

Cefuroxime axetil (CXM-AX) の生殖試験 (Ⅲ)

— ラットにおける周産期および授乳期投与試験 —

古橋忠和・牛田和夫・滝口珠意・仲吉 洋

株式会社野村生物科学研究所

Cefuroxime axetil (CXM-AX, SN 407) の 100 mg/kg, 300 mg/kg および 1,000 mg/kg をラットの周産期および授乳期に経口投与し、母動物およびその次世代に対する影響を検討した。

1. 母動物に関しては、1,000 mg/kg 投与群で分娩 3～4 日後に 3 例が穿孔性腹膜炎を併発して死亡した。一般状態では、軟便が 1,000 mg/kg 投与群の 5 例で分娩 2～10 日後にそれぞれ一過性にみられた。CXM-AX 投与各群で平均体重の増加が分娩 11 日以降に、また、摂餌量の減少が投与開始後に一過性に、摂水量の増加が分娩 8～9 日後にそれぞれみられた。分娩 21 日後の剖検では、CXM-AX 投与各群で盲腸重量の増加が認められた。

2. 出生仔に関しては、出生率、生存率、離乳率に異常はみられなかった。体重変動では 1,000 mg/kg 投与群の雄で出生 4 日後および 7 日後に抑制がみられた。また、出生 21 日後においては、雄では 300 mg/kg 以上の CXM-AX 投与各群、雌では 1,000 mg/kg 投与群で、12 週齢では、300 mg/kg 以上の投与各群の雌で盲腸重量の増加がみられた。なお、生後分化状態、外形、内部器官、骨格、機能、行動、情動性、学習、生殖能力等に CXM-AX 投与によると考えられる変動はみられなかった。

以上の結果から、本実験条件下における CXM-AX の無影響量は母動物に対しては 100 mg/kg 付近にあり、母動物の生殖に対しては 300 mg/kg、次世代に対しては 100 mg/kg であると結論した。

Cefuroxime axetil (CXM-AX, SN 407) は英国グラクソ社で開発された経口用 Cephalosporin 系抗生物質である。本剤の安全性を確かめる試験の一環として、ラットにおける周産期および授乳期経口投与試験を実施したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

CXM-AX 原末 (Batch No. DOP 108 RD) は、新日本実業株式会社より提供された。

2. 使用動物および飼育環境

Sprague-Dawley 系ラット (Slc: SD) の 12 週齢の雄 (52 匹, 出荷時体重 340～360 g) および 11 週齢の雌 (167 匹, 出荷時体重 200～220 g) を静岡県実験動物農業協同組合より購入した。入荷時に全動物の一般状態を観察したが、異常はみられなかった。また、入荷時に検疫用動物として雄 4 匹、雌 6 匹を選び、血清反応 (HVJ, *Mycoplasma pulmonis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri*, Tyzzer's organism) および内部器官の肉眼的検査を行ったが、異常は認められなかった。

11 日間の予備飼育期間中、全動物の一般状態を毎日観察し、入荷の 4, 8, 11 日後に体重を測定し、一般状

態および体重変動に異常がみられない動物を試験に用いた。なお、動物の個体識別は、入荷の 4 日後にラットの尾部に番号を動物用入れ墨器にて記入することにより行った。出生仔 (以下、F1) の個体識別は、3～4 週齢時に尾部に親番号を動物用入れ墨器にて記入し、さらに、背部の被毛に個体番号をピクリン酸にて染色することにより行った。

動物は、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 10\%$ 、明暗各 12 時間 (照明時間 6:00 a.m.～6:00 p.m.)、換気 20 回/時間に設定された飼育室で、床敷 (ホワイトフレック オリエンタル酵母工業株式会社販売) 入りのプラスチックケージ (縦 25 cm, 横 42 cm, 高さ 18 cm) を用いて飼育した。なお、床敷およびケージは使用前にオートクレーブ処理 (121°C , 15 分) した。1 ケージの収容匹数は、予備飼育期間中は同性を 2 匹 (週 2 回ケージ交換)、妊娠期間中は 1 匹 (週 1 回以上ケージ交換)、哺育期間中は 1 腹 (週 2 回以上ケージ交換)、F1 の育成中は、同腹の同性 3 匹 (週 2 回以上ケージ交換) とした。

飼料は、オートクレーブ処理 (121°C , 15 分) した製造後 3 ヶ月以内の固型飼料 (CRF-1: オリエンタル酵母工業株式会社販売) を自由に摂取させた。なお、飼料中

の微量汚染物質の分析の結果に異常はみられなかった。

飲料水は、1 μ フィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自動給水装置ノズルあるいは給水瓶（摂水量測定時のみ）を用いて自由に摂取させた。飲料水中の微量汚染物質の分析を水道法に基づき3ヵ月に1回行ったが、その結果に異常はみられなかった。

予備飼育終了後、ラットを雌雄2:1で一夜(4:00 p.m.~9:00 a.m.)同居させ、腔脂垢法により交尾の有無を確認し、交尾した雌ラットを妊娠0日として試験に用いた。

3. 投与量および群構成

本試験の投与量は、成熟非妊娠雌を用いた2週間経口投与による予備試験の結果を参考にして、前報のラットにおける器官形成期投与試験¹⁾と同じ100 mg/kg, 300 mg/kg, 1,000 mg/kgとした。

試験に供した動物は、各群の妊娠0日の平均体重および偏差ができるだけ均一になるように配慮した。なお、妊娠0日の動物の体重範囲は207~267 gであった。

4. 投与方法および投与期間

投与はラット用金属製胃ゾンデを用いた強制経口投与とし、投与量は短期投与可能最大量と考えられる20 ml/kgとした。投与期間は妊娠17日から分娩20日後までとし、毎日1回午前中に投与した。なお、妊娠中の投与量は妊娠7日の体重を基準にして算出した。

5. 検体調製法

被験物質を0.5% (w/v) carboxymethylcellulose sodium 水溶液に懸濁して投与検体とした。対照群には0.5% carboxymethylcellulose sodium 水溶液を投与した。検体は用時調製とし、調製後4時間以内に投与した。

6. 観察項目

(1) 母動物に対する影響

1) 妊娠中の母動物

全動物について一般状態を毎日1回以上観察した。

体重は妊娠期間中に1日おき、あるいは毎日測定した。摂餌量および摂水量は6回測定し、それぞれ1日1匹あたりの摂取量を算出した。

2) 分娩および哺育中の母動物

全動物について一般状態を毎日1回以上観察した。なお、途中死亡例は剖検し、諸器官を病理組織学的に検査した。

妊娠21日から毎日2回(9:00 a.m. および 5:00 p.m.)分娩の有無および分娩状態を観察し、出産率、妊娠期間を算出した。その後分娩21日後までの哺育期間中、毎日1回午前中に哺育状態を観察した。その間、分娩4日後に同腹仔数が8匹をこえる場合は、雌雄各4匹

として1腹8匹に淘汰した。但し、雌雄いずれかが4匹未満の場合は少ない方の性を全例残して合計で8匹となるよう調整し、雌雄の合計が8匹以下の場合は全例を哺育させた。

体重は哺育期間中に2~3日おきに測定した。摂餌量および摂水量は2回測定し、それぞれ1日1匹あたりの摂取量を算出した。

3) 分娩21日後の母動物の剖検

分娩21日後に哺育母動物を pentobarbital sodium 麻酔下に腹大動脈より放血致死させ剖検し、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、卵巣、子宮、内容物を含む盲腸〔以下、盲腸(+)]、内容物を含まない盲腸〔以下、盲腸(-)]および carcass の重量を測定し、最終体重を用いて相対重量を算出した。なお、出生率算出のため着床痕数を調べた。

(2) 仔動物(F1)に対する影響

1) 生存率および発育

毎日1回、F1の生死、匹数、性別、一般状態を観察し、出生率、生存率、離乳率、性比を算出した。体重を個体別に出生0, 4, 7, 14, 21日後に測定し、その後も7日毎に84日齢まで測定した。

生後分化状態としては、耳介開展(出生2, 3, 4, 5日後)、臍部の発毛(出生9, 10, 11, 12日後)、切歯萌出(出生10, 11, 12, 13, 14, 15日後)、眼瞼開裂(出生15, 16, 17, 18日後)、精巣下降(3, 4週齢)および腔開口(5, 6週齢)について観察した。

2) 内部器官検査および器官重量

出生21日後のF1, 12週齢(行動検査に用いた動物)および生殖能力検査後に剖検した動物については、内部器官の異常を肉眼的に観察した。剖検で異常のみられた器官は10%中性formalin液で固定し、病理組織学的に検査した。

出生21日後のF1については、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、盲腸(+), 盲腸(-)および carcass のそれぞれの絶対重量を測定し、最終体重を用いて相対重量を算出した。

12週齢のF1については、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、盲腸(+), 盲腸(-)および carcass のそれぞれの絶対重量を測定し、最終体重を用いて相対重量を算出した。

3) 骨格検査

出生4日後に淘汰したF1を ethanol 液で固定後、Dawsonの方法²⁾に準じて alizarin red S 染色を施し、骨格の奇形、変異、骨化の状況を観察した。ただし、指骨数は左右両前肢または両後肢の骨化合計数で表示し

た。

出生 21 日後に剖検した F1 の骨格を Softex 撮影し、骨格の異常を検査した。

4) 機能、行動、情動性および学習能力検査

機能検査(角膜反射³⁾、耳介反射⁴⁾、正向反射⁵⁾、痛覚反応⁶⁾は 21 日齢の全 F1 について、瞳孔反射⁶⁾および行動検査⁶⁾(回転棒、傾斜板、懸垂)は 4~5 週齢、open field⁷⁾による情動性検査(1回3分間、区画移動数、潜時、脱糞、排尿、立ち上り、身づくろいについて観察)は 5~6 週齢時にそれぞれ各腹雌雄各 1 匹の F1 について行った。さらに、7~8 週齢時に電撃回避⁸⁾による学習能力の検査を行った。なお、本検査では 15 秒間の光刺激の後、15 秒間の電気刺激を行い、その後、30 秒間の休止期を 1 cycle とし、この cycle を 1 日に 30 回試行連続して 5 日間行った。動物が光刺激により電気刺激の流れる前にボールを引いた場合を回避として学習能力を判定した。

5) 生殖能力の検査

交配は、12 週齢時に同一群内で兄妹交配を避けて雌雄 1:1 で一夜(4:00 p.m.~9:00 a.m.)同居させ、腔脂垢法により交尾の有無を確認することにより行った。初めの 5 日間で交尾の成立しない場合には、雌雄の組み合わせをかえてさらに 5 日間同居させ、そこでなお交尾しない場合には、雄は無処置の雌と、雌は同一群内の交尾を確認してきた雄とそれぞれ 5 日間同居させ、交尾率、受胎率、出産率を求めた。妊娠しない雌および交尾しない雌雄は、肉眼的に内部器官を観察し、卵巢、子宮または精巣、精巣上体、前立腺、精囊を病理組織学的に検査した。

6) F2 胎仔の検査

各群の妊娠動物の約 2/3 について妊娠 20 日に剖検し、黄体数、着床数、生存胎仔数ならびに死胚数とそれらの状況(吸収胚、胎盤遺残、浸軟胎仔および死亡胎仔に分類)を観察した。生存胎仔は体重、体長、尾長、胎盤重量を個体別に測定し、口腔内を含む外形異常、性別を検査した。

7) F2 出生仔の生存率および発育

各群の妊娠動物の約 1/3 は自然分娩させ、出生 4 日後に 1 腹 8 匹以下に淘汰を行い、3 週間哺育させ、妊娠期間、出生率、生存率および離乳率を算出した。その間、F2 出生仔について外形異常、性比、一般状態、体重、生後分化状態を観察し、出生 21 日後に母動物(F1)、F2 出生仔ともに剖検した。

7. 統計学的処理

1 動物の値あるいは 1 母体ごとの平均値を標本単位として各群の平均値を算出し、対照群と CXM-AX 投与

群の間で等分散の検定を行った。分散の等しい場合は STUDENT の方法により、分散が等しくない場合は ASPIRIN-WELCH の方法によりそれぞれ t 検定を行った。但し、死胚率、出生率、生存率、離乳率、性比、外形・内部器官の異常および骨格奇形の発現率、骨格変異の発現率、骨化率の検定には WILCOXON の順位と検定⁹⁾を用い、交尾率、受胎率、出産率には χ^2 検定を用いた。

II. 結 果

1. 母動物に対する影響

(1) 妊娠中の母動物

対照群を含む各群で死亡例および一般状態の異常はみられなかった。

体重変動は Fig. 1 に示したように、妊娠期間を通じて対照群と CXM-AX 投与各群との間に統計学的有意差は認められなかった。

摂餌量および摂水量の変動を Table 1 に示した。

摂餌量の減少が 100 mg/kg 以上の投与各群で妊娠 17~20 日に対照群と比べて統計学的に有意にみられた。なお、CXM-AX 投与前に 1,000 mg/kg 投与群で摂餌量の増加が妊娠 10~13 日に、100 mg/kg 投与群で摂水量の増加が妊娠 5~6 日に対照群と比べてそれぞれ統計学的に有意にみられた。

(2) 分娩および哺育中の母動物

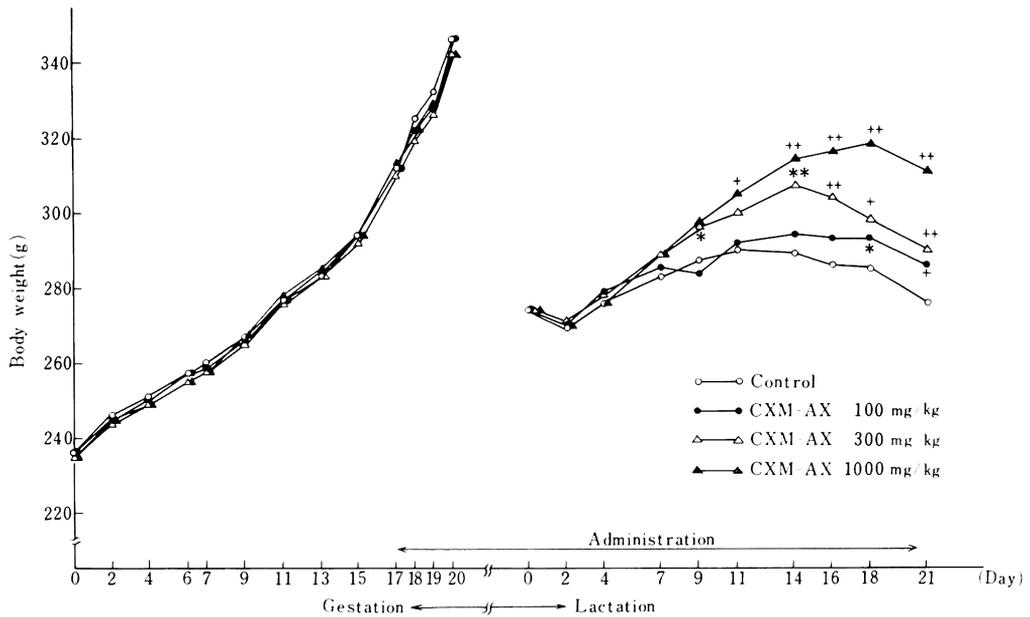
分娩異常は 1 例もみられず、出産率は Table 3 に示したようにいずれの群でも 100% であった。

途中死亡例は、1,000 mg/kg 投与群で 3 例、100 mg/kg 投与群で 1 例にみられた。1,000 mg/kg 投与群の 3 例は、分娩日ないし分娩 3 日後に消瘦、立毛、鎮静、肛門周辺の汚れを示し、分娩 3 日あるいは 4 日後に死亡した。これらの死亡例において剖検時に 2 例の胃内に検体の固形化物がみられた。また、3 例で胃に穿孔ならびに潰瘍がみられ、腹水が多く、腹腔内に胃内容物および血液様物質、腸管内に血液様物質がみられた。さらに、副腎の腫大ならびに胸腺の萎縮、脾臓の萎縮、肝臓の退色ならびに脾臓の退色も認められた。これら 3 例の病理組織学的検査では胃に多数の糜爛、潰瘍、胃の漿膜炎、脾白脾髄の萎縮、尿細管上皮の空胞化、胸腺の退縮、副腎皮質束状帯細胞の腫脹、副腎皮質の壊死、肝細胞の空胞化、肝臓および脾臓の包膜炎、肝中心帯壊死が認められた。

100 mg/kg 投与群の 1 例は、分娩 20 日後に死亡した。この 1 例では剖検で肺に投与検体が認められたことから誤投与による死亡と判断した。

生存例では、1,000 mg/kg 投与群の 5 例で分娩 2~10 日後にそれぞれ一過性に軟便がみられた。また、1,000 mg/kg 投与群の 1 例で分娩 7~13 日後に消瘦が認めら

Fig. 1 Mean body weight changes of dams during gestation and lactation periods



* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ Significant difference from control (STUDENT'S t-test)
 + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

れた。対照群、100 mg/kg 投与群および 300 mg/kg 投与群では一般状態に異常は認められなかった。

体重変動は Fig. 1 に示した。

平均体重の増加が 100 mg/kg 投与群で分娩 18, 21 日後、300 mg/kg 投与群で分娩 9, 14, 16, 18, 21 日後、1,000 mg/kg 投与群で分娩 11, 14, 16, 18, 21 日後に対照群に比べて統計学的に有意にみられた。

摂餌量は Table 1 に示したように、対照群と CXM-AX 投与各群との間に統計学的有意差は認められなかった。

摂水量は Table 1 に示したように、100 mg/kg 以上の投与各群で分娩 8～9 日後に対照群に比べて統計学的に有意な増加が認められた。

(3) 分娩 21 日後の母動物の剖検

内部器官の観察では、1,000 mg/kg 投与群の 2 例で胃内に検体の固形化物がみられ、このうち 1 例で胃に潰瘍の痕跡が認められた。対照群、100 mg/kg 投与群および 300 mg/kg 投与群では特記すべき異常は認められなかった。

各群の器官重量を Table 2 に示した。

100 mg/kg 以上の投与各群で盲腸 (+) および盲腸 (-) の絶対ならびに相対重量の増加、carcass および肺の相対重量の減少、300 mg/kg 以上の投与各群で腎臓の

絶対重量の増加、心臓、肝臓および卵巣の相対重量の減少、1,000 mg/kg 投与群で脾臓の相対重量の減少、その他に 100 mg/kg 投与群で子宮の絶対ならびに相対重量の減少、1,000 mg/kg 投与群で子宮の相対重量の減少が対照群に比べて統計学的に有意にみられた。

2. 仔動物 (F 1) に対する影響

(1) 出生率および発育

1,000 mg/kg 投与群の死亡した母動物では、母動物の死亡前にその F 1 はほとんど死亡した。なお、Table 3 に示したように、死亡母動物を除いた平均着床数、平均妊娠期間、平均出生仔数、死亡率、性比、出生率、生存率および離乳率に関して、対照群と CXM-AX 投与各群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。

外形異常は、死亡母動物の出産子を含め、全群で 1 例もみられなかった。

一般状態に関しては、哺育期間、離乳後を通じて CXM-AX 投与に関連する異常はみられなかった。

生後分化状態は Table 4 に示したように、対照群と CXM-AX 投与各群との間に統計学的有意差は認められなかった。

各群の体重変動を Table 5 および 6 に示した。

100 mg/kg 投与群の雄で出生 0, 4, 28 日後、同群の雌で出生 0, 14 日後、300 mg/kg 投与群の雄で出生 14,

Table 1 Mean food and water consumptions by dams during gestation and lactation periods

Compound	Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)		100	300	1000
No. of dams	22	22	22	22
Food (g/day)				
Gestation period				
Day 1-4	15.6± 1.5	15.8± 2.1	15.5± 2.0	15.9± 1.5
4-7	16.4± 1.4	16.7± 1.8	16.5± 1.4	16.7± 1.5
7-10	17.6± 1.5	17.9± 2.0	17.9± 1.7	18.4± 1.4
10-13	18.3± 1.4	18.8± 1.8	18.8± 1.7	19.3± 1.4*
13-17	19.9± 1.7	20.5± 1.6	19.9± 1.9	20.4± 1.6
17-20	20.5± 1.7	14.7± 2.1**	13.8± 1.7**	12.7± 2.4**
Lactation period				
Day 1-4	27.5± 3.4	27.0± 4.2	26.2± 3.3	24.8± 6.6(19)
8-11	44.6± 3.7	44.6± 5.9	46.8± 3.9	48.8± 11.3(19)
Water (ml/day)				
Gestation period				
Day 2-3	32.6± 8.2	36.5± 11.4	33.8± 11.9	33.5± 7.1
5-6	31.9± 7.7	39.5± 10.6**	32.8± 8.7	37.3± 12.8
8-9	36.1± 15.4	39.9± 11.8	37.1± 14.0	35.0± 6.1
11-12	42.1± 19.9	43.9± 11.2	36.2± 8.4	38.8± 8.1
14-15	39.6± 10.7	43.0± 10.4	39.5± 9.0	41.5± 9.6
18-19	41.2± 9.3	40.1± 15.5	38.0± 10.6	39.0± 11.2
Lactation period				
Day 1-2	39.1± 9.1	43.5± 14.7	43.6± 8.6	46.6± 15.4(19)
8-9	55.6± 9.1	69.5± 15.0**	79.5± 9.2**	86.9± 19.1**(19)

Mean±S.D.

The no. in parenthesis indicate no. of dams (F0).

*p<0.05, **p<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

**p<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

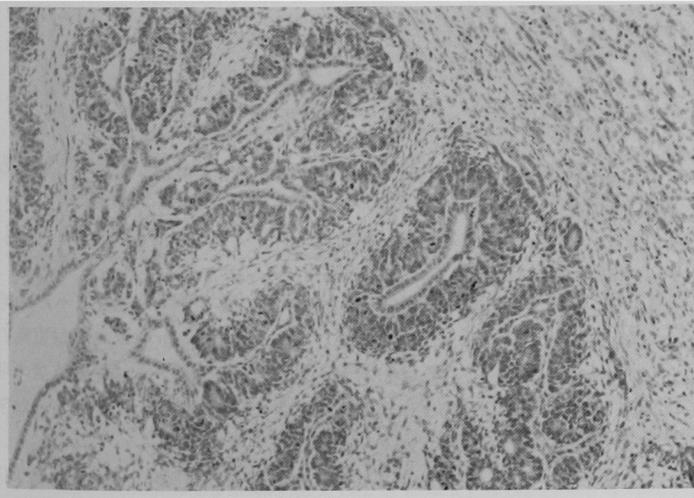


Photo. 1 Nephroblastoma (CXM-AX 100 mg/kg)

Table 2 Mean absolute and relative organ weights of dams on day 21 after delivery

Compound	Control	CXM-AX		
		100	300	1000
Dose (mg/kg)				
No. of dams	22	21	22	19
Final body weight (g)	276±9	286±15 ⁺	290±21 ⁺⁺	311±20 ⁺⁺
Carcass (g)	199±8	200±12	193±12	202±13
(g%)	72±2	70±2 ^{**}	67±2 ^{**}	65±3 ⁺⁺
Heart (mg)	851±76	860±65	819±74	836±81
(mg%)	309±31	301±26	284±31 [*]	269±23 ^{**}
Lung (g)	1.08±0.10	1.06±0.07	1.04±0.09	1.08±0.14
(g%)	0.39±0.03	0.37±0.03 [*]	0.36±0.03 ^{**}	0.35±0.04 ^{**}
Liver (g)	11.0±0.7	11.3±0.9	10.6±1.0	11.1±1.1
(g%)	4.0±0.2	4.0±0.2	3.6±0.3 ^{**}	3.6±0.2 ^{**}
Kidneys (g)	1.83±0.15	1.89±0.17	1.93±0.12 [*]	2.00±0.15 ^{**}
(g%)	0.66±0.05	0.66±0.06	0.67±0.06	0.64±0.03
Spleen (mg)	593±67	640±88	625±115	594±62
(mg%)	214±22	224±31	216±39	191±16 ^{**}
Adrenals (mg)	71±9	72±6	75±7	75±10
(mg%)	26±3	25±3	26±3	24±3
Thymus (mg)	171±44	184±37	160±38	179±44
(mg%)	62±15	64±12	55±12	58±15
Ovaries (mg)	92±14	88±12	87±17	90±12
(mg%)	33±4	31±4	30±5 [*]	29±4 ^{**}
Uterus (mg)	398±127	320±82 ⁺	375±112	364±101
(mg%)	144±47	112±31 ⁺	129±40	118±34 [*]
Cecum + (g)	10.3±1.5	15.4±2.3 ⁺⁺	22.1±7.4 ⁺⁺	30.1±5.3 ⁺⁺
(g%)	3.7±0.6	5.4±0.8 ⁺⁺	7.6±2.3 ⁺⁺	9.7±1.7 ⁺⁺
Cecum - (g)	1.92±0.30	2.87±0.77 ⁺⁺	3.57±0.48 ⁺⁺	3.44±0.54 ⁺⁺
(g%)	0.70±0.11	1.01±0.30 ⁺⁺	1.23±0.15 ^{**}	1.11±0.18 ⁺⁺

Mean ± S.D.

* p<0.05, ** p<0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t test)

+ p<0.05, ++ p<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Cecum + : Cecum with contents

Cecum - : Cecum without contents

28日後、同群の雌で出生0, 14, 28, 35日後、1,000 mg/kg 投与群の雄で出生4。7日後に对照群に比べて統計学的に有意な平均体重の減少が認められた。

(2) 内部器官検査および器官重量

各群の内部器官検査の結果を Table 3 に示した。

胸腺の退縮が对照群で1例に、腎盂拡張が100 mg/kg 投与群で1例に、腎芽細胞腫 (Photo. 1) が100 mg/kg 投与群で2例に、右側子宮萎縮が1,000 mg/kg 投与群で1例に、肝臓と脾臓の梗着ならびに肝臓の血腫が1,000 mg/kg 投与群で1例にみられた。また、100 mg/kg 投与群の1例で脾臓に壊死ならびに髓外造血が認められ、他の1例で脾臓に壊死、髓外造血ならびに壊死巣

周囲の肉芽組織の増生、肝臓に肝細胞の空胞化と髓外造血、片側の副腎に皮質球状帯の萎縮が認められた。

各群の21日齢の器官重量を Table 7 および 8 に示した。

雌では300 mg/kg 以上の投与各群で盲腸 (+) の絶対および相対重量の増加ならびに carcass の相対重量の減少、1,000 mg/kg 投与群で盲腸 (-) の絶対重量の増加ならびに肺の相対重量の減少が对照群と比べて統計学的に有意にみられた。

雌では1,000 mg/kg 投与群で盲腸 (+) の絶対および相対重量の増加ならびに carcass, 肺の相対重量の減少が对照群と比べて統計学的に有意にみられた。なお、

Table 3 Observations of F1

Compound	Control	CXM-AX		
		Dose (mg/kg)	100	300
No. of litters	22	22	22	19
Mean no. of implantations	12.8±2.0	13.0±2.1	12.9±1.6	13.4±1.2
Mean length of gestation period (day)	21.8±0.4	21.6±0.5	21.8±0.4	21.8±0.4
Delivery rate ^{a)} (%)	100	100	100	100
Mean no. of alive F1				
Postpartum day 0	12.0±1.8	12.4±2.0	11.9±1.8	12.3±1.8
1	11.8±1.9	12.4±2.1	11.7±1.7	12.3±1.8
4	11.8±1.9	12.4±2.1	11.7±1.8	12.3±1.8
After selection				
21	7.9±0.4	7.9±0.4	8.0±0.0	7.9±0.5
21	7.9±0.4	7.9±0.4	8.0±0.0	7.5±1.9
Dead F1 (%)				
At birth	0.7	0	0.4	0.8
Postpartum day 1	1.5	0.4	1.5	0
2-4	0	0	0.4	0
5-21	0	0	0	5.3
Sex ratio of newborns (Male/Female)	1.00	1.10	1.06	1.06
Live birth index ^{b)}	94.0	95.5	92.3	91.4
Viability index ^{c)}	98.5	99.6	98.1	100
Weanling index ^{d)}	100	100	100	94.7
No. of F1 with external malformations	0	0	0	0
Visceral examinations of F1				
No. of F1 examined	174	174	176	142
Involution of thymus	1	0	0	0
Dilatation of the renal pelvis	0	1	0	0
Nephroblastoma	0	2	0	0
Atrophy of the right uterus	0	0	0	1
Adhesion of spleen and liver and hematoma in liver	0	0	0	1
Necrosis and extramedurally hematopoiesis in spleen	0	1	0	0
Necrosis, granulation tissue and extramedurally hematopoiesis in spleen, vacuolar degeneration in hepatic cell, extramedurally hematopoiesis in liver and atrophy of glomerular zone in adrenal	0	1	0	0

^{a)} Delivery rate (%) = (No. of dams delivered alive F1/No. of pregnant dams) × 100

^{b)} Live birth index (%) = (No. of alive F1 at day 0/No. of implantations) × 100

^{c)} Viability index (%) = (No. of alive F1 at day 4 before selection/No. of alive F1 at day 0) × 100

^{d)} Weanling index (%) = (No. of alive F1 at day 21/No. of alive F1 at day 4 after selection) × 100

Table 4 Postnatal developments of F1

Compound		Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)			100	300	1000
No. of litters		22	22	22	19
Separations of auricle (%)	Day 2	22.3	20.2	24.0	22.7
	3	86.9	63.2	73.7	82.0
	4	99.6	99.3	98.4	97.4
	5	100	100	100	100
Appearance of abdominal hair (%)	Day 9	0.6	2.3	2.8	2.7
	10	54.0	43.1	63.1	69.9
	11	87.4	82.2	97.7	89.4
	12	100	100	100	100
Odontiasis (%)	Day 10	7.5	8.0	10.8	7.7
	11	19.0	24.1	29.5	22.5
	12	60.9	50.6	56.8	70.4
	13	86.2	74.1	84.7	92.3
	14	98.9	93.7	98.9	99.3
	15	100	100	100	100
Eyelids opening (%)	Day 15	24.7	19.0	21.6	33.1
	16	81.6	64.9	76.7	86.6
	17	98.9	99.4	100	99.3
	18	100	100	100	100
Descent of testes (%)	Week 3	98.9	90.9	100	98.6
	4	100	100	100	100
Vaginal opening (%)	Week 5	60.9	55.4	44.6	57.4
	6	100	100	100	100

Table 5 Mean body weight changes of F1 (male)

Compound	Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)		100	300	1000
No. of litters	22	22	22	19
Day 0	5.9 ± 0.4	5.6 ± 0.4*	5.6 ± 0.5	5.6 ± 0.6
4	9.5 ± 1.0	8.9 ± 0.9*	9.3 ± 0.9	8.8 ± 1.1*
7	15.2 ± 1.4	14.5 ± 1.2	14.7 ± 1.2	14.0 ± 2.1*
14	29.6 ± 2.1	28.1 ± 2.9	28.2 ± 2.1*	28.4 ± 2.4
21	45.1 ± 3.5	43.3 ± 3.2	43.8 ± 3.3	46.1 ± 4.0
28	79 ± 6	75 ± 5*	76 ± 5*	77 ± 10
35	129 ± 11	123 ± 7	123 ± 8	125 ± 13
42	183 ± 18	175 ± 10	177 ± 10	178 ± 14
49	236 ± 22	228 ± 13	231 ± 13	234 ± 17
56	283 ± 25	276 ± 15	279 ± 15	284 ± 18
63	318 ± 28	309 ± 17	311 ± 16	320 ± 18
70	351 ± 29	344 ± 19	343 ± 18	352 ± 20
77	377 ± 32	369 ± 21	367 ± 21	380 ± 22
84	394 ± 34	386 ± 23	385 ± 24	398 ± 24

Mean ± S.D. (g)

* p < 0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Table 6 Mean body weight changes of F1 (female)

Compound	Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)		100	300	1000
No. of litters	22	22	22	19
Day 0	5.6 ± 0.4	5.4 ± 0.4*	5.3 ± 0.4*	5.4 ± 0.4
4	9.1 ± 1.0	8.6 ± 1.0	8.9 ± 0.8	8.5 ± 1.1
7	14.5 ± 1.4	13.7 ± 1.3	14.0 ± 1.2	13.5 ± 2.1
14	28.6 ± 2.1	27.1 ± 2.9*	26.9 ± 2.1**	27.7 ± 2.6
21	43.4 ± 3.5	41.5 ± 3.3	41.9 ± 3.0	44.4 ± 4.0
28	74 ± 4	70 ± 7	70 ± 4*	72 ± 6
35	112 ± 7	109 ± 9	108 ± 6*	110 ± 8
42	144 ± 9	141 ± 9	141 ± 7	141 ± 11
49	170 ± 11	167 ± 11	166 ± 8	168 ± 14
56	193 ± 12	188 ± 14	187 ± 9	190 ± 15
63	209 ± 13	206 ± 14	204 ± 10	206 ± 14
70	224 ± 13	221 ± 16	218 ± 11	222 ± 17
77	234 ± 14	234 ± 18	230 ± 12	233 ± 17
84	244 ± 15	243 ± 19	240 ± 12	240 ± 18

Mean ± S.D. (g)

* p < 0.05, ** p < 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Table 7 Mean absolute and relative organ weights of 21 days old F1 (male)

Compound	Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)		100	300	1000
No. of litters	18	22	19	17
Final body weight (g)	44.4 ± 3.3	43.6 ± 3.9	43.3 ± 2.8	45.6 ± 3.8
Carcass (g)	33.4 ± 2.1	32.6 ± 2.8	32.1 ± 1.8	33.4 ± 2.6
(g%)	75.2 ± 1.7	74.7 ± 1.2	74.2 ± 1.3*	73.3 ± 1.4**
Heart (mg)	221 ± 25	227 ± 28	214 ± 17	216 ± 21
(mg%)	498 ± 45	522 ± 47	494 ± 39	475 ± 40
Lung (mg)	416 ± 45	396 ± 39	393 ± 38	396 ± 31
(mg%)	938 ± 77	910 ± 59	909 ± 84	869 ± 50**
Liver (g)	1.58 ± 0.27	1.53 ± 0.19	1.54 ± 0.14	1.56 ± 0.17
(g%)	3.55 ± 0.45	3.50 ± 0.19	3.56 ± 0.17	3.41 ± 0.18
Kidneys (mg)	455 ± 37	446 ± 49	442 ± 34	454 ± 42
(mg%)	1,024 ± 49	1,023 ± 49	1,021 ± 52	995 ± 46
Spleen (mg)	175 ± 39	173 ± 42	169 ± 33	175 ± 37
(mg%)	396 ± 83	395 ± 76	388 ± 62	382 ± 58
Testes (mg)	207 ± 35	200 ± 22	202 ± 24	205 ± 20
(mg%)	466 ± 62	458 ± 30	466 ± 41	449 ± 37
Cecum + (mg)	499 ± 122	541 ± 170	656 ± 149**	1,221 ± 362**
(mg%)	1,116 ± 227	1,233 ± 324	1,513 ± 336**	2,674 ± 747**
Cecum - (mg)	199 ± 31	183 ± 41	199 ± 37	237 ± 61*
(mg%)	447 ± 57	417 ± 75	459 ± 75	520 ± 135

Mean ± S.D.

** p < 0.01 * p < 0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

* p < 0.05, ** p < 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Cecum+ : Cecum with contents

Cecum- : Cecum without contents

Table 8 Mean absolute and relative organ weights of 21 days old F1 (female)

Compound	Control	CXM-AX			
		100	300	1000	
Dose (mg/kg)					
No. of litters	18	20	17	18	
Final body weight (g)	42.2±4.8	40.2±2.6	42.1±3.6	43.8±3.9	
Carcass	(g)	31.8±3.5	30.4±1.6	31.4±2.5	32.5±2.8
	(g%)	75.5±1.6	75.6±1.3	74.6±1.2	74.3±1.4*
Heart	(mg)	216±33	212±23	211±22	209±21
	(mg%)	513±57	529±60	504±42	480±51
Lung	(mg)	389±50	368±34	371±37	372±35
	(mg%)	924±96	915±62	884±70	850±55 ⁺⁺
Liver	(g)	1.47±0.20	1.41±0.13	1.53±0.17	1.51±0.13
	(g%)	3.49±0.19	3.51±0.20	3.64±0.20*	3.44±0.18
Kidneys	(mg)	447±54	427±41	457±59	476±94
	(mg%)	1,066±125	1,062±73	1,084±77	1,082±134
Spleen	(mg)	166±39	158±25	171±31	171±36
	(mg%)	390±62	393±49	406±54	387±60
Ovaries	(mg)	13±3	14±3	15±3	14±3
	(mg%)	32±7	34±7	35±6	31±7
Cecum+	(mg)	558±176	465±174	626±176	1,056±400 ⁺⁺
	(mg%)	1,311±335	1,140±373	1,479±354	2,397±866 ⁺⁺
Cecum-	(mg)	199±43	174±46	191±42	222±49
	(mg%)	473±88	430±99	452±78	507±104

Mean±S.D.

* p<0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

⁺⁺p<0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Cecum+ : Cecum with contents

Cecum- : Cecum without contents

300 mg/kg 投与群で肝臓の相対重量の増加が対照群と比べて統計学的に有意にみられたが、1,000 mg/kg 投与群では対照群との間に有意差は認められなかった。

各群の12週齢の器官重量をTable 9 および10に示した。

雄では100 mg/kg 以上の投与各群で精巣の絶対重量の減少、1,000 mg/kg 投与群で精巣の相対重量の減少が対照群と比べて統計学的に有意にみられた。なお、300 mg/kg 投与群で前立腺の絶対および相対重量の減少が対照群と比べて統計学的に有意にみられたが、1,000 mg/kg 投与群では対照群との間に有意差は認められなかった。

雌では300 mg/kg 以上の投与各群で盲腸(-)の相対重量の増加、1,000 mg/kg 投与群で盲腸(-)の絶対重量の増加が対照群と比べて統計学的に有意に認められた。なお、300 mg/kg 投与群でcarcassの相対重量の減少、肺の絶対重量の減少、胸腺の絶対および相対重量の

減少が対照群に比べて統計学的に有意にみられたが、1,000 mg/kg 投与群では対照群との間に有意差は認められなかった。

(3) 骨格検査

骨格検査の結果をTable 11に示した。

各群の出生4日後の骨格検査では、骨格奇形は各群で1例もみられなかった。骨格変異としては腰肋が100 mg/kg 投与群で1例(1.0%)に、環椎の化骨核分離が各群で19~38例(23.5~45.8%)に、軸椎の化骨核分離が0~6例(0~7.0%)にみられたが、いずれも発現率では対照群とCXM-AX投与各群の間に統計学的有意差は認められなかった。骨化程度に関しても、対照群とCXM-AX投与各群の間に統計学的有意差はみられなかった。

各群の出生21日後の骨格検査では、骨格奇形は各群で1例もみられなかった。骨格変異としては第13肋骨の短縮が300 mg/kg 投与群で1例(2.1%)、1,000 mg/kg

Table 9 Mean absolute and relative organ weights of 12 weeks old F1 (male)

Compound	Control	CXM-AX		
		100	300	1000
Dose (mg/kg)		100	300	1000
No. of animals (F1)	22	22	22	18
Final body weight (g)	393±35	388±29	386±29	396±34
Carcass (g)	298±25	294±22	292±21	300±27
(g%)	76±1	76±1	76±1	76±1
Heart (mg)	1,115±141	1,128±120	1,116±135	1,119±124
(mg%)	284±24	291±34	289±21	284±35
Lung (mg)	1,354±162	1,323±125	1,295±117	1,281±114
(mg%)	345±28	341±21	336±25	325±34
Liver (g)	13.9±1.8	13.6±1.9	13.8±1.9	14.3±1.5
(g%)	3.5±0.2	3.5±0.3	3.6±0.3	3.6±0.2
Kidneys (g)	2.39±0.22	2.39±0.26	2.35±0.24	2.35±0.22
(g%)	0.61±0.03	0.62±0.05	0.61±0.04	0.60±0.05
Spleen (mg)	805±131	766±95	760±104	786±104
(mg%)	205±24	197±21	197±19	199±27
Adrenals (mg)	54±10	52±10	52±7	52±10
(mg%)	14±3	14±3	13±1	13±2
Thymus (mg)	422±75	426±78	384±83	420±78
(mg%)	108±20	110±19	100±19	107±21
Testes (g)	3.44±0.28	3.26±0.19 ⁺	3.27±0.25 [*]	3.23±0.19 [*]
(g%)	0.88±0.07	0.84±0.06	0.85±0.06	0.82±0.07 [*]
Epididymides (mg)	982±94	949±95	953±83	949±67
(mg%)	250±18	245±24	247±18	241±25
Prostate (mg)	378±58	399±95	334±74 [*]	332±110
(mg%)	97±14	103±24	86±17 [*]	84±26
Brain (g)	1.99±0.10	1.95±0.12	1.99±0.08	1.92±0.15
(g%)	0.51±0.05	0.50±0.05	0.52±0.04	0.49±0.06
Cecum+ (g)	6.6±1.1	6.8±1.5	6.9±1.3	7.5±1.9
(g%)	1.7±0.2	1.8±0.4	1.8±0.3	1.9±0.4
Cecum- (g)	1.36±0.23	1.37±0.31	1.38±0.24	1.53±0.38
(g%)	0.35±0.05	0.35±0.07	0.36±0.05	0.39±0.08

Mean±S.D.

^{*} p<0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)⁺ p<0.05 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Cecum+ : Cecum with contents

Cecum- : Cecum without contents

投与群で2例(5.7%)にみられたのみで、発現率では対照群とCXM-AX投与各群の間に統計学的有意差は認められなかった。尾椎数に関しては、対照群とCXM-AX投与各群の間に統計学的有意差は認められなかった。

(4) 機能、行動、情動性および学習能力検査

Table 12 および 13 に示したように、機能、行動、情

動性および学習能力において対照群とCXM-AX投与各群との間に統計学的有意差は認められなかった。

(5) 生殖能力の検査

各群の生殖能力の検査の結果を Table 14 に示した。

交尾率、受胎率および出産率に関しては、対照群とCXM-AX投与各群との間に統計学的有意差はみられなかった。なお、交尾しなかった雌雄ならびに妊娠しな

Table 10 Mean absolute and relative organ weights of 12 weeks old F1 (female)

Compound	Control	CXM-AX		
		100	300	1000
Dose (mg/kg)				
No. of animals (F1)	22	22	22	18
Final body weight (g)	247±17	248±19	246±19	247±19
Carcass (g)	191±13	190±15	186±14	188±14
(g%)	77±2	77±2	76±2*	76±2
Heart (mg)	758±64	782±86	752±87	771±69
(mg%)	307±18	316±31	306±34	314±26
Lung (mg)	1,089±93	1,070±89	1,016±108*	1,032±85
(mg%)	440±28	433±34	415±55	420±38
Liver (g)	8.1±0.9	8.3±1.0	7.9±1.1	8.2±1.0
(g%)	3.3±0.3	3.3±0.2	3.2±0.3	3.3±0.3
Kidneys (g)	1.58±0.13	1.55±0.13	1.54±0.16	1.56±0.18
(g%)	0.64±0.05	0.63±0.05	0.63±0.07	0.63±0.05
Spleen (mg)	609±68	647±118	608±80	622±121
(mg%)	247±31	263±50	248±35	251±41
Adrenals (mg)	66±9	64±9	62±10	65±9
(mg%)	27±3	26±3	25±4	26±3
Thymus (mg)	380±68	379±57	337±72*	368±69
(mg%)	153±24	153±24	137±28*	150±28
Ovaries (mg)	81±13	77±11	77±13	82±14
(mg%)	33±5	31±5	31±6	33±7
Uterus (mg)	465±144	407±87	411±104	452±91
(mg%)	189±64	165±33	168±43	184±39
Brain (g)	1.82±0.12	1.84±0.11	1.83±0.09	1.85±0.06
(g%)	0.74±0.06	0.75±0.06	0.75±0.08	0.75±0.06
Cecum+ (g)	4.8±1.1	4.9±0.8	5.2±0.9	5.5±1.5
(g%)	1.9±0.4	2.0±0.4	2.1±0.3	2.2±0.5
Cecum- (g)	0.92±0.16	0.98±0.13	1.01±0.17	1.03±0.17*
(g%)	0.37±0.06	0.40±0.04	0.41±0.06*	0.42±0.06*

Mean±S.D.

* p<0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

Cecum+ : Cecum with contents

Cecum- : Cecum without contents

った雌の生殖器の肉眼および病理組織学的検査の結果では、全例に異常は観察されなかった。

(6) F2 胎仔の検査

Table 15 に示したように、平均黄体数、非着床率、平均着床数、胎仔の死亡率、平均生存胎仔数、胎仔の性比、生存胎仔の体長、尾長、体重および胎盤重量については、対照群と CXM-AX 投与各群との間に統計学的有意差はみられなかった。

胎盤癒着が 300 mg/kg および 1,000 mg/kg 両投与群でそれぞれ 2 例 (1.4~1.5%) にみられたが、対照群との間に統計学的有意差はみられなかった。

外形異常としては、臍帯ヘルニアが対照群で 1 例に認められたのみで、CXM-AX 投与各群では 1 例も異常はみられなかった。

(7) F2 出生仔の生存率および発育

各群の F2 出生仔の観察結果を Table 16~19 に示した。

1,000 mg/kg 投与群で平均着床数、出生 1 日後および 4 日後の平均生存仔数の減少が対照群に比べて統計学的に有意にみられた。平均妊娠期間、死亡率、性比、出生率、生存率および離乳率に関しては、対照群と CXM-AX 投与各群との間に統計学的有意差はみられなかった。

Table 11 Skeletal examinations of F1

Compound Dose (mg/kg)	Control	CXM-AX		
		100	300	1000
No. of litters (day 4)	21	21	20	18
No. of F1 examined	86	98	81	83
Malformations (%)	0	0	0	0
Variation				
Lumbar rib (%)	0	1.0	0	0
Splitting of ossification centers of the atlas	37.2	34.7	23.5	45.8
Splitting of ossification centers of the axis	7.0	2.0	0.0	0.0
Degree of ossification				
No. of caudal vertebrae ^{a)}	20.5±1.2 ^{a)}	20.1±1.5	20.9±1.3	20.4±1.8
Fore limb bones				
Distal phalanx	10.0±0.0 ^{a)}	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0
Middle phalanx	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0
Proximal phalanx	8.0±0.0	8.1±0.5	8.0±0.0	8.0±0.0
Metacarpal bone	8.0±0.1	8.1±0.5	8.2±0.5	8.2±0.5
Hind limb bones				
Distal phalanx	10.0±0.0 ^{a)}	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0
Middle phalanx	8.0±0.0	7.9±0.5	8.0±0.0	7.7±1.3
Proximal phalanx	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0
Metatarsal bone	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0	10.0±0.0
Talus (%)	100	99	98.8	100
Calcaneus (%)	100	100	100	97.6
No. of litters (day 21)	21	22	22	18
No. of F1 examined	44	43	47	35
Malformations (%)	0	0	0	0
Variation				
Shortness of the 13th rib (%)	0	0	2.1	5.7
Degree of ossification				
No. of caudal vertebrae	27.5±0.4 ^{a)}	27.3±0.5	27.5±0.5	27.6±0.5

^{a)} Mean±S.D.

外形異常としては、1,000 mg/kg 投与群で短尾が1例にみられたが、発現率は低く偶発例と考えられた。

一般状態の異常は、哺育期間を通じて各群で1例もみられなかった。

出生時から21日齢までの体重変動に関しては、雄では対照群とCXM-AX投与各群との間に統計学的有意差はみられなかった。雌では、100 mg/kg 投与群で出生14日後および出生21日後に対照群と比べて統計学的に有意な減少が認められたが、300 mg/kg 以上の投与各群では有意差は認められなかった。

生後分化状態では、対照群とCXM-AX投与各群との間に統計学的有意差はみられなかった。

21日齢の剖検において、全例に異常は認められなかった。

III. 考 察

Cephalosporin系抗生物質であるCXM-AXをラットの周産期および授乳期に経口投与し、母動物ならびに次世代に対する影響を検討した。

母動物に関しては、1,000 mg/kg 投与群で分娩3～4日後に3例が死亡した。これらの動物では、死亡する1

Table 12 Sense, behavior, open field and avoidance response tests of F1 (male)

Compound	Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)		100	300	1000
No. of litters	22	22	22	18
Sense test				
No. of F1 examined	89	89	89	70
Corneal reflex (%)	100	100	100	100
Pinna reflex (%)	100	100	100	100
Righting reflex (%)	100	100	100	100
Pain response (%)	100	100	100	100
No. of F1 examined	22	22	22	18
Light reflex (%)	100	100	100	100
Behavior test				
No. of F1 examined	22	22	22	18
Traction (%)	100	100	100	100
Rotating rod (%)	100	100	100	100
Sliding angle (°)	53.9 ± 2.8 ^{a)}	53.5 ± 2.8	53.8 ± 2.9	53.3 ± 3.4
Open field test				
No. of F1 examined	22	22	20	17
Ambulation	49.7 ± 24.2 ^{a)}	43.7 ± 25.1	46.1 ± 32.5	38.8 ± 22.4
Latency (sec.)	49.9 ± 35.2	48.4 ± 24.1	55.3 ± 34.5	56.6 ± 24.7
Defecation	0.5 ± 1.3	0.3 ± 0.9	0.6 ± 1.4	1.4 ± 2.0
Urination	0.2 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.4	0.2 ± 0.6
Rearing	6.2 ± 4.5	6.2 ± 4.7	5.3 ± 4.0	5.7 ± 4.3
Grooming	0.8 ± 1.1	0.3 ± 0.6	0.8 ± 1.3	0.6 ± 0.9
Avoidance response test (%)				
No. of F1 examined	22	22	22	18
Day 1	3.2 ± 5.4 ^{a)}	5.6 ± 9.9	4.2 ± 6.4	5.7 ± 11.9
2	33.2 ± 23.1	42.7 ± 33.7	36.5 ± 29.9	33.7 ± 27.7
3	61.1 ± 26.3	59.7 ± 32.6	51.2 ± 28.4	55.7 ± 30.7
4	68.5 ± 22.1	72.6 ± 24.5	68.8 ± 27.3	68.0 ± 24.9
5	72.4 ± 24.5	76.7 ± 25.6	75.6 ± 22.8	71.7 ± 24.6

^{a)} Mean ± S.D.

～3日前に鎮静、削瘦、立毛または肛門周辺の汚れがみられた。これらの動物では、いずれも胃に穿孔性潰瘍を含む多数の糜爛、潰瘍がみられ、その結果、肝・脾包膜炎および胃漿膜炎などの穿孔性腹膜炎を併発し、死亡したと考えられた。また、肝細胞の空胞化、肝中心帯壊死、白脾髄の萎縮、腎尿管上皮の空胞化、胸腺の退縮および副腎皮質束状帯細胞の腫脹、副腎皮質の壊死も認められた。なお、この穿孔性潰瘍等の胃の障害については、胃内の固形化物による物理的刺激によるものと思われ、同様の変化はCXM-AXのラットにおける亜急性毒性試験¹⁰⁾でも認められている。

一般状態の異常としては、軟便が1,000 mg/kg投与群の5例で分娩2～10日後にそれぞれ一過性にみられたが、これらは抗生物質に共通な腸内細菌叢の変化^{11,12)}

に起因するものと推察された。また、分娩7～13日後に削瘦がみられた1,000 mg/kg投与群の1例では、分娩21日後の剖検で胃に潰瘍の痕跡が認められた。

平均体重に関しては、分娩11日後から剖検時までCXM-AX投与各群で増加がみられた。摂餌量に関しては、CXM-AX投与各群で投与開始後に一過性の抑制がみられたが、出産後にはCXM-AX投与の影響は認められなかった。摂水量は分娩8～9日後にCXM-AX投与各群で増加が認められた。この摂水量の増加については軟便との関連がうかがわれた。分娩21日後の剖検で盲腸の重量増加がCXM-AX投与各群でみられたことから、分娩11日後から剖検時までの体重増加亢進の主たる原因は盲腸(+)重量の増加であると考えられた。これらの盲腸重量の増加は、前述の軟便と同様に抗生物質

Table 13 Sense, behavior, open field and avoidance response tests of F1 (female)

Compound	Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)		100	300	1000
No. of litters	22	22	22	18
Sense test				
No. of F1 examined	85	85	87	72
Corneal reflex (%)	100	100	100	100
Pinna reflex (%)	100	100	100	100
Righting reflex (%)	100	100	100	100
Pain response (%)	100	100	100	100
No. of F1 examined	22	22	22	18
Light reflex (%)	100	100	100	100
Behavior test				
No. of F1 examined	22	22	22	18
Traction (%)	100	100	100	100
Rotating rod (%)	100	100	100	100
Sliding angle (°)	53.6 ± 1.7 ^{a)}	53.7 ± 3.1	53.7 ± 2.8	54.0 ± 1.9
Open field test				
No. of F1 examined	20	21	21	18
Ambulation	50.2 ± 27.7 ^{a)}	58.8 ± 27.4	60.2 ± 25.8	56.9 ± 23.0
Latency (sec.)	52.3 ± 34.1	41.0 ± 27.6	40.2 ± 34.1	41.4 ± 21.6
Defecation	0.1 ± 0.4	0.5 ± 1.5	0.1 ± 0.5	0.3 ± 1.0
Urination	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.2
Rearing	6.0 ± 4.2	7.6 ± 4.5	6.9 ± 4.1	7.2 ± 5.3
Grooming	0.3 ± 0.7	0.7 ± 0.8	0.8 ± 1.3	0.6 ± 0.9
Avoidance response test (%)				
No. of F1 examined	22	22	22	18
Day 1	3.2 ± 4.7 ^{a)}	7.9 ± 12.5	4.5 ± 5.4	4.6 ± 10.0
2	35.9 ± 28.5	28.5 ± 29.9	31.4 ± 28.7	38.5 ± 35.0
3	58.2 ± 31.1	57.9 ± 30.2	59.5 ± 36.4	64.1 ± 36.9
4	72.4 ± 28.1	70.2 ± 26.7	70.5 ± 32.2	63.7 ± 36.4
5	76.7 ± 28.0	76.2 ± 27.2	78.8 ± 28.6	70.4 ± 34.6

^{a)} Mean ± S.D.

Table 14 Copulation and fertility indices of F1

Compound	Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)		100	300	1000
Copulation index				
Male	22/22	21/22	22/22	18/18
Fertility index				
Male	19/22	21/21	20/22	18/18
Copulation index				
Female	21/22	21/22	21/22	17/18
Fertility index				
Female	19/21	21/21	19/21	17/17
Delivery rate	7/7	7/7	8/8	6/6

Copulation index = No. of animals copulated / No. of animals paired

Fertility index = No. of pregnant animals / No. of animals copulated

Delivery rate = No. of females delivered alive F2 / No. of females used lactation

Table 15 Observations of F2 fetuses from F1 dams

Compound	Control	CXM-AX		
		Dose (mg/kg)	100	300
No. of dams (F1)	12	14	11	11
Mean no. of corpora lutea	14.8±1.9	14.2±2.2	14.1±1.8	14.4±2.7
Preimplantation loss (%)	12.9	8.5	9.0	10.1
Mean no. of implantations	12.9±3.1	13.0±2.8	12.8±2.0	12.9±3.7
Dead implantations (%)				
Resorptions	1.9	4.4	2.1	7.0
Placental remnants	1.9	0.0	0.0	1.4
Macerated fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Dead fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Total dead implantations	3.9	4.4	2.1	8.5
Mean no. of live fetuses	12.4±3.1	12.4±2.9	12.5±2.0	11.8±3.5
Sex ratio (Male/Female)	0.96	0.96	0.77	1.03
Mean body length (mm)				
Male	38.8±0.5	38.4±1.0	38.7±0.9	38.6±0.9
Female	38.3±0.5	37.8±1.0	37.8±1.0	37.9±0.8
Mean tail length (mm)				
Male	13.9±0.3	14.0±0.4	13.8±0.5	14.2±0.3
Female	13.9±0.4	13.8±0.4	13.7±0.4	13.8±0.4
Mean body weight (g)				
Male	3.67±0.15	3.66±0.24	3.67±0.22	3.79±0.19
Female	3.52±0.10	3.52±0.18	3.43±0.27	3.60±0.17
Mean placental weight (mg)				
Male	456±33	482±138	447±57	448±48
Female	445±55	457±99	430±45	443±51
Adhesion of placenta (%)	0	0	1.4	1.5
No. of fetuses with external malformations				
Omphalocele	1	0	0	0

投与による腸内細菌叢の変化^{11,12)}に起因するものと考えられた。腎臓の絶対重量の増加が 300 mg/kg 以上の投与群でみられたが、CXM-AX のラットにおける亜急性毒性試験¹⁰⁾では 1.0 g/kg の経口投与で腎臓に CXM-AX 投与の影響はみられていない。また、CXM-AX 投与各群で carcass、心臓、肺、肝臓、脾臓、卵巣および子宮の相対重量の減少がみられたが、CXM-AX 投与各群で最終体重に増加がみられたことから、各器官における相対重量の減少は体重増加に起因するものと考えられた。

分娩時の観察において、出産率および妊娠期間に差はなく、分娩時にも CXM-AX 投与の影響は観察されなかった。

1,000 mg/kg 投与群の出産後に死亡した 3 母動物の F1 の死亡原因は、母動物の著しい一般状態の悪化に伴

う哺育不良による衰弱死と考えられた。死亡母動物を除いた平均着床数、平均出生仔数、死亡率、性比、出生率、生存率および離乳率に CXM-AX 投与の影響は認められなかった。なお、死亡母動物を含めても、出産率、妊娠期間、平均着床数、平均出生仔数、性比、出生率、離乳率に CXM-AX 投与の影響は認められなかった。

F1 の生後分化状態および外形にも CXM-AX の影響はみられなかった。

F1 の体重に関しては、1,000 mg/kg 投与群の雄で出生 4 日後および出生 7 日後に抑制がみられたが、その後の体重には CXM-AX 投与の影響はみられなかった。なお、100 mg/kg および 300 mg/kg 両投与群では雄で出生 28 日後まで、雌で出生 35 日後まで体重の抑制が散発的にみられたが、いずれも軽度な差であること、一過性の変化であること、ならびに必ずしも投与量に依存

Table 16 Observations of F2

Compound	Control	CXM-AX		
		100	300	1000
Dose (mg/kg)				
No. of litters (F1)	7	7	8	6
Mean no. of implantations	14.6±1.4	14.0±2.1	14.1±1.4	12.8±0.8*
Mean length of gestation period (day)	21.6±0.5	21.7±0.5	21.6±0.5	21.8±0.4
Mean no. of alive F2				
Postpartum day 0	13.7±1.0	12.9±2.4	13.5±1.1	12.5±1.0
1	13.7±1.0	12.6±2.5	13.4±1.1	12.2±1.3*
4	13.7±1.0	12.6±2.5	13.3±1.3	12.2±1.3*
After selection				
21	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0
21	7.9±0.4	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0
Dead F2 (%)				
At birth	0	1.0	0	0
Postpartum day 1	0	2.2	0.9	2.7
2-4	0	0	0.9	0
5-21	1.8	0	0	0
Sex ratio of newborns (Male/Female)	0.78	0.91	1.25	0.88
Live birth index ^{a)}	94.1	91.8	95.6	97.4
Viability index ^{b)}	100.0	97.8	98.1	97.3
Weanling index ^{c)}	98.2	100.0	100.0	100.0
No. of F2 with external malformations	0	0	0	1
Brachyury	0	0	0	1
Visceral examinations				
No. of F2 examined	55	56	64	48
No. of abnormalities	0	0	0	0

* p<0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

^{a)} Live birth index (%)=(No. of alive F2 at day 0/No. of implantations)×100

^{b)} Viability index (%)=(No. of alive F2 at day 4/No. of alive F2 at day 0)×100

^{c)} Weanling index (%)=(No. of alive F2 at day 21/No. of alive F2 at day 4 after selection)×100

した変化でないことから、CXM-AX 投与の影響ではないと判断した。

F1 の内部器官検査で胸腺、腎臓、子宮、肝臓、脾臓、副腎に異常所見が散見されたが、いずれも少数例で CXM-AX 投与の影響とは考えられなかった。

出生 21 日後の剖検において、雄は 300 mg/kg 以上の投与各群で、雌は 1,000 mg/kg 投与群で盲腸の重量増加が認められた。抗生物質投与によって腸内細菌叢の変化が起こり盲腸が拡張する^{11,12)}ことから、CXM は主に乳汁を介して F1 の腸内細菌に作用し、盲腸拡張を引き起こす可能性が示唆された。また、12 週齢の剖検においても雌のみに 300 mg/kg 以上の投与各群で盲腸(一)重量の軽度な増加がみられた。その他、出生 21 日後の剖検で 300 mg/kg 以上の投与各群で carcass および肺の相対重量の減少がみられたが、いずれも絶対重量に変化はなく、CXM-AX 投与の影響とは考えられなかつ

た。また、12 週齢の剖検では CXM-AX 投与各群で精巣重量の減少がみられたが、F1 の生殖能力の検査においては CXM-AX の影響は認められなかった。また、この精巣重量の差は軽度であり、当所の background data(精巣絶対重量: 2.93~3.46 g, 精巣相対重量: 0.82~0.88 g %) と比べて差がなかったことから、CXM-AX の影響とは考えられなかった。

出生 4 日後の骨格検査においては、腰肋が 100 mg/kg 投与群で、出生 21 日後の骨格検査で第 13 肋骨の短縮が 300 mg/kg 以上の投与各群で観察されたが、いずれも少数例で偶発例と推察された。

F1 の機能、行動、情動性、学習能力および生殖能力の検査において、CXM-AX 投与の影響はみられなかった。

F2 胎仔の観察では CXM-AX 投与の影響はみられなかった。F2 出生仔の観察において、着床数および生仔

Table 17 Postnatal developments of F2

Compound		Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)			100	300	1000
No. of litters (F1)		7	7	8	6
Separations of auricle (%)	Day 2	1.0	2.3	8.5	6.8
	3	78.1	68.2	66.0	84.9
	4	99.0	100	97.2	100
	5	100	100	100	100
Appearance of abdominal hair (%)	Day 9	0	0	0	0
	10	12.5	0	28.1	0
	11	57.1	58.9	53.1	89.6
	12	100	100	100	100
Odontiasis (%)	Day 10	0	0	0	0
	11	10.7	21.4	14.1	25.0
	12	52.7	50.0	59.4	68.8
	13	78.2	75.0	84.4	89.6
	14	94.5	100	100	100
	15	100	100	100	100
Eyelids opening (%)	Day 15	21.8	7.1	3.1	35.4
	16	47.3	55.4	53.1	89.6
	17	94.5	96.4	82.8	100
	18	100	100	100	100

Table 18 Mean body weight changes of F2 (male)

Compound		Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)			100	300	1000
No. of litters (F1)		7	7	8	6
	Day 0	5.7±0.4	5.8±0.5	5.7±0.4	5.9±0.3
	4	8.4±1.1	8.6±0.8	8.7±0.6	9.2±0.9
	7	13.6±1.5	13.8±0.7	13.9±1.0	14.6±1.3
	14	27.4±2.1	27.4±1.4	28.8±1.8	29.0±1.7
	21	43.0±2.3	42.0±2.8	44.2±3.8	45.1±3.1

Mean±S.D. (g)

Table 19 Mean body weight changes of F2 (female)

Compound		Control	CXM-AX		
Dose (mg/kg)			100	300	1000
No. of litters (F1)		7	7	8	6
	Day 0	5.4±0.3	5.5±0.6	5.4±0.5	5.6±0.3
	4	8.1±0.8	8.0±0.8	8.3±0.5	8.7±0.9
	7	13.0±1.0	12.8±0.8	13.6±0.8	13.9±1.5
	14	26.9±1.1	25.5±1.2*	28.3±1.8	28.0±2.3
	21	41.9±1.8	39.3±2.2*	43.5±3.2	43.2±3.2

Mean±S.D. (g)

* p<0.05 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

仔数の減少が 1,000 mg/kg 投与群でみられたが、出生率、生存率に差がなく F2 胎仔の観察でも異常がみられないことから、CXM-AX 投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果から、本実験条件下における CXM-AX の無影響量は母動物に対しては 100 mg/kg 付近にあり、母動物の生殖に対しては 300 mg/kg、次世代の発育に対しては 100 mg/kg であると結論した。また、CXM-AX は他の Cephalosporin 系抗生物質^{13~17)}と同様に F1 および F2 に著しい影響を与えないと判断された。

(試験実施期間; 1983 年 9 月~1984 年 3 月)

文 献

- 1) 古橋忠和, 須田 宏, 村瀬えるみ, 仲吉 洋: Cefuroxime axetil (CXM-AX) の生殖試験 (I) ラットにおける胎仔の器官形成期投与試験。Chemotherapy 34 (S-5): 210~234, 1986
- 2) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain Technol. 1: 123~124, 1926
- 3) 真島英信編: 生理学, VII, 中枢神経系, 150, 文光堂, 1956
- 4) 白須泰彦, 吐山豊秋編: 毒性試験ハンドブック, 344, (株) フジ・テクノシステム, 1980
- 5) 高木敬次郎, 小沢 充編: 薬物学実験, I, 中枢神経系の薬理, 49~76, 南山堂, 1960
- 6) 浅見幸男, 犬飼利也, 大塚 勝, 本間健次, 柳 義和, 北川純男: 新規 Benzodiazepine 系化合物 Nimetazepam (S-1530) の中枢作用。応用薬理 7: 705~722, 1973
- 7) HALL, C. S.: Emotional behavior in the rat. J. Comp. Physiol. 18: 385~403, 1975
- 8) 野村 章, 古橋忠和, 小室恵美子, 上原正己, 三好幸二, 仲吉 洋: Netilmicin の催奇形性ならびに生殖におよぼす影響に関する研究 (1) ラット器官形成期筋肉内投与試験。Jap. J. Antibiotics 35: 614~629, 1982
- 9) ウィルコクソン, ウィルコックス, 佐久間昭訳: 簡易統計手法, 日本レダリー (東京), 1969
- 10) 竹内雅也, 木口雅夫, 橋本由佳里, 岡崎修三, 新保幸太郎, 田辺恒義: Cefuroxime axetil (CXM-AX) のラットにおける経口投与と亜急性毒性試験。Chemotherapy 投稿中
- 11) 今井章治: マウスの盲腸内細菌叢と盲腸内容の揮発性脂肪酸組成におよぼす各種抗生物質投与の影響。Chemotherapy 26: 345~350, 1978
- 12) 村上 宏: ペニシリン投与ラットの盲腸拡張機構。無菌生物 2: 62, 1972
- 13) 小林文彦, 伊藤道雄: Cefamandole のラット周産期および授乳期投与試験。Chemotherapy 27 (S-5): 682~700, 1979
- 14) 大高忠彦, 川崎 一, 古橋忠和, 須藤鎮世, 野村 章, 清水康資, 仲澤政雄: Cefuroxime のラット生殖に及ぼす影響に関する研究。Chemotherapy 27 (S-6): 245~272, 1979
- 15) 野村 章, 古橋忠和, 池谷恵理, 沢木あけみ, 仲吉 洋: Cefaclor の催奇形性および生殖におよぼす影響 (第 2 報) ラットにおける妊娠前・妊娠初期ならびに周産期, 授乳期経口投与による検討。Chemotherapy 27 (S-7): 865~880, 1979
- 16) 中田弘子, 中村昌三, 稲場淳子, 小前憲久, 高井明: Cefoperazone (T-1551) の毒性試験 (第 5 報)。Chemotherapy 28 (S-6): 268~291, 1980
- 17) 古橋忠和, 加藤育雄, 野村 章, 仲吉 洋: Cef-tazidime の安全性に関する研究 (K)。Chemotherapy 31 (S-3): 968~986, 1983

REPRODUCTION STUDY ON CEFUROXIME
AXETIL (CXM-AX) (III)

—PERINATAL AND POSTNATAL STUDY IN RATS—

TADAKAZU FURUHASHI, KAZUO USHIDA, TAMAE TAKIGUCHI and HIROSHI NAKAYOSHI
NRI Life Science

Perinatal and postnatal study on cefuroxime axetil (CXM-AX, SN407), a newly developed cephalosporin antibiotic, was carried out in Sprague-Dawley rats. CXM-AX was administered orally to female rats from day 17 of gestation through to day 20 after delivery at the daily doses of 100, 300 and 1,000 mg/kg.

3 dams in 1,000 mg/kg dose group died of complication of perforative peritonitis on day 3 or 4 after delivery.

Transient soft feces were noted in 5 dams from day 2 to day 10 after delivery (1,000 mg/kg). Increase in body weight was observed from day 11 after delivery in every dose group. Transient decrease in food consumption at the early stage of administration and increase in water consumption from day 8 to day 9 after delivery were observed in every dose group. In necropsy performed on day 21 after delivery, increase in weight of the cecum was found in every dose group.

Observations of pups revealed no effect on live birth, viability and weanling indices. Suppression of body weight gain of pups was found on day 4, and day 7 after birth (1,000 mg/kg). Increase in weight of cecum was observed in males (300 mg/kg or more) and in females (1,000 mg/kg) in necropsy on day 21 after birth. Increase in weight of cecum was observed in females (300 mg/kg or more) at 12 weeks of age.

No influences of CXM-AX were observed in postnatal developments, external forms, visceral organs, skeleton, sense, behavior, open field and avoidance response tests or reproductive performance.

Thus, in the present study, the maximum no-effect dose level of CXM-AX in dams was estimated to be about 100 mg/kg, and that on the reproduction of dams to be 300 mg/kg and that on next generations to be 100 mg/kg.