

## T-1220 の毒性試験(第6報)

—マウスにおける生殖試験—

高井 明・米田豊昭・中田弘子  
 中村昌三・稲場淳子  
 富山化学工業株式会社総合研究所

T-1220 の急性毒性<sup>1)</sup>, ラットおよびビーグル犬を用いての亜急性毒性および慢性毒性<sup>2)3)4)5)</sup>については前報で報告したが, 今回, マウスにおける生殖試験を行なったので報告する。

## I. 実験方法

日本クレア産の ICR 系マウスを用いて実験を行なった。動物の飼育は, 温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 湿度 $60 \pm 5\%$ の空調下で行ない, オリエンタル固型飼料 NMF および水道水を自由に摂取させた。

## 1. 動物および投与期間

## 1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

雄では, 生後6週から60日間薬物を投与した後, 雌と交配し, 交配成立までの期間薬物投与を続けた。雌は交配2週間前より妊娠6日目まで薬物を投与した。

## 2) 器官形成期投与試験

生後14週齢に達した無処置の雌雄を交配し, 妊娠の成立した雌に妊娠6日目から15日目までの10日間連日薬物を投与した。

## 3) 周産期および授乳期投与試験

生後12週齢に達した無処置の雌雄を交配し, 妊娠の成立した雌に妊娠15日目より分娩後21日まで連日薬物を投与した。

## 2. 投与方法および投与量

本薬物は静脈内または筋肉内適用の薬物であるが, マウスでは筋肉内連続投与および長期の静脈内連続投与が困難なので, 妊娠前および妊娠初期投与試験ならびに周産期および授乳期投与試験では皮下投与を, 器官形成期投与試験においては静脈内投与を採用した。投与量としては, 皮下投与においては 3,000 mg/kg 投与で投与部位に潰瘍を生じ, 長期連続投与が不可能なので 2,000 mg/kg を最大量とし, 最小量として臨床量の 5~10 倍である 500 mg/kg を, 中間量として 1,000 mg/kg を採用した。静脈内投与においては, 妊娠雌を用いての予試験の結果 3,000 mg/kg 群 8 例中母体死亡 3 例, 流産 2 例が認められたが, 2,000 mg/kg 群では全例妊娠を持続し得たことより皮下投与の場合と同じく最大量として 2,000 mg/kg, 中間量として 1,000 mg/kg, 最小量として 500 mg/kg を採用した。なお, 薬物は蒸留水に溶解し, 投与液量はすべて 10 ml/kg とした。対照群には生理食塩水を投与した。妊娠中の投与量は妊娠 0 日の体重を基準として投与した。上記実験法を Table 1 に示した。

## II. 観察方法

## 1. 妊娠前および妊娠初期投与試験

各群雌雄それぞれ約30匹を使用し, 前投与後1週間交配して雌雄の生殖機能を検索し, 妊娠雌については妊娠18日目に全例頸椎脱臼死させ開腹して妊娠黄体数, 着床

Table 1 Experimental design on reproduction study

|                                | Route | Administration period                      | Dose and No. of animals              |           |             |             |
|--------------------------------|-------|--|--------------------------------------|-----------|-------------|-------------|
| Fertility study                | s. c. | ♂ 60 days prior mating                     | control                              | 500 mg/kg | 1,000 mg/kg | 2,000 mg/kg |
|                                |       | ♀ 14 days prior mating-6 days of pregnancy | ♂ 27                                 | 30        | 27          | 30          |
|                                |       |  | (Caesarean section)                  |           |             |             |
| Teratological study            | i. v. | Day 6-15 of pregnancy                      | control                              | 500 mg/kg | 1,000 mg/kg | 2,000 mg/kg |
|                                |       |  | Each group 30 females                |           |             |             |
|                                |       |  | (2/3 cesarean section; 1/3 delivery) |           |             |             |
| Perinatal and post-natal study | s. c. | Day 15 pregnancy-21 after delivery         | control                              | 500 mg/kg | 1,000 mg/kg | 2,000 mg/kg |
|                                |       |  | 20                                   | 18        | 23          | 19          |
|                                |       |  | (Delivery)                           |           |             |             |

Fig. 1 Food consumption of male mice administered T-1220 subcutaneously on fertility study

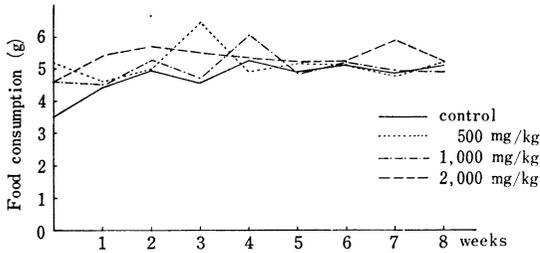
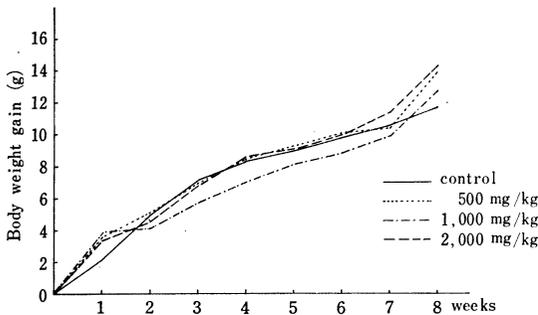


Fig. 2 Body weight gain of male mice administered T-1220 subcutaneously on fertility study



数, 死亡数および生存胎仔数を調べた。生存仔については性別判定を行ない体重測定後, 外形異常の有無について調べ, 半数をアリザリンS染色法<sup>6)</sup>によって骨格標本を作成し骨格異常の有無を, 残りの半数を Bouin 液で固定して WILSON 法<sup>7)</sup>にしたがって連続切片を作成し内臓異常の有無を観察した。母体については肉眼的に内臓を観察し主要臓器の重量を測定した。

## 2. 器官形成期投与試験

各群30匹の妊娠雌を使用し, 20匹を妊娠18日目に頸椎脱臼死させて開腹し, 着床数, 死亡数, 生存仔数を調べた。生存仔については性別判定を行ない体重測定後外形異常の有無を調べ, 半数を骨格異常の検索に, 半数を内臓異常の検索に供した。母体は内臓を肉眼的に観察したのち主要臓器の重量を測定した。残りの妊娠雌10匹はそのまま自然分娩させ, 生後12時間以内に出産仔数とその生死, 性別および外形異常の有無を調べ生存仔の体重を測定した後, そのまま母体に哺育させ生後6週まで週1回体重を測定した。いっぽう, 行動異常の有無および耳介開展, 歯牙萌出, 毛生, 眼瞼の開裂などの分化状態を観察を行なった。母体は離乳時に屠殺して肉眼的観察を行ない, 着床痕数より胎仔の出生率を算定した。なお, 生後6週で各母体より雌雄各1~2匹ずつ任意に選抜し

Fig. 3 Food consumption of female mice administered T-1220 subcutaneously on fertility study

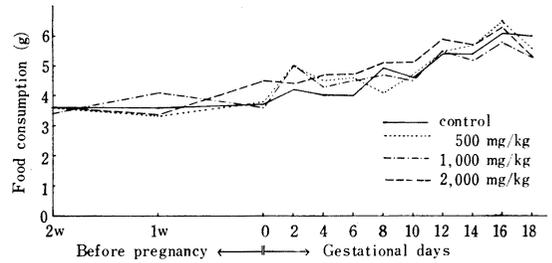
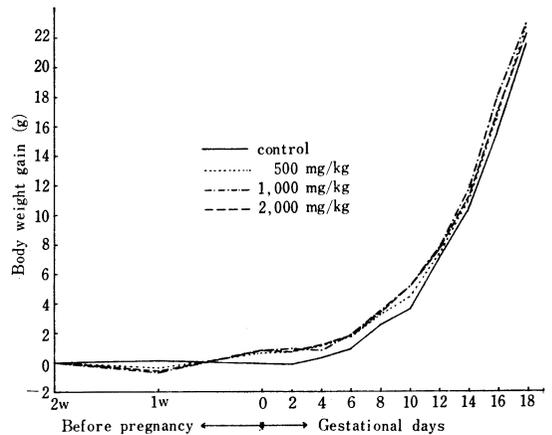


Fig. 4 Body weight gain of female mice administered T-1220 subcutaneously on fertility study



て12週まで飼育し, その中から各群雌雄各20匹ずつを用いて1週間交配させ生殖機能を検索した。残りの仔は6週で剖検し, 肉眼的に内臓を観察したのち主要臓器重量を測定した。

## 3. 周産期および授乳期投与試験

各群約20匹の妊娠雌を使用し, 全例自然分娩させ, 生後12時間以内に出産仔数, 生死, 性別および外形異常の有無を調べ, 生存仔の体重を測定した後, そのまま母体に哺育させ生後6週まで週1回体重を測定するとともに, 行動異常の有無, 耳介開展, 歯牙萌出, 毛生, 眼瞼の開裂などの分化状態を観察を行なった。母体は離乳時に屠殺して肉眼的観察を行ない, 着床痕数より胎仔の出生率を算定した。なお, 生後6週で各母体より雌雄各1~2匹ずつを任意に選抜して12週まで飼育し, その中から各群雌雄20匹ずつを用いて1週間交配させ, 生殖機能を検索した。残りの仔は6週で剖検し肉眼的に内臓を観察したのち主要臓器重量を測定した。

Table 2 Effect of subcutaneous administration of T-1220 in mouse fetuses and pregnant mice on fertility study

| Dose (mg/kg)                                | control        | 500            | 1,000          | 2,000          |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
| No. of mating mice                          | 27             | 30             | 27             | 30             |
| No. of mice with vaginal plug (%)           | 26(96.3)       | 28(93.3)       | 25(92.6)       | 30(100)        |
| No. of pregnant mice (%)                    | 24(92.3)       | 27(96.4)       | 23(92.0)       | 27(90.0)       |
| No. of corpora lutea (mean±S. E.)           | 264(11.0±0.41) | 308(11.4±0.36) | 274(11.9±0.35) | 309(11.4±0.22) |
| No. of implants (mean±S. E.)                | 254(10.6±0.43) | 287(10.6±0.40) | 255(11.1±0.30) | 288(10.7±0.26) |
| No. of pre implantation loss (%)            | 10 (3.8)       | 21 (6.8)       | 19 (6.9)       | 21 (6.8)       |
| No. of post implantation loss (%)           | 17 (6.7)       | 28 (9.8)       | 13 (5.1)       | 26 (9.0)       |
| Total implantation loss (%)                 | 27(10.2)       | 49(15.9)       | 32(11.7)       | 47(15.2)       |
| Alive fetuses (mean±S. E.)                  | 237 (9.9±0.43) | 259 (9.6±0.44) | 242(10.5±0.33) | 262 (9.7±0.36) |
| Mean body weight of fetuses (g±S.E.)        | 1.29±0.021     | 1.35±0.028     | 1.33±0.016     | 1.35±0.017     |
| Sex   |                |                |                |                |
| Male  | 122            | 124            | 122            | 144            |
| Female                                      | 115            | 135            | 120            | 118            |
| Malformed fetuses (%)                       | 9 (3.8)        | 6 (2.3)        | 7 (2.9)        | 14 (5.3)       |
| Open eyelid                                 | 8              | 1              | 2              | 12             |
| Club foot                                   | 1              | 3              | 5              | 1              |
| Kinky tail                                  | —              | 2              | —              | 1              |
| Mean organ weight of pregnant mice (g±S.E.) |                |                |                |                |
| Heart                                       | 0.18±0.006     | 0.18±0.005     | 0.20±0.006     | 0.19±0.005     |
| Lung  | 0.20±0.006     | 0.22±0.012     | 0.21±0.005     | 0.21±0.004     |
| Liver                                       | 2.48±0.071     | 2.28±0.048     | 2.37±0.057     | 2.45±0.046     |
| Kidney left                                 | 0.19±0.006     | 0.21±0.006     | 0.20±0.005     | 0.21±0.003     |
| right                                       | 0.21±0.006     | 0.21±0.007     | 0.22±0.006     | 0.22±0.003     |
| Spleen                                      | 0.13±0.008     | 0.14±0.008     | 0.13±0.007     | 0.13±0.007     |

### Ⅲ. 実験成績

#### 1. 妊娠前および妊娠初期投与試験

##### 1) 雄および母獣におよぼす影響

雄の投与期間中の摂餌量と体重増加を Fig. 1 および Fig. 2 に示した。摂餌量には薬物投与群と対照群との間に差は認められなかった。1,000 mg/kg 群では2週から7週にかけて、やや体重の抑制がみられたが対照群と比較して有意な差は認められなかった。

母獣の実験期間中の摂餌量および体重の増加を Fig. 3 および Fig. 4 に示した。摂餌量には薬物投与群と対照群との間に差は認められなかった。体重の増加については交配前の投与において投与1週間後に薬物投与全群に軽度の抑制がみられたが、以後回復し妊娠期間中は対照群との間に差は認められなかった。実験終了後の母体の臓器重量には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。交尾率、妊娠率についても対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。

##### 2) 胎仔におよぼす影響

Table 2 に示したように妊娠黄体数、着床数、着床前

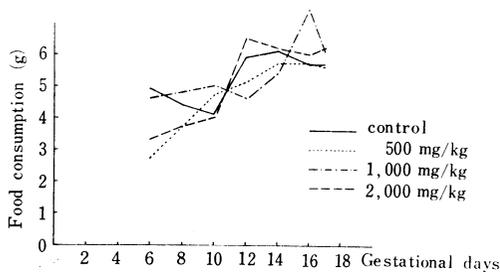
および着床後の卵および胚の死亡数、生存仔数、生存仔の体重、性別には薬物投与群と対照群との間に差は認められなかった。外形異常は対照群に眼瞼の開裂が8例、内反足が1例、500 mg/kg 群に眼瞼の開裂1例、内反足3例、曲尾2例、1,000 mg/kg 群に眼瞼の開裂2例、内反足5例、2,000 mg/kg 群に眼瞼の開裂12例、内反足および曲尾各1例が認められた。しかし、薬物投与群のこれらの外表奇形の発現頻度は有意なものではなかった。

骨格および内臓観察の結果を Table 3 に示す。骨格奇形は薬物投与群および対照群に全く認められなかった。骨格の変異としては胸骨核の過剰が対照群と2,000mg/kg 群に各1例、14肋骨の形成が対照群に20例、500 mg/kg 群に31例、1,000 mg/kg 群に28例、2,000 mg/kg 群に23例認められた。また第2頸椎弓の分離もしくは分枝しているものが対照群に13例、500 mg/kg 群に13例、1,000 mg/kg 群に15例、2,000mg/kg 群に12例認められたが、いずれも薬物投与群と対照群との間に差は認められない。化骨進行度の指標としては右上肢基節骨数、尾椎骨化骨数および胸骨核の化骨状態を調べたが、いずれ

Table 3 Effect of subcutaneous administration of T-1220 on skeletal development and visceral malformation in mouse fetuses on fertility study

| Dose (mg/kg)   | control        | 500            | 1,000          | 2,000          |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| No. of fetuses examined in skeletal development                        | 102            | 108            | 110            | 104            |
| No. of ossified proximal phalanges of right forelimb, mean $\pm$ S. E. | 3.9 $\pm$ 0.04 | 4.0 $\pm$ 0.02 | 4.0 $\pm$ 0.01 | 4.0 $\pm$ 0.02 |
| No. of ossified caudal vertebrae, mean $\pm$ S. E.                     | 7.5 $\pm$ 0.40 | 8.0 $\pm$ 0.34 | 8.0 $\pm$ 0.30 | 8.5 $\pm$ 0.25 |
| Retarded ossification of sternbrae (%)                                 | 2 (2.0)        | 3 (2.8)        | 1 (0.9)        | —              |
| Extra sternbrae (%)  | 1 (1.0)        | —              | —              | 1 (1.0)        |
| 14th rib (%)   | 20 (19.6)      | 31 (28.7)      | 28 (25.5)      | 23 (22.1)      |
| Bifurcation or split of 2nd cervical vertebrae (%)                     | 13 (12.8)      | 13 (12.0)      | 15 (13.6)      | 12 (11.5)      |
| No. of fetuses examined in visceral malformations                      | 92             | 89             | 100            | 92             |
| Malformed fetuses (%)  | 1 (1.1)        | 4 (4.5)        | 1 (1.0)        | 2 (2.2)        |
| Dilatation of lateral ventricles                                       | 1              | 3              | —              | 2              |
| Dilatation of third ventricle  | —              | 1              | —              | —              |
| Cerebral hernia  | —              | —              | 1              | —              |

Fig. 5 Food consumption of pregnant mice administered T-1220 intravenously on teratological study



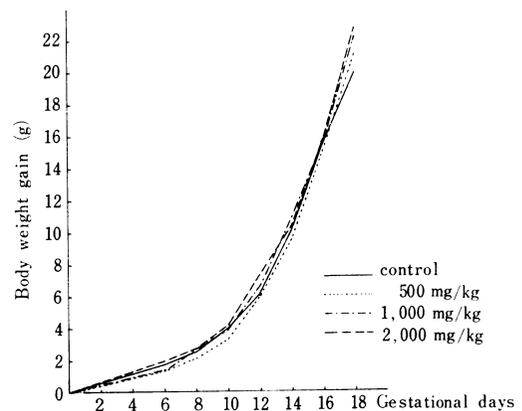
も薬物投与群と対照群との間に差は認められなかった。内臓異常としては対照群に側脳室の拡大が1例、500 mg/kg 群に側脳室の拡大が3例、第3脳室の拡大が1例、1,000 mg/kg 群に脳ヘルニアが1例、2,000 mg/kg 群に側脳室の拡大が2例認められたが、対照群と薬物投与群との間に差は認められない。なお、側脳室および第3脳室の拡大はいずれも極く軽度のものである。

## 2. 器官形成期投与試験

### 1) 母体に対する影響

摂餌量および母体体重の推移を Fig. 5, Fig. 6 に示す。摂餌量および母体体重の増加には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。母体臓器の肉眼的所見および重量にも異常は認められなかった。

Fig. 6 Body weight gain of pregnant mice administered T-1220 intravenously on teratological study



### 2) 胎仔に対する影響

出産前検査の結果を Table 4 に示す。着床数、生存仔数、死亡仔数、性別および生存仔平均体重のいずれにも対照群と薬物投与群との間に差はみられなかった。

外形の異常としては対照群に眼瞼の開裂が6例、内反足が2例、500 mg/kg 群に眼瞼の開裂が3例、内反足が2例、1,000 mg/kg 群に眼瞼の開裂が2例、内反足が1例、2,000 mg/kg 群に眼瞼の開裂が6例、内反足が3例認められたが対照群と薬物投与群との間に差は認められ

Table 4 Effect of intravenous administration of T-1220 in mouse fetuses and pregnant mice on teratological study

| Dose (mg/kg)                                     | control        | 500            | 1,000          | 2,000          |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| No. of litters                                   | 20             | 20             | 20             | 20             |
| Mean body weight gain of pregnant mouse (g±S.E.) |                |                |                |                |
| Day 0-6 of pregnancy                             | 1.67±0.242     | 1.26±0.183     | 1.59±0.178     | 1.94±0.276     |
| Day 0-15 of pregnancy                            | 12.55±0.431    | 12.09±0.569    | 12.78±0.492    | 12.84±0.526    |
| Day 0-18 of pregnancy                            | 20.00±0.727    | 21.13±0.773    | 22.19±0.830    | 22.65±0.813    |
| No. of implants (mean±S. E.)                     | 237(11.9±0.37) | 224(11.2±0.39) | 236(11.8±0.60) | 236(11.8±0.53) |
| Alive fetuses (mean±S. E.)                       | 223(11.2±0.48) | 208(10.4±0.50) | 218(10.9±0.66) | 222(11.1±0.57) |
| Dead fetuses (%)                                 | 14 (5.9)       | 16 (7.1)       | 18 (7.6)       | 14 (5.9)       |
| Mean body weight of fetuses (g±S.E.)             | 1.27±0.027     | 1.25±0.020     | 1.29±0.024     | 1.27±0.014     |
| Sex  |                |                |                |                |
| Male   | 124            | 91             | 107            | 107            |
| Female   | 99             | 117            | 111            | 115            |
| Malformed fetuses (%)                            | 8 (3.6)        | 5 (2.4)        | 3 (1.4)        | 9 (4.1)        |
| Open eyelid                                      | 6              | 3              | 2              | 6              |
| Club foot  | 2              | 2              | 1              | 3              |
| Mean organ weight of pregnant mice (g±S.E.)      |                |                |                |                |
| Heart  | 0.18±0.008     | 0.18±0.007     | 0.19±0.007     | 0.18±0.007     |
| Lung   | 0.22±0.010     | 0.22±0.008     | 0.23±0.010     | 0.23±0.011     |
| Liver  | 2.40±0.071     | 2.46±0.056     | 2.46±0.037     | 2.57±0.061     |
| Kidney   |                |                |                |                |
| left   | 0.19±0.006     | 0.20±0.005     | 0.22±0.005     | 0.21±0.005     |
| right  | 0.21±0.006     | 0.21±0.006     | 0.23±0.006     | 0.23±0.006     |
| Spleen   | 0.15±0.008     | 0.13±0.004     | 0.15±0.013     | 0.15±0.009     |

Table 5 Effect of intravenous administration of T-1220 on skeletal development and visceral malformation in mouse fetuses on teratological study

| Dose (mg/kg)   | control  | 500      | 1,000     | 2,000    |
|--|----------|----------|-----------|----------|
| No. of fetuses examined in skeletal development                  | 117      | 109      | 115       | 117      |
| No. of ossified proximal phalanges of right forelimb, mean±S. E. | 4.0±0.04 | 4.0±0.01 | 4.0±0     | 4.0±0.01 |
| No. of ossified caudal vertebrae, mean±S. E.                     | 7.4±0.35 | 7.3±0.32 | 7.5±0.28  | 7.4±0.26 |
| Retarded ossification of sternbrae (%)                           | 1 (0.9)  | —        | 1 (0.9)   | 1 (0.9)  |
| Extra sternbrae (%)  | —        | —        | 1 (0.9)   | —        |
| Asymmetry of sternbrae (%)                                       | 1 (0.9)  | 2 (1.8)  | 1 (0.9)   | 3 (2.6)  |
| 14th rib (%)   | 24(20.5) | 30(27.5) | 44(38.3)* | 30(26.1) |
| Bifurcation or split of 2nd cervical vertebrae (%)               | 12(10.3) | 10 (9.2) | 8 (7.0)   | 12(10.4) |
| No. of fetuses examined in visceral malformations                | 106      | 99       | 103       | 105      |
| Malformed fetuses (%)  | 1 (0.9)  | 3 (3.0)  | 1 (1.1)   | 4 (3.7)  |
| Pyelectasia  | 1        | 1        | 1         | 4        |
| Pyelectasia + dilatation of lateral ventricles                   | —        | 2        | —         | —        |

\* Significant at 5% level as compared with control

Table 6 Effect of intravenous administration of T-1220 on delivery and postnatal development of F<sub>1</sub> mice on teratological study

| Dose (mg/kg)   | control | 500            | 1,000          | 2,000          |                |
|--|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| No. of litters   | 10      | 10             | 10             | 10             |                |
| No. of implants  | 117     | 105            | 107            | 116            |                |
| No. of new born young                                    | 107     | 96             | 99             | 100            |                |
| Delivering rate (%)                                      | 91.5    | 91.4           | 92.5           | 86.2           |                |
| Weaning rate (%) <sup>a)</sup>                           | 84.1    | 91.7           | 88.9           | 95.0           |                |
| Survival rate (%) <sup>b)</sup>                          | 83.0    | 91.7           | 85.9           | 93.0           |                |
| No. and mean body weight of offsprings at birth (g±S.E.) |         |                |                |                |                |
| at birth   | Male    | 58 1.55±0.029  | 44 1.61±0.039  | 57 1.58±0.028  | 54 1.66±0.043  |
|  | Female  | 49 1.47±0.029  | 52 1.50±0.041  | 42 1.47±0.028  | 46 1.53±0.034  |
| 1 st week  | Male    | 53 3.30±0.214  | 40 3.69±0.341  | 55 3.39±0.133  | 53 3.59±0.163  |
|  | Female  | 42 3.32±0.218  | 50 3.57±0.317  | 34 3.27±0.137  | 44 3.40±0.144  |
| 2 nd week  | Male    | 52 5.74±0.180  | 40 6.08±0.473  | 55 5.64±0.191  | 53 6.17±0.319  |
|  | Female  | 42 5.68±0.211  | 48 5.95±0.511  | 34 5.52±0.240  | 44 5.87±0.268  |
| 3 rd week  | Male    | 51 7.63±0.358  | 40 9.16±0.691  | 55 7.55±0.365  | 52 8.72±0.468  |
|  | Female  | 42 7.65±0.350  | 48 8.87±0.553  | 34 7.55±0.313  | 44 8.45±0.464  |
| 4 th week  | Male    | 49 12.64±0.676 | 40 16.18±1.185 | 54 11.95±0.697 | 52 14.74±0.941 |
|  | Female  | 41 12.34±0.616 | 48 14.26±1.040 | 34 11.42±0.562 | 43 13.63±0.532 |
| 5 th week  | Male    | 48 19.26±0.952 | 40 22.26±1.269 | 53 17.22±1.005 | 52 21.41±0.754 |
|  | Female  | 40 17.68±0.814 | 48 19.13±1.286 | 32 15.73±0.784 | 43 18.81±0.628 |
| 6 th week  | Male    | 48 24.77±0.865 | 40 26.20±1.002 | 53 23.60±0.930 | 50 26.74±0.590 |
|  | Female  | 40 21.94±0.666 | 48 22.07±1.147 | 32 20.41±0.873 | 43 23.38±0.586 |

a) No. of young at 4th week/No. of young at birth

b) No. of young at 6th week/No. of young at birth

なかった。

骨格および内臓観察の結果を Table 5 に示す。骨格奇形は対照群および薬物投与群のいずれにも認められなかった。骨格の変異としては胸骨核の過剰が 1,000 mg/kg 群に 1 例、胸骨核不対称が対照群に 1 例、500 mg/kg 群に 2 例、1,000 mg/kg 群に 1 例、2,000 mg/kg 群に 3 例、第 2 頸椎弓の分離および分枝が対照群に 12 例、500 mg/kg 群に 10 例、1,000 mg/kg 群に 8 例、2,000 mg/kg 群に 12 例認められたが、いずれも対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。また 14 肋骨の形成が対照群に 24 例、500 mg/kg 群に 30 例、1,000 mg/kg 群に 44 例、2,000 mg/kg 群に 30 例認められ、1,000 mg/kg 群においては対照群との間に有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。内臓の異常としては腎盂の拡大が対照群、500 mg/kg 群および 1,000 mg/kg 群に各 1 例、2,000 mg/kg 群に 4 例認められた。また、腎盂の拡大と側脳室の拡大の合併したものが 500 mg/kg 群に 2 例認められたが対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。

### 3) 新生仔 (F<sub>1</sub>) に対する影響

各群 10 匹ずつの母体から自然分娩した新生仔の哺育成績および発育状態は Table 6 に示した。産仔数、出産率、哺育率、生存率および平均体重はいずれも対照群と薬物投与群との間に差を認めなかった。出生仔の外形異常、行動状態、耳介開展、歯牙萌出、毛生、眼瞼の開裂などの生後分化の時期についても全く差は認められなかった。生後 6 週で剖検した F<sub>1</sub> の臓器重量体重比および内臓の肉眼的観察の結果を Table 7 に示した。臓器重量には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。内臓の異常としては腎盂の拡大が対照群に 5 例、500 mg/kg 群に 1 例、1,000 mg/kg 群に 1 例、2,000 mg/kg 群に 5 例認められたが、いずれも対照群との間に差は認められなかった。

F<sub>1</sub> の生殖能力および F<sub>2</sub> におよぼす影響について Table 8 に示した。交尾率、妊娠率、胎仔の生存率および平均体重には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。

F<sub>2</sub> の外形異常としては対照群に内反足が 1 例、500 mg/kg 群に内反足が 7 例、1,000 mg/kg 群に内反足 1 例、

Table 7 Organ-body weight ratio and visceral malformation of F<sub>1</sub> mice at 6 weeks administered T-1220 intravenously on teratological study

| Dose (mg/kg)            | control    | 500        | 1,000      | 2,000      |
|-------------------------|------------|------------|------------|------------|
| No. of fetuses examined | 58         | 57         | 41         | 58         |
| Heart                   | 0.58±0.013 | 0.61±0.026 | 0.63±0.027 | 0.60±0.015 |
| Lung                    | 0.78±0.018 | 0.78±0.023 | 0.83±0.039 | 0.73±0.014 |
| Liver                   | 6.63±0.169 | 6.66±0.145 | 6.47±0.070 | 6.54±0.105 |
| Kidney left             | 0.77±0.041 | 0.71±0.024 | 0.78±0.027 | 0.75±0.019 |
| right                   | 0.82±0.043 | 0.80±0.025 | 0.80±0.031 | 0.80±0.015 |
| Spleen                  | 0.61±0.038 | 0.64±0.037 | 0.66±0.038 | 0.52±0.030 |
| Visceral malformation   |            |            |            |            |
| Pyelectasia (%)         | 5 (8.6)    | 1 (1.8)    | 1 (2.4)    | 5 (8.6)    |

Table 8 Effect of T-1220 on fertility in F<sub>1</sub> mice of teratological study

| Dose (mg/kg)                         | control    | 500        | 1,000      | 2,000      |
|--------------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| No. of mated mice                    | 20         | 20         | 20         | 20         |
| No. of mice with vaginal plug (%)    | 20 (100)   | 20 (100)   | 20 (100)   | 20 (100)   |
| No. of pregnant mice (%)             | 20 (100)   | 20 (100)   | 20 (100)   | 20 (100)   |
| Survival rate of fetuses (%)         | 93.6       | 93.6       | 94.6       | 94.8       |
| Mean body weight of fetuses (g±S.E.) | 1.25±0.020 | 1.33±0.015 | 1.29±0.021 | 1.30±0.018 |
| Sex                                  |            |            |            |            |
| Male                                 | 104        | 111        | 105        | 99         |
| Female                               | 100        | 92         | 87         | 103        |
| Malformed fetuses (%)                | 1 (0.5)    | 7 (3.5)    | 2 (1.0)    | 4 (2.0)    |
| Open eyelid                          | —          | —          | —          | 1          |
| Club foot                            | 1          | 7          | 1          | 1          |
| Cleft palate                         | —          | —          | 1          | 1          |
| Exencephaly                          | —          | —          | —          | 1          |

口蓋破裂 1例, 2,000 mg/kg 群に眼瞼の開裂, 内反足, 口蓋破裂, 外脳症が各 1例認められたが, いずれも対照群との間に有意差は認められなかった。

### 3. 周産期および授乳期投与試験

#### 1) 母体に対する影響

薬物投与期間中の体重の推移を Fig. 7 に示す。妊娠中の体重は薬物投与群と対照群との間に差はみられなかったが, 分娩後は各週とも薬物投与群に有意な体重増加がみられた。なお妊娠期間には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。

#### 2) 新生仔 (F<sub>1</sub>) に対する影響

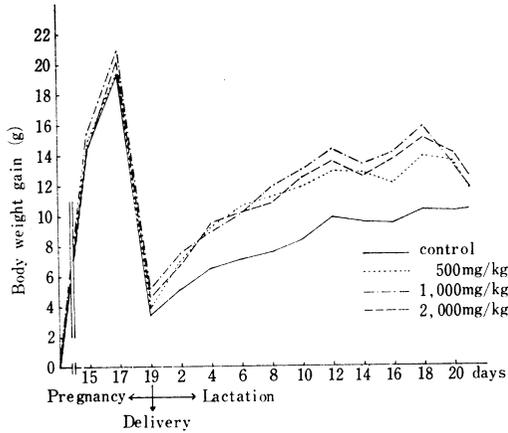
各群18~23母体から自然分娩させた新生仔の哺育成績および発育状態を Table 9 に示した。産仔数, 出産率, 哺育率, 生存率および平均体重のいずれにも対照群と薬物投与群との間に有意差は認められなかった。出生仔の外形異常, 行動状態および生後分化の時期についても

全く差は認められなかった。生後 6 週で剖検した F<sub>1</sub> の臓器重量体重比および内臓の肉眼的観察の結果を Table 10 に示した。臓器重量には対照群と薬物投与群との間に差はみられなかった。内臓の異常としては腎盂の拡大が対照群に 1例, 1,000 mg/kg 群に 2例認められたのみであった。F<sub>1</sub> の生殖能力および F<sub>2</sub> におよぼす影響を Table 11 に示した。交尾率, 妊娠率, 胎仔の生存率, および平均体重には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。F<sub>2</sub> の外形異常としては, 眼瞼の開裂が対照群と 1,000 mg/kg 群に各 1例, 2,000 mg/kg 群に 2例, 内反足が対照群に 2例, 500 mg/kg 群と 1,000 mg/kg 群に各 1例, 2,000 mg/kg 群に 4例みられたが, 対照群と薬物投与群との間に有意差は認められなかった。

## IV. 考 察

妊娠前および妊娠初期投与試験ならびに器官形成期投与試験の F<sub>1</sub> および F<sub>2</sub> の出産前胎仔観察において外形異

Fig. 7 Body weight gain of dam administered T-1220 subcutaneously during the last third of pregnancy and the period of lactation on perinatal and postnatal study



常として眼瞼の開裂, 内反足, 曲尾, 外脳症, 脳ヘルニアが, 骨格の変異として頸椎弓の分離および分枝と14肋骨の形成が多数みられたが, 高野ら<sup>8)</sup>, 江崎ら<sup>9)</sup>, 安田ら<sup>10)</sup>によってこれらの奇形および変異はICR系マウスに高頻度に発現することが報告されており, 投与量-反応関係がみられないことより自然発生的なものと考えられる。

結 論

1. 妊娠前および妊娠初期投与試験
  - 1) 雄および雌の生殖能力に異常は認められなかった。
  - 2) 妊娠母獣の体重, 摂餌量および出産前検査における妊娠黄体数, 着床数, 生存胎仔数, 死亡胎仔数および生存胎仔の体重に異常は認められなかった。
  - 3) 胎仔の外形異常, 骨格異常および内臓異常にも対照群と薬物投与群との間に有意差は認められなかった。
2. 器官形成期投与試験
  - 1) 妊娠母獣の摂餌量および体重増加に差は認められ

Table 9 Effect of subcutaneous administration of T-1220 on delivery and postnatal development of F<sub>1</sub> mice on perinatal and postnatal study

| Dose (mg/kg)                                    |        | control         | 500            | 1,000           | 2,000          |
|---|--------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| No. of litters                                  |        | 20              | 18             | 23              | 19             |
| No. of implants                                 |        | 233             | 208            | 263             | 206            |
| No. of new born young                           |        | 207             | 179            | 223             | 186            |
| Delivering rate (%)                             |        | 88.8            | 86.1           | 84.8            | 90.3           |
| Weaning rate (%) <sup>a)</sup>                  |        | 87.0            | 89.9           | 94.6            | 95.2           |
| Survival rate (%) <sup>b)</sup>                 |        | 85.0            | 86.6           | 94.6            | 93.0           |
| No. and mean body weight of offsprings (g±S.E.) |        |                 |                |                 |                |
| at birth  | Male   | 110 1.52±0.027  | 92 1.56±0.031  | 119 1.58±0.027  | 102 1.56±0.031 |
|   | Female | 97 1.48±0.031   | 87 1.47±0.026  | 104 1.49±0.031  | 84 1.50±0.034  |
| 1st week  | Male   | 107 3.45±0.103  | 86 3.71±0.132  | 116 3.58±0.146  | 99 3.65±0.118  |
|   | Female | 88 3.31±0.117   | 80 3.61±0.135  | 98 3.49±0.158   | 80 3.58±0.108  |
| 2nd week  | Male   | 106 5.40±0.135  | 86 5.98±0.222  | 115 5.88±0.257  | 98 5.97±0.159  |
|   | Female | 83 5.22±0.176   | 79 5.73±0.194  | 97 5.81±0.256   | 89 5.96±0.148  |
| 3rd week  | Male   | 103 8.48±0.381  | 85 9.08±0.600  | 114 8.89±0.701  | 98 9.45±0.531  |
|   | Female | 82 8.45±0.399   | 78 8.78±0.560  | 97 8.80±0.691   | 79 9.12±0.518  |
| 4th week  | Male   | 101 13.50±0.555 | 84 15.00±0.706 | 114 14.83±0.702 | 98 15.46±0.557 |
|   | Female | 79 12.79±0.528  | 77 13.98±0.603 | 97 13.97±0.583  | 79 14.22±0.377 |
| 5th week  | Male   | 100 20.02±0.663 | 83 21.56±0.902 | 114 21.29±0.715 | 97 22.99±0.536 |
|   | Female | 78 18.35±0.647  | 73 19.35±0.644 | 97 19.45±0.588  | 79 20.20±0.536 |
| 6th week  | Male   | 99 24.08±0.447  | 83 25.61±0.718 | 114 26.00±0.661 | 96 26.91±0.514 |
|   | Female | 77 21.92±0.508  | 72 22.36±0.466 | 97 22.77±0.536  | 77 23.63±0.448 |

a) No. of young at 4th week/ No. of young at birth

b) No. of young at 6th week/ No. of young at birth

Table 10 Organ-body weight ratio and visceral malformation of F<sub>1</sub> mice at 6 weeks administered T-1220 subcutaneously on perinatal and postnatal study

| Dose (mg/kg)            | control    | 500        | 1,000      | 2,000      |
|-------------------------|------------|------------|------------|------------|
| No. of fetuses examined | 56         | 59         | 82         | 64         |
| Heart                   | 0.66±0.032 | 0.67±0.021 | 0.67±0.016 | 0.70±0.022 |
| Lung                    | 0.81±0.030 | 0.82±0.027 | 0.77±0.015 | 0.78±0.016 |
| Liver                   | 6.28±0.134 | 5.95±0.101 | 6.12±0.133 | 6.06±0.119 |
| Kidney left             | 0.81±0.036 | 0.82±0.016 | 0.79±0.020 | 0.81±0.022 |
| right                   | 0.85±0.031 | 0.87±0.022 | 0.83±0.024 | 0.86±0.028 |
| Spleen                  | 0.62±0.048 | 0.67±0.050 | 0.62±0.020 | 0.64±0.027 |
| Visceral malformation   |            |            |            |            |
| Pyelectasia (%)         | 1 (1.8)    | —          | 2 (2.4)    | —          |

Table 11 Effect of T-1220 on fertility in F<sub>1</sub> mice of perinatal and postnatal study

| Dose (mg/kg)                         | control    | 500        | 1,000      | 2,000      |
|--------------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| No. of mated mice                    | 20         | 20         | 20         | 20         |
| No. of mice with vaginal plug (%)    | 19(95.0)   | 17(85.0)   | 19(95.0)   | 20 (100)   |
| No. of pregnant mice (%)             | 17(89.5)   | 17 (100)   | 19 (100)   | 19(95.0)   |
| Survival rate of fetuses (%)         | 93.8       | 97.2       | 91.0       | 96.3       |
| Mean body weight of fetuses (g±S.E.) | 1.30±0.016 | 1.40±0.021 | 1.36±0.017 | 1.36±0.015 |
| Sex                                  |            |            |            |            |
| Male                                 | 84         | 92         | 90         | 115        |
| Female                               | 81         | 80         | 92         | 93         |
| Malformed fetuses (%)                | 3 (1.8)    | 1 (0.6)    | 2 (1.1)    | 6 (2.9)    |
| Open eyelid                          | 1          | —          | 1          | 2          |
| Club foot                            | 2          | 1          | 1          | 4          |

なかった。

2) 着床数, 生存仔数, 死亡仔数および生存仔平均体重のいずれにも各群に差は認められなかった。

3) 外形異常および内臓異常には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかったが, 1,000 mg/kg 群に14肋骨の形成が有意に増加していた。

4) 新生仔(F<sub>1</sub>)の出産率, 哺育率, 生存率および平均体重には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。

5) 出生仔の外形異常, 行動状態, 生後分化の時期, 発育にも全く影響は認められなかった。

6) F<sub>1</sub>の生後6週での内臓の肉眼的検査および臓器重量にも差は認められなかった。

7) F<sub>1</sub>が性成熟に達してから同投与量群の雌雄を交配させて生殖能力の検査を行なったが交尾率, 妊娠率に異常は認められなかった。また, F<sub>2</sub>の出産前検査でも差は認められなかった。

### 3. 周産期および授乳期投与試験

1) 妊娠母獣の体重には各群に差はみられなかったが分娩後には薬物投与群に対照群よりも有意な増加がみられた。妊娠期間には差は認められなかった。

2) 新生仔(F<sub>1</sub>)の出産率, 哺育率, 生存率および平均体重には対照群と薬物投与群との間に差は認められなかった。

3) 出生仔の外形異常, 行動状態, 生後分化の時期, 発育にも全く差は認められなかった。

4) F<sub>1</sub>の生後6週での内臓の肉眼的観察および臓器重量にも差は認められなかった。

5) F<sub>1</sub>の生殖能力およびF<sub>2</sub>の出産前検査でも差は認められなかった。

本研究の遂行にあたり, 実験に協力をされた当研究所の守田加津江および折川真佐子の両嬢に感謝致します。

### 文 献

- 1) 高井 明, 米田豊昭, 中田弘子, 正谷博之, 室田恒夫, 柴田哲夫, 中村昌三, 河村泰仁, 佐藤 盛: T-1220の毒性試験(第1報)マウス, ラット,

- イヌ, サルにおける急性毒性試験。Chemotherapy 25(5): 816~828, 1977
- 2) 高井 明, 米田豊昭, 中田弘子, 正谷博之, 柴田哲夫, 河村泰仁, 佐藤 盛: T-1220の毒性試験(第2報) ラット腹腔内投与における亜急性, 慢性毒性試験。Chemotherapy 25(5): 829~856, 1977
  - 3) 高井 明, 米田豊昭, 正谷博之, 柴田哲夫, 河村泰仁, 佐藤 盛, 中田弘子, 稲場淳子: T-1220の毒性試験(第3報) ラット静脈内投与における亜急性毒性試験。Chemotherapy 25(5): 857~868, 1977
  - 4) 高井 明, 米田豊昭, 河村泰仁, 柴田哲夫, 正谷博之, 佐藤 盛: T-1220の毒性試験(第4報) ビーグル犬筋注における亜急性毒性試験。Chemotherapy 25(5): 869~883, 1977
  - 5) 高井 明, 米田豊昭, 河村泰仁, 正谷博之, 柴田哲夫, 佐藤 盛: T-1220の毒性試験(第5報) ビーグル犬静脈内投与における慢性毒性試験。Chemotherapy 25(5): 884~914, 1977
  - 6) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain Tech. 1: 123, 1926
  - 7) WILSON, J. G.: Method for administering agents and detecting malformation in experimental animals. Teratology (WILSON, J.G. and J. WARKANY, the Editors). 262 Chicago, Univ., Press, Chicago and London, 1965
  - 8) 高野喜一, 山村英樹, 矢田盛泰, 有行史男: 種々の実験動物において自然的に発現する奇形の諸型。解剖学雑誌 40: 32, 1965
  - 9) 江崎孝三郎, 谷岡功邦: ICR-JCL マウスおよびSD-JCL ラットの奇形自然発現率。先天異常 10: 216, 1974
  - 10) 安田峯生, 山村英樹, 勝矢珉雄: 繁用されるマウスに自然的にみられる奇形および変異について。先天異常 4: 97, 1970



Photo. 1 Open eyelid on teratological study 2,000 mg/kg

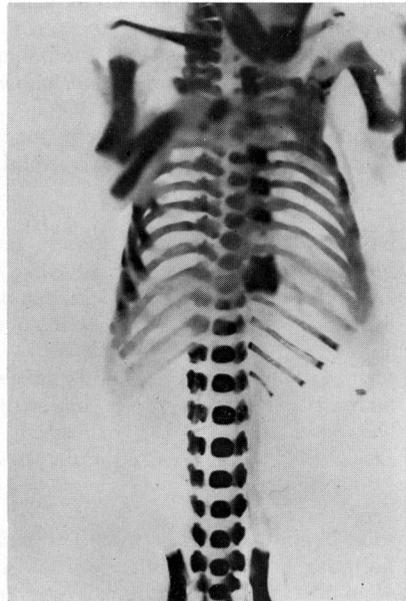


Photo. 3 14th rib on fertility study control

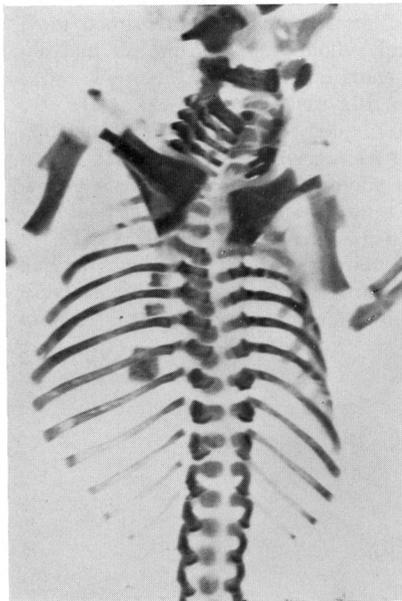


Photo. 2 Split of cervical vertebrae on fertility study 2,000 mg/kg

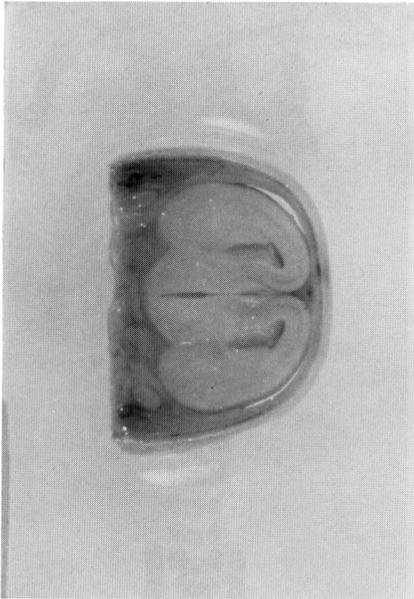


Photo. 4 Dilatation of third and lateral ventricles on teratological study 500 mg/kg

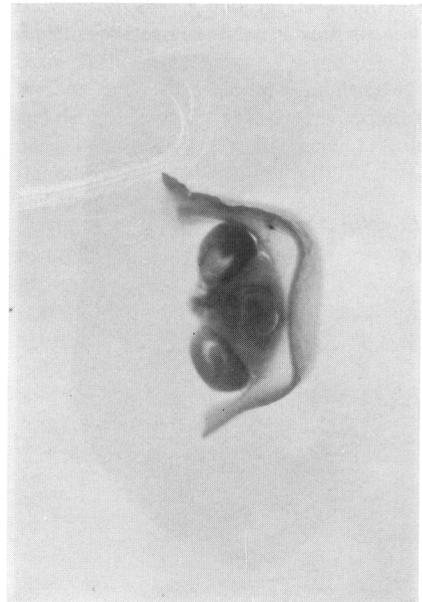


Photo. 5 Pyelectasia on teratological study 500 mg/kg

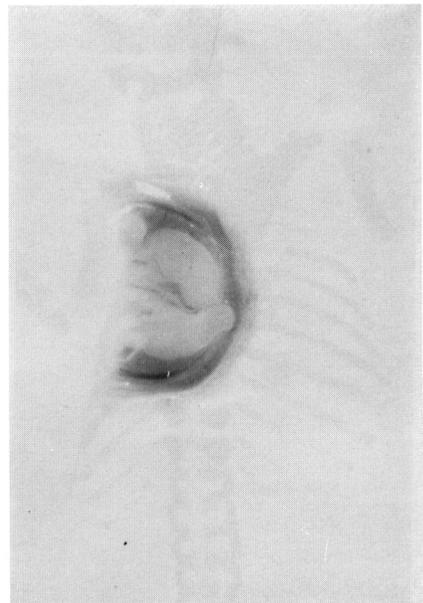


Photo. 6 Cerebral hernia on fertility study 1,000 mg/kg

## TOXICITY TESTS OF T-1220 (VI): REPRODUCTION STUDY IN MICE

AKIRA TAKAI, TOYOAKI YONEDA, HIROKO NAKADA,  
SHOZO NAKAMURA and JUNKO INABA  
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

T-1220, a new penicillin analogic antibiotics has the broad antibacterial spectrum against gram positive and negative bacteria, and is especially effective against *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*.

This report is concerned with the reproduction study of mice given T-1220.

### 1) Fertility study

T-1220 was administered subcutaneously to male mice at the doses of 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day for 60 days from 6 weeks after birth prior to mating and then was continued to administer till the performance of copulation after mating, and was also injected to female mice at the same doses from 2 weeks before mating to 6 days after pregnancy.

Any abnormality of reproductive function was not observed in male and female. External, internal and skeletal abnormalities were almost similar in all treated groups and control group.

### 2) Teratological study

Mice, 14 weeks old were employed. T-1220 was administered intravenously at the doses of 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day to pregnant mice from the 6th to the 15th day of gestation. Number of implants, fetal mortality, external, skeletal and visceral malformations, body weight and sex of each fetus by cesarean section were examined on the 18th day of gestation.

External and visceral malformations were not seen in all treated groups and control group, except that the 14th rib formation was observed in group of 1,000 mg/kg/day. Growth and behaviour of newborns of the treated group had no significant difference from control in the period from birth to the 6th week after birth. F<sub>1</sub> mice, 12 weeks old had the normal reproductive function.

### 3) Perinatal and postnatal study

Mice, 14 weeks old were also employed for mating. T-1220 was administered subcutaneously at the doses of 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day from the 15th day of gestation to the 21st day after delivery. In the pregnant period, any significant differences of body weight were not recognized among each group, but after delivery, its remarkable increases were observed in the treated groups. Pregnant period was normal in all groups.

The delivering rates, the weaning rates and the survival rates of all treated groups had no significant difference from those of the control, respectively. External malformation, behavior, differentiation after birth and growth of newborn were also normal in all groups. In addition, no abnormality of reproduction of F<sub>1</sub> mice was observed.