

TE-031の生殖試験(第4報) ラットにおける周産期および授乳期投与試験

山田 隆・井上忠広・中根貞雄
大正製薬株式会社総合研究所

ラットの周産期・授乳期に TE-031 の 10, 40 および 160 mg/kg を経口投与し、母獣ならびにその産仔に及ぼす影響について検討した。

1. 母獣の観察からは、一般状態、分娩、妊娠日数などに影響は認められなかったが、160 mg/kg 群に体重の増加抑制ならびに摂餌量の減少がみられた。

2. 産仔の観察からは、160 mg/kg 群の生後発育に若干遅れが認められたが、行動、機能、情動性、学習能ならびに生殖能に影響は認められなかった。

以上の成績より、本試験の無影響量は、母獣、産仔とも 40 mg/kg であると考えられた。

TE-031 は大正製薬株式会社で開発された新規マクロライド系抗生物質である。

本薬物の生殖試験については既にラットにおける妊娠前・妊娠初期投与試験¹⁾ および器官形成期投与試験²⁾ を実施し報告した。

今回、TE-031 をラットの周産期および授乳期に投与し、母獣ならびに産仔に及ぼす影響について検討したので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 被験薬物

TE-031 (一)-(3R, 4S, 5S, 6R, 7R, 9R, 11R, 12R, 13S, 14R)-4-[(2, 6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-12, 13-dihydroxy-7-methoxy-3, 5, 7, 9, 11, 13-hexamethyl-6-[[3, 4, 6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecane-2, 10-dione は、Fig. 1 に示す化学構造を有する白色無臭結晶性粉末で、chloroform に溶けやすく、acetone にやや溶けやすく、methanol, ethanol, ethyl ether および acetonitrile に溶けにくく、水にはほとんど溶けない。

2. 使用動物および飼育条件

動物は Wistar 系ラット(静岡県実験動物農業協同組合)で、未妊産雌 11 週齢(体重: 130~170 g) および雄 12 週齢(体重: 230~270 g) を購入し、1 週間の予備飼育後実験に使用した。

飼育は、木屑敷プラスチックケージに動物を収容し、温度 21~24°C, 湿度 50~72%, 照明時間 12 時間 および換気回数 15~20 回/時間の空調動物舎で固型飼料(オリエンタル酵母社製: MF) および殺菌水を自由に摂取させる方法で行った。

妊娠動物を得るために、雌雄を 2 対 1 の割合で昼夜同居させ、翌朝、膈内に精子の認められた雌を妊娠動物として選び、その日を妊娠 0 日と定め用いた。妊娠動物は平均体重が等しくなるように群分けし、1 群 21 匹(予試験 5 匹)を試験に供した。

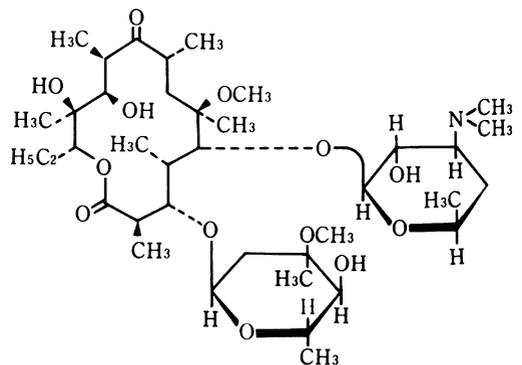
3. 投与および投与方法

投与量決定の為の予試験として TE-031 の 50, 100 および 200 mg/kg を妊娠 17 日から分娩後 6 日まで経口投与した。その結果、200 mg/kg 群において母獣に体重の増加抑制傾向ならびに 2/5 例の哺育放棄がみられ、また、100 mg/kg 群において産仔に体重の増加抑制が認められた(Fig. 2, Table 1)。

これより、本試験において母獣に毒性が確実に現れると推定される最高投与用量に 160 mg/kg (ラット器官形成期試験²⁾ と同一) を選び、以下中間用量 40 mg/kg, 最低用量 10 mg/kg (推定臨床用量) を設定した(公比 4)。

TE-031 は 5% アラビアゴム懸濁液とし、体重 1 kg 当

Fig. 1 Chemical structure of TE-031



り5 mlの割合で1日1回(1:00~3:00p.m.)胃ゾンデを用い、強制経口投与した。なお、5%アラビアゴム溶液(5 ml/kg)のみを投与した群を設け、対照群とした。

4. 投与期間

妊娠17日より分娩後21日まで連日投与した。

5. 検査方法

1) 母獣(F₀)

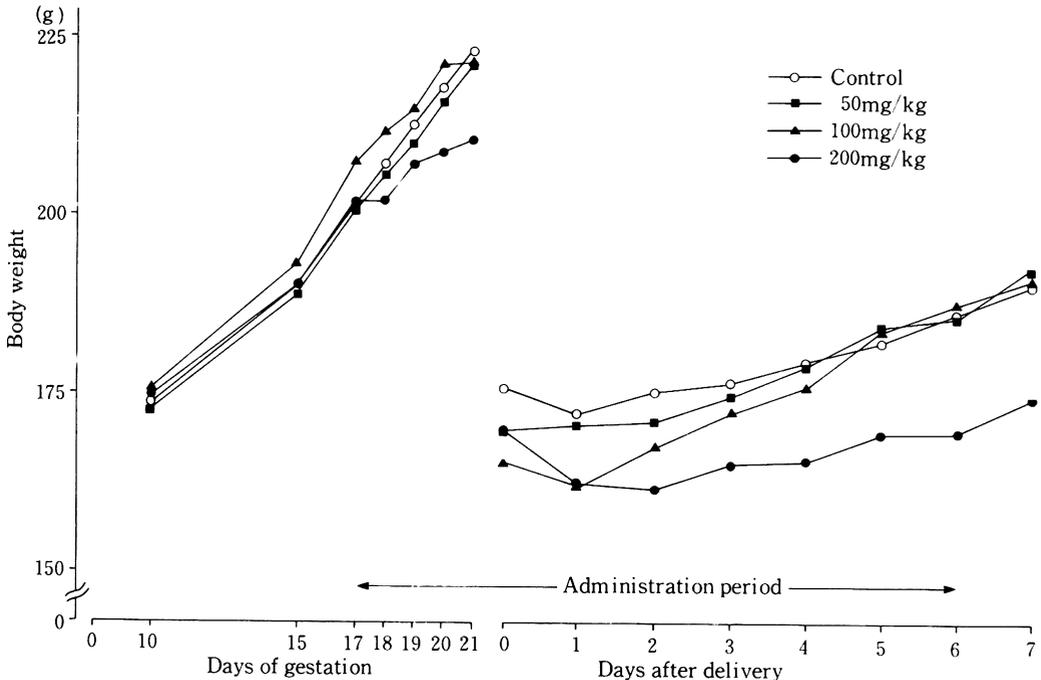
母獣(F₀)は一般状態を毎日観察し、体重を妊娠0, 6, 10, 15日, 妊娠17日~分娩後22日まで毎日、摂餌量を妊娠10, 15, 18および20日, 分娩後2, 7, 14および22日に測定した。母獣は全例自然分娩させ、可能な限り分娩状態を観察し、妊娠日数(精子確認日から分娩日までの日数)および出産率(生仔出産雌数/妊娠雌数×100)を算出した。分娩後は哺育状態を観察し、分娩後22日に全例頸椎脱臼により屠殺し、胸腹部内諸器官の肉眼的観察および子宮内の着床痕数を調べた。なお、判定しがたい着床痕については、2%水酸化ナトリウムによる子宮透明化染色法³⁾で判定した。着床痕数は出生数と比較し、出生率(出産生仔数/着床痕数×100)を算出した。

2) 産仔(F₁)

出産直後に産仔数, 生死, 性別および外表異常の有無を調べ、4日齢時に1母獣当たり産仔が8匹を越える場合についてのみ8匹になるように調整した。生後の一般状態ならびに外表分化状態(耳介開展日, 歯芽萌出日, 発毛日, 眼瞼開裂日, 精巣下降日, 膈開口日)を毎日観察し、体重を全生存仔について、生後0, 4, 7, 14および22日に、また22日以降は生殖能検査に供した産仔についてのみ一週毎に8週齢まで測定した。生存率については生後4日(生後4日の生存数/出産生仔数×100)および生後22日(生後22日の生存数/生後4日の調整直後の生存数×100)にそれぞれ算出した。

生後22日(離乳)には、原則として1母獣当たり雌雄各2匹を残し剖検した。剖検仔(59~71匹/群)については胸腹部内諸器官の肉眼的観察および軟X線撮影(ソフテックス社:CMB-2型)による骨格検査を行った。そのうち、1母獣当たり雌雄各1匹(雄:16~17匹/群, 雌13~18匹/群)については主要な器官(胸腺, 心臓, 肺, 肝臓, 脾臓, 腎臓および精巣)の重量を測定した。

Fig. 2 Body weight changes in dams (Preliminary examination)



生存させた産仔の1母獣当たり雌雄各1匹(雄:18~20匹/群, 雌:18~20匹/群)については, 4週齢時にFox⁴⁾, IRWIN⁵⁾ および ALTMAN⁶⁾ の方法に準じ, 正向, 耳介, 音, 角膜, 光, 痛覚の各反射および平衡感覚を, 5週齢時に傾斜板(シナノ製作所:SN-463型)により筋力を調べた。さらに7週齢時にSCHAPIRO⁷⁾, 山田ら⁸⁾ の方法による遊泳の運動協調性ならびに水迷路(Water-filled-multiple T-maze:室町機械:WM-01型, 縦・横各120cm, 深さ20cm, 水温23~25℃)で学習能を検索した。また, 8週齢時に山田ら⁸⁾ の方法による受動的回避反応(Passive

avoidance response apparatus, P.A.R. 自社製装置)により学習能ならび情動性(P.A.R. のフィールド内におけるオープンフィールドテスト)の検索を行った。

機能, 情動性, 学習能検査に用いなかった産仔は10週齢以降に1母獣当たり雌雄各1匹(雄:21匹/群, 雌:21匹/群)を用いて生殖能を検査した。検査は同一群内で兄妹を避け, 雌雄各1匹を1対1の割合で約3週間同居させ, 交尾率(交尾動物数/同居動物数×100)を算出した。交尾成立の雌のうち約半数を妊娠20日に開腹し, 妊娠の有無, 着床数, 黄体数, 生存仔(F₂)数および死亡仔(F₂)

Table 1 Findings in dams (F₀) and offspring (F₁) after delivery
(Preliminary examination)

Group	Control	50mg/kg	100mg/kg	200mg/kg
No. of dams (F ₀)	5	5	5	5
Gestation period (day)	22.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	22.2 ± 0.4	22.0 ± 0.0
No. of implantation traces	43	42	48	39
Implantation traces per litter	8.6 ± 1.7	8.4 ± 1.8	9.6 ± 3.1	7.8 ± 1.9
Delivery rate (%) ^①	100.0 (5/ 5)	100.0 (5/ 5)	100.0 (5/ 5)	100.0 (5/ 5)
No. of newborns	37	39	46	34
Newborns per litter	7.4 ± 1.8	7.8 ± 1.8	9.2 ± 3.5	6.8 ± 1.8
No. of live newborns	37	39	46	34
Live newborns per litter	7.4 ± 1.8	7.8 ± 1.8	9.2 ± 3.5	6.8 ± 1.8
Birth rate (%) ^②	86.0 (37/ 43)	92.9 (39/ 42)	95.8 (46/ 48)	87.2 (34/ 39)
Sex ratio (Male/Female)	0.54(13/ 24)	0.56(14/ 25)	0.77(20/ 26)	1.13(18/ 16)
No. of stillborn	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
No. of external anomalies	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Body weight (g)				
Male				
Days after birth	0	0	0	0
0	5.38 ± 0.18	5.31 ± 0.17	4.70 ± 0.64	5.30 ± 0.46
7	12.6 ± 1.57	12.8 ± 0.40	11.8 ± 1.34	12.2 ± 0.17
Female				
Days after birth	0	0	0	0
0	5.10 ± 0.18	4.90 ± 0.21	4.37 ± 0.43**	4.81 ± 0.18
7	11.9 ± 1.50	12.4 ± 0.34	11.3 ± 1.18	11.6 ± 0.71
Survival rate (%) ^③				
On day				
7	97.3 (36/ 37)	97.4 (38/ 39)	95.7 (44/ 46)	50.0 (17/ 34)

Mean ± S.D.

[] : No. of dams involved with case

① : (No. of animals delivered with live newborns/No. of pregnant animals)×100

② : (No. of live newborns/No. of implantation traces)×100

③ : On day 7 ; (No. of live offspring on day 7/No. of live newborns) ×100

** : p<0.01

Fig. 3 Body weight changes in dams $\langle F_0 \rangle$

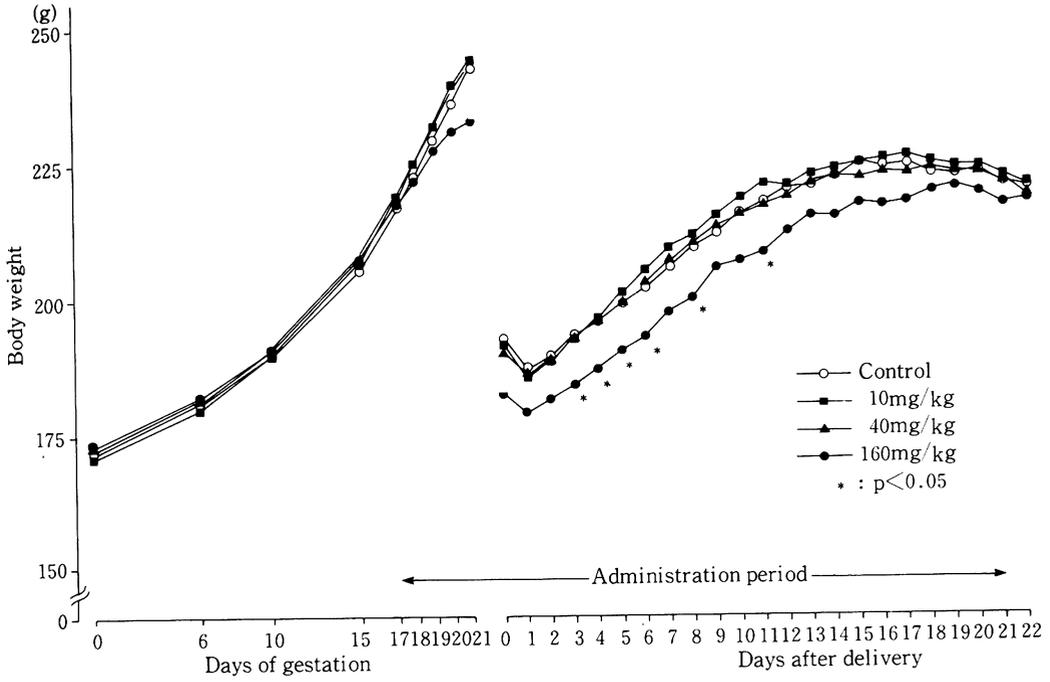
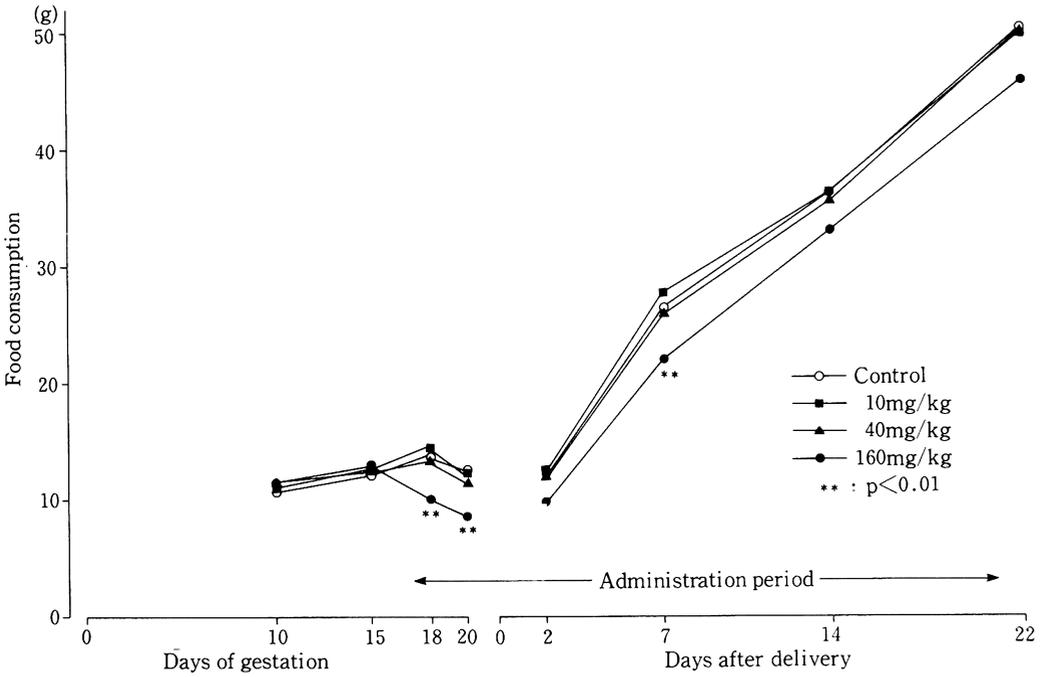


Fig. 4 Food consumption changes in dams $\langle F_0 \rangle$



数を調べた。死亡仔はその形状により吸収、初期(吸収胚よりやや大きい褐色塊)、中期(初期と後期の中間の形状、頭部、四肢をかくらうじて判別できるもの)および後期(頭部、四肢が完全に判別できるもの)死亡に分類した。生存胎仔は性別判定、外表検査および体重測定を行った。残りの交尾成立雌は自然分娩させ、分娩状態、妊娠日数、出産率、哺育状態を調べ分娩後21日に剖検し、着床痕数を測定した。また、開腹および分娩雌より妊娠成立の明らかな雌を数え、受胎率(妊娠動物数/交尾動物数×100)を算出した。産仔(F₂)は産仔数、生死、出生率、性別および外表異常の有無を調べ、生後4日には1母獣当たり産仔が8匹を越える場合についてのみ8匹になるように調整した。また、体重を生後0、4および21日に測定し、生存率を生後4日および21日に算出した。なお、生存仔

は生後21日に全例屠殺した。

6. 統計処理

得られたデータについて、多重比較検定を実施した。平均値については Bartlett 法による等分散検定を行い、等分散の場合には一元配置分散分析を経て、Dunnett あるいは Scheffe 検定、不等分散の場合には Kruskal-Wallis(H)検定を経て Mann-Whitney(U)検定を行った。出現率および百分率については、順位尺度変数の場合には H 検定を経て U 検定、類別尺度変数の場合には累積 χ^2 検定を経て $2 \times 2 \chi^2$ 検定あるいは Fisher の直接確率法で行った。統計学的有意性は、いずれも危険率 1% および 5% で検討した。なお、胎仔・産仔に関しては、性比を除きすべて腹単位とした。

Table 2 Findings in dams <F₀> and offspring <F₁> after delivery

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of dams (F ₀)	21	21	21	21
Gestation period (day)	22.0 ± 0.2	22.0 ± 0.2	22.0 ± 0.2	22.1 ± 0.4
No. of implantation traces	195	207	205	186
Implantation traces per litter	9.3 ± 2.5	9.9 ± 1.8	9.8 ± 2.3	8.9 ± 3.0
Delivery rate (%) ^①	100.0 (21/ 21)	100.0 (21/ 21)	100.0 (21/ 21)	100.0 (21/ 21)
No. of newborns	167	176	171	168
Newborns per litter	8.0 ± 2.5	8.4 ± 2.3	8.1 ± 2.3	8.0 ± 2.9
No. of live newborns	166	176	170	168
Live newborns per litter	7.9 ± 2.4	8.4 ± 2.3	8.1 ± 2.3	8.0 ± 2.9
Birth rate (%) ^②	85.1 (166/195)	85.0 (176/207)	82.9 (170/205)	90.3 (168/186)
Sex ratio (Male/Female)	1.10(87/ 79)	1.02(89/ 87)	0.93(82/ 88)	1.05(86/ 82)
No. of stillborn	1 [1]	0 [0]	1 [1]	0 [0]
No. of external anomalies	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Survival rate (%) ^③				
On day 4	98.2 (163/166)	98.9 (174/176)	96.5 (164/170)	96.4 (162/168)
On day 22	100.0 (146/146)	100.0 (153/153)	99.3 (147/148)	98.6 (137/139)

Mean ± S.D.

[]: No. of dams involved with case

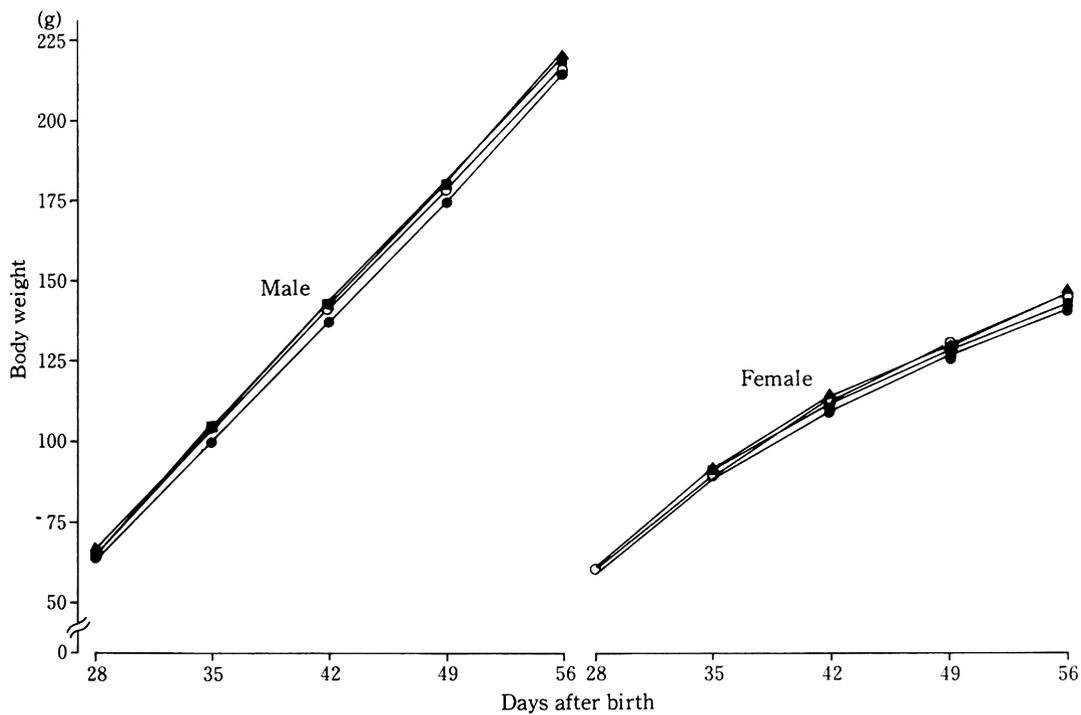
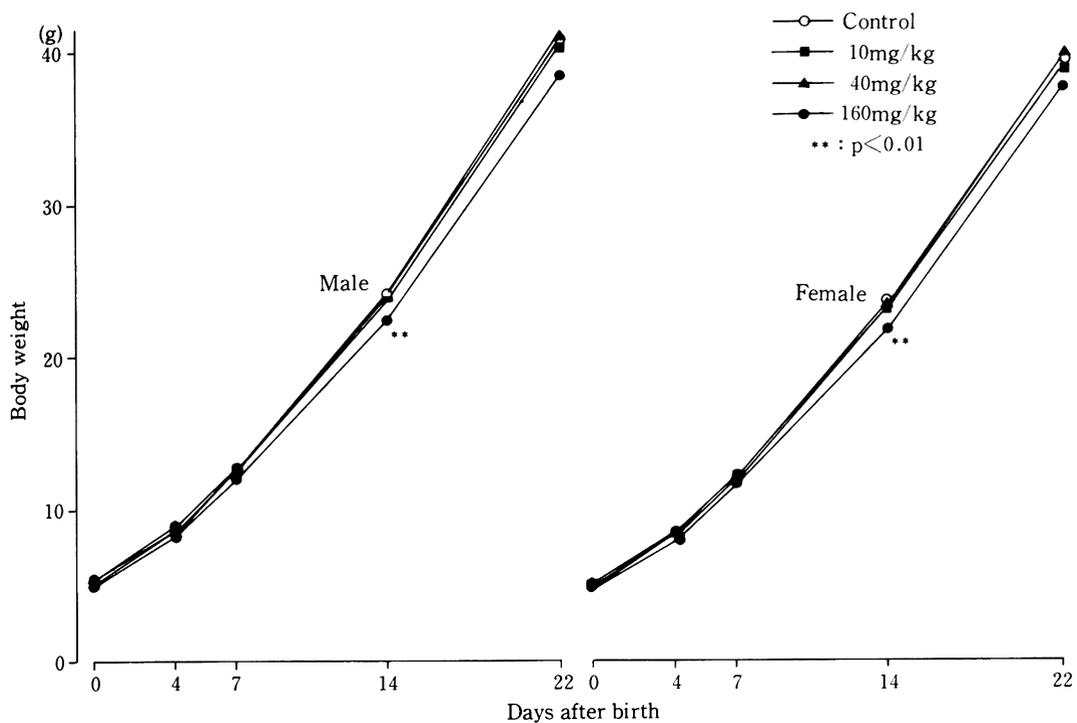
①: (No. of animals delivered with live newborns/No. of pregnant animals)×100

②: (No. of live newborns/No. of implantation traces)×100

③: On day 4; (No. of live offspring on day 4/No. of live newborns)×100

On day 22; (No. of live offspring on day 22/No. of live offspring after selection on day 4)×100

Fig. 5 Body weight changes in offspring $\langle F_1 \rangle$



II. 実験結果

1. 母獣(F₀)に及ぼす影響

1) 一般状態

対照群およびいずれの投与群にも異常は観察されず、死亡例も認められなかった。

2) 体重

母獣体重の推移を Fig. 3 に示した。10および40 mg/kg 群では対照群とほぼ同程度の増加推移であったが、160 mg/kg 群において分娩後3, 4, 5, 6, 8 および11日に有意な増加抑制が認められた。

3) 摂餌量

摂餌量の結果を Fig. 4 に示した。10および40 mg/kg 群では対照群とほぼ同程度であったが、160 mg/kg 群において妊娠18日(投与翌日), 20日および分娩後7日に有意な減少が認められた。

4) 分娩, 哺育および剖検所見

母獣の分娩後の状況を Table 2の一部に示した。対照群およびいずれの投与群にも分娩時および哺育中に異常は観察されず、各投与群の妊娠日数および出産率も対照群と同程度であった。また、哺育終了時に開腹し、主要な器官の肉眼的観察を行ったが、いずれの投与群にも異常は認められなかった。

2. 産仔(F₁)に及ぼす影響

1) 出生後観察

産仔の出生後状況を Table 2の一部に示した。対照群に比較していずれの投与群においても産仔数, 性比, 出生率および生存率に有意差はみられず、外表および一般状態にも異常は観察されなかった。

2) 体重

出生後の体重の推移を Fig. 5 に示した。10および40 mg/kg 群は雌雄とも対照群とほぼ同程度の増加を示したが、160 mg/kg 群では生後14日に有意な抑制が認められた。

3) 外表分化観察

各外表分化の状況を Table 3に示した。いずれの投与群においても対照群と比較して各外表分化の時期に遅延は認められなかった。

4) 離乳時剖検所見および器官重量

離乳時の諸器官に肉眼的な異常はみられず、器官重量でも Table 4-1, 4-2に示したごとく、絶対・相対重量ともに対照群との間に有意差は認められなかった。

5) 骨格検査

軟X線撮影による骨格検査の結果を Table 5に示した。骨格異常として、対照群に癒合腰椎仔(1/67例), 分岐肋

Table 3 External differentiation of offspring <F₁>

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of dams (F ₀)	21	21	21	21
No. of offspring examined (F ₁)	163	174	164	162
Detachment of ears Day 4 (%)	100.0 (163/163)	100.0 (174/174)	100.0 (164/164)	100.0 (162/162)
Appearance of hair Day 11 (%)	100.0 (146/146)	99.3 (152/153)	100.0 (148/148)	92.7 (127/137)
Eruption of teeth Day 13 (%)	100.0 (146/146)	100.0 (153/153)	98.0 (145/148)	100.0 (137/137)
Opening of eyelids Day 18 (%)	96.6 (141/146)	98.0 (150/153)	100.0 (147/147)	98.5 (135/137)
Descent of testes Day 31 (%)	97.5 (39/ 40)	100.0 (41/ 41)	100.0 (40/ 40)	92.3 (36/ 39)
Opening of vagina Day 40 (%)	97.4 (38/ 39)	100.0 (41/ 41)	97.6 (40/ 41)	94.9 (37/ 39)

(No. of offspring developed/No. of offspring observed)×100

Table 4-1 Organ weight in male offspring <math>\langle F_1 \rangle</math>

【Absolute and relative】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of animals	17	17	16	17
Absolute				
Thymus (mg)	121 ± 25	124 ± 22	129 ± 19	119 ± 17
Heart (mg)	195 ± 16	194 ± 16	185 ± 16	177 ± 23
Lung (mg)	348 ± 41	347 ± 29	345 ± 37	328 ± 29
Liver (mg)	1636 ± 154	1642 ± 134	1634 ± 86	1584 ± 258
Spleen (mg)	155 ± 23	152 ± 19	147 ± 15	137 ± 23
Kidney (mg)	473 ± 46	477 ± 44	458 ± 25	442 ± 64
Testis (mg)	233 ± 21	229 ± 14	227 ± 23	221 ± 32
Final body weight (g)	39.5 ± 3.5	38.8 ± 2.2	39.0 ± 2.1	36.7 ± 4.3
Relative				
Thymus (mg%)	306 ± 48	319 ± 48	331 ± 51	324 ± 33
Heart (mg%)	497 ± 35	500 ± 47	474 ± 39	483 ± 35
Lung (mg%)	883 ± 79	896 ± 76	885 ± 96	897 ± 49
Liver (mg%)	4148 ± 212	4229 ± 213	4194 ± 231	4301 ± 410
Spleen (mg%)	392 ± 38	392 ± 40	377 ± 29	371 ± 33
Kidney (mg%)	1198 ± 58	1228 ± 67	1175 ± 61	1200 ± 90
Testis (mg%)	590 ± 32	591 ± 31	582 ± 53	600 ± 47

Mean ± S.D.

Table 4-2 Organ weight in female offspring <math>\langle F_1 \rangle</math>

【Absolute and relative】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of animals	13	18	17	14
Absolute				
Thymus (mg)	131 ± 24	138 ± 21	128 ± 23	126 ± 25
Heart (mg)	178 ± 17	178 ± 17	182 ± 20	175 ± 17
Lung (mg)	328 ± 32	318 ± 26	323 ± 21	323 ± 22
Liver (mg)	1574 ± 162	1586 ± 163	1622 ± 153	1537 ± 162
Spleen (mg)	155 ± 20	146 ± 18	145 ± 16	140 ± 18
Kidney (mg)	475 ± 44	485 ± 48	479 ± 43	462 ± 35
Final body weight (g)	37.3 ± 3.2	36.9 ± 2.8	37.5 ± 3.1	35.4 ± 2.2
Relative				
Thymus (mg%)	350 ± 58	373 ± 48	341 ± 58	354 ± 63
Heart (mg%)	478 ± 26	483 ± 40	486 ± 44	494 ± 39
Lung (mg%)	879 ± 56	863 ± 70	865 ± 62	913 ± 53
Liver (mg%)	4217 ± 214	4293 ± 261	4328 ± 240	4336 ± 344
Spleen (mg%)	414 ± 31	394 ± 34	386 ± 26	394 ± 38
Kidney (mg%)	1275 ± 62	1312 ± 81	1279 ± 75	1305 ± 84

Mean ± S.D.

骨と癒合肋骨の合併仔(1/67例)ならびに胸椎骨欠損と分岐肋骨の合併仔(1/67例)が観察された。また、40 mg/kg 群に癒合胸骨仔が1/66例、160 mg/kg 群に癒合胸骨仔(1/59例)ならびに癒合胸椎、癒合胸骨および分岐肋骨の

合併仔(1/59例)が観察された。しかし、対照群に比較してこれらの出現率に有意差は認められなかった。骨格変異としては対照群に過剰腰椎と副胸骨の合併仔(前記癒合腰椎仔と同一)が1/67例観察された。尾椎骨数はいず

Table 5 Skeletal observations of offspring <F₁>

【Soft X-ray film】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of dams (F ₀)	21	20	20	19
No. of offspring examined (F ₁)	67	71	66	59
Abnormalities				
Skull	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Thoracic vertebrae	1 [1]	0 [0]	0 [0]	1 [1]
Lumbar vertebrae	1 [1]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Sacral vertebrae	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Caudal vertebrae	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Sternum	0 [0]	0 [0]	1 [1]	2 [2]
Ribs	2 [2]	0 [0]	0 [0]	1 [1]
Fore limb	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Hind limb	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Others	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Total	3 [3]	0 [0]	1 [1]	2 [2]
(%) ^①	4.5	0	1.5	3.4
Variations				
Extra thoracic vertebrae	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Extra lumbar vertebrae	1 [1]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Rudimentary lumbar vertebrae	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Cervical ribs	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Lumbar ribs	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Short ribs	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Accessory sternebrae	1 [1]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Others	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Total	1 [1]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
(%) ^②	1.5	0	0	0
No. of caudal vertebrae	28.8 ± 0.4	28.7 ± 0.6	28.8 ± 0.4	28.7 ± 0.5

Mean ± S.D.

[] : No. of dams involved with case

① : (Total offspring with abnormalities/No. of offspring observed) × 100

② : (Total offspring with variations/No. of offspring observed) × 100

れの投与群も対照群と変わらず骨化に遅れはみられなかった。

6) 行動・感覚機能検査

行動・感覚機能検査の結果を Table 6 に示した。対照群およびいずれの投与群にも異常はみられなかった。

7) 学習能および情動性検査

水迷路による学習能検査の結果を Fig. 6 に、P.A.R. による学習能および情動性検査の結果を Table 7-1, 7-2 に示した。水迷路による学習能検査ではいずれの投与群にも対照群に比較して有意な変化は認められなかつ

た。P.A.R. による学習能検査からも、雌雄各投与群とも電気刺激前(学習前)と電気刺激後(学習後)の入室、潜時および滞在時間は対照群と変わらず、学習能に対する影響はみられなかった。学習前、学習後のフィールド内における区画移動数、脱糞および排尿数は各投与群とも対照群と変わらず情動性に異常は認められなかった。

8) 生殖能検査

交配成績、子宮内所見および分娩所見をそれぞれ Table 8-10, Fig. 7 に示した。対照群に比較していずれの投与群においても交尾率および受胎率に有意な差は

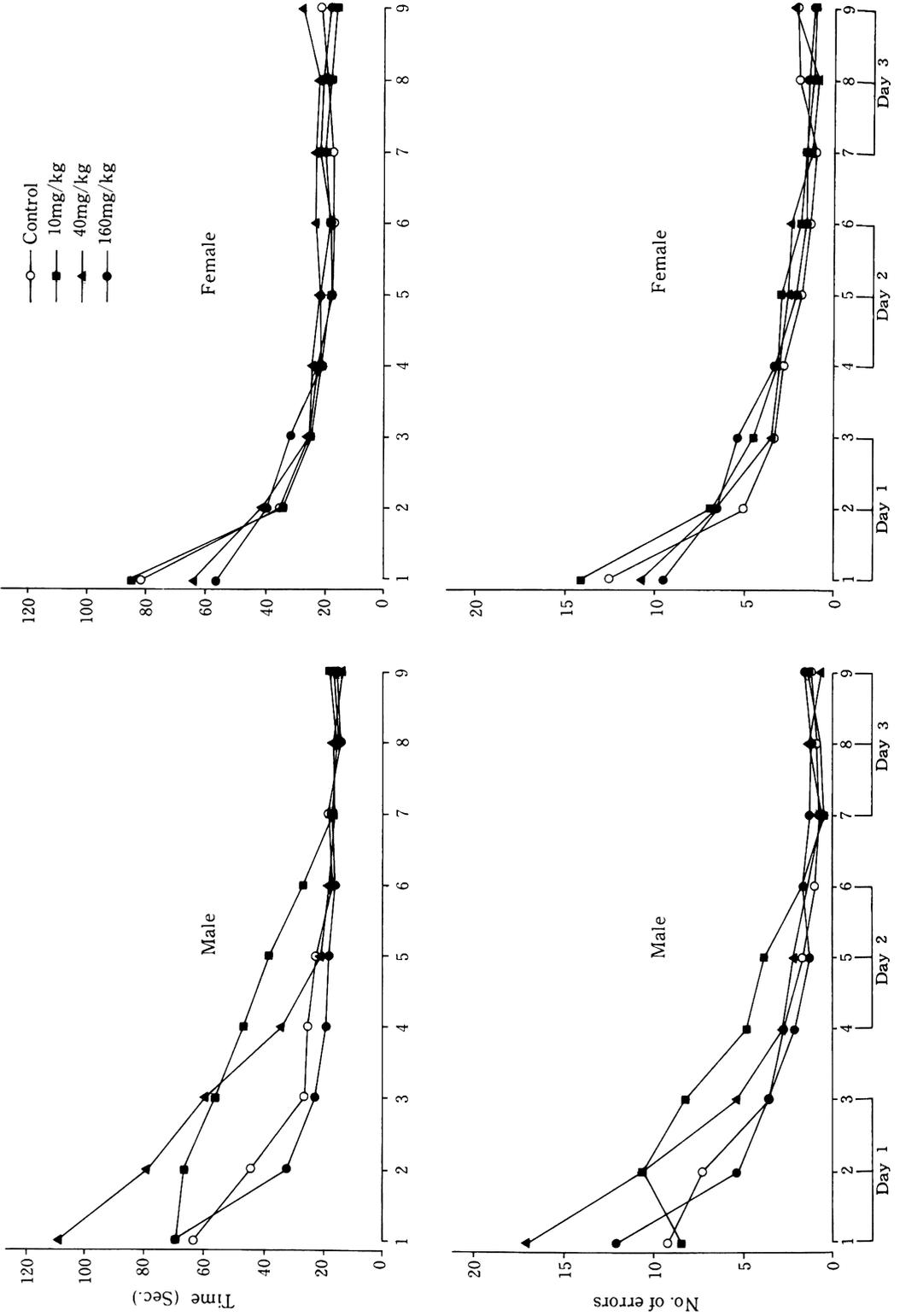
Table 6 Findings in behaviour and sensory function of offspring (F₁)

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
Male				
No. of offspring examined (F ₁)	19	20	19	18
Righting reflex	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Pinna reflex	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Tone reflex	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Corneal reflex	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Light reflex	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Pain reflex	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Equilibrium response	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Muscular tone (deg.)	33.0 ± 3.5	33.7 ± 2.2	32.4 ± 3.8	32.9 ± 3.5
Motor coordination	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Spontaneous activity	19 / 19	20 / 20	19 / 19	18 / 18
Female				
No. of offspring examined (F ₁)	18	20	20	18
Righting reflex	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Pinna reflex	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Tone reflex	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Corneal reflex	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Light reflex	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Pain reflex	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Equilibrium response	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Muscular tone (deg.)	31.9 ± 3.5	32.5 ± 3.3	32.4 ± 2.6	32.8 ± 3.1
Motor coordination	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18
Spontaneous activity	18 / 18	20 / 20	20 / 20	18 / 18

Mean ± S.D.

No. of normal animals/No. of examined animals

Fig. 6 Learning ability test of offspring (F₁)
[Water multiple T-maze]



認められず、子宮内所見ならびに分娩所見に異常は認められなかった。産仔(F₂)は各投与群とも対照群と同様順調な発育を示し、一般状態にも異常はみられなかった。

III. 考 察

TE-031の10, 40および160 mg/kg をラットの周産期および授乳期に経口投与し、母獣ならびその産仔に及ぼす影響について検討した。

母獣の観察において、160 mg/kg 群の体重に増加抑制、摂餌量に減少がみられ、明らかな毒性発現が認められたが、分娩、哺育ならびに剖検所見に異常は認められなかった。

産仔の観察において、160 mg/kg 群の体重に一時的な増加抑制がみられたが、外表分化状態、骨化状態ならびに器官重量に影響は認められなかった。産仔の外表検査からは異常仔は観察されなかったが、骨格検査において

対照群、40および160 mg/kg 群に1-3例の異常仔が観察された。しかし、これらの異常は自然発生的にもしばしば観察されるものであり、発生頻度も対照群が最も高く、統計的な有意性も認められないところからTE-031の投与に起因したものではないと考えられた。感覚、行動、学習能ならびに生殖能検査からはいずれも投与に起因したと思われる変化は認められず、他のマクロライド系抗生物質の周産期・授乳期投与試験の報告⁹⁾と同様な成績であった。

以上より、TE-031はラットの周産期・授乳期投与において、母獣(F₀)に毒性が現れ産仔(F₁)の体重増加を若干抑制する投与量でも、産仔(F₁)の行動、発達ならびに生殖能に対して影響を与えず、その無影響量は母仔とも40mg/kg であると推測された。

(試験期間: 昭和60年6月~昭和61年7月)

Table 7-1 Emotion and learning ability test of male offspring <F₁>
【Passive avoidance response】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of offspring examined (F ₁)	19	20	19	18
Exploration				
Gate in	3.1 ± 1.2	3.5 ± 1.3	3.2 ± 1.1	2.9 ± 1.5
Latency (sec)	55.3 ± 39.6	43.3 ± 22.8	44.7 ± 20.2	53.5 ± 39.1
Stay time (sec)	25.9 ± 19.0	27.1 ± 15.6	31.5 ± 24.9	43.2 ± 42.3
Ambulation	24.6 ± 10.6	23.1 ± 8.1	24.1 ± 9.3	21.2 ± 10.3
Rearing	4.9 ± 3.4	4.3 ± 2.4	4.1 ± 3.0	3.2 ± 2.4
Grooming	0.5 ± 0.9	0.3 ± 0.6	0.2 ± 0.5	0.2 ± 0.4
Defecation	0.3 ± 0.8	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.3
Urination	0.3 ± 0.6	0.2 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.4 ± 1.0
Acquisition				
Gate in	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Latency (sec)	180.0 ± 0.0	180.0 ± 0.0	180.0 ± 0.0	180.0 ± 0.0
Stay time (sec)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Ambulation	7.1 ± 7.5	4.0 ± 5.2	6.8 ± 6.9	6.7 ± 8.7
Rearing	1.3 ± 1.6	1.1 ± 1.6	1.2 ± 1.3	0.8 ± 1.4
Grooming	0.8 ± 1.3	0.4 ± 0.6	0.4 ± 0.6	0.4 ± 0.6
Defecation	1.4 ± 1.3	1.4 ± 1.0	1.4 ± 1.0	2.0 ± 1.5
Urination	0.9 ± 1.2	1.1 ± 1.5	0.7 ± 0.9	0.7 ± 0.8

Mean ± S.D.

Table 7-2 Emotion and learning ability test of female offspring <F₁>
 【Passive avoidance response】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of offspring examined (F ₁)	18	20	20	18
Exploration				
Gate in	2.9 ± 1.2	3.3 ± 1.2	3.5 ± 1.2	3.6 ± 1.1
Latency (sec)	43.8 ± 38.4	37.8 ± 17.4	38.9 ± 24.8	38.2 ± 16.0
Stay time (sec)	38.5 ± 35.4	47.1 ± 46.6	26.7 ± 18.1	29.4 ± 36.4
Ambulation	24.3 ± 9.9	25.6 ± 12.7	27.2 ± 9.6	26.2 ± 12.8
Rearing	3.7 ± 2.9	4.6 ± 3.8	4.5 ± 3.1	4.2 ± 2.7
Grooming	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.7	0.3 ± 0.9	0.4 ± 0.8
Defecation	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Urination	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Acquisition				
Gate in	0.3 ± 0.8	0.3 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Latency (sec)	167.9 ± 30.9	169.4 ± 34.2	180.0 ± 0.0	180.0 ± 0.0
Stay time (sec)	3.5 ± 9.9	5.7 ± 21.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Ambulation	23.9 ± 10.5	24.1 ± 12.8	19.2 ± 10.3	19.6 ± 12.6
Rearing	4.0 ± 3.0	4.3 ± 3.2	4.0 ± 3.2	3.7 ± 2.9
Grooming	0.8 ± 1.4	0.9 ± 1.4	1.1 ± 1.4	1.1 ± 1.0
Defecation	0.2 ± 0.7	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.5
Urination	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.3

Mean ± S.D.

Table 8 Reproductive ability of offspring <F₁>
 【Mating and fertility】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of dams (F ₀)	21	21	21	21
No. of males mated (F ₁)	21	21	21	21
No. of females mated (F ₁)	21	21	21	21
Copulation (days)				
1 ~ 7	18	17	17	20
8 ~ 14	0	0	0	0
Over 15	2	1	1	1
Copulative rate (%) [Ⓐ]	95.2 (20/ 21)	85.7 (18/ 21)	85.7 (18/ 21)	100.0 (21/ 21)
Pregnancy (days)				
1 ~ 7	17	16	16	20
8 ~ 14	0	0	0	0
Over 15	1	1	1	0
Pregnancy rate (%) [Ⓑ]	90.0 (18/ 20)	94.4 (17/ 18)	94.4 (17/ 18)	95.2 (20/ 21)

Mean ± S.D.

Ⓐ : (No. of animals copulated/No. of animals mated) × 100

Ⓑ : (No. of animals pregnant/No. of animals copulated) × 100

Table 9 Reproductive ability of offspring <F₁>
 【Development of fetuses <F₂>】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of dams (F ₀)	9	8	8	9
No. of offspring pregnant (F ₁)	9	8	8	9
No. of corpora lutea	90	96	77	106
Corpora lutea per litter	10.0 ± 2.2	12.0 ± 2.0	9.6 ± 2.4	11.8 ± 1.7
No. of implantation sites	70	79	65	98
Implantation sites per litter	7.8 ± 3.2	9.9 ± 2.4	8.1 ± 4.2	10.9 ± 1.9
Implant rate (%) ^①	77.8 (70/ 90)	82.3 (79/ 96)	84.4 (65/ 77)	92.5 (98/106)
No. of dead fetuses (%) ^②	3 [2] 4.3	4 [3] 5.1	0 [0] 0.0	3 [2] 3.1
Resorption	2 [2]	3 [3]	0 [0]	3 [2]
Early death	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Middle death	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Late death	1 [1]	1 [1]	0 [0]	0 [0]
No. of live fetuses	67	75	65	95
Fetuses per litter	7.4 ± 3.0	9.4 ± 2.1	8.1 ± 4.2	10.6 ± 2.1
Sex ratio (Male/Female)	0.91 (32/ 35)	1.34 (43/ 32)	1.17 (35/ 30)	1.32 (54/ 41)
Body weight (g)				
Male	3.26 ± 0.19	3.12 ± 0.21	3.28 ± 0.14	3.16 ± 0.15
Female	3.06 ± 0.16	3.08 ± 0.21	3.13 ± 0.14	2.99 ± 0.17
Male+Female	3.15 ± 0.15	3.11 ± 0.18	3.23 ± 0.15	3.08 ± 0.14
External anomalies	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]

Mean ± S.D.

[] : No. of pregnant offspring involved with case

① : (No. of implantation sites/No. of corpora lutea) × 100

② : (No. of resorbed and dead fetuses/No. of implantation sites) × 100

Table 10 Reproductive ability of offspring <F₁>
 【Development of offspring <F₂>】

Group	Control	10mg/kg	40mg/kg	160mg/kg
No. of dams (F ₀)	9	9	9	11
No. of offspring pregnant (F ₁)	9	9	9	11
Gestation period (day)	22.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0
No. of implantation traces	94	86	86	104
Implantation traces per litter	10.4 ± 2.1	9.6 ± 2.6	9.6 ± 3.5	9.5 ± 2.4
Delivery rate (%) [Ⓐ]	100.0 (9/ 9)	100.0 (9/ 9)	100.0 (9/ 9)	100.0 (11/ 11)
No. of newborns	93	82	80	100
Newborns per litter	10.3 ± 2.2	9.1 ± 2.4	8.9 ± 3.6	9.1 ± 2.3
No. of live newborns	92	81	80	100
Live newborns per litter	10.2 ± 2.1	9.0 ± 2.5	8.9 ± 3.6	9.1 ± 2.3
Birth rate (%) [Ⓑ]	97.9 (92/ 94)	94.2 (81/ 86)	93.0 (80/ 86)	96.2 (100/104)
Sex ratio (Male/Female)	0.80(41/ 51)	1.25(45/ 36)	1.11(42/ 38)	0.82(45/ 55)
No. of stillborn	1 [1]	1 [1]	0 [0]	0 [0]
No. of external anomalies	0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]
Survival rate (%) [Ⓒ]				
On day 4	98.9 (91/ 92)	93.8 (76/ 81)	97.5 (78/ 80)	98.0 (98/100)
On day 21	98.6 (69/ 70)	100.0 (61/ 61)	96.8 (60/ 62)	98.7 (74/ 75)

Mean ± S.D.

[] : No. of dams involved with case

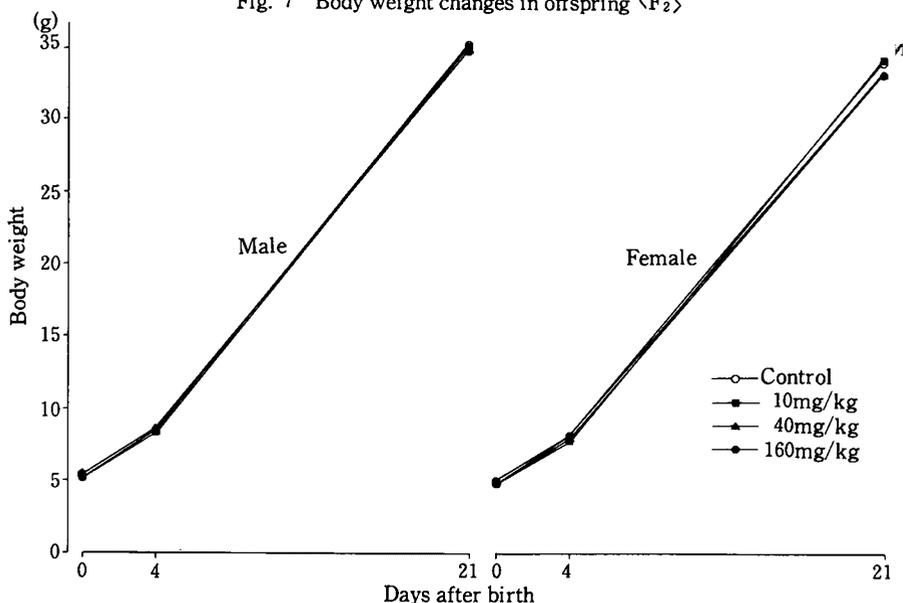
Ⓐ : (No. of animals delivered with live newborns/No. of pregnant animals)×100

Ⓑ : (No. of live newborns/No. of implantation traces)×100

Ⓒ : On day 4 (No. of live offspring on day 4/No. of live newborns)×100

On day 21 (No. of live offspring on day 21/No. of live offspring after selection on day 4)×100

Fig. 7 Body weight changes in offspring <F₂>



文 献

- 1) 山田 隆, 内田英男, 松沢伸子: TE-031の生殖試験(第1報)ラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験。Chemotherapy 投稿中
- 2) 山田 隆, 大沢浩一: TE-031の生殖試験(第2報)ラットにおける器官形成期投与試験。Chemotherapy 投稿中
- 3) 山田 隆, 原真理子, 大場由香, 井上忠広, 大野博: ラットの着床痕に関する研究。Exp. Anim. 34: 249~260, 1985
- 4) FOX, W. M.: Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. Anim. Behav. 13: 234~241, 1965
- 5) IRWIN, S.: Animal and clinical pharmacological techniques in drug evaluation. (NODINE J. H & P. E. SIEGLER), Year book medical publishers, pp. 36~54, 1964
- 6) ALTMAN, J. & K. SUDARSHAN: Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. Anim. Behav. 23: 896~920, 1975
- 7) SCHAPIRO, S.; M. SALAS & K. VUKOVICH: Hormonal effects on ontogeny of swimming ability in the rat. Assessment of central nervous system development. Science 168: 147~151, 1970
- 8) 山田 隆, 内田英男, 市川明美: 生殖試験における次世代動物の学習能障害検索について。Exp. Anim. 32: 107~113, 1983
- 9) 小林洋四郎, 須田真理子, 佐々木眞敬, 久保田宏史, 早野和夫: TMS-19-Qの生殖試験(第3報)。Chemotherapy 32(S-6): 214~221, 1984

REPRODUCTION STUDIES ON TE-031(A-56268)(IV)

Administration study during the perinatal and lactation periods in rat

TAKASHI YAMADA, TADAHIRO INOUE and SADA O NAKANE
Research Center, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama

TE-031(A-56268) was given orally to Slc: Wistar rats during the perinatal and lactation periods at a dose of 10, 40, or 160 mg/kg in order to examine the effects on dams and their offspring.

1. Observation of the dams did not reveal influence of the drug on clinical signs, delivery, gestation period or others, except for suppression of body weight and decrease in food consumption in the group treated with 160 mg/kg.

2. Observation of offspring did not reveal influence of the drug on behaviour, functions, emotion, or learning and reproductive abilities of offspring, except for a slight delay in postnatal development of offspring from dams treated with 160 mg/kg.

From the above results, the no-effect dose level of TE-031 in this study was considered to be 40 mg/kg both for dams and offspring.