

合成抗菌剤 DL-8280 のイヌにおける 4 週経口亜急性毒性

野村 護・稲毛富士郎・赤羽浩一・加藤道幸
 柿畑耕司・山田明甫・小野寺威
 第一製薬株式会社中央研究所

合成抗菌剤 DL-8280 の 12.5, 50, 200 mg/kg をイヌに 4 週間連続経口投与し、亜急性毒性を検討した。その結果、12.5 mg/kg では投薬に起因する変化を認めなかった。50 mg/kg では嘔吐、流涎、自発運動低下、皮膚の発赤などの症状が一部の例に散見されるとともに、病理変化として関節軟骨の水疱、びらん形成、胸腺萎縮が認められた。200 mg/kg 群では、これらの症状が高頻度に観察され、症状の重篤な雄 1 匹が嘔吐による脱水症状を呈し瀕死に陥った。投与 4 週後の検査では上記の変化のほかに、血液濃縮、乏尿、尿電解質の低下、骨髓細胞減少、リンパ節のリンパ球減少、胃主細胞および壁細胞の空胞変性、肝細胞萎縮、膵小葉内導管上皮の腫脹、腎近位尿管上皮の脂肪沈着、乳腺脂肪織の萎縮が認められた。これらの変化は関節軟骨障害を除き、いずれも脱水性あるいは低栄養性の変化と考えられた。12.5 mg/kg の用量では変化が認められなかったことから、本実験条件下における無作用量は 12.5 mg/kg と推定された。

DL-8280 は第一製薬株式会社中央研究所において新規に合成されたオキサジン系合成抗菌剤で、グラム陰性および陽性菌に対して幅広い抗菌スペクトルと強い殺菌力を示すことが報告されている¹⁾。

本薬物の安全性試験についてはすでに当研究所において急性毒性²⁾(マウス、ラット、イヌおよびサル)および亜急性毒性³⁾(ラット)について検討されている。今回われわれは本薬物の安全性評価研究の一環として、ビーグル犬における 4 週経口亜急性毒性を検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験薬物

DL-8280 は Fig. 1 の構造を有する淡黄色結晶性粉末ではおおいに味は苦い。実験には当中央研究所で合成された Lot No. 108 のサンプルを使用した。

2. 使用動物

7 ヶ月齢のビーグル犬雄 12 匹 (8.5~10.0 kg)、雌 12 匹 (7.0~9.0 kg) を使用した。イヌ (Laboratory Research Enterprises Inc. U.S.A 産) は加商 (株) から 6 ヶ月齢時に購入し、4 週間環境に馴化させた後使用した。飼育は室温 21~25°C、湿度 45~65%、照明時間 7~19 時の動物室 (A 002) 内の犬房に個別に収容して行

い、飼料 (CD-5, 日本クレア製) は 1 日 250 g を、また水 (上水道水) は自由に摂取させた。

3. 薬物投与

1) 用量の設定

実験に先立ち、DL-8280 の 270 および 1,000 mg/kg をイヌに単回経口投与し毒性をしらべた。その結果、270 mg/kg で嘔吐が、さらに 1,000 mg/kg では流涎、嘔吐、活動低下が認められた。そこで本試験では最高用量を 200 mg/kg とし、以下 50, 12.5 mg/kg の計 3 用量を設定した。

2) 実験群の構成

実験群は上記各用量群に対照群を加えた計 4 群とし、雌雄各 3 匹を各群の平均体重および分散が均一になるように配分した。

3) 薬物の調整

薬物は各用量とも投与に必要な量を秤量し、1/8 オンスのゼラチンカプセル (加商 (株) から購入) に充填した。

4) 投与経路および投与期間

各群のイヌに、それぞれ所定の用量を 1 日 1 回、週 7 回、4 週間 (昭和 57 年 7 月 28 日~昭和 57 年 8 月 27 日) 強制経口投与した。対照群は無処置とした。

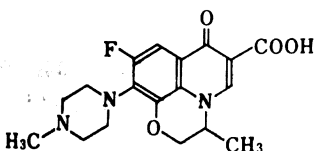
4. 検査

1) 一般観察

一般症状: 投与期間中毎日 2 回以上各イヌの一般症状を観察した。

体重: 投与開始前、および投与開始後毎週 1 回体重を

Fig. 1 Chemical structure of DL-8280



測定した。

摂餌量：毎日 250 g を給餌し、1 週間の総摂餌量を測定した。

2) 臨床検査

投与開始前および投与 4 週に、骨髄像を除くすべての動物の臨床検査を実施した。

眼検査：検眼鏡による角膜および前眼房の検査および眼底カメラ (RC-2: Kowa) による眼底検査を実施した。

心電図検査：心電計 (DU-3S: フクダ電子) を用いて標準 6 誘導心電図を記録し、第 II 誘導波形から心拍数 (H.R.), P, Q, R, S, T 波高および P, PQ, QRS, QT 間隔を算出した。

尿検査：代謝ケージを用いて 16 時間尿を集め、pH, 糖, ウロビリノーゲン, タンパク, ケトン体, 潜血の定性検査 (Uro-Labstix-II, エームス三共 (株) 製) および尿沈渣の鏡検を行うとともに、尿量, Na^+ , K^+ (炎光光度計), Cl^- (クロライドカウンター), タンパク (KINGSBURY-CLARK 法), リゾチーム (OSSERMAN 法) および浸透圧 (オズモメータ) を測定した。

血液学的検査：前腕頭静脈から採血し、抗凝固剤 (アングロット E/T, 日本商事 (株) 製) を添加した血液, 3.8% クエン酸ナトリウム採血後分離した血漿, および屠殺後に胸骨から得た骨髄試料を用いた。血液については、赤血球数 (RBC), ヘマトクリット値 (Ht), ヘモグロビン濃度 (Hb), 赤血球恒数 (MCV, MCHC), 網赤血球数 (Ret), 白血球数 (WBC), 白血球型別百分率を、血漿については、血小板数 (Plt), プロトロンビン時間 (PT) を、また骨髄については顆粒球/赤芽球比 (G/E) をそれぞれ測定した。

血液生化学的検査：前腕頭静脈血から血清を分離し、GOT, GPT, アルカリ性フォスファターゼ (ALP), ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP), トリグリセライド (TG), コリンエステラーゼ (CHE), ビリルビン (BIL), クレアチニン (CRE), 尿酸窒素 (UN), 尿酸 (UA), グルコース (GLU), 総タンパク (TP), アルブミン (ALB), A/G 比 (A/G), 無機リン (P), 総コレステロール (CHO) (以上日立 716 型自動分析装置), Na^+ , K^+ (炎光光度計), および Cl^- (クロライドカウンター) を測定した。

3) 病理学的検査

剖検および臓器重量測定：投与期間終了時まで生存した動物は、ペントバルビタール麻酔下に放血屠殺後、剖検するとともに、脳, 心, 脾, 肺, 肝, 腎, 精巣, 卵巣, 下垂体, 甲状腺 (上皮小体を含む), 副腎を摘出し、重量を測定した。

病理組織学的検査：上記の諸臓器に加えて、胸大動脈, 胸骨髄, 腸間膜リンパ節, 唾液腺, 胃, 十二指腸,

空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 胆のう, 膵, 膀胱, 精巣上体, 前立腺, 子宮, 乳腺, 大腿骨, 大腿筋, 胸腺, 脊髄, 坐骨神経, 眼, 涙腺, 大腿骨および上腕骨の遠位端を摘出し、10% 磷酸緩衝ホルマリン (ただし眼はダビドソン液) で固定した後、パラフィン包埋・ヘマトキシリン-エオジン染色標本を作製し、組織学的に検査した。なお、肝, 腎, 膵については Oil red-O 染色, PAS 反応および Berlin blue 染色を併用した。また、投与期間中に瀕死期と判定された動物は、臨床検査を行った後、屠殺し、病理学的に検査した。

II. 実験成績

1. 一般観察

1) 一般症状

12.5 mg/kg 群では雌雄とも投与期間を通じて異常な症状は認められなかった。

投薬に関連すると考えられる変化として、嘔吐, 流涎, 自発運動低下, 歩行異常, 振戦, 皮膚の発赤が認められた。50 mg/kg 群では、雌雄に自発運動低下 (2例), よろめき歩行 (2例), 振戦 (1例), および口周, 耳介内側皮膚の発赤 (2例) が投与後 30 分~2 時間に散発的に認められた。この症状は投与期間の後半に頻度が減少した。また嘔吐, 流涎 (3例) が投与期間を通じて散発的に認められた。200 mg/kg 群では、雌雄全例に投与後 30 分~2 時間に嘔吐, 流涎, 自発運動低下, よろめき歩行, 振戦および口周, 耳介内側皮膚の発赤が投与期間の前半に顕著に認められた。雄では中枢抑制症状がみられ、眼瞼下垂を伴っていた。雌雄各 1 例を除く全例が投与 3 週から極端な摂餌の減少と反復性の嘔吐を示し、削瘦および衰弱を示した。衰弱の著しい雌雄各 1 例に 2 回にわたり輸液を行ったが、雄の 1 例は投与 22 日に起立不能となり切迫屠殺した。

2) 体重 (Table 1)

50 mg/kg 群では、雄に体重増加抑制傾向が認められた。200 mg/kg 群では、雌雄ともに体重減少が認められ、これらの群の雌では対照群に比べ、2 週目以降の体重に有意差が認められた。

3) 摂餌量 (Table 2)

50 mg/kg 群では、雌雄ともに対照群に比べ摂餌量の減少がみられ、雄では投与 1 週, 雌では投与 2 および 4 週に対照群に比べ有意な減少を示した。

2. 臨床検査

1) 眼検査

12.5 および 50 mg/kg 群では異常は認められなかった。200 mg/kg 群では切迫屠殺した雄の 1 例で両眼角膜の軽度の混濁が認められた。

2) 心電図検査 (Table 3)

Table 1 Body weight changes in dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Sex	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Body weight (kg)				
			Week 0	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Male	Control	3	9.7±0.3 ^{a)}	10.0±0.5	10.2±0.6	10.2±0.6	10.5±0.8
	12.5	3	9.2±0.4	9.5±0.3	9.7±0.4	9.7±0.4	9.7±0.4
	50	3	9.3±0.3	9.3±0.3	9.5±0.3	9.3±0.2	9.3±0.2
	200	3	9.7±0.2	9.0±0.3	8.5±0.6	7.7±0.9	8.0±1.5 ^{b)}
Female	Control	3	8.0±0.3	8.2±0.2	8.2±0.2	8.3±0.3	8.5±0.3
	12.5	3	7.8±0.3	8.0±0.3	8.3±0.3	8.3±0.3	8.3±0.3
	50	3	8.0±0.6	8.0±0.6	8.0±0.6	8.0±0.9	8.2±0.9
	200	3	7.7±0.3	7.2±0.6	6.8±0.3*	6.2±0.3*	5.8±0.4*

* P<0.05

^{a)} Mean ± S.E.

^{b)} Number of dogs = 2

Table 2 Food consumption in dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Sex	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Food consumption (g)			
			Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Male	Control	3	1,750±0 ^{a)}	1,750±0	1,750±0	1,750±0
	12.5	3	1,717±33	1,557±142	1,691±59	1,725±25
	50	3	1,583±108	1,680±70	1,460±180	1,251±121
	200	3	583±143*	1,153±341	975±308	722±658 ^{b)}
Female	Control	3	1,750±0	1,750±0	1,750±0	1,737±13
	12.5	3	1,690±60	1,750±0	1,750±0	1,627±74
	50	3	1,390±238	1,397±207	1,625±68	1,537±135
	200	3	860±313	804±120*	832±304	385±288*

* P<0.05

^{a)} Mean ± S.E.

^{b)} Number of dogs = 2

50および200 mg/kg 群の雌ではQ波高の増大が投与4週に認められたが、その他の解析値には異常を認めなかった。

3) 尿検査 (Table 4~Table 6)

200 mg/kg 群では雌雄とも尿量および Na⁺, K⁺, Cl⁻ の排泄量低下傾向が認められたほか、雄に蛋白の定性検査で陽性例が認められた。

4) 血液学的検査 (Table 7, Table 8)

200 mg/kg 群の雌雄では、RBC, Hb, Ht の増加傾向が認められた。ほかにも各投薬群に対照群との有意差を示す項目が散見されたが、用量相関性がなかった。

5) 血液生化学検査 (Table 9, Table 10)

投与4週後に、各投薬群とも対照群と有意差を示す項

目が散見されたが、いずれも投与開始前の値に比べほとんど差が認められなかった。切迫屠殺した200 mg/kg 群の1例では、GOT, GPT, TG, および UN の増加が認められた。

3. 病理学的検査

1) 臓器重量 (Table 11)

各投薬群に対照群と有意差を示す臓器が散見されたが、いずれも体重に関連した変化か、または用量相関性がなかった。

2) 病理学的所見 (Table 12, Table 13)

投薬に関連すると思われる所見は以下のとおりであった。

関節軟骨 (Photo. 1, Photo. 2): 肉眼的に大腿骨お

Table 3 Electrocardiographic data in dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Sex	Dose (mg/kg/day)	Control		12.5		50		200		
		0	4	0	4	0	4	0	4	
Male	No. of dogs	3	3	3	3	3	2	3	3	
	Heart rate (beats/min)	107 ± 10 ^a	104 ± 10	109 ± 15	107 ± 14	125 ± 18	128 ± 7	100 ± 10	114 ± 9	
	Amplitude (mV)	P	0.23 ± 0.02	0.25 ± 0.03	0.30 ± 0.00	0.27 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.30 ± 0.00	0.23 ± 0.03	0.32 ± 0.07
		Q	0.20 ± 0.10	0.22 ± 0.11	0.30 ± 0.06	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.40 ± 0.15	0.68 ± 0.29
		R	2.05 ± 0.22	1.95 ± 0.28	2.08 ± 0.19	2.23 ± 0.24	1.60 ± 0.20	1.43 ± 0.18	1.87 ± 0.33	2.03 ± 0.46
		S	0.42 ± 0.12	0.40 ± 0.15	0.28 ± 0.07	0.22 ± 0.09	0.48 ± 0.09	0.70 ± 0.05	0.45 ± 0.03	0.30 ± 0.23
		T	0.40 ± 0.10	0.35 ± 0.06	0.25 ± 0.08	0.05 ± 0.18	0.23 ± 0.06	0.20 ± 0.05	0.02 ± 0.26	0.42 ± 0.11
	Duration (sec)	P	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00
		PQ	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01
		QRS	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.00*	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.01
		QT	0.23 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.25 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.02
	No. of dogs	3	3	3	3	3	3	3	3	
Female	Heart rate (beats/min)	101 ± 10	89 ± 11	116 ± 9	112 ± 11	112 ± 17	122 ± 10	105 ± 15	94 ± 9	
	Amplitude (mV)	P	0.22 ± 0.04	0.27 ± 0.04	0.17 ± 0.04	0.18 ± 0.04	0.25 ± 0.00	0.28 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.22 ± 0.02
		Q	0.33 ± 0.11	0.37 ± 0.10	0.33 ± 0.10	0.38 ± 0.12	0.38 ± 0.03	0.80 ± 0.08**	0.57 ± 0.20	0.88 ± 0.14*
		R	1.98 ± 0.18	1.95 ± 0.18	2.07 ± 0.35	2.08 ± 0.26	2.17 ± 0.20	2.00 ± 0.05	1.73 ± 0.54	2.00 ± 0.44
		S	0.25 ± 0.06	0.08 ± 0.04	0.33 ± 0.04	0.23 ± 0.07	0.18 ± 0.02	0.08 ± 0.08	0.38 ± 0.06	0.15 ± 0.08
		T	0.08 ± 0.12	0.10 ± 0.15	0.10 ± 0.09	0.00 ± 0.18	0.18 ± 0.06	-0.20 ± 0.17	0.18 ± 0.17	0.17 ± 0.31
	Duration (sec)	P	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00
		PQ	0.11 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.01
		QRS	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.05 ± 0.01
		QT	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.26 ± 0.03

a) Mean ± S.E. * P < 0.05 (vs control) ** P < 0.05 (vs week 0)

Table 4 Urinalysis data in male dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Dose (mg/kg/day)	Control			12.5			50			200		
	0	4	4	0	4	4	0	4	4	0	4	4
Week	0	3	3	0	3	3	0	3	3	0	3	3
No. of dogs	17.2±1.1 ^{a)}	9.7±1.1	9.7±1.1	15.0±5.9	6.9±0.8	6.9±0.8	13.6±2.5	5.9±0.9	5.9±0.9	12.5±3.5	5.3±0.2 ^{b)}	5.3±0.2 ^{b)}
Volume (ml/h)	1,380±288	950±205	950±205	926±270	724±169	724±169	1,231±185	519±254	519±254	983±28	278±206 ^{b)}	278±206 ^{b)}
Na ⁺ (μEq/h)	1,701±226	1,481±91	1,481±91	1,402±465	1,121±257	1,121±257	1,108±326	1,205±422	1,205±422	895±123*	671±157 ^{b)}	671±157 ^{b)}
K ⁺ (μEq/h)	2,001±200	1,911±98	1,911±98	1,530±414	1,372±229	1,372±229	1,495±389	856±435	856±435	1,030±91*	295±233 ^{b)}	295±233 ^{b)}
Cl ⁻ (μEq/h)	6.5±0.0	6.2±0.2	6.2±0.2	6.3±0.2	6.2±0.3	6.2±0.3	6.2±0.2	6.2±0.2	6.2±0.2	6.8±0.3	6.2±0.2	6.2±0.2
pH	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Glucose ^{c)}	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.7±0.2	0.7±0.2
Urobilinogen ^{c)}	0.5±0.0	0.7±0.2	0.7±0.2	0.3±0.2	0.7±0.2	0.7±0.2	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.7±0.2	1.7±0.3	1.7±0.3
Protein ^{c)}	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Ketone bodies ^{c)}	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Blood pigment ^{c)}	1.7±0.3	2.3±0.3	2.3±0.3	2.0±0.6	2.3±0.7	2.3±0.7	2.3±0.3	2.7±0.3	2.7±0.3	2.7±0.3	2.3±0.7	2.3±0.7
E	2.0±0.6	2.3±0.7	2.3±0.7	2.0±0.6	3.0±0.0	3.0±0.0	2.0±0.6	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	2.0±0.6	2.0±0.6
L	0.7±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0	1.0±0.6	0.3±0.3	0.3±0.3	0.3±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.3	0.7±0.3	0.7±0.3
R	1.3±0.9	2.0±0.6	2.0±0.6	1.0±1.0	1.3±0.9	1.3±0.9	1.3±0.9	0.3±0.3	0.3±0.3	2.0±0.6	0.3±0.3	0.3±0.3
O	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
C	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
A	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

* P<0.05 (vs control)

a) Mean±S.E.

b) Number of dogs=2

c) Urolabstix unit (-:0, ±:0.5, +:1, #:2)

d) E: epithelial cells, L: leucocytes, R: red blood cells, O: organisms, C: casts, A: abnormal substances
(O: nil, I: a few in some fields, 2: a few in all fields, 3: many in all fields)

Table 5 Urinalysis data in female dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Dose (mg/kg/day)	Control				12.5				50				200				
	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	
Week	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	
No. of dogs	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
Volume (ml/h)	14.4±1.8 ^{a)}	17.2±3.4	8.0±2.0	7.6±2.2	11.4±2.6	8.8±1.7	504±213	25.0±8.3	1,757±316	64 ^{b)}	340 ^{b)}	85 ^{b)}	5.7±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±0.0
Na ⁺ (μEq/h)	939±134	1,017±186	970±154	1,057±140	474±171	504±213	1,757±316	64 ^{b)}	340 ^{b)}	85 ^{b)}	5.7±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±0.0
K ⁺ (μEq/h)	1,300±338	1,692±168	831±219	1,050±388	553±261	1,140±363	2,138±484	1,451±340	85 ^{b)}	5.7±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±0.0
Cl ⁻ (μEq/h)	1,390±445	1,988±88	1,006±429	1,300±450	631±398	1,084±476	1,451±340	85 ^{b)}	5.7±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±0.0
pH	5.8±0.2	6.0±0.3	6.3±0.2	6.3±0.2	6.3±0.2	6.2±0.2	6.3±0.2	5.7±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±0.0
Glucose ^{c)}	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±0.0
Urobilinogen ^{e)}	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0
Protein ^{e)}	0.5±0.0	0.2±0.2	0.5±0.0	1.0±0.5	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0
Ketone bodies ^{f)}	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Blood pigment ^{e)}	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.3±0.3
E	2.0±0.6	1.7±0.7	1.7±0.3	1.3±0.3	2.0±0.0	2.0±0.6	1.7±0.3	1.0±1.0	1.7±0.7	1.3±0.9	0.7±0.7	1.7±0.9	2.0±1.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
L	3.0±0.0	2.3±0.3	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0
R	1.0±0.0	0.0±0.0	0.7±0.7	0.0±0.0	1.0±0.6	0.6±0.3	1.3±0.3*	1.7±0.9	2.3±0.7	1.0±0.6	0.6±0.3	1.3±0.9	2.0±1.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
O	3.0±0.0	1.7±0.9	1.7±0.9	1.0±0.6	2.3±0.7	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6	1.0±0.6
C	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
A	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

* P<0.05 (vs control)

a) Mean±S.E.

b) Number of dogs=1 (Other dogs showed anuria.)

c), d) See Table 4.

Table 6 Urinary protein excretion and osmolarity in dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Sex	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Protein excretion ($\mu\text{g/h}$)		Osmolarity (mOsm/L)
			Week 0	Week 4	Week 4
Male	Control	3	720 \pm 203 ^{a)}	453 \pm 94	1,603 \pm 275
	12.5	3	1,342 \pm 815	600 \pm 193	1,701 \pm 394
	50	3	594 \pm 140	632 \pm 177	1,791 \pm 188
	200	3	544 \pm 265	899 \pm 205 ^{b)}	1,195 \pm 139
Female	Control	3	650 \pm 170	1,036 \pm 137	1,045 \pm 332
	12.5	3	519 \pm 102	410 \pm 49	1,551 \pm 212
	50	3	417 \pm 126	506 \pm 56	1,221 \pm 204
	200	3	1,203 \pm 147	ND	1,343 \pm 192

a) Mean \pm S.E.

b) Number of dogs=2

ND: Not determined because of anuria

よび上腕骨遠位端の関節軟骨の水疱形成および限局性びらんが 50 および 200 mg/kg 群に高頻度に認められた。組織学的には関節軟骨の限局性の空隙形成あるいはびらんが認められた。空隙は扁平嚢状で周囲軟骨基質は粗鬆化ないし融解し、外壁を形成する軟骨組織が剝離し、びらんを形成している例も観察された。

胃 (Photo. 3, Photo. 4): 胃底腺の主細胞および壁細胞の空胞変性が、200 mg/kg 群に高頻度にみられた。主細胞および壁細胞は細胞質の空胞化により顕著に腫脹し、腺腔の狭小化を伴っていた。

膵 (Photo. 5, Photo. 6): 小葉内導管上皮細胞の腫脹が 200 mg/kg に高頻度に認められた。その上皮の細胞質は空胞状に腫脹し粗大顆粒状の PAS 陽性物質を含有していた。

胸骨髄: 脂肪置換を伴う骨髄系細胞の減少が 200 mg/kg 群の雌 1 例で観察された。

腸間膜リンパ節: 旁皮質領域のリンパ球減数およびリンパ濾泡の萎縮が 200 mg/kg 群に高頻度に認められた。

肝: 肝細胞のび漫性ないし門脈野周囲性の萎縮が 200 mg/kg 群に高頻度に認められた。肝細胞質は緊密となり、類洞の軽度拡張もみられた。

腎: 近位尿細管上皮における脂肪沈着が 200 mg/kg 群の雌 2 例にみられた。

子宮: 肉眼的に萎縮が 200 mg/kg 群の雌全例にみられた。組織学的には子宮内膜および筋層の萎縮が認められた。なお 50 mg/kg 群の雌 1 例にも同様の組織所見が得られた。

乳腺脂肪織: 顕著な萎縮が 200 mg/kg 群に高頻度に

認められた。

胸腺: 肉眼的に萎縮が 50 mg/kg 群の雄 1 例, 200 mg/kg 群の雌雄各 1 例に認められた。これらの動物においては組織学的に皮質リンパ球の減数がみられ、同様の変化は肉眼的に変化がみられなかった 200 mg/kg 群の雌雄各 1 例においても認められた。

その他に種々の肉眼的、組織学的変化が認められたが、それらの発現状態に用量相関性がなく、変化の性質を考慮し、投薬と関連のない変化とみなした。

また胸大動脈、唾液腺、精巢上体、卵巣、大腿骨、大腿筋、副腎、脳、脊髄、坐骨神経および眼には変化が認められなかった。

なお投薬期間中に瀕死期屠殺した 200 mg/kg 群の雄の例では顕著な削瘦、生殖器の萎縮および大腿骨遠位端関節軟骨表面の限局性のびらんが認められた。組織学的には胸骨髄の骨髄細胞の減少、腸間膜リンパ節の旁皮質領域のリンパ球の減少、胃底腺-腺細胞の空胞変性、肝細胞萎縮、膵導管上皮細胞の腫脹、腎近位尿細管上皮の脂肪沈着、精巢の精子形成能低下像、大腿骨関節軟骨のびらんおよび胸腺皮質細胞の減少が認められた。

III. 総括および考察

合成抗菌剤 DL-8280 をイヌに 4 週間経口投与し亜急性毒性をしらべた。

その結果、一般観察では 50 および 200 mg/kg 群に嘔吐、流涎、自発運動低下、よろめき歩行、振戦および皮膚の発赤が認められ、これらの変化の程度や頻度は用量に相関していた。200 mg/kg 群では飼料摂取量が減少しており、それに伴って体重の減少が明らかであった。

Table 7 Hematology data in male dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Dose (mg/kg/day)	Control		12.5		50		200		
	0	4	0	4	0	4	0	4	
Week									
No. of dogs	3	3	3	3	3	3	3	3	
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	5.45±0.26 ^{a)}	5.76±0.21	5.85±0.14	6.28±0.07	5.99±0.24	6.25±0.34	5.85±0.19	6.95±0.38	
Hb (g/dl)	12.9±1.1	13.6±0.4	13.7±0.2	15.5±0.5*	14.0±0.3	14.8±0.4	13.8±0.3	16.6±0.8**	
Ht (%)	41.2±2.8	43.0±1.5	43.8±0.4	47.8±0.4**	44.0±0.8	46.7±1.1	43.3±0.4	51.0±1.5**	
MCV (μ^2)	75.4±1.7	74.6±0.3	75.0±1.2	76.2±0.9	73.6±1.8	75.0±2.5	74.2±1.8	73.6±2.6	
MCHC (%)	31.3±0.4	31.6±0.3	31.3±0.1	32.3±0.9	31.8±0.1	31.8±0.1	31.9±0.4	32.5±0.7	
Ret (%RBC)	0.49±0.07	0.37±0.09	0.33±0.02	0.22±0.08	0.42±0.13	0.37±0.04	0.39±0.16	0.36±0.18	
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	11.88±0.78	10.75±0.90	12.49±0.63	7.94±1.01	9.60±0.82	9.20±0.52	10.50±0.22	10.09±1.95	
Differential (%) ^{b)}	N	62.5±5.4	63.5±3.2	57.2±4.9	59.8±2.5	50.5±3.3	63.7±5.2	52.0±5.7	73.7±4.9
	L	31.3±4.6	28.3±3.3	38.8±4.9	33.2±1.9	38.5±1.5	27.7±3.2	42.8±6.5	20.3±5.8
	M	2.7±0.9	2.7±0.7	2.7±0.6	2.8±0.6	5.2±1.4	4.7±0.6	3.0±0.9	4.8±0.6
	E	3.5±1.5	5.2±0.2	1.3±0.3	4.2±1.1	5.8±2.3	4.0±1.5	2.2±0.4	1.2±0.3*
	B	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
O	0.0±0.0	0.3±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.2±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	
Plt ($10^6/\text{mm}^3$)	0.192±0.032	0.156±0.017	0.188±0.054	0.162±0.033	0.136±0.008	0.143±0.023	0.192±0.021	0.188±0.035	
PT (sec)	5.3±0.1	5.8±0.1	5.2±0.0	6.0±0.1	5.6±0.1	5.7±0.1	5.4±0.1	6.1±0.1	
G/E		1.33±0.27		1.33±0.32		1.13±0.07		1.50±0.05	

* $P < 0.05$ (vs control)# $P < 0.05$ (vs week 0)

a) Mean ± S.E.

b) N: neutrophils, L: lymphocytes, M: monocytes, E: eosinophils, O: others

Table 8 Hematology data in femal dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Dose (mg/kg/day)	Control		12.5		50		200		
	0	4	0	4	0	4	0	4	
Week									
No. of dogs	3	3	3	3	3	3	3	3	
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	5.73±0.34 ^{a)}	5.64±0.22	6.34±0.16	6.60±0.26	6.40±0.34	6.64±0.23*	5.93±0.33	6.60±0.23*	
Hb (g/dl)	13.8±0.9	13.4±0.6	14.4±0.5	15.4±0.4*	14.5±0.2	15.7±0.5*	13.9±0.6	15.5±0.9	
Ht (%)	43.2±2.2	42.7±2.0	44.7±1.1	46.3±0.9	45.3±0.6	49.7±2.4	43.2±1.7	48.3±2.4	
MCV (μ^3)	75.5±0.7	75.6±1.2	70.5±0.5*	70.4±1.6	71.1±2.7	74.7±1.0	72.9±1.4	73.2±1.2	
MCHC (%)	31.9±0.5	31.3±0.2	32.3±0.4	32.9±0.5*	32.0±0.1	31.8±0.8	32.1±0.3	32.1±0.3	
Ret (%RBC)	0.52±0.10	0.23±0.05	0.44±0.01	0.34±0.10	0.50±0.02	0.39±0.07	0.64±0.28	0.20±0.05	
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	9.71±0.12	9.34±0.18	11.96±1.55	11.07±3.17	10.59±0.98	9.75±0.64	10.56±0.93	8.21±2.02	
Differential (%) ^{b)}	N	62.8±6.6	58.3±4.6	55.8±4.5	60.0±7.4	55.3±3.5	58.5±4.0	52.0±7.5	63.3±7.5
	L	32.8±5.9	34.2±2.7	38.7±3.1	33.3±8.4	35.3±4.7	32.7±4.5	42.2±8.1	30.8±7.6
	M	3.2±0.9	3.5±1.0	2.8±0.4	2.7±1.2	5.0±0.8	4.2±0.6	2.5±0.8	4.3±1.4
	E	1.2±0.7	3.8±1.1	2.7±1.7	3.8±1.5	3.8±0.7*	4.3±1.1	3.3±0.9	1.5±0.6
	B	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
O	0.0±0.0	0.2±0.2	0.0±0.0	0.2±0.2	0.5±0.3	0.3±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	
Plt ($10^6/\text{mm}^3$)	0.172±0.014	0.150±0.012	0.226±0.035	0.198±0.023	0.180±0.006	0.174±0.009	0.242±0.026	0.211±0.029	
PT (sec)	5.4±0.1	5.7±0.0	5.5±0.1	5.8±0.1	5.6±0.1	5.8±0.1	5.4±0.2	5.9±0.2	
G/E		0.95±0.06		1.47±0.58		0.89±0.09		1.51±0.29	

* P<0.05(vs control)

a) Mean ± S.E.

b) See Table 7.

Table 9 Serum biochemistry data in male dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Dose (mg/kg/day)	Control		12.5		50		200	
	0	4	0	4	0	4	0	4
Week								
No. of dogs	3	3	3	3	3	3	3	3
GOT (IU)	42±5 ^{a)}	35±2	48±1	34±2	39±1	28±4	44±1	49±23
GPT (IU)	36±1	31±2	34±3	29±3	33±2	24±2	36±3	53±26
ALP (KAU)	8.2±1.2	7.1±1.2	6.6±0.6	5.6±0.7	7.7±0.8	6.7±0.5	10.5±2.2	5.5±0.4
LAP (IU)	49±5	31±2	47±9	29±6	40±1	32±1	54±6	31±1
TG (mg/dl)	59±6	58±23	71±6	64±7	57±7	63±10	74±12	148±39
CHE (ΔpH)	0.45±0.04	0.41±0.01	0.36±0.06	0.38±0.06	0.58±0.03	0.52±0.04	0.56±0.04	0.48±0.04
BIL (mg/dl)	0.14±0.01	0.18±0.02	0.16±0.02	0.17±0.01	0.15±0.00	0.18±0.03	0.16±0.02	0.32±0.04
CRE (mg/dl)	0.53±0.02	0.63±0.06	0.63±0.12	0.54±0.04	0.46±0.02	0.53±0.02	0.59±0.07	0.87±0.24
UN (mg/dl)	15.5±0.4	15.5±1.6	16.6±2.2	13.4±1.0	12.5±1.0	12.7±1.2	13.6±1.9	41.3±24.5
UA (mg/dl)	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.2±0.1
GLU (mg/dl)	70±4	66±5	64±5	66±4	73±2	67±5	75±6	55±10
TP (g/dl)	5.09±0.03	4.83±0.09	5.16±0.07	4.82±0.05	5.39±0.09*	5.20±0.27	5.30±0.09	5.12±0.34
ALB (g/dl)	3.12±0.11	3.02±0.03	3.18±0.02	3.17±0.03*	3.40±0.10	3.34±0.18	3.29±0.04	3.32±0.12
A/G	1.58±0.12	1.68±0.10	1.62±0.09	1.93±0.05	1.71±0.07	1.80±0.07	1.64±0.07	1.88±0.16
P (mg/dl)	5.5±0.5	5.4±0.5	5.6±0.3	5.1±0.5	5.4±0.3	5.6±0.5	6.0±0.2	6.0±0.4
CHO (mg/dl)	182±8	153±15	190±8	160±1	179±2	174±10	190±14	123±11
Na ⁺ (mEq/L)	146±1	145±0	146±1	146±1	147±0	146±0	146±1	146±1
K ⁺ (mEq/L)	4.9±0.1	5.0±0.1	5.2±0.1	4.8±0.1	4.9±0.1	5.6±0.0	5.0±0.1	4.8±0.1
Cl ⁻ (mEq/L)	112±1	112±1	109±1	111±0	109±0*	109±0	109±1	103±4

* P<0.05 (vs control)

^{a)} Mean ± S.E.

Table 10 Serum biochemistry data in female dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Dose (mg/kg/day)	Control				12.5				50				200			
	0	4	4	4	0	4	4	4	0	4	4	4	0	4	4	4
Week																
No. of dogs	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
GOT (IU)	53±3 ^{a)}	41±4	49±4	37±2	45±8	36±2	33±5	43±6	37±5	36±2	33±5	30±4	42±5	37±5	37±5	37±5
GPT (IU)	43±5	30±2	34±4	33±5	34±9	33±5	33±5	30±4	42±5	33±5	33±5	30±4	42±5	37±5	37±5	37±5
ALP (KAU)	7.3±0.5	6.6±0.5	7.6±0.6	7.4±0.5	7.8±0.4	6.9±0.6	7.4±0.5	10.6±3.2	5.5±1.1	6.9±0.6	6.9±0.6	10.6±3.2	5.5±1.1	5.5±1.1	5.5±1.1	5.5±1.1
LAP (IU)	40±2	29±1	39±6	32±6	37±5	30±5	32±6	39±2	26±4	37±5	30±5	39±2	26±4	26±4	26±4	26±4
TG (mg/dl)	66±5	61±11	62±1	69±1	72±3	82±11	69±1	59±5	105±8 [*]	72±3	82±11	59±5	105±8 [*]	105±8 [*]	105±8 [*]	105±8 [*]
CHE (ΔpH)	0.58±0.07	0.52±0.07	0.47±0.03	0.48±0.01	0.55±0.05	0.51±0.02	0.48±0.01	0.51±0.07	0.41±0.04	0.55±0.05	0.51±0.02	0.51±0.07	0.41±0.04	0.41±0.04	0.41±0.04	0.41±0.04
BIL (mg/dl)	0.17±0.00	0.20±0.04	0.18±0.02	0.20±0.02	0.22±0.03	0.19±0.03	0.20±0.02	0.17±0.01	0.26±0.08	0.22±0.03	0.19±0.03	0.17±0.01	0.26±0.08	0.26±0.08	0.26±0.08	0.26±0.08
CRE (mg/dl)	0.49±0.02	0.60±0.02	0.63±0.10	0.59±0.06	0.76±0.07 [*]	0.75±0.18	0.59±0.06	0.62±0.04	0.59±0.05	0.76±0.07 [*]	0.75±0.18	0.62±0.04	0.59±0.05	0.59±0.05	0.59±0.05	0.59±0.05
UN (mg/dl)	12.9±1.3	13.9±1.1	15.6±0.4	14.4±0.8	17.8±3.1	16.2±1.3	14.4±0.8	14.3±1.4	15.9±3.5	17.8±3.1	16.2±1.3	14.3±1.4	15.9±3.5	15.9±3.5	15.9±3.5	15.9±3.5
UA (mg/dl)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
GLU (mg/dl)	68±2	63±4	64±10	61±9	72±4	62±2	61±9	78±3 [*]	55±11	72±4	62±2	78±3 [*]	55±11	55±11	55±11	55±11
TP (g/dl)	5.12±0.20	4.75±0.16	5.33±0.10	5.18±0.14	5.17±0.23	5.14±0.24	5.18±0.14	5.07±0.17	4.81±0.05	5.17±0.23	5.14±0.24	5.07±0.17	4.81±0.05	4.81±0.05	4.81±0.05	4.81±0.05
ALB (g/dl)	3.22±0.12	3.08±0.09	3.27±0.14	3.34±0.11	3.36±0.08	3.39±0.08	3.34±0.11	3.17±0.09	3.12±0.06	3.36±0.08	3.39±0.08	3.17±0.09	3.12±0.06	3.12±0.06	3.12±0.06	3.12±0.06
A/G	1.70±0.06	1.87±0.10	1.59±0.10	1.82±0.12	1.88±0.11	1.95±0.12	1.82±0.12	1.67±0.08	1.85±0.09	1.88±0.11	1.95±0.12	1.67±0.08	1.85±0.09	1.85±0.09	1.85±0.09	1.85±0.09
P (mg/dl)	5.4±0.2	4.8±0.2	4.6±0.3	4.6±0.1	5.3±0.2	5.1±0.4	4.6±0.1	5.4±0.1	5.3±0.1	5.3±0.2	5.1±0.4	5.4±0.1	5.3±0.1	5.3±0.1	5.3±0.1	5.3±0.1
CHO (mg/dl)	151±12	139±11	162±10	156±16	165±2	158±3	156±16	159±11	106±9	165±2	158±3	159±11	106±9	106±9	106±9	106±9
Na ⁺ (mEq/L)	146±0	145±1	147±1	148±1	147±1	146±0	148±1	146±0	143±2	147±1	146±0	146±0	143±2	143±2	143±2	143±2
K ⁺ (mEq/L)	5.0±0.1	4.7±0.1	5.3±0.1	5.0±0.0 [*]	5.2±0.2	5.2±0.0 [*]	5.0±0.0 [*]	5.2±0.2	4.7±0.1	5.2±0.2	5.2±0.0 [*]	5.2±0.2	4.7±0.1	4.7±0.1	4.7±0.1	4.7±0.1
Cl ⁻ (mEq/L)	113±2	112±1	113±1	113±1	109±1	112±1	113±1	114±1	103±5	109±1	112±1	114±1	103±5	103±5	103±5	103±5

* P<0.05 (vs control)

P<0.05 (vs week 0)

a) Mean ± S.E.

Table 11 Organ weight data in dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Sex	Organ	Control	12.5 mg/kg/day	50 mg/kg/day	200 mg/kg/day
Male	No. of dogs	3	3	3	2
	Body weight (kg)	10.3 ± 0.7 ^{a)}	9.7 ± 0.4	9.5 ± 0.3	8.0 ± 1.5
	Brain (g)	91.5 ± 5.2	74.1 ± 4.2	81.1 ± 6.7	87.6 ± 6.4
		(g/kg)	8.9 ± 0.3	7.7 ± 0.4	8.5 ± 0.7
	Heart (g)	103.4 ± 13.0	81.2 ± 13.4	82.2 ± 5.5	74.8 ± 9.7
		(g/kg)	9.9 ± 0.7	8.3 ± 1.0	8.6 ± 0.3
	Spleen (g)	27.1 ± 2.9	21.2 ± 2.2	23.2 ± 2.6	22.8 ± 4.3
		(g/kg)	2.6 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.4 ± 0.2
	Lung (g)	77.1 ± 3.8	70.3 ± 2.2	77.3 ± 2.9	73.7 ± 12.7
		(g/kg)	7.5 ± 0.2	7.3 ± 0.4	8.2 ± 0.5
	Liver (g)	299.3 ± 9.7	275.3 ± 18.7	331.3 ± 38.8	260.0 ± 56.0
		(g/kg)	29.3 ± 2.7	28.4 ± 0.6	34.7 ± 3.0
	Kidney (g)	43.1 ± 2.6	43.4 ± 5.2	47.0 ± 3.6	44.3 ± 8.5
		(g/kg)	4.2 ± 0.2	4.5 ± 0.3	4.9 ± 0.3
	Testis (g)	13.7 ± 1.8	12.1 ± 0.5	13.3 ± 1.0	14.5 ± 1.3
		(g/kg)	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.0	1.4 ± 0.1
	Hypophysis (mg)	73.7 ± 5.2	69.0 ± 6.2	83.7 ± 5.5	72.0 ± 2.0
(mg/kg)		7.2 ± 0.5	7.1 ± 0.3	8.8 ± 0.3	9.3 ± 1.5
Thyroid (g)	0.99 ± 0.02	0.82 ± 0.19	0.88 ± 0.09	0.89 ± 0.18	
	(g/kg)	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.00
Adrenal (g)	0.94 ± 0.06	1.04 ± 0.08	0.91 ± 0.08	1.24 ± 0.18	
	(g/kg)	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.16 ± 0.05
Female	No. of dogs	3	3	3	3
	Body weight (kg)	8.5 ± 0.3	8.3 ± 0.3	8.3 ± 0.7	5.8 ± 0.4*
	Brain (g)	77.8 ± 1.6	75.1 ± 1.6	70.1 ± 2.4	76.3 ± 3.8
		(g/kg)	9.2 ± 0.2	9.0 ± 0.3	8.5 ± 0.6
	Heart (g)	75.3 ± 4.3	69.1 ± 2.1	72.8 ± 6.6	55.4 ± 5.3*
		(g/kg)	8.9 ± 0.4	8.3 ± 0.1	8.7 ± 0.1
	Spleen (g)	21.4 ± 3.0	22.4 ± 1.5	23.4 ± 2.2	13.6 ± 1.3
		(g/kg)	2.5 ± 0.4	2.7 ± 0.3	2.8 ± 0.1
	Lung (g)	72.7 ± 4.7	68.0 ± 2.5	66.7 ± 6.4	59.5 ± 1.2
		(g/kg)	8.5 ± 0.3	8.2 ± 0.0	8.0 ± 0.1
	Liver (g)	256.7 ± 21.9	249.3 ± 15.6	247.0 ± 4.4	191.0 ± 18.9
		(g/kg)	30.1 ± 1.8	29.9 ± 1.1	30.0 ± 2.2
	Kidney (g)	35.7 ± 2.6	35.6 ± 1.1	37.4 ± 2.0	33.6 ± 1.9
		(g/kg)	4.2 ± 0.2	4.3 ± 0.3	4.5 ± 0.2
	Ovary (g)	0.70 ± 0.04	0.67 ± 0.05	0.57 ± 0.09	0.63 ± 0.01
		(g/kg)	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01
	Hypophysis (mg)	70.7 ± 5.0	61.0 ± 7.0	66.3 ± 5.4	57.3 ± 1.8
(mg/kg)		8.3 ± 0.6	7.3 ± 0.9	8.0 ± 0.4	10.0 ± 1.0
Thyroid (g)	0.92 ± 0.05	0.83 ± 0.08	0.69 ± 0.02*	0.68 ± 0.15	
	(g/kg)	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.11 ± 0.02
Adrenal (g)	0.94 ± 0.15	0.83 ± 0.03	0.97 ± 0.10	1.20 ± 0.21	
	(g/kg)	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.21 ± 0.05

* P < 0.05 (vs control)

^{a)} Mean ± S.E.

Table 12 Macroscopic findings in dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Sex	Male				Female				
	Dose (mg/kg/day)	Control	12.5	50	200	Control	12.5	50	200
No. of dogs		3	3	3	3	3	3	3	3
Spleen									
: focal fibrous thickening on the surface		0*	1	0	0	0	0	1	0
Cervical lymph nodes									
: blood absorption		0	0	0	0	0	0	0	1
Lung									
: pneumonic foci		1	0	0	1	1	1	1	0
: pale brownish foci		0	0	1	0	0	0	0	0
: brownish spots		0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach									
: bile-coloured content		0	0	0	1	0	0	0	2
: congestion and/or petechiae		0	1	0	0	0	1	0	0
Small intestine									
: congestion and/or petechiae		1	1	0	2	0	1	0	3
: congestion in peri-lymph apparatus		0	1	0	0	0	0	0	0
: enlargement of lymph apparatus		0	1	0	0	0	0	0	0
Large intestine									
: congestion and/or petechiae		0	2	2	0	0	2	1	1
Gall bladder									
: distention		0	0	0	1	0	0	0	2
Urinary bladder									
: hematuria content		1	0	0	0	0	0	0	0
: reddish or yellowish spots		0	0	2	0	1	0	0	0
Prostate									
: atrophy		1	2	1	0
Uterus									
: atrophy		0	0	0	3
Articular cartilage									
: erosion or blister, distal portion of humerus		0	0	1	0	0	0	1	0
: erosion or blister, distal portion of femur		0	0	2	2	0	0	2	2
Thymus									
: atrophy		0	0	1	1	0	0	0	1
Thyroid									
: atrophy		0	1	0	0	0	0	0	0
Skin									
: eruption with alopecia, ventral part		0	0	0	0	1	0	0	0

* Number of dogs showing the changes

流涎は投薬初期に認められず嘔吐を反復した後出現し、しばしば投与前にもみられたことから、本薬物のにがみまたは拒否反応の表現であろうと考えられた。

また自発運動低下、よろめき歩行、振戦および皮膚の発赤は、いずれも本薬物の中枢抑制作用や末梢血管拡張作用に基づく変化と思われる。

削瘦、衰弱を示した動物では、いずれも激しい嘔吐が認められたことから、反復する嘔吐による体液損失と摂餌不能による栄養不全が原因と考えられた。

臨床検査では尿量および尿中電解質排泄量減少傾向が200 mg/kg 群雌雄に認められたが、これは反復する嘔吐

による体液の損失が原因と考えられた。

赤血球数の増加、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の高値が各投薬群に散見されたが、200 mg/kg 群では特にこれらの高値が脱水症状の重篤な例で著明であったことから血液濃縮が一因と考えられた。なお、各投薬群とも Wintrobe 恒数 (MCV, MCHC) には変化がなく、網赤血球数増加や骨髓所見で赤芽球過形成を認めなかった。従って造血機能は亢進していなかったものと考えられた。

イヌに nalidixic acid 200 mg/kg/day を連投した別の実験⁴⁾では、DL-8280 よりさらに強い嘔吐作用を示し、

Table 13 Microscopic findings dogs treated orally with DL-8280 for 4 weeks

Sex	Male				Female				
	Dose (mg/kg/day)	Control	12.5	50	200	Control	12.5	50	200
No. of dogs	3	3	3	2	3	3	3	3	3
Heart									
: perivascular histiocytic reaction	0* (0)**	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)
: carcified fragmentation of cardiomyofibers, focal	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Sternal marrow									
: decreased number of myelocytes	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1/2* (0.5)
Spleen									
: perisplenic fibrotic lesion	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)
Mesenteric lymphnode									
: decreased number of paracortical lymphocytes	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0.7)
Lung									
: focal pneumonia	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)
Stomach									
: vacuolar degeneration of parietal cells and/or chief cells	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.7)
Duodenum									
: congestion	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.5)	1 (0.3)	2 (0.7)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)
Jejunum									
: congestion	0 (0)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.5)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	3 (1.0)
Ileum									
: congestion	1 (0.3)	0 (0)	3 (1.0)	1 (0.5)	1 (0.3)	0 (0)	2 (0.7)	2 (0.7)	2 (0.7)
: dilatation of crypt	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)
Cecum									
: congestion	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
: dilatation of crypt	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)
: villous hemorrhage	0 (0)	1 (0.3)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
: blood absorption in lymphoid tissue	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Colon									
: congestion	1 (0.3)	1 (0.3)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)
Rectum									
: congestion	1 (0.3)	0 (0)	1 (0.3)	2 (1.0)	0 (0)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)
: blood absorption in lymphoid tissue	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Liver									
: atrophy of hepatocytes	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)
Pancreas									
: swelling of ductal epithelial cells	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0.7)
: acinar atrophy with centroacinous cell and ductal cell hyperplasia	1 (0.3)	1 (0.7)	1 (0.3)	1 (0.5)	3 (1.3)	2 (0.7)	2 (0.7)	2 (0.7)	2 (0.7)

Table 13 (Continued)

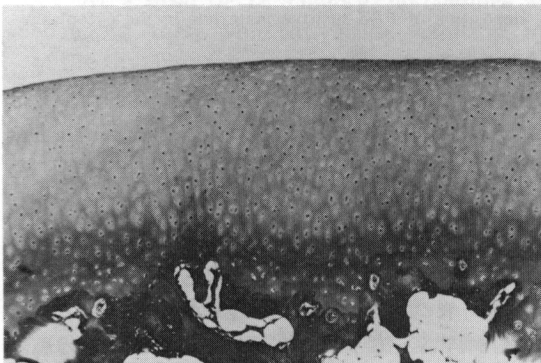
Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg/day)	Control	12.5	50	200	Control	12.5	50
No. of dogs	3	3	3	2	3	3	3	3
Kidney								
: fatty deposition of proximal tubular epithelia	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0.7)
Urinary bladder								
: congestion	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)
: intramucosal hemorrhage	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)
Uterus								
: atrophy of endometrium and myometrium	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	3 (2.0)
Mammary fat pad								
: atrophy of adipose tissue	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)
Articular cartilage								
: cavitation or erosion, distal portion of femur	0 (0)	0 (0)	2 (0.7)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	2 (0.7)	2 (0.7)
: erosion, distal portion of humerus	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Thymus								
: decreased number of cortical lymphocytes	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	2 (1.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.3)
Parathyroid								
: cyst formation	0/2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	1 (0.3)	0 (0)	1 (0.3)
Hypophysis								
: cyst formation in adenohypophysis	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)
Lacrimal gland								
: inflammation	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	1 (0.3)
Skin								
: microabscess	1/1 (1)	.	.	.

* Number of dogs showing the changes

** The group mean histopathological score (0: no change (-), 1: slight (+), 2: moderate (#), 3: severe (##))

Missing one dog

Photo. 1 Articular cartilage from the distal portion of the femur from a female control dog (H-E stain, $\times 40$)



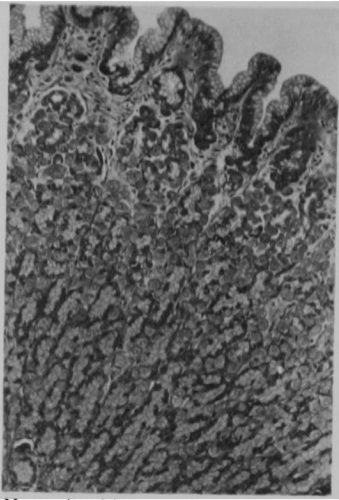
No noticeable change

Photo. 2 Articular cartilage from the distal portion of the femur from a female dog treated orally with 200 mg/kg of DL-8280 for 4 weeks (H-E stain, $\times 40$)



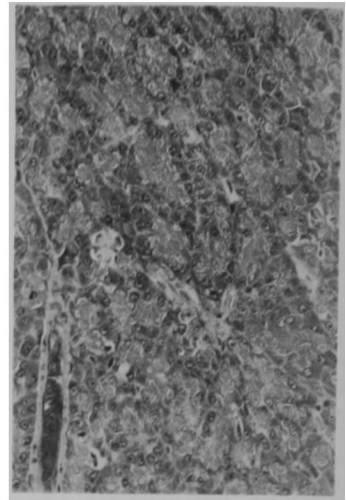
Cavitation with rarefaction in the surrounding matrix

Photo. 3 Stomach from a female control dog (H-E stain, $\times 50$)



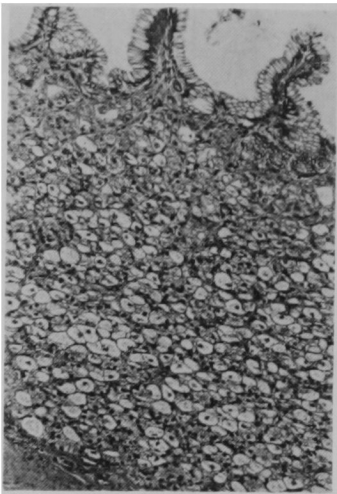
No noticeable change

Photo. 5 Pancreas from a female control dog (H-E stain, $\times 100$)



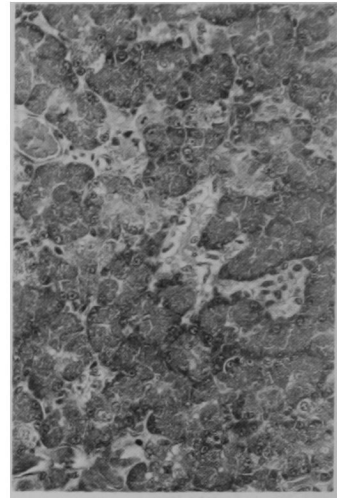
No noticeable change

Photo. 4 Stomach from a female dog treated orally with 200 mg/kg of DL-8280 for 4 weeks (H-E stain, $\times 50$)



Vacuolar degeneration of chief cells and parietal cells

Photo. 6 Pancreas from a female dog treated orally with 200 mg/kg of DL-8280 for 4 weeks (H-E stain, $\times 100$)



Swelling of intralobular ductal epithelia associated with deposition of PAS-positive materials in the cytoplasm

1週間後には顕著な血液濃縮をきたした成績が得られている。

これらのことから、臨床検査上の変化の多くは投薬による嘔吐作用に起因する脱水および栄養不全が原因であると考えられた。

病理学的には、50, 200mg/kg 群雌雄に認められた大腿骨顆および上腕骨滑車軟骨の空隙およびびらん形成は、本剤の類縁化合物である nalidixic acid, pipemidic acid, cinoxacin および oxolinic acid⁵⁻⁷⁾を投与された幼

若犬にも認められており、この種の薬物に共通する変化と考えられる。TATSUMI ら⁶⁾によれば、pipemidic acidによる関節病変は生後9ヵ月までのイヌに起こるが、生後1年になると起こらないという。今回使用したイヌは生後7ヵ月という比較的若齢のものであり、関節が薬物に対する感受性を十分にもっていたものと思われる。

また、胃の主細胞および壁細胞の空胞変性および膵の小葉内導管上皮細胞のPAS陽性物質の沈着を伴う腫張の原因については、これらの変化が、主に投薬終了時ま

で継続して嘔吐が観察され、顕著な体重増加抑制を示した動物に認められたことから、嘔吐により胃内に逆流した胆汁の影響が一因として考えられる。

一方、胸骨髄の骨髓系細胞の減数、腸間膜リンパ節のリンパ球減数、肝細胞萎縮、腎近位尿管上皮細胞の脂肪沈着、子宮の萎縮、乳腺脂肪の萎縮および胸腺皮質リンパ球の減数は、これらの変化が体重の減少した動物に集中して認められたことから低栄養性変化と考えられる。

投薬22日目に切迫屠殺した200 mg/kg 群雄1例は削瘦が著明で病理学的には生殖器萎縮、骨髓細胞の減少、リンパ系組織の萎縮性変化、肝細胞萎縮および腎尿管上皮の脂肪沈着を示したが、これらはいずれも低栄養性変化と考えられた。

以上のように本剤投与によって、各種の変化が認められたが、12.5 mg/kg/day の用量では毒性上重視すべき変化は認められず、本実験条件下における最大無作用量は12.5 mg/kg と推定される。

なお、本研究は昭和56年7月より昭和57年11月に実施した。

文 献

1) SATO, K.; Y. MATSUURA, M. INOUE, T. UNE, Y.

OSADA, H. OGAWA & S. MITSUHASHI: *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 22: 548~553, 1982

- 2) 大野広志, 稲毛富士郎, 赤羽浩一, 相原 清, 吉田貫由, 小野寺威: DL-8280 のマウス, ラット, イヌおよびサルにおける急性毒性. *Chemotherapy* 32 (S-1): 1084~1090, 1984
- 3) 小野寺威, 稲毛富士郎, 吉田貫由, 加藤道幸, 山田明甫: 合成抗菌剤 DL-8280 のラットにおける4週経口悪急性毒性. *Chemotherapy* 32 (S-1): 1091~1104, 1984
- 4) 野村 護, 稲毛富士郎: Nalidixic acid のイヌ4週経口悪急性毒性. (未発表)
- 5) GOUGH, A.; N.J. BARSOUM, L. MITCHELL, E.J. MCGUIRE & F.A. DE LA IGLESIA: Juvenile canine drug-induced arthropathy: clinico pathological studies on articular lesions caused by oxolinic and pipemidic acids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 51: 177~187, 1979
- 6) TATSUMI, H.; H. SENDA, S. YATERA, Y. TAKEMOTO, M. YAMAYOSHI & K. OHISHI: Toxicological studies on pipemidic acid. V. Effect on diarthrodial joints of experimental animals. *J. Toxic. Sci.* 3: 357~367, 1978
- 7) HOWARD, L.C.; D.C. VAN SICKLE, K. DESHMUKH, W.J. GRIFFING & N.V. OWEN: Cinoxacin induced arthropathy in juvenile beagle dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 48: Part 2, A 145, 1979

FOUR-WEEKS SUBACUTE TOXICITY OF DL-8280, A NEW SYNTHETIC ANTIBACTERIAL AGENTS, IN DOGS

MAMORU NOMURA, FUJIO INAGE, MICHYUKI KATO, KOUICHI AKAHANE,
KOJI KAKIHATA, AKIMOTO YAMADA and TAKESHI ONODERA

Research Institute, Daiichi Seiyaku Co., Ltd.

Subacute toxicity of DL-8280, a new synthetic antibacterial agent, was investigated in dogs by 4-weeks consecutive administration of a daily dose of 12.5, 50 and 200 mg/kg.

At a dose of 12.5 mg/kg, no changes were seen which were attributed to treatment. At 50 mg/kg, there were salivation, vomiting, hypoactivity, reddening of the skin surface, atrophy of the thymus seen occasionally in a few dogs and erosion of the articular cartilage in most dogs. At 200 mg/kg, the above signs were increased both in frequency and severity, and one male dog fell in moribund condition because of severe emesis. Other changes included, emaciation, anorexia, hypouresis, hemoconcentration, decrease of myelocyte in the sternal marrow, decrease of lymphocyte in the mesenteric lymph node, vacuolar degeneration of parietal cell and/or chief cell in the stomach, atrophy of the hepatocyte, swelling of the pancreatic ductal epithelial cell, fatty deposition of the renal proximal tubular epithelia and atrophy of mammary adipose tissue. All of the changes except for arthropathy were considered to be due to malnutrition and/or dehydration.

From these results, no-effect dose of DL-8280 is presumed to be 12.5 mg/kg under the present experimental condition.