

Cefclidinのマウス、ラット、イヌにおける単回投与毒性試験

小倉一晃, 菅沼彰純, 山中宏志, 細川 暁,
渡辺武仁, 瀧 豊彦, 中野渡純一, 見上 孝
エーザイ株式会社 安全性研究部*

Cefclidin (CFCL) の単回投与毒性試験をマウス、ラットおよびイヌを用いて行い、次の結果を得た。

1) CFCLの経口投与によるLD₅₀値はマウス、ラットともに10,000mg/kg以上、皮下投与でのLD₅₀値はマウス、ラットともに10,000mg/kg以上、筋肉内投与でのLD₅₀値はマウス、ラットともに5,000mg/kg以上であった。静脈内投与のLD₅₀値はマウスで10,000mg/kg以上、ラットの雄で2,236mg/kg、雌で2,147mg/kgであった。また、イヌの静脈内投与では3,000mg/kg群で全例生存し、8,000mg/kg群で2例中1例が死亡した。

2) CFCLを大量に経口投与したマウスでは一般症状に異常は認められなかったが、ラットでは粘液便や軟便が観察された。皮下投与ではマウスには何ら変化はみられなかったが、ラットで投与部位の脱毛、痂皮および軟便が観察された。筋肉内投与では死亡したマウスの雄1例のみに間代性痙攣が、ラットでは投与部位の脱毛、痂皮および軟便が観察された。静脈内投与ではマウス、ラットで腹臥位、自発運動の低下がみられ、マウスでは四肢のチアノーゼ、鼻周囲あるいは四肢の腫脹、眼瞼下垂が、ラットでは間代性痙攣もみられた。イヌでは舌なめずりおよび嘔吐がみられた。

3) 体重はマウス、ラットの皮下、筋肉内あるいは静脈内投与で増加抑制あるいは減少が一過性に認められた。また、摂餌量の一過性減少がラットの皮下、筋肉内およびマウス、ラットの静脈内投与で認められた。

4) 静脈内投与により死亡したマウスで腎皮質退色、腎乳頭の赤黒色調、肺の暗赤色調、脾の退色、小型化、ラットで気管内の泡状粘液、小腸壁の出血、肺の黒褐色調、イヌでは脳室内の脳脊髄液の増加および心筋の退色が認められた。生存動物の剖検では、マウスの筋肉内投与した雄で肝・腎の黄色調、静脈内投与した雌で右腎の小型化、腎表面の粗造化が各1例ずつに認められた。ラットの静脈内投与では腎の退色および白斑がみられた。その他、ラットの皮下、筋肉内および静脈内投与では投与部位の退色、浮腫、出血、潰瘍あるいは痂皮が認められた。

5) 組織学的検査では、剖検所見で異常が認められたマウス、ラットの腎に腎尿管上皮の変性、壊死、再生像および尿管腔の拡張などが認められた。ラットの皮下、筋肉内および静脈内投与の投与部位には細胞浸潤、結合組織の増生、変性および壊死などがみられた。

Key words : Cefclidin (CFCL), マウス, ラット, イヌ, 単回投与毒性試験

Cefclidin (CFCL) は、エーザイ (株) で新しく開発されたセファロスポリン系の抗生物質である。

今回、マウス、ラットおよびイヌを用いて単回投与毒性試験を行ったので、その結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

本試験にはエーザイ化学 (株) 製造のロット番号 06031003 の CFCL を使用した。

2. 使用動物と飼育条件

1) マウスおよびラット

実験には日本エスエルシー株式会社 (静岡県浜松市) より3週齢の雌雄のSlc : ICRマウスおよびSlc : SDラットを購入し、それぞれ2週間の検疫期間および予備飼育期間を経過した後、健康な動物を使用した。なお、投与時の体重はマウスの雄で32.0~43.4g、雌で25.1~35.7g、ラットの雄で245~360g、雌で162~230g

*〒501-61 羽島郡川島町竹早町1

であった。飼育環境は温度21~25°C, 湿度45~65%, 12時間人工照明(7:00~19:00)に設定し, 固型飼料(オリエンタル酵母工業製MF)と滅菌した飲水を自由に摂取させ, マウスでは床敷(Northeastern Products Corp. 製Beta-chip)を敷いたプラスチック製ケージに, ラットでは金属製ケージにて各々1ケージ当り5匹飼育した。なお, 動物の個体識別はピクリン酸塗布にて行った。

2) イヌ

シー・エス・ケー実験動物研究所より導入した8カ月齢のビーグル犬雄2頭(各9.3kg), 雌2頭(8.4kg, 8.8kg)を使用した。飼育環境は, 温度20~24°C, 湿度45~65%, 12時間人工照明(7:00~19:00)に設定し, ステンレス・スチール製ケージに収容して飼育した。固型飼料(オリエンタル酵母工業製DS)は1日250g給餌し, 飲水は自由摂取とした。個体識別は, 耳介の入墨とケージラベルにて行った。

3. 投与検体の調製

マウス, ラット用の投与検体はCFCLを生理食塩液で25%濃度に, ビーグル犬用の投与検体は20%濃度に溶解し, 0.45 μ mのメンブランフィルターで除菌濾過した。

4. 投与方法と投与量

1) マウスおよびラット

経口(胃ゾンデによる強制経口投与), 皮下, 筋肉内および静脈内の4投与経路について実施した。

投与量は予備試験の結果により設定したが, マウス, ラットの経口, 皮下, 筋肉内投与およびマウスの静脈内投与では技術的に投与可能な最大量を投与した。すなわち, マウスおよびラットの経口, 皮下投与およびマウスの静脈内投与は雌雄ともに5,000および10,000mg/kgを, 筋肉内投与ではいずれの動物においても雌雄ともに2,500および5,000mg/kgを投与した。ラットの静脈内投与は雌雄ともに1,536, 1,920, 2,400および3,000mg/kgを設定し, 雄では2,147mg/kgを追加投与した。動物数は, 1群当り雌雄各5匹とした。なお, 経口投与ではマウスおよびラットともに投与前17~24時間絶食させた。また, 静脈内投与における投与速度はマウスおよびラットともに1~1.5ml/min.とした。

2) イヌ

臨床適用経路である静脈内投与を実施した。予備試験として1,000および2,000mg/kgを投与したが, 舌なめずり, 嘔吐および心拍数の増加が見られたのみで, 死亡例は見られなかった。この結果から, 3,000mg/kgを低用量に, 8,000mg/kgを高用量に設定し, 各用量に雌雄各1例ずつを使用した。また, 投与速度は11~12

ml/min.とし, 橈側皮静脈より投与した。

5. 検査

1) マウスおよびラット

投与後2週間にわたって毎日症状を観察した。体重および摂餌量は投与日, 投与1, 3, 6, 10および14日後に測定した。なお, 経口投与の摂餌量は投与前に絶食したので投与日の測定は実施しなかった。死亡例は発見後速やかに剖検し, 生存例は2週間後に全例を頸椎脱臼により屠殺し剖検した。肉眼的に異常を認めた臓器の一部(腎および投与部位)を摘出し, 常法に従ってヘマトキシリン-エオジン染色標本, 腎についてはPAS染色標本も作製した。50%致死量(LD₅₀値)と95%信頼限界は2週間の累積死亡率からプロビット法にて算出した。

2) イヌ

投与前後各2週間にわたって毎日症状を観察し, 摂餌量を記録した。体重は投与前に週1~2回, 投与後は週3回測定した。摂水量は投与前12日, 投与後2日および11日に測定した。さらに, 投与前後各2週間の観察期間中に以下の検査を実施した。

(1) 臨床検査

投与前11日, 投与後1, 3および14日に血液および血液生化学検査のために橈側皮静脈より血液を採取した。さらに, 投与日の投与開始後6時間に血液生化学的検査のために血液を採取した。採取した血液の抗凝固剤は血液学的検査にはEDTA・2K, 凝固検査および血液沈降速度の検査にはクエン酸ナトリウム, 血液生化学的検査にはヘパリン・ナトリウムをそれぞれ用いた。尿検査のために, 投与前12日と投与後2および11日に24時間尿を採取した。

(a) 血液学的検査

赤血球数, ヘマトクリット値, ヘモグロビン濃度, 血小板数, 白血球数, 平均赤血球色素量, 平均赤血球容積, 平均赤血球色素濃度は, 東亜医用電子社製多項目自動血球計数装置E-3000を用いて測定した。網赤血球数, 白血球百分率は, Geometrics社製血液像自動分類装置HEMATRAK 590を用いて測定した。プロトロンビン時間はHyland社製Clotek TMシステムで, 血液沈降速度はWestergren法で測定した。

(b) 血液生化学的検査

ALP, LAP, γ -GTP, Ch-E, GPT, GOT, LDH, CPK, 総タンパク, アルブミン, 総コレステロール, リン脂質, トリグリセリド, 遊離脂肪酸, グルコース, 総ビリルビン, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸, 無機リン, カルシウムは, 日立製736-40型自動分析装置を用いて測定した。Cl⁻は平沼産業社製クロライ

ドカウンター CL-6MPで、 K^+ 、 Na^+ はIL社製炎光光度計343で測定した。なお、グロブリンは総タンパクとアルブミンの差により、A/G比はアルブミンとグロブリンの比により算出した。

(c) 尿検査

尿量はメスシリンダーで、尿の外観は肉眼観察で、比重はアタゴ社製屈折計ユリコンで測定した。タンパク、グルコース、ケトン体、潜血、ビリルビン、pHはマイルス三共社製マルチスティックスIIIを用いて測定した。 γ -GTP、クレアチニン、NAGは日立製736-40型自動分析装置を用いて測定した。 Cl^- は平沼産業社製クロライドカウンター CL-6MPで、 K^+ 、 Na^+ はIL社製炎光光度計343を用いて測定した。

(2) 心電図

心電図は、AB誘導法によりフクダエム・イー工業社製イヌ用自動計測心電計503FB-Dを用い、投与前、投与開始後約5分および投与終了直後に測定した。8,000 mg/kg 群の雄では、さらに投与終了後約10分にも測定した。

(3) 剖検

死亡例は発見後すみやかに剖検し、生存例は2週間の観察期間終了後、ペントバルビタール麻酔下で放血致死させ剖検した。肉眼観察後、各種臓器を摘出し、生存例から摘出した肝、腎、脾および胸腺は臓器重量を測定した。さらに、全動物の肝、胆嚢、腎、肺、脾および胸腺、さらに死亡した8,000mg/kg 群の雄では脳、心についても常法に従ってヘマトキシリン-エオジン染色標本を、腎についてはPAS染色標本も作製した。

II. 実験結果

1. LD_{50} 値

マウスおよびラットの LD_{50} 値のまとめをTable 1に示した。

経口および皮下投与の LD_{50} 値はマウス、ラットとも10,000mg/kg以上であり、死亡例はなかった。筋肉内投与ではマウスの5,000mg/kgの雄1例が投与後約2時間に死亡したものの、ラットの死亡例はなく、 LD_{50} 値はマウス、ラットとも5,000mg/kg以上であった。静脈内投与ではマウスの LD_{50} 値は10,000mg/kg以上であったが、10,000mg/kgの雌で投与後5および6日に各1例の死亡がみられた。ラットの LD_{50} 値は雄2,236 mg/kg、雌2,147mg/kgであった。イヌでは、3,000mg/kgでは死亡例は認められなかったが、8,000mg/kgで2例中雄1例が投与後2日に死亡した。

2. 症状観察と検査所見

1) 経口投与

(1) マウス

観察期間中、一般症状、体重および摂餌量に、異常は認められなかった。また、2週間後の剖検においても何ら異常はみられなかった。

(2) ラット

全用量群で投与約4時間後に粘液便と軟便が観察されたが、投与翌日には消失した。体重および摂餌量に異常はみられず、2週間後の剖検でも何ら異常はみられなかった。

2) 皮下投与

(1) マウス

観察期間中、一般症状に異常はみられなかった。体重の一過性の減少あるいは増加抑制がみられたが、摂餌量に変化はなかった。また、剖検においても異常はみられなかった。

(2) ラット

投与後全例の投与局所(背部)に腫瘍がみられ、投与後5~8日以後に脱毛および痂皮が認められた。また、投与後4および5日に数例に軟便がみられた。体重では軽度な一過性の増加抑制がみられ、摂餌量も雄で軽度な一過性の減少がみられた。2週間後の剖検では、投与局所の皮膚および皮下組織の肥厚、潰瘍および出血がみられ、病理組織学的には真皮の壊死、炎症性細胞浸潤、結合組織の増生、皮筋の変性および壊死が認められた。

3) 筋肉内投与

(1) マウス

5,000mg/kgの雄1例に投与後30~60分間に間代性痙攣がみられ、投与後約2時間に死亡した。その他の動物に異常は認められなかった。体重は、一過性の増加抑制あるいは減少がみられたが、摂餌量に変化はなかった。死亡例の剖検では、異常は認められなかった。生存例の剖検では、5,000mg/kgの雄1例で腎および肝の黄色調がみられ、組織学的には肝で点状壊死がみられたが、腎に変化はなかった。

(2) ラット

投与後、ほぼ全例にひきずり歩行、四肢のチアノーゼ、投与部位および四肢の腫脹がみられた。投与部位の腫脹は投与3日後には消失したが、ひきずり歩行は観察期間を通じて認められた。また、投与後3日以降に投与部位の硬結、痂皮および脱毛が多数例にみられた。その他、全投与群の数例に軟便が観察された。体重は軽度な減少あるいは増加抑制がみられ、摂餌量も一過性に減少した。生存例の剖検では、投与部位における筋肉の浮腫、出血、退色および筋肉の弾力性の低下がみられ、組織学的には筋線維の壊死、細胞浸潤、

出血，浮腫，線維化および筋線維の再生像が認められた。

4) 静脈内投与

(1) マウス

投与直後から全例に腹臥位，自発運動の低下，四肢のチアノーゼおよび鼻周囲あるいは四肢の腫脹がみられた。また，投与後30～60分および2～2.5時間の観察において10,000mg/kgの雄で眼瞼下垂がみられた。これらの症状を呈する動物は徐々に減少し，投与翌日には消失した。さらに，自発運動の低下および体幹の汚れが投与後4日と5日に10,000mg/kgの雌2例で観察され，これらの例は投与後5日目と6日目に死亡した。体重は全群において一過性の増加抑制あるいは減少し，摂餌量は10,000mg/kgの雌で一過性に減少したが，他の群では変化はなかった。10,000mg/kgの死亡した2例の剖検では，腎で皮質の退色，腎乳頭の暗赤色調，皮髄界に黄白色斑が，肺で暗赤色調が，脾で退色および小型化がみられた。生存例の剖検では，10,000mg/kgの雌1例に腎表面の粗造化が，5,000mg/kgの雌1例に右腎の小型化がみられた。他の生存例では異常はみられなかった。10,000mg/kgの雌1例の病理組織学的検査では，腎の尿細管上皮の変性，壊死および再生像，硝子円柱，間質の円形細胞浸潤，線維化および尿細管腔の拡張がみられた。皮質から髄質にかけて存在するこれらの病変は，正常領域と明瞭に区別された。

(2) ラット

投与直後から1,536mg/kg以上で腹臥位，自発運動の低下が，1,920mg/kg以上ではさらに間代性痙攣がみられたが，これらの症状は投与後24時間以内に消失した。また，投与後4日頃から雄の3例に投与部位の尾の黒色調および痂皮がみられ，尾が脱落する例も認められた。全投与群で体重の一過性の増加抑制あるいは減少および摂餌量の一過性の減少がみられた。死亡例の剖検では，全例に気管内に泡状の粘液物が認められ，3,000mg/kgの3例に小腸壁の出血が，1例に肺の黒褐色調が認められた。生存例の剖検では，雄で腎の退色あるいは白斑が，投与部位の尾の痂皮，黒色調あるいは脱落が認められた。病理組織学的には，腎の尿細管上皮の変性，壊死および再生像ならびに尿細管腔の拡張が，尾（投与部位）の壊死，潰瘍，炎症性細胞の浸潤および皮下結合組織の増生が観察された。

(3) イヌ

3,000および8,000mg/kgの全例で投与中から舌なめずりおよび嘔吐がみられ，8,000mg/kgの雄ではさらに口周囲および耳介の潮紅，眼瞼下垂および瞬膜弛

緩，雌では軽度な振戦，苦悶および瞬膜弛緩がみられた。これらの症状は，投与後数時間で消失した。なお，8,000mg/kgの雄では投与翌日の夕方より四肢筋肉の硬直，瞳孔反射の亢進，起立不能を呈し瀕死状態に陥り，その翌朝（投与後2日）に死亡しているのが発見された。体重，摂餌量および摂水量に変化はみられなかった。

血液学的検査（Table 2）では，死亡例（動物番号6035）では投与後1日の白血球数および好中球比の増加，リンパ球比の減少が認められた。生存例では3,000mg/kgの雌で投与後1，3あるいは14日に軽度の好中球比の増加，リンパ球比の減少がみられた。また，8,000mg/kgの雌で投与後1日に軽度の白血球数および好中球比の増加，リンパ球比の減少が認められた。これらの変化は投与後14日には回復した。血液生化学的検査（Table 3-1, 3-2）では，8,000mg/kgの雄で投与後6時間あるいは1日にGOT，LDH，CPK，トリグリセリド，グルコース，および尿素窒素の増加，遊離脂肪酸の減少がみられた。生存例では投与後6時間で遊離脂肪酸の減少，投与後6時間，1あるいは3日でGPT，GOT，トリグリセリドおよび尿素窒素の増加が認められたが，投与後14日には投与前の値に回復した。また，生存例では投与後14日にクレアチニンの軽度な減少および尿酸の増加がみられた。さらに，8,000mg/kgの雌で投与後6時間にグルコースの増加，投与後6時間，1日でLDH，投与後6時間，1および3日にCPK，総コレステロール，リン脂質が増加した。3,000mg/kgの雌，8,000mg/kgの雌では投与後6時間あるいは1日にNa⁺が減少した。

尿検査（Table 4）では，8,000mg/kgの雄で死亡時の検査でグルコース（±），潜血（+）が陽性で，pHが5であった。生存例では，投与後2日にγ-GTPの上昇がみられたが，投与後11日には投与前の値に回復した。また，Na⁺も生存例で投与後2日に減少したが，投与後11日には回復傾向を示した。

心電図では，全動物で投与開始後約5分または投与終了時に心拍数の増加が認められた。また，8,000mg/kgの雄1例では投与終了直後にT波の逆転がみられたが，この変化は投与終了後約10分で正常に復した。

死亡した8,000mg/kgの雄の剖検では，心筋の退色，腎臓の肥大，背部皮下の水腫および脳室内の脳脊髄液の増加がみられ，組織学的検査では肝細胞の空胞化，心筋の変性および壊死，心筋における動脈の変性がみられた。生存例の剖検では変化は認められなかった。組織学的には雄あるいは雌の肝および腎に軽度の硝子様核内封入体が認められたが，この変化は他の試験の

Table 1. Acute toxicity of cefclidin in mice and rats

Species	Route	Sex	Dose (mg/kg)	Mortality(day)							Lethal/ Total	LD ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limits)	
				0	1	2	3	4	5	6			7~14
Mice	p.o.	Male	5000 10000								0/5 0/5	> 10000	
		Female	5000 10000								0/5 0/5	> 10000	
	s.c.	Male	5000 10000								0/5 0/5	> 10000	
		Female	5000 10000								0/5 0/5	> 10000	
	i.m.	Male	2500 5000		1						0/5 1/5	> 5000	
		Female	2500 5000								0/5 0/5	> 5000	
	i.v.	Male	5000 10000								0/5 0/5	> 10000	
		Female	5000 10000					1	1		0/5 2/5	≥ 10000	
	Rats	p.o.	Male	5000 10000								0/5 0/5	> 10000
			Female	5000 10000								0/5 0/5	> 10000
s.c.		Male	5000 10000								0/5 0/5	> 10000	
		Female	5000 10000								0/5 0/5	> 10000	
i.m.		Male	2500 5000								0/5 0/5	> 5000	
		Female	2500 5000								0/5 0/5	> 5000	
i.v.		Male	1536								0/5	2236* (1989~2682)	
			1920								0/5		
			2147	3							3/5		
			2400	3							3/5		
3000	5							5/5					
Female	1536								0/5	2147* (1797~2565)			
	1920	1							1/5				
	2400	4							4/5				
	3000	5							5/5				

* : LD₅₀ values and the 95% confidence limits were calculated using Probit method.

Table 2. Hematological findings in dogs given a single intravenous administration of ceftiditin

Dose	Dog No.	Item	Time	Time (day)			
			Pre	1	3	14	
3000 mg/kg	6034 (male)	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	725	754	704	732	
		WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	117	119	107	137	
		Hematocrit (%)	47.8	49.8	46.1	47.4	
		Hemoglobin (g/dl)	16.6	17.2	15.6	16.8	
		Reticulocytes (%)	1.0	0.3	0.2	0.3	
		Platelets ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	22.3	31.5	25.1	22.1	
		PT (sec)	6.6	6.6	6.8	6.6	
		ESR (mm/hr)	1.0	1.0	1.0	0.5	
		Baso. (%)	0	0	0	0	
		Eosino. (%)	3	5	4	2	
	Neutro. stab (%)	6	2	3	6		
	Neutro. segment (%)	46	54	54	50		
	Lympho. (%)	37	28	27	31		
	Mono. (%)	8	11	12	11		
	6534 (female)	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	811	734	778	797	
		WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	116	125	124	127	
		Hematocrit (%)	54.4	49.7	52.2	53.0	
		Hemoglobin (g/dl)	19.5	17.7	18.1	18.8	
		Reticulocytes (%)	0.3	0.4	0.5	0.2	
		Platelets ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	20.9	26.7	24.7	32.8	
PT (sec)		7.0	7.3	7.8	7.7		
ESR (mm/hr)		0.5	1.0	0.5	1.0		
Baso. (%)		0	0	0	0		
Eosino. (%)		0	1	0	0		
Neutro. stab (%)	3	1	1	1			
Neutro. segment (%)	30	51	44	48			
Lympho. (%)	61	39	39	44			
Mono. (%)	6	8	16	7			
8000 mg/kg	6035 (male)	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	700	682	D	#	
		WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	102	215	D	#	
		Hematocrit (%)	46.9	46.0	D	#	
		Hemoglobin (g/dl)	16.0	16.1	D	#	
		Reticulocytes (%)	0.2	0.6	D	#	
		Platelets ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	29.0	32.5	D	#	
		PT (sec)	5.8	6.3	D	#	
		ESR (mm/hr)	1.0	4.5	D	#	
		Baso. (%)	0	0	D	#	
		Eosino. (%)	1	2	D	#	
	Neutro. stab (%)	2	10	D	#		
	Neutro. segment (%)	47	72	D	#		
	Lympho. (%)	42	11	D	#		
	Mono. (%)	8	5	D	#		
	6535 (female)	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	730	701	742	710	
		WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	111	157	105	123	
		Hematocrit (%)	49.9	47.6	50.3	47.6	
		Hemoglobin (g/dl)	17.6	16.5	17.4	16.6	
		Reticulocytes (%)	0.5	0.3	0.2	0.4	
		Platelets ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	38.3	33.1	37.3	26.6	
PT (sec)		7.0	7.6	7.7	7.7		
ESR (mm/hr)		1.0	4.5	1.0	0.5		
Baso. (%)		0	0	0	0		
Eosino. (%)		0	0	0	0		
Neutro. stab (%)	3	3	1	4			
Neutro. segment (%)	44	73	41	45			
Lympho. (%)	43	17	44	43			
Mono. (%)	10	7	14	8			

D : death # : not determined

Table 3-1. Biochemical findings in dogs given a single intravenous administration of cefclidin

Dose	Dog No.	Item	Time	Time (hour)				
				Pre	6	1	3	14
3000 mg/kg	6034 (male)	ALP (mU/ml)		352	393	426	387	413
		LAP (mU/ml)		45	45	47	45	43
		γ -GTP (mU/ml)		2	3	2	2	2
		Ch-E (mU/ml)		3460	3548	3492	3536	3623
		GPT (mU/ml)		38	70	66	50	36
		GOT (mU/ml)		27	51	33	28	24
		LDH (mU/ml)		47	61	49	42	60
		CPK (mU/ml)		95	81	107	113	116
		Total protein (g/dl)		6.4	6.7	6.6	6.6	6.2
		Albumin (g/dl)		3.0	3.1	3.0	3.2	3.1
		Globulin (g/dl)		3.4	3.6	3.6	3.4	3.1
		A/G ratio		0.88	0.86	0.83	0.94	1.00
		Total cholesterol (mg/dl)		176	173	181	183	187
		Phospholipid (mg/dl)		320	360	347	345	358
		Triglyceride (mg/dl)		24	45	28	26	17
		NEFA (mEq/l)		0.52	0.09	0.52	0.52	0.59
		Glucose (mg/dl)		110	101	112	112	115
	Total bilirubin (mg/dl)		0.10	0.15	0.12	0.08	0.08	
	Ureanitrogen (mg/dl)		12.0	21.1	11.4	11.6	11.0	
	Creatinine (mg/dl)		0.85	0.76	0.84	0.81	0.68	
	Uric acid (mg/dl)		0.34	0.40	0.35	0.56	0.63	
	Cl ⁻ (mEq/l)		111	108	110	110	111	
	Na ⁺ (mEq/l)		148	145	146	146	144	
	K ⁺ (mEq/l)		4.3	4.3	4.1	4.4	4.1	
	Inorganic P (mg/dl)		5.2	5.0	4.9	5.2	5.0	
	Ca (mg/dl)		10.1	10.7	10.2	10.2	11.1	
	6534 (female)	ALP (mU/ml)		154	166	221	185	155
		LAP (mU/ml)		32	33	34	33	31
		γ -GTP (mU/ml)		2	2	1	2	2
		Ch-E (mU/ml)		3231	3466	3234	3399	3504
		GPT (mU/ml)		43	64	56	43	36
		GOT (mU/ml)		31	62	38	29	27
		LDH (mU/ml)		71	79	77	58	85
		CPK (mU/ml)		126	170	172	139	159
Total protein (g/dl)			6.2	6.4	6.2	6.3	6.3	
Albumin (g/dl)			3.3	3.3	3.1	3.3	3.3	
Globulin (g/dl)			2.9	3.1	3.1	3.0	3.0	
A/G ratio			1.14	1.06	1.00	1.10	1.10	
Total cholesterol (mg/ml)			122	135	140	135	132	
Phospholipid (mg/dl)			284	314	306	295	294	
Triglyceride (mg/dl)			17	23	30	28	18	
NEFA (mEq/l)			0.61	0.08	0.66	0.60	0.61	
Glucose (mg/dl)			99	95	104	101	100	
Total bilirubin (mg/dl)		0.12	0.12	0.12	0.11	0.14		
Ureanitrogen (mg/dl)		11.4	21.2	12.7	11.7	11.7		
Creatinine (mg/dl)		0.94	0.95	0.87	0.87	0.68		
Uric acid (mg/dl)		0.36	0.37	0.36	0.49	0.79		
Cl ⁻ (mEq/l)		113	108	110	110	112		
Na ⁺ (mEq/l)		148	147	142	147	146		
K ⁺ (mEq/l)		3.9	4.2	4.0	3.9	4.4		
Inorganic P (mg/dl)		4.7	5.4	4.6	4.8	5.0		
Ca (mg/dl)		10.7	11.2	10.6	10.8	11.4		

Table 3-2. Biochemical findings in dogs given a single intravenous administration of cefclidin

Dose	Dog No.	Item	Time		Time (hour)		Time (day)		
			Pre	6	1	3	14		
8000 mg/kg	6035 (male)	ALP(mU/ml)	230	259	325	D	#	#	
		LAP(mU/ml)	44	48	46	D	#	#	
		γ -GTP(mU/ml)	2	2	1	D	#	#	
		Ch-E(mU/ml)	4141	4730	4132	D	#	#	
		GPT(mU/ml)	42	55	48	D	#	#	
		GOT(mU/ml)	26	43	50	D	#	#	
		LDH(mU/ml)	53	104	80	D	#	#	
		CPK(mU/ml)	131	123	293	D	#	#	
		Total protein(g/dl)	6.3	7.1	6.4	D	#	#	
		Albumin(g/dl)	3.2	3.3	2.9	D	#	#	
		Globulin(g/dl)	3.1	3.8	3.5	D	#	#	
		A/G ratio	1.03	0.87	0.83D	#	#		
		Total cholesterol(mg/dl)	195	229	223	D	#	#	
		Phospholipid(mg/dl)	353	421	446	D	#	#	
		Triglyceride(mg/dl)	16	19	48	D	#	#	
		NEFA(mEq/l)	0.52	0.12	0.18D	#	#		
	Glucose(mg/dl)	115	152	118	D	#	#		
	Total bilirubin(mg/dl)	0.09	0.12	0.19D	#	#			
	Ureanitrogen(mg/dl)	13.0	12.4	20.8	D	#	#		
	Creatinine(mg/dl)	0.90	0.73	0.95D	#	#			
	Uric acid(mg/dl)	0.27	0.27	0.22D	#	#			
	Cl ⁻ (mEq/l)	112	110	109	D	#	#		
	Na ⁺ (mEq/l)	148	148	144	D	#	#		
	K ⁺ (mEq/l)	4.2	4.2	4.0	D	#	#		
	Inorganic P(mg/dl)	5.1	5.9	5.5	D	#	#		
	Ca(mg/dl)	10.6	11.1	10.4	D	#	#		
	6535 (female)	ALP(mU/ml)	148	179	205	170	143		
		LAP(mU/ml)	33	33	40	39	32		
		γ -GTP(mU/ml)	2	2	2	2	1		
		Ch-E(mU/ml)	2700	2635	2517	2699	2933		
		GPT(mU/ml)	32	62	80	69	33		
		GOT(mU/ml)	27	104	112	32	23		
LDH(mU/ml)		61	144	129	51	57			
CPK(mU/ml)		146	753	1611	227	130			
Total protein(g/dl)		6.3	6.5	6.5	6.5	6.2			
Albumin(g/dl)		3.1	3.1	2.9	3.1	3.1			
Globulin(g/dl)		3.2	3.4	3.6	3.4	3.1			
A/G ratio		0.97	0.91	0.81	0.91	1.00			
Total cholesterol(mg/dl)		140	156	170	164	140			
Phospholipid(mg/dl)		317	361	373	352	319			
Triglyceride(mg/dl)		23	33	42	33	26			
NEFA(mEq/l)		0.83	0.17	0.60	0.65	0.84			
Glucose(mg/dl)		102	123	98	107	106			
Total bilirubin(mg/dl)		0.11	0.11	0.14	0.08	0.13			
Ureanitrogen(mg/dl)		11.4	18.1	14.0	9.7	10.3			
Creatinine(mg/dl)		0.91	0.91	0.91	0.85	0.65			
Uric acid(mg/dl)	0.38	0.36	0.33	0.49	0.63				
Cl ⁻ (mEq/l)	112	109	110	109	109				
Na ⁺ (mEq/l)	148	144	142	146	145				
K ⁺ (mEq/l)	3.9	4.1	4.0	3.9	3.9				
Inorganic P(mg/dl)	4.8	4.7	5.2	5.3	5.2				
Ca(mg/dl)	10.5	10.4	10.0	10.0	11.1				

D : death # : not determined

Table 4. Urinalysis findings in dogs given a single intravenous administration of cefclidin

Dose	Dog No.	Item	Time		
			Pre	2	11
3000 mg/kg	6034 (male)	Urine volume(ml/24h)	1020	160	205
		Specific gravity	1.016	1.050	1.046
		Na ⁺ (mEq/24h)	22.4	3.2	9.2
		k ⁺ (mEq/24h)	46.9	35.0	41.2
		Cl ⁻ (mEq/24h)	23.5	15.7	18.7
		γ-GTP (IU/24h)	4.1	10.7	5.7
		NAG (IU/24h)	2.1	1.2	0.8
		Creatinine (mg/24h)	408	326	351
		pH	7	7	7
		Protein	±	+	±
		Glucose	-	-	-
		Ketone body	-	-	-
	Occult blood	±	-	-	
	Bilirubin	-	-	-	
	6534 (female)	Urine volume(ml/24h)	1225	440	1330
		Specific gravity	1.014	1.030	1.014
		Na ⁺ (mEq/24h)	18.4	1.8	12.0
		K ⁺ (mEq/24h)	49.0	47.5	49.2
		Cl ⁻ (mEq/24h)	20.8	22.0	21.3
		γ-GTP (IU/24h)	9.8	15.0	5.3
		NAG (IU/24h)	2.5	2.0	4.1
		Creatinine (mg/24h)	343	343	319
pH		7	7	7	
Protein		-	-	-	
Glucose		-	-	-	
Ketone body		-	-	-	
Occult blood	-	-	-		
Bilirubin	-	-	-		
8000 mg/kg	6035 (male)	Urine volume(ml/24h)	375	375	D
		Specific gravity	1.031	1.020	D
		Na ⁺ (mEq/24h)	8.6	6.0	D
		k ⁺ (mEq/24h)	43.9	5.6	D
		Cl ⁻ (mEq/24h)	20.3	17.6	D
		γ-GTP (IU/24h)	6.4	6.0	D
		NAG (IU/24h)	1.2	2.1	D
		Creatinine (mg/24h)	364	124	D
		pH	7	5	D
		Protein	±	-	D
		Glucose	-	±	D
		Ketone body	-	-	D
	Occult blood	-	+	D	
	Bilirubin	-	-	D	
	6535 (female)	Urine volume(ml/24h)	645	460	295
		Specific gravity	1.022	1.029	1.039
		Na ⁺ (mEq/24h)	15.5	2.3	10.9
		K ⁺ (mEq/24h)	49.0	42.8	48.4
		Cl ⁻ (mEq/24h)	18.1	29.4	18.3
		γ-GTP (IU/24h)	5.2	32.7	5.6
		NAG (IU/24h)	1.0	2.3	0.5
		Creatinine (mg/24h)	393	331	363
pH		7	7	7	
Protein		-	±	±	
Glucose		-	-	-	
Ketone body		-	-	-	
Occult blood	-	±	-		
Bilirubin	-	-	-		

D : death # : not determined

対照群でも認められており、自然発生的な変化と考えられる。

III. 考察および結論

新しいセファロスポリン系の抗生物質であるCFCLの単回投与毒性試験をマウス、ラットおよびイヌを用いて行った。

CFCLのLD₅₀値は、経口および皮下投与でマウス、ラットともに雌雄10,000mg/kg以上、筋肉内投与で5,000mg/kg以上であった。静脈内投与によるLD₅₀値は、マウスで雌雄ともに10,000mg/kg以上であったが、ラットでは雄で2,236mg/kg、雌で2,147mg/kgであり、イヌでは3,000mg/kgで死亡はなかったものの、8,000mg/kgで2例中1例が死亡した。

経口、皮下および筋肉内投与では、ラットで粘液便あるいは軟便が認められた。皮下、筋肉内および静脈内投与では、ラットにおいて高濃度投与検体の刺激性に基づく二次的な変化、すなわち投与部位の脱毛、痂皮、硬結、腫脹、さらに筋肉内投与ではひきずり歩行、四肢のチアノーゼ、静脈内投与では尾の黒色化と脱落が認められた。剖検所見では、これらの経路で投与局所に炎症性的変化が認められ、組織学的には炎症性細胞浸潤、結合組織の増生、変性および壊死、出血、浮腫、線維化、潰瘍などが認められた。これらの変化は、マウスでは認められなかった。また、静脈内投与では、マウス、ラットともに腎臓に対する影響が認められた。マウスの死亡例では腎皮質の退色、腎乳頭の暗赤色調、皮髄界の黄白色斑がみられ、マウスの生存例では腎表

面の粗造化が、ラットの生存例では腎の退色が認められた。組織学的にはマウス、ラットともに尿細管上皮の変性、壊死、再生像、尿細管腔の拡張がみられ、マウスではさらに硝子円柱、間質の円形細胞浸潤および線維化も認められた。

イヌでは、死亡例の剖検で腎臓の肥大、脳室内における脳脊髄液の増加および心筋の退色が認められ、組織学的には肝細胞の空胞化、心筋の変性および壊死または心筋における動脈の変性がみられたが、腎に対しては本薬投与に由来する変化は認められなかった。生存例の症状として舌なめずり、嘔吐および心拍数の増加がみられたが、舌なめずり、嘔吐は投与後数時間以内に消失した。また、好中球、リンパ球の比率の変化、GPT、GOT、トリグリセリド、尿素窒素の増加および尿中 γ -GTPの増加ならびに遊離脂肪酸、尿中Na⁺の減少がみられたが、これらの変化は投与後の最終検査時には投与前の水準に回復していた。なお、投与後14日の血液生化学的検査でクレアチニンの減少、尿酸の増加が見られたが、病理組織学的には肝および腎に変化は認められなかった。

以上の結果から、静脈内投与におけるLD₅₀値あるいは致死量に種差が認められたが、何れの種においても急性毒性は弱かった。イヌにおける臨床検査値の変化は、軽度で可逆的であり、病理組織学的変化を伴ってはいなかった。

(本試験は1986年5月～1986年8月に実施した)

SINGLE ADMINISTRATION TOXICITY STUDIES OF CEFCLIDIN IN MICE, RATS AND DOGS

Kazuaki Ogura, Akiyoshi Suganuma, Hiroshi Yamanaka, Satoru Hosokawa,
Takehito Watanabe, Toyohiko Taki, Junichi Nakanowatari, Takashi Mikami

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

We carried out single administration toxicity studies with cefclidin (CFCL), a new injectable cephalosporin, in mice, rats and beagles, and obtained the following results.

1) The LD₅₀ values of CFCL were more than 10,000 mg/kg for mice and rats with oral and subcutaneous administration, and more than 5,000 mg/kg for both species with intramuscular injection. The LD₅₀ values in intravenous injection were more than 10,000 mg/kg for mice, 2,236 mg/kg for male rats, and 2,147 mg/kg for females. Two dogs given 3,000 mg/kg did not die but one of two treated with 8,000 mg/kg died on day 2 after intravenous injection.

2) Mucous or loose stool was observed after oral, subcutaneous and intramuscular administration in rats. Clonic convulsion was observed in one male after intramuscular administration in mice. Local injuries at injection sites such as alopecia or crust were observed in rats treated subcutaneously or intramuscularly. In intravenously treated groups, prone position and hypoactivity were observed in mice and rats. Additionally, mice showed cyanosis of limb, swelling of perirhinal portion or limbs and ptosis, and rats showed clonic convulsion. Licking and vomiting were toxic signs observed in surviving dogs.

3) Histopathologically, degeneration, necrosis and regeneration of tubular epithelium and dilatation of tubular lumen in kidneys were detected in the animals which received intravenous administration and showed abnormalities in kidneys in macroscopic examinations.