

T-1982 の毒性試験 (第5報)

— ラットにおける生殖試験 —

中田弘子・中村昌三・小前憲久

滝本陽子・高井 明

富山化学工業株式会社総合研究所

セファマイシン系抗生物質である T-1982 を皮下あるいは静脈内に投与し、ラットでの生殖試験を行ない以下の結果を得た。

1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

雌雄ともに投与期間中摂水量の増加が認められた。生殖ならびに胚・胎仔におよぼす影響は認められなかった。

2) 器官形成期投与試験

母体に対しては投与初期の摂餌量の減少および投与直後より分娩7日後まで摂水量の増加が認められた。胎仔の体重、死亡率、外形、骨格および内臓に T-1982 投与による影響は認められず、出生仔の発育、哺育率、生存率、生後分化の時期、行動、情動性、学習および生殖能力にも異常は認められなかった。

3) 周産期および授乳期投与試験

母体の摂水量に有意な増加が認められたが、妊娠期間、出生率および哺育率には影響は認められなかった。出生仔の発育に軽度の抑制が認められたが、6週後にはその差は認められなかった。また、出生仔の行動、情動性、学習および生殖能力には異常は認められなかった。

なお、上記3試験ともに投与期間中の軟便が認められた。

T-1982 の急性毒性¹⁾、ラット²⁾、ビーグル犬³⁾ およびカニクイザル⁴⁾ を用いての亜急性毒性試験についてはすでに報告したが、今回、著者らはラットの妊娠前から妊娠初期まで、器官形成期、妊娠末期から離乳期までの各期間で T-1982 を投与し、母体、胎仔および出生仔への影響を検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1) 使用動物および飼育条件

Sprague-Dawley 系ラット (日本クレア産) を用いて実験を行なった。動物は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、6:00~18:00 の1日12時間人工照明下に飼育し、固型飼料 (日本クレア、CE-2 または CA-1) および水道水を自由に摂取させた。なお、購入後 2~5 週間の検疫および予備飼育ののち実験に供した。

2) 投与期間

(1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

雄では生後6週齢より63日間、雌については生後10週齢より14日間薬物を投与したのち1対1で交配させ、交配成立までの期間薬物の投与を続けた。また、妊娠雌については、妊娠7日目まで薬物投与を続けた。

(2) 器官形成期投与試験

生後13週齢に達した無処置の雌雄を交配し、妊娠の成立した雌に妊娠7日目から17日目までの11日間連日薬物を投与した。

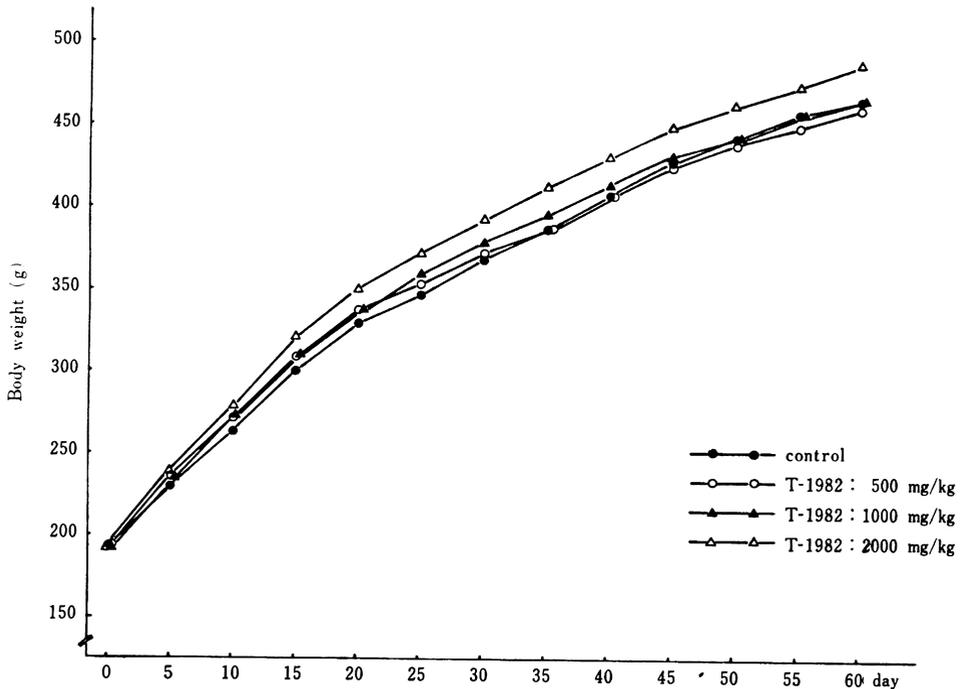
(3) 周産期および授乳期投与試験

生後12週齢に達した無処置の雌雄を交配し、妊娠の成立した雌に妊娠17日目から分娩後21日まで連日薬物を投与した。

3) 投与方法および投与量

本薬物は静脈内適用の薬物であるが、妊娠前および妊娠初期投与試験ならびに周産期および授乳期投与試験では皮下投与を、器官形成期投与試験では静脈内投与を採用した。皮下投与試験については T-1982 ラット3カ月間皮下投与と亜急性毒性試験²⁾ の投与量を参考にして 2,000, 1,000 および 500 mg/kg/day を採用した。器官形成期投与試験については、予備実験として 2,000 mg/kg および 1,000 mg/kg を妊娠ラットに妊娠7日目から17日目までの11日間尾静脈内投与したところ、両群ともに投与初期の摂餌量の抑制以外に母体体重、胎仔体重、胎仔の外形、骨格および内臓の異常に対照群との差を認めなかったため、2,000 mg/kg を大量とし、以下 1,000 mg/kg および 500 mg/kg を設定した。薬物は生理食塩液に溶

Fig. 1 Body weight changes of male rats administered T-1982 subcutaneously on fertility study



解し、投与液量は体重100g当り1mlとなるように調製した。対照群には同様に生理食塩液を投与した。また、妊娠中の投与量は妊娠0日の体重を規準として投与した。なお、静脈内投与における注入速度は2ml/min.とした。

4) 観察および検査項目

(1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

1群につき雌雄20対を用いて実験を行なった。交配前は雌雄ともに体重は毎日、摂餌量および摂水量については週1回測定し、妊娠の成立した雌については体重、摂餌量、摂水量ともに毎日測定した。妊娠した雌については妊娠20日目に屠殺開腹して黄体数、着床数、死亡仔数および生存胎仔数を調べた。生存胎仔については性別の判定を行ない体重を測定したのち外形異常の有無について調べ、半数を骨格観察⁶⁾に、半数を内臓観察⁶⁾に供した。母体は肉眼的に内臓を観察したのち主要臓器の重量を測定した。なお、交配期間は1週間を限度とした。

(2) 器官形成期投与試験

1群31~38匹の妊娠雌を用いて実験を行なった。妊娠中は体重、摂餌量、摂水量は毎日、分娩後は週1回3週まで測定した。各群20匹の妊娠雌は妊娠21日目に屠殺開腹して母体および胎仔について妊娠前および妊娠初期投与試験と同様に検査した。残りの1群11~18匹の妊娠雌

は自然分娩させ、生後24時間以内に出産仔数とその生死、性別および外形異常の有無を調べ体重を測定したのちそのまま母体に哺育させた。発見時すでに死亡していた新生仔は周産期死亡とみなした。なお、生後4日には体重を測定したのち1母体の哺育仔が8匹になるように選別して哺育を継続させ、残りの仔は骨格観察に供した。哺育仔は1週間ごとに6週まで体重を測定するとともに行動異常の有無、耳介開展、背部毛生、乳頭の出現、歯牙萌出、眼瞼の開裂、精巣下降および陰開口などの生後分化の状態を観察した。母体は離乳時に屠殺して内臓を肉眼的に観察したのち子宮内の着床痕数より胎仔の出産率を算定した。生後6週齢で育成仔全例について一般症状⁹⁾の観察を行なったのち1群につき雌雄20匹ずつを残して飼育を継続し、他は剖検して肉眼的に内臓を観察したのち主要臓器重量を測定した。飼育を継続した仔のうち1群雌雄10匹ずつを用いて8週齢で情動性の検索のためにOpen field試験⁹⁾を、10~12週齢では学習能力の検索のためにBeil¹⁰⁾の装置を用いてButcherら¹¹⁾の検査方法を参考にして水迷路試験を行なった。なお、装置に対して動物が大きかったためか器壁に手足をつっぱって泳ごうとしない動物が各群にみられたので遊泳時間は1回180秒を限度とし、180秒を経過しても泳ぐ意志のない動物はその回の試行より除外した。13週齢で育成仔全

Fig. 2 Food intake of male rats administered T-1982 subcutaneously on fertility study

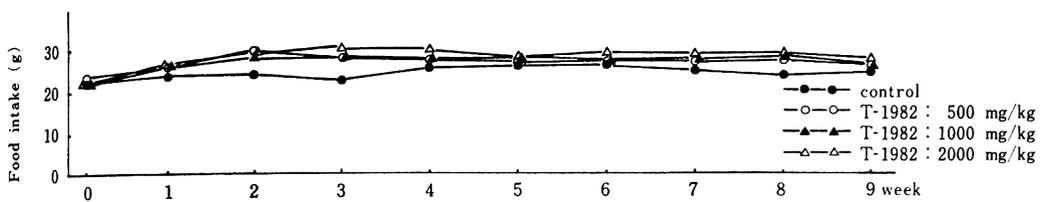
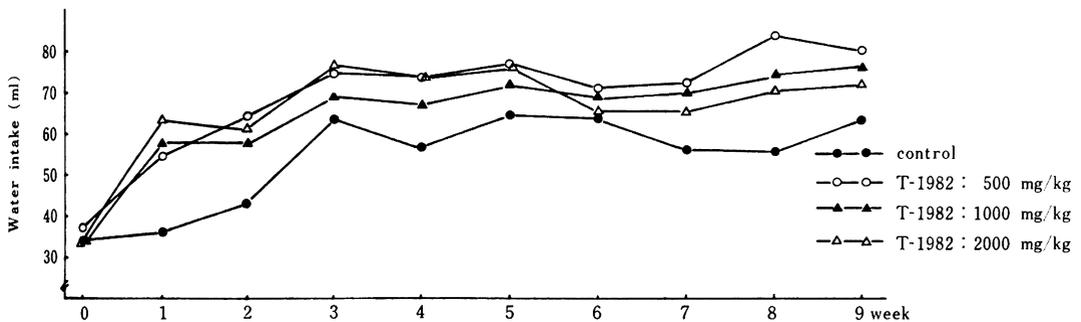


Fig. 3 Water intake of male rats administered T-1982 subcutaneously on fertility study



例(1群雌雄各20匹)を用いて、同一群内で兄妹交配をさせて1対1で1週間交配させ、生殖能力を検索するとともに妊娠末期に剖検して胎仔(F₂)の観察を行なった。

(3) 周産期および授乳期投与試験

1群19~23匹の妊娠雌を全例自然分娩させ、器官形成期投与試験の生後観察と同様に検査した。なお、体重、摂餌量および摂水量は毎日測定した。生後6週齢では1母体につき雌雄各1匹ずつを残して飼育を継続し Open field 試験、水迷路試験を行なった。11週齢で交配し生殖能力および胎仔(F₂)の検索を行なった。

5) 統計処理

交尾率、妊娠率については χ^2 検定を、黄体数、着床数、生存仔数、生存仔体重および化骨進行度については Student's t 検定を、死亡仔数、外形、骨格および内臓の異常仔数または変異仔数については MANN-WHITNEY U 検定を行なった。

II. 実験成績

1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

(1) 雄および母体におよぼす影響

雄の投与期間中の体重の推移を Fig. 1 に、摂餌量を Fig. 2 に、摂水量を Fig. 3 に示す。2,000 mg/kg 群に投与10日目より有意な体重増加が認められた。また、投与量に関係なく薬物投与全群に摂餌量および摂水量の増加がみられ軟便が認められた。

母体体重の推移を Fig. 4 に、摂餌量を Fig. 5 に、摂

水量を Fig. 6 に示す。投与期間中の体重には薬物投与群と対照群との差は認められなかったが、薬物投与全群に投与終了7日後(妊娠13日目)に一過性の激しい下痢がみられ、体重の急激な減少が認められた。この下痢および体重の減少は翌日には回復したが、この日以後、妊娠末期まで体重には有意な抑制が認められた。母体の肉眼的内臓観察には異常は認められなかったが、肺・肝などに軽度の重量の減少が認められた(Table 1)。摂餌量については妊娠後薬物投与全群に軽度の増加が、摂水量については投与開始直後より有意な増加が認められた。交尾率および妊娠率には異常は認められなかった。

(2) 胎仔におよぼす影響

妊娠20日目に行なった剖検結果を Table 1 に示す。500 mg/kg 群および1,000 mg/kg 群には黄体数、着床数、卵および胚・胎仔死亡率、生存胎仔の平均体重に対照群との差は認められなかったが、2,000 mg/kg 群では着床数の有意な減少がみられ、その結果生存胎仔数がやや少なかったために生存胎仔の体重が対照群より有意に重かった。外形異常としては対照群に膈ヘルニアが、500 mg/kg 群に無頭症が、1,000 mg/kg 群に前肢指の異常が、2,000 mg/kg 群には曲尾がそれぞれ1例ずつ認められた。

骨格観察の結果を Table 2 に示す。骨格異常としては500 mg/kg 群の無頭症には頭蓋骨の欠損が、1,000 mg/kg 群の前肢指の異常については尺骨の欠損が認め

Fig. 4 Body weight changes of female rats administered T-1982 subcutaneously on fertility study

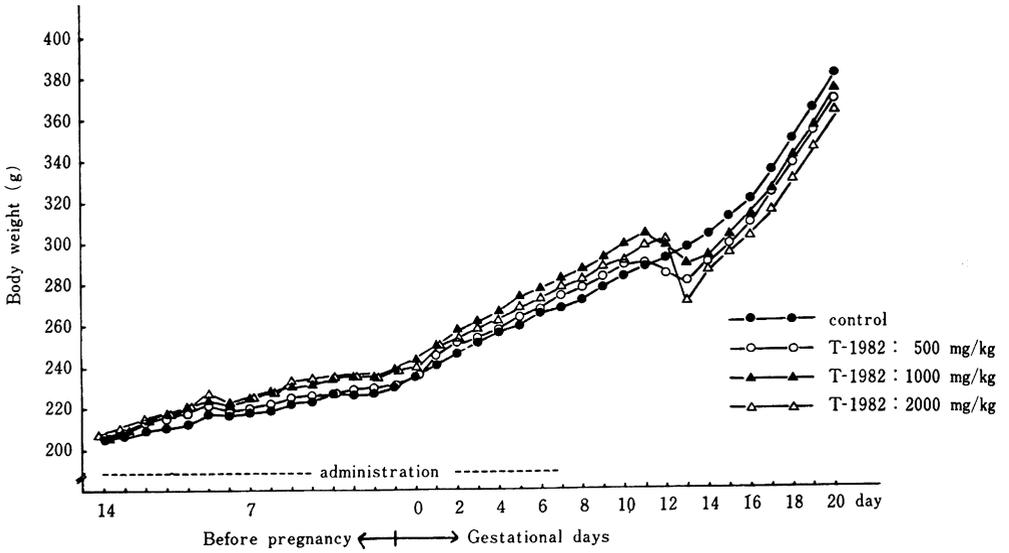


Fig. 5 Food intake of female rats administered T-1982 subcutaneously on fertility study

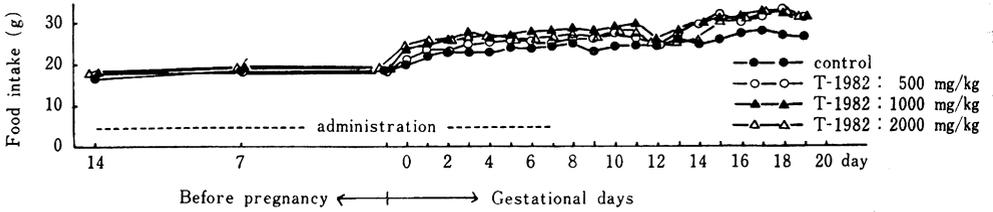


Fig. 6 Water intake of female rats administered T-1982 subcutaneously on fertility study

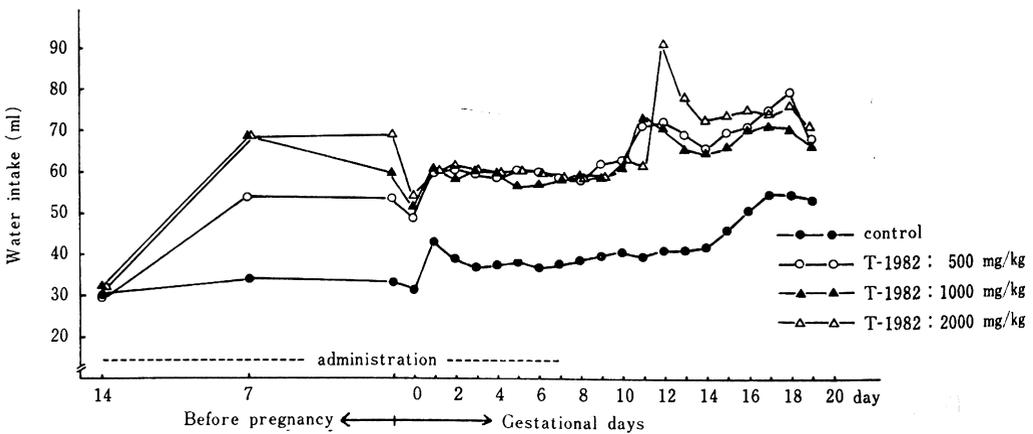


Table 1 Effect of subcutaneous administration of T-1982 in rat fetuses and pregnant rats on fertility study

	Dose (mg/kg)			control	500	1,000	2,000
	20	20	20				
No. of mating rats	20	20	20	20	20	20	20
No. of copulated rats (%)	19(95.0)	18(90.0)	20(100)	18(90.0)	20(100)	20(100)	20(100)
No. of pregnant rats (%)	18(94.7)	16(88.9)	17(85.0)	16(88.9)	17(85.0)	19(95.0)	19(95.0)
No. of corpora lutea (mean±S. E.)	288(16.0±0.56)	244(15.3±0.72)	259(15.2±1.04)	244(15.3±0.72)	259(15.2±1.04)	303(15.9±0.77)	303(15.9±0.77)
No. of implants (mean±S. E.)	259(14.4±0.38)	219(13.7±0.44)	215(12.6±1.05)	219(13.7±0.44)	215(12.6±1.05)	246(12.9±0.54*)	246(12.9±0.54*)
No. of pre implantation egg loss (%)	29(10.1)	25(10.3)	44(17.0)	25(10.3)	44(17.0)	57(18.8)	57(18.8)
No. of dead fetuses (%)	14(5.4)	14(6.4)	11(5.1)	14(6.4)	11(5.1)	24(9.8)	24(9.8)
Early	1(0.4)	1(0.5)	0	1(0.5)	0	0	0
Late	13(4.9)	13(5.9)	11(4.2)	13(5.9)	11(4.2)	24(9.8)	24(9.8)
No. of alive fetuses (mean±S. E.)	244(13.6±0.46)	204(12.8±0.40)	204(12.0±1.21)	204(12.8±0.40)	204(12.0±1.21)	222(11.7±0.83)	222(11.7±0.83)
No. and mean body weight of fetuses (g±S. E.)							
Male	124(3.56±0.063)	86(3.65±0.057)	113(3.71±0.083)	124(3.56±0.063)	86(3.65±0.057)	118(3.78±0.051*)	118(3.78±0.051*)
Female	120(3.38±0.056)	118(3.44±0.068)	91(3.39±0.055)	118(3.44±0.068)	91(3.39±0.055)	104(3.56±0.051*)	104(3.56±0.051*)
Malformed fetuses (%)	1(0.4)	1(0.5)	1(0.5)	1(0.5)	1(0.5)	1(0.5)	1(0.5)
Omphalocele	1	0	0	0	0	0	0
Acrania	0	1	0	1	0	0	0
Reduction deformity of the forelimb with the heterotopic digits	0	0	1	0	1	0	0
Kinky tail	0	0	0	0	0	1	1
Mean organ weight of pregnant rats (g±S. E.)							
Heart	1.04±0.039	1.01±0.043	0.95±0.020*	1.01±0.043	0.95±0.020*	0.93±0.017*	0.93±0.017*
Lung	1.39±0.039	1.26±0.029*	1.29±0.027*	1.26±0.029*	1.29±0.027*	1.24±0.030**	1.24±0.030**
Liver	18.60±0.409	17.08±0.394*	17.29±0.734	17.08±0.394*	17.29±0.734	16.28±0.515**	16.28±0.515**
Kidney	1.15±0.026	1.12±0.023	1.12±0.024	1.12±0.023	1.12±0.024	1.09±0.022	1.09±0.022
Spleen	1.19±0.027	1.15±0.028	1.17±0.024	1.15±0.028	1.17±0.024	1.12±0.023	1.12±0.023
Adrenals	0.74±0.032	0.82±0.037	0.86±0.033*	0.82±0.037	0.86±0.033*	0.81±0.031	0.81±0.031
Ovary	0.08±0.003	0.07±0.003	0.07±0.003	0.07±0.003	0.07±0.003	0.07±0.004	0.07±0.004
Thymus	0.12±0.004	0.12±0.006	0.12±0.005	0.12±0.006	0.12±0.005	0.12±0.005	0.12±0.005
Submaxillary gland	0.30±0.014	0.27±0.012	0.29±0.018	0.27±0.012	0.29±0.018	0.27±0.015	0.27±0.015
Submaxillary gland	0.50±0.016	0.48±0.014	0.50±0.016	0.48±0.014	0.50±0.016	0.48±0.011	0.48±0.011

Significantly different from control

*P<0.05 **P<0.01

Table 2 Effect of subcutaneous administration of T-1982 on skeleton in rat fetuses on fertility study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of fetuses examined in skeleton	127	107	104	116
Abnormality (%)	0	1(0.9)	1(1.0)	0
Absence of skull	0	1	0	0
Absence of ulna	0	0	1	0
Variation (%)	7(5.5)	3(2.8)	6(5.8)	5(4.3)
Fusion of sternebrae	0	0	1	0
Splitting of sternebrae	0	0	0	1
14th rib	3	0	0	0
Variations of number of presacral vertebrae	4	1	5	3
Splitting of vertebral bodies	0	2	0	1
Degree of ossification				
Retarded ossification of sternebrae (%)	99(78.0)	73(68.2)	64(61.5)	75(64.7)
No. of ossified sacral and caudal vertebrae (mean±S. E.)	8.0±0.08	7.8±0.12	7.9±0.09	8.0±0.10
No. of ossified proximal and middle phalanges in fore limbs (mean±S. E.)	0.4±0.15	0.3±0.13	0.5±0.25	0.8±0.14
No. of ossified proximal and middle phalanges in hind limbs (mean±S. E.)	0	0	0	0

Table 3 Effect of subcutaneous administration of T-1982 on viscera in rat fetuses on fertility study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of fetuses examined in viscera	117	97	100	106
Malformed fetuses (%)	7(6.0)	10(10.3)	11(11.0)	11(10.4)
Thymic remnant in the neck	1	5	1	2
Ventricular septal defect	0	1	1	3
Thymic remnant in the neck and ventricular septal defect	0	0	0	1
Omphalocele and dilatation of ureter	0	0	0	1
Omphalocele	1	0	0	0
Dilatation of ureter	4	3	7	4
Inguinal hernia	0	1	0	0
Left umbilical artery	1	0	2	0

られた。その他の異常は認められなかった。骨格の変異として14肋骨の形成、仙椎前椎骨数の過剰、椎体の分離、胸骨核の分離または癒合などが認められたが対照群と薬物投与群との差は認められなかった。化骨の進行度としては胸骨核の化骨度、腰椎後椎骨化骨数、前肢指骨および後肢趾骨化骨数について調べたが対照群との差は認められなかった。

内臓観察の結果を Table 3 に示す。内臓異常として胸腺の頸部残留、心室中隔欠損、臍ヘルニア、尿管拡張、左臍動脈、鼠径ヘルニアなどが認められたが、異常仔数についても個々の症例についても薬物投与群と対照群に

有意な差は認められなかった。

2) 器官形成期投与試験

(1) 母体におよぼす影響

母体体重の推移を Fig. 7 に示す。妊娠中には薬物投与群と対照群に差はみられなかったが分娩4日後には薬物投与全群に、1,000 mg/kg 群および2,000 mg/kg 群では7日後まで有意な抑制が認められた。摂餌量を Fig. 8 に、摂水量を Fig. 9 に示す。薬物投与全群に投与直後(妊娠7日目)より妊娠12日まで摂餌量の有意な減少が認められたが、その後回復した。摂水量については投与直後より分娩7日後まで有意な増加が認められた。投与

Fig. 7 Body weight changes of rats administered T-1982 intravenously on teratological study

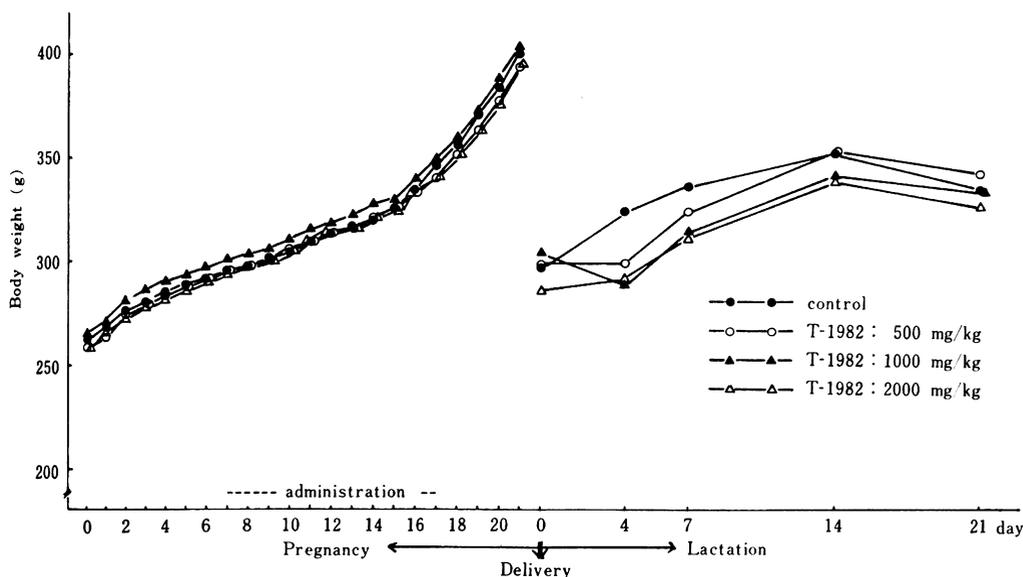
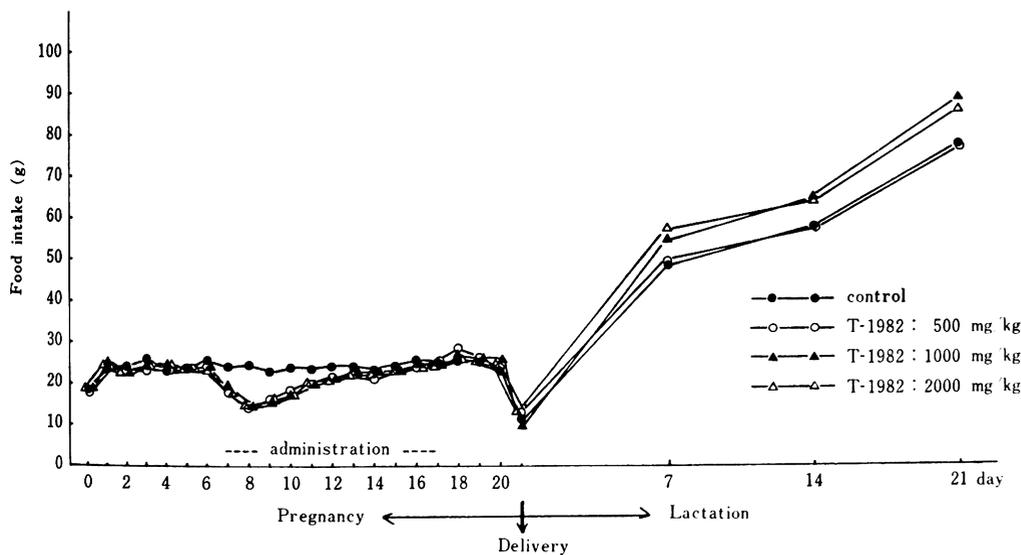


Fig. 8 Food intake of rats administered T-1982 intravenously on teratological study



期間中には薬物投与全群に軟便が認められた。母体の肉眼的内臓観察には異常は認められなかったが、心、肺、肝の重量に投与量に比例した減少が認められた (Table 4)。しかし、授乳期間終了後の臓器重量には異常は認められなかった。

(2) 胎仔 (Fi) におよぼす影響

1群20匹の妊娠動物を用いて妊娠21日目に行なった剖検結果を Table 4 に示す。黄体数、着床数、死亡仔数、

生存胎仔数および性比には薬物投与群と対照群との間に差は認められなかった。また、生存胎仔の体重にも差は認められず外形異常もまったく認められなかった。

骨格観察の結果を Table 5 に示す。骨格の異常として対照群に肋骨の結節形成が1例、1,000 mg/kg 群に片側の第13肋骨の欠損が2例認められた。変異としては14肋骨の形成、仙椎前椎骨数の過剰および椎体の分離が認められた。しかし、骨格異常および変異のいずれにも対照

Fig. 9 Water intake of rats administered T-1982 intravenously on teratological study

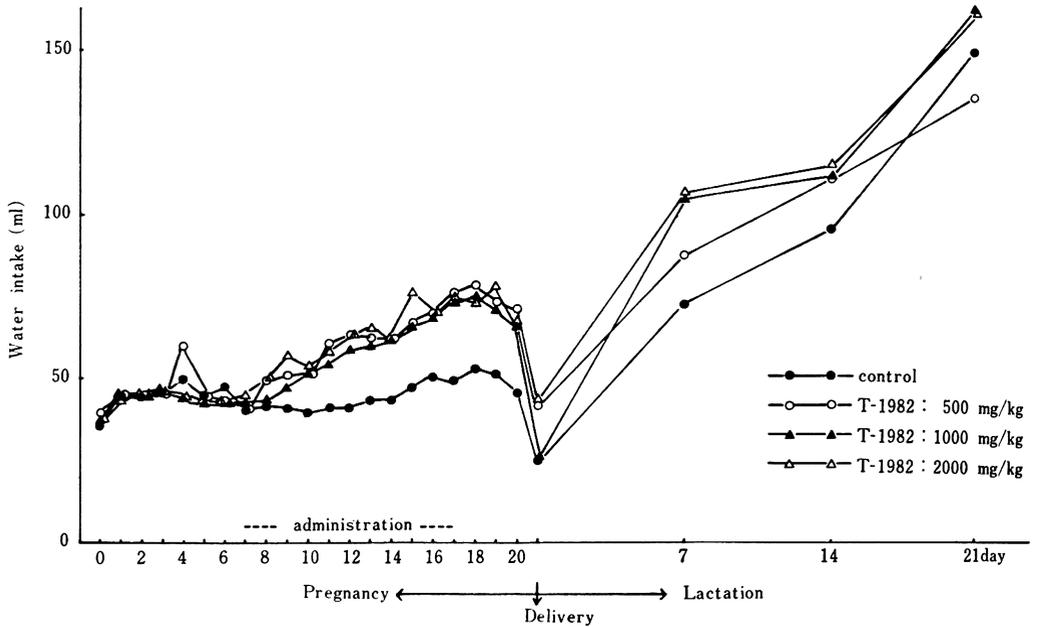


Table 4 Effect of intravenous administration of T-1982 in rat fetuses and pregnant rat on teratological study

Dose(mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of litters	20	20	20	20
No. of corpora lutea (mean±S. E.)	345(17.3±0.60)	326(16.3±0.53)	342(17.1±0.75)	335(16.8±0.71)
No. of implants (mean±S. E.)	257(12.9±1.06)	251(12.6±1.12)	269(13.5±1.09)	265(13.3±1.06)
No. of dead fetuses (%)	21(8.2)	15(6.0)	16(6.0)	33(12.5)
No. of alive fetuses (mean±S. E.)	236(11.8±1.13)	236(11.8±1.11)	253(12.7±1.13)	232(11.6±1.27)
No. and mean body weight of fetuses (g±S. E.)				
Male	130(5.15±0.122)	118(4.94±0.084)	132(5.20±0.107)	112(5.01±0.115)
Female	106(4.82±0.080)	118(4.77±0.105)	121(4.93±0.073)	120(4.64±0.092)
No. of malformed fetuses	0	0	0	0
Mean organ weight of pregnant rats (g±S. E.)				
Heart	1.10±0.049	0.96±0.035*	0.91±0.029**	0.89±0.030**
Lung	1.37±0.040	1.27±0.028*	1.24±0.028*	1.20±0.030**
Liver	16.04±0.411	14.62±0.417*	13.79±0.361**	13.69±0.365**
Kidney				
Left	1.13±0.028	1.09±0.029	1.04±0.016**	1.06±0.031
Right	1.16±0.031	1.14±0.031	1.09±0.023*	1.10±0.031
Spleen	0.71±0.022	0.67±0.031	0.67±0.021	0.66±0.024
Adrenals	0.07±0.003	0.07±0.003	0.07±0.004	0.07±0.004
Ovary	0.14±0.007	0.14±0.007	0.15±0.009	0.13±0.007
Thymus	0.23±0.015	0.18±0.012*	0.20±0.010	0.19±0.014
Submaxillary gland	0.49±0.013	0.48±0.013	0.46±0.013	0.46±0.015

Significantly different from control *P<0.05, **P<0.01

Table 5 Effect of intravenous administration of T-1982 on skeleton in rat fetuses on teratological study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of fetuses examined in skeleton	127	123	133	121
Abnormality (%)	1(0.8)	0	2(1.5)	0
Absence of 13th rib (unilateral)	0	0	2	0
Nodulated ribs	1	0	0	0
Variations (%)	3(2.4)	4(3.3)	2(1.5)	2(1.7)
14th rib	0	2	0	0
Variations of number of presacral vertebrae	1	1	2	2
Splitting of vertebral bodies	2	1	0	0
Degree of ossification				
Retarded ossification of sternbrae (%)	16(12.6)	34(27.6)	34(25.6)	23(19.0)
No. of ossified sacral and caudal vertebrae (mean±S. E.)	10.5±0.31	10.1±0.21	10.4±0.26	10.0±0.20
No. of ossified proximal and middle phalanges in fore limbs (mean±S. E.)	6.9±0.22	6.7±0.32	7.2±0.21	6.5±0.43
No. of ossified proximal and middle phalanges in hind limbs (mean±S. E.)	2.3±0.62	1.6±0.53	2.9±0.67	1.8±0.42

Table 6 Effect of intravenous administration of T-1982 on viscera in rat fetuses on teratological study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of fetuses examined in viscera	109	113	120	111
Malformed fetuses (%)	11(10.1)	17(15.0)	13(10.8)	20(18.0)
Thymic remnant in the neck	4	4	5	3
Ventricular septal defect	1	1	1	4
Supernumerary of coronary artery orifice	0	1	1	1
Thymic remnant in the neck and supernumerary of coronary artery orifice	0	0	0	1
Dilatation of ureter	6	8	6	7
Dilatation of ureter and supernumerary of coronary artery orifice	0	1	0	0
Left umbilical artery	0	1	0	2
Dilatation of ureter and left umbilical artery	0	0	0	2
Omphalocele	0	1	0	0

群と薬物投与群との差は認められなかった。化骨の進行度にも差は認められなかった。

内臓観察の結果を Table 6 に示す。内臓の異常として胸腺頸部残留、尿管拡張、心室中隔欠損、過剰冠状動脈口、左臍動脈、臍ヘルニアが認められたが、全体の異常仔数および個々の症例の異常仔数にも対照群と薬物投与

群との差は認められなかった。

(3) 出生仔におよぼす影響

1群11~18匹の母体から自然分娩した仔の哺育成績および発育状態を Table 7 に示す。妊娠期間については2,000 mg/kg 群が22.0日で対照群の22.4日と比較して有意であった。しかしこれは正常範囲の値である。出産

Table 7 Effect of intravenous administration of T-1982 on development of offsprings on teratological study

Dose (mg/kg)		control	500	1,000	2,000
No. of litters		16	17	18	11
Gestation period (day ± S. E.)		22.4 ± 0.13	22.4 ± 0.15	22.1 ± 0.10	22.0 ± 0.13*
No. of implants (mean ± S. E.)		227 (14.2 ± 1.21)	223 (13.1 ± 1.21)	255 (14.2 ± 0.78)	153 (13.9 ± 0.99)
No. of pups born (mean ± S. E.)		202 (12.6 ± 1.08)	197 (11.6 ± 1.19)	229 (12.7 ± 0.79)	146 (13.3 ± 1.02)
No. of pups born alive (mean ± S. E.)		197 (12.4 ± 1.08)	183 (10.8 ± 1.13)	218 (12.1 ± 0.92)	144 (13.1 ± 1.00)
No. of pups born dead (%)		5 (2.5)	14 (7.1)	11 (4.8)	2 (1.4)
Delivering rate (%) ^{a)}		89.0	88.3	89.8	95.4
Weaning rate (%) ^{b)}		97.4	91.9	91.4	98.8
Survival rate (%) ^{c)}		97.4	91.9	90.6	98.8
No. of malformed pups (%)		1 (0.5) Lumber hernia	0	0	0
No. and mean body weight of pups (g ± S. E.)					
At birth	Male	101 6.31 ± 0.161	90 6.38 ± 0.169	104 6.40 ± 0.128	72 6.24 ± 0.180
	Female	96 5.99 ± 0.186	93 6.09 ± 0.215	114 6.05 ± 0.111	72 5.87 ± 0.171
4 th day (after reduction)	Male	61 10.70 ± 0.576	58 10.44 ± 0.573	62 10.18 ± 0.432	42 9.73 ± 0.540
	Female	56 10.31 ± 0.562	53 10.11 ± 0.649	66 9.98 ± 0.402	42 9.20 ± 0.396
1 st week	Male	60 18.00 ± 0.532	58 16.84 ± 0.815	62 16.07 ± 0.510*	42 16.02 ± 0.777*
	Female	56 16.67 ± 0.932	53 16.54 ± 0.964	66 15.75 ± 0.475	42 15.41 ± 0.549
2 nd week	Male	60 38.03 ± 0.773	52 37.56 ± 1.185	57 36.52 ± 0.688	41 36.60 ± 1.227
	Female	54 35.80 ± 1.658	50 37.05 ± 1.515	61 35.89 ± 0.687	42 35.82 ± 0.854
3 rd week	Male	60 61.59 ± 1.288	52 60.66 ± 1.673	56 60.01 ± 1.551	41 60.12 ± 1.833
	Female	54 57.64 ± 2.207	50 60.58 ± 1.963	61 58.97 ± 1.383	42 58.36 ± 1.330
4 th week	Male	60 100.3 ± 1.86	52 98.1 ± 2.56	55 99.9 ± 2.32	41 97.1 ± 3.30
	Female	54 89.4 ± 3.39	50 91.9 ± 2.65	61 91.8 ± 1.87	42 90.7 ± 2.33
5 th week	Male	60 155.4 ± 2.28	52 145.6 ± 4.79	55 155.9 ± 3.47	41 150.4 ± 4.74
	Female	54 131.6 ± 4.22	50 128.5 ± 3.84	61 133.3 ± 2.26	42 130.4 ± 2.96
6 th week	Male	60 208.6 ± 3.52	52 198.2 ± 5.72	55 211.5 ± 3.88	41 202.5 ± 5.80
	Female	54 161.7 ± 4.46	50 160.7 ± 4.14	61 164.2 ± 2.59	42 164.0 ± 2.63
Differentiation (%)					
Separation of auricle on 4 th day		95.0	93.8	100	100
Appearance of dorsal hair on 4 th day		100	93.8	100	100
Appearance of nipples on 7 th day		100	97.9	100	100
Eruption of incisors on 14 th day		100	100	100	100
Separation of eyelids on 14 th day		94.5	100	100	98.9
Descent of testis on 4 th week		100	100	100	100
Opening of vagina on 5 th week		68.1	78.6	79.7	61.2

*P < 0.05

Significantly different from control

a) (No. of pups born/No. of implants) × 100

b) (No. of pups at 3rd week/No. of pups at 4th day) × 100

c) (No. of pups at 6th week/No. of pups at 4th day) × 100

Table 8 Effect of intravenous administration of T-1982 on skeleton in rat neonate (at 4th day after birth) on teratological study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of neonates examined	66	47	69	54
Abnormality	0	0	0	0
Variation (%)	7(10.6)	0	1(1.5)	0
Splitting of sternbrae	1	0	0	0
14th rib	1	0	1	0
Variations of number of presacral vertebrae	4	0	0	0
Splitting of vertebral bodies	1	0	0	0
Degree of ossification				
Retarded ossification of sternbrae (%)	1(1.5)	0	0	0
No. of ossified sacral and caudal vertebrae (mean±S. E.)	26.0±0.46	25.5±0.28	24.8±0.39*	25.4±0.44
No. of ossified proximal and middle phalanges in fore limbs (mean±S. E.)	16.0±0	16.0±0	16.0±0	16.0±0
No. of ossified proximal and middle phalanges in hind limbs (mean±S. E.)	18.0±0.05	17.9±0.07	17.7±0.18	17.9±0.07

Significantly different from control *P<0.05

Table 9 Organ weight and visceral malformation of offsprings at 6 weeks administered T-1982 intravenously on teratological study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of offsprings examined				
Male	40	32	35	21
Female	34	30	41	22
Body weight (g±S. E.)				
Male	218±3.5	208±5.8	222±3.7	219±5.4
Female	168±4.3	165±4.1	170±2.6	169±2.5
Organ weight (g±S. E.)				
Male				
Heart	0.92±0.027	0.81±0.046	0.88±0.019	0.89±0.021
Lung	1.20±0.023	1.10±0.025*	1.25±0.035	1.23±0.025
Liver	12.74±0.417	11.77±0.474	12.64±0.374	12.38±0.392
Kidney				
Left	1.14±0.035	1.09±0.041	1.14±0.022	1.17±0.037
Right	1.18±0.033	1.10±0.037	1.17±0.021	1.19±0.043
Spleen	0.67±0.022	0.60±0.023	0.71±0.030	0.69±0.024
Adrenals	0.04±0.003	0.03±0.002	0.04±0.002	0.04±0.002
Thymus	0.61±0.023	0.58±0.023	0.62±0.014	0.58±0.014
Submaxillary gland	0.45±0.014	0.42±0.010	0.47±0.012	0.47±0.009
Testis				
Left	1.06±0.029	1.04±0.023	1.09±0.024	1.07±0.025
Right	1.06±0.027	1.03±0.023	1.08±0.024	1.06±0.022
Female				
Heart	0.73±0.025	0.66±0.021*	0.69±0.009	0.68±0.018
Lung	1.03±0.031	0.98±0.032	1.02±0.020	1.03±0.020
Liver	10.32±0.400	9.88±0.330	10.00±0.277	9.88±0.325
Kidney				
Left	0.91±0.046	0.89±0.028	0.90±0.015	0.91±0.023
Right	0.89±0.035	0.88±0.028	0.92±0.014	0.93±0.030
Spleen	0.47±0.013	0.45±0.014	0.49±0.020	0.48±0.012
Adrenals	0.05±0.003	0.04±0.003	0.05±0.002	0.05±0.001
Thymus	0.53±0.022	0.50±0.020	0.51±0.021	0.49±0.016
Submaxillary gland	0.38±0.012	0.35±0.010	0.39±0.008	0.39±0.012
Ovary	0.07±0.004	0.06±0.004	0.07±0.004	0.07±0.003
Visceral malformation				
Dilatation of renal pelvis (%)	1(1.4)	0	2(2.6)	2(4.7)

Significantly different from control *P<0.05

Table 10 General behavior of offsprings at 6 weeks administered T-1982 intravenously on teratological study

Dose (mg/kg)		control	500	1,000	2,000
No. of observed offsprings		114	102	116	83
Item		No. of abnormalities			
1. Awareness	1. Alertness	3	1	0	1
	2. Visual placing	0	0	0	0
	3. Stereotypy	0	0	0	0
	4. Passivity	0	0	0	0
2. Mood	1. Grooming	0	0	0	0
	2. Vocalization	0	0	0	0
	3. Irritability	1	0	0	1
	4. Restlessness	2	0	1	0
	5. Fearfulness	3	2	5	1
3. Motor activity	1. Reactivity	0	0	0	0
	2. Spontaneous movement	0	0	0	0
	3. Touch response	0	0	0	0
	4. Pain response (tail clip)	0	0	0	0
4. CNS excitation	1. Startle response	0	0	0	0
	2. Straub's reaction	0	0	0	0
	3. Tremors	0	0	0	0
	4. Twitches	0	0	0	0
	5. Convulsions	0	0	0	0
5. Body posture		0	0	0	0
6. Motor incoordination	1. Staggering gait	0	0	0	0
	2. Abnormal gait	0	0	0	0
	3. Righting reflex	0	0	0	0
7. Muscle tone	1. Limb tone	0	0	0	0
	2. Grip strength	0	0	0	0
	3. Body tone	0	0	0	0
	4. Abdominal tone	0	0	0	0
8. Reflex	1. Pinna reflex	0	0	0	0
	2. Corneal reflex	0	0	0	0
	3. Ipsilateral flexor reflex	0	0	0	0
9. Autonomic profile	1. Palpebral opening	0	0	0	0
	2. Exophthalmus	0	0	0	0
	3. Urination	0	0	0	0
	4. Salivation	0	0	0	0
	5. Piloerection	0	0	0	0
	6. Skin color	0	0	0	0
	7. Respiratory rate	0	0	0	0

Table 11 Open field test of offsprings at 8 weeks administered T-1982 intravenously on teratological study

Dose (mg/kg)	control			2,000
	500	1,000	10	
No. of observed male offsprings	10	10	10	10
Time on the field (sec.±S. E.) ^{a)}				
In the center of field (%)	43.3±17.52(24.1)	48.9±17.67(27.2)	25.0±5.39(13.9)	19.2±9.12 (10.7)
At the corners of field (%)	93.7±16.89(52.1)	92.8±20.86(51.6)	124.1±6.45(68.9)	99.7±12.87(55.4)
Around the wall (%)	43.0±9.16 (23.9)	38.3±10.64(21.3)	30.9±5.50(17.2)	61.1±7.13 (33.9)
Defecation (mean±S. E.)	0.5±0.27	1.5±0.50	0.7±0.15	1.0±0.60
Urination (mean±S. E.)	0.9±0.28	1.2±0.36	1.3±0.26	0.8±0.29
Rearing (mean±S. E.)	4.8±1.55	3.5±1.46	3.7±1.03	4.6±0.81
Grooming (mean±S. E.)	0.4±0.16	1.1±0.38	1.8±0.59*	1.0±0.39
Ambulation(mean±S. E.)	22.9±5.74	18.4±6.00	21.4±4.67	28.0±6.25
No. of observed female offsprings	10	10	10	10
Time on the field (sec.±S. E.) ^{a)}				
In the center of field (%)	12.7±3.75(7.1)	18.9±5.16 (10.5)	20.9±6.17(11.6)	10.2±1.70(5.7)
At the corners of field (%)	120.2±9.91(66.7)	95.9±13.63(53.3)	107.9±8.49(59.9)	125.0±3.62(69.4)
Around the wall (%)	47.1±8.57(26.2)	65.2±10.54(36.2)	51.2±4.66(28.4)	44.8±2.59(24.9)
Defecation (mean±S. E.)	0.6±0.43	0.3±0.21	0.1±0.10	0.1±0.10
Urination (mean±S. E.)	1.2±0.39	0.7±0.30	1.4±0.31	0.6±0.22
Rearing (mean±S. E.)	8.0±1.11	7.8±1.88	7.3±1.63	10.6±1.78
Grooming (mean±S. E.)	0.8±0.20	1.1±0.41	1.0±0.26	1.0±0.33
Ambulation(mean±S. E.)	42.9±10.80	34.9±6.81	39.7±7.96	47.8±4.25

a) Count for 180 sec.

Table 12 Water multiple T-maze test of offsprings from rats administered T-1982 intravenously on teratological study

Dose (mg/kg)	control			500			1,000			2,000		
	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)
Male												
First day												
Trials 1	8	66.9±12.79	(7.8±1.71)	8	75.3±14.30	(6.4±1.75)	7	88.6±13.67	(9.0±2.17)	9	71.6±15.40	(6.7±1.11)
2	7	57.6±12.07	(7.1±0.99)	6	42.3±4.22	(4.5±0.99)	7	87.3±15.45	(5.6±1.13)	10	72.3±9.86	(7.5±1.08)
3	4	37.0±9.35	(4.3±1.93)	7	64.0±11.84	(3.4±1.17)	6	68.0±10.92	(4.3±2.22)	9	43.2±8.93	(3.0±1.01)
4	6	52.8±11.46	(2.8±1.70)	7	42.7±5.13	(2.0±0.82)	7	69.6±13.30	(1.3±0.36)	9	42.0±7.85	(2.7±0.73)
5	7	61.0±14.01	(2.4±1.15)	7	56.6±15.98	(2.9±1.75)	6	46.8±6.16	(1.0±0.63)	9	59.7±15.13	(3.3±1.33)
Second day												
Trials 1	6	44.8±8.05	(3.5±1.23)	8	69.5±10.02	(2.6±1.46)	6	55.7±20.55	(0.5±0.34)*	9	52.2±8.87	(2.8±0.80)
2	7	40.3±10.68	(1.4±0.57)	8	48.5±6.97	(1.4±0.63)	7	58.6±16.98	(0.6±0.43)	10	37.3±5.00	(2.0±0.83)
3	7	39.0±9.63	(1.4±0.72)	8	55.9±11.38	(2.3±0.67)	7	46.9±12.62	(0.4±0.30)	10	29.4±3.45	(0.6±0.27)
4	8	46.3±17.75	(0.4±0.26)	8	40.1±7.71	(0.8±0.41)	8	49.5±15.94	(0.1±0.13)	10	38.6±7.11	(1.6±0.56)
5	9	55.1±16.10	(0.9±0.26)	8	44.1±10.89	(0.8±0.49)	8	31.6±4.63	(0.3±0.25)	10	49.4±5.61	(1.2±0.42)
Female												
First day												
Trials 1	9	76.8±9.88	(8.7±1.55)	8	69.9±9.98	(6.6±0.86)	10	76.3±13.64	(7.2±1.12)	9	77.0±11.27	(8.7±1.68)
2	10	66.9±10.05	(5.6±1.11)	9	87.3±15.04	(6.0±1.29)	8	85.6±12.28	(8.3±2.42)	9	91.6±11.01	(8.3±1.83)
3	10	51.9±10.02	(3.6±1.06)	7	64.3±13.12	(4.7±1.48)	8	84.4±8.27*	(5.9±1.23)	10	72.4±10.73	(6.7±2.13)
4	10	35.7±4.63	(1.6±0.58)	9	62.6±13.71	(1.6±0.56)	9	82.1±14.79**	(3.6±1.16)	9	57.4±12.64	(2.1±0.84)
5	8	42.6±8.65	(1.0±0.73)	10	60.2±11.74	(1.1±0.43)	10	69.8±15.87	(0.9±0.43)	10	73.6±14.48	(3.5±1.46)
Second day												
Trials 1	10	38.4±6.19	(1.4±0.58)	9	117.3±13.05**	(2.4±0.75)	8	79.6±15.91*	(3.5±1.09)	9	46.3±6.78	(1.9±0.56)
2	10	50.1±9.06	(1.1±0.46)	10	62.5±11.43	(1.5±0.96)	8	48.5±8.07	(1.0±0.63)	9	55.6±11.30	(1.6±0.56)
3	10	52.0±8.63	(1.6±0.87)	9	62.8±9.86	(1.2±0.64)	8	43.0±5.70	(1.1±0.55)	9	49.6±12.75	(1.3±0.44)
4	10	42.7±7.03	(0.2±0.13)	8	79.3±18.06	(0.8±0.49)	8	52.8±9.16	(1.3±0.31)**	10	47.4±9.69	(1.1±0.31)*
5	10	36.7±6.23	(0.6±0.40)	9	55.6±11.65	(1.1±0.45)	8	42.1±5.14	(1.0±0.33)	10	61.9±14.64	(1.2±0.39)

a) No. of rats swimming/observed 10 rats

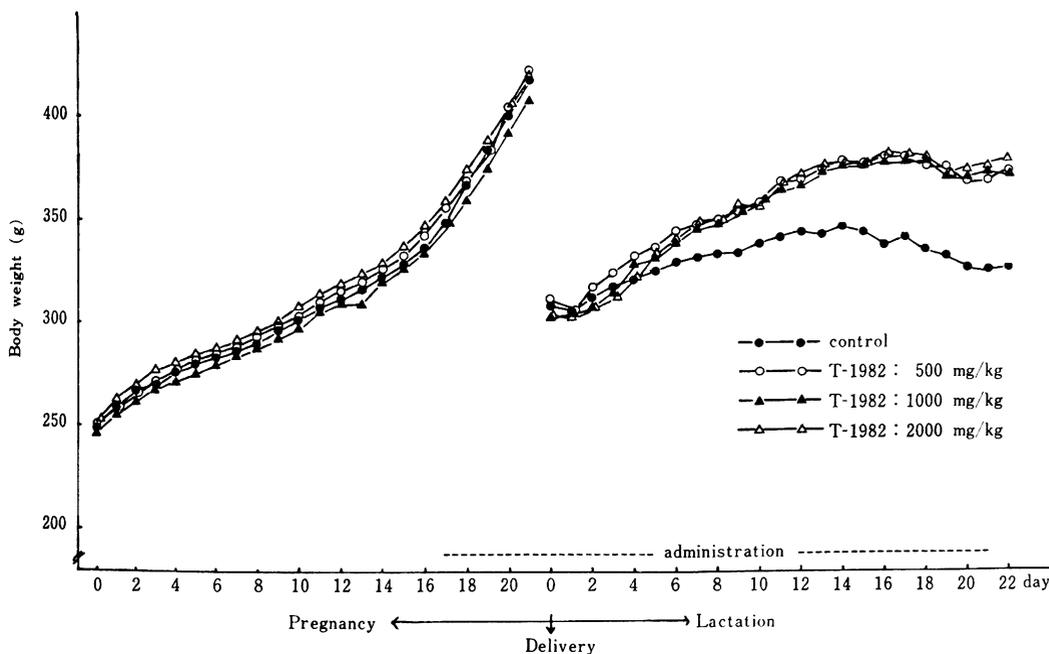
*P>0.05, **P>0.01

Significantly different from control

Table 13 Effect of intravenous administration of T-1982 on fertility in F₁ rats of teratological study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of mated rats	20	20	19	20
No. of copulated rats (%)	19(95.0)	19(95.0)	18(94.7)	19(95.0)
No. of pregnant rats (%)	19(100)	17(89.5)	18(100)	18(94.7)
No. of corpora lutea (mean±S. E.)	326(17.2±0.85)	293(17.2±0.59)	275(15.3±0.43)	310(17.2±0.60)
No. of implants (mean±S. E.)	270(14.2±0.61)	256(15.1±0.72)	250(13.9±0.48)	277(15.4±0.51)
No. of pre implantation egg loss (%)	56(17.2)	37(12.6)	25(9.1)	33(10.7)
No. of dead fetuses (%)	13(4.8)	18(7.0)	9(3.6)	17(6.1)
No. of alive fetuses (mean±S. E.)	257(13.5±0.56)	238(14.0±0.73)	241(13.4±0.47)	260(14.4±0.53)
No. and mean body weight of fetuses (g±S. E.)				
Male	117(3.68±0.068)	103(3.55±0.048)	125(3.70±0.051)	123(3.63±0.047)
Female	140(3.44±0.070)	135(3.35±0.052)	116(3.52±0.041)	137(3.42±0.048)
No. of malformed fetuses (%)	1(0.4)	0	0	0
	Omphalocele			

Fig. 10 Body weight changes of rats administered T-1982 subcutaneously on perinatal and postnatal study



率, 生存仔数, 周産期死亡仔数, 哺育率および生後6週までの生存率には薬物投与群と対照群に差は認められなかった。外形異常としては対照群に腰ヘルニアが1例みられただけであった。出生仔の発育については1,000 mg/kgおよび2,000 mg/kg群の雄の1週時にも軽度の発育抑制が認められたが, その後の発育には対照群との差は認められなかった。行動状態, 生後分化の時期に

も異常は認められなかった。

生後4日で淘汰した仔についての骨格観察の結果をTable 8に示す。骨格異常は全く認められず, 変異としては1,000 mg/kg群に14肋骨の形成を1例認めたにすぎなかった。化骨の進行度としては1,000 mg/kg群の腰椎後椎骨化骨数に軽度の遅れが認められた。

生後6週齢で剖検した仔の臓器重量および内臓の肉眼

Fig. 11 Food intake of rats administered T-1982 subcutaneously on perinatal and postnatal study

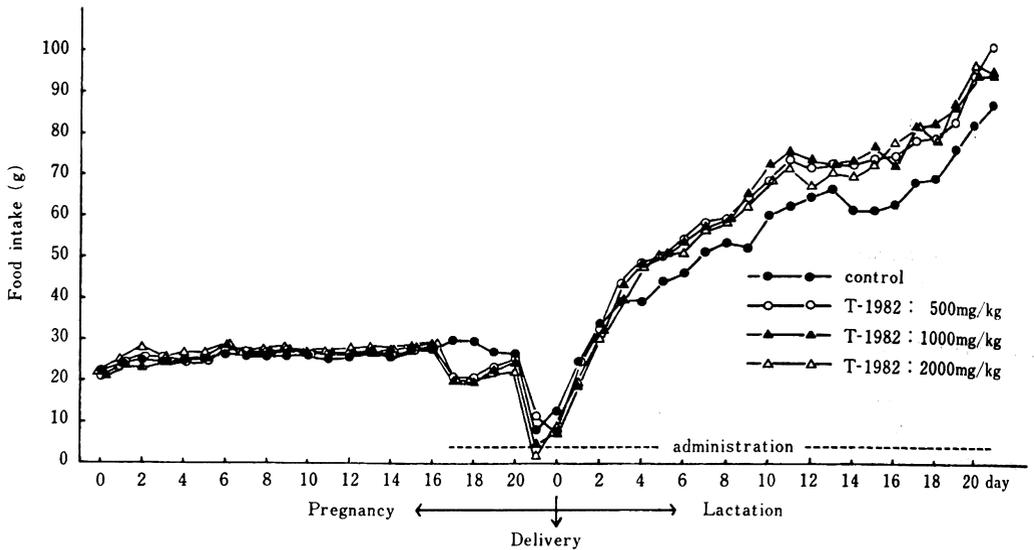
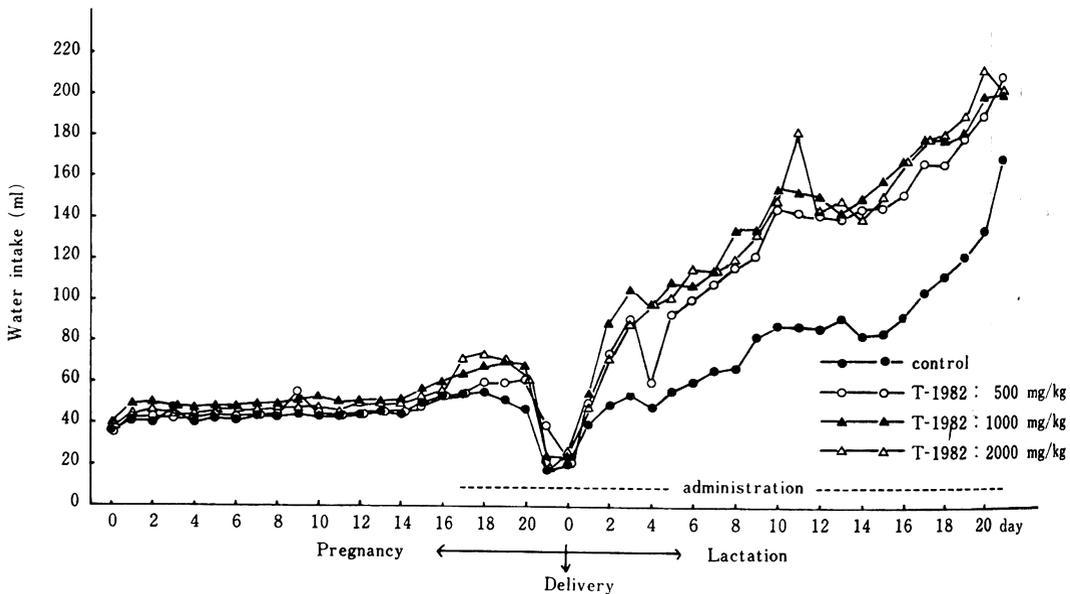


Fig. 12 Water intake of rats administered T-1982 subcutaneously on perinatal and postnatal study



的観察の結果を Table 9 に示す。500 mg/kg 群の雄の肺と雌の心に軽度の重量減少がみられた。内臓の異常としては腎盂の拡張が対照群に 1 例、1,000 mg/kg および 2,000 mg/kg 群に各 2 例認められたが有意なものではなかった。剖検に先立って全例について一般症状の検査を行なったが対照群と薬物投与群との差は認められなかった。結果を Table 10 に示す。

情動性および学習能力を検索するために行なった Open field 試験および水迷路試験の結果を Table 11 および Table 12 に示す。情動性、学習能力ともに異常は認められなかった。

生後 13 週齢で行なった F₁ の生殖能力および F₂ におよぼす影響について Table 13 に示す。交尾率、妊娠率、黄体数、着床数、死亡仔数、生存胎仔数および生存胎仔

Table 14 Effect of subcutaneous administration of T-1982 on development of offsprings on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)		control	500	1,000	2,000
No. of litters		19	21	23	22
Gestation period (day±S. E.)		22.2±0.09	22.1±0.08	22.0±0.10	22.1±0.06
No. of implants (mean±S. E.)		280(14.7±0.47)	320(15.2±0.32)	326(14.2±0.51)	348(15.9±0.42)
No. of pups born (mean±S. E.)		251(13.2±0.63)	295(14.0±0.50)	301(13.1±0.59)	333(15.1±0.39)*
No. of pups born alive (mean±S. E.)		246(12.9±0.58)	287(13.7±0.52)	294(12.8±0.66)	323(14.7±0.41)*
No. of pups born dead (%) ^{a)}		5(2.0)	8(2.7)	7(2.3)	10(3.0)
Delivering rate (%) ^{a)}		89.6	92.2	92.3	95.7
Weaning rate (%) ^{b)}		100	100	99.4	100
Survival rate (%) ^{c)}		100	100	98.3	100
No. of malformed pups (%)		0	1(0.3) Omphalocele	1(0.3) Abnormality of digits	0
No. and mean body weight of pups (g±S. E.)					
At birth	Male	127 6.41±0.107	135 6.08±0.121*	150 6.13±0.093	156 5.89±0.100**
	Female	119 6.06±0.104	152 5.71±0.097*	144 5.73±0.087*	167 5.50±0.110**
4 th day (after reduction)	Male	73 10.92±0.273	84 10.21±0.311	90 9.88±0.206**	84 9.44±0.308**
	Female	76 10.52±0.245	83 9.66±0.284*	86 9.35±0.204**	84 9.01±0.322**
1 st week	Male	73 18.05±0.384	84 16.98±0.373	90 16.60±0.273**	84 15.91±0.519**
	Female	76 17.38±0.350	83 16.06±0.363*	85 15.62±0.315**	84 15.22±0.500**
2 nd week	Male	73 36.91±0.524	84 34.88±0.601*	90 34.80±0.464**	84 34.32±0.619**
	Female	76 35.76±0.518	83 33.58±0.596**	85 33.52±0.527**	84 33.27±0.599**
3 rd week	Male	73 60.18±0.875	84 59.73±0.845	90 58.99±0.763	84 57.75±0.923
	Female	76 58.51±0.818	83 57.02±0.796	85 56.11±0.849	84 55.93±0.917*
4 th week	Male	73 101.5±1.20	84 99.9±1.50	90 97.0±1.32*	84 95.2±1.70**
	Female	76 94.4±0.94	83 91.4±1.21	84 88.8±1.16**	84 88.7±1.60**
5 th week	Male	73 156.7±2.12	84 155.2±2.70	90 153.4±1.91	84 149.4±2.76*
	Female	76 136.9±1.45	84 134.0±1.80	89 131.6±1.69*	84 132.2±2.33
6 th week	Male	73 211.8±2.54	84 210.3±3.71	89 212.1±2.57	84 203.7±3.24
	Female	76 166.7±1.82	83 166.8±2.44	84 165.1±2.06	84 165.4±2.84
Differentiation (%)					
Separation of auricle on 4 th day		99.6	100	100	100
Appearance of dosal hair on 4 th day		99.1	100	100	95.2
Appearance of nipples on 7 th day		100	100	100	100
Eruption of incisors on 14 th day		100	100	98.9	100
Separation of eyelids on 14 th day		98.7	98.2	100	98.2
Descent of testis on 4 th week		100	100	100	100
Opening of vagina on 5 th week		97.4	97.9	84.1	91.7

a) (No. of pups born/No. of implants)×100
 b) (No. of pups at 3rd week/No. of pups at 4th day)×100
 c) (No. of pups at 6th week/No. of pups at 4th day)×100
 *P<0.05, **P<0.01
 Significantly different from control

Table 15 Effect of subcutaneous administration of T-1982 on skeleton in rat neonate (at 4th day after birth) on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of neonates examined	91	109	110	125
Abnormality	0	0	0	0
Variations (%)	11(12.1)	8(7.3)	8(7.3)	7(5.6)
Asymmetry of sternebrae	0	0	2	0
Excess of sternebrae	0	1	2	1
14th rib	4	2	1	0
Variations of number of presacral vertebrae	7	5	3	5
Splitting of vertebral bodies	0	0	0	1
Degree of ossification				
No. of ossified sacral and caudal vertebrae (mean±S. E.)	24.7±0.33	24.2±0.23	24.4±0.25	23.9±0.35
No. of ossified proximal and middle phalanges in fore limbs (mean±S. E.)	15.9±0.06	16.0±0	16.0±0	16.0±0
No. of ossified proximal and middle phalanges in hind limbs (mean±S. E.)	17.8±0.11	18.0±0	18.0±0	17.5±0.27

Table 16 Organ weight and visceral malformation of offsprings at 6 weeks administered T-1982 subcutaneously on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)		control	500	1,000	2,000
No. of offsprings examined	Male	54	63	67	63
	Female	57	62	62	63
Body weight (g±S. E.)	Male	243±6.5	246±5.7	252±5.2	246±6.0
	Female	185±3.6	187±3.3	192±3.5	195±4.8
Organ weight (g±S. E.)					
Male	Heart	0.97±0.022	0.97±0.025	0.99±0.027	0.95±0.023
	Lung	1.20±0.029	1.14±0.017	1.19±0.018	1.15±0.018
	Liver	13.82±0.391	13.66±0.359	14.26±0.441	13.53±0.537
	Kidney				
	Left	1.21±0.031	1.18±0.033	1.22±0.033	1.19±0.034
	Right	1.24±0.033	1.21±0.033	1.24±0.034	1.22±0.033
	Spleen	0.72±0.021	0.70±0.025	0.68±0.019	0.67±0.020
	Adrenals	0.04±0.001	0.04±0.002	0.04±0.001	0.04±0.001
	Thymus	0.69±0.024	0.66±0.020	0.67±0.017	0.65±0.012
	Submaxillary gland	0.47±0.009	0.47±0.011	0.48±0.009	0.48±0.007
	Testis				
	Left	1.15±0.032	1.15±0.029	1.19±0.029	1.22±0.036
	Right	1.15±0.032	1.14±0.031	1.19±0.029	1.22±0.036
Female	Heart	0.75±0.014	0.75±0.018	0.76±0.015	0.75±0.024
	Lung	0.99±0.015	1.00±0.016	1.04±0.025	1.02±0.023
	Liver	9.80±0.175	9.93±0.236	10.11±0.295	10.07±0.469
	Kidney				
	Left	0.90±0.018	0.88±0.017	0.89±0.019	0.90±0.026
	Right	0.93±0.019	0.92±0.020	0.93±0.021	0.93±0.028
	Spleen	0.49±0.014	0.51±0.017	0.52±0.015	0.51±0.016
	Adrenals	0.05±0.002	0.04±0.002**	0.05±0.002	0.05±0.002
	Thymus	0.54±0.019	0.54±0.014	0.53±0.017	0.53±0.016
	Submaxillary gland	0.38±0.008	0.39±0.006	0.40±0.006	0.40±0.007
	Ovary	0.08±0.003	0.09±0.015	0.08±0.002	0.08±0.003
Visceral malformation (%)		2(1.8)	2(1.6)	5(3.9)	4(3.2)
	Dilatation of renal pelvis	1	1	5	4
	Thymic remnant in the neck	1	0	0	0
	Diaphragmatic hernia	0	1	0	0

Significantly different from control **P<0.01

Table 17 General behavior of offsprings at 6 weeks administered T-1982 subcutaneously on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)		control	500	1,000	2,000
No. of observed offsprings		149	168	173	168
Item		No. of abnormalities			
1. Awareness	1. Alertness	0	0	0	0
	2. Visual placing	0	0	0	0
	3. Stereotypy	0	0	0	0
	4. Passivity	0	0	0	0
2. Mood	1. Grooming	0	0	0	0
	2. Vocalization	0	0	0	0
	3. Irritability	0	3	2	2
	4. Restlessness	0	0	0	0
	5. Fearfulness	1	0	0	1
3. Motor activity	1. Reactivity	0	0	0	0
	2. Spontaneous movement	0	0	0	0
	3. Touch response	0	0	0	0
	4. Pain response (tail clip)	0	0	0	0
4. CNS excitation	1. Startle response	0	0	0	0
	2. Straub's reaction	0	0	0	0
	3. Tremors	0	0	0	0
	4. Twitches	0	0	0	0
	5. Convulsions	0	0	0	0
5. Body posture		0	0	0	0
6. Motor incoordination	1. Staggering gait	0	0	0	0
	2. Abnormal gait	0	0	0	0
	3. Righting reflex	0	2	1	0
7. Muscle tone	1. Limb tone	0	0	0	0
	2. Grip strength	0	0	0	0
	3. Body tone	0	0	0	0
	4. Abdominal tone	0	0	0	0
8. Reflex	1. Pinna reflex	0	0	0	0
	2. Corneal reflex	0	0	0	0
	3. Ipsilateral flexor reflex	0	0	0	0
9. Autonomic profile	1. Palpebral opening	0	0	0	0
	2. Exophthalmus	0	0	0	0
	3. Urination	0	0	0	0
	4. Salivation	0	0	0	0
	5. Piloerection	0	0	0	0
	6. Skin color	0	0	0	0
	7. Respiratory rate	0	0	0	0

Table 18 Open field test of offsprings at 8 weeks administered T-1982 subcutaneously on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)	control			
	500	1,000	2,000	
No. of observed male offsprings	10	10	10	10
Time on the field (sec.±S. E.) ^{a)}				
In the center of field (%)	30.9±9.25 (17.2)	23.1±4.34 (12.8)	57.3±21.11(31.8)	29.5±11.30(16.4)
At the corner of field (%)	73.7±14.64(40.9)	89.5±15.69(49.7)	85.8±20.98(47.7)	103.9±18.81(57.7)
Around the wall (%)	75.4±14.84(41.9)	67.4±15.69(37.4)	36.9±7.97 (20.5)*	46.6±10.33(25.9)
Defecation (mean±S. E.)	1.6±0.31	1.6±0.43	1.7±0.45	1.6±0.43
Urination (mean±S. E.)	2.8±0.63	1.7±0.42	1.9±0.41	2.0±0.49
Rearing (mean±S. E.)	3.7±1.27	4.6±0.60	2.7±0.94	3.2±0.71
Grooming (mean±S. E.)	0.2±0.13	1.1±0.48	0.8±0.42	1.6±0.45*
Ambulation (mean±S. E.)	27.6±5.81	29.5±7.87	14.1±5.47	17.3±4.59
No. of observed female offsprings	10	10	10	10
Time on the field (sec.±S. E.) ^{a)}				
In the center of field (%)	26.4±6.85 (14.7)	14.7±4.47 (8.2)	18.4±4.62 (10.2)	23.1±7.63 (12.8)
At the corner of field (%)	92.0±16.06(51.1)	115.7±9.66 (64.3)	111.3±13.52(61.8)	110.7±14.28(61.5)
Around the wall (%)	61.6±9.86 (34.2)	49.6±7.65 (27.6)	50.3±9.39 (27.9)	46.2±8.16 (25.7)
Defecation (mean±S. E.)	0.5±0.27	0.9±0.28	0.8±0.47	1.2±0.44
Urination (mean±S. E.)	0.9±0.31	0.8±0.29	0.7±0.30	0.8±0.25
Rearing (mean±S. E.)	9.8±2.11	10.5±1.56	8.6±1.78	7.2±1.69
Grooming (mean±S. E.)	0.4±0.22	0.4±0.22	0.7±0.33	0.4±0.22
Ambulation (mean±S. E.)	39.8±8.14	44.5±7.57	43.3±8.14	47.3±8.80

a) Count for 180 sec.

*P<0.05

Significantly different from control

Table 19 Water multiple T-maze test of offsprings from rats administered T-1982 subcutaneously on perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)	control			500			1,000			2,000		
	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)	No. ^{a)}	Time in sec.	(No. of errors)
Male	First day	Trials	1	7	70.0±12.29 (10.4±2.65)	8	115.0±14.21*(10.6±1.59)	8	95.8±9.94 (6.8±1.21)	6	118.8±20.43 (10.8±1.87)	
			2	5	100.4±25.60 (10.6±2.54)	6	89.8±12.40 (6.8±1.74)	8	104.9±14.14 (6.8±1.35)	8	72.1±3.37 (6.8±1.16)	
			3	8	92.0±19.49 (5.0±1.43)	7	88.3±7.50 (3.6±0.97)	4	66.0±19.26 (4.0±1.78)	8	83.9±21.66 (4.3±1.82)	
			4	8	70.5±14.40 (2.5±0.57)	10	65.8±6.94 (2.5±0.75)	6	67.0±17.88 (2.0±1.29)	9	62.2±14.12 (4.0±0.97)	
			5	10	51.7±12.65 (2.2±0.59)	10	45.7±7.09 (1.4±0.60)	9	74.9±15.26 (1.6±0.38)	9	35.9±4.27 (0.7±0.29)*	
	Second day	Trials	1	9	45.1±9.84 (1.9±0.66)	8	61.1±15.42 (2.1±0.93)	5	41.4±5.71 (1.4±0.60)	9	49.0±3.12 (2.2±0.68)	
			2	9	41.0±11.56 (1.9±1.02)	9	53.3±10.34 (1.2±0.43)	5	61.4±14.29 (2.0±0.71)	8	47.9±5.69 (1.0±0.63)	
			3	9	44.4±10.76 (1.8±0.97)	10	44.2±13.07 (0.7±0.42)	7	68.6±15.69 (1.3±0.64)	9	56.6±8.64 (0.9±0.26)	
			4	9	32.4±7.52 (0.4±0.29)	9	50.2±5.91 (1.1±0.56)	6	57.2±16.40 (1.0±0.52)	10	70.8±12.60*(1.2±0.49)	
			5	9	35.1±7.38 (1.2±0.55)	10	46.3±6.03 (0.3±0.15)	8	54.1±8.39 (0.4±0.26)	10	56.7±12.42 (0.9±0.53)	
Female	First day	Trials	1	7	96.1±15.39 (9.6±1.65)	9	96.8±15.62 (9.2±1.88)	8	98.0±13.90 (6.9±1.11)	8	95.6±11.71 (7.5±1.21)	
			2	7	77.3±17.08 (5.9±1.70)	8	81.0±13.03 (7.0±1.35)	6	78.7±15.75 (4.5±0.76)	8	85.1±11.77 (7.1±1.53)	
			3	8	66.1±14.66 (3.3±1.35)	9	69.8±16.09 (3.9±1.27)	7	93.7±15.49 (4.0±0.87)	8	85.8±17.62 (3.1±0.83)	
			4	7	45.7±3.32 (2.0±0.76)	9	58.8±11.01 (3.0±0.87)	7	63.3±14.13 (2.4±1.45)	8	72.1±15.77 (2.9±0.67)	
			5	8	62.5±7.28 (2.1±0.52)	8	81.1±12.92 (4.3±1.24)	8	64.8±8.74 (1.3±0.73)	7	43.7±5.92 (0.1±0.14)**	
	Second day	Trials	1	9	68.7±20.04 (1.9±1.01)	9	66.9±11.92 (3.8±0.62)	7	68.6±16.01 (2.1±0.83)	6	47.7±9.23 (2.2±1.05)	
			2	8	48.0±7.42 (1.1±0.61)	8	50.5±8.83 (0.9±0.23)	8	83.8±10.92*(2.1±0.88)	8	87.9±17.78 (2.5±0.73)	
			3	9	66.7±14.30 (1.2±0.55)	8	55.9±10.10 (2.1±0.67)	8	67.3±11.98 (1.0±0.50)	8	66.9±15.19 (1.5±0.68)	
			4	9	52.3±10.11 (1.0±0.37)	9	81.2±17.38 (1.7±0.97)	9	70.8±15.11 (1.6±1.00)	8	46.1±5.75 (0.3±0.25)	
			5	9	55.1±12.46 (1.3±0.99)	8	60.4±11.48 (0.9±0.74)	8	52.1±10.66 (0.4±0.26)	8	58.3±14.33 (0.4±0.38)	

a) No. of rats swimming/observed 10 rats

Significantly different from control *P<0.05, **P<0.01

Table 20 Effect of subcutaneous administration of T-1982 on fertility in F₁ rats of perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)	control	500	1,000	2,000
No. of mated rats	19	21	22	21
No. of copulated rats (%)	19(100)	21(100)	21(95.5)	18(100)
No. of pregnant rats (%)	19(100)	20(95.2)	20(95.2)	18(100)
No. of corpora lutea (mean±S. E.)	317(16.7±0.49)	297(14.9±0.82)	328(16.4±0.79)	289(16.1±0.66)
No. of implants (mean±S. E.)	293(15.4±0.82)	281(14.1±0.86)	295(14.8±0.97)	261(14.5±0.55)
No. of pre implantation egg loss (%)	24(7.6)	16(5.4)	33(10.1)	28(10.0)
No. of dead fetuses (%)	12(4.1)	16(5.7)	15(5.1)	6(2.3)
No. of alive fetuses(mean±S. E.)	281(14.8±0.79)	265(13.3±0.90)	280(14.0±0.95)	255(14.2±0.56)
No. and mean body weight of fetuses (g±S. E.)				
Male	145(3.63±0.066)	150(3.65±0.052)	138(3.67±0.052)	119(3.74±0.061)
Female	136(3.48±0.081)	115(3.44±0.046)	142(3.48±0.049)	136(3.58±0.052)
No. of malformed fetuses (%)	2(0.7)	0	0	0
Kinky tail	1	—	—	—
Vestigial tail	1	—	—	—

の体重に对照群と薬物投与群との差は認められなかった。F₂の外形異常としては对照群に膈ヘルニアが1例認められたのみであった。なお、1群20匹ずつの雌雄を用いる予定であったが1,000mg/kg群で雌1例の途中死亡が認められたので19匹となった。

3) 周産期および授乳期投与試験

(1) 母体におよぼす影響

母体体重の推移を Fig. 10 に、摂餌量を Fig. 11 に、摂水量を Fig. 12 に示す。薬物投与群には分娩5日後からの体重増加、投与初期の摂餌量の抑制および分娩4日後からの増加、投与直後よりの摂水量の増加および軟便が認められた。妊娠期間には差は認められなかった。離乳後の剖検の結果薬物投与群には盲腸腔の拡大と内容物の充満が認められた。

(2) 出生仔におよぼす影響

1群19～23匹の母体から自然分娩した仔の哺育成績および発育状態を Table 14 に示す。2,000mg/kg群に出生仔数の増加とそれに伴う生存仔数の増加が認められた。周産期死亡仔数、出生率、哺育率および6週までの生存率には差は認められなかった。出生仔の体重およびその後の発育には薬物投与と全群に軽度の抑制が認められたが、生後6週にはその差は認められなかった。外形異常としては500mg/kg群に膈ヘルニアが、1,000mg/kg群に指の異常が各1例認められた。行動状態および生後分化の時期には異常は認められなかった。

生後4日で淘汰した仔についての骨格観察の結果を

Table 15 に示す。骨格異常は認められず変異および化骨の進行度にも对照群との差は認められなかった。

生後6週で剖検した仔の臓器重量および肉眼的内臓観察の結果を Table 16 に示す。臓器重量では500mg/kg群の雌に副腎の有意な減少が認められた以外に異常は認められず、内臓異常にも对照群との差は認められなかった。剖検に先立って全例について一般症状の観察を行なったが对照群との差は認められなかった。結果を Table 17 に示す。

情動性および学習能力の検索のために行なった Open field 試験および水迷路試験の結果を Table 18 および Table 19 に示す。情動性および学習能力に異常は認められなかった。

生後11週齢で行なった F₁ の生殖能力および F₂ におよぼす影響について Table 20 に示す。交尾率、妊娠率、黄体数、着床数、胎仔死亡率および生存胎仔の体重に对照群との差は認められなかった。また、外形異常としては对照群に痕跡尾および曲尾が各1例認められた。

III. 考 察

SD系ラットを用いて T-1982 の生殖におよぼす影響について検討した。すなわち、妊娠前から妊娠初期まで、器官形成期、周産期から授乳期までの各期間で T-1982 を皮下または静脈内に投与して母体および妊娠末期胎仔または出生仔について観察した。その結果、器官形成期、周産期投与試験において薬物投与開始直後一過性の摂餌量の低下が認められたが、これによる体重減少その他の

Photo. 1 Ompalocèle on fertility study control

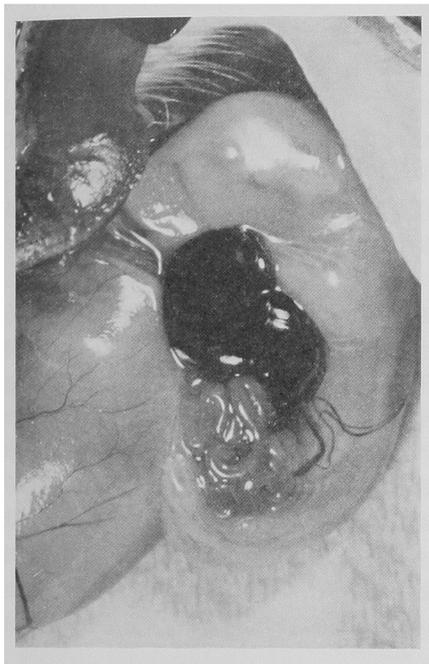


Photo. 2 Acrania on fertility study 500 mg/kg



Photo. 3 Reduction deformity of the forelimb with heterotopic digits on fertility study 1,000m g/kg



Photo. 4 Lumbar hernia on teratological study control



Photo. 5 Absence of skull (the same rat of acrania) on fertility study 500mg/kg

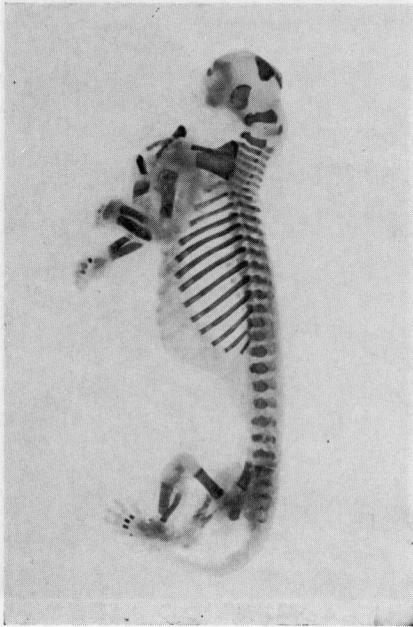


Photo. 6 Nodulated ribs on teratological study control

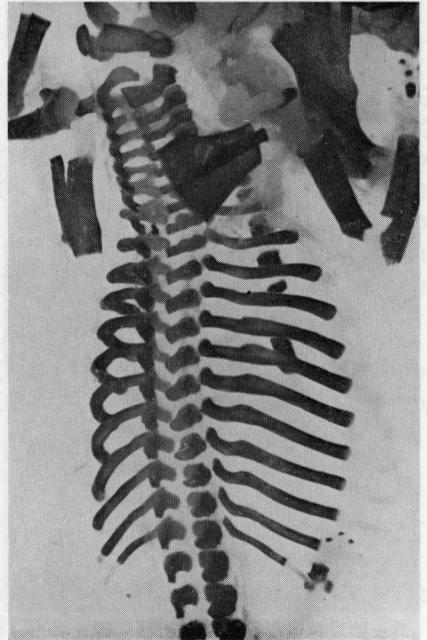
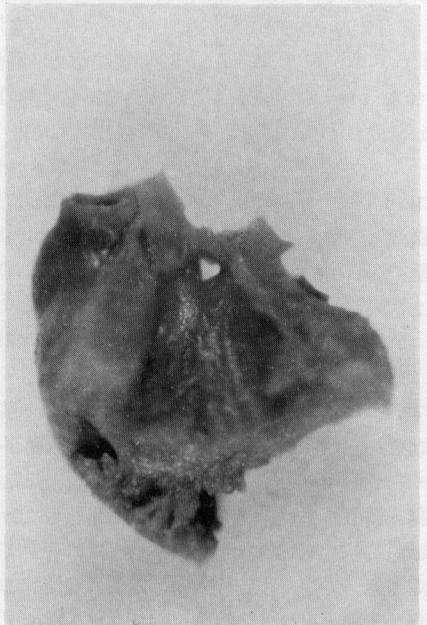


Photo. 7 Supernumerary of coronary artery orifice on teratological study 500 mg/kg



Photo. 8 Ventricular septal defect on teratological study 2,000 mg/kg



影響はみられなかった。また薬物投与群に摂水量の増加が認められたが、これは薬物投与群に認められた軟便と関連するものと思われる。妊娠前および妊娠初期投与試験において2,000 mg/kg 群の着床数が12.9であり、対照群の14.4と比較して有意な減少が認められたが、当社でのSD系を用いて過去に行なった実験では12.5~14.8であり、今回の器官形成期投与試験の対照群の値も12.9であった。従って有意差が認められたとはいえ、正常範囲の値であり T-1982 投与に起因するものではないと思われる。投与終了7日後に一過性の激しい下痢とそれにとりまなう体重の減少が認められたが、この現象は亜急性毒性試験²⁾の回復期間には認められず原因は不明である。妊娠前および妊娠初期投与試験ならびに器官形成期投与試験において妊娠末期の雌に心、肺、肝の臓器重量に減少傾向がみられたが、同じことが亜急性毒性試験²⁾でも認められている。しかし、組織学的には光頭にも電頭にも異常は認められていない。また、哺育期間終了後の母体の剖検結果では異常が認められなかったことより可逆的な現象であると思われる。周産期および授乳期投与試験において薬物投与群に出生仔の体重増加抑制がみられたが、統計的には差が認められたとはいえ実重量の差は出生時で0.5g、3週後で2.5gと僅少であり正常範囲の値であった。

以上の結果より T-1982 はラットの生殖には影響をおよぼさないものと思われる。

本研究の遂行にあたり実験に協力を頂いた当研究所の赤坂美保子、武部鎮子氏に感謝致します。

文 献

- 1) 正谷博之, 中村昌三, 河村泰仁, 永井章夫, 長沢峰子, 高木淑子, 和田直子, 米田豊昭, 高井 明: T-1982の毒性試験(第1報)マウス・ラットおよびイヌでの急性毒性試験。Chemotherapy 30(S-3): 232~241, 1982
- 2) 岩崎信一, 柴田哲夫, 佐藤 盛, 中川重仁, 米田豊昭, 高井 明: T-1982の毒性試験(第2報)ラット3カ月間皮下投与亜急性毒性試験。Chemotherapy 30(S-3): 242~261, 1982
- 3) 米田豊昭, 河村泰仁, 柴田哲夫, 佐藤 盛, 永井章夫, 中川重仁, 高井 明: T-1982の毒性試験(第3報)ビーグル犬3カ月間静脈内投与亜急性毒性試験。Chemotherapy 30(S-3): 262~292, 1982
- 4) 河村泰仁, 永井章夫, 柴田哲夫, 佐藤 盛, 中川重仁, 稲場淳子, 米田豊昭, 高井 明: T-1982の毒性試験(第4報)カニクイザル3カ月間筋肉内投与亜急性毒性試験。Chemotherapy 30(S-3): 293~318, 1982
- 5) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarine red. S. Stain Tech. 1: 123~124, 1926
- 6) WILSON, J. G.: Method for administering agents and detecting malformation in experimental animals. Chicago Univ. press, Teratology (WILSON, J. G. and J. WARKANY) 262~272, 1965
- 7) 西村耕一: マウスおよびラット胎仔の胸部内臓奇形観察のための顕微解剖法。先天異常14(1): 23~40, 1974
- 8) 白須泰彦, 松岡 理: 新しい毒性試験と安全性の評価。ソフトサイエンス社。東京: 545~550, 1975
- 9) MURAI, N.: Effect of experience upon the open field behavior in rats. I. A study of the differentiation of active and passive avoidance responses. Tohoku Psychologica Folia 27: 50~56, 1953
- 10) BEIL, W. C.: Early age differences in maze performance in the albino rats. J. Gen. Psychol. 56: 439~453, 1940
- 11) BUCHER, R. E.; W. J. SCOTT, K. KAZMAIER & E. J. RITTER: Postnatal effects in rats prenatal treatment with hydroxyurea. Teratology 7: 161~166, 1973

TOXICITY TEST OF T-1982 (V) Reproduction study in rats

HIROKO NAKADA, SHOZO NAKAMURA, NORIHISA KOMAE
YOKO TAKIMOTO and AKIRA TAKAI
Research Laboratory Toyama Chemical Co., Ltd.

This report is concerned with the reproduction of rats given T-1982.

1) Fertility study

T-1982, given subcutaneously at dose levels of 0 (control), 500, 1000 and 2000 mg/kg/day to male rats for 63 days and to female rats for 14 days prior to and during mating, and to pregnant female up to day 7 of gestation, had no effect on fertility and fetal development. There was no evidence of maternal toxicity in T-1982 treated groups, except for increase in maternal water intake and soft stools.

The number of corpora lutea, implantations, live fetuses and body weight were comparable to control in 500 and 1000 mg/kg groups. In 2000 mg/kg group, the number of implantations and live fetuses were slightly decreased and fetal body weight was significantly increased to those of the control.

External malformations were found in each group; an omphalocele presented in control group, acrania (absence of skull) presented in 500 mg/kg group, a reduction deformity of the forelimb with heterotopic digits (absence of ulna) presented in 1000 mg/kg and a kinky tail presented in 2000 mg/kg.

Each one case of skeletal malformation was observed in 500 mg/kg and in 1000 mg/kg groups. The incidence of the skeletal variations and internal malformations in the treated groups were not significantly different from the control.

2) Teratological study

Pregnant rats were administered T-1982 intravenously at dose levels of 0, 500, 1000 and 2000 mg/kg/day from day 7 to day 17 of gestation.

No toxic signs were observed in treated groups, except for decrease in food intake during initial stage of drug administration, increase in water intake from day 7 post partum and soft stools during the administration period.

No external malformations were observed in fetuses. Skeletal malformations were confined to two cases; a nodulated ribs presented in control group and absence of unilateral 13th rib presented in 1000 mg/kg. The incidence of internal malformations and skeletal variations were comparable to control.

3) Perinatal and postnatal study

Pregnant rats were administered T-1982 subcutaneously at dose levels of 0, 500, 1000 and 2000 mg/kg/day from day 17 of gestation to day 21 of lactation.

On maternal toxicity in T-1982 treated groups, decrease in food intake during initial stage of drug administration, increase in food intake from day 4 post partum throughout the lactation period, increase in water intake and soft stools during administration period were observed.

In 2000 mg/kg group, the number of live fetuses increased and in all treated groups inhibition of body weight of pups were observed, but 6 weeks after birth, no significant difference from the control was observed. The duration of gestation, perinatal mortality, the delivering rates, the weaning rates and the survival rates of all treated groups had no significant difference from those of the control.

There was no adverse effect on behavior, open field test, water maze test and fertility of offspring.