

T-1982 の毒性試験 (第2報)

—ラット3カ月間皮下投与亜急性毒性試験—

岩崎信一*・柴田哲夫・佐藤 盛・中川重仁

米田豊昭・高井 明

富山化学工業株式会社総合研究所

*現在日本歯科大学新潟歯学部第1解剖学教室

T-1982 のラット3カ月間皮下投与亜急性毒性試験を、200, 500, 1,000, 2,000 mg/kg/day の投与群を設定して行ない、以下の結果を得た。

1) 高用量群では、T-1982 注射中に泣鳴が観察され、一部のラットでは投与局所の出血や硬結が認められた。また、投与局所の肉眼的、組織学的観察では、各群に、ほぼ投与量に比例した皮下出血、浮腫、炎症性細胞浸潤があり、高濃度の溶液の連続皮下注射による局所障害が認められた。

2) 死亡例はなく、発育、摂餌量、尿検査、血液検査結果にも薬剤投与に起因すると思われる異常が認められなかった。

3) 血清のセルロースアセテート膜電気泳動では、陽極側に易動度の速いアルブミンが、2,000 mg/kg, 1,000 mg/kg 投与群に出現していたが、回復試験ではこの変化が認められなかった。他の血液化学検査結果には著変がなかった。

4) 盲腸腔の拡大が、各群の雌雄に投与量に比例して認められたが、拡張している盲腸粘膜には組織学的な異常がみられなかった。回復試験の盲腸には異常がなかった。

5) 本試験における T-1982 の最大無作用量は 500 mg/kg であった。

T-1982 は新しく開発されたセファマイシン系抗生物質であり¹⁾、すでにマウス、ラット、イスでの急性毒性試験についての報告はなされている²⁾。今回はさらに T-1982 の毒性試験の一環としてラットでの3カ月間皮下投与亜急性毒性試験を行なったので、その結果について報告する。

I. 実験材料および方法

1) 被験検体

T-1982 は下記の化学構造と化学名を有する白色の粉末であり、水、メタノールに溶けやすく、エタノールに溶けにくく、アセトンにはきわめて溶けにくい。酢酸エ

テル、エチルエーテル、ヘキサン、ベンゼンにはほとんど溶けない³⁾。本試験には当社製造のロット No.W0121, W0125, W0726 を使用した。

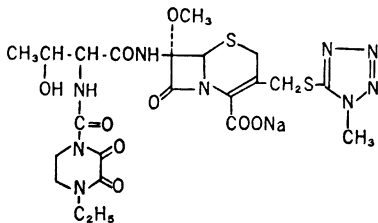
2) 使用動物と飼育条件

日本クレア(株)由来の Sprague-Dawley 系ラット(JCL-SD) 雌雄各75匹計150匹を実験に用いた。動物は4週齢で購入し、予備飼育後6週齢で使用した。飼育条件は室温 22 ± 2 °C、湿度 60 ± 10 %、6:00~18:00の1日12時間人工照明に設定した。飼料は日本クレア(株)の固型飼料 CE-2 を用い、水は滅菌水道水をそれぞれ自由摂取とした。ラットは耳パンチで個体識別をし、5匹ずつに分けて金網ケージに収容した。

3) 投与量、投与方法および回復期間

投与量決定のための予備実験として10週齢ラット6匹を1群2匹の3群に分け、T-1982 をそれぞれ2,000 mg/kg, 4,000 mg/kg, 6,000 mg/kg の投与量で1週間背部皮下に投与して、一般症状観察、体重測定および剖検を行なった。その結果、一般症状では4,000 mg/kg, 6,000 mg/kg の投与群の投与部位に浮腫や脱毛が観察された。それ以外には、一般症状および体重には著しい変化はみられなかった。剖検所見では盲腸腔の拡張が全例にみられた。また、2,000 mg/kg 投与群では投与部位皮下組

Fig. 1 Chemical structure of T-1982



Sodium 7β-[(2R, 3S)-2-(4-ethyl-2, 3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)-3-hydroxybutanamido]-7α-methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate

Table 1 Experimental design for subacute toxicity test of T-1982 in rats (s. c., 3 months)

Exp. group	Drug conc. of solution (%)	Volume injected (ml/kg)	No. of rats (Rat No.)			
			3 months study		Recovery study	
			Male	Female	Male	Female
Saline-Control	0	10	10(1-10)	10(51 -60)	5(101-105)	5(126-130)
T-1982 250 mg/kg	2.5	10	10(11-20)	10(61 -70)	5(106-110)	5(131-135)
T-1982 500 mg/kg	5.0	10	10(21-30)	10(71 -80)	5(111-115)	5(136-140)
T-1982 1,000 mg/kg	10.0	10	10(31-40)	10(81 -90)	5(116-120)	5(141-145)
T-1982 2,000 mg/kg	20.0	10	10(41-50)	10(91-100)	5(121-125)	5(146-150)

織にわずかな出血斑がみられたに過ぎなかったが、4,000 mg/kg, 6,000 mg/kg 投与群では投与部位の著しい出血、浮腫と皮下組織の壊死が認められ、3カ月の連続投与には耐えないと判断された。以上の結果から、本試験での最高投与量を2,000 mg/kgと設定し、公比2で1,000 mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kgの各投与群を設定した。検体濃度、投与容量、動物の配分はTable 1に示した。

T-1982は生理食塩水に用時溶解、汙過滅菌して使用した。投与は1日1回、週7回、90日間連日ラット背部皮下注射した。また、各群5匹のラットは90日間投与終了後36日間の休薬期間を置いて回復試験を行なった。

4) 検査項目

(1) 一般症状観察：投与期間中は毎日。回復期間中は1日おき。

(2) 体重測定：投与期間中は毎日。回復期間中は1日おき。

(3) 摂餌量、摂水量の測定：投与期間中、回復期間中とも週1回。

(4) 尿検査：投与期間終了時および回復期間終了時に剖検を行なうラットについて以下の検査を行なった。尿量(ml/17hrs), pH, 蛋白, 糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲン(マルチステックス®, マイルス-三共), Na, K濃度(蛍光光度計)。

(5) 血液学的検査：投与期間終了時および回復期間終了時に剖検を行なうラットについて以下の検査を行なった。RBC, WBC(コールターカウンター), ヘマトクリット値(毛細管遠心法), ヘモグロビン濃度(シアンメト-ヘモグロビン法), 白血球百分率(メイ-ギムザ染色法)。

(6) 血液化学検査：投与期間終了時、回復期間終了時の各剖検時に頸動脈より採血して以下の検査を行なった。GOT, GPT(Reitman-Frankel法), ALP(Kind-King法), LDH(Babson-Pillips法), コリンエステ

ラーゼ(高橋・柴田法), コレステロール(酵素法), 尿素窒素(ウレアーゼ-インドフェノール法), ビリルビン(Evelyn-Malloy法)以上8項目はオリンパスACA自動分析装置により測定。総蛋白(屈折計), A/G(セルロースアセテート膜電気泳動法), 血糖(o-トルイジン-ホウ酸法), Na, K濃度(蛍光光度計)。

(7) 剖検：3カ月間投与終了時、回復期間終了時にラットを頸動脈より放血死させ、解剖を行ない、諸臓器および投与部位の肉眼的観察を行なった。心, 肺, 肝, 腎, 脾, 脳, 胸腺, 副腎, 顎下腺, 精巣, 卵巣については重量を測定し、これに下垂体, 腸間膜リンパ節, 骨髄, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸を加えた臓器および各群5匹の投与部位をホルマリン固定した。

(8) 組織学的検索：上記のホルマリン固定した諸臓器と投与部位について、パラフィン包埋, 薄切後, ヘマトキシリン-エオジン染色を施して組織学的に検索した。

(9) 電子顕微鏡的観察：3カ月間投与終了時、回復期間終了時に各群雄3匹の肝と腎について、グルタルアルデヒド前固定, オスミウム酸固定, エポキシ包埋, 薄切を行なった後, 酢酸ウラン-ルークエン酸鉛二重染色を施して電子顕微鏡による微細構造の観察を行なった。

5) 統計処理

各群の平均値に基づいて Student の t 検定で対照群との有意差検定を行なった。

II. 実験結果

1) 一般症状

投与中の泣鳴, 興奮が投与量に比例して観察され, 特に高投与量群(1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg)でこの傾向が著しかった。また, 高投与量群の多くに投与部位からの出血あるいはその周辺の脱毛が認められ, 2,000 mg/kg 投与群では投与20日頃から投与部位にしこりが生じているものもあった。低投与量群では投与部位には著しい変化はみられなかった。その他には特に著しい変化はなかった。

Fig. 2 Body weight changes in rats treated subcutaneously with T-1982 for 3 months

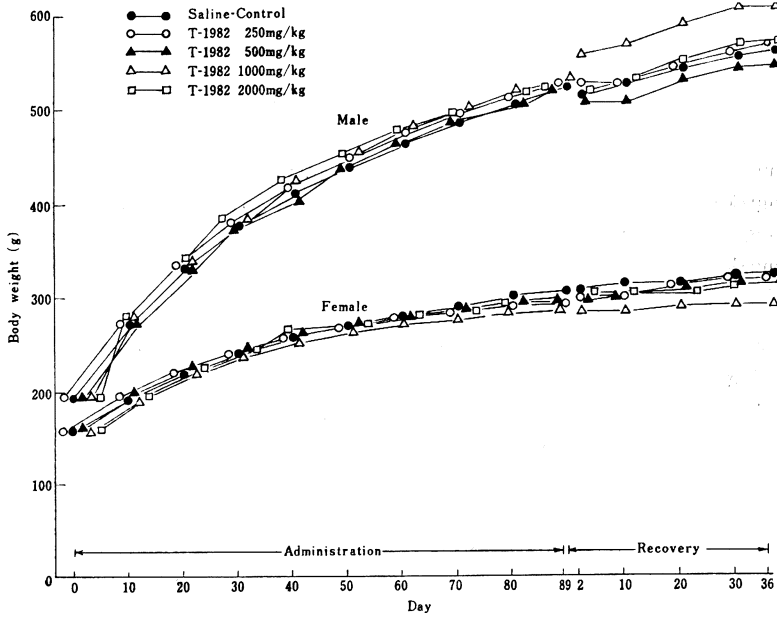


Fig. 3 Food intake in rats treated subcutaneously with T-1982 for 3 months

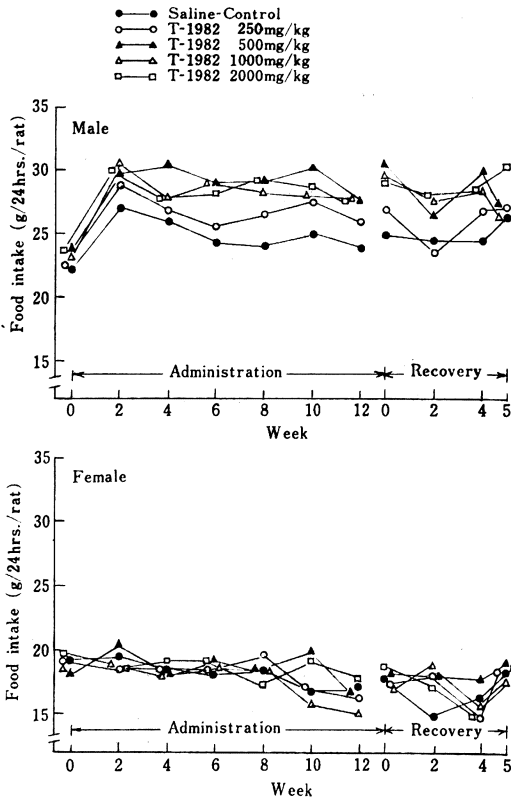


Fig. 4 Water intake in rats treated subcutaneously with T-1982 for 3 months

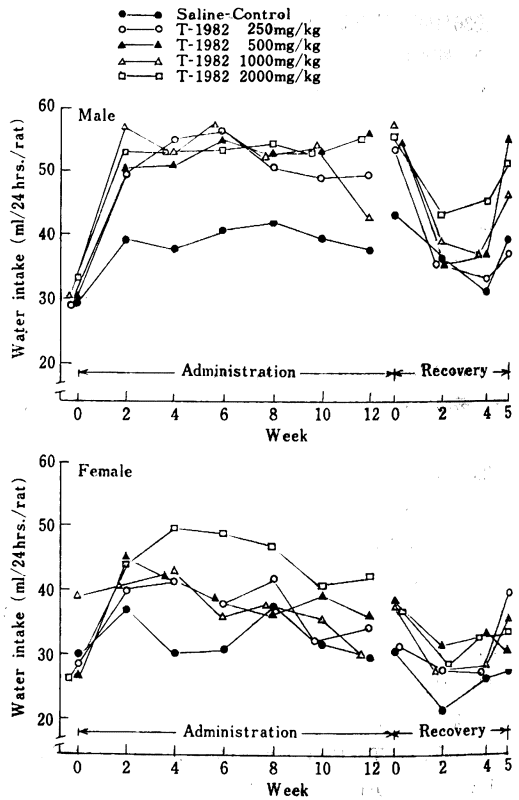


Table 2 Urinalysis in rats treated subcutaneously with T-1982 for 3 months

Dose	Volume (ml/17hr)	pH	Protein	Glucose	Ketone bodies	Bilirubin	Occult blood	Urobilinogen	Na (mEq/L)	K (mEq/L)
Saline-Control	15.1±1.63	7(10)	±(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	141.2±11.78	137.0±7.53
T-1982 250mg/kg	11.0±1.16	6(4), 7(6)	±(7), +(3)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	125.3±8.20	159.1±7.07*
T-1982 500mg/kg	15.7±2.02	6(2), 7(8)	±(7), +(3)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	112.4±14.47	140.9±9.71
T-1982 1,000mg/kg	11.5±0.85	6(7), 7(3)	±(4), +(6)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	106.3±7.92*	155.8±4.66*
T-1982 2,000mg/kg	17.4±2.39	6(7), 7(3)	±(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	97.1±19.25	134.4±8.19
Saline-Control	8.0±0.99	6(1), 7(9)	±(6), +(4)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	160.5±12.73	163.2±8.89
T-1982 250mg/kg	13.7±2.46*	6(6), 7(4)	-(3), ±(6)+(1)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	99.0±13.30**	133.9±11.07
T-1982 500mg/kg	8.0±0.75	6(7), 7(3)	±(7), +(3)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	127.3±6.07*	152.5±8.02
T-1982 1,000mg/kg	8.2±0.84	6(6), 7(4)	±(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	140.5±8.40	162.0±7.00
T-1982 2,000mg/kg	9.5±1.27	6(9), 7(1)	±(6), +(4)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	±(10)	138.4±9.84	142.0±4.08*

- : Negative ± : Very slight + : Slight

Volume, Na and K : Mean±S. E. Significant difference from control *p<0.05, **p<0.01

Table 3 Hematological findings in rats treated subcutaneously with T-1982 for 3 months

Dose	RBC (×10 ⁴ /mm ³)	WBC (×10 ³ /mm ³)	Hemato-crit (%)	Hemoglobin (g/dl)	Differential count (%)					
					Neutro.		Eosino.	Baso.	Lymph.	Mono.
					Staff	Seg.				
Saline-Control	927±9.5	108±4.8	54±0.5	17.1±0.25	0.7±0.18	11.2±1.81	2.7±0.37	0.0±0.00	82.9±2.02	2.6±0.35
T-1982 250mg/kg	907±12.8	82±6.7**	53±0.5	17.1±0.18	0.6±0.16	12.0±1.16	2.4±0.37	0.0±0.00	84.0±1.58	1.2±0.32**
T-1982 500mg/kg	896±10.4*	75±6.2**	52±0.6*	16.7±0.23	0.8±0.19	19.9±2.67*	2.8±0.62	0.0±0.00	75.2±2.82*	1.4±0.25**
T-1982 1,000mg/kg	886±14.3*	78±4.9**	51±0.6**	16.3±0.21*	0.7±0.32	19.3±1.61**	1.8±0.39	0.0±0.00	76.6±1.92*	1.7±0.17*
T-1982 2,000mg/kg	765±11.4**	79±4.6**	48±0.8**	15.0±0.22**	1.1±0.31	21.5±2.14**	2.3±0.61	0.1±0.05	73.4±2.23**	1.8±0.24
Saline-Control	792±11.6	83±4.5	50±0.5	16.3±0.19	0.8±0.26	12.8±1.13	1.3±0.28	0.1±0.07	82.9±1.41	2.2±0.27
T-1982 250mg/kg	833±9.5*	61±5.0**	51±0.5	16.8±0.23	0.5±0.19	8.7±0.75**	1.0±0.82	0.0±0.00	88.2±0.98**	1.8±0.27
T-1982 500mg/kg	820±15.1	52±3.2**	49±0.4	16.1±0.15	0.6±0.12	16.4±3.08	1.9±0.27	0.1±0.07	79.0±3.10	2.1±0.39
T-1982 1,000mg/kg	825±14.9	59±5.5**	48±0.6*	16.1±0.23	0.4±0.13	10.0±1.25	2.3±0.69	0.0±0.00	86.0±1.80	1.5±0.19*
T-1982 2,000mg/kg	748±14.5*	55±3.4**	45±0.7**	14.9±0.20**	0.8±0.21	11.7±1.13	2.3±0.34*	0.1±0.07	83.3±1.57	1.9±0.32

Mean±S. E.

Significant difference from control *p<0.05, **p<0.01

Table 4 Biochemical findings in rats treated

Dose		GOT (K. U.) ¹⁾	GPT (K. U.) ¹⁾	ALP (K.A.U.) ²⁾	LDH (W. U.) ³⁾	Cholinesterase (ΔpH)	Cholesterol (mg/dl)
Male	Saline-Control	105±8.7	37±3.6	16.1±2.02	2122±199.6	0.23±0.014	32±1.6
	T-1982 250mg/kg	102±3.9	31±1.3	11.5±0.87*	2252±165.4	0.26±0.017	44±3.3**
	T-1982 500mg/kg	101±4.9	34±2.1	11.3±1.01*	1826±178.9	0.23±0.020	50±5.2**
	T-1982 1,000mg/kg	98±3.2	31±1.3	11.0±0.77*	1988±150.3	0.29±0.016**	51±3.5**
	T-1982 2,000mg/kg	96±2.7	30±0.6	10.9±0.72*	1772±178.8	0.26±0.006	40±2.5*
Female	Saline-Control	88±2.9	32±0.9	6.4±0.69	1740±131.9	0.98±0.043	30±2.0
	T-1982 250mg/kg	106±3.5**	40±1.6**	6.3±0.66	2018±232.7	1.01±0.047	35±2.4
	T-1982 500mg/kg	102±2.3**	34±1.3	6.5±0.59	2063±168.1	0.95±0.043	27±1.7
	T-1982 1,000mg/kg	120±5.5**	38±1.3**	7.9±0.82	2684±122.9**	0.90±0.046	33±2.2
	T-1982 2,000mg/kg	128±5.9**	39±1.1**	6.1±0.37	2097±140.8	0.82±0.060	32±2.4

Mean±S. E. 1) Karmen unit 2) King-Armstrong unit 3) Wroblewski unit
Significant difference from control *p<0.05, **p<0.01

Table 5 Absolute organ weight in rats treated

Dose		Body weight	Heart	Lung	Liver	Kidney	
						left	right
Male	Saline-Control	492±21.1	1.59±0.087	1.59±0.077	13.76±0.678	1.55±0.058	1.53±0.053
	T-1982 250mg/kg	497±20.5	1.60±0.096	1.54±0.075	12.51±0.878	1.58±0.058	1.60±0.071
	T-1982 500mg/kg	496±17.1	1.44±0.071	1.68±0.130	13.33±0.562	1.56±0.055	1.53±0.051
	T-1982 1,000mg/kg	485±9.9	1.51±0.115	1.60±0.076	12.28±0.401	1.49±0.052	1.49±0.050
	T-1982 2,000mg/kg	491±18.4	1.60±0.094	1.62±0.050	11.44±0.371**	1.52±0.038	1.53±0.036
Female	Saline-Control	287±8.4	0.97±0.070	1.20±0.048	6.96±0.213	0.85±0.023	0.88±0.029
	T-1982 250mg/kg	267±6.7	0.86±0.057	1.13±0.036	6.45±0.137	0.82±0.033	0.87±0.036
	T-1982 500mg/kg	272±6.6	0.83±0.037	1.15±0.032	6.63±0.286	0.85±0.033	0.89±0.044
	T-1982 1,000mg/kg	261±4.9*	0.86±0.042	1.14±0.029	6.43±0.183	0.84±0.026	0.84±0.024
	T-1982 2,000mg/kg	263±5.6*	0.95±0.057	1.23±0.071	6.66±0.136	0.89±0.026	0.94±0.035

Unit : g Mean±S. E.
Significant difference from control *p<0.05, **p<0.01, † ovaries

Table 6 Relative organ weight in rats treated

Dose		Heart	Lung	Liver	Kidney	
					left	right
Male	Saline-Control	0.324±0.0142	0.325±0.0132	2.794±0.0681	0.317±0.0123	0.314±0.0122
	T-1982 250mg/kg	0.322±0.0130	0.311±0.0136	2.511±0.1194	0.321±0.0111	0.323±0.0120
	T-1982 500mg/kg	0.292±0.0142	0.339±0.0231	2.684±0.0453	0.314±0.0069	0.309±0.0054
	T-1982 1,000mg/kg	0.311±0.0246	0.330±0.0148	2.531±0.0640*	0.306±0.0078	0.308±0.0081
	T-1982 2,000mg/kg	0.326±0.0161	0.332±0.0092	2.337±0.0461**	0.312±0.0085	0.312±0.0061
Female	Saline-Control	0.338±0.0174	0.420±0.0144	2.428±0.0614	0.296±0.0060	0.306±0.0047
	T-1982 250mg/kg	0.322±0.0201	0.424±0.0093	2.422±0.0268	0.308±0.0061	0.325±0.0069*
	T-1982 500mg/kg	0.305±0.0101	0.423±0.0112	2.433±0.0656	0.312±0.0068	0.325±0.0096
	T-1982 1,000mg/kg	0.329±0.0155	0.437±0.0112	2.461±0.0572	0.320±0.0091*	0.322±0.0100
	T-1982 2,000mg/kg	0.362±0.0206	0.464±0.0216	2.528±0.0202	0.337±0.0065**	0.358±0.0102**

Unit : % of body weight Mean±S. E.
Significant difference from control *p<0.05, **p<0.01, † ovaries

subcutaneously with T-1982 for 3 months

Urea nitrogen (mg/dl)	Bilirubin (mg/dl)	Protein (g/dl)	A/G	Glucose (mg/dl)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)
18.6±0.64	0.2±0.04	6.7±0.09	0.90±0.030	104±10.8	139.9±0.63	5.68±0.146
18.1±0.90	0.1±0.01	6.5±0.14	0.97±0.034	104±6.9	140.7±0.56	5.71±0.121
14.4±0.51**	0.1±0.00	6.5±0.13	0.93±0.051	105±12.6	141.9±1.73	5.64±0.162
15.8±0.83*	0.1±0.01	6.5±0.03*	0.92±0.025	110±7.2	141.9±0.48*	5.72±0.134
15.9±0.78*	0.1±0.00	5.9±0.05**	0.88±0.036	82±6.0	140.8±0.40	5.54±0.066
19.4±0.46	0.1±0.01	7.4±0.10	1.20±0.045	78±3.1	140.3±0.24	5.31±0.195
18.1±0.84	0.1±0.02	7.1±0.13	1.21±0.049	95±8.0	140.1±0.28	5.18±0.101
18.8±1.01	0.1±0.00	6.6±0.12**	1.23±0.060	80±7.8	140.3±0.53	5.11±0.094
19.8±1.52	0.1±0.01	6.6±0.10**	1.24±0.034	73±6.7	140.3±1.18	5.40±0.163
19.2±0.94	0.2±0.02	6.3±0.10**	1.16±0.040	67±5.0	141.7±0.55*	5.43±0.104

subcutaneously with T-1982 for 3 months

Spleen	Brain	Thymus	Adrenals	Submaxillary glands	Testis	
					left	right
0.82±0.038	2.02±0.030	0.36±0.027	0.06±0.005	0.67±0.024	1.95±0.088	1.87±0.060
0.76±0.049	1.99±0.027	0.35±0.027	0.06±0.005	0.63±0.024	1.87±0.050	1.83±0.053
0.79±0.038	2.01±0.019	0.34±0.021	0.05±0.004	0.69±0.028	1.84±0.064	1.84±0.069
0.77±0.038	2.00±0.022	0.34±0.021	0.06±0.004	0.66±0.026	1.87±0.074	1.85±0.061
0.74±0.044	2.02±0.037	0.30±0.032	0.05±0.004	0.63±0.046	1.91±0.045	1.94±0.052
0.45±0.024	1.89±0.029	0.28±0.019	0.05±0.005	0.42±0.010	0.13±0.009†	
0.41±0.017	1.80±0.037	0.25±0.020	0.05±0.004	0.40±0.013	0.12±0.008†	
0.49±0.019	1.83±0.023	0.23±0.008*	0.05±0.004	0.44±0.012	0.12±0.005†	
0.43±0.015	1.81±0.023*	0.26±0.021	0.05±0.000	0.40±0.015	0.12±0.005†	
0.50±0.021	1.86±0.026	0.20±0.014**	0.05±0.003	0.43±0.012	0.12±0.011†	

subcutaneously with T-1982 for 3 months

Spleen	Brain	Thymus	Adrenals	Submaxillary glands	Testis	
					left	right
0.169±0.0085	0.416±0.0152	0.073±0.0060	0.011±0.0011	0.137±0.0061	0.402±0.0236	0.387±0.0220
0.153±0.0051	0.405±0.0122	0.070±0.0049	0.012±0.0010	0.128±0.0052	0.381±0.0184	0.373±0.0190
0.159±0.0056	0.408±0.0123	0.069±0.0022	0.010±0.0007	0.140±0.0056	0.374±0.0183	0.375±0.0203
0.159±0.0071	0.412±0.0060	0.069±0.0042	0.011±0.0008	0.135±0.0040	0.387±0.0172	0.382±0.0140
0.152±0.0090	0.415±0.0123	0.060±0.0068	0.011±0.0008	0.127±0.0073	0.392±0.0121	0.399±0.0133
0.160±0.0108	0.663±0.0172	0.096±0.0050	0.018±0.0018	0.148±0.0061	0.046±0.0034†	
0.152±0.0060	0.679±0.0207	0.095±0.0072	0.019±0.0012	0.151±0.0060	0.044±0.0026†	
0.181±0.0034	0.677±0.0110	0.084±0.0028	0.019±0.0016	0.162±0.0053	0.045±0.0020†	
0.165±0.0063	0.694±0.0165	0.100±0.0081	0.019±0.0003	0.153±0.0059	0.047±0.0019†	
0.188±0.0054*	0.708±0.0127	0.074±0.0048*	0.019±0.0013	0.164±0.0036*	0.047±0.0041†	

Table 7 Histological examination in rats treated

Male rats	Control										T-1982 250mg/kg									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Heart : Focal cell infiltration in the myocardium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver : Focal cell infiltration in the parenchyma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen : Congestion	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	卅	-	-	-	-	-	-
Testis : Aspermatogenesis	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Subcutaneous tissue of injected area: Hemorrhage and exudative inflammation						-	-	-	+	-						卅	+	-	-	-

() : Unilateral change

No significant changes were seen in lung, kidney, brain, thymus, adrenal glands, thyroids, salivary intestine.

Female rats	Control										T-1982 250mg/kg									
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
Liver : Focal cell infiltration in the parenchyma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney : Calcium deposition in the cortical tubular lumina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dilatation of renal pelvis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Subcutaneous tissue of injected area: Hemorrhage and exudative inflammation						-	-	-	-	-						-	+	-	-	-

() : Unilateral change

No significant changes were seen in heart, lung, spleen, brain, thymus, adrenal glands, thyroids, salivary and large intestine.

2) 発育曲線

発育曲線を Fig. 2 に示した。雌の 1,000 mg/kg 投与群にのみ軽い体重増加の抑制がみられ、投与67日目より対照群との間に有意差が認められたが、投与量相関はなかった。他の投与群には対照群との間の有意差はみられなかった。

3) 摂餌量, 摂水量

摂餌量, 摂水量の変化を Fig. 3 と Fig. 4 に示した。摂餌量では, 雄の投与各群に投与量相関が明瞭でない軽い摂餌量増加傾向がみられた。摂水量では雌雄各群に投与1週以降飲水量の増加をみた。

4) 尿検査

結果を Table 2 に示した。投与各群の雌雄に尿 Na 濃度が若干減少している群が散見された以外には特に著し

い変化はみられなかった。

5) 血液学的検査

結果を Table 3 に示した。赤血球数, ヘマトクリット値, ヘモグロビン濃度の軽い減少傾向が雄の 500, 1,000, 2,000 mg/kg 投与群と雌の 1,000, 2,000 mg/kg 投与群に認められたが, それらの検査値はラットの生理的範囲を逸脱するものではなかった。また, 各投与群の雌雄に投与量相関の明らかでない白血球数の減少がみられた。それらの群の白血球分画では, 雄にのみ軽いリンパ球比の減少と好中球比の相対的増加があった。しかし, いずれの所見もラット生理的範囲内での変動であった。

6) 血液化学検査

結果を Table 4 に示した。雄の検体投与群には,

subcutaneously with T-1982 for 3 months

T-1982 500mg/kg										T-1982 1,000mg/kg										T-1982 2,000mg/kg									
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					-	-	-	+	-						+	-	+	-	+						+	+	+	+	+

glands, pancreas, hypophysis, mesenteric lymph nodes, bone marrow, stomach, small intestine and large

T-1982 500mg/kg								T-1982 1,000mg/kg										T-1982 2,000mg/kg											
71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-
					+	-	-	-	+						+	-	+	+	+						+	+	+	+	-

glands, pancreas, ovaries, hypophysis, mesenteric lymph nodes, bone marrow, stomach, small intestine

ALP の減少, コレステロールの増加, 尿素窒素の減少, 蛋白の減少に有意差がみられ, また, 雌の検体投与群では GOT, GPT の増加, 蛋白の減少を示す有意差がみられた。しかし, いずれの変化も生理的範囲内の変動にとどまっており, 特に著しい変化ではなかった。血清蛋白のセルロースアセテート膜による電気泳動では, アルブミンが陽極側に流れる現象が, 1,000, 2,000 mg/kg 投与群に認められた。

7) 臓器重量と臓器重量体重比

臓器重量および臓器重量体重比をそれぞれ Table 5 と Table 6 に示した。高用量群の雄にのみ肝重量体重比減少を示す有意差が, 雌にのみ腎重量増加を示す有意差がみられたが, いずれも軽度の変化であった。他の諸臓器には著変がなかった。

8) 剖検所見

3 カ月間投与終了時の剖検においては, 検体投与群の全例に盲腸腔の拡張がほぼ投与量に比例してみられ, また投与部位背部皮下には投与量に比例した出血や浮腫が認められた。その他には検体投与に起因すると思われるような肉眼的変化はみられなかった。しかし, 偶発所見として 2,000 mg/kg 投与群雌の 1 例に片側性の水腎症がみられた。

9) 組織学的検査

結果を Table 7 に示した。各群雌雄各 5 匹についての投与部位皮下組織の検索では, 対照群に異常は認められなかったが (Photo. 1), T-1982 投与群では, ほぼ投与量に比例した皮下結合織の出血, 浮腫および炎症性細胞浸潤が認められた (Photo. 2)。肝では, T-1982 投与

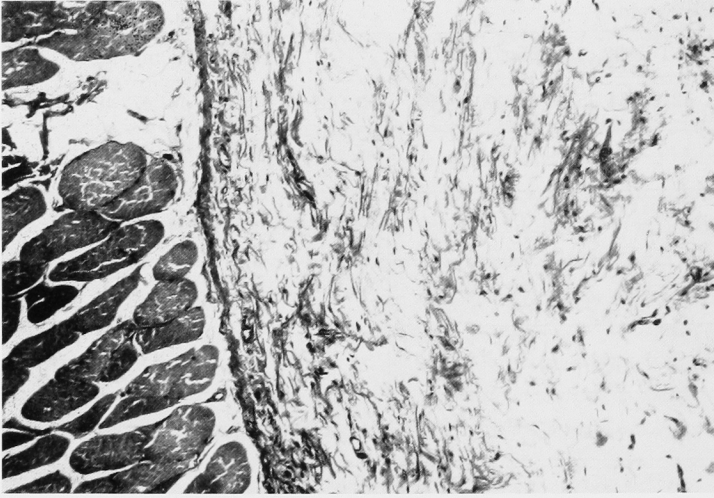


Photo. 1 Subcutaneous tissue of injection site from a male control rat (No. 6). No significant changes. $\times 110$ H. E. staining.

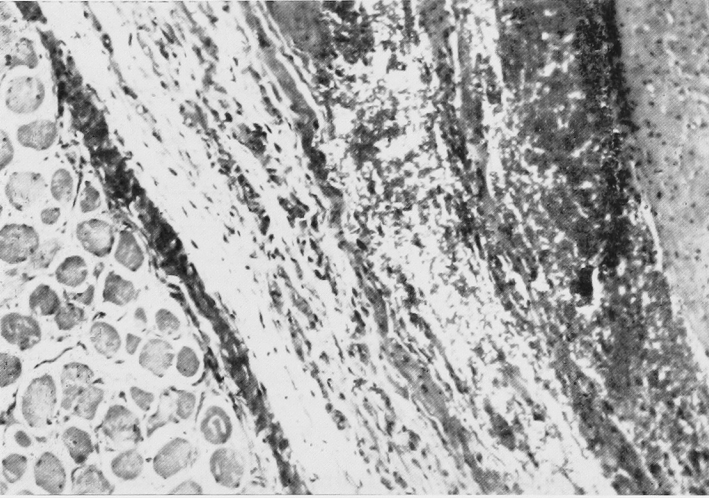


Photo. 2 Subcutaneous tissue of injection site from a male rat given T-1982 at 2,000mg/kg/day for 3 months (No. 46). Hemorrhage and exudative inflammation are observed. $\times 110$ H. E. staining.

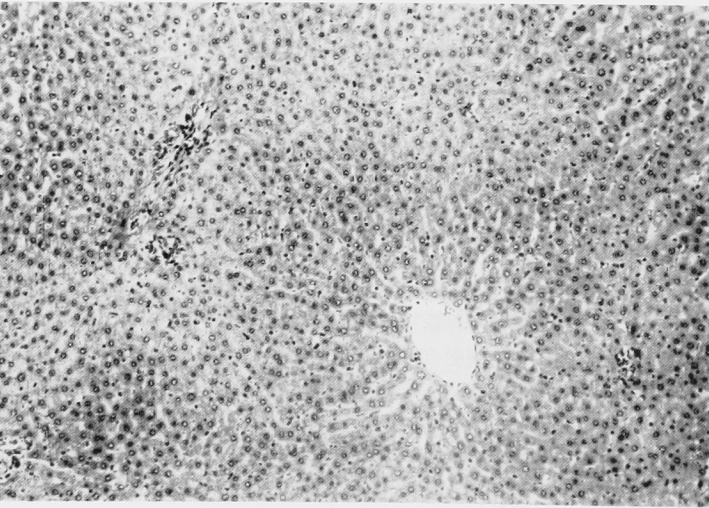


Photo. 3 Liver from a female rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 100). No significant changes. $\times 110$ H. E. staining.

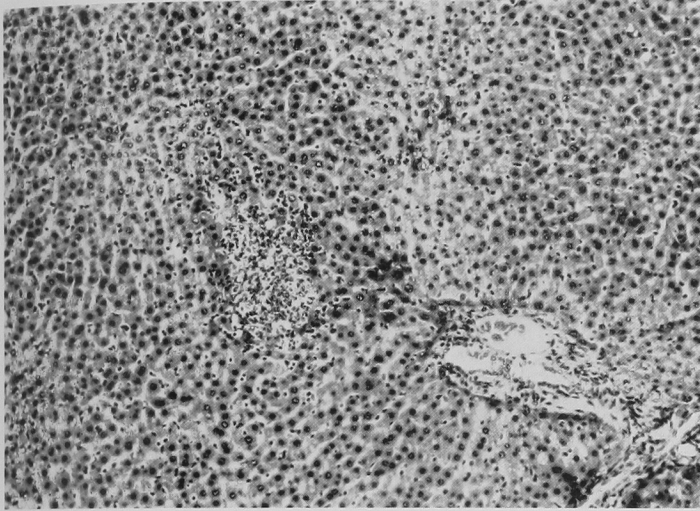


Photo. 4 Liver from a female rat given T-1982 at 2,000mg/kg/day for 3 months (No. 95). Localized cell infiltration is recognized in the parenchyma. $\times 110$ H. E. staining.

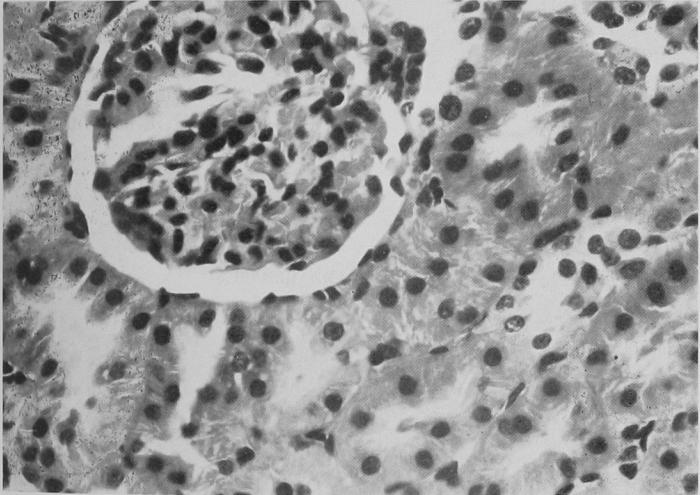


Photo. 5 Kidney from a male rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 41). No significant changes. $\times 440$ H. E. staining.



Photo. 6 Heart from a male rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 45). No significant changes. $\times 110$ H. E. staining.

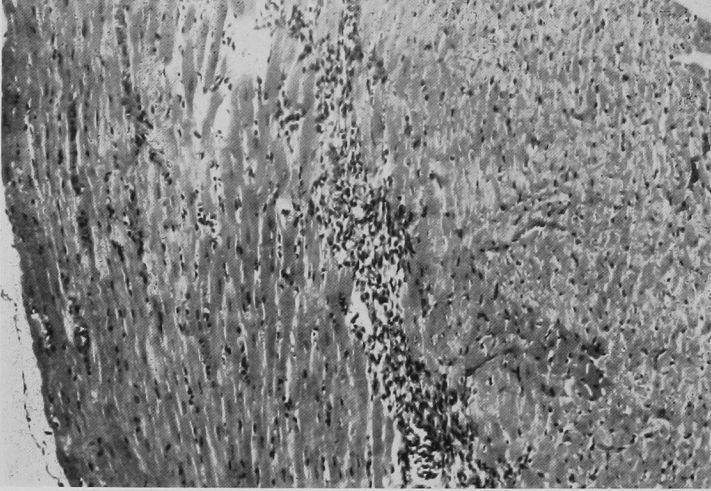


Photo. 7 Heart from a male rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 43). Localized cell infiltration is seen in the ventricular wall. $\times 110$ H. E. staining.

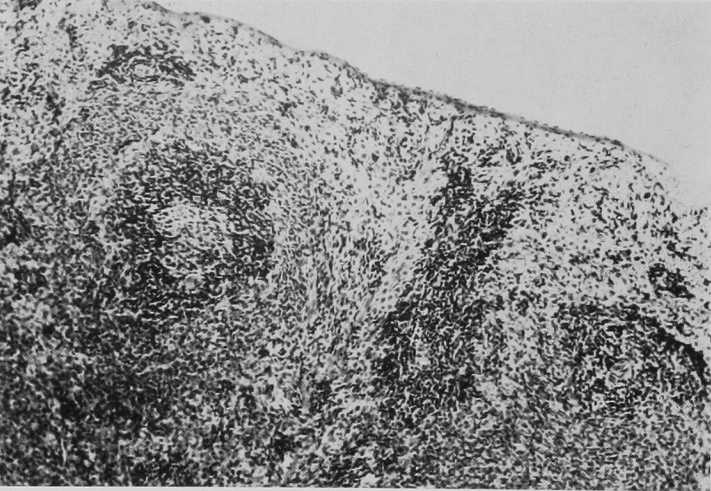


Photo. 8 Spleen from a female rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 94). No significant changes. $\times 110$ H. E. staining.

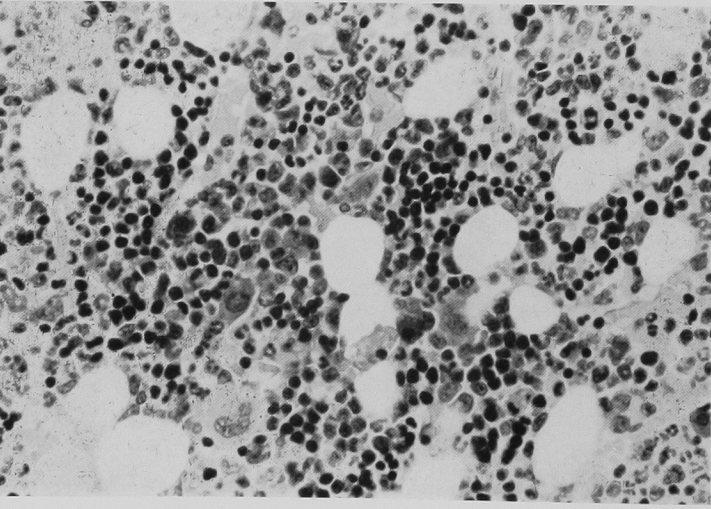


Photo. 9 Bone marrow from a male rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 42). No significant changes. $\times 440$ H. E. staining.

Photo. 10 Testis from a male rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 41). No significant changes. $\times 110$ H. E. staining.

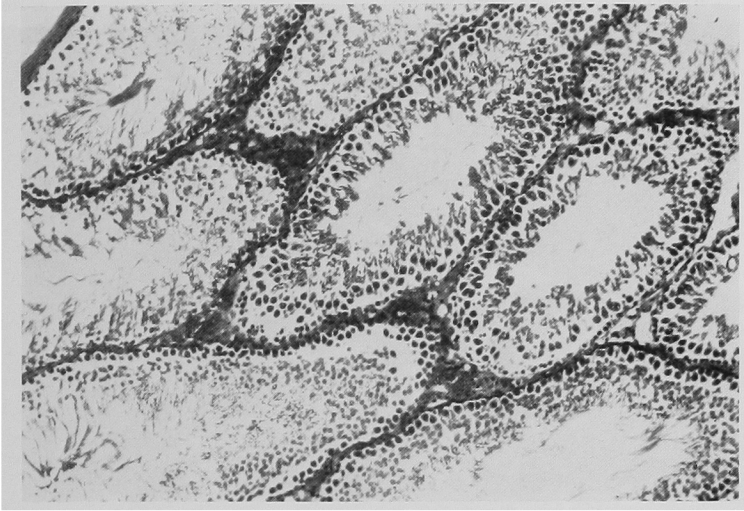


Photo. 11 Electronmicrograph of hepatic cell from a male rat given T-1982 at 2,000mg/kg/day for 3 months (No. 43). No significant changes. $\times 7,200$ Double staining with uranyl acetate and lead citrate.

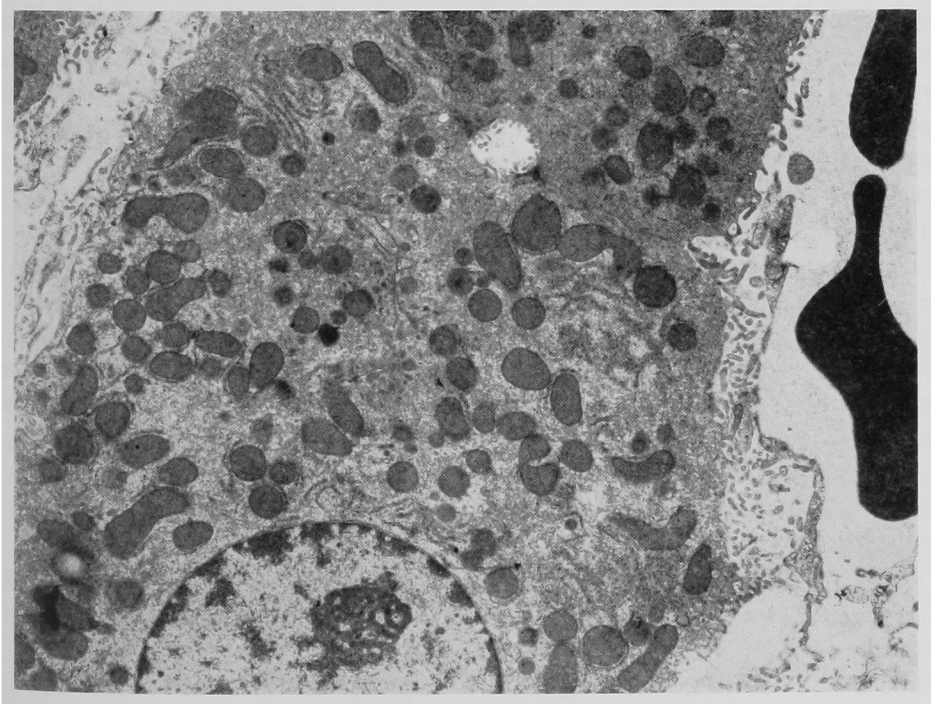
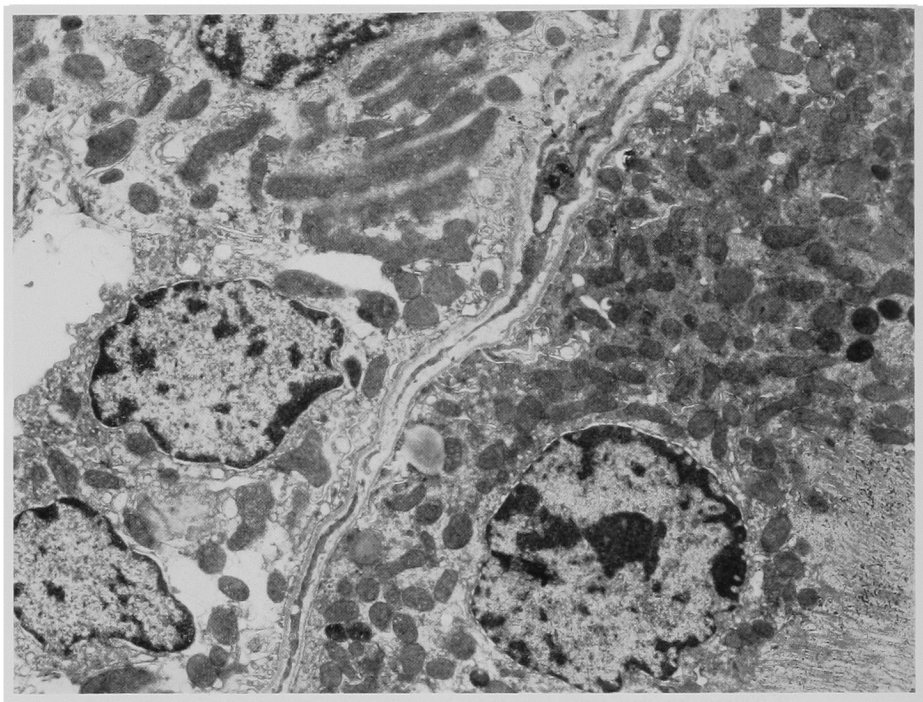


Photo. 12 Electronmicrograph of proximal (right) and distal (left) renal tubular epithelial cells from a male rat given T-1982 at 2,000 mg/kg/day for 3 months (No. 41). No significant changes. $\times 7,200$ Double staining with uranyl acetate and lead citrate.



群の雄40例中2例、雌40例中1例の肝実質に限局性の軽度の細胞浸潤（巣状壊死）を認めたが、び慢性出現でなく、非特異的反応であり、薬剤投与とは無関係に出現していた（Photo. 3, 4）。腎でも投与量に関係なく近位尿管上皮の硝子滴変性、皮質尿管腔のカルシウム沈着および尿管腔拡張がおのおの1例にみられたに過ぎなかった（Photo. 5）。また、軽い限局性心筋炎の所見が雄40例中4例に投与量とは無関係に認められた（Photo. 6, 7）。他には、250 mg/kg 投与群雄の1例に比較的高度な脾のうっ血をみた以外特記すべき所見がなかった（Photo. 8）。肉眼的に拡張をみた盲腸には組織学的異常を認めなかった。また、水腎症を呈していた1例の腎には腎盂の拡張がみられた。骨髄（Photo. 9）、精巣（Photo. 10）には異常がなかった。

10) 肝と腎の電子顕微鏡的観察

3カ月間投与終了後の各群雄3匹について行なった肝と腎の電子顕微鏡的観察の結果、いずれの投与群においても、T-1982投与に起因すると思われる微細構造の変化は認められなかった（Photo. 11, 12）。

11) 回復試験

3カ月間投与後の1カ月間回復期間終了時の尿検査、

血液検査、血液化学検査の結果をおのおの Table 8, Table 9, Table 10 に示した。また、剖検時の臓器重量、臓器重量体重比をおのおの Table 11, Table 12 に示した。尿検査では、散発的な卅～卅の蛋白陽性反応がみられたが、これはラットでは生理的範囲内の変動として散見されるものである。血液検査、血液化学検査には著変はなかった。臓器重量、臓器重量体重比にも特に著しい変化はなかった。組織学的検索の結果を Table 13 に示した。投与部位皮下組織の障害はほぼ回復していた。しかし250 mg/kg 投与群雄の1例にのみ比較的高度の炎症性細胞浸潤がみられた。また、2,000 mg/kg 投与群雄3例と雌2例で軽度の投与局所皮下組織のヘモジリン沈着がみられた。T-1982投与群雄に偶発所見と思われる精子形成能の減退が1例認められた。各群雄3匹についての肝と腎の電子顕微鏡的観察においては微細構造の著しい変化は認められなかった。

III. 総括と考察

T-1982のラット皮下3カ月間投与と亜急性毒性試験を250, 500, 1,000, 2,000 mg/kg 投与群を設定して行なった。

薬剤注射時に泣鳴、興奮が投与量に比例して観察さ

Table 8 Urinalysis in rats after 36 days recovery period following 3 months subcutaneous administration of T-1982

Sex	Dose	Volume (ml/17hr)	pH	Protein	Glucose	Ketone bodies	Bilirubin	Occult blood	Urobilinogen	Na (mEq/L)	K (mEq/L)
Male	Saline-Control	13.1 ± 2.85	6(2), 7(3)	-(2), ±(1)+(2)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	135.6 ± 25.78	149.4 ± 16.65
	T-1982 250 mg/kg	10.9 ± 1.40	6(2), 7(3)	±(3), +(2)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	139.5 ± 21.74	163.8 ± 6.10
	T-1982 500 mg/kg	9.7 ± 1.69	7(4), 8(1)	±(3), +(1)+(1)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	128.4 ± 18.90	155.3 ± 10.56
	T-1982 1,000 mg/kg	13.7 ± 1.47	6(2), 7(3)	±(3), +(2)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	115.9 ± 14.65	139.9 ± 9.94
	T-1982 2,000 mg/kg	18.7 ± 2.73	7(5)	-(1), ±(2)+(2)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	116.4 ± 20.44	133.3 ± 15.04
Female	Saline-Control	6.5 ± 0.76	6(3), 7(2)	±(2), +(3)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	153.7 ± 13.98	163.8 ± 8.65
	T-1982 250 mg/kg	5.2 ± 1.44	6(3), 7(2)	±(2), +(2)##(1)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	171.0 ± 22.94	189.5 ± 20.61
	T-1982 500 mg/kg	10.2 ± 2.16	6(1), 7(4)	+(4), ##(1)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	120.7 ± 9.07	145.6 ± 8.82
	T-1982 1,000 mg/kg	8.1 ± 1.36	6(2), 7(3)	±(3), +(1)##(1)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	140.3 ± 17.10	167.5 ± 11.70
	T-1982 2,000 mg/kg	6.6 ± 0.48	6(2), 7(3)	+(3), +(2)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)	±(5)	131.2 ± 27.24	147.1 ± 12.78

- : Negative ± : Very slight + : Slight ++ : Moderate ## : Severe
Volume, Na and K : Mean ± S. E.

Table 9 Hematological findings in rats after 36 days recovery period following 3 months subcutaneous administration of T-1982

Sex	Dose	RBC ($\times 10^9/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Hemato-crit(%)	Hemoglobin (g/dl)	Differential count (%)					
						Neutro.		Eosino.	Baso.	Lymph.	Mono.
						Staff	Seg.				
Male	Saline-Control	838 ± 30.5	97 ± 10.0	52 ± 1.9	16.8 ± 0.37	2.3 ± 0.44	16.1 ± 4.63	1.4 ± 0.48	0.0 ± 0.00	77.8 ± 5.10	2.4 ± 0.37
	T-1982 250 mg/kg	853 ± 51.0	91 ± 10.2	53 ± 2.5	17.4 ± 0.48	1.1 ± 0.29	14.2 ± 1.43	2.2 ± 0.82	0.2 ± 0.12	79.0 ± 1.60	3.3 ± 0.46
	T-1982 500 mg/kg	845 ± 9.5	75 ± 4.8	49 ± 0.9	16.8 ± 0.39	1.3 ± 0.20	18.9 ± 3.14	1.6 ± 0.51	0.0 ± 0.00	75.1 ± 2.60	3.1 ± 0.43
	T-1982 1,000 mg/kg	914 ± 32.6	78 ± 9.0	52 ± 0.8	17.4 ± 0.26	2.0 ± 0.61	18.9 ± 3.59	1.6 ± 0.46	0.0 ± 0.00	75.4 ± 4.14	2.1 ± 0.48
	T-1982 2,000 mg/kg	940 ± 22.0*	81 ± 3.8	54 ± 1.2	17.5 ± 0.31	1.4 ± 0.37	16.6 ± 3.14	2.4 ± 0.40	0.1 ± 0.10	75.9 ± 2.65	3.6 ± 0.64
Female	Saline-Control	731 ± 18.0	59 ± 5.9	46 ± 1.7	16.3 ± 0.40	1.4 ± 0.37	16.3 ± 3.01	3.2 ± 1.06	0.1 ± 0.10	76.2 ± 4.24	2.8 ± 0.56
	T-1982 250 mg/kg	733 ± 18.6	51 ± 6.4	51 ± 2.0	16.8 ± 0.44	1.2 ± 0.46	15.4 ± 4.50	1.6 ± 0.58	0.1 ± 0.10	79.6 ± 5.54	2.1 ± 0.33
	T-1982 500 mg/kg	750 ± 26.6	48 ± 3.2	48 ± 1.6	16.4 ± 0.09	1.1 ± 0.43	14.8 ± 3.62	1.8 ± 0.68	0.0 ± 0.00	81.2 ± 3.99	1.1 ± 0.40*
	T-1982 1,000 mg/kg	765 ± 11.6	43 ± 5.0	45 ± 0.5	15.8 ± 0.33	0.4 ± 0.19*	20.1 ± 2.20	1.6 ± 0.43	0.0 ± 0.00	76.3 ± 2.40	1.6 ± 0.91
	T-1982 2,000 mg/kg	788 ± 34.1	54 ± 2.9	48 ± 0.8	16.3 ± 0.26	0.9 ± 0.19	14.4 ± 1.89	1.5 ± 0.35	0.1 ± 0.10	81.7 ± 1.68	1.4 ± 0.70

Mean ± S. E.
Significant difference from control *p < 0.05

Table 10 Biochemical findings in rats after 36 days recovery period

Dose		GOT (K. U.) ¹⁾	GPT (K. U.) ²⁾	ALP (K. A. U.) ²⁾	LDH (W. U.) ³⁾	Cholinesterase (<i>A</i> pH)	Cholesterol (mg/dl)
Male	Saline-Control	124± 8.1	42±5.8	10.6±1.63	1,090±12.2	0.18±0.018	61±8.7
	T-1982 250 mg/kg	108± 5.6	35±1.7	12.5±2.15	1,100± 7.1	0.22±0.029	56±5.6
	T-1982 500 mg/kg	106± 7.7	34±1.1	10.7±0.51	1,112± 5.8	0.21±0.005	61±4.0
	T-1982 1,000 mg/kg	98± 2.8*	32±1.2	12.9±0.98	1,114±14.0	0.20±0.015	58±5.3
	T-1982 2,000 mg/kg	103± 5.9	32±0.7	12.6±1.19	1,126±10.3	0.26±0.037	56±5.7
Female	Saline-Control	97± 4.8	31±1.7	7.1±0.97	1,170± 7.7	0.89±0.074	54±4.8
	T-1982 250 mg/kg	101± 2.2	31±1.3	7.1±1.27	1,180± 6.3	0.90±0.030	60±4.2
	T-1982 500 mg/kg	103± 9.2	36±4.1	6.0±0.78	1,164±16.0	0.91±0.051	65±8.2
	T-1982 1,000 mg/kg	92± 2.0	33±1.0	8.1±1.00	1,192± 6.6	0.90±0.056	53±1.8
	T-1982 2,000 mg/kg	103±10.8	31±1.6	8.0±1.08	1,146±18.9	0.90±0.063	50±2.9

Mean±S. E. 1) Karmen unit 2) King-Armstrong unit 3) Wroblewski unit
Significant difference from control *p<0.05

Table 11 Absolute organ weight in rats after 36 days recovery period

Dose		Body weight	Heart	Lung	Liver	Kidney	
						left	right
Male	Saline-Control	531±19.9	1.94±0.232	1.61±0.083	13.44±0.552	1.45±0.053	1.41±0.052
	T-1982 250 mg/kg	536±23.2	1.82±0.162	1.61±0.080	13.02±0.806	1.47±0.056	1.47±0.048
	T-1982 500 mg/kg	511±16.0	1.62±0.128	1.60±0.077	12.83±0.481	1.38±0.018	1.40±0.025
	T-1982 1,000 mg/kg	571±17.9	1.81±0.155	1.72±0.129	13.47±0.605	1.47±0.023	1.47±0.035
	T-1982 2,000 mg/kg	540±19.8	1.72±0.074	1.64±0.056	14.07±0.836	1.56±0.078	1.53±0.074
Female	Saline-Control	303± 5.8	0.94±0.021	1.23±0.036	7.07±0.326	0.87±0.029	0.89±0.032
	T-1982 250 mg/kg	296±14.4	1.00±0.082	1.18±0.045	6.94±0.332	0.86±0.038	0.91±0.034
	T-1982 500 mg/kg	295±13.6	1.26±0.077**	1.22±0.049	7.57±0.537	0.85±0.022	0.84±0.043
	T-1982 1,000 mg/kg	272± 8.9*	0.96±0.112	1.12±0.051	6.73±0.198	0.83±0.027	0.85±0.030
	T-1982 2,000 mg/kg	291± 8.5	0.96±0.065	1.22±0.034	6.80±0.349	0.91±0.062	0.91±0.057

Unit : g Mean±S. E.
Significant difference from control *p<0.05, **p<0.01, † ovaries

Table 12 Relative organ weight in rats after 36 days recovery period

Dose		Heart	Lung	Liver	Kidney	
					left	right
Male	Saline-Control	0.361±0.0295	0.302±0.0076	2.537±0.0949	0.275±0.0172	0.268±0.0176
	T-1982 250 mg/kg	0.342±0.0300	0.302±0.0113	2.430±0.0970	0.274±0.0049	0.275±0.0077
	T-1982 500 mg/kg	0.320±0.0298	0.315±0.0203	2.513±0.0788	0.271±0.0100	0.274±0.0123
	T-1982 1,000 mg/kg	0.319±0.0320	0.302±0.0217	2.357±0.0578	0.259±0.0088	0.258±0.0050
	T-1982 2,000 mg/kg	0.320±0.0167	0.305±0.0173	2.601±0.0799	0.289±0.0146	0.284±0.0134
Female	Saline-Control	0.310±0.0095	0.408±0.0129	2.334±0.0682	0.289±0.0103	0.294±0.0116
	T-1982 250 mg/kg	0.338±0.0226	0.400±0.0093	2.349±0.0515	0.291±0.0156	0.309±0.0143
	T-1982 500 mg/kg	0.428±0.0150**	0.416±0.0241	2.562±0.1118	0.283±0.0099	0.286±0.0095
	T-1982 1,000 mg/kg	0.356±0.0437	0.412±0.0096	2.479±0.0960	0.306±0.0096	0.314±0.0128
	T-1982 2,000 mg/kg	0.329±0.0178	0.419±0.0116	2.332±0.0565	0.313±0.0165	0.311±0.0151

Unit : % of body weight Mean±S. E.
Significant difference from control *p<0.05, **p<0.01, † ovaries

following 3 months subcutaneous administration of T-1982

Urea nitrogen (mg/dl)	Bilirubin (mg/dl)	Protein (g/dl)	A/G	Glucose (mg/dl)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)
13.2±0.27	0.1±0.00	7.0±0.16	0.86±0.073	118± 9.7	144.1±0.72	5.77±0.280
13.9±0.39	0.1±0.02	6.7±0.10	0.94±0.073	125±11.7	142.9±0.88	5.76±0.190
13.8±0.29	0.2±0.02*	6.7±0.10	0.91±0.029	138±11.9	143.5±0.69	5.99±0.283
13.5±0.30	0.1±0.02	6.6±0.11	0.84±0.051	136±10.9	143.2±0.34	5.60±0.038
14.5±0.84	0.1±0.00	6.7±0.10	0.70±0.031	110±13.2	143.6±0.39	5.53±0.184
17.3±2.04	0.1±0.00	7.0±0.25	1.03±0.060	69± 8.1	144.5±1.40	4.58±0.193
17.4±1.14	0.1±0.02	7.0±0.04	0.98±0.050	69± 3.3	145.7±0.77	4.84±0.159
16.5±1.39	0.1±0.00	7.4±0.22	0.93±0.062	77± 9.8	145.7±0.99	4.98±0.121
17.9±1.05	0.1±0.00	6.9±0.08	1.18±0.074	71± 5.8	143.7±0.45	4.96±0.100
17.9±1.80	0.1±0.02	6.6±0.13	1.00±0.079	82± 4.4	143.1±0.39	4.94±0.160

following 3 months subcutaneous administration of T-1982

Spleen	Brain	Thymus	Adrenals	Submaxillary glands	Testis	
					left	right
0.79±0.032	2.07±0.033	0.31±0.043	0.06±0.007	0.66±0.026	1.88±0.055	1.88±0.054
0.87±0.079	2.03±0.036	0.37±0.023	0.04±0.006	0.66±0.045	1.87±0.056	1.88±0.090
0.80±0.043	1.96±0.050	0.32±0.025	0.05±0.004	0.67±0.043	1.76±0.147	1.93±0.044
0.81±0.058	2.10±0.053	0.30±0.057	0.05±0.009	0.63±0.041	1.89±0.041	1.84±0.043
0.81±0.065	2.01±0.035	0.31±0.052	0.05±0.003	0.69±0.021	1.95±0.078	1.92±0.092
0.48±0.026	1.89±0.029	0.21±0.027	0.05±0.009	0.42±0.025	0.13±0.011†	
0.50±0.050	1.89±0.030	0.21±0.019	0.05±0.007	0.41±0.019	0.12±0.002†	
0.52±0.028	1.84±0.046	0.24±0.023	0.06±0.004	0.43±0.026	0.12±0.011†	
0.45±0.016	1.93±0.042	0.19±0.026	0.05±0.006	0.42±0.008	0.13±0.007†	
0.50±0.038	1.88±0.036	0.20±0.034	0.06±0.011	0.43±0.017	0.14±0.006†	

following 3 months subcutaneous administration of T-1982

Spleen	Brain	Thymus	Adrenals	Submaxillary glands	Testis	
					left	right
0.149±0.0074	0.391±0.0152	0.059±0.0095	0.011±0.0013	0.124±0.0050	0.356±0.0210	0.356±0.0210
0.162±0.0113	0.382±0.0166	0.069±0.0055	0.008±0.0009	0.123±0.0072	0.352±0.0214	0.354±0.0244
0.157±0.0085	0.385±0.0171	0.063±0.0042	0.009±0.0009	0.132±0.0098	0.347±0.0346	0.380±0.0167
0.143±0.0109	0.369±0.0166	0.053±0.0095	0.009±0.0017	0.111±0.0098	0.333±0.0150	0.323±0.0132
0.150±0.0113	0.374±0.0102	0.057±0.0082	0.009±0.0008	0.129±0.0071	0.362±0.0173	0.357±0.0186
0.160±0.0115	0.624±0.0179	0.070±0.0080	0.017±0.0033	0.139±0.0099	0.042±0.0038†	
0.169±0.0141	0.645±0.0294	0.071±0.0045	0.018±0.0020	0.140±0.0050	0.042±0.0014†	
0.176±0.0100	0.629±0.0269	0.082±0.0047	0.020±0.0009	0.147±0.0063	0.039±0.0037†	
0.165±0.0096	0.712±0.0301*	0.070±0.0079	0.018±0.0020	0.155±0.0039	0.047±0.0037†	
0.173±0.0099	0.646±0.0094	0.068±0.0109	0.022±0.0041	0.148±0.0081	0.049±0.0026†	

Table 13 Histological examination in rats after 36 days recovery period following 3 months subcutaneous administration of T-1982

	Control		T-1982 250 mg/kg	T-1982 500 mg/kg	T-1982 1,000 mg/kg	T-1982 2,000 mg/kg
	Male rats	101 102 103 104 105	106 107 108 109 110	111 112 113 114 115	116 117 118 119 120	121 122 123 124 125
Testis : Decrease of spermatogenesis	- - - - -	- - - - -	(+)	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Subcutaneous tissue of injected area : Hemorrhage and exudative inflammation	- - - - -	- # - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Hemosiderin deposition	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
() : Unilateral change No significant changes were seen in heart, lung, liver, kidney, spleen, brain, thymus, adrenal glands, thyroids, salivary glands, pancreas, hypophysis, mesenteric lymph nodes, bone marrow, stomach, small intestine and large intestine.						
	Control		T-1982 250 mg/kg	T-1982 500 mg/kg	T-1982 1,000 mg/kg	T-1982 2,000 mg/kg
	Female rats	126 127 128 129 130	131 132 133 134 135	136 137 138 139 140	141 142 143 144 145	146 147 148 149 150
Spleen : Congestion	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	+ - - - -	- - - - -
Subcutaneous tissue of injected area : Hemosiderin deposition	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- + - - -
No significant changes were seen in heart, lung, liver, kidney, spleen, brain, thymus, adrenal glands, thyroids, salivary glands, pancreas, ovaries, hypophysis, mesenteric lymph nodes, bone marrow, stomach, small intestine and large intestine.						

れ、投与20日を過ぎる頃から高用量群の数例で投与局所の皮下に硬結がみられるようになった。3カ月投与後の投与局所には皮下結合織の出血、浮腫がみられ、組織学的にもこれらの所見に加えて滲出性炎の所見が投与量に比例して観察された。これらの変化は高濃度の浸透圧の高い溶液を皮下に連続的に注射したために生じた変化であったが、この局所障害は発育に影響を与えていなかった。また、投与局所の変化は回復試験ではほとんど回復していた。各投与群の雌雄に軽い飲水量の増加傾向が現われていた。しかし、尿検査では尿量の増加がみられず、尿検査結果にも特記すべき異常がなかった。この飲水量増加があるにもかかわらず尿量に変化がない理由としては、薬剤の注射後約6時間を経過してから採尿を開始しているため、採尿開始までの尿量が反映されていないためと思われるが明確ではない。また、T-1982の2,000 mg/kgを3カ月にわたって皮下投与したにもかかわらず血清中尿素窒素に変化がなく、腎の組織学的検査結果や電子顕微鏡による観察結果に腎障害作用を疑わせるような異常がないことからみて、腎障害とは無関係に現われた飲水量の増加と考えられる。

血液検査では赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度が統計的に若干の減少傾向を示したが生理的範囲内での変動と思われる程度のものであり、また、それらの動物の骨髄やリンパ球産生臓器には組織学的異常を認めなかった。投与局所の炎症に反応した白血球数の増加は明瞭ではなかった。回復試験の血液検査結果には異常がみられなかった。

血清蛋白のセルロースアセテート膜電気泳動では、アルブミンが陽極側に流れる現象が1,000, 2,000 mg/kg投与群に認められたが、この現象は1カ月間の休薬期間の後には消失していた。臨床的にもペニシリン系、セファロsporin系薬剤の投与により、こうした現象が現われ、薬剤投与を中止すると消失することが知られている⁸⁻⁹⁾。その原因としては、薬剤により、血清蛋白が修飾され、陰性荷電が増加するためと考えられている。

剖検時の特徴的所見として、盲腸腔の拡張が各投与群雄には投与量に比例して観察された。しかし、拡張した盲腸粘膜には組織学的異常を認めなかった。この変化は抗生物質の投与において一般的にみられるもので、腸内細菌叢の変動にもとづく二次的な変化であると考えられている⁶⁻⁹⁾。盲腸腔拡張は回復試験では認められなかった。

他にも血液化学検査結果や臓器重量に統計的有意差を認めるものがあったが、いずれもその程度は軽く、その臨床的意義、投与量相関の有無、組織学的異常を伴わな

いことなどからみて特に取り上げる必要がないと判断される程度のものであった。

一般にセファロsporin系抗生物質は、程度の差こそあるが腎毒性を有することが臨床的にも動物実験においても報告されており¹⁰⁻¹⁸⁾、この種の薬剤の開発に際しては注意を要すると考えられている。しかし、今回行った試験からはT-1982の腎毒性を示すような結果は得られなかった。この点については、さらに検討する必要があるものと思われる。

以上の結果から、本実験におけるT-1982の最大無作用量は投与局所の障害が対照群とほぼ同程度であり、他にT-1982投与に起因する異常のない量である500 mg/kgと推定した。

本実験の遂行にあたり、組織標本の診断とご校閲を賜った金沢大学医学部病理学第2講座、太田五六教授に深甚なる感謝の意を表します。

文 献

- 1) 第29回日本化学療法学会西日本支部総会、新薬シンポジウムI、T-1982抄録集、1981
- 2) 正谷博之、中村昌三、河村泰仁、永井章夫、長沢峰子、高木淑子、和田直子、米田豊昭、高井明：T-1982の毒性試験（第1報）マウス、ラットおよびイヌでの急性毒性試験。Chemotherapy 30 (S-3) : 232~241, 1982
- 3) ARVAN, D.A.; B. S. BLUMBERG, & L. MELARTIN: Transient "bisalbinemia" induced by drugs. Clinica. Chimica Acta 22 : 211~218, 1968
- 4) 浅井紀一、高阪彰、渡辺有三、高木由憲恵、沢田光徳、岸常規、岩田英世、小林快三：抗生剤投与症例に出現した血清アルブミンおよびその他の蛋白異常の臨床病理学的検討。臨床病理 26 (補冊) : 160, 1978
- 5) 土屋達行、河野均也：二峰性アルブミンについて。臨床検査 24 : 732~735, 1980
- 6) ATKINSON, R. M.; J. D. CAISEY, J. P. CURRIE, T. R. MIDDLETON, D. A. H. PRATT, H. M. SHARPE & E. G. TOMICH : Subacute toxicity of cephaloridine to various species. Toxicol. Appl. Pharmacol. 8 : 407~428, 1966
- 7) 二木力夫、塩田尚三、宇佐美正義、野口午郎、杉山修、大川広行、高垣義男：Ceftazoleの一般毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 24 : 671~701, 1976
- 8) 高山敏、古浜和久、加藤道幸、山田明甫、小野寺威、小河秀正、秋本健：Cefoxitinの安全性に関する研究、第1報、急性、亜急性および慢性毒性。Chemotherapy 26 (S-1) : 150~175, 1978
- 9) 渡辺信夫、岩波黄葵、藤井登志之：Cefazolin sodiumの毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 18 : 528~542, 1978
- 10) HOLLOWAY, W. J. & E. G. SCOLT : Clinical ex-

- perience with cephaloridine. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 1965 : 916~921, 1966
- 11) Lawson, D. H. ; R. F. MACADAM, H. SIGH, H. CAVRAS, S. HARZ, D. TURNBULL & A. L. LINTON : Effect of furosemide on antibiotic-induced renal damage in rats. *J. Infect. Dis.* 126 : 593 ~ 600, 1972
- 12) 小林千鶴子：抗生剤の腎毒性に関する実験的研究。慈恵医大誌, 89 : 46~61, 1974
- 13) 米田豊昭, 岩崎信一, 佐藤 盛, 中川重仁, 林 智栄, 高井 明：Cefoperazone(T-1551)の利尿剤併用時における腎障害作用。Chemotherapy 28 (S-6) : 292~306, 1980

TOXICITY TESTS OF T-1982 (II)
Subacute toxicity test in rats
with subcutaneous injection for 3 months

SHINICHI IWASAKI, TETSUO SHIBATA, SIGERU SATO,
SHIGEHITO NAKAGAWA, TOYOAKI YONEDA and AKIRA TAKAI
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

One hundred and fifty rats (75 males, 75 females) divided into 4 T-1982 groups at dose levels of 2000, 1000, 500, and 250 mg/kg/day and a saline control group were received daily subcutaneous injection for 3 months. Ten rats (5 males, 5 females) of each group were used for the recovery study after the termination of treatment.

The following results were obtained.

1) Vocalization was observed during injection of T-1982 in higher dose groups, and in a part of rats of these groups, hemorrhage and induration of the injection site were also recognized. The dose-related changes such as hemorrhage, edema and inflammatory cell infiltration were seen in T-1982 injected groups in macroscopic and histological observations. These changes may be based on the injection of high concentrated solution.

2) There was no mortality in all groups.

3) There was no abnormality based on T-1982 dosing in growth curves, food intakes, urinalysis and hematological examinations.

4) In serum electrophoresis, fast albumin component with the faster mobility to plus pole was observed in rats given T-1982 at 2000 mg/kg/day or 1000 mg/kg/day, respectively. However, the above fast albumin component diminished in the recovery study. There was no other significant change in biochemical examinations.

5) Dose-related enlargement at the lumen of cecum was observed in male and female rats treated with T-1982, however, no histological change of the mucous membrane of the cecum was seen. In the recovery study, enlargement of the lumen of the cecum disappeared.

6) Based upon the above results, the maximum safety dose of T-1982 was estimated to be 500 mg/kg/day in this experiment.