抗悪性腫瘍薬 Paclitaxel の毒性研究 (第1報)

— ラットにおける単回静脈内投与毒性試験 —

門田 利人, 近沢 弘隆, 近藤 博志, 石川 克己, 河野 茂生,
黒柳 幸司, 服部 則道, 坂倉 佳代, 小泉 滋, 平岩 映子,
河村 寿, 高橋 紀光

ブリストル・マイヤーズ スクイブ株式会社

前臨床研究所 毒性病理研究室

〒444-01 愛知県額田郡幸田町大字坂崎字双子山1番地

TOXICITY STUDIES OF PACLITAXEL (I)

— Single dose intravenous toxicity in rats —

Toshihito KADOTA, Hirotaka CHIKAZAWA, Hiroshi KONDOH,
Katsumi ISHIKAWA, Shigeo KAWANO, Kohji KUROYANAGI,
Norimichi HATTORI, Kayo SAKAKURA, Shigeru KOIZUMI, Eiko HIRAIWA,
Hisashi KOHMURA and Norimitsu TAKAHASHI

Toxicology and Pathology, Preclinical Research Laboratories, Bristol-Myers Squibb K. K.

1 Futagoyama, Sakazaki, Kohta-cho, Nukata-gun, Aichi 444-01, Japan

Received December 10, 1993 ; Accepted May 7, 1994

ABSTRACT — Paclitaxel, an antineoplastic agent, was given to Crj : CD (SD) rats of both sexes at 38, 50, 65 and 85 mg/kg by single intravenous administration to investigate its acute toxicity.

The results obtained are summarized as follows :

1. Tachypnea and decreased activity with prone position were noted for vehicle and all paclitaxel groups, and alopecia for all paclitaxel groups.
2. Deaths occurred for one out of 5 males and 2 out of 5 females at 85 mg/kg. One female died of respiratory insufficiency induced by vehicle on Day 0. One female and one male died of the systemic toxicity of paclitaxel such as hypoplasia of the bone marrow and lymphoid depletion of lymphatic organs on Days 6 and 12, respectively.
3. On Days 4 and 5, all paclitaxel groups showed decreases of reticulocyte and white blood cell counts, as well as decrease of differential count of neutrophils. These changes were generally recovered by a week after dosing.

連絡先 : 〒243-03 神奈川県愛甲郡愛川町三増字下馬込247-15
ブリストル・マイヤーズ スクイブ株式会社
神奈川研究所 毒性研究室 門田 利人

4. Histopathological examinations revealed atrophy of the thymic medulla, hypoplasia of the bone marrow and lymphoid depletion of the spleen for a few males at 85 mg/kg, and hypospermatogenesis and tubular atrophy of the testes for all paclitaxel groups.

Based on these results, 85 mg/kg of paclitaxel was lethal to rats, and hematopoietic, lymphoid and male reproductive systems were primarily affected under this condition.

KEY WORDS : Antineoplastic agent, Paclitaxel, Single dose toxicity, Intravenous administration, Rat.

緒 言

Paclitaxel は *Taxus brevifolia* (いちい科, 米国西部産) より抽出された新規構造を有するジテルペン誘導体であり, 1960年代後半に米国 National Cancer Institute (NCI) でスクリーニングされ, 米国 Bristol-Myers Squibb 社で開発された抗悪性腫瘍薬である。本薬は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 (Manfredi and Horwitz, 1984; Horwitz *et al.*, 1986; Rowinsky *et al.*, 1990; Holmes *et al.*, 1991; Rowinsky *et al.*, 1992)。今回, 著者らは paclitaxel の安全性評価の一環として, ラットにおける単回静脈内投与毒性を検討したので, その結果について報告する。

試験材料及び方法

1. 使用薬物

Paclitaxel は Fig. 1 に示す構造を有する抗悪性腫瘍薬であり, その化学名は [2 aR - [2 a α , 4 β , 4 α β , 6 β , 9 α (α R *, β S *) , 11 α , 12 α , 12 a α , 12 b α]] - β - (Benzoylamino - α - hydroxy-benzenepropanoic acid, 6, 12 b - bis (acetyloxy) -12- (benzoyloxy) -2 a , 3, 4, 4 a , 5, 6, 9, 10, 11, 12, 12 a , 12 b - dodecahydro - 4, 11- dihydroxy -4 a , 8, 13, 13- tetramethyl -5- oxo -7, 11- methano -1 H - cyclodeca [3, 4] benz [1, 2-b] oxet -9- yl ester と称する。本薬は分子式 C₄₇H₅₁NO₁₄, 分子量 853.92, 水にほとんど溶けない白色～帯黄白色の結晶性粉末である。本試験に

は米国 Bristol-Myers Squibb 社製 Lot No. S90M144 を使用した。なお, paclitaxel は極めて水に難溶性であったため各種の溶媒が検討され, NCI が推奨する ethanol: polyoxyethylated caster oil = 1 : 1 の溶液 (NCI 溶媒12) を用いることとされた。従って, 本試験での溶媒として 99.5% ethanol (和光純薬工業, Lot No. ECH2195), polyoxyethylated caster oil (Cremophor EL®, 以下 cremophor と略, Sigma Chemical, Lot No. 70H0361) と生理食塩液 (大塚製薬, Lot No. K8E95T) を用いた。

Fig. 1. Structural formula of paclitaxel.

2. 使用動物及び飼育条件

生後 5 週齢の雌雄 Crj: CD (SD) ラットを日本チャールス・リバー社より入手し, 1 週間予備飼育した後, 本試験に供した。投与時の体重は雄 180～224 g, 雌 135～170 g であった。各動物は室温 23 ± 2℃, 相対湿度 50 ± 10%, 照明 12 時間明暗サイクル (7:00 点灯, 19:00 消灯) に設定した動物室内で,

金網製個別ケージに収容し、固形飼料（CRF-1，オリエンタル酵母工業）及び滅菌水道水を自由に給与した。

3. 投与量及び使用動物数

著者らが予め実施した単回静脈内投与毒性予試験において、50 mg/kg では死亡が認められず、最少致死量は50 mg/kg 以上と考えられた。また、paclitaxel の溶解性と溶媒の毒性から投与可能な最大投与量は85 mg/kg であることが確認された。

以上の成績より、投与量及び使用動物数を次のように設定した。なお、対照群として生理食塩液投与群及び溶媒投与群を設け、生理食塩液投与群の一部動物は途中死亡動物との比較のため、観察期間中に剖検を行った。

薬物	投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/ml)	溶媒濃度* (%)	動物数	
				♂	♀
Saline	...	...	...	8	11
Vehicle	...	...	19	5	5
Paclitaxel	38	2.5	8	5	5
Paclitaxel	50	3.3	11	5	5
Paclitaxel	65	4.3	14	5	5
Paclitaxel	85	5.7	19	5	5

*, ethanol: cremophor=1:1 溶液を100%とした時の濃度。

4. 投与液の調製及び投与方法

Paclitaxel 原液は99.5% ethanol と cremophor を等量混合した溶媒（溶媒原液）で paclitaxel を30 mg/ml 含有するよう調製した。生理食塩液群の動物には生理食塩液を、溶媒群の動物には溶媒原液を生理食塩液で19%の濃度（paclitaxel 85 mg/kg 群の投与液の溶媒濃度）に希釈した投与液を、paclitaxel 38, 50, 65及び85 mg/kg 群には paclitaxel を2.5, 3.3, 4.3及び5.7 mg/ml 含有するよう paclitaxel 原液を生理食塩液で希釈した投与液を使用した。いずれの投与液も、投与液量15 ml/kg、投与速度約1 ml/分で各動物の尾静脈内より27 G 注射針を用いて投与した。

5. 観察・検査項目

21日の観察期間中に下記の観察・検査を実施した。

一般状態・体重：一般状態の観察や死亡動物の確

認を、投与日については投与後7時間目まで連続して、投与2日目以降は1日1回行った。体重は最低週3回測定した。

血液学的検査：雄では投与4, 7, 12及び20日目（投与日を投与0日目とする）に、雌では投与5, 8, 13及び20日目に尾静脈から採取した血液について、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット、白血球数、血小板数（以上、自動血球計数装置F-800、東亜医用電子）、白血球型別百分率（May-Grünwald-Giemsa 染色）、網赤血球数（Brecher 法）を測定した。

剖検・器官重量測定：観察期間終了時に、全生存動物を18時間絶食させ、pentobarbital（Nembutal®, ダイナボット・大日本製薬）麻酔下で大腿動・静脈から放血して、安楽死させた。全ての器官・組織を肉眼的に観察した後、脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、精巣上体、卵巣の重量（絶対重量）を測定し、体重100 g 当たりの重量（相対重量）も算出した。

なお、観察期間中の死亡動物についても同様に剖検・器官重量測定を行った。

病理組織学的検査：前述の重量測定した器官に加え、回腸、骨髄（大腿骨）、末梢神経（坐骨神経）、皮膚を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。これらの標本は常法によりパラフィンブロックを作製して薄切した後、Hematoxylin-Eosin 染色を施して、病理組織学的検索を行った。

6. 統計処理

統計処理を要する数値データについては、Dunnett の多重比較検定を行い、生理食塩液群と溶媒群及び paclitaxel 各投与群とを比較した。有意水準は $P < 0.05$ 及び $P < 0.01$ とした。

7. 試験期間

本試験は平成3年11月から平成4年5月の間に実施された。

試験結果

1. 一般状態及び体重変動

85 mg/kg 群の雄で投与12日目に1例（5例中）、

雌で投与直後に1例及び投与6日目に1例の計2例（5例中）の死亡が認められた。このうち投与直後に死亡した雌の1例では、頻呼吸、腹臥位を伴った自発運動の抑制が観察され、呼吸困難を呈して死亡した。投与6及び12日目に死亡した雌雄各1例では、投与直後に死亡した例と同様の症状がみられ、これらの症状は投与の5～6時間後には回復したものの、死亡の3日前から下痢あるいは立毛が、死亡の24時間前から円背位、血涙、下痢を伴った消瘦が観察された。また、投与4日目以降に脱毛が観察された。死亡例の体重は、雄1例で投与3～7日目に一時的な増加がみられた以外は減少した。なお、13日目以降21日目（剖検時）まで死亡例はなかった。

生存例では、投与直後から溶媒群と全 **paclitaxel** 群で頻呼吸及び腹臥位を伴った自発運動の抑制が観察されたが、これらの症状は投与2～6時間後に消失した。全 **paclitaxel** 群で投与4, 5日目以降に脱毛が観察された。体重変動について、65及び85 mg/kg 群の平均体重が投与2日目に一時的な減少を示し、**paclitaxel** 群で投与2日目以降にみられた体重増加の抑制の程度には用量相関性がみられ、また、雌より雄のほうが顕著であった。投与8日目以降に **paclitaxel** 群の一部の雄で頸部の痂皮形成がみられたが、本薬投与と関連する変化とは考えられなかった。

2. 血液学的検査（Table 1）

雄では投与4, 7, 12及び20日目に、雌では投与5, 8, 13及び20日目に血液学的検査を実施した。

投与4, 5日目に、全 **paclitaxel** 群で網赤血球数の著しい減少、白血球数の減少、分節核球百分率の減少及びリンパ球百分率の増加がみられた。赤血球数、色素量及びヘマトクリット等の赤血球関連検査項目については、全 **paclitaxel** 群の雌でわずかな減少がみられ、**paclitaxel** 群の雄にも同様の減少傾向が認められた。更に、65及び85 mg/kg 群の雄で血小板数のわずかな減少がみられ、85 mg/kg 群の雌にも同様の減少傾向が認められた。なお、溶媒群と生理食塩液群の間に差異はみられなかった。

投与7日目に全 **paclitaxel** 群の雄で分節核球百分率の減少及びリンパ球百分率の増加が継続して認め

られたが、投与4, 5日目に認められた上記変化はおおむね投与7, 8日目に回復した。投与8日目に65 mg/kg 群の雌で白血球数のわずかな増加がみられ、投与20日目に一部の **paclitaxel** 群で分節核球百分率の増加及びリンパ球百分率の減少が、38, 65及び85 mg/kg 群の雌で網赤血球数の増加がみられた。

3. 剖検所見

投与直後に死亡した雌の1例では、肝臓、心臓、肺、脾臓及び腎臓の鬱血以外には異常所見はみられなかった。投与6及び12日目の死亡例で脾臓の萎縮がみられ、更に、投与6日目に死亡した雌1例で胸腺の萎縮、腎臓及び副腎の肥大が、投与12日目に死亡した雄1例で精巣及び精巣上体の萎縮、腹水貯留、顎下リンパ節の癒着が観察された。

生存例では、全 **paclitaxel** 群の雄で精巣及び精巣上体の萎縮が明らかであった。85 mg/kg 群の雌2例で卵巣の軽度な萎縮が、85及び65 mg/kg 群の数例で腹水及び／又は胸水貯留が観察された。85 mg/kg 群の2例で肝臓に結節が、65 mg/kg 群の雌1例で肝臓に白色巣がみられた。

4. 器官重量

生存例では、全 **paclitaxel** 群の雄で精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少がみられた。85 mg/kg 群の雄で脾臓の相対重量増加がみられたが、この変動は体重増加抑制を反映した結果と考えられた。

なお、その他の器官については重量の変化は認められなかった。

5. 病理組織学的検査

投与6及び12日目の死亡例で、胸腺、脾臓及び顎下リンパ節のリンパ球減少、骨髓の低形成及び／又は出血、生殖器の萎縮性変化（精巣の精子形成抑制、精巣上体の精子数減少と精巣上体管萎縮、卵巣の萎縮）がみられた。これらの変化は投与直後死亡例では観察されなかった。上記以外に、肝臓、腎臓、肺、副腎の死後変化に関連する所見、溶媒投与の影響による腎臓尿細管上皮の空胞化が観察された。

生存例では、85 mg/kg 群の雄1例で胸腺髄質の萎縮、骨髓の低形成、脾臓のリンパ球減少、38, 65及び85 mg/kg の各群の雄1例で脾臓の髄外造血の

Table 1-1. Hematological data in male rats given a single intravenous administration of paclitaxel.

Period (days)	Groups (mg/kg)	No. of rats	RBC ($\times 10^4$ / mm^3)	Ret. (%)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC ($\times 10^2$ / mm^3)	Differential count of WBC (%)					PI ($\times 10^4$ / mm^3)	
								Lym.	Neutro.		Mon.	Eos.		Bas.
									Seg.	St.				
4	Saline	5	596	27.1	12.9	41.8	171	85	14	0	1	0	0	131.7
			47	6.3	0.5	2.4	39	7	6	0	1	0	0	22.0
	Vehicle	5	621	26.1	13.3	42.7	167	87	11	0	1	1	0	129.4
			39	8.4	0.6	2.0	28	8	6	0	1	1	0	11.0
	Paclitaxel 38	5	554	1.2**	12.2	39.0	92**	96**	4**	0	0	0	0	117.6
			24	1.7	0.8	2.7	17	3	3	0	0	0	0	5.7
	Paclitaxel 50	5	538	0.4**	11.8	37.7*	78**	97**	3**	0	0	0	0	112.5
			49	0.6	0.9	3.5	4	2	2	0	0	0	0	16.6
	Paclitaxel 65	5	556	0.3**	12.2	38.5	86**	97**	2**	0	0	0	0	107.1*
			18	0.5	0.7	1.8	22	2	1	0	1	0	0	7.4
	Paclitaxel 85	5	584	0.0**	12.4	39.6	77**	96**	3**	0	0	0	0	97.4**
			30	0.0	0.6	1.3	29	2	2	1	0	0	0	15.0
7	Saline	5	571	28.0	12.8	40.5	164	86	13	0	0	1	0	119.1
			26	12.1	0.5	1.8	33	4	3	0	1	1	0	27.5
	Vehicle	5	587	28.3	12.9	41.1	162	87	13	0	0	0	0	110.8
			27	8.4	0.5	1.0	40	2	2	0	0	1	0	17.2
	Paclitaxel 38	5	549	43.0	12.5	39.8	131	95**	4**	0	1	1	0	108.7
			35	15.2	0.7	1.7	31	3	3	0	1	1	0	11.1
	Paclitaxel 50	5	536	38.0	12.1	38.6	139	94**	4**	0	1	1	0	110.9
			34	7.4	0.6	2.2	22	1	2	0	1	1	0	14.2
	Paclitaxel 65	5	545	38.5	12.2	38.6	144	93**	6**	0	0	1	0	109.5
			26	3.5	0.5	1.6	19	4	4	0	1	1	0	13.3
	Paclitaxel 85	5	555	34.1	12.2	38.8	147	97**	2**	0	1	0	0	97.7
			55	12.4	0.7	2.3	46	2	2	0	1	0	0	23.3
12	Saline	5	616	27.0	13.3	42.6	201	83	15	0	1	1	0	121.8
			28	6.2	0.7	1.6	44	9	8	0	1	1	0	19.4
	Vehicle	5	634	28.0	13.4	43.3	189	83	16	0	0	0	0	102.2
			46	6.2	0.8	2.7	39	4	4	0	1	0	0	17.6
	Paclitaxel 38	5	571	31.0	12.9	40.9	190	75	23	0	0	1	0	116.8
			30	10.2	0.3	1.0	36	9	10	0	1	1	0	15.8
	Paclitaxel 50	5	559	20.1	12.4	39.8	185	70	28	0	1	1	0	106.9
			36	8.7	0.6	2.0	44	6	6	0	1	1	0	7.6
	Paclitaxel 65	5	556	26.1	12.5	39.3	232	67*	32*	0	1	1	0	106.4
			33	17.3	0.7	2.2	47	6	7	0	1	1	0	17.7
	Paclitaxel 85	4	557	26.8	12.1*	39.1	183	83	16	0	1	0	0	133.0
			37	15.8	0.7	2.3	35	16	16	0	1	1	0	27.9
20	Saline	5	627	19.7	13.2	41.4	204	86	13	0	0	1	0	121.1
			55	6.3	0.8	2.6	42	3	3	0	1	0	0	17.8
	Vehicle	5	639	21.0	13.4	41.5	184	86	14	0	0	0	0	108.5
			94	4.2	1.9	6.5	48	3	4	0	0	1	0	32.0
	Paclitaxel 38	5	605	24.8	13.3	41.1	165	79	20	0	0	0	0	110.9
			34	4.4	0.5	2.1	39	4	4	0	1	1	0	9.3
	Paclitaxel 50	5	598	26.1	13.2	39.9	158	71**	28**	0	0	1	0	102.9
			56	12.3	1.2	3.6	46	6	6	0	0	1	0	15.3
	Paclitaxel 65	5	581	29.6	12.9	38.9	141	78	20	0	0	1	0	93.7
			41	6.7	0.4	2.2	13	7	7	0	1	0	0	18.0
	Paclitaxel 85	4	576	30.9	12.6	38.9	181	68**	31**	0	0	1	0	96.4
			53	9.1	1.1	3.0	72	9	11	1	1	1	0	29.9

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

*, Significant difference from saline controls at $P < 0.05$. **, Significant difference from saline controls at $P < 0.01$.

Abbreviations: RBC, Red blood cells; Ret., Reticulocytes; Hb, Hemoglobin; Ht, Hematocrit; WBC, White blood cells; Lym., Lymphocytes; Neutro. Seg., Segmented neutrophils; Neutro. St., Stab-form neutrophils; Mon., Monocytes; Eos., Eosinophils; Bas., Basophils; PI, Platelets.

Table 1-2. Hematological data in female rats given a single intravenous administration of paclitaxel.

Period (days)	Groups (mg/kg)	No. of rats	RBC ($\times 10^4$ / mm ³)	Ret. (%)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC ($\times 10^2$ / mm ³)	Differential count of WBC (%)					PI ($\times 10^4$ / mm ³)	
								Lym.	Neutro. Seg.	St.	Mon.	Eos.		Bas.
5	Saline	5	619 30	20.8 5.4	13.2 0.6	40.8 1.5	132 46	89 5	9 4	0 0	1 1	1 1	0 0	117.9 28.9
	Vehicle	5	629 22	24.1 6.8	13.2 0.3	40.2 1.4	105 32	91 2	8 2	0 0	0 1	1 1	0 0	108.6 1.2
	Paclitaxel 38	5	562* 26	0.9** 1.4	12.0* 0.6	37.2 1.9	78* 25	96** 3	3** 2	0 0	0 1	1 1	0 0	134.5 21.5
	Paclitaxel 50	5	570 36	0.3** 0.4	12.2 0.8	37.6 2.2	74* 5	97** 2	3** 2	0 0	0 0	0 1	0 0	127.7 18.9
	Paclitaxel 65	5	543** 39	0.1** 0.2	11.6** 0.9	36.3* 2.1	90 26	98** 1	2** 2	0 0	0 0	0 0	0 0	109.8 15.5
	Paclitaxel 85	4	532** 28	0.0** 0.0	11.5** 0.6	34.2** 3.4	60** 33	97** 2	3** 2	0 0	0 1	0 0	0 0	81.1 43.4
	Saline	5	629 26	20.8 6.7	13.4 0.5	42.5 2.0	131 28	81 7	17 6	1 1	1 1	1 1	0 0	116.6 13.8
	Vehicle	5	651 39	18.8 5.8	13.4 0.6	42.7 1.6	121 28	91 5	7 4	0 0	1 1	1 1	0 0	122.5 8.6
	Paclitaxel 38	5	588 53	31.6 12.5	12.6 1.1	40.2 3.2	139 60	84 12	14 11	0 1	1 1	1 1	0 0	134.0 25.6
	Paclitaxel 50	5	582 45	21.7 12.7	12.6 0.6	39.8 2.0	120 27	81 11	18 11	1 1	0 0	0 1	0 0	133.9 21.0
8	Paclitaxel 65	5	559 59	28.8 16.5	12.3 0.8	38.8 2.8	215* 69	67 20	32 21	0 0	1 1	0 1	0 0	136.8 21.8
	Paclitaxel 85	3	652 80	21.2 2.2	13.9 1.1	43.7 3.7	84 10	78 10	22 10	0 0	0 0	0 1	0 0	121.0 11.3
	Saline	5	601 50	13.2 4.8	13.6 1.0	40.4 2.7	136 56	81 6	18 7	0 0	1 1	0 1	0 0	95.6 40.2
	Vehicle	5	663 64	18.4 7.3	14.3 0.7	42.7 3.0	104 23	88 4	11 3	0 0	0 0	1 1	0 0	96.7 12.5
	Paclitaxel 38	5	607 121	22.5 12.0	13.6 2.1	41.0 6.0	145 31	80 8	19 7	0 0	0 1	1 1	0 0	103.3 21.1
	Paclitaxel 50	5	613 50	26.3 13.1	13.7 0.4	41.6 2.7	111 15	79 6	19 5	0 0	0 1	2 1	0 0	102.0 19.8
	Paclitaxel 65	5	544 71	35.1 27.0	12.4 1.2	37.7 3.5	156 24	79 4	19 4	0 0	1 0	1 1	0 0	116.1 26.8
	Paclitaxel 85	3	563 16	29.8 11.4	13.0 1.0	38.0 1.9	91 11	90 4	9 4	0 0	1 1	1 1	0 0	133.8 16.6
	Saline	5	643 48	12.9 3.2	13.4 1.2	41.1 4.3	160 73	88 3	11 3	0 0	1 1	0 1	0 0	114.9 13.7
	Vehicle	5	646 76	14.3 5.6	13.4 1.4	40.2 5.4	145 42	90 4	10 4	0 0	0 0	0 1	0 0	107.8 11.8
20	Paclitaxel 38	5	682 66	24.1* 1.8	14.3 0.8	44.9 2.7	126 56	81 9	18 9	0 0	1 1	1 0	0 0	116.7 20.7
	Paclitaxel 50	5	624 50	16.7 8.4	13.3 1.2	41.1 4.1	114 25	85 7	14 7	0 0	0 0	1 0	0 0	110.5 7.9
	Paclitaxel 65	5	632 50	24.8** 4.5	13.5 0.6	42.7 1.8	165 31	76* 6	22 6	0 0	1 1	1 1	0 0	101.1 29.4
	Paclitaxel 85	3	631 60	28.8** 8.3	13.2 0.7	41.1 3.6	110 38	70** 13	29** 13	0 0	0 0	1 1	0 0	127.4 34.2

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

*, Significant difference from saline controls at $P < 0.05$. **, Significant difference from saline controls at $P < 0.01$.

Abbreviations: RBC, Red blood cells; Ret., Reticulocytes; Hb, Hemoglobin; Ht, Hematocrit; WBC, White blood cells; Lym., Lymphocytes; Neutro. Seg., Segmented neutrophils; Neutro. St., Stab-form neutrophils; Mon., Monocytes; Eos., Eosinophils; Bas., Basophils; Pl, Platelets.

亢進が観察された。全 paclitaxel 群の雄で、精巣の精子形成抑制、精細管萎縮、精巣上体の精子数減少、精巣上体管萎縮及び巨細胞出現が認められた。精子形成抑制は、85及び65 mg/kg 群で精細管内の精子、精娘、精母、精祖細胞のほぼ完全な消失として観察された (Photo. 1)。更に、85 mg/kg 群の雄1例で精巣の水腫がみられた (Photo. 1-b)。この他、85

mg/kg 群の3例で肝臓に限局性の壊死巣が認められ、このうち2例は石灰沈着を伴った。65及び85 mg/kg 群で肝臓のグリソン鞘細胞浸潤が高頻度でみられ、生理食塩液群を除く全群で肝臓の類洞拡張、腎臓尿細管上皮の空胞化、腎臓間質の細胞浸潤が認められた。

Photo. 1-a. Testis from a male rat at the end of observation period after the treatment with saline i. v. : No significant changes. H. E. stain, $\times 36$.

Photo. 1-b. Testis from a male rat at the end of observation period after the treatment with paclitaxel 85 mg/kg i. v. : Marked hypospermatogenesis, moderate atrophy of seminiferous tubules, and slight edema. H. E. stain, $\times 36$.

考 察

全 paclitaxel 群で、投与直後に頻呼吸及び腹臥位を伴った自発運動の抑制が観察された。これらの症状は溶媒群においても認められること並びに ethanol の中枢神経抑制作用に起因した急性症状 (Miyasato *et al.*, 1978) に類似することから、溶媒 (ethanol) 投与によるものと考えられた。85 mg/kg 群の雌1例が投与直後に呼吸困難を呈して死亡した。本例の死因は溶媒 (ethanol) 投与による呼吸不全と考えられた (Miyasato *et al.*, 1978)。85 mg/kg 群で投与 6 及び12日目に死亡した2例は、脱毛、骨髓の低形成、リンパ器官のリンパ球減少、雄生殖器の萎縮性変化等の細胞毒性を示す本薬に特有の症状を示したため、paclitaxel 投与に基づく全身性の毒性が死亡原因と考えられた。

生存例では、全 paclitaxel 群で脱毛が観察された。脱毛はある種の抗悪性腫瘍薬の副作用としてよく知られており (Medenica, 1982; 林, 1985), 本薬物投与と関連する症状と考えられた。65及び85 mg/kg 群で投与 2 日目に一時的な体重減少がみられ、これらの用量は動物に重篤な変化を引き起こすと考えられた。

細胞増殖阻害作用を有する抗悪性腫瘍薬は、骨髓での細胞増殖抑制により末梢血中での血球減少をひき起こすことが一般に知られている (林, 1985; 今井, 1991)。本試験の血液学的検査においても、paclitaxel 投与に起因する貧血、網赤血球減少、白血球減少がみられた。すなわち、投与 4, 5 日目に、全群で網赤血球数の著しい減少、白血球数の減少、分節核球百分率の減少がみられ、また、全群の雌で赤血球数、血色素量及びヘマトクリット等の赤血球関連検査項目がおおむね減少し、雄においても同様の減少傾向が認められた。更に、高用量群で血小板数のわずかな減少がみられた。これら骨髓毒性に基づく変化は、投与 7 日目に雄で白血球型別百分率の変動が継続してみられた以外は、おおむね投与 1 週間後に回復した。その他の血液学的所見について、投与20日目に一部の群でみられた分節核球百分率の

増加は顆粒球数減少に対する反跳現象、投与 8 日目に65 mg/kg 群の雌でみられた白血球数の増加は白血球減少に対する代償性の反応、投与20日目に38, 65及び85 mg/kg 群の雌でみられた網赤血球数の増加は赤血球産生が回復過程にあることを示す変化と考えられた。

病理組織学的検査において、投与 6 及び12日目の死亡例で胸腺、脾臓及び顎下リンパ節のリンパ球減少、骨髓の低形成、雄生殖器の萎縮性変化 (精巣の精子形成抑制、精巣上体の精巣上体管萎縮) 等の paclitaxel の細胞毒性作用に基づく変化がみられた。これら組織学的所見は他の多くの抗悪性腫瘍薬で報告されており (Straus II, 1982; Vardiman, 1982; 林, 1985), paclitaxel に特異的な変化とは考えられなかった。ただし、雄生殖器を除く上記の組織所見は21日間の観察期間終了時の生存例では軽減し、回復途上にあると判断された。雄生殖器では投与21日目にも萎縮性変化が観察され、回復は認められなかった。85 mg/kg 群の雌 2 例で卵巣の軽度な萎縮が認められたが、その絶対及び相対重量に統計学的に有意な減少はみられず、器質的変化も認められなかった。paclitaxel 群の雄数例でみられた脾臓の髄外造血の亢進は貧血に対する代償性の反応と考えられた。また、paclitaxel 群でみられた肝臓の限局性の壊死巣及びグリソン鞘細胞浸潤は、肉眼的に観察された腹水貯留や肝臓の白色巣と結節に関連する変化と考えられ、paclitaxel の免疫抑制作用のために生じた炎症に関連する変化と推察されたが、これらを裏づける明確な証拠はなかった。生理食塩液群を除く全群で認められた肝臓の類洞拡張及び腎臓尿細管上皮の空胞化は、溶媒に含まれる cremophor と ethanol による変化と考えられた。

ラットを用いた paclitaxel の単回静脈内投与毒性試験において、主として造血器系、リンパ系及び雄生殖器系の器官・組織に対する毒性が認められ、致死量は85 mg/kg であった。

要 約

抗悪性腫瘍薬 paclitaxel の安全性評価の一環として、本薬を雌雄 Crj: CD (SD) ラットに38, 50, 65及び85 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、その急性毒性を検索した。

1. 一般状態については、溶媒及び全 paclitaxel 群で頻呼吸及び腹臥位を伴った自発運動の抑制、全 paclitaxel 投与群で脱毛が観察された。
2. 85 mg/kg 群の雄 5 例中 1 例、雌 5 例中 2 例の死亡が認められた。このうち雌 1 例は投与直後に溶媒投与に基づく呼吸不全により死亡した。投与 6 日目に死亡した雌 1 例と12日目に死亡した雄 1 例については、骨髓の低形成及びリンパ系器官のリンパ球減少がみられたため、paclitaxel 投与に基づく全身性の毒性が死亡原因と考えられた。
3. 血液学的検査では、全 paclitaxel 群で投与 4, 5 日目に網赤血球数、白血球数、好中球百分率の減少がみられた。これらの変化はおおむね投与 1 週間後に回復した。
4. 病理組織学的検査では、85 mg/kg 群で胸腺髄質の萎縮、骨髓の低形成、脾臓のリンパ球減少がみられ、全 paclitaxel 群で精巣の精子形成抑制、精細管萎縮が認められた。

Paclitaxel のラットにおける単回静脈内投与により、主として造血系、リンパ系及び雄生殖器官・組織に対する毒性作用が認められ、致死量は85 mg/kg であった。

文 献

- 林裕造, 前川昭彦(1985): 特集 制癌剤の毒性 I. 制癌剤の毒性試験と副作用. トキシコロジーフォーラム, **8**, 3-11.
- Holmes, F. A., Walters, R. S., Theriault, R. L., Forman, A. D., Newton, L. K., Raber, M. N., Buzdar, A. U., Frye, D. K. and Hortobagyi, G. N. (1991): Phase II trial of taxol, an active drug in the treatment of metastatic breast cancer. J. Natl. Cancer Inst., **83**, 1797-1805.
- Horwitz, S. B., Lothstein, L., Manfredi, J. J., Mellado, W., Parness, J., Roy, S. N., Schiff, P. B., Sorbara, L. and Zeheb, R. (1986): Taxol: Mechanisms of action and resistance. Ann. N. Y. Acad. Sci., **466**, 733-744.
- 今井清(1991): 2 造血器系 非腫瘍性病変, 2. 1 毒性試験講座(5)毒性病理(前川昭彦, 林裕造編), pp. 83-107, 地人書館, 東京.
- Manfredi, J. J. and Horwitz, S. B. (1984): Taxol: An anti-mitotic agent with a new mechanism of action. Pharmac. Ther., **25**, 83-125.
- Medenica, M. (1982): The skin. In Pathology of drug-induced and toxic diseases (Riddell, R. H., ed.), pp.119-146, Churchill Livingstone, New York.
- Miyasato, K., Shimada, A. and Edakubo, T. (1978): Physical sign-blood level relationship in intravenous continuous infusion of alcohol to rats and rhesus monkeys. Japan. J. Stud. Alcohol, **13**, 143-153.
- Rowinsky, E. K., Cazenave, L. A. and Donehower, R. C. (1990): Taxol: A novel investigational antimicrotubule agent. J. Natl. Cancer Inst., **82**, 1247-1259.
- Rowinsky, E. K., Onetto, N., Canetta, R. M. and Arbuck, S. G. (1992): Taxol: The first of the taxanes, an important new class of antitumor agents. Seminars in Oncology, **19**, 646-662.
- Straus II, F. M. (1982): The testis. In Pathology of drug-induced and toxic diseases (Riddell, R. H., ed.), pp.279-295, Churchill Livingstone, New York.
- Vardiman, J. W. and Variakojis, D. (1982): The hematopoietic system. In Pathology of drug-induced and toxic diseases (Riddell, R. H., ed.), pp.87-118, Churchill Livingstone, New York.