56	23.05
		$\pm$ S.E.	18.5	22.3	41.9	7.5	1.00	1.02	2.23	0.15	0.36	0.45	0.94	0.00	0.31	0.23	0.25	0.25
Female	CONT	Mean	726.3	676.7	656.0		49.73	46.70	45.37		16.47	15.57	15.13		22.63	22.93	23.03	
		$\pm$ S.E.	13.4	45.0	19.0		2.19	4.23	2.39		0.73	1.42	0.92		0.61	0.54	0.73	
	30	Mean	816.3	777.7	756.0		55.33	53.17	51.90		18.80*	18.03	17.47		23.07	23.23	23.20	
		$\pm$ S.E.	33.3	45.4	49.8		0.48	1.87	2.11		0.30	0.66	0.82		0.62	0.63	0.61	
	100	Mean	795.7**	730.7	748.7*		53.10	49.10	50.77		17.73	16.50	16.90		22.30	22.57	22.60	
		$\pm$ S.E.	6.1	11.3	11.5		1.46	1.95	1.82		0.43	0.56	0.57		0.72	0.70	0.79	
	300	Mean	775.8	713.6	681.6	710.5	52.64	49.80	47.94	49.25	17.84	16.64	15.84	17.15	23.06	23.38	23.32	24.15
		$\pm$ S.E.	36.8	30.1	31.4	3.5	1.79	1.32	1.40	0.45	0.62	0.55	0.54	0.05	0.36	0.40	0.39	0.05
	1000	Mean	777.0	700.0	650.2	743.5	52.84	48.38	45.56	51.65	17.78	16.10	15.06	18.10	22.92	23.00	23.08	24.40
		$\pm$ S.E.	15.0	18.4	50.7	24.5	0.89	1.20	3.50	0.25	0.31	0.46	1.30	0.00	0.30	0.33	0.48	0.80

Compared with control by Student *t*-test (* : 0.01 < p ≤ 0.05, ** : p ≤ 0.01)

Table 2. (Continued)

	Dose (mg/kg)		MCV(μm^3)				MCHC(%)				Retic(%)				Platelet($\times 10^4/\text{mm}^3$)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	68.70	68.70	68.90		33.07	33.57	33.37		0.13	0.13	0.20		27.70	26.07	20.20	
		$\pm$ S.E.	1.47	1.10	1.25		0.33	0.22	0.23		0.03	0.03	0.06		0.25	1.13	3.13	
	30	Mean	69.53	69.67	69.93		33.37	33.60	33.50		0.30	0.30	0.23		34.33	27.50	25.97	
		$\pm$ S.E.	1.35	1.39	1.33		0.07	0.40	0.06		0.20	0.20	0.03		7.38	5.43	6.80	
	100	Mean	66.97	67.67	67.53		33.57	32.77	33.33		0.43	0.20	0.33		42.97	30.80	30.67	
		$\pm$ S.E.	0.32	0.35	0.30		0.07	0.23	0.22		0.18	0.10	0.15		8.59	10.00	7.98	
	300	Mean	66.96	67.54	67.74	67.50	33.38	33.24	33.26	34.85	0.36	0.14	0.20	0.25	35.36	28.06	19.84	26.45
		$\pm$ S.E.	1.50	1.38	1.40	1.60	0.12	0.07	0.15	0.15	0.09	0.02	0.08	0.15	3.09	3.15	4.03	1.65
	1000	Mean	68.24	67.94	69.12	67.80	33.14	32.66	32.70	34.05	0.16	0.32	0.60	0.30	34.82	25.76	13.92	33.20
		$\pm$ S.E.	1.11	0.89	1.05	0.50	0.17	0.30	0.52	0.15	0.06	0.07	0.18	0.10	4.60	4.34	4.52	3.90
Female	CONT	Mean	68.40	68.83	69.07		33.10	33.33	33.33		0.30	0.17	0.23		39.13	29.57	39.97	
		$\pm$ S.E.	1.82	1.99	1.71		0.06	0.58	0.30		0.15	0.07	0.09		8.54	12.38	11.06	
	30	Mean	67.97	68.60	68.93		33.97	33.90	33.63		0.10	0.23	0.17		30.07	29.07	28.97	
		$\pm$ S.E.	2.58	2.52	2.46		0.46	0.35	0.27		0.00	0.09	0.03		1.63	0.83	2.77	
	100	Mean	66.77	67.17	67.83		33.43	33.60	33.30		0.23	0.23	0.17		35.87	29.27	27.60	
		$\pm$ S.E.	2.35	2.29	2.34		0.41	0.23	0.20		0.03	0.07	0.07		4.38	2.70	2.12	
	300	Mean	68.04	69.96	70.56	69.30	33.90*	33.38	33.04	34.80	0.24	0.22	0.24	0.35	31.80	27.16	18.92	35.70
		$\pm$ S.E.	1.22	1.24	1.33	1.00	0.18	0.32	0.25	0.40	0.09	0.04	0.05	0.15	3.05	2.66	4.66	1.90
	1000	Mean	68.04	69.14	70.12	69.55	33.64	33.26	32.92	35.05	0.20	0.24	0.30	0.15	32.38	25.82	11.34*	30.40
		$\pm$ S.E.	0.85	1.08	1.07	1.95	0.25	0.25	0.41	0.15	0.06	0.14	0.11	0.05	2.30	2.52	5.44	4.40

Compared with control by Student *t*-test (* : 0.01 < p ≤ 0.05)

Table 3. (Continued)

	Dose (mg/kg)		PT(sec)				WBC($\times 10^3/\text{mm}^3$)				ESR(mm/hr)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	7.73	7.57	6.77		110.0	117.0	109.7		1.50	2.50	1.33	
		$\pm$ S.E.	0.32	0.12	0.24		16.6	18.2	16.9		0.29	1.76	0.83	
	30	Mean	7.33	7.37	6.87		110.0	116.0	112.3		3.83	2.00	0.83	
		$\pm$ S.E.	0.09	0.12	0.23		7.4	6.1	13.7		2.13	0.76	0.33	
	100	Mean	7.93	8.17	7.33		124.0	126.0	131.7		1.17	1.17	0.83	
		$\pm$ S.E.	0.74	0.62	0.68		6.2	2.3	8.5		0.67	0.17	0.17	
	300	Mean	8.74	8.88	8.04	6.30	143.6	129.8	114.6	100.0	1.30	0.90	1.10	0.75
		$\pm$ S.E.	1.16	1.05	0.68	0.10	10.4	9.2	11.0	2.0	0.34	0.10	0.10	0.25
	1000	Mean	8.02	8.28	7.00	6.45	111.4	116.0	124.4	95.5	1.10	2.70	5.90	1.50
		$\pm$ S.E.	0.55	0.40	0.40	0.25	10.9	9.2	12.0	15.5	0.29	0.99	2.84	1.00
Female	CONT	Mean	10.03	9.33	8.03		128.7	126.0	132.3		1.00	2.00	1.17	
		$\pm$ S.E.	2.68	1.93	1.58		15.6	25.2	26.7		0.00	1.04	0.33	
	30	Mean	12.57	10.40	8.80		116.3	109.3	115.7		0.50*	0.50	0.50	
		$\pm$ S.E.	4.62	2.60	1.54		9.4	7.5	8.8		0.00	0.00	0.00	
	100	Mean	10.60	9.63	8.50		125.0	115.3	109.7		1.00	1.00	0.50	
		$\pm$ S.E.	2.58	1.87	1.15		7.6	7.2	4.6		0.50	0.29	0.00	
	300	Mean	8.66	8.22	7.28	7.35	116.8	117.6	112.4	113.5	0.80	0.60	0.70	0.50
		$\pm$ S.E.	0.39	0.38	0.41	0.95	7.4	9.4	5.4	10.5	0.20	0.10	0.12	0.00
	1000	Mean	9.62	9.20	7.88	6.35	127.0	112.6	118.8	106.0	0.90	1.30	24.00	0.75
		$\pm$ S.E.	1.70	1.17	0.79	0.35	6.0	8.4	14.1	4.0	0.19	0.46	21.90	0.25

Compared with control by Welch *t*-test (## : p ≤ 0.01)

Table 4. Hematochemical findings in dogs treated intravenously with cefclidin for 4 weeks																		
	Dose (mg/kg)		ALP(mU/ml)				GPT(mU/ml)				GOT(mU/ml)				LDH(mU/ml)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	162.7	175.7	182.0		37.3	44.0	41.7		26.7	29.0	27.7		172.7	201.7	119.3	
		± S. E.	14.4	22.7	17.2		1.3	3.1	2.3		1.5	0.6	2.7		41.9	79.1	28.2	
	30	Mean	170.3	164.7	159.3		40.7	48.3	53.0		31.3	33.3	30.7		193.0	209.7	106.3	
		± S. E.	17.0	14.7	26.1		8.2	6.1	8.1		2.3	1.8	3.2		39.7	61.8	9.9	
	100	Mean	176.0	155.0	164.3		32.7	48.7	38.0		29.7	33.0	29.0		266.0	249.7	100.3	
		± S. E.	14.8	10.4	6.7		2.8	9.2	2.6		1.3	2.5	2.3		98.4	57.4	22.5	
	300	Mean	174.2	184.8	174.8	200.0	35.8	59.6	46.0	29.5	29.8	29.0	28.8	20.5	178.0	137.4	108.0	73.5
		± S. E.	12.4	15.8	14.7	21.0	3.7	18.6	5.4	10.5	2.6	1.4	1.4	0.5	28.8	37.3	11.4	11.5
	1000	Mean	170.0	194.6	177.4	129.0	38.2	63.6	36.2	34.5	36.2	28.8	23.6	24.0	174.0	107.0	85.4	77.0
		± S. E.	11.6	20.3	11.4	1.0	2.5	20.4	3.1	0.5	3.8	0.9	1.2	2.0	24.3	16.6	11.1	4.0
Female	CONT	Mean	152.0	152.0	135.7		42.0	43.3	39.7		29.0	32.3	27.7		107.7	253.0	141.7	
		± S. E.	15.3	11.1	13.0		5.7	1.8	1.8		1.7	3.2	1.7		18.0	136.8	19.2	
	30	Mean	177.0	183.7	191.0		45.7	46.7	49.0*		28.0	29.3	30.3		72.3	96.0	77.3*	
		± S. E.	6.9	30.4	52.2		5.8	4.4	1.5		1.5	0.9	0.9		15.6	8.0	8.4	
	100	Mean	186.3	174.0	180.7		39.7	47.7	50.7		31.7	30.3	30.3		156.0	121.3	107.7	
		± S. E.	2.7	11.2	2.9		2.7	2.4	3.8		1.8	2.8	2.3		34.0	21.3	25.2	
	300	Mean	184.4	183.4	180.8	118.5	41.4	52.6	43.4	36.0	33.0	29.8	29.6	25.5	122.2	78.8	103.8	85.5
		± S. E.	19.4	22.1	21.6	23.5	5.4	6.5	3.9	1.0	5.8	1.3	1.9	3.5	6.8	6.9	16.6	16.5
	1000	Mean	162.8	165.6	166.8	145.5	40.4	46.0	43.6	34.0	32.6	33.2	33.2	24.0	132.8	109.8	110.6	91.5
		± S. E.	18.4	9.0	12.8	25.5	4.2	6.4	8.6	4.0	1.7	1.7	3.4	1.0	18.8	28.2	15.4	3.5
Compared with control by Student t-test (* : 0.01 < p ≤ 0.05)																		
Compared with control by Welch t-test (# : 0.01 < p ≤ 0.05)																		

Table 5. (Continued)																		
	Dose (mg/kg)		CPK (mU/ml)				Total protein (g/dl)				Albumin (%)				α ₁ -globulin (%)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	170.3	170.7	137.3		6.73	6.87	6.67		46.53	47.60	47.87		12.77	12.13	10.77	
		± S. E.	15.4	22.5	7.3		0.09	0.07	0.09		1.79	0.68	0.41		0.48	0.12	0.87	
	30	Mean	200.0	198.0	154.7		6.33	6.57	6.17*		52.13	52.20	53.83		11.80	11.77	12.67	
		± S. E.	11.6	30.3	8.6		0.15	0.15	0.07		3.26	2.34	2.47		0.25	0.35	0.55	
	100	Mean	252.7	198.7	155.3		6.77	6.43	6.17*		46.47	51.33	51.67*		12.17	11.03*	12.20	
		± S. E.	43.6	18.8	5.8		0.13	0.26	0.09		0.49	1.51	1.01		0.96	0.19	0.55	
	300	Mean	203.4	159.8	136.2	115.5	6.62	6.50	6.32*	6.70	49.28	52.88**	51.98*	46.35	12.30	12.34	12.80*	11.75
		± S. E.	15.4	9.8	6.3	16.5	0.17	0.14	0.07	0.10	0.64	0.94	1.11	1.45	0.38	0.12	0.29	0.15
	1000	Mean	389.2	146.4	123.2	147.5	6.80	6.72	6.40	6.45	50.72	51.66	50.86	50.35	11.72	12.34	14.02	11.90
		± S. E.	91.3	6.4	4.3	44.5	0.09	0.15	0.13	0.35	1.49	1.36	1.59	0.35	0.79	0.65	0.99	0.60
Female	CONT	Mean	173.7	191.7	133.3		6.17	6.30	6.07		53.83	52.57	51.27		12.87	12.77	14.70	
		± S. E.	36.4	52.6	19.5		0.09	0.21	0.03		0.72	0.96	0.90		0.67	0.64	0.32	
	30	Mean	154.3	133.0	133.7		6.20	6.40	6.03		57.30	57.20*	57.10*		11.23	11.50	12.60*	
		± S. E.	10.6	15.0	9.7		0.00	0.10	0.09		1.46	1.21	1.23		1.47	0.92	0.44	
	100	Mean	204.7	171.7	159.7		6.53*	6.20	6.23		50.17	53.43	56.47*		12.83	13.73	13.43	
		± S. E.	8.0	20.0	13.9		0.09	0.20	0.23		2.88	0.39	0.82		1.04	0.52	0.44	
	300	Mean	495.8	152.2	138.8	124.5	6.18	6.14	6.00	6.05	54.64	57.28**	56.34**	54.80	13.18	13.56	12.88*	12.05
		± S. E.	327.2	17.4	12.4	7.5	0.13	0.11	0.09	0.05	1.00	0.70	0.82	4.10	0.44	1.27	0.48	1.35
	1000	Mean	182.2	163.6	141.8	120.0	6.66**	6.62	6.52**	6.60	52.46	54.90	52.98	50.75	11.70	12.64	12.22*	11.05
		± S. E.	23.8	23.6	11.2	2.0	0.09	0.10	0.09	0.20	0.54	1.26	2.06	0.75	0.99	0.70	0.74	1.05
Compared with control by Student t-test (* : 0.01<p≤0.05, ** : p≤0.01)																		
Compared with control by Welch t-test (# : 0.01<p≤0.05)																		

Table 6. (Continued)																		
	Dose (mg/kg)		α_2 -globulin(%)				β -globulin(%)				γ -globulin(%)				A/G(ratio)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	10.43	10.27	9.37		19.83	19.67	22.03		10.43	10.27	9.83		0.877	0.910	0.923	
		± S. E.	0.88	0.35	0.55		0.73	1.04	0.83		0.88	0.35	0.82		0.063	0.026	0.015	
	30	Mean	10.80	10.30	9.23		18.53	18.47	18.00*		6.73*	7.20*	6.27		1.110	1.103	1.177	
		± S. E.	1.61	1.20	0.74		1.39	1.11	0.61		0.74	0.60	1.03		0.138	0.098	0.116	
	100	Mean	11.30	10.03	9.77		20.67	19.10	19.53		9.47	8.50	6.83*		0.870	1.060	1.070*	
		± S. E.	0.29	0.49	0.35		0.23	0.46	0.86		1.17	0.75	0.50		0.017	0.061	0.044	
	300	Mean	11.18	8.62	8.46	11.00	19.64	19.12	19.52	20.60	7.62*	7.08**	7.24	10.25	0.972	1.124*	1.088	0.870
		± S. E.	0.29	0.49	0.62	0.90	0.44	0.98	0.78	0.30	0.60	0.42	0.74	2.75	0.024	0.041	0.052	0.050
	1000	Mean	9.74	8.68*	8.50	8.85	20.00	19.66	20.72	20.80	7.80*	7.68	5.90*	8.15	1.038	1.072	1.046	1.015
		± S. E.	0.57	0.43	0.74	1.05	0.80	0.77	0.78	1.10	0.44	1.39	0.85	0.35	0.059	0.055	0.070	0.015
Female	CONT	Mean	10.27	9.80	8.90		16.90	17.33	16.77		6.17	7.50	8.40		1.163	1.110	1.053	
		± S. E.	0.49	0.23	1.01		0.65	0.66	0.23		0.13	0.40	0.70		0.032	0.044	0.039	
	30	Mean	8.47	8.57	7.60		17.00	15.90	17.17		5.97	6.83	5.57*		1.347	1.340*	1.333*	
		± S. E.	1.39	0.85	0.78		1.76	0.95	0.43		0.84	0.75	0.43		0.082	0.066	0.067	
	100	Mean	9.60	8.00*	6.97		19.27	17.50	18.30		8.17	7.37	4.83*		1.017	1.143	1.300*	
		± S. E.	1.51	0.32	1.09		1.65	0.97	0.57		1.16	0.72	0.03		0.108	0.019	0.045	
	300	Mean	8.34*	7.16*	8.00	7.20	17.52	16.50	17.68*	19.40	6.36	5.52*	5.12*	6.55	1.208	1.342**	1.294*	1.230
		± S. E.	0.36	0.70	0.37	1.80	0.67	0.47	0.26	1.50	0.55	0.44	0.52	0.55	0.048	0.038	0.045	0.200
	1000	Mean	8.42	7.88**	8.08	8.80	19.78	18.60	19.90	20.55	7.64**	6.04	6.90	8.85	1.104	1.222	1.142	1.030
	± S. E.	1.14	0.32	0.70	1.20	0.97	0.98	1.78	0.85	0.21	0.66	1.09	0.25	0.024	0.064	0.096	0.030	
Compared with control by Student t-test (* : 0.01< p ≤ 0.05, ** : p ≤ 0.01 Compared with control by Welch t-test (# : 0.01< p ≤ 0.05)																		

Table 7. (Continued)

	Dose (mg/kg)		Total cholesterol (mg/dl)				Phospholipid (mg/dl)				Triglyceride (mg/dl)				Glucose (mg/dl)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	152.7	139.7	140.0		314.0	289.3	263.3		42.0	46.7	45.3		97.3	91.7	99.0	
		± S.E.	3.8	6.6	5.7		6.4	9.7	5.2		2.1	5.0	2.9		0.9	4.5	1.7	
	30	Mean	146.7	134.7	133.7		307.3	280.0	251.3		46.0	50.3	50.3		104.0	88.0	98.0	
		± S.E.	1.8	2.0	0.9		6.8	3.2	1.3		0.6	4.3	4.4		3.6	3.6	0.6	
	100	Mean	157.7	123.7	137.0		314.7	252.7*	252.3		46.0	47.0	47.3		96.7	87.3	94.7	
		± S.E.	6.4	5.6	6.5		10.4	8.3	10.1		4.0	0.6	1.2		2.3	0.3	0.9	
	300	Mean	147.6	132.8	134.2	139.0	306.6	274.0	250.0	294.0	49.0	45.2	47.4	49.0	106.2	94.8	100.8	96.0
		± S.E.	4.2	2.2	1.0	11.0	7.2	5.2	4.9	29.0	3.6	2.5	3.4	3.0	3.1	3.2	2.9	7.0
	1000	Mean	151.2	150.8	150.6	142.5	312.0	302.2	274.0	298.5	49.4	49.0	57.2	53.5	102.6	93.2	100.4	97.0
		± S.E.	5.7	5.0	7.7	20.5	7.5	7.2	8.8	31.5	2.5	4.1	4.3	9.5	2.0	2.5	2.0	5.0
Female	CONT	Mean	139.3	132.0	136.7		287.0	273.0	258.7		37.3	40.0	39.7		105.0	96.0	99.7	
		± S.E.	7.0	2.1	6.8		6.2	9.6	3.2		4.7	4.0	4.3		1.7	1.2	2.8	
	30	Mean	119.3	109.3	107.0		258.0*	234.3	216.7*		38.7	36.3	35.3		108.0	99.3	101.0	
		± S.E.	8.9	8.4	10.6		7.9	16.0	14.7		3.7	3.2	3.2		4.5	1.8	1.5	
	100	Mean	141.3	116.3*	132.0		302.0	250.3	247.0		47.7	48.7	51.3		103.3	99.7	98.7	
		± S.E.	2.0	4.1	5.5		7.0	6.0	9.6		5.6	5.0	3.2		2.0	0.9	2.3	
	300	Mean	130.8	118.8*	118.4*	119.0	279.4	252.6	234.0*	267.0	40.0	34.0	37.2	39.0	104.8	98.2	100.2	94.5
		± S.E.	6.6	3.4	3.6	15.0	11.1	6.3	6.6	35.0	3.1	2.6	2.7	2.0	3.2	3.1	4.0	5.5
	1000	Mean	124.4	124.4	118.8	106.5	267.4	264.4	236.4	236.0	35.0	41.8	49.6	38.5	101.6	96.4	102.2	102.5
		± S.E.	6.0	6.6	9.9	12.5	13.3	10.6	16.6	27.0	2.3	2.9	3.3	2.5	4.2	3.0	2.5	3.5

Compared with control by Student *t*-test (*: 0.01 < p ≤ 0.05)

Table 8. (Continued)

	Dose (mg/kg)		Urea nitrogen (mg/dl)				Creatinine (mg/dl)				Uric acid (mg/dl)				Cl ⁻ (mEq/l)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	12.13	12.97	13.30		0.783	0.743	0.760		0.347	0.350	0.353		109.3	111.7	111.0	
		± S.E.	1.39	0.92	1.19		0.032	0.015	0.017		0.007	0.032	0.033		0.9	0.9	1.0	
	30	Mean	14.93	13.93	15.93		0.820	0.810	0.813		0.310	0.410	0.390		110.3	112.3	111.7	
		± S.E.	0.88	0.33	0.66		0.017	0.026	0.012		0.021	0.025	0.038		0.3	0.9	0.3	
	100	Mean	12.73	15.27	15.27		0.743	0.720	0.760		0.327	0.593	0.450		109.3	112.3	111.3	
		± S.E.	0.38	0.87	0.27		0.003	0.006	0.015		0.041	0.150	0.072		0.7	0.7	0.3	
	300	Mean	12.20	11.88	14.32	14.55	0.842	0.748	0.774	0.735	0.282	0.314	0.414	0.280	109.2	111.4	111.6	113.0
		± S.E.	1.29	1.26	1.52	3.15	0.034	0.045	0.026	0.035	0.029	0.013	0.045	0.030	1.0	0.7	0.8	1.0
	1000	Mean	12.76	12.16	12.86	15.80	0.824	0.730	0.686	0.635	0.316	0.350	0.418	0.265	109.0	111.6	110.6	112.0
		± S.E.	0.59	0.89	0.45	1.00	0.020	0.036	0.025	0.005	0.028	0.045	0.051	0.005	0.6	0.9	0.7	0.0
Female	CONT	Mean	13.50	13.47	16.03		0.760	0.707	0.703		0.237	0.367	0.370		111.7	112.7	112.3	
		± S.E.	0.72	0.62	1.80		0.031	0.019	0.015		0.019	0.073	0.031		0.3	1.2	0.3	
	30	Mean	13.77	13.10	14.70		0.803	0.817	0.780*		0.280	0.337	0.383		110.7	111.0	111.7	
		± S.E.	0.59	0.45	0.57		0.012	0.038	0.021		0.006	0.003	0.009		0.3	0.6	0.3	
	100	Mean	12.43	12.87	15.67		0.860	0.860	0.767		0.357	0.372	0.490		112.0	113.3	113.0	
		± S.E.	0.72	0.87	1.42		0.032	0.087	0.062		0.069	0.052	0.111		1.0	0.9	1.5	
	300	Mean	11.00	11.30	13.32	14.25	0.784	0.728	0.698	0.700	0.238	0.296	0.462	0.280	112.0	113.4	113.2	113.0
		± S.E.	0.96	1.27	1.34	2.45	0.020	0.023	0.024	0.010	0.012	0.014	0.072	0.030	0.8	0.9	0.7	1.0
	1000	Mean	12.36	13.70	14.74	15.50	0.790	0.740	0.656	0.715	0.272	0.318	0.450	0.285	110.2	112.2	112.4	111.5
		± S.E.	0.77	0.63	0.56	0.60	0.013	0.022	0.029	0.005	0.020	0.030	0.038	0.035	0.6	0.4	0.4	0.5

Compared with control by Student *t*-test (*: 0.01 < p ≤ 0.05)

Table 9. (Continued)

	Dose (mg/kg)		Na ⁺ (mEq/l)				K ⁺ (mEq/l)				Inorganic P (mg/dl)				Ca (mg/dl)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	145.7	147.0	146.3		4.63	4.53	4.47		4.80	5.07	4.77		10.97	10.43	10.93	
		± S.E.	0.3	0.0	0.9		0.09	0.03	0.07		0.06	0.17	0.12		0.13	0.03	0.12	
	30	Mean	147.0	148.3	147.7		4.57	4.53	4.53		5.07	4.93	4.80		11.23	10.53	10.77	
		± S.E.	0.6	0.7	0.7		0.15	0.17	0.09		0.15	0.15	0.10		0.09	0.03	0.09	
	100	Mean	146.3	148.3*	148.3		4.67	4.70	4.60		5.07	5.27	4.80		11.03	10.33	10.73	
		± S.E.	0.3	0.3	0.3		0.03	0.15	0.12		0.12	0.12	0.15		0.07	0.18	0.09	
	300	Mean	146.6	146.6	147.8	147.0	4.34	4.52	4.42	4.50	5.08	5.00	4.84	4.55	10.90	10.22	10.60	10.90
		± S.E.	0.2	0.5	0.2	0.0	0.12	0.09	0.18	0.10	0.09	0.04	0.06	0.05	0.05	0.11	0.08	0.20
	1000	Mean	146.0	146.8	147.8	146.0	4.46	4.40	4.40	4.55	5.02	5.06	4.66	4.45	11.04	10.24	10.58	10.90
		± S.E.	0.5	0.6	0.7	0.0	0.13	0.10	0.12	0.25	0.10	0.06	0.10	0.15	0.16	0.07	0.11	0.00
Female	CONT	Mean	147.3	146.7	147.0		4.23	4.37	4.33		4.83	4.87	4.47		11.00	10.67	10.70	
		± S.E.	0.7	0.3	0.6		0.28	0.23	0.19		0.19	0.22	0.23		0.10	0.12	0.12	
	30	Mean	147.7	147.3	148.0		4.30	4.53	4.17		4.83	4.90	4.53		11.10	10.70	10.73	
		± S.E.	0.9	0.7	1.5		0.15	0.18	0.15		0.27	0.30	0.27		0.10	0.25	0.20	
	100	Mean	147.3	147.3	147.3		4.10	4.20	4.23		4.60	4.73	4.53		10.77	10.00*	10.57	
		± S.E.	0.9	0.9	1.5		0.17	0.35	0.23		0.12	0.32	0.15		0.12	0.12	0.19	
	300	Mean	147.2	146.6	147.4	147.0	4.48	4.62	4.46	4.55	4.92	4.88	4.80	4.40	10.90	10.44	10.76	11.00
		± S.E.	0.5	0.6	0.4	0.0	0.07	0.07	0.12	0.25	0.08	0.11	0.17	0.30	0.10	0.07	0.16	0.10
	1000	Mean	146.8	146.6	147.2	146.5	4.28	4.30	4.18	4.35	4.68	4.84	4.52	4.25	10.82	10.38*	10.46	10.65
		± S.E.	0.4	0.5	0.8	0.5	0.09	0.07	0.09	0.15	0.16	0.12	0.16	0.35	0.06	0.05	0.08	0.05

Compared with control by Student *t*-test (*: 0.01 < p ≤ 0.05)

Table 10. Urinary findings in dogs intravenously with cefclidin for 4 weeks

	Dose (mg/kg)		Urine volume(ml/24hr)				Specific gravity				U-Na ⁺ (mEq/24h)				U-K ⁺ (mEq/24h)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	778.3	586.7	515.0		1.0240	1.0243	1.0233		15.73	23.47	20.97		43.40	36.37	32.47	
		±S.E.	311.8	200.7	174.7		0.0089	0.0087	0.0068		0.88	1.16	5.23		0.35	6.53	6.32	
	30	Mean	421.7	420.0	711.7		1.0283	1.0293	1.0310		10.37**	18.47*	22.67		38.70	38.83	39.40	
		±S.E.	79.4	130.0	512.3		0.0026	0.0047	0.0108		0.70	1.33	6.87		2.29	2.31	7.22	
	100	Mean	240.0	265.0	261.7		1.0413	1.0390	1.0383		7.83	18.93	19.37		38.73	33.20	35.07	
		±S.E.	67.6	43.1	23.2		0.0065	0.0050	0.0012		2.88	1.92	1.94		3.21	0.38	0.86	
	300	Mean	675.0	686.0	676.0	515.0	1.0252	1.0276	1.0276	1.0275	12.72	16.58*	19.86	16.45	41.10	31.96	30.56	46.55
		±S.E.	236.9	277.2	278.5	160.0	0.0068	0.0068	0.0068	0.0065	2.09	1.56	0.76	0.25	1.86	1.69	3.85	1.35
	1000	Mean	349.0	283.0	263.0	227.5	1.0326	1.0460*	1.0484	1.0410	10.68**	19.44	20.46	10.75	42.64	36.86	36.56	39.40
		±S.E.	58.1	32.3	23.0	77.5	0.0032	0.0024	0.0015	0.0030	0.86	2.50	1.78	0.05	1.54	0.83	1.68	7.30
Female	CONT	Mean	1171.7	1180.0	1105.0		1.0147	1.0193	1.0220		16.27	30.03	29.40		43.80	43.63	47.17	
		±S.E.	278.9	472.7	455.2		0.0047	0.0108	0.0125		1.55	3.44	4.54		2.42	2.98	3.04	
	30	Mean	358.3	338.3	328.3		1.0353	1.0303	1.0347		12.90	19.00	16.47		42.70	36.43	36.77*	
		±S.E.	119.8	57.8	100.5		0.0081	0.0049	0.0066		2.21	2.61	3.54		1.43	3.58	0.65	
	100	Mean	413.3	271.7	280.0		1.0303	1.0383	1.0370		15.13	14.87*	18.07		41.03	38.43	38.83	
		±S.E.	100.0	28.5	23.6		0.0043	0.0028	0.0020		2.10	1.86	1.99		2.28	1.83	1.79	
	300	Mean	609.0	513.0	705.0	457.5	1.0224	1.0298	1.0278	1.0345	12.18	16.50**	20.82	8.50	38.42	35.24*	40.60	42.50
		±S.E.	107.0	136.2	251.8	222.5	0.0030	0.0046	0.0050	0.0105	2.55	1.33	3.48	5.10	2.12	1.26	2.98	1.70
	1000	Mean	607.0	625.0	488.0	287.5	1.0266	1.0290	1.0360	1.0395	12.82*	13.18**	22.44	12.75	40.90	34.20	41.14	46.00
		±S.E.	225.3	193.9	72.1	52.5	0.0059	0.0064	0.0040	0.0045	0.49	2.05	2.07	3.95	1.95	5.05	1.30	0.90

Compared with control by Student t-test (* : 0.01< p ≤ 0.05, ** : p ≤ 0.01)

Table 11. (Continued)

	Dose (mg/kg)		U-Cl ⁻ (mEq/24h)				U-ALP(IU/24h)				U-γ-GTP(IU/24h)				U-NAG(IU/24h)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	22.63	24.17	24.47		26.50	29.43	17.20		7.30	9.03	6.43		1.40	1.30	1.37	
		±S.E.	1.23	5.27	4.80		11.32	15.75	7.39		0.97	1.12	1.76		0.42	0.35	0.82	
	30	Mean	18.63	25.50	23.23		23.00	14.17	17.60		4.87	6.67	4.50		0.57	1.13	0.93	
		±S.E.	2.27	0.61	1.98		10.56	3.09	9.11		1.10	0.78	0.60		0.22	0.12	0.26	
	100	Mean	18.97*	21.70	20.60		15.00	57.83	10.17		5.90	8.67	6.50		0.60	1.70	1.07	
		±S.E.	0.49	1.47	2.20		1.75	46.86	3.71		1.36	2.29	0.38		0.06	0.31	0.19	
	300	Mean	21.70	21.86	21.16	24.55	20.72	119.42	12.02	30.60	6.40	14.48	8.90	7.75	1.18	3.88**	2.16	0.90
		±S.E.	1.00	1.28	3.24	1.15	6.68	107.34	2.44	7.90	1.42	4.16	1.46	1.75	0.21	0.47	0.47	0.40
	1000	Mean	21.12	27.82	25.74	15.45	72.20	98.08	19.46	7.75	7.70	12.92	13.72**	4.70	0.90	4.30**	3.80*	0.30
		±S.E.	1.10	1.59	0.85	3.45	53.69	89.69	5.29	3.85	1.51	1.70	1.03	1.10	0.08	0.53	0.46	0.10
Female	CONT	Mean	23.93	34.17	32.77		51.37	13.43	16.90		5.55	7.40	6.70		1.20	1.43	1.37	
		±S.E.	0.98	4.57	5.02		34.62	5.03	7.62		1.85	0.90	1.20		0.31	0.52	0.50	
	30	Mean	21.37	23.50	22.47		38.13	9.80	11.17		10.10	7.33	6.67		1.00	0.90	0.80	
		±S.E.	3.53	2.11	1.13		31.80	3.65	4.04		4.86	0.37	0.30		0.65	0.17	0.06	
	100	Mean	21.27	21.17	23.13		40.83	53.87	24.03		6.57	8.70	7.20		0.83	1.07	0.90	
		±S.E.	1.60	1.52	2.13		27.17	48.59	18.23		0.87	2.81	1.60		0.38	0.12	0.06	
	300	Mean	23.50	23.46	25.28	28.60	29.02	9.56	18.88	170.90	6.50	9.04	10.12	18.35	0.86	2.58	2.60	2.15
		±S.E.	1.50	2.46	1.34	2.00	9.43	4.07	9.73	165.00	0.37	0.73	1.41	13.65	0.14	0.22	0.38	1.65
	1000	Mean	21.00*	22.82	27.54	23.80	18.36	15.54	33.38	10.70	5.88	12.44*	14.56	5.10	0.74	4.90*	4.78*	0.40
		±S.E.	0.55	3.68	1.88	3.70	4.70	7.83	19.67	3.20	0.52	1.27	1.24	0.30	0.15	0.78	0.66	0.00

Compared with control by Student t-test (* : 0.01< p ≤ 0.05, ** : p ≤ 0.01)

Compared with control by Welch t-test (# : 0.01< p ≤ 0.05, ## : p ≤ 0.01)

精巣*, 精巣上体, 卵巣*, 子宮*, 膣, 舌下腺, 顎下腺*, 耳下腺, 眼球, 視神経, 舌, 下顎部リンパ節, 腸間膜リンパ節, 睪*, 前立腺*, 膀胱, 扁桃, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 回盲結腸部, 結腸, 直腸, 胸骨(骨髄含む), 肋骨(骨髄含む), 大腿骨(骨髄含む), 大腿筋, 乳腺, 皮膚, 中足球, 投与部位
*印の臓器組織は重量を測定した。

7)病理組織学的検査

10%ホルマリン液にて固定された上記摘出全臓器について常法に従い,パラフィン切片を作製し,HE染色

を施した。追加染色として,腎はPAS染色(凍結切片はNAGおよびACP染色),脾および腸間膜リンパ節はメチルグリーン・ピロニン染色を行い顕微鏡下で観察した。回復群は胃,肝,腎,眼球および視神経の標本について観察した。電顕標本は各群雌雄各1〜2頭の肝,腎について,2%グルタルアルデヒドおよび1%オスミウム酸で二重固定し,アルコール脱水後エポキシ樹脂に包埋し,超薄切片を作製,酢酸ウラニルおよび鉛混合液にて二重染色し,腎は全標本,肝は一部の標本について電顕的に検索した。

Table 12. (Continued)

	Dose (mg/kg)		U-Creatinine(mg/24h)				Creatinine-clearance(ml/min)			
			PRE	1W	3W	R-4W	PRE	1W	3W	R-4W
Male	CONT	Mean	275.0	272.7	261.0		24.7	25.3	23.7	
		± S. E.	9.2	29.5	57.5		1.8	3.3	4.8	
	30	Mean	245.7	280.0	273.3		20.7	24.3	23.3	
		± S. E.	27.5	11.7	20.5		2.4	1.7	1.5	
	100	Mean	236.3	254.7	267.3		22.0	24.7	24.3	
		± S. E.	15.9	18.9	21.2		1.5	2.0	1.7	
	300	Mean	267.8	282.8	259.6	328.5	22.4	26.6	23.4	31.0
		± S. E.	11.5	11.4	39.5	17.5	1.6	2.2	3.5	3.0
	1000	Mean	278.2	220.4	220.4	245.5	23.6	21.2	22.4	27.0
		± S. E.	11.5	6.1	8.5	55.5	0.9	1.0	1.0	6.0
Female	CONT	Mean	275.0	268.3	284.0		25.3	26.3	28.3	
		± S. E.	11.5	16.8	10.3		2.0	0.9	0.9	
	30	Mean	239.7	260.3	271.7		20.7	22.3	24.0*	
		± S. E.	18.2	8.3	7.3		1.8	1.9	1.0	
	100	Mean	269.3	289.3	297.3		21.7	23.7	27.0	
		± S. E.	19.2	11.7	12.3		0.9	1.9	1.2	
	300	Mean	258.0	260.2	302.8	295.0	22.6	24.8	30.0	29.0
		± S. E.	7.8	11.1	30.8	6.0	0.5	0.9	2.6	1.0
	1000	Mean	237.2	193.6	225.4**	293.0	20.8	18.2	23.8*	28.5
		± S. E.	12.3	26.1	9.9	24.0	1.0	2.5	1.2	2.5

Compared with control by Student t-test (*: 0.01 < p ≤ 0.05)

Compared with control by Welch t-test (##: p ≤ 0.01)

Table 13. Organ weight in dogs treated intravenously with cefclidin for 4 weeks

	Dose (mg/kg)	Body weight (kg)	Liver (g)	Kidney-right (g)	Kidney-left (g)	Brain (g)	Lung (g)	Heart (g)	Spleen (g)	Thymus (g)
Male	CONT	9.80 ± 0.26	256.0 ± 10.0 (26.1 ± 0.3)	22.50 ± 0.21 (2.303 ± 0.082)	22.50 ± 0.17 (2.300 ± 0.071)	79.57 ± 0.30 (8.130 ± 0.187)	84.17 ± 2.90 (8.610 ± 0.486)	87.97 ± 5.41 (9.017 ± 0.785)	27.33 ± 1.92 (2.803 ± 0.264)	6.957 ± 1.020 (0.7063 ± 0.0855)
	30	9.83 ± 0.38	250.0 ± 8.0 (25.5 ± 1.5)	20.07 ± 1.24 (2.043 ± 0.129)	20.40 ± 1.24 (2.077 ± 0.131)	79.07 ± 4.19 (8.040 ± 0.293)	88.47 ± 6.64 (9.010 ± 0.650)	80.73 ± 3.63 (8.213 ± 0.252)	23.40 ± 1.45 (2.373 ± 0.069)	7.873 ± 1.467 (0.8063 ± 0.1610)
	100	9.87 ± 0.32	258.0 ± 11.3 (26.1 ± 1.1)	24.13 ± 0.72 (2.450 ± 0.114)	23.33 ± 0.95 (2.377 ± 0.173)	80.20 ± 2.78 (8.150 ± 0.392)	86.83 ± 3.03 (8.800 ± 0.038)	80.30 ± 0.82 (8.163 ± 0.347)	23.07 ± 2.99 (2.320 ± 0.231)	7.933 ± 1.814 (0.7947 ± 0.1572)
	300	10.37 ± 0.47	244.7 ± 16.8 (23.6 ± 0.9)	22.50 ± 2.41 (2.163 ± 0.175)	22.77 ± 2.29 (2.190 ± 0.164)	81.47 ± 1.64 (8.887 ± 0.368)	83.67 ± 5.57 (8.057 ± 0.204)	80.67 ± 5.55 (7.770 ± 0.300)	27.93 ± 3.85 (2.680 ± 0.295)	11.193 ± 2.867 (1.0620 ± 0.2344)
	1000	9.97 ± 0.58	280.7 ± 10.3 (28.2 ± 0.8)	26.30 ± 2.03 (2.633 ± 0.078)*	26.50 ± 2.35 (2.657 ± 0.128)	86.30 ± 1.51* (8.733 ± 0.658)	97.33 ± 5.65 (9.800 ± 0.582)	82.13 ± 5.01 (8.237 ± 0.132)	31.93 ± 3.75 (3.183 ± 0.198)	13.013 ± 2.125 (1.2900 ± 0.1500)*
	CONT	8.93 ± 0.27	237.0 ± 10.8 (26.5 ± 0.7)	21.87 ± 1.38 (2.450 ± 0.125)	22.47 ± 1.31 (2.517 ± 0.131)	76.50 ± 2.74 (8.600 ± 0.567)	86.73 ± 3.87 (9.700 ± 0.181)	76.83 ± 4.74 (8.597 ± 0.401)	24.57 ± 1.80 (2.767 ± 0.292)	8.507 ± 0.607 (0.9527 ± 0.0616)
	30	8.93 ± 0.27	210.7 ± 18.6 (23.6 ± 1.9)	18.73 ± 0.20 (2.100 ± 0.047)	19.67 ± 0.23 (2.207 ± 0.084)	77.83 ± 0.87 (8.720 ± 0.170)	77.90 ± 4.06 (8.710 ± 0.202) [#]	75.80 ± 3.38 (8.503 ± 0.495)	27.40 ± 1.47 (3.063 ± 0.094)	10.283 ± 3.400 (1.1427 ± 0.3589)
	100	8.77 ± 0.28	205.3 ± 3.7 (23.5 ± 1.0)	19.77 ± 0.41 (2.263 ± 0.116)	20.77 ± 0.49 (2.373 ± 0.095)	78.00 ± 1.34 (8.920 ± 0.364)	77.27 ± 3.18 (8.810 ± 0.083) [#]	70.60 ± 0.75 (8.070 ± 0.276)	23.97 ± 0.23 (2.740 ± 0.106)	9.413 ± 1.333 (1.0683 ± 0.1257)
Female	300	8.77 ± 0.13	231.3 ± 23.0 (26.3 ± 2.3)	22.73 ± 1.68 (2.590 ± 0.166)	22.93 ± 1.52 (2.613 ± 0.146)	84.17 ± 5.38 (9.593 ± 0.523)	82.83 ± 2.25 (9.450 ± 0.167)	76.40 ± 5.31 (8.700 ± 0.486)	37.30 ± 3.25 [#] (4.253 ± 0.349)*	14.437 ± 5.390 (1.6423 ± 0.6004)
	1000	8.93 ± 0.23	226.7 ± 14.4 (25.3 ± 1.0)	21.30 ± 1.50 (2.380 ± 0.121)	21.93 ± 1.73 (2.453 ± 0.144)	79.37 ± 2.41 (8.900 ± 0.381)	79.70 ± 8.85 (8.893 ± 0.841)	72.63 ± 6.25 (8.107 ± 0.498)	40.07 ± 6.01 (4.457 ± 0.558)	6.933 ± 1.897 (0.7693 ± 0.1939)

Compared with control by Student t-test (*: 0.01 < P ≤ 0.05)

Compared with control by Welch t-test (#: 0.01 < P ≤ 0.05)

(Note) mean ± standard error, upper; absolute, under; relative (weight/kg BW)

8) 統計解析

本試験で得られた検査値は平均値および標準誤差で表示して、t-検定による有意差検定を行った。投薬群と対照群の検査値の比較にはBartlettの等分散分析を行い、等分散の場合にはSTUDENTの方法、不等分散の場合にはWELCHのt-検定にて比較した。

II. 実験結果

1. 一般観察

1) 一般症状

いずれの投与群においても死亡例は認められなかつ

た。

対照群, 30, 100および300mg/kg群では何等変化は認められなかった。1000mg/kg群では、投与中から舌なめずり、嘔吐が認められた。投与3～4週目から流涎(雌雄各2頭)がみられたが、1時間後には消失していた。休薬により上記症状は消失したが、雌雄各1頭(No.5269, 5752)には縮瞳および瞬膜弛緩が休薬開始後3週以後に発現した。なお、本試験期間中に各群の動物に軟便、水様便、粘液便等が散見され、また、雌では発情に伴う膣出血がみられたが、通常、無処置の動

Table 14. (Continued)									
	Dose (mg/kg)	Adrenal gland-right(mg)	Adrenal gland-left(mg)	Pituitary gland(mg)	Thyroid gland-right(mg)	Thyroid gland-left(mg)	Submaxillary gland-right(g)	Submaxillary gland-left(g)	Pancreas(g)
Male	CONT	464.3±66.1 (47.17±5.54)	460.7±57.4 (46.80±4.89)	57.3±1.3 (5.87±0.29)	438.3±8.7 (44.77±0.78)	385.7±13.3 (39.40±1.51)	4.837±0.152 (0.4953±0.0281)	4.980±0.275 (0.5103±0.0406)	20.83±2.12 (2.127±0.215)
	30	521.3±24.2 (53.37±4.67)	545.7±25.4 (55.83±4.69)	63.3±6.6 (6.53±0.94)	399.0±16.2 (40.67±1.95)	407.0±24.0 (41.67±3.96)	4.990±0.472 (0.5127±0.0697)	4.977±0.453 (0.5117±0.0675)	25.47±1.19 (2.593±0.143)
	100	467.3±42.3 (47.20±2.80)	482.7±69.7 (48.60±5.46)	63.0±2.5 (6.43±0.45)	354.7±27.1 (36.17±3.87)	373.3±46.6 (38.03±5.40)	4.443±0.607 (0.4493±0.0530)	4.327±0.477 (0.4370±0.0368)	24.03±0.94 (2.440±0.114)
	300	581.7±56.7 (55.97±3.88)	639.7±55.5 (61.53±3.17)	66.7±5.5 (6.43±0.58)	391.3±34.2 (37.73±2.66)	413.7±33.7 (40.33±4.88)	5.713±0.383 (0.5510±0.0291)	5.930±0.279 (0.5723±0.0138)	25.80±1.87 (2.500±0.217)
	1000	630.7±43.1 (63.23±2.13)	643.7±59.4 (64.33±2.70)	76.3±6.7* (7.70±0.74)	407.0±91.3 (40.53±7.71)	470.3±33.6 (47.37±3.26)	5.467±1.096 (0.5397±0.0790)	5.327±1.149 (0.5243±0.0863)	24.47±0.97 (2.473±0.184)
	CONT	496.7±20.3 (55.83±4.07)	557.7±21.4 (62.70±4.38)	70.7±2.0 (7.93±0.44)	440.7±10.8 (49.50±2.79)	461.3±59.5 (52.17±8.46)	4.583±0.171 (0.5150±0.0338)	4.603±0.205 (0.5177±0.0396)	22.10±1.93 (2.467±0.145)
Female	30	524.7±16.4 (58.97±3.68)	539.0±8.0 (60.47±2.41)	68.7±8.0 (7.77±1.15)	419.7±93.7 (46.87±9.85)	413.3±48.6 (46.33±5.37)	5.387±0.455 (0.6020±0.0408)	5.350±0.324 (0.5983±0.0265)	19.33±0.82 (2.163±0.029)
	100	516.7±60.7 (58.93±6.43)	544.0±37.5 (62.00±3.07)	58.7±5.0 (6.73±0.54)	396.3±16.2 (45.30±2.42)	396.3±17.1 (45.17±0.72)	4.937±0.207 (0.5627±0.0061)	4.777±0.225 (0.5440±0.0087)	20.03±1.52 (2.277±0.105)
	300	552.3±19.5 (63.10±3.20)	564.0±22.3 (64.37±2.74)	69.7±6.1 (7.93±0.61)	524.7±98.5 (59.67±10.63)	491.0±27.0 (55.93±2.27)	5.223±0.417 (0.5950±0.0394)	5.100±0.433 (0.5803±0.0413)	24.23±0.15 (2.767±0.057)
	1000	606.7±44.8 (67.77±3.57)	679.7±108.7 (75.57±10.25)	57.7±3.8* (6.43±0.38)	416.3±122.4 (46.37±13.38)	449.7±71.3 (50.10±7.31)	4.497±0.618 (0.5023±0.0641)	4.387±0.666 (0.4900±0.0704)	23.97±1.73 (2.683±0.168)
Compared with control by Student t-test (* : 0.01 < p ≤ 0.05) (Note) mean ± standard error, upper ; absolute, under ; relative (weight/kg BW)									

Table 15. Organ weight in dogs having recovery periods of 4 weeks after 4 weeks treatment with cefclidin injection										
	Dose (mg/kg)	Body weight(kg)	Liver(g)	Kidney-right(g)	Kidney-left(g)	Brain(g)	Lung(g)	Heart(g)	Spleen(g)	Thymus(g)
Male	300	9.60±0.10 (245.6±0.1)	245.5±1.5 (245.6±0.1)	21.15±0.85 (2.205±0.065)	22.75±0.85 (2.370±0.060)	82.45±4.25 (8.585±0.355)	87.75±5.55 (9.135±0.485)	92.95±1.15 (9.685±0.225)	27.40±1.90 (2.855±0.255)	6.145±1.165 (0.6410±0.1280)
	1000	9.80±1.10 (26.4±0.2)	258.5±30.5 (26.4±0.2)	23.85±2.65 (2.435±0.005)	24.65±2.35 (2.520±0.040)	82.40±1.50 (8.500±0.800)	91.20±3.70 (9.385±0.675)	93.60±1.80 (9.650±0.900)	25.50±3.90 (2.590±0.110)	5.895±1.975 (0.5865±0.1355)
Female	300	9.05±0.95 (24.2±3.1)	215.5±4.5 (24.2±3.1)	20.25±0.25 (2.265±0.265)	20.75±0.15 (2.315±0.225)	75.90±0.70 (8.490±0.970)	73.60±5.10 (8.165±0.295)	76.25±7.95 (8.425±0.005)	24.45±1.95 (2.755±0.505)	9.785±2.505 (1.0640±0.1650)
	1000	8.65±0.45 (26.3±2.2)	226.0±7.0 (26.3±2.2)	19.50±2.00 (2.245±0.115)	19.60±1.30 (2.265±0.035)	72.20±4.10 (8.390±0.910)	68.30±1.40 (7.910±0.250)	75.60±5.70 (8.725±0.205)	27.15±2.85 (3.165±0.495)	4.635±1.255 (0.5445±0.1735)
(Note) mean ± standard error, upper ; absolute, under ; relative (weight/kg BW)										

Table 16. (Continued)									
	Dose (mg/kg)	Adrenal gland-right(mg)	Adrenal gland-left(mg)	Pituitary gland(mg)	Thyroid gland-right(mg)	Thyroid gland-left(mg)	Submaxillary gland-right(g)	Submaxillary gland-left(g)	Pancreas(g)
Male	300	539.0±13.0 (56.15±0.75)	537.5±66.5 (55.95±6.35)	60.5±1.5 (6.30±0.20)	434.5±53.5 (45.20±5.10)	442.0±84.0 (45.95±8.25)	5.320±0.030 (0.5540±0.0090)	5.535±0.135 (0.5765±0.0085)	22.70±2.70 (2.365±0.255)
	1000	566.0±24.0 (58.75±9.05)	544.0±4.0 (56.25±6.75)	74.0±14.0 (7.50±0.60)	421.5±10.5 (43.70±6.00)	368.5±11.5 (38.25±5.45)	5.220±0.060 (0.5400±0.0670)	5.150±0.090 (0.5315±0.0505)	23.55±5.75 (2.370±0.320)
Female	300	522.0±6.0 (58.25±5.45)	564.5±10.5 (63.20±7.80)	59.0±4.0 (6.55±0.25)	409.0±8.0 (44.70±4.90)	397.5±47.5 (43.85±0.65)	4.655±0.005 (0.5200±0.0550)	4.425±0.025 (0.4940±0.0490)	26.55±1.25 (2.980±0.450)
	1000	477.0±0.0 (55.30±2.90)	480.0±40.0 (55.40±1.70)	58.5±4.5 (6.80±0.90)	359.0±35.0 (41.80±6.20)	369.0±76.0 (42.30±6.60)	4.635±0.265 (0.5390±0.0590)	4.860±0.230 (0.5650±0.0560)	22.85±0.45 (2.645±0.085)
(Note) mean ± standard error, upper ; absolute, under ; relative (weight/kg BW)									

物でみられる程度のものであった。

2) 体重 (Fig.1, 2)

いずれの投与群においても順調な増加を示した。

3) 摂餌量および摂水量

いずれの投与群においても変化は認められなかった。

4) 眼科学的検査

30, 100および300mg/kg群では変化は認められなかった。1000mg/kg群の雌雄各1頭(No.5269,5752)には瞬膜弛緩, 雌1頭(No.5752)に瞳孔反射の亢進が休薬開始後3週の検査で認められた。その他, 対照群の雄1頭

では結膜充血, 1000mg/kg群の雄1頭は投与後3週に瞳孔反射の低下(左右)がみられたが, 無処置の動物において, 時折みられる変化であり, 投薬に起因した変化ではないと考えられた。

5) 生理機能検査

いずれの投与群においても変化は認められなかった。

2. 血液学的検査 (Table 1~3)

30, 100および300mg/kg群では対照群との間に有意差は認められなかった。1000mg/kg群での雌は血小板数の減少が, 雄でも減少傾向がみられた。対照群との

Table 17. Histopathological findings in male dogs treated intravenously with cefclidin for 4 weeks

Organ Findings	Dose (mg/kg) Grade	Control				30				100				300				1000			
		-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#
Liver																					
Intranuclear hyaline body		2	1	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Intracytoplasmic hyaline body		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Cell infiltration		2	1	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	0	2	1	0
Granuloma		0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0
Sublingual gland																					
Cell infiltration		3	0	0	0	1	2	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
Submaxillary gland																					
Cell infiltration		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Stomach																					
Erosion in pyloric region		3	0	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0
Duodenum																					
Cyst		2	1	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
Ileum																					
Ectopic gastric glands		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	0	1	0
Kidney																					
Pyelitis		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Degeneration of tubular epithelium		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Intranuclear hyaline body		3	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0
Regeneration of tubular epithelium		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Increase of eosinophilic granule in tubular epithelium		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0
Lung																					
Bronchopneumonia		3	0	0	0	2	0	1	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Granuloma		3	0	0	0	3	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0	1	2	0	0
Larynx																					
Cell infiltration in submucosa		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
Spleen																					
Congestion		3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Thickening of capsule		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Gandy-gamma like nodule		1	2	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Activation of germinal center		3	0	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0	1	1	1	0	2	1	0	0
Thymus																					
Cyst		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Pituitary gland																					
Cyst		3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Thyroid																					
Proliferation of c-cell		3	0	0	0	1	1	1	0	3	0	0	0	1	2	0	0	3	0	0	0
Parathyroid																					
Cyst		1	2	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Epididymis																					
Dilatation of ductus epididymidis		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0
Prostate																					
Dilatation of prostate duct		2	0	1	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Metacarpal pad																					
Folliculitis		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Injection site																					
Subcutaneous hemorrhage		1	2	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	0	3	0	0
Cell infiltration in subcutaneous tissue		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Cell infiltration in blood vessel		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Degeneration of blood vessel		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Cicatrix in blood vessel		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0

- : negative, ± : slight, + : moderate, # : marked

Table 18. Histopathological findings in female dogs treated intravenously with cefclidin for 4 weeks

Organ Findings	Dose (mg/kg) Grade	Control				30				100				300				1000			
		-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#
Liver																					
Vacuolization of liver cell		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	0	0	1	3	0	0	0
Hemorrhage		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	0	0	1	3	0	0	0
Intranuclear hyaline body		2	1	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Intracytoplasmic hyaline body		3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Necrosis of liver cell		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0
Cell infiltration		1	2	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	0	2	0	1	0	2	1	0
Granuloma		0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0
Gall bladder																					
Hemorrhage in connective tissue layer		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0	3	0	0	0
Sublingual gland																					
Cell infiltration		1	2	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Parotid gland																					
Cell infiltration		3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Stomach																					
Erosion in pyloric region		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Duodenum																					
Cyst		3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
Kidney																					
Cell infiltration in interstitium		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Vacuolization of tubular epithelium		3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	2	0	1	0
Intranuclear hyaline body		3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Increase of eosinophilic granule in tubular epithelium		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0	0	1	2	0
Heart																					
Hemorrhage in right auricle		3	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Telangiectasis in tricuspid valve		3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Aorta																					
Calcium deposition		3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Lung																					
Hemorrhage		3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0
Bronchopneumonia		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0
Granuloma		3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
Larynx																					
Cell infiltration in submucosa		3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0
Spleen																					
Congestion		3	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	0	0	2	1	0	2	1	0	0
Gandy-gamna like nodule		2	1	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
Activation of germinal center		2	1	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0
Mesenteric lymph node		2	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Pituitary gland																					
Cyst		2	1	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0	0
Thyroid																					
Proliferation of c-cell		3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	1	0	2	0
Parathyroid																					
Cyst		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
Ovary																					
Follicular cyst		3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Uterus																					
Hemorrhage in endometrium		3	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0	2	0	0	1	3	0	0	0
Proliferation of uterine gland		2	1	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Vagina																					
Hyperkeratosis		2	0	1	0	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Skin																					
Cell infiltration in subcutaneous tissue		2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Injection site																					
Subcutaneous hemorrhage		1	1	1	0	1	2	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0	2	1	0
Cell infiltration in subcutaneous tissue		2	1	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0

- : negative, ± : slight, + : moderate, # : marked

Table 19. Histopathological findings in male dogs having recovery periods of 4 weeks after 4 weeks treatment with cefclidin injection

Organ Findings	Dose (mg/kg) Grade	300				1000			
		-	±	+	#	-	±	+	#
Stomach									
Erosion in fundic region		0	0	0	0	0	0	1	0
Erosion in pyloric region		0	0	0	0	0	1	0	0
Kidney									
Vacuolization of tubular epithelium		2	0	0	0	1	1	0	0
Eye ball		2	0	0	0	2	0	0	0
Optic nerve		2	0	0	0	2	0	0	0

- : negative, ± : slight, + : moderate, # : marked

Table 20. Histopathological findings in female dogs having recovery periods of 4 weeks after 4 weeks treatment with cefclidin injection

Organ Findings	Dose (mg/kg) Grade	300				1000			
		-	±	+	#	-	±	+	#
Kidney									
Vacuolization of tubular epithelium		1	1	0	0	2	0	0	0
Intranuclear hyaline body		1	1	0	0	1	1	0	0
Mesenteric lymph node		1	0	0	0	0	0	0	0
Eye ball		2	0	0	0	2	0	0	0
Optic nerve		2	0	0	0	2	0	0	0

- : negative, ± : slight, + : moderate, # : marked

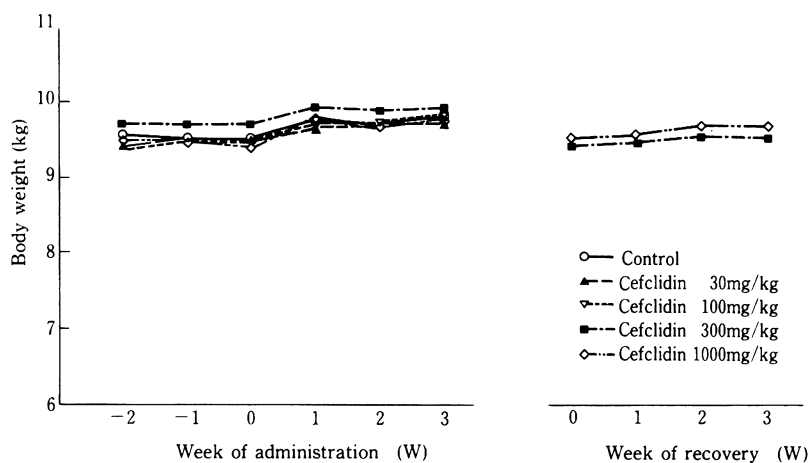


Fig. 1. Body weight changes in male beagle dogs treated intravenously with cefclidin for 4 weeks and followed by 4 weeks recovery period

間に有意差はみられなかったが、雌1頭(No.5739)では赤血球数($458 \times 10^4/\text{mm}^3$)、ヘマトクリット値(31.9%)、ヘモグロビン量(10.0g/dl)の減少およびESR(111.5mm/hr)の亢進が認められた。なお、300mg/kg群の雌、1000mg/kg群の雄でも赤血球数の減少傾向がみられたが、その値は正常範囲内のものであった。

3. 血液生化学的検査 (Table 4~9)

30, 100, 300および1000mg/kg群では対照群との間に有意差はみられなかったが、1000mg/kg群の投与後3週でクレアチニンの減少傾向が認められた。なお、300および1000mg/kg群の各1頭にGPTの増加が投与後1週(一過性)にみられたが、いずれの群も対照群との間に有意差は認められなかった。また、1000mg/kg群のトリグリセライドの増加傾向、 γ -グロブリンの減少

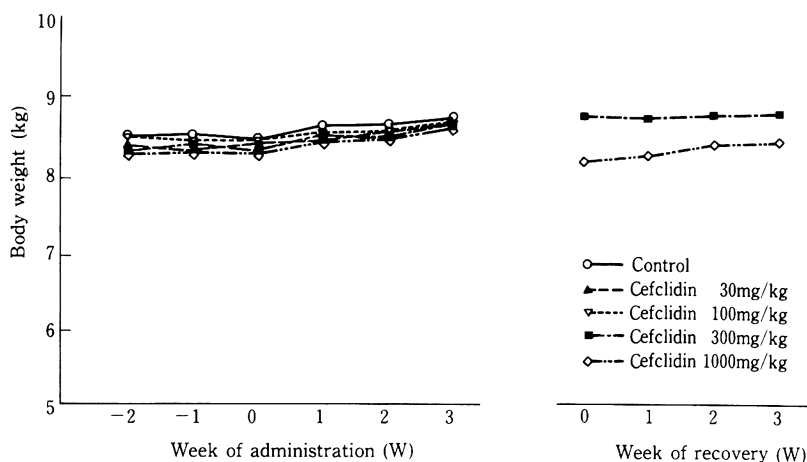


Fig. 2. Body weight changes in female beagle dogs treated intravenously with cefclidin for 4 weeks and followed by 4 weeks recovery period

傾向等が散見されたが、いずれも生理的範囲を越える値ではなかった。

4. 尿検査 (Table 10~12)

30および100mg/kg群では対照群との間に有意差は認められなかった。300mg/kg群以上の投与後1および3週ではNAGの増加が、1000mg/kg群の投与後1および3週では γ -GTPの増加が認められた。

5. 薬物動態学的検査

1) 血漿中濃度

投与量とAUCとの間の相関係数は投与開始日 $r=0.997$ および最終日は $r=0.999$ であった。血中消失半減期($t_{1/2}$)は投与開始日および最終日いずれも0.8~0.9時間であった。また、投与開始日および最終日の投与24時間後ではCFCLは検出できなかった。

2) 臓器内濃度

CFCLの臓器内濃度は、腎髄質より皮質が高い値を示すが、いずれも投与量に相関して増加した。

6. 剖検

1) 肉眼所見

腎：腎の退色は1000mg/kg群の雄1頭、雌2頭に認められた。

脾：脾表面および断面での粟粒様変化は300, 1000mg/kg群の各1頭に認められた。

その他の臓器には薬物に起因する変化は認められなかった。

2) 臓器重量 (Table 13~16)

30, 100および300mg/kg群では変化は認められなかった。1000mg/kg群の雄では腎および胸腺重量の増加が認められた。なお、300mg/kg群の雌では脾重量の増

加、1000mg/kg群の下垂体は雄では増加、雌では減少等の変動がみられたが、いずれも、用量相関性に乏しいこと、バックグランドデータからも正常範囲内の値であった。回復群には何等変化は認められなかった。

7. 病理組織学的検査

1) 光顕による観察 (Table 17~20)

腎：尿細管上皮における好酸性顆粒の増加は300mg/kg群の雄3頭、雌2頭、1000mg/kg群の雌雄各3頭に認められた (Photo.1)。さらに、1000mg/kg群の雌1頭では腎の間質における細胞浸潤、雄1頭では尿細管上皮の変性と再生が認められた。

脾：胚中心の活性化は対照群の雌1頭を含めて、30mg/kg群の雄1頭、100mg/kg群の雄2頭、雌3頭、300mg/kg群の雄2頭、雌3頭、1000mg/kg群の雄1頭、雌3頭に認められた。

投与部位：皮下組織での変化(細胞浸潤、出血、血管壁の細胞浸潤、変性および癭痕)は対照群の雌雄各2頭、30mg/kg群の雌雄各2頭、100mg/kg群の雄1頭、雌3頭、300mg/kg群の雄2頭、雌3頭、1000mg/kg群の雌雄各3頭に観察された。

その他の臓器には投薬に起因した変化は観察されなかった。

回復群には、腎を含めて薬物に起因する変化は認められなかった (Photo.2)。

2) 電顕による組織学的検査 (肝, 腎)

30, 100mg/kg群では変化は認められなかった。300, 1000mg/kg群の全例(各群雌雄各1頭を観察)に近位尿細管でのlysosomal dense bodyの増加が認められた (Photo.3)。回復群でも300, 1000mg/kg群の各1頭

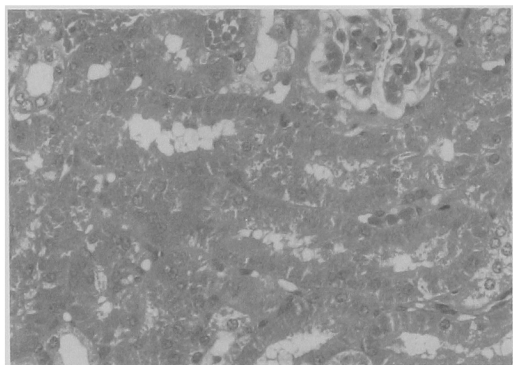


Photo 1. Kidney (cefclidin 1000mg/kg, 4 weeks treatment) Increase of eosinophilic granules in proximal tubular epithelium. ×350

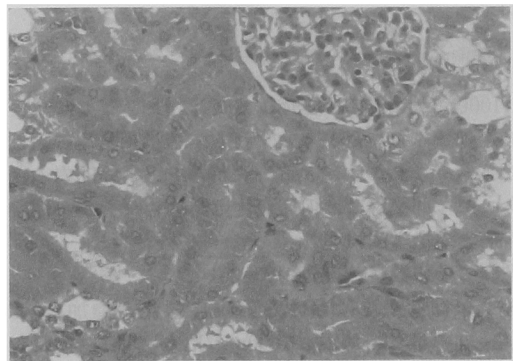


Photo 2. Kidney (cefclidin 1000mg/kg, 4 weeks recovery) No remarkable changes. ×350

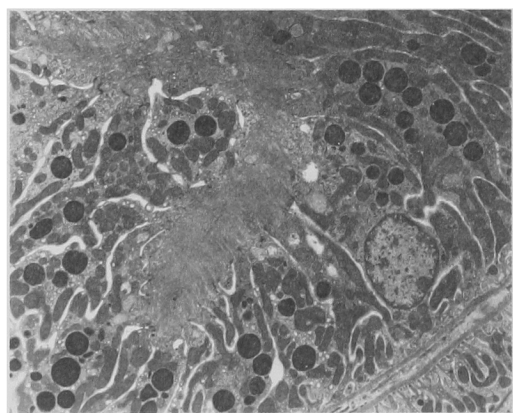


Photo 3. Kidney (cefclidin 1000mg/kg, 4 weeks treatment) Increase of lysosomal dense bodies in proximal tubular epithelium. ×3000

(雌)で近位尿管でのlysosomal dense bodyの増加が認められた。

III. 考 察

CFCLの30, 100, 300および1000mg/kg群をビーグル犬に1日1回4週間静脈内投与し、さらに、300および1000mg/kg群については、4週間の回復試験を実施した。

30および100mg/kg群には投薬に関連した変化は認められなかった。

300mg/kg群の変化は、尿中NAGの排泄増加と腎尿管上皮における好酸性顆粒の増加であった。このNAGは、主に近位尿管上皮細胞のLysosomeに分布している。また好酸性顆粒は、電顕的にHeterolysosomeであるLysosomal dense bodyに一致するものであり、ceftazidime⁸⁾, cefodizime⁹⁾, cefotiam⁷⁾などの他セファロsporin系抗生物質を投与した際にも増加がみられ、抗生物質の排泄に関連する所見と考えられる。この際gentamycinやcephaloridinでは、Heterolysosomeの形成後にその破壊を招来し急性尿管壊死など腎毒性を誘発することが報告されている¹⁰⁾。しかし、CFCLの300mg/kgではLysosome膜にも変化がみられず、Lysosomeの破壊による二次的な壊死性変化を引き起こすこともなかった。CFCLの300mg/kgのNAG尿中排泄増加値は、Heterolysosomeの活発なExocytosisを反映したものであり、腎毒性を示すものではないと考えられた。

1000mg/kg群については、一般状態、血液検査、病理組織学的検査において変化が認められた。一般状態では舌なめずり、嘔吐、流涎がみられたが、これらの変化はイヌに薬物を大量に投与した場合に一般的にみられるものでもあり、CFCLに特異的な変化ではなかった。また、休薬後3週間以降に認められた瞬膜弛緩と縮瞳は、顔面支配の交感神経路を障害、遮断することによりビーグルやヒトで類似した症状を呈することが報告されている^{11,12)}。本試験の変化も交感神経系への影響が推察されたが、確定診断をしておらず、発現機序を明らかにすることができなかった。しかし、網膜、視神経および水晶体などに病理組織学的な変化は観察されなかった。血液検査では、対照群との間に有意差はみられなかったが、雌1頭に軽度な貧血(赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の減少およびESRの亢進)が認められた。しかし、骨髓等の造血臓器への影響がみられていないこと、脾、肝へのヘモジリン沈着や髓外造血を伴っていないことから、この変化は軽微なものと推察された。このような変化はcephalosporin系薬剤のceftezole¹⁾, cefazolin²⁾, cephalirin³⁾等にも報告されている。また、血小板数は

雌においても有意に減少し、雄にも減少傾向が認められた。しかし、この変化はflomoxef⁴⁾、cefpiramide⁵⁾においても同様に報告されているが、イヌにおける機序は明らかになっていない。病理組織学的な変化は、腎、脾および投与部位に観察された。腎の変化は、300mg/kg群にみられた変化に加えて、腎尿細管上皮の変性と再生、間質の細胞浸潤であった。腎の退色、重量増加および尿中 γ -GTP増加の所見と併せて考えると、1000mg/kg群の腎の変化は生体の適応能力を越えたことによるものと考えられた。脾の粟粒様変化は、光顕的にみられた胚中心の活性化と関連した変化と考えられるが、この胚中心の活性化は対照群にもみられていることから毒性学的に問題となる変化とは考えられなかった。この様な脾の変化は、他剤でも報告されており、ラットの場合は投与部位の炎症性変化に起因する二次的な変化とされている⁹⁾。また、各群にみられた投与部位(皮下組織)の変化は対照群にもみられていることから、連続注射による機械的刺激によるものと考えられた。

なお、1000mg/kgの雄で胸腺重量の増加がみられたが、組織学的検査からはその変化を支持するリンパ球の増生像なども認められず、器質的な変化を伴っていなかった。雌の1000mg/kgでは対照群に比べ胸腺重量が低値を示し、薬物に対する一定の反応を認めておらず、毒性学的な意義はないものと考えられた。

回復試験の結果、休薬後3週以降にみられた症状を除いて、いずれの変化も回復性のあることが明らかとなった。

以上の結果より、好酸性顆粒および尿中NAGの増加が300mg/kgよりみられたが、これらの変化は生体の適応反応に起因するものであり、無影響量は300mg/kgと考えられた。

文 献

- 1) 二木力夫ら：Ceftazidimeの一般毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 24(4)：671~702, Apr. 1976
- 2) 渡辺信夫ら：Cefazolin sodiumの毒性及び胎仔への影響。Chemotherapy 18(5)：528~543, Sept. 1970
- 3) 螺良義彦ら：Cephapirin sodiumの筋肉内投与によるビーグル犬の亜急性毒性試験。応用薬理 9(1)：11~30, Jan. 1975
- 4) 奈良 博ら：Oxacephem系抗生物質6315-S (Flomoxef)のイヌにおける急性および1ヵ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 35(S-1)：226~249, May. 1987
- 5) 斉藤知一ら：Cefpiramide(SM-1652)のビーグル犬における静脈内投与6週間毒性試験。基礎と臨床 17(1)：7~31, Jan. 1983
- 6) 中野茂樹ら：Cefodizime sodiumのイヌ静脈内投与による5週間亜急性毒性試験および4週間回復試験。J. Toxicol. Sci. 13 (Suppl. I)：43~90 1988
- 7) 高野喜一：Cefotiam(SCE-963)の亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy 27(S-3)：163~171 Apr. 1979
- 8) 松川英彦ら：Ceftazidimeの安全性に関する研究(IV)成犬における亜急性毒性試験。Chemotherapy 31(S-3)：895~913 Oct. 1983
- 9) 森岡 浩ら：Cefotaximeの急性毒性ならびに亜急性毒性。Chemotherapy 28(S-1)：98~108 June. 1980
- 10) Watanabe, M. Drug-induced lysosomal changes and nephrotoxicity in rats. Acta. Path. Jap., 28(6), 867-889, 1978
- 11) Aguirre, G.他編集(訳：阿部勝人, 宮川知典)：The Veterinary Clinics of North America, Vol. 3-3, 眼科学に関するシンポジウム：小動物神経眼科学, Lahunta, A.著, P.141-148, 学窓社, 1975
- 12) 大野信治：薬物点眼によるHorner症候群障害部位判定法, 臨眼, 29(11), 1223-1225, 1986.

FOUR-WEEK INTRAVENOUS REPEAT-DOSE TOXICITY STUDY OF CEFCLIDIN IN BEAGLE DOGS.

Tatsuto Iwata, Junichi Nakanowatari, Masayoshi Noguchi, Tadashi Chimoto,
Hiroshi Yamanaka, Kazuhiro Hayakawa, Takashi Mikami, Kiyomi Yamatsu

Department of Drug Safety Research, Eisai Co., Ltd.
Takehaya-cho, Kawashima-cho, Hashima-gun 501-61, Japan

Cefclidin (CFCL) was administered intravenously to beagle dogs daily for 4 weeks at dosage levels of 30, 100, 300 and 1000 mg/kg and 4-week recovery study was performed at dosage levels of 300, 1000 mg/kg.

1. No deaths occurred in all dosage groups. No toxicological changes were found in body weight, food and water consumption and electrocardiographic parameters in all dosage groups.
2. No changes related to the treatment were observed in the 100 mg/kg or less groups.
3. In the 300 and 1000 mg/kg group, urinary NAG and eosinophilic granules of the renal tubular epithelium increased.
4. In the 1000 mg/kg group, vomiting, salivation and licking were exhibited, and platelet, RBC, Ht and Hb decreased, and ESR and urinary γ -GPT increased. Pathological examination showed increases in kidney and thymus weights, and discoloration of the kidneys. Cell infiltration in the renal interstitium, and degeneration and regeneration of the renal tubular epithelium were observed. These changes observed at 1000 mg/kg during treatment were shown to be reversible through the treatment-free recovery period. During the recovery period after the 4-week treatment, clinical signs such as relaxed nictitating membrane and myosis appeared in 2 dogs in the 1000 mg/kg group. However, no histopathological findings of the eye ball and optic nerves of the dogs were noted.

The non-toxic dose of CFCL in beagle dogs administered intravenously for 4 weeks was considered to be 300 mg/kg because the only adaptive changes to the drug, the increase in urinary-NAG and eosinophilic granules, were observed at this dose level.