

合成抗菌剤 T-3262 のラット 6 カ月間経口投与慢性毒性試験

米田豊昭・河村泰仁・柴田哲夫・長沢峰子

吉田一晴・鬼頭暢子

富山化学工業株式会社総合研究所*

新しいピリドンカルボン酸系合成抗菌剤である T-3262 の、ラット 6 カ月間経口投与慢性毒性試験を 80 mg/kg, 400 mg/kg, 2000 mg/kg の用量群を設定して行ない、以下の結果を得た。

1) 2000 mg/kg, 400 mg/kg 群で軽度の軟便が観察されたが発育は順調であり、対照群に較べ体重が増加する傾向があった。

2) 尿沈渣中に、検体析出によると思われる結晶が、2000 mg/kg, 400 mg/kg 群の 3~9/20 例に、80 mg/kg 群の 1/20 例にそれぞれ観察された。

3) A/G 比の上昇が 2000 mg/kg, 400 mg/kg 群で認められ、蛋白分画では β あるいは γ グロブリン比が減少を示した。A/G 比上昇は休薬により回復を示した。

4) 用量依存性の盲腸腔の拡張が、各投与群の全例に観察された。

5) 組織学的検査では、腎尿管腔での結晶析出が、2000 mg/kg 群の 5/34 例、400 mg/kg 群の 3/38 例に観察された。また、2000 mg/kg 群と 400 mg/kg 群の少数例に、腎皮質の間質細胞浸潤が軽度認められた。2000 mg/kg 群の 2 例に、尿管上皮の変性、腔の拡張、尿管円柱が、また 400 mg/kg 群の 1 例に、尿管上皮の変性壊死がそれぞれ軽度~中等度に認められた。

6) 最大無影響量は 80 mg/kg であった。

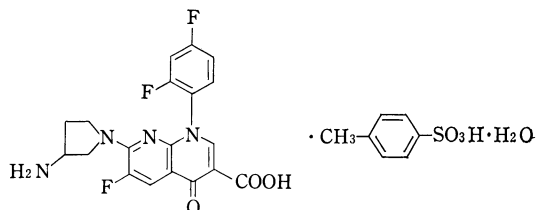
Key words : 合成抗菌剤 T-3262, ラット, 慢性毒性試験

富山化学工業(株)で新しく開発された T-3262 は、グラム陽性菌、陰性菌また嫌気性菌に対して広範囲な抗菌スペクトラムを有する合成抗菌剤である。今回、ラット 6 カ月間経口投与慢性毒性試験を行なったのでその結果を報告する。本試験の投与は昭和 60 年 12 月 25 日から昭和 61 年 6 月 22 日まで行なった。

I. 実験材料及び方法

1. 被験検体

T-3262 は Fig. 1 に示す化学構造と化学名を有し、ジメチルホルムアミドに溶けやすく、メタノールにやや溶



(±)-7-(3-amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid *P*-toluenesulfonate hydrate

Fig. 1. Chemical structure and chemical name of T-3262.

けやすく、水、アセトン、クロロホルム、酢酸エチル、エーテル又は *n*-ヘキサンにほとんど溶けない白色~淡黄色の結晶又は結晶性の粉末である。本試験には当社製造の Lot AP 004, AP 005 を使用した。

2. 使用動物及び飼育条件

SD 系ラット (日本クレア, SD-Jcl, SPF), 190 匹 (雄 95, 雌 95) を使用して実験を行なった。動物は 4 週齢で購入し、2 週間の検疫予備飼育の後、6 週齢で試験を開始した。飼育環境は、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 40~60%、12 時間人工照明 (6:00~18:00) とし、金属製ケージに 5 匹/ケージ収容し、固型飼料 (CE-2, 日本クレア, 高圧蒸気滅菌) と紫外線殺菌処理水を自由に与えて飼育した。個体識別は耳バンチ、色素塗布及びケージカードで行なった。投与開始時の体重は、雄 164~199 g, 雌 138~168 g であった。

3. 投与量設定と投与方法

本試験の最高投与量は、先に実施した T-3262 のラット 28 日間経口投与亜急性毒性試験¹⁾の結果を参考にして決定した。亜急性毒性試験では、最高量の 3000 mg/kg (20% 懸濁液, 15 ml/kg) 連続投与でも 28 日間の投与に耐えた。しかし、本試験の投与期間は 6 カ月間に

* 〒930 富山市下奥井 2-4-1

Table 1. Experimental design of six months' oral chronic toxicity study in rats with T-3262

Experimental group	Concentration of T-3262 (%)	Volume (ml/kg)	Number of rats			
			Six months' study		Recovery study	
			Male	Female	Male	Female
Control (5% acacia)	0	10	20	20	5	5
T-3262 80 mg/kg	0.8	10	20	20	—	—
T-3262 400 mg/kg	4	10	20	20	5	5
T-3262 2,000 mg/kg	20	10	20	20	5	5

—: Not tested

およぶので、長期間連続経口投与の場合の最大液量とされている 10 ml/kg を基準にして 2 000 mg/kg (20% 懸濁液) を最高量とした。他に 400 mg/kg, 80 mg/kg 投与群及び対照群を設定し、動物を Table 1 に示すように配分した。

T-3262 は 5% アラビアゴム (鈴粉末薬品) 水溶液に懸濁し、ラット用胃管を用いて 1 回/日, 7 回/週, 6 カ月間の強制経口投与を行なった。対照群には 5% アラビアゴム水溶液を同様に投与した。なお、T-3262 の 20% 懸濁液は 5°C で 10 日間以上安定であることが確認されていたので、1 週間分をまとめて調製して冷蔵庫に保存し、使用時に希釈して用いた。

回復試験用として 2000 mg/kg 群, 400 mg/kg 群, 対照群に雌雄各 5 匹を配分し、1 カ月間の休薬期間を置いた後、検査を行なった。

4. 検査

1) 症状観察と体重測定

毎日、全例で行なった。死亡例は発見後すみやかに剖検し、病理学的検索を行なった。

2) 摂餌量, 摂水量の測定

1 週間毎に全ケージについて測定し、ラット 1 匹当たりの 24 時間摂取量を算出した。

3) 尿検査

投与 3 カ月後と 6 カ月投与終了時に各群の 20 匹 (雄 10, 雌 10) について、さらに回復期間終了時に 2000, 400 mg/kg 投与群及び対照群の各 10 匹 (雄 5, 雌 5) について尿検査を行なった。ラットを個別代謝ケージに収容し、午後 4 時から翌朝 9 時までの 17 時間蓄尿を採取して以下の項目を検査した。

尿量 (ml/17 hrs.)

pH, 糖, ケトン体, 潜血, ビリルビン, ウロビリノゲン (Multistix[®], マイルス・三共)

NAG (N-アセチル β -D-グルコサミニダーゼ, MCP-NAG 法)

蛋白 (Pyrogallol red 法)

Na, K (日立 205 D 形炎光光度計)

比重 (屈折計)

尿沈渣

4) 血液学的検査

投与終了時と回復終了時にエーテル麻酔下で大腿部静脈から採血 (EDTA-2K 処理) し、以下の検査を行なった。

赤血球数 (Coulter counter, DN 型)

白血球数 (Coulter counter, DN 型)

ヘマトクリット値 (毛細管遠心法)

ヘモグロビン濃度 (Cyanmethemoglobin 法)

白血球百分率 (塗抹, May-Giemsa 染色)

血小板数 (希釈遠心法, 自動血小板計数装置, PL-100 型, 東亜医用電子)

網赤血球数 (New methylene blue による超生体染色)

5) 血液化学検査

投与終了時と回復終了時にエーテル麻酔下で開腹し、腹部の大静脈から採血して得た血清を用いて以下の検査を行なった。

GOT (Karmen 法, オートセラ[®] GOT, 第一化学)

GPT (Karmen 法, オートセラ[®] GPT, 第一化学)

アルカリフォスファターゼ (ALP: Bessey-Lowry 法, オートセラ[®] ALP, 第一化学)

コリンエステラーゼ (Ch-E: DTNB 法, CHE 試薬, 国際試薬)

総コレステロール (酵素法, オートセラ[®] CHO-2, 第一化学)

尿素窒素 (Urease-Indophenol 法, オートセラ[®] UN, 第一化学)

総ビリルビン (Michaëlsson 法, オートセラ[®] BIL, 第一化学)

血糖 (Glucose Oxidase 法, オートセラ[®] GLU, 第一化学)

総蛋白 (Biuret 法, オートセラ[®] TP, 第一化学)

クレアチニン (Jaffe 法, オートセラ[®] CRE, 第一化学)

リン脂質 (酵素法, オートセラ[®] PL-2, 第一化学)
 トリグリセライド (酵素法, オートセラ[®] TG, 第一化学)

カルシウム (OCPC法, オートセラ[®] CA, 第一化学)
 無機リン (Fiske-Subarrow 法, オートセラ[®] IP, 第一化学)

以上, 日立 705 形自動分析装置で測定。

Na, K (日立 205 D 形炎光度計)

A/G 比, 蛋白分画 (セルロースアセテート膜電気泳動法)

6) 眼科的検査

投与終了時と回復終了時に全例を散瞳 (ミドリン P[®], 参天製薬) させ, エーテル麻酔下で視覚器の外観検査と, 直像鏡を用いての眼底観察を行なった。さらに対照群と 2000 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例, 及び直像鏡で異常のみられた例については眼底カメラ (コワ RC-2) で視神経乳頭周囲を撮影した。

7) 剖検および組織学的検査

投与終了時と回復終了時に, エーテル麻酔下で腹部血管切断により放血死させ, 剖検を行なった。肉眼的観察後, 脳, 下垂体, 唾液腺, 甲状腺, 胸腺, 心, 肺, 肝, 腎, 脾, 副腎, 盲腸, 精巣, 精囊+前立腺, 卵巣, 子宮の重量を測定し, これに気管, 脾, 食道, 胃, 小腸, 大腸, 膀胱, 腸間膜リンパ節, 下顎部リンパ節, 眼球, ハーダー腺, 大腿部骨格筋, 脊髄, 舌, 皮膚, 胸骨, 大腿骨 (骨髄を含む), 膝関節, 精巣上部, 腔, 乳腺, 肉眼的異常部位を加えた器官を 10% ホルマリン固定 (眼球は, 5% グルタルアルデヒド, 10% リン酸緩衝ホルマリン混合液固定, 骨組織は固定後脱灰) し, パラフィン包埋, ヘマトキシリン・エオジン染色して組織学的検査を行なった。なお, 組織学的検査は, 対照群と 2000 mg/kg 投与群については全例の全臓器について行なったが, 他の投与群は肉眼的異常の見られた部位や, 検査結果からみて必要と思われた器官についてのみ行なった。

8) 電子顕微鏡的観察

投与終了時と回復終了時に, 対照群と 2000 mg/kg 群の雄 2 例の肝と腎を剖検時直ちに採取し, 型のごとく 1% オスミウム酸固定 (0.1 M, S-コリジン緩衝液) 後, エボン包埋し, 酢酸ウラニル・クエン酸鉛二重染色して電子顕微鏡的観察を行なった。

9) 統計処理

各群の平均値と標準偏差を算出し, 対照群との差を STUDENT の t 検定で統計処理した。

II. 実験結果

1. 症状と死亡経過

投与期間中に 13 例 (対照群 1 例, 80 mg/kg 群 2 例,

400 mg/kg 群 2 例, 2000 mg/kg 群 8 例) が死亡した。しかし, これら死亡例のうち 12 例は剖検結果からみて明らかに誤投与による死亡であり, 他の 1 例も取扱ミスによる事故死であったので, これら死亡例は試験系から除外した。

T-3262 投与開始翌日から軽度の軟便が 2000 mg/kg 群と 400 mg/kg 群の雌雄に出現した。400 mg/kg 群の軟便は 5 週以降正常便となったが, 2000 mg/kg 群の軟便は投与期間を通じて観察された。この軟便は休業により消失した。

投与 5 カ月を経過した頃から, 直径 1.5~4 cm の, 可動性でやや硬い腫瘤が 3 例 (対照群 1 例, 80 mg/kg 群 2 例) の腋窩部皮下に出現した。対照群の 1 例と 80 mg/kg 群の 1 例の皮下腫瘤は, その後, わずかではあるが大きくなり, 穿孔して皮膚に痂皮を形成した。残りの 80 mg/kg 群 1 例の腋窩部皮下腫瘤は, 発見後約 2 週間皮下に触知できたが, 以後触れなくなり, 投与終了時には認められなくなっていた。

2. 体重の推移

体重増加曲線を Fig. 2 に示す。各投与量群とも順調な体重増加を示しており, 2000 mg/kg 群の雌雄と 400

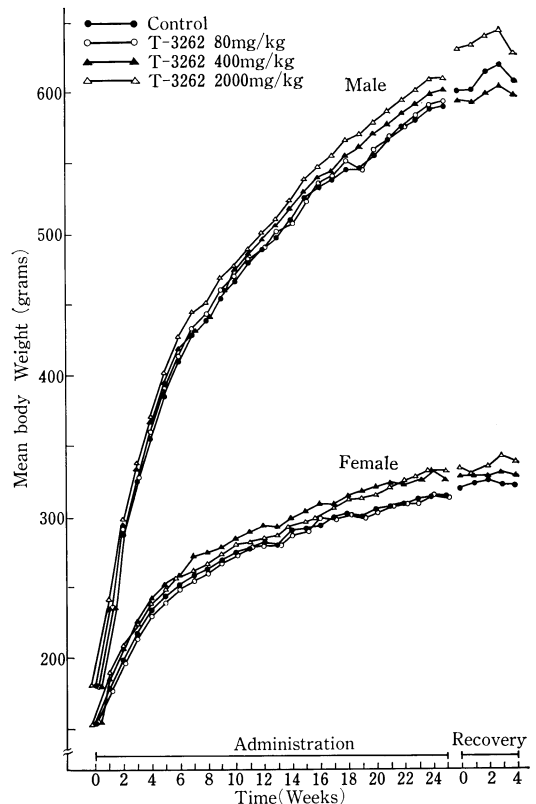


Fig. 2. Growth curves in rats administered orally with T-3262 orally for 6 months.

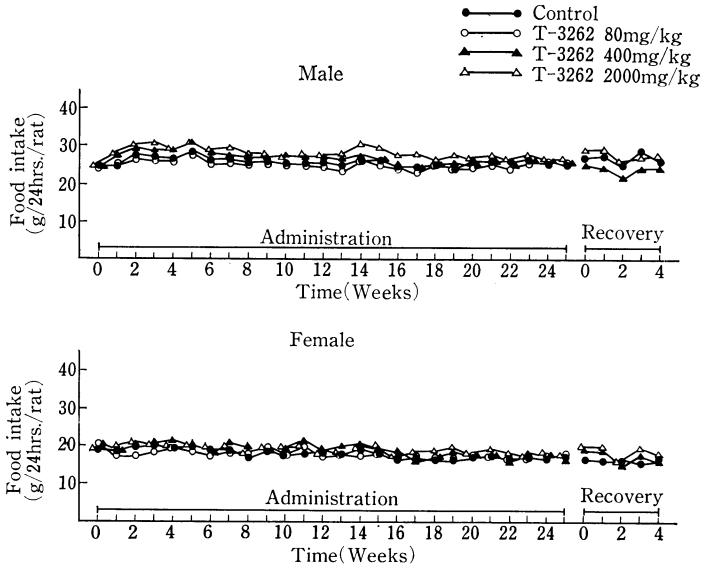


Fig. 3. Food intake in rats administered orally with T-3262 for 6 months.

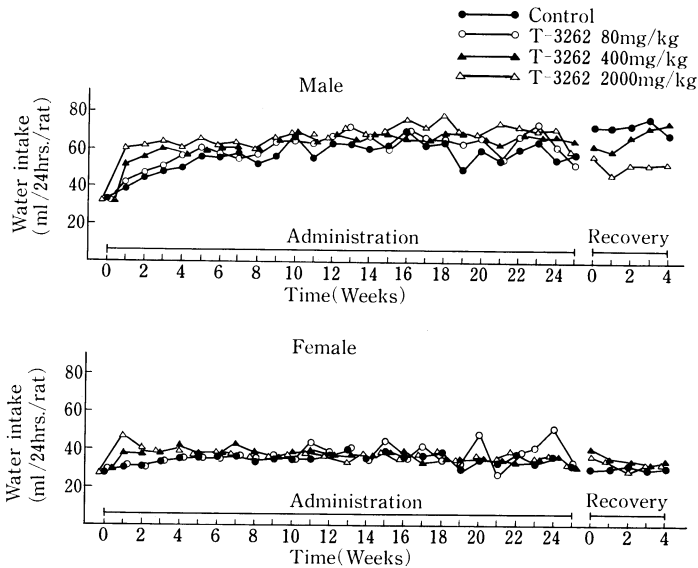


Fig. 4. Water intake in rats administered orally with T-3262 for 6 months.

mg/kg 群雌では、対照群より体重が増加する傾向がみられた。

3. 摂餌量と摂水量

摂餌量を Fig. 3 に、摂水量を Fig. 4 に示す。2000 mg/kg 群と 400 mg/kg 群の雌雄は、対照群よりもやや多い摂餌量を示した。また 2000 mg/kg 群、400 mg/kg 群の雌雄では、投与初期に摂水量の増加が認められた。

4. 尿検査

T-3262 投与 3 カ月後と 6 カ月後の検査結果を Table 2 に、回復試験の検査結果を Table 3 に示す。3 カ月

後、6 カ月後の検査結果では、検体投与に起因すると思われる明かな異常はみられなかった。

なお、尿沈渣中に、検体の析出と思われる直径 10～30 μm のイガ栗状の結晶 (Photo. 1) が観察される例があった。この結晶は 2000 mg/kg 群の 3 カ月後検査で 6/20 例、6 カ月後検査で 5/20 例に、400 mg/kg 群の 3 カ月後検査で 9/20 例、6 カ月後検査で 3/20 例に、80 mg/kg 群の 6 カ月後検査で 1/20 例に、それぞれ認められた。この結晶は回復試験の尿沈渣中には観察されなかった。

Table 2. Urinalysis in rats administered orally with T-3262 for 6 months

Item	Sex	After three months (n=10)				After six months (n=10)			
		Control	80 mg/kg	400 mg/kg	2,000 mg/kg	Control	80 mg/kg	400 mg/kg	2,000 mg/kg
Volume (ml/17 hr)	♂	19.5±8.07	19.7±6.27	22.6±9.84	19.4±10.44	15.4±7.95	17.1±7.13	23.5±10.89	19.7±9.33
	♀	13.2±5.35	14.2±4.45	11.6±5.52	13.6±5.41	13.3±8.05	18.8±10.68	11.8±3.96	15.0±12.18
pH	♂	7	7	7	6~7	7	7	7	6~8
	♀	7~8	7~8	6~7	6~7	7~8	7~8	6~7	6~7
Glucose	♂	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
	♀	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
Ketone bodies	♂	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
	♀	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
Occult blood	♂	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)±(1)	-(10)	-(10)	-(9)±(1)
	♀	-(10)	-(10)	-(9)±(1)	-(10)	-(8)±(2)	-(10)	-(10)	-(10)
Bilirubin	♂	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
	♀	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
Urobilinogen	♂	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)
	♀	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)	±(10)
NAG (mU/17 hr)	♂	156.8±45.83	193.9±28.91*	151.2±41.25	193.8±42.15	180.6±57.33	219.3±48.50	187.9±59.07	192.4±59.00
	♀	83.2±32.37	66.6±15.66	76.8±19.71	84.1±25.07	94.5±19.28	105.9±21.52	87.9±11.40	107.5±38.28
Protein (mg/17 hr)	♂	8.8±1.99	10.4±3.00	8.7±2.71	8.2±2.57	8.0±3.24	9.2±2.12	8.8±2.24	9.2±2.86
	♀	1.9±1.18	1.3±0.21	1.3±0.51	1.4±0.63	2.3±1.57	3.1±2.56	1.9±0.64	7.4±11.46
Sodium (mEq/17 hr)	♂	1.0±0.23	1.2±0.23	1.1±0.23	1.1±0.30	1.1±0.37	1.3±0.26	1.3±0.37	1.1±0.80
	♀	0.9±0.30	0.9±0.28	0.9±0.22	0.9±0.35	1.0±0.41	1.2±0.28	0.8±0.24	1.0±0.45
Potassium (mEq/17 hr)	♂	1.7±0.50	2.1±0.53	1.9±0.66	1.9±0.80	1.6±0.65	1.9±0.54	2.1±0.83	2.0±0.72
	♀	1.1±0.41	1.4±0.43	1.2±0.38	1.4±0.69	1.4±0.66	1.9±0.73	1.3±0.34	1.5±0.83
Specific gravity	♂	1.030±0.0082	1.034±0.0083	1.030±0.0111	1.035±0.0077	1.038±0.0133	1.037±0.0082	1.030±0.0065	1.040±0.0133
	♀	1.032±0.0119	1.030±0.0063	1.040±0.0140	1.037±0.0066	1.038±0.0150	1.034±0.0066	1.040±0.0152	1.048±0.0234
Crystallization of test compound in urine	♂	-	-	(2)	(4)	-	-	(1)	(5)
	♀	-	-	(7)	(2)	-	(1)	(2)	-

Mean±S.D., Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

() : Number of rats, - : Negative, ± : Trace, + : Slight

Table 3. Urinalysis in rats administered orally with T-3262 for 6 months (Recovery test)

Item	Sex	Recovery test (n=3~5)		
		Control	400 mg/kg	2,000 mg/kg
Volume (ml/17 hr)	♂	16.0±6.83	17.5± 6.46	8.2±3.82
	♀	12.4±5.86	16.5±12.09	12.3±4.19
pH	♂	7	7	6~7
	♀	6~7	6~7	7
Glucose	♂	-(5)	-(5)	-(3)
	♀	-(5)	-(5)	-(5)
Ketone bodies	♂	-(5)	-(5)	-(3)
	♀	-(5)	-(5)	-(5)
Occult blood	♂	-(5)	-(5)	-(2)+(1)
	♀	-(5)	-(5)	-(5)
Bilirubin	♂	-(5)	-(5)	-(3)
	♀	-(5)	-(5)	-(5)
Urobilinogen	♂	±(5)	±(5)	±(3)
	♀	±(5)	±(5)	±(5)
NAG (mU/17 hr)	♂	226.8±14.86	245.4±56.38	234.7±64.69
	♀	115.2±20.99	121.0±41.37	138.8±12.76
Protein (mg/17 hr)	♂	9.5±1.87	8.8±3.60	7.7±2.04
	♀	4.5±4.54	2.5±1.21	2.1±0.22
Sodium (mEq/17 hr)	♂	1.3±0.39	0.9±0.60	0.8±0.48
	♀	0.9±0.30	0.9±0.41	1.2±0.22
Potassium (mEq/17 hr)	♂	1.7±0.25	1.7±0.34	1.1±0.50
	♀	1.4±0.40	1.5±0.60	1.6±0.29
Specific gravity	♂	1.037±0.0104	1.034±0.0103	1.056±0.0159
	♀	1.044±0.0197	1.042±0.0230	1.042±0.0064
Crystallization of test compound in urine	♂	-	-	-
	♀	-	-	-

Mean±S.D., Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

() : Number of rats - : Negative ± : Trace + : Slight

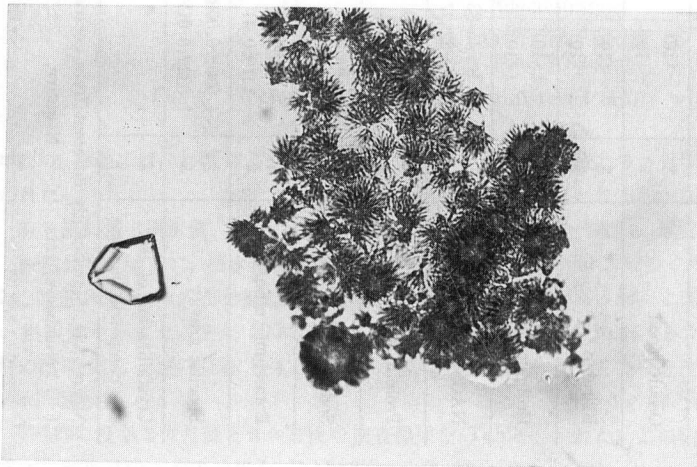


Fig. 5 Crystals, probably crystallized test compound, are visible in the urinary sediment from a rat administered T-3262 orally at 2000 mg/kg for 6 months. ×400

Table 4. Hematological examinations in rats administered orally with T-3262 for 6 months

Item	Sex	Six months' study (n=17~20)				Recovery study (n=3~5)			
		Control	80 mg/kg	400 mg/kg	2,000 mg/kg	Control	400 mg/kg	2,000 mg/kg	
RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	♂	931±34.5	934±35.9	950±42.8	937±48.3	906±46.8	919±40.1	941±12.0	
	♀	818±41.3	815±46.6	790±47.8	780±47.2*	756±27.6	784±41.1	809±36.9*	
WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	♂	109±28.6	96±28.3	87±16.8**	96±15.6	123±19.6	84±16.2**	120±21.4	
	♀	69±17.7	63±11.9	54±13.1**	56±12.6*	59±3.2	57±11.6	73±11.1*	
Hematocrit (%)	♂	50±1.7	49±2.3	50±1.7	50±1.5	48±2.5	48±2.8	49±1.0	
	♀	48±2.2	47±2.1	47±1.5	46±2.3	46±1.4	47±1.8	48±1.1*	
Hemoglobin (g/dl)	♂	16.9±0.78	16.5±0.59	16.9±0.70	17.0±0.60	16.2±0.71	16.5±0.63	16.7±0.29	
	♀	16.0±0.47	16.2±0.58	16.2±0.68	16.3±0.75	16.0±0.44	16.4±0.30	16.6±0.36	
Neutro	Stabs	0.1±0.28	0.2±0.24	0.1±0.21	0.1±0.23	0	0.1±0.22	0	
	Segs	0.1±0.18	0.1±0.23	0.1±0.23	0.1±0.34	0.1±0.22	0	0.2±0.27	
Eosino	♂	14.2±7.30	16.4±5.33	13.4±3.33	13.7±3.89	15.7±5.64	18.6±2.07	10.2±2.52	
	♀	17.4±6.83	14.8±6.92	17.0±4.84	18.7±5.73	30.2±11.03	20.6±4.35	14.5±6.74*	
Baso	♂	1.1±0.89	1.4±0.68	1.7±1.08	1.0±0.81	1.2±0.84	1.4±0.22	2.0±0.00	
	♀	1.4±0.74	1.6±1.43	1.7±0.87	1.5±0.92	1.1±0.65	1.4±0.82	0.9±0.65	
Lymph	♂	0	0	0	0	0	0	0	
	♀	0	0	0	0	0	0	0	
Mono	♂	84.5±7.20	81.9±5.43	84.5±3.78	84.9±4.04	83.0±5.95	79.8±2.41	87.7±2.57	
	♀	81.0±7.07	83.3±7.78	81.1±4.78	79.6±5.85	68.6±11.4	77.9±5.26	84.3±6.18*	
Platelets ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	♂	0.0±0.11	0.1±0.23	0.3±0.25**	0.2±0.25**	0.1±0.22	0.1±0.22	0.2±0.29	
	♀	0.2±0.30	0.1±0.23	0.0±0.11*	0.1±0.17	0	0.1±0.22	0.1±0.22	
Reticulocytes (%)	♂	1.112±125.2	1.062±138.0	1.067±135.3	1.145±115.6	1.104±108.1	1.105±157.3	1.203±128.4	
	♀	1.115±136.4	1.172±148.6	1.076±130.8	1.138±126.8	1.116±86.2	1.068±46.0	1.103±62.0	
Reticulocytes (%)	♂	19±7.1	18±4.0	18±4.9	17±2.4	13±3.6	11±5.4	16±8.5	
	♀	21±5.8	20±6.5	20±7.0	22±6.6	12±4.4	14±5.6	11±0.8	

Mean ± S.D., Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

Table 5. Biochemical examinations in rats administered orally with T-3262 for 6 months

Item	Sex	Six months, study (n=17~20)						Recovery study (n=3~5)							
		Control		80 mg/kg		400 mg/kg		2,000 mg/kg		Control		400 mg/kg		2,000 mg/kg	
GOT (U/l)	♂	93±58.6	72±20.0	72±23.3	87±33.8	202±175.3	91±43.8	123±83.1							
	♀	152±170.2	160±165.4	135±106.2	308±375.0	434±445.7	143±66.1	102±80.0							
GPT (U/l)	♂	25±20.7	17±6.8	16±7.4	22±15.1	43±43.9	25±16.7	26±19.7							
	♀	38±50.4	46±54.0	43±38.9	69±66.5	84±64.1	29±10.3	29±40.6							
ALP (U/l)	♂	16.8±3.85	16.2±3.15	18.4±3.64	16.7±3.48	22.0±6.10	13.0±1.54*	19.7±10.60							
	♀	8.1±3.42	7.4±3.41	6.7±2.24	8.2±2.69	7.2±3.02	7.5±1.91	6.7±1.82							
Cholinesterase (ΔpH)	♂	0.15±0.029	0.16±0.036	0.17±0.041	0.15±0.040	0.17±0.057	0.17±0.021	0.18±0.015							
	♀	1.01±0.206	1.02±0.215	1.04±0.152	1.03±0.112	1.23±0.190	1.01±0.066*	1.00±0.117							
Total Cholesterol (mg/dl)	♂	62±14.2	62±10.2	65±11.7	65±14.3	66±11.3	66±15.3	82±15.0							
	♀	91±30.8	92±33.1	80±13.5	93±26.5	88±23.7	83±14.2	82±11.9							
Urea Nitrogen (mg/dl)	♂	18.6±1.80	18.0±2.18	18.0±1.98	16.4±1.55**	16.0±1.67	17.5±3.10	19.2±3.10							
	♀	21.0±3.79	19.8±2.30	20.9±4.26	20.9±4.64	24.7±5.69	21.5±2.15	19.0±2.16							
Total Bilirubin (mg/dl)	♂	0.19±0.046	0.19±0.046	0.21±0.032	0.24±0.051**	0.25±0.058	0.26±0.055	0.30±0.100							
	♀	0.29±0.155	0.28±0.108	0.26±0.050	0.33±0.099	0.40±0.123	0.34±0.055	0.36±0.089							
Glucose (mg/dl)	♂	170±27.2	153±20.7*	165±20.8	161±18.5	184±18.5	167±23.1	181±9.6							
	♀	142±17.8	133±13.8	142±18.6	146±10.8	130±12.9	123±10.7	134±9.6							
Total Protein (g/dl)	♂	6.0±0.22	5.8±0.25**	5.8±0.22**	5.8±0.18**	6.1±0.22	5.8±0.26	5.8±0.31							
	♀	6.6±0.43	6.4±0.52	6.4±0.38	6.5±0.51	7.3±0.77	6.8±0.25	6.4±0.25*							
Creatinine (mg/dl)	♂	0.6±0.07	0.6±0.08	0.5±0.06*	0.5±0.07*	0.6±0.05	0.6±0.04	0.6±0.06							
	♀	0.7±0.08	0.7±0.09	0.7±0.13	0.7±0.12	0.8±0.07	0.7±0.05**	0.6±0.13*							
Phospholipids (mg/dl)	♂	99±17.8	94±15.2	102±15.1	102±19.6	100±9.5	99±15.4	120±21.0							
	♀	166±47.8	160±47.7	150±26.2	183±54.6	168±49.3	150±30.8	153±19.4							
Tryglyceride (mg/dl)	♂	86±43.1	72±36.4	99±45.3	91±32.9	60±18.6	86±33.3	85±29.6							
	♀	74±41.0	58±20.5	82±47.3	134±97.6*	97±70.5	84±48.6	84±12.8							
Calcium (mg/dl)	♂	9.6±0.23	9.4±0.23*	9.5±0.25	9.4±0.23*	9.1±0.39	9.2±0.31	9.6±0.23							
	♀	9.7±0.29	9.6±0.37	9.6±0.33	9.8±0.34	9.9±0.33	9.5±0.41	9.7±0.34							
Inorganic P (mg/dl)	♂	5.5±0.61	5.5±0.59	5.2±0.51	5.4±0.61	5.6±0.28	5.0±0.83	5.6±0.25							
	♀	4.5±0.52	4.2±0.81	3.9±0.58**	3.8±0.73**	4.7±0.67	4.5±0.44	5.6±0.35*							
Sodium (mEq/l)	♂	144.9±1.59	145.2±1.15	145.6±1.40	145.0±1.28	144.0±1.32	144.0±1.17	145.2±0.40							
	♀	143.3±1.44	144.1±1.17	143.4±1.46	143.3±1.24	143.2±1.38	143.5±0.84	143.4±0.52							
Potassium (mEq/l)	♂	4.05±0.259	4.06±0.249	4.09±0.315	3.93±0.219	4.05±0.072	3.95±0.233	4.04±0.187							
	♀	3.58±0.232	3.67±0.237	3.57±0.261	3.55±0.234	3.77±0.295	3.59±0.223	3.72±0.131							

Mean±S.D., Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

5. 血液学的検査

結果を Table 4 に示す。400 mg/kg 群の雌雄と 2000 mg/kg 群の雌では軽度の白血球数減少傾向がみられたが、用量依存性は明瞭ではなく、白血球分画にも著変はみられなかった。単球比の増加傾向が 400 mg/kg 群と 2000 mg/kg 群の雄にのみ認められたが、用量依存性のないごく軽度の変動であり、特に問題視すべき変化ではなかった。また、2000 mg/kg 群の雌にのみ、ごく軽度の赤血球数の減少がみられたが、ヘマトクリット値やヘモグロビン濃度に異常はなく、異常として取り上げるべき変化ではなかった。

回復試験では 400 mg/kg 群の雌にのみ、白血球数の統計的有意差（軽度減少）がみられたが、個別にみた場合には異常値を示す例はなく、また 2000 mg/kg 群ではこの変化がなかったことから T-3262 投与とは無関係の変動であろうと思われた。

6. 血液化学検査

結果を Table 5~6 に示す。A/G 比の上昇（Table 6）が、2000 mg/kg、400 mg/kg 群の雌雄に認められ、蛋白分画では β あるいは γ グロブリンの割合が減少していた。同様の傾向は 80 mg/kg 群雌でも軽度に認められた。総蛋白のごく軽度の減少が 2000 mg/kg、400 mg/kg、80 mg/kg 群の雄に認められたが用量依存性は明瞭でなく、雌にはこの変化はみられなかった。その他にも対照群との統計的有意差が、無機リン（軽度減少 2000 mg/kg、400 mg/kg 群の雌にのみ）、ビリルビン（軽度増加 2000 mg/kg 群の雌にのみ）、尿素窒素（軽度減少 2000 mg/kg 群の雌にのみ）にみられた。トランスアミナーゼの値は、加齢によると思われるバラツキが大きかったが、各投与群とも、対照群との間に統計的有意差はみられなかった。

回復試験では、蛋白分画中、 γ グロブリンの割合の減少傾向が 2000 mg/kg 群の雌雄と 400 mg/kg 群の雄にみられたが、A/G 比はほぼ正常値に回復していた。

7. 眼科的検査

直像鏡と眼底写真で網膜の状態や出血の有無、血管走行などを検査した。400 mg/kg 群雌 1 例の右眼球視神経乳頭付近の網膜に、黄褐色変色部位がみられたが、この例の眼球の組織学的検査では網膜に異常は認められなかった。他の例には異常は観察されなかった。

8. 剖検時の肉眼所見

T-3262 各投与群の全例に盲腸腔の拡張が用量に比例して観察された。その他には、400 mg/kg 群の雄 1 例に、両側腎割面のくさび状に局限した微細な灰白色変色部位の散在がみられ、また 80 mg/kg 群の雌 1 例には、片側腎表面に、陥没した帯状の灰白色変色部位がみられ

Table 6. Protein fraction and A/G ratio in rats administered orally with T-3262 for 6 months

Item	Sex	Six months' study (n=17~20)				Recovery study (n=3~5)			
		Control	80 mg/kg	400 mg/kg	2,000 mg/kg	Control	400 mg/kg	2,000 mg/kg	2,000 mg/kg
Albumin (%)	♂	49.6±2.27	50.4±2.35	51.8±1.71**	52.1±1.67**	49.3±1.33	51.5±1.02*	50.0±0.89	50.0±0.89
	♀	57.4±3.18	59.6±4.03	61.1±2.08**	60.6±1.88**	58.6±1.88	60.5±1.62	61.6±2.83	61.6±2.83
α^1	♂	22.4±1.73	22.7±1.95	22.8±1.30	23.0±1.39	19.9±1.27	22.8±2.61	24.2±0.75**	24.2±0.75**
	♀	16.2±0.96	16.4±1.67	16.7±0.75	17.8±1.32**	17.5±1.67	16.0±0.39	16.4±0.81	16.4±0.81
α^2	♂	7.4±0.82	7.8±0.65	7.6±0.40	7.4±0.53	7.8±0.34	7.6±0.64	7.1±0.42	7.1±0.42
	♀	6.0±0.72	6.1±1.05	5.8±0.65	5.8±0.77	5.5±0.66	5.6±0.61	5.1±0.85	5.1±0.85
β	♂	14.0±0.73	13.5±1.29	13.0±0.84**	13.0±0.73**	14.7±0.62	12.9±1.31*	14.3±0.21	14.3±0.21
	♀	12.3±2.42	11.3±2.99	10.4±1.19**	10.5±1.38*	10.6±1.11	10.4±0.67	11.2±1.33	11.2±1.33
γ	♂	6.6±1.33	5.6±1.14*	4.8±1.09**	4.5±0.92**	8.5±0.86	5.2±0.91**	4.4±0.35**	4.4±0.35**
	♀	8.1±0.93	6.6±1.14**	5.9±1.10**	5.3±1.12*	7.7±0.31	7.4±1.46	5.7±0.76**	5.7±0.76**
A/G ratio	♂	0.99±0.093	1.02±0.097	1.08±0.075**	1.09±0.076**	0.97±0.054	1.06±0.044*	1.00±0.036	1.00±0.036
	♀	1.36±0.165	1.49±0.214*	1.58±0.135**	1.54±0.121**	1.42±0.114	1.54±0.107	1.61±0.178	1.61±0.178

Mean±S.D., Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

Table 7. Absolute organ weight in rats administered orally with \bar{T} -3262 for 6 months

Item	Sex	Six months' study (n = 17~20)				Recovery study (n = 3~5)			
		Control	80 mg/kg	400 mg/kg	2,000 mg/kg	Control	400 mg/kg	2,000 mg/kg	2,000 mg/kg
Brain	♂	2.16±0.076	2.15±0.119	2.17±0.111	2.21±0.090	2.19±0.107	2.17±0.078	2.21±0.057	
	♀	2.00±0.088	2.03±0.081	2.02±0.089	1.96±0.072	1.98±0.070	1.97±0.077	2.00±0.090	
Hypophysis	♂	0.013±0.0023	0.013±0.0023	0.013±0.0020	0.013±0.0020	0.014±0.0008	0.013±0.0013	0.013±0.0006	
	♀	0.017±0.0023	0.017±0.0042	0.018±0.0047	0.020±0.0058	0.018±0.0045	0.018±0.0055	0.017±0.0030	
Salivary glands	♂	0.71±0.076	0.74±0.090	0.71±0.081	0.70±0.075	0.74±0.054	0.76±0.081	0.76±0.096	
	♀	0.49±0.041	0.50±0.063	0.48±0.047	0.48±0.034	0.49±0.038	0.49±0.035	0.48±0.047	
Thyroids	♂	0.023±0.0067	0.021±0.0060	0.024±0.0046	0.021±0.0049	0.021±0.0036	0.020±0.0063	0.020±0.0023	
	♀	0.018±0.0035	0.018±0.0033	0.017±0.0037	0.019±0.0040	0.019±0.0037	0.016±0.0019	0.016±0.0034	
Thymus	♂	0.21±0.067	0.22±0.078	0.19±0.086	0.18±0.057	0.15±0.056	0.16±0.028	0.21±0.100	
	♀	0.16±0.042	0.16±0.041	0.17±0.058	0.16±0.032	0.14±0.036	0.12±0.056	0.17±0.067	
Heart	♂	1.56±0.214	1.49±0.152	1.47±0.165	1.49±0.201	1.58±0.217	1.46±0.242	1.46±0.163	
	♀	0.89±0.084	0.90±0.068	0.90±0.080	0.89±0.098	0.97±0.148	0.96±0.104	0.95±0.086	
Lung.	♂	2.02±0.766	1.68±0.238	1.72±0.271	1.72±0.164	2.56±0.734	1.73±0.417	1.71±0.059	
	♀	1.37±0.429	1.33±0.239	1.26±0.237	1.21±0.117	1.24±0.151	1.18±0.092	1.24±0.045	
Liver	♂	14.57±1.821	14.32±1.823	15.33±2.034	14.54±1.475	14.41±1.073	14.29±0.941	16.32±1.588	
	♀	7.56±0.864	7.44±0.917	7.44±0.709	7.99±1.148	7.65±0.529	7.38±0.626	7.69±0.646	
Kidney	Left	1.43±0.126	1.39±0.148	1.48±0.168	1.48±0.125	1.48±0.281	1.36±0.116	1.60±0.100	
	Right	0.83±0.084	0.84±0.069	0.82±0.090	0.84±0.065	0.88±0.064	0.82±0.043	0.85±0.096	
Spleen	♂	1.46±0.134	1.44±0.163	1.52±0.171	1.51±0.140	1.49±0.228	1.39±0.101	1.58±0.046	
	♀	0.85±0.067	0.86±0.097	0.85±0.095	0.86±0.077	0.90±0.030	0.86±0.046	0.87±0.087	
Adrenals	♂	0.91±0.103	0.89±0.132	0.88±0.128	0.91±0.151	0.80±0.136	0.88±0.088	0.91±0.098	
	♀	0.53±0.091	0.55±0.056	0.52±0.069	0.54±0.091	0.53±0.047	0.52±0.080	0.55±0.029	
Cecum	♂	0.047±0.0067	0.047±0.0066	0.049±0.0060	0.053±0.0075*	0.051±0.0114	0.046±0.0112	0.052±0.0036	
	♀	0.053±0.0091	0.055±0.0099	0.055±0.0098	0.054±0.0111	0.049±0.0025	0.053±0.0086	0.049±0.0035	
Testis	♂	6.39±1.135	9.30±1.521**	9.38±1.614**	9.76±1.787**	5.61±1.758	8.75±1.387*	12.14±2.109**	
	♀	4.08±0.726	5.31±1.491**	6.29±1.089**	7.40±1.946**	4.08±1.101	4.78±0.894	6.01±0.183**	
Prostate plus seminal vesicles	♂	2.00±0.120	2.00±0.192	1.96±0.182	1.95±0.212	1.97±0.113	1.95±0.128	2.13±0.110	
	♀	2.09±0.474	1.98±0.181	1.95±0.169	1.91±0.347	1.98±0.100	1.93±0.163	2.16±0.150	
Ovaries	♂	3.08±0.683	2.94±0.406	2.97±0.467	2.99±0.342	3.20±0.534	3.48±0.459	3.52±0.961	
	♀	0.068±0.0190	0.076±0.0184	0.076±0.0167	0.070±0.0209	0.062±0.0123	0.066±0.0154	0.089±0.0127**	
Uterus	♂	0.78±0.169	0.82±0.370	0.90±0.427	0.86±0.431	0.95±0.396	0.73±0.168	0.77±0.389	
	♀								

Mean±S.D., Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01 (Unit: g)

Table 8. Relative organ weight in rats administered orally with T-3262 for 6 months

Item	Sex	Six months' study (n=17~20)						Recovery study (n=3~5)		
		Control	80mg/kg	400mg/kg	2,000mg/kg	Control	400mg/kg	2,000mg/kg		
Brain	♂	0.378±0.0309	0.378±0.0299	0.377±0.0369	0.382±0.0321	0.372±0.0247	0.374±0.0176	0.363±0.0250		
	♀	0.666±0.0510	0.666±0.0501	0.650±0.0501	0.625±0.0679*	0.642±0.0449	0.624±0.0594	0.617±0.0509		
Hypophysis	♂	0.002±0.0004	0.002±0.0006	0.002±0.0005	0.002±0.0003	0.002±0.0004	0.002±0.0004	0.002±0.0000		
	♀	0.006±0.0010	0.006±0.0012	0.006±0.0016	0.006±0.0017	0.006±0.0014	0.006±0.0011	0.005±0.0011		
Salivary glands	♂	0.124±0.0097	0.130±0.0114	0.123±0.0130	0.120±0.0096	0.125±0.0156	0.130±0.0063	0.124±0.0100		
	♀	0.164±0.0146	0.169±0.0229	0.154±0.0152*	0.152±0.0176*	0.158±0.0190	0.156±0.0220	0.147±0.0097		
Thyroids	♂	0.004±0.0011	0.004±0.0012	0.004±0.0009	0.004±0.0009	0.004±0.0005	0.003±0.0009	0.003±0.0006		
	♀	0.006±0.0013	0.006±0.0010	0.006±0.0011	0.006±0.0013	0.006±0.0013	0.005±0.0011	0.005±0.0016		
Thymus	♂	0.037±0.0117	0.038±0.0132	0.033±0.0142	0.031±0.0098	0.025±0.0089	0.028±0.0067	0.035±0.0162		
	♀	0.051±0.0119	0.053±0.0130	0.053±0.0154	0.050±0.0101	0.046±0.0113	0.038±0.0138	0.053±0.0247		
Heart	♂	0.273±0.0420	0.261±0.0261	0.253±0.0203	0.256±0.0286	0.266±0.0242	0.253±0.0433	0.239±0.0351		
	♀	0.296±0.0224	0.302±0.0202	0.288±0.0213	0.281±0.0202*	0.311±0.0348	0.304±0.0249	0.291±0.0275		
Lung	♂	0.358±0.1513	0.296±0.0454	0.300±0.0595	0.297±0.0242	0.437±0.1280	0.295±0.0484*	0.280±0.0059		
	♀	0.456±0.1392	0.446±0.0733	0.403±0.0688	0.385±0.0317*	0.399±0.0362	0.375±0.0446	0.383±0.0348		
Liver	♂	2.535±0.1990	2.507±0.2224	2.644±0.2125	2.503±0.1855	2.442±0.1321	2.465±0.1499	2.682±0.3735		
	♀	2.510±0.2052	2.497±0.2424	2.388±0.1549*	2.521±0.2081	2.471±0.0736	2.331±0.1749	2.363±0.1166		
Kidney	Left	♂	0.251±0.0216	0.244±0.0202	0.256±0.0245	0.258±0.0456	0.249±0.0392	0.235±0.0181	0.262±0.0244	
		♀	0.277±0.0237	0.283±0.0245	0.264±0.0230	0.267±0.0219	0.286±0.0176	0.259±0.0201	0.262±0.0229	
Spleen	Right	♂	0.255±0.0208	0.252±0.0236	0.263±0.0238	0.260±0.0197	0.252±0.0330	0.240±0.0161	0.260±0.0199	
		♀	0.282±0.0175	0.289±0.0309	0.272±0.0237	0.274±0.0234	0.290±0.0184	0.271±0.0200	0.267±0.0213	
Adrenals	Left	♂	0.159±0.0211	0.157±0.0208	0.152±0.0239	0.157±0.0229	0.135±0.0180	0.152±0.0219	0.149±0.0191	
		♀	0.176±0.0251	0.184±0.0226	0.167±0.0221	0.171±0.0227	0.173±0.0265	0.164±0.0224	0.170±0.0207	
Cecum	Right	♂	0.008±0.0013	0.008±0.0011	0.009±0.0010	0.009±0.0015*	0.009±0.0011	0.008±0.0015	0.008±0.0006	
		♀	0.018±0.0033	0.018±0.0029	0.018±0.0031	0.017±0.0032	0.016±0.0010	0.017±0.0039	0.015±0.0011	
Testis	Left	♂	1.116±0.2001	1.632±0.2457**	1.623±0.2679**	1.681±0.2812**	0.957±0.3036	1.501±0.1515**	1.978±0.2455**	
		♀	1.357±0.2288	1.774±0.4497**	2.030±0.4159**	2.347±0.6297**	1.316±0.3140	1.507±0.2908	1.854±0.1520**	
Prostate plus seminal vesicles	Right	♂	0.350±0.0338	0.351±0.0338	0.341±0.0428	0.337±0.0397	0.334±0.0177	0.336±0.0087	0.348±0.0190	
		♀	0.364±0.0693	0.348±0.0344	0.340±0.0390	0.329±0.0595	0.335±0.0150	0.332±0.0070	0.353±0.0227	
Ovaries	Left	♂	0.534±0.1090	0.516±0.0698	0.516±0.0891	0.516±0.0540	0.541±0.0721	0.598±0.0567	0.572±0.1281	
		♀	0.022±0.0054	0.033±0.0292	0.024±0.0048	0.022±0.0066	0.020±0.0046	0.021±0.0056	0.027±0.0039*	
Uterus	Right	♂	0.262±0.0614	0.278±0.1290	0.289±0.1322	0.267±0.1062	0.306±0.1259	0.230±0.0458	0.242±0.1392	

Mean±S.D., Significantly different from control * p<0.05 **p<0.01 (Unit : %)

Table 9. Histopathological findings in rats administered orally with T-3262 for 6 months

Histopathological findings	Control		80 mg/kg		400 mg/kg		2,000 mg/kg	
	♂ (n=19)	♀ (n=20)	♂ (n=19)	♀ (n=19)	♂ (n=19)	♀ (n=19)	♂ (n=17)	♀ (n=17)
Kidney : crystals of test compound in the tubular lumen cell infiltration in the interstitium necrosis and hydropic degeneration of the tubular epithelium dilatation of the tubular lumen hyaline casts in the tubular lumen pyelonephritis fibrinous thickening of the capsule calcium deposition in the tubular lumen	-	-	-	-	+ (2)	+ (1)	+ (3)	+ (2)
	-	-	-	-	+ (1)	+ (1)	+ (4)	+ (2)
	-	-	-	-	# (1)	-	+ (1)	-
	-	-	-	-	# (1)	-	-	# (1)
	-	-	-	-	-	-	-	# (1)
	-	# (1)	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	+ (1)	-	-	-	-
	-	+ (6)	-	+ (2)	-	+ (1)	-	+ (5)
	+ (1)	-	+ (1)	-
	-	-	+ (1)	+ ~ # (2)	+ (2)
Heart : focal cell infiltration	-	-
	-	-
	-	-
Lung : foreign body granuloma bronchopneumonia	-	-
	+ ~ # (5)	+ ~ # (4)	# (1)
Liver : foamy cells in the alveolar spaces focal congestion	+ (2)	+ (1)
	-	# (1)	+ (1)	+ (1)
Bladder : cell infiltration and hyperplasia of the mucous membrane	-	+ (1)	+ (1)
	+ (1)	-
Subcutis : abscess	# (1)	-
Testis : reduction of spermatogenesis	-	-
Epididymis : decrease of the sperm	-	-
Uterus : thinness of the wall	-	+ (1)	+ ~ # (2)	-
	-	-	+ (1)	+ (1)

- : normal, + : slight change, # : moderate change, dotted line : not observed, () : number of rats.
 No significant changes were seen in the brain, pituitary body, salivary glands, thyroid, thymus, spleen, adrenals, prostate, ovaries, pancreas, esophagus, stomach, small intestine, large intestine, lymph nodes, eses, hardierian glands, skeletal muscle, spinal cord, tongue, bone, bone marrow, joint, vagina and mammary glands.

Table 10. Histopathological findings in rats administered orally with T-3262 for 6 months (Recovery study)

Histopathological findings	Control		400 mg/kg		2,000 mg/kg	
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂ (n=3)	♀ (n=5)
Kidney : calcium deposition in the tubular lumen	—	+ (2)	—	—	—	+ (1)
Lung : foreign body granuloma	—	—	+ (1)	—	—
foamy cells in the alveolar spaces	+ ~ # (4)	—	—	—
Liver : focal necrosis in the lobule	—	+ (1)	—	—
Testis : reduction of spermatogenesis	+ (1)	—	—	—
Uterus : thinness of the wall	—	+ (2)	—	—

— : normal, + : slight change, # : moderate change, dotted line : not observed, () : number of rats.

No. significant changes were seen in the brain, pituitary body, salivary glands, thyroids, thymus, heart, spleen, adrenals, bladder, prostate, epididymis, ovaries, pancreas, esophagus, stomach, small intestine, large intestine, lymph nodes, eyes, hardierian glands, skeletal muscle, spinal cord, tongue, bone, bone marrow, joint, vagina and mammary gland.

た。

対照群を含む各群に散発的にみられた所見としては、肺の限局性の暗赤色変色が対照群の5例、400 mg/kg 群の1例、2000 mg/kg 群の2例に、肝表面の微細な点状の黒褐色変色が対照群の1例に、膀胱あるいは腎盂の結石が対照群と400 mg/kg 群の各1例に、片側精巣の腫大が対照群の1例に、片側精巣と精巣上体の萎縮が2000 mg/kg 群の1例に、子宮腔の拡張が対照群の1例、80 mg/kg 群の3例、400 mg/kg 群の3例、2000 mg/kg 群の1例に、それぞれ観察された。投与期間後半に出現した腋窩部皮下の腫瘤（対照群、80 mg/kg 投与群の各1例）は、黄緑色の膿瘍であり、周囲に肉芽組織がみられた。

回復試験の剖検では、盲腸腔の拡張が2000 mg/kg 群の4/8例と400 mg/kg 群の2/10例に観察された。また子宮腔の拡張が対照群の2例と2000 mg/kg 群の1例に、肺の限局性灰白色変色部位が400 mg/kg 群の1例にそれぞれ観察された。

9. 臓器重量と重量体重比

絶対重量を Table 7 に、相対重量を Table 8 に示す。各投与群の盲腸重量は、絶対、相対重量とも用量依存性の増加を示した。他には、2000 mg/kg 群雌の一部の臓器に軽度の相対重量減少が散見されたが、絶対重量では対照群との間に差はみられず、剖検時の体重が対照群よりも大きかったために生じたものと思われた。

回復試験では、盲腸重量の増加が2000 mg/kg 群雌雄と400 mg/kg 群雄に依然認められたが他の臓器には注目すべき変化はなかった。

10. 病理組織学的検査

6カ月後検査の結果を Table 9 に、回復試験の結果を Table 10 に示す。腎の皮質あるいは髄質の尿細管腔に、検体析出と思われる約 40 μm の結晶が孤立して出

現し、その周囲に軽度の細胞浸潤がみられる像 (Photo. 2) が、2000 mg/kg 群の34例中5例（雄3、雌2）と400 mg/kg 群の38例中3例（雄2、雌1）に認められた。

結晶の出現とは無関係に、あるいは結晶出現部位から離れた部位にみられた腎の変化としては、2000 mg/kg 群雄1例の軽度皮質尿細管上皮水腫変性と軽度間質細胞浸潤があり、また同群の雌1例の硝子円柱を容れた尿細管腔の中等度拡張 (Photo. 3) と軽度間質細胞浸潤があった。さらに腎皮質の軽度間質細胞浸潤が2000 mg/kg 群の雄3例と雌1例に観察された。400 mg/kg 群の雄1例では、皮質の間質細胞浸潤に加えて皮質尿細管上皮に限局性の軽度の変性、壊死脱落がみられ、一方で尿細管の再生像が観察された。また400 mg/kg 群雌1例には軽度の間質浸潤が認められた。

肉眼観察で80 mg/kg 群1例にみられた腎表面の帯状に陥没した灰白色部位は、組織学的には被膜の限局した古い線維性肥厚の像であった。また、尿路結石のあった対照群の1例の腎には、腎盂腎炎と皮質の間質細胞浸潤がみられ、さらに膀胱粘膜にも炎症像が認められた。他には対照群を含む各群の雌の数例の腎尿細管腔に、加齢ラットで一般的に見られるカルシウムの沈着が観察された。

腎以外の器官にみられた変化としては、経口投与の際に誤って少量の検体を肺に注入した結果生じたと思われる検体様物質を中心とする肺の異物性肉芽が、2000 mg/kg 群の雌雄各2例と400 mg/kg 群の雄1例に軽度～中等度に観察された。このうち2000 mg/kg の群雌1例には、異物性肉芽の周囲に気管支肺炎が中等度に認められた。

検体投与とは無関係に、対照群と同程度に出現していた変化としては、肝実質内限局性壊死、限局性心筋炎、

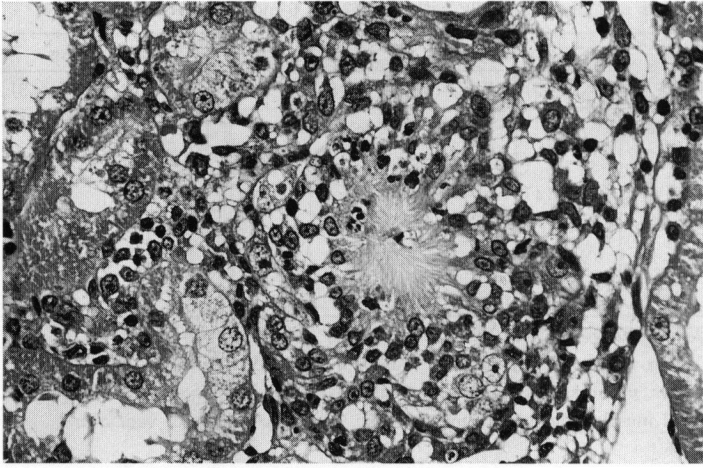


Fig. 6 Kidney from a rat given 2000 mg/kg of T-3262 orally for 6 months. The crystal and mononuclear cells in the cortical tubular lumen are visible. H. E. $\times 200$



Fig. 7 Kidney from a rat given 2000 mg/kg of T-3262 orally for 6 months. Hyaline casts are visible in the dilated tubular lumen. H. E. $\times 40$

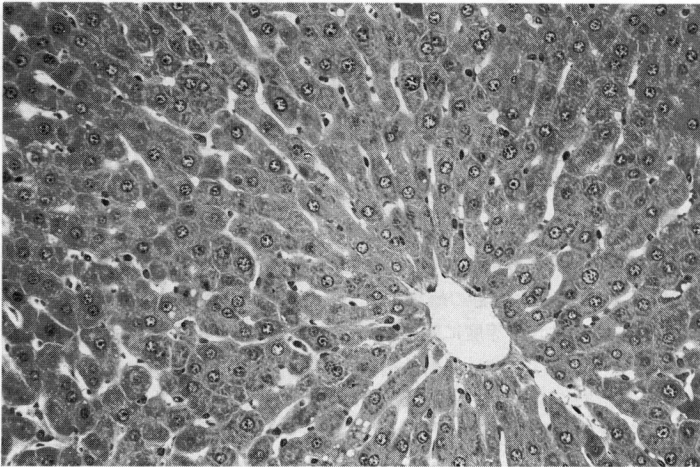


Fig. 8 Liver from a rat given 2000 mg/kg of T-3262 orally for 6 months. No significant changes are visible. H. E. $\times 200$



Fig. 9 The joint at distal portion of the femur from a rat given 2000 mg/kg of T-3262 orally for 6 months. No significant changes are visible. H. E. $\times 100$

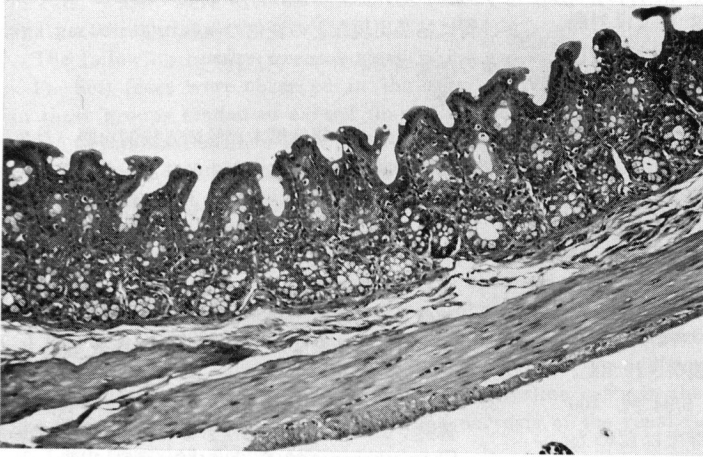


Fig. 10 Cecum from a rat given 2000 mg/kg of T-3262 orally for 6 months. No significant changes are visible. H. E. $\times 100$

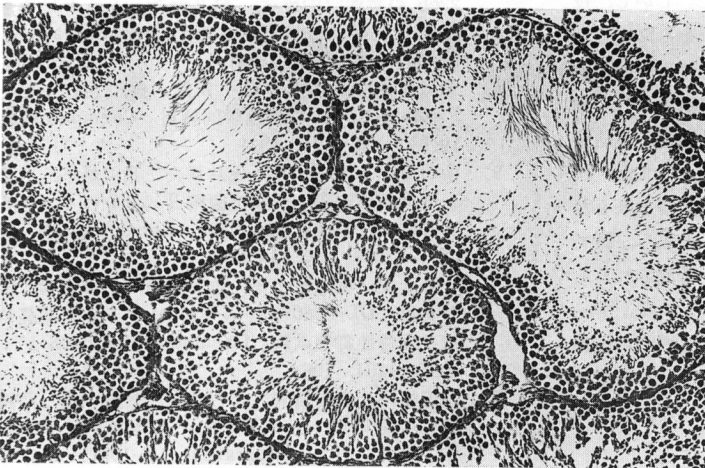


Fig. 11 Testis from a rat given 2000 mg/kg of T-3262 orally for 6 months. No significant changes are visible. H. E. $\times 100$

精子形成低下、子宮壁の生理的菲薄化、肺胸腔の泡沫細胞出現などがあつた。投与期間中に腋窩部皮下に出現した対照群1例と80 mg/kg群1例の腫瘍は、肉芽組織を伴った膿瘍であつた。他には組織学的異常は認められなかった(Photo. 4~7)。

回復試験では、400 mg/kg群の雄1例の肺に検体誤投与の影響(異物性肉芽)が軽度に出現していた。他には雌の腎に自然発生的なカルシウム沈着がみられた以外、異常は認められなかった。

11. 肝と腎の電子顕微鏡的観察

検査した動物の肝と腎には、電子顕微鏡的異常は認められなかった。

III. 総括と考察

T-3262のラット6カ月間経口投与慢性毒性試験を80 mg/kg, 400 mg/kg, 2000 mg/kgの用量群を設定して行なつた。

発育は順調で、2000 mg/kg, 400 mg/kg群では対照群を上回る体重増加を示した。また、誤投与による死亡以外の死亡例はなかった。投与期間中異常な行動はみられなかったが、2000 mg/kg群と400 mg/kg群では軽度の軟便が観察された。

T-3262投与により、尿沈渣中に検体の析出と思われる10~30 μm の結晶が観察され、また、腎の組織学的検査でも皮質あるいは髓質の尿管腔に、検体析出と思われる結晶が、その周囲に軽度の細胞浸潤を伴って出現した。尿中の結晶は、2000 mg/kg, 400 mg/kg群の3~9/20例に、80 mg/kg群の1/20例に観察されたが、尿管腔への出現は2000 mg/kg群の5/34例、400 mg/kg群の3/38例であり、80 mg/kg群では認められなかった。同様の結晶析出は、先に行なつたラット28日間経口投与亜急性毒性試験¹⁾でも観察されており、析出した結晶による腎障害作用が懸念された。しかし、投与期間を6カ月に延長した本試験の結果をみた場合、2000 mg/kg, 400 mg/kg群の少数例に、腎皮質の間質細胞浸潤や尿管上皮の変性、尿管腔の拡張などの変化が軽度~中等度にみられたが、28日間投与試験の結果と比較して腎障害の増強は認められなかった。また、析出した結晶が原因となつて、上述の尿管障害を来したという所見も得られなかった。これらのことから、腎で析出した結晶は尿管腔を移動し、体外へ排泄されるものと推定された。なお、類縁合成抗菌剤の中には、ラットに大量長期間投与すると尿中^{2,3)}や尿管腔中⁴⁾に結晶が析出するものがあることが知られている。その中には析出凝集した結晶により尿路障害が起こるほど、大量の結晶が出現するもの⁵⁾もある。

血液化学検査でみられたA/G比の上昇(β , γ -グロブ

リンの減少)は、ラット亜急性毒性試験¹⁾やイヌの毒性試験⁶⁾でもその傾向がうかがわれ、T-3262投与による影響であろうと思われた。同様の変化は類縁合成抗菌剤^{2,3)}のラット毒性試験結果にも現われており、その原因が注目されるが、明らかではない。

本試験でみられた、組織学的変化を伴わない盲腸腔の拡張は、抗菌剤^{3,6)}や抗生剤^{7,8)}を投与したラットや無菌ラット⁹⁾では一般的にみられるものであり、腸内細菌叢の変化によるものと考えられている変化であつた。また、盲腸腔の拡張と内容物の増加による盲腸重量の増加が、2000 mg/kg群と400 mg/kg群でみられた体重増加の原因となつたものと思われた。

合成抗菌剤では、毒性試験で関節に異常が出現するもの^{3,6)}が知られているので、本試験でも四肢の関節を実体顕微鏡下で精査したが、異常は認められなかった。

本試験の最大無影響量は、盲腸腔の拡張はみられるが、腎に結晶出現などの変化のみられない80 mg/kgとするのが妥当であろうと思われた。

謝辞

本試験にあたり、組織標本の診断と校閲を賜つた金沢大学医学部名誉教授太田五六先生並びに、金沢大学医学部第二病理学教室中沼安二教授に心から感謝致します。

文 献

- 1) 河村泰仁, 吉田一晴, 長沢峰子, 塩谷紀雄, 加賀英俊, 米田豊昭: T-3262のラット28日間経口投与亜急性毒性試験。富山化学工業株式会社社内報, 1986
- 2) 奈良間功, 土谷 稔, 佐野正樹, 齋藤 実, 原田善男: Cinoxacinの急性および亜急性毒性試験。Chemotherapy 28(S-4): 406~439, 1980
- 3) 竹本勇一, 仙田博美, 中野幸穂, 山添浩史, 山吉迪子, 松岡信男, 大西久美雄, 吉田耕一: AT-2266の毒性的研究, 第2報ラットにおける亜急性ならびに慢性毒性試験。Chemotherapy 32(S-3): 199~220, 1984
- 4) 仙田博美, 大西久美雄, 岡武 哲, 辰巳 照: Piromidic acidの毒性的検討。Chemotherapy 19(5): 404~421, 1971
- 5) 中川重仁, 上原 京, 永井章夫, 長沢峰子, 吉田一晴, 米田豊昭: 合成抗菌剤 T-3262のイヌ6カ月間経口投与慢性毒性試験。Chemotherapy 36(S-9): 250~293, 1988
- 6) 小野寺威, 稲毛富士郎, 吉田貞由, 加藤道幸, 山田明甫: DL-8280のラットにおける4週間経口投与亜急性毒性試験。Chemotherapy 32(S-1): 1091~1104, 1984
- 7) 米田豊昭, 柴田哲夫, 正谷博之, 佐藤 盛, 河村泰仁, 岩崎信一, 永井章夫, 滝本陽子, 長沢峰子, 高井 明: Cefoperazone (T-1551)の毒性試験(第2報), ラット腹腔内投与亜急性, 慢性

毒性試験。Chemotherapy 28(S-6) : 189~219, 1980
 8) 佐藤 盛, 永井章夫, 柴田哲夫, 河村泰仁, 霜鳥智也, 岩崎信一, 米田豊昭 : T-2588 のラット6カ月間経口投与慢性毒性試験。Chemotherapy 34

(S-2) : 190~211, 1986
 9) GORDON HA and WOSTMANN BS : Morphological studies on the germfree albino rat. Anat Rec 137 : 65~70, 1960

SIX MONTH ORAL CHRONIC TOXICITY STUDY OF T-3262 IN RATS

TOYOAKI YONEDA, YASUHITO KAWAMURA, TETSUO SHIBATA, MINEKO NAGASAWA

KAZUHARU YOSHIDA and NOBUKO KITOH

Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.
2-4-1 Shimookui, Toyama-shi 930, Japan

We carried out a six month chronic toxicity study of T-3262, a new synthetic antibacterial agent, in rats, which were divided into three groups at dose levels of 80 mg/kg, 400 mg/kg and 2000 mg/kg and a control group.

The following results were obtained.

- 1) Soft feces were observed in the rats receiving 400 mg/kg and 2000 mg/kg. Body weight gain in these groups tended to exceed that of the control group.
- 2) Crystallization in urine, probably of the test compound was observed in 3-9 of the 20 rats in the 400 mg/kg and 2000 mg/kg groups and in 1 of the 20 rats in the 80 mg/kg group.
- 3) An elevated serum A/G ratio was observed in the rats of the 400 mg/kg and 2000 mg/kg groups. Decrease in the ratio of the β and/or γ -globulin fractions was observed in these groups. The A/G ratio returned to normal when was of T-3262 was discontinued.
- 4) Enlargement of the cecal lumen was observed and was dose-dependent.
- 5) Crystals in the tubular lumen were observed in 3 of 38 rats in the 400 mg/kg group, and 5 of 34 rats in the 2000 mg/kg group. In the kidney, slight interstitial cell infiltration was observed in a few rats in the 400 mg/kg and 2000 mg/kg groups. In addition, degeneration of renal tubular epithelial cells, dilatation of tubular lumina and hyaline casts in the lumen were observed in 2 rats in the 2000 mg/kg group. Degeneration and necrosis of the renal tubular epithelial cells were observed in 1 rat receiving 400 mg/kg.
- 6) The Maximum no-effect dose of T-3262 was thought to be 80 mg/kg in rats in the present experiment.