

Cinoxacin のラット生殖に及ぼす影響

佐藤利和・金子洋二・三枝 雅
株式会社 生物科学技術研究所

小林文彦
塩野義製薬株式会社研究所

新しい合成抗菌薬 Cinoxacin について SD ラットを用いて一連の生殖試験を行ない下記の成績を得た。

1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

Cinoxacin の 50, 100 および 200 mg/kg/day を 6 週齢の雄に 9 週間以上, 9 週齢の雌に同居前 2 週間から妊娠 7 日までの期間それぞれ経口投与した。

一般状態の変化や死亡例もみられた高用量群を含む各投与群において, 雌雄の生殖能および胎仔に及ぼす Cinoxacin 投与の影響は認められなかった。

2) 胎仔の器官形成期投与試験

Cinoxacin の 50, 100, 200, 300 mg/kg/day ならびに対照薬 Nalidixic acid の 300 mg/kg/day を, それぞれ妊娠 7 日から妊娠 17 日まで経口投与した。

Cinoxacin の 100 mg/kg/day 以上の投与群で胎仔体重が減少し, 300 mg/kg/day 投与群で軽度で胚致死率が増加したが, 催奇形性作用は認められなかった。一方, Nalidixic acid 投与群では外形異常 (口蓋裂, 全身浮腫) および骨格変異 (腰肋骨) の頻度が明らかに増加した。出生仔に対しては, 発育分化, 各種機能, 学習能および生殖能に及ぼす Cinoxacin 投与の影響は認められなかったが, Nalidixic acid 投与群では出生仔の体重減少ならびに生後 4 日までの明らかな生存率の低下が認められた。

3) 周産期および授乳期投与試験

Cinoxacin の 50, 100 および 200 mg/kg/day を妊娠 17 日より分娩後 21 日の間経口投与した。

200 mg/kg/day 投与群で妊娠期間の延長傾向, 分娩時の仔の低体重, 周産期および授乳期初期の死亡仔数の増加がみられた。しかし出生仔の生殖器を含む発育分化, 感覚機能の発達, 情緒, 運動協調性, 学習能力さらに生殖能力については Cinoxacin 投与の影響は認められなかった。

緒 言

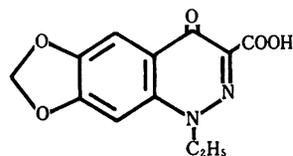
Cinoxacin (CINX と略称) は, Eli Lilly 社で開発されたキノロンカルボン酸系の化合物で, グラム陰性菌に強い抗菌作用をもつ抗菌薬である。今回, 我々はラットを用いて 1) 妊娠前および妊娠初期投与試験 2) 器官形成期投与試験 3) 周産期および授乳期投与試験を実施し, CINX の生殖に及ぼす影響を検討したので報告する。なお, 器官形成期投与試験には対照薬として, Nalidixic acid を用いて比較検討した。

実験材料および方法

1. 検 体

CINX は Fig. 1 に示した化学構造をもつ 1-ethyl-1,

Fig. 1 Chemical structure of cinoxacin



Molecular formula: $C_{12}H_{10}N_2O_5$

Molecular weight : 262

Melting point : 265°C

4-dihydro-4-oxo [1, 3] dioxolo-[4, 5-g] cinnoline-3-carboxylic acid で、水に難溶性の淡黄色結晶性粉末である。

本試験に用いたのは CINX (Eli Lilly 社製: Lot No. B 14-Y 55-091) および市販の Nalidixic acid (日局 9, 以下 NA と略) である。

2. 実験動物および飼育条件

静岡県実験動物農業協同組合より入手した生後 4 週齢の Slc:SD ラットを、妊娠前および妊娠初期投与試験では雄 2 週間、雌 5 週間予備飼育したのち実験に供し、器官形成期投与試験、周産期および授乳期投与試験では、いずれも 9 週間予備飼育したのち、交配させ、妊娠ラットを作製した。使用したケージは、5 匹収容の金網ケージ (86×174×183 cm) またはアルミ製の個別哺育ケージ (18×26×40 cm) である。動物は予備飼育および試験期間を通じて室温 24±2°C、湿度 55 ± 5% のバリア施設内で飼育し、高圧滅菌した飼料 (船橋農場製 MM-II) および水道水を自由に摂取させた。

3. 投与量の設定

1) 妊娠前および妊娠初期投与試験: ラットを用いた亜急性毒性試験¹⁾で、100 mg/kg/day 以上の投与群に尿路障害、230 mg/kg/day 以上の投与群に体重増加の抑制、摂水量および尿量の増加、軽度の貧血がみられ、529 mg/kg/day 投与群では雄 9/15 例、雌 4/15 例が死亡している。また先行した器官形成期投与試験の結果も勘案して本試験の投与量を、200, 100 および 50 mg/kg/day とした。

2) 器官形成期投与試験: 亜急性毒性試験の結果と妊娠ラットを用いた予備試験から決定した。すなわち、予備試験では 500, 350, 200 および 50 mg/kg/day を胎仔器官形成期の妊娠ラットに投与した結果、350 mg/kg/day 以上の投与群で母体死亡の発現および顕著な胚致死作用、胎仔低体重が認められたことから、最大量を 300 mg/kg/day とし以下 200, 100 および 50 mg/kg/day とした。なお NA は CINX の最大量 300 mg/kg/day と同用量とした。

3) 周産期および授乳期投与試験: 妊娠ラットによる予備試験で 200, 100, 50 および 25 mg/kg/day を投与した結果、200 mg/kg/day 投与群で母体および出生仔体重の抑制がみられ、出生仔の生後 4 日までの生存率が低下したが、本用量でも試験は成立するものと考えられたので、最大量を 200 mg/kg/day とし以下 100 および 50 mg/kg/day とした。

なお、各試験における最小量 50 mg/kg/day は、推定臨床常用量の 3~6 倍に相当する。

4. 投与期間および投与方法

1) 妊娠前および妊娠初期投与試験: CINX は 200, 100 および 50 mg/kg/day となるように用時 5% アラビアゴム溶液に懸濁し、下記の期間中 5 ml/kg (妊娠 0 日または体重測定日毎の体重を基準とする) あて胃ゾンデにより強制経口投与した。すなわち、雄には 6 週齢 (平均体重 216 g) より 9 週間投与したのち、雌と同居させ交配成立の有無が確認されるまで投与を継続した。一方、雌には同居開始 2 週間前の 9 週齢 (平均体重 225 g) より投与を開始し妊娠 7 日までの期間連続投与した。

2) 器官形成期投与試験: CINX は 300, 200, 100 および 50 mg/kg/day, NA は 300 mg/kg/day となるようにそれぞれ用時 5% アラビアゴム溶液に懸濁し、妊娠 7 日より妊娠 17 日までの 11 日間 (交尾確認日を妊娠 0 日として起算)、5 ml/kg (妊娠 7 日の体重を基準とする) あて胃ゾンデにより強制経口投与した。

3) 周産期および授乳期投与試験: CINX は 200, 100 および 50 mg/kg/day となるように用時 5% アラビアゴム溶液に懸濁し、妊娠 17 日 (交尾確認日を妊娠 0 日として起算) より分娩後 21 日までの間、5 ml/kg (妊娠 10 日の体重を基準) あて胃ゾンデにより強制経口投与した。

なお、各試験の対照群には 5% アラビアゴム溶液のみを検体と同様の手法により投与した。

5. 観察方法

1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

供試動物数は 200 mg/kg/day 投与群では先行した器官形成期投与試験の結果から死亡の発現が予測されたため雌雄各 30 匹とし、他の投与群は雌雄各 20 匹とした。

体重および摂餌・摂水量の測定を、雄 6 週齢、雌 9 週齢よりそれぞれ同居時まで週 2 回、妊娠期間中の雌では投与期間中毎日、その他は 2~4 日毎に行なった。

交配は同一群内で 2 週間を限度として行ない、膣栓を認めた場合には交尾成立として以後の同居を中止した。2 週間の同居で交尾が成立しなかった雌雄は、さらに無処置の雄または雌とそれぞれ 1 週間を限度として同居させ、再度交配の成立を図った。なお交配が成立しなかった雌は性周期を検査したのち、同様の雄とともに剖検に付し、生殖器について組織学的検査を行なった。

妊娠の成立した雌は、妊娠 20 日にエーテル麻酔下で放血死させたのち帝王切開を行ない、黄体数の算定および子宮内の吸収胚、胎盤遺残、死亡胎仔、生存胎仔の位置および数の検査を行なった。同時に母体の主要臓器の肉眼的検査と重量測定を行なった。生殖能の確認された雄も同様に剖検し、主要臓器の重量測定を行なった。

生存胎仔については、外形異常の有無を調べたのち雌雄を判別し、体重および胎盤重量を測定した。各母体について約 1/3 の胎仔は WILSON 法²⁾により内臓検査を、残りの約 2/3 の胎仔は DAWSON 法³⁾による骨格標本で骨格検査を行なった。

2) 器官形成期投与試験

(a) 母体 (F₀) の観察：妊娠 0 日より帝王切開または離乳時まで、投与期間中は毎日、その他は 2~3 日毎に体重および摂餌・摂水量を測定し、一般状態を毎日観察した。

各群 30 匹の妊娠母体のうち、20 母体は妊娠末期の胎仔検査に、残りの 10 母体は自然分娩させ出生仔の生後発育を観察した。帝王切開時および離乳時の母体はエーテル麻酔下で放血死させ、主要臓器の肉眼的検査と重量測定を行ない、離乳時の母体については子宮内の着床痕数を算定し産仔数と対比した。

(b) 胎仔 (F₁) の観察：胎仔の観察は、前述の妊娠前および妊娠初期投与試験に準じて行なった。

(c) 出生仔 (F₁) の観察：自然分娩した母体の妊娠期間を求めるとともに、分娩時に仔の生死数、性別、外形異常の有無を検査した。これらの出生仔は生後 4 日に 1 母体当たり 10 匹になるように性比を考慮して一腹仔数を調製し、残余の仔は屠殺後骨格検査に供した。哺育期間中は、哺育状態、仔の発育分化を観察し、仔の体重測定を分娩時、生後 4 日それ以降は 7 日毎に行ない、生後 4 日までの生存率および離乳率を求めた。また、精巣下垂および陰開口を指標とした性成熟も調べた。

生後 20 日に全仔について視覚性置き直し反射、疼痛反射、耳介反射、正向反射および自由落下反射により、視覚、痛覚、聴覚および運動性の発達を検査した。4 週齢時に 1 母体当たり雌雄各 2 匹を除くすべての仔を剖検し、主要臓器重量を測定後骨格検査に供した。5 週齢時には 1 母体当たり雌 1 匹をオープンフィールド試験による情緒検査、雄 1 匹を回転棒試験による運動協調性の検査に供した。さらに 7 週齢時に上記の雌について T 型水迷路試験⁴⁾を用いて学習能力の検査に供した。これら機能検査を終えた仔は解剖し、主要臓器重量を測定した。

5 週齢以降の機能検査に供さなかった 1 母体当たり雌雄各 1 匹を 11 週齢時より生殖能の検査に用いた。すなわち、同一投与群内で兄妹交配を避け、前述した妊娠前および妊娠初期投与試験と同様に交配試験を行なった。妊娠の成立した雌は自然分娩させ、妊娠期間を求めるとともに、分娩時に仔 (F₂) の生死数、性別および外形異常の有無を検査し、体重を測定したのち屠殺した。母体 (F₁) はエーテル麻酔下で放血死させて解剖を行ない、

子宮内の着床痕数を調べ産仔数と対比した。

3) 周産期および授乳期投与試験

(a) 母体 (F₀) の観察：供試母体数は妊娠前および妊娠初期投与試験と同様の理由で 200 mg/kg/day 投与群で 25 匹としたが、他の投与群は各 20 匹とした。

体重および摂餌・摂水量の測定を投与期間中は毎日、その他の期間は 2~3 日毎に行ない、同時に一般状態を観察した。離乳時の母体はエーテル麻酔下で放血死させ、主要臓器の肉眼的観察と重量測定を行なうとともに、着床痕数を算定し産仔数と対比した。

(b) 出生仔 (F₁) の観察：出生仔の観察は前述の器官形成期投与の試験方法に準じて行なった。ただし、剖検は 3 および 7 週齢時に行ない、オープンフィールド試験、回転棒試験および T 型水迷路試験にはそれぞれ 1 母体当たり雌雄各 1 匹を供した。また、妊娠母体 (F₁) の約半数例を妊娠 14 日に帝王切開し、黄体数および子宮内の胚 (F₂) の数、発育および生存状況を観察した。残りの母体 (F₁) は自然分娩させ、哺育状態を観察し、離乳時に母体 (F₁) および 1 母体当たり雌雄各 1 匹の仔 (F₂) をエーテル麻酔下で放血死せしめ、主要臓器の肉眼的検査を行ない、仔 (F₂) については臓器重量も測定した。

各試験で得られた胎仔または出生仔の測定値は、1 腹を単位として集計し、測定値の推計学的処理には t-検定および χ^2 -検定を用いた。

結果および考察

1. 妊娠前および妊娠初期投与試験

1) 親 (F₀) に及ぼす影響：CINX の 100 および 200 mg/kg/day 投与群の雌雄に、結晶尿または血尿が投与期間中、散発的にみられた。

死亡例は 100 mg/kg/day 投与群の雌に 1 例 (投与後 15 日)、200 mg/kg/day 投与群の雄に 6 例 (投与後 19~48 日) と雌に 9 例 (投与後 8~16 日) みられた。これらの死亡例は、いずれも明らかな自発運動の低下、削瘦および被毛の失沢等の一般状態の悪化がみられ、腹臥姿勢で鎮静状態を継続し呼吸停止により死亡した。

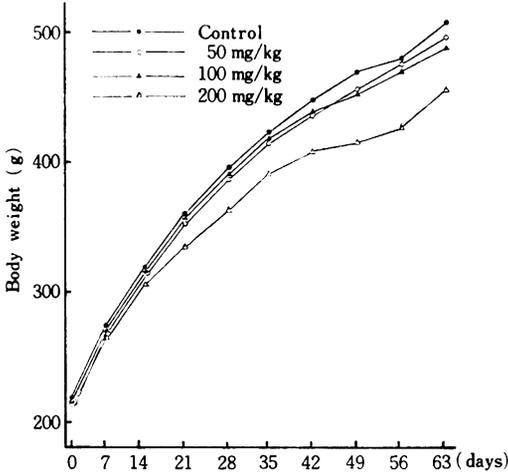
体重推移は Fig. 2, 3 に示すとおりで、100 mg/kg/day 投与群の雌で軽度、200 mg/kg/day 投与群の雌雄で明らかに増加抑制が認められたが、100 mg/kg/day 投与群の雌の増加抑制は投与終了後に回復した。また、100 および 200 mg/kg/day 投与群の雄、200 mg/kg/day 投与群の雌では摂餌量の減少傾向と摂水量の増加傾向が認められた。

主要臓器の病理解剖所見として、100 および 200 mg/kg/day 投与群の雌雄で尿管・腎盂の拡張、腎皮質に萎縮病巣 および 充出血等の尿路障害がみられ、また、

Table 1, 2 に示すとおり、腎重量が明らかに増加していた。死亡例の病理解剖ではこれら尿路障害のほか肺のうっ血と脾臓の萎縮がみられた。

CINX 投与による血尿・結晶尿の排泄、体重増加抑制、摂餌量減少、摂水量増加および尿路障害について

Fig. 2 Effect of cinoxacin on body weight changes in male rats on fertility study



は、ラット亜急性毒性試験¹⁾、Lilly 社の生殖試験⁵⁾でも同様の成績が報告されている。

2) 交配成績：交配成績を Table 3 に示した。同一群内の同居により、50 mg/kg/day 投与群の 2 組を除き全例で交尾が確認されたが、妊娠不成立例が、対照群、50 および 100 mg/kg/day 投与群では各 1 組であったのに対して 200 mg/kg/day 投与群では 6 組であっ

Fig. 3 Effect of cinoxacin on body weight changes in female rats on fertility study

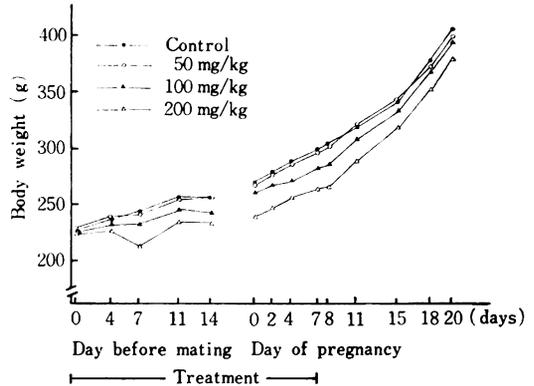


Table 1 Effect of cinoxacin on organ weight in male rats on fertility study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of rats sacrificed	19	17	17	15
Final body weight	562±46.3	534±47.4	503±53.7	503±70.9
Absolute organ weight a)				
Heart	1.61±0.15	1.55±0.15	1.47±0.13**	1.43±0.20**
Lung	2.09±0.48	1.85±0.40	1.79±0.24*	1.96±0.46
Spleen	0.82±0.12	0.79±0.09	0.84±0.14	0.81±0.13
Liver	16.14±1.80	15.46±2.06	14.86±2.14	15.28±2.48
Kidney	3.30±0.28	3.28±0.40	3.91±0.76**	4.06±0.65**
Testis	5.65±0.38	5.38±0.35*	5.21±0.56**	5.22±0.40**
Relative organ weight b)				
Heart	288± 27	290± 18	294± 28	284± 20
Lung	374± 95	346± 72	358± 51	391± 70
Spleen	146± 17	148± 17	167± 22**	162± 22
Liver	2,881±327	2,895±294	2,952±234	3,033±238
Kidney	588± 46	615± 77	788±206**	821±180**
Testis	1,010± 95	1,012± 74	1,042±120	1,048±103

a) g±S.D.

b) mg/100 g body weight±S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

た。しかし、これら交尾または妊娠不成立の雌雄および雌の死亡により同居相手のいない雄を、無処置の雌または雄と同居させた結果、不妊の雄は対照群、50 および 200 mg/kg/day 投与群に各 1 例、不妊の雌は 50 および 100 mg/kg/day 投与群に各 1 例みられたのみであ

り、対照群と各投与群との間に差は認められなかった。

これらの不妊動物について、剖検および生殖器の組織学的検査を行なったが、対照群の雄に片側性の精巣の部分的萎縮および 100 mg/kg/day 投与群の雌に子宮内膜の化生がみられたのみで、他に不妊の原因と考えられ

Table 2 Effect of cinoxacin on organ weight in female rats on fertility study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of rats sacrificed	19	17	17	15
Final body weight	406±21	398±27	394±36	379±27
Absolute organ weight a)				
Heart	1.04±0.10	1.08±0.06	1.04±0.07	1.11±0.08*
Lung	1.47±0.24	1.59±0.20	1.51±0.21	1.48±0.12
Spleen	0.68±0.07	0.71±0.11	0.66±0.10	0.72±0.09
Liver	15.88±0.93	16.25±1.57	15.55±1.74	15.69±0.94
Kidney	1.98±0.33	2.20±0.17*	2.37±0.30**	2.61±0.33**
Ovary	0.11±0.01	0.11±0.02	0.11±0.02	0.11±0.02
Relative organ weight b)				
Heart	255± 22	270± 19*	264± 24	293± 2**
Lung	362± 75	398± 63	387± 59	391± 38
Spleen	167± 17	176± 28	169± 24	190± 30*
Liver	3,898±246	4,043±309	3,951±344	4,150±213**
Kidney	486± 77	547± 59*	607±101**	693±100**
Ovary	27± 2.5	28± 3.4	28± 3.6	29± 5.5

a) g±S.D.

b) mg/100 g body weight ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 3 Effect of cinoxacin on fertility in rats on fertility study

Dose (mg/kg/day)	Control			50			100			200		
	1	2 a)	FT b)	1	2	FT	1	2	FT	1	2	FT
Mating												
Male												
Copulated/mated (%)	20/20	1/1	20/20 (100)	18/20	2/3	19/20 (95)	19/19	3/3	19/19 (100)	21/21	9/9	24/24 (100)
Impregnated/copulated (%)	19/20	0/1	19/20 (95)	17/18	2/2	19/19 (100)	17/19	3/3	19/19 (100)	15/21	8/9	23/24 (96)
Female												
Copulated/mated (%)	20/20	1/1	20/20 (100)	18/20	2/3	19/20 (95)	19/19	1/2	19/19 (100)	21/21	6/6	21/21 (100)
Pregnant/copulated (%)	19/20	1/1	20/20 (100)	17/18	2/2	19/19 (100)	17/19	1/1	18/19 (95)	15/21	6/6	21/21 (100)

a) Mating with non-treated male or female rats

b) Fertility

る異常所見は得られなかった。なお、同居開始時より交尾確認までの所要日数も、対照群と CINX 各投与群との間に差は認められなかった。

3) 胎仔 (F₁) に及ぼす影響：同一群内の同居により妊娠した雌 (F₀) の黄体数、着床数、死胚数、生存胎仔の体重等の成績を Table 4 に示した。黄体数および着床数が 50 および 200 mg/kg/day 投与群で対照群に比して有意 ($p < 0.05$ または $p < 0.01$) に低い値を示した。しかし、100 mg/kg/day 投与群と対照群との間に差がみられないことから、CINX 投与との関連は明らかでなかった。着床率、死胚率ならびに生存胎仔の体重は、各投与群とも対照群とほぼ同様であった。また各群に性比の片寄りも認められなかった。

胎仔の外形、内臓および骨格検査の結果を Table 5 に示した。外形異常については、対照群に鎖肛を伴った無尾が 1 例、50 mg/kg/day 投与群で全身浮腫と口蓋裂が各 1 例、200 mg/kg/day 投与群で口蓋裂が 1 例にみられた (Photo. 1, 2)。内臓異常胎仔は 50 mg/kg/day 投与群で水腎が 1 例認められたのみであった (Photo. 3)。一方骨格異常は、対照群で無尾と鎖肛を伴った腰椎の変形が 1 例、50 mg/kg/day 投与群で頸椎弓の癒合が 1 例、全身浮腫を伴った頸椎弓の化骨不全

と波状肋骨の複合が 1 例の計 2 例、200 mg/kg/day 投与群で波状肋骨が 2 例認められた (Photo. 4, 5, 6)。しかし、これら異常胎仔の出現頻度はいずれも低く、異常の型は散発的であり用量依存性もみられないこと、またいずれも今迄の背景データにみられる異常であることから CINX 投与の影響とは考え難いものである。

骨格系の小変異や化骨の程度に関して、CINX 投与群と対照群との間に有意の差は認められなかった。

なお、実験群の雌雄と無処置の雌または雄との交配により得た胎仔については、全例に何ら異常は観察されなかった。

以上のように、一般状態の変化、尿路障害および死亡例のみられた高用量群を含む各投与群において、雌雄の生殖能および胎仔に対する CINX 投与の影響は認められなかった。従って、CINX の本試験における雌雄の生殖能、胎仔におよぼす影響の最大無作用量は、200 mg/kg/day と推定される。

2. 胎仔の器官形成期投与試験

1) 母体 (F₀) に及ぼす影響：CINX の 100 mg/kg/day 以上の投与群に、投与期間を通じて散発的に結晶尿または血尿がみられ、200 および 300 mg/kg/day 投与群ではさらに自発運動の低下および軽度の削瘦が認めら

Table 4 Effect of cinoxacin on fetuses on fertility study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of dams sacrificed	19	17	17	15
No. of corpora lutea	306 (16.1±1.79) ^{a)}	250 (14.7±2.23)*	259 (15.7±3.03)	207 (13.8±1.47)**
No. of implantations	287 (15.1±2.05)	215 (12.6±3.28)*	243 (14.3±3.90)	186 (12.4±2.59)**
Implantation ratio (%)	94	86	94	90
No. of fetal deaths				
Early deaths	30	34	27	18
Placental remnants	0	2	2	1
Late deaths	0	0	0	0
Total	30	36	29	19
Fetal deaths/implantations(%)	10.4	18.7	11.9	8.9
No. of live fetuses	257 (13.5±2.25)	179 (10.5±3.99)	214 (12.6±4.20)	167 (11.1±3.14)
Sex ratio (male/female)	0.98 127/130	1.24 99/80	1.14 114/100	1.06 86/81
Mean body weight(g±S.D.) of fetuses	3.63±0.24	3.70±0.45	3.60±0.24	3.46±0.37
Mean placental weight (g±S.D.)	0.48±0.05	0.50±0.08	0.49±0.08	0.52±0.09

a) Mean±S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

れた。一方死亡例が CINX の 200 mg/kg/day 投与群で 6 母体 (妊娠 14~19 日), 300 mg/kg/day 投与群で 15 母体 (妊娠 13~21 日) みられた。これらの死亡例では, 上記諸症状のほか被毛失沢, 流涙, 貧血および体温低下等の一般状態の悪化が顕著であった。しかし NA 投与群ではこのような症状は発現せず, 死亡例もなかった。

体重変化を Fig. 4 に示した。CINX の 100 mg/kg/day 以上の投与群で, 体重増加抑制または体重減少が妊娠末期まで継続してみられた。一方, NA 投与群も

CINX 200 mg/kg/day 投与群とほぼ同等の推移を示し, 明らかに体重増加が抑制された。

摂餌・摂水量についても CINX の 200 mg/kg/day 以上の投与群で減少したが, 摂水量は投与 5 日から, 摂餌量は妊娠末期から, とともに対照群とほぼ同等の値を示した。NA 投与群も CINX と同様の減少がみられ, しかもこの傾向は授乳期間中も継続した。

帝王切開時および離乳時における母体の主要臓器重量を Table 6, 7 に示した。帝王切開時の母体では, CINX の 100 mg/kg/day 以上の投与群に腎盂および

Table 5 Effect of cinoxacin on external, visceral and skeletal malformations in rats fetuses on fertility study

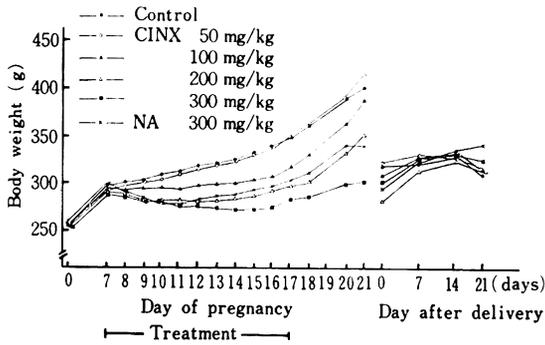
Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
External				
No. of examined	257	179	214	167
Malformed fetuses(%)	1(0.39)	2(1.12)	0	1
Tailless with anal atresia	1	0	0	0
Anasarca	0	1	0	0
Cleft palate	0	1	0	1
Visceral				
No. of examined	86	59	72	56
Malformed fetuses(%)	0	1(1.75)	0	0
Hydronephrosis	0	1	0	0
Skeletal				
No. of examined	171	120	142	111
Malformed fetuses(%)	1(0.58)	2(1.67)	0	2(1.80)
Deformed lumbar vertebrae	1	0	0	0
Fused cervical vertebrae	0	1	0	0
Wavy rib	0	1 a)	0	2
Hypoplasia of cervical vertebrae	0	1 a)	0	0
Fetuses with variations(%)	13(7.60)	21(17.50)	12(8.54)	19(17.11)
Cervical rib	0	2	0	2
Lumbar rib	13	19	12	17
Degree of ossification				
Delayed ossification				
Supraoccipitalis(%)	1(0.58)	0	0	1 (0.90)
Sternebrae(%)	26(15.2)	12(10.0)	18(12.7)	19(17.1)
No. of ossification centrum				
Distal phalanges	10.0±0.07 b)	10.0±0.0	10.0±0.0	9.7±0.74
Middle phalanges	0	0	0	0
Proximal phalanges	0	0.3±0.95	0 ±0.17	0 ±0.08
Metacarpals	6.7±0.68	6.9±0.70	6.9±0.70	6.6±0.71
Sternebrae	5.5±0.45	5.5±0.73	5.5±0.38	5.4±0.60
Sacral and coccygeal vertebrae	8.1±0.41	8.0±0.78	7.9±0.43	7.7±0.63

a) The same specimen

b) Mean ± S.D.

尿管の拡張、腎皮質の癒痕化病巣および出血等の尿路障害と腎重量の明らかな増加がみられ、その程度および頻度は用量に相関していた。その他 300 mg/kg/day 投与群に脾臓重量の減少がみられた。離乳時の母体においても 100 mg/kg/day 以上の投与群の一部の例に、腎皮質の癒痕化領域の陥没や腎盂の拡張が観察された。一方 NA 投与群では諸臓器の肉眼的変化はみられず、帝王切開時の母体の変化としては体重抑制に起因する相対重

Fig. 4 Effect of cinoxacin on body weight changes in rats on teratological study



量の増加が観察されたのみであった。これら CINX 投与による母体に対する影響は、Lilly 社の催奇形性試験⁶⁾と同様の成績であった。

2) 胎仔 (F₁) に及ぼす影響: 着床数, 死胚数, 胎仔体重等の成績を Table 8 に示した。CINX および NA の 300 mg/kg/day 投与群で死胚率の軽度増加がみられた。また生存胎仔体重も CINX の 100 mg/kg/day 以上の投与群で用量依存性のある低値を示し, NA 投与群も CINX の同一用量群と同程度に減少した。

外形, 内臓および骨格検査の結果を Table 9 に示した。外形異常は, CINX 投与では 50 mg/kg/day 投与群の 1 例に腹部臓器脱出を伴った脳脊髄裂がみられたのみであったが (Photo. 7), NA 投与群では, 6/20 母体からの胎仔に口蓋裂が 30/241 例 (12.4%), 口蓋裂と全身浮腫の複合例が 12/241 例 (5.0%) の計 42 例出現した (Photo. 8)。内臓異常としては, 水腎が CINX の 50 mg/kg/day 投与群の 3 例に (Photo. 9), NA 投与群の 7 例にみられた。骨格異常については, 対照群と CINX の 50 mg/kg/day 投与群の各 1 例と 100 および 200 mg/kg/day 投与群の 5 および 2 例に波状肋骨がみられた (Photo. 10)。さらに 50 mg/kg/day 投

Table 6 Effect of cinoxacin on organ weight in rats at 20 days of pregnancy on teratological study

Dose (mg/kg/day)	Control	CINX				NA 300
		50	100	200	300	
No. of rats sacrificed	20	20	20	15	11	20
Final body weight	394 ± 40.5	386 ± 31.2	358 ± 41.1*	330 ± 51.2**	304 ± 60.4**	344 ± 30.3**
Absolute organ weight a)						
Heart	0.98 ± 0.12	0.97 ± 0.08	0.94 ± 0.12	0.92 ± 0.11	0.92 ± 0.12	0.91 ± 0.09*
Lung	1.35 ± 0.13	1.41 ± 0.24	1.29 ± 0.15	1.23 ± 0.15*	1.27 ± 0.26	1.31 ± 0.14
Spleen	0.63 ± 0.11	0.61 ± 0.09	0.60 ± 0.14	0.59 ± 0.19	0.46 ± 0.18**	0.58 ± 0.12
Liver	15.48 ± 2.30	15.16 ± 1.68	14.52 ± 2.13	14.01 ± 2.72	12.80 ± 3.37*	15.42 ± 1.13
Kidney	1.91 ± 0.33	2.00 ± 0.21	2.42 ± 0.38**	2.86 ± 0.43**	2.46 ± 0.48**	1.91 ± 0.20
Ovary	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01
Relative organ weight b)						
Heart	248 ± 18	251 ± 21	266 ± 38	284 ± 20**	316 ± 88*	264 ± 28*
Lung	345 ± 33	366 ± 62	362 ± 38	382 ± 42**	426 ± 86*	384 ± 51**
Spleen	161 ± 26	158 ± 22	168 ± 38	175 ± 39	146 ± 40	168 ± 28
Liver	3,923 ± 305	3,921 ± 177	4,050 ± 309	4,282 ± 460**	4,182 ± 542	4,500 ± 250**
Kidney	484 ± 59	520 ± 67	690 ± 159**	890 ± 152**	826 ± 147**	560 ± 68**
Ovary	30 ± 4	29 ± 5	31 ± 5	37 ± 5**	35 ± 5**	33 ± 4*

a) g ± S.D.

b) mg/100 g body weight ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 7 Effect of cinoxacin on organ weight in rats at 21 days after delivery on teratological study

Dose(mg/kg/day)	Control	CINX				NA
		50	100	200	300	300
No. of rats delivering	10	10	10	9	3	4
Final body weight	310±29.5	317±17.9	316±17.4	315±25.2	326±21.2	342± 9.1
Absolute organ weight ^{a)}						
Heart	1.07±0.10	1.11±0.13	1.11±0.14	1.07±0.12	1.12±0.26	1.13±0.04
Lung	1.43±0.18	1.34±0.11	1.33±0.13	1.39±0.08	1.43±0.10	1.35±0.08
Spleen	0.56±0.07	0.53±0.08	0.60±0.09	0.56±0.07	0.57±0.11	0.56±0.01
Liver	13.97±1.90	13.96±1.20	13.68±1.31	13.88±1.74	14.86±2.19	13.48±0.64
Kidney	2.21±0.14	2.25±0.16	2.45±0.28*	2.63±0.27**	2.63±0.70	2.10±0.10
Ovary	0.10±0.01	0.10±0.01	0.11±0.02	0.10±0.02	0.10±0.03	0.11±0.01
Relative organ weight ^{b)}						
Heart	352± 34	349± 32	351± 32	338± 25	347± 59	332± 9
Lung	467± 49	425± 31*	421± 41*	442± 18	446± 58	395± 34*
Spleen	182± 17	168± 25	192± 31	178± 23	175± 25	164± 5**
Liver	4,547±339	4,407±224	4,331±300	4,398±411	4,603±508	3,946±257**
Kidney	724± 68	712± 52	776± 83	837± 98**	811±170	615± 38*
Ovary	33± 3	31± 4	34± 5	32± 6	33± 10	32± 4

a) g±S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

b) mg/100 g body weight ± S.D.

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 8 Effect of cinoxacin on fetuses on teratological study

Dose (mg/kg/day)	Control	CINX				NA
		50	100	200	300	300
No. of dams sacrificed	20	20	20	15	11	20
No. of corpora lutea	331 ^{a)} (16.6±2.11)	316 (15.8±1.67)	329 (16.5±2.01)	268 (17.9±3.02)	178 (16.2±2.64)	309 (15.5±1.64)
No. of implantations	302 (15.1±2.53)	285 (14.3±2.77)	301 (15.1±2.11)	234 (15.6±1.59)	162 (14.7±2.33)	289 (14.5±1.36)
No. of fetal deaths						
Early deaths	18	14	21	20	17	41
Placental remnants	1	0	1	2	1	4
Late deaths	0	0	1	1	7	3
Total	19	14	23	23	25	48
Fetal deaths/implantations(%)	6.2	4.5	8.0	9.9	14.7*	17.0**
No. of live fetuses	283 (14.2±2.58)	271 (13.6±2.58)	278 (13.9±2.57)	211 (14.1±1.22)	137 (12.5±4.52)	241 (12.1±3.66)*
Sex ratio (male/female)	1.26 158/125	1.28 152/119	0.99 138/140	1.01 106/105	0.96 67 / 70	1.30 136/105
Mean body weight (g±S.D.) of fetuses	3.54±0.22	3.47±2.41	3.20±0.27**	2.83±0.40**	2.73±0.56**	2.72±0.33**
Mean placental weight (g±S.D.)	0.45±0.04	0.46±0.37	0.39±0.05**	0.37±0.03**	0.39±0.05**	0.36±0.05**

a) Mean ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 9 Effect of cinoxacin on external, visceral and skeletal malformation in rats fetuses on teratological study

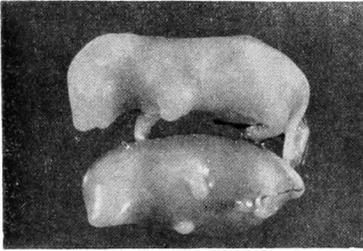
Dose (mg/kg/day)	Control	CINX				NA
		50	100	200	300	300
External						
No. of examined	283	271	278	211	137	241
Malformed fetuses(%)	0	1(0.4)	0	0	0	42(17.4)**
Craniorachischisis with omphalocele	0	1	0	0	0	0
Cleft palate	0	0	0	0	0	30
Cleft palate with anasarca	0	0	0	0	0	12
Visceral						
No. of examined	91	82	88	65	43	75
Malformed fetuses(%)	0	3(1.1)	0	0	0	7(2.9)
Hydronephrosis	0	3	0	0	0	7
Skeletal						
No. of examined	192	189	190	146	94	166
Malformed fetuses(%)	1(0.5)	10(5.3)**	5(2.6)	2(1.4)	1(1.1)	1(0.6)
Wavy rib	1	1	5	2	0	0
Deformed lumbar vertebra	0	0	0	0	1	0
Hypoplasia of 13th rib	0	8	0	0	0	0
Deformed in craniorachischisis	0	1	0	0	0	0
Unossified rib and vertebra except cervical vertebra	0	0	0	0	0	1
Fetuses with variation(%)	26(13.5)	16(8.5)	9(4.7)	12(8.2)	12(12.8)	123(74.1)**
Cervical rib	2	0	3	3	1	0
Lumbar rib	24	15	6	9	1	123**
7 lumbar vertebrae	2	1	0	0	10	17**
Degree of ossification						
Delayed ossification						
supraoccipital bone(%)	7(3.6)	0	7(3.7)	9(6.2)	6(6.4)	40(24.1)**
interparietal bone(%)	21(10.9)	35(18.5)*	30(15.8)	18(12.3)	11(11.7)	33(24.1)*
sternebrae(%)	0	0	0	0	1(1.1)	8(4.8)**
vertebrae(%)	5(2.6)	0	6(3.2)	9(6.2)	6(6.4)	56(33.7)**
cervical vertebral arch(%)	0	0	5(2.6)*	11(7.5)**	1(1.1)	91(54.8)**
No. of ossification centrum						
distal phalanges	10.0±0.0 a)	10.0±0.0	9.9±0.32	9.6±0.46	9.7±0.56	9.5±0.82
middle phalanges	0	0	0	0	0	0
proximal phalanges	0	0 ±0.16	0	0	0	0
metacarpals	6.5±0.51	6.4±0.66	6.4±0.39	6.1±0.61*	6.0±1.06	5.3±1.01**
sternebrae	5.4±0.46	5.3±0.41	4.8±0.68**	4.0±1.00**	3.7±1.13**	3.3±1.20**
sacral and coccygeal vertebrae	7.8±0.48	7.5±0.40	7.4±0.54	6.3±1.40**	5.9±2.40*	6.3±0.92**

a) Mean ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

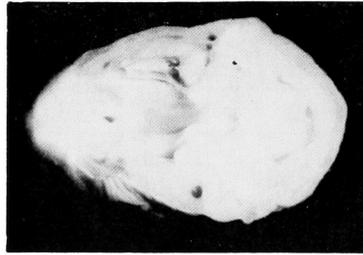
** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Photo. 1 Seg.1 CINX 50 mg/kg/day



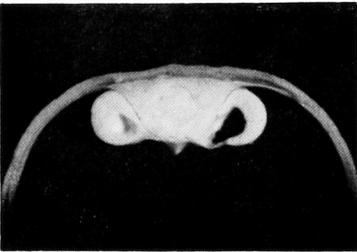
Normal
Anasarca

Photo. 2 Seg.1 CINX 200 mg/kg/day



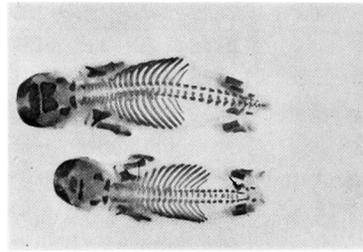
Cleft palate

Photo. 3 Seg.1 CINX 50 mg/kg/day



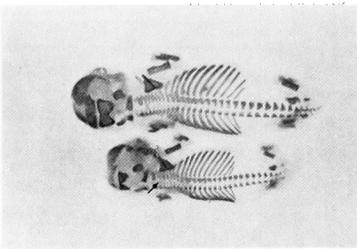
Hydronephrosis

Photo. 4 Seg.1 Control Group



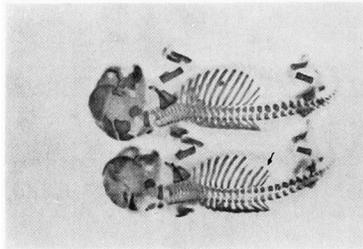
Normal
Deformation of lumbar, vertebrae & unossification of conccygeal vertebrae associated with tale less & anal atresia

Photo. 5 Seg.1 CINX 50 mg/kg/day



Normal
Fusion of 4th & 5th cervical vertebrae

Photo. 6 Seg.1 CINX 200 mg/kg/day



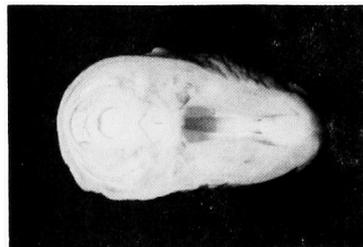
Normal
Wavy rib

Photo. 7 Seg.2 CINX 50 mg/kg/day



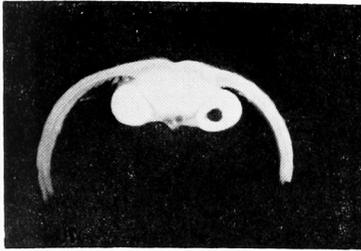
Normal
Craniorachischisis, omphalocele, club foot, kinky tail

Photo. 8 Seg.2 NA 300 mg/kg/day



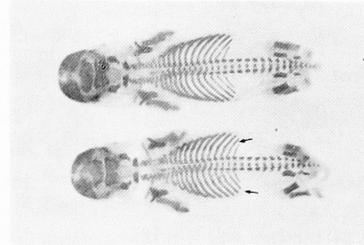
Cleft palate

Photo. 9 Seg.2 CINX 50 mg/kg/day



Hydronephrosis

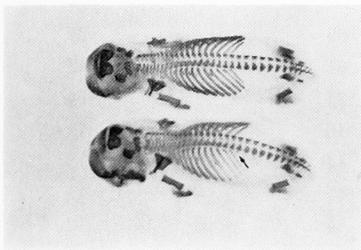
Photo. 10 Seg.2 CINX 200 mg/kg/day



Normal

Wavy rib

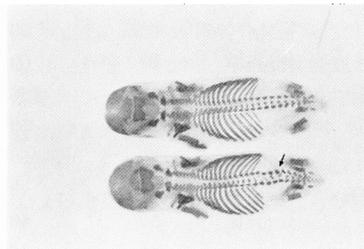
Photo. 11 Seg.2 CINX 50 mg/kg/day



Normal

Hypoossification
of the 13th rib

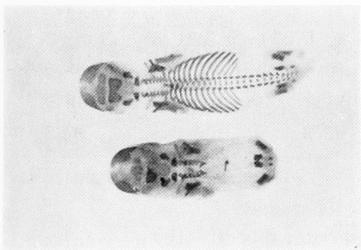
Photo. 12 Seg.2 CINX 300 mg/kg/day



Normal

Abnormality
of lumbar
vertebrae

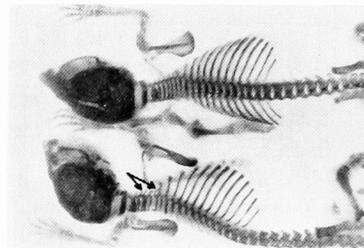
Photo. 13 Seg.2 NA 300 mg/kg/day



Normal

Unossification
ribs and verte-
brae (except the
cervicals)

Photo. 14 Seg.3 CINX 200 mg/kg/day



Normal

Fusion of cervical
vertebral arches
(arrows) and
cervical rib

与群では第13肋骨形成不全の8例 (Photo. 11) と、脳脊髄裂に伴う異常が1例に観察されたが、300 mg/kg/day 投与群では腰椎の変形が1例みられたのみであった (Photo. 12)。NA 投与群では頸椎以外の椎骨と肋骨の化骨不全が1例にみられた (Photo. 13)。

13肋骨形成不全は50 mg/kg/day 投与群に8例みられたが、このうちの5例は1母体に集中していたことから、また高用量投与群にみられないことから、CINXの影響によるものと断定することは困難であった。また波状肋骨については、CINX 50, 100, 200 mg/kg/day 群にそれぞれ1, 5, 2例みられたが、対照群にもみられること、300 mg/kg/day 群にはみられないことから、CINXの影響によるものとは考え難い。

CINX 投与群にみられたその他の異常、すなわち脊

椎裂、水腎、腰椎の変形などは、いずれも散発的であり、用量相関性を欠いていること、また、今回の対照群には認められなかったが、これらの異常はすべてこれまでの背景データにみられることなどから、CINXの影響によるものとは考えられない。

骨格変異の検索では、変異の発現率が対照群の13.5%と比較してCINX 投与群は4.7~12.8%と増加は認められなかったのに対して、NA 投与群は74.1%と顕著な増加を示した。

一方化骨進行状況の検索で、CINXの200 mg/kg/day以上の投与群およびNA 投与群に化骨遅延が認められ、とくにNA 投与群では明らかであった。

3) 出生仔 (F₁) に及ぼす影響：自然分娩群母体のうちCINXの300 mg/kg/dayおよびNA 投与群の各

Table 10 Effect of cinoxacin on delivery and lactation in F₁ rats on teratological study

Dose(mg/kg/day)	Control	CINX				NA
		50	100	200	300	300
No. of pregnant rats	10	10	10	10	10	10
No. of dams delivered	10	10	10	9	3	9
Gestation period	21.9±0.32	21.6±0.52	21.9±0.32	22.0±0.0	22.3±0.58	22.1±0.78
No. of implantations	148 ^{a)} (14.8±1.87)	154 (15.4±1.84)	136 (13.6±1.43)	132 (14.7±1.87)	44 (14.7±0.58)	140 (14.0±3.77)
No. of live pups at birth	131 (13.1±1.97)	137 (13.7±2.00)	129 (12.9±1.52)	127 (14.1±1.69)	41 (13.7±0.57)	78 (8.7±5.94)
No. of stillborns(%)	2(1.5)	2(1.4)	1(0.8)	1(0.8)	2(4.3)	20(20.4)**
Rate of birth (%)	90.0	90.8	95.8	97.1	97.8	70.0**
No. of live pups						
At birth						
male	68	68	60	66	17	36
female	63	69	69	61	24	42
Postpartum day 4 ^{b)} total	128	136	127	125	36	34
Postpartum day 4 ^{c)} male	50	50	47	46	14	13
female	50	50	52	44	16	13
Postpartum day 7 male	49	49	47	45	14	11
female	50	49	52	44	16	12
Postpartum day 14 male	49	49	47	42	14	10
female	50	49	52	41	16	12
Postpartum day 21 male	49 (4.9±0.57)	49 (4.9±0.32)	47 (4.7±0.82)	42 (4.7±1.41)	14 (4.7±0.58)	10 (1.3±1.91)
female	50 (5.0±0.40)	49 (4.9±0.32)	52 (5.2±0.63)	41 (4.6±0.53)	16 (5.3±0.58)	12 (1.5±2.51)
Rate of surviving(%) ^{d)}	97.7	99.4	98.5	98.6	87.7**	38.6**
Rate of weaning(%) ^{e)} male	98.0	98.0	100.0	91.1	100.0	75.0
female	100.0	98.0	100.0	93.3	100.0	83.3

a) Mean±S.D.

b) Pre-culling

c) Post-culling

d) Pre-culled live pups at postpartum day 4 / Live pups at birth ×100

e) Live pups at postpartum day 21 / Post-culled live pups at postpartum day 4 ×100

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

1例は、分娩予定日を過ぎてても出産がみられず、妊娠26日に開腹した結果、胎仔の発育程度から胎齢20日ごろまでは順調に発育していたと推定される死亡胎仔が認められた。

妊娠期間、分娩仔数、出生率および生存率の成績をTable 10に示した。妊娠期間および出生率については、CINX投与群は対照群との間に差は認められなかったが、NA投与群では死産仔数の明らかな増加と母獣による食殺数の増加がみられた。また生後4日までの生存率についても、CINX投与では300 mg/kg/day投与群で軽度低下したのみであったが、NA投与群では38.6%と低下が顕著であった。しかし生後4日以降の生存率は、CINXおよびNA投与群とも低下しなかつ

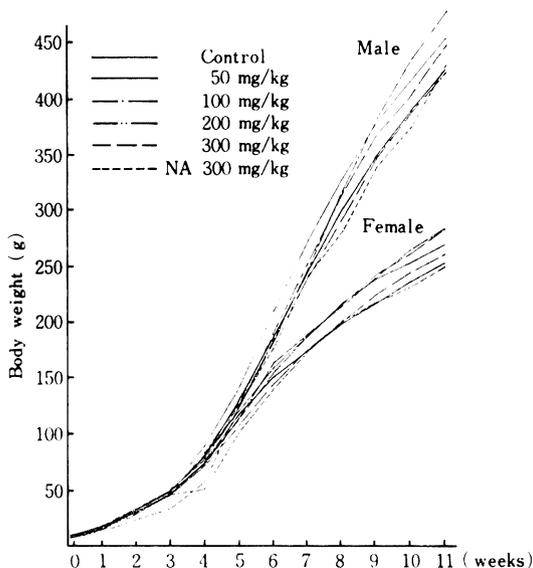
た。

出生仔の体重推移および発育分化所要日数の成績をFig. 5およびTable 11に示した。分娩時の体重はCINXの各投与群と対照群との間に差はなく、授乳期間中も順調な体重増加がみられた。しかしNA投与群では分娩時の体重も有意に低い値を示し、授乳期間中においては1母体の雄がとくに低体重であったため群平均値は低値であった。

性成熟を含めた発育分化は、各投与群と対照群との間に差はなく、CINXおよびNA投与による遅発効果は認められなかった。また20日齢で行なった感覚機能検査でも異常を示す個体はみられなかった。

出生仔の外形、内臓および骨格検査の結果をTable

Fig. 5 Effect of cinoxacin on body weight changes in F₁ male and female rats on teratological study



12に示した。外形異常仔は、対照群およびCINX投与群では1例もみられなかったのに対して、NA投与群では分娩時の生存仔78例中16例(20.5%)と死産仔20例中14例(70.0%)に口蓋裂が認められた。4週齢時における剖検では各群ともに異常例はなく、骨格異常についても生後4日の調整時に屠殺した仔を含めても全くみられなかった。

オープンフィールド試験、回転棒試験およびT型水迷路試験の成績をTable 13に示した。これら情緒、運動協調性および学習能力の検査において、いずれの投与群でも明らかな変動は認められなかった。

F₁仔の交配成績をTable 14に示した。第1回同居による交尾率はほぼ100%であり、妊娠率は90~100%であった。第2回同居の終了時点では50 mg/kg/day投与群の雌1例を除いて全例に妊娠の成立が確認され、CINXおよびNAともF₁の交配成績に及ぼす影響は認められなかった。

母体(F₁)の妊娠期間、着床痕数、分娩率、死産仔数および生存仔数等の分娩成績ならびに生存仔(F₂)の平

Table 11 Effect of cinoxacin on postnatal development in F₁ rats on teratological study

Dose(mg/kg/day)	Control	CINX				NA
		50	100	200	300	300
No. of dams examined	10	10	10	9	3	9
Mean body weight (g±S.D.) of pups						
At birth	6.1±0.61	6.0±0.31	5.9±0.37	5.6±0.52	6.0±0.87	5.2±0.43**
Postpartum day 4 male	9.0±0.88	9.0±0.40	9.2±0.94	8.9±1.35	8.3±0.96	7.3±1.66**
female	8.7±1.12	8.5±0.77	8.5±1.34	8.5±1.34	7.8±0.84	7.8±2.00
Postpartum day 7 male	14.1±1.46	14.6±0.84	14.5±1.25	13.4±2.55	13.6±1.94	10.3±3.65*
female	13.6±1.57	14.0±0.89	13.4±1.09	12.9±2.44	12.5±2.00	11.7±3.00
Postpartum day 14 male	28.8±2.59	30.0±1.80	30.2±2.58	29.6±2.58	29.4±3.07	21.2±10.63
female	27.9±2.77	28.5±1.79	28.3±1.57	28.0±2.75	27.3±1.89	26.5±2.76
Postpartum day 21 male	45.2±3.93	47.9±3.08	46.5±2.95	45.7±4.69	46.7±3.84	31.9±15.11*
female	44.1±4.16	45.7±3.25	44.1±2.60	42.9±4.09	43.1±2.32	43.2±4.04
Postnatal development (days)						
Separation of auricle	3.0±0.80 ^{a)}	2.1±0.32	2.7±0.53	2.7±0.51	3.0±0.0	2.8±0.29
Growth of abdominal hair	9.0±0.41	9.1±0.44	9.4±0.58	9.3±0.56	9.7±0.76	10.1±0.63
Eruption of lower incisors	10.9±0.94	10.9±0.41	11.4±0.99	11.0±0.50	12.0±0.50	12.0±1.08
Separation of eyelid	14.7±0.71	14.5±0.16	14.3±0.48	14.3±0.43	14.2±0.29	15.5±1.73
Descent of testis at 4th week(%)	100	100	100	100	100	100
Opening of vagina at 5th week(%)	100	100	100	100	100	100

a) Mean ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 12 Effect of cinoxacin on external, visceral and skeletal malformations in F₁ rats on teratological study

Dose (mg/kg/day)	Control	CINX				NA
		50	100	200	300	300
External						
No. of examined at birth	131	137	129	127	41	78
Malformed pups(%)	0	0	0	0	0	16(20.5)
Cleft palate	0	0	0	0	0	16
No. of examined at 4 weeks aged	59	58	56	48	18	11
Malformed pups	0	0	0	0	0	0
Visceral						
No. of examined	59	58	56	48	18	11
Malformed pups	0	0	0	0	0	0
Skeletal						
No. of examined	59	58	56	48	18	11
Malformed pups	0	0	0	0	0	0
Pups with variations(%)	8(6.1)	0	6(10.7)	11(22.9)	0	4(15.1)
Extra sternum	6	0	3	2	0	0
Cervical rib	2	0	3	10**	0	0
Lumbar rib	0	0	0	0	0	3
Lumbarization of sacral vertebra	0	0	0	0	0	1

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 13 Effect of cinoxacin on open field test, rotarod performance and water T-maze test in F₁ rats on teratological study

Dose(mg/kg/day)	Control	CINX				NA
		50	100	200	300	300
Open field test						
No. of pups examined (female)	10	10	10	9	3	2
Ambulation (mean±S.D.)	50.1±26.27	61.7±31.48	40.0±20.76	50.9±18.54	68.7±19.60	55.0± 1.41
Rearing (mean±S.D.)	14.0± 8.11	15.5± 6.62	11.1± 3.45	13.2± 5.65	8.3± 5.51	14.5± 9.91
Preening (mean±S.D.)	2.4± 2.21	1.0± 1.25	2.2± 2.35	2.6± 2.01	0.3± 0.58	1.0± 1.41
Grooming (mean±S.D.)	0.3± 0.95	0.2± 0.42	0.4± 0.97	0.1± 0.33	0.0± 0.0	0.0± 0.0
Defecation (mean±S.D.)	0.6± 1.26	0.9± 1.52	1.9± 1.85	1.2± 1.72	0.7± 1.15	0.0± 0.0
Urination (total)	0	2	2	1	0	0
Rotarod performance						
No. of pups examined(male)	10	10	10	9	3	2
No. of falls (mean±S.D.)	5.8±2.78	10.4± 5.25	5.1± 2.33	3.7±1.86	7.0± 1.00	10.0± 1.41
Water T-maze test						
No. of pups examined(male)	10	10	10	9	3	2
Total time(straight channel)						
1st day (mean±S.D.)	36.4±15.21	42.6±17.81	24.0± 7.21	34.5±13.21	47.5±13.27	47.0± 2.21
Total errors (maze channel)						
2nd day (mean±S.D.)	31.5±15.97	42.6± 8.41	24.2± 9.89	42.8±20.65	36.0± 9.54	40.0±16.97
3rd day (mean±S.D.)	8.3±11.33	16.5±25.05	9.6±13.28	8.2±6.00	21.0± 1.71	4.5± 3.54

Table 14 Effect of cinoxacin on fertility in F₁ rats on teratological study

Dose(mg/kg/day)	Control		CINX												NA			
			50			100			200			300			300			
Mating	1	2 ^{a)} FT ^{b)}	1	2	FT	1	2	FT	1	2	FT	1	2	FT	1	2	FT	
Male																		
Copulated/mated (%)	10/10	1/1 (100)	10/10	9/10	2/2 (100)	10/10	10/10	3/3 (100)	10/10	8/8	1/1 (100)	8/8	3/3	1/1 (100)	3/3	2/2	—	2/2 (100)
Impregnated/copulated (%)	9/10	1/1 (100)	10/10	8/9	2/2 (100)	10/10	7/10	3/3 (100)	10/10	7/8	1/1 (100)	8/8	2/3	1/1 (100)	3/3	2/2	—	2/2 (100)
Female																		
Copulated/mated (%)	10/10	1/1 (100)	10/10	9/10	1/2 (90)	9/10	10/10	3/3 (100)	10/10	8/8	1/1 (100)	8/8	3/3	1/1 (100)	3/3	2/2	—	2/2 (100)
Pregnant/copulated (%)	9/10	1/1 (100)	10/10	8/9	1/1 (100)	9/9	10/10	3/3 (100)	10/10	8/8	1/1 (100)	8/8	3/3	1/1 (100)	3/3	2/2	—	2/2 (100)

a) Mating with non-treated male or female rats
 b) Fertility

均体重については、検体投与に起因する変化はなく、また外形異常仔としては CINX の 300 mg/kg/day 投与群の 1 例に曲尾がみられたのみであった。

以上のように母体 (F₀) の半数例が死亡した CINX の 300 mg/kg/day 投与においても、胎仔 (F₁) の体重減少および胚致死率の軽度な増加のみで催奇形性作用は認められなかった。また出生仔 (F₁) に対しても CINX 投与の影響はみられなかった。これに対し、NA の 300 mg/kg/day 投与では、母体 (F₀) の死亡はなかったが胎仔体重の減少、胚致死率の軽度な増加がみられ、口蓋裂発現率は明らかに増加し、催奇形性作用が確認された。また出生仔 (F₁) に対しても、死産仔数の増加および生後生存率の顕著な低下が認められた。NA の催奇形性については、西村ら (1971)⁷⁾ は 220 mg/kg/day の NA を妊娠 9 日~14 日の間投与しても腰肋骨の増加があるのみで、催奇形性作用はないと報告している。本実験で NA に口蓋裂誘発作用を認めたことはこの報告と異なるが、これは実験に用いた動物の系統、投与量、投与期間などの差異によるものと推察される。

少なくとも本試験成績から、CINX の催奇形性の可能性は NA に比し極めて低いことが明らかになった。

以上の結果から、CINX の本試験における催奇形性に関する最大無作用量は 300 mg/kg/day と推定されるが、胎仔の発生、発育についての最大無作用量は 50 mg/kg/day と考えられる。

3. 周産期および授乳期投与試験

1) 母体 (F₀) に及ぼす影響: CINX の 100 mg/kg/day 以上の投与群の数例に血尿が散発的に観察された。200 mg/kg/day 投与群では 25 例中 3 例が妊娠 23~24 日に、2 例が分娩中に死亡した。これら死亡例では、いずれも自発運動の低下、被毛失沢、流涎、鼻出血等の一般症状の悪化が明らかであった。さらに授乳期間中に全仔が死亡した母体が 200 mg/kg/day 投与群で 6 例、100 mg/kg/day 投与群で 1 例みられた。

体重変化は Fig. 6 に示したとおり、増加抑制が 200 mg/kg/day 投与群の妊娠末期で明らかに認められ、また 100 mg/kg/day 投与群にも軽度に認められた。この傾向は分娩後から授乳期中期まで継続してみられた。

摂餌・摂水量については、200 mg/kg/day 投与群のみが妊娠末期に明らかに減少し、摂餌量の減少は授乳期

Fig. 6 Effect of cinoxacin on body weight changes in rats on perinatal and postnatal study

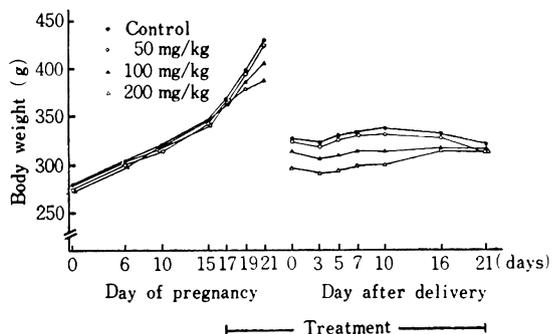


Table 15 Effect of cinoxacin on organ weight in rats on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of rats sacrificed	20	20	19	14
Final body weight (g)	321±25	313±25	315±23	313±20
Absolute organ weight ^{a)}				
Heart	1.07±0.12	1.06±0.23	1.05±0.11	1.04±0.08
Lung	1.50±0.24	1.43±0.24	1.39±0.17	1.41±0.25
Spleen	0.58±0.08	0.54±0.09	0.56±0.07	0.57±0.08
Liver	12.44±1.28	12.10±1.65	11.92±1.44	12.61±2.10
Kidney	2.19±0.24	2.23±0.20	2.41±0.38*	2.87±0.40**
Ovary	0.10±0.01	0.10±0.01	0.09±0.01	0.10±0.02
Relative organ weight ^{b)}				
Heart	333± 29	340± 80	333± 33	334± 20
Lung	468± 73	457± 83	442± 42	451± 81
Spleen	179± 19	171± 23	179± 23	182± 23
Liver	3,885±409	2,875±549	3,791±379	4,015±500
Kidney	683± 55	712± 67	764± 86**	914±100**
Ovary	32± 5	31± 4	30± 4	32± 8

a) g±S.D.

b) mg / 100 g body weight ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

前半まで続き、摂水量は授乳期後半において逆に顕著に増加した。

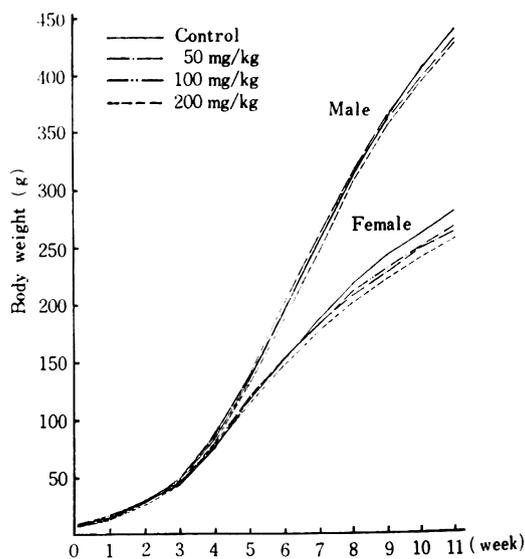
母体の主要臓器重量の測定結果を Table 15 に示した。剖検所見として 100 mg/kg/day 以上の投与群で尿管および腎盂の拡張、腎皮質に癒痕化病巣および出血等の尿路障害がみられるとともに腎重量が明らかに増加した。

200 mg/kg/day 投与群の死亡母体では全例に上記尿路障害のほか肺のうっ血がみられた。また 100 および 200 mg/kg/day 投与群で授乳期間中に一腹の全仔が死亡した母体の全例に腎盂の中等度の拡張がみられたが、他の臓器に著変は認められなかった。

2) 出生仔 (F₁) に及ぼす影響：妊娠期間、分娩仔数、出生率および離乳までの生存率の成績を Table 16 に示した。200 mg/kg/day 投与群で妊娠期間の延長および死産仔数の増加傾向がみられ、生後 4 日目までの生存率も顕著に低下した。本群ラットで明瞭な妊娠期間延長を示したのは妊娠 23 日、24 日に分娩した 2 例にすぎず、しかも前者ではその後全仔が死亡した。200 mg/kg/day 投与群では、上述のように、摂餌、摂水量の減少、母体体重増加抑制、さらに Table 17 に示したように新生仔体重の低値などがみられ、CINX による母

体の尿路障害が原因と推察された。分娩発来の機序は未だ不明な点が多いが、母体よりむしろ胎仔に分娩誘起の

Fig. 7 Effect of cinoxacin on body weight changes in F₁ male and female rats on perinatal and postnatal study



原因があるとする考えが有力となっている。本実験のごとく、母体の全身状態の悪化は、当然胎仔発育不良を誘起するために、対照群にくらべ分娩発来が遅延したものと推察される。胎仔発育が十分でないことは Table 17 に示した新生仔体重の低値でも明らかである。分娩後の母体には CINX が連続投与されているため、その尿路障害は依然として継続し、全身状態の悪化もあるため乳汁分泌が不十分なことは当然予想される。この結果、新生仔の生存性が著明に低下したものと推察される。また生後 4 日以降離乳時までの新生仔生存性も CINX 各投与群は対照群にくらべ低下し、雌雄 F₁ 仔の離乳率は投与全群の雄ラットでは対照群にくらべ有意の低下を、雌ラットでも明らかな低下傾向を示した。また、雌雄 F₁ 仔を合計して計算しても CINX 投与全群で対照群にくらべ離乳率の有意の低下がみられた。このように授乳期間中の新生仔生存性が悪いことも、母体の尿路障害によ

る摂餌摂水量の減少や体重増加抑制などが授乳期中期までみられたことが関与していると考えられる。

授乳期間中の出生仔の体重推移および発育分化所要日数を Table 17 に示した。体重は 200 mg/kg/day 投与群が対照群に比して分娩時および生後 7, 14 日に低値を示したが 21 日では差がみられなくなった。また離乳以後の体重推移も Fig. 7 に示したように、200 mg/kg/day 投与群の雌が生後 8 週以降低値を示した。しかし発育分化の所要日数、性成熟発現日などは各群間に明らかな差がなく、また 20 日齢時における感覚機能検査でも異常を示す個体は観察されなかった。

出生仔の外形、内臓および骨格検査の結果を Table 18 に示した。外形および内臓異常は各群ともまったく検出されず、骨格異常は 200 mg/kg/day 投与群の 1 例に頸椎弓の癒合がみられたのみであった (Photo. 14)。この異常は対照群にも今迄の背景データにもみられない

Table 16 Effect of cinoxacin on delivery and lactation in F₁ rats on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of pregnant rats	20	20	20	25
No. of dams delivered	20	20	20	20
Gestation period	21.6±0.50	21.5±0.51	21.9±0.37	22.1±0.60*
No. of implantations	299 (15.0±3.28) ^{a)}	296 (14.8±1.94)	300 (15.0±2.05)	298 (14.9±1.55)
No. of live pups at birth	278 (13.9±3.09)	280 (14.0±2.08)	276 (13.8±2.35)	252 (12.6±2.41)
No. of stillborns(%)	4(1.4)	1(0.4)	2(0.7)	14(5.3)
Rate of birth(%)	94.3	94.9	92.6	88.0
No. of live pups				
At birth				
male	151	158	135	129
female	127	122	141	123
Postpartum day 4 ^{b)} total	271	268	249	177
Postpartum day 4 ^{c)} male	102	102	91	68
female	98	96	95	75
Postpartum day 7 male	102	102	88	66
female	96	95	91	74
Postpartum day 14 male	101	94	83	52
female	93	86	87	63
Postpartum day 21 male	101 (5.1±0.76)	88 (4.4±1.23)	81 (4.3±1.41)	51 (3.4±1.88)**
female	93 (4.7±0.76)	84 (4.2±1.01)	86 (4.5±0.61)	62 (4.1±1.68)
Rate of surviving(%) ^{d)}	97.7	95.5	89.5	66.5**
Rate of weaning(%) ^{e)} male	99.0	88.0*	86.9*	74.5*
female	95.3	86.4	90.7	82.7
	97.0	86.9*	89.9*	79.0*

a) Mean ± S.D.

b) Pre-culling

c) Post-culling

d) Pre-culled live pups at postpartum day 4 / Live pups at birth × 100

e) Live pups at postpartum day 21 / Post-culled live pups at postpartum day 4 × 100

Table 17 Effect of cinoxacin on postnatal development in F₁ rats on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of dams examined	20	20	20	20
Mean body weight (g±S.D.) of pups				
At birth	6.2±0.42	6.2±0.32	5.9±0.61	5.4±0.57**
Postpartum day 4 male	8.7±1.14	9.0±0.93	8.7±1.49	8.1±1.36
female	8.2±1.14	8.6±0.77	8.5±1.34	7.7±1.08
Postpartum day 7 male	13.7±1.53	13.8±1.39	13.4±2.24	11.9±2.10**
female	12.8±1.68	13.2±1.34	12.8±2.54	11.3±1.78
Postpartum day 14 male	27.9±2.84	27.7±3.45	26.5±4.13	25.2±4.00*
female	26.8±2.91	27.0±2.87	26.1±3.94	23.7±3.62
Postpartum day 21 male	43.4±5.59	43.7±5.46	44.3±5.10	43.9±5.84
female	41.5±5.44	42.1±4.70	42.9±5.29	41.0±5.12
Postnatal development (days)				
Separation of auricle	3.0±0.55 ^{a)}	2.8±0.44	2.8±0.45	2.6±0.39
Growth of abdominal hair	10.1±1.03	10.1±1.02	10.7±0.87	10.7±1.10
Eruption of lower incisors	10.8±0.84	10.6±0.88	10.7±0.83	10.8±0.97
Separation of eyelid	14.7±0.98	14.9±0.85	14.8±0.58	14.7±0.89
Descent of testis	23.3±1.33	23.0±1.27	23.3±1.92	22.9±1.36
Opening of vagina	33.8±2.04	34.0±1.99	33.9±2.16	33.6±1.53

a) Mean ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 18 Effect of cinoxacin on external, visceral and skeletal malformations in F₁ rats on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
External				
No. of examined at birth	278	280	276	252
Malformed pups	0	0	0	0
No. of examined at 3 weeks aged	114	94	93	63
Malformed pups	0	0	0	0
Visceral				
No. of examined	114	94	93	63
Malformed pups	0	0	0	0
Skeletal				
No. of examined	114	94	93	63
Malformed pups(%)	0	0	0	1(1.6)
Fused cervical vertebral arch	0	0	0	1
Pups with variations(%)	9(9.7)	10(10.6)	4(4.3)	3(4.8)
Extra sternum	8	11	3	2
Cervical rib	1	1	1	1
Lumbar rib	1	0	0	0
Lumbarization of sacral vertebra	1	0	0	0

Table 19 Effect of cinoxacin on organ weight in F₁ male rats at 3 weeks on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of rats sacrificed	60	48	44	26
Final body weight	43.4±5.7	41.5±6.8	43.2±5.1	42.3±5.7
Absolute organ weight a)				
Heart	0.226±0.031	0.235±0.036	0.233±0.026	0.226±0.030
Lung	0.446±0.048	0.436±0.047	0.434±0.053	0.435±0.041
Spleen	0.181±0.044	0.186±0.038	0.193±0.037	0.185±0.041
Liver	1.763±0.317	1.727±0.390	1.879±0.253	1.894±0.226
Kidney	0.490±0.065	0.495±0.086	0.504±0.060	0.512±0.078
Testis	0.211±0.031	0.224±0.040	0.232±0.038	0.217±0.047
Relative organ weight b)				
Heart	534± 37	572± 51*	541± 34	536± 24
Lung	1,060± 73	1,070±132	1,012±133	1,036± 75
Spleen	423± 59	454± 90	446± 62	435± 57
Liver	4,136±252	4,118±600	4,343±235*	4,491±192**
Kidney	1,159± 58	1,196± 88	1,166± 66	1,211± 84
Testis	498± 43	543± 62*	536± 52*	509± 60

a) g ± S.D.

b) mg / 100 g body weight ± S.D.

* Significantly different from control data (p less than 0.05)

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 20 Effect of cinoxacin on organ weight in F₁ female rats at 3 weeks on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
No. of rats sacrificed	54	46	49	37
Final body weight	40.4±5.6	41.2±4.7	41.2±5.2	40.4±5.0
Absolute organ weight a)				
Heart	0.221±0.032	0.230±0.026	0.223±0.031	0.223±0.021
Lung	0.430±0.057	0.424±0.034	0.420±0.043	0.408±0.040
Spleen	0.178±0.045	0.178±0.034	0.181±0.037	0.181±0.037
Liver	1.719±0.294	1.751±0.196	1.830±0.268	1.832±0.237
Kidney	0.493±0.073	0.496±0.059	0.508±0.064	0.497±0.071
Ovary	0.010±0.002	0.010±0.003	0.011±0.003	0.009±0.003
Relative organ weight b)				
Heart	548± 39	561± 41	541± 34	559± 74
Lung	1,069±100	1,040±110	1,028±117	1,016± 62
Spleen	435± 64	431± 53	437± 50	447± 60
Liver	4,240±290	4,273±362	4,437±332	4,540±209**
Kidney	1,218± 69	1,208± 80	1,235± 57	1,230± 72
Ovary	25± 6	25± 6	28± 7	23± 5

a) g ± S.D.

b) mg / 100 g body weight ± S.D.

** Significantly different from control data (p less than 0.01)

Table 21 Effect of cinoxacin on open field test, rotarod performance and water T-maze test in F₁ rats on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg/day)	Control	50	100	200
Open field test				
No. of pups examined	40	40	38	24
Ambulation (mean±S.D.)	48.2±23.61	46.9±19.65	46.0±18.51	44.1±19.09
Rearing (mean±S.D.)	5.7± 4.41	5.7± 3.91	6.2± 4.57	5.9± 6.07
Preening (mean±S.D.)	1.4± 1.10	1.4± 1.58	1.2± 1.05	1.6± 1.74
Grooming (mean±S.D.)	0.1± 0.30	0.2± 0.66	0.1± 0.27	0.2± 0.48
Defecation (total)	8	14	16	9
Urination (total)	0	0	1	0
Rotarod performance				
No. of pups examined	40	40	38	26
No. of falls (mean±S.D.)	5.2± 3.34	3.8± 2.33	5.2± 4.74	5.2± 4.99
Water T-maze test				
No. of pups examined	40	37	36	24
Total time (straight channel)				
1st day (mean±S.D.)	32.1±10.00	33.0±11.11	36.9±11.33	33.9±11.93
Total errors (maze channel)				
2nd day (mean±S.D.)	32.9±30.20	29.9±21.60	31.6±32.53	27.2±13.15
3rd day (mean±S.D.)	8.0± 8.44	9.5±15.35	9.6±15.25	4.9± 5.21

Table 22 Effect of cinoxacin on fertility in F₁ rats on perinatal and postnatal study

Dose(mg/kg/day)	Control			50			100			200		
	1	2 ^{a)}	FT ^{b)}	1	2	FT	1	2	FT	1	2	FT
Mating												
Male												
Copulated/mated (%)	18/20	5/5	20/20 (100)	18/20	3/4	19/20 (95)	19/19	3/3	19/19 (100)	12/13	4/4	13/13 (100)
Impregnated/copulated (%)	15/18	4/5	19/20 (95)	16/18	3/3	19/20 (95)	16/19	3/3	19/19 (100)	9/12	4/4	13/13 (100)
Female												
Copulated/mated (%)	18/20	3/5	18/20 (90)	18/20	2/4	18/20 (90)	19/19	1/3	19/19 (100)	12/13	2/4	12/13 (92.3)
Pregnant/copulated (%)	15/18	3/3	18/18 (100)	16/18	1/2	17/18 (94.4)	16/19	1/1	17/19 (89.5)	9/12	2/2	11/12 (91.7)

a) Mating with non-treated male or female rats

b) Fertility

ものであったが、その他の外形、内臓、骨格異常が全く認められないことから、この1例だけでCINXの影響によるものと断定するのは困難である。

F₁ 仔3週齢時の臓器重量は Table 19, 20 に示すとおりで、100 および 200 mg/kg/day 投与群の雄および 200 mg/kg/day 投与群の雌において肝の相対重量

が有意な高値を示した。この原因は明らかでなく、一部の例を組織学的に検索したが、いずれも著変は認められなかった。

オープンフィールド試験、回転棒試験およびT型水迷路試験の成績を Table 21 に示した。これら情緒、運動協調性および学習能力の検査において、いずれの投与

群でも異常所見と思われる変動は認められなかった。

F₁ 同志の交配成績を Table 22 に示した。第1回同居による交尾率および妊娠率は各投与群と対照群との間に差はなく、第2回の同居終了時における不妊娠雄は対照群および 50 mg/kg/day 投与群に各1例、不妊娠雌は対照群を含め各投与群に2~3例であった。これら不妊原因の検索では、50 および 200 mg/kg/day 投与群の雌各1例に子宮水腫がみられたのみで、他に著変は観察されず、原因を明確にできなかった。

また母体 (F₁) の帝王切開、分娩、哺育、さらに出生仔 (F₂) の発育および臓器等の諸検査において、CINX 投与による影響は何ら認められなかった。

以上のように、CINX の 200 mg/kg/day をラット妊娠末期及び出産直後に投与すると母体および出生仔に対して明らかに影響を及ぼし、生存性、体重増加などが低下した。これは CINX 投与による尿路系障害の影響によるものと推察された。授乳期投与でも新生仔生存率は低下したが、周産期投与ほど著明なものでなく、生存仔の発育分化などに対する影響は明らかでなかった。出生仔における感覚機能の発達、情緒、運動協調性、学習能力および生殖能力、さらに次世代 (F₂) に対しても CINX 投与の影響は認められなかった。

従って本試験における分娩、繁殖能力や次世代の発育分化に関する CINX の最大無作用量は 100 mg/kg/day

と推定されるが、新生仔や哺乳仔の生存性に関する限り、最大無作用量は 50 mg/kg/day 以下であった。

(試験期間 昭和52年9月~昭和53年8月)

参 考 文 献

- 1) 奈良間 功, 土谷 稔, 佐野正樹, 斎藤 実, 原田喜男: Cinoxacin の急性および亜急性毒性試験。Chemotherapy 28(S-4): 406~439, 1980
- 2) WILSON, J. G.: Methods for administering agents and detecting malformation in experimental animals "Teratology; Principles and Techniques" ed. by WILSON, J. G. and WORKANY, J. Univ., Chicago press, Chicago, pp262~277, 1965
- 3) DAWSON, A. B.: A note on staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S, Stain Technol., 1: 123~124, 1926
- 4) BUTCHER, R.E. et al: Postnatal effects in rats of prenatal treatment with hydroxyurea, Teratology, 7: 161~166, 1973
- 5) WELLS, J.S. et al: The effect of cinoxacin on the fertility and reproduction of rats, Lilly Research Laboratories, IND A-9075 Toxicology Report No. 9
- 6) WELLS J.S. et al: Teratology studies of cinoxacin in rats and rabbits, Lilly Research Laboratories, IND A-9075 Toxicology Report No. 5
- 7) 西村耕一, 他: マウスおよびラットの胎仔および育成仔に及ぼす Piromidic acid の影響, Chemotherapy, 19 (5): 422~432, 1971

REPRODUCTION STUDIES OF CINOXACIN IN RATS

TOSHIKAZU SATO, YOJI KANEKO and TADASHI SAEGUSA
Technical Research Laboratory of Biological Science Co., Ltd.

FUMIHIKO KOBAYASHI
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

Reproduction studies (i.e. fertility study, teratological study, and perinatal and postnatal study) on cinoxacin (CINX), a new synthetic chemotherapeutic, were carried out in Slc : SD rats.

1) Fertility study

CINX was orally administered once daily at the doses of 50, 100 and 200 mg/kg as a suspension in 5% acacia solution. The compound was administered to male rats for 9 weeks and to female rats for 2 weeks prior to mating. The treatment was continued to either sexes during cohabitation period and in females during early pregnancy until day 7 of gestation. All pregnant females were sacrificed on day 20 of gestation and their fetuses were examined for external, visceral and skeletal abnormalities. Hematuria and crystalluria were sporadically observed in males and females given 100 or 200 mg/kg/day of the compound. Renal and ureteral injuries accompanying with the enlarged pelvis, increased renal weight and enlarged ureter were also observed in either male or female rats. Mortality was in 6/30 males given 200 mg/kg/day, in 1/20 females given 100 mg/kg/day and in 9/30 females given 200 mg/kg/day of CINX. Growth inhibition, decrease in food consumption and increase in water intake were observed in males and females given 200 mg/kg/day and in females given 100 mg/kg/day of the compound. CINX, however, did not affect the reproductive performances of both sexes and fetal parameters such as growth, development, viability were normal. No abnormalities were observed in visceral and skeletal specimens of the fetuses.

2) Teratological study

CINX was orally administered to pregnant rats once daily for 11 days from day 7 to day 17 of gestation at the doses of 50, 100, 200 and 300 mg/kg/day as a suspension in 5% acacia solution and the effect was compared to that of nalidixic acid (NA), the dose of which was 300 mg/kg/day. About 2/3 of pregnant rats in each group were sacrificed on day 20 of gestation to examine their fetuses and the remaining dams were allowed to deliver and nurse their young until weaning. Young were examined their viability, growth, behavioral and emotional development and reproductive performances. Clinical symptoms and renal injury of the dams given CINX were similar to those observed in fertility study. Mortality was in 6/30 dams given 200 mg/kg/day and in 15/30 dams given 300 mg/kg/day of CINX. In the rats given NA, no toxic signs were observed and all dams survived until autopsy. Fetal growth was inhibited in the groups given 200 and 300 mg/kg/day of CINX and NA but no gross, visceral and skeletal abnormalities were observed in all the fetuses of CINX group. In NA group, however, the incidence of external defects (cleft palate, systemic edema) and skeletal change (lumbar ribs) increased significantly. The administration of CINX neither affected the parturition and nursing ability of dams, nor were there any adverse effects on growth, viability, behavioral and emotional parameters, and reproductive performances of young. In NA group, survival rate within 4 days after delivery decreased markedly.

3) Perinatal and postnatal study

CINX was orally administered to pregnant rats once daily from day 17 of gestation through postpartum day 21 at the doses of 50, 100 and 200 mg/kg/day as a suspension in 5% acacia solution. All pregnant females were allowed to deliver and nurse their young. The young were tested for their growth, viability, fertility, and reproductive performances by obtaining their pups. Clinical symptoms and renal injury of the dams given CINX were similar to those observed in fertility study. Maternal death was observed in 3 during late pregnancy and in 2 at the parturition in the group given 200 mg/kg/day of CINX. In this group, increase in body weight of dams was less than that of control dams during the administration period. Additionally, increase in the

number of stillborns, decreased body weight of newborns, and significant decrease in viability within 4 days after delivery were also observed in this group. However, growth and development after weaning, behavioral and emotional parameters, fertility, and reproductive performances of the young were normal in all the groups tested.