

TMS-19-Q の安全性に関する研究 (I)

急性毒性試験およびラットにおける亜急性毒性試験

松本一彦・守野豊彦・佐野光一・渡辺秀之

白岩和己・矢野譲次・早野和夫

東洋醸造株式会社リサーチセンター 安全性研究所

新マクロライド系抗生物質である TMS-19-Q のマウス、ラットおよびイヌにおける急性毒性試験と、ラットにおける経口投与亜急性毒性試験を実施した。

急性毒性試験：マウス、ラットの LD₅₀ 値は、マウスの経口投与で 5,000mg/kg 以上、ラットの経口投与、マウス、ラットの皮下および腹腔内投与において雌雄とも 4,000mg/kg 以上であった。皮下および腹腔内投与において、マウス、ラットとも一般症状では、運動抑制、鎮静、立毛および眼瞼下垂がみられ、さらに腹腔内投与では体重減少と Writhing、腸管癒着が認められた。なお、投与 14 日後の剖検所見では、両経路とも投与部位に薬物が遺残していた。

イヌでは 360mg/kg を投与したところ、全例で嘔吐がみられたため、それ以上の投与は行なわなかった。

亜急性毒性試験：ラットに 1 か月間の強制経口投与を行なった。投与量は 2,000mg/kg を物理的最高投与量として、以下 1,000, 500, および 250mg/kg を設定した。いずれの投与群においても死亡例はみられず一般症状、体重にも留意すべき変化はみられなかった。尿、血液、血清生化学検査において、用量相関を示す変化ならびに薬物投与による影響とみなせる異常値は得られなかった。臓器重量で絶対重量、相対重量ともに変化のみられた臓器はなかった。剖検所見では対照群を含め肺に病変が確認された他、薬物投与群に盲腸肥大がみられた。病理組織学的検査では、自然発生的な病変あるいは細胞小器官の活動像がみられるものの、薬物に起因する病態像は認められなかった。

本試験における最大無作用量は 2,000mg/kg 以上と推定された。

TMS-19-Q (3'-O-propionylleucomycin A₅) は東洋醸造株式会社に開発された Fig. 1 の構造をもつ新規マクロライド系抗生物質である¹⁾。本化合物は白色～帯黄色の粉末で臭いはなく、味は苦い。メタノール、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに極めて溶け易く、水、ヘキサンにはほとんど溶けない物質である。本化合物はブドウ球菌をはじめとするグラム陽性菌およびエリスロマイシンなどの類縁マクロライド系抗生物質耐生菌の一

部にも抗菌力を示し、嫌気性菌、マイコプラズマ、レジオネラ、キャンピロバクターにも良好な抗菌力を示すことが知られている²⁻⁴⁾。今回、本化合物のマウス、ラットおよびイヌにおける急性毒性試験ならびにラットにおける経口投与亜急性毒性試験を実施した。

I. 試験材料および方法

1. 被験薬物

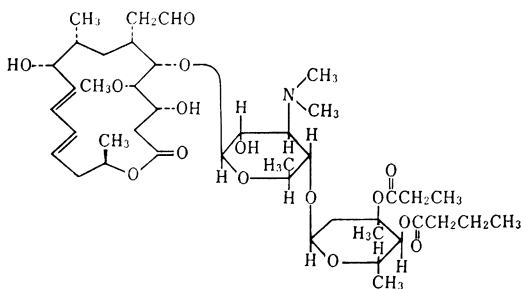
TMS-19-Q は東洋醸造株式会社医薬品研究所で合成された Lot No. TMS-1, および 8 を使用した。

2. 使用動物および飼育条件

静岡県実験動物農業協同組合より ddY 系マウスおよび Wistar 系ラットを購入し、約 1 週間の予備飼育後、健康状態が良好で順調な発育を示した動物を選び実験に供した。

急性毒性試験にはマウスで体重 20～25g、ラットで 90～100g の動物を 1 群雌雄各 10 匹として実験に供した。イヌは当社ビーグルコロニー産のビーグル犬 7～8 か月齢 (6～9kg) を雌雄各 5 頭用いた。

Fig. 1 Chemical structure of TMS-19-Q



亜急性毒性試験には雌で体重 80~100g, 雄で 100~120g のラットを 1 群雌雄各 10 匹として用いた。

動物は金網ケージにマウスで 5 匹, ラットで 2 匹ずつ収容し, イヌは個別ケージに 1 頭ずつ収容した。飼料はマウス, ラットで固型飼料 NR-2 (日生研), イヌではピュリナ・ボナンザ (三和畜産・ラルストンカンパニー・USA) を 1 日 300g 制限給餌した。水はいずれの動物も水道水を自由に摂取させた。飼育室は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 50~60%, 照明は午前 6 時から午後 6 時までの 12 時間サイクルを用いた。

3. 投与方法および観察, 測定方法

(1) 急性毒性試験

マウス, ラットとも経口, 皮下, 腹腔内の各経路で実施した。TMS-19-Q は水に難溶なため, いずれの投与経路においても 0.5% CMC に懸濁して投与した。投与容量は経口投与の場合はマウスで 25 ml/kg, ラットで 20 ml/kg とし, 皮下, 腹腔内投与の場合はマウス, ラットとも皮下投与には頸部皮下を用いた。経口投与は 16 時間絶食下で実施した。

イヌは経口投与のみ実施した。TMS-19-Q をゼラチンカプセルに充填し, 180 mg/kg および 360 mg/kg を空腹時に経口投与した。

マウス, ラットの場合, 検体投与後 2 週間, 症状観察および死亡の有無を確認し, 観察終了時に主要臓器について肉眼的観察を行なった。イヌの場合は 2 週間の一般症状観察のみで剖検は行なわなかった。

(2) 亜急性毒性試験

1) 投与方法および投与量

物理的投与可能最大量の 2,000 mg/kg を最高投与量とし, 以下 1,000, 500 および 250 mg/kg の 4 投与量群を設定した。対照群には 0.5% CMC を同液量投与した。投与は経口ゾンデを用い 1 日 1 回, 30 日間連続経口投与した。

2) 検査項目と方法

試験期間中は毎日一般症状を観察した。体重, 摂餌, 摂水量は週 2 回測定した。最終投与後 24 時間絶食し, 強制排尿による尿を検査した。続いてエーテル麻酔下で腹大動脈より採血し, 血液検査には EDTA-2 K 塩を加えた血液を, 血清生化学検査には抗凝固剤を加えず遠心分離した血清を用いた。

血液, 血清生化学検査および尿検査は以下に示す方法を用いた。

i) 血液学的検査

赤血球・白血球数 (Coulter counter), ヘモグロビン量 (Cyanmethemoglobin 法), ヘマトクリット値 (毛細管高速遠心法), 白血球分画 (May-Giemsa 染色法)。

ii) 血清生化学検査

トランスアミナーゼ (GOT, GPT; Reitman-Frankel 法), アルカリ性ホスファターゼ (Al-P; Kind-King 法), コリンエステラーゼ (Ch-E; Acetylcholine 基質: Choline oxidase 法), 総蛋白 (T. Protein; Biuret 法), アルブミン (Alb.; BCG 法), A/G (Alb./T. Protein-Alb.), 血糖 (Glucose; Glucose oxidase 法), 尿素窒素 (Urea-N; Diacetylmonoxime 法), クレアチニン (Creat.; Alkaline picric acid 法), 総コレステロール (T. Chol.; Lipase-cholesterol oxidase 法), トリグリセライド (T. G.; Lipase-GDH 法), ナトリウム・カリウム (Na・K; 日立 205 D 型炎光度計), カルシウム (Ca; OCPC 法), 無機リン (P; Phospho-molybdate 法)

iii) 尿検査

ウロヘマコンビスティックス[®] (マイルス-三共) を用い, 蛋白, ウロビリノーゲン, 潜血, 糖, pH の半定量試験を実施した。

iv) 病理学的検査

臓器は剖検後, 脳, 下垂体, 胸腺, 心臓, 肺臓, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 精巣, 精巣上体, 卵巣, および子宮を摘出し, 湿重量を測定した後, 甲状腺, 顎下腺, 脾臓, 腸間膜リンパ節, 胃, 小腸 (十二指腸, 空腸, 回腸), 結腸, 盲腸, 前立腺, 精囊腺, 膀胱, 皮膚, 筋肉, 眼球, 骨髓 (腰椎) とともに 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定後, 常法に従い, 包埋, 薄切し, ヘマトキシリン-エオジン染色後, 鏡検した。また, 各群 3 例の肝臓および腎臓については 10% アルデヒドと四酸化オスミウムで二重固定後, 常法に従いエポン樹脂包埋, 薄切し, 酢酸ウラニルと鉛の重染色を行ない, 電顕的に検査した。

v) 統計学的処理

各測定値は平均値および標準偏差を求めて, 対照群と薬物投与群の平均値の差の検定を Student の t 検定により行なった。尿検査については出現頻度を表わすにとどめた。なお, 危険率は 5% 有意水準を用いた。

II. 結 果

1. 急性毒性試験

(1) LD₅₀

TMS-19-Q のマウス, ラットおよびイヌにおける LD₅₀ 値および死亡率を Table 1, 2 に示した。マウス, ラットともいずれの投与経路においても 5,000 mg/kg, ないし 4,000 mg/kg で死亡は認められなかった。

イヌははじめ雌雄各 2 頭に 180 mg/kg を投与したところ, 雌雄各 1 頭に嘔吐がみられたため, さらに雌雄各 3 頭を追加し, 雄 2 頭に嘔吐を観察した。症状観察後同じ動物に 360 mg/kg を経口投与したところ, 全例が嘔

Table 1 LD₅₀ values in mice, rats and dogs of TMS-19-Q

Animal	Age	Sex	LD ₅₀ (mg/kg)		
			P.O.	S.C.	I.P.
Mice (ddY)	5week	Male	>5,000	>4,000	>4,000
		Female	>5,000	>4,000	>4,000
Rats (Wistar)	5week	Male	>4,000	>4,000	>4,000
		Female	>4,000	>4,000	>4,000
Dogs (Beagle)	7~8 month	Male	>360		
		Female	>360		

Table 2 Mortality in acute toxicity tests of TMS-19-Q

Animal	Strain	Age	Dose(mg/kg)	Male	Female
Mice	ddY	5 week	2,000	0/10	0/10
			P.O. 3,000	0/10	0/10
			4,000	0/10	0/10
			5,000	0/10	0/10
			2,000	0/10	0/10
			S.C. 3,000	0/10	0/10
			4,000	0/10	0/10
			2,000	0/10	0/10
			I.P. 3,000	0/10	0/10
			4,000	0/10	0/10
			2,000	0/10	0/10
			P.O. 3,000	0/10	0/10
Rats	Wistar	5 week	2,000	0/10	0/10
			P.O. 3,000	0/10	0/10
			4,000	0/10	0/10
			2,000	0/10	0/10
			S.C. 3,000	0/10	0/10
			4,000	0/10	0/10
			2,000	0/10	0/10
			I.P. 3,000	0/10	0/10
			4,000	0/10	0/10
			360	0/5	0/5
			P.O. 180	0/5	0/5

眼瞼下垂、立毛がみられた。これらの症状は2日間継続したがそれ以後正常に回復した。体重変化は 3,000mg/kg の雄マウスにおいて、体重増加が対照群に比べてやや緩慢であった以外、ラットを含め、いずれの投与群においても対照群とほぼ同様な体重増加を示した。剖検所見では薬物投与群において、投与部位に薬物の遺残を認めた以外、異常を示した臓器はみられなかった。

iii) 腹腔内投与

一般症状ではマウス、ラットともすべての薬物投与群で一過性の Writhing を示した。マウスでは 3,000mg/kg 以上の投与群で投与翌日より鎮静、眼瞼下垂、自発運動抑制、立毛がみられた。ラットではマウスにみられた症状に加え、下痢が 2,000mg/kg 投与群の全例に投与2日後より5日間持続してみられた。3,000mg/kg 群および 4,000mg/kg 群では投与翌日より3日間ほぼ全例に鼻出血がみられた。

剖検所見ではマウス、ラットとも薬物投与群の全例に腸管の癒着および薬物の遺残がみられた。

2) イヌ

一般症状は嘔吐以外に何ら異常症状はみられず、投与当日より摂餌、摂水状態は良好で観察期間中も極めて健康な状態を示していた。嘔吐は 180mg/kg 投与では4頭、360mg/kg 投与では全例にみられた。

2. 亜急性毒性試験

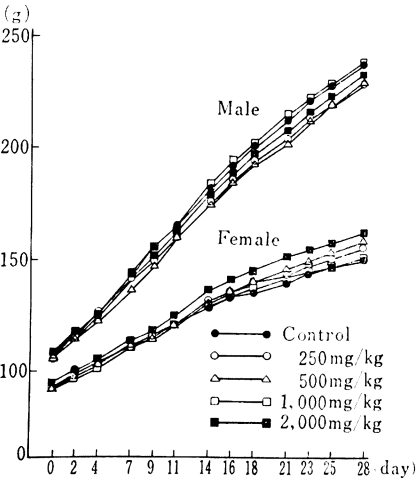
(1) 一般症状

一般症状では特記すべき症状はみられなかった。

(2) 死亡例、体重および摂餌・摂水量

死亡例はいずれの群においても1例も認められなかった。体重は Fig. 2 に示したように雌雄とも対照群と薬

Fig. 2 Body weight changes in rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month



吐したため、それ以上の大量投与は行なわなかった。

(2) 一般症状、体重変化および剖検所見

1) マウスおよびラット

i) 経口投与

一般症状ではマウス、ラットとも特記すべき症状はみられなかった。体重変化はマウスの 2,000mg/kg および 3,000mg/kg 群の雌で投与翌日に一過性の体重減少がみられた以外、マウス、ラットともその他の投与群では対照群とほぼ同じ増加を示した。剖検所見では 3,000mg/kg 以上の投与群でマウス、ラットとも盲腸の肥大が数例にみられた以外、異常を示した臓器はみられなかった。

ii) 皮下投与

一般症状ではマウス、ラットとも自発運動抑制、鎮静、

Fig. 3 Food consumptions in male rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

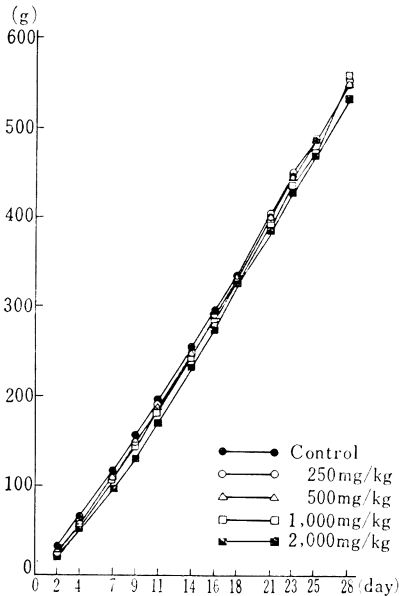
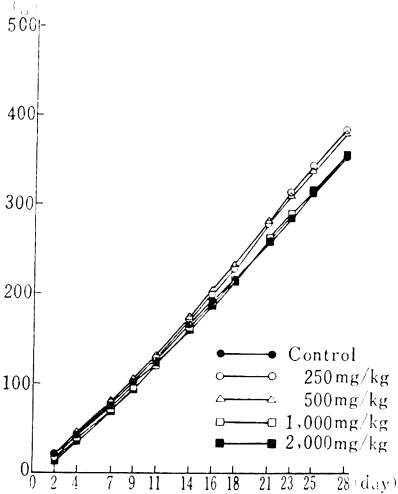


Fig. 4 Food consumptions in female rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month



物投与群の間に全期間を通じ、有意差はみられなかった。摂餌・摂水量は雌において、投与群でやや増加傾向がみられたが用量相関はなかった (Fig. 3~6)。

(3) 血液学的検査

Table 3 に示したように、雄の 500, 1,000mg/kg 投与群のヘマトクリット値と雌の 500mg/kg 投与群のヘモグロビン量に軽度な減少がみられた。

(4) 血清生化学検査

Fig. 5 Water consumptions in male rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

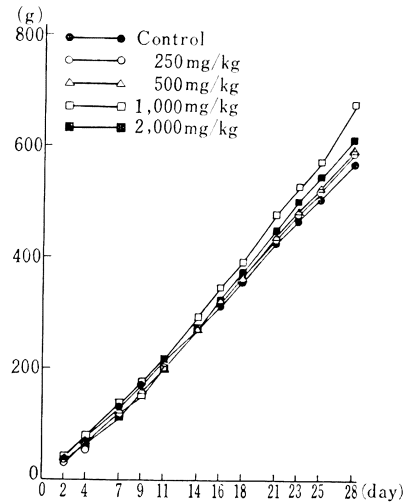
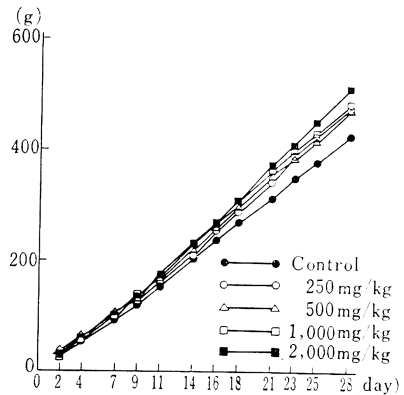


Fig. 6 Water consumptions in female rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month



血清生化学検査値を Table 4, 5 に示した。雄では Al-P, Ch-E, T.Prot., Alb., A/G, T.Chol., Creat., Na が対照群と比べ有意差を示したが、いずれの項目においても用量相関はみられなかった。

(5) 尿検査

尿検査所見を Table 6 に示した。いずれの投与群においても留意すべき変化はみられなかった。

(6) 剖検所見

対照群を含めいずれの群においても肺の一部に充血、色調の変化を示す動物が数例みられた。また投与量の増加に比例して雌雄とも盲腸の肥大が認められた。その他の臓器には何ら異常はみられなかった。

(7) 臓器重量

Table 3 Hematological findings in rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

		Control	250mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg	2,000mg/kg
	N	10	10	10	10	10
Male	RBC (10 ⁶ /mm)	618.7±50.0	590.9±54.3	603.7±34.5	618.8±57.3	613.8±48.2
	WBC (10 ³ /mm)	72.0±18.3	78.9±20.5	71.5±10.6	64.4±10.7	65.2±14.1
	Ht (%)	46.3±1.3	46.2±1.0	44.8±1.5*	45.1±1.1*	45.2±1.4
	Hb (g/dl)	14.96±0.78	14.99±0.56	14.42±0.68	14.62±0.75	14.72±0.81
	Hemogram					
	Baso. (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Eosino. (%)	0.5±0.5	0.8±1.0	0.5±0.7	0.3±0.7	0.9±0.9
	Band (%)	4.8±3.5	5.4±2.8	8.1±3.3	4.7±3.2	5.7±3.6
	Segment (%)	10.0±3.9	12.5±5.4	11.9±5.9	12.4±4.8	7.8±5.0
	Lymph. (%)	82.5±6.4	79.7±6.1	77.4±8.7	80.5±7.1	83.4±9.0
	Mono. (%)	2.2±1.5	1.5±0.8	2.1±1.1	2.1±1.3	2.2±1.1
Female	RBC (10 ⁶ /mm)	594.2±60.7	583.3±69.8	576.5±51.5	587.1±42.7	556.3±52.7
	WBC (10 ³ /mm)	66.3±16.5	64.3±13.9	61.6±10.4	71.1±13.5	58.9±8.6
	Ht (%)	45.7±1.4	45.1±1.2	44.9±1.9	45.2±1.0	45.1±1.9
	Hb (g/dl)	14.66±0.64	14.22±0.81	13.93±0.85*	14.36±0.41	13.61±0.41*
	Hemogram					
	Baso. (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Eosino. (%)	0.3±0.5	0.5±0.7	0.4±0.5	0.4±0.5	0.8±0.8
	Band (%)	5.3±3.6	6.0±4.2	6.9±3.5	5.1±3.5	4.6±2.6
	Segment (%)	12.1±3.6	10.9±4.4	12.0±5.9	12.0±3.7	9.1±4.0
	Lymph. (%)	80.6±5.8	80.7±7.9	79.4±9.4	81.0±6.5	84.0±4.7
	Mono. (%)	1.8±1.1	1.9±1.3	1.3±0.7	1.5±1.8	1.5±1.0

Significant difference from control *; P<0.05

($\bar{X} \pm S.D.$)

Table 4 Biochemical findings in male rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

	Control	250mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg	2,000mg/kg
N	10	10	10	10	10
GOT (K.U)	76.69±14.43	76.96±13.87	79.87±16.79	77.49±13.76	81.62±7.84
GPT (K.U)	11.71±3.05	12.61±2.95	12.26±4.32	10.48±2.65	13.14±2.79
Al-P (K.A.U)	34.66±3.24	35.95±4.18	33.40±1.39	33.14±4.53	30.75±2.11*
Ch-E (mU/ml)	407.9±29.2	436.7±22.5*	444.2±23.0*	398.3±28.6	419.5±30.1
T.prot. (g/dl)	6.60±0.15	6.54±0.21	6.40±0.20*	6.31±0.31*	6.20±0.27*
Albumin (g/dl)	3.97±0.13	3.82±0.09*	3.85±0.13*	3.83±0.11*	3.87±0.08*
A/G	1.51±0.08	1.42±0.17	1.51±0.12	1.56±0.13	1.67±0.12*
T.chol. (mg/dl)	33.66±1.47	34.63±1.94	34.90±2.29	34.26±1.10	36.46±2.41*
T.G. (mg/dl)	57.63±8.35	54.22±5.65	54.41±11.72	54.18±6.49	50.17±7.95
Glucose (mg/dl)	119.3±12.3	120.4±9.7	111.4±12.3	123.3±13.5	108.6±8.4*
Urea-N (mg/dl)	13.80±1.31	14.40±1.52	12.93±1.80	14.06±1.15	12.95±1.13
Creat. (mg/dl)	0.839±0.082	0.913±0.105	0.845±0.063	0.825±0.076	0.800±0.063
Na (mEq/l)	140.29±1.83	141.63±4.25	143.42±2.32*	142.35±1.82*	141.16±4.07
K. (mEq/l)	4.19±0.23	4.30±0.43	4.14±0.19	4.18±0.24	4.36±1.15
Ca (mg/dl)	10.88±0.23	10.70±0.31	10.54±0.25*	10.98±0.51	10.55±0.21*
P (mg/dl)	8.41±0.39	8.33±0.97	8.03±0.56	8.31±0.70	8.66±0.64

Significant difference from control *; P<0.05

($\bar{X} \pm S.D.$)

Table 5 Biochemical findings in female rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

	Control	250mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg	2,000mg/kg
N	10	10	10	10	10
GOT (K.U)	95.17±4.37	96.53±8.20	94.50±8.83	93.75±9.05	93.53±11.23
GPT (K.U)	11.05±2.01	10.57±2.61	11.88±2.48	9.83±3.09	9.39±3.58
Al-P (K.A.U)	22.48±2.60	22.53±2.75	22.57±2.92	21.55±2.43	21.04±4.01
Ch-E (mU/ml)	868.0±51.1	865.1±55.3	890.0±65.3	891.1±51.8	886.8±41.0
T.prot. (g/dl)	6.91±0.32	6.84±0.13	6.63±0.25*	7.01±0.37	6.99±0.22
Albumin (g/dl)	3.85±0.07	3.84±0.10	3.84±0.11	3.87±0.10	3.89±0.07
A/G	1.28±0.18	1.29±0.10	1.39±0.12	1.24±0.10	1.26±0.12
T.chol. (mg/dl)	56.21±3.51	60.03±3.38*	59.53±4.10	62.23±4.27*	61.52±3.81*
T.G. (mg/dl)	42.99±6.67	41.64±4.86	42.37±5.34	49.45±7.35	43.44±9.52
Glucose (mg/dl)	109.0±10.6	111.7±14.5	107.0±17.0	110.1±14.0	190.5±15.4
Urea-N (mg/dl)	16.80±0.89	16.53±0.82	17.29±2.48	16.51±2.38	16.40±0.90
Creat. (mg/dl)	0.799±0.139	0.735±0.069	0.690±0.074*	0.715±0.053	0.775±0.069
Na (mEq/l)	143.31±1.90	139.99±4.82*	138.36±4.20*	139.74±5.19	142.98±2.75
K (mEq/l)	4.19±0.31	4.21±0.33	3.98±0.23	4.01±0.16	4.07±0.25
Ca (mg/dl)	10.32±0.50	10.04±0.44	10.03±0.32	10.02±0.28	10.10±0.47
P (mg/dl)	7.80±0.79	7.66±0.91	7.62±1.22	7.42±0.83	7.55±0.77

Significant difference from control *; P<0.05

($\bar{X} \pm S.D.$)

Table 6 Urinalysis in rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

		Control	250mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg	2,000mg/kg
Male	N	10	10	10	9	10
	Urobilinogen	+	10	10	9	10
	Occult blood	—	10	10	9	10
	Protein	±	0	0	0	0
		+	3	4	5	6
		++	7	5	4	4
		+++	0	1	0	0
	Glucose	—	10	10	9	10
	pH	6	9	10	7	6
		7	1	0	2	3
		8	0	0	0	1
Female	N	10	8	10	10	9
	Urobilinogen	+	10	8	10	9
	Occult blood	—	10	8	10	9
	Protein	±	0	1	2	1
		+	8	5	5	8
		++	2	2	3	1
		+++	0	0	0	0
	Glucose	—	10	8	10	10
	pH	6	9	6	9	10
		7	1	2	1	0
		8	0	0	0	0

Table 7 Organ weights in male rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

	Control	250mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg	2,000mg/kg
N	10	10	10	10	10
Body weights (g)	213.6±70.4	206.0±18.0	205.3±15.9	214.3±16.7	208.2±11.9
Brain (mg)	1806±63	1792±60	1833±56	1801±49	1797±40
(mg/100g)	846±36	874±55	897±55*	845±68	866±51
Heart (mg)	679±29	674±51	646±50	680±40	648±31*
(mg/100g)	318±9	328±22	315±9	318±16	311±9
Lung (mg)	863±47	893±77	839±60	870±68	828±46
(mg/100g)	404±17	438±71	410±25	408±46	398±19
Liver (mg)	6354±327	5958±609	5815±468*	6096±408	6098±471
(mg/100g)	2973±88	2890±85*	2835±143*	2850±142*	2928±120
Kidney (L) (mg)	802±44	791±46	777±62	824±63	807±56
(mg/100g)	375±15	385±18	379±11	385±12	387±12
(R) (mg)	774±36	776±74	760±64	803±85	778±63
(mg/100g)	362±11	377±18*	370±13	374±16	373±16
Spleen (mg)	409±28	398±37	375±80	403±35	400±33
(mg/100g)	192±13	193±12	182±38	189±12	193±17
Pituitary (mg)	7.0±1.2	7.6±1.9	7.6±0.8	7.8±0.8	7.5±0.8
(mg/100g)	3.3±0.6	3.7±0.9	3.8±0.6	3.6±0.5	3.6±0.3
Thymus (mg)	310±44	303±54	282±28	272±59	256±26*
(mg/100g)	146±23	147±25	138±14	127±27	123±16*
Adrenal (L) (mg)	19.7±1.7	20.3±1.3	20.1±3.3	20.4±1.6	21.4±1.3*
(mg/100g)	9.2±0.7	10.0±1.1	9.8±1.2	9.6±0.8	10.3±0.7*
(R) (mg)	18.9±1.2	19.5±1.2	19.4±2.1	19.2±1.5	20.4±1.1*
(mg/100g)	8.9±0.6	9.6±1.2	9.5±0.7	9.0±0.6	9.8±0.8*
Testis (L) (mg)	1291±61	1294±64	1288±47	1295±85	1314±49
(mg/100g)	604±25	631±38	630±35	607±45	633±39
(R) (mg)	1268±73	1275±76	1241±43	1260±80	1269±66
(mg/100g)	593±22	621±30	607±38	590±34	611±44
Epididy. (L) (mg)	268±22	273±14	269±18	274±16	277±20
(mg/100g)	126±11	133±9	132±14	128±12	133±10
(R) (mg)	261±18	272±14	262±14	272±16	265±21
(mg/100g)	123±9	133±13	128±11	127±11	127±10

Significant difference from control *: P<0.05

(X̄±S.D.)

臓器重量は Table 7～8 に示したように、雌雄とも絶対重量あるいは相対重量で有意差のみられた臓器が投与量に関係なく散見されたが、雄の胸腺重量は絶対重量、相対重量とも 500mg/kg 群よりやや減少傾向を示し、2,000mg/kg 群では有意差がみられた。

(8) 病理組織学的検査

病理組織学的に認められた変化を Table 9, 10 に示した。

肺臓：気管支炎，巣状無気肺，肉変，巣状肺炎，気管支肺炎，出血性肺炎，肺炎が雌雄とも対照群を含め各群に散見された (Photo. 1～2)。

心臓：心筋線維の壊死とリンパ球の浸潤が対照群の雄 1 例にみられた (Photo. 3)。

肝臓：肝細胞壊死ならびに細胞浸潤が雌雄とも 1,000

mg/kg を除く各群で 1～3 例認められた。また、小葉中心部の肝細胞の壊死性変化が雄 500mg/kg 群に 1 例、グリソン鞘における細胞浸潤が雌雄とも対照群を含む各群に 1～4 例みられた。さらに、250mg/kg 群の雌 1 例に被膜下のリンパ球と巨細胞浸潤がみられ、500mg/kg 群の雌 1 例に被膜下の線維性肥厚がみられた (Photo. 4～7)。

脾臓：250mg/kg 群の雌 1 例に被膜の線維性肥厚がみられた (Photo. 8)。

下垂体：1,000mg/kg 群の雌 1 例に下垂体中葉内囊腫形成がみられた (Photo. 9)。

その他の臓器には異常所見はみられなかった。

(9) 電子顕微鏡検査

肝臓：5,000mg/kg 以上の投与群でミトコンドリアを

Table 8 Organ weights in female rats treated with TMS-19-Q orally for 1 month

		Control	250mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg	2,000mg/kg
N		10	10	10	10	10
Body weights	(g)	135.6±6.5	139.9±5.8	141.7±6.5	135.3±7.8	144.7±5.3
Brain	(mg)	1663±55	1669±28	1712±45*	1681±46	1673±48
	(mg/100g)	1229±66	1197±46	1210±42	1246±79	1158±60*
Heart	(mg)	462±24	484±23	488±41	457±21	488±32*
	(mg/100g)	341±13	347±13	344±21	338±18	338±23
Lung	(mg)	694±41	718±51	725±89	694±51	717±47
	(mg/100g)	513±36	514±29	511±55	516±61	496±35
Liver	(mg)	4055±167	4155±263	4234±221	4042±216	4360±220*
	(mg/100g)	2994±120	2975±94	2989±107	2990±114	3014±148
Kidney (L)	(mg)	529±25	544±24	562±26*	540±29	573±34*
	(mg/100g)	391±26	390±13	397±19	400±20	396±22
	(R)	(mg)	529±23	555±26*	526±31	559±45
	(mg/100g)	391±24	398±11	396±23	389±25	386±28
Spleen	(mg)	314±27	323±32	357±51*	309±15	339±25*
	(mg/100g)	232±22	231±20	252±34	229±11	235±16
Pituitary	(mg)	9.6±1.0	9.9±1.1	10.3±1.0	9.3±1.0	10.1±1.9
	(mg/100g)	7.1±0.7	7.1±0.8	7.3±0.8	6.8±0.6	7.0±1.2
Thymus	(mg)	256±32	272±26	266±26	246±31	256±32
	(mg/100g)	189±25	195±17	188±13	182±16	177±22
Adrenal (L)	(mg)	22.6±2.6	24.5±3.1	24.3±1.6	23.8±1.5	25.7±3.2*
	(mg/100g)	16.8±2.4	17.6±2.4	17.2±1.3	17.6±1.6	17.8±2.3
	(R)	(mg)	20.9±2.0	22.6±1.6	22.3±1.3	22.4±2.2
	(mg/100g)	15.5±1.9	16.2±1.1	15.8±1.2	16.6±1.7	16.4±1.8
Ovary (L)	(mg)	25.2±2.8	28.5±5.3	28.1±2.6*	25.4±2.8	28.7±3.5*
	(mg/100g)	18.6±1.8	20.4±3.9	19.8±2.0	18.8±1.8	19.8±2.3
	(R)	(mg)	24.5±2.9	27.6±5.8	27.2±4.6	24.6±4.1
	(mg/100g)	18.1±2.6	19.8±4.4	19.2±3.1	18.2±2.6	19.6±2.5
Uterus	(mg)	288±74	340±164	286±76	313±106	251±53
	(mg/100g)	212±50	244±118	202±54	232±81	173±33

Significant difference from control *; P<0.05

($\bar{X} \pm S.D.$)

Table 9 Histopathological findings in male rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

Organ	Findings	Control				250mg/kg				500mg/kg				1000mg/kg				2000mg/kg			
		-	±	+	+	-	±	+	+	-	±	+	+	-	±	+	+	-	±	+	+
Lung	Bronchitis	10				9		1		10				10				10			
	Focal athelectasis	10				9		1		10				10				10			
	Carnification	10				10				10				10				9		1	
	Focal pneumonia	9		1		9		1		9		1		8		2		9		1	
	Bronchopneumonia	10				10				10				10				10			
	Hemorrhagic pneumonia	10				10				9		1		10				10			
	Pneumonia	10				10				8		2		10				10			
Heart	Cardial muscle necrosis & infilt. of lymphocyte	9	1			10				10				10				10			
Liver	Hepatocellular necrosis & cellular infiltration	7	3			8	2			8	2			10				7	3		
	Cellular infiltration in Glisson's sheath	8	2			10				9	1			9	1			9	1		
	Cellular infiltration of lymphocyte & giant cell under capsule	10				10				10				10				10			
	Fibrotic thickening of capsule	10				10				10				10				10			
	Centrilobular hepatocyte necrosis	10				10				9		1		10				10			
Spleen	Fibrotic thickening of capsule	10				10				10				10				10			
Pituitary	Cystoproduction in pars intermedia	10				10				10				10				10			

No pathological changes in cerebrum, cerebellum, pancreas, kidney, thymus, thyroid, adrenal, lymph node, stomach, small intestine, colon, cecum, submandibular gland, urinary bladder, skin, skeletal muscle, eyes, bone marrow, epididymidis, testis, seminal vesicle, and prostate were observed.

—; NSL, ±; Mild, +; Moderate, ++; Marked

Table 10 Histopathological findings in female rats treated orally with TMS-19-Q for 1 month

Organ	Findings	Control				250mg/kg				500mg/kg				1000mg/kg				2000mg/kg			
		-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#	-	±	+	#
Lung	Bronchitis	10				8		2		9		1		8		2		8		2	
	Focal atelectasis	10				10				10				10				10			
	Carnification	8		2		8		2		10				10				10			
	Focal pneumonia	8		2		8		2		8		2		9		1		9		1	
	Bronchopneumonia	10				10				10				10				7		3	
	Hemorrhagic pneumonia	10				10				10				10				10			
	Pneumonia	10				10				10				10				10			
Heart	Cardial muscle necrosis & inflt. of lymphocyte	10				10				10				10				10			
Liver	Hepatocellular necrosis & cellular infiltration	9	1			9	1			9	1			10				9	1		
	Cellular infiltration in Glisson's sheath	9	1			6	4			8	2			6	4			8	2		
	Cellular infiltration of lymphocyte & giant cell under capsule	10				9		1		10				10				10			
	Fibrotic thickening of capsule	10				10				9		1		10				10			
	Centrilobular hepatocyte necrosis	10				10				10				10				10			
Spleen	Fibrotic thickening of capsule	10				9		1		10				10				10			
Pituitary	Cystoproduction in pars intermedia	10				10				10				9		1		10			

No pathological changes in cerebrum, cerebellum, pancreas, kidney, thymus, thyroid, adrenal, lymph node, stomach, small intestine, colon, cecum, submandibular gland, urinary bladder, skin, skeletal muscle, eyes, bone marrow, ovary and uterus were observed.

-; NSL, ±; Mild, +; Moderate, #; Marked

Photo. 1 TMS-19-Q 250mg/kg (Female)

Lung: Mild bronchitis. H. E. ×50

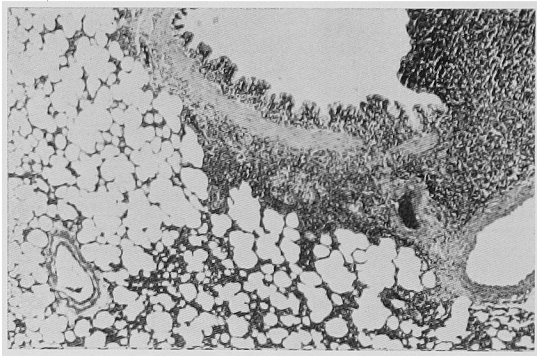


Photo. 3 Control (Male)

Heart: Mild myocarditis. H. E. ×200

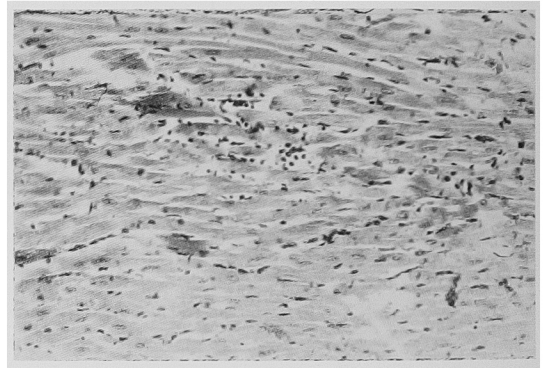


Photo. 2 Control (Male)

Lung: Mild focal pneumonia. H. E. ×100

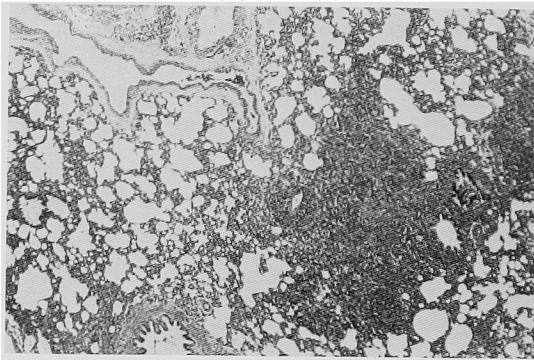


Photo. 4 TMS-19-Q 250mg/kg (Female)

Liver: Mild cellular infiltration and necrosis. H. E. ×250

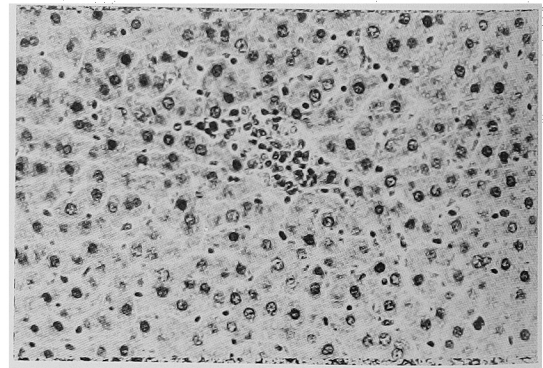


Photo. 5 TMS-19-Q 250mg/kg (Female)
Liver : Mild cellular infiltration of Grisson's
sheath. H. E. $\times 250$

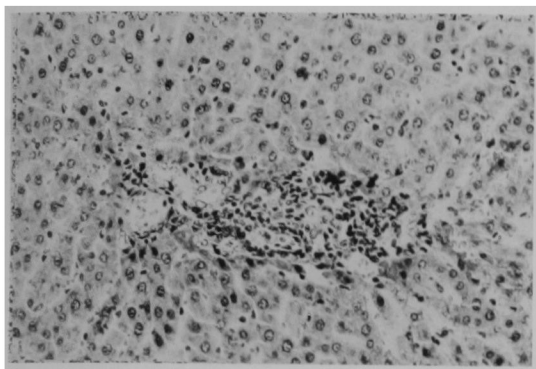


Photo. 8 TMS-19-Q 250mg/kg (Female)
Spleen : Moderate pseudomembrane formation.
H. E. $\times 60$

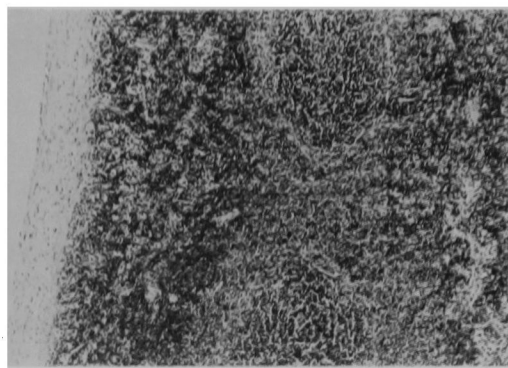


Photo. 6 TMS-19-Q 250mg/kg (Female)
Liver : Moderate infiltration of lymphocytes
and giant cells under the capsule. H. E. $\times 250$

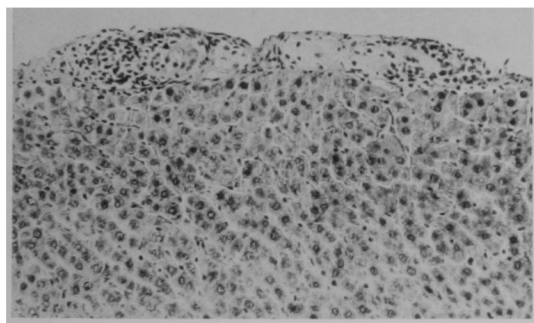


Photo. 9 TMS-19-Q 1,000mg/kg (Female)
Pituitary : Moderate cysts formation. H. E.
 $\times 60$

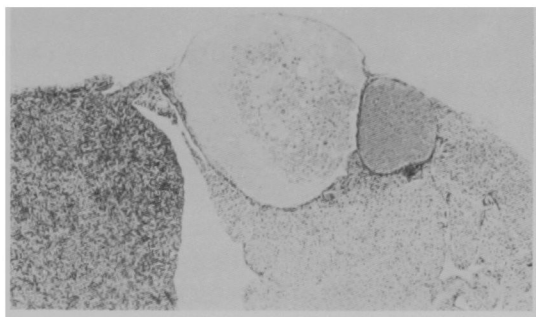


Photo. 7 TMS-19-Q 500mg/kg (Female)
Liver : Moderate fibrosis of the surface. H. E.
 $\times 100$

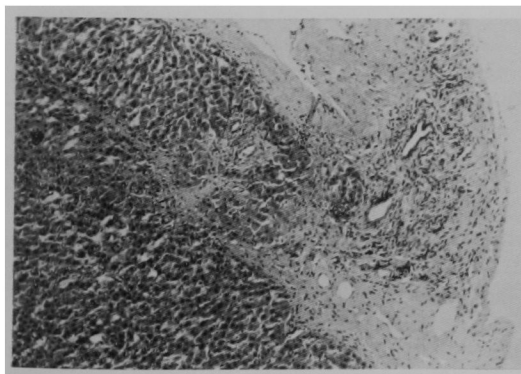
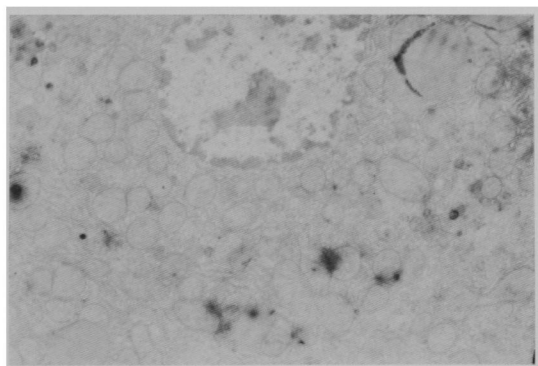


Photo. 10 TMS-19-Q 2,000mg/kg (Female)
Liver : Megamitochondria, transformed mitochondria,
enlarged mitochondria, mitochondria half
encircled by rough surfaced endoplasmic reticulum
and welldeveloped spherical smooth surfaced
endoplasmic reticulum. $\times 6,000$



取り巻く粗面小胞体が増加し、滑面小胞体の嚢胞化がみられた。また同時に、ミトコンドリアの軽度な腫脹および巨大化あるいは変形化がみられた (Photo. 10)。その他の小器官には異常はみられなかった。

腎臓：いずれの投与群においても異常所見は認められなかった。

III. 考 察

1. 急性毒性試験

TMS-19-Q は極めて水に溶けにくいいため、0.5% CMC を用いて懸濁状態で投与したところ、マウスの経口投与の場合で 5,000mg/kg, ラットの場合では 4,000mg/kg 投与でも死亡例はみられなかった。また、一般症状、体重変化でも特に異常は認められないが、2週間後の剖検所見で盲腸肥大が数例に認められた。

マウス、ラットに抗生物質を投与すると盲腸が肥大することは古くから知られており、腸内細菌叢の変動に基づく変化といわれている⁵⁻¹²⁾。TMS-19-Q は嫌気性菌に対して強い抗菌活性を有しており、腸内細菌叢に影響を与え、盲腸肥大をきたしたものと思われる。したがって、盲腸肥大を検体投与による毒性発現としてはとらえられないが、高濃度を大量に経口投与した場合は1回投与後2週間目でもその影響は残存することがわかった。

皮下投与、腹腔内投与ともマウス、ラットで死亡例はみられないが自発運動抑制、鎮静作用がみられ、特に腹腔内投与では Writhing が生じ、腸管癒着を起こしていた。

このような Writhing、腸管癒着は局所刺激性薬物、酸性化合物ではしばしばみられる反応であり、本化合物の局所刺激性が示唆されている。

イヌでは 360mg/kg 投与直後に嘔吐がみられているが、イヌの嘔吐は生理的な反射によるものが多く、胃への刺激があるもの、あるいは異物が大量に胃へ送られた時にも容易に嘔吐することが知られている^{13,14)}。今回みられた嘔吐も TMS-19-Q の苦味と胃への刺激によるものと思われる。

LD₅₀、一般症状において、いずれの動物にも性差はみられていない。

2. 亜急性毒性試験

剖検時に観察された肺臓の病変は病理組織学的に気管支炎、巣状肺炎などと判定されており、対照群にもみられていることから TMS-19-Q 投与によるものとは考え難い。これらの病変は飽食下において、投与液量が多い場合に稀に投与薬物が口に溢れ、それを誤嚥することにより発現するものと思われる。また盲腸肥大が薬物投与群でみられたが、先に述べたように、腸内細菌叢への影響から生じる二次的な反応であり、毒性発現とは考えら

れていない⁹⁻¹²⁾。

臓器重量でみられた雄の 2,000mg/kg 群における胸腺重量の軽度な減少は絶対重量で本実験における棄却限界 (対照群の $\bar{X} \pm 2$ S. D.) の 222~398mg を逸脱する個体が1例 (218mg) のみで、この個体も相対重量では棄却限界内 (100~192mg/体重) に入っており、また病理組織学的にも萎縮像などの変化がみられなかったことから、特に留意すべきものではない。

血清生化学検査で用量相関をもって変化がみられたものは雄の T. Prot. のみであり、この変化も軽度で、雌にはみられないこと、さらに Alb. の変化、Ch-E の変化など関連検査項目に変化がみられないことなどを考え併せると、病態を反映した変化とは考え難い。

病理組織学的検査では肺臓に気管支炎、巣状肺炎、肉芽などがみられたが、これらの病変は対照群にもみられており、TMS-19-Q 投与による特異的な変化ではなかった。肝臓でみられた肝細胞壊死、細胞浸潤などの病変は対照群を含めて全群で散見されており、また脾臓、下垂体にみられた変化もいずれも1例のみでこれらは自然発生的な病変と思われる。

肝臓の電子顕微鏡所見は粗面小胞体、滑面小胞体、ミトコンドリアなどの活動が亢進している像であり、500mg/kg 以上の投与群から対照群と比べ、より活発な動きとして観察されたが、生化学および光顕レベルでの病理組織学的所見においても異常は認められず、毒性発現による変化とは考えられない。

したがって、本試験において薬物投与に起因する毒性発現は認められず、最大無作用量は 2,000mg/kg 以上と推定する。なお、これらの結果は類縁マクロライド系抗生物質であるジョサマイシンのラット亜急性毒性試験で報告されている結果とほぼ一致していた¹⁵⁾。

〈謝辞〉 本実験の病理組織学的検査にあたって、終始御協力を賜った、東京女子医大病院病理科平山章助教授に深謝いたします。

文 献

- 1) SAKAKIBARA, H.; O. OKEKAWA, T. FUJIWARA, M. OTANI & S. ŌMURA: Acyl derivatives of 16-membered macrolides I. Synthesis and biological properties of 3'-O-propionylleucomycin A₅ (TMS-19-Q). J. Antibiotics, 34: 1001~1010, 1981
- 2) 鳥屋 実, 井上松久, 三橋 進: TMS-19-Q の細菌学的検討。Chemotherapy 32(S-6): 1~11, 1983
- 3) 横井山繁行, 嵯峨井 均, 鳥屋 実, 諸星俊郎, 山路真也, 早野和夫, 五島嵯智子, 辻 明良, 小川正俊: 新マクロライド系抗生物質 TMS-19-Q の細菌学的検討。Chemotherapy 32(S-6): 26~

- 36, 1984
- 4) 諸星俊郎, 西野武志, 谷野輝雄: 新しいマクロライド系抗生物質 TMS-19-Q に関する細菌学的研究. *Chemotherapy* 32(S-6): 12~25, 1984
- 5) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exp. Med.* 128: 97~110, 1968
- 6) SAVAGE, D. C. & J. S. McAILISTER: Cecal enlargement and microbial flora in suckling mice given antibacterial drugs. *Infection and Immunity* 3: 342~349, 1971
- 7) 並木信重郎, 杉田和彦, 山岸三千男, 神郡邦男, 大村真文, 田中一郎: マウス糞便菌叢および盲腸重量に対する AB-206 の影響. *Chemotherapy* 26(S-4): 60~64, 1978
- 8) IWAI, A: Fecal flora and cecal weights in mice given Validamycin A. *実験動物* 23: 215~224, 1974
- 9) 高山 敏, 古浜和久, 加藤道幸, 山田明重, 小野寺威, 小河秀正, 秋元 建: 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
- 10) 今村和憲, 鈴木 弘, 吉田俊夫, 岡宮英明, 尾崎浩, 塩原有一: Cefotetan (YM 09330) のラットにおける腹腔内投与 5 週間毒性試験. *Chemotherapy* 30(S-1): 213~227, 1982
- 11) 今井章浩, 森下けい子: Aminobenzil penicillin (ABPC) および Aminocycloxy penicillin (ACPC) 経口投与によるマウスの糞便菌叢の変化および盲腸重量の変化について. *Chemotherapy* 23: 3192~3196, 1975
- 12) 幸嶋祥亘, 倉片康雄, 日浦謙一郎, 芝田敏勝: BRL 14151 K および BRL 25000 の急性毒性および亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 31(S-2): 113~141, 1983
- 13) 幸嶋祥亘, 小結明子, T. L. HARDY, 山本博昭, 菊森幹人, 西田伊久男, 谷口雄三, 浜井義則: BRL 14151 K および BRL 25000 のビーグル犬における亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 31(S-2): 142~179, 1983
- 14) 米田豊明, 正谷博之, 河村泰仁, 柴田哲夫, 佐藤盛, 岩崎信一, 長沢峰子, 滝本陽子, 高井 明: Cefoperazone (T-1551) の毒性試験 (第3報) — ビーグル犬 35 日間静脈内投与亜急性毒性試験一. *Chemotherapy* 28(S-6): 220~251, 1980
- 15) 栗秋 要, 三木寿雄, 瀬島行雄, 柴田正勝, 井田昶, 岡崎雅彦, 橋本敬祐: JOSAMYCIN の研究 V. Josamycin の毒性に関する研究. *Jap. J. Antibiotics* 22: 219~225, 1969

TOXICITY STUDY OF TMS-19-Q (I)

ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY TESTS IN RATS

KAZUHIKO MATSUMOTO, TOYOHICO MORINO, KOHICHI SANO

KAZUMI SHIRAIWA, HIDEYUKI WATANABE, JOJI YANO

and KAZUO HAYANO

Toxicological Research Laboratories, Toyo Jozo Co., Ltd.

Acute and subacute toxicity tests of a new macrolide antibiotic, TMS-19-Q; 3'-O-propionylleucomycin A₅, was studied.

LD₅₀ values in mice were more than 5,000mg/kg p.o. and 4,000mg/kg s.c. and i.p. And those in rats were more than 4,000mg/kg p.o., s.c. and i.p., and those in dogs were more than 360mg/kg p.o..

In mice and rats, hypomobility, piloerection, sedation and ptosis were observed after administration with s.c. and i.p.. Decrease of body weights and intestinal adhesion in i.p., and non-absorbed drugs at injection sites in i.p. and s.c. were also observed in mice and rats.

In dogs, vomiting was occurred in 4 dogs with the dosage of 180mg/kg and in all dogs with the dosage of 360mg/kg, therefore, administration beyond 360mg/kg could not be performed.

Subacute toxicity test was performed in rats with the oral dosages of 250, 500, 1,000 and 2,000mg/kg for 1 month. 2,000mg/kg was the maximum dose that could be administered in rats. There were no dead animals and no significant changes of general appearance and behavior in all dosage groups. Urinalysis, hematological analysis, biochemical analysis of serum and organ weights were normal in all test groups. In the necropsy, we observed the lesion in lung in all groups including control and enlargement of cecum with dose dependence in all dosage groups.

Pathological examination revealed no remarkable drug-related abnormalities in the test groups.

The maximum non-effective dose in this study was estimated to be more than 2,000mg/kg.