

AT-2266 の生殖試験 (第 4 報) ラットにおける周産期および授乳期投与試験

西村耕一・椋本健次・鶴田耕右・井村義明・吉岡真智子・吉田耕一

大日本製薬株式会社総合研究所

新規合成抗菌薬 AT-2266 の周産期および授乳期投与試験を Jcl:SD 系ラットを用いて行った。1 群あたり妊娠雌を 18~20 匹として、AT-2266 の 100, 300, 1,000 mg/kg を妊娠 17 日から分娩後 21 日まで毎日経口投与した。母体はすべて自然分娩させ、次世代動物の成長および機能発達について調べた。

母体においては、1,000 mg/kg 群で全例に継続的な軟便が認められた。また、盲腸の拡張および盲腸重量 (内容物を含む) の増加がすべての投薬群で認められた。しかし、分娩状態および哺育行動に異常はなかった。

次世代動物では、生存率、成長、分化状態、行動発達、自発運動量、学習能力、生殖能力、剖検所見のいずれにおいても投薬の影響は認められなかった。

以上のことから、本試験において AT-2266 は母体の分娩、哺育、次世代動物の成長、行動および機能発達に影響を及ぼさないと結論される。

この試験では、1,000 mg/kg の用量は母体に対して継続的な軟便を発現したことから弱中毒量と考える。一方、盲腸重量 (内容物を含む) の増加はすべての投薬群で認められたが、これは盲腸の内容物の増加によるものであって、盲腸に病変が現われたことによるものではない。盲腸内容物の増加は本薬が持つ抗菌作用 (薬効) に基づくもので、毒性所見とは考えられないことから、本試験における最大無作用量は 300 mg/kg と考える。

AT-2266 のラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験¹⁾、胎仔の器官形成期投与試験²⁾ はすでに実施した。妊娠前および妊娠初期投与試験では、100, 300 mg/kg の用量で親動物および胎仔に影響はなかったが、1,000 mg/kg を投与した雄で生殖能力に影響が認められた。胎仔の器官形成期投与試験では、1,000 mg/kg の投与でも催奇形性作用および次世代動物に対する影響は認められなかった。今回、周産期および授乳期投与試験を行い、母体の分娩、哺育に及ぼす影響および次世代動物の成長、行動、学習、生殖能力に及ぼす影響を検討したので、その結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

本試験には、AT-2266 の 3/2 水和物 [1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid sesquihydrate] を使用した。注)

2. 使用動物および飼育条件

注) 当初、AT-2266 は無水物で検討されたが、3/2 水和物が安定な結晶型であることが判明したので、以後 3/2 水和物で開発が進められた。なお、両物質は投与用薬液 (sodium carboxymethylcellulose 水溶液に懸濁) において理化学的に同等であることが確認されている。

Jcl:SD 系の雄ラットを 5 週齢で、雌ラットを 4 週齢で日本クレア株式会社より購入し、試験に用いるまで予備飼育した。動物の飼育は温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、1 日 12 時間照明 (午前 6 時~午後 6 時) の空調動物室で行った。動物は金属製のケージで個別に飼育し、滅菌した飼料 (日本クレア製固型飼料 CA-1) および水を自由に摂取させた。

3. 交配方法

10~14 週齢で発情前期の雌を雄と 1 対 1 で同居させ、翌朝、雌に腔栓が認められるか、腔垢中に精子が認められたものを交尾成立とし、その日を妊娠 0 日とした。妊娠 0 日の雌ラットの体重は $197 \sim 311\text{g}$ であった。

4. 投与量の設定および投与方法

投与量は予備試験の結果に基づいて設定した。予備試験では、交尾の成立した Jcl:SD 系雌ラットを 1 群 8 匹として、AT-2266 の 30, 100, 300, 1,000 mg/kg を妊娠 17 日から分娩後 7 日まで経口投与した。出生仔は出産日に一腹 8 匹に調整し、生後 7 日に母体とともに殺して剖検した。その結果、母体では 100 mg/kg 以上の用量で盲腸重量の増加、300, 1,000 mg/kg の用量で盲腸の拡張、1,000 mg/kg の用量で継続的な軟便が認められた。

出生仔においては、生後7日までの生存性および体重に投薬の影響は見られなかった。母体に対して1,000 mg/kgの用量で継続的な軟便が認められたことから、この用量は周産期および授乳期投与における弱毒性量と考えられる。

以上の結果から、本試験では高用量に1,000 mg/kgを用い、以下公比を約1/3として中用量に300 mg/kg、低用量に100 mg/kgを用いた。投与量は無水物換算とした。

AT-2266の臨床適応経路は経口投与が予定されていることから、本試験では胃ゾンデを用いて強制経口投与を行った。AT-2266は、1回の投与液量が体重100 gあたり1 mlとなるよう、0.2% sodium carboxymethyl-cellulose (CMC) 水溶液に懸濁し、妊娠17日から分娩後21日まで1日1回投与した。対照群の動物には0.2% CMCを体重100 gあたり1 mlの割合で投与した。

5. 検査方法

1群あたり20匹の交尾成立雌を用い、一般症状、生死を毎日観察した。体重、飼料摂取量を妊娠0、7日と14日から分娩後21日まで毎日測定した。母体は全例を自然分娩させ、分娩が完了した日を分娩後0日とした。分娩終了時に妊娠日数および出産仔の数、生死、性別、体重および外表異常の有無を記録し、この時すでに死亡していた仔は周産期死亡仔とした。哺育期間中、母体は巣作り、授乳、仔の連れ戻しを指標として哺育行動を毎日観察した。分娩後21日に離乳し、この日に母体を殺して剖検を行い、臓器重量を測定するとともに、着床痕数を記録した。

次世代動物は生まれた日を生後0日とし、この日に各腹8匹(可能な限り雄4匹、雌4匹)に調整し、これ以外の出産仔は殺して剖検した。次世代動物の一般症状および生死を、哺育期間中は1日2回、離乳後は1日1回観察した。体重は週1回、哺育期間中は全例個別に、離乳後は10週齢まで各腹雄2匹、雌2匹について個別に測定した。飼料摂取量の測定は、離乳後に体重を測定した動物について同じ時期に行った。分化状態として耳介開展、切歯萌出、外耳口開口、眼瞼開裂、精巣下降、腔開口を全生存仔について検査した。初期行動⁹⁾および感覚機能として平面立ち直り反射、把握反射、回転運動、四肢歩行、空中立ち直り反射、視覚性踏み直し反射、聴覚性驚愕反応、疼痛反応、角膜反射の発達を各腹の雌雄2匹ずつについて検査した。また、これらの動物を用いてロータロッド試験およびロープ降り試験を実施した。ロータロッド試験は生後21日に実施し、1分間に9回転する直径6.5 cmの回転棒に動物を乗せ、3分間に落下した回数を記録した。ロープ降り試験は生後14日から26日

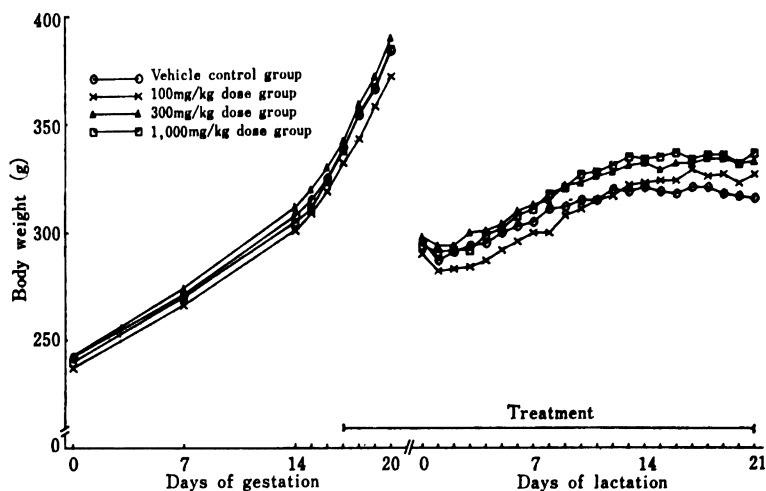
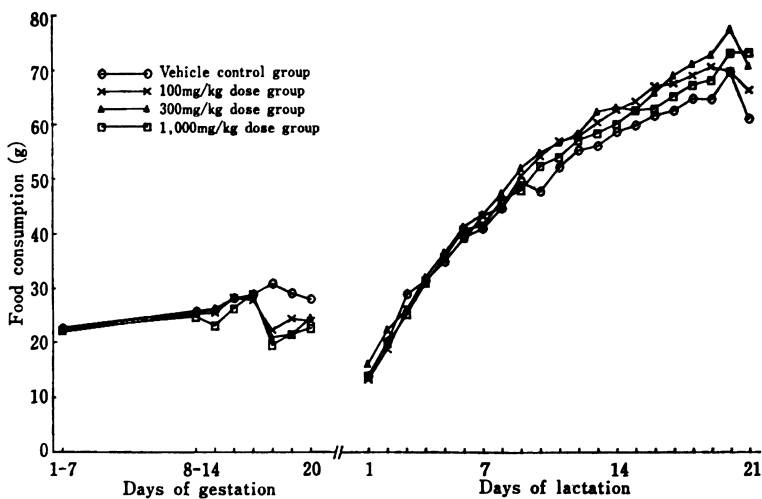
にかけて実施した。直径17 mmの麻ロープを垂直にたらし、床から50~60 cmの高さに頭を上向けにして動物をつかまらせ、その位置からロープを降りる動物の姿勢を観察した。落下またはロープにつかまったままの姿勢でずり落ちた場合をスコア0、頭および体を横あるいは下に向けて滑り降りた場合をスコア3、頭および体を下に向けて前後肢でロープをはさむようにして下降した場合をスコア6とした。

5週齢において、各群より雌雄10匹ずつを選び、アニメックス(ファラッド社製O型)による3分間の自発運動量の測定および水迷路¹⁰⁾による学習試験を行った。水迷路試験では、1日目に直線コースを3回泳がせて遊泳姿勢を観察し、2日目から6日目までは迷路コースを1日3回泳がせて、各試行におけるエラー数(全身が袋小路に入った回数)を記録した。

10週齢で、各群雌雄10匹ずつ(水迷路試験には使用していない動物)を選び、シャトルボックス(テックサーボ社製)による条件回避学習試験を行った。高さ7 cmのハードルで2室に区切ったシャトルボックスを80 dBのホワイトノイズを流した防音箱に入れ、条件刺激(CS)には1.5ルクスの白色ランプと1,000 Hz(80 dB)の純音を、無条件刺激(UCS)には3~4 mAのスクランブル直流定電流を用いた。CS発生からUCS発生までを5秒、UCSの最大継続時間を5秒、試行間隔を平均40秒の変時間隔とし、CSまたはUCS呈示中に動物が他室に移動すれば両刺激を終結した。各動物に連続200試行を課し、回避反応数(CSのみによる反応)、逃避反応数(UCSによる反応)を記録した。

生殖能力の検査を各腹より雌雄1匹ずつを選んで実施した。雌は8週齢から2週間、性周期を検査した。10週齢以降で兄妹交配を避けて、雌雄1対1で10日間を限度として交配を行った。交尾は腔栓の形成あるいは腔垢中の精子の存在により確認し、その日を妊娠0日とした。初回の交配で妊娠の成立がなかった場合、雄は無処置雌と、雌は同群内の生殖能力の確認された雄とそれぞれ再交配した。この交配でもなお妊娠の成立がなければ、もう一度同様な交配を行った。妊娠した雌は妊娠0、7、14、21日に体重を測定し、妊娠21日に帝王切開して黄体数、着床数、遺残胎盤数、吸収胚数、死亡胎仔数、生存胎仔数を記録した。生存胎仔については、体重、性別、外表異常の有無を調べた。

次世代動物の剖検は以下のように行った。周産期死亡仔および哺育中の死亡仔は、発見後直ちに剖検し、死因の解明に努めた。各腹1/4の動物(水迷路試験に用いた動物を含む)は6週齢で殺して剖検し、このうち水迷

Fig. 1 Body weights of F₀ dams during gestation and lactationFig. 2 Food consumption in F₀ dams during gestation and lactation

路試験に用いた動物については脳重量の測定を行った。各腹半数の動物は10週齢で殺して剖検し、臓器重量の測定を行うとともに、これらの動物のうち、各腹雌雄1匹ずつについては、ソフテックス(ソフテックス社製CMB型)を用いて軟X線写真を撮影して骨格検査を行った。生殖試験に用いた雄は17週齢で殺して剖検し、妊娠した雌は帝王切開後に剖検した。

6. 推計学的処理

平均値の差の検定には Student の t 検定, 百分率の差の検定には χ^2 検定または Fisher の直接確率計算法を用

いた。ただし、胎仔と哺育仔に関する項目については腹単位で平均値または百分率を求め、それぞれ Student の t 検定, Mann-Whitney の U 検定を行った。

II. 実験結果および考察

1. 母体に及ぼす影響

交尾成立雌は 100 mg/kg 群の 2 例を除いて全例妊娠し、妊娠経過に薬物投与による影響は認められなかった。本試験では、妊娠17日に投薬を開始したことから、非妊娠動物の発現は投薬と関係がなく、この2例の動物の試験データは結果から除外した。

1) 症状および生死

軟便が300 mg/kg 群で20例中18例に、1,000 mg/kg 群で20例全例に認められた。1,000 mg/kg 群では、すべての母体で投薬期間中継続的な軟便が認められたのに対し、300 mg/kg 群では、このような症状を呈した母体は少数例であった。

死亡動物は、いずれの群にも認められなかった。

2) 体重(Fig. 1)

妊娠期間中の体重は、いずれの投薬群も対照群とほぼ等しかった。300、1,000 mg/kg 群において、分娩後21日の体重が有意に増加し (Table 1), 分娩後0～21日の体重増加量がすべての投薬群で増加した。投薬群で盲腸重量 (内容物を含む) の増加が認められていることから、対照群と投薬群における分娩後の体重増加量の差は、盲腸重量の差によるところが大きいと考える。

3) 飼料摂取量(Fig. 2)

飼料摂取量はすべての投薬群で妊娠18日から20日 (投与1日から3日) にかけて減少した。しかし、この減少は一過性のわずかな変化で、毒性学的に特に問題はないと考える。分娩後では、投薬群で飼料摂取量が増加したが、用量依存性は認められなかった。

4) 分娩所見

いずれの動物も正常に分娩し、難産は認められなかつ

た。妊娠期間中は対照群、100、300、1,000 mg/kg 群でそれぞれ21.7、21.7、21.9、21.9日で、各投薬群と対照群の間に有意差はなかった。

5) 哺育行動

巣作り、授乳、哺育仔の連れ戻しを指標として哺育行動を観察した。授乳行動の低下が投薬群で認められたが、100 mg/kg 群で分娩後4日、300 mg/kg 群で分娩後4、5、19日、1,000 mg/kg 群で分娩後2、4、5日に限られ、哺育仔の生存率にも変化が認められなかったことから、特に問題はないと考える。

6) 剖検所見および臓器重量 (Table 1)

盲腸の拡張が100、300、1,000 mg/kg 群でそれぞれ7、8、19例認められ、いずれの群もその発生数に有意差が認められた。盲腸の拡張以外には異常所見はなかった。

盲腸重量 (内容物を含む) がすべての投薬群で有意に増加した。その他の臓器では、300 mg/kg 群で腎重量の有意な増加、1,000 mg/kg 群で子宮重量の有意な減少が認められたが、用量依存性はなく、薬物投与に関連しないと考える。

2. 次世代動物に及ぼす影響

1) 出生時観察所見 (Table 2)

着床痕数、出産仔数、生産仔数、生出産率、性比、周産期死亡仔数については、いずれも各投薬群と対照群の

Table 1 Organ weights of F₀ dams autopsied on day 21 of lactation

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
No. of dams examined	19	17	20	20
Body weight(g) (Av. ±SE)	316±5.8	327±6.2	333±5.4*	337±7.8*
Organ weight (Av. ±SE)				
Heart (g)	1.04±0.025	1.01±0.022	1.01±0.017	0.97±0.023
Lungs (g)	1.28±0.057	1.20±0.026	1.25±0.027	1.17±0.020
Liver (g)	15.6±0.43	16.3±0.29	16.2±0.47	15.9±0.49
Kidneys (g)	2.52±0.052	2.54±0.044	2.72±0.048**	2.63±0.054
Spleen (g)	0.62±0.017	0.63±0.013	0.61±0.021	0.64±0.027
Submaxillary glands (g)	0.53±0.015	0.55±0.010	0.53±0.013	0.52±0.012
Brain (g)	1.86±0.022	1.85±0.020	1.87±0.018	1.84±0.018
Pituitary (mg)	16.8±0.95	17.0±0.80	16.5±0.43	17.0±0.59
Thyroids (mg)	18.8±0.99	20.2±0.92	18.8±0.83	19.6±0.90
Thymus (g)	0.16±0.012	0.18±0.016	0.14±0.012	0.15±0.011
Adrenals (mg)	76.5±3.67	70.1±1.95	74.5±2.97	82.2±2.48
Ovaries (mg)	93.0±3.40	87.9±1.72	86.1±3.51	86.5±2.92
Uterus (g)	0.37±0.026	0.30±0.026	0.31±0.019	0.29±0.019*
Cecum (g)	9.9±0.75	17.6±0.93**	17.1±0.88**	25.3±1.26**

* : Significantly different from control at p<0.05

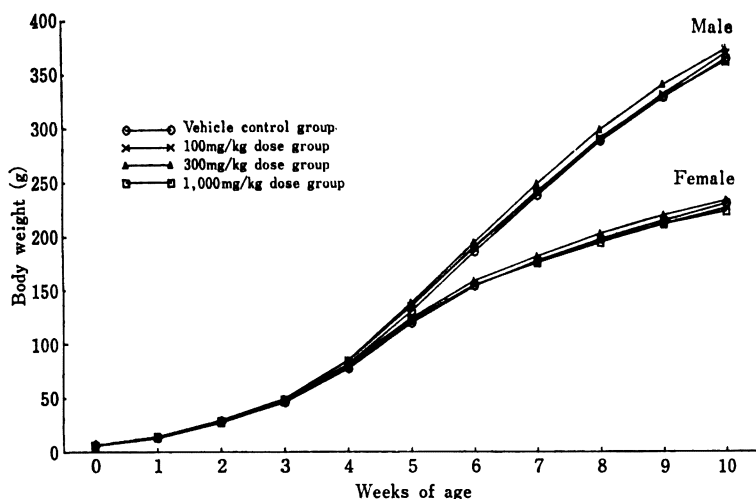
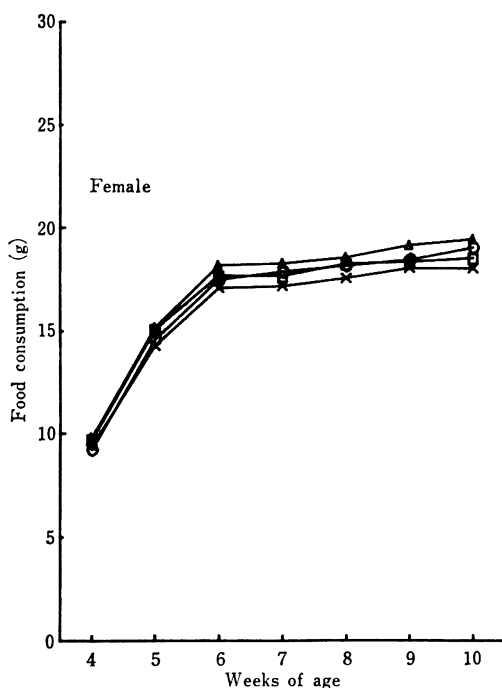
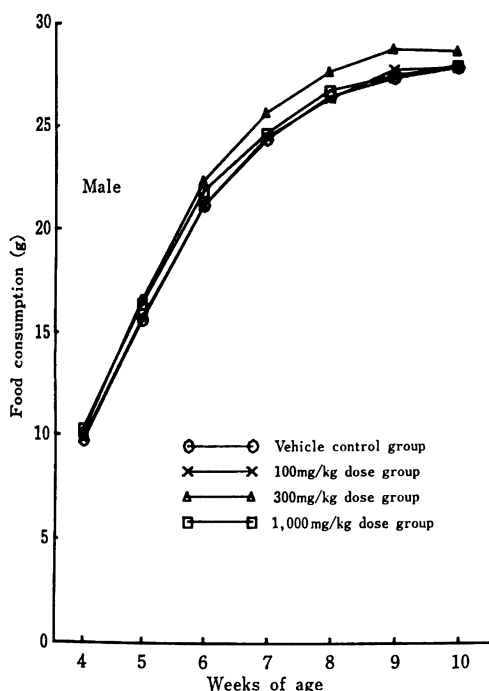
** : Significantly different from control at p<0.01

Table 2 F₁ pup data during lactation period

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
No. of litters examined	20	18	20	20
No. of implantations (Av.±SE)	285 14.3±0.63	259 14.4±0.51	297 14.9±0.37	291 14.6±0.44
No. of pups delivered (Av.±SE)	265 13.3±0.75	230 12.8±0.95	275 13.8±0.46	279 14.0±0.46
No. of perinatal deaths	22	5	2	6
Perinatal deaths/pups delivered (%)	8.3	2.2	0.7	2.2
No. of liveborn pups (Av.±SE)	243 12.2±0.97	225 12.5±0.96	273 13.7±0.50	273 13.7±0.45
Live birth index(%) ^a	85.3	86.9	91.9	93.8
Sex ratio (Male/Female)	1.11(128/115)	1.16(121/104)	0.99(136/137)	1.10(143/130)
No. of pups with external abnormalities (%)	0	0	0	1(0.9) ^b
Pup body weight on day 0(g) (Av.±SE)				
Male				
Pre-culling	6.1±0.12	6.1±0.13	6.1±0.11	6.0±0.09
Post-culling	6.2±0.12	6.1±0.13	6.2±0.10	6.1±0.09
Female				
Pre-culling	5.9±0.13	5.7±0.14	5.8±0.10	5.7±0.08
Post-culling	5.9±0.12	5.8±0.13	5.9±0.11	5.8±0.10
No. of live pups (Av.±SE)				
Pre-culling	243(12.2±0.97)	225(12.5±0.96)	273(13.7±0.50)	273(13.7±0.45)
Post-culling				
Day 0	147(7.7±0.19) ^c	134(7.9±0.12) ^c	160(8.0±0.00)	160(8.0±0.00)
7	144(7.6±0.19) ^c	129(7.6±0.19) ^c	157(7.9±0.08)	154(7.7±0.16)
14	144(7.6±0.19) ^c	129(7.6±0.19) ^c	156(7.8±0.09)	154(7.7±0.16)
21	144(7.6±0.19) ^c	129(7.6±0.19) ^c	156(7.8±0.09)	154(7.7±0.16)
Lactation index(%) ^d	98.0	96.3	97.5	96.3

^a : No. of liveborn pups/No. of implantations^b : Rudimentary tail^c : One litter of which all pups died is excluded from calculation.^d : No. of live pups on day 21/No. of live pups on day 0 (post-culling)Table 3 Physical development of F₁ rats

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
No. of animals positive/examined (%)				
Pinna unfolding on day 6	143/144(99.3)	128/130(98.5)	151/157(96.2)	148/154(96.1)
Tooth eruption on day 14	143/144(99.3)	128/129(99.2)	156/156(100)	152/154(98.7)
Ear opening on day 14	143/144(99.3)	120/129(93.0)	141/156(90.4)	149/154(96.8)
Eye opening on day 15	140/144(97.2)	120/129(93.0)	148/156(94.9)	138/154(89.6)
Testis descent on day 21	68/74 (91.9)	65/66 (98.5)	74/76 (97.4)	78/78 (100)
Vaginal opening on day 37	61/70 (87.1)	62/62 (100)	75/80 (93.8)	75/76 (98.7)

Fig. 3 Body weights of F₁ ratsFig. 4 Food consumption in F₁ rats

間に有意差は認められなかった。出産仔の外表面異常では1,000 mg/kg 群に痕跡尾が1例認められただけであった。

2) 症状および生死

いずれの動物にも特異症状は観察されなかった。

哺育期間中の死亡動物は対照群, 100, 300, 1,000

mg/kg 群それぞれ3, 5, 4, 6例で, 死亡動物の発生に薬物投与の影響は認められなかった。離乳後では, 100 mg/kg 群で1例が瀕死状態となったため生後27日に殺処分した。

3) 体重 (Fig. 3)

体重の推移は各投薬群と対照群の間に有意差は認めら

れなかった。

4) 飼料摂取量 (Fig. 4)

飼料摂取量は、300, 1,000 mg/kg 群の雄, 100, 300 mg/kg 群の雌でわずかに増加または減少し有意差が認められたが、用量依存性はなく、薬物投与による影響はないと考える。

5) 分化状態 (Table 3)

耳介開展, 切歯萌出, 外耳口開口, 眼瞼開裂, 精巣下

降, 陰開口の時期は、各投薬群と対照群の間に有意差は認められなかった。

6) 行動および感覚機能発達 (Table 4, 5, Fig. 5)

立ち直り反射, 把握反射, 回転運動, 視覚性踏直し反射, 聴覚性驚愕反応, 疼痛反応, 角膜反射 (Table 4) については各投薬群と対照群の間に有意差は認められなかった。四肢歩行について 300, 1,000 mg/kg 群で有意差が認められたが、これは対照群に比べて 1 日程度、完成

Table 4 Behavioral and functional development of F₁ rats

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
No. of animals positive/examined (%)				
Righting on surface on day 2	72/73(98.6)	62/67(92.5)	78/78(100)	76/78(97.4)
Wire grasping on day 2	72/73(98.6)	59/67(88.1)	78/78(100)	78/78(100)
Pivoting on day 7	70/73(95.9)	59/64(92.2)	77/78(98.7)	71/77(92.2)
Walking on day 14	40/73(54.8)	46/63(73.0)	70/78(89.7)**	71/77(92.2)**
15	62/73(84.9)	54/63(85.7)	74/78(94.9)	76/77(98.7)
Righting in air on day 16	70/73(95.9)	61/63(96.8)	68/78(87.2)	72/77(93.5)
Visual placing on day 21	73/73(100)	63/63(100)	78/78(100)	77/77(100)
Auditory startle on day 21	73/73(100)	63/63(100)	78/78(100)	77/77(100)
Pain response on day 21	73/73(100)	63/63(100)	78/78(100)	77/77(100)
Corneal reflex on day 21	73/73(100)	63/63(100)	78/78(100)	77/77(100)

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

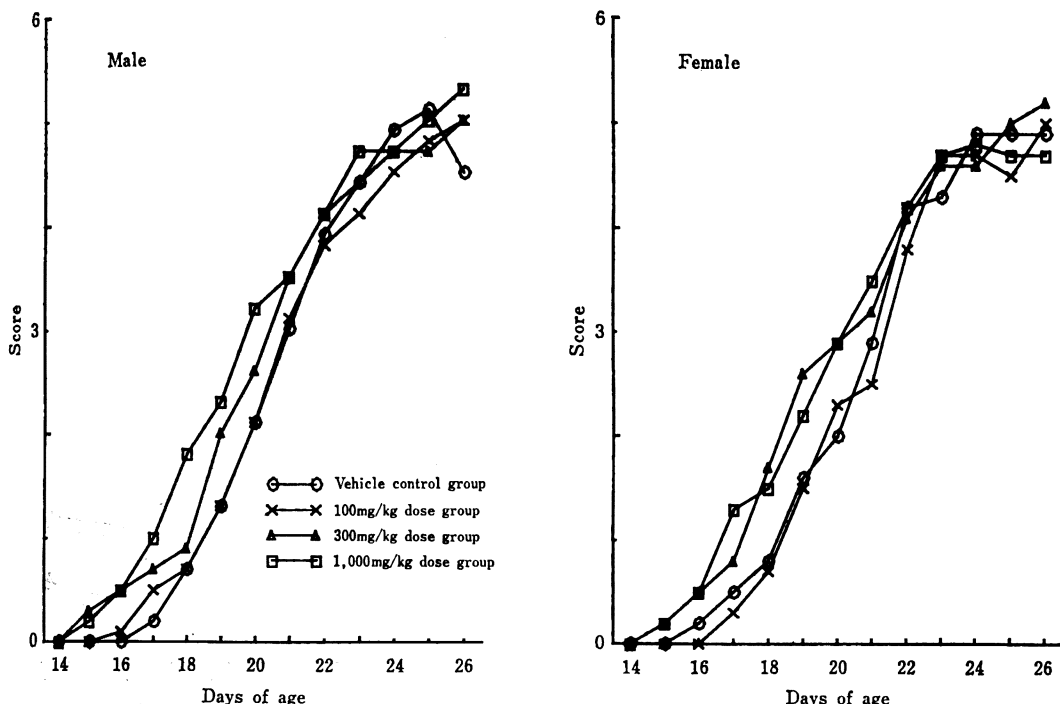
Table 5 Rotorod coordination of F₁ rats

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
Male				
No. of animals examined	37	31	38	39
No. of falls for 3 min. (Av. ± SE)	8.6 ± 2.25	7.0 ± 1.84	5.6 ± 1.55	5.7 ± 1.33
Female				
No. of animals examined	36	32	40	38
No. of falls for 3 min. (Av. ± SE)	9.1 ± 1.52	6.8 ± 1.52	6.2 ± 1.17	5.7 ± 0.96

Table 6 Spontaneous activity of F₁ rats

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
Male				
No. of animals examined	10	10	10	10
No. of counts for 3 min. (Av. ± SE)	391.8 ± 8.75	334.6 ± 27.37	371.7 ± 7.56	364.4 ± 12.30
Female				
No. of animals examined	10	10	10	10
No. of counts for 3 min. (Av. ± SE)	388.6 ± 7.61	315.2 ± 24.93*	347.2 ± 19.25	364.9 ± 13.05

* : Significantly different from control at $p < 0.05$

Fig. 5 Climbing down a rope in F₁ rats

Score 0: Falling or sliding down while grasping the rope.

Score 3: Turning the head to the side or downwards and sliding down the rope.

Score 6: Turning the head downwards and climbing down the rope.

が早かったもので、特に問題はないと考える。ロータロッド試験における落下回数 (Table 5) は、各投薬群と対照群の間に有意差は認められなかった。ロープ降り試験では、1,000 mg/kg 群の雄、300, 1,000 mg/kg 群の雌で、平均スコアの有意な増加が認められた (Fig. 5)。しかし、雌での平均スコアには用量依存性はなく、また、雌雄とも生後21日以後の平均スコアはほぼ等しく、特に問題はないと考える。

7) 自発運動量 (Table 6)

3分間の自発運動量は100 mg/kg 群の雌で有意な減少が認められたが、用量依存性はなく、薬物投与による影響はないと考える。

8) 水迷路学習試験 (Fig. 6)

第1日目の直線コースでの遊泳姿勢に異常は認められなかった。迷路コースでの各試験日のエラー数において、300, 1,000 mg/kg 群の雌雄で散発的に有意差が認められたが、総エラー数では各投薬群と対照群の間に有意差はなく、薬物との関連性はないと考える。

9) 条件回避学習試験 (Table 7)

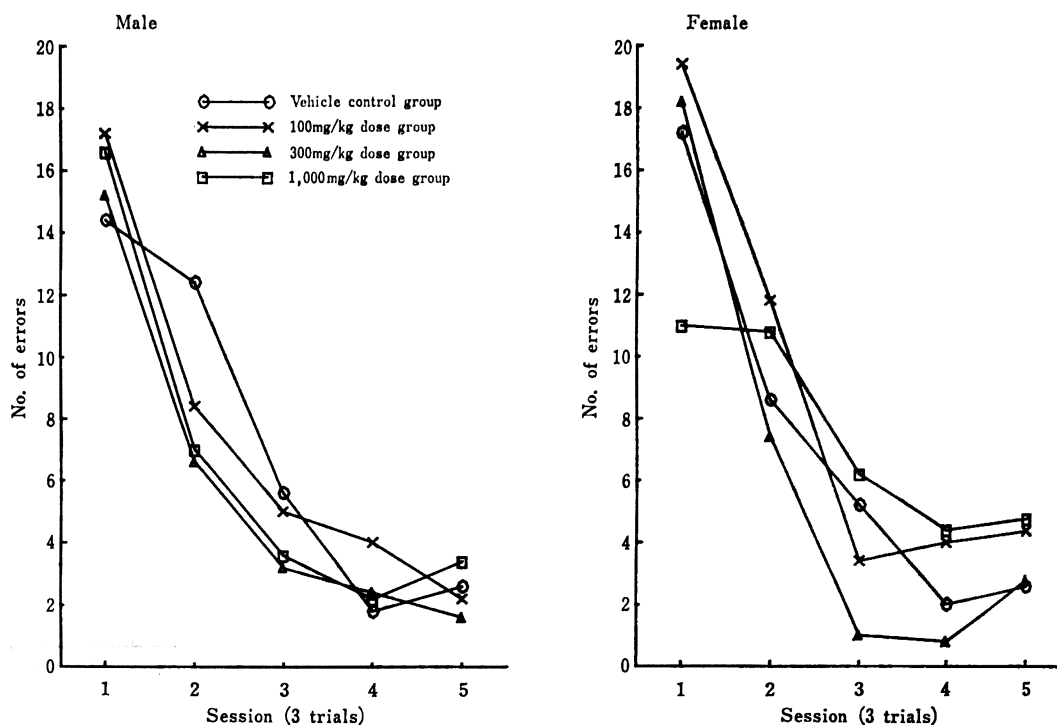
シャトルボックスを用いた条件回避学習では、回避反応数は雌雄とも各群ほぼ同等で、薬物投与による影響は認められなかった。

10) 生殖能力試験 (Table 8)

対照群の雄1例を除いて、生殖能力試験に用いた動物の全例に生殖能力が認められた。また、雌の性周期にも異常はなかった。妊娠したF₁母体の体重は各投薬群と対照群の間に有意差はなく、これらの母体の帝王切開所見にも薬物投与による影響は認められなかった。1,000 mg/kg 群のF₂胎仔に小耳、脊椎裂、欠指を合併した外表異常が1例認められたが、発生率に有意差はなく、薬物との関連性はないと考える。

11) 剖検所見および臓器重量

周産期死亡仔の剖検では、異常所見は認められなかった。生後0日に淘汰した仔においては、前述した痕跡尾が1,000 mg/kg 群に1例認められた。哺育期間中の死亡仔では胸腺の頸部残留が1,000 mg/kg 群に1例、離乳後に瀕死状態で殺した100 mg/kg 群の1例では、脊椎の彎曲が認められた。しかし、いずれも1例だけの発生で偶

Fig. 6 Water-filled multiple T-maze performance of F₁ ratsTable 7 Conditioned avoidance responses of F₁ rats

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
Male				
No. of animals examined	10	10	10	10
No. of avoidance responses (Av. ± SE)				
Session 1	8.0 ± 2.53	4.9 ± 2.22	5.2 ± 2.00	4.9 ± 1.69
2	20.3 ± 3.81	12.8 ± 3.80	13.3 ± 3.86	11.2 ± 4.09
3	18.8 ± 4.26	16.2 ± 4.27	12.9 ± 4.03	14.1 ± 4.86
4	17.5 ± 3.79	17.2 ± 4.98	12.0 ± 4.46	13.0 ± 4.33
5	17.6 ± 3.91	15.0 ± 4.63	13.4 ± 4.70	12.0 ± 4.44
Total	82.2 ± 16.6	66.1 ± 18.3	56.8 ± 17.7	55.2 ± 18.1
Female				
No. of animals examined	10	10	10	10
No. of avoidance responses (Av. ± SE)				
Session 1	11.8 ± 2.96	16.1 ± 2.65	11.7 ± 3.38	7.5 ± 1.80
2	26.8 ± 3.45	26.3 ± 2.88	20.6 ± 3.84	24.7 ± 3.07
3	26.9 ± 3.80	25.4 ± 2.09	18.5 ± 3.88	27.1 ± 2.97
4	26.4 ± 3.59	26.7 ± 2.32	17.1 ± 4.05	25.1 ± 3.21
5	25.9 ± 4.39	25.0 ± 1.86	15.3 ± 3.95	24.7 ± 2.43
Total	117.8 ± 16.7	119.5 ± 9.79	83.2 ± 17.6	109.1 ± 11.9

One session consists of 40 trials.

発的なものと考える。

6週齢において、対照群、100, 300, 1,000 mg/kg 群でそれぞれ、雄18, 15, 19, 19匹、雌17, 14, 20, 18匹を剖検し、胸腺の頸部残留が100 mg/kg 群の雌に1例、300 mg/kg 群の雌に1例、精巣および精巣上体の小さいものが100 mg/kg 群に1例、子宮腔水腫と子宮角欠損が100 mg/kg 群に1例ずつ認められたが、それぞれの異常の発生率に有意差はなかった。水迷路試験に用いた動物の脳重量は雌雄とも各投薬群と対照群の間に有意差はなかった。

10週齢で各群それぞれ、雄38, 34, 39, 41匹、雌35, 31, 41, 38匹を剖検し、胸腺の頸部残留が対照群の雌に1例、精巣が水腫状で軟らかいものが対照群に3例、100 mg/kg 群に1例、精巣の大きいものが対照群に2例、100, 300 mg/kg 群に1例ずつ、精巣上体の小さいものが

対照群に2例、100 mg/kg 群に1例、精囊の小さいものが300 mg/kg 群に1例、切歯の不咬合が1,000 mg/kg 群の雌に1例、顎下腺の大きいもの、および胸腺の小さいものが1,000 mg/kg 群の雌に1例ずつ、子宮腔水腫が各群それぞれ3, 3, 2, 5例認められた。しかし、いずれの異常も投薬群において有意な発生率の増加はなかった。10週齢で剖検した動物の臓器重量においては、雄の投薬群で肺、精巣上体の実重量および体重比重量に、雌の投薬群で心臓、甲状腺の実重量、脳、甲状腺、副腎の体重比重量にそれぞれ有意な変動が認められたが、いずれも明らかな用量依存性を示すものはなく、薬物投与による影響はないと考える。

10週齢で剖検した動物のうち、対照群、100, 300, 1,000 mg/kg 群でそれぞれ、雄18, 16, 19, 20匹、雌18, 17, 20, 20匹について骨格検査を実施したが、骨格異常

Table 8 Mating and fertility data and cesarean section data of F₁ rats

Dose (mg/kg)	Vehicle control	100	300	1,000
Mating and fertility data				
Male				
No. mated/No. paired	18/18	17/17	18/18	18/18
No. impregnating/No. paired	17/18	17/17	18/18	18/18
Female				
No. mated/No. paired	18/18	17/17	19/19	20/20
No. pregnant/No. paired	18/18	17/17	19/19	20/20
Cesarean section data				
No. of dams examined	18	17	19	20
No. of corpora lutea	275	244	323	300
(Av.±SE)	15.3±0.56	14.4±0.70	17.0±0.76	15.0±0.39
No. of implantations	256	232	270	282
(Av.±SE)	14.2±0.56	13.6±0.85	14.2±0.83	14.1±0.38
Implantations/corpora lutea (%)	93.1	95.1	83.6	94.0
No. of fetal deaths				
Placental remnants and resorptions	21	16	11	12
Dead fetuses	0	1	0	0
Total	21	17	11	12
Fetal deaths/implantations (%)	8.2	7.3	4.1	4.3
No. of live fetuses	235	215	259	270
(Av.±SE)	13.1±0.68	12.6±0.85	13.6±0.85	13.5±0.46
Sex ratio(Male/Female)	0.96(115/120)	1.17(116/99)	1.04(132/127)	0.89(127/143)
Fetal weight(g) (Av.±SE)	5.08±0.069	5.13±0.108	4.91±0.066	5.18±0.059
No. of retarded fetuses (%)	0	2(0.9)	3(1.2)	2(0.7)
No. of fetuses with external abnormalities (%)	0	0	0	1(0.4) ^a

^a : Microtia, myelochisis and oligodactylia

は認められなかった。また、骨格変異として胸骨核過剰および13肋骨短小が認められたが、これらの発生率は各投薬群と対照群の間に有意差はなかった。尾椎の化骨核数でも各群はほぼ等しかった。

生殖能力試験に使用した雄は17週齢で剖検し、精巣が小さくて軟らかいもの、および精巣上体の小さいものが各群でそれぞれ1例ずつ、精嚢の小さいものが対照群で1例認められたが、発生率に有意差はなかった。対照群の不妊雄1例については、精巣および精巣上体の組織学的検査を行ったが、異常は認められなかった。また、F₁母体の剖検では何ら異常は認められなかった。

以上の結果から、ラットにおける周産期および授乳期投与試験では AT-2266 の投与により母体の分娩、哺育に及ぼす影響、次世代動物の成長、行動、機能に及ぼす影響はないと結論される。

本試験では、1,000 mg/kg は母体に対して継続的な軟

便を惹起し、弱中毒量と考えられることから、最大無作用量は 300 mg/kg と考える。

(本試験は昭和57年7月から昭和58年2月の間に実施した。)

文 献

- 1) 寺田芳規, 西村耕一, 小紫正一, 吉岡真智子, 吉田耕一: AT-2266 の生殖試験 (第1報), ラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験. *Chemotherapy* 32 (S-3): 279~292, 1984
- 2) 寺田芳規, 西村耕一, 小紫正一, 鶴田耕右, 井村義明, 吉岡真智子, 吉田耕一: AT-2266 の生殖試験 (第3報), ラットにおける胎仔の器官形成期投与試験. *Chemotherapy* 32(S-3): 301~315, 1984
- 3) 関口茂久: ラットとマウスを用いた行動発達研究法. 誠信書房, 1978
- 4) BIEL, W. C.: Early age differences in maze performance in the albino rat. *J. Genet. Psychol.* 56: 439~453, 1940

REPRODUCTION STUDIES OF AT-2266 (4) PERINATAL AND POSTNATAL STUDY IN RATS

KOICHI NISHIMURA, KENJI MUKUMOTO, KOYU TSURUTA, YOSHIKI IMURA,
MACHIKO YOSHIOKA, and KOUICHI YOSHIDA
Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.

AT-2266, a new antibacterial agent, was administered daily by gavage to the pregnant female rats of the Jel : SD strain (18 to 20 rats per group) at doses of 100, 300, and 1,000 mg/kg/day from day 17 of gestation through day 21 of lactation. The dams were allowed to deliver and their offspring were examined for growth and functional development.

In the 1,000 mg/kg dose group, all dams showed soft feces consecutively. An increased cecum weight and enlarged cecum were noted in dams in all drug-treatment groups, but these reactions are common to many of antibacterial agents. No drug-related abnormalities were found in delivery or maternal behavior.

Drug-treated and control offspring were comparable in the survival rate, growth, physical and behavioral development, spontaneous activity, learning ability and reproductive performance.

It is concluded that AT-2266 does not affect parturition or maternal behavior, or the growth, behavior or function of offspring. In the dams, persistent soft feces occurred at 1,000 mg/kg/day. This suggests that the maximum non-toxic dose of the compound for dams is 300 mg/kg/day in the present study. In the offspring, no evidence of toxicity was obtained, so the maximum non-toxic dose for offspring may be 1,000 mg/kg/day or more.