

Temafloracinの関節毒性試験

小林欣滋・藤原利久・山村高章・久世 博・川合是彰・堀 正樹
田辺製薬株式会社安全性研究所*

塩酸テマフロキサシン(temafloracin, TMFX)を30, 100および300mg/kgの投与量でそれぞれ雌雄各12例の4週齢のラットに, 10, 30および90mg/kgの投与量でそれぞれ雌雄各3例の3ヵ月齢のビーグルに7日間連続経口投与し, 関節毒性について検討した。

1. 幼若ラットでは, 試験期間を通じて一般状態および症状観察ならびに病理学検査においてTMFX投与に起因する異常は認められなかった。
2. 幼若イヌの歩行状態の観察では, 投与期間中に90mg/kg群の雄3例, 雌2例および30mg/kg群の雄1例で手根関節の異常屈曲が観察された。これら個体のうち, 回復試験供試例である30mg/kg群および90mg/kg群の雄各1例では, 投与終了後2~3日間異常が継続して観察されたが, その後消失した。
3. 幼若イヌの肢骨関節の肉眼検査では, 歩行異常を認めたすべての個体で水疱様病変あるいはびらんが観察され, さらに, 歩行異常を示さなかった90mg/kg群の雌1例においても同様の病変がみられた。
4. 肉眼病変とはほぼ一致して, 投与終了時の病理組織学的検索において関節軟骨中間層に限局する軟骨基質の粗硬化および裂隙形成がみられた。回復期間終了時には, 裂隙周辺領域に関節軟骨傷害に対する修復機転と考えられる軟骨細胞の再生像や線維軟骨様化生が認められた。また, 投与期間終了時剖検例にのみ滑膜表層細胞の多層化を伴う滑膜下結合組織の水腫が90mg/kg群で認められた。

以上の結果より, TMFXの関節毒性発現量は幼若ラットでは300mg/kgを越え, 幼若イヌでは30mg/kgと判断された。

Key words : temafloracin, quinolones, arthropathy, articular cartilage

キノロン系抗菌剤を経口投与した幼若ビーグルに歩行異常および関節軟骨病変が観察されることをIng-hamらが報告して以来⁹⁾, 幼若動物に対するキノロン系抗菌剤の関節毒性に関する研究が盛んに行なわれ^{3,4,6,7,11,15)}, キノロン系抗菌剤の開発にあたっては, 関節毒性を評価することが必須とされている。塩酸テマフロキサシン(temafloracin, TMFX)は田辺製薬株式会社およびアボット社の両社で共同開発されたキノロン系合成抗菌剤であり, 幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌力を有する¹²⁾。今回, TMFXの安全性試験の一環として幼若ラットおよびイヌを用いて関節毒性試験を実施したので, その結果について報告する。

I. 材料および方法

1. 幼若ラット

1) 被験物質

TMFX(Lot No. 28-929-AL)は白色の結晶性粉末で, わずかに特異的なにおいがあり, 水に難溶性である。

2) 使用動物および飼育条件

日本チャールス・リバー株式会社から購入したCrj:CD(SD)系ラットを1週間馴化飼育した後, 入荷時および入荷1週間後の体重を基準に選別した雌雄各48例を4週齢で試験に使用した。投与開始時の体重は雄が96.0~109.3g, 雌が82.6~97.9gであった。

動物は室温23±1℃, 湿度55±5%, 換気オールフレッシュ12回以上/時間および12時間照明(午前6時30分~午後6時30分)に設定した飼育室内で, 自動飼育機用4連金網ケージ(夏目製作所; 1区画あたり23×21×17cm)に個別収容し, 固形飼料(オリエンタル酵母工業株式会社 CRF-1: 15K Gy)と水道水を自由摂取させた。

3) 投与量の設定, 投与方法および群構成

既に関節毒性を有することが知られているnalidixic acidの300mg/kgを1週間にわたってラットに経口投与したところ, 関節病変の誘発が確認された。そこで,

*〒532 大阪市淀川区加島3丁目16番89号

TMFXの関節毒性を他剤と比較することを踏まえて、今回の試験では最高投与量をフリー体換算値で300mg/kgとし、以下、公比約3で100および30mg/kgを設定した。

TMFXをフリー体換算値として0.3w/v% (HCl塩0.33w/v%)、1.0w/v% (HCl塩1.09w/v%)および3.0w/v% (HCl塩3.27w/v%)の濃度で0.2w/v%メチルロース400(MC)溶液に懸濁した。これらの懸濁液を10ml/kgの容量で、1日1回、7日間にわたって、金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。なお、対照群には、10ml/kgの0.2w/v% MC溶液を投与した。動物は1群雌雄各12例とし、入荷時および入荷1週間後の体重を基準に体重層別化のうえ、ランダムに群分けした。そのうち雌雄各4例については4週間の休薬期間を設けて回復試験に供試した。

4) 観察、測定および検査

試験期間中の日数表現は投与開始日を0日として起算した。

(1) 死亡推移、一般状態および症状観察

投与期間中、全個体について毎日午前(投与前)に死亡の有無および一般状態を観察し、2回および7回投与後には、関節への影響をみるために歩行状態を詳細に観察した。

回復期間中は会社休日を除く毎日午前中に一般状態を観察し、週1回歩行状態を観察した。

(2) 体重測定

投与および回復期間中、全個体の体重を毎週2回午前中に測定した。

(3) 摂餌量測定

投与および回復期間中、毎週2回午前中に全個体の残餌量を測定し、前回の給餌量をもとに摂餌量を算出した。

(4) 病理解剖および肢骨関節の肉眼検査

投与および回復期間終了時、全個体ともエーテル麻酔下で腹大動脈から放血・致死させた後、剖検に供し、全身の諸臓器・組織を肉眼的に観察した。この際、肉眼病変が観察された臓器・組織は10%中性リン酸緩衝ホルマリン固定液に浸漬し、固定・保存した。また、全個体の軀幹から前・後肢を分断し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン固定液に浸漬後、肘および膝関節を分離し、上腕骨近位端・遠位端ならびに大腿骨近位端・遠位端について肉眼検査を実施した。

(5) 病理組織検査

肉眼観察後、上腕骨近位端・遠位端および大腿骨近位端・遠位端を再固定し、脱灰後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色

を施した。検査は対照群および最高投与群の個体について行ない、両群の間に差はみられないと判断されたので、低・中間用量群(30および100mg/kg)の観察は省略した。

5) 統計処理

数値データ(体重および摂餌量)の検定には、最初にBartlettの分散検定を実施し、分散に一様性があれば一元配置分散検定を、一様性がなければKruskal-Wallisの検定を行なった。群間に差があればそれぞれSchefféの多重比較(Schefféのパラメトリック手法あるいはScheffé型の検定(Schefféのノンパラメトリック手法)を行なって、対照群と各投与群との平均値差を検定した。

2. 幼若イヌ

1) 被験動物質

TMFX(Lot No. 24-885-AL)は白色の結晶性粉末で、わずかに特異的なにおいがあり、水に難溶性である。

2) 使用動物および飼育条件

吉城薬品株式会社吉城ファームから購入したビーグルを2週間馴化飼育した後、健康であると判断された雌雄各12例を3ヵ月齢で試験に使用した。投与開始時の体重は雄が4.7~6.2kg、雌が4.0~5.7kgであった。

動物は室温24±3℃、湿度55±5%、換気オールフレッシュ16回以上/時間および12時間照明(午前6時30分~午後6時30分)に設定した飼育室で、イヌ自動飼育機(日本ケージ製作所 DSM-34)に個別収容し、固形飼料(オリエンタル酵母工業株式会社 DS)1日300gと水道水を自由摂取させた。

3) 投与量の設定、投与方法および群構成

アボット社で実施された幼若ビーグルを用いた関節毒性試験⁶⁾で、TMFXを150mg/kg(フリー体換算値)の投与量で7日間にわたって経口投与した際、関節病変が発現したので、今回の試験では最高投与量をフリー体換算値で90mg/kgとし、以下、公比約3で30mg/kgおよび10mg/kgの投与量を設定した。

投与経路は臨床適用経路である経口投与とし、投与直近日の体重を基準としてTMFX原末をゼラチンカプセル(日本エランコ サイズ:000)に充填し、1日1回、7日間にわたって、強制的に投与した。なお、対照群には、最高投与群と同数の空ゼラチンカプセルを投与した。

動物は1群雌雄各3例とし、そのうち雌雄各1例については4週間の休薬期間を設けて回復試験に供試した。

4) 観察、測定および検査

試験期間中の日数表現は投与開始日を0日として起

算し、投与開始以前の日数は—で表示した。

(1) 死亡推移、一般状態および症状観察

全個体について投与前(—1日)から剖検日まで毎日午前および午後の各1回(会社休日は午前1回のみ)死亡の有無を確認し、毎日1回(会社休日を除く)午前中に一般状態を観察した。投与日には投与直前、投与後1および3時間に症状を観察した。また、投与前日から剖検日まで歩行状態ならびに反射試験のひとつである跳び反応について毎日検査を行なった。

(2) 体重測定

全個体について投与前(—4および—1日)と投与期間中(1, 3および6日)の計5回体重を測定した。回復試験供試例については、投与開始後13, 20, 27および34日を加えた計9回の測定を行なった。

(3) 摂餌量測定

1日300gに制限給餌した飼料の残量を全個体について投与開始日から剖検日まで測定し、摂餌量を算定した。

(4) 生理検査

投与期間中は週2回午前中、回復期間中は週1回午前中に体温、心拍数および呼吸数の測定をそれぞれ聴診器(Littmann, U.S.A.), 温度測定ユニット(AW-600HS, 日本光電), サーミスタ呼吸ピックアップ(TR-612, 日本光電), 呼吸/脈拍カプラ(AR-650H, TR-612T, 日本光電)ならびに熱書記録器(WT-6456, 日本光電)を用いて行なった。

(5) 病理解剖および肢骨関節の肉眼検査

投与および回復期間終了時、全個体ともチオペンタールナトリウム麻酔下で腋窩部を切断して放血・致死させた後、剖検に供し、全身諸臓器・組織を肉眼的に観察した。また、異常のみられた臓器の一部はホルマリン固定臓器として保存した。

剖検時、前・後肢を軀幹より分断する際、肩甲骨関節窩および寛骨臼窩を観察した。その他の肢骨関節(両側の上腕骨近位端・遠位端、前腕骨近位端・遠位端、手根骨近位端、大腿骨近位端・遠位端、下腿骨近位端・遠位端および足根骨近位端)は10%中性リン酸緩衝ホルマリン固定液による固定後、肘、手根、膝および足根各関節を分離して、各関節面を肉眼的に検査した。

(6) 病理組織検査

左側の上腕骨近位端・遠位端、前腕骨近位端、大腿骨近位端・遠位端、下腿骨近位端および右側大腿骨近位端は病変の有無に関わらず、また、その他の肢骨関節組織は肉眼病変が存在した場合にのみ切り出しを行ない、再固定し、脱灰後、常法に従ってパラフィン切

片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。

II. 結 果

1. 幼若ラット

1) 死亡推移、一般状態および症状

投与および回復期間を通じて対照群および投与群に死亡はなく、一般状態にも特記すべき異常はみられなかった。

2) 体重

投与および回復期間を通じていずれの個体においても被験物質投与に起因する体重の変動はなかった。

3) 摂餌量

投与および回復期間を通じていずれの個体においても被験物質投与に起因する摂餌量の変動はなかった。

4) 病理解剖所見

投与期間終了時、腎盂拡張が100mg/kg群の雌雄各1例および対照群の雌1例に、腎微小嚢胞形成が対照群の雌雄各1例に観察された。

回復期間終了時には、いずれの個体にも特記すべき異常は認められなかった。

5) 肢骨関節の肉眼検査所見

投与期間終了時には、いずれの個体にも特記すべき変化は観察されなかった。

回復期間終了時に剖検した全個体において、大腿骨遠位端、下腿骨近位端ないし上腕骨近位端の関節軟骨中間層から深層に局限する白色ないし半透明白色の形成を認めた。病変は上腕骨近位端の骨頭部、大腿骨遠位端の内・外側顆尾側面および下腿骨(脛骨)近位端の内・外側窩にしばしば見受けられた。

6) 病理組織所見

投与期間終了時には、いずれの個体の関節にも特記すべき異常は認められなかった。

回復期間終了時では、対照群8例中7例ならびに300mg/kg群の全例で大腿骨骨端部軟骨内の骨化巣が観察された。また、肉眼観察で白色巣がみられたが、これに相当する部位には組織学的異常はなかった。

2. 幼若イヌ

1) 死亡推移、一般状態および症状

投与および回復期間を通じて対照群および投与群に死亡はなかった。

90mg/kg群の雄1例(#0229)が初回投与後1時間の観察時に起立不能、鎮静、眼瞼下垂、嘔吐、結膜充血および耳介発赤を示したが、翌日には消退し、以後の一般状態に異常は認められなかった。この他、90mg/kgの雌2例(#0720, #0704)および30mg/kg群の雌1例(#0706)で投与期間中投与直後から3時間以

内に1~2回の嘔吐がみられた。

歩行状態の観察では、投与3日に手根関節の異常屈曲が90mg/kg群の雄1例(#0220)および雌2例(#0714, #0720)でみられ、投与6日には90mg/kg群の雄2例(#0210, #0229)および30mg/kg群の雄1例(#0227)に同様の異常が認められた。これは発症後、投与期間を通じて観察された。回復試験供試例である90mg/kg群の雄1例(#0220)は休薬後2日(投与開始後9日)までの観察においても異常屈曲を示したが、休薬後9日(投与開始後16日)の観察時には正常な歩行状態を示していた。

なお、跳び反応についてはいずれの観察時点においても異常を示す個体はみられなかった。

2) 体重

投与および回復期間を通じていずれの個体においても被験物質投与に起因する体重の変動はなかった。

3) 摂餌量

投与および回復期間を通じていずれの個体においても被験物質投与に起因する摂餌量の変動はなかった。

4) 生理検査

投与および回復期間を通じていずれの個体においても被験物質投与に起因する体温、心拍数および呼吸数の変動はなかった。

5) 病理解剖所見

投与期間終了時において、10mg/kg群の雄1例(#0224)の左心室内に直径約0.8mmの白色巣が観察された。

回復期間終了時には、30mg/kg群の雌1例(#0706)の右側腎臓欠損と対側腎臓の代償性肥大が確認された。

6) 肢骨関節の肉眼検査所見

投与期間終了時において、90mg/kg群の全例(#0210, #0229, #0714, #0720)の肢骨関節軟骨表層に水泡様病変、あるいはそれらが破綻して生じたびらんが認められた(Fig. 1)が、30mg/kg以下の投与量群では異常はみられなかった。肉眼病変の発生頻度は上腕骨および大腿骨近位端が最も高く(各4例)、以下、上腕骨遠位端(3例)、橈骨近位端および脛側足根骨(各2例)、大腿骨遠位端および脛骨近位端(各1例)とその頻度が低くなった(Table 1)。各関節面における病変の好発領域は上腕骨骨頭の大・小結節の基部付近、大腿骨骨頭窩周囲、大腿骨背側面および上腕骨小頭尾背側面であった。

回復期間終了時には、90mg/kg群全例(#0220, #0704)および30mg/kg群の雄1例(#0227)において、投与期間終了時にみられたものとはほぼ同様の変化が上腕骨近位端、大腿骨近位端・遠位端および脛側足根骨に観察された(Fig. 2)。また、対照群の雌1例(#0702)の大腿骨遠位端に微小陥没巣がみられたが、他の個体で観察された病変とは明らかに異なるものであった。

7) 病理組織所見

投与期間終了時にみられた肉眼病変にほぼ一致して組織病変がみられた(Table 2)。病変は関節軟骨中間層に限局し、軟骨基質の粗鬆化や裂隙・空洞形成によ

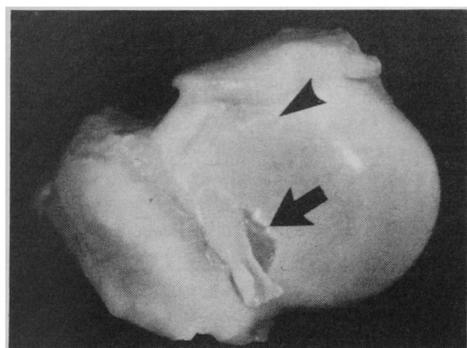


Fig. 1. Male (#0210), 90 mg/kg group (autopsied at the end of the treatment period), proximal end of the left humerus.

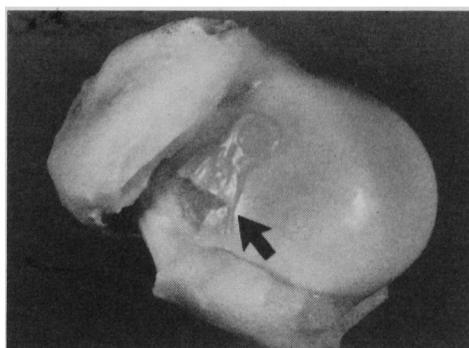
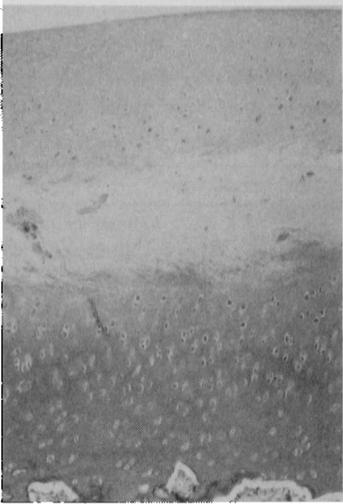


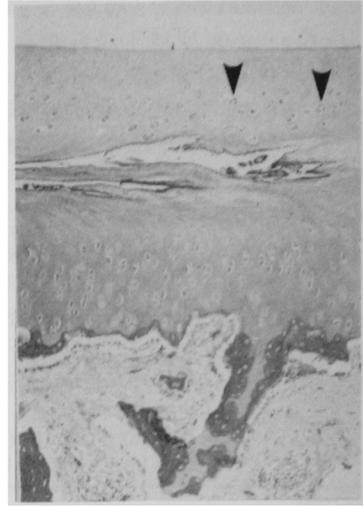
Fig. 2. Male (#0220), 90 mg/kg group (autopsied at the end of the recovery period), proximal end of the right humerus.

Fig. 2. Male (#0220), 90 mg/kg group (autopsied at the end of the recovery period), proximal end of the right humerus.



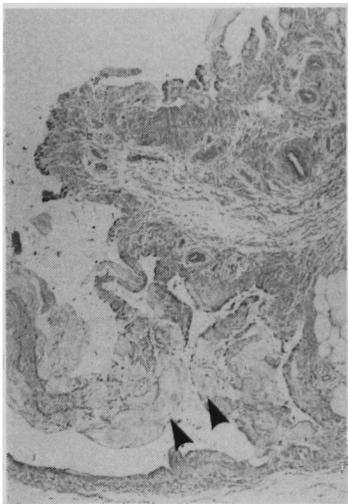
A fissure formed locally in the middle zone of articular cartilage.

Fig. 3. Female (#0720), 90 mg/kg group (autopsied at the end of the treatment period), proximal end of the left femur, HE stain, $\times 80$.



Lining surfaces of a fissure stained darkly with eosin and small chondrocyte clusters (arrowhead) in the area surrounding a fissure.

Fig. 4. Female (#0714), 90 mg/kg group (autopsied at the end of the treatment period), proximal end of the right humerus, HE stain, $\times 80$.



Edema in a portion of subsynovial connective tissue (arrowhead).

Fig. 5. Male (#0210), 90 mg/kg group (autopsied at the end of the treatment period), proximal end of the left femur, HE stain, $\times 80$.



Fibrocartilage-like metaplasia and appearance of large chondrocyte clusters (arrow).

Fig. 6. Female (#0704), 90 mg/kg group (autopsied at the end of the recovery period), distal end of the right femur, HE stain, $\times 80$.

Ⅲ. 考 察

TMFXの関節毒性を評価するため、幼若ラットに30, 100および300mg/kg, 幼若イヌに10, 30および90mg/kgの各用量で7日間にわたって強制経口投与した。

幼若ラットを用いた試験では、歩行状態に特に留意して症状観察を行なったが、特記すべき異常を認めなかった。肢骨関節の肉眼検査では、関節軟骨の白色ないし半透明白色巣を認めたが、発現頻度およびその程度はともに投与量と相関しておらず、病理組織検査においても、これに対応する病変が認められなかったもので、毒性学的意義はないと判断された。

幼若イヌを用いた試験では、投与3日より最高投与量群の個体が手根関節の異常屈曲を示した。この臨床経過は既知のキノロン系抗菌剤を幼若ないし若齢イヌに連続投与した際、3日前後に歩行異常が現われ始めるといふ報告^{4,6,11,15)}と一致していた。Burkhardtら⁴⁾によると、歩行異常の発現時期は関節軟骨における肉眼ないし光顕レベルでの病変発生時期と一致するとされており、本試験においても当該個体にキノロン誘発関節病変と一致する肉眼所見が得られたことから、症状発現と関節病変との関連が示唆された。また、この関節異常屈曲は休薬後9日(投与開始後15日)の観察時には消失していた。同様の経過がpipemidic acid(PPA)を投与した幼若イヌでも確認されており¹⁵⁾、キノロン系抗菌剤による関節障害が修復可能であることを示唆するものである。

肢骨関節の肉眼検査では、手根関節の異常屈曲が観察された全個体と歩行異常の認められなかった90mg/kg群の雌1例に水疱様病変が観察された。病変は軀幹に近い大腿骨近位端や上腕骨近位端の関節面に好発したが、このような病変分布の特徴はPPAあるい

はdifloxacinを用いた関節症誘発実験における知見^{4,6)}と一致していた。また、各肢骨関節面における病変好発領域、特に上腕骨近位端の大・小結節基部は荷重領域の一部とみなされており¹⁰⁾、キノロン誘発関節症の病理発生と体重負荷との関連が推測された。ちなみに、PPAを投与したイヌを体重負荷のかからない状態にした場合、水疱が形成されないことが実証されている¹⁰⁾。

病理組織検査では、水疱様病変は関節軟骨中間層に局限して形成された裂隙・空洞として確認された。投与期間終了時には、これら裂隙・空洞周囲において軟骨細胞の再生像といわれるchondrocyte clusterがみられ、さらに、回復期間終了時では、cluster内の軟骨細胞が弱好酸性基質を豊富に産生してclusterの大型化を招いており、加えて、線維軟骨様化を示す例もあった。このような変化はいずれも関節軟骨傷害に対する修復過程であると考えられた。

関節軟骨以外の変化として、90mg/kg群の投与期間終了時剖検例にのみ、滑膜表層細胞の多層化を伴う滑膜下結合組織の水腫が観察された。キノロン系抗菌剤を用いた関節症誘発実験あるいは関節毒性試験での滑膜病変の記載は少なく^{2,3,6)}、また、本試験でみられたような滑膜下組織の変化は過去に報告されておらず、その毒性学的意義は明らかではない。

以上の結果を総括すると、幼若ラットを用いた試験では、一般状態および症状観察ならびに病理学検査のいずれにも被験物質投与に起因すると考えられる異常が認められなかったことから、幼若ラットにおけるTMFXの関節毒性発現量は300mg/kgを越えると判断された。一方、幼若イヌを用いた試験では、一般状態および症状観察ならびに病理学検査を通じ、既知のキノロン誘発関節症の所見と一致する結果が90mg/kg群の全例および30mg/kg群の1例で得られたことから、

Table 3. Arthropathy-induced dose of quinolone antibacterial drugs given by oral administration to immature rats and dogs

| Animal species | Sex | Age in weeks or months | Treatment period | Compound | Dose (mg/kg/day) | Arthropathy-induced dose |
|----------------|------|------------------------|------------------|--------------|-------------------|--------------------------|
| Rat (SD) | M | 4 weeks | 7 days | Lomefloxacin | 100, 300 | 300 |
| | M | | | Ofloxacin | 30, 100, 300, 900 | 300 ≤ |
| | M, F | | | Temafloxacin | 30, 100, 300 | 300 < |
| Dog (beagle) | M, F | 3 months | 7 days | Sparfloxacin | 25 | 25 |
| | M | 3~4 months | | Fleroxacin | 2, 5, 20 | 5 ≤ |
| | M | 3~4 months | | Norfloxacin | 20, 50, 200 | 50 ≤ |
| | M, F | 3 months | | Temafloxacin | 10, 30, 90 | 30 ≤ |

M: male F: female

幼若イヌにおけるTMFXの関節毒性発現量は30mg/kgであると結論された。この結果を本試験とほぼ同じ条件下(動物, 系統・品種, 週齢・月齢, 投与経路および投与期間)で行なわれた他のキノロン系抗菌剤を用いた関節症誘発実験あるいは関節毒性試験の成績^{1,5,11,13,14)}と比較すると(Table 3), TMFXは幼若ラットに対しては他のキノロン系抗菌剤より関節毒性が弱く, また, 幼若イヌに対してもほぼ同程度の関節毒性を有していると考えられる。

文 献

- 1) 谷村 弘, 副島林造: 第37回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム。Fleroxacin(AM-833), 和歌山, 1989
- 2) 第32回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム I。Ciprofloxacin BAYo 9867, 岡山, 1984
- 3) Bendele A M, Hulman J F, Harvey A K, Hrubey P S and Chandrasekhar S: Passive role of articular chondrocytes in quino-lone-induced arthropathy in guinea pigs. *Toxicol Pathol* 18: 304~312, 1990
- 4) Burkhardt J E, Hill M A, Carlton W W and Kesterson J W: Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolone. *Vet Pathol* 27: 162~170, 1990
- 5) 第30回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム。DL-8280, 名古屋, 1982
- 6) Gough A, Barsoum N J, Mitchell L, McGuire E J and de la Iglesia F A: Juvenile canine drug-induced arthropathy: Clinicopathological studies on articular lesions caused by oxolinic and pipemidic acids. *Toxicol Appl Pharmacol* 51: 177~187, 1979
- 7) Gough A W, Barsoum N J, Renlund R C, Sturgess J M and de la Iglesia F A: Fine structural changes during reparative phase of canine drug-induced arthropathy. *Vet Pathol* 22: 82~84, 1985
- 8) Ingham B, Brentnall D W, Dale E A and McFadzean J A: Arthropathy induced by antibacterial fused N-alkyl-4-pyridone-3-carboxylic acids. *Toxicol Letters* 1: 21~26, 1977
- 9) Kato M and Onodera T: Morphological investigation of cavity formation in articular cartilage induced by ofloxacin in rats. *Fund Appl Toxicol* 11: 110~119, 1988
- 10) Kincaid S A and Van Sickle D C: Regional histochemical and thickness variations of adult canine articular cartilage. *Am J Vet Res* 42: 428~432, 1981
- 11) Machida M, Kusajima H, Aijima H, Maeda A, Ishida R and Uchida H: Toxicokinetic study of norfloxacin-induced arthropathy in juvenile animals. *Toxicol Appl Pharmacol* 105: 403~412, 1990
- 12) 松下忠弘, 押田忠弘, 恩田時男, 内藤真智子, 山口東太郎: Temafloxacinの*in vitro*抗菌作用。Chemotherapy 41 (S-5): 67~80, 1993
- 13) 下 武男, 松田一栄, 齊藤明美, 山崎光雄: NY-198のラットにおける関節毒性試験。Chemotherapy 36: 439~448, 1988
- 14) 上野一恵, 原 耕平, 河田幸道: 第38回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム II。Sparfloxacin(AT-4140), 岐阜, 1990
- 15) Tatsumi H, Senda H, Yatera S, Takemoto Y, Yamayoshi M and Ohnishi K: Toxicological studies on pipemidic acid. V. Effect on diarthrodial joints of experimental animals. *J Toxicol Sci* 3: 357~367, 1978
- 16) Tekeli S and Kimura E T: Articular cartilage toxicity study of ABBOTT-63004 hydrochloride administered orally to immature dogs (Exploratory research report). Abbott Laboratories社内資料

Arthrotoxicity study of temafloxacin

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

To determine the arthrotoxicity of temafloxacin hydrochloride (TMFX) in immature animals, TMFX was orally administered to 4-week-old rats (12 rats of each group and sex) at doses of 30, 100 and 300 mg/kg and 3-month-old dogs (3 dogs of each group and sex) at doses of 10, 30 and 90 mg/kg for 7 days.

1) No remarkable clinical or pathological changes were seen in immature rats throughout the treatment or recovery period.

2) In observing the gait of immature dogs, abnormal flexion of the carpal joints was seen in 3 male and 2 female dogs in the 90 mg/kg group, and 1 male in the 30 mg/kg dose group during the treatment period. This abnormality was observed throughout the treatment period after its appearance. In the recovery period, this abnormality persisted 2~3 days after withdrawal in 1 male dog in each 30 mg/kg and 90 mg/kg group, but it disappeared later on.

3) Blister-like lesions or erosions in the articular cartilage were grossly observed in all dogs with abnormal gait and 1 female dog with normal gait in the 90 mg/kg group.

4) Corresponding to the gross lesions, rarefaction of cartilage matrix and fissuring were histopathologically seen at the end of the treatment period. Chondrocytic regeneration and fibrocartilage-like metaplasia regarded as a process to repair articular cartilage damage were observed in the area surrounding fissures at the end of the recovery period. Edema of subsynovial connective tissue with stratification of synovial lining cells was only observed in dogs in the 90 mg/kg group at the end of the treatment period.

From the above results, the arthrotoxicity dose of TMFX was considered to be over 300 mg/kg in immature rats and 30 mg/kg in immature dogs.