

6059-S の妊娠前および妊娠初期投与試験

小林 文彦・原 勝巳

塩野義製薬株式会社研究所

6059-S の妊娠前および妊娠初期投与試験を Sprague-Dawley 系ラットを用いて行なった。1 日 500, 1,000, 2,000 mg/kg の 6059-S を、雄ラットには連続 9 週間腹腔内投与、雌ラットには 14 日間静脈内投与したのち、同居させた。検体投与は、同居期間、さらに交配成立雌ラットには妊娠第 7 日まで継続した。すべての妊娠ラットは、妊娠第 21 日に屠殺剖検し、胎仔発育を含む妊娠諸過程の検索、さらに生存胎仔につき外部形態、骨格及び内臓異常の有無を調べた。

6059-S を長期投与した雄ラットは、対照群に比し体重増加の抑制がみられたが、雌ラット体重は対照群と差がなかった。同居交配成績は、対照群と 6059-S 投与各群の間に差がなく、いずれも正常であった。妊卵の着床、着床妊卵の発育などにもなんら異常はみられなかった。また、全生存胎仔につき 6059-S 投与に起因したと思われる形態的異常はまったく認められなかった。

緒 言

6059-S は塩野義製薬研究所で合成された新しい Oxacephem 系抗生物質で、広範囲な抗菌スペクトラム、特にグラム陰性菌に対して有効ことが知られている。今回、6059-S のラットを用いた妊娠前および妊娠初期投与試験を行なったので、その成績を報告する（実験期間：1978 年 6 月～1979 年 4 月）。

実験材料および方法

1. 検体および投与量：6059-S は用時秤量し、注射用蒸留水に 25% (w/v) の割合で溶解した。本実験の最高投与量である 2,000 mg/kg の場合は、本溶液を 8 ml/kg、さらに低用量の場合は投与容量を減じて投与した。6059-S の臨床投与経路は静脈内であるから、動物実験でも静脈内投与が原則であり、本実験でも雌ラットへは尾静脈内投与を行なったが、雄ラットへの投与は長期にわたるため、静脈内投与に代る方法として知られる腹腔内投与を採用した。本実験で用いた投与量は、静脈内投与によるラット悪急性毒性実験の成績を参考にして決めた。すなわち、軽度の体重減少を惹起するが、6059-S の最大耐量は 2,100 mg/kg/日と明らかになっていることより、2,000 mg/kg を本実験の最高投与量として設定し、公比 2 で減じた 1,000 および 500 mg/kg の 3 用量を設定した。対照群には、生理食塩液のみを 6059-S 2,000 mg/kg 投与群の投与容量にあわせ 8 ml/kg の割合で、雌ラットには尾静脈内投与、雄ラットには腹腔内投与した。雌ラットへの静脈内投与では注入速度を 1 ml/min と一定にした。本実験に用いた 6059-S はバイアルに分注された凍結乾燥品であり、Lot No. は S 013 N, S 015 N, S 016 N および S 023 N である。

2. 実験動物：Sprague-Dawley 系ラット (JCL-SD: 日本クレア) を使用した。ラットは、実験期間中、室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 50～60%、午前 7 時から 12 時間照明に調整された空調室で飼育し、飼料 (CA-1, 日本クレア) および水道水を自由摂取させた。

3. 実験方法：雄ラットは生後 4 週令で入手、2 週間飼育環境に適応させ、順調な発育を示したものを使用した。6 週令より後述の雌ラットとの同居開始まで 9 週間、6059-S を 1 日 1 回連続腹腔内投与した。雄ラットへの検体投与は雌ラットとの同居期間中、さらにその後の諸検査終了時の生後 21 週令まで、連続 15 週間継続した。

雌ラットは 8 週令で入手、その後 3 週間飼育環境に適応させると共に、腔垢検査で正常性周期を示すもののみを使用した。生後 11 週令より 14 日間、交配のための雄ラットとの同居期間中、さらに妊娠成立ラットでは妊娠第 7 日まで、6059-S を 1 日 1 回尾静脈内に連続投与した。

体重測定は、雄ラットでは毎週 1 回、雌ラットは全期間 3 日ごとに行ない、この体重に基づいて投与量を算出した。この間、一般状態の観察をケージ交換、体重測定、投薬等の作業時に行なった。

検体投与を継続しつつ、雄ラットが 15 週令、雌ラットが 13 週令に達した時点で、同一投与量群の雌雄ラットをランダムに組合せ、雄 1 匹、雌 1 匹を同一ケージに収容して同居させた。同居期間中は毎朝腔垢を調べ、精子の有無で交配の確認を行なった。腔内に精子を認めた日を妊娠第 0 日とし、この日で同居を中止した。同一雌雄ラットの組合せによる同居期間は最高 2 週間とし、この間に交配しなかった雌ラットのうち、規則的性周期

が継続している例では、同一投与量群の既に交配した雄ラットと新たに組合せて同居交配を行なった。さらに、この2回の試みでも交配しない雌ラットは、正常雄ラットと改めて同居させ、交配が生ずるか否かを調べた。一方、同一投与量群の雌雄ラット同居により交配しなかった雄ラットおよび交尾したが雌ラットを妊娠させなかった雄ラットは、正常雌ラットと改めて同居させ、交配、妊娠が生ずるか否かを調べた。

同一投与量群同志の同居で交配した雌ラットは、その後3日ごとに体重測定を行なうとともに、妊娠経過を観察した。妊娠ラットはすべて妊娠第21日にエーテル麻酔下を開腹、子宮内の胎仔につき生存、死亡、没収、吸収を調べ、母体の卵巣黄体数を算定した。すべての生存胎仔は、さらに性別、体重測定後、外形形態異常の有無を調べた。母体は剖検し、主要臓器の重量測定後、それらを10%中性ホルマリン液に固定保存した。

外形観察をおえた生存胎仔は1リッターの約半数をブアン液に固定、残りの胎仔は内臓を除去し、70%アルコールに固定した。ブアン液に固定した胎仔は、水洗後WILSONの方法¹⁾に準じて内部諸器官の巨視構造的観察を実体顕微鏡下で行なった。一方、アルコールに固定した胎仔は、常法によりアリザリンレッド-Sで染色²⁾して骨格透明標本を作製、骨格系の異常および化骨状態を調べた。

雄ラットは、生後21週令の6059-S最終投与の翌日、雌ラットと同様剖検し、主要臓器の重量測定後、それらを10%中性ホルマリンに固定保存した。

全成績の統計学的解析は student の t 検定³⁾で行なった。

実験成績

1. 検体投与中の一般症状

6059-Sを腹腔内投与された雄ラットでは、投与直後に用量作用関係のある、腹部伸展がみられた。しかし、

この反応は直ちに回復した。しかも、投与回数を重ねるにつれ、高用量群でも本反応を示すラットが減少した。検体を静脈内投与した雌ラットではこの反応はみられなかった。また、雌雄ラットとも高用量群で軟便を呈するラットが時としてみられたが、その他特記すべき一般症状の異常はみられなかった。全投与期間を通じてのラット死亡は、雄ラットでは6059-S 2,000 mg/kg 投与群で投与開始第8日目に1例、雌ラットでは500 mg/kg 投与群で妊娠第14日目に1例発生した。これらラットを剖検したが、いずれも死因は明確にできなかった。

2. 雌雄ラットの体重変化

生後6週令より21週令にわたる全投与期間中の雄ラット体重をFig. 1に、生後11週令より2週間の雌ラット交配前投与期間の体重をTable 1にそれぞれ示した。雄ラットでは、6059-S 2,000 mg/kg 投与群で投与開始2週後の8週令時に、1,000および500 mg/kg 投与群でも10週令時に、対照群に比し有意の低体重がみられ、この変化は、以後投与期間中継続した。一方、Table 1に示した雌ラット体重は、2週間の測定期

Fig. 1 Effect of 6059-S on body weight changes in male rats

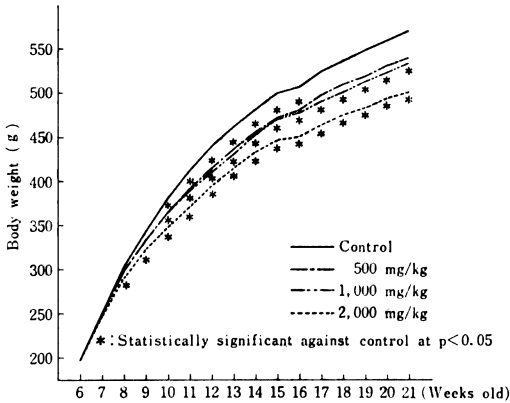


Table 1 Effect of 6059-S on body weight changes in female rats

Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	Administration period (Days)					
		0	3	6	9	12	15
Control	22	256 ± 3 ⁺	257 ± 3 ⁺	257 ± 4 ⁺	258 ± 3 ⁺	259 ± 3 ⁺	260 ± 3 ⁺
6059-S	500	255 ± 2	254 ± 2	254 ± 3	255 ± 3	255 ± 3	256 ± 3
	1,000	256 ± 2	258 ± 3	255 ± 3	255 ± 3	256 ± 3	258 ± 3
	2,000	256 ± 3	257 ± 3	257 ± 3	258 ± 2	258 ± 3	258 ± 2

+ : Mean ± S.E.

間中、対照群と 6059-S 投与各群の間に差はみられなかった。

3. 雌ラットの性周期に及ぼす影響

6059-S 投与開始前 3 週間、投与中、さらに交配成立までの雌ラットの性周期を調べたが、対照群および 6059-S 投与各群とも規則正しい性周期を示し、6059-S 投与による性周期の不規則化、中断などは生じなかった。

4. 雌雄ラットの交配、妊娠成績

雌雄ラットに 6059-S を投与しつつ、同一投与量群内で同居、交配を試みた。結果を Table 2 に示した。各群の交配率、妊娠率はいずれも高値を示し、対照群と 6059-S 投与各群の間に差はみられなかった。卵巣黄体数、妊卵着床数なども正常範囲であった。着床妊卵も吸収されず、正常に発育していたが、妊娠末期の平均生存

Table 2 Reproductive findings of rats treated with 6059-S

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. of males	22	22	22	21
No. of females	22	22	22	21
Copulation index (%)				
Male	95 (21/22)	100 (22/22)	100 (22/22)	95 (20/21)
Female	95 (21/22)	100 (22/22)	100 (22/22)	100 (21/21)
Fertility index (%)	100 (21/21)	100 (22/22)	95 (21/22)	90 (18/20)
Pregnancy index (%)	100 (21/21)	100(22 ^b)/22	95 (21/22)	90 (19/21)
No. of pregnant rats	21	21	21	19
No. of corpora lutea	321 (15.3) ^{a)}	320 (15.2) ^{a)}	297 (14.1) ^{a)}	289 (15.2) ^{a)}
No. of implantation sites	295 (14.1)	287 (13.7)	261 (12.4)*	247 (13.0)
Implantation ratio (%)	92	90	88	86
No. of living fetuses	281 (13.4)	264 (12.6)	250 (11.9*)	221 (11.6*)
Male: Female ratio	142:139	120:144	110:140	108:113
No. of resorbed fetuses	14 (0.7)	23 (1.1)	11 (0.5)	26 (1.4)
No. of macerated fetuses	0	0	0	0
No. of dead fetuses	0	0	0	0
Fetal viability (%)	95	92	96	90
No. of external anomaly	1	0	1	0
Fetal body weight (g)	4.91 ± 0.03 ⁺	4.95 ± 0.02	5.01 ± 0.03*	5.08 ± 0.02*

Copulation index : (No. of rats copulated/No. of males or females) × 100

Fertility index : (No. of males impregnate/No. of males mated) × 100

Pregnancy index : (No. of pregnancies/No. of females mated) × 100

+ : Mean ± S.E.

* : Statistically significant against control at P < 0.05

a) : Per pregnant rat

b) : One rat died on Day 14 of pregnancy

胎仔数の比較で、対照群に比し 6059-S 1,000 および 2,000 mg/kg 投与群で有意な減少がみられた。しかし、この生存胎仔数はいずれも正常範囲に入るもので、薬物の影響があったとはいえない。従って、ラットの交配、受精、妊卵の初期発生、分化、着床などに 6059-S は影

響せず、着床以後の胎仔発育も正常といえる。

5. 妊娠ラットの体重変化

交尾の認められた雌ラットの妊娠第 21 日までの体重は、対照群と 6059-S 投与各群の間にまったく差が認められなかった。

Appendix : Fetal anomaly list in individual mother rats

Group	Dam No.	No. of fetuses	Gross	Skeletal	Visceral
Control	201	6	Normal	Normal	Hydronephrosis (1/3)
	202	16	Normal	Normal	Normal
	203	15	Normal	Normal	Normal
	204	12	Normal	Normal	Normal
	206	15	Normal	Normal	Normal
	208	17	Normal	Normal	Hydronephrosis (1/8)
	209	17	Normal	Normal	Normal
	210	12	Normal	Normal	Normal
	211	13	Normal	Normal	Normal
	212	14	Omphalocele, oligodactylia of fore digits (1/14)	Normal	Omphalocele (1/7)
	213	12	Normal	Normal	Normal
	214	13	Normal	Normal	Normal
	215	15	Normal	Normal	Normal
	216	12	Normal	Normal	Normal
	218	11	Normal	Normal	Normal
	219	14	Normal	Normal	Normal
	221	13	Normal	Normal	Normal
	222	14	Normal	Normal	Normal
	223	12	Normal	Normal	Normal
	224	15	Normal	Normal	Normal
	225	13	Normal	Normal	Normal
6059-S 500 mg/kg	201	17	Normal	Normal	Normal
	202	14	Normal	Normal	Normal
	203	12	Normal	Normal	Normal
	204	15	Normal	Normal	Normal
	205	12	Normal	Normal	Normal
	206	14	Normal	Normal	Normal
	207	16	Normal	Normal	Normal
	209	13	Normal	Normal	Normal
	211	7	Normal	Normal	Normal
	212	13	Normal	Normal	Normal
	213	14	Normal	Normal	Normal
	214	10	Normal	Normal	Hydronephrosis (1/5)
	215	12	Normal	Normal	Normal
	217	12	Normal	Normal	Normal
	218	12	Normal	Normal	Normal
	219	13	Normal	Normal	Normal
	220	13	Normal	Normal	Normal
	221	10	Normal	Normal	Normal
	223	12	Normal	Normal	Normal
	224	13	Normal	Normal	Normal
	225	10	Normal	Normal	Normal

() : No. of anomalous fetuses/No. of examined

Appendix : Fetal anomaly list in individual mother rats

Group	Dam No.	No. of fetuses	Gross	Skeletal	Visceral
6059-S 1,000 mg/kg	201	13	Normal	Normal	Normal
	202	12	Normal	Normal	Normal
	203	11	Normal	Normal	Normal
	206	15	Normal	Normal	Normal
	207	13	Normal	Normal	Normal
	208	13	Normal	Normal	Normal
	209	11	Normal	Normal	Hydronephrosis (1/5)
	210	12	Normal	Normal	Hydronephrosis (1/6)
	211	12	Normal	Normal	Normal
	212	13	Normal	Normal	Normal
	214	12	Normal	Normal	Normal
	215	10	Normal	Normal	Normal
	217	12	Normal	Normal	Normal
	218	15	Normal	Normal	Normal
	220	14	Normal	Normal	Normal
	221	13	Normal	Normal	Normal
	222	10	Normal	Normal	Normal
	223	11	Normal	Normal	Normal
	224	4	Normal	Normal	Hydronephrosis (1/2)
	225	11	Gastroschisis (1/11)	Normal	Gastroschisis (1/6)
	227	13	Normal	Normal	Normal
6059-S 2,000 mg/kg	201	12	Normal	Normal	Normal
	202	13	Normal	Normal	Normal
	203	11	Normal	Normal	Normal
	207	12	Normal	Normal	Normal
	208	11	Normal	Normal	Normal
	209	10	Normal	Normal	Normal
	210	10	Normal	Normal	Normal
	211	12	Normal	Normal	Normal
	212	11	Normal	Normal	Normal
	213	12	Normal	Normal	Normal
	216	13	Normal	Normal	Normal
	217	10	Normal	Normal	Normal
	219	9	Normal	Normal	Normal
	221	10	Normal	Normal	Normal
	222	15	Normal	Normal	Normal
	223	14	Normal	Normal	Normal
	225	12	Normal	Normal	Normal
	227	10	Normal	Normal	Normal
	228	14	Normal	Normal	Normal

() : No. of anomalous fetuses / No. of examined

6. 胎仔観察成績

各群とも妊娠第 21 日に、母ラットを屠殺、胎仔を取り出し、全胎仔につき外部形態異常の有無を調べた後、骨格系および内部諸器官の異常観察のため固定した。

全胎仔につき、外部形態異常の観察成績を、母ラット毎にまとめ、骨格異常、内臓異常の成績とともに示したのが Appendix である。外部形態異常として、対照群で前指の欠指および臍帯ヘルニアの合併例が 1 例、6059

-S 1,000 mg/kg 投与群で腹壁裂が 1 例みられた。これら外形異常の出現頻度は極めて低く、6059-S に起因すると考えられない偶発的なものといえる。

(6-1) 胎仔骨格系の異常

生存胎仔の約半数につき、骨格系の変化を化骨度、骨微細変異、奇形について調べ、Table 3 に示した。第 1 ～第 3 頸椎体、胸骨、胸椎体の化骨度は、対照群と 6059-S 投与各群の間に差がなかったが、第 4 ～第 7 頸

Table 3 Effect of 6059-S given intravenously to mother rats before mating and early pregnancy on the ossification and skeletal anomalies in fetal rats

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. of fetuses examined	146	136	130	114
Stainless corpus vertebrae cervicals				
I	31 (21) ^{a)}	32 (24)	31 (24)	21 (18)
II	132 (90)	123 (90)	111 (85)	94 (83)
III	123 (84)	110 (81)	106 (82)	90 (79)
IV	125 (86)	99 (73)	92 (71)	72 (63)
V	103 (71)	88 (65)	86 (66)	62 (54)
VI	101 (69)	69 (51)	78 (60)	49 (43)
VII	52 (36)	28 (21)	34 (26)	17 (15)
Stainless or incomplete sternebrae				
II	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
V	14 (10)	20 (15)	13 (10)	12 (11)
VI	2 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Stainless or incomplete corpus thoracic vertebrae				
I	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
XIII	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
No. of vertebrae coccygeae	6.2 ± 0.1 ⁺	6.4 ± 0.1	6.2 ± 0.1	6.7 ± 0.1*
Minor change				
Lumbar rib	44 (30)	54 (40)	54 (42)	38 (33)
Fourteen rib	1 (1)	0 (0)	3 (2)	1 (1)
Sacralzth, Lumbarzth	1 (1)	11 (8)	6 (5)	3 (3)
Asymmetric arch				
Atlas	8 (6)	6 (4)	10 (8)	3 (3)
Anomaly	0	0	0	0

a) : No. of fetuses (Incidence: %)

+ : Mean ± S.E.

* : Statistically significant against control at p < 0.05

椎体では、むしろ、対照群に比し 6059-S 投与各群で化骨度の促進傾向がみられた。また、尾椎骨数も 6059-S 2,000 mg/kg 投与群胎仔で、対照群に比し有意の増加を示した。骨微細変化としては、腰肋痕、第 14 肋骨、仙椎骨の腰椎化または腰椎骨の仙椎化、第 1 頸椎弓の

左右不对称などが観察されたが、その発現頻度は対照群と 6059-S 投与各群間に差がみられなかった。骨格系の奇形は全群で出現しなかった。

(6-2) 胎仔内臓系の異常

残り約半数の生存胎仔につき WILSON 法に準じて内臓

Table 4 Effect of 6059-S given intravenously to mother rats before mating and early pregnancy on the incidence of visceral anomalies in fetal rats

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. of fetuses observed	135	128	120	107
Anomaly				
Hydronephrosis	2	1	3	0
Omphalocele	1	0	0	0
Gastroschisis	0	0	1	0
Minor change				
Left running of umbilical artery	3	1	4	0
Dislocation of testes	1	0	0	0
Right running of azygos vein	0	0	1	0

観察を行ない、結果を Table 4 にまとめた。水腎症が対照群、6059-S 500 および 1,000 mg/kg 投与群でごく少数例出現したが、2,000 mg/kg 投与群では認められなかった。また、外部形態異常としてみられた対照群の臍帯ヘルニア、6059-S 1,000 mg/kg 投与群の腹壁裂各 1 例も内臓異常として示した。内臓の微細変異としては、臍帯動脈の左側走行が 6059-S 2,000 mg/kg 投与群を除く各群で少数例みられ、対照群の臍帯ヘルニア症を呈した胎仔では、両側睪丸の変位と臍帯動脈左側走行が合併しており、6059-S 1,000 mg/kg 投与群の腹壁裂を呈した胎仔でも奇静脈の右側走行と臍帯動脈左側走行が合併していた。しかし、いずれの発現頻度も極めて低く、用量作用関係のない散発的なものであることから、6059-S 投与に起因するとは考えられない。

7. 雌雄ラットの解剖成績

(7-1) 雄ラットの解剖成績

投薬群同志および正常ラットとの交配で、雌ラットを妊娠させた雄ラットを 21 週令で屠殺剖検した。剖検所見としては、6059-S 各投与群とも著明な盲腸肥大を示したのが特徴的であった。他の臓器には特記すべき異常を認めなかった。各臓器の湿重量を示したのが Table 5 である。腎臓重量は、6059-S 投与各群で絶対重量、相対重量とも対照群に比し増加しており、用量作用関係も認められた。一方、肝臓重量は減少していたが、投与用量との関係は一定でなかった。その他、心臓、肺、胸腺の絶対重量が、6059-S 1,000 または 2,000 mg/kg 投与群で対照群に比し有意の減少を示したが、これらはいずれも相対重量では対照群と差がなく、むしろ重量増加

傾向を示した。

(7-2) 雌ラットの解剖成績

6059-S 投与雌雄ラット同志の交配で妊娠し、生存胎仔を得た雌ラットの剖検時臓器重量を Table 6 に示した。6059-S 投与各群は妊娠第 7 日目まで検体を投与され、以後は無処置であったにもかかわらず、剖検時、対照群に比し盲腸肥大が観察された。雌ラットでも 6059-S 投与により腎臓重量の有意な増加またはその傾向が、絶対および相対重量についてみられた。また、肝臓、肺の重量も 6059-S 投与群で増加またはその傾向を示したが、用量作用関係はまったくみられなかった。その他の臓器に関しては、対照群と 6059-S 投与各群との間に差がみられなかった。

8. 交尾または妊娠不成立ラットについての検討

Table 2 に示したように、対照群および 6059-S 投与各群の雌雄ラットの同居交配では高率の妊娠成立がみられたが、各群に同居期間中まったく交尾しなかった例、交尾したが妊娠しない、いわゆる交尾不妊例が少数例ながら認められた。その原因が雌雄ラットいずれにあたるか調べる目的で、それぞれ正常ラットとの追加交配実験を試みた。交尾不成立雄ラットを正常雌ラットと同居させた成績を示したのが Table 7 である。この組合せでも、対照群の 1 例および 6059-S 2,000 mg/kg 投与群の 1 例の各雄ラットは交配しなかった。この 2 例のラットは、剖検所見、睪丸の組織所見でも性腺系には特に異常がなく、交尾不成立の原因は明確にできなかった。また、交尾不成立であった対照群の雌 1 例を正常雄ラットと同居させてみた成績を示したのが Table 8

Table 5 Autopsy data of male rats given intraperitoneal administration of 6059-S

Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Heart (mg%)	Lung (mg%)	Liver (g%)	Kidney (mg%)	Spleen (mg%)	Pituitary (mg%)	Thyroid (mg%)	Thymus (mg%)	Adrenal (mg%)	Seminal vesicle (mg%)	Ventral prostate (mg%)	Testes (mg%)	Caecum size (mm x mm)
Relative organ weight	Control 21	577 ± 10 ⁺	236 ± 4	264 ± 5	3.15 ± 0.08	549 ± 11	165 ± 5	2.3 ± 0.1	3.2 ± 0.1	45.2 ± 3.3	8.1 ± 0.3	87.3 ± 2.3	110 ± 7	662 ± 11	
	6059-S 500 22	551 ± 12	242 ± 4	264 ± 4	3.10 ± 0.06*	643 ± 12*	152 ± 4*	2.3 ± 0.1	3.6 ± 0.1*	48.0 ± 2.5	8.2 ± 0.3	94.8 ± 3.5	114 ± 7	683 ± 19	
	1,000 22	541 ± 8*	238 ± 4	264 ± 4	3.12 ± 0.04*	657 ± 12*	158 ± 5	2.4 ± 0.1	3.5 ± 0.1	50.0 ± 3.1	8.4 ± 0.3	91.9 ± 2.8	112 ± 6	680 ± 20	
	2,000 20	508 ± 10*	243 ± 4	281 ± 6*	3.20 ± 0.05*	701 ± 10*	174 ± 9	2.6 ± 0.1*	3.5 ± 0.1*	42.3 ± 2.9	10.0 ± 0.4*	101.8 ± 2.6*	126 ± 8	721 ± 14*	
Absolute organ weight	Control 21		1,363 ± 29 ⁺	1,517 ± 22	20.3 ± 0.7	3,159 ± 61	952 ± 32	13.3 ± 0.3	18.7 ± 0.5	258 ± 16	46.9 ± 1.9	503 ± 14	629 ± 37	3,812 ± 65	54 × 18
	6059-S 500 22		1,325 ± 27	1,447 ± 23*	17.1 ± 0.6*	3,546 ± 111*	831 ± 24*	12.6 ± 0.4	19.9 ± 0.7	261 ± 12	45.1 ± 1.8	517 ± 16	624 ± 36	3,717 ± 48	70 × 22
	1,000 22		1,285 ± 20*	1,427 ± 27*	16.9 ± 0.4*	3,543 ± 66*	856 ± 29*	12.9 ± 0.3	18.8 ± 0.5	271 ± 17	45.6 ± 1.7	495 ± 14	602 ± 30	3,660 ± 88	69 × 22
	2,000 20		1,232 ± 21*	1,421 ± 30*	16.3 ± 0.5*	3,559 ± 73*	878 ± 40	13.0 ± 0.3	18.0 ± 0.5	213 ± 14*	50.7 ± 1.7	515 ± 11	636 ± 35	3,647 ± 49	67 × 22

mg% or g% : mg or g per 100g body weight

* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

Table 6 Autopsy data of female rats given intravenous administration of 6059-S

	Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Heart (mg%)	Lung (mg%)	Liver (g%)	Kidney (mg%)	Spleen (mg%)	Pituitary (mg%)	Thyroid (mg%)	Thymus (mg%)	Adrenal (mg%)	Ovary (mg%)	Caecum size (mm x mm)
Relative organ weight	Control 21	388 ± 6 ⁺	226 ± 4	257 ± 5	3.02 ± 0.07	417 ± 7	176 ± 7	3.8 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.9 ± 0.1	45.9 ± 2.9	16.6 ± 0.4	26.0 ± 0.5	
	6059-S 500 21	390 ± 6	220 ± 3	265 ± 4	3.22 ± 0.06*	433 ± 6	167 ± 5	3.9 ± 0.1	3.8 ± 0.2	47.1 ± 1.7	47.1 ± 1.7	16.1 ± 0.4	26.4 ± 0.5	
	1,000 21	386 ± 6	223 ± 3	265 ± 6	3.26 ± 0.06*	437 ± 8	171 ± 5	3.9 ± 0.1	3.8 ± 0.1	48.3 ± 2.1	48.3 ± 2.1	15.8 ± 0.7	25.6 ± 0.8	
	2,000 19	389 ± 4	217 ± 5	269 ± 4	3.17 ± 0.07	446 ± 6*	179 ± 6	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1	48.4 ± 3.0	48.4 ± 3.0	16.0 ± 0.5	27.1 ± 0.7	
Absolute organ weight	Control 21		874 ± 20 ⁺	874 ± 20 ⁺	994 ± 13	11.8 ± 0.4	1,616 ± 33	682 ± 27	14.7 ± 0.4	15.1 ± 0.6	177 ± 11	64.1 ± 1.5	101 ± 3	39 × 13
	6059-S 500 21		856 ± 19	856 ± 19	1,031 ± 15	12.6 ± 0.3	1,681 ± 28	648 ± 19	15.1 ± 0.5	14.9 ± 0.7	184 ± 8	62.5 ± 1.8	103 ± 2	47 × 17
	1,000 21		860 ± 17	860 ± 17	1,020 ± 22	12.6 ± 0.3	1,685 ± 35	662 ± 24	14.9 ± 0.5	14.8 ± 0.6	187 ± 9	60.6 ± 2.3	99 ± 3	52 × 19
	2,000 19		841 ± 17	841 ± 17	1,044 ± 17*	12.3 ± 0.3	1,735 ± 31*	696 ± 24	15.5 ± 0.3	15.2 ± 0.3	188 ± 12	62.0 ± 2.0	105 ± 3	52 × 20

mg% or g% : mg or g per 100g body weight

* : Statistically significant against control at p < 0.05

+ : Mean ± S.E.

Table 7 Reproductive findings of male rats which failed to copulate with females given 6059-S with intact female rats

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. of male rats tested	1	0	0	1
Copulation index (%) ^{a)}	0 (0/1)			0 (0/1)

a) See Table 2 for the explanation of index.

Table 8 Reproductive findings of female rats which failed to copulate with males given 6059-S with intact male rat

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. of female rats tested	1	0	0	0
Copulation index (%) ^{a)}	0 (0/1)			

a) See Table 2 for the explanation of index.

である。この実験でも、対照群の雌 1 例は正常性周期を継続したにもかかわらず交尾しなかった。このラットでも、剖検所見で性腺系には異常がみられず、交尾不成立の原因を明確にできなかった。次に、雌ラットの交尾不妊をきたした雄ラットを正常雌ラットと同居交配させた結果を示したのが Table 9 である。6059-S 1,000 mg/kg 投与群の 1 例、2,000 mg/kg 投与群の 2 例いずれも交配し、妊卵着床、胎仔発育などはすべて正常であった。このように、投薬群同志の交配で交尾不成立や交尾不妊となった各群の少数例について、その原因の解明を試みたが、交尾不成立ラットは雌雄とも正常ラットとの間にも交尾が成立せず、剖検では特に異常を認めなかった。しかし、このような例は対照群にもみられ、検体投与量との関係もないことから、偶発的な現象であったと推察される。

9. 雌雄ラットの血液検査所見

6059-S を連続投与した雄ラット、妊娠第 7 日まで 3 週間以上連続投与した雌ラットにつき、それぞれ剖検前に血液学的検査を行なった。結果を示したのが Table 10 である。6059-S を長期連続投与した雄 2,000 mg/kg 投与群の RBC, HGB, HCT などが軽度減少したが、MCV, MCH が軽度上昇、MCHC は減少を示していることから、特異的なものではない。また雌群では、これ

Table 9 Reproductive findings of male rats which failed to impregnate females given 6059-S with intact female rats

Treatment and daily dose (mg/kg)	6059-S	
	1,000	2,000
No. of male rats tested	1	2
Copulation index (%) ^{a)}	100 (1/1)	100 (2/2)
Fertility index (%) ^{a)}	100 (1/1)	100 (2/2)
No. of pregnant rats	1	2
No. of corpora lutea	15 (15.0)	31 (15.5)
No. of implantation sites	14 (14.0)	28 (14.0)
Implantation ratio (%)	93	90
No. of living fetuses	14 (14.0)	24 (12.0)
Male : Female ratio	12:2	11:13
No. of resorbed fetuses	0	4 (2.0)
No. of macerated fetuses	0	0
No. of died fetuses	0	0
Fetal viability (%)	100	86

a) See Table 2 for the explanation of each index.

らの変化はみられなかった。

考 察

Oxacephem 系の新抗生物質である 6059-S につき、雌雄ラットを用いて妊娠前および妊娠初期投与と試験を行なった。6059-S を雄ラットに長期間投与すると用量作用関係をもった体重増加の抑制が観察された。このような所見は、静脈内投与によるラット亜急性毒性実験でもみられており、この変化に符合した摂餌量の減少もみられている。雌雄ラットともに 6059-S 投与全群で盲腸の肥大が剖検時観察された。この変化は、他の Cephalosporin 系薬物や合成ペニシリンなどの投与でも見られることが報告されており⁴⁾、その原因は腸内細菌叢の変化によるといわれている。今回の所見もまったく同様の現象と考えられる。従って、体重や盲腸における変化、さらに剖検時の主要臓器重量の変化などから、6059-S 500 mg/kg/日 以上を軽度ながら母体に毒性を示す量と考え、繁殖能に及ぼす影響を調べたが、最高 2,000 mg/kg 投与でも雌雄ラットの交尾能、受精、妊卵の初期発生、妊卵着床などに影響を与えず、着床後の胎仔発育も正常であった。ただ、妊娠末期の生存胎仔数は高用量投与により軽度の減少傾向を示した。しかも、これに伴う胎仔体重増加、消化化の促進傾向などがみられた。後者の

Table 10 Hematological data of male and female rats given 6059-S^{a)}

Sex	Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	WBC (× 10 ³)	RBC (× 10 ⁶)	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCV (μ ³)	MCH (μg)	MCHC (%)
Male	Control	21	14.3±0.6 ⁺	8.32±0.07 ⁺	15.6±0.1 ⁺	40.6±0.3 ⁺	48.5±0.3 ⁺	18.8±0.1 ⁺	38.6±0.1 ⁺
	6059-S 500	22	11.2±0.6*	8.28±0.07	15.9±0.1	41.6±0.3*	49.8±0.3*	19.1±0.1*	38.2±0.1*
	1,000	22	12.5±0.7	8.02±0.14	15.5±0.3	40.9±0.7	50.7±0.3*	19.4±0.1*	38.1±0.1*
	2,000	20	15.7±1.7	7.42±0.20*	14.0±0.4*	38.6±0.9*	51.6±0.4*	19.7±0.1*	37.9±0.2*
Female	Control	21	7.8±0.5	6.18±0.09	12.9±0.2	34.9±0.5	55.8±0.4	20.9±0.2	37.0±0.2
	6059-S 500	21	8.5±0.4	5.93±0.06*	12.5±0.1	33.8±0.3*	56.2±0.5	21.1±0.2	37.1±0.1
	1,000	21	7.9±0.5	5.90±0.07*	12.5±0.1	34.1±0.3	57.1±0.5*	21.2±0.2	36.7±0.2
	2,000	18	8.4±0.4	5.98±0.07	12.7±0.1	34.3±0.4	56.8±0.6	21.3±0.2	37.1±0.2

a) : Blood was collected by cutting the tail tip without anesthesia.
* : Statistically significant against control at p<0.05
+ : Mean ± S.E.

変化は体重増加を反映したものと考えられる。しかし、これらの変化はいずれも正常値の範囲に入るものであり、6059-S 投与に起因したとは考え難い程度なものであった。妊娠末期胎仔に關しても、その外形、骨格、内臓などに 6059-S 投与に起因したと考えられる奇形や異常は全く出現しなかった。本実験では、対照群も含めた各投与群で極く少数例の交尾不成立や交尾不妊ラットがみられたが、対照群にも出現していること、ならびに用量作用関係のないことなどから、偶発的な結果であったと考えられる。本実験では、投与開始後比較的早期から体重増加抑制の生ずる 2,000 mg/kg を 6059-S の最高用量としたが、雌雄ラットの繁殖能に対しては、この用量でもなんらの影響もみられず、雌ラット性周期も正常であった。従って、繁殖能に対する 6059-S の最大無作用量は 2,000 mg/kg/日 またはそれ以上と結論でき、本化合物は繁殖性に関して極めて安全性の高いものと評価することができる。

謝 辞

本実験に御協力いただいた佐々木和則、金森 進、安東正則、伊藤道雄、村中理一の各氏に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1) WILSON, J. G.: Teratology-Principles and Techniques. (WILSON, J. G. & J. W. WARKANY) pp. 251~277, Univ. Chicago press, Chicago and London, 1965
2) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain Techn. 1:123~124, 1926
3) ARMITAGE, P.: Statistical methods in medical research. pp. 116~131, Blackwell science publications, 1973
4) MINESITA, T.: Pharmacological aspects of germ-free animals. Journal of germfree and gnotobiology 3:1~12, 1973

FERTILITY STUDY OF 6059-S IN RATS

FUMIHIKO KOBAYASHI and KATSUMI HARA

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

6059-S, a new oxacephalosporin, was daily injected intraperitoneally to male rats for 9 weeks and intravenously to female rats for 14 days prior to cohabitation at the doses of 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day. The administration regimens were continued for males and females during cohabitation for mating and, additionally, for the mated females during early pregnancy until day 7 of gestation. All pregnant females were necropsied for cesarean section on day 21 of gestation to investigate their fetal growth. In male rats given 6059-S for long period of time, slight but significant inhibition of growth was observed after the continuation of administration for 4 to 6 weeks. No parental defect was apparent in the fertility and gestation phases of the study. Fetal parameters such as morphological development, viability, body weight and sex distribution were normal in all animals. No defects were also observed for visceral and skeletal specimens of the fetus. Consequently, 6059-S has no effect on the reproductive performances of rats at the daily doses as high as 2,000 mg/kg, and all progeny appeared normal.