新キノロン系抗菌剤Fleroxacinのラットにおける経口投与による亜急性毒性試験

今井 繁・野本恭之・笠井正博
大竹正二・棚瀬裕文・吉田安彦
杏林製薬株式会社 開発技術センター*

Fleroxacinの0(対照群), 45, 135, 400及び1200mg/kgをラットに13週間連続経口投与して亜急性毒性を検討し, さらに0, 400及び1200mg/kgについては5週間の休薬期間を設けてその回復性を検討して次の結果を得た。

1) 1200mg/kg群では, 試験期間中に雌雄ともに20例中18例が死亡し, 体重減少, 摂餌・摂水量減少, 立毛, 下痢及び削痩が認められた。

2) 1200mg/kg群の生存例では体重減少, 体重増加抑制が, また400mg/kg群の雄では軽度の体重増加抑制がみられた。

3) 血液学的検査, 血液生化学的検査及び尿検査において, fleroxacin投与によるとみられる変化が散見されたが, 重篤と思われるものはなかった。

4) 135mg/kg以上の用量群では精巣上体重量の減少, 並びに組織学的に精巣上体管腔内で, 壊死精子の貯留がみられ, あるいは変性精細胞と思われるエオシン好性細胞が正常精子中に僅かに混在して認められたが, 精巣上体管及び間質結合組織に異常はなかった。また1200mg/kg群の一部を除いては精巣にも異常は認められなかった。

5) 盲腸重量の増加が, 雄では135mg/kg以上の用量群で, 雌では400mg/kg群でみられたが, 組織学的には異常は認められなかった。

6) 関節軟骨表面の水疱様病変が, 1200mg/kg群のほぼ3分の1と400mg/kg群の1例に認められた。

7) 以上のように, fleroxacin投与により諸種の変化が認められたが, 関節軟骨の病変以外はいずれも休薬により回復あるいは軽減された。

8) 今回の試験におけるfleroxacinの無影響量は45mg/kgと推定された。

Key words：Fleroxacin, 亜急性毒性試験, ラット

6, 8-difluoro-1-(2-fluoroethyl)-1, 4-dihydro-7-(4-mehtyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (fleroxacin)は杏林製薬株式会社で合成された新キノロン系抗菌剤である。今回, fleroxacinの安全性評価の一環として, ラットにおける13週間経口投与亜急性毒性試験を実施したので, 結果を報告する。

I. 実験材料及び実験方法

1. 被験物質

Fleroxacinは無臭で白色～微黄色の粉末で, 氷酢酸に溶けやすくクロロホルムに溶けにくく, 水又はエタノールに極めて溶けにくく, エーテルにはほとんど溶けない。本試験にはLot No.840217の原末を使用した。

2. 実験動物及び飼育条件

日本クレアより購入した4週齢のJcl：Wistar系ラット雌雄各100匹を, 11日間の予備飼育期間を設け検疫, 馴化した後, 試験に供した。投与開始時は6週齢で体重は雄152～180g, 雌115～137gであった。

動物は温度19.5～26.5℃, 湿度35～85%, 照明時間9～17時の動物室内でポリカーボネート製ケージに3～5匹ずつ収容し, 固型飼料(CE-2, 日本クレア)及び水(水道水)を自由に摂取させて飼育した。

3. 投与量及び投与方法

今回の試験に先立って行った5週間経口投与による予備試験[1]において, 1500mg/kg及び2000mg/kg投与群では雌雄とも全例が投与期間中に死亡した。また, 1000mg/kg群では死亡は出現しないものの, 雌雄とも有意の体重増加抑制が認められた。この結果に加え, 今回の試験が13週間連続投与であることから1200mg/kgで一部の動物が死亡するであろうと考え, これを最高用量とし, 以下400, 135及び45mg/kgの4用量を設定した。

Fleroxacinは, 投与容量が10ml/kg体重になるように

* 〒115 東京都北区浮間1-3-32

0.45, 1.35, 4及び12%懸濁液を0.3%カルボキシメチルセルロースナトリウム(以下CMC)水溶液にて用時調製し，1日1回，週7日，13週間，金属製経口ゾンデを用いて強制経口投与した。

4. 実験群の構成

前記各用量群に無処置対照群(無処置群)及び0.3%CMC水溶液のみを投与する陰性対照群(対照群)を加え6群とした。各群には体重が偏らないように層別化した後，無作為に雌雄各10匹の動物を配した。さらに対照群，400及び1200mg/kg群には13週間投与後5週間休薬する回復試験群(10匹)を加えた。

5. 検査項目及び検査方法

(1) 生死の確認及び一般状態の観察

試験期間中毎日，通常午前と午後の一定時間，一般状態を観察し，生死の確認を行った。

(2) 体重

試験期間中，無処置群以外は毎日，無処置群は週1回体重を測定した。

(3) 摂餌量及び摂水量

試験期間中週1回，1日あたりの摂取量をケージごとに測定し，1匹あたりでの摂餌量及び摂水量を算出した。

(4) 体温

投与開始後12週目に，投与前及び投与2時間後の直腸温をサーミスター温度計(MGA Ⅲ-219, 芝浦電子製作所)を用いて測定した。

(5) 血液学的検査

投与開始後7週目，12～13週目及び休薬5週目に尾静脈より採血して，白血球数，赤血球数，ヘモグロビン量(自動血球計算器ACM-503, エルマ光学)，血小板数(自動血小板計数器ACM-403, エルマ光学)を測定し，また同時に血液塗抹標本(May-Giemsa染色)を作製して白血球種別分類を行った。さらに投与期間及び休薬期間終了の剖検時にはエーテル麻酔下にて大腿静脈より採血し，ヘマトクリット値(Wintrobe法)及び赤血球沈降速度(ESR)を測定した。

(6) 血液生化学的検査

投与開始後13週目及び休薬5週目の剖検時に，エーテル麻酔下にて腹大動脈より採血し得られた血清について，総蛋白(ビウレット法)，アルブミン(BCG法)，アルブミン/グロブリン比(A/G比，演算法)，尿素窒素(BUN, ウレアーゼ・インドフェノール法)，クレアチニン(Jaffé法)，尿酸(UA, 酵素法)，グルコース(グルコース・オキシダーゼ法)，リン脂質(酵素法)，総コレステロール(酵素法)，遊離コレステロール(酵素法)，トリグリセライド(TG, 酵素法)，遊離脂肪酸(FFA, 酵素法)，総ビリルビン(Michaëlsson法)，カルシウム(Ca, OCPC法)，無機リン(Pi, Fiske-SubbaRow法)，トランスアミナーゼ(GOT及びGPT, Karmen法)，アルカリホスファターゼ(ALP, Bessey-Lowry法)，コリンエステラーゼ(ChE, 柴田－高橋法)，乳酸脱水素酵素(LDH, Wroblewski-LaDue法)，クレアチンホスホキナーゼ(CPK, Oliver法)を日立705形自動分析装置を用いて，ナトリウム(Na^+)，カリウム(K^+)を日立775形炎光光度計を用いて測定した。

(7) 器官組織の酵素活性測定

投与開始後13週目及び休薬5週目の剖検時に採取した器官の一部を用いて，肝グルコース-6-ホスファターゼ(G-6-Pase, Swanson法)，腎アデノシントリフォスファターゼ(ATPase, Kiellyらの方法)及び骨格筋CPK(Nuttall &Wedin法)の活性を測定した。

(8) 尿検査

投与開始後5～6週目，11～12週目及び休薬4週目に，18時間尿を個別に採取し，尿量測定後，尿比重屈折計(ユリコン-S, アタゴ)を用いて尿比重を測定した。また試験紙法にて，pH, 蛋白，グルコース，ケトン体，潜血(ラブスティックスⅢ，マイルス・三共)，ビリルビン(イクトスティックスⅡ，マイルス・三共)，及びウロビリノーゲン(ウロビリスティックスⅢ，マイルス・三共)を，日立775形炎光光度計を用いてNa^+とK^+を測定し，Na^+/K^+比を算出した。さらに投与開始後11～12週目及び休薬4週目には尿沈渣の鏡検も行った。

(9) 眼科的検査

投与開始後10週目及び休薬4週目に全例について無麻酔下で，ミドリンP(参天製薬)を点眼して散瞳させた後，細隙灯顕微鏡(SL-2, 興和)を用いて前眼部及び中間透光体を，眼底カメラ(RC-2 model 621, 興和)を用いて眼底を検査した。

(10) 病理学的検査

途中死亡例はその都度，生存例は投与期間及び休薬期間終了時に，エーテル麻酔下にて腹大動脈より放血致死させ，肉眼的に観察し器官を摘出した。肩・肘・股及び膝関節については軟骨表面を実体顕微鏡下で精査した。また脳，下垂体，顎下腺，胸腺，心臓，肺，肝臓，脾臓，腎臓，副腎，盲腸(内容物を含む場合と含まない場合)，精巣，精巣上体，前立腺，卵巣及び子宮については重量を測定し，体重比を算出した。

上記の諸器官に加えて，肉眼的に異常の認められた部位，並びに眼球，涙腺，視神経，蝸牛，脊髄，甲状腺，気管，大動脈，骨(上腕骨，胸骨，肋骨，大腿骨，骨髄を含む)，大腿四頭筋，膵臓，腸間膜リンパ節，食道，胃，十二指腸，空腸，回腸，結腸，直腸，膀胱及び精嚢は10%緩衝ホルマリン溶液で固定し，骨，蝸牛及び関節はさらに脱灰後，パラフィン切片を作製してヘマトキ

シリン・エオシン染色を施し，関節については加えてトルイジンブルー染色標本を作製し，鏡検を行った。

(11) 骨髄像

投与開始後13週目及び休薬5週目の剖検時に大腿骨より骨髄を採取して塗抹標本を作製し，May-Giemsa染色を施して約300個の有核細胞を鏡検した。

6. 統計学的方法

計量値については平均値と標準偏差を算出し，対照群との間にStudentのt-検定を行い，計数値については対照群との間にχ^2-検定を行い，いずれの検定も危険率5%以下をもって有意と判定した。なお投与期間中の回復試験群は別群として扱わず，各々の投与群に含めて計算した。

II. 実 験 成 績

1. 死亡状況

雄1200mg/kg群では投与開始後10日目より死亡が出現し，21日目までに20例中17例が死亡した。雌1200mg/kg群では12日目より死亡が出現し，25日目までに20例中18例が死亡した。また雄1200mg/kg回復試験群の2例中1例は休薬6日目に死亡した。雌雄とも400mg/kg以下の用量で死亡は認められなかった。

2. 一般状態

1200mg/kg群の死亡例では，雌雄とも投与開始後8日目より立毛がみられ始めた。ほとんどの死亡例では立毛がみられ始めるのとほぼ同時期に削痩状態となり，その後数日から約1週間の間に多くは死亡した。また死亡の数日前より下痢を伴うものも見られた。

休薬後に死亡した1例では，投与開始後85日目より立毛がみられ始め，休薬(91日目)後も継続し，休薬2日目より下痢が，3日目より削痩がみられ6日目に死亡した。

1200mg/kg群の生存例では，雌1例で投与開始後17日目から19日目にかけて一過性の立毛が出現した以外，fleroxacinによるとみられる著変は認められなかった。

雌雄とも400mg/kg以下の用量でfleroxacinによるとみられる著変は認められなかった。

3. 体重

1週間ごとの推移をFig.1，2に示した。1200mg/kg群の死亡例では投与開始後2日目頃より持続的に減少を続け死亡に至った。生存例でも体重減少あるいは増加抑制が著しかったが，休薬6日目に死亡した雄1例を除き，休薬により急激に回復し対照群の体重に近づいた。

400mg/kg群の雄では対照群に比し，若干の体重増加抑制傾向がみられ，有意差の見られた時期もあったが休薬により回復した。400mg/kg群の雌では影響は認められず，135mg/kg群の雌では対照群よりむしろ体重増加が良好であった。

4. 摂餌量及び摂水量

1200mg/kg群の摂餌量は雌雄とも，投与開始後2週目までは激減した。しかし死亡がみられなくなった雄で3週目，雌で4週目以降は減少傾向が残っているものの多少変動しながら対照群の摂餌量に近づいてゆき，休薬により回復した。400mg/kg以下の用量では摂餌量に著変は認められなかった(Fig. 3)。

1200mg/kg群の摂水量は雌雄とも2週目までは減少したが，3から4週目には逆に増加傾向を示した。5週目以後雄では差はみられなくなったが，雌ではほぼ観察期間を通して増加傾向が認められた。その他には，400mg/kg群の雄と135mg/kg群の雌で若干の増加傾向がみられた(Fig. 3)。

5. 体温

投与開始後12週目の投与前の体温は，対照群と比較し1200及び400mg/kg群の雌雄で低い傾向を示し，135mg/kg群の雌では高い傾向を示したが，ともに変動は軽度であった。投与後2時間の値は，各々の投与前値と比べて400mg/kg群の雄で僅かに高かったが，その他には差は認められなかった。

6. 血液学的検査

投与開始後7週目の検査では，1200及び400mg/kg群の雌雄に白血球数の増加，赤血球数とヘモグロビン量の減少がみられた。さらに用量に相関した変化ではなかったが，雄のfleroxacin投与群に，血小板数の増加，リンパ球比の上昇，好中球比の低下傾向が認められた。

13週目の検査では，1200及び400mg/kg群の雌雄と135mg/kg群の雌に白血球数の増加が，1200，400及び135mg/kg群の雄と1200mg/kg群の雌に赤血球数とヘモグロビン量の減少がみられた。また1200，400及び135mg/kg群の雄と400mg/kg群の雌にヘマトクリット値の減少が，400mg/kg群の雄と135mg/kg以上の用量群の雌にリンパ球比の上昇，好中球比の低下がみられた。

400及び1200mg/kg群にみられたこれらの変化は，休薬により回復あるいは軽減した。この他にも対照群との間に有意差を示す項目が散見されたが，いずれの変化も軽度かまたは用量に相関したものではなかった(Table 1)。

7. 血液生化学的検査

投与開始後13週目の検査では1200及び400mg/kg群の雌雄に総蛋白の減少が，135mg/kg以上の用量群の雌雄にはA/G比の上昇が，45mg/kg以上の用量群の雄と400mg/kg群の雌にBUNの減少が，45mg/kg以上の用量群の雄にTGの減少が，135mg/kg以上の用量群の雄にリン脂質の減少が，1200及び400mg/kg群の雄にFFAの減少が，400mg/kg群の雌にGOT, ChEの減少がみられた。

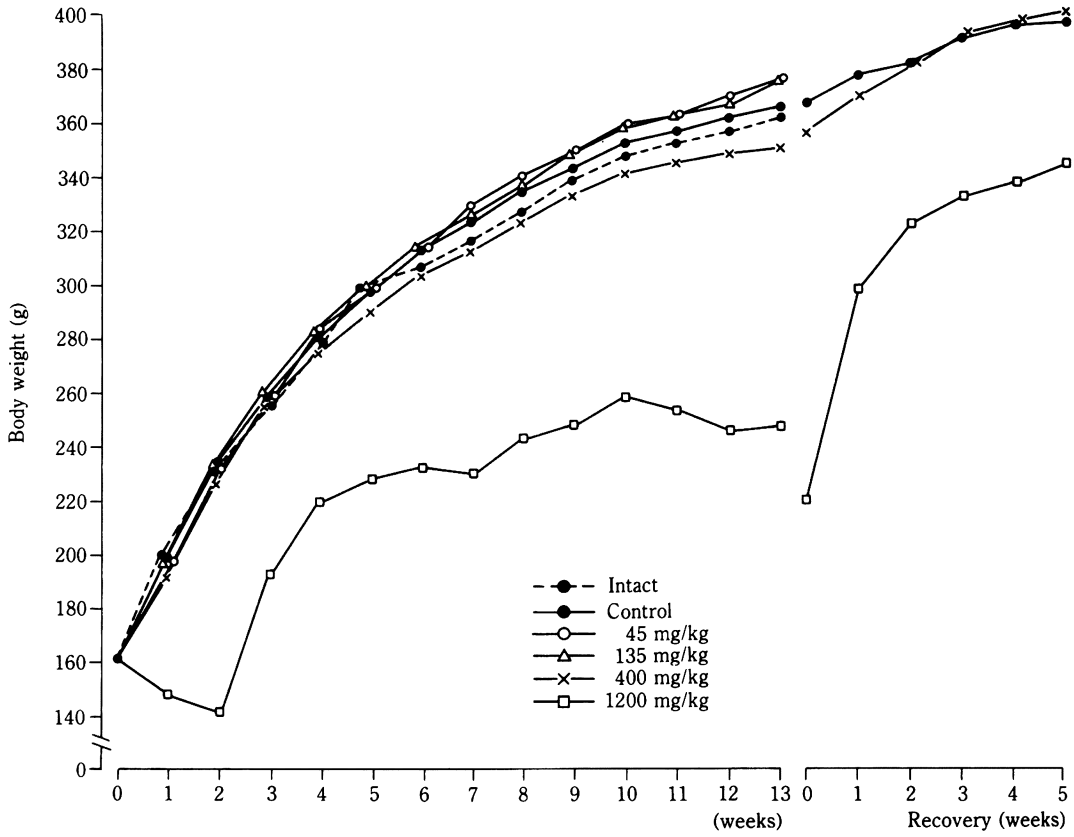

Fig. 1. Body weight changes in male rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period.

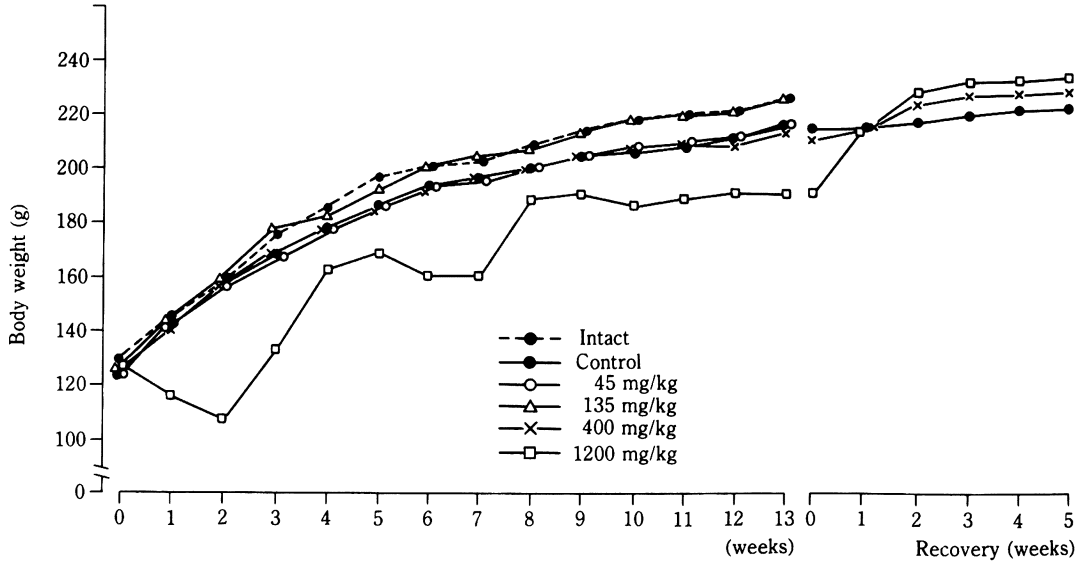

Fig. 2. Body weight changes in female rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period.

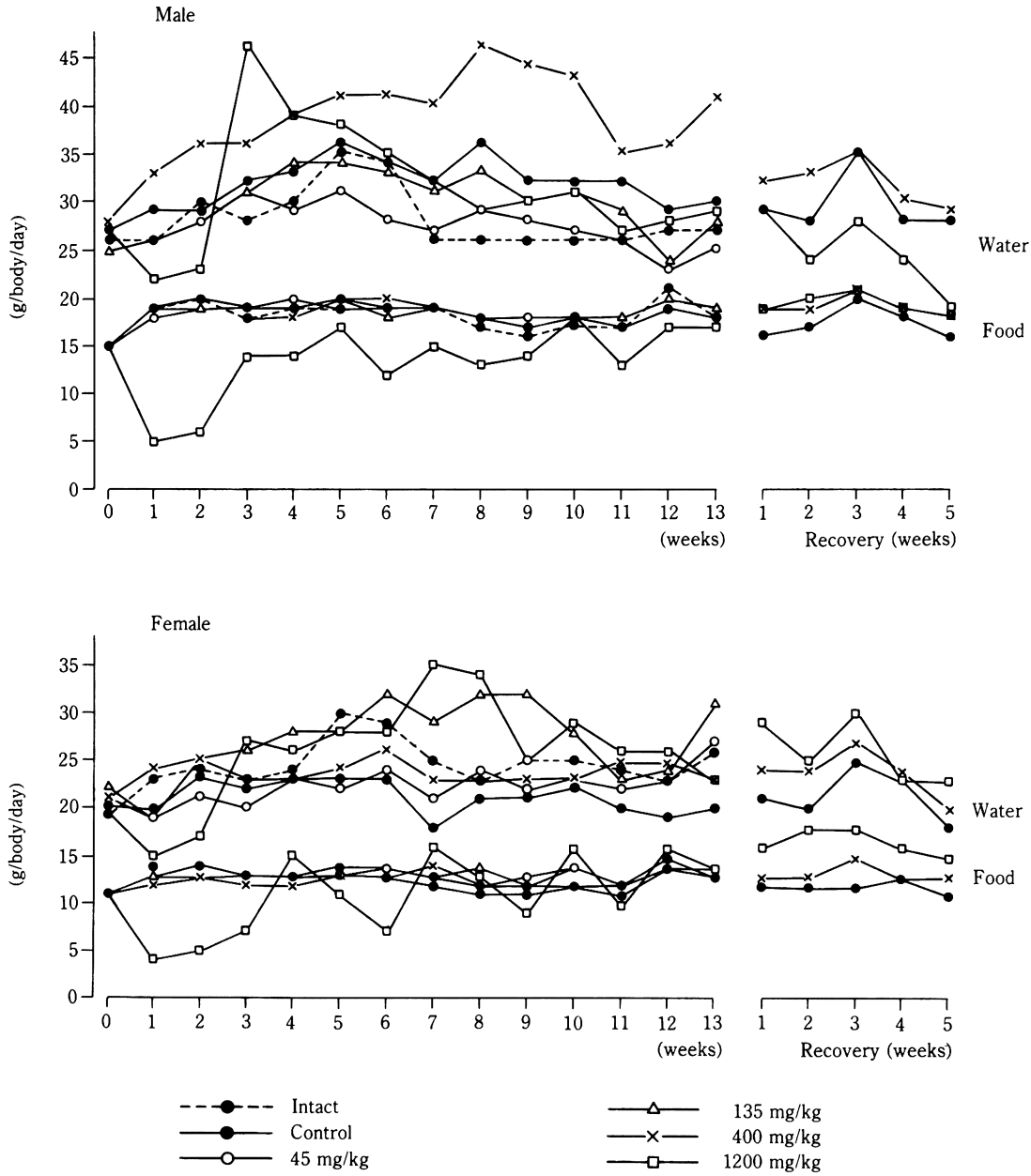

Fig. 3. Food and water consumption in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period.

Table 1-1. Hematological findings in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Test period (weeks)	Dose (mg/kg)	No. of rats	Leucocytes ($\times 10^2/mm^3$)	Platelets ($\times 10^4/mm^3$)	Erythrocytes ($\times 10^4/mm^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	ESR (mm/h)
Male	7	intact	10	149 ± 32[a)]	67.6 ± 15.5	805 ± 63	16.4 ± 1.2		
		control	20	148 ± 40	57.6 ± 8.8	798 ± 61	16.6 ± 0.6		
		45	10	138 ± 35	65.0 ± 8.2*	824 ± 66	16.9 ± 0.7		
		135	10	158 ± 28	62.6 ± 14.2	783 ± 77	16.2 ± 0.5		
		400	20	207 ± 64*	70.0 ± 13.1*	721 ± 72*	15.3 ± 0.7*		
		1200	3	324 ± 134	84.4 ± 7.2*	662 ± 125*	14.4 ± 1.6		
Female	7	intact	10	131 ± 44	66.6 ± 13.0	737 ± 115	15.9 ± 0.8		
		control	20	105 ± 24	68.1 ± 15.2	734 ± 72	16.1 ± 0.9		
		45	10	105 ± 24	73.6 ± 13.1	725 ± 83	16.0 ± 0.7		
		135	10	115 ± 25	81.0 ± 9.1*	718 ± 86	15.9 ± 1.2		
		400	20	139 ± 42*	73.5 ± 8.2	694 ± 80	15.3 ± 0.8*		
		1200	2	347 ± 58*	70.2 ± 3.7	670 ± 57	13.9 ± 0.5*		
Male	13	intact	10	167 ± 46	64.5 ± 13.9	856 ± 57	16.8 ± 0.8*	57.5 ± 6.8	0.4 ± 0.3
		control	20	160 ± 55	62.0 ± 8.6	853 ± 54	17.4 ± 0.7	60.3 ± 6.9[b)]	0.3 ± 0.1[b)]
		45	10	152 ± 16	69.4 ± 15.8	872 ± 67	17.1 ± 0.9	55.2 ± 4.7	0.3 ± 0.1
		135	10	160 ± 22	67.6 ± 12.7	789 ± 53*	16.0 ± 0.8*	54.2 ± 2.3*	0.4 ± 0.1
		400	20	242 ± 106*	71.4 ± 15.0*	766 ± 62*	15.9 ± 1.0*	54.8 ± 4.3*[b)]	0.3 ± 0.1[b)]
		1200	3	263 ± 166	52.2 ± 4.7	638 ± 5*	13.6 ± 0.5*	47.5 (n=1)	0.3 (n=1)
Female	13	intact	10	116 ± 26	72.3 ± 19.0	745 ± 40	15.8 ± 0.6	51.3 ± 4.7	0.3 ± 0.1
		control	20	102 ± 31	69.7 ± 8.8	754 ± 38	16.0 ± 0.9	51.5 ± 6.2[b)]	0.3 ± 0.1[b)]
		45	10	107 ± 28	71.2 ± 16.8	763 ± 28	16.0 ± 0.7	52.1 ± 5.0	0.4 ± 0.2
		135	10	141 ± 42*	72.7 ± 12.6	737 ± 34	15.4 ± 0.7	49.2 ± 3.1	0.4 ± 0.1
		400	20	162 ± 68*	66.4 ± 9.1	732 ± 49	15.6 ± 0.7	46.7 ± 3.2*[b)]	0.4 ± 0.2[b)]
		1200	2	280 ± 96*	68.6 ± 5.7	686 ± 11*	14.0 ± 1.4*		
Male	recovery 5	control	10	170 ± 54	63.4 ± 18.1	871 ± 45	17.3 ± 1.0	57.9 ± 3.5	0.4 ± 0.2
		400	10	158 ± 53	60.7 ± 14.0	852 ± 34	17.1 ± 0.6	53.7 ± 3.3*	0.3 ± 0.1
		1200	1	131	96.7	902	18.3	57.9	0.3
Female	recovery 5	control	10	105 ± 35	63.3 ± 12.3	766 ± 48	16.3 ± 0.6	52.1 ± 5.5	0.3 ± 0.1
		400	10	102 ± 29	65.3 ± 13.6	786 ± 54	16.9 ± 1.0	52.1 ± 5.9	0.3 ± 0.1
		1200	2	144 ± 16	64.8 ± 0.2	782 ± 25	16.7 ± 0.4	64.9 ± 1.6*	0.2 ± 0.0*

a) mean ± SD b) no. of rats = 10 * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 1-2. Hematological findings in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Test period (weeks)	Dose (mg/kg)	No. of rats	Differential counts of leucocyte (%) lymphocytes	neutrophils	eosinophils	basophils	monocytes
Male	7	intact	10	85.3± 5.3[a)]	13.0± 5.0	1.3±0.8	0.0±0.0	0.5±0.5
		control	20	82.4± 3.4	15.4± 3.2	1.7±1.1	0.0±0.1	0.6±0.7
		45	10	86.7± 3.2*	11.4± 2.6*	1.7±1.3	0.0±0.0	0.3±0.3
		135	10	84.6± 4.3	13.6± 4.0	1.2±0.7	0.0±0.0	0.7±0.8
		400	20	86.7± 4.0*	11.9± 3.5*	1.0±0.7*	0.0±0.1	0.4±0.5
		1200	3	89.3± 3.3*	10.3± 3.2*	0.5±0.5	0.2±0.3	0.3±0.3
Female	7	intact	10	83.4± 6.6	13.7± 5.3	2.5±1.5	0.0±0.0	0.5±0.5
		control	20	84.0± 5.5	13.5± 4.8	2.0±1.2	0.0±0.0	0.5±0.5
		45	10	86.1± 3.6	12.0± 3.4	1.7±1.2	0.0±0.0	0.3±0.3
		135	10	87.8± 4.2	10.5± 3.8	1.3±0.6	0.0±0.0	0.5±0.5
		400	20	87.0± 4.1	10.5± 3.7*	2.0±0.8	0.1±0.2	0.5±0.4
		1200	2	81.3± 5.3	16.3± 5.3	2.3±0.4	0.0±0.0	0.3±0.4
Male	13	intact	10	79.8± 3.7	16.9± 2.6	2.0±0.8	0.0±0.0	1.4±1.4
		control	20	80.6± 7.4	16.4± 6.7	1.9±0.9	0.0±0.0	1.1±0.9
		45	10	83.4± 5.8	14.0± 5.0	1.9±1.5	0.0±0.0	0.8±0.7
		135	10	80.2± 7.4	16.3± 6.2	2.7±1.9	0.0±0.0	1.0±0.4
		400	20	85.2± 4.0*	12.7± 3.9*	1.2±0.7*	0.0±0.1	0.9±0.9
		1200	3	76.3±16.8	21.8±18.1	1.0±1.3	0.0±0.0	0.8±0.6
Female	13	intact	10	77.2± 8.9	19.9± 8.5	2.2±0.8	0.0±0.0	0.7±1.3
		control	20	81.2± 4.4	15.8± 3.8	2.1±1.2	0.0±0.0	0.9±0.6
		45	10	83.1± 5.7	13.4± 4.1	2.7±1.5	0.0±0.0	0.9±0.9
		135	10	86.2± 5.0*	11.0± 4.3*	2.1±1.1	0.0±0.0	0.8±0.7
		400	20	87.2± 2.3*	10.1± 2.3*	1.7±0.9	0.0±0.0	1.1±0.7
		1200	2	92.0± 4.2*	6.8± 3.2*	0.5±0.7	0.0±0.0	0.8±0.4
Male	recovery 5	control	10	79.4± 3.8	16.2± 3.4	3.4±1.0	0.0±0.0	1.1±1.1
		400	10	82.6± 2.6*	14.1± 1.9	2.3±1.3*	0.1±0.2	1.0±0.9
		1200	1	84.5	12.0	3.0	0.0	0.5
Female	recovery 5	control	10	77.7±12.0	18.8±10.7	2.6±1.1	0.0±0.0	1.0±1.1
		400	10	83.5± 5.0	13.0± 4.2	2.8±0.8	0.0±0.0	0.9±0.6
		1200	2	86.0± 1.4	10.5± 0.0*	3.0±1.4	0.0±0.0	0.5±0.0

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

これらの変化は休薬により回復あるいは軽減した。この他にも対照群との間に有意差を示す項目が散見されたが，いずれの変化も軽度かまたは用量に相関したものではなかった。なお，雌対照群の1例については採血不良のため13週目の検査を行わなかった(Table 2)。

8. 器官組織酵素活性

投与開始後13週目の検査で，腎ATPaseの比活性はfleroxacin投与群で増加傾向にあったが，軽度で，用量依存性は認められず，休薬後の検査では有意差は認められなかった(Table 3)。肝G-6 Pase及び骨格筋CPKの比活性にはfleroxacin投与によるとみられる変化は認められなかった。

9. 尿検査

投与開始後6週目の検査では，1200mg/kg群の雌雄にpHの低下，ケトン体陽性，Na^+及びNa^+/K^+比の低下がみられ，さらに雌には尿量の増加と尿比重の低下及びK^+の低下も認められた。400mg/kg群では雌にケトン体陽性，Na^+/K^+比の低下がみられた。

12週目の検査では，1200mg/kg群の雌雄に尿量の増加，pHの低下，ケトン体陽性，Na^+及びK^+の低下がみられ，雌にはNa^+/K^+比の低下もみられた。400mg/kg群では雌雄にケトン体陽性がみられ，雄にはK^+の低下，雌にはNa^+及びNa^+/K^+比の低下もみられた。135mg/kg群でも雄にケトン体陽性，雌にK^+の低下が認められた。また尿沈渣の鏡検では，400mg/kg群の雌雄全例と1200mg/kg群の雌1例にfleroxacinの結晶とみられる無色の方形板状結晶が認められ，この雌1例以外の1200mg/kg群の雌雄の尿中には通常みられる結晶が全く認められなかった。

これらの変化は休薬により回復あるいは軽減した。この他にも対照群との間に有意差を示す項目が散見されたが，いずれの変化も軽度かまたは用量に相関したものではなかった(Table 4)。

10. 眼科的検査

投与開始後10週目及び休薬4週目の検査で，fleroxacin投与によると思われる変化は認められなかった。

11. 剖検所見

剖検時の所見をTable 5, 6, 7に要約した。

(1) 途中死亡例(1200mg/kg群のみ)

ほとんど全例が削痩状態を示し，休薬中に死亡した雄1例を除き，盲腸の腫大もみられた。休薬中に死亡したものを含め雄18例中8例及び雌18例中3例に，関節軟骨表面の水疱様病変が認められた(Fig. 4)。

(2) 生存例

投与開始後13週目の剖検で，400mg/kg群の雌雄とも10例中7例に盲腸の腫大が，雌1例に関節軟骨表面の水疱様病変が認められた。1200mg/kg群の雄1例では盲腸の腫大，精巣，精巣上体，前立腺，精嚢の萎縮及び関節軟骨表面の水疱様病変が認められた。

休薬5週目の剖検では1200mg/kg群の雌2例中1例に関節軟骨表面の水疱様病変がみられた。

生存例，死亡例を問わず，上記以外の病変も各群に散見されたが，その発現頻度はいずれも単発的で用量に相関したものではなかった。

水疱様病変は大腿骨の骨頭及び遠位端顆に多く，これ以外には上腕骨骨頭と脛骨近位端顆に各1例みられるにすぎなかった。

12. 器官重量

投与開始後13週目の剖検で，絶対重量と相対重量がともに有意に変化したものを次に示す。

内容物を含む盲腸は雄で135mg/kg以上の，雌では45mg/kg以上の用量群で増量がみられ，内容物を含まない場合は雄で135mg/kg以上の用量群で，雌では400mg/kg群で増量がみられた。また雄では前立腺と精巣上体の減量が135mg/kg以上の用量群で，精巣の増量が400mg/kg群で，腎臓の増量が400mg/kg以上の用量群でみられ，雌では子宮の増量が135mg/kg以上の用量群で，胸腺，心臓，肝臓，脾臓の増量が400mg/kg群でみられた。これらの変化は5週間の休薬により回復あるいは軽減した。

上記以外にも対照群と比較して絶対重量あるいは相対重量で有意差のみられる器官があったが，いずれも体重減少によるとみられるものか，用量に相関していないものであった(Table 8, 9)。

13. 組織学的所見

所見はTable 10～13に要約した。

盲　腸：肉眼的には腫大が認められたが，組織学的には異常はなかった。

関節軟骨：肉眼的に関節軟骨表面にみられた水疱様病変は，組織学的には軟骨基質の限局性粗鬆化及び軟骨基質の崩壊による小空隙形成(Fig. 5)として認められた。水疱様病変部位以外の関節軟骨には組織学的に異常は認められず，また雌1200mg/kg群においては，投与期間中の死亡1例と休薬後の生存1例では肉眼的には水疱様病変を認めたが，組織標本上は異常を認めることができなかった。

精巣上体：投与期間終了後に検査した動物では，135mg/kg群の1例と1200mg/kg群の生存1例で，管腔内に壊死精子の貯留(Fig. 6)がみられ，正常精子はほとんど認められなかった。また上記135mg/kg群の1例，400mg/kg群の全例及び1200mg/kg群の死亡例18例中16例に，エオシン好性細胞(Fig. 7)が管腔内で混在してい

Table 2-1. Biochemical findings of serum in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	BUN (mg/dl)	UA (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Male	intact	10	5.9±0.1[a)]	2.8±0.1	0.88±0.02	25.2±3.0	2.5±0.5	0.5±0.0
	control	10	5.9±0.3	2.8±0.1	0.87±0.04	27.2±2.2	2.7±0.8	0.5±0.1
	45	10	5.7±0.2	2.7±0.1	0.90±0.05	24.5±2.4*	2.8±0.8	0.6±0.1
	135	10	5.7±0.2	2.7±0.1	0.92±0.04*	24.3±2.8*	2.3±0.6	0.5±0.1
	400	10	5.5±0.2*	2.7±0.1	0.98±0.04*	23.2±2.7*	2.7±1.1	0.5±0.1
	1200	1	4.8	2.5	1.08	23.1	2.8	0.4
Female	intact	10	5.6±0.3	2.9±0.2	1.04±0.03	20.3±2.4*	2.4±0.6	0.5±0.1
	control	9	5.6±0.2	2.9±0.1	1.03±0.04	22.7±2.2	2.2±0.5	0.5±0.1
	45	10	5.5±0.3	2.9±0.2	1.08±0.05*	20.4±3.2	2.6±0.5	0.5±0.1
	135	10	5.5±0.2*	2.9±0.1	1.10±0.06*	20.7±2.4	2.6±0.4	0.5±0.0
	400	10	5.2±0.1*	2.7±0.1*	1.10±0.06*	18.3±4.7*	2.5±0.4	0.5±0.1*
	1200	0						
Male	recovery							
	control	10	5.8±0.1	2.7±0.1	0.84±0.05	26.2±1.4	2.7±0.8	0.5±0.0
	400	10	5.7±0.2	2.7±0.1	0.87±0.04	26.5±1.3	2.3±0.5	0.5±0.1
	1200	1	5.4	2.6	0.92	28.6	3.0	0.5
Female	recovery							
	control	10	5.7±0.1	2.9±0.1	1.02±0.05	24.1±4.1	2.5±0.6	0.5±0.1
	400	10	5.5±0.3	2.9±0.1	1.06±0.06	22.1±2.7	2.4±0.3	0.5±0.0
	1200	2	5.4±0.6	2.8±0.4	1.04±0.05	26.7±5.1	2.9±0.8	0.5±0.0

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 2-2. Biochemical findings of serum in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Glucose (mg/dl)	T. bilirubin (mg/dl)	Na^+ (meq/l)	K^+ (meq/l)	Ca (mg/dl)	Pi (mg/dl)
Male	intact	10	196±18[a)]	0.2±0.0	150.1±1.8	5.76±0.73	9.2±0.2	6.8±0.9
	control	10	205±27	0.3±0.1	150.8±2.8	5.96±0.76	9.2±0.4	7.2±0.9
	45	10	205±23	0.2±0.0	150.7±2.3	5.72±0.73	9.0±0.2	7.0±0.8
	135	10	188±25	0.2±0.0	150.6±1.5	5.41±0.40	8.9±0.2	7.8±0.7
	400	10	188±28	0.2±0.0	150.5±1.9	5.65±0.56	8.8±0.4	7.8±0.9
	1200	1	186	0.2	148.2	5.93	9.1	9.2
Female	intact	10	203±28	0.3±0.0	150.1±1.1	4.48±0.40	8.9±0.3	6.9±0.7
	control	9	182±18	0.2±0.1	149.8±2.2	4.76±0.60	8.9±0.2	6.1±1.0
	45	10	187±48	0.3±0.1	150.7±1.6	4.80±0.66	9.0±0.2	6.8±1.1
	135	10	191±28	0.3±0.1	150.8±1.8	4.43±0.48	8.9±0.2	6.9±0.5*
	400	10	178±20	0.2±0.1	149.3±1.1	4.62±0.68	8.8±0.4	6.8±0.8
	1200	0						
Male	recovery control	10	206±21	0.2±0.0	148.6±1.8	5.60±0.77	9.1±0.3	6.6±0.9
	400	10	209±26	0.2±0.0	149.0±2.3	5.31±0.77	9.1±0.2	7.6±0.9*
	1200	1	191	0.2	146.3	5.58	8.9	6.6
Female	recovery control	10	180± 8	0.2±0.0	148.2±2.0	4.68±0.81	9.0±0.3	5.7±1.3
	400	10	200±20*	0.2±0.0	149.1±3.1	4.47±0.60	9.0±0.3	5.9±1.4
	1200	2	210±15*	0.2±0.0	147.2±1.4	5.73±0.04	9.3±0.4	4.4±0.1

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 2-3. Biochemical findings of serum in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	T. cholesterol (mg/dl)	F. cholesterol (mg/dl)	TG (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	FFA (μeq/l)
Male	intact	10	59±4[a)]	13±3	180±46	136± 9	1201±656
	control	10	61±5	14±2	206±47	144±11	1158±635
	45	10	61±8	13±3	150±45*	133±15	892±368
	135	10	60±5	13±2	131±47*	133± 7*	946±265
	400	10	58±6	12±2*	94±42*	126±11*	682±195*
	1200	1	59	12	27	124	614
Female	intact	10	46±7	9±2	53±27	127±18	774±234
	control	9	45±6	9±2	87±62	127±12	1013±587
	45	10	48±6	10±2	72±39	132±12	915±440
	135	10	48±5	10±2	44±15	133±11	853±458
	400	10	45±6	8±2	38±21	117±11	699±139
	1200	0					
Male	recovery control	10	57±5	12±2	157±50	128±11	858±242
	400	10	56±6	13±2	147±44	126±11	863±328
	1200	1	51	11	102	120	456
Female	recovery control	10	47±4	10±2	79±54	124±11	624±215
	400	10	47±5	10±2	64±35	126±11	712±128
	1200	2	47±0	10±1	78± 6	119±11	614± 8

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 2-4. Biochemical findings of serum in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	ChE (△pH)	LDH (IU/l)	CPK (IU/l)
Male	intact	10	99 ± 9[a)]	18 ± 2	302 ± 51	0.03 ± 0.02 (9)	3387 ± 706	519 ± 130
	control	10	104 ± 14	25 ± 17	330 ± 46	0.03 ± 0.02	3204 ± 730	510 ± 108
	45	10	94 ± 14	18 ± 2	290 ± 42	0.03 ± 0.02 (9)	3110 ± 536	489 ± 109
	135	10	104 ± 19	19 ± 3	310 ± 22	0.02 ± 0.02 (9)	3432 ± 767	543 ± 176
	400	10	113 ± 18	24 ± 4	324 ± 45	0.01 ± 0.02*(9)	3417 ± 795	515 ± 168
	1200	1	96	34	293	0.02	3440	373
Female	intact	10	86 ± 11	14 ± 2*	187 ± 48	0.62 ± 0.26	2668 ± 645	397 ± 93
	control	9	93 ± 12	16 ± 2	210 ± 38	0.55 ± 0.15	2388 ± 585	415 ± 113
	45	10	104 ± 18	16 ± 3	184 ± 37	0.58 ± 0.28	2798 ± 623	631 ± 539
	135	10	91 ± 17	16 ± 2	184 ± 33	0.49 ± 0.18	2543 ± 710	421 ± 42
	400	10	80 ± 12*	18 ± 3	208 ± 46	0.37 ± 0.10*	2452 ± 494	428 ± 182
	1200	0						
Male	recovery control	10	105 ± 19	24 ± 9	313 ± 30	0.01 ± 0.01	3416 ± 532	590 ± 90
	400	10	102 ± 19	16 ± 3*	315 ± 52	0.03 ± 0.03	3406 ± 812	591 ± 104
	1200	1	106	14	348	0.00	3616	632
Female	recovery control	10	96 ± 10	14 ± 2	226 ± 41	0.58 ± 0.15	3151 ± 642	527 ± 83
	400	10	77 ± 7*	12 ± 2*	198 ± 45	0.76 ± 0.19*	2234 ± 332*	393 ± 63*
	1200	2	90 ± 7	13 ± 1	260 ± 8	0.35 ± 0.19	2866 ± 110	481 ± 78

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p < 0.05$
Numbers in parentheses indicate the number of samples assayed

るのが認められたが，135mg/kg群の1例を除き，正常精子中に僅かに混在したものであった。休薬後の検査では，1200mg/kg群の生存例に同様の所見がみられたが，400mg/kg群には認められなかった。精巣上体管及び間質結合組織に異常は認められなかった。肉眼的に腫瘤として認められたものは組織学的には精子性肉芽腫であった。

精　巣：投与期間終了後の検査で，肉眼的に萎縮のみられた1200mg/kg群の生存1例の精巣では，組織学的に精細管の萎縮及び精子無形成(Fig. 8)が認められた。1200mg/kg群の死亡例18例中3例では精子細胞が多核化したとみられる像が認められた。

脾　臓：1200mg/kg群の雌雄死亡例の検査した全例に，白脾髄の萎縮が認められた。

その他：肉眼的に萎縮のみられた1200mg/kg群の雄の生存1例の精嚢，並びに肉眼的に変形のみられた45mg/kg群の雄1例と400mg/kg群の雌1例の骨には，組織学的に異常は認められなかった。また135mg/kg群の雌1例にみられた眼球白濁は角膜上皮細胞の肥厚及びびらんであり，135mg/kg群の別の雌1例にみられた皮下腫瘤は腺維腫であった。

1200mg/kg群の死亡例の雌1例の腎臓に，限局性の軽度な梗塞が認められた。また45mg/kg群，135mg/kg群の雄及び400mg/kg回復群の雌各1例の腎臓に限局性の軽度な細胞浸潤がみられ，400mg/kg回復群の雄1例の腎臓に嚢胞が認められた。対照群と400mg/kg回復群の雌各1例の子宮壁に嚢胞がみられ，無処置群，対照群，回復対照群の雌1例及び135mg/kg群の雌3例の子宮に内腔拡張が認められた。45mg/kg群の雌雄各1例の膵臓に膵管増生がみられ，45mg/kg群の別の雄1例の脾臓に外分泌細胞の萎縮が認められた。45mg/kg群の雄2例，135mg/kg群の雄2例と雌1例の心筋に限局性の軽度な細胞浸潤が認められた。400mg/kg回復群の雄1例の肝臓に限局性の軽度な細胞浸潤が認められた。400mg/kg回復群の雄1例の前立腺に限局性の軽度な細胞浸潤が認められた。135mg/kg群の雌1例と回復対照群の雌雄各1例の下垂体の前葉に嚢胞が認められた。

これら以外の諸器官，組織に異常は認められなかった(Fig. 9, 10)。

14. 骨髄像

対照群との間に有意差を示す項目があったが，変動は軽度であった(Table 14, 15, 16)。

Table 3. ATPase activity of kidney in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Protein (mg/g kidney)	Activity (U/g kidney)	Specific activity (U/mg protein)
Male	intact	6	110.5± 9.7[a)]	170.2±16.1	1.54±0.12
	control	6	111.2± 7.2	171.9±11.3	1.55±0.16
	45	6	99.9± 5.6*	177.1±15.0	1.78±0.17*
	135	6	105.6± 7.8	192.6±18.0*	1.83±0.23*
	400	6	110.7± 8.3	192.0± 9.5*	1.74±0.16
	1200	1	93.8	155.2	1.65
Female	intact	6	93.9±18.3	179.6±21.9	1.94±0.27
	control	6	88.9± 5.8	166.4±11.6	1.88±0.14
	45	6	82.5± 6.7	183.5± 8.6*	2.23±0.13*
	135	6	85.2± 6.6	173.6± 8.4	2.05±0.22
	400	6	85.8± 6.4	176.6±16.8	2.06±0.13*
	1200	0			
Male	recovery control	6	96.4±11.7	90.3±17.0	0.93±0.08
	400	6	98.7±13.0	92.5±13.7	0.95±0.19
	1200	1	118.7	85.3	0.72
Female	recovery control	6	91.7± 7.3	85.1± 4.4	0.93±0.08
	400	6	93.2±10.5	86.9±12.1	0.94±0.13
	1200	2	91.7± 6.4	91.6± 1.4	1.00±0.08

a) mean ± SD　* significant difference from the control, $p<0.05$
ATPase: μmoles Pi/10 min at 28°C

Table 4-1. Urinary findings in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Test period (weeks)	Dose (mg/kg)	No. of rats	Volume (ml)	pH	Specific gravity	Protein			Glucose		Ketone bodies		
							±	+	++	−	+	−	+	++
Male	6	intact	10	7.1±1.5*[a)]	7.9±0.2*	1.057±0.009	1	9	0	10	0	10	0	0
		control	20	8.8±1.7	7.6±0.4	1.051±0.008	4	16	0	20	0	20	0	0
		45	10	7.0±1.3*	7.7±0.3	1.059±0.006*	2	8	0	10	0	10	0	0
		135	10	7.9±2.1	7.7±0.3	1.057±0.012	2	8	0	10	0	10	0	0
		400	20	7.8±1.6	7.7±0.4	1.058±0.010*	3	17	0	20	0	20	0	0
		1200	3	8.1±3.4	6.2±0.3*	1.062±0.023	1	2	0	3	0	0	3	0*
Female	6	intact	10	5.1±1.8	7.7±0.4	1.061±0.013	1	9	0	10	0	10	0	0
		control	20	5.4±1.8	7.7±0.4	1.055±0.010	6	14	0	20	0	20	0	0
		45	10	5.8±2.4	7.6±0.5	1.051±0.014	3	7	0	10	0	10	0	0
		135	10	6.3±1.7	7.6±0.3	1.052±0.014	4	6	0	10	0	10	0	0
		400	20	5.2±2.4	7.6±0.4	1.058±0.014	3	17	0	20	0	18	2	0
		1200	2	16.9±2.1*	6.0±0.0*	1.023±0.001*	2	0	0	2	0	0	2	0*
Male	12	intact	10	6.9±1.4	7.7±0.3	1.063±0.007	0	7	3	10	0	10	0	0
		control	20	8.1±2.1	7.5±0.4	1.058±0.009	0	18	2	20	0	20	0	0
		45	10	7.2±2.0	7.6±0.4	1.064±0.011	0	10	0	10	0	10	0	0
		135	10	7.7±2.5	7.6±0.3	1.063±0.013	0	10	0	10	0	9	1	0
		400	20	8.6±2.8	7.6±0.3	1.059±0.012	0	19	1	20	0	9	11	0*
		1200	3	11.3±6.5	6.0±0.0*	1.058±0.031	1	1	1*	3	0	0	0	3*
Female	12	intact	10	6.2±2.1	7.3±0.3	1.058±0.015	0	10	0	10	0	10	0	0
		control	20	5.3±1.7	7.5±0.4	1.061±0.010	1	17	2	20	0	20	0	0
		45	10	5.5±2.0	7.6±0.4	1.060±0.010	0	9	1	10	0	10	0	0
		135	10	6.2±1.6	7.5±0.4	1.058±0.011	0	10	0	10	0	10	0	0
		400	20	6.2±2.6	7.5±0.4	1.056±0.012	0	20	0	20	0	9	11	0*
		1200	2	8.8±1.1*	6.0±0.0*	1.048±0.006	0	2	0	2	0	0	0	2*
Male	recovery 4	control	10	6.8±1.3	7.9±0.2	1.064±0.006	0	9	1	10	0	10	0	0
		400	10	7.8±1.4	7.8±0.3	1.063±0.007	0	10	0	10	0	10	0	0
		1200	1	6.6	7.5	1.068	0	1	0	1	0	1	0	0
Female	recovery 4	control	10	6.4±1.8	7.6±0.4	1.056±0.011	0	10	0	10	0	10	0	0
		400	10	7.1±2.4	7.6±0.3	1.059±0.009	0	9	1	10	0	10	0	0
		1200	2	5.5±2.4	6.8±0.4*	1.074±0.009	0	2	0	2	0	2	0	0

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 4-2. Urinary findings in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Test period (weeks)	Dose (mg/kg)	No. of rats	Occult blood				Bilirubin		Urobilinogen[b)]		Na^+ (meq/l)	K^+ (meq/l)	Na^+/K^+ ratio
				−	±	+	++	−	+	0.1	1.0			
Male	6	intact	10	7	1	2	0	10	0	9	1	145.0±28.6[a)]	288.5± 61.5*	0.51±0.03
		control	20	16	3	1	0	20	0	20	0	129.1±20.5	245.7± 46.4	0.53±0.05
		45	10	8	1	1	0	10	0	10	0	146.1±29.8	282.4± 58.8	0.52±0.04
		135	10	7	3	0	0	9	1	10	0	145.0±31.1	254.6± 56.5	0.57±0.05*
		400	20	15	3	1	1	20	0	20	0	123.5±30.3	247.2± 66.0	0.51±0.09
		1200	3	3	0	0	0	3	0	3	0	72.8±41.3*	286.0± 93.3	0.25±0.10*
Female	6	intact	10	9	1	0	0	10	0	10	0	148.6±37.9	284.4± 70.1	0.52±0.05
		control	20	20	0	0	0	19	1	19	1	140.3±37.1	253.2± 64.0	0.56±0.06
		45	10	10	0	0	0	10	0	9	1	135.3±42.8	246.7± 56.3	0.54±0.07
		135	10	10	0	0	0	10	0	10	0	133.5±33.7	250.3± 66.1	0.54±0.08
		400	20	19	1	0	0	20	0	20	0	129.7±33.2	257.3± 58.9	0.51±0.07*
		1200	2	2	0	0	0	2	0	2	0	36.0± 0.6*	107.0± 0.8*	0.34±0.01*
Male	12	intact	10	3	5	2	0*	9	1	10	0	138.0±29.0	270.7± 40.6	0.51±0.04
		control	20	12	5	0	3	19	1	20	0	136.5±26.3	252.6± 50.9	0.54±0.05
		45	10	6	4	0	0	9	1	10	0	143.2±22.4	264.0± 53.3	0.55±0.05
		135	10	8	2	0	0	10	0	10	0	136.0±32.0	248.4± 66.2	0.55±0.04
		400	20	15	5	0	0	20	0	20	0	120.0±28.3	217.5± 50.7*	0.55±0.07
		1200	3	3	0	0	0	3	0	3	0	79.3±51.5*	206.4±133.4	0.41±0.11
Female	12	intact	10	10	0	0	0	8	2	9	1	133.2±44.0	245.6± 68.7	0.54±0.08
		control	20	18	2	0	0	18	2	19	1	147.7±33.4	261.9± 51.5	0.57±0.06
		45	10	8	2	0	0	9	1	10	0	140.6±33.2	243.8± 56.6	0.58±0.05
		135	10	10	0	0	0	10	0	10	0	124.7±38.7	219.5± 53.6*	0.57±0.09
		400	20	20	0	0	0	19	1	19	1	111.2±27.9*	224.1± 70.9	0.51±0.08*
		1200	2	2	0	0	0	2	0	2	0	51.8± 5.9*	145.4± 20.6*	0.36±0.01*
Male	recovery 4	control	10	8	2	0	0	10	0	10	0	143.1±23.3	265.6± 43.7	0.54±0.04
		400	10	7	3	0	0	10	0	10	0	134.5±23.9	272.4± 52.2	0.50±0.05*
		1200	1	0	1	0	0	1	0	1	0	129.6	297.6	0.44
Female	recovery 4	control	10	10	0	0	0	10	0	10	0	116.8±26.7	228.7± 63.3	0.52±0.08
		400	10	10	0	0	0	10	0	10	0	108.6±27.4	221.6± 65.7	0.50±0.03
		1200	2	2	0	0	0	2	0	2	0	149.2±50.3	345.4± 26.3*	0.43±0.11

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$
b) unit = Ehrlich unit/dl

Table 4-3. Urinary findings in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Test period (weeks)	Dose (mg/kg)	No. of rats	Sediment					
				epithelial cells	leucocytes	red blood cells	organisms	casts	abnormal substances
Male	12	intact	10	0.0±0.0[a)]	0.2±0.4	0.3±0.9	3.0±0.0	0.3±0.5	0.0±0.0
		control	20	0.1±0.2	0.1±0.2	0.6±1.0	3.0±0.0	0.4±0.5	0.0±0.0
		45	10	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.9	2.9±0.3	0.4±0.5	0.0±0.0
		135	10	0.0±0.0	0.1±0.3	0.3±0.9	3.0±0.0	0.4±0.5	0.2±0.4
		400	20	0.0±0.0	0.0±0.0	0.4±0.9	3.0±0.0	0.2±0.4	3.0±0.0*
		1200	3	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0*	3.0±0.0	0.3±0.6	0.0±0.0
Female	12	intact	10	0.1±0.3	0.3±0.5	0.2±0.4	3.0±0.0	0.4±0.5	0.0±0.0
		control	20	0.1±0.2	0.3±0.4	0.2±0.4	3.0±0.0	0.3±0.4	0.0±0.0
		45	10	0.0±0.0	0.1±0.3	0.3±0.7	3.0±0.0	0.1±0.3	0.1±0.3
		135	10	0.0±0.0	0.3±0.5	0.3±0.5	3.0±0.0	0.5±0.5	0.0±0.0
		400	20	0.0±0.0	0.2±0.4	0.1±0.3	3.0±0.0	0.4±0.6	2.9±0.3*
		1200	2	0.0±0.0	0.0±0.0*	0.0±0.0*	3.0±0.0	1.0±0.0*	1.5±2.1
Male	recovery 4	control	10	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±1.1	3.0±0.0	0.3±0.5	0.0±0.0
		400	10	0.0±0.0	0.1±0.3	1.2±1.5	3.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		1200	1	0.0	0.0	3.0	3.0	0.0	0.0
Female	recovery 4	control	10	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	3.0±0.0	0.1±0.3	0.0±0.0
		400	10	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	3.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		1200	2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	3.0±0.0	0.5±0.7	0.0±0.0

a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

(Score) 0: nil in every field
1: a few in some fields
2: a few in every field
3: many in every field

Table 5. Macroscopic findings in rats which died during a 13-week oral administration of fleroxacin and a 5-week recovery period

Group Sex No. of rats	13-week administration period 1200 mg/kg male 17	 female 18	5-week recovery period 1200 mg/kg male 1	 female 0
General status				
Emaciation	16/17	18/18	1/1	—
Articular cartilage				
Blisters	7/17	3/18	1/1	—
Lung				
Congestion	1/17	0/18	0/1	—
Intestine				
Weakness	2/17	0/18	0/1	—
Cecum				
Large in size	17/17	18/18	0/1	—
Kidney				
Rough surface	0/17	1/18	0/1	—
Epididymis				
Mass	4/17		0/1	

Table 6. Macroscopic findings in male rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Group (mg/kg) No. of rats	Intact 10	Control 10	45 10	135 10	400 10	1200 1
Articular cartilage						
Blisters	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/1
Deformation	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/1
Cecum						
Large in size	0/10	0/10	0/10	0/10	7/10	1/1
Kidney						
Atrophy (left) and hydronephrosis (right)	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/1
Testis, prostate and seminal vesicles						
Small in size	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/1
Epididymis						
Small in size	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/1
Mass (left or right)	1/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/1
Recovery						
No. of rats		10			10	1
Kidney						
Bulla (left)		0/10			1/10	0/1
Epididymis						
Mass (left and right)		0/10			0/10	1/1

Ⅲ. 考　　察

Fleroxacinの0, 45, 135, 400及び1200mg/kgをWistar系ラットに13週間連続経口投与して亜急性毒性を検討し，さらに0, 400及び1200mg/kgについては5週間の休薬期間を設けてその回復性を検討した。

その結果，投与期間中に1200mg/kg群の雄17例，雌18例が，また休薬期間中に，同群の雄1例が死亡した。死亡例では，体重減少，摂餌・餌水量の減少，立毛がみられ，削痩状態が著明で下痢を伴うものも多く，そのほかに異常症状が認められないことから，fleroxacin投与に起因する栄養障害により死亡したものと考えられた。

1200mg/kg群の生存例でも投与期間中は一時的な体重減少及び著しい体重増加抑制がみられ，また400mg/kg群の雄でも軽度の体重増加抑制がみられたが，ともに休薬により回復した。

血液学的検査では，主に135mg/kg以上の用量群において，白血球数及び血小板数の増加，赤血球数，ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少並びにリンパ球比の上昇と好中球比の低下がみられたが，血小板数，ヘマ

Fig. 4. Left femoral condyle from a dead male rat orally treated with 1200 mg/kg of fleroxacin for 17 days.

Blister (arrow).

Table 7. Macroscopic findings in female rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Group (mg/kg) No. of rats	Intact 10	Control 10	45 10	135 10	400 10	1200 0
Subcutaneous tissue						
Mass	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	—
Articular cartilage						
Blisters	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	—
Deformation	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	—
Cecum						
Large in size	0/10	0/10	0/10	0/10	7/10	—
Uterus						
Bulla (right)	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	—
Adrenal gland						
Aplasia (right)	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	—
Eyeball						
Opacity (left)	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	—
Recovery						
No. of rats		10			10	2
Articular cartilage						
Blisters		0/10			0/10	1/2
Deformation		1/10			0/10	0/2
Kidney						
Hydronephrosis (right)		1/10			0/10	0/2
Uterus						
Bulla (right)		0/10			1/10	0/2

Table 8-1. Absolute organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight	Brain	Hypophysis	Mandibular gland left	Mandibular gland right
Male	intact	10	362±12[a)]	2.003±0.051	0.010±0.002	0.279±0.021	0.284±0.023
	control	10	366±20	1.998±0.073	0.010±0.001	0.288±0.025	0.292±0.029
	45	10	377±26	1.991±0.063	0.011±0.002	0.294±0.022	0.286±0.017
	135	10	378±26	1.993±0.062	0.011±0.002	0.280±0.019	0.282±0.033
	400	10	348±18*	1.970±0.042	0.010±0.002	0.264±0.022*	0.271±0.019
	1200	1	300	1.864	0.012	0.228	0.237
Female	intact	10	228±13	1.854±0.043	0.013±0.002	0.185±0.017	0.185±0.016
	control	10	218±11	1.850±0.039	0.014±0.002	0.190±0.025	0.189±0.022
	45	10	217±12	1.861±0.036	0.013±0.001	0.188±0.016	0.188±0.018
	135	10	226±11	1.862±0.061	0.014±0.002	0.186±0.014	0.189±0.012
	400	10	215±10	1.846±0.034	0.013±0.001	0.172±0.008	0.170±0.012*
	1200	0					
Male	recovery control	10	394±27	2.015±0.053	0.011±0.002	0.296±0.030	0.304±0.035
	400	10	397±19	2.031±0.029	0.011±0.001	0.294±0.016	0.295±0.019
	1200	1	342	1.946	0.009	0.265	0.260
Female	recovery control	10	224±13	1.884±0.044	0.013±0.001	0.187±0.018	0.194±0.016
	400	10	230±12	1.886±0.071	0.013±0.001	0.190±0.020	0.194±0.015
	1200	2	236±1	1.859±0.034	0.014±0.001	0.206±0.018	0.211±0.030

Unit: g
a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 8-2. Absolute organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Thymus	Heart	Lung left	Lung right	Liver
Male	intact	10	0.175±0.029[a)]	1.067±0.050	0.384±0.015	0.756±0.046	12.111±0.592
	control	10	0.159±0.039	1.051±0.058	0.375±0.023	0.736±0.054	12.491±0.739
	45	10	0.187±0.047	1.079±0.059	0.391±0.021	0.776±0.055	12.449±1.141
	135	10	0.186±0.029	1.074±0.064	0.401±0.037	0.803±0.058*	12.755±1.163
	400	10	0.154±0.028	1.089±0.052	0.388±0.016	0.769±0.028	12.625±1.167
	1200	1	0.164	0.996	0.386	0.694	12.020
Female	intact	10	0.167±0.020	0.702±0.045	0.292±0.021	0.581±0.046	6.192±0.614
	control	10	0.169±0.026	0.691±0.038	0.294±0.036	0.562±0.057	6.304±0.518
	45	10	0.183±0.029	0.722±0.057	0.294±0.025	0.573±0.039	6.347±0.524
	135	10	0.200±0.033*	0.719±0.035	0.300±0.012	0.585±0.055	6.490±0.230
	400	10	0.204±0.045*	0.740±0.054*	0.289±0.021	0.576±0.031	6.902±0.661*
	1200	0					
Male	recovery control	10	0.135±0.024	1.084±0.081	0.390±0.023	0.791±0.062	12.971±1.226
	400	10	0.167±0.037*	1.168±0.057*	0.410±0.020	0.813±0.055	12.710±1.236
	1200	1	0.177	1.101	0.398	0.837	11.644
Female	recovery control	10	0.127±0.026	0.706±0.037	0.291±0.019	0.573±0.038	6.196±0.635
	400	10	0.154±0.029*	0.758±0.051*	0.290±0.016	0.585±0.029	6.400±0.402
	1200	2	0.216±0.009*	0.808±0.002*	0.308±0.001*	0.570±0.014	7.331±0.050*

Unit: g
a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 8-3. Absolute organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Cecum + contents	Cecum	Adrenal gland left	Adrenal gland right	Spleen
Male	intact	10	4.761±0.724[a)]	0.853±0.175	0.027±0.002	0.023±0.002	0.676±0.046
	control	10	4.895±0.417	0.911±0.166	0.026±0.003	0.024±0.002	0.687±0.068
	45	10	5.170±0.689	0.984±0.183	0.026±0.003	0.024±0.004	0.711±0.068
	135	10	7.510±1.301*	1.170±0.239*	0.026±0.003	0.023±0.003	0.726±0.071
	400	10	10.663±1.938*	1.525±0.292*	0.028±0.003	0.024±0.003	0.697±0.046
	1200	1	17.173	1.667	0.031	0.031	0.742
Female	intact	10	3.658±0.574	0.671±0.105	0.031±0.004	0.029±0.003	0.481±0.033
	control	10	3.562±0.504	0.643±0.122	0.031±0.004	0.028±0.004	0.462±0.023
	45	10	4.169±0.382*	0.683±0.086	0.032±0.004	0.030±0.002	0.486±0.050
	135	10	4.698±0.625*	0.753±0.142	0.030±0.003	0.028±0.004	0.499±0.027*
	400	10	6.746±1.251*	1.121±0.187*	0.031±0.003	0.029±0.003(9)	0.537±0.043*
	1200	0					
Male	recovery control	10	5.120±0.475	0.835±0.167	0.026±0.003	0.024±0.003	0.744±0.064
	400	10	6.215±0.881*	1.077±0.127*	0.024±0.002	0.021±0.002*	0.749±0.051
	1200	1	6.132	1.140	0.023	0.019	0.603
Female	recovery control	10	3.647±0.369	0.623±0.121	0.028±0.004	0.026±0.003	0.457±0.048
	400	10	3.996±0.525	0.775±0.115*	0.031±0.004	0.028±0.004	0.481±0.041
	1200	2	4.844±0.693*	1.076±0.012*	0.032±0.003	0.030±0.001	0.488±0.031

Unit: g Parentheses indicate the number of samples
a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 8-4. Absolute organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Kidney left	Kidney right	Prostate	Testis left	Testis right
Male	intact	10	0.982±0.041[a)]	1.004±0.049	1.225±0.121	1.461±0.079	1.436±0.096
	control	10	1.007±0.044	1.089±0.211	1.259±0.077	1.475±0.064	1.439±0.068
	45	10	1.024±0.070	1.031±0.071	1.177±0.115	1.489±0.099	1.438±0.086
	135	10	1.083±0.094*	1.095±0.101	1.094±0.101*	1.415±0.124	1.389±0.123
	400	10	1.095±0.067*	1.094±0.072	0.983±0.101*	1.581±0.063*	1.534±0.056*
	1200	1	1.310	1.286	0.546	0.401	0.424
Female	intact	10	0.646±0.064	0.681±0.069			
	control	10	0.655±0.041	0.666±0.044			
	45	10	0.642±0.055	0.663±0.031			
	135	10	0.667±0.032	0.686±0.042			
	400	10	0.660±0.040	0.687±0.047			
	1200	0					
Male	recovery control	10	1.065±0.092	1.077±0.108	1.341±0.151	1.538±0.064	1.490±0.078
	400	10	1.114±0.087	1.139±0.079	1.295±0.063	1.484±0.045*	1.439±0.053
	1200	1	1.062	1.157	1.177	1.090	1.094
Female	recovery control	10	0.640±0.036	0.671±0.092			
	400	10	0.689±0.059*	0.706±0.039			
	1200	2	0.720±0.001*	0.739±0.002*			

Unit: g
a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 8-5. Absolute organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Epididymis left	Epididymis right	Ovary left	Ovary right	Uterus
Male	intact	10	0.552±0.034[a)]	0.567±0.051			
	control	10	0.559±0.024	0.572±0.029			
	45	10	0.565±0.036	0.568±0.064			
	135	10	0.540±0.040	0.532±0.029*			
	400	10	0.473±0.028*	0.473±0.039*			
	1200	1	0.230	0.212			
Female	intact	10			0.040±0.006	0.040±0.005	0.482±0.134
	control	10			0.042±0.008	0.041±0.005	0.486±0.163
	45	10			0.042±0.005	0.041±0.006	0.490±0.084
	135	10			0.048±0.006*	0.043±0.007	0.715±0.209*
	400	10			0.046±0.008	0.045±0.006	0.642±0.088*
	1200	0					
Male	recovery control	10	0.603±0.039	0.584±0.045			
	400	10	0.560±0.024*	0.553±0.024			
	1200	1	0.555	0.503			
Female	recovery control	10			0.040±0.006	0.036±0.006	0.508±0.200
	400	10			0.041±0.004	0.044±0.004*	0.567±0.100
	1200	2			0.044±0.005	0.042±0.013	0.508±0.197

Unit: g
a) mean ± SD * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 9-1. Relative organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Brain	Hypophysis	Mandibular gland left	Mandibular gland right	Thymus
Male	intact	10	0.553±0.025[a)]	0.003±0.001	0.077±0.005	0.078±0.005	0.048±0.007
	control	10	0.546±0.030	0.003±0.000	0.079±0.007	0.080±0.008	0.043±0.009
	45	10	0.529±0.030	0.003±0.001	0.078±0.007	0.076±0.005	0.050±0.011
	135	10	0.530±0.032	0.003±0.000	0.074±0.004	0.075±0.007	0.049±0.005
	400	10	0.568±0.029	0.003±0.000	0.076±0.006	0.078±0.005	0.044±0.007
	1200	1	0.621	0.004	0.076	0.079	0.055
Female	intact	10	0.817±0.048	0.006±0.001	0.081±0.006	0.081±0.005	0.074±0.010
	control	10	0.850±0.039	0.006±0.000	0.087±0.010	0.087±0.009	0.078±0.015
	45	10	0.859±0.044	0.006±0.001	0.087±0.006	0.087±0.006	0.084±0.011
	135	10	0.823±0.027	0.006±0.001	0.082±0.008	0.084±0.007	0.088±0.012
	400	10	0.859±0.043	0.006±0.001	0.080±0.004	0.079±0.005*	0.094±0.019*
	1200	0					
Male	recovery control	10	0.513±0.032	0.003±0.001	0.076±0.009	0.078±0.010	0.035±0.007
	400	10	0.512±0.023	0.003±0.000	0.074±0.006	0.074±0.006	0.042±0.008
	1200	1	0.569	0.003	0.077	0.076	0.052
Female	recovery control	10	0.843±0.043	0.006±0.001	0.084±0.009	0.086±0.006	0.057±0.013
	400	10	0.821±0.047	0.006±0.001	0.083±0.006	0.084±0.003	0.067±0.013
	1200	2	0.788±0.019	0.006±0.000	0.087±0.008	0.090±0.013	0.092±0.004*

a) mean ± SD Unit: g/100 g body weight
* significant difference from the control, $p<0.05$

Table 9-2. Relative organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Heart	Lung left	Lung right	Liver	Liver/Brain ratio (g/g)
Male	intact	10	0.295±0.016[a)]	0.106±0.005	0.209±0.016	3.344±0.156	6.046±0.268
	control	10	0.288±0.019	0.103±0.007	0.202±0.020	3.415±0.205	6.264±0.507
	45	10	0.286±0.012	0.104±0.007	0.206±0.014	3.298±0.205	6.250±0.536
	135	10	0.285±0.012	0.106±0.006	0.213±0.009	3.381±0.234	6.412±0.671
	400	10	0.313±0.009*	0.112±0.005*	0.221±0.007*	3.627±0.218*	6.411±0.596
	1200	1	0.332	0.129	0.231	4.007	6.448
Female	intact	10	0.309±0.014	0.129±0.007	0.255±0.012	2.721±0.200	3.340±0.321
	control	10	0.317±0.015	0.135±0.013	0.257±0.020	2.889±0.188	3.407±0.265
	45	10	0.332±0.017*	0.135±0.008	0.264±0.012	2.924±0.200	3.411±0.282
	135	10	0.318±0.009	0.133±0.005	0.259±0.026	2.871±0.136	3.488±0.149
	400	10	0.344±0.022*	0.134±0.008	0.268±0.016	3.204±0.250*	3.742±0.381*
	1200	0					
Male	recovery control	10	0.275±0.015	0.099±0.006	0.201±0.009	3.289±0.158	6.437±0.574
	400	10	0.294±0.014*	0.103±0.005	0.205±0.014	3.192±0.165	6.257±0.595
	1200	1	0.322	0.116	0.245	3.405	5.984
Female	recovery control	10	0.315±0.010	0.130±0.008	0.256±0.018	2.760±0.178	3.286±0.297
	400	10	0.330±0.020	0.126±0.004	0.255±0.015	2.783±0.134	3.397±0.250
	1200	2	0.342±0.003*	0.131±0.001	0.242±0.008	3.106±0.040*	3.944±0.045*

a) mean ± SD Unit: g/100 g body weight
* significant difference from the control, $p<0.05$

Table 9-3. Relative organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Cecum + contents	Cecum	Adrenal gland left	Adrenal gland right	Spleen
Male	intact	10	1.317±0.215[a)]	0.236±0.050	0.008±0.001	0.007±0.001	0.187±0.011
	control	10	1.338±0.107	0.250±0.051	0.007±0.001	0.006±0.001	0.188±0.018
	45	10	1.374±0.192	0.262±0.053	0.007±0.001	0.006±0.001	0.189±0.014
	135	10	1.988±0.313*	0.309±0.056*	0.007±0.001	0.006±0.001	0.193±0.016
	400	10	3.062±0.513*	0.438±0.074*	0.008±0.001*	0.007±0.001	0.201±0.014
	1200	1	5.724	0.556	0.010	0.010	0.247
Female	intact	10	1.610±0.247	0.295±0.044	0.014±0.001	0.013±0.001	0.212±0.017
	control	10	1.631±0.196	0.295±0.059	0.014±0.001	0.013±0.002	0.212±0.015
	45	10	1.922±0.162*	0.316±0.047	0.015±0.002	0.014±0.001	0.224±0.020
	135	10	2.082±0.307*	0.333±0.064	0.013±0.001	0.012±0.002	0.221±0.011
	400	10	3.123±0.509*	0.521±0.085*	0.014±0.002	0.013±0.001(9)	0.250±0.025*
	1200	0					
Male	recovery control	10	1.300±0.098	0.211±0.030	0.007±0.001	0.006±0.001	0.189±0.013
	400	10	1.570±0.256*	0.272±0.036*	0.006±0.000	0.005±0.001*	0.189±0.014
	1200	1	1.793	0.333	0.007	0.006	0.176
Female	recovery control	10	1.629±0.154	0.278±0.050	0.012±0.002	0.012±0.002	0.204±0.014
	400	10	1.736±0.210	0.338±0.055*	0.014±0.001	0.012±0.001	0.209±0.013
	1200	2	2.054±0.306*	0.456±0.008*	0.014±0.001	0.013±0.001	0.207±0.012

a) mean ± SD Unit: g/100 g body weight
* significant difference from the control, $p<0.05$
Parentheses indicate the number of samples

Table 9-4. Relative organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Kidney left	Kidney right	Prostate	Testis left	Testis right
Male	intact	10	0.271±0.016[a)]	0.278±0.017	0.339±0.037	0.404±0.024	0.397±0.027
	control	10	0.277±0.017	0.297±0.050	0.345±0.033	0.404±0.024	0.394±0.025
	45	10	0.272±0.019	0.274±0.018	0.312±0.027*	0.396±0.026	0.382±0.025
	135	10	0.287±0.013	0.290±0.017	0.290±0.016*	0.377±0.046	0.371±0.047
	400	10	0.315±0.016*	0.315±0.013	0.283±0.028*	0.455±0.017*	0.442±0.018*
	1200	1	0.437	0.429	0.182	0.134	0.141
Female	intact	10	0.284±0.021	0.299±0.021			
	control	10	0.301±0.015	0.305±0.015			
	45	10	0.296±0.023	0.306±0.016			
	135	10	0.295±0.017	0.303±0.023			
	400	10	0.307±0.009	0.319±0.011*			
	1200	0					
Male	recovery control	10	0.270±0.012	0.273±0.016	0.340±0.027	0.391±0.019	0.379±0.022
	400	10	0.280±0.017	0.287±0.014	0.326±0.022	0.374±0.018*	0.363±0.016
	1200	1	0.311	0.338	0.344	0.319	0.320
Female	recovery control	10	0.286±0.014	0.299±0.027			
	400	10	0.299±0.021	0.307±0.017			
	1200	2	0.305±0.003	0.313±0.001			

a) mean ± SD Unit: g/100 g body weight
* significant difference from the control, $p<0.05$

Table 9-5. Relative organ weight in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Epididymis left	Epididymis right	Ovary left	Ovary right	Uterus
Male	intact	10	0.153±0.011[a)]	0.156±0.014			
	control	10	0.153±0.010	0.156±0.010			
	45	10	0.150±0.012	0.150±0.012			
	135	10	0.144±0.016	0.141±0.013*			
	400	10	0.136±0.007*	0.136±0.010*			
	1200	1	0.077	0.071			
Female	intact	10			0.018±0.003	0.018±0.002	0.211±0.054
	control	10			0.019±0.003	0.019±0.002	0.224±0.079
	45	10			0.019±0.002	0.019±0.003	0.226±0.038
	135	10			0.021±0.002	0.019±0.003	0.315±0.085*
	400	10			0.021±0.003	0.021±0.003	0.300±0.050*
	1200	0					
Male	recovery control	10	0.153±0.007	0.148±0.009			
	400	10	0.141±0.009*	0.140±0.011			
	1200	1	0.162	0.147			
Female	recovery control	10			0.018±0.002	0.016±0.003	0.226±0.084
	400	10			0.018±0.002	0.019±0.002*	0.247±0.046
	1200	2			0.019±0.002	0.018±0.006	0.215±0.085

a) mean ± SD Unit: g/100 g body weight
* significant difference from the control, $p<0.05$

Table 10. Microscopic findings in rats died during a 13-week oral administration of fleroxacin and a 5-week recovery period

Microscopic findings No. of rats with lesions/ No. of rats examined	Period sex dose (mg/kg) no. of rats	13-week administration				5-week recovery	
		male		female		male	female
		1200 9	R*-1200 8	1200 10	R-1200 8	R-1200 1	R-1200 0
Articular cartilage							
Local rarefaction of matrix		2/9	1/8	1/10	0/8	0/1	—
Local cavitation with rarefaction of matrix		2/9	1/8	1/10	0/8	0/1	—
Local fibrosis of matrix		1/9	0/8	0/10	0/8	1/1	—
Testis							
Appearance of degenerative spermatids		0/9	3/8	—	—	0/1	—
Epididymis							
Spermatogenic granuloma, local		2/9	2/8	—	—	0/1	—
Appearance of eosinophilic cells in epididymal lumen		8/9	7/8	—	—	1/1	—
Kidney							
Infarct, local, slight		0/9	0/8	0/10	1/8	0/1	—
Spleen							
Atrophy of white pulp		9/9	8/8	9/9#	6/6#	1/1	—

R*: recovery, # decrease in number of rats examined was caused by autolysis.

Table 11. Microscopic findings in male rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks

Microscopic findings No. of rats with lesions/ No. of rats examined	Dose (mg/kg) no. of rats	Intact 10	Control 10	45 10	135 10	400 10	1200 1
Articular cartilage							
Local cavitation with rarefaction of matrix		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/1
Deformation		0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/1
Testis							
Atrophy of seminiferous tubules, aspermatogenesis		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/1
Epididymis							
Spermatogenic granuloma, local		1/10	0/10	2/10	0/10	0/10	1/1
Retention of necrotic sperm in epididymal lumen		0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	1/1
Appearance of eosinophilic cells in epididymal lumen		0/10	0/10	0/10	1/10	10/10	0/1
Kidney							
Hydronephrosis (right) and atrophic wandering kidney (left)		0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/1
Cellular infiltration, local, slight		0/10	0/10	1/10	1/10	0/10	0/1
Heart							
Cellular infiltration, local, slight		0/10	0/10	2/10	2/10	0/10	0/1
Pancreas							
Acinar cell atrophy, local, slight		0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/1
Proliferation of pancreatic duct, local, slight		0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/1

Table 12. Microscopic findings in female rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks

Microscopic findings No. of rats with lesions/ No. of rats examined	Dose (mg/kg) no. of rats	Intact 10	Control 10	45 10	135 10	400 10	1200 1
Articular cartilage							
Local rarefaction of matrix		0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	—
Deformation		0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	—
Uterus							
Cyst in functional layer		0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	—
Luminal dilatation		1/10	1/10	0/10	3/10	0/10	—
Heart							
Cellular infiltration, local, slight		0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	—
Pancreas							
Proliferation of pancreatic duct, local, slight		0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	—
Hypophysis							
Cyst in anterior lobe		0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	—
Eyeball							
Roughness and thickening of corneal epithelium, local, slight		0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	—
Subcutaneous tissue							
Fibroma, local, slight		0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	—

Table 13. Microscopic findings in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Microscopic findings No. of rats with lesions/ No. of rats examined	Sex dose (mg/kg) no. of rats	Male			Female		
		control 10	400 10	1200 1	control 10	400 10	1200 2
Articular cartilage							
Deformation		0/10	0/10	0/1	1/10	0/10	0/2
Epididymis							
Spermatogenic granuloma, local		0/10	0/10	1/1	—	—	—
Appearance of eosinophilic cells in epididymal lumen		0/10	0/10	1/1	—	—	—
Prostate							
Cellular infiltration, local, slight		0/10	1/10	0/1	—	—	—
Uterus							
Cyst in functional layer		—	—	—	0/10	1/10	0/2
Luminal dilatation		—	—	—	1/10	0/10	0/2
Kidney							
Atrophy of renal tubules, local, slight Calcium-like matter deposition, diffuse, moderate		1/10	0/10	0/1	0/10	0/10	0/2
Cyst, local, slight		0/10	1/10	0/1	0/10	0/10	0/2
Cellular infiltration, local, slight		0/10	0/10	0/1	0/10	1/10	0/2
Hydronephrosis		0/10	0/10	0/1	1/10	0/10	0/2
Liver							
Cellular infiltration, local, slight		0/10	1/10	0/1	0/10	0/10	0/2
Hypophysis							
Cyst in anterior lobe		1/9#	0/10	0/1	1/10	0/10	0/2

decrease in number of rats examined because missing after autopsy.

Fig. 5. Articular cartilage of the lesion of Fig. 4.

Local cavitation with rarefaction of matrix.
Toluidine blue stain, × 33.

Fig. 6. Epididymis from a male rat orally treated with 1200 mg/kg of fleroxacin for 13 weeks.

Retention of necrotic sperm in epididymal lumen.
HE stain, × 33.

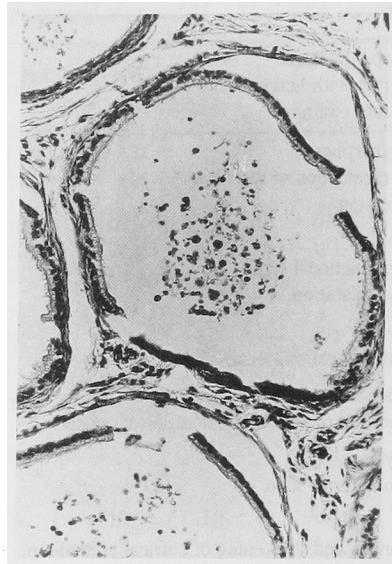

Fig. 7. Epididymis from a dead male rat orally treated with 1200 mg/kg of fleroxacin for 16 days.

Appearance of eosinophilic cells in epididymal lumen.
HE stain, × 66.

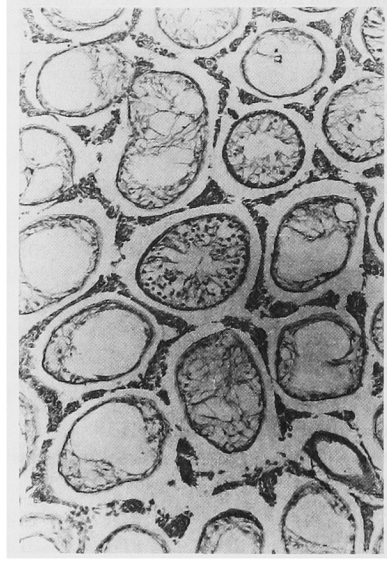

Fig. 8. Testis from a male rat orally treated with 1200 mg/kg of fleroxacin for 13 weeks.

Atrophy of seminiferous tubules and aspermatogenesis.
HE stain, × 33.

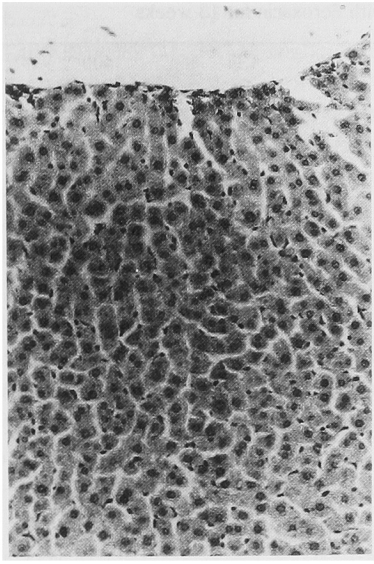

Fig. 9. Liver from a female rat orally treated with 400 mg/kg of fleroxacin for 13 weeks.

No remarkable changes.
HE stain, × 66.

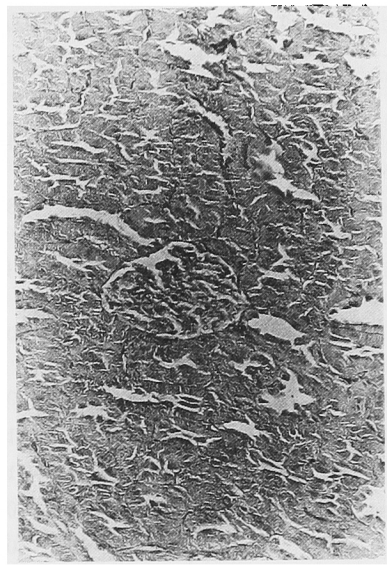

Fig. 10. Kidney from a male rat orally treated with 1200 mg/kg of fleroxacin for 13 weeks.

No remarkable changes.
HE stain, × 66.

Table 14. Myelogram in male rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks

Myelogram (%) / Dose (mg/kg) no. of rats	Intact 10	Control 10	45 10	135 10	400 10	1200 1
Young neutrophilic granulocytes	5.73±1.98[a)]	7.33±4.05	8.63± 5.28	7.84± 5.48	7.46± 4.62	5.65
Old neutrophilic granulocytes	30.40±6.70	31.46±6.62	24.60± 5.17*	25.74± 6.86	25.37± 6.44	14.29
Eosinophilic granulocytes	2.32±1.29	3.15±1.58	3.48± 2.21	2.82± 1.07	3.48± 1.44	1.00
Basophilic granulocytes	0.00±0.00	0.06±0.20	0.03± 0.10	0.00± 0.00	0.00± 0.00	0.00
Myeloblasts	0.00±0.00	0.03±0.10	0.00± 0.00	0.00± 0.00	0.00± 0.00	0.00
Erythroid cells	59.89±7.94	55.64±8.66	60.13± 9.69	60.99±12.13	62.18±11.31	77.08
Lymphocytes	0.98±0.77	1.83±1.46	2.59± 2.04	2.04± 1.25	1.18± 0.63	1.66
Megakaryocytes	0.03±0.10	0.32±0.50	0.09± 0.15	0.22± 0.26	0.06± 0.12	0.00
Others	0.65±0.74	0.16±0.17	0.45± 0.23*	0.35± 0.36	0.28± 0.22	0.33
Total granulocytes	38.46±8.00	42.01±7.82	36.74±10.10	36.40±12.04	36.30±11.32	20.93
G/E ratio	0.67±0.24	0.79±0.26	0.66± 0.31	0.67± 0.42	0.64± 0.33	0.27

a) mean ± SD, G/E: granulocytes/erythroid cells, * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 15. Myelogram in female rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks

Myelogram (%)	Dose (mg/kg) no. of rats	Intact 10	Control 10	45 10	135 10	400 10	1200 1
Young neutrophilic granulocytes		3.89±1.72[a)]	4.09±2.17	3.34±1.02	3.69±1.38	2.88±1.51	—
Old neutrophilic granulocytes		18.77±2.68	18.32±3.35	15.18±5.07	15.23±4.30	12.95±4.11*	—
Eosinophilic granulocytes		2.76±1.42	3.37±1.33	2.39±1.01	2.69±1.56	2.15±1.38	—
Basophilic granulocytes		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	—
Myeloblasts		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.03±0.10	0.03±0.10	—
Erythroid cells		72.08±4.78	71.95±4.21	76.76±6.53	76.09±5.57	79.88±6.20*	—
Lymphocytes		2.24±1.00	1.79±0.94	1.95±1.90	1.83±0.75	1.65±1.54	—
Megakaryocytes		0.07±0.14	0.03±0.10	0.07±0.21	0.00±0.00	0.30±0.42	—
Others		0.20±0.52	0.45±0.68	0.33±0.49	0.43±0.44	0.17±0.32	—
Total granulocytes		25.42±5.00	25.78±3.46	20.90±6.28*	21.62±5.53	17.98±5.09*	—
G/E ratio		0.36±0.10	0.36±0.07	0.28±0.11	0.29±0.10	0.23±0.08*	—

a) mean ± SD, G/E: granulocytes/erythroid cells, * significant difference from the control, $p<0.05$

Table 16. Myelogram in rats orally treated with fleroxacin for 13 weeks followed by a 5-week recovery period

Myelogram (%)	Sex	Male			Female		
	dose (mg/kg) no. of rats	control 10	400 10	1200 1	control 10	400 10	1200 2
Young neutrophilic granulocytes		7.62±2.76[a)]	6.97±2.19	8.50	5.97±3.34	3.44±1.03*	5.67±0.26
Old neutrophilic granulocytes		29.98±7.65	28.09±7.48	29.74	17.70±4.09	16.62±4.19	21.20±3.97
Eosinophilic granulocytes		3.60±1.37	3.98±1.57	3.27	3.37±2.13	2.60±1.16	4.87±0.95
Basophilic granulocytes		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Myeloblasts		0.03±0.10	0.03±0.10	0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Erythroid cells		56.21±8.38	58.69±9.34	57.19	71.84±7.17	75.16±5.77	65.10±3.73
Lymphocytes		2.20±1.70	1.48±1.09	0.65	0.90±0.73	1.97±1.61	3.02±1.65*
Megakaryocytes		0.06±0.13	0.10±0.21	0.00	0.06±0.13	0.06±0.14	0.00±0.00
Others		0.29±0.32	0.66±0.62	0.65	0.16±0.17	0.16±0.35	0.16±0.22
Total granulocytes		41.21±9.76	39.04±9.84	41.50	27.04±7.50	22.65±5.36	31.72±5.18
G/E ratio		0.77±0.29	0.71±0.31	0.73	0.39±0.14	0.31±0.09	0.49±0.11

a) mean ± SD, G/E: granulocytes/erythroid cells, * significant difference from the control, $p<0.05$

トクリット値，リンパ球比及び好中球比の変動は正常範囲内であった。

血液生化学的検査では，主に135mg/kg以上の用量群において，A/G比の上昇，総蛋白，BUN, TG, リン脂質，FFA, GOT及びChEの減少がみられたが，BUN, リン脂質，FFA, GOT及びChEの変動は正常範囲内であった。TGの減少は雄では，対照群と比較して45mg/kg群から有意差がみられているが，45mg/kg群における変化は軽度で，無処置群と比較すると有意差は認められなかった。

尿検査では，主に400mg/kg以上の用量群において，尿量の増加，尿比重，pH, Na^+, K^+及びNa^+/K^+比の低下，ケトン体陽性がみられ，尿沈渣中にはfleroxacinの結晶と思われる方形板状結晶の出現あるいは通常みられる結晶の消失が認められた。ラットに経口投与されたfleroxacinの約50％は尿中に排泄されることが知られており[2]，ケトン体陽性以外の変化にはこれと摂水量の増加が大きく関与しているものと思われた。

総蛋白やTGの減少並びに尿中ケトン体陽性は栄養障害時にみられるものであるが，今回の試験でみられたこれらの変化は，摂餌量や体重の減少を示した1200mg/kg群以外にも認められており，飢餓性のものだけではないと考えられた。またA/G比の上昇は類縁の合成抗菌剤でも認められているが[3]，詳細は不明である。

これらの変化を含め，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査において，fleroxacin投与により発現したとみられる変化は，休薬により回復あるいは軽減した。また組織学的所見及び骨髄像所見においても，肝，腎，造血器に著変はなく，これらの変化は可逆的で，重篤なものではないと考えられた。

精巣上体の重量は135mg/kg以上の用量群で減少しており，組織学的検査では，精巣上体管腔内にエオシン好性細胞あるいは壊死精子が認められた。エオシン好性細胞は変性した精細胞と思われ，ほとんどの例では正常精子中に僅かに混在した像であり，精巣上体そのものには組織学的に異常は認められなかった。また精巣は，1200mg/kg群の一部を除いて組織学的に異常は認められなかった。精巣上体管腔内での変性あるいは壊死した精細胞の出現は，類縁の合成抗菌剤でみられるものと同様の変化であり[3]，400mg/kg以下の用量では休薬により回復する可逆的なものと考えられた。

Fleroxacin投与群にみられた盲腸の腫大は類縁の合成抗菌剤でみられているものと同様の変化であり[3]，組織学的には正常で休薬により回復する可逆的なもので，毒性学的な意義はないと考えられた。また関節軟骨表面の水疱様病変も類縁の合成抗菌剤でみられているものと同様の変化で[3]，今回用いたラットは投与開始時6週齢と比較的幼若であったために発現したと考えられた。死亡例でみられた白脾髄の萎縮は，体重減少による非特異的な萎縮像と考えられた。

以上のようにfleroxacin投与による主な毒性変化は，摂餌・摂水量の減少，体重の減少あるいは増加抑制，精巣上体管腔内での変性精細胞の出現，盲腸の腫大，関節軟骨表面の水疱様病変であったが，関節軟骨の病変以外はいずれも休薬により回復あるいは軽減しており，可逆的な変化と考えられた。また，45mg/kg群でみられたいくつかの変化は，その程度並びに内容からみて，毒性変化とは考えられなかった。従って，今回の試験におけるfleroxacinの無影響量は45mg/kgと推測された。

文　献

1) 今井　繁，野本恭之，市場修三，芳賀良仁，表寺昭雄，棚瀬裕文，吉田安彦：Fleroxacinのラットにおける経口投与による亜急性毒性試験のための予備試験。杏林製薬株式会社　社内資料，1984

2) 永津芳雄，向井正明，高木皓一，内田　広 ^{14}C-Fleroxacinのラット及びウサギにおける吸収，分布，排泄。Chemotherapy 38(S-2)：100～114，1990

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の毒性学的研究　第2報ラットにおける亜急性並びに慢性毒性試験。Chemotherapy 32(S-3)：199～220, 1984

4) 加藤道幸，大野広志，吉田貢山，山田明甫，小野寺　威：合成抗菌剤DL-8280のラットにおける26週経口慢性毒性。Chemotherapy 32(S-1) 1122～1141, 1984

SUBACUTE ORAL TOXICITY STUDY OF FLEROXACIN IN RATS

SHIGERU IMAI, YASUYUKI NOMOTO, MASAHIRO KASAI, SHOJI OHTAKE, HIROFUMI TANASE and YASUHIKO YOSHIDA
Technical Center of Development, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.
1-3-32, Ukima, Kita-ku, Tokyo 115, Japan

A subacute toxicity study on fleroxacin was carried out in rats. Fleroxacin was given orally at daily doses of 0 (control), 45, 135, 400 and 1200 mg/kg for 13 weeks, followed by a 5-week recovery period in the control, 400 and 1200 mg/kg groups. The following results were obtained.

1. In the 1200 mg/kg group, 18 of 20 males and females died during the test period. In the dead animals, a decrease in body weight, food and water intake, piloerection, diarrhea and marked emaciation were noted.
2. In the survivors of the 1200 mg/kg group, a decrease in body weight or suppression of weight gain was noted. A slightly reduced body weight gain was also observed in the males of the 400 mg/kg group within the administration period.
3. In both males and females given 135 mg/kg or more, minor changes were found in some parameters in the hematological, serum biochemical and urinary examinations.
4. In some males receiving 135 mg/kg or more, the epididymides showed a decrease in weight, and contained necrotic sperm or eosinophilic cells, considered to degenerative spermatogenic cells, in the lumen.
5. In males receiving 135 mg/kg and more and females receiving 400 mg/kg, increased cecum weights were seen. There were, however, no marked histopathological changes.
6. Blister-like lesions were seen on the articular cartilage surfaces in the 400 and 1200 mg/kg groups.
7. The above-mentioned changes induced by fleroxacin normalized or decreased during the recovery period, except injuries of the articular cartilage.
8. From the above results, the maximum non-effect dose of fleroxacin in this study was estimated to be 45 mg/kg/day.