

Pazufloxacin のラット血糖値に及ぼす影響

木村和幸・岩井正和・田口政広・林 仁理・花田秀一・小柴 博・川畑好之康
(株)ミドリ十字安全性研究所*

堀 誠治*・嶋田甚五郎
聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター
(*現 東京慈恵会医科大学第一薬理学教室)

ニューキノロン系合成抗菌薬である pazufloxacin(PZFX) をラットに単回および反復(1日1回, 28日間)経口投与し, 血糖値ならびに血糖調節ホルモン(インスリン, グルカゴン)および糖代謝に影響を及ぼすと考えられる甲状腺ホルモンのトリヨードサイロニン(T_3), サイロキシニン(T_4)への影響を検討した。

なお, ラットにおける評価モデル系の確立のため, ラットの経口糖負荷試験を行い, 既報告と一致するか検討した。また, 血糖値ならびに血糖調節ホルモンの日内変動を調べ, 絶食条件の検討を行った。その結果,

① ヒト用インスリン測定キットを用い, ラットインスリンも測定できる(ラットインスリン1ng/mlはヒトインスリン10 μ U/mlに相当する)ことが判明した。また, トリヨードサイロニン, サイロキシニンおよびグルカゴンの測定もヒト用測定キットで測定可能であり, 経口糖負荷試験でその測定系の有用性が実証された。

日内変動の検討より, 絶食は検査前日21時より実施するのが血糖値の変動も少なく良好な実験条件となることが判明した。

② PZFXの推定臨床用量の100倍に相当する1200mg/kgをラットに単回経口投与し, 投与後の血糖値および血糖調節ホルモンへの影響を検討したが, 薬剤投与による影響は認められなかった。また, 膵臓ランゲルハンス氏島の病理組織学的検査においても異常または特異的な変化は認められなかった。

③ PZFXの推定臨床用量の50倍に相当する600mg/kgをラットに1日1回, 28日間反復経口投与したところ, 最終投与日のインスリン値に増加傾向が認められたが, 血糖値に変化は認められず, PZFX投与に起因した変化ではないと考えられた。その他, 血液生化学パラメーターおよび膵臓ランゲルハンス氏島の病理組織学的検査に何ら異常または特異的な変化は認められなかった。

以上の結果より, PZFXが血糖値ならびに血糖値に影響を及ぼす諸因子に損傷を与える可能性はないと判断された。

Key words: PZFX, 血糖値, インスリン, グルカゴン, T_3 , T_4 , ラット

近年, ニューキノロン系合成抗菌薬の臨床使用において, 重篤な低血糖が発現したとの報告がなされ, その発現機序としてインスリンの過剰分泌が示唆されている¹⁾。そこで, 富山化学工業(株)で創製され, 富山化学工業(株)と(株)ミドリ十字により共同開発が進められている新規ニューキノロン系合成抗菌薬 pazufloxacin(PZFX)の血糖値ならびに血糖値を変動させる諸因子への影響を検討するため, ラットに単回および反復(28日間)経口投与した。なお, 本検討を行うにあたり予備検討として, ラットにおける評価モデル系の検討を行った。すなわち, ラットのインスリン, グルカゴンならびに甲状腺ホルモ

ンのトリヨードサイロニン, サイロキシニンの測定系を確立することを目的に, ラットの経口糖負荷試験を実施した。また, 血糖値ならびに血糖調節ホルモンの日内変動についても検討した。

なお, これらの試験は1992年12月より1994年1月にかけて実施した。

I. 試験材料

1. ラットにおける評価モデル系の検討

(1) 供試物質

糖負荷試験では20%ブドウ糖液(Lot No. MOL95, (株)大塚製薬)原液をラットに経口投与した。

(2) 供試動物

5 週齢の SD(Crj: CD, SPF) 系雄ラットを日本チャールスリバー(株)より購入し、温度 $24 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 15\%$ 、1 日 12 時間照明 (7:00~19:00)、換気回数 10~20 回/時の飼育環境下、吊り下げ式ステンレス製金網ケージ (260×380×180mm, 日本クレア(株)) に 5 匹ずつ収容し、市販固型飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母) および自営水道水を自由摂取させ飼育した。動物は検収後 6 日間の検疫期間を設け、飼育環境に馴化させるとともに毎日一般状態の観察ならびに検疫 1 日目と 6 日目には体重測定を行い、健常であることを確認後試験に供した。

なお、試験開始時の動物の体重は 153.2~166.8g であった。また、使用動物数は検査時間毎に 5 匹を供した。

(3) 各種血糖調節ホルモンおよび血糖値等の測定

PZFX の血糖値への影響を検討するため血清中のインスリンおよび血漿中のグルカゴン値を測定した。また、糖代謝に影響を及ぼす甲状腺ホルモンのトリヨードサイロニン (T_3) およびサイロキシニン (T_4) 値も測定した。測定には市販ヒト用測定キットを用い、インスリンはメサカップ INSULIN テスト (株) 医学生物学研究所) を、グルカゴンはグルカゴンキット「第一」(第一 RI 研究所; 兵庫県臨床検査研究所に測定依頼) を用いた。 T_3 および T_4 は全自動アッセイシステム (IMx, ダイナボット) を用いて測定した。また、血糖、GOT、GPT、アミラーゼ、総コレステロール、リン脂質、中性脂肪、遊離脂肪酸および総タンパクは自動分析装置 (AU-550, オリンパス) にて測定した。

なお、動物はエーテル麻酔後腹大動脈より採血し、得られたトラジロール-EDTA2Na 加血漿をグルカゴンの測定に、また血清は、その他の項目の測定に用いた。

2. 単回および反復投与における影響

(1) 供試薬剤

単回投与では被験物質である PZFX (Lot No. UK-109S, 富山化学工業(株)) を 5% アラビアゴム水溶液に懸濁し、12% 懸濁液とした後、また、反復投与では 6% 懸濁液とした後用いた。何れの試験においても陰性対照物質としてアラビアゴム末 (Lot No. WDM 1530, 和光純薬(株)) を注射用水 (Lot No. 1F72N および 3C70N, (株) 大塚製薬) で 5% となるように溶解したものを用いた。

(2) 供試動物

単回投与における影響では 5 週齢の、また、反復投与では 4 週齢の SD(Crj: CD, SPF) 系雄ラットをそれぞれ日本チャールスリバー(株)より購入し、温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、1 日 12 時間照明 (7:00~19:00)、換気回数 10~20 回/時の飼育環境下、吊り下げ式ステンレス製金網ケージ (260×380×180mm, 日本クレア(株)) に 3 匹 (単回投与) または 2 匹 (反復投与) ずつ収容し、市販固

型飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業(株)) および自営水道水を自由摂取させ飼育した。

動物は検収後 6 日間の検疫期間を設け、飼育環境に馴化させるとともに毎日一般状態の観察を、検疫 1 日目と 6 日目に体重測定を行い、健常であることを確認後試験に供した。

なお、各試験における絶食条件は、単回投与における影響では全動物とも投与前日 21 時より行い、投与後 8 時間検査までの動物は検査時まで連続して、投与後 24 時間検査の動物は投与後 2 時間に給餌後、再び 21 時より検査時まで絶食した。また、反復投与では、最終投与前日 21 時より検査時まで連続して絶食した。単回および反復投与開始時の動物の体重はそれぞれ 173.9~198.4g および 138.4~151.0g であった。

II. 試験方法

1. ラットにおける評価モデル系の検討

(1) ヒト用測定キットのラット血清および血漿に対する反応性の検討

インスリンについては、標準ラットインスリン (INCSTAR[®]) を 20, 10, 5, 2.5, 1.25 および 0.63ng/ml の 6 濃度に調製後、ヒト用測定キットにて測定し、得られた標準曲線とヒト用測定キットの標準曲線に差異がないか検討した。また、インスリン、 T_3 および T_4 は、各測定キット付属の検量線用各標準液とラットプール血清とを等量混合後測定し、対照として検量線用各標準液と希釈液とを等量混合後測定したものと比較し、ラット血清の測定系への影響を検討した。グルカゴンは、哺乳類では同じ構造であることが知られており、ラットとヒトでは反応性に差がないものと考えられたため、前記検討は実施しなかった。

(2) 経口糖負荷試験

検査前日 17 時より絶食した動物に 20% ブドウ糖液を 2g/kg 経口単回投与前、投与後 30 分、60 分、120 分のインスリン、グルカゴン、 T_3 、 T_4 および血糖値の推移を、投与前値を対照として比較検討した。

(3) 日内変動

検査前日に、動物が空腹状態であると考えられる 17 時より絶食した群、消灯後 (19 時) 摂餌してほぼ満腹状態であると考えられる 21 時より絶食した群および対照群として非絶食群を設けた。検査当日は、9 時より 2 時間間隔で 17 時までインスリン、グルカゴン、 T_3 、 T_4 および血糖値を測定した。

(4) 統計処理

有意差検定は F-t 検定 [F 検定 (有意水準 5%) により等分散性を検定後、母分散が等しいと判断されるものについては Student の t 検定を、母分散が異なると判断されるものについては Welch の t 検定を実施した。] を用い、経口糖負荷試験では投与前値を、日内変動では対応

する検査時刻の非絶食群を対照として処置群との間で比較した。

2. 単回投与における影響

(1) 投与方法

投与は、臨床投与経路である経口投与とし、ラット用経口ゾンデを用いて被験物質を強制的に胃内へ単回投与した。

(2) 投与量および投与群の構成

先に実施されたPZFXのラットにおける単回投与毒性試験においてLD₅₀値は5000mg/kg以上であった²⁾。したがって、今回の試験ではLD₅₀値より低いが、推定臨床用量の100倍に相当する1200mg/kgの1用量を設定した。陰性対照物質である5%アラビアガムの投与容量は、PZFXと同一容量の10ml/kgとした。

なお、動物数はPZFX群が54匹、5%アラビアゴム群では36匹とし、各検査時間毎に6匹/群を血液生化学的および病理組織学的検査に、PZFX群では薬物血中濃度測定用として各検査時間毎に3匹を供した。また、投与前無処置群として9匹(内3匹は薬物血中濃度測定用)を供した。

(3) 検査項目

1) 体重

被験物質投与前に無処置群も含めた全例について測定した。

2) 血液生化学的検査

被験物質投与前および各被験物質投与後30分、1, 2, 4, 8, 24時間のインスリン、グルカゴン、T₃, T₄, 血糖、総コレステロール、リン脂質、中性脂肪、遊離脂肪酸、アミラーゼおよび総タンパクを測定した。

3) 病理組織学的検査

全動物について採血終了後解剖して脾臓を摘出し、2.5倍希釈したU-Fix(サクラ精機)にて固定後、脾臓のパラフィン切片を作製した。その後、H.E.染色標本を常法に従い作製し、鏡検した。同時に、ヒストステイン-DSキット(DS/MR, ZEYMED Labo.)ならびに抗ヒトインスリンポリクローナル抗体(ZEYMED Labo.), 抗ヒトグルカゴンポリクローナル抗体(ZEYMED Labo.)を用いて免疫組織化学二重染色を施し、脾臓ランゲルハンス氏島 α , β 細胞の分別染色標本を作製後、鏡検した。

4) 薬物血中濃度

PZFX投与群について、被験物質投与後30分、1, 2, 4, 8および24時間の薬物血中濃度をHPLC法(高速液体クロマトグラフィー法)にて測定した。なお、被験物質投与後2時間の3例中1例に、理由は不明であるがPZFXが全く検出されなかったので実験群から除外した。

5) 統計処理

血液生化学的検査項目について、評価モデル系の検討

と同様に対応する検査時間の5%アラビアゴム群を対照としてF-t検定を実施した。

3. 反復投与における影響

(1) 投与方法

投与は、臨床投与経路である経口投与とし、ラット用経口ゾンデを用いて被験物質を強制的に胃内へ1日1回、28日間反復投与した。

(2) 投与量および投与群の構成

反復投与における影響の検討に先立ち実施したPZFXのラットへの単回投与における影響の検討の結果、1200mg/kg投与で血糖値に影響は認められなかった。そこで、反復投与では投与期間を考慮し、推定臨床用量の50倍に相当する600mg/kgの1用量群のみを設定した。また、陰性対照物質である5%アラビアガムの投与容量は、PZFXと同一容量の10ml/kgとした。なお、各被験物質投与群とも1群24匹とし、各検査時間毎に6匹/群を検査に供した。薬物血中濃度の測定にはPZFX投与群の全例を用いた。

(3) 検査項目

1) 一般状態

投与期間中毎日、投与前後の2回観察した。

2) 体重

投与期間中毎日、投与前に測定した。

3) 血液生化学的検査

被験物質最終投与前および被験物質投与後1, 2および4時間のインスリン、グルカゴン、T₃, T₄, 血糖、総コレステロール、リン脂質、中性脂肪、遊離脂肪酸、アミラーゼおよび総タンパクを測定した。

4) 病理組織学的検査

全動物について採血終了後解剖して単回投与における影響と同様にH.E.染色ならびに免疫組織化学二重染色を施し、脾臓ランゲルハンス氏島 α , β 細胞の分別染色標本を作製後鏡検した。

5) 薬物血中濃度

PZFX投与群の全例について、被験物質最終投与前および投与後1, 2および4時間の薬物血中濃度をHPLC法にて測定した。

6) 統計処理

体重および血液生化学的検査項目について、評価モデル系の検討と同様に対応する各検査日および時間の5%アラビアゴム群を対照としてF-t検定を実施した。

Ⅲ. 試験結果

1. ラットにおける評価モデル系の検討

(1) ヒト用測定キットのラット血清および血漿に対する反応性の検討

結果をFig. 1および2に示した。

標準ラットインスリンを用いた検討では、単位がラット標準品(ng/ml)とヒト用測定キット(μ IU/ml)で異なっ

ているものの、標準曲線はほぼ重なり合い、ラットインスリン 1ng/ml はヒトインスリン約 10 μ IU/ml に相当することが判明した (Fig. 1)。

また、ラット血清と各測定キット付属の検量線用標準液とを等量混合して測定した結果、インスリンおよび T_4 では、希釈液と等量混合した群に比べ、測定値の上昇がみられたが反応性は良好であった。 T_3 は、ラット血清添加の影響は認められず、2.0ng/ml まで直線性が得られ、0~2.0ng/ml の間では測定可能であると判断された (Fig. 2)。

以上の結果より、ヒト用測定キットを用いてもラット血清中の上記各ホルモンの測定が可能であると判断され、以下の試験では前記ヒト用測定キットを用いて検討を行った。

(2) 経口糖負荷試験

結果を Fig. 3 および 4 に示した。

血糖値は投与後 30 分に急激な増加がみられ、その後、60 分から 120 分にかけて漸減したが、投与後 120 分においても投与前値と比較して、なお有意な増加が認められた。

インスリンは投与後 30 分に有意な増加がみられたが、60 分後にはほぼ投与前値に回復した。その後、120 分まではほぼ同一の値を示した。

グルカゴンは投与後 30 分に有意な減少がみられ、その後 120 分まで減少のまま推移した。

T_3 および T_4 は投与前値と比較して変化は認められなかった。

(3) 日内変動

結果を Fig. 5 および Fig. 6 に示した。

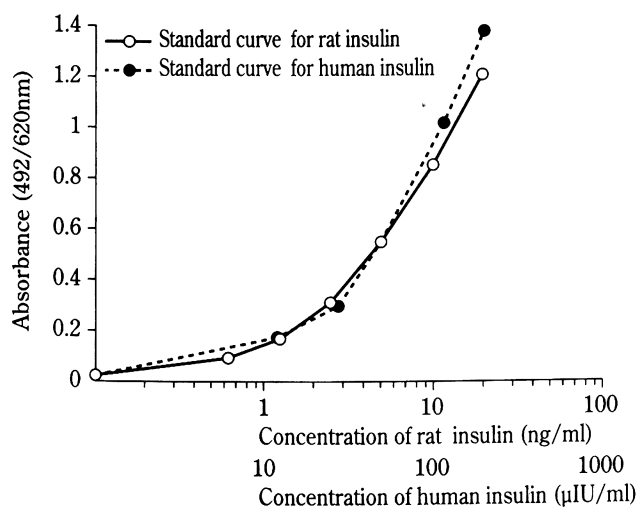


Fig. 1. Response of rat insulin to human insulin test kit.

血糖値は、検査前日の 17 時絶食群の 9 時の検査においてやや高い値がみられたが、検査前日 17 時絶食群の 11 時以降および検査前日 21 時絶食群では、日内変動はほとんど認められず、絶食条件による差もみられなかった。しかし、非絶食群では 11 時に最高値を示し、その後 17 時まで漸減した。

インスリンは、血糖値に相関して、絶食群では日内変動はなく、絶食条件による差もみられなかった。非絶食群では 2 時間周期で上昇および下降を示し、日内変動が認められた。

グルカゴンは、15 時まで全ての群で日内変動および絶食条件による差が認められなかったが、検査前日 17

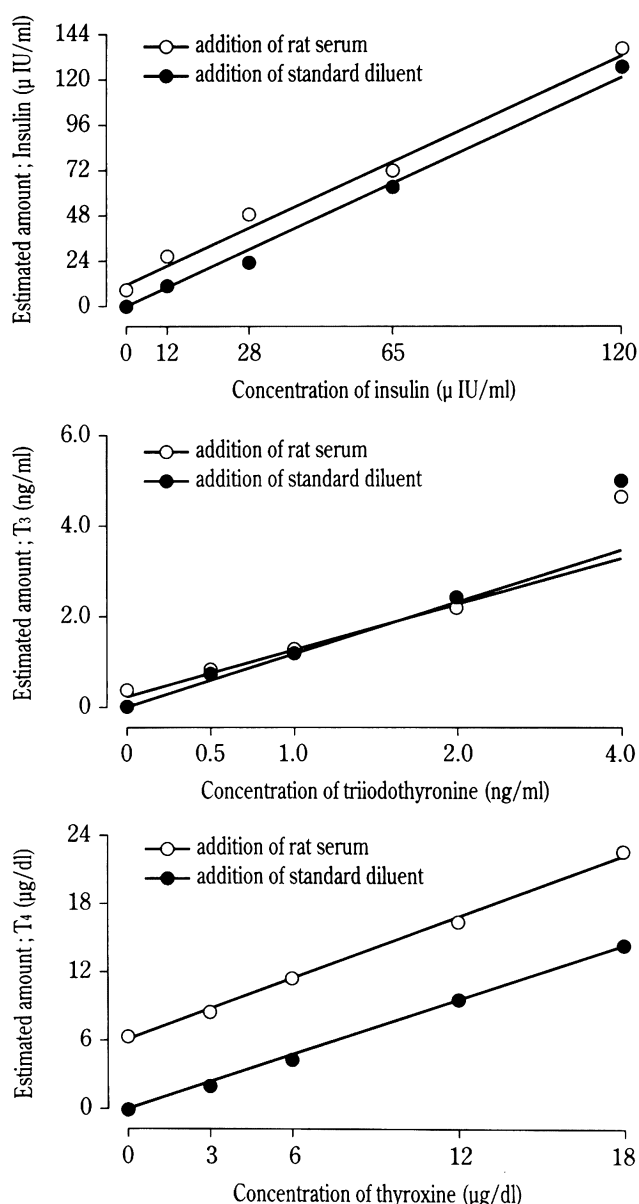


Fig. 2. Effect of rat serum on the standard curves of insulin, triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4).

時絶食群の17時の検査において、上昇がみられた。

T₃およびT₄においては、いずれも絶食時間が長い群の方が低値を示したが、各々の群内での日内変動はみられなかった。

2. 単回投与における影響

(1) 血液生化学的検査

1) 血糖値、インスリンおよびグルカゴンの推移

結果をFig. 7に示した。

被験物質投与後8時間の血糖値およびインスリン、投与後2および24時間のグルカゴンにおいて、PZFX群で有意な変動が散見されたが、何れも正常範囲内の変動であり、5%アラビアゴム群とほぼ同様な推移を示した。

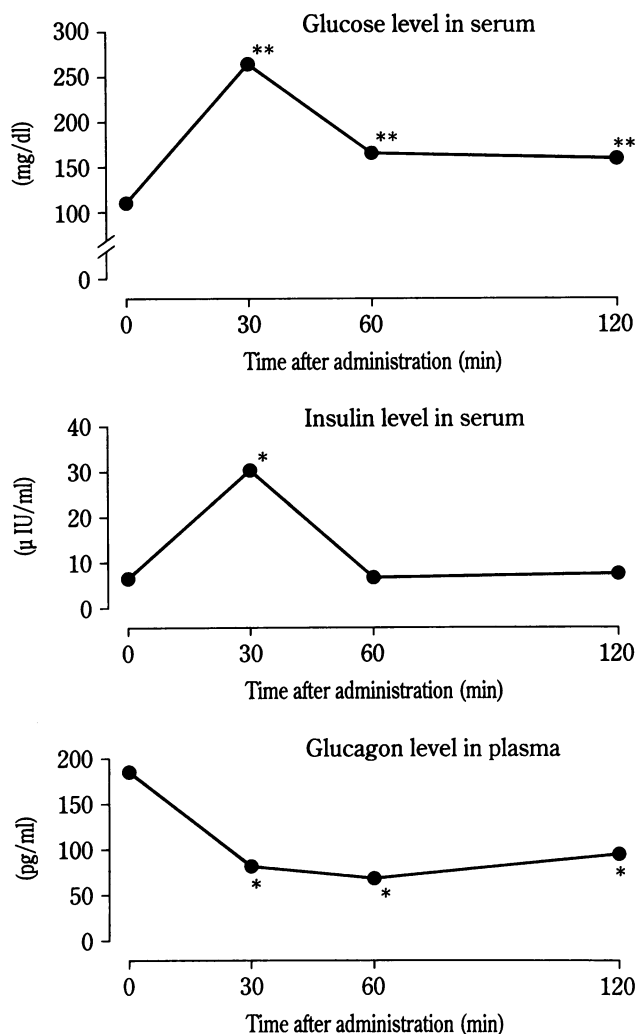


Fig. 3. Effect of glucose administration (2 g/kg) on blood levels of glucose, insulin and glucagon in rats.

Each point indicates the mean of 5 rats; significantly different from the pre-treatment value at $p < 0.05$; *, $p < 0.01$; **.

2) T₃およびT₄の推移

結果をFig. 8に示した。

投与後30分~1時間のT₄において有意な変動がみられたが、正常範囲内の変動であり、T₃ならびにT₄ともに5%アラビアゴム群とほぼ同様な推移を示した。

3) アミラーゼ、総タンパクおよび血清脂質の推移

総タンパクおよびリン脂質において、投与後2時間までにPZFX群で有意な変動が散見されたが、何れも正常範囲内の変動であり、アミラーゼ、総コレステロール、中性脂肪および遊離脂肪酸ともに5%アラビアゴム群とほぼ同様な推移がみられた。

(2) 病理組織学的検査

全群全例のH.E.染色ならびに免疫組織化学二重染色(インスリン、グルカゴン二重染色)標本とも、脾臓ランゲルハンス氏島に何ら変化は認められなかった。

なお、ランゲルハンス氏島以外の脾臓の変化(H.E.染色)として、血管周囲の軽微な好酸球浸潤がPZFX投与後8時間の1例にのみみられた。

(3) 薬物血中濃度

結果をFig. 9に示した。

PZFXは投与後2時間に最高濃度(約67 μg/ml)を示し、その後、8時間目においても高い血中濃度を維持し

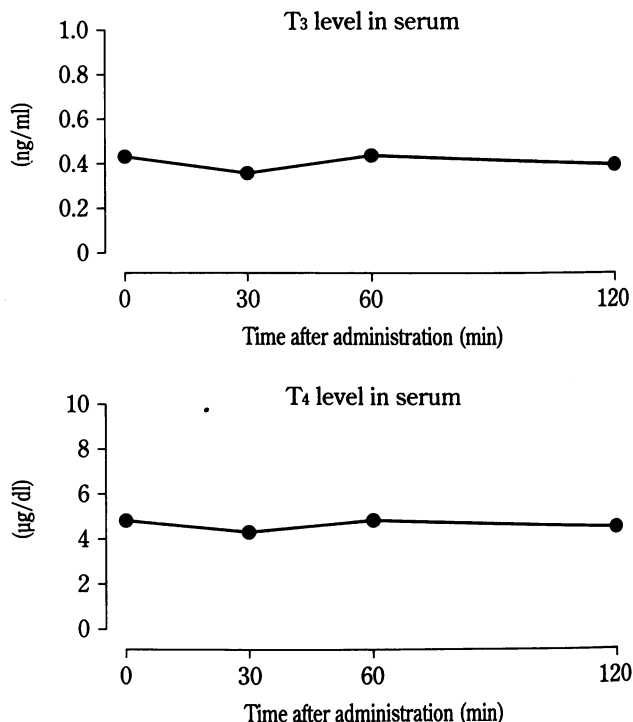


Fig. 4. Effect of glucose administration (2 g/kg) on blood levels of triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) in rats.

Each point indicates the mean of 5 rats.

ていたが、投与後 24 時間では最高時の約 1/30(約 $2\mu\text{g}/\text{ml}$) に減少した。

3. 反復投与における影響

(1) 一般状態

投与期間中、異常を呈する動物は認められなかった。

(2) 体重

結果を Fig. 10 に示した。

投与開始 2 日目より投与期間最終日まで 5% アラビアゴム群と比較して体重増加抑制が認められた。

(3) 血液生化学的検査

1) 血糖値、インスリンおよびグルカゴンの推移

結果を Fig. 11 に示した。

血糖値およびグルカゴンの推移に変化は認められなかった。インスリンでは、最終投与後 2 時間の 6 例中 1 例に、4 時間では 2 例に、5% アラビアゴム群と比較して増加傾向を示したが、有意な変化ではなかった。

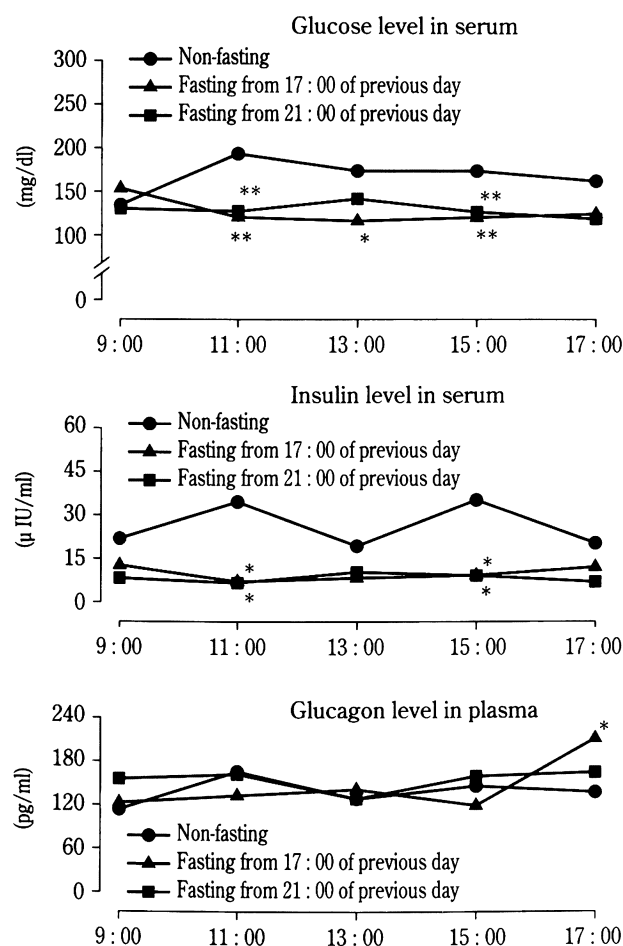


Fig. 5. Effect of fasting period on diurnal variations in glucose, insulin and glucagon levels in serum or plasma of rats.

Each point indicates the mean of 5 rats ; significantly different from the initial value at $p<0.05$; *, $p<0.01$; **.

2) T_3 および T_4 の推移

結果を Fig. 12 に示した。

T_3 および T_4 ともに変化は認められず、5% アラビアゴム群と同様な推移がみられた。

3) アミラーゼ、総タンパクおよび血清脂質の推移

総コレステロール、中性脂肪およびリン脂質は、5% アラビアゴム群と比較して、最終投与前も含めた全ての検査時間において増加または増加傾向が認められ、遊離脂肪酸では、最終投与前のみに増加が認められた。総タンパクでは最終投与前、投与後 1 および 4 時間に増加が認められた。アミラーゼには変化は認められなかった。

(4) 病理組織学的検査

全群全例の H.E. 染色ならびに免疫組織化学二重染色 (インスリン・グルカゴン二重染色) 標本とも、脾臓ランゲルハンス氏島に何ら変化は認められなかった。

(5) 薬物血中濃度

結果を Fig. 9 に示した。

PZFX は投与後 2 時間に最高濃度 (約 $60\mu\text{g}/\text{ml}$) を示し、その後、4 時間目においてもなお高い血中濃度を維持していた。また、投与前 (前回投与後 24 時間) の血中濃度は最高血中濃度の約 1/45 であった。単回および反復投与での血中濃度推移にほとんど差が認められなかったことより、反復投与に伴う薬剤の体内での蓄積性はな

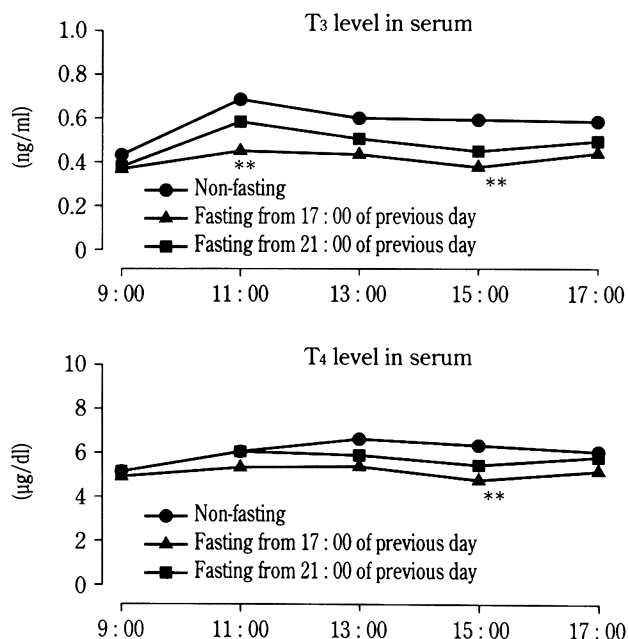


Fig. 6. Effect of fasting period on diurnal variations in triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4) levels in serum of rats.

Each point indicates the mean of 5 rats ; significantly different from the initial value at $p<0.01$; **.

いものと判断された。

IV. 考 察

ニューキノロン系合成抗菌薬である PZFX の血糖値ならび血糖値を変動させる諸因子への影響を検討するため、ラットに単回および 28 日間反復投与し、以下の結果を得た。

1. ラットにおける評価モデル系の検討

ニューキノロン系合成抗菌薬 PZFX のラット血糖値ならびインスリン、グルカゴン等の血糖調節ホルモンに及ぼす影響の検討に先立ち、予備検討として、ラット経口

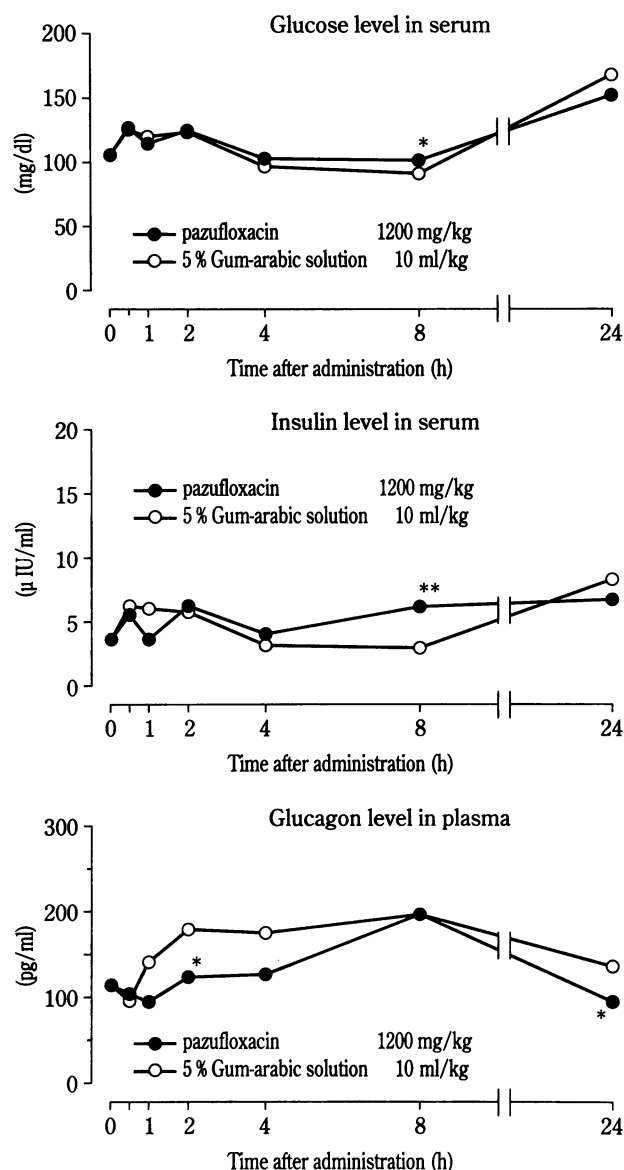


Fig. 7. Effect of single administration of pazufloxacin on glucose, insulin and glucagon levels in serum or plasma of rats.

Each point indicates the mean of 6 rats ; significantly different from the control group (5 % Gum-arabic solution) at $p < 0.05$; * , $p < 0.01$; **.

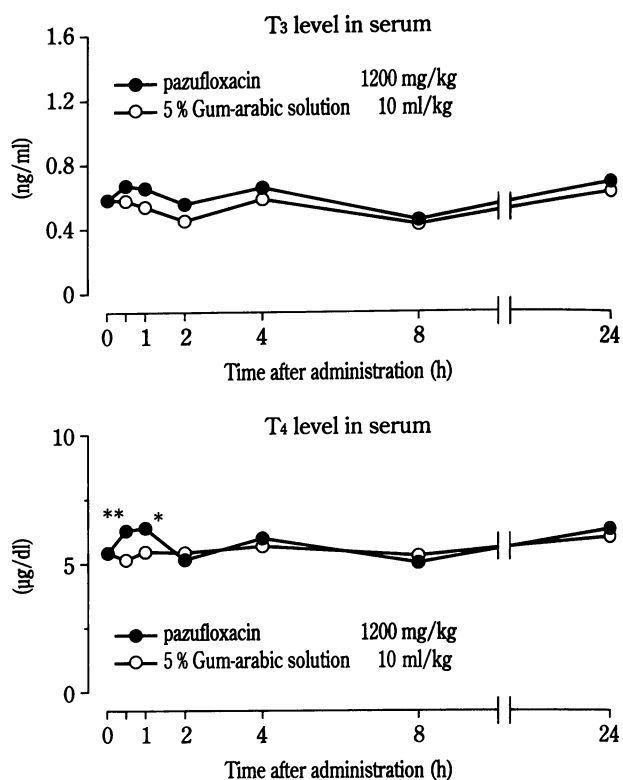


Fig. 8. Effect of single administration of pazufloxacin on triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) levels in serum of rats.

Each point indicates the mean of 6 rats ; significantly different from the control group (5 % Gum-arabic solution) at $p < 0.05$; * , $p < 0.01$; **.

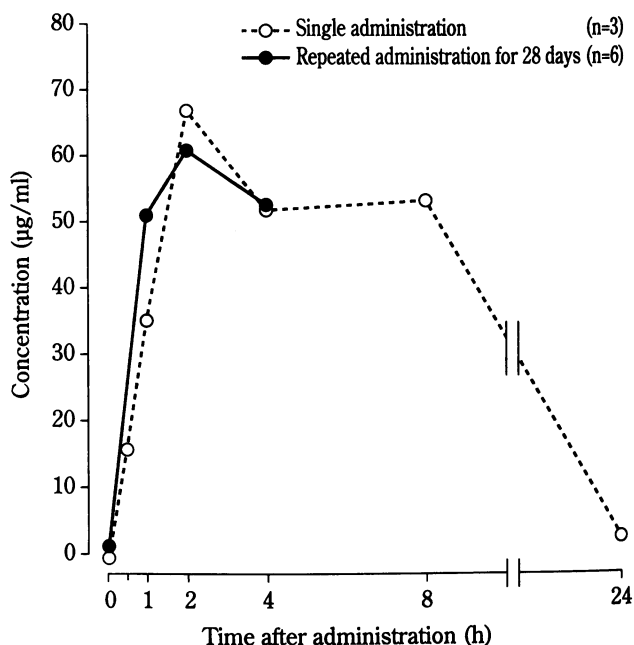


Fig. 9. Serum concentration of pazufloxacin in rats following single and repeated per-oral administration of test drug.

糖負荷試験を実施し、インスリン、グルカゴンの推移が既に報告されているもの³⁾と一致するか否かを確認することにより、測定系の確立を図った。同時に、 T_3 、 T_4 の測定系についても検討するとともに、血糖値への影響を検討した。また、これらホルモンの日内変動についても調べた。

なお、各試験において動物の麻酔法およびハンドリングに伴うストレス等の影響については特に考慮せずに、通常行われている方法で投与、採血等を実施した。

ラットの各ホルモンとヒト用測定キットとの反応性の検討においては、ラットインスリン標準品を用いた標準曲線とヒト用測定キットでの標準曲線に差異は認められず、今回用いたヒト用測定キットにおけるラットインスリン 1ng/ml はヒトインスリンの約 10 μ IU/ml に相当することが判明した。ラット、マウス、イヌ等のインスリンを測定する場合、その構造に多少の差があっても比較的よい交差反応を示す抗ブタインスリン抗体を使用してもよいといわれており^{4,5)}、今回の検討に用いたメサカップ INSULIN テストも抗ブタインスリン抗体を使用していることを製造元より確認している。また、ラットプール血清とヒト血清との反応性の差異についての検討では、今回使用した各ホルモン測定用キットはともに良好

な反応性を示した。これらの結果を基に、ラットによる経口糖負荷試験を行い、測定精度の検討を行ったところ、インスリン、グルカゴンおよび血糖値の推移は既報告³⁾とほぼ一致する結果が得られ、ヒト用測定キットのラット実験系への使用に問題がないことが判明した。 T_3 および T_4 については血糖値の変動と関係なく一定のレベルでの推移がみられたことより、ラットにおいては、血糖値の変化による甲状腺ホルモンへの影響は少ないものと考えられた。

日内変動の検討では、検査前日 21 時より絶食することにより血糖、インスリン、グルカゴン、 T_3 、 T_4 レベルは測定時間内においてほとんど変化が認められなかったが、検査前日 17 時絶食群の 17 時検査においては、過絶食に伴うと考えられるグルカゴンの増加が認められた。このことより、検査前日の絶食時刻は、過絶食等による動物へのストレスを考慮すれば、21 時(消灯後 2 時間)より開始するのが良いと考えられた。

2. 単回および反復投与における影響

被験物質である PZFX の正常ラット血糖値への影響の有無を単回および 28 日間反復投与することにより検討した。投与量は、単回投与では臨床予定投与量の 100 倍に相当する 1200mg/kg、反復投与では単回投与の半量の

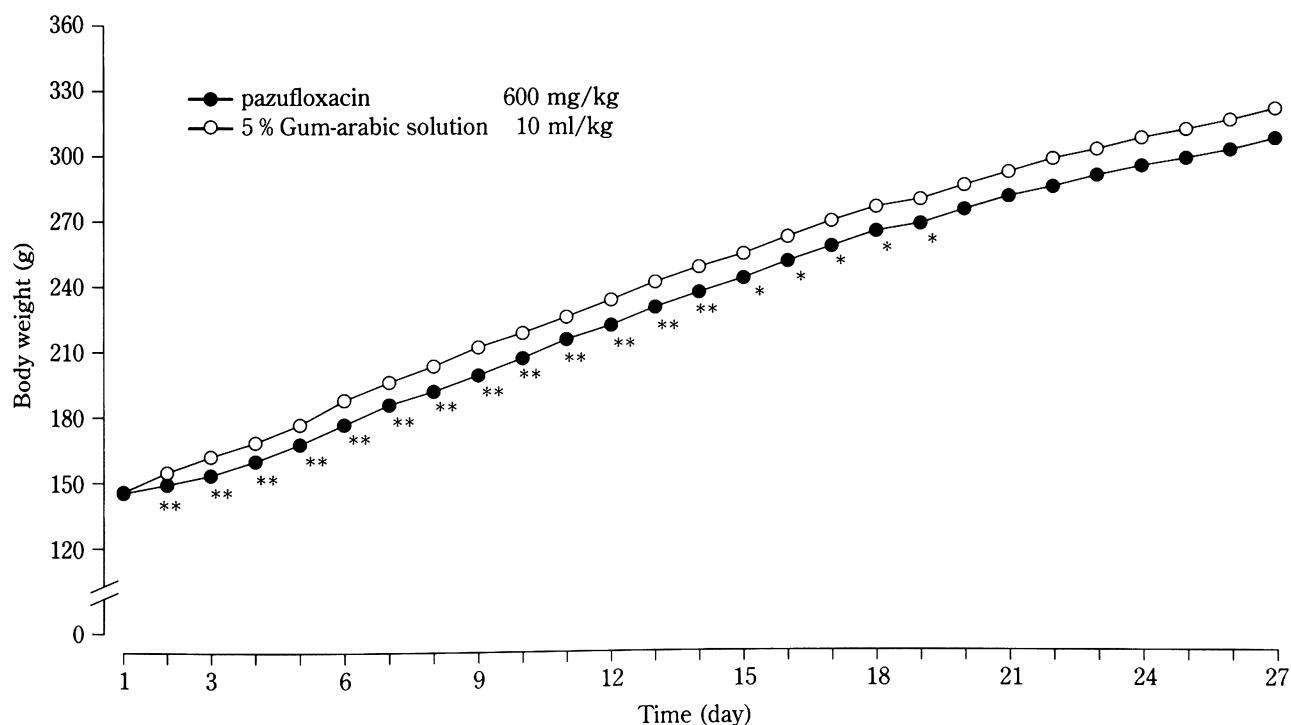


Fig. 10. Change of body weight in rats during the repeated administration of pazufloxacin.

Each point indicates the mean of 24 rats ; significantly different from the control group (5 % Gum-arabic solution) at $p < 0.05$; *, $p < 0.01$; **.

600mg/kgとした。単回投与では投与後24時間まで、また、反復投与では最終投与日の投与後4時間までの血糖値、血糖調節ホルモンの推移ならびに膵臓ランゲルハンス氏島の病理組織学的変化を調べた。

PZFXの血中濃度は、単回投与および反復投与の最終投与日とも投与後2時間に最高濃度を示した。また、単回投与では投与後8時間においてもなお高い血中濃度を維持しており、PZFXの血中濃度はほぼプラトーに達しているものと推察され、動物への被験物質の暴露が充

分高いことが確認された。また、反復投与では、投与2日目から投与終了時まで体重増加抑制が認められ、今回の投与量は毒性発現用量であったと推察される。

このような試験条件下において、単回投与では、血液生化学的検査ならびに病理組織学的検査の全ての検査項目において異常または特異な変化は認められなかった。ただし、投与後24時間に血糖値、インスリンの上昇傾向およびグルカゴンの下降傾向が5%アラビアゴム群も含めた全群で認められたが、投与後24時間検査用動物のみ投与後2時間より給餌した(21時に再絶食)ことに起因した変化と考えられた。反復投与においては、血糖値、グルカゴンおよび甲状腺ホルモンの T_3 、 T_4 に5%アラビアゴム群と比較して差は認められなかった。インスリンにおいては、最終投与後2および4時間後に増加傾向が認められたが有意差のないものであった。この原因については不明であるが、個体毎のバラツキが大きく、最終投与後2時間で1/6例、4時間で2/6例に高い値を示す動物が存在したためと思われる。しかし、高いインスリン値を示した動物の血糖値は正常範囲内であり、ニューキノロン系合成抗菌薬の低血糖発現機序として示

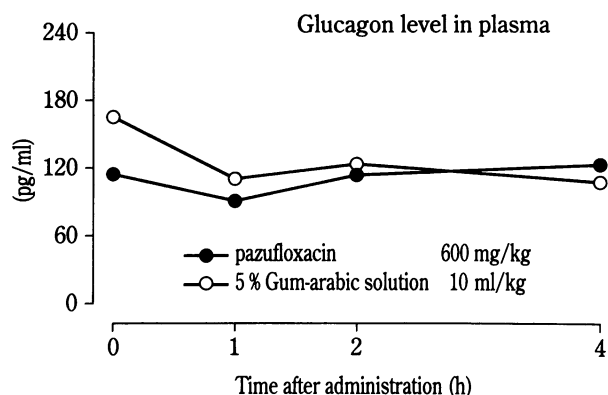
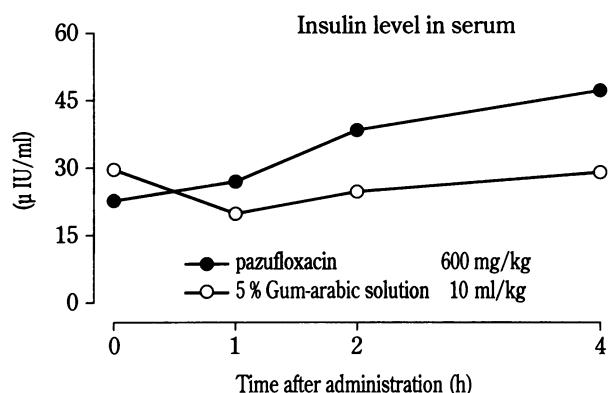
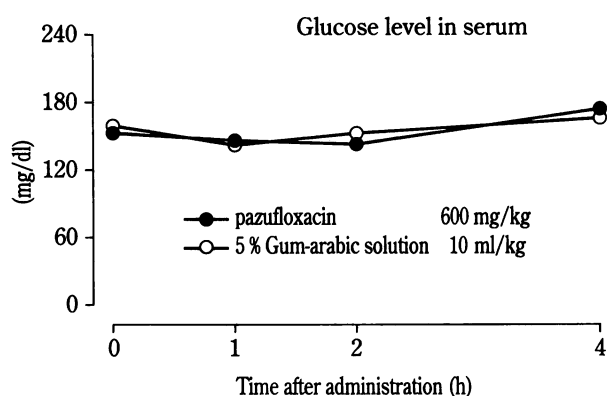


Fig. 11. Effect of repeated administration of pazufloxacin on glucose, insulin and glucagon levels in serum or plasma of rats.

Each point indicates the mean of 6 rats.

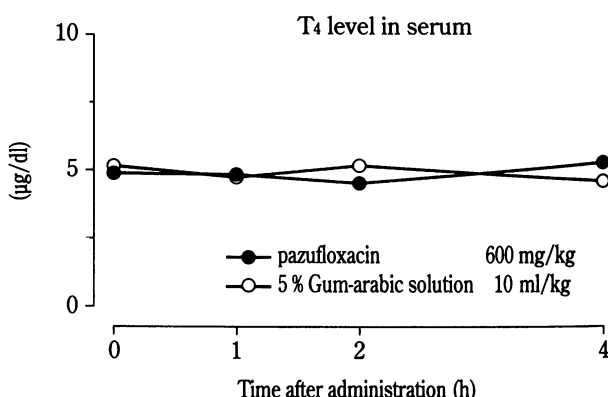
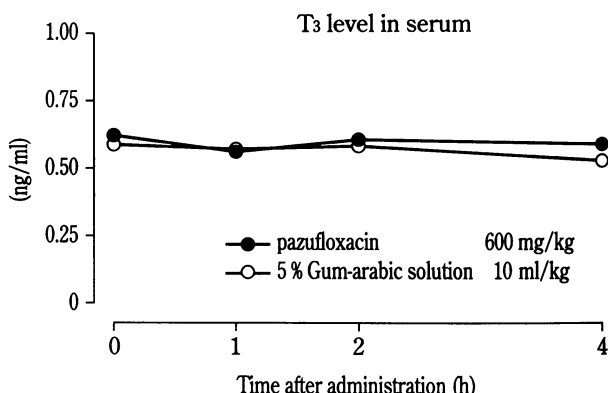


Fig. 12. Effect of repeated administration of pazufloxacin on triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4) levels in serum of rats.

Each point indicates the mean of 6 rats.

唆されているインスリンの過剰分泌に伴う血糖値の減少¹⁾とは一致せず、また、膵臓ランゲルハンス氏島の病理組織学的検査においても何ら変化は認められなかったことより、薬剤に起因した変化ではないと推察された。なお、PZFX のこれまでの毒性試験において血糖値が増加している場合もあり²⁾、生体のホメオスタシスによるインスリンの増加の可能性も考えられる。反復投与においては総コレステロールおよび中性脂肪等、血清脂質の増加が認められたが、同様の変化は既報告²⁾および他種ニューキノロン系合成抗菌薬^{6, 7)}においても認められており、PZFX の抗菌活性により腸内細菌叢に変動が起きたための二次的变化であろうと考えられた^{8, 9)}。

以上、今回の試験結果ならびに PZFX の他の毒性試験結果²⁾を考慮すれば、PZFX が血糖値ならびに血糖値に影響を及ぼす諸因子に損傷を与える可能性はないと判断された。

文 献

- 1) 厚生省薬務局：月間薬事，34(13): 218～219, 1992
- 2) 富山化学工業(株)総合研究所 社内資料
- 3) 井村裕夫，他：内分泌動物実験法。講談社サイエンスティフィク：46～52, 1982
- 4) 岡 博：生化学実験講座 16 ホルモン下，東京化学同人：631～643, 1977
- 5) 石川榮治，他：酵素免疫測定法 第3版。医学書院，282～288, 1987
- 6) 仙田博美，他：Chemotherapy 19(5): 404～421, 1971
- 7) 奈良間 功，他：Chemotherapy 19(S-4): 407～439, 1980
- 8) Selwyn A: J Lab & Clin Med. 55(1): 55～59 1960
- 9) Eyssen H: Life Sciences 7(1): 1155～1162, 1968

Effect of pazufloxacin on blood glucose levels in rats

Kazuyuki Kimura, Masakazu Iwai, Masahiro Taguchi, Hitofumi Hayashi, Shuichi Hanada,
Hiroshi Koshiba and Yoshiyasu Kawabata

Safety Evaluation Laboratory, The Green Cross Corporation

Seiji Hori[#] and Jingoro Shimada

Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine

(*Present: Department of Pharmacology, Jikei University School of Medicine)

The effect of pazufloxacin (PZFX), a synthetic new quinolone antimicrobial agent, on blood glucose levels and several factors affected to them was evaluated in rats using single or 28-days repeated administration. The following results were obtained;

1. In preliminary assessment of the evaluation model in rats, the assay system for blood glucose-regulating factors (insulin, etc.) was judged as reliable, since it produced results in an oral glucose loading test consistent with those reported elsewhere. It was found possible to narrow down diurnal variations by introducing fasting from 21:00 of the previous day. Human test kits used for the measurement of insulin and thyroid hormones were usable for the measurement of these parameters in the blood of rats.

2. In the single administration test, PZFX was found to reach saturation in the blood at a dose of 1200 mg/kg, which corresponded to 100 times the proposed clinical dose. However, no abnormal or specific changes were noted in any biochemical parameters (such as blood glucose, insulin, glucagon and thyroid hormones etc.) or in histopathological examination of the pancreas (islets of Langerhans).

3. In the repeated administration test, a dose of 600 mg/kg (approximately 50 times the proposed clinical dose) repeated once daily for 28 days inhibited body weight gain from the second day until the end of administration. This dose was thus estimated to be high enough to induce toxicity.

4. In the repeated administration test, insulin level tended to increase on the final day of administration. Blood glucose level underwent no change. This seemed to be a phenomenon not associated with the drug. No abnormal or specific changes were detected in other biochemical parameters or in histopathological examination of the pancreas (islets of Langerhans).

The present test results combined with results of earlier toxicity tests suggest that it is unlikely that PZFX exerts the effect on blood glucose levels and blood glucose-regulating factors.