

RU 28965の幼若ラットにおける経口投与急性毒性試験

古橋忠和・牛田和夫
株式会社野村生物科学研究所

RU 28965を生後4日目のラットに経口投与し、その急性毒性について検討した。

LD₅₀値は雄で858 mg/kg, 雌で830 mg/kgであった。

体重では投与各群で減少あるいは増加抑制がみられた。

一般状態では投与後1日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制がみられた。

死亡例は雌雄ともに投与後1日目の午前から投与後4日目の午前の間にみられた。

剖検では死亡例の約半数に肺の暗赤色化が、生存例では肋骨の結節が投与群でみられた。

RU 28965はErythromycin由来の抗生物質であり、Fig. 1の構造を有する。今回、著者らはRU 28965の幼若ラットにおける経口投与急性毒性試験を実施したので、その結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

RU 28965[ロット番号5 S 0264, 純度987 μg/mg(脱水物換算)]は、日本ルセル株式会社より提供された。

RU 28965は用時に局方カルボキシメチルセルロースナトリウム(以下, CMC-Na)と局方注射用蒸留水と一緒に瑪瑙乳鉢を用いて懸濁調製した。

2. 使用動物および飼育環境

Sprague-Dawleyラット(Crj: CD, SPF動物)を雄11週齢, 雌10週齢で日本チャールス・リバー株式会社より購入した。入手時に雄3匹, 雌5匹を選び, 血中抗体価測定(HVJ, *Mycoplasma pulmonis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri*)および内部器官の肉眼的検査を行ったが, 異常は認められなかった。

入手後11日間予備飼育し, その間一般状態に異常がなく, 体重増加の順調な動物を試験に用いた。

予備飼育期間終了後, ラットを雌雄2:1で同居させ, 妊娠動物から自然分娩で得られた出生仔の出生日を生後0日として試験に用いた。

動物は室温23±2℃, 相対湿度55±10%, 明暗各12時間(照明時間: 午前6時~午後6時)および換気回数約20回/時間に設定されたバリエー動物室で木屑床敷入りのプラスチックケージで飼育した。固型飼料[CRF-1; オリエンタル酵母工業(株)販売]および水(水道水)を自由に摂取させた。なお, 飼育中に試験系に影響を及ぼすような環境要因の異常はみられなかった。

3. 投与量および投与方法

1腹の匹数が8匹以上の親動物を用いた。投与後の哺

育匹数の差による影響を少なくするため, 投与前に各腹雌雄4匹(腹内の動物番号, 雄: 1~4, 雌: 1~4), 計8匹に調整した。1腹あたりの群構成は雌雄各3匹をそれぞれ異なる投与群, 残る雌雄各1匹を対照群とした。投与各群には雌雄各10匹, 対照群には雌雄各20匹を群分けした。なお, 幼若動物は親動物に哺育させたままの条件で投与およびその後の観察を行った。

投与経路は計画臨床投与経路に準じて経口投与とし, 生後4日目に単回投与した。

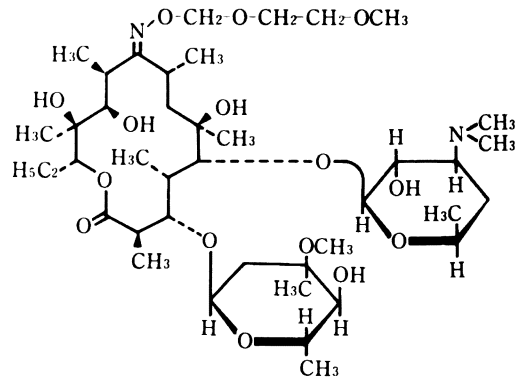
投与量は30 ml/kg 体重とし, 対照群には0.5% CMC-Na溶液を投与した。

4. 観察および検査

1) 一般状態, 死亡状況および死亡率

投与直後から6時間は継続して, その後14日間は1日2回, 一般状態ならびに死亡状況を観察し, 観察終了日までの累積死亡数から死亡率を算出した。なお, 観察時に行方不明の幼若動物ならびに体の一部しか残っていない幼若動物は, 死亡した幼若動物を親動物が食殺したものと判断し, 累積死亡数に加えた。LD₅₀値は観察期間

Fig. 1 Chemical structure of RU 28965



中の累積死亡率から Probit 法で算出した。

2) 体重測定

体重は投与日、投与後 1, 2, 4, 7, 9, 11 および 14 日に測定した。

3) 剖検

死亡例はすみやかに剖検した。生存例は投与後 14 日目に、ペントバルビタールナトリウム麻酔下に頸動脈より放血致死させ剖検し、胸腹部器官について異常の有無を肉眼的に観察した。

II. 実験成績

1. LD₅₀ 値

LD₅₀ 値は Table 1 に示したように、雄で 858 mg/kg、雌で 830 mg/kg であった。

2. 体重

体重の減少あるいは増加抑制が投与後 1 日目から投与各群の雌雄でみられ、455 mg/kg 投与群の雄で投与後 7 日目まで、雌で投与後 9 日目まで、592 mg/kg 以上の投与各群の雌雄で投与後 14 日目まで認められた。また、投与日から投与後 14 日までの体重増加量の減少が 592 mg/kg 以上の投与各群の雌雄でみられた。

3. 一般状態

以下に一般状態および死亡状況 (Table 1) の概略を記す。

1) 雄

対照群: 観察期間中、全例に異常はみられなかった。

455 mg/kg 投与群: 投与後 2 日目の午前および午後吸乳行動の抑制および自発運動の抑制が数例にみられた。

592 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 2 日目の午前に 2 例が死亡した。生存例では上記の症状は投与後 7 日目の午前までに回復した。

769 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 2 日目の午前までに 4 例が死亡した。生存例では投与後 4 日目の午前までに上記の症状は回復した。

1,000 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 4 日目の午前までに 8 例が死亡した。生存例では投与後 7 日目の午前までに上記の症状は回復した。

1,300 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 3 日目の午前までに 7 例が死亡した。生存例では投与後 6 日目の午前までに上記の症状は回復した。

1,690 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与

後 3 日目の午前までに全例が死亡した。

2) 雌

対照群: 観察期間中、全例に異常はみられなかった。

455 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられたが、投与後 5 日目の午前までに上記の症状は回復した。

592 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 1 日目の午後に 1 例が死亡した。生存例では投与後 7 日目の午前までに上記の症状は回復した。

769 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 4 日目の午前までに 4 例が死亡した。生存例では投与後 5 日目の午前までに上記の症状は回復した。

1,000 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 3 日目の午後までに 7 例が死亡した。生存例では投与後 4 日目の午後までに上記の症状は回復した。

1,300 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 2 日目の午後までに全例が死亡した。

1,690 mg/kg 投与群: 投与後 1 日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制を示す例がみられ、投与後 3 日目の午前までに全例が死亡した。

4. 剖検所見

食殺が 592 mg/kg 以上の投与各群の雄ならびに 769 mg/kg 以上の投与各群の雌で、それぞれ 1-3 例にみられた。

死亡例では肺の暗赤色化が雌雄ともに約半数例でみられた。

生存例では肋骨の結節が 455 mg/kg 投与群の雌雄でそれぞれ 3 例、769 mg/kg 投与群の雌および 1,300 mg/kg 投与群の雄でそれぞれ 1 例にみられた。その他には RU 28965 投与と関連すると思われる異常は認められなかった。

III. 考察

RU 28965 を生後 4 日目のラットに経口投与し、その急性毒性について検討した。LD₅₀ 値は雄で 858 mg/kg、雌で 830 mg/kg であり、性差は無いと考えられる。成熟ラットへの経口投与時の LD₅₀ 値は雄で 1,059 mg/kg、雌で 1,712 mg/kg であり¹⁾、幼若動物では成熟動物に比べて毒性がやや強く発現した。他のマクロライド系、ペニシリン系およびセファロsporin 系抗生物質では、通常幼若動物の LD₅₀ 値は成熟動物のそれと比べて低い傾向にあり²⁻⁴⁾、RU 28965 においても同様の結果が得られた。

体重では雌雄ともに投与各群で減少あるいは増加抑制

Table 1 Mortalities and LD₅₀ values of juvenile rats in acute toxicity study by oral administration of RU 28965

Sex	No. of animals	Dosage mg/kg	No. of dead animals																	Mortality	LD ₅₀ mg/kg (95% C.L.)						
			Hour					Day																			
			0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14										
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/20				
	10	455	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10				
Male	10	592	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/10				
	10	769	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10	858		
	10	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8/10	(728 ~ 1009)	
	10	1300	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7/10		
	10	1690	0	0	0	0	0	0	0	0	1	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10/10		
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/20		
	10	455	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10		
Female	10	592	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10		
	10	769	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10	830
	10	1000	0	0	0	0	0	0	0	2	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7/10	(730 ~ 944)
	10	1300	0	0	0	0	0	0	0	7	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10/10	
	10	1690	0	0	0	0	0	0	0	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10/10	

Mortality = No. of dead animals / No. of treated animals

がみられた。

死亡例は雌雄ともに投与後1日目の午前から投与後4日目の午前の間にみられた。

一般状態では、投与各群で投与後1日目の午前から吸乳行動の抑制および自発運動の抑制がみられたが、生存例では投与後7日目の午前までに回復した。

死亡例の剖検では肺の暗赤色化が約半数例でみられた。本試験の死亡例は吸乳行動の抑制により、投与後1日目～4日目の間に衰弱死したと考えられる。

生存例の剖検では肋骨の結節が雄の455 mg/kg および1,300 mg/kg 投与群、雌の455 mg/kg および769 mg/kg 投与群でみられた。当所のバックグラウンドデータでは肋骨の結節が体重減少のみられた5%アラビアゴム液投与群の幼若動物で認められている。本試験では投与各群で体重の減少あるいは増加抑制がみられていることから、RU 28965投与により発育が抑制され、それに伴い一時

的に肋骨の成長も抑制され結節が形成されたと考えられる。

(試験期間:昭和61年2月～昭和61年12月)

IV. 文 献

- 1) RU 28965のラットにおける経口投与急性毒性試験(未発表)
- 2) DONE, A. K. : Perinatal pharmacology, Ann. Rev. Pharmacol. 6, 189~208, 1966
- 3) GOLDENTHAL, E. I. : A comparison of LD₅₀ values in newborn and adult animals, Toxicol. Appl. Pharmacol. 18, 185~207, 1971
- 4) 小児の薬用量, "第8回改正日本薬局方第1部解説書", pp.199~208, 日本公定書協会, 広川書店, 東京, 1971

ACUTE TOXICITY STUDY OF RU 28965 BY ORAL ADMINISTRATION TO JUVENILE RATS

TADAKAZU FURUHASHI and KAZUO USHIDA
NRI Life Science

We carried out an acute toxicity study of RU 28965 by oral administration to 4-day-old rats.

LD₅₀ values were 858 and 830 mg/kg for males and females, respectively. Decrease or suppression of body weight gain was observed in the treated groups. General signs, such as depression of suckling behavior and spontaneous movement, were observed from day 1 after administration. Dead animals were found on days 1 to 4 after administration. Necropsy revealed dark-reddish lungs in half of the dead and nodulated ribs in several surviving animals.