

KW-1100 の安全性に関する研究 (第2報)

サルにおける亜急性性, 慢性毒性試験

西条 敬・出口隆志

協和醸酵工業株式会社安全性研究所

奈良間 功・斉藤 実

株式会社生物科学技術研究所

新規経口 penicillin 系抗生物質である KW-1100 のサル経口投与による 35 日間の亜急性毒性試験 (80, 160, 320 mg/kg), 180 日間の慢性毒性試験 (20, 80, 160, 320 mg/kg) を実施した。

1) 亜急性毒性試験において 80 mg/kg 群より軟便, 下痢が認められ, 160, 320 mg/kg 群ではさらに嘔吐も認められた。320 mg/kg 群の雄では血中総蛋白の減少が認められたが, 血液学的, 病理組織学的検査では各群間で差異は認められなかった。

2) 慢性毒性試験において 320 mg/kg 群で軟便, 嘔吐, 貧血, LDH の低下, 骨髓造血亢進, 肝細胞内 PAS 陽性物質沈着等が認められた。

3) 亜急性性, 慢性毒性試験とも重篤と思われる変化あるいは所見は認められなかった。

KW-1100 (Bacmecillinam) は Astra 社 (Sweden) で開発された経口用新規 penicillin 系抗生物質である。著者らは安全性に関する研究の一環として, マウス, ラット, イヌによる急性毒性, ラットによる亜急性性, 慢性毒性試験について報告¹⁾したが, さらにサルによる亜急性性, 慢性毒性試験を実施したので報告する。

I. 使用薬剤

KW-1100 の Lot C5-6-1 (亜急性毒性) および P 16 (慢性毒性) を使用した。構造式は前報¹⁾に記載済のため, 省略した。

II. サルによる亜急性毒性試験

1. 実験方法および材料

(1) 使用動物

静岡県実験動物農業協同組合より入手したマレーシア産のカニクイザルの雌雄各12例を約2か月間予備飼育し, 実験に供した。

(2) 飼育条件

動物はアルミ製ケージに個別に収容し, 温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 20\%$, 照明時間 12 時間に維持された飼育室内で, 市販固型飼料 (サル用, オリエンタル酵母工業㈱) を 1 日約 100 g と補助食 (バナナ, リンゴおよび生甘藷のいずれか) を給餌した。水は水道水を摂取させた。

(3) 投与量*の構成および投与方法

実験系の要約を Table 1 に示した。

予じめ実施した Dose 決定試験結果を参考にし, 連続投与可能な最大量と推測された 320 mg/kg を最高用量

とし以下公比 2 で除した 160, 80 mg/kg を設定した。Control 群には生理食塩水を投与した。検体を投与直前に調製し, カテーテルを用いて経鼻的に胃内へ 35 日間強制投与した。

(4) 検査項目

一般状態の観察, 血液学的, 血液生化学的, 病理学的および尿検査項目はラットの亜急性毒性試験に準じて実施した。ただし飼料摂取量, 飲水量, 体重および尿量測定は週に 1 回, 血液学的, 血液生化学的および尿検査は検体投与前, 投与 2.5 週および 5 週の計 3 回実施した。さらに心機能 (心電図, 心拍数, 呼吸数) および眼底検査も血液学的検査等を同時期に, また骨髓細胞 (肋骨) 分類を投与終了時に実施した。

(5) 統計処理

統計学的解析の不可能なものを除いて, 原則として Student あるいは Welch の検定を行なった。ただし血液学的検査の Wintrobe 恒数, 白血球百分比, 骨髓像および尿の半定量検査の結果に対しては Wilcoxon の順位和検定を行なった。

2. 実験成績

(1) 死亡状況と一般状態

各投与群で死亡動物は認められなかった。

KW-1100 投与群では 80 mg/kg 群より軟便ないし下痢が, 160 mg/kg 群より嘔吐が用量依存性をもって認められ, その程度は雄がやや高度であった。嘔吐は投与 10 日目までに認められ, それ以後はほぼ消失したが, 軟便ないし下痢は投与期間中認められた。また 320 mg/kg 群

* 投与量はすべて力価表示である。

Table 1 Experimental design in monkeys treated orally with KW-1100
(Subacute toxicity)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	No. of Animals
Male	Saline		3
	KW-1100	80	3
	KW-1100	160	3
	KW-1100	320	3
Female	Saline		3
	KW-1100	80	3
	KW-1100	160	3
	KW-1100	320	3

(Chronic toxicity)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	No. of Animals
Male	Saline		4
	KW-1100	20	4
	KW-1100	80	4
	KW-1100	160	4
	KW-1100	320	4
Female	Saline		4
	KW-1100	20	4
	KW-1100	80	4
	KW-1100	160	4
	KW-1100	320	4

の雄ではさらに軽度の活動性低下および口腔粘膜の色調悪化が認められた。

体重の推移 (Fig. 1) では 320 mg/kg 群の雄 3 例中 2 例に軽度体重減少が認められたが、残りの 1 例および他群には変動が認められなかった。飼料摂取量および飲水量についても体重減少の認められた 2 例ではそれぞれ減少を示したが、他例は変動が認められなかった。尿量、心機能、眼底等の検査では各群特記すべき変化は認められなかった。

(2) 血液、血液生化学的および尿検査各群の平均値を Table 2~4 に示した。

1) 血液学的検査：全群特記すべき変化は認められなかった。

2) 血液生化学的検査：320 mg/kg 群の雄で総蛋白量が投与 2.5 週の検査において減少を示したがその後の検査では回復傾向が認められた。160, 320 mg/kg 群の雌各 1 例では総コレステロール値が投与 5 週の検査で増加が認められた。その他の項目においては検体によると思われる変動は認められなかった。

3) 尿検査：320 mg/kg 群の雄において投与 5 週の検査で尿量の増加と尿中カリウム値の減少が認められた。その他の項目において検体によると思われる変動は認め

Fig. 1. Changes of body weight in monkeys treated orally with KW-1100 for 35 days

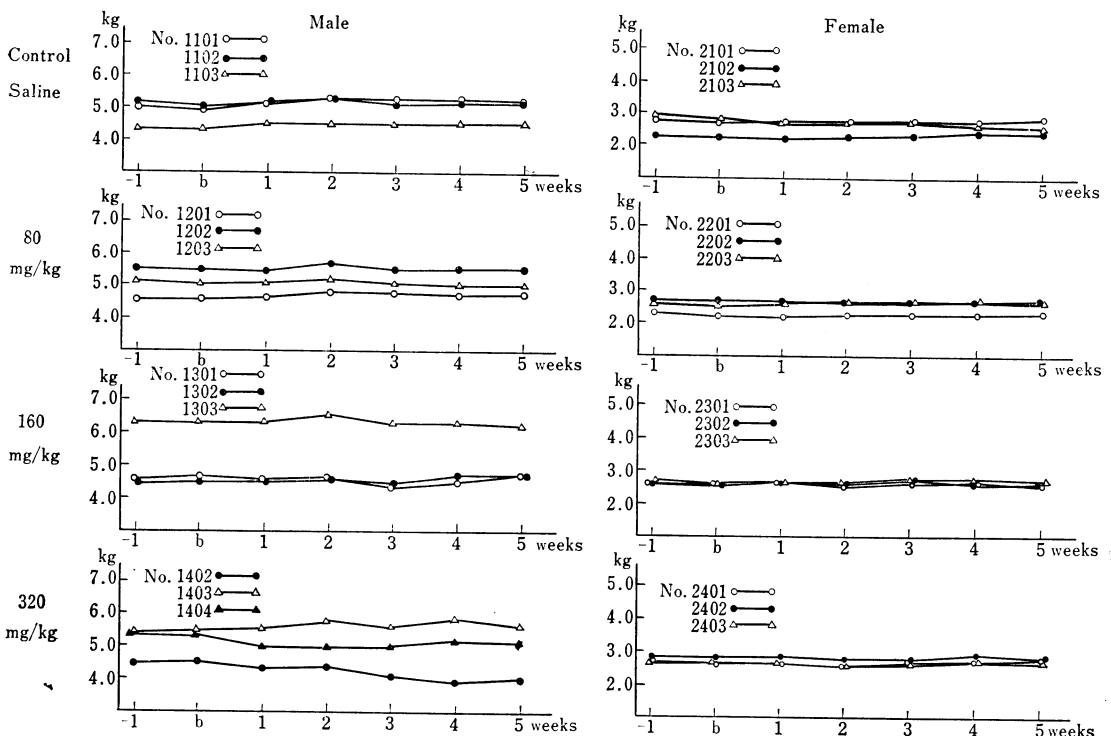


Table 2 Hematological findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 35 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Exam. weeks	RBC (10 ⁹ /mm ³)	PCV (%)	Hb (g/dl)	WBC (10 ³ /mm ³)	Platelet (10 ⁴ /mm ³)	Prothrombin time (sec)
Male	Saline		-1 W	722±58.1	46±4.4	13.0±1.16	132±65.6	34±16.8	10.2±0.42
			2.5 W	714±54.6	45±4.4	12.9±1.15	109±26.7	40±13.9	10.2±0.23
			5 W	702±68.8	44±4.0	13.0±1.36	135±54.0	37±13.6	10.9±0.46
	KW-1100	80	-1 W	644±37.7	42±3.6	12.5±1.25	106±37.9	32±3.6	11.0±0.38
			2.5 W	623±47.5	40±5.0	12.0±1.47	107±15.1	31±2.9	10.7±0.57
			5 W	615±35.7	40±3.5	12.1±1.25	105±26.6	30±3.0	11.2±0.44
	KW-1100	160	-1 W	629±35.5	43±1.5	12.3±0.61	98±6.0	32±12.4	10.7±0.32
			2.5 W	614±41.5	40±1.2	12.0±0.70	71±6.6	39±6.0	10.8±0.56
			5 W	609±49.0	40±0.6	12.2±0.55	91±21.5	39±2.5	11.4±0.64
Female	KW-1100	320	-1 W	613±65.4	40±3.1	11.5±1.00	133±33.5	33±11.7	11.2±0.35*
			2.5 W	576±43.6*	36±3.0*	10.5±0.59*	151±33.5	33±18.4	11.6±0.62*
			5 W	574±38.6*	36±2.5*	10.7±0.36*	94±15.0	29±14.0	11.6±0.74
	Saline		-1 W	571±29.7	36±1.5	10.8±0.75	78±24.5	31±10.4	10.7±0.35
			2.5 W	563±21.0	36±1.0	10.6±0.66	67±26.2	35±9.2	10.9±0.30
			5 W	539±39.5	33±2.1	10.3±0.75	70±12.5	34±14.8	10.9±0.10
	KW-1100	80	-1 W	638±20.8*	41±1.5*	11.7±0.59	101±19.5	28±5.5	10.6±0.49
			2.5 W	611±9.9*	40±1.0**	11.3±0.47	85±40.0	33±12.1	10.9±0.25
			5 W	620±19.0*	40±0.6**	11.5±0.55	93±46.5	30±6.4	10.8±0.38
Female	KW-1100	160	-1 W	591±42.2	37±2.1	10.7±0.35	92±25.4	33±7.1	11.6±0.45
			2.5 W	596±39.3	38±1.0	10.9±0.46	72±37.9	36±6.0	11.3±0.31
			5 W	607±26.5	39±1.0*	11.3±0.10	76±23.5	29±4.0	11.4±0.15*
Female	KW-1100	320	-1 W	565±38.0	36±2.5	11.2±0.35	67±4.2	36±6.0	11.1±0.26
			2.5 W	557±32.4	36±1.5	11.1±0.23	50±3.2	43±6.0	11.4±0.36
			5 W	560±33.3	36±1.2	11.2±0.26	50±2.1	39±6.0	11.3±0.50

Mean±Standard deviation

*, **: Significantly different from control data. *P<0.05, **P<0.01

Table 3 Biochemical findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 35 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Exam. weeks	Total protein (g/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	BUN (mg/dl)	GPT (IU.)	GOT (IU.)	ALP (K.A.U.)	Glucose (mg/dl)	Bilirubin (mg/dl)	Na (meq/l)
Male	Saline		-1 W	8.9±0.29	124±47.0	10.8±3.86	39±24.5	18±2.9	8.0±1.48	70±10.1	0.2±0.06	144±3.5
			2.5 W	9.0±0.29	140±49.2	20.7±1.60	32±14.6	15±1.5	7.0±1.48	63±4.2	0.3±0.10	154±1.0
			5 W	9.1±0.17	135±42.6	15.6±1.82	38±17.6	15±3.5	7.7±1.14	76±3.8	0.3±0.06	151±4.0
	KW-1100	80	-1 W	8.8±0.44	134±21.9	11.4±0.70	29±11.1	22±5.7	10.1±1.91	68±4.9	0.2±0.00	142±4.9
			2.5 W	8.6±0.38	124±6.7	19.5±2.92	21±4.5	13±3.0	8.4±1.72	67±4.0	0.3±0.06	154±6.1
			5 W	8.8±0.55	122±16.5	15.8±1.72	31±9.6	15±2.5	10.0±2.12	73±8.5	0.3±0.00	151±4.0
	KW-1100	160	-1 W	8.4±0.36	139±46.0	12.8±2.90	73±89.3	34±31.8	16.0±1.37**	75±9.0	0.3±0.00	144±6.7
			2.5 W	8.0±0.06**	146±36.9	21.0±3.76	43±33.5	24±9.5	11.9±1.20*	63±13.7	0.4±0.10	151±2.6
			5 W	8.2±0.06**	134±26.7	14.7±2.02	43±18.1	22±9.3	12.6±1.87*	64±14.7	0.4±0.06	148±3.1
Female	KW-1100	320	-1 W	9.2±0.76	111±7.9	11.9±8.78	19±6.5	18±3.8	7.6±1.35	73±15.7	0.3±0.12	143±1.0
			2.5 W	7.7±0.47*	89±23.0	13.2±2.84*	25±7.0	15±3.5	10.3±3.81	61±1.2	0.3±0.06	150±2.1
			5 W	8.3±0.26*	102±19.7	12.1±2.76	49±32.5	20±4.0	7.0±2.87	69±3.5	0.3±0.06	150±1.0
	Saline		-1 W	8.9±0.12	147±14.8	22.5±4.27	37±27.6	21±7.5	12.4±2.89	78±13.7	0.4±0.10	152±2.1
			2.5 W	8.8±0.15	139±11.5	24.7±3.63	32±9.8	18±5.0	12.0±3.36	83±9.0	0.4±0.06	148±4.2
			5 W	8.6±0.26	148±7.4	30.0±7.45	36±4.6	25±2.0	11.7±1.89	65±8.5	0.4±0.17	146±1.5
	KW-1100	80	-1 W	8.7±0.60	165±47.0	20.1±3.21	42±17.0	25±3.8	16.5±7.96	70±10.5	0.4±0.06	153±2.6
			2.5 W	8.5±0.51	182±37.6	24.8±2.27	33±14.7	19±3.8	14.6±6.01	57±4.9*	0.5±0.00	149±4.6
			5 W	8.5±0.42	189±46.0	24.0±3.48	38±15.9	25±8.7	12.8±6.47	59±5.1	0.4±0.00	148±6.6
	KW-1100	160	-1 W	8.5±0.40	144±33.7	20.8±4.17	54±31.0	24±11.4	16.3±2.13	63±6.1	0.4±0.10	146±6.4
			2.5 W	8.3±0.38	143±34.0	17.3±2.79*	80±48.5	22±2.1	13.5±2.31	62±1.5*	0.4±0.06	145±0.6
			5 W	8.5±0.40	170±54.4	18.5±4.08	76±57.5	24±3.5	12.6±2.35	57±3.1	0.4±0.10	146±3.6
	KW-1100	320	-1 W	8.7±0.32	166±27.5	19.7±2.28	53±28.4	25±2.0	14.6±4.74	56±6.2	0.4±0.06	150±2.3
			2.5 W	8.2±0.44	173±35.5	18.8±2.37	85±98.8	32±17.3	12.2±4.42	55±4.5**	0.4±0.12	142±3.1
			5 W	8.4±0.44	193±56.6	19.1±1.86	71±89.3	32±20.8	11.6±3.68	54±10.4	0.4±0.12	146±1.7

Mean ± Standard deviation
→, ** : Significantly different from control, *P<0.05, **P<0.01

Table 4 Urinalysis in monkeys treated orally with KW-1100 for 35 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Exam. weeks	Occult blood	Ketone	Glucose	Protein	pH	Na (meq/l)	K (meq/l)	Ca (meq/l)	Cl (meq/l)
Male	Saline		-1 W	N	N	N	T-S	7.0±1.00	24± 9.6	154±50.4	41.9±36.48	114±138.6
			2.5 W	N	N	N	N	7.8±0.76	88±36.0	73±15.2	21.8±10.79	100±26.5
			5 W	N	N	N	T	8.0±1.00	107±20.7	100± 7.8	13.5± 2.58	98±13.5
	KW-1100	80	-1 W	N	N	N	N-T	8.3±0.29	25±13.0	119±20.5	30.0±18.91	51±41.1
			2.5 W	N	N	N	N-T	7.8±0.29	105±18.8	60± 3.1	19.6± 5.81	127±18.0
			5 W	N	N	N	N-T	8.5±0.87	68±13.0	134±28.7	20.4± 5.91	94±15.5
	KW-1100	160	-1 W	N	N-T	N	T-S	7.3±1.04	41±20.1	119±14.1	15.7±15.29	52±30.0
			2.5 W	N	N	N	N-T	7.8±1.44	98±20.3	40±17.0	12.9± 5.78	103±23.2
			5 W	N	N	N	N-T	7.2±1.04	91±53.3	78±11.8	16.2±15.15	115±58.0
	KW-1100	320	-1 W	N	N	N	N-T	7.3±1.53	42±53.9	106±67.8	16.7± 9.78	43±26.6
			2.5 W	N	N-T	N	N-T	6.0±0.50	80±48.7	28± 2.5**	29.6±17.05	175±80.1
			5 W	N-T	N	N	T-S	7.5±1.80	70±43.9	28±11.1**	18.8± 8.98	106±65.7
Female	Saline		-1 W	T	T-S	N	N-T	8.3±1.15	82±48.0	74±27.5	11.7± 6.95	50±33.0
			2.5 W	T	T-S	N	T	8.0±1.00	91±46.5	82±61.8	13.6±19.74	68±44.2
			5 W	N-T	S	N	N-T	7.3±0.58	95±70.9	51±30.8	7.4± 0.55	64±34.6
	KW-1100	80	-1 W	N	N	N	N-T	9.0±0.00	74±26.1	88±50.8	12.0±10.62	46±15.4
			2.5 W	N	T-S	N	N-T	7.5±0.50	102±18.0	64±34.5	7.6± 2.45	87±15.6
			5 W	T	T	N	N-T	7.3±0.58	110±21.2	48±16.0	15.2± 4.88	97±23.1
	KW-1100	160	-1 W	T-S	N	N	T-S	9.0±0.00	102±37.9	104±29.9	17.9± 5.53	61±14.7
			2.5 W	T	N	N	N-T	8.5±0.50	106±18.9	57±10.8	11.0± 4.30	89± 5.1
			5 W	N	N	N	N-T	7.2±0.76	100± 5.0	42± 5.5	16.1± 0.21**	110±15.0
	KW-1100	320	-1 W	N	N	N	N-T	8.8±0.29	82±70.5	56±59.0	18.9±15.15	59±45.6
			2.5 W	N	N-T	N	N	7.0±0.00	82± 2.5	42±16.6	12.6± 9.02	107±25.9
			5 W	S	N	N	T-S	7.0±1.00	80±36.3	31±15.1	34.5±24.84	102±53.6

Mean±Standard deviation *, **: Significantly different from control, *P<0.05, **P<0.01

N : Negative, T : Trace, S : Small

Table 5 Organ weights of monkeys treated orally with KW-1100 for 35 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain (g)	Pituitary (mg)	Thymus (g)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney (Right) (g)	Adrenal (Right) (g)	Testis or Ovary (Right) (g)	Prostate (g)
Male	Saline		63.9 ±14.4	86 ±17	1.56 ±0.76	17.9 ±2.0	20.5 ±0.3	81.8 ±7.7	8.85 ±4.91	7.03 ±1.86	0.23 ±0.05	16.8 ±7.8	1.49 ±0.42
	KW-1100	80	59.8 ±1.4	63 ±12	1.86 ±1.38	16.4 ±1.4	23.3 ±3.7	87.4 ±6.0	9.28 ±2.10	7.78 ±1.59	0.24 ±0.04	16.7 ±5.7	2.14 ±0.59
	KW-1100	160	59.8 ±4.8	74 ±12	1.34 ±0.40	16.3 ±2.7	19.3 ±4.0	87.6 ±7.8	7.38 ±4.36	7.61 ±0.52	0.21 ±0.03	18.1 ±4.4	1.49 ±0.23
	KW-1100	320	63.6 ±4.4	87 ±5	2.11 ±1.08	16.8 ±2.7	22.7 ±3.2	92.4 ±5.2	9.56 ±3.73	7.82 ±0.27	0.24 ±0.02	16.2 ±0.3	1.86 ±0.44
Female	Saline		61.1 ±7.56	56 ±31	1.05 ±0.70	9.61 ±2.07	16.2 ±2.8	63.3 ±5.7	5.81 ±3.38	6.19 ±1.15	0.28 ±0.02	0.15 ±0.00	
	KW-1100	80	60.0 ±4.35	53 ±9	2.14 ±0.55	8.69 ±1.05	13.2 ±1.2	59.6 ±7.6	6.43 ±3.30	5.92 ±0.62	0.20** ±0.02	0.15 ±0.04	
	KW-1100	160	59.1 ±3.40	42 ±10	1.70 ±1.71	9.34 ±0.19	14.1 ±1.4	56.1 ±7.1	5.04 ±0.80	5.52 ±0.89	0.20* ±0.04	0.12* ±0.01	
	KW-1100	320	57.0 ±6.73	54 ±21	1.38 ±1.08	9.69 ±0.79	13.8 ±0.6	71.3 ±11.4	5.18 ±3.08	6.53 ±0.66	0.22 ±0.06	0.22 ±0.10	

Mean±Standard deviation *, ** : Significantly different from control, *P<0.05, **P<0.01

Table 6 Relative organ weights of monkeys treated orally with KW-1100 for 35 days (mg/100g Body weight)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain	Pituitary	Thymus	Heart	Lung	Liver	Spleen	Kidney (Right)	Adrenal (Right)	Testis or Ovary (Right)	Prostate
Male	Saline		1,295 ± 258	1.73 ± 0.25	31.2 ± 14.1	362 ± 28	417 ± 30	1,611 ± 138	178 ± 92	142 ± 31	4.57 ± 0.59	334 ± 137	30.0 ± 6.5
	KW-1100	80	1,180 ± 88	1.23 ± 0.25	35.5 ± 24.0	323 ± 31	461 ± 79	1,727 ± 188	181 ± 27	152 ± 22	4.67 ± 0.49	391 ± 126	42.9 ± 14.7
	KW-1100	160	1,160 ± 96	1.43 ± 0.15	25.4 ± 3.7	314 ± 32	369 ± 17	1,721 ± 353	148 ± 100	148 ± 17	4.17 ± 1.10	347 ± 70	29.2 ± 6.3
	KW-1100	320	1,342 ± 348	1.80 ± 0.30	43.2 ± 20.0	345 ± 12	470 ± 71	1,938 ± 417	202 ± 94	163 ± 26	5.13 ± 1.27	338 ± 62	39.0 ± 11.0
Female	Saline		2,423 ± 359	2.17 ± 1.04	43.1 ± 30.2	377 ± 51	638 ± 79	2,501 ± 163	232 ± 138	244 ± 39	11.0 ± 0.98	5.93 ± 0.35	
	KW-1100	80	2,418 ± 370	2.17 ± 0.55	85.8 ± 21.3	347 ± 15	529 ± 37	2,380 ± 111	252 ± 114	237 ± 20	7.93* ± 0.12	5.97 ± 1.16	
	KW-1100	160	2,275 ± 141	1.60 ± 0.36	66.1 ± 67.4	360 ± 13	544 ± 58	2,161 ± 290	194 ± 35	213 ± 36	7.63* ± 1.42	4.77* ± 0.42	
	KW-1100	320	2,091 ± 297	1.97 ± 0.76	50.2 ± 38.9	355 ± 24	504 ± 31	2,604 ± 357	189 ± 111	239 ± 20	7.93 ± 1.91	8.07 ± 3.81	

Mean ± Standard deviation * ** : Significantly different from control, *P<0.05, **P<0.01

Table 7 Histopathological findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 35 days

Organ	Histopathological findings	Doses, Sex and No. of animals							
		Saline		KW-1100 (mg/kg)					
				80		160		320	
		M	F	M	F	M	F	M	F
		3	3	3	3	3	3	3	3
Liver	Clearcytoplasm	++ +++	3	2	3	3	2	2	3
			3	1				1	
Large intestine	Parasitic granulation sac	++ +++		1					
			1	1	1	1		2	
Lung	Anthracosis	+ ++		2		1		3	
			1						
	Mineralization	+ ++ +++						1	
			1						
				1					1
Kidney	Round cell infiltration	+ ++ +++		1					
			1	1		1	1		2
				2	1				

+ : Very slight ++ : Slight +++ : Moderate +++ : Marked
M : Male, F : Female

られなかった。

4) 骨髓細胞の分類：全群特記すべき変化は認められなかった。

(3) 病理学的検査

1) 剖検所見：Control 群の雌 1 例と 320 mg/kg 群の雄 1 例に胃の幽門部粘膜に米粒大の糜爛が散見された。その他の異常所見はすべて偶発的病変とみなし得るものであった。

2) 臓器重量測定：主要臓器重量を Table 5, 6 に示した。各例とも特記すべき変化は認められなかった。

3) 病理組織学的検査：検査結果を Table 7 に示した。KW-1100 投与群において肝細胞の淡明化、消化管の寄生虫性肉芽腫、肺の炭粉沈着、腎臓の炎症細胞浸潤等種々の所見が認められたが、これらの所見は用量依存性を示さず、散発的であり、かつ Control 群にも同様に認められた。

III. サルにおける慢性毒性試験

1. 実験材料および方法

(1) 使用動物

亜急性毒性試験とほぼ同様にマレーシア産のカニクイザル雌雄各20例を用いた。

(2) 飼育条件

動物はアルミ製ケージに個別に収容し、温度23±2℃、湿度 55 ± 5 %，換気回数20回/時、照明時間 11 時間に維持された飼育室内で、市販固型飼料（サル用、クレア社製）を 1 日約 150 g と補助食を与えた。水は水道水を摂取させた。

(3) 投与量の構成および投与方法

Table 1 に示した。先に実施した亜急性毒性試験結果を参考に、320 mg/kg を最高用量とし以下公比 4 で除した 80, 20 mg/kg を、さらに中用量として 320 と 80 の幾何平均である 160 mg/kg を設定した。投与方法はカテーテルを用いて強制経口投与を行なった。投与期間は 180 日間とし週 6 日投与した。

(4) 検査項目

亜急性毒性試験に準じて実施した。血液学的、血液生化学的および尿検査は、0（投与前）、30, 90, 180 日目に実施した。心機能、眼底検査および骨髓細胞の分類は亜急性毒性で行なっているため本試験では実施しなかった。

(5) 統計処理

統計学的解析の不可能なものを除く全データについて t 検定〔ただし F 検定で等分散性が否定されているとき

($P \leq 0.05$) は Aspin-Welch 法による近似検定]を行なった。

2. 実験成績

(1) 一般状態

80 mg/kg 群の雌 1 例が投与ミスにより死亡した。他群では死亡動物は認められなかった。

160 および 320 mg/kg 群で軟便が、320 mg/kg 群で嘔吐が認められた。嘔吐は主に投与30日目までに認められたが、それ以後は散発的であった。軟便は投与期間中持続した。その他体重 (Fig. 2), 飼料摂取量, 飲水量, 尿量に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 血液学的, 血液生化学的および尿検査

検査結果を Table 8~13 に示した。

1) 血液学的検査

30 および 90 日目の検査において各群とも特記すべき変化は認められなかった。

180 日目の検査において 320 mg/kg 群の雌 2 例に赤血球数, 血色素量および血球容積比の減少が認められたが残りの 2 例は変動を示さなかった。その他の項目では検体によると思われる変動は認められなかった。

2) 血液生化学的検査

320 mg/kg 群において 180 日目の検査で LDH の減少が認められた。その他の項目では検体によると思われる変動は認められなかった。

3) 尿検査

320 mg/kg 群において 180 日目の検査で Cl 排泄量の増加が認められた。その他の項目では検体によると思われる変動は認められなかった。

Fig. 2. Changes of bodyweight in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days

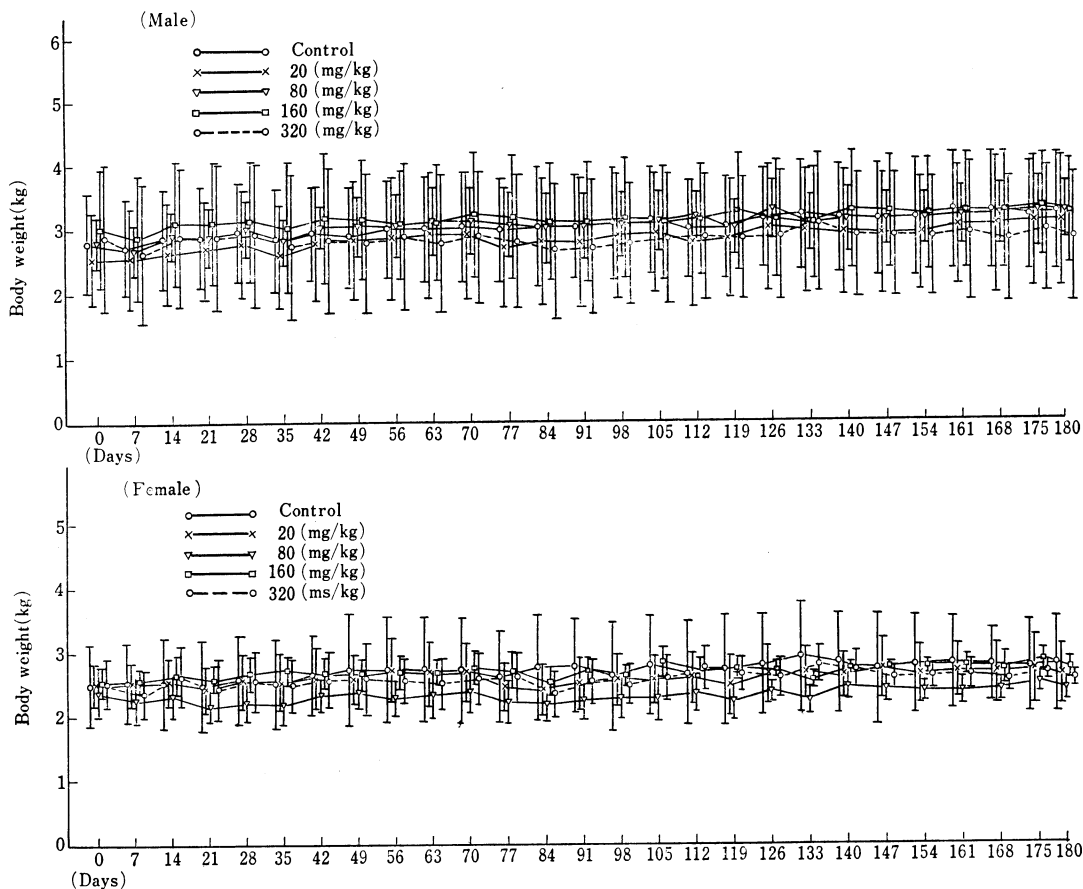


Table 8 Hematological findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days (Male)

Drug	Dose (mg/kg)	Exam. days	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (10 ³ /mm ³)	Platelet (10 ⁴ /mm ³)	Prothrombin time (sec)	WBC Differential count (%)			
									Lymph.	Mono.	B ₂ ±0.	Neutro.
Saline		0	674±63	12.3±0.9	46±4	61±19	44±13	20.0±2.4	62.9±6.2	8.4±0.8	0.7±0.5	25.2±6.9
		30	693±41	13.0±0.8	48±3	78±34	47±10	16.4±0.5	61.3±7.9	7.9±2.4	0.5±0.6	27.9±8.4
		90	696±64	12.9±1.2	47±4	104±35	43±12	17.8±1.5	65.1±5.2	3.1±0.5**	0.7±0.9	28.0±4.3
		180	687±54	13.0±1.4	43±4	96±42	42±13	17.2±1.5	66.6±3.5	6.1±1.1*	0.5±0.4	24.6±4.4
KW-1100	20	0	726±84	13.4±1.1	49±4	102±44	50±13	21.3±3.6	64.7±5.1	7.2±2.7	0.1±0.3	25.0±7.2
		30	681±29	13.1±0.3	48±1	96±43	49±4	17.6±0.6*	68.6±4.9	8.1±1.8	0.5±1.0	20.9±4.9
		90	713±47	13.4±0.7	48±3	135±57	48±9	17.3±1.0	72.6±10.9	3.7±2.9	0.0±0.0	19.9±10.1
		180	697±64	13.7±0.9	45±3	114±29	47±7	17.5±0.5	68.4±9.1	7.1±1.7	0.1±0.3	22.0±9.6
KW-1100	80	0	664±40	12.2±0.7	45±3	110±39	49±6	17.9±1.7	59.8±7.3	8.4±4.0	0.4±0.5	28.5±6.3
		30	677±37	12.8±1.1	48±2	89±10	50±4	16.7±1.3	60.2±3.8	10.0±5.3	1.0±1.4	25.3±8.5
		90	681±9	13.0±0.4	46±1	104±24	42±4	16.7±1.5	65.4±12.7	5.7±1.3*	0.0±0.0	22.1±8.0
		180	697±18	13.4±0.1*	44±1	96±23	43±4	16.3±0.5	66.4±7.9	4.8±1.1	0.4±0.5	26.0±7.8
KW-1100	160	0	697±39	12.0±0.6	46±2	99±17*	51±4	17.8±0.5	61.5±6.9	7.5±1.8	0.6±0.8	27.6±8.4
		30	661±19	11.9±0.8	45±2	83±21	53±4	15.7±0.8**	60.7±5.1	8.9±3.4	0.5±0.6	23.8±0.5
		90	634±19'	11.5±0.6	42±1**	98±42	49±3	16.3±0.8*	67.2±4.6	3.5±0.5**	0.5±0.6	4.6±2.6
		180	668±57	12.4±0.6	41±2*	79±21	51±6	16.7±1.0	63.1±10.6	4.9±1.5	0.3±0.3	27.9±10.6
KW-1100	320	0	683±104	12.6±1.0	47±3	106±52	40±5	17.1±0.6	58.9±18.2	8.4±2.8	0.8±0.6	30.3±19.2
		30	699±103	13.0±0.4	48±2	82±28	41±3	16.4±1.2	61.0±15.9	8.9±4.9	0.3±0.5	27.0±14.0
		90	696±115	12.9±0.6	45±3	81±46	38±4	17.0±1.6	65.8±15.4	3.8±1.9*	0.8±0.5	28.1±16.8
		180	682±164	13.0±1.3	42±5	69±38	41±4	17.8±1.4	66.7±15.7	5.7±1.2	0.9±0.9	24.4±16.9

Mean ± Standard deviation
* : ** : Significantly different from control data, *P<0.05, **P<0.01
, ** : Significantly different from 0 day, *P<0.05, **P<0.01

Table 9 Hematological findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days (Female)

Drug	Dose (mg/kg)	Exam. days	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (10 ³ /mm ³)	Platelet (10 ³ /mm ³)	Prothrombin time (sec)	WBC Differential count (%)				
									Lymph.	Mono.	Baso.	Eosin.	Neutro.
Saline		0	622±73	11.1±1.0	43±3	77±3	53±17	17.7±1.8	51.5±13.7	8.0±0.9	0.6±0.5	5.8±4.6	34.0±11.0
		30	653±46	11.9±0.4	46±3	85±25	47±7	16.7±1.2	46.3±6.4	6.4±5.6	0.8±0.5	3.7±3.0	43.0±3.2
		90	636±64	11.8±1.1	43±4	102±32	41±17	16.7±0.6	53.6±13.2	4.0±1.6**	0.5±0.9	6.0±3.9	35.9±12.2
		180	657±36	12.2±0.5	41±2	95±34	42±7	18.3±1.0	51.4±14.9	4.8±3.6	0.4±0.3	4.1±4.5	39.4±17.0
KW-1100	20	0	687±87	12.4±1.3	46±5	102±41	38±8	18.6±1.9	63.5±5.6	7.1±3.3	0.5±0.6	2.8±1.0	26.1±3.7
		30	682±74	12.4±0.9	47±4	103±32	42±4	16.5±0.8	65.5±13.5*	7.2±3.4	0.8±1.0	3.3±1.1	23.3±14.5
		90	665±142	12.0±2.2	44±8	109±53	42±5	17.6±1.6	63.3±13.5	4.0±2.4	0.7±0.5	2.8±1.5	29.2±14.0
		180	703±80	13.0±0.9	43±3	118±35	39±4	18.7±0.6	58.3±13.3	4.9±0.8	1.0±0.9	4.0±2.5	31.9±14.7
KW-1100	80	0	638±21	11.5±0.4	43±1	100±31	44±5	17.2±1.5	53.0±10.9	10.7±6.0	0.8±1.0	7.9±4.8	27.7±11.4
		30	645±73	11.9±1.5	44±4	85±46	42±18	16.3±1.5	47.4±10.8	8.0±4.2	0.5±0.6	4.4±4.1	39.7±12.9
		90	683±23*	12.5±0.4*	45±1	96±19	41±6	17.0±0.6	64.5±11.0	4.3±0.6	0.7±0.6	4.6±4.0	26.0±9.4
		180	672±24	12.8±0.5**	41±1*	81±30	42±9	18.3±0.8	58.0±13.9	2.2±0.8	0.7±1.2	4.9±4.0	34.2±14.2
KW-1100	160	0	630±50	11.6±0.9	44±2	91±37	49±7	17.7±2.1	54.3±10.7	7.5±3.3	0.5±0.6	5.7±1.8	32.2±13.7
		30	631±40	12.1±0.6	45±2	86±21	52±6	16.4±0.9	53.2±13.9	7.1±2.0	0.5±0.6	3.0±2.0	36.3±14.5
		90	623±51	11.9±0.9	43±2	96±25	43±15	18.8±2.4	49.9±13.6	1.7±0.8**	0.5±1.0	4.4±5.0	43.6±12.2
		180	613±62	11.8±0.9	39±4	88±25	52±5	18.7±0.9	49.4±14.5	3.1±0.8	0.8±0.6	6.6±6.3	40.1±15.6
KW-1100	320	0	661±41	11.8±0.9	45±3	90±44	43±6	17.7±1.0	51.1±8.6	8.3±6.4	0.4±0.5	1.3±0.6	39.0±6.4
		30	653±29	12.1±0.7	45±2	74±42	40±14	16.5±0.7	52.8±11.4	7.9±1.7	1.3±2.6	1.7±0.5	36.3±11.1
		90	651±43	12.4±0.9	43±3	71±27	37±4	16.7±0.2	51.3±11.4	4.0±1.3	0.5±0.6	3.0±1.4	41.4±14.2
		180	448±251	8.5±4.3	29±15	69±16	56±24	18.1±0.8	56.6±12.2	5.5±1.1	1.1±0.5*	2.5±0.8*	34.3±13.8

Mean±Standard deviation

*, **: Significantly different from control data. *P<0.05, **P<0.01

*, **: Significantly different from 0 day. *P<0.05, **P<0.01

Table 10 Biochemical findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days (Male)

Drug	Dose (mg/kg)	Exam. days	Total protein (g/dl)	A/G	ALP (K.A.U.)	GOT (I.U.)	GPT (I.U.)	Glucose (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Na (meq/l)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	Bilirubin (mg/dl)	LDH (I.U.)
Saline		0	8.6±0.3	1.23±0.10	41.0±9.4	14±3	17±8	65±10	21.4±2.9	154±7	139±20	65±6	174±21	0.33±0.21	600±131
		30	8.4±0.2	1.18±0.05	47.6±21.0	14±4	17±6	78±8	21.3±2.8	151±7	151±13	73±11	176±9	0.18±0.03	760±44
		90	8.2±0.3	1.07±0.09	50.8±30.2	18±4	20±15	74±24	23.2±4.3	145±2	157±25	73±4	183±17	0.20±0.08	841±149
		180	8.4±0.2	1.07±0.06*	42.6±24.3	14±1	14±9	112±30*	23.1±5.5	150±8	157±19	62±13	187±13	0.23±0.07	602±55
KW-1100	20	0	8.7±0.1	1.21±0.07	56.6±19.1	15±8	14±4	63±9	25.1±3.7	156±3	150±52	96±41	203±55	1.51±2.29	625±157
		30	8.1±0.2**	1.25±0.11	59.3±8.4	18±3	14±3	64±17	21.6±4.4	151±2*	145±46	103±31	196±51	0.52±0.61	855±222
		90	8.2±0.3*	1.39±0.11**	54.3±6.1	15±8	9±2	81±3**	21.8±2.7	146±3**	140±42	77±17	174±42	0.80±1.04	811±96
		180	8.0±0.3**	1.06±0.12	44.6±12.5	15±3	11±3	93±26	21.5±3.2	147±2**	140±44	69±16	179±56	0.57±0.71	603±130
KW-1100	80	0	8.6±0.6	1.17±0.07	43.4±15.3	14±3	13±4	73±30	26.2±6.0	154±2	124±24	69±27	156±40	0.23±0.04	714±193
		30	8.2±0.4	1.22±0.05	52.7±23.8	16±3	13±7	69±9	22.7±2.6	152±2	127±27	86±22	152±39	0.14±0.09	819±94
		90	8.0±0.4	1.09±0.07	43.2±16.2	11±3*	6±3*	69±10	25.5±1.6	144±3**	133±41	83±30	162±56	0.24±0.12	739±82
		180	8.1±0.4	1.07±0.04*	33.5±11.1	12±1*	8±2	86±8	21.7±2.5	149±2*	142±28	71±22	168±50	0.16±0.09	501±87
KW-1100	160	0	8.6±0.7	1.17±0.10	47.8±20.6	13±2	12±4	72±17	21.6±4.3	155±2	139±26	61±19	181±13	0.30±0.06	649±163
		30	8.1±0.5	1.21±0.12	51.1±22.5	17±4	15±4	57±7**	20.9±2.0	149±4*	136±30	78±19	180±25	0.23±0.08	803±228
		90	7.7±0.5	1.17±0.09	47.4±24.7	14±3	13±4	77±20	19.6±2.7	143±2**	138±33	58±12*	167±31	0.27±0.07	823±293
		180	7.9±0.9	1.11±0.13	35.4±18.4	14±2	16±6	80±11	18.8±3.2	149±5	158±40	44±7	181±31	0.19±0.07	546±125
KW-1100	320	0	8.3±0.7	1.23±0.09	39.0±12.1	15±3	27±11	108±29*	23.6±3.6	150±3	115±10	46±9*	153±10	0.20±0.12	724±96
		30	8.1±0.6	1.26±0.10	43.8±14.0	15±4	27±18	94±32	21.8±5.1	147±3	113±11**	63±20	145±9**	0.16±0.05	779±153
		90	7.6±0.4*	1.11±0.16	39.8±15.9	13±4	19±5	79±22	23.4±5.1	142±2**	106±13*	86±20*	150±6*	0.25±0.12	648±207
		180	7.9±0.5	1.16±0.16	31.4±14.9	14±4	18±3	86±20	19.8±3.5	147±2	125±29	55±17	149±25*	0.15±0.03	475±61

Mean±Standard deviation

*, ** : Significantly different from control data, *P<0.05, **P<0.01

*, ** : Significantly different from 0 day, *P<0.05, **P<0.01

Table 11 Biochemical findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days
(Female)

Drug	Dose (mg/kg)	Exam. days	Total protein (g/dl)	A/G	ALP (K.A.U.)	GOT (I.U.)	GPT (I.U.)	Glucose (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Na (meq/l)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	Bilirubin (mg/dl)	LDH (I.U.)
Saline		0	8.1±0.5	1.09±0.21	32.4±5.1	14±3	32±24	78±4	23.5±2.2	153±4	112±16	61±5	154±20	0.30±0.06	621±133
		30	8.1±0.2	1.12±0.20	35.3±8.6	15±3	32±17	81±15	20.7±1.5	148±4	126±24	82±12*	163±28	0.13±0.04	732±182
		90	8.1±0.4	1.11±0.12	29.2±7.4	15±7	18±3	76±16	22.8±1.9	145±4*	122±35	74±14	149±34	0.16±0.04	906±223
		180	8.1±0.6	0.99±0.12	23.4±6.0	12±3	18±10	77±12	21.2±2.4	152±4	115±11	80±12*	163±17	0.32±0.08	406±84*
KW-1100	20	0	8.0±0.4	0.98±0.08	18.5±4.7**	17±8	64±56	76±5	22.6±3.7	142±20	147±17*	67±12	192±43	0.22±0.08	572±151
		30	7.7±0.3	1.04±0.14	18.2±4.0*	14±3	23±5	84±14	22.3±3.9	152±3	126±10	91±23	166±36	0.19±0.05	730±124
		90	7.7±0.4	1.04±0.03	16.6±3.6*	15±5	20±14	88±52	24.5±2.4	143±2	145±21	81±12	167±38	0.23±0.06	753±167
		180	7.6±0.1	0.94±0.07	13.7±4.0*	12±5	28±14	71±12	20.0±3.2	151±1	145±27	82±10	192±40	0.38±0.21	489±131
KW-1100	80	0	8.1±0.2	1.21±0.21	27.8±20.9	11±4	15±10	73±7	22.0±5.1	149±2	125±16	96±23	191±26	0.33±0.17	519±143
		30	8.0±0.2	1.27±0.21	32.8±19.8	16±10	16±9	72±10	22.7±6.0	147±3	128±29	126±46	202±48	0.39±0.37	655±211
		90	7.9±0.2	1.22±0.25	32.5±15.8	10±2	10±2**	73±8	21.1±2.6	142±1**	135±22	84±24	181±28	0.34±0.25	583±223
		180	7.7±0.5	1.19±0.07	24.8±9.0	9±1	12±6	75±15	18.5±1.6	148±3	144±30	82±11	200±15*	0.46±0.28	403±99
KW-1100	160	0	8.3±0.4	1.14±0.08	42.7±44.6	14±5	20±14	79±16	23.0±1.6	155±2	131±19	58±18	157±29	0.29±0.09	540±140
		30	8.2±0.5	1.14±0.12	48.7±52.2	16±3	16±4	70±13	22.0±2.4	152±6	133±25	74±7	150±32	0.22±0.06*	652±208
		90	8.0±0.7	1.10±0.09	41.6±39.8	15±5	20±13	68±12	23.3±1.4	146±3**	142±21	78±13	149±36	0.27±0.09	700±257
		180	7.9±0.4	1.01±0.09	30.5±28.3	13±1	19±8	75±5	18.7±2.1*	151±2	138±23	65±12	158±34	0.31±0.10	384±95
KW-1100	320	0	8.5±0.4	1.20±0.09	26.1±9.6	12±1	19±8	74±15	22.3±3.6	153±4	145±22	69±17	180±33	0.37±0.08	655±110
		30	8.1±0.4	1.14±0.05	32.8±13.8	16±4	20±6	66±9	21.2±3.5	147±4	136±27	79±18	152±21	0.22±0.07*	751±159
		90	7.8±0.5*	1.20±0.07	24.0±9.6	11±2	11±1**	78±12	18.1±2.5*	145±3*	129±10	82±21	140±35	0.27±0.05*	622±190
		180	7.9±0.6	0.91±0.13	18.2±4.7	11±1	21±16	84±19	15.1±1.5	148±6	105±13*	61±21	125±28*	0.24±0.08	435±74*

Mean±Standard deviation

* ** : Significantly different from control data, *P<0.05, **P<0.01

*, ** : Significantly different from 0 day, *P<0.05, **P<0.01

Table 12 Urinalysis in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days (Male)

Drug	Dose (mg/kg)	Exam. days	Occult blood	pH	Protein (mg/dl)	Glucose	Ketone	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)
Saline		0	—	7.0±0.8	41±41	—	+	68±13	94±47	49±16
		30	—	6.3±0.5	3±3	—	+	68±35	78±68	45±42
		90	—	6.9±0.6	18±14	—	+	81±51	53±42	54±24
		180	—	7.4±0.5	4±2	—	—	94±30	44±13	94±38
KW-1100	20	0	—	6.8±1.0	24±13	—	+	64±18	71±35	56±16
		30	—	7.0±0.8	10±14	—	+	66±28	62±55	37±16
		90	—	6.5±0.7	9±14	—	+	56±48	18±19 [*]	49±29
		180	—	7.8±0.6	3±3 [*]	—	—	78±50	20±10 ^{**}	53±24
KW-1100	80	0	—	7.0±0.8	59±49	—	+	71±47	132±62	58±30
		30	—	6.8±0.5	9±14	—	+	79±26	61±54	53±3
		90	—	6.5±0.7	18±14	—	+	88±23	58±24	103±53
		180	—	7.8±1.2	3±3	—	—	85±19	38±20	74±44
KW-1100	160	0	—	7.3±1.0	48±35	—	+	96±22	98±38	79±62
		30	—	6.5±0.6	3±3	—	+	83±41	53±36	53±46
		90	—	6.6±0.6	3±3	—	+	103±52	50±40	88±18
		180	—	7.6±0.6	4±2	—	—	80±56	33±20	90±50
KW-1100	320	0	—	7.5±1.0	18±14	—	—	51±31	84±84	42±18
		30	—	7.0±0.8	3±3	—	+	94±67	57±48	34±30
		90	—	6.6±0.8	10±14	—	+	108±45	45±30	91±37
		180	—	6.9±0.9	3±3	—	—	92±38	23±12	99±35 [*]

Mean±Standard deviation, *,** : Significantly different from control data, *P<0.05, **P<0.01

*,** : Significantly different from 0 day, *P<0.05, **P<0.01

— : Negative, + : Small, + : Moderate

Table 13 Urinalysis in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days (Female)

Drug	Dose (mg/kg)	Exam. days	Occult blood	pH	Protein (mg/dl)	Glucose	Ketone	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)
Saline		0	—	7.5±0.6	41±41	—	—	66±19	48±12	41±24
		30	—	6.5±0.6 [*]	4±2	—	+	67±32	47±34	58±26
		90	+	6.8±1.0	9±14	—	—	74±9	43±18	60±24
		180	—	6.8±1.3	1±2	—	+	99±7 [*]	42±19	60±26
KW-1100	20	0	—	7.5±0.6	30±0	—	—	91±10	60±23	50±32
		30	—	7.0±0.8	4±2 ^{**}	—	+	45±25 [*]	48±32	35±16
		90	+	6.4±0.5 [*]	3±3 ^{**}	—	+	72±19	42±17	80±29
		180	—	7.4±0.5	3±3 ^{**}	—	+	75±32	34±8	70±20
KW-1100	80	0	—	6.3±0.5 [*]	11±13	—	+	71±18	57±17	34±17
		30	—	6.3±0.5	4±2	—	+	85±41	67±51	65±23
		90	—	6.8±0.8	2±3	—	—	123±49	54±18	78±46
		180	—	6.5±1.3	0±0	—	+	92±16	20±27	46±24
KW-1100	160	0	+	7.0±0.8	24±13	—	+	105±42	79±33	54±13
		30	+	6.3±0.5	28±48	—	+	98±36	76±17	67±24
		90	+	6.0±1.4	10±14	—	+	66±20	43±16	68±36
		180	+	6.3±0.9	3±3 [*]	—	+	74±32	33±17 [*]	97±34
KW-1100	320	0	—	6.5±0.6 [*]	30±0	—	+	53±17	95±56	52±32
		30	—	6.0±0.0	1±2 ^{**}	—	+	81±39	42±21	67±36
		90	+	5.8±1.0	4±2 ^{**}	—	+	70±29	25±20	65±29
		180	+	6.5±0.9	3±3 ^{**}	—	+	77±24	26±8	103±8 [*]

Mean±Standard deviation, *,** : Significantly different from control data, *P<0.05, **P<0.01

*,** : Significantly different from 0 day, *P<0.05, **P<0.01

— : Negative, + : Small, + : Moderate

Table 14 Organ weights of monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Lung (g)	Spleen (g)	Liver (g)	Kidney (Right) (g)	Testis or Ovary (Right) (g)	Prostate (g)	Caecum (g)	Adrenal (Right) (g)
Male	Saline		55.7±9.0	1.6±0.7	10.2±1.9	13.0±3.0	4.7±1.1	61.5±20.3	6.0±1.3	5.68±5.97	0.68±0.20	7.6±0.8	0.22±0.08
	KW-1100	20	54.4±3.8	3.0±1.0	11.4±4.5	11.6±3.6	6.9±4.7	55.2±17.4	5.5±1.7	2.91±4.19	0.63±0.70	6.4±1.5	0.20±0.06
	KW-1100	80	53.0±6.8	1.7±1.5	9.2±1.2	14.8±3.0	6.1±1.8	58.6± 6.7	6.2±1.1	6.16±1.86	0.82±0.25	6.8±2.1	0.17±0.04
	KW-1100	160	54.3±3.6	1.3±1.0	11.9±3.5	13.8±2.6	5.8±1.8	65.4±14.1	6.3±1.3	6.23±4.16	0.64±0.28	6.4±2.1	0.16±0.03
Female	KW-1100	320	56.3±0.9	2.3±1.8	11.0±3.7	12.9±3.8	6.9±4.2	64.4±22.6	5.3±1.0	6.82±7.75	0.76±0.55	7.5±3.4	0.17±0.04
	Saline		49.9±4.0	1.7±1.4	9.2±2.6	12.4±3.3	5.6±3.5	56.9±10.7	5.5±1.1	0.13±0.05	—	6.6±1.7	0.23±0.06
	KW-1100	20	50.0±2.9	1.5±0.6	9.8±2.1	15.1±3.1	8.7±4.2	61.6±12.5	5.7±1.1	0.23±0.06	—	9.5±3.2	0.19±0.05
	KW-1100	80	53.4±4.0	2.2±0.8	8.8±1.6	11.9±2.3	4.7±0.7	56.6± 6.9	5.4±0.6	0.16±0.06	—	6.6±2.6	0.21±0.04
	KW-1100	160	51.3±3.8	1.1±0.6	9.4±0.8	13.4±1.2	5.4±2.1	59.9± 7.5	6.4±0.8	0.15±0.06	—	14.7±7.2	0.24±0.09
	KW-1100	320	51.5±3.9	1.1±0.8	9.5±1.5	12.8±1.8	6.5±3.4	63.9± 9.1	5.8±0.8	0.16±0.07	—	9.4±1.9	0.19±0.05

Mean±Standard deviation

Table 15 Relative organ weights of monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days
(mg/100g Body weight)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain	Thymus	Heart	Lung	Spleen	Liver	Kidney (Right)	Testis or Ovary (Right)	Prostate	Caecum	Adrenal (Right)
Male	Saline		1,798±324	51±21	327±33	412±35	152±36	1,925±259	192±35	158±126	22±4	255±91	6.8±1.8
	KW-1100	20	1,926±608	114±67	365±25	383±64	216±79	1,812±68	180±13	74±89	17±15	223±69	7.4±3.8
	KW-1100	80	1,638±156	55±48	284±28	454±37	189±59	1,817±204	191±10	192±61	25±6	207±50	5.3±1.3
	KW-1100	160	1,752±344	47±51	368±37	437±56	181±44	2,056±185	197±17	179±110	19±6	202±57	5.1±0.8
Female	KW-1100	320	2,196±788	103±99	392*±21	463±38	235±85	2,281±144	198±41	191±209	24±11	263±62	6.4±1.6
	Saline		1,860±381	58±31	331±54	443±15	218±158	2,066±202	198±17	4.94±2.43	—	254±93	8.1±1.6
	KW-1100	20	1,943±340	55±13	369±28	573*±66	321±113	2,334±179	215±18	8.86±2.47	—	359±98	7.3±1.4
	KW-1100	80	2,210±151	94±41	361±47	491±68	194±25	2,344±302	224±8	6.44±2.10	—	275±109	8.7±1.6
	KW-1100	160	1,890±121	39±20	347±19	496±53	203±88	2,201±194	236±30	5.77±2.61	—	553±304	8.9±3.9
	KW-1100	320	2,023±223	45±32	371±42	499±67	254±124	2,493*±261	225±21	6.09±2.86	—	365±66	7.6±2.4

Mean±Standard deviation

*, ** : Significantly different from control data, *P<0.05, **P<0.01

Table 16 Histopathological findings in monkeys treated orally with KW-1100 for 180 days

Organ	Histopathological findings	Doses, Sex and No. of animals									
		Saline		KW-1100 (mg/kg)							
				20		80		160		320	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Liver	Clearcytoplasm	+		4	4	4	3	3	3	2	3
		++								1	1
	Vacuolar degeneration	+	2	1	1				1		
		++	1	1				1			
		+++				1					
	Round cell infiltration	+				1	1		1		1
Bone marrow		++	2							1	
	Karyopycnosis	+	1	1		2		1			1
		++				1	1				
	PAS positive deposit	+	1		1			1	2		
		++	1	1	1	1		3			3
		+++		1	1	2		1		4	1
Bone marrow	Increased hematopoiesis	+			1		1				2
		++									
		+++									1
	Decreased hematopoiesis	+	1							1	
		++									
		+++						1			

+ : Very slight, ++ : Slight, +++ : Moderate
M : Male, F : Female

Photo. 1 Bone marrow : Increased hematopoiesis
HE ×100 KW-1100 320 mg/kg

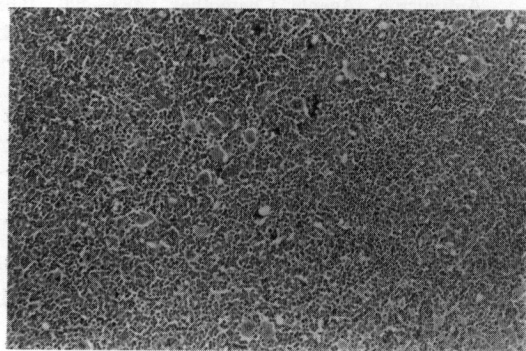
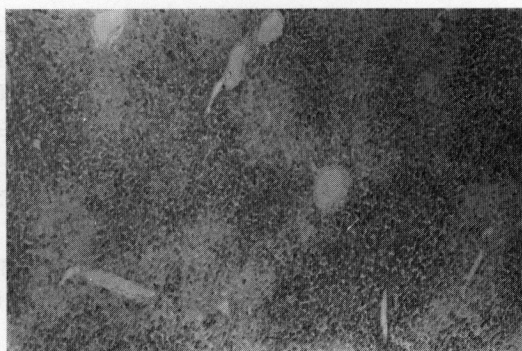


Photo. 2 Liver : Increased PAS positive deposition
PAS ×40 KW-1100 320 mg/kg



(3) 病理学的検査

1) 剖検所見

胸腺の萎縮、肝臓および脾臓の褪色、卵巣の嚢胞形成等の種々の所見が認められたが、それらは用量依存性を示さず、検体投与に起因する所見ではないと思われた。

2) 臓器重量

検査結果を Table 14, 15 に示した。検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

3) 組織学的検査

検査結果を Table 16 に示した。320 mg/kg 群の雌 4 例中 3 例に骨髄の造血亢進像が軽度から中等度認められた (Photo 1)。また肝細胞内 PAS 陽性物質沈着が主に 160mg/kg 以上の用量で用量依存性をもって認められた (Photo 2)。その他検体投与に起因していると思われる所見は認められなかった。

IV. 総括および考察

ラットによる亜急性、慢性毒性試験¹⁾に続き、KW-1100のサルによる亜急性、慢性毒性試験を実施した。

主要変化は、亜急性毒性では軟便、下痢、嘔吐、血中総蛋白量の減少、慢性毒性試験では軟便、嘔吐、貧血、LDHの減少、骨髓の造血亢進、肝細胞内PAS陽性物質の沈着等であった。軟便および下痢はpenicillin系^{2~5)}、cephem系^{6~10)}等の抗生物質で一般的に認められる所見であり、薬効による腸内細菌叢の変動による二次的变化と考えられた。嘔吐は投与初期に多くみられ、同系薬剤としてはイヌにおいてflucloxacillin²⁾、pivampicillin³⁾、サルにおいてpivmecillinam⁴⁾で同様の傾向が認められている。ペニシリンエステルは胃粘膜に糜爛を誘発しやすいことは知られており、また嘔吐が投与後短時間で発現していることから、検体の大量投与によって胃粘膜が強く刺激されたものと推察された。病理組織学的検査では胃に特記すべき所見は認められなかった。亜急性毒性試験における総蛋白量の減少も嘔吐により飼料摂取量が減少し、全身状態が悪化し発現したものと考えられた。慢性毒性試験において貧血および貧血に対する生体反応と思われる骨髓の造血亢進像が同一例で認められた。この所見も抗生物質投与でしばしば認められるもので、サルではlatamoxef⁶⁾、cefotetan⁷⁾、cefoperazone⁸⁾、cefotiam¹¹⁾等で認められており、本検体の特異的所見では無いと判断された。肝細胞内にPAS陽性物質の沈着が認められた。この所見はラット亜急性、慢性毒性試験でも認められており、ほぼ用量に依存し、かつ休薬によって消失することから検体投与に起因するものと考えられた。しかし血液生化学的検査で肝毒性を示唆する変化は認められず、病理組織学的検査においても肝細胞に特記すべき所見は認められなかったこと、また同様の所見がBRL 25000^{12,13)}、Sulbactam¹⁴⁾でも報告されているが、これらの薬物においても肝毒性を示唆する変化が認められていないことなどから推察して毒性学的意味は少ないと考えられる。

以上の結果より、亜急性、慢性毒性試験とも主に高用量で所見が得られたが、重篤と思われる変化は認められなかった。

文 献

1) 西条 敬, 西川 智, 原 卓司, 宮崎英治, 大黒

友路: KW-1100の安全性に関する研究(第1報)。マウス、ラット、イヌにおける急性毒性試験およびラットにおける経口投与による亜急性毒性試験、慢性毒性試験。Chemotherapy 33 (S-3): 43~59, 1985

- 2) 渡辺信夫, 中井 徹, 岩波黄葵, 藤井登志之: Flucloxacillin sodiumの毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 17: 1523~1532, 1969
- 3) 増田 裕, 鈴木善雄, 此木 丘: Pivampicillinの実験動物に対する毒性試験。Chemotherapy 22: 357~387, 1974
- 4) 第24回化学療法学会抄録集: 新薬シンポジウム—Pivmecillinam— 1976
- 5) 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 (S-4): 17~29, 1979
- 6) 村岡義博, 矢原 功, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-Sの赤毛ザルにおける亜急性毒性試験。Chemotherapy (S-7): 1072~1088, 1980
- 7) 鈴木 弘, 吉田俊夫, 堺 俊治, 尾崎 浩, 塩原有一: Cefotetan (YM09330)のアカゲザルにおける静脈内投与26週毒性試験。Chemotherapy 30 (S-1): 228~257, 1982
- 8) 米田豊昭, 他: Cefoperazone (T-1551)の毒性試験(第4報)。カニクイザル1ヶ月筋肉内投与亜急性毒性試験。Chemotherapy (S-6)28: 252~267, 1980
- 9) WOLD, J.S.; J.S. WELLES, N.V. OWEN, W. R. GIBSON & D.M. MORTON: Toxicological evaluation of cephamandole nafate in laboratory animals. J. Infect. Dis. 137 (Suppl.): S 51~S 59, 1978
- 10) WELLES, J. S.; R. O. FROMAN, W. R. GIBSON, N. V. OWEN & R. C. ANDERSON: Toxicology and pharmacology of cephalexin in laboratory animals. Antimicrob. Agents Chemother.: 489~496, 1968
- 11) 高野喜一: Cefotiam (SCE-963)の亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy 27 (S-3): 163~171, 1979
- 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, 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) 第30回日本化学療法学会抄録: 新薬シンポジウム—Sulbactam/Cefoperazone—1982

SAFETY EVALUATION OF KW-1100. (II) SUBACUTE AND CHRONIC TOXICITY IN CRAB-EATING MONKEYS

TAKASHI SAIJO AND TAKASHI DEGUCHI

Safety Research Laboratory, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.

ISAO NARAMA AND MINORU SAITHO

Hamamatsu Seigiken Research Co., Ltd.

Subacute and chronic toxicities of KW-1100 were studied in crab-eating monkeys.

1) Subacute toxicity test

Three groups of monkeys, 3 males and 3 females in each, were given KW-1100 orally every day for 35 days. The dose levels were 80, 160 and 320 mg/kg.

Another group of monkeys served as a control and received saline.

No animals were found dead during the experiment. A dose dependent increase in loosed feces and diarrhoeas were seen in dose groups, and the vomiting were also seen in 160 and 320 mg/kg groups.

A decrease of total serum protein was observed in the 320 mg/kg groups.

The hematology, urine analysis and histological examination did not indicate any damage caused by the treatment.

2) Chronic toxicity test

Four groups of monkeys, 4 males and 4 females in each, were given KW-1100 orally for 180 days. The dose levels were 20, 80, 160 and 320 mg/kg. Another group of monkeys served as a control and received saline.

No animals were found dead during the experiment. A dose dependent increase in loosed feces and vomiting were seen in 160 and 320 mg/kg groups.

The anemia was seen in 2 females of 320 mg/kg group. A decrease of LDH were seen in 320 mg/kg group. The histological examination revealed that increased hematopoiesis and PAS positive deposition in hepatocytes.

Other findings were incidental observation without any relation to the treatment and without any importance for the evaluation of toxicity of KW-1100.