

合成抗菌薬 sparfloxacin のラットにおける 経口投与による 4 週間毒性試験

安場正子・山添浩史・梶谷高敏
松岡信男・飯田晶敏・大西久美雄
大日本製薬株式会社総合研究所*

Sparfloxacin を 1 群雌雄各 18 例の Jcl : SD 系ラットに 12.5, 50, 200, 800 mg/kg の投与量で 4 週間にわたり経口投与してその亜急性毒性を検討するとともに、2 週間の回復性試験を行い、毒性の回復性を検討した。

一般状態の観察では雄の 200 mg/kg 以上の群と雌の 800 mg/kg 群で軟便、雌雄の 800 mg/kg 群で肛門粘膜における血様物の付着がみられた。体重増加は雄の 800 mg/kg 群で抑制され、摂餌量は雄の 800 mg/kg 群と雌の 200 mg/kg 以上の群で一過性に減少した。また、摂水量は雌雄の 200 mg/kg 以上の群で増加した。尿検査では雌雄の 800 mg/kg 群で Na^+ の減少と Na^+/K^+ 比の低下、雄の 800 mg/kg 群で尿量、蛋白、 Cl^- の減少がみられた。血液学的検査では雌雄の 800 mg/kg 群で白血球数の増加がみられた。臓器重量では雄の 50 mg/kg 以上の群と雌の 200 mg/kg 以上の群で盲腸の増加がみられた。病理解剖学的検査では雌雄の 800 mg/kg 群で回腸と腸間膜リンパ節の黄色化がみられ、病理組織学的検査ではそれに対応して大食細胞の集簇がみられた。休業により、上述の全ての変化は回復あるいは回復傾向を示した。

以上の成績より、本試験における sparfloxacin の最大無影響量は 50 mg/kg と結論される。

Key words : 合成抗菌薬, Sparfloxacin, ラット, 亜急性毒性

Sparfloxacin は、大日本製薬株式会社総合研究所で合成された強い抗菌力と広い抗菌スペクトルを有するピリドンカルボン酸系の新しい合成抗菌薬である¹⁾。本物質の毒性評価の一環として、ラットを用いて経口投与による 4 週間亜急性毒性試験と 2 週間回復性試験を実施したので報告する。なお、本試験の実施期間は 1987 年 6 月から 1988 年 4 月である。

I. 材料と方法

1. 被験物質

本試験では、当社総合研究所で合成された sparfloxacin の三水和物 (Lot No. R87008) を用いた。Sparfloxacin の三水和物は、黄色結晶性粉末で、においはなく、味は苦い。

2. 使用動物と飼育条件

日本クレア(株)より Jcl : SD 系ラットの雄 109 匹、雌 113 匹を 4 週齢で購入し、2 週間予備飼育して 6 週齢で試験に用いた。投薬開始時の体重範囲は雄で 154.4~226.9 g、雌で 127.9~174.3 g であった。動物は、温度

24±2℃、湿度 55±5%、換気回数が 1 時間当たり 10 回、照明時間が朝 6 時から夕方 6 時までの 12 時間に調節されたバリアーシステムの動物室に収容して飼育した。動物は、木屑を敷いたアルマイト製ケージに 1 ケージ当たり 1 匹収容した。ケージの交換は週 2 回の頻度で行った。飼料は日本クレア(株)製固型飼料 CE-2 を、飲料水は水道水を、いずれも蒸気加圧滅菌して自由に摂取させた。動物の識別は、番号を刻印した耳標を付け、ケージカードに記入された耳標番号と対応させることにより行った。

3. 実験群と動物数

本物質の急性毒性試験²⁾および 30~1000 mg/kg を投与したラットの器官形成期投与予備試験の成績を基に最高投与量を 800 mg/kg とし、以下 200, 50, 12.5 mg/kg の投与量を設け、さらに溶媒対照群 (以下、対照群とする) を加えて、計 5 群で試験を行った。なお、投与量は無水物に換算して表示した。1 群の動物数は雌雄各 18 例とし、動物の振り分けは体重層別無作為抽出法により行った。

*〒564 大阪府吹田市江の木町 33-94

4. 被験物質の調製方法

被験物質を、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 水溶液で無水物に換算して 16, 4, 1, 0.25%の濃度に懸濁して調製した。この範囲内の濃度で CMC 水溶液に懸濁した被験物質は、冷蔵庫内で少なくとも 7 日間は安定であることが確認されているので、週 1 回の頻度で各濃度の試料を調製し、冷蔵庫内に保存して調製後 1 週間にわたり使用した。

5. 被験物質の投与方法と投与期間

投与経路には、ヒト臨床での投与経路である経口を選択した。被験物質を、5 ml/kg の投与容量で、1 日 1 回 (午後)、4 週間にわたって毎日、合成樹脂製経口投与針を用いて強制的に胃内に投与した。対照群には 0.5% CMC 水溶液を同様に投与した。

6. 回復性試験

4 週間の投薬期間終了後、各群の雌雄各 10 例 (直後群) は直ちに殺処分し、各群の残りの雌雄各 8 例 (休業群) につき 2 週間の休業期間を設けて回復性試験を行った。

7. 検査項目

- 1) 一般状態: 投薬および休業期間中毎日観察した。
- 2) 体重と摂餌量: 投薬および休業 1 週目は毎日、その後は週に 2 回の頻度で測定した。
- 3) 摂水量: 投薬および休業期間中、週 1 回の頻度で測定した。
- 4) 尿検査: 投薬 7, 21 日目および休業 7 日目に各群の雌雄各 6 例につき下腹部を圧迫して新鮮尿を採取し、尿分析器 (クリニテック 10, マイルス三共㈱) とテストペーパー (ウロヘマコンビスティックスⅢ・10, マイルス三共㈱) を用いて pH, 蛋白, グルコース, 潜血, ウロビリノーゲンを半定量的に測定した。さらに、投薬 8, 22 日目および休業 8 日目に各群の雌雄各 6 例につき、代謝ケージを用いて 18 時間の尿を採集して尿量を測定すると共に、テクニコン社製オートアナライザー Basic type を用いて蛋白を、同社製オートアナライザー II 型を用いて Na^+ , K^+ , Cl^- をそれぞれ測定し、 Na^+/K^+ 比を算出した。

5) 眼科学的検査: 投薬 23 日目に各群の雌雄各 10 例につき細隙灯顕微鏡 (Slit lamp, Kowa SL 型) と眼底カメラ (Kowa RC-2 model 621) による検査を実施した。

6) 血液学的検査: 投薬 28 日目および休業 14 日目に断尾により採血して、トーアマイクロセルカウンター CC-150 を用いて赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数を、トーアマイクロセルカウンター

PL-110 を用いて血小板数をそれぞれ測定し、平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球色素量 (MCH), 平均赤血球色素濃度 (MCHC) を算出した。さらに、プリリアントクレシル青-ギムザ重染色血液塗抹標本作製して網赤血球率を、ギムザ染色血液塗抹標本作製して白血球型別百分比を算出した。また、投薬ならびに休業期間終了時にペントバルビタール麻酔下で心臓穿刺により採血し、そのクエン酸ナトリウム加血漿につき Fibrometer (Becton, Dickinson and Company 製) を用いてプロトロンビン時間 (PT) と活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。

7) 血液生化学的検査: 投薬ならびに休業期間終了時に無麻酔下で眼窩静脈より採血し、その全血についてテクニコン社製オートアナライザー Basic type を用いて血糖を測定した。さらに、ペントバルビタール麻酔下で心臓穿刺により採血し、そのヘパリン加血漿について同社製オートアナライザー SMA 12/60 (Survey model) を用いて ALP, 総ビリルビン, 総コレステロール, 総蛋白, アルブミン, 尿素窒素, クレアチニン, 無機磷, Ca^{++} を、GOT・GPT 測定キット (S. TA-Test Wako, 和光純薬) を用いて GOT と GPT を、テクニコン社製オートアナライザー II 型を用いて Na^+ , K^+ , Cl^- を測定し、さらに総蛋白とアルブミンの値から A/G 比を算出した。

8) 剖検と臓器重量の測定: 投薬あるいは休業期間終了時にペントバルビタール麻酔下で放血殺して剖検し、さらに脳, 心, 肺, 肝, 腎, 脾, 唾液腺 (顎下腺と舌下腺), 下垂体, 甲状腺, 胸腺, 副腎, 精巣, 精巣上体, 精嚢, 前立腺, 卵巣, 子宮, 盲腸の湿重量を測定し、体重 100 g に対する比重量を算出した。

9) 病理組織学的検査: 眼球 (視神経, ハーダー腺を含む) をホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド液で、その他の全身の臓器・組織を 10% 緩衝ホルマリン液で固定し、心, 胸部大動脈, 肺, 気管, 唾液腺 (顎下腺と舌下腺), 舌, 食道, 胃, 肝, 脾, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 腎, 膀胱, 胸腺, 脾, 腸間膜リンパ節, 下垂体, 甲状腺, 上皮小体, 副腎, 精巣, 精巣上体, 前立腺, 精嚢, 卵巣, 子宮, 腔, 脳, 脊髄, 坐骨神経, 大腿部骨格筋, 大腿骨と骨髄, 胸骨と骨髄, 眼球, 視神経, ハーダー腺, 皮膚と乳腺について常法によりヘマトキシリン・エオジン染色標本作製した。病理組織学的検査は、直後群においては全群で上記の全臓器について、休業群においては対照群と 800 mg/kg 群で回腸, 腸間膜リンパ節および直腸について実施した。

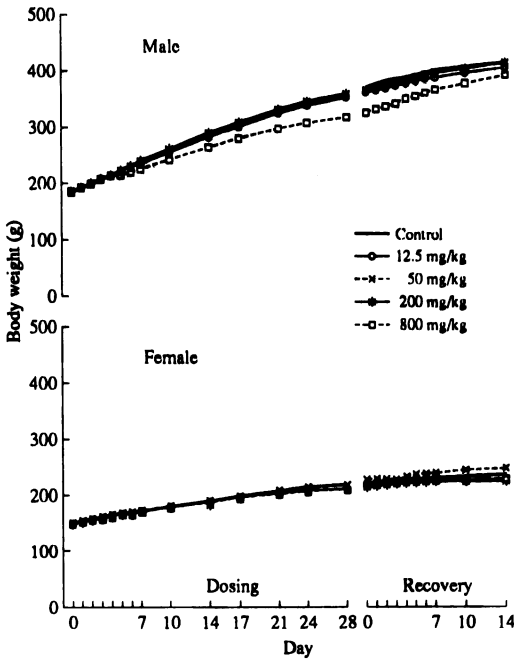


Fig. 1. Body weight curves of rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

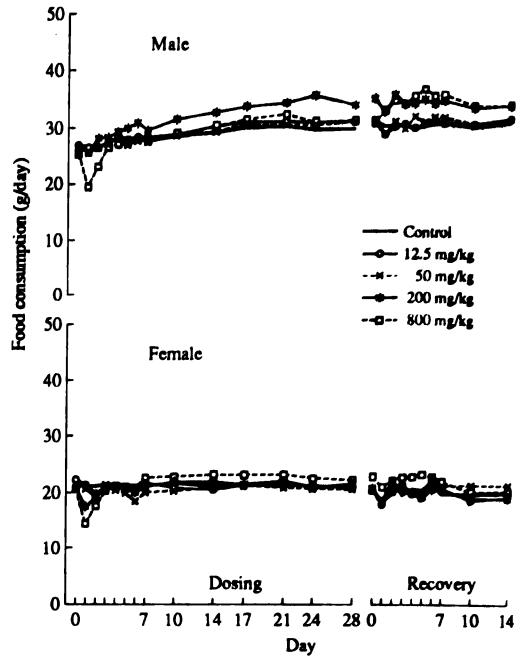


Fig. 2. Food consumption in rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

8. 推計学的処理

体重、摂餌量、摂水量、尿検査（テストペーパーの成績を除く）、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量において、各群で平均値と標準誤差を算出した。さらに、対照群と各投薬群との間で等分散の検定を行い、母分散が等しければ Student の t 検定で、母分散が等しくなければ Aspin-Welch の t 検定で平均値の差の検定を行った。

II. 結 果

1. 一般状態と途中死亡例

投薬および休業期間中、死亡例はみられなかった。

軟便が雌雄の 800 mg/kg 群で投薬 2 日目より投薬期間終了時まで、雄の 200 mg/kg 群で投薬 15 から 17 日目にかけてみられた。この症状は雄の 800 mg/kg 群で休業 3 日目、雌の 800 mg/kg 群で休業 2 日目には消失した。

肛門粘膜の血様物の付着が雄の 800 mg/kg 群の多数例で投薬 8 日目より投薬期間終了時まで、雌の 800 mg/kg 群の 1 例で投薬 16 および 17 日目にみられた。この症状は休業期間中にはみられなかった。

2. 平均体重の推移 (Fig. 1)

雄の 800 mg/kg 群で投薬 10 日目より投薬期間終了時まで有意な増加抑制がみられた。休業期間中では、雄の 800 mg/kg 群で対照群を上回る増加がみられ、休業 14 日目には有意差は消失した。一方、雌では影響はみられなかった。

3. 平均摂餌量の推移 (Fig. 2)

雄の 800 mg/kg 群と雌の 200 mg/kg 以上の群で投薬 1 および 2 日目に有意な減少がみられた。その後、摂餌量は雄の 200 mg/kg 群で投薬 5 日目より投薬期間終了時まで（投薬 7 日目を除く）有意に増加し、雌の 800 mg/kg 群で投薬 7 日目より投薬期間終了時まで有意な増加ないし増加傾向を示した。休業期間中では、雄の 200 mg/kg 以上の群で有意な増加ないし増加傾向がみられた。

4. 平均摂水量の推移 (Fig. 3)

雌雄の 800 mg/kg 群で全検査日を通じて、雄の 200 mg/kg 群で投薬 10 日目を以降の検査日に、雌の 200 mg/kg 群で投薬 3 日目にそれぞれ有意な増加がみられた。休業期間中では、雌の 800 mg/kg 群の摂水量は対照群の値に近づき回復性を示したが、雄の 200 mg/kg 以上

Table 1. Urinalysis in male rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

Day	Dose (mg/kg)	No. of animals	Urine volume (ml/18h)	Protein (mg/18h)	Na ⁺ (mEq/18h)	K ⁺ (mEq/18h)	Cl ⁻ (mEq/18h)	Na ⁺ /K ⁺ ratio
8	0	6	12.3±3.68	11.21±1.792	1.17±0.195	3.26±0.517	1.75±0.230	0.37±0.028
	12.5	6	7.8±0.49	12.31±0.751	1.26±0.112	2.57±0.164	1.58±0.118	0.51±0.088
	50	6	6.7±0.63	11.44±0.946	1.09±0.125	2.52±0.154	1.41±0.103	0.43±0.028
	200	6	7.7±0.31	9.35±1.129	1.40±0.192	2.96±0.129	1.59±0.072	0.47±0.044
	800	6	4.4±0.33	5.15±0.689*	0.80±0.072**	2.30±0.175	1.06±0.131*	0.26±0.025*
22	0	6	10.4±0.79	25.29±1.923	1.48±0.206	3.46±0.245	1.93±0.194	0.42±0.043
	12.5	6	10.2±0.87	28.43±1.667	1.60±0.116	3.57±0.157	1.85±0.088	0.45±0.025
	50	6	8.2±0.74	24.26±2.903	1.38±0.110	3.01±0.244	1.62±0.146	0.47±0.036
	200	6	11.2±1.87	23.83±2.754	1.41±0.097	3.74±0.218	2.04±0.125	0.39±0.042
	800	6	6.1±0.88**	16.11±2.080**	0.82±0.153*	2.95±0.303	1.18±0.192*	0.27±0.030*
Recovery 8	0	6	10.6±2.34	23.91±0.837	1.55±0.136	3.26±0.164	1.82±0.119	0.48±0.040
	12.5	6	10.4±2.62	24.49±1.594	1.38±0.132	3.44±0.315	1.87±0.119	0.43±0.056
	50	6	7.6±0.61	27.30±2.585	1.24±0.160	2.87±0.254	1.51±0.189	0.42±0.037
	200	6	8.0±1.07	23.76±1.461	1.44±0.155	3.17±0.195	1.82±0.158	0.46±0.047
	800	6	8.0±0.52	18.33±0.471**	1.16±0.065*	3.02±0.274	1.48±0.175	0.41±0.050

Values represent mean±S.E.

* Significant difference from control at P<0.05

** Significant difference from control at P<0.01

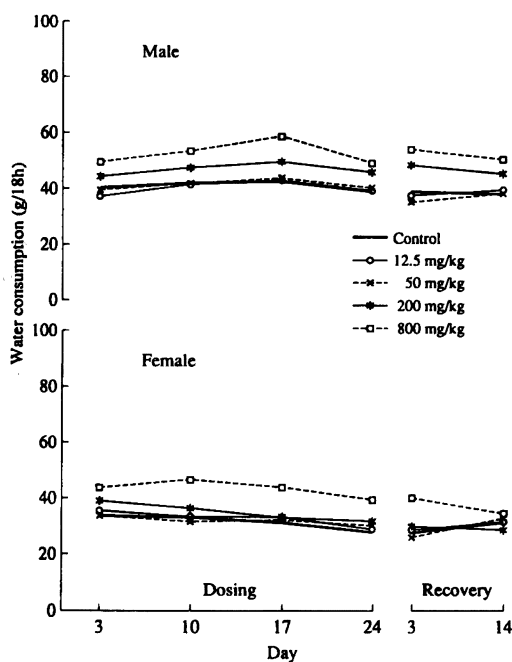


Fig. 3. Water consumption in rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

の群の摂水量は高値を示し、明らかな回復性を示さなかった。

5. 尿検査

1) テストペーパーによる半定量的検査

雌雄の 800 mg/kg 群で pH の低下傾向がみられた。休業 7 日目の検査ではこの変化は消失した。

2) 蓄尿による定量的検査 (Table 1, 2)

雄では、投薬 8 および 22 日目の検査で 800 mg/kg 群に蛋白, Na⁺, Cl⁻, Na⁺/K⁺ 比の減少, 投薬 22 日目の検査で 800 mg/kg 群に尿量の減少がそれぞれ有意にみられた。休業 8 日目の検査ではこれらの項目は対照群の値に近づき、回復性を示した。

雌では、投薬 8 日目の検査で 800 mg/kg 群に Na⁺ と Na⁺/K⁺ 比の有意な低下がみられた。投薬 22 日目の検査ではこれらの変動は消失した。

6. 眼科学的検査

本物質の投与による変化はみられなかった。

7. 血液学的検査 (Table 3, 4)

雌の 800 mg/kg 群で赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値の減少, 雄の 50 mg/kg 以上の群で PT の短縮, 雄の 800 mg/kg 群で APTT の短縮, 雌の 200 mg/kg 以上の群で APTT の延長, 雌雄の 800 mg/kg 群で白血球数の増加がそれぞれ有意にみられた。回復性

Table 2. Urinalysis in female rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

Day	Dose (mg/kg)	No. of animals	Urine volume (ml/18h)	Protein (mg/18h)	Na ⁺ (mEq/18h)	K ⁺ (mEq/18h)	Cl ⁻ (mEq/18h)	Na ⁺ /K ⁺ ratio
8	0	6	4.4±0.80	1.87±0.191	0.73±0.121	1.86±0.114	0.96±0.095	0.38±0.043
	12.5	6	6.8±1.55	1.83±0.187	0.75±0.084	2.17±0.265	1.00±0.120	0.35±0.017
	50	6	4.2±0.54	1.54±0.278	0.59±0.084	1.71±0.194	0.85±0.102	0.35±0.032
	200	6	4.0±0.53	1.32±0.262	0.60±0.095	1.41±0.211	0.74±0.120	0.43±0.019
	800	6	4.7±0.76	1.68±0.108	0.33±0.053*	1.91±0.206	0.84±0.113	0.18±0.029**
22	0	6	6.0±0.92	2.12±0.230	0.75±0.107	2.39±0.303	1.08±0.131	0.31±0.018
	12.5	6	6.8±1.04	1.86±0.191	0.82±0.146	2.27±0.311	1.12±0.168	0.36±0.046
	50	6	6.3±2.16	1.22±0.206*	0.61±0.090	1.77±0.340	0.95±0.175	0.36±0.027
	200	6	4.8±0.83	1.17±0.135**	0.65±0.095	1.68±0.194	0.85±0.097	0.38±0.024*
	800	6	5.1±1.23	1.68±0.297	0.58±0.120	1.95±0.335	0.91±0.127	0.29±0.021
Recovery 8	0	6	4.3±0.65	1.88±0.166	0.80±0.094	1.92±0.198	0.99±0.082	0.42±0.031
	12.5	6	5.3±0.54	1.60±0.124	0.83±0.081	1.94±0.171	1.05±0.116	0.43±0.018
	50	6	6.1±0.74	1.96±0.361	0.92±0.076	2.16±0.171	1.12±0.112	0.43±0.022
	200	6	6.4±1.73	1.70±0.118	0.90±0.094	2.16±0.251	1.26±0.158	0.43±0.042
	800	6	6.8±0.56*	2.19±0.154	1.03±0.157	2.45±0.199	1.38±0.133*	0.41±0.046

Values represent mean±S.E.

* Significant difference from control at P<0.05

** Significant difference from control at P<0.01

試験ではこれらの項目は対照群の値に近づき、回復性を示した。

8. 血液生化学的検査 (Table 5, 6)

雄の 200 mg/kg 以上の群で総コレステロールの増加と総蛋白の減少, 雄の 800 mg/kg 群で GOT の増加とアルブミンの減少, 雄の 200 mg/kg 以上の群と雌の 800 mg/kg 群で K⁺ の増加, 雌の 200 mg/kg 以上の群で Cl⁻ の減少がそれぞれ有意にみられた。回復性試験では, 総蛋白を除きこれらの項目は対照群の値に近づき, 回復性を示した。

9. 臓器重量 (Table 7, 8)

雄の 800 mg/kg 群で腎の比重量の増加, 下垂体の実重量の減少, 精巣の比重量の増加, 精巣上体の実重量の減少, 前立腺の実重量と比重量の減少が, 雄の 200 mg/kg 以上の群で脾の実重量と比重量の増加, 精囊の実重量と比重量の減少が, 雌雄の 800 mg/kg 群で唾液腺の実重量の減少が, 雄の 50 mg/kg 以上の群と雌の 200 mg/kg 以上の群で盲腸の実重量と比重量の増加がそれぞれ有意にみられた。回復性試験ではこれらの臓器は対照群の値に近づき, 回復性を示した。

10. 病理解剖学的検査

回腸粘膜と腸間膜リンパ節の黄色化ならびに回腸の集合リンパ小節の網の目状の黄色化が雌雄の 800 mg/kg

群のはば全例でみられた。また, 大腿骨の関節軟骨における水疱の形成が 800 mg/kg 群の雄の 10 例中 2 例 (以下, 2/10 例のごとく示す) と雌 2/10 例ならびに 200 mg/kg 群の雌 1/10 例でみられた。回復性試験では雌雄の 800 mg/kg 群で回腸粘膜の黄色化はみられなかったが, 集合リンパ小節の網の目状の黄色化は雄 4/8 例と雌 3/8 例, 腸間膜リンパ節の黄色化は雄 7/8 例と雌 5/8 例でみられた。また, 大腿骨の関節軟骨における水疱の形成は 800 mg/kg 群の雄 1/8 例と雌 4/8 例でみられた。

11. 病理組織学的検査 (Table 9, 10)

本物質の投与と関連するとみなされる変化が雌雄 800 mg/kg 群の回腸, 腸間膜リンパ節および直腸でみられた。回腸では細胞質に針状の空泡を有する大食細胞が粘膜固有層と集合リンパ小節に集簇していた (Fig. 4)。腸間膜リンパ節では, 回腸の粘膜固有層でみられたと同様の形態を示す大食細胞の集簇 (Fig. 5)。好中球の浸潤および髄索における形質細胞の増生がみられた。直腸では, 雌雄で細胞浸潤, 雄で粘膜の糜爛がみられた。これらの変化は重層扁平上皮で被われる部位にのみ出現し, 単層円柱上皮で被われる部位には異常はみられなかった。回復性試験では直腸に異常はみられず, 回腸の粘膜固有層における大食細胞の集簇も雄の 1 例でみられ

Table 3. Hematology in male rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocyte ($10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($10^3/\text{mm}^3$)	PT (sec)	APTT (sec)
End of dosing	0	10	819±13.6	16.0±0.19	47.9±0.65	57.8±0.39	19.5±0.20	33.8±0.19	1.4±0.16	960±44.5	14.8±0.21	21.4±0.68
	12.5	10	771±10.2*	15.6±0.20	45.9±0.68	59.6±0.62*	20.2±0.20*	33.9±0.29	1.0±0.10	863±28.8	14.4±0.21 ¹⁾	21.3±0.38 ¹⁾
	50	10	781±23.4	15.2±0.36	45.2±0.90	58.1±0.93	19.6±0.28	33.7±0.21	1.2±0.15	914±18.0	13.9±0.21 ¹⁾	18.8±1.13 ¹⁾
	200	10	769±10.2**	15.2±0.19**	45.1±0.55*	58.6±0.61	19.7±0.21	33.6±0.23	1.1±0.19	989±49.5	13.9±0.13 ¹⁾	20.2±0.72 ¹⁾
	800	10	773±18.8	15.2±0.36	44.9±1.02	58.1±0.54	19.6±0.22	33.8±0.19	1.5±0.19	1034±49.5	13.6±0.22 ¹⁾	19.5±0.61 ¹⁾
End of recovery	0	8	845±10.8	15.9±0.22	46.0±0.64	54.5±0.47	18.8±0.10	34.4±0.16	1.1±0.16	928±37.9	14.5±0.28	24.7±1.26
	12.5	8	826±22.8	15.7±0.33	45.1±0.93	54.7±0.76	19.1±0.33	34.9±0.27	1.1±0.16	921±49.2	14.7±0.23	25.0±0.96
	50	8	856±14.8	16.0±0.27	45.8±0.86	53.5±0.24	18.7±0.16	34.9±0.21	1.3±0.18	1016±32.3	14.3±0.24	23.2±1.23
	200	8	831±17.6	15.8±0.27	45.3±0.75	54.5±0.51	19.0±0.19	34.8±0.15	1.3±0.17	938±59.1	14.0±0.29 ¹⁾	22.6±0.68 ¹⁾
	800	8	818±13.6	15.8±0.21	45.3±0.61	55.4±0.42	19.3±0.20*	34.8±0.15	1.5±0.17	914±42.1	14.0±0.26	24.2±1.03

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Leucocyte ($10^3/\text{mm}^3$)	Differential leucocyte count (%)				
				basophil	eosinophil	neutrophil	lymphocyte	monocyte
End of dosing	0	10	220±18.0	0.0±0.00	2.8±0.34	23.4±1.91	73.1±2.08	0.8±0.15
	12.5	10	216±10.7	0.1±0.05	3.0±0.50	15.8±1.69**	80.5±2.03*	0.7±0.19
	50	10	201±12.4	0.1±0.05	2.2±0.40	14.4±1.35**	82.8±1.65**	0.6±0.18
	200	10	222±16.3	0.1±0.05	2.9±0.54	13.2±1.22**	83.3±1.39**	0.6±0.20
	800	10	315±33.3*	0.0±0.00	1.6±0.22**	24.4±3.40	73.3±3.34	0.8±0.20
End of recovery	0	8	204±19.6	0.1±0.06	3.3±0.63	21.6±1.15	74.4±1.23	0.8±0.25
	12.5	8	201±15.1	0.0±0.00	2.4±0.38	21.7±2.77	75.4±2.69	0.5±0.19
	50	8	202±13.2	0.0±0.00	2.8±0.39	15.0±1.72**	81.5±2.03**	0.8±0.28
	200	8	185±11.1	0.0±0.00	3.8±0.68	15.9±2.05*	79.7±2.38	0.7±0.19
	800	8	251±20.3	0.1±0.06	3.8±0.52	22.3±1.74	72.9±1.98	1.0±0.33

Values represent mean±S. E.

* Significant difference from control at $P < 0.05$

** Significant difference from control at $P < 0.01$

¹⁾ Values are mean±S. E. of 9 animals

²⁾ Values are mean±S. E. of 8 animals

³⁾ Values are mean±S. E. of 7 animals

たのみであったが、回腸の集合リンパ小節と腸間膜リンパ節の変化は多数例でみられた。

Ⅲ. 考 察

ピリドンカルボン酸系の新しい合成抗菌薬 sparfloxacin を Jcl : SD 系ラットに 12.5, 50, 200 および 800 mg/kg の投与量で 4 週間にわたり経口投与してその亜急性毒性を検討するとともに、2 週間の回復性試験を行い、毒性の回復性を検討した。

一般状態の観察では、雄の 200 mg/kg 以上の群と雌の 800 mg/kg 群で軟便、雌雄の 800 mg/kg 群で肛門粘膜における血様物の付着がみられた。これらの所見は

休業により速やかに消失した。

体重増加は雄の 800 mg/kg 群で抑制され、摂餌量は雄の 800 mg/kg 群と雌の 200 mg/kg 以上の群で一過性に減少した。また、摂水量は雌雄の 200 mg/kg 以上の群で増加した。

尿検査では、雌雄の 800 mg/kg 群で Na^+ の減少と Na^+/K^+ 比の低下、雄の 800 mg/kg 群で尿量、蛋白および Cl^- の減少がみられた。これらは、本物質の投与によって生じた腸内細菌叢の変動に伴う大腸での水、電解質の吸収の変化ならびに軟便の排泄による水と電解質の喪失に起因する変動であろう。

血液学的検査では、雌の 800 mg/kg 群で赤血球数、

Table 4. Hematology in female rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocyte ($10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($10^3/\text{mm}^3$)	PT (sec)	APTT (sec)
End of dosing	0	10	823±12.4	16.8±0.35	48.6±0.83	59.1±0.54	20.3±0.23	34.5±0.17	1.2±0.11	888±38.6	14.3±0.28	22.4±0.19
	12.5	10	804±27.6	16.3±0.55	47.3±1.48	58.9±0.33	20.3±0.18	34.4±0.22	1.4±0.12	911±60.1	13.8±0.31	22.4±0.43
	50	10	823±11.7	16.6±0.27	48.3±0.79	58.7±0.35	20.2±0.19	34.5±0.22	1.2±0.10	906±39.1	14.2±0.25	22.9±0.43
	200	10	820±18.9	16.3±0.34	47.6±0.94	58.2±0.33	19.9±0.16	34.3±0.19	1.5±0.16	858±28.2	14.0±0.18	23.5±0.40 ^{a)}
	800	10	774±7.1 ^{**}	15.5±0.16 ^{**}	45.4±0.36 ^{**}	58.6±0.25	20.0±0.14	34.1±0.18	1.4±0.16	986±42.9	13.7±0.36 ^{a)}	24.0±0.28 ^{***}
End of recovery	0	8	807±19.0	15.6±0.30	45.7±0.95	56.6±0.37	19.4±0.17	34.2±0.17	1.0±0.11	982±36.8	13.2±0.43	22.6±0.66
	12.5	8	804±11.1	15.2±0.16	45.2±0.58	56.3±0.38	19.0±0.19	33.7±0.22	1.0±0.05	874±50.1	12.9±0.40	22.3±0.65
	50	8	783±25.9	15.3±0.41	44.8±1.04	57.4±0.97	19.5±0.22	34.1±0.37	1.4±0.15 ^{b)}	895±77.3	12.8±0.40	23.2±0.65
	200	8	797±11.2	15.4±0.16	44.5±0.48	55.9±0.36	19.3±0.22	34.6±0.24	1.2±0.09	961±44.6	12.9±0.28	23.4±0.66
	800	8	795±12.8	15.4±0.20	45.0±0.60	56.6±0.26	19.4±0.11	34.2±0.16	1.1±0.09	904±33.7	12.5±0.60 ^{a)}	23.8±0.66 ^{a)}

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Leucocyte ($10^3/\text{mm}^3$)	Differential leucocyte count (%)				
				basophil	eosinophil	neutrophil	lymphocyte	monocyte
End of dosing	0	10	163±12.4	0.1±0.07	3.1±0.60	16.8±1.57	79.5±1.97	0.7±0.22
	12.5	10	158±16.0	0.0±0.00	3.1±0.24	10.9±1.28 ^{**}	85.5±1.57 ^{a)}	0.6±0.17
	50	10	150±7.7	0.0±0.00	3.1±0.42	12.4±1.08 ^{a)}	84.0±1.41	0.6±0.22
	200	10	159±11.4	0.0±0.00	3.8±0.81	12.1±1.78	83.6±2.08	0.6±0.22
	800	10	254±27.3 ^{a)}	0.1±0.05	2.1±0.48	23.1±5.13	74.1±5.04	0.8±0.19
End of recovery	0	8	135±9.6	0.0±0.00	1.7±0.49	15.4±2.38	82.6±2.74	0.3±0.13
	12.5	8	191±16.0 ^{**}	0.0±0.00	2.1±0.30	16.4±1.95	81.0±1.94	0.4±0.18
	50	8	153±10.7	0.1±0.06	2.7±0.46	16.2±2.07	80.6±2.17	0.5±0.16
	200	8	149±15.0	0.0±0.00	2.5±0.43	10.4±1.18	86.7±1.36	0.4±0.20
	800	8	174±14.7 ^{a)}	0.0±0.00	2.6±0.53	12.2±2.13	84.8±2.20	0.4±0.21

Values represent mean±S. E.

^{a)} Significant difference from control at P<0.05

^{**} Significant difference from control at P<0.01

^{a)} Values are mean±S. E. of 9 animals

^{b)} Values are mean±S. E. of 6 animals

^{c)} Values are mean±S. E. of 7 animals

ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少, 雌雄の 800 mg/kg 群で白血球数の増加がみられた。

血液生化学的検査では, 雄の 200 mg/kg 以上の群で総コレステロールの増加と総蛋白の減少, 雄の 800 mg/kg 群でアルブミンの減少と GOT の増加, 雄の 200 mg/kg 以上の群と雌の 800 mg/kg 群で K⁺ の増加, 雌の 200 mg/kg 以上の群で Cl⁻ の減少がみられた。しかし, 病理組織学的検査ではこれらの生化学的変化と関連する変化はみられていないため, 毒性学的な意義は少ないと考えられる。

臓器重量では, 雄の 50 mg/kg 以上の群と雌の 200 mg/kg 以上の群で盲腸の増加がみられた。盲腸の増加

は, 本物質の投与によって生じた腸内細菌叢の変動に起因する変化と考えられる。他の臓器重量の変動は意味のある病理組織学的変化を伴ったものではなく, 毒性学的な意義は少ないであろう。

病理解剖学的検査では, 雌雄の 800 mg/kg 群で回腸と腸間膜リンパ節の黄色化, 雄の 800 mg/kg 群と雌の 200 mg/kg 以上の群で大腸骨の関節軟骨における水疱の形成がみられた。前者の変化は本物質に特異的な変化と考えられる。

病理組織学的検査では, 雌雄の 800 mg/kg 群で回腸に大食細胞の集簇, 腸間膜リンパ節に大食細胞の集簇と好中球の浸潤, 直腸に細胞浸潤と糜爛がみられた。大食

Table 5. Blood chemistry in male rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

	Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (KU)	GPT (KU)	ALP (mU/ml)	Total bilirubin (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio
End of dosing	0	10	78±2.6	20±2.4	246±18.3	0.10±0.000	61±1.9	92±2.2	5.19±0.064	3.18±0.030	1.59±0.044
	12.5	10	74±4.8	23±4.0	264±10.6	0.11±0.007	61±2.5	89±2.1	5.12±0.076	3.27±0.037	1.79±0.068*
	50	10	86±4.9	20±1.8	304±25.7	0.10±0.000	66±2.0	93±1.7	5.04±0.119	3.25±0.071	1.82±0.042**
	200	10	84±5.7	21±2.0	272±20.5	0.11±0.005	70±3.2*	96±1.3	4.92±0.086*	3.13±0.071	1.77±0.079
	800	10	112±12.0*	18±2.2	248±23.7	0.10±0.005	79±4.1**	93±1.9	4.81±0.074**	3.01±0.060*	1.69±0.052
End of recovery	0	7	65±4.5	34±2.4	218±23.7	0.10±0.011	56±3.1	93±1.9 ^{†)}	5.49±0.113	3.19±0.092	1.40±0.072
	12.5	7	62±4.6	32±1.4	233±12.9	0.10±0.000	57±2.5	92±1.6 ^{†)}	5.36±0.085	3.29±0.034	1.80±0.059
	50	8	68±3.6	33±1.9	208±15.1	0.11±0.006	64±3.2	90±2.0	5.27±0.112	3.27±0.053	1.65±0.063*
	200	8	67±2.4	30±1.9	210±6.5	0.10±0.000	58±4.0	90±1.1	4.94±0.085**	3.13±0.052	1.74±0.057**
	800	8	61±4.4	31±1.7	226±24.5	0.11±0.011	57±2.8	91±1.4	5.01±0.087**	3.20±0.081	1.77±0.051**

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Urea nitrogen (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Inorganic phosphorus (mg/dl)	Ca ⁺⁺ (mg/dl)	Na ⁺ (mEq/l)	K ⁺ (mEq/l)	Cl ⁻ (mEq/l)
End of dosing	0	10	21.0±0.69	0.59±0.021	7.96±0.172	10.03±0.076	144±0.4	4.0±0.09	102±0.7
	12.5	10	22.2±0.96	0.57±0.015	8.15±0.206	10.29±0.116	144±0.8	4.2±0.12	102±0.5
	50	10	23.5±1.05	0.63±0.028	9.16±0.625	10.14±0.153	144±1.1	4.3±0.23	102±0.6
	200	10	22.9±0.81	0.56±0.032	8.33±0.274	9.83±0.111	143±0.9	4.3±0.09*	102±1.1
	800	10	21.6±0.77	0.53±0.025	8.49±0.196	10.01±0.133	144±0.4	4.4±0.18*	104±0.9
End of recovery	0	7	20.8±0.95	0.64±0.034	8.26±0.332	10.16±0.153	146±1.2	4.0±0.16	100±1.1
	12.5	7	22.6±0.92	0.62±0.015	8.23±0.334	10.30±0.045	147±0.9	4.1±0.23	100±0.9
	50	8	23.2±0.82	0.71±0.042	7.98±0.305	10.39±0.091	146±1.2	4.0±0.15	100±0.4
	200	8	22.0±0.81	0.63±0.023	7.76±0.398	10.18±0.100	145±1.0	4.2±0.13	102±0.8
	800	8	21.4±1.35	0.64±0.035	8.70±0.269	10.19±0.121	147±1.6	4.1±0.09	101±0.6

Values represent mean±S. E.

* Significant difference from control at P<0.05

** Significant difference from control at P<0.01

^{†)} Values are mean±S. E. of 8 animals.

細胞の集簇と剖検でみられた黄色化との間には関連性があつた。腸間膜リンパ節の好中球の浸潤と直腸の細胞浸潤は血液学的検査での白血球の増加と関連した変化と考えられる。また、直腸の糜爛は肛門粘膜にみられた血様物の付着に対応する変化であろう。

上述の変化のほとんどは休薬により回復性を示した。

以上の結果より、本試験での sparfloxacin の最大無影響量は 50 mg/kg と結論される。

文 献

- 1) Nakamura S, et al. : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of AT-4140, a new broad-spectrum quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 33 : 1167~1173, 1989
- 2) 飯田晶敏, 矢寺成次, 大西久美雄 : 合成抗菌薬 sparfloxacin のマウス, ラットおよびビーグル犬における急性毒性試験. *Chemotherapy* 39 (S-4) : 175~179, 1991

Table 6. Blood chemistry in female rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

	Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (KU)	GPT (KU)	ALP (mU/ml)	Total bilirubin (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio
End of dosing	0	10	81±11.3	18±1.8	178±7.8	0.10±0.007	74±2.3	89±1.1	5.24±0.089	3.20±0.046	1.57±0.043
	12.5	10	86±5.2	15±1.0	150±14.0	0.10±0.011	74±3.6	88±1.4	5.10±0.083	3.16±0.041	1.64±0.036
	50	10	82±8.2	14±1.0	174±19.6	0.09±0.007	72±2.6	90±0.7	4.93±0.044**	3.09±0.033	1.69±0.058
	200	10	81±6.8	15±1.1	186±15.3	0.10±0.005	77±3.1	89±1.7	4.99±0.070*	3.18±0.067	1.76±0.069*
	800	10	78±4.8	15±1.1	193±23.2	0.08±0.008*	77±2.8	94±2.2	5.01±0.116	3.14±0.094	1.69±0.052
End of recovery	0	8	102±7.4	31±8.2	149±19.3	0.10±0.000	73±3.1	90±1.8	5.48±0.102	3.41±0.052	1.66±0.074
	12.5	8	97±7.7	19±1.8	120±13.7	0.11±0.008	65±3.3	86±0.9	5.24±0.076	3.42±0.103	1.92±0.153
	50	8	96±11.6	18±1.7	142±12.9	0.12±0.013	68±4.6	88±2.2	4.93±0.088**	3.24±0.059*	1.93±0.062*
	200	8	103±9.9	18±1.4	123±7.8	0.11±0.006	68±2.5	90±2.5	5.17±0.068*	3.36±0.047	1.87±0.062*
	800	8	106±9.6	18±2.3	129±10.2	0.11±0.006	68±2.8	91±2.0	4.92±0.057**	3.24±0.051*	1.93±0.053*
End of dosing	0	10	17.7±0.57	0.49±0.022	6.64±0.245	9.66±0.076	142±0.7	3.6±0.10	107±0.8		
	12.5	10	20.6±0.57**	0.57±0.032	7.28±0.224	9.66±0.079	142±0.9	3.7±0.14	105±0.6		
	50	10	21.0±1.36*	0.55±0.040	6.78±0.248	9.62±0.083	142±1.1	3.7±0.09	106±0.9		
	200	10	20.4±0.88*	0.51±0.022	7.38±0.180*	9.84±0.150	143±0.8	3.7±0.09	103±0.7**		
	800	10	20.5±0.90*	0.50±0.032	7.50±0.459	9.91±0.127	143±0.8	4.0±0.10*	103±0.6**		
End of recovery	0	8	19.6±0.59	0.57±0.030	7.68±0.183	9.85±0.129	145±0.7	3.6±0.14	105±0.6		
	12.5	8	17.8±1.03	0.58±0.031	6.84±0.331*	9.69±0.125	143±0.9	3.5±0.20	106±0.7		
	50	8	22.1±1.27	0.58±0.033	7.23±0.650	9.78±0.115	144±0.6	3.6±0.19	106±1.0		
	200	8	22.2±0.81*	0.65±0.023*	7.35±0.381	9.80±0.093	145±0.6	3.6±0.13	107±0.7		
	800	8	20.6±1.10	0.59±0.031	8.34±0.440	9.78±0.103	145±0.6	4.0±0.19	106±0.8		

Values represent mean ± S. E.

* Significant difference from control at P < 0.05

** Significant difference from control at P < 0.01

Table 7-1. Absolute and relative organ weights in male rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Final body weight (g)	Brain		Heart		Lungs		Liver		
				(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	
End of dosing	0	10	353.6±12.34	1.92±0.018	0.547±0.0182	1.09±0.037	0.310±0.0058	1.22±0.042	0.347±0.0085	15.8±0.75	4.45±0.077	
	12.5	10	359.9±7.98	1.91±0.019	0.533±0.0104	1.12±0.030	0.312±0.0073	1.28±0.029	0.356±0.0084	16.4±0.81	4.53±0.149	
	50	10	368.1±12.82	1.95±0.035	0.533±0.0150	1.16±0.045	0.315±0.0048	1.30±0.043	0.355±0.0075	17.5±0.66	4.75±0.114*	
	200	10	366.5±15.06	1.90±0.030	0.526±0.0179	1.13±0.051	0.307±0.0038	1.34±0.068	0.367±0.0097	17.8±1.16	4.81±0.136*	
	800	10	321.8±9.28	1.88±0.027	0.586±0.0126	1.01±0.035	0.314±0.0083	1.15±0.039	0.359±0.0104	14.3±0.64	4.43±0.150	
End of recovery	0	8	431.0±9.76	2.00±0.033	0.466±0.0079	1.30±0.028	0.302±0.0060	1.42±0.028	0.331±0.0073	18.8±0.61	4.36±0.099	
	12.5	8	420.9±13.44	1.96±0.030	0.469±0.0104	1.25±0.040	0.296±0.0053	1.35±0.042	0.320±0.0058	18.1±0.89	4.29±0.118	
	50	8	430.7±15.45	1.94±0.043	0.454±0.0125	1.33±0.050	0.309±0.0040	1.37±0.040	0.319±0.0074	20.8±1.31	4.81±0.177*	
	200	8	436.7±9.20	1.94±0.026	0.446±0.0085	1.36±0.065	0.311±0.0098	1.44±0.054	0.330±0.0104	21.0±0.93	4.78±0.124*	
	800	8	409.7±8.29	1.95±0.020	0.477±0.0072	1.27±0.028	0.310±0.0046	1.37±0.043	0.334±0.0061	17.6±0.33	4.29±0.051	
End of dosing	0	10	2.58±0.100	0.730±0.0145	0.71±0.030	0.200±0.0070	0.67±0.022	0.190±0.0073	13±0.8	3.8±0.24	21±1.5	5.8±0.33
	12.5	10	2.55±0.094	0.707±0.0203	0.82±0.036*	0.227±0.0095*	0.64±0.020	0.178±0.0069	14±0.8	3.8±0.20	22±1.0	6.1±0.31
	50	10	2.68±0.072	0.730±0.0147	0.80±0.049	0.216±0.0110	0.68±0.027	0.185±0.0050	13±0.7	3.4±0.16	21±1.2	5.8±0.36
	200	10	2.70±0.135	0.738±0.0221	0.92±0.089*	0.247±0.0150*	0.65±0.030	0.179±0.0050	12±0.7	3.4±0.22	21±1.3	5.8±0.32
	800	10	2.54±0.061	0.791±0.0180*	0.90±0.042**	0.279±0.0119**	0.60±0.023*	0.186±0.0058	10±0.5**	3.2±0.13	19±1.9	5.8±0.49
End of recovery	0	8	2.96±0.083	0.688±0.0195	0.84±0.049	0.194±0.0107	0.74±0.018	0.173±0.0058	15±0.4	3.4±0.12	23±0.6	5.3±0.21
	12.5	8	2.81±0.107	0.668±0.0133	0.91±0.046	0.218±0.0130	0.72±0.018	0.172±0.0053	13±0.4*	3.2±0.12	23±1.0	5.4±0.19
	50	8	2.88±0.124	0.669±0.0154	0.98±0.073	0.226±0.0117	0.69±0.019*	0.161±0.0064	12±0.6**	2.9±0.13**	20±1.5	4.8±0.35
	200	8	3.08±0.076	0.705±0.0140	0.96±0.065	0.219±0.0118	0.74±0.024	0.170±0.0044	13±0.7*	2.9±0.19*	22±1.5	5.0±0.34
	800	8	2.87±0.064	0.700±0.0100	0.96±0.036	0.235±0.0075**	0.69±0.016*	0.169±0.0054	14±0.7	3.3±0.18	22±1.2	5.3±0.31

Values represent mean±S.E.

* Significant difference from control at P<0.05

** Significant difference from control at P<0.01

Table 7 - 2. Absolute and relative organ weights in male rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Thymus		Adrenals		Testes		Epididymides	
			(g)	(g/100g)	(mg)	(mg/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)
End of dosing	0	10	0.45±0.037	0.125±0.0088	52±2.6	14.7±0.51	3.47±0.074	0.989±0.0345	0.79±0.024	0.227±0.0107
	12.5	10	0.46±0.028	0.126±0.0089	49±2.0	13.7±0.41	3.59±0.106	0.998±0.0233	0.88±0.051	0.245±0.0122
	50	10	0.47±0.036	0.127±0.0099	55±2.1	15.0±0.38	3.55±0.075	0.972±0.0285	0.80±0.028	0.220±0.0089
	200	10	0.48±0.030	0.131±0.0088	50±2.6	13.7±0.64	3.46±0.088	0.953±0.0280	0.80±0.028	0.220±0.0088
	800	10	0.42±0.022	0.130±0.0051	52±2.0	16.2±0.57	3.48±0.107	1.082±0.0221*	0.72±0.025*	0.224±0.0086
End of recovery	0	8	0.46±0.024	0.106±0.0064	58±2.6	13.4±0.59	3.89±0.070	0.904±0.0220	1.08±0.029	0.251±0.0073
	12.5	8	0.44±0.044	0.105±0.0109	56±3.0	13.2±0.48	4.01±0.087	0.957±0.0181	1.10±0.034	0.262±0.0111
	50	8	0.45±0.046	0.104±0.0091	58±3.5	13.4±0.75	3.80±0.083	0.888±0.0319	1.09±0.021	0.255±0.0085
	200	8	0.41±0.019	0.093±0.0053	58±2.3	13.3±0.52	3.84±0.076	0.882±0.0281	1.10±0.034	0.252±0.0112
	800	8	0.47±0.015	0.114±0.0021	57±2.7	13.8±0.55	3.79±0.092	0.928±0.0218	1.01±0.018	0.247±0.0073

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Prostate		Seminal vesicle		Cecum	
			(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)
End of dosing	0	10	0.42±0.035	0.120±0.0097	1.27±0.053	0.362±0.0183	8.52±0.589	2.407±0.1387
	12.5	10	0.41±0.041	0.113±0.0114	1.18±0.053	0.327±0.0155	10.02±0.463	2.790±0.1304
	50	10	0.43±0.027	0.115±0.0054	1.21±0.054	0.329±0.0120	10.80±0.339**	2.893±0.0789**
	200	10	0.43±0.032	0.116±0.0067	1.11±0.054*	0.305±0.0152*	13.71±1.084**	3.715±0.2172**
	800	10	0.28±0.023**	0.086±0.0063**	0.89±0.080**	0.278±0.0253*	16.71±1.092**	5.186±0.2916**
End of recovery	0	8	0.56±0.040	0.129±0.0081	1.55±0.064	0.362±0.0183	9.64±0.578	2.238±0.1323
	12.5	8	0.48±0.030	0.114±0.0077	1.52±0.050	0.364±0.0197	10.36±0.876	2.445±0.1696
	50	8	0.48±0.032	0.112±0.0080	1.37±0.047*	0.318±0.0118	11.15±0.946	2.567±0.1416
	200	8	0.51±0.040	0.116±0.0091	1.54±0.085	0.354±0.0235	13.03±0.965**	2.996±0.2380*
	800	8	0.41±0.023**	0.101±0.0062*	1.42±0.076	0.349±0.0205	12.21±1.241	2.996±0.3262

Values represent mean±S.E.

* Significant difference from control at P<0.05

** Significant difference from control at P<0.01

Table 8. Absolute and relative organ weights in female rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Final body weight (g)	Brain		Heart		Lungs		Liver	
				(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)
End of dosing	0	10	225.9±6.38	1.75±0.020	0.781±0.0287	0.77±0.022	0.341±0.0084	1.07±0.041	0.474±0.0137	9.9±0.38	4.39±0.065
	12.5	10	232.5±4.53	1.79±0.018	0.773±0.0158	0.79±0.026	0.338±0.0078	1.04±0.023	0.449±0.0114	10.3±0.35	4.41±0.102
	50	10	219.6±4.16	1.78±0.025	0.814±0.0161	0.75±0.017	0.340±0.0084	0.97±0.020	0.442±0.0078	9.9±0.36	4.48±0.127
	200	10	222.7±5.30	1.77±0.017	0.797±0.0220	0.78±0.024	0.348±0.0049	1.02±0.022	0.458±0.0075	10.1±0.32	4.51±0.098
	800	10	220.3±5.52	1.77±0.027	0.808±0.0196	0.76±0.027	0.344±0.0066	1.02±0.036	0.463±0.0121	9.5±0.30	4.31±0.057
End of recovery	0	8	243.9±7.90	1.78±0.024	0.735±0.0194	0.78±0.026	0.322±0.0060	1.03±0.029	0.423±0.0088	9.9±0.40	4.07±0.073
	12.5	8	235.5±5.36	1.79±0.026	0.781±0.0142	0.74±0.017	0.316±0.0079	0.99±0.021	0.419±0.0071	9.1±0.20	3.85±0.095
	50	8	257.7±12.85	1.84±0.027	0.727±0.0376	0.86±0.044	0.333±0.0084	1.15±0.091	0.441±0.0144	11.2±1.18	4.28±0.218
	200	8	233.5±5.24	1.77±0.022	0.758±0.0128	0.75±0.016	0.322±0.0063	0.99±0.026	0.425±0.0133	9.5±0.25	4.08±0.068
	800	8	234.1±4.15	1.79±0.022	0.787±0.0143	0.75±0.012	0.320±0.0051	1.01±0.015	0.433±0.0077	9.5±0.25	4.08±0.094

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Kidneys		Spleen		Salivary glands		Pituitary		Thyroids	
			(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)	(mg)	(mg/100g)	(mg)	(mg/100g)
End of dosing	0	10	1.70±0.051	0.756±0.0199	0.52±0.032	0.231±0.0143	0.47±0.011	0.209±0.0068	14±0.8	6.1±0.33	16±1.2	7.0±0.50
	12.5	10	1.73±0.050	0.743±0.0121	0.61±0.034	0.262±0.0147	0.48±0.013	0.206±0.0046	14±0.5	5.8±0.27	18±0.8	7.8±0.36
	50	10	1.70±0.048	0.775±0.0228	0.53±0.019	0.240±0.0069	0.47±0.011	0.218±0.0053	13±0.9	5.8±0.37	16±0.6	7.1±0.28
	200	10	1.72±0.035	0.774±0.0131	0.56±0.025	0.250±0.0106	0.47±0.010	0.210±0.0050	13±0.7	5.7±0.26	16±0.9	7.2±0.40
	800	10	1.78±0.065	0.806±0.0190	0.60±0.033	0.273±0.0170	0.43±0.014*	0.195±0.0049	13±1.0	6.0±0.34	16±0.6	7.3±0.34
End of recovery	0	8	1.75±0.057	0.718±0.0158	0.60±0.040	0.246±0.0141	0.48±0.017	0.197±0.0046	15±0.7	6.0±0.37	16±0.9	6.6±0.39
	12.5	8	1.58±0.032*	0.672±0.0159	0.56±0.021	0.239±0.0074	0.44±0.009	0.188±0.0050	14±0.5	6.0±0.21	16±1.0	6.7±0.50
	50	8	1.80±0.038	0.704±0.0202	0.70±0.076	0.267±0.0195	0.46±0.014	0.182±0.0084	15±0.6	6.0±0.42	16±1.2	6.1±0.32
	200	8	1.63±0.024	0.701±0.0146	0.61±0.021	0.261±0.0102	0.46±0.011	0.198±0.0056	14±0.7	5.9±0.38	17±0.6	7.2±0.32
	800	8	1.67±0.040	0.712±0.0086	0.59±0.034	0.254±0.0152	0.45±0.019	0.194±0.0074	13±1.0	5.7±0.48	16±0.8	6.6±0.38

	Dose (mg/kg)	No. of animals	Thymus		Adrenals		Ovaries		Uterus		Cecum	
			(g)	(g/100g)	(mg)	(mg/100g)	(mg)	(mg/100g)	(g)	(g/100g)	(g)	(g/100g)
End of dosing	0	10	0.44±0.018	0.195±0.0050	64±2.9	28.3±1.12	92±5.7	40.9±2.20	0.48±0.034	0.214±0.0130	6.83±0.268	3.040±0.1374
	12.5	10	0.43±0.036	0.182±0.0132	66±2.0	28.6±0.91	95±6.5	41.0±2.44	0.56±0.035	0.241±0.0153	7.37±0.419	3.178±0.1832
	50	10	0.39±0.022	0.178±0.0099	61±2.5	27.6±1.23	91±2.0	41.4±0.95	0.51±0.043	0.235±0.0207	6.92±0.675	3.117±0.2522
	200	10	0.43±0.034	0.191±0.0125	60±3.4	27.1±1.24	90±5.0	40.5±1.99	0.54±0.042	0.242±0.0182	8.58±0.505**	3.837±0.1684**
	800	10	0.40±0.033	0.181±0.0111	60±1.8	27.1±0.74	86±3.5	38.9±1.29	0.53±0.040	0.238±0.0159	13.18±1.630**	5.886±0.5799**
End of recovery	0	8	0.34±0.023	0.137±0.0063	67±3.7	27.5±1.43	88±4.2	36.2±1.69	0.62±0.040	0.256±0.0160	5.92±0.385	2.422±0.1342
	12.5	8	0.36±0.026	0.153±0.0115	60±2.7	25.5±1.09	83±2.5	35.3±0.91	0.58±0.055	0.250±0.0274	7.28±0.704	3.064±0.2488*
	50	8	0.38±0.015	0.148±0.0072	66±3.3	25.7±1.18	102±5.1	39.6±1.20	0.59±0.052	0.236±0.0263	7.80±0.651*	3.035±0.2310*
	200	8	0.35±0.022	0.153±0.0114	60±2.5	25.7±1.60	91±4.7	38.9±1.85	0.54±0.052	0.230±0.0212	7.85±0.429**	3.354±0.1348**
	800	8	0.39±0.017	0.166±0.0074*	67±3.3	28.7±1.44	88±5.1	37.6±2.02	0.61±0.056	0.259±0.0242	9.16±0.435**	3.915±0.1763**

Values represent mean ± S.E.

* Significant difference from control at P<0.05

** Significant difference from control at P<0.01

Table 9. Histopathological findings in rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks

Organ and findings	Dose (mg/kg)	Male					Female				
		0	12.5	50	200	800	0	12.5	50	200	800
Heart											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Focal cell infiltration		1	1	1	0	0	1	0	0	0	0
Focal fibrosis		0	1	2	1	1	0	0	0	0	0
Lung											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Focal pneumonia		1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Perivascular cell aggregation		1	0	2	5	1	1	0	1	2	1
Hemorrhage		0	0	0	0	2	1	0	2	0	1
Perivascular edema		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Calcification of artery wall		1	1	0	0	0	0	0	1	1	0
Heterotopic ossification		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Salivary gland											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cell infiltration		0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
Stomach											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cell infiltration in forestomach		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Microgranuloma		9	8	9	10	8	8	10	9	10	7
Focal necrosis		2	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Cell infiltration in portal area		1	0	1	2	0	1	2	3	1	2
Necrotic area		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Pancreas											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cell infiltration		3	3	2	4	1	1	0	0	0	0
Focal acinar atrophy		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ileum											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Accumulation of macrophages in l. propria		0	0	0	0	10	0	0	0	0	10
Accumulation of macrophages in lymph nodule		0	0	0	0	9	0	0	0	0	6
Rectum (region lined by stratified squamous epithelium)											
No. examined		6	7	8	8	6	10	9	9	9	10
Cell infiltration		0	0	0	0	6	0	0	1	0	9
Erosion		0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
Kidney											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Focal tubular regeneration		3	4	3	5	3	6	8	3	5	3
Cell infiltration		3	3	2	6	4	1	2	2	4	3
Cyst		0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Calcification		0	0	0	0	0	7	8	7	8	7
Cell infiltration in pelvis		0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Urinary bladder											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cell infiltration		0	1	1	0	1	0	0	1	0	0
Urothelial hyperplasia		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Spleen											
No. examined		10	10	10	10	10	10	9	10	9	10
Extramedullary hematopoiesis		6	7	7	8	7	0	0	0	0	1
Mesenteric lymph node											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Accumulation of macrophages		0	0	0	0	10	0	0	0	0	10
Neutrophil infiltration		0	0	0	0	5	0	0	0	0	3
Plasma cell hyperplasia		0	0	0	0	5	0	0	0	0	3
Pituitary											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cyst		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Thyroid											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ultimobranchial rest		7	4	3	5	6	7	6	6	1	5
Ectopic thymus		2	0	0	3	0	1	1	0	2	0
Testis											
No. examined		10	10	10	10	10					
Tubular atrophy (unilateral)		0	1	0	0	0					
Epididymis											
No. examined		10	10	10	10	10					
Cell infiltration		1	2	0	1	1					
Disappearance of spermatozoa (unilateral)		0	1	0	0	0					
Prostate											
No. examined		10	10	10	10	10					
Cell infiltration		4	4	5	5	1					
Thigh muscle											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cell infiltration		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Harderian gland											
No. examined		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cell infiltration		1	0	2	0	0	0	1	0	1	0

Thoracic aorta, trachea, tongue, esophagus, duodenum, jejunum, cecum, colon, rectum (region lined by simple columnar epithelium), thymus, parathyroid, adrenal, seminal vesicle, ovary, uterus, vagina, brain, spinal cord, sciatic nerve, femur with marrow, sternum with marrow, eye, optic nerve, skin with mammary gland : not remarkable

Table 10. Histopathological findings in rats treated orally with sparfloxacin for 4 weeks and followed by 2-week recovery period

Organ and findings	Dose (mg/kg)	Male					Female				
		0	12.5	50	200	800	0	12.5	50	200	800
Ileum											
No. examined		8	/	/	/	8	8	/	/	/	8
Accumulation of macrophages in l. propria		0				1	0				0
Accumulation of macrophages in lymph node		0				6	0				4
Mesenteric lymph node											
No. examined		8	/	/	/	8	8	/	/	/	8
Accumulation of macrophages		0				8	0				6
Neutrophil infiltration		0				0	0				1
Plasma cell hyperplasia		0				1	0				1

Rectum : not remarkable

/ : not examined

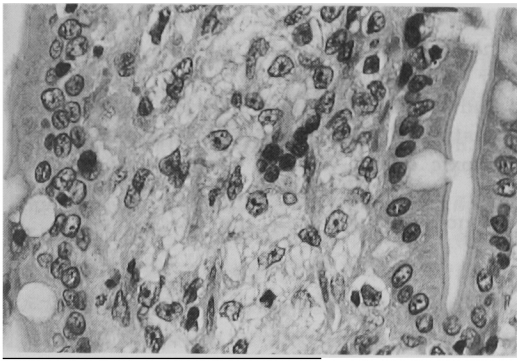


Fig. 4. Ileum from a male rat given orally with 800 mg/kg/day of sparfloxacin for 4 weeks. Macrophages having spicular vacuoles in their cytoplasm are accumulated in the lamina propria. H-E stain, x440.

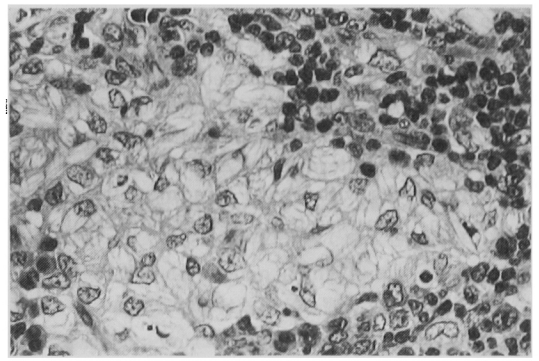


Fig. 5. Mesenteric lymph node from a male rat given orally with 800 mg/kg/day of sparfloxacin for 4 weeks. Macrophages having spicular vacuoles in their cytoplasm are accumulated. H-E stain, x440.

FOUR-WEEK ORAL TOXICITY STUDY OF SPARFLOXACIN IN RATS

Masashi Yasuba, Hiroshi Yamazoe, Takatoshi Koujitani,
Nobuo Matsuoka, Masatoshi Iida and Kumio Ohnishi
Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.
33-84 Enoki-cho, Suita, Osaka 564, Japan

Sparfloxacin, a synthetic antibacterial agent, was administered orally to Jcl : SD rats at doses of 12.5, 50, 200 and 800 mg/kg for 4 weeks followed by a 2-week recovery period.

Clinical signs attributable to the treatment included soft stool noted in males at 200 mg/kg or more and females at 800 mg/kg, and blood-like discharges on the anal mucosa noted in both sexes at 800 mg/kg. Body weight gain was depressed in males at 800 mg/kg. Food consumption was transiently decreased in males at 800 mg/kg and females at 200 mg/kg or more. Water consumption was increased in both sexes at 200 mg/kg or more. Urinalysis exhibited a decreased Na^+ level and Na^+/K^+ ratio in both sexes at 800 mg/kg and decreased urine volume, protein and Cl^- in males at 800 mg/kg. Hematology disclosed increased WBC in both sexes at 800 mg/kg. Cecum weight was increased in males at 50 mg/kg or more and females at 200 mg/kg or more. Necropsy revealed yellow discoloration of the ileum and mesenteric lymph node in both sexes at 800 mg/kg. In histopathological examination, accumulation of macrophages corresponded to the macroscopic alterations. All of the above-described toxic effects reversed or tended to reverse following the withdrawal of administration.

From these results, it is concluded that a maximum no-effect dose is 50 mg/kg.