

Ceftazidime の安全性に関する研究 (IX)

ラットにおける周産期および授乳期投与試験

古橋 忠和・加藤 育雄・野村 章・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 および 1.0 g/kg/day を, ラットの周産期および授乳期に静脈内投与し, 新生仔 (F_1 および F_2) に対する影響を検討した。

妊娠中の母獣については, 0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群では摂餌量の減少, 0.5 g/kg/day 以上の用量の投与群では体重増加量の抑制傾向がみられた。しかしながら, 分娩時の母獣に異常は認められなかった。また, 哺育期間中の母獣では, 0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で摂水量の増加が認められたのみであった。

母獣の剖検所見としては, 0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群において, 盲腸の拡張がみられた。

F_1 の出生率, 生存率, 哺育率については, 検体投与各群と対照群との間に有意差は認められなかった。出生時の F_1 で平均体重の減少が 0.5 g/kg/day 投与群では雌雄, 1.0 g/kg/day 投与群では雄にみられたが, その後の体重の推移に異常はなかった。3週齢時の F_1 の剖検において, 0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で盲腸の重量増加が認められた。

その他, F_1 の外形, 内臓, 骨格の異常, 生後分化, 機能・行動・学習検査および生殖能力について, 検体の影響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の周産期および授乳期投与試験での CAZ の最大無作用量は 0.25 g/kg/day 付近と考えられるが, 1.0 g/kg/day を投与しても母獣の生殖, F_1 および F_2 の発生, 生育に重篤な異常は認められなかった。

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て, ラットにおける周産期および授乳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 7/15) 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, 34.8% CAZ-pentahydrate 溶液に相当する。CAZ 溶液の調整法は以下に行なった。

CAZ-pentahydrate を秤量後滅菌ずみのビ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℃ 下で少なくとも 72 時間安定であることから, 検体調製は週3回行ない, 投与時まで4℃ 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 (F_1) 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 $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$, 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、ただし、哺育期間中のみ同社販売のホワイトフレック）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 ヶ月以内の 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）。

飼料水は、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 ヶ月に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 197～242 g, 雄 329～377 g）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 20 匹の妊娠ラットで構成した。

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試験の投与量を 0.25 g/kg/day, 0.5 g/kg/day および 1.0 g/kg/day と決定した。最高用量の 1.0 g/kg/day は成熟雌に2 週間連続して静注すると盲腸の拡張がみられるものの、体重変動に影響のみられない最大量であり、低用量の 0.25 g/kg/day は人体臨床推定量1 回 1 g, 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、妊娠中は妊娠7 日の体重を基準にして、分娩後は当日または前日の体重を基準にして算出し、妊娠17 日から分娩20 日後まで、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 1.0 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。

体重を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。

摂餌量を妊娠中に6 回、分娩後に2 回それぞれ3 ないし4 日間隔で、摂水量を摂餌量と同じ回数、それぞれ1 ないし2 日間隔で測定し、1 日1 匹当りの摂取量を算出した。

全妊娠動物は、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 匹として1 腹10 匹に淘汰した。但し、雌雄いずれかが5 匹未満の場合は少ない方の性を全例残し、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 日後に全動物をベ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）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、耳介展開（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、百分率で表示した。

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するラットの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、精巣上体、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、DAWSON¹⁾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²⁾、正向反射³⁾および痛覚³⁾による機能検査を行なった。4 週齢時に各腹雌雄各一匹の F₁ について、回転棒⁴⁾、傾斜板⁴⁾、瞳孔反射、筋弛緩⁴⁾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 F_1 について電撃回避試験⁵⁾による学習能力の検査を行なった。

F_1 は12週齢時に同一群内で各腹雌雄各1匹について兄妹交配を避けて雌雄1:1で同居させた。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ってさらに5日間同居させた。その結果、交尾を確認できない F_1 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剖検し肉眼的に内部臓器を観察し、生殖器官を病理組織学的に観察した。

各群の妊娠動物 (F_1) の約2/3について妊娠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、性別を検査した。

各群の妊娠動物 (F_1) 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 (F_2) 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、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、検体投与群と対照群との間で等分散の検定を行なったのち、分散が等しい場合には 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。死産率、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 WILCOXON⁶⁾ の順位和検定法を、 F_1 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

いずれの投与群も死亡例はなく、全例が妊娠を維持した。また、全例の妊娠期間中の一般症状に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。0.5 g/kg/day 以上の用量の投与群で投与直後から体重増加量に抑制傾向がみられ、妊娠0日から20日までの体重増加量では、0.5、1.0 g/kg/day 投与群ともに対照群との間に有意差が認められた。

摂餌量および摂水量については、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で妊娠後期に有意な減少がみられた。

2. 分娩中および哺育中の母獣

分娩中、分娩直後および哺育中の全母獣の一般症状に異常はみられなかった。

哺育期間中の体重変動、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、1.0 g/kg/day 投与群では分娩2日後に有意な減少、分娩18日後に有意な増加がそれぞれ対照群に比べて認められた。摂餌量に関しては、0.5 g/kg/day 投与群では分娩11日後に有意な増加、1.0 g/kg/day 投与群では分娩4日後に有意な減少が対照群に比べてみられた。摂水量に関しては、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で分娩9日後に対照群に比べて有意な増加が認められた。

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

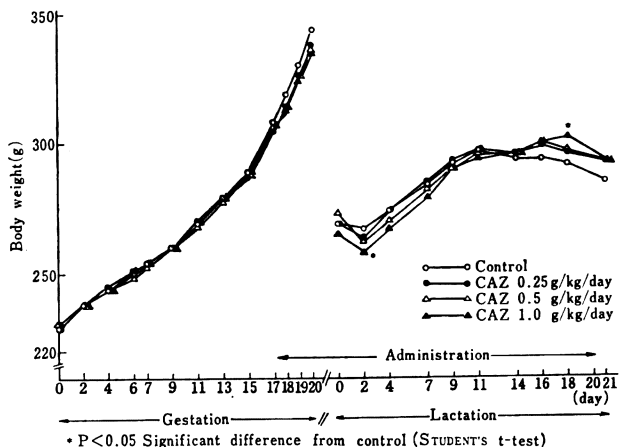


Fig. 2 Food intake of dams during gestation and lactation periods

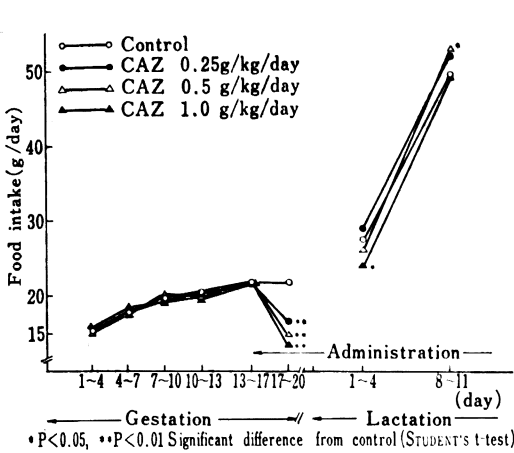


Fig. 3 Water intake of dams during gestation and lactation periods

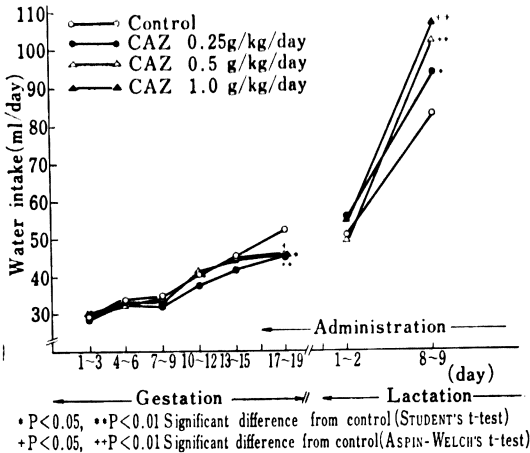


Table 1 Absolute and relative organ weight of reared dams

Compound	Control	CAZ		
Dose (g/kg)		0.25	0.5	1.0
No. of animals	20	20	20	20
Final B.W. (g)	285 ± 13	293 ± 16	293 ± 14	293 ± 14
Carcass (g)	194 ± 13	196 ± 12	190 ± 10	188 ± 12
(g%)	(68 ± 3)	(67 ± 2)	(65 ± 2**)	(64 ± 3**)
Heart (mg)	869 ± 74	867 ± 61	865 ± 74	834 ± 81
(mg%)	(305 ± 24)	(296 ± 20)	(295 ± 20)	(285 ± 25*)
Lung (g)	1.17 ± 0.14	1.16 ± 0.08	1.09 ± 0.10*	1.11 ± 0.10
(g%)	(0.41 ± 0.04)	(0.40 ± 0.03)	(0.37 ± 0.03**)	(0.38 ± 0.04*)
Liver (g)	12.0 ± 1.1	12.4 ± 1.2	12.5 ± 0.9	12.6 ± 1.3
(g%)	(4.2 ± 0.3)	(4.2 ± 0.3)	(4.3 ± 0.2)	(4.3 ± 0.3)
Kidneys (g)	2.16 ± 0.17	2.31 ± 0.21*	2.31 ± 0.11**	2.24 ± 0.19
(g%)	(0.76 ± 0.05)	(0.79 ± 0.06)	(0.79 ± 0.03*)	(0.77 ± 0.06)
Spleen (mg)	576 ± 87	613 ± 54	584 ± 63	575 ± 90
(mg%)	(202 ± 31)	(210 ± 20)	(200 ± 22)	(196 ± 31)
Adrenals (mg)	85 ± 11	83 ± 8	85 ± 13	83 ± 13
(mg%)	(30 ± 4)	(28 ± 3)	(29 ± 5)	(28 ± 4)
Thymus (mg)	146 ± 52	154 ± 37	143 ± 43	148 ± 69
(mg%)	(51 ± 16)	(52 ± 12)	(49 ± 14)	(51 ± 25)
Ovaries (mg)	88 ± 12	85 ± 10	82 ± 10	80 ± 14
(mg%)	(31 ± 4)	(29 ± 4)	(28 ± 3*)	(27 ± 5*)
Uterus (mg)	345 ± 109	270 ± 55 +	252 ± 53**	248 ± 51**
(mg%)	(121 ± 37)	(92 ± 18**)	(86 ± 18**)	(85 ± 19**)
Cecum+ (g)	12.6 ± 2.8	18.2 ± 3.4**	21.2 ± 5.2**	25.4 ± 6.9**
(g%)	(4.4 ± 1.0)	(6.2 ± 1.2**)	(7.2 ± 1.7**)	(8.6 ± 2.2**)
Cecum- (g)	2.86 ± 0.57	3.48 ± 0.62**	3.57 ± 0.60**	4.07 ± 0.69**
(g%)	(1.00 ± 0.19)	(1.19 ± 0.20**)	(1.22 ± 0.19**)	(1.39 ± 0.24**)

*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 contents
Cecum - : Cecum without contents

Table 2 Observation of F₁

Compound		Control	C A Z		
Dose (g / kg)			0.25	0.5	1.0
No. of litters		20	20	20	20
No. of implantations		(268)	(264)	(260)	(261)
		13.4±2.1	13.2±1.9	13.0±1.0	13.0±1.3
Mean delivery day		21.5±0.6	21.5±0.6	21.1±0.4 ⁺	21.4±0.5
No. of alive F ₁					
Postpartum day	0	(250)	(236)	(248)	(255)
		12.5± 2.5	11.8± 2.1	12.4± 1.5	12.8± 1.5
	1	(248)	(235)	(247)	(253)
		12.4± 2.6	11.8± 2.1	12.3± 1.5	12.6± 1.5
	4	(246)	(233)	(247)	(246)
After selection		12.3± 2.6	11.6± 2.0	12.3± 1.5	12.3± 1.5
		(192)	(194)	(199)	(198)
		9.6± 1.0	9.7± 1.1	9.9± 0.2	9.9± 0.4
	21	(187)	(192)	(198)	(188)
		9.3± 1.5	9.6± 1.2	9.9± 0.3	9.4± 2.3
No. of dead F ₁					
at birth		5 / 268	4 / 264	3 / 260	1 / 261
	(%)	(1.9)	(1.5)	(1.2)	(0.4)
Postpartum day	1	2 / 250	1 / 236	1 / 248	2 / 255
	(%)	(0.8)	(0.4)	(0.4)	(0.8)
	2—4	2 / 250	2 / 236	0 / 248	7 / 255
	(%)	(0.8)	(0.8)	(0.0)	(2.7)
	5—21	5 / 192	2 / 194	1 / 199	10 / 198
	(%)	(2.6)	(1.0)	(0.5)	(5.1)
Sex ratio of newborn		115 / 135	109 / 127	118 / 130	126 / 129
(Male/Female)		(0.85)	(0.86)	(0.91)	(0.98)
Live birth index	(A)	250 / 268	236 / 264	248 / 260	255 / 261
	(%)	(93.3)	(89.4)	(95.4)	(97.7)
Viability index	(B)	246 / 250	233 / 236	247 / 248	246 / 255
	(%)	(98.4)	(98.7)	(99.6)	(96.5)
Lactation index	(C)	187 / 192	192 / 194	198 / 199	188 / 198
	(%)	(97.4)	(99.0)	(99.5)	(94.9)
External malformation		0 / 250	0 / 236	0 / 248	0 / 255
Visceral examination of F ₁		187	192	198	188
Dilatation of renal pelvis		5	2	4	5
(%)		(2.7)	(1.0)	(2.0)	(2.7)
Hydronephrosis		0	0	1	0
(%)		(0.0)	(0.0)	(0.5)	(0.0)
Atrophy of testis		1	0	1	0
(%)		(1.1)	(0.0)	(1.1)	(0.0)
Atrophy of epididymis		0	0	1	0
(%)		(0.0)	(0.0)	(1.1)	(0.0)
Atrophy of seminal vesicle		0	0	1	0
(%)		(0.0)	(0.0)	(1.1)	(0.0)

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

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

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

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

Table 3 Postnatal development of F₁

Compound			Control	CAZ		
Dose (g/kg)				0.25	0.5	1.0
No. of litters			20	20	20	20
Separation of auricle	day	2	17 / 247	42 / 233	2 / 247	17 / 251
		(%)	(6.9)	(18.0)	(0.8)	(6.8)
		3	126 / 247	132 / 233	56 / 247*	111 / 250
		(%)	(51.0)	(56.7)	(22.7)	(44.4)
		4	244 / 246	232 / 233	241 / 247	229 / 246
Appearance of abdominal hair	day	(%)	(99.2)	(99.6)	(97.6)	(93.1)
		5	192 / 192	194 / 194	199 / 199	187 / 188
		(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(99.5)
		9	2 / 192	8 / 194	0 / 199	0 / 188
		(%)	(1.0)	(4.1)	(0.0)	(0.0)
Odontiasis	day	10	36 / 192	52 / 194	22 / 199	9 / 188
		(%)	(18.8)	(26.8)	(11.1)	(4.8)
		11	94 / 191	129 / 193	87 / 199	101 / 188
		(%)	(49.2)	(66.8)	(43.7)	(53.7)
		12	168 / 191	180 / 192	188 / 199	150 / 188
Eyelids opening	day	(%)	(88.0)	(93.8)	(94.5)	(79.8)
		10	0 / 192	0 / 194	0 / 199	1 / 188
		(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.5)
		11	13 / 191	4 / 193	4 / 199	4 / 188
		(%)	(6.8)	(2.1)	(2.0)	(2.1)
Descent of testes	week	12	40 / 191	33 / 192	35 / 199	32 / 188
		(%)	(20.9)	(17.2)	(17.6)	(17.0)
		13	107 / 191	91 / 192	89 / 199	88 / 188
		(%)	(56.0)	(47.4)	(44.7)	(46.8)
		14	159 / 191	153 / 192	147 / 199	156 / 188
Vaginal opening	week	(%)	(83.2)	(79.7)	(73.9)	(83.0)
		15	0 / 189	14 / 192	0 / 199	0 / 188
		(%)	(0.0)	(7.3)	(0.0)	(0.0)
		16	34 / 189	61 / 192	16 / 198	20 / 188
		(%)	(18.0)	(31.8)	(8.1)	(10.6)
Vaginal opening	week	17	91 / 189	124 / 192	106 / 198	114 / 188
		(%)	(48.1)	(64.6)	(53.5)	(60.6)
		18	147 / 189	185 / 192	185 / 198	181 / 188
		(%)	(77.8)	(96.4)	(93.4)	(96.3)
		19	182 / 189	192 / 192	195 / 198	188 / 188
Vaginal opening	week	(%)	(96.3)	(100.0)	(98.5)	(100.0)
		3	86 / 88	91 / 91	90 / 92	84 / 92
		(%)	(97.7)	(100.0)	(97.8)	(91.3)
		4	56 / 56	55 / 55	57 / 57	55 / 55
		(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Vaginal opening	week	5	56 / 56	55 / 55	57 / 57	55 / 55
		(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
		5	7 / 59	2 / 58	4 / 60	0 / 57
		(%)	(11.9)	(3.4)	(6.7)	(0.0)
		6	56 / 59	50 / 58	48 / 60	54 / 57
Vaginal opening	week	(%)	(94.9)	(86.2)	(80.0)	(94.7)
		7	59 / 59	58 / 58	60 / 60	57 / 57
		(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)

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

Table 4 Body weight change of F₁ (male)

Compound	Control	CAZ		
Dose (g/kg)		0.25	0.5	1.0
No. of litters	20	20	20	20
day 0	5.8±0.4	5.9±0.6	5.5±0.3*	5.5±0.4*
4	8.3±1.1	9.1±1.6	8.2±0.6	7.9±1.1
7	12.2±1.9	13.3±2.1	12.2±0.8	11.8±1.2
14	22.4±4.2	24.7±3.3	23.3±1.5	22.3±2.6
21	35.3±5.1	39.6±5.8*	36.6±2.4	35.8±4.6
Body weight (g)				
28	62 ±10	66 ±7	62 ±5	61 ±8
35	98 ±13	104 ±12	97 ±10	97 ±10
42	145 ±17	155 ±17	145 ±13	143 ±15
49	191 ±20	205 ±20*	195 ±15	191 ±19
56	235 ±22	251 ±21*	240 ±17	234 ±20
63	274 ±22	291 ±24*	281 ±17	273 ±21
70	307 ±22	327 ±26*	316 ±18	308 ±24
77	334 ±23	355 ±28*	345 ±19	335 ±25
84	358 ±25	379 ±31*	371 ±19	360 ±26

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

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

Table 5 Body weight change of F₁ (female)

Compound	Control	CAZ		
Dose (g/kg)		0.25	0.5	1.0
No. of litters	20	20	20	20
day 0	5.5±0.5	5.6±0.5	5.2±0.3*	5.3±0.4
4	8.1±1.0	8.6±1.2	7.8±0.6	7.7±1.1
7	12.0±1.5	12.5±1.6	11.7±0.6	11.5±1.1
14	22.3±2.5	23.8±3.0	22.5±1.3	21.7±2.0
21	34.9±5.1	38.1±5.2	36.0±2.0	35.0±3.3
Body weight (g)				
28	59 ±8	61 ±6	59 ±4	59 ±5
35	90 ±10	91 ±9	89 ±5	88 ±7
42	124 ±11	125 ±10	123 ±7	122 ±7
49	150 ±11	153 ±9	150 ±8	150 ±8
56	172 ±11	175 ±10	172 ±8	173 ±8
63	193 ±11	195 ±12	193 ±8	195 ±9
70	211 ±10	214 ±12	212 ±9	214 ±9
77	225 ±11	229 ±13	226 ±9	229 ±11
84	237 ±11	241 ±14	240 ±10	242 ±11

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

3. 母獣の剖検所見

剖検時の肉眼的観察では、盲腸の拡張が 0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群でみられた。その他、腎盂拡張および腎の退色が 1.0 g/kg/day 投与群の各 1 例の母獣に認められた。

臓器重量を Table 1 に示した。0.25 g/kg/day 以上の投与群では子宮の絶対および相対重量の減少、内容物を含む盲腸ならびに含まない盲腸の絶対および相対重量の増加、0.5 g/kg/day 以上の投与群ではカーカス、肺、

卵巣の相対重量の減少、1.0 g/kg/day 投与群では心臓の相対重量の減少がそれぞれ対照群に比べて有意に、かつ、用量関連性をもってみられた。

4. 出生時、哺育期間ならびに育成中の F₁ の観察
対照群および検体投与各群の平均着床数、平均妊娠期間、平均出生仔数、死亡率、性比、出生率、生存率、哺育率を Table 2 に示した。1.0 g/kg/day 投与群の 1 母獣の F₁ が、生後 5 日までに全例死亡した。そのため、同群の生存率 (96.5%)、哺育率 (94.9%) は、対照群

Table 6 Absolute and relative organ weight of 21 days old F₁ (male)

Compound		Control	CAZ		
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0
No. of litters		18	15	17	18
Final B.W.	(g)	33.9±5.8	38.1±5.7*	35.9±3.3	35.9±4.9
Carcass	(g)	25.3±4.1	28.1±3.7	26.9±2.1	26.1±3.8
	(g%)	(74.9±1.9)	(74.0±1.9)	(75.1±1.7)	(72.7±5.2)
Heart	(mg)	172 ±33	188 ±28	182 ±23	174 ±28
	(mg%)	(509±49)	(494±34)	(509±51)	(486±61)
Lung	(mg)	341 ±48	370 ±45	350 ±30	338 ±51
	(mg%)	(1027±154)	(985±127)	(983±102)	(949±134)
Liver	(g)	1.22±0.22	1.44±0.30*	1.34±0.17	1.36±0.29
	(g%)	(3.61±0.22)	(3.77±0.30)	(3.73±0.26)	(3.75±0.46)
Kidneys	(mg)	400 ±68	447 ±79	426 ±44	404 ±73
	(mg%)	(1182±66)	(1170±61)	(1187±61)	(1126±126)
Spleen	(mg)	111 ±27	130 ±37	114 ±16	110 ±36
	(mg%)	(323±39)	(337±57)	(316±34)	(302±68)
Testes	(mg)	140 ±32	159 ±28	155 ±21	144 ±28
	(mg%)	(411±42)	(417±37)	(434±47)	(400±58)
Cecum +	(mg)	450 ±182	774 ±309**	783 ±229**	884 ±268**
	(mg%)	(1281±377)	(1985±566**)	(2175±614**)	(2431±608**)
Cecum -	(mg)	161 ±44	236 ±60**	192 ±46 *	234 ±69**
	(mg%)	(473±97)	(616±106**)	(534±116)	(646±164**)

*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)

Cecum+ : Cecum with contents

Cecum- : Cecum without contents

の生存率 (98.4%), 哺育率 (97.4%) に比べて若干低下傾向を示した。0.5 g/kg/day 投与群では、平均妊娠期間の減少を示したが、投与量に関連する変動ではなかった。なお、平均着床数、性比、出生率、生存率、哺育率に関しては、対照群と検体投与各群との間に有意差はみられなかった。

外形異常は、全群で1例も認められなかった。F₁の生後の分化状態を Table 3 に示した。0.5 g/kg/day 投与群で、生後3日の耳介展開率に有意差が生じたが、投与量に関連した変動ではなかった。その他、発毛率、切歯萌出率、眼瞼開裂率、精巣下降率および腔開口率については、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。F₁の平均体重の推移を Table 4, 5 に示した。0.5 g/kg/day 投与群では生後0日の雌雄の体重、1.0 g/kg/day 投与群では生後0日の雄の体重に有意な減少がみられたが、その後の体重の推移に異常はなかった。また、0.25 g/kg/day 投与群では、生後21日および生後49日以降84日までの雄の体重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。

5. F₁の剖検所見、臓器重量および骨格観察

剖検時の肉眼的観察の結果を Table 2 に示した。腎盂拡張が対照群、0.25, 0.5 および 1.0 g/kg/day 投与群で5, 2, 4 および5例、水腎症 (Photo 1) が0.5 g/kg/day 投与群で1例、精巣萎縮が対照群、0.5 g/kg/day 投与群で各1例、精巣上体の萎縮が0.5 g/kg/day 投与群で1例、精のうの萎縮が0.5 g/kg/day 投与群で1例にそれぞれ認められた。しかしながら、これらの異常所見は用量に関連したものではなく、偶発例と考えられた。

3週齢時の臓器重量を Table 6, 7 に示した。0.25 g/kg/day 以上の投与群で雌雄ともに内容物を含むと含まないにかかわらず盲腸の絶対重量および相対重量に有意な増加が認められた。その他、検体投与群でカーカス、肝臓、腎臓の絶対または相対重量が有意差を示したが、軽度な変動であった。

12週齢時の臓器重量を Table 8, 9 に示した。検体投与群でカーカス、肝臓、腎臓、胸腺、精巣の絶対または相対重量に有意差が認められたが、3週齢時と同様に軽度な変動であり、薬物に起因するものとは考えられなかった。

生後4日および21日の骨格観察の結果を Table 10

Table 7 Absolute and relative organ weight of 21 days old F₁ (female)

Compound	Dose (g/kg)	Control	CAZ		
			0.25	0.5	1.0
No. of litters		19	17	18	18
Final B.W.	(g)	34.6 ± 6.4	38.8 ± 5.8*	35.9 ± 3.0	34.8 ± 3.8
Carcass	(g)	25.9 ± 4.6	29.0 ± 4.1*	26.9 ± 1.9	25.8 ± 2.7
	(g%)	(74.9 ± 1.5)	(74.7 ± 1.9)	(75.2 ± 1.8)	(74.2 ± 1.5)
Heart	(mg)	174 ± 30	192 ± 29	185 ± 15	173 ± 19
	(mg%)	(507 ± 49)	(496 ± 35)	(518 ± 44)	(498 ± 47)
Lung	(mg)	335 ± 48	357 ± 40	345 ± 20	328 ± 37
	(mg%)	(988 ± 146)	(931 ± 109)	(967 ± 80)	(951 ± 120)
Liver	(g)	1.28 ± 0.24	1.50 ± 0.26*	1.42 ± 0.14*	1.37 ± 0.15
	(g%)	(3.71 ± 0.42)	(3.85 ± 0.22)	(3.95 ± 0.31)	(3.94 ± 0.17*)
Kidneys	(mg)	439 ± 87	476 ± 84	459 ± 37	418 ± 46
	(mg%)	(1276 ± 130)	(1224 ± 84)	(1282 ± 68)	(1204 ± 68*)
Spleen	(mg)	117 ± 33	138 ± 37	123 ± 18	112 ± 25
	(mg%)	(335 ± 42)	(351 ± 48)	(341 ± 45)	(320 ± 44)
Ovaries	(mg)	10.4 ± 3.4	11.9 ± 2.9	9.8 ± 3.1	10.3 ± 3.2
	(mg%)	(29.8 ± 7.0)	(30.7 ± 7.1)	(27.5 ± 8.5)	(29.5 ± 8.3)
Cecum +	(mg)	448 ± 194	726 ± 299**	851 ± 272**	881 ± 232**
	(mg%)	(1254 ± 349)	(1855 ± 678**)	(2343 ± 646**)	(2520 ± 558**)
Cecum -	(mg)	176 ± 51	237 ± 51**	206 ± 55	227 ± 57**
	(mg%)	(510 ± 111)	(612 ± 105**)	(568 ± 132)	(651 ± 140**)

* 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 contents

Cecum- : Cecum without contents

に示した。生後4日の骨格観察において、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、腰椎の減形成が対照群で2例、14肋骨が対照群、0.5および1.0 g/kg/day 投与群で2、2および3例、第5、6胸骨間の副核形成が0.5 g/kg/day 投与群で1例にそれぞれみられたが、投与量に関連する変動ではなく、かつ、その発現頻度に有意差はなかった。また、骨化程度に関しても、検体投与各群と対照群との間に有意差はなかった。

生後21日の骨格観察においても、生後4日と同様に骨格異常は認められなかった。骨格変異としては、第13肋骨の欠損が対照群で1例に認められた。また、0.25 g/kg/day 投与群では、骨化尾椎骨数が有意な増加を示したが、投与量には関連せず、薬物に起因した変動とは考えられなかった。

6. F₁ の機能、行動および学習検査

Table 11, 12 に示したように、検体投与各群において F₁ の離乳時の機能検査(正向反射、痛覚、角膜反射)において、雌雄の全例に異常はみられなかった。なお、対照群の雄の角膜反射において、1例が異常を示しているが、これは、このとき、眼瞼開裂を終了していない F₁ が1例あったことによるものである。4週齢時に行なった行動検査(筋弛緩、瞳孔反射、回転棒、傾斜板)の結果でも、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。7~8週齢で行なった学習試験において、0.5 g/kg/day 投与群では雄、1.0 g/kg/day 投与群では雌に有意差が認められたが軽度な変動であった。

7. F₁ の生殖所見

F₁ の交尾率および妊娠率については Table 13 に示したように、対照群と検体投与各群との間に有意差はな

Table 8 Absolute and relative organ weight of 12 weeks old F₁ (male)

Compound		Control	CAZ		
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0
No. of litters		19	18	20	18
Final B.W.	(g)	350 ± 33	372 ± 29*	363 ± 22	362 ± 30
Carcass	(g)	270 ± 25	284 ± 20	277 ± 18	278 ± 20
	(g%)	(77 ± 2)	(76 ± 1)	(76 ± 2)	(77 ± 3)
Heart	(mg)	1074 ± 113	1119 ± 84	1113 ± 87	1066 ± 102
	(mg%)	(307 ± 26)	(301 ± 21)	(307 ± 21)	(295 ± 25)
Lung	(mg)	1314 ± 136	1341 ± 87	1303 ± 103	1283 ± 115
	(mg%)	(376 ± 37)	(361 ± 25)	(360 ± 36)	(355 ± 31)
Liver	(g)	13.5 ± 1.7	14.7 ± 1.4*	14.1 ± 1.4	13.7 ± 1.7
	(g%)	(3.8 ± 0.3)	(4.0 ± 0.2)	(3.9 ± 0.3)	(3.8 ± 0.4)
Kidneys	(g)	2.44 ± 0.22	2.60 ± 0.25	2.52 ± 0.23	2.37 ± 0.24
	(g%)	(0.70 ± 0.04)	(0.70 ± 0.05)	(0.69 ± 0.05)	(0.66 ± 0.05**)
Spleen	(mg)	716 ± 73	718 ± 118	729 ± 94	727 ± 115
	(mg%)	(205 ± 22)	(193 ± 27)	(201 ± 27)	(201 ± 33)
Adrenals	(mg)	56 ± 9	60 ± 11	61 ± 8	57 ± 6
	(mg%)	(16 ± 3)	(16 ± 3)	(17 ± 2)	(16 ± 2)
Thymus	(mg)	396 ± 89	370 ± 67	374 ± 77	368 ± 69
	(mg%)	(113 ± 24)	(99 ± 15*)	(103 ± 20)	(102 ± 20)
Testes	(g)	3.18 ± 0.20	3.24 ± 0.21	3.23 ± 0.19	3.12 ± 0.21
	(g%)	(0.91 ± 0.06)	(0.87 ± 0.06)	(0.89 ± 0.07)	(0.87 ± 0.07*)
Epididymides	(mg)	913 ± 93	932 ± 76	924 ± 94	920 ± 76
	(mg%)	(261 ± 19)	(251 ± 23)	(255 ± 25)	(255 ± 19)
Sem. Ves	(mg)	590 ± 100	565 ± 110	558 ± 87	619 ± 110
	(mg%)	(170 ± 34)	(153 ± 33)	(154 ± 25)	(172 ± 33)
Prostate	(mg)	298 ± 71	335 ± 83	316 ± 58	292 ± 61
	(mg%)	(85 ± 20)	(90 ± 21)	(87 ± 18)	(81 ± 17)
Cecum +	(g)	5.9 ± 0.8	6.3 ± 1.0	5.9 ± 0.8	6.2 ± 1.3
	(g%)	(1.7 ± 0.2)	(1.7 ± 0.2)	(1.6 ± 0.2)	(1.7 ± 0.3)
Cecum -	(g)	1.49 ± 0.23	1.48 ± 0.17	1.47 ± 0.21	1.54 ± 0.21
	(g%)	(0.43 ± 0.06)	(0.40 ± 0.05)	(0.40 ± 0.05)	(0.43 ± 0.06)

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

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

Cecum+: Cecum with contents

Cecum-: Cecum without contents

Table 9 Absolute and relative organ weight of 12 weeks old F₁ (female)

Compound		Control	CAZ		
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0
No. of litters		20	19	20	19
Final B.W.	(g)	236 ± 14	242 ± 13	240 ± 11	243 ± 13
Carcass	(g)	183 ± 11	188 ± 9	185 ± 8	186 ± 11
	(g%)	(78± 1)	(77± 1)	(77± 1)	(77± 1*)
Heart	(mg)	767 ± 80	766 ± 63	778 ± 67	784 ± 62
	(mg%)	(325± 24)	(316± 22)	(324± 23)	(324± 21)
Lung	(mg)	1088 ± 106	1092 ± 76	1066 ± 140	1109 ± 75
	(mg%)	(462± 43)	(451± 26)	(443± 47)	(457± 25)
Liver	(g)	8.4±0.7	8.4±0.8	8.5±1.0	8.9±1.1
	(g%)	(3.6±0.2)	(3.5±0.2)	(3.5±0.3)	(3.7±0.3)
Kidneys	(g)	1.64±0.14	1.67±0.12	1.69±0.13	1.71±0.13
	(g%)	(0.70±0.05)	(0.69±0.04)	(0.70±0.03)	(0.71±0.04)
Spleen	(mg)	590 ± 82	599 ± 114	580 ± 96	606 ± 105
	(mg%)	(250± 34)	(248± 51)	(241± 34)	(250± 42)
Adrenals	(mg)	70 ± 12	69 ± 9	67 ± 8	71 ± 8
	(mg%)	(30± 4)	(29± 4)	(28± 3)	(29± 3)
Thymus	(mg)	366 ± 60	389 ± 60	357 ± 64	381 ± 49
	(mg%)	(155± 22)	(160± 24)	(148± 24)	(157± 20)
Ovaries	(mg)	81 ± 8	85 ± 13	77 ± 13	83 ± 12
	(mg%)	(34± 4)	(35± 5)	(32± 6)	(34± 5)
Uterus	(mg)	408 ± 118	427 ± 113	405 ± 117	404 ± 74
	(mg%)	(174± 55)	(176± 46)	(169± 51)	(167 ± 32)
Cecum ⁺	(g)	4.7±0.8	4.8±0.8	4.9±0.8	5.0±0.9
	(g%)	(2.0±0.3)	(2.0±0.3)	(2.0±0.3)	(2.1±0.4)
Cecum ⁻	(g)	1.18±0.18	1.19±0.17	1.21±0.18	1.23±0.15
	(g%)	(0.50±0.06)	(0.49±0.05)	(0.51±0.07)	(0.51±0.05)

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

Cecum⁺ : Cecum with contents

Cecum⁻ : Cecum without contents

Table 10 Skeletal examination of F₁
— day 4, day 21 —

Compound	Control	CAZ		
Dose (g/kg)		0.25	0.5	1.0
No. of litters	16	16	18	18
No. of F ₁ examined (day 4)	54	39	48	48
Malformation (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Variations				
Five lumbar vertebrae (%)	2 (3.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
14th rib (%)	2 (3.7)	0 (0.0)	2 (4.2)	3 (6.3)
Accessory sternebra (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.1)	0 (0.0)
Degree of ossification				
No. of caudal vertebrae	20.3± 1.5	21.1± 1.4	19.7± 1.6	20.3± 2.2
Fore limb bones				
Distal phalanx	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
Proximal phalanx	8.0± 0.1	8.3± 0.6	8.0± 0.0	8.1± 0.3
Metacarpal bone	8.0± 0.0	8.0± 0.0	8.0± 0.0	8.0± 0.0
Hind limb bones				
Distal phalanx	10.0± 0.0	10.0± 0.0	10.0± 0.0	10.0± 0.0
Middle phalanx	7.7± 0.7	8.0± 0.2	8.0± 0.0	7.4± 1.9
Proximal phalanx	10.0± 0.0	10.0± 0.0	10.0± 0.0	10.0± 0.0
Metatarsal bone	10.0± 0.0	10.0± 0.0	10.0± 0.0	10.0± 0.0
Talus (%)	44 (81.5)	36 (92.3)	33 (68.8)	44 (91.7)
Calcaneus (%)	54 (100.0)	39 (100.0)	48 (100.0)	48 (100.0)
No. of F ₁ examined (day 21)	71	79	81	76
Variation ,				
Loss of 13th rib (%)	1 (1.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Degree of ossification				
No. of caudal vertebrae	27.1± 0.6	27.5± 0.6*	27.3± 0.3	27.2± 0.5

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

Table 11 Sense, behavior and avoidance response test of F₁ (male)

Compound		CAZ		
Dose (g/kg)	Control	0.25	0.5	1.0
No. of litters	19	20	20	19
Sense test				
Righting reflex	88/88	91/91	94/94	92/92
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Pain response	88/88	91/91	94/94	92/92
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Corneal reflex	87/88	91/91	94/94	92/92
(%)	(98.9)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Traction	19/19	18/18	20/20	18/18
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Light reflex	19/19	18/18	20/20	18/18
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Behavior test				
Rotating rod	17/19	15/18	18/20	15/18
(%)	(89.5)	(83.3)	(90.0)	(83.3)
Sliding angle (°)	49.9±4.1	51.1±3.1	51.5±2.9	51.9±3.9
Avoidance response test				
day 1	8.6±9.0	6.3±9.3	12.2±14.7	6.7±9.4
2	27.7±20.2	30.9±29.5	47.2±31.7*	24.4±26.5
Avoidance 3	53.3±28.4	55.0±32.1	66.8±29.4	42.0±31.2
(%) 4	68.8±24.3	69.6±24.1	78.3±18.7	57.0±33.5
5	58.4±29.9	71.7±22.1	83.5±14.5**	59.3±32.7

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

かった。また、交尾しなかった雌雄の生殖器の病理組織学検査の結果、全例に異常はみられなかった。

8. F₁ の胎仔および新生仔の観察所見

F₁ の胎仔 (F₂) の観察結果は Table 14 に示したように、1.0 g/kg/day 投与群で雌の胎盤重量に有意な減少がみられたが、軽度な変動であった。また、平均黄体数、平均着床数、平均生存胎仔数、死胚率、性比、体長、尾長および体重について、対照群と検体投与各群との間に有意差はなかった。胎盤癒着が対照群で2例にみられた。外形異常としては、右側前肢の減形成 (Photo. 2) が対照群で1例にみられたのみであった。

F₁ の次世代 (F₂) の観察結果を Table 15 に示した。平均着床数、平均妊娠期間、平均出生仔数、死亡率、出生率、生存率および哺育率について、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。また、外形異常は対照群、検体投与各群ともに1例も観察されなかった。

F₂ の生後の分化状態を Table 16 に示した。耳介展開率、発毛率、切歯萌出率、眼瞼開裂率のいずれについても対照群と検体投与各群との間に有意差はなかった。

F₂ の体重の推移については Table 17, 18 に示したように、0.25 および 1.0 g/kg/day 投与群で雄の生後0日に対照群に比べて有意な増加が認められたのみであった。

F₂ の生後21日の剖検の結果、対照群を含む全群で異常はみられなかった。

III. 考 察

CAZ の 0.25, 0.5 および 1.0 g/kg/day をラットの周産期および授乳期に尾静脈内へ投与し、新生仔 (F₁) に対する影響を検討した。

CAZ のラットにおける器官形成期投与試験では、妊娠中の母獣で体重増加量の抑制、摂餌量の減少、摂水量の増加、盲腸の重量増加が報告されている⁵⁾。本試験でも、0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で妊娠後期に摂餌量の減少、摂水量の増加、盲腸重量の増加、0.5 g/kg/day 以上の用量の投与群で体重増加量の抑制が認められ、前報と同様に CAZ の影響により上記の変動は生じると考えられた。しかしながら、母獣に死亡例、流産例はみられず、かつ、分娩時および哺育中の母獣に異常は観察されないことから、CAZ の母獣に対する影響は軽

Table 12 Sense, behavior and avoidance response test of F₁ (female)

Compound		Control	CAZ		
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0
No. of litters		20	20	20	19
Sense test					
Righting reflex		99/99	101/101	104/104	96/96
(%)		(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Pain response		99/99	101/101	104/104	96/96
(%)		(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Corneal reflex		99/99	101/101	104/104	96/96
(%)		(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Traction		20/20	19/19	20/20	19/19
(%)		(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Light reflex		20/20	19/19	20/20	19/19
(%)		(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
Behavior test					
Rotating rod		20/20	19/19	20/20	16/19
(%)		(100.0)	(100.0)	(100.0)	(84.2)
Sliding angle (°)		50.1±4.2	51.6±4.4	52.3±2.8	50.6±3.3
Avoidance response test					
day 1		7.5±9.6	14.4±20.0	9.3±8.7	5.1±5.4
2		36.3±30.7	45.3±28.4	40.2±27.0	27.0±27.4
Avoidance 3		67.3±24.9	66.5±25.6	64.7±27.6	50.4±31.4
(%) 4		75.3±18.9	79.7±20.2	74.3±22.8	58.6±30.5
5		79.8±16.4	79.5±19.3	73.2±23.3	59.8±32.9*

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

Table 13 Copulation and fertility index (%) of F₁

Compound		Control	CAZ		
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0
Copulation index	Male	18/20	18/20	19/20	18/20
	(%)	(90.0)	(90.0)	(95.0)	(90.0)
Fertility index	Male	17/18	17/18	19/19	18/18
	(%)	(94.4)	(94.4)	(100.0)	(100.0)
Copulation index	Female	17/20	16/20	17/20	19/20
	(%)	(85.0)	(80.0)	(85.0)	(95.0)
Fertility index	Female	16/17	15/16	17/17	18/19
	(%)	(94.1)	(93.8)	(100.0)	(94.7)
No. of dams (F ₁) used caesarean section		10	10	10	11
No. of dams (F ₁) used lactation study		6	5	7	7
No. of dams (F ₁) delivered F ₂		6	5	7	7
No. of dead dams(F ₁)at delivery		0	0	0	0

Table 14 Observation of fetuses from F₁ dams

Compound	Control	CAZ		
Dose (g/kg)		0.25	0.5	1.0
No. of animals (F ₁)	10	10	10	11
No. of corpora lutea	(145) 14.5± 2.2	(156) 15.6± 1.8	(152) 15.2± 1.5	(166) 15.1± 1.5
Preimplantation loss (%)	9 / 145 (6.2)	3 / 156 (1.9)	6 / 152 (3.9)	6 / 166 (3.6)
No. of implantations	(136) 13.6± 2.1	(153) 15.3± 1.8	(146) 14.6± 1.7	(160) 14.5± 1.7
No. of dead implantations				
Resorptions (%)	3 / 136 (2.2)	1 / 153 (0.7)	1 / 146 (0.7)	3 / 160 (1.9)
Placental remnants (%)	0 / 136 (0.0)	3 / 153 (2.0)	2 / 146 (1.4)	0 / 160 (0.0)
Macerated fetuses (%)	0 / 136 (0.0)	1 / 153 (0.7)	0 / 146 (0.0)	0 / 160 (0.0)
Dead fetuses (%)	0 / 136 (0.0)	0 / 153 (0.0)	0 / 146 (0.0)	0 / 160 (0.0)
Total dead implantations (%)	3 / 136 (2.2)	5 / 153 (3.3)	3 / 146 (2.1)	3 / 160 (1.9)
No. of live fetuses	(133) 13.3± 2.3	(148) 14.8± 1.8	(143) 14.3± 1.7	(157) 14.3± 1.4
Sex ratio (Male / Female)	64 / 69 (0.93)	79 / 69 (1.14)	79 / 64 (1.23)	75 / 82 (0.91)
Body length (mm)				
Male	38.4± 0.5	38.9± 1.0	38.7± 1.5	38.7± 0.7
Female	37.6± 1.1	38.5± 0.9	38.0± 1.0	38.1± 0.5
Tail length (mm)				
Male	14.0± 0.5	14.2± 0.6	13.9± 1.1	13.9± 0.6
Female	13.6± 0.7	14.0± 0.6	13.9± 0.6	14.0± 0.3
Body weight (g)				
Male	3.68± 0.18	3.60± 0.19	3.78± 0.23	3.66± 0.18
Female	3.41± 0.23	3.48± 0.20	3.48± 0.21	3.47± 0.17
Placental weight (mg)				
Male	488 ± 53	461 ± 42	458 ± 43	454 ± 44
Female	490 ± 57	446 ± 41	446 ± 27	446 ± 35*
Adhesion of placenta	2	0	0	0
External malformations				
Reduction deformity of forelimb	1	0	0	0

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

Table 15 Observation of F₂

Compound		Control	CAZ		
Dose (g / kg)			0.25	0.5	1.0
No. of litters (F ₁)		6	5	7	7
No. of implants		(78)	(68)	(100)	(96)
		13.0 ± 1.3	13.6 ± 1.1	14.3 ± 1.1	13.7 ± 4.0
Mean delivery day		21.5 ± 0.5	21.6 ± 0.5	21.9 ± 0.4	21.9 ± 0.4
No. of alive F ₁					
Postpartum day	0	(76)	(66)	(96)	(89)
		12.7 ± 1.8	13.2 ± 1.6	13.7 ± 1.0	12.7 ± 3.6
	1	(76)	(66)	(96)	(86)
		12.7 ± 1.8	13.2 ± 1.6	13.7 ± 1.0	12.3 ± 3.5
	4	(76)	(66)	(95)	(85)
		12.7 ± 1.8	13.2 ± 1.6	13.6 ± 1.0	12.1 ± 3.5
After selection		(60)	(50)	(70)	(65)
		10.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0	9.3 ± 1.9
	21	(54)	(42)	(55)	(59)
		9.0 ± 1.3	8.4 ± 1.8	7.9 ± 2.0	8.4 ± 2.2
No. of dead F ₁					
at birth		1 / 78	1 / 68	1 / 100	2 / 96
(%)		(1.3)	(1.5)	(1.0)	(2.1)
Postpartum day	1	0 / 76	0 / 66	0 / 96	3 / 89
	(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(3.4)
	2—4	0 / 76	0 / 66	1 / 96	1 / 89
	(%)	(0.0)	(0.0)	(1.0)	(1.1)
	5—21	6 / 60	8 / 50	15 / 70	6 / 65
	(%)	(10.0)	(16.0)	(21.4)	(9.2)
Sex ratio of newborn		37 / 39	37 / 29	41 / 55	42 / 47
(Male / Female)		(0.95)	(1.28)	(0.75)	(0.89)
Live birth index	(A)	76 / 78	66 / 68	96 / 100	89 / 96
	(%)	(97.4)	(97.1)	(96.0)	(92.7)
Viability index	(B)	76 / 76	66 / 66	95 / 96	85 / 89
	(%)	(100.0)	(100.0)	(99.0)	(95.5)
Lactation index	(C)	54 / 60	42 / 50	55 / 70	59 / 65
	(%)	(90.0)	(84.0)	(78.6)	(90.8)
External malformation		0 / 76	0 / 66	0 / 96	0 / 89

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

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

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

Table 16 Postnatal development of F₂

Compound		Control	CAZ		
Dose (g/kg)			0.25	0.5	1.0
No. of litters		6	5	7	7
Separation of auricle	day 2	0 / 76	0 / 66	7 / 95	5 / 85
	(%)	(0.0)	(0.0)	(7.4)	(5.9)
	3	41 / 76	33 / 66	70 / 95	59 / 85
	(%)	(53.9)	(50.0)	(73.7)	(69.4)
	4	76 / 76	49 / 51	95 / 95	85 / 85
	(%)	(100.0)	(96.1)	(100.0)	(100.0)
Appearance of abdominal hair	5	60 / 60	50 / 50	70 / 70	64 / 64
	(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
	day 9	0 / 60	0 / 49	0 / 69	0 / 64
	(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
	10	4 / 59	0 / 49	8 / 66	6 / 64
	(%)	(6.8)	(0.0)	(12.1)	(9.4)
Odontiasis	11	28 / 59	34 / 49	42 / 65	33 / 62
	(%)	(47.5)	(69.4)	(64.6)	(53.2)
	12	50 / 58	47 / 49	59 / 64	51 / 61
	(%)	(86.2)	(95.9)	(92.2)	(83.6)
	day 10	0 / 59	0 / 49	2 / 66	0 / 64
	(%)	(0.0)	(0.0)	(3.0)	(0.0)
Eyelids opening	11	8 / 59	2 / 49	5 / 65	1 / 62
	(%)	(13.6)	(4.1)	(7.7)	(1.6)
	12	13 / 58	8 / 49	18 / 64	19 / 61
	(%)	(22.4)	(16.3)	(28.1)	(31.1)
	13	34 / 56	19 / 49	51 / 61	50 / 61
	(%)	(60.7)	(38.8)	(83.6)	(82.0)
	14	53 / 56	37 / 48	60 / 60	60 / 60
	(%)	(94.6)	(77.1)	(100.0)	(100.0)
	day 15	0 / 56	0 / 47	2 / 58	3 / 59
	(%)	(0.0)	(0.0)	(3.4)	(5.1)
	16	5 / 56	12 / 47	30 / 58	28 / 59
	(%)	(8.9)	(25.5)	(51.7)	(47.5)
	17	29 / 54	29 / 46	48 / 55	48 / 59
	(%)	(53.7)	(63.0)	(87.3)	(81.4)
	18	44 / 54	43 / 46	55 / 55	54 / 59
	(%)	(81.5)	(93.5)	(100.0)	(91.5)
	19	54 / 54	43 / 45	55 / 55	59 / 59
	(%)	(100.0)	(95.6)	(100.0)	(100.0)

Table 17 Body weight change of F₁ (male)

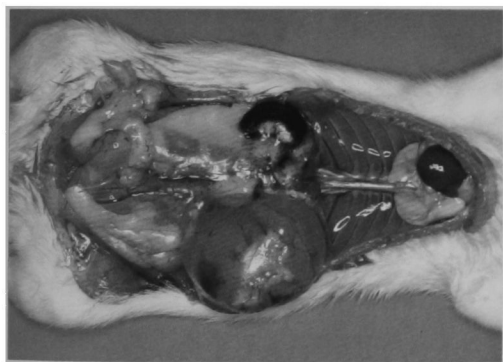
Compound	Control	CAZ		
		0.25	0.5	1.0
Dose (g/kg)				
No. of litters	6	5	7	7
day 0	5.5±0.2	5.8±0.2*	5.8±0.5	5.9±0.4*
4	8.3±0.6	8.6±1.1	8.7±0.9	8.7±1.3
Body weight (g)				
7	12.4±0.9	13.0±0.8	13.3±1.3	13.4±1.8
14	22.6±2.4	24.0±1.7	23.8±4.1	25.2±3.6
21	35.2±5.4	36.0±3.5	38.6±4.0	39.4±5.3

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

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

Table 18 Body weight change of F₂ (female)

Compound	Control	CAZ		
		0.25	0.5	1.0
Dose (g/kg)				
No. of litters	6	5	7	7
day 0	5.1±0.1	5.4±0.2	5.4±0.5	5.5±0.4
4	7.9±0.6	8.0±1.0	8.1±1.2	8.1±1.3
Body weight (g)				
7	11.8±0.7	12.1±1.2	12.2±2.1	12.4±2.0
14	22.5±2.4	22.2±1.6	23.2±2.4	23.1±4.9
21	35.0±5.6	34.6±4.7	38.2±4.3	36.6±5.4

Photo. 1 Hydronephrosis (CAZ 0.5 g/kg/day, F₁ of Dam No. 161)Photo. 2 Reduction deformity of forelimb (Control, Fetus F₂ of Dam No. 64-1)

微と結論された。なお、盲腸の拡張は、他のセファロスポリン系の抗生物質でも観察され^{7,8,9)}、この種の薬剤に共通してみられる現象と推察された。

F₁ に関しては、0.5 ならびに 1.0 g/kg/day 投与群で妊娠中の母獣における体重増加量の抑制ならびに摂餌量の減少と一致した出生時の F₁ の平均体重の減少がみられたが、その後の F₁ の体重の推移、生後の分化状態、4 日齢および 3 週齢の骨化程度に差はなかった。また、F₁ の出生率、生存率および哺育率にも有意差はみられなかった。

F₁ の臓器重量については、3 週齢時に 0.25 g/kg/day 以上の用量の投与群で盲腸の重量増加が認められた。こ

れは母獣においても同様に盲腸の拡張がみられていることから、母獣の乳汁を介して F₁ に摂取された CAZ の作用による影響と推察された。しかしながら、12 週齢時の剖検では盲腸の重量変動は認められず、CAZ の休薬により盲腸の拡張は消失すると考えられた。

なお、検体投与各群の F₁ の機能、行動、学習、生殖能力および F₂ の観察において、CAZ の影響はみられなかった。

以上のように、CAZ を周産期および授乳期のラットに投与すると、0.25 g/kg/day 以上の投与で 3 週齢の F₁ に盲腸の重量増加、0.5 g/kg/day 以上の投与で出生時の F₁ に平均体重の減少がみられ、本実験条件下における

最大無作用量は 0.25 g/kg/day 付近と結論した。しかしながら, CAZ の 1.0 g/kg/day を投与しても母動物の生殖, F_1 および F_2 の発生, 発育に重篤な影響はみられなかった。

(試験所間: 昭和 56 年 1 月～昭和 56 年 7 月)

文 献

- 1) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with arizarin red-S. *Stain Technol.* 1: 123~124, 1926
- 2) 真島英信編: 生理学, VI, 中枢神経系, 150 頁, 文光堂, 1956
- 3) 高木敬次郎, 小澤 光編: 薬物学実験, 中枢神経系の薬理, 49~76 頁, 南山堂, 1960
- 4) 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, Nimetazepan (S-1530) の中枢作用。応用薬

理 7(5): 705~722, 1973

- 5) 古橋忠和, 武井あき子, 本多伴子, 仲吉 洋: 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。Chemotherapy 31(S-3): 940~960, 1983
- 6) 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, 日本レダリー (東京), 1969
- 7) 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之: Cefazolin sodium の毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 18: 528~543, 1970
- 8) 小林文彦, 伊藤道雄: Cefamandole のラット周産期および授乳期投与試験。Chemotherapy 27(S-5): 682~700, 1979
- 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 (IX)

PERINATAL AND POSTNATAL STUDY IN RATS

TADAKAZU FURUHASHI, IKUO KATO, AKIRA NOMURA
and HIROSHI NAKAYOSHI

Life Sciences Department, Nomura Research Institute

Perinatal and postnatal 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 17 of gestation throughout day 20 after delivery at the dosage of 0.25, 0.5 and 1.0 g/kg/day.

Decrease in food intake at the dose level of 0.25 g/kg/day or more, decrease in body weight gain at the dose level of 0.5 g/kg/day or more were observed in the pregnant dams treated with CAZ. Increase in water intake and the dilatation of cecum were observed in the nursing dams treated with 0.25 g/kg/day or more of CAZ.

Increase in cecum weight at 3 weeks after birth in the treated groups with 0.25 g/kg/day or more and the depression of body weight at birth in the treated groups with 0.5 g/kg/day or more was observed in F_1 animals.

However, CAZ did not cause any significant changes in live birth index, viability index, lactation index, postnatal development, behavior or reproductive performance of F_1 . In F_2 generation either, nor severe anomalies were found in CAZ treated groups. Thus, the maximum no-effect dose level of CAZ in the present study was estimated at about 0.25 g/kg/day.