

## Biapenem のウサギおよびラットにおける急性腎毒性試験

増田達樹・原田 寧・高木英利  
日本レダリー株式会社生物研究所\*

新規のカルバペネム系抗生物質である biapenem(BIPM)の腎毒性試験をウサギおよびラットを用いて実施し、以下の結果を得た。

1. ウサギを用いて BIPM を単回 (125, 250 mg/kg) 静脈内投与したが、腎障害性は認められなかった。
2. ラットにフロセミドおよびグリセリンを併用し、BIPM 単回 (500, 1000 mg/kg) 静脈内投与したが、腎障害が誘発あるいは増強されることはなかった。
3. ゲンタマイシンによる腎障害モデルラットに BIPM 単回 (1000, 2000 mg/kg) 静脈内投与したが、腎障害を増強することはなかった。

以上の結果は他剤との比較において、CER より明らかに弱く、IPM/CS あるいは CEZ と同程度のものではなかった。

**Key words:** Biapenem, ウサギ, ラット, 腎毒性

Biapenem(BIPM)は日本レダリー株式会社で新規に合成されたカルバペネム系抗生物質であり、強い抗菌力と広域な抗菌スペクトルを有している。また、カルバペネム系抗生物質にみられる腎デヒドロペプチターゼによる不活性化や中枢神経に対する毒性も認められていない。今回、さらに抗生物質全般にみられる腎臓への影響をウサギおよびラットを用いて検討した。

腎毒性試験は以下の3種の試験を実施した<sup>1-5)</sup>。

- 1) ウサギを用いた BIPM 単回静脈内投与腎毒性試験
- 2) フロセミド・グリセリン併用による腎障害増強モデルラットを用いた BIPM 単回静脈内投与腎毒性試験
- 3) ゲンタマイシンによる腎障害モデルラットを用いた BIPM 単回静脈内投与腎毒性試験

### I. 実験材料

BIPMは日本レダリーで合成されたもの(Lot No. 020および021M)を用いた。

比較対照物質として imipenem/cilastatin(IPM/CS, 萬有製薬株式会社, Lot No. D081 および KD101K), cephaloridine(CER, 塩野義製薬株式会社, Lot No. BA03, BD01, BK01 および HP02), cefazolin(CEZ, 藤沢薬品工業株式会社, Lot No. 2A-4991 および 2A-4936)を使用した。

その他にフロセミド(和光純薬株式会社, Lot No. KPP7849), グリセリン(和光純薬株式会社, Lot No. ECR1519)およびゲンタマイシン(シェーリング・プラウ株式会社, ゲンタシン注, Lot No. L401A および K618M)を使用した。

### II. 試験方法

1. ウサギを用いた BIPM 単回静脈内投与腎毒性試験

#### 1) 使用動物および飼育条件

日本白色種ウサギ(SPF)の雌を北山ラベス株式会社より購入し、15匹(約2.5ヵ月齢、体重:2.33~2.55 kg)を使用した。

動物は検疫馴化および試験期間を通じ、室温 23 ± 1 °C、湿度 50 ± 5%、換気回数約 10 回以上/時、照明 1 日 12 時間(午前 7 時点灯、午後 7 時消灯)に設定されたバリアシステム動物室でアルミニウムケージ(360 × 550 × 350 mm)に個別に飼育した。放射線滅菌済み飼料(CR-1, 日本クレア株式会社)は 1 日当たり約 100 g を与え、水(水道水をろ過滅菌したもの)は自由摂取させた。

#### 2) 群構成、投与量および投与方法

試験デザインを Table 1 に示す。投与は耳介静脈より行った。

#### 3) 観察および試験項目

一般状態については試験期間中毎日観察し、体重は試験 0 日(投与日)、1 および 3 日に測定した。血液化学的検査のための採血は、試験開始前日、試験 1 および 3 日に無麻酔下で耳介静脈より行った。得られた血清を用いて以下に示す項目を測定した。

尿素窒素、トランスアミナーゼ、クレアチニン、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、カルシウム、無機リン [以上、セントリフィケムアンコールシステム、ペーカー社]、ナトリウムおよびカリウム [以上、コー

\*〒353 埼玉県志木市柏町 1-6-34

Table 1. Experimental design : Single intravenous renal toxicity study in female rabbits

Compound	Dose (mg/kg/day)	Dose Vol. (ml/kg)	Drug Conc. (mg/ml)	No. of Animals	Day of Sacrifice <sup>a)</sup>
saline	0	10	0	3	3
biapenem	125	5	25	3	3
biapenem	250	10	25	3	3
imipenem/cilastatin	250/250	15	16.7	3	3
cephaloridine	250	10	25	3	3

a) : The first dosing day was designated as day 0.

Table 2. Experimental design : Single intravenous renal toxicity study co-administered with furosemide and glycerin in rats

Compound	Dose (mg/kg)	Dose Vol. (ml/kg)	Drug Conc. (mg/ml)	Co-administration <sup>a)</sup>	No. of Animals	Day of Sacrifice <sup>b)</sup>
saline	0	40	0	-/+	5/5	1
biapenem	500	20	25	-/+	5/5	1
biapenem	1000	40	25	-/+	5/5	1
imipenem/cilastatin	500/500	20	25	-/+	5/5	1
imipenem/cilastatin	1000/1000	40	25	-/+	5/5	1
cefazolin	2000	40	50	-/+	5/5	1
cephaloridine	800	40	20	-/+	5/5	1

a) : - : No co-administration

+ : Administered subcutaneously with furosemide and glycerin

b) : The first dosing day was designated as day 0.

Table 3. Experimental design : Single intravenous renal toxicity study pre-administered with gentamicin

Group	Pretreatment	Compound	Dose (mg/kg)	Dose Vol. (ml/kg)	Drug Conc. (mg/ml)	No. of Animals	Day of Sacrifice <sup>a)</sup>
I	saline	saline	0	80	0	10	8
II	gentamicin	saline	0	80	0	10	8
III	gentamicin	biapenem	1000	40	25	10	8
IV	gentamicin	biapenem	2000	80	25	10	8
V	gentamicin	imipenem/cilastatin	1000/1000	40	25	10	8
VI	gentamicin	cefazoline	2000	40	25	10	8
VII	gentamicin	cephaloridine	1000	40	25	10	8

a) : The first pretreatment-dosing day was designated as day 0.

Group I : Saline was administered subcutaneously from day 0 to 6, and saline was administered intravenously on day 7.

Group II : Gentamicin was administered subcutaneously from day 0 to 6, and saline was administered intravenously on day 7.

Group III~VII : Gentamicin was administered subcutaneously from day 0 to 6, and biapenem, imipenem/cilastatin, cefazolin or cephaloridine was administered intravenously on day 7.

Table 4. Serum biochemistry data : Single intravenous renal toxicity study in female rabbits

Compound (mg/kg)	Animal No.	Study Day	AST U/l	ALT U/l	UN mg/dl	Cr mg/dl	Chol mg/dl	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Ca mg/dl	IP mg/dl	Na mmol/l	K mmol/l	Cl mmol/l
saline (0)	1	-1	14	29	20.7	0.89	49	4.25	3.45	4.31	13.6	5.1	141	4.6	100
		1	17	35	17.4	0.97	66	4.33	3.51	4.28	13.5	4.7	142	4.8	114
		3	37	67	22.5	1.12	63	4.49	3.49	3.49	13.4	5.1	140	4.4	103
	2	-1	24	29	18.5	0.81	51	4.81	3.78	3.67	12.9	5.7	143	4.5	110
		1	20	39	19.1	1.10	56	4.55	3.83	5.32	14.2	6.5	140	4.7	105
		3	63	62	16.9	0.91	57	4.42	3.42	3.42	13.0	5.2	141	4.7	111
	3	-1	16	24	20.1	0.95	42	4.50	3.73	4.84	13.7	5.1	142	4.4	104
		1	12	35	19.2	1.10	45	4.59	3.62	3.73	13.8	4.9	141	4.8	113
		3	13	26	22.7	1.09	46	4.70	3.59	3.23	13.5	5.2	143	4.1	109
biapenem (125)	4	-1	17	35	22.1	0.74	46	4.59	3.61	3.68	13.4	5.0	145	4.3	102
		1	11	51	13.6	1.05	51	4.69	3.60	3.30	13.2	6.8	141	3.6	106
		3	9	46	26.9	1.08	64	4.59	3.47	3.10	13.8	6.0	142	4.9	112
	5	-1	7	43	21.8	0.81	40	4.51	3.63	4.13	13.8	4.3	143	5.0	111
		1	18	47	12.2	0.89	49	4.73	3.65	3.38	13.3	6.2	141	3.7	114
		3	31	62	20.9	0.96	53	4.52	3.54	3.61	13.3	6.3	143	4.0	108
	6	-1	28	32	20.4	0.92	38	4.16	3.43	4.70	12.7	5.3	142	4.7	113
		1	11	32	15.7	1.22	52	4.73	3.52	2.91	12.7	6.6	142	4.5	120
		3	24	30	14.8	1.19	71	4.44	3.46	3.53	13.1	7.1	143	4.7	104
biapenem (250)	7	-1	19	18	20.4	0.91	60	4.67	3.80	4.37	14.4	4.6	144	5.1	110
		1	11	21	12.5	1.13	83	5.00	3.88	3.46	13.2	7.4	139	4.5	106
		3	15	26	19.0	1.14	92	4.51	3.54	3.65	13.2	5.6	143	4.2	111
	8	-1	19	43	18.9	0.85	39	4.65	3.70	3.89	13.1	4.9	144	4.3	109
		1	16	38	14.1	1.09	53	4.78	3.76	3.69	13.2	6.7	145	4.1	106
		3	18	26	18.7	0.94	56	4.71	3.59	3.21	13.0	5.9	142	4.1	107
	9	-1	19	33	21.3	0.76	52	4.79	3.87	4.21	14.1	5.6	143	4.9	104
		1	3	36	16.4	0.93	59	5.26	4.01	3.21	13.7	6.7	141	4.4	109
		3	10	29	22.9	0.97	58	4.74	3.66	3.39	13.5	6.4	142	4.7	101
imipenem/cilastatin (250/250)	10	-1	18	40	24.1	0.96	47	4.10	3.39	4.77	13.6	5.4	143	4.4	106
		1	11	47	16.2	1.08	61	4.31	3.35	3.49	12.8	6.5	142	4.2	113
		3	17	43	22.2	1.18	80	4.52	3.51	3.48	13.7	6.4	143	4.8	110
	11	-1	25	31	17.0	0.72	74	4.28	3.17	2.86	12.9	3.8	141	4.2	107
		1	21	37	13.3	0.76	93	5.02	3.50	2.30	13.2	5.1	141	4.4	105
		3	22	31	20.4	0.84	123	4.93	3.50	2.45	13.2	5.8	140	4.1	110
	12	-1	18	21	19.0	0.73	67	4.52	3.59	3.86	13.4	4.3	141	4.4	106
		1	11	31	16.3	1.08	89	4.85	3.70	3.22	13.1	5.8	140	4.4	105
		3	18	29	19.5	1.09	90	4.75	3.61	3.17	13.1	6.1	141	4.4	110
cephaloridine (250)	13	-1	18	36	18.6	0.84	45	4.64	3.85	4.87	13.6	5.8	145	4.8	108
		1	14	32	29.5	1.57	52	4.95	3.81	3.34	13.3	7.0	142	4.6	118
		3	31	42	66.1	3.03	93	4.41	3.37	3.24	13.2	5.9	142	4.5	110
	14	-1	22	31	21.3	1.03	65	4.22	3.42	4.28	13.6	5.0	143	5.5	116
		1	16	35	20.5	1.49	94	4.49	3.49	3.49	14.4	6.9	141	4.0	119
		3	39	37	51.5	2.83	155	4.40	3.24	2.79	13.7	6.2	141	5.0	110
	15	-1	14	42	26.0	0.89	47	4.69	3.70	3.74	14.0	4.8	143	4.5	108
		1	16	40	38.9	1.90	59	4.60	3.51	3.22	12.5	7.3	141	4.3	122
		3	29	27	100.4	4.72	103	4.47	3.26	2.69	11.8	10.0	140	4.4	112

AST : aspartate aminotransferase  
 TP : total protein  
 K : potassium  
 Alb : albumin  
 Cl : chlorine

ALT : alanine aminotransferase  
 A/G : albumin/globulin ratio

UN : urea nitrogen  
 Ca : calcium  
 IP : inorganic phosphorus

Cr : creatinine  
 Chol : total cholesterol  
 Na : sodium

ニング 455, コーニング社], 塩素 [コーニング 925, コーニング社]。なお, A/G比については総蛋白とアルブミンより算出した。

尿は解剖時に膀胱内より採取した。尿の半定量検査として pH, 蛋白, 糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血およびウロビリノーゲン [以上, N-マルティティックス SG, マイルス・三共株式会社]を測定した。尿沈渣は沈渣中の細胞成分および円柱を顕微鏡下で計数した。

解剖は投与日の3日後(試験3日)にペントバルビタール麻酔下で放血安楽死後, 全例について行った。腎臓についてのみ湿重量測定後, 中性リン酸緩衝 10% ホルマリン液で固定し, 常法に従いパラフィン切片とした後, ヘマトキシリン・エオジン染色ならびに PAS 染色を施した。

2. フロセミド・グリセリン併用による腎障害増強モデルラットを用いた BIPM 単回静脈内投与腎毒性試験

1) 使用動物および飼育条件

F344/DuCrj (Fischer) ラットの雄を, 日本チャールス・リバー株式会社より購入し, 70匹(6週齢, 体重: 109.5g~126.1g)を使用した。

動物は検疫馴化および試験期間を通じ, 室温 23 ± 1℃, 湿度 50 ± 5%, 換気回数約 10回以上/時, 照明 1日 12時間(午前7時点灯, 午後7時消灯)に設定されたバリアシステム動物室でステンレススチール製吊り式ケージに検疫馴化期間中は5匹ずつ(360 × 270 × 180 mm), 試験期間中は個別(180 × 270 × 180 mm)に飼育し

た。放射線滅菌済み飼料(CE-2, 日本クレア株式会社)および水(水道水をろ過滅菌したものは自由摂取させた)。

2) 腎障害増強方法

BIPMおよび対照物質投与の約30分前にフロセミド(50 mg/2 ml/kg)および50%グリセリン(2 ml/kg, 生理食塩液で希釈)を各々皮下投与した。

3) 群構成, 投与量および投与方法

試験デザインを Table 2 に示す。被験物質および対照物質の投与は尾静脈より行った。

4) 観察および試験項目

一般状態は試験期間中, 毎日観察した。体重は投与日と解剖時(投与日の翌日)に測定した。

飲水量および尿量は解剖日前日から解剖日までの16時間の量を測定した。採取時間中は絶食とし, 尿は氷冷下で採取し, 以下の尿検査および尿生化学的検査を実施した。尿検査は前記のウサギを用いた試験と同項目を同一方法で実験した。尿生化学的検査はアルカリ性ホスファターゼ, 乳酸脱水素酵素 [以上, セントリフィケムアンコールシステム, ベーカー社], NAG [NAG テストシオノギ, 塩野義製薬株式会社], ナトリウムおよびカリウムを測定した。

血液学的検査は解剖時にエーテル麻酔下で後大静脈より採取した血液について白血球数, 赤血球数, ヘマトクリット値, ヘモグロビン濃度および血小板数 [以上, コールターカウンター S8/80, コールターカウ

Table 5. Histological findings: Single intravenous renal toxicity study in female rabbits

Compound	saline			biapenem					imipenem/ cilastatin			cephaloridine			
	Dose (mg/kg)			125		250			250/250			250			
Animal Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Cystic dilatation of tubules with or without protein casts	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	—	—	2	3	3
Basophilic tubular epithelium	—	—	—	1	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
Vacuolar change of tubular epithelium	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hydropic change of tubular epithelium	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2
Necrosis of tubular epithelium with calcification	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	3
Formation of cysts in cortex	—	—	—	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—: Not remarkable 1: Slight 2: Mild 3: Moderate

ンター社]を測定した。

血液化学的検査は血液採取時に得た血清について以下の項目を測定した。

尿素窒素、トランスアミナーゼ、クレアチニン、総コレステロール、トリグリセリド、総蛋白、アルブミン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウムおよび

塩素。A/G比については総蛋白およびアルブミンより算出した。

病理学的検査は血液採取後、全例を剖検し、腎臓について湿重量測定後、中性リン酸緩衝10%ホルマリン液で固定し、常法に従い、パラフィン切片とした後、ヘマトキシリン・エオジン染色およびPAS染色を施した。

Table 6-1. Water intake and urine volume (No co-administration): Single intravenous renal toxicity study co-administered with furosemide and glycerin in rats

Compound (mg/kg)	Water Intake (ml/16 h)	Urine Volume (ml/16 h)
saline (0)	6.1 ± 3.37	5.3 ± 2.83
biapenem (500)	3.2 ± 1.87	1.7 ± 1.28 <sup>#</sup>
biapenem (1000)	5.1 ± 3.13	4.1 ± 2.42
imipenem/cilastatin (500/500)	5.1 ± 1.30	2.1 ± 0.60
imipenem/cilastatin (1000/1000)	5.9 ± 1.32	2.0 ± 0.61
cefazolin (2000)	6.7 ± 2.62	3.9 ± 2.31
cephaloridine (800)	6.4 ± 1.42	5.3 ± 1.49

Measured for about 16 hours (17:00~9:00) on days 0~1 with food deprivation.

Each value represents the mean ± standard deviation of 5 rats.

Statistical comparison in each case is with [saline] control group.

# : p ≤ 0.05

Table 6-2. Water intake and urine volume (Administered subcutaneously with furosemide and glycerin): Single intravenous renal toxicity study co-administered with furosemide and glycerin in rats

Compound + F + G (mg/kg)	Water Intake (ml/16 h)	Urine Volume (ml/16 h)
saline + F + G (0)	9.5 ± 5.75	5.4 ± 2.34
biapenem + F + G (500)	11.8 ± 2.94 <sup>#</sup>	9.7 ± 2.00 <sup>#*</sup>
biapenem + F + G (1000)	11.3 ± 3.12 <sup>#</sup>	9.0 ± 3.14
imipenem/cilastatin + F + G (500/500)	13.2 ± 5.47 <sup>#</sup>	6.3 ± 2.13
imipenem/cilastatin + F + G (1000/1000)	14.2 ± 3.16 <sup>#*</sup>	7.4 ± 2.88
cefazolin + F + G (2000)	11.2 ± 6.11	6.2 ± 3.32
cephaloridine + F + G (800)	23.5 ± 6.42 <sup>**#</sup>	17.9 ± 4.80 <sup>**#</sup>

Measured for about 16 hours (17:00~9:00) on days 0~1 with food deprivation.

Each value represents the mean ± standard deviation of 5 rats.

\*. \*\* (#, ##): Statistical comparison in each case is with [saline + F + G]([saline]) control group.

\* (#): p ≤ 0.05, \*\* (##): p ≤ 0.01

Table 7-1. Urine biochemistry data (No co-administration):  
Single intravenous renal toxicity study co-administered with furosemide and glycerin in rats

Compound (mg/kg)	LDH mU/16 hr	AIP mU/16 hr	NAG mU/16 hr	Na $\mu$ mol/16 hr	K $\mu$ mol/16 hr	Cl $\mu$ mol/16 hr
saline (0)	121 ± 23.9	573 ± 275.2	35 ± 5.5	323 ± 109.3	453 ± 107.9	245 ± 70.0
biapenem (500)	47 ± 34.2 <sup>#</sup>	183 ± 101.3 <sup>#</sup>	15 ± 7.1 <sup>##</sup>	78 ± 51.2 <sup>##</sup>	287 ± 96.1 <sup>#</sup>	157 ± 77.7
biapenem (1000)	98 ± 39.6	526 ± 385.4	28 ± 8.3	270 ± 71.4	476 ± 82.9	314 ± 54.1
imipenem/cilastatin (500/500)	56 ± 23.3 <sup>##</sup>	281 ± 106.7	21 ± 6.9 <sup>##</sup>	114 ± 33.6 <sup>##</sup>	394 ± 54.5	180 ± 40.2
imipenem/cilastatin (1000/1000)	62 ± 16.2 <sup>##</sup>	425 ± 201.6	26 ± 9.6	188 ± 46.9 <sup>#</sup>	412 ± 113.7	290 ± 68.1
cefazolin (2000)	93 ± 42.8	588 ± 437.4	23 ± 11.6	212 ± 103.2	403 ± 137.3	221 ± 79.9
cephaloridine (800)	269 ± 158.8	842 ± 524.5	36 ± 27.5	421 ± 98.1	539 ± 86.5	444 ± 90.6 <sup>##</sup>

LDH : lactate dehydrogenase AIP : alkaline phosphatase

NAG :  $\beta$ -N-acetyl-D-glucosaminidase Na : sodium K : potassium Cl : chlorine

Measured for about 16 hours (17:00~9:00) on days 0~1 with food deprivation.

Each value represents the mean  $\pm$  standard deviation of 5 rats.

#, ## : Statistical comparison in each case is with [saline] control group.

# :  $p \leq 0.05$ , ## :  $p \leq 0.01$

Table 7-2. Urine biochemistry data Administered subcutaneously with furosemide and glycerin :  
Single intravenous renal toxicity study co-administered with furosemide and glycerin in rats

Compound + F + G (mg/kg)	LDH mU/16 hr	AIP mU/16 hr	NAG mU/16 hr	Na $\mu$ mol/16 hr	K $\mu$ mol/16 hr	Cl $\mu$ mol/16 hr
saline + F + G (0)	124 ± 51.5	1086 ± 814.7	44 ± 10.7	109 ± 40.1 <sup>##</sup>	563 ± 77.8	4 ± 8.1 <sup>##</sup>
biapenem + F + G (500)	198 ± 71.1	1020 ± 517.0	53 ± 13.6 <sup>#</sup>	88 ± 24.3 <sup>##</sup>	659 ± 60.1 <sup>##</sup>	26 ± 58.1 <sup>##</sup>
biapenem + F + G (1000)	125 ± 35.5	469 ± 42.1	43 ± 7.0	128 ± 82.3 <sup>#</sup>	597 ± 44.5 <sup>#</sup>	14 ± 32.2 <sup>##</sup>
imipenem/cilastatin + F + G (500/500)	132 ± 33.6	694 ± 609.2	47 ± 13.3	50 ± 14.0 <sup>##</sup>	545 ± 78.0	20 ± 31.5 <sup>##</sup>
imipenem/cilastatin + F + G (1000/1000)	144 ± 31.4	656 ± 452.8	46 ± 10.1	74 ± 75.4 <sup>##</sup>	542 ± 72.4	63 ± 97.1 <sup>##</sup>
cefazolin + F + G (2000)	164 ± 14.7 <sup>##</sup>	379 ± 81.4	41 ± 6.0	166 ± 47.9 <sup>#</sup>	672 ± 227.0	0 ± 0.0 <sup>##</sup>
cephaloridine + F + G (800)	609 ± 185.6 <sup>###</sup>	956 ± 176.9 <sup>#</sup>	47 ± 4.0 <sup>##</sup>	155 ± 103.0 <sup>#</sup>	750 ± 105.3 <sup>##</sup>	39 ± 87.2 <sup>##</sup>

LDH : lactate dehydrogenase AIP : alkaline phosphatase

NAG :  $\beta$ -N-acetyl-D-glucosaminidase Na : sodium K : potassium Cl : chlorine

Measured for about 16 hours (17:00~9:00) on days 0~1 with food deprivation.

Each value represents the mean  $\pm$  standard deviation of 5 rats.

\* ## (#, ##) : Statistical comparison in each case is with [saline + F + G]([saline]) control group.

# (#) :  $p \leq 0.05$ , \*\* (##) :  $p \leq 0.01$



## 3) 飲水量および尿量 (Table 6-1, 6-2)

フロセミド・グリセリン併用群において溶媒対照群に対して、CER 投与群で飲水量および尿量が、BIPM の 500 mg/kg 投与群で尿量が各々増加した。

## 4) 尿検査

いずれの投与群においても腎障害を示唆する変化は

認められなかった。

## 5) 尿生化学的検査 (Table 7-1, 7-2)

フロセミドによりナトリウムおよびカリウムが投与後、一過性に排泄されることが知られているが、本試験ではナトリウムおよびカリウムが排泄された後に採尿したため、結果的にフロセミド投与動物の尿中ナト

Table 9. Urinalysis: Single intravenous renal toxicity study pre-administered with gentamicin

Compound		saline	gentamicin + saline	gentamicin + biapenem		gentamicin + imipenem/ cilastatin	gentamicin + cefazolin	gentamicin + cephaloridine
		Dose (mg/kg)	0	1000	2000	1000/1000	2000	1000
	No. of animals	9*	10	10	10	9	10	10
pH	5.0	0	0	0	0	0	0	0
	5.5	0	0	0	0	1	0	0
	6.0	5	0	2	2	5	3	3
	6.5	3	5	7	7	1	6	6
	7.0	1	5	1	1	2	1	1
	7.5	0	0	0	0	0	0	0
	8.0	0	0	0	0	0	0	0
	8.5	0	0	0	0	0	0	0
	≥ 9.0	0	0	0	0	0	0	0
Protein (mg/dl)	Negative	0	0	0	0	0	0	0
	Trace	3	0	0	0	0	0	0
	30	6	4	2	3	2	0	0
	100	0	6	7	7	4	7	0
	300	0	0	1	0	2	2	5
	≥ 2000	0	0	0	0	1	1	5
Glucose (g/dl)	Negative	9	10	10	10	8	10	9
	0.1	0	0	0	0	0	0	1
	0.25	0	0	0	0	1	0	0
	0.5	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0	0	0	0	0	0	0
	≥ 2.0	0	0	0	0	0	0	0
Ketone (mg/dl)	Negative	3	2	0	0	0	0	0
	5	6	8	10	7	8	6	9
	15	0	0	0	3	1	4	1
	40	0	0	0	0	0	0	0
	80	0	0	0	0	0	0	0
	≥ 160	0	0	0	0	0	0	0
Bilirubin	Negative	9	10	10	10	6	10	10
	Small	0	0	0	0	3	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0
	Large	0	0	0	0	0	0	0
Occult blood	Negative	9	5	7	6	1	4	1
	Trace	0	2	2	2	3	3	0
	Small	0	3	1	2	5	2	9
	Moderate	0	0	0	0	0	1	0
	Large	0	0	0	0	0	0	0
Urobilinogen (EU/dl)	0.1	9	10	10	10	0	10	10
	1	0	0	0	0	6	0	0
	2	0	0	0	0	2	0	0
	4	0	0	0	0	1	0	0
	8	0	0	0	0	0	0	0
	≥ 12	0	0	0	0	0	0	0

\* One sample was not determined, because of a contamination of water from the drinking bottle.



リウムおよびカリウムの排泄量は低下した。

CER投与群でフロセミド・グリセリン併用により、乳酸脱水素酵素の総排泄量が増加した以外には腎障害を示唆する変化は認められなかった。

#### 6) 血液学的検査

赤血球パラメーターの増加をみる変化が散見されたが、いずれも正常範囲内の変化であり、腎障害等を示唆する変化は認められなかった。

#### 7) 血液化学的検査

フロセミド・グリセリン併用時のCER投与群で尿素窒素およびクレアチニンの上昇がみられた他には腎障害を示唆する変化は認められなかった。

#### 8) 病理学的検査 (Table 8)

BIPMの1000 mg/kg群およびCERの薬物単独投与群で腎重量の増加が認められたが、フロセミド・グリセリン併用との比較では増加はなかった。組織学的検査ではCERにおいて薬物単独投与時にみられた近位尿細管の好酸性変化、水腫様変化および壊死変化のうちフロセミド・グリセリン併用により近位尿細管の好酸性変化発生頻度の増加がみられ、さらに腎皮質と髄質の境界部に石灰沈着が認められた。IPM/CSの1000/1000 mg/kg投与群とCEZ投与群においては薬物単独では異常は見られなかったが、フロセミド・グリセリン併用により近位尿細管の水腫様変化が認められた。

#### 3. ゲンタマイシンによる腎障害モデルラットを用い

た単回静脈内投与腎毒性試験

#### 1) 一般状態観察

IPM/CS投与群で試験7日(薬物投与当日)に死亡が1例みられた以外に異常所見は認められなかった。

#### 2) 体重

ゲンタマイシン投与によると思われる低下がみられたが、被験物質あるいは対照物質投与に起因する変化は認められなかった。

#### 3) 飲水量および尿量

腎障害動物においてIPM/CS投与群を除く全ての薬物投与群で飲水量および尿量の増加が認められた。

#### 4) 尿検査 (Table 9)

腎障害動物で蛋白排泄および潜血反応が認められ、IPM/CS、CEZおよびCERで蛋白排泄が、IPM/CSおよびCERで潜血反応が各々増強された。

#### 5) 尿生化学的検査 (Table 10)

腎障害動物において乳酸脱水素酵素、NAGおよびアルカリ性ホスファターゼの排泄が増加し、CER投与によりこれらの変化は増強された。

#### 6) 血液学的検査

腎障害を示唆する変化は認められなかった。

#### 7) 血液化学的検査 (Table 11)

腎障害動物で尿素窒素の増加がみられ、CERにより増強された。また、腎障害動物のCEZおよびCER投与群では新たにクレアチニンの上昇がみられ、この変化

Table 10. Urine biochemistry data : Single intravenous renal toxicity study pre-administered with gentamicin

Compound (mg/kg)	LDH (mU/16h)	AIP (mU/16h)	AcP (mU/16h)	NAG (mU/16h)	Na ( $\mu$ mol/16h)	K ( $\mu$ mol/16h)	Cl ( $\mu$ mol/16h)
saline (0)	143 $\pm$ 34**	710 $\pm$ 289**	45 $\pm$ 20	48 $\pm$ 17**	460 $\pm$ 99	674 $\pm$ 101	382 $\pm$ 95
gentamicin + (0) saline	1824 $\pm$ 982##	1188 $\pm$ 326##	51 $\pm$ 20	521 $\pm$ 268##	552 $\pm$ 112	616 $\pm$ 72	360 $\pm$ 139
gentamicin + (1000) biapenem	2097 $\pm$ 1045##	1057 $\pm$ 371#	57 $\pm$ 15	532 $\pm$ 283##	805 $\pm$ 179***	692 $\pm$ 117	579 $\pm$ 134***
(2000)	1808 $\pm$ 1388##	828 $\pm$ 226*	63 $\pm$ 15*	547 $\pm$ 471##	596 $\pm$ 106##	683 $\pm$ 95	416 $\pm$ 79
gentamicin + (1000/1000) imipenem/ cilastatin	1857 $\pm$ 1011##	841 $\pm$ 201	92 $\pm$ 19***	455 $\pm$ 207##	366 $\pm$ 115**	650 $\pm$ 102	222 $\pm$ 72##
gentamicin + (2000) cefazolin	1821 $\pm$ 731##	1006 $\pm$ 194#	67 $\pm$ 28	541 $\pm$ 240##	609 $\pm$ 96##	658 $\pm$ 112	359 $\pm$ 80
gentamicin + (1000) cephaloridine	5596 $\pm$ 1667***	1546 $\pm$ 412***	86 $\pm$ 8***	2515 $\pm$ 924***	437 $\pm$ 87*	731 $\pm$ 115*	279 $\pm$ 59##

LDH : lactate dehydrogenase AIP : alkaline phosphatase AcP : acid phosphatase  
NAG :  $\beta$ -N-acetyl-D-glucosaminidase Na : sodium K : potassium Cl : chlorine  
Examination was performed on 16 hours pooled urine.

Each value represents the mean  $\pm$  standard deviation of 10 or 9 (gentamicin+imipenem/cilastatin group) rats.  
\* \*\* (# ##) : The statistical comparison in each case is with [gentamicin+saline] (or [saline]) control group.  
\* (#) : p  $\leq$  0.05, \*\* (##) : p  $\leq$  0.01

は CER で顕著であった。

#### 8) 病理学的検査 (Table 12)

腎障害動物で腎重量の増加、腎表面および剖面の白色化、尿管上皮細胞の水腫様変性、壊死などがみられ、これらの変化は CER により増強されたが、他の薬物では溶媒対照群との明らかな差異は認められなかった。

### IV. 考 察

抗生物質の副作用の一つとして腎障害性が知られているが、BIPM においては各種動物を用いた長期投与による一般毒性試験では明らかな腎障害を示唆する変化は認められていない。そこで今回、さらに BIPM の腎に

対する急性毒性を明らかにするため腎毒性試験を実施した。

ウサギについては実験動物のうち、特に腎障害を受けやすい動物として知られていることから選択した<sup>1,3)</sup>。また、ラットを用いて CER 等の抗生物質の腎障害を惹起することが知られているフロセミドとの併用試験(本試験では、さらに腎障害を増強すべくグリセリンも同時に併用した<sup>2,4)</sup>)およびアミノグリコシド系抗生物質であるゲンタマイシンにより、腎障害をおこした動物を用いた腎障害の増強作用<sup>5)</sup>について各々検討した。

#### 1) ウサギを用いた単回静脈内投与腎毒性試験

日本白色種ウサギの雌に BIPM の 125 および 250 mg/kg,

Table 11-1. Serum biochemistry data :  
Single intravenous renal toxicity study pre-administered with gentamicin

Compound (mg/kg)	AST (U/l)	ALT (U/l)	AIP (U/l)	Glc (mg/dl)	UN (mg/dl)	Cr (mg/dl)
saline (0)	60.3±5.1**	26.3±3.7	294.9±16.1*	170.6±33.5	17.9±1.8**	0.67±0.05
gentamicin + saline (0)	73.0±11.3	27.3±4.5	262.5±37.5#	173.5±21.4	26.4±6.1##	0.67±0.12
gentamicin + biapenem (1000)	79.8±9.7##	35.5±3.6***	301.2±31.5*	152.9±21.7*	21.6±4.3#	0.62±0.09
(2000)	80.1±12.0##	31.1±3.8#	278.6±24.1	172.9±22.2	25.3±5.0##	0.55±0.08**
gentamicin + imipenem/cilastatin (1000/1000)	90.2±23.0##	21.7±3.1***	290.1±23.1	178.3±37.4	26.4±9.0##	0.64±0.16
gentamicin + cefazolin (2000)	88.9±9.2***	10.9±2.7***	310.8±26.3**	184.9±20.3	25.5±9.8#	0.74±0.09#
gentamicin + cephaloridine (1000)	100.7±17.5***	29.7±4.5	308.0±33.9*	152.0±25.0	62.8±9.8***	1.30±0.17***

AST : aspartate aminotransferase ALT : alanine aminotransferase AIP : alkaline phosphatase

Glc : glucose UN : urea nitrogen Cr : creatinine

Each value represents the mean ± standard deviation of 10 or 9 (gentamicin + imipenem/cilastatin group) rats.

\*, \*\* (#, ##) : The statistical comparison in each case is with [gentamicin + saline] (or [saline]) control group.

\* (#) : p ≤ 0.05, \*\* (##) : p ≤ 0.01

Table 11-2. Serum biochemistry data :  
Single intravenous renal toxicity study pre-administered with gentamicin

Compound (mg/kg)	Chol (mg/dl)	TG (mg/dl)	TP (g/dl)	Alb (g/dl)	A/G
saline (0)	49.3±3.8	29.1±11.2	5.77±0.20**	3.53±0.12*	1.58±0.03*
gentamicin + saline (0)	50.7±5.6	26.2±4.0	5.36±0.35##	3.32±0.22#	1.62±0.05#
gentamicin + biapenem (1000)	62.0±7.6***	34.9±7.5**	5.65±0.39	3.34±0.22#	1.45±0.04***
(2000)	54.5±5.5	31.6±4.7*	5.38±0.30##	3.22±0.21##	1.50±0.10**
gentamicin + imipenem/cilastatin (1000/1000)	52.2±7.1	28.3±7.6	5.31±0.40##	3.39±0.22	1.83±0.44
gentamicin + cefazoline (2000)	50.8±4.6	35.9±6.7**	5.58±0.15#	3.57±0.14**	1.78±0.11***
gentamicin + cephaloridine (1000)	55.9±12.4	36.4±7.8**	5.50±0.15##	3.45±0.20	1.69±0.21

Chol : total cholesterol TG : triglyceride TP : total protein Alb : albumin A/G : albumin/globulin ratio

Each value represents the mean ± standard deviation of 10 or 9 (gentamicin + imipenem/cilastatin group) rats.

\*, \*\* (#, ##) : The statistical comparison in each case is with [gentamicin + saline] (or [saline]) control group.

\* (#) : p ≤ 0.05, \*\* (##) : p ≤ 0.01

Table 11-3. Serum biochemistry data :  
Single intravenous renal toxicity study pre-administered with gentamicin

Compound (mg/kg)	Ca (mg/dl)	IP (mg/dl)	Na (mmol/l)	K (mmol/l)	Cl (mmol/l)
saline (0)	10.78 ± 0.58	12.0 ± 0.8**	143.0 ± 0.9*	6.1 ± 0.7**	101.3 ± 1.2**
gentamicin + saline (0)	10.90 ± 0.86	9.5 ± 1.0**	140.2 ± 3.1#	5.1 ± 0.8**	103.9 ± 1.7**
gentamicin + biapenem (1000)	11.24 ± 0.83	9.7 ± 1.6**	139.2 ± 1.1**	5.3 ± 0.8#	102.7 ± 1.6#
	(2000)	10.43 ± 0.90	9.0 ± 1.4**	138.7 ± 1.3**	4.9 ± 0.7**
gentamicin + imipenem/cilastatin (1000/1000)	11.09 ± 0.73	9.5 ± 1.4**	142.4 ± 1.8	4.7 ± 0.6**	102.8 ± 3.0
gentamicin + cefazolin (2000)	11.38 ± 0.46#	11.4 ± 2.3*	144.0 ± 1.0**#	6.8 ± 2.1*	103.0 ± 3.0
gentamicin + cephaloridine (1000)	11.90 ± 0.59**#	11.8 ± 0.9**	141.7 ± 1.1**	5.5 ± 0.7	105.4 ± 0.7**#

Ca : calcium IP : inorganic phosphorus Na : sodium K : potassium Cl : chlorine  
Each value represents the mean ± standard deviation of 10 or 9 (gentamicin + imipenem/cilastatin group) rats.  
\*,\*\* (#,##) : The statistical comparison in each case is with [gentamicin + saline] (or [saline]) control group.  
\* (#) :  $p \leq 0.05$ , \*\* (#,##) :  $p \leq 0.01$

比較対照として IPM/CS の 250/250 mg/kg, 陽性対照として CER の 250 mg/kg を単回静脈内投与し, 腎毒性を検討した。

CER においては尿沈渣(硝子, 上皮および顆粒円柱の出現), 血液化学的検査(クレアチニンおよび尿素窒素の上昇), 腎重量の増加, 剖検(腎表面および割面の淡褐色化)および組織学的検査(中等度の皮質尿細管上皮の変性・壊死, 尿細管の拡張)で明らかな腎障害性がみられたのに対し, BIPM および IPM/CS では薬物関連の変化は認められず, 腎毒性は CER に比べ弱いものと考えられた。

2) フロセミド・グリセリン併用による腎障害増強モデルラットを用いた単回静脈内投与腎毒性試験

フロセミド (50 mg/kg) および 50% グリセリン (2ml/kg) を前投与した後, BIPM (500, 1000 mg/kg), IPM/CS (500/500, 1000/1000 mg/kg), CEZ (2000 mg/kg) および CER (800 mg/kg) を単回静脈内投与し, 腎障害を増強するか否かを検討した。

フロセミド・グリセリン投与により, 多尿, 血尿, 飲水量の増加, 尿の酸性化, ナトリウムおよびカリウムの尿中排泄量の低下, 血清中のナトリウムおよび塩素の低下等変化がみられたが, いずれも薬理作用に起因するものであり, 腎障害を示唆する変化はなかった。この条件下において CER では, さらに飲水量および尿量の増加, 尿中乳酸脱水素酵素の排泄量の増加, 近位尿細管の好酸性変化の発生頻度の増加, 腎皮質と髄質の境界部に石炭沈着など腎障害性が観察され, 薬物単独投与時に比べ, 増強作用があることが確認された。一方, BIPM, IPM/CS および CEZ については, IPM/CS の

1000/1000 mg/kg 投与群と CEZ 投与群で軽度の近位尿細管の水腫様変性がフロセミド・グリセリン併用により, 新たに発現してたのみであった。このことから, BIPM のフロセミド・グリセリン併用時における腎毒性の発現は IPM/CS あるいは CEZ と比較した場合, 同等あるいはそれ以下であり, 極めて弱いものと考えられた。

3) ゲンタマイシンによる腎障害モデルラットを用いた単回静脈内投与腎毒性試験

ゲンタマイシンの前投与により, 尿中蛋白の増加, 尿沈渣中の尿細管上皮細胞の増加, 尿生化学的検査での乳酸脱水素酵素および NAG の増加, 血液化学的検査での尿素窒素およびクレアチニンの増加, 病理組織学的検査での尿細管上皮細胞の変性および壊死が認められ, 本試験系において必要十分なモデルが作製されたものと考えられた。また, 陽性対照である CER 投与群で上記変化が著しく増強された。BIPM, IPM/CS および CEZ では, 腎障害を示唆する試験項目においては溶媒対照群との差異は認められなかった。一方, トランスアミナーゼ, トリグリセリド, A/G 比, 尿中ビリルビンおよびウロビリノーゲンなど変化が認められたものについては腎障害に関連するものとは考えられなかった。

以上の結果から BIPM の腎毒性はウサギを用いた試験により, 薬物そのものにおける毒性は弱く, フロセミド・グリセリン併用により腎障害が増強されやすい状況下においても腎障害は認められず, さらにゲンタマイシンによる腎障害モデルを用いた場合にも腎障害を増強させることはなかった。また, 対照物質である IPM/CS や CEZ と比較した場合, BIPM の腎毒性は両薬

Table 12. Histological findings : Single intravenous renal toxicity study pre-administered with gentamicin

Compound	saline	gentamicin + saline	gentamicin + biapenem		gentamicin + imipenem/ cilastatin 1000/1000	gentamicin + cefazolin 2000	gentamicin + cephaloridine 1000
			1000	2000			
Dose (mg/kg)	0	0	1000	2000	1000/1000	2000	1000
No. of Animals	10	10	10	10	9	10	10
No. of deaths	0	0	0	0	1	0	0
Tubular epithelial cells :							
Hydropic changes							
—	10	0	0	0	0	0	0
±	0	1	0	0	2	0	0
+	0	6	8	2	5	9	1
⦿	0	3	2	8	3	1	9
⦿	0	0	0	0	0	0	0
Hyaline droplets, PAS positive							
—	10	9	9	9	7	8	4
±	0	1	1	1	2	1	6
+	0	0	0	0	1	1	0
⦿	0	0	0	0	0	0	0
⦿	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis							
—	10	0	0	0	0	0	0
±	0	5	7	7	5	3	0
+	0	5	2	3	3	7	2
⦿	0	0	1	0	2	0	6
⦿	0	0	0	0	0	0	2
Basophilic changes							
—	10	1	1	2	2	0	0
±	0	7	7	7	5	9	7
+	0	2	2	1	3	0	3
⦿	0	0	0	0	0	1	0
⦿	0	0	0	0	0	0	0
Proteinaceous casts							
—	10	8	8	8	8	8	0
±	0	2	2	2	2	2	8
+	0	0	0	0	0	0	2
⦿	0	0	0	0	0	0	0
⦿	0	0	0	0	0	0	0
Dilatation of tubules							
—	10	10	10	9	8	10	1
±	0	0	0	1	2	0	9
+	0	0	0	0	0	0	0
⦿	0	0	0	0	0	0	0
⦿	0	0	0	0	0	0	0

— : not remarkable    ± : Slight    + : Mild    ⦿ : Moderate    ⦿ : Severe/Extensive

同等もしくは、より弱いものと考えられ、安全性の高い薬物であると判断された。

#### 文 献

- 1) 上田 泰, 斎藤 篤, 内浦玉堂: 抗生剤の腎障害性について。月間薬事 17: 1867~1871, 1975
- 2) Lawson D H, Macadam R F, Singh H, Gavras H, Hartz S D, Turnbull D and Linton A L: Effect of furosemide on antibiotic induced renal damage in rats. J. Infect. Dis. 126: 593~600, 1972
- 3) Linton A L, Bailey R R and Turnbull D T : Relative nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics in an animal

model. Can. Med. Assoc. J. 107: 414~416, 1972

- 4) 田村 稔, 佐藤憲雄, 小田早苗, 宮本晴美, 戸門洋志, 松本道男, 白井俊一: Ceftazidimeの安全性に関する研究(XI)腎障害性の他剤との比較並びに furosemide および glycerol 併用による増強効果。Chemotherapy 31: 997~1015, 1983
- 5) 森岡 浩, 小林孝好, 林 昌亮: ラットに Cefotaxime と Gentamicin あるいは Furosemide とを 28 日間連続同時併用したときの腎臓への影響。応用薬理 21(1): 161~177, 1981

## Acute nephrotoxicity studies of biapenem in rabbits or rats

Tatsuki Masuda, Yasushi Harada and Hidetoshi Takagi

Biological Research Laboratories, Lederle (Japan), Ltd.

1 - 6 - 34, Kashiwa - cho, Shiki, Saitama 353, Japan

The present studies were conducted to evaluate the potential nephrotoxicities of biapenem(BIPM), a new carbapenem antibiotic, when intravenously administered to normal rabbits or nephropathy rats.

The results obtained are summarized as follows:

1. Single dose nephrotoxicity study in rabbits: Remarkable nephrotoxic changes were observed in all of the rabbits given CER, but no remarkable changes in the kidney were observed in all of the animals given BIPM or IPM/CS.
2. Single intravenous renal toxicity studies of BIPM co - administered with furosemide and glycerin in rats: The renal toxicity was enhanced by co - administration of CER. On the other hand, BIPM and the other reference compounds showed no modulating effects on the renal toxicity in these test systems.
3. Single dose nephrotoxicity study in experimental nephropathy rats: Animals in the vehicle control group preadministered with gentamicin showed moderate changes in the functional indices. In the CER group, changes of the parameter mentioned were severer than those in the vehicle control group, and it was indicated that CER might have nephrotoxic potential in this nephropathy model. On the other hand, BIPM and the other reference compounds showed no drug related nephrotic potential effects in the nephropathy rats to be compared with the animals in the vehicle control group.