

Sodium colistin methanesulfonate のラットにおける生殖試験 (第2報)

—器官形成期投与試験—

辻谷典彦・川口洋二・高田晴彦

神奈川歯科大学薬理学教室

(主任：伊藤春生教授)

大内 勝・斉藤太郎・松本朋徳

科薬抗生物質研究所開発部

薬理研究センター

(昭和55年7月17日受付)

Sodium colistin methanesulfonate (CLM) の安全性研究の一環として、生殖に対する影響を検討する目的で、器官形成期投与試験を Wistar 系ラットを用いて、CLM の 6.25 mg, 12.5 mg および 25 mg/kg をそれぞれ静脈内投与して行ない、以下の成績を得た。

1. 妊娠母体の一般症状、体重および摂餌量に対し、CLM は影響をおよぼさなかった。
2. 末期胎仔の着床数、生存胎仔数、生存胎仔体重、性比、死亡胎仔数、吸収胚数および体盤重量に CLM の影響は認められず、また外形および内臓異常、異常化骨の発現も認められなかった。しかし、25 mg/kg 投与群で歯状突起および後肢の基節骨の化骨遅延が認められた。
3. 自然分娩群において、妊娠期間、生産仔数、生存仔数、生存仔体重、性比、死産仔数および着床痕数に影響は認められず、生存仔の外形異常も見られなかった。しかし、25 mg/kg 投与群において、母体の分娩率、哺育率ならびに新生仔の生育率が低下した。
4. 新生仔の成長および発育・分化に CLM の影響は認められなかった。
5. 新生仔の生後の行動および感覚反射機能、自発運動量、神経・筋能力、学習能力、情緒性および生殖能力について、CLM の影響は認められなかった。

以上のことから、CLM の器官形成期投与試験における最大無作用量は、12.5 mg/kg であると推定される。

序 言

Colistin(以下、CL と略)は、Gram 陰性桿菌に対して強い抗菌作用を有する、polypeptide 系抗生物質である¹⁾。この CL の誘導体である sodium colistin methanesulfonate(以下、CLM と略)は、多くの点で CL に比して利点を有しており、臨床分野での使用頻度は CL よりも高い。CLM の一般薬理作用²⁾、毒性^{3,4)}、吸収・分布・排泄⁵⁾については、すでに多くの研究がなされているが、生殖に対する作用については、いまだ明らかにされていない。そこで著者らは、CLM の安全性研究の一環として生殖におよぼす影響について検討を加えた。第1報⁶⁾において、CLM のラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験の結果を報告した。すなわち、この期間に投与した CLM は、ラットの生殖機能を著しく障害するものではなく、また胎仔の発生にも重篤な影

響をおよぼさないという結果を得ている。そこで、本報ではラットにおける CLM の器官形成期投与試験の成績について報告する。

実験材料および方法

1. 被検薬物
実験に使用した CLM は、第1報⁶⁾で用いたものと同じのもので、*Bacillus polymyxa* var. *colistinus* の培養液から分離精製された白色粉末(12,000 単位/mg: 科薬抗生物質研究所)である。使用に際して、CLM は滅菌生理食塩水で溶解し、投与容量を体重 100 g 当り 0.5 ml として、それぞれの所要濃度になるように適宜調整した。

2. 使用動物

実験動物として、生後5週令の雌雄の Wistar 系ラット(東京実験動物)を購入後予備飼育し、10週令に達し

たものの中から、一般症状の良好なものを選び使用した。妊娠動物を得るために、腔垢塗抹標本で発情前期から発情期と確認した未経産の雌を、同系の雄と1対1の割合で1夜同居させ、翌朝腔栓あるいは腔垢中に精子の存在を確認したものを妊娠0日の動物として、小型ケージに独居させ飼育した。動物の飼育は、予備飼育および実験期間を通して、全て室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の恒温恒湿の環境下で行なった。飼料は、妊娠および授乳期間のものには繁殖用固型飼料 (CA-1: 日本クレア)、その他のものには飼育用固型飼料 (CE-2: 日本クレア) を与え、水と共に自由に摂取させた。

3. 投与量

CLM の投与量は、「妊娠前および妊娠初期投与試験」⁹⁾と同様、最高用量を 25 mg/kg とし、以下中間用量を 12.5 mg/kg 、最低用量を 6.25 mg/kg とした。また、対照として、生理食塩水投与群を設けた。

4. 投与方法および投与期間

薬物は、妊娠7日から17までの11日間、1日1回毎日一定時刻に尾静脈内に投与した。

5. 観察項目および方法

1) 母体の観察

各投与群の妊娠母体数をそれぞれ30匹とし、妊娠期間中毎日一般症状を観察するとともに、体重および摂餌量を測定した。このうち各投与群とも20母体は妊娠末期に屠殺して胎仔の検索を行なった。また、残りの10母体は自然分娩させ、新生仔の生後発育の検索に供した。

2) 胎仔観察

妊娠母体を妊娠21日目に ether 麻酔下に放血致死させ、直ちに開腹して子宮を切開し、子宮内の胎仔分布、着床数、生存胎仔数、死亡胎仔数および吸収胚数を調べ、生存胎仔については、性別の判定、体重および胎盤重量の測定ならびに口腔内を含む外形異常の有無を調べた。ついで、各投与量ともに2/3の母体の胎仔は、99% alcohol で固定した後、DAWSON の変法⁹⁾により alizarin red S 染色による骨格透明標本を作製し、化骨の異常および化骨の進行状態を観察した。残り1/3の母体の胎仔は、Bouin 液に固定した後、WILSON の free hand razor blade section 法⁹⁾に従い、頭部および胸腹部臓器の異常を検索した。

3) 新生仔 (F_1) の発育・分化観察

妊娠母体を自然分娩させ、分娩の状態を観察し妊娠期間を算定した。分娩後は直ちに出産仔数および生死を確認し、生存仔については性別、外形異常および行動異常の有無を調べ、体重を測定した後、全例母体に哺育させた。

新生仔は、生後21日まで哺育し、この間毎日一般症状を観察すると共に、毎週1回体重を測定し、発育分化の状態については耳介開展を生後7日目、腹部毛生および切歯萌出を生後14日目そして眼瞼開裂を生後21日目に観察した。母体は分娩後21日目に仔を離乳させた後、屠殺開腹し内臓の変化を肉眼的に剖検し、さらに子宮について着床痕数を調べ、分娩時に見られた出産仔数と対比して分娩率を算出した。

離乳後の新生仔は、雌雄を分離して飼育し生後8週まで一般症状を毎日観察すると共に、毎週1回体重を測定し、生後28日目に雄の精巣下降を、生後42日目に雌の腔開口を観察した。生後8週令時には、1母体から雌雄各1匹ずつを無作為に抽出し、屠殺して主要臓器の肉眼的観察を行なった。

4) 新生仔 (F_1) の行動および機能観察

新生仔は、生後21日目の離乳時に、全例について行動および感覚反射機能を、8週令時には各投与群とも1母体から雌雄各1匹ずつを無作為に抽出し、自発運動量、神経・筋能力、学習能力および情緒性について検査し、10週令時には同じく1母体当たり雌雄各2匹ずつについて、生殖能力に関する検索を行なった。

(1) 行動および感覚反射機能

IRWIN 法⁹⁾による行動および感覚反射機能の観察と、Preyer 反射による聴覚機能試験を行なった。

(2) 自発運動量

回転カゴ法により、予め動物を回転カゴ装置 (シナノ製作所) に30分間入れ順応させた後、30分間の回転数を測定した。

(3) 神経・筋能力

回転棒法により、直径9cmで1分間に10回転する回転棒 (シナノ製作所) を用いて、ラットを予め静止させた回転棒上に60秒間置き、次で回転させた上で30秒間練習させた後、実験を開始し、回転棒上に滞留する時間を測定した。なお、ラットは頭部を回転方向に向けてのせ、滞留時間の測定は2分以上は行なわなかった。

(4) 学習能力

条件回避反応試験および water T-maze 試験を行なった。

条件回避反応試験は、schuttle box (ANAC 300 型: 岡崎産業) を用いて行なった。条件刺激として、光およびブザーを5秒間与え、この間にラットが他室に移動しない場合には、無条件刺激として床のグリッドから電気刺激 (130 V, 1 mA) を5秒間与えた。反応後の休息時間は20秒とした。これを1試行として、1日20試行を連続して行ない、連続4日間に亘り回避率および逃避率を測定した。

Water T-maze 試験は、water filled multiple T-maze (シナノ製作所) を用いて、石崎の方法¹⁰⁾に準じて行なった。装置は、縦 120 cm×横 120 cm×深さ 40 cm の塩化ビニール製の水槽中に、高さ 35 cm、巾 12 cm の直線水路 および T-迷路を配置したものである。試験は、水深 23 cm、水温 23~24℃ の条件下で、第 1 日目は直線水路を用いて、出発点から目標点に達するまでの所要時間を測定し、これを 1 匹当たり 5 試行行なわせた。第 2 日目から 4 日目には水迷路を用いて、出発点から目標点に達するまでの所要時間と、盲路に体全体が入り込んだ錯誤数を測定し、これを 1 日 1 匹当たり 5 試行行なわせた。なお、動物を直線水路および水迷路に入れる時は、進行方向に対して逆向きに入れ、また 1 試行は 3 分以上行なわれなかった。

(5) 情緒性

Open field 法により検索した。装置は、HALL の open field 装置 (シナノ製作所) を用いた。すなわち、底面の直径 80 cm、壁の高さ 50 cm、壁の上端の直径 100 cm のステンレス製のバケツ状のもので、底面は金網製ではほぼ等面積の 19 区画に分けられている。Open field の中央真上 1 m の高さから、100 W の電球を用いて唯一の照明とした。試験は、open field の中心にラットを置き、3 分間の区画移動数 (ambulation)、立ち上がり回数 (rearing)、洗顔回数 (preening)、排尿回数 (urination) および脱糞回数 (defecation) を 2 日間に亘り測定した。

(6) 生殖能力

同一投与群内で兄妹交配を避けて、雌雄 1 対 1 で 7 日間同居させた。膣栓あるいは膣垢中に精子の存在を確認したものを、交尾の成立したものととして交尾率を算出した。交尾の成立したラットは、妊娠期間中毎日体重を測定し、妊娠 21 日目に屠殺して開腹し、子宮を切開し、妊娠の有無を調べ妊娠率を算出し、着床数、生存胎仔数、死亡胎仔数および吸収胚数を調べ、生存胎仔 (F₂) については、雌雄の判別、体重および胎盤重量測定、口腔内を含む外形異常の有無を調べた。なお、交尾あるいは妊娠が成立しなかったものは、雄は同一群内の未経産の雌と、雌は同一群内の生殖能力の確認された雄と、7 日間同居させた。

6. 統計学的処理

実験結果の統計処理は、*t* 検定および χ^2 検定を用いて行なった。

実験成績

1. 母体におよぼす影響

1) 一般症状

妊娠期間中、対照群および各 CLM 投与群のいずれに

Fig. 1 Mean body weight of pregnant rats administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy (fetus group)

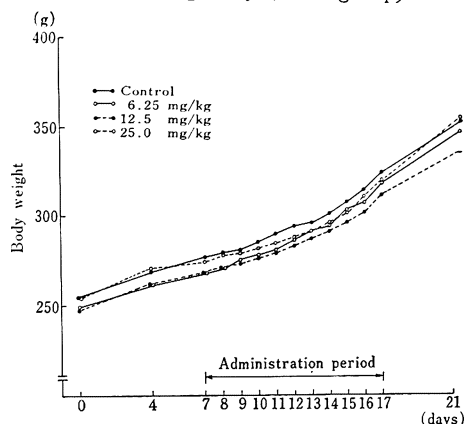
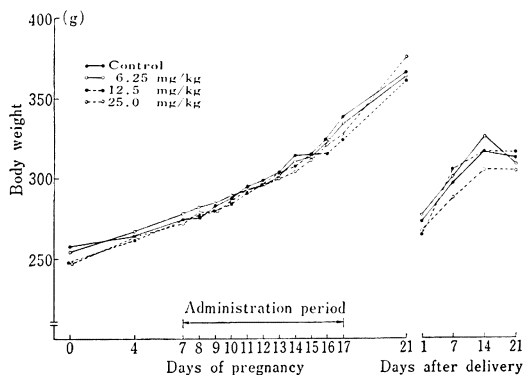


Fig. 2 Mean body weight of female rats administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy (delivery group)



も特異な中毒症状は観察されず、死亡例も認められなかった。

2) 体重変化

試験期間中における末期胎仔観察群の平均体重は、各 CLM 投与群および対照群ともにほぼ同様の体重推移を示した (Fig. 1)。

また、自然分娩群のいずれの投与群も、体重増加はほぼ同様の傾向を示した (Fig. 2)。そして、妊娠期間中の体重増加量は、末期胎仔観察群において、対照群 97.1 g, 6.25 mg/kg 投与群 97.9 g, 12.5 mg/kg 投与群 87.8 g, 25 mg/kg 投与群 88.1 g であり、自然分娩群においては、対照群 116.8 g, 6.25 mg/kg 投与群 110.6 g, 12.5 mg/kg 投与群 125.7 g, 25 mg/kg 投与群 116.6 g の増加であり、両群の対照群と各 CLM 投与群との間には有意差は認められなかった。

3) 摂餌量

末期胎仔観察群における試験期間中の平均摂餌量は、各 CLM 投与量と対照群ともほぼ同様の摂餌傾向を示し

Fig. 3 Mean food consumption of pregnant rats administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy (fetus group)

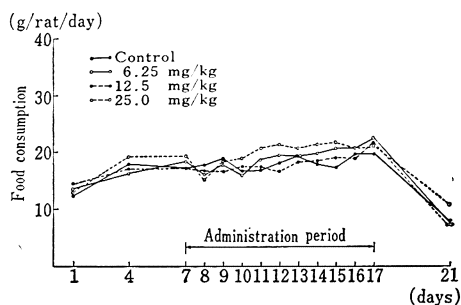


Fig. 4 Mean food consumption of female rats administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy (delivery group)

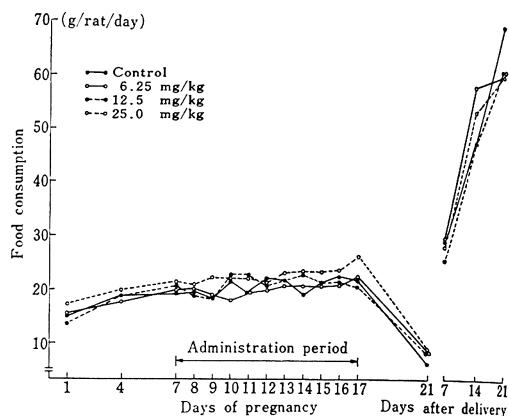


Table 1. Effect of CLM on fetuses from pregnant females administered intravenously on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)		Control	6.25	12.5	25.0
No. of pregnant animals		20	20	20	20
Body wt. gain during pregnancy: Mean $\pm$ S.E.(g)		97.1 $\pm$ 4.1	97.9 $\pm$ 4.3	87.8 $\pm$ 3.7	88.1 $\pm$ 3.7
No. of implantation sites (Mean $\pm$ S.E.)		233 (11.7 $\pm$ 0.6)	245 (12.3 $\pm$ 0.8)	234 (11.4 $\pm$ 0.6)	251 (11.7 $\pm$ 0.7)
No. of live fetuses (Mean $\pm$ S.E.)		206 (10.3 $\pm$ 0.6)	236 (12.3 $\pm$ 0.8)	227 (11.4 $\pm$ 0.6)	234 (11.7 $\pm$ 0.7)
Wt. of live fetuses: Mean $\pm$ S.E.(g)	M	4.9 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.1	5.2 $\pm$ 0.2	5.0 $\pm$ 0.2
	F	4.6 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.1	4.7 $\pm$ 0.1	4.7 $\pm$ 0.2
Sex ratio: M/F		108/98	129/107	117/110	131/103
No. of dead fetuses(%)		1(0.4)	0	0	0
No. of resorptions (%)	Implanted traces	1(0.4)	0	0	0
	Early resorption	6(2.6)	1(0.4)	1(0.4)	4(1.6)
	Late resorption	0	1(0.4)	1(0.4)	0
	Placental remnants	15(6.4)	8(3.3)	3(1.3)	10(4.0)
	Macerated fetuses	4(1.7)	0	2(0.9)	3(1.2)
	Total	26(11.2)	10(4.1)	7(3.0)	17(6.8)
No. of external malformation(%)		0/135 ^{a)} (0)	0/162(0)	0/155(0)	0/146(0)
No. of internal malformation(%)		0/75 ^{a)} (0)	0/84(0)	0/72(0)	0/88(0)
Wt. of placentas: Mean $\pm$ S.E.(g)		0.49 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.01	0.46 $\pm$ 0.01	0.49 $\pm$ 0.03

^{a)} No. of fetuses with malformation
No. of fetuses examined

M : male, F : female

Table 2 Effect of CLM on abnormal ossification in rat fetuses from pregnant females administered intravenously on days 7 to 17 of pregnancy

Doses		Control	6.25 mg/kg	12.5 mg/kg	25.0 mg/kg
Cervical rib		0 ^{a)}	0.6	0	0
Lumbar rib		10.4	8.6	12.9	11.6
Fused rib		0	0	0	0
Accessory sternebra		0.7	0	0	0
Asymmetric sternebra	2	0	0	0	2.7
	3	0	1.9	0	4.8
	4	0.7	0	0	2.1
	5	1.5	0.6	0	3.4
	6	0	0	0	0
Asymmetric thoracic vertebra		0.7	1.9	1.3	0.7

^{a)} abnormal ossification(%)

した (Fig. 3)。また、自然分娩群の平均摂餌量も、各群とも同様の傾向を示した (Fig. 4)。

2. 胎仔におよぼす影響

1) 開腹時所見

各投与群の、開腹時の所見において、着床数、生存胎仔数、生存胎仔体重、性比、死亡胎仔数、吸収胚数および胎盤重量には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められず、また外形異常および内臓異常はいずれの投与群にも認められなかった (Table 1)。

2) 骨格所見

各投与群の骨格系の観察結果は、各投与群における各骨の総化骨数に対する生存胎仔数の割合で示した。

各投与群における異常化骨の主なもの、は、腰肋と胸骨の非対称であった。腰肋は対照群および各 CLM 投与群ともにその出現率は 10% 内外で、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められなかった。胸骨の非対称は、25 mg/kg 投与群に他の投与群と比べて多く認められたが、その出現率は 2.1~4.8% であり自然発生の範囲内で認められるものである。その他、胸椎の非対称が各投与群に 1~3 例、頸肋が 6.25 mg/kg 投与群に 1 例、過剰胸骨分節が対照群に 1 例認められた (Table 2)。

化骨の進行状態については、後頭骨、舌骨、口蓋骨、脊椎、肋骨、中手骨、中足骨、胸骨および前後肢の指骨について観察した。観察した骨格の中で、後頭骨、舌骨、口蓋骨、脊椎の胸椎と腰椎および仙椎、肋骨においては、各投与群とも 100% と高い化骨が認められた。しかし、25 mg/kg 投与群で、歯状突起および後肢の基節骨の化骨率が対照群に比して有意に低く、化骨遅延の傾向が見られた。その他の部位においては、対照群と各 CLM 投与群の同一部位における化骨率に差が見られたが、いずれも統計的に有意の差は認められなかった (Table 3 および 4)。

3. 新生仔 (F₁) におよぼす影響

1) 母体の分娩時所見

各投与群における平均妊娠期間は、対照群および各 CLM 投与群ともに、いずれも 22 日で有意差は認められなかった。出産仔数、生存仔数、生存仔体重および性比には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差はなく、生存仔の外形異常も全ての投与群に認められなかった。死産仔数は、対照群で 6 例 (5.2%)、6.25 mg/kg 投与群で 5 例 (3.9%)、12.5 mg/kg 投与群で 8 例 (7.5%)、25 mg/kg 投与群で 8 例 (7.1%) 認められたが、対照群と各 CLM 投与群との間には有意差は認められなかった。分娩後 21 日目の母体の剖検所見では、各投与群とも主要臓器に異常は認められなかった。着床痕数には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められなかったが、分娩率は 25 mg/kg 投与群が対照群に比較して有意に低かった (Table 5)。

2) 母体の哺育状態

哺育期間中の母体において、各投与群とも死亡例は見られなかった (Table 6)。平均体重の推移は、各 CLM 投与群は対照群とほぼ同様の増加傾向を示した (Fig. 2)。また、摂餌量においても、各 CLM 投与群と対照群は同様の傾向であった (Fig. 4)。死亡仔数は、対照群で 4 例、6.25 mg/kg 投与群で 7 例、12.5 mg/kg 投与群で 6 例、25 mg/kg 投与群で 19 例認められ、各群における哺育率は、対照群 96.3%、6.25 mg/kg 投与群 94.3%、12.5 mg/kg 投与群 93.5% で、対照群との間で有意差は認められなかったが、25 mg/kg 投与群は 81.7% で対照群に比較して有意に哺育率が低下した (Table 6)。新生仔の平均体重の推移は、各投与群は雌雄いずれもほぼ同様の体重増加を示した (Fig. 5 および 6)。

3) 新生仔 (F₁) の発育・分化状態

各投与群の新生仔の離乳時から 8 週令に至るまでの生仔において、死亡仔は対照群および 12.5 mg/kg 投与群

Table 3 Effect of CLM on fetal ossification in rats administered intravenously on days 7 to 17 of pregnancy (1)

Dose (mg/kg)		Control	6.25	12.5	25.0
Occipital					
Basioccipital		100 ^{a)}	100	100	100
Exoccipital		100	100	100	100
Interparietal		100	100	100	100
Supraoccipital		100	100	100	100
Hyoid body		100	100	100	100
Palatine		100	100	100	100
Vertebrae					
Cervical					
Centrum of odontoid process		71.1	75.5	64.5	41.1***
Centr	1	98.5	99.4	94.8	97.9
	2	52.6	51.2	49.7	37.7
	3	73.3	74.1	70.3	54.8
	4	74.6	77.8	76.8	69.6
	5	91.1	92.0	85.2	78.1
	6	92.6	91.4	89.0	80.1
	7	100	100	92.3	91.8
Arches	1-7	100	100	98.7	99.3
Thoracic					
Centra & Arches	1-13	100	100	100	100
Lumbar					
Centra & Arches	1-6	100	100	100	100
Sacral					
Centra & Arches	1-4	100	100	100	100
Caudal					
Centra	1	100	100	100	100
	2	100	100	100	100
	3	100	100	99.4	100
	4	97.8	99.4	98.7	99.3
	5	91.9	88.3	89.7	91.1
	6	63.7	64.2	66.5	54.8
	7	35.6	29.6	33.5	39.0
	8	17.0	8.6	10.3	14.4
	9	11.3	2.5	1.9	9.6
	10	3.7	0.6	0.6	4.1
	11	1.5	0	0	2.1
	12	0	0	0	0.7
Epiphysis	1	99.3	99.4	100	99.3
	2	95.6	95.7	95.5	98.6
	3	68.1	64.8	70.3	54.1
	4	0	0	0	2.1

Significant difference from control: ***P<0.01

^{a)} ossification rate(%)

では認められなかったが、6.25 mg/kg 投与群で5例、25 mg/kg 投与群では15例認められ、生育率は25 mg/kg 投与群が対照群に比較して有意に低かった (Table 6)。また、生仔の平均体重の推移は、各 CLM 投与群は雌雄とも対照群とほぼ同様の推移を示した (Fig. 5 および 6)。一般症状についても、とくに異常は認められなかった。各投与群の新生仔の発育・分化の状態において、耳介開展、腹部毛生、切歯萌出、眼瞼開裂、精巣下降および腔開口時期には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められなかった (Table 7)。

4) 新生仔 (F₁) の行動および機能観察

(1) 行動および感覚反射機能

生後 21 日目の行動および感覚反射機能検査の結果、警戒性、視覚による位置認識、落着きのなさ、自発運動、疼痛反応、握力、耳介反射、角膜反射、同側屈反射ならびに Preyer 反射のいずれにおいても、対照群および各 CLM 投与群には異常は認められなかった (Table 8)。

(2) 自発運動量

回転カゴ法による自発運動量測定の結果、対照群と各

Table 4 Effect of CLM on fetal ossification in rats administered intravenously on days 7 to 17 of pregnancy (2)

Dose (mg/kg)		Control	6.25	12.5	25.0
Ribs		100 ^{a)}	100	100	100
Sternum					
Sternebra	1	100	100	100	100
	2	99.3	99.4	100	100
	3	100	100	100	100
	4	100	100	100	100
	5	97.8	97.5	100	95.2
	6	99.3	99.4	100	99.3
Metacarpals					
Diaphysis	2-4	100	100	100	100
	5	98.5	99.4	95.5	98.6
Phalanges of forepaw					
Distal diaphysis	1	73.3	64.8	67.1	65.1
	2	99.3	98.1	98.7	97.3
	3	100	100	100	100
	4	99.3	98.7	99.4	98.6
	5	86.7	87.7	86.5	82.9
Proximal diaphysis	2	82.2	80.2	70.3	71.2
	3	97.8	95.1	96.1	93.8
	4	96.3	92.0	94.8	91.8
	5	72.6	69.1	62.6	62.3
Tarsals					
Carcaneus					
Main center		11.8	11.1	12.3	11.6
Metatarsals					
Diaphysis	1	76.3	84.0	76.1	68.5
	2-4	100	100	95.5	96.6
	5	99.3	98.8	91.0	93.8
Phalanges of hindpaw					
Distal diaphysis	1	76.3	79.0	76.8	74.7
	2	91.9	93.2	91.0	87.7
	3	95.5	97.5	91.6	91.8
	4	97.3	96.3	91.6	89.7
	5	80.7	82.1	83.2	78.7
Proximal diaphysis	2	41.5	23.3	27.1	21.6 [*]
	3	58.5	55.6	58.7	43.8
	4	52.6	48.8	52.3	37.7
	5	30.4	19.9	20.3	10.5 ^{**}

Significant difference from control: *P<0.05, **P<0.01

^{a)} ossification rate(%)

CLM 投与群との間に有意差は認められなかった (Table 9)。

(3) 神経・筋能力

回転棒法により測定した結果、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められなかった (Table 10)。

(4) 学習能力

条件回避反応試験において、回避率についてはいずれの測定日においても、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められなかった。逃避率については、12.5 mg/kg 投与群の雄が第1日目に有意に低く、雌が第2日目に有意に高く、25 mg/kg 投与群の雄が第1日目および第2日目に対照群に比較して有意に低かったが、第4日目にはいずれの投与群においても差は見られなかった (Table 11)。

Water T-maze 試験の結果を、各測定日の第5試行目の所要時間と錯誤数で示した (Table 12)。雌において、12.5 mg/kg 投与群の第2日目および 25 mg/kg 投与群の第1日目の所要時間に、対照群との間に有意差が認められたが、その他には雌雄とも対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められなかった。また、雌雄いずれも第3日目には所要時間と錯誤数の減少が見られた。

(5) 情緒性

Open field 法により観察した結果、立ち上り回数は 25 mg/kg 投与群の雄の第1日目に増加、区画移動数は 12.5 mg/kg 投与群の雌の第1日目で増加、第2日目で減少、洗顔回数は 12.5 mg/kg 投与群の雄の第1日目で増加、脱糞回数は 12.5 mg/kg 投与群の雌の第2日目で増加、排尿回数は 25 mg/kg 投与群の雄の第2日目で増加、

Table 5 Observation of newborn rats from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)		Control	6.25	12.5	25.0
No of mothers (Death) ^{a)}		9(0)	11(0)	9(0)	9(0)
Duration of pregnancy: Mean±S.E.(days)		22.0±0.0	22.0±0.0	22.0±0.0	22.0±0.0
Body wt. gain during pregnancy: Mean±S.E.(g)		116.8±3.0	110.6±7.6	125.7±6.9	116.6±6.0
No. of implantation sites (Mean±S.E.)		122 (13.6±0.6)	140 (12.7±1.2)	112 (12.4±0.9)	138 (13.8±0.9)
No. of newborns (Mean±S.E.)		115 (12.8±0.4)	128 (11.6±1.1)	106 (11.8±0.8)	112 (12.4±0.7)
No. of stillborns(%)		6(5.2)	5(3.9)	8(7.5)	8(7.1)
No. of live born (Mean±S.E.)		109 (12.1±0.4)	123 (11.1±1.0)	98 (10.9±0.8)	104 (11.6±1.1)
Wt. of liveborns Mean±S.E.	M	5.5±0.1	5.7±0.2	5.7±0.3	5.8±0.2
	F	5.3±0.1	5.3±0.2	5.3±0.3	5.4±0.2
Sex ratio: M/F		59/50	69/54	45/53	41/63
Delivery rate: % ^{b)}		94.3	91.4	94.6	81.2*
No. of liveborns with external malformation		0	0	0	0

^{a)} Death before delivery

M : male F : female

^{b)} $\frac{\text{No. of newborns at birth}}{\text{No. of implantations}} \times 100$

Significant difference from control: * P<0.05

Table 6 Postnatal observation of F₁ rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)		Control	6.25	12.5	25.0
No. of mothers		9	11	9	11
No. of dead mothers during lactation		0	0	0	0
No of live offspring (M/F)	at birth	109(59/50)	123(69/54)	98(45/53)	104(41/63)
	7th day	105(57/48)	121(68/53)	93(43/50)	92(36/56)
	14th day	105(57/48)	118(66/52)	92(42/50)	87(33/54)
	21st day	105(57/48)	116(56/50)	92(42/50)	85(31/54)
	28th day	105(57/48)	111(56/50)	92(42/50)	77(29/48)
	35th day	105(57/48)	111(56/50)	92(42/50)	71(26/45)
	42nd day	105(57/48)	111(56/50)	92(42/50)	70(26/44)
	48th day	105(57/48)	111(56/50)	92(42/50)	70(26/44)
	56th day	105(57/48)	111(56/50)	92(42/50)	70(26/44)
Nursing rate: %		96.3	94.3	93.9	81.7***
Survival rate: %		100	95.7	100	82.4

^{a)} $\frac{\text{No. of offspring at 21st day}}{\text{No. of offspring at birth}} \times 100$

M : male, F : female

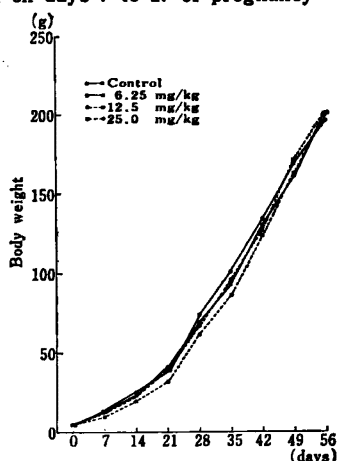
^{b)} $\frac{\text{No. of offspring at 56th day}}{\text{No. of offspring at 21st day}} \times 100$

Significant difference from control: *** P<0.01

Table 7 Postnatal differentiation of F₁ rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)		Control	6.25	12.5	25.0
Separation of auricles	at 7th day	105/105 ^{a)} (100)	121/121(100)	93/93(100)	92/92(100)
Appearance of abdominal hair	at 14th day	105/105(100)	118/118(100)	92/92(100)	87/87(100)
Eruption of incisors	at 14th day	101/105(96.2)	110/118(93.2)	88/92(95.7)	84/87(96.6)
Separation of eye-lids	at 21st day	105/105(100)	116/116(100)	92/92(100)	85/85(100)
Decent of testis	at 28th day	57/57 (100)	56/56 (100)	42/42(100)	29/29(100)
Opening of vagina	at 42nd day	47/48 (97.9)	50/50 (100)	49/50(98.0)	42/44(95.5)

^{a)} No. of offspring completed
No. of offspring examined (): %

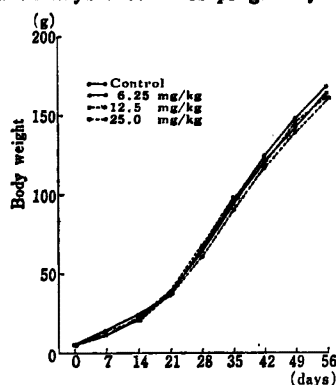
Fig 5 Mean body weight of male F₁ rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

増加が、それぞれ対照群との間に有意差が認められた (Table 13)。

(6) 生殖能力

雌雄の交尾率および妊娠率において、雄の交尾率は各投与群とも100%を示したが、雌では対照群および25 mg/kg投与群で不交尾が各1例ずつ認められた。妊娠率は、対照群は84.2%であったのに対し、各CLM投与群では94.7~100%を示した。不妊動物を剖検した結果では、肉眼的になんら異常は認められなかった (Table 14)。

また、各投与群の胎仔 (F₂) 観察の結果、母体重の増加量、着床数、生存胎仔数、性比および胎盤重量には、対照群と各CLM投与群との間に有意差は認められなかった。外形異常はいずれの投与群にも認められなかった。生存胎仔体重は、25 mg/kg投与群の雌雄が対照群に比して有意に重く、吸収胚数は12.5 mg/kg投与群が

Fig 6 Mean body weight of female F₁ rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

有意に多かった。死亡胚仔数は、対照群および6.25 mg/kg投与群では認められなかったが、12.5 mg/kg投与群で4例 (1.8%)、25 mg/kg投与群で1例 (0.5%) が認められた (Table 15)。

考 察

Sodium colistin methanesulfonate (CLM) の生殖におよぼす影響を検討する目的で、器官形成期投与試験を行なった。CLM 6.25 mg, 12.5 mg および 25 mg/kg ならびに対照として生理食塩水を、1群30匹からなるWistar 系雌ラットの妊娠7日から17日まで11日間、1日1回毎日一定時刻に静脈内投与して、末期胎仔および出生仔への影響について検討した。

母体に対しては、妊娠期間中いずれの投与群においても特異な中毒症状は観察されず、死亡例も認められなかった。また、平均体重の推移および摂餌量にも、対照群と各CLM投与群との間に有意差は認められなかった。

末期胎仔の観察では、着床数、生存胎仔数、生存胎仔体重、性比、死亡胎仔数、吸収胚数および胎盤重量に

Table 8 IRWIN's test and PREYER's reflex of F_1 rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)	Sex	Control	6.25	12.5	25.0
No. of offspring examined	M F	57 48	56 50	42 50	31 54
IRWIN'S test					
Alertness	M	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Visual placing	F	4.0±9.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Restlessness	M	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Spontaneous activity	F	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Pain response	M	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Grip strength	F	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Pinna reflex	M	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Corneal reflex	F	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Ipsilateral flexor reflex	M	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Ipsilateral flexor reflex	F	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
PREYER's reflex	M F	Normal Normal	Normal Normal	Normal Normal	Normal Normal

Mean±S.E.

M: male, F: female

Table 9 Spontaneous motor activity of F_1 rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)	Sex	No. of offspring tested	counts/30 min
Control	M	10	70.2±17.0
	F	10	124.0±27.0
6.25	M	10	89.0±15.7
	F	10	122.2±19.9
12.5	M	10	88.3±14.1
	F	10	129.7±17.2
25.0	M	10	76.6± 7.1
	F	10	140.6±27.0

Mean±S.E.

M: male, F: female

Table 10 Rotarod test of F_1 rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)	Sex	No. of offspring tested	Rotarod performance ^{a)}
Control	M	10	7/10
	F	10	10/10
6.25	M	10	8/10
	F	10	9/10
12.5	M	10	6/10
	F	10	10/10
25.0	M	10	8/10
	F	10	10/10

^{a)} No of offspring who can ride on the rod over 2 min / No. of offspring tested

M: male, F: female

Table 11 Conditioned avoidance response of F₁ rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)	Sex	No of offspring tested	Avoidance rate(%)				Escape rate(%)			
			1st day	2nd day	3rd day	4th day	1st day	2nd day	3rd day	4th day
Control	M	10	14.0±5.5	23.3± 7.1	25.7± 7.8	27.0± 8.4	51.0± 8.2	53.0± 7.9	54.3± 8.1	59.0± 7.8
	F	10	19.5±5.8	24.0±10.0	29.4±13.4	30.5±12.0	23.0± 7.2	25.0± 9.0	38.0± 9.2	40.0± 7.4
6.25	M	10	18.3±5.7	18.3± 8.7	20.8± 6.1	22.5±10.5	43.3±13.8	43.3±14.7	43.3±14.3	45.0±13.0
	F	10	13.0±4.9	15.5± 7.3	18.0± 6.6	31.4± 2.0	24.5± 4.8	37.0± 8.2	38.5± 8.0	57.5± 9.1
12.5	M	10	17.9±5.7	20.0± 5.6	27.6± 6.8	28.3± 7.0	31.4± 5.7	38.6± 6.7	42.1± 7.5	46.7± 8.4
	F	10	14.5±6.3	16.0± 6.3	16.0± 1.5	21.0± 6.2	24.5± 8.7	53.5± 7.2	55.5± 5.9	59.0± 5.5
25.0	M	10	14.0±3.1	20.9± 4.8	21.8± 5.4	22.3± 4.8	26.4±9.6	32.3± 9.0	37.3±10.6	40.9±10.3
	F	10	13.7±2.7	22.7± 5.9	23.7± 8.4	30.0± 8.0	23.5±8.1	27.3± 5.9	40.7± 6.1	53.5± 6.9

Mean±S.E.

M: male, F: female

Significant difference from control: *P<0.05, **P<0.01

Table 12 Water T-maze test of F₁ rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)	Sex	No. of offspring tested	Time (sec.) ^{a)}			Errors ^{a)}		
			1st day	2nd day	3rd day	1st day	2nd day	3rd day
Control	M	10	33.5±7.9	25.9±4.0	23.3±3.4	2.7±0.8	0.5±0.3	0.1±0.1
	F	10	21.4±4.4	18.9±2.6	16.9±2.3	2.0±0.8	1.6±0.3	0.5±0.2
6.25	M	10	41.6±9.1	24.3±3.3	23.7±4.1	2.4±0.7	1.5±0.5	0.4±0.1
	F	10	21.8±4.1	20.6±4.0	17.6±4.8	3.2±1.6	0.8±0.4	0.9±0.3
12.5	M	10	31.5±5.5	30.8±3.4	25.8±3.8	2.0±0.5	1.1±0.3	0.7±0.2
	F	10	35.1±8.1	33.6±8.5*	19.9±2.9	1.9±1.0	1.4±0.6	0.4±0.3
25.0	M	10	43.1±10.0	37.7±5.7	30.2±5.2	2.3±1.0	2.3±1.0	0.6±0.2
	F	10	45.7±3.0**	16.6±2.3	14.8±2.6	1.9±0.7	1.1±0.5	1.0±0.6

Mean±S.E. M: male, F: female

^{a)} Time or errors per animal per trial

Significant difference from control: *P<0.05, **P<0.01

は、対照群と CLM 投与の各群との間に有意差は認められず、外形異常および内臓異常もいずれの投与群にも認められなかった。骨格系の観察において、各 CLM 投与群共通して異常化骨として腰肋の出現率が一番高いものであったが、対照群にもほぼ同程度の出現が認められ、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差が認められなかったことから、CLM の投与がとくに腰肋の出現を誘発するものではないといえる。また、頸肋、過剰胸骨分節、胸骨および胸椎の非対称が、対照群および各 CLM 投与群に散見されたが、その出現率はいずれも自然発生的範囲内に含まれるもので、CLM 投与によりこれらの異常化骨が誘発されるとは考えられない。化骨の進行状

態については、対照群および各 CLM 投与群とも歯状突起、後肢の基節骨および頸椎の第 2 椎体が低い化骨率を示し、とくに 25 mg/kg 投与群の歯状突起および後肢の基節骨の化骨率が対照群に比較して低く化骨遅延が認められた。この後肢基節骨の化骨遅延は、第 1 報⁹⁾に報告した「妊娠前および妊娠初期投与試験」においても認められ、CLM 投与との関連性が示唆された。その他の部位においては、対照群と各 CLM 投与群との間に化骨率の差は認められなかったが、CLM の投与量の増加に伴って、化骨がわずかながら遅延していく傾向が認められるようであった。

一方、母体の分娩時観察では、妊娠期間、出産仔数、

Table 13 Open field test of F_1 rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)	Sex	No. of offspring tested	Rearing		Ambulation		Preening		Defecation		Urination	
			1st day	2nd day	1st day	2nd day	1st day	2nd day	1st day	2nd day	1st day	2nd day
Control	M F	10 10	3.0±0.6 10.2±1.4	2.4±0.8 7.1±1.4	36.3±7.9 32.9±8.0	23.3±5.5 54.4±0.6	0.9±0.4 1.9±0.5	0.6±0.3 2.1±0.4	2.4±0.6 0.6±0.4	2.7±0.8 0.4±0.2	0.2±0.1 0.0±0.0	0.2±0.1 0.2±0.1
6.25	M F	10 10	5.3±1.1 13.1±1.5	3.5±0.9 8.1±1.4	45.5±7.0 66.6±5.9	30.1±6.9 41.6±7.3	2.0±0.3 3.5±0.6	1.2±0.3 2.3±0.5	2.2±0.4 1.4±0.6	1.3±0.4 0.6±0.4	0.5±0.1 0.0±0.0	0.6±0.2 0.1±0.1
12.5	M F	10 10	5.7±1.0 3.4±1.4	1.9±0.7 4.8±0.9	29.8±3.8 62.0±4.0	16.4±3.5 31.7±4.8	3.9±0.6 2.8±0.4	1.0±0.4 1.8±0.5	1.3±0.4 0.9±0.3	2.4±0.5 1.7±0.5	0.5±0.2 0.0±0.0	0.4±0.1 0.3±0.1
25.0	M F	10 10	6.9±1.5 12.5±1.7	2.3±0.6 10.0±1.7	49.1±8.7 34.3±8.7	20.0±4.3 71.2±7.2	1.4±0.5 1.6±0.6	1.0±0.3 2.6±0.6	1.2±0.4 0.2±0.1	1.7±0.5 0.3±0.3	0.5±0.2 0.0±0.0	0.6±0.1 0.3±0.1

Mean±S.E. M: male, F: female

Significant difference from control: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ Table 14 Reproductive ability of F_1 rat offspring from mothers administered intravenously with CLM on days 7 to 17 of pregnancy

Dose (mg/kg)	Sex	No. of animals mated	No. of animals copulated	No. of pregnant animals	Mating ^{a)} (%)	Fertility ^{b)} (%)
Control	M F	20 20	20 20	16	100 95.0	84.2
6.25	M F	20 20	20 20	19	100 100	95.0
12.5	M F	20 20	20 20	20	100 100	100
25.0	M F	20 20	20 19	18	100 100	94.7

^{a)} copulated/mated×100^{b)} neonant/copulated×100

M: male, F female

生存仔体重、生存仔数、性比および死産仔数には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差はなく、また生存仔の外形異常もいずれの投与群にも認められず、CLM 投与の影響は認められなかった。着床痕数には対照群と各 CLM 投与群との間に有意差はなかったが、25 mg/kg 投与群の分娩率は対照群に比較して有意に低かった。この原因は、CLM 投与に関連しているとも考えられるが、一方、着床痕数ならびに吸収胚数が対照に比して多いためであるかもしれない。しかしながら、CLM 25 mg/kg 投与が胚の吸収を亢進させるためとは考えにくい。なぜならば、末期胎仔の観察では着床数に対する吸収胚数が、対照群より下回っているからである。

哺育期間中、各投与群とも母体の死亡例はなく、母体

重の推移および摂餌量にも対照群と各 CLM 投与群との間に差は見られなかった。死亡仔数は、25 mg/kg 投与群が最も多く、哺育率は対照群、6.25 mg および 12.5 mg/kg 投与群は 93.9～96.3% を示したが、25 mg/kg 投与群は 81.7% で有意に低かった。新生仔の体重推移には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差はなく、CLM 投与の影響は認められなかった。

新生仔の発育・分化の観察において、出生後 8 週令に至るまでの平均体重の推移は、対照群と各 CLM 投与群との間に差は見られず、一般状態にも異常は認められなかった。しかし、生後 8 週令時の生育率は、25 mg/kg 投与群において対照群に比較して有意に低かった。耳介開展、腹部毛生、切歯萌出、眼瞼開裂、精巣下降および陰

Table 15 Effect of CLM on F_2 fetuses from F_1 offspring used for reproductive ability test

Dose (mg/kg)		Control	6.25	12.5	25.0
No. of pregnant animals		16	19	20	18
Body wt. gain during pregnancy Mean $\pm$ S.E.(g)		108.3 $\pm$ 5.7	96.7 $\pm$ 6.6	106.3 $\pm$ 3.6	114.2 $\pm$ 6.4
No. of implantation sites (Mean $\pm$ S.E.)		211 (13.2 $\pm$ 0.5)	228 (12.0 $\pm$ 0.7)	257 (12.9 $\pm$ 0.5)	231 (12.8 $\pm$ 0.7)
No. of live fetuses (Mean $\pm$ S.E.)		201 (12.6 $\pm$ 0.7)	212 (11.2 $\pm$ 0.8)	220 (11.0 $\pm$ 0.8)	209 (11.6 $\pm$ 0.1)
Wt. of live fetuses: Mean $\pm$ S.E.(g)	M	5.0 $\pm$ 0.1	5.2 $\pm$ 0.1	5.2 $\pm$ 0.1	5.4 $\pm$ 0.1*
	F	4.5 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.1	4.9 $\pm$ 0.1	5.0 $\pm$ 0.1*
Sex ratio : M/F		106/95	114/98	106/114	108/101
No. of dead fetuses(%)		0	0	4(1.8)	1(0.5)
No. of resorptions(%)	Implanted traces	0	0	0	0
	Early resorption	3(1.4)	4(1.8)	6(2.3)	11(4.8)
	Late resorption	0	3(1.3)	4(1.6)	0
	Placental remnants	5(2.4)	8(3.5)	15(5.8)	8(3.5)
	Macerated fetuses	2(0.9)	1(0.4)	8(3.1)	2(0.9)
Total		10(4.7)	16(7.0)	33(12.8)*	21(9.1)
No. of external malformation(%)		0/201 ^{a)} (0)	0/212(0)	0/220(0)	0/209(0)
Wt. of placentas : Mean $\pm$ S.E.(g)		0.56 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.02	0.62 $\pm$ 0.02	0.64 $\pm$ 0.03

^{a)} No. of fetuses with malformation
No. of fetuses examined

M: male, F: female

Significant difference from control: * $P < 0.05$

開口時期には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められないものであった。すなわち、この CLM 25 mg/kg 投与群の哺育率および生育率の低下は、母体や新生仔の一般症状、体重推移などに異常がないにも拘わらず起るものであり、偶発的出現の可能性も考えられる。

新生仔の生後の行動および機能観察では、行動および感覚反射機能についてはいずれも正常で、CLM 投与の影響は認められなかった。その他、自発運動量および神経・筋能力に対しても影響は認められず、学習能力に関しても、条件回避反応試験および water T-maze 試験のいずれにおいても対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は見られず、open field 法による情緒性の試験においても CLM 投与の影響は認められなかった。

生殖能力の試験では、雄の交尾率はいずれの投与群も 100% で、雌においても 95.0~100% を示した。また、妊娠率も各 CLM 投与群は 94.7~100% を示し、生殖能力に対する影響も認められなかった。生殖能力試験において妊娠した母体の観察では、妊娠期間中いずれの投与群にも中毒症状および死亡例は見られなかった。ま

た、末期胎仔 (F_2) の観察では、着床数、母体重の増加量、生存胎仔数、性比および胎盤重量には、対照群と各 CLM 投与群との間に有意差は認められなかったが、25 mg/kg 投与群の雌雄の生存胎仔体重が対照に比して有意に重く、12.5 mg/kg 投与群の吸収胚数が有意に多かった。しかし、いずれも投与量との相関はなく、正常範囲内の変動であると思われる。

富沢ら¹¹⁾は、すでに CLM の腹腔内投与による催奇性の試験を行っており、ラットに対しては胎仔体重が減少する傾向があり、腰肋および胸椎非対称が投与量の増加によってわずかに増加し、化骨もわずかながら遅延する程度で、化骨に対する影響も催奇性も認められないと報告している。この富沢らの成績と今回われわれの実験成績を比較してみると、投与経路、投与量および投与日数が異なるが、われわれの実験では胎仔体重は対照に比して各 CLM 投与群でわずかではあるが増加する傾向が認められた。異常化骨を見ると、各群を通して腰肋の出現率が高い点、腰肋および胸椎非対称の出現が投与量の増加によって、わずかに増加することなどが類似していた。また、化骨率が投与量の増加に伴って遅延する

点、そして催奇性が認められないことなども共通する点であった。しかしながら、われわれの成績において歯状突起および後肢基節骨に有意の差のある化骨遅延が認められる点、化骨率とくに頸椎、尾椎、前肢および後肢の基節骨が高い点で相異が認められた。これらの相異点の生因が、単に投与経路の違い、投与日数の長短によるものかは不明であり、今回の実験ではそれを解明する手段をもたないが、投与期間あるいは投与経路の違いによって、薬物の吸収、血中濃度、生体内分布、代謝、排泄などに差が生じることは周知のとおりである。したがって、実験手技の違いがこれらの相異点となって現われた1つの要因になっているのかもしれない。

以上のことから、CLM 6.25 mg, 12.5 mg および 25 mg/kg を妊娠ラットの器官形成期に投与した場合、CLM の影響と思われる所見は、25 mg/kg 投与群で認められた胎仔の歯状突起および後肢の基節骨の化骨遅延、母体の分娩率および哺育率ならびに新生仔の生育率の低下であった。しかし、CLM には催奇形作用はなく、また哺育仔の生後発育・分化、行動などに対して、悪影響をおよぼすものではなかった。

結 論

Sodium colistin methanesulfonate (CLM) の生殖におよぼす影響を検討する目的で器官形成期投与試験をWistar 系ラットを用いて、CLM 6.25 mg, 12.5 mg および 25 mg/kg の静脈内投与により行ない、つぎの結論を得た。

1. 妊娠母体の一般症状、体重、摂餌量に対して影響をおよぼさなかった。
2. 末期胎仔の観察において、着床数、生存胎仔数、生存胎仔体重、性比、死亡胎仔数、吸収胚数および胎盤重量に影響をおよぼさなかった。また、胎仔の外形異常、内臓異常および異常化骨の発現を促進させない。化骨進行状態では、25 mg/kg 投与群で歯状突起および後肢基節骨の化骨遅延が認められた。
3. 自然分娩群の観察において、妊娠期間、出産仔数、生存仔数、生存仔体重、性比、死産仔数および着床痕数に対して影響をおよぼさなかった。生存仔の外形異常の発現を促進させない。しかし、25 mg/kg 投与において母体の分娩率、哺育率ならびに新生仔の生育率は低下した。
4. 新生仔の成長および発育・分化に対して、影響をおよぼさなかった。
5. 新生仔の行動および感覚反射機能、自発運動量、神経・筋能力、学習能力、情緒性および生殖能力に対し

て、影響をおよぼさなかった。

以上のことから、CLM は催奇形作用を認めず、胎仔および哺育仔の発育・分化に重篤な影響をおよぼさなかった。なお、本試験における最大無作用量は、12.5 mg/kg であると考えられる。

文 献

- 1) SCHWARTZ, B. S.; M. R. WARREN, F. A. BARKLEY & L. LANDIS: Microbiological and pharmacological studies of colistin sulfate and sodium colistin methanesulfonate. *Antibiotics Annual* 1959/1960: 40~61, 1960
- 2) 富沢摂夫, 勝呂信雄: Colistin sodium methanesulfonate の一般薬理作用に関する研究。応用薬理 7: 541~550, 1973
- 3) 富沢摂夫, 岡本良三, 川村賢司, 飯田知子: Colistin sodium methanesulfonate のラットにおける慢性毒性試験。応用薬理 7: 947~956, 1973
- 4) 富沢摂夫, 岡本良三, 川村賢司, 飯田知子: Colistin sodium methanesulfonate のマウスおよびラットに対する亜急性毒性試験。応用薬理 7: 915~928, 1973
- 5) 山田重男, 馬屋原敬民, 三崎矩昭, 若林一夫, 平塚幸蔵, 定岡啓三, 中沢 進, 渡辺 修, 佐藤 肇, 松本朋徳, 野田伊津子: 静注用メタンスルホン酸コリスチンナトリウム (メタコリマイシン) に関する研究, 第1報, 吸収・分布ならびに排泄について。Jap. J. Antibiotics 27: 8~14, 1974
- 6) 辻谷典彦, 大山正和, 大内勝, 斉藤太郎, 松本朋徳: Sodium colistin methanesulfonate のラットにおける生殖試験, 第1報, ——妊娠前および妊娠初期投与試験——。Chemotherapy 19(2): 140~148, 1981
- 7) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarine red S. *Stain. Technol.* 1: 123~124, 1926
- 8) WILSON, J. G.: Method for administering agents and detecting malformation in experimental animals. "Teratology: Principles and Techniques" edited by WILSON, J. G. and WARKANY, J. 262~277, Univ. Chicago Press, Chicago, 1965
- 9) IRWIN, S.: Drug screening and evaluation of new compounds in animals. *Animal and clinical pharmacological techniques in drug evaluation*, ed. by NODINE, J. H. and P. E. STOLER, 36~54, Year Book Medical Publishers, Chicago, 1964
- 10) 石崎 倫: 水迷路におけるラットの学習行動について。Exp. Anim. 27: 9~12, 1978
- 11) 富沢摂夫, 鎌田敏八: Colistin sodium methanesulfonate のマウスおよびラット胎仔におよぼす影響。応用薬理 7: 1047~1060, 1973

REPRODUCTION STUDIES OF SODIUM COLISTIN METHANESUFONATE. II

TERATOGENICITY STUDY IN RATS

MICHIHIKO TSUJITANI, YOUJI KAWAGUCHI and HARUHIKO TAKADA

Department of Pharmacology, Kanagawa Dental College

(Director : Prof. HARUO ITOH)

MASARU OHUCHI, TARO SAITOH and TOMONORI NATSUMOTO

Pharmacological Research Center, Kayaku Antibiotic Research Co., Ltd.

Teratogenicity study on sodium colistin methanesulfonate (CLM) was carried out in Wistar strain rats. Pregnant rats were given CLM intravenously, once daily, at doses of 6.25 mg, 12.5 mg and 25 mg/kg for 11 days from day 7 to day 17 of gestation.

Results were given as follows ;

1. CLM did not affect general condition, body weight and food consumption in pregnant rats.
2. There was no significant difference between the CLM treated groups and the control group in number of implantation, number of live fetuses, weight of live fetuses, sex ratio, number of resorptions, number of dead fetuses and weight of placentas.
3. No internal and external malformation as well as anomalous ossifications of fetuses were observed in CLM treated groups.
4. The ossifications of odontoid process and proximal diaphysis of the hind paw were delayed by treatment with CLM at dose of 25 mg/kg.
5. There was no significant difference between the CLM treated groups and the control group in duration of pregnancy, number of newborns, number of liveborns, number of stillborns, number of implantation sites, sex ratio and weight of liveborns at delivery. Moreover, no external malformations of liveborns were observed in any treated group.
6. Delivery rate and nursing rate were reduced by treatment with CLM at dose of 25 mg/kg.
7. CLM did not affect postnatal growth, development and differentiation in newborn rats.
8. CLM did not affect postnatal behavior, sensation reflex, spontaneous activity, learning ability, emotional pattern and reproductive ability in newborn rats.

It can be concluded that CLM has no unfavourable influence on fetuses or newborn rats. In this study, the maximum no-effect dose of CLM was 12.5 mg/kg in rats.