

Ceftazidime の安全性に関する研究 (VII)

ラットにおける器官形成期投与試験

古橋 忠和・武井あき子・本多 伴子・仲 吉 洋

株式会社野村総合研究所生物科学研究部

Ceftazidime (CAZ, SN 401) の 0.25, 0.5, 1.0 および 2.0 g/kg/day をラット胎仔の器官形成期に静脈内投与し、胎仔ならびに新生仔 (F₁ および F₂) に対する影響を検討した。

母獣については、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で妊娠中に摂餌量の減少、摂水量の増加、体重増加量の抑制ならびに盲腸の拡張がみられた。

21日間哺育後の母獣の剖検でも、0.5 g/kg/day 以上の用量の投与群で盲腸の拡張がみられた。

胎仔に関しては、1.0 g/kg/day 以上の用量の投与群で雌胎仔の体長および体重の減少、2.0 g/kg/day 投与群で第7頸椎体の骨化率の低下が観察された。なお、外形、内臓および骨格の異常ならびに骨格変異に関しては、検体の影響と考えられる所見は認められなかった。

F₁ については、2.0 g/kg/day 投与群で出産日の延長傾向、出生率の低下、出生後1週間の平均体重の増加、耳介開展の促進がみられたが、4日後生存率、哺育率に差は認められなかった。その他、F₁ の外形、内臓、骨格、臓器重量、機能、行動、学習、生殖能力などに関しては、検体投与によると考えられる変動は認められなかった。

また、F₂ の観察においても検体投与によると考えられる所見は認められなかった。

以上、本実験条件下におけるラット器官形成期投与試験の次世代ならびに次々世代に対する最大無作用量は 0.5 g/kg/day と結論された。

Ceftazidime (CAZ, SN 401) は英国グラクソ社で開発された広い抗菌スペクトルと強い抗菌作用を有する注射用セファロスポリン系抗生物質である。

本薬物の安全性を確かめる試験の一環とし、ラットにおける胎仔器官形成期投与試験を実施したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 検体および調製法

CAZ-pentahydrate (Lot No. EPMD 4/1) は、新日本実業株式会社より提供された。

検体投与量は、結晶水を除いた CAZ (M. W. 546.6) 量で表示した。したがって、30% CAZ 溶液は、38.8% CAZ-pentahydrate 溶液に相当する。CAZ 溶液の調製は以下のように行なった。

CAZ-pentahydrate を秤量後滅菌ずみのピーカーに移したのち、1/10 量の炭酸ナトリウム (Lot No. EPMD 6/9 C) を含む日局注射用蒸留水を徐々に加えて溶解した。次に溶液をメスシリンダーに移してから注射用蒸留水を加えて定容した。その後一部の不溶物を除去するためにミリポアフィルター (0.45 μm) を用いて溶液を濾過し、投与検体とした。

なお、CAZ-pentahydrate の 29% w/v 液は 4°C 下

で少なくとも 72 時間安定であることから、検体調製は過 3 回行ない、投与時まで 4°C にて保存した。

2. 使用動物および飼育条件

Sprague-Dawley 系ラットを静岡県実験動物農業協同組合より、雌は 11 週齢で、雄は 12 週齢で購入した。

入荷時に全動物の一般症状を観察したが、異常はみられなかった。また、入荷時に雌雄各 2 匹を検疫用として直ちに血液を採取したのち剖検したが、内臓の肉眼的観察および血清反応 (MHV, HVJ, Tyzzer, *Mycoplasma pulmonis*, *Salmonella*, *Corynebacterium*) に異常は認められなかった。入荷後 10 日間以上の予備飼育を行ない、毎日一般症状を観察し、入荷翌日および1週間後に体重を測定したが、全動物の一般症状および体重変動に異常はみられなかった。

親動物は入荷の翌日、尾部に通し番号を動物用入れ墨器にて記入した。新生仔 (F₁) は 4 週齢時に個体番号を背部の被毛にピクリン酸にて、6 週齢時に親番号を尾部に動物用入れ墨器にて記入した。

動物は、温度 24 ± 1°C、湿度 55 ± 10%、明暗各 12 時間 (照明時間 : 6:00 a.m. ~ 6:00 p.m.) の動物室で木屑 (ベータチップ・オリエンタル酵母社販売) 入りプラスチックケージ (25 × 40 × 18 cm) を用いて飼育し

た。1 ケージの収容匹数に関しては、予備飼育期間中は同性を2匹(週2回ケージ交換)、妊娠期間中は1匹(週1回ケージ交換)、哺育期間中は1腹(週2回ケージ交換)、F₁の育成中は同腹の同性3匹(週2回ケージ交換)とした。

飼料は、製造後3カ月以内のNMF(オリエンタル酵母社製)を自由に摂取させた。飼料中の汚染物質の分析の結果に異常はみられなかった(オリエンタル酵母社資料)。

飲料水は、ポリエチレン製給水瓶を用いて自由に摂取させた。給水瓶は2日に1回以上交換した。飲料水の汚染物質の分析を3カ月に1回行なったが、その結果に異常はみられなかった(株式会社湘南分析センター資料)。10日間以上予備飼育したラット(体重:雌187~236g, 雄307~369g)を一夜(4:00 p. m. ~9:00 a. m.)雌雄2:1で同居させ、翌朝、腔脂膏法により、交尾の有無を確認し、交尾した雌ラットを妊娠0日として試験に供した。なお、各群37匹の交尾雌ラットで構成した。

3. 投与方法、投与量および投与期間

本薬の臨床経路は静注と想定されており、動物実験においても尾静脈内投与とした。

成熟雌を用いた2週間静脈内投与による予試験の結果を参考にして本実験の投与量を0.25 g/kg/day, 0.5 g/kg/day, 1.0 g/kg/day および 2.0 g/kg/day と決定した。最高用量の2.0 g/kg/day は予試験で成熟雌に摂餌量の減少、貧血傾向、肝臓重量の増加などの諸症状がみられる量であり、低用量の0.25 g/kg/day は人体臨床推定量1回1g, 1日2~3回(約60 mg/kg/day)の約4倍に相当する。試験に供した妊娠ラットは各群の妊娠0日の平均体重および偏差をできるだけ均一になるように配慮した。

投与容量は妊娠7日の体重を基準にして算出し、妊娠7~17日までの11日間、毎日1回午前中(9:00 a. m. ~11:00 a. m.)に投与した。なお、対照群については日局生理食塩液を2.0 g/kg/day 投与群と同容量、同期間静脈内に投与した。

4. 観察項目

(1) 親動物の観察

全動物の一般症状を毎日1回以上観察した。

体重については、妊娠中の投与前は隔日、投与開始後は毎日、分娩後は週3回それぞれ測定した。

摂餌量および摂水量については、妊娠中に6回、分娩後に2回測定し、それぞれ1日1匹当りの摂取量を算出した。

妊娠20日に、各群妊娠動物の約2/3をエーテル麻酔下に大腿動脈より放血致死させて剖検し、心臓、肺、肝

臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、卵巣、盲腸(内容物を含むと含まず)およびカーカスの重量を測定した。

各群の残り約1/3の妊娠動物については、哺育試験用として妊娠20日から毎日2回(9:00 a. m. および5:00 p. m.)分娩の有無および分娩状態を観察し、妊娠期間の算定を行なった。

分娩時より分娩21日後までの哺育期間中、毎日1回午前中に哺育状態を観察した。その間、分娩4日後に同腹仔数が10匹以上の場合は、雌雄各5匹となるように1腹10匹に淘汰した。ただし、雌雄いずれかが5匹未満の場合は少ない方の性を全部残し、合計で10匹となるよう調整し、雌雄の合計が10匹以下の場合は全例を用いた。

分娩21日後に哺育試験用の動物をペントバルビタール麻酔下に腹部大動脈より放血致死させて剖検し、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、卵巣、子宮、盲腸(内容物を含むと含まず)およびカーカスの重量を測定し、出生率算定のため着床痕数を求めた。

(2) 妊娠20日における胎仔の観察

黄体数、着床数、生存胎仔数ならびに死亡胎仔数とそれらの状況(吸収胚、胎盤遺残、浸軟胎仔に分類)を観察し記録した。生存胎仔は個体別に体重、体長、尾長、胎盤重量を測定し、口腔内を含む外形異常、性別を検査のち、1腹につき約1/3の胎仔をModified Bouin液に固定し、約2/3の胎仔を70%アルコールで固定した。

Modified Bouin液に固定した胎仔はWILSON¹⁾のfree hand razor-blade section法により脳、眼および腹部臓器の異常を、西村²⁾の方法により胸部の異常をそれぞれ実体顕微鏡下で観察した。70%アルコールで固定した胎仔はDAWSON³⁾の方法に準じてアリザリン・レッド-S染色を施し、骨格の異常、変異、骨化の状況を観察した。ただし、骨化指骨数は左右両前肢または後肢の合計数で表示した。

(3) F₁に関する観察

毎日1回、F₁の生死、一般症状ならびに外形の異常を肉眼的に観察し、出生率、生存率、哺育率を算出した。体重を個体別に出生0, 4, 7, 14, 21日後に測定し、その後も週1回測定した。

生後分化として、耳介開展(出生2, 3, 4, 5日後)、臍部の発毛(出生9, 10, 11, 12日後)、切歯萌出(出生10, 11, 12, 13, 14日後)、眼瞼開裂(出生15, 16, 17, 18, 19日後)、精巣下降(出生3, 4, 5週後)および腔開口(出生5, 6, 7週後)について観察した。

出生21日後のラット、12週齢およびF₁同志の交配終了時に剖検したラットについては、内臓異常を肉眼的に観察した。出生21日後の動物については、心臓、肺、

肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、盲腸（内容物を含むと含まず）およびカーカスの重量を、12週齢の行動検査および学習検査に用いた動物については、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、精巣、精巣上部、前立腺、精のう、卵巣、子宮、盲腸（内容物を含むと含まず）およびカーカスの重量を測定した。

出生4日後に淘汰した仔動物を70%アルコールで固定後、DAWSON⁹⁾の方法に準じてアリザリン・レッド-S染色を施し、骨格の異常、変異、骨化の状況を観察した。出生21日後に剖検した動物の骨格をSoftex撮影し、骨格の異常を検査した。出生21日後の全F₁について、角膜反射⁴⁾、正向反射⁵⁾および痛覚⁶⁾による機能検査を行なった。4週齢時に各腹雌雄各1匹のF₁について、回転棒⁷⁾、傾斜板⁸⁾、瞳孔反射、筋弛緩⁹⁾による行動検査を行なった。

7週齢時に行動検査に用いたF₁について、電撃回避試験による学習能力の検査を行なった。すなわち、15秒間の光刺激ののち、15秒間の電気刺激を行ない、その後、30秒間の休止期を1サイクルとし、このサイクルを1日に30試行連続して5日間行なった。動物が光刺激により電気刺激の流れる前にボールを引いた場合を、つまり条件から回避できた場合を成功、その他を失敗とみなし、1日ごとに成功した数を数えて学習能力を判定した。

F₁は12週齢時に同一群内で兄妹交配を避けて同居させた。初めの5日間で交尾の成立しない場合には、雌雄の組み合わせをかえてさらに5日間同居させた。その結果、交尾を確認できないF₁について、雌は交尾を確認できた同一群内の雄と5日間同居し、雄は未処置の雌と同居させ、交尾率、妊娠率を求めた。交尾または妊娠しない雌および交尾しない雄は肉眼的に内部臓器を観察し、生殖器を病理組織学的に観察した。

各群の妊娠動物(F₁)の約2/3については、妊娠20日に剖検し、黄体数、着床数、生存胎仔数、死亡胎仔数とそれらの状況(吸収胚、胎盤遺残、浸軟胎仔に分類)を観察した。生存胎仔は個別別に体重、体長、尾長、胎盤重量を測定し、口腔内を含む外形異常、性別を検査した。

各群の妊娠動物(F₁)の約1/3は自然分娩させ、出生4日後に1腹10匹以下に淘汰を行ない3週間哺育させた。その間、新生仔(F₂)について出生率、生存率、哺育率、性比、生後分化、体重を観察後、剖検した。

5. 統計学的処理

母獣の体重、摂餌量、摂水量、臓器重量、妊娠期間、黄体数、着床数、生存胎仔数、胎仔の体長、尾長、体重、胎盤重量、新生仔の体重、学習能力の検査について

は、1動物あるいは1母獣ごとの平均値を1標本として、群の間で等分散の検定を行なったのち、分散が等しい場合検体投与群と対照合にはSTUDENTのt検定を行ない、分散が等しくない場合はASPIN-WELCHの方法によりt検定を行なった。死胚率、外形、内臓、骨格異常および骨格変異の発現率、骨化率、出生率、生存率、哺育率、性比、生後分化状態等に関する検定にはWILCOXON¹⁰⁾の順位和検定法を、F₁の行動検査、交尾率、妊娠率には χ^2 検定をそれぞれ用いた。

II. 結 果

1. 妊娠中の母獣

2.0 g/kg/day 投与群の1母獣で、妊娠8日の投与直後に立毛、自発運動の低下が認められ、その後、痙攣ののち死亡した。この死亡例の剖検所見としては、肺に充血が観察され、病理組織学的検査の結果、間質性肺炎および副腎束状帯の限局的な出血および壊死が代表的な所見として認められた。他の動物の一般症状に関しては、特筆すべき異常はみられなかった。

対照群および検体投与各群の体重変動、摂餌量および摂水量をFig. 1~3に示した。0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群においては、妊娠期間中の体重増加量に有意な抑制がみられた。0.5 および 1.0 g/kg/day 両投与群で妊娠後期の平均体重ならびに 2.0 g/kg/day 投与群で妊娠中期以降の平均体重に有意な抑制が認められた。摂餌量については、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で妊娠中期から後期に有意な減少がみられた。

摂水量に関しては、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で妊娠中期から後期に有意な増加が認められた。

2. 分娩および哺育中の母獣

分娩中および分娩直後の母獣で異常例は1例も認められなかった。

哺育期間中の母獣では、斜頸が1.0 g/kg/day 群で1例にみられた。

分娩後の母獣の体重変動、摂餌量および摂水量をFig. 1~3に示した。平均体重については、2.0 g/kg/day 投与群で分娩0, 7, 9 および 11 日後に有意な減少が認められた。また、摂餌量および摂水量に関しては、1.0 および 2.0 g/kg/day 両投与群で分娩4日後の摂餌量、2日後の摂水量に有意な増加がそれぞれみられた。

3. 母獣の剖検所見

妊娠20日の内部臓器の肉眼的観察において、対照群で乳腺腫が1例に認められた。妊娠20日の母獣の臓器重量はTable 1に示したとおり、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群において盲腸の絶対重量に有意な増加、0.5 g/kg/day 以上の用量の投与群において、カーカス、心臓の絶対重量に有意な減少、1.0 g/kg/day 以上の用量

Fig. 1 Body weight change of dams during gestation and lactation periods

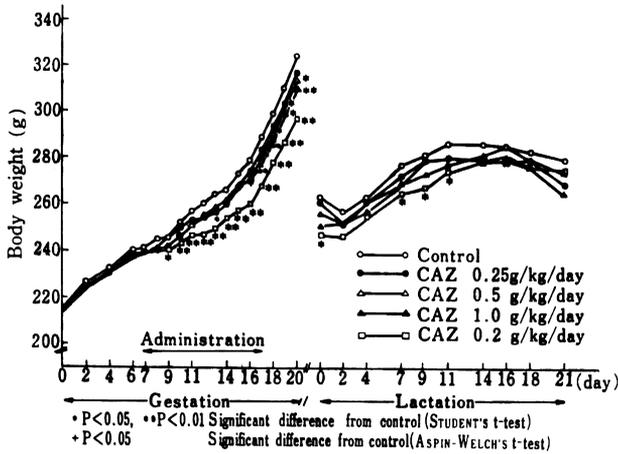


Fig. 2 Food intake of dams during gestation and lactation periods

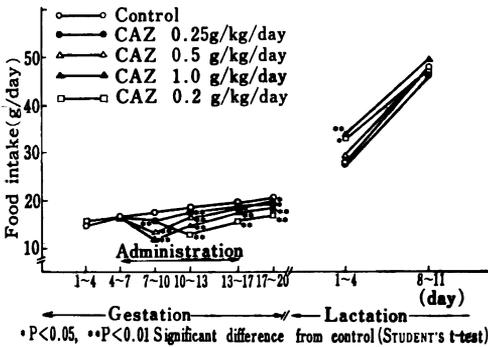
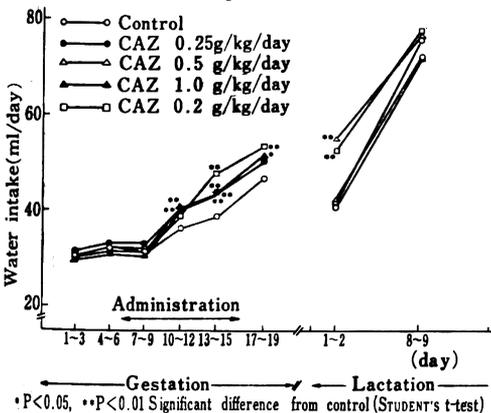


Fig. 3 Water intake of dams during gestation and lactation periods



の投与群で副腎の絶対重量に有意な増加ならびに 2.0 g/kg/day 投与群で胸腺の絶対重量に有意な減少がそれぞれ認められた。

21 日間哺育後の母獣の臓器重量は Table 2 に示したように、0.5 g/kg/day 以上の用量の投与群で内容物を含

む盲腸の相対重量、1.0 g/kg/day 以上の用量の投与群で内容物を含む盲腸の絶対重量ならびに 2.0 g/kg/day 投与群で内容物を含まない盲腸の絶対および相対重量に有意な増加がそれぞれ認められた。その他、0.5 g/kg/day 投与群で肝臓とカーカスの相対重量、1.0 g/kg/day 投与群で肝臓の絶対および相対重量にそれぞれ有意な増加がみられたが投与量に関連する変動ではなかった。

4. 胎子に対する影響

胎子の観察結果を Table 3 に示した。平均黄体数、平均着床数、平均生存胎子数ならびに死胚率に関して、対照群と検体投与各群との間に有意差は認められなかった。胎子の発育については、1.0 および 2.0 g/kg/day 両投与群において、雌の体長および体重に有意な減少がみられた。なお、1.0 g/kg/day 投与群の雄の胎盤重量に有意な減少が認められたが、投与量に関連する変動ではなかった。胎盤癒着が対照群、0.25、1.0 および 2.0 g/kg/day 投与群で 2、1、3 および 1 例にみられた。外形異常としては 0.5 g/kg/day 投与群で臍帯ヘルニア (Photo. 1) および唇裂 (Photo. 2) が各 1 例、1.0 g/kg/day 投与群で口蓋裂 (Photo. 3) が 1 例、脳ヘルニアと臍帯ヘルニアの合併症 (Photo. 4) が 1 例、臍帯ヘルニアが 1 例にそれぞれ認められた。生存胎子の内部臓器観察において、腎盂拡張 (Photo. 5) が 0.5 および 2.0 g/kg/day 投与群で 1 および 2 例にみられた。

生存胎子の骨格観察の結果は Table 4 に示したように、骨格異常は対照群を含む全群で 1 例もみられなかった。骨格変異としては、頸椎弓の欠損、胸椎体の分離、第 13 肋骨の短縮、第 14 肋骨の発現、胸骨分節の非対称が対照群または検体投与群で少数例にみられたが、その発現頻度に有意差はなかった。また、骨化程度に関しては、2.0 g/kg/day 投与群で第 7 頸椎体の骨化率が有

Table 1 Absolute organ weight of pregnant rats

Compound	Dose (g/kg)	Control	CAZ			
			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of animals		24	24	24	25	22
Final B.W. (g)		320 ± 19	312 ± 20	314 ± 15	303 ± 29*	295 ± 24**
Carcass (g)		192 ± 11	188 ± 10	184 ± 9**	178 ± 11**	171 ± 10**
Heart (mg)		717 ± 70	700 ± 51	670 ± 56*	661 ± 50**	635 ± 56**
Lung (g)		1.02 ± 0.10	0.99 ± 0.11	0.98 ± 0.08	0.97 ± 0.09	0.96 ± 0.09
Liver (g)		12.1 ± 1.3	11.9 ± 1.2	12.1 ± 1.0	11.8 ± 1.4	11.6 ± 1.5
Kidneys (g)		1.56 ± 0.11	1.58 ± 0.15	1.60 ± 0.13	1.54 ± 0.11	1.54 ± 0.15
Spleen (mg)		552 ± 74	547 ± 86	547 ± 56	566 ± 71	535 ± 69
Adrenals (mg)		69 ± 8	68 ± 10	70 ± 9	75 ± 9*	74 ± 8*
Thymus (mg)		192 ± 45	217 ± 51	169 ± 44	179 ± 58*	166 ± 39*
Ovaries (mg)		107 ± 12	101 ± 19	111 ± 17	111 ± 16	1.3 ± 19
Cecum ⁺ (g)		5.9 ± 1.3	8.4 ± 2.2**	10.2 ± 3.4**	11.3 ± 4.5**	15.3 ± 5.2**
Cecum ⁻ (g)		1.59 ± 0.37	1.93 ± 0.35**	1.88 ± 0.42*	2.14 ± 0.45**	2.20 ± 0.43**

* P(0.05), ** P(0.01) Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P(0.05), ++ P(0.01) Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Cecum⁺: Cecum with contentsCecum⁻: Cecum without contents

Table 2 Absolute and relative organ weight of reared dams

Compound	Dose (g/kg)	Control	CAZ			
			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of animals		11	11	11	11	12
Final B.W. (g)		280 ± 16	268 ± 16	265 ± 17	274 ± 9	275 ± 11
Carcass (g)		188 ± 10	182 ± 12	182 ± 12	181 ± 6	182 ± 6
Heart (g%)		(67 ± 1)	(68 ± 1)	(69 ± 1*)	(66 ± 1)	(66 ± 2)
Heart (mg)		842 ± 89	793 ± 74	812 ± 65	863 ± 89	845 ± 69
Heart (mg%)		(301 ± 22)	(296 ± 27)	(306 ± 23)	(316 ± 32)	(308 ± 24)
Lung (g)		1.10 ± 0.13	1.04 ± 0.11	1.03 ± 0.06	1.07 ± 0.08	1.13 ± 0.34
Lung (g%)		(0.39 ± 0.04)	(0.39 ± 0.03)	(0.39 ± 0.03)	(0.39 ± 0.03)	(0.41 ± 0.12)
Liver (g)		11.3 ± 0.8	11.3 ± 1.2	11.8 ± 1.0	12.3 ± 0.8**	11.8 ± 1.0
Liver (g%)		(4.0 ± 0.3)	(4.2 ± 0.3)	(4.4 ± 0.2**)	(4.5 ± 0.3**)	(4.3 ± 0.4)
Kidneys (g)		2.06 ± 0.14	1.98 ± 0.12	2.02 ± 0.16	2.12 ± 0.17	2.10 ± 0.14
Kidneys (g%)		(0.74 ± 0.05)	(0.74 ± 0.04)	(0.76 ± 0.07)	(0.78 ± 0.07)	(0.76 ± 0.05)
Spleen (mg)		561 ± 71	514 ± 69	492 ± 100	539 ± 62	538 ± 44
Spleen (mg%)		(201 ± 27)	(192 ± 29)	(185 ± 30)	(197 ± 22)	(196 ± 17)
Adrenals (mg)		80 ± 9	82 ± 8	79 ± 13	83 ± 9	84 ± 11
Adrenals (mg%)		(29 ± 3)	(30 ± 3)	(30 ± 5)	(30 ± 3)	(31 ± 3)
Thymus (mg)		149 ± 46	137 ± 41	161 ± 38	138 ± 30	151 ± 37
Thymus (mg%)		(53 ± 14)	(51 ± 15)	(60 ± 11)	(50 ± 11)	(55 ± 14)
Ovaries (mg)		97 ± 15	92 ± 15	93 ± 10	92 ± 10	88 ± 13
Ovaries (mg%)		(35 ± 5)	(34 ± 6)	(35 ± 3)	(34 ± 3)	(32 ± 5)
Uterus (mg)		351 ± 95	351 ± 91	389 ± 137	355 ± 132	321 ± 102
Uterus (mg%)		(125 ± 31)	(131 ± 36)	(145 ± 46)	(130 ± 49)	(117 ± 36)
Cecum ⁺ (g)		13.5 ± 2.5	14.0 ± 3.0	14.9 ± 2.3	17.3 ± 2.4**	17.7 ± 4.5*
Cecum ⁺ (g%)		(4.8 ± 0.8)	(5.2 ± 1.0)	(5.6 ± 0.8*)	(6.3 ± 0.9**)	(6.4 ± 1.5**)
Cecum ⁻ (g)		2.76 ± 0.34	2.67 ± 0.28	2.72 ± 0.35	2.88 ± 0.33	3.24 ± 0.53*
Cecum ⁻ (g%)		(0.99 ± 0.14)	(0.99 ± 0.08)	(1.03 ± 0.15)	(1.05 ± 0.12)	(1.18 ± 0.21*)

* P(0.05), ** P(0.01) Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P(0.05), ++ P(0.01) Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Cecum⁺: Cecum with contentsCecum⁻: Cecum without contents

Table 3 Observation of fetuses

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of animals	24	24	24	25	22
No. of corpora lutea	(314) 13.1±1.3	(297) 12.4±1.9	(319) 13.3±1.3	(343) 13.7±1.5	(275) 12.5±2.4
Preimplantation loss (%)	13/314 (4.1)	18/297 (6.1)	18/319 (5.6)	22/343 (6.4)	20/275 (7.3)
No. of implantations	(301) 12.5±1.2	(279) 11.6±2.7	(301) 12.5±1.4	(321) 12.8±1.4	(255) 11.6±3.1
No. of dead implantations					
Resorptions (%)	12/301 (4.0)	9/279 (3.2)	8/301 (2.7)	9/321 (2.8)	10/255 (3.9)
Placental remnants (%)	1/301 (0.3)	2/279 (0.7)	4/301 (1.3)	4/321 (1.2)	2/255 (0.8)
Macerated fetuses (%)	1/301 (0.3)	0/279 (0.0)	0/301 (0.0)	1/321 (0.3)	2/255 (0.8)
Dead fetuses (%)	0/301 (0.0)	0/279 (0.0)	0/301 (0.0)	1/321 (0.3)	0/255 (0.0)
Total dead implantations (%)	14/301 (4.7)	11/279 (3.9)	12/301 (4.0)	15/321 (4.7)	14/255 (5.5)
No. of live fetuses	(287) 12.0±1.7	(268) 11.2±2.7	(289) 12.0±1.7	(306) 12.2±1.6	(241) 11.0±3.2
Sex ratio (Male/Female)	148/139 (1.06)	137/131 (1.05)	143/146 (0.98)	150/156 (0.96)	116/125 (0.93)
Body length (mm)					
Male	38.0±0.6	38.3±1.0	38.3±0.7	37.9±0.8	37.9±1.5
Female	37.7±0.7	37.5±0.8	37.4±0.7	37.2±0.9*	37.2±0.8*
Tail length (mm)					
Male	14.0±0.5	13.9±0.5	14.0±0.4	13.8±0.4	14.0±0.7
Female	14.1±0.5	14.0±0.4	14.1±0.4	13.9±0.5	13.9±0.4
Body weight (g)					
Male	3.79±0.25	3.79±0.30	3.78±0.23	3.68±0.23	3.64±0.39
Female	3.67±0.25	3.63±0.25	3.57±0.21	3.50±0.24*	3.45±0.22**
Placental weight (mg)					
Male	455±43	442±46	431±43	424±34**	440±85
Female	440±47	438±47	417±38	414±50	423±46
Adhesion of placenta	2	1	0	3	1
External malformations					
No. of malformed fetuses	0	0	2 (0.7)	3 (1.0)	0
Omphalocele	0	0	1	2	0
Cleft palate	0	0	0	1	0
Cleft lip	0	0	1	0	0
Encephalocele	0	0	0	1	0
Visceral examination					
No. of fetuses examined	96	89	99	109	80
Dilatation of renal pelvis	0	0	1	0	2

* P<0.05, ** P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Table 4 Skeletal examination of fetuses

Compound Dose (g/kg)	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
No. of animals	24	24	24	25	22
No. of fetuses examined	191	179	190	197	161
Malformation (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Variations					
Absence of cervic (%) vertebral arch	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Bipartite-shaped thoracic ver. cen. (%)	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.6)
Shortening of 13th rib (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.6)
14th rib (%)	0 (0.0)	3 (1.7)	2 (1.1)	7 (3.6)	2 (1.2)
Asymmetry of sternebrae (%)	2 (1.0)	0 (0.0)	2 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
Degree of ossification					
Occipital bone (%)	190 (99.5)	179 (100.0)	190 (100.0)	197 (100.0)	161 (100.0)
Atlas (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Axis (%)	2 (1.0)	2 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Cervical vertebral body (%)	3 6 4 5 6 7 (%)	6 12 16 41 147 (%)	6 9 25 49 132 (%)	2 9 22 55 136 (%)	0 2 6 12 102# (63.4)
No. of caudal verte- brae Sternebra	5.3 ± 0.5	5.5 ± 0.5	5.4 ± 0.6	5.2 ± 0.5	5.2 ± 0.6
1 (%)	191 (100.0)	179 (100.0)	190 (100.0)	197 (100.0)	161 (100.0)
2 (%)	190 (99.5)	179 (100.0)	188 (98.9)	197 (100.0)	161 (100.0)
3 (%)	189 (99.0)	179 (100.0)	188 (98.9)	197 (100.0)	161 (100.0)
4 (%)	188 (98.4)	179 (100.0)	188 (98.9)	196 (99.5)	158 (98.1)
5 (%)	104 (54.5)	119 (66.5)	127 (66.8)	124 (62.9)	93 (57.8)
6 (%)	189 (99.0)	171 (95.5)	180 (94.7)	188 (95.4)	156 (96.9)
Fore limb bones					
Distal phalanx	10.0 ± 0.2	10.0 ± 0.0	10.0 ± 0.1	10.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0
Middle phalanx	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Proximal phalanx	2.9 ± 1.2	3.3 ± 1.0	3.2 ± 1.0	3.3 ± 0.8	3.0 ± 1.1
Metacarpal bone	7.9 ± 0.3	8.0 ± 0.2	7.8 ± 0.4	8.0 ± 0.0	7.9 ± 0.2
Hind limb bones					
Distal phalanx	10.0 ± 0.2	10.0 ± 0.0	10.0 ± 0.1	10.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0
Middle phalanx	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Proximal phalanx	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.9
Metatarsal bone	8.2 ± 0.5	8.2 ± 0.3	8.1 ± 0.4	8.1 ± 0.4	8.1 ± 0.2
Talus (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Calcaneus (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

P < 0.05 Significant difference from control (WILCOXON'S rank sum test)

Table 5 Observation of F₁

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of litters	11	11	11	11	12
No. of implantations	(143) 13.0±1.3	(148) 13.5±1.0	(140) 12.7±0.9	(150) 13.6±1.7	(145) 12.1±1.8
Mean delivery day	21.3±0.5	21.1±0.3	21.2±0.4	21.7±0.5*	21.8±0.4**
No. of alive F ₁					
Postpartum day 0	(141) 12.8±1.3	(136) 12.4±1.3	(134) 12.2±1.0	(140) 12.7±1.5	(126) 10.5±2.1**
1	(140) 12.7±1.3	(135) 12.3±1.3	(131) 11.9±1.3	(140) 12.7±1.5	(124) 10.3±2.4**
4	(137) 12.5±1.4	(135) 12.3±1.3	(130) 11.8±1.4	(140) 12.7±1.5	(123) 10.3±2.5*
After selection	(110) 10.0±0.0	(110) 10.0±0.0	(110) 10.0±0.0	(110) 10.0±0.0	(110) 9.2±1.6
21	(110) 10.0±0.0	(110) 10.0±0.0	(110) 10.0±0.0	(109) 9.9±0.3	(109) 9.1±1.6
No. of dead F ₁					
at birth	0/143	2/148	0/140	1/150	2/145
(%)	(0.0)	(1.4)	(0.0)	(0.7)	(1.4)
Postpartum day 1	1/141	1/136	3/134	0/140	2/126
(%)	(0.7)	(0.7)	(2.2)	(0.0)	(1.6)
2-4	3/141	0/136	1/134	0/140	1/126
(%)	(2.1)	(0.0)	(0.7)	(0.0)	(0.8)
5-21	0/110	0/110	0/110	1/110	1/110
(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.9)	(0.9)
Sex ratio of newborn (Male/Female)	82/ 59 (1.39)	67/ 69 (0.97)	67/ 67 (1.00)	66/ 74 (0.89)	71/ 55 (1.29)
Live birth index (A) (%)	141/143 (98.6)	136/148 ** (91.9)	134/140 (95.7)	140/150 (93.3)	126/145 # (86.9)
Viability index (B) (%)	137/141 (97.2)	135/136 (99.3)	130/134 (97.0)	140/140 (100.0)	123/126 (97.6)
Lactation index (C) (%)	110/110 (100.0)	110/110 (100.0)	110/110 (100.0)	109/110 (99.1)	109/110 (99.1)
External malformation	0	0	0	0	0
Visceral examination					
No. of F ₁ examined	63	57	54	56	64
Atrophy of left testis and epididymis	0	0	1	0	0
Atrophy of testes and epididymides	0	0	0	0	1
Enlargement of right testis	0	0	1	0	0

* P<0.05, ** P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

P<0.05, ## P<0.01 Significant difference from control (WILCOXON'S rank sum test)

$$(A) \text{ Live birth index (\%)} = \frac{\text{Newborns at day 0}}{\text{Implantations}} \times 100$$

$$(B) \text{ Viability index (\%)} = \frac{\text{Newborns at day 4}}{\text{Newborns at day 0}} \times 100$$

$$(C) \text{ Lactation index (\%)} = \frac{\text{Newborns at day 21}}{\text{Newborns at day 4 (selection)}} \times 100$$

Table 6 Postnatal development of F₁

Compound		Control	CAZ			
			Dose (g/kg)	0.25	0.5	1.0
No. of litters		11	11	11	11	12
Separation of auricle	day 2	5/137	1/135	6/129	4/140	34/123
	(%)	(3.6)	(0.7)	(4.7)	(2.9)	(27.6)
	3	47/137	22/135	24/129	100/140	98/123*
	(%)	(34.3)	(16.3)	(18.6)	(71.4)	(79.7)
	4	135/137	134/135	129/129	139/140	122/123
(%)	(98.5)	(99.3)	(100.0)	(99.3)	(99.2)	
	5	110/110	110/110	110/110	110/110	110/110
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	
Appearance of abdominal hair	day 9	0/110	0/110	0/110	2/110	3/109
	(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(1.8)	(2.8)
	10	24/110	10/110	17/110	26/110	43/109
	(%)	(21.8)	(9.1)	(15.5)	(23.6)	(39.4)
	11	76/110	64/110	77/110	93/110	92/109
(%)	(69.1)	(58.2)	(70.0)	(84.5)	(84.4)	
	12	110/110	109/110	110/110	110/110	106/109
(%)	(100.0)	(99.1)	(100.0)	(100.0)	(97.2)	
Odontiasis	day 10	1/110	0/110	1/110	0/110	4/109
	(%)	(0.9)	(0.0)	(0.9)	(0.0)	(3.7)
	11	8/110	5/110	4/110	7/110	25/109
	(%)	(7.3)	(4.5)	(3.6)	(6.4)	(22.9)
	12	37/110	24/110	22/110	34/110	61/109
(%)	(33.6)	(21.8)	(20.0)	(30.9)	(56.0)	
	13	70/110	56/110	67/110	82/110	93/109
(%)	(63.6)	(50.9)	(60.9)	(74.5)	(85.3)	
	14	102/110	97/110	103/110	110/110	105/109
(%)	(92.7)	(88.2)	(93.6)	(100.0)	(96.3)	
Eyelids opening	day 15	1/110	0/110	0/110	0/110	0/109
	(%)	(0.9)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
	16	19/110	0/110	18/110	27/110	47/109
	(%)	(17.3)	(0.0)	(16.4)	(24.5)	(43.1)
	17	68/110	47/110	62/110	96/110*	86/109
(%)	(61.8)	(42.7)	(56.4)	(87.3)	(78.9)	
	18	109/110	102/110	107/110	109/110	105/109
(%)	(99.1)	(92.7)	(97.3)	(99.1)	(96.3)	
	19	110/110	109/110	110/110	109/109	107/109
(%)	(100.0)	(99.1)	(100.0)	(100.0)	(98.2)	
Descent of testes	week 3	47/ 63	31/ 57	35/ 54	42/ 56	56/ 64
	(%)	(74.6)	(54.4)	(64.8)	(75.0)	(87.5)
	4	32/ 33	33/ 33	32/ 33	32/ 32	36/ 36
(%)	(97.0)	(100.0)	(97.0)	(100.0)	(100.0)	
	5	33/ 33	33/ 33	33/ 33	32/ 32	36/ 36
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	
Vaginal opening	week 5	3/ 31	2/ 32	5/ 33	2/ 33	5/ 30
	(%)	(9.7)	(6.3)	(15.2)	(6.1)	(16.7)
	6	17/ 31	17/ 32	11/ 33	12/ 33	14/ 30
(%)	(54.8)	(53.1)	(33.3)	(36.4)	(46.7)	
	7	30/ 31	30/ 32	26/ 33	31/ 33	29/ 30
(%)	(96.8)	(93.8)	(78.8)	(93.9)	(96.7)	

P<0.05 Significant difference from control (WILCOXON'S rank sum test)

Table 7 Body weight change of F₁ (male)

Compound		Control	CAZ			
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of litters		11	11	11	11	12
Body weight (g)	day 0	5.6 ± 0.2	5.4 ± 0.3	5.5 ± 0.4	5.6 ± 0.4	6.1 ± 0.4**
	4	8.2 ± 0.5	8.1 ± 0.7	8.3 ± 0.9	8.5 ± 0.8	9.2 ± 0.8**
	7	11.8 ± 1.0	11.6 ± 0.7	12.0 ± 1.2	12.2 ± 1.0	12.9 ± 1.2 *
	14	22.5 ± 1.3	22.0 ± 1.1	22.6 ± 2.0	22.7 ± 1.4	23.2 ± 2.3
	21	34.3 ± 2.4	33.6 ± 2.5	33.9 ± 3.9	34.9 ± 2.5	36.3 ± 4.5
	28	64 ± 5	63 ± 3	63 ± 6	64 ± 6	67 ± 7
	35	104 ± 9	102 ± 5	102 ± 8	105 ± 10	109 ± 10
	42	146 ± 11	142 ± 8	142 ± 13	148 ± 10	149 ± 13
	49	188 ± 14	183 ± 11	185 ± 13	192 ± 14	193 ± 17
	56	235 ± 16	230 ± 15	231 ± 16	235 ± 15	238 ± 18
	63	276 ± 16	268 ± 17	271 ± 16	272 ± 14	273 ± 17
	70	308 ± 17	299 ± 20	302 ± 15	301 ± 14	302 ± 16
	77	335 ± 19	327 ± 22	330 ± 16	327 ± 16	328 ± 16
	84	358 ± 21	347 ± 23	351 ± 16	345 ± 19	347 ± 16

* P(0.05), ** P(0.01) Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Table 8 Body weight change of F₁ (female)

Compound		Control	CAZ			
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of litters		11	11	11	11	12
Body weight (g)	day 0	5.3 ± 0.2	5.1 ± 0.3	5.3 ± 0.4	5.3 ± 0.3	5.5 ± 0.6
	4	7.7 ± 0.4	7.7 ± 0.6	8.0 ± 0.8	8.0 ± 0.6	8.8 ± 0.9**
	7	11.4 ± 0.9	11.0 ± 0.6	11.5 ± 1.0	11.7 ± 0.8	12.3 ± 1.2 *
	14	21.9 ± 1.6	21.1 ± 1.1	22.1 ± 1.5	21.7 ± 1.5	22.2 ± 2.3
	21	33.5 ± 2.4	32.5 ± 2.1	33.3 ± 2.9	33.5 ± 2.5	34.7 ± 4.3
	28	61 ± 4	58 ± 3*	59 ± 4	59 ± 4	62 ± 6
	35	94 ± 6	89 ± 5	92 ± 5	92 ± 6	96 ± 7
	42	124 ± 7	116 ± 6**	120 ± 7	121 ± 6	124 ± 8
	49	150 ± 9	142 ± 9	147 ± 7	146 ± 10	151 ± 7
	56	174 ± 8	167 ± 11	171 ± 8	170 ± 11	172 ± 7
	63	190 ± 8	183 ± 11	190 ± 10	186 ± 14	187 ± 7
	70	207 ± 9	199 ± 14	205 ± 11	201 ± 15	202 ± 7
	77	221 ± 10	213 ± 14	220 ± 11	215 ± 16	217 ± 9
	84	230 ± 8	226 ± 15	231 ± 12	225 ± 15	226 ± 9

* P(0.05), ** P(0.01) Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

++ P(0.01) Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

意に減少したのみであった。

5. 出生時および哺育期間中の F₁ の観察

対照群および検体投与各群の着床数、妊娠期間、出産仔数、死亡率、性比、出生率、生存率、および哺育率を Table 5 に示した。平均着床数、死産率、性比に関して、対照群と検体投与各群との間に有意差は認められなかった。平均妊娠期間に関しては、1.0 および 2.0 g/kg/day 両投与群で延長傾向がみられた。出生率につい

ては 0.25 および 2.0 g/kg/day 両投与群で有意な低下が、出産時平均生存仔数についても 2.0 g/kg/day 投与群で有意な低下が認められたが、検体投与各群と対照群の生存率および哺育率に関しては有意差がなかった。外形異常は、全群で 1 例も認められなかった。

F₁ の生後分化状態の観察結果を Table 6 に示した。耳介開展については、2.0 g/kg/day 投与群で生後 3 日に有意な増加、眼瞼開裂については、1.0 g/kg/day 投与群

Table 9 Absolute and relative organ weight of 21 days old F₁ (male)

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of litters	11	10	11	10	12
Final B. W. (g)	34.7 ± 2.4	33.2 ± 3.3	33.6 ± 4.5	34.5 ± 1.5	36.2 ± 5.1
Carcass (g)	26.4 ± 1.3	25.0 ± 2.4	24.9 ± 2.9	25.7 ± 0.8	26.6 ± 3.4
(g%)	(76.2 ± 3.1)	(75.4 ± 3.6)	(74.4 ± 2.8)	(74.6 ± 1.8)	(73.6 ± 2.3*)
Heart (mg)	180 ± 19	173 ± 26	178 ± 23	198 ± 27	191 ± 31
(mg%)	(520 ± 45)	(521 ± 54)	(531 ± 41)	(576 ± 79)	(531 ± 45)
Lung (mg)	364 ± 24	339 ± 39	346 ± 26	353 ± 19	357 ± 43
(mg%)	(1055 ± 103)	(1024 ± 64)	(1041 ± 104)	(1025 ± 65)	(1007 ± 124)
Liver (g)	1.31 ± 0.17	1.26 ± 0.19	1.27 ± 0.21	1.31 ± 0.13	1.44 ± 0.25
(g%)	(3.76 ± 0.27)	(3.79 ± 0.28)	(3.78 ± 0.20)	(3.80 ± 0.28)	(3.96 ± 0.32)
Kidneys (mg)	418 ± 44	399 ± 43	410 ± 61	423 ± 24	454 ± 57
(mg%)	(1205 ± 76)	(1201 ± 54)	(1220 ± 75)	(1230 ± 65)	(1260 ± 83)
Spleen (mg)	128 ± 23	113 ± 23	116 ± 35	124 ± 18	132 ± 35
(mg%)	(369 ± 57)	(337 ± 41)	(340 ± 62)	(359 ± 46)	(360 ± 55)
Testes (mg)	168 ± 20	154 ± 21	150 ± 27	160 ± 8	168 ± 32
(mg%)	(484 ± 50)	(461 ± 37)	(446 ± 31*)	(464 ± 14)	(461 ± 50)
Cecum ⁺ (mg)	434 ± 109	403 ± 108	427 ± 179	425 ± 95	525 ± 170
(mg%)	(1241 ± 254)	(1183 ± 209)	(1234 ± 400)	(1239 ± 293)	(1429 ± 426)
Cecum ⁻ (mg)	155 ± 47	141 ± 30	150 ± 29	152 ± 26	175 ± 42
(mg%)	(442 ± 107)	(419 ± 72)	(445 ± 60)	(442 ± 78)	(480 ± 103)

* P(0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Cecum⁺: Cecum with contentsCecum⁻: Cecum without contentsTable 10 Absolute and relative organ weight of 21 days old F₁ (female)

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of litters	8	9	10	9	7
Final B. W. (g)	31.8 ± 2.6	32.3 ± 2.5	32.9 ± 3.8	34.4 ± 2.1*	31.5 ± 3.5
Carcass (g)	24.4 ± 1.2	23.8 ± 1.9	24.9 ± 2.2	25.4 ± 1.4	23.2 ± 2.4
(g%)	(76.9 ± 2.6)	(73.7 ± 2.3*)	(76.0 ± 6.3)	(74.0 ± 1.5*)	(73.7 ± 1.0*)
Heart (mg)	164 ± 20	162 ± 19	165 ± 11	193 ± 25*	175 ± 29
(mg%)	(517 ± 48)	(500 ± 32)	(506 ± 34)	(561 ± 69)	(556 ± 47)
Lung (mg)	328 ± 20	325 ± 27	327 ± 18	348 ± 31	333 ± 60
(mg%)	(1038 ± 83)	(1008 ± 65)	(1003 ± 97)	(1013 ± 81)	(1075 ± 160)
Liver (g)	1.26 ± 0.12	1.25 ± 0.14	1.28 ± 0.18	1.38 ± 0.18	1.21 ± 0.16
(g%)	(3.97 ± 0.30)	(3.86 ± 0.34)	(3.87 ± 0.16)	(4.01 ± 0.34)	(3.83 ± 0.15)
Kidneys (mg)	391 ± 34	418 ± 46	416 ± 53	450 ± 49*	410 ± 43
(mg%)	(1232 ± 59)	(1293 ± 98)	(1262 ± 51)	(1309 ± 123)	(1302 ± 57*)
Spleen (mg)	121 ± 25	110 ± 19	110 ± 27	124 ± 9	107 ± 24
(mg%)	(381 ± 83)	(338 ± 37)	(328 ± 46)	(362 ± 22)	(335 ± 45)
Ovaries (mg)	10 ± 3	9 ± 2	11 ± 4	10 ± 4	10 ± 3
(mg%)	(32 ± 11)	(28 ± 6)	(35 ± 12)	(29 ± 11)	(31 ± 9)
Cecum ⁺ (mg)	390 ± 90	461 ± 136	419 ± 154	430 ± 118	431 ± 137
(mg%)	(1226 ± 259)	(1406 ± 304)	(1242 ± 342)	(1243 ± 305)	(1338 ± 365)
Cecum ⁻ (mg)	138 ± 31	155 ± 35	150 ± 37	156 ± 35	155 ± 38
(mg%)	(433 ± 75)	(475 ± 76)	(452 ± 89)	(452 ± 91)	(488 ± 90)

* P(0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P(0.05 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Cecum⁺: Cecum with contentsCecum⁻: Cecum without contents

Table 11 Absolute and relative organ weight of 12 weeks old F₁ (male)

Compound	Dose (g/kg)	Control	CAZ			
			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of animals		11	11	11	11	12
Final B. W.	(g)	350 ± 19	338 ± 27	356 ± 26	340 ± 24	330 ± 34
Carcass	(g)	264 ± 14	261 ± 22	271 ± 18	261 ± 23	254 ± 24
	(g%)	(75 ± 1)	(77 ± 3)	(76 ± 2)	(77 ± 4)	(77 ± 4)
Heart	(mg)	1060 ± 74	1019 ± 112	1112 ± 121	1029 ± 100	1021 ± 100
	(mg%)	(303 ± 18)	(302 ± 20)	(312 ± 24)	(302 ± 21)	(311 ± 34)
Lung	(g)	1.32 ± 0.10	1.24 ± 0.10	1.35 ± 0.12	1.27 ± 0.08	1.26 ± 0.12
	(g%)	(0.38 ± 0.03)	(0.37 ± 0.02)	(0.38 ± 0.03)	(0.37 ± 0.02)	(0.38 ± 0.03)
Liver	(g)	13.6 ± 1.0	12.9 ± 1.4	14.2 ± 1.5	13.2 ± 1.2	13.0 ± 1.4
	(g%)	(3.9 ± 0.2)	(3.8 ± 0.2)	(4.0 ± 0.2)	(3.9 ± 0.2)	(4.0 ± 0.2)
Kidneys	(g)	2.46 ± 0.15	2.42 ± 0.34	2.52 ± 0.28	2.48 ± 0.26	2.44 ± 0.24
	(g%)	(0.70 ± 0.05)	(0.72 ± 0.10)	(0.71 ± 0.06)	(0.73 ± 0.05)	(0.74 ± 0.04)
Spleen	(mg)	716 ± 115	685 ± 126	690 ± 95	713 ± 61	700 ± 85
	(mg%)	(204 ± 26)	(202 ± 29)	(194 ± 21)	(210 ± 17)	(214 ± 34)
Adrenals	(mg)	53 ± 7	60 ± 13	57 ± 8	54 ± 7	54 ± 10
	(mg%)	(15 ± 2)	(18 ± 3*)	(16 ± 2)	(16 ± 2)	(16 ± 2)
Thymus	(mg)	385 ± 68	341 ± 57	392 ± 83	335 ± 55	353 ± 96
	(mg%)	(110 ± 17)	(101 ± 18)	(110 ± 20)	(98 ± 13)	(107 ± 30)
Testes	(g)	3.22 ± 0.16	3.24 ± 0.19	3.37 ± 0.52	3.13 ± 0.24	3.00 ± 0.47
	(g%)	(0.92 ± 0.05)	(0.96 ± 0.07)	(0.95 ± 0.16)	(0.92 ± 0.06)	(0.91 ± 0.12)
Epididymides	(mg)	929 ± 84	931 ± 80	865 ± 129	922 ± 80	793 ± 262
	(mg%)	(266 ± 27)	(275 ± 14)	(243 ± 26)	(271 ± 20)	(238 ± 78)
Sem. Ves.	(mg)	311 ± 78	341 ± 84	285 ± 64	296 ± 68	279 ± 71
	(mg%)	(89 ± 23)	(100 ± 21)	(80 ± 17)	(87 ± 20)	(85 ± 21)
Prostate	(mg)	562 ± 93	533 ± 102	616 ± 162	638 ± 125	536 ± 153
	(mg%)	(161 ± 27)	(158 ± 26)	(172 ± 37)	(187 ± 35)	(162 ± 41)
Cecum ⁺	(g)	6.7 ± 1.0	6.1 ± 0.9	6.3 ± 1.0	6.1 ± 1.5	6.5 ± 0.9
	(g%)	(1.9 ± 0.3)	(1.8 ± 0.2)	(1.8 ± 0.2)	(1.8 ± 0.4)	(2.0 ± 0.2)
Cecum ⁻	(g)	1.68 ± 0.22	1.60 ± 0.25	1.67 ± 0.23	1.69 ± 0.31	1.75 ± 0.17
	(g%)	(0.48 ± 0.09)	(0.47 ± 0.06)	(0.47 ± 0.06)	(0.50 ± 0.08)	(0.53 ± 0.05)

* P(0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Cecum⁺: Cecum with contents

Cecum⁻: Cecum without contents

で生後 17 日に有意な増加がみられた。その他、臍部の発毛、切歯萌出、精巣下降、腔開口については、検体投与各群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

F₁ の平均体重変動は Table 7~8 に示したとおり、2.0 g/kg/day 投与群の雄の 0, 4, 7 日および雌の 4, 7 日の体重に有意な増加が認められた。その他、0.25 g/kg/day 投与群の雌で 28, 42 日に有意な減少がみられたが、投与量に関連した変動ではなかった。

6. F₁ の剖検所見、臓器重量および骨格観察

3 週齢の剖検時の肉眼観察において、異常は 1 例も認められなかった。臓器重量は Table 9~10 に示したように、絶対重量については、雌の 1.0 g/kg/day 投与群で心臓および腎臓に有意な増加が認められたが、投与量に関連した変動ではなかった。相対重量に関しては、雄で 0.5 g/kg/day 投与群の精巣、2.0 g/kg/day 投与群のカーカス、雌で 2.0 g/kg/day 投与群の腎臓、0.25, 1.0

および 2.0 g/kg/day 投与群のカーカスに有意な変動が認められたが、いずれも軽度な変動であった。

12 週齢の剖検において、Table 5 に示したとおり 0.5 g/kg/day 投与群で精巣および精巣上体の片側萎縮、ならびに精巣の片側肥大、2.0 g/kg/day 投与群で精巣および精巣上体の両側性萎縮が各 1 例にみられた。

12 週齢の臓器重量は Table 11~12 に示したように、2.0 g/kg/day 投与群の雌で肝臓の絶対および相対重量、副腎の相対重量に有意な増加が認められた。その他、0.25 g/kg/day 投与群の雄で副腎、同群の雌で肝臓、0.5 g/kg/day 投与群の雌で脾臓の絶対または相対重量に有意な変動がみられたが、いずれも投与量に関連する変動ではなかった。

生後 4 日および 21 日の骨格観察の結果を、Table 13 に示した。生後 4 日の F₁ において、骨格異常、骨格変異は 1 例も認められなかった。骨化程度に関して対照群

Table 12 Absolute and relative organ weight of 12 weeks old F₁ (female)

Compound	Dose (g/kg)	Control	CAZ			
			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of animals		10	11	11	11	11
Final B. W. (g)		234 ± 8	230 ± 18	235 ± 16	225 ± 19	233 ± 10
Carcass (g)		183 ± 8	178 ± 14	181 ± 12	176 ± 13	180 ± 8
	(g%)	(78 ± 1)	(78 ± 2)	(77 ± 2)	(78 ± 2)	(78 ± 1)
Heart (mg)		769 ± 49	787 ± 66	749 ± 63	754 ± 44	776 ± 70
	(mg%)	(329 ± 26)	(344 ± 35)	(319 ± 16)	(336 ± 18)	(334 ± 24)
Lung (g)		1.11 ± 0.08	1.07 ± 0.13	1.09 ± 0.10	1.06 ± 0.13	1.11 ± 0.12
	(g%)	(0.47 ± 0.03)	(0.46 ± 0.04)	(0.46 ± 0.04)	(0.47 ± 0.03)	(0.48 ± 0.04)
Liver (g)		8.2 ± 0.4	8.6 ± 0.8	8.4 ± 0.8	8.1 ± 1.0	8.8 ± 0.7*
	(g%)	(3.5 ± 0.1)	(3.8 ± 0.2**)	(3.6 ± 0.2)	(3.6 ± 0.2)	(3.8 ± 0.2**)
Kidneys (g)		1.70 ± 0.13	1.68 ± 0.13	1.74 ± 0.14	1.62 ± 0.20	1.70 ± 0.15
	(g%)	(0.73 ± 0.06)	(0.73 ± 0.04)	(0.74 ± 0.05)	(0.72 ± 0.05)	(0.73 ± 0.06)
Spleen (mg)		610 ± 51	561 ± 106	551 ± 76	560 ± 80	600 ± 79
	(mg%)	(261 ± 25)	(243 ± 41)	(234 ± 26*)	(248 ± 22)	(257 ± 29)
Adrenals (mg)		66 ± 8	66 ± 7	68 ± 11	66 ± 7	74 ± 9
	(mg%)	(28 ± 4)	(29 ± 3)	(29 ± 4)	(29 ± 3)	(32 ± 3*)
Thymus (mg)		385 ± 51	351 ± 65	357 ± 48	341 ± 64	353 ± 60
	(mg%)	(164 ± 23)	(153 ± 28)	(152 ± 17)	(151 ± 20)	(152 ± 25)
Ovaries (mg)		85 ± 12	94 ± 17	91 ± 15	82 ± 17	90 ± 13
	(mg%)	(37 ± 6)	(41 ± 6)	(39 ± 5)	(37 ± 8)	(39 ± 5)
Uterus (mg)		411 ± 66	387 ± 74	401 ± 92	379 ± 70	404 ± 74
	(mg%)	(176 ± 28)	(170 ± 39)	(170 ± 35)	(169 ± 32)	(175 ± 37)
Cecum ⁺ (g)		5.0 ± 1.1	4.9 ± 0.6	4.7 ± 1.0	4.4 ± 0.9	5.3 ± 0.7
	(g%)	(2.1 ± 0.4)	(2.1 ± 0.2)	(2.0 ± 0.3)	(1.9 ± 0.3)	(2.3 ± 0.3)
Cecum ⁻ (g)		1.32 ± 0.12	1.29 ± 0.20	1.31 ± 0.21	1.22 ± 0.22	1.33 ± 0.27
	(g%)	(0.57 ± 0.06)	(0.56 ± 0.07)	(0.56 ± 0.08)	(0.54 ± 0.09)	(0.57 ± 0.10)

* P<0.05

Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P<0.05, ++ P<0.01

Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S test)

Cecum⁺: Cecum with contentsCecum⁻: Cecum without contents

と検体投与各群との間に有意差はみられなかった。生後21日齢の骨格については、骨格変異として頸肋が2.0 g/kg/day 投与群で1例に観察されたのみであった。

7. 機能・行動検査および学習検査

離乳時における機能検査、4週齢時の行動検査および7~8週齢時に行なった学習検査の結果を、Table 14~15に示した。雌雄いずれも対照群と検体投与各群との間に有意差は認められなかった。

8. F₁の生殖所見

交尾率および妊娠率はTable 16に示したように、検体投与各群と対照群との間に有意差はなかった。なお、交尾しなかった雌雄ならびに妊娠しなかった雌の生殖器の肉眼および病理組織学検査の結果、2.0 g/kg/day 投与群の雄1例で重度な精細管萎縮が認められた。

9. F₁の胎子および新生子の観察所見

F₁の胎子の観察結果はTable 17に示したとおり、1.0 g/kg/day 投与群の雄の胎子の尾長に有意な増加がみられたが、投与量に関連する変動ではなかった。その

他、平均黄体数、平均着床数、死胚率、平均生存胎子数、性比、体長、体重ならびに胎盤重量については、検体投与各群と対照群の間に有意な変動は認められなかった。なお、0.5 g/kg/day 投与群で胎盤癒着が1例にみられた。外形異常としては、2.0 g/kg/day 投与群で短尾が1例にみられた。

F₁の次世代(F₂)の観察結果をTable 18~21に示した。1.0 g/kg/day 投与群の1母獣は難産で分娩所要時間が長く、貧血症状を呈し、衰弱ののち翌日に死亡した。この死亡例の病理組織学検査の結果、肺および腎臓の血管内に血栓、副腎の皮質および髓質に壊死が観察された。0.5 g/kg/day 投与群で生後4日の生存仔数に有意な増加がみられたが、投与量に関連する変動ではなかった。また、平均着床数、平均妊娠期間、性比、出生率、生存率、哺育率に関して、検体投与各群と対照群との間に有意差はなかった。F₂の生後分化状態についても0.5 g/kg/day 投与群の眼瞼開裂、1.0 g/kg/day 投与群の臍部の発毛および2.0 g/kg/day 投与群の切歯萌出

Table 13 Skeletal examination of F₁
— day 4, day 21 —

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of litters	11	11	8	10	7
No. of F ₁ examined (day 4)	27	25	19	30	13
Malformation (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Variation (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Degree of ossification					
No. of caudal vertebrae	20.6±1.4	19.8±1.2	19.6±1.6	20.9±1.3	21.1±1.8
Fore limb bones					
Distal phalanx	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0
Middle phalanx	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0
Proximal phalanx	8.4±0.8	8.4±0.8	8.3±0.7	8.4±0.8	8.6±1.0
Metacarpal bone	8.5±0.8	8.4±0.8	8.3±0.7	8.4±0.8	9.1±1.1
Hind limb bones					
Distal phalanx	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0
Middle phalanx	8.0±0.0	7.8±0.8	8.0±0.0	7.7±0.9	8.0±0.0
Proximal phalanx	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	9.7±0.8
Metatarsal bone	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	9.7±0.8
Talus (%)	27 (100.0)	25 (100.0)	19 (100.0)	30 (100.0)	13 (100.0)
Calucaneus (%)	27 (100.0)	25 (100.0)	19 (100.0)	30 (100.0)	13 (100.0)
No. of F ₁ examined (day 21)	46	45	44	44	43
Variation					
Cervical rib (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.3)
Degree of ossification					
No. of caudal vertebrae	27.1±0.4	27.1±0.3	27.1±0.6	27.3±0.5	27.2±0.5

Table 14 Sense, behavior and avoidance response test of F₁ (male)

Compound	Control	CAZ			
Dose (g/kg)		0.25	0.5	1.0	2.0
No. of litters	11	11	11	11	12
Sense test					
Righting reflex (%)	63/ 63 (100.0)	57/ 57 (100.0)	54/ 54 (100.0)	56/ 56 (100.0)	64/ 64 (100.0)
Pain response (%)	63/ 63 (100.0)	57/ 57 (100.0)	54/ 54 (100.0)	56/ 56 (100.0)	64/ 64 (100.0)
Corneal reflex (%)	63/ 63 (100.0)	57/ 57 (100.0)	54/ 54 (100.0)	56/ 56 (100.0)	64/ 64 (100.0)
Traction (%)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	12/ 12 (100.0)
Light reflex (%)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	12/ 12 (100.0)
Behavior test					
Rotating rod (%)	11/ 11 (100.0)	10/ 11 (90.9)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	12/ 12 (100.0)
Sliding angle (°)	49.4 ± 4.3	48.5 ± 4.5	48.2 ± 3.0	48.6 ± 3.5	48.3 ± 4.0
Avoidance response test					
day 1	7.3 ± 14.4	6.1 ± 11.7	4.5 ± 6.2	1.2 ± 2.7	5.3 ± 13.2
day 2	13.3 ± 17.5	13.6 ± 14.6	23.9 ± 30.6	7.6 ± 9.8	21.7 ± 27.8
Avoidance (%) day 3	36.0 ± 27.0	41.8 ± 28.0	45.4 ± 36.1	31.5 ± 21.3	38.6 ± 33.0
day 4	52.4 ± 22.4	50.9 ± 31.7	54.8 ± 36.0	49.4 ± 28.2	53.3 ± 38.5
day 5	61.8 ± 25.4	59.4 ± 31.6	67.3 ± 33.0	55.8 ± 29.2	56.1 ± 34.2

Table 15 Sense, behavior and avoidance response test of F₁ (female)

Compound	Control	CAZ			
Dose (g/kg)		0.25	0.5	1.0	2.0
No. of litters	11	11	11	11	11
Sense test					
Righting reflex (%)	47/ 47 (100.0)	53/ 53 (100.0)	56/ 56 (100.0)	53/ 53 (100.0)	45/ 45 (100.0)
Pain response (%)	47/ 47 (100.0)	53/ 53 (100.0)	56/ 56 (100.0)	53/ 53 (100.0)	45/ 45 (100.0)
Corneal reflex (%)	47/ 47 (100.0)	53/ 53 (100.0)	56/ 56 (100.0)	53/ 53 (100.0)	45/ 45 (100.0)
Traction (%)	10/ 10 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)
Light reflex (%)	10/ 10 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)
Behavior test					
Rotating rod (%)	10/ 10 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)	11/ 11 (100.0)
Sliding angle (°)	49.6 ± 3.7	48.1 ± 2.2	49.8 ± 2.0	50.2 ± 3.4	50.8 ± 3.3
Avoidance response test					
day 1	18.3 ± 14.4	7.9 ± 13.3	13.9 ± 15.5	13.9 ± 14.6	10.0 ± 11.6
day 2	52.7 ± 25.0	42.7 ± 23.5	46.4 ± 38.9	52.4 ± 28.2	57.0 ± 28.7
Avoidance (%) day 3	74.0 ± 29.2	67.3 ± 20.2	70.6 ± 32.9	79.4 ± 15.2	81.8 ± 14.9
day 4	81.3 ± 19.8	82.1 ± 20.9	83.9 ± 25.0	83.9 ± 14.7	86.1 ± 16.5
day 5	79.3 ± 29.4	90.6 ± 7.7	84.6 ± 23.4	92.4 ± 12.2	80.6 ± 19.3

Table 16 Copulation and fertility index of F₁

Compound Dose (g/kg)		Control	CAZ			
			0.25	0.5	1.0	2.0
Copulation index	Male	21/ 21	20/ 21	22/ 22	21/ 21	16/ 19
	(%)	(100.0)	(95.2)	(100.0)	(100.0)	(84.2)
Fertility index	Male	21/ 21	20/ 20	22/ 22	21/ 21	16/ 16
	(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Copulation index	Female	21/ 21	20/ 21	21/ 22	22/ 22	19/ 19
	(%)	(100.0)	(95.2)	(95.5)	(100.0)	(100.0)
Fertility index	Female	21/ 21	20/ 20	21/ 21	22/ 22	18/ 19
	(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(94.7)
No. of dams (F ₁) used caesarean section		14	12	14	13	11
No. of dams (F ₁) used lactation study		7	8	7	9	7
No. of dams (F ₁) delivered F ₂		7	8	7	8	7
No. of dead dams (F ₁) at delivery		0	0	0	1	0

に有意な変動がみられたが、いずれも正常範囲内の変動と考えられた。体重変動については、0.5、1.0 および 2.0 g/kg/day 投与群で有意な変動がみられた測定日もあるが、いずれも軽度な差であり、正常範囲内の変動と考えられた。

なお、21 日齢の F₂ の剖検で、全 F₂ に異常は認められなかった。

III. 考 察

CAZ をラット胎仔の器官形成期に静脈内投与し、胎仔ならびに新生仔に対する影響について検討した。

妊娠中の母獣の死亡例としては、2.0 g/kg/day 投与群の 1 例が妊娠 8 日の投与直後に痙攣ののち死亡した。しかしながら、2.0 g/kg/day 投与群の他の母獣の一般症状に異常がみられないことから、この動物の死亡原因は病理組織学的には究明できなかったが、投与時の投与速度が若干早かったことによるものと推察された。

その他の妊娠母獣に対する CAZ の影響に関しては、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で摂餌量の減少、摂水量の増加、体重増加量の抑制、盲腸の重量増加が、0.5 g/kg/day 以上の用量の投与群でカーカス、心臓重量の減少が認められた。同様の所見は、CAZ のラットにおける亜急性毒性試験⁶⁾ および投与量設定のための予試験でもみられている。しかし、それらの程度は妊娠動物にやや強く認められた。なお、亜急性毒性試験の病理組織学的検査の結果、心臓に異常は認められないことから、本試験でみられた心臓の重量減少も重要な所見とは考えられなかった。

Photo. 1 Omphalocele (CAZ 0.5 g/kg/day, Fetus of Dam No. 170)

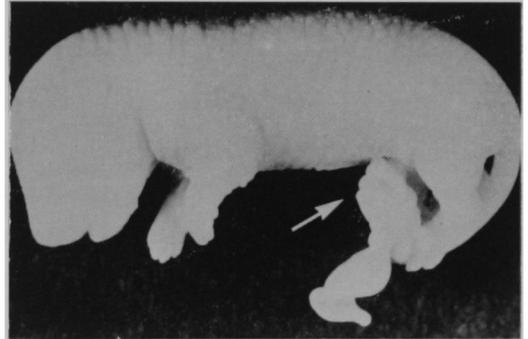


Photo. 2 Cleft lip (CAZ 0.5 g/kg/day, Fetus of Dam No. 259)

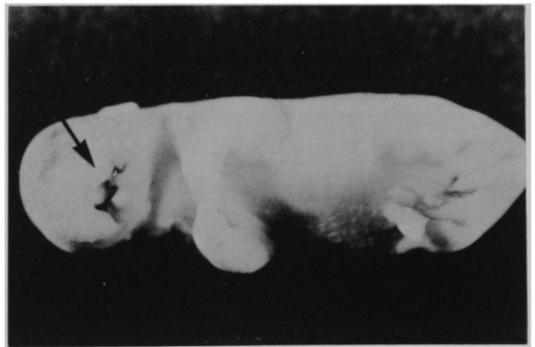


Table 17 Observation of fetuses from F₁ dams

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of animals (F ₁)	14	12	14	13	11
No. of corpora lutea	(217) 15.5±1.2	(180) 15.0±2.7	(205) 14.6±1.2	(192) 14.8±1.7	(163) 14.8±1.8
Preimplantation loss (%)	17/217 (7.8)	13/180 (7.2)	12/205 (5.9)	7/192 (3.6)	5/163 (3.1)
No. of implantations	(200) 14.3±1.4	(167) 13.9±2.6	(193) 13.8±1.5	(185) 14.2±1.9	(158) 14.4±1.7
No. of dead implantations					
Resorptions (%)	6/200 (3.0)	3/167 (1.8)	3/193 (1.6)	6/185 (3.2)	3/158 (1.9)
Placental remnants (%)	1/200 (0.5)	1/167 (0.6)	2/193 (1.0)	3/185 (1.6)	2/158 (1.3)
Macerated fetuses (%)	0/200 (0.0)	2/167 (1.2)	0/193 (0.0)	0/185 (0.0)	1/158 (0.6)
Dead fetuses (%)	0/200 (0.0)	0/167 (0.0)	0/193 (0.0)	0/185 (0.0)	0/158 (0.0)
Total dead implantations (%)	7/200 (3.5)	6/167 (3.6)	5/193 (2.6)	9/185 (4.9)	6/158 (3.8)
No. of live fetuses	(193) 13.8±1.5	(161) 13.4±2.4	(188) 13.4±1.5	(176) 13.5±1.9	(152) 13.8±1.8
Sex ratio (Male/Female)	90/103 (0.87)	79/ 82 (0.96)	85/103 (0.83)	86/ 90 (0.96)	90/ 62 (1.45)
Body length (mm)					
Male	38.1±0.9	38.4±0.9	38.3±0.7	38.5±1.0	37.6±1.1
Female	37.4±0.8	37.9±0.6	37.6±0.7	37.9±0.7	37.3±0.7
Tail length (mm)					
Male	13.8±0.7	14.0±0.6	13.9±0.7	14.3±0.4*	13.6±1.0
Female	13.6±0.5	13.9±0.3	13.7±0.6	14.0±0.5	13.7±0.8
Body weight (g)					
Male	3.52±0.32	3.53±0.19	3.58±0.11	3.40±0.28	3.44±0.25
Female	3.33±0.28	3.35±0.22	3.37±0.14	3.22±0.22	3.29±0.24
Placental weight (mg)					
Male	488 ±96	460 ±47	444 ±34	460 ±42	454 ±33
Female	486 ±81	469 ±38	443 ±27	461 ±55	451 ±27
Adhesion of placenta	0	0	1	0	0
External malformations					
No. of malformed fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)
Short tail	0	0	0	0	1

* P<0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Table 18 Observation of F₁

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of litters (F ₁)	7	8	7	9	7
No. of dead dams	0	0	0	1	0
No. of implantations	(91) 13.0±2.2	(109) 13.6±2.3	(101) 14.4±1.6	(108) 13.5±2.3	(91) 13.0±4.5
Mean delivery day	21.6±0.5	21.8±0.5	22.0±0.0	21.8±0.7	21.9±0.4
No. of alive F ₁					
Postpartum day 0	(85) 12.1±2.5	(104) 13.0±2.4	(99) 14.1±1.8	(106) 13.3±2.1	(86) 12.3±4.3
1	(84) 12.0±2.2	(104) 13.0±2.4	(99) 14.1±1.8	(99) 12.4±2.1	(86) 12.3±4.3
4	(82) 11.7±1.9	(104) 13.0±2.4	(99) 14.1±1.8*	(98) 12.3±2.2	(86) 12.3±4.3
After selection	(69) 9.9±0.4	(80) 10.0±0.0	(70) 10.0±0.0	(79) 9.9±0.4	(63) 9.0±2.6
21	(69) 9.9±0.4	(80) 10.0±0.0	(70) 10.0±0.0	(77) 9.6±0.5	(62) 8.9±2.6
No. of dead F ₁					
at birth	0/ 91	2/109	0/101	1/108	3/ 91
(%)	(0.0)	(1.8)	(0.0)	(0.9)	(3.3)
Postpartum day 1	1/ 85	0/104	0/ 99	7/106	0/ 86
(%)	(1.2)	(0.0)	(0.0)	(6.6)	(0.0)
2-4	2/ 85	0/104	0/ 99	1/106	0/ 86
(%)	(2.4)	(0.0)	(0.0)	(0.9)	(0.0)
5-21	0/ 69	0/ 80	0/ 70	2/ 79	1/ 63
(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(2.5)	(1.6)
Sex ratio of newborn (Male/Female)	43/ 42 (1.02)	53/ 51 (1.04)	54/ 45 (1.20)	53/ 53 (1.00)	47/ 39 (1.21)
Live birth index (A)	85/ 91	104/109	99/101	106/108	86/ 91
(%)	(93.4)	(95.4)	(98.0)	(98.1)	(94.5)
Viability index (B)	82/ 85	104/104	99/ 99	98/106	86/ 86
(%)	(96.5)	(100.0)	(100.0)	(92.5)	(100.0)
Lactation index (C)	69/ 69	80/ 80	70/ 70	77/ 79	62/ 63
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(97.5)	(98.4)
External malformation	0	0	0	0	0

* P<0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

$$(A) \text{ Live birth index (\%)} = \frac{\text{Newborns at day 0}}{\text{Implantations}} \times 100$$

$$(B) \text{ Viability index (\%)} = \frac{\text{Newborns at day 4}}{\text{Newborns at day 0}} \times 100$$

$$(C) \text{ Lactation index (\%)} = \frac{\text{Newborns at day 21}}{\text{Newborns at day 4 (selection)}} \times 100$$

Table 19 Postnatal development of F₂

Compound		Control	CAZ			
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of litters (F ₁)		7	8	7	8	7
Separation of auricle	day 2	3/ 82	2/104	3/ 99	12/ 98	4/ 86
	(%)	(3.7)	(1.9)	(3.0)	(12.2)	(4.7)
	3	49/ 82	75/104	96/ 99	55/ 98	71/ 86
	(%)	(59.8)	(72.1)	(97.0)	(56.1)	(82.6)
	4	75/ 82	104/104	99/ 99	98/ 98	85/ 86
(%)	(91.5)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(98.8)	
	5	69/ 69	80/ 80	70/ 70	78/ 78	63/ 63
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Appearance of abdominal hair	day 9	0/ 69	0/ 80	0/ 70	0/ 78	0/ 63
	(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
	10	13/ 69	11/ 80	16/ 70	3/ 78	8/ 63
	(%)	(18.8)	(13.7)	(22.9)	(3.8)	(12.7)
	11	52/ 69	56/ 80	65/ 70	36/ 78 [#]	51/ 63
(%)	(75.4)	(70.0)	(92.9)	(46.2)	(81.0)	
	12	66/ 69	76/ 80	70/ 70	64/ 78	61/ 63
(%)	(95.7)	(95.0)	(100.0)	(82.1)	(96.8)	
Odontiasis	day 10	1/ 69	0/ 80	0/ 70	1/ 78	0/ 63
	(%)	(1.4)	(0.0)	(0.0)	(1.3)	(0.0)
	11	7/ 69	2/ 80	2/ 70	2/ 78	3/ 63
	(%)	(10.1)	(2.5)	(2.9)	(2.6)	(4.8)
	12	17/ 69	22/ 80	21/ 70	15/ 78	21/ 63
(%)	(24.6)	(27.5)	(30.0)	(19.2)	(33.3)	
	13	36/ 69	42/ 80	43/ 70	43/ 78	39/ 63
(%)	(52.2)	(52.5)	(61.4)	(55.1)	(61.9)	
	14	49/ 69	63/ 80	63/ 70	53/ 78	60/ 63 [#]
(%)	(71.0)	(78.7)	(90.0)	(67.9)	(95.2)	
Eyelids opening	day 15	0/ 69	0/ 80	3/ 70	0/ 78	0/ 63
	(%)	(0.0)	(0.0)	(4.3)	(0.0)	(0.0)
	16	7/ 69	12/ 80	42/ 70 ^{##}	12/ 78	24/ 63
	(%)	(10.1)	(15.0)	(60.0)	(15.4)	(38.1)
	17	52/ 69	55/ 80	69/ 70 [#]	28/ 78	52/ 63
(%)	(75.4)	(68.8)	(98.6)	(35.9)	(82.5)	
	18	67/ 69	78/ 80	70/ 70	69/ 78	63/ 63
(%)	(97.1)	(97.5)	(100.0)	(88.5)	(100.0)	
	19	69/ 69	80/ 80	70/ 70	78/ 78	62/ 62
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	

P<0.05, ## P<0.01 Significant difference from control (WILCOXON'S rank sum test)

Table 20 Body weight change of F₂ (male)

Compound		Control	CAZ			
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0	2.0
No. of litters (F ₁)		7	8	7	8	6
	day 0	5.5±0.5	5.7±0.3	5.8±0.3	5.3±0.4	5.7±0.2
Body weight (g)	4	8.3±1.1	8.5±0.9	8.7±0.7	7.9±1.2	8.2±1.0
	7	12.3±1.2	12.6±1.2	13.4±0.7	11.1±1.4	12.2±1.1
	14	23.2±1.6	23.3±1.9	25.2±1.5*	21.5±2.6	23.6±1.6
	21	36.3±3.0	36.0±4.0	39.4±2.3	32.0±2.6**	37.7±2.7

* P<0.05, ** P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Table 21 Body weight change of F₁ (female)

Compound	Control	CAZ			
		0.25	0.5	1.0	2.0
Dose (g/kg)					
No. of litters (F ₁)	7	8	7	8	7
day 0	5.3±0.6	5.3±0.3	5.4±0.3	5.0±0.3	5.5±0.4
Body weight (g)					
4	7.9±1.2	8.1±0.9	8.4±0.8	7.6±1.0	8.2±1.1
7	11.7±1.2	11.8±0.8	12.8±0.9	10.8±1.1	12.1±1.1
14	22.2±1.2	22.4±1.7	24.6±1.7**	21.2±1.6	23.4±1.9
21	34.1±2.0	34.5±4.0	38.0±2.1**	31.8±1.7*	37.6±3.2*

* P<0.05, ** P<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-TEST)

Photo. 3 Cleft palate (CAZ 1.0 g/kg/day, fetus of Dam No. 111)

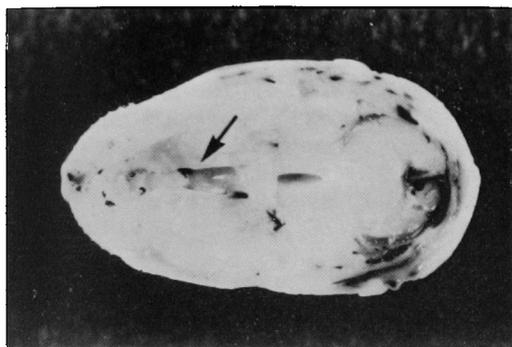


Photo. 5 Dilatation of renal pelvis (CAZ 2.0 g/kg/day, Fetus of Dam No. 290)

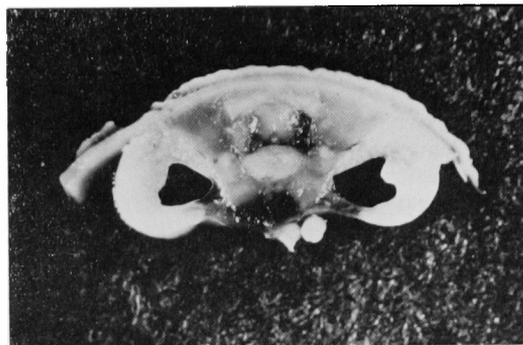
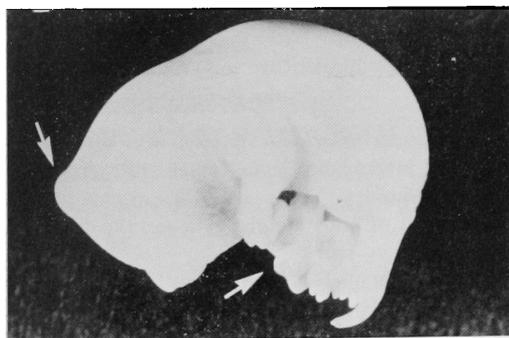


Photo. 4 Encephalocele and Omphalocele (CAZ 1.0 g/kg/day, fetus of Dam No. 200)



投与群で雌胎子の体長および体重の減少ならびに 2.0 g/kg/day 投与群で第7頸椎体の骨化率の減少が観察され、CAZを1.0 g/kg/day以上投与すると胎子に发育抑制がみられると考えられた。他の cephalosporin 系抗生物質⁹⁾でも大量投与時に胎子の发育抑制が認められている。

分娩時の観察では、1.0および2.0 g/kg/day 投与群で妊娠期間に延長傾向がみられたが、出産時に障害のある母獣は全群で1例も認められなかった。なお、2.0 g/kg/day 投与群で出生率の低下がみられた。この出生率の低下は胎子の分娩前後の周産期死亡による可能性も考えられるが、妊娠末期の胎子観察において同群と対照群との間で死胚率に差を認めず、また分娩中および分娩直後の母獣に異常がみられなかったことよりこの出生率低下の原因は明確にできなかった。この1腹当りの出生子数の減少および出産日の延長に起因すると考えられる新生子の发育促進傾向(出生後1週間の平均体重の増加、耳介開展の促進)が同群で認められた。しかし、2.0 g/kg/day 投与群でも、その後のF₁の体重変動、耳介開展を除く生後分化状態、生後4日までの生存率、哺育率に関しては、対照群との間に有意差はみられなかった。

妊娠末期の胎子の観察において、対照群の死胚率とCAZ投与各群の死胚率との間に差はみられなかった。また、外形異常(臍帯ヘルニア、唇裂、口蓋裂、脳ヘルニア)、内部臓器異常(腎盂拡張)、骨格変異(頸椎弓の欠損、胸椎体の分離、第13肋骨の短縮、第14肋骨の発現、胸骨分節の非対称)がみられたが、いずれも少数例で対照群でも時に観察され、かつ、用量関連性もないことから、偶発例と結論された。

胎子の发育については、1.0 g/kg/day以上の用量の

F₁の臓器重量に関しては、12週齢の2.0 g/kg/day

投与群の雌で肝臓の絶対および相対重量の増加が認められたが、3週齢の雌雄および12週齢の雄では認められないことから、CAZ投与の影響とは結論し難い。

その他、F₁の外形、内臓、骨格、機能、行動、学習、交尾率および妊娠率に関しては、いずれも対照群との間に差はみられなかった。また、F₁の胎仔およびF₂の観察でも対照群とCAZ投与群との間に差は認められなかった。

以上のように、本実験条件下においては、ラット母動物の生殖、F₁およびF₂の発生、発育に対する最大無作用量は0.5 g/kg/dayであると結論された。

(試験期間：昭和55年7月～昭和56年3月)

文 献

- 1) WILSON, J.G. & J. WARKANY: Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals, *Teratology: Principles and Techniques*. pp. 262~272, Univ. of Chicago press. Chicago and London. 1965
- 2) 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

- 3) DAWSON, A.B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with arizarin red-S. *Stain Technol.* 1: 123~124, 1926
- 4) 真島英信編：生理学, VII, 中枢神経系, 150頁, 文光堂, 1956
- 5) 高木敬次郎, 小沢 光編：薬物学実験, I. 中枢神経系の薬理, 49~76頁, 南山堂, 1960
- 6) 浅見幸男, 犬飼利也, 大塚 勝, 本間健資, 柳義和, 北川純男：新規 Benzodiazepine 系化合物 Nimetazepam (S-1530) の中枢作用。応用薬理 7(5): 705~722, 1973
- 7) ウィルコクソン, ウィルコックス, 佐久間 昭訳：簡便統計手法, 日本レダグリー, 1969
- 8) 長谷川隆司, 細川常通, 野村 章, 仲吉 洋：Ceftazidime の安全性に関する研究, (II), ラットにおける静脈内投与亜急性毒性試験。Chemotherapy, 31 (S-3): 842~862, 1983
- 9) 大高忠彦, 川崎 一, 古橋忠和, 須藤鎮世, 野村章, 清水康資, 仲澤政雄：Cefuroxime のラット生殖に及ぼす影響に関する研究。Chemotherapy 27 (S-6): 245~272, 1979

SAFETY STUDY ON CEFTAZIDIME (VII)

TERATOLOGICAL STUDY IN RATS

TADAKAZU FURUHASHI, AKIKO TAKEI, TOMOKO HONDA

and HIROSHI NAKAYOSHI

Life Sciences Department, Nomura Research Institute

Teratological study on ceftazidime (CAZ, SN401), a new cephalosporin antibiotic, was carried out in Sprague-Dawley rats (Slc:SD). CAZ was administered intravenously to female rats from day 7 to 17 of gestation at the dosage of 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 g/kg/day.

Decrease in food intake, increase in water intake, depression of body weight gain and the dilatation of cecum were observed in dams at the dosage of 0.25 g/kg/day or more.

Depression of body length and body weight was observed in female fetuses at doses of 1.0 g/kg/day or more, and decrease in ossification of the body of 7th cervical vertebra was noted in fetuses treated with CAZ at the dose of 2.0 g/kg/day. However, CAZ failed to induce external, visceral or skeletal anomalies in fetuses.

In the observation of F₁, extension of the mean gestation period and decrease in live birth index, increase in mean body weight at 7 days after birth and acceleration of separation of auricle were observed in the 2.0 g/kg/day group, whereas CAZ did not cause any significant changes in viability index, lactation index, behavior or reproductive performance of F₁, compared with the control group. No anomalies were observed in the F₂ generation.

These results suggest that the maximum no-effect dose level of CAZ on F₁ and F₂ generation is 0.5 g/kg/day.