

【原著・基礎】

Telithromycin の遺伝毒性, 抗原性, 腎毒性および聴覚器毒性試験

重栖 幹夫¹⁾・de Jouffrey S²⁾・Delbac C²⁾・和泉 博之³⁾・大森 正士³⁾・Stepniewski J P⁴⁾
Catez D⁴⁾・Thien-Aubert H⁴⁾・Vidal J M⁴⁾・Bode G⁴⁾

¹⁾アベンティスファーマ株式会社研究開発本部開発研究所安全性研究室*

²⁾Centre International de Toxicologie (C. I. T.), France

³⁾株式会社新日本科学

⁴⁾Toxicology/Pathology, Lead Optimization, Drug Innovation & Approval Division,
Aventis Pharma, France

Telithromycin (TEL) の遺伝毒性および抗原性試験, さらに特殊臓器毒性試験として腎毒性および聴覚器毒性試験を実施した。TEL の遺伝毒性試験として, S9 mix 非存在下および存在下におけるネズミチフス菌 (TA 1535, TA 1537, TA 98 および TA 100) および大腸菌 (WP 2 uvrA) を用いた復帰突然変異試験, マウスリンフォーマ (L 5178 YTK^{+/+}) を用いた遺伝子突然変異試験およびヒトリンパ球を用いた染色体異常試験を行ったが, いずれの条件でも突然変異活性を示さず, 染色体異常誘発性も示さなかった。また, *in vivo* 試験としてマウスにおける小核試験を行ったが, 骨髄細胞の染色体または有糸分裂細胞への傷害は認められなかった。TEL の抗原性についてモルモットにおける能動全身性および受身皮膚アナフィラキシー反応試験, およびマウス IgE 産生試験を実施したが, いずれの試験においてもまったく陽性反応はみられず, TEL に対する IgE 抗体産生も認められなかった。腎機能に対する影響を調べるために, 正常ラットあるいは glycerol および furosemide 投与により誘発される腎障害モデルラットに対する単回経口投与の影響を cephaloridine (CER) の静注群と比較検討した。CER 群では明らかな腎障害 (近位尿細管の壊死, 上皮細胞空胞化, 尿細管の拡張) の惹起および増強作用が認められた。TEL 群では, 正常ラットおよび腎障害ラットにおいて尿検査または血液生化学的検査のいくつかの項目に軽度の変化が認められたが, 腎臓の病理組織学的検査では, 対照群にもみられるごく軽度の変化であった。また, 正常ウサギおよび制限給水ウサギに単回経口投与した場合, いずれも腎機能への影響は認められなかった。聴覚器毒性を調べるためにラットに 4 週間経口投与し, 脳幹誘発反応オーディオメータによる聴覚閾値検査および内耳の病理組織学的検査を行い, kanamycin (KM; i. m.) と比較した。KM 群では内耳機能障害を示唆する聴覚閾値の上昇および腎尿細管上皮細胞の変性または壊死が誘発されたが, TEL 群では聴覚閾値の変動あるいは内耳の病理学的変化は認められず, 聴覚器への影響は認められなかった。

Key words: telithromycin, genotoxicity, antigenicity, renal toxicity, ototoxicity

Telithromycin (TEL) の遺伝毒性について細菌を用いた復帰突然変異試験, マウスリンフォーマを用いた遺伝子突然変異試験, ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験およびマウスを用いた小核試験を行い, 抗原性試験として能動全身性・受身皮膚アナフィラキシー試験およびマウス IgE 産生試験を行い, また, 特殊臓器毒性試験として腎障害ラットモデルおよびウサギを用いた腎毒性試験, およびラットを用いた聴覚器毒性試験を行ったので報告する。

I. 材料と方法

1. 被験物質

本試験で使用した TEL (化学名: (+)-(3aS, 4R, 7R, 9R, 10R, 11R, 13R, 15R, 15aR)-4-ethyloctahydro-11-methoxy-3a, 7, 9, 11, 13, 15-hexamethyl-1-[4-

[4-(3-pyridyl)imidazol-1-yl]butyl]-10-[3, 4, 6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-xylo-hexopyranosyl]oxy]-2H-oxacyclotetradecino[4, 3-d]oxazole-2, 6, 8, 14(1H, 7H, 9H)-tetrone) は, フランス, アベンティスファーマ社で開発された経口抗生物質である。

2. 実験方法

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

試験に使用した *Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98 および TA 100^{1,2)} は, B. N. Ames' Laboratory より, *Escherichia coli* WP 2 uvrAS³⁾ は, Venitt's Laboratory より分与されたものである。試験は, Molttox (Molecular Toxicology, INC) より購入した S9 mix および Aroclor 1254 500 mg/kg を腹腔内投与したラッ

*埼玉県川越市南台 1-3-2

トの肝臓から調製した S9 mix の存在下および非存在下で実施した。予備毒性試験により濃度段階を設定した後、2 回の独立した実験を行った。予備毒性試験, S9 mix 非存在下における 2 回の実験および購入 S9 mix 存在下における最初の実験は直接プレート法で、自社調製 S9 mix 存在下における 2 回目の実験はプレインキュベーション法 (37°C, 60 分間) で実施した⁴⁾。各種濃度の被験薬または対照薬で暴露したプレート (1 濃度に付き 3 枚) を 37°C で 48~72 時間培養した後、自動計測器 (Artek counter, Model 880, O. S. I.) で復帰変異コロニー数を計測した。被験薬および陽性対照薬は、DMSO に溶解して用いた。陽性対照薬として、NaN₃ (Sigma), 9-aminoacridine (9 AA, Aldrich), 2-nitrofluorene (2 NF, Janssen), N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG, Sigma) および 2-aminoanthracene (2 AM, Sigma) を使用した。予備毒性試験の結果を参考に、第 1 回目の実験は、

- ・ S9 mix 非存在下の TA 1535 と購入 S9 mix 存在下および非存在下の TA 100 菌株: 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$
 - ・ 購入 S9 mix 存在下の TA 1535 菌株: 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$
 - ・ S9 mix 非存在下の TA 1537 と TA 98 菌株: 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$
 - ・ 購入 S9 mix 存在下の TA 1537 および TA 98, 購入 S9 mix 存在下および非存在下の WP 2 uvrA 菌株: 0.3, 1.0, 3.0, 10, 30 $\mu\text{g}/\text{plate}$
- 第 2 回目の実験は、
- ・ S9 mix 非存在下の 4 種の TA 菌株と自社調製 S9 mix 存在下の TA 100 菌株: 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$
 - ・ 自社調製 S9 mix 存在下の TA 1537, TA 1535 および TA 98 菌株: 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$
 - ・ 自社調製 S9 mix 存在下および非存在下の WP 2 uvrA 菌株: 1.0, 3.0, 10, 30, 100 $\mu\text{g}/\text{plate}$
- 陽性対照薬の用量は、

S9 mix 非存在下: NaN₃; 1.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$ (TA 1535 および TA 100 菌株), 9 AA; 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ (TA 1537 菌株), 2 NF; 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ (TA 98 菌株), ENNG; 2.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$ (WP 2 uvrA 菌株)

自社調製 S9 mix 存在下: 2 AM; 2.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$ (4 種の TA 菌株), 2 AM; 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$ (WP 2 uvrA 菌株)

評価の判定基準は、復帰変異コロニー数について各濃度 3 枚のプレートの平均値が陰性対照群 (溶媒) の 2 倍以上で、かつ用量依存性が認められるとき、陽性と判定した。

また、本試験の許容基準は、溶媒対照群の復帰変異コロニー数が実施施設の背景データの範囲内であり、かつ、陽性対照群の復帰変異コロニー数が溶媒対照群のそれよ

り大きく、実施施設の背景データの範囲内であることを条件とした。

2) マウスリンフォーマを用いた遺伝子突然変異試験

本試験は、L 5178 Y TK^{+/+} マウスリンフォーマ細胞のチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子座における遺伝子突然変異を指標とするもので、この細胞は ATCC を介して Dr. Oudelkhim-Diot より分与されたものである。L 5178 Y 細胞は、*in vitro* 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験法の国際規約で推奨されている細胞株である⁴⁾。

予備毒性試験を行った後、Aroclor 1254 で誘導したラットの肝臓ミクロゾーム分画 (S9 分画) から調製した代謝活性化系 (自社調製 S9 mix) の存在下および非存在下で、2 回の独立した実験によって実施した。5% ウマ血清を含む培養液 20 mL に約 0.5×10^6 cells/mL を 37°C で 3 時間、自社調製 S9 mix (最終濃度: 2%) の存在下および非存在下で被験薬または陽性対照薬に暴露した。

細胞毒性は、1.6 cells/well (one 96-well plate/culture = two pate/dose level) を 37°C で 12 ± 1 日培養し、直後のコロニー形成率 (CE₀) を測定することにより判定した。突然変異の発現は、 2×10^5 cells/mL を 37°C で再培養し、1 日後 2×10^5 cells/mL を別のプレートに移植し、1.6 cells/well (one 96-well plate/culture = two pate/dose level) を 37°C で 12 ± 1 日培養し、発現期間終了後の細胞生存率 (CE₂) を測定した。また、突然変異頻度 (CE_{mutant}) は、TFT^R (trifluorothymidine resistant) を選別するために 2,000 cells/well (two 96-well plate/culture = four pate/dose level) を 4 μg TFT/mL 含有培地で 37°C, 12 ± 1 日培養し、クローン数を測定することにより判定した。コロニーサイズの計測は突然変異クローンを記録する際に行った。

TEL は DMSO に溶解し、陽性対照薬の methylmethane sulfonate (MMS, Sigma) および cyclophosphamide (CPA, Laboratoire Sarget) は蒸留水に溶解して実験に供した。

2 回の本試験の用量段階は、予備毒性試験の結果を参考に以下の通りとした。

- ・ 1 回目の S9 mix 非存在下の実験: 15.625, 31.25, 62.5, 125, 250 および 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$
- ・ 2 回目の S9 mix 非存在下の実験: 31.25, 62.5, 125, 250, 500 および 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$
- ・ 1 回目の自社調製 S9 mix 存在下の実験: 62.5, 125, 250, 500, 1,000 および 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$
- ・ 2 回目の自社調製 S9 mix 存在下の実験: 125, 250, 500, 1,000 および 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$

なお、陽性対照薬の用量は、MMS: 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CPA: 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。

本試験の許容基準は、溶媒対照群の CE₀ が 0.6~1.4

の間、CE₂が0.7~1.3の間、突然変異頻度(MF)が60~200×10⁻⁶であり、かつ、陽性対照群のMFが溶媒対照群のMFより大きく、実施施設の背景データの範囲内であることを条件とした。

3) ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

ヒトリンパ球は2人の健常人から採取したヘパリン加血液から調製して実験に供した。

ヒトリンパ球は哺乳類染色体異常試験の国際規約で推奨されている一次細胞培養系^{5,6)}で、46染色体の安定な核型をもち、平均12~14時間の細胞周期を有している。0.5 mLのヘパリン加血液を20%ウシ胎児血清、L-glutamine (2 mm), penicillin (100 U/mL), streptomycin (100 μg/mL) および3.6% PHA (リンパ球分裂促進因子)を含むRPMI 1640培地に添加し、37℃、5% CO₂/95% 空気の加湿下状態で48時間培養した。

予備細胞毒性試験は行わず、用量段階はpH、浸透圧および溶解性にもとづいて設定した。1回目の細胞遺伝学的実験は広範囲の濃度段階で実施し、染色体異常を評価するための用量段階は有糸分裂指数(MI)を指標とした細胞毒性にもとづいて選択した。

TELはDMSOに溶解し、陽性対照薬のmitomycin C (MMC, Sigma) および cyclophosphamide (CPA, Laboratoire Sarget) は蒸留水に溶解して実験に供した。

1回目の細胞遺伝学的実験: リンパ球培養は自社調製S9 mixの存在下または非存在下でTELまたは陽性対照薬に3時間暴露した後、洗浄した。細胞は1.5回の正常細胞周期に相当する処理開始20時間後に採取した。採取の1.5時間前に各培養を10 μg/mL colcemidで細胞分裂を分裂中期で停止させた。

・処理: 自社調製S9 mixの存在下および非存在下で5.86, 11.718, 23.473, 46.875, 93.75, 187.5, 375 および750 μg/mL

・染色体異常の評価: S9 mixの非存在下で93.75, 187.5, 375 μg/mL, 自社調製S9 mixの存在下で46.875, 93.75, 187.5 μg/mL

2回目の細胞遺伝学的実験: S9 mixの非存在下では、細胞をTELまたは陽性対照薬に連続暴露し、自社調製S9 mixの存在下では、TELまたは陽性対照薬に3時間暴露した後、洗浄した。細胞は1.5回の正常細胞周期およびその24時間後に相当する処理開始20時間後および44時間後に採取した。採取の1.5時間前に各培養を10 μg/mL colcemidで細胞分裂を分裂中期で停止させた。

両実験では、低張液処理(0.075 M KCl)に続いて細胞をメタノール/酢酸混液(3/1, v/v)で固定し、スライドグラスに塗抹した後、ギムザで染色した。スライドはすべてコード化して評価した。

・処理: S9 mixの非存在下の両採取時間で、50, 100, 125, 150, 175, 200 および250 μg/mL, 自社調製

S9 mixの存在下の両採取時間で、50, 100, 200, 350, 500 および650 μg/mL

・染色体異常の評価: S9 mixの非存在下20時間目の採取で50, 100 および175 μg/mL, 自社調製S9 mixの存在下20時間目の採取で100, 200 および350 μg/mL, S9 mixの非存在下44時間目の採取で250 μg/mL, 自社調製S9 mixの存在下44時間目の採取で650 μg/mL

陽性対照薬の濃度は、MMC: 3 μg/mL (3時間処理), 0.2 μg/mL (連続処理) およびCPA: 50 μg/mLとした。

本試験の許容基準は、溶媒対照群の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度が実施施設の背景データの範囲内であり、かつ、陽性対照群の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度が溶媒対照群のそれより大きく、実施施設の背景データの範囲内であることを条件とした。

統計処理は、染色体異常細胞の出現頻度(ギャップを含まない)についてχ²検定を行った。

4) マウスを用いた小核試験^{7,8)}

雌雄のSwiss OF 1/ICO: OF 1 マウス (IOPS Caw, Iffa Crédo) を7週齢で搬入し、少なくとも5日間の検疫馴化期間をおいて実験に使用した。マウスは、室温21±2℃、湿度50±20%、陽圧下換気(≥12回/時間)、12時間照明(7 a.m.~7 p.m.)に設定した飼育室で滅菌木屑(SICSA)を入れたポリカーボネートケージに6例づつ群飼いし、飼料はげっ歯類用標準ペレット(U.A. R.A 04 C-10)を、水は0.22 μm膜(Millipore)で濾過し蒸留した水を給水ビンよりいずれも自由摂取させた。

雌雄各5例を1群とし、TELの投与量は予備毒性試験を参考に0, 250, 500 および1,000 mg/kgとし、0.5%メチルセルロース液に懸濁して経口投与した。陰性対照群には0.5%メチルセルロース液を、陽性対照群にはcyclophosphamide (CPA, Laboratoire Sarget) を蒸留水に溶解して経口投与した。各群のマウスは投与後24時間目に、1,000 mg/kg群はさらに48時間目に安楽死させ、骨髄標本を作成した。各動物について、2,000個の多染性赤血球(PE)中の小核を有する多染性赤血球(MPE)の数を計測した。合計1,000個の赤血球(PE+NE(正染性赤血球))をもとにPE/NE比を算出し、評価した。

本試験の許容基準は、溶媒対照群のMPEの出現頻度が施設の背景データの範囲内であり、かつ、陽性対照群のMPEの出現頻度がそれぞれ対応する対照群のそれより有意に高いことを条件とした。

統計処理は、MPEについてはχ²検定、PE/NE比についてはStudentのt-検定⁹⁾を行った。

5) モルモット能動全身性および受身皮膚アナフィラキシー反応試験

雄性のハートレー系モルモット(日本チャールスリバー)を4週齢で搬入し、1週間の検疫馴化期間をおき、

感作および能動全身性アナフィラキシー反応 (ASA 反応) に使用するモルモットの投与開始時の週齢は 5 週齢 (体重: 324~425 g), 受身皮膚アナフィラキシー反応 (PCA 反応) に使用するレシピエントモルモットの週齢は 6 週齢 (体重: 339~404 g) とした。

モルモットは, 室温 20~24°C, 湿度 50~74%, 12 時間照明 (7 a.m.~7 p.m.) に設定した飼育室で金属性ブラケットケージに 2~3 例ずつ群飼いし, 飼料はラボ G スタンダード (日本農産) を, 上水道水を給水ビンよりいづれも自由摂取させた。

TEL の投与量および群構成を Table 1 に示した。

感作抗原液の TEL は, 0.5% メチルセルロース (MC, ナカライテスク) で 0.05 および 0.2% 懸濁液として経口投与し, 3.2% の同懸濁液を等量の Freund's Complete Adjuvant (FCA, Difco) または Freund's Incomplete Adjuvant (FIA, Difco) と混合乳化して皮下投与した。陽性対照薬の Ovalbumin (OVA, Sigma) は生理食塩液で 0.4% 液とし, 等量の FCA または FIA と混合乳化し, 陰性対照薬の MC は生理食塩液 0.5% 液とし, 等量の FCA または FIA と混合乳化し, それぞれ皮下投与した。ASA および PCA 反応惹起抗原液の TEL は, 0.1 N HCL に溶解した後, 生理食塩液で 1% 液とし, OVA も生理食塩液で 1% 液とし, それぞれ 0.22 μ m のミリポアフィルターで濾過滅菌して用いた。

TEL の感作は, 1 日 1 回, 21 日間経口投与または, 1 週間に 1 回の頻度で 3 回背部皮下 2 か所に分割投与した。OVA および 0.5% MC の感作は, 1 週間に 1 回の頻度で 3 回背部皮下 2 か所に分割投与した。

ASA 反応は, 最終感作終了 14 日後に惹起抗原 5 mg/body を静脈内投与し, 投与直後より 15 分間, その後 30 および 60 分後に症状を観察した。PCA 反応の感作血清は, 最終感作終了 11 日後にエーテル麻酔下で心臓より採取した血液約 2 mL より分離した。感作血清の最低希釈倍率は 4 倍, 最高希釈倍率は 16,384 倍とした。被動

感作は, PCA 反応前日に背部被毛を刈ったレシピエント動物に各希釈血清 0.1 mL/site をそれぞれ 2 例に皮内注射し, 4 時間後に惹起抗原を静注して PCA 反応を惹起した。TEL 抗原液は, エバンスブルー (Merck) 溶液と混合すると沈殿を生じるので, 2% エバンスブルー生理食塩液 0.25 mL を静注後ただちに TEL 抗原液 0.5 mL を静注した。OVA による惹起は OVA 抗原液 0.5 mL と 2% エバンスブルー生理食塩液 0.25 mL の混合液を静注した。惹起抗原投与 30 分後, 動物をエーテル麻酔下に放血安楽死させ, 背部皮膚を剥離し, 漏出色素斑の長径と短径を測定した。平均直径が 5 mm 以上の場合を PCA 反応陽性とした。

6) マウス IgE 産生試験

能動感作用のマウスとして, 9 週齢の雄性 BALB/cAnNCrj (日本チャールスリバー) を, 受身感作用のラットとして, 11 週齢の雄性 SD 系 (日本チャールスリバー) を搬入し, 1 週間の検疫馴化期間において実験に供した。動物は, 室温 22 \pm 2°C, 湿度 50 \pm 10%, 陽圧下換気 (\geq 5 回/時間), 12 時間照明 (6 a.m.~6 p.m.) に設定した飼育室でステンレス製サスペンド式ケージ (32.5 \times 19.5 \times 18 cm) を用い, マウスは 1~3 例/ケージ, ラットは個別飼育した。飼料は固形飼料 CE-2 (日本クレア) を, 水は水道法水質基準に適合した水を給水ビンよりいづれも自由摂取させた。

TEL の投与量および群構成を Table 2 に示した。

能動感作は, TEL を 0.5% メチルセルロース (MC, 信越化学) に懸濁し, 各群 5 例のマウスに週 5 回, 3 週間 (計 15 回) 経口投与し, 陰性対照薬として 0.5% MC も同様に投与した。また, 被験薬の 2 および 10 mg/mL 懸濁液に等量の 3% 水酸化アルミニウム (Al(OH)₃, 和光純薬) を加えた懸濁液を調製し, 各群 5 例のマウスに週 1 回, 3 週間 (計 3 回) 腹腔内投与した。陽性対照薬として 0.08 mg/mL 卵白アルブミン (OVA, 和光純薬) の生理食塩液に等量の 3% Al(OH)₃ を加えた懸濁

Table 1. Group-organization of the study and dose of telithromycin

Antigen	Sensitization							Challenge		
	no. of animal	dose (mg/kg)	adjuvant	route	concentration (%)	volume (mL/kg)	dosing times	antigen	No. of animal	dose (mg/kg)
TEL	5	1	none	P. O.	0.05	2	21	TEL	5	5
	5	4	none	P. O.	0.2	2	21		5	5
	5	16	FCA/FIA	S. C.	1.6*	1*	3		5	5
OVA	5	2	FCA/FIA	S. C.	0.2*	1*	3	OVA	5	5
0.5% MC	6	—	FCA/FIA	S. C.	—	1*	3	TEL	3	5
								OVA	3	5

FCA: Freund's complete adjuvant (used at first sensitization)

FIA: Freund's incomplete adjuvant (used at 2 nd and 3 rd sensitization)

*Same volume mixtures with adjuvant

TEL: telithromycin

Table 2. Group-organization of the study and dose of telithromycin

Sensitization						Challenge			
Antigen	no. of animal	dose (mg/kg)	concentration (%)	route	Al(OH) ₃	antigen	no. of animal	dose (mg/body)	route
TEL	5	10	1	P. O.	-	TEL	5	5	I. V.
	5	50	5	P. O.	-		5	5	I. V.
	5	10	1	I. P.	+		5	5	I. V.
	5	50	5	I. P.	+		5	5	I. V.
0.5% MC	5	0	0	P. O.	-	TEL	5	5	I. V.
OVA	5	0.4	0.04	I. P.	+	OVA	5	4	I. V.

TEL: telithromycin

液を調製し, 同様に 5 例のマウスに週 1 回, 3 週間 (計 3 回) 腹腔内投与した。

受身感作は, 最終能動感作 7 日後に各群のマウスから採血し, 血清を分離した。TEL および 0.5% MC 群の血清は 2~64 倍まで, OVA 群の血清は 32~1,024 倍まで生理食塩液で希釈し (公比 2), それぞれ 2 例の受身感作用ラットの背部皮内 6 か所 (前日に剃毛) に 0.05 mL づつ皮内投与した。受身感作 48 時間後に惹起抗原液 1 mL と 1% エバンスブルー水溶液 1 mL の混合液を静注し, 惹起投与 30 分後に放血致死させ, 背部皮膚を剥離した。皮膚裏面の色素斑の径を計測し, 5 mm 以上を陽性反応として評価した。

7) 腎障害ラットモデルを用いた腎毒性試験

6 週齢の雌雄 Wistar 系ラット (日本エスエルシー) を搬入し, 1 週間の検疫馴化期間において実験に供した。動物は, 室温 22±2°C, 湿度 50±10%, 陽圧下換気 (≥15 回/時間), 12 時間照明 (6 a.m.~6 p.m.) に設定した飼育室でステンレス製サスペンド式ケージ (32.5×19.5×18 cm) を用い, 個別飼育した。飼料は固形飼料 CE-2 (日本クレア) を不断給餌し, 水は水道法水質基準に適合した水を自動給水装置より自由摂取させた。

1 群雌雄各 6 例のラットに Glycerol (G, 試薬特級グリセリン, 関東化学) 1 mL/kg および Furosemide (F, ラシックス® 100 mg/kg 注, ヘキスト・マリオン・ルセル) 50 mg/kg をそれぞれ単回皮下注射により腎障害を誘発し¹⁰⁾, 0.5% メチルセルロース (MC, 信越化学) に懸濁した TEL 400 および 800 mg/kg 単回経口投与による影響を調べた。陽性対照群には, cephaloridine (CER, ケフロジン® 1 g 力価, 塩野義製薬) 1,000 mg/kg を単回静脈注射し, 陰性対照群には, 0.5% メチルセルロースを単回経口投与した。また, TEL 投与群では, 血中濃度測定用に 1 群雌雄各 15 例のサテライト群を設けた。

観察項目は, 一般状態, 摂水量および体重の他に腎毒性の評価として, 尿検査 (尿量, pH, 蛋白, 糖, ケトン体, 潜血, 比重, 浸透圧, ALP, LDH, LAP, γ -GTP, クレアチニン, NAG, 総蛋白, Na, K, Cl および尿沈

渣), 血液生化学的検査 (ASAT, ALAT, ALP, LDH, LAP, γ -GTP, 総ビリルビン, 総蛋白, 総コレステロール, トリグリセリド, 糖, BUN, クレアチニン, NAG, Na, K および Cl), 剖検, 病理組織学的検査 (左右腎臓および剖検で異常の認められた臓器) および電子顕微鏡検査 (左腎の皮質および髓質) を行った。尿検査は, 全例を代謝ケージに入れ, 投与前 24 時間, 投与直後から 24 時間, 24~48 時間の蓄尿について, 血液生化学的検査は投与 48 時間後の剖検前に採血し, 血清を分離して実施した。

また, 血中濃度の測定は, 採取した血清を凍結し, フランスのヘキスト・マリオン・ルセル (現: アベンティスファーマ) 研究所に送付し, HPLC および蛍光検出法で測定した。

8) ウサギを用いた腎毒性試験

7 週齢のニュージーランドホワイト系 SPF 雌ウサギ (INRA No. 1077, Elevage Scientifique des Dombes) を搬入し, 20 日間の馴化期間において使用した。動物は, 馴化期間を通じて室温 19±3°C, 湿度 30~70%, 陽圧下換気 (≥13 回/時間), 12 時間照明に設定した飼育室で, ステンレス製ケージ (60×50×40 cm) を用い, 実験期間中は代謝ケージ内で個別飼育した。飼料はウサギ用固形飼料 (UAR, 112 C) を, 水は水道水をいずれも自由摂取させた。

雌 3 例からなる 4 群に TEL 0, 100, 200 および 400 mg/kg を 0.5% メチルセルロースに懸濁して単回経口投与した。第 5 群は, 実験の 4 日前から実験期間中に制限給水 (50 mL/24 h) を行った後, TEL 400 mg/kg を単回経口投与した。血液学的検査 (RBC, Hb, PCV) および血液生化学的検査 (K, Na, P, Cl, 糖, ALAT, ASAT, BUN, creatinine および総蛋白) を試験の -1, 2 および 3 日目に, 尿の定性的検査 (尿量, pH, 浸透圧) および生化学的検査 (K, Na, P, Cl, 糖, NAG, γ -GT, LAP, 総蛋白およびクレアチニンクリアランスの算出) を試験の 1, 2 および 3 日目に実施した。3 日目に動物を安楽死させ, 詳細な剖検検査を行った後,

肝臓および腎臓の重量を測定し、病理組織学的検査を行った。

統計処理は、定量値について Bartlett 法¹¹⁾により等分散性の検定を行い、等分散の場合は Dunnett 法¹²⁾により多重比較検定を、等分散性が認められなかった場合は Cochran and Cox の改良型 t-検定¹³⁾を行った。

9) ラットを用いた聴覚器毒性試験

5週齢の雌雄 SD 系ラット (Harlan) を搬入し、6日間の検疫馴化期間において実験に供した。動物は、室温 $21 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 20\%$ 、陽圧下換気 (≥ 12 回/時間)、12時間照明 (7 a.m.~7 p.m.) に設定した飼育室でサスペンド式金網ケージ (43.0×21.5×18.0 cm) を用い、1ケージに2例入れて飼育した。飼料は固形飼料 A 04 C (UAR) を、水は 0.22 ミクロンのフィルターで濾過した水を給水ビンよりいずれも自由摂取させた。

1群雌雄各10例のラット4群(あらかじめ、耳鏡検査で外耳に異常のない動物を選別)を用い、溶媒対照群(0.5%メチルセルロース)および TEL 50, 150 mg/kg を0.5%メチルセルロースに懸濁して4週間経口投与した。陽性対照群には kanamycin (KM) 100 mg/kg を同期間筋肉内注射した。

一般的臨床検査として、症状および死亡の有無を1日2回、一般症状を1日1回同時刻に観察した。体重は投与1日目と以降週に2回、摂餌量は、週に2回測定した。また、聴覚閾値を脳幹誘発反応オーディオメータ (CCA Biodigital company, France) を用いて、投与前と4週間投与後に測定した。Isofurane 全身麻酔下に頭部を固定し、誘導電極を前頭頭頂部および両側の耳介後部に装着した。音刺激は、頭部から3cm離してセットしたイヤホンより音刺激装置 (PEA, MIPC Biodigital) より 10 dB 刻みで 80 から 10 dB まで与えた。

4週間投与後に血液検査(赤血球数, Hb, MCV, PCV, MCHC, MCH, 血小板数, 白血球数および白血球分画)および血液生化学的検査 (Na, K, Cl, Ca, P, グルコース, BUN, 総ビリルビン, 総蛋白, アルブミン, A/G 比, コレステロール, トリグリセリド, ALP, ASAT および ALAT) 用に採血を行った後、炭酸ガスで安楽死させ、剖検、臓器重量の測定を行った。病理組織学的検査は、剖検で異常の認められた部位、内耳、肝臓および腎臓について実施した。

II. 結 果

1. 細菌を用いた復帰突然変異試験

1回目および2回目の結果を Table 3 に示した。溶媒対照群の結果は施設の背景データの範囲内であり、陽性対照薬によって誘発された復帰変異コロニー数は、S9 mix 存在下の2回目の実験における TA 1537 および WP 2 uvrA 菌株で得られた例を除いて、いずれも背景データの範囲内であった。しかし、これらの値は、溶媒

対照群の数値より十分に高く、試験系の感受性が証明されており、したがって、本試験は有効であると考えられた。

TEL は、S9 mix 非存在下、4種のネズミチフス菌の試験株において $3 \mu\text{g}/\text{plate}$ 以上で対照群に比べ 20~100% の、大腸菌の試験株では $30 \mu\text{g}/\text{plate}$ 以上で 25~84% の復帰変異コロニー数の減少がみられ、毒性を示した。S9 mix 存在下では、いずれの菌株においても $3 \mu\text{g}/\text{plate}$ 以上で 22~76% の復帰変異コロニー数の減少がみられ、特に TA 98 および TA 1537 では $30 \mu\text{g}/\text{plate}$ で 100% の減少がみられ、毒性を示した。

TEL は、S9 mix 存在下および非存在下ともに5種のいずれの菌株においても復帰変異コロニー数の有意な増加を示さなかった。

2. マウスリンフォーマを用いた遺伝子突然変異試験

1回目および2回目の結果を Table 4 に示した。溶媒対照群および陽性対照薬群の CE_0 , CE_2 および突然変異頻度 (MF) は、許容基準を満たしており、本試験系の有効性が確認された。

TEL は毒性を示すことから、最高用量は国際規制で示された判定基準にしたがい毒性の程度にもとづいて設定した。S9 mix 非存在下では、中程度ないしきわめて著明な細胞毒性が $62.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で認められ、 RCE_0 は用量に応じて 74~3% と低下した。低用量では有意な細胞毒性は認められなかった。S9 mix 存在下では、細胞毒性は S9 mix 非存在下より著明でなく、 RCE_0 は $250 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で用量に応じて 26~94% に低下した。

TEL は、S9 mix 存在下および非存在下ともに突然変異頻度の有意な増加を誘発しなかった。

3. ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

1回目および2回目の結果を Table 5 に示した。溶媒対照群および陽性対照薬群の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は、許容基準を満たしており、本試験系の有効性が確認された。

TEL は溶媒の DMSO 中で $165 \mu\text{g}/\text{mL}$ まで溶解したが、最高濃度 $750 \mu\text{g}/\text{mL}$ の培地中でわずかに沈殿物が認められた。したがって、1回目の実験で処理する最高濃度の選択では、培地中の被験薬の溶解性により制限を受けた。

1回目の実験では、S9 mix 存在下における用量段階の $187.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で著明な有糸分裂指数 (MI) の低下がみられ、S9 mix 非存在下では $46.875 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上 (ただし $93.75 \mu\text{g}/\text{mL}$ を除く) で軽度ないし著明な有糸分裂指数 (MI) の低下がみられ、細胞毒性が認められた。

したがって、染色体異常の評価では、S9 mix 存在下および非存在下における最高用量として、それぞれ中程度の毒性を示す $375 \mu\text{g}/\text{mL}$ (43% MI の低下) および

Table 3. Bacterial reverse mutation test with telithromycin

Treatments	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Revertants/plate (mean \pm s. d.) n = 3				
		TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP 2 uvrA
first experiment without S 9 mix						
Solvent cont.	0	19 \pm 3	12 \pm 2	29 \pm 8	92 \pm 9	34 \pm 7
TEL	0.01	20 \pm 1			106 \pm 8	
	0.03	18 \pm 3			106 \pm 12	
	0.1	16 \pm 8	6 \pm 1	26 \pm 5	95 \pm 5	
	0.3	20 \pm 3	11 \pm 3	29 \pm 2	85 \pm 9	54 \pm 14
	1.0	16 \pm 3	7 \pm 4	28 \pm 5	77 \pm 9	46 \pm 2
	3.0		11 \pm 1	18 \pm 3		49 \pm 16
	10		0 \pm 0*	6 \pm 1		50 \pm 10
	30					34 \pm 3
NaN ₃	1.0	453 \pm 43			558 \pm 34	
9 AA	50		356 \pm 99			
2 NF	0.5			174 \pm 33		
ENNG	2.0					585 \pm 29
first experiment with S 9 mix						
Solvent cont.	0	17 \pm 1	10 \pm 6	24 \pm 8	81 \pm 8	38 \pm 3
TEL	0.01				86 \pm 6	
	0.03	17 \pm 3			95 \pm 9	
	0.1	17 \pm 5			87 \pm 1	
	0.3	26 \pm 7	12 \pm 4	32 \pm 2	92 \pm 3	41 \pm 7
	1.0	16 \pm 5	9 \pm 3	29 \pm 2	99 \pm 8	50 \pm 10
	3.0	16 \pm 4	7 \pm 3	29 \pm 4		38 \pm 6
	10		10 \pm 1	18 \pm 5		43 \pm 12
	30		0 \pm 0*	0 \pm 0*		46 \pm 12
2 AM	2.0	220 \pm 20	95 \pm 19	702 \pm 54	1,245 \pm 72	
	10					400 \pm 17
second experiment without S 9 mix						
Solvent cont.	0	25 \pm 6	11 \pm 6	39 \pm 3	98 \pm 15	36 \pm 2
TEL	0.03	28 \pm 5	9 \pm 5	29 \pm 5	103 \pm 17	
	0.1	28 \pm 6	16 \pm 3	28 \pm 2	106 \pm 9	
	0.3	24 \pm 4	11 \pm 4	27 \pm 2	102 \pm 13	
	1.0	22 \pm 3	14 \pm 4	31 \pm 0	91 \pm 11	36 \pm 2
	3.0	14 \pm 4	9 \pm 1	29 \pm 6	80 \pm 33	37 \pm 3
	10					28 \pm 8
	30					27 \pm 5
	100					6 \pm 3
NaN ₃	1.0	455 \pm 15			566 \pm 14	
9 AA	50		192 \pm 29			
2 NF	0.5			194 \pm 20		
ENNG	2.0					633 \pm 42
second experiment with S 9 mix						
Solvent Cont	0	18 \pm 9	24 \pm 7	42 \pm 7	116 \pm 9	55 \pm 13
TEL	0.03				111 \pm 1	
	0.1	16 \pm 2	18 \pm 6	40 \pm 5	97 \pm 20	
	0.3	18 \pm 5	12 \pm 1	39 \pm 6	90 \pm 10	
	1.0	16 \pm 4	13 \pm 4	36 \pm 2	87 \pm 9	48 \pm 4
	3.0	14 \pm 2	9 \pm 2	30 \pm 7	82 \pm 7	46 \pm 3
	10	9 \pm 5	8 \pm 2	20 \pm 5		32 \pm 7
	30					25 \pm 5
	100					13 \pm 4
2 AM	2	158 \pm 9	78 \pm 6	709 \pm 91	553 \pm 33	
	10					193 \pm 11

*toxicity

TEL: telithromycin

Table 4. Mammalian cell gene mutation test with telithromycin in L 5178 Y TK^{+/+}

Treatments	Dose ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Cytotoxicity: CE ₀		Viable cells: CE ₂		Mutation frequency	
		CE ₀	RCE ₀	CE ₂	RCE ₂	M. F.	R
first experiment without S 9 mix							
Solvent cont.	0	0.91	100	0.83	100	86	1.0
TEL	15.625	0.87	96	0.91	109	48	0.6
	31.25	0.76	84	0.98	118	80	0.9
	62.5	0.67	74	0.85	103	82	1.0
	125	0.64	71	0.82	99	93	1.1
	250	0.38	42	0.87	105	65	0.8
	500	0.24	26	0.87	105	96	1.1
MMS	25	0.91	100	0.48	58	476	5.5
first experiment with S 9 mix							
Solvent cont.	0	0.80	100	0.74	100	95	1.0
TEL	62.5	0.76	94	0.76	103	67	0.7
	125	0.71	88	0.68	92	90	1.0
	250	0.56	70	0.80	109	68	0.7
	500	0.21	26	0.88	119	43	0.5
	1,000	0.11	14	0.60	81	71	0.7
	2,000	0.09	11	0.02	3	66	0.7
CPA	3	0.65	81	0.51	69	607	6.4
second experiment without S 9 mix							
Solvent cont.	0	0.91	100	0.77	100	93	1.0
TEL	31.25	0.77	85	0.79	103	46	0.5
	62.5	0.94	103	0.74	96	75	0.8
	125	0.67	74	0.73	94	54	0.6
	250	0.45	50	0.58	75	75	0.8
	500	0.16	17	0.68	88	48	0.5
	750	0.02	3	0.15	19	72	0.8
MMS	25	0.78	86	0.37	47	672	7.3
second experiment with S 9 mix							
Solvent cont.	0	0.60	100	0.72	100	132	1.0
TEL	125	0.56	92	0.58	81	168	1.3
	250	0.45	74	0.68	94	125	1.0
	500	0.15	26	0.58	81	90	0.7
	1,000	0.03	6	0.33	46	110	0.8
	2,000	0.07	12	0.01	2	0	0.0
CPA	3	0.37	61	0.43	60	648	4.9

Solvent cont.: DMSO, MMS: methyl methane sulphonate, CPA: cyclophosphamide

CE₀ and CE₂: cloning efficiency, RCE₀ and RCE₂: relative cloning efficiency, M.F: mutation frequency

R: Ratio between mutation frequency of treated cells/mutation frequency of vehicle control cells

TEL: telithromycin

Table 5. *In vitro* mammalian chromosome aberration test with telithromycin in cultured human lymphocytes

Treatments	Dose ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Mitotic index (%)	Cell with structural chromosome aberrations	
			contained gap (%)	without gap (%)
first experiment without S 9 mix (3 hours treatment)				
Solvent cont.	0	4.75 (100)	0.0	0.0
TEL	23.437	5.80 (122)	-	-
	46.875	4.60 (97)	-	-
	93.75	5.10 (107)	0.5	0.5
	187.5	4.15 (87)	1.5	0.5
	375	2.70 (57)	0.5	0.0
	750	0.35 (7)	-	-
MMC	3	2.60 (55)	40.0	40.0*
first experiment with S 9 mix (3 hours treatment)				
Solvent cont.	0	4.55 (100)	0.0	0.0
TEL	23.437	4.05 (89)	-	-
	46.875	3.30 (73)	0.0	0.0
	93.75	4.20 (92)	1.5	1.0
	187.5	2.15 (47)	1.5	1.5
	375	1.55 (34)	-	-
	750	0.20 (4)	-	-
CPA	50	1.30 (29)	37.0	36.0*
second experiment without S 9 mix (continuous treatment)				
Solvent cont. (20)	0	3.15 (100)	0.0	0.0
TEL (20)	50	2.45 (78)	0.5	0.5
	100	1.75 (56)	0.5	0.5
	150	1.15 (37)	-	-
	175	1.45 (46)	2.0	2.0
	200	0.65 (21)	-	-
	250	0.40 (13)	-	-
MMC (20)	0.2	2.85 (90)	19.0	18.0*
Solvent cont. (44)	0	3.30 (100)	0.0	0.0
TEL (44)	175	2.75 (83)	-	-
	200	2.30 (70)	-	-
	250	1.90 (58)	3.0	1.5
second experiment with S 9 mix (3 hours treatment)				
Solvent cont. (20)	0	3.05 (100)	0.5	0.5
TEL (20)	50	4.35 (143)	-	-
	100	3.80 (125)	0.5	0.0
	200	3.55 (116)	0.0	0.0
	350	1.40 (46)	2.5	1.5
	500	1.00 (33)	-	-
	650	0.15 (5)	-	-
CPA (20)	50	1.40 (46)	16.0	16.0*
Solvent cont. (44)	0	5.55 (100)	0.5	0.0
TEL (44)	200	4.75 (86)	-	-
	350	4.05 (73)	-	-
	500	3.90 (70)	-	-
	650	2.55 (46)	3.0	2.5

Each value: mean (n=2), - : not tested

MMC: mitomycin C, CPA: cyclophosphamide, *: $p < 0.001$ (χ^2 -test)

(20): Harvest time; 20 h after the beginning of treatment

(44): Harvest time; 44 h after the beginning of treatment

TEL: telithromycin

187.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (53% MI の低下) を選択した。

TEL は、細胞遺伝学解析に選択した用量段階において、染色体構造異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加を誘発しなかった。

2 回目の実験において、S9 mix 非存在下の 20 時間目の採取時ですべての用量段階で軽度ないし著明な毒性がみられ、MI は 22~87% 低下した。染色体異常を評価する最高用量として中程度の毒性 (54% MI の低下) を示した 175 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を選択した。染色体異常の評価に選択した他の 2 用量は、国際ガイドラインの勧告にしたがって、中程度ないし軽度の毒性のみられる範囲内とした。

S9 mix 存在下の 20 時間目の採取時では、中程度ないし著明な毒性が 350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で認められた (54~95% の MI の低下)。したがって、染色体異常を評価する最高用量として中程度の毒性 (54% MI の低下) を示した 350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を選択した。

44 時間目の採取時点では、S9 mix 存在下および非存在下において調べたいずれの用量段階でも軽度ないし中程度の毒性 (用量に応じて 14~54% の MI の低下) が認められたので、染色体異常を評価する最高用量として S9 mix 非存在下では 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S9 mix 存在下では 650 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を選択した。

TEL は、S9 mix 存在下および非存在下ともに 2 回のいずれの採取時点においても、染色体構造異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加を誘発しなかった。

4. マウスを用いた小核試験

溶媒対照群および陽性対照薬群における多染性赤血球 (PE) 中の小核を有する多染性赤血球 (MPE) の出現頻度および PE/NE 比は、許容基準を満たしており、本試験系の有効性が確認された。

Table 6 に示したように、CPA は、MPE の出現頻度においてきわめて有意な増加 ($p < 0.001$) を誘発し、本実験条件下では試験系の感度が十分であったことが示された。さらに、PE/NE 比が有意に低下したことから

($p < 0.05$)、骨髓細胞に対する本物質の毒性作用も示された。

TEL の全投与群における MPE の出現頻度は、それぞれの溶媒対照群の値と同様であり、統計学的に有意な差は認められなかった。1,000 mg/kg 投与群では、投与 48 時間後の PE/NE 比が有意に低下しており ($p < 0.05$)、骨髓細胞に対する軽度な毒性作用が示唆された。

5. モルモット能動全身性および受身皮膚アナフィラキシー反応試験

モルモットにおける ASA 反応および PCA 反応の結果を Table 7 に示した。0.5% MC で感作した対照群および TEL のいずれの投与方法による感作においてもアナフィラキシー症状は認められず、PCA 反応もすべて陰性であった。OVA 感作群では、5 例全例に強いアナフィラキシー症状が現れ、死亡した。PCA 反応も 5 例全例に陽性反応がみられ、PCA 抗体価は 16,384 以上であった。

6. マウス IgE 産生試験

Table 8 に示したように、TEL で能動感作したマウスの血清を受身感作したラットに TEL を惹起抗原として静脈内注射した結果、いずれのラットにおいても受身皮膚アナフィラキシー反応は認められなかった。陰性対照群のいずれのラットにおいても受身皮膚アナフィラキシー反応はみられず、陽性対照群では全例で陽性反応が認められた。

7. 腎障害ラットモデルを用いた腎毒性試験

1) 一般状態観察

生死の観察では、CER 投与群で雄 3 例、雌 1 例、CER + G + F 投与群で雄 3 例の死亡がみられたが、その他の群では、死亡例は認められなかった。

G + F 投与群では、自発運動の減少 (雌雄全例)、体重増加量の減少、摂水量や尿量の増加および赤色尿 (雌 1 例) がみられた。

TEL 投与群では、400 および 800 mg/kg いずれの群においても下腹部の尿による汚れが散見され、対照群に

Table 6. Bone marrow micronucleus test by oral route in mice with telithromycin

Treatments	Sampling time	Dose (mg/kg)	MPE/1000 PE (mean \pm SD)	PE/NE ratio (mean \pm SD)
Control-Vehicle	24 h	0	1.6 \pm 0.7	0.5 \pm 0.2
Telithromycin		250	1.7 \pm 1.0	0.6 \pm 0.2
		500	1.9 \pm 1.1	0.5 \pm 0.1
		1,000	1.8 \pm 0.9	0.4 \pm 0.2
Cyclophosphamide		50	40.6 \pm 13.9**	0.3 \pm 0.1*
Control-Vehicle	48 h	0	2.0 \pm 1.3	0.6 \pm 0.4
Telithromycin		1,000	2.0 \pm 1.0	0.3 \pm 0.1*

MPE: micronucleated polychromatic erythrocytes, PE: polychromatic erythrocytes, NE: normochromatic erythrocytes

* $p < 0.05$ (χ^2 -test), ** $p < 0.001$ (Student's t-test)

Table 7. Active systemic and passive cutaneous anaphylaxis reactions in guinea-pigs sensitized with telithromycin

Sensitization				Challenge			
antigen	dose (mg/kg)	adjuvant	route	antigen (5 mg/body)	route	no. of positive ASA	no. of positive PCA
TEL	1	—	P. O.	TEL	I. V.	0/5	0/5
	4	—	P. O.	TEL	I. V.	0/5	0/5
	16	FCA/FIA	S. C.	TEL	I. V.	0/5	0/5
OVA	2	FCA/FIA	S. C.	OVA	I. V.	5/5	5/5
0.5% MC	0	FCA/FIA	S. C.	TEL	I. V.	0/3	0/6
				OVA	I. V.	0/3	0/6

TEL: telithromycin

Table 8. Passive cutaneous anaphylaxis reactions in rats with sera obtained from mice sensitized with telithromycin

Sensitization			Challenge		
antigen	dose (mg/kg)	route	antigen	dose (mg/body)	no. of positive PCA (antibody value)
0.5% MC	0	P. O.	TEL	5	0/5 (<×2)
TEL	10	P. O.	TEL	5	0/5 (<×2)
	50	P. O.	TEL	5	0/5 (<×2)
TEL + Al(OH) ₃	10	I. P.	TEL	5	0/5 (<×2)
	50	I. P.	TEL	5	0/5 (<×2)
OVA + Al(OH) ₃	0.4	I. P.	OVA	4	5/5 (×64~×256)

TEL: telithromycin

比べ摂水量の減少が 800 mg/kg の雄で、体重増加量の減少が 400 および 800 mg/kg の雄でみられた。

TEL + G + F 投与群では、自発運動の減少が 400 および 800 mg/kg の雌雄で、下腹部の尿による汚れが両投与群の雌で各 1 例、赤色尿が 400 mg/kg の雌で 1 例認められた。また、G + F 群に比べ摂水量の減少が 400 mg/kg の雄および 800 mg/kg の雌雄でみられ、体重増加量の減少が 800 mg/kg の雄で認められた。

CER 投与群では、自発運動の減少が死亡例の全例と生存例の雄 1 例にみられ、CER + G + F 群では、自発運動の減少が全例に、赤色尿が生存雄の全例と雌 3 例にみられた。CER + G + F 群における摂水量の減少は TEL + G + F 投与群と同程度か若干多く、体重増加量の減少は TEL + G + F 投与群と同程度であった。

2) 尿検査

尿検査の結果を Tables 9, 10 に示した。

G + F 群では、対照群に比べ尿潜血の高値が雌雄全例でみられ、尿量の増加と比重、浸透圧、尿中電解質、NAG および creatinine の低値が、 γ -GTP, LDH, LAP および蛋白の高値がみられた。また、尿沈渣中の白血球および上皮細胞の増加が雌でみられた。

TEL 投与群では、対照群に比べ 400 および 800 mg/kg の雌雄で pH の低下および尿量の低下がみられ、ALP, NAG, creatinine および糖の高値が 400 mg/kg の雌で、

さらに γ -GTP および LAP の高値が 800 mg/kg の雌雄で認められた。また、尿沈渣中のリン酸結晶の低値が 400 mg/kg の雄でみられた。

TEL + G + F 投与群では、G + F 群に比べ pH の低下が 400 mg/kg の雄および 800 mg/kg の雌雄で、尿潜血の高値が 800 mg/kg の雌雄でみられた。NAG の高値および電解質の低下が 400 および 800 mg/kg の雄で、尿量の低下、ALP, γ -GTP および糖の高値が 400 mg/kg の雄でみられたが、雌では、400 mg/kg で creatinine の高値、800 mg/kg で Na の低値がみられたのみであった。これらの変化は、CER + G + F 群に比べ ALP の高値を除いて同程度またはより軽度であった。また、尿沈渣中の上皮細胞の低値が 400 mg/kg の雌および 800 mg/kg の雌雄で、リン酸結晶の低値が 800 mg/kg の雄でみられ、これらの変化は CER + G + F 群と同程度であった。

3) 血液生化学的検査

血液検査の結果を Tables 11, 12 に示した。

G + F 群では、対照群に比べトリグリセリドおよび BUN の低値が雌雄で、Cl の高値と ALP および総ビリルビンの低値が雄で、ASAT, LAP および Na の高値が雌で認められた。

TEL 投与群では、対照群に比べトリグリセリドの低値が 400 mg/kg の雄および 800 mg/kg の雌雄で、Cl

Table 9. Effects of single oral dose of telithromycin on urinalysis in renal impaired male rats induced by glycerol and furosemide (mean \pm S.D.)

Parameter	Time	Control	G + F	TEL 400 mg/kg	TEL 800 mg/kg	G + F + TEL 400 mg/kg	G + F + TEL 800 mg/kg	CER 1,000 mg/kg	G + F + CER 1,000 mg/kg
U. V. (mL)	0~24	12.88 \pm 2.37	19.08 \pm 1.49 **	9.35 \pm 1.00 *	8.30 \pm 2.44 **	15.83 \pm 3.92 #	18.33 \pm 6.72	17.40 \pm 12.80	17.03 \pm 3.78
	24~48	8.98 \pm 2.34	9.00 \pm 0.25	8.22 \pm 1.91	9.05 \pm 4.63	6.87 \pm 2.56	7.82 \pm 5.40	5.50 \pm 5.77	7.23 \pm 12.53
S. G.	0~24	1.052 \pm 0.007	1.035 \pm 0.002 **	1.058 \pm 0.006	1.055 \pm 0.013	1.035 \pm 0.005 @@@	1.028 \pm 0.005 #	1.031 \pm 0.015	1.020 \pm 0.001
	24~48	1.064 \pm 0.006	1.068 \pm 0.005	1.065 \pm 0.007	1.061 \pm 0.013	1.075 \pm 0.016	1.058 \pm 0.022	1.027	1.016
O. P. (mOs/kg)	0~24	1,574.3 \pm 185.0	1,037.7 \pm 88.2 **	1,753.5 \pm 191.2	1,639.5 \pm 273.0	974.2 \pm 160.8 @@@	801.0 \pm 148.5 #@@	675.3 \pm 292.4	492.0 \pm 44.3
	24~48	2,100.8 \pm 235.6	2,182.3 \pm 164.7	2,030.8 \pm 235.2	1,817.2 \pm 474.2	2,205.7 \pm 472.1	1,628.2 \pm 645.3	433.5	372.0
LDH (IU/L)	0~24	63.3 \pm 41.7	70.8 \pm 41.2	114.9 \pm 49.1	124.3 \pm 53.6	76.9 \pm 37.3	70.5 \pm 36.9	1,305.4 \pm 1,260.2	877.8 \pm 304.3
	24~48	599.6 \pm 581.0	499.4 \pm 421.9	560.1 \pm 280.3	361.7 \pm 308.7	343.3 \pm 217.6	1,588.0 \pm 999.4	983.1	1,291.5
ALP (IU/L)	0~24	203.7 \pm 53.9	187.7 \pm 34.5	288.6 \pm 59.8	298.2 \pm 75.5 *	228.7 \pm 26.2 #@@@	208.9 \pm 15.6 @@@	133.7 \pm 41.3	119.4 \pm 36.0
	24~48	144.3 \pm 87.3	240.2 \pm 83.4	356.0 \pm 62.9 **	269.8 \pm 147.0	417.5 \pm 84.7 ##	326.3 \pm 87.5	115.1	59.2
γ -GTP (IU/L)	0~24	976.6 \pm 234.8	776.4 \pm 96.7	1,350.8 \pm 89.1	1,499.2 \pm 384.3 **	1,055.0 \pm 238.8 #	901.2 \pm 184.6	1,294.0 \pm 527.8	1,226.9 \pm 336.1
	24~48	902.8 \pm 282.1	1,324.1 \pm 132.5 **	1,865.3 \pm 239.4 **	1,630.6 \pm 578.8 *	2,255.0 \pm 508.1 ##	1,823.6 \pm 1,006.3	504.7	130.6
Na (mEq/L)	0~24	140.5 \pm 15.8	86.8 \pm 8.5 **	116.3 \pm 13.4	90.2 \pm 22.1 **	76.2 \pm 14.5	73.5 \pm 20.3	85.0 \pm 17.1	105.7 \pm 25.9
	24~48	177.3 \pm 14.0	147.8 \pm 15.4 **	122.8 \pm 9.1 **	88.3 \pm 20.6 **	95.3 \pm 23.7 ##	38.5 \pm 23.3 ##	32.5	10.0
K (mEq/L)	0~24	252.0 \pm 37.6	171.7 \pm 15.7 **	277.8 \pm 32.2	243.2 \pm 53.3	157.3 \pm 23.6 @@@	126.5 \pm 28.9 #@@	108.7 \pm 56.6	67.7 \pm 20.0
	24~48	310.5 \pm 49.2	299.3 \pm 25.1	293.0 \pm 17.0	264.3 \pm 59.5	307.5 \pm 65.7	231.8 \pm 76.7	73.5	59.0
Cl (mEq/L)	0~24	155.0 \pm 16.9	104.3 \pm 10.9 **	169.2 \pm 19.9	139.0 \pm 30.2	97.8 \pm 17.5	95.5 \pm 26.7	73.0 \pm 35.4	99.7 \pm 29.5
	24~48	196.2 \pm 19.3	192.8 \pm 23.8	193.2 \pm 22.3	166.7 \pm 35.9	167.5 \pm 37.0	67.8 \pm 37.4 ##	29.0	7.0
NAG (U/L)	0~24	14.32 \pm 4.73	8.75 \pm 1.65 *	18.92 \pm 1.59	36.52 \pm 12.20 **	12.00 \pm 2.63 #@@@	11.98 \pm 2.43 #@@@	42.23 \pm 50.76	40.30 \pm 4.50
	24~48	11.55 \pm 8.55	14.82 \pm 7.14	21.47 \pm 5.82 *	21.03 \pm 4.22 *	22.35 \pm 5.83	31.57 \pm 13.63 #	171.00	85.30
Prot. (mg/dL)	0~24	107.0 \pm 8.0	101.3 \pm 16.7	117.5 \pm 6.6	128.7 \pm 28.0	99.5 \pm 24.3	81.5 \pm 15.3	179.7 \pm 98.1	207.3 \pm 27.2
	24~48	122.7 \pm 13.5	135.2 \pm 18.7	122.8 \pm 18.0	107.0 \pm 32.7	152.2 \pm 36.4	111.2 \pm 37.5	266.0	270.0
Glu. (mg/dL)	0~24	41.6 \pm 19.6	38.1 \pm 10.2	65.2 \pm 5.8	86.8 \pm 20.9 **	47.6 \pm 8.0	49.7 \pm 8.8	545.8 \pm 609.1	283.8 \pm 94.4
	24~48	29.5 \pm 15.0	39.0 \pm 24.9	71.4 \pm 12.8 **	88.9 \pm 29.2 **	93.8 \pm 21.2 ##	84.1 \pm 29.0 #	1,385.4	499.3
LAP (IU/L)	0~24	61.78 \pm 14.08	62.00 \pm 6.53	84.97 \pm 5.78	95.08 \pm 25.04 *	77.07 \pm 17.82	68.25 \pm 13.08	116.53 \pm 64.83	109.70 \pm 4.94
	24~48	78.38 \pm 39.15	130.08 \pm 44.26	150.40 \pm 27.98 **	120.73 \pm 44.33	171.08 \pm 35.34	122.13 \pm 76.09	38.15	18.60
Cr (mg/dL)	0~24	43.97 \pm 8.07	24.17 \pm 3.07 **	51.75 \pm 3.31	56.18 \pm 17.64	29.98 \pm 7.56	24.92 \pm 5.47	12.07 \pm 6.69	7.20 \pm 1.04
	24~48	58.72 \pm 9.10	57.05 \pm 3.23	63.48 \pm 8.88	63.27 \pm 19.64	79.50 \pm 19.50	72.88 \pm 28.81	15.15	13.70

U. V. = urine volume, S. V. = specific gravity, O. P. = osmotic pressure, G + F = glycerol + furosemide

*,** = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from control, #,## = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from G + F, @,@@ = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from group of G + F + CER 1,000 mg/kg

TEL: telithromycin

Table 10. Effects of single oral dose of telithromycin on urinalysis in renal impaired female rats induced by glycerol and furosemide (mean \pm S.D.)

Parameter	Time	Control	G + F	TEL 400 mg/kg	TEL 800 mg/kg	G + F + TEL 400 mg/kg	G + F + TEL 800 mg/kg	CER 1,000 mg/kg	G + F + CER 1,000 mg/kg
U. V. (mL)	0~24	13.97 \pm 5.54	17.98 \pm 4.68	6.37 \pm 3.91 *	4.83 \pm 3.76 **	14.98 \pm 5.45	18.68 \pm 6.43	19.86 \pm 13.38	22.18 \pm 11.48
	24~48	5.72 \pm 2.79	12.68 \pm 5.14 *	6.18 \pm 3.26	5.43 \pm 2.95	7.40 \pm 2.42	14.33 \pm 6.78	24.68 \pm 8.10	15.62 \pm 11.09
S. G.	0~24	1.035 \pm 0.013	1.025 \pm 0.004	1.051 \pm 0.015	1.041 \pm 0.009	1.025 \pm 0.004	1.024 \pm 0.007	1.036 \pm 0.013	1.020 \pm 0.003
	24~48	1.056 \pm 0.005	1.045 \pm 0.015	1.060 \pm 0.011	1.044 \pm 0.016	1.043 \pm 0.007	1.038 \pm 0.017	1.030 \pm 0.009	1.026 \pm 0.004
O. P. (mOs/kg)	0~24	1,038.0 \pm 503.9	732.0 \pm 133.8	1,561.5 \pm 458.0	1,257.4 \pm 233.8	748.5 \pm 151.2	690.3 \pm 205.9	1,029.4 \pm 438.9	472.3 \pm 74.0
	24~48	1,822.8 \pm 187.4	1,410.7 \pm 473.9	1,898.3 \pm 408.4	1,368.3 \pm 401.2	1,448.5 \pm 325.4	1,068.8 \pm 613.3	748.8 \pm 263.1	590.8 \pm 109.1
LDH (IU/L)	0~24	96.2 \pm 59.3	322.3 \pm 93.2 **	71.7 \pm 54.5	173.7 \pm 99.1	264.3 \pm 136.1	381.4 \pm 299.2	1,124.7 \pm 588.6	716.1 \pm 282.2
	24~48	646.1 \pm 287.6	1,880.0 \pm 1,542.2	357.0 \pm 233.7	875.7 \pm 387.4	982.4 \pm 616.5	664.1 \pm 383.4	531.7 \pm 166.5	1,296.9 \pm 914.7
ALP (IU/L)	0~24	141.6 \pm 64.8	252.7 \pm 62.6 *	270.7 \pm 55.8 *	266.0 \pm 86.7 *	222.2 \pm 104.9	217.6 \pm 96.2	242.3 \pm 100.9	183.3 \pm 79.4
	24~48	160.7 \pm 46.3	143.1 \pm 18.6	198.0 \pm 49.8	169.0 \pm 128.8	155.4 \pm 33.7	124.6 \pm 59.0	204.6 \pm 109.6	216.9 \pm 144.7
γ -GTP (IU/L)	0~24	334.4 \pm 166.6	540.5 \pm 150.1 *	604.8 \pm 140.9	682.4 \pm 288.9 *	435.5 \pm 201.0	521.6 \pm 376.6	562.9 \pm 189.6	644.6 \pm 347.9
	24~48	443.0 \pm 118.1	309.1 \pm 67.3 *	651.5 \pm 554.2	597.7 \pm 464.8	254.3 \pm 66.2	330.1 \pm 124.5	473.4 \pm 211.6	370.4 \pm 209.3
Na (mEq/L)	0~24	91.7 \pm 37.6	65.5 \pm 17.6	94.2 \pm 33.7	63.8 \pm 30.7	56.3 \pm 22.3	57.7 \pm 21.5	78.6 \pm 31.9	67.5 \pm 32.6
	24~48	147.7 \pm 13.5	90.7 \pm 30.2 **	118.2 \pm 14.7 *	88.0 \pm 21.4 **	83.0 \pm 11.9 @@@	44.2 \pm 35.3 #	42.2 \pm 28.5	29.3 \pm 16.6
K (mEq/L)	0~24	158.3 \pm 63.1	113.7 \pm 23.1	234.3 \pm 71.6	157.0 \pm 83.5	116.5 \pm 24.4	103.0 \pm 33.6	153.0 \pm 58.9	79.2 \pm 13.6
	24~48	260.3 \pm 24.7	195.8 \pm 57.2 *	271.0 \pm 57.7	211.3 \pm 65.3	189.2 \pm 29.2	144.8 \pm 85.3	102.2 \pm 52.4	67.5 \pm 12.9
Cl (mEq/L)	0~24	97.8 \pm 41.6	75.8 \pm 22.7	139.8 \pm 41.8	89.4 \pm 46.3	61.5 \pm 23.2	66.8 \pm 20.7	99.8 \pm 48.4	67.2 \pm 31.7
	24~48	163.5 \pm 15.3	124.7 \pm 41.4	175.3 \pm 33.8	132.5 \pm 39.5	115.2 \pm 14.5	75.8 \pm 58.1	51.2 \pm 24.0	31.3 \pm 18.2
NAG (U/L)	0~24	7.62 \pm 4.03	6.18 \pm 1.20	17.88 \pm 5.59 *	16.84 \pm 7.85 *	7.72 \pm 1.49	11.68 \pm 7.32	22.44 \pm 16.31	19.05 \pm 7.99
	24~48	7.52 \pm 4.69	13.02 \pm 1.52 *	15.60 \pm 4.45 *	14.43 \pm 6.79	12.85 \pm 2.26	15.13 \pm 5.32	27.02 \pm 20.43	68.90 \pm 11.30
Prot. (mg/dL)	0~24	21.0 \pm 15.9	54.5 \pm 17.1 **	30.5 \pm 15.7	22.2 \pm 5.2	41.2 \pm 13.7	66.5 \pm 24.9	121.4 \pm 57.5	168.8 \pm 45.3
	24~48	30.0 \pm 14.3	29.2 \pm 10.0	39.8 \pm 44.3	35.3 \pm 32.3	29.8 \pm 14.3	50.2 \pm 43.1	175.6 \pm 37.0	222.3 \pm 11.4
Glu. (mg/dL)	0~24	20.2 \pm 14.1	17.9 \pm 7.2	48.1 \pm 15.8 *	45.4 \pm 15.4 *	24.7 \pm 15.4	33.9 \pm 18.3	143.2 \pm 172.5	194.7 \pm 102.2
	24~48	25.5 \pm 8.3	24.2 \pm 12.0	55.0 \pm 23.9	53.7 \pm 29.0	35.1 \pm 10.4	53.9 \pm 46.5	805.4 \pm 500.0	917.3 \pm 400.6
LAP (IU/L)	0~24	16.43 \pm 8.27	22.55 \pm 6.70	27.47 \pm 5.95	31.58 \pm 11.78 *	20.33 \pm 10.65	23.35 \pm 16.34	26.30 \pm 7.53	26.85 \pm 9.75
	24~48	22.62 \pm 12.46	24.60 \pm 14.01	40.82 \pm 37.75	57.83 \pm 47.88	23.22 \pm 24.25	32.63 \pm 10.39	22.90 \pm 6.81	34.78 \pm 30.94
Cr (mg/dL)	0~24	24.23 \pm 12.83	12.02 \pm 4.69	44.87 \pm 10.15 *	33.66 \pm 10.97	20.52 \pm 3.15 ###	16.95 \pm 4.97	12.44 \pm 6.31	7.17 \pm 2.54
	24~48	45.73 \pm 8.17	32.97 \pm 8.79 *	53.17 \pm 17.18	39.93 \pm 14.59	39.02 \pm 4.78	33.12 \pm 15.32	18.06 \pm 6.57	16.28 \pm 4.79

U. V. = urine volume, S. V. = specific gravity, O. P. = osmotic pressure, G + F = glycerol + furosemide

* , ** = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from control, # , ## = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from G + F, @ , @@ = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from group of G + F + CER 1,000 mg/kg

TEL: telithromycin

Table 11. Effects of single oral dose of telithromycin on blood biochemical parameters in renal impaired male rats induced by glycerol and furosemide (mean \pm S.D.)

Parameters	Control	G + F	TEL 400 mg/kg	TEL 800 mg/kg	G + F + TEL 400 mg/kg	G + F + TEL 800 mg/kg	CER 1,000 mg/kg	G + F + CER 1,000 mg/kg
ASAT (IU/L)	88.5 \pm 16.5	88.2 \pm 14.1	87.2 \pm 12.7	105.0 \pm 18.0	89.0 \pm 8.9	88.8 \pm 9.7	169.3 \pm 132.2	899.7 \pm 568.7
ALAT (IU/L)	46.5 \pm 8.6	46.5 \pm 4.8	50.3 \pm 8.1	48.7 \pm 6.3	44.2 \pm 7.2	52.3 \pm 11.1	51.3 \pm 10.1	550.0 \pm 770.0
ALP (IU/L)	907.2 \pm 57.7	778.0 \pm 52.2 **	895.0 \pm 33.3	868.8 \pm 34.1	815.8 \pm 46.1	762.2 \pm 28.2	678.3 \pm 152.7	739.3 \pm 126.8
LDH (IU/L)	1,858.0 \pm 1,036.0	1,320.2 \pm 1,163.1	1,035.0 \pm 385.7	2,763.5 \pm 1,378.1	1,940.7 \pm 718.5	1,753.2 \pm 880.5	1,343.3 \pm 1,089.1	5,707.7 \pm 2,137.0
LAP (IU/L)	58.7 \pm 3.8	60.5 \pm 4.8	59.3 \pm 2.1	62.0 \pm 3.3	63.5 \pm 9.5	61.0 \pm 1.7	69.7 \pm 15.0	86.0 \pm 14.0
γ -GTP (IU/L)	0.70 \pm 0.38	1.03 \pm 0.56	0.53 \pm 0.65	0.80 \pm 0.40	0.55 \pm 0.21	1.00 \pm 0.36	6.70 \pm 7.78	15.00 \pm 7.04
T. Bil. (mg/dL)	0.150 \pm 0.022	0.115 \pm 0.015 **	0.157 \pm 0.019	0.130 \pm 0.009	0.130 \pm 0.028	0.118 \pm 0.012	0.117 \pm 0.012	0.157 \pm 0.031
T. Pro. (g/dL)	6.10 \pm 0.17	6.13 \pm 0.15	5.93 \pm 0.20	6.12 \pm 0.13	6.00 \pm 0.14	6.03 \pm 0.19	5.83 \pm 0.23	5.87 \pm 0.75
T. Cho. (mg/dL)	56.3 \pm 5.5	58.5 \pm 7.0	58.2 \pm 5.9	60.3 \pm 2.4	59.3 \pm 3.6	66.2 \pm 6.6	69.7 \pm 5.1	74.7 \pm 15.3
TG (mg/dL)	96.0 \pm 17.7	40.5 \pm 14.1 **	63.5 \pm 13.9 **	28.7 \pm 5.2 **	30.8 \pm 7.1	19.0 \pm 3.4 **@@	57.3 \pm 27.3	90.3 \pm 74.6
Glu (mg/dL)	232.5 \pm 21.0	217.2 \pm 21.3	228.8 \pm 15.7	205.3 \pm 13.2 *	214.5 \pm 11.6 @@	177.8 \pm 18.0 **@@	168.7 \pm 59.0	124.3 \pm 27.8
BUN (mg/dL)	22.08 \pm 1.50	15.68 \pm 2.80 **	22.93 \pm 1.65	19.27 \pm 2.23 *	17.33 \pm 1.42	12.57 \pm 1.93 **@@	213.13 \pm 142.65	295.30 \pm 99.98
Na (mEq/L)	143.0 \pm 1.9	144.7 \pm 1.4	142.8 \pm 0.8	143.7 \pm 1.6	143.7 \pm 1.0 @@	142.5 \pm 0.5 **	137.3 \pm 5.5	130.3 \pm 8.5
K (mEq/L)	4.45 \pm 0.45	3.83 \pm 0.56	4.03 \pm 0.28	4.18 \pm 0.46	3.98 \pm 0.29	4.28 \pm 0.38	6.37 \pm 2.85	6.83 \pm 2.66
Cl (mEq/L)	99.7 \pm 0.5	102.3 \pm 1.4 **	101.2 \pm 1.2 *	101.7 \pm 1.2 **	103.5 \pm 1.0	103.2 \pm 1.2	100.3 \pm 10.2	90.3 \pm 12.7
NAG (u/L)	29.45 \pm 3.03	32.03 \pm 6.69	32.90 \pm 4.45	39.75 \pm 7.36 **	36.28 \pm 3.96	39.98 \pm 8.60	38.67 \pm 2.57	41.00 \pm 7.71
Cr (mg/dL)	0.147 \pm 0.020	0.177 \pm 0.035	0.192 \pm 0.013 **	0.190 \pm 0.030 **	0.183 \pm 0.037	0.175 \pm 0.024	4.697 \pm 3.438	4.820 \pm 1.282

*** = $P < 0.05$, $P < 0.01$ significantly different from control, **.## = $P < 0.05$, $P < 0.01$ significantly different from G + F, @.@ = $P < 0.05$, $P < 0.01$ significantly different from group of G + F + CER 1,000 mg/kg
TEL: telithromycin

および creatinine の高値が 400 mg/kg および 800 mg/kg の雄で、BUN の高値と Cl の低値が 400 mg/kg の雌で、NAG の高値と糖および BUN の低値が 800 mg/kg の雄で、ASAT および ALAT の高値が 800 mg/kg の雌で認められた。

TEL + G + F 投与群では、G + F 群に比べ Na の低値が 400 mg/kg の雄および 800 mg/kg の雌雄で、トリグリセリド、糖および BUN の低値が 800 mg/kg の雄で、ALAT の高値と総蛋白の低値が 800 mg/kg の雌でみられたが、これらの変化は、トリグリセリドおよび BUN

を除き CER + G + F 群に比べ同程度またはより軽度であった。

4) 剖検および病理組織学的検査

G + F 群では、剖検でも病理組織学的検査でも異常は認められなかった。しかし、電子顕微鏡検査では、2例で近位尿細管上皮細胞の軽度の空胞化および1例で近位尿細管にライソゾームの軽度の増加が認められた。TEL 投与群では、剖検で盲腸の拡張が 800 mg/kg の雌雄全例でみられたが、病理組織学的検査では、いずれの用量でも異常は認められなかった。電子顕微鏡検査では、

Table 12. Effects of single oral dose of telithromycin on blood biochemical parameters in renal impaired female rats induced by glycerol and furosemide (mean \pm S.D.)

Parameters	Control	G + F	TEL 400 mg/kg	TEL 800 mg/kg	G + F + TEL 400 mg/kg	G + F + TEL 800 mg/kg	CER 1,000 mg/kg	G + F + CER 1,000 mg/kg
ASAT (IU/L)	70.3 \pm 7.1	87.5 \pm 9.8 **	75.7 \pm 10.2	91.3 \pm 18.0 *	79.5 \pm 5.5	90.5 \pm 10.1	101.2 \pm 14.5	175.5 \pm 90.0
ALAT (IU/L)	29.7 \pm 3.3	33.3 \pm 4.3	29.2 \pm 5.2	42.5 \pm 10.9 *	31.2 \pm 2.2	38.2 \pm 3.1 #	35.2 \pm 1.9	56.8 \pm 42.6
ALP (IU/L)	732.2 \pm 67.4	679.5 \pm 47.5	722.5 \pm 51.4	701.8 \pm 52.4	634.3 \pm 60.3	618.0 \pm 61.5	644.8 \pm 63.8	679.0 \pm 94.3
LDH (IU/L)	776.8 \pm 607.1	1,044.0 \pm 618.5	1,463.0 \pm 934.4	1,748.2 \pm 1,205.2	961.8 \pm 287.5	1,292.8 \pm 635.8	1,384.2 \pm 1,011.4	2,505.0 \pm 2,111.2
LAP (IU/L)	59.5 \pm 5.2	70.7 \pm 8.1 *	59.2 \pm 3.9	61.0 \pm 5.7	65.3 \pm 8.2	66.2 \pm 4.9	66.0 \pm 3.3	87.5 \pm 16.5
γ -GTP (IU/L)	0.78 \pm 0.44	1.08 \pm 0.54	1.02 \pm 0.62	1.10 \pm 0.54	0.72 \pm 0.50	1.38 \pm 0.62	1.36 \pm 0.47	4.42 \pm 5.48
T. Bil. (mg/dL)	0.125 \pm 0.010	0.127 \pm 0.023	0.138 \pm 0.023	0.138 \pm 0.026	0.133 \pm 0.018	0.132 \pm 0.015	0.116 \pm 0.011	0.130 \pm 0.024
T. Pro. (g/dL)	6.02 \pm 0.13	6.10 \pm 0.11	5.95 \pm 0.10	6.05 \pm 0.25	6.07 \pm 0.12 ©	5.80 \pm 0.09 **	5.72 \pm 0.13	5.90 \pm 0.09
T. Cho. (mg/dL)	80.7 \pm 4.9	80.8 \pm 2.4	81.3 \pm 5.8	86.5 \pm 5.9	80.8 \pm 5.1	79.7 \pm 5.3	100.2 \pm 15.2	96.3 \pm 19.8
TG (mg/dL)	52.2 \pm 14.2	15.8 \pm 3.3 **	43.0 \pm 15.5	17.0 \pm 2.8 **	12.7 \pm 6.6	13.8 \pm 1.9	21.6 \pm 4.8	37.0 \pm 44.2
Glu (mg/dL)	214.7 \pm 17.3	188.0 \pm 25.3	225.8 \pm 26.6	195.7 \pm 28.4	194.7 \pm 15.9	206.7 \pm 19.1	227.2 \pm 18.2	153.3 \pm 34.1
BUN (mg/dL)	20.97 \pm 1.98	12.48 1.96 **	25.20 \pm 3.14 *	18.02 \pm 1.97	13.35 \pm 1.49	13.77 \pm 1.44	26.30 \pm 7.48	127.65 \pm 141.11
Na (mEq/L)	143.8 \pm 1.0	145.7 \pm 1.2 *	142.3 \pm 0.8	144.7 \pm 1.4	143.3 \pm 0.8 **	142.7 \pm 1.0 **	143.0 \pm 0.7	140.3 \pm 6.3
K (mEq/L)	3.58 \pm 0.50	3.48 \pm 0.31	3.87 \pm 0.16	3.88 \pm 0.35	3.53 \pm 0.23	3.58 \pm 0.12	3.42 \pm 0.16	4.35 \pm 1.89
Cl (mEq/L)	104.2 \pm 1.6	104.5 \pm 1.8	101.2 \pm 0.8 **	105.8 \pm 2.0	104.3 \pm 1.2	105.2 \pm 1.5	105.6 \pm 1.9	103.0 \pm 9.1
NAG (u/L)	29.68 \pm 8.21	30.50 \pm 3.77	33.40 \pm 7.74	34.18 \pm 10.13	32.55 \pm 5.25	36.42 \pm 7.30	32.72 \pm 5.85	34.22 \pm 9.69
Cr (mg/dL)	0.175 \pm 0.040	0.197 \pm 0.035	0.180 \pm 0.031	0.177 \pm 0.019	0.215 \pm 0.034	0.228 \pm 0.055	0.428 \pm 0.148	2.048 \pm 2.015

*** = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from control, #, ** = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from G + F, ©, ©© = P < 0.05, P < 0.01 significantly different from group of G + F + CER 1,000 mg/kg
TEL: telithromycin

近位尿細管のきわめて軽度の空胞化が 400 および 800 mg/kg で各 2 例認められた。

TEL + G + F 投与群では、盲腸の拡張が 400 mg/kg の雄 1 例および 800 mg/kg の雌雄全例でみられ、再生尿細管および近位尿細管の壊死が 800 mg/kg の雌 2 例で、近位尿細管の空胞化と尿細管における有糸分裂の増加がそれぞれ 800 mg/kg の雌 1 例で認められた。また、電子顕微鏡的には、近位尿細管の空胞化が 400 および 800 mg/kg で各 2 例、近位尿細管のライソゾームの増加が 400 mg/kg で 2 例、800 mg/kg で 1 例、遠位尿細

管の空胞化が 400 mg/kg で 1 例、糸球体タコ足細胞の空胞化および近位尿細管の壊死が 800 mg/kg で各 1 例認められたが、それらの程度はいずれもごく軽度であった。

CER 群の生存例では、盲腸の拡張および腎臓の退色が雄の全例および雌 2 例に、腎臓の腫大および膀胱内赤色尿の貯留が雄 1 例、胸腺の萎縮が雄 2 例でみられた。また、硝子円柱が雌雄各 2 例に、近位尿細管の壊死が雌 2 例および雌全例に、尿細管の拡張が雄全例および雌 2 例に、近位尿細管の空胞化が雌 1 例に、近位

Table 13. Serum C_{max} and AUC₀₋₂₄ of telithromycin in renal impaired male rats induced by glycerol and furosemide (mean ± S.D.)

Parameters	Sex	TEL 400 mg/kg	TEL 800 mg/kg	G+F+ TEL 400 mg/kg	G+F+ TEL 800 mg/kg
C _{max} (µg/mL)	♂	7.1 ± 1.1	16.4 ± 1.9	2.7 ± 0.9	7.6 ± 2.2
	♀	6.5 ± 0.5	14.7 ± 1.2	4.5 ± 1.8	7.3 ± 1.0
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	♂	107.8	236.3	48.2	170.2
	♀	87.5	233.6	71.2	122.9

TEL: telithromycin

Table 14. Effects of single oral dose of telithromycin on blood biochemical parameters in normal and water restricted rabbits

Parameters	Day	Control	TEL 100 mg/kg	TEL 200 mg/kg	TEL 400 mg/kg	TEL 400 mg/kg
		normal rabbits				
K (mmol/L)	-1	6.56	6.63	6.72	5.77	5.54
	2	5.53	6.32	6.29	5.26	5.99
	3	4.86	5.23	5.40	5.20	5.74**
Na (mmol/L)	-1	144	146	146	142	147
	2	147	147	145	140*	149
	3	141	142	141	141	146
P (mmol/L)	-1	2.71	2.81	2.81	2.67	2.50
	2	2.71	2.81	2.53	2.35*	2.62
	3	2.55	2.71	2.65	2.32	2.35
Cl (mmol/L)	-1	101	101	104	100	108*
	2	104	106	108	108	111*
	3	98	102	101	100	105**
Pro (g/L)	-1	54	53	54	52	58
	2	54	54	55	57	58
	3	48	48	46	51	50
ASAT (U/L)	-1	14	16	14	21	23
	2	15	16	11	18	13
	3	21	19	13	37	16
ALAT (U/L)	-1	47	49	51	64	94*
	2	48	51	55	96*	148**
	3	43	43	41	72	80*
Glu (mmol/L)	-1	8.81	7.98	7.65*	8.00	7.35**
	2	8.36	7.91	7.60	7.01*	7.38
	3	8.27	8.06	7.39	7.87	7.45
BUN (mmol/L)	-1	3.6	3.0	3.0	3.7	5.1
	2	2.9	3.5	3.9	5.4**	5.7**
	3	2.7	2.4	2.3	3.4	4.2*
Cr (µmol/L)	-1	60.7	64.8	62.9	60.6	57.9
	2	61.5	65.4	65.3	73.3	75.5
	3	59.5	61.4	61.1	60.9	66.2

W. R-rabbits: water restricted rabbits

*,: significantly different from control at P=0.05 and 0.01

TEL: telithromycin

尿細管の鉍質沈着が雄 1 例に、尿細管における有糸分裂の増加が雌雄各 1 例に、細胞円柱が雄 2 例で認められた。電子顕微鏡的には、近位尿細管の空胞化およびファゴゾームの増加が 2 例、遠位尿細管の空胞化が 1 例、遠位尿細管の蛋白円柱および細胞分裂が 1 例認められた。

CER+G+F 群の生存例では、盲腸の拡張が雄 2 例および雌 1 例に、腎臓の退色が雌雄の全例に、胸腺の萎縮が雄 2 例および雌 1 例に、胃および大腸に黒色内容物が雄 2 例に、小腸に黒色内容物が雄 1 例に認められた。硝子円柱が雄全例および雌 5 例に、近位尿細管の壊死が雌雄全例に、尿細管の拡張および近位尿細管の鉍質沈着が雄全例および雌 3 例に、尿細管における有糸分裂の増加が雌 1 例に、細胞円柱が雄全例および雌 1 例で認められた。電子顕微鏡的には、近位および遠位尿細管の壊死、遠位尿細管の空胞化および蛋白円柱が 2 例、ポーマン囊上皮細胞の腫大、近位尿細管の空胞化およびファゴゾームの増加、近位および遠位尿細管のミトコンドリアの膨化が 1 例で認められた。

血清中 TEL 濃度の測定では、 C_{max} および AUC_{0-24} はいずれも TEL 群に比べ TEL+G+F 群で 20~65% 低い値を示した (Table 13)。

8. ウサギを用いた腎毒性試験

一般状態の観察では、投与に関連した異常はみられず、途中死亡例も認められなかった。体重は、制限給水した 400 mg/kg 群で投与前値に比べ投与 1 および 3 日目に軽度ながら有意な減少 (それぞれ 8 および 11%) がみられた。

赤血球系の血液学的検査では、いずれの群にも異常は認められなかった。また、Table 14 に示したように、血液生化学的検査では、正常ウサギに 400 mg/kg を投

与した群で ALAT が有意に上昇 (2 倍) したが、一時的で、投与前値 (41~77 U/L) の範囲内か近い値であった。制限給水した 400 mg/kg 群で ALAT の軽度の上昇 (57%) がみられたが有意ではなかった。その他、電解質類、糖および BUN で有意な変化がみられたが、その程度は小さく、また本動物種の正常値の範囲内であった。クレアチニンクリアランスは、いずれの投与群でも変化は認められなかった。

尿検査では、Tables 15, 16 に示したように、TEL 投与全群の 2 日目の浸透圧が軽度に低下し、400 mg/kg 群では 3 日目も低下し、pH も同様に低下 (-2.1) していた。また、400 mg/kg 群で K の排泄が 2 および 3 日目で有意に減少 (それぞれ -71 および -40%) し、NAG 活性も 2 および 3 日目で有意に上昇 (それぞれ 4.3 および 3 倍) した。制限給水した 400 mg/kg 群では、pH の有意な低下が 2 および 3 日目 (それぞれ 1.6 および 1.4) にみられ、K の排泄の有意な減少が 2 日目 (-54%) に、NAG の有意な上昇 (+77%) が 3 日目に認められた。

また、肝臓および腎臓の重量測定、剖検所見および病理組織学的検査では投薬による影響はいずれの群でも認められなかった。

9. ラットを用いた聴覚器毒性試験

1) 一般状態

試験期間中の死亡はいずれの群でもみられなかった。一般症状では、流涎が TEL 50 mg/kg 群の雄 5/10 例と雌 3/10 例に、150 mg/kg 群の雌雄全例に認められた。体重測定では、150 mg/kg 群の雌で中程度の増加 (23%) がみられたが、摂餌量への影響はいずれの群でも認められなかった。

2) 脳幹誘発反応オーディオメータによる聴覚閾値

Table 15. Effects of single oral dose of telithromycin on urinary quantitative analysis in normal and water restricted rabbits

Parameters	Day	Control	TEL 100 mg/kg	TEL 200 mg/kg	TEL 400 mg/kg	TEL 400 mg/kg
		normal rabbits				
Urinary volume (mL)	1	61.3	108.7	88.7	169.0	33.0
	2	76.0	237.7	155.3	158.0	31.3
	3	64.7	140.7	102.7	210.0	51.0
pH	1	8.9	8.8	8.9	8.7	8.7
	2	8.9	8.3	8.3	8.5	7.1**
	3	8.9	8.7	8.6	6.8**	7.3**
Osm (mosm/kg)	1	1,483	899	1,144	810	1,269
	2	1,204	459**	548**	435**	1,173
	3	1,434	734	925	507*	1,114*

W. R-rabbits: water restricted rabbits

***: significantly different from control at P=0.05 and 0.01

TEL: telithromycin

Table 16. Effects of single oral dose of telithromycin on urinary biochemistry in normal and water restricted rabbits

Parameters	Day	Control	TEL 100 mg/kg	TEL 200 mg/kg	TEL 400 mg/kg	TEL 400 mg/kg
		normal rabbits				
γ-GT (U-creat)	1	3	4	3	4	3
	2	3	4	4	6**	4
	3	4	4	4	3	3
NAG (U-creat)	1	0.17	0.22	0.18	0.19	0.31
	2	0.16	0.36	0.39	0.69**	0.46
	3	0.21	0.25	0.19	0.63**	0.55**
P (mmol/24 h)	1	1.96	1.62	1.89	3.91	1.74
	2	2.24	2.86	2.26	2.77	1.71
	3	2.37	2.75	2.08	3.66	3.14
Cl (mmol/24 h)	1	15.05	14.69	15.15	19.06	4.89*
	2	17.22	15.22	12.17	7.37	3.47**
	3	18.47	14.49	13.46	13.49	6.28**
K (mmol/24 h)	1	26.69	25.10	27.21	33.27	9.73*
	2	28.64	21.21	14.89*	8.42**	4.48**
	3	27.80	22.07	21.88	16.64*	10.06**
Na (mmol/24 h)	1	5.54	4.13	6.11	7.36	1.86
	2	7.37	7.91	7.04	9.70	3.12
	3	8.58	4.55	3.97	4.27	2.98
Protein (g/L)	1	19.22	13.41	15.54	19.02	25.98
	2	17.81	33.93	49.12	38.89	18.31
	3	22.28	15.29	15.72	25.09	28.20
Cr (mmol/24 h)	1	0.576	0.582	0.628	0.669	0.435
	2	0.592	0.740	0.666	0.579	0.395
	3	0.589	0.641	0.615	0.725	0.696
LAP (U/creat)	1	1.25	1.51	1.59	1.68	1.12
	2	1.29	1.61	1.60	1.71	1.20
	3	1.26	1.62	1.75	1.99	1.71
Glu (mmol/24 h)	1	0.06	0.05	0.05	0.08	0.02
	2	0.05	0.08	0.05	0.16	0.03
	3	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05
Creatinine clearance (mL/min)	1	6.6	6.2	7.0	8.1	5.2
	2	6.7	8.0	7.4	5.5	3.8
	3	6.9	7.3	7.1	8.4	7.3

W. R-rabbits: water restricted rabbits

* ** : significantly different from control at P = 0.05 and 0.01

TEL: telithromycin

検査 (BERA)

聴覚閾値の測定結果を Table 17 に示した。対照群の試験開始 4 週後の聴覚閾値は初期値とほとんど変わらず、10~20 dB 閾値が上昇した例は 3/20 であった。KM 100 mg/kg 群では初期値に比べ有意に悪化 (17 dB 上

昇) し、20~50 dB 閾値の上昇した例は 11/20 であり、また、オッズ比は 40 以上を示した。一方、TEL 50 および 150 mg/kg 群では、閾値上昇はそれぞれ +4.5 および +3.5 dB であり、10 dB 閾値の上昇した例はそれぞれ 6/20 および 3/20、20~30 dB 閾値の上昇した例

Table 17. Effects of four-week oral administration of telithromycin on brainstem evoked responses audiometry (BERA) in rats

Groups (dose, route)	Initial BERA threshold (dB)	Final BERA threshold (dB)	Aggravation (dB)
Control, 0.5% M. C. (10 mL/kg, p. o.)	11.5	12	0.5
Kanamycin (100 mg/kg, i. m.)	11	28	17
Telithromycin (50 mg/kg, p. o.)	11	15.5	4.5
Telithromycin (100 mg/kg, p. o.)	13.5	17	3.5

はそれぞれ1/20および2/20であった。TEL投与群のパラメトリック解析およびノンパラメトリック解析いずれにおいても有意な閾値の変化はみられず、性差も認められなかった。

3) 血液検査および血液生化学的検査

血液検査では、対照群に比べKM投与群の雄でHb, PCVおよび赤血球数が軽度ながら有意に低下し、TEL 50および150 mg/kg群の雌でHb, PCVおよび赤血球数が軽度ながら有意に増加した。

血液生化学的検査では、対照群に比べKM投与群の雄でBUNの有意な増加(17%)がみられ、5/10例は施設の背景データの範囲を超えていた。TEL 50および150 mg/kg群の雌雄でCaが軽度ながら有意に増加し(いずれも10%以下)、これらの群で軽度の無機リンの増加がみられ、両投与量群の雌でより著明で有意差が認められた(それぞれ+14および+20%)。また、ALATの軽度ながら有意な増加がTEL 50および150 mg/kg群の雌(それぞれ1.6および2.9倍、背景データの範囲を超えていた例は、それぞれ1/10および9/10)に、150 mg/kg群の雄(1.6倍、背景データの範囲を超えていた例は1/10)に認められた。

4) 病理学的検査

臓器重量の測定において、TEL 150 mg/kg群の雌雄で肝臓の絶対および相対重量の増加(雄: +8および+9%, 雌: +13および+6%)がみられ、同群の雌で脾臓の絶対および相対重量の減少(-9および-15%)がみられた。

剖検では盲腸の膨満がKM投与群の雌で1/10例に、TEL 50 mg/kg群の雄で4/10例、雌で3/10例、TEL 150 mg/kg群の雄で9/10例、雌で全例に認められた。

病理組織学的検査では、いずれの群でも内耳の異常所見は認められなかった。しかし、KM投与群で尿細管上皮細胞の変性または壊死が雄で9/10例、雌で3/10例認められ、高頻度で重度の尿細管の好塩基性球増加(雄: 10/10, 雌: 4/10)および尿細管拡張(雄: 5/10, 雌: 3/10)を伴っていた。一方、TEL投与群では150 mg/kgで軽度の好塩基性球増加および尿細管拡張を少数例認めたが、いずれも対照群にも認められる程度の所見であった。

III. 考 察

TELの遺伝毒性試験として、S9 mix非存在下あるい

は存在下におけるネズミチフス菌および大腸菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンフォーマを用いた遺伝子突然変異試験およびヒトリンパ球を用いた染色体異常試験を行ったが、いずれの条件でも突然変異活性を示さず、染色体異常誘発性も示さなかった。また、*in vivo*試験としてマウスにおける小核試験を行ったが、骨髄細胞の染色体または有糸分裂細胞への障害は認められなかった。以上4種の試験系の結果からTELは遺伝毒性を示さないものと考えられる。

TELの抗原性についてモルモットにおける能動全身性および受身皮膚アナフィラキシー反応試験、およびマウスIgE産生試験を実施したが、いずれの試験においてもまったく陽性反応はみられず、TELに抗原性はないものと考えられる。

TELの腎毒性の有無を調べるためにglycerol (G)およびfurosemide (F)投与による腎障害ラットモデルおよび正常ラットを用いcephaloridine (CER)と比較検討するとともに、正常ウサギおよび制限給水ウサギの腎機能に対する影響について調べた。

G+F投与群では、Fによる摂水量および尿量の増加、Gに起因すると考えられる赤色尿や尿潜血の高値がみられ、腎障害が惹起されているものと推測された。腎臓の病理組織学的検査では、光顕的には対照群にも認められる程度の軽度の変化であったが、電顕的には近位尿細管上皮細胞の軽度の空胞化およびライソゾームの軽度の増加が認められたことから、腎障害の程度は弱いものと考えられた。正常ラットおよびG+FラットにTEL 400および800 mg/kgを経口投与した場合、尿検査および血液生化学的検査項目のいくつかに軽度の変動がみられたが、いずれもCER+G+F群に比べ同程度かより軽度な変化であり、TELによる腎障害の増強作用はないか、あってもきわめて軽度なものと考えられた。また、腎臓の病理組織学的検査において、光顕的および電顕的に認められた近位または遠位尿細管上皮細胞の空胞化・壊死、ライソゾームの増加などの所見はいずれも対照群にもみられるごく軽度の変化であり、それらの程度はCER群またはCER+G+F群に比べて軽度であり、組織学的にはTELによる腎障害の増強作用はないものと考えられた。一方、CER群およびCER+G+F群の尿検査、血液生化学的検査、光顕的および電顕的病理組織

学的検査の結果から CER の腎障害の惹起・増強作用は明らかであった。

正常ラットおよび G+F 群にそれぞれ TEL 400 および 800 mg/kg を投与した 4 群について血中濃度を測定し、 C_{max} および AUC_{0-24} を調べた結果、いずれも TEL 群に比べ TEL+G+F 群で 20~65% 低い値を示し、利尿剤併用に伴う尿量増加により TEL の排泄亢進が一部寄与しているものと考えられた。

また、正常ウサギおよび制限給水ウサギを用いた腎機能試験において、血清 ALAT 活性の上昇、尿の浸透圧および pH の低下、K 排泄の減少および NAG 活性の増大などの変化はいずれも軽度で、投与前値または施設における背景データの範囲内の値であり、病理組織学的変化を伴っていないことから毒性学的に意義があるとは考えられない。したがって、TEL は、雌ウサギに単回経口投与しても腎機能の低下を起こさず、また、制限給水によって腎臓への影響が誘発されたり、その可能性が示唆されることもなかった。

TEL の聴覚器毒性を調べるために、KM を陽性対照薬 (100 mg/kg, i.m.) としてラットに TEL 50 および 150 mg/kg を 4 週間経口投与した。一般状態の観察で 50 mg/kg 群の数例および 150 mg/kg の全例で流涎がみられたが、これは TEL の苦味による結果と考えられた。対照群に比べて 150 mg/kg の雌で体重増加量が中程度に大きかったが、摂餌量に影響はみられなかった。脳幹誘発反応オーディオメータによる聴覚閾値検査において、KM 群で有意な閾値上昇がみられ、オッズ比が 40 以上となった。これは、10 dB 聴力減少を引き起こす危険性が対照群より 40 倍以上増大していることを示している。一方、いずれの TEL 投与群でも閾値の有意な変化は認められなかった。

血液検査では、対照群に比べ KM 投与群の雄や TEL 投与群の雌で Hb, PCV および赤血球数が軽度ながら有意な変動がみられたが、いずれも 10% 以内の変化であり、施設の背景データの範囲内であることから毒性学的な意義はないと考えられる。

血液生化学的検査では、KM 投与群の雄で BUN の有意な上昇がみられ、腎臓の病理組織学的所見と関連しているものと考えられた。TEL 投与群では Ca および無機リンの有意な上昇がみられたが、これらの変化はいずれも軽度であり、施設の背景データ (Ca; 雄: 2.86 mmol/L, 雌: 2.79 mmol/L, 無機リン; 雄: 3.84 mmol/L, 雌: 3.04 mmol/L) の範囲内かそれに近い値であることから毒性学的な意義はないと考えられる。また、TEL 投与群で ALAT 活性の軽度ながら有意な上昇がみられたが、ASAT の活性上昇や肝臓の組織学的な変化を伴っていないことから強い毒性を示唆する変化とは考え難い。

臓器重量の測定において、TEL 150 mg/kg の雌雄で肝臓重量の増大、同群の雌で脾臓重量の減少がみられた

が、その程度は弱く病理組織学的な異常も認められないことから毒性学的な意義は低いと考えられる。剖検時いずれの群でも盲腸の膨満がみられたが、これらの被験薬の抗菌作用により腸内細菌叢に影響をおよぼしたものと考えられる。病理組織学的には、KM 投与群および TEL 投与群いずれにおいても内耳の異常はみられず、特に注意して観察した蝸牛コルチ器官の内側および外側有毛細胞にも異常は認められなかった。既知の報告と異なり KM 投与群で内耳の異常を認めなかったことは、投与方法または投与量の違いによるものと考えられる¹⁴⁾。一方、腎臓には予想されたように KM 投与群で尿細管上皮細胞の変性または壊死、高頻度で重度の尿管の好塩基性球増加および尿管拡張が認められた。しかし、TEL 投与群の高用量群で認められた少数例の軽度の好塩基性球増加および尿管拡張は、いずれも対照群にも認められる程度の所見であり、TEL の毒性を示唆するものではなかった。

文 献

- 1) Ames B N, Mc Cann D, Yamasaki E: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella Mammalian-microsome genotoxicity test. *Mutation Research* 31: 347~364, 1975
- 2) Maron D M, Ames B N: Revised methods for the Salmonella genotoxicity test. *Mutation Research* 113: 173~215, 1983
- 3) Green M H L, Muriel W J: Mutagen testing using trpt reversion in Escherichia coli. *Mutation Research* 38: 3~32, 1976
- 4) Matushima T, Sugimura T, Nagano M, et al.: Factors modulating mutagenicity in microbial tests. In short-term test systems for detecting carcinogens, Norpath K H, Garner R C (eds), Springer, Berlin-Heidelberg, New York, p. 273~285, 1980
- 5) Nestmann E R, Brillinger R L, Gilman J P W, et al.: Recommended protocols based on a survey of current practice in genotoxicity testing Laboratories: II. Mutation in Chinese hamster ovary, L 5178 Y Chinese hamster lung and L 5178 mouse lymphoma cells. *Mutation Research* 246: 255~284, 1991
- 6) Morimoto K, Sato M, Kizumi A: Proliferative kinetics of human lymphocytes in Culture measured by autoradiography and sister chromatid differential staining. *Experimental Cell Research* 145: 249~256, 1983
- 7) Savage J R K: Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J. Medical Genetics* 12: 103~122, 1975
- 8) Schmid W: The micronucleus test. *Mutation Research* 31: 9~15, 1975
- 9) Salamone M, Heddle J, Stuart E, et al: Toward an improved micronucleus test. Studies on 3 model agents, mitomycin C, CPA and dimethylbenzanthracene. *Mutation Research* 74: 347~356, 1980
- 10) Student W S: The probable error of a mean. *Biometrika* 6: 1~25, 1908
- 11) 阿部訓志, 山田久陽, 吉田依世, 他: TE-031 の毒性

- 研究 (第 20 報)—ラットにおける腎毒性試験 (2) Glycerol 及び Furosemide 併用による増強作用の検討。基礎と臨床 22 (7): 1621~1648, 1988
- 12) Bartlett M S: Properties of sufficiency and statistical tests. Proc. Roy. Soc. Amer. 160: 268~282, 1937
- 13) Dunnett C W: A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. Am. Stat. Assoc. 50: 1096~1121, 1955
- 14) Cochran W G, Cox G M: Experimental Designs. 2 nd ed. New York, Wiley, 1957
- 15) Harada T, Jwamari M, Nagai Y, et al.: Ototoxicity of neomycin and its penetration through the round window membrane into perilymph. Rhinology and Laryngology 95: 404~408, 1986

Genotoxicity, antigenicity, nephrotoxicity and ototoxicity studies of telithromycin

Mikio Omosu¹, de Jouffrey S², Delbac C², Hiroyuki Izumi³,
Masashi Ohmori³, Stepniewski J P⁴, Catez D⁴, Thien-Aubert H⁴,
Vidal J M⁴ and Bode G⁴

¹Drug Safety Evaluation, Drug Innovation & Approval Division, Lead Optimization, Aventis Pharma Co. Ltd., 1-3-2, Minamidai, Kawagoe, Saitama, Japan

²Centre International de Toxicologie (C. I. T.)

³Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

⁴Division, Aventis Pharma

The studies on genotoxicity, antigenicity, nephrotoxicity and ototoxicity of telithromycin (TEL) were carried out. As genotoxicity studies, reverse mutation tests using *Salmonella typhimurium* (TA 1535, TA 1537, TA 98 and TA 100) and *Escherichia coli* (WP 2 uvrA), mammalian cell gene mutation test using mouse lymphoma cells (L 5178 YTK^{+/-}), mammalian chromosome aberration test using cultured human lymphocytes were conducted under the conditions with and without a metabolic activation system (S 9 mix). In these studies TEL did not show any mutagenic activity and clastogenic potential. In micronucleus test in mice TEL did not also induce any damage to the chromosomes or the mitotic apparatus in bone marrow cells. As antigenicity studies, homologous active systemic anaphylaxis and passive cutaneous anaphylaxis test in guinea pigs, and IgE production test in mice using heterologous passive cutaneous anaphylaxis in rats were carried out. No positive anaphylaxis responses were observed in guinea pigs and no production of IgE antibodies against TEL were detected in mice. In order to evaluate the nephrotoxicity of TEL, the effects on renal function of normal rats and glycerol-furosemide induced renal impaired model rats were investigated by single oral dosing of the test substance and compared with the effects by single intravenous dosing of cephaloridine (CER). Clear producing and potentiating effects of renal toxicity, proximal tubular epithelium degeneration, epithelial cell vacuolation and tubular dilatation, were observed in those animals treated with CER. Although slight changes in several parameters of urine and blood biochemistry were detected in rats treated with TEL, the histopathological findings of kidneys found in rats treated with TEL were very slight similar to those of control group. TEL administered once orally to female normal and water restricted rabbits did not induce any renal impairment. In order to evaluate the potential ototoxicity of TEL, auditory thresholds test using Brainstem Evoked Responses Audiometry (BERA) and microscopic examination of the inner ear were conducted in rats orally dosed for 4 weeks and compared with the rats treated with kanamycin by intramuscular injection for the same duration. No relevant variations of the auditory thresholds were detected on BERA or at microscopic examination of the inner ear in rats treated with the test substance and also no microscopic changes in the kidneys were observed in this group. As expected, kanamycin induced functional disturbances in the inner ear, significant elevation of auditory thresholds and pathological changes in the kidneys, tubular epithelial degeneration/necrosis.