

Temafloracinのラットを用いた経口投与法による26週間反復投与毒性試験

山村高章・久世 博・周参見正行・川合是彰・堀 正樹
田辺製薬株式会社安全性研究所*

新しいアリルフロロキノロン誘導体である塩酸テマフロキサシン(TMFX)の安全性試験の一環として、ラットを用いて26週間の連続経口投与による毒性試験(4週間の回復試験を含む)を実施した。投与量は100, 200および400mg/kgとした。

結果は次のように要約される。

1. 400mg/kg群の雄4例が死亡し、400mg/kg群の雄2例および雌1例が瀕死状態となった。これらの動物は投与11週から16週にかけて摂餌量および体重の急激な減少を示し、さらに、被毛汚染、眼脂、沈静、低体温等の一般状態の悪化を伴って、死亡ないしは瀕死状態となった。

2. 体重は200mg/kg群以上の雄および400mg/kg群の雌で有意に低下した。摂水量は400mg/kg群で顕著に増加した。

3. 臨床検査では、瀕死期殺動物で尿素窒素、クレアチニンおよび無機リンの著明な上昇が共通してみられた。計面殺動物では200mg/kg群以上の雄および400mg/kg群の雌で尿中ナトリウム排泄量の減少ならびに200mg/kg群以上の雄で血清中総タンパクの低下がみられた。

4. 臓器重量では400mg/kg群で腎臓、副腎および子宮重量が増加した。

5. 病理解剖では400mg/kg群で盲腸の膨満、胸腺ならびに脾臓の萎縮、肝臓の退色および腎髄質部の放射状白色線がみられた。

6. 病理組織学検査では200mg/kg群以上で腎尿細管拡張、200mg/kg群以上の雄および400mg/kgの雌で腎乳頭部集合管上皮細胞の変性あるいは再生性変化、100mg/kg群以上の雄で肝細胞の空胞形成、さらに死亡動物あるいは瀕死期殺動物で副腎髄質細胞の空胞形成ならびに好酸性硝子滴出現、胸腺ならびに脾臓のリンパ球の減少がみられた。

7. 回復期間終了時には被験物質投与に起因した変化は消失あるいは軽減した。

以上の結果から、今回の試験条件下でのTMFXの確実中毒量は体重、臨床検査および病理検査で変化のみられた200mg/kg、無影響量は100mg/kgと判断された。

Key words : temafloracin, TMFX, ラット, 26週間反復投与, 毒性試験

アボット社(米国)で新しく開発された塩酸テマフロキサシン(Temafloracin, 以下TMFXと略す)はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に広範な抗菌スペクトルを有するアリルフロロキノロン誘導体である。今回、TMFXの安全性試験の一環として、ラットを用いた経口投与法による26週間毒性試験(4週間の休薬による回復試験を含む)を実施したので、その概要を報告する。

I. 材料と方法

1. 被験物質

TMFXはキノロン環の1位に2,4-ジフロロフェニル基, 6位にフッ素原子, 7位に3-メチルピペラジニル

基を有する新規合成抗菌剤である。投与はアボット社より供給されたロット番号24-885-ALおよび28-929-ALを用いた。

2. 使用動物

4週齢のCrj:CD(SD)系ラット(日本チャールズ・リバー)を2週間の検疫馴化の後、雌雄各112匹を6週齢で試験に使用した。なお、動物は入荷時および入荷後1週間の体重をもとに、試験に必要な動物数を選出し、体重層別化の上、ランダムに群分けした。投与開始時の体重範囲は雄で201~268g、雌で154~210gであった。

3. 飼育条件

*〒532 大阪市淀川区加島3丁目16-89

動物は室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \sim 60\%$ 、換気オールフレッシュ12回以上/時間、12時間照明(6:30~18:30)の条件に設定されたバリアーシステム動物室内で、自動飼育機に装着した4連金網ケージ(W420×L460×H170mm)に収容し、個別飼育した。飼料は放射線滅菌飼料(CRF-1:1.5Mrad, オリエンタル酵母工業(株))を用い、飲料水には水道水を自動給水器で、いずれも自由に摂取させた。

4. 投与量, 投与方法および試験群

投与量の選択にあたっては、先にアボット社で実施されたラットを用いての経口投与毒性試験の結果を参考にした。すなわち、26週間毒性試験¹⁾での無影響量は最高投与量の100mg/kgとなり、明確な毒性徴候を捉えることができなかった。そこで、26週間毒性試験での確実中毒量および無影響量を明確にすることを目的として、30, 100および300mg/kgを設定し試験を開始した。しかし、結果の項で記載したように投与1カ月間の臨床経過をみると、300mg/kg群の雄で流涎、軽度の体重増加抑制および摂水量の増加がみられたに留まり、かつ100mg/kg以下の投与群では特記すべき毒性所見はみられなかった。このため、より明確に毒性徴候を捉えるために、投与35日(投与6週)から、30, 100および300mg/kgの投与量を、それぞれ100, 200および400mg/kgに変更した。なお、本報告書記載の投与量はすべてフリー体換算値で表示し、各投与群は変更後の投与量を用いて呼称する。

投与は1日1回一定時刻(9:00~11:00)に、連続26週間にわたって、金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与方法により行った。対照群の動物には媒体のみを投与し、各個体への投与液量は常に最新の体重値をもとに算出した。

試験群の構成をTable 1に示す。

5. 試験物質の調剤

調剤は毎週1回実施した。媒体は0.2%メチルセルロース400(片山化学工業(株))溶液とし、各濃度の懸濁

液を作製した。用いた被験物質の投与条件下における安定性および均一性は確認し、試験に用いた調剤品の含量は設定濃度の許容範囲内であったので、投与液として適したものと判断された。

6. 観察項目

下記の項目について観察あるいは測定した。なお、特記しない限り測定あるいは観察は全動物について実施した。

本報告書では投与開始日を0日として投与経日数を起算し、投与開始以前の日数は-(マイナス)で表わした。

1) 死亡推移

死亡動物の確認は、毎日行った。

2) 一般状態

投与期間中の一般状態は投与前と投与後約5時間に毎日観察し、さらに、投与開始日および毎週水曜日には投与後約1時間以内にも観察した。

回復期間中の一般状態は毎日観察した。

3) 体重推移

体重は投与3カ月までは毎週2回、その後は毎週1回の頻度で測定した。

4) 摂餌量

摂餌量は投与3カ月までは毎週2回、その後は毎週1回の頻度で測定した。

5) 摂水量

摂水量は投与開始前、投与1カ月、投与3カ月、投与期間終了前および回復期間終了前の各連続5日間に、回復試験用に割り当てた個体について測定した。

6) 眼科学検査

投与開始前、投与3カ月、投与期間終了前および回復期間終了前に、回復試験用に割り当てた個体の前眼部・中間透光体・眼底を検眼鏡および細隙灯顕微鏡で検査した。

7) 膈垢検査

膈垢は投与3カ月、投与期間終了前および回復期間

Table 1. Groups and numbers of rats in 26-week oral toxicity study with temafloxacin

Dose (mg/kg)	Concentration of temafloxacin	Volume (ml/kg)	Number/ group/sex	Animal numbers	
				male	female
0	0	10	28	001~020(021~028)	501~520(521~528)
30 → 100	0.33% → 1.09%	10	28	101~120(121~128)	601~620(621~628)
100 → 200	1.09% → 2.17%	10	28	201~220(221~228)	701~720(721~728)
300 → 400	3.26% → 4.35%	10	28	301~320(321~328)	801~820(821~828)

(): animal numbers of recovery study

終了前の各連続14日間、回復試験用に割り当てた雌個体から採取し、ギムザ染色を施して、鏡検した。

8) 尿検査

尿は投与開始前、投与1か月、投与3か月、投与期間終了時および回復期間終了時の計5回、回復試験用に割り当てた個体の1日尿をそれぞれ採尿ケージで個別に採取し、色調、pH、タンパク、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿量、比重、ナトリウム排泄量、カリウム排泄量、クロール排泄量について検査した。

9) 血液学検査

血液は投与期間終了時および回復期間終了時に、一昼夜の絶食を行った全計画殺動物をエーテル麻酔し、腹大動脈から採取した。血液学検査にはエチレンジアミン四酢酸二カリウム添加血液を、凝固検査には3.8%クエン酸ナトリウム液1/10量添加血液から分離した血漿を使用した。検査は、赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間について行い、白血球は好塩基球、好酸球、好中球、リンパ球、単球およびその他に分類し百分率を求めた。

なお、瀕死期殺動物についても血液学検査を行ったが絶食はしなかった。

10) 血液生化学検査

血液学検査に用いた血液と同時に採取した血液から分離した血清を使用した。ナトリウム、カリウムおよびクロールの測定にはヘパリンリチウム添加血液から分離した血漿を使用した。検査は、GOT、GPT、LDH、アルカリホスファターゼ、クレアチンホスホキナーゼ、総タンパク、アルブミン、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、リン脂質、トリグリセリド、遊離脂肪酸、HDL-コレステロール、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール、GOT/GPT比、Na/K比、Na/Cl比、Ca/iP比、アルブミン/グロブリン比について行った。

11) 肝薬物代謝酵素活性測定

投与期間終了時および回復期間終了時の計画殺動物のうち各群雌雄各6例(400mg/kg群の雌回復群は5例)の肝臓の一部を採取し、得られたミクロゾーム分画を含む上清を用いてアニリン水酸化活性、アミノピリン脱メチル化活性について測定した。

12) 臓器重量測定

投与期間終了時および回復期間終了時に、すべての計画殺動物の体重(剖検時体重)を測定してエーテル麻

酔下で放血致死させた後、心臓、肺、肝臓、唾液腺(顎下腺、舌下腺)、副腎、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、脾臓、胸腺、脳(大脳、小脳、延髄を含む)、腎臓、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮ならびに死体より胸腔、腹腔および骨盤腔内の臓器を取り除いたカルカス重量を測定した。秤量臓器の実測値(絶対重量)を、剖検時体重100g当りの重量に換算し、相対重量とした。

13) 病理解剖

投与期間中の途中死亡動物および瀕死期殺動物ならびに投与期間終了時および回復期間終了時の計画殺動物の全例について解剖を行い、全身諸臓器を肉眼的に観察した。なお、肩関節部、肘関節部、大腿骨近位端および膝関節部の観察はホルマリン固定後に行った。

14) 病理組織学検査

試験期間中の瀕死期殺動物および途中死亡動物ならびに投与期間終了時および回復期間終了時の計画殺動物の全例について、心臓、大動脈、気管、肺、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、肝臓、脾臓、顎下腺、舌下腺、耳下腺、副腎、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸骨骨髓、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、脳(大脳、小脳、延髄を含む)、脊髄、坐骨神経、眼球(ハーダー腺を含む)、腎臓、膀胱、生殖器系(雄:精巣、精巣上体、精嚢および前立腺、雌:卵巣、子宮および陰)、乳腺、皮膚(乳頭を含む)、胸骨、大腿骨(近位端および遠位端)、上腕骨(近位端および遠位端)、骨格筋および肉眼病変部の病理組織学検査を行った。採取した臓器・組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン(HE)染色を施した。

鏡検に際しては、最高投与量群と対照群との間に差がないと判断された場合、より低い投与量群の観察を省略した。同様に、投与期間終了時計画殺動物の病理組織学検査において異常が認められない臓器についても、一部回復試験群の観察を省略した。

骨髄塗抹標本は、ライト染色液およびギムザ染色液で固定・染色し、保存した。

7. 統計処理

体重、摂餌量および摂水量の検定は最初にBartlettの分散検定を行い、分散に一様性があれば一元配置分散分析、Schefféの多重比較の順で、また、分散に一様性がなければKruskal-Wallisの検定、Scheffé型の検定の順で、対照群と各投薬群との差を検定した。その他の数値データの検定は一元配置分散分析、Schefféの多重比較の順で対照群と各投薬群との差を検定し

た。有意水準(P)は5%および1%とし、それぞれ*および**で表示した。

II. 結 果

1. 死亡推移

投与期間中に対照群の雄1例、100mg/kg群の雌雄各1例および400mg/kg群の雄5例が死亡し、また、400mg/kg群の雄2例および雌1例を瀕死期殺処分とした。400mg/kg群の死亡あるいは瀕死状態は、投与11週から16週の投与期間中期に集中していた。

2. 一般状態

投与期間を通して流涎が投与直後から投与後1時間までに観察され、その発現例数は400mg/kg群ではほぼ全例、200mg/kg群で約半数例、100mg/kg群で少数例であった。流涎を除く一般状態の変化では脱毛や鼻部の被毛汚染等が各用量で散見された程度であった。

400mg/kg群で死亡ないし瀕死期殺処分された動物では、死亡する約1週間前から摂餌が急激に減少し、体重の著しい低下、被毛汚染、眼脂、沈静、低体温等の一般状態の悪化を示すものがみられた。

3. 体重推移(Fig. 1 and 2)

投与量の変更を行った投与6週までに、400mg/kg群の雄で軽度な体重増加抑制がみられたにすぎず、その他の被験物質投与群に異常はなかった。投与量の変更を行った投与6週以降には、200mg/kg群以上の雄

および400mg/kg群の雌で体重増加抑制がより明らかとなった。回復期間中は400mg/kg群で対照群をやや上回る体重増加がみられ、回復の傾向がうかがわれた。その他の被験物質投与群では投与期間中および回復期間中を通じて対照群と同等の体重推移を示した。

4. 摂餌量

投与開始直後の200mg/kg以上の群あるいは投与量変更直後の100mg/kg群で摂餌量が減少したが、その後は投与期間中および回復期間中を通じて各被験物質投与群とも対照群と差のない摂餌量を示した。

5. 摂水量

投与期間中、400mg/kg群で摂水量が顕著に増加し、特に投与期間終了時には対照群の2倍以上を摂取した。その他の被験物質投与群においても増加傾向を示した。回復期間終了時には投与期間中にみられた摂水量の変化は回復傾向にあったが、被験物質投与群で用量依存的に増加傾向が残存していた。

6. 眼科学検査

すべての観察時期において、対照群を含む各投与群で前眼部、中間透光体および眼底に異常はみられなかった。

7. 臍垢検査

すべての観察時期において、対照群を含む各投与群で被験物質投与と関連した変化はみられなかった。

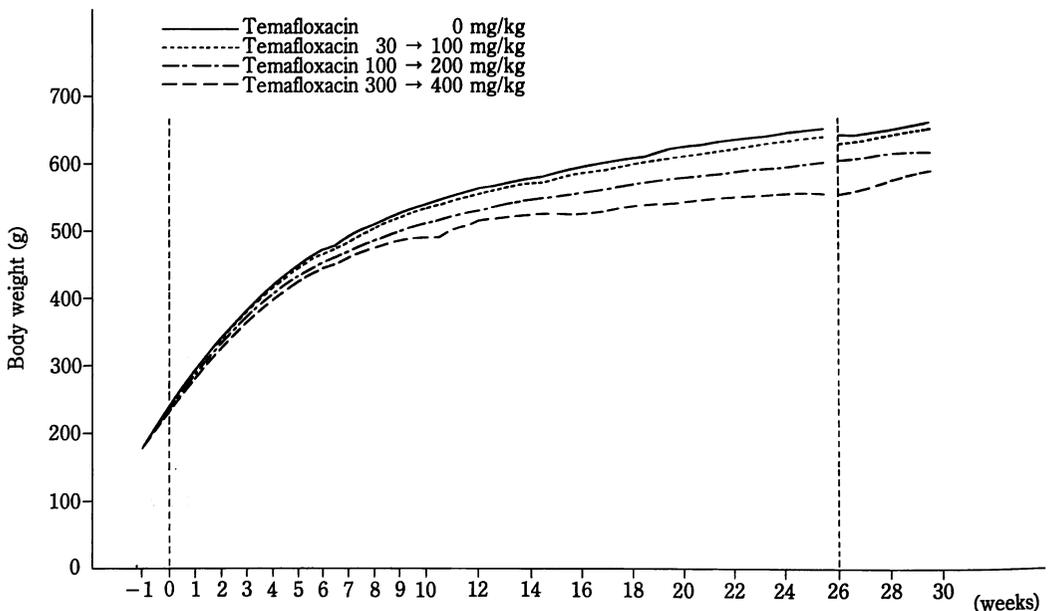


Fig. 1. Body weight change in male rats treated orally with temafloxacin for 26 weeks.

8. 尿検査(Table 2-1~2-4)

投与期間中のすべての検査時期において、200mg/kg群以上の雄および400mg/kg群の雌でナトリウム排泄量が減少したが、回復期間終了時には変動はみられなかった。その他の検査項目にはいずれの検査時期においても変化はなかった。

9. 血液学検査(Table 3-1~3-3)

計画殺動物では投与期間終了時に200mg/kg群の雄でヘモグロビン量およびヘマトクリット値ならびに400mg/kg群の雄で平均赤血球容積が低下し、回復期

間終了時には100mg/kg群の雄で平均赤血球ヘモグロビン濃度が低下していた。

瀕死期殺動物では雄においてのみ白血球百分率における好中球数の相対的な増加が2例(#318, #325)で見られ、そのうち1例(#318)では凝固時間(プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間)が延長していた。

10. 血液生化学検査(Table 4-1~4-3)

計画殺動物では投与期間終了時に400mg/kg群の雄でカリウム、クロール、HDL-コレステロールおよび

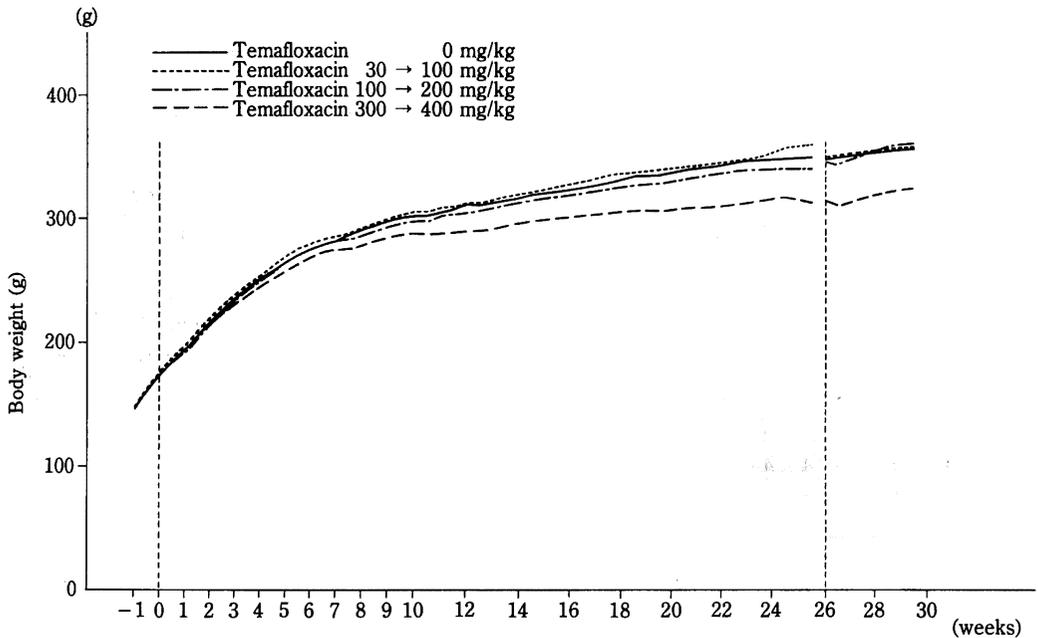


Fig. 2. Body weight change in female rats treated orally with temafloxacin for 26 weeks.

Table 2-1. Urinalysis in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (after one month)

Sex	Dose (mg/kg)	N	Color			pH				Volume (ml/day)	SP. Gravity	Na (mEq/day)	K (mEq/day)	Cl (mEq/day)
			Y	BY	YB	5	6	7	8					
M	0	8	7		1	1	1	6	13.5±3.2	1.049±0.009	1.48±0.17	3.16±0.31	2.04±0.18	
	100	8	3	3	2			8	14.3±4.8	1.051±0.010	1.44±0.19	3.47±0.54	2.14±0.23	
	200	8	3	4	1	1	3	4	9.2±2.0	1.060±0.011	0.74±0.23**	2.76±0.34	1.64±0.21	
	400	8	7		1	2	5	1	12.3±7.4	1.057±0.016	0.79±0.25**	3.13±0.78	2.09±0.59	
F	0	8	7	1		2	3	3	7.8±2.0	1.057±0.009	1.03±0.31	2.09±0.52	1.44±0.44	
	100	8	1	6	1	1	2	5	12.5±5.3	1.048±0.009	1.27±0.35	2.71±0.82	1.76±0.47	
	200	8	6	2			3	5	11.4±5.5	1.049±0.016	1.05±0.32	2.43±0.49	1.65±0.36	
	400	8	3	4	1	3	4	1	7.1±3.5	1.062±0.019	0.71±0.28	1.94±0.47	1.35±0.35	

Color LY: light yellow Y: yellow BY: brownish yellow YB: yellowish brown

Mean±SD ** Significantly different from control by Scheffe's multiple comparison ($P \leq 0.01$).

総タンパクの低下ならびに無機リンの上昇が、同群の雌でクロールの低下ならびにアルカリホスファターゼ活性の上昇がみられた。また、200mg/kg群の雄では総タンパクが、同群の雌ではクロールが低下していた。回復期間終了時には400mg/kg群の雌でカルシウム、200mg/kg群の雌でトリグリセリドならびに100mg/kg

群の雄でクレアチニンおよび尿酸の上昇がみられた。瀕死期殺動物では、全例で無機リン、尿素窒素、クレアチニン、グルコースおよび遊離脂肪酸が上昇し、雄の2例(#318, #325)ではアルカリホスファターゼ活性およびクレアチニンホスホキナーゼ活性が上昇し、雄1例(#325)ではLDH活性およびGOT活性が上昇

Table 2-2. Urinalysis in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (after three month)

Sex	Dose (mg/kg)	N	Color			pH				Volume (ml/day)	SP. Gravity	Na (mEq/day)	K (mEq/day)	Cl (mEq/day)
			Y	BY	YB	5	6	7	8					
M	0	8	7	1		3	4	1		14.3±4.8	1.053±0.010	1.81±0.30	3.61±0.42	2.50±0.34
	100	8	5	1	2		7	1		13.9±4.4	1.055±0.012	1.66±0.35	3.76±0.66	2.65±0.50
	200	8	4	4			5	3		12.0±4.7	1.060±0.012	0.95±0.30**	3.52±0.51	2.47±0.42
	400	6	5	1		2	3	1		16.6±5.7	1.044±0.013	0.83±0.39**	3.44±0.47	2.63±0.42
F	0	8	6	2		1	4	1	2	8.7±3.6	1.057±0.012	1.18±0.35	2.43±0.67	1.68±0.49
	100	8	5	3			4	4		9.4±3.9	1.054±0.014	1.15±0.23	2.30±0.49	1.66±0.36
	200	8	6	2			7	1		12.3±3.6	1.042±0.009	0.99±0.36	2.59±0.89	1.92±0.55
	400	8	1	5	2		3	5		12.2±5.7	1.042±0.022	0.70±0.22*	1.96±0.68	1.53±0.58

Mean ± SD * Significantly different from control by Scheff's multiple comparison (0.01 < P ≤ 0.05).

** Significantly different from control by Scheffe's multiple comparison (P ≤ 0.01).

Table 2-3. Urinalysis in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (after six months)

Sex	Dose (mg/kg)	N	Color			pH				Volume (ml/day)	SP. Gravity	Na (mEq/day)	K (mEq/day)	Cl (mEq/day)	
			LY	Y	BY	YB	6	7	8						9
M	0	8		5	3		1	7		15.1± 5.9	1.052±0.012	2.03±0.38	3.70±0.75	2.59±0.48	
	100	8		4	4		4	4		16.6± 5.5	1.049±0.012	2.01±0.39	3.78±0.47	2.83±0.48	
	200	8		4	3	1	1	4	2	1	13.2± 5.4	1.051±0.015	1.13±0.36**	3.11±0.55	2.13±0.63
	400	5	1	4	4		4	1			23.2±10.8	1.037±0.013	1.13±0.20**	3.87±0.96	3.00±0.82
F	0	8		7	1		3	5		10.1± 4.4	1.047±0.015	1.22±0.35	2.15±0.54	1.57±0.42	
	100	8		7	1		1	5	2	13.3± 6.9	1.045±0.015	1.27±0.33	2.56±0.65	1.86±0.46	
	200	8		5	3		6	2		12.5± 5.9	1.045±0.012	1.21±0.20	2.46±0.51	1.87±0.26	
	400	7	1	6			5	2		17.2± 5.9	1.030±0.016	0.85±0.21	2.21±0.53	1.69±0.31	

Mean ± SD ** Significantly different from control by Scheffe's multiple comparison (P ≤ 0.01).

Table 2-4. Urinalysis in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (recovery period)

Sex	Dose (mg/kg)	N	Color			pH				Volume (ml/day)	SP. Gravity	Na (mEq/day)	K (mEq/day)	Cl (mEq/day)
			LY	Y	BY	YB	5	6	7					
M	0	8		8			3	4	1	13.1± 5.8	1.059±0.014	2.03±0.35	3.61±0.41	2.69±0.40
	100	8		7	1		2	5	1	16.1± 4.4	1.050±0.011	1.97±0.20	3.73±0.47	2.71±0.31
	200	8	1	4	3		2	4	2	21.2±16.5	1.047±0.016	2.17±0.50	3.67±0.20	2.76±0.30
	400	5		3	2			5		18.4± 8.6	1.047±0.011	2.23±0.51	3.87±0.93	2.94±0.64
F	0	8		8			5	2	1	13.8± 5.7	1.044±0.014	1.50±0.38	2.68±0.53	1.98±0.42
	100	8		7	1		5	3		15.9± 8.0	1.040±0.012	1.57±0.30	2.77±0.59	2.04±0.40
	200	8		7		1	4	4		18.6± 6.7	1.035±0.008	1.67±0.40	3.05±0.63	2.24±0.43
	400	8		7		1	4	4		18.4± 7.5	1.038±0.010	1.73±0.34	3.14±0.61	2.50±0.54

Mean ± SD

し、雌1例(#804)ではHDL-コレステロールが高かった。

11. 肝薬物代謝酵素活性測定

投与期間終了時および回復期間終了時の検査とも被験物質投与に起因した変動はなかった。

12. 臓器重量(Table 5-1~5-4)

投与期間終了時では400mg/kg群で腎臓、副腎および子宮重量の増加が記録された。これら臓器重量の変化に加え、雌雄の被験物質投与群で低体重によると考えられる臓器重量の変動がカルカス、肝臓、脾臓、心臓、肺、脳、甲状腺、唾液腺、精巢、精巢上体および前立腺に認められた。

回復期間終了時には雌で肝臓および子宮の相対重量

が高かったが、低体重による影響と考えられた。

13. 病理解剖(Table 6)

途中死亡動物のうち対照群の雄1例(#001)、100mg/kg群の雌雄各1例(#113, #614)および400mg/kg群の雄1例(#324)で食道・気管周囲の膿瘍形成、胸腔内臓器の白色ゼリー状物付着、胃内の凝血塊あるいは肺のうっ血および気管内の泡沫など誤投与を示唆する変化がみられた。さらに、400mg/kg群では盲腸の膨満、胸腺ならびに脾臓の萎縮、肝臓の退色および腎髄質部の放射状白色線がみられた。

瀕死期殺処分した400mg/kg群の全例では、盲腸の膨満、胸腺ならびに脾臓の萎縮、肝臓の退色および腎髄質部の放射状白色線がみられた。

Table 3-1. Hematological examinations in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (after six months)

Sex	Dose (mg/kg)	N	RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Ret (%)	WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	PLT ($10^4/\mu\text{l}$)	PT (sec)	APTT (sec)
M	0	19	900 ± 41	15.0 ± 0.6	49.0 ± 2.7	10 ± 4	54 ± 12	103.7 ± 12.0	16.3 ± 1.2	21.6 ± 1.9
	100	19	896 ± 28	14.6 ± 0.5	47.9 ± 1.3	10 ± 4	54 ± 11	111.3 ± 10.1	16.6 ± 1.9	23.2 ± 3.8
	200	20	854 ± 95	14.1 ± 1.6*	46.0 ± 5.1*	11 ± 4	53 ± 13	103.5 ± 13.8	15.7 ± 1.6	21.4 ± 1.9
	400	16	889 ± 44	14.6 ± 0.7	46.9 ± 2.6	9 ± 4	58 ± 14	106.8 ± 10.2	15.6 ± 1.5	21.9 ± 3.4
F	0	20	780 ± 32	13.8 ± 0.4	44.5 ± 1.6	10 ± 4	26 ± 15	97.5 ± 9.9	13.2 ± 0.4	19.2 ± 1.7
	100	19	729 ± 110	13.2 ± 1.6	42.5 ± 5.4	14 ± 13	28 ± 10	91.8 ± 24.1	13.2 ± 0.6	19.0 ± 2.0
	200	20	757 ± 31	13.4 ± 0.4	43.7 ± 1.5	10 ± 4	27 ± 8	96.1 ± 9.6	13.2 ± 0.6	18.9 ± 1.6
	400	19	760 ± 42	13.4 ± 0.4	43.0 ± 1.8	9 ± 4	34 ± 12	98.3 ± 10.1	13.6 ± 0.6	18.4 ± 1.2

Mean ± SD * Significantly different from control by Scheffe's multiple comparison ($P \leq 0.05$).

Table 3-2. Hematological examinations in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (recovery period)

Sex	Dose (mg/kg)	N	RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Ret (%)	WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	PLT ($10^4/\mu\text{l}$)	PT (sec)	APTT (sec)
M	0	8	901 ± 28	14.8 ± 0.5	48.2 ± 1.9	10.4 ± 1.6	54 ± 16	102.5 ± 10.3	16.0 ± 0.9	22.7 ± 1.9
	100	8	919 ± 46	14.9 ± 0.6	50.5 ± 2.4	11.8 ± 3.0	50 ± 9	110.2 ± 9.8	15.6 ± 1.7	23.2 ± 2.2
	200	8	840 ± 159	13.9 ± 1.7	46.0 ± 4.8	16.4 ± 19.0	56 ± 15	108.5 ± 24.1	15.7 ± 2.3	22.6 ± 1.8
	400	5	924 ± 59	15.1 ± 0.9	49.4 ± 2.6	8.4 ± 4.3	58 ± 17	110.5 ± 19.8	16.2 ± 1.7	22.5 ± 2.2
F	0	8	774 ± 55	13.8 ± 0.6	44.6 ± 1.9	5.6 ± 3.6	29 ± 12	93.8 ± 11.3	13.4 ± 0.5	20.2 ± 2.0
	100	7	769 ± 27	13.9 ± 0.5	44.7 ± 1.6	9.0 ± 4.0	26 ± 11	96.8 ± 8.1	13.5 ± 0.3	19.2 ± 1.7
	200	8	777 ± 47	13.7 ± 0.8	44.8 ± 2.5	10.5 ± 7.0	36 ± 34	98.3 ± 21.9	13.1 ± 0.3	19.4 ± 1.7
	400	8	797 ± 36	14.2 ± 0.8	45.8 ± 2.4	8.3 ± 2.8	41 ± 24	106.7 ± 16.9	13.0 ± 0.2	17.9 ± 1.2

Mean ± SD

Table 3-3. Hematological examinations in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (moribund animals)

Animal no.	Sex	mg/kg	RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Ret (%)	WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	Neutro (%)	Lympho (%)	PLT ($10^4/\mu\text{l}$)	PT (sec)	APTT (sec)
318	M	400	1004	16.8	60.1	3	59	49	49	87.9	158.5	134.5
325	M	400	906	15.3	53.9	2	85	63	36	106.6	—	—
804	F	400	975	17.5	55.2	1	33	25	75	94.5	14.1	18.9

投与期間終了時の計画殺動物では、盲腸膨満が400mg/kg群の雄12例および雌13例、200mg/kg群の雄4例および雌2例ならびに100mg/kg群の雄1例でみられた。肝臓の退色ないしは白色化が400mg/kgの雄1例、200mg/kg群の雄2例ならびに100mg/kg群の雄4例および雌1例でみられた。また、400mg/kg群の雄1例で腎臓の腫大退色および副腎の腫大がみられた。その他、皮下腫瘍形成、舌根部の潰瘍、唾液腺周囲脂肪

織の膿瘍、腹膜の血腫、肝小葉像の明瞭化および下垂体の腫大あるいは結節がみられたが、その頻度は投与量と相関しなかった。

回復期間終了時の計画殺動物では盲腸膨満が200mg/kg群の雄1例にみられた。さらに、偶発性的変化として腫瘍形成、副脾形成、唾液腺周囲脂肪織の膿瘍、腎臓の嚢胞形成、精巣萎縮、副腎腫大あるいは暗赤色斑、下垂体の腫大および子宮の拡張がみられた。

Table 4-1. Biochemical examinations in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (after six months)

Sex	Dose (mg/kg)	N	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	Ca (mEq/l)	iP (mg/dl)
M	0	18	81.4	44.1	122	123	54.3	145.9	3.84	106.6	4.79	4.94
			± 27.4	± 18.0	± 42	± 15	± 9.3	± 1.4	± 0.29	± 1.7	± 0.14	± 0.63
	100	19	73.9	38.5	113	145	56.2	146.1	3.69	106.8	4.81	5.46
			± 27.5	± 13.7	± 53	± 22	± 18.2	± 2.0	± 0.36	± 1.2	± 0.15	± 0.95
	200	20	104.7	35.9	114	142	58.4	145.3	3.65	107.4	4.78	4.89
± 165.9			± 12.4	± 55	± 31	± 11.6	± 1.2	± 0.25	± 1.3	± 0.11	± 0.72	
400	16	68.1	37.7	94	143	63.5	145.1	3.38**	104.4*	4.75	6.08**	
		± 16.5	± 7.2	± 31	± 26	± 39.9	± 3.0	± 0.24	± 3.2	± 0.11	± 0.88	
F	0	20	103.4	56.5	99	39	34.2	143.7	3.38	109.1	4.85	3.84
			± 70.4	± 40.5	± 63	± 13	± 6.1	± 1.4	± 0.26	± 1.4	± 0.12	± 0.83
	100	19	152.4	76.7	176	41	40.3	143.4	3.44	108.0	4.93	3.89
			± 87.4	± 46.6	± 158	± 12	± 8.2	± 1.3	± 0.34	± 2.0	± 0.15	± 0.73
	200	20	128.8	54.4	168	42	43.5	143.3	3.32	107.3*	4.96	3.60
± 99.5			± 45.5	± 137	± 10	± 18.0	± 0.9	± 0.26	± 1.4	± 0.17	± 0.85	
400	19	112.1	52.7	74	55**	40.7	142.9	3.21	106.2**	4.98	4.33	
		± 84.6	± 35.7	± 59	± 19	± 6.5	± 1.2	± 0.23	± 1.8	± 0.17	± 0.62	

Sex	Dose (mg/kg)	N	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	UA (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	PL (mg/dl)	FFA (mEq/l)	HDLc (mg/dl)
M	0	18	6.25	2.82	13.4	0.41	0.96	159	59.7	70.4	111	0.53	40.4
			± 0.30	± 0.12	± 1.2	± 0.08	± 0.63	± 18	± 8.5	± 20.2	± 14	± 0.07	± 6.2
	100	19	6.02	2.84	12.6	0.37	0.86	161	56.5	76.7	109	0.55	36.7
			± 0.20	± 0.15	± 2.1	± 0.09	± 0.56	± 22	± 7.6	± 15.5	± 11	± 0.11	± 6.9
	200	20	5.88**	2.85	12.6	0.37	0.87	165	56.4	68.4	109	0.55	36.9
± 0.30			± 0.17	± 1.3	± 0.06	± 0.47	± 20	± 9.5	± 18.7	± 14	± 0.10	± 6.5	
400	16	5.95*	2.95	22.7	0.60	0.58	168	53.9	74.2	103	0.65	33.5*	
		± 0.32	± 0.19	± 24.5	± 0.52	± 0.39	± 60	± 12.4	± 24.6	± 20	± 0.20	± 7.1	
F	0	20	6.91	3.71	13.9	0.41	0.45	141	65.7	63.8	164	0.95	49.9
			± 0.52	± 0.45	± 1.6	± 0.04	± 0.22	± 10	± 14.5	± 17.1	± 29	± 0.25	± 12.5
	100	19	6.90	3.85	14.6	0.39	0.54	150	69.4	73.3	173	0.88	51.9
			± 0.53	± 0.37	± 2.0	± 0.04	± 0.25	± 12	± 12.4	± 26.9	± 29	± 0.16	± 8.9
	200	20	6.77	3.89	13.3	0.39	0.45	145	71.2	61.7	173	0.97	55.7
± 0.44			± 0.34	± 1.3	± 0.06	± 0.23	± 17	± 11.6	± 15.9	± 24	± 0.20	± 11.0	
400	19	6.62	3.68	14.5	0.43	0.32	138	67.6	54.4	156	1.01	53.2	
		± 0.34	± 0.23	± 2.5	± 0.06	± 0.13	± 9	± 13.0	± 17.8	± 21	± 0.17	± 10.6	

Mean ± SD

* Significantly different from control by Scheffe's multiple comparison (0.01 < P ≤ 0.05).

** Significantly different from control by Scheffe's multiple comparison (P ≤ 0.01).

以上の病理肉眼所見のほかに関節軟骨における白色巢の形成がすべての投与群でみられた。この白色巢の多くは表面滑沢であったが、一部の個体では表面が陥凹したものや粗造あるいは潰瘍を形成したものもみられた。また、その好発部位は大腿骨遠位端であった。

14. 病理組織学検査(Table 7)

途中死亡動物では、対照群(#001), 100mg/kg群

(#113, #614)および400mg/kg群(#324)で線維素性食道・気管周囲炎および線維素性胸膜炎など誤投与を示唆する変化が観察された。400mg/kg群の死亡および瀕死期殺動物では胸腺ならびに脾臓でリンパ球の減少、肝臓でうっ血、小葉中心性肝細胞の空胞形成、小葉中心部から中間部の肝細胞腫大および淡明化、小葉中間部から周辺部肝細胞の微細空胞消失あるいは空胞

Table 4-2. Biochemical examinations in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (recovery period)

Sex	Dose (mg/kg)	N	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	Ca (mEq/l)	iP (mg/dl)	
M	0	8	86.0	47.7	166	131	57.2	148.4	3.78	109.9	4.77	5.66	
			± 31.7	± 23.0	± 79	± 21	± 17.3	± 1.8	± 0.25	± 1.7	± 0.11	± 0.64	
	100	8	93.8	45.5	216	121	64.0	149.3	3.75	110.5	4.79	5.30	
			± 77.4	± 38.5	± 178	± 12	± 20.8	± 2.6	± 0.31	± 2.8	± 0.11	± 0.50	
	200	8	83.0	35.0	205	158	69.8	148.3	3.92	109.7	4.73	5.29	
			± 43.5	± 9.7	± 131	± 45	± 17.1	± 2.9	± 0.57	± 3.2	± 0.09	± 0.57	
	400	8	88.6	49.7	100	150	54.6	147.6	3.59	109.2	4.78	5.93	
			± 40.2	± 32.6	± 49	± 25	± 7.7	± 1.7	± 0.08	± 2.0	± 0.07	± 0.50	
F	0	8	120.8	71.0	89	44	37.1	141.8	3.56	107.2	4.59	3.46	
			± 104.1	± 67.1	± 95	± 7	± 5.2	± 0.7	± 0.39	± 1.8	± 0.16	± 0.59	
	100	8	103.3	45.7	114	37	37.0	142.1	3.60	107.4	4.64	3.94	
			± 56.4	± 19.8	± 58	± 10	± 7.4	± 0.4	± 0.28	± 1.9	± 0.14	± 0.55	
	200	8	146.1	58.7	160	47	36.3	142.0	3.53	106.3	4.83	3.48	
			± 94.7	± 36.3	± 119	± 28	± 6.9	± 1.3	± 0.37	± 0.8	± 0.15	± 0.64	
	400	8	148.1	61.3	95	51	36.1	142.6	3.46	106.8	4.84*	4.32	
			± 203.8	± 82.7	± 85	± 18	± 8.8	± 0.7	± 0.26	± 1.7	± 0.21	± 0.56	
Sex	Dose (mg/kg)	N	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	UA (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	PL (mg/dl)	FFA (mEq/l)	HDLC (mg/dl)
M	0	8	6.18	2.68	14.0	0.33	0.84	153	60.3	92.6	107	0.58	38.5
			± 0.27	± 0.19	± 1.8	± 0.06	± 0.43	± 18	± 10.6	± 33.1	± 14	± 0.07	± 8.0
	100	8	5.97	2.88	14.4	0.45*	1.53*	158	60.6	76.8	112	0.59	41.9
			± 0.20	± 0.16	± 1.5	± 0.05	± 0.49	± 8	± 17.8	± 19.4	± 27	± 0.08	± 9.2
	200	8	5.98	2.76	14.6	0.38	1.11	170	60.2	89.6	108	0.61	39.4
			± 0.25	± 0.29	± 2.7	± 0.09	± 0.56	± 32	± 8.4	± 28.9	± 7	± 0.11	± 4.0
	400	8	5.95	2.73	13.0	0.30	0.42	144	50.4	85.8	97	0.70	34.8
			± 0.15	± 0.14	± 1.3	± 0.02	± 0.05	± 3	± 9.0	± 21.5	± 14	± 0.11	± 6.9
F	0	8	6.76	3.66	15.7	0.43	0.36	141	56.7	49.3	151	0.94	42.9
			± 0.41	± 0.33	± 2.1	± 0.03	± 0.07	± 12	± 12.8	± 11.6	± 28	± 0.10	± 8.8
	100	8	6.66	3.75	15.5	0.39	0.43	138	69.8	80.2	176	0.93	50.7
			± 0.34	± 0.31	± 2.0	± 0.04	± 0.28	± 17	± 11.2	± 27.9	± 31	± 0.16	± 7.2
	200	8	6.88	3.89	17.3	0.40	0.60	145	69.0	84.3*	185	1.09	50.8
			± 0.69	± 0.70	± 1.2	± 0.12	± 0.26	± 12	± 19.5	± 30.9	± 45	± 0.24	± 13.9
	400	8	6.71	3.71	15.8	0.39	0.31	136	73.1	57.6	183	1.16	54.3
			± 0.47	± 0.37	± 2.4	± 0.04	± 0.11	± 14	± 14.5	± 16.1	± 31	± 0.10	± 10.2

Mean ± SD

* Significantly different from control by Scheffe's multiple comparison (0.01 < P ≤ 0.05).

形成、肺でうっ血性肺水腫、腎で尿管の拡張、尿管の石灰沈着、変性尿管、乳頭部集合管上皮細胞の脱落と再生および乳頭部集合管上皮の細胞分裂、副腎髓質細胞の空胞形成ならびに好酸性硝子滴出現がみられた。

投与期間終了時の計画殺動物のうち400mg/kg群では、瀕死期殺動物と同様の変化がみられ、さらに200mg/kg群では肝臓で小葉中心性肝細胞の空胞形成、腎で尿管の拡張および乳頭部集合管上皮細胞内に硝子滴状物がみられた。

回復期間終了時の計画殺動物では腎臓に変性尿管が残存していたが、投与期間終了時の計画殺動物で観察された諸変化はみられなかった。その他、脾臓での髄外造血、肝臓での巣状好塩基性肝細胞、硝子様円柱、腎盂部移行上皮の過形成あるいは剝離、腎盂炎、腎嚢胞形成、生殖器の萎縮、副腎皮質網状帯の空胞形成がみられたが、病変の出現頻度は投与量と相関せず偶発性的な変化とみなされた。

以上の変化の他に、関節では骨端軟骨の不整がほとんどすべての個体にみられ、さらに関節軟骨の骨化不

Table 4-3. Biochemical examinations in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (moribund animals)

Animal no.	Sex	Dose (mg/kg)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	Ca (mEq/l)	iP (mg/dl)	TP (g/dl)
318	M	400	83.8	76.8	228	307	294.0	142.0	4.94	105.0	4.90	12.51	6.74
325	M	400	193.9	78.7	601	299	3446.0	144.0	5.12	99.0	4.97	17.44	6.33
804	F	400	39.5	17.3	113	82	118.8	151.9	3.13	116.4	5.54	12.47	7.45

Animal no.	Sex	Dose (mg/kg)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	UA (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	PL (mg/dl)	FFA (mEq/l)	HDLC (mg/dl)
318	M	400	3.43	141.6	4.00	0.60	1245	64.6	199.6	147	1.67	40.3
325	M	400	3.48	149.8	5.68	1.50	842	57.9	254.4	135	1.89	37.3
804	F	400	4.51	129.9	2.98	0.42	350	104.8	56.8	188	1.13	80.6

Table 5-1. Absolute organ weights in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (after six months)

Sex	Dose (mg/kg)	N	BW (g)	Carcass (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney (L)g (R)g	Heart (g)	Lung (g)	Brain (g)	Hypophysis (mg)	Adrenal (L)mg (R)mg	Thyroid (mg)	Thymus (g)
M	0	19	635	483	14.20	0.89	1.74 1.74	1.93	1.79	2.19	12.8	28.1 27.9	26.8	0.33
			± 44	± 32	±1.48 ±0.15	±0.12 ±0.15	±0.21	±0.12	±0.09	± 2.1	± 3.9 ± 3.5	± 6.6	±0.12	
	100	19	619	466	14.86	0.90	1.74 1.71	1.79	1.74	2.17	13.0	30.4 28.7	29.3	0.30
			± 75	± 52	±2.25 ±0.14	±0.23 ±0.23	±0.20	±0.13	±0.10	± 2.1	± 4.1 ± 4.5	± 5.6	±0.08	
200	20	572*	422*	13.43	0.79	1.68 1.67	1.63**	1.63*	2.16	12.7	27.9	27.4	30.2	0.25
			± 53	± 39	±2.05 ±0.08	±0.15 ±0.17	±0.13	±0.13	±0.07	± 1.7	± 3.3 ± 2.7	± 7.5	±0.04	
400	16	526**	381**	12.73	0.72**	1.73 1.71	1.49**	1.67	2.11	12.1	29.2	29.4	25.8	0.23**
			± 65	± 49	±2.10 ±0.15	±0.36 ±0.39	±0.15	±0.21	±0.08	± 1.8	± 5.9 ± 6.9	± 6.3	±0.07	
F	0	20	335	246	7.54	0.50	0.94 0.95	1.14	1.24	2.00	21.4	31.3 30.2	24.7	0.22
			± 33	± 26	±0.82 ±0.10	±0.09 ±0.10	±0.11	±0.08	±0.09	± 4.5	± 3.4 ± 4.1	± 4.9	±0.04	
	100	19	344	251	7.92	0.58	1.00 1.01	1.17	1.28	1.99	21.1	34.1 32.9	29.4	0.22
			± 38	± 27	±0.96 ±0.12	±0.13 ±0.10	±0.12	±0.10	±0.06	± 6.2	± 4.4 ± 4.5	± 7.2	±0.04	
200	20	320	229	7.55	0.54	0.98 0.99	1.07	1.25	1.99	21.0	34.5 32.9	24.1	0.21	
			± 36	± 27	±1.27 ±0.08	±0.12 ±0.12	±0.11	±0.10	±0.07	± 4.8	± 4.5 ± 5.0	± 3.9	±0.06	
400	19	297**	203**	7.19	0.53	0.97 0.98	1.00**	1.25	1.98	20.1	34.9 33.2	23.8	0.18	
			± 26	± 19	±0.88 ±0.08	±0.12 ±0.13	±0.12	±0.08	±0.11	± 3.4	± 5.4 ± 5.8	± 5.7	±0.04	

Values are mean absolute organ weights ± SD.

* Significantly different from control by Scheffe's Multiple Comparison (0.01 < P ≤ 0.05).

** Significantly different from control by Scheffe's Multiple Comparison (p ≤ 0.01).

全、関節軟骨中間層の空隙形成、石灰化軟骨層における軟骨塊形成がすべての投与群でみられた。

Ⅲ. 考 察

TMFXの安全性試験の一環として、ラットを用いて26週間の連続経口投与による毒性試験(4週間の回復試験を含む)を実施した。投与量は0, 30, 100および

300mg/kgとして投与を開始したが、投与1カ月間の臨床観察で明確な毒性徴候がみられなかった。そこで、投与6週からは投与量をそれぞれ100, 200および400mg/kgに変更して試験を継続した。

投与期間中に対照群の雄1例、100mg/kg群の雌雄各1例および400mg/kg群の雄5例が死亡したが、この

Table 5-2. Absolute organ weights in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (recovery period)

Sex	Dose (mg/kg)	N	BW (g)	Carcass (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney (L)g (R)g	Heart (g)	Lung (g)	Brain (g)	Hypophysis (mg)	Adrenal (L)mg (R)mg	Thyroid (mg)	Thymus (g)		
M	0	8	634 ± 77	482 ± 59	14.49 ± 1.33	0.79 ± 0.08	1.81 ± 0.22	1.75 ± 0.22	2.07 ± 0.27	1.78 ± 0.16	2.21 ± 0.09	15.6 ± 2.3	28.3 ± 4.3	29.2 ± 5.2	27.2 ± 2.7	0.22 ± 0.05
	100	8	623 ± 42	472 ± 36	14.44 ± 1.11	0.83 ± 0.11	1.65 ± 0.05	1.62 ± 0.10	1.89 ± 0.23	1.85 ± 0.32	2.15 ± 0.09	13.8 ± 2.5	26.5 ± 3.4	29.1 ± 3.7	25.4 ± 3.9	0.24 ± 0.05
	200	8	593 ± 62	446 ± 49	15.41 ± 2.73	0.88 ± 0.29	1.64 ± 0.22	1.56 ± 0.28	1.98 ± 0.29	1.73 ± 0.14	2.18 ± 0.05	13.7 ± 2.0	36.7 ± 23.6	36.8 ± 22.6	24.7 ± 3.0	0.22 ± 0.05
	400	8	567 ± 69	421 ± 56	13.87 ± 2.08	0.82 ± 0.15	1.71 ± 0.21	1.66 ± 0.24	1.86 ± 0.15	1.64 ± 0.11	2.21 ± 0.04	12.2 ± 2.0	24.7 ± 2.0	28.1 ± 3.5	26.6 ± 3.4	0.24 ± 0.07
F	0	8	342 ± 52	260 ± 37	7.40 ± 1.21	0.56 ± 0.11	1.02 ± 0.16	1.04 ± 0.18	1.25 ± 0.19	1.29 ± 0.14	2.02 ± 0.08	24.5 ± 9.2	33.0 ± 5.9	34.8 ± 6.1	26.5 ± 5.1	0.18 ± 0.04
	100	8	344 ± 54	256 ± 38	7.59 ± 1.51	0.52 ± 0.10	1.01 ± 0.12	1.02 ± 0.16	1.18 ± 0.18	1.27 ± 0.22	2.04 ± 0.07	19.7 ± 3.2	29.6 ± 6.1	32.4 ± 6.3	29.0 ± 5.7	0.21 ± 0.05
	200	8	341 ± 60	254 ± 45	8.40 ± 1.71	0.60 ± 0.31	0.97 ± 0.09	0.99 ± 0.07	1.30 ± 0.20	1.30 ± 0.15	1.99 ± 0.06	20.8 ± 3.8	33.5 ± 5.6	37.1 ± 5.5	24.1 ± 4.9	0.23 ± 0.09
	400	8	309 ± 43	230 ± 32	7.92 ± 1.48	0.51 ± 0.06	0.99 ± 0.12	0.98 ± 0.14	1.18 ± 0.13	1.20 ± 0.10	1.99 ± 0.05	25.2 ± 10.4	33.6 ± 5.6	35.4 ± 6.2	20.6 ± 3.3	0.19 ± 0.06

Values are mean absolute organ weights ± SD.

Table 5-3. Relative organ weights in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (after six months)

Sex	Dose (mg/kg)	N	BW (g)	Carcass (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Kidney (L)g% (R)g%	Heart (g%)	Lung (g%)	Brain (g%)	Hypophysis (mg%)	Adrenal (L)mg% (R)mg%	Thyroid (mg%)	Thymus (g%)		
M	0	19	635 ± 44	76.1 ± 0.9	2.233 ± 0.144	0.140 ± 0.021	0.275 ± 0.023	0.275 ± 0.029	0.304 ± 0.026	0.282 ± 0.025	0.347 ± 0.029	2.02 ± 0.36	4.45 ± 0.60	4.41 ± 0.54	4.24 ± 1.05	0.051 ± 0.018
	100	19	619 ± 75	75.3 ± 2.7	2.396* ± 0.155	0.146 ± 0.021	0.281 ± 0.018	0.277 ± 0.021	0.291 ± 0.026	0.284 ± 0.035	0.354 ± 0.043	2.12 ± 0.37	4.97 ± 0.83	4.72 ± 0.81	4.76 ± 0.87	0.048 ± 0.011
	200	20	572* ± 53	73.8** ± 1.4	2.339 ± 0.187	0.139 ± 0.013	0.294 ± 0.024	0.294 ± 0.033	0.286 ± 0.030	0.285 ± 0.025	0.380 ± 0.035	2.22 ± 0.28	4.93 ± 0.89	4.85 ± 0.74	5.25* ± 1.06	0.045 ± 0.008
	400	16	526** ± 65	72.5** ± 1.2	2.413* ± 0.148	0.136 ± 0.020	0.334** ± 0.089	0.330* ± 0.096	0.286 ± 0.043	0.319* ± 0.036	0.408** ± 0.053	2.31 ± 0.27	5.66** ± 1.51	5.74** ± 1.86	4.91 ± 1.02	0.043 ± 0.013
F	0	20	335 ± 33	73.4 ± 1.6	2.252 ± 0.164	0.150 ± 0.025	0.280 ± 0.021	0.285 ± 0.028	0.340 ± 0.029	0.373 ± 0.031	0.600 ± 0.048	6.44 ± 1.38	9.38 ± 1.08	9.06 ± 1.23	7.35 ± 1.26	0.065 ± 0.013
	100	19	344 ± 38	73.0 ± 1.4	2.304 ± 0.175	0.169 ± 0.035	0.293 ± 0.035	0.295 ± 0.032	0.342 ± 0.040	0.374 ± 0.040	0.583 ± 0.061	6.17 ± 1.81	10.00 ± 1.54	9.64 ± 1.57	8.65 ± 2.58	0.064 ± 0.010
	200	20	320 ± 36	71.7** ± 0.9	2.354 ± 0.182	0.169 ± 0.018	0.309* ± 0.030	0.310 ± 0.031	0.336 ± 0.029	0.395 ± 0.031	0.629 ± 0.072	6.59 ± 1.28	10.86* ± 1.39	10.33 ± 1.29	7.66 ± 1.62	0.064 ± 0.016
	400	19	297** ± 26	68.3** ± 1.0	2.421* ± 0.193	0.178* ± 0.026	0.328** ± 0.031	0.331** ± 0.037	0.336 ± 0.030	0.423** ± 0.038	0.670** ± 0.063	6.81 ± 1.20	11.77** ± 1.58	11.19** ± 1.80	8.02 ± 1.77	0.061 ± 0.012

Values are mean absolute organ weights ± SD.

* Significantly different from control by Scheffe's Multiple Comparison (0.01 < P ≤ 0.05).

** Significantly different from control by Scheffe's Multiple Comparison (p ≤ 0.01).

Table 5-4. Relative organ weights in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks (recovery period)

Sex	Dose (mg/kg)	N	BW (g)	Carcass (g%)	Liver (g%)	Spleen (g%)	Kidney (L)g%	Kidney (R)g%	Heart (g%)	Lung (g%)	Brain (g%)	Hypophysis (mg%)	Adrenal (L)mg%	Adrenal (R)mg%	Thyroid (mg%)	Thymus (g%)
M	0	8	634	75.9	2.296	0.126	0.286	0.277	0.328	0.282	0.353	2.47	7.49	4.61	4.35	0.035
			± 77	± 0.6	± 0.178	± 0.010	± 0.026	± 0.032	± 0.043	± 0.017	± 0.034	± 0.34	± 0.70	± 0.77	± 0.67	± 0.005
	100	8	623	75.7	2.322	0.134	0.265	0.261	0.304	0.296	0.345	2.20	4.26	4.68	4.07	0.039
			± 42	± 1.5	± 0.201	± 0.018	± 0.018	± 0.027	± 0.034	± 0.048	± 0.017	± 0.28	± 0.64	± 0.69	± 0.44	± 0.006
200	8	593	75.1	2.598	0.149	0.276	0.262	0.337	0.296	0.371	2.33	6.36	6.37	4.20	0.038	
			± 62	± 1.4	± 0.419	± 0.058	± 0.028	± 0.040	± 0.065	± 0.046	± 0.037	± 0.42	± 4.64	± 4.47	± 0.64	± 0.008
400	5	567	74.2	2.442	0.144	0.302	0.293	0.332	0.294	0.394	2.15	4.41	5.00	4.71	0.043	
			± 69	± 2.4	± 0.169	± 0.009	± 0.021	± 0.039	± 0.045	± 0.042	± 0.049	± 0.28	± 0.57	± 0.67	± 0.56	± 0.015
F	0	8	342	76.1	2.166	0.163	0.302	0.304	0.368	0.381	0.600	7.05	9.72	10.30	7.76	0.054
			± 52	± 2.1	± 0.166	± 0.017	± 0.048	± 0.042	± 0.045	± 0.031	± 0.068	± 1.71	± 1.60	± 2.06	± 1.24	± 0.008
	100	8	344	74.6	2.197	0.154	0.297	0.299	0.344	0.369	0.603	5.74	8.62	9.38	8.52	0.060
			± 54	± 1.1	± 0.163	± 0.033	± 0.031	± 0.045	± 0.036	± 0.024	± 0.077	± 0.75	± 1.19	± 0.65	± 1.69	± 0.013
200	8	341	74.6	2.457*	0.172	0.292	0.296	0.383	0.386	0.594	6.22	10.04	11.07	7.15	0.066	
			± 60	± 0.9	± 0.140	± 0.054	± 0.061	± 0.040	± 0.043	± 0.040	± 0.077	± 1.29	± 2.24	± 2.01	± 1.56	± 0.015
400	8	309	74.3	2.548**	0.165	0.322	0.321	0.384	0.392	0.654	8.13	10.93	11.48	6.76	0.061	
			± 43	± 0.8	± 0.228	± 0.014	± 0.034	± 0.058	± 0.051	± 0.047	± 0.096	± 3.10	± 1.53	± 1.68	± 1.31	± 0.012

Values are mean absolute organ weights ± SD.

* Significantly different from control by Scheffe's Multiple Comparison (0.01 < P ≤ 0.05).

** Significantly different from control by Scheffe's Multiple Comparison (P ≤ 0.01)

Table 6. Main macroscopic findings in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks

Dose (mg/kg)	Found dead			Moribund			Treated period								Recovery period								
	M			F			male				female				male				female				
	0	100	400	100	400	400	0	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400	
Number of examined	1	1	5	1	2	1	19	19	20	16	19	20	20	19	8	8	8	5	8	8	8	8	
Spleen: Atrophy	.	.	5	.	1	1
Thymus: Atrophy	.	.	3	.	1	1
Stomach: Enlargement	.	.	1	.	1
: Petechial hemorrhage of tunica serosa	.	.	1
: Reddish mucosa & hemorrhage	1
Small intestine & Cecum	.	.	1	.	1
: Petechial hemorrhage of tunica serosa	.	.	1	.	1
Cecum: Enlargement	.	.	5	.	2	1	.	1	4	12	.	.	2	13	.	.	1
Liver: Discoloration	1	.	2	.	2	.	.	4	2	1	.	1
: Atrophy	1
: Visible hepatic lobule	.	1
Lung: Darkish-red	1	1	2
: Hyperemia	.	.	2
Kidney: Swelling	.	.	1	.	.	1	.	.	.	1
: Discoloration	1	.	.	.	1	.	1
: White line in medulla	.	.	2	.	2	1

Figure: number of rats.

うち対照群および100mg/kg群の全例ならびに400mg/kg群の雄1例では食道・気管周囲の膿瘍形成、胸腔内臓器の白色ゼリー状物付着、胃内の凝血塊あるいは肺のうっ血および気管内に泡沫液がみられたことから、死因は食道穿孔ないしは肺内への誤投与によるものと判断された。

一方、400mg/kg群の上記個体を除く途中死亡動物では摂餌の急激な低下に伴い、一般状態が悪化し約1週間の経過で死に至った。同様な臨床経過を示した瀕死期殺動物の血液検査および病理検査では尿素窒素、クレアチニンおよび無機リンの上昇ならびに腎尿細管病変が認められた。したがって400mg/kg群で死亡ないし瀕死状態となった原因として被験物質による腎障害が考えられた。

投与期間終了時計画殺動物では、200mg/kg群以上で腎尿細管拡張、集合管上皮の硝子滴状物あるいは細胞分裂像がみられたが、これらは尿細管あるいは集合管上皮の変性から再生にいたる一連の変化を示すもので、被験物質を大量投与した場合腎に障害を起こすと判断される。

一般にキノロン系合成抗菌剤のラットにおける毒性として体重増加抑制、摂水量の増加、尿中ナトリウム排泄量の減少、盲腸膨満および腎障害が報告されており²⁾、本試験においても同様な変化がみられた。なかでも、盲腸膨満はキノロン系合成抗菌剤の薬理作用による腸内細菌叢の乱れに起因した変化と考えられている。この場合、盲腸内容物の増加は腸管からの水分吸収を抑制することにより摂水量の増加やナトリウムお

Table 7. Main microscopic findings in rats receiving temafloxacin orally for 26 weeks

Dose (mg/kg)	Found dead			Moribund			Treated period								Recovery period							
							male				female				male				female			
	0	100	400	100	400	400	0	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400	0	100	200	400
Number of examined	1	1	5	1	2	1	19	19	20	16	19	20	20	19	8	8	8	5	8	8	8	8
Spleen: Decrease in lymphocytes	·	1	5	·	2	1	·	-	·	1	·	·	2	·	·	·	-	-	·	·	·	·
Thymus: Decrease in lymphocytes	·	·	3	·	2	1	·	-	·	1	·	·	·	·	·	·	-	-	·	·	·	·
Esophagus: periesophagitis																						
perforans	1	1	1	·	·	·	-	-	·	·	·	·	·	·	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver: Congestion	·	1	4	1	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
: Vacuolation (*: with swelling)																						
in centrilobular	·	·	·	·	·	1*	·	1	3	5	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
: Swelling in centri-intermediatlobular	·	·	·	·	1	·	·	·	·	1	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
: Disappearance of fine vacuoles in intermediate-peripheral lobular	·	·	1	·	2	·	·	·	3	6	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	-
: Vacuolation in intermediate-peripheral lobular	·	·	3	·	1	·	·	·	·	·	·	·	·	1	·	·	·	·	·	·	·	-
Lung: Congestion	·	1	3	1	1	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
: Alveolar edema	·	·	4	1	·	·	-	-	·	·	-	-	·	·	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney: Dilatation of tubules	·	·	1	·	1	1	·	·	1	7	·	·	3	5	·	·	·	·	·	·	·	·
: Minelization in tubules	·	·	3	·	2	1	·	·	·	1	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
: Degenerated tubules	·	·	·	·	2	1	·	·	·	3	·	·	·	·	·	·	·	1	·	·	·	·
: Hyalin droplets in collecting tubule epithelium	·	·	·	·	·	1	·	·	3	3	·	·	·	6	·	·	·	·	·	·	·	·
: Regeneration & defluxion of collecting tubule epithelium	·	·	1	·	1	·	·	·	·	1	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
: Mitosis of collecting tubule epithelium	·	·	·	·	·	1	·	·	·	·	·	·	·	6	·	·	·	·	·	·	·	·
Adrenal: Vacuolation & hyalin droplets in medullary cells	·	·	·	·	2	1	·	-	1	·	·	-	·	·	·	·	·	·	-	-	-	-
Eye: Retinal degeneration with loss of outer nuclear layer & retinal folding	·	·	·	·	·	·	-	-	·	·	·	·	1	·	·	·	·	·	-	-	-	-

Figure: number of rats, -: not examined

よびカリウムの吸収を阻害するので、体液ナトリウム濃度の恒常性を維持するため尿中へのナトリウム排泄量を減少させると言われている。したがって、本試験における摂水量および電解質の変動は同様の機序によるものと考えられた。

さらに、キノロン系合成抗菌剤の関節毒性として関節病変、すなわち関節軟骨における水疱、糜爛あるいは潰瘍形成が知られている²⁾が、本試験における病変とは明らかに異なっており、その分布も対照群を含むすべての投与群に存在し、発現頻度および程度は投与量と関連がなかったため、被験物質投与に起因した変化とは判断しなかった。ちなみに、今回みられた関節の変化はラットの関節に自然発生する骨軟骨症(Osteochondrosis)の病態に極めて類似するものであった³⁾。

400mg/kg投与群の雌1例でみられた網膜外顆粒層の消失はキノロン系合成抗菌剤であるナリジクス酸⁴⁾およびシノキサシン⁵⁾でみられる猫の網膜病変の特徴と異なっており、その発現頻度からも被験物質投与に起因した変化とは考えられなかった。

以上に述べたほかに、病理検査で肝細胞の空胞形成等の所見が得られたが、血液生化学的に明らかな肝障害を示唆する異常はみられていない。また、投与期間終了時計画殺動物の臓器重量測定でみられた副腎および子宮重量の増加は病理組織検査で異常がみられない

ため毒性学的意義に乏しいものと思われた。途中死亡動物および瀕死期殺動物でみられたリンパ系組織におけるリンパ球の減少は虚脱によるものと考えられた。

以上の結果から、今回の試験条件下でのTMFXの確実中毒量は体重、臨床検査および病理検査で変化のみられた200mg/kg、無影響量は100mg/kgと判断された。

文 献

- 1) Tekeli S and Kimura E T: Six-month toxicity study of ABBOTT-63004 hydrochloride administered orally to rats. (ABBOTT laboratories社内資料 PPRd/87/206)
- 2) 小野寺 威: キノロン剤。医薬品, 毒性試験講座 15巻(福田英臣, 秋元 健, 坂口 孝編)。地人書館: p.35~42, 東京, 1990
- 3) Kato M and Onodera T: Spontaneous osteochondrosis in rats. *Laboratory Animals* 18:179~187, 1984
- 4) 入倉 勉, 平山隆士, 大久保秀夫, 伊藤由規男, 西納啓吾: AM-715のネコ網膜に対する影響。 *Chemotherapy* 29(S-4): 946~952, 1981
- 5) 原田喜男, 花房友行: Cinoxacinおよび関連化学療法剤による網膜毒性の動物種差について。第2回国際眼研究会議日本部会, プロシーディング: 106~107, 名古屋, 1979

A 26-week oral toxicity study of temafloxacin in rats

Takaaki Yamamura, Hiroshi Kuse, Masayuki Susami, Yoshiaki Kawai and Masaki Hori
Safety Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.
16-89 Kashima 3-chome, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

As part of a safety evaluation program for the new synthetic antibacterial agent temafloxacin (TMFX), a 26-week oral toxicity study (0, 100, 200 and 400 mg/kg/day) was carried out on rats and followed by a 4-week recovery study. Four rats died during the treatment period and 3 rats receiving 400 mg/kg were killed. In the moribund animals, soiled hair, gum, sedation and hypothermia were noted and food consumption and body weight decreased. In the surviving rats, body weight decreased in females receiving 400 mg/kg and in males receiving 200 mg/kg or more. Water intake increased in rats receiving 400 mg/kg. As to clinical pathology, BUN, creatinine and inorganic phosphate were elevated in moribund rats receiving 100 mg/kg. Urinary sodium decreased in females receiving 400 mg/kg and in males receiving 200 mg/kg or more and the serum level of protein decreased in males receiving 200 mg/kg or more. The weights of the kidney, adrenal glands and uterus in the 400 mg/kg group were higher than those of the control group. Enlarged ceca, atrophy of the thymus and spleen, discoloration of the liver and a white line in the renal medulla were found in rats receiving 400 mg/kg. Renal lesions such as tubular dilatation and degeneration or regeneration of the collecting tubular epithelium were observed microscopically. After discontinuation of drug administration, most of the changes detected on clinical observation and laboratory examination disappeared. Thus, the long-term non-toxic dose of TMFX was estimated to be 100 mg/kg in rats.