

AM-715 のマウスにおける生殖試験 第3報

—周産期および授乳期投与試験—

入倉 勉・鈴木 博・杉本 勉

杏林製薬株式会社中央研究所

新規合成抗菌剤である AM-715 の周産期および授乳期投与試験をマウスについて行なった。AM-715 の 125, 250 および 500 mg/kg を蒸留水に懸濁し妊娠15日目から分娩後21日目まで連日経口投与した。

投与期間を通じて全投与群において母獣への副作用はみられなかった。

対照群および投与群ともに外表および骨格異常が散見されたが、それらの出現頻度は対照群と比較し統計学的有意差を示さなかった。

F₁ および F₂ 世代の新生仔において、機能検査ならびに行動観察に異常はみられず、かつ生殖能力への副作用もみられなかった。

以上の結果から AM-715 は母獣および新生仔マウスに何ら副作用をおよぼさないものと推察される。

本報では、マウスの周産期および授乳期に AM-715 を経口投与し、新生仔 (F₁, F₂) の発育、機能、骨格、臓器重量、行動および生殖能力への影響の有無につき調べたので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 実験動物および飼育環境

生後8週令の SLC: ICR 系雌雄マウスを静岡実験動物(協)から購入し、性成熟の動物を得るために2~3週間予備飼育を行い、健康と思われる動物を実験に供した。実験開始時の体重は雄 38.6±2.9 g, 雌 32.6±2.0 g であった。

予備飼育および実験期間中、動物は室温 24±2°C, 湿度 65±10%。照明時間午前9時~午後5時の環境条件のもとで、アルミ製ケージに10匹ずつ収容し飼育した。飼料 (CA-1, 日本クレア製) および水 (水道水) は自由に摂取させた。

2. 投与量

投与量は、マウスの器官形成期投与試験で用いた 125, 250 および 500 mg/kg の3投与用量とし、対照群を含め4投与群を設定した。

3. 交配方法および妊娠動物の確認

肉眼的に発情徴候が認められた雌マウスを同系の雄マウスと1対1の割合で同居させ、翌朝、陰栓が確認された動物を妊娠動物とし、当日を妊娠0日目とした。

4. 投与方法および投与期間

AM-715 は蒸留水 (滅菌) に懸濁し、投与液量が体重

10 g 当り 0.1 ml になるように用時調製し、強制経口投与した。対照群には、蒸留水 (滅菌) のみを同液量経口投与した。

投与は1日1回、マウス用金属製経口ゾンデを用い、妊娠15日目から分娩21日目まで連続投与した。

5. 観察項目

1) 母獣の観察

妊娠期間および哺育期間中の体重測定および一般症状の観察を毎日行い、また投与期間中は摂餌量および摂水量の測定を行った。

2) 新生仔の観察

各群21匹の妊娠マウスを自然分娩させ、妊娠期間、出生仔数、性別、外表異常などにつき調べ、各群の新生仔は4週令時まで全例生存させ、その間体重を測定し、耳介開展、切歯萌出および眼瞼開裂などにつき調べた。

各群の新生仔 (F₁) は、4週令で離乳し、カゴ登り、平衡感覚、PREYER 反射、トンボ返り、角膜反射、耳介反射および HAFFNER 疼痛反射の各機能検査を行った。また精巣下降日および陰開口日につき調べた。

各群の同腹仔は、無作為に約3等分し、主要臓器の重量測定、骨格観察、行動観察および生殖能力の検査を行った。

臓器重量の測定 (4週令仔) は、脳、胸腺、心臓、肺臓、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓および生殖器につき行った。

骨格検査 (4週令仔) は、軟X線写真 (SOFTEX, Type CM) によった。

行動観察および生殖能力の検査は、生後11週目まで生

存飼育した新生仔について行った。

行動の観察は Open field (7 週令仔), Animex (8 週令仔), LASHLEY III type maze (10~11 週令仔) の方法を用いて行った。また生殖能力の検査は、生後13週目に兄妹交配を避けて同一群内の雌雄で行った。交尾の確認された母獣 (F₁) は、妊娠14日目に約3/4を解剖し、黄体数、着床数、初期および後期死胚数を調べ、残りの1/4は自然分娩させ、妊娠期間、出生仔数、性別および外表異常について調べた。新生仔 (F₂) は10週令時まで体重を測定し、その間、耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂を調べ、機能検査を行い、精巣下降および腔開口についても調べた。

F₂ 新生仔についても、F₁ 新生仔と同様な方法により、主要臓器の重量測定、骨格検査、行動観察および生殖能力の検査を行った。

6. データ処理法

外表および骨格異常の出現については、WILCOXON の順位検定 ($p < 0.05$) を、その他の反応値は χ^2 検定 ($p < 0.05$) で処理し、実数値は平均値±標準偏差で表わし、F 検定、STUDENT の t 検定を用いて対照群と比較した。

II. 実験結果

1. 母獣の観察

妊娠期間中および哺育期間中の体重推移を示したのが

Fig. 1 で、500 mg/kg 群の妊娠18日目の体重に減少の傾向がみられたのみで、その他の群の体重変動には、いずれの期間においても、対照群とほぼ同様な推移が認められた。

摂餌量および摂水量は Fig. 2 に示す通りで、いずれの摂取量にも、対照群との間に有意な差は認められなかった。

一般症状では AM-715 の中毒様症状は発現せず、またいずれの群にも死亡は1例も認められなかった。

2. 新生仔の観察

1) F₁ 新生仔

母獣および新生仔に関する検査結果をまとめたのが Table 1 で、妊娠期間、着床数、出生仔数、性比、出生率および離乳率には、対照群との間に有意な差は認められなかった。

外表奇形は125 mg/kg 群に曲尾が2例認められたのみであった。

生後4週目までの体重推移をみると、体重増加は雌雄ともに対照群に比べ、AM-715 投与群の方が全般的に体重の増加はよい傾向が認められた。

発育分化および機能検査の結果を Table 2 に示した。耳介開展、切歯萌出および眼瞼開裂の日令には、対照群との間に有意な差はなく、精巣下降および腔開口にも、差は認められなかった。

Fig. 1 Body weight changes of mice treated orally with AM-715

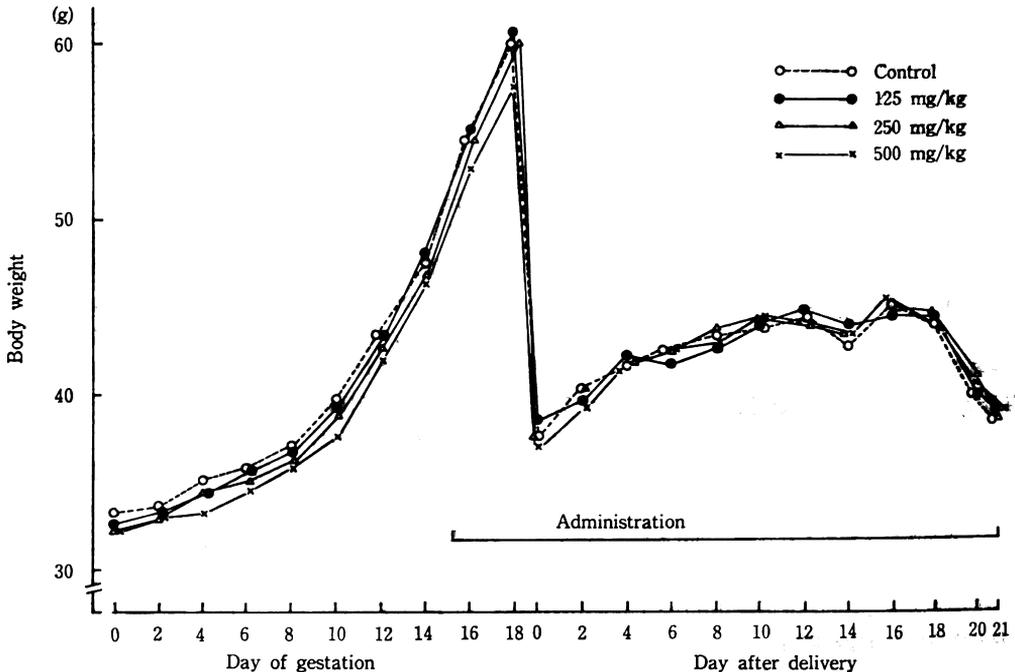
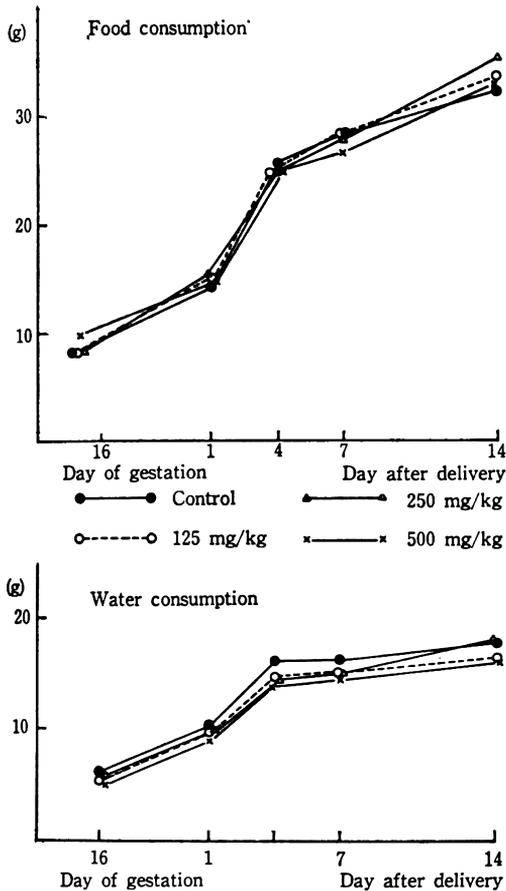


Fig. 2 Food and water consumption changes of mice treated orally with AM-715



機能検査では、対照群を含め全群に異常は1例も認められなかった。

4週令仔の主要臓器重量を Table 3 に示した。雄においては、125 mg/kg 群で体重、脳、胸腺、心臓、脾臓、腎臓、生殖器官の重量に、250 mg/kg 群で体重、脳、胸腺、心臓、肺臓、肝臓、脾臓、腎臓、生殖器官の重量に、500 mg/kg 群では体重、心臓、脾臓、腎臓および生殖器官に、それぞれ対照群との間に有意な増加が認められた。雌においては、125 mg/kg 群で脾臓および生殖器官に、250 mg/kg 群で胸腺、心臓、脾臓および脾臓に、それぞれ対照群との間に有意な増加が認められた。しかし、雌雄いずれの重量増加も体重比に換算すると、対照群と差はなく、更に用量依存性の関係も認められなかった。

4週令仔の骨格を検査した結果を Table 4 に示した。

対照群を含め全群に14肋骨、副胸骨などが散見されたが、それらの出現頻度には、対照群との間に有意な差は認められなかった。250 および 500 mg/kg 群の尾椎数が対照群に比べ有意に少なかったが、用量依存性の関係は認められなかった。

生後5週目から11週目までの体重測定の結果を Table 5 に示した。体重は、雌雄ともに対照群との間に有意な差は認められなかった。

行動観察を行った結果は、Table 6 (Open field), Table 7 (Animex) および Table 8 (LASHLEY III type maze) に示すとおりである。

Open field の検査で、雌の 500 mg/kg 群の Grooming に有意な差がみられたが、その値は雄におけるものと同程度であり、薬物による影響とは断定できなかった。

Animex における検査では spontaneous motor activity, defecation, urination のいずれの値にも対照群との間に差はなかった。

LASHLEY III type maze の検査では、5日間の試行で、学習能に異常が認められた群はなかった。

生殖能力に関する検査結果は、Table 9 に示した。交配期間、交尾率、妊娠率、黄体数、着床数、初期および後期死胚数について調べたが、いずれの検査値にも、対照群との間に有意な差は認められなかった。

2) F₂ 新生仔

対照群を含め各群 7~9 匹の F₁ 母獣を自然分娩させ、各種の測定を行った結果は、Table 10 に示したように、妊娠期間、新生仔数、性比、着床痕数、出生率、離乳率には、対照群との間に有意な差はなく、生後4週目までの体重増加が、対照群より劣ることもなかった。

外表奇形は、125 mg/kg 群に曲尾が2例認められた。その他の群には、対照群を含め1例の奇形仔も認められなかった。

発育分化および機能検査の結果を Table 11 に示した。耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂の日令には、対照群との間に有意な差は認められず、各機能検査でも、対照群を含め各群に異常が認められた個体は1例もなかった。

また精巣下降率および陰開口日数においても、対照群との間に有意な差は認められなかった。

主要臓器重量を Table 12 に示した。雄の 125 および 250 mg/kg 群の脾臓重量、500 mg/kg の肝臓重量は対照群に比べ有意な差を示し、脾臓は重く、肝臓は軽かった。雌の各臓器重量については対照群との間に有意な差は認められなかった。

骨格検査の結果は、Table 13 に示した。対照群を含め各群に 14 肋骨、副胸骨が散見されたが、対照群との間に有意な差は認められなかった。尾椎数では、125 お

Table 1 Effects of AM-715 on delivery and postnatal development of F₁ mice

Dose (mg/kg)		Control	125	250	500
No. of pregnant mouse		21	21	21	21
No. of delivery		21	21	21	21
Gestation period		19.0±0.0 ¹⁾	19.0±0.0	19.0±0.0	18.9±0.2
No. of implantation site		280 13.3±1.9	284 13.5±1.5	283 13.4±1.4	275 13.0±1.8
No. of newborn mouse		257 12.2±1.8	260 12.3±1.3	262 12.4±1.4	254 12.0±1.7
No. of male		121	133	134	120
No. of female		136	127	128	134
Sex ratio (M/F)		0.88	1.04	1.04	0.89
Body weight changes of newborn mouse (F ₁) (g)	Male				
	At birth	1.57±0.13	1.65±0.14*	1.67±0.14*	1.62±0.11*
	4-day old	3.11±0.41	3.13±0.33	3.15±0.44	3.03±0.36
	1-week old	4.61±0.72	4.65±0.52	4.69±0.65	4.56±0.55
	2-week old	6.67±1.02	6.86±0.76	7.03±0.81*	6.96±0.81*
	3-week old	10.62±2.09	11.21±1.71*	11.44±1.73*	11.30±1.83*
	4-week old	19.21±2.95	19.79±2.56	20.46±2.08*	20.42±2.59*
	Female				
	At birth	1.61±0.10	1.57±0.12*	1.59±0.13	1.56±0.12*
	4-day old	3.01±0.34	2.98±0.31	3.04±0.41	2.93±0.37
	1-week old	4.44±0.60	4.45±0.48	4.50±0.65	4.36±0.59
	2-week old	6.48±0.96	6.70±0.79*	6.83±0.85*	6.67±0.99
3-week old	10.16±2.03	10.71±1.72*	10.95±1.75*	10.59±2.00	
4-week old	17.27±2.54	18.08±2.55*	18.41±2.10*	18.00±2.47*	
No. of gross malformation (%)		0	2 (0.7)	0	0
Type					
Kinkey tail		0	2	0	0
Birth rate (%)		91.7	91.5	92.5	92.3
Weaning rate (%)	Male	97.5	100.0	99.2	100.0
	Female	98.5	98.4	98.4	100.0

1): Mean ± SD

*: Significant difference from control (p<0.05)

Table 2 Effects of AM-715 on growth, sexual function and functional tests of F₁ mice

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
Opening days of auricles (mean days)	3.4	3.4	3.5	3.4
Odontiasis (mean days)	10.6	10.7	10.7	10.8
Opening days of eyelids (mean days)	14.0	13.8	13.9	14.1
Descent of testis at 4-week old (%)	97.4	100.0	100.0	100.0
Opening of vagina (mean days)	32.3	30.5	31.3	30.8
Functional tests (At 4-week old)				
Abnormality of the behavior	0	0	0	0
Abnormality of the sense equilibrium	0	0	0	0
Abnormality of the Haffner's reflex	0	0	0	0
Abnormality of the corneal reflex	0	0	0	0
Abnormality of the pinna reflex	0	0	0	0
Abnormality of the righting reflex	0	0	0	0
Abnormality of the Preyer's reflex	0	0	0	0

Table 3 Effects of AM-715 on organ weights of F₁ mice at 4-week old

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of male	42	45	43	42
Body weight (g)	18.7± 3.3 ¹⁾	20.2± 2.2*	20.9± 1.7*	20.3± 2.4*
Brain	46.5± 3.2	48.0± 2.5*	47.9± 2.1*	46.3± 2.0
Thymus	8.8± 2.0	9.7± 1.4*	9.9± 1.7*	9.0± 1.4
Heart	9.0± 1.4	9.7± 1.1*	10.0± 0.9*	9.7± 1.2*
Lung	14.8± 2.5	15.8± 2.6	15.9± 2.1*	15.3± 1.5
Liver	127.2±23.0	134.1±19.3	139.9±15.9*	130.7±17.4
Pancreas	13.5± 4.5	13.7± 3.9	13.5± 4.1	15.1± 4.6
Spleen	12.4± 2.5	14.0± 2.4*	14.7± 2.1*	14.0± 2.5*
Kidney	29.5± 4.8	34.0± 5.9*	34.2± 4.4*	34.2± 7.0*
Testis and epididymis	14.0± 3.2	15.7± 2.1*	15.8± 2.3*	15.2± 2.1*
No. of female	43	43	43	42
Body weight (g)	17.5± 2.1	17.8± 1.9	18.4± 2.1	17.8± 2.4
Brain	46.0± 3.1	46.7± 2.4	46.5± 2.0	45.7± 2.1
Thymus	9.4± 1.5	9.9± 1.2	10.5± 1.8*	9.5± 1.3
Heart	8.6± 1.1	9.0± 0.9	9.2± 1.0*	9.0± 1.2
Lung	14.6± 2.9	14.9± 2.5	14.9± 2.2	15.4± 3.4
Liver	111.3±15.0	111.1±13.4	111.7±14.3	105.0±15.2
Pancreas	12.9± 3.6	14.4± 3.9	14.9± 4.1*	14.1± 4.1
Spleen	11.4± 2.7	12.6± 2.1*	13.0± 2.1*	11.7± 1.9
Kidney	26.5± 3.4	27.0± 2.7	27.6± 3.9	27.5± 4.6
Uterus and ovary	6.9± 3.5	9.5± 4.8*	8.1± 4.4	7.5± 3.2

1): Mean ± SD

Organ weights were expressed as × 10 mg unit

* : Significant difference from control (p<0.05)

Table 4 Effects of AM-715 on skeleton of F₁ mice at 4-week old

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of mouse	90	96	90	88
Sternum				
Asymmetry	1(1.1)	0	0	0
Bifurcation				
Position V	0	0	0	2(2.7)
Super-sternum	15(16.6)	8(8.3)	12(13.3)	4(4.5)
Rib				
14 rib	12(13.3)	7(7.2)	9(10.0)	11(12.5)
No. of caudal vertebra	27.7±1.2 ¹⁾	28.0±1.0	26.7±1.1*	26.9±0.9*

1): Mean ± SD

*: Significant difference from control (p<0.05)

Each value in the parentheses was expressed as percentage

および500 mg/kg 群で有意な差を認めたが、用量依存性はみられなかった。

生後5週目から10週目までの雌雄の新生仔の体重を示したのが、Table 14で、雌雄の各週令仔の体重には、対照群との間に有意差は認められなかった。

行動観察を行った結果は、Table 15 (Open field), Table 16 (Animex) および Table 17 (LASHLEY III type maze) に示した。

Open field で雄の250および500 mg/kg 群の ambulation, rearing および urination の値に有意な差がみられたが、雌の各検査値には、対照群との間に有意な差は認められなかった。

Animex で雄の125 mg/kg 群の defecation に有意な差がみられたが、用量依存性の関係は認められなかった。その他の検査、特に activity の測定値には、雌雄ともに対照群との間に有意な差は認められなかった。

LASHLEY III type maze では、5回の試行により各群の新生仔につき学習能を調べたが、雌の500 mg/kg 群の3日目に有意な時間の短縮が認められたのみであった。

生殖能力に関する検査結果は、Table 18 に示した。対照群との間に、250 mg/kg 群の着床数が有意に多かったが、その他の交配期間、交尾率、妊娠率、黄体数、初期および後期死胚数には、対照群との間に有意な差は認められなかった。

III. 考察および結語

AM-715 の125, 250 および500 mg/kg をICR系マウスの周産期および授乳期に投与し、新生仔 (F₁, F₂) の発育、機能、骨格、行動および生殖能力への影響の有無について検査を行った。

AM-715 を周産期および授乳期に投与しても、母獣の体重、摂餌量および摂水量への影響はなく、中毒症状も認められなかった。またAM-715 を妊娠末期に投与しても、妊娠期間、分娩率、出産仔数への影響はなく、授乳期中に投与しても新生仔の発育、離乳率に影響しないことが確められた。

F₁, F₂ 新生仔の外表面形として、125 mg/kg 群のみに曲尾を有する新生仔が各2例ずつみられたが、通常よく認められる種類の奇形であって、発生率も高くなく、また用量依存性的関係もみられないことから自然発生と考えられた。

AM-715 は、F₁, F₂ 新生仔に対する発育分化および機能への影響を示さず、精巣下降および陰開口への影響も認められなかった。

F₁, F₂ の4週令仔の主要臓器重量は、対照群よりも有意に重かったが、体重比に換算すると差はなく、用量依存性的関係もなかった。また骨格への悪影響も認められなかった。

Open field, Animex および LASHLEY III type maze を

Table 5 Effects of AM-715 on body weight changes of F₁ mice

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of male	38	41	42	39
5-week old	29.0±2.3 ¹⁾	28.9±2.1	28.8±2.3	28.2±1.9
6-week old	32.9±2.8	33.1±1.9	33.2±2.7	32.7±2.2
7-week old	36.4±2.7	35.9±2.3	36.3±2.7	35.9±2.1
8-week old	38.3±3.0	37.9±2.5	38.1±2.9	38.2±2.4
9-week old	39.1±2.7	39.0±2.2	39.9±2.8	39.7±2.8
10-week old	41.1±3.0	40.7±2.6	41.2±3.7	41.2±2.4
11-week old	42.4±3.6	42.1±2.8	42.6±4.0	42.9±3.1
No. of female	39	41	41	41
5-week old	23.2±2.4	23.5±2.0	23.7±1.7	23.4±1.8
6-week old	25.9±1.9	25.6±2.0	26.1±1.9	26.3±1.9
7-week old	28.0±2.2	27.8±2.2	28.0±2.1	28.3±1.9
8-week old	29.4±2.5	29.2±2.1	29.4±1.9	30.2±2.3
9-week old	30.4±2.7	30.4±1.9	30.3±2.4	31.2±2.7
10-week old	31.4±3.0	31.2±2.7	31.4±2.6	32.0±2.7
11-week old	32.3±3.3	32.2±2.8	32.3±3.1	33.2±2.7

1): Mean ± SD

Body weights were expressed as gram unit

用いて、行動観察を行ったが、いずれの検査結果からも、AM-715の影響と考えられる新生仔 (F₁, F₂) の異常行動の出現は認められなかった。

AM-715を周産期、授乳期に投与して生れた F₁, F₂ 新生仔につき、生殖能力への影響の有無を交配期間、交尾率、妊娠率、黄体数、着床数および死胚数などから調べたが、対照群に比べ明らかに異常と考えられるような変動値は認められなかった。

以上のことから、マウスの周産期および授乳期に AM-715 を投与した場合、AM-715 には、F₁, F₂ 新生仔に奇形を誘発するような作用はなく、発育、骨格形成、臓器重量などに対し、好ましからぬ作用を持たないことが示唆された。また次世代の発育分化、機能、行動および生殖能力に対しても、AM-715 は悪い影響を及ぼすような作用を持たない化合物であることが推察された。

Table 6 Effects of AM-715 on Open field behavior in F₁ mice

Sex	Dose (mg/kg)	No. of mouse	Ambulation	Rearing	Defecation	Urination	Grooming
Male	Control	21	95.6±44.4 ¹⁾	22.8±13.0	2.2±2.3	0.04±0.21	1.0±0.5
	125	21	98.0±32.5	22.6±10.3	1.7±2.1	0.09±0.30	1.2±0.9
	250	21	89.2±36.6	19.1±12.8	2.6±2.5	0.23±0.53	1.3±0.8
	500	21	103.0±25.2	24.0± 9.8	2.0±2.4	0.28±0.56	1.2±0.7
Female	Control	21	114.0±50.6	22.7±17.0	1.8±2.1	0	0.8±0.6
	125	21	92.0±44.0	19.7±14.5	2.5±2.3	0.09±0.30	0.9±0.6
	250	21	99.2±56.1	23.1±13.8	2.2±2.5	0	1.0±0.6
	500	21	93.7±49.4	19.5±14.3	1.9±2.0	0.14±0.35	1.2±0.7*

1): Mean ± SD

*: Significant difference from control (p<0.05)

Table 7 Effects of AM-715 on spontaneous activity levels in F₁ mice

Sex	Dose (mg/kg)	No. of mouse	Activity	Defecation	Urination
Male	Control	21	203.0±67.5 ¹⁾	2.6±1.9	0.23±0.43
	125	21	203.7±67.2	2.4±2.0	0.04±0.21
	250	21	217.8±68.2	2.4±1.9	0.38±0.49
	500	21	227.0±65.2	1.6±1.8	0.14±0.35
Female	Control	21	220.2±57.7	3.4±2.2	0
	125	21	194.3±76.3	3.4±2.0	0.04±0.21
	250	21	216.5±77.9	3.3±1.7	0
	500	21	209.5±55.7	2.7±2.3	0.23±0.43

1): Mean ± SD

Table 8 Effects of AM-715 on learning behavior by LASHLEY III type maze in F₁ mice

Sex	Dose (mg/kg)	No. of mouse	1st day (sec)	2nd day (sec)	3rd day (sec)	4th day (sec)	5th day (sec)
Male	Control	21	98.1±53.7 ¹⁾	54.6±43.5	33.9±20.1	26.1±17.5	16.9± 8.9
	125	21	79.0±45.6	40.9±30.1	30.8±14.9	22.9±14.8	26.1±20.4
	250	21	79.5±36.7	43.0±27.3	30.4±20.5	25.8±16.3	19.8±13.4
	500	21	78.1±77.9	43.0±27.3	33.3±28.8	23.0±18.2	17.8± 7.6
Female	Control	21	94.1±43.4	55.4±27.3	35.1±25.1	24.3±15.8	20.3±14.5
	125	21	100.6±55.8	66.4±54.0	37.1±21.1	24.1±15.1	14.6± 7.0
	250	21	92.2±74.7	58.3±50.3	34.1±17.6	23.8±15.2	19.0±11.5
	500	21	84.8±50.1	40.0±20.1	34.0±16.7	31.4±24.1	18.2±11.5

1): Mean ± SD

Table 9 Effects of AM-715 on reproductive performance of F₁ mice

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of male	38	41	41	39
No. of female	39	41	41	41
Mating period	2.8±1.6 ¹⁾	2.9±1.8	3.2±1.5	2.9±1.4
No. of copulation (%)	39 (100.0)	41 (100.0)	41 (100.0)	41 (100.0)
No. of pregnancy (%)	38 (97.4)	38 (92.6)	40 (97.5)	39 (95.1)
No. of pregnancy	28	28	30	29
No. of corpus luteum	401 14.3±3.0	414 14.7±2.8	423 14.1±2.9	420 14.4±2.8
No. of implantation	347 12.3±2.1	342 12.2±2.6	358 11.9±2.5	351 12.1±3.0
No. of early death (%)	29 (8.3)	25 (7.3)	17 (4.7)	19 (5.4)
No. of late death (%)	2 (0.5)	4 (1.1)	3 (0.8)	7 (1.9)

1): Mean ± SD

Table 10 Effects of AM-715 on delivery and postnatal development of F₂ mice

Dose (mg/kg)		Control	125	250	500	
No. of pregnant mouse		8	9	8	7	
No. of delivery		8	9	8	7	
Gestation period		19.0±0.0 ¹⁾	19.0±0.0	19.0±0.0	18.8±0.3	
No. of implantation site		103 12.8±1.3	118 13.1±1.6	107 13.3±1.9	100 14.2±3.2	
No. of newborn mouse		92 11.5±1.6	106 11.7±2.9	97 12.1±1.5	88 12.5±3.0	
No. of male		49	51	57	46	
No. of female		43	55	40	42	
Sex ratio (M/F)		1.13	0.92	1.42	1.09	
Body weight changes of newborn mouse (F ₂) (g)	Male	At birth	1.56±0.14	1.56±0.16	1.62±0.15*	1.56±0.18
		4-day old	2.74±0.38	2.88±0.46	2.95±0.46*	2.81±0.39
		1-week old	4.28±0.65	4.38±0.78	4.65±0.63*	4.33±0.81
		2-week old	6.53±0.87	6.75±1.20	7.02±0.95*	6.50±1.84
	Female	3-week old	10.09±2.07	10.55±2.50	10.82±2.25	9.73±3.38
		4-week old	18.43±2.78	18.75±3.88	19.20±3.30	17.63±4.96
		At birth	1.48±0.13	1.49±0.18	1.52±0.18	1.55±0.12*
		4-day old	2.67±0.42	2.72±0.54	2.78±0.41	2.75±0.38
	Female	1-week old	4.25±0.70	4.05±1.09	4.35±0.65	4.14±0.84
		2-week old	6.58±1.13	6.53±1.48	6.60±1.07	6.28±1.86
		3-week old	10.23±2.09	10.00±2.77	10.06±2.38	9.24±3.45
		4-week old	16.70±3.19	16.77±3.64	17.24±3.20	16.33±4.61
No. of gross malformation (%)		0	2 (1.8)	0	0	
Type						
Kinky tail		0	2	0	0	
Birth rate (%)		89.3	89.8	90.6	88.0	
Weaning rate (%)	Male	97.9	98.0	96.4	93.4	
	Female	97.6	96.3	97.5	92.8	

1): Mean ± SD

*: Significant difference from control (p<0.05)

Table 11 Effects of AM-715 on growth, sexual function and functional tests of F₂ mice

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
Opening days of auricles (mean days)	4.0	4.0	4.0	3.9
Odontiasis (mean days)	11.1	11.2	11.1	11.1
Opening days of eyelids (mean days)	14.6	14.4	14.1	14.8
Descent of testis at 4-week old (%)	95.8	88.0	100.0	74.4
Opening of vagina (mean days)	29.8	30.5	29.6	30.6
Functional tests (At 4-week old)				
Abnormality of the behavior	0	0	0	0
Abnormality of the sense equilibrium	0	0	0	0
Abnormality of the HAFFNER'S reflex	0	0	0	0
Abnormality of the corneal reflex	0	0	0	0
Abnormality of the pinna reflex	0	0	0	0
Abnormality of the righting reflex	0	0	0	0
Abnormality of the PREYER'S reflex	0	0	0	0

Table 12 Effects of AM-715 on organ weights of F₁ mice at 4-week old

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of male	15	17	16	13
Body weight (g)	18.8± 1.6 ¹⁾	19.0± 4.4	19.2± 3.4	17.9± 5.1
Brain	46.5± 1.9	46.6± 2.8	46.0± 2.7	46.3± 3.6
Thymus	9.1± 1.5	8.7± 1.6	9.1± 1.4	8.4± 1.8
Heart	9.2± 0.7	9.2± 2.0	9.6± 1.5	8.4± 1.7
Lung	15.6± 2.4	16.7± 3.4	15.2± 2.2	14.4± 2.6
Liver	123.7±15.3	119.5±32.3	108.6±25.4	102.4±31.7*
Pancreas	14.4± 3.2	13.8± 4.9	13.5± 4.0	13.1± 4.1
Spleen	12.2± 1.8	14.7± 2.6*	14.3± 2.2*	13.1± 3.2
Kidney	30.2± 4.7	31.0± 8.5	31.1± 6.7	30.5± 9.7
Testis and epididymis	13.8± 2.1	14.1± 4.7	14.5± 2.8	14.0± 3.8
No. of female	14	17	14	14
Body weight (g)	16.2± 3.1	16.9± 3.3	16.3± 3.9	16.0± 4.6
Brain	45.2± 3.8	45.7± 2.4	44.2± 3.5	45.0± 4.5
Thymus	8.7± 2.2	9.5± 1.9	8.5± 1.6	8.2± 2.8
Heart	8.7± 1.8	8.4± 1.7	8.0± 1.0	7.7± 1.3
Lung	13.6± 2.0	14.3± 2.2	13.9± 3.8	12.7± 2.5
Liver	94.0±18.5	101.2±21.6	87.2±23.3	80.7±26.9
Pancreas	13.1± 3.7	13.5± 4.3	10.5± 4.2	11.2± 3.6
Spleen	11.2± 2.6	12.8± 2.0	11.2± 2.3	11.2± 4.1
Kidney	25.3± 4.9	26.4± 4.8	23.0± 4.8	22.1± 5.6
Uterus and ovary	7.2± 4.1	9.2± 4.3	7.9± 5.3	7.0± 4.6

1): Mean ± SD

Organ weights were expressed as × 10 mg unit

*: Significant difference from control (p<0.05)

Table 13 Effects of AM-715 on skeleton of F₂ mice at 4-week old

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of mouse	30	35	34	28
Sternum				
Super-sternum	5(16.6)	7(20.0)	7(20.5)	1(3.5)
Rib				
14 ribs	4(13.3)	3(8.5)	3(8.8)	0
No. of caudal vertebrae	28.4±0.9 ¹⁾	26.9±1.4*	28.0±0.8	27.5±0.7*

1): Mean ± SD

* : Significant difference from control (p<0.05)

Each value in the parentheses was expressed as percentage

Table 14 Effects of AM-715 on body weight changes of F₂ mice

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of male	14	16	15	13
5-week old	29.2±2.1 ¹⁾	28.6±3.7	29.7±3.1	27.7±4.1
6-week old	33.0±2.3	33.5±3.1	33.6±3.2	32.5±4.2
7-week old	36.0±2.8	36.6±2.8	36.4±3.0	35.3±4.4
8-week old	37.7±3.2	38.4±2.6	37.7±2.7	37.6±5.5
9-week old	37.6±3.0	38.8±2.6	39.4±2.5	39.0±6.8
10-week old	40.7±3.6	40.8±3.1	41.0±3.3	40.6±5.5
No. of female	15	16	15	13
5-week old	24.2±1.6	23.3±2.2	24.9±2.2	24.0±3.3
6-week old	26.6±2.3	25.6±2.2	27.3±2.8	26.9±3.6
7-week old	28.4±2.7	27.8±2.1	29.4±3.3	28.5±3.9
8-week old	29.7±3.3	28.4±2.3	30.7±3.7	30.2±3.8
9-week old	30.5±3.1	28.7±2.9	31.8±4.2	29.1±3.4
10-week old	32.0±3.5	30.8±2.9	33.4±4.6	32.3±3.9

1): Mean ± SD

Body weights were expressed as gram unit

Table 15 Effects of AM-715 on Open field behavior in F₂ mice

Sex	Dose (mg/kg)	No. of mouse	Ambulation	Rearing	Defecation	Urination	Grooming
Male	Control	14	119.1±21.4 ¹⁾	36.9± 7.9	2.8±1.6	0.14±0.36	0.7±0.8
	125	16	110.2±27.8	31.0±11.4	3.4±2.3	0.43±0.51	0.9±0.5
	250	15	90.2±32.5*	25.5± 9.4*	3.9±1.7	0.60±0.50*	1.0±0.7
	500	13	85.7±20.1*	27.9± 6.9*	3.9±2.0	0.69±0.63*	0.8±0.8
Female	Control	15	100.8±45.0	29.9±16.6	3.0±2.1	0	1.5±1.3
	125	16	94.8±38.3	27.7±15.5	2.8±1.7	0	0.8±0.6
	250	15	98.6±55.5	27.0±19.7	3.0±1.8	0.06±0.25	1.2±0.7
	500	13	90.0±47.1	20.2±12.0	2.7±1.9	0	1.1±0.6

1): Mean ± SD

* : Significant difference from control (p<0.05)

Table 16 Effects of AM-715 on spontaneous activity levels in F₂ mice

Sex	Dose (mg/kg)	No. of mouse	Activity	Defecation	Urination
Male	Control	14	271.3±74.9 ¹⁾	4.0±1.8	0.42±0.51
	125	16	248.0±67.4	2.1±1.7*	0
	250	15	248.2±57.0	3.4±1.5	0.46±0.51
	500	13	268.6±51.9	2.9±1.1	0.46±0.66
Female	Control	15	261.2±68.7	2.4±2.6	0.13±0.35
	125	16	268.9±49.6	3.2±2.3	0.12±0.34
	250	15	250.5±59.2	2.5±2.3	0.20±0.41
	500	13	277.7±42.4	3.3±2.8	0

1): Mean ± SD

* : Significant difference from control (p<0.05)

Table 17 Effects of AM-715 on learning behavior by LASHLEY III type maze in F₂ mice

Sex	Dose (mg/kg)	No. of mouse	1st day (sec)	2nd day (sec)	3rd day (sec)	4th day (sec)	5th day (sec)
Male	Control	8	84.8±69.9 ¹⁾	43.8±19.4	33.3±17.1	27.8±17.1	20.7±10.0
	125	9	66.8±41.2	42.0±19.7	28.7±23.5	22.7±13.8	13.0± 4.6
	250	8	65.0±35.2	40.1±20.6	39.0±39.0	35.7±36.8	20.7±13.9
	500	7	76.1±46.3	58.4±44.2	42.8±37.0	25.4±22.5	16.0± 4.7
Female	Control	8	100.7±31.5	51.0±29.1	49.3±21.2	24.2± 8.5	16.1±10.0
	125	9	78.4±23.3	45.6±22.4	53.5±53.3	31.2±27.0	19.8±13.0
	250	8	119.2±47.4	54.0±30.4	46.8±15.6	42.3±32.9	26.2±23.6
	500	7	144.7±95.7	60.7±20.4	28.0±11.2*	32.0±26.2	13.4± 3.5

1): Mean ± SD

* : Significant difference from control (p<0.05)

Table 18 Effects of AM-715 on reproductive performance of F₂ mice

Dose (mg/kg)	Control	125	250	500
No. of male	14	16	15	13
No. of female	15	16	15	13
Mating period	3.2±1.5 ¹⁾	3.1±1.2	3.6±1.9	3.3±1.8
No. of copulation (%)	15 (100.0)	16 (100.0)	15 (100.0)	13 (100.0)
No. of pregnancy (%)	14 (93.3)	14 (87.5)	15 (100.0)	12 (92.3)
No. of corpus luteum	197 14.0±2.2	196 14.0±3.3	223 14.8±2.0	182 15.1±2.3
No. of implantation	164 11.7±2.3	181 12.9±3.7	207 13.8±1.6*	159 13.2±2.0
No. of early death (%)	12 (7.3)	5 (2.7)	10 (4.8)	11 (6.9)
No. of late death (%)	2 (1.2)	0	0	0

1): Mean ± SD

* : Significant difference from control (p<0.05)

REPRODUCTION STUDIES OF AM-715 IN MICE III. PERINATAL AND POSTNATAL STUDY

TSUTOMU IRIKURA, HIROSHI SUZUKI and TSUTOMU SUGIMOTO

Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

Peri and postnatal study of AM-715, a new synthetic antibacterial agent, was carried out in mice.

AM-715, suspended in distilled water, was orally administered at daily doses of 125, 250 and 500 mg/kg from days 15 of pregnancy to 21 after the delivery.

The side effects on dams were not observed in all dose groups during the period of administration.

Although some external and skeletal abnormalities were observed in both the control and dosage groups, in those appearance no statistical difference was indicated as compared with the control group.

In functional test and behavior observation, no abnormalities were observed and also no side effects on reproductive performance were observed in the newborn mice of F₁ and F₂ generations.

It is suggested from the present study that AM-715 has no side effects on dams and newborn mice.