

Cefoxitin の安全性に関する研究 第4報 Cefoxitin の生殖に及ぼす影響

渡辺敏樹・大浦 憲・森田 遙・秋元 健
第一製薬株式会社研究所

Cefoxitin (CFX) は、米国 Merck Sharp & Dohme Research Laboratories において開発された cephamycin 系抗生剤の最初のもので、penicillin 類似の作用機作を持ち、 β -lactamase 産生菌に対しても有効であり、また比較的低毒性であることが知られている。

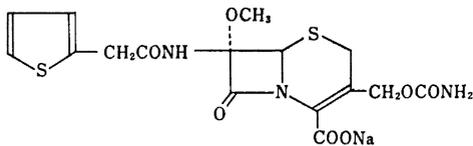
われわれは、CFX の安全性を確認する一端としていわゆる生殖試験、すなわち、ラットを用いた妊娠前および妊娠初期投与実験、マウスおよびラットを用いた器官形成期投与実験、ならびにラットを用いた周産期および授乳期投与実験を実施したので、その成績を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬物

CFX は、ほとんど白色ないし淡黄白色の顆粒状の粉末で、やや吸湿性があり、水にきわめて溶け易く、メタノールにやや溶けにくい。エタノール、アセトンなどその他の有機溶媒にはきわめて溶けにくいか、ほとんど溶けない性質を有し、その化学構造は以下に示すとおりである。

Chemical structure:



Chemical name: Sodium 3-carbamoyloxymethyl-7 α -methoxy-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-3-cephem-4-carboxylate

Generic name: Sodium cefoxitin

Empirical formula: C₁₆H₁₆N₃O₇S₂Na

Molecular weight: 449.43

Melting point: 300°C or more (decompose)

2. 使用動物および飼育条件

生後7週令の雄と10~11週令の雌の CRJ-CD 系ラット(日本チャールス・リバー)と、生後10週令の Slc-ddY 系マウス(静岡実動協)を用いた。

動物は、温度23±2°C、湿度55±5%の空調室で飼育し、固型飼料(船橋農場製)および水を自由に摂取させた。

3. 実験区分

実施した実験は、妊娠前および妊娠初期投与実験(ラ

ット)、器官形成期投与実験(マウスおよびラット)ならびに周産期および授乳期投与実験(ラット)で、各実験での使用動物種および系統、投与量、匹数ならびに投与期間を Table 1 に総括した。

1) 妊娠前および妊娠初期投与実験

生後7週令の雄ラットには、CFX の100, 200または400 mg/kg を交配前9週間および交配期間中の毎日1回尾静脈内投与した。生後11週令の雌ラットには、雄ラットと同量の CFX を交配前2週間および交配期間ならびに妊娠7日目まで、毎日1回尾静脈内投与した。

交配は、同一投与群の雄・雌を1対1の割合で、無作為に組合せて、2週間にわたって行なった。雄・雌の同居は、午後4時より翌朝8時までとし、膣栓または精子が確認された場合を交尾成立とみなし妊娠0日とした。妊娠21日目に各群全例の母動物を屠殺し、胎仔検査を実施した。

2) 器官形成期投与実験

生後10週令の雌のマウスとラットは、両種とも同系統の成熟雄と終夜同居させ、翌朝膣栓が観察されたものを妊娠0日とした。マウスでは妊娠6日から15日まで、ラットでは妊娠7日から17日まで、それぞれ CFX の100, 300または900 mg/kg を連続尾静脈内投与した。

マウスは妊娠18日目、ラットは妊娠21日目に各群20~21匹を屠殺し、胎仔検査を実施した。残りの各群10~13匹の妊娠母動物については、自然分娩させ、哺育検査を行なった。

3) 周産期および授乳期投与実験

妊娠を確認したラットを用いて、妊娠17日より分娩後21日まで CFX を毎日尾静脈内投与し、その間、分娩検査および哺育検査を行なった。

4. 投与量の決定および投与方法

最初に実施した器官形成期投与実験の投与量は、あらかじめ、本実験と同様な方法で行なった予試験の成績を参考にして設定した。つづいて、この実験結果を参考とし、妊娠前および妊娠初期投与実験ならびに周産期および授乳期投与実験の投与量を決定した。

すなわち、器官形成期投与実験における予試験の結果、1,800 mg/kg の投与で母動物に体重増加抑制傾向がみられたので、器官形成期投与実験の投与量は、大量

Table 1 Experimental design in reproduction studies of CFX

Studies	Fertility study				Teratogenicity study								Perinatal and postnatal study			
	Rat (CRJ-CD)				Mouse (Slc ddY)				Rat (CRJ-CD)				Rat (CRJ-CD)			
Species (strain)	Rat (CRJ-CD)				Mouse (Slc ddY)				Rat (CRJ-CD)				Rat (CRJ-CD)			
Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400	0	100	300	900	0	100	300	900	0	100	200	400
No. of male animals	24	24	24	25	30	31	31	31	32	32	34	35	20	20	20	20
female	24	24	24	25												
Age at start of study	♂ 7 weeks ♀ 11 weeks				♀ 10 weeks				♀ 10 weeks				♀ 10 weeks			
Treatment period	♂ 63 days before mating and mating period ♀ 14 days before mating ~ day 7 of gestation				♀ day 6-15 of gestation				♀ day 7-17 of gestation				♀ day 17 of gestation ~ day 21 post partum			

投与群に 900 mg/kg を用い、中間量投与群に 300 mg/kg を、少量投与群には、推定常用量と考えられる 100 mg/kg を用いた。

一方、妊娠前および妊娠初期投与実験ならびに周産期および授乳期投与実験の投与量は、これらの実験の投与期間が長期におよぶことから、大量投与量を 400 mg/kg、中間投与量を 200 mg/kg とし、少量投与量を 100 mg/kg とした。

妊娠前および妊娠初期投与実験ならびに周産期および授乳期投与実験では、CFX を生理食塩水で 10% 溶液とし、体重 100 g あたり 0.1, 0.2 および 0.4 ml の割合で尾静脈より投与した。なお、対照群には大量投与群と同量、すなわち体重 100 g あたり 0.4 ml の生理食塩水を投与した。一方、器官形成期投与実験では、投与液量を一定とし、体重 10 g あたり 0.2 ml (マウス)、または体重 100 g あたり 0.4 ml (ラット) となるように CFX を生理食塩水に溶解して、尾静脈内投与した。対照群には、生理食塩水を同様の投与液量で投与した。

CFX の投与量の算定は、妊娠前の雄および雌への投与では、毎週 1 回の体重を、妊娠初期、器官形成期ならびに周産期および授乳期の投与では妊娠 0 日の体重を、それぞれ基準にして行なった。

5. 観察項目

実験期間中、一般症状の観察を行なうとともに、体重、摂餌量 (マウスおよびラット) ならびに摂水量 (ラット) の測定は、交配前または授乳期間では毎週 1 回、妊娠期間では薬物投与中の毎日と投与終了後の隔日について行なった。

1) 交配検査

妊娠前および妊娠初期投与実験では、雌について、交

配前の 3 週間と交尾までの毎日、膣垢を採取し、性周期を調べた。交配は同一投与量群の雄・雌を 1 対 1 の割合で同居させて行ない、交配成立を確認した雌については、授精能力の有無を、雌については受胎能力の有無を検査した。

2) 胎仔検査

マウスは妊娠 18 日目、ラットは妊娠 21 日目に屠殺して、胎仔を摘出した。胎仔の生死、生胎仔数および体重、性別、外部異常の有無、着床数、黄体数について検査した。各腹の生胎仔のうち、およそ 2/3 はアリザリン赤染色透明骨格標本とし、骨格検査に供した。残りの 1/3 については、ブアン氏液に固定し、WILSON の切片法¹⁾により内臓検査を行なった。

3) 分娩検査

分娩の時期および分娩状態を観察し、分娩仔については、その数、生死、外部異常および性別を調べ、体重を測定した。

4) 哺育検査

分娩後、離乳 (分娩後 22 日目) までの毎日哺育仔の一般症状を観察し、生下時、分娩後 4, 8, 15 および 22 日目にそれぞれ哺育仔の体重を測定した。この間、同腹仔が多い場合は、分娩後 4 日目に 1 腹につき、10 匹にそろえた。

哺育仔の発育分化に及ぼす影響を調べるために、耳介開展、背部発毛、切歯萌出および眼瞼開裂を観察した。離乳時に PREYER 反射による音に対する反応性および運動機能などの検査を行なった。また、マウスを用いた器官形成期投与実験では、離乳時の機能検査に IRWIN の多面的観察法²⁾による試験を実施した。

哺育検査を終了した哺育仔の一部を、エーテル麻酔死

させ、軟レントゲン (Softex-SCMB-11) 撮影による骨格異常検査に供したのち、泌尿・生殖器を中心とした肉眼的内臓異常の検索を実施した。

離乳後は、雄・雌を分離飼育し、精巣下降、膈開口などの性成熟の状態を観察し、体重を毎週1回測定した。

5) 行動および学習検査

ラットを用いた器官形成期投与実験と周産期および授乳期投与実験では、分娩後6週目に Varimex (Columbus 社製実験動物運動量測定装置) により自発運動量を、また、分娩後8週目に shuttle box (竹井機器工業社製完全自動回避実験装置) により条件回避学習試験を実施した。

自発運動量は、ラットを測定ケージに1匹ずつ入れ、30分間における運動量カウント数をもって示した。

Shuttle box の条件回避学習能力については、相等しい2室に仕切られた長方形の箱 (24.5×42×27 cm) の実験装置を用い、ラットは、左右の2室の間にある通路により自由に移動できるようにした。回避条件づけは、条件刺激として、ブザー音を5秒間与え、この間にラットが他方の室に移動しなければ、床のグリットに無条件刺激として、40Vの交流通電が与えられるようにした。5秒以内にラットが移動すれば両刺激は中止した。試行間隔は30秒とし、100試行を連続的に行なった。

両実験は、温度および湿度を動物室と同一条件に設定した防音室内で実施した。

6) 生殖能力検査

ラットを用いた器官形成期投与実験と周産期および授乳期投与実験では、分娩後10週齢より性周期を観察し、

分娩後11週齢から2週間同一投与量群間の交配を行なった。妊娠母動物については、妊娠21日目に前記の方法に準じた胎仔検査を実施した。

7) 推計学的処理

実験結果は、SNEDECOR & COCHRAN による t-検定、Fisher の 2×2 分割表による検定、または WILCOXON の順位和検定法を用いて推計学的解析を行なった。

いずれの推計検定においても有意水準として5%を採用した。

II. 実験成績

1. 妊娠前および妊娠初期投与実験

1) 雄および雌ラットに及ぼす影響

CFX 投与の雄および雌ラットの体重増加に及ぼす影響を Fig. 1 および Fig. 2 に示し、摂餌量および摂水量に及ぼす影響を Fig. 3 および Fig. 4 に示した。

CFX 投与により、一般症状の変化は認められなかった。また、死亡動物は、全実験を通じて1例も観察されなかった。

雄ラットでは、400 mg/kg 投与群で投与開始後7週目より、対照群に比べて、若干の体重増加抑制傾向が認められた (Fig. 1)。CFX 投与群の摂餌量および摂水量は、投与初期に増加する傾向にあったが、4週目以降対照群とほぼ同程度の値を示した (Fig. 3)。

雌ラットでは、CFX 投与群で交配前投与期間に体重増加抑制ならびに摂餌量および摂水量の減少がみられ、投与開始から14日までの体重増加量に関して、400 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差が認められた (Fig. 2 および Fig. 4)。しかし、交尾成立後は漸次回復し、400

Fig. 1 Body weight curves of male rats treated intravenously with CFX in fertility study

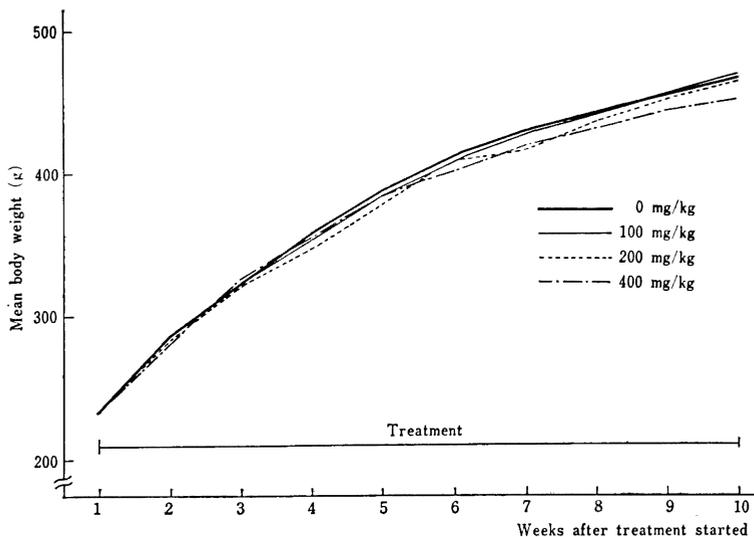


Fig. 2 Body weight curves of female rats treated intravenously with CFX in fertility study

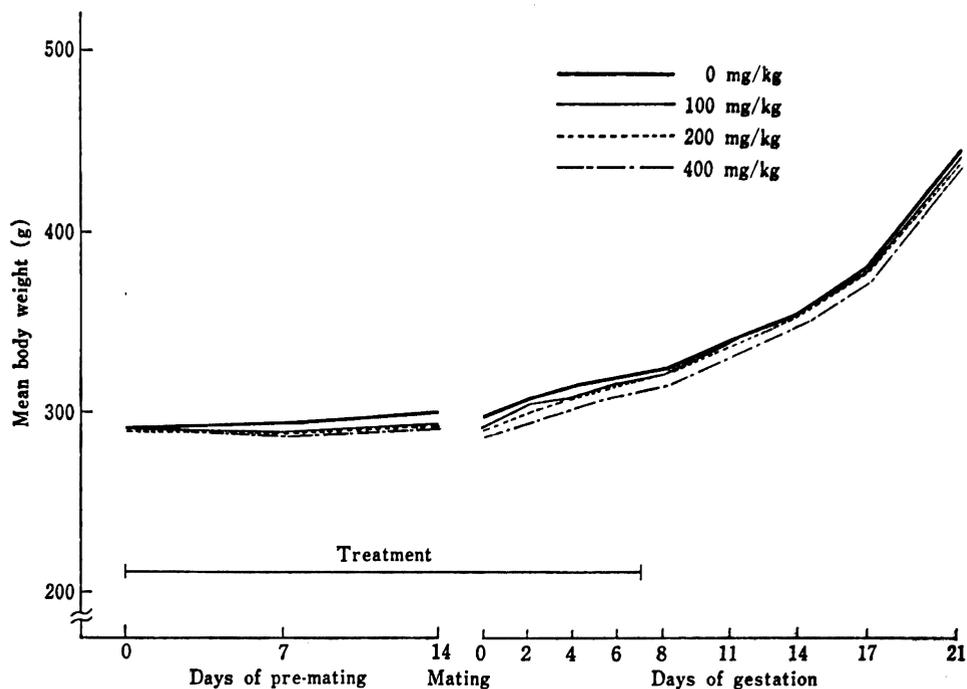
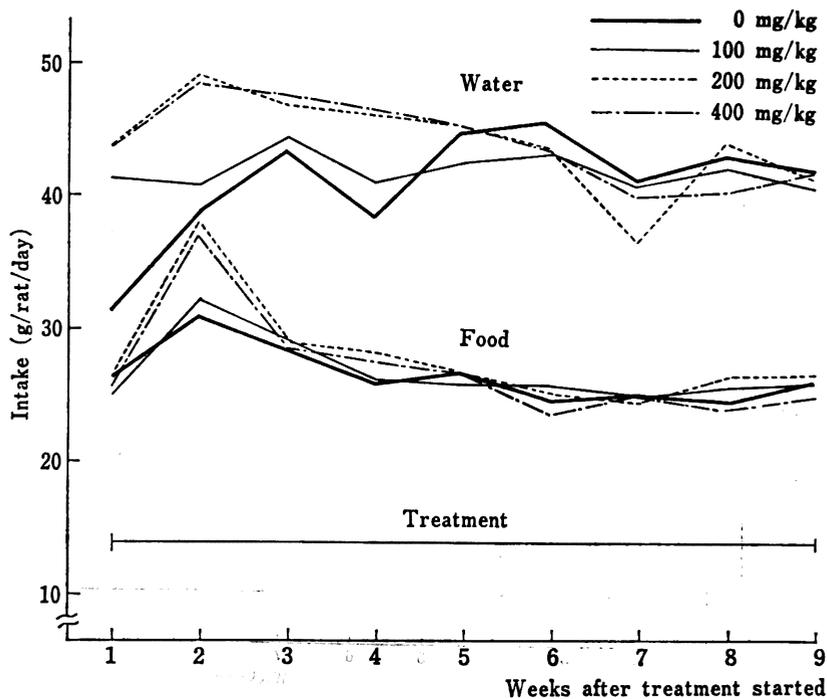


Fig. 3 Food and water intakes of male rats treated intravenously with CFX in fertility study



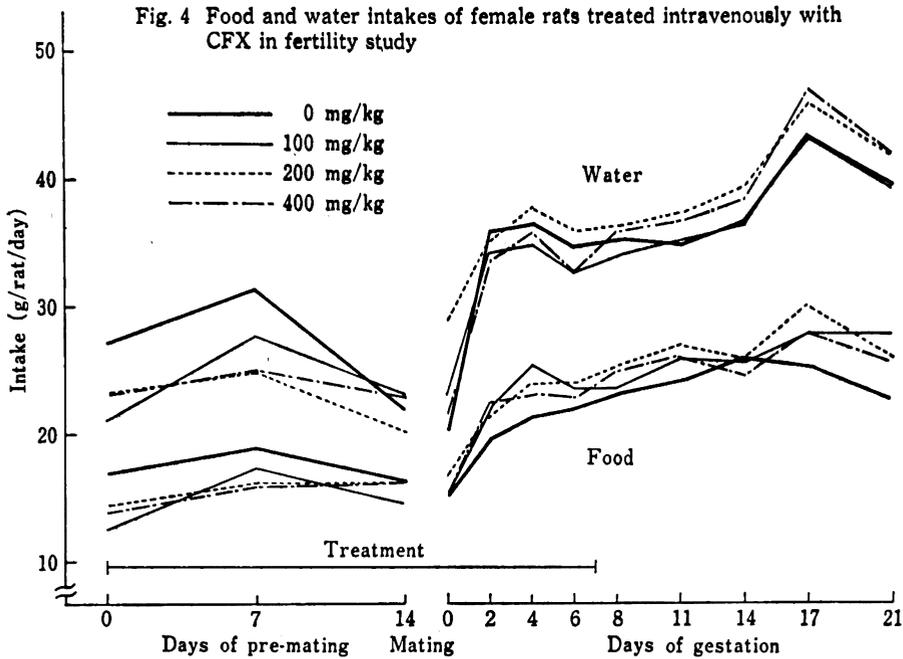


Fig. 4 Food and water intakes of female rats treated intravenously with CFX in fertility study

mg/kg を含めた CFX 投与群の体重の推移は、対照群と同程度であった。また、摂餌量および摂水量に関しても、各群いずれも大差なかった。

2) 交配能力に及ぼす影響

交配検査の成績は、Table 2 に示した。

交配前3週間の雌の性周期は、いずれも4~5日周期を示し、CFX 投与による影響は認められなかった。

ほとんどのラットが、同居開始後初回の発情で交尾が成立し、14日間の交配期間内で交尾が成立しなかったのは、200 mg/kg 投与群の1例のみであった。なお、この200 mg/kg 投与群の1例においても、その後妊娠に至り、正常な胎子が得られた。受精が確認された雌の妊娠率は、対照群と投与群との間に有意な差は認められなかった。

3) 母動物および胎子に及ぼす影響

母動物および胎子の奇形学的な観察結果を、Table 3 および Table 4 に示した。

200 mg/kg 投与群の黄体数が対照群に比べて、有意に減少したが、100および400 mg/kg 投与群では、対照群との間に有意の差を認めなかった (Table 3)。CFX 投与各群の着床数、生胎子数および死亡胎子数は、対照群とほぼ同程度であった。着床率は、いずれの群においても86.3~92.9%という良好な成績であり、CFX の妊娠初期投与による着床阻害は認められなかった。妊娠全期間を通じての胎子死亡吸収率は、各群において5.1~7.9%であり、対照群との間に有意差は認められなかつ

Table 2 Mating and fertility data of rats treated intravenously with CFX in fertility study

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400	
No. of pairs	24	24	24	25	
Occurrence time of copulation after mating					
day	1	5	5	4	7
	2	4	4	6	6
	3	4	5	6	5
	4	8	6	4	5
	5	0	2	2	0
	6	1	1	0	1
	7	1	0	0	0
	8	0	0	0	0
	9	0	0	0	0
	10	0	0	0	0
	11	0	1	1	0
	12	1	—	0	1
	13	—	—	0	—
	14	—	—	0	—
total	24	24	23	25	
Copulation rate(%) ^{a)}	100	100	95.8	100	
No. of pregnant	22	24	20	25	
No. of non-pregnant	2	0	3	0	
Pregnancy rate(%) ^{b)}	91.7	100	87.0	100	

a) (No. of copulating/No. of pairs)×100

b) (No. of pregnant/No. of copulating)×100

た。生胎仔体重に関しても、対照群との間に差異はなかった。

外部異常は、いずれの群においても1例も観察されなかった (Table 3)。

骨格検査の結果、骨格異常として波状肋骨が200 mg/kg 投与群に1例みられたのみであった。胸骨核、中手骨、中足骨および尾椎骨の化骨進行度に関しては、400 mg/kg 投与群の中足骨末化骨数が対照群に比べて有意に少ないことを除き、いずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。頸肋骨、腰肋骨、胸骨核などの骨格変異に関しても、いずれの投与群においても対照群と大差なかった。

内臓異常としては、腎盂拡張が、対照群、200および400 mg/kg 投与群に、それぞれ1、3および2例観察されたが、その他の異常は各群ともに認められなかった (Table 4)。

2. 器官形成期投与実験

1) 母動物に及ぼす影響

CFX 投与各群の母動物の体重増加に及ぼす影響を、Fig. 5 (マウス) および Fig. 6 (ラット) に示し、マウスの摂餌量ならびにラットの摂餌量および摂水量に及

ぼす影響を、それぞれ Fig. 7 および Fig. 8 に示した。

マウスについては、いずれの投与群も一般症状の変化は認められなかった。CFX 投与各群の母動物の体重推移は、対照群と同程度であったが、投与初期に摂餌量がやや減少した (Fig. 5 および Fig. 7)。

一方、ラットについては、一般症状および母動物体重増加への影響は認められなかった (Fig. 6)。CFX 投与群に摂餌量の減少がみられたが、100および300 mg/kg 投与群では投与期間の中ごろから、対照群と同程度に回復した (Fig. 8)。また、摂水量は、11日間の薬物投与に伴って増加する傾向を示した。

2) 胎仔に及ぼす影響

マウスおよびラットにおける妊娠末期の母動物および胎仔所見を、Table 5 および Table 6 に示した。

(1) マウスによる実験

CFX 投与各群の着床数、生胎仔数、死亡胎仔数ならびに胎仔死亡吸収率は、いずれも対照群との間に有意差を認めなかった (Table 5)。生胎仔体重に関しても、CFX 投与の100および900 mg/kg 投与群で若干の減少を示したが、投与量との間に一定の関係は認められなかった。

Table 3 Fetal observation on rats treated intravenously with CFX in fertility study

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400
No. of mothers	22	24	20	25
No. of corpora lutea (mean \pm S.E.)	364 16.5 \pm 0.4	382 15.9 \pm 0.5	297 14.9 \pm 0.5*	396 15.8 \pm 0.4
No. of implants (mean \pm S.E.)	314 14.3 \pm 0.9	344 14.3 \pm 0.4	276 13.8 \pm 0.5	355 14.2 \pm 0.6
Implantation rate (%) ^{a)}	86.3	90.1	92.9*	89.6
No. of fetuses alive (mean \pm S.E.)	298 13.5 \pm 0.8	321 13.4 \pm 0.6	263 13.2 \pm 0.6	327 13.1 \pm 0.6
No. of dead or resorbed fetuses				
in early stage	14	22	12	27
in late stage	2	1	1	1
total (%)	16 (5.1)	23 (6.7)	13 (4.7)	28 (7.9)
Mean body weight of fetuses alive (g \pm S.E.)				
male	5.23 \pm 0.07	5.10 \pm 0.08	5.19 \pm 0.05	5.36 \pm 0.08
female	4.87 \pm 0.06	4.86 \pm 0.05	4.83 \pm 0.05	5.04 \pm 0.07
total	5.02 \pm 0.06	4.95 \pm 0.07	5.03 \pm 0.04	5.19 \pm 0.07
Sex ratio (male/female)	0.87	0.87	1.16	0.90
External malformations	0	0	0	0

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

a) (No. of implants/No. of corpora lutea) \times 100

Table 4 Skeletal and visceral observations on fetuses of rat mothers treated intravenously with CFX in fertility study

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400
<u>Skeletal observation</u>				
No. of fetuses examined	198	213	179	219
<u>Degree of ossification (%)</u>				
Underdeveloped or non-ossified sternbrae	18 (9.1)	15 (7.0)	10 (5.6)	10 (4.6)
Non-ossified metacarpals ^{a)}	4 (2.0)	10 (4.7)	7 (3.9)	2 (0.9)
Non-ossified metatarsals ^{b)}	142 (71.7)	136 (63.8)	130 (72.6)	127 (58.0)*
No. of ossified caudal vertebrae (mean±S.E.)	5.42±0.05	5.35±0.04	5.32±0.05	5.35±0.05
<u>Variation (%)</u>				
Formation of cervical ribs	0	0	0	1 (0.5)
Formation of lumbar ribs	23 (11.6)	24 (11.3)	21 (11.7)	24 (11.0)
Variation of sternbrae ^{c)}	0	2 (0.9)	1 (0.6)	0
Separated body of thoracic vertebrae	2 (1.0)	0	0	1 (0.5)
Dumbbell-shaped body of lumbar vertebrae	0	0	0	1 (0.5)
<u>Malformation (%)</u>				
Waved ribs	0	0	1 (0.6)	0
<u>Visceral observation</u>				
No. of fetuses examined	100	108	84	108
Dilatation of renal pelvis (%)	1 (1.0)	0	3 (3.6)	2 (1.9)

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

a) No. of fetuses with one or more metacarpals non-ossified

b) No. of fetuses with one or more metatarsals non-ossified

c) Dislocated, bipartite, fused or extra sternbrae

外部異常は、対照群を含めた全群において1例も検出されなかった (Table 5)。

骨格検査の結果、骨格異常は1例も観察されなかった。化骨進行度に関しては、100 および 900 mg/kg 投与群の胸骨核、後肢中節骨および尾椎骨の化骨が対照群に比べて若干遅延する傾向にあったが、100 mg/kg 投与群の後肢中節骨を除いて、対照群との間に有意の差は認められなかった。頸肋骨、腰肋骨または胸骨核変異の出現率は、対照群を含めた全群ともほぼ同程度であった。

また、内臓異常は1例も検出されなかった (Table 6)。

(2) ラットによる実験

CFX 投与各群の黄体数、着床数および生胎仔数は、対照群との間に有意の差を認めなかった。胎仔死亡吸収率は、100 および 900 mg/kg 投与群が対照群に比べて高率であったが、投与量との間に一定の関係は認められなかった。生胎仔体重に関しては、対照群を含めた全群とも同程度であった。

外部異常は、対照群に脳ヘルニアが1例検出されたが、CFX 投与各群には1例も検出されなかった (Table 5)。

骨格検査の結果、骨格異常としては、300 mg/kg 投与群に肋骨および胸椎椎弓の癒合が1例観察されたのみで、その他の投与群には、1例の異常もみられなかった。胸骨核、中足骨、尾椎骨の化骨進行度に関しては、とくに CFX 投与各群において化骨の遅延傾向はみられなかった。頸肋骨、腰肋骨、第13肋骨の短小または胸骨核変異の出現率に関しても、900 mg/kg 投与群の腰肋骨の出現が対照群に比べて有意に多かったことを除き、いずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

内臓異常として、腎盂拡張が 100 mg/kg 投与群に1例認められたにすぎなかった (Table 6)。

3) 哺育仔の生後発育に及ぼす影響

妊娠中に CFX の投与を受けた母動物より自然分娩した新生仔の生後観察の結果を、Table 7 から Table 11

Fig. 5 Body weight curves of pregnant mice treated intravenously with CFX in teratogenicity study

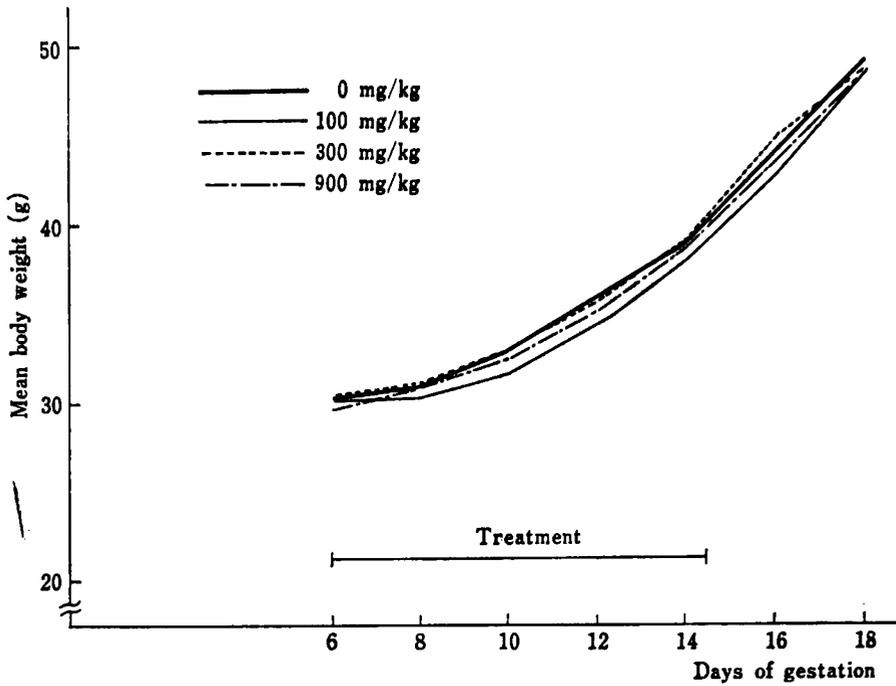


Fig. 6 Body weight curves of pregnant rats treated intravenously with CFX in teratogenicity study

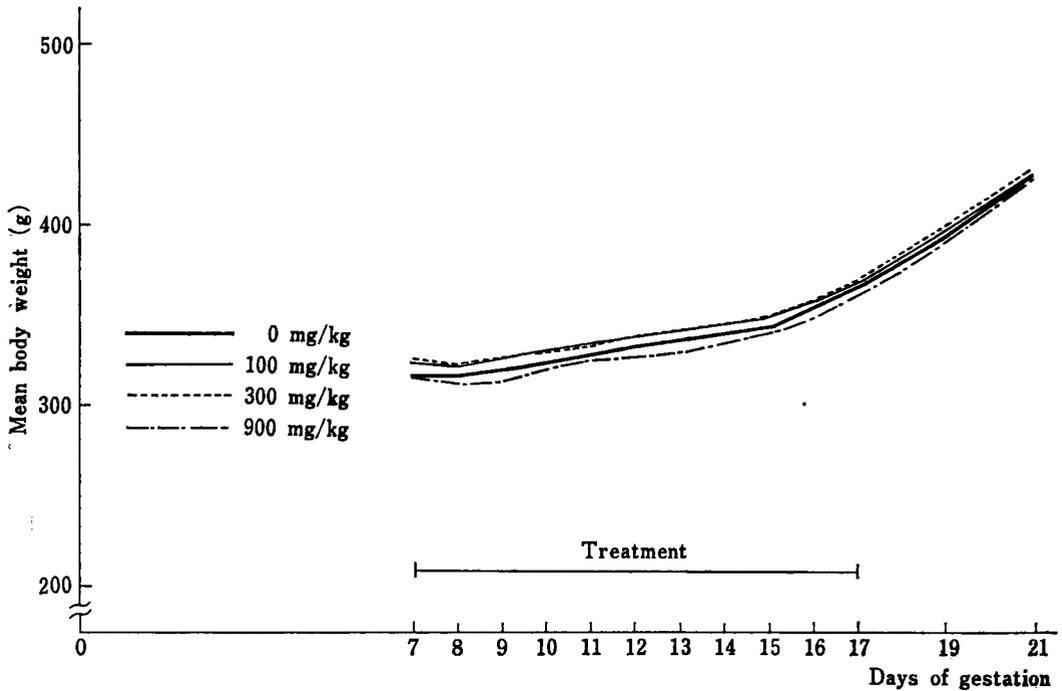


Fig. 7 Food intake of pregnant mice treated intravenously with CFX in teratogenicity study

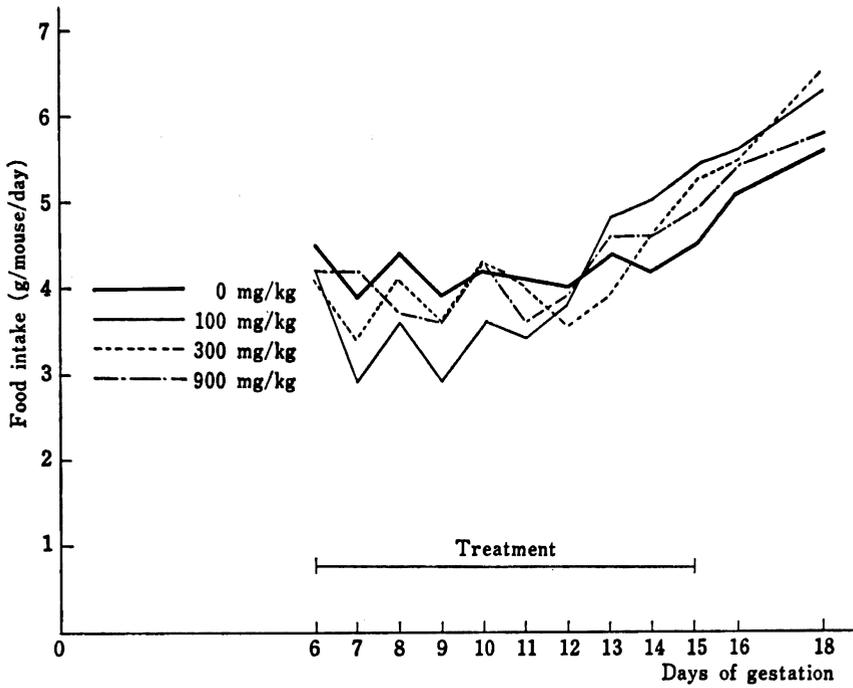
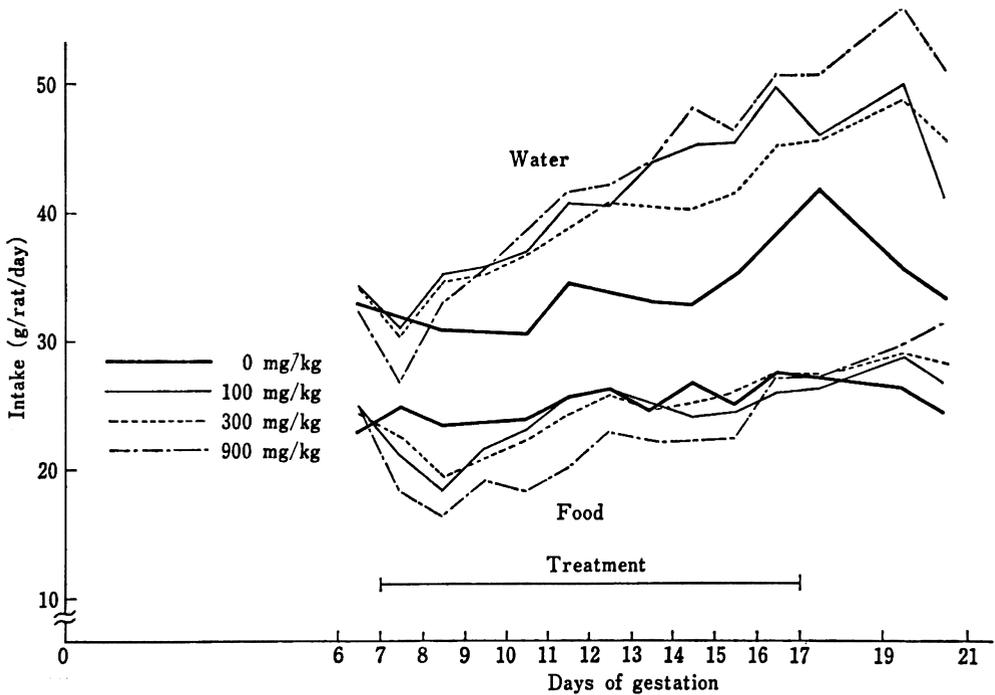


Fig. 8 Food and water intakes of pregnant rats treated intravenously with CFX in teratogenicity study



に示した。

(1) マウスによる実験

CFX 投与各群の妊娠期間、分娩仔数、生存率および離乳率は、いずれも対照群との間に有意の差を認めなかった。

分娩後22日目の各群の離乳仔には、IRWINの多面的観察法による運動機能異常および音に対する反応異常、また、外部ならびに内臓異常は認められなかった。対照群を含めた全群の尾椎骨数は同程度であり、骨格異常は、1例も検出されなかった (Table 7)。

分娩後43日までの哺育仔体重は、対照群を含めた全群が、いずれも同程度であり、CFX 投与各群の哺育仔発育は良好であった (Table 8)。

耳介開展、切歯萌出および眼瞼開裂などを指標として、哺育仔の分化の状態を観察した場合、900mg/kg 投与群で切歯萌出および眼瞼開裂の出現時期が若干遅延した。精巣下降または陰開口を指標として性成熟の程度を調べた結果、CFX 投与各群と対照群との間に差異は認められなかった (Table 9)。

(2) ラットによる実験

CFX 投与各群の妊娠期間、分娩仔数、生存率および離乳率は、いずれも対照群とほぼ同程度であった。

分娩後22日目の各群の離乳仔には、運動機能異常および音に対する反応異常、また外部ならびに内臓異常は認められなかった。骨格検査の結果、各群の尾椎骨数は同程度であり、骨格異常は1例も検出されなかった (Table 7)。

哺育仔体重は、CFX 投与各群と対照群との間に差異を認めなかった (Table 8)。

哺育仔の発育状態を耳介開展、発毛、切歯萌出および眼瞼開裂から検討したが、CFX 投与による発育遅延作用は認められなかった。精巣下降または陰開口からみた性成熟は、CFX 投与各群と対照群との間に差異は認められなかった (Table 9)。

ラット育成仔について実施した行動学的検索の結果、自発運動量ならびに条件回避学習能力ともに対照群と投与群間に差異を認めなかった (Table 10)。

ラット F₁ 仔の性周期観察および交配検査の結果は、Table 11 に示した。

交尾率および妊娠率は、対照群と投与群間に有意の差は認められず、CFX の投与による影響はみられなかった。F₂ の胎仔検査についても、CFX 投与による胎仔致死性、胎仔発育抑制および催奇形性はみられず、自然発生と考えられる外部異常が 300 mg/kg 投与群に2例 (耳の位置異常ならびに口蓋板の無形成を伴った矮小仔) みられたのみであった。

3. 周産期および授乳期投与実験

1) 母動物に及ぼす影響

妊娠後期より離乳まで CFX を投与した母動物の体重変化を Fig. 9 に、摂餌量および摂水量を Table 12 に示した。

CFX 投与期間中、一般症状の変化はみられず、母動物の体重推移についても、対照群と投与群間に差異は認められなかった (Fig. 9)。CFX 投与各群の摂餌量は、妊娠末期には減少し、哺育期間には増加する傾向を示した。さらに、摂水量に関しても、CFX 投与期間中の増加が観察されたが、分娩後4日以降において増加が著しかった (Table 12)。

2) 分娩に及ぼす影響

妊娠期間、分娩率および産仔数に及ぼす CFX の影響を、Table 13 に示した。

対照群を含めた全群において、難産、遷延分娩および分娩遅延などの異常は、1例もみられず、妊娠期間は20~23日の正常範囲内にあった。妊娠動物は、すべて正常に出産したので、分娩率はいずれも100%であった。しかし、400 mg/kg 投与群では対照群に比べて、死産仔が有意に多かった。なお、これら死産仔の剖検では、外部および内臓異常などは1例も検出されなかった。

3) 哺育仔の生後発育に及ぼす影響

哺育成績および離乳仔の諸検査成績を Table 14 に、哺育仔の発育分化の成績を Table 15 に、また、哺育仔の体重の推移を Fig. 10 に示した。

分娩後4日目までの生存率および分娩後4日目の間引き以降、離乳時までの離乳率は、CFX 投与各群と対照群との間に差異を認めなかった。

離乳時の PREYER 反射、外部および内臓異常の観察ならびに骨格検査の結果、対照群を含めた全群に異常は認められなかった。尾椎骨数は、CFX 投与各群ともに対照群より有意に多かった (Table 14)。

哺育仔の出生直後から57日齢までの体重増加は、いずれの CFX 投与各群でも対照群と同様に順調であった (Fig. 10)。

哺育仔の生後発育分化に関して、発毛は対照群が、眼瞼開裂は CFX 投与各群が、いずれも若干遅延する傾向がみられたが、耳介開展および切歯萌出については、対照群との間に差異を認めなかった (Table 15)。

育成仔の行動学的検索の成績を Table 16 に示した。

分娩後6週齢時に観察した30分間における自発運動量は、雄・雌ともに対照群と投与群間に有意の差を認めなかった。8週齢時に実施した条件回避学習能力試験についても、連続100試行中の総回避生起数は、対照群と CFX 投与各群との間に有意な差は認められず、CFX の

Table 5 Fetal observation on mice and rats treated intravenously with CFX in teratogenicity study

Species	Mice				Rats			
	0	100	300	900	0	100	300	900
Dose (mg/kg/day)	0	100	300	900	0	100	300	900
No. of mothers (dead)	20(0)	21(0)	21(0)	21(0)	21(0)	21(0)	21(0)	22(0)
No. of corpora lutea (mean±S.E.)	—	—	—	—	360 (17.1±0.3)	363 (17.3±0.5)	365 (17.4±0.6)	390 (17.7±0.4)
No. of implants (mean±S.E.)	202 (10.1±0.4)	222 (10.6±0.3)	227 (10.8±0.4)	215 (10.2±0.4)	344 (16.4±0.5)	345 (16.4±0.5)	334 (15.9±0.7)	374 (17.0±0.4)
No. of fetuses alive (mean±S.E.)	183 (9.2±0.6)	210 (10.0±0.4)	206 (9.8±0.7)	200 (9.5±0.7)	333 (15.9±0.6)	319 (15.2±0.6)	314 (15.0±0.7)	349 (15.9±0.5)
No. of dead or resorbed fetuses	0	0	7	8	11	25	16	23
in early stage	19	12	14	7	0	1	4	2
total (%)	19 (9.4)	12 (5.4)	21 (9.3)	15 (7.0)	11 (3.2)	26 (7.5)*	20 (6.0)	25 (6.7)*
Mean body weight of fetuses alive (g±S.E.)	1.38±0.04	1.33±0.01	1.37±0.02	1.33±0.02	5.07±0.04	5.07±0.03	5.04±0.04	5.12±0.04
male	1.32±0.03	1.25±0.01*	1.30±0.02	1.29±0.02	4.78±0.03	4.79±0.03	4.75±0.04	4.84±0.04
female	1.34±0.03	1.28±0.02	1.34±0.02	1.31±0.02	4.92±0.03	4.94±0.02	4.88±0.03	4.98±0.03
total	1.05	1.06	1.05	1.03	0.96	1.13	0.83	0.99
Sex ratio (male/female)	0	0	0	0	1 (0.3) ^{a)}	0	0	0
External malformations (%)	0	0	0	0	0	0	0	0

* Significantly different from control value (p<0.05)

a) Encephalocoele

Table 6 Skeletal and visceral observations on fetuses of mouse and rat mothers treated intravenously with CFX in teratogenicity study

Species	Mice				Rats			
	0	100	300	900	0	100	300	900
Dose (mg/kg/day)	0	140	133	129	0	214	211	237
Skeletal observation	121	140	133	129	226	214	211	237
No. of fetuses examined	121	140	133	129	226	214	211	237
Degree of ossification (%)								
Underdeveloped or non-ossified sternebrae	57 (47.1)	77 (55.0)	43 (32.3)	72 (55.8)	14 (6.2)	7 (3.3)	9 (4.3)	6 (2.5)
Non-ossified metatarsals ^{a)}	121 (100)	140 (100)	133 (100)	129 (100)	122 (54.0)	117 (54.7)	128 (60.7)	60 (25.3) ^z
Non-ossified middle phalanges ^{b)} of hind limb	73 (60.3)	119 (85.0) [*]	85 (63.9)	99 (76.7)	0	0	0	0
No. of ossified caudal vertebrae (mean ± S.E.)	8.25 ± 0.32	7.82 ± 0.28	8.44 ± 0.34	8.01 ± 0.32	5.53 ± 0.06	5.55 ± 0.05	5.45 ± 0.06	5.68 ± 0.05
Variation (%)								
Formation of cervical ribs	20 (16.5)	31 (22.1)	17 (12.8)	27 (20.9)	0	0	0	0
Formation of lumbar ribs	0	0	0	1 (0.8)	23 (10.2)	34 (15.9)	19 (9.0)	41 (17.3) ^z
Shortening of 13th rib	0	2 (1.4)	1 (0.8)	2 (1.6)	0	0	0	0
Variation of sternebrae ^{c)}	5 (4.1)	11 (7.9)	7 (5.3)	5 (3.9)	2 (0.9)	0	0	1 (0.4)
Malformation (%)								
Fused ribs and thoracic vertebrae	0	0	0	0	0	0	1 (0.5)	0
Visceral observation								
No. of fetuses examined	62	70	73	71	107	105	103	112
Dilatation of renal pelvis (%)	0	0	0	0	0	0	1 (1.0)	0

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

a) No. of fetuses with one or more metatarsals non-ossified

b) No. of fetuses with one or more phalanges non-ossified

c) Dislocated, bipartite, fused or extra sternebrae

Table 7 Postnatal observation on pups from mouse and rat mothers treated intravenously with CFX in teratogenicity study

Species	Mice			Rats		
	0	100	300	0	100	300
Dose (mg/kg/day)	0	100	300	0	100	300
No. of mothers	10	10	10	11	11	13
Length of gestation (day)						
mean	19.2	19.0	19.1	21.9	21.9	22.0
range	19-21	19	19-20	21-22	21-23	22
No. of implants	98	111	105	181	187	214
(mean±S.E.)	(9.8±1.0)	(11.1±0.4)	(10.5±0.3)	(16.5±0.5)	(17.0±0.6)	(16.5±0.9)
No. of pups born						
alive	95	106	101	162	171	197
(mean±S.E.)	(9.5±1.0)	(10.6±0.5)	(10.1±0.4)	(14.7±0.6)	(15.5±0.5)	(15.2±0.9)
dead	0	0	0	1	1	0
No. of pups alive						
at day 1	95	106	101	162	171	197
4 ^{a)}	86→84	93→89	91→86	136→103	145→104	180→127
8	77	86	84	98	102	123
15	65	86	73	95	102	123
22	65	84	72	95	102	123
Survival rate (%) ^{b)}	90.5	87.7	90.1	84.0	84.8	91.4
Weaning rate (%) ^{c)}	77.4	94.4	83.7	92.2	98.1	96.9
Observation on weanlings ^{d)}						
Irwin's test	normal	normal	normal	—	—	—
Preyer's reflex	normal	normal	normal	normal	normal	normal
External malformation	0	0	0	0	0	0
Visceral malformation	0	0	0	0	0	0
Skeletal malformation	0	0	0	0	0	0
No. of ossified caudal vertebrae (mean±S.E.)	27.3±0.2	28.1±0.1	27.4±0.2	26.5±0.1	26.6±0.1	27.0±0.1
						27.2±0.1

a) Excessively large litters were reduced to a maximum of 10 pups at day 4

b) (No. of pups alive at day 4/No. of pups born alive)×100

c) (No. of pups alive at day 22/No. of pups kept at day 4)×100

d) Examined at day 22 post partum

Table 8 Body weight change of pups from mouse and rat mothers treated intravenously with CFX in teratogenicity study

Species	Sex	Dose (mg/kg/day)	Lactation period					Period after weaning		
			1 day ^{a)}	4	8	15	22	29	36	43
Mice	Male	0	1.6±0.1 ^{b)}	2.8±0.2	5.1±0.3	8.5±0.7	13.5±0.9	24.0±0.7	29.4±0.7	31.8±0.7
		100	1.7±0.1	2.8±0.1	5.2±0.2	7.5±0.2	13.2±0.4	23.3±0.6	27.7±0.9	31.0±0.7
		300	1.6±0.1	2.7±0.1	5.1±0.2	7.3±0.2	12.3±0.3	22.7±0.4	29.0±0.6	29.7±0.6*
		900	1.6±0.1	2.8±0.3	4.8±0.2	7.2±0.4	11.4±0.8	22.5±0.9	28.8±0.8	30.9±0.6
Mice	Female	0	1.5±0.1 ^{b)}	2.7±0.2	5.1±0.3	8.5±0.8	13.5±0.9	21.9±0.5	24.8±0.4	25.7±0.7
		100	1.6±0.1	2.7±0.1	5.2±0.2	7.6±0.3	12.8±0.5	21.1±0.7	25.1±0.7	26.1±0.6
		300	1.6±0.1	2.6±0.1	4.9±0.2	7.3±0.3	12.5±0.4	20.8±0.4	23.4±0.5	24.5±0.7
		900	1.6±0.1	2.8±0.3	4.8±0.2	7.5±0.2	11.7±0.7	21.7±0.5	24.2±0.3	24.6±0.5
Rats	Male	0	6.1±0.2 ^{b)}	6.7±0.3	10.9±0.8	23.8±1.1	38.3±1.7	69.3±2.5	115.3±3.9	172.6±5.0
		100	6.2±0.1	6.8±0.3	11.2±0.9	24.7±1.1	40.9±1.6	72.3±2.0	120.9±3.3	182.1±4.5
		300	6.2±0.2	7.3±0.2	13.0±0.6	29.4±1.0	47.0±1.5	83.3±1.6	136.6±2.2	201.3±3.1
		900	6.0±0.1	7.2±0.3	12.6±0.8	27.9±1.3	44.7±2.1	80.2±2.3	131.1±3.5	192.8±4.6
Rats	Female	0	5.8±0.2 ^{b)}	6.4±0.2	10.4±0.9	23.2±1.1	37.6±1.8	65.9±2.2	106.0±3.5	149.5±4.4
		100	5.8±0.1	6.6±0.3	11.1±0.9	24.4±1.0	40.1±1.5	67.0±2.0	107.6±3.5	151.7±3.6
		300	5.8±0.2	7.0±0.2	12.4±0.5	28.4±1.0	45.2±1.3	75.5±1.2	117.4±2.0	160.5±2.3
		900	5.7±0.1	7.0±0.2	12.0±0.7	26.7±1.3	42.5±1.9	71.4±2.3	110.1±3.2	151.4±3.2

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

a) Days post partum

b) Mean pupa weight (\pm S.E.)

Table 9 Postnatal differentiation and sexual maturation of pups from mouse and rat mothers treated intravenously with CFX in teratogenicity study

Species	Mice				Rats				
	Dose (mg/kg/day)	0	100	300	900	0	100	300	900
Differentiation (%)									
Separation of ear auricles									
at day 4	40	75*	89*	48	89	90	95	91	
Eruption of lower incisors									
at day 12	100	100	98	82*	58	55	56	54	
Appearance of dorsal hair									
at day 12	—	—	—	—	85	78	90	86	
Separation of eyelids									
at day 15	100	70*	90	88*	37	47	71*	63*	
18	100	100	100	100	100	100	100	100	
Sexual maturation (%)									
Descent of testicle									
at day 22	7	33	20	42	96	100	100	96	
29	100	100	100	100	100	100	100	100	
Vaginal opening									
at day 29	88	72	70	80	0	0	0	0	
36	100	100	100	100	36	27	35	31	
43					100	100	100	96	

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

Table 10 Behavioral observation on pups from rat mothers treated intravenously with CFX in teratogenicity study

Dose (mg/kg/day)	0	100	300	900
Spontaneous motor activity^{a)}				
No. of pups examined				
male	10	10	11	12
female	9	11	12	10
Total counts in 30 min. (mean \pm S.E.)				
male	506.3 \pm 46.0	438.4 \pm 38.3	539.3 \pm 44.8	487.5 \pm 29.0
female	400.7 \pm 59.1	492.2 \pm 28.0	440.8 \pm 36.6	515.3 \pm 48.1
Shuttle box avoidance learning ability^{b)}				
No. of pups examined				
male	11	11	12	13
female	11	11	12	13
Total no. of avoidance in 100 trials (mean \pm S.E.)				
male	85.4 \pm 2.8	82.6 \pm 3.0	80.7 \pm 4.7	81.8 \pm 3.4
female	82.5 \pm 2.2	81.4 \pm 3.5	86.7 \pm 1.5	85.3 \pm 3.0

a) Examined at week 6 post partum

b) Examined at week 8 post partum

Table 11 Reproductive performance of rat pups and observation on F₂ fetuses in teratogenicity study

Dose (mg/kg/day)	0	100	300	900
Reproductive performance				
No. of pairs	11	10	11	13
No. of pairs copulated	9	10	9	12
Copulation rate (%)	81.8	100	81.8	92.3
No. of pregnant	8	8	9	11
Pregnancy rate (%)	72.7	80.0	81.8	84.6
Observation on F₂ fetuses				
No. of F ₁ mothers sacrificed on-day 21 of gestation	8	8	9	11
Mean no. of corpora lutea	14.9±0.8	15.4±0.9	15.9±0.7	15.3±0.6
Mean no. of implants	14.4±0.7	14.5±0.8	13.7±1.4	14.8±0.7
Mean no. of fetuses alive	14.0±0.7	13.5±0.8	12.6±1.5	14.3±0.7
No. of dead or resorbed fetuses				
in early stage	3	6	9	6
in late stage	0	2	1	0
total (%)	3 (2.6)	8 (6.9)	10 (8.1)	6 (3.7)
Mean weight of fetuses alive (g)	5.08±0.04	5.15±0.04	4.99±0.07	5.06±0.04
Sex ratio (male/female)	1.04	1.25	1.17	0.89
External malformations (%)	0	0	2 (1.8) ^{a)}	0

a) Dwarf with ectopic ears and aplastic cleft plate

Fig. 9 Body weight curves of rats treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

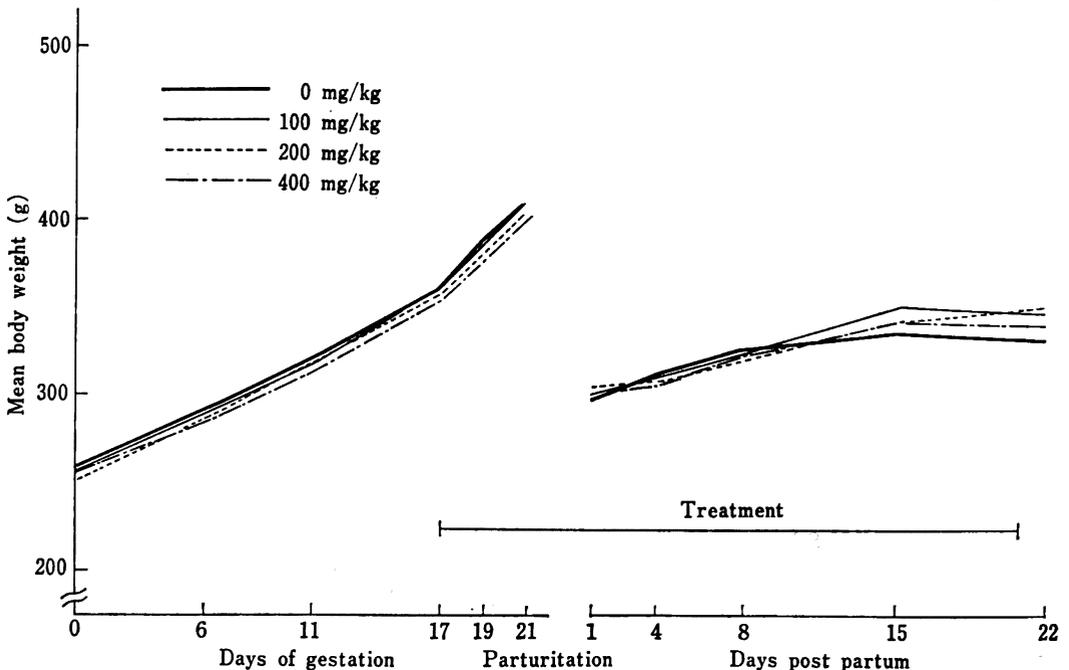


Table 12 Food and water intakes of rats treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Days of gestation								Days post partum				
	0	6	11	17	18	19	20	21	1	4	8	15	22
Food intake (g/rat/day)													
0	16.3	27.0	30.8	26.3	25.8	27.0	25.6	22.2	12.1	37.7	48.7	58.5	82.0
100	21.0	26.1	28.4	27.6	21.6*	23.6*	22.5*	21.6	9.8	40.3	53.3	71.9*	97.0*
200	20.6	27.1	28.5	25.5	24.9	22.3*	21.8*	20.3	11.2	40.1	56.6*	71.0*	88.3
400	17.7	27.4	26.8	26.8	22.7	22.4*	21.7*	19.5	13.4	40.9	54.0	71.9*	86.6
Water intake (g/rat/day)													
0	21.6	36.3	39.6	38.4	39.6	39.7	34.9	31.9	17.9	54.1	63.7	84.8	122.5
100	25.2	33.5	38.1	43.8	38.8	45.3	44.7*	42.1*	20.5	70.8*	91.4*	121.5*	155.3*
200	26.9	37.2	39.7	41.0	43.3	46.6	45.8*	41.9*	17.7	74.7*	95.1*	123.7*	162.5*
400	22.2	33.9	36.1	40.1	39.3	42.3	44.0*	35.8*	15.3	73.0*	87.2*	118.3*	146.5

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

Table 13 Delivery data of rats treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400
No. of mothers	20	20	20	20
Length of gestation (days)				
mean	22.0	21.9	22.0	22.0
range	22	20-22	21-23	22
Parturition status	normal	normal	normal	normal
Delivery rate (%) ^{a)}	100	100	100	100
No. of implants (mean)	320 (16.0)	312 (15.6)	284 (14.2)	297 (14.9)
No. of pups born (mean)				
total	290 (14.5)	289 (14.5)	268 (13.4)	260 (13.0)
alive	287 (14.4)	287 (14.4)	266 (13.3)	249 (12.5)*
male	141 (7.1)	138 (6.9)	138 (6.9)	115 (5.8)
female	146 (7.3)	149 (7.5)	128 (6.4)	134 (6.7)
dead	3	2	2	11*
Malformations	0	0	0	0

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

a) (No. of delivered mothers/No. of pregnant mothers) × 100

投与による学習能力の低下はみられなかった。

F₁ 仔の性成熟および交配検査の成績を Table 17 に示した。

精巣下降または陰開口からみた F₁ 仔の性成熟は、200 mg/kg 投与群の 1 例に陰開口時期の遅延(分娩後 50 日に開口)が認められた以外、対照を含めた全群は同程度であった。また、性周期については、対照群を含めた全群ともに 4~6 日周期を示し、CFX 投与による影響はみられなかった。交尾率および妊娠率は、対照群と投与群間に有意の差を認めなかった。

さらに、F₂ 仔の胎仔検査の結果は、Table 18 に示したが、CFX 投与による胎仔致死性、胎仔発育抑制などの胎仔毒性ならびに催奇形作用は認められなかった。

考 察

CFX の安全性を確認する目的で、ラットを用いた妊娠前および妊娠初期投与実験、マウスおよびラットを用いた器官形成期投与実験、ならびにラットを用いた周産期および授乳期投与実験を行なった。

CFX 投与の親動物に及ぼす影響として、摂水量の増加が、器官形成期投与実験の妊娠ラットならびに周産期

Table 14 Postnatal development of pups from rat mothers treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400
No. of mothers	20	20	20	20
No. of pups alive (mean)				
at day 1	287 (14.4)	287 (14.4)	266 (13.3)	249 (12.5) *
4 ^{a)}	273 (13.7)	282 (14.1)	258 (12.9)	243 (12.2)
	↓	↓	↓	↓
8	196 (9.8)	199 (9.9)	190 (9.5)	187 (9.4)
15	194 (9.7)	199 (9.9)	186 (9.3)	187 (9.4)
22	193 (9.7)	199 (9.9)	186 (9.3)	187 (9.4)
Survival rate (%) ^{b)}	95.1	98.3	97.0	97.6
Weaning rate (%) ^{c)}	98.5	100	97.9	100
<u>Observation on weanlings</u>				
Preyer's reflex	normal	normal	normal	normal
External malformation	0	0	0	0
Visceral malformation	0	0	0	0
Skeletal malformation and variation	0	0	1 ^{d)}	0
Mean no. of ossified caudal vertebrae ± S.E.	26.0 ± 0.1	26.5 ± 0.1*	26.8 ± 0.1*	26.9 ± 0.1*

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

a) Excessively large litters were reduced to a maximum of 10 pups at day 4

b) (No. of pups alive at day 4/No. of pups born alive) × 100.

c) (No. of pups alive at day 22/No. of pups kept at day 4) × 100

d) Lumbar ribs

Fig. 10 Growth curves of pups from rat mothers treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

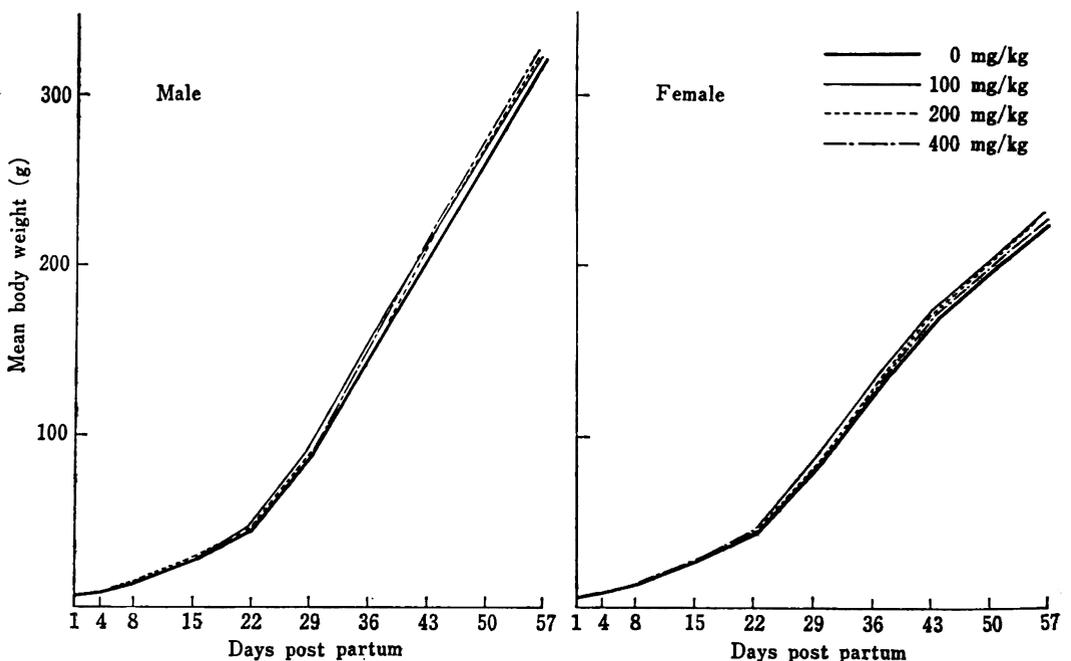


Table 15 Postnatal differentiation of pups from rat mothers treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400
Separation of ear auricles (%)				
at day 4	83.7	100	88.1	99.3
8	100	—	100	100
Eruption of lower incisors (%)				
at day 11	21.9	57.0*	29.7	18.7
13	98.1	100	96.4	98.1
Appearance of dorsal hair (%)				
at day 10	26.7	48.1*	50.5*	57.0*
12	97.1	100	100	100
Separation of eyelids (%)				
at day 16	98.1	70.9*	73.4*	83.7*
18	100	100	100	100

* Significantly different from control value ($p < 0.05$)

Table 16 Behavioral observation on pups from rat mothers treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	0	100	300	900
<u>Spontaneous motor activity^{a)}</u>				
No. of pups examined				
male	20	20	20	20
female	20	20	20	20
Total counts in 30 min. (mean \pm S.E.)				
male	430.2 \pm 23.9	484.4 \pm 28.5	456.7 \pm 28.4	476.9 \pm 27.3
female	393.6 \pm 26.2	440.2 \pm 24.6	401.9 \pm 25.9	394.5 \pm 18.8
<u>Shuttle box avoidance learning ability^{b)}</u>				
No. of pups examined				
male	10	10	10	10
female	10	10	10	10
Total no. of avoidance in 100 trials (mean \pm S.E.)				
male	76.4 \pm 4.2	76.9 \pm 4.6	66.4 \pm 8.3	81.0 \pm 3.3
female	78.3 \pm 4.6	74.2 \pm 5.8	76.4 \pm 3.5	67.1 \pm 7.5

a) Examined at week 6 post partum

b) Examined at week 8 post partum

Table 17 Reproductive performance of pups from rat mothers treated intravenously with CFX in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	400
<u>Sexual maturation</u>				
Descent testicle (%)				
at day 22	99/99 (100)	100/101 (99.0)	104/104 (100)	89/90 (98.9)
Vaginal opening				
at day 36	6/20	10/20	11/20	9/20
at day 43	20/20	20/20	19/20	20/20
<u>Vaginal smear test</u>				
<u>Estrous cycle</u>				
4 day cycle	18/20	17/20	16/20	19/20
5 day cycle	2/20	3/20	3/20	1/20
6 day cycle	—	—	1/20	—
<u>Mating and fertility</u>				
Copulation rate (%) ^{a)}	16/20 (80.0)	18/20 (90.0)	16/20 (80.0)	18/20 (90.0)
Pregnancy rate (%) ^{b)}	14/16 (87.5)	17/18 (94.4)	13/16 (81.3)	16/18 (88.9)

a) (No. of copulating/No. of pairs)×100

b) (No. of pregnants/No. of copulating)×100

Table 18 Observation on F₂ fetuses in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	0	100	300	900
No. of mothers (F ₁)	10	10	10	10
Mean body weight gain (%) during pregnancy	46.6±4.1	44.4±3.6	47.6±1.3	50.1±4.1
No. of implants	122	118	148	130
(mean±S.E.)	(12.2±1.9)	(11.8±1.9)	(14.8±1.0)	(13.0±1.7)
No. of fetuses alive	110	112	145	129
(mean±S.E.)	(11.0±1.9)	(11.2±1.2)	(14.5±1.0)	(12.9±1.6)
No. of dead or resorbed fetuses				
in early stage	12	5	3	0
in late stage	0	1	0	1
total (%)	12(9.8)	6 (5.1)	3 (2.0)*	1 (0.8)*
Mean body weight of fetuses alive (g±S.E.)	5.40±0.19	5.32±0.07	5.06±0.11	5.18±0.05
Sex ratio (male/female)	1.04	0.78	1.10	1.43
External malformations	0	0	0	0
Visceral malformations	0	0	0	0

* Significantly different from control value (p<0.05)

および授乳期投与実験の妊娠および哺育ラットに認められた。この現象については、妊娠中一後期および哺育期間、すなわち胎子の発育および授乳などの母動物にとって生理的水分要求度の高い時期にみられていることから、これらの時期に CFX の高濃溶液を静注することにより生理的水分要求がさらに高められたことが摂水量の増加に関係しているものと推測される。摂餌量に関しては、CFX の投与初期に若干減少する傾向にあった。各実験における CFX 投与各群の親動物の体重は、妊娠前の雌ラットに体重増加抑制が認められた以外、CFX 投与による変化は認められなかった。

妊娠前および妊娠初期投与実験において、CFX 投与による交尾率、妊娠率、着床率および生胎仔数などへの影響は認められなかった。これらの結果から、CFX は、生殖細胞形成、排卵、交尾、受精卵、早期胎芽および胎子の発育に影響を及ぼさないものと考えられる。一方、内臓異常として、腎盂拡張が対照群、100 および 400 mg/kg 投与群において少数例観察されたが、その出現率 (1.9~3.6%) が低いこと、正常ラット胎子においてもしばしば認められる一時的変異³⁾ であることから、腎盂拡張の出現は CFX 投与の影響ではないと判断される。また、外部異常は 1 例も観察されず、骨格異常に関しても、波状肋骨が 200 mg/kg 投与群に 1 例検出されたにすぎなかった。これらのことから、CFX は、妊娠初期投与において催奇形作用を示さないと考えられる。

マウスを用いた器官形成期投与実験では、900 mg/kg 投与群で哺育仔の発育が若干抑制される傾向にあった。しかし、この発育抑制も、離乳仔の尾椎骨化骨数、離乳後の体重推移、性成熟の出現時期が対照群とほぼ同程度であることから判断して、哺育期間だけに限定されるもので、離乳後の発育には影響を及ぼさないものと推察される。また、CFX は、マウスに対して胎仔致死作用および催奇形作用を示さないことが明らかになった。

一方、ラットについても、器官形成期における CFX 投与は、胎仔致死および発育抑制などの胎仔毒性を惹起せしめないことが判明した。また、本実験を通して出現した異常は、外部異常として脳ヘルニアが対照群に 1 例、耳の位置異常ならびに口蓋板無形成を伴った矮小仔が 300 mg/kg 投与群の F₂ 仔に 2 例みられた。内臓異常としては腎盂拡張が 300 mg/kg 投与群に 1 例みられた。また、骨格異常として肋骨および胸椎椎弓の癒合が 900 mg/kg 投与群に 1 例と対照群を含めた各群に散見されたにすぎず、CFX は、ラットに対しても催奇形性を示さないものと考えられる。哺育仔については、発育分化、離乳時の機能検査またはその後の行動・学習および生殖能力に異常は認められなかった。

ラットの妊娠 17 日目から分娩後 21 日目まで CFX を静脈内投与した周産期および授乳期投与実験において、CFX を投与した母動物の分娩は、すべて正常であったが、400 mg/kg 投与群では、死産仔数が対照群に比べて有意に増加した。しかし、これは、400 mg/kg 投与群で分娩仔数 15 匹中 7 匹の死産仔をもつ母動物が 1 例出現したためである。極端なこの 1 例を除くと対照群との間に有意の差が認められないことから、400 mg/kg 投与群の死産仔数の増加は、CFX の投与による影響とは考え難い。一方、CFX 投与各群の哺育仔の生後発育は、対照群と同様に順調であり、生存率、離乳率、生後分化、離乳時の PREYER 反射および機能検査、行動・学習、性成熟、ならびに F₂ 仔に対して CFX の悪影響は認められなかった。

以上の成績から、CFX は、親動物に対して摂餌量の減少および摂水量の増加などの変化をおこすが、各実験とも、これらの変化が認められる用量においても生殖、すなわち配偶子形成、性行動、交配、妊娠維持、胎子の発育、催奇形性、新生仔の生後発育、機能・行動・学習、性成熟、F₁ 仔の生殖能力ならびに F₂ 仔などに対して悪影響を及ぼさないものと考えられる。

結 論

Cephamycin 系抗生物質である CFX の安全性を確認する一端として、マウスまたはラットの生殖に及ぼす影響を検討した。

1. 妊娠前および妊娠初期投与実験

CFX の 100, 200 または 400 mg/kg を、CRJ-CD 系雄ラットの交配前 9 週間と交配期間、同系統雌ラットの交配前 2 週間と交配期間および妊娠 7 日目まで、それぞれ尾静脈内に連続投与した。

400 mg/kg 投与群の雄ラットに、軽度の体重増加抑制が、また、CFX 投与各群の妊娠前雌ラットに、体重増加抑制、摂餌量および摂水量の減少が観察されたが、雄・雌の生殖能力ならびに胚・胎仔に対する CFX の影響は認められなかった。

2. 器官形成期投与実験

Slc-ddY マウスの妊娠 6 日から 15 日目まで、CRJ-CD 系ラットの妊娠 7 日から 17 日まで、CFX の 100, 300 または 900 mg/kg を、それぞれ尾静脈内に連続投与した。

1) マウスに及ぼす影響

CFX 投与による胎仔死亡・胎仔発育抑制などの胎仔毒性は認められなかった。哺育仔に対しては、哺育期間に限定した発育抑制がみられたが、離乳後の発育は順調であった。

外部、内部および骨格異常は 1 例も検出されず、CFX

は、マウスに対して催奇形作用を示さないことが明らかになった。

2) ラットに及ぼす影響

CFX 投与により、母動物に摂餌量の減少および摂水量の増加が認められた。母動物の体重増加は正常であり、胎仔の致死性および発育抑制は認められなかった。哺育仔については、生後発育は良好であり、離乳時の諸検査、その後の行動・学習および生殖能力に異常は認められなかった。

外部、内部および骨格異常は、対照群を含めた全群に散見されたにすぎず、CFX は、ラットに対して催奇形作用を示さないと判断された。

3. 周産期および授乳期投与実験

CRJ-CD 系ラットの妊娠17日から分娩後21日目まで、CFX の 100, 200 または 400 mg/kg を、尾静脈内に連続投与した。

CFX の母動物に対する影響として、周産期または授乳期に、摂餌量が減少または増加し、摂水量が投与期間

中増加する傾向にあったが、分娩には異常は認められなかった。

CFX 投与群の哺育仔の発育は良好であり、離乳時の諸検査およびその後の行動・学習、性成熟、生殖能力ならびに F₂ 仔の奇形学的検索においても異常は認められなかった。

文 献

- 1) WILSON, J.G.: in: Wilson, J.G. & J. Warkany (eds.), *Teratology principles and techniques*, p. 262~277, University Chicago Press, Chicago-London, 1965
- 2) IRWIN, S.: in: Nodine, J.H. & P.E. Siegler (eds.), *Pharmacologic techniques in drug evaluation*, p. 36~54, Year Book Medical Publishers, Chicago, 1964
- 3) Woo, D.C. & R.M. HOAR: "Apparent hydro-nephrosis" as a normal aspect of renal development in late gestation of rats. *Teratology* 6: 191~196, 1972

TOXICOLOGICAL STUDIES ON CEFOXITIN IV INFLUENCE OF CEFOXITIN ON REPRODUCTION IN MICE AND RATS

TOSHIKI WATANABE, KEN OHURA, HARUKA MORITA and TAKESHI AKIMOTO
Research Institute, Daiichi Seiyaku, Co., Ltd.

Experiments were carried out in order to evaluate the effects of cefoxitin (CFX) on the reproductive process and development of fetuses and pups.

Fertility study: Male and female CD rats were given CFX intravenously at dose levels of 100, 200 and 400 mg/kg/day. Male rats were treated from 63 days prior to mating until its termination. Females were treated from 14 days prior to mating to day 7 of gestation. CFX had no effects on fertilities and general reproductive performance in either males or females. There was no evidence of embryoletality and teratological changes, indicative of CFX response.

Teratogenicity study: CFX was given intravenously to ddY mice and CD rats at doses of 100, 300 and 900 mg/kg/day, from day 6 to 15 of gestation for mice, and from day 7 to 17 of gestation for rats. CFX caused neither embryoletal nor teratogenic effects. In addition, the treatment of CFX in mouse and rat mothers did not adversely affect the postnatal development of their pups.

Perinatal and postnatal study: CFX was given intravenously to CD rats at doses of 100, 200 and 400 mg/kg/day from day 17 of gestation to day 21 post partum. Water intake was increased in CFX-treated mothers. However, CFX did not adversely affect maternal body weight gain, delivery, lactation, nor nursing. It was found, furthermore, that CFX had no effects on growth, differentiation, function, behavior, and reproductive ability in pups.