

原 著

ツベラクチノマイシン-N およびバイオマイシン投与
によるラット腎の変化について

長谷川 大四郎・桜 田 豊 三

東洋醸造株式会社第2研究部

山作 房之輔・和 田 十 次・武 田 元

新潟大学医学部第2内科教室

受付 昭和 49 年 1 月 16 日

TOXICOLOGICAL STUDIES OF TUBERACTINOMYCIN-N
ON RAT KIDNEY*Daishiro HASEGAWA, Toyozo SAKURADA, Fusanosuke YAMASAKU,
Juji WADA and Hajimu TAKEDA

(Received for publication January 16, 1974)

Tuberactinomycin-N (TUM-N) is a new antituberculous antibiotic from the fermentation broth of *Streptomyces griseovorticillatus* var. *tuberacticus* N6-130 which was discovered in 1971. Chemically, TUM-N belongs to the group of basic peptide antibiotics, and some close relation in its chemical structure with viomycin (VM) and capreomycin is suggested.

From the results of the chronic toxicity of TUM-N to rats, it is suggested that TUM-N shows a disorder to rat kidney. In this report, the effect of TUM-N injected for 2 weeks on rat kidney comparing with the effect of VM was presented.

Male rats of Wistar-Imamichi strain were used, and TUM-N or VM was dissolved in water and injected intramuscularly for 2 weeks. Animals were housed to 7 groups under the daily dose: control, TUM-N 200 mg/kg, TUM-N 400 mg/kg, TUM-N 500 mg/kg, VM 200 mg/kg, VM 400 mg/kg and VM 500 mg/kg.

Any abnormal behavior was not observed in all groups during whole period of experiment.

One animal in the group of TUM-N 500 mg/kg, and all six animals in the groups of VM 400 mg/kg and of VM 500 mg/kg died.

Body weight changes were shown in Fig. 1. These changes correlated with the food uptake shown in Fig. 2.

The significant increase of serum glucose and BUN was observed in the group of VM 200 mg/kg (Table 1). The value of PSP test after the 2 week injection, was not statistically significant from the value just before the drug injection. (Table 2)

The weight of kidneys in drug injected groups was larger than that of the control group. (Table 3)

On the gross pathological inspection, enlarged kidneys in the group of TUM-N 400 mg/kg were observed, and enlarged, yellowish and lusterless kidneys were found in the group of TUM-N 500 mg/kg. In the group of VM 200 mg/kg the changes similar to those of the group of

* From Toyo Jozo Research Laboratories, Ohito, Shizuoka 410-23 Japan.

TUM-N 500 mg/kg were observed. (Color photos 1 and 2).

On the histopathological observation, swelling, hyaline degeneration, atrophy and edematous swelling of tubular epithelium were found, and the higher the dosage of drug was given, the more extensive change of kidneys was found histopathologically. In the group of TUM-N 500 mg/kg the proliferation of mesenchymal connective tissue and cell infiltration was observed.

Summarizing this report, the intramuscular injection of 200 mg/kg of TUM-N into rat for 2 weeks does not cause a disorder of kidney on the biochemical, gross pathological and histopathological observation, while 400 mg/kg of TUM-N, 500 mg/kg of TUM-N and 200 mg/kg of VM cause the renal disorder to a certain degree. It is suggested that the degree of renal disorder in the group of 200 mg/kg VM may be equal to that of 400~500 mg/kg of TUM-N. Therefore, side effect of TUM-N on kidney is weaker than VM.

ツペラクチノマイシン-N (TUM-N) のラットによる長期間毒性試験¹⁾の結果, TUM-N は腎に対して障害を及ぼす可能性が考えられたので, 2週間連続投与により, バイオマイシン (VM) と対比しながら, ラット腎に対する影響を検討した。

1. 実験方法

(1) 使用薬剤

TUM-N: TUM-N 硫酸塩 (ロット TN 18)

VM: 注射用硫酸バイオマイシン(三共製ロット952)

(2) 使用動物

体重 80g 前後のウイスター・イマミチ系ラット雄を子備飼育後, 1群6匹とし TUM-N 投与群, VM 投与群とも4群に分け, それぞれ 200, 400, 500 mg/kg 投与群および対照群とした。

(3) 投与方法

TUM-N, VM ともに注射用蒸留水に 200 mg/ml の

割合に溶解し, 200, 400, 500 mg/kg の割に1日1回後肢筋肉に注射し, 2週間継続した。対照群は生理食塩液を 2.5 ml/kg の割に同様に注射した。

(4) 検査方法

投与期間中毎日体重を計測するとともに, 飼料摂取量を記録した。また投与開始前および終了後, 全動物について尾静脈より採血し, 血清クレアチニン, コレステロール, 尿素窒素, 血糖, 総蛋白の定量および A/G 比の測定を行つた。さらに PSP テストおよび試験紙による尿糖, 尿蛋白, 潜血の検査を行つた。投与終了後, 全動物を剖検し, 主要臓器(腎, 肝, 脾, 心, 肺)の重量を計測するとともに, 腎の肉眼的観察, さらにホルマリン固定後, H-E 染色によつて病理組織検査を実施した。

2. 実験結果

(1) 中毒症状

投与中, 中毒症状として特記すべきものは認めなかつ

Table 1. Biochemical Tests

			No. of animal	Creatinine (mg/dl)	BUN (mg/dl)
Before inj.	Control		6	0.83±0.03	21.76±2.22
	TUM-N	200 mg/kg	5	0.85±0.03	19.49±1.69
		400 mg/kg	6	0.89±0.03	17.03±2.29
		500 mg/kg	5	0.86±0.03	18.56±3.60
	VM	200 mg/kg	6	0.83±0.03	19.64±2.38
After 2 weeks inj.	Control		6	0.83±0.08	14.85±1.44
	TUM-N	200 mg/kg	6	0.88±0.04	14.17±2.27
		400 mg/kg	6	0.94±0.04	15.57±2.93
		500 mg/kg	5	0.97±0.19	23.21±9.71
	VM	200 mg/kg	6	1.01±0.20	34.64±4.34*

Mean±S.D.

* Significance of 5% level.

た。

(2) 死亡数

TUM-N 投与群は 200, 400 mg/kg 群とも死亡なく, 500 mg/kg 群は 10 日目に 1 匹死亡した。また VM 投与群では 200 mg/kg 群は死亡なく, 400 mg/kg 群は 5 日目 1 匹, 6 日目 2 匹, 7 日目 2 匹, 8 日目 1 匹と全例死亡し, 500 mg/kg 群でも 6 日目 2 匹, 7 日目 2 匹, 8 日目 1 匹, 10 日目 1 匹と全例死亡した。

(3) 体重変化

TUM-N 投与群では 200, 400 mg/kg 群とも対照群と差がなく, 500 mg/kg 群は体重増加が抑制された。一方 VM 200 mg/kg 群の体重増加率は TUM-N 500 mg/kg 群よりも低く, 400, 500 mg/kg の 2 群は投与開始とともに体重低下し, 死亡まで体重増加が認められなかった。(図 1)

(4) 飼料摂取量

TUM-N 200, 400 mg/kg 投与群は, 対照群と差なく, TUM-N 500 mg/kg 群は 3~9 日目にわたり摂取量の減少がみられ, その後は回復した。一方 VM 200 mg/kg 群も 2~9 日目にわたって摂取量の減少がみられ, その後は回復した。VM 400, 500 mg/kg の摂取量

Table 2. PSP Test

		No. of animals	Before	After injection
Control		6	41.92±13.66	41.44±15.64
TUM-N	200 mg/kg	6	43.65± 8.28	33.65±12.46
	400 mg/kg	6	40.26±14.80	38.61±10.72
	500 mg/kg	5	45.07±10.00	36.55±13.12
VM	200 mg/kg	6	47.67± 3.95	35.79± 8.10

Mean (%)±S.D.

は薬物投与開始時より他の群に比べて少なく, 4 日目よりさらに低下した。(図 2)

(5) 血清検査

投与 2 週間後の血清検査値を投与前のものと比較した。

血清クレアチニンは TUM-N 400 mg/kg において有意に増加した。BUN 値および血糖は, VM 200 mg/kg 群で有意に増加し, 無機リンは TUM-N 500 mg/kg 群, VM 200 mg/kg 群で有意に減少した。その他の項目については, 有意差はみられなかった。(表 1)

(6) PSP テストおよび尿検査

PSP テストは各群とも投与前に比し, 投与後の値は減

Table 3. Organ Weight of Rats After Injection of TUM-N or VM for 2 Weeks

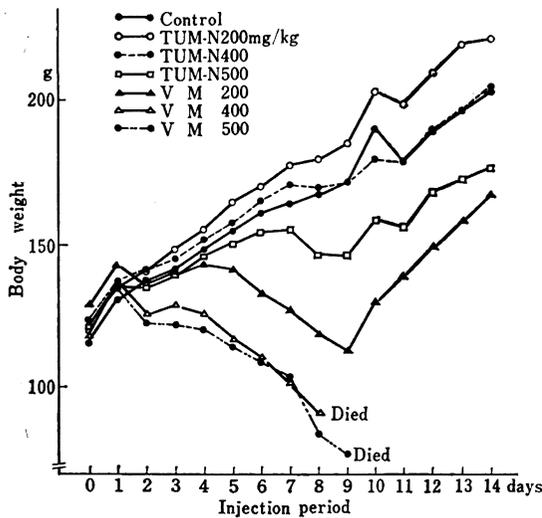
		No. of animals	Lung	Heart	Liver	Spleen	Kidney	
							R	L
Control		6	1.26±0.40	0.70±0.05	5.98±0.60	0.52±0.09	0.72±0.09	0.71±0.08
TUM-N	200 mg/kg	6	1.28±0.41	0.73±0.07	6.08±0.60	0.54±0.15	0.87±0.08*	0.88±0.06*
	400 mg/kg	6	1.12±0.15	0.74±0.12	5.86±0.60	0.51±0.09	0.92±0.12*	0.95±0.08*
	500 mg/kg	5	1.13±0.22	0.59±0.10	5.32±0.59	0.44±0.04	1.19±0.39*	1.14±0.32*
VM	200 mg/kg	6	0.98±0.14	0.59±0.05*	6.58±0.54	0.46±0.05	1.30±0.26*	1.33±0.21*

Mean (g)±S.D. * Significance of 5% level.

of Rat serum

T. Protein (g/dl)	A/G	Cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Pi (mg/dl)
5.56±0.18	1.00±0.06	78.66±4.89	133.08±16.84	9.76±0.58
5.53±0.29	1.03±0.14	72.71±5.37	127.92±13.19	10.13±1.06
5.17±0.34	1.20±0.12	72.09±4.66	127.72±10.84	9.56±0.79
5.26±0.44	1.03±0.14	68.27±2.56	137.90±15.24	8.79±0.61
5.33±0.48	1.07±0.24	66.13±5.87	132.47±15.39	9.58±0.82
6.03±0.37	0.96±0.17	55.26± 8.85	103.79±18.75	9.57±0.36
6.05±0.28	1.08±0.19	56.65±12.36	107.26±26.67	9.26±0.80
6.24±0.30	1.00±0.17	63.36±14.03	110.98±11.38	9.89±0.87
6.19±0.36	0.95±0.11	73.66±24.41	113.76±18.57	8.72±0.46*
5.72±0.70	0.83±0.18	61.58±18.90	160.54±19.53*	7.20±0.66*

Fig. 1. Growth Curve of Rats Injected TUM-N or VM (For 2 weeks)



少したが有意差はなかつた。(表 2)

尿糖, 尿蛋白, 潜血の検査は, 各投与群とも対照群との差はみられなかつた。

(7) 臓器重量

腎重量は各投与群とも対照群に比し有意に増加した。その他の臓器については, VM 200 mg/kg の心重量が減少した他は, 対照群との差はなかつた。(表 3)

(8) 腎の肉眼的所見

TUM-N 200 mg/kg 群は対照群に比し大差はなかつたが, 400 mg/kg 群ではやや腫大し, 500 mg/kg 群では腫大および黄白色化, 表面光沢の減退が認められた。

VM 200 mg/kg 群は TUM-N 500 mg/kg と同じく腫大, 変色 (黄白色) が認められた。(写真 1, 2)

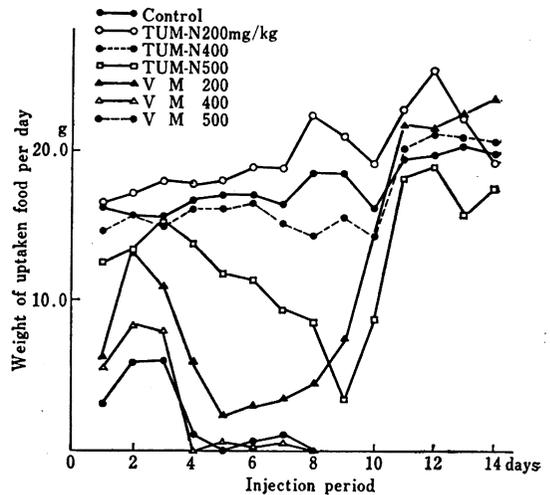
(9) 腎組織検査

TUM-N 200 mg/kg: 主部尿管上皮の混濁腫脹, 硝子滴変性萎縮および浮腫性膨化等が散見され, まれに壊死に陥った尿管上皮もみられた。尿管腔にエオジンとヘマトキシリンの両方に染まる円柱を入れたところがあつた。(写真 3)

TUM-N 400 mg/kg: 上記の諸変化がやや増強され, 加えて尿管上皮細胞の剝離, 脱落が対照群に比して増加していた。(写真 4)

TUM-N 500 mg/kg: 本群のうち, 変化の比較的高度なものでは, 尿管腔は縮小したところもあれば, 拡張したところもあり, 一部に円柱や脱落崩壊した細胞を入れていた。ほとんどの尿管上皮は萎縮したり, 浮腫性膨化あるいは硝子滴変性に陥っていた。また一部に尿管の壊死も認められた。主として円形細胞が間質へ浸潤したところもあり, 間質結合織は軽度に増生していた。かかる尿管・間質の変化は, TUM-N 400 mg/kg 群

Fig. 2. Food Uptake in Rats Injected TUM-N or VM



よりも著明であつた。さらに糸球体はおおむね, やや萎縮性でまれにボウマン嚢腔内に渗出物を入れたものもあつた。(写真 5, 6)

VM 200 mg/kg: 尿管上皮の腫脹あるいは萎縮, 尿管の拡張が所々に認められた。一部に尿管上皮が壊死に陥っていた。腫脹した上皮には多数の硝子滴および基底部に空胞が存在していた。その程度は, TUM-N 400 mg/kg 群の所見と同程度であるいはやや強い程度であつた。

3. 総括および考察

投与期間中の死亡は, TUM-N 500 mg/kg 群において 1 匹であつたが, VM 500, 400 mg/kg 群各 6 匹 (全例) であつた。

また体重増加率および飼料摂取量は, TUM-N 500 mg/kg 群, VM 200 mg/kg 群で対照群に比して減少した。この減少状態は 5~9 日目ごろに最も著しく, その後回復に向かっていることは, これらの薬物は投与初期に腎を中心に生体に対する中毒作用が著しく現われ, 後になつて動物の修復能力のために毒性がやや弱く現われるものと推定される。

血清検査値は, TUM-N 500 mg/kg でも無機リンの減少が有意であり, 一方 VM 200 mg/kg でも無機リンの減少が認められ, さらに BUN, 血糖の上昇が有意であつた。

PSP 値は各投与群とも投与後の値が投与前のものに比し減少したが, 有意差はなかつた。

腎の肉眼的所見は, TUM-N 500 mg/kg 群, VM 200 mg/kg 群で腫大および色沢の変化が認められ, TUM-N 400 mg/kg 群ではとくに変化はなかつた。

腎重量は TUM-N 各投与群, VM 200 mg/kg 群とも, 対照群に比し有意に増加した。

腎の組織学的検査では, 尿細管上皮細胞の変性, 限局性壊死, 間質の細胞浸潤, 結合織の増生等の変化が, 両薬物ともみられたが, その程度は TUM-N 200 mg/kg 群が最も軽度であり, 次いで TUM-N 400 mg/kg, VM 200 mg/kg 群, TUM-N 500 mg/kg 群の順に変化の程度が大となり, その程度に従つて尿細管の蛋白円柱および上皮細胞の剥離脱落が増加していた。

以上の結果から, VM 200 mg/kg 投与による腎障害の程度に対比できる TUM-N の量は, 400~500 mg/kg

と考えられる。すなわち腎毒性としては TUM-N は VM に比して半減しており, VM が臨床的に広く用いられていることからみて, TUM-N は実際使用にあつて適正な用法用量のもとでは有用な薬剤といえる。

4. 文 献

- 1) 早野和夫 他: 応用薬理, 投稿中.

本研究にあたり, 血清諸検査の実施に協力された東洋醸造株式会社第2研究部久保田宏史君に感謝いたします。

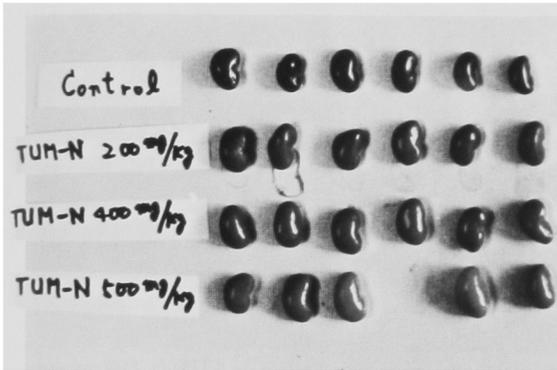


Photo 1. Isolated kidneys of rats injected with TUM-N.

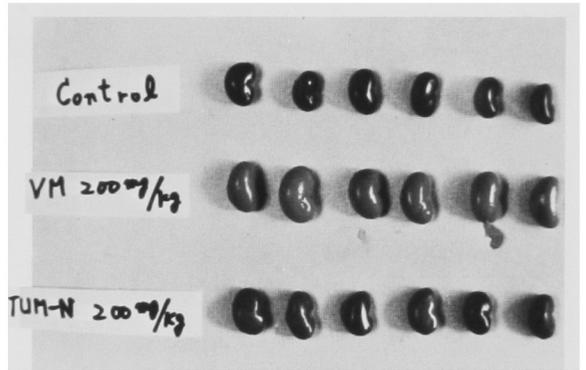


Photo 2. Isolated kidneys of rats injected with TUM-N and VM.

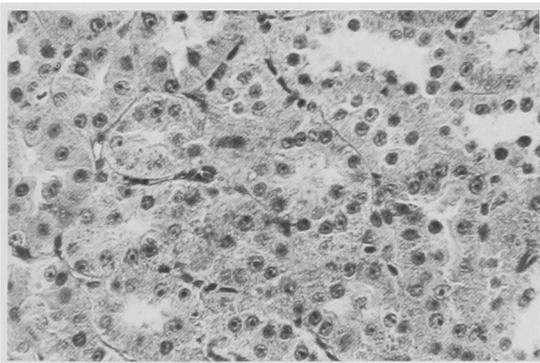


Photo 3. Hyaline droplet degeneration in tubular epithelium of TUM-N 200 mg/kg group.

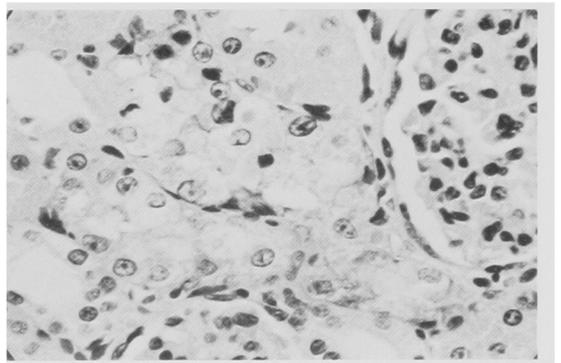


Photo 4. Swelling of proximal tubular epithelial cells in TUM-N 400 mg/kg group.

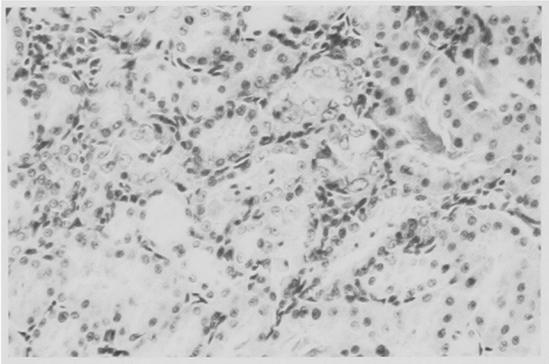


Photo 5. Hypertrophy of glomerular basement membrane in TUM-N 400 mg/kg group.

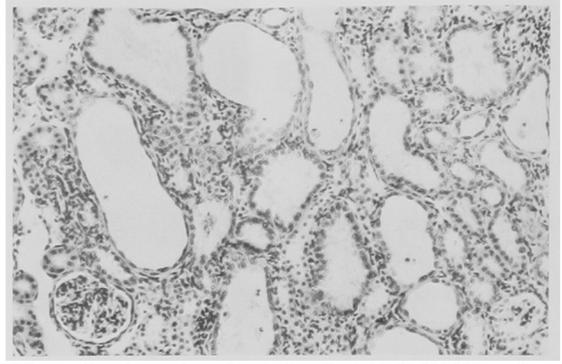


Photo 6. Atrophy of tubules in TUM-N 500 mg/kg group.

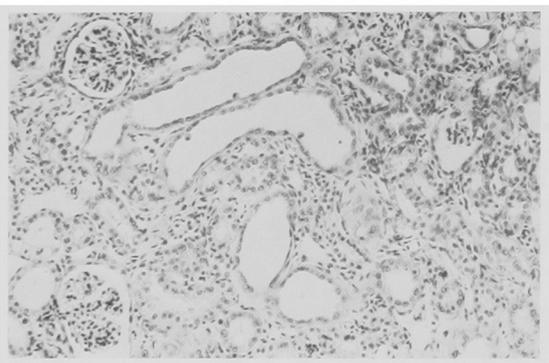


Photo 7. Slight proliferation of mesenchymal connective tissue and cell infiltration in TUM-N 500 mg/kg group.

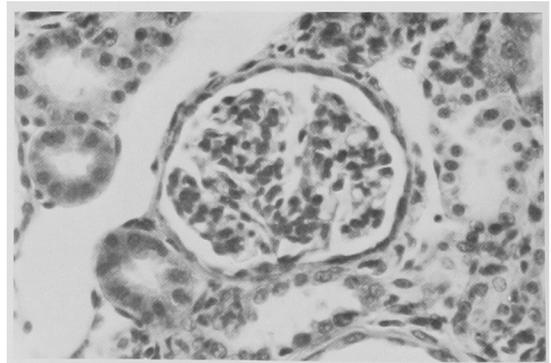


Photo 8. Hypertrophy of glomerular endothelial wall in TUM-N 500 mg/kg group.