

## Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の ラットにおける 6 ヶ月慢性毒性試験

小林文彦・矢原 功・村岡義博・吉崎敏夫・原田喜男  
塩野義製薬株式会社研究所

6315-S (Flomoxef) の 200, 400, 800 および 1,600 mg/kg を SD 系雌雄ラットに 1 日 1 回連続 6 ヶ月間腹腔内投与して以下の成績を得た。

1) 検体投与群に軽度の軟便と腹部の膨満, および投与時の腹部の伸展動作が観察された。400 mg/kg 以上の投与群雌で軽度の体重増加抑制がみられた。6315-S 投与による中毒死は発生しなかった。

2) 多量の泥状物を含有して拡張した盲腸が 6315-S 投与全群で観察され, 重量増加が明らかであった。腎臓の軽度の重量増加が雄 400 mg/kg 以上の投与群, ごく軽度ながら雌全検体投与群に認められた。ほかに, 副腎の軽度重量増加 (雄全検体投与群, 雌 1,600 mg/kg 投与群), 脾臓および膵臓の軽度重量減少 (雌全検体投与群), 卵巣の軽度重量減少 (1,600 mg/kg 投与群) がみられた。

3) 1,600 mg/kg 投与群で卵巣に黄体を認めない例が増加し, 乳腺の増生が相関して観察された。そのほか, 加齢性変化, 反復注射時の針刺入による腹部皮膚および腹腔内諸組織の出血や炎症性変化が対照群を含み観察された。回復試験後にも卵巣黄体の消失および乳腺の増生例があった。

4) 本試験条件下での 6315-S の最大無影響量は, 抗生剤投与時にみられる盲腸の拡張を除外すると, 400 mg/kg/日と推定された。

6315-S (Flomoxef : FMOX) は, 塩野義製薬研究所で合成された新しい oxacephem 系抗生物質である。

ラットにおける急性および亜急性毒性試験<sup>1)</sup>, ラットにおける 3 ヶ月毒性試験<sup>2)</sup>, イヌにおける急性および亜急性毒性試験<sup>3)</sup>, イヌにおける 3 ヶ月毒性試験<sup>4)</sup>において種差を問わず, 安全性の高いことが明らかにされているが, 今回は, さらに 6315-S の長期連続投与時の安全性を評価する目的で, ラットにおける 6 ヶ月間腹腔内投与による慢性毒性試験を実施したのでその成績を報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 実験動物および飼育条件

4 週齢の Sprague-Dawley 系ラット (Jcl : SD, 日本クレア) を購入し, 2 週間の予備飼育の後 6 週齢で試験に用いた。試験開始時の体重は, 雄 146~184g, 雌 118~160g であった。

動物は, 全試験期間中, 温度 23±1℃, 湿度 55±10%, 換気回数新鮮空気 15回/時間, 午前 8 時から 12 時間照明に条件設定されたバリアー飼育室でプラスチックケージ (クリーンケージ, W262×D425×H150mm, 日本ク

レア) あたり 2 匹ずつ収容して飼育した。高圧滅菌した固型飼料 (CA-1, 日本クレア) と濾過滅菌市水道水を自由に摂取させた。

#### 2. 検体

6315-S (力価で表示) の Lot No.3801 および 3X01 を用いた。用時生理食塩液 (Lot No.3 F720, 大塚製薬) で 0.25 g (力価)/ml の濃度に溶解した。

#### 3. 投与量および投与方法

ヒトの臨床適用経路は静脈内投与であるが, 6 ヶ月間の連続静脈内投与は技術的に困難と思われたため, それに代わる経路として腹腔内投与を採用した。投与量の設定にあたり, 6 ヶ月間の長期投与を考慮して, 先に実施した 3 ヶ月間静脈内投与試験<sup>2)</sup>における用量段階に最低用量 200 mg/kg を追加し, 200, 400, 800, 1,600 mg/kg の 4 投与量群を設定した (Table 1)。

対照群および 1,600 mg/kg 投与群は雌雄各 30 匹, その他の投与群は雌雄各 20 匹で構成した。

これらの動物に上記の投与量を, 静注用 1/3 注射針 (田口製作所) を用いて 1 日 1 回, 連続 6 ヶ月間 (剖検日の関係で雄は 182 または 183 日間, 雌は 184 または 185 日間) 投与した。対照群には 0.9% 局方生理食塩液を検体

Table 1 Intraperitoneal chronic toxicity study of 6315-S in rats

Drug	Dose (mg/kg)	No of rats	
		Male	Female
Control	—	30 (10)	30 (10)
6315-S	200	20	20
6315-S	400	20	20
6315-S	800	20	20
6315-S	1600	30 (10)	30 (10)

( ): No of rats used for recovery study

投与最高用量群と同一容量の 6.4 ml/kg の割合で投与した。投与終了後、対照群と 1,600 mg/kg 群の雌雄各 10 例を 35 日間の回復試験にあてた。

#### 4. 検査項目

##### 1) 一般状態

投与開始日から試験終了日まで、少なくとも 1 日 1 回一般状態を観察した。

##### 2) 体重

投与試験中は毎投与時測定して投与容量の算出にあて、回復試験中は毎週 1 回測定した。

##### 3) 摂餌量

供給量と残量を毎週 1 回測定し、1 匹当りの摂餌量を求めた。

##### 4) 聴覚検査

投与開始 2 日前、投与開始後 3 ヶ月目 (91 または 92 日目)、6 ヶ月目 (180 または 181 日目) および回復試験終了前 (216 日目) にガルトン笛による PREYER 耳介反射試験を実施した。

##### 5) 眼検査

投与開始 6 または 5 日前、投与開始後 3 ヶ月目 (89 または 90 日目)、6 ヶ月目 (176 または 177 日目) および回復試験終了前 (215 日目) に視診を行なったのち、散瞳剤 (Mydrin P<sup>®</sup>, 参天製薬) を点眼して、眼底カメラ (RC-2, 興和) による眼底検査を行なった。

##### 6) 血液学的検査

投与開始後 3 ヶ月目 (91 または 92 日目) と 6 ヶ月目 (180 または 181 日目) に各群の雌雄各 10 例までの動物について、回復試験終了時 (216 日目) には回復試験群の雌雄全例について、血液学的検査を実施した。尾先端部切断により血液を採取し、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均血球容積 (MCV)、

平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃度 (MCHC) (以上 7 項目, Coulter Counter Model-S)、血小板数 (Coulter Counter Model-ZB)、白血球分画、赤血球形態、有核赤血球数 (GIEMSA 染色塗抹標本)、網状赤血球数 (BRECHER 法) を測定した。また投与試験終了時および回復試験終了時の剖検時にペントバルビタール (Somnopentyl<sup>®</sup>, PITMAN-MOORE) 麻酔下で開腹して後大静脈より採血し、プロトロンビン時間 (Clotek<sup>®</sup>, Hyland) を測定した。

##### 7) 骨髄検査

投与試験終了時に各群の剖検例の半数、回復試験終了時に剖検例の全例について、左大腿骨骨髄の塗抹標本 (MAY-GRÜNWARD, GIEMSA 重染色) を作製し、有核細胞 500 個について分類した。同時に、右大腿骨骨髄は、単位重量当り有核細胞数の測定 (Thoma 計算盤) あるいは巨核球数の測定 (アセチルコリンエステラーゼ染色, FUCHS-LÖSENTHAL 計算盤) にあてた。ただし、回復試験終了時の巨核球数の測定は、雌のみ実施した。

##### 8) 血液生化学検査

投与試験終了時に各群の雌雄各 10 例までの動物について、また回復試験終了時には全例について、ペントバルビタール麻酔下で開腹し、後大静脈からヘパリン加注射筒を用いて採血し、分離した血漿について以下の項目を測定した。グルコース (グルコース・オキシダーゼ法)、総蛋白質 (ビウレット法)、アルブミン (BCG 法)、尿素窒素 (ジアセチルモノオキシム法)、クレアチニン (JAFFE 法)、総ビリルビン (JENDRASSIK-GRÖF 法)、総コレステロール (LIEBERMANN-BURCHARD 法)、GOT・GPT・LDH (UV 法)、ALP (BESSEY-LOWRY 法)、塩化物 (チオシアン酸第二水銀法) の以上 12 項目は Technicon Auto Analyzer, SMA PLUS MICRO system を用いて測定し、さらにリン脂質 (Phospholipids B-Test, Wako)、トリグリセライド (FLETCHER 法)、CPK (CPK-UV Test, Wako) および Na, K, Ca, Mg, Fe (以上 5 項目は原子吸光法) を測定した。

##### 9) 尿検査

投与開始後 3 ヶ月目 (89 または 90 日目) と 6 ヶ月目 (176 または 177 日目) には各群の雌雄各 10 例までの動物について、また回復試験群は 215 日目に全例について尿検査を実施した。検体の投与直後にラットを個別代謝ケージに収容して絶食、絶水で 4 時間尿を採取した。検査項目は尿色、尿量、pH (試験紙, 東洋濾紙)、グルコース、蛋白質、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲンおよび比重 (以上 Multistix SG, Ames)、

沈澱(キャピロット<sup>®</sup>, テルモ)であった。沈澱は1.5 ml以上排尿例について実施した。

#### 10) 肝臓成分の分析

上記の血液生化学検査に用いたと同じ動物の肝臓中間葉の一部を採取し、-70°Cに保存後、チトクロームP-450<sup>9)</sup>、アルコキシマリン脱アルキル化活性<sup>9)</sup>、総蛋白質(ビウレット法)、総コレステロール(ZAK-HENLY法の変法)、リン脂質(GOMORI法の変法)およびトリグリセライド(Technicon AA-1, FLETCHER法の変法)を測定した。

#### 11) 器官重量および病理組織学的検査

死亡例、切迫屠殺例はその都度、生存例は後大静脈より血液生化学検査用の採血をおこなったのち、腹大動脈切断により放血致死させ、諸器官・組織を肉眼的に観察した。心臓、肺、腎臓、肝臓、脾臓、膵臓、胸腺、副腎、甲状腺、脳、下垂体、精巣、前立腺(腹部葉)、卵巣、子宮、顎下腺(舌下腺を含む)、盲腸(内容物を含む)の重量を測定した。死亡例、切迫屠殺例についても主要器官の重量を測定した。これらの器官に加え、精巣上体、精囊、耳下腺、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、気管、副甲状腺、大動脈(胸部)、リンパ節(頸部および腸間膜)、膀胱、皮膚、乳腺(雌のみ)、大腿筋、喉頭、眼球、ハーダー腺、脊髄、坐骨神経、視神経、大腿骨(含、骨髓)および変化のみられた他の組織を10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定した。眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリン混液で固定した。これら器官・組織は常法に従ってパラフィン切片作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施すとともに必要に応じてPAS染色を施して光顕的に観察した。検査は、対照群と1,600 mg/kg投与群については全例、800 mg/kg以下の投与群は肉眼的に異常のみられた器官・組織および1,600 mg/kg投与群で検体起因性と考えられる異常がみられた器官・組織について実施した。

また、剖検時に電顕的観察用として、各群の雄3例について、肝臓中間葉の一部、左側の腎臓皮質、および巨核球の検索のため左大腿骨から骨髓の一部をグルタルアルデヒド・オスミウム酸固定し、常法に従ってEpon包埋した。超薄切片に鉛・ウラン二重染色を施した後、電顕的に観察した。観察はまず対照群と1,600 mg/kg投与群について行ない、検体起因性と考えられる変化がみられた場合のみ、800 mg/kg以下の検体投与群についても観察することとした。

#### 12) 統計学的解析

各検体投与群の対照群に対する平均値の差の検定には、まず等分散の検定を行ない、等分散仮説が棄却され

た場合はCochran-Coxの検定を行ない、棄却されない場合はStudentのt検定を行なった。

## II. 実験成績

### 1. 一般状態

6315-S投与全群の雌雄に投与初期より軽度の軟便と腹部の膨満がみられ、投与直後に腹部の伸展動作が観察された。これら症状は投与3ヵ月目頃より軽減の傾向を示しつつも、投与期間中依然として観察された。また、雄400 mg/kg以上、雌800 mg/kg以上の6315-S投与群において、1ヵ月目頃より投与前後に一過性の流涎がみられ始め、投与期間後半には約半数例に観察された。

雄対照群で30例中7例が死亡し、1例が切迫屠殺された。死亡例のうち4例は、自動給水装置の水漏れ事故による溺死(171日目に死亡)であり、残り3例(それぞれ85, 99, 180日目に死亡)は、後述のごとく投与過誤による死亡と判断された。切迫屠殺された1例は、投与開始後110日目頃より体重の減少を来し、衰弱したため、117日目に屠殺した。この例では、著しい出血を伴った腎盂炎が衰弱の原因と考えられた。

これに対し、雌対照群および6315-S投与群には死亡例はなかった。

### 2. 体重

雄投与全群に体重増加の軽度抑制傾向が、雌400 mg/kg以上の検体投与群に軽度抑制がみられた(Fig. 1)。

回復試験の初期に、雌雄とも体重の一過性減少がみられたが、これは休業に伴う盲腸重量の減少に起因したものと考えられた。休業2週目以降には、各検体投与群とも対照群と同等あるいはそれ以上の体重増加を示した。

### 3. 摂餌量

検体投与開始後2週間目頃より投与期間を通じて、雌雄の全検体投与群に、摂餌量の軽度な増加がみられた。休業期間に入ると雄では摂餌量が対照群と同程度になったが、雌ではむしろ投与期間中に比して増加した(Fig. 2)。

雌雄とも時に食餌効率の軽度低下を認めたが、全期間を通じ、全検体投与群と対照群に著差を認めなかった(Fig. 3)。

### 4. 聴覚検査

全検体投与群において、PREYER耳介反射には異常を認めなかった。

### 5. 眼検査

視診および眼底検査において、6315-S投与に起因すると考えられる異常所見を認めなかった。

### 6. 血液学的検査

Fig. 1 Body weight changes in rats during 6-month intraperitoneal administration of 6315-S and 35-day recovery period

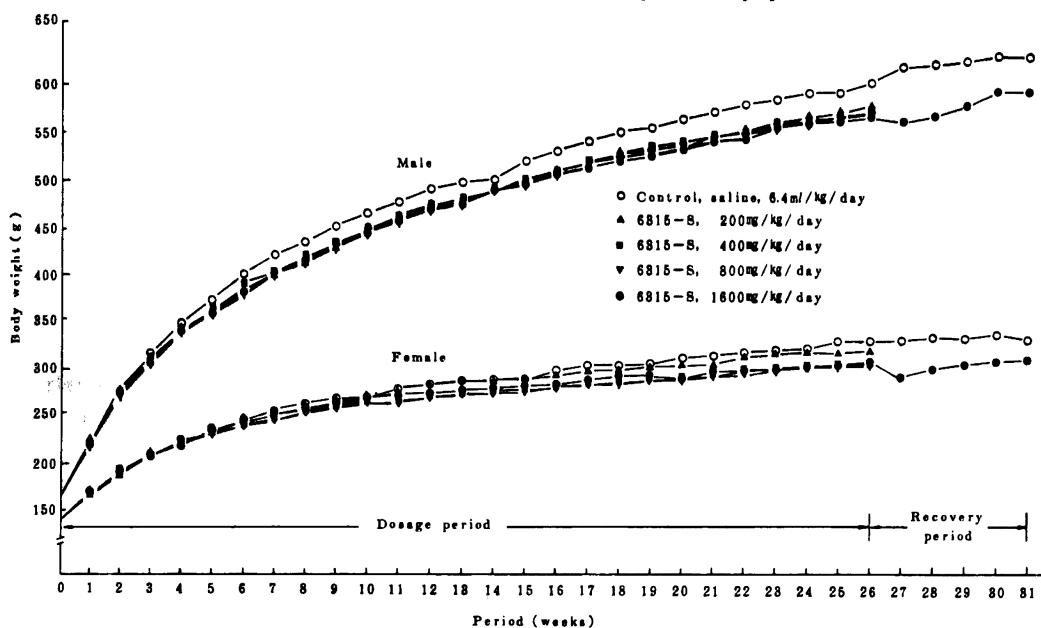


Fig. 2 Food consumption in rats during 6-month intraperitoneal administration of 6315-S and 35-day recovery period

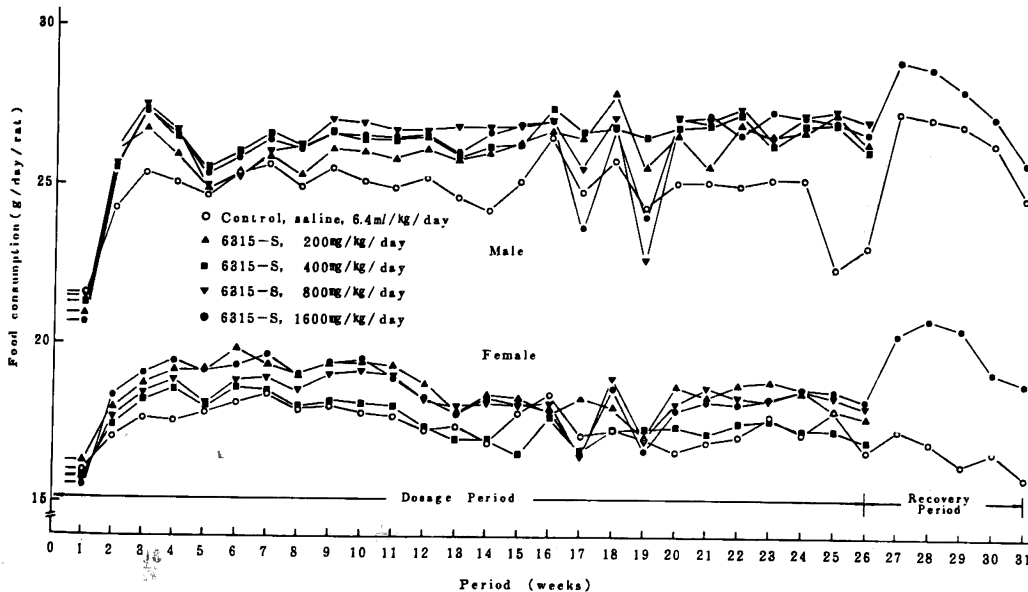
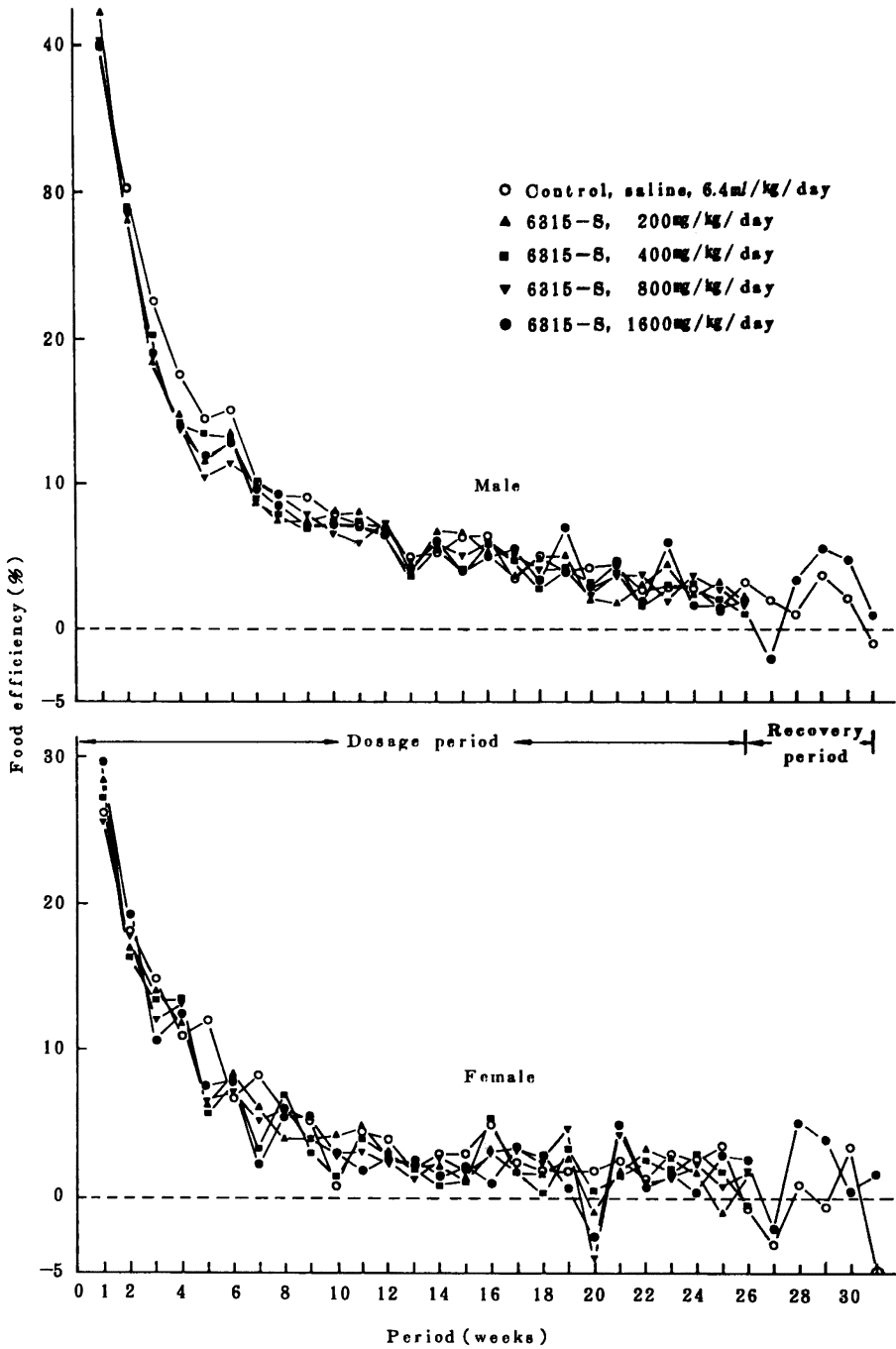


Fig. 3 Food efficiency in rats during 6-month intraperitoneal administration of 6315-S and 35-day recovery period



雄では3ヵ月目の検査において、800および1,600 mg/kg 投与群にごく軽度ながらヘマトクリット値の低下を伴う赤血球数の減少を認め、全検体投与群に用量依存性のない白血球数の減少傾向を認めた。しかし、6ヵ月目の検査ではこれらの傾向はみられず、800および1,600 mg/kg 投与群に網状赤血球数の軽度減少を認めたのみであった。

雌では3ヵ月目の検査において、400 mg/kg 以上の投与群の好中球比が軽度高値を示したのみであった。

回復試験終了前の検査では雌雄とも白血球数が対照群に比して軽度低値を示した。

その他の観察項目には、いずれの観察時点においても、特記すべき変化を認めなかった (Table 2, 3)。

#### 7. 骨髄検査

骨髄単位重量当りの有核細胞数および細胞分画において、800 mg/kg 以下の投与群の雌雄に共通して骨髄球数がやや低下し、雄では好塩基性赤芽球にも軽度の低値がみられた。しかし、これらの変化は1,600 mg/kg 投与群には認められず、何ら用量依存性のみられないもので、病理組織学的にも特記すべき変化は認められなかった (Table 4, 5)。骨髄単位重量当りの巨核球数は投与試験終了時および回復試験終了時とも1,600 mg/kg 投与群において増加傾向を示した (Table 6)。

#### 8. 血液生化学検査

トリグリセライドの減少、A/G比およびNaの軽度な低下が雌雄に共通してみられたほか、雄ではアルブミン、Kなどの軽度な低下が主として400 mg/kg 以上の投与群に認められた。これらの変化はいずれも、休薬により回復した。その他の項目についても有意差のみられたものがあつたが、いずれも生理的変動範囲内の値であつた (Table 7)。

#### 9. 尿検査

雌雄の全検体投与群に共通して、3ヵ月目および6ヵ月目の検査で尿pHの用量依存的低下がみられた。雄では全検体投与群で3ヵ月目には軽度の、6ヵ月目には明らかな尿蛋白の増加を認め、雌では3ヵ月目には800 mg/kg 以上の投与群、6ヵ月目には400 mg/kg 以上の投与群で明らかな尿蛋白の増加を認めた。これらの変化は休薬により回復した (Table 8, 9)。

#### 10. 肝臓成分分析

薬物代謝酵素系の変化として、雌に、肝臓組織中のチトクロームP-450含量およびクマリン脱アルキル化活性の用量依存的増加がみられた。雄では、クマリン脱アルキル化活性の軽度増加が6315-S投与全群にみられたが、用量作用関係は不明瞭であった。そのほか、雌雄

の6315-S投与群でリン脂質の増加傾向がみられ、800 mg/kg 以上の投与群ではトリグリセライドの軽度減少もみられた。これらの変化はいずれも休薬により回復した (Table 10)。

#### 11. 器官重量

投与試験終了時の剖検において、雌雄の全検体投与群に盲腸の拡張がみられ、重量は対照群の約2.5~3倍に達していた。ほかに雄では400 mg/kg 以上の投与群に腎臓重量の増加、全検体投与群に副腎重量の軽度増加がみられた。雌では全検体投与群に腎臓重量の軽度増加、脾臓および膵臓重量の軽度減少、1,600 mg/kg 投与群に副腎重量の軽度増加、卵巣重量の軽度減少がみられた。回復試験終了時には、盲腸重量は雄ではわずかに重かったが、雌では対照群と同程度にまで回復した。ほかに雄では胸腺重量の増加、雌では膵臓および副腎重量の軽度増加がみられた (Table 11, 12)。

#### 12. 剖検時肉眼所見

##### 1) 途中死亡例

雄対照群にのみ観察された途中死亡7例のうち、自動給水装置の水漏れ事故による溺死例以外の3例には肺の出血、うっ血あるいは水腫が認められ、胸水が増加していた。ほかに、後腹膜下出血、膀胱出血、気管内血性泡沫の充満がそれぞれ1例にみられた。これらは、vehicle投与時に投与過誤により腹腔内の諸器官の血管を損傷したことによる出血、あるいは保定が強すぎたために起った循環障害による変化と思われる。切迫屠殺の1例では著しい出血を伴った腎盂炎がみられた。

##### 2) 投与試験終了時

6315-S投与群全例に、多量の泥状内容物を含有して拡張した盲腸を認めた。対照群も含めて各群の盲腸壁、精囊、精巣上体に限局性の出血、褐色ないし暗赤色の変色部が用量依存性を示さず種々の頻度で認められたが、これらは注射針の反復刺入による物理的局所刺激が原因と考えられた。

##### 3) 回復試験終了時

6315-S投与群の盲腸は、回復試験終了後も対照群よりやや大きかったが、内容物の性状は、正常であった。また、盲腸壁の出血あるいは変色、精巣上体表面の変色や小結節付着などの局所刺激性の障害は、まだ多数例に残存していた。

#### 13. 病理組織学的所見

注射局所である腹腔内の諸器官・組織の表面および注射針刺入部の腹部皮膚に肉芽組織の増生を主とする炎症性病変が、ときに異物巨細胞と毛幹を伴って、認められた。主な発現部位は投与局所皮膚 (Photo. 1)、盲腸

Table 2 Hematological examination in male rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	RBC ( $\times 10^6$ /cmm)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV ( $\mu^3$ )	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulo-cyte (%)	WBC ( $\times 10^4$ /cmm)	WBC differential				Platelet ( $\times 10^4$ /cmm)	Prothrombin time (sec)
											E (%)	N (%)	L (%)	M (%)		
8 months of treatment																
Control	—	10	7.84 <sup>a)</sup> ±0.15	15.5 ± 0.2	37.3 ± 0.7	51 ± 0	21.3 ± 0.4	42.0 ± 0.6	22.3 ± 1.8	12.4 ± 0.6	2.9 ± 0.5	14.1 ± 1.5	80.7 ± 1.5	2.1 ± 0.4	185 ± 5	—
6315-S	200	10	7.41 ± 0.09	15.7 ± 0.2	37.8 ± 0.4	51 ± 0	21.3 ± 0.8	41.8 ± 0.5	23.9 ± 1.6	10.3 <sup>*</sup> ± 0.7	1.4 <sup>*</sup> ± 0.4	13.1 ± 1.2	82.2 ± 1.6	2.8 ± 0.5	127 ± 6	—
6315-S	400	10	7.02 ± 0.11	15.6 ± 0.2	35.6 ± 0.6	51 ± 0	22.4 ± 0.4	44.1 ± 0.9	23.2 ± 1.2	9.3 <sup>*</sup> ± 0.8	3.2 ± 0.9	12.5 ± 1.5	82.0 ± 1.4	1.6 ± 0.3	127 ± 7	—
6315-S	800	10	6.80 <sup>**</sup> ± 0.12	15.5 ± 0.2	34.9 <sup>*</sup> ± 0.6	52 ± 0	23.0 <sup>**</sup> ± 0.4	44.7 <sup>**</sup> ± 0.6	20.4 ± 0.9	10.8 ± 0.7	2.3 ± 0.3	12.6 ± 2.5	82.9 ± 2.7	1.9 ± 0.3	185 ± 5	—
6315-S	1600	10	6.78 <sup>*</sup> ± 0.18	14.8 ± 0.4	34.7 <sup>*</sup> ± 0.9	52 ± 0	22.1 ± 0.4	42.9 ± 0.6	20.3 ± 1.0	11.4 ± 0.7	2.2 ± 0.5	20.2 ± 3.3	74.0 ± 3.0	3.3 <sup>*</sup> ± 0.3	183 ± 5	—
6 months of treatment																
Control	—	9	7.28 ± 0.08	15.2 ± 0.1	35.4 ± 0.8	49 ± 0	21.2 ± 0.2	43.8 ± 0.2	25.5 ± 1.5	12.8 ± 0.6	3.3 ± 0.7	15.6 ± 1.3	77.9 ± 1.5	2.1 ± 0.2	132 ± 7	15.1 ± 0.3
6315-S	200	10	7.28 ± 0.12	15.5 ± 0.2	35.5 ± 0.8	50 ± 1	21.6 ± 0.8	43.8 ± 0.8	22.4 ± 1.4	11.0 <sup>*</sup> ± 0.6	1.8 ± 0.4	13.6 ± 1.4	82.6 ± 2.0	1.3 ± 0.6	127 ± 8	15.2 ± 0.2
6315-S	400	10	7.21 ± 0.14	15.4 ± 0.2	35.3 ± 0.7	49 ± 0	21.5 ± 0.2	43.9 ± 0.5	24.7 ± 1.4	10.3 <sup>*</sup> ± 0.8	2.6 ± 0.6	14.7 ± 1.3	81.7 ± 1.3	0.9 <sup>**</sup> ± 0.3	122 ± 4	15.0 ± 0.2
6315-S	800	10	7.07 ± 0.08	15.3 ± 0.8	35.5 ± 0.6	51 <sup>*</sup> ± 0	21.8 ± 0.8	43.4 ± 0.4	20.0 <sup>*</sup> ± 1.8	13.0 ± 1.0	3.2 ± 0.4	14.1 ± 1.0	80.2 ± 1.1	1.3 ± 0.4	124 ± 4	14.7 ± 0.1
6315-S	1600	10	7.06 ± 0.04	15.3 ± 0.1	34.9 ± 0.8	50 ± 0	21.9 <sup>*</sup> ± 0.2	44.3 <sup>*</sup> ± 0.4	20.0 <sup>**</sup> ± 1.1	11.8 ± 0.9	2.3 ± 0.3	17.6 ± 1.8	73.2 ± 1.9	1.1 ± 0.4	129 ± 4	14.9 ± 0.3
1 month after cessation of 6 months treatment																
Control	—	5	6.94 ± 0.14	15.6 ± 0.3	33.3 ± 0.7	48 ± 1	22.6 ± 0.8	47.2 ± 1.4	19.2 ± 1.2	15.5 ± 1.3	1.8 ± 1.0	17.6 ± 3.8	76.4 ± 4.5	4.0 ± 0.7	145 ± 4	15.0 ± 0.3
6315-S	1600	10	6.88 ± 0.10	15.5 ± 0.1	33.6 ± 0.4	49 ± 0	22.7 ± 0.2	46.4 ± 0.8	19.0 ± 1.1	12.1 <sup>*</sup> ± 0.5	2.1 ± 0.6	14.4 ± 1.8	81.1 ± 2.0	2.2 ± 0.5	140 ± 5	15.3 ± 0.2

a) : Mean ± S.E.  
 Statistically significant against control : \* : P < 0.05. \*\* : P < 0.01

Table 3 Hematological examination in female rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	RBC ( $\times 10^6$ /cmm)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV ( $\mu^3$ )	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulo-cyte (%)	WBC ( $\times 10^6$ /cmm)	WBC differential				Platelet ( $\times 10^4$ /cmm)	Prothrombin time (sec)
											E (%)	N (%)	L (%)	M (%)		
8 months of treatment																
Control	—	10	6.85 <sup>a</sup> ±0.17	15.0 ± 0.2	34.0 ± 0.8	54 ± 1	23.8 ± 0.5	44.5 ± 0.8	21.7 ± 1.4	8.4 ± 0.7	1.5 ± 0.5	6.8 ± 1.1	89.1 ± 1.4	2.9 ± 0.3	188 ± 7	—
6315-S	200	10	6.60 ±0.19	15.8 ± 0.2	34.6 ± 0.9	58 ± 1	23.5 ± 0.6	44.6 ± 1.0	28.7 ± 1.0	7.5 ± 0.6	1.6 ± 0.5	9.1 ± 1.5	86.8 ± 1.7	2.7 ± 0.6	158 ± 6	—
6315-S	400	10	6.68 ±0.18	15.0 ± 0.2	35.2 ± 0.6	58 ± 0	22.8 ± 0.4	42.8 ± 0.5	23.8 ± 1.3	7.5 ± 0.7	1.3 ± 0.4	11.1 <sup>*</sup> ± 1.8	85.0 ± 2.2	1.7 <sup>**</sup> ± 0.3	183 ± 4	—
6315-S	800	10	6.77 ±0.15	15.8 ± 0.2	35.5 ± 0.8	58 ± 1	22.8 ± 0.3	43.5 ± 0.7	19.8 ± 1.0	9.1 ± 1.0	1.3 ± 0.3	11.4 <sup>*</sup> ± 1.8	84.6 ± 1.9	2.4 ± 0.5	188 ± 5	—
6315-S	1600	10	6.81 ±0.18	15.0 ± 0.2	33.8 ± 0.6	58 ± 1	23.9 ± 0.3	45.2 ± 0.4	21.6 ± 1.6	8.8 ± 0.8	1.3 ± 0.4	14.0 <sup>*</sup> ± 2.7	81.9 ± 3.0	2.7 ± 0.5	153 ± 5	—
6 months of treatment																
Control	—	10	6.81 ±0.18	14.8 ± 0.2	36.3 ± 0.8	54 ± 0	22.0 ± 0.5	41.1 ± 0.7	17.2 ± 1.4	6.8 ± 0.4	3.2 ± 0.6	20.9 ± 4.1	74.4 ± 4.4	1.2 ± 0.2	182 ± 5	14.8 ± 0.2
6315-S	200	10	7.07 ±0.06	15.2 ± 0.1	37.4 ± 0.3	58 ± 1	21.7 ± 0.2	40.9 ± 0.3	16.7 ± 0.8	6.1 ± 0.6	2.3 ± 0.6	15.5 ± 1.5	80.5 ± 1.5	1.4 ± 0.4	148 ± 8	14.7 ± 0.2
6315-S	400	10	6.95 ±0.08	14.8 ± 0.1	36.9 ± 0.5	58 ± 0	21.4 ± 0.2	40.2 ± 0.3	18.5 ± 1.1	6.8 ± 0.9	2.9 ± 0.5	19.0 ± 3.0	76.6 ± 3.1	1.4 ± 0.2	145 ± 5	15.2 ± 0.1
6315-S	800	10	6.73 ±0.13	14.3 ± 0.3	35.9 ± 0.7	54 ± 0	21.4 ± 0.2	40.0 ± 0.3	19.1 ± 1.9	7.7 ± 0.8	2.0 ± 0.5	26.1 ± 2.7	70.0 ± 2.6	1.6 ± 0.3	186 ± 7	15.0 ± 0.2
6315-S	1600	10	6.68 ±0.09	14.5 ± 0.2	35.7 ± 0.5	54 ± 1	21.9 ± 0.3	40.9 ± 0.2	20.2 ± 1.0	6.1 ± 0.5	2.8 ± 1.1	17.2 ± 2.6	78.0 ± 3.5	1.7 ± 0.3	150 ± 10	15.0 ± 0.2
1 month after cessation of 6 months treatment																
Control	—	10	6.03 ±0.17	14.8 ± 0.8	32.1 ± 0.7	53 ± 0	24.8 ± 0.3	46.5 ± 0.4	17.7 ± 1.0	9.8 ± 0.6	3.2 ± 0.8	16.5 ± 1.8	77.7 ± 1.7	2.4 ± 0.5	142 ± 6	14.9 ± 0.2
6315-S	1600	10	6.06 ±0.13	14.8 ± 0.2	32.1 ± 0.4	53 ± 1	24.7 ± 0.6	46.5 ± 0.7	18.6 ± 1.3	7.8 <sup>*</sup> ± 0.6	2.1 ± 0.5	18.9 ± 1.8	75.1 ± 1.8	3.8 ± 0.6	189 ± 8	14.6 ± 0.1

a) : Mean ± S.E.  
 \* : Statistically significant against control : \* : P<0.05, \*\* : P<0.01



Table 4 Bone marrow examination of male rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	Nucleated bone marrow cell ( $\times 10^6$ /%)	M/E ratio	Erythrocytic series (%)				Myelocytic series (%)				Obers (6)												
					Total erythroblast	Pro-erythroblast	Baso-normo-blast	Polychromatocytic	Orthochromatocytic	Total	Myelo-blast	Pro-myelo-cyte	Myelo-cyte	Mato-myo-cyte	Mature phill	Baso-phill	Monocytic	Lymphocytic	Plasmacell	Mast cell	Megakaryocytic	Mitotic cell	Miscellaneous	Unidentified cell	
End of treatment period																									
Control	—	9 (6)	1.74 <sup>a)</sup> ±0.11	1.27 ±0.08	86.0 ±1.7	0.4 ±0.1	10.2 ±0.7	24.7 ±1.4	0.7 ±0.1	44.6 ±1.1	0.5 ±0.1	8.6 ±0.4	10.1 ±0.4	16.0 ±0.6	18.8 ±0.6	0.6 ±0.1	0.0 ±0.0	0.1 ±0.0	15.3 ±1.4	0.6 ±0.1	0.3 ±0.1	0.1 ±0.0	1.2 ±0.1	0.7 ±0.1	0.0 ±0.0
6315-S	200	10 (7)	1.86 ±0.18	1.19 ±0.18	88.2 ±2.0	0.5 ±0.2	6.8 <sup>**</sup> ±0.8	30.6 <sup>*</sup> ±2.0	0.8 ±0.2	48.4 ±2.0	1.8 <sup>*</sup> ±0.3	8.8 ±0.4	6.8 <sup>**</sup> ±0.8	17.3 ±1.2	14.3 ±1.0	0.3 <sup>*</sup> ±0.1	0.1 ±0.0	0.2 ±0.1	15.8 ±1.3	0.6 ±0.1	0.3 ±0.1	0.1 ±0.1	1.0 ±0.1	0.4 <sup>*</sup> ±0.1	0.0 ±0.0
6315-S	400	10 (7)	1.91 ±0.19	1.24 ±0.12	88.2 ±2.2	0.5 ±0.2	6.8 <sup>**</sup> ±0.7	30.4 ±2.5	1.1 ±0.2	45.8 ±1.7	1.8 <sup>*</sup> ±0.3	8.9 ±0.4	6.6 <sup>**</sup> ±0.9	16.2 ±1.2	17.0 <sup>*</sup> ±1.1	0.3 ±0.1	0.0 ±0.0	0.0 ±0.1	14.3 ±1.1	0.6 ±0.2	0.1 <sup>*</sup> ±0.0	0.2 ±0.1	1.1 ±0.2	0.2 <sup>**</sup> ±0.0	0.0 ±0.0
6315-S	800	10 (7)	1.89 ±0.13	1.02 ±0.09	42.8 <sup>*</sup> ±2.3	0.8 ±0.1	7.4 <sup>*</sup> ±0.9	34.0 <sup>*</sup> ±2.5	1.0 ±0.2	41.7 ±1.7	1.0 ±0.3	8.6 ±0.5	6.1 <sup>**</sup> ±0.7	14.8 ±1.1	16.0 <sup>*</sup> ±1.1	0.1 <sup>**</sup> ±0.1	0.1 ±0.0	0.1 ±0.0	12.7 ±1.1	0.6 ±0.1	0.2 ±0.1	0.2 ±0.1	1.4 ±0.2	0.2 <sup>**</sup> ±0.1	0.0 ±0.0
6315-S	1600	10 (7)	1.99 ±0.12	1.48 ±0.10	84.3 ±1.6	0.8 ±0.1	9.6 ±0.9	23.7 ±1.2	0.7 ±0.1	47.7 ±1.2	0.4 ±0.0	8.4 ±0.8	11.3 ±0.9	15.8 ±0.7	16.2 <sup>*</sup> ±0.6	0.5 ±0.1	0.1 ±0.0	0.1 ±0.0	15.5 ±0.7	0.3 <sup>**</sup> ±0.1	0.1 ±0.0	0.1 ±0.0	1.0 ±0.1	0.8 ±0.1	0.0 ±0.0
End of recovery period																									
Control	—	5 (2)	2.27 ±0.27	1.71 ±0.18	29.7 ±1.6	0.5 ±0.0	8.0 ±1.2	20.8 ±0.9	0.4 ±0.2	50.0 ±1.1	0.2 ±0.1	5.2 ±0.8	10.0 ±0.4	17.6 ±0.6	16.8 ±0.9	0.6 ±0.1	0.1 ±0.0	0.1 ±0.0	16.9 ±0.7	1.2 ±0.1	0.2 ±0.2	0.1 ±0.1	0.7 ±0.0	1.1 ±0.2	0.0 ±0.0
6315-S	1600	10 (6)	2.20 ±0.04	1.85 <sup>*</sup> ±0.06	34.6 <sup>*</sup> ±1.1	0.4 ±0.1	8.8 ±1.0	25.2 <sup>*</sup> ±1.1	0.7 ±0.1	46.0 <sup>**</sup> ±0.7	0.8 ±0.0	4.8 <sup>*</sup> ±0.2	9.0 ±0.4	15.6 <sup>*</sup> ±0.5	16.2 ±0.9	0.5 ±0.1	0.1 ±0.0	0.1 ±0.0	16.9 ±0.7	0.6 <sup>**</sup> ±0.1	0.2 ±0.1	0.0 ±0.1	0.7 ±0.1	0.7 ±0.1	0.0 ±0.0

a) : Mean ± S.E.  
 \* : Statistically significant against control \* : P < 0.05, \*\* : P < 0.01  
 ( ) : % of rats examined for nucleated bone marrow cell counts

Table 5 Bone marrow examination of female rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No of rats	Nucleated bone marrow cell ( $\times 10^6$ /Ag)	M/E ratio	Erythrocytic series (%)			Myelocytic series (%)				Others (%)														
					Total erythro- blasts	Pro-erythro- blasts	Baso- philic normo- blasts	Pre- myelo- cyte	Myelo- cyte	Pro- myelo- cyte	Mata- myelo- cyte	Mature Neutro- phil	Mature Eosino- phil	Baso- phil	Monoc- cyte	Lympho- cyte	Plasma cell	Mast cell	Meg- karyo- cyte	Mito- tic cell	Mitot- ic cell	Unid- nified cell				
Control	—	10	2.88 <sup>±0.17</sup>	1.87 <sup>±0.09</sup>	85.8 <sup>±1.3</sup>	0.3 <sup>±0.0</sup>	8.8 <sup>±0.8</sup>	25.7 <sup>±1.0</sup>	0.5 <sup>±0.1</sup>	47.2 <sup>±1.5</sup>	0.5 <sup>±0.1</sup>	8.9 <sup>±0.8</sup>	10.4 <sup>±0.7</sup>	18.8 <sup>±1.4</sup>	18.4 <sup>±0.6</sup>	0.7 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.1</sup>	0.2 <sup>±0.0</sup>	14.8 <sup>±0.8</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	0.9 <sup>±0.1</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>
6315-S	200	10	2.06 <sup>±0.07</sup>	1.89 <sup>±0.07</sup>	84.7 <sup>±1.4</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	6.7 <sup>±1.4</sup>	27.2 <sup>±1.2</sup>	0.5 <sup>±0.2</sup>	47.8 <sup>±1.0</sup>	0.5 <sup>±0.1</sup>	4.8 <sup>±0.2</sup>	7.8 <sup>±0.7</sup>	21.6 <sup>±1.8</sup>	12.7 <sup>±0.7</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	18.7 <sup>±1.8</sup>	0.6 <sup>±0.1</sup>	0.2 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	1.0 <sup>±0.2</sup>	0.9 <sup>±0.1</sup>	0.4 <sup>±0.0</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>
6315-S	400	10	2.24 <sup>±0.18</sup>	1.00 <sup>±0.05</sup>	40.8 <sup>±1.5</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	8.0 <sup>±1.7</sup>	31.7 <sup>±1.7</sup>	0.9 <sup>±0.8</sup>	40.1 <sup>±1.4</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	8.0 <sup>±0.8</sup>	7.8 <sup>±1.0</sup>	17.6 <sup>±1.8</sup>	11.2 <sup>±1.0</sup>	0.5 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	0.2 <sup>±0.0</sup>	16.6 <sup>±1.2</sup>	0.6 <sup>±0.1</sup>	0.2 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	1.2 <sup>±0.3</sup>	0.2 <sup>±0.1</sup>	0.2 <sup>±0.0</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>
6315-S	800	10	2.29 <sup>±0.18</sup>	1.87 <sup>±0.18</sup>	86.7 <sup>±1.8</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	7.9 <sup>±1.4</sup>	27.7 <sup>±1.5</sup>	0.8 <sup>±0.2</sup>	48.1 <sup>±2.1</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	8.7 <sup>±0.5</sup>	8.1 <sup>±0.7</sup>	21.8 <sup>±1.8</sup>	14.2 <sup>±1.6</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	18.6 <sup>±1.1</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	0.8 <sup>±0.2</sup>	0.2 <sup>±0.1</sup>	0.2 <sup>±0.0</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>
6315-S	1600	10	2.12 <sup>±0.18</sup>	1.84 <sup>±0.08</sup>	85.8 <sup>±1.2</sup>	0.4 <sup>±0.0</sup>	9.7 <sup>±0.6</sup>	24.9 <sup>±1.1</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	46.6 <sup>±1.8</sup>	0.3 <sup>±0.1</sup>	4.2 <sup>±0.8</sup>	9.4 <sup>±0.5</sup>	16.9 <sup>±1.0</sup>	15.0 <sup>±0.7</sup>	0.6 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	18.8 <sup>±0.9</sup>	0.5 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	0.7 <sup>±0.1</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>
Control	—	10	2.48 <sup>±0.22</sup>	1.81 <sup>±0.08</sup>	85.8 <sup>±1.1</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	9.9 <sup>±0.8</sup>	25.1 <sup>±1.0</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	46.8 <sup>±1.5</sup>	0.8 <sup>±0.1</sup>	8.7 <sup>±0.8</sup>	10.1 <sup>±1.0</sup>	17.9 <sup>±1.0</sup>	18.7 <sup>±0.6</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	0.8 <sup>±0.0</sup>	18.7 <sup>±0.8</sup>	0.6 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	0.1 <sup>±0.1</sup>	0.6 <sup>±0.1</sup>	0.5 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>
6315-S	1600	10	8.08 <sup>±0.86</sup>	1.18 <sup>±0.07</sup>	89.2 <sup>±1.8</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	12.0 <sup>±0.9</sup>	26.8 <sup>±1.1</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	48.2 <sup>±1.1</sup>	0.8 <sup>±0.4</sup>	8.2 <sup>±0.4</sup>	8.5 <sup>±0.8</sup>	18.0 <sup>±0.8</sup>	12.8 <sup>±0.6</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>	0.2 <sup>±0.1</sup>	18.1 <sup>±0.7</sup>	0.4 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.1</sup>	0.1 <sup>±0.0</sup>	0.1 <sup>±0.1</sup>	0.5 <sup>±0.1</sup>	0.4 <sup>±0.0</sup>	0.0 <sup>±0.0</sup>

±: Mean ± S.E.  
 \* : Statistically significant against control. \* : P < 0.05, \*\* : P < 0.01  
 ( ) : No of rats examined for nucleated bone marrow cell counts

Table 6 Megakaryocyte counts in bone marrow of rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	At the end of treatment period				At the end of recovery period	
		No. of rats	Male	No. of rats	Female	No. of rats	Female
Control	—	8	2076±188 <sup>a)</sup>	10	8685±485	5	3029±401
6315-S	200	10	1986±86	10	8965±268		
6315-S	400	10	2126±154	10	4085±318		
6315-S	800	10	2265±179	10	8926±416		
6315-S	1600	10	2560±173*	9	5292±1127	5	5418±820*

a) : Mean ± S.E. ; Megakaryocyte counts/mg bone marrow  
Statistically significant against control : \* ; P < 0.05

(Photo. 2), 小腸, 結腸, 胃および脾臓であり, ほかに精巣, 精囊にも発生した。対照群と 6315-S 最高投与量群間で, これらの障害をうけた器官の総数に差がみられなかったが, 盲腸拡張のみられた検体投与群では盲腸の障害が多いのに対して, 対照群では少なく, 逆に盲腸以外の器官の障害は対照群に多かった。

対照群にも見られたが, 高用量群で発生頻度の増加傾向がみられた変化は, 400 および 800 mg/kg 投与群の卵巣における卵胞嚢腫の増加, 800 および 1,600 mg/kg 投与群における黄体の消失 (Photo. 3, 4), 1,600 mg/kg 投与群の約半数例に認められた乳腺の増生 (Photo. 5, 6), 1,600 mg/kg 投与群雌の下垂体好酸性細胞あるいは嫌色素性細胞の胞体内におけるエオジン好性の封入体様物の出現であり, 乳腺の増生がみられた例のほとんどが, 黄体の消失を伴っていた (Table 13)。雄での性腺の変化として, 精子形成の抑制が投与量に関係なく 5 例にみられたが, うち 3 例は片側性であり, また, 発生頻度, 障害の強さに用量依存性がないことから偶発性病変と考えられた。

6315-S 投与群に対照群と同等あるいはむしろ低頻度にみられた変化は, 脾臓におけるヘモジデリン沈着, 心臓における限局性の細胞浸潤と線維化を伴う心筋変性 (Photo. 7), 脾臓ラ氏島の線維化 (Photo. 8), 膀胱上皮の過形成, 前立腺間質への細胞浸潤, 肝細胞における脂肪滴の出現, 副腎束状帯細胞の肥大などであった。

ほかに腎糸球体上皮細胞の細胞質内にヒアリン滴様の好酸性微細顆粒 (PAS 陽性, Photo. 9) が 800 mg/kg 以上の投与群に観察されたが, 後述のように電顕的には対照群 (回復試験例) にも同様の所見がみられた。

回復試験終了時剖検例では, 注射局所の物理的障害は皮膚ではほとんど消失していたが, 盲腸をはじめとする

腹腔内諸器官にはまだ残っていた。黄体の消失は 1,600 mg/kg 投与群において依然高頻度であったが, 乳腺の増生は投与期間終了時に比して軽減していた。

#### 14. 電子顕微鏡的観察

6315-S の 800, 1,600 mg/kg 投与群の各 1 例において腎糸球体上皮細胞が膨化し, 胞体内に径 0.5~3 μ の osmiophilic dense body (Photo. 10) が出現したが, 回復試験時の対照群においても 2 例にみられた (Photo. 11)。この構造は, 大きさと局在性から光顕的に観察されたヒアリン滴様物質と一致する。ほかに, 糸球体において mesangial matrix の増大および肥厚した基底膜の蛇行, 上皮細胞足突起の部分的消失あるいは融合, 近位尿管上皮細胞におけるライソゾームの増加と基底膜の肥厚もみられたが対照群と 6315-S 投与群との間に差がなかった。これらは加齢ラットに一般的な所見である。

肝細胞において異型ミトコンドリア, ライソゾームおよび脂肪滴の増加が 1,600 mg/kg 投与群と対照群にほぼ同程度にみられた。

骨髄巨核球には異常所見はみられなかった (Photo. 12)。

### Ⅲ. 考 察

6315-S の 200, 400, 800 および 1,600 mg/kg をラットに 1 日 1 回, 連続 6 ヶ月間, 腹腔内投与したところ中毒死例は発生しなかった。検体投与全群で盲腸の拡張による腹部の膨満および軽度の軟便が観察されたが, これらは抗生剤投与ラットでよく知られている現象である。検体投与群では雌雄ともに摂餌量の軽度増加ならびに体重増加の軽度抑制が認められた。これらの現象は 6315-S の抗菌作用に起因した腸内細菌叢の変動による

Table 7 Plasma components of rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No of rats	T. Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G (ratio)	Creati- nine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (mIU/ml)	GPT (mIU/ml)	ALP (mIU/ml)	LDB (mIU/ml)	CPK (mIU/ml)	Choles- terol (mg/dl)	Phospho- lipid (mg/dl)	Trigly- ceride (mg/dl)	T. Bili- rubin (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Chloride (mEq/l)	Ca (mg/dl)	Mg (mg/dl)	Pc (μg/dl)
Male rats killed at the end of treatment period																						
Control	-	9	6.2 ± 0.1	3.7 ± 0.1	1.5 ± 0.0	0.71 ± 0.05	19 ± 1	88 ± 8	87 ± 4	94 ± 10	161 ± 17	82 ± 10	64 ± 8	108 ± 6	115 ± 6	0.22 ± 0.01	152 ± 6	4.7 ± 0.1	109 ± 1	10.8 ± 0.2	1.9 ± 0.0	151 ± 8
6315-S	200	10	5.8* ± 0.1	3.5* ± 0.0	1.5 ± 0.0	0.66 ± 0.08	22* ± 1	107 ± 16	48 ± 12	114 ± 17	220 ± 70	812** ± 2	70 ± 5	106 ± 5	96 ± 11	0.20 ± 0.00	151 ± 0	4.6 ± 0.1	110 ± 0	10.8 ± 0.1	1.9 ± 0.0	164 ± 5
6315-S	400	10	5.9 ± 0.1	3.5* ± 0.1	1.5 ± 0.0	0.73 ± 0.05	20 ± 1	87 ± 12	7 ± 7	104 ± 18	194 ± 88	127* ± 2	68 ± 4	98 ± 2	72** ± 4	0.21 ± 0.01	149** ± 1	4.3** ± 0.1	109 ± 0	10.7 ± 0.1	1.9 ± 0.1	182 ± 15
6315-S	800	10	6.0 ± 0.1	3.5* ± 0.1	1.6* ± 0.0	0.66 ± 0.08	21 ± 1	91 ± 6	4 ± 5	99 ± 12	152 ± 28	165 ± 71	70 ± 6	114 ± 10	80 ± 18	0.20 ± 0.00	149* ± 1	4.8** ± 0.1	111 ± 0	10.9 ± 0.2	1.9 ± 0.0	174 ± 10
6315-S	1600	10	5.8 ± 0.1	3.8** ± 0.1	1.8** ± 0.0	0.69 ± 0.08	22 ± 2	92 ± 18	45 ± 15	94 ± 9	144 ± 41	108 ± 22	60 ± 6	97 ± 8	61** ± 6	0.20 ± 0.00	146** ± 1	4.3** ± 0.1	111 ± 0	10.6 ± 0.2	1.9 ± 0.1	185** ± 8
Male rats killed at the end of recovery period																						
Control	-	5	5.8 ± 0.2	3.4 ± 0.1	1.4 ± 0.0	0.50 ± 0.00	24 ± 2	101 ± 17	56 ± 18	104 ± 15	129 ± 24	158 ± 82	70 ± 8	108 ± 11	88 ± 20	0.20 ± 0.00	150 ± 2	4.8 ± 0.0	108 ± 1	10.6 ± 0.2	1.8 ± 0.0	212 ± 12
6315-S	1600	10	5.5 ± 0.1	3.2 ± 0.1	1.4 ± 0.0	0.46 ± 0.01	26 ± 1	105 ± 20	58 ± 19	151 ± 59	165 ± 86	165 ± 86	57 ± 4	98 ± 4	91 ± 14	0.20 ± 0.00	154** ± 1	4.6** ± 0.1	108 ± 1	10.9 ± 0.1	2.0 ± 0.0	206 ± 4
Female rats killed at the end of treatment period																						
Control	-	10	6.5 ± 0.1	4.1 ± 0.1	1.6 ± 0.0	0.77 ± 0.04	27 ± 2	98 ± 10	41 ± 7	77 ± 11	145 ± 28	118 ± 28	72 ± 9	186 ± 7	105 ± 14	0.27 ± 0.02	152 ± 1	5.0 ± 0.2	109 ± 1	11.1 ± 0.2	2.2 ± 0.1	273 ± 25
6315-S	200	10	6.1 ± 0.2	3.8* ± 0.1	1.7 ± 0.0	0.62** ± 0.02	23* ± 1	118 ± 21	40 ± 7	60 ± 8	181 ± 26	165 ± 88	73 ± 8	138 ± 7	73 ± 12	0.26 ± 0.02	151 ± 1	4.5 ± 0.2	107 ± 1	10.8 ± 0.2	2.2 ± 0.1	275 ± 15
6315-S	400	10	6.4 ± 0.2	3.9 ± 0.1	1.5** ± 0.0	0.65* ± 0.02	26 ± 1	103 ± 9	34 ± 4	82 ± 8	171 ± 26	273* ± 47	68 ± 4	131 ± 8	51** ± 8	0.22* ± 0.01	149 ± 1	4.7 ± 0.2	111 ± 0	10.6 ± 0.2	2.2 ± 0.1	272 ± 29
6315-S	800	10	6.7 ± 0.2	3.9 ± 0.1	1.4** ± 0.0	0.66* ± 0.08	26 ± 1	92 ± 6	32 ± 8	50 ± 7	110 ± 17	153 ± 22	69 ± 4	136 ± 7	55* ± 12	0.23 ± 0.02	148* ± 1	4.7 ± 0.3	110 ± 0	11.0 ± 0.2	2.2 ± 0.0	238 ± 23
6315-S	1600	10	6.9 ± 0.1	4.0 ± 0.1	1.4** ± 0.0	0.63** ± 0.08	27 ± 1	94 ± 7	32 ± 8	60 ± 9	116 ± 24	110 ± 24	79 ± 6	159 ± 8	76 ± 10	0.26 ± 0.02	147** ± 1	4.7 ± 0.2	110 ± 1	11.1 ± 0.1	2.1 ± 0.1	318 ± 16
Female rats killed at the end of recovery period																						
Control	-	10	6.7 ± 0.1	4.0 ± 0.1	1.5 ± 0.0	0.69 ± 0.04	28 ± 9	206 ± 85	110 ± 35	83 ± 11	182 ± 25	184 ± 85	80 ± 4	149 ± 9	70 ± 9	0.22 ± 0.01	152 ± 1	4.7 ± 0.1	110 ± 1	11.6 ± 0.1	2.2 ± 0.1	432 ± 22
6315-S	1600	9	6.9 ± 0.1	4.3* ± 0.1	1.7** ± 0.0	0.62 ± 0.02	27 ± 1	115 ± 19	50 ± 9	53 ± 24	122 ± 16	100 ± 16	84 ± 4	151 ± 8	90 ± 17	0.21 ± 0.01	154 ± 1	4.4 ± 0.1	111 ± 0	11.7 ± 0.1	2.2 ± 0.1	477 ± 35

a) : Mean ± S.E. Statistically significant against control : \* , P<0.05. \*\* : P<0.01

Table 8 Urinary examination of male rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	4 hrs of volume (ml)	Sp. gr.	pH	Protein	Glucose	Ketone bodies	Bilirubin	Occult blood	Urobilinogen	Sediment				
												WBC	RBC	Epithelium	Abnormal crystal	Cast
8 months of treatment																
Control	—	10	2.6 <sup>a)</sup> ±0.4	1.010 ±0.001	8.0 ±0.2	1 <sup>b)</sup> 3 6	0	0 0 0	0	1 0 0	10 0 0	1 1 0	0 0 0	0 0 0	0	
6315-S	200	10	1.9 ±0.2	1.016 ±0.001	7.0** ±0.2	0 0 10	0	0 0 0	0	0 0 0	10 0 0	2 0 0	0 0 0	1 0 0	0	
6315-S	400	10	1.6 ±0.2	1.016 ±0.000	6.6** ±0.1	0 2 8	0	0 0 0	0	0 0 0	10 0 0	1 0 0	1 0 0	0 0 0	0	
6315-S	800	10	1.5* ±0.3	1.026 ±0.000	6.5** ±0.1	0 1 9	0	0 0 0	0	0 0 0	10 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0	0	
6315-S	1600	10	1.8 ±0.2	1.024 ±0.001	6.2** ±0.0	0 1 9	0	0 0 0	0	0 0 0	10 0 0	2 0 0	2 0 0	0 0 0	0	
6 months of treatment																
Control	—	10	3.0 ±0.4	1.012 ±0.001	7.8 ±0.2	0 7 3	0	0 0 0	0	1 2 0	8 2 0	1 1 1	0 1 1	2 1 0	0	
6315-S	200	10	2.8 ±0.4	1.020 ±0.002	6.5** ±0.1	0 2 8	0	0 0 0	0	4 0 0	10 0 0	1 0 0	1 1 1	1 0 0	0	
6315-S	400	10	2.1 ±0.2	1.019 ±0.001	6.1** ±0.1	0 1 9	0	1 0 0	0	1 0 1	10 0 0	2 0 1	1 0 1	2 1 1	0	
6315-S	800	9	2.2 ±0.2	1.022 ±0.001	5.9** ±0.1	0 0 9	0	0 0 0	0	2 0 0	9 0 0	0 1 0	0 1 1	1 0 0	0	
6315-S	1600	10	3.8 ±0.8	1.019 ±0.000	5.9** ±0.1	0 8 7	0	0 0 0	0	0 0 1	10 0 0	2 0 1	2 0 1	2 0 1	0	
1 month after cessation of 6 months treatment																
Control	—	5	2.2 ±0.8	1.016 ±0.001	7.8 ±0.4	0 1 4	0	0 0 0	0	8 0 1	5 0 0	1 1 1	1 1 1	1 0 1	0	
6315-S	1600	10	3.7* ±0.4	1.018 ±0.001	7.9 ±0.8	0 8 7	0	0 0 0	0	0 0 1	10 0 0	1 0 0	1 1 1	0 0 1	0	

a) : Mean ± S.E.

b) : No. of rats with the indicated finding  
Statistically significant against control : \* : P < 0.05, \*\* : P < 0.01

Table 9 Urinary examination of female rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	4 hrs volume (ml)	Sp. gr.	pH	Protein	Glucose	Ketone bodies	Bilirubin	Occult blood	Urobilinogen	Sediment			
												WBC	RBC	Epithelium	Cast
8 months of treatment															
Control	—	10	1.8 <sup>a)</sup> ±0.4	1.014 ±0.001	7.8 ±0.8	7 2 1	0	0 0 0	0	0 0	10 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0
6315-S	200	10	1.8 ±0.8	1.019 ±0.001	6.8** ±0.2	2 6 2	0	0 0 0	0	0 0	10 0 0	2 0 0	0 0 0	1 0 0	0
6315-S	400	10	1.8 ±0.8	1.015 ±0.000	6.5** ±0.1	4 5 1	0	0 0 0	0	0 0	10 0 0	0 0 0	0 0 0	1 0 0	0
6315-S	800	10	1.0 ±0.2	1.020 ±0.001	6.4** ±0.0	2 2 6	0	0 0 0	0	0 0	10 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0
6315-S	1600	10	1.0 ±0.1	1.021 ±0.001	6.2** ±0.0	0 4 6	0	0 0 0	0	0 0	10 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0
6 months of treatment															
Control	—	10	2.1 ±0.5	1.015 ±0.002	7.9 ±0.3	2 7 1	0	1 0 0	0	1 0	8 2 0	0 0 1	0 0 0	1 0 1	0
6315-S	200	10	1.5 ±0.3	1.019 ±0.001	6.4** ±0.2	2 6 2	0	0 0 0	0	1 0	10 0 0	1 0 0	0 0 0	1 0 0	0
6315-S	400	10	1.1 ±0.2	1.021 ±0.002	6.4** ±0.2	2 2 6	0	0 0 0	0	0 0	10 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0
6315-S	800	10	1.8 ±0.1	1.018 ±0.001	6.2** ±0.1	0 5 5	0	0 0 0	0	1 0	10 0 0	1 0 0	0 0 0	0 0 0	0
6315-S	1600	10	2.0 ±0.2	1.020 ±0.001	6.0** ±0.2	0 1 9	0	0 0 0	0	1 0	10 0 0	3 0 0	1 0 0	2 2 0	0
1 month after cessation of 6 months treatment															
Control	—	9	1.7 ±0.8	1.015 ±0.001	7.3 ±0.3	3 4 2	0	0 0 0	0	0 0	9 0 0	2 0 0	0 0 0	0 0 0	0
6315-S	1600	10	2.7 ±0.5	1.017 ±0.001	7.1 ±0.8	3 5 2	0	0 0 0	0	1 0	10 0 0	1 0 0	1 0 0	0 0 0	0

a) : Mean ± S.E.  
 b) : No. of rats with the indicated finding  
 Statistically significant against control : \* ; P < 0.05. \*\* ; P < 0.01

Table 10 Liver components in rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	Abs. Wt (g)	Protein (mg/g)	Cholesterol (mg/g)	Phospholipid (mg/g)	Triglyceride (mg/g)	Cyt. P-450 (nmol/g)	Coumar. DMase (unit/g)	Coumar. DEase (unit/g)	Coumar. DPase (unit/g)
Male rats killed at end of treatment period											
Control	—	9	18.26 <sup>n</sup> ± 0.78	205 ± 8	4.94 ± 0.50	87.8 ± 0.4	20.0 ± 2.0	40.5 ± 1.9	64.5 ± 2.8	81.1 ± 4.5	90.6 ± 6.1
6315-S	200	10	18.00 ± 0.58	207 ± 2	6.29* ± 0.40	89.8* ± 0.8	17.9 ± 1.6	41.2 ± 2.0	80.5** ± 2.2	103.7** ± 5.2	115.9* ± 6.5
6315-S	400	10	17.14 ± 0.90	208 ± 8	5.87 ± 0.49	89.2* ± 0.6	17.8 ± 2.6	40.2 ± 1.6	84.0** ± 3.9	105.0** ± 5.4	118.0* ± 8.5
6315-S	800	10	17.98 ± 0.77	208 ± 2	5.20 ± 0.68	88.0 ± 0.6	12.8* ± 1.8	39.1 ± 2.0	76.9** ± 1.9	104.7** ± 3.8	121.4** ± 6.3
6315-S	1600	10	19.14 ± 1.47	205 ± 2	4.85 ± 0.48	89.5* ± 0.7	10.9** ± 1.6	40.2 ± 1.7	78.9** ± 2.8	100.5* ± 5.5	107.6 ± 7.8
Male rats killed at the end of recovery period											
Control	—	5	20.15 ± 1.78	200 ± 11	4.56 ± 0.48	85.8 ± 0.8	18.1 ± 3.6	38.6 ± 2.4	64.5 ± 5.1	76.4 ± 9.2	86.8 ± 13.5
6315-S	1600	10	20.01 ± 1.01	217 ± 8	4.20 ± 0.29	85.0 ± 0.7	12.8 ± 1.7	34.9 ± 1.6	69.0 ± 3.5	86.7 ± 5.8	102.8 ± 9.7
Female rats killed at the end of treatment period											
Control	—	10	10.94 ± 0.47	205 ± 4	2.71 ± 0.06	34.9 ± 0.5	10.0 ± 1.4	25.7 ± 0.9	35.5 ± 1.0	28.4 ± 0.6	7.0 ± 0.2
6315-S	200	10	10.16 ± 0.86	206 ± 8	2.87 ± 0.06	35.5 ± 0.6	9.5 ± 1.8	29.8** ± 1.1	39.6** ± 1.6	31.6 ± 1.4	7.7 ± 0.3
6315-S	400	10	9.43* ± 0.80	212 ± 2	2.89* ± 0.04	36.7* ± 0.5	6.9 ± 1.0	29.9** ± 1.0	45.8** ± 2.6	36.9** ± 1.9	9.2** ± 0.6
6315-S	800	10	9.82 ± 0.29	209 ± 2	2.86 ± 0.05	36.6* ± 0.4	6.5* ± 0.5	31.1** ± 1.4	47.0** ± 2.0	38.1** ± 1.8	8.5** ± 0.3
6315-S	1600	10	10.88 ± 0.45	207 ± 2	2.92* ± 0.06	38.3** ± 0.5	6.7 ± 0.7	34.0** ± 0.6	48.4** ± 1.8	39.2** ± 1.2	9.3** ± 0.4
Female rats killed at the end of recovery period											
Control	—	10	10.55 ± 0.27	213 ± 7	2.99 ± 0.05	34.5 ± 0.4	9.6 ± 0.9	23.8 ± 0.9	34.4 ± 1.1	26.7 ± 1.0	8.3 ± 0.6
6315-S	1600	10	11.31 ± 0.47	238 ± 8	2.92 ± 0.04	35.9 ± 0.6	8.5 ± 0.8	28.0** ± 1.0	38.6 ± 1.9	28.9 ± 1.3	7.8 ± 0.4

a) : Mean ± SE

Statistically significant against control : \* : P&lt;0.05, \*\* : P&lt;0.01

餌の消化・吸収力の低下が主因と考えられる。また、血液生化学検査で認められたトリグリセリド、アルブミン、Na、Kなどの軽度低下も同様の原因によると考えられる。骨髓検査では、800 mg/kg以下の投与群で骨髓球や好塩基性赤芽球の軽度な減少が見られたが、1,600 mg/kg投与群に変化がないこと、以後の成熟段階や末梢血液像に変化がないことから6315-S投与に起因した変化とは考えられない。尿検査で認められたpHの低下は、尿に排泄された6315-Sの抗菌作用により尿のアンモニア酸酵が抑制されたためと思われる。器

官重量において、腎臓重量が6315-S投与群で増加し、尿蛋白質の増加を伴っていた。組織学的にも800 mg/kg以上の投与群で糸球体上皮細胞に微細ヒアリン様滴が出現し、電顕的にはosmiophilic dense bodyとして観察された。本構造の出現は、puromycinを投与されたラット<sup>7)</sup>や加齢ラット<sup>8)</sup>で報告されている。ほかに尿円柱の貯留した尿細管、再生像と考えられる好塩基性上皮に置換された尿細管が800 mg/kg以上の投与群でやや高頻度であった。これらの変化は、尿蛋白質の増加を含めて、いずれも加齢ラットに発生するものであ

Table 11 Organ weights of male rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	Final BW (g)	Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Submax (g)	Thymus (mg)	Adrenal (mg)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Brain (g)	Testis (g)	Prostate (g)	Caecum (g)	
Absolute organ weights of rats killed at the end of treatment period																			
Control	—	17	596 <sup>a</sup> ± 12	1.42 ± 0.08	1.49 ± 0.02	3.46 ± 0.17	19.23 ± 0.80	0.98 ± 0.04	0.87 ± 0.08	0.75 ± 0.02	145 ± 11	49.9 ± 1.4	28.4 ± 1.1	18.5 ± 0.4	2.22 ± 0.02	3.84 ± 0.06	0.61 ± 0.04	8.8 ± 0.4	
6315-S	200	20	576 ± 12	1.38* ± 0.08	1.43* ± 0.02	3.88 ± 0.10	18.47 ± 0.49	0.86* ± 0.02	0.59* ± 0.02	0.78 ± 0.02	144 ± 12	55.7* ± 1.8	28.1 ± 0.9	18.7 ± 0.8	2.24 ± 0.02	3.85 ± 0.12	0.58 ± 0.04	19.2* ± 0.7	
6315-S	400	20	569 ± 14	1.42 ± 0.06	1.40* ± 0.08	3.97* ± 0.18	18.56 ± 0.67	0.92 ± 0.04	0.58** ± 0.02	0.74 ± 0.02	160 ± 14	54.8* ± 1.6	24.7 ± 1.1	18.6 ± 0.4	2.19 ± 0.02	3.76 ± 0.06	0.60 ± 0.08	18.4** ± 1.0	
6315-S	800	20	569 ± 15	1.39 ± 0.04	1.45 ± 0.08	4.40** ± 0.27	18.78 ± 0.84	0.90 ± 0.04	0.60 ± 0.02	0.76 ± 0.02	189 ± 12	61.0** ± 1.7	24.1 ± 0.9	14.4 ± 0.5	2.22 ± 0.02	3.86 ± 0.17	0.63 ± 0.08	22.3* ± 1.2	
6315-S	1600	20	566 ± 15	1.39 ± 0.04	1.46 ± 0.08	4.46** ± 0.19	19.61 ± 0.86	0.86* ± 0.04	0.58* ± 0.02	0.74 ± 0.02	188 ± 8	65.2** ± 1.8	24.3 ± 1.0	14.8 ± 0.5	2.22 ± 0.02	3.78 ± 0.06	0.61 ± 0.08	24.6** ± 0.9	
Relative organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of treatment period																			
Control	—	17	0.24 ± 0.00	0.25 ± 0.00	0.58 ± 0.08	3.21 ± 0.08	0.16 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.18 ± 0.00	0.25 ± 0.02	25 ± 2	8.4 ± 0.2	4.0 ± 0.2	2.8 ± 0.1	0.88 ± 0.01	0.65 ± 0.02	0.10 ± 0.01	1.88 ± 0.05	
6315-S	200	20	0.23 ± 0.00	0.25 ± 0.01	0.66* ± 0.01	3.20 ± 0.04	0.15* ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.25 ± 0.02	25 ± 2	9.7** ± 0.4	4.0 ± 0.1	2.4 ± 0.1	0.89 ± 0.01	0.67 ± 0.02	0.10 ± 0.01	2.35** ± 0.13	
6315-S	400	20	0.25 ± 0.01	0.25 ± 0.00	0.70** ± 0.02	3.25 ± 0.06	0.16 ± 0.01	0.10* ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.26 ± 0.02	26 ± 2	9.6** ± 0.3	4.4 ± 0.2	2.4 ± 0.1	0.89 ± 0.01	0.67 ± 0.02	0.11 ± 0.01	2.24** ± 0.17	
6315-S	800	20	0.24 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.77** ± 0.08	3.46* ± 0.08	0.16 ± 0.01	0.11 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.24 ± 0.02	24 ± 2	10.8** ± 0.3	4.8 ± 0.2	2.5* ± 0.1	0.89 ± 0.01	0.66 ± 0.04	0.11 ± 0.01	2.96** ± 0.22	
6315-S	1600	20	0.25 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.79** ± 0.02	3.45 ± 0.08	0.15 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.24 ± 0.02	24 ± 1	11.6** ± 0.3	4.8 ± 0.2	2.5* ± 0.1	0.40 ± 0.01	0.68 ± 0.02	0.11 ± 0.01	4.89** ± 0.19	
Absolute organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of recovery period																			
Control	—	5	628 ± 28	1.45 ± 0.04	1.42 ± 0.05	3.46 ± 0.28	20.15 ± 1.78	0.96 ± 0.05	0.51 ± 0.04	0.82 ± 0.02	68 ± 18	59.8 ± 3.8	25.7 ± 1.2	11.4 ± 0.9	2.21 ± 0.04	3.85 ± 0.11	0.78 ± 0.09	7.9 ± 0.6	
6315-S	1600	10	589 ± 19	1.48 ± 0.05	1.42 ± 0.04	3.87 ± 0.28	20.01 ± 1.01	0.91 ± 0.04	0.55 ± 0.08	0.77 ± 0.08	120* ± 14	53.9 ± 1.9	25.7 ± 1.3	14.4** ± 0.5	2.23 ± 0.06	3.73 ± 0.07	0.89 ± 0.11	11.6* ± 0.9	
Control	—	5	628 ± 28	0.23 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.55 ± 0.08	3.19 ± 0.17	0.15 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.18 ± 0.01	11 ± 8	9.4 ± 0.8	4.1 ± 0.2	1.8 ± 0.2	0.85 ± 0.01	0.62 ± 0.03	0.12 ± 0.01	1.25 ± 0.08	
6315-S	1600	10	589 ± 19	0.24 ± 0.00	0.24 ± 0.01	0.66* ± 0.08	3.39 ± 0.10	0.15 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.18 ± 0.00	21* ± 8	9.2 ± 0.2	4.4 ± 0.3	2.4* ± 0.1	0.88 ± 0.01	0.64 ± 0.02	0.14 ± 0.02	1.95** ± 0.11	

a) : Mean ± S.E.  
Statistically significant control : \* : P < 0.05, \*\* : P < 0.01



Table 12 Organ weights of female rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	Final BW (g)	Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Submax (g)	Thymus (mg)	Adrenal (mg)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Brain (g)	Ovary (mg)	Uterus (g)	Caecum (g)	
Absolute organ weights of rats killed at the end of treatment period																			
Control	—	20	329 <sup>ab</sup> ± 4	0.93 ± 0.02	1.14 ± 0.02	1.95 ± 0.04	10.98 ± 0.26	0.72 ± 0.02	0.56 ± 0.02	0.51 ± 0.01	187 ± 10	64.1 ± 1.5	17.6 ± 0.7	17.9 ± 1.1	2.04 ± 0.03	79 ± 4	0.87 ± 0.11	5.5 ± 0.3	
6315-S	200	20	321 ± 9	0.88 ± 0.02	1.10 ± 0.02	2.06* ± 0.04	9.90** ± 0.28	0.62** ± 0.02	0.45** ± 0.01	0.50 ± 0.01	116 ± 8	62.6 ± 2.4	17.1 ± 0.7	18.2 ± 0.9	2.01 ± 0.02	75 ± 4	0.96 ± 0.13	16.5** ± 1.0	
6315-S	400	20	307** ± 6	0.80** ± 0.02	1.07* ± 0.02	2.00 ± 0.05	9.62** ± 0.21	0.56** ± 0.01	0.44** ± 0.01	0.48 ± 0.01	107* ± 7	60.8 ± 2.1	16.5 ± 0.7	19.0 ± 1.4	2.02 ± 0.02	67* ± 4	0.91 ± 0.09	16.5** ± 0.9	
6315-S	800	20	308* ± 6	0.84** ± 0.02	1.08* ± 0.02	2.09 ± 0.07	10.20* ± 0.27	0.58** ± 0.02	0.46** ± 0.01	0.49 ± 0.01	108* ± 8	66.4 ± 1.7	17.7 ± 0.7	19.0 ± 1.4	2.00 ± 0.02	65* ± 4	1.25 ± 0.17	16.8** ± 0.8	
6315-S	1600	20	317 ± 7	0.95* ± 0.02	1.07* ± 0.02	2.24** ± 0.06	10.65 ± 0.34	0.53** ± 0.01	0.45** ± 0.01	0.49 ± 0.01	112* ± 7	68.4* ± 1.4	18.0 ± 0.8	19.7 ± 1.3	1.96* ± 0.02	57** ± 4	1.01 ± 0.10	17.6** ± 0.7	
Relative organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of treatment period																			
Control	—	20	0.28 ± 0.00	0.85 ± 0.01	0.59 ± 0.01	3.88 ± 0.07	0.22 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.00	42 ± 3	19.5 ± 0.4	5.4 ± 0.2	5.4 ± 0.3	5.4 ± 0.3	0.52 ± 0.01	24 ± 1	0.27 ± 0.04	1.67 ± 0.09	
6315-S	200	20	0.28 ± 0.01	0.85 ± 0.01	0.65** ± 0.01	3.10** ± 0.04	0.19* ± 0.01	0.14** ± 0.00	0.16 ± 0.01	36 ± 3	19.7 ± 0.8	5.3 ± 0.2	5.3 ± 0.2	5.7 ± 0.3	0.64 ± 0.02	24 ± 1	0.31 ± 0.05	5.24** ± 0.33	
6315-S	400	20	0.26** ± 0.00	0.85 ± 0.01	0.65** ± 0.01	3.14* ± 0.04	0.18** ± 0.00	0.14** ± 0.00	0.16 ± 0.00	35 ± 2	19.9 ± 0.7	5.4 ± 0.2	5.4 ± 0.2	6.2 ± 0.5	0.66* ± 0.01	22 ± 1	0.30 ± 0.03	5.39** ± 0.30	
6315-S	800	20	0.27 ± 0.00	0.85 ± 0.01	0.68** ± 0.01	3.81 ± 0.04	0.19** ± 0.01	0.15* ± 0.00	0.16 ± 0.00	35 ± 3	21.6** ± 0.6	5.8 ± 0.2	5.8 ± 0.2	6.1 ± 0.4	0.65* ± 0.01	21 ± 2	0.41* ± 0.06	5.45** ± 0.25	
6315-S	1600	20	0.27 ± 0.00	0.84 ± 0.01	0.71** ± 0.01	3.85 ± 0.05	0.17** ± 0.00	0.14** ± 0.00	0.16 ± 0.00	35 ± 2	21.7** ± 0.5	5.7 ± 0.3	5.7 ± 0.3	6.2 ± 0.3	0.62 ± 0.01	18** ± 1	0.32 ± 0.03	5.59** ± 0.23	
Absolute organ weights of rats killed at the end of recovery period																			
Control	—	10	831 ± 8	0.98 ± 0.02	1.11 ± 0.03	1.95 ± 0.18	10.55 ± 0.27	0.69 ± 0.04	0.88 ± 0.02	0.52 ± 0.01	95 ± 10	59.9 ± 2.0	18.8 ± 1.2	17.3 ± 0.7	2.02 ± 0.02	82 ± 4	0.66 ± 0.04	4.6 ± 0.3	
6315-S	1600	10	809 ± 7	0.92 ± 0.04	1.06 ± 0.02	2.07 ± 0.10	11.81 ± 0.47	0.67* ± 0.04	0.42* ± 0.04	0.52 ± 0.02	91 ± 14	76.1** ± 8.9	19.3 ± 1.8	25.5 ± 2.8	2.08 ± 0.07	70 ± 7	0.72 ± 0.06	5.4 ± 0.3	
Relative organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of recovery period																			
Control	—	10	0.28 ± 0.01	0.84 ± 0.01	0.59 ± 0.08	3.19 ± 0.06	0.21 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.16 ± 0.01	29 ± 8	18.1 ± 0.5	6.0 ± 0.4	6.0 ± 0.4	5.3 ± 0.3	0.61 ± 0.01	25 ± 1	0.20 ± 0.01	1.39 ± 0.09	
6315-S	1600	10	0.80 ± 0.01	0.84 ± 0.01	0.67 ± 0.04	3.67* ± 0.15	0.18 ± 0.01	0.14* ± 0.01	0.17 ± 0.01	80 ± 4	24.7** ± 1.8	6.2 ± 0.4	7.3* ± 0.4	6.8 ± 0.7	0.68 ± 0.03	22 ± 2	0.24 ± 0.02	1.75* ± 0.11	

a) : Mean ± S.E.  
 Statistically significant control : \* : P < 0.05, \*\* : P < 0.01

Photo. 1 Granulation tissue hyperplasia in dermis and subcutis, and crusta formation at injection site from a female control rat received ip saline solution for 6 months. H-E,  $\times 40$

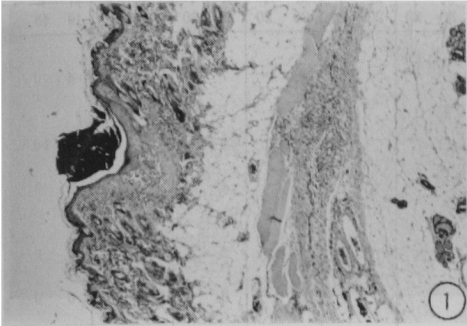


Photo. 4 Cystic follicles and absence of corpus luteum in ovary from a female rat received ip 1600 mg/kg/day of 6315-S for 6 months. H-E,  $\times 20$

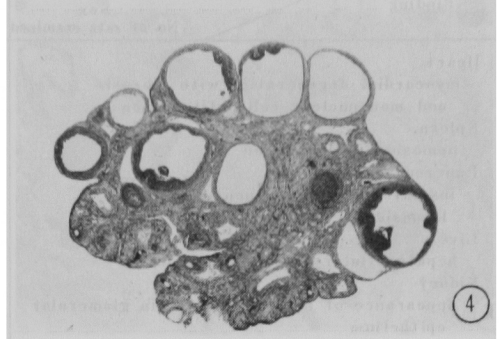


Photo. 2 Submucosal edema and hemosiderin deposition in cecum from a male rat received ip 1600 mg/kg/day of 6315-S for 6 months. H-E,  $\times 40$

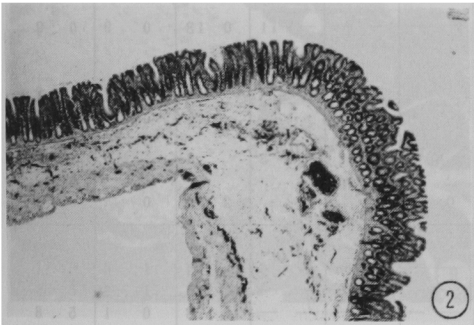


Photo. 5 Excretory ducts filled with milk in mammary gland from a female control rat received ip saline solution for 6 months. H-E,  $\times 40$

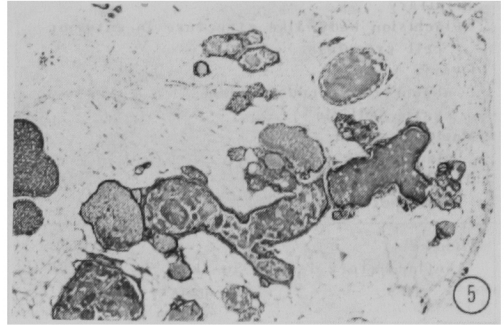


Photo. 3 Cystic follicles and absence of corpus luteum in ovary from a female control rat received ip saline solution for 6 months. H-E,  $\times 20$



Photo. 6 Alveolar hyperplasia in mammary gland from a female rat received ip 1600 mg/kg/day of 6315-S for 6 months. H-E,  $\times 40$

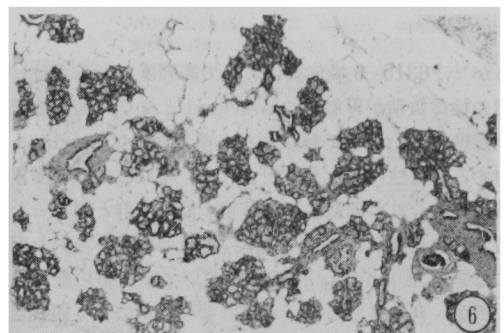


Table 13 Histological findings of rats administered 6315-S intraperitoneally for 6 months

Finding	Dose (mg/kg/day)	6-month study										Recovery study			
		Control		6315-S								Control		6315-S	
		M	F	200		400		800		1600		M	F	M	F
Sex		No. of rats examined		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Heart		17	20									5	10	10	10
myocardial degeneration with fibrosis and mononuclear cell infiltration		9	2							7	0	1	0	4	0
Spleen										20	20	5	10	10	10
hemosiderin deposition		17	20							20	20	5	10	10	10
Pancreas										4	0	1	0	2	0
insular fibrosis frequently with hemosiderin deposition		5	0							4	0	1	0	2	0
Liver										2	1	0	0	0	0
hepatocellular fatty deposition		2	0							2	1	0	0	0	0
Kidney										3	1	0	0	0	0
appearance of hyaline droplet in glomerular epithelium		0	0		0		6		3	1	0	0	0	0	0
tubular epithelium with basophilic cytoplasm		1	2		1		4		5	1	1	0	5	1	
tubular dilatation with hyaline cast		1	0		1		4		3	2	0	0	5	1	
Urinary bladder										2	0	1	1	2	1
epithelial hyperplasia		4	1						2	0	1	1	2	1	
Prostate										2		1		3	
interstitial inflammatory cell infiltration		8							2		1		3		
Adrenal										9	5	2	4	1	5
hypertrophy of zona fasciculata cell		6	4				6	0	9	5	2	4	1	5	
Pituitary										11	0	18	0	9	0
inclusion body-like structure in anterior cell cytoplasm		0	12						11	0	18	0	9	0	9
Ovary															
absence of corpus luteum			5		2		4		7		11		1		3
cystic follicle			3		4		6		8		4		2		6
Mammary gland															
glandular hyperplasia			2		1		2		3		9		0		5
Testis															
hypospermatogenesis			0		0		2		1		2		0		0
Others															
inflammatory lesions in skin		1	11					6	4	14	1	0	0	1	
pancreas		13	13						10	13	1	6	5	6	
cecum		1	4						10	8	0	1	5	8	
stomach		1	11						1	2	1	6	0	2	
small intestine		0	8						0	0	0	0	0	0	
colon		0	6						3	0	0	0	1	0	
epididymis or uterus		9	0						7	2	3	0	10	2	
seminal vesicle		8							1		0		1		

るが<sup>9)</sup>、6315-S 投与群において高頻度である点は、長期の検体負荷が腎臓への overload となり、加齢性変化が促進されたものと解釈され、重量増加は overload に対する代償性の変化と解釈される。雌において軽度重量減少のみられた脾臓および膵臓には対照群と異なった組織学的変化はみられず、雌雄に重量増加のみられた副腎には雄 1,600 mg/kg 投与群において束状帯の肥厚を示す例が、有意差もなく、対照群より僅かに多く観察されたのみであった。加齢雌ラットでは、卵巣および黄体の

減少ならびに閉鎖卵胞の増加、それに伴う卵巣基質および卵胞嚢腫の相対的増加<sup>10, 11)</sup>が、また、血中プロラクチン量の増加による乳腺の増生<sup>11, 12)</sup>が、みられることが知られている。本試験においても黄体の消失と卵胞嚢腫の増加傾向、乳腺の増生が対照群も含めて観察され、1,600 mg/kg 投与群での卵巣重量減少は黄体の消失によると思われる。雌の下垂体前葉細胞（好酸性または嫌色素性細胞）の胞体内にエオジン好性の封入体様構造が認められたが、この変化を示した例と卵巣、乳腺に上記

Photo. 7 Myocardial degeneration with mononuclear cell infiltration in heart from a male control rat recieved ip saline solution for 6 months. H-E,  $\times 100$

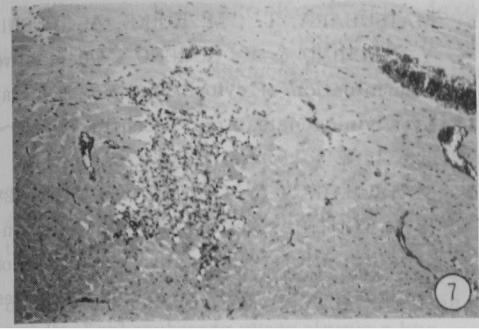


Photo. 10 Appearance of osmiophilic dense bodies in swollen glomerular epithelia of kidney from a male rat recieved in 1600 mg/kg/day of 6315-S for 6 months,  $\times 2500$

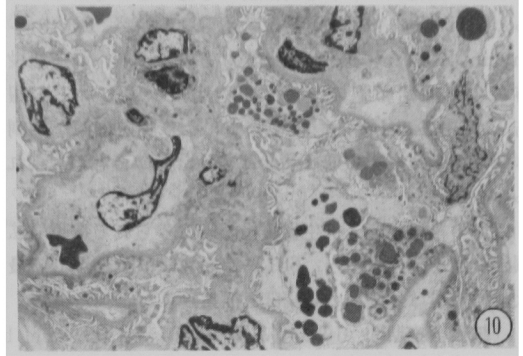


Photo. 8 Insular fibrosis with hemosiderin deposition in pancreas from a male control rat recieved ip saline solution for 6 months. H-E,  $\times 100$

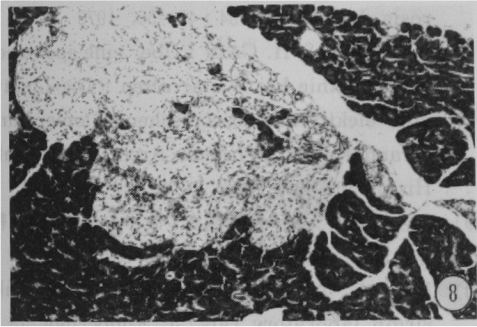


Photo. 11 Appearance of osmiophilic dense bodies in swollen glomerular epithelia of kidney from a male control rat provided for recovery study.  $\times 3200$

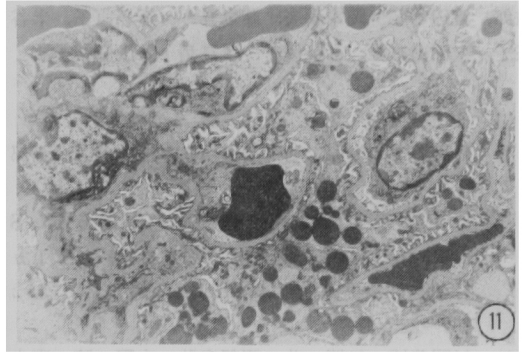


Photo. 9 PAS-positive granules in two glomerular epithelia (arrows) of kidney from a male rat recieved ip 1600 mg/kg/day of 6315-S for 6 months. H-E,  $\times 400$

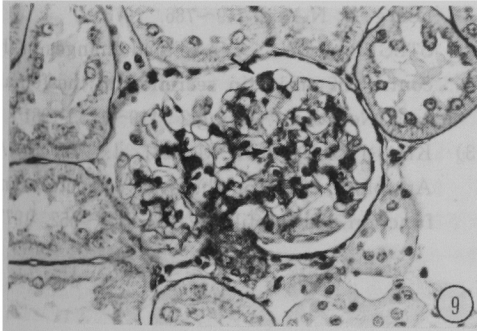
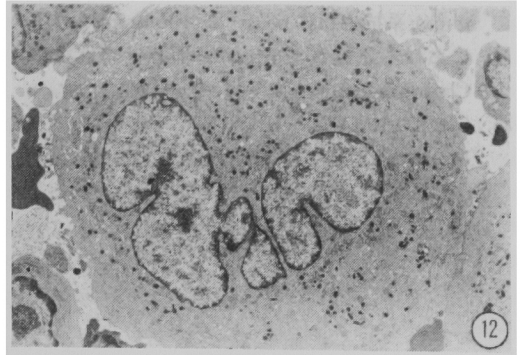


Photo. 12 Electron micrograph of a megakaryocyte of bone marrow from a male rat recieved ip 1600 mg/kg/day of 6315-S for 6 months, showing no abnormal structures. Well-developed demarcation membrane and many specific granules are seen.  $\times 3200$



の変化を示した例との間に相関はなく、また、下垂体細胞の光顯的觀察では、6315-S 投与群に特有の変化は認められなかった。

以上の変化はいずれも対照群にも認められるところから、6315-S の一次作用とは考えられないが、Erythromycin, Sekazin, Novobiocin などのラットへの長期投与により原始卵胞の消失、卵胞閉鎖が生じたとの報告<sup>13)</sup>もあることから、抗生物質により腸内細菌が抑制され、加齢性変化の進行が促進されたものとも考えられる。

以上の結果から、抗生物質投与時にみられる盲腸の拡張と軟便を除外すると、6315-S の本試験条件下での最大無影響量は 400 mg/kg/日と推察された。

(試験実施期間：1983 年 11 月～1985 年 4 月)

#### IV. 謝 辞

本試験に御協力を頂いた下記の諸氏に深謝致します。

西部泰弘, 長谷川紀昭, 中野 瞭, 花房友行, 松井信志, 堂崎 猛, 原内敏夫, 高野享治, 古川 仁, 池内滋郎, 渡辺 弘, 岡本孝夫, 藤島昇一, 新名直子, 米谷益子, 大園由香里, 平柴優子, 豊島靖子, 山脇啓子。

#### 文 献

- 1) 村岡義博, 矢原 功, 渡辺 弘, 松井信志, 西部泰弘, 中野 瞭, 花房友行, 松原尚志, 吉崎敏夫, 原田喜男: Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) のラットにおける急性ならびに 1 ヶ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 35 (S-1): 207~225, 1987
- 2) 村岡義博, 矢原 功, 西部泰弘, 中野 瞭, 東山昇, 花房友行, 渡辺 弘, 吉崎敏夫, 小林文彦, 原田喜男: 6315-S のラットにおける 3 ヶ月亜急性毒性試験。塩野義製薬株式会社 社内資料
- 3) 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 ヶ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 35 (S-1): 226~250, 1987
- 4) CHESTERMAN, H.; L. DONALD, R. HEYWOOD, A. E. STREET, C. GOPINATH, S. K. MAJEED, 原田喜男: 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。Chemotherapy 35 (S-1): 251~269, 1987
- 5) MATSUBARA, T.; M. KOIKE, A. TOUCHI, Y. TOCHINO & K. SUGENO: Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. Anal. Biochem. 75: 596~603, 1976
- 6) MATSUBARA, T.; S. OTSUBO, E. YOSHIHARA & A. TOUCHI: Biotransformation of coumarin derivatives (2) Oxidative metabolism of 7-alkoxycoumarin by microsomal enzymes and a simple assay procedure for 7-alkoxycoumarin O-dealkylase. Japan. J. Pharmacol. 33: 41~56, 1983
- 7) CAULFIELD, J. P.; J. J. REID & M. G. FARQUHAR: Alterations of the glomerular epithelium in acute aminonucleoside nephrosis. Lab. Invest. 34: 43~59, 1976
- 8) KRAUS, B & H. CAIN: Uber eine spontane-nephropathie bei Wistarratten: Die Light- und elektronmicroscopischen Glomerulum veränderungen. Virchow Arch. Path. Anat. Histol. 363: 343~358, 1974
- 9) 河合清之: ラット長期飼育ワーキンググループ報告。Exp. Anim. 29 (2): 181~231, 1980
- 10) MANDL, A. M.: Corpora lutea in senile virgin laboratory rats. J. Endocrinol. 18: 438~443, 1959
- 11) COTCHIN, E. & F. J. C. ROE: Pathology of laboratory rats and mice. Blackwell Scientific Pub. Oxford and Edinburgh, Longevity studies in rats. II. Pathology of aging rats. (Berg, B. N.) pp. 749~786, 1976
- 12) STEGER, R. W.: Age related changes in the control of prolactin secretion in the female rats. Neurobiol. Aging 2: 119~123, 1981
- 13) KHARITONOVA, A. M. & L. I. VOLODINA: Antibiotic effect on the ovary structure and function. Antibiotiki 22 (6): 544~552, 1977

## CHRONIC TOXICITY OF 6315-S (FLOMOXEF) IN RATS

FUMIHIKO KOBAYASHI, ISAO YAHARA, YOSHIHIRO MURAOKA,  
TOSHIO YOSHIZAKI and YOSHIO HARADA  
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

A chronic toxicity study of 6315-S (flomoxef), a new oxacephem antibiotic, was carried out by administering the compound to rats i. p. once daily for six months at doses of 200, 400, 800 and 1,600 mg/kg/day. All rats showed abdominal enlargement and loose stools during the administration period.

At autopsy, increased cecal size was observed in all 6315-S treated groups. Mechanical damage in some organs and in the skin at the injection site was also seen in all groups, including controls. A slight increase in renal and adrenal weight was observed, particularly in the higher dosage groups. A slight decrease in ovarian weight was observed in the highest dosage group. Histologically, a number of female rats which had no corpora lutea and hyperplasia of the mammary gland increased in comparison with the control group. In all groups, no remarkable changes were found in hematological examination and urinalysis.

Apart from the increased cecal size and loose stools, the maximal no-effect dose is considered to be 400 mg/kg/day.