

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) のラットにおける 胎子の器官形成期投与試験

田内清憲・五十嵐章之・竹島 勉・黄 坤正

動物繁殖研究所

青山卓夫

鳥居薬品株式会社研究所

能勢尚志

鐘紡株式会社薬品研究所

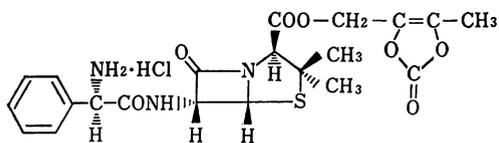
Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) の催奇形作用および次世代の生後発育と各種機能への影響を調べるために、本薬の 100, 500 および 2,500 mg/kg/day を Wistar-Imamichi ラットの妊娠 7 日～17 日の間強制経口投与した。その結果は下記の通りである。

投与母動物においては、2,500 mg/kg 群で投与直後一過性の流涎が投与期間中全例に観察された他、500 および 2,500 mg/kg 群で体重の軽度増加抑制、摂餌量の減少、飲水量の増加および盲腸の膨大が認められたが、妊娠、分娩および哺育に対する薬剤投与の影響は認められず、薬剤投与に起因した胎子生存率の低下および奇形出現は認められなかった。

F₁ 動物については、体重増加、生殖機能および行動・学習機能検査のいずれにおいても薬剤投与の影響とみられる変化は観察されなかった。

以上のことから、Lenampicillin は 500 mg/kg および 2,500 mg/kg の投与量において投与母動物に対し流涎、体重増加抑制、摂餌量の減少、飲水量の増加および盲腸の膨大等の変化を惹起させたが、各投与群とも妊娠、分娩、哺育ならびに次世代動物の形態的および機能的発達に対しては影響を及ぼさないものと結論された。

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) は鐘紡(株)薬品研究所で開発された Ampicillin (ABPC) の pro-drug¹⁾ であり、水、メタール、エタノール、クロロホルムに極めて溶け易く、エーテル、*n*-ヘキサンにはほとんど溶けない白色ないし微黄色の粉末で味は苦い。構造式は次の通りである。



Molecular formula : C₂₁H₂₈N₂O₇S · HCl

Molecular weight : 497.95

今回著者らは本薬についてラットの器官形成期投与試験を行なったので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 実験動物

動物繁殖研究所で生産された Wistar-Imamichi ラットの 9 週齢雌 (SPF 動物) を用い、1 週間試験環境に馴化させるとともに臨床観察を行ない、健康な動物のみを

試験に供した。

動物は、温度 24 ± 1°C 湿度 55 ± 5%、換気回数 12 回/時間 (オールフレッシュ・エア方式)、照明時間 14 時間/日 (午前 5 時点燈、午後 7 時消燈) のバリアー・システム動物室で飼育した。交配前の母動物および離乳後の F₁ 動物については、金網ケージ (600W × 300D × 250Hmm) に最大 5 匹ずつ収容した。交配時には、金網ケージ (350W × 250D × 190Hmm) に雌雄各 1 匹を同居させた。妊娠および哺育母動物については、ポリカーボネート製ケージ (日本クレア) に個別に収容した。

飼料としては、ラット・マウス用固型飼料 MM-3 (船橋農場株式会社) を用い、自家水道水とともに自由に摂取させた。

妊娠ラットを得るために、処女雌ラットの腔垢像を観察し、発情前期の日の夕刻に雄と 1 : 1 で同居させ、翌日腔栓または腔垢中に精子が検出された動物を妊娠 0 日齢と定め、試験に供した。

2. 投与量および投与方法

各投与群とも体重 100 g 当りの投与液量が 1.0ml に

なるように KBT-1585 を滅菌蒸留水に溶解調製し、3.0 ml ルエチン注射器（夏目製作所株式会社）およびストマック・チューブを用い強制経口投与を行なった。投与量は用量設定試験の結果から決定した。すなわち、1群7～8匹の妊娠ラットを用い、妊娠7～17日の11日間、0, 625, 1,250, 2,500 mg/kg を経口投与したところ、すべての群において死亡例は認められなかったが、625 mg/kg 以上の各投与群で、流涎、摂餌量の有意な低下、体重の低下傾向ないし有意な低下が認められた。妊娠21日における帝王切開時の観察では異常は観察されなかった。これらの結果から、本試験の投与量は臨床推定1日用量の約125倍に相当する2,500 mg/kg を最高用量に、以下500, 100 mg/kg に設定した。

投与期間は妊娠7日から17日までとした。

3. 観察方法

各群30例の母獣のうち、20例の母獣は妊娠末期の出産前検査に、残り10例の母獣は自然分娩させ、出産後の検査に供した。

1) 母獣の検査

母獣の一般状態の観察は毎日、体重、摂餌・飲水量の測定は2日毎に実施した。帝王切開した母獣は剖検を行なった後、主要臓器（肝臓、腎臓、脾臓、心臓、副腎、胸腺、卵巣、子宮および盲腸）の重量を測定した。また、分娩後21日に離乳した母獣については剖検し、子宮における着床痕を記録した。

2) 胎仔 (F₁) の検査

各群20例の母獣を妊娠21日の午前中に頸椎脱臼法により屠殺した後開腹し、妊娠黄体数、着床数、生存胎仔数、死亡胚・死亡胎仔数、生存胎仔の性別、外形異常の有無、個々の胎児を測定した体重の観察もしくは測定を行なった。

各腹につき、半数の胎仔をDawson法²⁾に準拠して骨格標本作製し、骨格異常の有無および骨化状態について検査し、残り半数の胎仔を頭部および腹部についてはWilson法³⁾および胸部については顕微解剖法⁴⁾に準拠して内臓異常の検査を行なった。

3) 出生仔 (F₁) の検査

出生後の検査に供した各群10例の母獣は自然分娩させ、妊娠期間、生存分娩仔数および死亡仔数、生存分娩仔の性別、外形異常の有無について観察した。

一腹当りの哺育仔数は生後4日に原則として無作為に雄4匹、雌4匹の計8匹とし、生後21日まで哺育させた。哺育期間中に耳介の開展（4日）、被毛の発生（7日）、切歯萌出（14日）、眼瞼開裂（16日）について観察した他、乳仔死亡数、4日齢哺育仔生存率（（生後4日齢生存仔数/出生日生存仔数）×100）、21日齢哺育仔生存率

（21日生存仔数/生後4日調整仔数）×100）を求めた。

哺育仔は生後21日に離乳させ、各母獣につき、原則として雌雄それぞれを4群に分けた。1群を離乳日に剖検し、残り3群を育成させ、所定の日齢において検査に供した。すなわち、1群は10週齢以降に母獣と同様の手順で交配し、雄の妊孕率（（妊孕能確認雄数/供試雄数）×100）および雌の妊娠率（（妊娠成立雌数/供試雌数）×100）を求めた。妊娠雌については、妊娠21日に帝王切開し母獣と同様に観察した。

別の1群は対照群と最高投与群を用い、行動・学習機能試験として、オープン・フィールドテストおよびスキナー・ボックスを用いた電撃回避学習試験を実施した。オープンフィールドテストは50W×50L×35H cmのフィールドの中央に動物を置き、中央区隔（15×15 cm）から動物の体が出完全に出るまでの中央滞在時間および3分間のフィールド内移動量（自発運動量）をユニテック電子株式会社製のUnimex counterで記録し、立ち上がり回数、排糞および排尿回数、異常行動の有無について調べた。電撃回避学習は小原産業株式会社製のスキナー・ボックスおよび刺激装置を用いた。弁別条件としては電撃刺激（75 V, a. c., max. 0.5 mA, 1 sec）に先立ちブザー音とランプ刺激（警告）を同時に提示し（5 sec）、警告期間中に動物がレバーを押せば電撃を回避できるように設定し、試行間隔25 sec、1時間を1セッションとして7セッションまで実施した。学習成績はセッションごとの回避率＝（ショック回避数/総警告回数）×100で示した。

残りの1群は離乳後の体重増加（週1回体重測定）、および10週齢における主要臓器（肝臓、腎臓、脾臓、心

Fig. 1 Body weight changes of F₀ female rats orally treated with KBT-1585

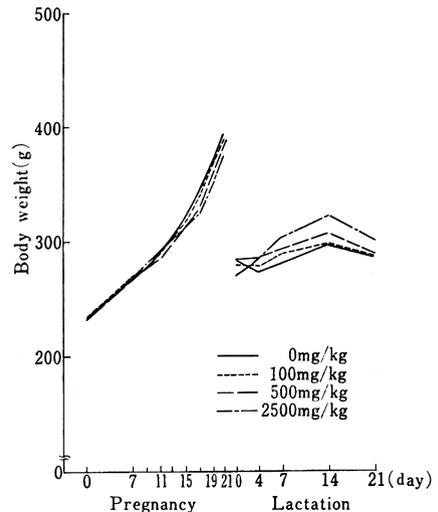
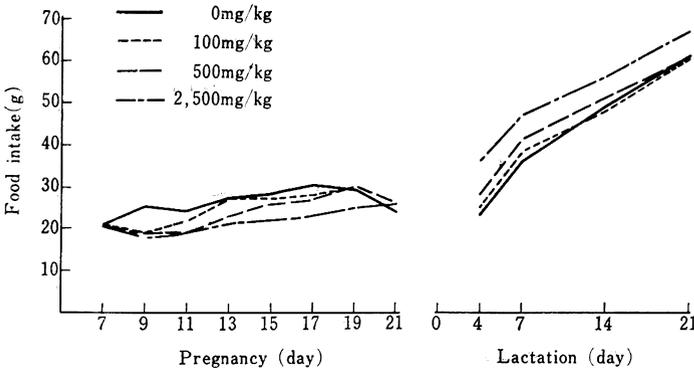
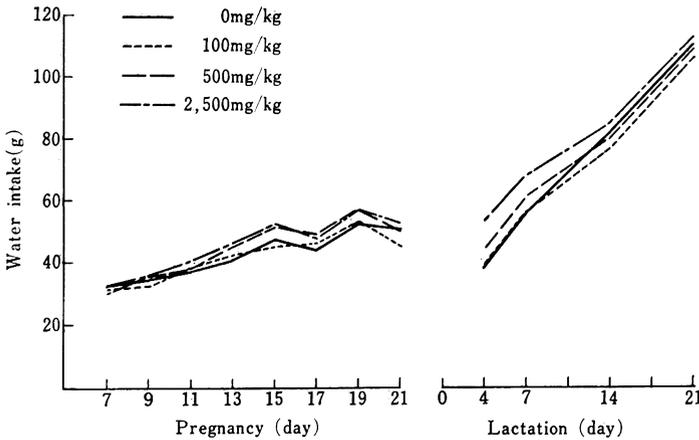


Fig. 2 Food intake of F₀ female rats orally treated with KBT-1585Fig. 3 Water intake of F₀ female rats orally treated with KBT-1585

臓、脳、卵巣あるいは精巣)の重量について測定した。

なお、試験に用いられたすべてのF₁動物について剖検を行なった。

4. 統計学的解析

各種検査値の有意差検定には、STUDENTのt検定および χ^2 検定を用いた。

II. 実験結果

1. 母獣に及ぼす影響

(1) 一般状態および死亡動物

最高投与量である2,500 mg/kg群において投与2~3日より全例の動物に軽~中等度の流涎が観察された。流涎は投与直後に発現する一過性のものであったが、投与日数の経過に伴い投与前からも認められるようになった。対照群で妊娠9日に1例死亡したが、動物取り扱いミスによるものであった。

(2) 体重の推移 (Fig. 1)

500 mg/kg群では妊娠13~17日、2,500 mg/kg群では妊娠15~21日の間、体重が対照群と比較して有意に

減少した。各投与群とも哺育期間中の体重には対照群との間に差が認められなかった。

(3) 摂餌量および飲水量 (Fig. 2, 3)

摂餌量については、各投与群とも投与開始後、対照群と比較して、投与量の増加に対応した減少が認められた。しかし、100 mg/kg群における減少は投与初期に限ってみられ、500 mg/kgおよび2,500 mg/kg両群においても投与終了後は対照群と同レベルまで回復した。

哺育期間の摂餌量は投与期間中とは逆に、500 mg/kgおよび2,500 mg/kg群では全哺育期間にわたってこの傾向が認められた。

飲水量については500 mg/kgおよび2,500 mg/kg群において投与開始後、対照群に比べ増加する傾向が認められ、投与終了後7日までこの傾向は続いた。100 mg/kg群では妊娠9日および21日の飲水量が対照群に比べ有意に減少した。

(4) 肉眼的病理検査および臓器重量

帝王切開時における剖検では、各投与群とも盲腸の膨大が認められた他、投与の影響と考えられる肉眼的所見はなかった。非特異的な病変として、腎表面に極く軽度な瘢痕形成が対照群を含めた各群で散見された。

臓器重量では、各投与群で盲腸重量の有意な増加が認められた他、500 mg/kgおよび2,500 mg/kgの両群で副腎重量が投与量に相関して増加した。

2. 胎仔 (F₁) に及ぼす影響

(1) 子宮内観察 (Table 1)

着床数、生存胎仔数、胎仔死亡率、性比、胎仔重量いずれにおいても各投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

(2) 外形検査 (Table 1)

外表異常は1例も観察されなかった。その他の軽度の変化としては、矮小仔が100 mg/kg、500 mg/kg群にそれぞれ1例 (いずれも0.4%) および2,500 mg/kg群に2例 (0.7%) 認められたが、いずれも低頻度であり、かつ用量依存性もなかった。

(3) 骨格検査 (Table 2, 3)

骨格異常としては頸椎椎弓癒合が対照群で2例 (1.5

Table 1 Cesarean section data for F₀ female rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg 19	100mg/kg 20	500mg/kg 20	2,500mg/kg 20
Number of dams				
Number of corpora lutea	15.8±3.2 (301)	16.4±1.7 (327)	17.1±2.4 (342)	16.9±2.7 (338)
Number of implants	14.1±3.7 (267)	14.5±1.9 (289)	15.1±2.1 (301)	14.9±2.1 (297)
Number of resorptions and deaths				
Early	(7)	(10)	(18)	(6)
Late	(3)	(3)	(3)	(2)
Total	(10)	(13)	(21)	(8)
Number of live fetuses	13.5±3.6 (257)	13.8±1.9 (276)	14.0±2.0 (280)	14.5±2.4 (289)
Sex ratio (Female/Male)	81 (115/142)	83 (125/151)	94 (136/144)	119 (157/132)
Mean fetal wt. [g]				
Female	5.1±0.3	5.0±0.2	5.0±0.2	5.0±0.3
Male	5.4±0.3	5.3±0.3	5.3±0.2	5.2±0.3
Number of fetuses with gross abnormalities	(0)	(0)	(0)	(0)
Number of fetuses with dwarf	(0)	(1)	(1)	(2)
Implantation rate ¹⁾	(267/301) 88.7%	(289/327) 88.4%	(301/342) 88.0%	(297/338) 87.9%
Fetal mortality ²⁾	(10/267) 3.7%	(13/289) 4.5%	(21/301) 7.0%	(8/297) 2.7%

() : Number of cases

1) : (Total implants/Total corpora lutea)×100

2) : (Total resorptions and deaths/Total implants)×100

The data present the mean ± S. D.

Table 2 Skeletal examination of F₁ fetuses from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg 19	100mg/kg 20	500mg/kg 20	2,500mg/kg 20
Number of dams examined	135	143	145	149
Number of fetuses examined	135	143	145	149
Abnormality				
Skull	0	0	0	0
Sternum	0	0	0	0
Vertebra	[2] 2 (1.5) ^{a,b}	0	0	[1] 2 (1.3) ^{b,c}
Rib	0	0	0	0
Coxa	0	0	0	0
Forelimb	0	0	0	0
Hindlimb	0	0	0	0
Total	[2] 2 (1.5)	0	0	[1] 2 (1.3)
Variation				
Number of pre-sacral vertebrae				
25	0	0	0	0
27	0	0	0	0
Number of ribs				
12	0	0	0	0
14	0	0	0	0
Carvical ribs	[1] 1 (0.7)	0	0	0
Asymmetric sternbrae	0	0	0	0
Supernumerary sternbrae	0	0	0	0

[] : Number of dams

() : %

^a : 4-5th cervical vertebral arches ; Fusion (right)^b : 5-6th cervical vertebral arches ; Fusion (right)^c : 5-6th cervical vertebral arches ; Fusion (right), 5th cervical vertebral arch ; Bipartite (left)

Table 3 Ossification status of F₁ fetuses from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg		100mg/kg		500mg/kg		2,500mg/kg	
	19	20	20	20	20	20	20	20
Number of dams examined	135		143		145		149	
Number of fetuses examined	135		143		145		149	
Skull	0		0		0		0	
Fetuses with poorly ossified:								
Squama occipitalis	0		0		0		0	
Sternum								
Fetuses with poorly ossified:								
2nd sternebra	0		[2] 2 (1.4)		[1] 1 (0.7)		[4] 5 (3.4)	
5th sternebra	[1] 1 (0.7)		[3] 3 (2.1)		[1] 1 (0.7)		[1] 1 (0.7)	
1st, 3rd, 4 or 6th sternebra	0		0		0		0	
Total	[1] 1 (0.7)		[5] 5 (3.5)		[2] 2 (1.4)		[5] 6 (4.0)	
Fetuses with unossified:								
2nd sternebra	0		0		0		0	
5th sternebra	0		0		0		0	
1st, 3rd, 4 or 6th sternebra	0		0		0		0	
Total	0		0		0		0	
Thoracic and lumbar vertebral body								
Dumbbell shaped	0		0		0		0	
Bipartite	0		0		0		0	
Small sized	0		0		0		0	
Others	0		0		0		0	
Total	0		0		0		0	
Average number of sacral and caudal vertebrae	11.4±0.7		11.1±0.6		11.0±0.6		11.0±0.6	
Forelimb								
Fetuses with 4 ossified metacarpal centers in both limbs	[19] 135 (100)		[20] 143 (100)		[20] 145 (100)		[20] 149 (100)	
Hindlimb								
Fetuses with 5 ossified metatarsal centers in both limbs	[19] 134 (99.3)		[20] 142 (99.3)		[20] 145 (100)		[20] 149 (100)	

[] : Number of dams
() : %

Table 4 Visceral examination of F₁ fetuses from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg	100mg/kg	500mg/kg	2,500mg/kg
	19	20	20	20
Number of dams examined	122	132	134	138
Number of fetuses examined				
Head				
Palate	0	0	0	0
Ear	0	0	0	0
Lateral ventricle	0	0	[1] 1 (0.7) ^{a)}	0
Eye	0	0	0	0
Nasal cavity	0	0	0	0
Thorax				
Diaphragm	0	0	0	0
Thymus	0	0	0	0
Lung	0	0	0	0
Aorta	0	0	0	0
Heart				
Status	0	0	0	0
Aortic valve	0	0	0	0
Pulmonary valve	0	0	0	0
Atrioventricular orifice	0	0	0	0
Abdomen				
Kidney				
Enlargement of renal pelvis	0	0	0	0
Hydroureter	[6] 7 (5.7)	[5] 9 (6.8)	[4] 6 (4.5)	[5] 8 (5.8)
Gonad	0	0	0	0

[] : Number of dams

() : %

^{a)} : Hydrocephaly

Table 5 Litter data for F₀ female rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg 10	100mg/kg 10	500mg/kg 10	2,500mg/kg 10
Number of dams	22.4	22.3	22.2	22.7
Duration of pregnancy [days]				
Number of delivered pups				
Total	12.7±4.2 (127)	13.2±1.9 (132)	12.4±2.1 (124)	14.6±1.5 (146)
Live	12.6±4.5 (126)	13.2±1.9 (132)	12.4±2.1 (124)	14.6±1.5 (146)
Sex ratio (Female/Male)	125 (70/ 56)	120 (72/ 60)	121 (68/ 56)	97 (72/ 74)
Mean pups wt. [g]				
Female	5.9±0.5	5.8±0.6	6.0±0.3	5.8±0.6
Male	6.5±0.4	6.2±0.4	6.4±0.3	6.4±0.6
Number of dead pups [day 0 to 4]	(5)	(3)	(0)	(1)
Number of implants	14.6±4.9 (146)	14.1±2.0 (141)	13.1±2.4 (131)	15.2±1.6 (152)
Parturition index ¹⁾	(126/146) 86.3%	(132/141) 93.6%	(124/131) 94.7%*	(146/152) 96.1%**
Day 4 survival index ²⁾	(122/126) 96.8%	(129/132) 97.7%	(124/124) 100 %*	(145/146) 99.3%

* Significantly different from control value at P<0.05

** Significantly different from control value at P<0.01

() : Total number

¹⁾ : (Total pups born alive / Total implants) × 100²⁾ : (Total live pups at day 4 / Total live pups at day 0) × 100

The data present the mean ± S. D.

Table 6 Body weight changes of F₁ new bornes from rats orally treated with KBT-I585

Groups	0 mg/kg	100mg/kg	500mg/kg	2,500mg/kg
Age [days]				
4 Female	9.6±1.1 (9, 36)	9.6±0.8 (10, 43)	10.0± 1.0(10, 42)	9.8±1.1 (10, 39)
Male	10.1±1.2 (9, 36)	10.3±1.0 (10, 37)	10.5± 0.9(10, 38)	10.6±1.1 (10, 41)
7 Female	15.1±1.6 (9, 36)	15.5±0.8 (10, 43)	15.9± 1.4(10, 42)	15.6±1.8 (10, 39)
Male	15.9±1.6 (9, 36)	16.4±1.4 (10, 37)	20.0±11.1(10, 38)	16.7±1.9 (10, 41)
14 Female	28.1±1.2 (9, 36)	28.4±2.0 (10, 43)	29.4± 1.5(10, 42)	29.1±2.4 (10, 39)
Male	29.3±1.6 (9, 36)	29.8±2.7 (10, 37)	30.8± 1.0(10, 38) *	31.0±2.1 (10, 41)
21 Female	43.7±2.6 (9, 36)	44.5±2.1 (10, 43)	45.1± 3.3(10, 42)	44.7±3.6 (10, 39)
Male	45.5±2.6 (9, 36)	46.4±3.5 (10, 37)	47.2± 2.4(10, 38)	48.0±3.2 (10, 41)
Day 21 survival index ^{b)}	(72/ 72)100.0%	(80/ 80)100.0%	(80/ 80)100.0%	(80/ 80)100.0%

* Significantly different from control value at P<0.05

() : Total dams, and pups

^{b)} : (Total live pups at day 21/Total live pups selected at day 4) ×100

The data present the mean ± S. D.

Table 7 Body weight changes of F₁ male offspring from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg	100mg/kg	500mg/kg	2,500mg/kg
Weeks of age				
3	46 ± 3 (9)	46 ± 4 (9)	46 ± 2 (9)	48 ± 4 (10)
4	68 ± 7 (9)	67 ± 5 (9)	67 ± 4 (9)	74 ± 10 (10)
5	105 ± 10 (9)	102 ± 11 (9)	105 ± 11 (9)	112 ± 14 (10)
6	153 ± 14 (9)	150 ± 14 (9)	155 ± 16 (9)	163 ± 19 (10)
7	204 ± 16 (9)	207 ± 13 (9)	210 ± 19 (9)	217 ± 22 (10)
8	257 ± 21 (9)	255 ± 13 (9)	265 ± 23 (9)	276 ± 26 (10)
9	300 ± 22 (9)	301 ± 12 (9)	312 ± 25 (9)	322 ± 29 (10)
10	342 ± 23 (9)	336 ± 15 (9)	347 ± 26 (9)	357 ± 31 (10)

() : Number of animals

The data present the mean ± S. D.

Table 8 Body weight changes of F₁ female offspring from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg	100mg/kg	500mg/kg	2,500mg/kg
Weeks of age				
3	44 ± 2 (9)	43 ± 4 (10)	44 ± 4 (10)	43 ± 4 (10)
4	61 ± 5 (9)	60 ± 3 (10)	63 ± 7 (10)	64 ± 8 (10)
5	92 ± 9 (9)	90 ± 5 (10)	94 ± 12 (10)	95 ± 13 (10)
6	134 ± 11 (9)	126 ± 8 (10)	134 ± 14 (10)	133 ± 14 (10)
7	166 ± 14 (9)	162 ± 10 (10)	169 ± 14 (10)	167 ± 15 (10)
8	191 ± 17 (9)	189 ± 14 (10)	194 ± 14 (10)	193 ± 16 (10)
9	206 ± 20 (9)	203 ± 14 (10)	209 ± 14 (10)	214 ± 20 (10)
10	223 ± 19 (9)	220 ± 15 (10)	227 ± 14 (10)	232 ± 23 (10)

() : Number of animals

The data present the mean ± S. D.

Table 9 Morphological differentiation of F₁ pups

Groups	0 mg/kg	100mg/kg	500mg/kg	2,500mg/kg
Auricular standing ^{a)} [4]	100.0 (123/123)	100.0 (129/129)	100.0 (124/124)	100.0 (145/145)
Hair growth [7]	100.0 (72/ 72)	100.0 (80/ 80)	100.0 (80/ 80)	100.0 (80/ 80)
Eruption of incisors [14]	100.0 (72/ 72)	100.0 (80/ 80)	100.0 (80/ 80)	100.0 (80/ 80)
Eyelid opening [16]	97.2 (70/ 72)	98.8 (79/ 80)	96.3 (77/ 80)	96.3 (77/ 80)

[] : Days of age

^{a)} : (No. of pups differentiated/No. of pups examined)×100

%), 2,500 mg/kg 群で1例 (0.7%), また, 頸椎椎弓分離が 2,500 mg/kg 群で1例 (0.7%) 認められた。

骨格変異としては, 対照群に頸肋が1例 (0.7%) 認められた。

胎子の化骨状態については胸骨核化骨不全が少数の胎子に観察されたが, 各投与群とも対照群に比べ有意ではなかった。化骨仙尾椎数および化骨指趾骨数等の各観察指数とも異常は認められなかった。

(4) 内臓検査 (Table 4)

内臓異常としては, 水頭 500 mg/kg 群で1例 (0.7%) 認められた他, 尿管拡張が対照群を含む各投与群で同程度の頻度で散見された (4.5~6.8%)。

3. 分娩, 哺育および出生仔 (F₁) に及ぼす影響

(1) 分娩, 哺育, および出生仔の成長分化 (Table 5, 6, 7, 8, 9)

妊娠期間は各投与群とも平均 22 日で対照群との間に差は認められず, 母獣 (F₀) の分娩状態および哺育行動にも異常は観察されなかった。また, 各投与群の生存出生仔数, 性比および新生仔体重も対照群に比べ著変はなかった。分娩率 (着床数に対する生存仔数の割合) および哺育仔の生後 4 日生存率は 500 mg/kg および 2,500 mg/kg 両群において対照群より有意に良好な成績が得られた。

哺育期間中における乳仔の体重増加については, 各投与群とも特記すべき変化は認められず, 哺育 4 日以降離乳までの間乳仔死亡は認められなかった。離乳後 10 週齢までの体重には対照群との間に差は認められず, 全ての群で一般状態および発育分化にも異常は認められなかった。

(2) 臓器検査 (Table 10, 11)

離乳仔の剖検では, 各投与群とも投与の影響とみられる肉眼的変化は認められなかった。また, 育成仔 (10 週

齢) における臓器重量では 2,500 mg/kg 群の雄で肝重量が対照群に比べ増加していたが軽度な変化であった。育成仔の肉眼的異常としては, 水腎症が 100 mg/kg, 2,500 mg/kg 両群で1例ずつ, 白内障が 2,500 mg/kg 群で1例, 計 3 例認められた。

(3) 行動・学習機能検査 (Table 12, 13, 14)

電撃回避学習検査においては, 対照群および投与群 (2,500 mg/kg) とも電撃ショックの回避率は 7 セッションで約 50% に達し, 群間で回避率に有意の差は認められなかった。

オープン・フィールドテストにおいては, 立ち上がり, 排尿, 排便, 中央滞在時間の各項目とも対照群と投与群の間で差異はなく, 居住ケージからフィールドに移した時の新環境に対する挙動は正常と考えられ, 異常な行動を示す動物は無かった。

(4) 生殖機能検査 (Table 15)

対照群の雄において, 1/9 例 (11.1%), 雌において 1/8 (12.5%) で生殖能の確認ができなかったが, 投与群では雌雄とも検査に用いた全例で生殖能が確認され, 妊娠も正常に維持された。妊娠 21 日の帝王切開の成績では, 着床数, 生存胎仔数, 性比, 胎仔体重および胎仔死亡率のいずれにおいても対照群と投与群の間に差は認められず, 胎仔の外形異常も観察されなかった。

III. 考 察

投与母獣における KBT-1585 投与の影響と考えられる明らかな所見は, 最高投与量である 2,500 mg/kg 群で観察された流涎, 500 mg/kg および 2,500 mg/kg 群でみられた体重増加抑制, 摂餌量の減少および飲水量の増加であった。流涎は本薬の苦味によるものと思われたが, 一過性であり, 投与の日数経過に伴って投与開始直前から発現するようになることから, 一部条件反射的な反応も含まれているものと思われた。体重増加抑制は

Table 10 Organ weight of F₁ male offspring from rats orally treated with KPT-1585

Groups Number of animals	0 mg/kg 9	100mg/kg 9	500mg/kg 9	2,500mg/kg 10
Body wt. [g]	342 ± 23	336 ± 15	347 ± 26	357 ± 31
Brain [mg]	1882 ± 32 (551 ± 32)	1849 ± 47 (551 ± 20)	1916 ± 53 (554 ± 46)	1912 ± 81 (538 ± 40)
Liver [g]	17.4 ± 1.1 (5.1 ± 0.2)	17.5 ± 1.6 (5.2 ± 0.3)	18.5 ± 2.5 (5.3 ± 0.5)	19.9 ± 3.0* (5.6 ± 0.5)*
Kidneys [mg]	2866 ± 246 (838 ± 65)	2867 ± 102 (855 ± 48)	3009 ± 163 (869 ± 51)	2979 ± 329 (833 ± 35)
Spleen [mg]	653 ± 84 (190 ± 16)	591 ± 85 (176 ± 22)	662 ± 70 (191 ± 19)	649 ± 93 (182 ± 24)
Heart [mg]	1041 ± 77 (304 ± 11)	1049 ± 60 (313 ± 13)	1081 ± 68 (312 ± 9)	1109 ± 86 (311 ± 11)
Testes [mg]	2779 ± 236 (812 ± 43)	2798 ± 185 (834 ± 55)	2870 ± 126 (832 ± 88)	2794 ± 171 (787 ± 77)

* Significantly different from control value at P < 0.05

() : Relative organ weight

Liver : (Organ weight / Body weight) × 100

Other organs : (Organ weight / Body weight) × 100,000

The data present the mean ± S. D.

Table 11 Organ weight of F₁ female offspring from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg 9	100mg/kg 10	500mg/kg 10	2,500mg/kg 10
Number of animals				
Body wt. [g]	223 ± 19	220 ± 15	227 ± 14	232 ± 23
Brain [mg]	1752 ± 69 (788 ± 56)	1772 ± 62 (807 ± 39)	1809 ± 53 (800 ± 40)	1757 ± 97 (763 ± 52)
Liver [g]	11.6 ± 0.9 (5.2 ± 0.2)	12.0 ± 1.4 (5.5 ± 0.5)	12.1 ± 1.7 (5.3 ± 0.5)	12.4 ± 1.5 (5.4 ± 0.4)
Kidneys [mg]	1794 ± 185 (803 ± 52)	1779 ± 152 (808 ± 40)	1802 ± 202 (794 ± 61)	1860 ± 206 (803 ± 33)
Spleen [mg]	520 ± 38 (234 ± 22)	518 ± 73 (235 ± 25)	551 ± 96 (243 ± 36)	535 ± 69 (233 ± 38)
Heart [mg]	733 ± 79 (328 ± 18)	710 ± 49 (323 ± 17)	742 ± 50 (328 ± 21)	770 ± 53 (333 ± 18)
Ovaries [mg]	82 ± 6 (37 ± 4)	79 ± 12 (36 ± 7)	83 ± 12 (36 ± 4)	88 ± 11 (38 ± 5)

() : Relative organ weight

Liver : (Organ weight/Body weight) × 100

Other organs : (Organ weight/Body weight) × 100,000

The data present the mean ± S. D.

Table 12 Avoidance responses of F₁ male offspring from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg	2,500mg/kg
Session		
1	12.0 ± 9.0 (9)	7.9 ± 5.4 (10)
2	26.9 ± 21.1 (9)	19.3 ± 24.1 (10)
3	44.7 ± 26.1 (9)	27.4 ± 25.7 (10)
4	46.8 ± 28.5 (9)	40.9 ± 37.1 (10)
5	51.4 ± 26.2 (9)	50.4 ± 39.3 (10)
6	56.8 ± 31.7 (9)	52.7 ± 39.5 (10)
7	59.7 ± 33.4 (9)	54.0 ± 40.8 (10)

(): Number of animals

The data present the mean ± S.D. (Avoidance rate %)

Table 13 Open-field test for F₁ male offspring from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg	2,500mg/kg
Stand up	28 ± 10 (9)	28 ± 6 (10)
Urination	8 ± 7 (9)	8 ± 7 (10)
Evacuation	3 ± 2 (9)	1 ± 2 (10)
Stand back	0 ± 0 (9)	0 ± 0 (10)
Sedation time (s) in center circle	2 ± 1 (9)	3 ± 2 (10)

(): Number of animals

The data present the mean ± S.D.

Table 14 Open-field test for F₁ female offspring from rats orally treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg	2,500mg/kg
Stand up	31 ± 6 (9)	27 ± 5 (10)
Urination	5 ± 5 (9)	3 ± 2 (10)
Evacuation	1 ± 2 (9)	1 ± 1 (10)
Stand back	0 ± 0 (9)	0 ± 0 (10)
Sedation time (s) in center circle	4 ± 3 (9)	3 ± 2 (10)

(): Number of animals

The data present the mean ± S.D.

Table 15 Cesarean section data of F₁ female offspring from rats treated with KBT-1585

Groups	0 mg/kg 7	100mg/kg 10	500mg/kg 10	2,500mg/kg 10
Number of dams				
Number of corpora lutea	16.1±1.8 (113)	15.9±2.6 (159)	15.8±1.9 (158)	16.9±2.8 (169)
Number of implants	12.9±5.7 (90)	14.2±1.0 (142)	13.5±3.4 (135)	13.9±2.2 (139)
Number of resorptions and deaths				
Early	(6)	(6)	(9)	(10)
Late	(0)	(0)	(2)	(0)
Total	(6)	(6)	(11)	(10)
Number of live fetuses	12.0±6.0 (84)	13.6±1.4 (136)	12.4±3.2 (124)	12.9±2.0 (129)
Sex ratio (Female/Male)	115 (45/ 39)	103 (69/ 67)	100 (62/ 62)	174 (82/ 47)
Mean fetal wt. [g]				
Female	5.3±0.4	5.1±0.2	5.2±0.1	5.2±0.2
Male	5.5±0.4	5.4±0.3	5.6±0.2	5.5±0.3
Number of fetuses with gross abnormalities	(0)	(0)	(0)	(0)
Implantation rate ¹⁾	(90/113) 79.6%	(142/159) 89.3%*	(135/158) 85.4%	(139/169) 82.2%
Fetal mortality ²⁾	(6/ 90) 6.7%	(6/142) 4.2%	(11/135) 8.1%	(10/139) 7.2%

* Significantly different from control value at P<0.05

() : Total number

1) : (Total implants/Total corpora lutea) ×100

2) : (Total resorptions and deaths/Total implants)×100

The data present the mean ± S. D.

両群とも軽微であり、対照群と比較して約5%程度の抑制にすぎず、投与開始直後から観察された摂餌量の減少を反映したものと思われた。

これらの所見は母獣の盲腸重量および副腎重量の増加とも合わせて、竹原らのラット1か月毒性試験⁹⁾の結果と類似しており、それ以外に、妊娠ラットに投与したことによる特異的な変化は認められなかった。

胎仔の外表、骨格および内臓検査においては、本薬に起因すると考えられる奇形は全く観察されず、化骨状態も正常範囲にあり、本薬が胎仔に催奇形作用および発育抑制作用を示す可能性は無いものと思われた。また、F₁動物の生後発達でも体重増加、生殖機能、および行動・学習機能のいずれにおいても薬剤投与の影響と思われる変化は認められず、剖検において少数例に水腎と白内障が発現したが、いずれも偶発的異常と判断された。

以上のように、KBT-1585は500 mg/kgおよび2,500 mg/kgの投与量において、投与母獣に軽度な流涎、体重増加抑制、摂餌量減少、飲水量増加および盲腸の膨大などの変化を発現させたが、妊娠、分娩、哺育ならびに次世代動物の形態および機能的発達に対しては影響を及

ぼさないものと結論された。したがって、本試験条件下で胎仔および出生仔に対する最大無作用量は2,500 mg/kgと判断された。

文 献

- 1) SAKAMOTO F., IKEDA S. & G. TSUKAMOTO : Studies on prodrugs. II. Preparation and characterization of (5-Substituted-2-oxo-1, 3-dioxolen-4-yl) methyl ester of ampicillin. Chem. Pharm. Bull, 投稿中
- 2) DAWSON, A. B. : A note on the staining of skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain Tech. I : 123~124, 1926
- 3) WILSON, J. G. : Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals. In Teratology (WILSON, J. G. and WARKANY, J. P. eds) p. 262. Chicago, Univ. Press, Chicago and London. 1965
- 4) 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 : 22~44, 1974
- 5) 山手文至, 他 : Lenampicillin hydrochloride (KB T-1585) のラットにおける亜急性毒性および回復試験。Chemotherapy, 投稿中

TERATOGENICITY STUDY IN RATS BY ORAL ADMINISTRATION OF LENAMPICILLIN HYDROCHLORIDE (KBT-1585)

KIYONORI TAUCHI, NORIYUKI IGARASHI, TSUTOMU TAKESHIMA and KONSEI KOU

Imamichi Institute for Animal Reproduction

TAKUO AOYAMA

Research Laboratory, Torii & Co., Ltd.

TAKASHI NOSE

Pharmaceuticals Research Center Kanebo, Ltd.

Study on teratological effects of lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) in pregnant Wistar-Imamichi rats carried out by repeated oral administration of a daily dose of 100, 500, 2,500 mg/kg during organogenetic period from day 7 to 17 of gestation. The main results are as follows ;

1. Salivation in the 2,500 mg/kg/day group, and slight suppression in body weight gain, decrease in food consumption, increase in water intake and enlargement of cecum in the 500 and 2,500 mg/kg/day groups were observed.

2. As to the cesarean section findings, no changes attributable to lenampicillin treatment were observed.

3. In the observations of (F₁) offspring, no significant difference was observed between the treated groups and the control group in terms of survival body weight gain, reproductive performance, behavior and learning ability.

From the findings mentioned above, it is concluded that the maximum non-effect level on the fetuses and offspring is 2,500 mg/kg under the present experimental condition.