

Imipenem/Cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) : ラットにおける 器官形成期投与試験

催奇形性試験および生後観察試験

ROBERT L. CLARK · RICHARD T. ROBERTSON
JAMES S. MACDONALD · DELWIN L. BOKELMAN
Merck Institute for Therapeutic Research

藤井孝朗
日本メルク萬有株式会社

Imipenem (MK-0787) は、広範囲の菌種に対して抗菌力を有する新しい β -lactam 抗生物質である。

本試験は、MK-0787 と、この物質の腎臓における代謝を阻害する cilastatin sodium (MK-0791) を同時投与した際の催奇形性の有無、および F₁ 世代の産仔の成長、発達、行動さらに生殖能に及ぼす影響の有無を調査するために実施した。

MK-0787/MK-0791 の合剤の 20/20, 80/80 および 320/320 mg/kg/day を 1 群 35 匹より成る CRCD 系アルビノラットの妊娠 6 日より妊娠 17 日まで連日投与した。20/20 および 80/80 mg/kg/day 投与群の動物に対しては静脈注射とし、320/320 mg/kg/day 投与群の動物に対しては皮下注射とした。他の 1 群 35 匹の動物 (対照 I 群) には生理食塩水を静脈注射し、さらに他の 1 群 12 匹の動物 (対照 II 群) には生理食塩水を皮下注射した。

対照 I 群, 20/20, 80/80 および 320/320 mg/kg/day 投与群の動物のうち、それぞれ 24 匹の動物については、妊娠 20 日にこれらを解剖し、胎仔の外形、内臓、骨格などの異常の有無を観察した。

対照 II 群の動物および他の群の 11 匹の動物は自然分娩させ、産仔の生後観察を実施した。

F₀ 動物において薬物の毒性による症状、あるいはその他投与に起因する変化はいずれの投与群のいずれの時期においても認められなかった。

F₁ 胎仔の外形、内臓および骨格観察さらに F₁ 産仔の外形観察の結果、320/320 mg/kg/day 投与群において、軽度ではあるが投与に起因すると考えられる胎仔体重の減少がみられたのみで、その他の点では催奇形性および胎仔毒性を示唆する変化は認められなかった。

F₁ 雄産仔の精巣下降の時期が 80/80 mg/kg/day 投与群において、軽度ではあるが有意に遅延していた。さらに、320/320 mg/kg/day 投与群の 4 匹の F₁ 雄産仔の精巣下降の時期が最も遅延していた。したがって、これら精巣下降の時期の遅れは、薬物投与に起因していたかも知れない。

F₁ 動物の行動試験、生殖試験およびその他の観察において、薬物投与の有害作用は何ら観察されなかった。

Imipenem (MK-0787) は、広範囲の菌種に対して抗菌力を有する新しい β -lactam 抗生物質である¹⁾。腎 dipeptidase 阻害剤である cilastatin sodium (MK-0791) をこの MK-0787 と同時に投与することにより、腎臓における MK-0787 の代謝が阻害され、MK-0787 の未変化体の尿中回収率が上昇する¹⁾。また、毒性試験においても、MK-0787 を MK-0791 と 1:1 の割合で同時に投与することにより、MK-0787 のみを大量に投

与した際にみられる腎毒性を予防するという結果が得られている¹⁾。本試験は、MK-0787 と MK-0791 を 1:1 の割合で同時に投与した際の催奇形性の有無、および F₁ 世代の産仔の成長、発達、行動さらに生殖能に及ぼす影響の有無を調査するために実施した。なお、それぞれの物質についても、ラットおよびウサギを用いて、別途催奇形性試験を実施したが、いずれの物質も催奇形作用を示さなかった (未発表)。

I. 方 法

1. 使用動物：

a. 動物種および系統：CRCD 系アルビノラットを使用した。

b. 入手先：Charles River Breeding Laboratories, Wilmington, Mass. より購入した。

c. 薬物投与した動物の性と世代：F₀ 世代の雌動物に投与した。

d. 検査した世代：薬物投与をした F₀ 雌および F₁ ならびに F₂ 世代仔について、後述のごとき観察と検査を行った。

2. 環境条件：全てのラットは約 22°C に温度調節された飼育室で飼育し、照明時間は 12 時間明暗周期とした。飼料としては Purina Certified Rat Chow #5002 を、飲料水としては水道水を与え、これらを自由に摂取させた。F₀ 雌の妊娠 0 日以降、全ての動物は、濾過空気が供給されているバイオクリーン室で飼育した。

3. F₀ 雌動物

a. 動物数：152 匹の動物を各群に無作為に配分して使用した。

b. 試験開始日の週齢および体重範囲：約 11 週齢および 207~282 g であった。

c. 個体識別方法：耳パンチ法および色素標識法により識別した。

d. 交配方法：2 匹の雌ラットを同じく CRCD 系アルビノ成熟雄ラット 1 匹とともにケージに収容し、同居させた。

交尾の成否は毎日の腔洗滌により確認し、腔洗滌液中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

e. 収容方法：雌動物は、1 ケージあたり 3 匹以下を収容したが、自然分娩群の雌動物は分娩に備えて、妊娠 17 あるいは 18 日に透明なプラスチック製の個別ケージに移した。

f. 薬物投与：

(1) 投与群および投与経路：次の表に示した通りである。

群 名	投与経路	群当りの F ₀ 雌の数
対照 I 群	静脈内	35
対照 II 群	皮下	12
MK-0787/MK-0791		
20/20 mg/kg/day 群	静脈内	35
80/80 mg/kg/day 群	静脈内	35
320/320 mg/kg/day 群	皮下	35

先に実施した投与量設定のための予備試験において、最高投与量である 320/320 mg/kg/day の皮下投与は何

らの毒性も惹起しなかったが、薬物混合液の安定性の点で 320/320 mg/kg/day が薬液の調製限界であるため、本試験においても、この投与量を高用量群に用いることとした。

320/320 mg/kg/day 群用の投与液は、静脈内投与するためには溶液濃度が高すぎるため、皮下投与とした。臨床での適用経路は静脈内注射であるが、動物試験において皮下注射に代えても吸収は良好であることを示す成績が得られている(未発表)。妊娠末期の胎仔観察は静脈内投与対照群についてのみ行った。しかし、投与経路の違いが産仔の生後発達の差を生むか否かについては不明であるため、第 2 の対照群(対照 II 群)を設け、この動物に皮下投与をして自然分娩させることとした。対照 I 群、20/20, 80/80, および 320/320 mg/kg/day の各群から各 24 匹の F₀ 雌動物を選び、妊娠 20 日の帝王切開に供し、残りの雌は自然分娩させることとした。

(2) 投与期間：胎仔の主要器官形成期である妊娠 6~17 日とした。

(3) 投与頻度：1 日 1 回午前中に投与した。

(4) 被験液の調製：MK-0791 を脱イオン水に懸濁混和させながら、0.1 N の NaOH を pH が 8.5 になるまで添加し溶解させた。その後、1.0 N の HCl を加えて pH を 7.0 に調整した。適切な濃度にするための稀釈は脱イオン水を用いて行った。その後、MK-0787 とその 3% 量の重硫酸ナトリウムを、先に調製した MK-0791 溶液に加え、75°C まで加温攪拌しながら溶解させた。溶解後は速やかに 37°C 以下になるよう氷冷した。すべての投与液は使用に先だって 0.22 μm のフィルターを通して除菌した。こうして調製した投与液を調製後 2 時間以内に使用した。

(5) 対照群の投与液：滅菌した 0.9% 食塩液を両対照群動物に投与した。

(6) 投与液量：最も新しい体重値にもとづいて 4 ml/kg を投与した。

g. 動物の一般状態の観察：全ての雌動物について、妊娠 6 日から毎日観察した。すなわち投与期間中、平日の場合には、投与後 1~4 時間の観察をし、他の投与日には投与時に少なくとも 1 回の観察を行った。

h. 体重測定：妊娠 0, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 および 20 日に測定した。また自然分娩群の雌動物については、分娩後の 2 日と 21 日に測定した。

i. 母動物の屠殺および妊娠状態の観察：雌動物を CO₂ で窒息させた後、頸椎脱臼法により屠殺し、各雌動物の妊娠状態(妊娠の成否)を観察するため子宮を検査した。屠殺は、帝王切開に供した雌動物については、妊娠 20 日に、また、自然分娩に供した雌動物については、

分娩後 24~28 日に行った。

j. 剖検: F₀ 雌動物の屠殺時には、胸腔、腹腔および骨盤腔内臓器の肉眼的観察を実施した。また、皮膚、被毛、および眼球の検査も行った。肝臓および腎臓には剖面を入れ、切断面の検査をした。

k. 帝王切開に供した F₀ 雌動物の胎仔観察: 対照 I 群, 20/20, 80/80 および 320/320 mg/kg/day 群の各用量につき、24 例の雌動物を帝王切開に供した。

全ての雌動物と同腹胎仔にはコード番号を付し、いずれの投与群の動物であるかが不明のまま検査できるようにした。観察の順序は、コンピューターより出力された 5 桁の乱数表によって決めた。

妊娠雌動物の卵巣は摘出し、黄体数を数えるために 10%ホルマリン液に固定した。全ての胎仔について、体重を測定し、外形観察を行った。各腹仔中約 1/3 の胎仔については、解剖法²⁾による内臓検査を実施し、また、外表奇形のあった胎仔全てについて内臓検査をした。内臓検査を行った胎仔の頭部は、Bouin 液に固定した後、連続粗大切片を作製して観察した³⁾。全ての胎仔は 95%アルコールに固定後、アリザリン赤染色透明骨格標本作製して骨格の検査⁴⁾を行った。

1. 自然分娩に供した F₀ 雌動物の観察: 妊娠 21 日の早朝より、1 時間おきに分娩が始まるか否かを観察した。各観察日の最初の観察時に一腹のすべての産仔が、すでに母動物によって清潔にされ、また外表が乾燥していた場合には妊娠期間を計算するために、前夜の真夜中を分娩時間とした。母動物についても、授乳期間中毎日観察した。また、屠殺時には、着床痕数を数えた。

4. F₁ 世代

a. 一般状態の観察: 出生日を生後 1 日として起算し、全ての産仔を離乳時まで毎日観察した。その後は週 2 回の観察を行った。

b. 体重測定:

離乳前: 生後 1, 7, 14 および 21 日に測定した。

離乳後: 生後 25~29 日より週に 1 回の測定を屠殺時まで継続したが、交尾させた F₁ 雌動物については、妊娠 1 および 20 日と分娩後 2 日にそれぞれ測定した。

c. 外表、内臓器官および骨格の検査: 全ての産仔を生後 1 日に外表的に観察し、生存率と外表奇形の有無を調査した。全ての死亡仔と外表奇形仔は、解剖法²⁾により内臓異常の有無およびアリザリン染色後⁴⁾、骨格異常の有無について検査した。

d. 識別方法: 全ての産仔について生後 1 日にその数を数え、試験を継続するものを選び、それらの四肢に墨を施して標識した。離乳時にさらに検査を継続する仔を選び、耳パンチ法と指趾切断法により標識した。

e. 産仔の性の判定と同腹仔数の調整: 生後 1 日に産仔の性別を調べ、同腹仔数が雌雄各 4 匹になるよう無作為に調整した。望ましい性比を得るために、同一投与群内で同日齢の別腹の産仔が使用できる時には、その産仔を里子にして使用した。残余の産仔はそれ以上の検査をせずに廃棄した。全ての産仔について生後 21 日に、再び性別を調べた。

f. 発達状態: 各腹仔中雌雄各 2 匹を無作為に選び、以下の発達状態の検査を実施した。

(1) 正向反射: 産仔を平面上に背位に置き、2 秒間のうちに向き直るか否かを観察した。この試験は、生後 1 日から反射が生じるまで毎日実施した。

(2) 負の走地性: 産仔を 30° 傾斜した平板に、頭が下向きになるように置き、回転を始めるかどうかを 30 秒間、また完全に 180° 向きを変えるかどうかをさらに 60 秒間観察した。この試験は、生後 4 日から反射が生じるまで毎日実施した。

(3) 聴覚性驚愕反射: 長さ 30 cm、幅 7.5 cm および厚さ 1.25 cm の 2 枚の板を各産仔より 60 cm 以内の範囲で打ち合わせた。産仔が突然動き出した場合、聴覚性驚愕反射があるものと判定した。この試験は、生後 11 日から反射が生ずるまで毎日実施した。

(4) 精巣下降: 雄産仔について、生後 3 日から両側の陰囊の膨大が最初に確認できる日まで毎日検査をした。

(5) 膈開口: 雌産仔について、生後 30 日から膈の開口が最初に確認できる日まで毎日検査をした。

g. 離乳と試験継続のための産仔の選択: 生後 24~27 日に産仔を母動物より離し、試験を継続するために、同一腹仔中より雌雄各 2 匹を選んだ。この選択にあたっては、できる限り、離乳前発達状態の観察に用いた個体と同一個体とした。残りの F₁ 産仔は、その後の検査をせずに屠殺廃棄した。

h. 収容方法: 産仔は生後 24~27 日の離乳時まで母動物と共に飼育箱に収容し、その後は雌雄別々に 1 ケージ当り 2 匹以内の動物を各ケージに収容した。生殖能試験に用いる F₁ 雄動物は、交配開始およそ 1 週間前から 1 ケージ当り 1 匹を収容した。交配期間中は、各雄動物をそれぞれ 1 匹の雌動物と同居させた。交尾後、妊娠 15~17 日まで 1 ケージ当り 2 匹以下の F₁ 雌動物を収容し、その後分娩に備えて、透明なプラスチック製の個別ケージに移した。

i. 行動試験:

(1) オープンフィールド: 生後 35 日と 76 ないし 77 日の 2 度、対照 I 群、対照 II 群および 320/320 mg/kg/day 群の各腹仔中雌雄各 1 匹を、オープンフィー

ルド箱の中で観察した。オープンフィールド箱は、1 m 平方の底面を高さ 31 cm の木製の壁で囲むよう作製してある。箱の床面に線をひいて、20×20 cm の区画を 25 作り、その上に淡白色半透明の紙を敷いた。この紙は各試行ごとに取り替えた。赤色ランプ照明により、減光照明を施した。各ラットを箱の真中においたあと、排糞数と動物が入ったマスの数を 3 分間にわたり計測した。

(2) 水迷路⁵⁾: 生後 48~49 日に、対照 I 群、対照 II 群および 320/320 mg/kg/day 群の各腹仔中雌雄産仔各 1 匹について、水迷路試験を行った。それぞれ 3 回の試行時、室温とはほぼ同温度の水を満たした迷路の出発点に動物をおいた。ラットが逃げ口まで到達するのに要した時間と、方向の錯誤の回数を各試行について記録した。迷路より脱出できなかったラットは、5 分後に取り出した。最初の 2 回の試行は、およそ 1~6 分間の休憩時間をおいて実施した。3 回目の試行は、1 日後に実施した。2 回目および 3 回目における錯誤の数と逃避に要し

た時間を秒で表わした数が、最初の試行に比し減少することが学習の指標になると考えた。

j. 眼科検査: 生後 40~41 日に、全ての F₁ ラットの眼球について、間接検眼鏡を用いた検査が、顧問獣医眼科学者 LIONEL F. RUBIN 博士 (ペンシルバニア大学獣医学部) によって実施された。それぞれの眼球に前処置として、1% tropicamide 液 (Mydriacyl, Alcon) を点眼した。

k. 交配: 生後 17~18 週に、兄妹交配を避けて同一群の雌雄を 1 対 1 の割合で同居させた。毎日の産洗滌により精子の存在を確認した後 (妊娠 0 日)、交尾した雌を取り出した。交尾期間は 16 日間に限定した。

l. 分娩観察: 妊娠 21 日から妊娠 F₁ 雌動物について、平日は 1 時間ごとに分娩の開始を調べた。その日の最初の観察時に、一腹のすべての産仔が既に母動物によって清潔にされ、また外表が乾燥していた場合には、妊娠期間を計算するために、分娩時間を前夜の真夜中とした。

Table 1 Average body weights (g) of F₀ females during gestation and postpartum periods

Treatment group	Control I	Control II	MK-0787/MK-0791 (mg/kg/day)		
			20/20	80/80	320/320
Average body weight (g) during gestation ^a					
Day 0	243	240	239	240	236
Day 6	283	282	281	277	273
Day 8	287	289	284	283	277
Day 10	296	300	292	289	285 ^b
Day 12	305	313	302	300	296
Day 14	313	324 ^c	311	308	306
Day 16	330	341	328	322	323
Day 18	357	368	355	349	349
Day 20	391	402	389	383	381
Change ^d					
Days 6 to 18 ^e	74	86	74	71	76
Days 18 to 20	34	34	34	34	32
Days 6 to 20 ^e	107	119	108	105	107
Average body weight (g) during lactation ^f					
Day 2	303	303	298	302	296
Day 21	347	346	345	350	347
Change					
Days 2 to 21	45	43	47	48	51

^a Includes all pregnant females.

^b Excludes female 83-0128 found dead on Day 8 of gestation.

^c Average weight excludes females 83-0035 and 83-0036, whose Day 14 weights were inadvertently not taken.

^d Includes only females surviving to the end of each interval.

^e Statistical analysis adjusted for Day 6 weights.

^f Includes all pregnant females that complete parturition.

m. 屠殺および繁殖状態の観察：交配させなかった F₁ 動物は、生後およそ 17 週に屠殺し廃棄した。交配させた F₁ 雄は、交尾期間終了後廃棄した。生後 2~3 日に、F₁ 母動物を炭酸ガスにより窒息させた後、頸椎脱臼により屠殺し着床痕数を数えた。交尾した雌で分娩しなかったものは、交尾後 24 日に屠殺し、繁殖状態を検査した。同居させた雌で交尾しなかったものは、交尾期間終了後 24 日に屠殺し、子宮を検査してその雌が妊娠していないことを確認した。

5. F₂ 産子の観察：生後 1 日に、産仔数、体重、性別、生死および外表面形の有無を検査した。内臓および骨格については検査を実施しなかった。生後 2~3 日に、F₂ 産子を屠殺し、それ以上の検査をせず廃棄した。

6. 統計学的分析：危険率 5% における有意差検定は、Rankit 変換した後、最少有意差限界法 (LSD 法) により分散分析あるいは共分散分析を行った。比較する対照群が、対照 I 群のみであった開腹時の観察項目を除き、薬物投与群についての結果は、同じ投与経路で生理食塩液を与えた対照群と比較した。解析した観察項目は、以下のごとくである。

a. F₀ 雌動物：

- (1) 全雌動物：妊娠中の体重変化
- (2) 帝王切開に供した雌動物：
 - (i) 妊娠雌動物当りの着床数
 - (ii) 着床前胚死亡率 (一腹平均)
 - (iii) 吸収胚/着床数 (一腹平均)
 - (iv) 生存胎仔数/妊娠雌動物
 - (v) 生存胎仔体重 (一腹平均) (屠殺時間と同腹胎仔数により、必要に応じて調整した)。
- (3) 自然分娩に供した雌動物：

(i) 分娩までの時間

(ii) 授乳期間中の体重変化

b. F₁ 世代動物：

(1) 着床後生存率 (生後 1 日の生存仔数/着床痕数：一腹平均)

(2) 生後 1 日の生存仔数/総仔数、分娩後各 3 週間以内の仔の死亡数および生後 3 週間以内の累積死亡数。

(3) 生後 1, 7, 14 および 21 日の離乳前体重 (分娩後 1 日の出生仔体重を必要な場合は、妊娠期間の長さおよび一腹仔数により調整した)。

(4) 正向反射の発現した日

(5) 負の走地性反射の発現した日

(6) 聴覚性驚愕反射の発現した日

(7) 離乳後体重——雌雄とも離乳後 1 週から 13 週までについて解析した。体重変化全体については、直線性時間反応分析、平均化時間反応分析および曲線性時間反応分析を行った。

(8) 精巣下降を最初に観察した日

(9) 腔開口を最初に観察した日

(10) オープンフィールド試験——侵入した区画数 (分散分析) および脱糞したラットの割合 (FISHER の確率法)

(11) 水迷路試験——各試行ごとの迷路内滞在時間および錯誤回数

(12) 妊娠期間中の体重変化

(13) 交尾成立までに要した期間

(14) 分娩までに要した時間

c. F₂ 世代動物：

(1) 着床後生存率

Table 2 Reproductive status table in F₀ females

Treatment group	Control I	Control II	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Total number of females	35	12	35	35	35
Live pregnant to C-section	23	0	20	18	21
Live pregnant to delivery	11	12	11	11	11
Live not pregnant	1	0	4	6	2
Died pregnant	0	0	0	0	1
Time to parturition ^a	2.0	1.5	2.0	1.6	1.8
Postimplantation survival rate (%) ^b	93.2	94.1	93.6	93.9	94.1

^aExpressed as reconverted rankit treatment means in units (1 through 9) which represents consecutive 8-hour time segments after 9:00 a.m. on day 21 of gestation.

^bExpressed as reconverted rankit treatment means of the number of live pups divided by the number of metrial glands for each female ×100.

- (2) 生後1日の生存仔/総仔数
 (3) 生後1日の体重(必要な時は、妊娠期間および一腹仔数について調整した)。

II. 結 果

1. F₀ 雌動物:

a. 毒性症状: 薬物投与群の雌動物に、毒性を示す臨床症状は認められなかった。

b. 死亡率: 320/320 mg/kg/day 群の1例の雌が3回目の皮下投与後およそ15分に、ケージ内をあばれ回り、その後15~20分に死亡した。剖検して肉眼的に観察したが、死因は不明であった。したがって、この死亡と薬物投与との関連は不明である。他に死亡例は認められなかった。

c. 体重: Table 1 に示すごとく、妊娠期間中および授乳期間中、体重増加に対する薬物投与の悪影響は示されなかった。

d. 妊娠、分娩および授乳: Table 2 に示すごとく、F₀ 雌動物の妊娠、分娩あるいは授乳に対して薬物投与の影響は認められなかった。

e. 剖検所見: 薬物投与に関連した変化はなかった。

2. F₁ 世代動物——出生前:

a. 胚/胎仔死亡率および生存胎仔体重:

着床前胚死亡率、着床数、吸収胚数、生存および死亡胎仔数等を観察した結果、胚あるいは胎仔の死亡率に対して、薬物投与の影響は認められなかった (Table 3)。

皮下投与 320/320 mg/kg/day 群の生存胎仔の体重は、静脈内投与対照群に比べ3%の減少を示し、これは、有意 ($P \leq 0.05$) の減少であった。

20/20 および 80/80 mg/kg/day 群では、生存胎仔の体重に対して薬物投与の影響は認められなかった。

b. 胎仔観察

(1) 外表検査: Table 4 に示した通り、320/320 mg/kg/day 群の1例の胎仔に浮腫が観察されたが、この異常は自然発生的にみられることもあり (0.77%: 未発表) 薬物投与に関連したものとは考えられない。その他には、外表の変化はみられなかった。

(2) 内臓検査: Table 5 に示したごとく、内臓検査において、催奇形性を示す所見は得られなかった。80/80

Table 3 Laparotomy summary table

Treatment group	Control I	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Females				
Total females	24	24	24	24
Live pregnant	23	20	18	21
Live not pregnant	1	4	6	2
Dead pregnant	0	0	0	1
% preimplantation loss (litter mean) ^{a,b}	15.5	14.5	17.8	22.6
Implants				
Implants	345	295	260	311
Implants/pregnant female	15.0	14.8	14.4	14.1
Resorptions and dead fetuses ^c				
Resorptions	17	12	15	19
Dead fetuses	0	0	0	1
(resorp+dead fet)/imp (litter mean)	0.047	0.039	0.060	0.064
Live fetuses ^c				
Live fetuses	328	283	245	276
Live fetuses/pregnant female	14.3	14.2	13.6	13.1
Male fetuses	163	141	117	127
Female fetuses	165	142	128	149
Live fetal weight (g) (litter mean) ^c	3.80	3.79	3.82	3.70*

* Significantly different ($p \leq 0.05$) from the control.

^a Excludes data from female dying before termination of study.

^b Percent preimplantation loss = $\frac{\text{no. corpora lutea} - \text{no. implants}}{\text{no. corpora lutea}} \times 100$

^c Statistical analysis adjusted for time of sacrifice and litter size.

Table 4 External fetal examination summary table

Treatment group	Control I	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Fetuses				
Number examined	328	283	245	276(1)
Number with malformations	0	0	0	0
Number of malformations	0	0	0	0
Number with variations	0	0	0	1
Number of variations	0	0	0	1
Litters				
Number examined	23	20	18	21
Number with malformations	0	0	0	0
Number with variations	0	0	0	1
Type and number of fetal alterations : Class				
Local edema (V)	0	0	0	1

(V)=Variation

Numbers in parentheses represent dead fetuses out of total number

Table 5 Visceral fetal examination summary table

Treatment group	Control I	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Fetuses				
Number examined	101	87	76	86(1)
Number with malformations	0	0	0	0
Number of malformations	0	0	0	0
Number with variations	0	2	2	2
Number of variations	0	2	2	2
Litters				
Number examined	23	20	18	21
Number with malformations	0	0	0	0
Number with variations	0	2	2	2
Type and number of fetal alterations : Class				
Brachiocephalic trunk variation (V)	0	0	2	1
Slightly distended ureter (V)	0	1	0	1
Focally hemorrhagic adrenal (V)	0	1	0	0

(V)=Variation

Numbers in parentheses represent dead fetuses.

mg/kg/day 群の2例の胎仔および 320/320 mg/kg/day 群の1例の胎仔に腕頭動脈の変異が観察されたが、この変化はこれまでの試験の対照群に同様の低発現率(0.16%:未発表)で生じていることから、薬物投与に関連したものとは考えられない。20/20 および 320/320 mg/kg/day 群の各1例の胎仔に軽度の尿管の拡張があったが、これはこれまでの試験の対照群に共通してみられるものであり(0.28%)、薬物投与に関連したものではない。20/20 mg/kg/day 群の1例の胎仔に副腎の限局性出血が観察されたが、これは自然発生的な変化であると考えられる。その他には、内臓の変化は観察されなかった。

(3) 骨格検査: Table 6 に示すごとく、骨格検査において、催奇形性を示す所見は得なかった。低頻度(1

群当たり1~2例の胎仔)のいくつかの変化(仙椎の奇形、胸骨の奇形、波状肋骨、頸肋、胸骨変異および頸椎、頭骨ないし骨盤の化骨不全)が、薬物投与群に発現したが、対照群には認められなかった。しかし、これらの変化は、発現率が低く各群に分散しており、これまでの試験の対照群におけるものと同等である(仙椎奇形;0.13%、胸骨奇形;0.09%、波状肋骨;0.60%、頸肋;0.19%、胸骨変異;6.16%)ことから、薬物投与に関連したものとは考えられない。他の骨格の変化および Table 7 に示した化骨進行度については、対照群に生じたものと同等ないしそれ以下の頻度で発現した。

3. F₁ 世代動物——生後:

a. 着床後の生存率と死亡率: Table 2 に示したごと

Table 6 Skeletal fetal examination summary table excluding incomplete ossifications

Treatment group	Control I	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Fetuses				
Number examined	328	283	245	276(1)
Number with malformations	14	0	10	1
Number of malformations	14	0	10	2
Number with variations	41	54	40	29
Number of variations	41	54	40	29
Litters				
Number examined	23	20	18	21
Number with malformations	3	0	2	1
Number with variations	14	11	11	12
Type and number of fetal alterations ^a : Class				
Sacral vertebra malformation (M)	0	0	0	1 ¹
Missing vertebra (M)	13	0	8	1 ¹
Hypoplastic rib (M)	1	0	0	0
Sternebral malformation (M)	0	0	2	0
Wavy rib (V)	0	0	1	0
Cervical rib (V)	0	1	2	2
Lumbar rib (V)	41	52	37	27
Sternebral variation (V)	0	1	0	0

(M)=Malformation (V)=Variation

Numbers in parentheses represent dead fetuses.

^a Identical superscripts within the same column denote malformations from the same fetus.

Table 7 Incomplete ossification summary table

Treatment group:	Control I	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Fetuses				
Number examined	328	283	245	276
Number with sites of incomplete ossification	56	44	61	56
Number of sites of incomplete ossification	56	44	61	58
Litters				
Number examined	23	20	18	21
Number with sites of incomplete ossification	16	13	14	13
Sites of incomplete ossification				
Incomp. oss. cervical vertebra	0	0	0	1
Incomp. oss. skull bone	0	1	0	0
Incomp. oss. sternebra	56	43	61	56
Incomp. oss. pelvic bone	0	0	0	1

く、F₁世代の生存率に関して、薬物投与の影響はみられなかった。Table 8 にみられるごとく、20/20 mg/kg/day 群において、有意 (P ≤ 0.05) に高い頻度の産仔の死亡が生後 2~7 日 (対照群では 0 であるのに対し、2 例死亡) と、生後 2~21 日 (対照群では 2 例であるのに対し、5 例死亡) に発現した。これらの死亡については、用量相関性がないこと、およびこれまでの対照群に同様の頻度でみられていることから、薬物投与に関連したものとは考えられない。離乳後においては産仔の死亡は認

められなかった。

b. 先天異常および性比: Table 9 に示したごとく、F₁産仔の検査で、催奇形性を示す所見は得られなかった。20/20 および 80/80 mg/kg/day 群の各 1 例の産仔に胸骨変異が観察されたが、これは対照群の胎仔にも一般的に発現する変異であり、薬物投与に関連したものとは考えられない。20/20 mg/kg/day 群および対照 I 群の各 1 例の胎仔に腰肋が認められた。薬物投与群における胎仔の性比は、対照群におけるそれと同様であった。

Table 8 Summary of status of F₁ generation prior to weaning

Treatment group	Control I	Control II	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Number of litters ^a	11	12	11	11	11
Day 1 postpartum					
Total no. of pups	148	179	156	150	161
Sex males/females	84/64	89/90	84/72	71/79	82/79
No. live	146	179	154	150	161
Live pups/total pups (litter mean) ^b	0.989	1.000	0.988	1.000	1.000
No. live after reduction	88	96	88	88	88
No. dead	2	0	2	0	0
No. live per litter	13.3	14.9	14.0	13.6	14.6
Ave. pup weight (gm)/litter ^{b,c}	6.38	6.40	6.34	6.06	6.34
Day 7 postpartum					
No. live	88	96	86	88	88
No. dead Days 2 to 7 ^d	0 (2)	0 (0)	2* (4)	0 (0)	0 (0)
Ave. pup weight (gm)/litter	14.08	13.55	13.97	13.53	13.64
Day 14 postpartum					
No. live	88	94	83	87	88
No. dead Days 8 to 14 ^d	0 (2)	2 (2)	3 (7)	1 (1)	0 (0)
Ave. pup weight (gm)/litter	29.88	30.08	30.39	29.28	29.35
Day 21 postpartum					
No. live	88	94	83	87	88
No. dead Days 15 to 21 ^d	0 (2)	0 (2)	0 (7)	0 (1)	0 (0)
No. dead Days 2 to 21	2	2	7*	1	0
Ave. pup weight (gm)/litter	50.86	50.34	50.45	49.38	49.44

*Significantly different ($p \leq 0.05$) from Control I.

^a Includes only litters of females which delivered live pups.

^b Expressed as reconverted rankit treatment means.

^c Statistical analysis and means adjusted for length of gestation and number of live pups on Day 1.

^d Numbers in parenthesis represent the cumulative total of dead pups.

Table 9 Results of external, visceral, and skeletal examination of F₁ pups

Treatment group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg/day)				
	C I	C II	20/20	80/80	320/320
Pups					
No. examined externally	148	179	156	150	161
No. examined visceraally and skeletally ^a	2	2	7	1	0
No. with malformations	1	0	0	0	0
No. of malformations	3	0	0	0	0
No. with variations	1	0	2	1	0
No. of variations	1	0	2	1	0
Type and number of alterations ^{b,c}					
Anasarca (M)	1 ¹	0	0	0	0
Microcardia (M)	1 ¹	0	0	0	0
Split sternum (M)	1 ¹	0	0	0	0
Lumbar rib (V)	1	0	1	0	0
Sternebral variation	0	0	1	1	0

^aIncludes only dead pups.

^bM=Malformation, V=Variation

^cIdentical superscripts within the same column denote malformation from the same pup.

Table 10 Summary of developmental signs of F₁ generation
Average number of days postpartum to occurrence (males and females)

Treatment group	Right	N geo	Aud	Vag	Tes
Control I	4.0	7.5	13.2	35.4	27.2
Control II	4.0	6.8	13.3	34.9	27.0
20/20 mg/kg/day	3.4	7.4	13.0	35.4	27.0
80/80 mg/kg/day	4.4	7.4	13.2	34.6	28.3*
320/320 mg/kg/day	4.2	7.2	13.2	35.8	28.6

* Significantly different ($p \leq 0.05$) from the Control I group.

Right=surface righting, Aud=auditory startle, Tes=testes descent,
N geo=negative geotaxis, Vag=vaginal canalization

Table 11-1 Average body weights (g) of F₁ females during postweaning period

Treatment group	Week								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Control I	78	119	162	190	212	230	249	264	273
Control II	78	119	164	188	214	231	248	260	269
20/20 mg/kg/day	75	114	159	185	210	227	244	258	266
80/80 mg/kg/day	77	118	164	192	219	238	254	266	280
320/320 mg/kg/day	77	118	158	185	208	225	241	253	260

Table 11-2 Average body weights (g) of F₁ females during postweaning period

Treatment group	Week				Total wt change ^{a, b, c}
	10	11	12	13	
Control I	283	287	291	302	224
Control II	273	281	286	297	219
20/20 mg/kg/day	276	275	280	298	215
80/80 mg/kg/day	290	288	293	306	230
320/320 mg/kg/day	288	273	277	291	214

^a Includes all females.

^b Total mean weight change in grams from week 1 to Week 13 post weaning.

^c Average maternal body weights during gestation appear in Table 15.

c. 一般状態：薬物投与に関連した一般状態の変化は観察されなかった。また、3% 以下の産仔を、産仔数を調整するために里子として哺育させたが、生後発育に関し実仔との間に差異はみられなかった。

d. 離乳前体重：Table 8 にみられるごとく、離乳前体重に対して、薬物投与の影響はみられなかった。

e. 生後発達所見：Table 10 に示したごとく、正向反射、負の走地性および聴覚性驚愕反射の各反射と腔開口に対して薬物投与の影響は認められなかった。精巣下降については、80/80 mg/kg/day 群において、軽度ではあるが有意 ($P \leq 0.05$) の日齢の増加があった。さらに、320/320 mg/kg/day 群の4匹の低体重の同腹仔で、精巣

下降がみられた日齢が最も高かった(対照群においては高い値が生後35日であったのに対し、38~41日であった)。これらの精巣下降の日齢の上昇は、薬物投与と関連したものかもしれない。20/20 mg/kg/day 群では、精巣下降に対する影響はなかった。

f. 離乳後体重：Table 11 および 12 に示したごとく、離乳後の体重に対して、出生前の薬物投与の影響はなかった。

g. 行動試験：

(1) オープンフィールド試験：320/320 mg/kg/day 群の動物の活動性は、生後35および76ないし77日に実施した試験では、対照群のものと同等であった (Table 13)。

(2) 水迷路試験：320/320 mg/kg/day 群の動物の成績は、対照群のものと同等であった (Table 14)。

h. 眼科検査：薬物投与に関連した眼疾患はみられなかった。

i. 妊娠中および分娩後の体重：Table 15 に示したごとく、妊娠中の体重あるいは分娩後2日の体重に対して出生前の薬物投与の影響は認められなかった。

j. 交尾、妊娠および分娩の観察：交尾、妊娠、妊娠期間、分娩あるいはF₂産仔の一腹仔数に対して、出生前の薬物投与による影響はなかった (Table 16, 17)。

4. F₂ 世代動物：

a. 着床後の生存率：Table 16 および 17 に示したごとく、F₀ 雌動物への薬物投与は、F₂ 世代の生存率に影響

Table 12-1 Average body weights (g) of F₁ males during postweaning period

Treatment group	Week								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Control I	85	139	208	269	333	376	418	449	475
Control II	83	137	207	267	331	375	420	450	475
20/20 mg/kg/day	82	134	201	262	322	367	409	441	461
80/80 mg/kg/day	81	135	204	265	329	377	419	451	479
320/320 mg/kg/day	83	134	201	259	321	367	409	443	466

Table 12-2 Average body weights (g) of F₁ males during postweaning period

Treatment group	Week				Wt change Weeks 1 to 13 ^{a,b}	Week				Total wt change ^{c,d}
	10	11	12	13		14 ^c	15	16	17	
Control I	500	487	509	537	452	545	567	585	596	510
Control II	501	491	516	541	458	557	574	594	605	521
20/20 mg/kg/day	490	469	494	521	439	541	557	575	590	508
80/80 mg/kg/day	508	491	512	542	461	554	570	601	605	523
320/320 mg/kg/day	493	488	510	536	453	538	560	578	588	506

^a Total mean weight change in grams from Week 1 to Week 13 postweaning

^b Includes all males

^c Excludes body weights of males not required for breeding, which were sacrificed Week 13.

^d Total mean weight change in grams from Week 1 to Week 17 postweaning

Table 13 Results of open field tests in the F₁ generation

Treatment group	Day 35 postpartum		Days 76 or 77 postpartum	
	Mean No. squares entered ^a	No. Rats defecating/ No. tested	Mean No. squares entered ^a	No. Rats defecating/ No. tested
Control I				
Males	96.2	3/11	60.8	1/11
Females	109.5	3/11	104.4	0/11
Control II				
Males	77.3	1/12	54.3	2/12
Females	108.5	1/12	102.0	0/12
320/320 mg/kg/day				
Males	94.9	0/11	57.4	2/11
Females	105.6	0/11	101.9	0/11

^aExpressed as reconverted rankit treatment means.

響しなかった。20/20 mg/kg/day 群の生存率において、軽度ではあるが有意 ($P \leq 0.05$) の減少が認められた。しかし、用量依存性もなく、この群の死亡例は2例のみで、これは薬物投与に関連したものであるとは考えられない。事実、より高頻度の産仔死亡率がこれまでの対照群値で認められている。

b. 生後1日の産仔の体重: Table 17 にみられる通り、生後1日の産仔の体重に対して、薬物投与に関連した影響はなかった。80/80 mg/kg/day 群の生存仔の体重について、軽度ではあるが有意 ($P \leq 0.05$) の減少

があった。しかし、より高い用量群 (320/320 mg/kg/day) においては影響が認められておらず、これは薬物投与に関連したものととは考えられない。

c. 先天異常と性比: F₂ 産仔において、外形的異常は観察されなかった (Table 18)。性比は、全群において同等であった。

III. 考 察

抗生物質はその作用機作から、1) DNA の合成阻害剤、2) RNA の合成阻害剤、3) 蛋白質の合成阻害剤、4) 細胞壁の合成阻害剤などに分類することができる。

Table 14 Results of the swimming maze test in the F₁ generation on day 48 or 49 postpartum^a

Treatment group	Trial 1		Trial 2		Trial 3	
	Escape time	No. errors	Escape time	No. errors	Escape time	No. errors
Control I						
Males	55.5	3.8	23.0	1.8	19.9	0.8
Females	46.5	5.1	15.2	0.8	15.3	1.0
Control II						
Males	60.9	5.8	18.4	1.6	31.2	3.7
Females	51.4	3.9	20.2	2.0	16.1	1.0
320/320 mg/kg/day						
Males	52.0	3.2	15.9	0.8	28.7	3.5
Females	57.9	4.7	15.0	0.9	16.9	1.0

^aExpressed as reconverted rankit treatment means.Table 15 Average body weights (g) of F₁ females during gestation and postpartum periods

Treatment group	Control I	Control II	MK-0787/MK-0791(mg/kg/day)		
			20/20	80/80	320/320
Average body weight (g) during gestation ^a					
Day 1	319	305	297	324	295
Day 20	437	437	421	449	436
Change					
Days 1 to 20	118	132	123	125	141
Average body weight (g) during lactation ^b					
Day 2	354	335 ^c	322	372	342

^a Includes all pregnant females.^b Includes all females that completed parturition except as noted.^c Excludes female 83-0371 which was found dead prior to taking Day 2 postpartum weight.

そのうち、主として抗癌剤として用いられる DNA および RNA の合成阻害剤は催奇形作用を発揮することが知られているが、3および4に属する抗生物質の多くは、胎児に対して有害作用を現わさないか、あるいは、たとえ胎児毒性を示すことはあっても、催奇形作用は示さないとされている^{6),7)}。MK-0787 はベータラクタム抗生物質で細胞壁の合成を阻害することにより抗菌力を発揮する物質である。同様に細胞壁の合成を阻害することにより抗菌力を発揮する抗生物質に、ペニシリン系およびセファロスポリン系抗生物質などがあるが、ペニシリン系物質は長年にわたる広い臨床使用にもかかわらず、奇形児出産との因果関係を明確にした報告はなく、それを疑わしめる報告があるにすぎない⁸⁾。また動物実験においても、胎仔致死作用に関しては若干の報告はある

が⁹⁾⁻¹¹⁾、催奇形性についてはストレプトマイシンの併用で四肢奇形を認めたとする報告がある¹²⁾にすぎない。セファロスポリン系抗生物質については、臨床的に奇形を認めたとする報告はなく⁶⁾、動物実験においても催奇形性を示したとする報告はない¹³⁾⁻²¹⁾。

事実、本実験においても、自然発生的にみられる程度の頻度で、胎仔の外形、内臓および骨格の異常が観察されたにすぎず、催奇形性はみられなかった。胎仔毒性としては、最高投与群の妊娠末期胎仔に、極めて軽度の体重増加抑制のみみられたのみであった。F₁産仔の生後観察においては、低体重であった産仔に二次的な精巣下降の遅延がみられたが、こうした変化も時折自然発生的に起こることがあり、薬物投与に起因するものとは断定し難い。事実、80/80 mg/kg/day 群の平均精巣下降日齢

Table 16 Summary of reproductive status of F₁ females

Treatment group	Control I	Control II	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Total number of females	11	12	11	11	11
Live litter on day 1 postpartum	9	7	10	9	11
Live not pregnant	1	3	1	1	0
Preg delivered no pups	1	0	0	1	0
Died postpartum	0	1	0	0	0
Not bred	0	1	0	0	0
Total number of identified matings	11	11	11	11	11
Days 1 to 4 of breeding	10	10	10	10	11
Days 5 to 8 of breeding	0	1	0	1	0
Days 9 to 12 of breeding	0	0	0	0	0
Days 13 to 16 of breeding	1	0	1	0	0
Time to mating ^a	1.1	1.1	1.1	1.1	1.0
Time to parturition ^b	2.3	2.1	2.6	3.1	2.0
Post-implantation survival rate (%) ^c	88.5	94.0	91.5	88.1	89.7

^a Expressed as reconverted treatment means in units (1 through 4) which represent four consecutive 4-day periods after the beginning of cohabitation.

^b Expressed as reconverted treatment means in units (1 through 9) which represent consecutive 8-hour time segments after 9:00 or Day 21 of gestation.

^c Expressed as reconverted treatment means of the number of live pups divided by the number of metrial glands for each female × 100.

Table 17 Summary of status of F₂ generation at parturition

Treatment group	Control I	Control II	20/20 mg/kg/day	80/80 mg/kg/day	320/320 mg/kg/day
Number of litters ^a	9	8	10	9	11
Day 1 postpartum					
Total no. of pups	102	100	144	96	151
Sex males/females	46/56	54/46	79/65	46/50	68/83
No. live	102	100	142	96	150
Live pups/total pups (litter mean) ^b	1.000	1.000	0.985*	1.000	0.995
No. dead	0	0	2	0	1
No. live per litter	11.3	12.5	14.2	10.7	13.6
Ave. pup weight (g)/litter ^{b,c}	6.82	6.60	6.28	6.23*	6.54

* Significantly different ($p \leq 0.05$) from Control I.

^a Includes only litters of females which delivered live pups.

^b Expressed as reconverted rankit treatment means.

^c Statistical analysis and means adjusted for time to parturition and litter size.

Table 18 Results of external, visceral, and skeletal examination of F₂ pups

Treatment group	MK-0787/MK-0791 (mg/kg/day)				
	C I	C II	20/20	80/80	320/320
Pups					
No. examined externally ^{a,b}	102	100	142(2)	96(2)	150(1)
No. litters examined	9	8	10	10	11
No. with malformations	0	0	0	0	0
No. with variations	0	0	0	0	0
No. of variations	0	0	0	0	0

^aNumbers in parentheses represent dead pups.

^bNumbers in brackets represent dead fetuses.

は、対照群値に比べて有意に増加はしていたが、各個体の値は対照群値の範囲内にあった(対照群では23~35日であったのに対し、80/80 mg/kg/day 群では26~32日であった)。

以上のことから、MK-0787/MK-0791 は胎仔毒性および催奇形性の観点より安全性の高い薬剤と考えられ、最大無作用量は 80/80 mg/kg/day とすることが妥当と考えられる。

文 献

- 1) KAHAN, F. M. ; H. KROPP, J. G. SUNDELOF & J. BIRNBAUM : Thienamycin : development of imipenem-cilastatin. *J. Antimicrob. Chemother.* 12(Suppl. D) : 1~35, 1983
- 2) STAPLES, R. E. : Detection of visceral alterations in mammalian fetuses. *Teratology* 9 : A 37~38, 1974
- 3) WILSON, J. G. : Methods of administering agents and detecting malformations in experimental animals. J. G. WILSON and J. WARKANY eds. in *Teratology-Principles and Techniques*, The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, pp. 262~277, 1965
- 4) DAWSON, A. B. : Note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.* 1 : 123~124, 1926
- 5) HANADA, S. ; T. NAKATSUKA, I. HAYASAKA & T. FUJII : Effects of prenatal treatment with methylazoxymethanol acetate on growth, development, reproductive performance, learning ability and behavior in the rat offspring. *J. Toxicol. Sci.* 7 : 93~110, 1982
- 6) NISHIMURA, H. ; T. TANIMURA : Information on prenatal hazards of drugs. H. NISHIMURA and T. TANIMURA eds. in *Clinical Aspects of the Teratogenicity of Drugs*. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford, American Elsevier Publishing Company, Inc., New York, pp. 99~270, 1976
- 7) SCHARDEIN, J. L. : Teratogenicity of drugs. J. L. SCHARDEIN ed. in *Drugs as Teratogens* CRC Press, Inc., Cleveland, pp. 57~274, 1976
- 8) CARTER, M. P. ; F. WILSON : Antibiotics in early pregnancy and congenital malformations. *Dev. Med. Child. Neurol.* 7 : 353, 1976
- 9) 谷村 孝 : 医薬品の次世代に及ぼす影響に関する動物試験法の諸問題。 *医薬品研究* 5 : 285~294, 1974
- 10) WILSON, F. : Congenital defects in the newborn. *Br. Med. J.* 2 : 255, 1962
- 11) CARTER, M. P. ; F. WILSON : Antibiotics and congenital malformations. *Lancet* I : 1267~1268, 1963
- 12) FILIPPI, B. ; V. MELA : Malformazioni congenite degli arti attenuate sperimentalmente in embrioni diratto, in seguito a trattamento con penicillina et streptomycin. *Minerva Chir.* 12 : 1047~1052, 1957
- 13) MARKHAM, J. K. ; G. K. HANASONO, E. R. ADAMS & N. V. OWEN : Reproduction studies on cefaclor (Lilly cephalosporin 99638) in four species. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45 : 292, 1978
- 14) 田内清憲, 川西広明, 五十嵐章之, 前田康行, 前山由紀, 海老野耕一 : Cefadroxil (S-578) の毒性に関する研究 (第6報)。生殖試験: ラットにおける胎仔の器官形成期投与試験。 *Jpn. J. Antibiot.* 33 : 487~496, 1980
- 15) FROHBERG, V. H. : Kangerogenese, teratogenese, mutagenese : Beziehung zwischen tierexperimentellen und Klinischen Befunden. *Arzneimitt.-Forsch.* 28 : 1984~2001, 1978
- 16) BIRKHEAD, H. A. ; G. B. BRIGGS & L. Z. SAUNDERS : Toxicology of cefazolin in animals. *J. Infect. Dis.* 128 (Suppl) : S 379~388, 1973
- 17) 渡辺敏樹, 大浦 憲, 森田 遙, 秋元 健 : Cefoxitin の安全性に関する研究 (第4報) Cefoxitin の生殖に及ぼす影響。 *Chemotherapy* 26 : 205~226, 1978
- 18) 広岡哲夫, 田所 規, 高橋昌三, 金 清枝, 北川純男 : Cefroxadin (CGP-900) のラットにおける生殖試験 (第1報)。器官形成期投与試験。 *医薬品研究* 10 : 802~824, 1979
- 19) WELLES, J. S. ; R. O. FROMAN, W. R. GIBSON, N. V. OWEN, & R. C. ANDERSON : Toxicology and pharmacology of cephalixin in laboratory animals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1968 : 489~496, 1969
- 20) MEDINA ORTEGA, R. & G. DOMENECH RATTO : Comparative study of the effect of three antibiotics (chloramphenicol, SV rifomycin and sodium cephalothin) on chicken and rat embryos. *Acta Gynecol. Obstet. Hisp. Lusit.* 20 : 127~134, 1972
- 21) HASSERT, G. L. ; P. J. DEBAECKE, J. S. KULESZA, V. M. TRAINA, D. P. SINHA & E. BERNARD : Toxicological, pathological and teratological studies in animals with cephradine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 3 : 682~685, 1973

IMIPENEM/CILASTATIN SODIUM : TERATOGENICITY STUDY IN RATS PRE-AND POSTNATAL OBSERVATION

ROBERT L. CLARK, RICHARD T. ROBERTSON, JAMES S. MACDONALD and DELWIN L. BOKELMAN
Merck Institute for Therapeutic Research

TAKAAKI FUJII

Research Laboratories Nippon Merck-Banyu Co., Ltd.

Imipenem(MK-0787) is a new broad spectrum beta lactam antibiotic. Coadministration of cilastatin sodium(MK-0791) and MK-0787 prevents the renal metabolism of MK-0787 and promotes urinary recovery of unchanged antibiotic.

The present study was performed to evaluate the potential teratogenicity of the combination of these agents and the effects on growth, development, behavior, fertility and reproductive status of F_1 offspring. The drug combination was administered to three groups of 35 mated F_0 female CRCD albino rats at dosage levels of 20/20, 80/80, and 320/320 mg/kg/day once daily on days 6 through 17 of gestation. Drug was administered intravenously to the 20/20 and 80/80 mg/kg/day groups and subcutaneously to the 320/320 mg/kg/day group. A fourth group of 35 females (Control I) received saline intravenously and a fifth group of 12 females (Control II) received saline subcutaneously.

Twenty-four females from each of the Control I, 20/20, 80/80 and 320/320 mg/kg/day groups were selected to undergo cesarean section on day 20 of gestation. The reproductive status and corpora lutea count as well as results of external, visceral, and skeletal examinations of fetuses were recorded. All females in the Control II group and the remaining 11 females in the other groups were allowed to deliver naturally. The F_1 pups were reared to sexual maturity and mated to produce an F_2 generation.

There was no evidence of teratogenicity or fetotoxicity based on the external, visceral, and skeletal examinations of F_1 fetuses and the external examination of F_1 pups except a slight but significant ($P \leq 0.05$) treatment-related decrease in live fetal weight in the 320/320 mg/kg/day group.

There were no effects of treatment on the viability of the F_1 generation. There were no treatment-related physical signs, preweaning or postweaning body weight changes in the F_1 generation.

There was a slight but significant ($P \leq 0.05$) increase in the age of testes descent among F_1 males in the 80/80 mg/kg/day group. In addition, 2 pairs of small siblings in the 320/320 mg/kg/day group were oldest in age at time of testes descent. These greater ages for time of testes descent may have been treatment-related. There was no effect of prenatal treatment on testes descent in the 20/20 mg/kg/day group and no effect on the occurrence of other developmental signs at any dosage level.

There were no effects of prenatal treatment on the behavior test and fertility test in the F_1 generation. The maximum no effect level of the drug combination is considered to be 80/80 mg/kg/day although the dosage level caused delayed testicular descent, the change was very slight and within normal variations.