

6059-S のラットにおける慢性毒性試験

村岡義博・伊藤文男・吉崎敏夫・原田喜男

塩野義製薬株式会社研究所

6059-S の 100~2,700 mg/kg/日の 6 カ月間腹腔内投与による慢性毒性試験を, Cefazolin (CEZ) の 900 mg/kg/日の投与を対照としてラットで実施した。

1. 6059-S 投与群での一般状態では, 2,700 mg/kg 群で毎回投与直後に腹部伸展がみられ, 300mg/kg 以上の群で軽度の流涎がみられた。体重変化としては, 6059-S 投与群の雄で投与量に相関した体重増加の抑制がみられたが, 雌では著変はみられなかった。

途中死亡例は, 6059-S の 900, 2,700 mg/kg 群のそれぞれに 2/32, 9/32 例がみられたが, その死因は, 拡張した盲腸を腹腔内注射時に誤って刺傷したための腹腔内出血によるものであった。

2. 血液検査, 血液生化学的検査ならびに尿検査においては, 6059-S の高用量投与群で赤血球数, Hb, Ht の軽度な減少と網状赤血球数の増加がみられ, S-GPT の軽度減少が 2,700 mg/kg 群の雄で観察された。この S-GPT の減少は, CEZ 群では雌雄ともに顕著に認められた。

3. 6059-S の 6 カ月間投与後剖検での臓器重量において用量依存性をもった変化が盲腸, 腎に認められ, 盲腸では盲腸内容の増量による重量増加が全投与群に, 腎では軽度な重量増加が 300 mg/kg 群以上の投与群にそれぞれみられた。諸臓器の病理組織学的検査で観察された主要な変化は, 注射局所の出血と炎症性反応, 腎重量増加例での近位尿細管上皮の軽度肥大であり, その他の諸臓器については本薬投与に起因すると考えられる著変はみられなかった。

4. 上記した 6059-S の大量投与時に認められた諸変化は, CEZ 投与群にもほぼ類似して認められ, 用量的には 6059-S と CEZ がほぼ対応すると考えられた。なお, 上記の諸変化は, 6 カ月間投与後の 30日間の回復試験でいずれも回復することが認められた。

結 言

既に 6059-S のラットにおける 1 カ月間静脈内投与時の亜急性毒性試験を, Cefazolin sodium (CEZ) を対照薬として実施した¹⁾。今回は, 6059-S のラットにおける 6 カ月間投与時の慢性毒性試験を CEZ を対照薬として実施したので, その結果について報告する。(実験期間 1978年6月~1979年1月)。

実験材料および実験方法

1. 実験動物

亜急性毒性試験に使用したものと同系統の Sprague-Dawley 系ラット (JCL-SD, 日本クレア), 26~28 日令のものを購入し, 1 週間試験実施飼育室にて馴化させた後, 33~35 日令で実験に供した。実験開始時体重は雄 98~123 g, 雌 83~104 g であった。

ラットは 1 ケージ (W40×L50×H20 cm) 当り, 2 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, 毎時 100%, 新鮮空気 15 回換気に設定したラット飼育室で飼育した。飼料 (CA-1, 日本クレア) と水 (市水道水) は自由に摂取させた。

2. 検体

6059-S (Lot No. B01, B02, B03, B04, B05, B06, S024 N, S026 N, S046 N, S047 N, S050N) および対照薬として Cefazolin sodium (CEZ, 市販品) を用いた。投与溶液の調整は, 毎回投与前に注射用蒸留水で, 6059-S 2,700 mg/kg 群は 25% (w/v) の濃度に溶解し, 他の投与量群および CEZ 群は 10% (w/v) に溶解し, Sartorius membrane filter (Milipore, 0.45 μ, HA) でろ過して使用した。対照群には, 生理食塩液を投与した。

(1) 投与量選択の根拠と投与量群

6059-S の 760~3,500 mg/kg/日 をラットに 35 日間静脈内投与した亜急性毒性試験¹⁾において, 6059-S の最大無作用量は 1,260 mg/kg/日 と判断された。今回の 6 カ月間投与による慢性毒性試験においては, 大量の 6059-S をラットに 6 カ月間連続して静脈内投与することは技術的に困難であると判断し, 投与経路は静脈内投与に代えて腹腔内投与とした。6059-S の投与量は, 上記亜急性毒性試験での最大無作用量の結果ならびに 100~5,000 mg/kg/日 を同系ラットに 3 週間腹腔内投与したときの pilot study の結果を参考にして, 100, 300, 900 および 2,700 mg/kg/日 の 4 投与量とし, 対照薬 CEZ は 900 mg/kg/日 とした。すなわ

ち、100~5,000 mg/kg/日 を 3 週間腹腔内投与した pilot study においては、100~2,000 mg/kg/日 では明らかな異常は認められなかったが、5,000 mg/kg/日 では、有意な体重減少、Hb 等の血液検査の変動、腎、副腎重量の増加、腎近位尿管上皮の軽度肥大等が認められ、5,000 mg/kg/日 の 6 カ月間腹腔内投与は over dose であると判断されたことから、2,700 mg/kg/日 を 6059-S の最大投与量として設定した。なお、実験動物は、合計雌雄各 86 匹ずつのラットを Table 1 に示すように群分けし、このうち、対照群、6059-S の 900, 2,700 mg/kg 群および CEZ 群については、6 カ月間の投与後に各群について雌雄各 3~6 例ずつを選び、30 日間の回復試験に供した。

(2) 投与方法と投与期間

検体は 1 日 1 回、週 7 回、定刻(午前 9:00~11:00)に腹腔内投与した。投与容量は 6059-S 100, 300, 900, 2,700 mg/kg, CEZ 900 mg/kg の順に 1, 3, 9, 10.8, 9 ml/kg とし、対照群は生理食塩液 9 ml/kg とした。体重増加による投与容量の補正は毎投与時の体重測定によって行なった。

投与期間は 6 カ月間(雄 183 日、雌 184 日間)であり、6 カ月間投与終了後の回復試験の期間は 30 日間とした。

3. 観察項目

(1) 一般状態: 毎日午前中に一般状態を観察した。眼底カメラ(Kowa, RC-2)による眼検査は、投与開始の前日、投与後 103 日目、166 日目および休業後 27 日目に無麻酔下で行なった。観察に先立ち、散瞳剤(Mydrin-P®)を点眼した。また、投与前および解剖前に耳介反射を指標として聴覚器検査を実施した。

体重は投与期間中は毎日測定し、1 週間毎の平均値として記録した。回復試験期間中は 1 週間毎に測定した。

(2) 尿検査: 尿検査は、投与後 89~91 日目、173~176 日目に各群の 8 例ずつについて、回復試験では休業後 22~23 日目に生存全例について実施した。毎検査時にラットを個別代謝ケージに移し、16 時間尿(午後 5 時~午前 9 時)を採取し、尿量、pH、浸透圧、糖、蛋白、ケトン体、潜血、沈渣、ビリルビン、ウロビリノーゲン、N-acetyl- β -D-glucosaminidase 活性の各項目について測定した。

(3) 血液検査: 血液検査は、投与後 99~100 日目、181~182 日目および回復試験 29 日目に、赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、網状赤血球、白血球、白血球分画、血小板、の各項目について測定した。検査にあたっては、尾尖端を切断(約 5 mm)して採血した。プロトンピン時間の測定は、一般血液検査とは別に、

投与後 97 日目、152 日目に対照群、6059-S の 900, 2,700 mg/kg 群および CEZ 群の約半数例についてのみ行ない、採血は注射器を用いて尾静脈から行なった。

また、好酸球数の測定は投与後 6 か月目にのみ、骨髓有核細胞数は解剖時に大腿骨骨髓を採取して、それぞれ測定した。

(4) 血液生化学的検査: 6 カ月間投与後の解剖時に、後大静脈より採血し、血漿を分離して、GOT, GPT, ALPase アルブミン、総蛋白、A/G 比、LDH, BUN, クレアチニン、総コレステロール、磷脂質、トリグリセライドおよび電解質(Na, K, Cl, Mg, Fe)の各項目について測定した。

(5) PSP排泄試験: PSP排泄試験を、投与後 177 日目に対照群、6059-S の 900, 2,700 mg/kg 群および CEZ 群のそれぞれ雌雄各 5~6 例について実施した。

PSP を 300 μ g/rat で静脈内投与後に個別代謝ケージに移し、注射後 30 および 90 分後の 2 回にわたって採尿して、尿中 PSP の濃度を測定した。なお、PSP 投与に先立ち、温水 20 ml/kg を経口投与した。

(6) 6059-S と CEZ の血中濃度: 6059-S および CEZ の最終回投与後の 24~27 時間目の血中濃度を、6059-S 900, 2,700 mg/kg 群および CEZ 900 mg/kg 群について測定した。血液は各群あたり雄 9~10 例、雌 5 例ずつについて、後大静脈より採血し、6059-S では *E. coli* 7347, CEZ では *B. subtilis* ATCC 6633 を試験菌とし、培地としては Trypto-Soy 寒天培地を用いる帯培養法で測定した。

(7) 肝組織内生化学的成分の測定: 6 カ月間投与後の解剖時および 30 日間の回復試験後に、各群の雌雄各 8~10 例について肝組織を採取し、肝組織内生化学的成分(総コレステロール、磷脂質、トリグリセライド、GOT および GPT)ならびに肝薬物代謝酵素活性(Cytochrome P-450, Aniline hydroxylase および Aminopyrine N-demethylase)について測定した。

(8) 臓器重量および病理組織学的検査: 解剖時、ラットはエーテル麻酔下で後大静脈より血液生化学的検査用の採血を行なった後、腹大動脈切断により放血致死させて解剖に供した。脳、心、肺、腎、肝、脾、膵、副腎、甲状腺、脳下垂体、胸腺、顎下腺、リンパ節、盲腸、精巣、卵巣、前立腺、精のう、子宮、膀胱、涙腺および眼の各臓器について臓器重量を測定した。これらの臓器の他に、副甲状腺、耳下腺、気管、食道、胃、小腸、結腸、副睪丸、膈、乳腺、横隔膜、大腿筋、注射局所、坐骨神経ならびに視神経を加えた諸臓器について病理組織学的所見を検索した。組織は 10% 中性緩衝ホルマリン液に、眼球はブアン液にそれぞれ固定後、常法に従って標本を

Table 1 Summary of growth, food consumption and water consumption in rats administered 6059-S ip for 6 months

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	6-month dosage period				One-month recovery period ^(a)			
			No. of rats	Body weight gain (g)	Food consumption (g/6 mon/rat)	Water consumption (ml/6 mon/rat)	No. of rats	Body weight gain (g)	Food consumption (g/1 mon/rat)	Water consumption (ml/1 mon/rat)
Male	Control (Saline)	—	16	470 ± 10 ^(b)	4,186 ± 37	7,575 ^(c)	6	8 ± 9	636 ± 9	1,620 ^(c)
	6059-S	100	10	470 ± 20	4,319 ± 138	8,228	—	—	—	—
	6059-S	300	10	475 ± 23	4,541 ± 66*	9,954	—	—	—	—
	6059-S	900	16-15	431 ± 17	4,290 ± 49	8,980	5	22 ± 2	630 ± 3	1,268
	6059-S	2,700	16-12	410 ± 13*	4,124 ± 41	9,804	3	22 ± 8	691 ± 11*	1,320
	CEZ	900	16	486 ± 11	4,519 ± 37*	9,222	6	15 ± 7	681 ± 19	1,635
Female	Control (Saline)	—	10	219 ± 7	2,931 ± 20	5,255	6	3 ± 6	425 ± 4	840
	6059-S	100	10	205 ± 9	3,022 ± 46	6,536	—	—	—	—
	6059-S	300	10	189 ± 9*	2,823 ± 61	6,006	—	—	—	—
	6059-S	900	16-15	200 ± 9	3,024 ± 61	6,627	5	0 ± 14	454 ± 9*	885
	6059-S	2,700	16-11	204 ± 5	3,010 ± 43	7,490	3	1 ± 3	507 ± 15	990
	CEZ	900	16	204 ± 7	2,884 ± 42	6,281	6	2 ± 9	447 ± 10	990

(a): After cessation of 6-month administration

(b): Mean ± SE

(c): Mean

*: Significant difference from control at P < 0.05

作製し、Hematoxylin-Eosin染色を、必要なときはPAS Berlin blue, Oil-red O, Klüver Barreraの諸染色を行ない、光学顕微鏡的に観察した。各群2例ずつの肝および腎皮質については、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ない、Luftr の処法に従って Epon 包埋を行なった。超薄切片は、ウラン-鉛で二重染色後、JEM-100 B 型電子顕微鏡で観察した。

実験結果

1. 一般状態

6059-S の 2,700 mg/kg 群のラットで、投与初日から、毎投与後 5 分以内に 1~数回、腹部を伸展する苦悶様の動作を示した。6059-S の 300, 900 mg/kg 群および CEZ 群においても同様の所見が少数例に散見された。投与開始後 5 日目頃から、腹部の弛緩が 6059-S 2,700 mg/kg 群に明らかに、その他の投与群では軽度に観察された。また少数例では、この他に下痢ないし軟便や血液を混じえた便がときどき認められた。

投与 1 カ月頃から、6059-S 300 mg/kg 以上投与群および CEZ 群において、投与直前から投与後 5 分以内に軽度の流涎がみられ、これらの群では、投与後短時間内の摂水が盛んであった。正向反射、音への耳介反射には対照群も含めていずれの例にも異常は認められなかった。6 カ月間投与後の回復期間内に上記の諸変化はす

べて回復 2 週間以内に正常に回復した。また 6 カ月間の投与期間中に、対照群も含めたいずれの例においても眼底所見 および聴覚器検査に異常は認められなかった。

2. 途中死亡例

6 カ月間の投与期間中、6059-S の 900 および 2,700 mg/kg 群のそれぞれ 2/32 例、9/32 例が死亡した。これらの途中死亡例の死因は、拡張した盲腸を注射時に誤って刺傷したための出血によるものと考えられ、解剖時の所見では、いずれも腹腔内に大量の血液の貯留が認められた。

なお、6059-S 2,700 mg/kg 群の雌の 1 例(12 日目死亡)に白血病を認めたが、自然発生性の病変と考えられた。

3. 体重変化、摂餌量および摂水量 (Table 1)

6059-S 投与群の雌において、投与期間中に投与量に相関した軽度な体重増加の抑制傾向がみられたが、雌では薬物投与に起因した体重変化はみられなかった。

摂餌量には著変はみられなかった。摂水量では雌雄ともに薬物投与と全群において用量相関性をもった増加が認められた。なお、投与群での摂水量は、休業による回復期間には対照群との差がなくなった。

4. 尿検査 (Table 2)

6059-S 2,700 mg/kg 群の約半数例が 3 および 6 カ月目の検査で尿潜血反応が陽性であり、300, 900 mg/

Table 2 Urinary findings in rats administered 6059-S ip for 6 months

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	3rd month examination						6th month examination						Recovery study			
				Volume (ml/16 hrs)	Osm. (mOsm/l)	Protein +	Occult blood +	Sediments		Volume (ml/16 hrs)	Osm. (mOsm/l)	Protein +	Occult blood ++	Sediments		N-Acetyl-pD-glucosaminidase TU/g creatinine	No. of rats	Occult blood +	
								WBC	Epith.					RBC	Epith.				
Male	Control (Saline)	—	8	18.4 ^(a) ±2.3	820 ±98	4 ^(b) 1	0 1	2 0 1 1	2 0 1 1	15.2 ±3.5	1,233 ±263	0 5	0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	1 0	18.2 ±1.7	6	0
	6059-S	100	8	9.6* ±1.6	1,535* ±200	3 4	1 0	0 2 2 0	0 2 2 0	9.4 ±1.5	1,363 ±239	2 4	2 0	0 0 0 0	0 0 0 0	4 0	19.3 ±1.4	—	—
	6059-S	300	8	16.7 ±2.8	1,088 ±126	3 3	1 0	2 1 4 1	2 1 4 1	13.2 ±2.4	1,042 ±142	3 4	4 0	0 0 0 0	0 0 0 0	2 0	20.8 ±2.4	—	—
	6059-S	900	8	20.2 ±3.2	778 ±119	4 2	0 0	3 2 2 1	3 2 2 1	18.2 ±2.5	911 ±248	1 3	3 1	0 2 2 1	1 1 0	1 0	20.4 ±2.0	5	1
	6059-S	2,700	8	15.3 ±3.9	1,030 ±156	3 4	3 1	1 1 3 0	1 1 3 0	16.9 ±3.2	983 ±146	3 5	3 1	1 3 1 0	1 0 1 0	1 0	22.6 ±2.9	3	1
	CEZ	900	8	19.6 ±4.5	844 ±149	3 2	1 0	3 0 1 0	3 0 1 0	17.9 ±4.3	748 ±171	2 4	2 0	2 0 1 0	1 0 1 0	1 0	18.2 ±0.9	6	1
Female	Control (Saline)	—	8	9.9 ±1.8	1,254 ±170	3 1	0 0	4 1 3 0	4 1 3 0	7.2 ±0.8	956 ±97	3 1	2 0	0 0 0 0	1 0 5 0	0 0	20.4 ±4.0	6	0
	6059-S	100	8	8.8 ±1.0	1,624 ±112	4 2	0 0	1 6 3 0	1 6 3 0	8.9 ±1.7	1,089 ±129	2 2	0 0	0 0 0 0	0 0 3 0	0 0	20.3 ±2.1	—	—
	6059-S	300	8	14.3 ±4.1	1,254 ±255	2 2	1 0	4 3 1 0	4 3 1 0	13.0 ±4.4	1,157 ±275	5 1	0 0	0 0 0 0	0 0 2 0	0 0	15.3 ±2.7	—	—
	6059-S	900	8	13.6 ±2.2	1,054 ±142	1 1	0 0	3 1 3 1	3 1 3 1	15.7* ±3.5	1,145 ±309	1 2	0 0	0 0 0 0	0 0 1 0	1 0	17.0 ±1.9	5	0
	6059-S	2,700	8	14.6 ±3.0	1,222 ±226	2 3	2 2	2 3 4 0	2 3 4 0	11.8 ±2.3	1,291 ±247	2 4	3 0	0 0 0 0	0 0 3 1	3 1	18.6 ±1.5	3	0
	CEZ	900	8	10.1 ±1.0	1,233 ±127	5 1	0 0	4 2 5 2	4 2 5 2	8.2 ±1.7	1,152 ±165	3 2	0 0	0 0 0 0	0 0 4 0	4 0	17.2 ±2.3	6	0

No drug-related changes were found in glucose, bilirubin, urobilinogen, pH and ketone bodies.

(a) : Mean ± SE

(b) : No. of rats with the findings

* : Significant difference from controls at P < 0.05

Table 3 Hematological findings in rats administered 6059-S ip for 6 months

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	3rd month examination						6th month examination						Recovery study					
				RBC			WBC			RBC			WBC			Eosino counts		NBMC (b) ($\times 10^6$ /mg)	No. of rats		
				Hb (g/dl)	Ht (%)	Retic (%)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Retic (%)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Retic (%)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Retic (%)	Neuro.	Lymph.			Neuro.	Lymph.
Male	Control (Saline)	—	16	752 ^(a) ± 12	15.1 ± 0.2	37.5 ± 0.6	9.6 ± 1.2	116 ± 7	17.3 ± 2.1	79.5 ± 2.1	749 ± 13	15.3 ± 0.3	36.9 ± 0.7	14.5 ± 1.7	101 ± 5	3.0 ± 0.2	15.3 ± 1.0	80.9 ± 1.0	146 ± 5	6	172 ± 16
	6059-S	100	10	769 ± 11	15.6 ± 0.2	39.0 ± 0.5	9.8 ± 0.9	83* ± 3	11.0 ± 1.9	85.8* ± 1.9	739 ± 11	15.2 ± 0.2	37.0 ± 0.5	14.6 ± 1.6	86* ± 4	2.8 ± 0.2	17.2 ± 2.1	78.5 ± 2.4	163* ± 7	—	—
	6059-S	300	10	729 ± 14	14.9 ± 0.2	37.2 ± 0.6	15.0 ± 3.7	98 ± 6	17.0 ± 1.5	78.9 ± 1.7	743 ± 11	15.2 ± 0.2	37.5 ± 0.6	15.7 ± 1.0	83* ± 5	2.6 ± 0.2	22.7* ± 3.9	73.6* ± 4.0	163 ± 8	—	—
	6059-S	900	15	686* ± 9	14.2* ± 0.3	36.9 ± 0.7	28.0* ± 8.7	108 ± 8	18.9 ± 1.8	76.5 ± 1.9	732 ± 16	15.3 ± 0.3	38.0 ± 0.7	18.4 ± 3.2	85* ± 4	2.6 ± 0.2	19.9* ± 1.5	77.2 ± 1.7	182* ± 12	5	162 ± 12
	6059-S	2,700	14-12	668* ± 23	14.1* ± 0.4	36.5 ± 0.9	34.1* ± 11.5	119 ± 11	20.1 ± 1.8	72.1 ± 4.0	670* ± 21	14.4 ± 0.3	35.9 ± 0.7	46.7* ± 13.0	101 ± 5	2.6 ± 0.2	23.8* ± 2.8	73.8* ± 2.9	185* ± 9	3	137 ± 4
	CEZ	900	16	712* ± 11	14.1* ± 0.2	35.7* ± 0.2	12.5 ± 2.3	115 ± 5	22.0 ± 1.7	73.8 ± 1.9	707 ± 18	14.5 ± 0.3	35.4 ± 0.7	20.5 ± 5.5	95 ± 4	2.8 ± 0.2	20.5* ± 1.9	75.8* ± 2.1	183* ± 11	6	156 ± 9
Female	Control (Saline)	—	16	668 ± 7	14.3 ± 0.1	35.5 ± 0.4	12.3 ± 1.3	78 ± 3	16.4 ± 1.3	79.3 ± 1.6	669 ± 16	14.6 ± 0.3	37.1 ± 0.7	11.8 ± 1.0	57 ± 5	2.2 ± 0.2	19.3 ± 2.7	76.6 ± 2.6	172 ± 11	6	171 ± 12
	6059-S	100	10	675 ± 14	14.4 ± 0.3	35.9 ± 0.7	11.0 ± 1.2	59* ± 4	12.9 ± 1.7	83.2 ± 1.7	653 ± 12	14.0 ± 0.2	35.8 ± 0.6	13.4 ± 1.6	42* ± 4	1.5* ± 0.1	15.5 ± 2.1	79.8 ± 2.6	225* ± 13	—	—
	6059-S	300	10	652 ± 11	14.1 ± 0.2	35.2 ± 0.4	14.1 ± 1.4	62* ± 5	13.9 ± 0.9	81.2 ± 1.5	662 ± 9	14.6 ± 0.2	36.8 ± 0.7	14.3 ± 1.7	43 ± 4	1.5* ± 0.1	20.8 ± 2.7	76.3 ± 2.9	190 ± 12	—	—
	6059-S	900	16-15	620* ± 14	13.6* ± 0.2	34.5 ± 0.6	25.1 ± 6.5	68 ± 7	17.6 ± 2.0	78.3 ± 2.0	652 ± 14	14.4 ± 0.2	36.5 ± 0.6	17.0 ± 3.2	48 ± 3	2.1 ± 0.3	20.5 ± 2.2	75.3 ± 2.2	179 ± 9	5	171 ± 11
	6059-S	2,700	15-11	549* ± 24	11.7* ± 0.9	32.1* ± 1.1	33.5* ± 7.0	114* ± 17	29.4* ± 3.9	65.5* ± 4.0	525* ± 34	13.0* ± 0.6	34.1* ± 1.2	74.9* ± 27.8	120* ± 31	4.3* ± 1.1	34.8* ± 3.2	59.7* ± 3.1	195 ± 13	3	119* ± 9
	CEZ	900	16	671 ± 12	14.1 ± 0.3	35.3 ± 0.7	25.4 ± 6.5	69 ± 4	18.1 ± 1.8	77.9 ± 1.8	659 ± 16	14.2 ± 0.3	36.1 ± 0.7	18.6 ± 4.5	70 ± 15	2.8 ± 0.7	30.1* ± 3.0	66.9* ± 3.0	208 ± 15	6	186 ± 10

No drug-related changes were found in prothrombin time, and differential counts of eosinophils and monocytes.

(a) : Mean \pm SE

(b) : Nucleated bone marrow cell

* : Significant difference from controls at P < 0.05

Table 4 Plasma analysis in rats administered 6059-S ip for 6 months

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	Albumin (g/100 ml)	Urea-N (mg/100 ml)	T. Cholesterol (mg/100 ml)	Phospholipid (mg/100 ml)	Triglyceride (mg/100 ml)	Sodium (mEq/l)	Potassium (mEq/l)	Magnesium (mg/100 ml)	
Male	Control (Saline)	—	10	80 ^(a) ± 5	36 ± 2	3.6 ± 0.1	21 ± 1	77 ± 3	144 ± 5	135 ± 16	143.9 ± 0.6	4.45 ± 0.07	1.83 ± 0.04	
	6059-S	100	10	71 ± 3	33 ± 3	3.4 ± 0.1	21 ± 1	84 ± 3	150 ± 6	132 ± 12	142.8 ± 0.5	4.21 [*] ± 0.05	1.75 ± 0.03	
	6059-S	300	10	72 ± 3	35 ± 2	3.1 [*] ± 0.1	19 ± 1	89 ± 6	157 ± 11	136 ± 24	143.0 ± 0.6	4.25 ± 0.07	1.73 ± 0.07	
	6059-S	900	10	86 ± 12	34 ± 6	3.1 [*] ± 0.1	19 ± 1	67 [*] ± 3	130 ± 7	88 [*] ± 6	143.2 ± 0.6	4.16 [*] ± 0.10	1.68 [*] ± 0.04	
	6059-S	2,700	9	78 ± 2	28 [*] ± 1	3.2 [*] ± 0.0	21 ± 1	56 [*] ± 1	111 [*] ± 7	70 [*] ± 10	142.0 [*] ± 0.7	4.16 [*] ± 0.10	1.80 ± 0.03	
	CEZ	900	10	67 [*] ± 3	13 [*] ± 2	3.4 ± 0.1	19 ± 1	75 ± 3	121 [*] ± 6	124 ± 11	141.9 ± 1.0	4.38 ± 0.22	1.65 [*] ± 0.03	
	Female	Control (Saline)	—	10	82 ± 6	35 ± 3	4.0 ± 0.1	19 ± 1	76 ± 4	157 ± 7	90 ± 13	143.1 ± 0.7	3.98 ± 0.04	1.94 ± 0.02
		6059-S	100	10	86 ± 14	36 ± 7	3.9 ± 0.1	18 ± 1	73 ± 4	142 ± 12	91 ± 23	141.9 ± 0.6	3.87 ± 0.04	1.95 ± 0.02
		6059-S	300	10	100 ± 16	39 ± 5	3.9 ± 0.1	20 ± 1	77 ± 3	155 ± 6	82 ± 19	141.3 ± 0.6	3.98 ± 0.05	1.95 ± 0.02
		6059-S	900	10	98 ± 13	37 ± 4	3.8 [*] ± 0.1	20 ± 2	78 ± 3	162 ± 10	60 ± 13	142.4 ± 0.6	3.94 ± 0.06	1.92 ± 0.01
6059-S		2,700	8	93 ± 11	34 ± 5	3.5 [*] ± 0.1	28 [*] ± 1	80 ± 5	143 ± 5	56 ± 10	140.5 [*] ± 0.6	4.09 ± 0.08	1.96 ± 0.07	
CEZ		900	10	108 [*] ± 10	17 [*] ± 3	3.8 [*] ± 0.1	22 ± 2	84 ± 3	164 ± 9	87 ± 25	142.3 ± 0.4	3.85 ± 0.07	1.93 ± 0.02	

No drug-related changes were found in LDH, ALP, total protein, creatinine, chloride, calcium and iron values. In recovery study no remarkable changes were found in other items than A/G ratios, which were slightly elevated reflecting increased albumin and decreased beta-globulin fractions in males receiving 900 and 2700 mg/kg of 6059-S.

(a) : Mean ± SE

* Significant difference from controls at P < 0.05

kg 群では雄の半数が 6 カ月検査で陽性を示した。回復試験では、CEZ 群を含めて、投与群の雄に 1 例ずつ、陽性例がみられた。

その他の検査項目においては、6059-S 投与群および CEZ 投与群と対照群との間に差のある変化は認められなかった。

5. 血液検査 (Table 3)

3 カ月目の検査では、6059-S 900, 2,700 mg/kg 群の雌雄, CEZ 群の雄において、軽度の赤血球数, Hb,

Ht の減少と網状赤血球数の増加がみられ、6059-S 2,700 mg/kg 群の雌においては、好中球の増加ならびにリンパ球の減少をともなう白血球数の軽度な増加がみられた。6059-S の 100, 300 mg/kg 群の雌で、白血球数の軽度な減少がみられたが、用量相関性は認められなかった。

一方、6 カ月目の検査では、6059-S 2,700 mg/kg 群の雌雄で網状赤血球の増加をともなった赤血球数の減少と、雌で Hb, Ht の減少ならびに白血球数, 好酸球数

Table 5 PSP excretion in rats administered 6059-S for 6 months

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Urinary excretion (% of dose)		
				0-30 min	30-90 min	0-90 min
Male	Control (Saline)	—	6	38.6 ± 4.3	15.9 ± 2.7	54.5 ± 5.7
	6059-S	900	5	49.0 ± 4.7	12.7 ± 0.9	61.6 ± 3.9
	6059-S	2,700	6	53.0 ± 5.7	8.7 ± 1.7	61.8 ± 7.3
	CEZ	900	6	49.8 ± 3.1	10.4 ± 1.2	60.1 ± 2.3
Female	Control (Saline)	—	5	56.5 ± 3.1	11.6 ± 2.0	68.1 ± 2.3
	6059-S	900	6	56.2 ± 2.5	15.6 ± 2.5	72.0 ± 2.7
	6059-S	2,700	5	60.9 ± 2.3	13.8 ± 1.4	74.7 ± 1.4*
	CEZ	900	6	51.2 ± 7.5	20.9 ± 4.2	72.1 ± 4.0

Mean ± SE

* Significant difference from control at P < 0.05

Table 6 Blood levels after intraperitoneal injection of 6059-S and CEZ for 6 months

Sex	Drug	Dose (mg/kg/day)	Rat number									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Male	6059-S	900	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	6059-S	2,700	<0.1	ND	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	CEZ	900	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Female	6059-S	900	<0.1	ND	<0.1	<0.1	ND	ND	ND	ND	<0.1	<0.1
	6059-S	2,700	<0.5	ND	ND	ND	<0.5	<0.5	<0.5	ND	<0.5	ND
	CEZ	900	<0.5	<0.5	ND	ND	ND	ND	<0.5	ND	<0.5	<0.5

Detected 24 to 27 hours after the final injection.

ND: Not done

Table 7 Biochemical components in the liver of rats administered 6059-S ip for 6 months

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	End of dosage period					Recovery study			
				Total cholesterol (mg/g)	Phospholipid (mg/g)	Triglyceride (mg/g)	Enzyme activity (a)		No. of rats	Phospholipid (mg/g)	No. of rats	ACP ^(a)
							GPT	GOT				
Male	Control (Saline)	—	10	6.44 ± 1.03 ^(b)	30.3 ± 0.6	30.9 ± 4.1	5	77 ± 5	201 ± 12	6	31.9 ± 1.2	10.26 ± 0.42
	6059-S	100	10	5.45 ± 0.41	31.5 ± 0.5	20.6 ± 1.6*	—	—	—	—	—	—
	6059-S	300	10	4.10 ± 0.17*	30.9 ± 0.5	17.3 ± 2.0*	—	—	—	—	—	—
	6059-S	900	10	5.08 ± 0.65	31.9 ± 0.8	19.0 ± 3.0*	5	63 ± 7	223 ± 9	5	30.0 ± 0.9	8.98 ± 0.14*
	6059-S	2,700	9	3.72 ± 0.21*	31.4 ± 0.8	8.2 ± 0.8*	5	58 ± 4*	240 ± 9*	3	31.7 ± 0.7	8.62 ± 0.09*
	CEZ	900	10	6.58 ± 1.08	31.0 ± 0.7	22.5 ± 3.8	5	53 ± 3*	225 ± 11	6	30.4 ± 1.0	9.64 ± 0.30
Female	Control (Saline)	—	10	2.78 ± 0.07	32.4 ± 0.6	10.0 ± 1.2	5	68 ± 7	220 ± 12	6	32.4 ± 0.6	10.59 ± 0.28
	6059-S	100	10	2.92 ± 0.06	33.0 ± 0.7	9.2 ± 1.6	—	—	—	—	—	—
	6059-S	300	10	3.01 ± 0.06*	32.1 ± 0.5	7.5 ± 0.5	—	—	—	—	—	—
	6059-S	900	10	2.94 ± 0.04	32.3 ± 0.6	8.8 ± 1.4	5	55 ± 3	258 ± 15	5	31.8 ± 0.8	11.04 ± 0.26
	6059-S	2,700	8	2.94 ± 0.07	30.6 ± 0.3*	6.7 ± 0.6*	5	48 ± 3*	270 ± 13*	3	28.9 ± 0.7*	10.51 ± 0.32
	CEZ	900	10	3.06 ± 0.05*	31.2 ± 0.5	8.0 ± 0.7	5	40 ± 2*	239 ± 13	6	32.8 ± 0.8	10.93 ± 0.27

No remarkable change was found in total protein value.

(a) : $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ liver(b) : Mean \pm SE* : Significant difference from control at $P < 0.05$

Table 8 Hepatic drug-metabolizing enzyme activities of rats administered 6059-S ip for 6 months

Sex	Drug	Daily dose (mg/kg)	End of dosage period				Recovery study			
			No. of rats	Cytochrome P-450 (a)	Aniline hydroxylase (b)	Aminopyrine N-demethylase (c)	No. of rats	Cytochrome P-450	Aniline hydroxylase	Aminopyrine N-demethylase
Male	Control (Saline)	—	5	43.8 ± 3.8 (d)	20.1 ± 3.1	0.61 ± 0.05	3	32.1 ± 4.3	15.7 ± 1.2	0.54 ± 0.03
	6059-S	100	5	40.8 ± 2.7	22.0 ± 2.9	0.59 ± 0.04	—	—	—	—
	6059-S	300	5	42.0 ± 2.3	26.3 ± 4.3	0.72 ± 0.07	—	—	—	—
	6059-S	900	5	46.1 ± 3.4	18.3 ± 1.1	0.54 ± 0.04	3	31.6 ± 1.0	20.2 ± 2.4	0.62 ± 0.03
	6059-S	2,700	5	44.6 ± 1.6	25.2 ± 2.4	0.64 ± 0.03	3	33.8 ± 4.9	26.3 ± 4.2*	0.65 ± 0.09
	CEZ	900	5	43.7 ± 3.9	21.5 ± 2.9	0.62 ± 0.05	3	36.8 ± 2.7	22.5 ± 2.0*	0.65 ± 0.04
Female	Control (Saline)	—	5	40.1 ± 3.2	16.2 ± 1.4	0.46 ± 0.04	3	36.6 ± 1.6	17.7 ± 0.8	0.52 ± 0.02
	6059-S	100	5	49.9 ± 1.2*	17.8 ± 1.1	0.43 ± 0.02	—	—	—	—
	6059-S	300	5	44.9 ± 1.8	16.7 ± 1.8	0.38 ± 0.03	—	—	—	—
	6059-S	900	5	41.6 ± 2.3	21.1 ± 0.5*	0.37 ± 0.02	3	37.3 ± 2.0	17.8 ± 1.7	0.46 ± 0.03
	6059-S	2,700	5	44.5 ± 3.9	20.0 ± 2.2	0.34 ± 0.02*	3	34.9 ± 1.1	19.4 ± 1.1	0.67 ± 0*
	CEZ	900	5	42.1 ± 2.9	18.6 ± 1.7	0.33 ± 0.02*	3	39.9 ± 3.6	20.3 ± 1.8	0.51 ± 0.02

(a) : nmol/g liver

(b) : nmol/min/g liver

(c) : μmol/min/g liver

(d) : Mean ± SE

* : Significant difference from control at P < 0.05

Table 9-1 Organ weights of male rats administered 6059-S for 6 months

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Absolute weight											
				Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Adrenal (mg)	Thyroid (mg)	Pituit. (mg)	Brain (g)	Testis (g)	Cecum ^(a) (g)
Control (Saline)	—	10	577 ^(b) ± 15	1.49 ± 0.04	1.48 ± 0.04	3.02 ± 0.11	18.2 ± 0.4	0.98 ± 0.04	0.64 ± 0.03	49.4 ± 2.1	20.4 ± 0.9	13.3 ± 0.6	1.99 ± 0.03	3.61 ± 0.12	6.6 ± 0.5
6059-S	100	10	579 ± 21	1.36 ± 0.06	1.42 ± 0.05	3.18 ± 0.15	17.0 ± 0.7	0.87 ± 0.05	0.62 ± 0.03	48.1 ± 2.9	20.1 ± 1.6	14.0 ± 0.6	1.96 ± 0.05	3.41 ± 0.26	14.0 [*] ± 0.7
6059-S	300	10	584 ± 24	1.52 ± 0.07	1.43 ± 0.03	3.67 [*] ± 0.14	17.9 ± 1.2	0.92 ± 0.06	0.66 ± 0.04	48.2 ± 1.4	20.2 ± 1.3	13.3 ± 0.6	1.95 ± 0.04	3.54 ± 0.10	15.1 [*] ± 1.0
6059-S	900	10	563 ± 19	1.42 ± 0.07	1.47 ± 0.05	3.66 [*] ± 0.18	16.8 ± 0.9	0.80 [*] ± 0.04	0.73 [*] ± 0.03	46.9 ± 1.5	20.2 ± 1.2	14.1 ± 0.8	1.97 ± 0.03	3.53 ± 0.11	18.6 [*] ± 1.7
6059-S	2,700	9	522 [*] ± 15	1.38 ± 0.05	1.71 ± 0.13	3.78 [*] ± 0.16	16.5 [*] ± 0.5	0.83 [*] ± 0.04	0.84 [*] ± 0.03	60.7 [*] ± 4.0	19.7 ± 1.0	13.7 ± 0.8	1.96 ± 0.02	3.43 ± 0.12	21.3 [*] ± 2.2
CEZ	900	10	603 ± 16	1.53 ± 0.06	1.61 ± 0.07	3.79 [*] ± 0.14	19.0 ± 0.7	0.93 ± 0.03	0.68 ± 0.03	50.2 ± 2.1	20.2 ± 1.2	13.8 ± 0.7	2.00 ± 0.03	3.63 ± 0.06	18.9 [*] ± 2.1
Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats		Relative weight											
				Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Pancreas (g%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Pituit. (mg%)	Brain (g%)	Testis (g%)	Cecum (g%)
Control (Saline)	—	10		0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.52 ± 0.02	3.2 ± 0.1	0.17 ± 0.01	0.11 ± 0.01	8.6 ± 0.4	3.6 ± 0.2	2.3 ± 0.1	0.35 ± 0.01	0.63 ± 0.02	1.2 ± 0.1
6059-S	100	10		0.23 [*] ± 0.00	0.25 ± 0.01	0.55 ± 0.01	2.9 [*] ± 0.1	0.15 ± 0.01	0.11 ± 0.01	7.8 ± 0.4	3.5 ± 0.2	2.4 ± 0.1	0.34 ± 0.01	0.58 ± 0.04	2.4 [*] ± 0.1
6059-S	300	10		0.26 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.63 [*] ± 0.01	3.1 ± 0.1	0.16 ± 0.01	0.11 ± 0.01	7.9 ± 0.5	3.5 ± 0.2	2.3 ± 0.1	0.34 ± 0.02	0.61 ± 0.01	2.6 [*] ± 0.2
6059-S	900	10		0.25 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.66 [*] ± 0.02	3.0 ± 0.1	0.14 [*] ± 0.01	0.13 [*] ± 0.01	8.4 ± 0.4	3.6 ± 0.2	2.5 ± 0.1	0.35 ± 0.01	0.63 ± 0.02	3.3 [*] ± 0.3
6059-S	2,700	9		0.26 ± 0.01	0.33 [*] ± 0.02	0.72 [*] ± 0.02	3.2 ± 0.1	0.16 ± 0.01	0.16 [*] ± 0.01	11.6 [*] ± 0.5	3.8 ± 0.2	2.6 ± 0.1	0.38 ± 0.01	0.66 ± 0.02	4.0 [*] ± 0.3
CEZ	900	10		0.25 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.63 [*] ± 0.02	3.2 ± 0.1	0.15 ± 0.00	0.11 ± 0.00	8.4 ± 0.4	3.4 ± 0.2	2.3 ± 0.1	0.33 ± 0.01	0.60 ± 0.02	3.1 [*] ± 0.3

No drug-related changes were found in thymus, submaxillary gland, lumbar lymph node, prostate, vascular gland, bladder, lacrimal gland and eye.

(a): Gross weight

(b): Mean ± SE

*: Significant difference from control at P < 0.05

の増加が観察された。白血球細胞別分類では、6059-S 300 mg/kg 以上の投与群の雄および 2,700 mg/kg 群の雌と CEZ 群の雌雄において、リンパ球の減少と好中球の増加が軽度に見られた。

6 カ月間投与後の解剖時の骨髓有核細胞数は、6059-S および CEZ 投与群の雄において軽度な増加がみられた。しかし、両剤投与群の雄でみられたこの骨髓有核細胞数の変化は、休薬後の回復試験では正常に回復していた。

6. 血液生化学的検査 (Table 4)

検体 6 カ月間投与後の血液生化学的検査では、GPT の減少が 6059-S 2,700 mg/kg 群の雄で軽度に、CEZ 900 mg/kg 群の雌雄で顕著にみられた。

脂質の変化としては、6059-S 900 mg/kg 以上の投与群の雄で総コレステロール、トリグリセライドの軽度な減少がみられ、2,700 mg/kg 群では燐脂質の減少も認められた。この燐脂質の減少は CEZ 群の雄でも同様に認められた。

血漿蛋白においては、アルブミンの軽度な減少が、6059-S では雄の 300 mg/kg 以上の群および雌の 900 mg/kg 以上の群でみられ、CEZ では雌にのみ観察された。

蛋白分画では、6059-S の 900 および 2,700 mg/kg 群ならびに CEZ 群の雌において、 α_1 -グロブリンの軽度な増加、アルブミンの減少による A/G 比の低下がみられた。その他の変化としては、尿素窒素の軽度な増加が 6059-S 2,700 mg/kg 群の雌において認められたが、これらの変化はいずれも軽度、かつ正常範囲内の変化であって、毒性学的に意味のある変化とは考えられない。

血漿電解質では、6059-S 投与群の雄においてカリウムの軽度な低値がみられたが、正常範囲内の変動であった。

休薬後の回復試験では、蛋白分画において、6059-S 900 mg/kg 以上の群および CEZ 群の雄でアルブミン分画の増加、 β -グロブリン分画の減少を反映して A/G 比の軽度な増加がみられたのみで、その他の検査項目に

Table 9-2 Organ weights of female rats administered 6059-S for 6 months

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Absolute weight											
				Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Adrenal (mg)	Thyroid (mg)	Pituit. (mg)	Brain (g)	Ovary (g)	Cecum ^(a) (g)
Control (Saline)	—	10	312 ^(b) ± 9	0.90 ± 0.02	1.14 ± 0.05	1.67 ± 0.05	9.4 ± 0.3	0.61 ± 0.02	0.53 ± 0.02	55.8 ± 2.9	16.4 ± 0.4	17.2 ± 1.1	1.84 ± 0.02	72.7 ± 5.4	4.4 ± 0.5
6059-S	100	10	300 ± 9	0.86 ± 0.03	1.02* ± 0.02	1.69 ± 0.05	9.1 ± 0.2	0.51* ± 0.03	0.44* ± 0.03	57.9 ± 3.9	16.5 ± 0.7	21.5 ± 2.5	1.81 ± 0.02	64.9 ± 4.7	10.9* ± 0.7
6059-S	300	10	283* ± 9	0.85 ± 0.02	1.01* ± 0.04	1.69 ± 0.06	9.0 ± 0.5	0.54* ± 0.03	0.45 ± 0.04	52.3 ± 3.7	17.8 ± 1.2	17.7 ± 0.7	1.82 ± 0.04	62.8 ± 6.4	11.5* ± 0.4
6059-S	900	10	295 ± 10	0.87 ± 0.02	1.05 ± 0.02	1.81 ± 0.05	9.2 ± 0.2	0.52* ± 0.03	0.47 ± 0.02	53.8 ± 1.8	16.8 ± 1.3	20.2 ± 1.4	1.84 ± 0.02	56.0 ± 6.2	13.6* ± 1.1
6059-S	2,700	9	295 ± 5	0.88 ± 0.02	1.16 ± 0.04	2.39* ± 0.21	10.4* ± 0.3	0.65 ± 0.00	0.66* ± 0.05	68.4* ± 4.2	18.1 ± 1.1	21.7* ± 1.5	1.83 ± 0.03	62.4 ± 7.5	17.8* ± 1.8
CEZ	900	10	300 ± 11	0.82* ± 0.03	1.04 ± 0.02	1.76 ± 0.07	9.4 ± 0.4	0.58 ± 0.03	0.49 ± 0.03	49.9 ± 1.2	15.4 ± 0.7	17.9 ± 1.1	1.79 ± 0.03	60.9 ± 2.6	16.3* ± 1.3
Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Relative weight											
				Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Pancreas (g%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Pituit. (mg%)	Brain (g%)	Ovary (g%)	Cecum (g%)
Control (Saline)	—	10	312 ^(b) ± 9	0.29 ± 0.01	0.37 ± 0.02	0.54 ± 0.01	3.0 ± 0.1	0.20 ± 0.00	0.17 ± 0.01	18.0 ± 1.1	5.3 ± 0.2	5.6 ± 0.4	0.59 ± 0.01	23.4 ± 1.7	1.4 ± 0.1
6059-S	100	10	300 ± 9	0.29 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.56 ± 0.01	3.0 ± 0.1	0.17* ± 0.01	0.15 ± 0.01	19.6 ± 1.7	5.6 ± 0.3	7.2 ± 0.8	0.61 ± 0.02	21.6 ± 1.3	3.6* ± 0.2
6059-S	300	10	283* ± 9	0.30 ± 0.00	0.36 ± 0.02	0.60* ± 0.01	3.1 ± 0.1	0.19 ± 0.01	0.16 ± 0.01	18.5 ± 1.2	6.3* ± 0.3	6.3 ± 0.2	0.65* ± 0.02	22.0 ± 1.9	4.1* ± 0.2
6059-S	900	10	295 ± 10	0.30 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.61* ± 0.02	3.1 ± 0.1	0.18 ± 0.01	0.16 ± 0.01	18.4 ± 0.7	5.7 ± 0.4	6.9 ± 0.6	0.63 ± 0.02	19.2 ± 2.0	4.7* ± 0.4
6059-S	2,700	9	295 ± 5	0.30 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.81* ± 0.07	3.5* ± 0.1	0.22 ± 0.03	0.22* ± 0.01	23.2* ± 1.4	6.1* ± 0.3	7.3* ± 0.5	0.62 ± 0.01	21.0 ± 2.4	6.0* ± 0.6
CEZ	900	10	300 ± 11	0.27* ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.59* ± 0.01	3.1 ± 0.1	0.20 ± 0.01	0.16 ± 0.01	16.9 ± 0.8	5.2 ± 0.3	6.0 ± 0.3	0.60 ± 0.02	20.6 ± 1.2	5.4* ± 0.4

No drug-related changes were found in thymus, submaxillary gland, lumbar lymph node, uterus, vascular gland, bladder, lacrimal gland and eye.

(a) : Gross weight

(b) : Mean ± SE

* : Significant difference from control at P < 0.05

おいては対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

7. PSP 排泄試験 (Table 5)

6059-S および CEZ のいずれの投与群においても明らかな PSP の排泄遅延は認められなかった。

8. 6059-S および CEZ の血中濃度 (Table 6)

6059-S, CEZ とともに最終投与 24~27 時間後の血中濃度は、測定限界以下であって、両薬物ともに大量を長期間投与しても蓄積傾向はうかがえなかった。

9. 肝組織内生化学的成分の測定 (Table 7, 8)

6059-S 2,700 mg/kg 群および CEZ 群において肝組織内 GPT 活性の低下がみられたが、6059-S による変化は CEZ よりも軽度であった。GOT 活性は 6059-S 2,700 mg/kg 群において軽度に増加した。トリグリセライドが 6059-S 投与群のすべての雄と 2,700 mg/kg 群の雌において減少し、コレステロールは 6059-S 2,700 mg/kg 群の雄で減少、CEZ 群の雌で増加した。これらの脂質の変化は、6059-S 2,700 mg/kg 群の雄を除

ば、いずれも軽度な変化であった。

休薬後の回復試験では、6059-S 900, 2,700 mg/kg 群の雄における酸性フォスファターゼ活性、2,700 mg/kg 群の雌における磷脂質がそれぞれ軽度に低値を示した。

6059-S および CEZ の 6 カ月間の投与によっても肝薬物代謝酵素系への影響はほとんどみられなかったが、6059-S の高用量投与群や CEZ 投与群の雌ラットではアミノピリン脱メチラーゼ活性が軽度低下の傾向を示した。

10. 臓器重量 (Table 9-1~9-4)

盲腸重量の増加が 6059-S および CEZ の全投与群の雌雄に用量依存性をもって認められ、この増加は盲腸内容の増量によるものであった。

腎重量の軽度な増加が、6059-S では 300 mg/kg 以上の群および CEZ 群の各雌雄で認められた。その他には、6059-S 高用量投与群で、肺、脾、副腎、脳下垂体等の重量増加が散見された。

Table 9-3 Organ weights at the end of one-month recovery period in male rats after cessation of 6-month administration of 6059-S

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Absolute weight											
				Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Adrenal (mg)	Thyroid (mg)	Pituit. (mg)	Brain (g)	Testis (g)	Cecum ^(a) (g)
Control (Saline)	—	6	597 ^(b) ± 17	1.48 ± 0.03	1.64 ± 0.06	3.25 ± 0.24	17.7 ± 1.3	0.98 ± 0.06	0.62 ± 0.04	52.5 ± 1.5	16.7 ± 2.1	12.8 ± 0.5	2.11 ± 0.05	3.76 ± 0.09	6.4 ± 0.4
6059-S	900	5	518* ± 27	1.42 ± 0.05	1.45 ± 0.06	3.32 ± 0.25	16.7 ± 1.2	0.88 ± 0.07	0.56 ± 0.04	43.4* ± 3.1	20.1 ± 1.1	13.2 ± 0.6	2.01 ± 0.05	3.51 ± 0.07	8.9* ± 0.7
6059-S	2,700	3	536 ± 17	1.50 ± 0.10	1.46 ± 0.03	3.80 ± 0.20	18.2 ± 0.4	0.79 ± 0.05	0.66 ± 0.04	48.0 ± 1.0	22.0 ± 0.5	13.0 ± 0.4	2.08 ± 0.02	3.67 ± 0.12	13.6* ± 0.7
CEZ	900	6	597 ± 15	1.50 ± 0.04	1.70 ± 0.12	3.23 ± 0.18	18.6 ± 0.8	0.91 ± 0.04	0.55 ± 0.04	50.8 ± 2.8	18.8 ± 1.1	14.0 ± 0.4	2.03 ± 0.02	3.61 ± 0.09	8.7 ± 1.1
Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Relative weight											
				Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Pancreas (g%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Pituit. (mg%)	Brain (g%)	Testis (g%)	Cecum (g%)
Control (Saline)	—	6	597 ^(b) ± 17	0.25 ± 0.00	0.28 ± 0.01	0.54 ± 0.03	3.0 ± 0.1	0.16 ± 0.01	0.10 ± 0.01	8.9 ± 0.4	2.8 ± 0.3	2.2 ± 0.1	0.35 ± 0.01	0.63 ± 0.02	1.1 ± 0.1
6059-S	900	5	518* ± 27	0.27* ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.64* ± 0.02	3.2 ± 0.1	0.17 ± 0.01	0.11 ± 0.00	8.4 ± 0.7	3.9* ± 0.3	2.6* ± 0.1	0.39* ± 0.01	0.68 ± 0.03	1.7* ± 0.2
6059-S	2,700	3	536 ± 17	0.20* ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.71* ± 0.06	3.4 ± 0.1	0.15 ± 0.01	0.12 ± 0.01	9.0 ± 0.1	4.1* ± 0.1	2.4 ± 0.1	0.39 ± 0.02	0.69 ± 0.03	2.5* ± 0.2
CEZ	900	6	597 ± 15	0.25 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.54 ± 0.02	3.1 ± 0.1	0.15 ± 0.01	0.09 ± 0.01	8.5 ± 0.4	3.2 ± 0.1	2.4 ± 0.1	0.34 ± 0.01	0.61 ± 0.02	1.5 ± 0.2

No drug-related changes were found in thymus, submaxillary gland, lumbar lymph node, prostate, vesicular gland, bladder, lacrimal gland and eye.

(a) : Gross weight

(b) : Mean ± SE

* : Significant difference from control at P < 0.05

Table 9-4 Organ weights at the end of one-month recovery period in female rats after cessation of 6-month administration of 6059-S

Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Absolute weight											
				Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Adrenal (mg)	Thyroid (mg)	Pituit. (mg)	Brain (g)	Ovary (g)	Cecum ^(a) (g)
Control (Saline)	—	6	320 ^(b) ± 21	0.93 ± 0.03	1.14 ± 0.04	1.72 ± 0.08	9.3 ± 0.6	0.59 ± 0.02	0.52 ± 0.03	52.7 ± 2.5	16.0 ± 1.7	15.6 ± 0.8	1.88 ± 0.03	83.8 ± 4.7	4.0 ± 0.2
6059-S	900	5	296 ± 12	0.85 ± 0.04	1.12 ± 0.05	1.68 ± 0.07	8.9 ± 0.3	0.54 ± 0.05	0.45 ± 0.05	60.8 ± 3.0	15.9 ± 0.8	18.9 ± 1.5	1.87 ± 0.03	73.2 ± 13.1	5.3* ± 0.5
6059-S	2,700	3	308 ± 13	1.01 ± 0.03	1.13 ± 0.03	1.90 ± 0.10	10.4 ± 0.3	0.64 ± 0.03	0.51 ± 0.04	62.3 ± 6.1	15.6 ± 1.0	19.6 ± 3.7	1.83 ± 0.06	68.0 ± 13.5	8.8* ± 2.1
CEZ	900	6	300 ± 9	0.87 ± 0.04	1.08 ± 0.03	1.73 ± 0.04	9.4 ± 0.2	0.52 ± 0.04	0.43 ± 0.04	51.0 ± 2.8	14.1 ± 0.5	18.3 ± 1.9	1.82 ± 0.03	62.5 ± 8.6	5.7* ± 0.2
Drug	Daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Relative weight											
				Heart (g%)	Lung (g%)	Kidney (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Pancreas (g%)	Adrenal (mg%)	Thyroid (mg%)	Pituit. (mg%)	Brain (g%)	Ovary (g%)	Cecum (g%)
Control (Saline)	—	6	320 ^(b) ± 21	0.29 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.54 ± 0.02	2.9 ± 0.1	0.19 ± 0.01	0.16 ± 0.01	16.9 ± 1.4	5.0 ± 0.3	4.9 ± 0.3	0.60 ± 0.03	26.7 ± 2.0	1.3 ± 0.1
6059-S	900	5	296 ± 12	0.29 ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.57 ± 0.02	3.0 ± 0.2	0.18 ± 0.01	0.15 ± 0.02	20.7 ± 1.4	5.4 ± 0.4	6.5 ± 0.8	0.64 ± 0.02	24.7 ± 4.1	1.8* ± 0.2
6059-S	2,700	3	308 ± 13	0.33 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.62* ± 0.01	3.4* ± 0.1	0.21 ± 0.01	0.16 ± 0.01	20.4 ± 2.4	5.1 ± 0.1	6.4 ± 1.2	0.60 ± 0.02	21.9 ± 3.8	2.9* ± 0.7
CEZ	900	6	300 ± 9	0.29 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.58 ± 0.02	3.2* ± 0.1	0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.01	17.2 ± 1.3	4.7 ± 0.1	6.1 ± 0.6	0.61 ± 0.02	21.0 ± 3.1	1.9* ± 0.1

No drug-related changes were found in thymus, submaxillary gland, lumbar lymph node, uterus, bladder, lacrimal gland and eye.

(a) : Gross weight

(b) : Mean ± SE

* : Significant difference from controls at P < 0.05

Photographs were taken of rats killed at the end of 6-month dosage period unless otherwise noted.

Photo. 1. Cecae of male rats of drug-treated groups showing enlargement Hemorrhage is also noted in the cecum of a rat given 2,700 mg/kg of 6059-S.

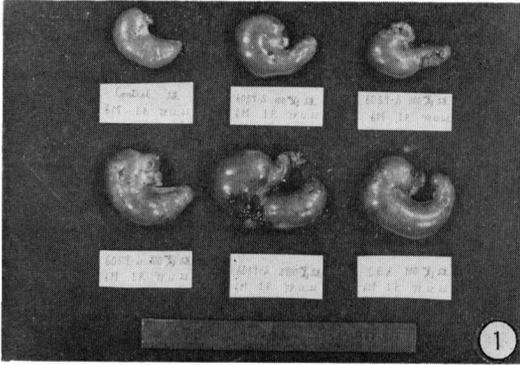


Photo. 4. Cecal wall from a female rat given 900 mg/kg of 6059-S showing submucosal proliferation of the granulation tissues with hemosiderin deposits. H-E, $\times 40$.

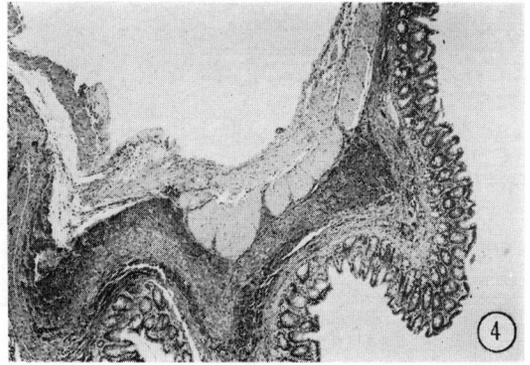


Photo. 2. Abdominal skin at the injection site of a female rat given 2,700 mg/kg of 6059-S showing subcutaneous inflammatory reactions with hemorrhage. H-E, $\times 30$.

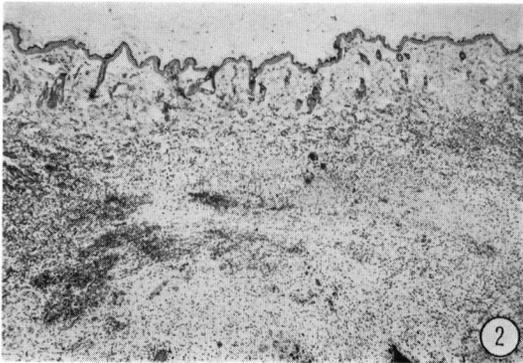


Photo. 5. Kidney from a female rat given 2,700 mg/kg of 6059-S showing sclerotic changes in one glomerulus (right) and vacuolization of the proximal tubule epithelia with intratubular proteinous substance. H-E, $\times 400$.

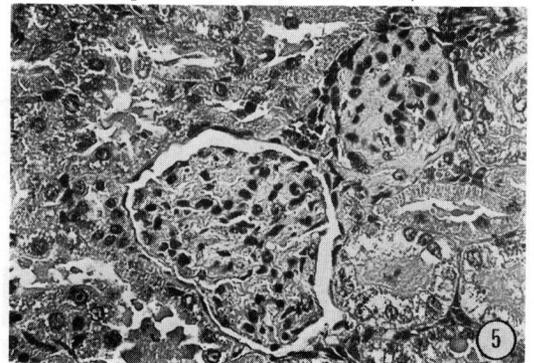


Photo. 3. Peripancreatic granulomatous inflammation from a female rat given 2,700 mg/kg of 6059-S. H-E, $\times 100$.

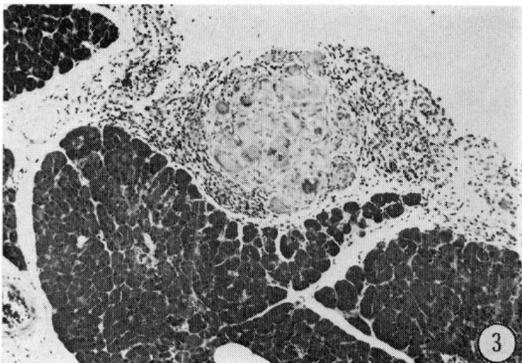


Photo. 6. Spleen from a male rat showing hemosiderosis. Berlin blue, $\times 100$.

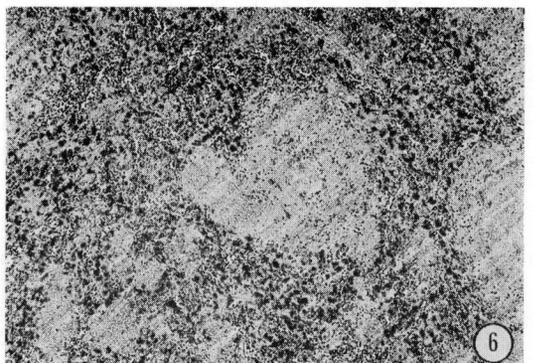


Photo. 7. Spleen from a male rat given 2,700 mg/kg of 6059-S showing very slight hemosiderin deposits. Berlin blue, $\times 100$.

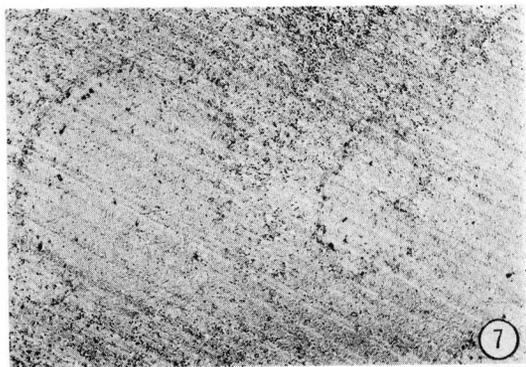


Photo. 10. Slight increase of smooth endoplasmic reticulum in centrilobular hepatocytes from a male rat given 300 mg/kg of 6059-S. Uranium-Lead staining, $\times 4,500$.

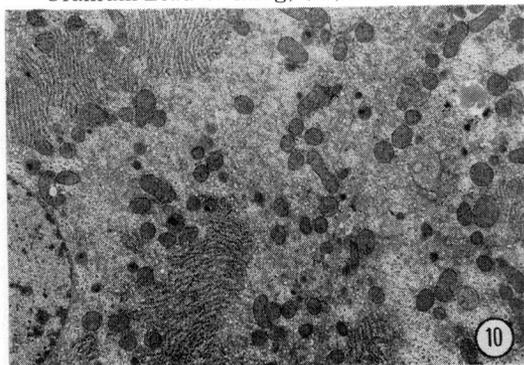


Photo. 8. Pancreas of a female rat given 2,700 mg/kg of 6059-S. Peripancreatic inflammatory reactions are reduced at the end of one-month recovery period. H-E. $\times 100$

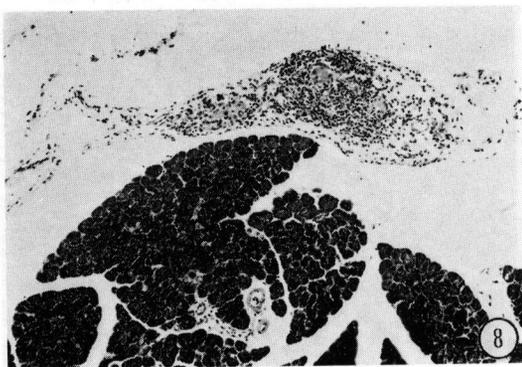


Photo. 11. Hepatocytes from a male rat given 2,700 mg/kg of 6059-S showing slight increase of lysosomes around bile canaliculus. Uranium-Lead staining, $\times 4,500$.

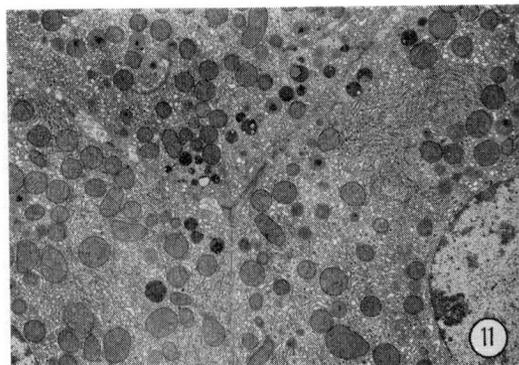


Photo. 9. Ultrastructure of centrilobular hepatocytes of a male control rat. Uranium-Lead staining, $\times 4,500$.

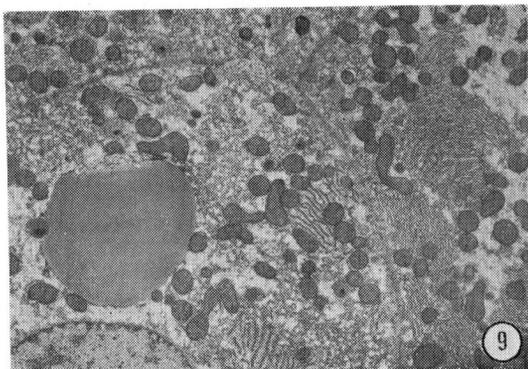


Photo. 12. Section of renal glomerulus from a female rat given 2,700 mg/kg of 6059-S showing osmiophilic droplets in the epithelial cells and increase of mesangial matrix. Uranium-Lead staining, $\times 2,700$.



Table 10 Gross and microscopic findings in rats administered 6059-S for 6 months

Findings	6-month sacrifice (a)										Recovery study (b)									
	Male					Female					Male			Female						
	Control (Saline)	6059-S		CEZ	Control (Saline)	6059-S		CEZ	Control (Saline)	6059-S		CEZ	Control (Saline)	6059-S		CEZ				
	100	300	900	2700	900	100	300	900	2700	900	100	300	900	2700	900	100	300	900	2700	
No. of rats observed	10	10	10	9	10	10	10	10	8	10	10	10	6	5	3	6	5	3	6	
<u>Gross findings</u>																				
Cecum; enlargement with muddy content hemorrhage (possibly, mechanical)	9(c)	7	10	9	9	10	10	10	8	9	10	10	10	3	3	1	3	3	1	
Skin; hemorrhage at injection site	1	5	9	6	6	1	6	6	6	2	2	2	2	2	2					
<u>Microscopic findings</u>																				
Focal granulomatous inflammation at injection site	1	1	3	7	5	3	4	7	4	6	6	4	4	7	4	6	4	2	1	4
cecal wall	10	1	6	8	6	7	1	1	8	7	5	3	1	3	1	2	1	2	3	5
serosal surface of other abdominal organs		7	10	10	9	10	9	9	10	9	8	8	5	5	3	5	5	5	2	6
Kidney; hypertrophy of proximal tubule epithelium, slight		1	3	1	3				1	1				1	1					
focal and segmental glomerulosclerosis																				
Spleen; decrease of hemosiderosis, slight moderate	1	4	4	4	8	1	1	3	3	1	6	2	2	2	3	3	3	1	1	1
increase of hematopoiesis, slight		3	6	5	1	1	1	1	1	3				4	1	1	1	1	2	1
Bone marrow; increase of hematopoiesis																				

No drug-related changes were found in heart, liver, lung, pancreas, thymus, adrenal, thyroid, parathyroid, pituitary, bladder, submaxillary gland, parotid gland, lacrimal gland, lymph nodes, trachea, esophagus, stomach, small intestine, colon, testis, prostate, epididymis, vesicular gland, ovary, uterus, vagina, mammary gland, diaphragm, thigh muscle, sciatic nerve, optic nerve, brain and eye.

- (a) : End of 6-month dosage period
- (b) : End of one-month recovery period
- (c) : Number of rats with the findings

休業後の回復試験では、上記の盲腸の重量増加は明らかに軽度となったが、対照群と比べ、有意差がみられた。

11. 解剖時の肉眼的所見 (Table 10)

6 カ月生存例の肉眼的な所見では、盲腸の拡張が 6059-S および CEZ のいずれの投与群にもみられ、内容物は水分が多く、泥状であった。一部の例は、盲腸壁がゆ着して変形し、盲腸壁には注射時誤って刺した傷跡があり、種々な程度に出血あるいは血腫を示した (Photo. 1)。回復試験群においても、これらの変化の残存をみたが、その程度は明らかに軽減していた。

6059-S 投与群での途中死亡例においても、2,700 mg/kg 群での 12 日目に死亡した 1 例を除いて、6 カ月間生存例での所見と同様の所見を示した他に、腹腔内に多量の出血がみられ、これが死因と考えられた。

12. 病理組織学的所見 (Table 10)

投与局所—注射局所である腹部皮下、腹膜壁面および腹腔内臓器表面に肉芽腫性炎症反応が、出血、ときには異物巨細胞 (ラングハンス型) をともなって認められた (Photo. 2, 3)。この炎症像は対照群にも散見されたが、CEZ を含めて投与群に明らかであり、その強さは用量に依存していた。

盲腸—粘膜炎下、ときには粘膜層から漿膜にかけて、種々の強弱をもった炎症性病変が、出血あるいはヘモジリン沈着をともなって 6059-S および CEZ の全投与群にみられ (Photo. 4)、その強さは用量に依存していた。

腎—6059-S の 300 mg/kg 以上投与群および CEZ 群のそれぞれ少数例において、近位尿細管上皮の軽度な肥大がみられた。6059-S 2,700 mg/kg 群での雌 2 例、CEZ 群での雌 1 例での糸球体に硬化性病変が認められた (Photo. 5)。

脾—6059-S 300 mg/kg 以上投与群および CEZ 群の過半数において、脾のヘモジリン沈着が対照例に比べて減少しており (Photo. 6, 7)、これらの群の少数例では髓外造血、特に赤血球造成系が増加していた。

上記以外のその他の諸臓器においては、対照群との間に差のある所見は観察されなかった。

休業後の回復試験では、6 カ月間投与後に観察された上記臓器での諸変化は明らかに軽減を示したが、なお残存を認めた (Photo. 8)。

途中死亡例での所見は、上記 6 カ月間生存例での 6059-S の高用量投与群におけるそれと大差はみられなかったが、12 日目に死亡した 2,700 mg/kg 群の 1 例の脾、肝および他臓器に白血病細胞の浸潤がみられた。

13. 電子顕微鏡的観察

肝—6059-S 100, 300 mg/kg 群の雄各 1 例と 6059-S 2,700 mg/kg 群と CEZ 群の雌雄各 2 例において肝小葉中心帯の少数の肝細胞に滑面小胞体の軽度増加 (Photo. 9, 10)、6059-S 300 mg/kg、CEZ 群の雌各 1 例および 6059-S 2,700 mg/kg 群の雌雄各 2 例においても毛細胆管周囲の lysosome の軽度増加がそれぞれ認められた (Photo. 11)。以上の他には、小器管の異常は認められなかった。

回復試験後の所見では、いずれの投与群においても対照群との間に差のある所見は認められなかった。

腎—6059-S 2,700 mg/kg 群の光顕的に糸球体硬化を示した雌 1 例において、糸球体上皮細胞に径 4 μ までの好オスミウム小滴がみられ、この小滴は光顕的にはエオジンに染まり、PAS 弱陽性のヒアリン小滴であった。また、この例の糸球体の一部にメサングウム基質の増加が観察された (Photo. 12)。その他の観察例では、6 カ月間生存例および回復試験例のいずれにおいても、糸球体、尿管管ともに対照群との間に差異は認められなかった。

考 察

6059-S 100~2,700 mg/kg/日 の 6 カ月間腹腔内投与によって観察された主な変化は、注射局所の出血と炎症性反応、軽度の貧血および盲腸の拡張であり、これらは、対照薬 CEZ 900 mg/kg/日 投与群でも同様に観察された。6059-S の局所刺激作用は、高濃度溶液を大量長期投与するところから予期された変化であり、ウサギの筋肉内注射時の局所刺激性試験でも、6059-S の刺激作用は Cephalothin よりは弱い、Cephmandole とほぼ同等の局所刺激作用を有すると報告されている²⁾。6059-S に限らず、特に非経口投与による長期投与実験では、諸種抗生物質においても注射局所の刺激作用が報告されており³⁻⁶⁾ 今回の実験でも 6059-S と CEZ において明らかな用量依存性のある局所刺激作用が認められた。本刺激作用が原因となって惹起されたと考えられる変化は、投与直後にみられた腹部の伸展、腹腔内臓器表面の肉芽腫性炎症、最高投与群にみられた白血球数の軽度増加、300 mg/kg 以上の群における好中球数の軽度な相対的增加等であった。

6059-S の 900, 2,700 mg/kg 群で観察された赤血球数、Hb, Ht の軽度な減少で示される軽度の貧血は、網状赤血球数の増加、脾における髓外造血の亢進とヘモジリン沈着の減少、骨髓有核細胞数の増加と組織学的にみられる赤血球造成系の増加をともなっていた。この貧血の誘因としては、後述の腹腔内臓器、特に盲腸への注射針による機械的傷害と薬物の局所刺激作用による出血

が考えられた。

しかし、経口または静脈内経路で投与された大量の抗生物質により軽度の貧血を起こすことが他の抗生物質^{2,3,7,8)}においても報告されており、出血以外に、大量、頻回に投与された検体による溶血性作用も考慮しなければならぬと考えられる。

6059-S と CEZ を投与した全例に盲腸の拡張がみられ、腹部弛緩の原因と考えられた。盲腸の拡張は、抗生物質を投与されたげっ歯類に共通する一般的な変化であり⁹⁾、無菌動物にみられる巨大盲腸¹⁰⁾から類推して、胆汁中に排泄された 6059-S が腸内細菌叢に変動を与え、その結果、恐らく腸管壁を通しての水の輸送¹¹⁾、盲腸内塩素イオン濃度¹²⁾、musculoactive substance¹³⁾ などに変化を生じて、盲腸の拡張を招来したものと考えられる。

本実験において大量薬物注射時に誤ってこの拡張した盲腸を刺傷することがあり、それによって壁に機械的な障害を与え、これに薬物の局所刺激作用が加わって、盲腸壁の出血や炎症を招き、それらが原因と考えられる死亡例があった。また、この損傷は、一過性の血便の原因にもなったものと考えられた。

尿潜血反応陽性例が 6059-S 2,700 mg/kg 群に多くみられたが、尿路系に原因となるような異常は認められず、前述の主として盲腸からの出血による軟血便が、採尿時に尿に混入したことがその主な原因と考えられる。

血中および肝組織内の GPT 活性が 6059-S の 900 および 2,700 mg/kg 投与群で軽度の低下を示したが、この GPT 活性の低下は、CEZ 投与で特に顕著に認められた。 β -ラクタム系抗生物質による GPT 活性の低下は、Ceftazole¹⁴⁾ や Cefamandole¹⁵⁾ 投与によっても見出されている。CEZ による血中 GPT 活性の低下は、ラット、ウサギ、イヌに 1 回投与することによってもひきおこされるし、また、*in vitro* の系で肝 cytosol 分画の S-GPT 活性を CEZ の添加によって阻害することもできることから¹⁶⁾、これらの薬物が直接酵素分子に作用して活性に影響を及ぼしているものと考えられている。その作用機作としては、GPT 酵素の co-factor である pyridoxal phosphate への作用を介した活性変化であることが示唆されている^{16, 17)}。しかし、6059-S では、大量投与にもかかわらず軽度の低下しか認められないので、毒性学的に重要な意味をもつ所見とは考えられない。一方、肝組織には光顕的に薬物投与と関係のある変化は見出されず僅かに電顕的には 6059-S 300 mg/kg 以上の投与群と CEZ 群において、肝小葉中心帯の少数の肝細胞の滑面小胞体と Lysosome の軽度な増加がみられたにすぎなかった。また、肝組織内の薬

物代謝酵素活性系への影響もほとんど認められなかった。

血漿中コレステロール、磷脂質、トリグリセライドの減少が 6059-S 900 mg/kg 以上の投与群の雄にみられ、これらの群では肝組織内のトリグリセライド、コレステロールも減少を示した。しかし、2,700 mg/kg 群での肝組織内トリグリセライドの減少以外は、いずれもごく軽度な変化であった。

6059-S 300 mg/kg 以上の投与群において腎重量が軽度に増加したが、組織学的にも近位尿管上皮の肥大を示す例が散見されたに過ぎず、この 6059-S の大量長期間投与時における腎障害の軽微なことは、ウサギにおける本剤の腎毒性は Cephalothin と同程度に弱いという報告¹⁸⁾とも一致している。この他、6059-S 2,700 mg/kg 群と CEZ 群の少数例において、一部の糸球体に硬化性の病変がみられたが、この変化は、加齢ラット、特に雄において、一般的な自然発生の変化である¹⁹⁾と考えられる。

以上、今回のラットにおける 6059-S の慢性毒性試験時に観察された諸変化は、投与経路は異なるが、ラットに 6059-S を 35 日間静脈内投与時の亜急性毒性試験²⁰⁾でのそれと質的に類似したものであった。しかし、本慢性毒性試験では、用量作用関係をもった局所刺激作用ならびにそれに起因する組織障害、盲腸の拡張等は、6 カ月間の長期間にわたる投与期間に依存して程度が強くなっており、一段と拡張した盲腸が存在することにより、腹腔内投与時に注射針が腸管壁を傷害し、出血を惹起したため、上記の亜急性毒性試験時にはみられなかった貧血が認められている。しかし、このような変化は、1 カ月間の休薬によりほとんど完全に回復していた。これに対して、6059-S の高用量投与群にみられた軽度な腎での変化および血中、肝組織内の GPT 活性の軽度の抑制等は、6059-S の投与期間が延長されても増強されなかったものであり、休薬によって速やかに正常に回復する程度の弱いものであった。6059-S の 6 カ月間投与時に惹起する変化は CEZ 投与によるものと類似しており、量的には、6059-S と CEZ はほぼ対応すると考えられ、6059-S のみに特異的な病変は観察されなかった。なお、本実験条件下における 6059-S の最大無作用量は、抗生物質に共通する非特異的な盲腸の肥大という所見を除外して考察すれば 300~900 mg/kg/日 の範囲内と推定された。

謝 辞

本実験に御協力いただいた、渡辺 弘、前田ユミノ、矢原 功、奈良 博、松原尚志、吉田 正の諸氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 小林文彦, 古川 仁, 長谷川 紀昭, 吉崎敏夫, 原田喜男:
6059 S のラットにおける亜急性毒性試験。Chemotherapy
28 (S-7): 1007~1028, 1980
- 2) 原田喜男, 岡本孝夫: 6059-S の局所刺激性試験。Chemo-
therapy 28 (S-7): 1226~1235, 1980
- 3) 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
- 4) WOLD, J. S.; J. S. WELLES, N. V. OWEN, W. R. GIBSON
& D. M. MORTON: Toxicologic evaluation of cefam-
andole nafate in laboratory animals. J. Infect. Dis. 137
(Suppl.): S51, 1978
- 5) 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
- 6) BIRKHEAD, H. A., G. B. BRIGGS & L. N. SAUNDERS:
Toxicology of cefazolin in animals. J. Infect. Dis. 128
(Suppl.): S 379~381, 1973
- 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: 22~38, 1970
- 8) 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 Cephalexin の毒性試験。基礎と臨床 3:
1~27, 1969
- 9) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the mouse
cecum and its flora produced by antibacterial drugs.
J. Exp. Med. 128: 97~110, 1968
- 10) GORDON, H. A.: Morphological and physiological char-
acterization of germfree life. Ann. N. Y. Acad. Sci. 78:
208~220, 1959
- 11) CSÁKY, T. Z.: Intestinal water regulation involving the
microbial flora. The germfree animal in research. (Ed.
COATES, M. E.) pp. 151~159, 1968 Academic Press,
London and New York
- 12) ASANO, T.: Anion concentration in cecal content of
germfree and conventional mice. Proc. Soc. Exp. Biol.
Med. 131: 1201~1205, 1969
- 13) GORDON, H. A.: A substance acting on smooth muscle
in intestinal contents of germfree animals. Ann. N.
Y. Acad. Sci. 147: 83~106, 1967
- 14) 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: 671~701, 1976
- 15) 松原尚志, 戸内 明: ラット血中および肝内酵素活性に及
ぼす Cefamandole の影響。Chemotherapy 27 (S-5):
740~748, 1979
- 16) FEUER, G.; T. BALAZS, T. FARBER, M. LIPUEN, M. S.
ILYAS & R. ILSE: Alanine aminotransferase activity of
rat tissues following the administration of cefazolin.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 41: 185, 1977
- 17) TURNIPSEED, S. A.; J. S. WOLD & J. S. WELLES:
Studies on cefazolin-induced depression of aminotran-
sferase activity in laboratory animals. Toxicol. Appl.
Pharmacol. 45: 318, 1978
- 18) 原田喜男, 豊島久美子: 腎毒性を指標とした 6059-S の家
兔における毒性試験一単回および 7 日間連続投与試験一
Chemotherapy 28 (S-7): 1202~1225, 1980
- 19) BOLTON, W. K.; F. R. BENTON, J. G. MACLAY & B.
C. STURGILL: Spontaneous glomerular sclerosis in aging
Sprague-Dawley rats. 1. Lesions associated with mesa-
ngial IgM deposits. Am. J. Path. 85: 277~302, 1976

CHRONIC TOXICITY OF 6059-S IN RATS

YOSHIHIRO MURAOKA, FUMIO ITOH, TOSHIO YOSHIKAZI and YOSHIO HARADA
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Compound 6059-S was dosed to rats by the intraperitoneal route at 100, 300, 900 and 2700 mg/kg/day for 6 months. Ten males and females were used in the 100 and 300 mg/kg dose groups, and 16 males and females at the two higher dosage groups, the control saline-treated groups and in groups given cefazolin (900 mg/kg/day) for comparison. After 6 months dosing, 6 animals per sex of the higher dose groups were retained for 30 days as a recovery period. Dose selection was on the basis of toxic effects observed in the 35 day intravenous study in rats and a three-week pilot study using intraperitoneal dosing.

The toxic effects of compound 6059-S were very similar to those observed in the subchronic intravenous dosing in rats. These included dose-related tissue damage at the site of injection, slight anemia and increased cecal size, observed particularly in the higher dosage groups. A slight increase in kidney weight was observed with 6059-S and cefazolin. However, histological changes in the kidney were observed only at the highest dosage group and compound 6059-S was again shown to have a low potential for nephrotoxicity. All toxic effects observed were fully reversible. Apart from the increased cecal size, a toxic effect observed with many antibiotics, no specific target organ toxicity was observed, and the maximal "no effect" dose was considered to be between 300 and 900 mg/kg.