

Ceftezole の一般毒性および胎仔への影響

二 木 力 夫・塩 田 尚 三・宇 佐 美 正 義・野 口 午 郎

杉 山 修・大 川 広 行・高 垣 善 男

中外製薬株式会社総合研究所

Ceftezole sodium (CTZ) は Cefazolin sodium (CEZ) の類縁化合物として合成され、新しく開発された Cephalosporin C 系抗生物質である。

我々は本剤について一連の毒性を検討したのでその結果を報告する。

CTZ は臨床的に静脈内、筋肉内投与によって用いられるので本実験は静脈内および皮下投与を中心に行なった。

しかし、急性毒性はマウス、ラットでは静脈内、皮下、経口および腹腔内の各投与経路で検討し、ウサギでは静脈内および皮下投与で、またイヌでは静脈内投与でそれぞれ検討した。亜急性および慢性毒性の検討はラットでは1ヵ月間の静脈内投与ならびに3ヵ月および6ヵ月間の皮下投与で行ない、イヌでは1ヵ月間の静脈内および皮下投与、ならびに3ヵ月および6ヵ月間の静脈内投与でそれぞれ行なった。なお、本剤投与による毒性の回復試験は6ヵ月間皮下投与したラットで実験した。さらに、CTZ を妊娠マウスおよびラットに皮下および静脈内投与し、胎仔への影響を検討した。

実験材料および方法

1. 検体の調製法

CTZ の粉末を生理食塩液に 250 mg/ml (25%) の割合に溶解して試験に用いた。

2. 急性毒性実験

1) マウス、ラットでの実験

5~6 週令の ddY 系マウスの雄 (体重 25.1 ± 1.5 g) および雌 (体重 23.2 ± 1.5 g) ならびに 5 週令の Sprague-Dawley (SD) 系 SPF ラットの雄 (体重 139.0 ± 16.7 g) および雌 (体重 109.3 ± 2.5 g) をそれぞれ 1 群 10 匹として用いた。動物はいずれも恒温 ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)、恒湿 ($55 \pm 5\%$) の環境下で飼育し、飼料として飼育用固型飼料 CE-2 (日本クレア製) および水を自由に摂取させた。薬物の静脈内投与は尾静脈より 1 分間当り約 1 ml の速度で注入し、経口投与は金属性胃ゾンデを用いて行なった。

薬物を 1 回投与した後 7 日間、中毒症状と生死につい

て観察し、死亡例についての臓器の肉眼的観察は死亡直後に、また実験終了時には生存例をすべて殺処分し同様に観察した。7 日間の死亡数より、各動物の各投与経路毎に LITCHFIELD-WILCOXON 法により LD_{50} 値を算出した。

2) ウサギでの実験

自家産日本白色種雄 (体重 2.5~3kg) を 1 群 3 匹として用いた。薬物の静脈内投与は耳静脈より 1 分間当り約 3~5 ml の速度で注入した。観察項目はマウス、ラットの場合と同様である。

3) イヌでの実験

雑犬 (体重 9.5~10.7kg) を雌雄の別なく 5 匹使用した。CTZ の投与は前腕正中皮静脈より 1 分間当り約 5 ml の速度で注入した。観察はマウス、ラットと同様の方法で行なった。

3. ラットおよびイヌでの亜急性および慢性毒性実験

1) ラットに静脈内 1 ヶ月間投与した実験

日本クレアで生産された生後 5 週令の Sprague-Dawley (SD) 系ラット雌雄各 30 匹を用い、恒温 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) 恒湿 ($55 \pm 5\%$) の動物室内で 5 匹を 1 群として飼育し、実験に供した。

飼料は CE-2 (日本クレア製) を飲料水とともに自由に摂取させた。投薬群は静脈内投与では、2,500, 1,000, 200, 40 および 8 mg/kg の 5 群を設けた。対照群には滅菌生理食塩液を用い、いずれも 1 日 1 回、1 ヶ月間連日、尾静脈内に投与した。

実験期間中、毎日一般症状を観察し、週 2 回体重を測定した。また 1 週間毎に背側中足静脈より採取した血液を用い、赤血球数、白血球数 (トーアミクロセルカウンター法)、ヘモグロビン量 (シアンメトヘモグロビン法) および白血球百分比 (Giemsa 染色法) を測定した。

血液生化学検査については、連続投与終了の翌日にエーテル深麻酔下に開腹し、後大動脈より採取した血液を用いた。検査項目は、Transaminase 活性 (GOT および GPT, Reitman-Frankel 百瀬変法)、Al-P 活性

(Kind-King 改良法), 血糖 (オルトトルイジン硼酸法), 総蛋白 (ビウレット反応法), 血液尿素窒素量 (BUN, ウレアーゼインドフェノール法) および総コレステロール (Zurkowski 法) である。

諸臓器については、放血後肉眼的に観察し、肝、腎、脾、心、肺、副腎、胸腺、生殖腺、脳、下垂体および内容物を含む盲腸の各湿重量を測定し、さらに体重 100 g 当りの相対重量を算出した。

上記の諸臓器ならびに甲状腺、大動脈、骨髄、膀胱、胃、小腸、結腸、脾、筋肉、眼球、舌、顎下腺および各種リンパ節を 10 %ホルマリン水溶液で固定し、パラフィン切片を作製し、H & E 染色を施した後、顕微鏡下で組織学的観察を行なった。

2) ラットに皮下 3 カ月および 6 カ月間投与した実験

1 カ月間の毒性実験と同一条件下で雌雄の SD 系ラットを用いた。投薬群は 3 カ月および 6 カ月毒性実験のいずれも 2,000, 1,000, 500 および 250 mg/kg の 4 群とし、他に対照としてそれぞれ生理食塩液投与群を設け、1 群雌雄各 5 匹を使用した。投与はそれぞれ日曜日を除く 3 カ月間および 6 カ月間、1 日 1 回背部皮下に行ない毎日の一般症状を観察するとともに 1 週間毎に体重を測定した。

また、1 カ月毎に、摂餌量、飲水量、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値 (毛細管高速遠沈法)、網状赤血球数 (Brecher 法) および血小板数 (Brecher-Cronkite 法) の測定を行なった。

血液生化学検査には、実験終了後の血液を用い、Transaminase 活性 (GOT, GPT), Al-P 活性、総蛋白、BUN、血糖、カルシウム再加凝固時間およびプロトロンビン時間 (Quick 1 段法) を測定した。

尿性状については、13 週目および 26 週目に 3 時間尿を採取し、潜血、ケトン体、糖、蛋白、pH (いずれも Labstix, マイルス・三共製)、ウロビリノーゲン (シノテスト 5 号)、ビリルビン (シノテスト 6 号) および尿量を測定し、尿沈渣 (Sedi-stain, Clay Adams 製) の検査を行なった。

諸臓器の肉眼的観察、重量測定および組織学的検索は 1 カ月間の毒性実験と同一の方法で行なった。なお、6 カ月間連続皮下投与したラットについては実験終了の翌日に各群の 3 匹を屠殺解剖に供し、残りの各群 2 匹については、7 週間投薬を休止した後における変化の回復経過を調べた。

3) イヌに静脈内および皮下 1 カ月間投与した実験

CSK 実験動物研究所において繁殖、飼育された健康な生後 1 年前後の雌雄のビーグル犬、すなわち雄 8 頭

(体重 7.5~11.5 kg)、雌 13 頭 (体重 7.3~10.0 kg) 計 21 頭を用いた。それぞれのイヌは代謝ケージ内に 1 頭ずつ収容し、恒温 (25±2°C)、恒湿 (55±5%) の環境下で飼育した。固型飼料 CD-1 (日本クレア製) は 250g/頭/日 を給与し、水は自由に摂取させた。

投薬群は静脈内投与の場合には 450, 150 および 50 mg/kg の 3 群、皮下投与には 500, 250, 125 および 63mg/kg の 4 群とし、そのほかに対照群としてそれぞれ 1 群ずつ設けた。すなわち静脈内投与には 1 群雌雄各 2 頭を、皮下投与には 1 群雌 1 頭をそれぞれ使用し、薬物は前腕正中皮静脈内または背部皮下織内に 1 日 1 回連続 1 カ月間投与した。対照群には滅菌生理食塩液 5 ml/頭を同様に投与した。

投与期間中、一般症状の観察と摂餌量の測定は毎日、体重測定は 4 日毎に実施した。血液検査および臨床生化学的検査は毎週 1 回耳静脈および前腕正中皮静脈よりそれぞれ採血して、ラットにおける毒性実験の場合と同様の検査方法で行なった。さらに A/G 比 (セルロースアセテート膜電気泳動法)、カルシウム再加凝固時間、部分トロンボプラスチン時間、プロトロンビン時間を実験終了前日に測定した。また投与前および投与後週 1 回毎に尿の潜血、ケトン体、糖、蛋白、pH (Labstix, マイルス・三共製) を測定した。

連続投与終了後、ネブタール麻酔下に頸動脈より放血し、屠殺後、諸臓器の肉眼的観察を行なった。肝、腎、脾、心、肺、副腎、胸腺、甲状腺、脾、生殖腺、脳、下垂体等の重量を測定し体重 100 g に対する相対重量を算出した。次に上記諸臓器の他に膀胱、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、大腸、リンパ節、筋肉、舌、顎下腺、注射部位、眼球、聴覚器、骨髄 (大腿骨) 等をホルマリン固定し、パラフィン切片を作製後、H & E 染色を施し病理組織学的に検索した。

4) イヌに静脈内 3 カ月および 6 カ月投与した実験
ビーグル犬雄 15 頭 (体重 7.5~10.0 kg)、雌 15 頭 (体重 7.0~9.7 kg) 計 30 頭を用いた。投薬群は 500, 250, 125 および 63mg/kg の 4 群とし、他に対照として生理食塩液投与群を設けた。3 カ月間連続投与と実験の場合には 1 群雌雄各 1 頭を、6 カ月間連続投与と実験には 1 群雌雄各 2 頭を使用した。投与は、日曜日を除く 3 カ月間および 6 カ月間、1 日 1 回前腕正中皮静脈内に行なった。

投与期間中、一般症状観察および摂餌量測定は連日、体重測定は毎週 1 回行なった。血液および臨床生化学的検査は 1 カ月間投与と実験の場合と同様の方法で、3 カ月間投与と実験では投与前ならびに投与後 2, 6, 10 および

13週目に、6カ月間投与実験では投与前ならびに投与後2, 6, 10, 14, 18, 22および26週目にそれぞれ実施した。血小板数 (Brecher-Cronkite 法), 全血凝固時間 (Lee & White 法), 部分トロンボプラスチン時間, カルシウム再加凝固時間, プロトロンビン時間等は投与前ならびに投与後8, 13, 18および24週目に測定した。

尿検査は投与前ならびに投与後1カ月毎に1カ月間投与実験の場合と同様に行なった。PSP試験は実験終了時にフェノールスルホンフタレイン (第一製薬) 0.6 mg/kg を静注し, 1時間後の尿中の PSP 排泄率を求める方法で実施した。BSP試験は投与前ならびに投与後12および24週目にヘパトサルファレイン (第一製薬) 15 mg/kg を静注し, 30分後の末梢血漿中濃度を測定する方法で実施した。

連続投与終了後, 1カ月間投与実験の場合と同様の方法で病理解剖学的に検索した。

4. 催奇性実験

1) マウスでの実験

動物は当研究所実験動物センターで生産育成された80~100日令のIVCS系未経産雌マウスを用いた。恒温, 恒湿 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $55 \pm 5\%$) の, 1日14時間照明の環境下でアルミ製飼育ケージにマウスを収容し, 飼料として繁殖用固型飼料 CA-1 (日本クレア製) を用い, 水とともに自由摂取させた。交配は膣垢法により2回以上連続して4日正常性周期を描くことが確認された雌を, 発情前期の日の夕方, 同系雄と同居させ, 翌朝膣栓形成

が認められたものを妊娠0日と起算した。妊娠マウスは3~5匹の群飼育とした。

CTZ は室温での溶解度が約25%であるので容量的に投与可能な最大量, すなわち皮下投与は4,000 mg/kg, 静脈内は2,000 mg/kg を最高量とし, さらにそれぞれの1/2量投与群を設けた。いずれの場合も滅菌生理食塩液に溶解させ, 投与量を皮下4,000 mg/kg のみは20 ml/kg とし, 他はすべて10 ml/kg となるように調整した。投与期間は両投与経路とも妊娠7日より12日までの6日間とし, 1日1回, 下腹部皮下あるいは背側中足静脈または尾静脈内にできるだけ緩徐に投与した。また対照群には溶媒のみを同期間与えた。

母体重は3日間隔および投与期間中は毎日測定し, 併せて一般症状, 流産の有無を観察した。妊娠18日目に頸椎離断により屠殺し, 直ちに開腹した後, 着床痕数, 生存胎仔数, 死胚および死胎仔数を調べ, 生胎仔および末期死胎仔の体重および胎盤重量の測定を行なった。この際性別を判定し, 生胎仔の蘇生力, 活動性を観察したのち, エーテルで殺し, 外形異常の有無を調べた。また内臓異常の検査は肉眼的に臓器を摘出しながら行なった。次いで胎仔はメタノールで固定し Dawson 氏法¹⁾に従って骨格を染色した。骨格異常検査は実体解剖顕微鏡下で行なった。

2) ラットでの実験

当研究所実験動物センター生産の Wistar-Imamichi 系ラットで90~120日令の未経産のものを実験に供した。飼育環境は, ラットの場合, 妊娠後個別飼育とし,

Table 1 Acute toxicity (LD_{50}) of CTZ

Animals	Route of administration	LD_{50} (mg/kg)	
		Male	Female
Mice	i.v.	4,700(4,050~5,450)	5,300(4,820~5,830)*
	i.p.	10,400(9,290~11,650)	8,900(7,880~10,060)
	s.c.	>10,000	>10,000
	p.o.	>15,000	>15,000
Rats	i.v.	4,300(3,900~4,950)	3,800(3,360~4,290)
	i.p.	>9,600	>11,520
	s.c.	>15,000	>15,000
	p.o.	>20,000	>20,000
Rabbits	i.v.	>3,000	
	s.c.	>7,000	
Dogs	i.v.	>4,000	

* (): 95% confidence limit by Litchfield-Wilcoxon's method

固型飼料 CE-2 (日本クレア製) を給餌した以外、マウスと同様であり、交配方法も同様に行なった。

ラットの場合もマウスと同様、容量的に投与可能最大量を最高投与量とした。すなわち、皮下では2,000mg/kgを、静脈内には1,000mg/kgを最高量に500 mg/kgを少量投与とし、皮下では、さらに中間投与量として1,000 mg/kgを設けた。投与量は皮下で、2.5~10 ml/kg 静脈内ではすべて3 ml/kgとした。また静脈内投与では背側中足静脈内にできるだけ緩徐に注入した。その他、観察は妊娠21日目に屠殺した以外、すべてマウスでの実験方法に準じて行なった。

実験結果

1. 急性毒性実験

各実験における LD_{50} 値は一括して Table 1 に示した。経口、静脈内、腹腔内および皮下投与いずれの経路においても LD_{50} 値はきわめて大きく特異な中毒症状は認められなかった。

1) 中毒症状

マウスおよびラットの場合、一般に非経口投与例では、すべて注射中または注射直後一時的な興奮状態を示した後、自発運動の抑制がみられた。

静脈内大量投与例では、マウス、ラットいずれも投与直後より、間代性痙攣、強直性痙攣が5~10分間持続した。この際気泡を含む鼻汁が認められた。これらの症状を呈した例はいずれも投与後約3時間内に死亡した。生存例は軽度の間代性痙攣およびそれに続く自発運動の抑制を示したが、これらの症状は24時間後には消失した。

腹腔内投与では、マウス、ラットいずれも投与直後に writhing-syndrome 様症状がみられ、20~30分間持続した。大量投与例では、さらに間代性および強直性痙攣を示す動物があり、これらは24時間以内に死亡した。生存例については、軽度の writhing-syndrome および自発運動の抑制がみられた程度でその後速やかに回復した。

皮下投与では、立毛、自発運動の抑制等が発現したのみで死亡例はみられなかった。

経口投与では、マウス、ラットいずれも投与直後より自発運動の抑制で沈静状態となり、食欲減退、立毛、下痢などがみられた。これらの症状は2日後には回復し、死亡例はみられなかった。

ウサギの場合、静脈内投与では、投与直後より自発運動の抑制がみられ、その後約20~30分間軽度の振顫様の症状が発現した。

皮下投与では、投与時の疼痛、投与部位の軽度の腫脹、

自発運動の抑制などがみられた。いずれも摂餌が少なく、体重減少がややめだったが、約3~4日目頃より回復傾向を示した。

イヌの場合、静脈内投与直後嘔吐、流涎がみられ、その後軽度の自発運動の抑制、食欲減退、下痢などが観察された。これらの症状は3~4日目頃より回復し、死亡例はなかった。

2) 剖検所見

静脈内および腹腔内投与で死亡したマウス、ラットでは肺は赤褐色ないし赤紫色を呈し、うっ血性変化がみられ、とくに大量投与群のマウスでは肺の断面より気泡を含む組織液の流出を少量認めた。その他、著変は認められなかった。生存動物では、8,000 mg/kg 腹腔内投与のラットに盲腸の軽度の拡張がみられた。ウサギでは1,000 mg/kg 以上の投与例の腎は灰白色化し、混濁腫脹を呈した。イヌでは、とくに著変は認められなかった。

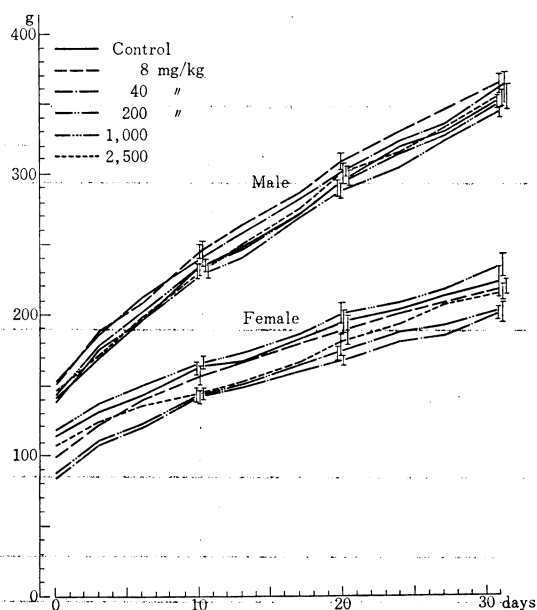
2. ラットおよびイヌでの亜急性および慢性毒性実験

1) ラットに1カ月間静脈内投与した実験

(1) 一般症状: 2,500 mg/kg 群で、投与直後に一過性の自発運動の抑制が観察されたが、その他に異常はみられなかった。

(2) 体重 (Fig. 1): 薬物投与各群は対照群と同様に順調な体重増加を示した。

Fig. 1 Change in average body weights of rats intravenously injected with CTZ for 1 month



(3) 血液および臨床生化学的所見 (Table 2, 3): 赤血球数, 白血球数およびその他の血液検査所見にとくに異常な変動はみられなかった。生化学的には GPT 活性が, 雄の 40 mg/kg および雌の 200 mg/kg 以上の各群で著明に低下したほか, 2,500 mg/kg 群の BUN および総コレステロール, 雌の薬物投与と各群の血糖に低下がみられたが, その他の検査項目に異常はみられなかった。

(4) 剖検時の肉眼的所見および臓器重量 (Table 4) および組織学的所見: 肉眼的に, 雌雄とも 200 mg/kg 以上の各群に盲腸の拡張が特徴的な変化として認められたが, 盲腸粘膜には著変はなかった。その他異常はみられなかった。雌雄とも 200 mg/kg 以上の各群の腎および脾に軽度の重量の増加がみられた。その他, 盲腸重量が薬物投与と各群で増加し, その程度は用量増に伴い著明となった。その他, 肝および胸腺重量の一部に変動が

Fig. 2 Change in average body weight of rats subcutaneously injected with CTZ for 6 months

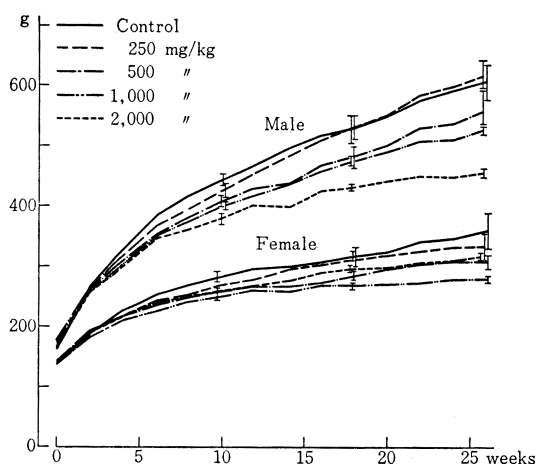


Table 2 Hemogram of rats intravenously injected with CTZ for 1 month

Sex	Dosage (mg/kg)	RBC ($\times 10^4$ /cmm)	Hb (g/dl)	WBC ($\times 10^2$ /cmm)	Differentiation (%)				
					Eosino.	Neutro.		Lympho.	Mono.
						Stab.	Seg.		
Male	Control	779 ± 16	16.7 ± 0.4	110 ± 5	0.4 ± 0.2	1.5 ± 0.7	4.1 ± 0.9	93.4 ± 1.5	0.6 ± 0.1
	8	738 ± 15	16.2 ± 0.2	104 ± 5	0.4 ± 0.2	1.8 ± 0.6	3.1 ± 0.4	94.3 ± 0.9	0.4 ± 0.1
	40	791 ± 29	16.6 ± 0.4	101 ± 10	0.4 ± 0.1	1.2 ± 0.3	2.0 ± 0.6	96.0 ± 0.8	0.4 ± 0.1
	200	799 ± 22	16.7 ± 0.4	122 ± 9	0.6 ± 0.3	2.0 ± 0.5	2.9 ± 0.5	94.3 ± 1.1	0.2* ± 0.1
	1000	758 ± 8	15.8* ± 0.1	108 ± 10	0.2 ± 0.1	3.4 ± 1.0	3.0 ± 1.0	93.1 ± 2.0	0.3 ± 0.2
	2500	762 ± 20	16.1 ± 0.3	170** ± 8	0.9 ± 0.4	3.0 ± 0.2	4.0 ± 0.8	91.8 ± 1.2	0.4 ± 0.2
Female	Control	697 ± 15	15.4 ± 0.5	83 ± 11	0 ± 0	2.5 ± 1.0	2.7 ± 0.7	94.6 ± 1.7	0.2 ± 0.1
	8	687 ± 17	15.1 ± 0.2	82 ± 5	0.9 ± 0.3	2.6 ± 0.2	4.8 ± 1.3	91.4 ± 1.2	0.3 ± 0.2
	40	767 ± 29	16.3 ± 0.6	92 ± 6	1.1 ± 0.4	1.8 ± 0.1	2.9 ± 0.7	93.9 ± 1.1	0.3 ± 0.2
	200	725 ± 22	15.4 ± 0.3	88 ± 6	0.4 ± 0.2	2.2 ± 0.3	1.9 ± 0.7	95.0 ± 0.9	0.5 ± 0.2
	1000	749 ± 17	15.7 ± 0.3	84 ± 6	0.9 ± 0.6	2.9 ± 0.6	3.6 ± 1.2	92.2 ± 2.2	0.4 ± 0.2
	2500	762 ± 9	15.6 ± 0.3	147** ± 4	0.4 ± 0.2	3.5 ± 1.1	2.7 ± 0.9	92.9 ± 2.1	0.5 ± 0.2

* ($P < 0.05$),

** ($P < 0.01$)

Significantly different from control group.

Mean $\pm$ S.E.

認められた。

組織学的には、1,000 および 2,500 mg/kg 群の脾に軽度の胚中心の活性化 (Fig. 7) と、胸腺に皮質の軽度の萎縮がみられたが、腎その他には異常所見は認められなかった (Fig. 8, 9)。

2) ラットに3カ月および6カ月間皮下投与した実験

(1) 一般症状：3カ月および6カ月間投与のいずれの実験においても、1,000 および 2,000 mg/kg 群では、注射時に疼痛症状がみられ、投与局所に一時的な軽度の肥厚が観察された。しかし、特異な中毒症状および死亡例はみられなかった。

(2) 体重 (Fig. 2)：5週目頃より、2,000mg/kg 群に増加抑制がみられ始め、その後 1,000 および 500 mg/kg 群にも順次軽度の増加抑制が現われたが、摂餌量および摂水量には著変はみられなかった。

(3) 血液、臨床生化学および尿検査所見 (Table 5, 6, 7, 8, 9)：3カ月間投与では、白血球数および白血球百分比にとくに異常はみられなかったが、赤血球数が雄

の 2,000 mg/kg 群と雌の 1,000 および 2,000 mg/kg 群で、Hb 量が雄の 500 mg/kg 以上の群と雌の 1,000 mg/kg 以上の群で、Ht 値が雄の 1,000 mg/kg 以上の群でそれぞれ減少した。それに反し網状赤血球数が 1,000 および 2,000 mg/kg 群で増加した。血小板数は雄の 1,000 および 2,000 mg/kg 群で増加し、プロトロンビン時間は雄の 500 mg/kg 以上の群および雌の 250 mg/kg 群で若干短縮したが、カルシウム再加凝固時間には変化はみられなかった。

薬物投与と各群の GPT 活性は特異的に低下を示したが、その他の血液および尿検査所見には異常は認められなかった。

6カ月間投与においても、3カ月間投与の場合と同様の検査成績が得られ投与期間の延長により薬物の影響が増強されたような傾向はとくに認められなかった。

(4) 剖検時の肉眼的所見、臓器重量 (Table 10, 11) および組織学的所見：薬物投与局所の背部皮下組織内には新鮮な出血巣から暗赤紫色ないしは淡黄褐色を呈す

Table 3 Biochemical findings of rats intravenously injected with CTZ for 1 month

Sex	Dosage (mg/kg)	Al-P (K.A.U.)	Transaminase(K.U.)		T-Pro. (%)	BUN (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)
			GOT	GPT				
Male	Control	65.0 ±7.0	57.8 ±2.2	14.2 ±1.7	5.7 ±0.1	17.6 ±0.8	168 ±2	63 ±4
	8	51.6 ±3.6	59.6 ±2.1	14.9 ±0.9	5.6 ±0.1	16.0 ±0.9	176 ±6	60 ±4
	40	61.8 ±6.1	55.5 ±1.1	9.6* ±0.5	5.5 ±0.1	17.3 ±0.6	186* ±6	68 ±8
	200	64.2 ±4.7	55.5 ±2.2	6.6** ±0.5	5.8 ±0.1	17.3 ±0.8	164 ±3	71 ±7
	1000	73.7 ±6.8	58.2 ±3.2	3.7** ±0.9	6.0 ±0.1	16.6 ±1.1	161 ±3	66 ±3
	2500	51.8 ±6.9	59.8 ±6.2	4.5** ±0.7	5.5 ±0.2	8.7** ±0.7	156 ±6	56 ±5
Female	Control	31.9 ±3.3	45.3 ±2.1	9.5 ±1.1	5.7 ±0.1	16.3 ±1.0	182 ±5	64 ±3
	8	37.0 ±6.3	46.4 ±3.4	8.6 ±1.7	6.0 ±0.1	16.9 ±0.8	167* ±4	65 ±6
	40	41.8 ±3.9	46.5 ±1.8	7.3 ±0.9	5.7 ±0.2	16.6 ±1.0	161* ±6	69 ±4
	200	43.5 ±5.1	51.5 ±3.8	3.9** ±1.2	5.6 ±0.1	13.6 ±0.9	165 ±4	72 ±4
	1000	39.4 ±6.0	51.5 ±2.6	6.5 ±1.0	5.8 ±0.1	15.4 ±0.8	141* ±3	69 ±4
	2500	36.8 ±8.5	58.2 ±6.8	4.0** ±1.2	5.8 ±0.1	12.0** ±0.9	150** ±6	48** ±4

* (P<0.05), ** (P<0.01) Significantly different from control group. Mean±S.E.

Fig. 3 Change in body weight of dogs intravenously injected with CTZ for 1 month

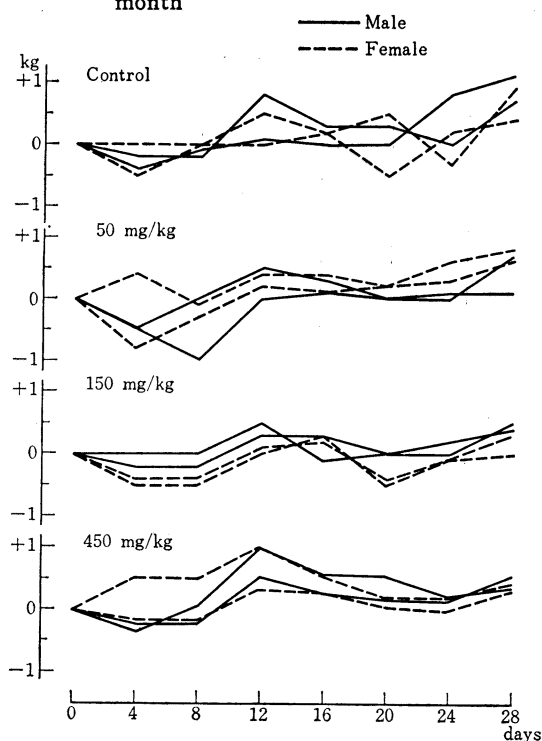


Fig. 6 Change in body weight of dogs intravenously injected with CTZ for 6 months

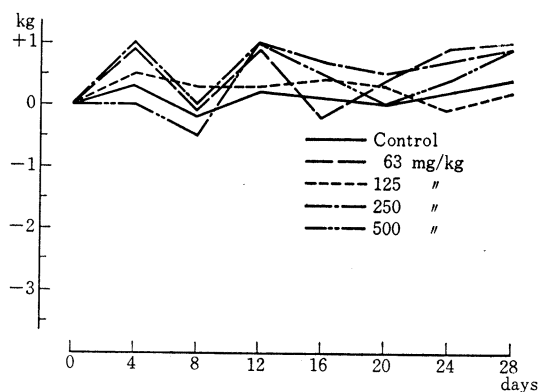


Fig. 4 Change in body weight of female dogs subcutaneously injected with CTZ for 1 month

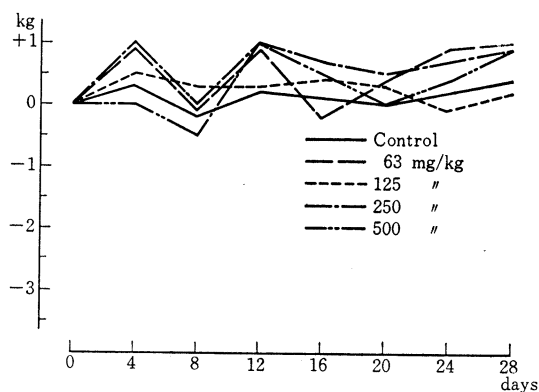


Fig. 5 Change in body weight of dogs intravenously injected with CTZ for 3 months

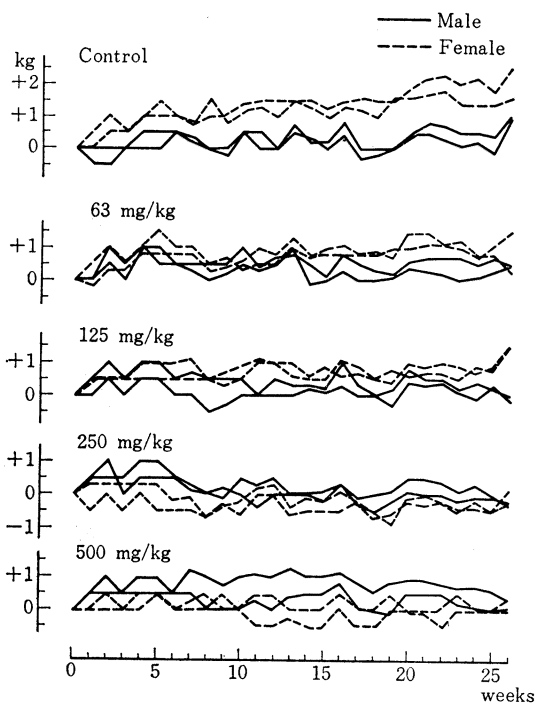
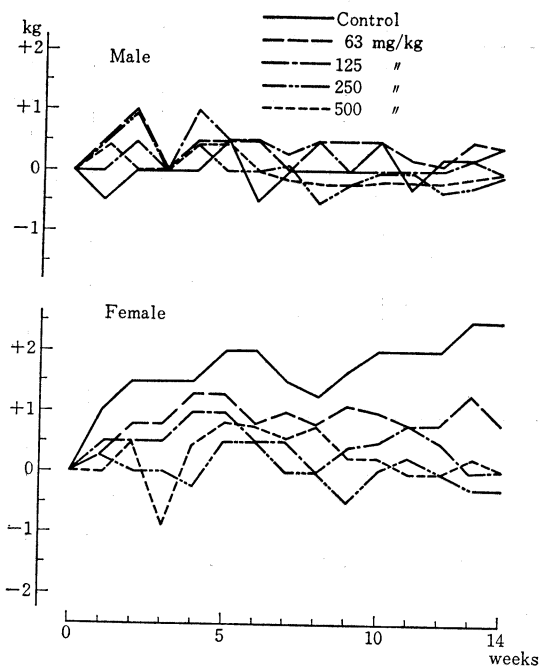


Table 4 Organ weights of rats intravenously injected with CTZ for 1 month

Sex	Dosage (mg/kg)	B.W. (g)	Organ weights per 100 g of body weight											
			Liver (g)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Heart (mg)	Lung (mg)	Adrenals (mg)	Thymus (mg)	Testes (mg)	Ovaries (mg)	Brain (mg)	Hypo. (mg)	Cecum (g)
Male	Control	354 ± 8	4.06 ± 0.17	675 ± 17	191 ± 10	285 ± 5	349 ± 8	12.2 ± 0.5	194 ± 11	873 ± 27		516 ± 14	2.88 ± 0.19	1.62 ± 0.06
	8	365 ± 14	3.92 ± 0.15	681 ± 30	201 ± 13	309 ± 18	373 ± 21	11.4 ± 0.4	170 ± 12	878 ± 36		511 ± 22	2.39 ± 0.26	1.92 ± 0.26
	40	362 ± 18	4.10 ± 0.36	753 ± 77	208 ± 21	312 ± 28	349 ± 34	11.6 ± 1.3	143 ± 20	858 ± 57		514 ± 24	2.67 ± 0.43	2.35 ± 0.34
	200	345 ± 5	3.89 ± 0.08	757** ± 12	223* ± 2	292 ± 8	340 ± 13	11.0 ± 0.9	161 ± 16	846 ± 39		506 ± 34	2.22 ± 0.37	2.61** ± 0.12
	1000	351 ± 5	3.66 ± 0.09	760** ± 24	257** ± 15	281 ± 9	343 ± 13	10.9 ± 0.7	139* ± 18	851 ± 27		529 ± 14	2.29 ± 0.29	4.66** ± 0.39
	2500	356 ± 23	3.75 ± 0.32	781* ± 62	329* ± 63	315 ± 33	393 ± 26	14.5* ± 0.8	147 ± 27	882 ± 46		515 ± 31	3.21 ± 0.23	7.68** ± 1.17
Female	Control	224 ± 9	3.50 ± 0.11	659 ± 39	246 ± 18	324 ± 11	436 ± 17	21.5 ± 1.8	203 ± 5		31.9 ± 4.2	734 ± 25	5.02 ± 0.32	1.66 ± 0.13
	8	219 ± 8	3.81 ± 0.08	739 ± 32	266 ± 13	348 ± 29	456 ± 19	22.5 ± 1.6	228 ± 18		38.0 ± 1.9	788 ± 19	5.60 ± 0.42	2.34* ± 0.22
	40	202 ± 5	3.90 ± 0.14	776 ± 37	263 ± 13	340 ± 11	484 ± 16	24.4 ± 1.2	272** ± 12		38.9 ± 3.1	842** ± 20	5.85 ± 0.33	2.07* ± 0.10
	200	203 ± 3	3.85* ± 0.09	788 ± 41	299* ± 11	353 ± 9	476 ± 21	25.8 ± 0.8	235 ± 14		39.3 ± 3.8	840** ± 19	5.63 ± 0.27	2.72** ± 0.18
	1000	235 ± 11	3.77 ± 0.08	774* ± 25	323* ± 18	315 ± 8	433 ± 9	21.6 ± 0.6	167 ± 25		36.5 ± 3.0	719 ± 25	4.84 ± 0.46	8.46** ± 0.71
	2500	216 ± 8	4.06** ± 0.09	820** ± 24	362** ± 27	331 ± 25	459 ± 21	26.1 ± 1.4	142** ± 11		36.1 ± 3.7	804 ± 24	5.17 ± 0.17	8.76** ± 0.43

* ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$) Significantly different from control group.

Mean ± S.E.

Fig. 7 Spleen of the male rat receiving CTZ 2,500 mg/kg i. v. for 1 month

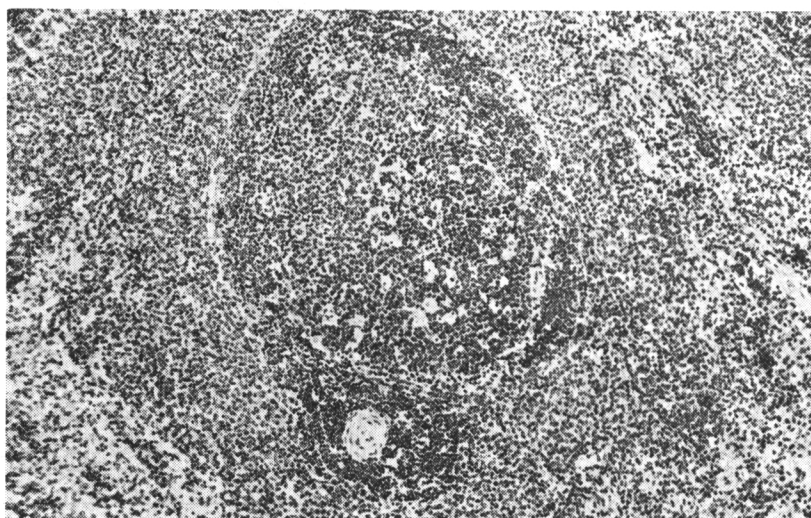
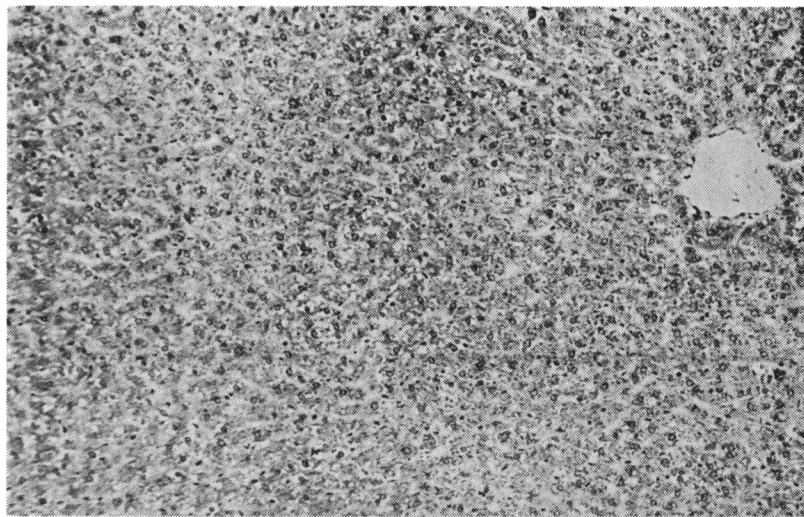
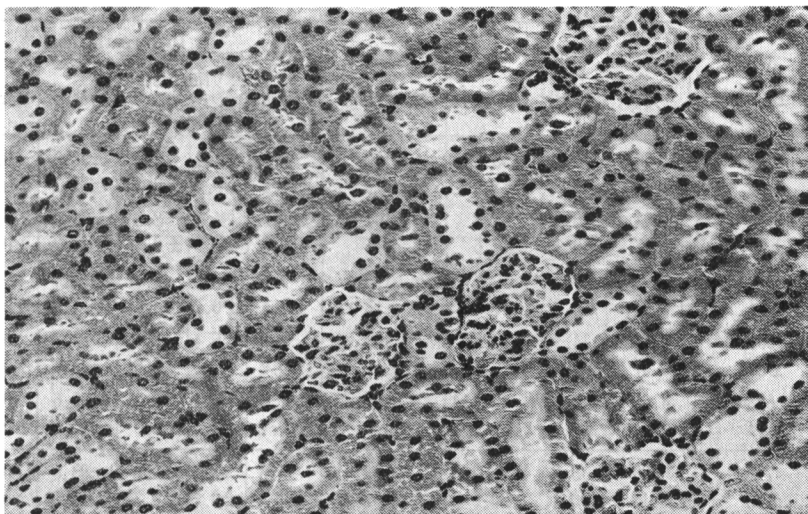
Activation of germinal center. H & E ($\times 100$)

Fig. 8 Liver of the male rat receiving CTZ 2,500 mg/kg i. v. for 1 month



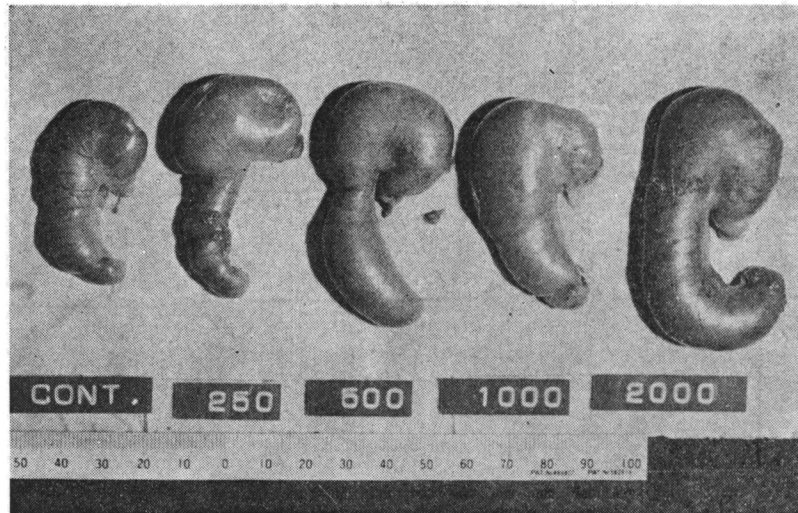
No changes in the hepatocytes. H & E ($\times 100$)

Fig. 9 Kidney of the female rat receiving CTZ 2,500 mg/kg i. v. for 1 month



No degenerative changes in the glomerulus nor in the tubular epithelium. H & E ($\times 200$)

Fig. 10 Cecum of the male rats receiving CTZ s. c. for 3-months



Dilatation of the cecum.

Table 5 Hemogram of rats subcutaneously injected with CTZ for 3 months

Sex	Dosage (mg/kg)	RBC ($\times 10^4$ /cmm)	Reticulo. (%)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC ($\times 10^2$ /cmm)	Differentiation (%)					Platelets ($\times 10^4$ /cmm)	
							Eosino.	Neutro.		Lympho.	Mono.		
								Stab.	Seg.				
Male	Control	849 ± 8	1.15 ± 0.14	16.8 ± 0.3	53.8 ± 1.2	110 ± 9	0.8 ± 0.3	2.1 ± 0.6	2.1 ± 0.4	94.8 ± 1.3	0.2 ± 0.1	99 ± 4	
	250	828 ± 26	1.11 ± 0.17	16.2 ± 0.1	52.4 ± 0.6	102 ± 5	0.9 ± 0.3	4.1 ± 1.0	2.3 ± 0.4	92.4 ± 1.3	0.3 ± 0.2	115* ± 4	
		500	847 ± 14	1.03 ± 0.07	15.5** ± 0.3	50.6 ± 1.1	110 ± 13	0.8 ± 0.1	3.0 ± 0.7	2.3 ± 0.6	93.5 ± 1.0	0.4 ± 0.2	104 ± 4
	1000	806 ± 22	3.04* ± 0.57	14.9** ± 0.2	49.6* ± 0.7	101 ± 7	0.3 ± 0.2	5.4 ± 2.0	3.4 ± 0.6	90.7 ± 2.7	0.2 ± 0.1	134* ± 22	
		2000	688** ± 14	4.68* ± 0.64	13.4** ± 0.1	45.6** ± 0.4	95 ± 4	1.0 ± 0.4	7.1 ± 2.4	6.1 ± 1.9	85.6 ± 4.0	0.2 ± 0.1	148** ± 10
	Female	Control	775 ± 16	0.93 ± 0.14	15.6 ± 0.1	49.2 ± 0.5	93 ± 8	0.6 ± 0.4	3.4 ± 0.7	1.8 ± 0.3	93.0 ± 1.0	0.2 ± 0.2	119 ± 7
		250	731 ± 14	0.51 ± 0.11	15.2 ± 0.2	48.4 ± 2.0	96 ± 6	0.9 ± 0.3	4.1 ± 1.5	0.9 ± 0.4	93.6 ± 1.8	0.5 ± 0.2	118 ± 8
			500	753 ± 10	0.74 ± 0.14	15.2 ± 0.2	49.6 ± 0.5	98 ± 8	1.1 ± 0.4	4.9 ± 0.4	1.1 ± 0.4	93.6 ± 1.5	0.3 ± 0.1
		1000	687* ± 21	2.39* ± 0.61	14.9** ± 0.1	48.8 ± 0.5	101 ± 9	1.1 ± 0.3	3.7 ± 0.7	0.7* ± 0.3	94.3 ± 0.9	0.2 ± 0.2	116 ± 9
			2000	628** ± 22	3.75** ± 0.50	13.6** ± 0.2	46.2 ± 1.3	119 ± 9	1.3 ± 0.4	6.3 ± 2.5	4.2 ± 1.8	87.7 ± 3.9	0.5 ± 0.1

* ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$) Significantly different from control group.Mean $\pm$ S.E.

Table 6 Biochemical and urinary findings of rats subcutaneously injected with CTZ for 3 months

Sex	Dosage (mg/kg)	Prothrombin time (sec.)	Recalcification time (sec.)	Al-P (K.A.U.)	Transaminase(K.U.)		BUN (mg/dl)	T-Pro. (%)	Glucose (mg/dl)	Volume (ml/3 hrs)	pH	Urine Proteinuria***		Occult blood, glucose ketone body, bilirubin urobilinogen
					GOT	GPT						-	+	
Male	Control	20.5 ±0.3	91 ±6	38.4 ±3.3	47.3 ± 3.7	23.8 ±1.8	18.8 ±0.7	6.36 ±0.07	138 ±3	3.34 ±0.65	6.6 ±0.2	1	3	All negative
	250	19.5 ±0.6	98 ±5	30.5 ±5.7	41.9 ± 2.0	10.9** ±0.9	19.2 ±1.0	6.06 ±0.12	147 ±7	3.54 ±0.38	7.2 ±0.3	4	1	
	500	18.9** ±0.3	108 ±7	37.1 ±3.8	45.7 ± 1.9	8.7** ±1.3	17.2 ±0.8	6.22 ±0.08	127 ±4	3.61 ±0.59	6.9 ±0.3	4	1	
	1000	18.7 ±0.6	108 ±9	36.4 ±3.7	45.5 ± 1.7	8.6** ±1.2	17.2 ±0.8	6.08 ±0.10	151 ±11	3.55 ±0.71	6.8 ±0.3	5		
	2000	19.3* ±0.3	101 ±3	30.5 ±2.4	44.8 ± 1.2	4.8** ±0.9	16.6 ±0.4	5.88** ±0.12	136 ±8	3.70 ±0.85	6.8 ±0.3	4	1	
Female	Control	17.8 ±0.3	119 ±8	19.8 ±1.7	49.3 ± 2.3	22.8 ±1.9	17.2 ±0.8	6.88 ±0.21	149 ±7	1.71 ±0.39	7.2 ±0.3	2	3	All negative
	250	16.4* ±0.4	102 ±5	17.1 ±3.6	63.2 ±12.2	7.8** ±2.7	19.8 ±0.8	7.38 ±0.24	137 ±4	1.93 ±0.46	7.2 ±0.2	3	1	
	500	17.1 ±0.4	106 ±5	19.2 ±4.7	61.7 ±10.4	11.4** ±4.2	19.4 ±1.2	7.10 ±0.10	138 ±6	2.91 ±0.58	7.6 ±0.4	4	1	
	1000	17.0 ±0.3	115 ±12	16.6 ±2.4	62.6 ± 8.1	4.3** ±1.2	19.6 ±1.9	6.50 ±0.19	134 ±6	2.96 ±0.59	7.4 ±0.4	1	4	
	2000	17.9 ±0.3	122 ±2	14.9 ±1.3	53.8 ± 5.9	2.1** ±0.6	16.6 ±0.4	6.10* ±0.12	136 ±3	3.17 ±0.56	7.0 ±0.4	4	1	

* (P<0.05), ** (P<0.01) Significantly different from control group.

***Number of rats. - : <5 mg/dl, ± : 5~20 mg/dl, + : 20~50 mg/dl, ++ : 50~200 mg/dl

Mean±S.E.

Table 7 Hemogram of rats subcutaneously injected with CTZ for 6 months

Sex	Dosage (mg/kg)	RBC ($\times 10^4$ /cmm)	Reticulo. (%)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC ($\times 10^2$ /cmm)	Differentiation (%)					Platelets ($\times 10^4$ /cmm)	
							Eosino.	Neutro.		Lympho.	Mono.		
								Stab.	Seg.				
Male	Control	917 ± 20	2.01 ± 0.29	16.6 ± 0.2	52.3 ± 1.1	114 ± 10	2.1 ± 0.7	4.7 ± 1.3	3.6 ± 0.6	89.2 ± 2.3	0.4 ± 0.2	114 ± 6	
	250	960 ± 11	2.36 ± 0.13	16.2 ± 0.2	51.7 ± 0.3	110 ± 7	0.9 ± 0.5	5.3 ± 0.8	5.0 ± 1.0	88.3 ± 1.8	0.5 ± 0.2	114 ± 7	
		500	893 ± 28	2.78 ± 0.21	15.2** ± 0.3	48.8* ± 0.6	140 ± 11	1.3 ± 0.5	6.5 ± 1.7	6.5 ± 0.7	85.4 ± 2.5	0.3 ± 0.1	112 ± 5
	1000	827** ± 12	4.45** ± 0.47	14.4** ± 0.2	45.3** ± 1.4	126 ± 3	2.0 ± 0.3	5.8 ± 0.8	4.5 ± 1.0	87.4 ± 1.6	0.3 ± 0.1	117 ± 13	
		2000	713** ± 41	7.17** ± 0.55	13.1** ± 0.5	43.4* ± 2.1	168* ± 18	0.8 ± 0.3	12.0** ± 1.7	8.6** ± 0.8	77.8** ± 2.2	0.8 ± 0.4	134** ± 5
	Female	Control	857 ± 16	1.65 ± 0.12	16.2 ± 0.2	49.2 ± 0.7	71 ± 5	2.6 ± 0.7	6.1 ± 0.4	2.4 ± 0.3	88.5 ± 1.2	0.4 ± 0.2	95 ± 6
		250	843 ± 34	1.55 ± 0.18	15.6 ± 0.4	45.6 ± 1.8	80 ± 2	1.8 ± 0.8	4.4* ± 0.5	2.5 ± 0.3	90.9 ± 0.7	0.4 ± 0.1	102 ± 7
			500	841 ± 15	1.82 ± 0.18	15.6* ± 0.2	47.5 ± 0.8	87 ± 12	1.2 ± 0.2	4.2 ± 0.8	3.4 ± 0.8	91.1 ± 1.1	0.1 ± 0.1
		1000	748** ± 23	2.83** ± 0.28	14.2** ± 0.2	44.2* ± 1.4	83 ± 9	1.6 ± 0.1	6.3 ± 2.2	2.2 ± 0.9	89.6 ± 3.0	0.3 ± 0.1	114 ± 7
			2000	680** ± 21	6.81** ± 0.65	13.7** ± 0.1	42.4** ± 0.8	87 ± 8	1.6 ± 0.3	5.8 ± 1.2	3.3 ± 1.1	88.8 ± 1.7	0.5 ± 0.2

* ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$) Significantly different from control group.Mean $\pm$ S.E.

Table 8 Biochemical findings of rats subcutaneously injected with CTZ for 6 months

Sex	Dosage (mg/kg)	Prothrombin time (sec.)	Recalcification time (sec.)	Partial thrombo-plastin time (sec.)	Al-P (K.A.U.)	Transaminase(K.U.)		BUN (mg/dl)	T-Pro. (%)	Glucose (mg/dl)
						GOT	GPT			
Male	Control	23.8 ± 0.6	182 ± 33	81.3 ± 6.0	35.1 ± 2.1	52.1 ± 5.7	26.8 ± 4.5	17.2 ± 0.3	5.77 ± 0.24	199 ± 18
	250	24.0 ± 0.5	216 ± 9	88.5 ± 10.3	25.1 ± 3.7	49.8 ± 6.6	15.5 ± 1.8	18.0 ± 0.5	5.70 ± 0.10	159 ± 7
	500	20.6 ± 0.2	180 ± 24	76.7 ± 7.2	21.9** ± 1.0	49.3 ± 4.7	11.0* ± 2.2	16.4 ± 0.6	5.63 ± 0.17	187 ± 4
	1000	21.7 ± 1.1	173 ± 22	72.7 ± 4.4	44.5 ± 3.0	44.2 ± 7.0	7.6* ± 1.8	13.7* ± 0.8	5.83 ± 0.12	171 ± 4
	2000	21.8 ± 0.2	202 ± 9	73.9 ± 3.0	40.0 ± 8.8	58.8 ± 10.0	5.5** ± 2.2	16.1 ± 1.0	6.00 ± 0.31	162 ± 4
Female	Control	20.5 ± 0.4	238 ± 60	87.0 ± 3.1	13.4 ± 4.4	90.9 ± 38.6	49.7 ± 26.2	18.0 ± 0.1	6.43 ± 0.15	140 ± 11
	250	20.3 ± 0.9	357 ± 92	98.8 ± 15.5	22.3 ± 3.1	53.8 ± 5.7	17.8 ± 1.9	15.2 ± 1.3	6.67 ± 0.03	154 ± 12
	500	20.7 ± 0.9	344 ± 55	86.5 ± 10.6	15.3 ± 3.1	155.1 ± 62.9	34.9 ± 11.7	16.4 ± 0.7	6.27 ± 0.09	184* ± 2
	1000	20.7 ± 0.2	271 ± 52	77.3 ± 7.5	26.8 ± 5.5	45.3 ± 4.8	10.2 ± 1.0	18.8 ± 0.6	6.00 ± 0.12	178 ± 14
	2000	19.6 ± 0.3	400 ± 57	89.3 ± 6.6	22.6 ± 4.3	46.2 ± 3.7	8.2 ± 0.4	14.8 ± 2.4	6.03 ± 0.03	172 ± 8

* ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$) Significantly different from control group.Mean $\pm$ S.E.

Table 9 Urinary findings of rats subcutaneously injected with CTZ for 6 months

Sex	Dosage (mg/kg)	Volume (ml/3 hrs.)	pH	Protein***				Occult blood, glucose ketone body, bilirubin urobilinogen
				—	±	+	++	
Male	Control	1.79 ±0.37	7.7 ±0.2	1	2	1	1	All negative
	250	2.53 ±0.61	7.2 ±0.4		3	2		
	500	2.52 ±0.32	7.4 ±0.4	2	1	2		
	1000	4.80 ±1.54	7.9 ±0.1	3	2			
	2000	4.02 ±0.71	7.2 ±0.3	2	3			
Female	Control	2.29 ±0.38	8.1 ±0.2	3	2			All negative
	250	0.81** ±0.09	7.8 ±0.3	4			1	
	500	1.82 ±0.58	7.5 ±0.2	3	2			
	1000	1.51 ±0.26	6.9* ±0.3	2	2	1		
	2000	1.55 ±0.37	7.5 ±0.5	1	3	1		

* (P<0.05), ** (P<0.01) Significantly different from control group. Mean±S.E.

*** Number of rats. — : <5 mg/dl, ± : 5–20 mg/dl, + : 20–50 mg/dl, ++ : 50–200 mg/dl

Table 10 Organ weights of rats subcutaneously injected with CTZ for 3 months

Sex	Dosage (mg/kg)	B.W. (g)	Organ weights (mg) per 100 g of body weight												
			Liver	Kidneys	Spleen	Heart	Lung	Adrenals	Thymus	Testes	Ovaries	Brain	Hypo.	Cecum	
Male	Control	471 ±10	3200 ±124	600 ±31	153 ±14	275 ±13	314 ±9	8.4 ±0.8	65 ±13	747 ±19		421 ±9	2.66 ±0.22	1302 ±80	
	250	466 ±12	3497 ±81	641 ±22	143 ±3	273 ±14	298 ±16	9.7 ±0.4	71 ±8	684 ±11		429 ±20	2.42 ±0.12	2187** ±107	
		436* ±9	3441 ±76	614 ±21	165 ±7	277 ±7	335 ±13	9.1 ±0.6	63 ±11	718 ±32		431 ±14	2.62 ±0.36	2726** ±176	
	1000	426** ±6	3301 ±89	626 ±20	186 ±7	286 ±8	363* ±16	10.3 ±0.6	70 ±19	740 ±41		445 ±13	2.44 ±0.17	2674** ±253	
		402** ±9	3187 ±112	650 ±8	213* ±20	265 ±7	328 ±15	10.1 ±0.8	51 ±8	785 ±27		446 ±7	2.46 ±0.33	5040** ±509	
	Female	Control	298 ±10	3180 ±67	581 ±17	151 ±5	283 ±9	378 ±15	18.1 ±1.5	105 ±14		24.3 ±1.4	647 ±27	5.04 ±0.46	1375 ±119
		250	276 ±8	3429 ±223	706* ±39	201** ±14	308 ±13	443 ±26	19.8 ±0.6	81 ±13		28.8 ±4.6	704 ±26	6.05 ±0.57	2604** ±209
			265* ±4	3613* ±128	724** ±26	198** ±13	331 ±18	444 ±29	19.7 ±1.4	66* ±4		27.6 ±2.2	711 ±21	5.64 ±0.32	2968** ±265
		1000	257** ±5	3322 ±109	694** ±25	217** ±13	300 ±10	498 ±65	19.5 ±0.4	78 ±5		24.8 ±1.6	721* ±15	5.14 ±0.36	6117** ±266
			262** ±3	3554* ±135	729** ±33	258** ±15	308 ±15	472** ±21	22.8 ±1.4	80 ±7		25.0 ±2.1	730* ±15	5.42 ±0.16	6731** ±595

* (P<0.05), ** (P<0.01) Significantly different from control group.

Mean±S.E.

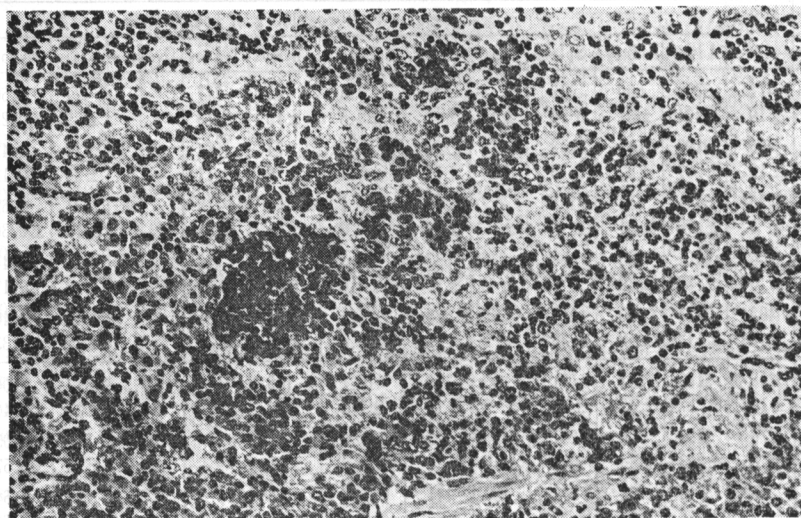
Table 11 Organ weights of rats subcutaneously injected with CTZ for 6 months

Sex	Dosage (mg/kg)	B.W. (g)	Organ weights (mg) per 100 g of body weight											
			Liver	Kidneys	Spleen	Heart	Lung	Adrenals	Thymus	Testes	Ovaries	Brain	Hypo.	Cecum
Male	Control	601 ± 29	3207 ± 142	563 ± 25	127 ± 10	269 ± 17	276 ± 17	7.1 ± 0.8	23.8 ± 3.0	580 ± 45		340 ± 25	2.41 ± 0.17	1154 ± 39
	250	614 ± 23	3532 ± 12	587 ± 19	149 ± 19	324 ± 80	336 ± 30	6.8 ± 0.3	14.9 ± 5.7	574 ± 41		328 ± 16	2.31 ± 0.21	1836* ± 226
	500	557 ± 25	3402 ± 50	615 ± 7	148 ± 18	253 ± 5	293 ± 18	6.3 ± 0.7	31.0 ± 6.3	425 ± 133		354 ± 28	2.83 ± 0.41	1936** ± 89
	1000	523* ± 6	3283 ± 53	632 ± 24	157 ± 14	273 ± 6	315 ± 27	9.2 ± 0.7	32.8 ± 5.5	691 ± 6		394 ± 22	2.59 ± 0.26	2002* ± 215
	2000	453** ± 6	3340 ± 77	655 ± 43	245 ± 46	247 ± 11	306 ± 62	10.9 ± 1.3	28.5 ± 11.9	729* ± 17		405 ± 19	3.11 ± 0.45	1978 ± 574
Female	Control	356 ± 29	3184 ± 149	605 ± 29	161 ± 10	300 ± 13	385 ± 19	16.3 ± 1.7	42.1 ± 3.9		22.6 ± 2.6	605 ± 48	5.89 ± 1.15	1345 ± 53
	250	332 ± 18	3197 ± 269	632 ± 77	180 ± 4	286 ± 28	389 ± 38	16.8 ± 1.3	40.9 ± 9.7		21.3 ± 2.8	552 ± 27	7.56 ± 1.37	1864** ± 71
	500	305 ± 9	3890 ± 30	719 ± 13	197 ± 21	333 ± 21	444 ± 26	20.3 ± 0.6	45.9 ± 17.2		22.7 ± 5.0	634 ± 23	7.46 ± 0.29	2037* ± 192
	1000	277* ± 5	3589 ± 132	695 ± 263	201 ± 17	309 ± 15	386 ± 11	16.1 ± 0.8	53.9 ± 9.6		30.6 ± 2.1	660 ± 11	5.82 ± 0.96	2513** ± 76
	2000	314 ± 4	3818* ± 80	698 ± 38	221** ± 5	303 ± 17	411 ± 13	20.9 ± 0.8	37.5 ± 2.0		23.2 ± 5.5	629 ± 23	5.40 ± 0.03	5723** ± 68

* (P<0.05), ** (P<0.01) Significantly different from control group.

Mean±S.E.

Fig. 11 Spleen of the male rat receiving CTZ 2,000 mg/kg s. c. for 6 months



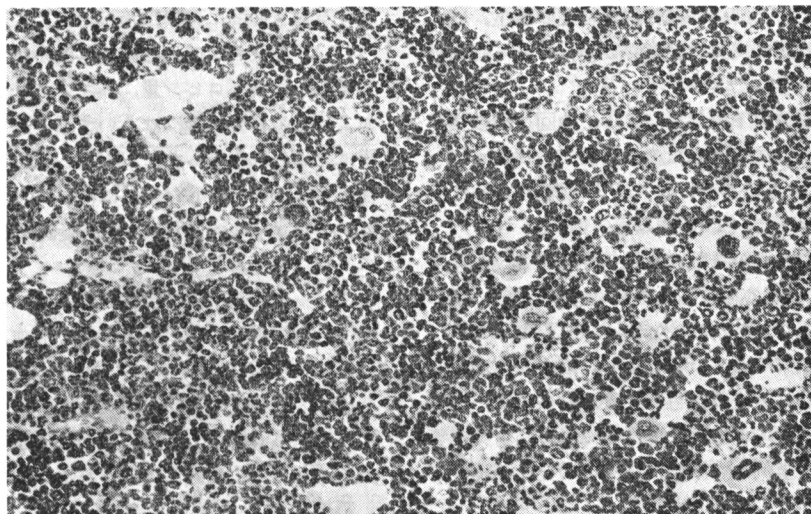
Few nucleated red cells in the red pulp. H & E (× 200)

る出血痕が投与量の増加に伴って多数認められた。このような限局性の出血は、筋層に達することはなく、また表皮の破壊を伴うこともなかった。2,000 mg/kg 群では浅腋窩および鼠蹊リンパ節の若干肥大した例がみられた。薬物投与各群の盲腸は用量増に伴い内容物の増量がみられ、著しい拡張を示した (Fig. 10)。腎、脾および脳は、用量増に伴う体重減少のために相対的に重量が増加した。その他、肝、肺、胸腺および精巣重量の一部に変動がみられた。組織学的には、雌雄とも3カ月間投

与の 2,000mg/kg 群で脾に少数の赤芽球系細胞の出現、骨髓では赤芽球系細胞の軽微な増加、表在リンパ節の髄洞における組織球性細胞の軽度の増加とヘモジデリン貪食、薬物投与局所の皮下織に限局性の出血、それに伴う軽度の浮腫、瘢痕肉芽織の形成および組織球性細胞のヘモジデリン貪食などの所見が認められた。その他の臓器には著変はみられなかった。

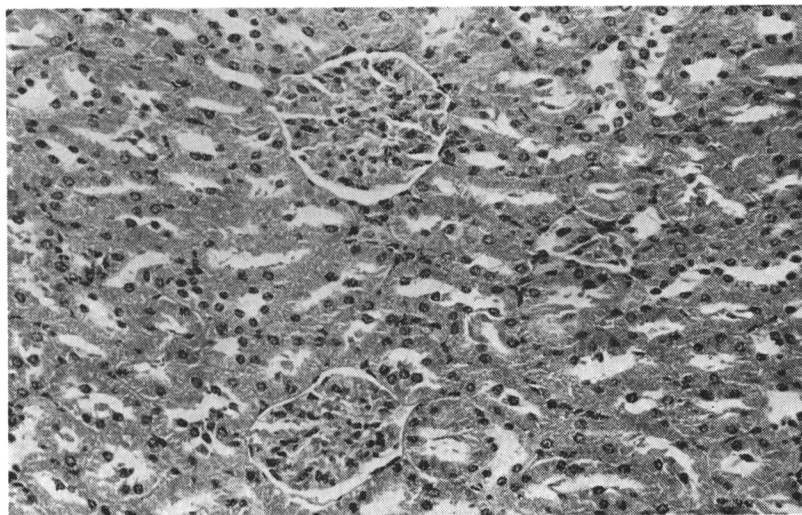
1,000 mg/kg 以下の群では、投与局所皮下織内の出血およびそれに伴う瘢痕肉芽織が主としてみられたが、

Fig. 12 Bone marrow of the male rat receiving CTZ 2,000 mg/kg s. c. for 6 months



Slight hypererythropoieses of bone marrow. H & E ($\times 200$)

Fig. 13 Kidney of the male rat receiving CTZ 2,000 mg/kg s. c. for 6 months



No degenerative changes in the glomerulus nor in the tubular epithelium. H & E ($\times 200$)

その程度は用量の減少に応じて軽減され、250 mg/kg 群では限局性でごく軽度であった。その他の所見として対照群および薬物投与各群に共通して脾に軽度のヘモジデリン沈着、肝、腎、心および肺の間質に限局性の細胞浸潤が散発的にみられた。

6 カ月間投与実験においても、同様の所見が観察された (Fig. 11, 12, 13)。皮下織内の出血痕は3 カ月間投与実験に比べてやや広範囲にみとめられたが (Fig. 14)、脾および骨髓の赤芽球系細胞の増加像は3 カ月間投与実験と同様に 2,000 mg/kg 群にみられ、その程度は軽微であった。その他、対照群および薬物投与各群には前述の共通所見に加えて、脾に細網細胞の軽度の増生、肺に肺胞壁の肥厚、胸腺に皮質の軽度の萎縮、骨髓に脂肪細胞の増加などがみられた。

3) 6 カ月間連続皮下投与したラットの回復実験

投薬休止後7週目に測定した赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値あるいは GPT 活性にとくに低下は認められなかった (Table 12)。

体重は、抑制の著しかった大量投与群ほど増加傾向が強くみられ、盲腸の拡張ならびに重量増加は 2,000 mg/kg 群においても認められなかった (Table 13)。

臓器の肉眼的観察では、500mg/kg 以上の各群の皮下に出血痕と思われる淡黄褐色の部分が見られた。全例に胸腺の萎縮、1,000mg/kg 群雄1例に左側精巣の萎縮が見られたが、全例とも腹腔内脂肪組織の発育が良好であった。

組織学的には、500 mg/kg 以上の各群の皮下織に組

織球性細胞のヘモジデリン貪食が極く一部に認められたほかには、対照群および薬物投与各群に共通して6 カ月間投与実験と同様の非特異的な所見がみられた。

4) イヌに1 カ月間静脈内投与した実験

(1) 一般症状：450mg/kg 群に実験開始後約1週間の間2, 3回投与直後に嘔吐がみられた例があったが、その後、嘔吐反応はみられなくなった。その他、一般症状には異常変化は認められなかった。

(2) 体重 (Fig. 3) および摂餌量：対照群を含めて体重に若干の増減があったが、薬物投与による増加抑制傾向はみられなかった。摂餌量についても、対照群と薬物投与群との間に差異はなかった。

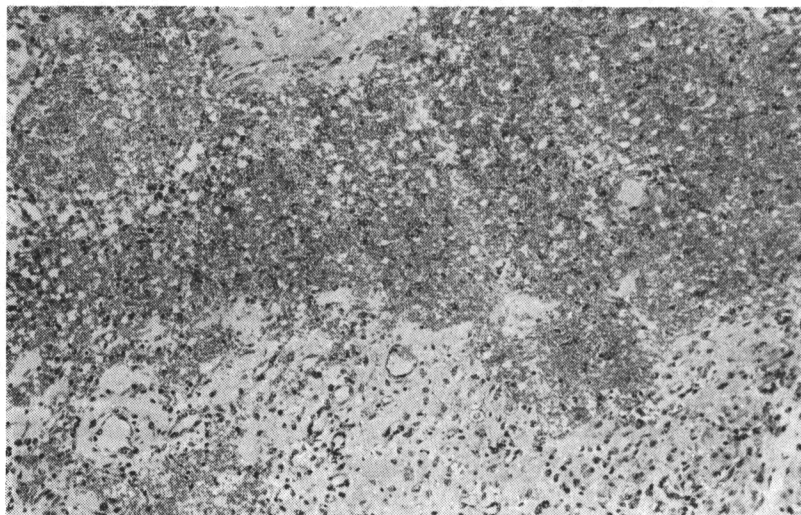
(3) 血液および臨床生化学的所見 (Table 14)：赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数およびその百分比等には、いずれの投与群においても異常は認められなかった。薬物投与群の全例に GPT 活性が特異的に低下した以外には、GOT、AI-P、総蛋白、コレステロール、BUN、血液凝固系および A/G 比等に異常はみられなかった。

(4) 尿検査所見：投与前および投与期間中の尿検査では全例の蛋白、糖、ケトン体、潜血、pH に異常はみられなかった。

(5) 剖検時の肉眼的所見、臓器重量 (Table 15) および組織学的所見：剖検時の肉眼的観察および臓器の重量に関してとくに異常はみられなかった。

組織学的には、450 mg/kg 群において、雄2例の肝実質内に時々限局性の軽度の水腫様変化がみられた

Fig. 14 Subcutaneous tissue of the male rat receiving CTZ 2,000 mg/kg s. c. for 6 months



Marked hemorrhage and scar tissue in the subcutaneous tissue. H & E ($\times 100$)

Table 12 Hematological and biochemical findings of rats kept for 7 weeks without administration after consecutive six month subcutaneous injection of CTZ

Sex	Male										Female									
	Control					250					500					1000				
	1	2	5	6	9	10	500	1000	2000		Control	3	4	7	8	11	12	15	16	2000
Dosage(mg/kg)																				
Animal No.																				
RBC($\times 10^4$ /cmm)	834	872	913	903	946	868	934	910	938	893	752	816	842	826	805	751	818	760	830	855
WBC($\times 10^2$ /cmm)	96	146	120	195	131	158	154	151	145	130	86	80	116	123	141	108	127	113	136	119
Hb(g/dl)	15.9	16.7	16.7	16.1	17.6	17.0	17.6	18.0	17.5	17.1	15.2	16.3	17.0	17.0	16.5	15.4	16.7	15.8	17.1	16.7
Ht(%)	43.0	45.0	44.0	44.0	48.0	45.0	45.0	46.5	45.0	43.5	39.5	43.5	40.5	44.0	44.0	41.0	38.0	38.0	44.0	40.0
A/G ratio	1.00	0.92	1.13	0.92	1.00	1.08	1.13	1.00	0.97	1.42	1.55	1.35	0.87	1.32	1.65	1.00	1.02	1.38	1.07	0.78
Al-P(K.A.U.)	28.7	23.9	50.8	38.3	49.0	37.6	30.8	19.0	29.2	17.8	9.6	7.1	11.0	22.9	12.4	22.4	10.8	27.9	27.0	17.9
GOT(K.U.)	53	60	98	51	53	54	61	48	47	51	53	46	47	155	122	53	47	51	139	105
GPT(K.U.)	26	26	55	21	26	32	26	29	18	28	18	18	18	49	66	25	18	20	46	44
T-Pro. (%)	6.09	5.99	6.35	6.17	6.11	5.98	5.64	4.86	5.85	5.66	7.32	6.65	6.25	6.42	6.97	6.95	6.57	7.12	6.39	6.51
BUN(mg/dl)	10.5	13.5	10.9	10.9	9.9	12.6	11.9	12.8	13.0	11.0	6.9	8.2	11.1	12.3	9.6	11.2	11.7	12.8	11.6	11.9
Glucose(mg/dl)	173	160	164	161	167	170	176	162	185	158	128	162	161	147	133	161	154	187	163	152
Cholesterol(mg/dl)	57	88	98	64	69	99	55	71	81	90	171	79	73	129	108	90	99	90	63	126

(Fig. 15) 以外には異常変化はみられなかった (Fig. 16)。150mg/kg 以下の各群には著変は認められなかった。

5) イヌに1カ月間皮下投与した実験

(1) 一般症状: 実験期間中, 500 mg/kg 投与例は, 投与時, 常に局所の疼痛を訴え, ヒトとの接触を拒絶する態度を示したが 250 mg/kg 以下では注射局所の疼痛をほとんど訴えなかった。

(2) 体重 (Fig. 4): 薬物投与各例はいずれも対照例と同様に若干の体重変動を示したが, とくに薬物投与によると思われる体重の減少はみられなかった。

(3) 血液および臨床生化学的所見 (Table 16): 500 mg/kg 投与例の赤血球数は軽度減少し, 白血球数は軽度増加したが, 250mg/kg 以下の投与例には著変はみられなかった。生化学的には, 薬物投与各例の GPT 活性に特異的な低下が認められた以外に異常はみられなかった。

(4) 剖検時の肉眼的所見, 臓器重量 (Table 17) および組織学的所見: 薬物投与各例の背部皮下にラットの場合と同様に, 出血が認められた。63 mg/kg 投与例では, 限局的な小出血斑が認められる程度であったが, 投与量の増加に伴い増強され, 500 mg/kg 投与例の背部皮下は部分的に赤色ないし淡赤紫色を呈した。その他の臓器には特に著変は認められなかった。薬物投与各例の臓器重量についても, 特に著しい増減は認められなかった。組織学的には, 薬物投与例の皮下脂肪臓内出血, 軽度の癒痕肉芽組織形成, 軽度のヘモジデリン沈着などがみられた (Fig. 17)。500 mg/kg 投与例で脾に少数の赤芽球系細胞の出現および骨髓に造血細胞の増加など軽度の造血機能亢進像が観察された。その他の臓器には著変はみられなかった (Fig. 18)。250 mg/kg 以下では, 皮下臓の小出血巣以外に異常所見はみられなかった。

6) イヌに3カ月および6カ月間静脈内投与した実験

(1) 一般症状: 500 mg/kg 群のうち少数に実験開始後約1カ月間投与直後の嘔吐および流涎が週2, 3回みられたが, その他の中毒症状あるいは死亡例は観察されなかった。

(2) 体重 (Fig. 5, 6) および摂餌量: 雌の 500 および 250 mg/kg 群の体重に若干の増加抑制傾向がみられたが, 摂餌量の減少はとくに認められなかった。

(3) 血液および臨床生化学的所見 (Table 18, 19): 500 mg/kg 群で, 赤血球数およびヘモグロビン量の軽度の減少を示す例や白血球数の軽度の増加を示す例が認められた。GPT 活性は薬物投与各群のいずれの例においても著明に低下した。その他の検査所見には異常は

Table 13 Body weights and organ weights of rats kept for 7 weeks without administration after consecutive six month subcutaneous injection of CTZ

Sex	Male										Female									
Dosage(mg/kg)	Control		250		500		1000		2000		Control		250		500		1000		2000	
Animal No.	1	2	5	6	9	10	13	14	17	18	3	4	7	8	11	12	15	16	19	20
Body weight(g)	730	575	654	732	580	640	590	612	558	542	434	410	322	326	320	354	298	290	304	348
B.W. gain(g)	54	44	60	75	57	76	47	92	87	101	34	-28	26	29	22	34	33	17	6	23
Organ weights*																				
Liver	3200	2580	3230	2650	2990	3080	3090	2810	3370	3060	3090	2630	2850	3240	3360	3350	3380	3840	3070	3530
Kidneys	521	536	560	488	560	528	614	389	557	576	578	500	522	571	591	650	738	717	592	583
Spleen	114	116	115	116	134	122	139	131	146	130	92	129	153	172	191	154	185	181	217	176
Heart	238	250	220	218	228	236	261	210	258	272	215	278	278	264	328	292	282	332	284	305
Lung	248	226	202	247	241	270	302	229	251	297	283	320	342	356	419	367	356	428	395	345
Thymus	12.5	7.5	22.3	50.3	26.6	39.5	15.3	24.0	34.6	16.4	38.0	22.0	38.8	77.6	48.1	35.6	23.2	45.2	39.8	44.8
Adrenals	6.99	7.49	5.35	5.60	5.86	5.16	7.46	6.86	6.99	5.90	11.8	14.9	15.3	17.8	16.9	15.5	19.8	25.2	13.5	17.2
Brain	296	344	291	254	350	295	344	312	357	321	444	485	565	604	581	523	651	655	632	500
Hypophysis	1.92	1.91	2.14	1.91	1.72	1.88	1.86	1.96	2.33	2.21	7.60	4.15	3.73	8.90	6.88	3.11	7.72	9.66	4.61	5.17
Cecum	1040	1110	1170	1130	1410	1190	1420	1040	1280	1220	950	1290	1560	1450	2180	1760	1650	2130	2140	1680
Testes	508	546	540	413	638	541	627	395	649	625	6.5 12.2		17.4 9.5		11.9 8.2		8.4 15.2		20.1 12.4	
Ovaries																				

* mg per 100 g of body weight

Table 14 Hematological and biochemical findings of dogs intravenously injected with CTZ for 1 month

Dosage (mg/kg)		Control				50				150				450			
Sex	Dog No.	M		F		M		F		M		F		M		F	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
RBC($\times 10^4$ /cmm)		717	738	596	605	714	694	715	628	620	684	569	551	672	667	638	635
Hb(g/dl)		16.5	16.7	14.5	14.0	16.4	16.7	19.2	14.9	17.3	17.6	13.4	15.1	16.1	15.0	15.5	15.5
Ht(%)		44.0	47.0	45.0	47.0	47.0	45.0	49.0	45.0	43.5	52.0	43.0	53.0	44.0	43.5	50.0	50.0
WBC($\times 10^2$ /cmm)		85	98	104	109	123	121	85	121	91	96	112	96	94	89	140	157
Differentiation(%)																	
Eosino.		0	0.5	1.0	1.0	1.5	6.0	0.5	3.5	0	2.5	1.5	0	1.0	0.5	0.5	1.5
Neutro.	{ Stab.	38.0	30.5	34.0	35.0	40.0	30.5	20.0	30.0	27.5	41.0	52.0	47.0	58.0	38.0	52.5	35.0
	{ Seg.	11.0	12.0	21.0	16.0	11.0	8.0	39.5	24.0	28.5	17.0	25.0	12.0	10.0	26.0	25.0	23.5
Lympho.		50.0	56.5	44.0	47.5	47.0	55.0	40.0	42.0	43.0	39.0	20.5	40.5	30.0	34.5	19.0	40.0
Mono.		1.0	0.5	0	0.5	0.5	0.5	0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	1.0	3.0	0
Al-P(K.A.U.)		5.8	7.8	8.0	9.1	6.0	10.2	7.0	10.4	4.7	5.8	9.6	9.7	8.3	6.7	9.7	5.3
GOT(K.U.)		14.0	16.0	22.0	16.4	16.4	11.0	22.8	15.8	13.2	11.0	15.8	11.0	12.8	18.0	9.0	11.5
GPT(K.U.)		12.4	11.7	17.3	11.4	<0.5	<0.5	0.7	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
BUN(mg/dl)		6.3	7.1	7.7	6.2	4.8	4.3	7.6	4.7	4.9	3.5	7.3	6.9	5.0	7.3	4.8	4.2
Glucose(mg/dl)		98	104	88	93	102	112	83	106	99	89	92	97	112	104	97	98
Cholesterol(mg/dl)		94	117	131	103	159	91	99	131	82	137	164	157	159	126	104	95
T-Pro.(%)		5.3	5.4	5.8	5.1	5.7	5.3	5.2	5.2	6.0	6.1	6.0	6.5	5.8	5.9	5.4	5.9
A/G ratio		1.38	1.14	0.85	1.04	1.17	1.44	1.44	1.11	1.13	1.27	0.96	1.27	1.22	1.04	1.04	1.33
Recal. time(sec.)		140	132	124	157	139	124	166	128	107	120	149	110	129	109	149	115
PTT(sec.)		57.2	49.4	46.4	51.0	48.2	50.5	52.4	48.2	49.1	44.8	52.3	54.8	50.0	49.5	51.7	48.5
PT (sec.)		9.7	9.9	9.8	10.0	10.3	10.0	8.8	12.5	10.4	10.2	10.8	8.8	10.2	9.8	8.4	9.2
Coagulation time(min)		5' 30	6' 15	6' 45	7' 15	5' 15	6' 30	6' 15	5' 30	6' 15	5' 45	6' 30	5' 45	6' 00	6' 30	5' 45	6' 15

Table 15 Organ weights of dogs intravenously injected with CTZ for 1 month

Dosage (mg/kg)	Sex	No.	B.W. (kg)	Organ weights (mg) per 100 g of body weight												
				Liver (g)	Kidneys	Spleen	Heart	Lung	Adre.	Thymus	Thyr.	Panc.	Testes	Ovaries	Brain	Hypo.
Control	M	1	11.4	3.03	436	208	767	685	7.9	54.6	7.16	227	124		740	0.72
		2	10.8	2.89	391	269	742	746	10.2	49.4	7.66	208	141		743	0.64
	F	3	9.4	3.63	386	190	927	778	11.3	45.7	7.80	281		7.0	1009	0.36
		4	8.4	3.36	376	262	763	703	10.5	95.7	8.99	229		7.8	975	0.67
50	M	5	11.6	2.77	395	266	755	693	11.0	70.6	7.78	241	138		773	0.47
		6	11.2	3.10	427	291	805	760	10.9	98.3	7.60	237	156		725	0.63
	F	7	7.9	2.96	367	296	813	757	11.4	67.1	7.61	262		6.7	1007	0.87
		8	9.9	3.49	404	261	712	719	9.4	21.2	9.40	255		11.4	852	0.39
150	M	9	10.0	3.09	426	234	771	656	12.2	22.9	8.52	272	145		717	0.65
		10	10.1	3.00	441	248	697	723	10.0	32.9	8.80	280	221		757	0.69
	F	11	10.0	3.68	447	227	797	801	11.4	31.8	9.90	260		15.7	875	0.48
		12	9.4	3.52	400	285	638	663	11.0	20.5	9.57	241		17.0	669	0.68
450	M	13	10.9	3.26	438	283	718	652	14.5	19.4	8.23	254	118		671	0.52
		14	10.9	3.02	481	292	867	664	11.8	26.4	7.48	249	116		773	0.67
	F	15	9.4	3.66	529	357	706	698	11.5	16.9	9.33	219		39.7	814	0.74
		16	10.0	3.61	463	296	625	783	9.8	25.8	8.19	265		24.8	737	0.70

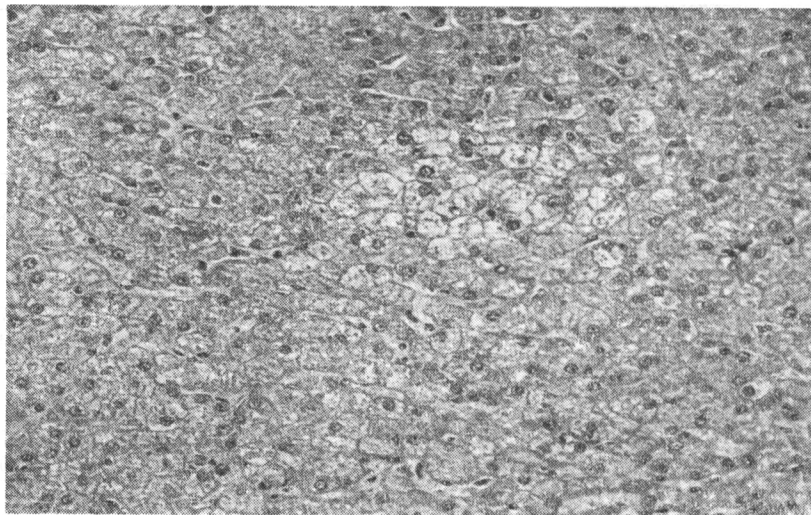
Dosage(mg/kg)		Control	63	125	250	500
Dog No.		21	22	23	24	25
Tests						
RBC($\times 10^4$ /cmm)		718	730	757	731	692
Hb(g/dl)		16.0	16.0	16.9	16.4	15.6
Ht(%)		48.5	41.0	45.0	46.5	43.0
WBC($\times 10^2$ /cmm)		99	142	97	95	136
Differentiation(%)						
Eosino.		0	3.0	1.0	1.5	0
Neutro.	Stab.	26.5	38.0	43.0	31.5	45.5
	Seg.	9.5	18.0	16.0	21.5	24.5
Lympho.		63.5	41.0	38.5	45.0	28.0
Mono.		1.0	0	1.5	0.5	2.0
Al-P(K.A.U.)		7.9	8.4	7.7	14.2	13.8
GOT(K.U.)		15.6	14.7	18.3	46.0	16.0
GPT(K.U.)		18.1	<0.5	<0.5	0.7	<0.5
BUN(mg/dl)		14.3	12.9	13.7	13.6	15.0
Glucose(mg/dl)		96	91	93	93	93
Cholesterol(mg/dl)		131	141	120	158	127
T-Pro.(g/dl)		5.4	5.1	5.3	5.4	5.5
A/G ratio		1.22	0.89	1.04	1.00	1.00
Recal. time(sec.)		124	132	104	110	120
PT (sec.)		9.6	10.0	8.8	9.5	9.3
PTT(sec.)		48.3	56.5	43.5	47.3	46.5

Table 16 Hematological and biochemical findings of female dogs subcutaneously injected with CTZ for 1 month

Table 17 Relative organ weights (mg per 100 g of body weight) of female dogs subcutaneously injected with CTZ for 1 month

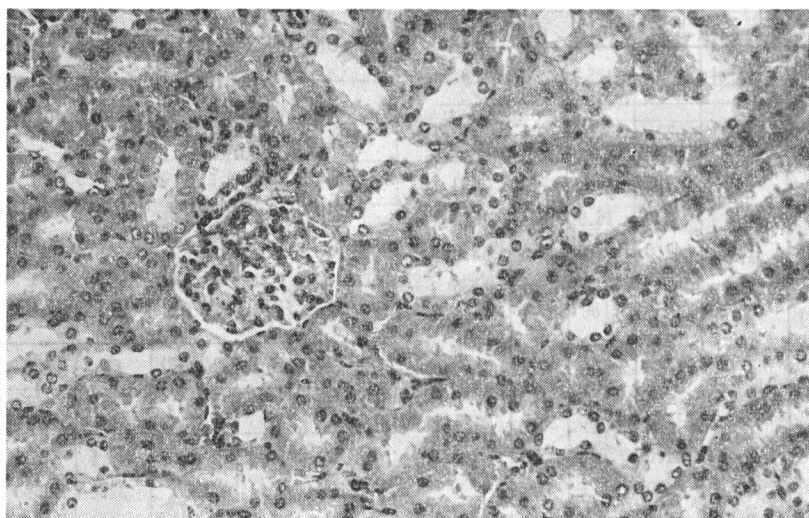
Dosage(mg/kg)	Control	63	125	250	500
Dog No.	21	22	23	24	25
B.W.(kg)	9.2	9.6	8.4	9.4	8.4
Liver	3390	3220	3620	3790	4080
Kidneys	514	503	514	538	557
Spleen	327	257	377	314	336
Heart	784	832	955	708	874
Lung	766	811	738	786	686
Adrenals	12.0	11.3	11.0	12.6	12.6
Thymus	68.7	62.5	71.7	66.9	97.5
Thyroids	9.54	10.01	10.63	9.68	14.26
Pancreas	240	205	342	329	363
Ovaries	9.0	6.3	24.8	9.9	6.2
Brain	807	808	968	832	871
Hypophysis	0.68	0.75	0.80	0.72	0.73

Fig. 15 Liver of the female dog receiving CTZ 450 mg/kg i. v. for 1 month



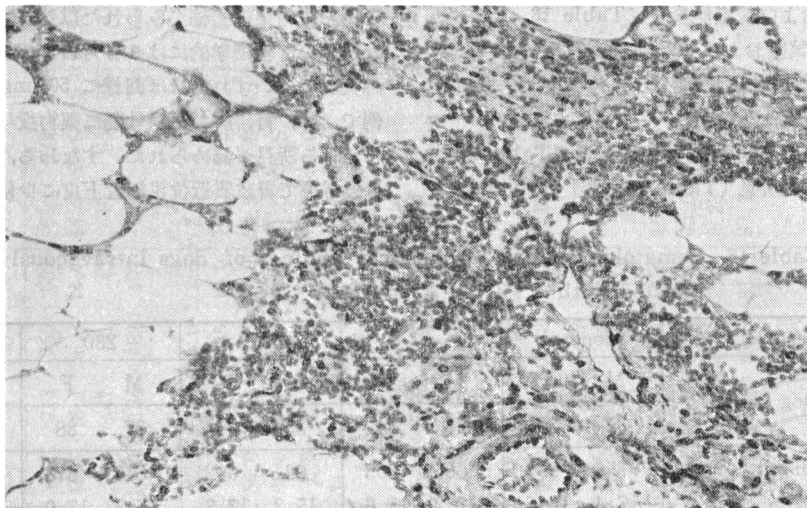
Localized hydropic changes of hepatocytes. H & E ($\times 100$)

Fig. 16 Kidney of the male dog receiving CTZ 450 mg/kg i. v. for 1 month



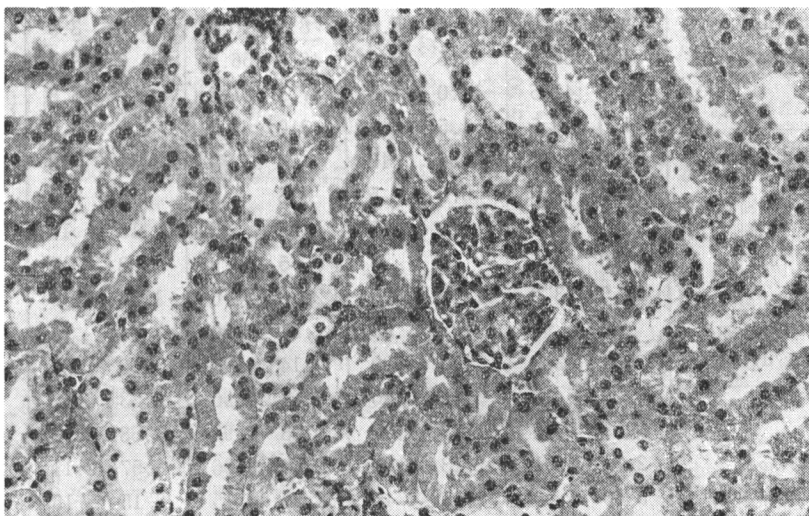
No degenerative changes in the glomerulus nor in the tubular epithelium. H & E ($\times 200$)

Fig. 17 Subcutaneous tissue of the female dog receiving CTZ 500 mg/kg s. c. for 1 month



Slight hemorrhage and scar tissue in the subcutaneous tissue. H & E ($\times 200$)

Fig. 18 Kidney of the female dog receiving CTZ 500 mg/kg s. c. for 1 month



No degenerative changes in the glomerulus nor in the tubular epithelium. H & E ($\times 200$)

みられなかった。

(4) 肝機能および腎機能検査 (Table 18, 19), 尿検査所見: BSP 試験および PSP 排泄試験では, 薬物投与各群のいずれの例にも機能低下はみられず, 尿検査でも異常は認められなかった。

(5) 剖検時の肉眼的所見, 臓器重量 (Table 20, 21) および組織学的所見 (Table 22, 23): 500 mg/kg

を6カ月間投与した群で, 雌2例の脾に軽度の肥大, 雄1例の右精巣に萎縮がみられた以外には著変は認められなかった。組織学的には3カ月および6カ月間静脈内投与実験で, いずれもほぼ同様に 500 mg/kg 群の一部の例で, 肝, 腎, 脾および骨髄に薬物投与の影響によると思われる所見が認められた。すなわち, 対照群および低量投与群で腎皮質近位尿細管上皮に少量の褐色色素沈着

Table 18 Hematological and biochemical findings of dogs intravenously injected with CTZ for 3 months

Tests	Dosage (mg/kg)		Control		63		125		250		500	
	Sex		M		M		M		M		M	
	Dog No.		31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
RBC($\times 10^4$ /cmm)			756	687	665	603	621	662	647	673	635	598
Hb(g/dl)			17.4	18.6	17.2	15.6	15.2	17.3	16.1	17.9	15.3	15.0
Ht(%)			52.0	55.0	47.0	45.0	46.0	50.0	54.0	53.0	50.0	49.0
WBC($\times 10^2$ /cmm)			103	74	98	92	123	114	79	67	112	156
Differentiation(%)												
Eosino.			4.0	1.5	2.0	2.5	3.0	1.0	1.0	1.5	1.0	2.0
Neutro.	Stab.		8.0	6.0	7.0	5.5	8.0	10.5	9.0	3.5	5.0	3.0
	Seg.		51.5	50.5	45.5	48.0	48.5	56.5	51.0	18.0	52.0	44.5
Lympho.			35.5	41.5	44.0	41.5	37.5	31.0	38.0	76.5	40.5	48.5
Mono.			1.0	0.5	1.5	2.5	3.0	1.0	1.0	0.5	1.5	2.0
Platelets($\times 10^4$ /cmm)			40	37	26	42	23	39	31	18	16	16
Al-P(K.A.U.)			5.5	9.0	6.6	7.5	8.8	5.3	7.6	7.2	7.3	6.5
GOT(K.U.)			21	21	21	15	21	23	18	17	18	14
GPT(K.U.)			20	16	6	6	5	9	8	6	6	6
BUN(mg/dl)			13.5	13.6	13.9	22.5	20.0	14.6	11.6	21.9	16.9	12.6
Glucose (mg/dl)			85	90	107	85	91	90	94	78	108	101
Cholesterol(mg/dl)			131	210	160	209	114	153	169	202	127	182
T-Pro.(%)			6.29	6.16	6.12	6.20	5.87	5.96	6.33	6.47	5.97	6.30
A/G ratio			0.88	1.16	1.12	1.00	0.88	0.92	0.88	0.92	0.78	0.61
BSP retention(%)			2.34	2.01	2.13	1.97	1.62	2.36	3.57	2.11	2.13	2.05
Coagulation time(min)			5'00	5'00	4'45	4'45	5'30	5'15	5'15	5'15	4'45	5'00
Recal. time(sec.)			90	89	90	78	102	67	83	60	90	111
Prothrombin time(sec.)			9.3	9.7	16.2	10.4	10.2	10.3	9.3	10.2	10.3	9.7
PTT(sec.)			58.0	45.0	44.0	65.5	52.0	54.0	47.6	47.8	55.2	48.6
Urine												
Occult blood			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ketone body			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Protein			—	±	±	±	—	±	—	—	±	—
Glucose			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
pH			6.0	7.5	7.0	7.0	6.5	7.5	6.5	7.0	7.0	6.5
Urobilinogen			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—: negative, ±: trace

Table 19 Hematological, biochemical and urinary findings of dogs intravenously injected with CTZ for 6 months

Dosage(mg/kg)	Control				63				125				250				500			
	M		F		M		F		M		F		M		F		M		F	
Sex																				
Dog No.																				
Tests	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
RBC($\times 10^4$ /cmm)	740	683	625	675	793	666	733	784	721	647	737	699	777	713	755	667	686	872	756	557
Hb(g/dl)	16.7	16.1	15.5	15.3	16.7	15.6	16.1	16.3	15.3	14.6	16.3	16.1	16.5	16.1	16.3	14.7	14.6	17.6	16.0	15.0
Ht(%)	50	45	45	46	49	47	50	51	45	45	47	50	49	47	51	43	45	56	55	42
WBC($\times 10^2$ /cmm)	119	120	113	143	153	100	154	129	140	138	188	115	113	134	122	100	171	91	123	103
Differentiation(%)																				
Eosino.	10.0	2.5	3.0	5.5	7.5	7.5	4.0	6.0	4.5	2.0	5.5	2.0	2.0	6.5	6.0	2.5	3.5	4.0	1.5	0.5
Neutro.	45.0	46.5	45.5	52.0	46.5	52.5	48.5	41.5	36.5	58.5	44.5	40.0	56.0	55.5	44.5	32.0	59.5	51.0	55.0	55.0
Lympho.	39.5	40.0	40.5	35.0	35.0	33.0	38.0	41.5	49.0	32.0	35.5	45.0	35.0	30.0	33.0	54.0	21.5	35.5	31.5	35.5
Mono.	1.0	0.5	2.5	2.0	2.0	1.5	3.0	0.5	1.5	1.0	2.0	1.5	2.0	2.0	2.0	1.5	2.5	1.0	1.5	1.5
Al-P(K.A.U.)	9.7	7.2	11.8	10.7	9.7	6.8	14.3	11.5	7.6	9.3	10.1	9.5	11.3	8.6	11.3	12.6	8.4	7.6	14.8	9.7
GOT(K.U.)	29	26	18	26	22	24	18	22	22	18	20	18	21	15	21	18	16	18	16	18
GPT(K.U.)	33	28	22	26	9	9	7	8	5	5	5	7	3	3	13	5	4	8	8	5
BUN(mg/dl)	29.5	27.1	27.4	20.4	23.8	27.3	23.7	23.3	25.8	27.6	21.3	13.7	23.4	15.7	23.8	10.2	20.5	18.2	20.9	18.3
Glucose(mg/dl)	92	91	102	100	99	102	92	94	98	89	106	91	96	102	94	96	90	96	96	97
Cholesterol(mg/dl)	128	107	178	135	177	221	208	224	145	175	159	152	153	213	159	164	186	148	142	184
T-Pro.(g/dl)	6.35	6.52	6.33	6.48	5.91	6.05	6.25	6.01	5.90	6.27	6.33	6.41	6.02	4.98	6.03	5.89	5.95	6.05	5.70	6.03
A/G ratio	1.08	0.96	0.92	1.27	1.17	1.63	1.08	1.32	1.22	0.92	0.96	1.17	1.08	1.00	1.32	1.12	1.17	1.00	1.27	1.08
Platelets($\times 10^4$ /cmm)	21	21	27	36	19	25	20	24	21	28	26	28	12	15	25	22	34	34	24	21
Coagulation time(min.)	6'15	5'15	5'45	6'15	5'15	5'00	5'45	5'00	5'15	5'45	6'30	5'45	4'45	6'00	4'45	5'00	5'15	5'30	5'00	5'20
Recal. time(sec.)	136	106	132	161	152	127	129	131	104	132	114	96	96	131	120	104	104	114	109	106
PT(sec.)	10.8	10.3	11.1	8.9	10.3	11.1	10.7	19.2	11.1	10.7	9.0	10.7	11.0	9.8	10.3	15.5	16.0	10.4	11.2	10.3
PTT(sec.)	65.4	50.7	49.0	69.2	61.3	56.4	54.1	58.9	64.2	74.2	61.1	59.5	63.6	62.8	64.8	42.4	45.0	53.5	56.6	59.0
BSP retention(%)	4.17	3.84	5.40	3.33	3.75	3.57	1.89	4.59	2.73	4.95	3.12	3.78	2.94	2.58	4.02	2.49	4.23	3.84	3.54	3.74
PSP excretion(%)	68.2	80.6	74.9	75.7	72.3	74.8	81.5	79.2	78.2	69.8	74.1	77.8	69.0	74.7	82.6	81.2	83.1	67.3	76.4	73.3
Urine																				
Occult blood	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ketone body	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Protein	—	±	—	±	—	±	—	—	±	±	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
pH	6.0	9.0	6.0	7.5	7.5	9.0	7.0	8.5	7.0	7.0	7.5	7.0	7.0	7.0	8.0	7.0	6.0	8.0	7.0	6.0
Urobilinogen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— : negative, ± : trace

Table 20 Organ weights of dogs intravenously injected with CTZ for 3 months

Dosage (mg/kg)	Sex	No.	B.W. (kg)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Lung (g)	Adre. (mg)	Panc. (g)	Thyr. (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)	Brain (g)	Hypo. (mg)
Control	M	31	10.4	312.1 3.00	53.59 0.515	27.43 0.264	109.95 1.057	82.77 0.796	1097 10.5	25.40 0.244	1055 10.1	14.02 0.135		83.93 0.807	68 0.65
	F	32	10.5	384.7 3.66	41.41 0.394	24.05 0.229	73.30 0.698	64.52 0.614	1198 11.4	23.56 0.224	916 8.7		1023 9.7	77.31 0.736	46 0.44
63	M	33	7.9	267.1 3.38	39.42 0.499	20.26 0.256	73.50 0.930	62.81 0.795	985 12.5	23.38 0.296	848 10.7	10.95 0.139		79.45 1.006	47 0.59
	F	34	9.0	316.9 3.52	38.52 0.428	25.52 0.284	66.21 0.736	65.42 0.727	1073 11.9	25.96 0.288	576 6.4		1292 14.4	76.96 0.855	36 0.40
125	M	35	10.0	345.4 3.45	45.20 0.452	24.05 0.241	82.52 0.825	80.52 0.805	1147 11.5	24.91 0.249	1163 11.6	14.60 0.146		93.60 0.936	77 0.77
	F	36	9.1	280.8 3.09	43.20 0.475	23.10 0.254	65.40 0.719	68.00 0.747	1090 12.0	22.10 0.243	1062 11.7		1100 12.1	80.00 0.879	68 0.74
250	M	37	9.9	323.0 3.26	46.50 0.470	27.60 0.279	69.30 0.700	77.00 0.778	1053 10.6	27.30 0.276	1143 11.5	12.70 0.128		75.00 0.758	60 0.61
	F	38	8.8	289.0 3.28	40.20 0.457	25.11 0.285	69.40 0.789	66.90 0.760	1165 13.2	24.42 0.278	1010 11.5		1172 13.3	83.90 0.953	41 0.46
500	M	39	9.5	320.0 3.37	44.70 0.471	27.64 0.290	74.72 0.787	98.09 1.033	1103 11.6	23.42 0.247	1275 13.4	10.80 0.114		86.52 0.911	55 0.60
	F	40	9.4	329.0 3.50	44.50 0.473	27.50 0.293	72.41 0.770	66.30 0.705	1295 13.8	22.00 0.234	1280 13.6		1108 11.8	74.00 0.787	27 0.61

upper : Absolute weights

lower : Relative weights (per 100 g of body weight).

Table 21 Organ weights of dogs intravenously injected with CTZ for 6 months

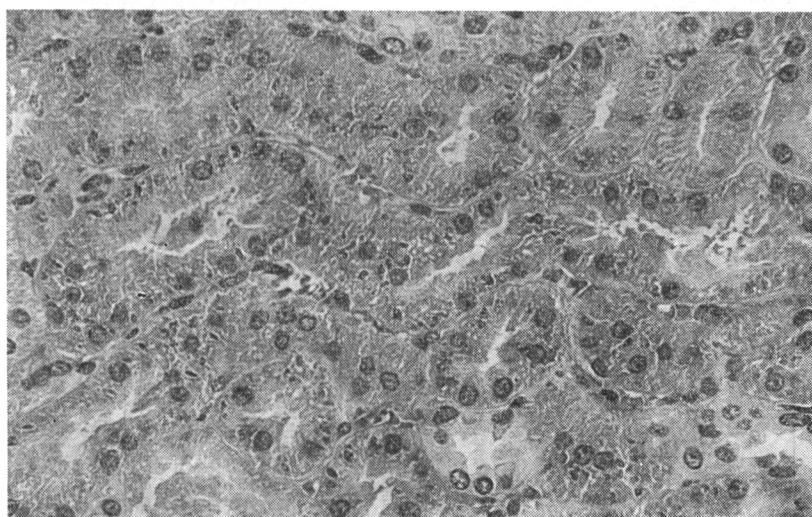
Dosage (mg/kg)	Sex	No.	B.W. (kg)	Organ weights (mg) per 100 g of body weight												
				Liver (g)	Kidneys	Spleen	Heart	Lung	Adre.	Thymus	Thyr.	Panc.	Testes	Ovaries	Brain	Hypo.
Control	M	41	11.1	2.76	420	282	980	840	12.2	49.3	8.4	310	130		805	0.55
		42	10.0	3.10	415	225	760	659	10.1	44.5	11.1	335	135		824	0.37
	F	43	9.6	3.47	445	257	779	589	12.0	43.6	7.6	227		14.6	876	0.85
		44	10.0	3.60	456	230	801	683	15.4	52.1	11.5	285		22.1	956	0.76
63	M	45	10.0	3.58	421	266	1011	868	11.8	44.2	10.6	268	155		793	0.66
		46	9.5	3.09	478	255	923	800	16.4	30.6	11.5	272	147		949	0.56
	F	47	9.5	3.50	410	289	886	772	17.3	38.1	11.7	283		10.2	857	0.45
		48	10.0	3.05	406	235	836	767	11.9	37.6	9.2	242		7.7	766	0.57
125	M	49	8.9	3.26	486	230	799	744	11.0	54.2	11.8	297	134		935	0.66
		50	8.0	3.73	502	291	890	745	10.6	81.0	12.0	338	200		1003	0.65
	F	51	10.0	3.66	469	280	740	800	12.6	38.2	12.5	231		7.7	762	0.67
		52	11.0	3.47	443	263	579	634	11.5	38.5	7.3	265		8.0	679	0.89
250	M	53	8.8	3.62	474	251	817	677	13.6	29.9	10.7	291	114		925	0.59
		54	9.2	3.19	464	304	778	981	14.1	28.8	8.7	299	113		840	0.61
	F	55	9.8	3.80	351	282	746	748	15.0	23.2	7.3	272		6.4	750	0.63
		56	7.8	3.89	443	269	811	823	14.4	28.2	9.0	327		12.2	1043	0.73
500	M	57	9.6	3.33	478	280	881	793	8.6	42.7	10.1	286	130		898	0.69
		58	8.8	3.41	483	269	883	863	12.6	52.0	14.0	253	72		784	0.67
	F	59	9.8	3.68	399	318	700	709	14.5	21.8	12.2	239		9.9	812	0.42
		60	9.0	3.75	494	298	781	612	11.9	43.0	8.9	310		10.2	840	0.74

Table 22 Summary of histological findings in the dogs intravenously injected with CTZ for 3 months

Tests	Dosage(mg/kg)	Control		63		125		250		500	
	Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
	Dog No.	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Kidney											
Pyknosis in tubular epithelium		—	—	—	—	—	—	—	—	—	±
Brown pigment deposition		±	—	±	—	—	—	±	—	+	+
Distal tubular hydropic degeneration		—	±	—	±	±	±	±	—	—	+
Interstitial round cell infiltration		±	—	—	—	±	—	—	—	—	—
Liver											
Hydropic change of hepatocytes		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Focal necrosis		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Round cell infiltration in lobules and Glisson's sheath		±	±	±	±	±	±	±	±	±	+
Hemosiderin deposition		—	—	—	—	—	—	—	—	—	±
Spleen											
Hemosiderin deposition		—	±	—	±	±	±	±	±	+	+
Extramedullary hematopoiesis		—	—	—	—	—	—	—	—	±	±
Atrophy of lymph follicles		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bone marrow											
Fat cells		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Hypererythropoieses		—	—	—	—	—	—	—	—	±	±

- : No alterations, ± : Very slight, + : Slight, ++ : Moderate

Fig. 19 Kidney of the male dog receiving CTZ 500 mg/kg i. v. for 6 months



Brown pigment deposition in proximal epithelium. H & E (× 400)

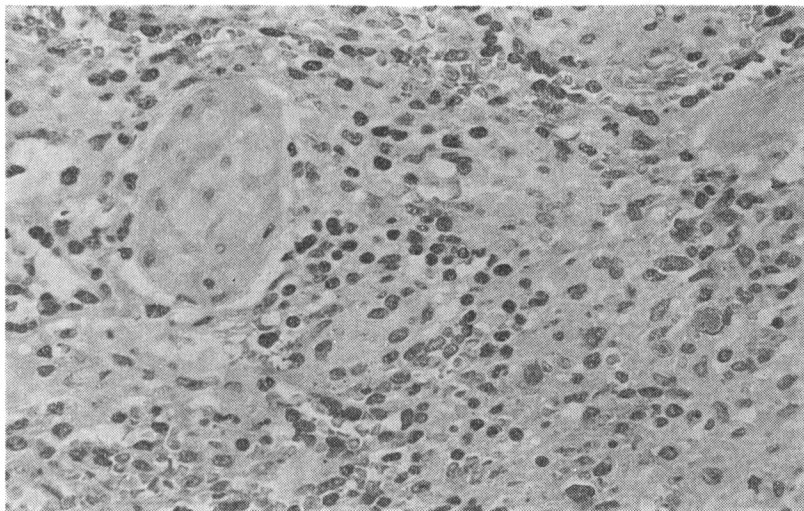
Table 23 Summary of histological findings in the dogs intravenously injected with CTZ for 6 months

Dosage(mg/kg)		Control			63			125			250			500							
		M	F		M	F		M	F		M	F		M	F						
Sex																					
Dog No.		41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
Tests																					
Kidney																					
	Pyknosis in tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Brown pigment deposition	-	-	-	±	±	±	-	+	±	±	-	±	-	±	±	±	+	±	+	+
	Distal tubular hydropic degeneration	-	±	±	±	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	+	-	-	-	±	±
	Interstitial round cell infiltration	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver																					
	Hydropic change of hepatocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	±
	Focal necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Round cell infiltration in lobules and Glisson's sheath	±	+	-	±	-	-	±	±	+	±	+	-	±	+	±	-	±	-	-	±
	Hemosiderin deposition	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	±
Spleen																					
	Hemosiderin deposition	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+
	Extramedullary hematopoiesis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±
	Atrophy of lymph follicles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Bone marrow																					
	Fat cells	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Hypererythropoieses	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±

— : No alterations ± : Very slight + : Slight ++ : Moderate + + : Moderate

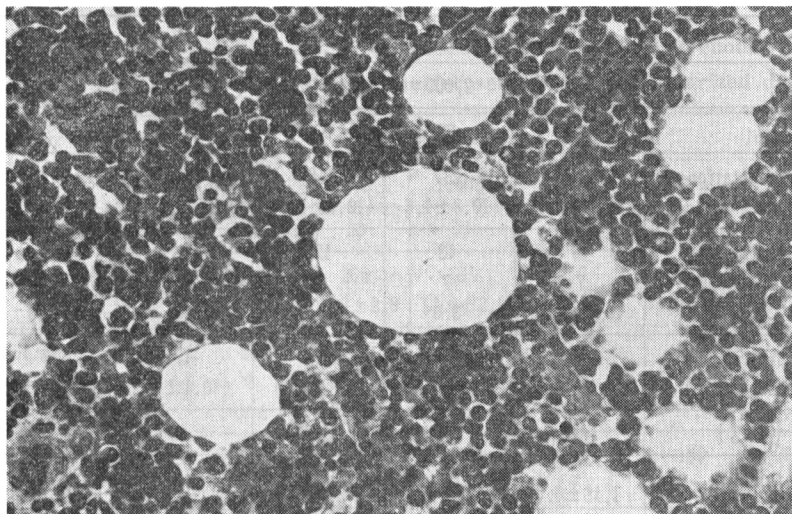
- : No alterations ± : Very slight + : Slight ++ : Moderate

Fig. 20 Red pulp in the spleen of the female dog receiving CTZ 500 mg/kg i. v. for 3 months



Slight extramedullary hematopoiesis and hemosiderin deposition.
A few nucleated red cells are observed in the red pulp. H & E ($\times 400$)

Fig. 21 Bone marrow of the female dog receiving CTZ 500 mg/kg i. v. for 6 months



Slight hypererythropoieses of bone marrow H & E ($\times 400$)

Fig. 22 Liver of the male dog receiving saline 5 ml i. v. for 3 months

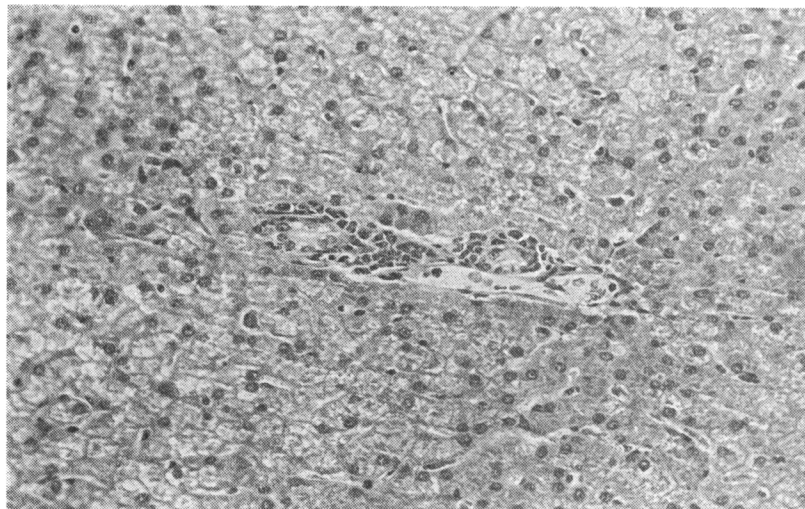
Round cell infiltration in Glisson's sheath. H & E ($\times 200$)

Table 24 Effects of CTZ administered subcutaneously or intravenously during mid-gestation period upon the fetuses of mice (Summarized data)

Route of administration	Subcutaneous			Intravenous		
Dosage (mg/kg)	Control	2,000	4,000	Control	1,000	2,000
Number of dams	20	22	23	17	19	18
Total number of implantations (Mean $\pm$ S.D.)	215 (10.8 $\pm$ 1.4)	237 (10.8 $\pm$ 1.6)	246 (10.7 $\pm$ 1.4)	195 (11.5 $\pm$ 1.3)	212 (11.2 $\pm$ 1.3)	203 (11.3 $\pm$ 1.5)
Total number of resorptions	10	12	12	14	6	6
Total number of fetal deaths	7	7	9	10	9	5
Percent (%)	7.9	8.0	10.7	12.3	7.1	5.4
Total number of surviving fetuses (Mean $\pm$ S.D.)	198 (9.9 $\pm$ 1.9)	218 (9.9 $\pm$ 1.8)	225 (9.8 $\pm$ 1.4)	171 (10.1 $\pm$ 1.9)	197 (10.4 $\pm$ 1.3)	192 (10.7 $\pm$ 1.3)
Sex ratio ($\text{♀}/\text{♂}$)	1.20	1.14	0.96	1.25	1.26	0.86
Mean weight of survivors (g $\pm$ S.D.)	1.18 $\pm$ 0.07	1.07 $\pm$ 0.06	1.07 $\pm$ 0.10	1.17 $\pm$ 0.04	1.10 $\pm$ 0.08	1.08 $\pm$ 0.05
Mean weight of placenta (mg $\pm$ S.D.)	91.6 $\pm$ 8.1	95.8 $\pm$ 6.7	95.5 $\pm$ 5.6	93.8 $\pm$ 4.9	91.9 $\pm$ 11.8	94.3 $\pm$ 8.6
Incidence and types of malformations *	none	none	none	none	none	C.F*(1)

* C.F: Club foot, (): Number of animal

がみられたが、500 mg/kg 群ではそれよりもやや多くの沈着が認められた (Fig. 19)。肝ではごく一部にクッパー星細胞のヘモジデリン貪食、6 カ月間投与実験では限局性的水腫様変化がみられた。脾ではヘモジデリン沈着が対照群および低量投与群に比べてやや増量し、赤色髄には少数の赤芽球系細胞の出現 (Fig. 20)、骨髄には赤芽球系細胞の軽微な増加 (Fig. 21) などが認められた。その他対照群および薬物投与各群に共通した非特異的な所見として、腎における軽度の水腫様変化、限局性の細胞浸潤、肝ではグリソン氏鞘における細胞浸潤 (Fig. 22) などがみられた。単発的に 1 例の右精巣に精細管上皮の変性・消失がみられた。

7) 催奇形実験

(1) マウスでの実験：皮下および静脈内両投与経路とも薬物投与各群の妊娠母体重の増加率、平均着床痕数、生胎仔数および胎盤重量はいずれも対照群との間に有意差がみられなかった (Table 24)。静脈内 2,000 mg/kg 群ではしばしば投与直後に一時的な運動麻痺が認められたにもかかわらず、死胚 (胎仔) 発現頻度は対照群に比べてむしろ低かった。薬物投与各群の生胎仔体

重は若干低かったが対照群と有意差はなかった。

外形異常は静脈内 2,000 mg/kg 群で内反足が 1 例認められたのみで、他群には全くみられなかった。また内臓異常および骨格の欠損、変型、癒合などの重篤な異常は全く認められなかった。

(2) ラットでの実験：皮下投与による薬物投与各群の妊娠母体重増加率は対照群と変りなく、一般症状にも異常はみられなかった。静脈内投与では一時的な体重増加抑制がみられたが、妊娠 21 日目の体重は対照群とはとんど変りなかった。また、薬物投与各群の平均着床痕数、生胎仔数、死胚および死胎仔発現頻度は両投与経路とも対照群と比べて変りなかった。平均生胎仔体重および胎盤重量は両投与経路とも対照群に比べてわずかに低かったが、有意差はなかった (Table 25)。

外形異常は皮下投与 500 mg/kg 群および静脈内薬物投与各群でそれぞれ 1 例の未熟仔を観察したのみであったのに対して、皮下投与の対照群で腹壁ヘルニア (1 例)、静脈内投与の対照群で外脳症 (1 例) および体水腫 (2 例) を認めた。また肉眼的観察による内臓異常は全例にみられなかった。骨格異常検査では薬物投与各群で胸節

Table 25 Effects of CTZ administered subcutaneously or intravenously during mid-gestation period upon the fetuses of rats (Summarized data)

Route of administration	Subcutaneous				Intravenous		
Dosage (mg/kg)	Control	500	1,000	2,000	Control	500	1,000
Number of dams	19	20	15	20	14	22	19
Total number of implantations (Mean±S.D.)	252 13.3±2.3	265 13.3±2.8	195 13.0±2.9	259 13.0±2.5	191 13.6±2.0	269 12.2±1.9	260 13.7±1.7
Total number of resorptions	26	22	22	26	21	16	18
Total number of fetal deaths	2	6	5	10	1	2	4
Percent (%)	11.1	10.6	13.8	13.9	11.5	6.7	8.5
Total number of surviving fetuses (Mean±S.D.)	224 11.8±2.9	237 11.9±3.0	168 11.2±3.1	223 11.2±2.6	169 12.1±2.0	251 11.4±1.9	238 12.5±1.6
Sex ratio (♀/♂)	1.22	0.96	0.98	1.12	0.90	1.06	0.95
Mean weight of survivors (g±S.D.)	5.06 ±0.28	4.88 ±0.33	4.98 ±0.27	4.79 ±0.39	5.04 ±0.19	4.88 ±0.39	4.91 ±0.17
Mean weight of placenta (mg±S.D.)	419.7 ±59.1	383.9 ±40.0	392.3 ±44.4	405.8 ±42.8	413.0 ±90.5	362.8 ±35.7	361.3 ±20.7
Incidence and types of malformations	A.H*(1)	I.M*(1)	none	none	E.C*(1) H.B*(2)	I.M*(1)	I.M*(1)

* I.M: Immature fetus, A.H: Abdominal hernia, E.C: Exencephaly, H.B: Hydro-body, (): Number of animals

の左右不对称が、さらに大量投与群で頸椎弓の部分癒合が1~2例観察されたが、欠損、変型などの異常は全くみられなかった。

総括および考察

1. 急性毒性実験で CTZ のマウスおよびラットに対する LD₅₀ 値は CEZ²⁾ のそれとほぼ同程度であった。中毒症状はマウス、ラットのいずれにも CEZ の場合に類似する点が多く、ウサギでは腎の灰白化、イヌでは嘔吐、流涎がみられた。しかし CEZ の場合のような胃粘膜の出血、胆嚢の肥大²⁾ は CTZ 投与ウサギおよびイヌにはみられなかった。

2. ラットでの静脈内投与による亜急性毒性実験では、2,000 mg/kg 群に投与直後の自発運動の減少、腎および脾の軽度の重量増加があり、各投与群に GPT 活性の低下、盲腸の拡張がみられた。その他にはとくに異常はみられなかった。

3. 皮下投与による亜急性毒性(1カ月)および慢性毒性(3カ月、6カ月)の両実験では、ラット、イヌいずれも投与局所に出血がみられ、用量増加に伴い増強し、その二次的な反応として軽度ではあるが赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の減少、網状赤血球数の増加、脾および骨髄の造血機能の亢進、投与局所における癒痕肉芽の形成、ヘモジデリンの沈着などが比較的高量投与群にみられた。その他 GPT 活性の低下、盲腸の拡張、最高投与群で体重の増加抑制、白血球数の軽度の増加などもみられた。しかし休薬することにより上記の異常所見は速やかに消失した。

4. イヌでの静脈内投与による亜急性毒性(1カ月)および慢性毒性(3カ月、6カ月)実験のうち、1カ月間の投与では 450mg/kg 群の一部の例に一過性の嘔吐と組織学的に肝細胞の限局性的水腫様変化がみられた程度であった。3カ月および6カ月間の投与では、500mg/kg 群に一過性の嘔吐のほか、6カ月間投与での赤血球数およびヘモグロビン量の軽微な減少、組織学的には、脾および骨髄に造血能の軽微な亢進、肝と脾に軽微なヘモジデリン沈着の増加、肝の限局性的水腫様変化、および腎近位尿細管上皮に軽微な褐色色素沈着の増加などの変化を示す例がみられた。しかし、250 mg/kg 以下の群ではこのような所見は認められなかった。その他薬物投与各群に GPT 活性の低下がみられた。

5. マウス、ラットの催奇形実験で CTZ の胚芽、胎仔に対する致死作用はみられず、生胎仔体重増加抑制もほとんどみられなかった。またとくに問題となるような外形および骨格の異常も観察されなかった。

以上のように各動物種を用いての諸毒性実験において

血漿中の GPT 活性の低下、皮下出血による貧血傾向、それに伴う二次的な諸反応が特徴的な所見として観察された。皮下出血はラットおよびイヌに共通してみられ、これは投与液が非常に高張(25%)なためと考えられる。そのため赤血球数の減少を来とし、二次的な反応として脾の肥大、骨髄での造血能の亢進が招来されたものと考えられる。この貧血傾向が骨髄への直接的な作用による結果でないことは、回復が速やかであったこと、白血球数や血小板数に減少がみられなかったこと、および組織学的にも骨髄障害がみられなかったことなどによって知ることができる。以上のような投与局所の出血およびそれに伴う二次的な反応は、CTZ と類縁の CEZ でも皮下投与実験で同様に認められている。渡辺ら²⁾ は皮下出血による赤血球の消失が貧血の原因であるとしている。

いっぽう、イヌの3カ月および6カ月間静脈内投与実験でも 500mg/kg の最高投与群にかぎり軽微な貧血傾向が観察された例があったが、1カ月間静脈内投与実験ではまったくみられていない。A/G 比もとくに変動していない。したがって、このような静脈内投与実験における貧血の傾向は、高張液の大量を血管内に注入することにより若干の赤血球が崩壊し、長期投与の場合には、これがたび重なっておこったためであると思われる。

血漿 GPT 活性の低下に関しては、CEZ の場合も同様の現象がみられているが、その活性低下の機序に関しては現在十分に解明されていない。若林らの実験によれば、CTZ を投与することによって、血中からの GPT 酵素の脱出速度が亢進するという成績が得られており(私信)、宇佐美らも CTZ 1,000mg/kg を静注したラットの尿中 GPT 量が増加する成績を得ている(私信)こと、いっぽう肝、心、軀幹筋などに GPT 活性低下と関連するような形態学的異常所見は認められていないこと、また活性の回復が比較的速やかであることなどから CTZ が GPT 酵素の合成阻害作用や GPT に対する拮抗作用を持つと考えるよりは、むしろ血漿中から尿中への排泄を促進させると考える方が妥当のように思われる。

投与期間中、大量投与でラットに軟便あるいは腹部膨満を呈する例があり、盲腸は拡張し、内容物の増量がみられた。このような変化は、無菌動物³⁾、Benzylpenicillin 投与ラット⁴⁾、Kanamycin 投与マウス⁵⁾、CEZ 投与ラット²⁾ にも認められ、原因として腸内細菌叢の変化が何らかの役割を演じているものとされ、CTZ にも同じような作用があるように思われる。

CTZ はその大部分が腎より速やかに排泄され、血中

における半減期は他の Cephalosporin 系抗生物質と比較して短いと言われている⁶⁾⁷⁾⁸⁾。実験動物の中で最も腎毒性の発現しやすいウサギを用いて腎に対する影響を検討した結果では、CTZ は CEZ と同様に腎毒性がきわめて低かった⁹⁾。ラットおよびイスでの亜急性および慢性毒性実験において、一部の実験で体重増加抑制に伴い相対的に腎の重量が増加する場合がみられたが、尿検査、腎機能検査および組織学的観察でとくに異常は認められなかった。これらのことから、CTZ はしばしば臨床的に問題とされる腎毒性がきわめて低いものと思われる。

マウス、ラットの催奇形実験で CTZ の催奇形作用が認められなかったことは、CTZ の体内からの排泄が速く、胎仔への移行が比較的に少ないこと¹⁰⁾ や類縁化合物である CEZ に催奇形作用が認められていない²⁾ ことから推察される。

以上のように CTZ は急性毒性 (LD_{50}) がきわめて低く、亜急性および慢性毒性実験の高量投与でも問題となるような特異な障害がみられず、また催奇形作用も認められなかったことより、きわめて安全性の高い抗生物質であると思われる。

結 語

CTZ を実験動物に投与し、その急性、亜急性および慢性毒性を検討した。さらに妊娠マウス、ラットに投与し胎仔への影響を検討した。

CTZ の LD_{50} は大きく、CEZ のそれとほぼ同程度であった。ラットおよびイスでの皮下投与による亜急性および慢性毒性実験においては、大量投与の場合、局所の出血およびそれに伴う赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の軽度の減少、網状赤血球数の軽度の増加などがみられ、脾および骨髓に造血機能の軽微な亢進が観察された。イスでの静脈内投与による慢性毒性実験でも、500mg/kg/day の投与群の脾および骨髓に、若

干造血能の亢進を示す例がみられたが、250mg/kg/day 以下の群には異常所見はみられなかった。

妊娠動物に投与しても催奇形性はみられなかった。

文 献

- 1) DAWSON, A. B.: A note of the staining of Skelton of Cheared Specimens with alizarin red S. *Stain. Tech.* 1: 123~124, 1927
- 2) 渡辺信夫・岩波黄葵・藤井登志之: Cefazolin sodium の毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 18: 528~543, 1970
- 3) 宮川正澄: 無菌動物, p.176, 1963, 医歯薬出版, 東京
- 4) BOYD, E. M. & SELBY, M. J.: The chronic oral toxicity of benzylpenicillin. *Antibiot. Chemotherap.* 12: 249~262, 1962
- 5) SAVAGE, D. C. & DUBOS, R.: Alterations in the Cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exptl. Med.* 128: 97~110, 1968
- 6) OGAWA, H. *et al.*: Abstract of papers presented at the 14 th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1974
- 7) ISHIYAMA, S. *et al.*: *ibid.*
- 8) 第23回日本化学療法学会総会 新薬研究会報告(II) Ceftezole, 1975
- 9) 二木力夫, 柿本守夫, 宇佐美正義, 鈴木繁生, 高垣善男: Ceftezole のウサギ腎臓に対する影響, とくに Cefazolin との比較検討を中心に。Chemotherapy. 24: 131~149, 1976
- 10) 東平靖雄, 神山博, 日野原好和, 鈴木秀昂, 原田祐輔, 鈴木成生, 高梨茂: ^{14}C 標識 Ceftezole の代謝。Chemotherapy. 24: 83~98, 1976

STUDIES ON TOXICITY AND TERATOGENICITY OF CEFTEZOLE

RIKIO NIKI, SHOZO SHIOTA, MASAYOSHI USAMI, GORO NOGUCHI,
OSAMU SUGIYAMA, HIROYUKI OHKAWA and YOSHIO TAKAGAKI

Research Laboratories, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

Acute, subacute and chronic toxicity, and teratogenicity of ceftezole (CTZ) were examined in laboratory animals.

In acute toxicity tests, no specific symptoms were noticed. LD_{50} values of CTZ in various animals were as high as those of cefazolin.

In one-month, three-month and six-month toxicity tests by subcutaneous injections, both rats and dogs administered more than 500 mg/kg/day of CTZ showed a slight anemia caused by hemorrhage at the site of injection: a little decrease in number of erythrocytes, an increase in number of reticulocytes and a slight hypererythropoiesis in the spleen and bone marrow.

These findings were also observed in a few dogs intravenously injected at the highest dose, 500 mg/kg/day for 3 and 6 months, whereas no significant findings were shown in the case administered less than 250 mg/kg/day.

No teratogenic effects were observed in mice and rats administered CTZ subcutaneously or intravenously.