

## 6059-S のラット周産期および授乳期投与試験

小林文彦・安東正則

堀野義製薬株式会社研究所

6059-S の周産期および授乳期投与試験を Sprague-Dawley 系をラットを用いて、三世代にわたり検討した。6059-S は静脈内投与 (500, 1,000, 2,000 mg/kg/日) で妊娠第 17 日より親ラット (F<sub>0</sub>) に投与した。投与は F<sub>0</sub> の分娩をへて、次世代 (F<sub>1</sub>) が離乳するまで継続した。実験は F<sub>1</sub> の成長、性成熟などを調べた後、F<sub>1</sub> 同志の交配でその生殖能を検討し、F<sub>2</sub> 仔が離乳する時点まで継続した。6059-S を周産期および授乳期に連続投与しても、極めて高用量 (2,000 mg/kg) の場合のみ妊娠体重増加の抑制、新生仔の低体重、新生仔生存性に軽度の影響がみられたが、新生仔の成長、発育、諸機能および生殖能には影響が認められなかった。

なお、Cephalosporin 系抗生物質投与時に特有な現象である盲腸肥大を除くと、ラットを用いた本実験での生殖性に関する最大無作用量は 1,000 mg/kg と考えられた。

## 緒 言

Oxacephem 系抗生物質である 6059-S について、ラットを用いて周産期および授乳期投与試験を行なった。6059-S は、グラム陽性菌、グラム陰性菌に広範囲な抗菌活性を有し、特にグラム陰性菌に対しては、従来の Cephalosporin 系抗生物質に比し、強い抗菌活性を示すものであり、現在までに行なわれた諸毒性試験の結果では、極めて毒性が低いことが知られている化合物である。なお本試験は 1978 年 5 月より 1979 年 2 月にかけて行なったものである。

## 実験材料および方法

## 1. 実験動物

Sprague-Dawley 系雌ラット (JCL-SD, 日本クレア) を使用した。これらラットは全実験期間中、室温 25 ± 1°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た。固型飼料 (日本クレア CA-1) および水道水は自由に摂取させた。

## 2. 検体および投与量

6059-S は使用直前、注射用蒸留水に 25% (W/V) の割合で溶解し、無麻酔下で尾静脈内に投与した。投与速度は 1 ml/min とした。対照群には 8 ml/kg の生理食塩液を尾静脈内に投与した。本実験での 6059-S 投与量は、静脈内投与によるラット亜急性毒性試験の成績<sup>1)</sup> を参考として決めた。すなわち、軽度の体重減少を惹起するが、本化合物の最大耐量は 2,100 mg/kg/日であることが明らかにされていることより、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。なお、実験で用いた 6059-S の Lot No. は S014N であった。

## 3. 実験方法

雌ラットは生後 7 週令 (180~200 g BW)、雄ラットは生後 10 週令 (320~350 g BW) で入手し、約 3 週間環境適応させた後、膈垢検査で発情前期 (proestrus) を示す雌ラットを選び、雄ラットとランダムに組合せて夕刻より同居させ、翌朝陰内に精子を認めたものを交配成立とし、この日を妊娠第 0 日とした。6059-S 1,000 mg/kg 以下の投与群および対照群は 1 群 24~25 匹、2,000 mg/kg 投与群では 33 匹の妊娠ラットを作製した。これら妊娠 F<sub>0</sub> ラットは、すべて個別飼育し、妊娠第 0, 4, 9, 14, 17, 18, 19, 20, 21 日に体重測定を行なうとともに、この間一般状態の観察を継続した。投与は妊娠第 17 日より開始し、分娩を経て次世代 (F<sub>1</sub>) を哺育している期間 (分娩後 21 日間)、F<sub>0</sub> ラットに 1 日 1 回、午前中に静脈内投与した。すべての妊娠 F<sub>0</sub> ラットは自然分娩させ、妊娠期間、分娩率の異常を調べた。新生仔 (F<sub>1</sub>) は、生仔数、死産仔数、出生直後の死亡、性別、外形異常の有無などを調べるとともに、個体別に体重を測定した。これら F<sub>1</sub> 新生仔は、出生 2 日後リッターサイズを親ラット (F<sub>0</sub>) 当り 8 匹 (雌雄各 4 匹) になるように調整した。余剰 F<sub>1</sub> 仔は肛門-外生殖器間距離をノギスを用いて計測後、屠殺した。F<sub>1</sub> 仔は、そのまま F<sub>0</sub> に哺育させ、生後 21 日の離乳時まで 5 日ごとに体重測定を行なうとともに、耳介開展、生毛、歯の萌出、開眼などの発現日令を調べた。また、離乳前には、全 F<sub>1</sub> 仔につき一般行動、姿勢、外部音や接触刺激などに対する反応性などの観察を行なった。離乳時、F<sub>0</sub> 1 匹当り雌雄各 2 匹の F<sub>1</sub> 仔をランダムに選び、雌雄別に、各投与群ごとに継続飼育した。残りの F<sub>1</sub> 仔および F<sub>0</sub> ラットは離乳直後に全例屠殺解剖、主要臓器の肉

眼的観察を行なったのち、重量を測定、さらに、これら臓器を10%中性ホルマリン液に固定保存した。解剖時F<sub>0</sub>ラットは、剖検に先立ち、血液検査のため尾先端切断により採血、さらにエーテル麻酔後、腹部下大静脈より採血し、血液生化学検査を行なった。離乳した雌雄F<sub>1</sub>ラットは、その後雄は15週令まで、雌は雄ラットとの交配成立まで(約12週令)、毎週1回定期的に体重測定を行なうとともに、一般状態の観察を継続した。この間、雄ラットではpenis先端の形態変化、雌ラットでは膈開口を指標として性成熟発現を調べ、雌ラットでは、さらに生後8週令より膈垢検査で性周期を調べた。また、生後7週令で、雌雄ラットの半数を視覚性置き直り、後肢撤去、自由落下等の反射機能、瞳孔、耳介、疼痛等の触覚、痛覚反応<sup>2)</sup>および聴覚機能を調べ、さらに回転棒試験<sup>3)</sup>、オープンフィールド試験<sup>4)</sup>を行なった後、9週令で屠殺した。残り半数のF<sub>1</sub>ラットを生後11週より2週間、各投与群由来の雌雄を、同腹同志をさけて同居させ、交尾成立の有無を調べた。この間に交尾しないラットは、雌雄いずれにその原因があるかを明らかにするため、引き続き正常ラットとの同居交配を試みた。F<sub>1</sub>雄ラットは生後15週令でF<sub>0</sub>ラットと同様に屠殺解剖した。

妊娠F<sub>1</sub>ラットは、F<sub>0</sub>の場合と同様、体重測定、一般観察を行ないつつ、妊娠の正常な進行を調べた。妊娠中の胎仔発育を調べる目的で、各群の妊娠ラットの約半数を妊娠第21日に屠殺解剖、卵巣黄体数、着床数、胎仔生存数、生存胎仔の体重、胎盤重量、胎仔肛門—外性器間距離などの計測を行なった。残りの妊娠F<sub>1</sub>ラットは、F<sub>0</sub>の場合と同様に自然分娩させ、F<sub>2</sub>仔を哺育させた。分娩、哺育中のF<sub>1</sub>ラットに関する観察、処置はF<sub>0</sub>ラットの場合と同様であり、F<sub>2</sub>仔も出生2日後にリッターサイズを8匹(雌雄各4匹)に調整した。F<sub>2</sub>仔の離乳時に、母ラット(F<sub>1</sub>)およびF<sub>2</sub>仔のうちランダムに選んだ雄2匹、雌2匹を屠殺解剖、F<sub>0</sub>やF<sub>1</sub>を解剖した時と同様の観察および処理を行なった。ホルマリン固定した組織中、肉眼的および重量的に異常なもの、また、生殖成績に関して異常を示したラットの性腺組織などは、常法に従い、パラフィン包埋、HE染色により組織学的検索を行なった。全成績の統計学的処理はStudentのt検定および $\chi^2$ 検定<sup>5)</sup>で行なった。

## 実験成績

### I. F<sub>0</sub>ラットに対する影響

#### I-1. 投与期間中の一般症状および死亡

6059-Sの1,000, 2,000 mg/kg投与群で、投与直後極めて軽度の自発運動抑制傾向がみられた。また、全用

量群で軽度の軟便が観察された。妊娠期間中の死亡例は出現しなかった。しかし、分娩中、または分娩直後に2,000 mg/kg投与群で2例、F<sub>1</sub>仔哺育中に1,000, 2,000 mg/kg投与群で各1例の死亡例がみられた。これら死亡ラットの剖検所見では、いずれも心臓周辺部、肺などにうっ血が著明であり、その他胸腺の点状出血などもみられ、急性の循環障害に起因したと推察される変化が観察された。分娩期の死亡例ではいずれも子宮内に3~4匹の胎仔が残存していた。

#### I-2. F<sub>0</sub>の妊娠時、哺育時の体重変化

妊娠中の体重変化をFig. 1に示した。妊娠ラットの体重増加は、1,000 mg/kg以下の投与群では変化はみられなかったが、2,000 mg/kg投与群で投与開始直後よりやや抑制された。

F<sub>1</sub>仔を哺育中のF<sub>0</sub>ラットの体重変化をTable 1に示した。6059-S投与各群の体重は、分娩時対照群より大きかったが、哺育中はこの差がより明らかとなり、哺育5日以降は有意差がみられた。しかし、この増加には投与各群での用量作用関係はみられなかった。

#### I-3. F<sub>0</sub>の分娩成績およびF<sub>1</sub>仔の生存性

F<sub>0</sub>ラットの分娩成績およびF<sub>1</sub>新生仔の生存性などをTable 2に示した。前記のように、6059-S 2,000 mg/kg投与群で30例中2例のF<sub>0</sub>母ラットが分娩中に死亡した。また、分娩時に全仔死亡したものおよび生

Fig. 1 Effect of 6059-S given intravenously on body weight in pregnant rats

\*: Statistically significant against control at  $p < 0.05$

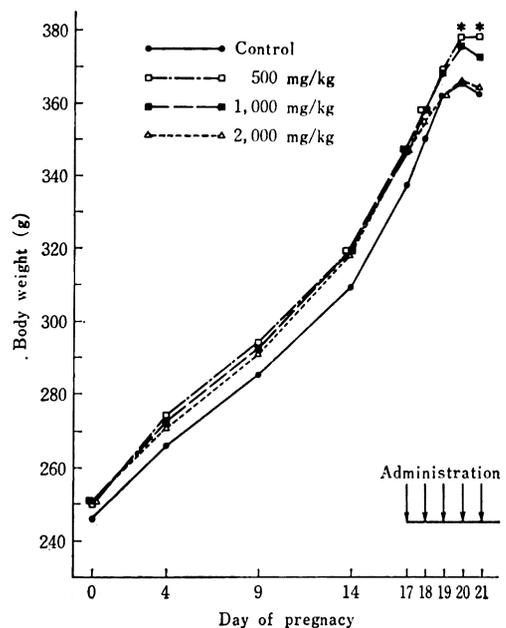


Table 1 Effect of 6059-S on body weight changes during lactation in F<sub>0</sub> female rats

Treatment <sup>a)</sup> and daily dose (mg/kg)	Day of lactation				
	After parturition	5	10	15	21
Control	269 ± 4 (24) <sup>+</sup>	284 ± 3 (23)	304 ± 4 (23)	308 ± 4 (23)	297 ± 3 (23)
6059-S 500	280 ± 5 (24)	301 ± 2* (24)	325 ± 3* (24)	333 ± 3* (24)	328 ± 3* (24)
1,000	276 ± 4 (26)	305 ± 4* (24)	324 ± 4* (24)	335 ± 4* (24)	335 ± 4* (23)
2,000	272 ± 4 (30)	302 ± 4* (24)	319 ± 4* (24)	326 ± 3* (23)	322 ± 4* (23)

a) : 6059-S was administered intravenously from day 17 of pregnancy until the day of weaning.

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

( ) : No. of rats examined

Table 2 Reproductive findings of F<sub>0</sub> rats given intravenous administration of 6059-S

Treatment <sup>a)</sup> and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. pregnant rats	24	24	26	30
Gestation period (day)	21.9 ± 0.1 <sup>+</sup>	21.9 ± 0.1	22.0 ± 0.04	22.0 ± 0.04
Parturition index (%)	100 (24/24)	100 (24/24)	100 (26/26)	100 (30/30)
No. total pups	301	324	352	410
No. live pups	276	315	335	358
(Male/Female)	(143/133)	(156/159)	(176/159)	(180/178)
No. dead pups (Atelectasis)	25 (7)	9 (7)	17 (16)	52 (44)
Mean litter size	12.5 ± 0.6	13.5 ± 0.5	13.5 ± 0.4	13.7 ± 0.3
48-hr viability index (%)	96 (265/276)	97 (307/315)	95 (318/335)	87*(313/358)
(Male/Female)	(137/128)	(154/153)	(167/151)	(156/157)
Lactation index (%)	96 (177/184)	99 (191/192)	99 (183/184)	98 (181/184)
(Male/Female)	(87/90)	(94/97)	(93/90)	(88/93)
Ano-genital distance on day 2 (mm)				
Male	4.09 ± 0.05 (46)	3.87 ± 0.05*(58)	3.86 ± 0.04*(70)	3.91 ± 0.06*(61)
Female	2.00 ± 0.04 (35)	1.93 ± 0.03 (57)	1.99 ± 0.03 (56)	1.98 ± 0.03 (60)
No. external anomaly	0	0	0	0

a) : 6059-S was administered intravenously from day 17 of pregnancy until the day of weaning.

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

( ) : No. of pups

後 2 日目までに全仔死亡した F<sub>0</sub> ラットが、対照群で 1 例、6059-S 1,000 mg/kg 投与群で 2 例、2,000 mg/kg 投与群で 4 例みられた。6059-S 2,000 mg/kg 投与群で死産仔数の若干の増加、出生後 48 時間以内の新生仔死亡率の増加などがみられたが、1,000 mg/kg 以下の投与群ではこれらの指標は対照群と差がなかった。妊

娠期間、分娩率、リッターサイズ、離乳時の新生仔生存性等は、6059-S 投与各群と対照群の間に差がみられなかった。雄新生仔の肛門-外生殖器間距離が 6059-S 投与全群で短縮していたが、用量作用関係はみられなかった。

#### I-4. F<sub>0</sub> 雌ラットの解剖成績

F<sub>0</sub> 雌ラットを、F<sub>1</sub> 仔離乳時点で屠殺解剖し、その結

Table 3 Effect of 6059-S on organ weights in F<sub>0</sub> female rats

	Treatment <sup>a)</sup> 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%)	Uterus (mg%)	Caecum size (mm X mm)
Relative organ weight	Control	23	297 ± 3 <sup>+</sup>	295 ± 3	375 ± 6	4.33 ± 0.07	677 ± 11	235 ± 5	4.6 ± 0.1	4.7 ± 0.2	36.9 ± 3.0	22.3 ± 0.7	26.0 ± 0.8	108 ± 11	
	6059-S 500	24	328 ± 3*	255 ± 3*	344 ± 5*	3.72 ± 0.07*	630 ± 10*	186 ± 3*	4.3 ± 0.1*	4.3 ± 0.1	34.9 ± 2.1	20.9 ± 0.6	23.0 ± 0.9*	80 ± 5*	
	1,000	23	334 ± 4*	251 ± 3*	354 ± 6*	3.72 ± 0.06*	635 ± 8*	198 ± 5*	4.3 ± 0.1*	4.3 ± 0.1	31.2 ± 2.0	21.1 ± 0.5	23.0 ± 0.8*	76 ± 5*	
	2,000	23	322 ± 4*	261 ± 4*	359 ± 4*	3.86 ± 0.05*	663 ± 10	202 ± 3*	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.2	31.3 ± 1.8	21.3 ± 0.5	22.5 ± 0.8*	75 ± 3*	
Absolute organ weight	Control	23		874 ± 7 <sup>+</sup>	1.11 ± 0.02	12.9 ± 0.3	2.01 ± 0.02	696 ± 15	13.7 ± 0.3	14.0 ± 0.6	109 ± 8	66.2 ± 2.2	77.1 ± 2.4	320 ± 31	56 X 22
	6059-S 500	24		836 ± 8*	1.12 ± 0.01	12.2 ± 0.2*	2.06 ± 0.03	610 ± 11*	14.0 ± 0.3	14.1 ± 0.4	114 ± 7	68.4 ± 2.0	74.9 ± 2.5	261 ± 18	80 X 26*
	1,000	23		836 ± 10*	1.18 ± 0.02*	12.4 ± 0.2	2.12 ± 0.02*	661 ± 19	14.3 ± 0.3	14.3 ± 0.4	104 ± 7	70.5 ± 1.8	76.8 ± 2.6	254 ± 17	83 X 28*
	2,000	23		841 ± 15	1.15 ± 0.01	12.4 ± 0.2	2.13 ± 0.03*	649 ± 13*	14.2 ± 0.4	14.1 ± 0.5	101 ± 6	68.6 ± 1.7	72.4 ± 2.7	242 ± 10*	80 X 26*

a) : 6059-S was administered intravenously from day 17 of pregnancy until the day of weaning.  
 mg% or g% : mg or g per 100g body weight

\* : Statistically significant against control at P < 0.05  
 + : Mean ± S.E.

Table 4 Hematological data of F<sub>0</sub> female rats given intravenous injection of 6059-S<sup>a)</sup>

Treatment <sup>b)</sup> and daily dose (mg/kg)	No. of rats	WBC (x 10 <sup>3</sup> )	RBC (x 10 <sup>6</sup> )	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCV (μ <sup>3</sup> )	MCH (μg)	MCHC (%)
Control	23	8.6 ± 0.5 <sup>+</sup>	6.56 ± 0.06	14.5 ± 0.1	37.8 ± 0.4	56.7 ± 0.3	22.1 ± 0.1	38.4 ± 0.1
6059-S 500	24	7.4 ± 0.4	6.64 ± 0.10	14.9 ± 0.2	38.7 ± 0.5	57.4 ± 0.3	22.5 ± 0.1*	38.7 ± 0.1
1,000	22	9.3 ± 0.5	6.65 ± 0.08	14.9 ± 0.2	38.4 ± 0.3	57.0 ± 0.3	22.4 ± 0.1	38.8 ± 0.2
2,000	22	8.4 ± 0.7	6.18 ± 0.08*	14.0 ± 0.2	36.7 ± 0.5	58.3 ± 0.4*	22.7 ± 0.1*	38.3 ± 0.1

a) : Blood was collected by cutting the tail tip at the weaning.  
 b) : 6059-S was administered intravenously from day 17 of pregnancy until the day of weaning.  
 \* : Statistically significant against control at P < 0.05  
 + : Mean ± S.E.

果を Table 3 に示した。なお、この成績には、生存 F<sub>1</sub> 仔を哺育離乳したもののみを例数として取り上げた。剖検時、6059-S 投与全群で盲腸の肥大がみられた。この盲腸肥大分も含め、6059-S 投与群の体重は、対照群に比し増加していたため、各群の相対臓器重量は対照群に比し有意の減少を示すものが多かった。絶対重量、相対重量の両方で同方向への変化を示したのは、腎臓重量の増加、子宮重量の減少傾向のみであった。6059-S 投与群で、心、肝重量の減少傾向がみられたが、用量作用関係のないものであった。その他の臓器については特に変化がみられなかった。

解剖に先立ち、実施した血液学的検査の結果を示したのが Table 4 である。6059-S 2,000 mg/kg 投与群にのみ RBC 減少、MCV および MCH の増加、HGB, HCT の減少傾向など貧血傾向を示唆する変化がみられた。また、解剖時採血による血液生化学的分析では、6059-S 投与各群で総コレステロール、無機磷に用量作用関係のない軽度増加がみられ、1,000 および 2,000 mg/kg 群ではクレアチニンの増加もみられた。これらの変化は、6059-S の脂質代謝と腎機能への軽度な影響を示唆するが、尿素窒素には変化がみられなかった。

## II. F<sub>1</sub> に対する影響

### II-1. F<sub>1</sub> ラットの体重変化

6059-S 投与 F<sub>0</sub> ラットより生れた新生仔 (F<sub>1</sub>) の離乳時までの体重変化を Table 5 に、離乳以降の成長を Fig. 2 にそれぞれ示した。F<sub>1</sub> 仔の出生時体重は、6059-S 1,000 mg/kg 以上の投与群で雌雄とも用量作用関係をもって対照群に比し低かった。しかし、これら雌雄

F<sub>1</sub> 仔の体重は、生後 5 日より 15 日までに対照群と差がなくなり、生後 21 日目の測定では、逆に 6059-S 投与群雌雄で有意の増加またはその傾向がみられた。離乳時、体重の大かった 6059-S 投与群雌雄ラットは、4

Fig. 2 Effect of 6059-S given to mothers on body weight in F<sub>1</sub> male and female rats

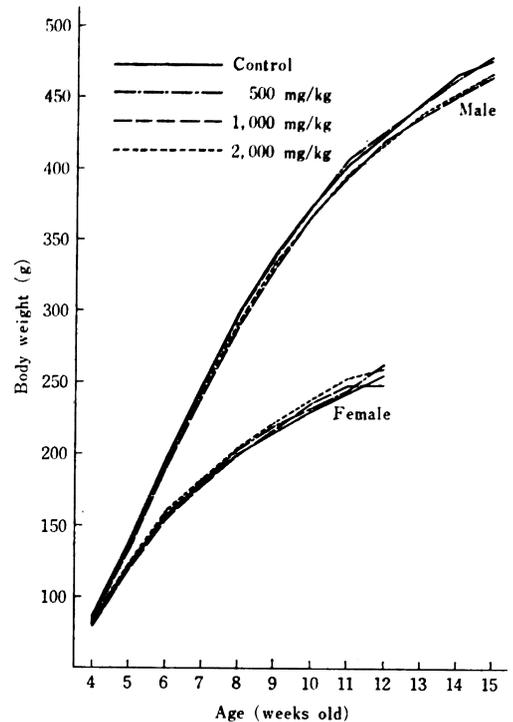


Table 5 Effect of 6059-S given to mother on growth during lactation in F<sub>1</sub> pups

Sex	Treatment and daily dose (mg/kg)	Day of lactation				
		At birth	5	10	15	21
Male	Control	5.5 ± 0.05 <sup>+</sup> (143)	10.7 ± 0.2 (90)	19.9 ± 0.3 (89)	30.6 ± 0.4 (88)	47.7 ± 0.6 (87)
	6059-S 500	5.4 ± 0.04 (156)	11.4 ± 0.1* (94)	21.0 ± 0.2* (94)	32.1 ± 0.3* (94)	50.1 ± 0.4* (94)
	1,000	5.2 ± 0.03* (176)	10.6 ± 0.1 (97)	20.1 ± 0.2 (97)	31.1 ± 0.3 (96)	49.3 ± 0.5* (93)
	2,000	5.0 ± 0.05* (180)	10.6 ± 0.2 (94)	19.9 ± 0.3 (88)	30.7 ± 0.4 (88)	48.5 ± 0.6 (88)
Female	Control	5.2 ± 0.05 (133)	10.4 ± 0.2 (92)	19.3 ± 0.3 (91)	29.8 ± 0.4 (90)	46.6 ± 0.6 (90)
	6059-S 500	5.2 ± 0.04 (159)	11.1 ± 0.1* (97)	20.6 ± 0.2* (97)	31.6 ± 0.3* (97)	49.6 ± 0.4* (97)
	1,000	4.9 ± 0.03* (159)	10.2 ± 0.1 (95)	19.4 ± 0.2 (95)	30.2 ± 0.3 (95)	48.1 ± 0.4* (90)
	2,000	4.7 ± 0.04* (178)	10.5 ± 0.2 (97)	19.6 ± 0.3 (93)	30.4 ± 0.3 (93)	48.3 ± 0.5* (93)

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

( ) : No. of pups examined

Table 6 Effect of 6059-S given to mother until the weaning on organ weights in F<sub>1</sub> male rats (3 weeks old: just after weaning)

Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Heart (mg%)	Lung (mg%)	Liver (g%)	Kidney (g%)	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 6059-S	41 500	520 ± 10 491 ± 5*	873 ± 15 835 ± 10*	4.10 ± 0.04 3.96 ± 0.04*	1.08 ± 0.01 1.02 ± 0.01*	519 ± 15 513 ± 12	5.4 ± 0.2 5.1 ± 0.1	12.1 ± 0.4 11.8 ± 0.2	444 ± 8 463 ± 7	27.9 ± 0.4 28.2 ± 0.5	18.2 ± 0.6 16.1 ± 0.3*	49.8 ± 1.1 49.8 ± 1.1	468 ± 6 457 ± 7	
	1,000 2,000	47 42	486 ± 6 498 ± 6	822 ± 6 838 ± 13	3.96 ± 0.05* 3.98 ± 0.05	1.02 ± 0.01* 1.03 ± 0.01*	510 ± 13 520 ± 12	5.0 ± 0.1 5.2 ± 0.1	11.7 ± 0.2 11.4 ± 0.2	453 ± 9 445 ± 7	27.2 ± 0.4 26.6 ± 0.4*	15.3 ± 0.3* 15.8 ± 0.4*	51.9 ± 1.3 53.1 ± 1.3	441 ± 5* 429 ± 7*	
Absolute organ weight	Control 6059-S	41 500	248 ± 6* 245 ± 3	414 ± 6 417 ± 5	1.97 ± 0.05 1.98 ± 0.03	518 ± 12 510 ± 8	251 ± 10 258 ± 7	2.5 ± 0.04 2.6 ± 0.04	5.7 ± 0.2 5.9 ± 0.1	212 ± 5 232 ± 5*	13.3 ± 0.3 14.1 ± 0.3*	8.6 ± 0.3 8.1 ± 0.2	23.8 ± 0.7 24.9 ± 0.5	225 ± 6 229 ± 5	21 × 9 29 × 10*
	1,000 2,000	47 42	240 ± 3 241 ± 4	406 ± 4 404 ± 7	1.96 ± 0.03 1.93 ± 0.05	505 ± 6 499 ± 10	253 ± 8 253 ± 8	2.5 ± 0.06 2.5 ± 0.05	5.8 ± 0.1 5.5 ± 0.1	224 ± 5 215 ± 5	13.4 ± 0.2 12.9 ± 0.3*	7.6 ± 0.1* 7.6 ± 0.2*	25.5 ± 0.6 25.6 ± 0.7	217 ± 2 208 ± 5*	30 × 11* 30 × 11*

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

\* : Statistically significant against control at P &lt; 0.05

+ : Mean ± S.E.

Table 7 Effect of 6059-S given to mother until the weaning on organ weights in F<sub>1</sub> female rats (3 weeks old: just after weaning)

Treatment <sup>a)</sup> and daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Heart (mg%)	Lung (mg%)	Liver (g%)	Kidney (g%)	Spleen (mg%)	Pituitary (mg%)	Thyroid (mg%)	Thymus (mg%)	Adrenal (mg%)	Ovary (mg%)	Uterus (mg%)	Caecum size (mm X mm)
Relative organ weight	Control 6059-S	44 500	537 ± 5 495 ± 4*	853 ± 15 796 ± 7*	4.32 ± 0.05 4.10 ± 0.04*	1.17 ± 0.01 1.11 ± 0.01*	525 ± 16 528 ± 10	5.9 ± 0.2 5.6 ± 0.1	12.5 ± 0.3 12.5 ± 0.2	455 ± 10 494 ± 8*	29.3 ± 0.6 29.1 ± 0.4	32.6 ± 0.7 32.3 ± 0.7	64.5 ± 1.4 61.4 ± 1.1	
	1,000 2,000	44 47	494 ± 4* 500 ± 5*	806 ± 9* 818 ± 10	4.04 ± 0.05* 4.05 ± 0.05*	1.10 ± 0.01* 1.06 ± 0.01*	537 ± 12 516 ± 12	5.8 ± 0.1 5.9 ± 0.1	12.5 ± 0.2 11.9 ± 0.2	465 ± 10 474 ± 9	28.2 ± 0.4 26.9 ± 0.4*	32.7 ± 0.7 31.7 ± 0.8	65.2 ± 1.4 60.7 ± 1.1*	
Absolute organ weight	Control 6059-S	44 500	248 ± 6* 245 ± 3	389 ± 6 393 ± 5	2.00 ± 0.05 2.03 ± 0.03	543 ± 13 547 ± 6	247 ± 11 261 ± 6	2.7 ± 0.06 2.8 ± 0.05	5.7 ± 0.2 6.2 ± 0.1*	210 ± 7 244 ± 4*	13.4 ± 0.3 14.4 ± 0.2*	15.1 ± 0.5 15.9 ± 0.3	29.5 ± 0.7 30.3 ± 0.6	21 × 9 28 × 10*
	1,000 2,000	44 47	236 ± 3 240 ± 4	384 ± 5 391 ± 5	1.94 ± 0.04 1.95 ± 0.04	526 ± 8 510 ± 10*	259 ± 8 249 ± 8	2.8 ± 0.05 2.8 ± 0.05	6.0 ± 0.1 5.7 ± 0.1	223 ± 6 227 ± 5*	13.5 ± 0.3 12.8 ± 0.2	15.6 ± 0.3 15.2 ± 0.4	31.0 ± 0.6 29.1 ± 0.7	29 × 11* 30 × 11*

a) : 6059-S was administered intravenously from day 17 of pregnancy until the day of weaning.

\* : Statistically significant against control at P &lt; 0.05

+ : Mean ± S.E.

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

Table 8 Effect of 6059-S given to mother until weaning on the growth and puberty of F<sub>1</sub> male and female rats<sup>a)</sup>

Sex	Treatment and daily dose (mg/kg)	Auricular development	Hair growth	Teething	Eye opening	Puberty		
						Male penile type		Female Vaginal opening
						W type	U type	
Male	Control	2.9 ± 0.1 <sup>+</sup> (90)	7.2 ± 0.04 (89)	10.1 ± 0.1 (89)	14.5 ± 0.1 (87)	31.9 ± 0.3 (46)	44.2 ± 0.3 (46)	
	6059-S 500	2.9 ± 0.1 (94)	7.0 ± 0.02* (94)	10.9 ± 0.1* (94)	14.3 ± 0.1 (94)	31.5 ± 0.2 (48)	44.2 ± 0.2 (48)	
	1,000	2.9 ± 0.1 (97)	7.0 (97)	10.8 ± 0.1* (97)	14.4 ± 0.1 (96)	32.1 ± 0.2 (46)	44.2 ± 0.3 (46)	
	2,000	2.7 ± 0.1* (94)	7.1 ± 0.03 (92)	10.7 ± 0.1* (88)	14.5 ± 0.1 (88)	32.1 ± 0.3 (46)	44.0 ± 0.3 (46)	
Female	Control	2.9 ± 0.1 <sup>+</sup> (92)	7.2 ± 0.04 (92)	10.3 ± 0.1 (90)	14.5 ± 0.1 (90)			32.9 ± 0.4 (46)
	6059-S 500	2.8 ± 0.1 (97)	7.1 ± 0.03* (97)	10.9 ± 0.1* (97)	14.3 ± 0.1* (97)			32.1 ± 0.2 (48)
	1,000	2.9 ± 0.1 (95)	7.0 (95)	10.8 ± 0.1* (95)	14.3 ± 0.1* (95)			32.7 ± 0.3 (46)
	2,000	2.7 ± 0.1* (97)	7.1 ± 0.03 (97)	10.5 ± 0.1 (93)	14.5 ± 0.1 (93)			32.3 ± 0.2 (46)

a) : All parameters are expressed as days old of age.

\* : Statistically significant against control at P &lt; 0.05

+ : Mean ± S.E.

( ) : No. of rats examined

Table 9 Functional test<sup>a)</sup> data on F<sub>1</sub> male and female rats born from the mothers given 6059-S intravenously until the weaning

Treatment and daily dose (mg/kg)	Male				Female				
	Control	6059-S		Control	6059-S		Control	6059-S	
		500	1,000		2,000	500		1,000	2,000
No. of rats examined	23	24	23	23	23	23	23	23	23
Reflex									
Auricle reflex	23/23 <sup>b)</sup>	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
Pain reflex	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
Corneal reflex	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
Righting reflex	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
Visual placing response	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
Withdrawal reflex	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
Auditory (Preyer reflex)									
500 Htz: 40 db	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
8000 Htz: 10 db	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23	23/23	24/24	23/23
Rotor rod test									
(1st) No. of failure rats over 10 times	6/23	3/24	3/23	1/23	0/23	0/23	0/23	0/24	0/23
Mean times of failure	2.9 ± 0.5 <sup>+</sup>	3.3 ± 0.3	3.7 ± 0.4	4.0 ± 0.3	3.1 ± 0.3	3.0 ± 0.4	3.0 ± 0.4	3.0 ± 0.4	2.7 ± 0.3
(2nd) No. of failure rats over 10 times	5/23	1/24	0/23	0/23	0/23	0/24	0/23	0/24	0/23
Mean times of failure	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.5	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2
Open field test									
(1st) Latency	9.8 ± 0.9	9.9 ± 0.7	12.8 ± 1.3	9.1 ± 0.9	9.7 ± 0.8	9.4 ± 0.9	9.8 ± 1.1	10.2 ± 1.2	
Ambulation	57 ± 5	66 ± 2	63 ± 4	62 ± 4	57 ± 4	64 ± 3	61 ± 4	56 ± 4	
Rearing	7.1 ± 0.6	6.0 ± 0.6	6.1 ± 0.5	6.5 ± 0.5	6.3 ± 0.5	6.8 ± 0.6	6.4 ± 0.8	6.8 ± 0.5	
Preening	1.1 ± 0.4	0.9 ± 0.4	1.0 ± 0.4	1.2 ± 0.5	0	0.3 ± 0.3	1.0 ± 0.4	0	
(2nd) Latency	6.5 ± 0.8	4.8 ± 0.5	4.5 ± 0.6	4.1 ± 0.4*	5.8 ± 0.9	3.6 ± 0.5	4.1 ± 0.6	5.4 ± 1.1	
Ambulation	54 ± 4	63 ± 4	70 ± 4*	68 ± 4*	58 ± 5	73 ± 5*	62 ± 5	63 ± 6	
Rearing	8.5 ± 0.6	5.5 ± 0.7*	6.7 ± 0.7	6.0 ± 0.6*	7.1 ± 0.7	8.0 ± 0.9	7.4 ± 1.1	7.0 ± 0.8	
Preening	2.9 ± 0.8	3.2 ± 0.7	3.4 ± 0.9	3.6 ± 0.7	0.6 ± 0.4	0.7 ± 0.4	0.8 ± 0.5	0.3 ± 0.3	

a) : Functional test were examined at age of 7 weeks old

b) : No. of positive rats per No. of examined rats

\* : Statistically significant against control at P &lt; 0.05

+ : Mean ± S.E.

週令時には対照群との比較で体重の差はみられなくなり、以後、雄ラットは 15 週令まで、雌ラットでは 11 週令までいずれも対照群との体重差は見られなかった。

## II-2. F<sub>1</sub> ラット離乳時の解剖成績

離乳直後に屠殺解剖した、約半数の雌雄 F<sub>1</sub> ラットの成績を示したのが Table 6 (雄ラット) および Table 7 (雌ラット) である。6059-S を直接投与されていないにもかかわらず、各投与群雌雄 F<sub>1</sub> ラットの盲腸は肥大していた。雄 F<sub>1</sub> 仔では、腎臓、精囊、睪丸等の重量がわずかに減少しており、雌 F<sub>1</sub> 仔でも肝臓、腎臓重量に減少傾向がみられた。他の臓器にも有意差のある変化が散見されたが、いずれも明瞭な用量作用関係を示さないものであった。

## II-3. F<sub>1</sub> ラットの発育および性成熟

Table 8 に F<sub>1</sub> ラットの発育および性成熟発現を示し

た。離乳時までの発育に関する観察項目中には、母体に投与した 6059-S により遅延、促進が生じたといえるような特記すべき変化はみられなかった。雄ラットでは penis 先端の形態変化、雌ラットでは膣開口を指標として性成熟発現日を調べたが、6059-S 群はいずれも対照群と発現日に差はみられなかった。

## II-4. F<sub>1</sub> ラットの機能試験

F<sub>1</sub> ラット 7 週令時の機能検査の結果を示したのが Table 9 である。諸反射、聴覚機能、運動協調性、情動性などの検査を行なったが、いずれの指標でも異常は全くみられなかった。

## II-5. F<sub>1</sub> 雌ラットの性周期

6059-S 投与群由来の F<sub>1</sub> 雌ラットの性周期を調べたが、いずれの群でも 4 日または 5 日の性周期がくり返され、異常はみられなかった。

Table 10 Effect of 6059-S given to mothers (F<sub>0</sub>) until weaning on various reproductive processes in F<sub>1</sub> and viability of F<sub>2</sub> rats

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. of males	23	24	23	23
No. of females	23	24	23	23
Copulation index (%) Male	96 (22/23)	96 (23/24)	100 (23/23)	100 (23/23)
Female	100 (23/23)	96 (23/24)	100 (23/23)	100 (23/23)
Fertility index in male (%)	95 (21/22)	100 (23/23)	100 (23/23)	96 (22/23)
Pregnancy index in female (%)	91 (21/23)	100 (23/23)	100 (23/23)	96 (22/23)
No. rats autopsied on day 21 of pregnancy	9	11	11	10
Gestation period (day)	22.4 ± 0.2 <sup>+</sup>	22.3 ± 0.1	22.1 ± 0.1	22.2 ± 0.1
Parturition index (%)	100 (12/12)	100 (12/12)	100 (12/12)	100 (12/12)
No. total pups	130	153	138	148
No. live pups	130	146	132	140
(Male/Female)	(77/53)	(79/67)	(63/69)	(69/71)
No. dead pups (Atelectasis)	0	7 (6)	6 (5)	8 (5)
Mean litter size	10.8 ± 0.9	12.8 ± 0.3	11.5 ± 0.8	12.3 ± 0.7
48-hr viability index (%) (Male/Female)	97 (126/130) (76/50)	95 (139/146) (76/63)	95 (126/132) (59/67)	95 (133/140) (65/68)
Lactation index (%) (Male/Female)	94 (89/95) (56/33)	99 (95/96) (49/46)	99 (95/96) (47/48)	99 (95/96) (46/49)
Ano-genital distance on day 2 (mm) Male	3.92 ± 0.07	4.04 ± 0.06	3.96 ± 0.11	4.19 ± 0.05*
Female	2.04 ± 0.05	1.96 ± 0.04	1.98 ± 0.04	2.07 ± 0.05
No. external anomaly	0	0	1 <sup>a)</sup>	0

Fertility index=(No. males impregnate/No. males copulated)×100

Pregnancy index=(No. females pregnant/No. females copulated)×100

\* : Statistically significant against control at P < 0.05 + : Mean ± S.E.

a) : Tailless ( ) : No. of rats or pups

II-6. F<sub>1</sub> 雌雄ラットの交配成績

F<sub>1</sub> 雌雄ラットの交配成績を Table 10 に示した。各群とも F<sub>1</sub> 同志の交尾率、妊娠率は極めて高く、6059-S 群はいずれも対照群をしのぐ成績を示した。交尾不成立は 6059-S 500 mg/kg 群の 1 例のみで、これは雌ラットが偽妊娠であったことに原因したものであった。また、交尾不妊は、対照群で 2 例、6059-S 2,000 mg/kg 群で 1 例みられた。これら繁殖不成功雌雄ラットを正常ラットと同居交配させたところ、6059-S 群のラットはいずれも正常に交配し、妊娠も正常であった。これに対し、対照群ラットに依然として交尾不成立がみられ、解剖所見では睾丸萎縮が著明であった。F<sub>1</sub> 雌ラットの妊娠時および哺育時の体重増加は正常で、対照群との差はみられなかった。

II-7. F<sub>1</sub> 妊娠ラットの解剖成績

F<sub>1</sub> 妊娠ラットのうち、各群 9~11 例を胎仔発育観察の目的で妊娠第 21 日に解剖した。その成績を示したのが Table 11 である。6059-S 500 mg/kg 群で妊卵着床

率、胎仔生存性などがやや減少し、2,000 mg/kg 群では雌雄胎仔体重が減少していたが、いずれも用量作用関係のない変化であり、その程度もわずかであった。外形異常を示す胎仔はなかった。

II-8. F<sub>1</sub> の分娩成績および F<sub>2</sub> 仔の生存性

F<sub>1</sub> 妊娠ラットの約半数は F<sub>2</sub> 仔を自然分娩させた。Table 10 に示したように、F<sub>1</sub> 妊娠ラットは全例 F<sub>2</sub> 仔を分娩し、妊娠期間も正常であった。分娩はいずれも正常で、F<sub>2</sub> 仔の死産、出生直後の死亡なども少なく、出生後 48 時間までの F<sub>2</sub> 仔生存性も対照群と 6059-S 投与群間に差はなかった。リッターサイズ調整後、離乳までの F<sub>2</sub> 仔生存性では、6059-S 投与群のほうが対照群よりも良好であった。なお、6059-S 1,000 mg/kg 群の F<sub>2</sub> 仔に無尾の外形異常のあるラットが 1 例出現した。

II-9 F<sub>1</sub> ラットの解剖成績

F<sub>1</sub> 同志の同居交配を終えた雄ラットは生後 15 週令で、また F<sub>2</sub> 仔を分娩し離乳時まで哺育した雌ラットを離乳時にそれぞれ解剖し、主要臓器重量を測定した。そ

Table 11 Fetal development in F<sub>1</sub> pregnant rats (observed on day 21 of pregnancy)

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6059-S		
		500	1,000	2,000
No. of pregnant rats	9	11	11	10
No. of corpora lutea (Per litter)	135 15.0 ± 0.9 <sup>+</sup>	165 15.0 ± 0.6	159 14.5 ± 0.7	153 15.3 ± 1.0
No. of implantation sites (Per litter)	121 13.4 ± 0.9 <sup>+</sup>	138 12.6 ± 0.6	146 13.3 ± 0.6	136 13.6 ± 0.7
Implantation ratio (%)	90	84	92	89
No. of living fetuses (Litter size) (Male/Female)	113 12.6 ± 1.0 <sup>+</sup> 57/56	116 10.6 ± 0.9 59/57	135 12.3 ± 0.5 69/66	134 13.4 ± 0.7 59/75
No. of resorbed fetuses (Per litter)	8 0.9 ± 0.3 <sup>+</sup>	21 1.9 ± 0.5	11 1.0 ± 0.4	2 0.2 ± 0.1
No. of macerated fetuses	0	1	0	0
Fetal viability (%)	93	84*	92	99
Fetal body weight (g)				
Male	4.97 ± 0.04	4.94 ± 0.05	4.96 ± 0.04	4.76 ± 0.06*
Female	4.74 ± 0.04	4.59 ± 0.05*	4.75 ± 0.05	4.53 ± 0.05*
No. of external malformation	0	0	0	0

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

Table 12 Effect of 6059-S given to mother on organ weights in F<sub>1</sub> male rats (15 weeks old)

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)
Control	21	480 ± 7 <sup>+</sup>	258 ± 4	294 ± 6	3.49 ± 0.05	572 ± 9	184 ± 4	2.7 ± 0.06	3.6 ± 0.1	61.9 ± 3.6	10.1 ± 0.3	97 ± 3	104 ± 5	748 ± 21	
6059-S	500	482 ± 8	254 ± 3	284 ± 4	3.35 ± 0.08	562 ± 7	175 ± 5	2.6 ± 0.04	3.8 ± 0.1	78.8 ± 3.6*	9.8 ± 0.4	86 ± 2*	93 ± 4	764 ± 19	
	1,000	469 ± 6	246 ± 3*	287 ± 5	3.31 ± 0.06	556 ± 8	180 ± 4	2.7 ± 0.04	3.9 ± 0.1	72.8 ± 3.4*	9.7 ± 0.3	89 ± 2*	96 ± 4	813 ± 16*	
	2,000	472 ± 7	251 ± 3	287 ± 3	3.30 ± 0.05	555 ± 8	175 ± 6	2.6 ± 0.04	3.8 ± 0.1	75.7 ± 4.9*	9.8 ± 0.3	97 ± 3	106 ± 5	858 ± 15*	
Absolute organ weight															
Control	21		1.24 ± 0.03 <sup>+</sup>	1.41 ± 0.02	16.8 ± 0.4	2.74 ± 0.06	882 ± 21	12.8 ± 0.4	17.5 ± 0.5	298 ± 18	48.3 ± 1.3	464 ± 12	499 ± 25	3.57 ± 0.07	49 × 19
6059-S	500	24	1.22 ± 0.02	1.37 ± 0.02	16.2 ± 0.5	2.71 ± 0.05	838 ± 24	12.6 ± 0.3	18.5 ± 0.6	380 ± 18*	47.0 ± 1.6	415 ± 13*	444 ± 19	3.66 ± 0.07	48 × 19
	1,000	23	1.15 ± 0.02*	1.34 ± 0.02*	15.5 ± 0.4*	2.61 ± 0.05	842 ± 21	12.2 ± 0.3	18.2 ± 0.6	340 ± 15	45.4 ± 1.7	416 ± 10*	452 ± 17	3.80 ± 0.07*	48 × 19
	2,000	23	1.18 ± 0.02	1.35 ± 0.02	15.6 ± 0.4*	2.62 ± 0.05	821 ± 26	12.5 ± 0.3	17.7 ± 0.5	355 ± 21*	46.2 ± 1.5	457 ± 11	496 ± 24	4.04 ± 0.06*	47 × 18*

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

\* : Statistically significant against control at P &lt; 0.05

+ : Mean ± S.E.

Table 13 Effect of 6059-S given to mother on organ weights in F<sub>1</sub> female rats (F<sub>1</sub> maternal rats)

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%)	Uterus (mg%)	Caecum size (mm x mm)
Control	12	294 ± 8 <sup>+</sup>	288 ± 6	390 ± 8	4.19 ± 0.08	615 ± 12	194 ± 8	4.4 ± 0.1	5.2 ± 0.2	48.5 ± 6.8	20.2 ± 0.8	26.6 ± 1.0	100 ± 6	
6059-S	500	289 ± 4	284 ± 5	386 ± 7	4.35 ± 0.08	629 ± 13	177 ± 6	4.2 ± 0.2	5.6 ± 0.2	45.3 ± 2.6	19.3 ± 1.1	27.3 ± 0.9	105 ± 8	
	1,000	286 ± 6	284 ± 5	383 ± 6	4.09 ± 0.06	582 ± 20	189 ± 9	4.2 ± 0.1	4.9 ± 0.2	43.1 ± 3.8	20.7 ± 1.1	26.1 ± 0.9	109 ± 8	
	2,000	291 ± 7	289 ± 7	388 ± 9	4.13 ± 0.07	620 ± 11	185 ± 5	4.3 ± 0.1	4.8 ± 0.2	45.0 ± 2.5	21.6 ± 0.7	28.5 ± 1.5	103 ± 6	
Absolute organ weight														
Control	12		842 ± 19 <sup>+</sup>	1.14 ± 0.03	12.3 ± 0.4	1.80 ± 0.03	566 ± 19	13.0 ± 0.5	15.2 ± 0.9	140 ± 17	59.2 ± 2.3	77.9 ± 3.2	292 ± 19	53 × 19
6059-S	500	12	821 ± 18	1.11 ± 0.01	12.6 ± 0.3	1.81 ± 0.04	511 ± 18*	12.0 ± 0.4	16.1 ± 0.5	131 ± 7	55.3 ± 2.6	78.8 ± 2.7	299 ± 20	54 × 17*
	1,000	12	814 ± 21	1.10 ± 0.03	11.7 ± 0.3	1.66 ± 0.05*	543 ± 28	12.1 ± 0.5	14.0 ± 0.7	125 ± 13	58.9 ± 2.8	74.9 ± 3.2	313 ± 27	54 × 18
	2,000	12	841 ± 28	1.13 ± 0.03	12.0 ± 0.4	1.80 ± 0.05	538 ± 19	12.4 ± 0.5	13.8 ± 0.8	131 ± 8	62.6 ± 1.7	83.3 ± 5.4	301 ± 21	53 × 19

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

\* : Statistically significant against control at P &lt; 0.05

+ : Mean ± S.E.

の成績を示したのが Table 12 および Table 13 である。雄ラットで、絶対および相対重量いずれにも用量作用関係をもって臍丸重量の増加が認められた。この他、肝臓では重量減少傾向、胸腺では逆に重量増加傾向がみられた。この F<sub>1</sub> 雄ラットでは盲腸肥大はまったく認められなかった。

一方、F<sub>2</sub> 仔を哺育した F<sub>1</sub> 母ラットの離乳直後の解剖では、F<sub>1</sub> の 3 週令時にみられた肝臓、腎臓などの重量減少傾向や盲腸の肥大などはまったく認められず、他の臓器にも対照群と 6059-S 各群の間に特記すべき重量

変化はみられなかった。

#### II-10. F<sub>1</sub> ラットの血液検査

これら F<sub>1</sub> 雌雄ラットの解剖に先立ち、血液検査を行った。その成績を Table 14 に示した。雌雄ラットとも、いずれの指標でも対照群と 6059-S 群の間に差が認められなかった。

#### III. F<sub>2</sub> ラットに対する影響

##### III-1. F<sub>2</sub> ラットの体重変化

F<sub>2</sub> ラットの体重変化を Table 15 に示した。6059-S 群の雌体重が出生時対照群に比し減少傾向を示し、

Table 14 Hematological data of F<sub>1</sub> male and female rats born from the mother rats given intravenous injection of 6059-S

Sex	Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	WBC (× 10 <sup>3</sup> )	RBC (× 10 <sup>6</sup> )	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCV (μ <sup>3</sup> )	MCH (μg)	MCHC (%)
Male <sup>a)</sup>	Control	21	14.5 ± 0.9 <sup>+</sup>	8.12 ± 0.07	15.8 ± 0.2	41.3 ± 0.3	50.6 ± 0.3	19.4 ± 0.1	38.3 ± 0.1
	6059-S 500	24	12.8 ± 0.5	8.06 ± 0.07	16.0 ± 0.1	41.9 ± 0.3	51.6 ± 0.3*	19.8 ± 0.1	38.1 ± 0.2
	1,000	23	13.0 ± 0.6	8.01 ± 0.06	15.8 ± 0.1	41.4 ± 0.3	51.3 ± 0.3	19.7 ± 0.1	38.3 ± 0.1
	2,000	23	12.5 ± 0.6	8.25 ± 0.09	16.2 ± 0.2	42.3 ± 0.4	51.1 ± 0.3	19.5 ± 0.1	38.2 ± 0.1
Female <sup>b)</sup>	Control	12	8.9 ± 0.7 <sup>+</sup>	6.89 ± 0.13	14.7 ± 0.2	39.6 ± 0.6	57.3 ± 0.7	21.3 ± 0.3	37.1 ± 0.2
	6059-S 500	12	6.6 ± 0.4*	6.74 ± 0.08	14.4 ± 0.1	38.8 ± 0.3	56.5 ± 0.3	21.3 ± 0.2	37.2 ± 0.1
	1,000	12	8.0 ± 0.4	6.88 ± 0.08	14.5 ± 0.1	39.1 ± 0.4	56.3 ± 0.6	21.0 ± 0.2	37.0 ± 0.1
	2,000	12	8.6 ± 1.0	6.96 ± 0.09	14.9 ± 0.2	40.0 ± 0.6	57.0 ± 0.7	21.4 ± 0.2	37.3 ± 0.2

a) : Blood was collected by cutting the tail tip at 15 weeks old

b) : Blood was collected by cutting the tail tip at the weaning of F<sub>2</sub> pups

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

Table 15 Body weight changes of F<sub>2</sub> pups during lactation

Sex	Treatment and daily dose (mg/kg)	Day of lactation				
		At birth	5	10	15	21
Male	Control	5.8 ± 0.1 <sup>+</sup> (77)	11.0 ± 0.2 (58)	19.6 ± 0.5 (57)	29.8 ± 0.5 (56)	45.8 ± 0.9 (56)
	6059-S 500	5.8 ± 0.1 (78)	11.9 ± 0.1* (50)	21.0 ± 0.3* (49)	30.8 ± 0.5 (49)	47.3 ± 0.7 (49)
	1,000	5.8 ± 0.1 (63)	12.3 ± 0.2* (47)	22.1 ± 0.4* (47)	32.5 ± 0.5* (47)	49.0 ± 0.9* (47)
	2,000	5.8 ± 0.1 (68)	12.0 ± 0.3* (46)	21.6 ± 0.5* (46)	32.5 ± 0.6* (46)	48.6 ± 1.1 (46)
Female	Control	5.7 ± 0.1 <sup>+</sup> (53)	10.7 ± 0.3 (37)	17.8 ± 0.6 (36)	27.9 ± 0.9 (34)	44.7 ± 0.9 (33)
	6059-S 500	5.5 ± 0.1 (68)	11.4 ± 0.2* (46)	20.6 ± 0.3* (46)	30.1 ± 0.5* (46)	46.6 ± 0.7 (46)
	1,000	5.5 ± 0.1 (69)	11.8 ± 0.2* (49)	21.5 ± 0.4* (48)	31.7 ± 0.5* (48)	48.5 ± 0.8* (48)
	2,000	5.4 ± 0.1* (71)	11.0 ± 0.2 (50)	20.4 ± 0.4* (49)	30.8 ± 0.6* (49)	47.1 ± 1.0 (49)

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

( ) : No. of pups examined

2,000 mg/kg 群では有意差がみられたが、以後の体重は雌雄 F<sub>2</sub> 仔とも順調に増加し、むしろ 6059-S 群のほうが対照群より高値を維持した。この変化は離乳時まで継続したが、離乳時に有意差がみられたのは 6059-S 1,000 mg/kg 群雌雄ラットのみであった。

### III-2. F<sub>2</sub> ラットの発育

出生より離乳時までの F<sub>2</sub> ラットの発育観察の結果を Table 16 に示した。6059-S 2,000 mg/kg 群の雌雄ラットで耳介開展、生毛が、1,000 mg/kg 群の雄ラットで歯の萌出の極めてわずかな遅延がみられたが、用量作用関係もなく、6059-S の影響とは考えられないものであった。

### III-3. F<sub>2</sub> ラットの解剖成績

雄ラットの臓器重量を Table 17 に、雌ラットの臓器重量を Table 18 に示した。雌雄ラットとも各臓器に相対および絶対重量に、対照群と比べ用量作用関係のある有意の変化を認めず、わずかに雌ラットで用量作用関係のない腎臓、下垂体重量の増加傾向、子宮重量の減少傾向がうかがわれたにすぎなかった。

## 考 察

ラット妊娠後期の妊娠第 17 日より、6059-S を静脈内に連続投与しつつ、次世代 (F<sub>1</sub>) を自然分娩させ、この F<sub>1</sub> 哺育中も母ラット (F<sub>0</sub>) への投与を継続した。さ

らに、F<sub>1</sub> は離乳後も飼育を継続し、その生殖能を F<sub>2</sub> 仔を得ることで検索した。妊娠 F<sub>0</sub> ラットに 6059-S を投与した際、2,000 mg/kg 投与群で分娩時に 2 例、哺育期に 1 例、また 1,000 mg/kg 投与群で哺育期に 1 例の死亡がみられた。別に行なった亜急性毒性試験においては、このような投与量で死亡例はまったく出現していない<sup>1)</sup>。従って、この死因として、この時期のラットの薬剤に対する高感受性も考えられるが、これらラットは死亡直前まで、体重減少や一般状態の悪化のないこと、解剖により急性の循環障害の所見を認めたことなどから、急性毒性試験時にみられた循環障害による死因と類似の機序と考えられた。いずれにしても、これらの死亡例は少数にすぎず、6059-S がラット妊娠の進行、分娩などに悪影響を与えているとは考え難い。

6059-S を投与された F<sub>0</sub> ラットの解剖成績で最も明瞭に認められた臓器変化は盲腸の肥大であった。Cephalosporin 系抗生物質投与によりラットで盲腸肥大が生ずることはよく知られており<sup>6-10)</sup>、本化合物のラット亜急性毒性試験でも同様の結果が報告されている<sup>1)</sup>。本実験では、盲腸肥大を、6059-S を直接投与された F<sub>0</sub> ラットに認めるとともに、この F<sub>0</sub> ラットに哺育された F<sub>1</sub> 離乳仔にも同様な盲腸肥大が観察された。F<sub>1</sub> 仔には本化合物を直接投与していないので、この盲腸肥大の原因

Table 16 Growth and development of F<sub>2</sub> pups during lactation<sup>a)</sup>

Sex	Treatment and daily dose (mg/kg)	Auricular development	Hair growth	Teething	Eye opening
Male	Control	2.7 ± 0.1 <sup>+</sup> (58)	6.9 ± 0.03 (58)	10.3 ± 0.2 (58)	14.5 ± 0.2 (56)
	6059-S 500	2.7 ± 0.1 (50)	7.0 (50)	10.4 ± 0.2 (49)	14.7 ± 0.1 (49)
	1,000	2.9 ± 0.1 (47)	6.9 ± 0.05 (47)	11.2 ± 0.2* (47)	14.4 ± 0.1 (47)
	2,000	2.9 ± 0.1 (46)	7.1 ± 0.04* (46)	10.6 ± 0.2 (46)	14.2 ± 0.1 (46)
Female	Control	2.7 ± 0.1 <sup>+</sup> (37)	6.9 ± 0.05 (37)	10.7 ± 0.2 (37)	14.6 ± 0.2 (33)
	6059-S 500	2.7 ± 0.1 (46)	7.0 (46)	10.5 ± 0.2 (46)	14.3 ± 0.1 (46)
	1,000	2.7 ± 0.1 (49)	6.8 ± 0.1 (49)	10.7 ± 0.2 (48)	14.3 ± 0.1 (48)
	2,000	3.0 ± 0.1* (50)	7.1 ± 0.04* (49)	10.9 ± 0.2 (49)	14.1 ± 0.1* (49)

a) : All parameters are expressed as days old of age.

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

( ) : No. of pups examined

Table 17 Autopsy data of F<sub>2</sub> male rats (3 weeks old; just after weaning)

	Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Heart (mg%)	Lung (mg%)	Liver (g%)	Kidney (g%)	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	24	46.7 ± 1.2*	487 ± 6	895 ± 14	4.51 ± 0.08	1.10 ± 0.02	491 ± 23	5.1 ± 0.1	11.3 ± 0.2	431 ± 15	28.2 ± 0.5	17.3 ± 0.4	51.2 ± 1.5	477 ± 9	
	6059-S	500	47.7 ± 0.8	492 ± 8	866 ± 11	4.31 ± 0.09	1.06 ± 0.01	494 ± 13	4.9 ± 0.2	11.6 ± 0.2	457 ± 12	27.8 ± 0.6	16.2 ± 0.5	49.2 ± 1.9	476 ± 9	
	1,000	29	49.5 ± 1.3	483 ± 9	865 ± 9	4.18 ± 0.06*	1.08 ± 0.02	502 ± 19	5.2 ± 0.1	11.5 ± 0.3	428 ± 12	29.1 ± 0.6	15.7 ± 0.4*	51.3 ± 1.8	491 ± 10	
	2,000	23	48.3 ± 1.6	483 ± 8	874 ± 18	4.32 ± 0.10	1.06 ± 0.02	470 ± 18	5.1 ± 0.2	10.7 ± 0.3	420 ± 14	27.1 ± 0.5	16.7 ± 0.5	51.6 ± 2.3	477 ± 7	
Absolute organ weight	Control	24		227 ± 6 <sup>+</sup>	415 ± 8	2.11 ± 0.07	512 ± 13	233 ± 14	2.4 ± 0.1	5.3 ± 0.1	204 ± 10	13.2 ± 0.4	8.0 ± 0.3	24.0 ± 0.9	223 ± 7	20 X 8
	6059-S	500		234 ± 4	412 ± 6	2.05 ± 0.04	506 ± 7	235 ± 7	2.3 ± 0.1	5.5 ± 0.1	217 ± 5	13.2 ± 0.3	7.7 ± 0.3	23.6 ± 1.0	227 ± 4	21 X 8
	1,000	29		238 ± 6	426 ± 10	2.07 ± 0.06	532 ± 14	250 ± 13	2.6 ± 0.1	5.7 ± 0.2	212 ± 9	14.3 ± 0.4*	7.7 ± 0.2	25.3 ± 1.1	242 ± 7	20 X 7
	2,000	23		233 ± 8	416 ± 8	2.08 ± 0.07	512 ± 18	229 ± 13	2.4 ± 0.1	5.1 ± 0.2	204 ± 10	13.0 ± 0.4	8.0 ± 0.3	24.9 ± 1.4	230 ± 8	22 X 8

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

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

Table 18 Autopsy data of F<sub>2</sub> female rats (3 weeks old; just after weaning)

	Treatment and daily dose (mg/kg)	No. of rats	Body weight (g)	Heart (mg%)	Lung (mg%)	Liver (g%)	Kidney (g%)	Spleen (mg%)	Pituitary (mg%)	Thyroid (mg%)	Thymus (mg%)	Adrenal (mg%)	Ovary (mg%)	Uterus (mg%)	Caecum size (mm X mm)
Relative organ weight	Control	18	43.6 ± 1.3*	497 ± 6	880 ± 14	4.47 ± 0.10	1.16 ± 0.02	483 ± 26	5.5 ± 0.2	11.9 ± 0.5	465 ± 14	28.2 ± 0.5	32.6 ± 0.8	67.4 ± 2.6	
	6059-S	500	47.4 ± 1.0*	495 ± 9	840 ± 9*	4.44 ± 0.08	1.12 ± 0.01	498 ± 11	5.5 ± 0.1	12.1 ± 0.3	462 ± 10	29.0 ± 0.6	34.5 ± 1.5	59.2 ± 1.1*	
	1,000	24	48.6 ± 1.1*	482 ± 7	827 ± 13*	4.35 ± 0.04	1.14 ± 0.01	476 ± 15	5.7 ± 0.2	11.6 ± 0.2	460 ± 11	29.1 ± 0.9	30.8 ± 1.2	58.8 ± 1.4*	
	2,000	25	47.0 ± 1.4	485 ± 5	850 ± 15	4.42 ± 0.09	1.15 ± 0.02	491 ± 14	5.9 ± 0.2	11.7 ± 0.3	453 ± 13	27.4 ± 0.6	33.1 ± 1.0	58.7 ± 1.9*	
Absolute organ weight	Control	18		217 ± 8 <sup>+</sup>	382 ± 10	1.95 ± 0.08	503 ± 17	214 ± 16	2.4 ± 0.1	5.2 ± 0.2	203 ± 9	12.3 ± 0.5	14.3 ± 0.6	29.3 ± 1.3	20 X 8
	6059-S	500		235 ± 7	397 ± 7	2.11 ± 0.06	534 ± 14	237 ± 8	2.6 ± 0.1	5.7 ± 0.1*	219 ± 7	13.7 ± 0.3*	16.2 ± 0.7*	28.1 ± 0.8	21 X 7
	1,000	24		234 ± 6	400 ± 6	2.11 ± 0.05	556 ± 12*	232 ± 10	2.7 ± 0.1*	5.6 ± 0.1	225 ± 9	14.0 ± 0.4*	15.0 ± 0.7	28.4 ± 0.7	21 X 7
	2,000	25		229 ± 8	395 ± 8	2.08 ± 0.07	542 ± 20	232 ± 10	2.7 ± 0.1*	5.5 ± 0.2	214 ± 10	12.7 ± 0.3	15.7 ± 0.7	27.2 ± 0.9	21 X 7

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

\* : Statistically significant against control at P < 0.05

+ : Mean ± S.E.

は乳汁を介して 6059-S が母ラットから経口的に仔ラットに及んだためと思われる。6059-S 2,000 mg/kg 投与 F<sub>0</sub> ラットでは、対照群に比して妊娠末期の体重増加抑制傾向がみられたが、著明の差といえず、分娩時の体重には両者間に差はみられなかった。出生直後の F<sub>1</sub> 仔の体重は、1,000 mg/kg 以上の投与群で低かったが、生後 5日 には対照群の体重に回復している。授乳中の F<sub>0</sub> および哺乳中の F<sub>1</sub> 仔の体重増加は対照群より順調であった。この順調な体重増加は盲腸肥大を反映したのもと考えられる。

これら F<sub>1</sub> 仔の生殖能、妊娠、分娩などに関しては特記すべき異常はみられず、F<sub>2</sub> 仔の出生、発育などにも変化はみられなかった。生殖能などになんらの異常も出現しないことは、別に行なわれた本化合物の催奇形性試験でも確認されている。

従って、6059-S は、ラット周産期、授乳期に連続投与しても、極めて高用量投与時にのみ、妊娠ラットの体重増加や、新生仔体重や生存性へ、ごく軽度に影響するのみで、新生仔の成長、発育、諸機能、生殖能などにはなんら影響を及ぼさない化合物といえる。盲腸肥大という Cephalosporin 系抗生物質に特有の現象を除くと、ラットを用いた生殖能に対する 6059-S の最大無作用量は 1,000 mg/kg と結論できる。

#### 謝 辞

本実験に御協力いただいた当研究所の伊藤道雄、村中理一、

原 勝巳、佐々木和則、金森 進の諸氏に厚く御礼申しあげます。

#### 文 献

- 1) 小林文彦, 古川 仁, 長谷川紀昭, 吉崎敏夫, 原山喜男: 6059 S のラットにおける亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 28 (S-7): 1007~1028, 1980
- 2) ALTMAN, J. & K. SUDARSHAN: Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim. Behav.* 23: 896~920, 1975
- 3) DUNHAM, N. W. & T. S. MIYA: A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J. Amer. Pharmac. Ass.* 46: 208~209, 1957
- 4) FUCHTGOTT, E., R. S. TRACKER & D. O. DRAPER: Open field behavior and heart rate in prenataly X-irradiated rats. *Teratology* 1: 201~206, 1968
- 5) ARMITAGE, P.: Statistical methods in medical research. Blackwell Science Publications: 116~135, 1973
- 6) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS: Alterations in the caecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exptl. Med.* 128: 97~110, 1968
- 7) 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之: Cefazolin sodium の毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy* 18: 528~543, 1970
- 8) MINESITA, T.: Pharmacological aspects of germfree animals. *J. Germfree and gnotobiology* 3: 1~12, 1973
- 9) 二木力夫ほか: Ceftezole の一般毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy* 24: 671~702, 1976
- 10) 小林文彦, 伊藤道雄: Cefamandole のラット周産期および授乳期投与試験. *Chemotherapy* 27 (S-5): 682~699, 1979

## A PERINATAL-POSTNATAL STUDY ON 6059-S IN RATS

FUMIHIKO KOBAYASHI and MASANORI ANDO  
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

6059-S, a new oxacephalosporin, was injected intravenously to pregnant rats ( $F_0$ ) from Day 17 of gestation through postpartum Day 21 at the daily doses of 500, 1,000 and 2,000 mg/kg to test the effect of the compound on late fetal development, parturition and lactation. Progenies ( $F_1$ ), usually 2 males and 2 females from each litter, were tested for their growth, fertility, and reproductive performances by obtaining their  $F_2$  offsprings. Slight defects were observed in the forms of inhibition of body weight in late pregnancy, increased postnatal death of  $F_1$  newborns and their body weight decrease at the dose of 2,000 mg/kg. Growth and survival of other newborns were unaffected by treatment of the  $F_0$  females with 6059-S until weaning. However, enlargement of the caecum was evident at autopsy performed at weaning of  $F_1$  in either  $F_0$  females or  $F_1$  pups. Reproductive performances of the  $F_1$  males and females were normal in spite of the treatment of their mother with this compound. No abnormalities were observed in  $F_2$  offsprings in their delivery, viability and postnatal development.