

## 6059-S のラットにおける亜急性毒性試験

小林文彦・古川 仁・長谷川紀昭・吉崎敏夫・原田喜男

塩野義製薬株式会社研究所

SPRAGUE-DAWLEY 系ラット雌雄に 6059-S の 760, 1,260, 2,100 および 3,500 mg/kg と CEZ の 760, 1,260 mg/kg を 1 日 1 回連続 35 日間静脈内投与し、毒性を比較検討した。なお、一部の動物については、最終投与後、さらに 28 日間の休薬期間をおき回復性をみた。

6059-S の高用量投与群と CEZ 投与全群に、毎回の投与後一過性の呼吸困難や脱力および顔面浮腫などがみられ、投与期間中、6059-S 3,500 mg/kg 投与群の雌雄各 2/16 例と CEZ 1,260 mg/kg 投与群の雄 10/24 例が、いずれも急性中毒症状を呈して死亡した。

投与期間終了時点の血液検査で 6059-S 3,500 mg/kg 投与群に軽度の貧血がみられた。生化学分析では、CEZ 投与群に血漿 GOT, GPT 活性の著しい低下があった。病理所見では、6059-S および CEZ 投与全群の盲腸の異常拡張を認めたのみで、その他に特記すべき著変はなかった。なお、以上の変化は、投与中止後の回復試験ですべて良好な回復性を示した。

以上の結果から、6059-S のラットでの最大無作用量は 1,260 mg/kg と判断され、また、CEZ との毒性比較において、6059-S は毒性が極めて弱く、安全性の高い化合物と結論された。

## 緒 言

6059-S は、塩野義製薬研究所で合成された Oxacephem 系抗生物質で、細菌学的に広範囲な抗菌スペクトラムを有し、特にグラム陰性菌に対して優れた効力を有すると報告されている<sup>1)</sup>。一方、急性毒性試験における他の抗菌薬との比較でも、毒性が最も弱い部類に属し、安全性が高いことを特徴とする化合物である<sup>2)</sup>。今回、ラットにおいて、1 日 1 回連続 35 日間の静脈内投与による亜急性毒性試験を実施したので、これについて報告する。なお、実験は 1978 年 1 月～5 月に行なった。

## 実験材料および方法

## 1. 実験動物

6059-S の急性毒性試験で、SPRAGUE-DAWLEY, FISCHER 344 および WISTAR 系ラット間においてその毒性に著しい系統差はみられなかったので、本実験には、雌雄の SPRAGUE-DAWLEY 系ラットを用いることにした。

3 週令の SPRAGUE-DAWLEY 系ラット (JCL-SD, 日本クレア) を購入し、1 週間、ラット飼育室に馴化させ、4 週令で実験に供した。実験開始時体重は、雄 88±2 g、雌 84±1 g であった。ラットは 1 ケージ (W 40×L 50×H 20 cm) あたり 4 匹を収容し、室温 24～26°C、相対湿度 45～65%、午前 7 時より 12 時間照明で調節されたラット飼育室で飼育した。固型飼料 (CA-1, 日本クレア) および水 (市水道水) は、全期間を通じて自由に摂取させた。

## 2. 検体

6059-S (Lot No. A03, B04) および対照薬として

Cefazolin sodium (CEZ, 市販品) を用いた。6059-S と CEZ の投与溶液調製は、毎回投与直前に、注射用蒸留水に 25% (w/v) の濃度に溶解し、Sartorius membrane filter (Milipore, 0.45 μ, HA) で濾過して使用した。

## a) 投与量選択の根拠と投与量群

6059-S の同系ラットでの急性毒性試験の成績を参考とし、なんらかの毒性が予想される LD<sub>50</sub> 値の約 1/2 量、すなわち、3,500 mg/kg を最高投与量として設定した。また、6059-S の急性毒性試験および既知の Cephalothin sodium の急性・亜急性毒性試験成績の対比などから、6059-S の最大無作用量は約 1,000 mg/kg と推定されたので、本実験では 760, 1,260, 2,100 および 3,500 mg/kg の 4 用量 (公比 1.67) を設定した。対照群としては、6059-S 2,100 mg/kg 投与群と等容量 (0.0082 ml/g B. W.) の 0.9% 食塩水投与群を設け、さらに、6059-S と等浸透圧を示す 3.3% 食塩水 (0.014 ml/g B. W.) 投与群を雄実験群にのみ設定した。対照薬 CEZ は、当初、雄実験群に 1,260 および 2,100 mg/kg の 2 群を設けたが、両群とも投与継続中に死亡例が多発し、2,100 mg/kg 投与群では、動物は投与継続に耐容し得ないと判断されたので、投与開始後 12 日目に生存していた 3 例も屠殺して、本実験から除外し、あらたに 760, 1,260 mg/kg の 2 群を設けた。

## b) 投与方法と投与期間

6059-S のヒト臨床投与経路に準じて静脈内投与とし、1 日 1 回、連続 35 日間尾静脈内に投与した。なお、検

体の投与速度は、6059-S の場合は 0.05 ml/sec. 以下とし、CEZ 投与群では技術的に可能な限り遅い速度 (0.02 ml/sec. 以下) で投与した。6059-S, CEZ 各投与群の一部を、最終投与終了後 28 日間の休薬期間をおき回復試験群とした。諸成績の統計処理は STUDENT の t 検定を行った。

### 3. 観察項目

#### 1) 一般状態

一般症状および途中死亡の観察、さらに体重測定は、毎日行った。回復試験期間中のこれらの観察、測定は 5 日毎に実施した。摂餌量、摂水量、便潜血検査ならびに性周期の観察などは定期的に行った。また、検体投与期間の後期数日間にわたって、耳介反射や警戒反応などを指標として聴覚器検査を実施した。

#### 2) 尿検査

尿検査は、投与開始後 30 日目と回復試験 24 日目に 16 時間尿 (午後 5 時～午前 9 時) を採取し、色調、尿量、浸透圧、pH, protein, glucose, keton 体、潜血 (Labstix, AMES), urobilinogen (Urobilistix, AMES) などの諸項目について検索、測定した。

#### 3) 血液検査

血液検査は、投与開始後 33 日目と回復試験 27 日目に各実験群の 3～9 例について、次の諸項目、すなわち、RBC, WBC count (コールターカウンター法), Hb (シアンメトヘモグロビン法), Ht (毛細管法), reticulocyte (ニューメチレンブルー、超生体染色), WBC analysis (メイギムザ染色), platelet count (コールターカウンター法) を測定した。

#### 4) 血液生化学検査

検体の最終投与終了翌日および回復試験 28 日目に、Somnopentyl® 麻酔下にて下大静脈より採血、血漿を分離して、生化学分析を行った。測定項目のうち、total protein, albumin, glucose, total bilirubin, urea nitrogen, creatinine, total cholesterol, alkaline phosphatase (AL-P), lactic dehydrogenase (LDH), transaminase (GOT, GPT) についてはオートアナライザー (SMA plus Microsystem) を用いて行い、また、phospholipid, triglyceride, protein fraction, LDH isozymes, Na, K, Cl, Ca, Mg, Fe の測定を別に行った。

#### 5) 6059-S と CEZ の血中濃度

初回、15 日目、35 日目投与の 3 時点に、それぞれ 15 分目と 60 分目に尾尖端切断により採血して、6059-S の場合には *E. coli* 7437 を、CEZ の場合には *B. subtilis* ATCC 6633 をそれぞれ検定菌として帯培養法により両検体の血中濃度を測定した。

#### 6) 機能検査

I) BSP 検査: 投与開始後 27 日目に各実験群の 7 例につき、BSP を 50 mg/kg の割合で 1 回静脈内投与し、投与後 15 分目に尾尖端切断により採血し、血漿中の BSP 濃度を測定した。

II) 眼検査: 投与開始後 29 日目と回復試験 26 日目に雌雄各群の 4 例について、無麻酔下で散瞳剤 (Mydrin-P®) を点眼し、眼底カメラ (Kowa, RC-2) で眼底の色調、血管の性状および出血性変化の有無について観察した。

#### 7) 病理組織学的検査

I) 肉眼所見: 途中死亡例は全例死後速やかに、また、実験の所定期間生存した例は生化学検査用の採血後、左右腋窩動脈切断により放血屠殺し、諸臓器および組織を肉眼的に観察した。

II) 臓器重量: 解剖後、脳 (小脳を含む)、心、肺、肝、腎、脾、膵 (splenic segment)、盲腸 (内容物を含む)、下垂体、胸腺、顎下腺、副腎、甲状腺、腰部リンパ節、精巣、精囊、前立腺、卵巣、子宮をそれぞれ摘出し、重量を測定した。

III) 組織学的検索: 上記重量測定臓器のほか、胃、小腸 (空、回、回盲部)、結腸、腸間膜リンパ節、乳腺、腔、膀胱、骨髄、皮膚 (背部) および尾部注射局所を加えたものを 10% 中性緩衝ホルマリン液に、また、眼球はブアン液にそれぞれ固定後、常法に従い、パラフィン切片作製後、Hematoxylin-Eosin 染色、必要に応じて PAS, Azan, Sudan III および PAS-Trichrome 染色を施して、光顕的に観察した。その他、腎の一部を冷ホルマリン・カルシウム液に 24 時間固定後、凍結切片を作製し、酸性フォスファターゼ染色を行った。

IV) 電顕的検索: 解剖時、各投与群 2 例ずつの肝および腎について電子顕微鏡用標本作製した。すなわち、3% glutaraldehyde および 2% osmic acid で二重固定後、常法に従って ethanol 系列による脱水を行い、Luft の方法に従って Epon 包埋を行った。超薄切片は、ウラン-鉛で二重染色後、JEM-100 B 型電子顕微鏡にて観察を行った。

## 実験結果

### 1. 一般状態

6059-S 3,500 mg/kg 群に、投与直後一過性の呼吸粗大、脱力および後肢麻痺を併った歩行失調がみられ、やがて自発運動の低下とともに腹臥位をとったが、ほぼ 20 分後には回復が認められ、漸次活発な自発運動を示した。

同様の症状が 6059-S 2,100 mg/kg および 3.3% 食塩水群の少数例にも認められたが、症状は軽度で、回復も速やかであった。6059-S 1,260 mg/kg 以下の投与群

Table 1 Experimental groups and fate of animals in subacute toxicity of 6059-S in rats

Sex	Group		No. of initial rats	Cumulative mortality during the administration period, day									No. of rats sacrificed on day	
	Compound	Daily dose (mg/kg)		0	2	8	17	25	26	27	28	35	35th	62nd
Male	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	16	0/16 <sup>a)</sup>	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
	3.3% Saline	1.40 ml/100 g BW	12	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/12	7	3 <sup>△</sup>
	6059-S	760	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		1,260	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		2,100	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		3,500	16	0/16	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16	2/16	2/16	9	4
	CEZ	760	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		1,260	24	3/24	3/24	6/24	8/24	8/24	8/24	8/24	10/24	10/24	8	5 <sup>▲</sup>
Female	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
	6059-S	760	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		1,260	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		2,100	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		3,500	16	0/16	0/16	0/16	1/16	2/16	2/16	2/16	2/16	2/16	9	4
	CEZ	760	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5
		1,260	16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	9	5

a) Died/Tasted

△ Sacrificed on 61st day

▲ Sacrificed on 6th day

では変化を認めなかった。以上の所見は、投与期間初期の毎回投与時にみられたが、症状の程度は投与回数の増加につれ軽減する傾向が認められたが、投与開始後2週間目頃からは投与忌避反応が現れた。その他、6059-S 2,100 mg/kg 以上の投与群の少数例に、投与中あるいは投与直後の流涎や投与後2~4時間目頃に顔面浮腫を示す例などが認められた。投与開始後7日目頃から検体投与全群に腹部の膨満がみられるようになり、それにとまって軟便あるいは下痢を呈する例がいずれの投与群にも少数例にみられ、その頻度および程度は経日的に増加傾向がみられた。

CEZ 投与群では、6059-S と同様に検体投与後一過性の脱力、呼吸粗大および自発運動の低下があり、それら症状は投与回数の増加につれ軽減する傾向が認められた。その他、顔面浮腫、腹部膨満、軟便あるいは下痢も認められ、いずれの症状も6059-S に比してやや強い傾向がみられた。

## 2. 途中死亡例 (Table 1)

6059-S 投与群では、3,500 mg/kg 投与群にのみ死亡例がみられ、雄では投与開始後2日目と28日目に各1例、雌では16日目と25日目に各1例が死亡した。死亡例は、いずれも検体投与後、脱力、呼吸粗大、四肢・耳介の貧血および自発運動の消失を示し、腹臥位を維持するうち、3~5分後に突発的に泣鳴を発し、拳尾反応をとめない異常興奮状態となり、やがて後弓反張あるいは強直性痙攣をとまって投与後10~60分以内に

死亡する急性中毒死によるものであった。

CEZ 投与群では、1,260 mg/kg 投与雄群に死亡例の多発があり、投与期間中を通じて10/24例が死亡した。死亡例は、いずれも6059-Sの投与群の死亡例と同様に投与後50分以内に死亡する急性中毒死の型を示した。

## 3. 体重変化 (Fig. 1, 2)

6059-S の3,500 mg/kg 投与雄群に投与開始後11日目頃より体重の増加抑制があり、投与終了時点において対照群との間に有意差 ( $P < 0.01$ ) のある減少が認められた。他の投与群には変化が認められなかった。

6059-S 投与雌群においては著しい変化はみられなかった。なお、回復試験では6059-S 投与雄群全群に著しい成長がみられ、対照群に勝る体重増加率が認められた。

## 4. 摂餌量

6059-S および CEZ 投与全群に投与開始初期に一過性の摂餌量減少が認められた。ほとんどの群は、その後漸次回復を示したが、6059-S 3,500 mg/kg 投与雄群にのみ体重の変動に対応した摂餌量減少があり、投与終了時点で食餌効率の減少が認められた。回復試験では、対照群と同様、一定した摂餌を示した。

## 5. 摂水量

3.3% 食塩水投与雄群を含む6059-S および CEZ 投与全群に摂水量の増加があり、検体の投与期間中を通じて、雄群では投与中期と後期に、雌群では投与初期と中期に、摂水量増加が認められた。回復試験期には、対照

Fig. 1 Body weight changes of male rats during and after the intravenous administration of 6059-S or CEZ for 35 days

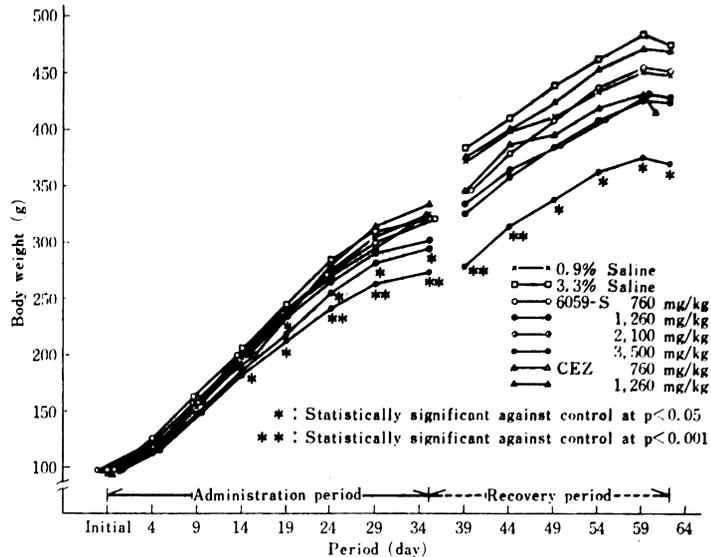
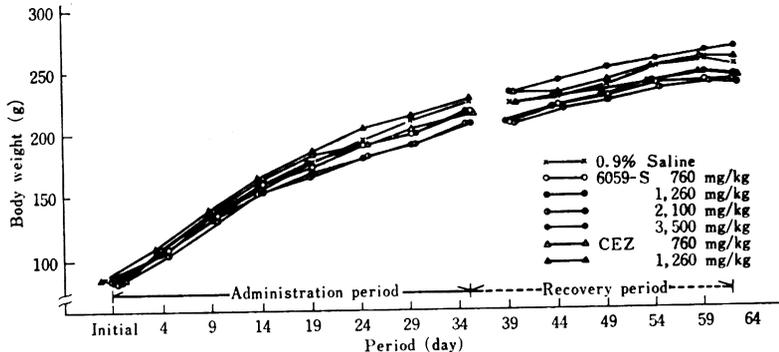


Fig. 2 Body weight changes of female rats during and after the intravenous administration of 6059-S or CEZ for 35 days



群との差がなくなった。

#### 6. 糞便潜血検査

6059-S および CEZ の投与開始初期, 中期および後期いずれの時点においても異常を認めなかった。

#### 7. 性周期

6059-S および CEZ 全投与群において, 特に目立った変化を認めなかった。

#### 8. BSP 検査

6059-S および CEZ 投与全群に, BSP の排泄遅延を示唆する値はみられず, むしろ, 6059-S 3,500 mg/kg 投与雌群では排泄の亢進傾向がみられた。

#### 9. 眼検査

雌雄の 6059-S 3,500 mg/kg 投与群および CEZ 1,260 mg/kg 投与群の視診および眼底検査で角膜, 水晶体に異常はみられず, 眼底の色調, 血管の性状等にも変化はまったく認められなかった。

#### 10. 聴器検査

6059-S および CEZ 投与全群に平衡障害はまったく認められず, 正向反射も正常で, 外部刺激音に対する耳介反射および警戒反射にも異常はみられなかった。

#### 11. 尿検査

6059-S および CEZ の投与開始後 30 日目から 31 日目にわたって採取した 16 時間尿で, 検体投与全例に pH の低下傾向がみられた以外には, 著しい変化を認め

Table 2 Hematological findings of rats given intravenous administration of 6059-S or CEZ for 33 days

Sex	Compound	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	R.B.C.				W.B.C.				Platelet ( $\times 10^7$ /cmm)				
				Counts ( $\times 10^7$ /cmm)	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCV ( $\mu^2$ )	MCH ( $\mu\text{g}$ )	MCHC	Reticulocyte (%)	Counts ( $\times 10^7$ /cmm)		Exs.	Neuro.	Lymph.	Mono.
Male	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	9	7.36 $\pm$ 0.13 <sup>a)</sup>	16.0 $\pm$ 0.4	48.3 $\pm$ 0.8	65.7 $\pm$ 0.5	21.8 $\pm$ 0.3	33.2 $\pm$ 0.6	2.31 $\pm$ 0.37	13.3 $\pm$ 0.4	1.2	9.4	87.2	2.1	253 $\pm$ 9
		1.40 ml/100 g BW	9	7.28 $\pm$ 0.27	16.3 $\pm$ 0.6	48.9 $\pm$ 1.8	67.2 $\pm$ 1.4	22.5 $\pm$ 0.3	33.6 $\pm$ 0.9	2.49 $\pm$ 0.35	12.1 $\pm$ 0.6	2.0	9.3	86.7	2.0	260 $\pm$ 12
	6059-S	760	9	7.37 $\pm$ 0.15	16.2 $\pm$ 0.2	48.3 $\pm$ 1.1	65.9 $\pm$ 2.4	22.0 $\pm$ 0.3	33.5 $\pm$ 0.8	2.00 $\pm$ 0.24	12.8 $\pm$ 0.6	1.3	8.3	89.4	0.9	227 $\pm$ 11
		1,260	9	6.97 $\pm$ 0.09*	15.5 $\pm$ 0.2	47.7 $\pm$ 0.7	67.3 $\pm$ 1.4	22.0 $\pm$ 0.3	33.3 $\pm$ 0.8	2.29 $\pm$ 0.09	13.9 $\pm$ 0.4	1.1	9.1	88.3	1.5	235 $\pm$ 8
		2,100	9	7.07 $\pm$ 0.11	15.5 $\pm$ 0.2	47.4 $\pm$ 0.7	67.2 $\pm$ 1.1	21.9 $\pm$ 0.3	32.6 $\pm$ 0.5	2.08 $\pm$ 0.26	13.2 $\pm$ 0.6	1.0	6.4	91.1	1.4	236 $\pm$ 5
	CEZ	760	9	6.42 $\pm$ 0.11**	14.1 $\pm$ 0.2**	42.3 $\pm$ 1.6**	65.7 $\pm$ 1.8	21.9 $\pm$ 0.3	33.6 $\pm$ 0.9	4.23 $\pm$ 0.63*	13.9 $\pm$ 1.2	0.6	7.2	90.5	1.7	231 $\pm$ 13
1,260		9	6.69 $\pm$ 0.10	14.8 $\pm$ 0.2	48.2 $\pm$ 0.5	72.2 $\pm$ 1.0	22.1 $\pm$ 0.3	30.7 $\pm$ 0.2	1.18 $\pm$ 0.14	15.0 $\pm$ 1.3	1.2	11.2	86.6	1.0	311 $\pm$ 18	
Female	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	9	7.05 $\pm$ 0.15	15.6 $\pm$ 0.3	48.1 $\pm$ 1.1	68.3 $\pm$ 1.2	22.1 $\pm$ 0.1	32.4 $\pm$ 0.4	2.43 $\pm$ 0.54	14.2 $\pm$ 0.7	0.6	10.0	88.3	1.1	239 $\pm$ 13
		1.40 ml/100 g BW	9	6.43 $\pm$ 0.10 <sup>a)</sup>	14.6 $\pm$ 0.2	47.6 $\pm$ 0.9	74.1 $\pm$ 1.8	22.7 $\pm$ 0.4	30.8 $\pm$ 0.5	0.86 $\pm$ 0.09	12.5 $\pm$ 0.2	1.2	7.7	89.3	1.8	264 $\pm$ 11
	6059-S	760	9	6.51 $\pm$ 0.11	14.8 $\pm$ 0.1	46.7 $\pm$ 0.7	71.9 $\pm$ 1.6	22.8 $\pm$ 0.4	31.8 $\pm$ 0.5	0.88 $\pm$ 0.12	11.0 $\pm$ 0.8	1.3	11.0	86.7	1.0	274 $\pm$ 8
		1,260	9	6.57 $\pm$ 0.08	14.6 $\pm$ 0.1	46.6 $\pm$ 0.7	71.0 $\pm$ 1.2	22.2 $\pm$ 0.3	31.4 $\pm$ 0.4	1.12 $\pm$ 0.18	11.4 $\pm$ 1.2	1.4	11.2	87.1	0.2*	264 $\pm$ 9
		2,100	9	6.20 $\pm$ 0.06	13.9 $\pm$ 0.2*	45.6 $\pm$ 0.8	73.5 $\pm$ 1.3	22.4 $\pm$ 0.2	30.6 $\pm$ 0.4	1.94 $\pm$ 0.45*	13.9 $\pm$ 2.4	2.1	8.0	89.3	0.6	274 $\pm$ 12
	CEZ	760	9	5.70 $\pm$ 0.21**	13.2 $\pm$ 0.4**	43.2 $\pm$ 1.1**	76.4 $\pm$ 2.4	23.3 $\pm$ 0.4	30.6 $\pm$ 0.5	2.94 $\pm$ 1.12	17.8 $\pm$ 4.2	1.6	11.9*	85.7	0.9	253 $\pm$ 22
1,260		9	6.66 $\pm$ 0.12	15.0 $\pm$ 0.3	48.3 $\pm$ 1.1	72.6 $\pm$ 1.4	22.5 $\pm$ 0.3	31.0 $\pm$ 0.3	0.64 $\pm$ 0.13	10.5 $\pm$ 1.0	2.0	10.3	85.9	1.8	316 $\pm$ 11**	
			9	6.39 $\pm$ 0.07	14.7 $\pm$ 0.2	46.8 $\pm$ 0.7	73.3 $\pm$ 1.2	23.0 $\pm$ 0.2	31.4 $\pm$ 0.4	0.66 $\pm$ 0.10	12.3 $\pm$ 0.9	2.2	8.9	88.0	0.9	262 $\pm$ 10

a) Mean  $\pm$  S.E.\* Statistically significant against control at  $P < 0.05$ \*\* Statistically significant against control at  $P < 0.01$ 

なかった。

## 12. 血液所見 (Table 2)

6059-S 3,500 mg/kg 投与群に軽度の貧血, すなわち, 赤血球数, ヘモグロビン量とヘマトクリット値の減少ならびに網状赤血球比の増加が認められた。しかし, MCV, MCH, MCHC に変化はなかった。その他の群では著変はみられなかった。なお, 回復試験では, 貧血はみられず, 良好な回復性が認められた。

## 13. 6059-S と CEZ の血中濃度

6059-S と CEZ 投与群の初回, 15 回目および 35 回目投与時における血中濃度変化を Fig. 3, 4 に示した。6059-S および CEZ 投与群の各投与後 15 分目および 60 分目の血中濃度に良好な用量-濃度相関が認められ, 経時変化にも異常はみられず, 投与後 4 時間で血中濃度は測定限界にまで低下した。すなわち, 連日投与にもかかわらず, 6059-S の血中濃度には蓄積性は認められなかった。

## 14. 血液生化学検査

検体投与終了時点における血漿成分の分析値を Table 3-1~3-3 に, 回復試験の分析値を Table 4-1~4-3 に示した。

特徴的な変化として, GPT 値の用量作用関係をもった著しい減少が CEZ 投与群に認められた。これに対し, 6059-S 投与群にも軽度の減少傾向がみられたが, 用量依存性のない変動であった。GOT 値も 6059-S 投与群で減少傾向がみられたが, 用量作用関係もなく, CEZ 投与群のほうが減少の程度が大であった。その他, 6059-S 2,100 mg/kg 以上の投与雄群と CEZ 1,260 mg/kg 投与雌雄群に Triglyceride の低下がみられた (Table 3-2)。その他の指標には, 6059-S 投与全群に特記すべき変化を認めなかった。

回復試験終了時では, 上記変化は明瞭な回復性を示した (Table 4-1~4-3)。

## 15. 解剖時肉眼所見

途中死亡例: ほとんどの途中死亡例に共通した所見として, 肺に著しい出血性水腫がみられた。その他, 脳髄膜下出血, 腎髄質のうっ血, 腹腔内脂肪組織の減少, 盲腸の著しい拡張などがみられた他, 少数例に胸腺の出血や萎縮, 脾の貧血, 肝のうっ血と右心室の拡張などがみられた。なお, CEZ 1,260 mg/kg の 2 例 (28 日目死亡) と 6059-S 3,500 mg/kg の雌 2 例 (16, 25 日目死亡) では, 肺の障害は比較的軽く, 点状出血のみを認められたが, 腎は全体的に腫大を呈し, 皮質は貧血性で, 髄質には著しいうっ血がみられ, また, 脳髄膜下出血も強い傾向が認められた。

Fig. 3 Blood levels after daily repeated injection of 6059-S and CEZ in rats (JCL-SD, male)

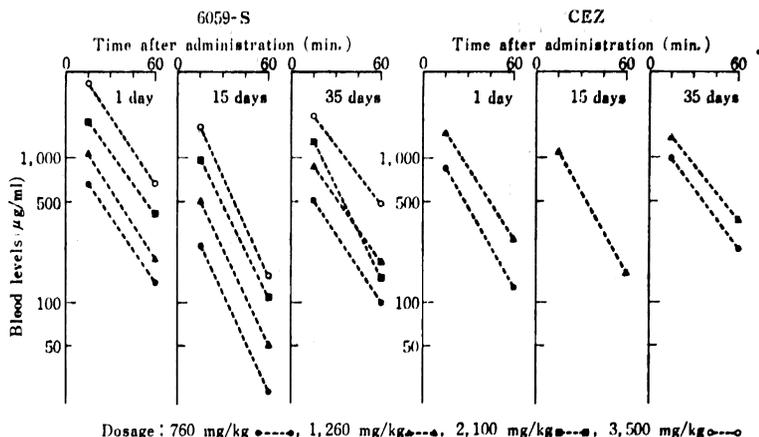
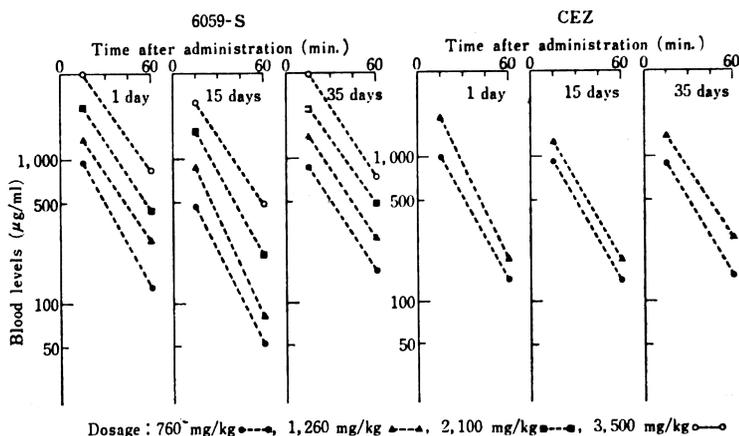


Fig. 4 Blood levels after daily repeated injection of 6059-S and CEZ in rats (JCL-SD, female)



投与終了時点の生存例：6059-S および CEZ 投与全群で盲腸の著明な拡張が認められ、その内腔に糞便粥 (loose stool) を充満し、6059-S 2,100 mg/kg 以上と CEZ 1,260 mg/kg 投与各雌雄群の腹腔内脂肪組織の減少、胸腺および肺の点状出血や小腸のパイエル氏腺の萎縮傾向等がみられた。これ以外には、特記すべき肉眼的異常はみられなかった。

#### 16. 臓器重量

雄で盲腸の相対ならびに絶対重量増加が 6059-S および CEZ 投与全群に、胸腺の重量減少が 3.3% 食塩水投与群を含む 6059-S 投与全群にみられ、また、心重量の減少が CEZ 1,260 mg/kg 群に認められた。

雌では、盲腸の重量増加と肝の重量減少が 6059-S お

よび CEZ 投与全群に、また、胸腺の重量減少あるいはその傾向が 6059-S の 1,260 mg/kg 以上と CEZ 投与全群に認められた。その他、卵巣の重量減少が CEZ 投与全群に認められた (Table 5-1, 5-2)。

以上の変化は、回復試験でいずれも良好な回復性が認められたが、一部の雌で、腎重量増加 (6059-S 3,500 mg/kg, CEZ 投与全群) と盲腸の重量増加 (6059-S 2,100 mg/kg, CEZ 投与全群) の回復にやや遅延を示した (Table 6-1, 6-2)。

#### 17. 病理組織所見

途中死亡例：6059-S 3,500 mg/kg 群の雄死亡例では、肺門部付近を中心として肺胞腔内に出血水腫を認めた。腎では、ボーマン嚢と皮質尿管の拡張、肝実質細

Table 3-1 Plasma analysis of rats intravenously administered 6059-S or CEZ for 35 days

Sex	Compound	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Glucose (mg/100 ml)	T. Protein (g/100 ml)	Albumin (g/100 ml)	Urea-N (mg/100 ml)	Creatinin (mg/100 ml)	T. Bilirubin (mg/100 ml)	LDH (mU/ml)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	ALP (mU/ml)	
Male	0.9% Saline		8	162.6±4.4 <sup>a)</sup>	5.29±0.07	3.15±0.03	22.9±0.6	0.39±0.01	0.20±0.00	936.3±84.0	116.4±4.9	37.8±2.1	250.1±17.9	
	3.3% Saline		7	162.1±4.4	5.37±0.08	3.13±0.05	23.4±1.2	0.40±0.00	0.20±0.00	397.3±63.5**	84.1±11.3*	37.6±8.6	270.4± 9.4	
	6059-S	760	9	162.8±1.9	5.26±0.08	3.08±0.03	21.8±0.9	0.40±0.00	0.10±0.00**	288.2±39.6**	82.2±4.0**	30.8±3.7	294.8±22.4	
		1,260	9	166.6±3.4	5.23±0.04	3.11±0.03	20.1±0.9	0.40±0.00	0.13±0.02	282.3±40.2**	73.2±2.7**	28.9±1.0**	289.8±16.5	
		2,100	9	155.9±2.3	5.29±0.06	3.09±0.03	20.8±0.7	0.39±0.01	0.10±0.00	293.8±53.0**	77.8±3.9**	29.7±2.1*	267.6±18.2	
		3,500	9	159.1±4.8	5.07±0.08	2.97±0.05*	21.9±1.5	0.41±0.01	0.13±0.02	411.1±131.9**	92.6±7.3*	33.8±1.1	289.8±24.8	
	CEZ	760	9	168.2±2.4*	5.76±0.07	3.37±0.04	21.8±0.4	0.50±0.00	0.22±0.01	203.4±15.4	76.7±4.1	14.4±2.0**	294.8±24.2	
		1,260	8	178.8±13.2	5.39±0.08	3.25±0.05	20.5±0.9	0.41±0.01	0.19±0.01	315.5±52.8**	71.4±4.9**	11.0±0.7**	310.1±43.8	
		0.9% Saline		9	155.3±3.1	5.84±0.11	3.28±0.07	25.4±0.9	0.49±0.01	0.23±0.02	312.7±57.2	81.4±3.6	27.8±1.3	187.0±10.3
	Female	6059-S	760	9	158.9±2.4	5.63±0.08	3.36±0.07	22.1±1.2	0.52±0.01	0.20±0.00	159.1±13.0*	67.9±2.0**	23.7±1.0*	163.6±18.8
		1,260	9	191.2±27.6	5.58±0.08	3.27±0.05	28.3±2.2	0.56±0.03	0.20±0.00	234.9±44.7	78.3±3.9	23.6±1.3*	195.4±15.6	
		2,100	9	145.1±2.6*	5.50±0.04	3.16±0.03	23.0±0.8	0.49±0.01	0.20±0.00	241.9±33.9	78.3±3.2	24.3±1.1	184.6±19.8	
		3,500	9	143.2±1.5**	5.60±0.08	3.20±0.05	27.1±1.0	0.50±0.00	0.20±0.00	153.2±20.1*	78.1±2.5	25.7±0.7	185.1±18.2	
CEZ		760	9	160.2±2.2	5.61±0.10	3.39±0.05	17.4±0.7	0.49±0.01	0.23±0.02	227.1±61.5	73.3±4.7	10.7±0.9**	160.2±20.4	
		1,260	9	154.4±3.8	5.83±0.09	3.43±0.07	19.9±0.8	0.51±0.02	0.21±0.01	167.6±16.7*	60.8±1.8**	7.7±0.8**	150.6±16.6	

a) Mean ± S.E.

\* Statistically significant against control at P&lt;0.05

\*\* Statistically significant against control at P&lt;0.01

Table 3-2. Plasma analysis of rats intravenously administered 6059-S or CEZ for 35 days

Sex	Compound	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	T. Cholesterol (mg/100 ml)	Phospholipids (mg/100 ml)	Triglyceride (mg/100 ml)	Sodium (mEq/l)	Potassium (mEq/l)	Chloride (mEq/l)	Calcium (mg/100 ml)	Magnesium (mg/100 ml)	Iron ( $\mu$ g/100 ml)	
Male	0.9% Saline	3.3% Saline	8	60.6 $\pm$ 2.2	125.5 $\pm$ 4.1	85.6 $\pm$ 12.4	146.3 $\pm$ 1.1	4.29 $\pm$ 0.06	103.5 $\pm$ 0.4	10.13 $\pm$ 0.06	1.94 $\pm$ 0.04	189.0 $\pm$ 6.1	
			7	58.0 $\pm$ 3.2	138.9 $\pm$ 8.2	120.7 $\pm$ 12.9	143.6 $\pm$ 0.8	4.23 $\pm$ 0.09	102.0 $\pm$ 0.2**	10.13 $\pm$ 0.05	1.71 $\pm$ 0.03**	189.0 $\pm$ 9.9	
	6059-S		760	57.3 $\pm$ 2.4	112.0 $\pm$ 5.2	92.9 $\pm$ 7.1	145.9 $\pm$ 1.0	4.12 $\pm$ 0.12	104.8 $\pm$ 0.9	9.97 $\pm$ 0.09	1.79 $\pm$ 0.03**	192.6 $\pm$ 6.4	
			1,260	63.4 $\pm$ 2.6	116.2 $\pm$ 4.5	62.4 $\pm$ 5.2	144.1 $\pm$ 1.6	4.40 $\pm$ 0.08	103.1 $\pm$ 0.4	9.94 $\pm$ 0.12	1.81 $\pm$ 0.03*	206.8 $\pm$ 5.6	
			2,100	63.4 $\pm$ 2.5	122.1 $\pm$ 5.9	73.2 $\pm$ 11.4	145.9 $\pm$ 1.0	4.29 $\pm$ 0.06	103.0 $\pm$ 0.4	10.08 $\pm$ 0.12	1.91 $\pm$ 0.04	210.3 $\pm$ 5.3*	
			3,500	58.1 $\pm$ 2.2	104.2 $\pm$ 3.9**	42.7 $\pm$ 3.8**	143.1 $\pm$ 1.1	4.40 $\pm$ 0.12	102.7 $\pm$ 0.5	10.01 $\pm$ 0.06	1.84 $\pm$ 0.04	261.9 $\pm$ 14.9**	
			760	58.2 $\pm$ 3.0	121.7 $\pm$ 4.2	72.2 $\pm$ 3.4	145.6 $\pm$ 0.6	4.33 $\pm$ 0.06	104.7 $\pm$ 0.5	9.62 $\pm$ 0.14	1.67 $\pm$ 0.04	180.8 $\pm$ 4.6	
			1,260	71.6 $\pm$ 3.4*	137.9 $\pm$ 9.0	94.8 $\pm$ 10.5	146.5 $\pm$ 0.9	4.25 $\pm$ 0.11	102.5 $\pm$ 0.6	10.48 $\pm$ 0.13	1.91 $\pm$ 0.06	225.0 $\pm$ 7.3**	
	Female	0.9% Saline		9	54.2 $\pm$ 3.1	121.4 $\pm$ 6.2	60.7 $\pm$ 7.2	147.7 $\pm$ 0.4	4.07 $\pm$ 0.04	104.8 $\pm$ 0.6	9.20 $\pm$ 0.11	1.80 $\pm$ 0.04	285.3 $\pm$ 17.4
				9	59.8 $\pm$ 2.2	117.1 $\pm$ 3.1	64.3 $\pm$ 4.5	146.0 $\pm$ 0.8	3.87 $\pm$ 0.06*	105.8 $\pm$ 0.6	9.71 $\pm$ 0.09**	1.69 $\pm$ 0.02*	238.2 $\pm$ 11.8
6059-S			1,260	57.1 $\pm$ 1.9	115.3 $\pm$ 5.6	43.6 $\pm$ 6.2	145.2 $\pm$ 0.4**	4.32 $\pm$ 0.34	105.6 $\pm$ 0.8	10.03 $\pm$ 0.74	1.86 $\pm$ 0.15	250.8 $\pm$ 15.7	
			2,100	54.7 $\pm$ 1.5	117.4 $\pm$ 6.0	49.4 $\pm$ 7.1	145.0 $\pm$ 0.5**	4.09 $\pm$ 0.04	105.9 $\pm$ 0.4	9.40 $\pm$ 0.06	1.76 $\pm$ 0.03	262.3 $\pm$ 11.7	
CEZ		3,500	51.0 $\pm$ 1.6	110.1 $\pm$ 3.8	40.2 $\pm$ 5.3*	147.9 $\pm$ 0.7	4.03 $\pm$ 0.07	106.2 $\pm$ 0.4	9.59 $\pm$ 0.05**	1.78 $\pm$ 0.03	265.8 $\pm$ 14.3		
		760	58.3 $\pm$ 1.7	120.1 $\pm$ 3.4	43.7 $\pm$ 4.9	144.4 $\pm$ 0.5**	3.99 $\pm$ 0.05	105.4 $\pm$ 0.3	9.41 $\pm$ 0.07	1.66 $\pm$ 0.02**	266.2 $\pm$ 13.1		
			1,260	63.0 $\pm$ 2.8	133.8 $\pm$ 5.3	43.4 $\pm$ 5.6	145.6 $\pm$ 0.6**	4.04 $\pm$ 0.07	104.7 $\pm$ 0.7	9.40 $\pm$ 0.08	1.69 $\pm$ 0.04	239.3 $\pm$ 8.8*	

a) Mean  $\pm$  S.E.

\* Statistically significant against control at P&lt;0.05

\*\* Statistically significant against control at P&lt;0.01

Table 3-3 Plasma analysis of rats intravenously administered 6059-S or CEZ for 35 days

Sex	Compound	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Albumin (%)	Globulin				A/G	LDH isozyme pattern (activity %)				
					$\alpha_1$ (%)	$\alpha_2$ (%)	$\beta$ (%)	$\gamma$ (%)		I	II	III	IV	V
Male	0.9% Saline		8	46.8±0.4 <sup>a</sup>	25.5±0.4	5.4±0.2	20.9±0.5	1.2±0.2	0.90±0.02	3.1±0.6	12.3±1.2	22.0±4.0	50.4±7.0	12.2±2.6
	3.3% Saline		7	42.9±0.7**	25.0±0.3	6.6±0.3**	24.6±0.6**	0.9±0.3	0.76±0.03**	2.6±0.6	21.1±2.1**	31.9±2.4	20.0±3.0**	24.4±5.0*
	6059-S	760	9	44.0±0.5**	26.3±0.3	6.7±0.2**	22.2±0.3	0.8±0.1	0.79±0.02*	3.5±0.5	23.2±1.7**	36.5±2.4**	20.8±1.4**	16.0±3.6
		1,260	9	46.3±1.0	26.4±0.3	5.8±0.4	21.2±0.7	0.4±0.2*	0.88±0.04	3.5±0.5	24.6±2.4**	42.0±1.9**	19.6±2.6**	10.4±0.8
		2,100	9	45.7±0.8	24.7±0.5	6.4±0.4	22.3±0.5	0.9±0.2	0.84±0.03	3.2±0.3	23.6±2.4**	36.8±3.1*	21.8±3.6**	14.6±3.6
		3,500	9	47.2±0.6	24.4±0.5	7.1±0.5*	20.8±0.3	0.6±0.2	0.89±0.02	2.8±0.7	23.9±0.9**	42.6±2.1**	18.2±1.4**	12.5±2.8
Female	CEZ	760	9	44.0±0.7	25.3±0.5	6.4±0.2	21.9±0.4	2.4±0.5*	0.80±0.02	1.8±0.4	29.4±2.0	29.4±1.8	12.3±1.9	27.0±3.9
		1,260	8	46.0±0.5	25.2±0.4	6.3±0.3*	21.9±0.5	0.5±0.2*	0.86±0.02	2.8±0.4	21.0±2.5**	31.5±1.1*	20.1±4.1**	24.5±4.8*
	0.9% Saline		9	45.0±1.0	20.7±0.4	5.3±0.2	23.2±0.8	5.7±0.5	0.82±0.03	2.9±1.1	24.6±2.5	20.8±2.9	14.7±4.0	36.9±3.3
	6059-S	760	9	48.0±1.0*	24.6±0.4**	5.6±0.3	19.8±0.6**	1.9±0.4**	0.92±0.03*	6.3±2.1	34.8±2.7*	20.8±2.7	10.5±1.7	27.5±5.0
		1,260	9	48.8±1.3*	24.2±0.6**	5.3±0.2	20.9±0.7*	0.8±0.2**	0.96±0.05*	5.7±1.6	31.8±3.3	17.0±2.6	11.5±2.7	34.0±4.9
		2,100	9	48.8±1.0*	24.1±0.7**	5.3±0.2	21.0±0.5*	0.9±0.3**	0.94±0.04*	4.7±0.8	30.0±2.8	23.1±1.8	15.7±2.9	26.5±4.4
	3,500	9	50.6±0.8**	21.3±0.6	5.8±0.2	20.7±0.5*	1.6±0.3**	1.02±0.03**	4.9±2.5	31.8±2.3	18.0±3.1	8.8±2.4	36.6±7.4	
	CEZ	760	9	50.0±0.8**	22.6±0.5*	4.5±0.2**	20.0±0.4**	2.9±0.8**	1.00±0.04**	3.7±0.4	28.1±2.6	25.5±3.4	12.4±2.1	30.4±6.6
		1,260	9	46.8±1.6	23.1±0.8*	5.1±0.2	21.3±0.5	3.6±0.7*	0.90±0.05	2.8±0.7	25.8±0.7	26.4±2.5	13.2±1.4	31.8±2.2

a) Mean ± S.E.

\* Statistically significant against control at P&lt;0.05

\*\* Statistically significant against control at P&lt;0.01

Table 4-1. Plasma analysis of rats at 28th day of recovery period after 35-day intravenous administration of 6059-S or CEZ

Sex	Compound	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Glucose (mg/100 ml)	T. Protein (g/100 ml)	Albumin (g/100 ml)	Urea-N (mg/100 ml)	Creatinin (mg/100 ml)	T. Bilirubin (mg/100 ml)	LDH (mU/ml)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	ALP (mU/ml)	
Male	0.9% Saline		5	176.0±7.2 <sup>a</sup>	5.40±0.08	3.16±0.06	19.8±0.8	0.50±0.00	0.20±0.00	217.4±16.2	69.2±2.7	33.8±2.2	163.6±16.6	
			3	159.0±7.2	5.87±0.09	3.40±0.06*	21.0±0.6	0.60±0.00	938.0±364.2*	112.0±17.0*	38.3±1.2	38.3±1.2	144.3±5.0	
	6059-S		760	159.6±3.5	5.54±0.04	3.22±0.04	26.4±1.3	0.54±0.02	0.20±0.00	451.6±74.7*	81.0±5.3	39.2±4.5	189.4±11.4	
			1,260	165.0±6.1	5.52±0.09	3.24±0.05	22.6±0.9	0.50±0.03	349.4±46.3*	0.20±0.00	79.6±3.2	40.0±3.6	207.8±15.8	
			2,100	170.8±3.7	5.42±0.07	3.20±0.03	21.0±0.8	0.50±0.00	215.8±30.1	0.20±0.00	67.6±2.7	36.0±2.1	163.2±20.3	
			3,500	169.5±5.8	5.40±0.09	3.23±0.05	22.8±0.5	0.53±0.03	279.0±49.9	0.20±0.00	86.3±10.6	44.3±6.2	254.0±24.5*	
	CEZ		760	176.8±5.0	5.60±0.08	2.86±0.05	23.0±0.6	0.46±0.02	0.20±0.00	347.0±99.6	79.8±6.9	25.0±1.5	203.6±35.4	
			1,260 <sup>c</sup>	150.2±9.1	5.42±0.15	2.62±0.06	15.8±0.7	0.54±0.02	79.8±36.4	0.22±0.02	90.4±3.6	22.0±2.6	112.8±5.1	
	Female	0.9% Saline		5	161.0±2.3	5.24±0.15	3.06±0.12	26.6±1.5	0.62±0.02	0.22±0.02	208.8±17.7	65.4±3.4	26.6±2.1	121.8±13.0
				5	153.4±3.1	5.36±0.10	3.18±0.06	21.6±1.1*	0.60±0.00	171.6±16.3	0.20±0.00	118.0±18.6**	69.0±2.7	28.2±3.6
		6059-S		1,260	153.4±7.4	5.32±0.12	3.08±0.06	22.2±1.0*	0.58±0.02	0.22±0.02	118.0±18.6**	57.4±2.1	18.6±1.2*	104.0±17.0
				2,100	168.6±3.8	5.62±0.13	3.02±0.09	19.0±2.2*	0.48±0.02**	96.2±11.8**	0.20±0.00	167.8±31.9	65.2±4.9	26.8±3.1
CEZ			3,500	157.3±9.8	5.53±0.05	3.23±0.05	24.3±1.4	0.58±0.03	0.23±0.03	167.8±31.9	74.5±2.1	23.8±2.1	146.0±9.5	
			760	145.6±3.7	5.32±0.13	3.10±0.04	25.0±0.8	0.60±0.00	197.6±19.0	0.22±0.02	64.4±1.6	23.0±1.4	145.4±19.9	
CEZ			1,260	163.4±4.6	5.56±0.09	3.02±0.07	19.8±0.2**	0.46±0.02**	0.20±0.00	113.2±7.6**	64.8±1.4	22.6±0.5	130.0±12.6	

a) Mean ± S.E.

b) At 27th day of recovery period

c) At 26th day of recovery period

\* Statistically significant against control at P&lt;0.05

\*\* Statistically significant against control at P&lt;0.01

Table 4-2. Plasma analysis of rats at 28th day of recovery period after 35-day intravenous administration of 6059-S or CEZ

Sex	Compound	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	T. Cholesterol (mg/100 ml)	Phospholipids (mg/100 ml)	Triglyceride (mg/100 ml)	Sodium (mEq/l)	Potassium (mEq/l)	Chloride (mEq/l)	Calcium (mg/100 ml)	Magnesium (mg/100 ml)	Iron ( $\mu$ g/100 ml)											
Male	0.9% Saline 3.3% Saline <sup>b</sup>		5	61.0 $\pm$ 2.6 <sup>a</sup>	126.6 $\pm$ 6.1	129.4 $\pm$ 22.7	144.6 $\pm$ 0.9	4.16 $\pm$ 0.04	104.4 $\pm$ 0.5	10.20 $\pm$ 0.09	1.80 $\pm$ 0.00	194.8 $\pm$ 5.2											
			3	65.3 $\pm$ 2.7	144.7 $\pm$ 4.1	120.3 $\pm$ 26.9	149.7 $\pm$ 1.2	3.83 $\pm$ 0.03 <sup>**</sup>	106.7 $\pm$ 0.3 <sup>*</sup>	10.07 $\pm$ 0.07	1.90 $\pm$ 0.00	200.3 $\pm$ 5.3											
	6059-S			5	68.0 $\pm$ 3.5	129.4 $\pm$ 6.9	113.0 $\pm$ 18.4	144.8 $\pm$ 0.6	4.48 $\pm$ 0.11 <sup>*</sup>	103.8 $\pm$ 1.5	10.16 $\pm$ 0.07	1.84 $\pm$ 0.02	188.2 $\pm$ 4.2										
				1,260	60.0 $\pm$ 2.2	133.8 $\pm$ 6.4	114.6 $\pm$ 23.5	145.4 $\pm$ 0.7	4.06 $\pm$ 0.07	103.8 $\pm$ 0.4	10.12 $\pm$ 0.05	1.86 $\pm$ 0.02	198.0 $\pm$ 6.2										
				2,100	63.8 $\pm$ 2.7	144.8 $\pm$ 1.2	154.0 $\pm$ 27.0	144.8 $\pm$ 0.6	4.20 $\pm$ 0.08	103.8 $\pm$ 0.8	10.20 $\pm$ 0.06	1.82 $\pm$ 0.04	193.0 $\pm$ 6.2										
				3,500	59.8 $\pm$ 1.7	124.3 $\pm$ 13.2	120.5 $\pm$ 21.7	147.5 $\pm$ 0.7 <sup>*</sup>	4.05 $\pm$ 0.09	104.0 $\pm$ 0.4	9.95 $\pm$ 0.05	1.78 $\pm$ 0.03	194.8 $\pm$ 6.7										
	CEZ			5	67.2 $\pm$ 4.5	165.6 $\pm$ 16.9	318.6 $\pm$ 50.9	148.8 $\pm$ 1.2	4.20 $\pm$ 0.04	101.0 $\pm$ 0.6	10.66 $\pm$ 0.29	1.64 $\pm$ 0.02	219.0 $\pm$ 7.0										
				1,260 <sup>c</sup>	44.6 $\pm$ 2.1	81.6 $\pm$ 4.3	35.4 $\pm$ 8.3	151.4 $\pm$ 1.9	3.58 $\pm$ 0.07	108.6 $\pm$ 0.7	10.14 $\pm$ 0.20	1.80 $\pm$ 0.04	211.8 $\pm$ 11.2										
	Female	0.9% Saline																					
														5	57.6 $\pm$ 0.9	132.0 $\pm$ 8.0	81.0 $\pm$ 25.3	146.0 $\pm$ 1.5	3.94 $\pm$ 0.14	104.8 $\pm$ 0.4	10.42 $\pm$ 0.14	1.82 $\pm$ 0.02	320.0 $\pm$ 26.8
6059-S																							
														5	54.0 $\pm$ 1.1 <sup>*</sup>	137.0 $\pm$ 9.5	59.8 $\pm$ 17.0	140.2 $\pm$ 0.8 <sup>**</sup>	3.64 $\pm$ 0.02	104.8 $\pm$ 0.8	10.06 $\pm$ 0.13	1.72 $\pm$ 0.02 <sup>**</sup>	359.8 $\pm$ 20.6
														1,260	55.4 $\pm$ 4.3	135.8 $\pm$ 12.7	78.0 $\pm$ 9.2	142.0 $\pm$ 2.2	3.70 $\pm$ 0.11	104.6 $\pm$ 0.8	10.42 $\pm$ 0.32	1.68 $\pm$ 0.04 <sup>*</sup>	338.8 $\pm$ 23.9
														2,100	56.8 $\pm$ 3.2	148.0 $\pm$ 10.0	78.6 $\pm$ 17.0	140.8 $\pm$ 0.6 <sup>**</sup>	3.82 $\pm$ 0.08	101.8 $\pm$ 0.4 <sup>**</sup>	10.42 $\pm$ 0.30	1.74 $\pm$ 0.04	326.4 $\pm$ 32.7
CEZ																							
														5	51.5 $\pm$ 1.7 <sup>*</sup>	126.0 $\pm$ 6.7	55.0 $\pm$ 11.6	143.8 $\pm$ 2.2 <sup>d</sup>	3.68 $\pm$ 0.14 <sup>d</sup>	104.0 $\pm$ 0.9	10.55 $\pm$ 0.37	1.70 $\pm$ 0.04 <sup>*</sup>	317.5 $\pm$ 25.0
														5	55.4 $\pm$ 2.4	145.0 $\pm$ 7.4	72.6 $\pm$ 12.6	143.2 $\pm$ 4.1	3.90 $\pm$ 0.11	103.4 $\pm$ 0.4 <sup>**</sup>	10.22 $\pm$ 0.31	1.80 $\pm$ 0.03	334.2 $\pm$ 25.5
													5	53.8 $\pm$ 1.3 <sup>*</sup>	132.8 $\pm$ 4.8	74.0 $\pm$ 10.9	142.2 $\pm$ 0.7 <sup>*</sup>	3.76 $\pm$ 0.11	103.0 $\pm$ 0.3 <sup>**</sup>	9.90 $\pm$ 0.06 <sup>**</sup>	1.68 $\pm$ 0.04 <sup>**</sup>	394.8 $\pm$ 26.7	

a) Mean  $\pm$  S.E.

b) At 27th day of recovery period

c) At 26th day of recovery period

d) N=4

\* Statistically significant against control at P&lt;0.05

\*\* Statistically significant against control at P&lt;0.01

Table 4-3 Plasma analysis of rats at 28th day of recovery period after 35-day intravenous administration of 60S9-S or CEZ

Sex	Compound	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Albumin (%)	Globulin				A/G	LDH isozyme pattern (activity %)				
					$\alpha_1$ (%)	$\alpha_2$ (%)	$\beta$ (%)	$\gamma$ (%)		I	II	III	IV	V
Male	0.9% Saline	5	45.7±1.2 <sup>a)</sup>	24.8±0.3	7.8±2.1	19.8±0.9	1.9±0.5	0.84±0.04	5.9±1.0	39.5±3.8	33.0±0.5	10.1±2.8	11.6±1.9	
			3	45.8±1.4	25.2±0.3	6.5±0.1	20.4±0.4	2.0±1.0	0.83±0.03	4.1±1.1	29.7±5.0	25.7±1.8**	40.5±7.8	
	60S9-S	760	43.9±0.6	26.7±0.5*	6.3±0.3	21.6±0.5	1.5±0.2	0.78±0.02	8.3±1.6	34.0±3.9	32.2±2.7	13.8±3.9	11.6±1.4	
		1,260	46.8±0.5	25.4±0.6	7.3±0.7	19.4±0.8	1.1±0.3	0.88±0.02	9.0±2.1	42.6±2.7	31.0±1.0	6.9±2.2	10.4±1.6	
		2,100	45.4±1.1	24.2±0.3	6.5±0.2	21.9±0.6	2.1±0.1	0.84±0.05	6.2±1.3	36.8±1.7	34.8±1.7	9.5±1.3	12.7±1.6	
	CEZ	3,500	46.7±1.0	24.6±0.3	7.1±0.2	20.1±0.5	1.6±0.3	0.88±0.05	4.2±1.0	36.8±2.3	37.5±1.1**	10.7±1.4	10.8±1.0	
760		43.8±0.5	23.6±0.4	6.0±0.3	22.3±0.5	4.3±0.4	0.78±0.02	5.1±0.6	29.6±4.3	31.1±1.3	34.2±4.8			
Female	0.9% Saline	5	43.5±0.9	23.4±0.8	5.3±0.5	22.7±0.7	5.0±1.1	0.78±0.04	9.3±2.1	29.5±3.1	33.2±2.5	8.4±1.6	19.5±1.1	
			5	48.1±1.2	19.9±0.4	6.5±0.3	19.8±0.5	5.8±0.5	0.94±0.05	4.5±0.8	26.4±2.9	34.6±3.2	12.4±0.3	21.9±1.2
	60S9-S	760	51.6±1.9	20.2±0.6	5.0±0.6*	19.4±0.5	3.8±1.2	1.06±0.09	6.0±1.7	31.4±1.7	35.8±1.8	11.7±1.0	15.0±2.3*	
		1,260	51.8±1.3	20.1±0.6	5.3±0.3*	19.6±0.6	3.2±0.9*	1.08±0.07	7.2±1.1	33.3±2.6	30.2±2.3	11.1±1.6	18.3±1.7	
		2,100	51.4±0.5*	20.4±0.9	5.4±0.6	18.2±1.0	4.5±0.4	1.06±0.02	5.7±1.9	32.3±2.3	33.9±2.4	11.0±1.9	17.1±1.5*	
	CEZ	3,500	51.5±1.5	20.2±0.8	5.4±0.2*	19.2±0.6	3.8±0.9	1.08±0.06	10.1±2.5*	31.6±5.6	30.9±6.0	12.2±2.9	15.4±2.4*	
760		51.5±1.8	20.2±0.3	6.2±0.3	17.8±0.9	4.3±0.6	1.08±0.07	6.5±2.1	28.7±4.9	31.5±4.6	15.1±1.8	18.2±1.6		
		5	54.1±2.4	19.3±0.5	5.4±0.2*	17.3±1.3	3.9±0.9	1.20±0.13	9.3±0.6**	40.0±5.3	29.7±4.3	8.3±0.5**	12.7±1.9**	

a) Mean ± S.E.

b) At 27th day of recovery period

c) At 26th day of recovery period

\* Statistically significant against control at P<0.05

\*\* Statistically significant against control at P<0.01

Photo. 1 Liver of female rat given intravenous administration of 6059-S, 3,500 mg/kg/day, for 35 days. Slight atrophy of hepatocytes is seen. H-E staining.  $\times 250$

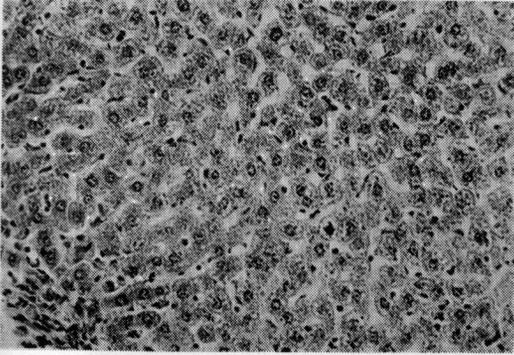


Photo. 4 Spleen of female rat given intravenous administration of 6059-S, 3500 mg/kg/day, for 35 days. Marked proliferation of erythropoietic elements is seen. H-E staining.  $\times 160$

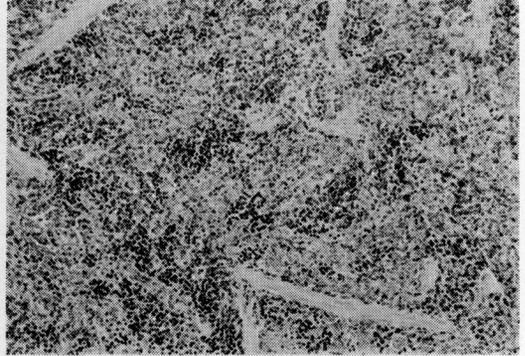


Photo. 2 Lung of male rat given intravenous administration of 6059-S, 3,500 mg/kg/day, for 35 days. Marked increase in pigment-laden foam cells is seen. Prussian blue-Safranin staining.  $\times 100$

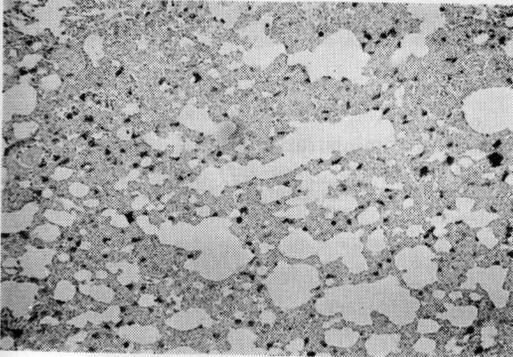


Photo. 5 Bone marrow of male rat given intravenous administration of 6059-S, 3,500 mg/kg/day, for 35 days. Marked proliferation of erythropoietic elements is seen. H-E staining.  $\times 160$

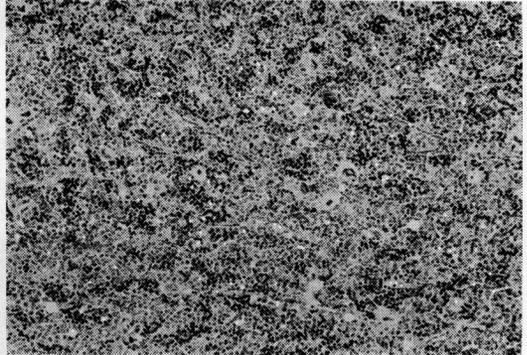


Photo. 3 Spleen of male rat given intravenous administration of 6059-S, 3,500 mg/kg/day, for 35 days. Moderate atrophy of lymph nodules is seen. H-E staining.  $\times 40$

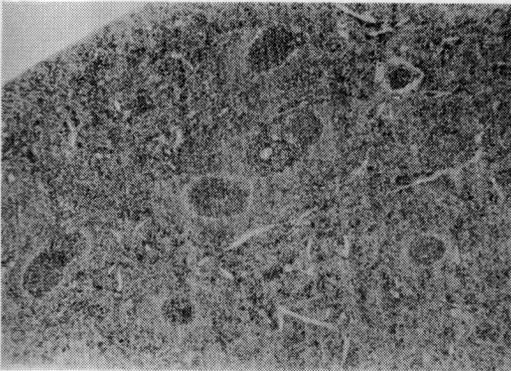


Photo. 6 Thymus of male rat given intravenous administration of 6059-S, 3,500 mg/kg/day, for 35 days. Moderate decrease in lymphocytes at cortex is seen. H-E staining.  $\times 40$

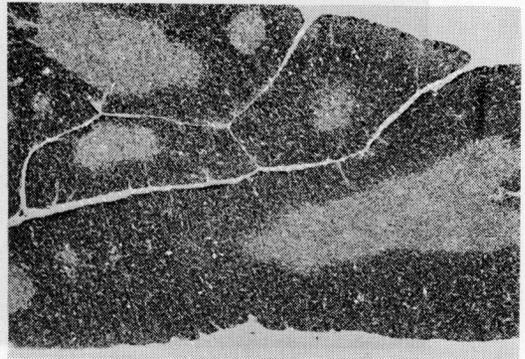


Photo. 7 Hepatocytes of male rat given intravenous administration of 6059-S, 3,500mg/kg/day, for 35 days. Slight proliferation of s-ER and decrease in glycogen area are observed.

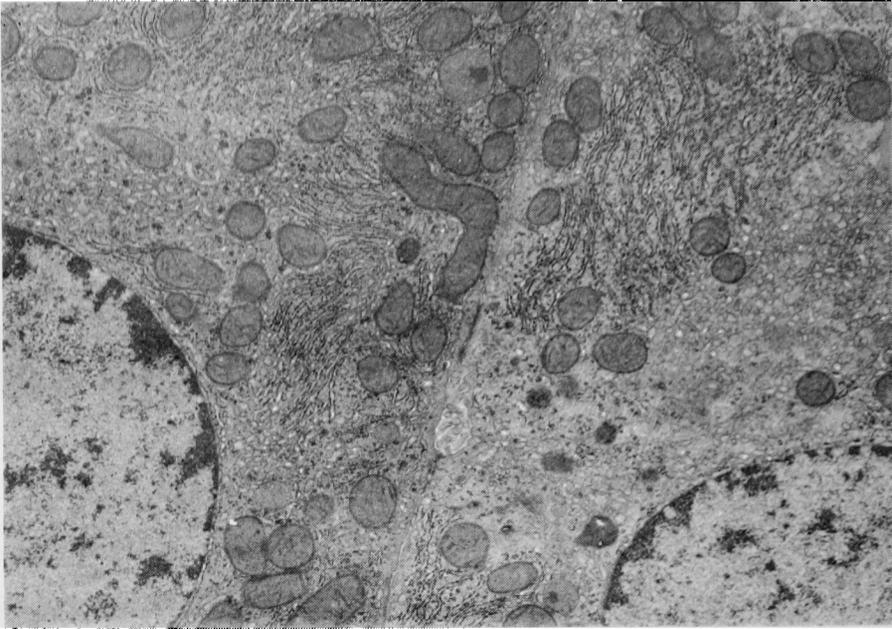


Photo. 8 Hepatocytes of male rat given intravenous administration of CEZ, 1,260mg/kg/day, for 35 days. Slight increase in number of lysosome around the bile canaliculi, slight proliferation of s-ER, and decrease in glycogen area are observed.

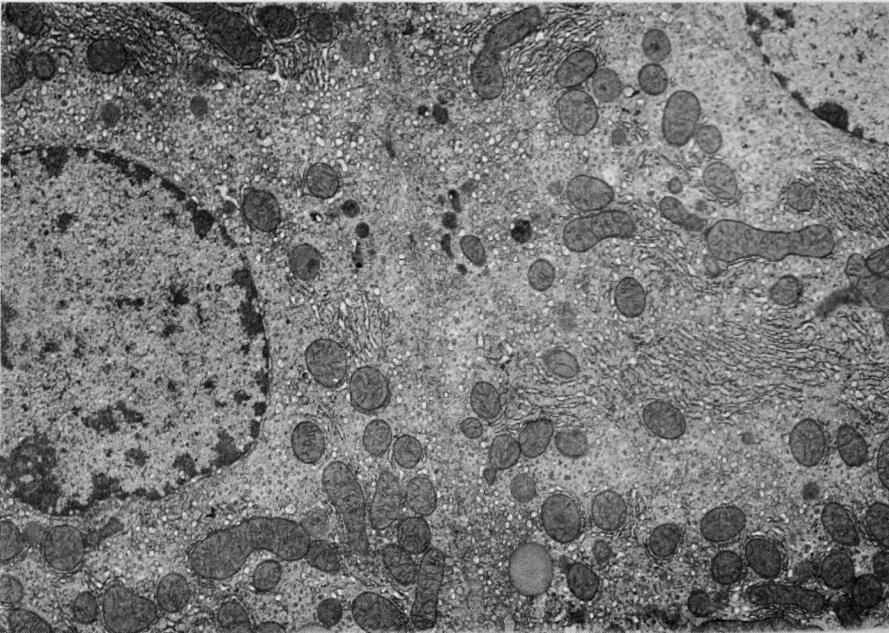


Photo. 9 Glomerulus (upper left), distal (lower left) and proximal (right) convoluted tubulus in the kidney of female rat given intravenous administration of 6059-S, 3,500mg/kg/day, for 35 days. Slight increase in number of lysosome-like granules is seen in the proximal convoluted tubule.

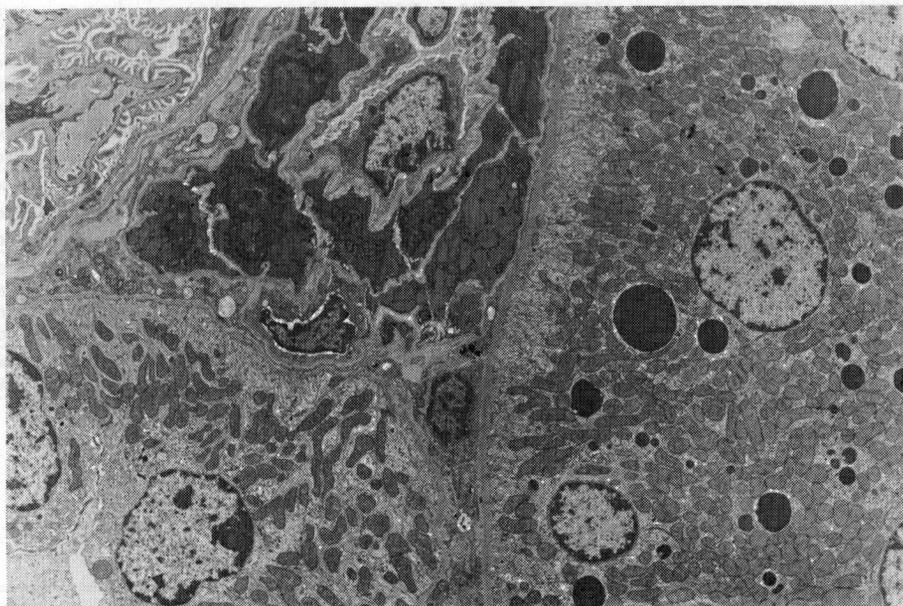


Photo. 10 Proximal convoluted tubule of male rat given intravenous administration of CEZ, 1,260mg/kg/day, for 35 days. Dilatation of intracellular space and increase in number of lysosome-like granules are seen.

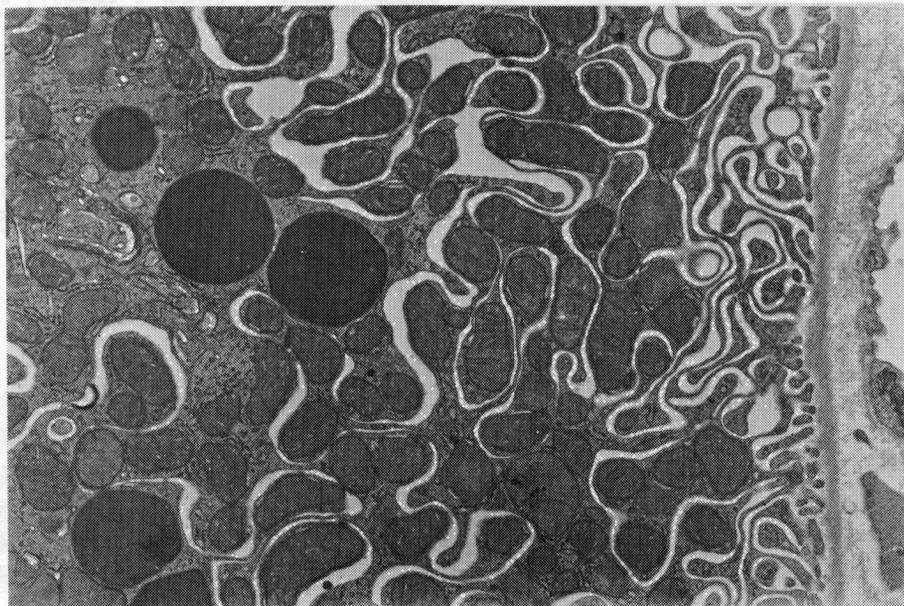


Table 5-1 Organ weight of male rats given intravenous administration of 6059-S or CEZ for 35 days

	Group	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Final body weight (g)	Brain (g%)	Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Pancreas (g%)	
Relative weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	9	335±8 <sup>a)</sup>	0.57±0.01	0.31±0.01	0.37±0.01	0.74±0.02	4.32±0.14	0.27±0.01	0.14±0.01	
	3.3% Saline	1.40 ml/100 g BW	7	336±7	0.59±0.01	0.30±0.01	0.37±0.01	0.77±0.03	4.64±0.04	0.27±0.02	0.14±0.01	
	6059-S	760	9	322±8	0.60±0.01	0.29±0.01	0.38±0.01	0.82±0.02**	4.13±0.09	0.26±0.01	0.15±0.01	
		1,260	9	303±9*	0.63±0.01**	0.29±0.01	0.38±0.01	0.84±0.01**	4.07±0.05	0.26±0.01	0.15±0.01	
		2,100	9	311±8	0.62±0.01*	0.29±0.01	0.38±0.01	0.82±0.01**	4.19±0.08	0.26±0.01	0.16±0.01	
		3,500	9	277±8**	0.67±0.01**	0.29±0.01	0.40±0.01	0.90±0.02**	4.03±0.07	0.28±0.01	0.16±0.01	
	CEZ	760	9	323±5	0.63±0.01	0.30±0.01	0.37±0.01	0.82±0.02**	4.50±0.12	0.29±0.01	0.16±0.01	
		1,260	8	345±8	0.57±0.01	0.26±0.01**	0.36±0.01	0.76±0.01	4.33±0.14	0.25±0.01	0.14±0.01	
	Absolute weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	9		(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)
		3.3% Saline	1.40 ml/100 g BW	7		1.91±0.02	1.02±0.03	1.23±0.03	2.46±0.07	14.41±0.39	0.90±0.02	0.47±0.02
6059-S		760	9		1.92±0.01	0.95±0.04	1.23±0.04	2.64±0.08	13.33±0.61	0.82±0.05	0.49±0.03	
		1,260	9		1.89±0.03	0.88±0.03**	1.14±0.03	2.55±0.08	12.34±0.49**	0.79±0.04*	0.47±0.02	
		2,100	9		1.90±0.02	0.90±0.04*	1.19±0.03	2.56±0.11	13.04±0.50	0.79±0.03*	0.49±0.03	
		3,500	9		1.84±0.03*	0.79±0.02**	1.12±0.04*	2.49±0.09	11.66±0.43**	0.77±0.03**	0.44±0.02	
CEZ		760	9		2.01±0.02	0.98±0.03	1.18±0.03	2.65±0.05	14.51±0.40	0.94±0.03	0.50±0.02	
		1,260	8		1.96±0.02	0.91±0.03	1.23±0.04	2.63±0.07	14.91±0.51	0.87±0.03	0.47±0.01	

a) Mean ± S.E.

\* Statistically significant against control at P &lt; 0.05

\*\* Statistically significant against control at P &lt; 0.01

Table 5-2 Organ weights of female rats given intravenous administration of 6059-S or CEZ for 35 days

	Group	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Final body weight (g)	Brain (g%)	Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	
Relative weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	9	229±8 <sup>a)</sup>	0.81±0.01	0.33±0.01	0.45±0.01	0.74±0.02	4.49±0.10	0.34±0.02	
	6059-S	760	9	220±4	0.83±0.01	0.30±0.01	0.43±0.01	0.76±0.02	3.97±0.04**	0.29±0.02	
		1,260	9	211±7	0.89±0.02**	0.32±0.01	0.43±0.01	0.78±0.01	3.91±0.09**	0.29±0.02	
		2,100	9	211±7	0.89±0.02**	0.31±0.01	0.44±0.01	0.84±0.01**	4.10±0.08**	0.32±0.02	
		3,500	9	221±5	0.82±0.02	0.31±0.01	0.44±0.01	0.80±0.02*	4.04±0.07**	0.38±0.04	
	CEZ	760	9	128±5	0.83±0.02	0.31±0.01	0.43±0.01	0.77±0.01	3.99±0.07**	0.32±0.02	
		1,260	9	232±4	0.81±0.01	0.30±0.01	0.44±0.01	0.75±0.01	4.02±0.12**	0.34±0.02	
	Absolute weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	9		(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)
		6059-S	760	9		1.84±0.04	0.76±0.03	1.03±0.04	1.69±0.08	10.29±0.46	0.76±0.04
			1,260	9		1.82±0.01	0.66±0.02**	0.94±0.02	1.66±0.06	8.74±0.20**	0.64±0.04
2,100			9		1.86±0.03	0.68±0.02*	0.91±0.03*	1.65±0.06	8.25±0.36**	0.62±0.05*	
3,500			9		1.86±0.02	0.66±0.02*	0.93±0.03	1.76±0.05	8.68±0.40*	0.67±0.04	
CEZ		760	9		1.80±0.02	0.68±0.02*	0.98±0.03	1.77±0.05	8.91±0.24*	0.85±0.10	
		1,260	9		1.81±0.03	0.67±0.01**	0.94±0.03	1.68±0.05	8.71±0.22**	0.69±0.03	
					1.86±0.01	0.70±0.02	1.02±0.02	1.74±0.04	9.33±0.41	0.79±0.03	

a) Mean ± S.E.

\* Statistically significant against control at P &lt; 0.05

\*\* Statistically significant against control at P &lt; 0.01

胞の空胞変性, 脳幹部, 中脳, 橋および延髄での血管周囲の小出血巣の散在が認められた。同投与量群の雌死亡例でもほぼ類似の所見がみられた他, 左心室壁の心筋層に小出血巣の散在があった。

CEZ 1,260 mg/kg 投与群の雄死亡例では, 全例に肺胞腔内の著しい出血水腫がみられた。その他, 脳実質内の血管周囲の小出血巣, 脳室腔内の出血, 左心室壁心筋層の出血, 肝小葉中心性の空胞変性ならびに腎のボーマ

ン囊および皮質尿細管の拡張などが認められた。

投与終了時の生存例: 投与終了時点の各群における生存例の組織所見の概要を Table 8 にまとめた。6059-S および CEZ 投与群ともに, 検体の毒性を反映したと考えられる用量作用関係のある変化はまったく認められなかった。なお, 軽度の変化ではあるが, 主要臓器にみられた所見は次のごとくであった。

肝: 6059-S および CEZ 投与雌群で肝実質細胞の軽

Testis (g%)	Cecum (g%)	Thymus (g%)	Submaxillary gland (g%)	Prostate (g%)	Seminal vesicle (g%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Lymphnode (mg%)	Hypophysis (mg%)
0.96±0.03	2.85±0.30	0.19±0.01	0.17±0.01	0.11±0.01	0.17±0.02	16.4±0.7	5.0±0.4	11.4±1.0	3.3±0.1
1.03±0.03	2.17±0.12	0.14±0.01**	0.17±0.01	0.11±0.01	0.18±0.01	15.0±0.5	5.3±0.4	13.1±1.3	3.4±0.1
0.94±0.03	4.98±0.30**	0.14±0.01**	0.18±0.01	0.13±0.01	0.22±0.02	16.4±0.8	5.8±0.5	12.4±0.8	3.1±0.1
1.02±0.03	4.88±0.29**	0.19±0.01	0.18±0.01	0.12±0.01	0.22±0.02	14.8±0.5	4.5±0.6	9.3±1.3	3.4±0.1
1.04±0.03	5.80±0.40**	0.15±0.01*	0.17±0.01	0.12±0.01	0.20±0.02	16.7±0.8	4.7±0.4	8.7±0.9	3.4±0.1
1.09±0.03**	5.87±0.36**	0.14±0.01**	0.17±0.01	0.12±0.01	0.18±0.01	17.6±0.7	5.4±0.4	11.7±1.3	3.4±0.1
1.00±0.02	4.24±0.20**	0.16±0.01	0.18±0.01	0.11±0.01	0.27±0.02	14.4±0.5	4.8±0.3	16.0±1.9	3.6±0.1
0.94±0.02	6.52±0.47**	0.16±0.01	0.16±0.01	0.10±0.01	0.17±0.02	16.3±1.1	4.9±0.4	7.9±1.4*	3.3±0.1
(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
3.21±0.08	9.01±1.09	0.65±0.05	0.55±0.02	0.36±0.02	0.57±0.05	54.0±2.1	16.6±1.0	37.6±3.1	11.1±0.4
3.44±0.04	7.30±0.44	0.45±0.03*	0.56±0.02	0.38±0.02	0.59±0.03	50.0±1.7	17.6±1.6	44.3±3.9	11.4±0.3
3.02±0.09	15.93±0.83**	0.46±0.03**	0.59±0.01	0.40±0.02	0.70±0.06	53.3±3.0	17.9±1.3	39.9±2.6	9.8±0.5
3.08±0.06	14.88±1.11**	0.56±0.03	0.55±0.02	0.35±0.02	0.67±0.06	44.4±1.7**	13.9±1.8	27.6±3.4*	10.3±0.4
3.23±0.11	17.98±1.24**	0.48±0.03**	0.51±0.02	0.37±0.03	0.61±0.05	50.9±2.1	14.4±1.0	26.2±2.6*	10.5±0.3
3.01±0.07	16.27±1.17**	0.40±0.03**	0.46±0.01**	0.32±0.01	0.49±0.04	48.1±2.6	15.1±1.0	31.1±3.0	9.5±0.4**
3.20±0.05	13.67±0.62**	0.52±0.03	0.56±0.02	0.37±0.02	0.86±0.06	46.6±1.9	15.3±0.9	51.8±6.1	11.7±0.4
3.25±0.05	22.63±2.00**	0.55±0.04	0.54±0.02	0.33±0.02	0.58±0.05	56.4±4.0	16.5±1.3	27.4±4.8	11.3±0.4

Pancreas (g%)	Testis (g%)	Cecum (g%)	Thymus (g%)	Submaxillary gland (g%)	Ovary (mg%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Lymphnode (mg%)	Hypophysis (mg%)
0.21±0.01	0.18±0.02	2.05±0.10	0.21±0.01	0.18±0.01	40.8±1.9	27.4±1.2	5.9±0.4	18.2±1.9	5.5±0.2
0.19±0.01	0.23±0.03	6.30±0.30**	0.19±0.01	0.19±0.01	36.4±1.0	27.6±0.9	5.4±0.6	12.8±1.0*	5.5±0.1
0.20±0.01	0.19±0.02	6.47±0.35**	0.19±0.01	0.18±0.01	36.7±0.8	27.3±1.2	5.6±0.3	12.1±1.2*	5.5±0.1
0.18±0.01	0.20±0.02	6.58±0.29**	0.18±0.01*	0.18±0.01	37.6±0.6	28.8±0.9	7.1±0.4*	14.7±1.1	5.5±0.2
0.19±0.01	0.17±0.01	7.38±0.61**	0.17±0.01*	0.18±0.01	36.3±1.3	29.3±1.5	5.8±0.7	16.3±1.6	5.6±0.2
0.19±0.01	0.22±0.04	7.20±0.35**	0.18±0.01*	0.18±0.01	34.3±1.8*	25.6±0.8	5.8±0.3	15.8±1.4	5.7±0.2
0.20±0.01	0.19±0.02	7.29±0.31**	0.18±0.01*	0.17±0.01	34.8±1.3*	26.3±1.3	5.4±0.4	15.7±1.1	5.6±0.3
(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
0.49±0.02	0.41±0.04	4.66±0.23	0.47±0.02	0.42±0.02	93.6±5.7	62.4±2.8	13.8±1.2	42.3±5.3	12.5±0.5
0.43±0.01*	0.49±0.05	13.94±0.79**	0.43±0.02	0.41±0.01	80.2±2.4*	60.6±1.6	11.9±1.3	27.9±2.5*	12.1±0.3
0.43±0.02	0.39±0.03	13.65±0.92**	0.40±0.02*	0.37±0.01	77.6±3.5*	57.0±1.4	11.4±0.7	25.8±2.9*	11.6±0.4
0.38±0.02**	0.42±0.01	13.87±0.76**	0.38±0.03*	0.38±0.01	79.0±2.8*	60.7±2.4	15.0±0.8	31.1±2.3	11.5±0.6
0.43±0.03	0.37±0.02	16.43±1.68**	0.37±0.02**	0.40±0.01	79.9±3.0*	63.8±2.4	12.6±1.5	35.9±3.5	12.3±0.5
0.42±0.01*	0.49±0.08	15.74±0.85**	0.40±0.02	0.38±0.01	74.6±3.3*	55.9±1.7	12.4±0.7	33.7±2.7	12.5±0.6
0.45±0.02	0.44±0.04	16.88±0.77**	0.42±0.02	0.38±0.01	80.6±3.6	60.8±3.0	12.3±1.0	36.3±2.9	13.0±0.6

度萎縮 (Photo. 1) のみを認めたが、その他には、検体に直接起因したと考えられる変化はなかった。

腎：いずれの投与群においても、組織学的に特記すべき変化は認められなかった。

肺：6059-S 2,100 mg/kg 以上および CEZ 1,260 mg/kg 投与全群において、肺胞壁に茶褐色顆粒 (鉄染色陽性) の噴食をともなった泡沫細胞の出現 (Photo. 2) と肺胞壁の軽度肥厚があり、同様の所見は 3.3% 食塩水

投与群の 2/7 例にも認められた。その他、対照群を含む全群に局在性の肺胞腔内出血が散見された。

脾：6059-S 2,100 mg/kg 以上投与の全群でリンパ細胞の萎縮 (Photo. 3) があり、同様の傾向が 6059-S 1,260 mg/kg 投与雌雄群と CEZ 760 および 1,260 mg/kg 投与雌群にもみられた。その他、検体投与全群に赤血球産生増加あるいはその傾向がみられ、特に 6059-S の高用量投与群では変化が著しかった (Photo. 4)。

Table 6-1 Organ weights of male rats on the 28th day of recovery period

	Group	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Final body weight (g)	Brain (g%)	Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Pancreas (g%)	
Relative weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	5	450±21 <sup>a)</sup>	0.46±0.02	0.28±0.01	0.30±0.01	0.68±0.01	3.67±0.09	0.21±0.01	0.13±0.01	
	3.3% Saline	1.40 ml/100 g BW	3 <sup>Δ</sup>	478±31	0.42±0.01	0.28±0.01	0.29±0.01	0.68±0.03	4.07±0.16	0.23±0.01	0.19±0.01	
	6059-S	760	5	454±7	0.46±0.01	0.28±0.01	0.29±0.01	0.72±0.03	4.13±0.09**	0.22±0.01	0.12±0.01	
		1,260	5	426±10	0.50±0.01	0.30±0.01	0.30±0.01	0.71±0.02	3.90±0.08	0.21±0.01	0.12±0.01	
		2,100	5	429±11	0.49±0.01	0.30±0.01	0.30±0.01	0.73±0.02	3.84±0.18	0.23±0.01	0.12±0.01	
		3,500	4	371±18*	0.53±0.03	0.29±0.01	0.33±0.01	0.75±0.02*	3.78±0.04	0.24±0.01	0.15±0.01	
	CEZ	760	5	471±12	0.45±0.01	0.28±0.01	0.28±0.01	0.66±0.01	4.44±0.21	0.22±0.01	0.13±0.01	
		1,260	5 <sup>Δ</sup>	418±11	0.49±0.02	0.29±0.01	0.31±0.01	0.69±0.03	3.31±0.12	0.21±0.01	0.13±0.01	
	Absolute weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	5		(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)
		3.3% Saline	1.40 ml/100 g BW	3 <sup>Δ</sup>		2.08±0.05	1.27±0.06	1.36±0.07	3.08±0.15	16.52±0.82*	0.96±0.06	0.56±0.04
6059-S		760	5		2.08±0.03	1.28±0.04	1.30±0.06	3.26±0.15	18.76±0.31*	0.98±0.06	0.56±0.02	
		1,260	5		2.08±0.01	1.27±0.03	1.28±0.02	3.03±0.05	16.64±0.68	0.90±0.04	0.56±0.01	
		2,100	5		2.07±0.01	1.28±0.04	1.29±0.04	3.12±0.07	16.43±0.51	1.00±0.04	0.52±0.01	
		3,500	4		1.96±0.01	1.07±0.07	1.20±0.07	2.77±0.15*	14.03±0.83	0.89±0.06	0.55±0.05	
CEZ		760	5		2.10±0.03	1.31±0.04	1.30±0.03	3.12±0.08	20.90±1.11	1.04±0.03	0.61±0.02	
		1,260	5 <sup>Δ</sup>		2.05±0.03	1.20±0.04	1.27±0.03	2.87±0.09	13.82±0.54	0.88±0.03	0.53±0.04	

a) Mean ± S.E.

Δ Sacrificed on 27th day

▲ Sacrificed on 26th day

\* Statistically significant against control at P &lt; 0.05

\*\* Statistically significant against control at P &lt; 0.01

Table 6-2 Organ weights of female rats on the 28th day of recovery period

	Group	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Final body weight (g)	Brain (g%)	Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	
Relative weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	5	258±4 <sup>a)</sup>	0.75±0.01	0.30±0.01	0.39±0.01	0.63±0.02	3.51±0.05	0.24±0.01	
	6059-S	760	5	246±7	0.78±0.02	0.32±0.01	0.39±0.01	0.69±0.02*	4.08±0.14**	0.25±0.02	
		1,260	5	249±10	0.78±0.02	0.32±0.01	0.37±0.01	0.69±0.01*	3.65±0.11	0.23±0.02	
		2,100	5	243±8	0.79±0.03	0.33±0.01	0.38±0.01	0.68±0.02	3.71±0.08	0.25±0.02	
		3,500	4	262±14	0.77±0.05	0.34±0.01	0.40±0.01	0.72±0.03*	3.89±0.18	0.27±0.03	
	CEZ	760	5	265±9	0.75±0.02	0.31±0.01	0.39±0.01	0.70±0.02*	3.59±0.16	0.25±0.02	
		1,260	5	250±7	0.78±0.01	0.32±0.01	0.39±0.01	0.72±0.01**	3.74±0.07*	0.24±0.02	
	Absolute weight	0.9% Saline	0.84 ml/100 g BW	5		(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)
		6059-S	760	5		1.91±0.03	0.79±0.02	0.95±0.04	1.71±0.08	10.06±0.59	0.61±0.05
			1,260	5		1.94±0.03	0.79±0.04	0.91±0.03	1.72±0.06	9.07±0.34	0.58±0.04
2,100			5		1.91±0.03	0.79±0.04	0.92±0.03	1.65±0.08	9.05±0.47	0.61±0.05	
3,500			4		1.99±0.05	0.89±0.06	1.06±0.08	1.87±0.07*	10.24±0.96	0.71±0.10	
CEZ		760	5		2.00±0.02*	0.82±0.02	1.02±0.02	1.85±0.05**	9.51±0.46	0.67±0.05	
		1,260	5		1.94±0.05	0.80±0.04	0.97±0.02	1.80±0.05*	9.36±0.46	0.61±0.05	

a) Mean ± S.E.

\* Statistically significant against control at P &lt; 0.05

\*\* Statistically significant against control at P &lt; 0.01

骨髄：6059-S 2,100 mg/kg 以上投与で雌雄群，赤血球産生増加がみられた (Photo. 5)。CEZ 1,260 mg/kg の少数例も，極く軽度ではあったが増加を示した。

胸線：3.3% 食塩水投与群を含む検体投与全群に皮質リンパ球の減少がみられた (Photo. 6)。その程度および頻度は雄群にやや強い傾向が認められた。

注射局所：対照群を含む全群の注射局所に，主として注射針による機械的損傷に基づくと考えられる血管周囲

組織の線維化と部分的な acanthosis をともなった hyperkeratosis が認められたが，これ以外には，特に著しい炎症性変化は認められなかった。

脳：6059-S 3,500 mg/kg 投与雌雄群の各 5/9 例と，CEZ 760, 1,260 mg/kg 投与群のそれぞれ 4/9, 7/9 例に，第Ⅲ脳室周囲の軽度浮腫が認められた。その他には，特記すべき変化は認められなかった。

上記以外のその他の臓器，すなわち，心，脾，消化

Testis (g%)	Cecum (g%)	Thymus (g%)	Submaxillary gland (g%)	Prostate (g%)	Seminal vesicle (g%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Lymphnode (mg%)	Hypophysis (mg%)
0.82±0.03	1.45±0.02	0.09±0.01	0.14±0.01	0.15±0.01	0.33±0.02	13.0±0.3	4.4±0.4	8.2±1.8	2.8±0.1
0.81±0.03	1.56±0.11	0.10±0.01	0.13±0.01	0.12±0.01	0.30±0.04	13.3±0.3	5.0±0.1	8.3±1.8	2.8±0.2
0.80±0.03	1.91±0.11**	0.10±0.01	0.14±0.01	0.11±0.01	0.31±0.03	13.8±0.6	4.6±0.7	11.4±1.6	3.1±0.1*
0.85±0.03	1.61±0.14	0.11±0.01	0.14±0.01	0.14±0.01	0.33±0.02	14.0±0.7	3.6±0.3	7.2±0.7	2.9±0.1
0.82±0.02	1.54±0.12	0.09±0.01	0.15±0.01	0.13±0.01	0.31±0.03	14.8±0.7	4.0±0.5	9.2±1.2	2.9±0.1
0.87±0.05	1.44±0.15	0.10±0.01	0.15±0.01	0.16±0.01	0.35±0.04	14.8±0.8	4.0±0.4	9.8±1.3	3.2±0.2*
0.74±0.03	1.80±0.10	0.09±0.01	0.13±0.01	0.11±0.01	0.30±0.02	11.6±0.8	2.8±0.4	10.6±0.9	2.8±0.1
0.80±0.05	0.94±0.13	0.10±0.01	0.15±0.01	0.13±0.01	0.35±0.02	14.6±0.8	3.5±0.5	12.2±1.2	2.9±0.2
(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
3.67±0.08	6.55±0.37	0.42±0.03	0.63±0.03	0.65±0.07	1.47±0.08	57.0±3.4	19.8±1.4	38.2±7.2	12.3±0.4
3.86±0.21	7.44±0.72	0.47±0.07	0.64±0.05	0.57±0.04	1.39±0.12	65.8±5.8	23.7±1.5	40.3±7.3	13.1±0.1
3.64±0.15	8.68±0.53*	0.44±0.06	0.64±0.01	0.50±0.03	1.39±0.15	62.8±3.0	20.6±2.9	50.8±7.4	14.0±0.3*
3.59±0.06	6.85±0.58	0.47±0.02	0.61±0.02	0.59±0.04	1.42±0.11	59.8±2.4	15.8±1.0*	30.4±3.4	12.3±0.3
3.51±0.07	6.66±0.65	0.39±0.04	0.63±0.03	0.57±0.05	1.33±0.09	63.0±3.6	16.4±1.9	40.6±5.5	12.5±0.5
3.19±0.03**	5.28±0.44	0.35±0.03	0.55±0.02	0.58±0.02	1.30±0.17	55.3±5.1	14.8±1.8	36.3±3.8	11.9±0.8
3.46±0.09	8.46±0.45	0.41±0.03	0.60±0.03	0.52±0.03	1.41±0.11	54.4±3.1	13.0±2.0	48.8±3.9	13.4±0.7
3.31±0.17	3.92±0.57	0.41±0.06	0.61±0.02	0.53±0.05	1.44±0.08	59.8±3.4	14.8±1.4	51.2±5.6	12.0±0.8

Pancreas (g%)	Uterus (g%)	Cecum (g%)	Thymus (g%)	Submaxillary gland (g%)	Ovary (mg%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Lymphnode (mg%)	Hypophysis (mg%)
0.18±0.01	0.19±0.03	1.61±0.07	0.13±0.01	0.17±0.01	32.6±0.7	24.4±1.3	4.4±0.3	9.6±0.7	4.9±0.1
0.18±0.01	0.20±0.01	1.50±0.18	0.11±0.01	0.17±0.01	31.8±2.5	27.2±1.2	5.0±0.3	10.0±0.8	5.5±0.2
0.17±0.01	0.22±0.03	1.66±0.09	0.15±0.01	0.17±0.01	32.0±3.0	23.2±1.4	4.8±0.6	9.4±1.2	5.1±0.3
0.19±0.02	0.20±0.03	2.02±0.09**	0.12±0.01	0.16±0.01	30.8±1.0	25.8±0.5	3.6±0.4	12.0±1.2	5.5±0.4
0.18±0.01	0.22±0.02	1.73±0.09	0.14±0.01	0.17±0.01	36.5±2.4	28.8±1.6	4.5±0.7	13.5±1.0*	5.4±0.3
0.18±0.01	0.19±0.02	2.04±0.18	0.14±0.01	0.17±0.01	35.2±1.5	26.6±1.3	4.0±0.5	13.2±1.7	4.5±0.4
0.18±0.01	0.21±0.02	2.06±0.02**	0.12±0.01	0.18±0.01	34.4±3.9	27.0±1.1	4.4±0.4	11.8±2.7	5.6±0.4
(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
0.47±0.01	0.50±0.09	4.14±0.14	0.33±0.02	0.45±0.01	84.2±0.7	63.2±3.1	11.0±0.6	25.2±1.9	12.7±0.3
0.45±0.02	0.50±0.04	3.72±0.52	0.27±0.02	0.42±0.03	78.2±6.5	67.0±1.1	12.6±1.2	24.6±2.7	13.5±0.9
0.41±0.02	0.55±0.07	4.14±0.26	0.37±0.02	0.42±0.01	79.8±7.5	57.8±3.4	12.4±1.4	23.4±2.3	12.7±0.4
0.47±0.05	0.48±0.08	4.91±0.27*	0.29±0.03	0.40±0.02	75.0±3.9	62.4±1.9	8.8±0.7*	29.4±3.1	13.3±1.2
0.48±0.02	0.58±0.07	4.54±0.43	0.36±0.04	0.44±0.03	94.5±5.7	75.0±5.6	12.0±2.1	35.0±2.9*	14.2±0.8
0.46±0.03	0.49±0.04	5.37±0.38*	0.36±0.03	0.44±0.02	93.0±2.6*	70.8±4.4	10.4±1.1	35.4±4.7	11.9±0.9
0.44±0.03	0.53±0.04	5.13±0.17**	0.29±0.02	0.45±0.01	86.6±11.1	66.8±3.1	11.2±1.1	28.8±5.5	13.9±0.9

管、内分泌臓器、生殖器、副性器、眼球、皮膚、乳腺および膀胱などには、著しい変化は認められなかった。

回復試験例：6059-S 3,500 mg/kg 投与雄群の1/5例に、肺胞壁の色素顆粒喰食細胞の残存を認めた以外には、投与終了時点においてみられた諸変化はすべて回復していた。CEZ 投与群においても同様な回復を示し、特記すべき所見はみられなかった。

#### 18. 肝、腎組織の電顕所見

肝：6059-S 3,500 および 2,100 mg/kg 投与群の肝細胞に滑面小胞体の軽度な増加およびグリコーゲン野の減少がみられた (Photo. 7)。CEZ 1,260 mg/kg 投与群でも、ほぼ同様の変化 (Photo. 8) がみられたが、これに加えて lysosome 様顆粒の軽度な増加もみられた。6059-S 760, 1,260 mg/kg および CEZ 760 mg/kg 投与例では異常を認めなかった。

腎：6059-S 投与例では、3,500 mg/kg 投与群の近位

Table 7 Summary of histological findings in rats given 6059-S or CEZ for 35 days

Findings	Compound Dose, mg/kg Sex	0.9% Saline 0.84 ml/100 g BW		3.3% Saline 1.40 ml/100 g BW		6059-S												CEZ							
		M		F		M		F		760		1,260		2,100		3,500		760		1,260					
		±	+	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+	±	+		
Number of rats examined		16	9	9	7	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9		
Injection sites Inflammatory reaction		2	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Liver Atrophy of hepatocytes Erythropoiesis Hemosiderin pigments in Kupffer cells & hepatocytes		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spleen Increased erythropoiesis Atrophy of lymph follicles		0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung Increase of pigment-laden form cells Intraalveolar hemorrhages		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Thymus Decrease of lymphocytes		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bone marrow Increased erythropoiesis		1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) Arbitrary grade: ±; slight, +; moderate, ++; marked

尿管上皮細胞に、lysosome 様顆粒の軽度な増加を認めたのみであった (Photo. 9)。6059-S 760, 1,260 および 2,100 mg/kg 投与群および 3.3% 食塩水投与群では変化がみられなかった。CEZ 1,260 mg/kg 投与群では、近位尿管上皮細胞内に lysosome 様顆粒の増加、および細胞間隙の拡張がみられ (Photo. 10)、CEZ 760 mg/kg 投与群でも近位尿管上皮細胞に lysosome 様顆粒の軽度増加がみられ、雄ラットではさらに vesicle の拡張がみられた。

## 考 察

Oxacephem 系抗生物質である 6059-S を、ラットに連続 35 日間静脈内投与して、その亜急性毒性を検討した。Cephalosporin 系抗生物質のみならず、大部分の抗生物質には、程度の差はあるにしろ、副作用として腎毒性が存在するといわれており、多くの臨床的、実験的報告<sup>(4-6)</sup>がある。また、肝障害や肝、腎の機能変化を惹起すると報告もある。今回の 6059-S の毒性試験においては、投与終了時点の解剖で、肝、腎に対する副作用はほとんど認められなかった。すなわち、雌ラットで用量作用関係のない軽度の肝重量減少、雄ラットで腎の肥大傾向などがみられたが、(1)これら臓器の電顕的観察では生理的変動以内の形態変化しか示さない、(2) CEZ 投与群でみられた血漿中 GPT 活性の著明な低下が 6059-S 投与群では極めて軽度であり、また、用量作用関係がみられなかった、(3)肝、腎機能を反映する血漿成分に変動を見出さなかった、(4)光顕的に肝、腎ともに組織障害はなく、機能検査でも異常を示さなかった、(5)投与終了時にみられた重量変化は明らかに回復する、等の所見は本化合物の肝、腎に対する副作用が極めて弱いことを示すものである。また、上記諸変化が 6059-S 投与群ではみられる場合も 2,100 mg/kg/日以上という大量投与群でのみ出現しており、本化合物の安全性が高いことを裏付けている。

Cephalosporin 系抗生物質のうちには注射時局所刺激性を有するものも知られているが、6059-S は 3,500 mg/kg という大量を投与しても注射局所の炎症性反応はみられず、35 日間の投与に耐容した。

6059-S 投与直後にみられた呼吸粗大などの中毒症状、摂水量増加ならびに 3,500 mg/kg 投与群でみられた急性中毒死の発現、体重増加抑制とそれに平行した摂餌量減少などは、検体自体の副作用よりも、むしろ、検体の

液量効果、すなわち、高浸透圧溶液の大量投与による非特異的な循環障害などによる結果と推察される。

このように、ラットに 6059-S を 35 日間連続静脈内投与し、その毒性を調べたが、血中濃度の変化からも蓄積性はみられず、また、肝や腎に対する毒性もなく、しかも 2,100 mg/kg/日以上投与群でみられた用量作用関係のない軽度の諸変化も投与中止により良好な回復性を示すことなどから、6059-S は極めて安全性の高い化合物であり、少なくとも今回同時に比較検討した CEZ よりは低毒性であると結論できる。

以上の所見を総合して、今回のラット亜急性毒性試験における 6059-S の最大無作用量は 1,260 mg/kg/日と推定される。

## 謝 辞

本実験に御協力いただいた当研究所の松原尚志、吉田 正の両氏に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 吉田 正, 亀田康雄, 元川清司: Oxacephem 系抗生物質 6059-S の *in vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 28 (S-7): 86~131, 1980
- 2) 小林文彦, 古川 仁, 原田喜男, 波多野宗利, 石村勝正: 6059-S のマウスおよびラットにおける急性毒性試験. *Chemotherapy* 28 (S-7): 1002~1006, 1980
- 3) 村岡義博, 矢原 功, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-S の赤毛ザルにおける亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 28(S-7): 1072~1088, 1980
- 4) 林 裕造, 古川 仁, 川野祐次, 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. *Jpn. J. Antibiot.* 28: 231~242, 1975
- 5) 倉本昌明, 石村泰子, 森本順子, 李 雄毅, 香取恒男, 大久保孝明: Sodium Cephalothin (CET) 大量投与による毒性について. 第 2 報, 慢性毒性. *Jpn. J. Antibiot.* 28: 195~203, 1975
- 6) WOLD, J. S.; J. S. WELLES, N. V. OWEN, W. R. GIBSON & D. M. MORTON: Toxicologic evaluation of cefamandole nafate in laboratory animals. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S-51 1978
- 7) 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之: Cefazolin の毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy* 18: 528~543, 1970
- 8) BIRKHEAD, H. A.; G. B. BRIGGS & L. N. SAUNDERS: Toxicology of cefazolin in animals. *J. Infect. Dis.* 128 (Suppl.): S 379~S381, 1973

## SUBACUTE TOXICITY OF 6059-S IN RATS

FUMIHIKO KOBAYASHI, HITOSHI FURUKAWA, NORIAKI HASEGAWA,  
TOSHIO YOSHIZAKI and YOSHIO HARADA  
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Compound 6059-S was dosed intravenously via the tail vein of SPRAGUE-DAWLEY rats once daily for 35 days. Eight to sixteen male and female rats were used in each of four test groups and two control groups. The daily dose levels of 6059-S administered were 760, 1,260, 2,100 and 3,500 mg/kg. These dose levels were determined from the results of the acute toxicity studies. The highest dose, about half the intravenous LD<sub>50</sub>, was selected to insure an "effect dose." The studies were carefully controlled for dosage volume and a comparison was made with multiple i.v. injections of cefazolin (760 and 1,260 mg/kg to male and female rats for 35 days.) Care was exercised to insure that the i.v. doses were given at a uniformly slow rate. Measurements of body weight, food and water consumption, hematological and plasma biochemistry parameters, plasma levels of drug, urinalysis, ophthalmic examination, and liver and kidney function tests, together with necropsy of all animals were performed at the completion of the 35-day dose period. Gross and microscopic examinations of the organs and tissues were performed on all animals, including electron microscopic evaluations.

Three to five rats per dose group were assigned to a recovery study (no drug administered) for 28 days following the treatment period. Two male and two female rats dosed with 3,500 mg/kg 6059-S died during the study. These animals showed the same toxic effects, deep respiration, paleness of extremities and weakness, as were observed in the acute toxicity studies. In comparison, 10 of 24 rats dosed with cefazolin, 1,260 mg/kg, died during the study.

Reduced food consumption and body weight gain were observed in rats given 3,500 mg/kg 6059-S, but not at the lower doses. No significant changes were seen on the estrous cycle, or in the ophthalmic or auditory examination, but slight anemia was observed at 3,500 mg/kg. No other changes in hematological or plasma biochemical parameters were considered significant with 6059-S, but a marked decrease in GPT was seen in the cefazolin-treated rats. Apart from animals that died during the study, histopathological examination of 6059-S treated animals did not reveal significant pathological changes. In particular, and in contrast, to many other antibiotics which have been shown to cause nephrotoxicity, compound 6059-S caused minimal toxic effects in the rat liver and kidneys. 6059-S induced minimal local irritation at the site of intravenous injection even at the highest dosage level, and any toxicity produced by 6059-S was reversed during the recovery period. The maximal "no effect" dose of 6059-S was assumed to be 1,260 mg/kg/day, considerably greater than the proposed daily dose in humans. The intravenous toxicity of 6059-S was significantly less than cefazolin in rats.