

KW-1070 の安全性にかんする研究 (第1報)

マウス, ラット, イヌにおける急性毒性試験およびラット筋肉内
投与における亜急性, 慢性毒性試験

西川 智・原 卓司・宮崎 英治・大黒 友路
協和醸酵工業株式会社 安全性研究室

新規 aminoglycoside 系抗生物質である KW-1070 のマウス, ラット, イヌによる急性毒性試験, ラット筋肉内投与による 30 日間の亜急性毒性試験, 180 日間の慢性毒性試験を実施した。

1) 急性毒性試験では, KW-1070, 対照薬の kanamycin (以下 KM と略す) 共に投与後失調性歩行, 腹臥, 四肢末端のチアノーゼ, チェーンストーク型呼吸等の症状がマウス, ラット, イヌ (KW-1070 のみ投薬) 共に認められた。

2) ラットの亜急性毒性での死亡動物発現は, KW1070 では 600 mg/kg (10~17 日), KM では 400 mg/kg (13~15 日) に認められ, KW-1070 の 400 mg/kg では認められなかった。以上の事より, KW-1070 は 400 mg/kg では, 明らかに KM より毒性が弱く認められた。

3) 上記の亜急性毒性においては, 主として KW-1070 の 50~100 mg/kg 以上と KM の 100, 400 mg/kg に腎臓の腫大, 褐色, 組織学的には皮質尿管上皮の変性, 血液生化学検査での BUN, NPN, コレステロール等の上昇に示される腎障害とそれにはほぼ相関して一般状態の悪化, 貧血傾向等が認められた。

4) ラットでの慢性毒性においても, 亜急性毒性と同様に腎障害を主体とした変化が, 主として KW-1070 の 12.5~25mg/kg 以上に認められた。

KW-1070 (fortimicin) は, NARA らにより発見された新規 aminoglycoside 系抗生物質で, *Micromonospora olivoasterospora* により産生される。抗菌スペクトラムは, *Serratia*, *Proteus inconstans* などグラム陰性桿菌に対し強い抗菌力を示す¹⁻³⁾。

また, 本物質は化学構造上 pseudo-disaccharide という新規な構造式を持ち, 現在知られている aminoglycoside 系抗生物質の不活化酵素のうちただ一つ (AAC(3)-I) によってアセチル化されるだけであり, 他の不活化酵素に安定であるという特徴を有する。したがって, gentamicin, amikacin, dibekacin などと交叉耐性がなく, これら薬剤に耐性を示す諸菌種にも好感受性が期待されている⁴⁾。

著者らは, 本物質の安全性研究の一環としてマウス, ラット, イヌにおける急性毒性, ラット筋肉内投与による 30 日間の亜急性毒性と 180 日間の慢性毒性試験を実施したので報告する。

I. 使用薬剤

KW-1070 は, 白色の粉末または結晶性粉末でではなく Fig.1 に示す構造の硫酸塩である。また急性毒性, 亜急性毒性試験には, 対照薬として KM を用いた。

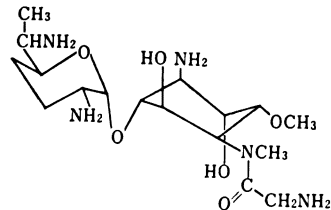
II. 急性毒性試験

1. 実験材料および方法

(1) 実験動物

動物はマウス, ラットおよびイヌを用いた。マウスは, 静岡実験動物農業協同組合より 3.5 週齢で購入した ICR 系で, 生後 4 週齢, 体重 20±1g に達したものを, ラットは同組合より 4 週齢で購入した Wistar 系で, 生後 5 週齢, 体重 100±10g (雌), 110±10g (雄) に達したも

Fig.1 Chemical structure of KW-1070



$C_{17}H_{35}N_5O_6$ (M.W.405.49)

Chemical name :

4-amino-3-O-(2, 6-diamino-2, 3, 4, 6, 7-pentadeoxy-β-L-lyxo-heptopyranosyl)-1,4-dideoxy-1-N-glycyl-6-O-methyl-1-methylamino-L-chiro-inositol

Table 1 LD₅₀ (mg/kg) of KW-1070 and KM in mice, rats and dogs

Animal	Route	Male		Female	
		KW-1070	KM	KW-1070	KM
Mice (ICR) 20±1g	i.m.	427(390~ 468)	> 1,198	500(448~ 557)	> 1,198
	i.v.	127(115~ 141)	234(216~ 253)	119(110~ 129)	244(222~ 269)
	i.p.	570(530~ 613)	1,783(1,610~ 1,975)	533(486~ 585)	1,595(1,422~ 1,789)
	s.c.	540(491~ 608)	1,395(1,253~ 1,553)	653(608~ 702)	1,595(1,465~ 1,736)
	p.o.	13,600(12,900~14,500)	20,500(19,300~21,700)	14,300(13,400~15,200)	22,400(20,700~24,200)
Rats (Wistar) 100±10g	i.m.	> 929	> 1,014	> 929	> 1,014
	i.v.	223(207~ 240)	437(412~ 463)	209(194~ 224)	437(412~ 463)
	i.p.	1,021(950~ 1,096)	2,552(2,376~ 2,741)	913(874~ 954)	2,283(2,185~ 2,365)
	s.c.	1,364(1,268~ 1,468)	3,055(2,658~ 3,266)	1,365(1,306~ 1,426)	2,858(2,686~ 3,040)
	p.o.	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000
Dogs (Beagle)	i.m.	785(718~ 858)		750(676~ 831)	
	i.v.	236(222~ 252)		214(196~ 234)	

Van der Waerden's method () 95% confidence limits

のをそれぞれ1用量水準当り雌雄各々10匹宛使用した。イヌは、米国 Laboratory, Research, Enterprise 産の Beagle 犬で、生後7ヶ月で購入し約1ヶ月間予備飼育して体重約8~9kgに達したものを1用量水準当り雌雄各々3~4頭宛使用した。

動物は、温度 23±2°C、湿度 50~60% に調節された飼育室に収容し、飼料および水道水を自由に与えた(イヌに関しては1日1頭当り250gの制限給餌とした)。

(2) 実験方法

投与は、マウスおよびラットでは筋肉内(i.m.と略す)、静脈内(i.v.と略す)、腹腔内(i.p.と略す)、皮下(s.c.と略す)、経口(p.o.と略す)の投与経路で実施した。イヌは、KW-1070についてi.v.およびi.m.投与で実施した。

KW-1070, KMともに生理食塩液に溶解したものを、各投与経路とも1回投与した。i.v.時の注射速度は、マウスでは0.1ml/5sec, ラットでは0.1ml/6sec, イヌでは1ml/2secとした。

LD₅₀*は、観察期間14日間(イヌは7日間)経過後の死亡率を求めVan der Waerden法により算出した。

2. 実験結果

(1) LD₅₀

マウス, ラット, イヌにおける各投与経路のLD₅₀をTable 1に示した。

(2) 症状(筋肉内投与)

マウス: 投与後2~3分頃から、失調性歩行、腹臥状

態、虚脱、四肢末端のチアノーゼ、チェーンストーク型呼吸などの症状が認められ死亡動物は投与後5分頃から30分頃にかけて認められた。生存動物では、上記の症状はいずれも軽度で投与後60分以内にはほぼ回復した。KMでもほぼ同様の症状を呈したが、投与可能最大量(1,198mg/kg)でも20匹中4匹の死亡動物が認められたのみであった。

ラット: マウスとほぼ同様の症状を呈したが、投与可能最大量(929mg/kg)でも死亡動物は20匹中7匹認められただけであった。KMでもほぼ同様の症状を呈したが、投与可能最大量(1,014mg/kg)でも死亡動物は認められなかった。

イヌ: 投与後約10分頃から、それまで元気に動き回っていた動物に急に失調性歩行が認められた。続いて15分頃には腹臥、横臥状態を呈し、呼吸は促迫からだんだん遅く、また微弱となり、チェーンストーク型の呼吸が認められた。その後早い動物では約30分後、遅い動物でも約2時間後に呼吸麻痺による死亡動物が認められた。生存動物では、チェーンストーク型の呼吸が暫く続き、投与後約1時間頃には呼吸が正常へ向い始め、続いてしきりに起立するような動作を示した。そして、約2時間後には、完全に起立し、暫く失調性歩行が続いた後、投与約4~6時間後には完全に回復が認められた。

III. ラットによる亜急性毒性試験

1. 実験材料および方法

(1) 使用動物

静岡実験動物農業協同組合産のWistar系ラット雌雄

* 本試験における投与量はすべて力価表示である。

を生後約4週齢で購入し、1週間の予備飼育の後健康かつ順調な発育を示したものを実験に供した。動物は温度 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度50~60%に調節された飼育室に收容し、飼料(船橋農場製、マウス、ラット用固型飼料)と水を自由に摂取させた。

(2) 投与群の構成、投与方法

Table 2~3 に示した。KW-1070 の臨床適用量を 12.5mg/kg と推定して、その2倍量である 25mg/kg を基準に公比2で設定した。最高用量群は予め実施したDose 決定試験を参考にして、 400mg/kg と 800mg/kg のほぼ幾何平均に相当する 600mg/kg とした。対照薬KM に関しては 100mg/kg 、 400mg/kg の2群を設け比較検討した。投与は、生理食塩液に溶解した検体を30日間左右大腿部筋肉内に1日1回実施し、一部の動物は、回復性を観察するために30日間休薬期間をおいた。Control は、生理食塩液を投与した。

(3) 検査項目

1) 一般状態: 投与期間中および休薬期間中、一般状態の観察を毎日、体重、飼料摂取量、飲水量および尿量を3日ごとに測定した。

2) 血液学的検査項目

①赤血球数 (Microcell counter), ②Ht (毛細管法), ③Hb (Cyanmethemoglobin 法), ④白血球数 (Microcell counter), ⑤白血球百分比 (GIEMSA-WRIGHT stain), ⑥血小板数 (Microcell counter 全血法), ⑦Reticulocyte (BRECHER 法)。

3) 血液生化学的検査項目

①血清蛋白 (Biuret 法), ②A/G 比 (Cellulose acetate 膜による電気泳動法), ③AIP (KIND-KING の変法, KING ARMSTRONG 単位), ④S-GPT, S-GOT (REITMAN-FRANKEL の変法, 国際標準単位), ⑤総脂質 (Sulfo-pospho-vanillin 法), ⑥cholesterol (酵素法), ⑦血糖 (Ortho-toluidine 硼酸法), ⑧BUN (Diacetyl-monoxime 比色法), ⑨NPN (RAPFAPORT-亀岡変法), ⑩creatinine (Alkali-picric acid 比色法), ⑪電解質 (K, Na 原子吸光分析法, Ca, O-Cresolphthalein 比色法), ⑫I. phosphorus (Phosphorus-molybdenum 青呈色法)。

(4) 尿検査

代謝ケージを用い、16時間蓄尿したものをを用い、Labstix で潜血、蛋白、糖、ケトン、pH をまた Erma 屈折計で比重を測定した。

(5) 病理学的検査

上記の諸検査後、直ちに放血屠殺した個体について剖検し、心臓、肺、脾臓、肝臓、膵臓、腎臓、胃、小腸、大腸、顎下リンパ節、副腎、胸腺、骨髄、睪丸、卵巣、

脳、下垂体、甲状腺、投与部位筋肉、盲腸の病理組織学的検査 (HE 染色、適宜 Pas, Azan, その他の染色) を実施した (なお、亜急性毒性試験の投与部位筋肉については、1群雌雄各5匹づつ標本を作製した)。また、上記の臓器中、心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓、副腎、胸腺、睪丸、卵巣、脳、盲腸については、重量測定、対体重比算出を行なった。

2. 実験成績

(1) 死亡率と一般状態

Table 2~3 に示した。死亡動物は、KW-1070 の 600mg/kg とKM の 400mg/kg 投与群に認められた。症状は上記の2群に特徴ある変化が認められたが、他群では特記すべきような変化は認められなかった。上記の2群では、毎回投与後3~10分頃から自発運動の減少、鎮静、眼瞼下垂、その後腹臥の状態が認められた。さらに投与後15分頃からは脱力状態で流涙、眼球、尾部、四肢末端のチアノーゼも観察され、いずれも投与後約30~60分頃には回復に向かった。死亡動物は、KW-1070 600mg/kg 群、KM 400mg/kg 群ともに実験の中期に発生しKW-1070 では10~17日目に雄5例、雌7例、KM では13~15日目に雄7例、雌8例認められた。死に至る症状は、投与後腹臥の状態から呼吸が深くかつ不整になり、チェーンストーク型の呼吸を呈し、呼吸麻痺で死亡したものと思われた。なお、これらの死亡発生群では、雌雄7~10例について病理学的検査を実施し、KW-1070 の 600mg/kg 群では17日目、KM の 400mg/kg 群では15日目に試験を終了した。

その他、KW-1070 の 100mg/kg 以上、KM の 400mg/kg 群に体重増加抑制 (Fig. 2) が認められ、飼料摂取量 (Table 2, 3) の低下もほぼ同様の傾向を示した。飲水量は、KW-1070 の 400mg/kg 、 600mg/kg 群とKM の 400mg/kg 群に軽度の低下が認められ、尿量はKW-

Fig. 2 Changes of mean body weight in rats following intra-muscular administration of KW-1070 and KM (Subacute)

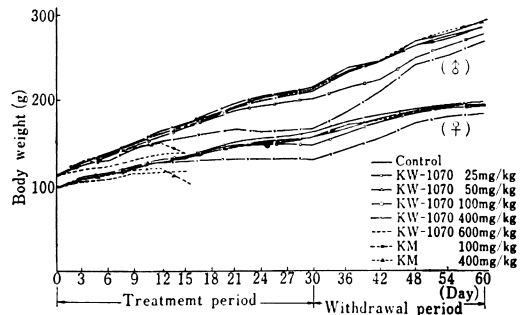


Table 2 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in male rats. Summarization of general condition

Drug	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death (Days of death)	Body weight (g)		Mean of food consumption (g/day)		Mean of water consumption (ml/day)		Mean of urine volume (ml/day)	
				Day 30	Day 60	0 ~ 30days	31 ~ 60days	0 ~ 30days	31 ~ 60days	0 ~ 30days	31 ~ 60days
Control		35	0	216 ± 15	287 ± 7	13.9 ± 1.2	17.0 ± 0.3	19 ± 2	26 ± 2	2.7 ± 0.6	4.2 ± 0.4
KW-1070	25	15	0	211 ± 18	293 ± 13	13.6 ± 1.0	18.1 ± 0.5**	19 ± 3	30 ± 3	2.7 ± 0.5	6.3 ± 1.9
KW-1070	50	15	0	215 ± 12	288 ± 19	13.9 ± 1.2	17.4 ± 0.5	20 ± 3	30 ± 2*	3.6 ± 1.3	5.1 ± 0.6*
KW-1070	100	15	0	202 ± 15*	278 ± 5	13.2 ± 1.1	17.2 ± 1.7	19 ± 3	26 ± 2	3.3 ± 0.9	3.7 ± 0.5
KW-1070	400	15	0	166 ± 11**	269 ± 15	10.9 ± 1.1	16.5 ± 1.9	15 ± 2**	24 ± 3	2.3 ± 0.6	3.6 ± 0.5
KW-1070	600	15	5/15(10~17)	—	—	9.7 ± 1.3**	—	14 ± 2**	—	2.0 ± 0.7	—
KM	100	15	0	214 ± 15	292 ± 17	13.8 ± 1.1	17.5 ± 0.7	20 ± 3	28 ± 2	3.2 ± 1.1	4.4 ± 0.5
KM	400	15	7/15(13~15)	—	—	10.0 ± 3.2**	—	16 ± 3*	—	2.3 ± 0.5	—

Mean ± Standard deviation, * : P < 0.05, ** : P < 0.01

Table 3 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in female rats. Summarization of general condition

Drug	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death (Days of death)	Body weight (g)		Mean of food consumption (g/day)		Mean of water consumption (ml/day)		Mean of urine volume (ml/day)	
				Day 30	Day 60	0 ~ 30days	31 ~ 60days	0 ~ 30days	31 ~ 60days	0 ~ 30days	31 ~ 60days
Control		35	0	156 ± 7	194 ± 8	11.3 ± 1.0	12.5 ± 0.6	15 ± 1	20 ± 4	3.0 ± 0.7	2.8 ± 0.2
KW-1070	25	15	0	163 ± 9	196 ± 6	11.1 ± 0.8	12.5 ± 0.2	16 ± 2	18 ± 3	2.5 ± 0.9	3.0 ± 0.6
KW-1070	50	15	0	157 ± 10	195 ± 6	10.9 ± 0.8	12.5 ± 0.5	16 ± 2	18 ± 2	3.1 ± 1.1	3.5 ± 0.4
KW-1070	100	15	0	147 ± 6**	193 ± 7	10.3 ± 1.0	13.0 ± 1.5	15 ± 3	16 ± 2	2.8 ± 0.8	3.2 ± 0.3
KW-1070	400	15	0	131 ± 12**	184 ± 6	8.9 ± 1.0	11.9 ± 1.4	14 ± 2	14 ± 3*	2.6 ± 0.9	2.4 ± 0.3
KW-1070	600	15	7/15(12~16)	—	—	8.3 ± 1.2**	—	13 ± 2*	—	1.6 ± 0.2	—
KM	100	15	0	157 ± 6	192 ± 6	10.9 ± 0.8	12.2 ± 0.3	16 ± 2	18 ± 2	2.9 ± 0.9	3.1 ± 0.5
KM	400	15	8/15(13~15)	—	—	9.7 ± 3.1	—	12 ± 3*	—	2.7 ± 0.7	—

Mean ± Standard deviation, * : P < 0.05, ** : P < 0.01

Table 4 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in male rats. Hematological, blood chemical and urine test

Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ⁶ /mm ³)		Ht (%)		Hb (g/dl)		WBC (10 ³ /mm ³)		Distribution of leucocytes(%)																					
		Day 30		Day 60		Day 30		Day 60		Day 30		Day 60		Day 30		Day 60		Day 30		Day 60		Day 30		Day 60							
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD						
Control		843	±32	46.2	±0.9	16.4	±0.3	85.2	±12.2	75.0	±8.1	77.3	±7.3	85.4	±4.0	22.1	±7.6	14.2	±4.1	0.4	±0.5	0.4	±0.4	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
		828	±39	46.7	±1.8	16.6	±0.7	92.9	±12.9	79.2	±5.8	78.0	±5.9	85.3	±1.9	21.5	±6.0	13.8	±1.9	0.5	±0.3	0.5	±0.2	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
KW-1070	25	853	±24	45.9	±1.3	16.1	±0.4	96.4	±14.3	85.0	±4.2	79.3	±4.6	86.4	±4.0	20.4	±4.4	13.1	±4.1	0.3	±0.4	0.5	±0.3	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
		820	±27	45.9	±1.1	16.2	±0.5	89.0	±11.5	74.2	±8.8	83.8	±6.4	85.7	±4.5	15.8	±6.6	13.6	±4.3	0.3	±0.5	0.7	±0.5	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
KW-1070	100	821	±31	44.4	±1.4	15.5	±0.5	75.9	±8.7	69.4	±5.0	82.8	±6.0	85.2	±0.9	17.0	±6.1	13.9	±1.0	0.1	±0.2	0.9	±0.4	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
		805	±25	45.1	±1.1	15.9	±0.9	92.8	±18.4	74.8	±6.3	79.7	±5.2	85.3	±3.5	19.8	±5.2	13.8	±3.5	0.5	±0.4	0.5	±0.6	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
KM	400	845	±24	45.0	±1.1	15.8	±0.1	92.8	±18.4	74.8	±6.3	79.7	±5.2	85.3	±3.5	19.8	±5.2	13.8	±3.5	0.5	±0.4	0.5	±0.6	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
		805	±25	45.1	±1.1	15.9	±0.9	92.8	±18.4	74.8	±6.3	79.7	±5.2	85.3	±3.5	19.8	±5.2	13.8	±3.5	0.5	±0.4	0.5	±0.6	0.0	±0.0	0.0	±0.0				
Drug	Dose (mg/kg)	A/G (ratio)		Total Protein (mg/dl)		ALP (K.A. Unit)		S-GOT (I.U.)		S-GPT (I.U.)		Cholesterol (mg/dl)		BUN (mg/dl)		NPN (mg/dl)		Urine Protein(mg/dl)													
		Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60												
Control		1.05	±0.07	6.3	±0.2	27.7	±1.5	49.2	±11.1	37.4	±2.2	17.0	±4.3	9.2	±1.7	48.2	±9.1	50.4	±3.0	14.0	±1.5	12.4	±0.8	33.0	±2.1	31.2	±3.5	10	±10	29	±37
		0.90	±0.14	6.3	±0.3	24.1	±3.2	50.5	±10.2	35.8	±2.4	17.1	±4.7	10.8	±3.4	55.5	±8.7	57.4	±3.7	15.6	±2.8	13.0	±1.0	36.1	±5.1	29.8	±1.3	24	±29	29	±41
KW-1070	25	0.98	±0.09	6.2	±0.2	25.3	±2.1	49.7	±9.4	38.2	±5.1	16.0	±4.2	3.8	±3.8	53.8	±5.3	61.4	±8.4	15.5	±1.7	13.8	±1.1	34.5	±2.1	30.4	±1.9	15	±12	15	±12
		1.23	±0.09	6.1	±0.2	25.3	±2.1	45.5	±4.0	34.4	±2.9	14.3	±2.9	7.6	±3.4	57.4	±5.5	50.0	±4.8	17.2	±1.2	13.6	±0.9	35.3	±1.3	30.6	±1.7	88	±10	10	±10
KW-1070	100	1.33	±0.08	6.2	±0.2	17.3	±2.6	52.7	±7.4	36.0	±2.1	14.2	±3.7	10.4	±3.5	70.6	±6.5	52.0	±3.9	19.7	±1.5	14.6	±1.8	38.4	±2.3	31.8	±1.8	39	±32	39	±32
		1.06	±0.15	6.1	±0.2	24.2	±1.4	51.0	±8.7	35.8	±3.1	15.8	±4.4	9.0	±2.4	50.6	±4.3	54.6	±1.7	18.5	±2.8	14.1	±0.8	37.2	±3.5	30.2	±2.2	34	±35	34	±35

Mean ± Standard deviation, * : P < 0.05, ** : P < 0.01

Table 5 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in female rats. Hematological, blood chemical and urine test

Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ⁶ /mm ³)		Ht (%)		Hb (g/dl)		WBC (10 ³ /mm ³)		Distribution of leucocytes(%)											
		Lymphocytes		Neutrophils		Eosinophils		Basophils		Monocytes		Lymphocytes		Neutrophils		Eosinophils		Basophils		Monocytes	
		Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60
Control		781 ± 34	799 ± 23	45.2 ± 1.9	44.4 ± 1.9	16.1 ± 0.5	15.6 ± 0.4	81.8 ± 11.8	68.8 ± 12.1	78.9 ± 8.7	80.8 ± 3.9	19.9 ± 8.8	18.6 ± 4.0	1.1 ± 0.6	1.1 ± 0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		752 ± 28	788 ± 12	43.8 ± 1.2	44.0 ± 0.0	15.7 ± 0.5	15.5 ± 0.2	71.2 ± 13.9	73.6 ± 8.5	79.8 ± 6.2	84.6 ± 3.1	19.3 ± 6.1	14.6 ± 3.5	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KW-1070	25	750 ± 31	788 ± 14	43.1 ± 1.6	43.4 ± 1.0	15.5 ± 0.4	15.5 ± 0.1	77.3 ± 16.5	67.0 ± 4.2	71.6 ± 8.7	83.6 ± 4.0	27.5 ± 8.7	15.6 ± 4.2	0.8 ± 0.5	0.8 ± 0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		770 ± 29	762 ± 19	44.8 ± 1.5	43.0 ± 1.1	16.1 ± 0.4	15.4 ± 0.2	82.9 ± 14.3	62.4 ± 8.5	77.5 ± 11.4	79.5 ± 5.4	22.2 ± 11.3	19.1 ± 5.5	0.3 ± 0.4	1.4 ± 0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KW-1070	100	746 ± 26	746 ± 32	39.0 ± 1.5	42.8 ± 1.5	14.1 ± 0.5	15.0 ± 0.4	85.5 ± 11.8	66.2 ± 8.4	76.3 ± 8.3	85.6 ± 2.9	22.8 ± 8.5	13.6 ± 2.9	0.8 ± 0.8	0.8 ± 0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		738 ± 29	779 ± 19	42.8 ± 1.4	44.0 ± 1.7	15.3 ± 0.4	15.7 ± 0.5	76.7 ± 16.2	59.4 ± 4.3	79.8 ± 5.1	80.7 ± 4.7	19.3 ± 5.1	18.1 ± 4.9	0.8 ± 0.8	1.2 ± 0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	100	738 ± 29	779 ± 19	42.8 ± 1.4	44.0 ± 1.7	15.3 ± 0.4	15.7 ± 0.5	76.7 ± 16.2	59.4 ± 4.3	79.8 ± 5.1	80.7 ± 4.7	19.3 ± 5.1	18.1 ± 4.9	0.8 ± 0.8	1.2 ± 0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		738 ± 29	779 ± 19	42.8 ± 1.4	44.0 ± 1.7	15.3 ± 0.4	15.7 ± 0.5	76.7 ± 16.2	59.4 ± 4.3	79.8 ± 5.1	80.7 ± 4.7	19.3 ± 5.1	18.1 ± 4.9	0.8 ± 0.8	1.2 ± 0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Drug	Dose (mg/kg)	A/G (ratio)		Total Protein (mg/dl)		ALP (K.A. Unit)		S-GOT (I.U.)		S-GPT (I.U.)		Cholesterol (mg/dl)		BUN (mg/dl)		NPN (mg/dl)		Urine Protein (mg/dl)			
		Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60		
		Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60	Day 30	Day 60		
Control		1.07 ± 0.13	1.05 ± 0.03	6.1 ± 0.1	6.8 ± 0.1	18.6 ± 2.2	14.4 ± 1.8	41.8 ± 3.3	34.8 ± 2.0	13.3 ± 3.8	8.4 ± 3.8	74.0 ± 8.0	87.2 ± 11.5	15.7 ± 1.6	15.5 ± 0.8	32.2 ± 1.7	31.6 ± 1.7	8 ± 7	10 ± 10		
		1.12 ± 0.19	1.12 ± 0.06	6.1 ± 0.2	6.6 ± 0.1	18.9 ± 2.3	14.2 ± 0.9	40.7 ± 4.3	32.8 ± 1.2	12.9 ± 3.6	9.8 ± 3.5	72.1 ± 5.4	88.2 ± 8.8	15.8 ± 2.7	15.6 ± 1.3	34.2 ± 4.5	30.4 ± 1.4	29 ± 37	20 ± 12		
KW-1070	25	1.15 ± 0.17	1.10 ± 0.06	6.0 ± 0.2	6.6 ± 0.2	18.9 ± 2.1	13.4 ± 1.4	47.2 ± 5.8	33.6 ± 1.0	11.1 ± 3.0	10.0 ± 3.2	73.9 ± 5.5	86.8 ± 7.2	16.6 ± 1.5	15.4 ± 0.9	33.3 ± 1.4	32.2 ± 1.6	16 ± 12	15 ± 12		
		1.21 ± 0.17	1.12 ± 0.02	5.9 ± 0.2	6.4 ± 0.1	15.5 ± 1.3	13.1 ± 1.4	50.0 ± 6.2	31.8 ± 1.7	11.2 ± 1.8	7.8 ± 3.7	78.6 ± 8.0	89.0 ± 8.4	22.3 ± 10.8	15.3 ± 1.0	39.8 ± 11.9	30.4 ± 1.6	65 ± 35	41 ± 35		
KW-1070	100	1.43 ± 0.18	1.15 ± 0.03	5.9 ± 0.1	6.4 ± 0.1	13.2 ± 1.5	13.3 ± 1.2	53.7 ± 14.3	34.2 ± 0.4	16.6 ± 5.7	8.4 ± 1.2	86.8 ± 8.2	80.4 ± 4.7	22.8 ± 2.9	17.4 ± 1.5	44.5 ± 9.3	34.6 ± 2.1	39 ± 23	18 ± 12		
		1.16 ± 0.15	1.10 ± 0.05	6.0 ± 0.1	6.8 ± 0.1	17.6 ± 3.4	13.0 ± 0.9	48.9 ± 7.8	34.4 ± 1.4	13.8 ± 2.4	9.0 ± 1.9	73.1 ± 7.1	85.0 ± 5.8	19.7 ± 2.9	16.1 ± 2.5	36.1 ± 3.3	32.6 ± 3.2	25 ± 28	5 ± 0		

Mean ± Standard deviation, * : P < 0.05, ** : P < 0.01

Table 6 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in rats. Organ weight (g)

Drug	Dose (mg/kg)	Kidney(♂)						Kidney(♀)					
		Day 15 or 17		Day 30		Day 60		Day 15 or 17		Day 30		Day 60	
		Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left
Control		0.67±0.02	0.68±0.04	0.73±0.05	0.73±0.04	0.90±0.03	0.92±0.05	0.56±0.04	0.55±0.04	0.54±0.03	0.63±0.03	0.62±0.04	
KW-1070	25	—	—	0.76±0.06	0.78±0.08	0.90±0.04	0.91±0.03	—	0.61±0.07	0.61±0.05	0.68±0.03	0.68±0.04	
KW-1070	50	—	—	0.86±0.06	0.86±0.06	0.94±0.06	0.94±0.08	—	0.68±0.06	0.67±0.05	0.66±0.04	0.66±0.04	
KW-1070	100	—	—	0.97±0.07	0.98±0.08	1.02±0.04	1.02±0.03	—	0.75±0.04	0.75±0.04	0.70±0.03	0.71±0.02	
KW-1070	400	—	—	1.21±0.06	1.21±0.07	1.08±0.02	1.12±0.04	—	0.96±0.12	0.96±0.09	0.79±0.03	0.79±0.02	
KW-1070	600	1.03±0.11	1.02±0.08	—	—	—	—	0.86±0.06	0.66±0.02	0.66±0.03	0.63±0.02	0.61±0.01	
KM	100	—	—	0.87±0.07	0.87±0.08	0.94±0.06	0.93±0.06	—	—	—	—	—	
KM	400	0.88±0.08	0.89±0.09	—	—	—	—	0.70±0.05	—	—	—	—	

Mean±Standard deviation, * : P<0.05, ** : P<0.01

Table 7 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in rats. Relative organ weight (mg/100g body weight)

Drug	Dose (mg/kg)	Kidney(♂)						Kidney(♀)					
		Day 15 or 17		Day 30		Day 60		Day 15 or 17		Day 30		Day 60	
		Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left
Control		387±15	397±13	337±10	339±12	312±8	321±12	419±24	416±22	350±22	346±18	321±22	
KW-1070	25	—	—	363±20	370±19	307±10	313±16	—	—	376±18	377±17	343±12	
KW-1070	50	—	—	401±17	402±13	327±15	326±19	—	—	431±22	429±17	336±23	
KW-1070	100	—	—	484±12	489±21	368±17	366±16	—	—	508±24	511±29	366±11	
KW-1070	400	—	—	732±37	732±37	404±20	416±16	—	—	734±69	736±65	433±21	
KW-1070	600	736±30	729±31	—	—	—	—	732±53	745±38	—	—	—	
KM	100	—	—	406±17	406±19	322±9	318±12	—	—	423±20	422±21	329±11	
KM	400	640±24	647±22	—	—	—	—	674±56	677±50	—	—	317±14	

Mean±Standard deviation, * : P<0.05, ** : P<0.01

Table 8 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in rats. Histopathological findings

Organs	Microscopic observation	Doses, sex and No. of animals																							
		Control						KW-1070 (mg/kg)						KM (mg/kg)											
		1		2		3		25		50		100		400		600		100		400					
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney	Degeneration of tubular epithelia	+																							
	Infiltration of round cells in cortex	+++																							
	Dilatation of tubules	+																							
	Necrosis of cortical tubular epithelia	+++																							
Injection site (Muscle) *	Infiltration of round cells	+																							
	Bleeding	++																							
	Fibrosis	++																							
		+																							
Spleen	Atrophy of folliculus	+																							
	Proliferation of reticulum cells	+																							
Thymus	Decreasing and destruction of lymphocytes	+																							
Bone marrow	Congestion and bleeding	+																							
	Hypoplastic marrow	+																							

± Very slight, + Slight, ++ Moderate, +++ Marked, * No. of examined (n=5)

Table 9 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in rats (recovery test).
Histopathological findings.

Organs	Microscopic observation	Doses, sex and No. of animals									
		Control		KW-1070(mg/kg)				KM (mg/kg)			
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀		
										5	5
Kidney	Degeneration of tubular epithelia			1		3	1	2	4	2	1
	Infiltration of round cells in cortex			1		2		2		2	1
	Dilatation of tubules									2	3

+ Very slight, # Slight.

1070 600 mg/kg 群の雌で若干の低下が認められた。

以上示した諸変化は、いずれも休薬によって回復の傾向を示した。

(2) 血液、血液生化学、尿検査

検査結果を Table 4, 5 に示した。KW-1070 の 400 mg/kg 群に赤血球、Ht, Hb の軽度減少が認められた。KM 100 mg/kg 群でも上記検査項目に若干の減少が認められたが、ほぼ正常範囲内のものであった。また、主として KW-1070 の 100 mg/kg, 400 mg/kg 両群と KM の 100 mg/kg 群で、A/G 比, BUN, NPN, S-GOT, cholesterol などの上昇傾向と AIP の低下傾向、さらに尿検査での尿蛋白の軽度上昇傾向が認められた。以上示した諸変化は、休薬後の検査では殆んど回復の傾向が認められた。

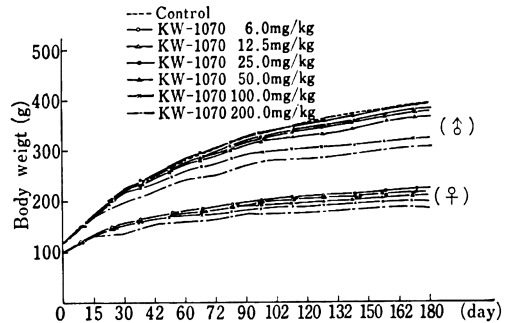
(3) 病理学的検査

1) 剖検所見：主要な変化は腎臓に認められ、KW-1070 の 50 mg/kg 以上の群と KM の 100 mg/kg 群で腎臓の腫大、褪色が dose response をもって認められた。同変化は、臓器重量、重量比検査 (Table 6,7 主要変化が認められた腎臓だけについて記載) においても、ほぼ相関して認められた。

また、盲腸 (内容物含む) では、KW-1070, KM 投与群にはほぼ dose response をもって重量、重量比の上昇が認められた。これらの変化は休薬後の検査で回復および回復傾向が認められた。

2) 病理組織学的検査：検査結果を Table 8 に示した。腎臓：KW-1070 の 50 mg/kg 以上の群と KM の両群ではほぼ dose response をもって、皮質尿細管上皮の変

Fig.3 Changes of mean body weight in rats following intra-muscular administration of KW-1070 (chronic)



性 (腫大、空胞化、好酸化、硝子滴の増加) が認められた。この硝子滴は Azan 染色では、深紅色や青色またはうすい青色の顆粒として認められた。さらに間質への円形細胞浸潤も認められた。KW-1070 の 25 mg/kg 群では特記すべき変化は認められなかった (photo 1~5,9)。

また、途中死亡の評められた KM の 400 mg/kg 群では皮質尿細管上皮の壊死や尿細管腔の拡張も強く認められたが、KW-1070 の 600 mg/kg 群では皮質尿細管上皮の壊死は認められなかった。

投与部位筋肉 (1群雌雄各5匹検査)：KW-1070, KM 両群とも、ほぼ dose response をもって出血、円形細胞浸潤、線維化が認められた。

以上示した諸変化は、30日間休薬後の検査 (Table 9) では殆んど消失および回復傾向が認められた。

その他の臓器では、KM の 400 mg/kg 群で脾臓のり

Table 10 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in male rats. Summarization of general condition

Drug	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death (Days of death)	Body weight (g)		Mean of food consumption(g/day)		Mean of water consumption(ml/day)		Mean of urine volume(ml/day)	
				Day 90	Day 180	0~90days	91~180days	0~90days	91~180days	0~90days	91~180days
Control		10	0	326±22	393±22	15.2±0.9	15.6±0.8	20±2	20±1	2.8±0.9	3.8±0.3
KW-1070	6	10	0	327±14	391±16	15.4±0.9	15.8±0.7	20±2	21±1	3.8±1.2	4.3±0.4
KW-1070	12.5	10	0	316±19	377±21	15.3±0.8	15.4±0.7	21±2	21±1	3.3±1.0	4.7±1.0
KW-1070	25	10	0	320±9	382±17	15.2±0.7	15.5±0.8	21±2	22±1	3.2±1.0	4.8±0.6
KW-1070	50	10	0	312±13	365±12	14.9±0.7	15.0±0.7	21±2	23±1	3.4±1.4	6.5±1.0
KW-1070	100	10	0	292±18	324±14	14.5±0.9	13.2±1.0	22±2	23±1	4.0±1.6	7.4±1.3
KW-1070	200	10	0	272±18	307±14	13.5±0.8	13.2±0.7	20±2	22±2	3.3±1.1	7.0±1.8

Mean±Standard deviation, * : P<0.05, ** : P<0.01

Table 11 Chronic intra muscular toxicity of KW-1070 in female rats. Summarization of general condition

Drug	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death (Days of death)	Body weight (g)		Mean of food consumption(g/day)		Mean of water consumption(ml/day)		Mean of urine volume (ml/day)	
				Day 90	Day 180	0~90days	91~180days	0~90days	91~180days	0~90days	91~180days
Control		10	0	195±10	220±10	10.8±0.6	10.2±0.6	15±1	14±1	3.5±0.8	3.8±0.4
KW-1070	6	10	0	199±8	226±11	11.1±0.7	10.5±0.5	15±1	15±1	2.9±0.6	3.8±0.6
KW-1070	12.5	10	0	194±11	219±11	10.9±0.8	10.3±0.5	15±1	15±1	2.5±0.6	4.0±0.9
KW-1070	25	10	0	194±3	219±9	10.9±0.9	10.3±0.6	16±1	15±1	2.9±0.6	3.4±0.8
KW-1070	50	10	0	191±12	211±13	11.1±0.9	10.2±0.5	16±1	16±1	2.8±0.7	4.5±0.9
KW-1070	100	10	0	183±10	200±9	10.5±0.8	9.4±0.7	16±1	15±2	2.9±0.9	4.9±1.0
KW-1070	200	10	0	175±10	185±8	9.8±1.2	8.7±0.6	15±2	13±2	3.3±0.8	4.8±1.1

Mean±Standard deviation, * : P<0.05, ** : P<0.01

Table 12 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in male rats. Hematological, blood chemical and urine test

Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Ht (%)	Hb (g/dl)	WBC (10 ³ /mm ³)	Distribution of leucocytes(%)				
						Lymphocytes	Neutrophils	Eosinophils	Basophils	Monocytes
Control		789 ± 35	45.7 ± 0.9	14.7 ± 1.2	91.4 ± 13.3	68.5 ± 9.7	30.5 ± 9.3	0.9 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	6	796 ± 20	45.8 ± 0.6	15.2 ± 0.8	83.6 ± 20.9	62.3 ± 7.5	36.4 ± 7.8	1.2 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	12.5	799 ± 27	46.1 ± 0.7	15.0 ± 0.8	72.3 ^{**} ± 11.4	69.4 ± 7.7	29.5 ± 7.6	1.0 ± 0.5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	25	750 [*] ± 30	44.2 ^{**} ± 0.7	15.2 ± 0.5	71.1 ^{**} ± 15.2	67.0 ± 7.6	31.6 ± 7.5	1.3 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	50	688 ^{**} ± 36	42.0 ^{**} ± 1.3	14.5 ± 0.6	75.3 [*] ± 17.1	70.3 ± 7.8	28.3 ± 7.4	1.4 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	100	558 ^{**} ± 63	36.4 ^{**} ± 2.1	13.6 ^{**} ± 0.8	77.3 ± 16.8	72.7 ± 6.6	26.6 ± 6.6	0.6 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	200	519 ^{**} ± 53	33.8 ^{**} ± 2.0	12.6 ^{***} ± 1.1	75.0 [*] ± 16.3	75.1 ± 5.0	24.1 ± 5.0	0.7 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Drug	Dose (mg/kg)	A/G (ratio)	Total Protein (mg/dl)	AIP (K.A.Unit)	S-GOT (I.U.)	S-GPT (I.U.)	Cholesterol (mg/dl)	BUN (mg/dl)	NPN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Control		1.08 ± 0.07	6.7 ± 0.1	14.2 ± 1.4	46.7 ± 4.0	19.6 ± 4.3	53.0 ± 3.6	15.9 ± 1.1	31.7 ± 2.1	1.00 ± 0.11
KW-1070	6	1.13 ± 0.09	6.8 [*] ± 0.1	14.6 ± 2.6	45.8 ± 3.7	17.8 ± 2.6	54.1 ± 7.2	15.4 ± 0.9	31.9 ± 1.5	1.05 ± 0.04
KW-1070	12.5	1.16 [*] ± 0.06	6.8 [*] ± 0.1	13.7 ± 2.1	46.3 ± 4.8	18.7 ± 4.4	53.2 ± 6.5	16.0 ± 1.2	31.0 ± 2.4	1.02 ± 0.05
KW-1070	25	1.15 ± 0.09	6.7 ± 0.1	13.0 ± 1.7	48.7 ± 4.5	20.7 ± 4.0	54.1 ± 7.0	16.6 ± 1.5	33.0 ± 2.9	1.07 ± 0.06
KW-1070	50	1.17 [*] ± 0.07	6.7 ± 0.1	12.7 ± 1.6	49.1 ± 2.9	17.5 ± 2.5	53.1 ± 4.2	21.3 ^{**} ± 3.6	38.9 ^{**} ± 4.0	1.11 ^{**} ± 0.08
KW-1070	100	1.25 ^{**} ± 0.09	6.5 ± 0.1	12.2 ^{**} ± 1.7	52.7 ^{**} ± 4.6	13.6 ^{**} ± 3.7	57.0 ± 5.8	36.0 ^{**} ± 5.5	54.8 ^{**} ± 5.4	1.29 ^{**} ± 0.10
KW-1070	200	1.28 ^{**} ± 0.06	6.4 ^{**} ± 0.1	12.5 ± 2.1	55.3 ^{**} ± 6.6	15.3 ^{**} ± 4.4	53.9 ± 4.4	45.1 ^{**} ± 8.8	63.5 ^{**} ± 6.7	1.48 ^{**} ± 0.13

Mean ± Standard deviation, * : P < 0.05, ** : P < 0.01

Table 13 Chronic intra muscular toxicity of KW 1070 in female rats. Hematological, blood chemical and urine test

Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ¹² /mm ³)	Ht (%)	Hb (g/dl)	WBC (10 ³ /mm ³)	Distribution of leucocytes (%)				Creatinine (mg/dl)	
						Lymphocytes	Neutrophils	Eosinophils	Basophils		Monocytes
Control		680 ± 36	43.5 ± 1.3	14.8 ± 0.7	38.6 ± 12.7	69.4 ± 12.1	29.2 ± 11.9	1.4 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	6	677 ± 30	43.7 ± 0.8	15.2 ± 0.7	42.6 ± 13.1	69.5 ± 6.0	29.4 ± 6.1	1.0 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	12.5	706 ± 14	44.1 ± 0.5	15.0 ± 0.7	45.7 ± 8.9	69.8 ± 6.2	28.5 ± 6.3	1.6 ± 1.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	25	691 ± 38	44.2 ± 1.1	15.1 ± 0.8	43.2 ± 17.1	69.3 ± 9.4	29.0 ± 9.9	1.7 ± 1.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	50	644 ± 50	41.6*** ± 1.2	14.9 ± 0.4	42.2 ± 5.1	68.3 ± 3.8	29.6 ± 4.1	2.0 ± 1.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	100	564** ± 28	37.5*** ± 1.3	14.1* ± 0.4	46.4 ± 7.7	71.8 ± 5.2	26.3 ± 6.1	2.0 ± 1.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
KW-1070	200	513** ± 44	34.8** ± 1.8	13.5** ± 0.9	53.6* ± 10.8	74.7 ± 5.4	24.1 ± 5.2	1.1 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Drug	Dose (mg/kg)	A/G (ratio)	Total Protein (mg/dl)	AIP (K.A. Unit)	S-GOT (I.U.)	S-GPT (I.U.)	Cholesterol (mg/dl)	BUN (mg dl)	NPN (mg dl)	Creatinine (mg/dl)	
Control		1.28 ± 0.12	7.1 ± 0.3	7.7 ± 2.8	40.4 ± 4.8	13.0 ± 4.9	94.0 ± 7.2	16.4 ± 1.7	33.2 ± 4.1	1.15 ± 0.06	
KW-1070	6	1.32 ± 0.06	7.3 ± 0.1	6.0 ± 2.0	40.7 ± 5.7	14.1 ± 4.1	97.0 ± 7.7	15.2 ± 1.5	32.4 ± 2.4	1.19 ± 0.08	
KW-1070	12.5	1.31 ± 0.05	7.1 ± 0.2	8.0 ± 1.3	39.1 ± 3.2	12.7 ± 3.3	87.5 ± 6.0	14.8* ± 0.7	30.6 ± 2.4	1.19 ± 0.09	
KW-1070	25	1.27 ± 0.07	7.1 ± 0.2	6.2 ± 1.9	41.4 ± 3.8	11.6 ± 4.2	95.1 ± 7.7	17.7 ± 3.6	34.1 ± 5.3	1.21 ± 0.08	
KW-1070	50	1.30 ± 0.09	7.0 ± 0.3	7.0 ± 1.1	45.1* ± 4.5	13.4 ± 5.0	92.5 ± 8.3	18.8 ± 3.0	35.0 ± 3.5	1.23* ± 0.07	
KW-1070	100	1.29 ± 0.09	6.7*** ± 0.1	6.9 ± 1.4	46.3** ± 3.8	10.1 ± 2.9	86.2* ± 6.4	24.1** ± 2.4	40.9*** ± 3.7	1.26* ± 0.12	
KW-1070	200	1.34 ± 0.05	6.4*** ± 0.1	8.2 ± 1.9	53.3*** ± 5.8	10.5 ± 2.4	84.8* ± 7.2	33.6*** ± 4.7	51.1*** ± 5.1	1.35*** ± 0.09	

ソバ瀾胞の軽度萎縮、細網細胞の軽度増生、胸腺リンパ球の軽度減少と崩壊、骨髄のうっ血、出血と造血系細胞の低形成などが認められた以外著変は認められなかった。

IV. ラットによる慢性毒性試験

1. 実験材料および方法

亜急性毒性試験とほぼ同様の形式で実施し、投与期間は 180 日間とした。投与量、群構成および検査匹数は Table 10, 11 に示した。なお、投与量の設定においては、亜急性毒性試験の結果を参考にした。

2. 実験成績

(1) 一般状態

死亡動物は全群認められなかった。症状観察では、100 mg/kg 以上の投与群で投与開始後 20 日目頃から 90 日目頃まで軟便が散発的に認められた以外には特記すべき症状の発現は認められなかった。体重 (Fig. 3) では、ほぼ 50 mg/kg 以上の群に dose response をもっ

て体重増加抑制とこれと相関して飼料摂取量 (Table 10, 11) の低下が認められた。飲水量 (Table 10, 11) では、ほぼ 6 mg/kg 以上の群に飲水量の増加傾向が認められ、尿量 (Table 10, 11) でもほぼ相関して増加傾向が認められた。

(2) 血液、血液生化学、尿検査

検査結果を Table 12, 13 に示した。雄では、ほぼ 25 mg/kg 以上の群で、雌では 100 mg/kg 以上の群で赤血球、Ht, Hb の低下傾向が認められた。その他、雄の 12.5 mg/kg 以上の群で白血球の軽度低下が認められたが、正常範囲内の値であった。血液生化学的検査では、主として雄の 50 mg/kg 以上の群と、雌のほぼ 100 mg/kg 以上の群で BUN, NPN, creatinine, S-GOT の上昇が認められた。また雌雄とも 100 mg/kg 以上の群で血清総蛋白の低下傾向が認められた。その他、雄の 12.5 mg/kg 以上の群で A/G 比の上昇傾向と 100 mg/kg 以上の群で S-GPT の低下傾向が認められたが弱いものであ

Table 14 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in rats.
Organ weight (g)

Drug	Dose (mg/kg)	Kidney (♂)		Kidney (♀)	
		Right	Left	Right	Left
Control		1.01 ± 0.08	1.02 ± 0.08	0.66 ± 0.04	0.65 ± 0.04
KW-1070	6	1.05 ± 0.06	1.04 ± 0.06	0.65 ± 0.05	0.67 ± 0.04
KW-1070	12.5	1.05 ± 0.09	1.09 ± 0.07	0.70 ± 0.05	0.68 ± 0.05
KW-1070	25	1.23 ± 0.22**	1.21 ± 0.09***	0.72 ± 0.03***	0.72 ± 0.03***
KW-1070	50	1.47 ± 0.09***	1.48 ± 0.09***	0.89 ± 0.08***	0.89 ± 0.07***
KW-1070	100	2.32 ± 0.26***	2.39 ± 0.24***	1.25 ± 0.12***	1.29 ± 0.12***
KW-1070	200	2.50 ± 0.33***	2.58 ± 0.30***	1.62 ± 0.13***	1.68 ± 0.16***

Mean ± Standard deviation, * : P < 0.05, *** : P < 0.01

Table 15 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in rats.
Relative organ weight (mg/100g body weight)

Drug	Dose (mg/kg)	Kidney (♂)		Kidney (♀)	
		Right	Left	Right	Left
Control		258 ± 9	260 ± 8	299 ± 16	298 ± 20
KW-1070	6	265 ± 17	263 ± 16	295 ± 18	304 ± 21
KW-1070	12.5	279 ± 13**	289 ± 13**	320 ± 15*	312 ± 15
KW-1070	25	324 ± 51***	317 ± 21**	330 ± 11***	329 ± 13***
KW-1070	50	411 ± 34***	414 ± 34**	423 ± 29***	421 ± 23***
KW-1070	100	704 ± 94***	726 ± 90**	629 ± 63**	646 ± 67**
KW-1070	200	822 ± 117***	847 ± 106***	874 ± 72***	906 ± 86**

Mean ± Standard deviation, * : P < 0.05, *** : P < 0.01

Table 16 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in rats. Histopathological findings

Organs	Microscopic observation	Doses, sex and No. of animals														
		KW-1070 (mg/kg)														
		Control		6		12.5		25		50		100		200		
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
Kidney	Degeneration of tubular epithelial cells					6	2	7	10			7	3	10	1	10
	Dilatation of tubules											7	2		9	10
	Protein casts											1	1	1		
	Infiltration of round cells in cortex							1		6	3			5	4	10
Adrenal	Fibrosis														3	4
	Hyperplasia of BOWMAN'S capsule														3	2
	Hemosiderin deposition			10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Hypoplastic marrow															3
Bone marrow	Bleeding							1	2	2	4			3	1	4
	Hemosiderin deposition									2	1	4	8	8	7	3
	Infiltration of round cells															
	Fibrosis															
Injection site (Muscle)	Hemosiderin deposition															
	Infiltration of round cells															
	Fibrosis															

+ Very slight, ++ Slight, +++ Moderate, ++++ Marked

った。尿検査では特記すべき変化は認められなかった。

(3) 病理学的検査

1) 剖検所見：雌雄ともほぼ 25 mg/kg 以上の群で dose response をもって腎臓の腫大、褪色が認められ、臓器重量 (Table 14)、臓器重量比 (Table 15) の検査においても相関して重量、重量比の上昇が認められた。

Photo.1 Kidney : No abnormal findings
HE×200
Control subacute

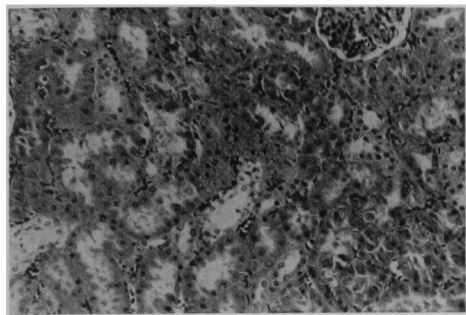


Photo.2 Kidney : Degeneration of tubular epithelia (swelling, vaculation, hyaline droplets) HE×200
KW-1070 600 mg/kg subacute

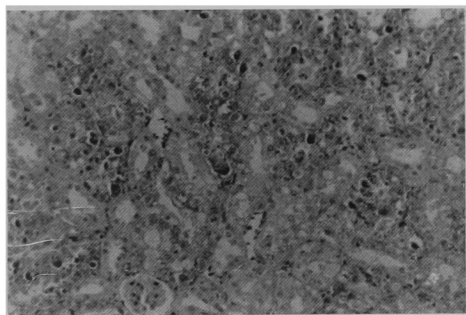
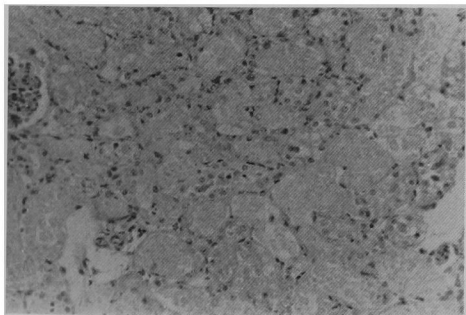


Photo.3 Kidney : Necrosis of cortical tubular epithelia HE×200
KM 400 mg/kg subacute



2) 病理組織学的所見：Table 16 に示した。

腎臓：12.5 mg/kg 以上の群にはほぼ dose response をもって皮質尿細管上皮の変性（腫大，空胞化，好酸化，硝子滴の増加），間質への円形細胞浸潤が認められた。また，主として 100 mg/kg 以上の高用量群では尿細管腔の拡張傾向が強く，一部ではう胞状を呈している所

Photo.4 Kidney : Infiltration of round cells HE×200
KM 400 mg/kg subacute

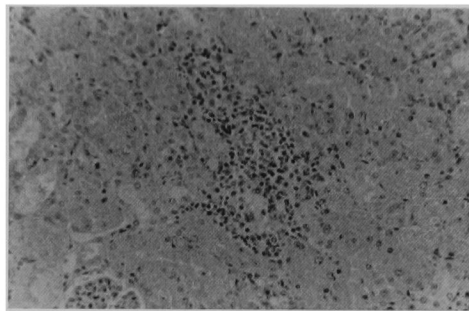


Photo.5 Kidney : Degeneration of tubular epithelia (swelling) HE×200
KW-1070 400 mg/kg sub acute

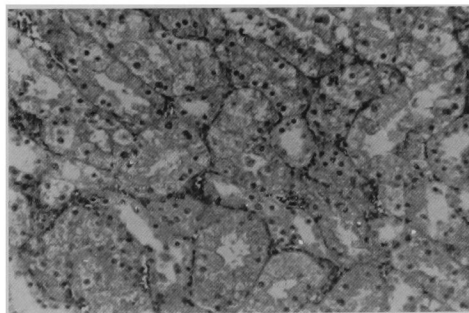
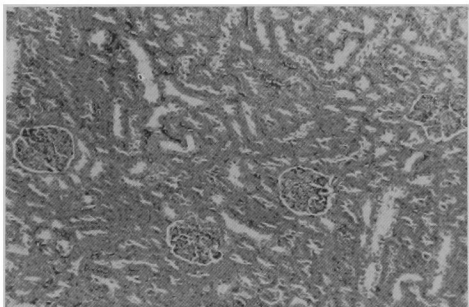


Photo.6 Kidney : No abnormal finding
HE×100
Control chronic



見や間質の線維化も認められた。その他糸球体ホルマンのうの極軽度の肥厚が 100 mg/kg 以上の群に認められた (photo. 6~8, 10)。

副腎：皮質網状層のヘモジリン沈着が、Control、投与群共に認められたが、投与群の方に、雄よりも雌の方により強く認められた。

Photo. 7 Kidney : Dilatation of cortical tubules HE×100
KW-1070 200 mg/kg chronic

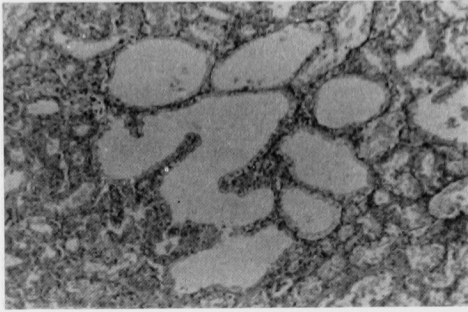


Photo. 8 Kidney : Degeneration of tubular epithelia (swelling) HE×100
KW-1070 200 mg/kg chronic

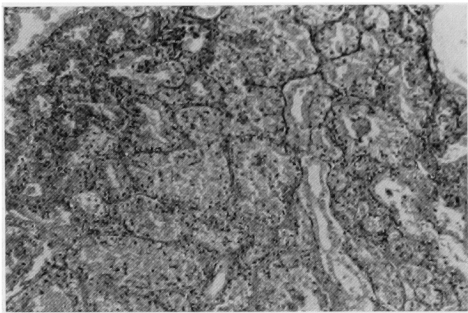
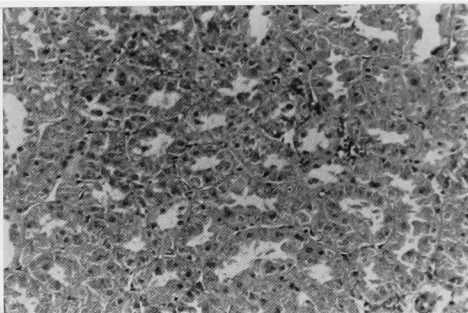


Photo. 9 Kidney : No abnormal findings HE×200
KW-1070 25 mg/kg subacute



骨髄：200 mg/kg 群に軽度の細胞低形成が認められた。

投与部位筋肉：ヘモジリン沈着を伴った出血と円形細胞浸潤および線維化が投与群に dose response をもって認められた。Control 群では雄 4 例、雌 1 例に軽微な円形細胞浸潤が認められた (photo. 11, 12)。その他

Photo. 10 Kidney : No abnormal findings HE×200
KW-1070 6 mg/kg chronic

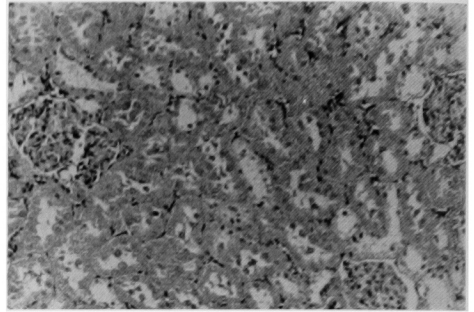


Photo. 11 Injection site (Muscle) : Slight infiltration of round cells HE×100
Control chronic

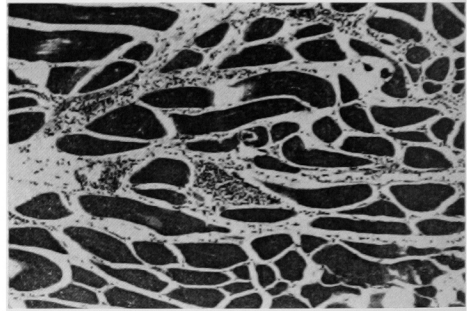
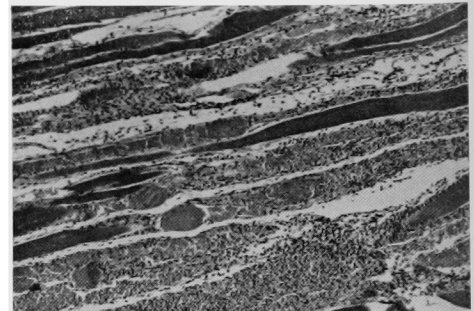


Photo. 12 Injection site (Muscle) : Infiltration of round cells HE×100
KW-1070 200 mg/kg chronic



の臓器には、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

V. 総括および考察

新規 aminoglycoside 系抗生物質である KW-1070 の安全性に関する試験の一環として、マウス、ラット、イスによる急性毒性、ラットによる 30 日間の亜急性毒性、180 日間の慢性毒性試験を実施した。急性毒性は、Table 1 に示したように種差においては、マウス、イス、ラットの順に強く認められた。性差は、どの投与ルートにおいても認められなかった。投与経路による差は、i. v., i. m., i. p., s. c., p. o. の順に強く認められ、p. o. では他の同系の薬剤⁵⁻¹⁵⁾と同様に消化管からの吸収はよくないため、毒性は弱く認められた。投与後の症状も他の同系の薬剤⁵⁻¹⁵⁾と同様に、正向反射消失、運動失調、循環および呼吸不全を呈して死亡した。ラットにおける亜急性毒性試験では、死亡動物が KW-1070 600 mg/kg と KM 400 mg/kg に認められた。

本試験における主要変化は、他の同系薬剤⁵⁻¹⁵⁾の変化と殆ど同様に腎臓の腫大、褪色、組織学的には皮質尿管上皮の変性、壊死 (KM の 400 mg/kg 群だけ) BUN, NPN, cholesterol などの上昇に示される腎障害とそれにほぼ相関して認められる一般状態の悪化、貧血傾向に要約される。このような腎障害を主体とした変化は、KW-1070 では主として 50 mg/kg~100 mg/kg 以上の群に認められた。KW-1070 と KM を同一用量 (400 mg/kg) で比較すると、死亡動物は KM にのみ認められ、KW-1070 では認められなかった。また、腎臓の病理組織学的検査では、KM では皮質尿管上皮の広範な壊死が認められたが、KW-1070 では認められなかった。

以上の結果より 400 mg/kg においては KW-1070 の方が KM より明らかに毒性は低く認められた。秋吉らは腎毒性と比例して認められる aminoglycosid 系抗生物質の聴器毒性で KW-1070 は ribostamycin なみに弱いことを報告⁴⁾しており、KW-1070 の毒性は同系の抗生物質の中で最も弱い部類に属するものと推察される。腎臓以外の変化では、投与部位筋肉の炎症が Control を含め各投与群に認められたが KW-1070 と KM の投与群により強く認められた。

慢性毒性試験においては、亜急性毒性試験と同様主として高用量群に、腎障害とそれに伴う一般状態の悪化、貧血傾向等が認められた。これらの変化は、ほぼ 12.5 mg/kg~25 mg/kg 以上の群に認められ、6 mg/kg 群では特記すべき変化は認められなかった。

謝 辞

組織学的検査および御校閲の労を賜った山口大学医学部第一病理学教室、内野文弥教授をはじめ諸先生方に

深く感謝する。

文 献

- 1) NARA, T.; M. YAMAMOTO, I. KAWAMOTO, T. TAKAYAMA, R. OKACHI, S. TAKASAWA, T. SATO & S. SATO: Fortimicins A and B, new aminoglycoside antibiotics. I. Production organism, fermentation and biological properties fortimicins. J. Antibiotics 30: 533~540, 1977
- 2) OKACHI, R.; S. TAKASAWA, T. SATO, S. SATO, M. YAMAMOTO, I. KAWAMOTO & T. NARA: Fortimicins A and B, new aminoglycoside antibiotics. II. Isolation, physico-chemical and chromatographic properties. J. Antibiotics 30: 541-551, 1977
- 3) GIROLAMI, R. S. & J. M. STAMM: Fortimicins A and B, new aminoglycoside antibiotics. IV. *In vitro* study of fortimicin A compared with other aminoglycosides. J. Antibiotics 30: 564~570, 1977
- 4) 第 28 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム I, KW-1070, 1980
- 5) 荒谷春恵, 大西黎子, 河野静子, 谷口昭夫, 中川辰雄, 蔵田元二, 田村咲江: Gentamicin に関する薬理学的研究。Chemotherapy 15: 483~489, 1967
- 6) 伊藤隆太, 川村弘徳, 中川寿々子, 張 漢洵, 小林主一, 大本美弥子, 松浦慎吾, 樋田 晋, 桃沢君和: Aminostidine の急性, 亜急性および慢性毒性。Chemotherapy 16: 124~133, 1968
- 7) 森 弘, 古賀昭二, 河原慶昌, 田村秀明, 中村光政: Lividomycin の安全性試験。第 1 報。急性亜急性および慢性毒性試験。応用薬理 6: 782~812, 1972
- 8) 小枝武美, 小滝益三, 久松 充, 佐々木育, 横田正幸, 内田信吾: 3', 4'-Dideoxykanamycin B の毒性に関する研究。第 1 報。マウスならびにラットに対する急性毒性。Jap. J. Antibiotics 26: 221~227, 1973
- 9) 小枝武美, 小滝益三, 久松 充, 佐々木育, 横田正幸, 新里鉄太郎, 内田信吾: 3', 4'-Dideoxykanamycin B の毒性に関する研究。第 2 報。ラットおよび家兎に対する亜急性毒性。Jap. J. Antibiotics 26: 228~246, 1973
- 10) 小枝武美, 小滝益三, 久松 充, 佐々木育, 横田正幸, 新里鉄太郎, 内田信吾: 3', 4'-Dideoxykanamycin B の毒性に関する研究。第 3 報。ラットおよび犬に対する慢性毒性。Jap. J. Antibiotics 26: 247~261, 1973
- 11) 倉本昌明, 大久保孝明, 季 雄毅, 石村泰子, 森本順子: マウス, ラットでの Tobramycin の毒性に関する研究。Chemotherapy 27: 1470~1493, 1975
- 12) 真下啓明, 加藤康道, 桜庭喬匠, 田中一志, 矢島 戡, 安田美津子, 中山一郎, 富沢磨須美, 松本義孝: Vistamycin (Ribostamycin) の基礎的及び

- 臨床的検討。Chemotherapy 20 : 25~31, 1972
- 13) 松崎明紀, 中村浩一, 吉田昭雄, 関野 実, 平田明保, 浅野昌子, 岸本勝次, 福島三枝子: Amikacin (BB-K 8) の毒性に関する研究。第1報。急性毒性及びラットにおける亜急性毒性。Jap. J. Antibiotics 28 : 415~424, 1975
- 14) 松崎明紀, 中村浩一, 吉田昭雄, 関野 実, 飯田清孝, 浅野昌子, 小野寺邦介, 渡辺計子: Amikacin (BB-K 8) の毒性に関する研究。第2報。ラットにおける慢性毒性。Jap. J. Antibiotics 28 : 435~457, 1975
- 15) 原 卓司, 小山 薫, 宮崎英治, 大黒友治, 清水源昭: KW-1062 の安全性に関する研究。第1報。急性毒性(マウス, ラット, イス)及びラットにおける亜急性, 慢性毒性試験。Jap. J. Antibiotics 30 : 386~407, 1977

SAFETY EVALUATION OF KW-1070. I ACUTE TOXICITY IN MICE, RATS AND DOGS AND SUBACUTE AND CHRONIC TOXICITY IN RATS

SATOSHI NISHIKAWA, TAKUJI HARA, HIDEHARU MIYAZAKI
and YUJI OHGURO

Toxicological Laboratory, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.

KW-1070 is a new aminoglycoside antibiotic produced from *Micromonospora olivoasterospora* which was isolated from a soil in Hiroshima City, Hiroshima Prefecture, Japan. KW-1070 exhibited potent and unique broad-spectrum antibacterial activity against gram-negative bacteria (*Serratia*, *Proteus inconstans*, etc.). Toxicological studies of KW-1070 were carried out for safety evaluation as follows:

1) Studies on acute toxicity were carried out by intravenous, intramuscular, intraperitoneal, subcutaneous and oral administration to ICR strain mice and Wistar strain rats and by intramuscular and intravenous administration to Beagle strain dogs, comparing with kanamycin.

2) Studies on subacute toxicity were carried out by intramuscular administration (25, 50, 100, 400 and 600 mg/kg) to Wistar strain rats for 30 days, comparing with kanamycin (100 and 400 mg/kg).

3) Studies on chronic toxicity were carried out by intramuscular administration (6, 12.5, 25, 50, 100 and 200 mg/kg) to Wistar strain rats for 180 days.

The results of the studies are summarized as follows:

1) Acute toxicity varied with species used, being higher in mice>dogs>rats.

2) In subacute toxicity studies, some animals were observed dead at the dose of KW-1070 600mg/kg and kanamycin 400 mg/kg respectively. Main changes observed in subacute toxicity studies were renal tubular disorder, anemia and bad general conditions which were due to renal tubular disorder. These changes were observed mainly at the dose of KW-1070 50~100 mg/kg or more.

3) The changes in chronic toxicity studies were almost similar to those observed in subacute toxicity studies, and they were observed mainly at the dose of KW-1070 12.5~25 mg/kg or more. The toxicological effects observed with KW-1070 were qualitatively similar to those observed with kanamycin and other aminoglycoside antibiotics, and were quantitatively judged to be less toxic than kanamycin at the dose of 400 mg/kg.