

Cefoperazone (T-1551) の毒性試験 (第2報)

—ラット腹腔内投与亜急性, 慢性毒性試験—

米田豊昭・柴田哲夫・正谷博之・佐藤 盛
河村泰仁・岩崎信一・永井章夫・滝本陽子
長沢峰子・高井 明

富山化学工業株式会社総合研究所

Cefoperazone (CPZ, T-1551) のラット1カ月腹腔内投与亜急性毒性試験 (4000, 2000, 1000, 500mg/kg, CET 2000mg/kg) と6カ月腹腔内投与慢性毒性試験 (4000, 2000, 1000, 500mg/kg) を行なった。

1) 高用量群では, 薬剤注射直後に一過性の writhing がみられたほか, 軽い軟便や下痢が断続的に認められた。

2) 1カ月投与では 4000mg/kg 投与群にのみ発育抑制を認めたが, 6カ月投与では全投与群雌雄に発育の抑制をみた。

3) 6カ月後の尿検査で 4000mg/kg 投与群雌雄に尿量増加と尿中 Na 総排泄量軽度増加を認めた以外, 尿検査, 血液検査, 血液化学検査の結果に異常がみられなかった。

4) 盲腸腔の拡大が各投与群の雌雄に, ほぼ投与量に比例して認められた。高用量群の腹腔内には腹膜の充血, 腹水貯留, 肝, 脾, 膵の周囲炎などの腹膜炎の所見が認められた。

5) 4000mg/kg, 2000mg/kg 投与群の多数例と 1000mg/kg 投与群の一部では, 腎近位尿細管上皮の変性が認められたが, 回復試験の結果からみて可逆的変化であろうと思われた。

6) 本実験の慢性毒性試験における最大無作用量は 500mg/kg と推定された。

Cefoperazone (CPZ, T-1551) はグラム陽性菌のみならず, グラム陰性菌, 特に *Pseudomonas*, *Enterobacter* に殺菌的作用を有する新しい cephalosporin 系抗生物質である^{1,2)}。本剤の毒性試験に関しては, すでにマウス, ラットおよびイヌの急性毒性試験³⁾ について報告した。

今回CPZの安全性試験の一環として, ラットを使用し, 1カ月腹腔内投与亜急性毒性, 6カ月腹腔内投与慢性毒性試験を行なったので結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

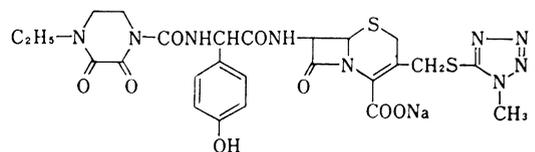
CPZは水に溶けやすく, メタノールに溶けにくく, エタノール, 酢酸エチル, エーテル, アセトン, n-ヘキサンにはほとんど溶けない白色の粉末であり, 化学構造式は Fig. 1 に示す通りである。

亜急性毒性試験には, 対照薬として, CET を用いた。

2. 使用動物と実験計画

亜急性毒性, 慢性毒性試験とも Sprague-Dawley 系ラット (日本クレア, JCL-SD) を使用し, 雌雄合計344匹のラットで実験を行なった。動物は4週齢で購入し, 室温 22 ± 2 ℃, 湿度 $60 \pm 10\%$ の環境下で固型飼料 (日本クレア, CE-2) と水道水を自由に与え, 金属製金網ケージ

Fig. 1 Chemical structure and name of CPZ



Sodium 7-[D(-)- α -(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazine-carboxamido)- α -(4-hydroxyphenyl) acetamido]-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate

に5~7匹/ケージ収容して飼育した。照明は6:00~18:00の12時間人工照明とし, 2週間の予備飼育を行なった後, 6週齢から投与を開始した。亜急性毒性試験のための予備実験として, CPZ 4000mg/kg, 2000mg/kg, 1000mg/kg を1群5匹の雄性ラットにおおの10日間腹腔内投与し, 発育と死亡経過を観察した。各投与群とも投与直後に一過性の writhing がみられたが発育は順調であり, 死亡も認められなかった。この結果から亜急性毒性試験における最高量を, 連続腹腔内投与可能な可及的大量と思われる4000mg/kgとし, 他に2000, 1000, 500mg/kg 投与群と, 対照薬として cephalothin (CET) 2000mg/kg 投与群および生理食塩液投与対照群を設定

Table 1 Experimental design for 1 month intraperitoneal toxicity study of CPZ in rats

Exp. group	Drug conc. of solution (%)	Volume injected (ml/100g)	Total No. of rats		No. of rats			
			M	F	1 month study		Recovery study	
					M	F	M	F
Control (Saline)		1.0	12	12	7	7	5	5
CPZ 500 mg/kg	5	1.0	12	12	7	7	5	5
CPZ 1000 mg/kg	10	1.0	12	12	7	7	5	5
CPZ 2000 mg/kg	20	1.0	12	12	7	7	5	5
CPZ 4000 mg/kg	40	1.0	12	12	7	7	5	5
CET 2000 mg/kg	20	1.0	12	12	7	7	5	5

Table 2 Experimental design for 6 months intraperitoneal toxicity study of CPZ in rats

Exp. group	Drug conc. of solution (%)	Volume injected (ml/100g)	Total No. of rats		No. of rats					
			M	F	3 months study		6 months study		Recovery study	
					M	F	M	F	M	F
Control (Saline)		1.0	20	20	5	5	10	10	5	5
CPZ 500 mg/kg	5	1.0	20	20	5	5	10	10	5	5
CPZ 1000 mg/kg	10	1.0	20	20	5	5	10	10	5	5
CPZ 2000 mg/kg	20	1.0	20	20	5	5	10	10	5	5
CPZ 4000 mg/kg	40	1.0	20	20	5	5	10	10	5	5

した。6カ月間投与慢性毒性試験は、亜急性毒性試験の結果を参考に、投与量を4000mg/kg, 2000mg/kg, 1000mg/kg, 500mg/kgとした。慢性毒性試験では対照薬投与群を置かなかった。なお、慢性毒性試験では、投与3カ月の時点で一部の動物を検査、剖検し、これを3カ月実験とした。

動物は Table 1 および Table 2 に示すように配分した。

薬剤は生理食塩液に用時溶解し、マイクロフィルターで濾過した後、亜急性毒性は週7日間、慢性毒性は日曜日を除く週6日間の連続腹腔内投与を行なった。回復試験用の動物は、投与期間終了後引き続き1カ月間の休薬期間を置いた。毎日体重の測定と一般症状の観察を行ない、亜急性毒性では5日ごとに、慢性毒性では1週間ごとに摂餌量と摂水量を測定した。投与期間終了時と回復期間終了時に次の項目について検査を行なった。

i) 尿検査

尿量(ml/17hr), 糖, 蛋白, 潜血, ケトン体, pH, ウロビリノーゲン, ビリルビン (Multistix: マイルス・三共), Na, K (炎光光度計: 日立205D)

ii) 血液検査

赤血球数, 白血球数(コールターカウンター), ヘマトクリット(毛細管遠心法), ヘモグロビン(シアンメトヘモグロビン法), 白血球百分率(メイーギムザ染色)

iii) 血液化学検査

GOT, GPT (REITMAN-FRANKEL 法), ALP (KIND-KING 法), コリンエステラーゼ(高橋, 柴田法), cholesterol (ZURKOWSKI 法), LDH (BABSON 変法), BUN (ウレアーゼ・インドフェノール法), bilirubin (EVELYN-MALLOY 法)以上8項目はオリンパス ACA 自動分析装置により測定, 総蛋白(屈折計), A/G(セルロースアセテート膜電気泳動法), 血糖(Dextrostix Reflectance meter: マイルス・三共), Na, K (炎光光度計: 日立205D)

投与期間終了後と回復期間終了後, 全動物を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, 顎下腺, 副腎, 甲状腺, 胸腺, 卵巣, 精巣の重量を測定し, これに脳, 下垂体, 脾, 腸間膜リンパ節, 胃, 大網, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 膀胱, 骨髄, 大腿部骨格筋を加えた諸臓器をホルマリン固定, H. E. 染色して組織学的検査を行なった。

6カ月間の投与終了時, 各群の雄3匹の肝と腎については, グルタルアルデヒド前固定, オスミウム酸固定, エボン包埋, 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的に観察した。

II. 実験結果

1. 一般症状と死亡率

i) 亜急性毒性

投与開始初期には, CPZ 4000mg/kg 投与群と CET

Fig. 2 Growth curves in rats injected intraperitoneally with CPZ for 1 month (n=12)

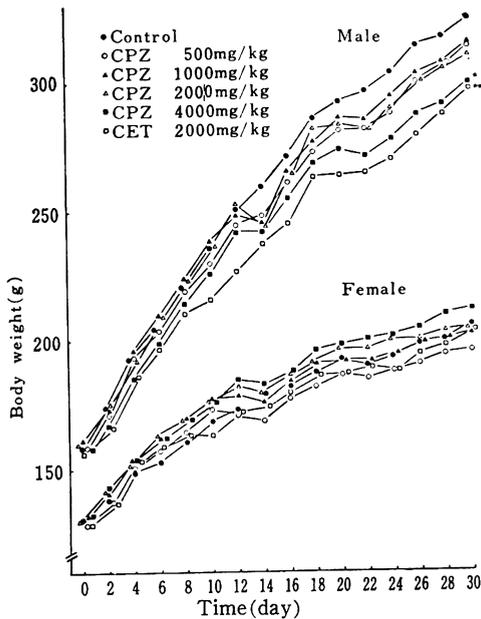
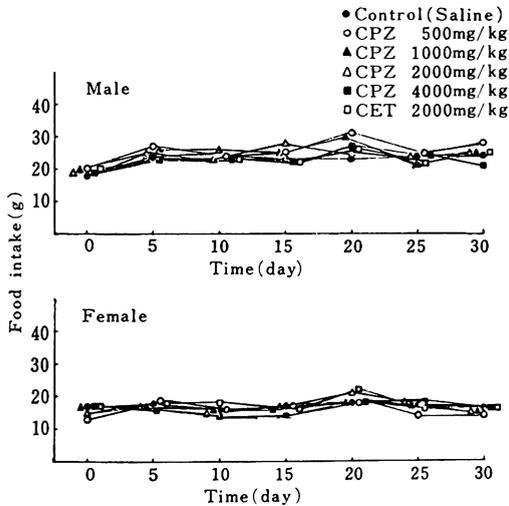


Fig. 4 Average food intake in rats injected intraperitoneally with CPZ for 1 month (n=5)



2000mg/kg 投与群の雌雄に、投与直後の一過性の writhing がみられたが、5分以内にはほぼ消失した。この症状は投与10日を過ぎる頃から軽減し、しだいに消失した。投与10日を過ぎる頃から CPZ 4000, 2000mg/kg と CET 2000mg/kg 投与群に軟便や下痢が出現した。他に異常な症状は認められず、各投与群とも途中死亡例はなかった。

ii) 慢性毒性

Fig. 3 Growth curves in rats injected intraperitoneally with CPZ for 6 months (n=15)

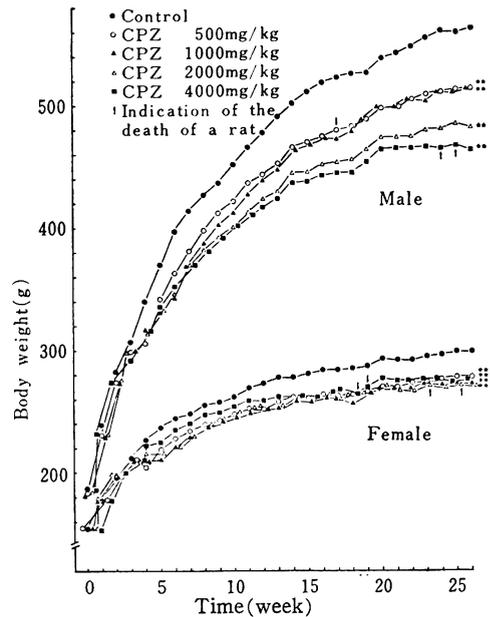
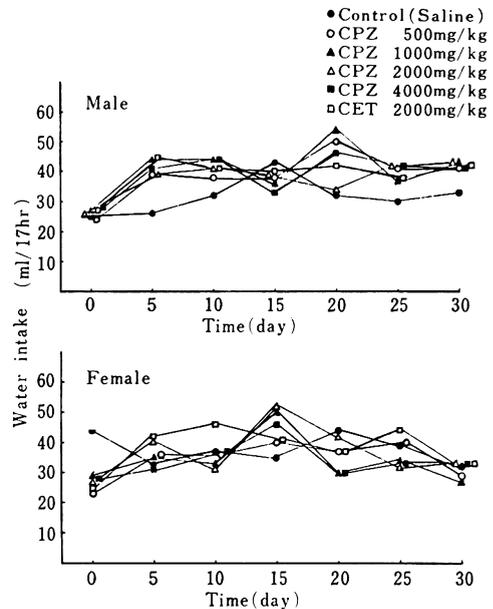


Fig. 5 Average water intake in rats injected intraperitoneally with CPZ for 1 month (n=5)



亜急性毒性の結果と同様、投与初期には高用量群で一過性の writhing が投与直後に認められた。また 4000 mg/kg, 2000 mg/kg 投与群では一過性の軟便や下痢が投与2週間頃から出現し、投与期間を通じて散発的に認められた。6カ月間の投与期間中に、4000mg/kg 投与

Fig. 6 Average food intake in rats injected intraperitoneally with CPZ for 6 months (n=10)

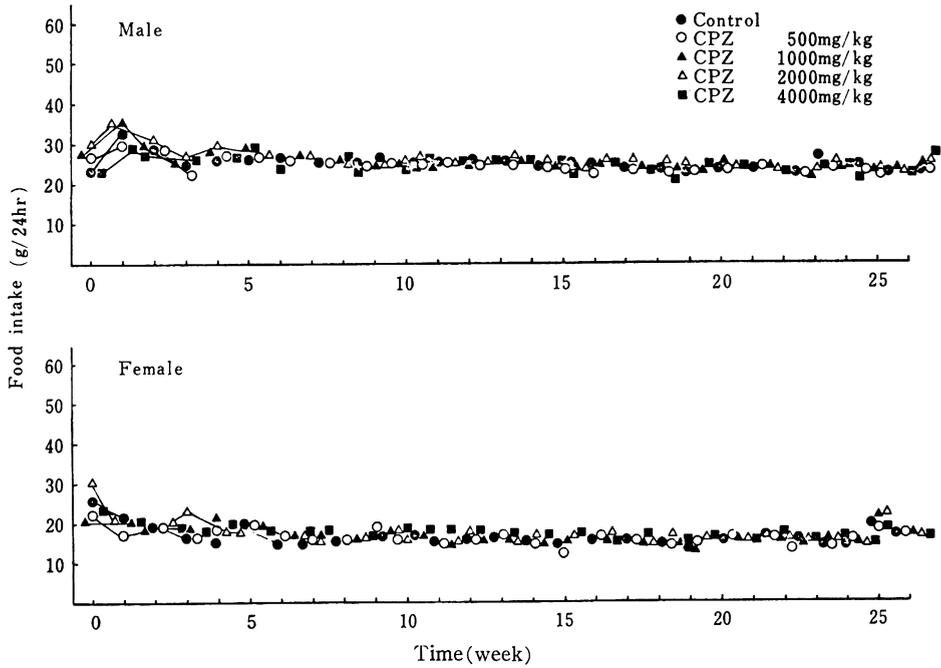


Fig. 7 Average water intake in rats injected intraperitoneally with CPZ for 6 months (n=10)

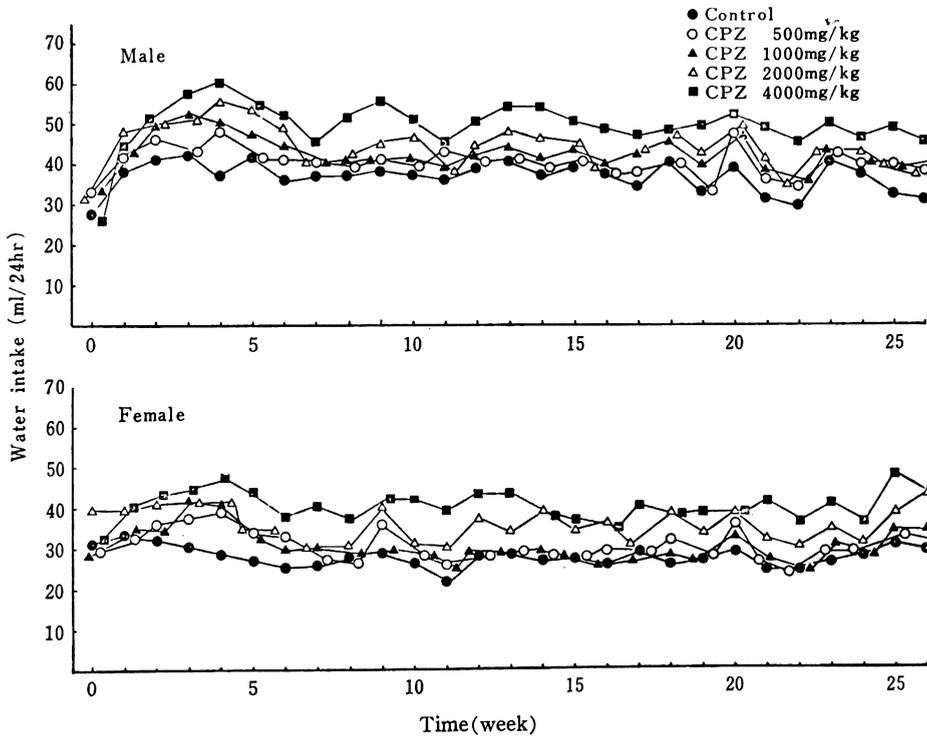


Table 3 Urinalysis in rats injected intraperitoneally with CPZ for 1 month (n=5)

	Sex	Control (Saline)	CPZ				CET 2000 mg/kg
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg	
Volume (ml/17 hr)	M	8.6±1.08	10.2±1.56	12.7±1.82	9.1±1.59	11.8±2.09	11.3±2.51
	F	9.3±1.07	5.9±0.90*	5.5±1.23*	7.6±2.27	5.3±0.91*	12.3±4.28
Occult blood	M	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
	F	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
pH	M	7-8	7-8	6-8	6-7	6-7	6-8
	F	7-8	7-8	6-8	6-8	6-7	7-8
Ketone bodies	M	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
	F	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
Glucose	M	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
	F	— (5)	— (5)	— (5)	— (4) + (1)	— (5)	— (5)
Protein	M	+ (4) + (1)	+ (2) + (3)	+ (5)	+ (3) + (2)	+ (3) + (2)	+ (4) + (1)
	F	+ (5)	+ (1) + (4)	+ (4) + (1)	+ (3) + (2)	± (1) + (1) + (3)	± (1) + (3) + (1)
Bilirubin	M	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
	F	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)	— (5)
Urobilinogen	M	± (5)	± (5)	± (5)	± (5)	± (5)	± (5)
	F	± (5)	± (5)	± (5)	± (5)	± (5)	± (5)
Na (mEq/L)	M	127±11.9	82±4.8**	93±12.1	85±3.4**	83±4.1**	145±32.6
	F	127±17.2	154±25.1	163±9.5	126±38.3	114±13.3	123±20.1
K (mEq/L)	M	282±24.4	272±14.1	222±17.2	310±20.4	223±21.0	266±33.4
	F	275±20.0	379±19.7**	404±71.2	294±35.2	308±11.6	255±52.4

(): No. of rat Mean±S. E.

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

群の雌雄おのおの2/15例、2000mg/kg投与群の雌2/15例および500mg/kg投与群の雌1/15例が死亡した。これら途中死亡例の死因については、後の剖検所見の項で述べる。

2. 発育曲線

i) 亜急性毒性

Fig. 2に示すように、雄ではCPZ 4000mg/kg投与群に、投与開始2週後頃から発育抑制が現われはじめ、30日後の体重では対照群との間に有意差 (P<0.05) が認められた。2000, 1000, 500mg/kg各投与群の発育には対照群との差がなかった。対照薬であるCET 2000mg/kg投与群では、投与10日後頃より発育の抑制が現われ、その発育抑制はCPZ 4000mg/kg投与群より若干強かった。雌の発育曲線には各投与群とも対照群との間に差がみられなかった。

ii) 慢性毒性

Fig. 3に示すように、雄では投与1カ月を経過した頃から投与量にほぼ比例した発育抑制が現われはじめ、6カ月後の体重には、すべての群で対照群との間に有意差 (P<0.01) が認められた。雌でも各投与群に、投与量

に必ずしも比例しない発育抑制 (P<0.01) が認められた。

3. 摂餌量と摂水量

i) 亜急性毒性

摂餌量 (Fig. 4), 摂水量 (Fig. 5) とも薬剤投与に起因すると思われる明瞭な変化はみられなかった。

ii) 慢性毒性

各投与群の雌雄に発育の抑制がみられたにもかかわらず、摂餌量 (Fig. 6) には減少がみられなかった。摂水量 (Fig. 7) では、各投与群とも、ほぼ投与量に比例した軽い摂水量増加がみられた。

4. 尿検査

i) 亜急性毒性

Table 3に示すように、CPZ各投与群の雌雄にNa総排泄量の若干の減少傾向をみたが、投与量との相関は明瞭でなかった。またCPZ各投与群の雌で尿量が若干減少していた。各群に+から++程度の尿蛋白が散見されるが、ラットでは+から++程度の尿蛋白は生理的に出現する機会が多いので薬剤投与によるものではない。他の項目には異常がみられなかった。

Table 4-1 Urinalysis in rats injected intraperitoneally with CPZ for 3 months (n=5)

	Sex	Control (Saline)	CPZ			
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg
Volume (ml/17 hr)	M	15.1±2.41	13.3±3.22	11.9±2.20	9.8±1.56	16.3±6.96
	F	7.6±1.50	11.6±1.87	7.9±2.04	14.8±3.75	17.9±7.33
Occult blood	M	-(5)	-(4)†(1)	-(5)	-(4)+(1)	-(5)
	F	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)
pH	M	7-8	7	7-8	6-7	6-7
	F	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7
Ketone bodies	M	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)
	F	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)
Glucose	M	-(5)	-(5)	-(4)±(1)	-(5)	-(5)
	F	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)
Protein	M	-(1)±(4)	-(1)±(2)+(2)	±(5)	±(5)	±(4)+(1)
	F	±(5)	-(2)±(3)	-(1)±(3)+(1)	-(1)±(4)	-(2)±(3)
Bilirubin	M	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)
	F	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)
Urobilinogen	M	±(5)	±(5)	±(5)	±(5)	±(5)
	F	±(5)	±(5)	±(5)	±(5)	±(5)
Na (mEq/L)	M	92±15.3	109±20.7	126±8.3	135±26.0	106±28.0
	F	95±11.6	83±17.4	128±29.1	85±18.1	73±24.1
K (mEq/L)	M	78±7.7	88±12.2	90±11.5	87±9.3	81±16.0
	F	78±8.7	67±10.9	88±12.3	65±12.1	54±11.7

(): No. of rat Mean±S. E.

Table 4-2 Urinalysis in rats injected intraperitoneally with CPZ for 6 months (n=10)

	Sex	Control (Saline)	CPZ			
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg
Volume (ml/17 hr)	M	12.8±0.95	9.2±0.88*	14.5±1.69	12.9±1.70	20.7±3.70*
	F	10.6±1.01	9.3±1.07	7.9±1.08	12.6±1.62	20.9±3.56*
Occult blood	M	-(10)	-(9)	-(10)	-(10)	-(9)
	F	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(10)
pH	M	6.5-7.5	6.5-7.5	7.0-8.0	6.0-8.0	6.0-8.0
	F	6.0-7.0	6.5-8.0	6.0-8.0	6.0-7.0	5.5-7.5
Ketone bodies	M	-(10)	-(8)+(1)	-(10)	-(10)	-(9)
	F	-(9)+(1)	-(10)	-(10)	-(9)	-(10)
Glucose	M	-(10)	-(9)	-(10)	-(10)	-(9)
	F	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(10)
Protein	M	-(1)±(8)†(1)	-(1)±(7)+(1)	-(5)±(5)	-(5)±(5)	-(5)±(4)
	F	-(6)±(3)+(1)	-(6)±(4)	-(6)±(3)†(1)	-(9)	-(9)±(1)
Bilirubin	M	-(10)	-(9)	-(10)	-(10)	-(9)
	F	-(9)+(1)	-(10)	-(10)	-(9)	-(10)
Urobilinogen	M	±(10)	±(9)	±(10)	±(10)	±(9)
	F	±(10)	±(10)	±(10)	±(9)	±(10)
Na (mEq/L)	M	124±10.2	158±14.7	133±10.4	127±16.1	122±21.5
	F	95±5.2	141±14.5**	147±11.0**	90±12.1	77±16.1
K (mEq/L)	M	90±5.2	101±8.1	74±5.7	75±7.5	62±8.6*
	F	75±5.1	79±7.6	76±7.6	56±5.1*	48±6.3**

(): No. of rat Mean±S. E.
Significantly different from control

* p<0.05 ** p<0.01

Table 5 Hematological findings in rats injected intraperitoneally with CPZ for 1 month (n=7)

	Sex	Control (Saline)	CPZ				CET 2000 mg/kg
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg	
RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	M	752 \pm 44.4	860 \pm 11.7*	851 \pm 36.7	782 \pm 14.9	738 \pm 32.8	782 \pm 11.9
	F	811 \pm 18.2	808 \pm 13.2	820 \pm 11.7	779 \pm 41.9	789 \pm 5.6	796 \pm 8.2
WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	M	145 \pm 9.4	143 \pm 9.3	113 \pm 9.5*	130 \pm 6.5	118 \pm 6.2*	117 \pm 4.9*
	F	106 \pm 13.6	124 \pm 11.3	129 \pm 12.8	123 \pm 10.1	75 \pm 6.8	98 \pm 12.4
Hemoglobin (g/dl)	M	15.0 \pm 0.11	14.5 \pm 0.22	14.5 \pm 0.23*	14.9 \pm 0.26	15.1 \pm 0.37	14.2 \pm 0.20**
	F	15.2 \pm 0.22	14.7 \pm 0.31	15.1 \pm 0.39	14.0 \pm 0.93	13.9 \pm 0.26**	14.5 \pm 0.33
Hematocrit (%)	M	51.2 \pm 2.78	51.4 \pm 1.99	48.7 \pm 1.98	51.6 \pm 2.11	50.6 \pm 2.45	49.9 \pm 1.08
	F	50.6 \pm 2.21	47.1 \pm 2.08	48.6 \pm 1.54	45.6 \pm 2.34	46.3 \pm 1.19	49.9 \pm 1.75
Differential count (%)	Staff						
	M	0.2 \pm 0.15	0.2 \pm 0.15	0.2 \pm 0.10	0.4 \pm 0.17	0.4 \pm 0.24	0.4 \pm 0.14
	F	0.2 \pm 0.15	0.4 \pm 0.14	0.2 \pm 0.10	0.4 \pm 0.14	0.4 \pm 0.17	0.1 \pm 0.09
	Seg.						
	M	13.6 \pm 0.85	17.2 \pm 2.55	16.1 \pm 1.53	18.4 \pm 2.30	20.2 \pm 1.71**	20.2 \pm 3.78
	F	17.6 \pm 4.43	20.7 \pm 6.37	22.5 \pm 5.08	28.9 \pm 5.61	19.8 \pm 3.79	21.7 \pm 4.13
	Eosino.						
	M	3.7 \pm 0.98	2.1 \pm 0.54	1.8 \pm 0.38	2.1 \pm 0.55	3.0 \pm 0.65	2.2 \pm 0.50
	F	3.5 \pm 0.61	2.1 \pm 0.39	2.1 \pm 0.47	2.1 \pm 0.43	2.1 \pm 0.28	2.6 \pm 0.55
	Baso.						
	M	0	0	0	0	0	0
	F	0	0	0	0	0	0.2 \pm 0.10
	Lymph.						
	M	80.5 \pm 2.04	77.8 \pm 2.49	79.6 \pm 1.79	76.0 \pm 2.54	73.6 \pm 2.44*	74.6 \pm 3.57
	F	76.4 \pm 4.81	73.8 \pm 6.43	73.4 \pm 5.14	65.4 \pm 5.50	74.9 \pm 4.02	73.9 \pm 4.28
	Mono.						
	M	2.0 \pm 0.38	2.6 \pm 0.43	2.2 \pm 0.34	3.1 \pm 0.28*	2.9 \pm 0.32	2.6 \pm 0.42
	F	2.3 \pm 0.42	3.0 \pm 0.35	1.8 \pm 0.45	3.3 \pm 0.70	2.7 \pm 0.70	1.4 \pm 0.28

Significantly different from control

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ Mean \pm S. E.

ii) 慢性毒性

3カ月実験の結果を Table 4-1 に、6カ月実験の結果を Table 4-2 に示す。3カ月実験の結果には著しい変化がみられなかったが、6カ月実験では 4000mg/kg 投与群の雌雄に尿量増加が認められ、この群では尿中 Na 総排泄量がわずかに増加していた。

5. 血液検査

i) 亜急性毒性

Table 5 に示すように、白血球数のわずかな減少が CPZ 4000mg/kg 投与群の雌雄および 1000mg/kg 投与群の雄に認められたが、その変動はほぼ生理的範囲内での変化であった。対照薬である CET 2000mg/kg 投与群でも同様の変化が認められた。他には薬剤投与に起因すると思われる異常がみられなかった。

ii) 慢性毒性

Table 6 に示すように、3カ月実験の結果には、亜急性毒性の結果でみられたような白血球数の減少傾向は認められず、他の検査項目にも異常がなかった。6カ月実験では、CPZ 2000, 1000, 500mg/kg 投与群雌と 500mg/kg 投与群雄に、ごく軽度の白血球減少があったが、4000mg/kg 投与群にはこの変化がなかった。

6. 血液化学検査

i) 亜急性毒性

Table 7 に示すように、CPZ 4000, 2000, 1000mg/kg 投与群の雄にのみ生理的範囲を越えない、BUN の軽度増加があった。しかし雌の各投与群には、この変化が全くみられなかった。他にも対照群との間に有意差のみられる検査値が散見されたが、いずれも薬剤投与量との関係は明瞭でなく、またその変動の幅も生理的範囲を越えるものではなかった。

ii) 慢性毒性

Table 8 に示すように、3カ月後、6カ月後の検査結果に BUN 増加の傾向は認められなかった。6カ月後の尿検査で尿中 Na 総排泄量の増加をみた 4000mg/kg 投与群の血清 Na には異常がみられなかった。他の検査項目にも CPZ 投与に起因すると思われる異常がなかった。

7. 臓器重量と臓器重量体重比

i) 亜急性毒性

Table 9 に示すように、CPZ 4000, 2000mg/kg 投与群の雌雄に軽度の胸腺重量、重量比の減少が認められた。他にも対照群との間に有意差のみられる臓器が散見されるが、投与量との関係のない、しかも軽度の変化で

Table 6 Hematological findings in rats injected intraperitoneally with CPZ for 3 and 6 months

	Sex	Control (Saline)	CPZ					
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg		
3 Months (n = 5)	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	M	878 \pm 17.0	822 \pm 48.6	866 \pm 9.4	875 \pm 14.3	829 \pm 21.5	
		F	838 \pm 29.3	822 \pm 11.1	790 \pm 42.0	824 \pm 9.9	803 \pm 19.4	
	WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	M	95 \pm 7.2	81 \pm 7.6	103 \pm 4.4	96 \pm 9.7	93 \pm 5.3	
		F	80 \pm 4.5	92 \pm 10.0	76 \pm 6.6	69 \pm 4.0	87 \pm 5.7	
	Hemoglobin (g/dl)	M	16.2 \pm 0.48	16.2 \pm 0.39	16.0 \pm 0.52	15.9 \pm 0.41	14.5 \pm 0.39*	
		F	14.6 \pm 0.24	14.0 \pm 0.73	15.0 \pm 0.84	14.7 \pm 0.66	15.7 \pm 0.37*	
	Hematocrit (%)	M	50.8 \pm 3.60	50.8 \pm 2.56	50.5 \pm 1.67	53.6 \pm 0.70	52.4 \pm 1.96	
		F	48.8 \pm 1.16	49.2 \pm 4.36	48.8 \pm 2.48	48.2 \pm 1.28	52.8 \pm 1.59	
	Differential count (%)	Staff	M	0.5 \pm 0.22	0.2 \pm 0.12	0.4 \pm 0.29	0.6 \pm 0.37	0.1 \pm 0.10
			F	0.1 \pm 0.10	0.1 \pm 0.10	0	0.1 \pm 0.10	0.4 \pm 0.19
	Seg.	M	17.7 \pm 3.47	15.3 \pm 1.98	15.3 \pm 1.82	23.6 \pm 5.87	27.7 \pm 9.43	
		F	20.5 \pm 4.68	8.8 \pm 2.68	17.0 \pm 2.60	12.0 \pm 2.36	20.8 \pm 5.02	
	Eosino.	M	1.5 \pm 0.27	2.3 \pm 0.58	1.9 \pm 0.37	4.1 \pm 2.00	2.4 \pm 0.64	
		F	2.9 \pm 0.58	1.9 \pm 0.93	2.1 \pm 0.73	1.4 \pm 0.58	3.0 \pm 0.57	
	Baso.	M	0	0	0	0	0	
		F	0	0	0	0	0	
	Lymph.	M	79.5 \pm 3.62	81.7 \pm 2.18	81.3 \pm 2.35	70.5 \pm 7.05	67.5 \pm 9.57	
		F	76.0 \pm 4.92	87.8 \pm 3.23	78.9 \pm 3.23	85.1 \pm 2.33	74.8 \pm 4.82	
	Mono.	M	0.8 \pm 0.30	0.5 \pm 0.16	1.2 \pm 0.30	1.2 \pm 0.49	2.3 \pm 0.97	
		F	0.5 \pm 0.27	1.4 \pm 0.37	2.0 \pm 0.47*	1.4 \pm 0.19*	1.0 \pm 0.35	
6 Months (n = 10)	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	M	866 \pm 6.7	840 \pm 9.6*	851 \pm 8.7	805 \pm 22.4*	770 \pm 25.3**	
		F	767 \pm 15.8	804 \pm 9.6	777 \pm 18.6	771 \pm 20.6	796 \pm 15.5	
	WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	M	75 \pm 3.7	60 \pm 3.2*	66 \pm 3.8	74 \pm 5.6	81 \pm 6.1	
		F	67 \pm 2.2	53 \pm 2.8**	57 \pm 2.7**	52 \pm 3.1**	65 \pm 7.4	
	Hemoglobin (g/dl)	M	16.8 \pm 0.24	15.9 \pm 0.32*	16.4 \pm 0.18	15.0 \pm 0.47**	15.6 \pm 0.32**	
		F	15.3 \pm 0.19	15.9 \pm 0.16*	15.0 \pm 0.45	15.3 \pm 0.34	15.8 \pm 0.32	
	Hematocrit (%)	M	50.5 \pm 0.78	48.0 \pm 1.21	52.1 \pm 0.84	49.5 \pm 1.67	51.0 \pm 1.24	
		F	48.5 \pm 1.15	49.3 \pm 1.19	44.1 \pm 1.45*	48.8 \pm 1.12	48.6 \pm 1.61	
	Differential count (%)	Staff	M	0.4 \pm 0.15	0.3 \pm 0.19	0.4 \pm 0.15	0.3 \pm 0.17	0.2 \pm 0.09
			F	0.5 \pm 0.27	0.3 \pm 0.11	0.2 \pm 0.08	0.3 \pm 0.12	0.2 \pm 0.11
	Seg.	M	20.1 \pm 2.41	17.2 \pm 2.46	22.7 \pm 1.52	22.2 \pm 3.50	30.1 \pm 3.35**	
		F	16.5 \pm 1.92	15.3 \pm 1.38	24.5 \pm 3.48	21.7 \pm 3.57	19.9 \pm 3.15	
	Eosino.	M	2.3 \pm 0.57	2.7 \pm 0.44	3.6 \pm 0.61	3.1 \pm 0.57	3.0 \pm 0.49	
		F	2.1 \pm 0.33	2.6 \pm 0.32	2.7 \pm 0.38	2.9 \pm 0.53	3.7 \pm 2.73*	
	Baso.	M	0	0	0	0	0	
		F	0	0	0	0.1 \pm 0.06	0	
	Lymph.	M	76.6 \pm 2.85	79.2 \pm 2.44	72.6 \pm 1.36	73.6 \pm 3.87	62.9 \pm 3.25**	
		F	80.4 \pm 2.03	80.7 \pm 1.50	71.7 \pm 3.63*	74.1 \pm 3.57	75.4 \pm 3.14	
	Mono.	M	0.7 \pm 0.24	0.6 \pm 0.13	0.8 \pm 0.13	1.0 \pm 0.25	0.8 \pm 0.21	
		F	0.6 \pm 0.15	1.2 \pm 0.17*	1.0 \pm 0.20	1.0 \pm 0.26	0.8 \pm 0.20	

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

Table 7 Biochemical examinations in rats injected intraperitoneally with CPZ for 1 month (n=7)

	Sex	Control (Saline)	CPZ				CET 2000 mg/kg
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg	
GOT (KARMEN unit)	M	134±7.7	123±4.2	119±12.4	137±11.0	137±7.5	121±10.7
	F	119±3.7	124±4.7	111±5.3	115±15.4	82±2.8**	122±7.4
GPT (KARMEN unit)	M	41±4.7	37±1.2	34±2.6	37±2.0	41±2.2	36±1.6
	F	35±2.0	30±1.5	38±1.4	39±1.5	37±0.9	36±1.2
ALP (K-A unit)	M	43.7±3.67	44.8±4.53	34.7±5.17	28.2±3.37**	49.0±4.13	37.8±3.09
	F	32.5±2.26	34.9±3.82	40.2±4.80	39.3±5.19	32.2±3.52	36.5±3.03
BUN (mg/dl)	M	20.1±0.84	19.0±1.29	25.0±1.90*	25.7±2.32*	27.4±2.87*	16.1±1.18*
	F	22.4±1.75	19.2±2.70	20.2±1.57	17.8±1.95	15.7±0.95**	17.0±0.45*
Cholesterol (mg/dl)	M	64±1.6	65±4.1	62±4.4	62±2.6	77±9.8	69±1.9
	F	73±3.1	67±1.5	64±2.0*	65±3.8	70±3.8	65±2.0
Ch-E (ΔpH)	M	0.30±0.007	0.36±0.013**	0.35±0.021*	0.28±0.035	0.31±0.011	0.34±0.018
	F	0.86±0.043	0.64±0.057**	0.74±0.024*	0.65±0.044**	0.82±0.064	0.65±0.032**
LDH (WROBLEWSKI unit)	M	1360±7	1400±11**	1410±11**	1360±15	1390±9*	1420±6**
	F	1450±4	1470±18	1470±7*	1490±9	1460±34	1530±6**
Bilirubin (mg/dl)	M	0.2±0.03	0.1±0*	0.1±0.03	0.1±0.02	0.2±0.05	0.1±0*
	F	0.1±0.03	0.1±0.01	0.1±0.01	0.1±0.02	0.1±0	0.1±0
Total protein (g/dl)	M	6.0±0.10	5.9±0.07	5.8±0.08	5.5±0.08**	5.7±0.10*	6.0±0.06
	F	6.1±0.11	5.9±0.11	6.3±0.09	6.2±0.17	6.3±0.14	5.8±0.11
A/G	M	1.08±0.060	1.13±0.080	1.04±0.020	0.99±0.071	1.14±0.081	0.98±0.063
	F	0.97±0.093	1.01±0.039	1.08±0.042	1.25±0.055*	1.16±0.057	1.20±0.046*
Na (mEq/L)	M	131±0.7	132±1.3	130±0.5	130±0.8	131±1.4	130±1.2
	F	131±0.8	131±1.0	132±0.9	132±1.1	132±1.7	132±1.3
K (mEq/L)	M	5.16±0.100	5.46±0.165	5.50±0.136	5.64±0.203	5.51±0.136	5.51±0.067*
	F	5.04±0.242	5.27±0.123	5.36±0.175	5.50±0.172	5.15±0.121	5.26±0.194
Glucose (mg/dl)	M	86±3.0	94±5.3	97±2.0**	98±4.2*	106±5.9**	92±2.8
	F	90±3.9	85±1.8	87±2.5	83±3.6	86±2.1	100±2.7

Significantly different from control

* p<0.05

** p<0.01

Mean ± S.E.

あり、薬剤投与とは無関係に現われたものであった。

ii) 慢性毒性

臓器重量を Table 10 に、臓器重量体重比を Table 11 に示す。3カ月実験では、特記すべき異常が認められなかった。

6カ月投与実験では、4000mg/kg 投与群の雌雄、2000mg/kg 投与群雌雄および1000mg/kg 投与群雌で軽度の腎重量と重量比の増加が認められた。他の諸臓器には異常がなかった。

8. 剖検所見

i) 亜急性毒性

CPZ 各投与群の雌雄と CET 2000mg/kg 投与群の雌雄に、盲腸腔の拡大が投与量に比例してほぼ全例に観察された。また CPZ の高用量群と CET 投与群では、腹膜の充血、腹水貯留、脾や肝の被膜の線維性肥厚、大網と腹

腔内諸臓器の癒着などの腹膜炎の所見が認められた。他には腹腔内投与による盲腸漿膜の限局性出血や、投与部位皮下の限局性出血が散発的に認められた以外、特記すべき異常がなかった。

ii) 慢性毒性

CPZ 各投与群の雌雄ほぼ全例に、投与量と比例した盲腸腔の拡大が観察された。また 4000mg/kg、2000mg/kg 投与群の多数例と 1000mg/kg 投与群の一部の例の腹腔内には、腹膜の充血、腹水貯留、大網と肝、脾、脾周囲の癒着が認められた。高用量群の一部のラットでは、拡張した盲腸の漿膜に限局性の出血のみられる例が散発的に認められた。他には対照群の雄 1 例と 500mg/kg 投与群 1 例に片側性の精巣萎縮が認められた以外著しい変化がなかった。

投与期間中にみられた 7 例の途中死亡例のうち、3 例

Table 8 Biochemical examinations in rats injected intraperitoneally with CPZ for 3 and 6 months

	Sex	Control (Saline)	CPZ				
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg	
3 Months (n=5)	GOT (KARMEN unit)	M	134±14.2	162±17.1	117±6.40	114±11.5	92±5.2*
		F	133±11.2	137±7.3	121±13.0	137±19.4	131±6.5
	GPT (KARMEN unit)	M	32±3.0	34±7.2	27±1.1	30±2.0	23±1.6
		F	44±3.5	37±1.2	45±1.8	36±1.3	31±1.1*
	ALP (K-A unit)	M	26.5±3.93	33.2±3.12	28.9±6.94	32.2±4.59	25.4±5.05
		F	25.1±3.68	27.8±4.15	26.5±3.63	28.2±3.20	26.6±3.18
	BUN (mg/dl)	M	22.3±1.19	18.7±0.47*	14.1±1.40**	16.6±0.72**	13.5±0.42**
		F	14.8±0.27	16.0±0.37*	12.2±0.58**	14.7±1.80	16.0±1.21
	Cholesterol (mg/dl)	M	74±2.7	72±2.9	74±3.3	77±3.1	84±4.0
		F	75±4.4	63±3.4	70±9.9	75±5.7	67±4.0
	Ch-E (ΔpH)	M	0.30±0.014	0.30±0.004	0.31±0.023	0.34±0.017	0.36±0.014*
		F	0.99±0.024	0.90±0.051	0.89±0.100	0.88±0.052	0.92±0.023*
	LDH (WROBLEWSKI unit)	M	1080±10.7	1130±12.1*	1100±9.7	1140±11.7**	1110±22.2
		F	1070±12.4	1070±5.1	1060±10.7	1030±62.4	1090±6.6
	Bilirubin (mg/dl)	M	0.3±0.05	0.2±0.06	0.2±0.05	0.3±0.04	0.1±0
		F	0.1±0	0.1±0	0.2±0.02	0.2±0.02	0.1±0
	Total protein (g/dl)	M	7.1±0.12	6.2±0.32*	6.6±0.04**	6.6±0.17	6.6±0.14*
		F	6.9±0.12	6.0±0.09**	6.7±0.14	6.5±0.10	6.3±0.17*
	A/G	M	0.86±0.047	0.88±0.047	0.78±0.052	0.87±0.045	0.99±0.076
		F	1.14±0.033	0.96±0.042*	1.10±0.076	0.94±0.057*	1.07±0.059
Na (mEq/L)	M	143.3±0.60	142.8±1.40	143.9±0.76	143.5±0.80	143.8±1.40	
	F	147.3±0.65	146.3±0.56	147.2±0.80	148.4±1.16	146.6±1.94	
K (mEq/L)	M	6.9±0.31	6.4±0.27	6.4±0.12	6.5±0.15	6.4±0.22	
	F	6.3±0.12	6.3±0.16	5.8±0.23	6.1±0.18	6.6±0.19	
Glucose (mg/dl)	M	99±8.9	80±3.5	83±7.4	81±3.0	75±4.8*	
	F	83±2.9	73±5.0	78±5.5	80±3.3	74±2.2	
6 Months (n=10)	GOT (KARMEN unit)	M	115±6.4	92±3.3**	114±5.4	107±3.2	111±4.3
		F	152±14.8	107±5.0*	113±8.1*	133±15.3	113±8.0*
	GPT (KARMEN unit)	M	43±2.2	42±1.3	34±1.1**	38±1.2	45±2.1
		F	43±3.5	41±3.5	40±2.5	42±5.1	34±2.7
	ALP (K-A unit)	M	12.0±0.88	9.7±0.48*	11.2±1.06	9.5±0.90	10.2±0.88
		F	20.4±2.64	21.1±2.29	19.3±2.91	16.9±2.00	12.1±1.28*
	BUN (mg/dl)	M	11.5±0.31	11.5±0.44	11.2±0.60	9.1±0.34**	11.3±0.72
		F	13.9±0.47	14.5±0.52	16.4±0.76*	16.2±2.18	16.4±1.09
	Cholesterol (mg/dl)	M	79±3.0	74±3.9	71±3.0	81±3.9	91±4.7*
		F	93±9.1	72±2.8*	88±5.6	96±4.4	87±4.5
	Ch-E (ΔpH)	M	0.44±0.020	0.41±0.011	0.40±0.009	0.37±0.008**	0.39±0.008*
		F	1.09±0.051	1.09±0.035	1.13±0.030	1.06±0.066	0.91±0.065*
	LDH (WROBLEWSKI unit)	M	950±4.5	960±6.7	950±6.7	970±18.0	910±16.5*
		F	980±5.8	980±4.2	980±5.5	980±13.5	1010±14.8
	Bilirubin (mg/dl)	M	0.1±0.01	0.1±0.01	0.1±0.01	0.1±0	0.1±0.01
		F	0.2±0.03	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.1±0
	Total protein (g/dl)	M	6.9±0.09	6.7±0.08	6.8±0.08	6.7±0.13	6.5±0.12*
		F	7.7±0.24	7.3±0.20	7.3±0.22	7.4±0.19	7.0±0.15*
	A/G	M	0.89±0.049	0.87±0.029	0.82±0.044	0.86±0.037	0.98±0.034
		F	1.22±0.066	1.30±0.031	1.18±0.051	1.07±0.090	1.07±0.055
Na (mEq/L)	M	146.2±0.82	146.2±0.84	146.8±1.30	145.1±0.52	143.4±0.59*	
	F	148.7±0.71	148.2±0.57	146.9±0.77	146.8±0.56	146.1±0.57**	
K (mEq/L)	M	5.8±0.23	5.6±0.10	5.7±0.14	5.8±0.17	5.3±0.24	
	F	5.4±0.16	5.1±0.11	5.4±0.15	5.2±0.07	5.5±0.16	
Glucose (mg/dl)	M	83±2.3	93±5.9	83±3.0	81±3.8	83±1.8	
	F	86±1.9	79±1.9*	80±2.3	82±2.2	81±2.4	

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

Mean±S.E.

Table 9 Absolute organ weights and relative organ weights in rats injected intraperitoneally with CPZ for 1 month (n = 7)

	Sex	Control (Saline)	CPZ				CET 2000 mg/kg		
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg			
Organ weight (g)	Heart	M	1.32±0.059	1.38±0.073	1.25±0.080	1.23±0.081	1.17±0.108	1.38±0.105	
		F	0.82±0.066	0.72±0.042	0.85±0.054	0.88±0.046	0.88±0.059	0.85±0.056	
	Lungs	M	1.47±0.065	1.46±0.059	1.59±0.057	1.57±0.066	1.47±0.080	1.39±0.051	
		F	1.10±0.085	1.11±0.076	1.23±0.086	1.21±0.038	1.06±0.078	1.17±0.041	
	Liver	M	12.01±0.310	11.23±0.433	10.75±0.438*	9.79±0.501**	10.53±0.508*	12.08±0.347	
		F	7.39±0.304	6.71±0.221	7.67±0.126	7.66±0.331	7.73±0.186	7.52±0.231	
	Kidney	left	M	1.26±0.082	1.27±0.049	1.29±0.044	1.24±0.058	1.22±0.043	1.17±0.040
			F	0.79±0.027	0.78±0.028	0.79±0.020	0.85±0.033	0.87±0.024*	0.81±0.030
		right	M	1.27±0.091	1.29±0.054	1.28±0.043	1.27±0.050	1.22±0.039	1.19±0.041
			F	0.79±0.028	0.80±0.033	0.81±0.021	0.89±0.050	0.87±0.030	0.82±0.032
	Spleen	M	0.68±0.029	0.68±0.043	0.70±0.043	0.60±0.029	0.55±0.022**	0.63±0.021	
		F	0.46±0.020	0.45±0.017	0.55±0.028*	0.49±0.019	0.57±0.024**	0.46±0.022	
	Thymus	M	0.57±0.028	0.53±0.035	0.53±0.034	0.44±0.037*	0.43±0.034**	0.48±0.041	
		F	0.50±0.043	0.41±0.035	0.41±0.052	0.36±0.036*	0.40±0.018	0.44±0.019	
	Thyroids	M	0.03±0.004	0.02±0.003	0.02±0.002*	0.02±0.002*	0.02±0.002*	0.02±0.003	
		F	0.03±0.006	0.01±0.002*	0.02±0.003	0.02±0.002*	0.02±0.002	0.02±0.002*	
	Adrenals	M	0.06±0.005	0.06±0.007	0.05±0.004	0.05±0.005	0.05±0.003	0.05±0.007	
		F	0.07±0.008	0.04±0.003**	0.06±0.004	0.05±0.005	0.06±0.007	0.05±0.006	
	Submaxillary glands	M	0.57±0.014	0.55±0.029	0.54±0.032	0.57±0.029	0.48±0.026**	0.54±0.020	
		F	0.41±0.018	0.37±0.016	0.40±0.008	0.36±0.020	0.38±0.011	0.38±0.014	
Testis	left	M	1.55±0.040	1.60±0.028	1.56±0.048	1.49±0.041	1.50±0.046	1.53±0.032	
	right	M	1.55±0.029	1.60±0.022	1.54±0.049	1.49±0.034	1.43±0.061	1.52±0.029	
Ovaries	F	0.14±0.012	0.11±0.008	0.10±0.006*	0.12±0.008	0.12±0.005	0.11±0.009		
Organ/Body weight ratio (%)	Heart	M	0.39±0.013	0.40±0.021	0.36±0.021	0.38±0.025	0.37±0.033	0.43±0.036	
		F	0.38±0.031	0.36±0.023	0.39±0.022	0.40±0.020	0.40±0.028	0.40±0.020	
	Lungs	M	0.44±0.019	0.43±0.024	0.47±0.022	0.48±0.025	0.47±0.034	0.43±0.012	
		F	0.51±0.038	0.55±0.041	0.57±0.034	0.56±0.025	0.48±0.038	0.55±0.016	
	Liver	M	3.56±0.093	3.27±0.073	3.13±0.057	2.99±0.086	3.36±0.162	3.72±0.074	
		F	3.44±0.063	3.34±0.070	3.55±0.063	3.52±0.062	3.48±0.072	3.54±0.127	
	Kidney	left	M	0.37±0.021	0.37±0.013	0.38±0.014	0.38±0.011	0.39±0.010	0.36±0.012
			F	0.37±0.007	0.39±0.015	0.37±0.006	0.39±0.007*	0.39±0.010*	0.38±0.007
		right	M	0.38±0.023	0.38±0.014	0.37±0.015	0.39±0.008	0.39±0.010	0.37±0.013
			F	0.37±0.006	0.40±0.016	0.38±0.006	0.41±0.021	0.39±0.014	0.39±0.008
	Spleen	M	0.20±0.009	0.20±0.013	0.20±0.011	0.18±0.008	0.18±0.007	0.19±0.006	
		F	0.22±0.008	0.22±0.007	0.25±0.012*	0.23±0.009	0.26±0.008*	0.22±0.007	
	Thymus	M	0.17±0.007	0.16±0.009	0.16±0.012	0.14±0.012*	0.14±0.012*	0.15±0.014	
		F	0.23±0.016	0.21±0.016	0.19±0.024	0.17±0.016*	0.18±0.009*	0.21±0.009	
	Thyroids	M	0.01±0.001	0.01±0.001	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±0.001	0.01±0.001	0.01±0.001	
	Adrenals	M	0.02±0.001	0.02±0.002	0.02±0.001	0.01±0.001	0.02±0.001	0.02±0.002	
		F	0.03±0.004	0.02±0.001	0.03±0.002	0.02±0.002	0.03±0.003	0.03±0.003	
	Submaxillary glands	M	0.17±0.004	0.16±0.005	0.16±0.007	0.18±0.006	0.15±0.007*	0.17±0.005	
		F	0.19±0.008	0.18±0.010	0.19±0.005	0.17±0.009	0.17±0.004*	0.18±0.005	
Testis	left	M	0.46±0.011	0.47±0.013	0.45±0.012	0.46±0.023	0.48±0.020	0.47±0.012	
	right	M	0.46±0.008	0.47±0.012	0.45±0.014	0.46±0.020	0.46±0.024	0.47±0.012	
Ovaries	F	0.07±0.007	0.05±0.004	0.05±0.003	0.06±0.003	0.05±0.002	0.05±0.004		

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

Mean±S.E.

Table 10 Absolute organ weights in rats injected intraperitoneally with CPZ for 3 and 6 months (g)

	Sex	Control (Saline)	CPZ					
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg		
3 Months (n=5)	Heart	M	1.60±0.116	1.44±0.090	1.25±0.046*	1.24±0.039*	1.38±0.151	
		F	0.99±0.047	0.77±0.056*	0.98±0.063	0.82±0.070	0.84±0.032*	
	Lungs	M	1.53±0.062	1.71±0.064	1.44±0.038	1.55±0.047	1.47±0.099	
		F	1.10±0.084	1.08±0.060	1.10±0.042	1.10±0.047	1.26±0.042	
	Liver	M	13.25±0.691	11.89±0.496	11.59±0.644	12.32±0.704	12.31±0.380	
		F	6.38±0.315	5.56±0.178	5.78±0.250	6.37±0.334	5.90±0.184	
	Kidney	left	M	1.60±0.073	1.50±0.061	1.41±0.043	1.44±0.051	1.42±0.040
			F	0.82±0.048	0.76±0.046	0.84±0.041	0.84±0.042	0.84±0.026
		right	M	1.60±0.061	1.50±0.062	1.39±0.060*	1.45±0.039	1.36±0.027**
			F	0.83±0.054	0.79±0.035	0.77±0.068	0.86±0.037	0.86±0.023
	Spleen	M	0.89±0.194	0.71±0.061	0.66±0.030	0.64±0.009	0.70±0.026	
		F	0.47±0.029	0.42±0.006	0.50±0.026	0.53±0.035	0.47±0.032	
	Thymus	M	0.29±0.045	0.34±0.048	0.31±0.027	0.25±0.053	0.27±0.041	
		F	0.24±0.031	0.22±0.017	0.21±0.017	0.21±0.012	0.18±0.019	
	Thyroids	M	0.01±0.002	0.01±0	0.01±0	0.01±0.002	0.01±0	
		F	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	
	Adrenals	M	0.05±0	0.04±0.004	0.05±0.007	0.07±0.006*	0.05±0.003	
		F	0.05±0.007	0.05±0.002	0.05±0.007	0.06±0.012	0.06±0.004	
	Submaxillary glands	M	0.63±0.018	0.67±0.014	0.63±0.020	0.60±0.023	0.59±0.027	
		F	0.46±0.019	0.43±0.010	0.41±0.012*	0.42±0.023	0.41±0.008*	
Testis	left	M	1.69±0.036	1.64±0.044	1.62±0.047	1.60±0.077	1.61±0.039	
	right	M	1.68±0.030	1.63±0.045	1.63±0.045	1.61±0.080	1.54±0.058	
Ovaries	F	0.10±0.007	0.10±0.008	0.10±0.006	0.12±0.008	0.10±0.009		
6 Months (n=10)	Heart	M	1.83±0.070	1.73±0.077	1.62±0.088	1.66±0.100	1.72±0.065	
		F	1.09±0.053	0.93±0.056	1.02±0.101	0.92±0.039*	0.94±0.035*	
	Lungs	M	1.69±0.034	1.69±0.050	1.64±0.051	1.63±0.059	1.79±0.039	
		F	1.20±0.026	1.13±0.035	1.16±0.086	1.25±0.044	1.26±0.039	
	Liver	M	11.99±0.451	10.72±0.560	10.34±0.527*	10.46±0.352*	10.45±0.296*	
		F	8.71±0.403	7.32±0.175**	7.40±0.394*	7.29±0.360*	7.40±0.299*	
	Kidney	left	M	1.43±0.047	1.32±0.047	1.30±0.047	1.31±0.040	1.36±0.036
			F	0.83±0.017	0.86±0.028	0.91±0.035	0.86±0.027	0.95±0.022**
		right	M	1.38±0.053	1.33±0.055	1.32±0.050	1.34±0.040	1.35±0.037
			F	0.88±0.022	0.87±0.030	0.92±0.037	0.86±0.021	0.97±0.035*
	Spleen	M	0.72±0.026	0.72±0.030	0.63±0.023*	0.75±0.043	0.69±0.033	
		F	0.45±0.019	0.44±0.012	0.53±0.053	0.49±0.024	0.56±0.033*	
	Thymus	M	0.21±0.024	0.21±0.021	0.23±0.029	0.21±0.033	0.17±0.020	
		F	0.17±0.013	0.14±0.010	0.16±0.019	0.13±0.007*	0.14±0.006*	
	Thyroids	M	0.01±0	0.01±0	0.03±0.008	0.02±0.005	0.02±0.008	
		F	0.01±0.001	0.01±0.001	0.01±0	0.01±0	0.01±0	
	Adrenals	M	0.05±0.001	0.05±0.002	0.06±0.005	0.07±0.011	0.06±0.010	
		F	0.05±0.001	0.05±0.004	0.05±0.002	0.05±0.001	0.06±0.002**	
	Submaxillary glands	M	0.69±0.028	0.64±0.042	0.58±0.019**	0.58±0.015**	0.58±0.024*	
		F	0.47±0.018	0.43±0.014	0.43±0.018	0.45±0.013	0.44±0.016	
Testis	left	M	1.74±0.037	1.64±0.104	1.69±0.035	1.83±0.031	1.66±0.035	
	right	M	1.65±0.075	1.64±0.059	1.65±0.035	1.82±0.029	1.66±0.021	
Ovaries	F	0.11±0.007	0.10±0.006	0.09±0.007	0.11±0.008	0.12±0.006		

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

Mean±S.E.

Table 11 Relative organ weights in rats injected intraperitoneally with CPZ for 3 and 6 months (%)

	Sex	Control (Saline)	CPZ				
			500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	4000 mg/kg	
3 Months (n=5)	Heart	M	0.35±0.019	0.32±0.014	0.30±0.014*	0.29±0.011**	0.32±0.032
		F	0.38±0.026	0.34±0.020	0.42±0.031	0.33±0.020	0.36±0.010
	Lungs	M	0.34±0.016	0.38±0.010	0.34±0.014	0.35±0.017	0.34±0.017
		F	0.43±0.028	0.47±0.017	0.47±0.016	0.44±0.021	0.54±0.021**
	Liver	M	2.92±0.074	2.62±0.046*	2.75±0.068	2.81±0.100	2.83±0.056
		F	2.45±0.016	2.44±0.048	2.48±0.073	2.56±0.112	2.53±0.065
	Kidney {left	M	0.36±0.022	0.33±0.005	0.34±0.017	0.33±0.015	0.33±0.010
		F	0.32±0.015	0.33±0.019	0.36±0.014	0.34±0.011	0.36±0.005*
	Kidney {right	M	0.36±0.019	0.33±0.003	0.33±0.020	0.33±0.010	0.31±0.009
		F	0.32±0.017	0.35±0.013	0.35±0.009	0.35±0.011	0.37±0.004*
	Spleen	M	0.19±0.039	0.16±0.008	0.16±0.010	0.15±0.007	0.16±0.006
		F	0.18±0.011	0.19±0.007	0.21±0.009	0.21±0.011	0.20±0.010
	Thymus	M	0.07±0.011	0.07±0.010	0.07±0.006	0.06±0.014	0.06±0.010
		F	0.09±0.014	0.10±0.007	0.09±0.004	0.08±0.004	0.08±0.008
	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±0.001	0.01±0.001	0.01±0	0.01±0.001
	Adrenals	M	0.01±0.001	0.01±0.001	0.01±0.002	0.02±0.001*	0.01±0.001
		F	0.02±0.003	0.02±0.001	0.02±0.003	0.02±0.005	0.03±0.002
Submaxillary glands	M	0.14±0.004	0.15±0.008	0.15±0.006	0.14±0.005	0.14±0.006	
	F	0.18±0.004	0.19±0.004	0.17±0.004	0.17±0.008	0.18±0.008	
Testis {left	M	0.38±0.018	0.36±0.008	0.39±0.018	0.37±0.016	0.37±0.010	
	M	0.37±0.014	0.36±0.008	0.39±0.017	0.37±0.018	0.35±0.016	
Ovaries	F	0.04±0.004	0.05±0.004	0.04±0.003	0.05±0.003	0.04±0.004	
6 Months (n=10)	Heart	M	0.34±0.016	0.36±0.013	0.34±0.015	0.36±0.018	0.39±0.018
		F	0.37±0.017	0.34±0.017	0.37±0.026	0.34±0.018	0.34±0.014
	Lungs	M	0.32±0.012	0.35±0.014	0.35±0.009	0.35±0.008*	0.40±0.015**
		F	0.41±0.011	0.41±0.012	0.42±0.025	0.46±0.020*	0.46±0.011*
	Liver	M	2.22±0.049	2.21±0.112	2.16±0.095	2.27±0.049	2.33±0.035
		F	2.96±0.093	2.66±0.057*	2.68±0.100	2.66±0.109	2.66±0.066*
	Kidney {left	M	0.27±0.007	0.27±0.004	0.27±0.005	0.29±0.005*	0.30±0.005**
		F	0.28±0.004	0.31±0.009*	0.33±0.008**	0.32±0.013*	0.34±0.009**
	Kidney {right	M	0.26±0.007	0.27±0.005	0.28±0.004*	0.29±0.007**	0.30±0.007**
		F	0.30±0.005	0.32±0.010	0.33±0.010**	0.32±0.012	0.35±0.010**
	Spleen	M	0.13±0.005	0.15±0.007	0.13±0.004	0.16±0.008**	0.16±0.008*
		F	0.16±0.008	0.16±0.005	0.19±0.018	0.18±0.007*	0.20±0.009**
	Thymus	M	0.04±0.004	0.04±0.004	0.05±0.006	0.05±0.008	0.04±0.004
		F	0.06±0.004	0.05±0.003	0.06±0.005	0.05±0.003	0.05±0.002
	Thyroids	M	0.01±0	0.01±0	0.01±0.002	0.01±0.001	0.01±0.002
		F	0.01±0.001	0.01±0.001	0.01±0.001	0.01±0.001	0.01±0.001
	Adrenals	M	0.01±0.001	0.01±0.001	0.01±0.001	0.02±0.003*	0.01±0.002
		F	0.02±0.001	0.02±0.002	0.02±0.001	0.02±0.001	0.02±0.001
Submaxillary glands	M	0.13±0.005	0.13±0.007	0.12±0.004	0.13±0.004	0.13±0.005	
	F	0.16±0.006	0.16±0.005	0.16±0.005	0.17±0.007	0.16±0.005	
Testis {left	M	0.32±0.006	0.34±0.022	0.36±0.015	0.40±0.012**	0.37±0.011**	
	M	0.31±0.018	0.34±0.014	0.35±0.016	0.40±0.011**	0.37±0.006**	
Ovaries	F	0.04±0.003	0.04±0.002	0.03±0.003	0.04±0.003	0.04±0.002	

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

Mean±S.E.

Table 12-1 Histological observations in male rats injected

Male rats	Control (Saline)							CPZ 500mg/kg						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Lung: Bronchopneumonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver: Focal cell infiltration in the parenchyma	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Perihepatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney: Hyaline droplet-like lesions of the proximal tubular epithelium	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Localized hydropic change in the cortical tubular epithelium and slight cell infiltration of the interstitium	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cystic dilatation of the cortical and medullary tubular lumina	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
Hydronephrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-
Spleen: Perisplenitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecum: Focal hemorrhage of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal exudative inflammation of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal hemorrhage of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(): Change in unilateral kidney

No significant changes were seen in heart, salivary glands, adrenals, thyroids, thymus, testes, brain, skeletal muscle.

Table 12-2 Histological observations in female rats injected

Female rats	Control (Saline)							CPZ 500 mg/kg						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Lung: Bronchopneumonia	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver: Focal cell infiltration in the parenchyma	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Perihepatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney: Hyaline droplet-like lesions of the proximal tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Localized hydropic change in the cortical tubular epithelium and slight cell infiltration of the interstitium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-
Localized hydropic change of the proximal tubular epithelium	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium deposition in the medullary tubular lumina	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hydronephrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen: Perisplenitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecum: Focal hemorrhage of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal exudative inflammation of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal hemorrhage of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(): Change in unilateral kidney

No significant changes were seen in heart, salivary glands, adrenals, thyroids, thymus, ovaries, brain, hypophysis,

(4000mg/kg 投与雄 No. 44, 2000mg/kg 投与雌 No. 82, 500mg/kg 投与雄 No. 16) は6カ月実験用の動物であり、残り4例(4000mg/kg 投与雌 No. 146, No. 147, 雄 No. 121, 2000mg/kg 投与雌 No. 141) は回復試験用とした動物にみられたものであった。これら途中死亡例のうち死後変化が著しく剖検できなかつた2例を除く全例の腹腔内には、高度の腹膜炎に加えて、大量の出血が認められた。おそらく膨隆している盲腸を投与時に穿刺したのではないかと思われた。

9. 組織学的検査

i) 亜急性毒性

Table 12-1, 12-2 に示すように、CPZ腹腔内投与に起因すると思われる変化としては、高用量群における腎近位尿細管上皮の硝子滴変性(Photo. 1)があった。この硝子滴は通常のものに比べて、大小不同があり、その色調も淡黄紅色を示していた。この変化は4000mg/kg 投与の雌雄全例、2000mg/kg 投与の雄2/7例、雌1/7例、1000mg/kg、500mg/kg および対照群のおのおの雄1/7例に認められた。しかし対照薬として投与したCET 2000mg/kg 投与群の雌雄にはこの変化がなかった。腎には他に皮質尿細管上皮の限局性水腫変性、限局した皮質、髓質尿管腔の拡張、片側腎の水腎症などの所見が散見されたが、いずれも薬剤投与とは無関係に出現していた。CPZ 2000mg/kg 投与群の一部とCET 2000mg/kg 投与群の一部で、盲腸の粘膜下組織や漿膜下に、新鮮な限局性出血巣や滲出性炎が認められた(Photo. 2)。また肝や脾には周囲炎(Photo. 3)が認められた。他には、肺に軽度の気管支肺炎、肝に実質内の限局した軽度の細胞浸潤を認めるものもあったが、いずれも薬剤投与とは無関係に出現したものであった。

ii) 慢性毒性

3カ月実験: Table 13-1, 13-2 に示すように、亜急性毒性の結果と同様、腎近位尿細管上皮の硝子滴変性(淡黄紅色小滴出現)が4000mg/kg 投与の雌雄全例と2000mg/kg 投与の雄3/5例、雌2/5例および1000mg/kg 投与の雄2/5例に認められた。腹腔内投与によると思われる盲腸漿膜下あるいは胃漿膜下の限局した出血や滲出性炎の所見が、4000mg/kg 投与雌2/5例、2000, 1000, 500mg/kg 投与群の雄のおのおの1/5例に認められた。また1000mg/kg 投与群雌1/5例に脾周囲の細胞浸潤と線維性肥厚が認められたほか、高用量群の雌雄のおの2~3例に大網の細胞浸潤や線維化のみられる例があった。他の諸臓器には特記すべき異常が認められなかった。

6カ月実験: Table 14-1, 14-2 に示すように、3カ月

実験と同様、腎近位尿細管上皮には硝子滴変性が認められた。その程度は3カ月実験よりも若干強く、一部の近位尿細管上皮には崩壊像のみられるものもあった(Photo. 4)。硝子滴変性は4000mg/kg 投与の雌雄全例、2000mg/kg 投与の雌雄のおのおの9/10例、1000mg/kg 投与の雌1/10例に認められたが、これらの硝子滴のうちには、通常の硝子滴とは若干印象を異にする、淡黄紅色を呈し、大小不同を示す小滴が含まれていた。肝周囲炎、脾周囲炎、脾周囲炎(Photo. 5)あるいは大網の細胞浸潤と線維化などの腹膜炎の所見が4000, 2000および1000mg/kg 投与群の一部に、ほぼ投与量に比例して認められた。また、盲腸や胃大彎部の限局性出血や滲出性炎が散発的に認められたが(Photo. 6)、その出現頻度は高用量群の方が若干高かった。胸腺の皮質リンパ球減少が4000, 2000mg/kg 投与群に、中等度から軽度に認められた。薬剤投与とは無関係の所見として、心の限局性心筋炎が各群の雄の一部にのみ散発的に認められたほか、肺の気管支肺炎、肝の実質内限局性細胞浸潤が軽度に、散発的に認められた。対照群と500mg/kg 投与群のおのおの1例に、一部精細管の精子形成不全が片側性に認められた(Photo. 7)。肉眼的に腔の拡張をみた盲腸には組織学的異常がなかった(Photo. 8)。

10. 肝と腎の電子顕微鏡所見

6カ月投与終了時に、肝と腎の形態変化を電子顕微鏡的に、各群3匹の雄性ラットを用いて検討した。肝細胞には形態的異常が認められなかった(Photo. 12)。

4000mg/kg と2000mg/kg 投与群の腎では、近位尿細管上皮の細胞質内に形態的に異なる2種類のcytosomeの出現をみた(Photo. 13)。その一つは限界膜によって囲まれ、内腔に電子密度の高いcoreと電子密度の低い雲絮状物質を含む、形態的にはtelolysosomeと思われるものであり、他の一つは電子密度が高く、均一に染まり、不定形の複雑な形態を有するcytosomeであった。しかしこれらのcytosomeが出現しているにもかかわらず、近位尿細管上皮細胞の細胞内小器官には形態的異常がみられなかった。遠位尿細管上皮細胞(Photo. 14)や糸球体(Photo. 15)には異常がなかった。

11. 回復試験

i) 亜急性毒性

CPZ 4000mg/kg 投与群の雄の体重は、1カ月間の休薬期間を置いた後も対照群より有意($P < 0.05$)に低い値を示していた。尿検査、血液検査、血液化学検査の結果には各群の雌雄とも異常が認められなかった。病理学的検査では臓器重量、重量比に異常がなく、剖検所見では、1カ月投与終了時にみられた腹腔内の腹膜炎の所見

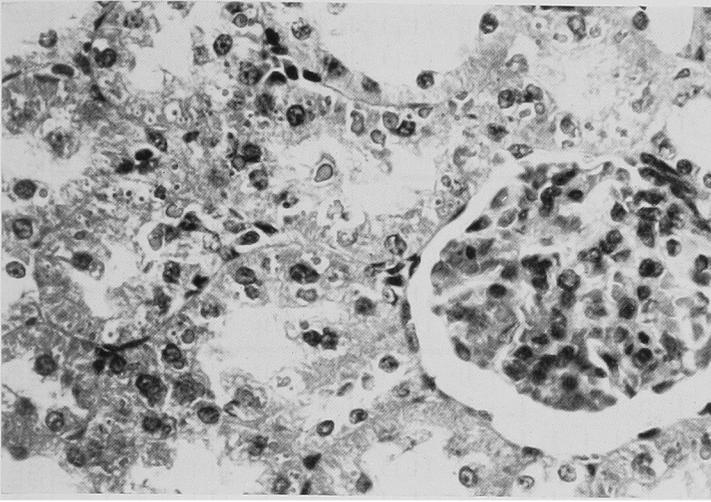


Photo. 1 The kidney from a male rat given CPZ at 4000mg/kg/day for a month, i p. Hyaline droplet degeneration of the proximal tubular epithelium; various sized acidophilic granules in the cytoplasm of the proximal tubular epithelial cells are seen. $\times 430$ H. E. staining

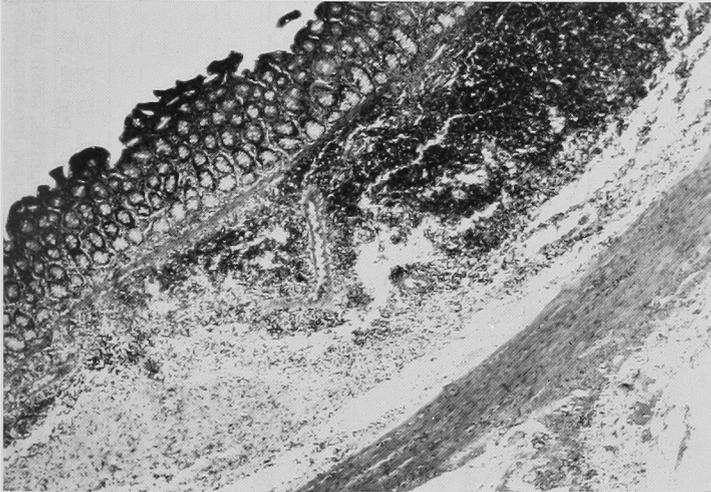


Photo. 2 The cecum from a male rat given CPZ at 2000mg/kg/day for a month, i p. Hemorrhage and exudative inflammation in the submucosa and subserosa are observed. $\times 43$ H. E. staining

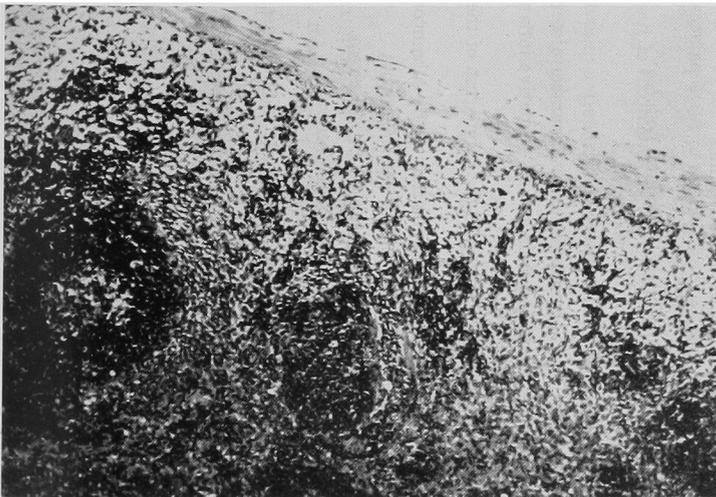


Photo. 3 The spleen from a male rat given CET at 2000mg/kg/day for a month, i p. Splenitis is observed. $\times 110$ H. E. staining

Table 13-1 Histological observations in male rats injected intraperitoneally with CPZ for 3 months

Male rats	Control (Saline)			500 mg/kg			1000 mg/kg			2000 mg/kg			4000 mg/kg												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Heart: Focal myocarditis	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lung: Bronchopneumonia	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver: Perihepatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal cell infiltration in the parenchyma	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney: Hyaline droplet-like lesions of the proximal tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydropic change of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Localized tubular necrosis and cell infiltration of the interstitium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cast in the tubular lumina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen: Perisplenitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atrophy of the lymphatic nodules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemosiderin deposit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pancreas: Peripancreatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus: Atrophy and decrease in number of cortical lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stomach: Focal hemorrhage and exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Localized edema in the submucosa of the glandular stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecum: Exudative inflammation of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal hemorrhage of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal hemorrhage of the serosa	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesenteric lymph nodes:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atrophy of the lymph node and decrease in number of lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Testis: Degradation of the spermatogenesis in a part of the seminiferous tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gastrocolic omentum:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cell infiltration and fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adhesion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

No significant changes were seen in salivary glands, adrenals, thyroids, brain, hypophysis, small intestine, urinary bladder, bone marrow and skeletal muscle.

Table 13-2 Histological observations in female rats injected intraperitoneally with CPZ for 3 months

Female rats	Control (Saline)			500 mg/kg			1000 mg/kg			2000 mg/kg			4000 mg/kg												
	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
Heart: Focal myocarditis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lung: Bronchopneumonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver: Perihepatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal cell infiltration in the parenchyma	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney: Hyaline droplet-like lesions of the proximal tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Hydropic change of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Localized tubular necrosis and cell infiltration of the interstitium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cast in the tubular lumina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen: Perisplenitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atrophy of the lymphatic nodules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemosiderin deposit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pancreas: Peripancreatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus: Atrophy and decrease in number of cortical lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stomach: Focal hemorrhage and exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Localized edema in the submucosa of the glandular stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecum: Exudative inflammation of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal hemorrhage of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Focal hemorrhage of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesenteric lymph nodes:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atrophy of the lymph node and decrease in number of lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gastrocolic omentum:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cell infiltration and fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adhesion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

No significant changes were seen in salivary glands, adrenals, thyroids, ovaries, brain, hypophysis, small intestine, urinary bladder, bone marrow and skeletal muscle.

Table 14-1 Histological observations in male rats

Male rats		Control (Saline)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Heart:	Focal myocarditis	-	-	-	+	¶	-	-	-	-	-
Lung:	Bronchopneumonia	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver:	Perihepatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Focal cell infiltration in the parenchyma	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney:	Hyaline droplet-like lesions of the proximal tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Localized tubular necrosis and cell infiltration of the interstitium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Casts in the tubular lumina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Focal destruction of the proximal tubular epithelial cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen:	Perisplenitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Atrophy of the lymphatic nodules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hemosiderin deposit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pancreas:	Peripancreatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Thymus:	Atrophy and decrease in number of cortical lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Stomach:	Focal hemorrhage and exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
	Localized edema in the serosa of the glandular stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cecum:	Exudative inflammation of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Focal hemorrhage of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Focal hemorrhage of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mesenteric lymph nodes:	Atrophy of the lymph node and decrease in number of lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Degradation of spermatogenesis in a part of the seminiferous tubules	-	-	-	-	¶	-	-	-	-	
Gastrocolic omentum:	Cell infiltration and fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Adhesion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

No significant changes were seen in salivary glands, adrenals, thyroids, brain, hypophysis, small intestine,

Table 14-2 Histological observations in female rats

Femal rats	Control (Saline)									
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
Heart: Focal myocarditis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lung: Bronchopneumonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver: Perihepatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal cell infiltration in the parenchyma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney: Hyaline droplet-like lesions of the proximal tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hydropic degeneration of the cortical tubular epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Localized tubular necrosis and cell infiltration of the interstitium	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Casts in the tubular lumina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal destruction of the proximal tubular epithelial cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen: Perisplenitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atrophy of the lymphatic nodules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemosiderin deposit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pancreas: Peripancreatitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus: Atrophy and decrease in number of cortical lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stomach: Focal hemorrhage and exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Localized edema in the serosa of the glandular stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecum: Exudative inflammation of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal hemorrhage of the submucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Exudative inflammation of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Focal hemorrhage of the serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesenteric lymph nodes:										
Atrophy of the lymph node and decrease in number of lymphocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gastrocolic omentum:										
Cell infiltration and fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adhesion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

No significant changes were seen in salivary glands, adrenals, thyroids, ovaries, brain, hypophysis,

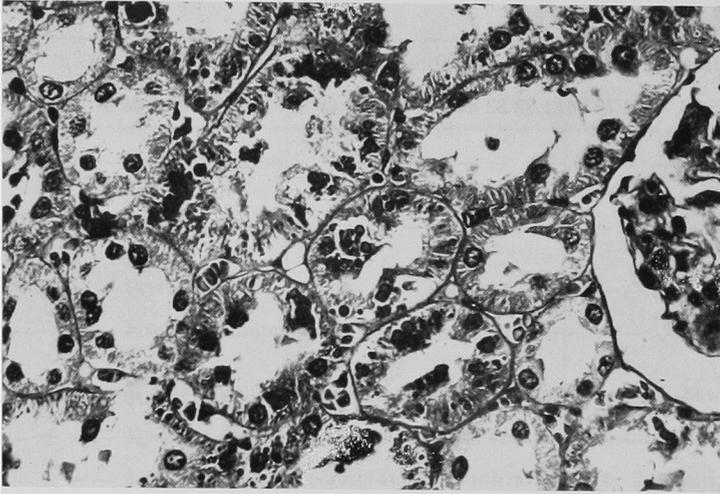


Photo. 4 The kidney from a female rat given CPZ at 4000 mg/kg/day for 6 months, i p. Various sized and yellowish-red colored droplets in the proximal tubular epithelial cells and desquamation of a part of the epithelial cells are recognized. $\times 430$ H. E. staining

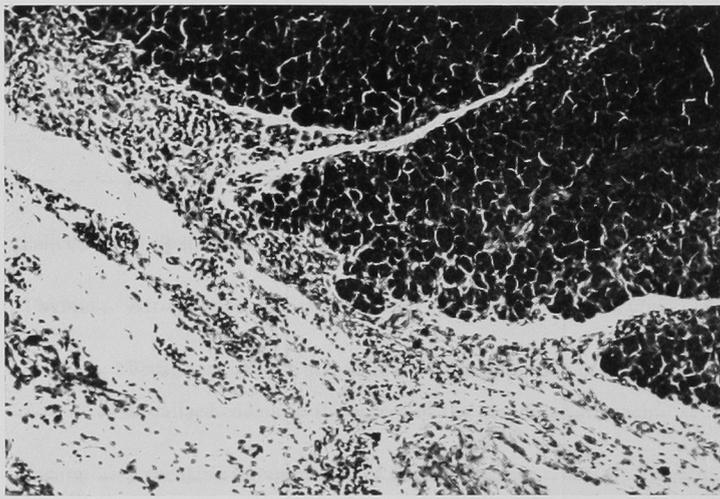


Photo. 5 The pancreas from a female rat given CPZ at 2000 mg/kg/day for 6 months, i p. Peripancreatitis is observed. $\times 110$ H. E. staining

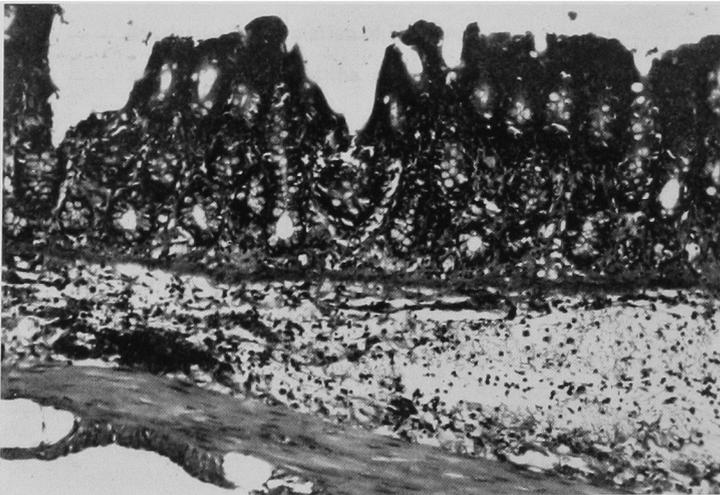


Photo. 6 The cecum from a male rat given CPZ at 2000 mg/kg/day for 6 months, i p. Localized hemorrhage and exudative inflammation in the submucosa are seen. $\times 110$ H. E. staining

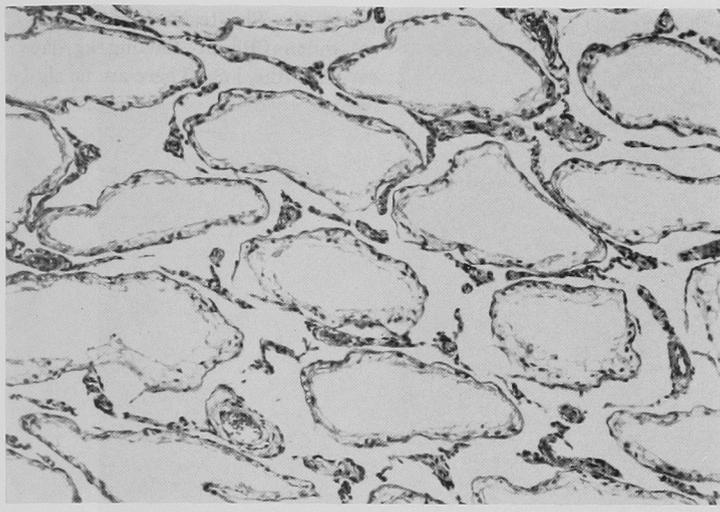


Photo. 7 Reduction of spermatogenesis in the unilateral testis from a male control rat. $\times 110$ H. E. staining

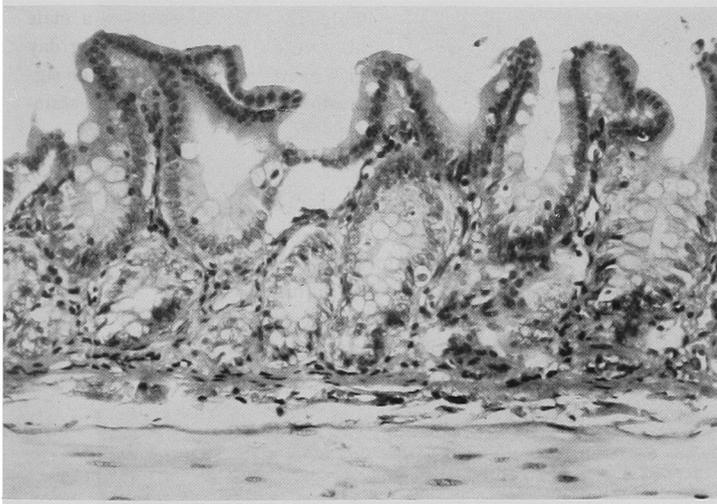


Photo. 8 The cecum from a male rat given CPZ at 4000 mg/kg/day for 6 months, ip. No significant changes are seen. $\times 215$ H. E. staining

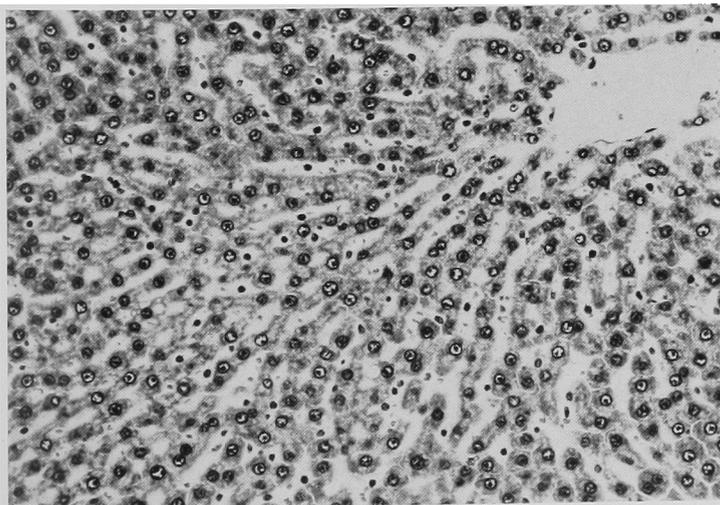


Photo. 9 The liver from a male rat given CPZ at 4000 mg/kg/day for 6 months, ip. No significant changes are seen. $\times 43$ H. E. staining

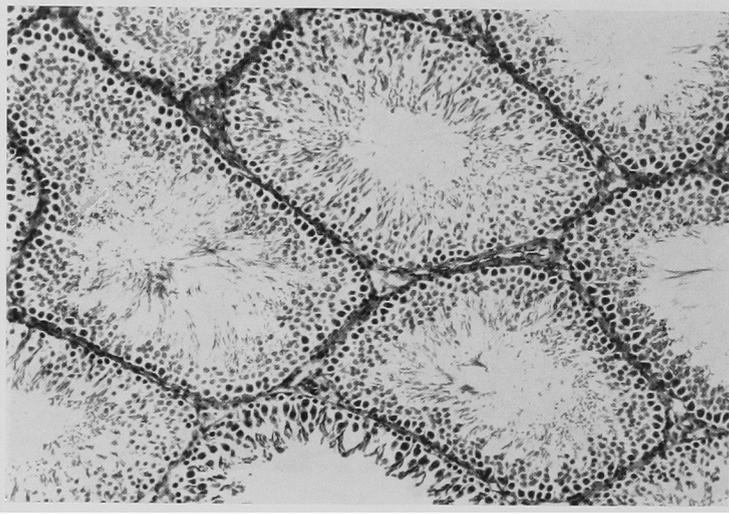


Photo. 10 The testis from a male rat given CPZ at 4000mg/kg/day for 6 months, i p. There are no significant changes. $\times 110$ H. E. staining

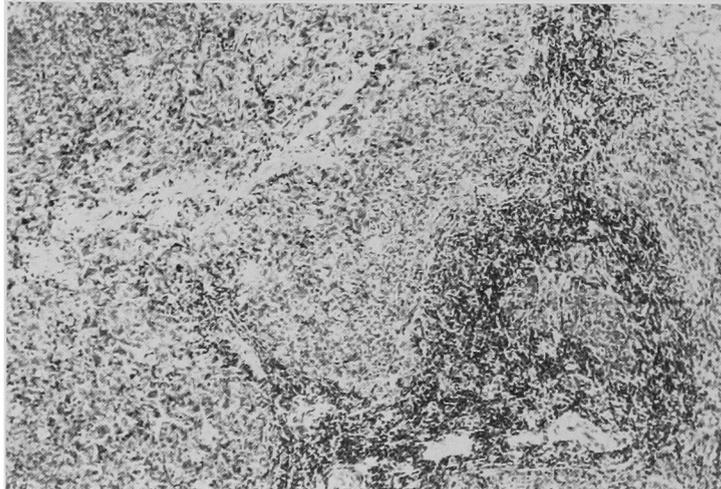


Photo. 11 The spleen from a male rat given CPZ at 4000mg/kg/day for 6 months, i p. There are no significant changes. $\times 110$ H. E. staining

はほとんどみられなかった。盲腸腔の拡大が4000, 2000 mg/kg 投与群雌雄の一部に認められたが、その程度は1カ月投与終了時よりもはるかに軽いものであった。組織学的検査では、CPZ 4000mg/kg 投与群の雌の一部に、前述の近位尿管上皮の淡黄色滴がなお残存している例があったが、全体的にその程度は著しく減少していた。

ii) 慢性毒性

6カ月間の連続腹腔内投与終了後、1カ月間の休業期間を置いて回復試験を行なった。6カ月投与で抑制された体重は、各投与群雌雄とも依然対照群との間にはほぼ投与量に比例した差を保ち続けていた。しかし尿検査、血液検査、血液化学検査の結果に用量依存性のある異常は認められなかった。臓器重量では、高用量群に腎重量体

重比の軽い増加があった。剖検所見では4000mg/kg 投与群と2000mg/kg 投与群の一部の動物に軽い腹膜炎をみる例があったが、腹水の貯留はなく、全体的に6カ月投与後よりもその程度ははるかに軽いものであった。組織学的検査でみられた腎近位尿管上皮の滴状物出現は回復試験でも4000, 2000mg/kg 投与群の多数例に認められたが、その程度は6カ月後の所見よりも軽くなっており(Photo. 16)、可逆的变化であることをうかがわせていた。しかし完全な回復にはさらに時間がかかるものと思われた。

III. 考 察

CPZのラット腹腔内投与での1カ月投与亜急性毒性試験(4000, 2000, 1000, 500mg/kg, CET 2000mg/kg)と3カ月および6カ月投与慢性毒性試験(4000, 2000,

Photo. 12 Electronmicrograph of hepatic cells from a male rat given CPZ at 4000 mg/kg/day for 6 months, i p. There are no significant changes. Prefix.: glutaraldehyde, Postfix.: OsO₄, Stain: U+Pb ×9900

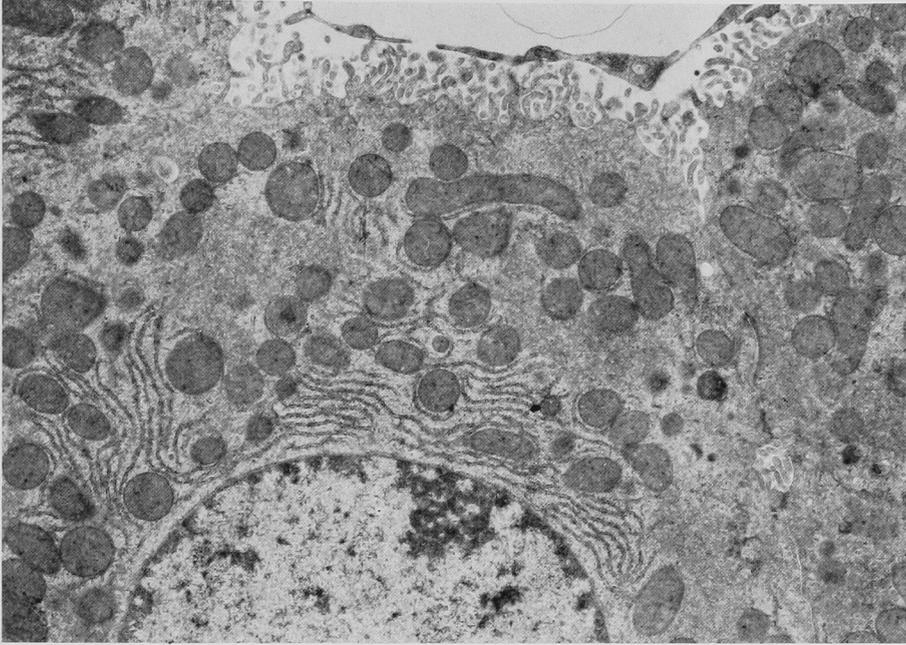


Photo. 13 Electronmicrograph of proximal renal tubular epithelial cells from a male rat given CPZ at 4000 mg/kg/day for 6 months, i p. In the cytoplasm, there are cytosome 1) containing dense cores, perhaps telolysosome and cytosome 2) composed of dense homogenous material with amorphous complex structure. However, other organelles are essentially normal. Prefix.: glutaraldehyde, Postfix.: OsO₄, Stain: U+Pb ×3800

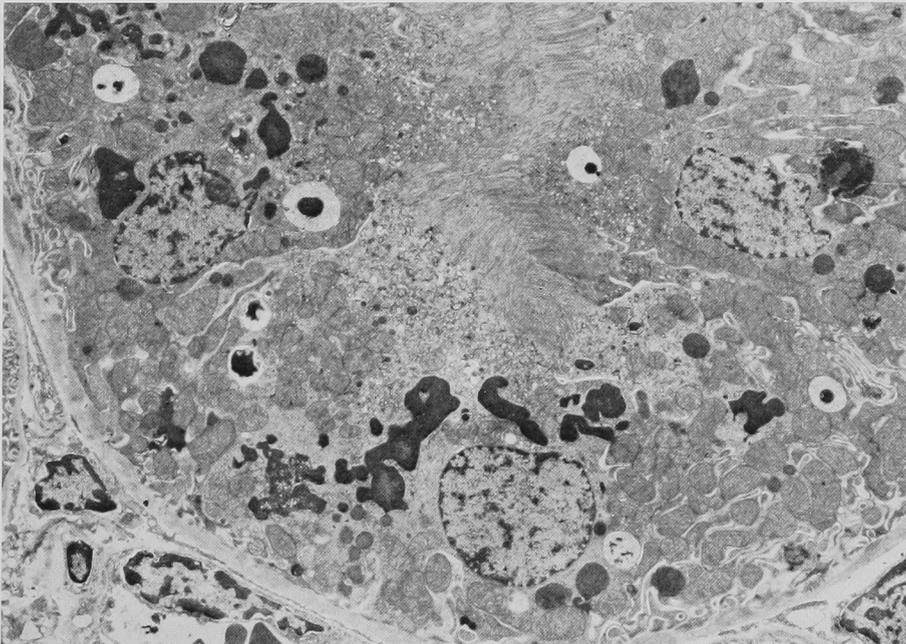


Photo. 14 Electronmicrograph of distal renal tubular epithelial cells from a male rat given CPZ at 4000 mg/kg/day for 6 months, i.p. There are no significant changes. Prefix.: glutaraldehyde, Postfix.: OsO₄, Stain: U+Pb ×10800

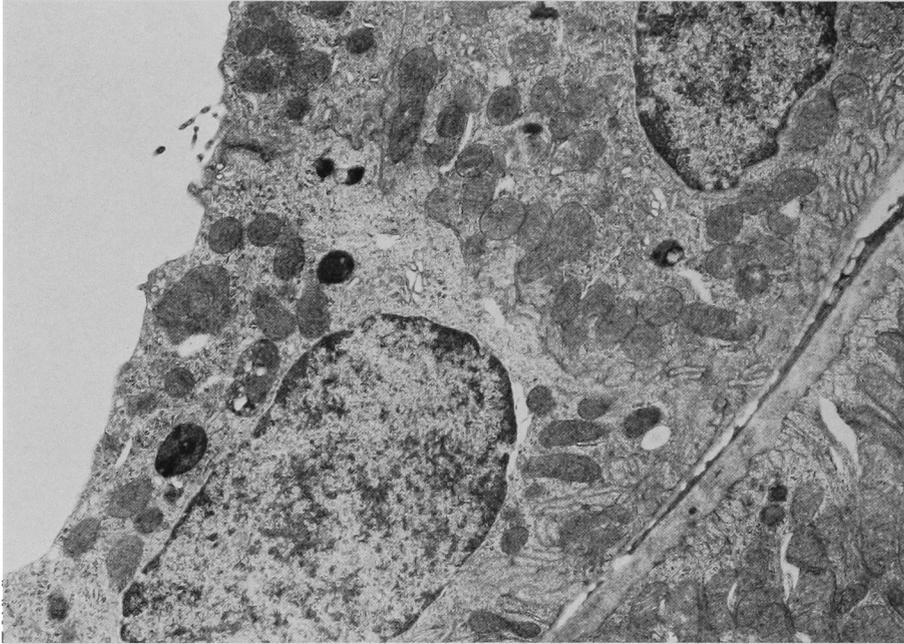
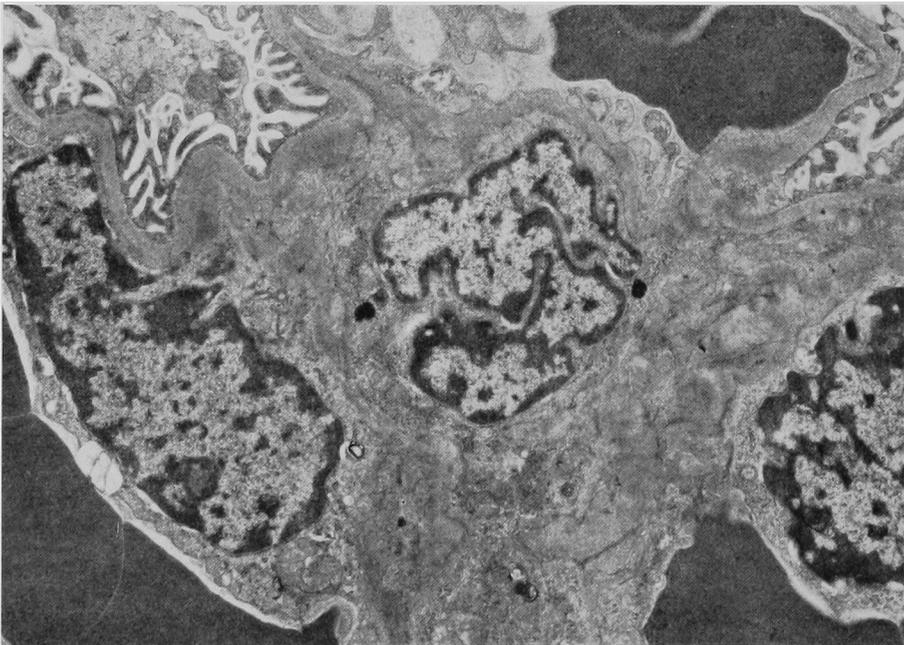


Photo. 15 Electronmicrograph of renal glomerulus from a male rat given CPZ at 4000 mg/kg/day for 6 months, i.p. There are no significant changes. Prefix.: glutaraldehyde, Postfix.: OsO₄, Stain: U+Pb ×9000



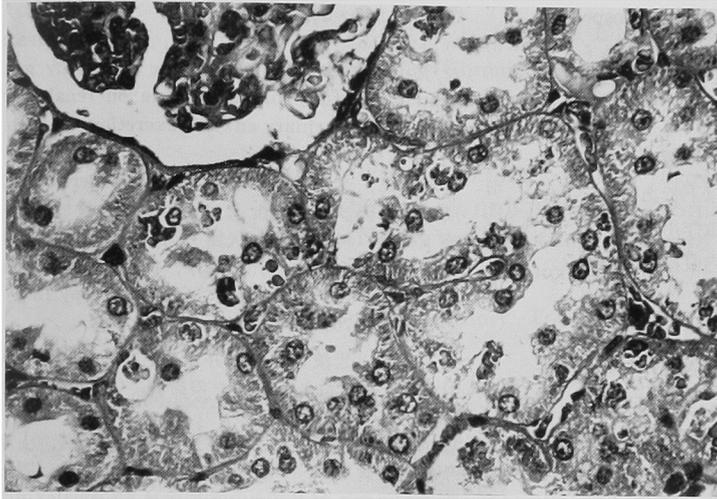


Photo. 16 The kidney from a male recovery rat receiving CPZ at 2000 mg/kg/day for 6 months, i p. Slight hyaline droplet degeneration of the proximal tubular epithelium is observed. $\times 430$ H. E. staining

1000, 500 mg/kg) を行なった。

CPZ の 4000 mg/kg, 2000 mg/kg 投与群では, CET 2000 mg/kg 投与群とほぼ同等か, 若干軽い writhing が投与直後に一過性に認められたほか, 約10日を過ぎる頃から軽い軟便や下痢が出現した。発育に対しては, 1 カ月投与亜急性毒性試験では 4000 mg/kg 投与群の雄にのみ, CET 2000 mg/kg 投与群より軽度の発育抑制をみたに過ぎなかったが, 慢性毒性試験の 6 カ月後の体重では雌雄各群に発育の抑制が現われていた。これらの発育抑制のみられた群では, 摂餌量に明瞭な減少はみられなかったが, 摂水量がほぼ投与量に比例して軽度増加していた。この飲水量増加に伴う尿量増加が 6 カ月後尿検査の 4000 mg/kg 投与群雌雄に認められた。また, この群では尿量の増加に加えて尿中 Na 総排泄量の軽度の増加がみられたが, 血清中の Na には変動が認められなかった。血液検査, 血液化学検査の結果には, 亜急性, 慢性毒性とも CPZ 投与に起因すると思われる異常がなかった。

病理学的検索では, 各群の雌雄ほぼ全例に投与量に比例した盲腸腔の拡大が観察された。また腹腔内には, CPZ の局所刺激作用によると思われる腹膜の充血, 腹水貯留, 肝, 脾, 膵の周囲炎, 腹腔諸臓器の癒着などの所見が高用量群の多数例に認められた。慢性毒性にのみ認められた途中死亡例の死因は, そのほとんどが誤投与によるものであった。組織学的には, これら腹膜炎の所見に加えて, 腎近位尿細管上皮の硝子滴変性(大小不同の淡黄紅色の滴状物の出現)が亜急性, 慢性毒性を通じて 4000 mg/kg 投与群の雌雄ほぼ全例に認められた。2000 mg/kg 投与群では, 1 カ月後に一部の動物にこの変性

がみられたに過ぎなかったが, 6 カ月後ではほぼ全例に出現していた。

光学顕微鏡下で滴状変性を認めた腎近位尿細管上皮を電子顕微鏡的に観察すると, その細胞質中には telolysosome とみられる cytosome のほかに, 不規則な形態を有する電子密度の高い, 均一に染まる cytosome が出現していた。しかし, この近位尿細管上皮には, cephaloridine^{4,5)} (CER) や gentamicin⁵⁾ で報告されているような less dense body や myeline figure の出現, intercellular space の開大, lysosome 膜の破壊などの細胞破壊性の初期変化は全くみられず, 細胞内小器官にも形態的異常を認めなかった。この電子密度の高い不定形の cytosome は, ceftazole や CET をラットに投与した場合に近位尿細管上皮に出現する heterolysosome⁴⁾ と同じものと推定される。光学顕微鏡で認められた一部尿細管上皮の崩壊は, 電子顕微鏡的にとらえることができなかった。この近位尿細管上皮の滴状物出現は, 1 カ月間の休業期間を置いた後は軽減されており, 上皮の脱落も認められないことから可逆的な変化と思われた。高用量群で, 胸腺の皮質リンパ球減少が認められた。

以上の結果から, 本実験で認められた発育抑制は, 局所刺激作用を有する CPZ を腹腔内に注入したために発生した腹膜炎と, 腹膜刺激による腸管運動抑制に起因するものと推定され, 4000 mg/kg 6 カ月投与でみられた尿量増加, 摂水量増加, 尿中 Na 総排泄量の軽度増加は前記の腹水貯留に基づく反応であろうと思われた。CPZ の局所刺激作用を, ウサギ外側広筋注射による CER, CET CEZ のそれらと比較すると, これら薬剤と同等か, あるいは若干弱いことが知られている⁹⁾。各投与群にはほぼ投

与量に比例して観察された盲腸腔の拡大は cephalosporin 系抗生物質⁷⁻¹³⁾ や他の抗生物質^{14, 15)} に共通してみられる腸内細菌叢変動によると推定されている変化であり、軟便や下痢はこれに基づくものと思われた。

本実験の慢性毒性試験における最大無作用量は、発育抑制を指標としてみた場合は500mg/kg以下であった。しかし、その発育抑制の原因は、局所刺激作用を有するCPZを、通常臨床的に使用されない腹腔内直接注入を行なったために生じたものと思われるので、これを除外し、腎近位尿管上皮変性の認められない最大量である500mg/kgと判断する方が妥当であろうと思われた。

本実験の遂行にあたり、組織標本の診断とご校閲を賜った金沢大学医学部第2病理学教室 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 伊山照美、鷲塚康子、古川裕美、本田清美の各氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 才川 勇, 高野俊太郎, 桃井海秀, 高倉 勇, 工谷千栞, 落合裕一, 吉田長作, 保田 隆, 滝 秀雄: β -ラクタム系抗生物質の薬学的研究 (第8報) 7-D[(-)- α -(4-alkyl-2, 3-dioxo-1-piperazinecarboxamido) phenylacetamido] cephalosporanic acid 類の合成ならびに構造-抗菌活性. 薬学雑誌 99(9): 929~935, 1979
- 2) MITSUHASHI, S.; N. MATSUBARA, S. MINAMI, T. MURAOKA, T. YASUDA & I. SAIKAWA: Antibacterial activity of a new semisynthetic cephalosporin, T-1551. 18th Interscience Conference on Antimicrob. Agents & Chemother., Abstract, No. 153, Atlanta, 1978
- 3) 米田豊昭, 正谷博之, 柴田哲夫, 中田弘子, 河村泰仁, 佐藤 盛, 長沢峰子, 滝本陽子, 高井 明: Cefoperazone (T-1551) の毒性試験 (第1報) マウス, ラットおよびイヌでの急性毒性試験. Chemotherapy 28(S-6): 179~188, 1980
- 4) WATANABE, M.: Drug-induced lysosomal changes and nephrotoxicity in rats. Acta Path. Jap. 28(6): 867~889, 1978
- 5) WELLWOOD, J. M.; D. LOVELL, A. E. THOMPSON & 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
- 6) 中村昌三, 米田豊昭, 高井 明: Cefoperazone の局所障害性試験. Jap. J. Antibiotics 投稿中
- 7) 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(1): 22~38, 1970
- 8) 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(5): 528~543, 1970
- 9) 峰下鎮雄, 村岡義博, 矢原 功, 狗田忠義, 上原今朝生, 倉本ユミノ, 岡 英子, 川口順子, 岡田照子: マウスおよびラットにおける Cephalixin の毒性試験. Clinical Report 3(6): 18~44, 1969
- 10) 林 裕造, 古川 仁, 川野裕次, 吉田 正: 静脈注射による Cephalothin のラットにおける亜急性毒性試験. Jap. J. Antibiotics 28(2): 231~242, 1975
- 11) 松崎明紀, 吉田昭雄, 土田 稔, 奥山大輔, 関野実, 佐村恵治, 福島順乃, 浅野昌子: Cefatrizine (S-640P) の毒性に関する研究, 第3報, ラットにおける慢性毒性. Jap. J. Antibiotics 29(6): 670~686, 1976
- 12) 高山 敏, 古浜和久, 加藤道幸, 山田明甫, 小野寺威, 小河秀正, 秋本 健: Cefoxitin の安全性に関する研究, 第1報, 急性, 亜急性および慢性毒性. Chemotherapy 26(S-1): 150~175, 1978
- 13) 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: Ceftezole の一般毒性および胎仔への影響. Chemotherapy 24(4): 671~702, 1976
- 14) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the cecum and its flora produced by antibacterial drugs. J. Exptl. Med. 128: 97~110, 1968
- 15) BOYD, E. M. & M. J. SELBY: The chronic oral toxicity of benzylpenicillin. Antibiot. Chemotherapy 12: 249~262, 1962

TOXICITY TEST OF CEFOPERAZONE (T-1551) (II):

Subacute and Chronic Toxicity Tests in Rats with
Intraperitoneal Administration

TOYOAKI YONEDA, TETSUO SHIBATA, HIROYUKI MASATANI,
SHIGERU SATO, YASUHITO KAWAMURA, SHINICHI IWASAKI,
AKIO NAGAI, YOKO TAKIMOTO, MINEKO NAGASAWA
and AKIRA TAKAI

Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

Cefoperazone (CPZ, T-1551) is a newly developed cephalosporin antibiotic which has been demonstrated to be bactericidal not only against gram-positive bacteria but also against gram-negative bacteria, especially *Pseudomonas* and *Enterobacter*. The present study was conducted to evaluate the subacute and chronic toxicities of CPZ administered to rats daily by intraperitoneal injection. Rats (72 males, 72 females) divided into four CPZ groups at dose levels of 4000, 2000, 1000 and 500 mg/kg/day, a cephalothin (CET) group at dose level of 2000 mg/kg/day and a saline control group were injected intraperitoneally once a day, 7 day a week, for a month in the subacute toxicity. Rats (100 males, 100 females) divided into four CPZ groups at the above dose levels and a saline control group were injected 6 days a week, for six months in the chronic toxicity.

The results obtained are as follows:

1) Temporary writhing was observed immediately after injection in rats receiving the higher doses of CPZ and CET. Soft stool and diarrhea appeared sporadically in the same groups.

2) The body weight gain was depressed in rats at 4000 mg/kg/day of CPZ for a month, and was also depressed in rats at 4000, 2000, 1000 and 500 mg/kg/day of CPZ for six months.

3) Increase in urine volume and excretion of Na into urine were found at the termination of the dosing period in male and female rats receiving 4000 mg/kg/day of CPZ for six months.

4) Dose-related enlargement of the lumen of the cecum was observed in male and female rats treated with CPZ or CET. In addition rats receiving the higher doses of CPZ or CET had the symptom of peritonitis, such as hyperemia of the peritoneum, ascites, perihepatitis, perisplenitis, peripancreatitis and so on in both subacute and chronic toxicities.

5) Hyaline droplet degeneration in the proximal tubular epithelium was observed in rats receiving up to 1000 mg/kg/day of CPZ. This change was tended to be recovered in rats of recovery test.

6) Thus, the no effect intraperitoneal dose level of CPZ in rats was thought to be 500 mg/kg/day from the present experiment.