

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) のイヌにおける

90 日間静脈内投与による亜急性毒性試験

HAROLD CHESTERMAN・LINDSAY DONALD

RALPH HEYWOOD・ALAN E. STREET

CHIRUKANDATH GOPINATH・SALEH K. MAJEED

Huntingdon Research Centre

原田喜男

塩野義製薬株式会社研究所

6315-S (Flomoxef) 200, 400 および 800 (400×2) mg/kg/日および対照薬 Cefazolin sodium (CEZ) 800 (400×2) mg/kg/日をビーグル犬に 90 日間連続静脈内投与し、その安全性について検討した。

1) 投与期間中の死亡例は、6315-S 800 mg/kg/日投与群の雌 1 例にみられた。本例では投与開始後 13 週目に、重篤な貧血、食欲減退、活動性低下および体重の減少を認めたので屠殺した。肝臓および脾臓の重量が増加し、病理組織学的に肝臓に髓外造血とヘモジデリン沈着、脾臓に髓外造血を認めた。

2) 投与期間中、体重、摂餌量、眼底検査、聴覚検査あるいは心電図上の各検査項目に、6315-S 投与に起因する変化を認めなかった。血液生化学的検査では、血清コレステロール、リン脂質およびアルカリ性ホスファターゼの上昇または上昇の傾向を 6315-S 全投与量群に認めた。血清トリグリセリド値の上昇または上昇の傾向、および活性化部分トロンボプラスチン時間の軽度延長は、6315-S 400 および 800 mg/kg/日投与群でみられた。血液学的検査では、投与開始後 12 週目の検査で、6315-S 800 mg/kg/日投与群に赤血球パラメーター値 (RBC, Ht, Hb, MCHC) の軽度減少を認めた。肝臓重量の増加は 400 および 800 mg/kg/日投与群に、腎臓重量の増加は 800 mg/kg/日投与群にみられた。しかし、これらの組織には形態学的変化は認められなかった。対照薬 CEZ 800 mg/kg/日投与群についても、6315-S 800 mg/kg/日投与群と同様の変化がみられ、それに加えて血清 GPT 値の低下、尿中に総還元物質の出現が観察された。

以上の 6315-S 投与群にみられた変化が可逆であることを、800 mg/kg/日投与群の一部を 4 週間休薬させることにより確認した。

以上より、6315-S の最大無影響量は、200 mg/kg/日であると推定される。

6315-S (Flomoxef : FMOX) のイヌにおける 90 日間静脈内投与による毒性試験を実施したので報告する。なお、本試験はイギリス Huntingdon Research Centre で行なった。

I. 実験材料および方法

1. 実験動物および飼育条件

Beaulong Limited, Harewood Park, Harewood End, Herefordshire, HR2, 8TS から純系雌雄ビーグル犬 40 頭を購入し、4 週間の予備飼育の後に試験に用いた。試験開始時の週齢および体重は、雄：23~29 週

齢、8.2~11 kg、雌：24~28 週齢、6.9~10 kg であった。これらのイヌは、温水式床暖房で温度調節された犬舎内で、金属製ケージ (W2×D6×H5 フィート) に個別に収容し飼育した。床敷に用いたおがくず (SMC, Grade 6, Sawdust Marketing Co., Standon, Ware, Hertfordshire) は毎日取替えた。1 日午前中 1 回 1 頭あたり標準固型飼料 (Diet A, Special Diets Services) 400 g を与え、飲料水は給水容器から、水質検査に合格した水道水を自由に摂取させた。

2. 検体

6315-S (Flomoxef sodium, Batch No. 3601, 純度

Table 1 Intravenous subchronic toxicity study
on 6315-S in beagle dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs		Start of dosage	
		Male	Female	Age (weeks)	B.W. (kg)
Control	— ^{a)}	4	4	25~29	7.1~10.6
6315-S	200	4	4	25~28	8.0~ 9.9
6315-S	400	4	4	23~28	7.6~10.2
6315-S	800 (400×2)	6(2)	6(2)	25~28	6.9~11.0
CEZ	800 (400×2)	2	2	23~26	8.5~ 9.8

a) Saline — 1.6 ml/kg twice daily

() : No. of dogs used for recovery study

93.1%)を滅菌生理食塩液で25 w/v%の濃度に溶解し、Sartorius membrane filter で濾過滅菌後用いた。対照薬の Cefazolin sodium (CEZ, 市販品) も同様に調製した。これらの溶液が、冷蔵保存時には各々溶解後56時間、48時間まで安定であることは、塩野義製薬研究所で確認されている。

3. 投与量および投与方法

先に実施されたビーグル犬での30日間静脈内投与による亜急性毒性試験で、最大無影響量は250 mg/kg/日と推定された¹⁾が、500および1,000 mg/kg/日の用量でも、6315-Sに特異的な毒性を見出しえなかった。しかし、ここでは投与期間が90日であることを考慮し、最小中毒量として400 mg/kgを推定し、さらに臨床投与方法に準じて1日2回すなわち1日量として800 mg/kg (400 mg/kg×2) を最高投与量に選び、以下400および200 mg/kg/日を設定した (Table 1)。

検体溶液は滅菌“butterfly”注射器 (Abbott) を用いて、注入速度5 ml/minで動物の左右交互に前腕橈側皮静脈内に1日1回、週7回、13週間投与した。ただし、6315-S 800 mg/kg/日投与の場合は、本薬の臨床的投与方法に準じて400 mg/kgを1日2回、約6時間間隔で行なった。対照薬 CEZ 800 mg/kg/日投与群も同様に1日2回分割投与した。対照群は滅菌生理食塩液を、投与量の多い実験群と同一液量、すなわち1.6 ml/kgを1日2回の割合で投与した。

13週間の投与後、6315-S 800 mg/kg/日投与群の一部の動物について、4週間の回復試験を行ない、検体投与による変化の回復性を検討した。

第1週、第6週、第13週に、調製した検体溶液の分析を行ない、6315-S 25 w/v%溶液は遊離酸として23.24~23.82 w/v%溶液であり、CEZ 25 w/v%溶液は遊離酸として23.73~25.06 w/v%溶液であるとの結果を得た。

4. 検査項目

1) 一般状態

毎日、一般状態および投与に関係した反応をすべて観察し記録した。

2) 体重

試験期間中、1週間に1度、餌を与える前に体重を測定した。

3) 摂餌量

試験期間中毎日測定記録した。投与期間中の給餌は、午前中の検体投与後約1時間目に行なった。

4) 聴覚検査

投与開始前、投与開始後6および12週目、回復試験の終りに、Galton 笛に対する Preyer 耳介反射による聴覚検査を行なった。

5) 眼検査

投与開始前、投与開始後6および12週目、回復試験の終りに、散瞳剤トロピックアミド (Mydriacyl, Alcon Laboratories Inc., Fort Worth, Texas, U. S. A.) を点眼し、Keeler 間接接眼鏡を用いて、眼底検査を行なった。

6) 心電図検査

投与開始前、投与開始後6および12週目、回復試験の終りに、Cardiopan 531 (Philips) を用いて、標準肢誘導 (I, II, III) 心電図、単極肢誘導 (aVR, aVL, aVF) 心電図を記録した。投与期間中は、投与前 (2分割投与例は最初の投与分を与える前) に記録した。心電図のトレースから R-R 間隔 (このデータから心拍数を計算)、P-R 間隔、QRS 間隔、Q-T 間隔およびヒト心電図に用いられる方法により心拍数で補正した値、QTc 間隔などの数量データを抽出した。

7) 血液学的検査

投与開始前、投与開始後6および12週目、回復試験の終りに、頸静脈または橈側皮静脈から採血した。同時

に実施の尿検査用尿尿のため、採血前夜約 21 時間動物ケージから水と餌を除去し、動物を絶食絶水させた。抗凝固剤 EDTA 加血液について、以下の項目を測定した。赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、MCHC、MCV、白血球数、血小板数（以上 7 項目 Technicon Hemalog 8 / 90 Micro）、赤血球沈降速度（Wintrobe-Landsberg 法）、網状赤血球数（Dacie-Lewis 法）、白血球分画（Wright 染色変法）。抗凝固剤クエン酸塩加血漿は、プロトロンビン時間（Quick の方法）および活性化部分トロンボプラスチン時間（Proctor-Rapaport 法）の測定に用いた。

8) 骨髓検査

解剖時に、胸骨穿刺により各動物の骨髓を採取し、塗抹標本を作製、顕微鏡観察した。

9) 血液生化学検査

血液学的検査実施時に、同時に採血した血液を用いて、以下の血液生化学検査を実施した。抗凝固剤フッ化物加血漿についてグルコースを、ヘパリン加血漿についてグルタチオン（Beutler らの方法）を測定し、血清について下記のすべての項目を測定した。総蛋白質、アルブミン、グロブリン、尿素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、塩化物およびコレステロールの以上 11 項目は Technicon SMA 12 / 60 により標準 Technicon SMA 法を用いた。Roche Cobas Bio Analyzer を用いて、BCL テストキットにより、グルコース（ヘキソキナーゼ媒体アッセイ）、アルカリ性ホスファターゼ、GPT、GOT、総ビリルビン、総乳酸脱水素酵素、クレアチンホスホキナーゼ、トリグリセリド、尿酸を測定した。さらに電気泳動（セルロースアセテート）による血漿蛋白の分画、リン脂質（Wako 酵素テストキット）の測定も行なった。

10) 尿検査

上記の血液学的、血液生化学的検査実施日に集めた 16 時間尿を用い、尿量、pH、比重（屈折率測定法）および蛋白質（スルホサリチル酸法）を測定し、沈渣を検査した。総還元物質（Clinitest, Ames）、グルコース、ケトン、ビリルビン、ウロビリノーゲンおよび潜血（以上 5 項目、Multistix, Ames）などの項目は定性検査した。

11) 器官重量および病理組織学的検査

投与試験終了時および回復試験終了時に、ペントバルビトン（Expiral, Abbott Laboratories, 200 mg/ml pentobarbitone sodium）麻酔下で、放血致死させ解剖した。肉眼的観察を行ない、以下の器官について重量を測定した。

副腎、肺、胸腺、脳、脾臓、甲状腺、心臓、下垂体、子宮または前立腺、腎臓、脾臓、顎下腺、肝臓、精巣または卵巣。

また、これらの器官に加えて、大動脈（動脈弓、腹動脈）、気管支、盲腸、結腸（上行、下行）、十二指腸、視神経、大腿骨（骨髓を含む）、胆嚢、回腸、注射部位、空腸、涙腺、リンパ節（頸部、腸間膜）、乳腺、食道、咽頭、直腸、坐骨神経、骨格筋、皮膚、胸骨、脊髓、胃、舌、気管、膀胱、膈を、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。眼は Davidson 固定液で固定し、肝臓と腎臓の一部はホルマリン・カルシウム液で固定した。さらに肝臓の一片をドライアイスを入れたアセトン浴で冷却したヘキサンで急速に凍結させた。

常法に従い、組織を融点 56°C のパラフィン・ワックスで包埋し、5 ミクロンで薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。ホルマリン・カルシウム液で事前に固定した肝臓と腎臓は、12 ミクロンの凍結切片とし、Oil Red O で脂肪の染色をした。急速凍結しておいた肝臓の凍結切片は、PAS でグリコーゲンの染色をした。

上記組織は全例について、光顕的に検査した。

12) 統計学的解析

体重の変化と摂餌データについて群間の差の有意性を評価するために分散分析を行なった。群間の比較には Student の 't' 検定 (LSD 法) を用いた。

臨床検査上のパラメーターのうち、最頻値の相対頻度が 75% より小さい、すなわち、データが一つの特定の値に偏らないパラメーターについての統計解析には以下の方法を用いた。

(i) Bartlett の方法²⁾を用いて群間での分散の不均一性を検定した。1% 水準で有意な不均一性が認められた場合には、対数変換を行なって不均一性が除去できるかどうかを調べた。対数変換で満足できる結果が得られない場合には平方根変換も試みた。

(ii) 有意な不均一性が検出されなかったとき、あるいは上記の処理で満足できる変換が得られたときには、一元分散分析を行なった。満足できる変換がみつけれなかったときには、ランクに基づく Kruskal-Wallis の解析法^{3, 4)}を用いた。

(iii) 分散分析に続き Student の 't' 検定 (LSD 法) を行い、Williams の検定^{5, 6)}により反応の用量依存性を調べた。一方、Kruskal-Wallis の解析に続き、't' 検定 (LSD 法) と Williams 検定のノンパラメトリック形⁷⁾を用いた。

最頻値の相対頻度が 75% 以上であるパラメーターについては、最頻値と異なる値を有する各群の動物の数を、

Fisher の直接確率計算法¹⁾と Mantel の検定²⁾を用いて解析した。Fisher の方法は群間の全般的な差をみるために用い、Mantel の方法は特にそのような動物の発生頻度の用量依存性を検出するために用いた。

器官重量についての解析には分散分析または共分散分析を用いた。群内の器官重量と体重の間に 10%水準で有意な相関が認められたときに、最終体重を共変量に用いて共分散分析を行なった。Bartlett の検定³⁾により 1%水準で有意な分散の不均一性が器官重量(体重)のデータに認められ、しかも変換後のデータが未変換のデータより分散の不均一性が少なければ、器官重量(または器官重量と体重の両者)の $\log(X+1)$ 変換を行なった。反応の用量依存性については Williams の検定^{4, 5)}を用いて群間比較を行なった。

II. 実験成績

1. 死亡例

6315-S 800 mg/kg/日投与群の雌 1 例を、投与開始後 13 週目(90 日目)に以下の理由で屠殺した。本例では、第 12 週における定期血液学的検査で、赤血球沈降速度の促進(43 mm/hr)、ヘマトクリット値(32%)および赤血球数の軽度減少($4.5 \times 10^6/\text{cmm}$)を認めた。第 13 週の採血時には赤血球沈降速度の促進(75 mm/hr)、さらにヘマトクリット値(19%)、赤血球数($1.7 \times 10^6/\text{cmm}$)、およびヘモグロビン量(4.8 g/dl)等、著しい減少を認めた。歯肉は褪色し、元気を喪失し、摂餌量の減少がみられ、最後の 3 日間で体重が 500 g 減少した。衰弱のため生存の見込がないと判断し屠殺した(Table 2)。

剖検により、脾臓肥大、歯肉、肝臓および肺の褪色、胃腸および子宮の黄変、胸腺に広汎な点状出血がみられた。肝臓重量は 511 g であり、体重の 4%以上を占めていた。剖検後採取した骨髓塗抹標本の細胞充実性は正常であったが、細胞分布や形態学上の評価をするには、不適当であった。

主な組織学的所見は、肝臓内の髓外造血とヘモジデリン沈着、脾臓内の髓外造血であり、これらは血液学的所見、解剖時肉眼による観察所見と一致していた。

2. 一般状態

投与第 1 日目に 6315-S 400 mg/kg/日投与群雌 1 例に投与時にむかつきが、投与直後に不安定な歩行、呼吸困難がみられた。その後、嘔吐、赤色糞便、活動性低下、両眼からの分泌物がみられた。第 2 日目には、嘔吐、一過性赤色糞便、両眼からの分泌物、活動性低下、振顫等の症状がみられた。さらに 5 日間にわたり、この 1 例に

主として嘔吐と過度の唾液分泌がみられたが、その後これらの症状は消失した。

CEZ 800 mg/kg/日投与群の全例に、投与中または投与直後に過度の唾液分泌と嘔吐がみられた。嘔吐の発症率は、投与期間の最初の数週が高かったが、唾液分泌は投与期間中継続した。また同群の雌 1 例に、投与期間の最初の 4 週間、しばしば投与中に振顫を認めた。

その他に、対照群を含む全ての投与群に、軽度の嘔吐を認めたが、その発症率には用量依存性を認めなかった。軽度の嘔吐は検体投与とは無関係の反応であると判断された。

3. 体重

試験期間を通じて、体重はいずれの投与群も順調に推移し、6315-S または CEZ 投与に起因した体重変動は統計学的に認められなかった(Fig. 1, 2)。

4. 摂餌量

各動物は、投与前、投与期間を通じていずれの群も給餌量のほとんどを摂食し、6315-S または CEZ 投与に起因した摂餌量の変化を認めなかった(Table 3)。

5. 聴覚検査

6315-S または CEZ 投与に起因した異常は認められなかった。

6. 眼検査

眼底検査および組織学的検査において、6315-S または CEZ 投与に起因した変化は認められなかった。

7. 心電図検査

投与開始後 6 週目の検査では、6315-S 400 mg/kg/日および 800 mg/kg/日投与群雌の平均心拍数が、対照群に比して有意の減少を示したが、12 週目の検査では対照群に対して平均心拍数に差がみられなかった(Table 4, 5)。したがって 6315-S 投与は、心電図に影響を与えないものと判断された。

8. 血液学的検査

投与開始後 6 および 12 週目に、6315-S 全投与群雌の活性化部分トロンボプラスチン時間に、統計学的に有意な延長がみられたが、その変化は軽微なものであった(Table 6, 7)。

同様の傾向は、6315-S 400 および 800 mg/kg/日投与群雌にもみられたが、雌に関してはほとんどの数値が統計学的有意差を示さなかった。回復試験後の 6315-S 800 mg/kg/日投与群の活性化部分トロンボプラスチン時間は、12 週目に比して短縮した。

投与開始後 12 週目における 6315-S 800 mg/kg/日投与群または CEZ 800 mg/kg/日投与群の赤血球パラメーター(ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球

Table 2 Findings in clinical and terminal examinations for a dog killed during week 13

1) Haematology

Week of dosing	ESR mm/1 hr	Ht %	Hb g/dl	RBC X10 ⁶ /cmm	MCHC %	MCV fl	Retic %	WBC + Diff. x 10 ³ /cmm						PLTS X10 ³ /cmm	PT sec	APTT sec
								Total	N	L	E	B	M			
-1	0	46	14.5	5.7	31.5	81	<2.0	20.7	13.25	6.62	0.21	0.00	0.62	263	8.0	9.9
6	0	50	16.8	6.8	33.6	74	<2.0	16.9	7.44	6.76	1.52	0.00	1.18	240	6.7	10.3
12	43	32	10.6	4.5	33.1	71	<2.0	15.0	7.80	6.60	0.00	0.00	0.60	124	7.4	12.7
13	75	19	4.8	1.7										162		

2) Plasma or serum components and body weight

Week of dosing	Body weight (kg)	Chol mg/dl	Tri-glyc mg/dl	Ph-Lipid mg/dl	Uric Acid mg/dl	Gluta-thione mg/dl	AP mU/ml	GPT mU/ml	GOT mU/ml	LDH mU/ml	CPK mU/ml
-1	10.0	143	38	311	0.6	35	179	37	15	72	165
6	11.4	150	78	368	0.4	35	207	25	22	82	83
12	12.6	155	59	362	0.4	26	216	28	19	49	52
13	12.1						297				

3) Organ weights

Week of dosing	Glu- cose mg/dl	Protein g/dl					Glob g/dl	A/G	Urea mg/dl	Creat mg/dl	Bili- rubin mg/dl	Na mEq /L	K mEq /L	Ca mEq /L	P mEq /L	Cl mEq /L
		Total	Alb	α_1	α_2	β										
-1	102	5.1	2.8	0.7	0.4	0.9	2.3	1.22	21	0.5	0.1	144	4.2	5.5	4.1	107
6	96	5.6	3.3	0.7	0.4	0.8	2.1	1.57	18	0.5	<0.1	143	3.9	5.9	3.7	106
12	90	5.5	3.2	0.7	0.3	1.0	2.3	1.39	30	0.8	0.2	146	4.2	5.6	2.8	111

3) Organ weights

Week of dosing	Body weight (kg)	Brain (g)	Pitu- itary (mg)	Heart (g)	Lungs (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Panc- reas (g)	Thymus (g)	Uterus (g)		Kidney (g)		Thyroid (g)		Adrenal (g)		Ovary (g)		Submaxillary gland (g)	
										R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
13	12.1	86.8	87	93.5	105.1	511.6	244.5	35.9	10.1	1.21	41.8	40.6	0.62	0.66	0.77	0.70	0.65	0.76	6.5	7.5	

Fig. 1 Group mean body weights — Males

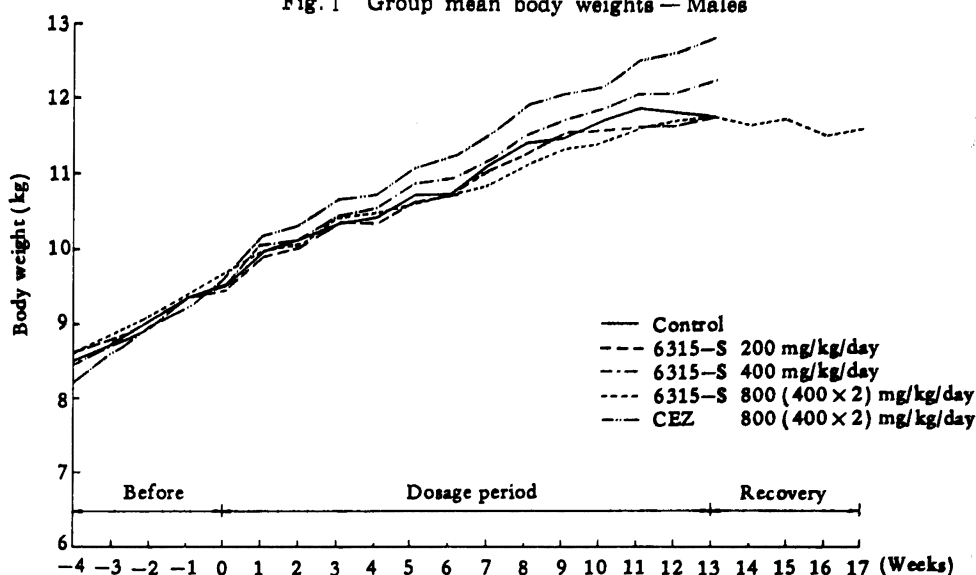
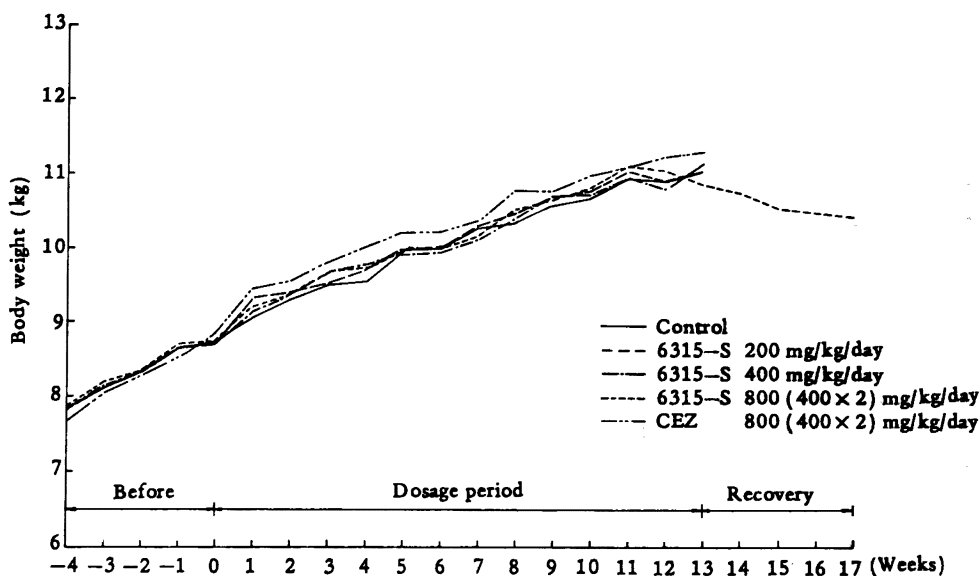


Fig. 2 Group mean body weights — Females



数, MCHC)の平均値は, 対応する対照群値に比較してやや低かった。4週間の回復試験後の検査で, 雄1例がやや低値(ヘマトクリット値42%, ヘモグロビン量13.8 g/dl, 赤血球数 $5.4 \times 10^6/\text{cmm}$)を示したが, 残り3例は殆ど完全に回復した。投与期間中, 各群の血小板数平均値に著変を認めなかったが, 6315-S 800 mg/kg/日投与群およびCEZ 800 mg/kg/日投与群の雌各1例にのみ, 投与開始後12週目の検査で, 血小板数の一過性

低値(それぞれ $35 \times 10^3/\text{cmm}$, $12 \times 10^3/\text{cmm}$)を認めたが, 13週目における再検査では, それぞれ $87 \times 10^3/\text{cmm}$, $417 \times 10^3/\text{cmm}$ に回復した。その他の検査項目には対照群と投与群間で, 有意な変化を認めなかった。

9. 骨髓検査

投与試験終了時および回復試験終了時に検査した動物の骨髓塗抹標本は, すべて細胞充実性, 細胞分布および形態学上正常であった。

Table 3 Group mean weekly food consumption (gram/dog)

Sex	Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	During the pre-dosing period	During weeks 1~13 of the dosing period	During weeks 1~4 of the recovery period
Male	Control	—	4	2780	2775	
	6315-S	200	4	2753	2793	
		400	4	2743	2785	
		800 (400×2)	6	2800	2800	2654
	CEZ	800 (400×2)	2	2800	2800	
Female	Control	—	4	2661	2693	
	6315-S	200	4	2613	2760	
		400	4	2567	2501	
		800 (400×2)	6	2670	2772	2196
	CEZ	800 (400×2)	2	2760	2773	

10. 血液生化学的検査

投与開始前、投与開始後 6 および 12 週目、回復試験の終りに実施した検査の成績を Table 8～11 に示す。

6315-S 投与全群に、投与開始後 6 および 12 週目に、コレステロール、リン脂質およびアルカリ性ホスファターゼ値の増加または増加の傾向を認めた。トリグリセリド値の増加ないし増加の傾向は、6315-S 400 および 800 mg/kg/日投与群にみられた。しかし、以上の項目に関する統計学的有意性は、主として 800 mg/kg/日投与群にのみ認められた。CEZ 800 mg/kg/日投与群でも、投与開始後 6 および 12 週目の検査で 6315-S 投与群にみられたと同様の所見がえられ、これらに加えて顕著な GPT 値の低下がみられた。なお、6315-S 800mg/kg/日投与群に、投与開始後 12 週目の検査で、対照群値が投与前値に比してやや高値を示したことによる GPT 値の見掛上の低下が統計学的に認められた。

6315-S 800 mg/kg/日投与群で観察された上記の諸変化は、回復試験終了時にはすべて正常値へ回復した。ただし、雄 1 例のみアルカリ性ホスファターゼ値 (333 mU/ml) が正常のバックグランド値の上限を示した。

その他の検査項目には、6315-S 投与に関連したと思われる変化を認めなかった。

11. 尿検査

投与開始後 6 および 12 週目の検査で、6315-S 投与群と対照群の間に一貫した相違はみられなかった (Table 12～15)。

他方、CEZ 投与群の尿がグルコース反応陰性にもかかわらず総還元物質強陽性を示したのは、CEZ および/または尿中の代謝産物の存在によるものと思われる。

12. 器官重量

投与試験終了時および回復試験終了時における器官重量を Table 16 に示す。

6315-S 400 mg/kg/日および 800 mg/kg/日投与群に肝臓重量の有意な増加がみられた。肝臓重量の増加は、CEZ 800 mg/kg/日投与群にもみられた。これに加えて、6315-S 800 mg/kg/日投与群の腎臓重量も対照群に比して有意に増加した。肝臓重量の正常値の上限は体重の 4.0% と Huntington Reserch Centre では判断しているが、それを越える値が記録されたのは、6315-S 400 mg/kg/日投与群の 8 例中 1 例、6315-S 800 mg/kg/日投与群の 8 例中 5 例、CEZ 800 mg/kg/日投与群 4 例中 1 例であった。腎臓重量の正常値の上限は体重の 0.7% と判断しているが、それを越える値が記録されたのは、6315-S 800 mg/kg/日投与群 8 例中 2 例であった。

ほかには対照群と投与群との間に、毒性学上有意と考えられる差はなかった。

6315-S 800 mg/kg/日投与群にみられた上記の変化は、回復試験終了時にはすべて正常値へと回復した。

13. 解剖時肉眼所見

投与試験終了時および回復試験終了時における剖検では、6315-S または CEZ 投与に由来すると考えられる所見はみられなかった。

14. 病理組織学的所見

1) 検体起因性の所見

検体投与に由来する病理組織学的所見を、Table 17 に示し、以下に要約する。

i) 死亡例

投与開始後 13 週目に屠殺した 6315-S 800 mg/kg/日投与群雌 1 例において、Kupffer 細胞内および洞様毛細血管内皮細胞内にヘモジリン沈着の増加、肝臓と脾臓に髓外造血を認めた (Photo. 1, 2)。

Table 4 Electrocardiograph—group mean values in male dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	R-R sec	Heart rate/min	P-R sec	QRS sec	Q-T sec	QTc sec
Before dosing								
Control	—	4	0.49	126	0.10	0.04	0.20	0.29
6315-S	200	4	0.45	135	0.11	0.05	0.20	0.30
	400	4	0.53	118	0.12	0.05	0.21	0.29
	800 (400X2)	6	0.54	113	0.11	0.04	0.19	0.26
CEZ	800 (400X2)	2	0.51	122	0.12	0.04	0.21	0.30
Week 6 of dosing period								
Control	—	4	0.57	106	0.09	0.04	0.20	0.27
6315-S	200	4	0.54	116	0.10	0.04	0.19	0.26
	400	4	0.57	111	0.10	0.04	0.20	0.27
	800 (400X2)	6	0.59	107	0.10	0.04	0.19	0.26
CEZ	800 (400X2)	2	0.61	99	0.11	0.04	0.23(*)	0.30
Week 12 of dosing period								
Control	—	4	0.76	81	0.10	0.05	0.19	0.22
6315-S	200	4	0.66	94	0.11	0.04	0.19	0.23
	400	4	0.70	93	0.10	0.04	0.20	0.24
	800 (400X2)	6	0.68	93	0.10	0.03	0.20	0.25
CEZ	800 (400X2)	2	0.58	104	0.11	0.03	0.20	0.26
Week 4 of recovery period								
6315-S	800 (400X2)	2	0.47	129	0.11	0.04	0.19	0.28

Results of statistical analysis: * Significant at the 5% level (Williams' test)
 (*) Significant at the 5% level ('t' test)
 (**) Significant at the 1% level ('t' test)

Table 5 Electrocardiograph—group mean values in female dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	R-R sec	Heart rate/min	P-R sec	QRS sec	Q-T sec	QTc sec
Before dosing								
Control	—	4	0.49	121	0.10	0.05	0.20	0.29
6315-S	200	4	0.50	127	0.10	0.04	0.20	0.29
	400	4	0.53	118	0.11	0.05	0.19	0.27
	800 (400X2)	6	0.54	113	0.10	0.04	0.19	0.26
CEZ	800 (400X2)	2	0.48	128	0.09	0.04	0.19	0.28
Week 6 of dosing period								
Control	—	4	0.50	125	0.10	0.04	0.20	0.28
6315-S	200	4	0.52	120	0.09	0.04	0.21	0.30
	400	4	0.68*	89*	0.10	0.05	0.21	0.26
	800 (400X2)	6	0.67*	92*	0.10	0.03	0.21*	0.26
CEZ	800 (400X2)	2	0.61	104	0.09	0.04	0.18(**)	0.24
Week 12 of dosing period								
Control	—	4	0.61	109	0.10	0.04	0.20	0.26
6315-S	200	4	0.63	104	0.10	0.05	0.19	0.24
	400	4	0.76	83	0.10	0.04	0.21	0.24
	800 (400X2)	6	0.68	95	0.10	0.04	0.21	0.26
CEZ	800 (400X2)	2	0.78	79	0.10	0.04	0.21	0.24
Week 4 of recovery period								
6315-S	800 (400X2)	2	0.65	98	0.10	0.04	0.19	0.24

Results of statistical analysis: * Significant at the 5% level (Williams' test)
 (*) Significant at the 5% level ('t' test)
 (**) Significant at the 1% level ('t' test)

Table 6 Hematology—group mean values in male dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	ESR mm/hr	Ht %	Hb g/dl	RBC $\times 10^6$ / cmm	MCHC %	MCV fl	Retic %	WBC + Diff. $\times 10^3$ /cmm						PLTS $\times 10^3$ / cmm	PT sec	APTT sec
										Total	N	L	E	B	M			
Before dosing																		
Control	—	4	1	42	13.3	5.6	31.8	75	<2.0	15.3	9.06	5.22	0.55	0.00	0.45	356	7.4	8.8
6315-S	200	4	0	42	13.5	5.5	32.3	76	<2.0	15.9	9.27	5.50	0.78	0.00	0.35	382	7.2	9.1
	400	4	2	39	12.4	4.9*	31.8	80*	<2.0	21.3	12.67	7.27	0.77	0.00	0.62	337	8.1	9.5
	800 (400X2)	6	3	40	12.4	4.9*	31.1	81**	<2.0	20.9	12.80	6.68	0.73	0.00	0.64	374	7.6	9.0
CEZ	800 (400X2)	2	1	37	11.9	4.6	32.2	81	<2.0	17.7	10.48	6.32	0.45	0.00	0.42	313	7.4	9.6
Week 6 of dosing period																		
Control	—	4	0	45	14.6	6.1	32.5	74	<2.0	16.1	10.33	4.15	0.65	0.00	0.93	308	6.2	9.4
6315-S	200	4	0	45	14.9	6.2	33.0	73	<2.0	16.0	8.84	5.11	0.99	0.00	1.07	330	5.9	9.8*
	400	4	0	44	14.3	5.8	33.0	75	<2.0	15.2	7.48	6.15	0.91	0.00	0.67	298	6.8	10.3**
	800 (400X2)	6	0	42	13.6	5.6	32.5	75	<2.0	15.0	8.44	4.97	0.99	0.00	0.59	310	6.0	10.1**
CEZ	800 (400X2)	2	0	43	14.4	5.7	33.5	76	<2.0	16.0	7.77	7.06**	0.36	0.00	0.82	270	5.9	9.7
Week 12 of dosing period																		
Control	—	4	0	46	16.5	7.0	35.7	67	<2.0	11.8	6.59	4.91	0.10	0.00	0.19	260	6.7	11.1
6315-S	200	4	0	50	16.2	7.3	32.4*	69	<2.0	14.0	7.72	4.82	0.78	0.00	0.64	307	6.6	11.9*
	400	4	2	45	15.0	6.4	33.2*	71	<2.0	13.4	6.91	5.05	0.63	0.00	0.79	257	7.3	12.9**
	800 (400X2)	6	1	43	14.3*	6.2	33.3*	70	<2.0	13.3	7.29	4.89	0.65	0.00	0.46	309	6.5	12.5**
CEZ	800 (400X2)	2	0	44	14.3	6.0	32.6	74	<2.0	13.3	7.25	5.03	0.29	0.00	0.74	213	6.6	12.1
Week 4 of recovery period																		
6315-S	800 (400X2)	2	3	46	14.2	6.0	31.2	77	<2.0	14.9	9.66	3.32	1.23	0.00	0.65	113	7.0	10.0

Results of statistical analysis:

* Significant at the 5% level (Williams' test)

** Significant at the 1% level (Williams' test)

(*) Significant at the 5% level ('t' test)

Table 7 Hematology—group mean values in female dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	ESR mm/hr	Ht %	Hb g/dl	RBC × 10 ⁶ / cmm	MCHC %	MCV fl	Retic %	WBC + Diff. × 10 ³ /cmm						PLTS × 10 ³ / cmm	PT sec	APTT sec
										Total	N	L	E	B	M			
Before dosing																		
Control	—	4	1	40	12.9	5.3	32.3	76	<3.0	20.1	12.26	6.74	0.40	0.00	0.67	335	7.2	9.4
6315-S	200	4	1	43	13.8	5.6	31.8	77	<2.0	17.6	10.73	5.93	0.59	0.00	0.33	378	6.9	8.9
	400	4	0	42	13.9	5.4	33.5	77	<2.0	19.3	10.74	7.51	0.43	0.00	0.60	363	7.4	10.1
	800 (400X2)	6	0	42	13.7	5.4	32.3	79	<2.0	17.0	10.17	5.93	0.49	0.00	0.46	386	7.5	9.7
CEZ	800 (400X2)	2	1	41	13.2	5.4	32.4	76	<2.0	16.6	10.25	5.65	0.58	0.00	0.08	357	7.3	9.9
Week 6 of dosing period																		
Control	—	4 [#]	0	45	14.9	6.0	33.4	74	<2.0	20.0	10.84	7.71	0.59	0.00	0.86	240	6.4	10.0
6315-S	200	4	0	45	14.8	6.1	33.2	73	<2.0	15.8	8.77	5.83	0.67	0.00	0.51	290	5.9	9.7
	400	4	0	45	15.1	6.1	33.6	74	<2.0	14.4*	7.82	5.38	0.65	0.00	0.54	300	6.7	10.2
	800 (400X2)	6	0	45	14.8	6.0	33.1	75	<2.0	13.8*	7.74	4.76*	0.57	0.00	0.76	277	6.6	10.2
CEZ	800 (400X2)	2	0	45	14.8	6.4	32.8	71	<2.0	16.3	8.51	5.40	1.27	0.00	1.09	265	6.0	9.5(*)
Week 12 of dosing period																		
Control	—	4	0	49	16.9	7.0	34.3	71	<2.0	13.2	7.14	5.61	0.11	0.00	0.33	271	6.5	12.1
6315-S	200	4	0	46	15.7	6.9	33.9	67	<2.0	12.8	7.95	4.38	0.12	0.00	0.39	321	6.9	12.2
	400	4	0	47	16.2	6.7	34.5	70	<2.0	13.3	7.64	5.17	0.24	0.00	0.28	304	6.7	12.9
	800 (400X2)	6	8	43	14.2*	6.1	33.5	70	<2.0	11.4	5.88	4.39	0.44	0.00	0.74	233	7.2	13.2*
CEZ	800 (400X2)	2 ^{**}	4	42	13.5	6.2	32.2	69	<2.0	11.5	6.55	4.18	0.34	0.00	0.45	79(*)	6.3	11.1(*)
Week 4 of recovery period																		
6315-S	800 (400X2)	2	0	53	16.7	6.8	31.7	78	<2.0	14.6	9.27	3.72	0.59	0.00	1.03	175	6.4	10.5

Results of statistical analysis:

* Significant at the 5% level (Williams' test)

(*) Significant at the 5% level ('t' test)

As to PT and APTT for coagulation test. Sample from an animal for hematological determinations clotted at blood sampling, therefore excluded from means and statistics.

As for hematological determinations. Sample from an animal for PT and APTT tests clotted at blood sampling, therefore excluded from means and statistics.

Table 8 Plasma or serum components—group mean values in male dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Chol mg/dl	Triglyc mg/dl	Ph-Lipid mg/dl	Uric Acid mg/dl	Glutathione mg/dl	AP mU/ml	GPT mU/ml	GOT mU/ml	LDH mU/ml	CPK mU/ml
Before dosing												
Control	—	4	131	36	302	0.5	30	204	18	19	117	122
6315-S	200	4	140	39	308	0.6	34	208	24	18	123	122
	400	4	146	40	309	0.5	33	239	25*	18	117	109
	800 (400X2)	6	154	47	313	0.6	31	232	19	18	141	139
CEZ	800 (400X2)	2	182	40	342	0.5	25	200	20	15	111	121
Week 6 of dosing period												
Control	—	4	118	45	285	0.4	31	185	26	18	69	117
6315-S	200	4	139	55	330	0.4	36	293*	29	20	104	143
	400	4	156*	52	369*	0.3	35	306**	32	20	105	117
	800 (400X2)	6	153*	65**	364*	0.3*	29	344**	22	21	88	209*
CEZ	800 (400X2)	2	183	83(*)	427	0.4	30	198(**)	+	14(*)	52	114
Week 12 of dosing period												
Control	—	4	125	46	256	0.4	37	148	33	19	64	103
6315-S	200	4	170	49	384*	0.4	40	286**	34	20	61	155
	400	4	167	62	351*	0.3	38	266**	33	20	67	102
	800 (400X2)	6	179*	67*	379**	0.3	32	307**	22	21	79	128
CEZ	800 (400X2)	2	191	89(*)	425	0.3	32	183(*)	+	17	47	110
Week 4 of recovery period												
6315-S	800 (400X2)	2	149	36	321	0.3	37	262	24	16	92	87

Results of statistical analysis:

* Significant at the 5% level (Williams' test)

** Significant at the 1% level (Williams' test)

(*) Significant at the 5% level ('t' test)

(**) Significant at the 1% level ('t' test)

+ Means not calculated — values below level of detection for an animal

Table 9 Plasma or serum components—group mean values in female dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Chol mg/dl	Triglyc mg/dl	Ph-Lipid mg/dl	Uric Acid mg/dl	Glutathione mg/dl	AP mU/ml	GPT mU/ml	GOT mU/ml	LDH mU/ml	CPK mU/ml
Before dosing												
Control	—	4	132	45	313	0.6	31	226	24	24	265	174
6315-S	200	4	129	43	307	0.6	32	216	20	20	146	128
	400	4	140	40	310	0.5	33	205	26	19	102	127
	800 (400X2)	6	143	40	307	0.6	30	210	29	18*	120	137
CEZ	800 (400X2)	2	124	38	282	0.5	28	193	20	15	75	103
Week 6 of dosing period												
Control	—	4	120	46	303	0.5	31	203	33	21	95	137
6315-S	200	4	145	53	355	0.4*	34	319	23*	19	102	106
	400	4	153	51	366	0.3**	33	275	28*	18	71	87
	800 (400X2)	6	158*	69**	392*	0.4**	32	295	27*	19	66	99
CEZ	800 (400X2)	2	128	64	333	0.4	30	168	+	15	67	95
Week 12 of dosing period												
Control	—	4	139	53	297	0.4	38	169	36	21	55	88
6315-S	200	4	162	47	369	0.4	36	291	25*	19	67	114
	400	4	162	56	367	0.3*	37	248	28	19	68	78
	800 (400X2)	6	178*	65	400**	0.3*	32*	279*	28*	18	65	116
CEZ	800 (400X2)	2	145	78	317	0.4	30	177	+	18	46	69
Week 4 of recovery period												
6315-S	800 (400X2)	2	159	42	358	0.2	34	181	35	17	94	77

Results of statistical analysis:

* Significant at the 5% level (Williams' test)

** Significant at the 1% level (Williams' test)

(*) Significant at the 5% level ('t' test)

(**) Significant at the 1% level ('t' test)

+ Means not calculated — values below level of detection for an animal

Table 10 Plasma or serum components—group mean values in male dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Glucose mg/dl	Protein g/dl						Glob g/dl	A/G	Urea mg/dl	Creat mg/dl	Bill- rubin mg/dl	Na mEq/L	K mEq/L	Ca mEq/L	P mEq/L	Cl mEq/L
				Total	Alb	α_1	α_2	β	γ										
Before dosing																			
Control	—	4	99	5.4	2.5	0.7	0.6	1.2	0.4	2.9	0.87	22	0.5	<0.1	145	4.2	5.7	3.9	107
6315-S	200	4	102	5.3	2.7	0.7	0.5	1.1	0.3	2.7	1.00	23	0.5	<0.1	145	4.2	5.5	3.9	108
	400	4	98	5.2	2.5	0.7	0.6	1.1	0.3	2.7	0.97	28	0.6	<0.1	146	4.3	5.6	4.0	107
	800 (400X2)	6	99	5.4	2.6	0.7	0.6	1.2	0.4	2.8	0.95	25	0.6	<0.1	147*	4.5	5.6	4.0	107
CEZ	800 (400X2)	2	101	5.3	2.9	0.7	0.5	1.0	0.3	2.4(*)	1.22(*)	22	0.5	0.1	146	4.4	6.0(*)	4.3	107
Week 6 of dosing period																			
Control	—	4	100	5.4	2.8	0.7	0.4	1.2	0.3	2.6	1.11	29	0.7	<0.1	146	4.7	5.4	3.3	112
6315-S	200	4	94	5.6	3.0	0.8	0.5	1.1	0.3	2.6	1.17	30	0.6	0.1	146	4.5	5.7	3.4	110
	400	4	95	5.6	3.1	0.8	0.5*	1.0	0.4	2.6	1.20	26	0.6	<0.1	144	4.2*	5.7	3.3	108*
	800 (400X2)	6	96	5.5	3.0	0.6	0.5*	1.1	0.3	2.4	1.27	24	0.5*	<0.1	144	4.5*	5.6	3.5	107**
CEZ	800 (400X2)	2	97	5.2	2.9	0.7	0.4	1.0	0.2(*)	2.2	1.32	19	0.5	0.1	142	3.8(**)	5.5	3.1	107
Week 12 of dosing period																			
Control	—	4	91	5.4	2.9	0.6	0.4	1.1	0.4	2.4	1.22	33	0.8	0.1	147	4.5	5.4	2.9	111
6315-S	200	4	93	5.8	3.2	0.7	0.6	1.2	0.3	2.6	1.23	30	0.7	<0.1	149	4.3	5.7	3.3	109
	400	4	91	5.8	3.2	0.7	0.5	1.1	0.3	2.6	1.23	34	0.6	<0.1	148	4.4	5.7	3.1	111
	800 (400X2)	6	90	5.8	3.0	0.8	0.4	1.3	0.3	2.8	1.07	29	0.8	<0.1	151	4.1	5.8*	3.1	112
CEZ	800 (400X2)	2	99(*)	5.5	2.8	0.8	0.4	1.3	0.4	2.8	1.03	27	0.9	0.1	152	3.9	5.7	3.2	114
Week 4 of recovery period																			
6315-S	800 (400X2)	2	91	6.6	3.1	0.6	0.6	1.7	0.6	3.5	0.90	18	0.8	0.1	149	4.0	5.8	3.2	111

Results of statistical analysis: * Significant at the 5% level (Williams' test)

** Significant at the 1% level (William's test)

(*) Significant at the 5% level ('t' test)

(**) Significant at the 1% level ('t' test)

Table 11 Plasma or serum components—group mean values in female dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Glucose mg/dl	Protein g/dl						Glob g/dl	A/G	Urea mg/dl	Creat mg/dl	Bili- rubin mg/dl	Na mEq/L	K mEq/L	Ca mEq/L	P mEq/L	Cl mEq/L
				Total	Alb	α_1	α_2	β	γ										
Before dosing																			
Control	—	4	100	5.4	2.5	0.8	0.5	1.2	0.4	2.8	0.90	21	0.5	0.1	143	4.2	5.7	3.9	107
6315-S	200	4	102	5.4	2.7	0.7	0.6	1.2	0.3	2.8	0.99	28	0.6	<0.1	145	4.5	5.5	4.3	107
	400	4	96	5.3	2.6	0.7	0.5	1.2	0.4	2.8	0.97	25	0.7	0.1	147**	4.4	5.6	4.0	107
	800 (400X2)	6	95	5.3	2.8	0.7	0.5	1.1	0.3	2.6	1.08	25	0.6	<0.1	147**	4.4	5.7	3.9	107
CEZ	800 (400X2)	2	99	5.3	2.9	0.7	0.5	1.1	0.3	2.5	1.14	26	0.7	0.1	148	4.5	6.0(*)	4.3	105
Week 6 of dosing period																			
Control	—	4	94	5.4	2.9	0.7	0.5	1.1	0.3	2.5	1.16	28	0.7	0.1	149	4.4	5.7	3.4	109
6315-S	200	4	97	5.5	3.0	0.7	0.5	1.0	0.3	2.4	1.26	26	0.6*	<0.1	146*	4.4	5.6	3.3	109
	400	4	96	5.6	3.0	0.8	0.5	1.0	0.3	2.6	1.23	22*	0.5*	<0.1	143**	4.1	5.6	3.1	108
	800 (400X2)	6	94	5.5	3.1	0.7	0.4	1.0	0.3	2.3	1.36	22*	0.5**	<0.1	144**	4.1	5.8	3.2	109
CEZ	800 (400X2)	2	101	5.2	2.9	0.7	0.4	1.0	0.2	2.3	1.29	19	0.6	<0.1	144	3.9	5.5	3.2	107
Week 12 of dosing period																			
Control	—	4	93	5.5	3.1	0.6	0.4	1.0	0.4	2.3	1.37	40	0.9	0.1	149	4.3	5.6	3.1	111
6315-S	200	4	91	5.5	3.2	0.7	0.4	1.0	0.3	2.4	1.35	27*	0.7*	<0.1	146	4.3	5.5	3.0	107
	400	4	88	5.6	3.0	0.8	0.4	1.1	0.3	2.6	1.23	31*	0.6*	0.1	146	4.1	5.6	2.9	110
	800 (400X2)	6	87	5.5	3.0	0.7	0.4	1.1	0.3	2.5	1.22	28*	0.8*	0.1	149	4.0	5.6	2.9	111
CEZ	800 (400X2)	2	87	5.5	2.5(*)	0.8	0.4	1.4	0.5(**)	3.0(*)	0.84	31	0.8	0.2	151	4.0	5.6	3.4(*)	110
Week 4 of recovery period																			
6315-S	800 (400X2)	2	89	6.1	3.3	0.7	0.5	1.3	0.4	2.9	1.14	25	0.8	0.1	149	4.2	5.8	2.8	110

Results of statistical analysis: * Significant at the 5% level (Williams' test)

** Significant at the 1% level (William's test)

(*) Significant at the 5% level ('t' test)

(**) Significant at the 1% level ('t' test)

Table 12 Urinalysis—group mean values in male dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Volume ml	pH	Specific gravity	Protein mg/dl
Before dosing						
Control	—	4	104	6.6	1.041	0
6315-S	200	4	120	6.6	1.041	0
	400	4	136	6.5	1.041	0
	800 (400X2)	6	117	6.2	1.042	2
CEZ	800 (400X2)	2	112	6.3	1.042	10
Week 6 of dosing period						
Control	—	4	131	6.8	1.042	0
6315-S	200	4	146	7.2	1.045	0
	400	4	160	7.0	1.045	3
	800 (400X2)	6	148	6.6	1.048*	2
CEZ	800 (400X2)	2	129	6.7	1.052	0
Week 12 of dosing period						
Control	—	4	122	7.0	1.043	0
6315-S	200	4	91	7.7	1.048	0
	400	4	150	7.3	1.040	0
	800 (400X2)	6	154	6.9	1.047	0
CEZ	800 (400X2)	2	129	6.9	1.049	0
Week 4 of recovery period						
6315-S	800 (400X2)	2	107	6.8	1.043	0

Results of statistical analysis: * Significant at the 5% level (Williams' test)

Table 13 Urinalysis—group mean values in female dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Volume ml	pH	Specific gravity	Protein mg/dl
Before dosing						
Control	—	4	111	6.4	1.041	0
6315-S	200	4	91	6.7	1.043	0
	400	4	118	6.7	1.040	0
	800 (400X2)	6	111	6.4	1.040	0
CEZ	800 (400X2)	2	75	5.9	1.042	5
Week 6 of dosing period						
Control	—	4	103	6.5	1.045	0
6315-S	200	4	135	6.8	1.044	0
	400	4	126	6.9	1.045	0
	800 (400X2)	6	92	6.7	1.050	0
CEZ	800 (400X2)	2	110	6.0(*)	1.053	0
Week 12 of dosing period						
Control	—	4	125	7.1	1.048	0
6315-S	200	4	134	7.6	1.044	0
	400	4	128	7.8	1.042	0
	800 (400X2)	6	113	7.0	1.048	0
CEZ	800 (400X2)	2	122	6.6	1.053	0
Week 4 of recovery period						
6315-S	800 (400X2)	2	60	7.3	1.041	0

Results of statistical analysis: (*) Significant at the 5% level ('t' test)

Table 14 Urinalysis—summary in male dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Total red subs - +4	Glucose	Ketones	Bili- rubin	Urobili- nogen	Occult blood	Sediment ^{b)}							
				≥±	≥±	≥±	≥±	- +	E	P	M	R	O	C		
				≥±	≥±	≥±	≥±	- +	I ≥II	I ≥II	I ≥II	I ≥II	I ≥II	I ≥II		
Before dosing																
Control	—	4	4 ^{a)} 0	0	0	0	0	3 1	2 0	2 0	1 0	1 0	4 0	0		
6315-S	200	4	4 0	0	0	0	0	4 0	4 0	1 2	2 1	0 0	4 0	0		
	400	4	4 0	0	0	0	0	4 0	3 0	2 0	0 0	0 0	4 0	0		
	800 (400X2)	6	6 0	0	0	0	0	6 0	4 0	3 0	2 0	0 0	6 0	0		
CEZ	800 (400X2)	2	2 0	0	0	0	0	2 0	2 0	1 0	0 0	0 0	2 0	0		
Week 6 of dosing period																
Control	—	4	4 0	0	0	0	0	4 0	3 0	2 2	2 0	0 0	4 0	0		
6315-S	200	4	4 0	0	0	0	0	4 0	2 0	4 0	0 0	0 0	4 0	0		
	400	4	4 0	0	0	0	0	4 0	0 0	4 0	0 0	0 0	4 0	0		
	800 (400X2)	6	6 0	0	0	0	0	6 0	4 0	5 1	1 0	0 0	6 0	0		
CEZ	800 (400X2)	2	0 2	0	0	0	0	2 0	1 0	2 0	0 0	0 0	2 0	0		
Week 12 of dosing period																
Control	—	4	4 0	0	0	0	0	4 0	2 0	4 0	1 0	0 0	4 0	0		
6315-S	200	4	4 0	0	0	0	0	4 0	0 0	2 0	1 0	0 0	4 0	0		
	400	4	4 0	0	0	0	0	4 0	1 0	3 0	1 0	0 0	4 0	0		
	800 (400X2)	6	6 0	0	0	0	0	6 0	1 0	5 0	0 0	0 0	6 0	0		
CEZ	800 (400X2)	2	0 2	0	0	0	0	2 0	2 0	2 0	0 0	0 0	2 0	0		
Week 4 of recovery period																
6315-S	800 (400X2)	2	2 0	0	0	0	0	2 0	2 0	1 1	2 0	0 0	2 0	0		

a) No. of dogs with the indicated finding

b) Grading of cell frequency in the centrifuged deposit :

I = few in some fields examined

II = few in all fields examined

III = many in all fields examined

E : Epithelial cells

P : Polymorphonuclear leucocytes

M : Mononuclear leucocytes

R : Erythrocytes

O : Organisms

C : Renal tubule casts

Table 15 Urinalysis—summary in female dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Total red subs - +4	Glucose ≥±	Ketones ≥±	Bili- rubin ≥±	Urobili- nogen ≥±	Occult blood - +	Sediment ^{b)}						
									E	P	M	R	O	C	
									I ≥II	I ≥II	I ≥II	I ≥II	I ≥II	I ≥II	
Before dosing															
Control	—	4	4 ^{a)} 0	0	0	0	0	4 0	4 0	3 1	4 0	0 0	4 0	0	
6315-S	200	4	4 0	0	0	0	0	4 0	1 0	3 1	1 0	0 0	4 0	0	
	400	4	4 0	0	0	0	0	4 0	2 0	2 1	1 1	0 0	4 0	0	
	800 (400x2)	6	6 0	0	0	0	0	6 0	4 0	5 1	0 1	0 0	6 0	0	
CEZ	800 (400x2)	2	2 0	0	0	0	0	1 1	2 0	1 0	1 0	0 1	2 0	0	
Week 6 of dosing period															
Control	—	4	4 0	0	0	0	0	4 0	2 1	3 1	0 0	0 0	4 0	0	
6315-S	200	4	4 0	0	0	0	0	4 0	1 0	3 1	2 0	0 0	4 0	0	
	400	4	4 0	0	0	0	0	4 0	2 0	3 0	0 0	0 0	4 0	0	
	800 (400x2)	6	6 0	0	0	0	0	6 0	1 0	4 1	1 0	0 0	6 0	0	
CEZ	800 (400x2)	2	0 2	0	0	0	0	2 0	2 0	1 1	1 0	0 0	2 0	0	
Week 12 of dosing period															
Control	—	4	4 0	0	0	0	0	4 0	2 0	4 0	1 0	0 0	4 0	0	
6315-S	200	4	4 0	0	0	0	0	3 1	2 0	2 2	2 0	1 0	4 0	0	
	400	4	4 0	0	0	0	0	4 0	0 0	4 0	0 0	0 0	4 0	0	
	800 (400x2)	6	6 0	0	0	0	0	6 0	0 0	6 0	0 0	0 0	6 0	0	
CEZ	800 (400x2)	2	0 2	0	0	0	0	2 0	1 0	0 0	0 0	0 0	2 0	0	
Week 4 of recovery period															
6315-S	800 (400x2)	2	2 0	0	0	0	0	2 0	2 0	1 1	0 1	0 0	2 0	0	

a) No. of dogs with the indicated finding

b) Grading of cell frequency in the centrifuged deposit :

I = few in some fields examined

II = few in all fields examined

III = many in all fields examined

E : Epithelial cells

P : Polymorphonuclear leucocytes

M : Mononuclear leucocytes

R : Erythrocytes

O : Organisms

C : Renal tubule casts

Table 16 Organ weights—group mean values in male and female dogs

Drug	Dose (mg/kg/day)	No. of dogs	Final BW (kg)	Brain (g)	Pituitary (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Thymus (g)	Prostate (g)	Uterus (g)	Kidney (g)	Thyroid (g)	Adrenal (g)	Testis (g)	Ovary (g)	Submaxillary gland (g)
Organ weights for dogs killed after 13 weeks of treatment																			
Control	—	8	11.3	80.4	71	93.1	94.6	361.1	97.1	27.8	13.7	5.11	5.59	58.7	1.00	1.38	21.69	1.08	12.5
6315 S	200	8	11.3	79.3	67	92.8	87.3	389.4	67.0	31.5	12.4	6.29	6.88	62.3	0.97	1.51	24.54	1.50	12.3
	400	8	11.5	83.9	69	92.6	93.7	409.6*	51.6	26.0	14.6	5.38	3.23	61.6	0.95	1.39	23.25	1.04	12.6
	800 (400X2)	7 ^{a)}	11.2	81.5	64 ^{b)}	89.7	98.0	458.1**	83.1	27.2	13.6	4.59	2.97	71.4**	0.99	1.59	23.28	0.99	12.4
CEZ	800 (400X2)	4	11.9	77.4	67	90.2	91.3	426.6	78.5	28.4	11.1	6.76	9.12	65.9	1.25(*)	1.55	23.86	2.03	13.6
Organ weights for dogs killed after 4 weeks recovery																			
6315 S	800 (400X2)	4	10.9	77.3	63 ^{b)}	88.1	80.5	319.9	76.4	24.5	9.3	7.00	2.72	58.1	0.89	1.34	21.38	0.94	11.93

a) A female dog sacrificed during week 13, excluded from means and statistics.
b) Organ from a female dog damaged at post mortem, therefore excluded from means and statistics.
Level of significance: * Significant at the 5% level (Williams' test)
** Significant at the 1% level (Williams' test)
(*) Significant at the 5% level ('t' test)

Table 17 Histological findings

Findings	Day examined		After 13 weeks of treatment										After 4 weeks recovery		
	Drug		Control		6315-S						CEZ		6315-S		
	Dose (mg/kg/day)		—		200		400		800 (400X2)		800 (400X2)		800 (400X2)		
	Sex		M	F	M	F	M	F	F*	M	F	M	F		
	No. of dogs		4	4	4	4	4	4	4	3	1	2	2	2	2
Liver															
Increased haemosiderin deposits in Kupffer cells and sinusoidal endothelial cells		0 ^{a)}	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
Extramedullary haemopoiesis		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
Spleen															
Extramedullary haemopoiesis		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	

a) : Number of dogs with findings
F* : Animal sacrificed during week 13

Photo. 1 Liver from a female dog given intravenous administration of 800 mg/kg/day of 6315-S and killed during week 13 for humane reasons. Prominent foci of sinusoidal extramedullary haemopoiesis. Deposits of yellow pigment in several sinusoidal/Kupffer cells. H-E, ×500

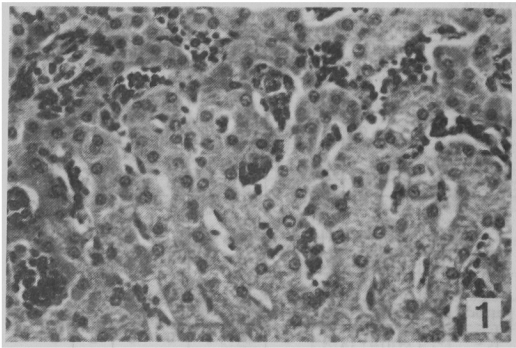


Photo. 2 Spleen from the same dog in Photo. 1. Moderate extramedullary haemopoiesis. H-E, ×500

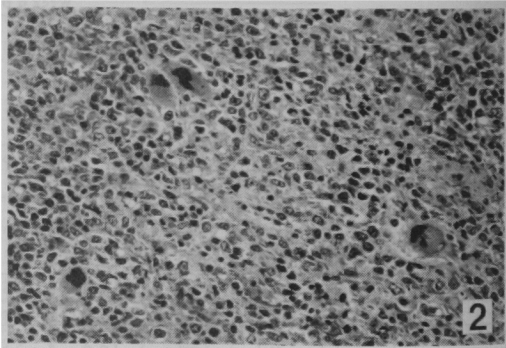


Photo. 3 Liver from a female dog given intravenous administration of 800 mg/kg/day of CEZ for 13 weeks. Selected field shows several Kupffer and endothelial sinusoidal cells with yellow pigment. H-E, $\times 500$

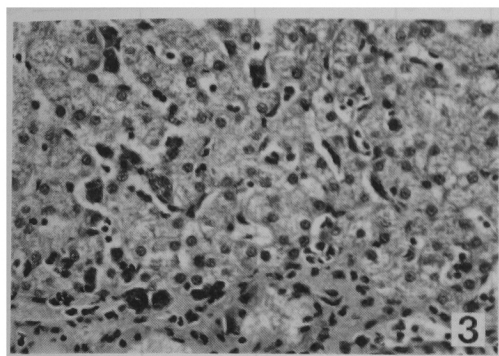


Photo. 4 Liver from a female control dog. Selected field within normal limits. H-E, $\times 500$

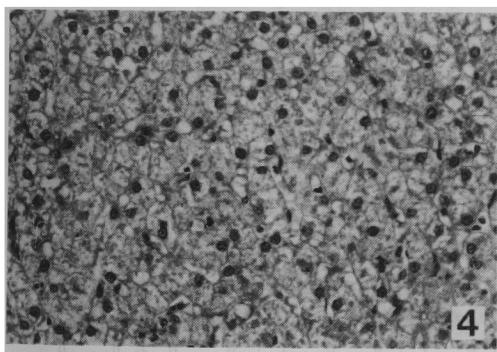


Photo. 5 Liver from a female dog given intravenous administration of 400 mg/kg/day of 6315-S for 13 weeks. Selected field within normal limits. H-E, $\times 500$

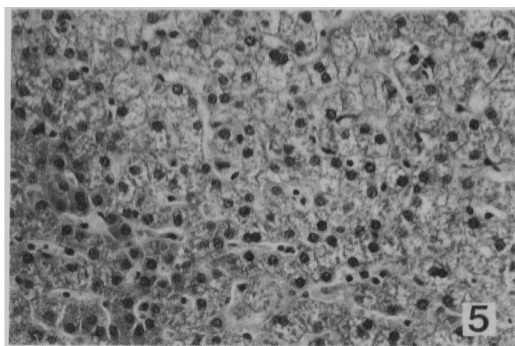
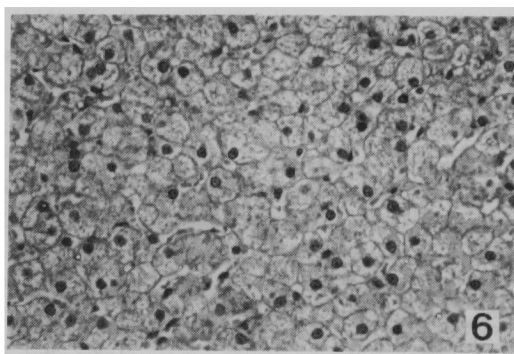


Photo. 6 Liver from a male dog given intravenous administration of 800 mg/kg/day of 6315-S for 13 weeks. Selected field within normal limits. H-E, $\times 500$



ii) 投与試験終了時生存例

CEZ 800 mg/kg/日投与群雌1例において、Kupffer細胞内および洞様毛細血管内皮細胞内にヘモジデリン沈着の増加を認めた (Photo. 3)。

対照群をはじめ 6315-S 投与群および回復試験群のいずれにも、上記死亡例にみられたような肝臓におけるヘモジデリン沈着の増加、肝臓および脾臓における髓外造血などの所見は認められなかった (Photo. 4~6)。

また、肝臓および腎臓に、重量増加を反映するような組織学的変化を認めなかった。

2) その他の所見

以上のほかに、Table 18, 19 に示したように、対照群および検体投与群に共通の変化、あるいは用量依存性のない変化がみられた。これらは、非特異的反応あるいは自然発生したものと思われる。以下に要約する。

心臓：6315-S 400mg/kg/日投与群雄1例に弁膜心内膜炎がみられた。

肺：炎症性細胞の小葉または領域が、対照群を含む各群に散見され、炎症性肉芽腫が、用量依存性なく少数例にみられた。

リンパ節：寄生虫性肉芽腫が 6315-S 800 mg/kg/日投与群にみられ、類リンパ球形増殖が

Table 18 Histological findings

Findings	Day examined		After 13 weeks of treatment										After 4 weeks recovery		
	Drug		Control		6315-S						CEZ		6315-S		
	Dose (mg/kg/day)		—		200		400		800 (400X2)		800 (400X2)		800 (400X2)		
	Sex		M	F	M	F	M	F	M	F*	M	F	M	F	
	No. of dogs		4	4	4	4	4	4	4	3	1	2	2	2	2
<u>Heart</u>															
Valvular endocarditis			0 ^{a)}	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Lungs</u>															
Areas or foci of inflammatory cells			0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
An area of granulomatous inflammation			0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<u>Lymph nodes</u>															
Lymphoid hyperplasia			0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<u>Liver</u>															
Areas of inflammatory cells			0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Haemosiderin deposits in Kupffer cells and sinusoidal endothelial cells			1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
<u>Kidney</u>															
Parasitic granulomata			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Cortical areas of tubular basophilia and/or mononuclear cells			1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
Peripelvic aggregations of lymphocytes			0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Prostate</u>															
Aggregations of lymphocytes			0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
An area of mononuclear cells			0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<u>Epididymis</u>															
Spermatocoele granuloma			0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

a) : Number of dogs with findings

F* : Animal sacrificed during week 13

Table 19 Histological findings

Findings	Day examined	After 13 weeks of treatment										After 4 weeks recovery		
	Drug	Control		6315-S						CEZ		6315-S		
	Dose (mg/kg/day)	—		200		400		800 (400X2)		800 (400X2)		800 (400X2)		
	Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	F*	M	F	M	F
	No. of dogs	4	4	4	4	4	4	4	3	1	2	2	2	2
<u>Thyroid</u>														
Areas of microfollicles		1 ^{a)}	0	1	1	0	0	3	1	0	0	0	1	0
Areas of mononuclear cells and/or aggregation of lymphocytes		0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<u>Parathyroid</u>														
Developmental cysts		0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<u>Duodenum</u>														
Mucosal area of inflammation and congestion		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<u>Jejunum</u>														
Mucosal area of inflammation and congestion		0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<u>Brain</u>														
Submeningeal mononuclear cells		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<u>Sciatic nerve</u>														
Swollen and/or degenerate nerve fibres		0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Perineural granulomatous inflammation		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>Intravenous injection sites</u>														
A thickened epidermis		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
A focus of inflammatory cells		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Ulcer		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
A dermal granuloma		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
A dermal area of fibrosis		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Subcutaneous congestion		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

a) : Number of dogs with findings

F* : Animal sacrificed during week 13

6315-S 200 mg/kg/日投与群, CEZ 800 mg/kg/日投与群各1例にみられた。

肝 臓 : 対照群を含む全動物に炎症性細胞の小巣がみられた。Kupffer 細胞と洞様毛細血管内皮細胞におけるヘモジデリン沈着は、対照群雄1例, 6315-S 800 mg/kg/日投与群雄雌各1例にみられた。

腎 臓 : 対照群を含む大多数の動物に石灰沈着の小巣がみられた。寄生性肉芽腫、皮質尿管の好塩基性化および/または単核細胞の浸潤、腎盂周囲におけるリンパ球の集合巣が、いずれも対照群を含み、少数例に散見された。

前立腺 : 6315-S 400 mg/kg/日投与群雄1例に、リンパ球の集合巣が、800 mg/kg/日投与群雄1例に単核細胞の領域がみられた。

精巣上体 : 6315-S 800 mg/kg/日投与群雄1例に精液瘤を伴う肉芽腫がみられた。

甲状腺 : 単核細胞の小巣および/またはリンパ球の集合巣、あるいは、微細濾胞の存在が対照群を含む少数例に散見された。

上皮小体 : 6315-S 200, 400 mg/kg/日投与群の各2, 1例, 800 mg/kg/日投与群死亡例に、小囊胞の発生を認めた。

胃 : 対照群を含む全群の少数例に石灰沈着の小巣がみられた。

十二指腸 : 6315-S 800 mg/kg/日投与群死亡例に、粘膜層の炎症とうっ血のみられる領域があった。

空 腸 : 6315-S 400 mg/kg/日投与群の1例、および800 mg/kg/日投与群の死亡例に、粘膜層の炎症とうっ血のみられる領域があった。

脳 : 6315-S 400 mg/kg/日投与群雌1例の髄膜下に単核細胞の集合巣がみられた。

下垂体 : 対照群を含む各群の少数例に、囊胞がみられた。

坐骨神経 : 対照群, 6315-S 400 および 800 mg/kg/日投与群の各1例に、神経繊維の腫脹および/または変性がみられた。6315-S 400 mg/kg/日投与群雄1例に、神経周囲肉芽腫性炎症がみられた。

静脈注射部位 : 投与試験終了時に屠殺した動物では、対照群を含む大多数の動物の皮下に出血、線維形成および/または炎症がみられ、

一部の動物に痂皮および/または皮膚の炎症、あるいは動脈内膜下および/または中膜に炎症性細胞巣がみられた。これらの炎症反応の強さにおいて、群間に差はみられなかった。そのほか 6315-S 400 および 800 mg/kg/日投与群各1例に表皮肥厚, 6315-S 400 mg/kg/日投与群雄1例の皮膚に潰瘍および肉芽腫が, 6315-S 800 mg/kg/日投与群雄1例の皮下組織に線維形成が観察された。CEZ 800 mg/kg/日投与群雄1例に皮下うっ血がみられた。

回復試験群では、これらの炎症反応はほぼ治癒し、雄雌各1例に炎症性細胞の小巣を認めたのみであった。

Ⅲ. 考 察

6315-S 200, 400 および 800 (400×2) mg/kg/日および対照薬 CEZ 800 (400×2) mg/kg/日をビーグル犬に90日間連続静脈内投与し、その安全性について比較検討した。

6315-S 投与群では、すべての投与量群の動物に用量依存性のない嘔吐をしばしば認めたが、その発生頻度には対照群に比して差を認めなかった。400 mg/kg/日投与群雌1例が、投与初日に不安定な歩行および呼吸の抑制、その後嘔吐、排便、流涙および流涎を示したが、8日目以降は平常状態に戻った。それに対して CEZ 800 mg/kg/日投与群における症状は強く、全例に過度の唾液分泌と頻繁な嘔吐を認めた。嘔吐の頻度は最初数週が高かったが、唾液分泌は投与期間中継続し、1例にのみみられた振顫は4週間に亘って観察された。したがって、6315-S 投与群に観察された一般状態の変化は、CEZ 投与群に比して明らかに軽微であった。

投与期間中、体重、摂餌量、眼底検査、聴覚検査あるいは心電図上の各検査項目に、6315-S 投与に起因する変化はみられなかった。

血液生化学検査では、投与開始後6週目より、おそらく皮下脂肪に由来すると思われる血清トリグリセリド、コレステロールおよびリン脂質の増加あるいは増加の傾向を、6315-S 投与全群に認めた。これらの変化の統計学的有意性は、主として800 mg/kg/日投与群にみられたが、いずれも回復試験により正常値に戻った。同様の変化は、CEZ 800 mg/kg/日投与群にも共通して観察された。アルカリ性ホスファターゼの上昇(正常値の上限)の傾向が6315-S 投与全群でみられたが、GOT, GPT, LDH 値には、6315-S 投与による影響を認めず、組織

学的にも肝臓に変化がみられないことから、肝臓に対する影響は無視できるものと思われる。CEZ 800 mg/kg/日投与群では著明な GPT 値の低下を認めた。これは公知の CEZ のトランスアミナーゼ活性低下作用に基づくものと考えられる。

活性化部分トロンボプラスチン時間の軽度延長が、投与開始後 6 週目より 6315-S 投与全群雄および 800mg/kg/日投与群雌にみられたが、回復試験後、正常値に戻った。

血液学的検査では、投与開始後 12 週目の検査で、6315-S 800 mg/kg/日および CEZ 800 mg/kg/日投与群に、赤血球パラメーター値（赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、MCHC）の軽度減少を認めた。6315-S 800 mg/kg/日投与群の雌 1 例が、投与開始後 13 週目に重篤な貧血症状を示したため、切迫屠殺した。この例は、肝臓に髓外造血とヘモジデリン沈着、脾臓に髓外造血を認めるなど、一般状態および末梢血の変化と一致した所見を示したが、骨髄には変化を認めなかった。4 週間の回復試験後では、雄 1 例の赤血球パラメーター値がやや低値を示したが、正常範囲の値であり、著明な回復を示した残り 3 例も加えて、正常へ回復していると判断した。血小板数の一過性低値が、投与開始後 12 週目の検査で、6315-S 800 mg/kg/日および CEZ 800 mg/kg/日両投与群の各 1 例にみられたが、1 週後の再検査で、6315-S 投与群ではやや低値ながら、ともにほぼ正常範囲の値にまで回復した。これら軽度の血液学的変化を認めた動物を含めて、投与試験終了時屠殺例、回復試験終了時屠殺例のいずれも、骨髄検査では、異常を認めなかった。したがって、800 mg/kg/日のような大量投与時には、個体差をもって貧血が認められたものの、全体としては、造血系に対する影響は少ないと思われる。

肝臓重量の増加が 6315-S 400 mg/kg/日以上、腎臓重量の増加が 6315-S 800 mg/kg/日の投与量群で観察されたが、組織学的には変化は認められなかった。本試験では、肝臓内薬物代謝酵素活性の測定を実施しなかったが、おそらく 30 日間亜急性毒性試験の場合¹⁾と同様に、肝臓重量の変化は機能低下に対する代償性の変化であり、腎臓重量の変化は薬物排泄機能亢進に伴う変化と推定される。しかし、この重量変化も回復試験後に正常範囲内の値へと回復した。

以上、本試験で得られた成績は、6315-S の 30 日間亜急性毒性試験¹⁾で得られたものと質的に極めて類似しており、CEZ 投与群でみられた変化とも類似していた。6315-S の 90 日間静脈内投与による最大無影響量は 200 mg/kg/日と推定された。

（実験期間 1983 年 8 月～1985 年 2 月）

文 献

- 1) 奈良 博, 武居秀夫, 渡辺 弘, 佐藤誠二, 西部泰弘, 豊島久美子, 村岡義博, 吉崎敏夫, 上田元彦, 吉田 正, 松原尚志, 原田喜男: Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) のイヌにおける急性および 1 カ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 35 (S-1): 207～225, 1987
- 2) BARTLETT, M. S.: Properties of sufficiency and statistical tests. Proc. Roy. Soc. (London), A 160: 268～282, 1937
- 3) KRUSKAL, W. H. & W. A. WALLIS: Use of ranks in one criterion variance analysis. J. Amer. Statist. Assoc. 47: 583～621, 1952
- 4) KRUSKAL, W. H. & W. A. WALLIS: Errata. J. Amer. Statist. Assoc. 48: 907～912, 1953
- 5) WILLIAMS, D. A.: A test for differences between treatment means when several dose levels are compared with a zero dose control. Biometrics 27: 103～117, 1971
- 6) WILLIAMS, D. A.: The comparison of several dose levels with a zero dose control. Biometrics 28: 519～531, 1972
- 7) SHIRLEY, E.: A non-parametric equivalent of Williams' test for contrasting increasing dose levels of a treatment. Biometrics 33: 386～389, 1977
- 8) FISHER, R. A.: Statistical Methods for Research Workers. Para. 21. 02, Oliver and Boyd, Edinburgh, 1950
- 9) MANTEL, N.: Chi-square tests with one degree of freedom; Extensions of the Mantel-Haenszel procedure. J. Amer. Statist. Assoc. 58: 690～700, 1963

NINETY-DAY TOXICITY STUDY OF 6315-S (FLOMOXEF) IN BEAGLES

HAROLD CHESTERMAN, LINDSAY DONALD
RALPH HEYWOOD, ALAN E. STREET
CHIRUKANDATH GOPINATH and SALEH K. MAJEED
Huntingdon Research Centre

YOSHIO HARADA
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

Adult beagles (4 or 6 per sex per dose group) were given daily i. v. doses (via the cephalic vein) of 6315-S (flomoxef) at 200, 400 and 800 mg/kg/day, the last in divided doses. These groups were compared to the control group, given saline, and dogs dosed with cefazolin sodium (CEZ) at 800 mg/kg/day. All dogs were dosed for 13 weeks, followed by a recovery period of 4 weeks for two males and two females from the group that received 800 mg/kg/day 6315-S.

1) A female dog receiving 800 mg/kg/day 6315-S was killed during week 13 for humane reasons. The dog exhibited severe anemia, subdued behavior and reduced food consumption. There was a body weight loss of 500g during the final 3 days. Liver and spleen weights were increased. The principal histological findings were extramedullary haemopoiesis and increased haemosiderin deposits in the liver and extramedullary haemopoiesis in the spleen.

2) There were no adverse effects of treatment with 6315-S on weight, food consumption, in ophthalmoscopy, auditory function tests or electrocardiographic parameters.

Serum cholesterol and phospholipid concentrations were increased at all dose levels, as was serum alkaline phosphatase. Serum triglycerides and activated partial thromboplastin times were increased at 400 mg/kg/day and at 800 mg/kg/day. Values relating to red cell parameters (RBC, Ht, Hb, MCHC) were lower for animals receiving 800 mg/kg/day for 12 weeks.

Liver weights were increased at 400 mg/kg/day and 800 mg/kg/day, kidney weights were also increased after 800 mg/kg/day. Increased haemosiderin deposits in liver and extramedullary haemopoiesis in liver and spleen were not seen in any dogs which received 6315-S and survived. For dogs which received the reference compound (CEZ) at 800 mg/kg/day, a similar pattern was observed as for those given 6315-S at the same dose. Additional findings were decreased SGPT concentrations and total reducing substances in urine. All differences between controls and those receiving 6315-S showed evidence of reversibility after 4 weeks' withdrawal of treatment for dogs which had received 800 mg/kg/day. We therefore conclude that the maximum non-effect dose of 6315-S was 200 mg/kg/day.