

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の生殖に及ぼす影響

(1) 6315-S のラット妊娠前および妊娠初期投与試験

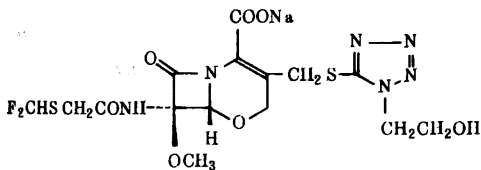
小林文彦・村中理一

塩野義製薬株式会社研究所

6315-S (Flomoxef) の妊娠前および妊娠初期投与試験を Sprague-Dawley 系ラットを用いて検討し、Cefazolin (CEZ) の作用と比較した。6315-S は 400, 800 および 1,600 mg/kg/日、CEZ は 800 mg/kg/日 を投与量とし、いずれも静脈内に投与した。6315-S 1,600 mg/kg または CEZ を長期投与した雄ラットでは、体重増加がやや抑制されたが、雌ラットでは対照群を上回る体重増加がみられた。これら各投与群の摂餌量は、投与初期に一時的減少を示したのみで、以後は増加傾向を示した。雌ラットの性周期に 6315-S、CEZ 投与の影響はみられず、交配、妊娠成立などへの影響も全くみられなかった。6315-S、CEZ 投与全群で胎盤重量の軽度減少がみられたが、胎仔の生存性や発育は正常で、投与検体に起因すると考えられる胎仔の外形、内臓、骨格異常も全くみられなかった。6315-S または CEZ 投与全群の雌雄ラットで、盲腸の著明な肥大が認められた。しかし、その他の臓器の重量変化は、いずれも軽度であった。以上の成績から、雄ラットで軽度の体重増加抑制がみられたものの、雌雄ラット生殖能に対して 6315-S は 1,600 mg/kg/日投与でも何ら影響しないと考えられた。

6315-S (Flomoxef : FMOX) は塩野義製薬研究所で合成された新しい oxacephem 系抗生物質で、好気性および嫌気性のグラム陽性菌、グラム陰性菌に対して広範囲な抗菌スペクトラムを有し、特に耐性菌を含むブドウ球菌に対して従来の β -lactam 剤にはみられない優れた抗菌力を有することが知られている (Fig. 1)。

Fig.1 Chemical structure of 6315-S



今回、本化合物の生殖試験の一環として、ラットを用いた妊娠前および妊娠初期投与試験を行なったので、その成績を報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用動物および飼育条件

実験には Sprague-Dawley 系ラット (Jcl : SD, 日本クレア) を使用した。雄ラットは生後 5 週齢 (体重 120~140 g)、雌ラットは生後 7 週齢 (体重 150~170 g) でそれぞれ入手し、1 週間の予備飼育の後実験に用いた。これらラットは実験期間中、室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度

$55 \pm 10\%$ 、12 時間照明 (8 時~20 時点燈、照度 300 lux)、室内換気 15 回/時に調整されたバリエーシステム空調室で飼育した。動物は全てクリーンケージ (日本クレア製 262W \times 425D \times 150 Hmm) に同居交配期間を除いて 1 匹ずつ収容し、固型飼料 (日本クレア製 CA-1 を 121°C 、7 分間オートクレーブ滅菌処理したもの)、および飲水 (豊中市上水道を 30, 3μ のフィルターろ過後、東芝製流水殺菌燈を照射したもの) は全実験期間中、自由摂取させた。

2. 検体および投与量

6315-S (Lot No. 3601, 3801) および対照薬として Cefazolin sodium (市販品、以下 CEZ) を用いた。両検体とも用時秤量後、0.9% 局方生理食塩液 (大塚製薬, Lot No. 3C870) に溶解させ、0.25 g (力価)/ml の濃度に調製し、投与溶液とした。

投与量は 6315-S のラット 1 ヶ月および 3 ヶ月急性毒性試験¹⁾の成績を参考にして決定した。すなわち、前者ではその最高投与量の 3,000 mg/kg/日 で軟便、腹部膨満、一部で流涎などが発現し、投与直後に一過性の抑制症状、呼吸不整、虚脱状態などがみられたが死亡例は発現しなかった。また、後者の試験では 1,600 mg/kg/日の最高投与量で上記と同様の症状のほかにも雄ラットで軽度の体重増加抑制がみられている。本試験の雄ラットへの投与は、後者の試験とはほぼ同期間であること、

3ヶ月投与の亜急性毒性試験で体重増加抑制がみられたことなどから、6315-Sは1,600 mg/kg/日を最高投与量とし、以下、公比1/2で減じた800 mg/kg/日および400 mg/kg/日の3用量を、また対照薬のCEZについては、連続投与に耐容すると考えられる800 mg/kg/日投与群を、それぞれ設定した。対照群としては、媒体として用いた0.9%局方生理食塩液投与群を設けた。

3. 検体投与期間および投与方法

雄ラットには7週齢より雌ラットとの同居開始までの9週間、さらに同居期間中も投与を続け、最終的に18週齢の解剖前日まで、1日1回、81日間連続投与した。雌ラットには11週齢より雄ラットとの同居開始までの16日間、同居期間中、さらに交尾成立ラットでは妊娠第7日まで、1日1回、連続投与した。6315-Sの予定臨床投与経路は静脈内注射であることから、本試験での投与はラットを1匹ずつ保定器に入れ、無麻酔下で尾静脈内に行なった。6315-SおよびCEZは、いずれも0.25 g (力価)/mlの単一濃度溶液のため、6315-Sの最高投与量である1,600 mg/kg投与群では本溶液を6.4 ml/kg、さらに低用量投与群およびCEZ投与群は投与液量を比例的に減じて投与した。また対照群には0.9%局方生理食塩液のみ、6315-S 1,600 mg/kg投与群と同一容量を投与した。投与容量は雄ラットおよび交配前の雌ラットでは週1回測定の体重値を基準に、交尾成立雌ラットでは妊娠第0日の体重値を基準に算出し、各期間内は同一容量を投与した。なお、投与時の注入速度は、いずれも1 ml/minとした。

4. 実験方法および観察項目

1) 雌雄ラットの観察

5週齢で入手した雄ラットは、予備飼育を含めて2週間飼育環境に馴化させ、この間、順調な発育を示したものを各群に28匹ずつランダム配分した。雌ラットは7週齢で入手後、4週間飼育環境に馴化させるとともに腔垢検査を行ない、正常性周期を示すもののみを雄ラット同様、1群28匹ずつランダムに配分した。

雌雄ラットの一般状態は試験期間中毎日観察し、体重と摂餌量を毎週1回、定期的に測定した。また、雌ラットの腔垢検査は検体投与開始後も継続し、雄ラットとの同居により交尾が成立するまで行なった。

検体投与を継続しつつ、雄ラットが16週齢、雌ラットが13週齢に達した時点で、同一投与量群の雌雄ラットをランダムに組み合わせ、雄1匹、雌1匹を同一ケージに収容して同居させた。同居期間中は毎朝雌ラットの腔垢検査を行ない、腔内に精子あるいは腔栓が認められた場合を交尾成立とし、この日を妊娠第0日とした。雌雄

ラットの同居は同一投与量群のみ行ない、同居期間は最高2週間とした。この間に交尾しなかった雌ラットは屠殺、剖検した。

交尾成立雌ラットは、妊娠第0日より3日ごとに体重測定を行なうとともに妊娠経過を観察し、摂餌量を妊娠第0, 6, 12, 18および21日の各日に測定した。妊娠ラットは妊娠第21日で、また雄ラットは交配試験が終了した18週齢で全て屠殺、剖検した。剖検に先立ち、無麻酔下で尾先端切断により血液検査用の採血を行ない、つづいてエーテル麻酔下で開腹し、ヘパリン添加注射筒を用いて腹部下大静脈より生化学検査用に採血した。ラットはその後放血屠殺し、主要臓器の肉眼的観察を行なったのちに、脳、心臓、肺、腎臓、肝臓、脾臓、胸腺、副腎、甲状腺、脳下垂体、盲腸(内容物含む)、精巣、精のう、腹部前立腺、卵巣の各重量を測定、これら臓器を10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定、保存した。

2) 胎仔観察

妊娠第21日の母ラット剖検時に卵巣黄体数を数え、子宮内胎仔につき生存、死亡、浸軟、吸収を調べた。生存胎仔については、さらに体重、胎盤重量を測定したのち性別、外形異常の有無を調べた。外形観察を終えた生存胎仔は1腹の約半数を内臓除去・剥皮後、70%アルコール溶液で固定、常法によりアリザリンレッドS染色で骨格透明標本作製、骨格系の異常や骨化状態を実体顕微鏡下で観察した。残り半数の胎仔はプアン液で固定後、粗大切片を作製し、実体顕微鏡下で内臓観察を行なった。

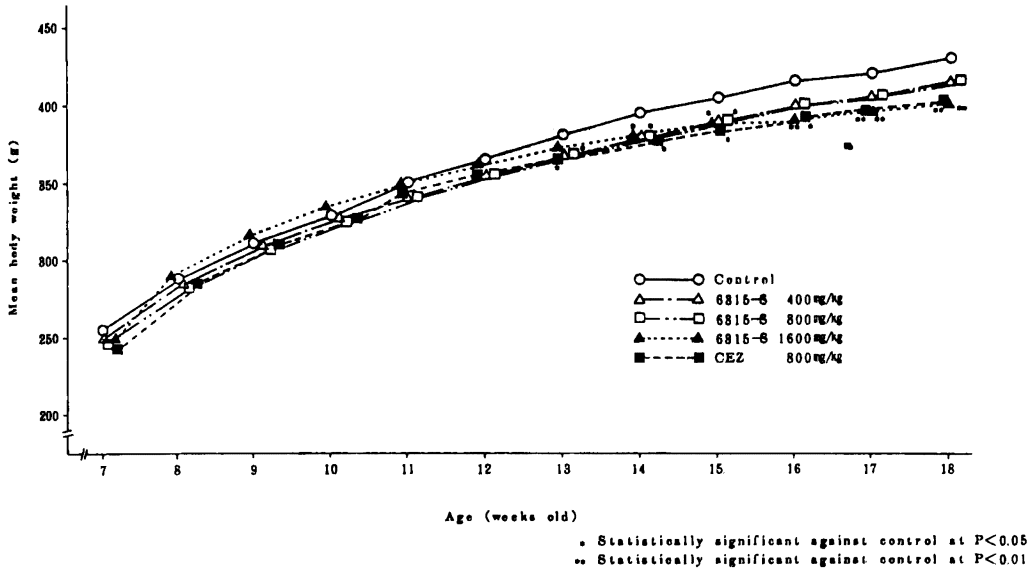
5. 血液検査および血液生化学検査

血液検査はコールターカウンター・モデルSを用いて白血球数、赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球恒数(MCV, MCH, MCHC)を測定した。血液生化学検査は室温下で3,000 rpm, 15分間遠沈で分離した血漿について、GOT(UV法)、GPT(UV法)、LDH(UV法)、ALP(BESSEY-LOWRY法)、glucose(glucose-oxidase法)、Urea-N(diacetyl-monoxime法)、total bilirubin(JENDRASSIK-GROF法)、total protein(biuret法)、total cholesterol(LIEBERMAN-BURCHARD法)、albumin(BCG法)、creatinine(FOLIN-WU法)およびchloride(mercuric thiocyanate法)の12項目をテクニコンオートアナライザーSMA PLUS MICROシステムで測定した。

6. 組織学的検索

同居交配で不妊、もしくは剖検所見で変化がみられた雌雄ラットの性腺系について、常法に従いパラフィン切

Fig. 2 Body weight changes of male rats given intravenously with 6315-S or CEZ



片を作製, hematoxylin-eosin (HE) または azan 染色を施して光学顕微鏡下で病理組織学的観察を行なった。

7. 統計処理

連続量に関する検定は t -検定により, また非連続量(率)に関する検定は χ^2 -検定で行ない, いずれも対照値に対し危険率 5% および 1% で検定した。

II. 実験結果

1. 検体投与中の一般症状および途中死亡

6315-S および CEZ 投与全群の雌雄ラットで, 初回投与の翌日より軟便もしくは下痢がみられた。また投与開始数日後より腹部膨満が雄ラットの全群と 6315-S 1,600 mg/kg 投与雌ラットで発現した。さらに 6315-S 800 および 1,600 mg/kg 投与雌雄ラットの一部では, 投与中や投与後に一過性の流涎がみられた。しかし, CEZ 投与雌ラットでは腹部膨満, 流涎は明らかでなかった。検体投与後の症状変化としては, 投与数分後より腹臥位を呈するなど, 自発運動の軽度低下が 6315-S の 800 mg/kg 以上の投与雄ラットおよび 1,600 mg/kg 投与雌ラットでみられたが, 投与 20~30 分後には回復した。雄ラットでは, これら症状のうち軟便, 腹部膨満さらに流涎は投与後期で軽減または消失したが, 自発運動の低下は検体投与終了時まで継続して認められた。しかし, その頻度や程度は経日的に増加しなかった。

投与期間中の死亡は, 雄ラットでは CEZ 投与群での

み発生し, 28 例中 6 例が投与途中で死亡した。雌ラットでは 6315-S 1,600 mg/kg 投与群で 28 例中 1 例, CEZ 投与群で 28 例中 3 例がそれぞれ死亡した。これらのうち, 6315-S 1,600 mg/kg 投与群の雌ラット 1 例および CEZ 投与群の雌ラット 1 例の死亡は, 検体投与時の保定ミスに起因するもので, 投与検体が関連したと考えられる途中死亡は, 雌雄ラットとも CEZ 投与群でのみ発生した。これら CEZ 投与群の死亡ラットは, いずれも投与後 15 分以内に泣鳴を伴った発作性の跳躍, 強直性痙攣, 間代性痙攣, 呼吸困難などの重篤な症状を惹起し, 投与後 60 分以内に死亡したものであった。

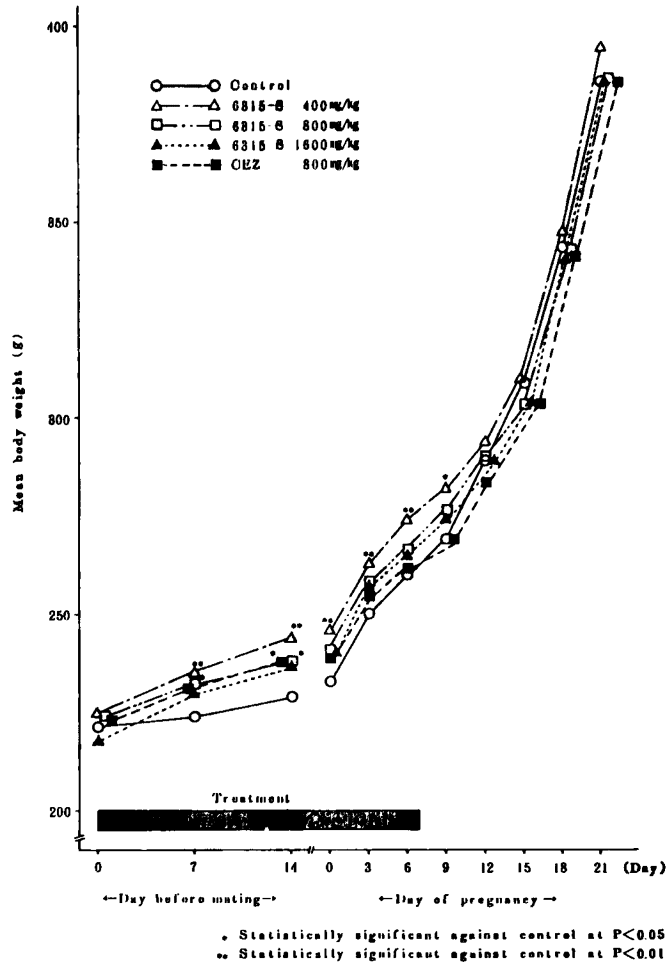
なお, 本実験の雄ラットでは, 検体を長期間尾静脈内に投与したことから, 尾が著しく損傷し実験途中で投与を中断せざるを得なかったラットが 6315-S 1,600 mg/kg 投与群で 1 例出現した。

2. 雌雄ラットの体重変化

7 週齢より 18 週齢までの検体投与全期間の雄ラット体重変化を Fig. 2 に, また 11 週齢より 13 週齢までの交配前投与期間中の雌ラット体重変化を Fig. 3 に, それぞれ示した。

雄ラットでは 6315-S 1,600 mg/kg および CEZ 投与群で, それぞれ 14, 13 週齢より体重増加が抑制され, 雌ラットとの同居時や投与終了時には, いずれも対照群に比し有意の低体重を示した。6315-S 800 mg/kg 投与群でも, 13 週齢から 3 週間にわたり一時的な低体重がみられ, その傾向は投与終了時まで持続した。これに

Fig. 3 Body weight changes of female rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating and in early pregnancy



対し、交配前投与雌ラットの体重変化は6315-S、CEZいずれの投与群も対照群に比し有意の増加またはその傾向を示し、投与2週間後の体重増加量も対照群に比し有意であった。

3. 雌雄ラットの摂餌量変化

雌ラットとの同居開始前である8週齢より16週齢までの雄ラット摂餌量をFig. 4に、11週齢より2週間の雌ラット摂餌量をFig. 5に、それぞれ示した。

6315-SまたはCEZ投与雄ラットでは、いずれも投与初期1週間の平均摂餌量が対照群に比し減少したが、9週齢以降は逆に有意の増加またはその傾向を持続した。雌ラットの摂餌量変化も雄ラットと同様の傾向がみられ、検体投与初期1週間の平均摂餌量が6315-Sま

たはCEZ投与全群で有意に減少したものの、翌週には対照群の摂餌量と差がなく、むしろ増加傾向を示した。

4. 雌ラットの性周期に対する影響

6315-SまたはCEZの投与開始前3週間、投与期間中、さらに交尾成立までの雌ラット性周期は、対照群を含む各投与群の少数例で偽妊娠様の連続diestrus像がみられたものの、大部分のラットは4~5日型の正常性周期を繰り返した。これら一部ラットでみられた連続diestrus像の出現は、腔垢採取時の機械的刺激により、偽妊娠に移行したための一時的な性周期停止と考えられた。

5. 雌雄ラットの家居交配成績

雌雄ラットに6315-SまたはCEZを投与しつつ、同一投与量群内で同居交配を試みた。その交配率および妊

Fig. 4 Food consumptions of male rats given intravenously with 6315-S or CEZ

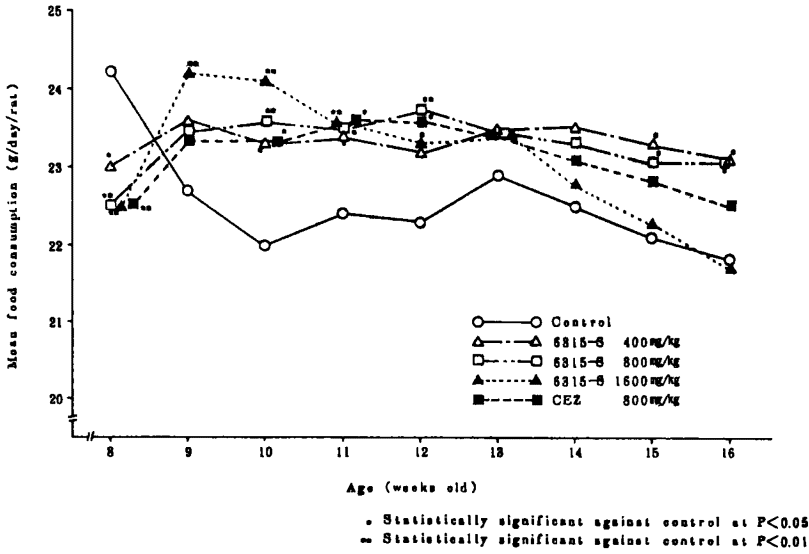


Fig. 5 Food consumptions of female rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating in early pregnancy

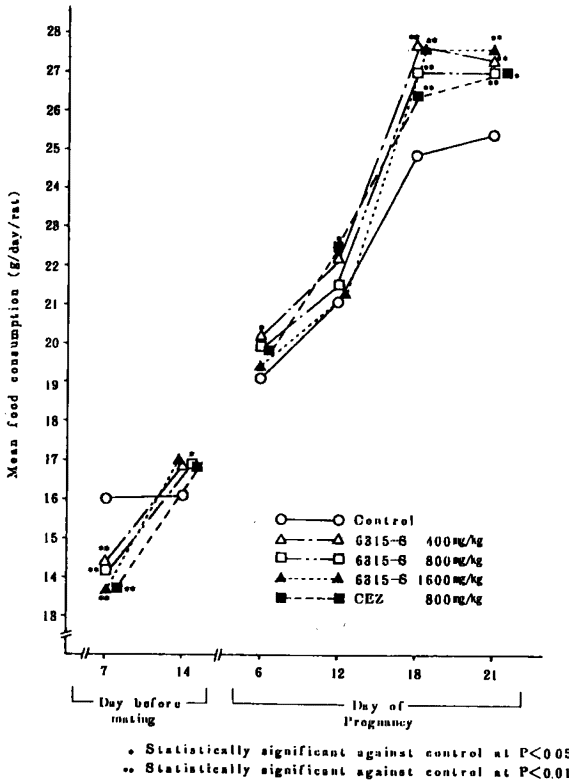


Table 1 Mating and fertility data of rats given intravenously with 6315-S or CEZ

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6315-S			CEZ
		400	800	1600	800
No of males	28	28	28	28	21
No of females	28	28	28	28	21
Mating index (%)					
Male	100 (28/28)	100 (28/28)	100 (28/28)	100 (28/28)	100 (21/21)
Female	100 (28/28)	100 (28/28)	100 (28/28)	100 (28/28)	100 (21/21)
Fertility index (%)	96 (27/28)	96 (27/28)	93 (26/28)	96 (26/27)	95 (20/21)
Pregnancy index (%)	96 (27/28)	96 (27/28)	93 (26/28)	96 (26/27) ^{a)}	95 (20/21)

Mating index = (No of rats copulated / No of males or females) × 100

Fertility index = (No of males impregnate / No of males mated) × 100

Pregnancy index = (No of pregnancies / No of females mated) × 100

a) Autopsy data of one rat were not obtained because of early delivery in the morning of Day 21 of pregnancy before autopsy.

娠率の成績を Table 1 に示した。

交尾は対照群を含めた両薬物各投与群の全例で認められた。また交尾雌ラットの妊娠率も 93% 以上の高値を示し、これら投与群と対照群 (96%) との間に全く差がなかった。交尾が確認されたにもかかわらず、妊娠しなかった雌ラットは対照群、6315-S の 400, 1,600 mg/kg 投与群および CEZ 投与群で各 1 例、6315-S 800 mg/kg 投与群で 2 例出現した。なお、6315-S 1,600 mg/kg 投与雌ラットの 1 例が妊娠第 3 日の検体投与中に死亡したため、この例は妊娠率の計算から除外した。また CEZ 投与群では、交配前投与の途中で雌雄ラットが死亡したため、同居の際に組み合わせもれが雄ラットで 1 例、雌ラットで 4 例発生した。したがって、CEZ 投与群の同居交配に用いた雌雄ラット数は、それぞれ 21 例となった。

6. 妊娠ラットの体重および摂餌量変化

妊娠期間中の雌ラット体重変化を Fig. 3 に、また摂餌量変化を Fig. 5 に、それぞれ示した。

妊娠ラット体重は、6315-S 400 mg/kg 投与群で妊娠初期から中期にかけて対照群を上回る増加がみられ、妊娠後期に至ってもその傾向を持続した。また 6315-S の 800, 1,600 mg/kg 投与群および CEZ 投与群の体重変化も妊娠全期間を通じて対照群と差がなく、極めて順調な体重増加を示した。一方、これら妊娠ラットの妊娠初期から中期にかけての摂餌量は 6315-S, CEZ 投与全群で対照群との間に差がみられず、妊娠後期においては

対照群を上回る有意の摂餌量増加が認められた。

7. 妊娠成績および胎仔所見

雌ラットを妊娠第 21 日で屠殺、剖検し、卵巣黄体数、妊卵着床数、胎仔生存性などを調べ、さらに生存胎仔について諸観察を行なった。これらの成績を Table 2 にまとめた。

母ラットの卵巣黄体数および妊卵着床数に 6315-S, CEZ 投与の影響は認められず、妊卵着床率は対照群を上回る高値を示した。さらに、これら各投与群の胎仔生存率も対照群以上の値を示し、胎仔生存性にも 6315-S, CEZ 投与の影響は全くみられなかった。生存胎仔の体重は、6315-S 1,600 mg/kg 投与群の雌雄で対照群に比し有意の低体重を示したが、6315-S 400 および 800 mg/kg 投与群では差がなかった。これに対し、CEZ 投与群の胎仔体重は、雌雄いずれも対照群より高値を示した。一方、胎盤重量は両薬物の投与全群で対照群に比し有意の減少またはその傾向がみられ、その程度は CEZ 投与群で最も強かった。生存胎仔の外観観察では対照群で臍帯ヘルニア (Photo. 1) が 1 例、6315-S 1,600 mg/kg 投与群で無尾、鎖肛の合併異常 (Photo. 2) が 1 例みられたのみであった。

なお、6315-S 1,600 mg/kg 投与群の 1 例が妊娠第 21 日の剖検前に分娩したため、このラットに関しては、胎仔所見を含めた以後の実験成績を全て除外した。

8. 胎仔骨格系および内臓器系の観察所見

1) 骨格系の観察所見

Table 2 Fetal development of pregnant rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating and in early pregnancy

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6315-S			CEZ
		400	800	1600	800
No of pregnant rats	27	27	26	25	20
No of corpora lutea	15.8±0.6 ^{a)}	15.0±0.4	14.8±0.4	15.8±0.5	14.5±0.4
No of implants	18.7±0.8	14.4±0.4	18.9±0.4	14.0±0.8	18.4±0.4
Implantation ratio (%)	90	96**	94*	91	92
No of alive fetuses	384(12.4) ^{b)}	365(18.5)	343(18.2)	329(18.2)	258(12.7)
Male:Female ratio	171:168	188:182	171:172	169:160	188:120
No of resorbed fetuses	34	22	19	21	14
No of macerated fetuses	1	0	0	0	0
No of dead fetuses	0	1	0	0	0
Fetal viability (%)	91	94	95*	94	95
No of external anomaly	1 ^{c)}	0	0	1 ^{d)}	0
Fetal body weight (g)					
Male	5.13±0.08	5.10±0.03	5.09±0.03	5.03±0.03**	5.21±0.03*
Female	4.87±0.08	4.84±0.03	4.84±0.03	4.74±0.03**	4.99±0.03**
Placental weight (mg)					
Male	488±8	467±6*	475±8	468±5*	459±7**
Female	481±10	453±7*	467±8	466±6	446±6**

Implantation ratio=(No of implants/No of corpora lutea)×100

Fetal viability=(No of alive fetuses/No of implants)×100

a) Mean±S. E.

b) Per pregnant rat

c) Umbilical hernia

d) Taillessness and anal atresia

* Statistically significant against control at P<0.05

** Statistically significant against control at P<0.01

Photo. 1 Umbilical hernia (Control)



Photo. 2 Taillessness and anal atresia (6315-S 1600 mg/kg)



Table 3 Incidence of retarded ossification, minor changes and anomalies of the skeletal system in fetuses from female rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating and in early pregnancy

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6315-S			CEZ 800
		400	800	1600	
No of fetuses examined	174	187	178	170	182
Retarded ossification					
Cervical centrum	169(97.1) ^{a)}	179(95.7)	172(96.6)	168(95.9)	128(97.0)
Incomplete thoracic vertebrae					
I-IV	2(1.1)	1(0.5)	1(0.6)	0	2(1.5)
V-VII	0	1(0.5)	0	0	0
VIII-XII	19(10.9)	20(10.7)	9(5.1)	14(8.2)	10(7.6)
Incomplete sternbrae	58(33.3)	71(38.0)	63(35.4)	64(37.6)	36(27.3)
No of coccy vertebrae	6.2±0.1 ^{b)}	6.2±0.1	6.1±0.1*	6.1±0.1	6.4±0.1
Ilioid bone	1(0.6)	5(2.7)	3(1.7)	5(2.9)	3(2.3)
Metacarpalia (<4/4)	0	0	0	1(0.6)	0
Metatarsalia (<5/5)	55(31.6)	59(31.6)	50(28.1)	52(30.6)	29(22.0)
Minor change					
Cervical rib	0	0	1(0.6)	0	0
Lumbar rib	40(23.0)	77(41.2)**	41(23.0)	40(23.5)	41(31.1)
Fourteenth rib	4(2.3)	2(1.1)	1(0.6)	0	0
Sacralizth/Lumbarizth	3(1.7)	3(1.6)	2(1.1)	5(2.9)	1(0.8)
Anomaly					
No of fetuses with anomalies	0	2(1.1)	0	2(1.2)	1(0.8)
Fused sternbrae and fused cervical arches	0	1	0	0	0
Fused cervical arches and fused ribs	0	1	0	0	0
Schistosternia	0	0	0	1	0
Agenesis of sacro-coccygeal vertebrae	0	0	0	1	0
Scramble of sternbrae	0	0	0	0	1 ^{c)}

a) No of fetuses (Incidence: %)

b) Mean ± S. E.

c) This fetus also showed fusion of ribs, absence of thoracic arches and arrangement disorder of thoracic vertebrae.

* Statistically significant against control at $P < 0.05$

** Statistically significant against control at $P < 0.01$

生存胎子の約半数について骨格系の異常、微細変異および化骨状態を観察し、その成績を Table 3 にまとめた。

骨格異常は 6315-S 400 および 1,600 mg/kg 投与群で各 2 例と、CEZ 投与群の 1 例で認められた。すなわち、6315-S 400 mg/kg 投与群の 2 例は、胸骨癒合と頸椎弓癒合の合併 (Photo. 3) および頸椎弓癒合と肋骨癒合を合併 (Photo. 4) した、いずれも複合奇形であった。

6315-S 1,600 mg/kg 投与群で発現した 2 例のうち

の 1 例は胸骨裂 (Photo. 5) で、他の 1 例は仙椎骨と尾椎骨の欠損を併発 (Photo. 6) した異常であった。

また、CEZ 投与群でみられた 1 例は、胸骨スクランブル、肋骨癒合、胸椎弓欠損に加えて胸椎体の配列異常 (Photo. 7) を併発した複合奇形であった。

骨格系の微細変異としては腰肋痕、仙椎の腰椎化変異、第 14 肋骨、頸肋痕などがみられたが、後 3 者の発現頻度は極めて低く、いずれも用量作用関係のないものであった。腰肋痕は対照群を含む投与全群でみられ、6315-S 400 mg/kg 投与群のみ対照群に比し有意の高値を示し

Photo. 3 Complex malformation
(6315-S 400 mg/kg)
A : Fused sternbrae
B : Fused cervical arches

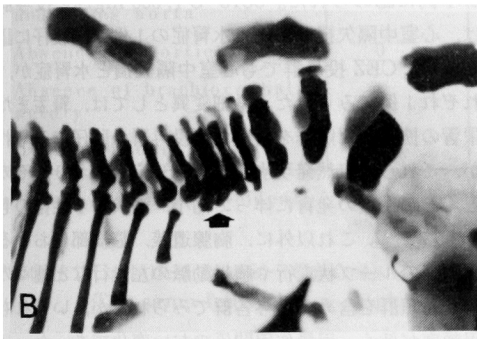
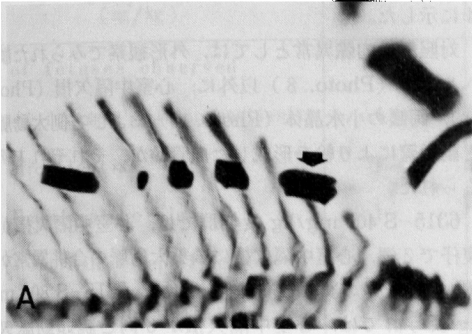


Photo. 4 Complex malformation
(6315-S 400 mg/kg)
A : Fused cervical arches
B : Fused ribs

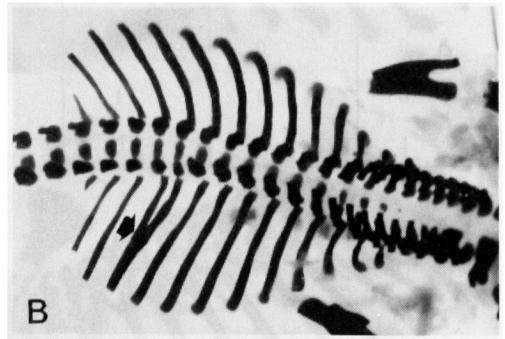
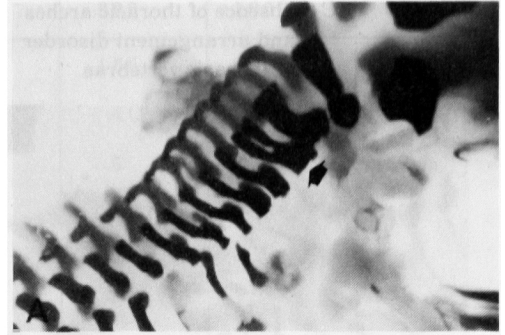


Photo. 5 Schistosternia (6315-S 1600 mg/kg)

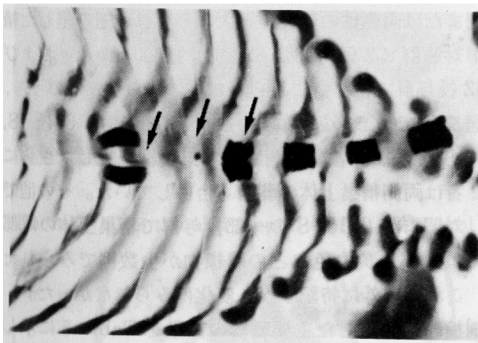
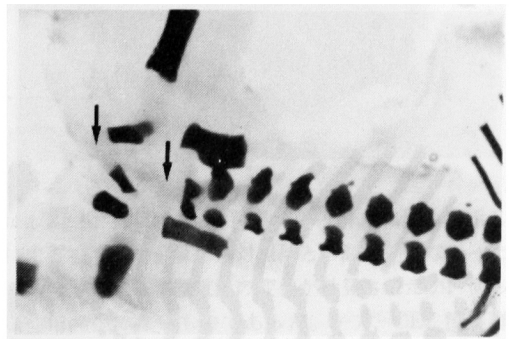


Photo. 6 Agenesis of sacro-coccygeal vertebrae
(6315-S 1600 mg / kg)
The same fetus shown at Photo. 2



たものの、6315-S 800, 1,600 mg/kg および CEZ 投与群では差がなく、何ら用量関係のない変動であった。そのほかの骨格部位でも種々の微細変異が検体投与各群でみられたが、いずれも極く少数例であった。一方、化

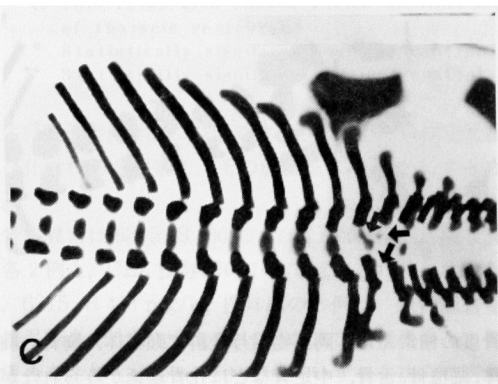
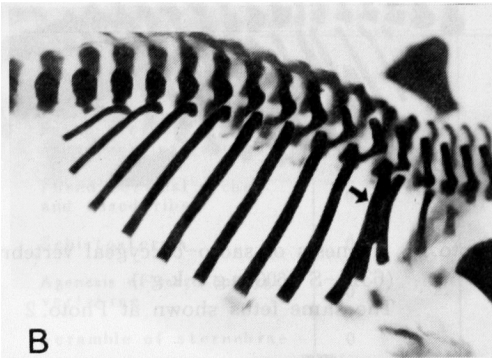
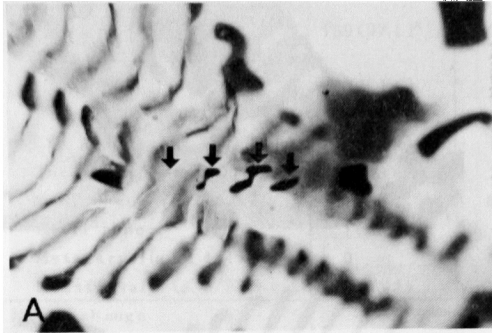
骨度の検索では、両薬物投与全群で頸椎体、胸骨、胸椎体、尾椎骨、舌骨、中足骨などに化骨遅延がみられたが、対照群に比しその発現頻度や程度に全く差がなかった。中手骨の化骨遅延は 6315-S 1,600 mg/kg 投与群の 1

Photo. 7 Complex malformation

(CEZ 800 mg/kg)

A : Scramble of sternebrae

B : Fused ribs

C : Absence of thoracic arches
and arrangement disorder
of thoracic vertebrae

例でのみ認められた。

2) 内臓器系の観察所見

残り約半数の生存胎仔につき、粗大切片を作製し内臓諸器官の巨視構造的観察を行なった。その結果を Table 4 に示した。

対照群の内臓異常としては、外形観察でみられた臍帯ヘルニア (Photo. 8) 以外に、心室中隔欠損 (Photo. 9), 両眼の小水晶体 (Photo. 10) および右側大動脈弓と動脈管により輪を形成した血管輪が、それぞれ1例でみられた。

6315-S 400 mg/kg 投与群では、心室中隔欠損が同腹仔で2例、心室中隔欠損に騎乗大動脈の合併異常が1例、大動脈弓の欠損が1例みられた。6315-S 800 mg/kg 投与群では、心室中隔欠損が3例と腕頭動脈欠損が1例に認められた。6315-S 1,600 mg/kg 投与群では、心室中隔欠損の1例と水腎症の1例が同腹仔に認められた。CEZ 投与群でも心室中隔欠損と水腎症が、それぞれ1例でみられた。微細変異としては、腎盂または尿管の拡張が対照群を含めた全投与群の胎仔でみられたが、これらは自然発現することが知られており、そのほとんどが生後の発育に伴って縮小、消失する性格のものである^{2, 3)}。これ以外に、胸腺遺残、脳橋部における脳底動脈のループ状走行や臍帯動脈の左走行など種々の変異が対照群を含めた投与群でみられたが、いずれも発現頻度が低く、用量作用関係のない変化であった。

9. 雌雄ラットの剖検成績

1) 雄ラットの剖検成績

6315-S または CEZ を連続静脈内投与した雄ラットを18週齢で全例屠殺、剖検した。剖検所見としては、片側または両側性の軟化、肥大もしくは萎縮を呈した精巣が対照群で2例、6315-S 800, 1,600 mg/kg および CEZ 投与群で各1例にみられた。これらラットのうち、同居交配で雌ラットを妊娠させ得なかった6315-S, CEZ 投与の後3者は両側性の精巣萎縮を呈し、さらに後2者は両側精巣上体の萎縮も合併していた。その他では、対照群や6315-Sの一部投与群で精巣上体の尾部または体部に黄白色などの膿様物が少数例でみられたが、これら以外に特記すべき変化はみられなかった。

剖検時に測定した主要臓器の重量を Table 5 に示した。

6315-S 投与により絶対、相対両重量で変化がみられたのは、盲腸の著明な肥大、腎重量の増加と心および脾臓重量の減少であった。また胸腺重量の減少傾向、副腎重量の増加傾向もみられた。肝重量の減少が6315-Sの400および800 mg/kg 投与群でみられたが、1,600

Table 4 Incidence of visceral anomalies in fetuses from female rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating and in early pregnancy

Treatment and daily dose (mg/kg)	Control	6315-S			CEZ 800
		400	800	1600	
No of fetuses observed	160	178	165	159	121
No of fetuses with anomalies	4 (2.5) ^{a)}	4 (2.2)	4 (2.4)	2 (1.3)	2 (1.7)
Microlentia	1	0	0	0	0
Umbilical hernia	1	0	0	0	0
Ventricular septal defect	1	2	3	1	1
Vascular rings	1	0	0	0	0
Ventricular septal defect and riding aorta	0	1	0	0	0
Absence of aortic arch	0	1	0	0	0
Absence of brachiocephalic artery	0	0	1	0	0
Hydronephrosis	0	0	0	1	1

a) No of fetuses (Incidence: %)

Photo. 8 Umbilical hernia (Control)
The same fetus shown at photo. 1

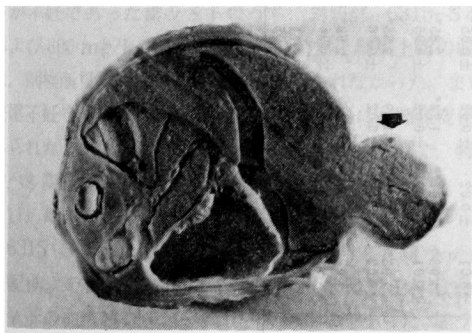


Photo.10 Microlentia (Control)

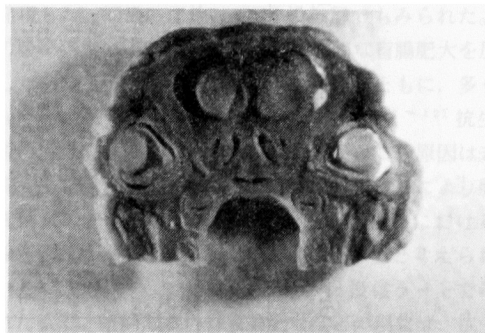
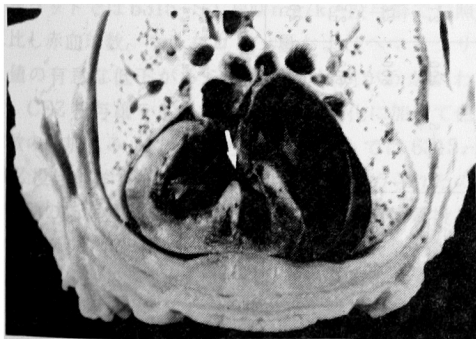


Photo. 9 Ventricular septal defect (Control)



mg/kg 投与群では絶対重量でのみ有意な減少を示したにすぎず、相対重量では対照群との間に差がなかった。これら以外にも臓器重量の変化が散見されたが、何ら用量作用関係のないものであった。一方、CEZ 投与群では盲腸重量の著しい増加、肝および胸腺重量に減少がみられ、さらに肺、腎および副腎が相対重量でのみ有意の増加を示した。

2) 雌ラットの剖検成績

検体投与群同志の同居交配で妊娠した雌ラットを妊娠第 21 日に屠殺、剖検した。剖検所見では、6315-

Table 5 Organ weights of male rats given intravenously with 6315-S or CEZ for 11 weeks

	Treatment and daily dose (mg/kg)	No of rats	Final BW (g)	Brain (g %)	Heart (g %)	Lung (g %)	Kidney (g %)	Liver (g %)	Spleen (g %)	Tymus (mg %)	Thyroid (mg %)	Pituitary (mg %)	Adrenal (mg %)	Testes (g %)	Ventral prostate (g %)	Seminal vesicle (g %)	Cecum (g %)
Relative organ weight	Control	27	480 ^{b)} ± 7	0.45 ± 0.01	0.27 ± 0.00	0.30 ± 0.00	0.62 ± 0.01	8.25 ± 0.05	0.18 ± 0.00	58 ± 8	4.6 ± 0.1	27 ± 0.1	10.9 ± 0.3	0.87 ± 0.02	0.12 ± 0.00	0.10 ± 0.00	1.45 ± 0.05
	6315-S	27	420 ± 8	0.48 ± 0.01	0.25 ^{**} ± 0.00	0.80 ± 0.00	0.68 ^{**} ± 0.01	3.05 ^{**} ± 0.04	0.16 ^{**} ± 0.00	58 ± 2	4.6 ± 0.2	26 ± 0.1	11.8 ± 0.3	0.90 ± 0.02	0.12 ± 0.00	0.11 ± 0.00	5.10 ^{**} ± 0.28
	800	26	417 ± 7	0.47 ± 0.01	0.25 ^{**} ± 0.00	0.81 ± 0.00	0.68 ^{**} ± 0.01	3.08 ^{**} ± 0.08	0.16 ^{**} ± 0.00	58 ± 8	4.7 ± 0.2	26 ± 0.1	12.6 ^{**} ± 0.3	0.92 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.10 ± 0.00	4.96 ^{**} ± 0.26
	1600	25	403 ^{**} ± 6	0.49 [*] ± 0.01	0.25 ^{**} ± 0.00	0.82 ^{**} ± 0.00	0.72 ^{**} ± 0.01	3.18 ± 0.05	0.16 ^{**} ± 0.00	46 ^{**} ± 2	4.7 ± 0.1	27 ± 0.1	14.2 ^{**} ± 0.4	0.91 ± 0.02	0.12 ± 0.00	0.10 ± 0.00	5.74 ^{**} ± 0.32
	800	20	407 ^{**} ± 6	0.49 ± 0.01	0.26 ± 0.00	0.82 ^{**} ± 0.01	0.67 ^{**} ± 0.01	3.08 ^{**} ± 0.04	0.18 ± 0.01	48 ^{**} ± 2	4.8 ± 0.2	24 ± 0.1	12.2 ^{**} ± 0.3	0.98 ± 0.02	0.18 ± 0.00	0.11 ± 0.00	3.92 ^{**} ± 0.33
	Absolute organ weight	Control	27		2.01 ± 0.01	1.16 ± 0.02	1.80 ± 0.02	2.69 ± 0.05	14.19 ± 0.86	0.77 ± 0.02	255 ± 16	20.1 ± 0.6	11.9 ± 0.3	47.4 ± 1.5	3.80 ± 0.12	0.33 ± 0.01	0.45 ± 0.01
6315-S		27		1.98 ± 0.01	1.07 ^{**} ± 0.02	1.24 [*] ± 0.02	2.65 [*] ± 0.02	12.82 ^{**} ± 0.87 ^{**}	0.87 ^{**} ± 0.11	222 ± 11	19.5 ± 0.9	10.7 ^{**} ± 0.3	49.4 ± 1.4	3.74 ± 0.06	0.51 ± 0.01	0.45 ± 0.01	21.2 ^{**} ± 1.0
800		26		1.95 ^{**} ± 0.02	1.05 ^{**} ± 0.02	1.28 ± 0.02	2.65 [*] ± 0.06	13.65 ^{**} ± 0.87 ^{**}	0.87 ^{**} ± 0.10	220 ± 8	19.8 ± 0.9	10.8 [*] ± 0.3	52.6 [*] ± 1.5	3.81 ± 0.05	0.53 ± 0.02	0.48 ± 0.01	20.7 ^{**} ± 1.1
1600		25		1.96 ^{**} ± 0.01	1.03 ^{**} ± 0.02	1.28 ± 0.02	2.69 [*] ± 0.06	12.63 ^{**} ± 0.86 ^{**}	0.65 ^{**} ± 0.02	184 ^{**} ± 6	19.1 ± 0.6	10.7 ^{**} ± 0.3	37.3 ^{**} ± 1.7	3.67 ± 0.05	0.50 ± 0.02	0.41 [*] ± 0.01	23.1 ^{**} ± 1.3
800		20		1.96 ± 0.02	1.05 ^{**} ± 0.02	1.28 ± 0.01	2.71 ± 0.06	12.83 ^{**} ± 0.80	0.72 ± 0.02	174 ^{**} ± 7	17.4 [*] ± 0.9	9.8 ^{**} ± 0.5	49.4 ± 1.1	3.75 ± 0.06	0.53 ± 0.02	0.44 ± 0.01	16.0 ^{**} ± 1.4

a) Organ weight per 100g body weight

b) Mean ± S. E.

* Statistically significant against control at P < 0.05

** Statistically significant against control at P < 0.01

S 1,600 mg/kg 投与群の2例で右側卵巣の水腫様変化以外、特記すべき変化がなかった。これら妊娠ラットの諸臓器重量を Table 6 に示した。

6315-S 投与全群で雄ラットと同様、盲腸重量の有意な増加がみられた。その他には、6315-S 400 および 800 mg/kg 投与群の心重量と 400 mg/kg 投与群の脳相対重量が軽度に減少した以外、臓器重量に特記すべき変化がみられなかった。CEZ 投与群では、盲腸重量の増加と肺絶対重量および卵巣相対重量の軽度減少がみられたのみであった。

10. 組織学的所見

同居交配で不妊、もしくは剖検所見で異常がみられた雌雄ラットの性腺系について、病理組織学的観察を行った。同居交配の相手雌ラットが不妊で、しかも剖検時に精巣萎縮のみられた 6315-S 800, 1,600 mg/kg 投与群および CEZ 投与群各 1 例の雄ラットでは、精細管の著明な萎縮や精子形成不全がみられ、さらに後 2 者の精巣では Leydig 細胞の軽度増殖が認められた。これら以外に剖検所見で精巣に異常がみられた雄ラットでも部分的な精細管の萎縮、精子形成の抑制、さらに giant cell の出現など類似の精巣組織像がみられた。一方、剖検時に精巣上で認められた膿様物は、精巣上体管の一部がうのう状に伸張し、その内腔に精子の集塊を伴ったいわゆる精液瘤であった。なお、同居交配の相手雌ラットが不妊であった雄ラットのうち、対照群、6315-S 400 および 800 mg/kg 投与群各 1 例の精巣と精巣上体の組織は、剖検所見と同様、全く異常が認められなかった。また、交尾不妊を呈した雌ラット 6 例および卵巣に水腫様変化がみられた 2 例の卵巣、子宮組織像はいずれも正常で、特記すべき変化がなかった。

11. 雌雄ラットの血液検査成績

6315-S または CEZ を連続静脈内投与した雄ラット、交配前より妊娠第 7 日まで 3 週間以上連続投与した雌ラットの血液検査を、いずれも剖検時に行なった。雄ラットの成績を Table 7 に、妊娠雌ラットの成績を Table 8 に、それぞれ示した。

雄ラットでは 6315-S 1,600 mg/kg 投与群で対照群に比し赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の有意な低下がみられ、貧血傾向がうかがわれた。CEZ 投与雄ラットでは、同様の変化に加えて白血球数の増加もみられた。一方、妊娠ラットでは 6315-S、CEZ 投与全群で白血球数の軽度増加が認められたのみで、他の指標には変化がなかった。なお、CEZ 投与群の雌雄ラット各 1 例で、採取血液が凝固したため測定不能であった。

12. 雌雄ラットの血液生化学検査

6315-S または CEZ を連続投与した雌雄ラットの血液生化学検査を剖検時に採取した血液で行なった。雄ラットの成績を Table 9 に、妊娠雌ラットの成績を Table 10 に示した。

6315-S 投与雄ラットの全群で total protein, albumin が有意に低下し、creatinine, LDH 活性や ALP 活性も低下またはその傾向を示した。CEZ 投与雄ラットでは、creatinine で変化がなかったものの、6315-S 投与群でみられたこれらの変化に加えて Urea-N および GPT 活性も対照群に比し有意の低値を示した。雌ラットの 6315-S 投与群では、全群で cholesterol が有意に上昇したほか、800 および 1,600 mg/kg 投与群で creatinine や LDH 活性の低下が認められた。Glucose も 6315-S 400, 800 mg/kg の両投与群で軽度に減少した。同様の変化は、CEZ 投与雌ラットでも認められた。

III. 考 察

Sprague-Dawley 系雌雄ラットを用い、新しい oxacephem 系抗生物質である 6315-S または対照薬の CEZ を連続尾静脈内投与し、妊娠前および妊娠初期投与試験を行なった。

6315-S 投与雌雄ラットで初回投与の翌日より、軟便もしくは下痢がみられ、投与を重ねるにつれ腹部膨満も発現した。同様の症状は CEZ 投与群でもみられた。この腹部膨満は、剖検時にみられた著明な盲腸肥大を反映したものと推察され、軟便や下痢誘発とともに、多くの cephem 系^{4)~7)}あるいは penicillin 系^{8)~12)}抗生物質の投与で認められている現象である。この原因は未だ十分に解明されていないが、抗生物質の投与により腸内細菌叢に変化が生じ、その結果、盲腸粘膜における水輸送機構が影響されて、盲腸が膨大すると考えられている^{10)~12)}。したがって、6315-S 投与ラットでみられた軟便、下痢あるいは盲腸肥大などの現象は、抗生物質投与時に共通してみられるもので、本化合物特有の変化とはいえない。

本実験で投与薬物によると考えられるラットの死亡は、CEZ 投与群でのみ発生した。これらラットは、投与後数分から 15 分以内に発作性の跳躍、強直性および間代性痙攣、呼吸困難などの毒性症状を示し、いずれも投与後 60 分以内に死亡したものであった。このような痙攣発現は、penicillin 系抗生物質で古くから報告されているが^{13)~14)}、亀井ら¹⁵⁾は CEZ など数種の cephem 系抗生物質でも強い痙攣発現を認め、その構造と痙攣誘発作用との関連性を検討している。NISTICÓ ら¹⁶⁾も二

Table 6 Organ weights of pregnant rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating and in early pregnancy

	Treatment and daily dose (mg/kg)	No of rats	Final B.W. (g)	Brain (g %)	Heart (g %)	Lung (g %)	Kidney (g %)	Liver (g %)	Spleen (g %)	Thymus (mg %)	Thyroid (mg %)	Pituitary (mg %)	Adrenal (mg %)	Ovary (mg %)	Caecum (g %)	
Relative ^{a)} organ weight	Control	27	386 ^{b)} ± 7	0.48 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.44 ± 0.01	3.50 ± 0.06	0.16 ± 0.01	53 ± 8	4.2 ± 0.2	3.8 ± 0.1	16.1 ± 0.4	28 ± 1	1.24 ± 0.06	
	6315-S	27	395 ± 4	0.45* ± 0.00	0.20** ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.43 ± 0.00	3.45 ± 0.04	0.17 ± 0.00	51 ± 2	4.3 ± 0.1	3.6 ± 0.1	15.2 ± 0.4	27 ± 1	1.84** ± 0.10	
	800	26	387 ± 4	0.47 ± 0.01	0.20* ± 0.00	0.27 ± 0.00	0.43 ± 0.01	3.40 ± 0.04	0.17 ± 0.01	48 ± 2	4.1 ± 0.1	3.5 ± 0.1	15.7 ± 0.4	27 ± 1	1.61** ± 0.10	
	1600	25	387 ± 5	0.47 ± 0.01	0.21 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.43 ± 0.01	3.37 ± 0.05	0.16 ± 0.00	50 ± 2	4.3 ± 0.1	3.5 ± 0.1	16.8 ± 0.4	27 ± 0	1.77** ± 0.07	
	800	20	386 ± 5	0.47 ± 0.01	0.21 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.42 ± 0.00	3.43 ± 0.06	0.17 ± 0.01	51 ± 3	4.1 ± 0.2	3.7 ± 0.1	15.7 ± 0.5	26* ± 0	1.62** ± 0.07	
	Absolute organ weight	Control	27		1.83 ± 0.01	0.84 ± 0.02	1.06 ± 0.02	1.69 ± 0.08	18.47 ± 0.26	0.82 ± 0.02	202 ± 9	16.0 ± 0.6	14.5 ± 0.5	61.6 ± 1.2	107 ± 3	4.8 ± 0.2
		6315-S	27		1.79 ± 0.01	0.79* ± 0.01	1.04 ± 0.01	1.69 ± 0.02	18.64 ± 0.22	0.67 ± 0.02	208 ± 8	17.0 ± 0.5	14.1 ± 0.3	59.9 ± 1.5	108 ± 3	7.2** ± 0.3
		800	26		1.80 ± 0.01	0.78** ± 0.01	1.08 ± 0.01	1.65 ± 0.02	18.12 ± 0.19	0.66 ± 0.02	184 ± 8	15.9 ± 0.5	13.5 ± 0.5	60.5 ± 1.4	104 ± 2	6.2** ± 0.4
		1600	25		1.82 ± 0.01	0.81 ± 0.01	1.02 ± 0.01	1.65 ± 0.02	18.05 ± 0.22	0.64 ± 0.01	194 ± 10	16.5 ± 0.5	13.6 ± 0.5	64.9 ± 1.4	106 ± 3	6.8** ± 0.2
		800	20		1.80 ± 0.02	0.80 ± 0.01	1.01* ± 0.01	1.68 ± 0.02	18.22 ± 0.32	0.65 ± 0.03	195 ± 12	16.0 ± 0.7	14.1 ± 0.3	60.3 ± 1.6	100 ± 2	6.2** ± 0.3

a) Organ weight per 100g body weight

b) Mean ± S. E.

* Statistically significant against control at P < 0.05

** Statistically significant against control at P < 0.01

Table 7 Hematological data of male rats given intravenously with 6315-S or CEZ for 11 weeks

Treatment and daily dose (mg/kg)	No of rats	RBC ($\times 10^6$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC ($\times 10^3$)
Control	27	7.98 \pm 0.06 ^{a)}	15.1 \pm 0.1	39.5 \pm 0.3	50 \pm 0	19.1 \pm 0.1	38.5 \pm 0.1	10.6 \pm 0.5
6315-S	27	7.98 \pm 0.07	15.0 \pm 0.1	39.2 \pm 0.3	50 \pm 0	19.0 \pm 0.1	38.5 \pm 0.1	10.2 \pm 0.7
800	26	7.82 \pm 0.08	14.9 \pm 0.2	38.5 \pm 0.4*	50 \pm 0	19.1 \pm 0.1	38.9 \pm 0.2	10.4 \pm 0.6
1600	25	7.40 \pm 0.15**	14.0 \pm 0.3**	36.3 \pm 0.7**	49 \pm 0	19.1 \pm 0.1	38.8 \pm 0.2	11.3 \pm 0.6
CEZ	19	7.59 \pm 0.16*	14.4 \pm 0.3*	36.6 \pm 0.7**	49 \pm 0**	19.1 \pm 0.2	39.4 \pm 0.3*	13.1 \pm 0.8**

a) Mean \pm S. E.

* Statistically significant against control at P<0.01

** Statistically significant against control at P<0.05

Table 8 Hematological data of pregnant rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating and in early pregnancy

Treatment and daily dose (mg/kg)	No of rats	RBC ($\times 10^6$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC ($\times 10^3$)
Control	27	6.09 \pm 0.07 ^{a)}	12.4 \pm 0.2	33.8 \pm 0.4	56 \pm 0	20.5 \pm 0.1	36.9 \pm 0.4	10.5 \pm 0.5
6315-S	27	6.01 \pm 0.05	12.3 \pm 0.1	33.2 \pm 0.2	55 \pm 0	20.5 \pm 0.1	37.1 \pm 0.1	11.7 \pm 0.4*
800	26	6.02 \pm 0.06	12.3 \pm 0.1	33.4 \pm 0.3	56 \pm 0	20.6 \pm 0.2	37.1 \pm 0.2	12.0 \pm 0.4*
1600	25	6.02 \pm 0.06	12.4 \pm 0.1	33.6 \pm 0.3	56 \pm 0	20.8 \pm 0.1	37.2 \pm 0.1	12.1 \pm 0.5*
CEZ	20	6.20 \pm 0.06	12.6 \pm 0.1	34.2 \pm 0.4	55 \pm 1	20.5 \pm 0.2	37.1 \pm 0.2	12.2 \pm 0.5*

a) Mean \pm S. E.

* Statistically significant against control at P<0.05

Table 9 Blood biochemistry data of male rats given intravenously with 6315-S or CEZ for 11 weeks

Treatment and daily dose (mg/kg)	No of rats	Glucose (mg/dl)	T. Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	Creatinine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	ALP (mU/ml)	LDH (mU/ml)	Cholesterol (mg/dl)	T. Bilirubin (mg/dl)	Cl ⁻ (mEq/l)
Control	27	174±3 ^{a)}	6.5±0.0	3.9±0.0	0.58±0.01	22±0	96±3	86±1	155±7	126±9	67±1	0.21±0.01	109±1
6315-S	27	179±4	6.2±0.1 [*]	3.7±0.0 [*]	0.56±0.01	21±0	98±2	88±2	147±7	110±4	67±2	0.20±0.00	108±0
800	26	176±3	6.2±0.0 ^{**}	3.7±0.0 ^{**}	0.58±0.02	22±1	98±3	84±1	145±8	91±4 ^{**}	70±1	0.19±0.01 [*]	109±0
1600	25	176±3	6.2±0.0 ^{**}	3.6±0.0 ^{**}	0.52±0.01 ^{**}	22±0	94±4	87±1	139±9	84±5 ^{**}	67±1	0.20±0.01	110±0
CEZ	20	176±3	6.2±0.1 ^{**}	3.7±0.0 ^{**}	0.56±0.01	20±0 ^{**}	99±12	19±2 ^{**}	131±9 [*]	87±6 ^{**}	69±2	0.21±0.01	109±1

a) Mean±S.E.

* Statistically significant against control at P<0.05

** Statistically significant against control at P<0.01

Table 10 Blood biochemistry data of pregnant rats given intravenously with 6315-S or CEZ before mating and in early pregnancy

Treatment and daily dose (mg/kg)	No of rats	Glucose (mg/dl)	T. Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	Creatinine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	ALP (mU/ml)	LDH (mU/ml)	Cholesterol (mg/dl)	T. Bilirubin (mg/dl)	Cl ⁻ (mEq/l)
Control	27	127±2 ^{a)}	5.7±0.1	3.5±0.1	0.80±0.01	28±1	87±5	51±2	107±9	186±10	95±2	0.20±0.01	104±0
6315-S	27	120±2 [*]	5.7±0.1	3.4±0.0	0.80±0.01	30±1	84±3	51±2	107±8	121±8	108±2 ^{**}	0.21±0.01	104±0
800	26	118±1 ^{**}	5.7±0.1	3.4±0.1	0.78±0.01 [*]	28±1	86±3	50±1	91±8	107±6 [*]	106±2 ^{**}	0.20±0.00	104±0
1600	25	121±2	5.6±0.1	3.4±0.1	0.78±0.01 ^{**}	27±1	91±4	58±2	92±7	102±7 ^{**}	107±2 ^{**}	0.20±0.00	104±0
CEZ	20	121±2 [*]	5.8±0.1	3.5±0.0	0.78±0.01 ^{**}	27±1	87±3	49±1	107±10	101±7 ^{**}	108±2 [*]	0.20±0.01	105±0

a) Mean±S.E.

* Statistically significant against control at P<0.05

** Statistically significant against control at P<0.01

ワトリやラットを用いた実験からCEZが強い瘻孳誘発作用を有すると報告している。これらの事実から、本実験でみられたCEZ投与ラットの死亡は、CEZが有する瘻孳誘発作用に起因しているものと考えられる。

6315-S 1,600 mg/kg 投与雄ラットの体重増加がCEZ投与群と同様、投与中期より抑制され、雌ラットとの同居時や投与終了時には有意の低体重を示した。このような体重抑制は、ラットの3ヶ月亜急性毒性試験¹⁾でも認められているが、本実験の雌ラットではみられず、また摂餌量との間に相関性がなかった。さらに、これら6315-S投与雄ラットでは、剖検時の主要臓器重量、血液検査値および血液生化学分析値などにも変化がみられた。しかし、これらいずれの指標でもその程度は軽度で、対照薬のCEZ投与群にも認められる変化であった。

このように、6315-Sの大量長期投与は雄ラットで軽度ながら変化がみられるものの、雌ラットの性周期に対しては何ら影響を与えず、同一投与量群雄ラットとの同居交配における交尾率、妊娠率はいずれも高値を示し、対照群との間に全く差がなかった。また、妊娠ラットの卵巣黄体数、妊卵着床数も正常で、妊卵着床率も91%以上の高値を示し、むしろ対照群の値を上回った。さらに、胎仔生存率も対照群以上の高い値を示したことから、6315-Sは生殖細胞形成、排卵、交尾能、受精、妊卵の初期発生、妊卵着床、子宮内胎仔の生存性など一連の生殖過程に全く影響を及ぼさないとはいえる。本実験の6315-S投与群の極く少数例に交尾不妊がみられた。しかし、これら不妊雌ラットやそれらと交配した雄ラットの性腺系には、必ずしも異常所見がみられていないこと、対照群およびCEZ投与群にも不妊例がみられること、さらに不妊例の出現率に用量作用関係がないことなどから、これは偶発的なものと考えられる。

本実験の6315-S 1,600 mg/kg 投与群で、妊娠末期の生存胎仔体重が雌雄とも対照群に比し低値を示したが、その差は小さく、しかもこれら胎仔の化骨進行度では対照群と何ら差がなかったことから、正常範囲内の変動と言える。したがって、6315-Sは着床後の胎仔発育に対して特に悪影響を及ぼしているとは考えられない。6315-S、CEZ投与全群で胎盤重量が対照群に比し減少またはその傾向を示し、その程度はCEZ投与群で最も強かった。しかし、6315-S投与群での胎盤重量減少は極めて軽度で、用量作用関係もみられず、本剤投与に起因した変化とはいえない程度のものであった。

生存胎仔の外形、内臓および骨格系の観察で少数例の異常例を認めたが、そのほとんどが自然発現するもので²⁾、いずれも発生頻度が低く、また用量作用関係がみ

られず、しかも対照群にもみられる異常であった。したがって、6315-S投与に関連した異常とは考えられない。

以上の諸成績から、6315-S投与により雄ラットで体重、臓器重量、血液および血液生化学分析値に軽度の変化がみられたものの、6315-Sを連続投与しても雌雄ラットの生殖細胞形成、排卵、交尾能、受精、妊卵の初期発生、妊卵着床などの諸過程に全く影響を与えず、着床後の胎仔発育、生存性に対しても影響を及ぼさなかった。さらに妊娠末期胎仔の外形、内臓、骨格などに6315-S投与に起因したと考えられる奇形や異常は全く出現しなかった。したがって、ラット繁殖能に対する6315-Sの最大無作用量は、1,600 mg/kg/日もしくはそれ以上と推察される。

(試験実施期間：1983年8月～1983年12月)

謝 辞

本試験の実施に当り、技術的な御協力を頂いた原 勝己、安東正則、伊藤道雄、佐々木和則、金森 進、西村清一、松尾恵美、岸 倉次郎、長谷川靖彦、吉田豊彦、葦石米孝、竹川祐司、宮後正志、平柴正広、内田浩則の諸氏、血液生化学分析を実施して頂いた吉崎敏夫、池内滋郎の両氏および組織標本の作製、観察を賜った村岡義博、古川 仁の両氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 村岡義博、矢原 功、渡辺 弘、松井信志、西部泰弘、中野 瞭、花房友行、松原尚志、吉崎敏夫、原田喜男：Oxacephem系抗生物質6315-S (Flomoxef)のラットにおける急性ならびに1ヵ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 35 (S-1)：207～225, 1987
- 2) WOO, D. C. & R. M. HOAR : " Apparent hydronephrosis " as a normal aspect of renal development in late gestation of rats : The effect of methyl salicylate. Teratology 6 : 191～196, 1972
- 3) 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。先天異常 20 : 25～106, 1980
- 4) FUKUHARA, K. ; Y. EMI, K. IWANAMI, T. FURUKAWA, T. FUGII, N. ITOH, S. KATSUKI, H. YOSHIMITSU, Y. II & N. WATANABE : Toxicity and reproduction studies of ceftizoxime sodium. Arzneimittel. Forsch. 30 (II) : 1669～1679, 1980
- 5) 小林文彦、原 勝己：6059-Sの妊娠前および

- 妊娠初期投与試験。Chemotherapy 28 (S-7) : 1108~1118, 1980
- 6) 小林文彦, 佐々木和則: Cefamandole のラット交配前および妊娠初期投与試験。Chemotherapy 27 (S-5) : 649~657, 1979
- 7) 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之: Cefazolin sodium の毒性および胎仔への影響。Chemotherapy 18 : 528~543, 1970
- 8) 高井 明, 米田豊昭, 正谷博之, 柴田哲夫, 河村泰仁, 佐藤 盛, 中田弘子, 稲場淳子: T-1220 の毒性試験 (第3報) -ラット静脈内投与における亜急性毒性試験-。Chemotherapy 25 : 857~868, 1977
- 9) 枝長正修, 北 敏郎, 奥田教隆, 堀 添宏: Bacampicillin hydrochloride の急性, 亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy 27 (S-4) : 17~20, 1979
- 10) 今井章浩, 森下けい子: Aminobenzyl penicillin (ABPC) および Aminocyclohexyl penicillin (ACPC) 経口投与によるマウス糞便菌数の変化および盲腸重量の変化について。Chemotherapy 23 : 3192~3196, 1975
- 11) SAVAGE, D. C. & R. DUBOS : Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exp. Med.* 128 : 97~110, 1968
- 12) SAVAGE, D. C. & J. S. McALLISTER : Cecal enlargement and microbial flora in suckling mice given antibacterial drugs. *Inf. and Imm.* 3 : 342~349, 1971
- 13) WEINSTEIN, L. ; P. I. LERNER & W. H. CHEW : Clinical and bacteriologic studies of the effect of "Massive" doses of penicillin G on infections caused by gram-negative bacilli. *N. Engl. J. Med.* 271 : 525~533, 1964
- 14) CONWAY, N. ; E. BECK & J. SOMERVILLE : Penicillin encephalopathy. *Postgrad. Med. J.* 44 : 891~897, 1968
- 15) 亀井千晃, 池上信行, 大庭茂治, 于 庆 海, 三宅秀和, 田坂賢二: Cephem 系抗生物質の痙攣誘発作用について。最新医学 38 : 1662~1681, 1983
- 16) NISTICÒ, G. ; R. MUSOLINO, F. NACCARI & R. DI PERRI : Experimental epilepsy in chicks and rats after intravenous benzylpenicillin and cefazolin. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 54 : 600~605, 1978

REPRODUCTION OF RATS UNDER 6315-S (FLOMOXEF)

1. FERTILITY STUDY

FUMIHIKO KOBAYASHI and RIIICHI MURANAKA
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

The effects of 6315-S (flomoxef), a new oxacephem antibiotic on fertility and reproductive performance of Sprague-Dawley rats were compared with those of rats given CEZ. The daily doses employed were 400, 800 and 1,600 mg/kg for 6315-S and 800 mg/kg for CEZ. These compounds were injected i. v. to male rats for 9 weeks and to female rats for 16 days prior to cohabitation. The administration regimens to male and female rats were continued during the cohabitation period and, additionally, to impregnated females during the early stage of pregnancy until day 7 of gestation. All pregnant females were autopsied by Cesarean section on day 21 of gestation to investigate fetal growth. In male rats treated with 1,600 mg/kg of 6315-S or 800 mg/kg of CEZ (over a long period), a slight but significant depression of body weight gain was observed during the latter half of the administration period. In female rats, however, body weight slightly increased in comparison with the control group. Food consumption of all groups significantly but transiently decreased at the beginning of administration, but increased thereafter. No effect of 6315-S or CEZ was observed on sexual cyclicity, mating, fertility and other pregnancy performance in female rats. Placental weight decreased slightly but fetal parameters such as gross appearance, viability, and body weight were all normal in the females given 6315-S or CEZ. No defects considered to be owing to the action of 6315-S or CEZ were observed in visceral and skeletal specimens of the fetus. Autopsy of male and female rats revealed marked enlargement of the caecum. These results indicate that 6315-S has no adverse effects on the reproductive performance of male and female rats, although body weight gain was depressed in male rats at the highest dose of 1,600 mg/kg. Accordingly, the no-effect dose for reproductive performance is considered to be 1,600 mg/kg/day or more.