

TE-031の毒性研究(第1報) マウスおよびラットにおける急性毒性試験

阿部訓志・岩城理進・山田久陽・小池正信・中根貞雄
大正製薬株式会社総合研究所

新規マクロライド系抗生物質、TE-031のマウスおよびラットにおける急性毒性を経口、腹腔および皮下の3投与経路により検討し、以下の結果を得た。

中毒症状としてマウス、ラットの経口および腹腔内投与で鎮静、呼吸数の減少、体温下降、眼瞼下垂等の抑制様症状が観察された。しかし、皮下投与ではマウス、ラットともに抑制様症状はみられなかった。解剖所見としてマウス、ラットの経口および腹腔内投与で消化管の出血がみられ、病理組織学的検査においても解剖所見に対応する変化がみられた。マウス、ラットの皮下投与では、投与部位において壊死した皮下を中心にTE-031様物質の残留が観察された。主要臓器である肝臓および腎臓の病理組織学的検査では、マウス、ラットの経口および腹腔内投与の死亡例で軽度な散在性の壊死性変化が認められた。

投与14日後の死亡率に基づいて算出したLD₅₀値は、マウス、ラットともに腹腔、経口、皮下の順に高く、臨床投与経路である経口投与では、マウス雄で2740 mg/kg、雌で2700 mg/kg、ラット雄で3470 mg/kg、雌で2700 mg/kgであった。

以上のTE-031による毒性的変化は、他のマクロライド系抗生物質においてもみられるものであり、TE-031は他のマクロライド系抗生物質に比較して特異的な毒性を有さないものと考えられた。

TE-031は大正製薬株式会社で開発された新規マクロライド系抗生物質であり、抗菌力はErythromycinと同等もしくは若干強く¹⁾、経口投与により高い血中濃度と持続性を有する薬剤である¹⁾。

今回、TE-031の安全性試験の一環として、マウスおよびラットにおける急性毒性を検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験薬物

TE-031((--)-(3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-12,13-dihydroxy-7-methoxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecane-2,10-dione, 分子量747.96)はFig. 1に示す化学構造を有し、水にほとんど溶けない白色無臭性の苦味を有する粉末である。本試験には、大正製薬で合成されたTE-031(Lot No. 840730)を使用した。なお、TE-031は試験期間中、安定であることが確認されていた。

2. 動物

1) マウス

ICR系のSPFマウス雌雄(4週齢, 体重: 雄10.5~17.2g, 雌10.9~18.6g)を静岡県実験動物農業協同組合

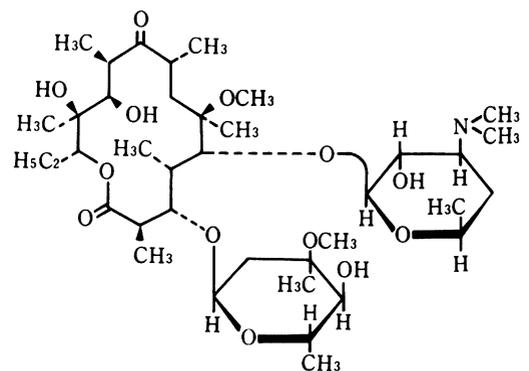
より購入し、約1週間の検疫および馴化の後、発育の良好なマウス(体重: 雄18.5~29.3g, 雌16.8~26.6g)を試験に供した。

2) ラット

Wistar系のSPFラット雌雄(6週齢, 体重: 雄112~146g, 雌93~126g)を静岡県実験動物農業協同組合より購入し、約1週間の検疫および馴化の後、発育の良好なラット(体重: 雄142~175g, 雌109~135g)を試験に供した。

3. 動物の飼育条件

Fig. 1 Chemical structure of TE-031



マウス, ラットとも検疫馴化期間および観察期間は恒温(21~25℃), 恒湿(41~76%)の動物舎(照明時間: 12時間, 換気回数: 12回/時)で, アルミニウム製ケージ(マウス: 175W×230D×160Hmm, 5匹/ケージ, ラット: 225W×350D×200Hmm, 3~4匹/ケージ)に収容し, 固形飼料(MF: オリエンタル酵母)および殺菌水を自由に摂取させて飼育した。

4. 被験物質の調製法

TE-031は水にほとんど溶けないため, 経口投与に際しては5%アラビアゴム水溶液に, 腹腔内および皮下投与に際しては5%アラビアゴム生理食塩液に懸濁させた。なお, 本試験に使用したTE-031の調製濃度範囲は2~20%であり, これらの条件下で7日間安定であることが確認されていた。

5. 被験物質の投与

TE-031の投与経路は, 経口, 腹腔内および皮下の3

経路とし, 経口投与の場合は金属ゾンデを用いて投与前16時間以上絶食させた動物に被験薬液を単回投与し, 他の2経路では被験薬液を注射により単回投与した。投与量は予試験により, 経口および腹腔内投与ではLD₅₀値が求められる量, 皮下投与では投与可能な最大量としてTable 2~4(マウス)およびTable 6~8(ラット)に示す量を設定し, 経口投与では投与容量を変えることにより, その他では投与容量を一定にして投与した。投与容量はマウスにおける経口投与で15.0~39.9 ml/kg(濃度100 mg/ml), 腹腔内投与で20 ml/kg(濃度20~72 mg/ml), 皮下投与で25 ml/kg(濃度128~200 mg/ml)とし, ラットにおける経口投与で18.0~47.9 ml/kg(濃度100 mg/ml), 腹腔内投与で10 ml/kg(濃度50~133 mg/ml), 皮下投与で25 ml/kg(濃度128~200 mg/ml)とした。

なお1群の動物数は雌雄ともに10匹とした。

6. 観察, 測定, 検査, 分析項目

Table 1 Main toxicological signs in mice treated with TE-031

Toxicological signs	Minimal dose of appearance (mg/kg)		Period of appearance	
	p.o.	i.p.	p.o.	i.p.
Sedation	1725	400	30m~10d	10m~7d
	1984	400	20m~6d	10m~7d
Slow respiration	1725	400	30m~4d	10m~7d
	2281	400	30m~4d	10m~6d
Cyanosis	3017		30m~1d	
	2624		20m~1d	
Ptosis	1725	400	20m~7d	10m~6d
	1725	400	10m~6d	10m~7d
Piloerection or ruffled hair	1984	995	30m~	4d~7d
	1984	829	5m~8d	4d~7d
Subnormal temperature	2624	691	3h30m~4d	20m~7d
	2281	691	3h~4d	30m~7d
Soiled hypogastrium	1500	829	2d~12d	2d~7d
	1984	691	2d~5d	2d~4d
Diarrhea	1725		15m~1d	
	2281		30m~1d	
Gait disturbance (Stretching)		400		0m~10m
		400		0m~10m
Clonic convulsions	3470	691	3h40m~8h20m	20m~3h20m
	3470	995	5h30m~7h20m	30m~2h25m
Tremor	2624		2d~4d	
	3470		2d~3d	
Labored respiration	3470	691	3h30m~8h20m	20m~2d
	3470	995	5h30m~7h20m	30m~2h25m

m : minutes h : hours d : days

upper : male lower : female

1) 中毒症状の観察

中毒症状の観察期間は14日間とし、被験薬液投与当日は投与後6時間、翌日からは午前と午後の2回、肉眼的に中毒症状を観察した。

2) 体重の測定

被験薬液投与直前、投与1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11および14日後の午前に電子天秤(PK-2000:メトラー社)により体重を測定した。

3) 解剖および病理組織学的検査

中毒症状の観察中に死亡例を発見した場合には、できるかぎり速やかに外観検査の後、開腹等の処置により各種臓器の解剖検査を実施した。また、投与14日後における生存例についても同様に各種臓器の解剖検査を実施した。

解剖検査の結果、肉眼的に変化のみられた臓器についてはその典型的な例を、さらに、死亡例の認められない最高用量群の14日後の生存例、全例について、肺、肝臓、腎臓、消化管等を病理組織学的検査の対象とした。すなわち、常法により摘出した臓器を切り出し、ホルマリン固定、パラフィン包埋、薄切、H.E.染色および封入の操作により組織標本を作製し、鏡検した。

4) 推計学的処理および分析

測定した体重は投与群ごとに平均値と標準偏差を求めた。また、LD₅₀値は投与後14日間の累積死亡率に基づいてProbit法により算出した。なおLD₅₀値は、有効数

字を3ケタとして表現した。

II. 実験結果

1. 中毒症状および死亡状況

1) マウス

i) 経口投与

TE-031を雌雄のマウスに経口投与した場合に発現する症状、その最小発現量および発現期間をTable 1に示した。これらの症状のほとんどは用量依存的で、用量の増加により発現までの時間が短縮される傾向にあった。

雌雄とも主として鎮静、呼吸数の減少、眼瞼下垂、体温下降等の抑制様症状が投与数十分後より観察された。これらの症状が顕著となった例で24時間以内に死亡が観察され、死亡直前に呼吸の逼迫および間代性痙攣が認められた。投与24時間以後では鎮静、呼吸数の減少、粗毛、体温下降等の消耗状態から死亡する例が多く観察された。その他、後肢麻痺による歩行異常が投与3日後より雄の2例に発現した。

投与後の死亡はTable 2に示すように、雄で投与4日後まで、雌で投与5日後まで観察された。投与後の体重変化はFig. 2に示すように、高用量群の雄では2日後まで、雌では3日後まで増加抑制が認められた。

ii) 腹腔内投与

TE-031を雌雄のマウスに腹腔内投与した場合に発現する症状、その最小発現量および発現期間をTable 1に

Table 2 Distribution of death in mice treated orally with TE-031

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Distribution of death (day)						Total deaths	LD ₅₀ (95% limit of confidence)
			1	2	3	4	5	6~14		
Male	1500	10							0	2740 mg/kg (2570~2930)
	1725	10							0	
	1984	10							0	
	2281	10				1			1	
	2624	10		1	1	1			3	
	3017	10		1	6	2			9	
	3470	10		2	4	2	1		9	
	3990	10		5	4	1			10	
Female	1500	10							0	2700 mg/kg (2490~2920)
	1725	10							0	
	1984	10							0	
	2281	10			1	1			2	
	2624	10		2	1	1	1		5	
	3017	10		3	4		1		8	
	3470	10		4	3	1			8	
	3990	10		5	3	2			10	

示した。これらの症状のほとんどは用量依存的で、用量の増加により発現までの時間が短縮される傾向にあった。

雌雄とも主として鎮静、呼吸数の減少、眼瞼下垂、体温下降等の抑制様症状が投与数十分後より観察された。これらの症状が顕著となった例で24時間以内に死亡が観察され、死亡前に呼吸の逼迫および間代性痙攣が認められた。投与24時間以後では鎮静、呼吸数の減少、体温下降等の消耗状態を呈して死亡する例が多く観察された。その他、震顫、血涙、後肢麻痺による歩行異常が雌雄の少数例に観察された。

投与後の死亡は Table 3 に示すように、雌雄とも投与7日後までに観察された。投与後の体重変化は Fig. 3 に示すように、雌雄とも投与1日後に減少し、高用量群

ではさらに4日後まで減少あるいは増加抑制が認められた。

iii) 皮下投与

TE-031を雌雄のマウスに皮下投与した場合、いずれの投与群においても投与部位の皮膚変化以外、中毒症状ならびに死亡は観察されなかった。投与部位の皮膚においては、雌雄とも5日後より、しこりおよび壊死が観察され、12日後より雌雄の少数例で壊死皮膚の脱落が観察された。

投与後の体重変化は Fig. 4 に示すように、雌雄とも4日後まで減少あるいは増加抑制が認められた。

2) ラット

i) 経口投与

Table 3 Distribution of death in mice treated intraperitoneally with TE-031

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Distribution of death (day)								Total deaths	LD ₅₀ (95% limit of confidence)
			1	2	3	4	5	6	7	8-14		
Male	400	10									0	1030 mg/kg (942~1130)
	480	10									0	
	576	10									0	
	691	10	1								1	
	829	10					1				1	
	995	10		1	1				1		3	
	1194	10		2	4		1			1	8	
1443	10		10							10		
Female	400	10									0	850 mg/kg (791~922)
	480	10									0	
	576	10									0	
	691	10					1				1	
	829	10				1			2		3	
	995	10		3	3	2	2				10	
	1194	10		9	1						10	
1443	10		10							10		

Table 4 Distribution of death in mice treated subcutaneously with TE-031

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Total deaths	LD ₅₀
Male	3200	10	0	> 5000 mg/kg
	4000	10	0	
	5000	10	0	
Female	3200	10	0	> 5000 mg/kg
	4000	10	0	
	5000	10	0	

Fig. 3 Changes in mean body weight of mice treated intraperitoneally with TE-031

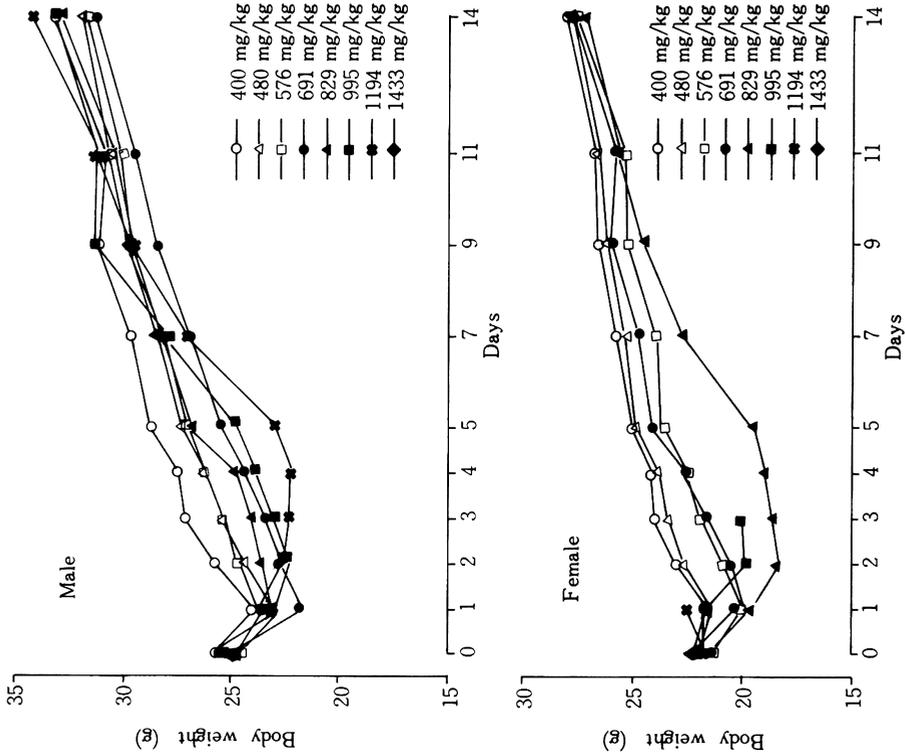
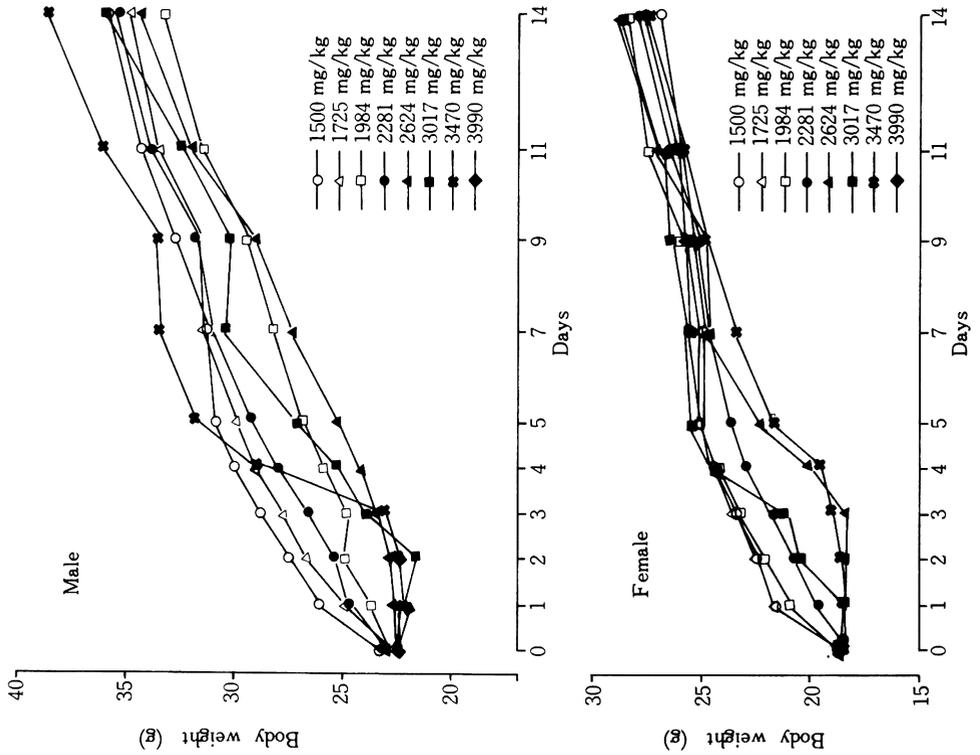


Fig. 2 Changes in mean body weight of mice treated orally with TE-031



TE-031を雌雄のラットに経口投与した場合に発現する症状、その最小発現量および発現期間を Table 5に示した。これらの症状のほとんどは用量依存的で、用量の増加により発現までの時間が短縮される傾向にあった。

雌雄とも投与数十分後より鎮静、呼吸数の減少および眼瞼下垂等の抑制様症状が低投与量より観察され、これらの症状が顕著となった例で24時間以内の死亡が観察された。投与24時間以後では、上記症状に加えて下痢、体温下降、鼻出血および粗毛等が観察され、このような消耗状態を呈して死亡する例が多く観察された。その他、雄で後肢麻痺による歩行異常およびペニスの突出がそれぞれ1例観察された。

投与後の死亡は Table 6に示すように、雄で4日後まで、雌で5日後まで観察された。投与後の体重変動は

Fig. 5に示すように、4~5日後まで減少あるいは増加抑制が認められた。

ii) 腹腔内投与

TE-031を雌雄のラットに腹腔内投与した場合に発現する症状、その最小発現量および発現期間を Table 5に示した。これらの症状のほとんどは用量依存的で、用量の増加により発現までの時間が短縮される傾向にあった。

雌雄とも投与1時間後より鎮静、呼吸数の減少および流涙等の症状が多くの例で観察され、呼吸の逼迫を呈した後、約90分で死亡する例が観察された。その後も上記症状に加えて、血涙、鼻出血、体温下降、下腹部の汚れおよび粗毛等が観察された。

投与後の死亡は Table 7に示すように、雄で投与6日後まで、雌で4日後まで消耗状態を呈して死亡する例が

Table 5 Main toxicological signs in rats treated with TE-031

Toxicological signs	Minimal dose of appearance (mg/kg)		Period of appearance	
	p.o.	i.p.	p.o.	i.p.
Sedation	2381	575	30m ~ 8d	1h ~ 6d
	2070	661	35m ~ 7d	1h ~ 4d
Slow respiration	2381	575	50m ~ 5d	1h ~ 5d
	2070	661	35m ~ 5d	1h ~ 4d
Lacrimation		500		1h ~ 1d
		575		1h ~ 2d
Ptosis	2738		50m ~ 3d	
	2070		35m ~ 5d	
Piloerection or ruffled hair	2381	500	5d ~	1h ~ 7d
	2381	500	5d ~	1h30m ~ 7d
Subnormal temperature	3148	575	2d ~ 6d	2d ~ 6d
	2381	661	2d ~ 5d	2d ~ 4d
Soiled hypogastrium	2070	500	2d ~ 9d	1h30m ~ 6d
	1800	500	2d ~ 6d	2h30m ~ 5d
Diarrhea	2070		15m ~ 7d	
	2070		15m ~ 3d	
Bloody discharge	2381	575	2d ~ 10d	2h30m ~ 6d
	2070	575	2d ~ 7d	2h30m ~ 4d
Epistaxis	2070	500	2d ~ 9d	1h30m ~ 6d
	2070	500	2d ~ 8d	2h ~ 5d
Clonic convulsions		1006		2h ~ 3h45m
		1157		4h ~ 4h20m
Tremor	2738		5d	
Labored respiration		875		1h20m ~ 6h30m
		1157		1h20m ~ 5h10m

m : minutes h : hours d : days
upper : male lower : female

Fig. 5 Changes in mean body weight of rats treated orally with TE-031

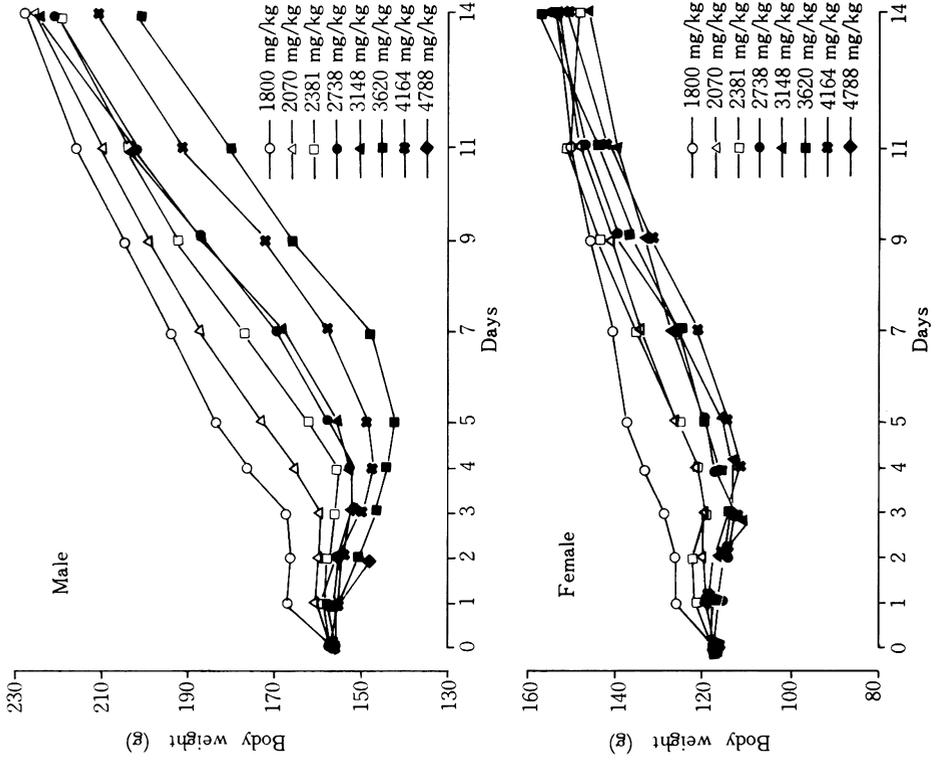
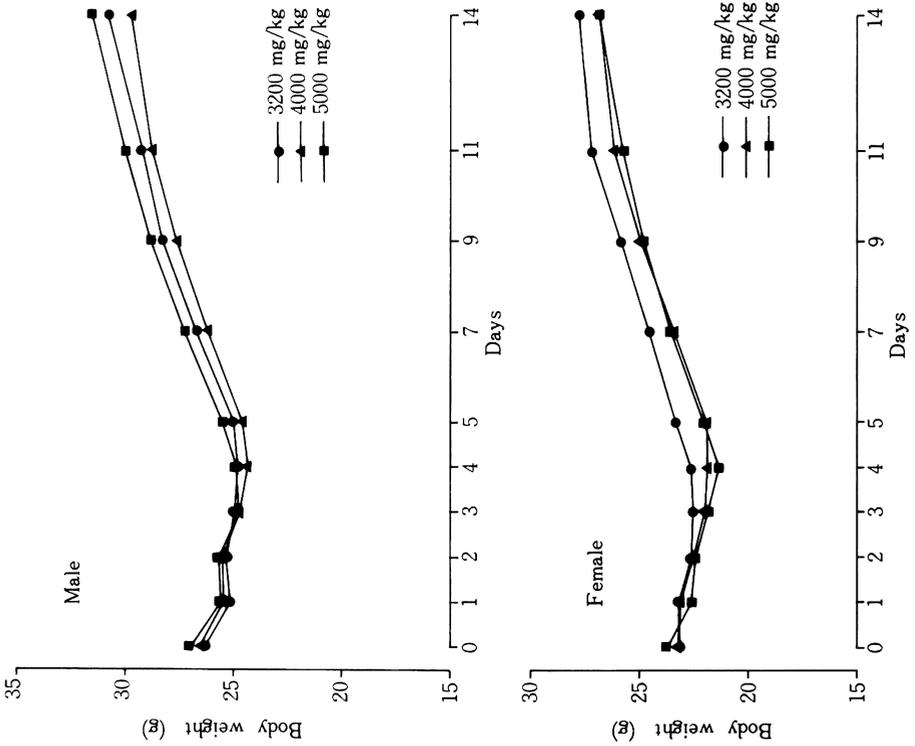


Fig. 4 Changes in mean body weight of mice treated subcutaneously with TE-031



認められた。投与後の体重変動は Fig. 6 に示すように、雌雄ともほとんどの投与群で投与 3 日後まで減少が認められた。

iii) 皮下投与

TE-031 を雌雄のラットに皮下投与した場合、3200

mg/kg 以上のすべての投与群で 2 日後より軽度な鼻出血、下腹部の汚れ、3 日後より粗毛が観察された。雌ではこれらの症状に加えて 2 日後より尿によると思われる尾の濡れが観察された。これらの症状は 8 日後までにすべて消失し、死亡は観察されなかった。投与部位の皮膚にお

Table 6 Distribution of death in rats treated orally with TE-031

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Distribution of death (day)						Total deaths	LD ₅₀ (95% limit of confidence)
			1	2	3	4	5	6~14		
Male	1800	10							0	3470 mg/kg (3210~3760)
	2070	10							0	
	2381	10							0	
	2738	10		2					2	
	3148	10		1	2				3	
	3620	10		4	1				5	
	4146	10		4	2	2			8	
	4788	10		4	4	2			10	
Female	1800	10							0	2700 mg/kg (2380~2970)
	2070	10							0	
	2381	10		1		1			2	
	2738	10		6	1	1	1		9	
	3148	10	1	3	1	2	1		8	
	3620	10	3	2	2	1			8	
	4146	10	1	5	1	1			8	
	4788	10	4	4	2				10	

Table 7 Distribution of death in rats treated intraperitoneally with TE-031

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Distribution of death (day)							Total deaths	LD ₅₀ (95% limit of confidence)
			1	2	3	4	5	6	7~14		
Male	500	10								0	669 mg/kg (610~727)
	575	10				1		1		2	
	661	10		4	3	1				8	
	760	10	2	2		2				6	
	875	10	6	2						8	
	1006	10	10							10	
	1157	10	9	1						10	
	1330	10	10							10	
Female	500	10								0	753 mg/kg (709~807)
	575	10								0	
	661	10		1		1				2	
	760	10	1	3						4	
	875	10	5	5						10	
	1006	10	8	2						10	
	1157	10	10							10	
	1330	10	10							10	

いては雌雄で5日後よりしこりが、さらに雌の1例では痂皮と7日後より壊死が観察された。

投与後の体重変動はFig. 7に示すように雌雄のいずれの投与群においても3日後まで減少が認められた。

2. 解剖所見

1) マウス

i) 経口投与

TE-031を経口投与したマウスでは、3日後までに死亡したほぼ全例に胃あるいは胃から回腸にわたりTE-031様物質の残留が観察された。その他、雌雄に十二指腸、空腸および回腸の出血、雄に肺の出血、雌に肺の鬱血が高用量投与群の少数例に観察された。観察期間終了時の生存例においては、雌雄とも顕著な変化は観察されなかった。

ii) 腹腔内投与

TE-031を腹腔内投与したマウスでは、投与24時間以内の死亡例全例に腹腔内にTE-031様物質の残留および腹水の貯留が観察された。投与24時間以後の死亡例では、雌雄に胃、十二指腸、空腸および回腸の出血、雌に腎の退色がそれぞれ高用量投与群の少数例に観察された。

観察期間終了時の生存例においては、雌雄とも顕著な変化は観察されなかった。

iii) 皮下投与

皮下投与では、投与部位において壊死した皮膚を中心にTE-031様物質の残留が観察され、その他、脾臓の肥大が雄の3200および4000 mg/kg 投与群および雌の4000 mg/kg 投与群に各1例ずつ観察された。

2) ラット

i) 経口投与

TE-031を経口投与したラットでは、雌雄とも多くの死亡例において胃にTE-031様物質の残留が観察され、さらに十二指腸から結腸にも同様な物質が観察される例、胃出血を伴う例が散見された。また、肺の鬱血および出

血が少数例に、胸腺の出血が約半数例に観察された。その他、脾臓および腎臓の虚血性変化および副腎の出血が1~2例にみられた。

観察期間終了時の生存例においては、麻酔致死に起因したと思われる肺と胸腺の鬱血および出血が散見された。その他、顕著な変化は観察されなかった。

ii) 腹腔内投与

TE-031を腹腔内投与したラットでは、雌雄とも死亡例に腹腔内にTE-031様物質の残留および腹水の貯留が観察され、雌雄の2~3例に胃の出血および胸腺の点状出血が観察された。その他、顕著な変化は観察されなかった。

観察期間終了時の生存例においては、麻酔致死に起因したと思われる肺の鬱血が少数例にみられた。

iii) 皮下投与

皮下投与では、投与部位において壊死した皮内にTE-031様物質の残留が観察された。その他、顕著な変化は観察されなかった。

3. 病理組織学的検査所見

1) マウス

TE-031を経口および腹腔内投与したマウスの肝臓および腎臓における病理組織学的検査所見をTable 9に示した。両投与経路とも死亡例では肝臓において単細胞および巣状壊死、びまん性の空胞変性および鬱血(Photo. 1)が、腎臓においては尿管上皮の壊死、脱落、空胞変性(Photo. 2)が認められた。その他の変化として経口投与では死亡例で、雄に胃粘膜の鬱血、雌に十二指腸上皮の脱落および出血、雌雄に限局した肺胞内への血液流入および鬱血が散見された。腹腔内投与では、雌雄の死亡例に胃および十二指腸における粘膜上皮の壊死、脱落および出血が観察された。

TE-031を皮下投与したマウスの投与部位の皮膚では、皮下組織にTE-031様の無構造物が観察され、さらに表

Table 8 Distribution of death in rats treated subcutaneously with TE-031

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Total deaths	LD ₅₀
Male	3200	10	0	> 5000 mg/kg
	4000	10	0	
	5000	10	0	
Female	3200	10	0	> 5000 mg/kg
	4000	10	0	
	5000	10	0	

Fig. 7 Changes in mean body weight of rats treated subcutaneously with TE-031

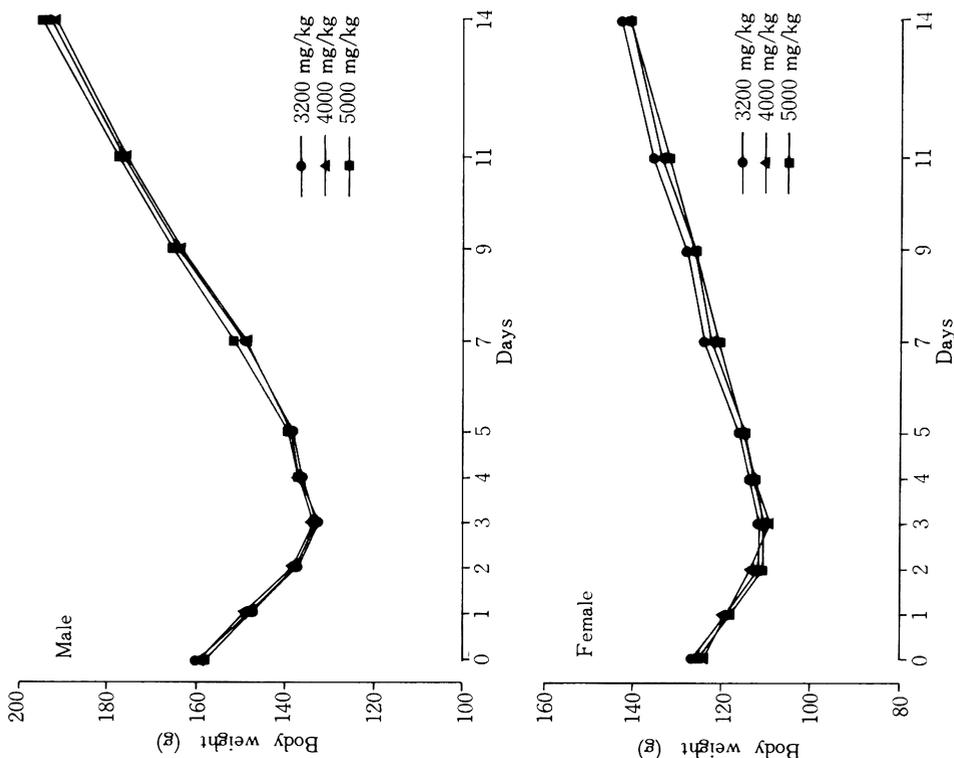


Fig. 6 Changes in mean body weight of rats treated intraperitoneally with TE-031

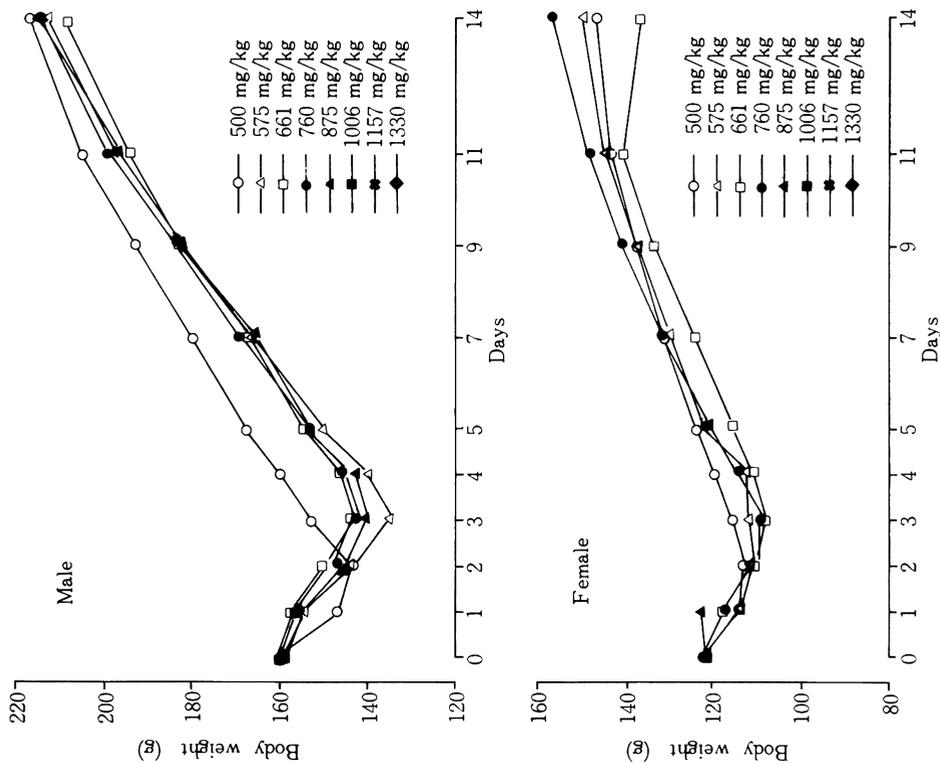


Photo. 1

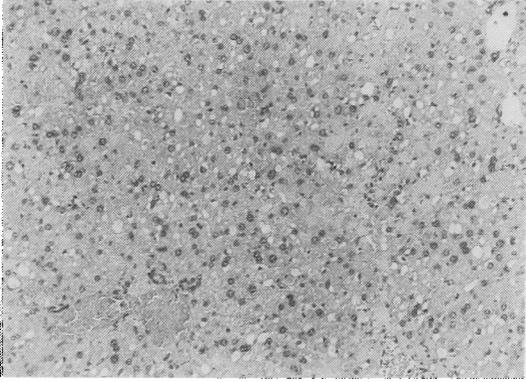


Photo. 4

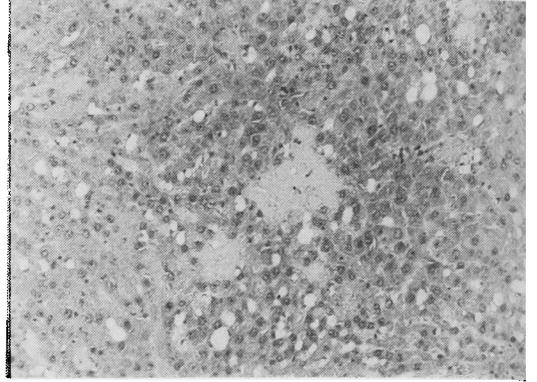


Photo. 2

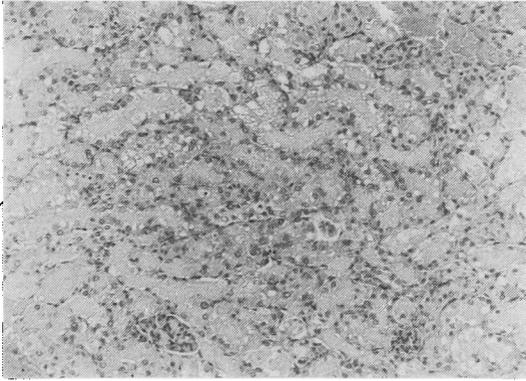


Photo. 5

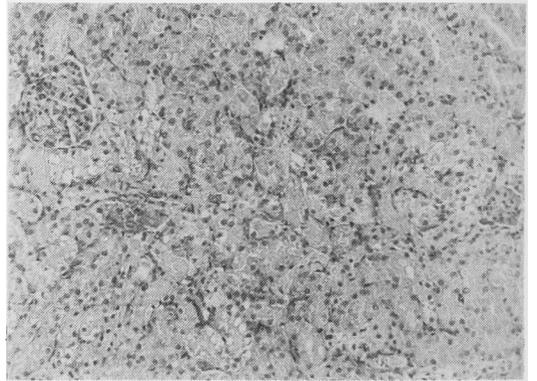


Photo. 3

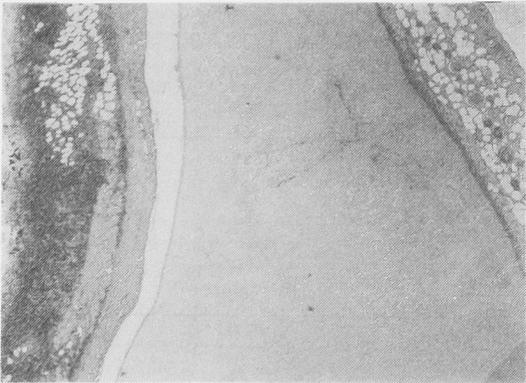
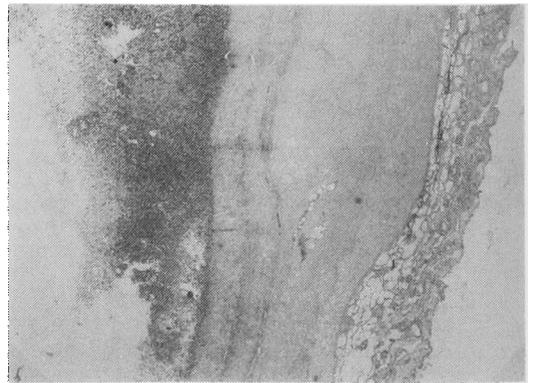


Photo. 6



皮および真皮の壊死，無構造物より下方の皮下組織に細胞浸潤および膿瘍，線維芽細胞の出現，膠原線維の増生を特徴とする再生像が観察された(Photo. 3)。その他，肝臓および腎臓における病理組織学的検査所見は Table 9 に示した。

2) ラット

TE-031 を経口および腹腔内投与したラットの肝臓および腎臓における病理組織学的検査所見を Table 10 に示した。両投与経路とも死亡例では肝臓において巣状壊死，びまん性の空胞変性および鬱血(Photo. 4)が，腎臓においては尿細管上皮の変性，空胞変性および壊死(Photo. 5)が認められた。その他の変化として胃粘膜上皮の出血，壊死および脱落，肺胞内への出血，胸腺の髄質領域での鬱血像が認められた。

TE-031 を皮下投与したラットの投与皮膚において，皮下組織に TE-031 様の無構造物が観察され，さらに表皮および真皮の壊死，無構造物より下方の皮下組織に細胞浸潤および膿瘍，さらに下方の皮下組織に線維芽細胞

の出現，膠原線維の増生を特徴とする再生像が観察された(Photo. 6)。その他，肝臓および腎臓における病理組織学的検査所見は Table 10 に示した。

4. LD₅₀ 値

マウスおよびラットにおける TE-031 の LD₅₀ 値の一覧を Table 11 に示した。

TE-031 の LD₅₀ 値は皮下投与で最も高く，経口，腹腔内投与の順であった。また，LD₅₀ 値をマウス，ラット間で比較した場合，腹腔内投与ではラットよりマウスが高値であったが，経口投与および皮下投与では動物種間で差はなかった。

Ⅲ. 考 察

Erythromycin 誘導体である TE-031 の急性毒性をマウスおよびラットにおける経口，腹腔内および皮下投与により検討した。

TE-031 をマウス，ラットに経口および腹腔内投与した場合，鎮静，呼吸数の減少，体温下降，眼瞼下垂等の

Table 9 Main histopathological findings in mice treated with TE-031

Organ	Finding	Route of administration				
		p.o.		i.p.		s.c.
		Death	Survival	Death	Survival	Survival
Liver	Single cell necrosis	2/2 2/2		1/2		2/10
	Focal necrosis	2/2 2/2		1/2		
	Focal necrosis and cell infiltration				2/12	
	Diffuse vacuolization	2/2 2/2		1/2	2/12 1/12	
	Centrilobular vacuolization		1/10 2/10		1/12	
	Congestion	2/2 2/2	3/10 2/10	2/2	3/12	2/10
	Mitotic figures		1/10			
	Extramedullary hematopoiesis				1/12	2/10
Kidney (Tubular epithelium)	Necrosis, desquamation and vacuolization	2/2 2/2		2/2		
	Regeneration		4/10 4/10		1/12 5/12	

upper : male lower : female

抑制様症状が観察された。また呼吸の逼迫，呼吸抑制に起因すると考えられる間代性痙攣により死亡する例がみられた。これらの抑制様症状は TE-031 が多量投与時に中枢抑制作用を有する可能性が示唆されていることより²⁾ 中枢性のもと考えられた。さらに同系薬剤である Erythromycin で呼吸抑制，間代性痙攣等³⁾ が，TMS-19-Q で運動抑制，鎮静，眼瞼下垂等が報告されていることより⁴⁾，TE-031 の経口および腹腔内投与による中毒症状は他のマクロライド系抗生物質でもみられる変化であり TE-031 に特異的なものではないと考えられた。一方，TE-031 の皮下投与では，マウスで中毒症状は観察されず，ラットで軽度な鼻出血，下腹部の汚れ等が観察

されたが抑制様症状はみられなかった。

解剖検査では TE-031 の経口投与により，マウスおよびラットの投与 3 日後までの死亡例で消化管内に TE-031 様物質の残留が認められた。死亡を含めた中毒症状が比較的長期間にわたり観察されたのは，この TE-031 の消化管における残留時間が長いことに起因するものと推察された。その他，消化管出血，呼吸障害に起因した肺の鬱血，出血等がみられたが，いずれも軽度な変化であった。消化管障害については，Erythromycin 等のマクロライド系抗生物質で報告されており^{5,6)}，TE-031 に特異的な変化ではないものと考えられた。

TE-031 の腹腔内投与によりマウスおよびラットでみ

Table 10 Main histopathological findings in rats treated with TE-031

Organ	Finding	Route of administration				
		p.o.		i.p.		s.c.
		Death	Survival	Death	Survival	Survival
Liver	Single cell necrosis		3/15		1/10	
	Focal necrosis	1/1		6/6 3/5		
	Diffuse vacuolization	1/1		6/6 4/5		
	Centrilobular vacuolization		10/14 4/15		10/12 5/10	5/10 3/10
	Congestion		5/14 5/15	4/4 2/4	2/12	2/10 4/10
Kidney (Tubular epithelium)	Necrosis and vacuolization	2/2		2/6 1/5		
	Regeneration		5/14 4/13			
	Degeneration		12/14 11/13		10/10 8/10	10/10 10/10

upper : male lower : female

Table 11 LD₅₀ values of TE-031

Animal	Route	LD ₅₀ and 95 % limit of confidence (mg/kg)	
		Male	Female
Mouse	p.o.	2740(2570~2930)	2700(2490~2920)
	i.p.	1030(942~1130)	850(791~ 922)
	s.c.	>5000	>5000
Rat	p.o.	3470(3210~3760)	2700(2380~2970)
	i.p.	669(610~ 727)	753(709~ 807)
	s.c.	>5000	>5000

られた変化は、腹腔内に残留した TE-031 様物質に起因した腹水等の変化を除いて、経口投与の場合にみられる変化とほとんど変わらないものであった。また腹腔内においても経口の場合と同様に消化管出血等の変化がみられたことにより、TE-031 による消化管障害には体内に吸収された TE-031 の関与も考えられた。

TE-031 の皮下投与では、死亡例はみられずマウス、ラットとも投与部位の皮膚に壊死、脱落等の炎症性変化がみられ、皮下には TE-031 様物質の残留が観察された。病理組織学的には表皮および真皮の壊死性変化、皮下組織の TE-031 様物質を囲む炎症性ならびに組織修復性変化が確認された。これらは皮下への薬物多量投与による異物排除反応ならびに圧迫性の血行不良によるものと考えられ、皮下吸収の不良な物質投与時によくみられる変化である。

主要臓器である肝臓および腎臓の病理組織学的変化では、マウス、ラットの経口および腹腔内投与の死亡例で壊死性変化が認められた。皮下投与ではマウスの雄にのみ、少数例で肝臓の単細胞壊死がみられたが、軽度であり TE-031 に起因した変化とは断定できなかった。経口および腹腔内投与でみられた変化のうち、肝臓では、軽度な散在性の単細胞および巣状の肝細胞壊死が認められた。マクロライド系抗生物質の肝臓障害については多くの報告があり⁷⁻⁹⁾、肝臓の病理組織学的変化は、TE-031 に特異な毒性ではないものと考えられた。

腎臓では、散在性の尿細管上皮の壊死、脱落等が認められた。多くの抗生物質を含め腎臓毒性を有する薬剤は、腎内での障害部位が明確にされており近位尿細管障害を惹起するものが多い¹⁰⁾。TE-031 投与によりみられた尿細管上皮の壊死は、散在性で明確な局在がなかったこと、腎臓毒性試験¹¹⁾では、ほとんど障害性の変化がみられなかったこと、またヒトにおいて Erythromycin の腎臓毒性はないとされていることより¹²⁾、腎臓の病理組織学的変化は、致死量に近い過量投与により生ずるもので、TE-031 は腎臓に対し、特異な毒性は有さないものと考えられた。

LD₅₀ 値はマウス、ラットとも腹腔<経口<皮下の順であるが、中毒症状はマウス、ラットとも経口および腹腔内の投与経路で本質的な差はみられず、また皮下投与では、中毒症状はほとんどみられなかった。これらのことより、LD₅₀ 値の差は、投与部位による吸収の差に起因するものと考えられた。その他解剖所見および病理所見はいずれも他のマクロライド系抗生物質においてもみられるもので、TE-031 に特異的な毒性はないものと考えられた。

(試験期間：昭和59年9月～昭和60年10月)

文 献

- 1) 第35回日本化学療法学会総会，新薬シンポジウム I。TE-031，盛岡，1987
- 2) 妹尾直樹，成田 聡，垣内美佐子，木村めぐみ，若松朋子・TE-031の一般薬理試験(未発表)
- 3) ANDERSON, R. C.; P. N. HARRIS & K. K. CHEN: The toxicity and distribution of Ilotycin. J. Amer. Pharmacol. Assoc. 41: 555~559, 1952
- 4) 松本一彦，宇野豊彦，佐野光一，渡辺秀之，白岩和己，矢野譲次，早野和夫：TMS-19-Qの安全性に関する研究(1)急性毒性試験およびラットにおける亜急性毒性試験。Chemotherapy 32: 138~149, 1984
- 5) SANFILIPPO, J. A.: Infantile hypertrophic pyloric stenosis related to ingestion of erythromycin estolate: a report of five cases. J. Ped. Surg. 11: 117~180, 1976
- 6) WEIDEMA, W. F.; M. F. VON MEYENFELDT, P. B. SOETERS, R. I. C. WESDORP & J. M. GREEP: Pseudomembranous colitis after whole gut irrigation with neomycin and erythromycin base. Br. J. Surg. 67: 895~896, 1980
- 7) DUJOVNE, C. A. & A. S. SALHAB: Erythromycin estolate vs. erythromycin base, surface excess properties and surface scanning changes in isolated liver cell system. Pharmacology 20: 285~291, 1980
- 8) DUJOVNE, C. A.: Liver cell culture toxicity and surfactant potency of erythromycin derivatives. Toxicol. Appl. Pharmacol. 32: 11~20, 1975
- 9) SANDERS, W. E. & C. C. SANDERS: Toxicity of antibacterial agents: Mechanism of action on mammalian cells. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 19: 53~83, 1979
- 10) 高橋日出彦：9.腎毒性，くすりの毒性，242~274頁，南江堂，1973
- 11) 阿部訓志，山田久陽，吉田依世，中根貞雄：TE-031の毒性試験(第19報)ラットにおける腎臓毒性試験(1)21日間連続投与による検討。基礎と臨床22(7): 1606~1619, 1988
- 12) 宮原正：中毒性腎症。医学のあゆみ 119: 431~437, 1981

TOXICITY STUDIES ON TE-031(A-56268) I. ACUTE TOXICITY TEST IN MICE AND RATS

SATOSHI ABE, YOSHINOBU IWAKI, HISAHARU YAMADA, MASANOBU KOIKE and SADA0 NAKANE
Research Center, Taisho Pharmaceutical Co.,Ltd., Saitama

Acute toxicity of TE-031(A-56268), a new macrolide antibiotic, was studied in mice and rats treated orally, intraperitoneally or subcutaneously, and the following results were obtained.

As toxic signs, depressive symptoms such as sedation, slow respiration, subnormal temperature and ptosis were observed in mice and rats receiving oral or intraperitoneal treatment. But with subcutaneous administration, these symptoms were not observed in either mice or rats. As necropsy findings, hemorrhage in the digestive system was found in mice and rats given the drug orally or intraperitoneally.

Histopathological examination revealed lesions corresponding to the necropsy findings. In mice and rats treated subcutaneously, residues of a TE-031-like substance were observed mainly in the necrotic subcutis at the injection site. Histopathological examination of the liver and kidney revealed small scattered necroses in dead mice and rats treated orally or intraperitoneally.

LD₅₀ values calculated on the basis of mortality on the 14 th day of administration were in the order of subcutaneous, oral and intraperitoneal administration in both mice and rats. The values by oral administration (the clinical route) were 2740 mg/kg in male mice, 2700 mg/kg in female mice, 3470 mg/kg in male rats, and 2700 mg/kg in female rats.

Since the above toxic changes caused by TE-031 also occur with other macrolide antibiotics, TE-031 was considered not to have any specific toxicity.