

## NY-198のウサギにおける器官形成期経口投与試験

梅村 建夫・佐々 齊・飯塚 壮・柳田 知司

(財) 実験動物中央研究所 前臨床医学研究所

NY-198を胎仔の器官形成期の母体に経口投与した場合の母体および胎仔に及ぼす影響について日本白色種ウサギを用い、25mg/kgを低用量投与群、50mg/kgを中用量投与群、100mg/kgを高用量投与群とした本実験ならびに6.25mg/kgを低用量投与群、12.5mg/kgを高用量投与群とした追加実験を実施し、以下の成績を得た。

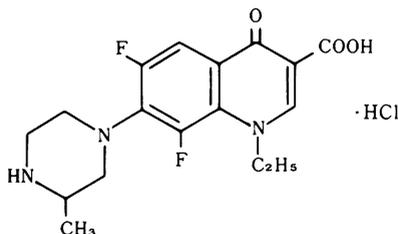
1. 6.25, 12.5および25mg/kg投与群では5～7例の母体に糞量の減少あるいは下痢が観察され、各1例が流産した。また、これらの例の中には体重増加が抑制されるもの、妊娠後期に摂餌が認められないものがあった。6.25および12.5mg/kg投与群で実施した母体の腸内細菌検査では、投薬期間中に *Enterobacteriaceae* が減少した。しかし、いずれの群においても胎仔に及ぼす影響は認められなかった。

2. 50および100mg/kg投与群では大部分の例に糞性状の変化がみられ、流産したものが50mg/kg投与群に4例、100mg/kg投与群に9例あった。また、母体の体重は減少し、摂餌の認められない例が多くみられた。胎仔に及ぼす影響として、両群に尾椎骨数の変異個体が多く出現し、発育遅延が認められたが、催奇形性は認められなかった。また、100mg/kg投与群では胎生期死亡が増加した。

以上、6.25mg/kgの投与においても母体に本薬の強い抗菌作用による影響が発現したために母体の無影響量は把握できなかった。また、胎仔の無影響量は生存に関しては50mg/kg、発育に関しては25mg/kg、催奇形性に関しては100mg/kgと判断され、これらを総括すると25mg/kgであると判断された。

NY-198は北陸製薬株式会社において開発が進められている合成抗菌剤で、*in vitro* においてグラム陰性のみならずグラム陽性の好気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルと優れた抗菌力を有し、さらに、感染防御効果による *in vivo* の抗菌力においても優れた効果を示すことが見出されている。

本薬は水に溶けにくい白色の結晶性粉末であり、Fig. 1に示す化学構造および化学名を有する。



(±)1-ethyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid hydrochloride

Fig. 1. Chemical structure and chemical name of NY-198

本薬は経口による臨床適用が予定されているため、当該経路による生殖に及ぼす影響の安全性評価の目的で6.25, 12.5, 25, 50および100mg/kgの用量を胎仔の器官形成期の母体に経口投与した時の母体および胎仔に及ぼす影響をウサギを用いて検索したので報告する。

## I 実験方法

## 1. 動物および飼育方法

動物は北山ラベス株式会社より購入した3～5カ月齢の日本白色種のオスおよびメスウサギである。購入後一定期間飼育環境に馴化させ、馴化期間中の一般状態ならびに体重に異常が認められなかったものを実験に使用した。

動物は温度 $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 25\%$ 、12時間点灯(午前8:00点灯、午後8:00消灯)となるように設定した飼育室で、日本クレア株式会社製のウサギ用固型飼料CR-1および水道水を自由に与え、金属製ケージで個別飼育した。

## 2. 投与量設定のための予備実験

### 1) 群分けおよび個体識別

薬物投与4群および対照群の計5群を設け、投与開始時の平均体重が群間で等しくなるように、1群各4頭を割り付けた。動物の個体識別は耳介部に入れ墨を施した。なお、投与開始時の体重は3.52~4.08kgであった。

### 2) 薬物投与用量, 被験物質, 投与薬液の調製および投与方法

薬物投与用量は確実に毒性変化の発現することが予想される用量で、物理的に投与可能な最大量と考えられる1000mg/kgを高用量とし、以下、順次用量を下げ、500, 200および100mg/kgとした。

被験物質は北陸製薬株式会社より提供されたNY-198の原末 Lot No. YH700である。投与薬液は0.5% CMC (sodium carboxymethylcellulose, 小宗化学薬品株式会社) を用いて1%, 2%, 5%および10%の濃度の懸濁液に調製した。なお、投与薬液は4~5日間の使用量を調製し、使用までの間、遮光条件で冷蔵保存した。薬液の投与は注射器に胃チューブを装着し、体重1kg当たり10mlを1日1回2週間にわたって経口投与した。また、対照群には薬物投与群と同容量の0.5% CMC溶液を投与した。各個体の投与容量は投与1および8日に測定した体重をもとに算出し、7日間を同一容量とした。

### 3) 観察および諸検査

以下のa~eの各項目について観察および測定を行なった。

a. 一般状態の観察: 一般状態の観察を投与第1日は投与後30分, 1, 2, 3および4時間後, 以後は投与前および投与1時間後の1日2回行なった。なお、投与前の観察は主として便性状について行なった。

b. 体重および摂餌量の測定: 体重測定を毎日行なった。また投与1および2日, 投与8および9日, 投与13および14日の両日の餌重量から摂餌量を算出した。

c. 血液検査: 最終投与日に耳介静脈より採取した血液について、赤血球数および白血球数 (Coulter counter), ヘマトクリット値 (microhematocrit法) およびヘモグロビン濃度 (cyanmethemoglobin法) を測定し、平均赤血球容積 (MCV) および平均赤血球血色素濃度 (MCHC) を算出した。また、血液塗抹標本を作製し、網赤血球数 (Brecher法) の算定および血液像 (Wright染色) の観察を行なった。

d. 血清 (血漿) 生化学検査: 最終投与翌日 (約18~19時間の絶食後) に耳介静脈より採血して得た血清および血漿について GOT (Karmen法), GPT および LDH (Wröblewski法), アルカリフォスファターゼ (Bessey-Lowry法), 総蛋白 (屈折法), 総コレステロール

(Röschlau法), クレアチニン (Jaffé法), BUN (Hallet法), Na および K (蛍光光度法) および Cl (クロライドメーター法) を測定した。なお, GOT および LDH については血漿を, その他の項目については血清を用いて測定した。

e. 剖検: 最終投与日まで生存した例についてはその翌日に, 投薬期間途中で後肢麻痺を起こし切迫屠殺した例では発見後, 速やかにペントバルビタールナトリウム (ソムノペンチル, ピットマン・ムーア社) 麻酔下で脱血屠殺し, 胸腔および腹腔内の主要臓器を肉眼的に観察した。また, 死亡例は発見後, 速やかに剖検した。

## 3. 本実験

### 1) 妊娠動物の作製, 群分けおよび個体識別

オスウサギから人工膈を用いて得た混合精液0.2mlを未経産ウサギにGibsonの人工授精法<sup>1)</sup>によって注入した。精液注入後, 25 I.U.のHCG (HCGモチダ, 持田製薬株式会社) を静脈内に投与して排卵を誘発した。人工授精したメスウサギを妊娠0日の動物 (体重: 3.58~4.48kg) として1群につき14~15頭を各群にランダムに割り付けた。

なお, 動物は耳介部の入れ墨によって個体識別した。

### 2) 薬物投与用量, 被験物質, 投与薬液の調製および投与方法

薬物投与用量は2週間投与予備実験の成績に基づいて100mg/kgを高用量とし, 推定臨床用量の上限と考えられる25mg/kgを低用量, 低用量と高用量のほぼ中間量に当たる50mg/kgを中用量とした。

被験物質は北陸製薬株式会社より提供されたNY-198の原末 Lot No. YH700である。投与薬液は予備実験と同様に0.5% CMCを用いて0.25%, 0.5%および1%の濃度の懸濁液に調製した。なお, 投与薬液は3~6日間の使用量を調製し, 使用までの間, 遮光条件で冷蔵保存した。

薬液の投与は注射器に胃チューブを装着し, 体重1kg当たり10mlを1日1回, 妊娠6~18日の13日間にわたって経口投与した。また, 対照群には薬物投与群と同容量の0.5% CMC溶液を投与した。各個体の投与量は妊娠0日に測定した体重をもとに算出し, 13日間を同一容量とした。

### 3) 観察および諸検査

以下のa~fの各項目について観察および測定を行なった。

a. 母体の一般状態の観察: 一般状態の観察を投薬期間中は投与前および投与1時間後の1日2回, 投薬期間終了後, 妊娠28日まで1日1回行なった。また, 死亡および流産の有無を薬物の投与を開始した後, 妊娠28日まで毎日, 午前と午後の2回観察した。ただし, 土曜およ

び休日は1回とした。

b. 母体の体重測定：母体の体重を妊娠0日ならびに妊娠6～28日の間、毎日測定した。

c. 母体の摂餌量の測定：妊娠6および7日、12および13日、18および19日、23および24日、27および28日の両日の餌重量から摂餌量を算出した。

d. 母体の剖検：流産した例については、発見後できるだけ速やかに、また、妊娠を維持した例については、妊娠28日にペントバルビタールナトリウム麻酔下で脱血屠殺した後、胸腔内および腹腔内の主要臓器を肉眼的に観察するとともに妊娠の成否を観察した。

e. 母体の検査：妊娠例については、黄体数、着床数、胎生期死亡ならびに生存胎仔数を調べ、胎盤の重量測定および形態異常の有無の観察を行なった。

f. 生存胎仔の観察：生存胎仔については体重を測定した後、性別の観察ならびに外表異常の有無の観察を行なった後、胎仔の胸・腹部臓器を摘出し、10%ホルマリン液に固定して、内臓異常の有無を検索した。なお、内臓異常の検索は仙波の方法<sup>2)</sup>に準じて行なった。内臓摘出後の胎仔の体軀については、95%アルコールで固定した後、Dawson氏法<sup>3)</sup>に準じて骨格透明標本を作製し、骨格異常の有無、肋骨数および尾椎骨数の変異、中手骨、中節骨および胸骨の化骨状態を観察した。

#### 4. 追加実験

##### 1) 妊娠動物の作製、群分けおよび個体識別

本実験と同様な方法で人工授精したウサギ(体重：3.36～4.48kg)を1群につき14～15頭、各群にランダムに割り付けた。また、動物の個体識別も本実験と同様とした。

##### 2) 薬物投与用量、被験物質、投与薬液の調製および投与方法

薬物投与用量は、本実験において25mg/kgの投与でも母体の一般状態、妊娠の維持などに50および100mg/kgの投与と同様な薬物の影響が認められ、無影響量が認めなかった。したがって、無影響量を把握するためにさらに用量を下げ、6.25および12.5mg/kgの2用量を設定した。

被験物質は本実験と同 Lot No.の原末を用い、0.5% CMCを用いて0.125%および0.0625%の濃度の懸濁液に調製した。なお、投与薬液は5～6日間の使用量を調製した。薬液の保存条件および投与方法は本実験と同様とした。

##### 3) 観察および諸検査

観察および検査項目は、先に実施した本実験の母体に関する項目に腸内細菌検査を追加した。

腸内細菌検査は各群8頭について実施した。糞便は妊娠5日(投与前)、妊娠12日(投与7日)、妊娠18日(投与13日)および妊娠28日(最終投与後10日)の計4回、

各個体から新鮮便1gを秤量し、光岡の希釈緩衝液A<sup>4)</sup>10mlに懸濁した。この懸濁液を10倍段階希釈で10<sup>-8</sup>まで希釈し、以下に示す条件で培養し、*Bacteroidaceae*、*Streptococcus* および *Enterobacteriaceae* の発育コロニー数を数え、菌数を算出した。

##### 使用培地・培養法

<i>Bacteroidaceae</i>	NBGT, EG	嫌気	37C・48時間
<i>Streptococcus</i>	TATAC	好気	37C・48時間
<i>Enterobacteriaceae</i>	DHL	好気	37C・24時間

その他の観察および検査項目は本実験と同様の方法で実施した。

統計処理：体重、摂餌量、腸内細菌数、胎盤重量、黄体数、着床数、血液検査値および血清(漿)生化学検査値については、等分散の場合は、Student-*t* 検定、不等分散の場合は、Cochran-Cox の *t*-検定により対照群と薬物投与群の平均値の差を5%の危険率で検定した。胎仔死亡率、外表、骨格および内臓の異常胎仔の出現率、肋骨および尾椎骨の変異胎仔の出現率、中手骨、中節骨および胸骨の化骨遅延胎仔の出現率については Wilcoxon の順位和検定により対照群と薬物投与群の差を5%の危険率で検定した。なお、胎仔および胎盤重量に関する諸項目については1腹を標本の単位とした。

## II 実験成績

### 1. 投与用量設定のための予備実験

#### 1) 一般状態

対照群には一般状態の変化は認められなかった。

100mg/kg投与群(以下、mg/kg投与群はmg/kg群と略)では排糞量の少ない個体が投与6日より1例みられ、この例では投与10日以後、排糞は認められなかった。また、投与12および13日に排糞量の少ない個体が1例観察された。

200mg/kg群では投与3日より全例で排糞量が少なく、投与8日以降、投与11日を除いて全例に排糞は認められなかった。

500mg/kg群においても投与3日より全例で排糞量が少なく、投与6日以降、排糞は認められなかった。

1000mg/kg群では投与5、6および9日に各1例が死亡した。また、投与開始翌日より全例で排糞量が少なく、投与7日以降、生存していた1例において排糞は認められなかった。

さらに、切迫屠殺したものが薬物投与各群に1例あり、いずれも夜間に後肢麻痺を起こし、翌朝発見されたものであった。

#### 2) 体重 (Fig. 2)

100mg/kg群では4例中2例において体重減少がみられたため、最終投与日の平均体重は投与開始時の平均体

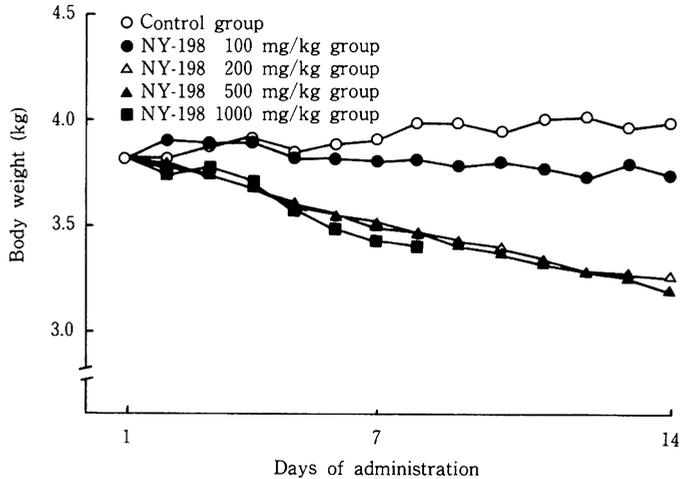


Fig. 2. Body weight of non-pregnant rabbits treated orally with NY-198 for 2 weeks. Body weight decreased in the groups treated with 200 mg/kg or more. In the 1000 mg/kg group, one rabbit each died on respective day 5, 6, and 9 of administration, and one rabbit was sacrificed on day 3 of administration.

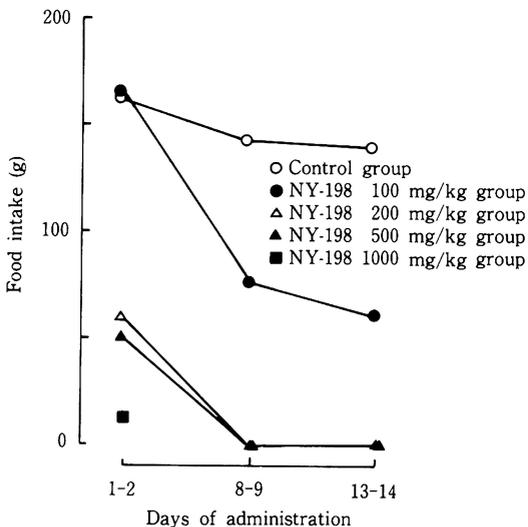


Fig. 3. Food intake of non-pregnant rabbits treated orally with NY-198 for 2 weeks. Low food intake was observed in the NY-198 treated groups, and no rabbits in the 200 and 500 mg/kg groups took food after the middle of the administration period.

重を下回っていたが、対照群との間に有意差は認められなかった。

200mg/kg以上の投与群では全例で体重減少がみられ、200mg/kg群では投与6日以降、500mg/kg群では投与9日以降、対照群との間に有意な差が認められた。

### 3) 摂餌量 (Fig. 3)

投与1~2日の摂餌量は200mg/kg以上の薬物投与群において用量依存的な低値を示し、対照群との間に有意な差が認められた。投与8~9日および13~14日の摂餌量は、100mg/kg群では1例において餌の摂取がなく、他の2例においても摂取が少なかったために平均値では低値を示したが、対照群との間に有意な差は認められなかった。200および500mg/kg群では全例で餌の摂取がみられなかった。

### 4) 血液検査 (Table 1)

ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、赤血球数およびMCHCは500mg/kg群で低値を示し、ヘマトクリット値を除いて対照群との間に有意な差が認められた。MCVは200mg/kg群の2例、500mg/kg群の全例で高値を示したが、平均値には対照群との間に有意な差は認められなかった。網赤血球数は100mg/kg群の1例、200および500mg/kg群の全例で高値を示し、500mg/kg群において対照群との間に有意な差が認められた。なお、網赤血球数の変化は用量依存的なものであった。血液像では、500mg/kg群においてリンパ球の低値、好中球の高値がみられ対照群との間に有意な差が認められた。また、500mg/kg

Table 1. Hematology of female rabbits treated orally with NY-198 for 2 weeks

Group (mg/kg)	No. of rabbits	Hb (g/dl)	Hct (%)	RBC ×1000	MCV (fl)	MCHC (%)	Reti (%)	WBC ×100	M	L	Hemogram Me	Hp (%)	E	B	E B
Control	4	Mean 13.3 S.D. 0.7	41	584	70.3	32.4	2.9	62	5	67	0	24	2	3	0
100	3 a)	Mean 14.4 S.D. 0.5	44	639	69.4	32.4	5.8	55	4	71	0	20	2	3	0
200	3 a)	Mean 13.4 S.D. 0.5	42	559	75.2	32.0	8.8	36	5	64	0	29	1	1	1
500	3 a)	Mean 10.8* S.D. 1.1	37	428*	88.0	29.0*	21.5*	40	3	47*	0	48*	1	1	15
1000	0 b)	Mean S.D.	2	54	9.4	1.9	7.1	10	2	5	0	6	1	1	17

a) One rabbit was sacrificed because of paralysis of the hindlimb.  
 b) Three rabbits died until day 9 of administration and 1 rabbit was sacrificed because of paralysis of the hindlimb.

Hb - Hemoglobin Me - Metamyelocytes  
 Hct - Hematocrit Hp - Heterophil (Neutrophil) leukocytes  
 RBC - Red blood cell count : /cmm E - Eosinophil leukocytes  
 MCV - Mean corpuscular volume : fl- femtoliters B - Basophil leukocytes  
 MCHC - Mean corpuscular hemoglobin concentration EB - Erythroblast : /100 WBC  
 Reti - Reticulocytes  
 WBC - White blood cell count : /cmm  
 M - Monocytes  
 L - Lymphocytes

S. D. : Standard deviation  
 \* : Significantly different from control group, P<0.05

群の1例では赤芽球の著明な高値が認められた。

#### 5) 血清(血漿)生化学検査 (Table 2)

ALP 活性は100mg/kg群の1例, 200および500mg/kg群の全例で低値を示し, 200および500mg/kg群において対照群との間に有意な差が認められた。総蛋白量は200mg/kg群で低値を示し, 対照群との間に有意な差が認められた。クレアチニン値は100mg/kg群の1例, 200および500mg/kg群の全例で高値を示し, 200および500mg/kg群では対照群との間に有意な差が認められた。K 値は100mg/kg群の1例, 200および500mg/kg群の全例で低値を示し, 200および500mg/kg群において対照群との間に有意な差が認められた。Cl 値は500mg/kg群の全例で高値を示し, 対照群との間に有意な差が認められた。なお, AIP 活性, クレアチニン値およびK 値にみられた変化は用量依存的なものであった。

#### 6) 剖検所見

死亡例: 100mg/kg群の2例において胃に出血性の潰瘍がみられた。また, いずれの例においても胃壁に穿孔がみられ, 内容物が腹腔内に漏出していた。他の1例では, 胃に出血性および穿孔性の潰瘍, 腸間膜に点状出血および腸管の拡張が観察された。

切迫屠殺例: いずれの例においても触診により腰椎の骨折あるいは脱臼が確認された。

肉眼所見では100, 200および500mg/kg群の例に腰椎の骨折部位の周囲組織に出血が観察され, 200mg/kg群の例では胃に出血性の潰瘍および盲腸の拡張が観察された。

生存例: 100mg/kg群の1例に盲腸の拡張および胆嚢の拡張が観察された。200mg/kg群では2例において胃に潰瘍がみられ, 1例は出血性潰瘍であった。また, 同例では肝が黄色調を呈し, 盲腸の拡張も観察された。他の1例では胃粘膜の糜爛, 盲腸の拡張および胆嚢の拡張が観察された。また, 200mg/kg群の他の1例では脾臓が大きく, 盲腸の拡張が観察された。500mg/kg群では全例に盲腸の拡張, 胃あるいは十二指腸に潰瘍または糜爛などが観察された。

## 2. 本実験

### 1) 母体の一般状態

対照群には投薬期間中および投薬期間終了後のいずれの観察においても一般状態の変化は認められなかった。薬物投与群では投薬期間中の投与前の観察および投薬期間終了後の観察で以下の変化が認められた。

25mg/kg投与群では糞量の減少が15例中5例に観察され, これらのうち1例が妊娠27日に流産した。また, 他の1例に下痢が観察された。50mg/kg群では15例中14例に糞量の減少が観察され, 1例では妊娠27日に下痢も認められた。この糞性状の変化は多くの例で投薬中期より認められ, 妊娠末期まで継続した。また, 流産例が4例

あった。100mg/kg群では全例に糞量の減少が観察され, 1例では妊娠27日に軟便もみられた。この変化は投薬初期あるいは中期より発現するものが多く, 妊娠末期まで継続した。また, 25および50mg/kg群と同様に流産したものが15例中9例あり, 1例は発見時死亡していた。

投薬期間中の投与後の観察では, いずれの薬物投与群においても一般状態の変化は認められなかった。

なお, 25および50mg/kg群の各1例が投与手技の誤りのため死亡した。

### 2) 母体の体重 (Fig. 4)

25mg/kg群の体重は対照群に比べてわずかに低値を示したが, 有意な差は認められなかった。50mg/kg群では薬物の投与開始後, 妊娠28日まで減少がみられ, 妊娠19~26日までの間, 対照群との間に有意な差が認められた。100mg/kg群においても体重の減少がみられ, 妊娠14日以後対照群との間に差が認められた。

### 3) 母体の摂餌量 (Fig. 5)

25mg/kg群の摂餌量は対照群とほぼ同様であった。しかし, 流産した例では妊娠12日以後の摂餌がまったく認められなかった。50および100mg/kg群においては妊娠12日以後摂餌の認められない個体が多く, 50mg/kg群では妊娠12~13日および18~19日, また, 100mg/kg群では妊娠6~7日, 12~13日, 18~19日および23~24日の低値に対照群との間に有意な差が認められた。

### 4) 母体の妊娠に関する成績

剖検時の妊娠の成否の観察では, 対照群, 25および100mg/kg群の各1例が不妊であった。したがって, 妊娠母体数は対照群が13例, 25および100mg/kg群が各14例, 50mg/kg群が15例であった。しかし, 前述のごとく薬物投与群において死亡した個体あるいは流産した個体があったため, 妊娠末期の胎仔の観察を実施した母体数は対照群が13例, 25mg/kg群が12例, 50mg/kg群が10例, 100mg/kg群が5例であった。

### 5) 剖検所見

死亡例: 投与手技の誤りのため死亡した25および50mg/kg群の例では胸水, 肺に出血あるいは膨張などが観察された。100mg/kg群で死亡した例では胃潰瘍, 胆汁の充満による胆嚢の拡張が観察された。

流産例: 25および50mg/kg群の例には主要臓器の肉眼的な異常は認められなかった。100mg/kg群では胃潰瘍の個体が2例, 胆汁の充満による胆嚢の拡張を呈する個体が3例観察された。

妊娠28日剖検例: 100mg/kg群に穿孔性の胃潰瘍が1例にみられた以外, いずれの例においても主要臓器の肉眼的な異常は観察されなかった。

### 6) 母体の検査 (Table 3)

母体の黄体数および着床数には対照群と薬物投与群と

Table 2. Serum (Plasma) chemistry of female rabbits treated orally with NY-198 for 2 weeks

Group (mg/kg)	No. of rabbits	GPT	GOT	LDH	AIP	TP	TC	BUN	Creat	Na	K	Cl
Control	4	47	16	121	175	5.8	64	20.0	0.90	145	4.1	107
		34	7	20	17	0.3	34	2.5	0.12	2	0.3	1
100	3 a)	35	8	91	125	5.4	69	21.0	1.26	145	3.6	107
		14	1	21	45	0.3	27	2.4	0.30	1	0.8	1
200	3 a)	23	11	73	70*	5.0*	98	17.1	1.62*	144	2.8*	107
		6	5	38	9	0.3	32	2.3	0.23	1	0.2	4
500	3 a)	32	12	80	54*	5.8	61	23.8	2.55*	147	2.5*	115*
		5	5	35	7	0.5	28	8.5	0.46	3	0.2	2
1000	0 b)											
		Mean										
		S. D.										

a) One rabbit was sacrificed because of paralysis of the hindlimb.

b) Three rabbits died until day 9 of administration and 1 rabbit was sacrificed because of paralysis of the hindlimb.

GPT - Glutamic pyruvic transaminase, IU

GOT - Glutamic oxaloacetic transaminase, IU (Plasma)

LDH - Lactic dehydrogenase, IU (Plasma)

AIP - Alkaline phosphatase, IU

TP - Total protein, g/dl

TC - Total cholesterol, mg/dl

BUN - Blood urea nitrogen, mg/dl

Creat - Creatinine, mg/dl

Na - mEq/l

K - mEq/l

Cl - mEq/l

S. D. : Standard deviation

\* : Significantly different from control group,  $P < 0.05$

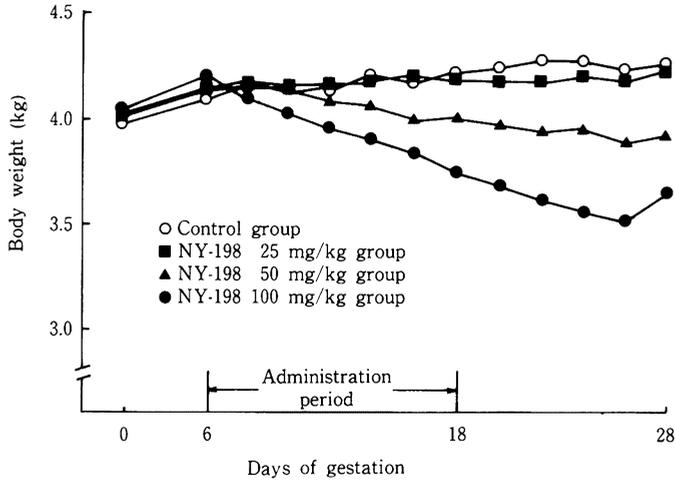


Fig. 4. Body weight of mothers in the main experiment. Body weight decreased in the 50 and 100 mg/kg groups.

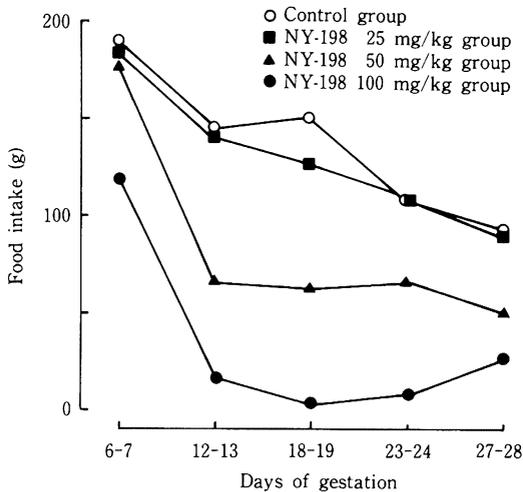


Fig. 5. Food intake of mothers in the main experiment. Low food intake was observed in the 50 and 100 mg/kg groups.

の間に有意な差は認められなかった。胎生期死亡率は100mg/kg群で高値を示したが、対照群との間に有意な差は認められなかった。生存胎仔数は25および50mg/kg群では対照群と同様であった。しかし、100mg/kg群では対照群に比べて有意な低値を示した。

胎盤重量は50mg/kg群においてオス、メスとも対照群に比べて有意な低値を示した。胎盤の異常として、25mg/kg群の1母体に胎盤の部分的な壊死が1例観察された。

#### 7) 生存胎仔の検査 (Table 3~7)

生存胎仔体重は50および100mg/kg群で低値を示し、オス、メスとも50mg/kg群において対照群との間に有意な差が認められた。25mg/kg群の生存胎仔体重には対照群との間に有意な差は認められなかった (Table 3)。

外表異常の胎仔はいずれの群にも観察されなかった。

内臓異常の胎仔は50mg/kg群の1母体に右心室乳頭筋の異常 (Fig. 6) および両側性の腎盂の拡張 (Fig. 7) が各1例観察されたのみであった (Table 4)。

骨格異常の胎仔は25mg/kg群の1母体に胸骨の非対称が1例 (Fig. 8), 50mg/kg群の1母体に頭頂骨の非対称が1例 (Fig. 9) みられたのみであった (Table 5)。

肋骨数および尾椎骨数の変異胎仔の出現についてみると、25mg/kg群にはいずれの項目にも対照群との間に有意な差は認められなかった。50および100mg/kg群では尾椎骨数の変異胎仔の出現率が高く、50mg/kg群では対照群との間に差が認められた。しかし、肋骨数の変異胎仔の出現率には対照群との間に有意な差は認められなかった (Table 6)。

骨格の化骨の遅速を示す形質についてみると、胸骨および中節骨の化骨遅延胎仔の出現率には対照群と薬物投与群との間に有意な差は認められなかった。中手骨の化骨遅延胎仔の出現率は50および100mg/kg群において高値を示し、50mg/kg群において対照群との間に有意な差が認められた。しかし、25mg/kg群には対照群との間に有意な差は認められなかった (Table 7)。

Table 3. Influence of NY-198 on number of corpora lutea and implantations, mortality of embryos, mortality of live fetuses and placental weight in rabbits

Group (mg/kg)	No. of mothers (M)	Total No. of corpora lutea (C)	Total No. of implant. (I)	Total No. of dead R. S. P. R. D. E. ( ) : Mean of embryonic mortality/litter	Male live fetuses ( ) : (L)/(M)	Female live fetuses ( ) : (L)/(M)	No. of live fetuses		Body weight (g)		Placental weight (g)	
							Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control	13	135 (10.4)	109 (8.4)	8 (13.1)	49	47	96 (7.4)	39.8 10.0	38.7 8.9	6.6 1.5	6.2 1.3	
25	12	109 (9.1)	91 (7.6)	3 (26.5)	36	38	74 (6.2)	35.1 8.0	36.7 7.6	5.9 1.3	5.8 1.0	
50	10	105 (10.5)	91 (9.1)	6 (15.8)	28	49	77 (7.7)	29.7* 10.9	29.9* 9.3	5.1* 1.7	5.0* 1.3	
100	5	49 (9.8)	35 (7.0)	3 (42.2)	8	10	18 (3.6*)	29.0 7.2	28.4 11.0	6.0 0.7	5.6 1.6	

a) Data calculated on 11 mothers, since live fetuses could not be obtained in 1 mother.  
 b) Data calculated on 10 mothers, since live fetuses could not be obtained in 2 mothers.  
 c) Data calculated on 4 mothers, since live fetuses could not be obtained in 1 mother.

R. S. : Resorption sites      P. R. : Placental remnants      D. E. : Dead embryos  
 implant : Implantations      S. D. : Standard deviation

\* : Significantly different from control group, P<0.05

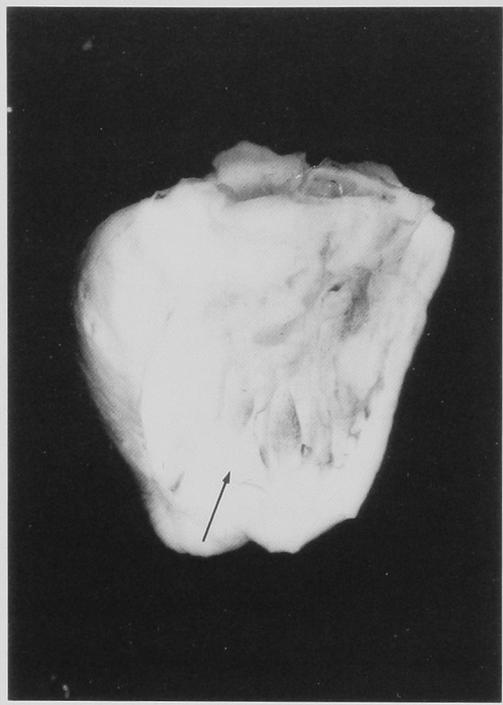


Fig. 6. Anomaly of the papillary muscle observed in the 50 mg/kg group.

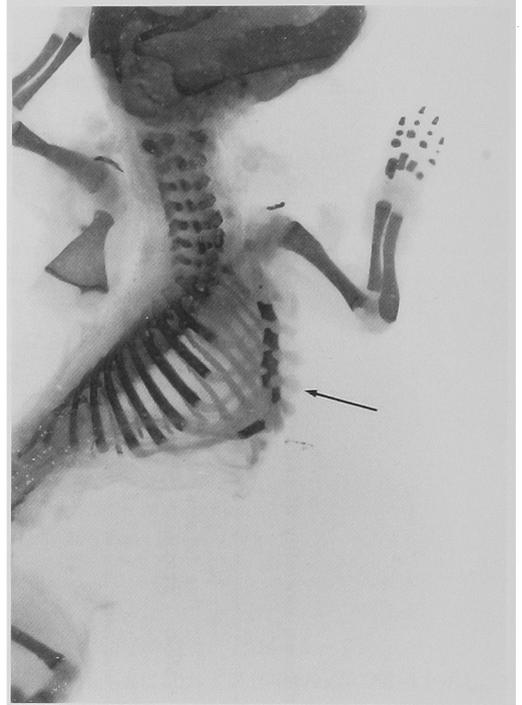


Fig. 8. Asymmetry of the sternbrae observed in the 25 mg/kg group.



Fig. 7. Dilatation of the renal pelvis observed in the 50 mg/kg group.



Fig. 9. Asymmetry of the parietal bone observed in the 50 mg/kg group.

Table 4. Visceral malformations in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	Control	25	50	100
No. of mothers	13	12 a)	10	5 a)
No. examined	96	74	77	18
No. of mothers with malformed fetuses	0	0	1	0
No. of malformed fetuses	0	0	2	0
Mean of %/litter	0.0%	0.0%	4.0%	0.0%
<u>Type</u>				
Anomaly of papillary muscle	0	0	1	0
Dilatation of renal pelvis	0	0	1	0

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.  
 No significant difference in any drug-treated groups against control group.

Table 5. Skeletal malformations in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	Control	25	50	100
No. of mothers	13	12 a)	10	5 a)
No. examined	96	74	77	18
No. of mothers with malformed fetuses	0	1	1	0
No. of malformed fetuses	0	1	1	0
Mean of %/litter	0.0%	0.8%	1.1%	0.0%
<u>Type</u>				
Asymmetry of sternebrae	0	1	0	0
Asymmetry of parietal bone	0	0	1	0

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.  
 No significant difference in any drug-treated groups against control group.

Table 6. Skeletal variation in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	No. of mothers	Total No. examined	No. of fetuses with skeletal variation	
			Ribs ( ) : Mean of %/litter	Caudal vertebrae ( ) : Mean of %/litter
Control	13	96	40 (43.7%)	10 ( 8.3% )
25	12 a)	74	22 (27.3%)	9 ( 9.1% )
50	10	77	18 (26.5%)	24 (34.6%*)
100	5 a)	18	9 (55.4%)	8 (53.1% )

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.  
 \* : Significantly different from control group,  $p < 0.05$

Table 7. Ossification in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	No. of mothers	Total No. examined	No. of fetuses with delayed ossification		
			Sternum ( ) : Mean of %/litter	Middle phalanx ( ) : Mean of %/litter	Metacarpus ( ) : Mean of %/litter
Control	13	96	19 (16.1%)	3 (2.3%)	7 (5.4%)
25	12 a)	74	12 (20.0%)	8 (12.5%)	2 (2.4%)
50	10	77	21 (25.7%)	9 (11.0%)	18 (23.8%*)
100	5 a)	18	2 (25.0%)	1 (12.5%)	3 (15.0%)

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.

\* : Significantly different from control group,  $P < 0.05$

### 3. 追加実験

#### 1) 母体の一般状態

本実験と同様、投薬期間中の投与前の観察および投薬期間終了後の観察で下痢あるいは糞量の減少が6.25mg/kg群の14例中7例、12.5mg/kg群の15例中6例に投薬後期の妊娠16または17日頃から発現し、投薬期間終了後の妊娠28日までの間、散見された。これらのうち、6.25および12.5mg/kg群の各1例が妊娠27日に流産した。なお、対照群においても排糞量の減少が1例に観察された。

投薬期間中の投与後の観察では一般状態の変化はいずれの群にも認められなかった。

#### 2) 母体の体重 (Fig.10)

薬物投与群の体重は対照群と同様で有意な差は認められなかった。なお、一般状態観察において糞性状に変化の認められた例において体重増加が抑制される傾向がみられた。

#### 3) 母体の摂餌量 (Fig.11)

投薬期間中に測定した摂餌量には対照群と薬物投与群との間に有意な差は認められなかった。妊娠23~24日および妊娠27~28日の摂餌量は薬物投与群で低値を示し、6.25mg/kg群の妊娠27~28日の摂餌量に対照群との間に有意な差が認められた。なお、糞性状に変化が認められた例、体重増加が抑制された例あるいは流産例では妊娠18日以降、摂餌の認められない例があった。

#### 4) 母体の妊娠に関する成績

剖検時の妊娠の成否の観察では12.5mg/kg群の1例が不妊であった。したがって、妊娠母体数は対照群が15例、6.25および12.5mg/kg群が各14例であった。しかし、6.25および12.5mg/kg群では流産例が各1例あったため、妊娠末期の胎仔の観察を実施した例数は各13例であった。

#### 5) 剖検所見

流産例：6.25mg/kg群の例において胃粘膜に軽度の出血性糜爛、十二指腸に軽度の出血性潰瘍および胆嚢の拡張が観察されたが、12.5mg/kg群の例には主要臓器の肉眼的な異常は認められなかった。

妊娠28日剖検例：6.25mg/kg群に肝が腫脹し、表面が凸凹状の個体、脾臓が小さい個体が各1例観察された以外、いずれの例にも主要臓器の肉眼的な異常は認められなかった。

#### 6) 母体の検査 (Table 8, 9)

母体の腸内細菌検査ではいずれの群においても *Bacteroidaceae* および *Streptococcus* には著明な変化はみられなかった。 *Enterobacteriaceae* は6.25および12.5mg/kg群において投薬期間中の妊娠12および18日には減少し、検出されない例もあったが、投薬終了後の28日には回復した (Table 8)。

母体の黄体数、着床数、胎生期死亡率および胎盤重量には対照群と薬物投与群の間に有意な差は認められなかった。また、胎盤の異常は観察されなかった (Table 9)。

#### 7) 生存胎仔の検査 (Table 9~13)

生存胎仔体重には対照群と薬物投与群との間に有意な差は認められなかった (Table 9)。

外表異常の胎仔はいずれの群にも観察されなかった。

内臓異常の胎仔は対照群の3母体に各1例出現したのみであった。出現した異常はいずれも肺の奇葉 (Fig.12) であり、1例 (Fig.13) では胆嚢の位置異常、房室口遺残、動脈管遺残および単心室も観察された (Table 10)。

骨格異常の胎仔は6.25および12.5mg/kg群の各2母体に各1例出現した。出現した異常は6.25mg/kg群では胸椎半脊椎 (Fig.14) および腰椎半脊椎 (Fig.15) が各1例、12.5mg/kg群では胸骨の非対称 (Fig.16) および左前

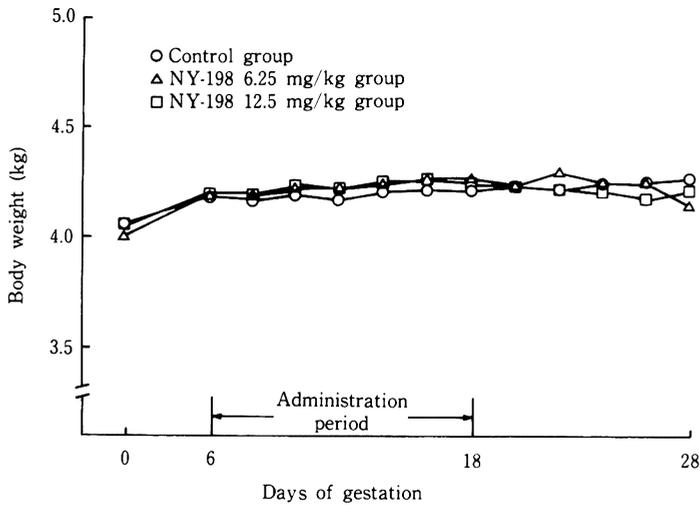


Fig. 10. Body weight of mothers in an additional experiment. Body weight was similar in both control and NY-198 treated groups.

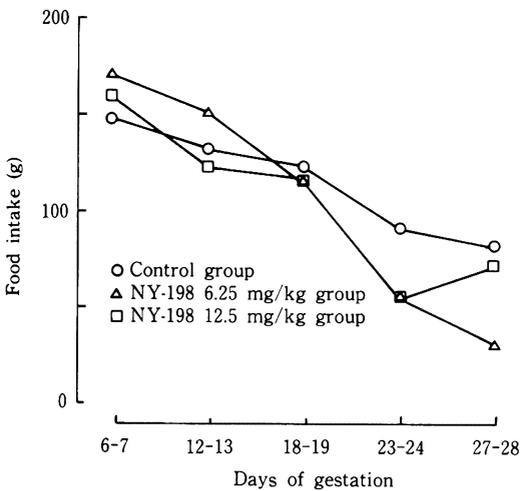


Fig. 11. Food intake of mothers in an additional experiment. Food intake was similar in both control and NY-198 treated groups.

肢第1指の基節骨の欠損 (Fig.17) であった (Table 11)。

肋骨数および尾椎骨数の変異胎仔の出現率には対照群と薬物投与群との間に有意な差は認められなかった (Table 12)。

骨格の化骨の遅速を示す形質である胸骨、中節骨および中手骨の化骨遅延胎仔の出現率には対照群と薬物投与群の間に有意な差は認められなかった (Table 13)。

### III 考 察

投与用量設定のための予備実験の結果、100mg/kgの投与では4例中2例において体重減少がみられ、これら2例中1例では投薬中期以降、餌の摂取は認められなかった。200mg/kg以上の投与では全例で体重減少がみられ、1000mg/kgの投与では死亡例があった。生殖試験における最高用量は摂餌量の低下、体重増加抑制など何らかの毒性徴候が現れる量とされている<sup>5)</sup>。したがって、最高用量を100mg/kgとして胎仔の器官形成期投与試験を行なった。

母体に及ぼす影響に関して、糞量の減少あるいは下痢など糞性状の変化が薬物投与全群に観察され、50および100mg/kg群で顕著であった。また、これらの多くの例に摂餌障害および体重の増加抑制が認められ、6.25、12.5および25mg/kg群の各1例、50mg/kg群の4例、100mg/kg群の9例が流産した。ウサギは一般にpenicillin系やcephalosporin系の抗生物質に対する感受性が高く、毒性が発現しやすいことが知られている<sup>6,7)</sup>。また、これらの抗生物質のウサギにおける催奇形性試験では下痢、糞量の減少、摂餌量の減少、体重の増加抑制などを起こし、全身状態の悪化が著しい例では流産あるいは早産を起こすことが報告されている<sup>8-15)</sup>。その原因として、追加実験でみられたように抗生物質投与による腸内細菌叢の変動が考えられる。したがって、薬物投与全群で観察された母体の変化は本薬の強い抗菌力の影響と考えられる。

母体の黄体数および着床数には本薬投与の影響は認められなかった。

Table 8. Changes of bacterial flora in stools of rabbits treated orally with NY-198 from 6th to 18th days of gestation

Organism	Group (mg/kg)	No. of rabbits	Bacterial number (log) per g stools							
			Day of gestation							
			5		12		18		28	
			Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
<i>Bacteroidaceae</i>	Control	8	8.9	0.5 (8)	9.7	0.4 (7)	9.6	0.4 (6)	9.6	0.2 (6)
	6.25	8	9.1	0.3 (6)	9.3	0.7 (7)	9.6	0.8 (7)	9.3	0.9 (5)a)
	12.5	8	9.1	0.7 (8)	9.4	0.7 (7)	9.2	0.9 (6)	8.9	0.8 (6)b)
<i>Streptococcus</i>	Control	8	4.7	0.9 (8)	4.4	0.6 (8)	4.3	0.7 (8)	4.9	1.1 (8)
	6.25	8	4.1	0.8 (7)	4.8	1.2 (8)	4.3	0.7 (7)	4.8	0.5 (6)a)
	12.5	8	4.3	0.6 (8)	4.2	0.9 (8)	4.6	0.8 (8)	5.6	0.6 (6)b)
<i>Enterobacteriaceae</i>	Control	8	5.0	0.5 (6)	4.4	0.9 (6)	4.3	1.3 (7)	4.9	0.8 (7)
	6.25	8	3.7*	1.3 (7)	2.0	— (1)	2.6	— (1)	5.0	1.1 (5)a)
	12.5	8	4.2	1.1 (6)	—	— (0)	—	— (0)	3.7	1.0 (4)b)

( ) : Number of bacterium-positive samples

S. D. : Standard deviation

\* : Significantly different from control group,  $p < 0.05$ 

a) Sample could not be obtained in 2 rabbits.

b) Sample could not be obtained in 1 rabbit.

Table 10. Visceral malformations in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	Control	6.25	12.5
No. of mothers	15	13 a)	13
No. examined	116	102	103
No. of mothers with malformed fetuses	3	0	0
No. of malformed fetuses	3	0	0
Mean of %/litter	3.0%	0.0%	0.0%
<u>Type</u>			
Azygos lobe of the lung	3 b)	0	0
Persistent atrioventricular orifice, persistent truncus arteriosus, univentricular heart & malposition of gallbladder	1 b)	0	0

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.

b) Observed in the same case.

No significant difference in any drug-treated groups against control group.

Table 9. Influence of NY-198 on number of corpora lutea and implantations, mortality of embryos, mortality of embryos, body weight of live fetuses and placental weight in rabbits

Group (mg/kg)	No. of mothers (M)	Total No. of corpora lutea (C) ( ) : (C)/(M)	Total No. of implant. (I) ( ) : (I)/(M)	Total No. of dead		R. S. ( ) : Mean of embryonic mortality/litter	P. R. ( ) : (L)/(M)	D. E. ( ) : (L)/(M)	No. of live fetuses		Total (L) ( ) : (L)/(M)		Body weight (g)		Placental weight (g)	
				R. S.	P. R.				Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Control	15	155 (10.3)	140 (9.3)	13	0	11 (14.5)	48	68	116 (7.7)	36.7 5.1	37.1 5.0	6.1 1.3	6.0 1.3	a)		
6.25	13	148 (11.4)	124 (9.5)	15	0	7 (14.9)	52	50	102 (7.8)	33.9 7.6	32.2 7.4	6.1 1.3	5.9 1.0	b)		
12.5	13	143 (11.0)	127 (9.8)	7	0	17 (16.2)	55	48	103 (7.9)	35.4 8.7	33.1 6.2	6.3 1.8	5.9 1.4	b)		

a) Data calculated on 14 mothers, since live fetuses could not be obtained in 1 mother.

b) Data calculated on 12 mothers, since live fetuses could not be obtained in 1 mother.

R. S. : Resorption sites    P. R. : Placental remnants    D. E. : Dead embryos  
implant : Implantations    S. D. : Standard deviation

No significant difference in any drug-treated groups against control group.

Table 11. Skeletal malformations in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	Control	6.25	12.5
No. of mothers	15	13 a)	13
No. examined	116	102	103
No. of mothers with malformed fetuses	0	2	2
No. of malformed fetuses	0	2	2
Mean of %/litter	0.0%	1.8%	2.3%
<u>Type</u>			
Hemivertebra	0	2	0
Asymmetry of the sternebrae	0	0	1
Absence of the proximal phalanx	0	0	1

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.

No significant difference in any drug-treated groups against control group.

Table 12. Skeletal variation in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	No. of mothers	Total No. examined	No. of fetuses with skeletal variation	
			Ribs ( ): Mean of %/litter	Caudal vertebrae ( ): Mean of %/litter
Control	15	116	43 (36.3%)	14 (10.5%)
6.25	13 a)	102	41 (41.6%)	9 ( 7.7%)
12.5	13	103	42 (41.6%)	16 (14.3%)

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.

No significant difference in any drug-treated groups against control group.

胎仔の生存に及ぼす影響に関して、100mg/kg群では胎生期死亡が増加した。しかし、50mg/kg以下の用量では本薬の影響は認められなかった。胎仔の発育に及ぼす影響に関して、50および100mg/kg群では体重が低値を示し、中手骨の化骨が遅延した。25mg/kg以下の用量では本薬投与の影響は認められなかった。ウサギを用いた抗生物質の催奇形性試験では胎仔の発育遅延、胎生期死亡の増加が起こることが報告<sup>11-13)</sup>されており、BROWN et al.<sup>16)</sup>が tetracycline や penicillin で推測したように母体の腸内細菌叢の変化、摂餌障害などによる二次的な影響と考えられる。

催奇形性はいずれの薬物投与群においても認められなかった。尾椎骨数の変異個体が50および100mg/kg群で多く出現したが、肋骨数の変異個体の出現はいずれの薬物投与群においても対照群と同様であった。

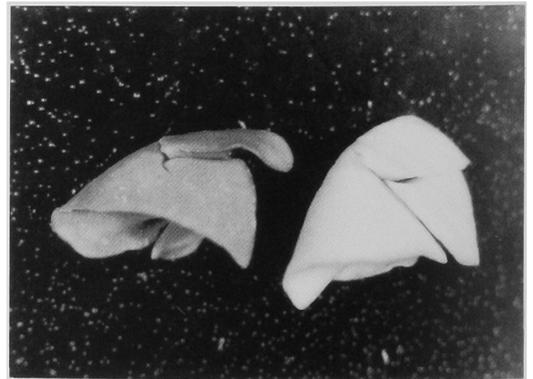


Fig. 12. Azygos lobe of the lung observed in the control group. Right side: Normal.

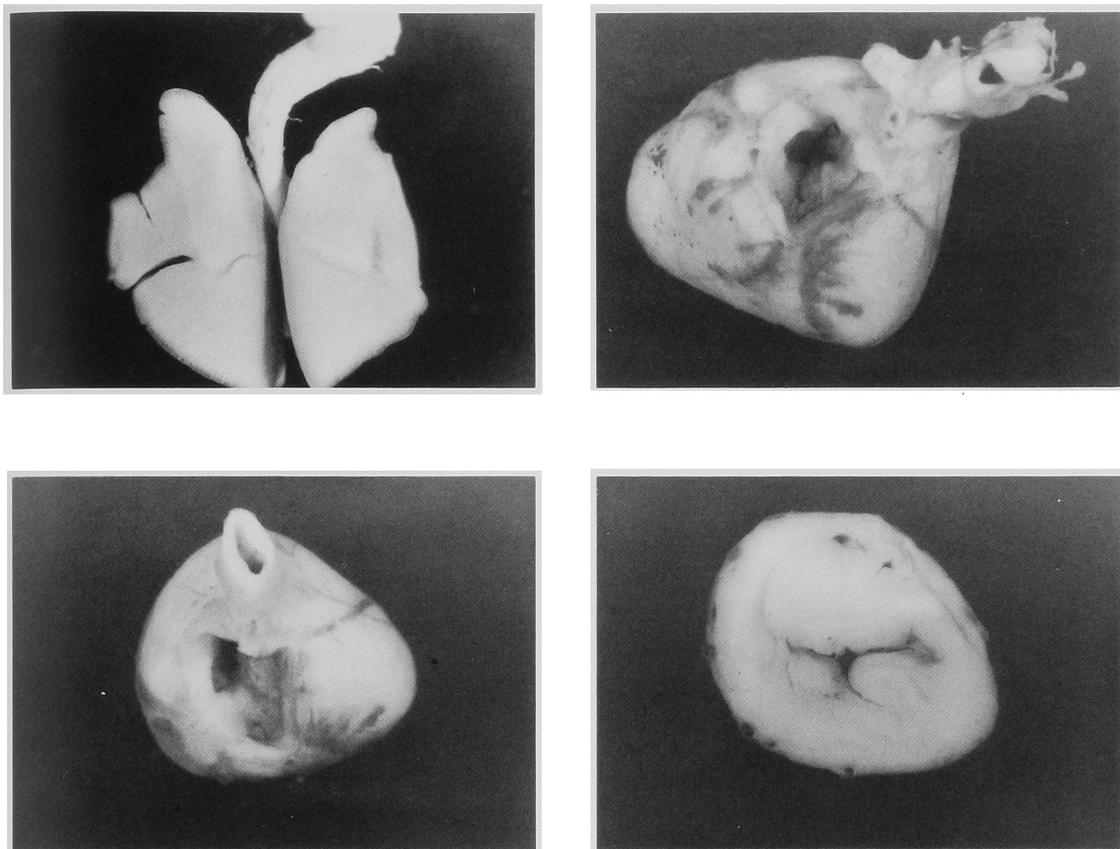


Fig. 13. Azygos lobe of the lung, malposition of gallbladder, persistent atrioventricular orifice, persistent truncus arteriosus, and univentricular heart observed in the control group.

Table 13. Ossification in live fetuses of rabbits treated orally with NY-198

Group (mg/kg)	No. of mothers	Total No. examined	No. of fetuses with delayed ossification		
			Sternum ( ) : Mean of %/litter ( )	Middle phalanx ( ) : Mean of %/litter ( )	Metacarpus ( ) : Mean of %/litter
Control	15	116	28 (22.3%)	19 (16.7%)	11 ( 8.8%)
6.25	13 a)	102 b)	25 (23.6%)	6 ( 4.3%)	11 (10.5%)
12.5	13	103	18 (15.8%)	17 (15.7%)	8 ( 9.6%)

a) Live fetuses could not be obtained in 1 mother.

b) One specimen that failed to clear was excluded from the data regarding middle phalanx.

No significant difference in any drug-treated groups against control group.



Fig. 14. Thoracic hemivertebra observed in the 6.25 mg/kg group.



Fig. 16. Asymmetry of the sternbrae observed in the 12.5 mg/kg group.

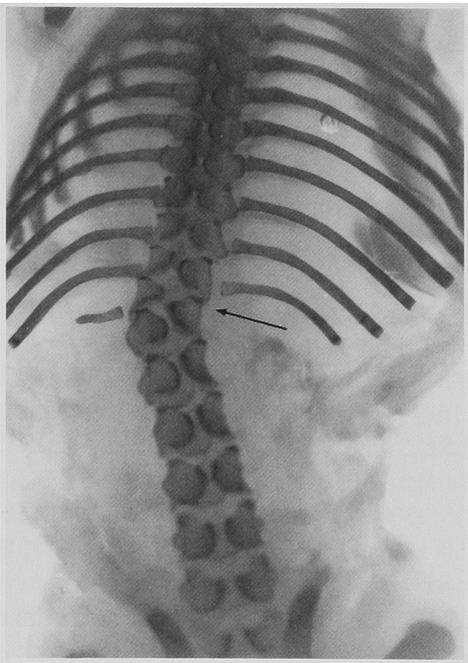


Fig. 15. Lumbar hemivertebra observed in the 6.25 mg/kg group.

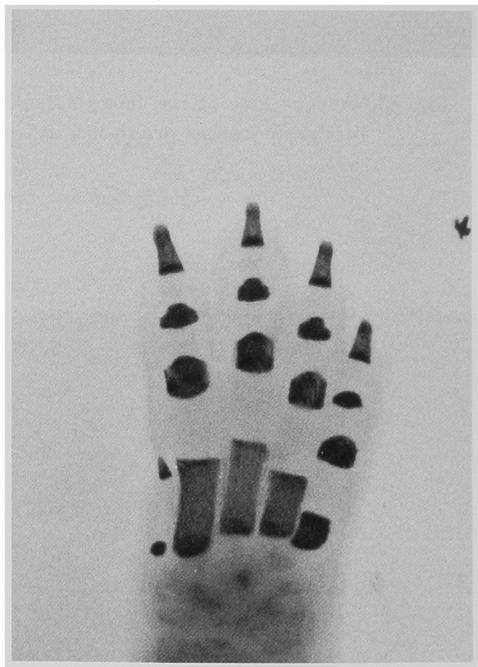


Fig. 17. Absence of the 1st proximal phalanx of the left forelimb observed in the 12.5 mg/kg group.

以上、本試験における母体の無影響量は本薬の強い抗菌作用による影響が発現したために把握できなかった。また、胎仔の無影響量は生存に関しては50mg/kg、発育に関しては25mg/kg、催奇形性に関しては100mg/kgと判断され、これらを総括すると25mg/kgであると判断された。試験期間：1985年8月22日～1987年3月19日

## 文 献

- 1) GIBSON, J. P. ; R. E. STAPLES & J. W. NEWBERNE : Use of the rabbit in teratogenicity studies. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 9 : 398-408, 1966
- 2) SEMBA, R. : Cardiovascular malformations found in 1286 externally normal human embryos alive in utero. *Teratology* 13 : 341-344, 1976
- 3) DAWSON, A. B. : Note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.* 1 : 123-124, 1926
- 4) 光岡知足 : 腸内細菌叢の検索手技。感染症学雑誌 45 : 406-419, 1971
- 5) 薬審第118号 : 医薬品の製造 (輸入) 承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて
- 6) GRAY, J. E. & C. LEWIS : Enigma of antibiotic-induced diarrhea in the laboratory rabbit. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 8 : 342, 1966
- 7) MADISSOO, H. ; C. D. JOHNSTON, W. J. SCOTT, I. HOLME & M. H. PINDELL : Toxicologic and teratologic studies on antibiotics in rabbits. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 10 : 379, 1967
- 8) 長谷川端彦, 吉田豊彦, 光前嗣郎 : Cefamandole のラットおよびウサギにおける催奇形性試験, *Chemotherapy* 27 : 658-680, 1979
- 9) 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, 鈴木勝士, 今道友則 : Cefadroxil (S-578) の毒性に関する研究。第7報, 生殖試験 : ウサギにおける胎仔の器官形成期投与試験。The Japanese Journal of Antibiotics 33 (4) : 497-502, 1980
- 10) 杉崎孝之, 赤池雅司, 林昌亮 : Cefotaxime のウサギの生殖に及ぼす影響。胎仔の器官形成期静脈内投与試験。応用薬理 21 (2) : 375-384, 1981
- 11) 古橋忠和, 加藤育雄, 仲吉洋 : Ceftazidime の安全性に関する研究 (VIII)。Chemotherapy 31 : 961-967, 1983
- 12) 西川智, 原卓司, 宮崎英治, 大黒友路 : KW-1414 の安全性に関する研究 (第3報) —生殖に及ぼす影響に関する試験—。基礎と臨床 18 (4) : 313-328, 1984
- 13) 加島正明, 青山卓夫, 能勢尚志 : Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) のウサギにおける器官形成期投与試験。基礎と臨床 19 (2) : 71-83, 1985
- 14) 子林孝司, 有行史男, 桧垣鴻, 柴野隆司, 加納正敏, 北原節子, 中川博司 : Sulconazole nitrate (RS 44872) のラットおよびウサギの生殖に及ぼす影響。応用薬理 30 (3) : 451-465, 1985
- 15) 西村秀雄, 清藤英一 : 催奇形性等発生毒性に関する薬品情報。第2版, 1321-1445頁, 東洋書店, 1986
- 16) BROWN, D. M. ; K. H. HARPER, A. K. PALMER & S. A. TESH : Effect of antibiotics upon pregnancy in the rabbits. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 12 : 295, 1968

## TERATOLOGICAL STUDY OF ORAL ADMINISTRATION OF NY-198 IN RABBITS

TATSUO UMEMURA, HITOSHI SASA, TSUYOSHI IIZUKA and TOMOJI YANAGITA  
Preclinical Research Laboratories, Central Institute for Experimental Animals, Kawasaki

We investigated the effect of NY-198 on rabbit dams and fetuses by oral administration in a main and additional experiments. Based on the results of a preliminary experiment in which non-pregnant rabbits were orally given doses of 100, 200, 500 and 1000 mg/kg for two weeks, 100 mg/kg, which influenced body weight and food intake, was chosen as the highest dose in the main experiment. For the lowest dose, 25 mg/kg, which is considered to be the upper limit of the expected clinical dose, was selected, and 50 mg/kg was set as the middle dose. In an additional experiment, the two dosages were set at 12.5 mg/kg and 6.25 mg/kg from the results in the main experiment. In both experiments, the drug was administered once daily from days 6 to 18 of gestation. In each group, 14 or 15 female rabbits that had been artificially inseminated were killed on day 28 of gestation and their fetuses were examined externally, skeletally, and viscally.

1. With respect to the results obtained in the 6.25, 12.5 and 25 mg/kg groups, decrease in stool and/or diarrhea were observed in five to seven cases in each group, and one case each in these groups aborted on day 27 of gestation. These animals did not take food during the latter part of the administration period, and their body weight gain was inhibited. Examination of bacterial flora in stools of the 6.25 and 25 mg/kg groups showed that the number of *Enterobacteriaceae* decreased during the administration period. However, no influence attributable to the drug was found in the fetuses of any group.

2. Regarding the results obtained in the 50 and 100 mg/kg groups, changes in the stools were observed in most cases, and four cases in the 50 mg/kg group and nine cases in the 100 mg/kg group aborted on or after day 24 of gestation. Most animals in these groups did not eat and their body weight decreased. With respect to influence on the fetuses, the appearance of fetuses with variant numbers of caudal vertebrae was high, and growth retardation with respect to body weight and ossification of the metacarpi was observed in both groups. Also, embryonic mortality was high in the 100 mg/kg group. There was, however, no teratogenicity in either group.

From the above results, the non-effect dose in the dams of the present study could not be determined due to antimicrobial action of the drug. On the other hand, the non-effect doses in the fetuses were judged to be 50 mg/kg regarding survival, 25 mg/kg regarding growth, and 100 mg/kg regarding teratogenicity, with an overall non-effect dose in fetuses of 25 mg/kg.