

T-1220 の 毒 性 試 験 (第 2 報)

—— ラット腹腔内投与における亜急性, 慢性毒性試験 ——

高井 明・米田豊昭・中田弘子・正谷博之

柴田哲夫・河村泰仁・佐藤 盛

富山化学工業株式会社総合研究所

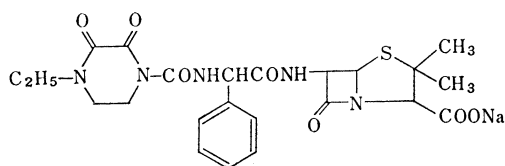
T-1220 はグラム陽性菌のみならず, グラム陰性菌, 特に緑膿菌に対して抗菌性を有する新しい半合成ペニシリン系抗生物質で, アミノベンジルペニシリン (ABPC) の誘導体である。この化合物の, マウス, ラット, イヌ, サルの急性毒性については第 1 報¹⁾ で報告した。今回, 安全性試験の一環としてラット腹腔内投与亜急性および慢性毒性試験を, ABPC (Na 塩) を対照薬として行なったので, その結果を報告する。T-1220 は経口投与ではほとんど吸収されないため, 予想される臨床適用経路としては静脈内または筋肉内投与が考えられる。しかし本実験では長期大量連続投与の必要性から, これにかわる投与経路として腹腔内投与を採用した。なおラット腹腔内投与での T-1220 の血中濃度は, 筋肉内投与, 皮下投与とほぼ同一のパターンを示すことが知られている²⁾。

I. 実験材料および方法

1. 検体

T-1220 は水, メタノールに溶けやすく, エタノール

にやや溶けにくく, アセトン, エーテル, クロロホルムにはほとんど溶けない白色の結晶性粉末であり, 構造式は下に示す通りである。



T-1220: Sodium 6-[D(-)- α -(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)- α -phenylacetamido]penicillanate

2. 使用動物と実験計画

日本クレア産, Wistar 系 SPF ラットを 4 週齢で購入し, 室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 5\%$ で, 固型飼料 (オリエンタル MF) と水道水を自由に与えて飼育した。亜急性毒性は 6 週齢, 慢性毒性は 7 週齢まで予備飼育し, 実験に使用した。亜急性毒性試験の予備実験として, T-1220 4,000 mg/kg (40% 溶液), 2,000 mg/kg (20% 溶液) を

Table 1 Experimental design for subacute and chronic toxicity tests of T-1220 in rats (i. p.)

i) Administration for 1 month

Exp. group	Concentration and Volume	Total No. of rats		No. of rats examined			
				1 month		Recovery	
		M	F	M	F	M	F
Control (saline)	1 ml/100 g	13	13	10	10	3	3
T-1220 1,000 mg/kg	10% sol. 1 ml/100 g	13	13	10	10	3	3
T-1220 2,000 mg/kg	20% sol. 1 ml/100 g	13	13	10	10	3	3
T-1220 4,000 mg/kg	40% sol. 1 ml/100 g	13	13	10	10	3	3
ABPC 2,000 mg/kg	20% sol. 1 ml/100 g	13	13	10	10	3	3

ii) Administration for 6 months

Exp. group	Concentration and Volume	Total No. of rats		No. of rats examined					
				3 months		6 months		Recovery	
				M	F	M	F	M	F
Control (saline)	1 ml/100 g	17	17	5	5	7	7	5	5
T-1220 500 mg/kg	5% sol. 1 ml/100 g	17	17	5	5	7	7	5	5
T-1220 1,000 mg/kg	10% sol. 1 ml/100 g	17	17	5	5	7	7	5	5
T-1220 2,000 mg/kg	20% sol. 1 ml/100 g	17	17	5	5	7	7	5	5
ABPC 2,000 mg/kg	20% sol. 1 ml/100 g	17	17	5	5	7	7	5	5

おのおの1群5匹の雄性ラットに1週間腹腔内投与したところ、投与後 writhing がみられたが死亡例はなく、発育に対しても抑制がみられなかった。この結果から亜急性毒性試験における最高用量を、連続投与可能な最高量である 4,000 mg/kg とし、実験を行なった。ABPCの投与量は中間量を採用し、2,000 mg/kg とした。慢性毒性試験は亜急性毒性試験の結果を参考に、最高量を 2,000 mg/kg とし、実験を行なった。検体は蒸留水に溶解して投与した。実験計画を Table 1 に示す。

亜急性毒性は毎日、慢性毒性は日曜日を除く週6日間、投与と体重測定および一般症状の観察を行ない、1週間毎に摂餌量と摂水量を測定した。検査は次の項目について行なった。

i) 尿検査

尿量 (ml/17 hr.)、糖、蛋白、潜血、ケトン体、pH (Ames Labstix)、ウロビリノーゲン (Ames Urobilistix)、ビリルビン (Ames Ictostix)、Na、K (炎光光度計)

ii) 血液検査

赤血球数、白血球数 (Coulter counter)、ヘマトクリット (毛細管法)、ヘモグロビン (シアンメトヘモグロビン法)、白血球百分率

iii) 血液化学検査

GOT, GPT, ALP, LDH, Ch-E, Chol., BUN, 総ビリルビン (オリンパス ACA 自動分析装置)、総蛋白 (屈折計法)、A/G 比 (セルローズアセテート膜電気泳動法)、血糖 (Ames Dextrostix Reflectance meter)、Na、K (炎光光度計)、BSP 試験 (1カ月実験の各群雌雄2~3匹使用, BSP 2.5 mg/100 g i. v. 30分値)

投与終了後、頸動脈より放血死させ剖検を行なった。肉眼的観察の後、心、肺、肝、腎、脾、副腎、顎下腺、甲状腺、胸腺、卵巣、精巣の重量を測定した。前記組織および脳、下垂体、脾、腸間膜、腸間膜リンパ節、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、膀胱、骨髄、大腿部骨格筋をホルマリン固定、H・E 染色 (一部の臓器については PAS 染色、脂肪染色) して組織学的検査を行なった。また6カ月投与を行なった一部の動物の肝、腎についてはグルタルアルデヒド前固定、オスミウム酸固定、エポン包埋、酢酸ウラニル、クエン酸鉛二重染色を行なって、電子顕微鏡による微細構造の観察も併せて行なった。各群の雌雄おのおの5匹については、1カ月間の回復期間を置いた後、同様に検査、剖検、組織学的検査を行ない回復試験とした。

II. 実験結果

1. 一般症状と死亡率

i) 亜急性毒性

Fig. 1-1 Growth curves in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month

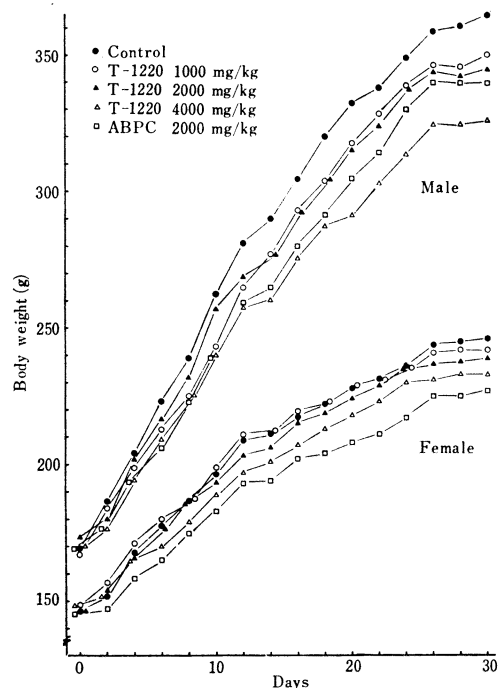


Fig. 1-2 Growth curves in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 6 months

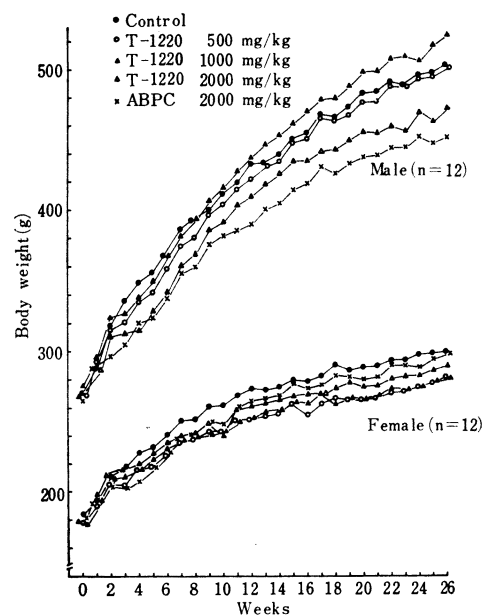


Fig. 2-1 Food intake in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month

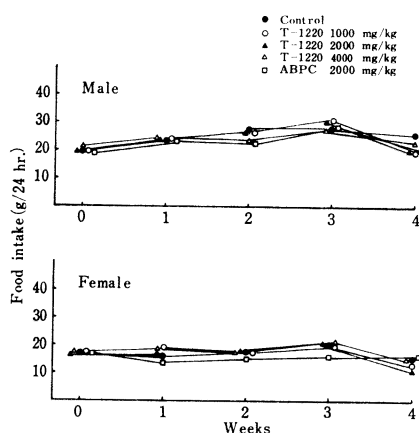
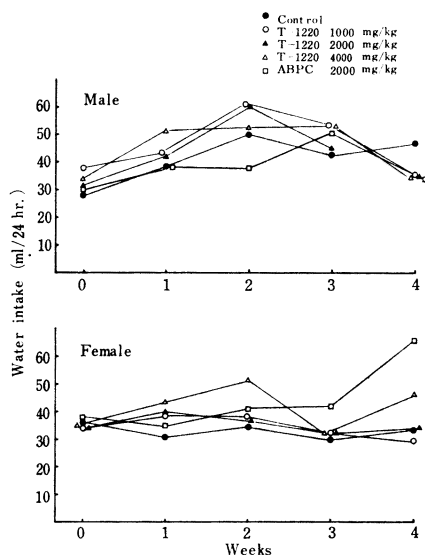


Fig. 2-2 Water intake in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month



投与直後から投与量に比例した writhing がみられ、4 000mg/kg 投与群では約30分間持続した。ABPC 2,000 mg/kg 投与群でも、T-1220 2,000mg/kg 投与群とほぼ同程度の writhing が認められた。この症状は実験期間を通じてみられたが、両検体とも投与後半ではその程度が弱くなり、持続時間も短くなる傾向があった。4,000 mg/kg 投与の少数例で、投与1週間後頃から軟便と一過性の血液付着便の排泄を示す例がみられた。実験期間中 T-1220 1,000mg/kg 投与雄1例と、ABPC 2,000mg/kg 投与雌1例の死亡がみられたが、いずれも腹腔内に多量の出血があり、誤投与による死亡であった。

ii) 慢性毒性

投与初期には、投与量に比例した writhing が ABPC 投与群を含む各投与群に認められ、T-1220、ABPC の 2,000mg/kg 投与群では15~20分持続した。しかし投与3カ月を過ぎる頃から症状は軽減し、T-1220 と ABPC の 2,000mg/kg 投与群にのみ軽度の writhing がみられるだけになった。他には一過性の血液付着便の排泄が少数例に、投与量に関係なく散発的に認められたが、発生後1~3日でほとんどが消失した。各投与群とも死亡例は認められなかった。

2. 発育曲線

i) 亜急性毒性

Fig. 1-1 に示すように、雄で投与量に比例した発育抑制がみられ、30日後の体重では T-1220 4,000mg/kg ($p < 0.01$), 2,000mg/kg ($p < 0.05$) および ABPC 2,000 mg/kg ($p < 0.05$) 投与群で有意差が認められた。しかし雌に対する発育抑制は軽微であり、ABPC 2,000mg/kg 投与群にのみ対照群との有意差 ($p < 0.01$) がみられたにすぎなかった。

ii) 慢性毒性

Fig. 1-2 に示すように、雄では T-1220 と ABPC の 2,000mg/kg 投与群に軽度の発育抑制がみられたが、6ヵ月後の体重の有意差検定では ABPC 投与群にのみ差 ($p < 0.01$) が認められた。雌では投与量に比例しないわずかな発育抑制傾向を示したにとどまり、有意差は認められなかった。

3. 摂餌量と摂水量

i) 亜急性毒性

摂餌量 (Fig. 2-1) には変化がみられなかった。摂水量 (Fig. 2-2) では T-1220 各投与群に変化がなかったが、ABPC 投与群の雌で摂水量増加が投与4週後に認められた。

ii) 慢性毒性

摂餌量 (Fig. 3-1) には変化がみられなかった。摂水量 (Fig. 3-2) では T-1220 各投与群に異常がなかったが、ABPC 投与群の雌にのみ、投与4週間後から異常な摂水量増加が現われ、以後6ヵ月の投与終了までこの変化が持続した。

4. 尿検査

i) 亜急性毒性 (Table 2-1)

T-1220 4,000mg/kg 投与雄5例中2例に軽度の、ABPC 投与雌雄各1例に高度の尿潜血反応陽性例がみられた。また ABPC 投与の雌に尿量増加があった。他には異常が認められなかった。

ii) 慢性毒性 (Table 2-2)

Fig. 3-1 Food intake in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 6 months

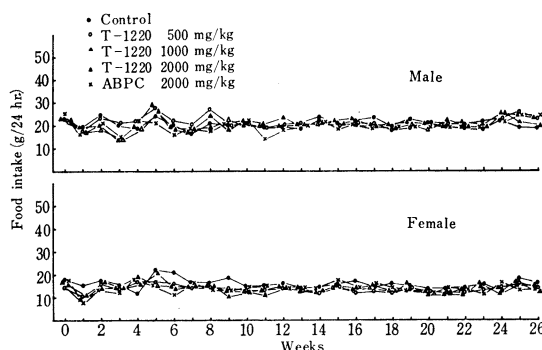


Fig. 3-2 Water intake in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 6 months

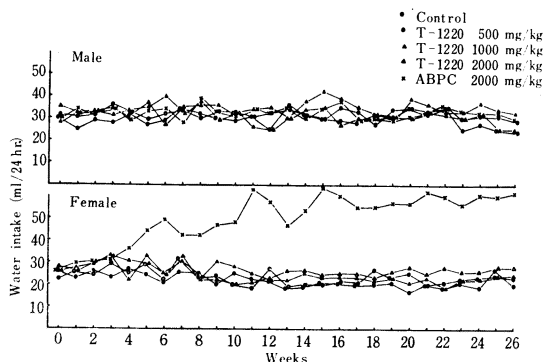


Table 2-1 Urinalysis in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month

	Sex	Control (saline)	T-1220			ABPC 2,000mg/kg
			1,000mg/kg	2,000mg/kg	4,000mg/kg	
Volume (ml/17 hr)	M	10.2±1.6	7.6±0.6	6.4±1.7	10.0±2.2	8.8±1.3
	F	5.4±0.7	3.6±1.2	4.4±1.2	6.1±0.9	13.3±4.1
Occult blood	M	— (5)	— (5)	— (5)	— (3) + (2)	— (4) + (1)
	F	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (4) + (1)
pH	M	6—8	6—7	6—7	6—8	6—8
	F	6—8	6—8	7—8	6—8	6—8
Ketone bodies	M	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—
Glucose	M	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—
Protein	M	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
	F	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
Urobilinogen	M	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—
Bilirubin	M	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—

(): No. of rats

Mean ± S. E.

T-1220 各投与群には検体投与に起因すると思われる異常がなかった。ABPC 投与の雌では、投与1カ月後から6カ月後までの検査を通じて尿量増加と尿潜血反応陽性化が明瞭に現われていた。

5. 血液検査

i) 亜急性毒性 (Table 3-1)

T-1220 各投与群の雄と、ABPC 投与雌雄に赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの軽度減少傾向がうかがわれたが、ほぼ生理的範囲内での変化であった。T-1220 投与群の雌では、雄よりもこの傾向が弱かった。白血球数、白血球百分率には、検体投与に起因すると思われる

生理的範囲を越えた異常がみられなかった。

ii) 慢性毒性 (Table 3-2)

3カ月後の検査では、T-1220の各投与群雌に、軽度の好中球増加がみられたが生理的範囲内での変化であり、白血球数には異常が認められなかった。他には T-1220 2,000mg/kg 投与群に軽度の赤血球減少があった以外、検体投与によると思われる変化がなかった。ABPC 投与群では、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの軽度減少が雌雄ともに認められた。6カ月後の検査では、異常が認められなかった。

Table 2-2 Urinalysis in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 6 months

		Month	Control	T-1220			ABPC
			(saline)	500 mg/kg	1, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg
Male	Volume (ml/17hr)	1	22. 2±5. 6	18. 1±6. 9	10. 1±3. 3	14. 7±3. 8	16. 2±5. 3
		2	10. 9±2. 5	8. 3±0. 9	7. 7±0. 8	8. 5±2. 2	13. 8±3. 0
		3	7. 3±0. 9	7. 6±0. 8	10. 2±1. 1	8. 7±2. 7	9. 5±1. 4
		4	10. 2±1. 7	6. 4±1. 2	5. 9±0. 9	4. 8±1. 3*	10. 8±3. 0
		5	8. 4±1. 2	8. 1±1. 2	9. 9±2. 3	7. 8±1. 4	12. 5±1. 1*
		6	8. 7±0. 5	7. 1±0. 7	9. 2±1. 7	4. 9±0. 5**	10. 7±2. 3
	Occult blood	1	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
		2	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
		3	— (5)	— (5)	— (4) + (1)	— (4) + (1)	— (5)
		4	— (4) + (1)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
		5	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
		6	— (5)	— (5)	— (4) † (1)	— (5)	— (4) + (1)
	pH	1	8—9	8—9	7—8	7—8	8—9
		2	7—8	8—9	7—8	7—8	8—9
		3	8—9	8—9	7—9	6—9	8—9
		4	8—9	8—9	7—8	6—8	8—9
		5	8—9	8—9	7—8	6—8	8—9
		6	8—9	8—9	8—9	7—9	8—9
	Na (mEq/l)	1	67. 2± 3. 6	79. 6±21. 9	122. 4±22. 7*	106. 0±25. 0	134. 4±34. 9
		2	249. 2±40. 7	194. 0±29. 7	195. 2±19. 3	155. 6±19. 7	231. 6±32. 8
		3	347. 2±50. 7	164. 0±31. 1*	202. 4±17. 1*	225. 6±59. 4	269. 6±42. 7
		4	203. 6±22. 0	163. 2±15. 3	148. 8± 7. 7*	166. 4±28. 6	273. 6±26. 7
		5	214. 0±11. 8	186. 4± 8. 4	124. 0±13. 0**	105. 5±21. 1**	189. 6±11. 5
		6	216. 8±25. 0	144. 0±27. 7	161. 2±19. 6	220. 8±30. 9	243. 8±21. 6
	K (mEq/l)	1	98. 4± 5. 2	132. 0±28. 4	199. 6±27. 1**	153. 6±22. 8	154. 4±22. 5*
		2	304. 0±44. 8	316. 8±19. 8	316. 8±38. 1	295. 2±25. 3	258. 4±34. 7
		3	460. 0±42. 7	373. 8±65. 3	391. 2±22. 4	424. 8±76. 9	340. 8±25. 9*
		4	414. 4±41. 8	438. 4±23. 3	444. 6±18. 9	460. 8±68. 9	364. 8±36. 3
		5	316. 0±24. 5	274. 4±21. 1	267. 8±19. 2	298. 4±16. 6	191. 2±11. 4**
		6	322. 8±20. 8	382. 8±12. 0*	307. 2±25. 5	365. 6±12. 4	209. 2±13. 0**
Female	Volume (ml/17hr)	1	4. 2±1. 1	7. 3±4. 4	4. 5±1. 5	9. 1±3. 0	21. 8± 6. 3*
		2	3. 5±0. 4	1. 9±0. 4*	2. 2±0. 3*	3. 6±0. 3	34. 3± 2. 1**
		3	4. 6±1. 0	3. 9±0. 5	5. 6±0. 5	6. 0±1. 2	44. 4±11. 8**
		4	5. 2±1. 1	5. 3±1. 5	6. 0±1. 7	8. 3±1. 4	27. 3± 8. 5*
		5	3. 9±1. 1	6. 6±2. 2	6. 2±1. 4	6. 5±1. 0	37. 9± 6. 1**
		6	4. 1±1. 1	4. 8±1. 6	4. 4±1. 4	9. 8±1. 0**	43. 2± 6. 1**
	Occult blood	1	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (2) + (3)
		2	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (1) + (4)
		3	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (2) + (2) † (1)
		4	— (5)	— (5)	— (4)	— (5)	— (2) + (2) † (1)
		5	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (1) + (3) † (1)
		6	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
	pH	1	7—8	7—8	7—8	7—8	7—8
		2	7—8	7—8	7—9	7—8	7—8
		3	7—9	8—9	7—9	7—8	7—9
		4	7—8	6—9	8—9	7—8	6—7
		5	7—8	7—9	7—8	6—7	6—8
		6	7—9	7—9	8—9	7—9	6—8
	Na (mEq/l)	1	133. 6±21. 7	94. 8±20. 7	92. 8± 8. 7	96. 0±20. 0	68. 8±16. 9*
		2	178. 8± 5. 5	221. 2±29. 0	180. 0±17. 5	145. 6±22. 5	84. 4±45. 4
		3	214. 0± 7. 2	220. 0±15. 3	196. 4±21. 0	193. 2± 7. 9	66. 8±19. 8**
		4	232. 0±30. 6	176. 8±35. 8	173. 0±20. 8	148. 4±24. 3	65. 2±17. 7**
		5	136. 4± 7. 1	94. 8±17. 8	94. 4± 9. 8**	142. 4±17. 9	43. 6±17. 7**
		6	95. 2± 7. 1	88. 0±25. 2	95. 6±17. 9	94. 8±11. 1	35. 6±10. 6**
	K (mEq/l)	1	209. 2±30. 8	208. 4±36. 7	210. 8±30. 5	182. 0±33. 7	83. 2±24. 6*
		2	241. 6± 8. 8	295. 2±30. 3	243. 2± 9. 6	238. 8±17. 5	94. 0±47. 5*
		3	326. 0±14. 0	358. 8±34. 3	292. 0± 8. 7	291. 6±18. 6	77. 2±22. 5**
		4	354. 0±10. 6	329. 6±23. 0	277. 0±23. 6*	246. 4±28. 9**	80. 8±16. 1**
		5	264. 8±20. 9	256. 0±30. 9	236. 0±28. 5	224. 0±27. 1	43. 2± 3. 9**
		6	335. 6±18. 9	270. 4±46. 9	260. 0±29. 8	191. 6±16. 2**	74. 4±20. 0**

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01 Mean±S.E. (): No. of rats

Table 3-1 Hematological findings in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month

		Sex	Control (saline)	T-1220			ABPC 2,000mg/kg
				1,000mg/kg	2,000mg/kg	4,000mg/kg	
R. B. C. ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	M		967 $\pm$ 9.1	932 $\pm$ 10.4*	911 $\pm$ 12.0**	867 $\pm$ 27.0**	920 $\pm$ 32.9
	F		918 $\pm$ 3.5	904 $\pm$ 21.3	897 $\pm$ 13.0	947 $\pm$ 36.0	870 $\pm$ 25.7
W. B. C. ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	M		106 $\pm$ 8.4	106 $\pm$ 9.7	112 $\pm$ 7.5	108 $\pm$ 25.3	93 $\pm$ 9.3
	F		74 $\pm$ 7.2	78 $\pm$ 5.8	85 $\pm$ 10.2	89 $\pm$ 9.7	107 $\pm$ 8.3*
Hemoglobin (g/dl)	M		15.3 $\pm$ 0.2	12.7 $\pm$ 0.1**	12.5 $\pm$ 0.5**	11.7 $\pm$ 0.4**	12.3 $\pm$ 0.3**
	F		14.7 $\pm$ 0.4	13.7 $\pm$ 0.3	14.3 $\pm$ 0.4	13.9 $\pm$ 0.2	13.2 $\pm$ 0.5*
Hematocrit (%)	M		53.4 $\pm$ 1.7	43.0 $\pm$ 2.3**	46.6 $\pm$ 2.1*	45.9 $\pm$ 2.6*	42.1 $\pm$ 2.8**
	F		51.4 $\pm$ 0.7	43.7 $\pm$ 2.2**	47.4 $\pm$ 1.3*	46.6 $\pm$ 1.9*	44.3 $\pm$ 1.8**
Differential count (%)	Met.	M	0	0	0	0	0
		F	0	0	0	0	0
	Staff	M	1.6 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.4
		F	1.6 $\pm$ 0.5	0.7 $\pm$ 0.4	1.0 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 0.4
	Seg.	M	8.1 $\pm$ 1.5	7.2 $\pm$ 0.7	15.9 $\pm$ 2.7*	17.8 $\pm$ 3.9*	11.1 $\pm$ 1.9
		F	7.5 $\pm$ 1.3	6.9 $\pm$ 1.4	8.6 $\pm$ 1.4	8.4 $\pm$ 1.6	11.6 $\pm$ 2.4
	Eosino.	M	0.3	0.4	1.4**	0.6	0.5
		F	1.0	1.4	2.0	0.8	0.6
	Baso.	M	0.5	0.4	0.4	0.6	0.2
		F	0.1	0.8**	0.8**	0.7*	0.5
	Lymph.	M	88.9 $\pm$ 1.5	89.6 $\pm$ 1.1	80.1 $\pm$ 2.3**	77.6 $\pm$ 3.6*	85.1 $\pm$ 1.8
		F	88.7 $\pm$ 1.4	89.2 $\pm$ 1.9	86.4 $\pm$ 1.7	87.2 $\pm$ 2.1	84.6 $\pm$ 2.7
	Mono.	M	0.6	1.4	0.9	1.0	0.9
		F	1.0	0.9	1.1	1.1	1.2

Significantly different from control * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ Mean $\pm$ S. E.

6. 血液化学検査

i) 亜急性毒性 (Table 4-1)

T-1220 各投与群に、検体投与によると思われる生理的範囲を越えた変化がみられなかった。ABPC 投与の雌では ALP と BUN の上昇が認められた。

ii) 慢性毒性 (Table 4-2)

3 カ月後の検査結果では、統計的に有意差のみられる項目があったが、投与量との関係はなく、またその臨床的意義や生理的範囲からみると、T-1220 投与に起因する変化ではなかった。ただ ABPC 投与雌における BUN の上昇は明らかに異常であった。

6 カ月後の検査では、T-1220 の各投与群に軽度の Ch-E 上昇がみられた以外、検体投与に起因すると思われる異常がなかった。ABPC 投与の雌では BUN の上昇が明瞭に現われていた。

7. 剖検所見

i) 亜急性毒性

T-1220 各投与群に、ほぼ投与量に比例した腹膜の充血があった。ABPC 投与群でも同様であった。盲腸に限

局性の漿膜下出血がみられ、とくに雄に出現頻度が高い傾向があった。すなわち T-1220 4,000mg/kg 投与雄では 7 例中 3 例に、2,000mg/kg 投与雄では 7 例中 1 例にこの変化がみられたのに対して、雌では変化が認められなかった。ABPC 投与では、雄 7 例中 5 例、雌 7 例中 2 例に盲腸の漿膜下出血が認められた。T-1220 各投与群および ABPC 投与の雄に、左側腎の腎盂拡大を認める例があったが、投与量との関係は不明瞭であった。他には高用量群で、投与部位の皮膚の潰瘍や出血が少数例にみられた以外、異常が認められなかった。

ii) 慢性毒性

3 カ月後の剖検では、T-1220 と ABPC の 2,000mg/kg 投与群に軽度の腹膜の充血があったほか、盲腸漿膜下の限局した斑状出血が、T-1220 2,000mg/kg 投与雄 5 例中 2 例、ABPC 投与雌雄各 5 例中 1 例、対照群雄 5 例中 2 例に認められた。ABPC 投与雌には両側腎の肥大があり、腎表面、剖面は淡い黄色を帯びていた。また一側性の腎盂の拡大が、T-1220 2,000mg/kg 投与雄 5 例中 2 例と ABPC 投与雌雄各 5 例中 1 例に、片側精巣の萎

Table 3-2 Hematological findings in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 3 and 6 months

		Sex	Control (saline)	T-1220			ABPC 2,000 mg/kg
				500 mg/kg	1,000 mg/kg	2,000 mg/kg	
3 Months	R. B. C. ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	M	897 $\pm$ 33.9	868 $\pm$ 19.9	841 $\pm$ 19.3	811 $\pm$ 10.6*	797 $\pm$ 5.4*
		F	832 $\pm$ 10.7	789 $\pm$ 37.3	801 $\pm$ 10.8	785 $\pm$ 12.6*	770 $\pm$ 35.6
	W.B.C. ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	M	128 $\pm$ 20.7	126 $\pm$ 8.1	126 $\pm$ 5.1	135 $\pm$ 19.9	102 $\pm$ 12.7
		F	80 $\pm$ 6.9	97 $\pm$ 11.0	70 $\pm$ 3.0	100 $\pm$ 11.5	77 $\pm$ 4.3
	Hemoglobin (g/dl)	M	15.2 $\pm$ 0.2	15.5 $\pm$ 0.2	14.5 $\pm$ 0.4	15.4 $\pm$ 0.2	13.9 $\pm$ 0.3**
		F	14.7 $\pm$ 0.2	14.6 $\pm$ 0.4	14.5 $\pm$ 0.5	14.8 $\pm$ 1.1	12.7 $\pm$ 0.5**
	Hematocrit (%)	M	49.6 $\pm$ 0.8	49.0 $\pm$ 0.8	50.1 $\pm$ 2.6	50.2 $\pm$ 1.0	43.1 $\pm$ 1.6**
		F	53.7 $\pm$ 1.1	51.8 $\pm$ 1.8	51.5 $\pm$ 3.4	48.9 $\pm$ 2.8	43.4 $\pm$ 1.6**
	Met.	M	0	0	0	0	0
		F	0	0	0	0	0
	Staff	M	1.4	1.1	0.7	0.8	0.8
		F	0.7	1.6	3.4	2.6*	1.3
	Seg.	M	10.6 $\pm$ 2.6	12.5 $\pm$ 2.1	13.9 $\pm$ 2.4	10.5 $\pm$ 1.0	9.4 $\pm$ 1.1
		F	10.1 $\pm$ 2.4	23.6 $\pm$ 2.6**	22.5 $\pm$ 2.0**	23.1 $\pm$ 4.0*	20.3 $\pm$ 3.1*
	Eosino.	M	3.1	2.2	1.6	0.9*	2.3
		F	2.4	2.5	0.8	1.6	1.4
	Baso.	M	0	0	0	0	0
		F	0.1	0	0	0.3	0.1
	Lymph.	M	83.4 $\pm$ 3.7	83.1 $\pm$ 2.3	82.8 $\pm$ 2.1	86.8 $\pm$ 1.3	86.3 $\pm$ 1.0
		F	84.9 $\pm$ 2.8	71.6 $\pm$ 2.0**	71.8 $\pm$ 3.1*	71.1 $\pm$ 4.2*	74.9 $\pm$ 3.5
	Mono.	M	1.5	1.1	1.0	1.0	1.2
		F	1.8	0.7	1.5	1.3	2.0
6 Months	R. B. C. ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	M	864 $\pm$ 16.3	845 $\pm$ 27.3	859 $\pm$ 17.3	860 $\pm$ 14.9	840 $\pm$ 19.0
		F	845 $\pm$ 14.4	864 $\pm$ 7.7	827 $\pm$ 15.2	856 $\pm$ 12.1	792 $\pm$ 7.6**
	W.B.C. ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	M	101 $\pm$ 6.9	118 $\pm$ 12.9	111 $\pm$ 5.7	83 $\pm$ 5.5	80 $\pm$ 8.3
		F	99 $\pm$ 7.7	96 $\pm$ 9.5	85 $\pm$ 6.1	86 $\pm$ 9.0	84 $\pm$ 6.0
	Hemoglobin (g/dl)	M	14.1 $\pm$ 0.1	14.1 $\pm$ 0.3	14.6 $\pm$ 0.2*	14.3 $\pm$ 0.1	13.3 $\pm$ 0.4
		F	14.6 $\pm$ 0.3	14.0 $\pm$ 0.3	14.1 $\pm$ 0.3	14.1 $\pm$ 0.3	12.8 $\pm$ 0.2**
	Hematocrit (%)	M	48.1 $\pm$ 1.2	50.4 $\pm$ 1.3	47.0 $\pm$ 1.3	45.9 $\pm$ 0.9	42.6 $\pm$ 1.2**
		F	49.3 $\pm$ 2.2	46.1 $\pm$ 0.4	45.1 $\pm$ 0.9	44.9 $\pm$ 1.2	39.6 $\pm$ 0.5**
	Met.	M	0	0	0	0	0
		F	0	0	0	0	0
	Staff	M	1.3	0.4	0.9	1.0	0.8
		F	0.7	0.6	0.6	0.5	0.4
	Seg.	M	19.3 $\pm$ 2.7	13.7 $\pm$ 2.6	14.2 $\pm$ 2.0	17.2 $\pm$ 1.5	18.8 $\pm$ 2.5
		F	15.5 $\pm$ 3.4	11.4 $\pm$ 2.3	14.2 $\pm$ 2.3	14.3 $\pm$ 1.7	23.2 $\pm$ 3.3
	Eosino.	M	3.1	3.1	2.5	4.8*	4.1
		F	2.4	3.3	3.4	2.2	1.9
	Baso.	M	0.4	0.6	0.3	0.3	0.4
		F	0.1	0.1	0.9*	0.1	0.4
	Lymph.	M	74.3 $\pm$ 3.4	80.9 $\pm$ 3.3	80.6 $\pm$ 3.1	75.5 $\pm$ 1.6	74.9 $\pm$ 2.9
		F	80.1 $\pm$ 3.6	83.6 $\pm$ 2.8	79.6 $\pm$ 2.3	81.7 $\pm$ 1.6	73.1 $\pm$ 3.1
	Mono.	M	1.6	1.3	1.5	1.2	1.1
		F	1.1	0.9	1.2	1.2	1.1

Significantly different from control * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ Mean $\pm$ S. E.

Table 4-1 Biochemical examinations in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month (n=7)

	Sex	Control (saline)	T-1220			ABPC
			1, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg	4, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg
GOT (Karmen unit)	M	112±9.2	111±7.8	125±9.0	111±7.0	123±5.7
	F	112±4.4	109±5.7	108±4.4	110±12.4	122±5.1
GPT (Karmen unit)	M	43±2.2	42±2.3	41±1.5	40±1.1	40±1.4
	F	39±2.3	43±1.1	40±1.9	42±2.4	47±2.6
ALP (K-A unit)	M	31.0±5.1	39.4±3.9	40.7±7.2	48.7±6.4	32.1±3.0
	F	22.0±3.0	27.8±5.5	22.3±1.9	25.9±3.6	34.7±2.3**
A/G	M	0.86±0.04	0.95±0.07	0.95±0.04	0.87±0.11	0.83±0.05
	F	0.93±0.04	1.05±0.04	1.01±0.08	1.10±0.03	1.00±0.06
Total protein (g/dl)	M	6.2±0.12	6.4±0.09	6.0±0.06	6.0±0.09	5.9±0.06*
	F	6.4±0.10	6.4±0.10	6.5±0.10	6.4±0.10	6.4±0.20
Bilirubin (mg/dl)	M	0.2±0.02	0.3±0.03	0.2±0.03	0.3±0.04	0.2±0.02
	F	0.3±0.05	0.3±0.03	0.3±0.03	0.4±0.10	0.4±0.03
BUN (mg/dl)	M	19.3±1.3	19.2±1.1	19.8±1.3	18.9±1.6	18.4±0.9
	F	14.8±1.0	18.4±0.6	17.0±0.9	15.3±0.5	32.3±7.2*
Na (mEq/l)	M	132±2.5	134±1.5	135±3.0	132±2.0	133±1.9
	F	133±1.8	131±1.1	128±2.3	132±1.5	133±3.1
K (mEq/l)	M	5.9±0.11	5.5±0.14*	5.7±0.14	5.6±0.10	5.6±0.09
	F	5.8±0.10	5.3±0.10	4.7±0.10	5.3±0.10	5.5±0.10
Glucose (mg/dl)	M	97±4.9	124±10.1*	109±6.3	99±5.7	133±11.9*
	F	89±4.0	135±11.2**	112±7.6*	110±5.9*	104±3.7*
Cholesterol (mg/dl)	M	123±6.3	107±4.5	110±4.4	130±14.4	100±3.5**
	F	129±4.6	106±4.2**	110±5.0*	111±7.9	115±4.6
BSP (%)	M	5.7 (n=3)	4.9 (n=2)	4.5 (n=3)	4.0 (n=3)	4.3 (n=3)
	F	3.3 (n=3)	3.2 (n=3)	2.3 (n=3)	2.9 (n=3)	2.9 (n=2)

BSP (%); Serum concentration at 30 min. after injection of BSP 2.5 mg/100 g

Significantly different from control * p<0.05 **p<0.01 Mean±S. E.

縮が T-1220 2,000 mg/kg 投与 5 例中 1 例, ABPC 投与 5 例中 2 例に認められた。他には肉眼的異常がみられなかった。

6 カ月後の剖検では, T-1220 と ABPC の 2,000 mg/kg 投与群で軽度の腹膜充血がみられたほか, 盲腸漿膜下の軽度の斑状出血が, T-1220 2,000 mg/kg 投与雄 7 例中 2 例, ABPC 投与雄 7 例中 4 例, 雌 7 例中 2 例に認められた。一側性の腎盂拡大は, T-1220 2,000 mg/kg 投与雌 7 例中 1 例と ABPC 投与雌 7 例中 1 例にみられたにすぎなかった。ABPC 投与雌の腎は著しく肥大し, 表面および剖面は黄色を帯びていた (Photo. 1)。

8. 臓器重量と臓器重量体重比

i) 亜急性毒性

Table 5, Fig. 4 に示すように, 臓器重量体重比では T-1220 4,000 mg/kg 投与群と ABPC 2,000 mg/kg 投与群に, 軽度の腎重量と肝重量の増加があった。しかし,

この T-1220 投与群の腎重量比の増加例は, 尿量や BUN の増加を伴っていなかった。これに対して ABPC 投与雌では 7 例中 4 例に両側腎の重量増加があり, 尿量増加と BUN の上昇を伴っていた。

ii) 慢性毒性

Table 6-1, 6-2 に臓器重量と臓器重量体重比を, Fig. 5-1, 5-2 に各個体の腎重量体重比を尿量と BUN の値とともに示した。T-1220 各投与群には, 検体投与に起因すると思われる異常が認められなかった。ABPC 2,000 mg/kg 投与の臓器重量体重比では, 3 カ月実験で雌にのみ認められた腎重量比の増加が, 6 カ月後では雌のみならず雄にも現われていた。また ABPC 投与雌に肝の軽度重量増加があった。

9. 組織学的検査

i) 亜急性毒性 (Table 7-1)

T-1220 4,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 投与群の雄, おの

Table 4-2 Biochemical examinations in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 3 and 6 months

		Sex	Control	T-1220			ABPC
				500 mg/kg	1, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg
3 Months	GOT (Karmen unit)	M	117±10.7	119±10.7	119±10.7	128±21.9	152±17.4
		F	123±4.8	114±4.5	104±5.0*	84±10.5**	114±3.8
	GPT (Karmen unit)	M	30±3.4	30±3.9	30±0.8	34±0.7	34±2.8
		F	45±1.6	45±0.2	37±1.7**	39±2.2	45±0.9
	ALP (K-A unit)	M	22.0±2.9	28.2±1.2	24.1±1.2	22.7±3.5	24.2±3.3
		F	20.1±0.7	21.6±1.0	21.5±1.1	19.8±0.6	20.8±0.5
	BUN (mg/dl)	M	13.0±0.7	15.3±0.8	14.3±1.0	14.2±0.7	18.7±1.3**
		F	15.2±0.5	11.8±0.6**	11.5±0.6**	14.8±0.9	34.9±2.3**
	Cholesterol (mg/dl)	M	111±2.5	121±4.0	107±3.0	109±4.3	117±3.7
		F	96±2.4	111±6.1	101±3.4	118±8.4*	98±9.4
	Ch-E (ΔpH)	M	0.37±0.01	0.34±0.03	0.37±0.01	0.38±0.01	0.40±0.02
		F	1.07±0.07	1.04±0.09	1.09±0.08	0.99±0.04	0.87±0.01*
	LDH(Wroblewski unit)	M	1040±66	1310±13	1020±85	1050±91	730±25**
		F	1100±63	1090±66	960±51	880±104	610±45**
	Bilirubin (mg/dl)	M	0.2±0.02	0.2±0.04	0.2±0	0.2±0.04	0.2±0.02
		F	0.2±0	0.2±0.04	0.2±0.02	0.2±0.02	0.1±0
	Total protein (g/dl)	M	6.0±0.07	6.1±0.05	6.1±0.19	6.1±0.09	5.9±0.08
		F	6.1±0.11	6.2±0.08	5.6±0.17*	6.1±0.21	6.3±0.17
	A/G	M	1.23±0.09	0.99±0.04*	1.11±0.03	1.15±0.09	1.06±0.05
		F	1.28±0.05	1.24±0.07	1.15±0.05	1.05±0.04**	1.14±0.02*
6 Months	Na (mEq/l)	M	128±4.0	129±1.0	131±2.1	132±1.1	126±0.9
		F	128±0.9	133±2.1	130±0.9	127±3.7	135±1.3**
	K (mEq/l)	M	5.2±0.21	5.6±0.04	5.0±0.12	4.9±0.07	4.9±0.11
		F	5.2±0.20	4.7±0.04*	4.7±0.16	4.8±0.02	4.8±0.13
	Glucose (mg/dl)	M	111±1.3	111±2.9	118±7.6	117±6.0	125±6.9
		F	119±5.6	118±6.8	109±10.1	110±8.6	128±4.1
	GOT (Karmen unit)	M	126±21.1	124±8.1	76±5.9*	77±4.6*	109±13.1
		F	132±10.6	125±6.6	108±16.7	122±9.8	84±7.4**
	GPT (Karmen unit)	M	31±3.1	38±3.3	25±2.9	23±1.0*	26±1.4
		F	35±4.3	36±4.4	35±4.0	33±5.3	24±2.6*
	ALP (K-A unit)	M	22.8±2.5	21.6±3.4	19.8±3.4	20.0±1.1	29.2±5.9
		F	17.8±1.9	21.6±3.4	25.7±4.8	16.9±1.5	16.0±2.6
	BUN (mg/dl)	M	15.1±0.4	16.3±0.5	13.6±0.6	15.0±0.3	18.4±1.1*
		F	13.8±0.6	13.7±1.1	13.5±0.5	14.5±0.7	30.0±3.8**
	Cholesterol (mg/dl)	M	107±5.5	99±3.4	107±4.3	104±2.9	98±1.1
		F	110±5.2	105±4.2	110±6.4	104±6.8	120±6.9
	Ch-E (ΔpH)	M	0.35±0.01	0.39±0.02	0.45±0.01**	0.44±0.01**	0.40±0.02*
		F	0.99±0.05	1.33±0.06**	1.23±0.05**	1.27±0.02**	0.91±0.08
	LDH(Wroblewski unit)	M	1270±36	1200±61	1230±50	1120±71	1160±47
		F	1280±19	1200±70	1190±75	1230±74	1150±59
	Bilirubin (mg/dl)	M	0.2±0.02	0.2±0.02	0.2±0.02	0.2±0.01	0.2±0.02
		F	0.2±0.01	0.3±0.01	0.2±0.01	0.3±0.01	0.2±0.01
	Total protein (g/dl)	M	6.1±0.11	5.8±0.15	6.2±0.08	5.9±0.08	5.3±0.04**
		F	6.3±0.11	6.2±0.11	6.3±0.15	6.1±0.15	5.6±0.11**
	A/G	M	0.99±0.03	0.96±0.03	0.97±0.02	1.00±0.04	1.00±0.04
		F	0.97±0.02	1.00±0.03	0.98±0.04	1.04±0.04	1.03±0.04
	Na (mEq/l)	M	128±4.0	129±0.6	126±0.6	127±1.0	128±0.8
		F	131±3.8	134±4.6	124±2.1	127±1.0	132±3.9
	K (mEq/l)	M	4.5±0.08	4.7±0.11	4.3±0.08	4.4±0.05	5.1±0.23*
		F	5.1±0.08	5.0±0.15	4.8±0.11*	4.9±0.11	4.8±0.23
	Glucose (mg/dl)	M	123±13.4	113±11.0	119±3.9	115±6.1	141±15.6
		F	89±3.8	104±8.5	85±11.1	107±4.5*	114±5.4**

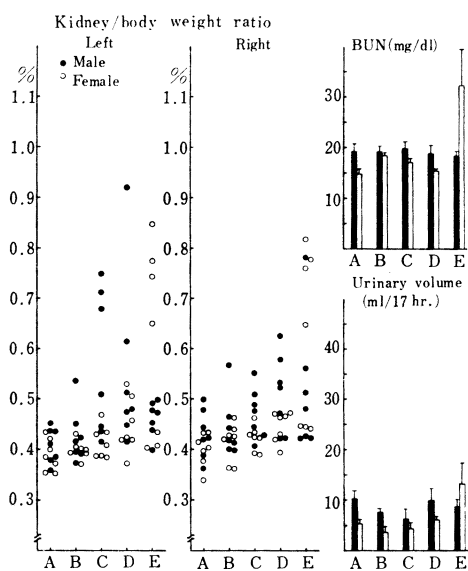
Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01 Mean±S.E.

Table 5 Organ weight and relative organ weight per 100 g body weight in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month

		Sex	Control (saline)	T-1220			ABPC 2, 000 mg/kg	
				1, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg	4, 000 mg/kg		
Organ weight (g)	Heart	M	1. 44±0. 054	1. 46±0. 082	1. 45±0. 092	1. 54±0. 103	1. 48±0. 103	
		F	1. 05±0. 037	1. 03±0. 047	0. 99±0. 039	1. 04±0. 052	0. 97±0. 045	
	Lung	M	1. 49±0. 057	1. 52±0. 078	1. 45±0. 060	1. 28±0. 039*	1. 40±0. 083	
		F	1. 20±0. 037	1. 12±0. 031	1. 12±0. 044	1. 14±0. 053	1. 03±0. 043*	
	Liver	M	13. 75±0. 556	13. 91±0. 490	14. 21±0. 830	13. 46±0. 472	12. 35±0. 375	
		F	9. 13±0. 325	10. 35±0. 531	9. 63±0. 653	10. 07±0. 547	10. 12±0. 558	
	Kidney	left	M	1. 47±0. 033	1. 49±0. 080	1. 96±0. 181*	1. 73±0. 161	1. 57±0. 067
			F	0. 95±0. 027	0. 97±0. 040	1. 00±0. 040	1. 03±0. 046	1. 39±0. 156*
		right	M	1. 55±0. 048	1. 56±0. 077	1. 66±0. 094	1. 62±0. 098	1. 75±0. 176
			F	0. 97±0. 031	1. 02±0. 059	1. 03±0. 034	1. 04±0. 056	1. 41±0. 141*
	Spleen	M	0. 70±0. 035	0. 69±0. 029	0. 73±0. 049	0. 71±0. 058	0. 67±0. 028	
		F	0. 50±0. 037	0. 51±0. 027	0. 54±0. 039	0. 55±0. 046	0. 48±0. 021	
	Thymus	M	0. 61±0. 037	0. 61±0. 040	0. 54±0. 027	0. 42±0. 045**	0. 55±0. 045	
		F	0. 54±0. 030	0. 61±0. 077	0. 53±0. 030	0. 47±0. 026	0. 42±0. 058	
	Thyroids	M	0. 03±0. 007	0. 03±0. 004	0. 02±0. 002	0. 02±0. 004	0. 02±0. 001	
		F	0. 03±0. 005	0. 02±0. 003	0. 02±0. 004	0. 02±0. 003	0. 02±0. 004	
	Adrenals	M	0. 05±0. 009	0. 07±0. 007	0. 06±0. 005	0. 08±0. 007*	0. 06±0. 007	
		F	0. 07±0. 006	0. 08±0. 007	0. 07±0. 004	0. 09±0. 007	0. 09±0. 004*	
	Submaxillary glands	M	0. 65±0. 023	0. 57±0. 038	0. 58±0. 030	0. 52±0. 017**	0. 52±0. 023**	
		F	0. 42±0. 024	0. 42±0. 017	0. 40±0. 019	0. 39±0. 022	0. 37±0. 013	
	Testis	{ left right	M	1. 67±0. 029	1. 66±0. 023	1. 63±0. 041	1. 54±0. 044*	1. 51±0. 054*
			M	1. 63±0. 015	1. 66±0. 029	1. 62±0. 041	1. 55±0. 044	1. 52±0. 042*
	Ovaries	F	0. 09±0. 009	0. 12±0. 003**	0. 10±0. 010	0. 12±0. 009*	0. 11±0. 007	
Organ/Body weight ratio (%)	Heart	M	0. 40±0. 015	0. 42±0. 020	0. 41±0. 020	0. 48±0. 028*	0. 44±0. 030	
		F	0. 43±0. 010	0. 42±0. 012	0. 41±0. 015	0. 45±0. 027	0. 42±0. 016	
	Lung	M	0. 41±0. 016	0. 43±0. 024	0. 42±0. 018	0. 41±0. 021	0. 41±0. 017	
		F	0. 49±0. 014	0. 46±0. 009	0. 46±0. 017	0. 49±0. 014	0. 45±0. 011*	
	Liver	M	3. 79±0. 088	3. 96±0. 127	4. 05±0. 218	4. 25±0. 146*	3. 64±0. 074	
		F	3. 74±0. 115	4. 23±0. 122*	3. 96±0. 231	4. 32±0. 118**	4. 40±0. 165**	
	Kidney	left	M	0. 41±0. 013	0. 43±0. 021	0. 56±0. 055*	0. 55±0. 066	0. 46±0. 013*
			F	0. 39±0. 012	0. 40±0. 007	0. 41±0. 012	0. 45±0. 021*	0. 61±0. 072*
		right	M	0. 43±0. 018	0. 44±0. 023	0. 47±0. 019	0. 51±0. 029*	0. 52±0. 049
			F	0. 40±0. 013	0. 41±0. 014	0. 42±0. 010	0. 45±0. 012*	0. 62±0. 065**
	Spleen	M	0. 19±0. 009	0. 20±0. 011	0. 21±0. 014	0. 22±0. 015	0. 20±0. 005	
		F	0. 20±0. 016	0. 21±0. 008	0. 22±0. 015	0. 24±0. 013	0. 21±0. 008	
	Thymus	M	0. 17±0. 009	0. 18±0. 012	0. 16±0. 006	0. 14±0. 018	0. 16±0. 012	
		F	0. 22±0. 011	0. 25±0. 024	0. 22±0. 014	0. 20±0. 009	0. 18±0. 020	
	Thyroids	M	0. 01±0. 002	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	
		F	0. 01±0. 002	0. 01±0. 001	0. 01±0. 002	0. 01±0. 002	0. 01±0. 002	
	Adrenals	M	0. 02±0. 003	0. 02±0. 002	0. 02±0. 002	0. 03±0. 003*	0. 02±0. 002	
		F	0. 03±0. 002	0. 03±0. 003	0. 03±0. 002	0. 04±0. 003	0. 04±0. 002*	
	Submaxillary glands	M	0. 18±0. 007	0. 16±0. 006	0. 17±0. 005	0. 16±0. 006	0. 16±0. 009	
		F	0. 17±0. 009	0. 17±0. 004	0. 17±0. 007	0. 17±0. 009	0. 16±0. 008	
	Testis	{ left right	M	0. 46±0. 007	0. 48±0. 018	0. 47±0. 011	0. 49±0. 013	0. 45±0. 025
			M	0. 45±0. 008	0. 48±0. 018	0. 46±0. 014	0. 49±0. 010*	0. 45±0. 024
	Ovaries	F	0. 04±0. 003	0. 05±0. 001**	0. 04±0. 005	0. 05±0. 005*	0. 05±0. 004*	

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01 Mean±S.E.

Fig. 4 Relative kidney weight per 100g body weight in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 1 month



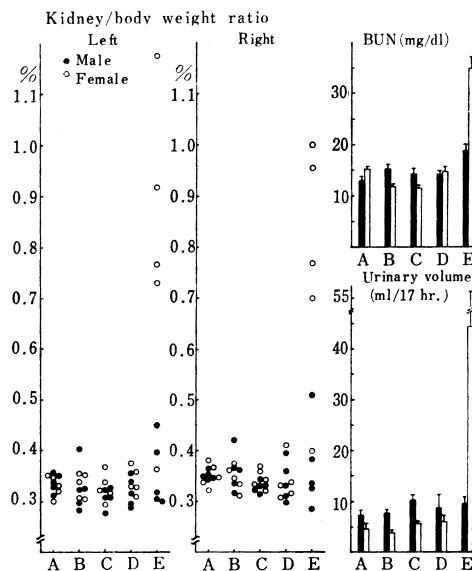
A: Control B: T-1220 1,000 mg/kg
C: T-1220 2,000 mg/kg D: T-1220 4,000 mg/kg
E: ABPC 2,000 mg/kg

おの7例中3例に左側腎の水腎症があり、これらの腎の皮質にはくさび状に限局した尿細管腔の拡張や、軽度の間質細胞浸潤、線維化が認められた (Photo. 2)。しかし、それらの例の右側腎には組織学的異常がみられなかった。ABPC 投与雌7例中4例には、皮質の近位、遠位尿細管腔の拡張が両側腎にびまん性に認められた (Photo. 3)。盲腸では漿膜下、筋層、粘膜下組織の滲出性炎や線維索性炎などの盲腸炎 (Photo. 4) の所見が、雄の T-1220 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 投与のおの7例中1例, 4,000 mg/kg 投与7例中3例, ABPC 投与7例中5例に認められた。雌では T-1220 各投与群に変化がなく, ABPC 投与の7例中2例にのみ、これらの変化が認められた。他の諸臓器には検体投与に起因すると思われる異常所見がなかった。

ii) 慢性毒性 (Table 7-2, 7-3)

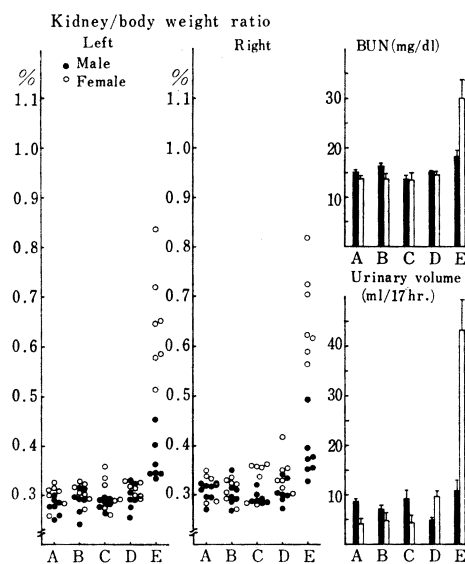
3 カ月実験: T-1220 投与群の雄では、くさび状に限局した尿細管腔の拡張や軽度の間質細胞浸潤、線維化が投与量に関係なく、対照群を含め、各群5例中2~3例の一侧腎に認められた。雌ではこれらの変化がみられなかった。ABPC 投与の雄1例、雌4例には、両側腎にびまん性の近位、遠位尿細管腔および集合管腔の高度の拡大があり、尿細管上皮は扁平化し、一部の尿細管腔には

Fig. 5-1 Relative kidney weight per 100g body weight in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 3 months



A: Control B: T-1220 500 mg/kg
C: T-1220 1,000 mg/kg D: T-1220 2,000 mg/kg
E: ABPC 2,000 mg/kg

Fig. 5-2 Relative kidney weight per 100g body weight in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 6 months



A: Control B: T-1220 500 mg/kg C: T-1220 1,000 mg/kg D: T-1220 2,000 mg/kg
E: ABPC 2,000 mg/kg

Table 6-1 Organ weight in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 3 and 6 months

		Sex	Control	T-1220			ABPC	
			(saline)	500 mg/kg	1, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg	2, 000 mg/kg	
3 Months	Heart	M	1. 52±0. 177	1. 36±0. 092	1. 19±0. 027	1. 37±0. 096	1. 45±0. 071	
		F	0. 97±0. 034	0. 82±0. 029**	0. 94±0. 043	0. 99±0. 071	0. 98±0. 026	
	Lung	M	1. 47±0. 102	1. 54±0. 098	1. 43±0. 049	1. 49±0. 058	1. 57±0. 050	
		F	1. 24±0. 019	1. 19±0. 028	1. 27±0. 075	1. 12±0. 083	1. 14±0. 023**	
	Liver	M	11. 97±0. 603	12. 80±0. 833	11. 05±0. 768	12. 19±0. 735	13. 81±0. 466*	
		F	7. 77±0. 349	7. 58±0. 256	7. 09±0. 247	7. 70±0. 396	8. 46±0. 448	
	Kidney	{ left	M	1. 40±0. 034	1. 36±0. 085	1. 27±0. 037*	1. 35±0. 085	1. 54±0. 137
			F	0. 86±0. 040	0. 83±0. 033	0. 85±0. 024	0. 82±0. 023	1. 99±0. 335*
		{ right	M	1. 46±0. 045	1. 51±0. 093	1. 35±0. 054	1. 44±0. 106	1. 60±0. 180
			F	0. 92±0. 045	0. 87±0. 038	0. 87±0. 021	0. 82±0. 021	1. 94±0. 304*
	Spleen	M	0. 61±0. 031	0. 62±0. 046	0. 60±0. 029	0. 59±0. 049	0. 69±0. 018	
		F	0. 49±0. 036	0. 54±0. 037	0. 42±0. 018	0. 56±0. 057	0. 55±0. 055	
	Thymus	M	0. 29±0. 030	0. 30±0. 032	0. 26±0. 033	0. 30±0. 028	0. 29±0. 041	
		F	0. 27±0. 023	0. 26±0. 033	0. 19±0. 015*	0. 26±0. 040	0. 19±0. 012*	
	Thyroids	M	0. 03±0. 005	0. 02±0. 004	0. 04±0. 002	0. 04±0. 002	0. 04±0. 014	
		F	0. 03±0. 004	0. 02±0. 004	0. 02±0. 002	0. 03±0. 006	0. 03±0. 006	
	Adrenals	M	0. 06±0. 017	0. 06±0. 007	0. 05±0. 004	0. 05±0. 004	0. 08±0. 016	
		F	0. 06±0. 005	0. 07±0. 004	0. 07±0. 007	0. 09±0. 009*	0. 09±0. 009*	
	Submaxillary glands	M	0. 63±0. 031	0. 67±0. 035	0. 55±0. 048	0. 58±0. 034	0. 65±0. 046	
		F	0. 46±0. 014	0. 44±0. 019	0. 44±0. 016	0. 47±0. 018	0. 42±0. 025	
	Testis	{ left right	M	1. 75±0. 049	1. 84±0. 041	1. 74±0. 072	1. 58±0. 160	1. 84±0. 307
			M	1. 68±0. 051	1. 84±0. 042*	1. 70±0. 069	1. 78±0. 088	1. 61±0. 173
	Ovaries	F	0. 12±0. 014	0. 13±0. 020	0. 11±0. 017	0. 14±0. 007	0. 09±0. 012	
6 Months	Heart	M	1. 57±0. 074	1. 96±0. 201	1. 57±0. 094	1. 48±0. 051	1. 48±0. 054	
		F	1. 10±0. 045	1. 12±0. 047	1. 09±0. 069	1. 06±0. 066	1. 17±0. 067	
	Lung	M	1. 50±0. 074	1. 64±0. 056	1. 51±0. 073	1. 49±0. 050	1. 40±0. 067	
		F	1. 18±0. 057	1. 19±0. 037	1. 22±0. 064	1. 18±0. 041	1. 15±0. 045	
	Liver	M	13. 36±0. 467	13. 76±0. 446	14. 45±0. 615	13. 34±0. 521	12. 20±0. 397	
		F	8. 70±0. 366	8. 15±0. 446	8. 68±0. 440	8. 37±0. 456	10. 52±0. 302**	
	Kidney	{ left	M	1. 34±0. 055	1. 41±0. 036	1. 52±0. 066	1. 43±0. 055	1. 61±0. 064**
			F	0. 90±0. 034	0. 84±0. 028	0. 85±0. 048	0. 86±0. 039	1. 82±0. 137**
		{ right	M	1. 46±0. 048	1. 48±0. 051	1. 57±0. 074	1. 47±0. 055	1. 66±0. 073*
			F	0. 95±0. 028	0. 86±0. 041	0. 93±0. 036	0. 94±0. 028	1. 88±0. 139**
	Spleen	M	0. 68±0. 024	0. 76±0. 043	0. 79±0. 044*	0. 69±0. 026	0. 68±0. 038	
		F	0. 56±0. 026	0. 49±0. 012*	0. 51±0. 026	0. 58±0. 042	0. 53±0. 030	
	Thymus	M	0. 26±0. 031	0. 28±0. 053	0. 25±0. 047	0. 21±0. 018	0. 18±0. 026	
		F	0. 18±0. 014	0. 20±0. 038	0. 15±0. 027	0. 15±0. 022	0. 24±0. 054	
	Thyroids	M	0. 02±0. 005	0. 03±0. 006	0. 02±0. 005	0. 02±0. 004	0. 02±0. 002	
		F	0. 02±0. 004	0. 02±0. 005	0. 03±0. 004	0. 02±0. 004	0. 02±0. 005	
	Adrenals	M	0. 06±0. 007	0. 07±0. 004	0. 06±0. 009	0. 06±0. 006	0. 06±0. 005	
		F	0. 07±0. 006	0. 07±0. 005	0. 07±0. 005	0. 06±0. 008	0. 09±0. 011	
	Submaxillary glands	M	0. 66±0. 060	0. 68±0. 032	0. 69±0. 026	0. 65±0. 038	0. 58±0. 035	
		F	0. 50±0. 023	0. 47±0. 022	0. 45±0. 007	0. 49±0. 024	0. 42±0. 024*	
	Testis	{ left right	M	1. 81±0. 077	1. 78±0. 051	1. 76±0. 094	1. 78±0. 030	1. 77±0. 066
			M	1. 73±0. 069	1. 75±0. 053	1. 82±0. 062	1. 74±0. 063	1. 75±0. 091
	Ovaries	F	0. 15±0. 009	0. 12±0. 010*	0. 13±0. 007	0. 14±0. 008	0. 17±0. 017	

Significantly different from control * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ Mean ± S.E.

Table 6-2 Relative organ weight per 100g body weight in rats treated intraperitoneally with T-1220 for 3 and 6 months

		Sex	Control	T-1220			ABPC	
			(saline)	500 mg/kg	1, 000 mg/kg	2. 000 mg/kg	2, 000 mg/kg	
3 Months	Heart	M	0. 36±0. 031	0. 33±0. 018	0. 29±0. 010	0. 32±0. 018	0. 33±0. 017	
		F	0. 37±0. 016	0. 33±0. 018	0. 37±0. 012	0. 41±0. 023	0. 39±0. 026	
	Lung	M	0. 35±0. 014	0. 37±0. 025	0. 35±0. 016	0. 35±0. 013	0. 36±0. 011	
		F	0. 48±0. 015	0. 48±0. 018	0. 51±0. 039	0. 46±0. 023	0. 46±0. 015	
	Liver	M	2. 88±0. 070	3. 05±0. 083	2. 67±0. 080	2. 88±0. 124	3. 20±0. 106*	
		F	2. 98±0. 061	3. 03±0. 084	2. 81±0. 091	3. 17±0. 087	3. 38±0. 163	
	Kidney	left	M	0. 34±0. 007	0. 33±0. 021	0. 31±0. 009	0. 32±0. 013	0. 35±0. 030
			F	0. 33±0. 010	0. 33±0. 011	0. 34±0. 014	0. 34±0. 012	0. 79±0. 132**
		right	M	0. 35±0. 004	0. 36±0. 018	0. 33±0. 005**	0. 34±0. 018	0. 37±0. 039
			F	0. 35±0. 011	0. 35±0. 011	0. 35±0. 008	0. 34±0. 018	0. 77±0. 108**
	Spleen	M	0. 15±0. 004	0. 15±0. 010	0. 15±0. 009	0. 14±0. 010	0. 16±0. 004	
		F	0. 19±0. 018	0. 22±0. 022	0. 17±0. 007	0. 23±0. 018	0. 22±0. 025	
	Thymus	M	0. 07±0. 007	0. 07±0. 005	0. 06±0. 007	0. 07±0. 006	0. 07±0. 009	
		F	0. 11±0. 011	0. 10±0. 010	0. 08±0. 005*	0. 11±0. 014	0. 08±0. 004*	
	Thyroids	M	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 003	
		F	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 003	0. 01±0. 003	
	Adrenals	M	0. 02±0. 004	0. 02±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 02±0. 004	
		F	0. 02±0. 002	0. 03±0. 002	0. 03±0. 003	0. 04±0. 003*	0. 03±0. 004	
	Submaxillary glands	M	0. 15±0. 006	0. 16±0. 010	0. 13±0. 010	0. 14±0. 005	0. 15±0. 012	
		F	0. 18±0. 002	0. 17±0. 007	0. 18±0. 003	0. 19±0. 006	0. 17±0. 009	
Testis	left	M	0. 42±0. 018	0. 44±0. 024	0. 42±0. 024	0. 38±0. 040	0. 42±0. 068	
		M	0. 41±0. 017	0. 44±0. 028	0. 42±0. 025	0. 42±0. 016	0. 37±0. 042	
Ovaries	F	0. 04±0. 005	0. 05±0. 008	0. 04±0. 006	0. 06±0. 002**	0. 04±0. 005		
6 Months	Heart	M	0. 33±0. 013	0. 40±0. 035	0. 29±0. 016	0. 31±0. 019	0. 34±0. 011	
		F	0. 37±0. 018	0. 41±0. 022	0. 39±0. 015	0. 40±0. 025	0. 42±0. 012*	
	Lung	M	0. 31±0. 016	0. 33±0. 009	0. 28±0. 007	0. 31±0. 011	0. 32±0. 015	
		F	0. 39±0. 016	0. 43±0. 018	0. 44±0. 017	0. 43±0. 022	0. 41±0. 007	
	Liver	M	2. 76±0. 053	2. 79±0. 046	2. 71±0. 088	2. 78±0. 111	2. 79±0. 085	
		F	2. 91±0. 102	2. 95±0. 118	3. 12±0. 084	3. 03±0. 112	3. 76±0. 120**	
	Kidney	left	M	0. 28±0. 007	0. 29±0. 010	0. 28±0. 004	0. 30±0. 010	0. 37±0. 016**
			F	0. 30±0. 009	0. 31±0. 007	0. 30±0. 013	0. 31±0. 006	0. 65±0. 040**
		right	M	0. 30±0. 007	0. 30±0. 010	0. 29±0. 005	0. 31±0. 009	0. 38±0. 020**
			F	0. 32±0. 010	0. 31±0. 009	0. 33±0. 013	0. 34±0. 014	0. 66±0. 034**
	Spleen	M	0. 14±0. 005	0. 15±0. 008	0. 15±0. 008	0. 14±0. 006	0. 16±0. 009	
		F	0. 19±0. 011	0. 18±0. 008	0. 18±0. 010	0. 21±0. 014	0. 19±0. 008	
	Thymus	M	0. 05±0. 006	0. 05±0. 006	0. 05±0. 007	0. 04±0. 003	0. 04±0. 006	
		F	0. 06±0. 003	0. 06±0. 005	0. 06±0. 010	0. 06±0. 008	0. 09±0. 024	
	Thyroids	M	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	
		F	0. 01±0. 001	0. 01±0. 002	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 002	
	Adrenals	M	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	0. 01±0. 002	0. 01±0. 001	0. 01±0. 001	
		F	0. 02±0. 002	0. 03±0. 002	0. 03±0. 001	0. 02±0. 003	0. 03±0. 003*	
	Submaxillary glands	M	0. 14±0. 011	0. 14±0. 009	0. 13±0. 006	0. 14±0. 009	0. 13±0. 007	
		F	0. 17±0. 010	0. 17±0. 009	0. 16±0. 007	0. 18±0. 009	0. 15±0. 006	
Testis	left	M	0. 38±0. 017	0. 36±0. 014	0. 33±0. 019	0. 37±0. 012	0. 40±0. 012	
		M	0. 36±0. 014	0. 36±0. 015	0. 34±0. 017	0. 36±0. 014	0. 40±0. 016	
Ovaries	F	0. 05±0. 003	0. 04±0. 004	0. 05±0. 003	0. 05±0. 003	0. 06±0. 007		

Significantly different from control * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ Mean ± S. E.

Table 7-1 Histological observation in rats treated intraperitoneally

	Control				T-1220 1,000mg/kg			
	—		+		—		+	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Kidney								
Dilatation of tubular lumina in the cortex	7	7	0	0	0	0	0	0
Cell infiltration of the interstitium	7	7	0	0	0	0	0	0
Fibrosis of the stroma	7	7	0	0	0	0	0	0
Hydronephrosis	7	7	0	0	0	0	5	7
Calcium deposition in the tubules	7	7	0	0	0	0	7	7
Heart								
Focal myocarditis	6	6	1	0	0	1	0	0
Blind gut								
Exudation in the submucosa	7	7	0	0	0	0	6	7
Hemorrhage of the submucosa	7	7	0	0	0	0	7	7
Fibrosis of the submucosa	7	7	0	0	0	0	6	7
Exudation in the subserosa	7	7	0	0	0	0	7	7
Hemorrhage of the subserosa	7	7	0	0	0	0	6	7
Fibrinous inflammation of the subserosa	7	7	0	0	0	0	6	7
Exudation in the muscular layer	7	7	0	0	0	0	6	7
Necrosis of the whole thickness of the wall	7	7	0	0	0	0	7	7

* Focal change in the unilateral kidney) Unilateral change

変性脱落上皮細胞がみられた (Photo. 5)。盲腸炎の所見が、T-1220 2,000mg/kg 投与雄5例中2例、ABPC 投与雌雄おのおの5例中1例、対照群雄5例中2例に認められた。また片側精巣の精子形成減退 (Photo. 6) を示す例が、T-1220 2,000mg/kg 投与の1例と ABPC 投与の2例に認められた。他の臓器には、検体投与に起因すると思われる異常がみられなかった。

6カ月実験：盲腸炎および片側腎の限局性間質細胞浸潤、線維化が、対照群を含む各群に散発的に認められたが、投与量との関係はみられなかった。ABPC 2,000mg/kg 投与群では、雄7例中4例の腎に軽度の、雌7例全例の腎に高度の変化が認められた。即ち近位、遠位尿管腔、集合管腔は異常に拡大して尿管上皮は扁平化し、一部は腔内にコロイド円柱を有し、間質細胞浸潤

と線維化を伴っていた。また一部の尿管上皮には変性がみられ、腔内には PAS 強陽性の変性脱落細胞を含んでいた (Photo. 7, 8)。

10. 電子顕微鏡的観察

6カ月間投与を行なったラットの腎と肝について電子顕微鏡的観察を行なった。T-1220 2,000mg/kg 投与ラットの近位尿管上皮細胞には、細胞質内に電子密度の濃い lysosome 様小体の増加がみられただけで、他の細胞内微細構造には形態的な異常がみられなかった (Photo. 12)。また遠位尿管上皮の一部には、基底細胞膜侵入の増加発達が認められるものがあった (Photo. 13)。糸球体 (Photo. 14) および肝細胞には変化がみられなかった。ABPC 投与の腎近位尿管上皮には明瞭な形態的な異常が現われていた。すなわち機能検査の変化や組織学

with T-1220 for 1 month

T-1220 2,000mg/kg				T-1220 4,000mg/kg				ABPC 2,000mg/kg			
—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++
M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F
3 7	0 0	4*0	0 0	5 7	1*0	1*0	0 0	7 3	0 1	0 2	0 1
4 7	3*0	0 0	0 0	5 6	1*1*	1*0	0 0	7 6	0 1	0 0	0 0
6 7	1*0	0 0	0 0	6 7	0 0	1*0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
4 7	1)0	2)0	0 0	4 7	0 0	2)0	1)0	5 7	2)0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 6	0 1*	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	6 7	1 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	4 7	1 0	2 0	0 0	4 6	3 1	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	4 7	1 0	1 0	1 0	2 7	2 0	2 0	1 0
7 7	0 0	0 0	0 0	4 7	1 0	2 0	0 0	3 5	2 2	2 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	5 7	1 0	0 0	1 0	6 6	0 0	0 0	1 1
6 7	0 0	0 0	1 0	6 7	0 0	1 0	0 0	5 6	1 0	0 0	1 1
6 7	0 0	1 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
6 7	0 0	0 0	1 0	4 7	1 0	2 0	0 0	2 6	4 0	1 1	0 0
6 7	0 0	0 0	1 0	6 7	0 0	0 0	1 0	7 7	0 0	0 0	0 0

Abnormalities were not found in lung, liver, spleen, adrenals, submaxillary glands, thyroids, thymus, ovaries, testes, brain, pituitary, pancreas, mesentery, mesentery lymph nodes, stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, urinary bladder, bone marrow and skeletal muscle.

的变化が比較的少なかった雄においても、その近位尿管上皮の細胞質は浮腫状に淡明化しており、基底部細胞膜嵌入の消失、核膜の膨潤、核質の濃縮、ミトコンドリアの膨化と崩壊、brush border の膨化と内腔への崩壊脱落などの変化が認められた (Photo. 15, 16)。さらに雌の近位尿管上皮では、明らかに変性、壊死に陥った細胞が認められた (Photo. 17)。

11. 回復試験

亜急性毒性、慢性毒性試験の回復試験では、T-1220 各投与群とも機能検査値に異常がなく、また剖検では腹膜の充血や盲腸炎の所見は得られなかった。臓器重量、組織学的検査でも異常が認められなかった。ABPC 投与群では、雌で高度の、雄で軽度の BUN 上昇が依然として認められ、腎重量の増加があり、尿管腔の拡張、間

質細胞浸潤、線維化には回復がみられなかった。

III. 総括および考察

T-1220 をラットに 1 カ月 (4,000, 2,000, 1,000mg/kg) および 6 カ月 (2,000, 1,000, 500mg/kg) 腹腔内投与し、ABPC (2,000mg/kg) を対照薬として安全性を検討した。6 カ月実験では、途中 3 カ月で一部の動物を検査剖検し、3 カ月実験とした。1 カ月実験および 6 カ月実験における最高投与量は、腹腔内投与 LD₅₀ 値のおおの約 1/2, 1/4 に相当する量である。

T-1220 の腹腔内投与によって writhing がみられたことから、本検体には局所刺激作用のあることがうかがわれた。高用量群、特に 1 カ月実験における 4,000mg/kg 投与群では、高濃度の検体注入による刺激と、腹腔内投与による機械的刺激の影響と思われる腎の一側性変化

Table 7-2 Histological observation in rats treated

	Control				T-1220 500mg/kg			
	—	+	++	+++	—	+	++	+++
	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F
Kidney								
Hydronephrosis	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Cell infiltration of the interstitium	2 5	3*0	0 0	0 0	3 5	2*0	0 0	0 0
Fibrosis of the stroma	2 5	3*0	0 0	0 0	4 5	1*0	0 0	0 0
Dilatation of tubular lumina in the cortex	5 5	0 0	0 0	0 0	4 5	1*0	0 0	0 0
Dilatation of the collecting tubular lumina in the medulla	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Degeneration of the tubular epithelium in the cortex	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Cast in the tubular lumina	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Calcium deposition in the tubules	5 3	0 2	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Thickening of the basement membrane of the glomeruli	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Blind gut								
Hemorrhage (and fibrosis) of the subserosa	3 5	(1) 0	1 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Hemosiderosis of the subserosa	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Exudation in the muscular layer	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Fibrosis and hemosiderosis in the submucosa	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Necrosis of the whole thickness of the wall	5 5	0 0	0 0	0 0	5 4	0 0	0 1	0 0
Mesentery								
Hemorrhage and fibrosis	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Hemosiderosis	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Testis								
Reduction of spermatogenesis	5	0	0	0	5	0	0	0
Heart								
Focal myocarditis	4 4	1 1	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Lung								
Pneumonia	5 4	0 1	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Liver								
Focal cell infiltration in the lobule	4 5	1 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
Peripheral fatty degeneration	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0

* Focal change in the unilateral kidney) Unilateral change

intraperitoneally with T-1220 for 3 months

T-1220 1,000mg/kg				T-1220 2,000mg/kg				ABPC 2,000mg/kg			
—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++
M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F
5 5	0 0	0 0	0 0	3 5	1) 0	0 0	1) 0	4 4	0 0	1 1)	0 0
3 5	1*0	1*0	0 0	4 5	0 0	1*0	0 0	3 1	1 4	1 0	0 0
3 5	1*0	1*0	0 0	4 5	1*0	0 0	0 0	4 1	0 4	1 0	0 0
3 5	2*0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	4 1	1 1	0 2	0 1
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	4 1	0 1	1 0	0 3
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 4	0 1	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	4 4	1 1	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 3	0 2	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	3 5	1 0	1 0	0 0	4 4	0 0	(1) 1	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	4 4	0 1	1 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	4 5	1 0	0 0	0 0	4 5	0 0	1 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5	0	0	0	4	0	0	1)	3	0	1)	1)
5 5	0 0	0 0	0 0	5 4	0 1	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5 4	0 1	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0
5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	4 5	1 0	0 0	0 0
5 4	0 1	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0	5 5	0 0	0 0	0 0

Abnormalities were not found in spleen, adrenals, submaxillary glands, thyroids, thymus, ovaries, brain, pituitary, pancreas, mesentery lymph nodes, stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, urinary bladder, bone marrow and muscle.

Table 7-3 Histological observation in rats treated

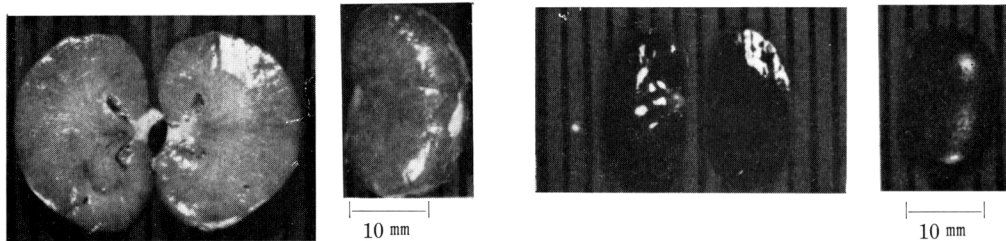
	Control				T-1220 500 mg/kg			
	—	+	++	+++	—	+	++	+++
	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F
Kidney								
Hydronephrosis	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Cell infiltration of the interstitium	5 7	2*0	0 0	0 0	5 7	2*0	0 0	0 0
Fibrosis of the stroma	5 7	2*0	0 0	0 0	5 7	2*0	0 0	0 0
Dilatation of tubular lumina in the cortex	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Dilatation of the collecting tubular lumina in the medulla	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Degeneration of the tubular epithelium in the cortex	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Cast in the tubular lumina	7 7	0 0	0 0	0 0	7 6	0 1	0 0	0 0
Calcium deposition in the tubules	7 7	0 0	0 0	0 0	7 6	0 1	0 0	0 0
Thickening of the basement membrane of the glomeruli	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Blind gut								
Hemorrhage (and fibrosis) of the subserosa	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Hemosiderosis of the subserosa	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Exudation in the muscular layer	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Fibrosis and hemosiderosis in the submucosa	6 7	1 0	0 0	0 0	6 7	0 0	1 0	0 0
Necrosis of the whole thickness of the wall	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Mesentery								
Hemorrhage and fibrosis	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Hemosiderosis	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Testis								
Reduction of spermatogenesis	7	0	0	0	7	0	0	0
Heart								
Focal myocarditis	6 6	1 1	0 0	0 0	6 7	1 0	0 0	0 0
Lung								
Pneumonia	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Liver								
Focal cell infiltration in the lobule	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
Peripheral fatty degeneration	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0

* Focal change in the unilateral kidney) Unilateral change

intraperitoneally with T-1220 for 6 months

T-1220 1.000mg/kg				T-1220 2.000mg/kg				ABPC 2.000mg/kg			
—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++
M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F
7 7	0 0	0 0	0 0	7 6	0 0	0 1)	0 0	7 6	0 1)	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	6 4	1*2*	0 1*	0 0	4 1	3 0	0 6	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	6 4	1*3*	0 0	0 0	7 1	0 0	0 5	0 1
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	3 0	3 3	1 3	0 1
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	6 0	0 3	1 3	0 1
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 2	0 0	0 3	0 2
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	6 3	1 1	0 2	0 1
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 1	0 3	0 3	0 0
6 7	0 0	(1) 0	0 0	6 7	0 0	(1) 0	0 0	3 5	(2)(1)	(2)(1)	0 0
5 7	1 0	1 0	0 0	5 7	1 0	1 0	0 0	4 7	2 0	1 0	0 0
6 7	1 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	5 6	1 0	1 1	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	6 7	0 0	1 0	0 0	6 7	1 0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	5 7	1 0	1 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	6 7	0 0	1 0	0 0
7	0	0	0	6	0	0	1)	7	0	0	0
6 7	1 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	5 7	2 0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 6	0 1	0 0	0 0
7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0	7 7	0 0	0 0	0 0

Abnormalities were not found in spleen, adrenals, submaxillary glands, thyroids, thymus, ovaries, brain, pituitary, pancreas, mesentery lymph nodes, stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, urinary bladder, bone marrow and muscle.



Kidney: ABPC 2,000 mg/kg i.p. 6 months female rat

Kidney: T-1220 2,000 mg/kg i.p. 6 months female rat

Photo. 1 The kidneys from female rats given T-1220 or ABPC at 2,000 mg/kg for 6 months. Enlarged kidney with yellow-discoloration is found in the rat given ABPC.

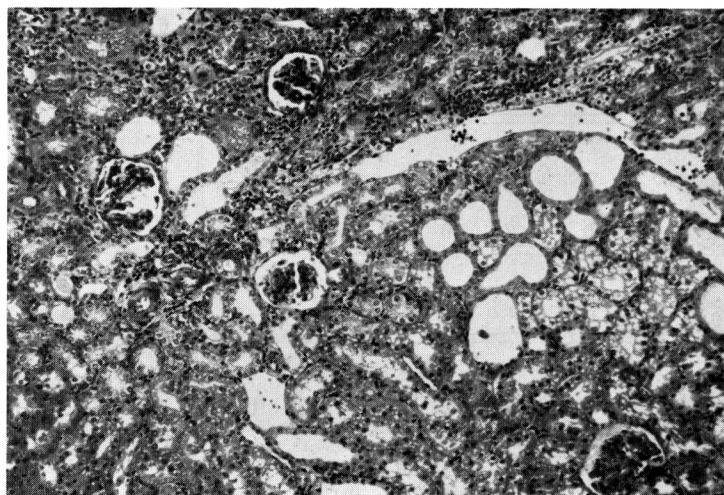


Photo. 2 The kidney from a male rat given T-1220 at 4,000 mg/kg for a month. Localized dilatation of the renal tubular lumen and slight cell infiltration of interstitium are observed. Enlargement of the renal pelvic cavity was also seen. $\times 300$, H. E. staining.

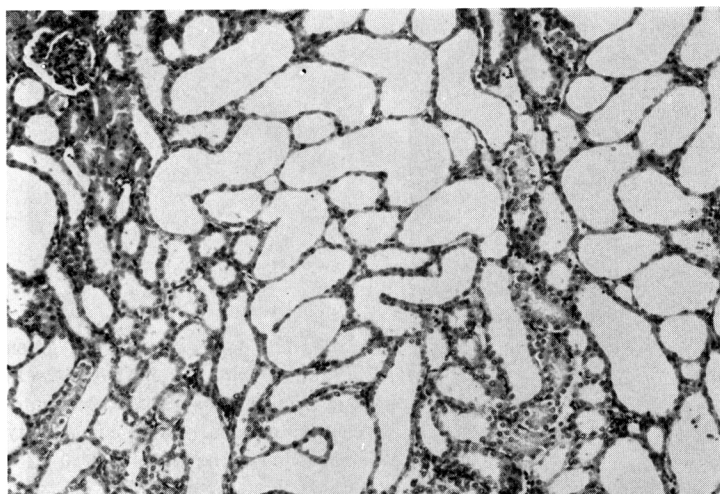


Photo. 3 The kidney from a female rat given ABPC at 2,000mg/kg for a month. Remarkable dilatation of the proximal and distal tubular lumina is found and the tubular epithelium is noted to be flat. $\times 300$, H. E. staining.



Photo. 4 The blind gut from a male rat given T-1220 at 2,000mg/kg for a month. Hemorrhage and inflammatory changes in the subserosa and edema in the submucosa are observed. The muscular layer is substituted for inflammatory cells. $\times 120$, H. E. staining.

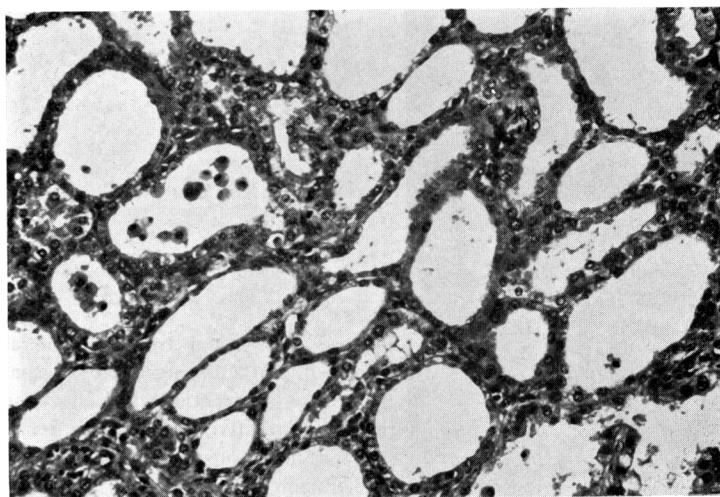


Photo. 5 The kidney from a female rat given ABPC at 2,000mg/kg for 3 months. Dilatation of the renal tubular lumen is observed. Necrotic debris remained within the tubular lumen. $\times 300$, H. E. staining.

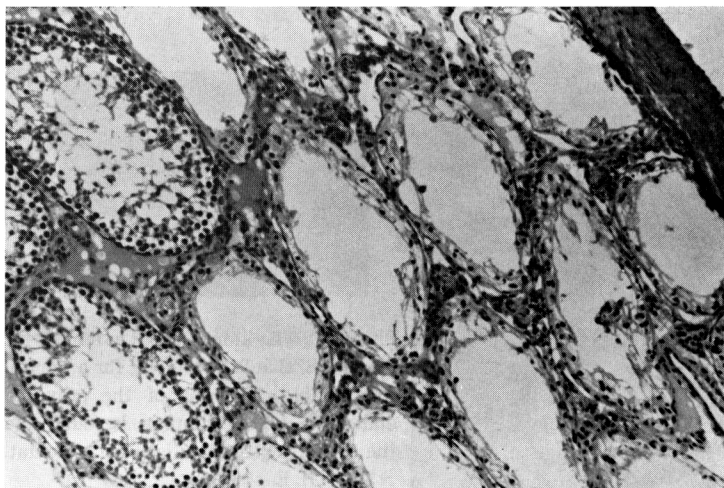


Photo. 6 The testis from a rat given ABPC at 2,000mg/kg for 3 months. In most of seminiferous tubules, spermatogenesis is not seen. This abnormality was not found in the opposite side. $\times 300$, H. E. staining.

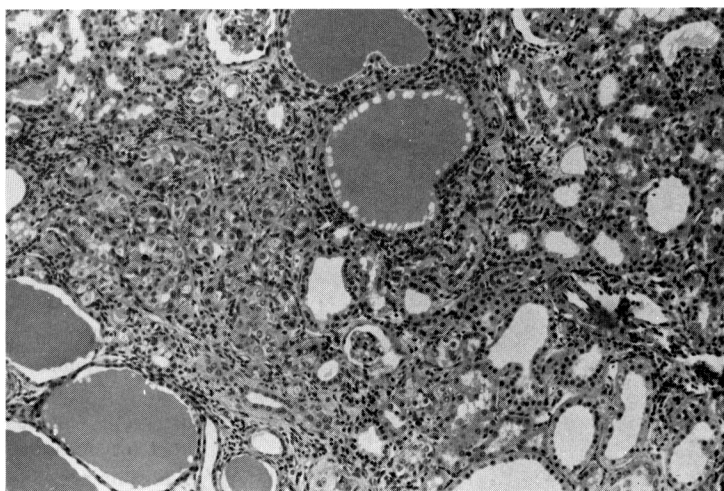


Photo. 7 The kidney from a female rat given ABPC at 2,000mg/kg for 6 months. Protein casts are seen in the dilated tubule and degenerative tubular epithelium, the basement membrane of which is thickened, is also noted. $\times 300$, H.E. staining.

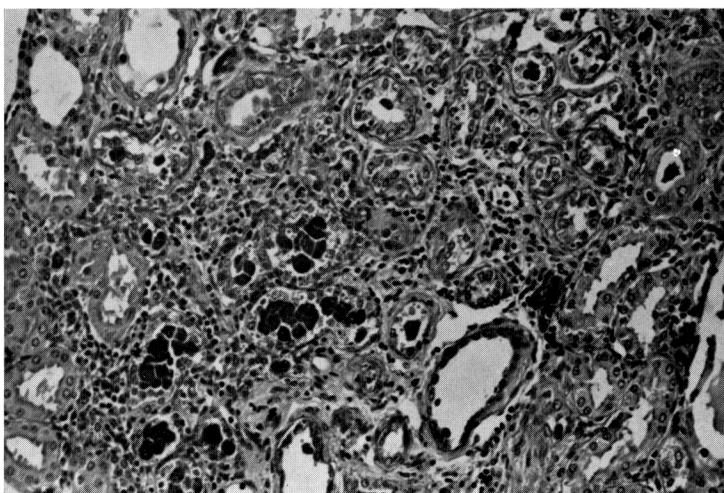


Photo. 8 The kidney from a female rat given ABPC at 2,000mg/kg for 6 months. Necrotic debris, which have an intensively positive PAS staining, remained within the tubular lumen. $\times 300$, PAS staining.

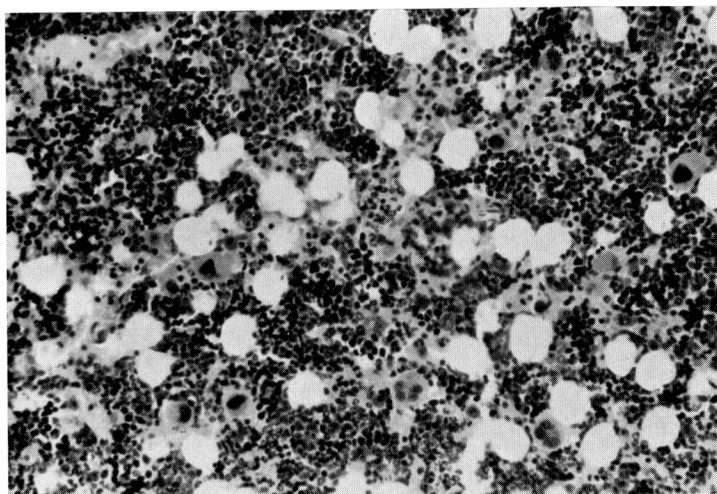


Photo. 9 The bone marrow from a male rat given T-1220 at 2,000mg/kg for 6 months. No significant changes. $\times 600$, H. E. staining.

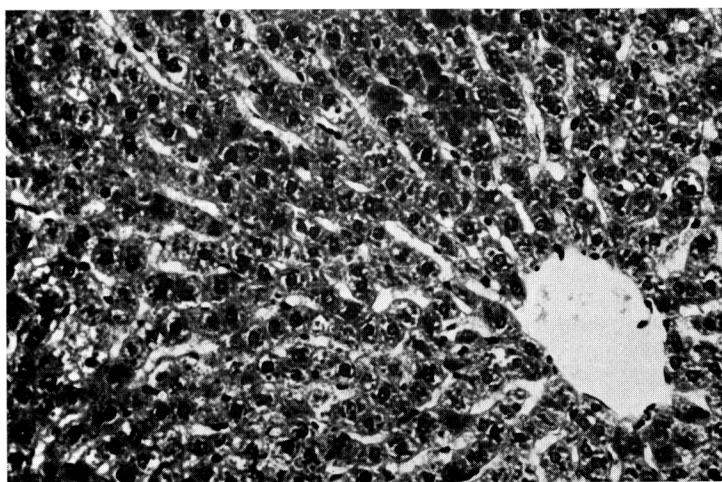


Photo. 10 The liver from a male rat given T-1220 at 2,000mg/kg for 6 months. No significant changes. $\times 600$, H. E. staining.

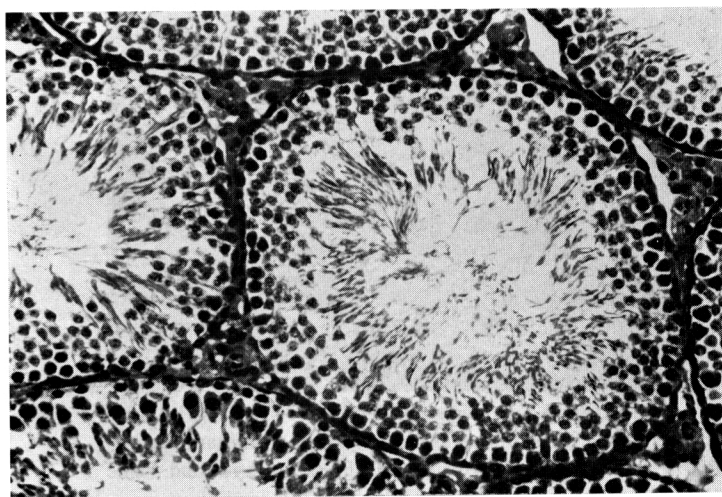


Photo. 11 The testis from a rat given T-1220 at 2,000mg/kg for 6 months. No significant changes. $\times 600$, H.E. staining.

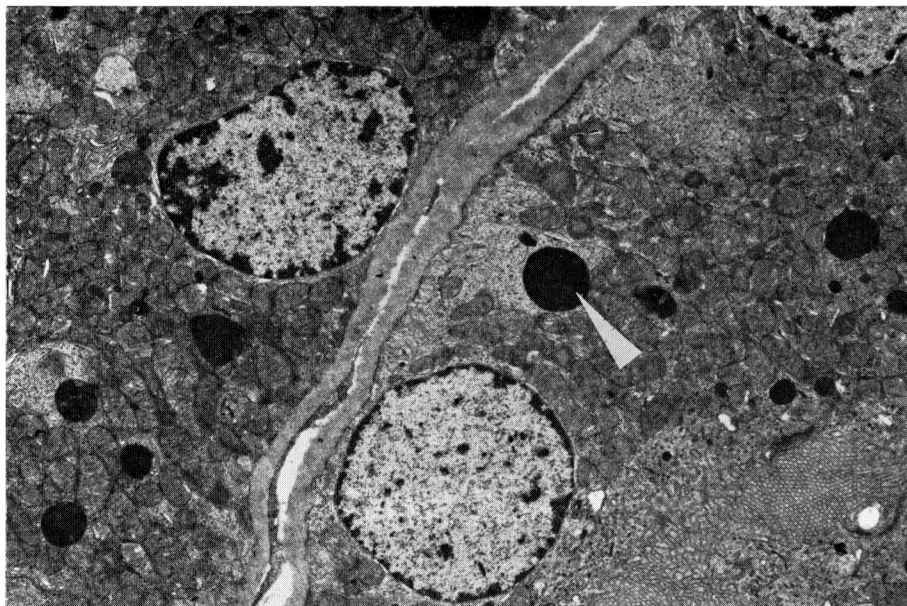


Photo. 12 Electron microscopical observation of the proximal tubular epithelial cells of the kidney from a female rat given T-1220 at 2,000 mg/kg for 6 months. Lysosome-like bodies with high electron density (arrow) are increased in the cytoplasm. Other organelles show no remarkable changes. $\times 6,400$, Double fixation with glutaraldehyde and osmic acid. Double staining with uranyl acetate and lead citrate.

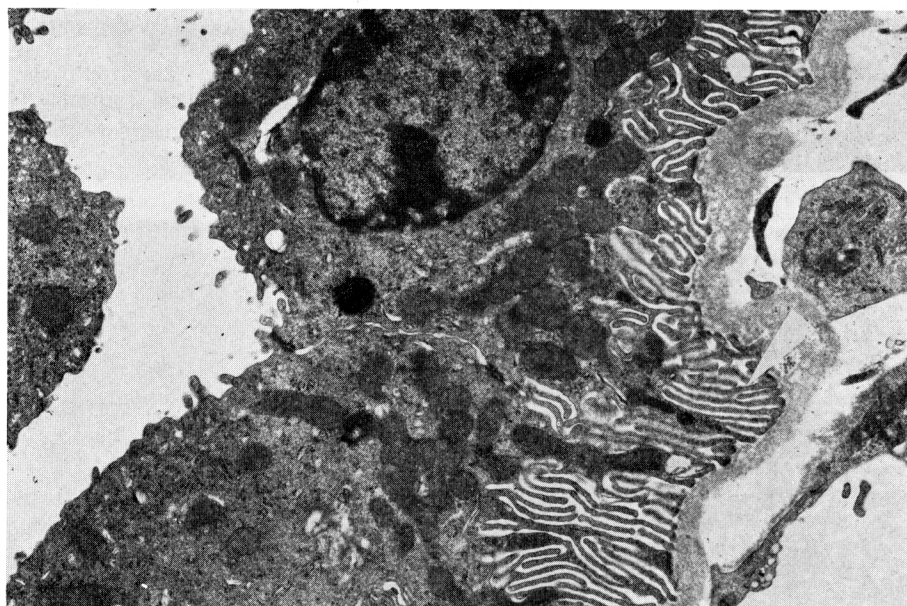


Photo. 13 The distal tubule of the kidney from a male rat given T-1220 at 2,000 mg/kg for 6 months under electron microscopy. Infolding of the basal plasma membrane (arrow) is observed remarkably. $\times 11,400$, Double fixation with glutaraldehyde and osmic acid. Double staining with uranyl acetate and lead citrate.

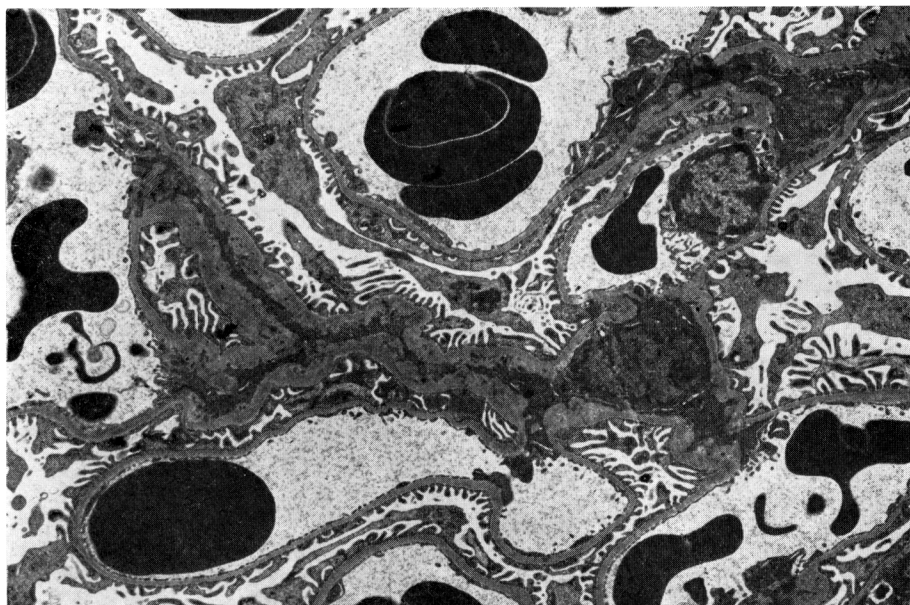


Photo. 14 The renal glomerulus of the kidney from a male rat given T-1220 at 2,000 mg/kg for 6 months under electron microscopy shows no remarkable changes. $\times 5,000$, Double fixation with glutaraldehyde and osmic acid. Double staining with uranyl acetate and lead citrate.

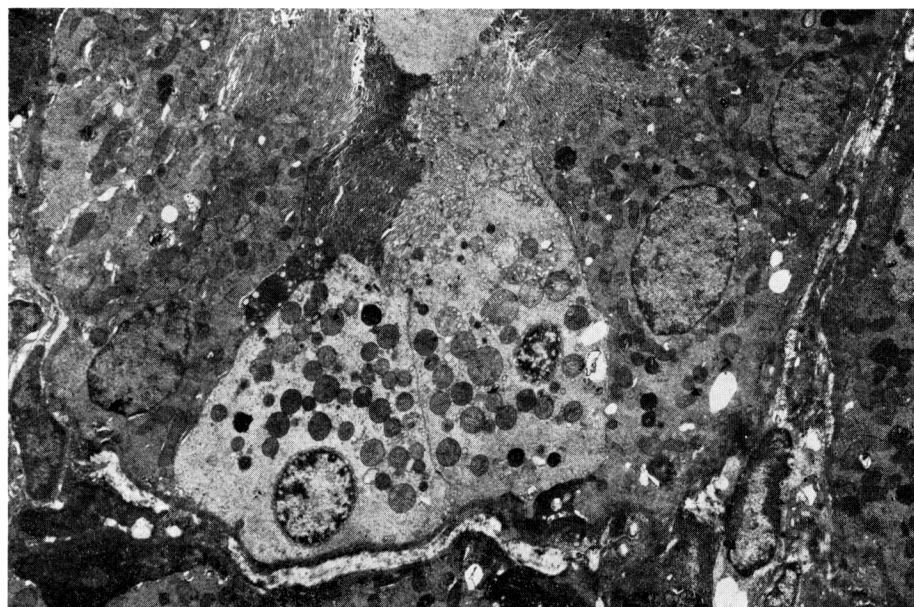


Photo. 15 The proximal tubular epithelial cells of the kidney from a male rat given ABPC at 2,000 mg/kg for 6 months under electron microscopy. The cytoplasmic matrix is clear, and the nucleus shows condensation of chromatin and its membrane is swollen and weakened. The swollen and disintegrated mitochondria is found in the cytoplasm and swollen brush border fell off into the lumen. $\times 3,800$, Double fixation with glutaraldehyde and osmic acid. Double staining with uranyl acetate and lead citrate.

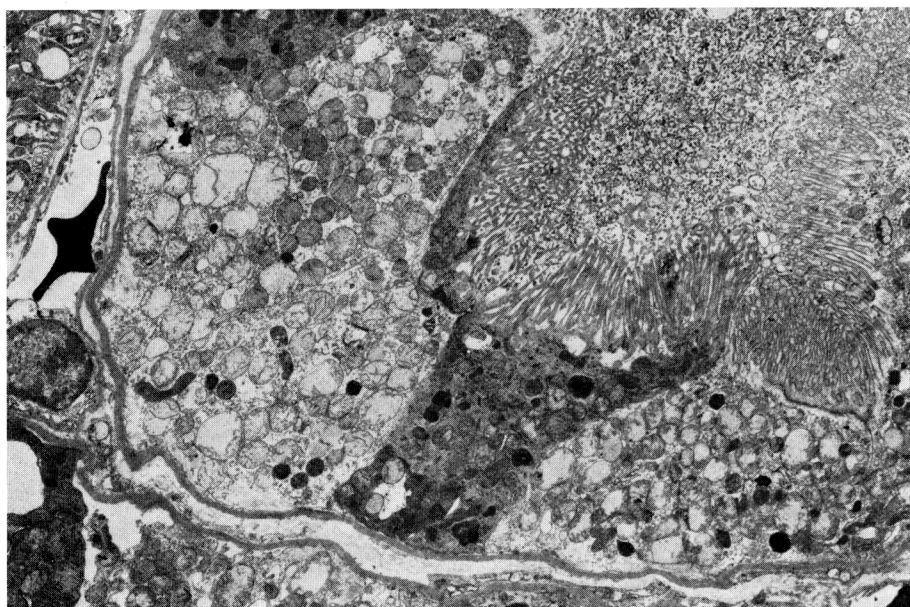


Photo. 16 The proximal tubular epithelial cells of the kidney from a male rat given ABPC at 2,000 mg/kg for 6 months under electron microscopy. More intensive changes are recognized than those seen in Photo. 15. $\times 2,400$, Double fixation with glutaraldehyde and osmic acid. Double staining with uranyl acetate and lead citrate.

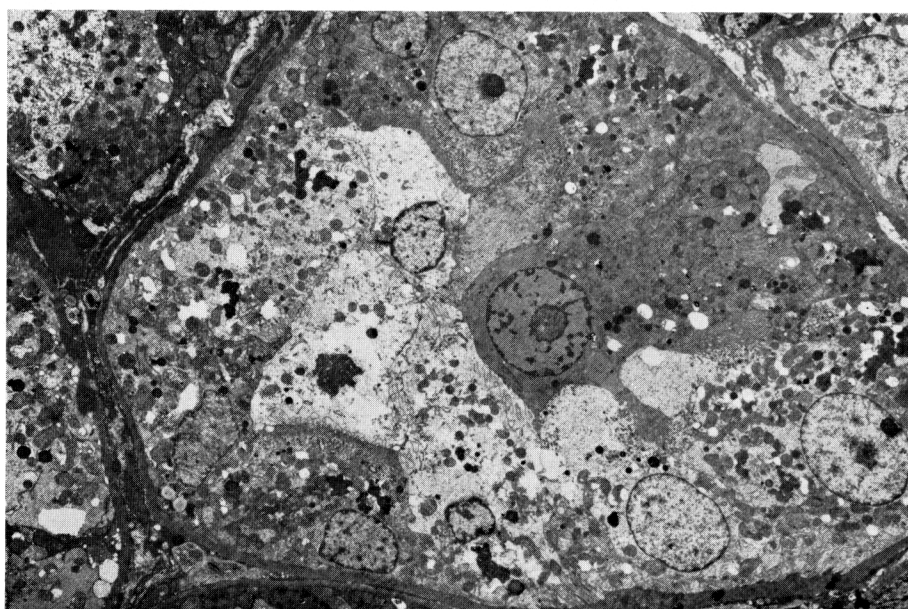


Photo. 17 The proximal tubular epithelial cells of the kidney from a female rat given ABPC at 2,000 mg/kg for 6 months under electron microscopy. Degeneration and necrosis of the proximal tubular cells are seen. $\times 2,500$, Double fixation with glutaraldehyde and osmic acid. Double staining with uranyl acetate and lead citrate.

(水腎症とそれに付随した腎皮質の限局性変化およびこれに由来する尿潜血反応)や、限局性盲腸炎とこれに伴う一過性の血液付着便の排泄が散見された。これらの変化はABPC 2,000mg/kg 投与群でも同様に認められた。発育では、T-1220 2,000mg/kg 以上を投与した雄にのみ軽度の発育抑制があった。1カ月実験の各投与群で、軽度の赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット減少があったが、ほぼ生理的範囲内での変化であり、骨髄には組織学的異常を認めず、回復がみられている。また、この変化は投与期間を3カ月、6カ月と延長しても拡大されず、逆に傾向が不明瞭になっていたことから、T-1220投与と直接の関係がない変化であると思われる。血液化学検査、臓器重量には検体投与による異常がみられなかった。T-1220 2,000mg/kgを6カ月間投与したラットの電子顕微鏡的観察では、腎の近位尿細管上皮に電子密度の濃い lysosome 様小体の増加がみられた。これはWELLWOODら³⁾がGentamicinの筋肉内投与でラット近位尿細管上皮細胞に認めた dense lipidic granule と形態的に類似したものであったが、彼らの報告にあるようなmyelin figureの出現や細胞内微細構造の変化は全く認められなかった。また、遠位尿細管上皮では、基底部細胞膜嵌入の増加発達を示すものがあったが、細胞内微細構造には変化がなく、これらの変化は尿細管の機能亢進を示す生理的範囲内での形態的变化と思われる。

対照薬として使用したABPCの2,000mg/kg 投与群では腎尿細管障害が認められ、とくに雌に感受性が強い傾向があった。この変化は機能検査では尿量増加、尿潜血反応陽性化、BUN上昇として現われ、腎は肥大し黄色を帯びていた。組織学的には近位、遠位尿細管腔および集合管腔の拡張と尿細管上皮の変性、間質細胞浸潤、線維化などの変化がみられた。電子顕微鏡所見では雌のみならず雄ラットでも、尿細管上皮細胞に変化が明瞭に現われていた。

一般にペニシリン系薬剤は腎障害作用は弱いとされており、ABPCを経口投与でラットに4,000mg/kg 6カ月間投与した実験⁴⁾では、腎障害が認められていない。しかし新村⁵⁾は、ラットを絶水状態におき、腎に負荷を加えた状態でABPC 500mg/kgを7日間筋注すると、腎の酸素消費量の低下、腎ALPの活性低下が現われ、組織学的には軽度の尿細管腔の拡張がみられることを報告し、弱いながらも非経口投与では腎尿細管に障害作用があることを認めている。このような経口投与と非経口投与での腎障害発現の相違はCephalosporin系薬剤のCephaloglycinやCephalexinでも知られており、ABPCと同様、ラット経口投与では腎に障害を起こさないにも

かわらず、腹腔内投与では腎障害を起こすことが報告されている⁶⁾⁷⁾。本実験では、T-1220 2,000mg/kgをラットに6カ月間にわたって腹腔内投与したにもかかわらず、ABPC投与でみられたような腎尿細管に対する障害作用は認められず、T-1220は腎障害作用がほとんどない化合物であると思われる。

以上の結果を人に外挿し、安全性を予測する場合、検体のラットに対する投与経路の特殊性を考慮に入れると、writhing, 限局性盲腸炎、片側腎の限局した変化などの所見を一応除外することが妥当であると思われる。これらの投与経路の特殊性に由来する変化を除いてラットに対する毒性をみた場合、明らかにT-1220投与に起因する変化は、4,000mg/kg 投与雄の中程度発育抑制と、2,000mg/kg 1カ月および6カ月投与雄の軽度発育抑制だけであると思われる。2,000mg/kg 投与雄の軽度発育抑制は、1カ月実験では対照群との間に有意差がみられたものの、6カ月実験では統計的に差を認めていない。このことからT-1220のラット腹腔内投与、垂急性、慢性毒性試験における最大無作用量を2,000mg/kgと判断した。

結 論

1) T-1220をラットに1カ月(4,000, 2,000, 1,000mg/kg)および6カ月(2,000, 1,000, 500mg/kg)間腹腔内投与し、その毒性を検討した。対照薬としてABPC 2,000mg/kgを同様に投与した。

2) T-1220 4,000mg/kg 1カ月投与の雄で発育抑制があり、対照群との間に有意差($p < 0.01$)がみられた。検体投与後、投与量に比例したwrithingが認められた。

3) 血液学的検査、血液化学検査には検体投与に起因する異常が認められなかった。

4) 片側腎の水腎症と、その腎の限局した乏血性変化、あるいは限局性の盲腸炎が散発的に認められたが、投与量との関係はみられなかった。他には組織学的異常がなかった。

5) 対照薬のABPC投与では、雌で、尿量増加、BUN上昇、腎重量増加、腎尿細管障害が明瞭であった。

6) T-1220の本実験における最大無作用量は2,000mg/kgであり、ABPCよりも安全性の高い化合物であるとの結論を得た。

謝 辞

稿を終るに臨み、本実験の遂行にあたり、病理解剖の御指導と組織標本の診断、さらにご校閲を賜った金沢大学医学部病理学第2講座太田五六教授に深甚なる感謝の意を表します。また実験に協力をいただいた当研究

所 中村昌三, 稲場淳子, 伊山照美, 鷺塚康子, 古川裕美, 折川真佐子, 本田清美, 守田加津江の各氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 高井 明, 米田豊昭, 中田弘子, 正谷博之, 室田恒夫, 柴田哲夫, 中村昌三, 河村泰仁, 佐藤 盛: T-1220 の毒性試験 (第1報) マウス, ラット, イヌ, サルにおける急性毒性試験。Chemotherapy 25(5): 816~828, 1977
- 2) 才川 勇, 保田 隆, 滝 秀雄, 渡辺泰雄, 松原信之, 中川三千子, 金川心子: T-1220 の吸収, 排泄および体内分布。Chemotherapy 25(5): 801~809, 1977
- 3) WELLWOOD, J. M.; D. LOVELL, A. E. THOMPSON and J. R. TIGHE: Renal damage caused by Gentamicin: A study of the effects on renal Morphology and urinary enzyme excretion. J. Path. 118: 171~182, 1976
- 4) 宮崎英治, 小山 薫, 原 卓司, 白水完治, 大黒友路, 清水源昭: BRL 2333 の安全性に関する研究 (第3報), 慢性毒性試験。基礎と臨床 7 (13): 3074~3112, 1973
- 5) 新村研二: 腎毒性の研究, 各種抗生物質の腎毒性について。日泌尿会誌 62 (6): 417~430, 1971
- 6) 峰下鎮雄, 村岡義博, 矢原 功, 狗田忠義, 石川路夫, 上原今朝生, 川口順子, 岡田照子: Cephaloglycin の毒性について。Chemotherapy 18: 22~38, 1970
- 7) 峰下鎮雄, 広田和夫, 池内滋郎, 川原政一, 石川路夫, 岡島よし子, 村田美幸: 実験動物における Cephalexin の腎毒性に関する検討。Clinical report 3: 96~109, 1969

TOXICITY TESTS OF T-1220 (II): SUBACUTE AND CHRONIC TOXICITIES IN RATS WITH THE INTRAPERITONEAL ADMINISTRATION

AKIRA TAKAI, TOYOAKI YONEDA, HIROKO NAKADA,
HIROYUKI MASATANI, TETSUO SHIBATA,
YASUHIITO KAWAMURA and SHIGERU SATO
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

The subacute and chronic toxicities of T-1220 were examined in rats using the intraperitoneal administration route, and compared with those of aminobenzylpenicillin (ABPC). Male and female rats of age 6-7 weeks were applied. In the subacute toxicity, rats were administered in daily intraperitoneal doses of T-1220 for a month at 1,000, 2,000 and 4,000 mg/kg, and in the chronic toxicity, administered for 6 months at 500, 1,000 and 2,000 mg/kg. ABPC was used at 2,000 mg/kg in both toxicities. Control rats were treated with physiological saline.

The results are as follows.

- 1) The body weight gain was depressed in male rats treated with T-1220 at 4,000 mg/kg for a month, and at the final administration its body weight was significantly different from that of control ($p < 0.05$). The writhing syndrome was observed immediately after the administration in proportion to dose levels of T-1220 and ABPC.
- 2) In hematological and blood biochemical examinations, there were no abnormalities produced by the administration.
- 3) The enlargement of the unilateral renal pelvis, which had the localized ischemic change, and localized cecitis were sporadically observed in autopsy, but the dose-relation was not clear. Any abnormalities were not seen in the other organs.
- 4) The urinary volume, BUN and kidney weight increased remarkably in female rats treated with ABPC at 2,000 mg/kg. The enlargement of the renal tubular lumina, degeneration of the renal tubular epithelium and cellular infiltration and fibrosis of the interstitium were, histologically, observed in both sexes of ABPC.
- 5) The maximum safety dose of the intraperitoneal injection of T-1220 was estimated to be 2,000 mg/kg in these experiments.