

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) のラットにおける 亜急性毒性および回復試験

山手丈至・信田 敏・工藤 悟・丸山喜弘・竹原孝一・田島正典

(財)日本生物科学研究所

能勢尚志

鐘紡株式会社薬品研究所

青山卓夫

鳥居薬品株式会社研究所

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585, LAPC) の 400, 1,000 および 2,500 mg/kg を Jcl : SD 雄雌ラットに 30 日間連続強制経口投与し, その安全性を検討するとともに, Bacampicillin hydrochloride (BAPC) 2,500 mg/kg との比較を行なった。さらに, 28 日間の回復試験も行なった。

得られた成績は, 以下の通りである。

1. KBT-1585 および BAPC を連日投与されたラットでは, 投薬直後に苦味によると思われる一過性の流涎と盲腸膨満による腹部膨満が高頻度に出現し, 飲水量も増加した。

2. 投与に起因する死亡例は, BAPC 群にのみ認められ, 雄 4 例 (23.5%), 雌 1 例 (5.6%) であった。

3. KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群と BAPC 群にほぼ共通して認められた変化は, 雄での体重増加抑制, 血液学的検査における雄での分葉核好中球百分比の増加, リンパ球百分比の減少, 雌での RBC, WBC および血小板数の増加, 血液生化学的検査における雄雌での総蛋白, 雄での A/G および総コレステロールの増加, BUN, Ca⁺⁺, グルコース, CRNN, LDH および Al-P の減少ならびに雌での Na⁺ の減少, 臓器重量における雄雌での副腎および盲腸重量の増加と雄での脾重量の減少であった。

その他, KBT-1585 群でのみみられた変化は, 雄の 1000 mg/kg 以上での GOT の減少, 2,500 mg/kg 群雄雌での K⁺ の減少, 雌での Cl⁻ の減少であった。

BAPC 群でのみみられた変化は雄雌での MCV および MCH の減少, 雄での網状赤血球数の増加, 雌での総ビリルビンの減少であった。

以上の変化の大部分は非特異的な栄養不全を示唆する変化, もしくは, 大量の抗菌剤投与時に発現しやすい変化と考えられ, 病理組織学的にも異常な所見は認められなかった。

4. 全体的には, KBT-1585 群に比べ BAPC 群で毒性的兆候がより強く発現した。

5. 検体投与後, 28 日間の回復期間では, 投与期間にみられたすべての変化に回復の傾向が観察された。

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) は鐘紡株式会社薬品研究所により合成された腸管からの吸収性が優れた Ampicillin の prodrug である。

著者らは, KBT-1585 をラットに 30 日間連続強制経口投与して, その亜急性毒性を検討するとともに, 28 日間の休業期間をおき, 発現した毒性の回復性を評価したので報告する。

試験には, Ampicillin の carboxyl 基を carboxyloxyethyl 基で ester 化した構造を有する Bacampicillin hy-

drochloride (BAPC) を比較対照薬として用いた。

I. 実験材料および方法

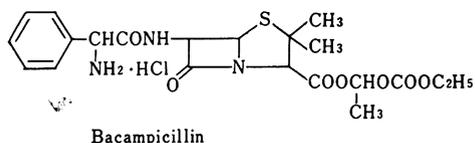
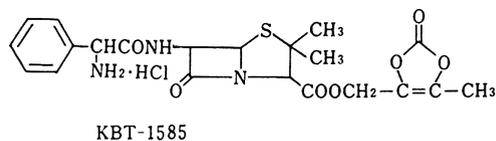
1. 供試薬物

KBT-1585 は Fig. 1 の化学構造式を有する白色～淡黄色の粉末である。比較対照薬としての BAPC は Fig. 1 の化学構造式を有する。

2. 試験の設定

30 日間の連続強制経口投与試験 (試験 I) および 30 日間連続投与後 28 日間休業の回復試験 (試験 II) を行な

Fig. 1 Chemical structures of KBT-1585 and BAPC



った。

3. 供試動物および飼育環境

23日齢のJcl:SD系ラットを日本クレア株式会社より購入し、8~11日間当所で予備飼育し、健康で異常のない個体を試験に供した。使用動物数は試験Iでは各群雄雌それぞれ12匹、試験IIでは各群雄雌それぞれ7匹を用いた。ラットはステンレス製金網ケージに1匹宛収容し、オリエンタル酵母株式会社製の固型飼料(CRF-1)および水道水を自由に与えた。飼育室の平均温度は試験Iでは $22.4 \pm 0.9^\circ\text{C}$ 、試験IIでは $22.4 \pm 0.8^\circ\text{C}$ に、平均相対湿度は試験Iでは $57.2 \pm 3.1\%$ 、試験IIでは $55.6 \pm 4.2\%$ に保持した。照明は1日12時間(7:00~19:00)とした。

試験開始時のラットの体重は、試験Iでは雄113~144g、雌109~127g、試験IIでは雄102~125g、雌99~115gであった。

4. 検体の投与量および投与方法

KBT-1585の最高投与量は連続経口投与可能な最大量である2,500mg/kgとした。荻野らによって行なわれたラットを用いた3ヵ月毒性試験(1)では、投与容量を20ml/kgとすることで、最高投与量を5,000mg/kgとしているが、長期投与に20ml/kgは一般的でない。従って本試験では、10ml/kgを投与容量とし、最高投与量に2,500mg/kgを採用した。さらに、試験Iでは1,000および400mg/kg、試験IIでは1,000mg/kgの各用量を設けた。

一方、BAPCの投与量は、試験IおよびIIを通じ、KBT-1585の2,500mg/kgとほぼ等モルの2,500mg/kgとし、他に溶媒のみを投与する対照群を設けた。

各検体は投与容量が10ml/kg体重となるように蒸留水に溶解し、ラット用胃管を用い、1日1回強制経口投与した。

5. 観察方法

(1) 一般観察

試験期間中は動物の外観、一般行動および生死を毎日

観察した。体重、摂餌量および飲水量は測定日を定めて定期的に測定した。飼料効率 η は1日当りの平均摂餌量から週ごとに算出した。

(2) 眼検査

試験IおよびIIとも試験終了時の生存ラットについて肉眼および眼底カメラにより検査した。

(3) 尿検査

試験IおよびIIとも、生存ラットについて検査した。尿量は24時間量を測定した。新鮮尿について、色調、透明度、pH、ケトン体、総蛋白、糖、潜血、ビリルビンおよびウロビリノーゲンをラプスティックス試験紙(マイルス・三共社)を用い検査し、比重は尿比重屈折計により測定した。沈渣は赤血球、白血球、上皮細胞および円柱の有無について調べた。

(4) 血液および血液生化学的検査

試験期間終了時に全生存ラットについて実施した。採血は、ラットを16~17時間絶食させた後、9:00~10:30の間にアルコール・クロロホルム・エーテルにより深麻酔し、腹大動脈より行なった。血液学的検査の抗凝固剤はEDTA-2Kを使用し、血液生化学的検査にはヘパリンを使用した。検査項目および検査方法をTable 1に示す。

(5) 病理解剖および組織学的検査

死亡動物は死後速やかに剖検し、計画殺ラットは採血致死させた後剖検した。肝、脾、腎、心、肺、副腎、胸腺、甲状腺、下垂体、脳、盲腸(内容を含む)、精巣および前立腺あるいは卵巣および子宮については湿重量を測定し、体重比(%)を算出した。上記器官のほか、気管、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、脾、腸管膜リンパ節、膀胱、上皮小体、皮膚、脊髄、坐骨神経、骨髄、涙腺、骨格筋、大動脈、横隔膜、精巣上体および精のう、その他肉眼的に病変の認められた部位を10%ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋後常法により、ヘマトキシリン・エオジン(H・E)染色を施して鏡検した。眼球はブアン液で固定し、同様の処理を行なった。各群雄雌それぞれ2匹の肝および腎は、電子顕微鏡観察のため、小組織をグルタルアルデヒドおよびオスミウム酸で固定し、アルコール系列で脱水後エポンに包埋した。切片は酢酸ウラニルおよび鉛の二重電子染色後、日本電子製の電子顕微鏡100-Bを用いて観察した。

(6) 観察結果の統計学的処理

得られた観察結果は雄雌別々に群ごとに集計し、平均値と標準偏差を求め、STUDENTのt-testを用い、対照群とKBT-1585およびBAPC投与群間で有意差検定を行なった。

また、KBT-1585とBAPC群の比較は、BAPCとほ

Table 1 The methods in blood and biochemical examination

	Item of measurement	Abbreviation	Methods
Blood	Erythrocyte count	RBC	Toa microcell counter
	Leukocyte count	WBC	Toa microcell counter
	Hemoglobin	Hb	Toa microcell counter
	Hematocrit	Ht	Micro tube method
	Wintrobe erythrocyte index		
	PCV/RBC	MCV	
	Hb/RBC	MCH	
	Hb/PCV	MCHC	
	Differential leukocyte		May-Giemsa stain
	Neutrophilic leukocyte (Band)	Band	
	(Segment)	Seg	
	Lymphocyte	Lympho	
	Monocyte	Mono	
	Eosinophilic leukocyte	Eosino	
	Basophilic leukocyte	Baso	
Platelet count		Coulter counter (Model ZBI)	
Reticulocyte count		Brecher method	
Plasma	Glutamic oxaloacetic transaminase	GOT ^{a)}	Enzymatic method (NADH)
	Glutamic pyruvic transaminase	GPT ^{a)}	Enzymatic method (NADH)
	Lactate dehydrogenase	LDH ^{a)}	Enzymatic method (NADH)
	Alkaline phosphatase	Al-P ^{a)}	Enzymatic method P-NPP(Bessey-Lowry)
	Glucose	Glu ^{a)}	GOD-POD
	Total bilirubin	T. Bil ^{a)}	Jendrassik-Cleghorn
	Total protein	TP ^{a)}	Biuret method
	Albumin	Alb ^{a)}	BCG method
	Blood urea nitrogen	BUN ^{a)}	Enzymatic method (GMD-NADH)
	Creatinine	CRNN ^{a)}	Enzymatic method (Jaffe)
	Total cholesterol	T. Cho ^{a)}	Enzymatic method
	Calcium	Ca ^{a)}	OCPC
	Albumin/Globulin	A/G	
	Sodium	Na	Flame photometry
	Potassium	K	Flame photometry
Chloride	Cl	Coulometry	

^{a)} : By Clinalyzer STM-6

ば等モルである KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群について実施した。その検定は、両群のいずれかが先に行なった対照群との比較で有意差を示した項目について、STUDENT の *t*-test を用いて実施された。

II. 成績

試験 I

1. 臨床所見

KBT-1585 投与群では投与直後に一過性の流涎が各群のほぼ全例に認められ、腹部膨満が 1,000 および 2,500 mg/kg 群で観察された。BAPC 群においても、検体投与直後の一過性の流涎および腹部膨満が認められたが、その程度、出現例数とも KBT-1585 より高かった。その他、両群の各投与群に自発運動の低下、異常呼吸音の発生および呼吸速迫、被毛の汚染、立毛および軟便が試験期間を通じ一過性に、低率に散見された。

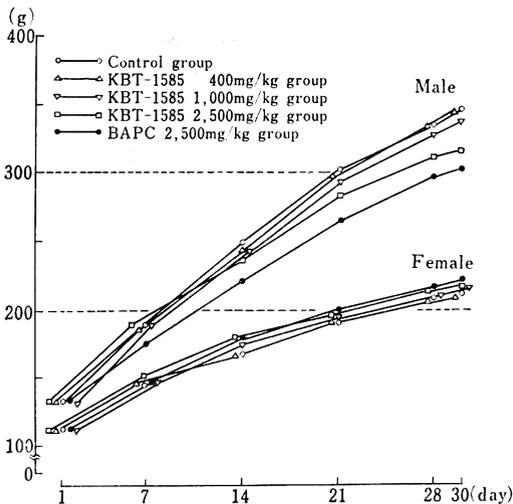
検体投与による死亡が BAPC 群の雄で、試験 9, 17 および 30 日目に各 1 例（死亡率 30%）に認められた。投与過失による誤嚥死が KBT-1585 の 400 mg/kg 群雌および 2,500 mg/kg 群雄の各 2 例、BAPC 群雄 2 例および雌 1 例に出現した。

2. 体重

体重曲線を Fig. 2 に示す。KBT-1585 の 2,500mg/kg 群および BAPC 群の雄の体重増加は有意に抑制され、その程度は BAPC 群で強かった。KBT-1585 の 1,000 mg/kg 群でも試験期間中にやや抑制傾向を示した。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群の雌の体重は、試験中期に増加傾向を示した以外、おおむね対照群のそれに近似して推移した。

3. 摂餌量および飼料効率

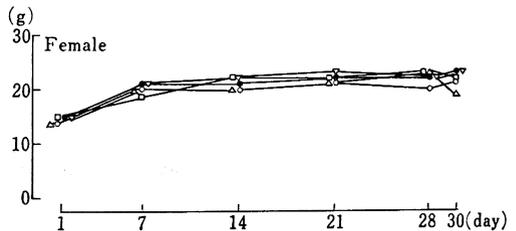
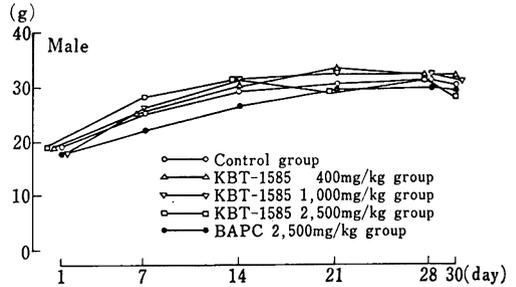
Fig. 2 Body weight changes of male and female rat treated orally with KBT-1585 for 30 days



摂餌量を Fig. 3 に示す。KBT-1585 投与各群および BAPC 群の雄雌の摂餌量は対照群のそれにおおむね近似して推移した。飼料効率は KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群の雄で低下の傾向を示した。

4. 飲水量

飲水量を Fig. 4 に示す。KBT-1585 の投与各群および Fig. 3 Food consumption (g/rat/day) in male and female rats treated orally with KBT-1585 for 30 days



び BAPC 群の雄雌の飲水量は有意に増加した。

5. 眼検査

眼底部の明斑形成、動脈蛇行および血管分布異常が各群の動物に散見されたに過ぎなかった。

6. 尿検査

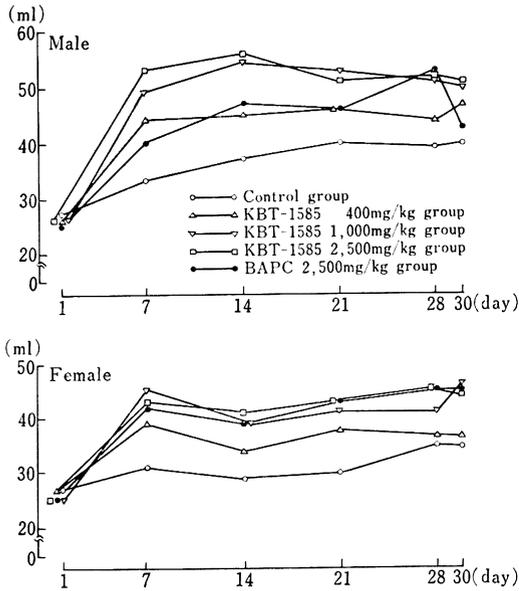
各投与群雄雌に、投与検体に帰せられるような尿検査成績の異常は認められなかった。

7. 血液学的検査

得られた成績を Table 2 に示す。KBT-1585 群では、特に 2,500 mg/kg 投与群において有意差を示した所見は、雄では分葉核好中球百分比の増加およびリンパ球百分比の減少であり、また、雌では RBC, WBC および血小板数の増加であった。これらのうち、雄での分葉核好中球百分比の増加およびリンパ球百分比の減少ならびに雌での RBC および WBC の増加は、BAPC 群でも同様に対照群に比べ有意であり、KBT-1585 群に比べ有意ではないが、変化はいずれも著明であった。KBT-1585 群雌で増加した血小板数については、BAPC 群でも有意ではないが同様に対照群より増加していた。

その他、BAPC 群では雄雌での MCV および MCH の有意な減少および雄での網状赤血球数の有意な増加が

Fig. 4 Water intake (ml/rat/day) in male and female rats treated orally with KBT-1585 for 30 days



観察された。

8. 血液生化学的検査

得られた成績を Table 3 に示す。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群に共通してみられた有意な変化は、雄での A/G、総コレステロールの増加、グルコース、総蛋白、CRNN、BUN、LDH、Al-P および Ca の減少、ならびに雌での総蛋白および Na の減少であった。これらのうち、雄での総コレステロールの増加、総蛋白、CRNN および LDH の減少は、BAPC 群でより著

明な傾向であったが、なかでも、雄での CRNN の減少は KBT-1585 群に比べても有意に大きかった。KBT-1585 群では、これらのうち、雄での CRNN、BUN および LDH の減少、雌での総蛋白の減少は、400 mg/kg 以上の投与群で、また、雄の総コレステロールの増加、グルコースおよび Ca の減少は、1,000 mg/kg 以上の投与群で、それぞれ対照群との差が有意であった。

KBT-1585 群でのみみられた有意な変化としては、雄の 400 mg/kg 以上の投与群での総ビリルビンの増加、雄の 1,000 mg/kg 以上の投与群での GOT の減少、雄の 2,500 mg/kg 群での K^+ の減少、雌の 2,500 mg/kg 群での BUN、 K^+ および Cl^- の減少であった。これらのうち、雌の BUN および Cl^- については、BAPC 群でも同様に減少の傾向がみられた。また、総ビリルビンについては、KBT-1585 群の雌、BAPC 群の雄雌ではむしろ減少の傾向であり、就中、BAPC 群の雌の減少は対照群に比べ有意であった。

9. 器官重量および体重比

器官重量を Table 4 に、体重比を Table 5 に示す。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群に共通してみられた器官重量の有意な変化は、雄雌での盲腸重量の増加、雄での肝、脾、心、肺および脳重量の減少であり、肺重量の減少については、BAPC 群での変化が、KBT-1585 群に比べ有意に大きかった。これらの変化は体重比についてみると、雄雌での盲腸重量は KBT-1585、BAPC 両群に共通して増加しており、一方、脳重量は両群に共通して有意に増加するという結果であった。上記のうちのその他の臓器については、肝、心および肺の減少は BAPC 群でのみ有意、KBT-1585 群では対照群とほと

Fig. 5 Body weight changes during administration and recovery periods in male and female rats treated orally with KBT-1585

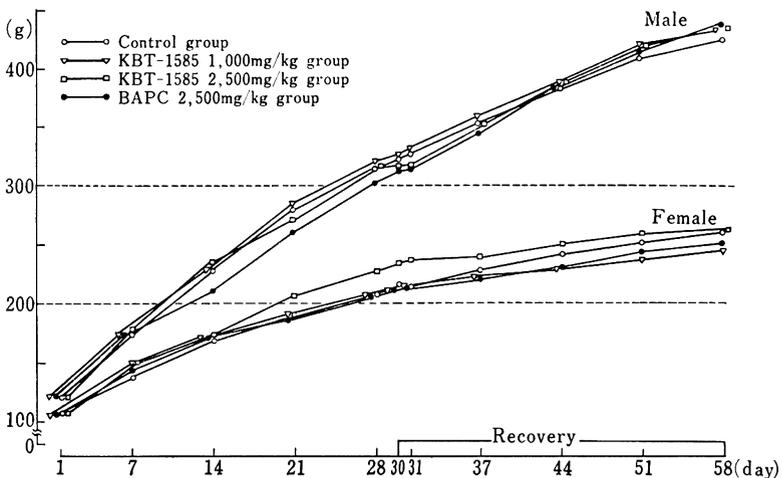


Table 2 Hematological findings in male and female rats treated orally with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drug	Groups (mg/kg)	Cases	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ ³)	MCH (μg)	MCHC (%)	WBC (10 ³ /mm ³)	Differential leukocyte counts (%)				Platelets (10 ⁴ /mm ³)	Reticulocyte (%)			
											Neutro.		Lympho	Mono			Eosino	Baso	
											Band	Seg							
Male	KBT-1585	0	12	783	15.1	47.5	60.8	19.4	32.0	101	0.4	12.4	83.6	0.8	2.7	0.2	96	30	
		400	12	769	14.9	46.8	61.3	19.4	31.7	82*	0.1**	11.5	85.7	0.8	1.8	0.2	98	32	
		1,000	12	77	0.6	1.3	4.7	1.4	0.6	12	0.2	3.8	4.4	0.7	1.0	0.2	14	10	
		2,500	10	802	15.2	48.4	60.5	19.1	31.5	108	0.2	24.7*	72.8*	0.7	1.6	0.2	104	28	
			49	53	0.5	1.4	3.5	1.2	0.4	38	0.3	14.5	13.9	0.7	1.4	0.2	13	8	
	BAPC	2,500	7	849	14.8	47.1	56.0*	17.5*	31.3	109	0.1*	38.1***	58.2***	1.0	2.3	0.3	106	38*	
			97	97	0.8	1.9	5.2	1.7	0.5	37	0.2	15.8	14.0	0.6	1.7	0.6	23	5	
		0	11	710	14.4	45.0	63.7	20.4	32.0	43	0.0	13.1	82.4	1.1	3.1	0.3	109	24	
		KBT-1585	400	10	723	14.3	44.9	62.6	19.9	31.9	42	0.2	12.4	82.8	0.6	4.0	0.3	110	25
			1,000	12	740	14.3	44.7	60.8	19.5	31.9	44	0.1	12.9	81.8	0.5	4.4	0.3	114	30
Female	KBT-1585	400	10	723	14.3	44.9	62.6	19.9	31.9	42	0.2	12.4	82.8	0.6	4.0	0.3	110	25	
		1,000	12	740	14.3	44.7	60.8	19.5	31.9	44	0.1	12.9	81.8	0.5	4.4	0.3	114	30	
	BAPC	2,500	11	800**	14.9	46.8	58.7*	18.8*	32.0	56*	0.1	19.4*	77.4	0.5	2.4	0.1	121	20	
			65	65	0.8	2.9	4.4	1.3	0.7	12	0.2	8.7	9.6	0.5	1.5	0.2	18	5	
		2,500	12	757*	14.7	45.7	60.5	19.4	32.1	54*	0.1	16.5	79.6	0.5	3.1	0.2	124**	30	

Figures represent average and SD.

* : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.05

** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.01

*** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.001

Table 3 Blood biochemical findings in male and female rats treated orally with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drug	Groups (mg/kg)	Cases	Glu (mg/dl)	T P (g/dl)	A/G	T.Chol (mg/dl)	T.Bili (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	BUN (mg/dl)	GOT (Iu/l)	GPT (Iu/l)	LDH (Iu/l)	Al-P (Iu/l)	Ca (mg/dl)	Electrolytes (mEq/l)		
																Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Male	KBT-1585	0	12	184	5.86	1.80	24.9	0.16	0.77	18.5	72.0	22.1	578	356	11.36	139	3.90	102
		400	12	187	5.80	1.81	27.7	0.21*	0.68***	15.9**	67.4	25.6*	393*	327	11.09	139	3.85	103
		1,000	12	159**	5.84	1.82	37.1***	0.22*	0.68***	16.5*	60.9**	23.5	334**	307	10.78*	140	3.78	102
	BAPC	0	11	125	6.00	2.21	39.7	0.15	0.64	21.1	61.2	20.1	291	242	11.08	140	3.74	103
		400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**
		1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103
Female	KBT-1585	0	12	17	0.17	0.12	7.9	0.05	0.04	2.8	9.4	3.0	180	57	0.30	2	0.28	2
		400	12	18	0.24	0.13	7.5	0.05	0.06	1.4	6.7	5.0	205	62	0.52	1	0.21	2
		2,500	10	156**	5.26***	2.05**	33.6*	0.22*	0.67***	16.1*	62.6*	22.5	388*	278**	10.57***	139	3.52**	101
	BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2
		400	10	156**	5.12***	1.98*	38.5***	0.12	0.59***	16.0*	71.9	26.8	306**	296*	10.95*	141	3.90	101
		1,000	12	117	5.35***	2.15	34.8	0.06***	0.63	18.2	68.3	20.3	159	251	10.75	136**	3.76	101
KBT-1585	0	12	16	0.17	0.19	6.2	0.03	0.04	3.1	6.6	6.1	78	38	0.30	3	0.28	1	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82	103	
BAPC	0	11	20	0.21	0.15	3.9	0.02	0.07	1.4	7.2	5.4	146	61	0.56	2	0.24	2	
	400	10	132	5.73*	2.39	40.1	0.13	0.69*	19.1	67.7	20.7	198	271	11.12	141	3.75	105**	
	1,000	12	133	5.49**	2.74*	37.5	0.14	0.74**	20.3	65.3	17.1	228	224	11.16	140	3.82		

Table 4 Absolute organ weights in male and female rats treated orally with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drug	Groups (mg/kg)	Cases	B.W. (g)	Liver (g)	Spleen (mg)	Kidneys (g)			Heart (g)	Lungs (g)	Adrenal glands (mg)			Thymus (mg)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Cecum (g)	Testes or Ovaries (mg)			Prostate gland (mg)	Brain (g)
							Left	Right	Total			Left	Right	Total					Left	Right	Total		
Male	KBT-1585	0	12	312	10.4	747	1.32	1.34	2.65	1.11	1.32	34.3	33.6	67.9	500	29.3	11.7	3.6	1.66	1.65	3.31	499	1.98
		400	12	305	10.1	655	1.27	1.28	2.55	1.07	1.29	35.6	32.7	68.4	500	31.7	11.6	5.7	1.66	1.62	3.29	503	1.96
		1,000	12	296	9.9	654	1.26	1.27	2.53	1.06	1.26	39.3	36.3	75.5	482	30.2	10.2	5.8	1.64	1.63	3.26	434	1.92
	BAPC	2,500	10	283	9.3	577	1.22	1.24	2.47	0.99	1.21	41.6	37.7	79.3	449	27.4	10.5	7.2	1.67	1.62	3.29	360	1.87
		2,500	7	282	8.8	619	1.19	1.18	2.37	0.93	1.09	35.5	34.9	70.5	486	27.4	10.7	8.1	1.61	1.60	3.21	424	1.89
		0	12	192	6.3	467	0.77	0.78	1.55	0.73	0.94	36.7	35.3	72.0	435	20.3	11.4	3.6	48.9	49.3	98.2	502	1.78
Female	KBT-1585	400	10	188	5.9	439	0.79	0.81	1.61	0.70	0.91	39.3	38.3	77.6	404	20.1	11.0	5.3	45.3	45.0	90.3	657	1.74
		1,000	12	193	6.3	467	0.82	0.84	1.66	0.72	0.92	39.3	37.0	76.3	383	19.6	11.0	6.2	48.6	45.2	93.8	550	1.80
		2,500	12	193	6.3	468	0.84	0.86	1.70	0.70	0.97	45.0	41.7	86.7	375	18.6	10.1	6.6	47.2	45.2	92.4	438	1.77
	BAPC	2,500	11	196	6.6	502	0.82	0.84	1.66	0.71	1.10	40.6	38.2	78.8	392	20.2	11.0	6.9	55.0	48.6	103.6	530	1.78
		0	12	192	6.3	467	0.77	0.78	1.55	0.73	0.94	36.7	35.3	72.0	435	20.3	11.4	3.6	48.9	49.3	98.2	502	1.78
		14	1.2	50	0.07	0.06	0.13	0.07	0.05	0.05	0.05	4.7	4.1	8.0	79	3.8	1.6	0.6	5.2	10.6	14.8	118	0.06

Figures represent average and SD.

* : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.05

** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.01

*** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.001

+ : BAPC vs. KBT 2,500 mg/kg group, P<0.05

Table 5 Organ to body weight ratio (%) in male and female rats treated orally with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drge	Groups (mg/kg)	Cases	Spleen	Liver	Kidney			Heart	Lungs	Adrenal glands			Thymus	Thyroid	Pituitary	Cecum	Testes or Ovaries			Prestate gland	Brain
						Left	Right	Total			Left	Right	Total					Left	Right	Total		
Male	KBT-1585	0	12	3.33	0.240	0.422	0.428	0.850	0.354	0.423	0.0110	0.0107	0.0218	0.161	0.0094	0.0038	1.16	0.532	0.531	1.063	0.159	0.635
		400	12	3.30	0.214	0.417	0.419	0.836	0.351	0.423	0.0117	0.0107	0.0224	0.164	0.0104	0.0038	1.86	0.547	0.534	1.081	0.164	0.643
		1,000	12	3.33	0.221	0.426	0.427	0.853	0.359	0.427	0.0133	0.0123	0.0255	0.163	0.0102	0.0034	1.94	0.553	0.550	1.103	0.147	0.649
	BAPC	2,500	10	3.27	0.205	0.433	0.440	0.874	0.350	0.430	0.0148	0.0134	0.0282	0.159	0.0097	0.0037	2.52	0.595	0.575	1.170	0.129	0.664
		2,500	7	3.15	0.220	0.423	0.419	0.842	0.331	0.388	0.0128	0.0125	0.0253	0.173	0.0098	0.0038	2.87	0.573	0.569	1.142	0.153	0.675
		0	12	3.29	0.243	0.402	0.406	0.808	0.381	0.488	0.0191	0.0183	0.0374	0.226	0.0105	0.0059	1.89	0.0255	0.0256	0.0511	0.260	0.928
Female	KBT-1585	400	10	3.16	0.234	0.423	0.434	0.857	0.372	0.487	0.0209	0.0204	0.0414	0.214	0.0108	0.0059	2.81	0.0242	0.0241	0.0483	0.349	0.929
		1,000	12	3.25	0.242	0.427	0.435	0.862	0.373	0.477	0.0204	0.0193	0.0397	0.197	0.0102	0.0057	3.21	0.0253	0.0235	0.0487	0.287	0.940
		2,500	12	3.28	0.242	0.435	0.445	0.880	0.365	0.501	0.0233	0.0216	0.0450	0.194	0.0096	0.0052	3.43	0.0243	0.0234	0.0478	0.228	0.917
	BAPC	2,500	11	3.37	0.256	0.420	0.429	0.849	0.361	0.567	0.0208	0.0196	0.0404	0.198	0.0103	0.0056	3.48	0.0282	0.0249	0.0530	0.269	0.912
		0	12	3.29	0.243	0.402	0.406	0.808	0.381	0.488	0.0191	0.0183	0.0374	0.226	0.0105	0.0059	1.89	0.0255	0.0256	0.0511	0.260	0.928
		400	10	3.16	0.234	0.423	0.434	0.857	0.372	0.487	0.0209	0.0204	0.0414	0.214	0.0108	0.0059	2.81	0.0242	0.0241	0.0483	0.349	0.929

Figures represent average and SD

* : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.05
 ** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.01
 *** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.001

Table 6 Hematological findings in male and female rats killed at 28 days following administration with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drug	Groups (mg/kg)	Cases	RBC (10 ⁴ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ ³)	MCH (μg)	MCHC (%)	WBC (10 ³ /mm ³)	Differential leukocyte counts (%)						Platelets (10 ⁴ /mm ³)	Reticulocyte (%)
											Neutro.		Lympho	Mono	Eosino	Baso		
											Band	Seg						
Male	KBT-1585	0	7	804	14.7	45.9	57.4	18.4	32.0	82	0.1	20.8	74.4	0.7	3.9	0.1	108	29
				55	0.3	0.8	3.9	1.1	0.6	17	0.2	5.0	6.6	0.6	2.3	0.2	10	7
		1,000	7	886	15.0	46.8	53.2	17.1	32.2	73	0.2	15.0	81.5	0.9	2.4	0.0	107	25
	BAPC	2,500	7	873	15.2*	47.0	54.1	17.5	32.4	74	0.2	16.4	77.3	0.8	5.0	0.4	103	22
				66	0.6	1.9	4.1	1.4	0.4	18	0.3	2.8	4.7	0.6	2.6	0.5	10	5
		2,500	6	829	15.1	46.3	55.9	18.3	32.8	61*	0.1	18.1	77.8	0.9	2.9	0.2	106	24
Female	KBT-1585	0	7	726	14.2	44.4	61.5	19.7	32.1	59	0.1	19.1	77.4	0.7	2.6	0.1	122	28
				59	0.6	1.0	5.3	1.9	0.7	15	0.2	6.6	5.5	0.6	1.6	0.2	8	5
		1,000	7	836**	14.7	45.4	54.3**	17.6*	32.5	41*	0.1	14.7	80.5	0.9	3.6	0.2	112	22
	BAPC	2,500	7	34	0.4	1.0	1.8	0.6	0.3	8	0.2	3.9	4.1	0.6	2.8	0.4	12	7
				815*	14.7	45.2	55.6*	18.1	32.6	52	0.2	16.8	78.4	0.8	3.3	0.5	120	20*
		2,500	6	890***	14.8	45.7	51.4**	16.7**	32.4	42	0.2	17.5	77.3	0.7	3.7	0.8	112	20
			56	0.3	1.1	2.6	0.8	0.2	12	0.3	6.1	4.6	0.8	3.7	0.8	18	8	

Figures represent average and SD.

* : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.05

** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.01

*** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.001

+ : BAPC vs. KBT 2,500 mg/kg group, P<0.05

++ : BAPC vs. KBT 2,500 mg/kg group, P<0.01

Table 7 Blood biochemical findings in male and female rats killed at 28 days following administration with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drug	Groups (mg/kg)	Cases	Glu (mg/dl)	T P (g/dl)	A/G	T.Chol (mg/dl)	T.Bili (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	BUN (mg/dl)	GOT (Iu/l)	GPT (Iu/l)	LDH (Iu/l)	Al-P (Iu/l)	Ca (mg/dl)	Electrolytes (mEq/l)		
																Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Male	KBT-1585	0	7	204	5.33	2.31	27.0	0.07	0.70	18.0	88.8	28.0	1164	308	9.97	140	3.75	99
		1,000	7	187	4.96**	3.22**	24.1	0.06	0.65*	20.4	80.1	25.9	678	288	9.75	140	3.64	100
		2,500	7	21	0.17	0.62	4.6	0.02	0.04	2.9	11.0	5.8	107	51	0.21	2	0.22	2
	BAPC	0	7	191	5.05*	3.02***	28.2	0.04**	0.66	18.1	72.7	22.5*	602	299	10.08	142	3.67	99
		1,000	7	19	0.16	0.20	6.6	0.02	0.05	2.2	7.8	5.2	134	68	0.06	2	0.18	2
		2,500	6	183*	5.34	2.31	29.1	0.08	0.73	18.1	77.1	24.9	553	273	10.07	142	3.74	99
Female	KBT-1585	0	7	170	5.43	2.65	42.9	0.07	0.72	22.8	66.8	24.6	315	212	9.97	138	3.64	104
		1,000	7	167	5.25	3.45**	43.4	0.08	0.71	22.0	76.8	25.6	307	189	9.89	140	3.50	103
		2,500	7	168	5.31	3.12*	40.7	0.08	0.69	24.7	65.4	20.8	279	170	9.89	139	3.43	103
	BAPC	0	7	18	0.14	0.23	5.4	0.02	0.03	3.6	12.5	5.3	138	27	0.30	1	0.27	2
		1,000	6	167	5.48	3.10	39.4	0.05	0.75	21.6	63.6	19.2	272	196	9.94	141*	3.47	103
		2,500	6	15	0.23	0.33	7.8	0.02	0.03	4.6	5.0	4.5	88	17	0.14	2	0.31	3

Figures represent average and SD.

* : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.05

** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.01

*** : Control vs. KBT or BAPC group, P<0.001

んど変わらず、また、脾の減少は KBT-1585 群でのみ有意であったが、BAPC 群でも減少の傾向であった。その他、体重比でのみ両群に共通する有意な変化は、精巢重量の増加であった。

副腎は、KBT-1585 群のみで、雄雌に共通して器官重量、体重比とも有意に増加したが、BAPC 群においても対照群に比べ有意ではないが増加の傾向であった。

その他、KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群と BAPC 群とを比較すると KBT-1585 群の雄での下垂体重量の有意な減少、雌での腎および胸腺器官重量のそれぞれ有意な増加および減少がみられたが、BAPC 群においても同様な傾向が認められた。

一方、BAPC 群では、雄で腎重量が有意に減少、また、雌で肺重量が有意に増加したが、雄の腎重量については、KBT-1585 群でも同様な傾向であった。

これらの変化のうち、体重比についてみると、KBT-1585 群雌での腎および胸腺のそれぞれ増加および減少は、同様に有意であり、また、BAPC 群においても同様の傾向が示された。その他、KBT-1585 群雌で下垂体の体重比重量が有意に減少していた。

以上述べた有意な変化のうち、KBT-1585 群について、400 mg/kg からみられた変化は、雄雌での器官重量および体重比における盲腸重量の増加、雄での器官重量および体重比における脾重量の減少、1,000 mg/kg 群からみられた変化は、雄での下垂体重量および雌での腎重量の減少、雄での副腎体重比重量の増加であり、他は 2,500 mg/kg 群でのみみられた変化であった。

10. 病理学的検索

10-1. 病理解剖学的所見

検体投与に起因すると考えられる所見は盲腸の膨満で、KBT-1585 の 1,000 mg/kg 群雌 1 例、2,500 mg/kg 群雄雌各 1 例および BAPC 群の雄 6 例、雌 5 例に認められた。その他各群の動物に、皮下脂肪織の萎縮、一側性水腎症、肺の限局性赤色染が低率に認められた。BAPC 投与により死亡した雄 3 例には、主要器官のうっ血、腹部膨満、口吻部被毛の湿潤、盲腸の膨満およびその液状内容の増加が認められた。

10-2. 病理組織学的所見

得られた成績を Table 10 および 11 に示す。肝における組織球性細胞結節、腎における腎洞拡張および尿細管内結石形成、肺における間質の水腫、小無気巢、および血管あるいは気管支周囲の細胞浸潤、胃の粘膜下織における細胞浸潤、脳室の類皮のう胞、甲状腺の類表皮のう胞、眼球網膜の限局性萎縮、および前立腺間質におけるリンパ球集簇が各群の試験終了時殺動物に低率に散見された。BAPC 投与により死亡した雄 3 例には、肝、腎、肺および下垂体のうっ血、肺における小出血、小無気巢および気管支上皮細胞過形成、胃の粘膜下織の水腫および小腸の小出血が散見された。

10-3. 電子顕微鏡的検索

検索した肝および腎の細胞形態あるいは細胞小器官に異常は認められなかった。

試験 II

1. 臨床所見

KBT-1585 および BAPC 群の投与期の主な症状は、検体投与直後に出現する一過性の流涎および腹部膨満で、その程度および発生状況は試験 I と同様であった。回復期にはこれら症状は消失した。BAPC 投与により雄

Fig. 6 Food consumption (g/rat/day) during administration and recovery periods in male and female rats treated orally with KBT-1585

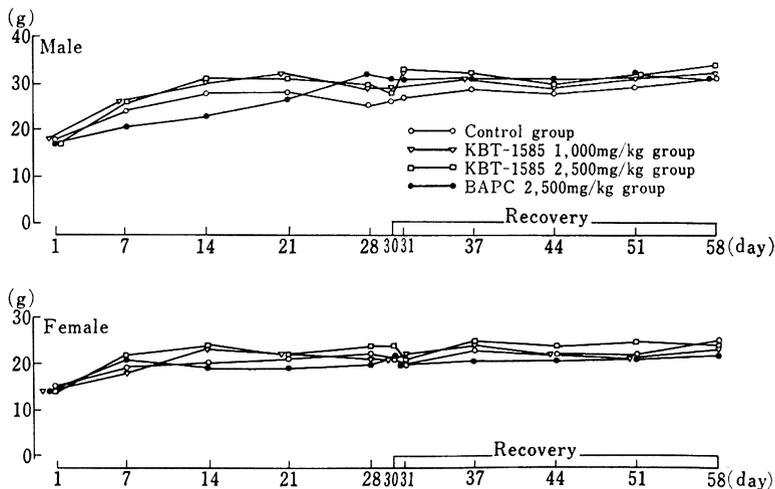
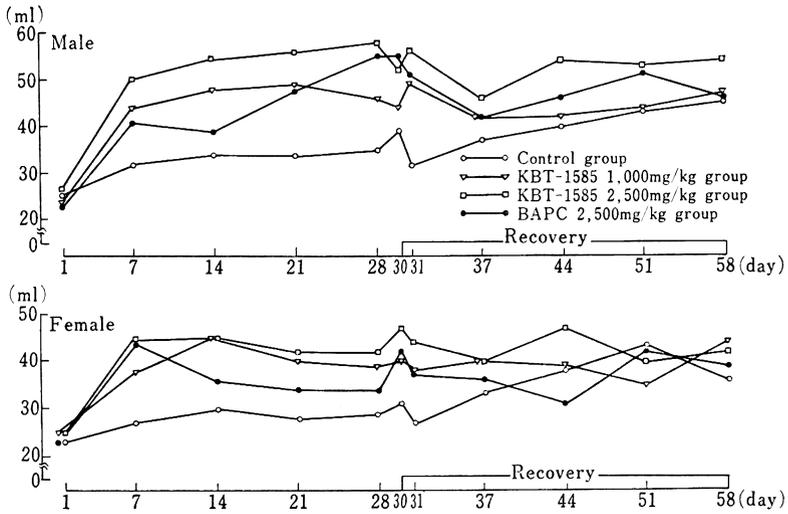


Fig. 7 Water intake (ml/rat/day) during administration and recovery periods in male and female rats treated orally with KBT-1585



1例が試験16日に、雌1例が試験23日に死亡した（死亡率各14.3%）。

2. 体重

体重曲線を Fig. 5 に示す。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群雌の体重は、投与期中期以降から回復期の初期にかけてやや増加の傾向を示したが、対照群のそれにおおむね近似した。KBT-1585 の他の投与群および BAPC 群の雄雌の投与期および回復期の体重は対照群のそれに近似した。

3. 摂餌量および飼料効率

摂餌量を Fig. 6 に示す。KBT-1585 および BAPC 投与各群の摂餌量および飼料効率は投与期および回復期を通じ対照群のそれに近似した。

4. 飲水量

飲水量を Fig. 7 に示す。投与期においては、KBT-1585 の投与各群および BAPC 群の雄雌の飲水量は有意に増加した。回復期では、KBT-1585 の 2,500mg/kg 群の雄の飲水量が増加の傾向を維持した。

5. 眼検査

KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群の 1 例の左眼球に、眼底部の明斑形成、血管狭小および出血が観察された。

6. 尿検査

異常所見は認められなかった。

7. 血液学的検査

得られた成績を Table 6 に示す。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群に共通してみられた有意な変化は、雌での RBC の増加および MCV の減少であった。これらの変化は BAPC 群でいずれもより著明であったが、KBT-1585 群でも、1,000 mg/kg 雌でこれら

の変化が認められた。その他、KBT-1585 の 2,500 mg/kg 雄で Hb の増加、雌での網状赤血球数の減少および 1,000 mg/kg 雌での MCH と WBC の減少、また、BAPC 群雄では WBC の減少、雌で MCH の減少に有意差が認められた。

8. 血液生化学的検査

得られた成績を Table 7 に示す。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群に共通する有意な変化は認められなかった。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群あるいは投与各群に共通して、雄の A/G の増加、総蛋白、総ビリルビンおよび GPT の減少、雌の A/G の増加に有意差がみられた。BAPC 群では、雌の Na が有意に増加し、雄のグルコースが有意に減少した。

9. 器官重量および体重比

器官重量を Table 8 に、体重比を Table 9 に示す。KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群に共通してみられた器官重量の有意な変化は、雄での副腎重量の増加および盲腸重量の増加であり、盲腸重量の増加については、KBT-1585 群での変化が BAPC 群に比べ有意に大きかった。これらの変化は体重比においても対照群に比べ有意な増加であった。なお、盲腸重量およびその体重比の有意な増加は、KBT-1585 投与群の雄雌の各群で認められた。

その他、KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群雌における甲状腺重量および体重比の増加、BAPC 群雌での腎重量の減少、卵巣重量および体重比の増加に有意差が認められた。

10. 病理学的検索

10-1. 病理解剖学的所見

Table 8 Absolute organ weights in male and female rats killed at 28 days following administration with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drug	Groups (mg/kg)	Cases	B.W. (g)	Liver (g)	Spleen (mg)	Kidneys (g)			Heart (g)	Lungs (g)	Adrenal glands (mg)			Thymus (mg)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Cecum (g)	Testes or Ovaries (mg)			Prostate gland (mg)	Brain (g)
							Left	Right	Total			Left	Right	Total					Left	Right	Total		
Male		0	7	387	11.3	791	1.32	1.37	2.69	1.16	1.33	33.7	30.8	64.5	403	30.9	11.9	3.3	1.76	1.78	3.54	974	2.01
				22	1.2	121	0.10	0.12	0.21	0.08	0.06	3.2	3.6	6.7	59	4.2	1.4	0.6	0.09	0.12	0.18	150	0.06
	KBT-1585	1,000	7	395	11.0	772	1.48	1.42	2.90	1.20	1.40	35.7	34.5	70.2	396	28.2	11.8	5.3	1.51	2.04	3.55	756	2.00
				37	1.4	146	0.11	0.12	0.23	0.09	0.12	3.7	4.9	7.4	96	5.7	1.0	2.1	0.66	0.48	0.31	215	0.04
	BAPC	2,500	6	394	11.7	746	1.42	1.39	2.81	1.24	1.47	39.6	35.8	75.5	396	29.6	11.7	6.3	1.81	1.80	3.61	1022	1.98
				38	0.8	66	0.13	0.17	0.24	0.10	0.24	5.5	4.4	9.7	74	4.0	2.0	2.0+	0.10	0.09	0.19	347	0.09
Female		0	7	236	6.7	534	0.84	0.89	1.73	0.84	1.08	42.4	37.0	79.4	351	22.6	15.5	3.5	52.9	49.5	102.5	729	1.85
				13	0.4	65	0.06	0.06	0.10	0.06	0.05	6.8	8.0	14.0	70	3.5	1.2	0.5	12.4	4.8	16.4	142	0.06
	KBT-1585	1,000	7	221	6.2	463	0.83	0.85	1.67	0.82	1.02	37.9	37.6	75.5	284	20.7	14.3	4.5	48.3	48.9	97.2	622	1.83
				19	0.5	83	0.09	0.10	0.19	0.08	0.06	4.3	3.4	6.5	46	2.8	2.6	0.7	8.1	9.2	12.2	232	0.08
	BAPC	2,500	6	239	6.8	517	0.92	0.93	1.85	0.85	1.09	45.6	45.2	90.7	349	27.5	16.4	5.3	54.3	54.0	108.3	571	1.79
				20	1.0	77	0.14	0.13	0.26	0.09	0.12	8.7	12.3	18.1	33	1.8	2.3	1.5	10.2	8.4	14.8	135	0.11
BAPC	2,500	6	226	6.5	564	0.80	0.81	1.61	0.81	1.05	41.8	43.2	85.0	342	24.6	15.3	4.1	59.5	58.1	117.7	786	1.82	
			12	0.3	92	0.04	0.05	0.08	0.05	0.09	5.1	5.3	10.0	39	3.3	1.4	1.0	10.5	6.9	16.1	180	0.07	

Figures represent average and SD.

* : Control vs. KBT or BAPC group, $P < 0.05$ ** : Control vs. KBT or BAPC group, $P < 0.01$ *** : Control vs. KBT or BAPC group, $P < 0.001$ + : BAPC vs. KBT 2,500 mg/kg group, $P < 0.05$

Table 9 Organ to body weight ratio (%) in male and female rats killed at 28 days following administration with KBT-1585 for 30 days

Sex	Drug	Groups (mg/kg)	Cases	Liver	Spleen	Kidney			Heart	Lungs	Adrenal glands			Thymus	Thyroid	Pituitary	Cecum	Testes or Ovaries			Prostate gland	Brain
						Left	Right	Total			Left	Right	Total					Left	Right	Total		
Male	1585	0	7	2.92	0.204	0.342	0.353	0.696	0.299	0.344	0.0087	0.0080	0.0167	0.104	0.0080	0.0031	0.86	0.456	0.459	0.915	0.252	0.520
				0.21	0.025	0.019	0.021	0.039	0.014	0.016	0.0008	0.0009	0.0017	0.015	0.0010	0.0005	0.12	0.020	0.030	0.043	0.039	0.025
		2.78	0.195	0.376	0.361	0.737	0.305	0.356	0.0092	0.0088	0.0179	0.100	0.0071	0.0030	1.34	0.389	0.517	0.907	0.190	0.510		
		0.14	0.024	0.021	0.024	0.045	0.018	0.012	0.0014	0.0013	0.0025	0.022	0.0012	0.0003	0.53	0.176	0.104	0.121	0.046	0.044		
Female	1585	0	7	2.98	0.190	0.363	0.355	0.718	0.316	0.374	0.0101	0.0091	0.0192	0.101	0.0076	0.0030	1.58	0.462	0.458	0.920	0.256	0.505
				0.10	0.023	0.034	0.057	0.084	0.024	0.068	0.0012	0.0011	0.0022	0.021	0.0013	0.0005	0.40	0.027	0.023	0.049	0.070	0.038
		2.90	0.200	0.364	0.362	0.726	0.307	0.361	0.0097	0.0093	0.0190	0.117	0.0082	0.0030	1.10	0.457	0.416	0.873	0.224	0.519		
		0.10	0.029	0.042	0.031	0.070	0.026	0.050	0.0010	0.0006	0.0014	0.032	0.0010	0.0003	0.24	0.044	0.090	0.105	0.043	0.020		
Female	1585	0	7	2.82	0.226	0.356	0.376	0.732	0.356	0.458	0.0180	0.0157	0.0338	0.149	0.0097	0.0066	1.50	0.0224	0.0210	0.0434	0.311	0.787
				0.07	0.024	0.015	0.020	0.028	0.023	0.029	0.0034	0.0035	0.0065	0.030	0.0019	0.0004	0.24	0.0049	0.0019	0.0064	0.068	0.048
		2.79	0.209	0.373	0.382	0.755	0.370	0.464	0.0173	0.0170	0.0343	0.129	0.0094	0.0065	2.04	0.0222	0.0222	0.0444	0.286	0.831		
		0.15	0.030	0.016	0.021	0.030	0.026	0.027	0.0026	0.0010	0.0034	0.023	0.0014	0.0012	0.30	0.0054	0.0041	0.0078	0.124	0.051		
Female	1585	2,500	7	2.83	0.217	0.385	0.389	0.774	0.355	0.456	0.0190	0.0190	0.0380	0.146	0.0116	0.0069	2.24	0.0229	0.0228	0.0457	0.239	0.754
				0.18	0.028	0.028	0.025	0.053	0.018	0.024	0.0027	0.0052	0.0068	0.011	0.0010	0.0008	0.65	0.0051	0.0039	0.0077	0.054	0.066
		2.89	0.249	0.355	0.360	0.715	0.361	0.467	0.0185	0.0192	0.0378	0.152	0.0109	0.0068	1.82	0.0264	0.0258	0.0522	0.349	0.809		
		0.15	0.032	0.020	0.029	0.047	0.014	0.035	0.0023	0.0027	0.0048	0.016	0.0014	0.0005	0.55	0.0047	0.0030	0.0071	0.079	0.045		

Figures represent average and 50 SD.

- * : Control vs. KBT or BAPC group, P < 0.05
- ** : Control vs. KBT or BAPC group, P < 0.01
- *** : Control vs. KBT or BAPC group, P < 0.001
- + : BAPC vs. KBT 2,500 mg/kg group, P < 0.05

Table 10 Microscopic findings of male rats treated orally with KBT-1585 and BAPC

Organs	Findings	Group Dose (mg/kg) No. of rats	Test I				Test II							
			Control	KBT-1585			Control	BAPC						
				400 12	1,000 12	2,500 10		0 7	2,500 8	2,500 3 ^{a)}	1,000 7	2,500 7	BAPC 2,500 6 1 ^{a)}	
Liver	Congestion		1	1	1				2					1
	Histiocytic nodule								3	1	1	1	1	1
	Focal necrosis													
Kidney	Congestion								3					1
	Pelvic dilatation	1												
	Cyst formation												1	
Lung	Congestion													1
	Small hemorrhage								2	1				
	Focal atelectasis								1	1				1
Stomach	Hyperplasia of bronchial epithelia								2	2				
	Edema in tela submucosa									1				
	Cell infiltration in tela submucosa									2				
Small intestine	Small hemorrhage									1				
Brain	Congestion													1
Pituitary	Congestion													
Thyroid	Epidermoid cyst													
Testis	Decrease of sperm formation													1
	Atrophy of seminiferous tubules													1
Prostate Gl.	Interstitial lymphoid aggregation	4	1	2	4	3	1	5	2	1	1	1	1	1

a): No. of animals died by BAPC administration

各群の回復期終了時殺雄雌ラットに、胸部被毛の脱毛、腹腔内脂肪の黄色結節、腎のシスト形成、肺の限局性赤色無気巢および精巢の萎縮が低率に散見された。BAPC投与により死亡した雄雌各1例には、主要器官のうち、腹部膨満、口吻部被毛の湿潤、盲腸の膨満およびその液状内容の増加が認められた。

Photo. 1 Liver of a male rat, KBT-1585 2,500 mg/kg group. No significant changes. H-E stain, $\times 180$.

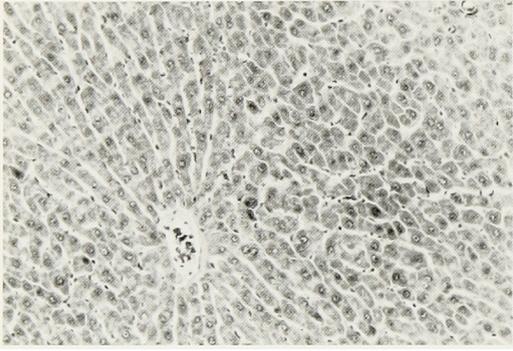


Photo. 2 Kidney of a male rat, KBT-1585 2,500 mg/kg group. No significant changes. H-E stain, $\times 180$.

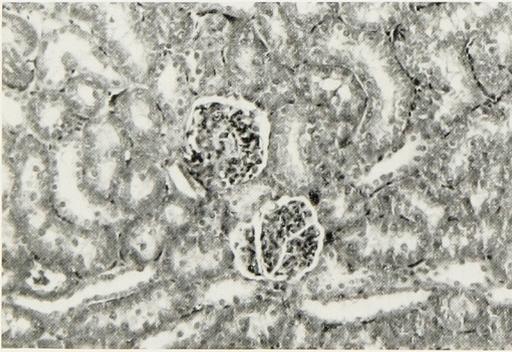
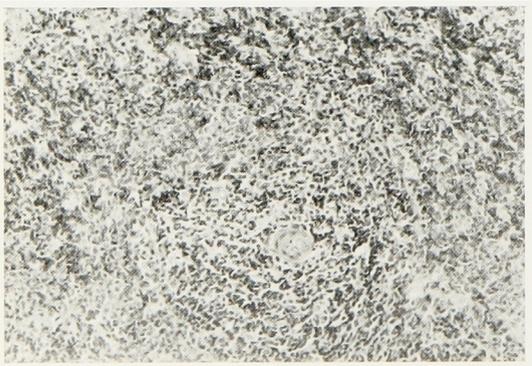


Photo. 3 Spleen of a male rat, KBT-1585 2,500 mg/kg group. No significant changes. H-E stain, $\times 180$.



10-2. 病理組織学的所見

得られた成績を Table 10 および 11 に示す。肝における組織球性細胞結節および巣状壊死、腎におけるシスト形成および腎尿管管内結石形成、肺の小無気巢、下垂体腺葉におけるシスト形成、甲状腺の類表皮のう胞、腹腔内脂肪の巣状壊死、精巢の精子形成低下ならびに精細管

Photo. 4 Adrenal Gl. of a male rat, KBT-1585 2,500 mg/kg group. No significant changes. H-E stain, $\times 70$.

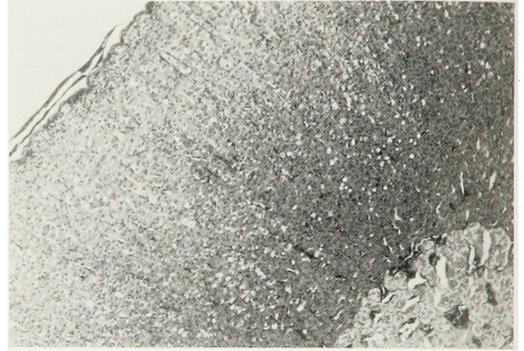


Photo. 5 Cecum of a male rat, KBT-1585 2,500 mg/kg group. No significant changes. H-E stain, $\times 180$.

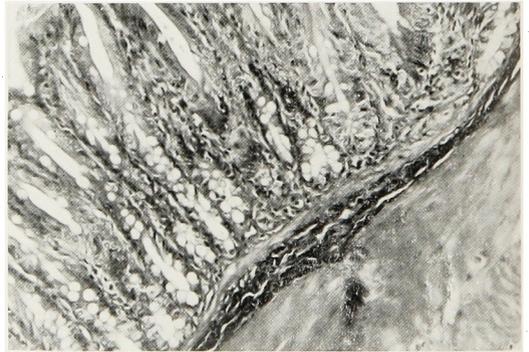
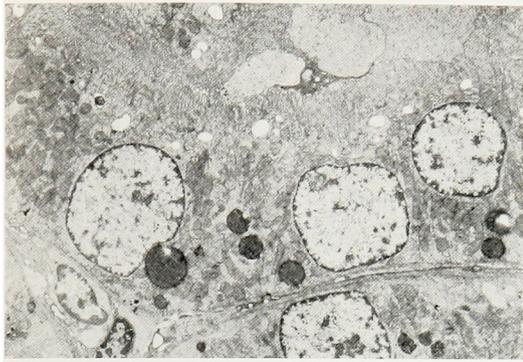


Photo. 6 Electron micrograph of liver of a female rat, KBT-1585 2,500 mg/kg group. No noticeable changes. $\times 3,800$.



Photo. 7 Electron micrograph of kidney of a female rat, KBT-1585 2,500 mg/kg group. No noticeable changes. $\times 3,800$.



の萎縮, および前立腺間質におけるリンパ球集簇が, 回復期終了時殺の各群雄雌に低率に散見された。BAPC 投与によって死亡した雄雌各 1 例には, 肝, 腎, 肺, 脳および副腎のうっ血, 肺の小無気巢と気腫, および脾の萎縮が散見された。

10-3. 電子顕微鏡的検索

検索した肝および腎の細胞形態あるいは細胞小器官に異常は認められなかった。

III. 総括および考察

KBT-1585 は Ampicillin の prodrug であり, 従来の Ampicillin ester とは異なる構造式を有し, 生体に対し高い安全性が期待されている。今回, 著者らは KBT-1585 の安全性を確認するため, KBT-1585 ならびに溶媒対照の他に, Ampicillin ester である Bacampicillin (BAPC) を比較対照薬に置き, ラットに及ぼす影響を試験した。試験は 30 日毒性試験 (試験 I) および 30 日投与後休薬 28 日の回復試験 (試験 II) からなる。試験 I には対照群, KBT-1585 の 400, 1,000 および 2,500 mg/kg 群と BAPC の 2,500 mg/kg 群を, 試験 II では対照群, KBT-1585 の 1,000 および 2,500 mg/kg 群と BAPC の 2,500 mg/kg 群を置いた。

KBT-1585 および BAPC 投与各群の試験 I および II の投与期における雄雌ラットの主な症状は, 投与後の一過性の流涎と腹部の膨満であった。KBT-1585 投与による流涎は, ラット¹⁾ およびイヌ²⁾ を用いた KBT-1585 の 3 カ月亜急性毒性試験においても報告されているように, 本検体特有の苦味により発現したものと考えられる。また, BAPC の経口投与においても枝長ら³⁾ は, KBT-1585 と同様の理由により流涎がおこることを報告している。腹部の膨満は, 後述するように, 剖検所見で盲腸が膨満していることより, 本所見に基づいて発現した変化と考えられ, KBT-1585 群では, 試験期間中に一

過性に散見され, 程度も軽かったのに対し, BAPC 群では試験中期に高頻度に認められた。

その他, BAPC 投与群には自発運動低下, 異常呼吸音および口吻部被毛汚染が多発した。回復期には, これら症状は明らかに減退し, KBT-1585 投与群では全く消失, BAPC 投与群では雄雌ラットに異常呼吸音が低率に認められたのみであった。

投与期間中での検体投与に起因するラットの死亡は, BAPC 投与群のみに認められ, 試験 I で雄ラット 3 例, 試験 II では雄雌各 1 例であり, 通算, 雄 23.5%, 雌 5.6%, 計 14.3% であった。

体重において, 試験 I の KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群雄ラットの体重増加の抑制が明瞭に認められ, その程度は BAPC 投与群で, より強かった。試験 II の回復期の体重は対照群に近似した。一方, 雌ラットにおいては, KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群の試験の中期にやや増加の傾向があったが, いずれの検体投与群にも, 体重増加の抑制は認められず, 投与期および回復期を通じ対照群の体重に近似して推移した。

摂餌量は試験 I および II の投与初期 (試験 2 日) に KBT-1585 および BAPC 投与群の雄雌ラットにおいて一時的に減少したが, おおむね対照群に近似して推移した。回復期における摂餌量はいずれの投与群も対照群に近似した。飼料効率も試験 I の KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 投与群のそれぞれ雄ラットにおいてのみ減少が認められた。

試験 I および II の投与期における雄雌ラットの飲水量の有意な増加が, KBT-1585 投与各群および BAPC 投与群に観察された。飲水量の増加は試験 II の回復期においても KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群の雄雌に認められ, 雌ラットでは回復期初期, 雄ラットでは初期から中期まで認められた。飲水量の増加は, 薬剤の苦味による生理的反応あるいは盲腸内容の流動化に随伴した変化と考えられた。

尿検査および眼検査成績には, 試験 I (投与期間終了時) および II (回復期間終了時) のいずれにおいても, 検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

試験 I の血液学的検査において KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群の雄の分葉核好中球百分比の増加, リンパ球百分比の減少, 雌での RBC, WBC および血小板数の増加に, 有意差が認められ, 程度の差はあれ, BAPC 群においても同様の変化が観察された。これら血液学的所見は KBT-1585 および BAPC 投与に関連する変動と思われる。

一方, BAPC 群においては, 雄雌いずれにおいても,

総的に RBC の増加ならびに MCV, MCH の減少が観察され、さらに、雄のみであったが、網状赤血球数の増加が観察され、幼若赤血球増生亢進が示唆された。

試験 I の血液生化学的検査の結果では、変化の程度に差はあっても、KBT-1585 および BAPC 両群にはほぼ共通してみられた変化は雄雌に共通した総蛋白、BUN および Ca^{++} の減少、雄での A/G 比および T. Chol の増加ならびに雌での Glu, CRNN, LDH および AI-P の減少であったが、総蛋白の減少をはじめ、ほとんどの変化が非特異的な栄養不全を示唆する変化であり、また、総蛋白の減少、A/G の増加などは、大量の抗菌剤投与時に発現しやすい変化である。その他、KBT-1585 投与群でのみ有意に変化した項目は、雄雌での K^+ の減少、雌での GOT および Cl^- の減少であるが、GOT の減少は非特異的な栄養不全との関連と考察され、また、 K^+ および Cl^- の減少は、KBT-1585 経口投与による亜急性毒性¹⁾ および慢性毒性⁴⁾ においても報告されており、荻野らの考察と同様の変化であろうと考えられる。

器官重量においてみられた主な変化は、副腎ならびに盲腸重量の増加と脾重量の減少であった。副腎重量の増加は試験 I の KBT-1585 の 1,000 mg/kg 群以上と、試験 II の KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群ならびに、BAPC 群でみられたが、組織学的に細胞の腫大および変性といった所見は認められず、毒性的意義に乏しいものと考えられた。盲腸重量の増加は試験 I ならびに II の KBT-1585 の投与各群と BAPC 群で用量相関性をもって認められ、解剖学的に観察された盲腸の膨満ならびにその液状内容物の増加と一致する変化と考えられる。これら盲腸における変化はマウス、ラット、モルモットなどの無菌動物作出過程でも腸内細菌叢変動に基づいて高頻度に現われること^{5,6)} が報告されていることより、KBT-1585 ならびに BAPC の抗菌作用によって、ラットの消化管内細菌叢に変動がおり、かかる盲腸変化を導いたものと考えられる。

また、KBT-1585 の投与各群および BAPC 群でみられた脾重量の減少は、抗生物質の経口投与による毒性試験^{3,7,8)} および無菌動物においても報告⁹⁾ されており、免疫に関与するリンパ球数の減少を示唆していると思われるが、今回の試験では脾の組織構築には著明な変化は認められなかった。

その他、試験 I の KBT-1585 の 2,500 mg/kg 群および BAPC 群の雄ラットの肝、腎、心、肺、下垂体、脳および精巣に器官重量の減少あるいは体重比の減少もしくは増加が散見された。これら器官にも組織学的に異常な所見は観察されなかったことから、同群の体重増加の抑制に起因した変動と考えられた。

病理組織学的検索で認められた所見はラットにしばしば認められる所見ばかりで、検体投与群に偏る傾向はなく、毒性的意義のない偶発的所見であった。試験 I および II の各投与群雄雌ラットの肝および腎の電子顕微鏡的観察においても、検体投与に起因する異常は認められなかった。

以上の成績より、KBT-1585 および BAPC をラットに経口投与した際の変化は、強さの程度に差はあっても、ほぼ同様の変化であり、いずれも大量の抗菌剤経口投与時にたびたび観察される変化、もしくは非特異的な栄養不全に随伴する変化であると考察される。ただ、ほぼ等モルの 2,500 mg/kg の用量で比較すると、投与期間中のラットの死亡は、KBT-1585 群ではみられなかったのに比べ、BAPC 群での死亡率は約 14% であり、特に BAPC 群では、血液生化学的に、例えば総蛋白、総ビリルビン、クレアチニン、LDH の減少、総コレステロールの増加などの変化がより顕著な項目が多く、また、器官重量および体重比においても、盲腸の増加が、BAPC 群でより著明であり、さらに、肝および心の減少は、BAPC 群の雄でのみ有意であり、全体的に、KBT-1585 に比べ、BAPC 群の毒性的兆候がより強く発現したものと考察される。

一方、副腎体重比重量の増加、脾および胸腺体重比重量の減少は全体的に BAPC 群に比べ、KBT-1585 群でより著明に認められたので、KBT-1585 群では、毒性的兆候に比べ、むしろ大量の異物投与というストレス負荷に対する生理的防衛反応が強く表現されたものと考察される。以上の成績より、KBT-1585 がラットに対し、より安全性が高いと判断された。

回復試験では、KBT-1585 の 1,000 および 2,500 mg/kg 群雄雌ラットに、回復期の初期から中期における飲水量の増加、血液生化学的検査での総蛋白の減少、A/G の増加、盲腸および副腎重量の増加が、試験 I と共通し散見された。しかし、数値的には対照群のそれに近く、生理値の変動範囲内であることから、KBT-1585 の 1,000 および 2,500 mg/kg 群は、28 日の休薬により回復傾向が充分にあると判断された。試験 II の BAPC 群雄雌ラットにも、KBT-1585 各投与群と類似の所見がいくつか認められたが、試験 I よりも軽度であることから、回復傾向があると判断された。

なお、試験 I および II において、他にも対照群との間に有意差を示す項目が散見されたが、用量相関性はなく、偶発的変化と思われた。

文 献

- 1) 荻野文雄, 海野 隆, 武部秀太郎, 平川公昭, 飯野哲夫, 能勢尚志, 青山卓夫: Lenampicillin

- hydrochloride (KBT-1585) のラット経口投与による3カ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 投稿中
- 2) 平川公昭, 海野 隆, 荻野文雄, 武部秀太郎, 飯野哲夫, 能勢尚志, 青山卓夫: Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) のビーグル犬3カ月間経口投与による亜急性毒性試験。Chemotherapy 投稿中
 - 3) 枝長正修, 北 敏郎, 奥田教隆, 堀添 宏: Bacampicillin hydrochloride の急性, 亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy. 27: 17~27, 1979
 - 4) 平川公昭, 海野 隆, 荻野文雄, 武部秀太郎, 鯨島秀暢, 飯野哲夫, 能勢尚志, 青山卓夫: Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) のラット経口投与による6カ月慢性毒性試験ならびに回復試験。応用薬理 投稿中
 - 5) PHILLIPS, B. P., P. A. WOLF & H. A. GORDON : Studies on rearing the guinea pig germfree. Ann N. Y. Acad. Sci. 78: 183~207, 1959
 - 6) CALHOON, J. R., & P. J. MATTEWS, : A method for initiating a colony of specific pathogen-free guinea pigs. Lab. Anim. Care. 14: 388~394, 1964
 - 7) 小谷吉春, 川村 進, 吉田俊夫, 三木寿雄, 佐渡卓朗: Talampicillin hydrochloride (TAPC) の毒性学的研究: 第2報 ラットにおける経口投与7週間毒性試験。感染症学雑誌, 49: 726~733, 1975
 - 8) 小谷吉春, 吉田俊夫, 三木寿雄, 佐渡卓朗: Talampicillin hydrochloride (TAPC) の毒性学的研究: 第3報 ラットにおける経口投与26週間毒性試験。感染症学雑誌, 49: 734~745, 1975
 - 9) 田嶋嘉雄: 実験動物学, 総論。

SUBACUTE TOXICITY AND RECOVERY STUDIES ON LENAMPICILLIN HYDROCHLORIDE (KBT-1585) IN RATS

JYŌJI YAMATE, SATOSHI SHINODA, SATORU KUDOW, YOSHIHIRO MARUYAMA

KOICHI TAKEHARA and MASANORI TAJIMA

Nippon Institute for Biological Science

TAKASHI NOSE

Pharmaceuticals Research Center, Kanebo, Ltd.

TAKUO AOYAMA

Research Laboratory, Torii Co., Ltd.

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) was orally administered at doses of 400, 1,000 and 2,500 mg/kg to Jcl : SD rats of both sexes for 30 days. The effects of the compound on these rats were investigated in comparison with those observed in rats treated similarly with bacampicillin hydrochloride (BAPC), 2,500 mg/kg. The recovery test was also conducted in rats treated similarly and killed at 28th day after cessation of drug dosing.

The results obtained were as follows.

1. The rats dosed each KBT-1585 and BAPC showed transient salivation immediately after dosing, seemingly owing to their bitter taste abdominal inflation due to cecum enlargement at high frequency, and increase in water-consumption.

2. Deaths related to drug administration were observed only in BAPC group, being 4 males (23.5%) and 1 female (5.6%).

3. Changes observed in common in KBT-1585, 2,500 mg/kg group and BAPC group were lowered body weight gain in male, increased percent segmented neutrophils and decreased percent lymphocytes in male, increased RBC, WBC and platelets in female, decreased total protein in both male and female, increased A/G ratio and total cholesterol, decreased BUN, Ca⁺⁺, glucose, CRNN, LDH and Al-P in male, decreased Na⁺ in female, increased adrenal and cecal weights and decreased splenic weights in both male and female.

Changes observed only in KBT-1585 group were decreased GOT in male at doses higher than 1,000 mg/kg, and decreased K⁺ in both male and female and decreased Cl⁻ in female at 2,500 mg/kg.

Changes observed only in BAPC group were decreased MCV and MCH in both male and female, increased reticulocytes in male and decreased total bilirubin in female.

These changes were of those likely to occur in malnutrition and after administration of antibiotics in high doses, and there were obtained, in fact, no anomalous findings in histopathological examination.

5. As a whole, more severe toxic signs were suggested in BAPC group as compared with in KBT-1585 groups.

6. In the recovery test, progress toward recovery was observed when rats were examined at 28th day after cessation of drug dosing.