

Sultamicillin tosilate のラット生殖試験

堀本 政夫・大槻 勲夫

台糖ファイザー株式会社新薬開発センター薬理研究所

Sprague-Dawley 系ラットに sultamicillin tosilate (SBTPC) 600mg/kg, 300mg/kg, 100mg/kg を経口投与し、生殖に及ぼす影響を検討した。

1) 雄ラットに SBTPC を63日間、雌ラットには14日間経口投与した後交配させ、雄には交尾の成立まで、雌には妊娠7日まで投与を継続した。いずれの投与群でも交尾率、受胎率、黄体数、着床数、胎仔死亡率、生存胎仔数及び胎仔体重などには薬物による影響は認められなかった。また、胎仔の外観、内臓及び骨格にも薬物投与に関連した異常は認められなかった。

2) 妊娠ラットに SBTPC を妊娠7日から17日まで経口投与した。妊娠末期母体での黄体数、着床数、胎仔死亡率などは投与群と対照群で差はなく、妊娠末期胎仔では薬物投与に起因する奇形は認められなかった。出生仔は600mg/kg 群で生後4日の生存率のみが低下したが、300mg/kg 以下の群では自然分娩母体及び出生仔に対する影響は認められなかった。

3) 妊娠ラットに SBTPC を妊娠17日から分娩後21日まで投与した。いずれの投与群でも妊娠期間、分娩及び哺育状態に異常は認められなかった。出生仔の生後発育においても薬物投与による影響は認められなかった。

以上の成績から、SBTPC には催奇形作用は認められず、最大無影響量は妊娠前及び妊娠初期投与試験、周産期及び授乳期投与試験では600mg/kg、胎仔の器官形成期投与試験では300mg/kg とみられる。

Sultamicillin tosilate (SBTPC) は1979年、米国 Pfizer 社で開発された、経口半合成 β -lactam 剤で、ampicillin (ABPC) と sulbactam (SBT) をエステル結合し、トシル塩としたものである (Fig. 1)。

SBTPC は、経口投与により腸管から吸収され生体内では当量の SBT と ABPC に解離し、それぞれを単独で経口投与したときよりも、高い血中濃度が得られる。

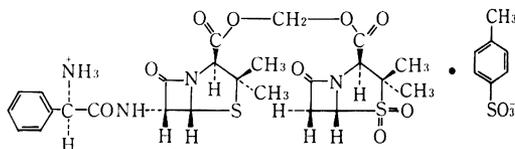
今回、我々は SBTPC をラットに経口投与し、妊娠前及び妊娠初期投与試験、胎仔の器官形成期投与試験、周産期及び授乳期投与試験を実施したのでその成績を報告する。

I. 試験材料及び試験方法

5～9週令の Sprague-Dawley 系ラットを静岡県実験動物農業協同組合より購入し、当所で1週間以上飼育したのち使用した。固型飼料(雌ラットには OA-2、雄ラットには交配期間中は OA-2、その他の期間中は CE-2、日本クレア社)及び飲料水は自由に摂取させた。飼育室は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ に保った。

妊娠ラットを得るため、未経産の雌と雄を1対1にし、終夜(約15時間)同居させた。翌朝、陰栓が認められたもの、または陰垢を鏡検し、精子が認められたものを交

Fig. 1 Chemical structure of Sultamicillin tosilate



尾したものとみなし、この日を妊娠0日とした。

投与経路は臨床上の適用に合わせ経口とした。SBTPC は水に溶けないため0.15% sodium carboxymethylcellulose 溶液 (CMC) に懸濁した後、金属製胃ゾンテを用いて1日1回強制経口投与した。対照群には0.15% CMC 液を投与した。

SBTPC の投与量の設定には、先に実施したラット経口6カ月毒性試験の雄を用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験の成績を参考とした。この試験では300mg/kg 以上の群で妊娠11日から13日にかけて母体の死亡例が多発した(投与過誤による死亡を除く)。しかし、その後300mg/kg を追加した結果、この群での死亡例は投与過誤による1例のみであったため、今回の試験では最高用量

として600mg(力価)/kgを選び、中間用量には300mg/kg、低用量には100mg/kgの3段階を設定した。

1. 妊娠前及び妊娠初期投与試験

SBTPCを6週令の雄ラット各群28匹に63日間経口投与し、各群28匹の10週令の雌ラットに1日1回14日間経口投与したものと、同じ用量段階の雌雄を1対1で交尾確認日まで、または最長14日間同居させた。薬物投与は雄では交尾の成立まで、雌では妊娠7日まで継続した。交尾率及び受胎率は次式により求めた。

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾数}}{\text{交配数}} \times 100$$

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠数}}{\text{交尾数}} \times 100$$

雌ラットでは、一般症状を毎日観察し、体重及び飼料摂取量の測定を交尾前は週2回、交尾が成立したものについては妊娠0, 3, 5, 7, 9, 12, 15, 18及び21日に行った。

妊娠21日に母体全例を頸椎脱臼により屠殺開腹し、黄体数、着床数、生存胎仔数及び死亡吸収胚数を調べ、胎盤重量を測定した。生存胎仔については体重・体長・尾長の測定、性別判定、外表観察を行った。

1腹の生存胎仔数のおよそ2/3は95% ethanolで固定して、Dawson法²⁾に準じてalizarin red S染色骨格透明標本を作製し、実体顕微鏡により骨格異常、化骨進行度(第5胸骨分節、尾椎)、骨格変異(頸肋骨の有無、胸骨分節、肋骨数)を調べた。残りの胎仔はBouin液で固定し、Wilson³⁾及び西村⁴⁾の方法に準じて内臓諸臓器を観察した。

2. 胎仔の器官形成期投与試験

10週令のラットを妊娠させ、各群37～38匹にSBTPCを妊娠7日から17日まで1日1回経口投与した。

母体については妊娠及び哺育期間を通じて、一般症状を毎日観察し、体重及び飼料摂取量は妊娠0, 3, 5, 7, 9, 12, 15, 17, 19, 21日と分娩後1, 3, 6, 9, 12, 15, 18及び21日に測定した。

a) 妊娠末期胎仔 (F₁)

母体各群37～38匹のうち22～24匹を妊娠21日に屠殺開腹し、前項に準じて生存胎仔及び死亡吸収胚を観察した。生存胎仔の骨格及び内臓観察も前項に準じて実施した。

b) 出生仔 (F₁)

妊娠21日に屠殺しなかった母体各14～15匹は自然分娩させ、分娩発見直後に出生仔及び死産仔数を記録し、出生仔の体重測定、性別判定、外表観察(口腔内を含む)を行い、そのまま母体に戻して哺育させた。

出生仔は生後4日に体重を測定したのち、1腹当たり8匹(原則として雌雄4匹ずつ)を残し、他の出生仔を淘汰した。その後は、生後1～8週まで、週1回体重測定を行うとともに、生後4日生存率(生後4日の生存仔数/出生時生存仔数×100)、離乳率(生後21日の生存仔数/淘汰後の仔数×100)及び生後56日生存率(生後56日の生存仔数/淘汰後の仔数×100)を算出した。発育分化の指標として耳介開展、下切歯萌出、腹部発毛、眼瞼開裂、精巣下降、膈開口の状態を毎日観察した。

出生仔は生後3週に離乳させ、離乳時にはPreyer耳介反射により聴覚を調べ、離乳後は出生仔の雌雄を分離して飼育し、母体は出生仔の離乳と同時に屠殺し、子宮の着床痕数を調べるとともに胸部諸臓器を観察した。

生後4～5週には1腹当たり雌雄2匹ずつ出生仔を選び、open field法⁵⁾により情動性を調べ、さらに1腹当たり1匹の出生仔についてwater T-maze試験⁶⁾により学習能力を調べた。

生後8～9週には生殖能力を調べるため、1腹当たり雌雄2匹ずつを選んで交配させた。交尾した雌(F₁)は全例妊娠21日に屠殺し、黄体数、着床数、生存胎仔(F₂)数及び死亡胎仔数を調べた。

残りの出生仔は生後10～12週目に屠殺剖検し、特に内臓を詳細に観察した。なお、内臓観察前に同腹の雌雄各1匹ずつを選び、超軟X線装置(Softex CMB型)により骨格異常の有無も調べた。

3. 周産期及び授乳期投与試験

10週令の妊娠ラット各群22～24匹に、SBTPCを妊娠17日から分娩後21日まで1日1回経口投与し、全例分娩哺育させた。

母体は妊娠、哺育期間を通じて一般症状を毎日観察し、体重及び飼料摂取量は妊娠0, 3, 5, 7, 9, 12, 15, 17, 19, 21日と分娩後1, 3, 6, 9, 12, 15, 18及び21日に測定した。出生仔は前項に準じて、成長、発達及び生殖能力などについて調べた。

II. 試験成績

1. 妊娠前及び妊娠初期投与試験

a) 母体 (F₀)

試験期間中を通じて、投与群、対照群ともに流産や死亡は認められなかった。一般症状としては投与群の一部の動物では投与開始数日後より投与期間中を通じて、時に軟便～下痢を呈するものも認められたが、妊娠末期ではいずれの群でも特記すべき変化は認められなかった。

母体の体重変化は、600mg/kg群では妊娠0日より15日頃まで軽度の増加抑制がみられ、300mg/kg群では投

与10日(交配5日前)頃より妊娠12日にかけて、軽度の体重増加抑制がみられた。しかしその後は順調な増加を示し、いずれの群も妊娠末期には、対照群と有意な差は認められなかった。

飼料摂取量は投与群では投与開始後より、投与7日(交配8日前)頃まで対照群に比べて軽度に減少した。しかし、いずれの投与群も妊娠末期には対照群と有意な差は認められなかった。

交尾率は600mg/kg群(80.8%)及び300mg/kg群(89.3%)では対照群の96.4%に比べてやや低かったが、有意な差はなく、100mg/kg群(100%)では対照群と差は認められなかった。

受胎率も投与群(95.2~100%)と対照群(88.9%)で有意な差は認められなかった(Table 1)。

妊娠21日目の母体の剖検では、内臓諸臓器に異常所見は観察されなかった。

b) 妊娠末期胎仔(F₁)

1腹当たりの平均黄体数、平均着床数及び平均生存胎仔数、胎仔死亡率、平均胎盤重量は、投与群と対照群で有意な差は認められなかった。

生存胎仔の平均体重は、300mg/kg群(4.96g)では対照群(4.87g)に比べて重かったが、600mg/kg群(4.91g)及び100mg/kg群(4.84g)ではほとんど差は認められなかった。平均体長及び尾長も体重の重かった300mg/kg群で対照群よりわずかに大きかったが、他の群では差は認められなかった。

外表異常は脳ヘルニアが600mg/kg群に1例認められたのみであり、内臓異常としては片側性腎盂拡張が100mg/kg群及び対照群に各3例、600mg/kg群に2例、300mg/kg群に1例散見された。骨格異常は肋骨癒合、頸椎の椎弓の癒合及び胸骨分節の癒合の合併例が、対照群に1例、波状肋骨及び肋骨欠損が300mg/kg群に各1例認められた(Table 1)。

化骨進行状態のうち、上後頭骨の化骨不全を示す胎仔は、いずれの群にも認められず、第5胸骨分節の未化骨又は化骨不全を示す胎仔の出現頻度は投与群(4.5~10.5%)では対照群(19.6%)よりも低く、その他の化骨進行度及び骨格変異の出現頻度にも投与群と対照群で差は認められなかった(Table 1)。

2. 胎仔の器官形成期投与試験

a) 母体(F₀)

投与群の母体体重は対照群に比べて、特に差はみられなかった。飼料摂取量は投与群で投与期間中対照群に比べて軽度に低下した。

母体の流産や死亡は投与群、対照群ともに認められず、一般症状にも特に変化は認められなかった。

妊娠末期及び出生仔(F₁)離乳後の母体(F₀)の剖検では、600mg/kg群及び300mg/kg群では、対照群に比べて盲腸の軽度膨大がみられたほかには特に変化はなかった。

b) 妊娠末期胎仔(F₁)

1腹当たりの平均黄体数、着床数、胎仔死亡率、平均生存胎仔数及び胎盤重量も投与群と対照群で差は認められなかった。

生存胎仔の平均体重、体長及び尾長も投与群と対照群との間に差は認められなかった。

外表異常としては600mg/kg群に外脳を伴う平行性二重体、100mg/kg群に全身浮腫を各1例認めた。内臓異常としては100mg/kg群で片側性腎盂拡張2例、両側性無眼球症1例、対照群では両側性腎盂拡張1例がみられたが、骨格異常は1例も認められなかった。

化骨進行度及び骨格変異の出現頻度も投与群と対照群で差は認められなかった(Table 2)。

c) 出生仔(F₁)

自然分娩母体(F₀)の平均妊娠期間は、投与群と対照群で差はなく、1腹当たりの平均着床数、平均出生仔(F₁)数、出生直後の平均体重も投与群と対照群との間に差は認められなかった。死亡胎仔、死産仔の発現頻度は300mg/kg群では4.4%あり、対照群の9.8%に比べて有意に低かったが、その他の群では対照群との差は認められなかった。

生後4日の生存率は、600mg/kg群では83.6%であり、対照群の95.1%に比べて低下したが、300mg/kg群及び100mg/kg群では対照群との間に差は認められなかった。生後21日の離乳率及び生後8週の生存率は各投与群とも対照群と差はみられなかった(Table 3)。

生後8週までの体重推移は100mg/kg群で生後35日までは対照群に比べやや抑制されたが、その後は対照群と同様に増加した。600mg/kg群及び100mg/kg群は対照群と同様の推移を示した。

出生仔(F₁)の発育分化、情動性、学習習得状態についても投与群と対照群で差はみられなかった。

出生仔(F₁)の出生直後の外表観察では各投与群、対照群とも異常は1例も認められなかった。生後10週あるいは交配試験終了後の屠殺剖検で、両側性腎盂拡張が600mg/kg群及び対照群に各1例、片側性腎盂拡張が100mg/kg群に1例、対照群に2例、片側性精巣萎縮が600mg/kg群及び300mg/kg群に各1例、片側性精巣欠

Table 1 Fertility and fetal development of rats treated orally with sultamicillin from day 14 before mating to day 7 of gestation

| Dose | Control | 100 mg/kg/day | 300 mg/kg/day | 600 mg/kg/day |
|---|-------------|---------------|----------------|---------------|
| No. of females mated | 28 | 26 | 28 | 26 |
| No. of females copulated (%) ¹⁾ | 27 (96.4) | 26 (100) | 25 (89.3) | 21 (80.8) |
| No. of females pregnant (%) ²⁾ | 24 (88.9) | 26 (100) | 25 (100) | 20 (95.2) |
| No. of dams died | 0 | 0 | 0 | 0 |
| No. of corpora lutea total | 372 | 385 | 371 | 295 |
| average per litter ³⁾ | 15.5 ± 0.4 | 14.8 ± 0.2 | 14.8 ± 0.3 | 14.8 ± 0.3 |
| No. of implantations total | 337 | 378 | 345 | 385 |
| average per litter ³⁾ | 14.0 ± 0.7 | 14.5 ± 0.3 | 13.8 ± 0.5 | 14.3 ± 0.4 |
| Average placental weight (mg) ³⁾ | 411 ± 3 | 416 ± 3 | 410 ± 3 | 416 ± 4 |
| Total number of dead fetuses (%) ⁴⁾ | 20 (5.9) | 24 (6.3) | 13 (3.8) | 13 (4.6) |
| No. of live fetuses total | 317 | 354 | 332 | 272 |
| average per litter ³⁾ | 13.2 ± 0.7 | 13.6 ± 0.2 | 13.3 ± 0.5 | 13.6 ± 0.5 |
| Average fetal body weight (g) ³⁾ | 4.87 ± 0.02 | 4.84 ± 0.02 | 4.96 ± 0.02*** | 4.91 ± 0.02 |
| Average fetal crown-rump length (mm) ³⁾ | 46.3 ± 0.1 | 46.2 ± 0.1 | 46.5 ± 0.1* | 46.3 ± 0.1 |
| Average fetal tail length (mm) ³⁾ | 14.9 ± 0 | 14.9 ± 0 | 15.0 ± 0** | 14.8 ± 0 |
| No. of fetuses with external malformations /No. of fetuses examined | 0/317 | 0/354 | 0/332 | 1d/272 |
| No. of fetuses with visceral malformations /No. of fetuses examined | 3b)/98 | 3b)/107 | 1b)/104 | 2b)/84 |
| No. of fetuses with skeletal malformations /No. of fetuses examined | 1c)/219 | 0/247 | 2d)e)/228 | 0/188 |
| No. of fetuses with absent or rudimentary 5th sternebra (%) | 43 (19.6) | 11 (4.5)*** | 24 (10.5)** | 19 (10.1)** |
| Average No. of ossified caudal vertebrae ⁴⁾ | 8.5 ± 0.1 | 8.5 ± 0.1 | 8.7 ± 0.1 | 8.6 ± 0.1 |
| Skeletal variation | | | | |
| No. of fetuses with cervical rib | 1 | 2 | 4 | 2 |
| extra 14th rib | 3 | 7 | 0 | 8 |
| asymmetry of sternebrae | 0 | 2 | 0 | 0 |
| shortened 13th rib | 2 | 0 | 1 | 0 |
| accessory sternebra | 1 | 0 | 0 | 0 |
| splitting of vertebral arches or bodies | 1 | 0 | 0 | 1 |

1) (No. of females copulated/No. of females mated) × 100
 2) (No. of pregnancies/No. of copulations) × 100
 3) Values represent the means and standard errors
 4) (No. of fetuses died/No. of implantations) × 100
 Type of malformation a) Encephalocele b) Unilateral dilation of the renal pelvis
 c) Fusion of the ribs and fusion of the vertebral arches d) Wavy ribs e) Absence of the rib
 *, ** and *** indicate significant levels of 5%, 1% and 0.1%, respectively

Table 2 Development of fetuses from pregnant rats treated orally with sultamicillin from day 7 to day 17 of gestation

| Dose | 0 mg/kg/day | 100 mg/kg/day | 300 mg/kg/day | 600 mg/kg/day |
|---|--|--|---------------|--------------------------|
| No. of dams treated | 24 | 24 | 22 | 24 |
| No. of dams died | 0 | 0 | 0 | 0 |
| No. of corpora lutea total | 389 | 388 | 359 | 407 |
| average per litter | 16.2 ± 0.4 | 16.2 ± 0.3 | 16.3 ± 0.3 | 17.0 ± 0.4 |
| No. of implantations total | 337 | 361 | 323 | 357 |
| average per litter | 14.0 ± 0.7 | 15.0 ± 0.3 | 14.7 ± 0.5 | 14.9 ± 0.4 |
| Average placental weight (mg) | 372 ± 3 | 374 ± 3 | 370 ± 3 | 376 ± 3 |
| Total No. of dead fetuses (%) | 16 (4.7) | 10 (2.8) | 21 (6.5) | 13 (3.6) |
| No. of live fetuses total | 321 | 351 | 302 | 344 |
| average per litter | 13.4 ± 0.7 | 14.6 ± 0.3 | 13.7 ± 0.5 | 14.3 ± 0.4 [†] |
| Average fetal body weight (g) | 4.84 ± 0.02 | 4.81 ± 0.02 | 4.79 ± 0.02 | 4.79 ± 0.02 [†] |
| Average fetal crown-rump length (mm) | 46.3 ± 0.1 | 46.3 ± 0.1 | 46.1 ± 0.1 | 46.1 ± 0.1 [†] |
| Average fetal tail length (mm) | 15.0 ± 0 | 15.0 ± 0 | 15.0 ± 0 | 15.0 ± 0 [†] |
| No. of fetuses with external malformations /No. of fetuses examined | 0/321 | 1 ^a /351 | 0/302 | 1 ^b /344 |
| No. of fetuses with visceral malformations /No. of fetuses examined | 1 ^c /98 | 3 (2 ^d), 1 ^e /109 | 0/93 | 0/106 |
| No. of fetuses with skeletal malformations /No. of fetuses examined | 0/223 | 0/242 | 0/209 | 0/238 |
| No. of fetuses with absent or rudimentary 5th sternbra (%) | 13 (5.8) | 18 (7.4) | 20 (9.6) | 10 (4.2) |
| Average No. of ossified caudal vertebrae | 7.3 ± 0.1 | 7.2 ± 0.1 | 7.4 ± 0.1 | 7.4 ± 0.1 |
| Skeletal variation | | | | |
| No. of fetuses with cervical rib | 1 | 3 | 1 | 2 |
| extra 14th rib | 0 | 0 | 0 | 2 |
| asymmetry of sternbrae | 0 | 1 | 0 | 0 |
| shortened 13th rib | 2 | 4 | 2 | 0 |
| | | | 3 (1.4) | 4 (1.7) |
| | | | | |
| Type of malformations | a) General edema | b) Exencephaly and duplicitas parallera | | |
| | c) Bilateral dilatation of the renal pelvis | | | |
| | d) Unilateral dilatation of the renal pelvis | | | |
| | e) Bilateral anophthalmia | f) Splitting and fusion of the sternbrae | | |

† : Except for the malformed fetus

Table 3 Postnatal development of F₁ rat offspring delivered from dams treated orally with sultamicillin from day 7 to day 17 of gestation

| Dose | Control | 100 mg/kg/day | 300 mg/kg/day | 600 mg/kg/day |
|---|-------------|---------------|---------------|------------------|
| No. of dams treated | 14 | 14 | 15 | 14 |
| No. of dams died | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Length of pregnancy (days) | | | | |
| average per litter ¹⁾ | 21.7 ± 0.2 | 21.5 ± 0.1 | 21.6 ± 0.1 | 21.6 ± 0.2 |
| range | 21-23 | 21-22 | 21-22 | 21-23 |
| No. of implantations | | | | |
| total | 204 | 214 | 225 | 206 |
| average per litter ¹⁾ | 14.6 ± 0.4 | 15.3 ± 0.4 | 15.0 ± 0.3 | 14.7 ± 0.3 |
| Total No. of resorptions | 18 | 12 | 10 | 12 |
| Total No. of stillborns | 2 | 2 | 0 | 11 |
| | (9.8) | (6.5) | (4.4)* | (11.2) |
| No. of F ₁ live newborns at birth | | | | |
| total | 184 | 200 | 215 | 183 |
| average per litter ¹⁾ | 13.1 ± 0.6 | 14.3 ± 0.5 | 14.3 ± 0.3 | 13.1 ± 0.4 |
| Average body weight of F ₁ live newborns (g) ¹⁾ | 5.32 ± 0.04 | 5.34 ± 0.03 | 5.29 ± 0.03 | 5.28 ± 0.03 |
| Total No. of F ₁ offspring | | | | |
| day 4 after birth (%) ²⁾ | 175 (95.1) | 194 (97.0) | 210 (97.7) | 153 (83.6)*** |
| after culling | 110 | 112 | 120 | 96 |
| day 21 after birth (%) ³⁾ | 108 (98.2) | 112 (100.0) | 120 (100.0) | 96 (100.0) |
| day 56 after birth (%) ⁴⁾ | 108 (100.0) | 112 (100.0) | 120 (100.0) | 96 (100.0) |
| No. of F ₁ offspring with | | | | |
| external malformations | 0 | 0 | 0 | 0 |
| visceral malformations | 3 (1a), 2b) | 1b) | 1c) | 4 (1a), 1c), 2d) |
| skeletal malformations | 0 | 0 | 0 | 0 |

1) Values represent the means and standard errors

2) (No. of offspring on day 4 after birth/No. of live newborns) × 100

3) (No. of offspring on day 21 after birth/No. of offspring after culling on day 4 after birth) × 100

4) (No. of offspring on day 56 after birth/No. of offspring on day 21 after birth) × 100

Type of malformation: a) Bilateral dilation of the renal pelvis

b) Unilateral dilation of the renal pelvis

c) Unilateral testicular hypoplasia

d) Unilateral testicular agenesis

* and *** indicate significant levels of 5% and 0.1%, respectively

損か600mg/kg群に2例認められた。なお、超軟X線写真による骨格所見では全例に異常を認めなかった (Table 3)。

出生仔 (F₁) の生後8週の交配試験で、交尾率及び受胎率は投与群と対照群で有意な差は認められなかった。1腹当たりの平均黄体数及び平均着床数は投与群と対照群との間に差はなかった。胎盤重量は600mg/kg群では397mg/kgで、対照群386mg/kgに比べて有意に増加したが、その差は軽度であり、300mg/kg以下の群では対照群と有意差は認められなかった。胎仔 (F₂) 死亡率、平均生存胎仔 (F₂) 数は投与群と対照群との間に差はみられなかった。

生存胎仔 (F₂) 体重は、600mg/kg (5.20g) では対照群 (4.94g) に比べて有意に高かったが、他の群では差は認められなかった。生存胎仔 (F₂) の体長、尾長については、300mg/kg群でのみ対照群に比べてやや小さかったが、用量との相関性もなく、その他の投与群では対照群と差はなかった。胎仔 (F₂) の外表異常は300mg/kg群に脳ヘルニア、100mg/kg群に曲尾が各1例認められたのみであった (Table 3)。

3. 周産期及び授乳期投与試験

a) 母体

投与群、対照群とも試験期間を通じて母体の流産及び死亡はみられず、一般症状も特別な変化は認められなかった。体重増加は投与群、対照群ではほぼ同様の経過をたどった。飼料摂取量は投与群で投与開始直後より妊娠末期にかけて有意に減少したが、分娩後は対照群と差はなかった。平均妊娠期間、1腹当たりの平均着床数、死亡胎仔・死産仔の出現頻度は、投与群と対照群では差は認められなかった (Table 4)。離乳後の母体の剖検では投与群で盲腸が軽度に膨大している例がみられた以外、特記すべき変化は認められなかった。

b) 出生仔

1腹当たりの平均出生仔 (F₁) 数は投与群と対照群との間に有意差は認められず、出生直後の平均体重は600mg/kg群 (5.44g) では、対照群 (5.27g) よりも重かったが、300mg/kg群及び100mg/kg群では差がなかった。

生後4日の生存率、生後21日の離乳率及び生後8週生存率は投与群と対照群とで差は認められなかった (Table 4)。

生後8週までの体重推移は600mg/kg群で生後4日までは対照群に比べ有意に重かったが、その後は対照群と同様に推移した。他の群では対照群と差はなかった。

出生仔 (F₁) の発育分化、情動性及び学習能力については薬物投与によるとみられる変化は認められなかった。出生仔 (F₁) の出生直後の外表観察でも、各投与群、対照群とも異常は1例も認められなかった。生後10週あるいは交配試験終了後の屠殺剖検では、対照群に両側性精巣萎縮及び両側性腎盂拡張が各1例、片側性腎盂拡張が600mg/kg群及び100mg/kg群に各2例、300mg/kg群に1例認められたのみであった。超軟X線写真による骨格所見では全例に異常を認めなかった (Table 4)。

生後8～9週における出生仔 (F₁) の交配試験では、交尾率及び受胎率は投与群と対照群とで有意差はみられなかった。1腹当たりの平均黄体数、平均着床数、生存胎仔 (F₂) 数、胎仔体重及び胎仔死亡率にも投与群と対照群との間で有意差はみられなかった。

胎仔 (F₂) の体長、尾長については、300mg/kg群で対照群に比べてわずかに大きかったが、他の群では差は認められず用量との相関性はなかった。

胎仔 (F₂) の外表異常としては前後肢の軸前性多指が600mg/kg群に1例、下顎の形成不全が対照群に1例認められたのみであった (Table 4)。

III. 考 察

SBTPC 600mg/kg、300mg/kg及び100mg/kgをSprague-Dawley系ラットに経口投与して生殖試験を行った。

妊娠前及び妊娠初期投与試験では、SBTPC群の母体体重は、投与期間中、軽度の増加抑制がみられたが、妊娠末期には対照群とほとんど差は認められなかった。

投与群では投与期間中に一過性の飼料摂取量の低下があり、同様の低下は胎仔器官形成期投与試験、周産期及び授乳期投与試験でも認められた。交配成績では交尾率及び受胎率は投与群と対照群で有意な差は認められなかった。

生存胎仔の平均体重、体長及び尾長は300mg/kg群で軽度の増加が認められたが、600mg/kg群では対照群との差もなく、これらは用量相関性がないことから、薬物投与に関連したものではないと考えられる。

胎仔の観察では投与群に脳ヘルニア、腎盂拡張、肋骨癒合、波状肋骨及び肋骨欠損が散見された。しかし、これらの異常の型は通常認められる種類⁷⁾のものであり、今回の試験での出現頻度は低く、用量との相関性もないことから自然発生性のものと考えられた。

胎仔器官形成期投与試験における妊娠末期胎仔 (F₁) の外表異常としては600mg/kg群に外脳を伴う平行性二重体、100mg/kg群に全身浮腫を各1例、内臓及び骨

Table 4 Postnatal development of F₁ rat offspring delivered from dams treated orally with sultamicillin from day 17 of gestation to day 21 of postparturition

| Dose | Control | 100 mg/kg/day | 300 mg/kg/day | 600 mg/kg/day |
|---|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| No. of dams treated | 24 | 22 | 23 | 23 |
| No. of dams died | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Length of pregnancy (days) | | | | |
| average per litter ¹⁾ | 21.5 ± 0.1 | 21.5 ± 0.2 | 21.5 ± 0.1 | 21.7 ± 0.1 |
| range | 21-22 | 21-24 | 21-23 | 21-22 |
| No. of implantations | | | | |
| total | 344 | 325 | 358 | 341 |
| average per litter ¹⁾ | 14.3 ± 0.7 | 14.8 ± 0.3 | 15.6 ± 0.4 | 14.8 ± 0.5 |
| Total No. of resorptions (%) | 14 } (4.9) | 10 } (7.4) | 20 } (6.7) | 20 } (6.5) |
| Total No. of stillborns (%) | 3 } | 14 } | 4 } | 2 } |
| No. of F ₁ live newborns at birth | | | | |
| total | 327 | 301 | 334 | 319 |
| average per litter ¹⁾ | 13.6 ± 0.7 | 13.7 ± 0.6 | 14.5 ± 0.4 | 13.9 ± 0.5 |
| Average body weight of F ₁ live newborns (g) ¹⁾ | 5.27 ± 0.03 | 5.22 ± 0.03 | 5.24 ± 0.02 | 5.44 ± 0.03*** |
| Total No. of F ₁ offspring | | | | |
| day 4 after birth (%) ²⁾ | 321 (98.2) | 292 (97.0) | 331 (99.1) | 313 (98.1) |
| after culling | 186 | 167 | 184 | 183 |
| day 21 after birth (%) ³⁾ | 186 (100.0) | 165 (98.8) | 184 (100.0) | 183 (100.0) |
| day 56 after birth (%) ⁴⁾ | 186 (100.0) | 165 (100.0) | 184 (100.0) | 183 (100.0) |
| No. of F ₁ offspring with | | | | |
| external malformations | 0 | 0 | 0 | 0 |
| visceral malformations | 2 (1 ^a , 1 ^b) | 2 ^c | 1 ^c | 2 ^c |
| skeletal malformations | 0 | 0 | 0 | 0 |

1) Values represent the means and standard errors

2) (No. of offspring on day 4 after birth/No. of live newborns) × 100

3) (No. of offspring on day 21 after birth/No. of offspring after culling on day 4 after birth) × 100

4) (No. of offspring on day 56 after birth/No. of offspring on day 21 after birth) × 100

Type of malformation: a) Bilateral testicular hypoplasia

b) Bilateral dilatation of the renal pelvis

c) Unilateral dilatation of the renal pelvis

*** indicates significant level of 0.1%

格異常は100mg/kg群に片側性腎盂拡張が2例、両側性無眼球症が1例みられた。しかし、これらの異常はこの系統のラットで自然発生的に認められているものであり、今回の試験での出現頻度も特に高くなく、用量との相関もないことから薬物に起因するものではなく、自然発生性のもと考えられる。また、化骨進行状態及び骨格変異の出現頻度は投与群と対照群で有意な差は認められていない。

なお、マウスを用いた胎仔器官形成期投与試験でもSBTPC1200mg/kg, 600mg/kg, 300mg/kgの経口投与で、妊娠末期胎仔に薬物に起因する奇形は認められていない(未発表)。

600mg/kg群では生後4日の生存率(83.6%)が対照群(95.1%)に比べて有意に低下した。この群では1腹の出生仔が生後4日までに全例死亡した母体が14例中2例発生しており、この2例を除いた場合の生後4日の生存率は96.7%となり、対照群との差は認められていない。また、生後21日の離乳率はいずれの投与群でも対照群と有意な差は認められていない。

出生仔(F₁)の体重推移では100mg/kg群で生後35日まで対照群に比べて増加抑制がみられたが、高用量群では対照群と差は認められておらず、薬物による影響とは考え難い。

周産期及び授乳期投与試験における600mg/kg群では出生直後及び生後4日の出生仔体重が対照群に比べて有意に重かったが、生後7日以降は対照群と差は認められなくなった。

この群も含め出生仔のその後の発育、行動、学習及び生殖能力には投与群と対照群で差は認められなかった。

以上より、SBTPCのラットの生殖試験における最大

無影響量は妊娠前及び妊娠初期投与試験では生殖能力及び胎仔に影響を及ぼさない600mg/kg/日、胎仔器官形成期投与試験では出生仔の生存率の低下がみられない300mg/kg/日、周産期及び授乳期投与試験では、母体及び出生仔に影響を及ぼさない600mg/kg/日と考えられる。

文 献

- 1) 堀本政夫, 大槻勲夫: 未発表
- 2) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Tech.* 1: 123~124, 1926
- 3) WILSON, J. G.: Method for administering agents and detecting malformation in experimental animals. Chicago Univ. Press, *Teratology* (WILSON, J. G. and J. WARRANY), 262~272, 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: 23~40, 1974
- 5) BOND, N. W. and E. L. DiGIUSTO: Effects of prenatal alcohol consumption on open-field behavior and alcohol preference in rats. *Psychopharmacol. (Berl.)* 46: 163~165, 1976
- 6) LATZ, A. G., BAIN, M., GOLDMAN and C. KORNETSKY: Maze learning after the administration of antidepressant drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 156: 76~84, 1967
- 7) 亀山義郎, 谷村 孝, 安田峯生: 実験動物における自然発生奇形-写真図譜および参考資料。先天異常20: 25~106, 1980

REPRODUCTION STUDIES WITH SULTAMICILLIN IN RATS

MASAO HORIMOTO and ISAO OHTSUKI

Nagoya Pharmacology Laboratory, Pfizer Taito, Co., Ltd.

Reproduction studies of sultamicillin (SBTPC) were conducted in Sprague-Dawley rats. Doses employed in these studies were 600, 300 and 100 mg/kg of SBTPC.

1) Fertility and general reproductive study

Male rats were treated orally with SBT or SBT/CPZ for 63 days prior to mating and females were treated orally from 14 days prior to mating to day 7 of gestation. The reproductive performance parameters such as the rates of copulation and pregnancy in the SBTPC groups were comparable to those of controls. No drug-related external, visceral or skeletal malformations were observed in the fetuses from the dams sacrificed on day 21 of gestation.

2) Teratological study

Pregnant rats were treated orally with SBTPC from day 7 to day 17 of gestation. No drug-related external, visceral or skeletal malformations of the fetuses were found. A slight decrease of survival rates of the pups at day 4 after birth in the group treated with 600 mg/kg of SBTPC was found, but no significant decrease was noted thereafter. The growth, viability, behavioral and reproductive performance of F₁ offsprings of SBTPC groups was comparable to those of controls. No drug-related external malformations were noted in any of the F₂ fetuses.

3) Peri- and postnatal study

Pregnant rats were treated orally with SBTPC from day 17 of gestation to 21 of the postparturition. The parturition and nursing ability of the dams and the growth, viability, behavior, the postnatal development, fertility of offspring (F₁) and development of F₂ fetuses in the treated groups were comparable to those of controls.