

Cefotetan (YM09330) の静脈内投与時のラット における器官形成期投与試験

柴田正勝・玉田尋通
山之内製薬株式会社開発研究所

要 旨

Cefotetan(CTT, YM09330)の胎仔への影響また出産仔の生後の発育および行動機能に対する影響を、ラットを用いて調べた。Cefotetanの100, 500および2,000mg/kgをSDラットの妊娠7日より17日までの器官形成期に連日静脈内投与し、母体の一部は妊娠20日に帝王切開し、胎仔への影響を調べ、残りの母体は出産させ、出生仔への影響を調べた。その結果、母体に対しては、500mg/kg以上の投与群で、投与開始後より妊娠末期まで軟便がみられたか、その他の一般症状に異常はなく、分娩および哺育能は正常であり、母体の生殖機能に対する毒性は認められなかった。胎仔に対しても催奇形作用は、2,000mg/kgまで認められず、また出生仔の成長、発育分化、行動機能および生殖機能にも異常は認められなかった。

緒 言

Cefotetan(CTT, YM09330)は山之内製薬株式会社中央研究所において開発された新規のセファマイシン系抗生物質であり、 β -lactamase に対しきわめて安定で、従来のセファマイシン系抗生物質に比較して、グラム陰性菌に対して特に優れた抗菌作用があり、また血中および臓器内濃度の持続性にも優れた特質を持つ抗生物質である。

本試験では、胎仔および出生仔に対する影響の有無をラットを用いて、薬番529号に従い検討した。

実験材料および実験方法

1. 試験動物

日本チャールス・リバー株式会社より8週令のSDラット雌雄を購入し、2週間リハビリ期間を置いた後試験に使用した。交配は、雌ラットを雄ラットのケージ内に1対1で一夜同居させ、翌朝、陰栓または膈内の精子の存在が確認されたものを交配成立とし、その日を妊娠0日とした。交配成立雌は、個別ケージに収容し、固型飼料MM-2(福橋農場株式会社)と水道水を自由に与えた。飼育室は、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 5\%$ に空調し、照明時間は7:00~19:00までの12時間とした。

2. 被験試料

CTTは、局方生理食塩液(小林製薬株式会社)に用時溶解して使用した。

3. 投与量

本試験での投与量を決定するために、本試験に先立ち、

非妊娠成熟雌ラットを用いた2週毒性試験および妊娠ラットを用いた用量決定試験を実施した。2週毒性試験ではCTTの1,000, 2,000および4,000mg/kgを2週間連続して尾静脈より投与した。投与液量はいずれも20ml/kgとした。その結果、投与期間中を通じて死亡は認められず、体重増加、摂餌量、摂水量ともに異常はなかった。しかし最高投与量の4,000mg/kg投与群では、全例投与部位の充・出血、浮腫および壊死がみられ、連続投与は困難であった。この結果より4,000mg/kg投与群で用いた20%の試料濃度は局所障害が強くなり、技術的に連続投与が困難であることが判明した。

この結果を基に、妊娠ラットを用いた用量決定試験では最高試料濃度を10%とし、500, 1,000および2,000mg/kgの投与量で実施した。

各投与量に対する投与液量は、それぞれ、10, 10および20ml/kgとした。また対照群として生理食塩液の10および20ml/kgの2群を設けた。投与期間は、妊娠7日より17日までの11日間とした。1群12匹の交配成立雌ラットを用い、妊娠20日に半数を帝王切開し、残りは自然分娩させ、出産後7日まで哺育能を観察した後、母体および哺育仔を剖検した。

その結果、摂餌量は投与開始後一過性に減少することが認められたが、母体や体重推移、帝王切開時の胎仔所見、分娩状態および出生仔の発育には異常を認めず、また催奇形性はいずれの投与群でも認められなかった。

以上の結果より、本試験における投与量を、次のよう

に決定した。試料濃度は局所障害が軽度で連続投与が可能な10%を最高濃度とし、最高投与量を20ml/kgの投与液量に相当する2,000mg/kgとし、以下投与液量を10ml/kgとして、500および100mg/kgの各投与量を設定した。また対照群としては、用量決定試験で生理食塩水の10ml/kgと20ml/kg投与群とで差異が認められなかったことから、生理食塩水の10ml/kgとした。投与期間は、妊娠7日より17日とし、投与量は妊娠0日の体重を基準として算出した。

4. 観察項目

胎仔観察用の母体(各群20~24匹)は、妊娠20日にエーテル麻酔により屠殺した。母体については、胸腹部臓器を肉眼的に観察した後、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺および副腎の湿重量を測定した。卵巣および子宮を、ただちに取り出し、黄体数、着床数、生存および死亡胎仔数を数え、生存胎仔については、体重測定、性別判定、外形異常の観察および胎盤重量の測定を行った。死亡胎仔は、着床痕跡のみ残存したもの、初期死亡および後期死亡とに分類した。生存胎仔は、各母体ごとに1/3をWILSON法に従って内臓検索を行い、残りの2/3はDAWSON法により骨格染色標本を作製し、骨格検索を行った。

出産観察用の母体(各群15匹)は、自然分娩させ、出産3日に一腹仔数を雌雄各4匹に調整し、分娩後3週間哺育させた。この間に母体および出生仔の体重を、出産時、3、10、14、17および21日令時に測定した。また哺育仔は、3日令より耳介の開展、7日令より毛生開始、10日令より上切歯萌出、14日令より開眼の各外形分化を観察し、17~20日令にかけて、正向反射、疼痛反射、自由落下およびPREYER反射を検査した。離乳時に、各群よりおのおの10母体を選び、この各母体より雌雄各2匹ずつを残し、他の哺育仔および全母体を屠殺した。屠殺した仔は、内臓観察および主要臓器の重量測定の後、軟X

線撮影により骨格検索を行い、母体については、胸腹部臓器の観察の後、主要臓器の重量を測定した。

各母体当り、雌雄2匹ずつ残した離乳仔のうち雌雄各1匹については、行動機能検査を、オープンフィールド、回転車、rotarod、water filled multiple T-mazeについて生後4週令より7週令にかけて実施した。他の雌雄各1匹は生殖機能検査用とし、毎週1回体重測定を行い、性成熟に達するまで飼育観察を行った。

この間、精巣下降および陰開口の外形分化を観察し、また4週令で瞳孔反射を検査した。12週令より各群内で交配を開始し、妊娠雌は全例自然分娩させ、出産後7日に、全母体および哺育仔を屠殺剖検した。交配に用いた雄も剖検し、親動物については、主要臓器の重量測定を行った。

5. 統計処理

量に関する検定は、分散分析により、率に関する検定は χ^2 検定で行い、いずれも危険率5%および1%で対照群に対する有意差を検定した。

実験結果

1. 母体に対する影響

最高投与群まで途中死亡例はなかった。一般症状は、高投与群において投与開始後3~5日から軟便を認めたが、妊娠末期には正常に回復した。分娩、哺育能には異常は認めなかった。

妊娠期間中の体重変化をTable 1, 2およびFig. 1, 2に、また分娩後の体重変化を、Table 3およびFig. 3に示した。投与開始翌日に100mg/kg以上の投与群で軽度の低下を示したが、その後は回復し、対照群と同様の体重推移を示した。摂餌量はTable 4およびFig. 4に示すように、投与開始翌日より、試料投与群で抑制がみられたが、妊娠末期には対照群とほぼ同一水準にまで回復し、分娩後は差異は認めなかった(Table 5および

Table 1 Body weight changes during gestation in dams (F_0) treated with CTT

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Days of pregnancy									
		0	3	7	8	9	10	12	15	18	20
Control	39	244.2 ^{a)} + 2.4	263.7 + 2.6	280.5 ± 2.5	283.2 + 2.7	285.2 ± 2.7	288.3 ± 2.7	297.7 ± 2.7	313.7 ± 2.9	346.7 ± 3.5	377.9 ± 4.1
100	38	242.2 + 2.4	262.0 ± 2.3	279.7 ± 2.4	276.0 ± 2.5	280.8 ± 2.5	286.1 ± 2.5	296.4 + 2.5	308.6 ± 2.6	338.8 ± 3.1	369.2 ± 3.8
500	35	243.7 + 2.5	262.3 + 2.5	280.7 + 2.7	274.5* + 3.0	278.8 ± 2.8	285.6 ± 3.0	297.9 ± 2.9	312.6 ± 2.9	344.4 + 3.3	370.8 ± 4.0
2,000	38	241.6 ± 2.2	259.8 ± 2.3	277.3 ± 2.4	273.2** ± 2.5	274.5** ± 2.6	281.5 ± 2.5	290.2 ± 3.0	307.4 + 2.8	334.5** ± 3.0	360.2** ± 3.5

a): Mean ± SE (g)

*, **: Significantly different from control group at $p < 0.05$ or 0.01

Table 2 Body weight gains during gestation in dams (F₀) treated with CTT

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Days of pregnancy								
		3	7	8	9	10	12	15	18	20
Control	39	19.5 ^{a)} ±0.7	36.2 ±0.9	39.0 ±1.1	41.0 ±1.1	44.1 ±1.2	53.4 ±1.3	69.4 ±1.7	102.5 ± 2.5	133.7 ± 3.2
100	38	19.8 ±0.8	37.5 ±1.1	33.8** ±1.0	38.5 ±1.1	43.8 ±1.3	54.2 ±1.3	66.3 ±1.7	96.6 ± 2.1	126.9 ± 2.9
500	35	18.6 ±0.7	37.0 ±1.3	30.9** ±1.5	35.1** ±1.5	41.9 ±1.7	54.2 ±1.9	68.9 ±2.0	100.8 ± 2.5	127.1 ± 3.2
2,000	38	18.2 ±0.7	35.7 ±0.9	31.7** ±1.1	33.0** ±1.2	39.9* ±1.1	48.6* ±1.6	65.8 ±1.7	92.9** ± 1.9	118.6** ± 2.6

a) : Mean ± SE (g)

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Table 3 Body weight changes after parturition in dams (F₀) treated with CTT during gestation

Dosage (mg/kg)	Days after parturition						
	0	3	7	10	14	17	21
Control	287.4 ^{a)} ± 5.4	294.5 ± 5.4	310.4 ± 5.5	314.5 ± 5.4	316.9 ± 5.4	312.7 ± 5.6	305.3 ± 5.2
100	286.9 ± 4.5	302.3 ± 4.9	318.3 ± 5.8	321.7 ± 4.9	323.5 ± 5.2	317.0 ± 3.6	309.3 ± 4.1
500	285.6 ± 4.2	293.8 ± 4.4	313.0 ± 3.6	322.5 ± 3.9	329.0 ± 3.9	320.6 ± 4.1	310.5 ± 3.6
2,000	286.7 ± 3.7	297.7 ± 4.0	315.7 ± 3.0	323.9 ± 3.0	331.0 ± 2.8	318.8 ± 3.5	308.1 ± 3.8

a) : Mean ± SE (g)

Table 4 Food intakes during gestation in dams (F₀) treated with CTT

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Days of pregnancy								
		0 ~ 2	3 ~ 6	7	8	9	10 ~ 11	12 ~ 14	15 ~ 17	18 ~ 19
Control	39	23.6 ^{a)} ±0.3	26.4 ±0.3	24.7 ±0.4	25.1 ±0.5	24.6 ±0.4	26.0 ±0.3	26.5 ±0.4	28.3 ±0.4	28.9 ±0.5
100	38	24.1 ±0.4	26.6 ±0.3	17.7** ±0.4	18.5** ±0.4	20.3** ±0.4	22.8** ±0.4	24.7** ±0.4	26.5** ±0.4	27.4* ±0.4
500	35	24.4 ±0.3	27.2 ±0.4	16.3** ±0.5	17.8** ±0.8	19.5** ±0.7	23.0** ±0.5	25.2* ±0.4	27.4 ±0.5	28.4 ±0.4
2,000	38	24.3 ±0.3	26.8 ±0.3	15.7** ±0.4	15.5** ±0.5	19.0** ±0.5	20.5** ±0.5	23.2** ±0.4	26.6** ±0.3	27.1** ±0.5

a) : Mean ± SE (g/day)

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Fig. 1 Body weight changes during gestation in dams (F₀) treated with CTT

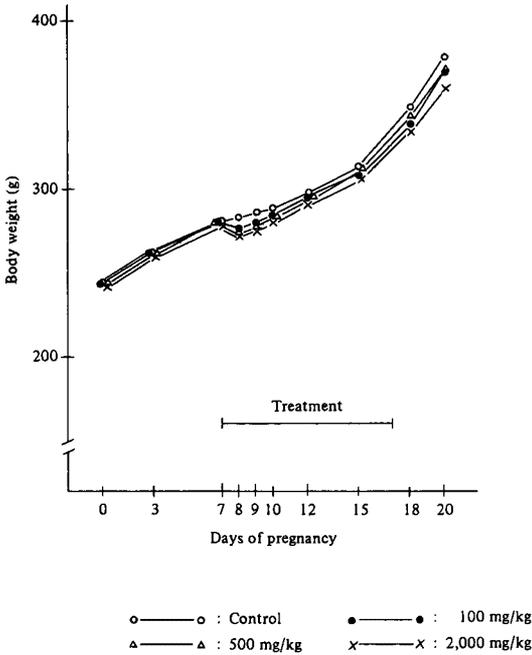


Fig. 3 Body weight changes after parturition in dams (F₀) treated with CTT during gestation

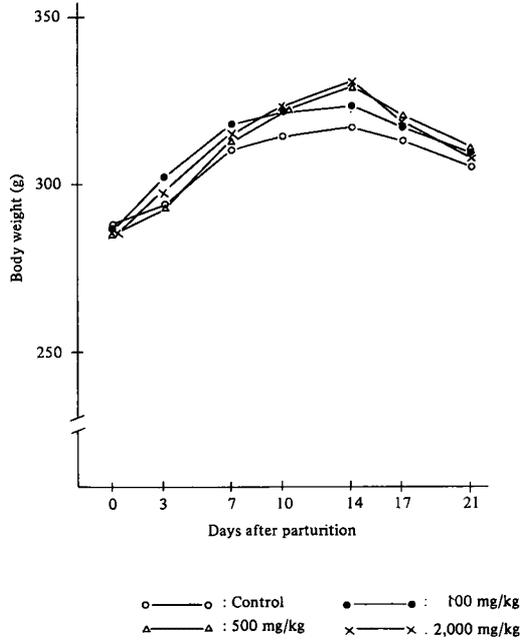


Fig. 2 Body weight gains during gestation in dams (F₀) treated with CTT

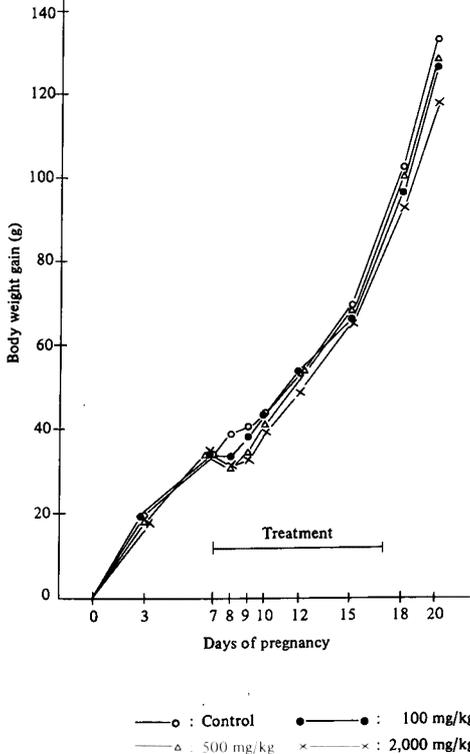


Fig. 4 Food intake during gestation in dams (F₀) treated with CTT

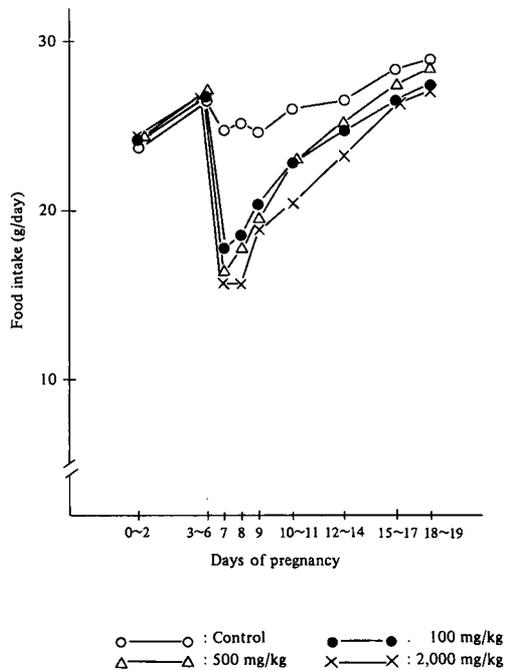


Table 5 Food intakes after parturition in dams (F_0) treated with CTT during gestation

Dosage (mg/kg)	Days after parturition					
	0~2	3~6	7~9	10~13	14~16	17~20
Control	27.4 ^{a)} ±1.9	42.9 ±1.6	53.8 ±1.7	57.4 ±1.9	61.9 ±1.4	63.1 ±1.7
100	33.5** ±1.1	45.3 ±2.3	53.6 ±2.0	62.7* ±1.5	64.4 ±1.4	66.4 ±1.7
500	31.7* ±0.8	46.4 ±1.2	57.3 ±1.1	63.4** ±1.4	63.7 ±1.4	67.8* ±1.4
2,000	31.3** ±0.9	48.4 ±1.2	57.9 ±1.0	66.2** ±1.2	65.4* ±1.0	66.2 ±1.1

a) : Mean ± SE (g/day)

*, ** : Significantly different from control group at $p < 0.05$ or 0.01 Table 6 Organ weights of dams (F_0) at time of cesarian section (on day 20 of pregnancy)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Body weight (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Thymus (g)	Adrenals (mg)
Control	24	379.5 ^{a)} ± 5.7	0.91 ±0.02	14.38 ±0.30	1.80 ±0.03	0.56 ±0.01	0.29 ±0.01	82 ±2
100	23	369.0 ± 5.2	0.83** ±0.01	11.70** ±0.17	1.79 ±0.03	0.59 ±0.02	0.24** ±0.01	80 ±2
500	20	374.1 ± 5.5	0.84** ±0.02	12.34** ±0.23	1.76 ±0.04	0.59 ±0.01	0.22** ±0.01	86 ±3
2,000	23	357.7** ± 4.9	0.79** ±0.02	12.85** ±0.24	1.80 ±0.03	0.65** ±0.02	0.19** ±0.01	93** ±4

a) : Mean ± SE

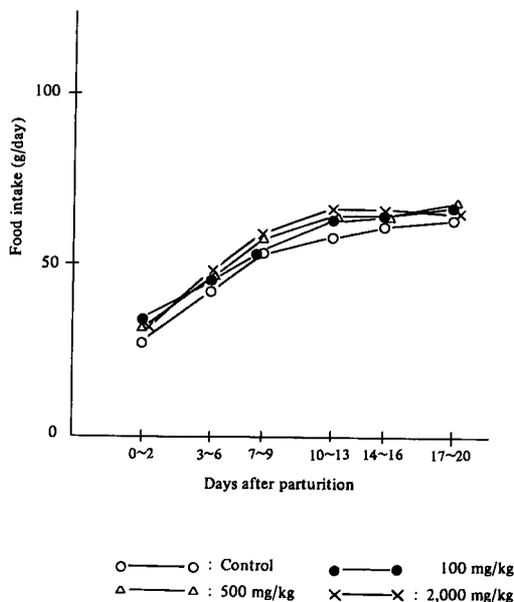
** : Significantly different from control group at $p < 0.05$ Fig. 5 Food intake after parturition in dams (F_0) treated with CTT during gestation

Fig. 5).

帝王切開時および離乳時の剖検では、試料投与群で盲腸の膨大がみられたが、その他の胸腹部臓器に肉眼的異常を認めなかった。帝王切開時の主要臓器の重量を Table 6 および Table 7 に、離乳時のそれを Table 8 および Table 9 に示した。帝王切開時には、試料投与群で心臓、肝臓および胸腺の低値が認められ、最高投与群ではこの他に脾臓および副腎の高値がみられた。離乳時には500mg/kg 投与群で腎の高値が、最高投与群で副腎の高値が認められた。

2. 胎仔に対する影響

帝王切開時の胎仔所見を Table 10 に示した。胎仔体重、生存および死亡胎仔数、胎盤重量等に CTT 投与の影響は認められなかった。外形異常は100mg/kg 投与群に不完全口蓋裂が1例、500mg/kg 投与群で頭蓋椎裂が1例みられた (Photo 1)。内臓検索および骨格検索の結果を Table 11 に示した。頭蓋椎裂を示した例で波状肋骨、脊椎体の分球等の異常がみられたが (Photo 2)、その他の例については全く異常はなく、CTT の催奇形性

Table 7 Relative organ weights of dams (F₀) at time of cesarian section (on day 20 of pregnancy)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Heart ^{a)}	Liver ^{a)}	Kidneys ^{a)}	Spleen ^{a)}	Thymus ^{a)}	Adrenals ^{b)}
Control	24	0.24 ^{c)} ±0.01	3.79 ±0.06	0.48 ±0.01	0.15 ±0.00	0.08 ±0.003	21.8 ±0.5
100	23	0.22* ±0.00	3.18** ±0.04	0.49 ±0.01	0.16 ±0.01	0.06* ±0.004	21.8 ±0.6
500	20	0.23* ±0.00	3.30** ±0.05	0.47 ±0.01	0.16 ±0.00	0.06* ±0.003	23.1 ±0.7
2,000	23	0.22** ±0.01	3.59** ±0.04	0.51* ±0.01	0.18** ±0.01	0.05** ±0.003	26.1** ±1.0

a): g/100 g body weight b): mg/100 g body weight c): Mean ± SE

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Table 8 Organ weights of dams (F₀) at time of weaning (on day 21 after parturition)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Body weight (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Thymus (g)	Adrenals (mg)
Control	15	305.3 ^{a)} ± 5.2	0.98 ±0.02	13.76 ±0.35	2.07 ±0.04	0.52 ±0.02	0.23 ±0.01	68 ±3
100	15	309.3 ± 4.1	0.95 ±0.02	13.48 ±0.35	2.03 ±0.03	0.56 ±0.02	0.25 ±0.02	76 ±3
500	15	310.5 ± 3.5	0.96 ±0.01	13.35 ±0.28	2.17* ±0.04	0.53 ±0.02	0.23 ±0.02	75 ±3
2,000	15	308.1 ± 3.8	0.98 ±0.02	13.45 ±0.34	2.10 ±0.02	0.52 ±0.02	0.22 ±0.01	85** ±3

a): Mean ± SE

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Table 9 Relative organ weights of dams (F₀) at time of weaning (on day 21 after parturition)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Heart ^{a)}	Liver ^{a)}	Kidneys ^{a)}	Spleen ^{a)}	Thymus ^{a)}	Adrenals ^{b)}
Control	15	0.32 ^{c)} ±0.01	4.50 ±0.06	0.68 ±0.02	0.17 ±0.01	0.07 ±0.00	22.2 ±0.8
100	15	0.31 ±0.00	4.35 ±0.09	0.66 ±0.01	0.18 ±0.01	0.08 ±0.01	24.8 ±1.2
500	15	0.31 ±0.00	4.30 ±0.07	0.70 ±0.01	0.17 ±0.00	0.07 ±0.00	24.1 ±1.0
2,000	15	0.32 ±0.01	4.37 ±0.10	0.68 ±0.01	0.17 ±0.01	0.07 ±0.01	27.8** ±1.1

a): g/100 g body weight b): mg/100 g body weight c): Mean ± SE

**: Significantly different from control group at p < 0.01

Table 10 Effects of CTT on fetuses (F_1)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Mean no. of implantations (total)	Total no. of dead fetuses				Mean no. of live fetuses (total(male/female))	Mean body weights of live fetuses (g)	Mean weights of placentae (g)
			Total (%)	Impl. sites	Early deaths	Late deaths			
Control	24	14.0 ± 0.7 ^a (337)	6 (1.78)	5	1	0	13.8 ± 0.7 (331 (169/162))	3.69 ± 0.05	0.46 ± 0.01
100	23	14.9 ± 0.8 (342)	16 (4.68)	13	3	0	14.2 ± 0.8 (326 (148/178))	3.66 ± 0.06	0.45 ± 0.03
500	20	15.5 ± 0.6 (309)	11 (3.56)	8	1	2	14.9 ± 0.5 (298 (138/160))	3.65 ± 0.04	0.42 ± 0.01
2,000	23	13.4 ± 0.8 (309)	16 (5.18)	8	6	2	12.7 ± 0.8 (293 (132/161))	3.61 ± 0.07	0.43 ± 0.01

a) : Mean ± SE

Table 11 Teratogenic effects of CTT on fetuses (F_1)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	External examination		Visceral examination		Skeletal examination					
		No. of examined	No. of malformed	No. of examined	No. of malformed	No. of examined	No. of malformed	Variants		Mean no. of sternums	Mean no. of sacro-caudal vertebrae
								Cervical rib	Lumbar rib		
Control	24	331	0	108	0	223	0	0	24	5.5 ± 0.1 ^a	8.1 ± 0.1
100	23	326	1 ^b	105	0	221	0	0	16	5.5 ± 0.1	7.9 ± 0.1
500	20	298	1 ^c	95	0	203	1 ^d	0	11	5.5 ± 0.1	7.9 ± 0.1
2,000	23	293	0	96	0	197	0	0	20	5.4 ± 0.1	8.0 ± 0.1

a) : Mean ± SE b) : Cleft palate c) : Craniorachischisis

d) : Wavy ribs and separation of centrum in thoracic and lumbar vertebrae (the same one had craniorachischisis)

Photo 1 External malformed fetus in 500 mg/kg group

Left : Normal fetus in the same litter
Right : Craniorachischisis

Photo 2 Skeletal malformed fetus in 500 mg/kg group



This fetus is the same one with craniorachischisis
Separation of centrum of vertebrae and wavy ribs

Table 12 Effects of CTT on parturition and newborns (F₁) in dams treated during gestation

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Mean pregnancy duration (days)	Total no. of abnormal labors	Mean no. of implantation sites (total)	Mean no. of newborns (total)	Delivery ^{a)} ratio (%)	Mean no. of live offspring (total(male/female))	Mean no. of stillborns (total(male/female))	Total no. of offspring with external malformations
Control	15	21.8 ± 0.1 ^{b)}	0	16.0 ± 0.3 (240)	14.9 ± 0.4 (224)	93.3	14.9 ± 0.4 (223 (117/106))	0.1 ± 0.1 (1 (0/1))	0
100	15	21.7 ± 0.1	0	16.1 ± 0.3 (241)	15.4 ± 0.3 (231)	95.9	15.1 ± 0.4 (227(104/123))	0.3 ± 0.2 (4 (2/2))	0
500	15	21.6 ± 0.1	0	15.3 ± 0.7 (230)	14.7 ± 0.7 (221)	96.1	14.7 ± 0.7 (220 (104/116))	0.1 ± 0.1 (1 (0/1))	0
2,000	15	21.7 ± 0.1	0	15.7 ± 0.8 (235)	15.1 ± 0.7 (226)	96.2	15.0 ± 0.7 (225 (127/98))	0.1 ± 0.1 (1 (0/1))	0

a) : (Total no. of newborns)/(Total no. of implantation sites) × 100

b) : Mean ± SE

Table 13 Effects of CTT on pups (F₁)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Total no. of live offspring (male/female)	Total no. of stillborns (male/female)	Total no. of survivals on day 3 (male/female)	Total no. of ^{a)} peri-natal death (male/female)	Total no. after adjust. on day 3 (male/female)	Total no. of survivals on day 21 (male/female)	Weaning ratio ^{b)}
Control	15	223 (117/106)	1 (0/1)	217 (115/102)	7 (3/4)	120 (60/60)	114 (57/57)	95.0
100	15	227 (104/123)	4 (2/2)	224 (102/122)	7 (4/3)	120 (60/60)	117 (57/60)	97.5
500	15	220 (104/116)	1 (0/1)	218 (103/115)	3 (1/2)	120 (60/60)	120 (60/60)	100.0
2,000	15	225 (127/ 98)	1 (0/1)	222 (126/ 96)	4 (1/3)	120 (60/60)	120 (60/60)	100.0

a) : (Total no. of stillborns) + (Total no. of dead pups untill day 3 after birth)

b) : (Total no. of survivals on day 21)/(Total no. of pups after adjustment on day 3) × 100 (%)

Table 14 External differentiation of offspring (F₁)

Dosage (mg/kg)	Separation of auricles		Emergence of back hair		Eruption of upper incisors		Separation of eyelids	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control	3.3 ± 0.1 ^{a)}	3.3 ± 0.1	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0	10.6 ± 0.1	10.7 ± 0.1	15.2 ± 0.2	15.0 ± 0.3
100	3.6 ± 0.1	3.5 ± 0.1	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0	10.8 ± 0.1	10.7 ± 0.1	15.4 ± 0.1	15.2 ± 0.1
500	3.8 ± 0.1	3.5 ± 0.1	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0	10.6 ± 0.1	10.7 ± 0.1	15.5 ± 0.1	15.4 ± 0.1
2,000	3.3 ± 0.1	3.4 ± 0.1	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0	10.8 ± 0.1	10.8 ± 0.1	15.5 ± 0.2	15.3 ± 0.1

a): Days when differentiation was observed, Mean ± SE

Table 15 Functional development of offspring (F₁)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	No. of pups		Pain response (failed/examined)		Auditory pinna response (failed/examined)		Righting reflex on surface (failed/examined)		Righting reflex in midair (failed/examined)	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control	15	57	57	0/57	0/57	0/57	0/57	0/57	0/57	0/57	0/57
100	15	57	60	0/57	0/60	0/57	0/60	0/57	0/60	0/57	0/60
500	15	60	60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60
2,000	15	60	60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60

Table 16 Body weight changes in male youngs (F₁)

Dosage (mg/kg)	Days or weeks after birth												
	0	3d	1w	10d	2w	17d	3w	4w	5w	6w	7w	8w	9w
Control	6.1 ^{a)} ±0.1	8.3 ±0.3	15.8 ±0.4	22.4 ±0.6	31.7 ±1.2	37.9 ±1.6	47.7 ±2.1	71.9 ±1.6	115.0 ± 3.1	180.3 ± 4.1	235.4 ± 4.0	285.9 ± 5.2	337.8 ± 7.0
100	5.7* ±0.1	8.0 ±0.2	16.2 ±0.3	23.1 ±0.3	33.0 ±0.6	38.3 ±0.6	47.9 ±0.9	71.2 ±1.7	115.8 ± 3.1	181.7 ± 4.0	237.9 ± 5.3	286.8 ± 7.1	337.4 ± 9.7
500	5.6** ±0.1	7.8 ±0.2	15.3 ±0.4	22.1 ±0.4	31.3 ±0.6	36.5 ±0.7	45.3 ±0.9	67.5 ±3.4	107.7 ± 4.5	169.6 ± 6.9	222.6 ± 8.5	270.1 ± 9.6	326.4 ±11.6
2,000	5.7* ±0.1	8.0 ±0.2	15.8 ±0.5	22.7 ±0.5	32.4 ±0.6	37.6 ±0.5	47.1 ±0.8	67.3 ±1.3	101.6** ± 2.0	160.1** ± 1.8	212.6** ± 2.5	263.1* ± 3.3	313.6 ± 4.0

a): Mean ± SE (g)

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Table 17 Body weight changes in female youngs (F₁)

Dosage (mg/kg)	Days or weeks after birth												
	0	3d	1w	10d	2w	17d	3w	4w	5w	6w	7w	8w	9w
Control	5.7 ^{a)} ±0.1	7.9 ±0.2	15.2 ±0.4	21.4 ±0.7	31.4 ±1.1	36.9 ±1.6	46.6 ±1.9	72.0 ±1.4	110.0 ± 1.9	156.6 ± 2.9	185.4 ± 3.6	207.7 ± 4.2	234.4 ± 5.0
100	5.4* ±0.1	7.7 ±0.2	15.7 ±0.4	22.3 ±0.4	31.4 ±0.7	36.5 ±0.7	45.6 ±1.0	66.5* ±1.5	102.7* ± 2.1	146.1* ± 2.8	176.4 ± 3.9	197.0 ± 4.0	221.6 ± 4.6
500	5.3* ±0.1	7.4 ±0.2	14.6 ±0.4	21.2 ±0.5	30.4 ±0.6	35.1 ±0.8	43.9 ±0.9	65.3** ±1.4	103.1* ± 2.0	153.3 ± 2.8	184.1 ± 2.5	207.1 ± 2.6	234.9 ± 3.2
2,000	5.3* ±0.1	7.4 ±0.2	14.7 ±0.3	21.3 ±0.3	30.8 ±0.4	35.8 ±0.5	44.7 ±0.7	65.5** ±1.7	97.0** ± 2.0	143.6** ± 3.4	176.2 ± 3.6	198.4 ± 4.4	223.2 ± 5.1

a): Mean ± SE (g)

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Table 18 External differentiation of weanlings (F₁)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	No. of weanlings		Pupil reflex (failed/examined)		Descent of testis	Vaginal opening
		Male	Female	Male	Female		
Control	10	10	10	0/10	0/10	28.0 ± 0.0 ^{a)}	38.5 ± 0.2
100	10	10	10	0/10	0/10	28.0 ± 0.0	40.1 ± 0.5*
500	10	10	10	0/10	0/10	28.0 ± 0.0	38.6 ± 0.4
2,000	10	10	10	0/10	0/10	28.0 ± 0.0	39.6 ± 0.9

a) : Days when differentiation was observed, Mean ± SE

* : Significantly different from control group at p < 0.05

Table 19 Effects of CTT on organ weights in male weanlings (F₁)

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings	Body weight (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Testis (g)
Control	37	48.2 ^{a)} ±2.1	0.24 ±0.01	1.95 ±0.11	0.54 ±0.03	0.22 ±0.02	0.22 ±0.01
100	37	47.6 ±1.0	0.24 ±0.01	1.86 ±0.07	0.53 ±0.01	0.21 ±0.01	0.23 ±0.01
500	40	45.2 ±1.0	0.25 ±0.01	1.76 ±0.06	0.52 ±0.01	0.19 ±0.01	0.22 ±0.01
2,000	40	47.1 ±0.8	0.24 ±0.01	1.82 ±0.06	0.52 ±0.01	0.21 ±0.01	0.22 ±0.01

a) : Mean ± SE

Fig. 6 Body weight changes in male youngs (F₁)

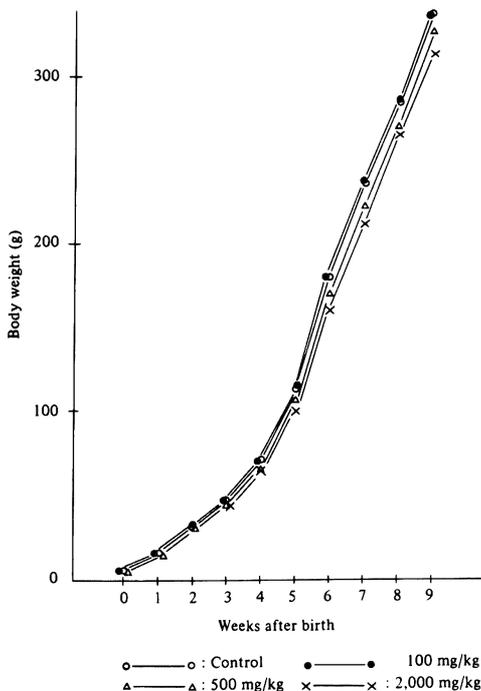


Fig. 7 Body weight changes in female youngs (F₁)

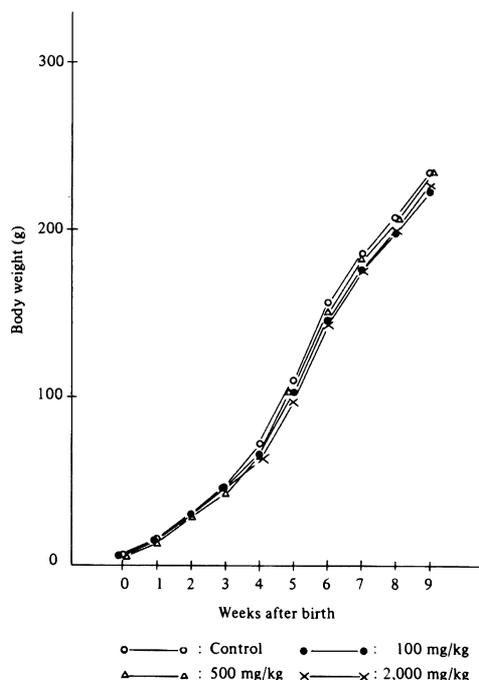


Table 20 Effect of CTT on organ weights in female weanlings (F₁)

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings	Body weight (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Ovaries (mg)
Control	37	46.8 ^{a)} ±2.0	0.22 ±0.01	1.93 ±0.11	0.56 ±0.02	0.21 ±0.02	21.4 ±1.0
100	40	45.7 ±1.3	0.22 ±0.01	1.82 ±0.07	0.53 ±0.02	0.20 ±0.01	25.2 ±1.3
500	40	44.3 ±1.0	0.22 ±0.01	1.75 ±0.05	0.53 ±0.02	0.20 ±0.01	24.0 ±1.1
2,000	40	44.6 ±0.7	0.24 ±0.01	1.79 ±0.05	0.52 ±0.01	0.20 ±0.01	23.6 ±1.0

a) : Mean ± SE

Table 21 Functional examination of weanlings (F₁), Open field test

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings		Ambulation (mean times ± SE)		Rearing (mean times ± SE)		Grooming (mean times ± SE)		Defecation (mean times ± SE)		Urination (mean times ± SE)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control	10	10	62.4 ±7.6	41.1 ±8.3	10.6 ±1.6	5.3 ±1.4	0.4 ±0.2	0.5 ±0.3	1.6 ±0.4	1.5 ±0.4	0.4 ±0.2	0.6 ±0.3
100	10	10	39.9* ±4.9	69.6* ±4.8	7.4 ±1.9	12.5** ±1.7	0.6 ±0.2	0.4 ±0.2	1.5 ±0.5	2.7 ±0.6	0.4 ±0.2	0.3 ±0.2
500	10	10	60.1 ±6.3	55.3 ±9.8	11.6 ±2.4	14.2* ±2.8	0.3 ±0.2	0.8 ±0.5	2.3 ±0.3	2.1 ±0.5	0.5 ±0.2	0.9 ±0.5
2,000	10	10	56.7 ±9.5	61.1 ±11.7	14.4 ±2.9	16.1* ±3.9	1.0 ±0.3	1.1 ±0.4	1.5 ±0.5	2.0 ±0.6	0.1 ±0.1	0.0 ±0.0

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Table 22 Functional examination of weanlings (F₁), Rotarod and rotating drum

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings		Rotarod (mean retaining time ± SE, sec)		Rotating drum (mean rotation/15 min ± SE)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control	10	10	45.6 ± 13.6	46.2 ± 12.6	29.2 ± 7.1	49.5 ± 7.6
100	10	10	35.7 ± 10.6	45.0 ± 9.4	46.0 ± 10.3	47.6 ± 7.0
500	10	10	42.5 ± 13.5	37.1 ± 11.8	50.3 ± 8.2	63.2 ± 7.7
2,000	10	10	17.5 ± 4.8	15.8 ± 2.6*	39.7 ± 8.4	42.9 ± 6.8

* : Significantly different from control group at p < 0.05

は認めなかった。

3. 出産仔(F₁)に対する影響

出産時の所見を Table 12 に示した。出産仔数、死産仔数、分娩率には異常はなく、また外形異常を伴った出産仔は、全群 1 例も認めなかった。Table 13 に示すように、周産期死亡数、離乳率にも異常はなく、母体の哺育能、出生仔の生存率に対する影響はみられなかった。

哺育期間中に実施した外形の発育分化 (Table 14) および機能検査 (Table 15) には異常を示した仔は 1 例もみら

れなかった。

出生仔の体重推移を Table 16, 17 および Fig. 6, 7 に示した。出生仔の体重は、出産日に試料投与群で軽度ながら低値を示したが、3 日令以降は離乳時まで対照群と同様の体重推移を示した。離乳以降は、雄の最高投与群で 5 週より 8 週にかけて、また雌では試料投与群で 4 週より 6 週にかけて低値を示したが、いずれも軽度であり、9 週令時には有意差は消失していた。またこの間に実施した瞳孔反射、精巣下降および瞳開口の発育分化観察で

Table 23 Functional examination of weanlings (F₁), Water filled multiple T-maze for male weanlings

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings	Straight route (1st day) (mean time ± SE, sec)					Maze route (2nd day) (mean time ± SE, sec) (mean error ± SE)					Maze route (3rd day) (mean time ± SE, sec) (mean error ± SE)				
		1st	2nd	3rd	4th	5th	1st	2nd	3rd	4th	5th	1st	2nd	3rd	4th	5th
Control	10	34.4	16.7	8.4	9.2	8.2	70.4	59.6	79.0	55.1	41.9	36.4	51.6	39.2	42.5	31.4
		±4.9	±2.4	±1.5	±2.1	±1.6	±14.6	±8.7	±31.2	±7.8	±4.4	±4.9	±8.3	±6.9	±6.6	±2.8
100	10	22.6	13.9	7.9	5.6	8.4	53.4	51.1	43.4	30.9	30.0	32.2	33.9	32.6	30.3	32.6
		±3.2	±4.3	±1.0	±0.9	±2.6	±7.6	±5.4	±8.1	±5.5	±3.2	±3.1	±6.1	±5.5	±3.3	±4.6
500	10	25.6	14.9	9.2	9.2	6.8	48.3	52.1	34.9	35.0	35.6	26.2	22.9	25.9	24.0	19.7
		±4.3	±3.1	±1.4	±3.3	±1.7	±4.1	±9.1	±6.9	±5.3	±8.1	±4.3	±2.6	±3.2	±3.3	±1.8
2,000	10	22.1	15.8	11.0	10.5	8.3	49.8	40.3	47.1	46.2	40.9	33.9	23.9	34.1	26.3	21.7
		±2.7	±2.4	±2.3	±3.3	±1.9	±5.4	±4.9	±10.6	±9.7	±10.2	±7.4	±5.6	±3.5	±4.4	±3.4
						4.9	2.4	2.5	1.7	0.7	0.9	0.6	0.6	0.1	0.0	
						±0.8	±0.7	±0.8	±0.9	±0.3	±0.4	±0.6	±0.3	±0.1	±0.0	

Table 24 Functional examination of weanlings (F₁), Water filled multiple T-maze for female weanlings

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings	Straight route (1st day) (mean time ± SE, sec)					Maze route (2nd day) (mean time ± SE, sec) (mean error ± SE)					Maze route (3rd day) (mean time ± SE, sec) (mean error ± SE)				
		1st	2nd	3rd	4th	5th	1st	2nd	3rd	4th	5th	1st	2nd	3rd	4th	5th
Control	10	27.6	14.6	8.1	8.0	5.6	87.7	87.2	94.1	50.0	58.3	52.0	55.7	58.1	42.5	33.8
		±2.9	±1.6	±1.1	±1.5	±0.8	±21.1	±11.2	±26.9	±4.5	±11.8	±19.7	±19.4	±15.8	±10.9	±6.2
100	10	21.3	14.1	8.3	9.2	6.4	43.2	59.1	70.4	43.5	33.5	33.6	29.0	26.9	33.2	30.1
		±3.4	±2.2	±1.8	±2.4	±1.0	±5.8	±11.5	±18.8	±7.9	±7.7	±6.1	±5.5	±4.2	±8.7	±4.9
500	10	21.8	10.8	8.2	5.6	6.2	42.0	50.7	41.8	49.0	41.4	39.4	32.3	36.8	32.3	27.8
		±3.8	±1.7	±1.8	±0.7	±0.7	±6.1	±6.2	±10.0	±7.8	±5.5	±5.6	±4.6	±6.6	±4.8	±5.6
2,000	10	17.3	13.0	7.6	6.6	5.2	53.6	53.9	48.7	40.9	43.5	34.5	38.4	35.0	40.2	38.3
		±1.8	±2.2	±1.5	±1.2	±1.0	±9.6	±7.2	±3.7	±4.0	±6.4	±4.4	±10.0	±6.0	±11.1	±7.2
						6.4	5.2	3.0	1.5	0.8	1.7	2.0	1.0	0.6	0.5	
						±1.5	±1.1	±0.4	±0.5	±0.7	±0.5	±1.2	±0.4	±0.3	±0.3	

はいずれも異常は認められなかった (Table 18)。

離乳仔の剖検所見では、雌雄ともに異常はみられず、臓器重量も Table 19 および Table 20 に示すように薬物による影響は認められなかった。

4. F₁の行動機能検査

離乳時に残した F₁のうちの各母体あたりの雌雄各 1 匹を用いて 4 週令より 7 週令にかけて、オープンフィール

ド (Table 21)、回転車および rotarod (Table 22)、water filled multiple T-maze (Table 23 および Table 24) について検査した。オープンフィールド試験では、雌の試料投与群で立ち上り回数の増加がみられ、rotarod では最高投与量群の雌雄において保持時間の短縮が認められた。しかしながら、回転車および water filled multiple T-maze では、全例異常は認められなかった。

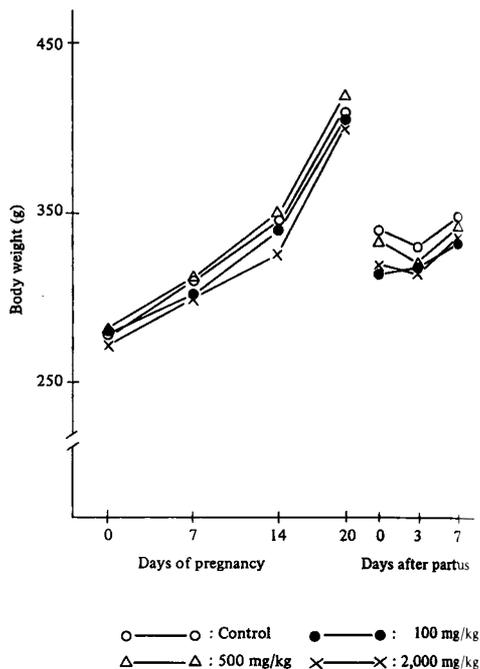
5. F₁の生殖機能検査

離乳仔のうち各母体あたりの別の雌雄各1匹は、12週令より同居を開始し、生殖機能を調べた。Table 25に示すように、交配率、妊娠率に異常はなく、また妊娠期間中および分娩後の体重推移にも異常はみられなかった (Table 26 および Fig. 8)。出産時の所見を Table 27 に示した。妊娠期間、出産仔数、死産仔数には異常はなく、また、外形異常を伴った出産仔は全群1例もみられなかった。

F₂の体重推移 (Table 28)、周産期死亡数および7日令での生存率 (Table 29) にも特に異常はみられなかった。100 および 2,000mg/kg 投与群で周産期死亡が増加しているのは、この両群には、哺育能が悪く、哺育仔の大部分が生後3日までに死亡した例が、それぞれ1母体ずつあったためである。

分娩後7日で母体および哺育仔を剖検したが、いずれも肉眼的に異常は認めなかった。不妊例の雌および交配に用いた雄も剖検したが、異常はみられなかった。

交配に用いた雄および妊娠雌の臓器重量を、Table 30 および Table 31 に示した。いずれも対照群と差異はなく、試料投与の影響は認められなかった。

Fig. 8 Body weight changes in dams (F₁) during gestation and after parturitionTable 25 Results of mating in youngs (F₁)

Dosage (mg/kg)	No. of mated couples	No. of examined couples	Percentage	No. of couples in which females become pregnant	No. of mated couples	Percentage
Control		10/10	100.0	10/10		100.0
100		10/10	100.0	10/10		100.0
500		10/10	100.0	8/10		80.0
2,000		10/10	100.0	9/10		90.0

Table 26 Body weight changes in dams (F₁) during gestation and after parturition

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Days of pregnancy				Days after parturition		
		0	7	14	20	0	3	7
Control	10	279.1 ^{a)} ± 6.1	310.6 ± 7.5	345.2 ± 8.7	411.2 ± 13.0	339.6 ± 8.6	330.8 ± 8.0	347.8 ± 7.0
100	10	280.5 ± 7.5	303.1 ± 7.8	340.1 ± 8.6	407.8 ± 13.0	313.9 ± 9.5	317.8 ± 9.7	333.1 ± 10.1
500	8	283.3 ± 4.7	312.6 ± 6.1	349.3 ± 6.8	420.3 ± 6.4	333.1 ± 9.7	319.6 ± 12.7	344.3 ± 8.1
2,000	9	271.4 ± 9.4	299.0 ± 9.9	326.7 ± 8.0	402.5 ± 13.1	319.7 ± 10.9	313.3 ± 9.7	335.9 ± 12.2

a): Mean ± SE (g)

Table 27 Effects of CTT on parturition of offspring (F₁) and their newborns (F₂)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Mean pregnancy duration (days)	Total no. of abnormal labors	Mean no. of implantation sites (total)	Mean no. of newborns (total)	Delivery ^{a)} ratio (%)	Mean no. of live offspring (total(male/female))	Total no. of stillborns (male/female)	Total no. of offspring with external malformations
Control	10	22.2 ± 0.1 ^{b)}	0	14.3 ± 1.2 (143)	12.2 ± 1.0 (122)	83.6	12.1 ± 1.0 (121 (61/60))	1 (0/1)	0
100	10	21.8 ± 0.1	0	16.3 ± 0.5 (163)	15.5 ± 0.6 (155)	95.1	15.2 ± 0.5 (152 (73/79))	3 (2/1)	0
500	8	22.1 ± 0.2	0	15.1 ± 1.4 (121)	13.0 ± 1.6 (104)	86.0	12.8 ± 1.5 (102 (56/46))	2 (1/1)	0
2,000	9	21.9 ± 0.1	0	16.0 ± 0.7 (144)	14.0 ± 1.2 (126)	87.5	13.6 ± 1.1 (122 (62/60))	4 (3/1)	0

a) : (Total no. of newborns)/(Total no. of implantation sites) × 100

b) : Mean ± SE

Table 28 Body weight changes in newborns (F₂)

Dosage (mg/kg)	Days after parturition					
	0		3		7	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control	6.6 ± 0.1 ^{a)} (61) ^{b)}	6.2 ± 0.1 (60)	8.5 ± 0.6 (56)	8.3 ± 0.6 (58)	14.6 ± 1.1 (54)	14.2 ± 1.1 (54)
100	6.0 ± 0.2* (73)	5.7 ± 0.1** (79)	7.4 ± 0.6 (62)	6.9 ± 0.5 (69)	12.6 ± 0.8 (53)	12.1 ± 0.7 (59)
500	6.6 ± 0.1 (56)	6.1 ± 0.1 (46)	8.8 ± 0.5 (56)	8.3 ± 0.5 (43)	15.0 ± 1.1 (51)	14.2 ± 0.9 (40)
2,000	6.3 ± 0.3 (62)	5.8 ± 0.3 (60)	8.5 ± 0.7 (54)	8.2 ± 0.5 (50)	14.5 ± 1.1 (53)	13.2 ± 0.8 (50)

a) : Mean ± SE (g)

b) : Total no. of live pups are shown in parentheses

*, **: Significantly different from control group at p < 0.05 or 0.01

Table 29 Effects of CTT on pups (F₂)

Dosage (mg/kg)	No. of dams	Total no. of live offspring (male/female)	Total no. of stillborns (male/female)	Total no. of survivals on day 3 (male/female)	Total no. of peri-natal deaths ^{a)} (male/female)	Total no. of survivals on day 7 (male/female)	Survival ratio ^{b)}
Control	10	121 (61/60)	1 (0/1)	114 (56/58)	8 (5/3)	108 (54/54)	89.3
100	10	152 (73/79)	3 (2/1)	131 (62/69)	24* (13/11)	112 (53/59)	73.7
500	8	102 (56/46)	2 (1/1)	99 (56/43)	5 (1/4)	91 (51/40)	89.2
2,000	9	122 (62/60)	4 (3/1)	104 (54/50)	22* (11/11)	103 (53/50)	84.4

a) : (Total no. of stillborns) + (Total no. of dead pups until day 3 after birth)

b) : (Total no. of survivals on day 7)/(Total no. of live offspring) × 100 (%)

* . Significantly different from control group at p < 0.05

Table 30 Organ weights in male weanlings (F_1) after the examination of fertility

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings	Body weight (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Testis (g) *
Control	10	567.1 ^{a)} ±17.1	1.52 ±0.06	19.47 ±0.82	3.45 ±0.08	0.86 ±0.03	3.48 ±0.06
100	10	568.3 ±15.3	1.56 ±0.04	17.94 ±0.53	3.28 ±0.06	0.88 ±0.03	3.50 ±0.04
500	10	564.3 ±15.6	1.59 ±0.06	19.28 ±0.83	3.53 ±0.12	0.87 ±0.03	3.35 ±0.13
2,000	10	542.6 ± 8.6	1.49 ±0.02	18.63 ±0.52	3.20* ±0.07	0.82 ±0.03	3.62 ±0.07

a) : Mean ± SE

* : Significantly different from control group at $p < 0.05$ Table 31 Organ weights in female weanlings (F_1) on day 7 after parturition of F_2

Dosage (mg/kg)	No. of weanlings (dams)	Final body weight (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Control	10	346.5 ± 7.1 ^{a)}	1.02 ± 0.02	13.95 ± 0.42	2.17 ± 0.05	0.74 ± 0.02
100	9	333.2 ± 11.3	1.02 ± 0.04	13.27 ± 0.50	2.03 ± 0.06	0.71 ± 0.04
500	8	344.1 ± 8.0	1.00 ± 0.02	13.47 ± 0.26	2.10 ± 0.04	0.70 ± 0.05
2,000	8	338.9 ± 13.4	0.98 ± 0.04	14.40 ± 0.70	2.11 ± 0.08	0.68 ± 0.04

a) : Mean ± SE

考 察

本試験では、CTTの催奇形性を調べるために、SD系ラットを用い、妊娠7日より妊娠17日までの胎仔の器官形成期に連続静脈内投与し、母体、胎仔および出産仔に及ぼす影響を調べた。

その結果、母体に対しては、投与開始後、一過性の体重減少および摂餌量の抑制がみられ、高投与群では軟便が妊娠末期まで観察された。帝王切開時の剖検では、盲腸の膨大が認められたが、他のセフェム系薬剤でも同様の変化が報告されており¹⁻⁴⁾、これらは試料の抗菌作用による腸内細菌叢の変化によるものと考えられ、セフェム系薬剤に共通な作用と考えられる。

母体の臓器重量について帝王切開時に認められた心臓および肝臓の低値は、離乳時には認められず、この変化は妊娠中の摂餌量の低下による二次的なものと推察される。同様の傾向は、一般毒性試験⁵⁾でも認められているが、その程度は妊娠母体の方が強く現われるようである。一方高投与群でみられた脾臓、副腎および胸腺の重量変化は試料投与によるストレス、または投与部位の局所障害に起因するものと考えられる。本試験で用いた試料濃度

は静脈内投与時に局所障害が生じがたい濃度を設定したが、血管外へ漏出した場合には、障害が生じ得る濃度であり、この濃度の試料液を連日投与されることによるストレス、もしくは軽度の局所障害がこれら臓器重量の変化の原因と考えられる。この他には、妊娠期間の延長、分娩障害、哺育の異常など生殖機能に対する毒性は全く認められず、CTTの妊娠母体に対する毒性はきわめて弱いものと考えられる。

一方、仔に対する影響では、帝王切開時の胎仔外形観察で口蓋裂が1例、頭蓋脊椎裂が1例みられたが、発生頻度から考えて、これらが薬物によるものとは考えられず、また出産仔の観察でも奇形を伴った仔は認められていないことから、CTTには他のセフェム系薬剤と同様に¹⁻⁴⁾、催奇形性はないと考えられる。また胎仔死亡についても投与群でやや高値を示したものの推計学的有意差はなく、発生頻度も5%前後と我々の背景データの2~6%の範囲内であり、この結果が試料の胎仔致死作用を示すものとは考えられない。

仔の発育については、胎生末期の胎仔体重には差はなかったものの、出産時での体重は有意に低値であった。しかし、その後の哺育期間中は差異は認めず、また、哺

育期間中の仔の発育分化、機能検査、周産期死亡、離乳率、さらには離乳時での剖検所見および臓器重量に異常はなく、出産仔の発育成長に対する影響は認められなかった。

これに対し、離乳後は100および500mg/kgの雌、2,000mg/kgの雄で4～8週にかけて体重の有意な低値がみられた。

しかしながら、これらの体重推移についての所見は、いずれも試料の胎仔に対する直接的な影響の結果を示すものとは考え難い。出産時での体重の低値は、母体の腸内細菌叢の変化による栄養的な影響が、胎仔の発育が急激な妊娠末期において強く現われたものと思われる。また、授乳期より離乳後にわたって認められた体重変化も母体に対する影響の二次的結果と考えられる。離乳時点での母体剖検では、盲腸の変化は回復しておらず、腸内細菌叢の変化は残存しており、これが哺育仔にも移行していることが推察される。したがって、母乳を摂取する授乳期間では、授乳仔体重には、特に影響が現われなかったものの、通常飼料による飼育に移行した離乳以後の数週間にわたって、その影響が現われたものと推察される。また、これら体重の低値は、いずれも軽度であり、7～9週令時には、対照群と同程度の値を示し、有意差は消失していることから、離乳後の発育には、特に障害はないものと考えられる。

離乳仔の行動機能検査において、オープンフィールド試験では、雌で立ち上り回数が、対照群の5.3に対し、試料投与群では、12.5～16.1と有意な高値であった。しかしながら、個々の値は1～38回と個体差が大きく、また、我々の背景データでも10～20回の範囲の平均値を示しており、ここで見られた試料投与群での値が行動機能の異常を示しているものとは考えられない。また、rotarod試験では、2,000mg/kgの雌雄で、対照群の45.6(雄)および46.2(雌)に対して17.5(雄)および15.8(雌)と低値を示していたが、個体差が大きいこと、および我々の背景データ(10～45)より考えて、試料の影響によるものではな

く、偶発的所見であると思われる。

生殖機能検査では、交配率、妊娠率、分娩および出産仔(F₂)に関しても異常所見はなく、CTTの胎生期処置によっても生殖機能に対してなんらの影響も及ぼさないことが認められた。

以上の試験結果より、試料のCTTは、ラットに対して胎仔の器官形成期に最高2,000mg/kgまで投与しても、催奇形性は示さず、また胎仔および出産仔に対しても特に障害となるような影響は及ぼさないことが示され、本試験で用いた最高投与量の2,000mg/kgを最大安全量と考えてよいであろう。

謝 辞

本研究にあたり、内田 孝、和田弘幸の両氏の協力をいただいたことを、ここに記して感謝する。

文 献

- 1) 渡辺敏樹, 大浦 憲, 森田 遙, 秋元 健: Cefoxitinの安全性に関する研究, 第4報. Cefoxitinの生殖に及ぼす影響. *Chemotherapy* 26: 205～226, 1978
- 2) 大高忠彦, 他: Cefuroximeのラット生殖に及ぼす影響に関する研究. *Chemotherapy* 27: 245～272, 1979
- 3) 長谷川靖彦, 吉田豊彦, 光前嗣郎: Cefamandoleのラットおよびウサギにおける催奇形性試験. *Chemotherapy* 27: 658～681, 1979
- 4) 廣岡哲夫, 田所 規, 高橋昌三, 金 清枝, 北川純男: Cefroxadine(CGP 9000)のラットにおける生殖試験. *医薬品研究* 10: 802～824, 1979
- 5) 今村和憲, 鈴木 弘, 吉田俊夫, 岡宮英明, 尾崎 浩, 塩原有一: Cefotetan(YM09330)のラットにおける腹腔内投与5週間毒性試験. *Chemotherapy* 30(S-1): 213～227, 1982
- 6) FROBERG, H. ; J. GLEICH & H. D. UNKELBACH: Reproduction toxicological studies on cefazedone. *Arzneim. Forsch.* 29: 419～423, 1979

TERATOLOGICAL EVALUATION OF CEFOTETAN (YM09330) ADMINISTERED INTRAVENOUSLY TO RATS

MASAKATSU SHIBATA and HIROMICHI TAMADA

Toxicology Department, Institute of Research and Development

Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

Cefotetan (CTT, YM09330), a new cephamycin antibiotic, was administered intravenously to pregnant rats from day 7 through day 17 of pregnancy to evaluate possible teratogenicity and effects on the growth and functional development of the offspring. Doses were 100, 500 and 2,000 mg/kg. Control animals received physiological saline. Of 35 to 39 dams of each group, about two thirds were sacrificed on day 20 of pregnancy and fetuses were examined for external, visceral and skeletal malformations.

The remaining dams were allowed to deliver their young and pups were examined for growth, external differentiation and functional development during the lactation period. A part of the pups were examined for postweaning growth and functional development. In addition, some pups were mated within the same dose group after sexual maturation, and allowed to deliver their young to evaluate their reproductive capacity.

In dams, there was a transient body weight decrease after the start of administration, and a decrease of the food intake and soft feces during administration, but there were no teratogenic effects on the fetuses or adverse effects on the postnatal growth, functional differentiation and the subsequent generation (F₂).

These findings suggest that cefotetan, like other cephem-type drugs, has not any teratogenic potentials and toxic effects on reproduction in rats.