

Potassium clavulanate および BRL 28500 の生殖試験 (第2報)

ラットにおける器官形成期投与試験

藤田和司・西岡佳隆・倉片康雄・幸嶋祥亘

ビーチャム薬品株式会社

中村厚・石田茂

株式会社ボゾリサーチセンター

JOHN A. BALDWIN

Beecham Pharmaceuticals Research Division

Crj: CD (SD) ラットを用いて CVA-K の 25, 50, 75 および 150 mg/kg を, BRL 28500 の 200, 400, 800 および 1,200 mg/kg をそれぞれ胎仔の器官形成期に静脈内投与し, 母体, 胎仔ならびに出生仔におよぼす影響を検討した。

母体への影響として, CVA-K の 150 mg/kg 投与群で摂餌量減少および体重増加抑制が, BRL 28500 の各投与群で体重増加抑制が認められた。妊娠維持, 妊娠期間, 分娩および哺育状態には両検体の各投与群で異常は認められなかった。

胎仔への影響として, CVA-K の 150 mg/kg 投与群で胎仔体重の減少が認められたが, BRL 28500 投与群では著変は認められなかった。また, 両検体とも胎仔致死および催奇形作用は認められなかった。

出生仔 (F₁) の生後発育には両検体の各投与群で異常は認められず, 機能検査, Open field 試験, 複式水 T 迷路試験, 条件回避反応試験および生殖能力試験のいずれにおいても検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より, 本試験条件下での母体に対する一般毒性学的な無影響量は CVA-K では 75 mg/kg, BRL 28500 では 200 mg/kg 未満, 母体の妊娠維持, 分娩, 哺育等に対する無影響量は CVA-K では 150 mg/kg, BRL 28500 では 1,200 mg/kg, 次世代仔の発生および生後発育に対する無影響量は CVA-K では 75 mg/kg, BRL 28500 では 1,200 mg/kg と考えられる。

BRL 28500 は, β -lactamase 阻害作用を有する clavulanic acid (CVA) のカリウム塩 (CVA-K) と ticarcillin (TIPC) を遊離酸重量として 1:15 に配合した抗生物質である。

配合成分の一つである TIPC については, 器官形成期投与試験の成績¹⁾がすでに報告されている。今回, 著者らは CVA-K および BRL 28500 をラットの器官形成期に相当する妊娠時期に静脈内投与し, 母体, 胎仔ならびに出生仔におよぼす影響を検討したので, その成績を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 検体

CVA-K は, 生理食塩液に, BRL 28500 は注射用蒸留水に溶解させ, 投与液量が各群とも 5 ml/kg となるように用時調製した。なお, BRL 28500 については, 投与液の浸透圧を生理的浸透圧により近づけるために, 注射

用蒸留水を溶媒として用いた。

2. 使用動物および飼育条件

雌雄の Crj: CD(SD) ラット (日本チャールス・リバー) を 11 週齢で購入し, 1 週間予備飼育したのち試験に使用した。

動物は, 固型飼料 (NMF, オリエンタル酵母) および水道水を自由に摂取させ, 飼育室は温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$ に保った。妊娠動物を得るために, 雌雄を 1 対 1 で終夜同居させた。翌朝, 陰栓形成または陰垢中に精子が確認された雌を交尾成立動物とみなし, この日を妊娠 0 日とした。

なお, 試験には 1 群当たり 30~33 匹の妊娠動物を使用した。

3. 投与方法

投与期間は妊娠 7 日から 17 日までの 11 日間とし, 検体を 1 日 1 回, 投与速度 0.05 ml/sec で静脈内に投与

した。なお、対照群には浸透圧を考慮して両検体とも生理食塩液を検体と同様に投与した。

4. 投与量の設定

投与量は、CVA-K および BRL 28500 とも用量設定試験の結果を参考にして、CVA-K では 25, 50, 75 および 150 mg/kg, BRL 28500 では 200, 400, 800 および 1200 mg/kg とした。なお、投与量はすべて遊離酸として表示した。

5. 検査方法

各群の妊娠動物 20~21 例を妊娠末期観察群とし、妊娠 20 日に開腹して胎仔観察を行った。また、残りの 10~12 例は自然分娩させ、出生仔検査に供した。

1) 母体 (F₀) の観察

一般状態は試験期間中は毎日観察し、体重は投与期間中は毎日、その他の期間は週 2 回測定した。摂餌量は、全期間を通じ週 2 回測定した。

妊娠末期観察群は妊娠 20 日に屠殺し、卵巣および子宮を摘出して黄体数、着床数、生存胎仔数および死亡吸収胚数を調べた。更に、主要臓器を肉眼的に観察した。

自然分娩群は、出生仔の生後発育の検査を行うために自然分娩させ、分娩状態の観察および妊娠期間の算出を行った。さらに出生仔を離乳時(分娩 21 日)まで哺育させてこの間の哺育行動を観察した。母体は哺育期間終了時に屠殺し、着床痕数の算定および主要臓器の肉眼的観察を行った。

2) 胎仔 (F₁) の観察

生存胎仔は体重および胎盤重量を測定し、性別および外表異常の有無を観察した後、同腹仔の約 1/3 を内臓検査に、約 2/3 を骨格検査に供した。内臓検査は胎仔を Bouin 液に固定して、頭部は Wilson 法²⁾、胸部および腹部は西村の顕微解剖法³⁾に従って実体顕微鏡下で内臓異常および内臓変異を観察した。骨格検査は胎仔を ethanol で固定した後、Dawson 法⁴⁾に従って alizarin red S 染色による骨格透明標本を作成し、骨格異常、骨格変異および骨化進行度(胸骨核、中手骨、中足骨、仙尾椎骨)を調べた。

3) 出生仔 (F₁) の観察

分娩後、出産仔数とその生死を確認し、生存仔については性別および外表異常の有無を観察し、体重を測定した。生後 4 日に 1 腹仔が 10 匹を越える母体については哺育仔数を 10 匹に調整し、残余の仔は屠殺し剖検した。

出生仔の体重測定を、離乳時(生後 21 日)まで週 2 回、生後 21 日以降 70 日まで週 1 回実施するとともに、仔の一般状態および発育分化を観察した。発育分化の指標として、耳介開展、腹部毛生、切歯萌出、眼瞼開

裂、精巣下降および腔開口を観察した。

生後 21 日の離乳時点で、1 腹当たり無作為に雌雄各 3 匹の仔を残し、それ以外は剖検したのち Dawson 法⁴⁾に準じて骨格標本を作製し骨格観察を行った。

生後 21 日の出生仔の調整後、各腹当たり雌雄各 1 匹ずつについて、Irwin の多元観察法、回転籠法、傾斜板法、回転棒法、瞳孔反射および耳介反射により一般状態、自発運動量、筋力機能および視覚、聴覚反射を検査した。

行動試験として、生後 21 日に上記の各種の機能検査を行った動物について、8 週齢で Open field 試験、9 週齢で複式水 T 迷路試験、10 週齢でシャトルボックスによる条件回避反応試験を行い、情動性および学習能力を検査した。

生殖能力試験は、行動試験に用いなかった各腹当たり雌雄各 2 匹について 10 週齢で行った。交尾の確認された雌については自然分娩させ、妊娠期間の算出を行い、分娩後、出産仔 (F₂) 数とその生死を確認し、生存仔については性別および外表異常の有無を観察し、体重を測定した。さらに、分娩後 4 日まで哺育させ、授乳状態を観察したのち母仔ともに剖検し、着床痕数の算定を行った。

6. 統計処理

性比、分化率、回転棒試験、傾斜板試験、反射試験、交尾率および妊娠率については χ^2 検定、その他の数値については、Kruskal-Wallis の H 検定を行い、群間に差を認めた場合のみ対照群との多重比較⁵⁾を行った。

II. 実験結果

1. 母体におよぼす影響

CVA-K の 150 mg/kg 投与群で死亡が 1 例認められた。本例は妊娠 14 日(投与 7 日)の投与直後、横臥がみられ死亡した。CVA-K の他の投与群および BRL 28500 の各投与群では一般状態に異常はなく死亡も認められなかった。

摂餌量および体重については、CVA-K の 150 mg/kg 投与群で、投与期間前半の摂餌量の軽度減少および投与期間中の体重増加抑制が、BRL 28500 の各投与群で、投与開始時の摂餌量の一過性減少および投与期間中の体重増加抑制が認められた。しかし、哺育期間中の摂餌量および体重には、両検体の各投与群とも対照群との間に有意差は認められなかった (Fig. 1, 2, 3, 4)。

分娩および哺育状態では両検体の各投与群とも異常は認められなかった。

帝王切開時の母体の剖検所見において、CVA-K 投与群では異常はみられなかったが、BRL 28500 の各投与群で盲腸の拡張が認められた。離乳後の母体の剖検所見に

Fig. 1 Changes of body weight and food consumption in rat dams treated intravenously with CVA-K

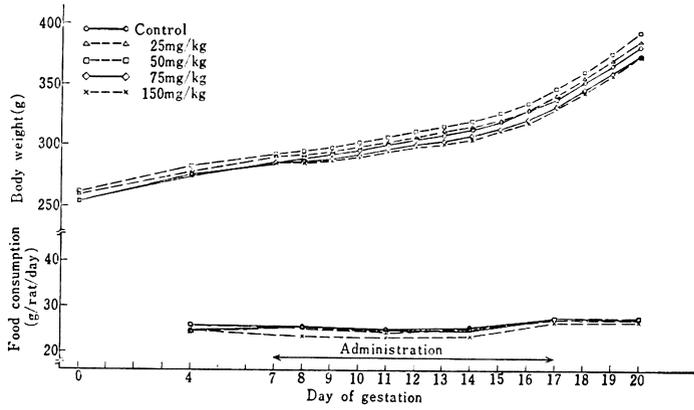


Fig. 2 Changes of body weight and food consumption in rat dams treated intravenously with CVA-K

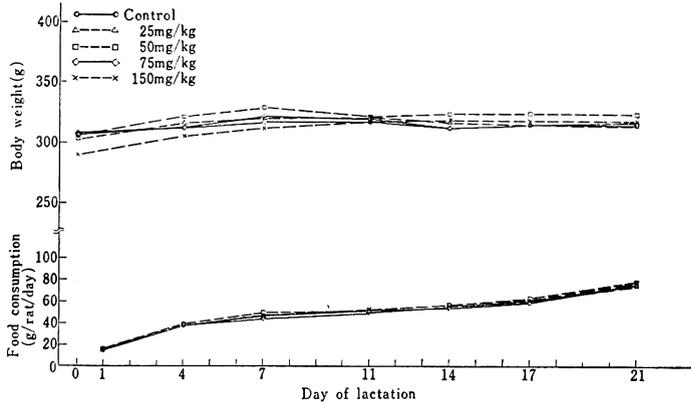


Fig. 3 Changes of body weight and food consumption in rat dams treated intravenously with BRL 28500

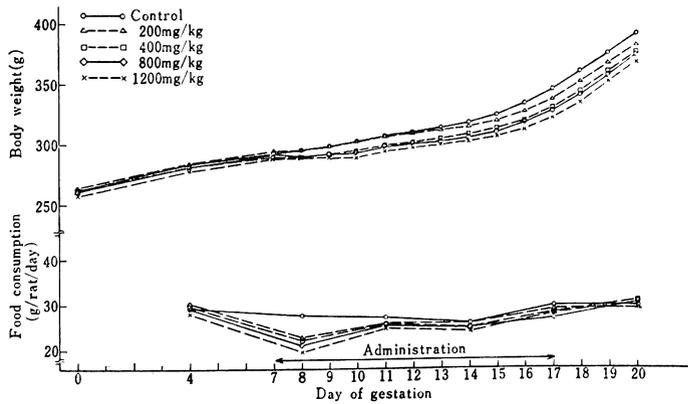


Fig. 4 Changes of body weight and food consumption in rat dams treated intravenously with BRL 28500

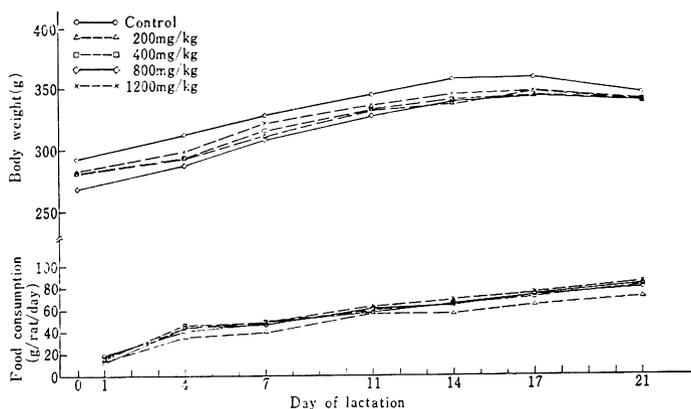


Table 1 Effects of CVA-K on fetuses

Dose (mg/kg)	Control	25	50	75	150
No. of dams	21	21	21	20	21
No. of corpora lutea	15.7±1.9	15.0±2.2	15.6±1.9	15.2±2.3	14.9±2.0
No. of implants	13.3±4.0	13.9±3.6	13.7±3.1	12.2±4.0	13.8±3.4
No. of dead fetuses					
early	0.6±0.7	0.8±1.3	1.0±1.8	0.6±0.8	0.8±1.0
late	0	0.0±0.2	0	0.1±0.2	0
No. of live fetuses	12.7±3.8	13.0±3.8	12.8±3.6	11.5±4.0	13.0±3.1
Sex ratio (Male/Female)	1.08	0.92	1.13	1.08	0.86
Fetal weight (g)					
Male	4.20±0.42	4.09±0.31	4.08±0.17	4.07±0.36	3.93±0.25**
Female	3.94±0.35	3.86±0.26	3.84±0.21	3.86±0.30	3.69±0.19**
Placental weight (g)	0.52±0.11	0.52±0.10	0.49±0.06	0.56±0.15	0.51±0.14

** : Significant difference from control ($P < 0.01$)

Mean ± S.D.

は両検体の各投与群とも異常は認められなかった。

2. 胎仔におよぼす影響

1) CVA-K

妊娠末期の帝王切開所見を Table 1 に示した。雌雄の生存胎仔体重の有意な減少が 150 mg/kg 投与群で認められた。黄体数、着床数、死亡吸収胚数、生存胎仔数、性比および胎盤重量には、各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の外表、内臓および骨格観察の結果を Table 2 に示した。外表異常として、臍帯ヘルニアが 150 mg/kg 投与群で 1 例認められた。内臓異常として、側脳室および第 3 脳室拡張が 25 mg/kg 投与群で 1 例、内臓変異として腎盂拡張および尿管屈曲が 75 mg/kg 投与群で 1 例認められた。骨格異常は、いずれの投与群にも認められなかった。骨格変異として胸骨核の非対称および 14 肋骨が対照群を含む各群で散見されたが、その出現率には各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の骨化進行度には、各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

2) BRL 28500

妊娠末期の帝王切開所見を Table 3 に示した。雌の生存胎仔体重の有意な減少が 200, 400 および 1,200 mg/kg 投与群で、また胎盤重量の有意な減少が 400 および 1,200 mg/kg 投与群でそれぞれみられた。しかし、雄の生存胎仔体重には各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。黄体数、着床数、死亡吸収胚数、生存胎仔数および性比には、各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の外表、内臓および骨格観察の結果を Table 4 に示した。外表異常として、無尾が対照群および 800 mg/kg 投与群で各 1 例認められた。内臓異常として、水頭症が対照群で 1 例、単眼症を伴う水頭症が 200 mg/kg 投与群で 1 例、右側大動脈弓が対照群で 1 例認められた。内臓変異として、頸部胸腺遺残および腎盂拡張等が

Table 2 Morphological findings in F₁ rat fetuses from dams treated with CVA-K

	Dose (mg/kg)				
	Control	25	50	75	150
<u>External observation</u>					
No. of fetuses observed	266	273	268	229	273
No. of fetuses with abnormality	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)
Type of abnormality					
Umbilical hernia	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)
<u>Visceral observation</u>					
No. of fetuses observed	88	93	90	77	98
No. of fetuses with abnormality	0 (0.0)	1 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
No. of fetuses with variation	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.3)	0 (0.0)
Type of abnormality					
Dilation of lateral and third ventricle	0 (0.0)	1 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<u>Skeletal observation</u>					
No. of fetuses observed	178	179 ^{a)}	178	151 ^{a)}	175
No. of fetuses with abnormality	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
No. of fetuses with variation	18 (10.1)	12 (6.7)	17 (9.6)	12 (7.9)	13 (7.4)

^{a)} : One fetus is missing.

Each fetus may be entered under more than one category.

Table 3 Effects of BRL28500 on fetuses

Dose (mg/kg)	Control	200	400	800	1200
No. of dams	20	20	20	20	20
No. of corpora lutea	17.1±1.9	17.2±2.5	17.0±2.1	16.9±2.0	16.9±2.8
No. of implants	15.4±3.0	14.8±3.2	16.0±1.7	15.8±2.3	15.2±1.9
No. of dead fetuses					
early	1.1±1.1	1.2±1.1	0.9±1.0	0.8±1.3	0.8±0.6
late	0	0	0.1±0.3	0	0
No. of live fetuses	14.3±2.9	13.6±3.2	15.0±2.0	15.0±3.0	14.4±2.0
Sex ratio (Male/Female)	0.95	1.05	0.86	0.92	0.91
Fetal weight (g)					
Male	3.65±0.29	3.44±0.28	3.40±0.23	3.46±0.24	3.41±0.44
Female	3.50±0.21	3.30±0.26*	3.22±0.19**	3.33±0.27	3.22±0.41*
Placental weight (g)	0.50±0.05	0.46±0.06	0.45±0.05**	0.47±0.05	0.44±0.05**

* , ** : Significant difference from control ($P < 0.05, 0.01$)

Mean ± S.D.

Fig. 5 Changes of body weight in male offspring (F_1) from dams treated intravenously with CVA-K

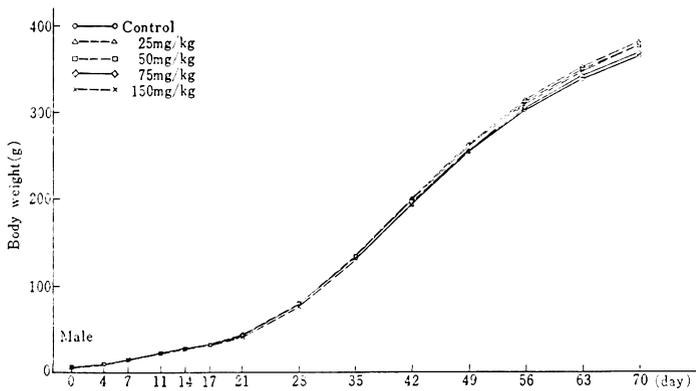


Fig. 6 Changes of body weight in female offspring (F_1) from dams treated intravenously with CVA-K

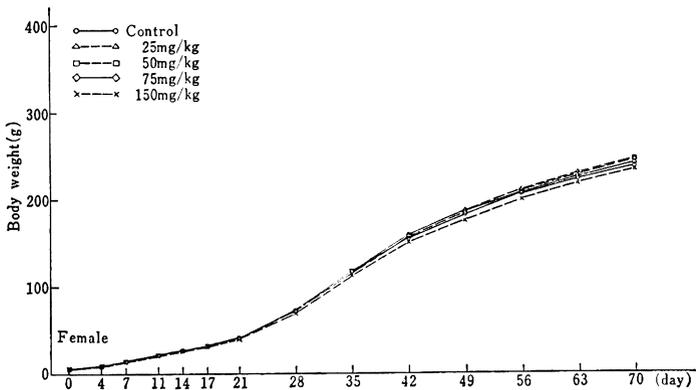


Table 4 Morphological findings in F₁ rat fetuses from dams treated with BRL28500

Dose (mg/kg)	Control	2(w)	400	800	1200
<u>External observation</u>					
No. of fetuses observed	285	272	300	300	288
No. of fetuses with abnormality (%)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	0 (0.0)
Type of abnormality					
Absence of tail	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	0 (0.0)
<u>Visceral observation</u>					
No. of fetuses observed	94	92	100	102	96
No. of fetuses with abnormality (%)	2 (2.1)	1 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
No. of fetuses with variation (%)	9 (9.6)	11 (12.0)	11 (11.0)	13 (12.7)	9 (9.4)
Type of abnormality					
Hydrocephaly	1 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Hydrocephaly and monophthalmia	0 (0.0)	1 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Right aortic arch	1 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<u>Skeletal observation</u>					
No. of fetuses observed	192	180	200	198	192
No. of fetuses with abnormality (%)	2 (1.0)	1 (0.6)	3 (1.5)	1 (0.5)	3 (1.6)
No. of fetuses with variations (%)	13 (6.8)	12 (6.7)	18 (9.0)	19 (9.6)	16 (8.3)
Type of abnormality					
Wavy rib	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)
Vertebral agenesis and dysplasia of sternbrae	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Agenesis of cervical arch	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Fusion of sternbrae	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
Bifurcation of rib	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
Agenesis of caudal vertebrae and fusion of sacral vertebral body	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)
Multiple abnormality	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)

Each fetus may be entered under more than one category.

Multiple abnormality: Retarded ossification of skull bones and cervical vertebral arches, 14th rib, Fusion of thoracic vertebral arches and ribs, Agenesis and split of thoracic vertebral body.

Table 5 Effects of CVA-K on F₁ rat offspring from dams treated with CVA-K

Dose (mg/kg)	Control	25	50	75	150
No. of pregnant females	12	11	12	12	12
No. of females delivered of live offspring	12	11	12	12	12
Gestation length (Day)	21.8±0.4	21.7±0.5	21.8±0.5	21.7±0.5	21.6±0.5
No. of implants	12.9±3.9	14.7±2.5	15.3±1.6	12.6±4.3	15.6±1.3
No. of still born(Total)	1	3	0	2	1
No. of live born	12.2±4.0	13.2±2.8	14.7±2.0	11.9±4.1	14.9±1.8
Sex ratio (Male/Female)	1.32	0.93	1.05	1.42	1.13
Body weight of offspring at birth(g)					
Male	6.5±0.7	6.5±0.5	6.2±0.4	6.4±0.8	5.9±0.4
Female	6.1±0.6	6.1±0.5	5.8±0.4	6.0±0.7	5.6±0.4
No. of offspring with external abnormality(%) ^{a)}	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6) ^{c)}
Live birth index(%) ^{b)}	94.2	89.5	96.2	94.7	95.7

a) : (No. of offspring with external abnormality/No. of live-born offspring)×100

Mean±S.D.

b) : (No. of live born/No. of implants)×100

c) : Absence of tail

Table 6 Effect of BRL28500 on F₁ rat offspring from dams treated with BRL28500

Dose(mg/kg)	Control	200	400	800	1200
No. of pregnant females	10	10	10	10	10
No. females delivered of live offspring	10	10	10	10	10
Gestation length(Day)	21.9±0.3	22.0±0.5	21.9±0.3	22.0±0.0	21.8±0.4
No. of implants	14.1±2.2	14.6±4.6	14.8±4.0	14.9±1.2	14.8±1.6
No. of still born(Total)	0	2	1	2	1
No. of live born	13.2±2.4	13.7±4.3	12.5±3.4	13.2±1.4	13.4±2.1
Sex ratio (Male/Female)	0.94	1.08	1.12	0.86	1.58
Body weight of offspring at birth (g)					
Male	6.1±0.4	5.8±0.3	6.0±0.3	6.0±0.7	6.0±0.3
Female	5.8±0.3	5.6±0.5	5.7±0.3	5.7±0.7	5.7±0.4
No. of offspring with external abnormality (%)	0	0	0	0	0
Live birth index(%) ^{a)}	93.6	93.8	84.5	88.6	90.5

a) : (No. of live born/No. of implants)×100

Mean±S.D.

対照群を含む各群で散見されたが、その出現率には各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。骨格異常として、波状肋骨が対照群、400、800 および 1,200 mg/kg 投与群で各 1 例認められた。その他、胸骨核異形成を伴う脊椎の欠損(外表観察における無尾胎仔)が対照群で 1 例、頸椎弓減形成が 200 mg/kg 投与群で 1 例、胸骨核癒合および肋骨分岐が 400 mg/kg 投与群で各 1 例、尾椎の欠損を伴う仙椎体癒合および複合奇形(頭蓋骨および頸椎弓の骨化遅延等)が 1,200 mg/kg 投与群で各 1 例認められた。骨格変異として頸肋骨および 14 肋骨等が対照群を含む各投与群で散見されたが、その出現率には各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の骨化進行度は、各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

3. 分娩におよぼす影響

CVA-K および BRL 28500 の分娩成績を Table 5 および 6 に示した。両検体とも、分娩状態には異常は認められず、また、妊娠期間、着床痕数、死産仔数、生産仔数、性比および出生率にも各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。出生仔の外表異常としては、CVA-K の 150 mg/kg 投与群で無尾が 1 例認められたのみであった。

4. 出生仔 (F₁) の生後発育におよぼす影響

哺育期間中および離乳以降の出生仔 (F₁) 体重において、CVA-K の 150 mg/kg 投与群で分娩時より対照群と

Fig. 7 Changes of body weight in male offspring (F_1) from dams treated intravenously with BRL 28500

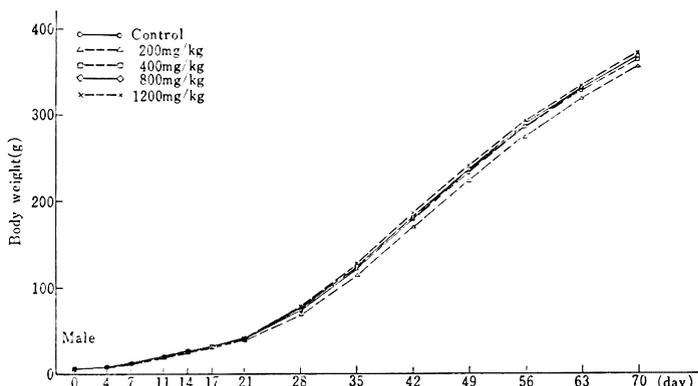
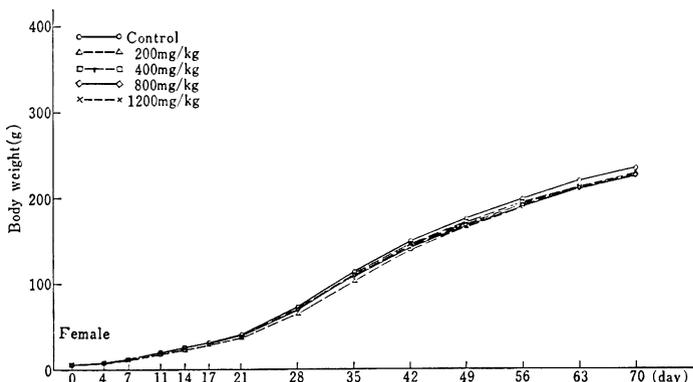


Fig. 8 Changes of body weight in female offspring (F_1) from dams treated intravenously with BRL 28500



比べ軽度な低値がみられたが、この変化には有意差は認められなかった。BRL 28500 では各投与群とも対照群と同程度の推移を示した (Fig. 5, 6, 7, 8)。

発育分化には両検体の各投与群とも検体投与によると考えられる異常は認められず、また、生後4日生存率および離乳率にも、両検体の各投与群とも対照群との間に有意差は認められなかった。

生後4日ならびに21日の出生仔 (F_1) の剖検所見および離乳時の出生仔 (F_1) の骨格観察では、両検体の各投与群とも検体投与によると考えられる異常は認められなかった。

5. 出生仔 (F_1) の機能および行動への影響

1) 機能検査

一般状態、自発運動量、筋力機能、視覚および聴覚の検査では両検体の各投与群とも異常は認められなかった。

2) 行動試験

Open field 試験、複式水T迷路試験および条件回避反応試験においても両検体の各投与群とも検体投与によると考えられる異常は認められなかった。

6. 出生仔 (F_1) の生殖能力への影響

交尾率および受胎率には、両検体の各投与群とも対照群との間に有意差は認められなかった。分娩状態でも両検体の各投与群で検体投与によると考えられる異常は認められず、妊娠期間、着床痕数、死産仔数、生産仔数、分娩時の出生仔 (F_2) 体重、出生率および生後4日生存率にも各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。出生仔 (F_2) の外表異常はいずれの投与群にも認められなかった。

III. 総括および考察

Crj: CD(SD) ラットを用いて、CVA-K の 25, 50, 75 および 150 mg/kg を、BRL 28500 の 200, 400,

800 および 1,200 mg/kg をそれぞれ胎仔の器官形成期に静脈内投与し、母体、胎仔ならびに出生仔におよぼす影響を検討した。

母体において、CVA-K の 150 mg/kg 投与群で妊娠 14 日の投与直後に死亡が 1 例認められた。本例は投与前まで一般状態に異常はみられず、また、投与直後に死亡したことから投与速度との関連が疑われた。CVA-K の他の投与群および BRL 28500 投与群では一般状態に異常はみられず、また死亡も認められなかった。

妊娠期間中、CVA-K の 150 mg/kg 投与群で軽度な摂餌量の減少および体重増加抑制が、BRL 28500 の各投与群で体重増加抑制がそれぞれ投与開始時から認められたが、哺育期間中の摂餌量および体重推移には、各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

帝王切開時の母体の剖検所見として、CVA-K 投与群では異常はみられなかったが、BRL 28500 の各投与群で盲腸の拡張が認められた。離乳時の剖検所見には両検体とも異常は認められなかった。

母体の妊娠維持、妊娠期間、分娩および哺育状態には、両検体とも異常は認められなかった。

妊娠末期の帝王切開所見として、CVA-K の 150 mg/kg 投与群の雌雄で胎仔体重の減少が認められた。また、同群では出生仔 (F₁) の体重に、有意差はみられなかったものの対照群と比べて分娩時より低値がみられた。しかし、この出生仔体重も観察期間の後半には対照群とほぼ同程度となった。一方、BRL 28500 投与群でも 200, 400 および 1,200 mg/kg 投与群の雌に胎仔体重の減少がみられたが、雄の胎仔体重には有意差は認められなかった。さらに、BRL 28500 投与群の出生仔体重は、分娩時およびその後の観察期間中を通じて対照群とほぼ同程度であった。したがって、BRL 28500 投与群でみられた雌の胎仔体重の変化については検体投与との関連性はないものと考えられた。

黄体数、着床数、死亡吸収胚数、生存胎仔数および性比には、両検体とも各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

胎仔観察でみられた外表、内臓および骨格異常については、いずれも発現頻度が低く、両検体とも各投与群と対照群との間に有意差も認められないことから、検体投与による影響とは考えられない。さらに、骨化進行度についても両検体とも各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

発育分化は両検体の各投与群とも検体投与によると考えられる異常は認められず、また生後 4 日生存率および

離乳率にも、両検体の各投与群とも対照群との間に有意差は認められなかった。

生後 4 日ならびに 21 日の出生仔 (F₁) の剖検所見および離乳時の出生仔 (F₁) の骨格観察では、両検体の各投与群とも検体投与によると考えられる異常は認められなかった。

機能検査、Open field 試験、複式水 T 迷路試験および条件回避反応試験では、両検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

出生仔 (F₁) の生殖能力試験においても両検体とも異常は認められなかった。

以上、ラットの器官形成期に CVA-K あるいは BRL 28500 を静脈内投与したところ、CVA-K の 150 mg/kg 投与群で母体の摂餌量減少、体重増加抑制ならびに胎仔の体重減少が、BRL 28500 の各投与群で母体の体重増加抑制がそれぞれ認められた。しかし、これらの投与群においても胎仔致死および催奇形作用は認められず、また出生仔の機能、行動および生殖能力にも異常は認められなかった。

したがって、本実験条件下での母体に対する一般毒性的な無影響量は CVA-K では 75 mg/kg、BRL 28500 では 200 mg/kg 未満、生殖能力に対する無影響量は CVA-K では 150 mg/kg、BRL 28500 では 1,200 mg/kg、次世代仔の発生および生後発育に対する無影響量は CVA-K では 75 mg/kg、BRL 28500 では 1,200 mg/kg と考えられる。

文 献

- 1) 福原幸輝, 江見義明, 岩波黄葵, 藤井登志之, 古川 剛, 渡辺信夫: Ticarcillin sodium の毒性試験。基礎と臨床 12: 556~576, 1978
- 2) WILSON, J. G.: Method for administering agents and detecting malformations in experimental animals. Teratology-principles and techniques (WILSON, J. G. & J. WARKANY), University of Chicago Press, Chicago pp. 262~277, 1965
- 3) 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
- 4) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain Technol. 1: 123~124, 1926
- 5) HOLLANDER, M. & D. A. WOLF: KRUSKAL-WALLIS and JONCKHEERE test. Nonparametric statistical method (WILEY, J.) pp. 114~132, 1973.

REPRODUCTION STUDIES OF POTASSIUM CLAVULANATE AND BRL 28500

II. TERATOLOGY STUDIES IN RATS

KAZUSHI FUJITA, YOSHITAKA NISHIOKA, YASUO KURAKATA and YOSHINOBU KOSHIMA
Beecham Yakuhin K. K.

ATSUSHI NAKAMURA and SHIGERU ISHIDA
Bozo Research Center, Co., Ltd.

JOHN A. BALDWIN
Beecham Pharmaceuticals Research Division

Potassium clavulanate (CVA-K) at doses of 25, 50, 75 and 150 mg/kg or BRL 28500 at doses of 200, 400, 800 and 1200 mg/kg were administered intravenously to Crj: CD (SD) rats during the period of organogenesis and their possible effects on dams, fetuses and offspring were studied.

For dams, decreased food consumption and a suppression of bodyweight gain were noted for CVA-K at 150 mg/kg, and a suppression of bodyweight gain was noted for BRL 28500 at all dose-levels. However, no effects were observed in any treatment group for either drug with regard to the maintenance of gestation, length of gestation, parturition and lactational performance.

For fetuses, decreased bodyweight was found in the CVA-K 150 mg/kg group, but there was no treatment related effect on this parameter in the BRL 28500 groups. Neither drug was found to produce an embryolethal or teratogenic effect.

No abnormalities were noted for either drug at any dose level with respect to postnatal development of F₁ pups. No adverse effects were observed in the functional tests nor in the open field, multiple T-maze, conditioned avoidance response and fertility tests.

In view of the above findings and under the experimental conditions employed, the general toxicological no-effect doses on the dams are considered to be 75 mg/kg for CVA-K and 200 mg/kg or less for BRL 28500, the no-effect doses for reproductive performance are 150 mg/kg for CVA-K and 1,200 mg/kg for BRL 28500 and the no-effect doses for development of the second generation are 75 mg/kg for CVA-K and 1,200 mg/kg for BRL 28500, respectively.