抗悪性腫瘍薬 **VP16-213** の毒性研究 (第4報)
—ラットにおける1箇月間反復静脈内投与による亜急性毒性—

高橋 紀光, 門田 利人, 河野 茂生, 太田 恵子
石川 克己, 黒柳 幸司, 浜島 義規, 太田 敏
甲斐 修一, 河村 寿
ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社
前臨床研究所

TOXICITY STUDIES OF VP 16-213 (IV)
—Intravenous one-month subacute toxicity in rats—

Norimitsu TAKAHASHI, Toshihito KADOTA, Shigeo KAWANO,
Keiko OHTA, Katsumi ISHIKAWA, Kohji KUROYANAGI,
Yoshinori HAMAJIMA, Satoshi OHTA, Shuichi KAI
and Hisashi KOHMURA

Animal Experiment Department, Preclinical Research
Support Laboratories, Bristol-Myers Research Institute, Ltd.
1 Futagoyama, Sakazaki, Kohta-cho, Nukata-gun, Aichi 444-01, Japan

Accepted December 20, 1985

Abstract……VP 16-213 (etoposide, abbr. to VP), an oncostatic drug, was administered intravenously to Crj: CD (Sprague-Dawley) rats of both sexes at dose levels of 0.15, 0.50, 1.5 and 4.5 mg/kg/day for one month with the object of examining its subacute toxicity and the reversibility of toxic effects. For the purpose of comparison, vincristine (abbr. to VCR) was administered in the same manner at dose levels of 0.04 and 0.08 mg/kg/day.

The summarized results obtained are as follows:

1. VP 0.50 mg/kg and higher suppressed body weight increase and food intake dose-responsively. VP 4.5 mg/kg brought depilation and anemia, and some of male animals receiving this dose died showing systemic debility, emaciation and ataxia.
2. VP 0.50 mg/kg and higher decreased white blood cell count accompanied with lowered lymphocyte fraction, and 1.5 and 4.5 mg/kg predominantly decreased red blood cell count.
3. VP 1.5 and 4.5 mg/kg lowered total serum protein content and serum alkaline

連絡先: ☎444-01 愛知県額田郡幸田町大字坂崎字双子山1番地

ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社・前臨床研究所 高橋 紀光

phosphatase activity, and elevated A/G ratio.

4. VP 0.50 mg/kg and higher predominantly decreased testicular weight, and 1.5 and 4.5 mg/kg predominantly brought thymic atrophy, hypoplasia of bone marrow and testicular atrophy with suppression of spermatogenesis and tubular atrophy. VP 4.5 mg/kg induced atrophy of germinal centers and hemosiderosis in spleen, and epididymal atrophy with decrease of sperms in number and appearance of giant cells.

5. Above-described changes excluding the findings on testis and epididymis were generally reversible.

6. Most of the findings for a reference drug, VCR, were similar to those for VP, and their severities brought by VP 1.5 and 4.5 mg/kg were comparable to those by VCR 0.04 and 0.08 mg/kg, respectively.

Based on these results, the non-effect dose level of VP under the present experimental condition was estimated to be 0.15 mg/kg/day against rats of both sexes.

Key words : Oncostatic drug, VP 16-213, vincristine, subacute toxicity, intravenous administration, rat.

緒 言

VP 16-213 (VP) はスイス Sandoz 社で開発された半合成の podophyllotoxin 誘導体であり, ある種の実験腫瘍やヒト腫瘍に対して抗腫瘍活性を有すると報告されている (Stahelin, 1973; Nissen, 1975; Issell, 1979)。今回, 著者らは VP の安全性評価の一環として, ラットにおける静脈内投与による亜急性毒性とその回復性を検討したので, その成績について前報 (高橋ら, 1986a, b, c) に引き続き報告する。

試験材料及び方法

1. 使用薬物

VP 16-213 (VP) は一般名を etoposide, 化学名を 4'-demethylepipodophyllotoxin 9-(4, 6-O-ethylidene- β -D-glucopyranoside) と称し, その化学構造式, 物理化学的性状等については第 1 報 (高橋ら, 1986a) で詳述した。

本試験には, Bristol-Myers 社から入手した VP を 1 アンプル中 100 mg/ 5 ml 含有する臨床用アンプル剤 (Lot No. 003G9) を使用した。

陽性対照薬としては, vincristine (VCR) の臨床用剤 ONCOVIN® (塩野義製薬製, 1 バイアル中硫酸ビンクリスチン 1 mg 含有, Lot No. ES03) を, 陰性対照薬としては, VP の臨床用アンプル剤の組成中 VP に換え polyethylene glycol 300 を加えたアンプル溶媒 (AS) を調製し用いた。

なお, 投与に際しては, 上記薬物を生理食塩液 (大塚製薬製大塚生食注 Lot No. K9F881)

Intravenous one-month subacute toxicity of VP 16-213 in rats

で適宜希釈して用いた。

2. 使用動物及び飼育条件

生後 5 週齢の Crj : CD (SD) ラットを日本チャールス・リバー社より入手し、1 週間予備飼育の後本試験に供した。試験開始時の体重は雄 176~207 g、雌 137~158 g であった。各動物は室温 23±2℃、湿度 55±10% とした動物室内で金網製個別ケージに収容し、固型飼料（オリエンタル酵母工業製 CRF-1）及び滅菌水を自由に給与した。

3. 投与量及び使用動物数

本試験における投与量を設定するために、1 投与段階あて雌雄各 6 匹とした 6 週齢の Crj : CD (SD) ラットに VP を 0.6, 2, 6 及び 20 mg/kg/日、VCR を 0.03 及び 0.1 mg/kg/日の割合で 3 週にわたり連日静脈内投与した。その結果、VP 2 mg/kg 群の雌雄で体重増加の抑制、6 mg/kg 群の雌雄では 1 週目前後より脱毛、2 週目前後より下痢症状を認めた。死亡状況については、6 mg/kg 群の雄で 15 日目に 1 例が死亡し、更に 16 日目に 2 例、19 日目に 3 例が衰弱著しく死期切迫のため屠殺された。また、同群の雌では 14, 15, 21 日目に各 1 例が死亡し、19 日目に 1 例、21 日目に 2 例が衰弱著しいため雄と同様に屠殺された。20 mg/kg 群の雌雄では 1 週目前後より脱毛、下痢、衰弱症状がみられ、雌で 7 日目に 3 例が死亡し、残り雄 6 例、雌 3 例は 8 日目に死期切迫により屠殺された。VCR の場合は、0.1 mg/kg 群の雌雄で死亡例はなかったものの顕著な体重増加の抑制を認めた。以上の成績に基づき、最高用量を VP では 4.5 mg/kg/日、VCR では 0.08 mg/kg/日と定め、それ以下の各投与量及び使用動物数を次のように設定した。

Control			20 males ^{a)}	20 females ^{a)}
VP	0.15 mg/kg/day		10 males	10 females
	0.50	〃	10 males	10 females
	1.5	〃	20 males ^{a)}	20 females ^{a)}
	4.5	〃	20 males ^{a)}	20 females ^{a)}
VCR	0.04	〃	10 males	10 females
	0.08	〃	20 males ^{a)}	20 females ^{a)}

a), including 10 animals for reversibility observation.

4. 投与液の調製及び投与方法

VP 0.15, 0.50, 1.5 及び 4.5 mg/kg 投与群には、臨床用アンプル剤を生理食塩液でそれぞれ VP 含量 0.03, 0.1, 0.3 及び 0.9 mg/ml に希釈・調製した溶液を、VCR 0.04 及び 0.08 mg/kg 投与群には、同様に VCR 含量 0.008 及び 0.016 mg/ml に希釈・調製した溶液を用いた。また、陰性対照群には AS を生理食塩液で 4.5 % に希釈した溶液を使用した。いずれの溶液も、0.5 ml/100 g 体重の投与容量で各動物の尾静脈に 27G 注射針を用いて、30 日にわたり 1 日 1 回

反復投与した。

5. 観察・検査項目

30日にわたる投与期間中あるいは投与期間終了時に下記の観察・検査を実施した。また、発現した異常所見の回復性の有無を検討する目的で、VP 及び VCR 高用量群の一部の動物を投与期間終了後1箇月間休薬し、同様の観察・検査を行った。

症状・体重・摂餌量・摂水量：各動物の外観、一般症状は投与期間中には毎日、休薬期間中には週1回観察し、体重は週3回、摂餌量は週2回、摂水量は週1回測定した。

触診・眼科的検査：投与期間及び休薬期間終了時に、触診（痛覚、腫脹・腫瘤の有無、筋肉の硬さ、正向反射）並びに眼科的検査（角膜、虹彩、結膜、分泌物、対光反射）を実施した。

血液学的検査：投与期間及び休薬期間終了時に、ヘマトクリット値（ヘマトクリット法）、ヘモグロビン量（cyanmethemoglobin 法）、赤・白血球数（マイクロセルカウンター法）、白血球分画（May-Giemsa 染色）、網状赤血球千分率（Brecker 法）、血小板数（Rees-Ecker 法）、プロトロンビン時間（Quick 1 段法）を調べた。

骨髓塗抹標本検査：投与期間及び休薬期間終了時に、一部の動物の大腿骨より塗抹標本を作製し有核細胞の分類・算定を行った。

血液生化学的検査：投与期間及び休薬期間終了時に、採取した全血を 3,000 r.p.m. で5分間遠沈し、得られた上清について GOT・GPT 活性（UV 法）、ALP 活性（Bessey-Lowry 法）、ナトリウム・カリウム量（炎光光度法）、クロール量（クロライドメーター法）、カルシウム量（OCPC 法）、無機リン量（molybdenum blue 法）、尿素窒素量（diacetylmonoxime・thiosemicarbazide 法）、ブドウ糖量（glucose oxidase 法）、総コレステロール量（OPA 法）、総蛋白量（biuret 法）、アルブミン量（HABCA 法）、A/G 比（アルブミン量／総蛋白量－アルブミン量）、ビリルビン量（分光光度法）を測定した。

尿検査：投与期間及び休薬期間終了時に、採取した新鮮尿について pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、潜血（ラプスティックス®）を調べ、18時間採取した尿については排泄量、比重、ナトリウム・カリウム量（炎光光度法）、クロール量（クロライドメーター法）を測定した。

剖検・臓器重量測定：投与期間及び休薬期間終了時に、各動物を ether 麻酔下脱血致死させ、剖検及び下記臓器の重量測定を行った。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺、胸腺、肺、心、肝、脾、副腎、腎、睪丸、副睪丸、前立腺、精囊、卵巣、子宮

なお、途中死亡動物についても同様に剖検を実施し、死因を追究した。

光顕的病理組織検査：各動物の臓器・組織を10% formalin 液で保存・固定した後、大腿骨及び腰椎はイオン交換樹脂で脱灰し、これらを除く臓器・組織は常法により、パラフィンブロックを作製して4 μ の厚さに薄切の後、haematoxylin-eosin 二重染色を施した。標本とした臓器・組織は、前記の重量測定した臓器に加え次のとおりである。

眼、気管、舌、食道、胃、脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、膀胱、腸間膜リンパ節、骨髓、脊髄、坐骨神経、大動脈、骨格筋、皮膚、乳腺

Intravenous one-month subacute toxicity of VP 16-213 in rats

これらの標本を鏡検し、異常を認めた臓器・組織については必要に応じPAS・アザン・脂肪染色等を施し、更に詳細に検討することとした。

電顕的病理組織検査：各群の1～3例より肝、腎を屠殺、脱血後速やかに取り出し、1 mm³大の細切組織塊とし、グルタルアルデヒド固定、オスミウム酸後固定を施した。次いで、エタノール系で脱水の後、常法によりエポン樹脂包埋して超薄切片を作製し、クエン酸鉛・酢酸ウラニル二重染色を施した。なお、鏡検には日本電子製JEM100S型及び日立製H600型電子顕微鏡を用いた。

6. 統計処理

各検査・測定項目の群別データについては分散比の検定を行い、等分散である場合はt-検定、等分散でない場合はAspin-Welch法に従い解析した。また、必要に応じSmirnovの棄却検定法を用いた。なお、有意水準は $p < 0.05$ 及び $p < 0.01$ とし、本文中では有意差のある場合には、原則として単に“増加”又は“減少”等と記載し、“有意”という表現は用いなかった。

7. 試験期間

本試験は、雄ラットについては昭和55年8月から同年10月、雌ラットについては昭和55年11月から56年1月の間に実施された。

試験結果

1. 一般症状

投与期間中、VP 4.5 mg/kg 群の雌雄で脱毛が7日目以降、貧血症状が23日目以降継続してみられ、VCRの場合は、貧血症状が0.04 mg/kg 群の雄で26日目以降、0.08 mg/kg 群の雌雄で17日目以降に観察され、加えてこれらの動物の一部は運動失調、流涙を示した。このうち、削瘦、全身衰弱を呈した動物は死に至るかあるいは死期切迫により屠殺された。

VP 4.5 mg/kg 群でみられた貧血症状は休薬16日目頃、脱毛は休薬期間終了時に消失し、VCR 0.08 mg/kg 群でみられた貧血症状も休薬12日目頃には回復した。ただし、休薬初期にも引き続き全身衰弱、流涙、削瘦を呈したVP 1.5, 4.5 mg/kg 群の一部の動物は死亡するか死期切迫により屠殺された。

上記以外には、各群で異常所見はなかった。

なお、触診及び眼科的検査については、いずれの群でも異常を認めなかった。

2. 死亡経過

投与期間中の死亡動物数又は死期切迫による屠殺動物数(雄+雌/雄使用動物+雌使用動物)はVP 4.5 mg/kg, VCR 0.08 mg/kg 群でそれぞれ8 + 0 / 20 + 20, 14 + 0 / 20 + 20であり、休薬期間中はVP 1.5, 4.5 mg/kg 群でそれぞれ1 + 0 / 10 + 10, 3 + 0 / 5 + 10であった。これらのうち、VP 1.5 mg/kg 群の雄で休薬2日目、VP 4.5 mg/kg 群の雄で投与27, 30日目及び休薬5(2例)日目に、VCR 0.08 mg/kg 群の雄で投与26, 28, 29(3例), 30日目に死亡が確認された。一方、VP 4.5 mg/kg 群の雄は投与18, 26(2例), 27, 28(2例)日目及び休薬3日目に、VCR 0.08 mg/kg 群の雄は投与15, 18, 22, 24(2例), 25, 28, 30日目に死期切

迫により屠殺された。

3. 体重変動 (Fig. 1)

投与期間中, VP 0.50 mg/kg 群の雄は体重増加の抑制を散発的に示し, 1.5 mg/kg の雄で 5 日目より, 雌で 11 日目頃より, 4.5 mg/kg の雌雄で 5 日目より, VCR の場合は 0.04 mg/kg 群の雄で 11 日目頃より, 0.08 mg/kg 群の雌雄で 9 日目頃より, いずれも投与期間終了時まで増加抑制が観察された。なお, VCR 0.08 mg/kg 群の雄は, 16 日目以降投与期間終了時まで体重減少を示した。

Fig. 1 Body weight changes in rats during the period of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days or the following one-month untreated recovery period.

Intravenous one-month subacute toxicity of VP 16-213 in rats

これらの体重増加の抑制は、休薬により VP 1.5 mg/kg 群の雌で直ちに、雄で 2 週目、VCR 0.08 mg/kg の雌雄で 3 週目頃に消失したが、VP 4.5 mg/kg 群の雌は休薬期間終了時にも対照群を下回った。また、回復性の検討に用いた VP 4.5 mg/kg 群の雄 2 例の体重は、休薬初期には順調に増加したが、このうち 1 例は 25 日目以降に著しい減少を示した。

4. 摂餌量 (Fig. 2)

投与期間中、VP 0.50 mg/kg 群の雄で 1～10 日目頃に、1.5 mg/kg 群の雄で全期間、雌で 4～14 日目に、4.5 mg/kg 群の雄で全期間、雌で 1～10 日目にいずれも減少を認めた。VCR の場合は、0.04 mg/kg 群の雄で 4～10 日目及び 18～21 日目に、0.08 mg/kg 群の雄で全期間、雌で 11 日目より投与期間終了時まで減少がみられた。

Fig. 2 Food consumption in rats during the period of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

5. 摂水量 (Fig. 3)

投与期間中、VP 0.15 mg/kg 群の雌で 3, 5 週目、0.50 mg/kg 群の雌で 4 週目に減少、1.5 mg/kg 群の雄で 3, 4, 5 週目、雌で 4, 5 週目に増加、4.5 mg/kg 群の雌雄で 1 週目に減少を認めた。VCR の場合は、0.04 mg/kg 群の雄で 1 週目、0.08 mg/kg 群の雄で 5 週目、雌で 3, 4, 5 週目に減少がみられた。

6. 血液学的検査 (Tables 1-1, 1-2)

投与期間終了時に、VP 0.50 mg/kg 群の雌で白血球数の減少、1.5 mg/kg 以上の群の雌雄で用量依存的な赤血球数・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値・白血球数・リンパ球分画の減少、1.5 mg/kg 群の雌雄で分節核球・好酸球分画の増加、雄で血小板数の減少、雌で網状赤血球千分率の増加、4.5 mg/kg 群の雌雄で網状赤血球千分率の減少、雄で血小板数の減少、好酸球分画の増加、雌で血小板数・分節核球分画の増加を認めた。VCR の場合は、0.04 及び 0.08 mg/kg 群の雌雄で用量依存的な赤血球数・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値の減少、雄で網状赤血球千分率の減少、雌で白血球数の減少、0.04 mg/kg 群の雄でリンパ球分画の減少、

Fig. 3 Water consumption in rats during the period of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

分節核球分画の増加，0.08 mg/kg 群の雄で白血球数・血小板数の減少，雌で網状赤血球千分率の減少がみられた。

休薬期間終了時には，VP 1.5 及び 4.5 mg/kg 群の雄で赤・白血球数の減少，1.5 mg/kg 群の雌で白血球数の減少，4.5 mg/kg 群の雌雄で網状赤血球千分率の減少，雄でヘモグロビン量・リンパ球分画の減少，分節核球分画の増加，雌で赤血球数の減少を認めた。VCR の場合は，0.08 mg/kg 群の雌雄で赤血球数の減少，雄でヘモグロビン量・白血球数の減少がみられた。

上記以外に，投与期間あるいは休薬期間終了時に各群でみられた数種の検査項目の変動値は，いずれも偶発的か生理的範囲内にあるとみなされた。

7. 骨髓塗抹標本検査 (Tables 2-1, 2-2)

投与期間終了時の骨髓細胞分画については，VP 0.50 mg/kg 以上の群の雌でリンパ球の減少，好酸球の増加，0.50 mg/kg 群の雌で後骨髓球の増加，0.50 及び 1.5 mg/kg 群の雌で赤芽球の増加，4.5 mg/kg 群の雌で赤芽球の減少，前骨髓球＋骨髓球・後骨髓球・分節核球・M/E 比の増加を認めた。VCR の場合は，0.04 及び 0.08 mg/kg 群の雌で赤芽球・リンパ球の減少，前骨髓球＋骨髓球・後骨髓球・好酸球の増加，0.04 mg/kg 群の雌で棒状核球の減少，M/E 比の増加，0.08 mg/kg 群の雄でリンパ球・好塩基球と分節核球を除く骨髓球系細胞・M/E 比の減少，赤芽球の増加，雌で分節核球の増加，M/E 比の増加傾向がみられた。なお，これらの変動は1箇月間の休薬によりいずれも消失し，回復することが示された。

上記以外に，投与期間あるいは休薬期間終了時に各群でみられた数種の項目の変動値は，いずれも偶発的か生理的範囲内にあるとみなされた。

8. 血液生化学的検査 (Tables 3-1, 3-2)

投与期間終了時に，VP 1.5 mg/kg 以上の群の雌雄で用量依存的な AIP 活性の低下，総蛋白

Table 1-1 Hematological findings in rats at completion of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups mg/kg/day	No. of rats	RBC 10 ⁴ / mm ³	Ret. ‰	Hb g/dl	Ht %	WBC 10 ² / mm ³	Differential leucocytes %					Pl 10 ⁴ / mm ³	Proth. time sec	
								L	Neutrophils		Mon	E			B
									S	St					
Male	Control	10	716 44	19 8	14.5 0.6	48 2	161 26	79.7 5.3	16.6 4.8	1.0 0.9	1.4 0.8	1.3 0.8	58 21	17.3 3.5	
		VP	0.15 10	692 28	23 5	14.0 0.5	48 2	174 41	77.7 13.4	19.3 13.1	0.6 0.8	0.9 1.0	1.5 1.3	62 18	18.7 2.2
	0.50	10	695 55	19 9	14.2 0.8	48 2	131 36	74.2 11.9	22.4 12.0	0.6 0.7	0.7 0.7	2.1 1.4	54 26	20.0 3.1	
		Male	1.5 10	474 55**	25 11	10.3 1.4**	35 4**	53 20**	54.2 13.0**	39.3 12.4**	1.3 1.2	0.5 0.5*	4.5 2.7**	34 12**	16.7 1.8
	4.5	8	254 47**	0.3 0.7**	5.5 0.9**	15 3**	27 17**	58.9 23.5**	30.4 28.7	1.0 1.1	0.3 0.5**	9.5 8.4*	34 23*	12.6 ^{a)} 2.0**	
		VCR	0.04 10	203 54**	0.2 0.6**	4.6 1.1**	14 4**	125 48	47.0 19.0**	49.1 17.5**	0.5 0.7	0.9 1.9	2.5 2.4	53 14	14.6 4.9
	0.08	3	69 36**	0.0 0.0**	1.5 0.6**	6 1**	20 3**	81.3 7.8	15.0 8.7	0.0 0.0	0.7 1.2	3.0 5.2	5 3**	10.4 ^{b)}	
		Control	10	638 66	19 6	13.7 1.0	46 3	167 44	75.9 8.5	19.2 7.5	1.6 1.8	1.1 0.6	2.2 1.7	61 26	12.9 ^{c)} 2.1
	VP		0.15 10	628 45	19 6	14.1 0.6	46 3	139 16	82.2 11.1	15.5 11.5	0.7 0.9	0.4 0.7*	1.2 1.2	51 25	11.9 1.1
		0.50	10	635 38	23 5	13.7 0.5	44 2	105 17**	77.8 10.5	16.8 8.4	1.4 1.0	1.6 1.2	2.4 1.8	78 25	12.3 1.8
1.5	10		440 54**	41 14**	10.0 1.1**	35 2**	118 26**	63.2 10.6**	29.0 9.8*	1.8 0.6	1.8 1.1	3.9 1.9*	71 25	11.1 1.2*	
	4.5	10	233 38**	0.4 0.8**	5.0 0.7**	16 2	51 12**	49.5 11.3**	44.5 12.5**	1.1 0.7	2.5 1.6*	2.3 2.3	108 57*	10.8 ^{c)} 0.7*	
VCR		0.04 10	552 61**	25 19	12.9 0.5*	43 1**	103 26**	81.7 9.4	14.1 8.1	1.3 1.2	1.5 1.4	1.4 1.2	83 46	11.3 1.0	
	0.08 10	182 26**	0.8 1.0**	4.4 0.7**	12 2**	101 25**	75.3 8.4	18.4 8.1	2.0 2.4	1.2 1.0	3.1 1.9	64 29	10.9 ^{c)} 0.7*		

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. a), n=7; b), n=1; c), n=9.

*, Significantly different from controls at p<0.05; **, Significantly different from controls at p<0.01.

Abbreviations: RBC, Red blood cells; Ret., Reticulocytes; Hb, Hemoglobin; Ht, Hematocrit; WBC, White blood cells; L, Lymphocytes;

S, Segmented leucocytes; St, Stab-form leucocytes; Mon, Monocytes; E, Eosinophils; B, Basophils; Pl, Platelets; Proth. time,

Prothrombin time.

Table 1-2 Hematological findings in rats after the one-month untreated recovery period following intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups mg/kg/day	No. of rats	RBC 10 ⁴ mm ³	Ret. ‰	Hb g/dl	Ht %	WBC 10 ³ mm ³	Differential leucocytes %						Pl 10 ⁴ mm ³	Proth. time sec
								L	Neutrophils		Mon	E	B		
									S	St					
Male	Control	10	788 30	21 5	15.0 0.5	49 3	192 28	85.4 7.0	12.0 6.4	0.8 0.6	0.9 1.0	0.9 1.0	0 0	65 21	17.6 3.4
	VP	1.5	9 44**	22 13	14.7 0.7	51 2*	148 41*	82.9 7.0	13.6 6.2	0.8 0.8	1.4 1.0	1.3 1.1	0 0	69 28	17.1 3.4
	VCR	0.08	3 17**	18 7	14.2 0.2*	48 3	132 21**	86.3 10.0	12.3 10.2	0.3 0.6	0.3 0.6	0.7 0.6	0 0	47 11	16.8 3.3
Female	Control	10	711 64	14 8	13.5 1.6	46 4	111 33	81.7 11.1	14.7 10.1	0.4 0.5	0.9 1.1	2.3 1.8	0 0	55 22	9.6 0.5
	VP	1.5	10 26	11 6	14.9 0.7*	47 3	83 21*	85.0 6.4	12.8 6.4	0.4 0.5	0.3 0.5	1.5 1.2	0 0	62 31	10.2 0.4*
	VCR	4.5	10 53**	5 5**	12.8 1.3	46 5	98 21	79.9 4.4	16.9 4.8	0.3 0.5	0.6 1.0	2.3 1.7	0 0	60 39	9.8 0.5
VCR	0.08	10 26**	13 4	14.1 0.4	46 3	90 13	83.9 7.3	12.8 4.8	0.5 0.7	0.6 1.1	2.2 2.0	0 0	41 12	9.9 0.6	

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively.

*, Significantly different from controls at $p < 0.05$; **, Significantly different from controls at $p < 0.01$.

Abbreviations: RBC, Red blood cells; Ret., Reticulocytes; Hb, Hemoglobin; Ht, Hematocrit; WBC, White blood cells; L, Lymphocytes; S, Segmented leucocytes; St, Stab-form leucocytes; Mon, Monocytes; E, Eosinophils; B, Basophils; Pl, Platelets; Proth. time, Prothrombin time.

Table 2-1 Myelogram in rats at completion of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups mg/kg/day	No. of rats	Myeloid Cell										Lym	Mono	Plas	Megk	Others	M/E	
			Neutrophilic							Baso									
			ProM,My			Met	Stab	Seg	Eosi	Baso									
			Mybl	ProM,My	Met	Stab	Seg	Eosi	Baso										
Male	Control	5	0.20	33.60	0.36	11.00	9.60	4.44	4.00	3.28	0.04	32.76	0.00	0.32	0.32	0.08	0.97		
			0.20	2.23	0.26	2.47	0.93	1.90	1.16	1.87	0.09	5.29	0.00	0.23	0.33	0.18	0.09		
	VP	0.15	5	0.32	35.60	0.32	9.68	7.08	2.40	5.20	1.84	0.00	36.80	0.04	0.40	0.32	0.00	0.74	
			0.46	1.90	0.30	3.32	1.48*	0.57	3.10	0.95	0.00	4.75	0.09	0.32	0.52	0.00	0.16		
		0.50	5	0.12	35.20	0.20	9.36	10.44	2.32	5.60	2.68	0.00	33.80	0.04	0.12	0.12	0.00	0.87	
			0.18	1.90	0.28	5.04	5.15	1.17	3.26	1.14	0.00	5.43	0.09	0.11	0.11	0.00	0.22		
		1.5	5	0.04	37.56	0.20	6.00	10.08	1.76	4.36	2.80	0.12	36.88	0.00	0.00	0.20	0.00	0.68	
			0.09	3.63	0.28	4.35	5.93	0.95*	1.41	3.38	0.27	6.48	0.00	0.00*	0.24	0.00	0.08**		
		4.5	5	0.08	35.16	0.16	5.28	6.32	2.56	15.52	5.08	0.00	29.20	0.00	0.08	0.36	0.20	1.05	
			0.18	11.49	0.22	5.53	5.74	2.20	16.32	3.80	0.00	12.83	0.00	0.11	0.33	0.28	0.29		
	VCR	0.04	5	0.24	30.56	0.04	3.44	11.88	3.20	12.80	5.00	0.00	32.24	0.00	0.16	0.16	0.28	1.22	
			0.33	4.21	0.09*	1.34**	4.36	2.13	5.38*	2.05	0.00	3.19	0.00	0.22	0.22	0.23	0.34		
	0.08	3	0.07	76.07	0.00	0.60	2.07	0.87	6.07	0.53	0.00	13.13	0.00	0.27	0.00	0.33	0.16*		
		0.12	14.59*	0.00*	0.53**	1.33**	1.03*	7.75	0.31*	0.00	3.60**	0.00	0.31	0.00	0.23	0.19**			
Female	Control	10	0.44	26.88	0.46	2.82	10.70	2.30	9.68	3.28	0.04	42.98	0.00	0.04	0.02	0.36	1.08		
			0.37	2.58	0.48	1.10	2.54	0.44	1.20	0.85	0.13	3.84	0.00	0.08	0.06	0.30	0.18		
	VP	0.15	10	0.42	26.36	0.32	2.50	12.44	1.88	8.68	3.44	0.00	43.72	0.00	0.02	0.04	0.18	1.17	
			0.33	5.64	0.30	1.14	3.43	0.84	3.25	0.90	0.00	5.30	0.00	0.06	0.08	0.15	0.47		
		0.50	10	0.42	30.92	0.30	2.84	15.18	2.24	9.38	4.22	0.00	33.88	0.00	0.00	0.00	0.62	1.12	
			0.39	5.32*	0.24	1.36	3.47**	0.85	3.68	1.10*	0.00	6.33**	0.00	0.00	0.00	0.36	0.30		
		1.5	10	1.00	44.80	0.32	3.34	12.96	1.86	7.88	5.54	0.00	21.82	0.00	0.02	0.02	0.44	0.80	
			0.61*	11.49**	0.23	1.20	5.29	1.29	5.87	1.74**	0.00	3.61**	0.00	0.06	0.06	0.48	0.47		
		4.5	10	0.54	11.86	0.84	9.20	27.14	1.66	18.14	8.68	0.00	20.18	0.00	0.00	0.38	1.44	12.38	
			0.27	9.95**	0.56	5.05**	9.54**	1.21	6.56**	3.91**	0.00	4.53**	0.00	0.00	0.48*	0.88**	12.65*		
	VCR	0.04	10	0.70	9.12	0.50	10.02	27.94	1.34	12.70	6.60	0.00	30.38	0.00	0.02	0.08	0.60	12.04	
			0.59	5.97**	0.25	4.35**	9.11**	0.88**	4.46	1.40**	0.00	5.63**	0.00	0.06	0.10	0.45	15.10*		
	0.08	10	0.44	6.32	0.52	8.50	29.76	1.50	15.74	10.84	0.04	25.64	0.00	0.00	0.04	0.66	20.01		
		0.35	3.61**	0.48	1.76**	7.30**	1.36	5.65**	2.80**	0.08	3.90**	0.00	0.00	0.08	0.48	27.82			

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively.

*, Significantly different from controls at $p < 0.05$; **, Significantly different from controls at $p < 0.01$.

Abbreviations: PEbl, Proerythroblasts; Ebl, Erythroblasts; Mybl, Myeloblasts; ProM, Promyelocytes; My, Myelocytes; Met, Metamyelocytes; Stab, Stab-form leucocytes; Seg, Segmented leucocytes; Eosi, Eosinophils; Baso, Basophils; Lym, Lymphocytes; Mono, Monocytes; Plas, Plasma cells; Megk, Megakaryocytes; M/E, Myeloid cell/Erythroid cell.

Table 2-2 Myelogram in rats after the one-month untreated recovery period following intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups mg/kg/day	No. of rats	Myeloid Cell											M/E			
			Erythroid Cell			Neutrophilic					Lym						
			PEbl	Ebl	Mybl	ProM,My	Met	Stab	Seg	Eosi	Baso	Mono	Plas		Megk	Others	
Male	Control	5	0.20	38.96	0.08	6.40	15.76	1.16	5.84	1.48	0.00	29.96	0.00	0.08	0.00	0.08	0.79
			0.24	3.59	0.11	4.27	3.84	0.38	1.48	0.33	0.00	4.50	0.00	0.18	0.00	0.11	0.09
	VP	1.5	0.12	32.68	0.12	4.44	16.16	0.60	6.08	1.40	0.00	38.00	0.00	0.12	0.12	0.16	0.89
			0.18	4.12*	0.18	1.68	1.48	0.35*	2.54	0.55	0.00	3.98*	0.00	0.18	0.18	0.22	0.12
	4.5	2	0.00	22.30	0.20	5.40	25.00	0.70	12.80	4.20	0.00	29.40	0.00	0.00	0.00	0.00	3.66
			0.00	17.68	0.28	1.13	3.96*	0.42	10.47	3.68	0.00	1.70	0.00	0.00	0.00	0.00	3.78
VCR	0.08	3	0.07	39.67	0.20	2.80	17.27	0.53	6.67	2.67	0.00	29.87	0.00	0.20	0.00	0.07	0.78
			0.12	8.24	0.20	0.92	2.61	0.42	1.10	1.50	0.00	8.16	0.00	0.20	0.00	0.12	0.17
Female	Control	5	0.32	27.44	0.36	9.76	15.84	0.36	4.64	4.20	0.00	37.00	0.00	0.00	0.04	0.04	1.30
			0.23	4.80	0.26	2.23	2.19	0.41	2.22	0.94	0.00	5.24	0.00	0.00	0.09	0.09	0.28
	VP	1.5	0.68	23.92	0.20	9.84	15.08	0.16	4.44	3.88	0.00	41.44	0.00	0.00	0.00	0.36	1.47
			1.30	7.12	0.20	1.33	3.21	0.22	1.88	1.62	0.00	7.00	0.00	0.00	0.00	0.17**	0.49
	4.5	5	0.35	20.28	0.32	10.48	20.20	0.24	4.16	3.52	0.00	40.04	0.00	0.00	0.12	0.28	2.44
			0.30	7.42	0.27	2.66	6.25	0.43	1.90	0.84	0.00	1.34	0.00	0.00	0.27	0.30	1.98
VCR	0.08	5	0.28	24.88	0.36	8.00	14.84	0.20	3.56	4.40	0.00	43.28	0.00	0.00	0.04	0.16	1.36
			0.30	7.15	0.38	2.27	2.62	0.24	1.55	0.89	0.00	5.79	0.00	0.00	0.09	0.17	0.48

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively.

*, Significantly different from controls at $p < 0.05$; **, Significantly different from controls at $p < 0.01$.

Abbreviations: PEbl, Proerythroblasts; Ebl, Erythroblasts; Mybl, Myeloblasts; ProM, Promyelocytes; My, Myelocytes; Met, Metamyelocytes; Stab, Stab-form leucocytes; Seg, Segmented leucocytes; Eosi, Eosinophils; Baso, Basophils; Lym, Lymphocytes; Mono, Monocytes; Plas, Plasma cells; Megk, Megakaryocytes; M/E, Myeloid cell/Erythroid cell.

Table 3-1 Blood chemical analyses in rats at completion of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups mg/kg/day	No. of rats	GOT KU	GPT KU	ALP BLU	Total chol. mg/dl	Glucose mg/dl	BUN mg/dl	Total protein g/dl	T. bili. mg/dl	Albumin g/dl	A/G ratio	Sodium mEq/l	Potassium mEq/l	Calcium mg/dl	Phosphorus mg/dl	Chlorine mEq/l
Male	Control	10	85	16.2	4.4	59.9	148	12.5	5.54	0.23 ^{a)}	3.39	1.58	140.9	6.0	9.1	7.2	104.0
		17	17	1.5	0.7	12.7	21	2.3	0.14	0.18	0.10	0.11	2.3	0.8	0.3	0.3	2.5
	VP	0.15	84	14.5	4.2	61.8	155	12.3	5.62	0.19 ^{a)}	3.39	1.53	141.8	6.1	9.2	7.2	103.5
		15	15	2.8	0.9	5.1	16	1.6	0.19	0.08	0.11	0.13	2.3	1.0	0.3	0.4	1.7
	0.50	85	14.3	4.3	61.5	148	148	12.0	5.47	0.11 ^{b)}	3.43	1.69	140.7	6.2	9.2	7.1	104.0
		16	1.5*	0.7	8.6	14	14	1.3	0.15	0.11	0.08	0.11*	2.4	1.0	0.3	0.5	1.6
	1.5	10	88	12.9	3.3	51.7	149	12.2	5.20	0.07 ^{c)}	3.55	2.16	141.7	6.6	9.2	7.3	104.5
		17	3.5*	0.4**	8.8	10	10	1.5	0.22**	0.07*	0.15*	0.15**	3.1	1.7	0.4	0.5	1.7
	4.5	8	91 ^{b)}	15.0 ^{b)}	2.0 ^{b)}	63.0 ^{b)}	173 ^{b)}	16.3 ^{b)}	5.00 ^{b)}	0.08	3.24 ^{b)}	1.94 ^{b)}	140.4 ^{b)}	5.2 ^{b)}	9.1 ^{b)}	6.8 ^{b)}	103.9 ^{b)}
		30	2.2	0.3**	13.1	53	53	2.5**	0.24**	0.05	0.48	0.53	3.0	0.6*	0.6	1.1	3.0
Female	VCR	0.04	124	23.3	5.1	55.9	139	15.6	5.12	0.33	3.44	2.07	142.5	5.4	8.7	7.0	105.6
		21**	15.7	1.5**	10.9	24	24	5.8	0.15**	0.20	0.16	0.25**	1.3	0.6	0.5	0.7	1.8
	0.08	333	111.3	3.3	86.7	135	135	41.3	4.80	0.80	3.27	2.13	142.7	4.8	9.1	5.9	106.7
		131	20.0*	1.8	23.1*	44	44	20.6	0.44	0.10**	0.32	0.06**	1.5	0.6*	0.4	0.3**	1.5
	Control	10	76	15.2	2.9 ^{c)}	72.8 ^{c)}	132 ^{c)}	12.5	5.59 ^{c)}	0.26	3.52	1.68 ^{c)}	142.7	5.9	9.7 ^{c)}	6.9 ^{c)}	104.9
		15	2.6	0.5	11.0	12	12	1.9	0.20	0.11	0.15	0.12	2.0	0.7	0.3	1.0	1.7
	VP	0.15	72	14.9	2.7	73.9	123	12.6	5.70	0.33	3.49	1.58	142.6	5.6	9.7	6.5	106.4
		13	3.4	0.5	11.8	16	16	3.2	0.13	0.12	0.12	0.11	1.8	0.9	0.3	0.7	1.8
	0.50	64	14.9	2.4	75.1	125	125	12.1	5.57	0.33	3.51	1.71	143.5	5.8	9.7	6.5	104.9
		9*	2.1	0.6	12.7	15	15	1.6	0.35	0.11	0.21	0.10	2.1	1.0	0.3	0.6	2.3
Female	1.5	68	14.1	2.0 ^{c)}	74.4 ^{c)}	118 ^{c)}	118 ^{c)}	12.3	5.40	0.49	3.52	1.89	141.7	6.5	9.9 ^{c)}	6.6 ^{c)}	104.6
		11	1.7	0.3**	12.0	17	17	1.7	0.17*	0.28*	0.13	0.20*	2.2	1.1	0.3	0.5	1.9
	4.5	72	13.7	1.5	56.4	138	138	13.2	5.04	0.32 ^{c)}	3.40	2.08	143.7	5.8	9.6	7.1	105.8
		14	2.1	0.5**	7.7**	14	14	1.7	0.23**	0.07	0.19	0.20**	2.2	0.5	0.3	0.7	2.0
	VCR	0.04	94	16.3	2.8	68.8	131	12.8	5.55	0.34	3.48	1.69	143.4	5.6	9.8	6.6	104.1
		17*	2.7	0.3	13.4	18	18	2.1	0.22	0.08	0.14	0.15	1.9	0.5	0.3	0.5	1.9
	0.08	135	18.0	2.2	66.7	134	134	18.9	5.48	0.62 ^{c)}	3.69	2.07	145.6	5.5	9.8	6.6	106.2
		33**	4.9	0.4*	9.1	13	13	3.4**	0.26	0.20**	0.12*	0.12**	2.1**	0.3	0.3	0.4	1.2

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. a), n=8; b), n=7; c), n=9.

*, Significantly different from controls at p<0.05; **, Significantly different from controls at p<0.01.

Abbreviations : GOT, Glutamic oxaloacetic transaminase ; GPT, Glutamic pyruvic transaminase ; KU, Karmen units ; ALP, Alkaline phosphatase ; BLU, Bessey-Lowry units ; Total chol., Total cholesterol ; BUN, Blood urea nitrogen ; T.bili., Total bilirubin ; A/G ratio, Albumin/Globulin ratio.

Table 3-2 Blood chemical analyses in rats after the one-month untreated recovery period following intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups mg/kg/day	No. of rats	GOT KU	GPT KU	AIP BLU	Total chol. mg/dl	Glucose mg/dl	BUN mg/dl	Total protein g/dl	T.bili. mg/dl	Albu- min g/dl	A/G ratio	Sodium mEq/l	Pota- ssium mEq/l	Cal- cium mg/dl	Phos- phorus mg/dl	Chlo- rine mEq/l
Male	Control	10	81 17	10.5 2.4	2.7 0.6	55.2 11.2	137 11	10.7 1.2	5.58 0.15	0.39 0.33	3.45 0.07	1.63 0.11	138.7 2.5	5.4 0.5	10.1 0.3	6.9 0.2	101.0 1.2
	VP	1.5	9	87 20	15.0 7.3	56.2 11.9	144 10	10.7 0.7	5.43 0.26	0.20 ^{a)} 0.23	3.43 0.10	1.73 0.18	139.6 1.5	5.4 0.6	10.1 0.2	7.0 0.4	100.6 1.8
	4.5	2	81 19	11.0 0.0	2.0 0.8	57.0 8.5	126 6	13.3 1.0*	5.30 0.00	0.20 0.14	3.25 0.07**	1.59 0.09	137.5 5.0	5.8 0.4	9.6 0.1*	6.8 0.6	100.5 3.5
	VCR	0.08	3	65 6	9.7 1.2	67.3 11.6	143 12	11.3 1.1	5.60 0.10	0.07 0.06*	3.40 0.00	1.55 0.07	142.0 4.6	5.6 0.3	10.2 0.3	7.5 0.3**	98.7 1.5*
	Control	10	84 24	17.2 3.9	1.3 0.3	76.9 8.6	138 19	11.6 2.3	5.94 0.17	0.09 ^{a)} 0.08	3.71 0.15	1.67 0.10	139.7 0.8	5.5 1.4	9.9 0.3	5.5 0.7	104.0 2.9
	VP	1.5	10	80 24	12.5 2.6**	76.4 7.8	126 12	10.5 1.0	5.74 0.21*	0.16 0.05*	3.59 0.20	1.68 0.14	138.6 1.8	5.0 0.5	10.0 0.3	5.4 0.7	103.3 3.7
Female	4.5	10	74 21	10.9 2.3**	1.2 0.1	75.9 7.9	125 13	10.5 1.5	5.75 0.14*	0.03 ^{b)} 0.05	3.50 0.08**	1.57 0.15	140.3 0.8	5.3 0.6	9.5 0.3*	5.4 0.6	104.9 2.7
	VCR	0.08	10	69 7	12.3 4.0*	78.5 7.8	127 11	10.4 1.5	5.70 0.11**	0.14 ^{a)} 0.12	3.52 0.16*	1.63 0.21	138.7 1.3*	5.2 0.6	9.6 0.4	5.4 0.6	103.9 1.9

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. a), n=8; b), n=9.

*, Significantly different from controls at p<0.05; **, Significantly different from controls at p<0.01.

Abbreviations : GOT, Glutamic oxaloacetic transaminase ; GPT, Glutamic pyruvic transaminase ; KU, Karmen units ; AIP, Alkaline phosphatase ; BLU, Bessey-Lowry units ; Total chol., Total cholesterol ; BUN, Blood urea nitrogen ; T.bili., Total bilirubin ; A/G ratio, Albumin/Globulin ratio.

Intravenous one-month subacute toxicity of VP 16-213 in rats

量の減少，A/G 比の上昇又はその傾向，4.5 mg/kg 群の雄で尿素窒素量の増加を認めた。VCR の場合は，0.04 及び 0.08 mg/kg 群の雄で総蛋白量の減少又はその傾向，A/G 比の上昇，0.04 mg/kg 群の雌雄で GOT 活性の上昇，雄で AIP 活性の上昇，0.08 mg/kg 群の雌雄でビリルビン量の増加，雄で無機リン量の減少，GPT 活性の上昇，雌で GOT 活性・A/G 比の上昇，AIP 活性の低下，尿素窒素量・ナトリウム量の増加がみられた。なお，これらの変動は 1 箇月間の休薬によりおおむね消失した。

上記以外に，投与期間あるいは休薬期間終了時に各群でみられた数種の検査項目の変動値は，いずれも偶発的か生理的範囲内にあるとみなされた。

9. 尿 検 査 (Tables 4-1, 4-2)

投与期間終了時に，VP 1.5 mg/kg 以上の群の雌雄で尿比重の減少，1.5 mg/kg 群の雌雄で尿量・カリウム排泄量の増加，4.5 mg/kg 群の雄でクロール排泄量の減少，尿量の増加を認めた。VCR の場合は，0.04 及び 0.08 mg/kg 群の雄で尿比重の減少，尿量の増加，0.08 mg/kg 群の雄でナトリウム・クロール排泄量の減少がみられた。なお，これらの変動はいずれも休薬により消失した。

定性的尿検査については，投与期間終了時，休薬期間終了時のいずれにおいても全群で異常を認めなかった。

上記以外に，投与期間あるいは休薬期間終了時に各群でみられた数種の検査項目の変動値は，いずれも偶発的か生理的範囲内にあるとみなされた。

10. 臓 器 重 量 (Tables 5-1, 5-2)

投与期間終了時に，VP 0.50 mg/kg 以上の群の雌雄で胸腺実・比重量の減少，雄で睪丸実・比重量の減少又はその傾向を用量依存的に認めた。これら以外に，VP 0.50 mg/kg 群の雄で脾実・比重量の減少，雌で脾比重量の減少，4.5 mg/kg 群の雌雄で脾実・比重量の減少，雌で卵巣実・比重量の減少，心実・比重量の増加がみられた。VCR の場合は，0.04 及び 0.08 mg/kg 群の雌雄で用量依存的な胸腺実・比重量の減少，0.04 mg/kg 群の雄で心及び肺実・比重量の増加，0.08 mg/kg 群の雄で脾・睪丸・前立腺実・比重量の減少，心及び肺比重量の増加，雌で心及び肺実・比重量の増加，脾実重量の減少が認められた。

休薬期間終了時には，上記所見のうち脾・胸腺の変化はいずれの群でもおおむね軽減又は消失したが，睪丸，副睪丸については VP 1.5 及び 4.5 mg/kg 群で実・比重量の減少がむしろ顕著となり，VCR 0.08 mg/kg 群でもこの減少がみられた。また雄副生殖器については，VP 1.5 及び 4.5 mg/kg 群で前立腺実・比重量の減少又はその傾向，4.5 mg/kg 群で精囊実・比重量の減少が認められ，VCR 0.08 mg/kg 群でも同様な傾向がみられた。これら以外に，VCR 0.08 mg/kg の雌雄で心実・比重量の増加が残存した。

上記以外に，投与期間あるいは休薬期間終了時に各群でみられた諸臓器の実重量の減少あるいは比重量の増加は，著しい体重増加の抑制を反映するもの，あるいは偶発的又は生理的範囲内にあると考えられた。

11. 剖 検 所 見

Table 4-1 Urinalyses in rats at completion of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups mg/kg/day	No. of rats	pH			Occult blood			Ketone body			Glucose			Protein			Volume ml/day	Specific gravity	Electrolytes(mEq/day)						
			5 6 7 8 9			- + ++ +++			- + ++ +++			- + ++ +++			Sodium	Potas- sium	Chlo- rine									
Male	Control	10	0	1	9	0	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	6	4	0	10.5	1.057	1.26	1.69	1.89	
																				2.6	0.009	0.31	0.29	0.42		
	VP 0.15	10	0	1	8	1	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	8	2	0	10.6	1.061	1.34	1.74	2.03	
																				2.6	0.013	0.30	0.31	0.22		
	0.50	10	0	4	6	0	0	9	1	0	0	10	0	0	10	0	0	3	4	0	11.4	1.054	1.30	1.82	1.93	
																				1.9	0.008	0.40	0.41	0.49		
	1.5	10	0	4	6	0	0	7	2	1	0	10	0	0	10	0	0	4	2	0	24.6	1.036	1.38	2.34	1.75	
																				7.4**	0.008**	0.30	0.59*	0.45		
	4.5	11	0	3	4	4	0	11	0	0	11	0	0	11	0	0	0	2	7	2	0	13.7	1.045	0.98	1.60	1.32
																				3.8*	0.015*	0.31	0.31	0.34**		
VCR 0.04	10	0	0	5	5	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	0	8	2	0	18.1	1.039	1.13	1.88	1.60	
																				5.4**	0.012**	0.34	0.32	0.37		
	0.08	10	0	1	6	3	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	1	4	4	0	22.0	1.025	0.67	1.61	0.95	
																				9.3**	0.005**	0.36**	0.57	0.33**		
Female	Control	10	0	5	4	1	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	3	4	3	0	9.8	1.051	1.06	1.37	1.35
																				3.5	0.009	0.27	0.34	0.32		
	VP 0.15	10	0	2	4	4	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	2	5	0	3	9.7	1.047	0.94	1.28	1.25	
																				2.9	0.014	0.29	0.26	0.30		
	0.50	10	0	3	7	0	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	4	4	2	0	10.1	1.053	1.27	1.57	1.65
																				2.5	0.009	0.18	0.30	0.27*		
	1.5	10	0	7	2	1	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	5	4	1	0	18.9	1.033	0.94	1.80	1.21
																				7.8**	0.012**	0.33	0.48*	0.45		
	4.5	10	0	2	4	4	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	1	5	4	0	13.5	1.040	1.04	1.47	1.23
																				5.3	0.013*	0.38	0.46	0.47		
VCR 0.04	10	0	5	3	2	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	4	5	1	0	9.9	1.049	1.17	1.40	1.53	
																			3.6	0.011	0.28	0.36	0.34			
	0.08	10	0	6	4	0	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	6	4	0	10.2	1.046	0.85	1.32	1.18	
																			2.9	0.009	0.23	0.23	0.20			

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. —, Negative; ±, Trace; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe.

Table 4-2 Urinalyses in rats after the one-month untreated recovery period following intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

Sexes	Groups	No. of rats	pH					Occult blood			Ketone body			Glucose			Protein			Volume ml/day	Specific gravity	Electrolytes(mEq/day)				
																						Sodium	Potassium	Chlorine		
			5	6	7	8	9	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	±	+	++						+++	
Male	Control	10	0	2	6	2	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	0	0	9	1	12.9	1.055	1.20	2.29	1.91
																					1.8	0.011	0.44	0.36	0.52	
	VP	1.5	9	0	3	6	0	0	9	0	0	9	0	0	9	0	0	0	1	8	0	10.6	1.062	1.33	1.99	1.89
		4.5	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	1	1	0	1.5**	0.008	0.23	0.22*	0.25
																					12.6	1.053	1.56	2.15	2.06	
	VCR	0.08	3	0	0	1	2	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0	0	0	2	1	11.7	1.048	0.90	1.80	1.45
																					2.6	0.016	0.46	0.43	0.47	
Female	Control	10	0	4	6	0	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	5	5	0	0	13.0	1.043	1.09	1.76	1.56
																					4.8	0.013	0.45	0.65	0.67	
	VP	1.5	10	0	5	0	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	7	3	0	0	11.9	1.042	0.97	1.50	1.30
																					5.6	0.015	0.32	0.53	0.45	
		4.5	10	0	6	3	1	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	6	4	0	0	11.1	1.050	1.12	1.62
																					5.7	0.016	0.38	0.58	0.48	
	VCR	0.08	10	0	5	0	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	4	6	0	0	10.6	1.052	1.08	1.52	1.44
																					3.2	0.015	0.33	0.28	0.34	

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. —, Negative; ±, Trace; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe.

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. —, Negative; ±, Trace; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe.

Table 5-1 Absolute and relative organ weight data in rats at completion of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

-Male-

Groups mg/kg/day	No. of rats	Body weight g	Brain g	Subm. gland g	Thymus mg	Heart g	Lungs g	Liver g	Kid- neys g	Spleen g	Pitui- tary mg	Thy- roid mg	Adre- nals mg	Testes g	Epidi- dym. g	Semin. vesicle g	Pros- tate g
Absolute																	
Control	10	349	1.93	0.60	476	1.21	1.25	9.17	2.54	0.71	10.0	8.1	64	3.08	0.94	0.50	0.38
		30	0.06	0.04	133	0.09	0.07	1.19	0.21	0.12	1.4	0.9	7	0.21	0.08	0.06	0.07
VP 0.15	10	357	1.95	0.61	446	1.25	1.24	9.62	2.58	0.72	9.9	8.6	67	3.03	0.95	0.49	0.44
		25	0.07	0.08	115	0.10	0.09	1.32	0.19	0.10	1.0	1.5	10	0.23	0.11	0.08	0.10
0.50	10	332	1.91	0.55	251	1.24	1.14	8.63	2.37	0.55	9.1	8.0	55	2.61	0.86	0.47	0.40
		31	0.08	0.05*	118**	0.21	0.14*	1.21	0.28	0.13**	1.2	1.5	9*	0.38**	0.12	0.09	0.05
1.5	10	286	1.87	0.48	59	1.05	1.15	7.57	2.11	0.67	9.0	7.3	64	2.20	0.85	0.40	0.34
		20**	0.06*	0.06**	26**	0.12**	0.09**	0.54**	0.23**	0.13	2.0	1.4	8	0.35**	0.07*	0.08**	0.11
4.5	7	244	1.92	0.46	38	1.21	1.17	7.18	2.17	0.35	7.4	6.2	71	1.61	0.72	0.36	0.24
		36**	0.10	0.05**	16**	0.20	0.34	1.14**	0.17**	0.13**	1.2**	1.2**	19	0.22**	0.13**	0.14*	0.09**
VCR 0.04	10	303	1.94	0.48	155	1.76	1.47	8.19	2.35	0.66	8.6	8.0	56	2.72	0.85	0.39	0.29
		32**	0.05	0.08**	105**	0.39**	0.25*	0.93	0.20	0.16	0.9*	1.8	6**	0.34*	0.09*	0.07**	0.10*
0.08	3	206	1.88	0.30	42	1.70	1.18	6.39	2.03	0.26	7.5	4.9	55	1.03	0.68	0.26	0.16
		32**	0.09	0.03**	12**	0.36	0.17	1.14**	0.35**	0.10**	1.6*	2.1	4	0.24**	0.26	0.11**	0.04**
Relative																	
Control	10		0.56	0.17	136	0.35	0.36	2.62	0.73	0.20	2.9	2.3	18	0.88	0.27	0.14	0.11
			0.05	0.01	34	0.02	0.03	0.16	0.05	0.03	0.4	0.3	1	0.06	0.02	0.01	0.02
VP 0.15	10		0.55	0.17	124	0.35	0.35	2.68	0.72	0.20	2.8	2.4	19	0.85	0.27	0.14	0.13
			0.04	0.02	29	0.02	0.02	0.23	0.04	0.03	0.3	0.3	2	0.06	0.02	0.02	0.03
0.50	10		0.58	0.17	74	0.37	0.34	2.59	0.71	0.16	2.8	2.4	17	0.79	0.26	0.14	0.12
			0.05	0.02	30**	0.05	0.02	0.16	0.05	0.03**	0.4	0.5	3	0.15	0.04	0.04	0.02
1.5	10		0.66	0.17	21	0.37	0.40	2.65	0.74	0.24	3.1	2.5	23	0.77	0.30	0.14	0.12
			0.04**	0.02	10**	0.02	0.03**	0.15	0.05	0.05	0.6	0.4	3**	0.11**	0.03*	0.03	0.04
4.5	7		0.80	0.19	16	0.50	0.48	2.98	0.90	0.14	3.0	2.5	30	0.67	0.30	0.14	0.10
			0.12**	0.02	7**	0.04**	0.10*	0.43	0.10**	0.04**	0.3	0.4	12*	0.11**	0.04	0.04	0.03
VCR 0.04	10		0.64	0.16	49	0.58	0.49	2.70	0.78	0.22	2.8	2.6	18	0.90	0.28	0.13	0.09
			0.07**	0.02*	30**	0.13**	0.10**	0.15	0.08	0.05	0.3	0.5	1	0.05	0.02	0.03	0.03
0.08	3		0.92	0.15	20	0.83	0.57	3.09	0.99	0.12	3.6	2.3	27	0.50	0.32	0.12	0.08
			0.11*	0.01*	3**	0.09**	0.04**	0.07**	0.11*	0.04**	0.8	0.8	3*	0.07**	0.09	0.04	0.01*

Table 5-1 (continued)

— Female —

Groups	No. of rats	Body weight g	Brain g	Subm. gland g	Thymus mg	Heart g	Lungs g	Liver g	Kidneys g	Spleen g	Pituitary mg	Thyroid mg	Adrenals mg	Uterus g	Ovaries mg
Control	10	223	1.83	0.44	480	0.80	0.97	6.01	1.68	0.45	11.7	8.4	71	0.40	96
VP	0.15	18	0.08	0.02	101	0.06	0.06	0.48	0.21	0.05	2.3	1.8	7	0.09	10
	0.15	15	0.07	0.05	56	0.04	0.13	0.72	0.18	0.07	2.1	1.6	7	0.08	13
	0.50	236	1.80	0.41	261	0.86	0.97	6.32	1.75	0.40	13.3	7.6	68	0.38	89
	0.50	9	0.05	0.04	68	0.06	0.08	0.55	0.16	0.05	3.1	1.9	7	0.06	13
Absolute	1.5	222	1.81	0.37	114	0.78	1.01	6.28	1.56	0.51	11.6	6.9	65	0.35	82
	1.5	18	0.06	0.06	29	0.07	0.09	0.61	0.15	0.09	1.5	1.5	8	0.06	11
	4.5	200	1.78	0.38	57	0.99	0.95	5.74	1.63	0.32	9.8	6.5	65	0.28	71
	4.5	13	0.05	0.05	19	0.11	0.11	0.53	0.13	0.05	0.9	1.5	7	0.08	11
VCR	0.04	228	1.79	0.43	256	0.83	0.99	6.52	1.72	0.46	11.8	7.6	68	0.38	96
	0.04	27	0.07	0.05	45	0.13	0.09	1.07	0.17	0.06	2.2	0.9	8	0.07	14
	0.08	195	1.81	0.34	64	1.43	1.18	6.13	1.61	0.39	10.9	7.2	67	0.32	82
	0.08	16	0.04	0.03	10	0.15	0.24	0.47	0.14	0.06	1.6	2.5	7	0.07	17
Relative	Control	10	0.79	0.19	206	0.34	0.42	2.58	0.72	0.19	5.1	3.6	31	0.17	42
	VP	0.15	0.05	0.01	39	0.01	0.03	0.18	0.07	0.01	1.0	0.7	4	0.04	5
		0.15	0.80	0.19	190	0.34	0.43	2.65	0.75	0.20	5.6	3.3	29	0.15	41
		0.15	0.05	0.02	19	0.02	0.03	0.20	0.05	0.03	0.7	0.7	3	0.03	4
		0.50	0.77	0.17	110	0.36	0.41	2.69	0.74	0.17	5.6	3.3	29	0.16	38
	1.5	10	0.04	0.01	26	0.02	0.03	0.21	0.05	0.02	1.3	0.8	3	0.02	6
		10	0.82	0.17	51	0.35	0.46	2.83	0.70	0.23	5.3	3.1	29	0.16	37
		10	0.08	0.03	13	0.03	0.04	0.21	0.05	0.03	0.7	0.6	3	0.03	5
		4.5	0.89	0.19	28	0.49	0.48	2.87	0.82	0.16	4.9	3.2	33	0.14	35
	VCR	0.04	0.05	0.02	8	0.06	0.05	0.17	0.08	0.02	0.6	0.7	4	0.04	5
		0.04	0.80	0.19	113	0.36	0.44	2.85	0.76	0.20	5.2	3.3	30	0.17	42
		0.04	0.09	0.03	19	0.03	0.04	0.21	0.03	0.02	0.7	0.4	4	0.05	5
		0.08	0.93	0.18	33	0.73	0.61	3.14	0.82	0.20	5.6	3.8	34	0.16	42
	0.08	10	0.07	0.03	6	0.08	0.13	0.13	0.03	0.03	0.8	1.4	2	0.04	6

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. a), Unilateral (left side); b), Ventral lobes.

*, Significantly different from controls at $p < 0.05$; **, Significantly different from controls at $p < 0.01$.

Abbreviations: Subm. gland, Submaxillary gland; Epididym., Epididymides; Semin. vesicle, Seminal vesicle; Absolute,

Absolute organ weight; Relative, Relative organ weight (per 100g body weight).

Table 5-2 Absolute and relative organ weight data in rats after the one-month untreated recovery period following intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days.

— Male —

Groups	No. of rats	Body weight	Brain	Subm. gland	Thymus	Heart	Lungs	Liver	Kidneys	Spleen	Pituitary	Thyroid	Adrenals	Testes	Epididym.	Semin. vesicle	Prostate
mg/kg/day		g	g	g	mg	g	g	g	g	g	mg	mg	mg	g	g	g	g
Absolute	Control	10	464 49	2.01 0.11	0.71 0.08	349 80	1.45 0.19	1.37 0.14	11.63 1.87	2.97 0.38	0.73 0.10	10.7 1.7	10.4 1.9	66 13	3.32 0.30	1.30 0.13	0.70 0.15
	VP 1.5	9	431 26	2.02 0.08	0.66 0.09	357 59	1.39 0.09	1.41 0.12	11.36 1.26	2.80 0.26	0.61 0.07**	11.2 0.8	10.6 2.3	60 7	1.29 0.21**	0.73 0.09**	0.50 0.13**
	4.5	2	349 9**	2.03 0.04	0.68 0.11	305 64	1.46 0.09	1.32 0.10	8.85 0.33	2.56 0.12	0.65 0.00*	11.2 1.1	9.9 4.7	73 8	1.47 0.40**	0.60 0.04**	0.42 0.10*
	VCR 0.08	3	406 22	1.98 0.07	0.60 0.08	463 76	1.74 0.11*	1.49 0.05	10.84 0.41	2.89 0.19	0.78 0.04	10.9 1.0	9.8 1.5	72 10	1.25 0.40**	0.72 0.19**	0.53 0.12
Relative	Control	10	0.44 0.03	0.15 0.01	0.71 0.01	75 14	0.31 0.03	0.30 0.02	2.50 0.21	0.64 0.04	0.16 0.01	2.3 0.3	2.3 0.5	14 2	0.72 0.06	0.28 0.02	0.15 0.03
	VP 1.5	9	0.47 0.04*	0.15 0.02	0.66 0.02	83 14	0.32 0.02	0.33 0.03**	2.63 0.16	0.65 0.04	0.14 0.02*	2.6 0.2*	2.5 0.5	14 2	0.30 0.05**	0.17 0.02**	0.12 0.03*
	4.5	2	0.58 0.00**	0.20 0.02**	0.68 0.02**	88 21	0.42 0.04**	0.38 0.04**	2.54 0.16	0.73 0.01**	0.19 0.01**	3.2 0.4**	2.8 1.3	21 1**	0.42 0.13**	0.17 0.00**	0.12 0.01*
	VCR 0.08	3	0.49 0.01*	0.15 0.02	0.60 0.02	115 23**	0.43 0.01**	0.37 0.01**	2.67 0.06	0.71 0.01**	0.19 0.02**	2.7 0.2	2.4 0.5	17 2	0.30 0.08**	0.18 0.04*	0.13 0.03

Table 5-2 (continued)

— Female —

Groups	No. of rats	Body weight	Brain	Subm. gland	Thymus	Heart	Lungs	Liver	Kidneys	Spleen	Pituitary	Thyroid ^{a)}	Adrenals	Uterus	Ovaries
mg/kg/day		g	g	g	mg	g	g	g	g	g	mg	mg	mg	g	mg
Control	10	278	1.86	0.44	355	0.89	1.07	6.52	1.71	0.47	16.8	7.8	76	0.48	83
		27	0.05	0.05	37	0.07	0.09	0.78	0.12	0.10	2.0	1.3	10	0.09	9
VP	10	270	1.87	0.44	427	0.89	1.03	6.49	1.77	0.48	13.5	8.3	70	0.44	89
		24	0.08	0.06	102	0.12	0.12	0.90	0.21	0.10	2.0**	1.4	10	0.11	14
Absolute															
	10	241	1.88	0.44	389	0.98	1.07	6.14	1.75	0.53	12.5	8.7	70	0.44	81
		22**	0.06	0.03	91	0.13	0.14	0.62	0.16	0.10	1.6**	2.2	9	0.08	8
VCR	10	265	1.84	0.42	488	1.09	1.13	6.59	1.85	0.56	15.2	8.9	74	0.42	87
		15	0.03	0.05	107**	0.12**	0.12	0.69	0.23	0.10*	1.6	1.6	9	0.07	10
Control	10		0.68	0.16	128	0.32	0.39	2.35	0.62	0.17	6.1	2.8	28	0.17	30
			0.06	0.01	11	0.02	0.03	0.19	0.06	0.03	1.0	0.4	5	0.03	3
VP	10		0.70	0.16	157	0.33	0.38	2.40	0.66	0.18	5.0	3.1	26	0.17	33
			0.05	0.02	30*	0.02	0.04	0.18	0.03	0.03	0.5**	0.4	4	0.05	5
Relative															
	10		0.78	0.18	160	0.41	0.45	2.55	0.73	0.22	5.2	3.6	29	0.18	34
			0.07**	0.03**	25**	0.05**	0.06**	0.16*	0.05**	0.04**	0.5*	0.8*	3	0.03	3*
VCR	10		0.70	0.16	184	0.41	0.43	2.48	0.70	0.21	5.8	3.4	28	0.16	33
			0.04	0.02	35**	0.02**	0.04*	0.18	0.07*	0.03**	0.7	0.7*	3	0.03	3

Upper and lower values show means and standard deviations, respectively. a), Unilateral (left side); b), Ventral lobes.

*, Significantly different from controls at $p < 0.05$; **, Significantly different from controls at $p < 0.01$.

Abbreviations : Subm. gland, Submaxillary gland ; Epididym., Epididymides ; Semin. vesicle, Seminal vesicle ; Absolute,

Absolute organ weight ; Relative, Relative organ weight (per 100g body weight).

投与期間終了時に、VP 0.50 mg/kg 群の雄及び 1.5 mg/kg 以上の群の雌雄で用量依存的な胸腺の萎縮、4.5 mg/kg 群の雄で腸間膜・下顎・縦隔リンパ節のうっ血、睪丸の水腫性変化を伴う萎縮、雌で心の肥大、卵巣の萎縮を認めた。VCR の場合は、0.04 mg/kg 群の雄及び 0.08 mg/kg 群の雌雄で胸腺の萎縮、心の肥大、更に 0.08 mg/kg 群の雄で腸間膜・下顎・縦隔リンパ節のうっ血、睪丸の水腫性変化を伴う萎縮、雌で卵巣の萎縮がみられた。

休薬期間終了時には、VP 1.5、4.5 mg/kg 群及び VCR 0.08 mg/kg 群の雄で睪丸の水腫性変化を伴う萎縮、副睪丸の萎縮がむしろ顕著となった。このほかに、VCR 0.08 mg/kg 群の雌雄で心の肥大が散見されたが、投与期間終了時にみられたこれ以外の変化はおおむね観察されなくなった。

投与期間中に死亡又は死期切迫のため屠殺した動物については、VP 4.5 mg/kg 群の雄で胸腺の萎縮、腸間膜・下顎・縦隔リンパ節のうっ血、睪丸、副睪丸のうっ血がみられた。VCR の場合は、0.08 mg/kg 群の雄でこれらに加え心の肥大が散見された。

休薬期間中に死亡又は死期切迫のため屠殺した動物については、VP 1.5 mg/kg 群の雄で胸腺の萎縮、腸間膜リンパ節のうっ血、4.5 mg/kg 群の雄でこれらに加えて睪丸・副睪丸のうっ血、睪丸の萎縮が散見された。

上記以外に、投与期間終了時、休薬期間終了時あるいは死亡又は死期切迫による屠殺時にみられた異常所見は、いずれも偶発あるいは自然発生と考えられた。

12. 光顕的病理組織検査 (Tables 6-1, 6-2)

投与期間終了時に、VP 0.50 mg/kg 群の雄及び 1.5 mg/kg 以上の群の雌雄で胸腺の萎縮 (Photo. 1), 1.5 mg/kg 以上の群の雌雄で骨髓の低形成 (Photo. 2), 雄で睪丸の精子形成抑制と精細管萎縮 (Photo. 3a), VP 4.5 mg/kg 群の雌雄で脾の胚中心萎縮、雄でヘモジデリン沈着 (Photo. 4a), 腸間膜リンパ節のうっ血 (Photo. 5), 副睪丸の巨細胞の出現 (Photo. 6) を認めた。このほか、1.5 mg/kg 群の雌雄でのみ脾の赤芽球形成 (Photo. 4b) が観察された。VCR の場合は、0.04 及び 0.08 mg/kg 群の雌雄で胸腺の萎縮、骨髓の低形成、0.08 mg/kg 群の雌雄で脾の胚中心萎縮とヘモジデリン沈着、雄で腸間膜リンパ節のうっ血、睪丸の精子形成抑制・精細管萎縮、副睪丸の精子数減少と巨細胞の出現、精嚢の萎縮がみられたほか、0.04 mg/kg 群の雄でのみ脾の赤芽球形成が観察された。休薬期間終了時には、これらのうち胸腺、脾、骨髓の変化は消失したが、雄生殖器の諸所見は回復を示さず、加えて新たに VP 1.5、4.5 mg/kg 群及び VCR 0.08 mg/kg 群で睪丸の水腫 (Photo. 3b), VP 1.5 及び 4.5 mg/kg 群で副睪丸の精子数減少、VP 1.5 mg/kg 群で副睪丸の巨細胞の出現が認められた。

上記以外に、投与期間及び休薬期間終了時において各群でみられた顎下腺・心・肺・肝・腎・膵・乳腺・子宮・気管の変化は対照群と比較し出現頻度、重篤度に差異がないか偶発的とみなされた。更に、大脳、小脳、下垂体、甲状腺、副腎、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、卵巣、眼、坐骨神経、大動脈、皮膚、脊髄、膀胱、骨格筋については、組織学的に異常を認め得なかった。

一方、投与期間中の死亡動物又は死期切迫による屠殺動物は VP 4.5 mg/kg 群の雄 8 例、

Table 6-1 Histopathological findings in male rats at completion of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days (A) and after the subsequent one-month untreated recovery period (R).

ORGANS		GROUPS NO. OF ANIMALS EXAMINED & SEVERITY TIME EXAMINED FINDINGS	Control			VP (mg/kg/day)						VCR (mg/kg/day)															
						0.15			0.50			1.5			4.5			0.04									
												No	±	+	++	No	±	+	++	No	±	+	++	No	±	+	++
SUBMAXIL- LARY GLAND	Periarteritis	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0	
		R	10	0	0	0					9	1	0	0	2	0	0	0					3	0	0	0	
	Atrophy	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	3	7	6	0	0	6	10	5	2	1	3	0	0	3	
		R	10	0	0	0					9	0	0	0	2	0	0	0					3	0	0	0	
LUNG	Focal emphysema	A	10	4	0	0	10	6	0	0	10	2	0	0	7	1	0	0	9	2	0	0	3	0	0	0	
	Periarteritis	R	10	5	0	0					9	1	0	0	2	0	0	0					3	1	0	0	
		A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	3	0	0	7	0	0	0	9	2	0	0	3	0	0	0	
	Aggregation of foamy cells	R	10	0	0	0					9	0	0	0	2	0	0	0					3	0	0	0	
		A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	9	1	0	0	3	0	0	0	
	Bacterial colonies & necrosis	R	10	0	0	0					9	0	0	0	2	0	1	0	0	9	0	0	0	3	0	0	0
	Congestion	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	9	0	0	0	3	0	1	0	
LIVER	Focal small round cell infiltration in parenchyma	R	10	1	0	0					9	0	0	0	2	0	1	0	0	9	0	0	3	0	0	0	
		A	10	3	0	0	10	3	0	0	10	4	0	0	7	0	0	0	10	3	0	0	3	0	0	0	
	Pericholangitis	R	10	6	0	0					9	1	0	0	2	0	0	0					3	3	0	0	
		A	10	2	0	0	10	2	0	0	10	1	0	0	7	0	0	0	10	2	0	0	3	0	0	0	
	Vacuolation	R	10	1	0	0	10	3	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0	
	Periphelebitis	R	10	1	0	0	10	1	0	0	10	5	0	0	9	0	0	0	10	2	0	0	3	1	0	0	
	Focal necrosis	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0	
Sinusal congestion	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0		
KIDNEY	Interstitial nephritis	A	10	2	0	0	10	2	0	0	10	2	0	0	7	0	0	0	10	1	0	0	3	0	0	0	
	Eosinophilic casts	R	10	1	0	0					9	4	0	0	2	0	0	0					3	1	0	0	
		A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	7	0	0	0	10	1	0	0	3	0	0	0	
	Bacterial colonies & necrosis	R	10	2	0	0					9	1	0	0	2	1	1	0	10	0	0	0	3	0	0	0	
		A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	1	0	0					3	0	0	0	
SPLEEN	Erythropoiesis	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	5	0	0	3	0	0	0	
	Atrophy of germinal center	R	10	0	0	0					9	0	0	0	2	0	0	0					3	0	0	0	
		A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	5	1	0	10	0	0	0	3	1	0	0	
	Hemosiderin deposition	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	2	0	0	0	10	1	0	0	3	3	0	0	
	Bacterial colonies & necrosis	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	4	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0	

Table 6-1 (continued)

ORGANS	GROUPS NO. OF ANIMALS EXAMINED & SEVERITY TIME EXAMINED FINDINGS	Control			VP (mg/kg/day)						VCR (mg/kg/day)														
					0.15			0.50			1.5			4.5			0.04			0.08					
		No.	±	+	++	No.	±	+	++	No.	±	+	++	No.	±	+	++	No.	±	+	++				
PANCREAS	Insular hyperplasia	A 10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
	R	10	1	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
	R	10	1	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	1	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0	
TESTIS	Inhibition of spermatogenesis	A 10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	3	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	8	1	0	2	0	2	0	10	0	0	0	3	2	1	0
	A	10	1	0	0	10	0	0	0	10	4	0	0	7	2	0	0	10	0	0	0	3	3	0	0
	R	10	1	0	0	10	0	0	0	9	6	3	0	2	2	0	0	10	0	0	0	3	2	0	0
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	2	0	0	10	0	0	0	3	2	0	0
R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	8	0	0	2	2	0	0	10	0	0	0	3	3	0	0	
EPIDIDYMS	Decrease of sperms in number	A 10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	1	0	0	10	1	0	0	3	0	3	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	8	1	0	2	2	0	0	10	0	0	0	3	2	0	1
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	3	0	0	10	0	1	0	3	0	3	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	5	0	0	2	2	0	0	10	0	0	0	3	3	0	0
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	1	0	10	0	0	0	3	3	0	0
R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0	
PROSTATE	Interstitial prostatitis	A 10	0	0	0	10	0	0	0	1	0	0	0	7	0	0	0	10	0	1	0	3	0	0	0
	R	10	2	0	0	10	0	0	0	9	2	3	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	1	1	0
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	1	0	0	3	0	0	0
SEMINAL VESICLE	Atrophy	R 10	0	0	0	10	0	0	0	9	2	0	0	2	1	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	1	0	0	3	2	0	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
LYMPH NODE	Congestion	A 10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	0	0	0	3	0	3	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
	A	10	0	0	0	10	0	0	0	9	1	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0
BONE MARROW	Hypoplasia	A 10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	0	2	5	10	3	4	3	3	0	0	3
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	2	0	0	0	10	0	0	0	3	0	0	0

±, Mild changes; +, Moderate changes; ++, Severe changes.

Except for the above-described organs or tissues, no significant changes were observed for the following concomitantly examined organs or tissues: cerebrum, cerebellum, tongue, heart, skeletal muscle, urinary bladder, esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, caecum, colon, pituitary, thyroid, trachea, adrenal, eye, spinal cord, aorta, peripheral nerve and skin.

Table 6-2 Histopathological findings in female rats at completion of intravenous administration of VP 16-213 (VP) or vincristine (VCR) for 30 days (A) and after the subsequent one-month untreated recovery period (R).

ORGANS	GROUPS NO. OF ANIMALS EXAMINED & SEVERITY TIME EXAMINED FINDINGS	Control			VP (mg/kg/day)						VCR (mg/kg/day)		
		0.15			0.50			1.5			4.5		
		No.	±	+	++	No.	±	+	++	No.	±	+	++
THYMUS	Atrophy	10	0	0	0	10	0	0	0	10	3	6	1
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	Hemorrhage	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
HEART	Focal myocarditis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
LUNG	Focal emphysema	10	5	0	0	10	5	0	0	10	6	0	0
	R	10	5	0	0	10	5	0	0	10	5	0	0
	Periarteritis	10	0	0	0	10	3	0	0	10	5	0	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	Aggregation of foamy cells	10	0	0	0	10	0	0	0	10	2	0	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	Focal small round cell infiltration in parenchyma	10	3	0	0	10	4	0	0	10	3	0	0
	R	10	3	0	0	10	1	1	0	10	4	0	0
LIVER	Pericholangitis	10	2	0	0	10	3	0	0	10	0	0	0
	R	10	2	0	0	10	0	0	0	10	4	0	0
	Vacuolation	10	5	0	0	10	5	0	0	10	0	0	0
	R	10	0	1	0	10	4	0	0	10	6	0	0
	Periphebitis	10	2	0	0	10	4	0	0	10	0	0	0
	R	10	4	0	0	10	0	0	0	10	2	0	0
	Focal necrosis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	2	0	0
	Focal degeneration of hepatocytes	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0

Table 6-2 (continued)

ORGANS	GROUPS NO. OF ANIMALS EXAMINED & SEVERITY TIME EXAMINED FINDINGS	Control			VP (mg/kg/day)						VCR (mg/kg/day)											
					0.15		0.50		1.5		4.5		0.04		0.08							
		No.	±	+	++	No.	±	+	++	No.	±	+	++	No.	±	+	++					
KIDNEY	Focal interstitial nephritis	A	10	3	0	0	10	1	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0
	Eosinophilic casts	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	3	0	0
		R	10	1	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
SPLEEN	Erythropoiesis	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	7	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	Atrophy of germinal center	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	5	0	0	10	3	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
PANCREAS	Hemosiderin deposition	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0
		R	10	2	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	10	3	0	0
	Focal interstitial pancreatitis	A	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
MAMMARY GLAND	Alveolar development	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	Cyst formation	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
UTERUS	Endometritis	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
	Epithelial hyperplasia	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
TRACHEA	Tracheitis	A	10	0	0	0	10	0	1	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
ADRENAL	Congestion	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0
		R	10	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
BONE MARROW	Hypoplasia	A	10	0	0	0	10	0	0	0	10	6	0	0	10	5	3	0	10	7	2	0
		R	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0

±, Mild changes; +, Moderate changes; ++, Severe changes.

Except for the above-described organs or tissues, no significant changes were observed for the following concomitantly examined organs or tissues: cerebrum, cerebellum, tongue, submaxillary gland, skeletal muscle, urinary bladder, esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, caecum, colon, ovary, pituitary, thyroid, lymph node, eye, spinal cord, aorta, peripheral nerve and skin.

Intravenous one-month subacute toxicity of VP 16-213 in rats

Photo. 1 Thymus from a male rat receiving VP 0.50 mg/kg/day i.v. for 30 days: Atrophy is noted. H.E. stain, $\times 100$.

Photo. 2 Bone marrow from a female rat receiving VP 4.5 mg/kg/day i.v. for 30 days: Hypoplasia is noted. H.E. stain, $\times 100$.

Photo. 3a Testis from a male rat receiving VP 1.5 mg/kg/day i.v. for 30 days: Inhibition of spermatogenesis and atrophy of seminiferous tubules are noted. H.E. stain, $\times 100$.

Photo. 3b Testis from a male rat receiving VP 1.5 mg/kg/day i.v. for 30 days, followed by the one-month untreated recovery period: Edema is noted. H.E. stain, $\times 100$.

Photo. 4a Spleen from a male rat receiving VP 4.5 mg/kg/day i.v. for 30 days: Atrophy of germinal centers and hemosiderin deposition are noted. H.E. stain, $\times 100$.

Photo. 4b Spleen from a female rat receiving VP 1.5 mg/kg/day i.v. for 30 days: Erythropoiesis is noted. H.E. stain, $\times 100$.

Photo. 5 Mesenteric lymph node from a male rat receiving VP 4.5 mg/kg/day i.v. for 30 days: Congestion is noted. H.E. stain, $\times 100$.

Photo. 6 Epididymis from a male rat receiving VP 4.5 mg/kg/day i.v. for 30 days: Appearance of giant cells is noted. H.E. stain, $\times 100$.

VCR 0.08 mg/kg 群の雄14例であり、胸腺の萎縮、脾のヘモジデリン沈着、睪丸の精子形成抑制、副睪丸の巨細胞出現、腸間膜リンパ節のうっ血、骨髓の低形成等が共通してみられた。

また、休薬期間中に死亡した VP 1.5 mg/kg 群の雄1例では胸腺の萎縮、脾の胚中心の萎縮とヘモジデリン沈着、睪丸の精子形成抑制がみられ、VP 4.5 mg/kg 群の雄1例では、これに加えて骨髓の低形成、リンパ節のうっ血、睪丸のうっ血が観察された。

13. 電顕的病理組織検査

投与期間終了時に、VP 4.5 mg/kg 群の一部の雌雄について肝 (Photos. 7a, 7b)、腎 (Photos. 8a, 8b, 8c, 8d) を検索した結果、対照群と比較して差異は認められなかった。

Photo. 7a Electron micrograph of liver cells, a female control rat: No significant changes. Double staining with uranyl acetate and lead citrate, $\times 5000$.

Intravenous one-month subacute toxicity of VP 16-213 in rats

Photo. 7b Electron micrograph of liver cells, a female rat receiving VP 4.5 mg/kg/day i.v. for 30 days : No significant changes. Double staining with uranyl acetate and lead citrate, $\times 5000$.

Photo. 8a Electron micrograph of a glomerulus, a male control rat : No significant changes. Double staining with uranyl acetate and lead citrate, $\times 5000$.

Photo. 8b Electron micrograph of a glomerulus, a male rat receiving VP 4.5 mg/kg/day i.v. for 30 days : No significant changes. Double staining with uranyl acetate and lead citrate, $\times 5000$.

Photo. 8c Electron micrograph of a renal proximal tubule, a male control rat : No significant changes. Double staining with uranyl acetate and lead citrate, $\times 5000$.

Photo. 8d Electron micrograph of a renal proximal tubule, a male rat receiving VP 4.5 mg/kg/day i.v. for 30 days: No significant changes. Double staining with uranyl acetate and lead citrate, $\times 5000$.

考 察

VP の静脈内投与による亜急性毒性を VCR を対照にラットを用いて検討した。

一般症状及び死亡状況：VP 4.5 mg/kg 以上の群で脱毛，貧血症状を主とする変化，VCR 0.08 mg/kg 群で貧血症状を主とする変化が認められ，薬物投与との関連がうかがわれた。死亡動物あるいは死期切迫による屠殺動物は，VP 4.5 mg/kg 群及び VCR 0.08 mg/kg 群で投与期間末期あるいは休薬初期に主として全身衰弱，消瘦，運動失調を呈した雄の一部にみられた。なお，投与期間終了時にみられた症状は，いずれも 1 箇月間の休薬により消失し，回復を示した。

体重変動及び摂餌・摂水量：VP 0.50 mg/kg 以上の群の雄及び 1.5 mg/kg 以上の群の雌で用量依存的な体重増加の抑制が認められた。摂餌量は，体重増加の抑制を示した群の雄で投与期間中，雌で投与期間初期にこの抑制と関連して減少した。VCR の場合は，0.04 mg/kg 群の雌を除く各群で体重減少又は体重増加の抑制がみられ，これに関連した摂餌量の減少を認めた。摂水量は，VP 1.5 mg/kg 群で増加傾向，VCR 0.08 mg/kg 群で減少傾向が認められたが，いずれも用量相関に乏しいため，薬物投与との関連は明らかでなかった。

体重増加の抑制の回復性については，VP 1.5 mg/kg 群，VCR 0.08 mg/kg 群では休薬により順調に増加し回復が示された。一方，VP 4.5 mg/kg 群では体重減少を示した雄 2 例中 1 例

を除き、残る雄1例及び雌全例が緩慢ながら体重増加を示したため、概して回復途上にあるとみなされた。

血液学的検査及び骨髓塗抹標本検査：VP投与に起因する所見として、0.50 mg/kg以上の群でリンパ球の減少（相対的な顆粒球の増加）を伴う白血球数の減少が、1.5 mg/kg以上の群で貧血に関連する赤血球数の減少を主とする変動が認められ、VPの造血臓器に対する影響が示唆された。これ以外に、VP群でみられた網状赤血球数の増減は貧血に関連する変動と考えられたが、血小板数の変動は用量相関が乏しいため、偶発的所見と考えられた。

骨髓塗抹標本検査については、VP投与に起因する所見として雌にのみ赤芽球の増加あるいは減少、リンパ球の減少、好酸球の増加を主とする変動がみられ末梢血の所見との関連がうかがわれたが、雄では変動を認めなかった。ただし、組織学的にはVP高用量群の雌雄とも骨髓の低形成がみられているため、雄の所見は正常像を意味するものでなく、骨髓細胞の相対的変動が認められないためと思われた。

VCRの場合も、VP群とおおむね同様の変動がみられた。

これらの血液学的検査所見の回復性については、休薬期間終了時にもVP、VCRのいずれの群でも赤・白血球数の減少を主とする変動がわずかに認められたが、骨髓塗抹標本検査や組織学的検査で骨髓に異常を認めないことから、回復傾向にあると考えられた。

血液生化学的検査：VP 1.5 mg/kg以上の群でグロブリン量の減少を反映する総蛋白量とA/G比の上昇、AIP活性の低下が主としてみられ、これらの変動はラットを用いた他の毒性試験（高橋ら，1986b, c）でも認められているため、VP投与に起因する所見と考えられた。VCRの場合も、雄でVP群とおおむね同様の変動がみられた。加えて、VCR群でGOT・GPT活性の上昇、総ビリルビン量の増加がみられ、肝に対する影響が予想されたが組織学的には異常は認められなかった。更に、VP、VCRの高用量群で尿素窒素量の増加が散見されたが、他の諸検査では腎障害を示唆する所見は得られなかった。

尿検査：VP 1.5 mg/kg群の雌雄及び4.5 mg/kg群の雄で尿比重の減少を伴う尿量の増加がみられ、1.5 mg/kg群では摂水量の増加とも関連するためVP投与の影響が考えられたが、4.5 mg/kg群では摂水量の増加は伴わなかった。これ以外に、VP群でカリウム・クロール排泄量の増減が散見されたが、用量相関はなく血清電解質量の変動もみられないことから、尿中電解質の所見は偶発的と考えられた。

臓器・組織の病理学的検査：VP投与に起因する変化は、死期切迫による屠殺動物、投与期間終了時剖検動物のいずれにおいても、主としてリンパ系臓器・組織、造血臓器、雄生殖器に観察された。すなわち、睪丸を主とする臓器重量の変動は、VP 0.50 mg/kg群から認められたが、組織学的には1.5 mg/kg群で脾の赤芽球形成、1.5 mg/kg以上の群で胸腺の萎縮、骨髓の低形成、睪丸の精子形成抑制・精細管萎縮、4.5 mg/kg群で脾の胚中心萎縮・ヘモジデリン沈着、リンパ節のうっ血、副睪丸の精子数減少・巨細胞の出現等が観察され、細胞毒性を有する抗悪性腫瘍薬に特徴的なこれらの変化は、ラットを用いた本薬物の他の毒性試験でも報告されている（高橋ら，1986b, c）。このほか、VP 4.5 mg/kg群で心重量の増加傾向、卵巢重

Intravenous one-month subacute toxicity of VP 16-213 in rats

量の減少がみられたがいずれも組織学的には異常を認めないため、心の変化は著しい貧血に基づく肥大、卵巣のそれらは偶発的所見と考えられた。

VCR の場合は、VP 群と同様の所見が VCR 0.04 mg/kg は VP 1.5 mg/kg に、VCR 0.08 mg/kg は VP 4.5 mg/kg にそれぞれ対応する重篤度で観察された。ただし、心肥大の程度は VP の方が軽度であった。このほか、VCR 投与との関連がうかがわれる肺重量の増加がみられた。

これら臓器・組織の大部分の異常所見は休薬によりおおむね回復したが、睪丸・副睪丸の所見は VP、VCR いずれの群でも回復を示さなかった。すなわち、両臓器とも休薬後にむしろ重量減少を示し、組織学的には投与期間終了時にみられなかった睪丸の水腫が新たに観察され、また副睪丸の異常所見が VP 1.5 mg/kg 群にまで及び、これらの臓器の所見は非可逆的であると考えられた。また、VP、VCR 両群で雄副生殖器の重量減少傾向、VCR 群で心の重量増加がわずかに残存したが、いずれも回復途上にあると思われた。一方、休薬後に同群の雌で胸腺の重量増加がみられ加齢による生理的萎縮とは逆の変化を示したが、その意義は不明であった。

雌雄差：VP、VCR いずれの群でも、死亡動物数、体重推移から判断して薬物投与の影響が雌よりも雄に若干強く発現することが示されたが、生存動物の血液学的・血液生化学的・病理組織学的検査成績には、雌雄差は明らかでなかった。

死因：上記成績より、VP、VCR 両群で死亡動物あるいは死期切迫による屠殺動物に衰弱、消瘦、骨髓の低形成、リンパ系臓器の萎縮が認められたことから、細胞毒性を有する両抗悪性腫瘍薬の大量投与により、造血障害、免疫能の低下、栄養障害を主とする全身性の機能的・器質的障害が誘起された結果死に至ると考えられた。

経口亜急性毒性試験成績との比較：経口投与による同試験（高橋ら，1986b）で観察された消化管に対する影響を除いて、本試験ではおおむね同様の毒性所見が得られ、その重篤度は本静脈内投与試験の 0.15, 0.50, 1.5, 4.5 mg/kg 群が経口投与試験のそれぞれ 3, 10, 30, 100 mg/kg 群に対応し、用量比は約 1 : 20 であった。

無影響量：上述の各種検査において、VP 0.15 mg/kg / 日群では対照群と比較して差異が認められないことから、VP の無影響量は 0.15 mg/kg / 日と考えられた。

総 括

抗悪性腫瘍薬 VP の安全性評価の一環として、本薬物を 1 箇月にわたり Crj : CD (SD) ラットに 0.15, 0.50, 1.5, 4.5 mg/kg / 日の割合で連日静脈内投与し、その亜急性毒性を検索するとともに、発現した異常所見の回復状況についても 1 箇月にわたる休薬により検討した。また、対照薬として VCR を 0.04, 0.08 mg/kg / 日の割合で同様に投与し、比較検討した。

1. 症状、死亡状況については、おおむね VP 0.50 mg/kg 以上の群で用量依存的な体重増加の抑制とそれに伴う摂餌量の減少がみられ、4.5 mg/kg 群では脱毛、貧血を認め、一部の雄動物が全身衰弱、消瘦、運動失調を示して死に至った。

2. 血液学的検査については、VP 0.50 mg/kg 以上の群でリンパ球数の減少を伴う白血球

数の減少, 1.5 mg/kg 以上の群で貧血に関連した赤血球数の減少を主とする変化が認められた。

3. 血液生化学的検査については, VP 1.5 mg/kg 以上の群で総蛋白量の減少, A/G 比の上昇, AIP 活性の低下が認められた。

4. 臓器・組織の病理学的検査については, 睪丸を主とする臓器重量の変化が VP 0.50 mg/kg 群から認められ, 組織学的には 1.5 mg/kg 以上の群で主として胸腺の萎縮, 骨髄の低形成, 睪丸の萎縮 (精子形成抑制, 精細管萎縮), 4.5 mg/kg 群で脾の胚中心萎縮とヘモジデリン沈着, 副睪丸の萎縮 (精子数減少, 巨細胞の出現) が観察された。

5. 上記諸検査で認められた異常所見の回復性については, 睪丸・副睪丸の変化は休薬によっても回復を示さなかったが, それ以外の所見にはおおむね回復が認められた。

6. 対照薬 VCR の場合も, 症状, 死亡状況, 諸検査ともおおむね VP 投与と類似する所見が得られ, これらの重篤度は VP 1.5 mg/kg が VCR 0.04 mg/kg に VP 4.5 mg/kg が VCR 0.08 mg/kg に対応した。

以上の成績に基づき, 本試験条件下における VP の無影響量は, 0.15 mg/kg/日と推定された。

謝 辞

本試験の病理組織学的評価に際し, 御指導を賜りました奈良県立医大病理学教室螺良義彦教授に深謝致します。

文 献

- Issell, B. F. and Crooke, S. T. (1979): Etoposide (VP16-213). *Cancer Treat. Rev.*, **6**, 107.
- Nissen, N. I., Hansen, H. H., Pedersen, H. et al. (1975): Clinical trial of the oral form of a new podophyllotoxin derivative, VP 16-213 (NSC-141540), in patients with advanced neoplastic disease. *Cancer Chemother. Rep.*, **59**, 1027.
- Stahelin, H. (1973): Activity of a new glycosidic lignan derivative (VP 16-213) related to podophyllotoxin in experimental tumors. *Eur. J. Cancer*, **9**, 215.
- 高橋紀光, 門田利人, 河野茂生, 他 (1986a): 抗悪性腫瘍薬 VP 16-213の毒性研究 (第1報). — マウス, ラット, ウサギにおける急性毒性 — *J. Toxicol. Sci.*, **11**, 1~16.
- 高橋紀光, 門田利人, 河野茂生, 他 (1986b): 同 (第2報). — ラットにおける1箇月間反復経口投与による亜急性毒性 — *J. Toxicol. Sci.*, **11**, 17~49.
- 高橋紀光, 門田利人, 河野茂生, 他 (1986c): 同 (第3報). — ラットにおける6箇月間反復経口投与による慢性毒性 — *J. Toxicol. Sci.*, **11**, 51~87.