

KW-1070 の安全性にかんする研究 (第2報) イヌにおける亜急性, 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 のイヌ筋肉内投与による 30 日間の亜急性毒性試験 (12.5, 25, 100, 200, 400 mg/kg, 対照薬 kanamycin (以下 KM と略す) 100, 400 mg/kg), 180 日間の慢性毒性試験 (3, 6, 12.5, 50, 100 mg/kg) を実施した。

1) イヌによる亜急性, 慢性毒性試験においても, 先に報告したラットでの試験¹⁾とはほぼ同様に主として高用量において, 腎臓の腫大, 褐色, 皮質尿管上皮の変性, 血液生化学検査での BUN, NPN の軽度上昇に示される腎障害が認められた。

2) 上記の変化は, 亜急性毒性試験では主として KW-1070 の 25~100 mg/kg 以上と KM の 100, 400 mg/kg, 慢性毒性試験では KW-1070 の 12.5~50 mg/kg 以上に認められた。

3) 死亡動物は亜急性毒性試験では, KW-1070 では認められず, KM の 400 mg/kg にのみ認められた。以上の事より先に報告したラットでの試験¹⁾と同様に 400 mg/kg に於いては KW-1070 の方が明らかに KM よりも毒性が弱く認められた。又, 慢性毒性試験では KW-1070 の 100 mg/kg の雄に 1 例死亡動物が認められた。これらの動物の死因は, 腎臓皮質尿管上皮の広範な壊死を認めている事から, 腎障害が主因をなしているものと考えられる。

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²⁻⁴⁾。

すでに筆者らは, 本物質の安全性に関する研究の一環としてマウス, ラット, イヌによる急性毒性, ラットによる亜急性, 慢性毒性試験について報告¹⁾したが, さらにイヌによる亜急性, 慢性毒性試験を実施したので報告する。

I. 使用薬剤

KW-1070, 対照薬の KM とも, 前報¹⁾と同一のものを使用した。

II. イヌによる亜急性毒性試験

1. 実験方法および材料

(1) 使用動物

米国 Laboratory Research Enterprise 産の生後 7 ヶ月の Beagle 犬を購入し, 約 1 ヶ月間予備飼育したものを (体重約 7~10kg) を使用した。

(2) 投与量*の構成および投与方法

Table 1 に示した。

推定臨床適用量の 12.5 mg/kg を基準に公比 2 で構成

した。なお, 先に実施したラットの亜急性毒性試験では最高用量群を 600 mg/kg としたが急性毒性試験で, イヌはラットよりも毒性が強く認められたので, 400 mg/kg を最高用量群と設定した。Control 群には生理食塩液を投与し, 対照薬 KM については, 100, 400 mg/kg の 2 群を設けて比較検討した。投与方法は, ラットの亜急

Table 1 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs. Administration doses of agents and number of dead animals

Drug & dose	No. of animals		No. of deaths (Days of death)	
	Male	Female	Male	Female
Control	2	2	0	0
KW-1070 12.5mg/kg	2	2	0	0
KW-1070 25mg/kg	2	2	0	0
KW-1070 100mg/kg	2	2	0	0
KW-1070 200mg/kg	2	2	0	0
KW-1070 400mg/kg	2	2	0	0
KM 100mg/kg	2	2	0	0
KM 400mg/kg	2	2	2/2 (16,25)	2/2 (12,23)

* 本試験における投与量はすべて力価表示である。

性毒性試験の場合と同様で、1日1回、左右大腿部筋肉内へ30日間連続投与した。

(3) 検査項目

ラットの亜急性毒性試験に準じて実施した。ただし、尿量測定は、各群の雌雄について行ない、血液および血液生化学的検査、尿検査は投与開始前(0日目)、15、30日目の投与後16時間絶食したのち実施した。なお、投与期間中、後述のように、一般状態が極度に悪化し、死亡が予測されるものについては、その時点で屠殺処分し、病理学的検査を実施した(これらの動物は全て死亡例とした)。

2. 実験成績

(1) 死亡状況と一般状態

Table 1 に示した。

KW-1070 投与群では、400 mg/kg 群で、投与後軽い自発運動の減少、失調性歩行がほぼ試験期間を通して認められたが死亡動物は発現しなかった。KW-1070 の他

の群では特記すべき症状の発現は認められなかった。

KM 投与群では、400 mg/kg 群で投与後自発運動の減少、失調性歩行が認められた。この群は投与開始12後日目から25日目にかけて全例途中死亡が認められ、これらの動物はいずれも死亡の3~4日前から元気がなくなり、動作が緩慢で強い食欲不振におちいった。また、投与後も腹臥、虚脱状態で中には流涙、流涎、嘔吐を示す動物も認められた。

体重 (Fig. 1, 2) の結果では死亡動物は、死亡日の数日前より減少が認められ、飼料摂取率も同様に死亡の数日前から減少、廃絶が認められた。飲水量、尿量はKW-1070, KM 投与群ともに増加傾向が認められた。

(2) 血液、血液生化学的検査および尿検査

各群の平均値(雌雄混合)をTable 2 に示した。

1) 血液学的検査: 全群特記すべき変化は認められなかった。

2) 血液生化学的検査: KW-1070 の 12.5~400 mg/

Fig. 1 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in male dogs. Body weight

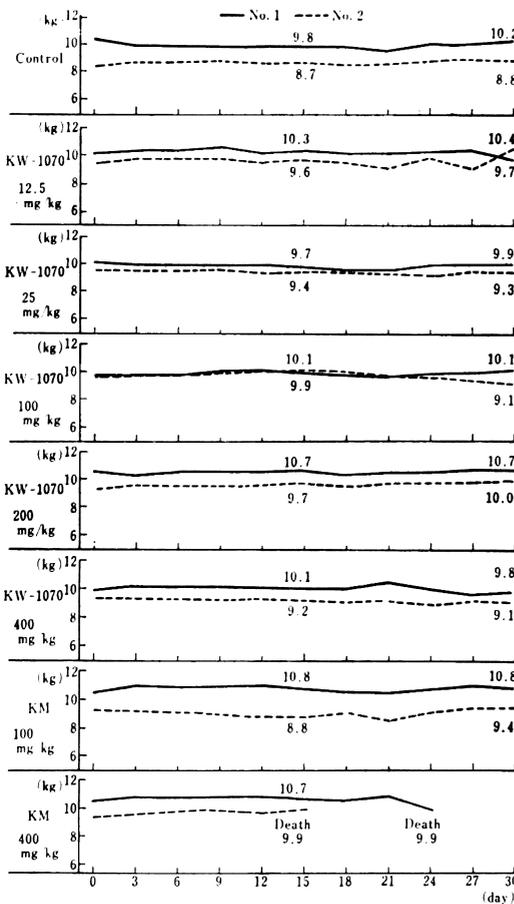


Fig. 2 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in female dogs. Body weight

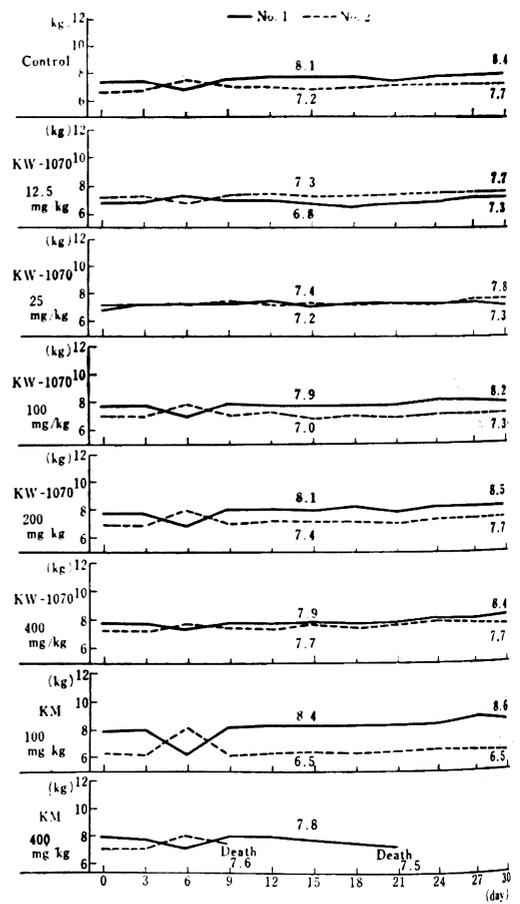


Table 2 Subacute intra-muscula toxicity of KW-1070 in dogs. Hematological, blood chemical and urine test

	Control						KW-1070 12.5mg/kg		KW-1070 25mg/kg		KW-1070 100mg/kg		KW-1070 200mg/kg		KW-1070 400mg/kg		KM 100mg/kg		KM 400mg/kg		
	Exam. days	0	15	30	4	4	0	15	30	0	15	30	0	15	30	0	15	30	0	15	30
No. of animals examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
RBC (10 ⁶ /mm ³)	Mean	599	624	615	635	661	660	683	678	693	711	687	715	645	613	669	676	654	667	611	649
	S.D.	±49	±20	±19	±41	±49	±35	±77	±70	±64	±38	±64	±29	±37	±32	±45	±16	±18	±37	±36	±65
WBC (10 ² /mm ⁶)	Mean	134.8	106.5	121.5	122.3	95.5	124.3	117.3	81.8	90.3	112.0	97.0	90.3	132.8	94.3	99.8	125.0	102.5	98.0	110.3	116.3
	S.D.	±29.1	±16.8	±21.7	±26.2	±9.6	±30.7	±21.0	±13.7	±12.2	±14.6	±17.8	±9.4	±17.5	±13.0	±22.0	±11.0	±7.6	±10.6	±14.8	±23.4
A/G (ratio)	Mean	0.89	0.91	0.98	0.87	1.05	1.08	0.80	1.11	1.14	0.87	1.03	1.09	0.82	0.96	1.03	0.89	1.03	1.12	0.96	1.09
	S.D.	±0.13	±0.09	±0.13	±0.04	±0.05	±0.08	±0.07	±0.08	±0.09	±0.15	±0.15	±0.11	±0.03	±0.07	±0.06	±0.08	±0.09	±0.00	±0.06	±0.03
AlP (K.A.Unit)	Mean	7.9	6.0	5.4	8.5	6.4	6.3	8.6	6.8	6.0	8.4	6.4	5.0	7.7	5.3	4.6	7.6	5.6	4.8	8.0	6.9
	S.D.	±1.4	±0.9	±1.3	±1.3	±1.0	±1.2	±0.9	±1.5	±1.5	±0.9	±0.8	±1.1	±1.4	±0.8	±0.5	±0.8	±0.7	±0.7	±4.1	±2.5
S-GOT (I.U.)	Mean	13.3	11.0	10.8	13.3	10.8	12.0	11.3	10.8	11.3	11.5	12.0	9.8	13.0	13.3	11.3	14.0	15.8	12.3	12.8	11.5
	S.D.	±1.8	±2.5	±3.0	±2.9	±2.3	±2.7	±1.6	±1.9	±3.1	±1.7	±1.9	±2.9	±2.1	±2.2	±0.8	±1.0	±2.5	±3.0	±1.1	±1.7
S-GPT (I.U.)	Mean	8.8	8.5	6.0	7.5	6.8	7.0	8.8	7.3	7.3	7.3	11.3	7.0	8.5	9.8	7.8	7.3	12.8	8.3	7.0	9.8
	S.D.	±3.1	±3.3	±2.0	±2.3	±0.8	±3.5	±1.1	±1.9	±1.9	±2.6	±4.5	±2.9	±1.8	±3.1	±2.5	±2.9	±2.2	±1.5	±2.4	±2.2
BUN (mg/dl)	Mean	12.9	15.2	13.0	13.1	13.4	14.5	13.1	12.5	14.6	13.3	14.8	21.2	13.5	13.9	14.8	13.1	12.2	14.3	13.1	13.2
	S.D.	±2.4	±4.2	±0.5	±2.9	±3.5	±2.0	±2.3	±1.5	±1.8	±2.7	±4.2	±13.0	±1.4	±2.2	±2.7	±0.7	±0.9	±1.4	±1.7	±0.8
NPN (mg/dl)	Mean	24.8	26.5	26.3	23.8	23.5	27.0	24.3	22.8	26.8	25.5	24.8	36.0	25.8	28.0	28.0	23.5	22.3	26.8	24.0	23.5
	S.D.	±0.8	±5.3	±0.8	±1.5	±2.1	±2.5	±1.1	±1.5	±1.3	±2.7	±7.2	±14.6	±1.8	±1.6	±1.9	±1.1	±2.8	±1.8	±1.9	±1.5
Creatinine (mg/dl)	Mean	0.92	0.94	0.96	0.93	0.99	1.02	0.89	0.88	1.03	0.98	1.02	1.52	1.06	0.97	1.16	0.98	0.91	1.11	0.54	0.97
	S.D.	±0.06	±0.13	±0.05	±0.08	±0.09	±0.07	±0.15	±0.05	±0.07	±0.10	±0.20	±0.85	±0.11	±0.04	±0.10	±0.07	±0.01	±0.05	±0.04	±0.06
I.p.-phosphorus (mg/dl)	Mean	5.7	6.1	5.7	5.3	5.7	5.4	5.9	6.1	6.7	5.7	6.2	6.1	5.3	6.2	5.1	5.4	6.3	7.8	5.9	5.6
	S.D.	±0.3	±0.8	±0.8	±0.7	±0.5	±0.3	±0.4	±0.5	±1.1	±0.5	±0.7	±0.9	±0.5	±0.4	±0.8	±0.5	±0.4	±1.6	±0.7	±1.3
Ca (meq/l)	Mean	4.65	4.75	4.77	4.70	4.85	4.85	4.67	4.82	4.95	4.70	4.97	5.25	4.67	5.00	5.00	4.62	4.92	5.17	4.60	4.80
	S.D.	±0.09	±0.09	±0.18	±0.07	±0.09	±0.05	±0.11	±0.13	±0.11	±0.14	±0.26	±0.38	±0.08	±0.12	±0.12	±0.04	±0.15	±0.19	±0.16	±0.14
Urine volume (ml/16hr.)	Mean	132.5	52.5	70.0	125.0	87.5	150.0	130.0	80.0	101.3	187.5	183.8	192.5	167.5	201.3	220.0	157.5	190.0	320.0	62.5	117.5
	S.D.	±37.7	±45.5	±46.4	±20.6	±68.3	±134.3	±25.5	±52.8	±54.1	±36.3	±109.3	±59.3	±69.4	±50.3	±177.5	±44.9	±70.4	±113.4	±34.9	±83.2

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

Table 3 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs · Organ weight (g)

Item		Control	KW-1070 12.5mg/kg	KW-1070 25mg/kg	KW-1070 100mg/kg	KW-1070 200mg/kg	KW-1070 400mg/kg	KM 100mg/kg	KM 400mg/kg
No. of animals examined		4	4	4	4	4	4	4	4
Kidney (right)	Mean	19	21	21	27**	30**	32**	22	30*
	S.D.	± 2	± 3	± 3	± 1	± 3	± 4	± 1	± 6
Kidney (left)	Mean	19	21	22	28**	31**	32**	22	32**
	S.D.	± 2	± 3	± 2	± 3	± 2	± 3	± 2	± 5

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

Table 4 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs · Relative organ weight (mg/100g body weight)

Item		Control	KW-1070 12.5mg/kg	KW-1070 25mg/kg	KW-1070 100mg/kg	KW-1070 200mg/kg	KW-1070 400mg/kg	KM 100mg/kg	KM 400mg/kg
No. of animals examined		4	4	4	4	4	4	4	4
Kidney (right)	Mean	221	235	249**	312**	332*	366**	252	346**
	S.D.	± 12	± 15	± 2	± 29	± 57	± 29	± 33	± 21
Kidney (left)	Mean	212	240*	256**	321**	336**	367**	253	369**
	S.D.	± 6	± 14	± 9	± 25	± 47	± 17	± 32	± 17

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

kg 群と KM の 100 mg/kg 群で A/G 比の軽度上昇が認められた。NPN, creatinine の上昇が KW-1070 の主として 200~400 mg/kg 群と KM の 100 mg/kg 群で認められたが極めて弱いものであった。また I. phosphorus の上昇が KW-1070 の 400 mg/kg 群で、ALP の低下が KW-1070 の 25 mg/kg 以上の群でそれぞれ認められたがいずれも弱いものであった。その他の検査では約記すべき変化は認められなかった。

3) 尿検査: KM の 400 mg/kg 群で 15 日目に尿量の増加が認められた。

(3) 病理学的検査

1) 剖検所見: KW-1070 の 100 mg/kg 群以上と KM の両群ではほぼ dose response をもって腎臓の腫大, 褐色が認められ, この所見は臓器重量 (Table 3), 臓器重量比 (Table 4) においても裏づけられた。また, 投与部位筋肉の出血が KW-1070, KM 投与群共に散発的に認められた。

2) 病理組織学的検査: 各個体ごとの検査結果を Table 5 に示した。

腎臓: KW-1070 の 100 mg/kg 以上の群と KM の両群で皮質尿管上皮細胞の変性 (腫大, 硝子滴の増加, 空胞化), 間質の円形細胞浸潤, 皮質尿管腔の拡張が, ほぼ dose response をもって認められた。全例死亡し

た KM の 400 mg/kg 群では皮質尿管上皮細胞の壊死も強く認められた (photo. 1~4)。

投与部位筋肉: KW-1070, KM 投与群とも, 出血, ヘモジデリンの沈着, 円形細胞浸潤, 線維化がほぼ dose response をもって認められた。Control 群では, 雌の 2 例に極軽度の円形細胞浸潤と線維化が認められた。

他の臓出では, 途中死亡の認められた KM の 400 mg/kg 群で, 脾臓, 肺等のうっ血が認められた以外, 特記すべき変化は認められなかった。

III. イヌにおける慢性毒性試験

1. 実験材料および方法

(1) 使用動物

亜急性毒性試験とほぼ同条件の Beagle 犬を使用した。

(2) 投与量構成および投与方法

Table 6 に示す。先に実施した亜急性毒性試験の結果を参考に 3, 6, 12.5, 50, 100 mg/kg の投与量を設定した。その他の実験方法は, 亜急性毒性試験に準じた。なお, 血液, 血液生化学および尿検査は, 0 (投与前), 30, 90, 180 日目に実施した。

2. 実験成績

(1) 一般状態

死亡動物 (Table 6) は 100 mg/kg 群の雄に 1 例と

Table 5 Subacute intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs. Histopathological findings

Organs	Microscopic observation	KW-1070												Control					
		12.5mg/kg				25mg/kg				100mg/kg				400mg/kg		100mg/kg		400mg/kg	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Kidney	Degeneration of tubular epithelia Infiltration of round cells Narrowing of tubules Necrosis of tubular epithelia	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Injection site (Muscle)	Bleeding Hemosiderin deposition Infiltration of round cells Fibrosis	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀

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

められた。死亡例は、死亡の約 40 日前頃から飼料摂取率の低下と体重減少 (Fig. 3, 4) が認められた。また、飲水量、尿量は投与開始後 30 日目頃より軽度増加傾向が認められたが、死亡直前の 1 週間は、投与開始前の値と殆んど変わらないものであった。

生存例においては、全群特記すべき変化は認められなかった。

Table 6 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs. Administration doses of agents and number of dead animals

Drug & dose	No. of animals		No. of deaths (Days of death)	
	Male	Female	Male	Female
Control	3	3	0	0
KW-1070 3 mg/kg	3	3	0	0
KW-1070 6 mg/kg	3	3	0	0
KW-1070 12.5mg/kg	3	3	0	0
KW-1070 50mg/kg	3	3	0	0
KW-1070 100mg/kg	3	3	1 (129)	0

Fig. 3 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in male dogs. Body weight

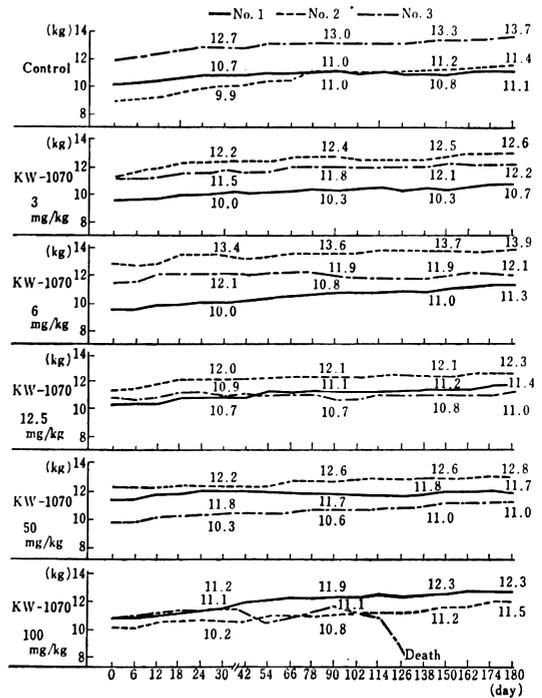


Table 7 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in male dogs. Hematological, blood chemical and urine test

Exam-days	Control						KW-1070 3 mg/kg			KW-1070 6 mg/kg			KW-1070 12.5mg/kg			KW-1070 50mg/kg			KW-1070 100mg/kg					
	0		30		90		180		0		30		90		180		0		30		90		180	
	No. of animals examined	Mean	S.D.	No. of animals examined	Mean	S.D.	No. of animals examined	Mean	S.D.	No. of animals examined	Mean	S.D.	No. of animals examined	Mean	S.D.									
RBC (10 ⁶ /mm ³)	679 ± 16	734 ± 58	773 ± 37	775 ± 29	744 ± 87	758 ± 55	726 ± 57	674 ± 25	721 ± 28	767 ± 68	732 ± 50	768 ± 24	761 ± 46	778 ± 52	695 ± 34	722 ± 66	733 ± 58	727 ± 35	648 ± 30	669 ± 31	646 ± 15	748 ± 65		
WBC (10 ³ /mm ³)	108.3 ± 16.0	92.0 ± 14.5	92.3 ± 6.8	103.3 ± 21.3	96.7 ± 13.7	95.0 ± 14.3	124.0 ± 20.6	88.7 ± 5.4	81.0 ± 2.4	92.7 ± 6.1	96.0 ± 18.5	82.7 ± 2.1	82.3 ± 7.8	100.3 ± 25.0	101.0 ± 30.0	86.7 ± 30.0	86.0 ± 25.5	78.7 ± 19.0	100.0 ± 30.0	66.3 ± 7.5	94.7 ± 8.5	88.0 ± 18.0		
A/G (Ratio)	0.78 ± 0.05	0.84 ± 0.07	0.93 ± 0.02	0.91 ± 0.09	0.85 ± 0.09	1.01 ± 0.08	0.93 ± 0.11	0.88 ± 0.02	1.00 ± 0.06	1.05 ± 0.04	1.08 ± 0.07	1.05 ± 0.11	1.18 ± 0.10	1.15 ± 0.06	0.77 ± 0.04	1.05 ± 0.05	1.21 ± 0.09	1.22 ± 0.08	0.84 ± 0.05	1.05 ± 0.11	1.23 ± 0.07	1.24 ± 0.05		
S-GOT (I.U.)	8.7 ± 0.5	9.3 ± 1.2	9.0 ± 0.8	8.3 ± 1.7	9.3 ± 0.5	7.0 ± 1.4	9.0 ± 1.4	11.0 ± 2.2	10.7 ± 3.1	9.3 ± 2.1	10.0 ± 0.8	9.0 ± 0.0	8.0 ± 0.8	11.3 ± 2.9	7.7 ± 0.9	9.3 ± 1.7	9.7 ± 2.1	10.0 ± 1.4	10.0 ± 1.6	10.7 ± 1.2	10.0 ± 2.2	13.5 ± 2.5		
S-GPT (I.U.)	9.7 ± 0.9	10.3 ± 1.2	11.7 ± 0.9	11.7 ± 1.2	12.0 ± 0.8	12.7 ± 1.2	12.0 ± 2.8	10.0 ± 2.2	13.7 ± 2.1	14.7 ± 0.5	13.0 ± 0.8	14.0 ± 2.9	13.3 ± 1.7	15.3 ± 2.6	11.0 ± 0.8	17.7 ± 2.1	19.3 ± 2.9	16.0 ± 0.0	9.3 ± 1.7	14.3 ± 4.7	19.0 ± 7.1	19.5 ± 7.5		
BUN (mg/dl)	11.9 ± 0.4	15.7 ± 0.8	14.5 ± 0.8	13.6 ± 1.4	14.0 ± 1.9	15.2 ± 1.8	13.7 ± 1.1	14.3 ± 0.9	14.7 ± 0.8	14.1 ± 0.8	14.6 ± 1.7	15.0 ± 0.9	13.7 ± 2.0	16.3 ± 3.0	14.6 ± 3.2	17.1 ± 3.3	16.1 ± 5.0	19.3 ± 6.1	15.9 ± 3.3	25.7 ± 14.1	35.3 ± 31.9	13.9 ± 1.0		
NPN (mg/dl)	24.0 ± 4.3	24.3 ± 0.9	27.3 ± 1.2	22.0 ± 1.4	25.0 ± 4.1	26.3 ± 1.7	22.3 ± 1.7	24.7 ± 0.9	23.7 ± 2.9	26.7 ± 1.7	21.0 ± 0.8	23.7 ± 1.2	27.3 ± 1.2	23.3 ± 3.4	23.3 ± 3.4	24.7 ± 4.2	28.0 ± 4.5	26.7 ± 5.3	27.0 ± 4.1	33.3 ± 13.4	47.3 ± 32.3	20.5 ± 0.5		
Creatinine (mg/dl)	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.2	1.3 ± 0.8	2.1 ± 1.9	0.7 ± 0.1		

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

Table 8 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in female dogs. Hematological, blood chemical and urine test

Exam. days	Control						KW-1070 3 mg/kg			KW-1070 6 mg/kg			KW-1070 12.5mg/kg			KW-1070 50mg/kg			KW-1070 100mg/kg					
	0	30	90	180	0	30	90	180	0	30	90	180	0	30	90	180	0	30	90	180	0	30	90	180
No. of animals examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Mean	680	677	752	694	704	683	770	709	693	723	758	648	684	727	651	719	719	743	715	709	742	764	720
RBC (10 ⁴ /mm ³)	±19	±55	±58	±58	±48	±37	±79	±16	±36	±33	±72	±17	±18	±12	±15	±14	±25	±55	±18	±46	±68	±22	±12	
WBC (10 ² /mm ³)	Mean	90.3	92.3	105.7	119.7	99.0	95.0	101.0	96.3	89.0	92.7	101.3	89.0	93.3	82.3	89.7	122.3	100.0	86.0	79.0	86.3	97.3	94.7	69.7
	S.D.	± 9.5	± 2.4	± 6.8	±29.9	± 9.2	±22.2	±14.3	±32.6	±24.3	± 3.6	±16.4	±14.4	± 7.0	± 7.8	± 0.9	±22.5	±17.9	±25.5	±21.6	± 8.3	±23.9	± 8.5	±21.9
A/G (Ratio)	Mean	1.00	1.06	1.07	1.02	0.84	1.07	1.12	0.88	1.15	1.25	1.16	0.82	1.18	1.12	0.94	0.87	1.09	1.07	1.10	0.94	1.19	1.25	1.17
	S.D.	±0.11	±0.06	±0.07	±0.06	±0.11	±0.15	±0.05	±0.18	±0.09	±0.04	±0.09	±0.08	±0.06	±0.08	±0.05	±0.06	±0.11	±0.11	±0.23	±0.05	±0.10	±0.09	±0.06
S-GOT (I.U.)	Mean	8.3	11.0	9.7	10.7	8.7	11.0	7.7	10.7	9.7	7.0	8.0	12.3	11.7	11.3	10.0	9.0	10.7	10.7	9.3	12.0	12.7	9.7	14.0
	S.D.	± 0.5	± 2.2	± 1.7	± 1.7	± 2.1	± 2.2	± 2.9	± 0.5	± 1.2	± 1.6	± 0.0	± 1.7	± 0.9	± 1.2	± 0.8	± 0.8	± 0.9	± 1.2	± 1.2	± 1.6	± 2.5	± 0.5	± 2.2
S-GPT (I.U.)	Mean	8.7	10.0	12.3	10.3	10.0	13.0	13.0	11.3	13.0	14.7	14.0	8.3	12.7	12.0	11.0	10.7	12.7	15.7	13.7	10.7	14.3	14.7	13.0
	S.D.	± 1.2	± 0.8	± 2.1	± 2.1	± 2.9	± 2.6	± 2.8	± 0.5	± 0.8	± 2.4	± 2.2	± 1.9	± 1.9	± 2.2	± 1.4	± 0.9	± 1.9	± 0.9	± 1.9	± 2.5	± 3.1	± 2.1	± 3.7
BUN (mg/dl)	Mean	16.9	17.2	16.3	15.2	16.0	16.6	16.5	15.6	16.3	16.1	13.8	14.6	16.2	16.9	13.7	15.9	16.0	18.2	17.1	22.4	19.4	19.8	38.1
	S.D.	± 1.2	± 0.8	± 2.1	± 1.4	± 1.2	± 1.1	± 1.3	± 1.1	± 1.4	± 2.0	± 2.1	± 2.1	± 3.0	± 2.7	± 3.5	± 2.7	± 2.9	± 1.6	± 2.0	± 9.2	± 4.5	± 5.5	±18.3
NPN (mg/dl)	Mean	26.0	26.0	29.3	24.0	26.3	24.7	27.3	23.3	24.7	26.3	22.0	25.0	23.3	27.3	23.3	25.0	25.3	29.0	30.0	25.3	25.0	30.0	44.0
	S.D.	± 0.8	± 1.6	± 5.4	± 3.6	± 0.5	± 3.3	± 2.1	± 3.1	± 0.9	± 3.1	± 1.9	± 2.8	± 3.6	± 2.9	± 4.0	± 3.7	± 1.2	± 4.3	± 9.9	± 4.0	± 3.3	± 5.0	±17.1
Creatinine (mg/dl)	Mean	0.9	0.8	0.9	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.8	0.9	0.9	0.8	1.3	0.8	0.9	1.0	1.5
	S.D.	± 0.0	± 0.0	± 0.0	± 0.0	± 0.0	± 0.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.0	± 0.0	± 0.0	± 0.1	± 0.0	± 0.0	± 0.0	± 0.1	± 0.0	± 0.7	± 0.0	± 0.1	± 0.2	± 0.5

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

Fig.4 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in female dogs. Body weight

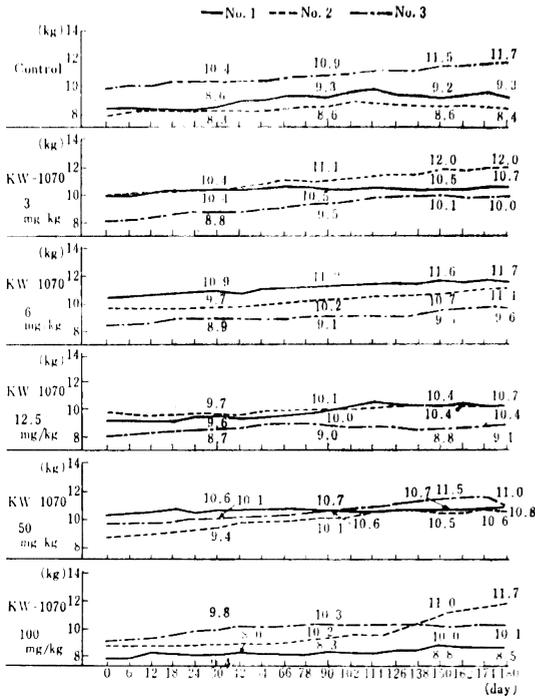


Table 9 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs. Organ weight (g)

Item	Control		KW-1070 3mg/kg		KW-1070 6mg/kg		KW-1070 12.5mg/kg		KW-1070 50mg/kg		KW-1070 100mg/kg		
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
Sex	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
No. of animals examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	
Kidney (right)	Mean	22	15	26	24*	25	22	25	19	29*	33**	30	35*
	S.D.	± 2	± 4	± 2	± 0	± 3	± 2	± 2	± 1	± 2	± 4	± 2	± 9
Kidney (left)	Mean	23	21	25	25	25	24	25	19	29*	33*	30*	37
	S.D.	± 2	± 4	± 0	± 1	± 2	± 3	± 2	± 0	± 2	± 4	± 2	± 10

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

Table 10 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs. Relative organ weight (mg/100g body weight)

Item	Control		KW-1070 3mg/kg		KW-1070 6mg/kg		KW-1070 12.5mg/kg		KW-1070 50mg/kg		KW-1070 100mg/kg		
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
Sex	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
No. of animals examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	
Kidney (right)	Mean	182	153	215	221	202	210	216**	189	243**	305*	249**	342*
	S.D.	± 6	± 53	± 30	± 18	± 27	± 9	± 4	± 11	± 5	± 30	± 8	± 49
Kidney (left)	Mean	188	206	207	227	201	222	219**	190	247**	304*	256**	353*
	S.D.	± 3	± 16	± 19	± 16	± 16	± 11	± 6	± 10	± 11	± 31	± 8	± 55

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

(2) 血液, 血液生化学的検査および尿検査

検査結果を Table 7, 8 に示した。

1) 血液学的検査: 雌雄とも全群特記すべき変化は認められなかった。

2) 血液生化学的検査: 6 mg/kg 以上の群で 30~60 日目以降, A/G 比の上昇傾向が認められた。BUN, NPN では, 100 mg/kg 群の雄の 30~90 日目の検査で 129 日目に途中死亡した 1 頭が高値のため, 平均値の上昇が認められたが, 同群の 180 日目の 2 頭の平均値は正常範囲内の値であった。100 mg/kg 群の雌では, 180 日目の検査で BUN, NPN の軽度の上昇傾向が認められたが弱いものであった。他の検査項目では, Control を含む全群に特記すべき変化は認められなかった。

3) 尿検査: 雌雄とも全群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, 50~100 mg/kg 群で腎臓の腫大, 褪色が認められ, 臓器重量 (Table 9), 臓器重量比 (Table 10) の検査においても腎臓重量, 重量比の軽度上昇が認められた。

他の臓器には, 検体投与に起因したと思われる変化は認められなかった。

Table 11 Chronic intra-muscular toxicity of KW-1070 in dogs . Histopathological findings

Organs	Microscopic observation	KW-1070 (mg/kg)																					
		Control			3			6			12.5			50			100						
		♂	♀		♂	♀		♂	♀		♂	♀		♂	♀		♂	♀					
Kidney	Degeneration of tubular epithelia	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
	Infiltration of round cells																						
	Narrowing of tubules																						
Injection site (Muscle)	Fibrosis																						
	Necrosis of tubular epithelia																						
	Bleeding																						
	Hemosiderin deposition																						
	Infiltration of round cells																						
	Fibrosis																						

+ Very slight, # Slight, ## Moderate, ### Marked
 * Dead animal (129day)

2) 病理組織学的検査：検査結果を Table 11 に示した。

腎臓：12.5 mg/kg 以上の投与群にはほぼ dose response をもって皮質尿管上皮の変性（肺大、空胞化、硝子滴の増加、核濃縮）、間質の円形細胞浸潤、線維化、皮質尿管腔の拡張が認められ、100 mg/kg 群の途中死亡した雄1例では皮質尿管上皮の壊死も強く認められた（photo.5~8）。

投与部位筋肉：出血、ヘモジリン沈着、円形細胞浸潤、線維化が投与群にはほぼ dose response をもって認められた。生理食塩水を投与した Control においては、円形細胞浸潤が認められたが、投与群と比較して軽度であった。

他の臓器には、検体投与に起因したと思われる変化は認められなかった。

IV. 総括および考察

ラットによる亜急性、慢性毒性試験に続き、KW-1070 のイヌによる亜急性、慢性毒性試験を実施した。両試験とも主要変化は、腎臓の腫大、褪色、皮質尿管上皮の変性、BUN, NPN の軽度上昇に代表される ami-

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

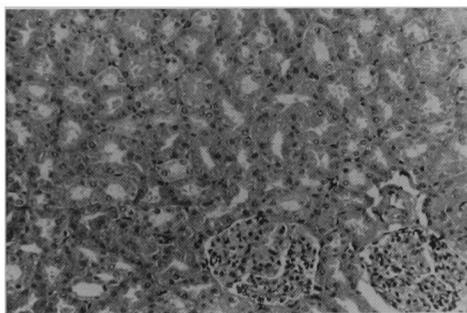


Photo.2 Kidney : Infiltration of round cells HE×200
 KW-1070 400 mg/kg subacute

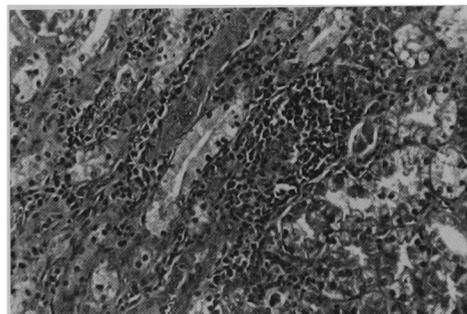


Photo. 3 Kidney : Degeneration of tubular epithelia (Hyaline droplets) HE×200
KW-1070 400 mg/kg subacute

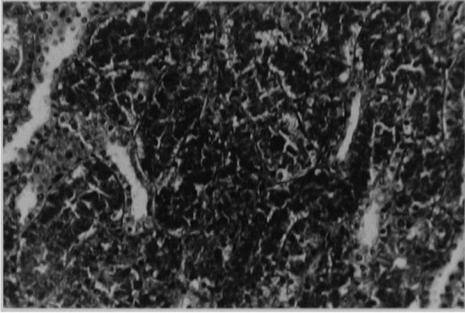


Photo. 6 Kidney : Dilatation of cortical tubules HE×100
KW-1070 100 mg/kg chronic



Photo. 4 Kidney : Necrosis of cortical tubular epithelia HE×200
KM 400 mg/kg subacute

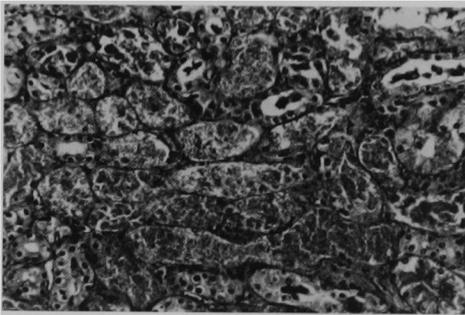


Photo. 7 Kidney : No abnormal findings HE×200
KW-1070 12.5 mg/kg subacute

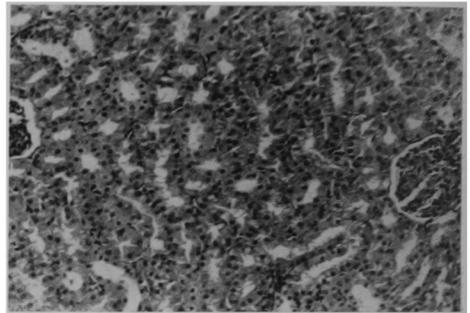


Photo. 5 Kidney : No abnormal findings HE×100
Control chronic

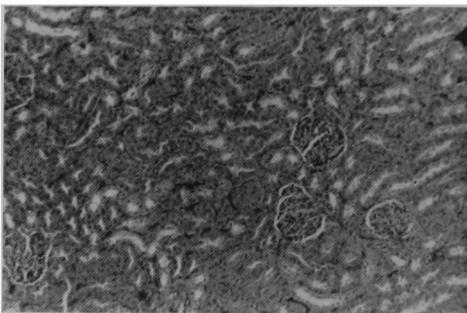
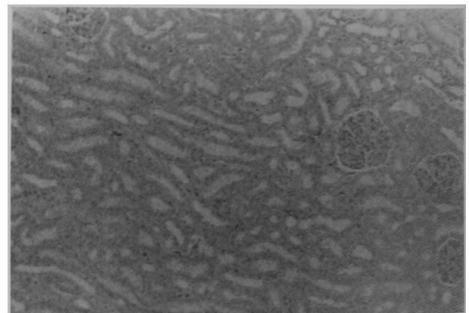


Photo. 8 Kidney : No abnormal findings HE×100
KW-1070 6 mg/kg chronic



noglycoside 系抗生物質特有⁵⁻¹²⁾の腎障害に要約される。これらの変化は、亜急性毒性試験においては主として 25~100 mg/kg 群以上、慢性毒性試験においては 12.5~50 mg/kg 群以上に認められた。また、イヌにおいてはラットに認められた貧血傾向は血液および病理組織学的にも認められなかった。死亡動物は、亜急性毒性試験では KM の 400 mg/kg 群にのみ認められ、KW-1070

では認められなかった。また、慢性毒性試験では 100 mg/kg 群の雄に 1 例認められた。これらの死亡動物の死因は、腎臓皮質尿管上皮の広範な壊死を認めていることから、腎障害が主因をなしているものと考えられる。亜急性毒性試験での KW-1070 と KM との毒性比較においてはラットでの試験と同様¹⁾ 400 mg/kg では、KW-1070 の方が明らかに、毒性が弱く認められた。

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1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) 西川 智, 原 卓司, 宮崎英治, 大黒友路: 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。Chemotherapy 29 S-2: 137~154, 1981
- 2) NARA, T.; M. YAMAMOTO, I. KAWAMOTO, K. TAKAYAMA, R. OKACHI, S. TAKASAWA, T. SATO & S. SATO: Fortimicins A and B, new aminoglycoside antibiotics. I. Production organism, fermentation and biological properties of fortimicins. J. Antibiotics 30: 533~540, 1977
- 3) 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
- 4) GIROLAMI, R. S. & J. M. STAMM: Fortimicins A and B, new aminoglycoside antibiotics. IV. *In vitro* study of fortimicin A compared with other aminoglycoside. J. Antibiotics 30: 564~570, 1977
- 5) 小枝武美, 小滝益三, 久松 充, 佐々木育, 横田正幸, 新黒鉄太郎, 内田信吾: 3', 4'-Dideoxykanamycin B の毒性に関する研究。第3報。ラットおよびイヌに対する慢性毒性。Jap. J. Antibiotics 26: 247~261, 1973
- 6) 倉本昌明, 大久保孝明, 李 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 23: 1470~1493, 1975
- 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。急性亜急性性及び慢性毒性試験。応用薬理 6(4): 782~812, 1972
- 8) 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: Aminosidine の急性, 亜急性および慢性毒性。Chemotherapy 16: 124~133, 1968
- 9) 荒谷春忠, 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
- 10) 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2報。イヌにおける急性, 慢性毒性試験。Jap. J. Antibiotics 30: 408~422, 1977
- 11) 松崎明紀, 阿久津貞夫, 吉田昭雄, 小野寺邦介, 関野 実, 土田 稔, 浅野昌子: Amikacin(BB-K 8) の毒性に関する研究。第3報。犬における急性毒性。Jap. J. Antibiotics 28: 458~484, 1975
- 12) 松崎明紀, 吉田昭雄, 阿久津貞夫, 中村浩一, 関野 実, 奥山大輔, 浅野昌子: Amikacin (BB-K 8) の毒性に関する研究。第4報。犬における慢性毒性。Jap. J. Antibiotics 28: 485~524, 1975

SAFETY EVALUATION OF KW-1070. II SUBACUTE AND CHRONIC TOXICITY STUDIES IN DOGS

SATOSHI NISHIKAWA, TAKUJI HARA, HIDEHARU MIYAZAKI
and YUJI OHGURO

Toxicological Laboratory, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.

Toxicological studies of KW-1070 were carried out in dogs for safety evaluation as follows:

1) Studies on subacute toxicity: Beagle strain dogs given intramuscularly KW-1070 at dose levels of 12.5, 25, 100, 200 and 400 mg/kg and kanamycin (positive control) at dose levels of 100 and 400 mg/kg for 30 days, respectively.

2) Studies on chronic toxicity: Beagle strain dogs were intramuscularly given KW-1070 at dose levels of 3, 6, 12.5 and 100 mg/kg for 180 days.

The results of the studies are summarized as follows:

1) In subacute toxicity studies, animals were observed dead only at the dose level of kanamycin 400 mg/kg (4/4) within one month. Main changes observed in subacute toxicity studies were renal tubular disorder, which showed a close similarity to subacute toxicity studies in rats. It was observed histologically at the dose level of KW-1070 25~100 mg/kg or more. Kanamycin produced more toxic effects than KW-1070 at the dose level of 400 mg/kg. The results were same as those of subacute toxicity studies in rats.

2) The changes observed in chronic toxicity studies were almost similar to those observed in subacute toxicity studies. An animal was observed dead only at the dose level of KW-1070 100 mg/kg (1/6). Renal tubular disorder was observed at the dose level of KW-1070 12.5~50 mg/kg or more.