

T-3262 のラット生殖に及ぼす影響

中田 弘子・中村 昌三・小前 憲久・三 善 隆 広
能 島 康 幸・赤坂美保子・西尾由美子・米 田 豊 昭

富山化学工業株式会社総合研究所*

新しい合成抗菌薬 T-3262 の 80, 500 および 3,000 mg/kg を SD 系 ラットに経口投与して一連の生殖試験を行ない母体、胎仔および出生仔におよぼす影響を検討した。

1. 妊娠前および妊娠初期投与試験

雌雄の生殖能力および胎仔の外形、骨格、内臓に異常は認められず無影響量は 3,000 mg/kg と推定された。

2. 器官形成期投与試験

母体の体重増加、分娩および哺育に異常を認めなかった。500 mg/kg 以上の投与群の胎仔に冠状動脈口過剰が、3,000 mg/kg 投与群の胎仔および出生仔に 13 肋骨の短小が有意な出現頻度で観察された。出生仔の発育、外形分化、情動性、学習能力および生殖能力には異常を認めなかった。無影響量は母体の分娩および哺育に対しては 3,000 mg/kg、胎仔に対しては 80 mg/kg、出生仔に対しては 500 mg/kg と推定された。

3. 周産期および授乳期投与試験

母体の分娩および哺育、出生仔の発育、外形分化、情動性、学習能力および生殖能力には異常を認めなかった。T-3262 投与全群の 4 日齢仔に胛骨の変形が観察されたが、生殖能力試験終了後 (17~18 週齢) の骨格検査では異常を認めなかった。無影響量は母体の分娩および哺育に対しては 3,000 mg/kg、出生仔に対しては 80 mg/kg 未満であると推定された。

Key words : 合成抗菌薬, T-3262, ラット, 生殖試験

T-3262 は当社で新しく開発された ピリドンカルボン酸系抗菌物質であり、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ルと抗菌力を有する。今回、本化合物の安全性試験の一環としてラットを用いて一連の生殖試験を行なったのでその結果を報告する。なお、本試験は昭和 60 年 10 月から昭和 62 年 3 月迄行なった。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

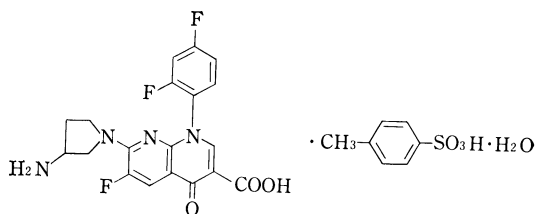
T-3262 は Fig. 1 に示す化学構造と化学名を有し、氷酢酸、ジメチルスルホキシドに溶け易く、クロロホルム、メタノール、エタノールにやや溶け難く、酢酸エチル、ベンゼンに極めて溶け難く、水にほとんど溶けない白色～淡黄色で無臭の結晶または結晶性の粉末である。本試験には当社製造の Lot. AP 002~Lot. AP 006 (AP 004 を除く) を使用した。

2. 使用動物および飼育条件

日本クレア株式会社より購入した Jc 1 : SD 系 SPF ラットを用いて実験を行なった。妊娠前および妊娠初期投与試験では 4 週齢の雄 114 匹、雌 140 匹を購入し、

雄 6 週齢、雌 13 週齢で試験に供した。器官形成期投与試験では雄 88 匹、雌 199 匹を、周産期および授乳期投与試験では雄 73 匹、雌 156 匹をそれぞれ 10 週齢で購入し 12 週齢で試験に供した。

動物の飼育は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 40~60%、1 日 12 時間人工照明 (6:00~18:00) のバリア飼育室で金属製ブラケットケージおよび実験動物用床敷 (日本クレア



(±)-7-(3-amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid *p*-toluenesulfonate hydrate

Fig. 1. Chemical structure and chemical name of T-3262.

* 〒930 富山市下奥井 2-4-1

製：クリーンチップ）を入れたプラスチックケージ（哺育期間のみ使用）を用いて行なった。1 ケージ当たりの収容動物数は予備飼育期間 および 交配前投与期間は 5 匹、妊娠期間は交尾が成立した日の匹数によって 1～5 匹、哺育期間および生後 6 週齢までの仔は母体毎に、6 週齢以降は雌雄別に 4 匹とし、オートクレープ処理した固型飼料（日本クレア製 CE-2, CA-1）および紫外線殺菌処理した水を自由に摂取させた。

交配は妊娠前および妊娠初期投与試験では雌雄を 1 対 1 で、器官形成期投与試験、周産期および授乳期投与試験では雄 1 匹に雌 2 匹を同居させて行ない、腔垢中に精子が認められた動物を交尾成立とみなし、その日を妊娠 0 日として起算した。

使用動物数は妊娠前および妊娠初期投与試験では 1 群に雌雄ラット各 25 匹を配分し、4 群構成で合計 200 匹のラットを用いて試験を開始した。その他に、初回の交配で交尾が認められなかった雄の 2 回目の交配による生殖能力検査用として無処置雌ラットを 6 匹使用した。試験開始時の体重は雄 160～196 g、雌 219～323 g であった。器官形成期投与試験では交尾成立雌 158 匹を用いたが、妊娠成立雌は 141 匹（1 群 33～39 匹）であった。妊娠 0 日の体重は 208～278 g であった。周産期および授乳期投与試験では交尾成立雌は 117 匹であり、妊娠成立雌は 103 匹（1 群 24～29 匹）であったが、誤投与により 4 匹が死亡したので 99 匹（1 群 23～27 匹）となった。妊娠 0 日の体重は 217～264 g であった。

3. 投与量、投与方法および投与期間

投与量は妊娠前および妊娠初期投与試験ではラットにおける亜急性毒性試験¹⁾の最高投与量であり、物理的に投与し得る最高量である 3,000 mg/kg/day を本試験の最高投与量とし、以下公比約 1/6 で 500 mg/kg、80 mg/kg および対照群を設定した。器官形成期投与試験、周産期および授乳期投与試験では妊娠動物を用いて 3,000 mg/kg と 2,000 mg/kg の 2 用量を妊娠 7 日から妊娠 17 日迄と妊娠 17 日から妊娠 20 日迄投与した予備試験を行なったところ、軟便以外に特記すべき異常は認められず、胎仔の生死にも異常が認められなかったので、いずれも妊娠前および妊娠初期投与試験と同様に最高投与量を 3,000 mg/kg とし、500 mg/kg、80 mg/kg および対照群を設定した。なお、80 mg/kg はヒト推定臨床量の約 10～20 倍に相当する。

T-3262 は 5% アラビアゴム（鈴粉末薬品株式会社：Lot. WTKK アラ 1, WNKY アラ 1）水溶液を用いて 20% 懸濁液を調製し、これを原液とした。この原液は暗所 5℃ 保存で 1 週間以上安定であることが確認されていることから 5～7 日分をまとめて懸濁し冷蔵庫に保存

した。3,000 mg/kg 投与群には原液を体重 100 g あたり 1.5 ml、500 mg/kg 投与群、80 mg/kg 投与群には原液を用時 5% アラビアゴム水溶液を用いて 5% および 0.8% に希釈して体重 100 g あたり 1 ml 投与した。投与経路は臨床適用経路に準じて金属製胃管による強制経口投与とした。

投与期間は妊娠前および妊娠初期投与試験では雄は 6 週齢から投薬を開始し交配迄の 63 日間と引き続いて交配の成立迄、雌は 13 週齢で投薬を開始し交配 15 日前から妊娠 7 日迄、器官形成期投与試験では妊娠 7 日から妊娠 17 日迄、周産期および授乳期投与試験では妊娠 17 日から分娩後 21 日までとし、妊娠期間中は妊娠 0 日の体重を基準に、それ以外の期間および雄には毎日測定した体重を基準にして投与した。対照群には体重 100 g あたり 1.5 ml の 5% アラビアゴム水溶液を同様に投与した。

4. 観察方法

1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

雄は体重を毎日、摂餌量、摂水量を週 1 回、雌は体重、摂餌量、摂水量ともに毎日測定した。一般状態および生死は毎日観察した。雄が投与 63 日、雌が投与 15 日に達した時、同一投与量群内の雌雄を 1 対 1 で交配させた。雌の死亡により交配雌不在の雄には無処置の雌を交配させた。交配期間は 1 週間とした。交尾は腔垢中の精子の存在により確認し、その日を妊娠 0 日とした。初回の交配で交尾が認められなかった動物については、雄は無処置の雌と、雌は同一投与量群の交尾が認められた雄と 1 対 1 で再交配させた。交配終了後の雄は剖検して肉眼的に観察すると共に臓器重量を測定した。交尾の成立した雌は妊娠 20 日にエーテル麻酔下で放血死させたのち帝王切開して、黄体数、着床数、死亡胎仔数および生存胎仔数を調べ、胸腹部臓器の肉眼的観察と重量測定を行なった。生存胎仔については外観観察、性別判定および体重測定を行なった後、各腹半数の胎仔を 90% アルコールに固定し DAWSON²⁾の方法に従い骨格標本作製して骨格観察を行なった。残りの半数の胎仔はブアン液に固定して、WILSON³⁾ および 西村⁴⁾の方法により内臓観察を行なった。

2) 器官形成期投与試験

母体は体重、摂餌量、摂水量を妊娠期間中は毎日、分娩後は体重を 0 日に、摂餌量、摂水量を 1 日に測定し、その後は、何れも 4、7、14 および 21 日に測定した。なお、一般状態および生死を毎日観察した。妊娠 21 日に 1 群 20～24 匹の母体を帝王切開し、妊娠末期胎仔の観察を行なった。母体および胎仔の観察は前述の妊娠前および妊娠初期投与試験に準じて行なった。残りの 1 群 13～15 匹の母体は自然分娩させ出生仔の生後発育を観

察した。母体は妊娠期間を算定し、分娩後 24 時間以内に出産仔数、仔の生死、性別および外表異常の有無を調べ体重を測定した後、哺育を継続させ、巣作り、授乳、仔の連れ戻しなどの哺育行動を観察し、分娩 22 日後に離乳した。離乳後の母体については胸腹部諸臓器の肉眼的観察と重量測定を行ない子宮内の着床痕数を調べ出生率を算出した。

出生仔は生後 4 日に 1 母体当たり原則として 8 匹（雌雄各 4 匹）に調整して哺育を継続させ、残りの仔は骨格観察に供した。仔は生後 0 日、4 日、7 日とその後週 1 回 12 週齢まで体重を測定した。生後の分化状態として耳介開展（4 日齢）、腹部毛生と乳頭の出現（7 日齢）、切歯萌出と眼瞼開裂（2 週齢）、精巣下降（4 週齢）、陰開口（5 週齢）について観察した。感覚機能検査として 4 週齢仔全例について視覚性置き直し反応、聴覚性驚愕反応、疼痛反応、自由落下反射、角膜反射、耳介反射を調べた。また、各群の 10 母体からの雌雄それぞれ 1 匹ずつについて情動性検査として 4～5 週齢時に Open field 試験を、学習能力検査として 5～6 週齢時に T-型水迷路試験を行なった。Open field 試験は BUTCHER⁵⁾らの装置と方法を参考に 1 日 1 試行連続 3 日間観察し、1 試行 3 分間の中央区画潜伏時間、脱糞数、排尿数、立ち上がり数、身づくろい数、区画移動数を調べた。水迷路試験には BIEL⁶⁾ が用いた迷路に類似の Water multiple T-maze（岡崎産業株式会社製）を用いて 1 日 5 試行（1 試行 3 分間）連続 2 日間行ない、スタートからゴールまでの所要時間および錯誤数を観察した。なお、迷路試行の前日には直水路を用いて遊泳訓練を行なった。Open field 試験、水迷路試験に用いた F₁ 動物を含めて各群の 10 母体からの雌雄それぞれ 2 匹の動物は飼育を継続し、12 週齢で同腹仔を避けて同一群内の雌雄

を 1 対 1 で交配させ交尾成立迄の日数、交尾率、妊娠率などの生殖能力について検査した。交尾成立雌は妊娠 20 日にエーテル麻酔下で放血死させたのち帝王切開し妊娠成立の有無、黄体数、着床数、胎仔の生死を調べ、生存胎仔（F₂）については外表観察、性別判定、体重測定を行なった。なお、対照群と最高投与量の 3,000 mg/kg 投与群のみ骨格観察を行なった。その他の F₁ 動物は 6 週齢時に剖検して胸腹部諸臓器を肉眼的に観察すると共に主要臓器重量を測定した。

3) 周産期および授乳期投与試験

母体体重は妊娠期間、授乳期間ともに毎日、摂餌量、摂水量は妊娠 21 日と分娩 0 日を除く毎日測定した。なお、母体の一般状態および生死を毎日観察した。母体は全例自然分娩させた。母体および出生仔の観察は前述の器官形成期投与試験の観察方法に準じて行なった。なお、4 日齢仔の骨格観察の結果、脛骨の変形が認められたので妊娠末期 F₁ 雌および交配終了後の F₁ 雄全例について軟 X 線撮影を行ない後肢の骨格観察を行なった。

5. 統計処理

各検査項目における対照群と T-3262 投与群との有意差の検定には諸種の数値を母体単位で処理した後 STUDENT の t 検定、MANN-WHITNEY の U 検定または χ^2 検定を行なった。なお、喰殺母体については出産仔数不明のため、出産仔数および出生率の計算から除外した。Open field 試験で 3 分間の試行時間内に、まったく動かなかった例については中央区画潜伏時間の計算から除外した。水迷路試験での未到達例についても錯誤数および所要時間の計算から除外した。

II. 実験成績

1. 妊娠前および妊娠初期投与試験

雌雄の体重、摂餌量および摂水量の推移を Fig. 2～7

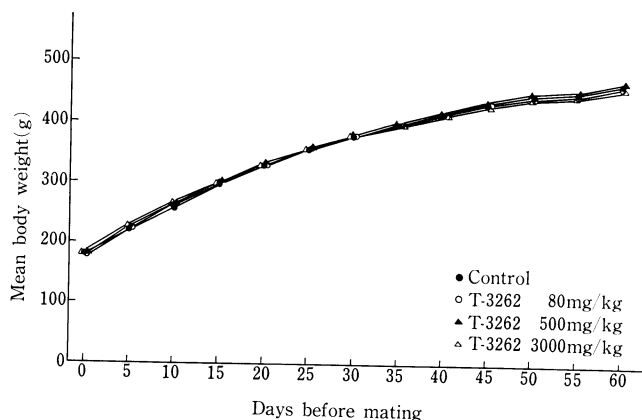


Fig. 2. Body weight changes of male rats administered T-3262 orally in fertility study.

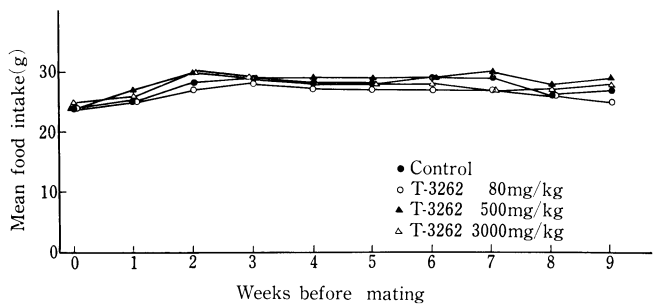


Fig. 3. Food intake of male rats administered T-3262 orally in fertility study.

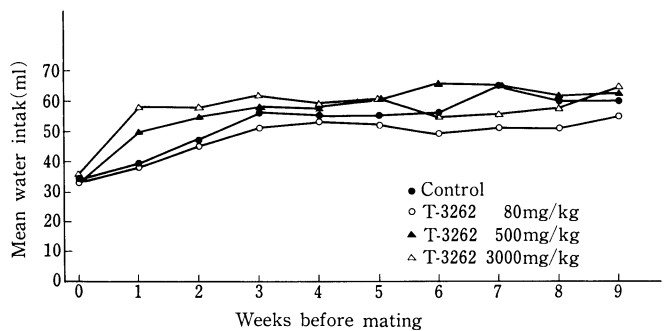


Fig. 4. Water intake of male rats administered T-3262 orally in fertility study.

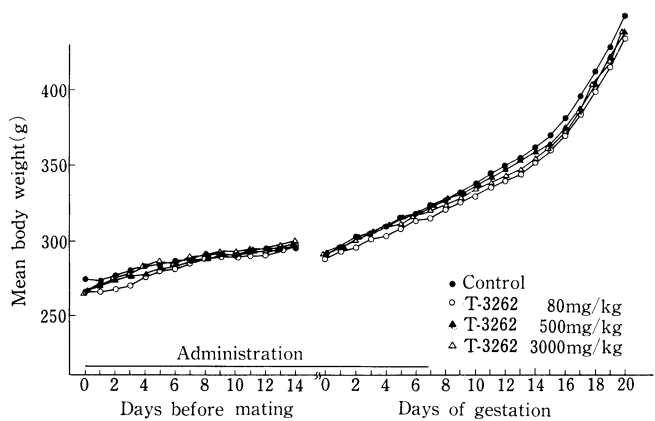


Fig. 5. Body weight changes of female rats administered T-3262 orally in fertility study.

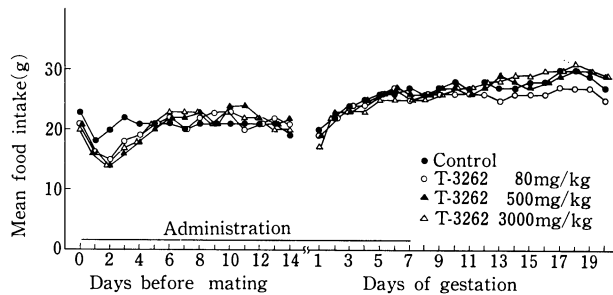


Fig. 6. Food intake of female rats administered T-3262 orally in fertility study.

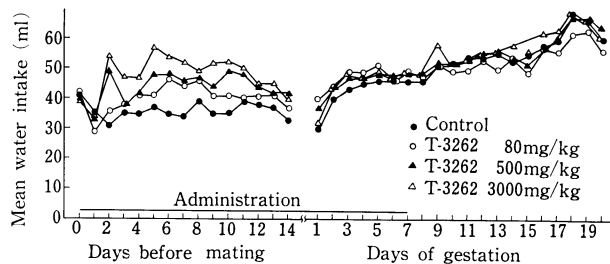


Fig. 7. Water intake of female rats administered T-3262 orally in fertility study.

に示す。T-3262 投与群の体重は雌雄ともに対照群と同様に推移した。T-3262 投与全群の雌の投与初期に一過性の摂餌量減少が、500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群の雄の投与初期および雌の交配前投与期間に摂水量の増加が認められた。

一般症状として 500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群では雌雄ともに軽度の軟便が認められ、3,000 mg/kg 投与群では検体が排泄されたと思われる灰白色を帯びた軟便であった。誤投与により対照群の雌雄各 2 例、500 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 3 例、3,000 mg/kg 投与群の雌 1 例が死亡したが、T-3262 の影響による死亡は認められなかった。

雌雄の生殖能力について Table 1 に示す。1 回目の同居で対照群、500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群の各 1 組に交尾不成立がみられたが、組合せを変えて行なった 2 回目の交配ではすべてに交尾が成立した。交尾成立迄の期間および妊娠率には T-3262 投与群と対照群との差を認めなかった。

妊娠 20 日に行なった帝王切開の所見を Table 2 に示す。黄体数、着床数、生存胎仔数および性比には対照群と T-3262 投与群との差を認めなかった。80 mg/kg

投与群の早期死亡胎仔数と 500 mg/kg 投与群の雌の生存胎仔体重に有意な増加が認められたが、3,000 mg/kg 投与群には認められず投与量との関連はみられなかった。外表異常としては 80 mg/kg 投与群に外脳症が 1 例認められただけであった。

交配終了後の雄および妊娠末期に剖検した雌の胸腹部諸臓器の重量を Table 3 に示す。T-3262 80mg/kg および 3,000mg/kg 投与群の雄と 500mg/kg および 3,000mg/kg 投与群の雌に有意な肝重量の減少が認められた。そのほかにも統計学的な有意差が認められる臓器があったが、体重比には有意差が認められないか、用量依存性のない減少であった。肉眼所見ではこれらの臓器に異常を認めなかった。盲腸腔の拡張が雄の 500mg/kg 投与群の 1 例と 3,000 mg/kg 投与群の全例に認められたほか、対照群、80 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群に誤投与によると思われる肺の変化が 1～2 例ずつ観察された。

骨格および内臓観察の結果を Table 4 に示す。骨格異常としては 80 mg/kg 投与群の外脳症が認められた胎仔に頭骨の一部欠損が認められただけであった。骨格変異および化骨進行度には対照群と T-3262 投与群との差を

Table 1. Fertility data of rats administered T-3262 orally in fertility study
(dissected on day 20 of gestation)

Dose (mg/kg)		Control	80	500	3,000
Male	No. mated	23	25	24	25
	No. of copulation (%)	23 (100)	25 (100)	24 (100)	25 (100)
	No. of impregnation (%)	19 (82.6)	20 (80.0)	23 (95.8)	25 (100)
Female	No. mated	23	25	22	24
	No. of copulation (%)	23 (100)	25 (100)	22 (100)	24 (100)
	No. of pregnancies (%)	19 (82.6)	20 (80.0)	20 (90.9)	23 (95.8)
Mating period (days)		2.5±1.77 ^{a)}	2.0±1.06	3.0±1.54	2.4±1.24

^{a)} : Mean ± SD

Table 2. Cesarean section data of rats administered T-3262 orally in fertility study
(dissected on day 20 of gestation)

Dose (mg/kg)		Control	80	500	3,000
No. of corpora lutea		330 (17.4±2.41) ^{a)}	359 (18.0±3.95)	335 (16.8±2.36)	390 (17.0±2.40)
No. of implantations		297 (15.6±2.06)	316 (15.8±2.97)	298 (14.9±3.18)	364 (15.8±1.99)
No. of dead fetuses (%)	Early	9 (3.0)	25 (7.9)*	20 (6.7)	16 (4.4)
	Late	0	0	0	0
No. of live fetuses		288 (15.2±2.19)	291 (14.6±3.03)	278 (13.9±3.21)	348 (15.1±2.03)
Sex ratio (male/female)		1.01 (145/143)	1.09 (152/139)	1.00 (139/139)	1.19 (189/159)
Body weight of live fetuses (g)					
Male		3.72±0.251	3.79±0.238	3.89±0.260	3.88±0.309
Female		3.57±0.256	3.58±0.285	3.73±0.232*	3.65±0.321
No. of fetuses with external abnormality (%)					
Exencephaly		0	1 (0.3)	0	0

^{a)} : Mean ± SD

Significantly different from control * P<0.05

認めなかった。内臓異常として冠状動脈口の過剰が 500 mg/kg 投与群で有意に増加したが、3,000 mg/kg 投与群では対照群との差を認めなかった。

2. 器官形成期投与試験

母体体重、摂餌量、摂水量の推移を Fig. 8～10 に示す。体重は 500 mg/kg 投与群にのみ妊娠期間の後半に有意な増加抑制が認められたが、分娩後は対照群と同様に推移した。摂餌量は投与開始後 T-3262 投与全群に一過性の減少が観察され 500 mg/kg 投与群ではやや回復が遅れた。摂水量は投与開始 2～3 日後から T-3262 投与全群で増加した。80 mg/kg 投与群では 3 日程で回復したが、500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群では妊娠末期まで有意な増加が認められた。しかし、分娩後は 500 mg/kg 投与群の 7 日後に有意な増加が認められただけであった。

一般症状としては軽度な軟便が妊娠 10 日頃から 20 日頃迄 500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群に観察され、検体の排泄と思われる白色を帯びた軟便の観察される日があった。また、妊娠 12～18 日の間の 1～2 日間に肛門周囲にごく微量の暗赤色をした血様物の付着が観

察された母体が 500 mg/kg 投与群で 4/33 例、3,000 mg/kg 投与群で 19/34 例みられた。そのほかには異常を認めなかった。誤投与により 3,000 mg/kg 投与群の 1 例が死亡したが、T-3262 の影響による死亡は認められなかった。

妊娠 21 日に行なった帝王切開時および離乳時の母体の臓器重量を Table 5 に示す。妊娠 21 日には 500 mg/kg 投与群の心、肝および唾液腺、3,000 mg/kg 投与群の心および肝に有意な重量減少が認められた。しかし、盲腸腔の拡張が 500 mg/kg 投与群に 8/20 例、3,000 mg/kg 投与群に 18/20 例観察された以外に肉眼的な異常は認められなかった。離乳時には 500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群の肝重量と 3,000 mg/kg 投与群の卵巣重量に有意な増加が認められたが、その程度はごく僅かであり、卵巣重量体重比には有意差を認めなかった。

80 mg/kg 投与群の 1 母体に出生仔の一部喰殺が、500 mg/kg 投与群の 1 母体に全仔喰殺が観察された。

妊娠 21 日に行なった帝王切開の所見を Table 6 に示す。黄体数、着床数、生存胎仔数、死亡胎仔数には対照群との差を認めなかった。3,000 mg/kg 投与群の性比

Table 3. Organ weight of rats (F₀) administered T-3262 orally in fertility study

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of male rats examined	23	25	24	25
Body weight (g)	488±42.8 ^{a)}	483±39.5	492±35.6	480±37.6
Organ weight (g)				
Heart	1.28±0.136	1.23±0.135	1.21±0.118	1.21±0.119*
Lung	1.59±0.285	1.58±0.286	1.51±0.182	1.48±0.124
Liver	17.62±2.213	16.18±1.873*	16.61±1.546	15.62±1.744**
Kidney Left	1.45±0.145	1.40±0.127	1.42±0.131	1.45±0.167
Kidney Right	1.50±0.143	1.42±0.120*	1.45±0.142	1.48±0.143
Spleen	0.93±0.183	0.92±0.194	0.92±0.096	0.86±0.112
Adrenals	0.053±0.0110	0.048±0.0069	0.052±0.0091	0.049±0.0090
Thymus	0.34±0.107	0.32±0.086	0.32±0.075	0.31±0.062
Salivary glands	0.70±0.071	0.67±0.061	0.70±0.058	0.68±0.075
Testis Left	1.94±0.142	1.85±0.143	1.90±0.176	1.87±0.137
Testis Right	1.94±0.147	1.86±0.140*	1.84±0.179*	1.86±0.134
Seminal vesicles and prostate	2.93±0.480	2.79±0.470	2.82±0.390	2.87±0.410
Epididymis	1.39±0.161	1.33±0.129	1.37±0.149	1.33±0.132
No. of pregnant rats examined	19	20	20	23
Body weight (g)	449±34.0	434±34.2	438±32.4	439±34.4
Organ weight (g)				
Heart	1.01±0.102	0.97±0.103	0.98±0.090	0.95±0.096*
Lung	1.31±0.109	1.26±0.119	1.24±0.067*	1.25±0.127
Liver	16.44±1.329	15.41±1.786*	15.13±1.348**	14.60±1.196**
Kidney Left	1.00±0.129	0.99±0.132	0.98±0.096	0.95±0.086
Kidney Right	1.05±0.124	1.02±0.134	0.99±0.102	0.98±0.094
Spleen	0.78±0.096	0.81±0.152	0.83±0.117	0.86±0.135
Adrenals	0.06±0.007	0.06±0.010	0.06±0.010	0.06±0.010
Thymus	0.22±0.055	0.21±0.042	0.23±0.054	0.24±0.068
Salivary glands	0.53±0.042	0.55±0.040	0.55±0.047	0.52±0.032
Ovaries	0.12±0.015	0.12±0.020	0.12±0.017	0.12±0.021

^{a)}: Mean±SD

Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01

が対照群と比較してやや高い値を示したが統計学的な有意差は認められなかった。T-3262 投与全群の雄および 80 mg/kg 投与群と 3,000 mg/kg 投与群の雌に生存胎仔体重の有意な減少が認められた。外表異常としては 500 mg/kg 投与群に下半身の皮下水腫と後肢内反足の合併症が 1 例認められたのみであった。

胎仔の骨格および内臓の観察結果を Table 7 に示す。対照群および T-3262 投与群ともに骨格異常は認められなかったが、骨格変異として 3,000 mg/kg 投与群の 13 肋骨の短小に対照群との有意差が認められた。対照群には T-3262 投与群に観察されなかった腸骨の変形 (Fig. 11) が 1 例観察された。化骨進行度としては 80 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群に仙尾椎骨化骨数の有意な減少が認められた。また、3,000 mg/kg 投与群では有意差は認められなかったが、後肢趾骨化骨数の減少が観察された。内臓異常として冠状動脈口の過剰

が 500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群で有意に増加した。

出生時の観察と出生仔の体重推移および 6 週齢までの生存率を Table 8 に示す。妊娠期間、着床数および生存仔数には対照群との差を認めなかった。3,000 mg/kg 投与群では分娩発見時における死亡仔数が対照群と比較して僅かに増加したが、有意差は認められなかった。出生時の体重およびその後の発育、4 日生存率、離乳率、6 週生存率には対照群との差を認めなかった。出生時には対照群、T-3262 投与群ともに外表異常は認められなかったが、対照群に開眼時期になっても片方だけ開眼しない仔が 1 例見られ、6 週齢時の剖検で小眼球であることが判明した。外形分化の時期および感覚機能には異常を認めなかった。対照群の雄 1 例が 1 週齢時に喰殺され、3,000 mg/kg 投与群の雌仔 1 例が 11 週齢時に尿路結石で死亡したが、そのほかには 4 日齢以降の死亡は

Table 4. Skeletal and visceral observation on fetuses obtained from dams administered T-3262 orally in fertility study (dissected on day 20 of gestation)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
<u>Skeletal observation</u>				
No. of fetuses observed	149	148	145	177
No. of fetuses with abnormality (%)				
Defect of skull	0	1 (0.7)	0	0
No. of fetuses with variations (%)	7 (4.7)	6 (4.1)	1 (0.7)	4 (2.3)
14th rib	1	2	1	0
Variation in number of presacral vertebrae	5	4	0	3
Splitting of vertebral bodies	0	1	0	1
Shortening of 13th rib	1	0	0	0
Asymmetry of sternbrae	1	0	0	0
Degree of ossification (mean±SD)				
No. of ossified sternbrae	5.5±0.40	5.6±0.47	5.7±0.43	5.6±0.38
No. of ossified sacral and caudal vertebrae	8.1±0.43	8.1±0.55	8.2±0.42	8.1±0.31
No. of phalanges in fore limbs ^{a)}	1.6±1.24	2.3±1.41	2.2±1.22	2.3±1.13
No. of phalanges in hind limbs ^{a)}	0	0	0	0.0±0.02
<u>Visceral observation</u>				
No. of fetuses observed	139	143	133	171
No. of fetuses with abnormality (%)	18 (12.9)	24 (16.8)	26 (19.5)	33 (19.3)
Thymic remnant in neck	8	8	6	13
Abnormal lobation of lung	0	1	1	0
Ventricular septal defect	1	0	2	2
Supernumerary coronary orifice	4	7	12*	6
Abnormality of the great vessels	1 ^{b)}	0	1 ^{c)}	0
Accessory lobe of liver	4	6	4	4
Dislocation of adrenal (left)	0	0	2	0
Dislocation of ovary (left)	0	0	1	0
Unilateral hypoplasia of uterus (right)	0	0	0	1
Dilatation of ureter	2	2	0	4
Dilatation of renal pelvis	0	1	1	3
Umbilical artery positioned to left of urinary bladder	0	0	1	2

^{a)}: Proximal and middle phalanges
^{b)}: Interruption of the aortic arch
^{c)}: Complete transposition of the great arteries
Significantly different from control * P<0.05

認められず異常症状も認められなかった。

4日齢で仔数調整のために淘汰した仔の骨格観察の結果を Table 9 に示す。骨格異常として対照群に胸骨核の異形成 (Fig. 12) が、500 mg/kg 投与群に大腿骨の異形成 (Fig. 13) が各 1 例観察された。骨格変異では 3,000 mg/kg 投与群の 13 肋骨の短小に対照群との有意差が認められた。化骨進行度には 3,000 mg/kg 投与群の仙尾椎骨化骨数が有意に少なく、軽度ではあったが、化骨の遅れが認められた。

生後 6 週齢で剖検した仔の臓器重量を Table 10 に示す。T-3262 投与全群の雌の副腎と 500 mg/kg 投与群の脾の腎および胸腺に軽度な重量増加がみられたが、体重

比には対照群との差を認めなかった。雄の臓器重量には対照群との差を認めなかった。胸腹部諸臓器の肉眼的観察の結果、腎盂拡張が対照群、500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群の雌にそれぞれ 1～2 例ずつ観察され、500 mg/kg 投与群の腎盂拡張例は膀胱結石を伴うものであった。

Open field 試験の結果を Table 11 に示す。80mg/kg 投与群雄の 1 試行における脱糞数に有意な増加を認めたにすぎなかった。

水迷路試験の結果を Fig. 14, 15 に示す。錯誤数の有意な減少が 80mg/kg 投与群雄の 5 試行、3,000mg/kg 投与群雄の 5 および 6 試行に観察された。また、所要時

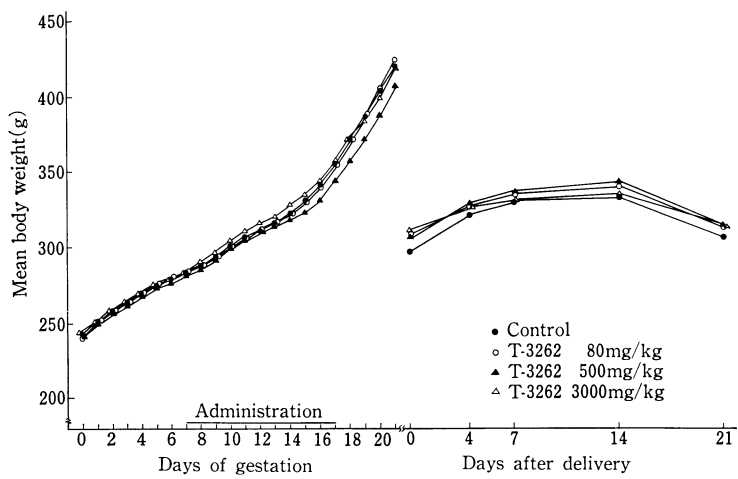


Fig. 8. Body weight changes of dams administered T-3262 orally in teratological study.

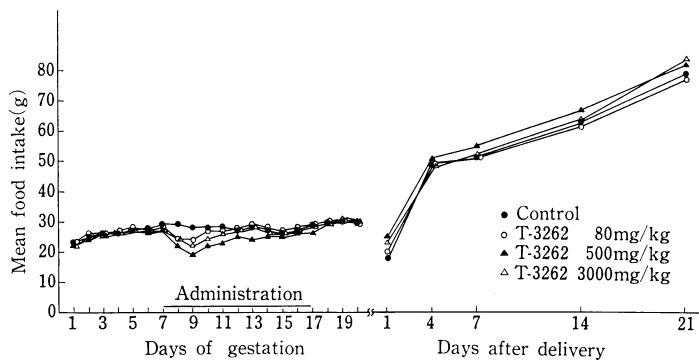


Fig. 9. Food intake of dams administered T-3262 orally in teratological study.

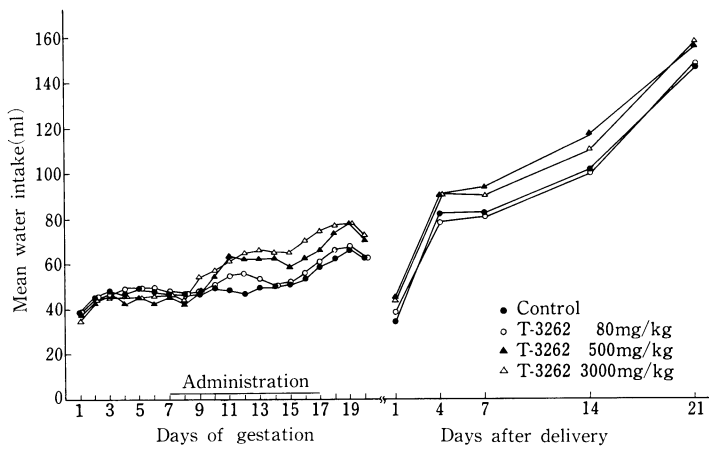


Fig. 10. Water intake of dams administered T-3262 orally in teratological study.

Table 5. Organ weight of dams administered T-3262 orally in teratological study

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
Dissected on day 21 of gestation				
No. of dams examined	24	20	20	20
Body weight (g)	420±31.7 ^{a)}	424±29.3	407±34.4	418±31.0
Organ weight (g)				
Heart	0.97±0.098	0.93±0.083	0.89±0.065**	0.88±0.074**
Lung	1.26±0.212	1.23±0.115	1.20±0.250	1.15±0.128
Liver	14.50±1.608	14.99±1.828	12.89±0.836**	13.16±1.472**
Kidney	Left	0.97±0.102	0.91±0.091	0.93±0.089
	Right	1.00±0.104	0.94±0.090	0.95±0.089
Spleen	0.80±0.115	0.83±0.152	0.76±0.091	0.80±0.126
Adrenals	0.06±0.009	0.06±0.012	0.06±0.008*	0.06±0.010*
Thymus	0.27±0.078	0.28±0.077	0.27±0.077	0.24±0.077
Salivary glands	0.51±0.047	0.51±0.050	0.47±0.043**	0.49±0.050
Ovaries	0.12±0.022	0.13±0.029	0.12±0.020	0.12±0.018
Dissected after weaning				
No. of dams examined	15	15	12	14
Body weight (g)	286±24.1	293±19.4	292±11.2	291±15.6
Organ weight (g)				
Heart	0.99±0.089	1.01±0.081	1.02±0.069	1.03±0.075
Lung	1.31±0.282	1.29±0.142	1.24±0.086	1.25±0.078
Liver	12.37±1.324	13.33±1.529	13.40±1.006*	13.49±1.133*
Kidney	Left	1.01±0.102	1.01±0.094	1.05±0.112
	Right	1.06±0.099	1.08±0.122	1.10±0.100
Spleen	0.61±0.075	0.64±0.073	0.65±0.059	0.64±0.070
Adrenals	0.06±0.011	0.06±0.010	0.06±0.011	0.06±0.009
Thymus	0.22±0.068	0.22±0.072	0.22±0.061	0.21±0.064
Salivary glands	0.52±0.037	0.54±0.042	0.53±0.040	0.55±0.058
Ovaries	0.11±0.017	0.12±0.025	0.11±0.015	0.13±0.025*

^{a)} : Mean±SD

Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01

間の短縮が 500mg/kg 投与群雌の 8 および 9 試行と 3,000mg/kg 投与群雌の 3, 5, 7 の各試行に観察された。

F₁ の生殖能力および F₂ 胎仔の観察結果を Table 12 に示す。1 回目の同居で全例に交尾を認めた。交尾成立までの日数、交尾率、妊娠率には対照群との差を認めなかった。T-3262 投与全群に黄体数の軽度増加が認められ、500mg/kg 投与群および 3,000 mg/kg 投与群には有意差が認められた。着床数、生存胎仔数、生存胎仔体重、性比には対照群と T-3262 投与群との差を認めなかった。なお、死亡胎仔数が T-3262 投与群でわずかに増加したが胎仔死亡率には有意差を認めなかった。胎仔の外観観察の結果、対照群に全身浮腫が 1 例、80 mg/kg 投与群と 3,000 mg/kg 投与群に椎骨欠損、無尾および鎖肛の合併症が各 1 例、500 mg/kg 投与群に顔面構造の異常 (Fig. 16) が 1 例と小下顎症が 2 例認められ

た。F₁ の妊娠末期胎仔および 4 日齢仔の骨格観察の結果 3,000mg/kg 投与群では 13 肋骨の短小が増加したことから、対照群と 3,000 mg/kg 投与群の F₂ 胎仔について骨格観察を行なったが、13 肋骨の短小を含めて肋骨には異常を認めなかった。

F₁ 雌の妊娠末期剖検の結果、T-3262 投与全群に黄体数が僅かに多かったことに起因すると思われる卵巣重量の軽度増加がみられた。また、80 mg/kg 投与群に肝副葉の存在が 1 例と前胃部が肥厚し脾、脾と癒着した動物が 1 例認められた。生後 16 週齢に行なった F₁ 雄の剖検の結果、心または腎重量および体重比の増加が各群に散見されたが、用量依存性は認められなかった。肉眼的内臓観察では 80 mg/kg 投与群に肝副葉の存在と腎盂の軽度拡張が各 1 例観察された。

3. 周産期および授乳期投与試験

母体体重、摂餌量、摂水量の推移を Fig. 17～19 に示

Table 6. Cesarean section data of dams administered T-3262 orally in teratological study
(dissected on day 21 of gestation)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of dams	24	20	20	20
No. of corpora lutea	395 (16.5±2.11) ^{a)}	334 (16.7±2.00)	317 (15.9±4.16)	344 (17.2±3.33)
No. of implantations	336 (14.0±3.81)	307 (15.4±1.60)	262 (13.1±4.64)	283 (14.2±3.60)
No. of dead fetuses (%)				
Early	21 (6.3)	17 (5.5)	24 (9.2)	22 (7.8)
Late	0	1 (0.3)	0	0
No. of live fetuses	315 (13.1±3.59)	289 (14.5±1.67)	238 (11.9±4.76)	261 (13.1±4.03)
Sex ratio (male/female)	1.05 (161/154)	1.19 (157/132)	1.13 (126/112)	1.37 (151/110)
Body weight of live fetuses (g)				
Male	5.45±0.296	5.19±0.255**	5.26±0.302*	5.17±0.413*
Female	5.18±0.282	4.91±0.259**	4.99±0.435	4.82±0.432**
No. of fetuses with external abnormality (%)	0	0	1 (0.4) ^{b)}	0

a) : Mean±SD

b) : Club foot and edema

Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01

Table 7. Skeletal and visceral observation on fetuses obtained from dams administered T-3262 orally
in teratological study
(dissected on day 21 of gestation)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
<u>Skeletal observation</u>				
No. of fetuses observed	165	153	125	135
No. of fetuses with abnormality	0	0	0	0
No. of fetuses with variations (%)	6 (3.6)	0	3 (2.4)	13 (9.6)
Asymmetry of sternebrae	1	0	0	1
14th rib	2	0	0	0
Variations in number of presacral vertebrae	1	0	1	4
Deformity of ilium	1	0	0	0
Shortening of 13th rib	1	0	1	11*
Splitting of thoracic vertebral bodies	0	0	1	0
Degree of ossification (mean±SD)				
No. of ossified sternebrae	6.0±0.10	6.0±0.04	5.9±0.20	5.9±0.18
No. of ossified sacral and caudal vertebrae	10.2±0.75	9.7±0.61*	9.7±0.87	9.1±0.51**
No. of phalanges in fore limbs ^{a)}	6.8±1.20	6.9±1.25	6.8±1.43	6.8±1.09
No. of phalanges in hind limbs ^{a)}	2.3±2.16	1.9±1.90	2.4±2.62	1.4±1.94
<u>Visceral observation</u>				
No. of fetuses observed	150	136	113	126
No. of fetuses with abnormality (%)	21 (14.0)	12 (8.8)	18 (15.9)	30 (23.8)
Thymic remnant in neck	6	2	5	12
Ventricular septal defect	8	4	2	3
Supernumerary coronary orifice	3	5	10*	13**
Defect of innominate artery	0	0	0	1
Accessory lobe of liver	2	1	0	1
Dilatation of ureter	1	0	0	3
Dilatation of renal pelvis	1	0	0	2
Umbilical artery positioned to left of urinary bladder	2	0	0	0
Inguinal hernia	0	0	1	0

a) : Proximal and middle phalanges

Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01

す。妊娠期間中の体重には対照群と T-3262 投与群との差はみられなかったが、分娩後は T-3262 投与全群が対照群を上回る体重を示した。摂餌量には T-3262 投与全群で投与初期の減少がみられたが、授乳期後半には 500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群では対照群より増加した。また、投与開始以降 T-3262 投与全群の摂水量

の増加が観察された。投与開始後の一般症状としては 500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群に投与翌日より分娩後 22 日の解剖時迄軟便が観察され、3,000 mg/kg 投与群では投与翌日より 4 日間検体の排泄と思われる帯白色軟便が観察された。80 mg/kg 投与群の 1 母体に出生仔の一部喰殺と残りの仔の死亡が、3,000 mg/kg 投与

Table 8. Observation of delivery and postnatal development of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in teratological study

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of dams pregnant	15	15	13	14
No. of dams delivered (%)	15 (100)	15 (100) ^{a)}	13 (100) ^{b)}	14 (100)
Gestation period (days)	21.5±0.52 ^{a)}	22.0±0	21.8±0.55	21.9±0.27
No. of implantations	232 (15.5±2.45)	236 (15.7±3.03)	203 (15.6±1.45)	229 (16.4±3.08)
No. of pups born	Live	199 (14.2±3.04)	178 (14.8±1.19)	201 (14.4±3.32)
	Dead (%)	2 (1.0)	1 (0.6)	8 (3.8)
Birth rate (%) ^{a)}	92.2	90.5	94.2	87.8
Sex ratio (male/female)	0.78 (94/120)	0.65 (81/124)	0.98 (88/90)	1.07 (104/97)
Viability (%)				
4th day ^{b)}	213/214 (99.5)	201/204 (98.5)	176/178 (98.9)	196/201 (97.5)
3rd week ^{c)}	119/120 (99.2)	117/117 (100)	96/ 96 (100)	111/111 (100)
6th week ^{d)}	119/120 (99.2)	117/117 (100)	96/ 96 (100)	111/111 (100)
Body weight changes of F ₁ (g)				
Male				
At birth	94 ^{b)} 6.20±0.402	81 6.27±0.441	88 6.31±0.521	104 6.07±0.366
4th day	Before culling	81 10.35±1.299	88 10.19±1.154	102 9.86±1.245
	After culling	57 10.46±1.263	46 10.23±1.167	56 9.91±1.216
3rd week	58 56.7±3.32	57 57.1±4.37	46 58.8±5.91	56 55.9±3.31
6th week	58 201±10.3	57 202±7.7	46 207±14.2	56 200±10.2
9th week	20 357±19.4	20 358±20.8	20 369±21.9	20 350±16.0
12th week	20 442±27.5	20 448±26.8	20 460±28.3	20 438±18.1
Female				
At birth	120 5.80±0.332	124 5.94±0.438	90 5.88±0.472	97 5.62±0.285
4th day	Before culling	120 9.73±1.478	88 9.66±1.025	94 9.42±1.107
	After culling	60 9.91±1.430	50 9.79±1.051	55 9.63±1.035
3rd week	61 54.8±2.87	60 55.6±4.10	50 57.0±5.24	55 55.1±3.11
6th week	61 159±7.2	60 164±8.3	50 165±7.2*	55 161±7.5
9th week	20 223±13.5	20 224±13.2	20 236±15.9	20 223±13.8
12th week	20 252±15.8	20 259±17.1	20 267±20.8	19 ^{d)} 256±20.3
External observation				
Microphthalmia	1	0	0	0

a) : (No. of pups born alive/No. of implantations)×100
b) : No. of 4-day-old pups before culling/No. of pups born alive.
c) : No. of pups at 3rd week/No. of 4-days-old pups after culling
d) : No. of pups at 6th week/No. of 4-days-old pups after culling
e) : At birth, one dam killed a part of pups by cannibalism, its litter was excluded in calculation of birth rate and number of pups born.
f) : At birth, one dam killed whole pups by cannibalism, its litter was excluded in calculation of birth rate and number of pups born.
g) : Mean±SD
h) : No. of F₁
i) : One rat died of urinary calculus.
Significantly different from control * P<0.05

Table 9. Skeletal observation on pups obtained from dams administered T-3262 orally in teratological study (culled at 4 days old)

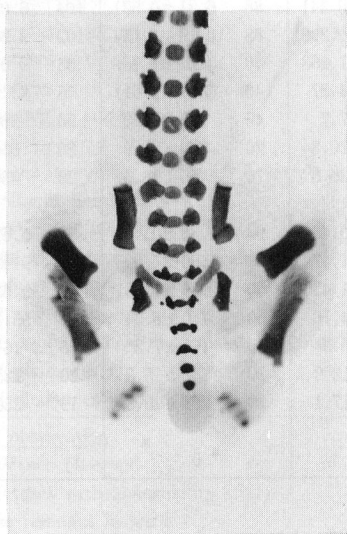
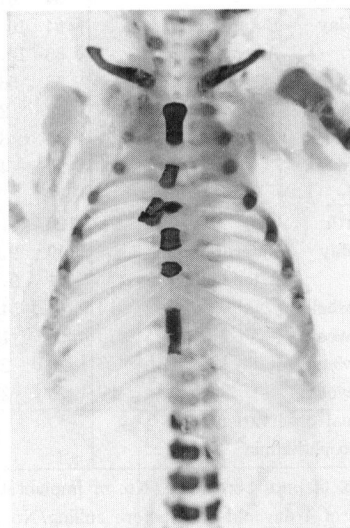
Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of pups observed	93	84	80	85
No. of pups with abnormality (%)	1 (1.1) ^{b)}	0	1 (1.3) ^{c)}	0
No. of pups with variations (%)	1 (5.4)	2 (2.4)	5 (6.3)	14 (16.5)
Sternebrae				
Accessory	3	1	0	1
Asymmetry	0	0	0	0
Splitting and fusion	0	0	1	0
Cervical rib	0	0	1	0
14th rib	0	0	1	0
Shortening of 13th rib	0	0	2	12*
Variation in number of presacral vertebrae	2	1	0	9
Degree of ossification (mean±SD)				
No. of ossified sternebrae	6.0±0.00	6.0±0.00	6.0±0.00	6.0±0.06
No. of ossified sacral and caudal vertebrae	24.9±1.10	24.8±0.97	25.2±1.06	23.8±1.09*
No. of phalanges in fore limbs ^{a)}	16.0±0.00	16.0±0.00	16.0±0.00	16.0±0.00
No. of phalanges in hind limbs ^{a)}	17.9±0.35	18.0±0.00	18.0±0.00	17.9±0.17

a) : Proximal and middle phalanges

b) : Anomaly of sternebrae

c) : Anomaly of femur

Significantly different from control * P<0.05

Fig. 11. Deformity of ilium in F₁ fetus of the control group in the teratological study.Fig. 12. Deformity of sternebrae in F₁ neonate of the control group in the teratological study.

群の1母体に全仔喰殺がみられた。誤投与のため T-3262 投与全群で各1例の母体が死亡したほか 3,000 mg/kg 投与群の1母体が誤投与のため衰弱し哺育行動が出来ず仔全例が死亡したので屠殺した。

離乳後の母体の臓器重量を Table 13 に示す。500 mg/

kg 投与群の腎, 3,000 mg/kg 投与群の肝, 腎, 副腎重量の増加および 3,000 mg/kg 投与群の卵巣重量の減少が認められたが, 肝, 腎および副腎重量の体重比には対照群との差を認めなかった。なお, 腎への石灰沈着や膀胱結石が対照群を含む全投与群に 3~7 例認められ, 盲

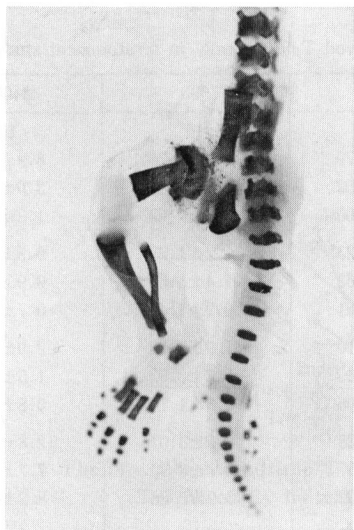


Fig. 13. Deformity of femur in F₁ neonate of the T-3262 500 mg/kg group in the teratological study.

腸腔の拡張が 500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群の全例に認められた。

出生時の観察と出生仔の体重推移および 6 週齢までの生存率を Table 14 に示す。出産率および出生率には対照群との差を認めなかった。3,000 mg/kg 投与群の妊娠期間が対照群の 21.9 日に対して 22.1 日であり統計学的には有意差がみられたが正常範囲の値であった。出生仔の発育、4 日生存率、離乳率、6 週生存率には対照群との差を認めなかった。出生時には対照群、T-3262 投与群ともに外表異常は観察されなかったが、生後 4 日以降に対照群を含む全群に腹圧を加えるとごく僅かに突出する軽度の臍ヘルニアが 2～9 例観察された。しかし、3,000 mg/kg 投与群の 1 例を除いて 6 週齢までには観察されなくなった。500 mg/kg 投与群の雄 1 例が切歯が湾曲して摂餌できず死亡し、雌 1 例が生後 4 週齢頃から水頭症を発症して急激に体重が減少し衰弱したので屠殺した。また、500 mg/kg 投与群の雌 1 例が生後 8 週齢で尿路結石のため衰弱したので屠殺し、80 mg/kg 投

Table 10. Organ weight of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in teratological study (dissected at 6 weeks old)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of male examined	38	37	25	36
Body weight (g)	204±10.4 ^{a)}	201±11.0	205±17.1	200±10.6
Organ weight (g)				
Heart	0.75±0.044	0.74±0.030	0.75±0.071	0.73±0.074
Lung	1.04±0.074	1.07±0.073	1.04±0.077	1.01±0.045
Liver	9.83±0.900	9.33±0.882	9.52±1.025	9.39±0.797
Kidney Left	0.81±0.057	0.80±0.060	0.83±0.074	0.83±0.067
Right	0.83±0.057	0.82±0.052	0.85±0.071	0.85±0.056
Spleen	0.61±0.073	0.61±0.077	0.63±0.072	0.62±0.108
Adrenals	0.03±0.006	0.03±0.005	0.03±0.000	0.03±0.005
Thymus	0.56±0.068	0.56±0.067	0.58±0.051	0.54±0.071
Salivary glands	0.40±0.024	0.41±0.025	0.41±0.030	0.40±0.026
Testis Left	0.99±0.049	0.98±0.055	1.02±0.085	0.99±0.063
Right	0.99±0.050	0.98±0.054	1.02±0.083	0.98±0.066
No. of female examined	40	41	30	35
Body weight (g)	160±7.3	164±6.1	165±8.0	165±7.4
Organ weight (g)				
Heart	0.60±0.030	0.61±0.030	0.61±0.033	0.61±0.030
Lung	0.87±0.062	0.88±0.051	0.88±0.046	0.86±0.043
Liver	7.55±0.677	7.51±0.600	7.59±0.628	7.53±0.497
Kidney Left	0.63±0.056	0.64±0.037	0.66±0.073	0.67±0.056
Right	0.64±0.059	0.67±0.043	0.69±0.064*	0.68±0.053
Spleen	0.43±0.064	0.47±0.049	0.47±0.044	0.47±0.063
Adrenals	0.03±0.006	0.04±0.005**	0.04±0.007**	0.04±0.006**
Thymus	0.46±0.060	0.48±0.046	0.51±0.039*	0.45±0.046
Salivary glands	0.33±0.016	0.34±0.021	0.34±0.024	0.34±0.034
Ovaries	0.06±0.012	0.06±0.009	0.06±0.008	0.06±0.010

^{a)} : Mean±SD
Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01

Table 11. Open field test of pups obtained from dams administered T-3262 orally in teratological study

Dose (mg/kg)		Control	80	500	3,000
No. of male rats observed		10	10	10	10
Latency (sec.)	1st ^{a)}	10.2±5.77 ^{b)}	9.9±4.79	9.4±5.76	8.9±4.23
	2nd	5.0±4.19	4.0±3.62	2.6±1.84	3.0±2.26
	3rd	1.4±0.84	2.0±2.00	1.2±0.63	1.3±0.67
Defecation	1st	1.1±1.10	3.1±2.23*	1.2±1.23	0.9±1.45
	2nd	1.6±1.96	1.8±1.62	1.4±1.51	0.9±1.91
	3rd	1.2±1.62	1.5±1.51	0.9±1.45	0.7±1.25
Urination	1st	1.8±1.03	1.9±1.10	1.9±1.29	2.0±1.33
	2nd	1.1±1.29	1.1±1.45	1.2±0.92	1.5±1.27
	3rd	0.8±0.79	0.7±1.06	0.8±1.14	0.8±0.92
Rearing	1st	12.6±6.28	10.9±4.28	8.9±3.07	12.8±5.14
	2nd	7.7±4.03	7.7±6.57	3.7±3.50	7.7±4.22
	3rd	7.0±4.85	5.1±5.02	5.9±2.88	8.2±6.18
Grooming	1st	1.8±0.92	1.3±1.25	2.0±0.82	1.6±1.35
	2nd	2.6±1.26	1.5±1.18	1.9±1.10	2.0±1.56
	3rd	3.6±2.32	2.2±1.48	2.2±1.62	2.4±1.71
Ambulation	1st	32.1±17.62	26.6±17.07	26.8±15.81	35.1±22.46
	2nd	34.3±28.60	24.0±14.06	19.7±19.85	28.3±17.28
	3rd	29.9±29.31	19.2±19.42	25.2±16.11	38.2±23.84
No. of female rats observed		10	10	10	10
Latency (sec.)	1st	8.2±4.57	11.0±7.93	9.1±6.42	7.8±4.76
	2nd	2.2±1.14	2.2±1.48	2.8±2.04	2.2±1.23
	3rd	1.5±1.08	1.1±0.32	2.9±4.98	1.0±0.00
Defecation	1st	0.1±0.32	0.1±0.32	0.0±0.00	0.8±1.87
	2nd	0.2±0.63	0.1±0.32	0.0±0.00	1.0±2.16
	3rd	0.0±0.00	0.6±1.90	0.0±0.00	0.8±1.75
Urination	1st	1.9±1.52	1.2±0.92	1.7±1.42	1.5±1.90
	2nd	1.1±1.60	0.6±0.97	1.0±0.67	0.4±0.70
	3rd	0.5±0.85	0.5±0.85	0.5±0.71	0.2±0.42
Rearing	1st	15.8±4.47	11.9±6.21	15.2±5.59	13.2±7.07
	2nd	8.1±5.49	10.2±7.21	9.5±5.32	9.7±7.94
	3rd	12.7±5.95	10.4±8.07	10.1±5.55	11.3±7.35
Grooming	1st	1.6±1.65	1.4±1.51	1.7±1.25	1.3±1.34
	2nd	2.4±1.78	1.3±1.34	2.3±1.89	2.1±1.85
	3rd	1.8±0.63	1.1±1.37	1.9±1.60	1.9±1.45
Ambulation	1st	42.2±11.70	33.3±17.18	44.5±24.10	45.6±18.17
	2nd	38.0±25.20	39.8±25.03	36.2±27.30	47.7±26.81
	3rd	58.3±34.22	45.7±29.36	49.6±23.70	61.7±28.36

^{a)} : Trials^{b)} : Mean±SD

Significantly different from control * P<0.05

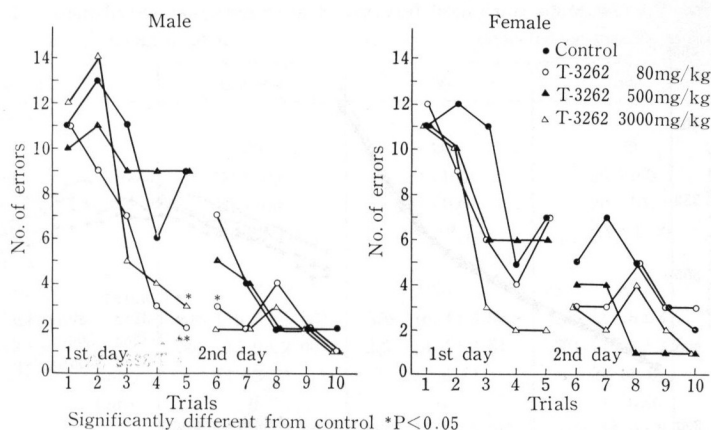


Fig. 14. Water multiple T-maze test of F_1 obtained from dams administered T-3262 orally in teratological study (no. of errors).

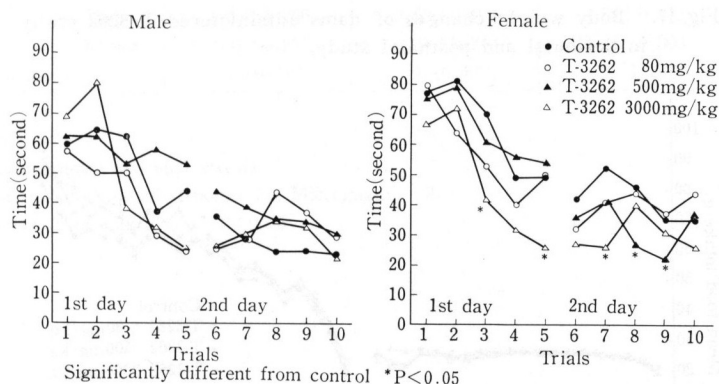


Fig. 15. Water multiple T-maze test of F_1 obtained from dams administered T-3262 orally in teratological study (swimming time).

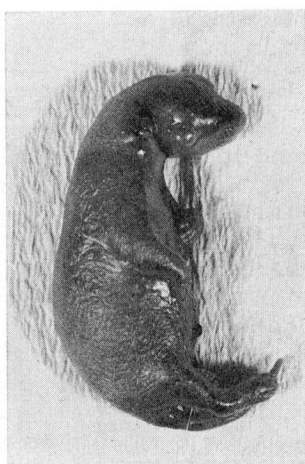


Fig. 16. Deformity of craniofacial structure in F_2 fetus of the T-3262 500 mg/kg group in the teratological study.

与群の雌1例が生殖能力試験の妊娠期間中に尿路結石のため死亡した。そのほかには生後4日以降の仔の死亡はなかった。外形分化の時期および感覚機能には異常を認めなかった。

4日齢で仔数調整のために淘汰した仔の骨格観察の結果を Table 15 に示す。骨格異常として T-3262 投与全群に3～4例の脛骨の変形 (Fig. 20) が観察され、いずれも対照群との間に有意差が認められた。そのほかにも3,000 mg/kg 投与群の1例に肋骨の結節が観察された。対照群には肋骨の結節が1例、上腕骨の形態異常 (Fig. 21) が1例観察された。変異としては80mg/kg 投与群の14肋骨の形成に対照群との有意差が認められた。化骨進行度には差を認めなかった。

生後6週齢仔の剖検結果を Table 16 に示す。3,000 mg/kg 投与群の雌雄に肝重量の減少が認められた。内臓の肉眼的観察では対照群に3例、500 mg/kg 投与群に7例、3,000 mg/kg 投与群に2例の腎盂拡張が観察さ

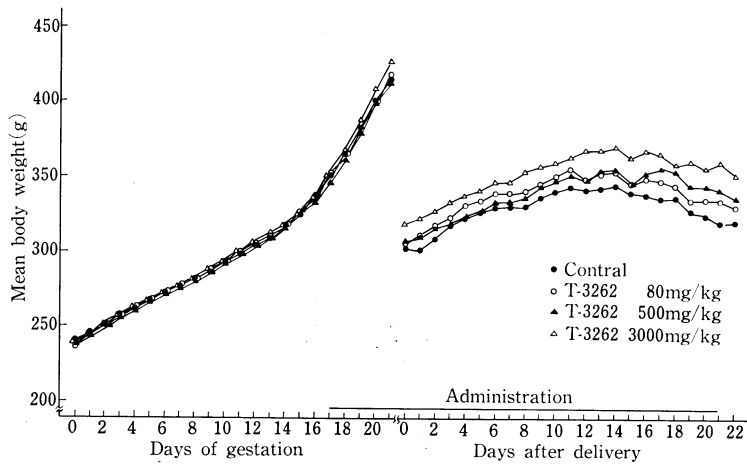


Fig. 17. Body weight changes of dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study.

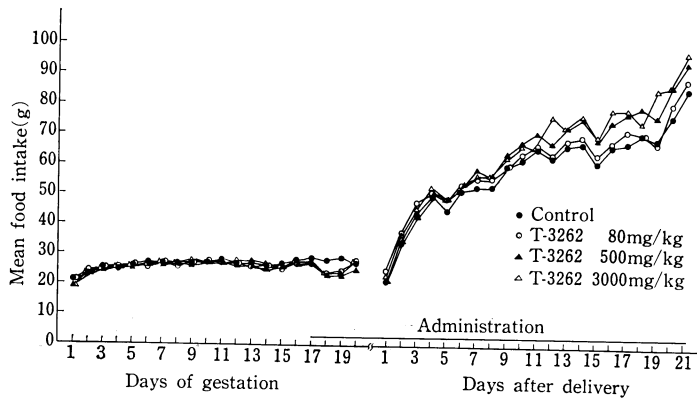


Fig. 18. Food intake of dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study.

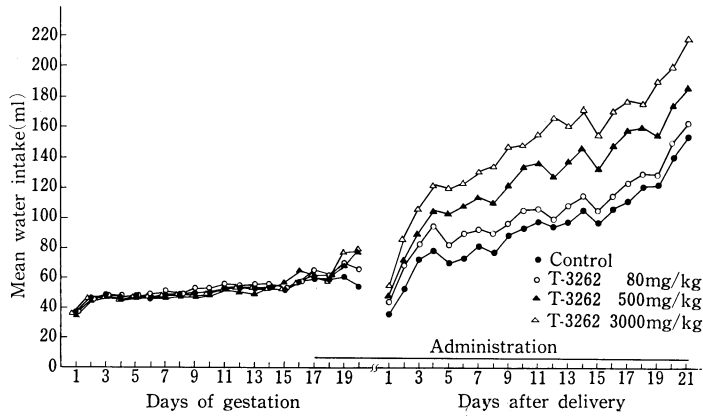


Fig. 19. Water intake of dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study.

Table 12. Reproductive performance of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in teratological study (dissected on day 20 of gestation)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
<u>Mating and fertility data</u>				
No. of pairs	20	20	20	19
No. of copulations (%)	20 (100)	20 (100)	20 (100)	19 (100)
No. of pregnancies (%)	20 (100)	20 (100)	20 (100)	17 (89.5)
Mating period (days)	3.3±2.71 ^{a)}	2.8±2.75	2.1±1.00	2.5±1.22
<u>Cesarean section data</u>				
No. of dams examined	20	20	20	17
No. of corpora lutea	315 (15.8±1.80)	326 (16.3±2.90)	355 (17.8±3.27)*	303 (17.8±3.21)*
No. of implantations	300 (15.0±2.00)	287 (14.4±2.64)	301 (15.1±2.50)	273 (16.1±1.75)
No. of dead fetuses (%)	11 (3.7)	25 (8.7)	21 (7.0)	18 (6.6)
Early				
Late	0	0	1 (0.3)	0
No. of live fetuses	289 (14.5±2.19)	262 (13.1±3.01)	279 (14.0±2.82)	255 (15.0±2.40)
Sex ratio (male/female)	1.21 (158/131)	0.91 (125/137)	1.13 (148/131)	1.16 (137/118)
Body weight of live fetuses (g)				
Male	3.65±0.256	3.63±0.182	3.54±0.312	3.56±0.223
Female	3.47±0.237	3.48±0.240	3.35±0.300	3.42±0.169
External abnormality (%)	1 (0.3) ^{b)}	1 (0.4) ^{c)}	3 (1.1) ^{d)}	1 (0.4) ^{c)}

^{a)} : Mean±SD
^{b)} : General edema
^{c)} : Vertebral agenesis, anury and anal atresia
^{d)} : Abnormality of the craniofacial structure : 1, Micrognathia : 2
Significantly different from control * P<0.05

Table 13. Organ weight of dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study (dissected after weaning)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of dams examined	25	22	24	26
Body weight (g)	321±16.6 ^{a)}	331±15.0	337±14.3	352±19.8
<u>Organ weight (g)</u>				
Heart	0.99 ±0.053	1.00 ±0.082	0.97 ±0.064	0.96 ±0.077
Lung	1.28 ±0.094	1.25 ±0.079	1.24 ±0.065	1.27 ±0.086
Liver	14.83 ±1.219	15.32 ±1.292	14.90 ±1.128	15.80 ±1.294**
Kidney Left	1.13 ±0.092	1.12 ±0.071	1.22 ±0.101**	1.21 ±0.107**
Right	1.18 ±0.115	1.17 ±0.071	1.27 ±0.088**	1.28 ±0.111**
Spleen	0.62 ±0.074	0.64 ±0.061	0.60 ±0.085	0.66 ±0.089
Adrenals	0.071±0.0067	0.070±0.0064	0.071±0.0081	0.077±0.0100*
Thymus	0.16 ±0.059	0.17 ±0.056	0.16 ±0.047	0.14 ±0.060
Salivary glands	0.59 ±0.047	0.58 ±0.054	0.58 ±0.054	0.59 ±0.084
Ovaries	0.104±0.0154	0.100±0.0132	0.097±0.0159	0.093±0.0118**

^{a)} : Mean±SD
Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01

Table 14. Observation of delivery and postnatal development of pups obtained from dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of dams pregnant	25	23	24	27
No. of dams delivered (%)	25 (100)	23 (100)	24 (100)	27 (100) ^{a)}
Gestation period (days)	21.9±0.33 ^{b)}	21.9±0.29	22.0±0.42	22.1±0.32*
No. of implantations	391 (15.6±2.10)	354 (15.4±1.73)	372 (15.5±3.09)	413 (15.3±2.95)
No. of pups born	Live			
Dead (%)	365 (14.6±1.98)	329 (14.3±1.87)	338 (14.1±3.22)	367 (13.6±3.85)
Birth rate (%) ^{c)}	5 (1.4)	2 (0.6)	2 (0.6)	4 (1.1)
Sex ratio (male/female)	93.4	92.9	90.9	88.9
Viability (%)	1.35 (210/155)	0.97 (162/167)	1.07 (175/163)	1.02 (185/182)
4th day ^{d)}	357/365 (97.8)	315/329 (95.7)	333/338 (98.5)	358/367 (97.5)
3rd week ^{e)}	200/200 (100)	176/176 (100)	190/190 (100)	204/204 (100)
6th week ^{f)}	200/200 (100)	176/176 (100)	188/190 (98.9)	204/204 (100)
Body weight changes of F ₁ (g)				
Male				
At birth	210 ^{g)} 6.29±0.365	162 6.38±0.493	175 6.41±0.596	185 6.67±0.666*
4th day				
Before culling	205 10.19±1.109	155 10.56±1.032	174 10.36±1.332	180 10.78±1.384
After culling	103 10.33±1.111	87 10.65±1.014	98 10.47±1.282	100 10.87±1.392
3rd week	103 57.9±3.70	87 59.8±4.04	98 57.4±4.91	100 58.6±3.96
6th week	103 204±12.2	87 206±11.3	97 208±14.0	100 207±11.8
9th week	20 361±24.5	20 369±21.5	20 370±26.4	20 368±20.6
12th week	20 443±27.4	20 460±28.3	20 457±37.4	20 455±32.6
Female				
At birth	155 6.01±0.450	167 6.06±0.494	163 6.05±0.678	182 6.23±0.624
4th day				
Before culling	152 9.85±1.346	160 10.14±1.203	159 9.92±1.411	178 10.21±1.652
After culling	97 9.99±1.367	89 10.26±1.146	92 10.04±1.361	104 10.31±1.630
3rd week	97 56.5±4.53	89 58.3±4.38	92 55.7±4.50	104 56.8±6.17
6th week	97 164±10.2	89 168±9.8	91 165±8.3	104 166±9.4
9th week	20 224±20.0	20 232±18.5	19 229±13.6	20 231±13.7
12th week	20 263±25.2	20 265±25.5	19 263±20.5	20 264±18.9
External observations				
Umbilical hernia at 6 weeks old	0	0	0	1
Hydrocephalus	0	0	1	0
Abnormal occlusion	0	0	1	0

^{a)}: At birth, one dam killed whole pups by cannibalism, its litter was excluded in calculation of birth rate and number of pups born.

^{b)}: Mean±SD

^{c)}: (No. of pups born alive/No. of implantations)×100

^{d)}: No. of 4-day-old pups before culling/No. of pups born alive

^{e)}: No. of pups at 3rd week/No. of 4-day-old pups after culling

^{f)}: No. of pups at 6th week/No. of 4-day-old pups after culling

^{g)}: No. of F₁

Significantly different from control * P<0.05

れた。この他に、対照群に腎形態異常1例、肝表面に1×1.5 mm の黄白色部位がある例が1例観察された。

Open field 試験の結果を Table 17 に示す。試行時間内に中央区画から動こうとしない動物が、対照群の雌雄に各試行とも1～3例、80mg/kg 投与群雄の2試行に1例観察された。T-3262 投与全群の雄の1試行に排尿数の有意な増加と3試行に脱糞数の有意な減少が、雌

の1試行に立ち上がり数の有意な増加が観察された。また、雌3,000mg/kg 投与群では1試行に中央区画潜伏時間の有意な減少と区画移動数の有意な増加が観察された。以上の各項目には雌雄で一致した増加あるいは減少は認められなかった。

水迷路試験の結果を Fig. 22, 23 に示す。錯誤数には500mg/kg 投与群雄の8試行に有意な減少が、3,000

Table 15. Skeletal observation on pups obtained from dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study (culled at 4 days old)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of pups observed	157	149	149	162
No. of pups with abnormality (%)	2 (1.3)	4 (2.7)	3 (2.0)	3 (1.9)
Deformity of tibia	0	4*	3*	3*
Nodulated ribs	1	0	0	1
Deformity of humerus	1	0	0	0
No. of pups with variation (%)	5 (3.2)	8 (5.4)	2 (1.3)	2 (1.2)
Accessory sternebrae	0	1	0	2
Defect of 13th rib	1	0	0	0
14th rib	0	3*	0	0
Variation of number of presacral vertebrae	4	8	1	0
Splitting of vertebral body	0	0	1	0
Degree of ossification (mean±SD)				
No. of ossified sternebrae	6.0±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0
No. of ossified sacral and caudal vertebrae	25.2±1.13	25.3±1.54	25.3±1.45	25.8±1.07
No. of phalanges in fore limbs ^{a)}	16.0±0	16.0±0.06	16.0±0	16.0±0
No. of phalanges in hind limbs ^{a)}	18.0±0.06	18.0±0.08	18.0±0.09	18.0±0

^{a)} : Proximal and middle phalanges
Significantly different from control * P<0.05

Table 16. Organ weight of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study (dissected at 6 weeks old)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
No. of male rats examined	83	67	77	80
Body weight (g)	209±14.8 ^{a)}	208±13.2	210±14.9	209±13.5
Organ weight (g)				
Heart	0.76±0.072	0.73±0.066	0.74±0.054	0.74±0.062
Lung	1.09±0.079	1.04±0.056*	1.08±0.071	1.10±0.085
Liver	10.34±1.086	9.99±1.171	9.91±0.970	9.57±0.687**
Kidney Left	0.86±0.069	0.87±0.097	0.87±0.082	0.87±0.069
Kidney Right	0.89±0.070	0.89±0.093	0.90±0.072	0.89±0.071
Spleen	0.64±0.073	0.61±0.105	0.63±0.073	0.61±0.070
Adrenals	0.03±0.004	0.03±0.004	0.03±0.003	0.03±0.004
Thymus	0.58±0.080	0.59±0.068	0.58±0.080	0.59±0.077
Salivary glands	0.42±0.031	0.40±0.031*	0.41±0.028	0.40±0.033
Testis Left	1.01±0.073	1.01±0.063	1.02±0.057	1.04±0.080
Testis Right	1.02±0.078	1.01±0.058	1.01±0.062	1.03±0.082
No. of female rats examined	77	69	71	84
Body weight (g)	166±11.6	169±9.8	167±9.4	167±9.9
Organ weight (g)				
Heart	0.62±0.049	0.60±0.050	0.60±0.040	0.61±0.038
Lung	0.92±0.068	0.88±0.054	0.90±0.055	0.91±0.063
Liver	8.03±0.692	7.82±0.613	7.70±0.644	7.44±0.480**
Kidney Left	0.68±0.047	0.68±0.065	0.68±0.044	0.68±0.053
Kidney Right	0.70±0.048	0.70±0.067	0.70±0.048	0.71±0.057
Spleen	0.45±0.041	0.46±0.061	0.47±0.064	0.46±0.055
Adrenals	0.04±0.006	0.04±0.004	0.04±0.004	0.04±0.006
Thymus	0.48±0.076	0.50±0.068	0.50±0.064	0.48±0.058
Salivary glands	0.35±0.031	0.35±0.032	0.34±0.021	0.35±0.027
Ovaries	0.07±0.008	0.06±0.007	0.06±0.009	0.06±0.008

^{a)} : Mean±SD
Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01

Table 17. Open field test of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study

Dose (mg/kg)		Control	80	500	3,000
No. of male rats observed		10	10	10	10
Latency (sec.)	1st ^{a)}	11.3±7.14 ^{b)(1)^{c)}}	12.3±10.57	9.7±8.58	11.7±7.53
	2nd	5.4±8.75 (3)	6.7±7.66(1)	4.9±3.81	3.1±1.91
	3rd	9.4±2.88 (2)	20.7±52.89	1.5±1.08	1.3±0.48
Defecation	1st	2.7±2.11	2.1±1.29	1.1±1.45	2.1±2.08
	2nd	2.4±1.84	2.4±2.37	2.4±2.01	2.3±1.57
	3rd	3.9±2.42	1.8±1.55*	1.2±1.14**	1.1±1.85**
Urination	1st	0.7±0.67	2.3±2.00*	2.8±1.48**	1.9±1.20*
	2nd	0.6±0.52	1.5±1.27	2.0±1.15**	0.8±0.92
	3rd	0.8±1.03	1.5±1.08	1.1±0.88	0.9±1.37
Rearing	1st	6.8±6.43	6.5±6.19	8.0±2.58	10.6±4.62
	2nd	3.9±4.28	3.7±4.72	4.5±3.72	5.2±4.37
	3rd	2.9±4.09	4.0±4.45	1.9±2.51	2.3±2.71
Grooming	1st	1.6±1.17	1.6±0.97	2.5±1.51	1.2±0.92
	2nd	1.7±1.42	1.8±1.32	1.5±1.72	1.4±1.07
	3rd	1.7±1.70	1.5±1.35	2.4±2.67	1.2±1.03
Ambulation	1st	25.8±24.90	30.2±25.71	28.3±13.61	32.9±13.63
	2nd	14.2±19.32	24.7±26.99	25.8±22.18	25.5±25.50
	3rd	12.5±15.57	24.8±28.26	14.4±15.33	6.5±7.03
No. of female rats observed		10	10	10	10
Latency (sec.)	1st	19.4±15.20(1)	10.5±7.82	10.0±6.90	6.7±5.60*
	2nd	4.7±3.43 (1)	2.8±1.40	3.0±1.33	3.9±6.59
	3rd	2.3±1.87 (1)	2.0±1.49	2.2±1.40	2.4±4.09
Defecation	1st	0.8±1.32	1.1±1.60	0.3±0.95	0.3±0.95
	2nd	1.1±2.02	0.1±0.32	0.6±1.35	1.1±2.13
	3rd	0.6±0.97	0.1±0.32	0.6±1.07	1.1±2.33
Urination	1st	1.7±1.64	2.1±2.08	1.8±1.93	1.4±1.78
	2nd	0.7±1.06	1.4±1.26	1.4±1.43	1.3±1.16
	3rd	1.4±1.65	0.9±0.99	0.7±1.57	0.7±1.16
Rearing	1st	7.2±3.43	12.8±5.01**	12.4±5.38*	14.8±7.21**
	2nd	7.4±6.57	7.1±4.79	10.6±7.50	9.9±7.37
	3rd	8.6±9.32	6.3±3.62	8.7±7.38	11.1±7.37
Grooming	1st	1.2±0.79	1.1±0.57	1.4±1.35	0.8±0.63
	2nd	1.5±0.85	2.6±1.78	1.5±1.90	1.2±1.48
	3rd	1.2±1.32	2.1±1.97	1.8±1.81	1.0±0.67
Ambulation	1st	36.4±21.11	37.9±11.87	45.2±18.58	67.2±35.16*
	2nd	38.2±34.92	33.5±29.28	61.9±42.97	65.7±46.68
	3rd	49.7±40.93	30.9±20.12	39.6±33.39	64.7±41.74

^{a)} : Trials^{b)} : Mean±SD^{c)} : The animals did not move out of the center area, whose data was excluded in calculation of mean and SD value of latency.

Significantly different from control * P<0.05, ** P<0.01



Fig. 20. Deformity of tibia in F₁ neonate of the T-3262 3,000 mg/kg group in the perinatal and postnatal study.



Fig. 21. Deformity of humerus in F₁ neonate of the control group in the perinatal and postnatal study.

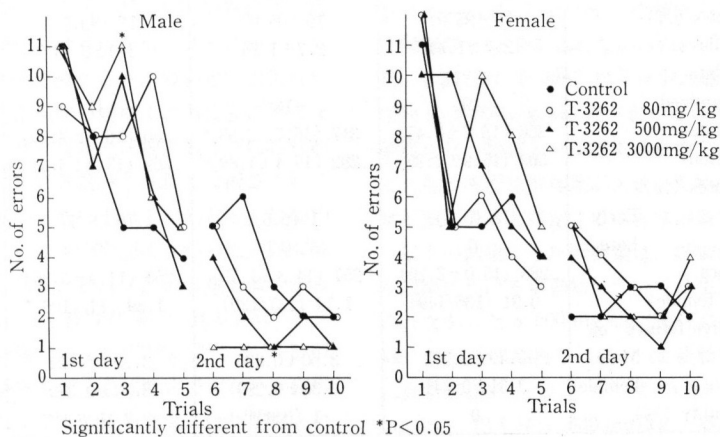


Fig. 22. Water multiple T-maze test of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study (no. of errors).

mg/kg 投与群雄の 3 試行に有意な増加が、8 試行に有意な減少が観察された。雌には有意差は認められなかった。また、500 mg/kg 投与群雄の 7 および 8 試行に所要時間の有意な短縮が観察された。

F₁ の生殖能力および F₂ 胎仔の観察結果を Table 18 に示す。1 回目の同居で全例に交尾を認めた。交尾成立までの日数、交尾率、妊娠率には対照群との差を認めなかった。黄体数、着床数、生存胎仔数にも対照群と T-3262 投与群との差を認めなかった。3,000 mg/kg 投与群の生存胎仔体重が雌雄共に対照群より重く、500 mg/

kg 投与群と 3,000 mg/kg 投与群の性比が僅かに高い値を示した。胎仔の外表面観察の結果、80 mg/kg 投与群と 500 mg/kg 投与群に椎骨欠損、無尾および鎖肛の合併症が各 1 例と 500 mg/kg 投与群に全身浮腫が 1 例認められた。

妊娠末期に剖検した F₁ 雌の臓器重量および内臓には異常を認めなかった。交配終了後に剖検した F₁ 雄の 500 mg/kg 投与群に片側の精巣がやや小さい動物が 2 例みられたが、いずれも交尾および妊娠の成立が認められた。その他の臓器重量および内臓には異常を認めなかった。

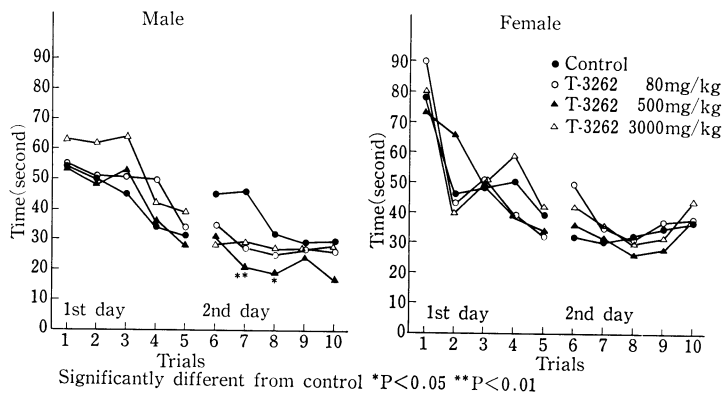


Fig. 23. Water multiple T-maze test of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study (swmming time).

Table 18. Reproductive performance of F₁ obtained from dams administered T-3262 orally in perinatal and postnatal study (dissected on day 20 of gestation)

Dose (mg/kg)	Control	80	500	3,000
<u>Mating and fertility data</u>				
No. of pairs	20	20	19	20
No. of copulations (%)	20 (100)	20 (100)	19 (100)	20 (100)
No. of pregnancies (%)	19 (95.0)	19 (95.0)	17 (89.5)	20 (100)
Mating period (days)	2.7±1.34 ^{a)}	2.7±1.26	2.9±2.94	2.8±3.08
<u>Cesarean section data</u>				
No. of dams examined	19	18 ^{b)}	17	20
No. of corpora lutea	356 (18.7±3.45)	317 (16.7±2.98) ^{c)}	286 (16.8±3.49)	346 (17.3±3.45)
No. of implantations	303 (15.9±2.25)	292 (15.4±1.89) ^{c)}	269 (15.8±3.64)	310 (15.5±3.46)
No. of dead fetuses (%)				
Early	18 (5.9)	1 (6.5)	16 (5.9)	23 (7.4)
Late	0	0	0	0
No. of live fetuses	285 (15.0±2.26)	257 (14.3±1.53)	253 (14.9±3.85)	287 (14.4±3.47)
Sex ratio (male/female)	0.91 (136/149)	1.14 (137/120)	1.39 (147/106)*	1.39 (167/120)*
Body weight of live fetuses (g)				
Male	3.49±0.292	3.60±0.336	3.59±0.321	3.68±0.249*
Female	3.31±0.241	3.36±0.299	3.39±0.279	3.49±0.238*
External abnormality (%)	0	1 (0.4) ^{d)}	2 (0.8) ^{d)e)}	0

^{a)} : Mean±SD
^{b)} : One dam died of urinary calculus
^{c)} : Data includes dead dam
^{d)} : Vertebral agenesis, vestigial tail and anal atresia
^{e)} : General edema
Significantly different from control * P<0.05

た。

F₁ 4 日齢仔の骨格観察で T-3262 投与全群に 3～4 例の脛骨の変形が観察されたことから F₁ の妊娠末期母体と交配終了後の雄全例について軟 X 線装置を用いて後肢の撮影を行ない脛骨の形態を観察したが、まったく異常を認めなかった。

III. 考 察

SD ショットを用いて、T-3262 の 80, 500 および 3,000 mg/kg を妊娠前から妊娠初期迄、器官形成期、周産期から授乳期迄の各期間に投与した一連の生殖試験を行ない母体、胎仔および出生仔におよぼす影響を検討した。

妊娠前および妊娠初期投与試験では T-3262 投与群の F₀ 動物の雌雄ともに摂水量の増加、盲腸腔の拡張および軟便が観察されたが、摂水量増加、軟便および盲腸腔の拡張は抗菌活性を持つ物質をラットに投与した場合にしばしば認められ⁷⁻⁹⁾ 腸内細菌叢の変動によるものと推定されている変化である。雄の交配終了後および雌の妊娠末期剖検の結果、雌雄ともに肝重量の有意な減少が認められた。肝重量の減少は同系統、同週齢のラットを用いて行なった T-3262 の 6 カ月間経口投与慢性毒性試験¹⁰⁾ では雌雄ともに認められておらず薬物投与との関連は不明であった。生殖能力には T-3262 の影響を認めなかった。80 mg/kg 投与群に早期死亡胎仔の増加が認められたが、用量依存性はなく偶発的なものと思われる。胎仔の外形、骨格、内臓には T-3262 の影響を認めなかった。

器官形成期投与試験の母動物にも妊娠前および妊娠初期投与試験で観察された摂水量増加、軟便および盲腸腔の拡張が同様に観察された。500 mg/kg 投与群の妊娠末期体重に有意差はみられるものの軽度な体重増加抑制が観察されたが、胎仔数が僅かに少なかったことに起因するものと思われる。500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群では妊娠 12~18 日のあいだに肛門周囲にごく微量の暗赤色をした血様物の付着が観察される日があったが、微量であったために血液かどうかの判定は出来なかった。また、妊娠末期剖検時の観察では消化管に異常を認めなかった。このような現象は妊娠前および妊娠初期投与試験、周産期および授乳期投与試験では観察されておらず薬物投与とは関連しないものと思われる。母動物の分娩および哺育状態には異常を認めなかった。T-3262 投与群の妊娠末期胎仔体重に統計学的に有意な減少がみられたが、その程度はごく軽度であり JCL:SD 系ラットの背景データ内の値であった¹¹⁻¹³⁾。従って T-3262 は子宮内発育に悪影響を及ぼすとは断定できない。自然分娩させた仔の体重およびその後の発育には対照群との差を認めなかった。3,000 mg/kg 投与群に 13 肋骨の短小が増加した。また、500 mg/kg および 3,000 mg/kg 投与群では冠狀動脈口の過剰が有意に増加した。そこで、T-3262 3,000 mg/kg および T-3262 3,000 mg/kg と同等の力価を持つと思われるエノキサシン 2,000 mg/kg を器官形成期に投与した比較試験を行なった¹⁴⁾。その結果、T-3262 3,000 mg/kg 投与群の妊娠末期胎仔体重および冠狀動脈口の過剰には対照群との差が認められず再現性に乏しい変化であった。13 肋骨の短小には両薬物ともに有意な増加が観察され、T-3262 に特有の変化ではなかった。

Open field 試験では対照群との差を認めなかった。

水迷路試験では学習能力を低下させる所見は観察されず、T-3262 投与群に錯誤数の減少、所要時間の短縮が観察された。F₁ の生殖能力試験の結果には対照群との差は認められず、得られた F₂ 仔には対照群を含む全投与群に外形異常仔が観察されたが、いずれもラットに自然発生的に観察される異常であり^{15,16)} 発生頻度も低いことから偶発的なものと思われる。

周産期および授乳期投与試験でも母動物に摂水量増加、軟便および盲腸腔の拡張が同様に観察された。母動物の分娩および哺育状態には異常を認めなかった。出生仔に、腹圧を加えると僅かに突出する軽度の臍ヘルニアが対照群を含む全投与群に観察されたが、出現頻度には対照群との差は認められず偶発的なものと思われる。4 日齢で仔数調整の為に淘汰した仔の骨格観察を行なったところ T-3262 投与全群に脛骨の変形が投与量とは無関係に 1.9~2.7% の出現率で認められた。そこで、F₁ の生殖能力試験に用いた妊娠末期の雌と交配終了後の雄全例について軟 X 線撮影を行ない後肢の骨格観察を行なったが異常は認められず骨化が進むと共に正常に復するものと推察された。

6 週齢仔の剖検で 3,000 mg/kg 投与群の雌雄に肝重量の減少が認められたが、生殖能力試験終了後の剖検では対照群との差を認めなかった。Open field 試験の結果、1 試行に T-3262 投与全群の雌に立ち上がり数の増加と 3,000 mg/kg 投与群の雌に区画移動数の増加が観察され、数値上では探索活動の亢進を示していたが、これらの指標は個体差が大きいため T-3262 が行動異常を惹起すると断定することは困難である。

以上の結果より無影響量は、妊娠前および妊娠初期投与試験における親動物については生殖能力に異常が認められなかった 3,000 mg/kg、胎仔についても 3,000 mg/kg、器官形成期投与試験では親動物は分娩および哺育に異常が認められなかった 3,000 mg/kg、胎仔は 80 mg/kg、出生仔は 500 mg/kg、周産期および授乳期投与試験では親動物は分娩および哺育に異常が認められなかった 3,000 mg/kg、出生仔は 80 mg/kg 未満と推定される。

文 献

- 1) 河村泰仁, 吉田一晴, 塩谷紀雄, 野沢 公ら: T-3262 のラット 28 日間経口投与亜急性毒性試験。富山化学工業株式会社社内報, 1986
- 2) DAWSON A B: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain Technol 1: 123~124, 1926
- 3) WILSON J G: Method for administering agents and detecting malformation in experimental animals. Chicago Univ. Press, Teratology

- (WILSON J G, WARKANY J) pp. 262~272, 1965
- 4) 西村耕一：マウスおよびラット胎仔の胸部内臓奇形観察のための顕微解剖法。先天異常 14(1) : 23~40, 1974
 - 5) BUTCHER R E, SCOTT W J, KAZMAIER K, RITTER E J : Postnatal effects in rats of prenatal treatment with hydroxyurea. *Teratology* 7 : 161~166, 1973
 - 6) BIEL W C : Early age differences in maze performance in the albino rat. *J Gen Psychol* 56 : 439~453, 1940
 - 7) 廣岡哲夫, 田所 規, 高橋昌三, 金 清枝, 北川純男 : Cefroxadin(CGP-9000) のラットにおける生殖試験 (第1報) 器官形成期投与試験。医薬品研究 10(4) : 802~824, 1979
 - 8) 寺田芳規, 西村耕一, 小紫正一, 鶴田耕右, 井村義明, 吉岡真智子, 吉田耕一 : AT-2266 の生殖試験 (第3報) ラットにおける胎仔の器官形成期投与試験。Chemotherapy 32 (S-3) : 301~315, 1984
 - 9) 小前憲久, 中田弘子, 中村昌三, 米田豊昭 : T-2588 のラットにおける器官形成期投与試験。Chemotherapy 34 (S-2) : 250~264, 1986
 - 10) 米田豊昭, 河村泰仁, 柴田哲夫, 長沢峰子, 吉田一晴, 鬼頭暢子 : 合成抗菌剤 T-3262 のラット6ヵ月間経口投与慢性毒性試験。Chemotherapy 36 (S-9) : 233~249, 1988
 - 11) 吉田 寛, 横井義之, 永野正紀, 相良俊次, 平野公子, 網分美貴子, 能勢尚志 : 7-Chloro-1-cyclopropylmethyl-1, 3-dihydro-5-(2-fluorophenyl)-2H-1, 4-benzodiazepin-2-one(KB-509) のラットにおける生殖試験 (第2報) 器官形成期投与試験。応用薬理 21 (1) : 13~26, 1981
 - 12) 入倉 勉, 今田 修, 鈴木博, 阿部泰夫 : 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-(1-piperazinyl)-3-quinoline-carboxylic acid (AM-715) のラットにおける器官形成期投与試験。基礎と臨床 15 (11) : 5251~5263, 1981
 - 13) 小林文彦, 村中理一 : 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。Chemotherapy 35 (S-1) : 351~368, 1987
 - 14) 中田弘子, 中村昌三, 小前憲久ら : ラット器官形成期投与試験 T-3262 と Enoxacin との比較試験。富山化学工業株式会社社内報
 - 15) 亀山義郎, 谷村 孝, 安田峰生編 : 実験動物における自然発生奇形。先天異常 20 : 25~106, 1980
 - 16) MORITA H, ARIYUKI F, INOMATA N, NISHIMURA K, HASEGAWA Y, MIYAMOTO M, WATANABE T : Spontaneous malformation in laboratory animals : Frequency of external, internal and skeletal malformation in rats, rabbits and mice. *Congenital Anomalies* 27 (2) : 147~206, 1987

REPRODUCTION STUDIES OF T-3262 IN RATS

HIROKO NAKADA, SYOZO NAKAMURA, NORIHISA KOMAE,
TAKAHIRO SANZEN, YASUYUKI NOJIMA, MIHOKO AKASAKA,
YUMIKO NISHIO and TOYOAKI YONEDA

Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.
2-4-1 Shimookui, Toyama-shi 930, Japan

We carried out reproduction studies (i.e. fertility, teratological, and peri- and postnatal studies) on T-3262, a new antibacterial agent, in Jcl:SD rats.

T-3262 was orally administered once daily at dose levels of 80, 500 and 3,000 mg/kg as a suspension in a 5% acacia solution.

1) Fertility study

T-3262 was administered to male rats for 63 days and to female rats for 15 days prior to and during mating, and to pregnant females up to day 7 of gestation. All pregnant females were killed on day 20 of gestation and their fetuses were examined for external, skeletal and visceral abnormalities.

There were no significant differences between the T-3262 groups and the control group in mating performance and fertility.

In the fetuses examined, there was no abnormality in the number of live and dead fetuses, and in the body weight of live fetuses. No external, skeletal and visceral abnormalities caused by T-3262 were observed.

From these results, the maximum no-effect dose of T-3262 was estimated to be 3,000 mg/kg for F₀ rats and fetuses.

2) Teratological study

T-3262 was administered to pregnant rats for 11 days from day 7 to day 17 of gestation. About 2/3 of each group were killed on day 21 of gestation and their fetuses were examined for external, skeletal and visceral abnormalities. The remaining dams in each group were allowed to deliver and their offspring examined for growth and functional development.

The gestation period, delivery and nursing behavior were normal. Visceral examination of fetuses in the 500 mg/kg and 3,000 mg/kg groups showed an increase in supernumerary coronary orifices. Skeletal examination of fetuses and 4-day-old pups in the 3,000 mg/kg group showed increased shortening of the 13th rib.

In the postnatal examination, there were no significant differences in the number and body weight of newborn pups, physical development, sensory function, reflexes, emotionality, learning ability and reproductive performance between the T-3262 and the control groups.

From these results, the maximum no-effect dose of T-3262 was estimated to be 3,000 mg/kg for dams, 80 mg/kg for fetuses and 500 mg/kg for offspring.

3) Perinatal and postnatal study

T-3262 was administered to dams from day 17 of gestation to day 21 of lactation. All pregnant rats were allowed to deliver and their offspring examined for growth and functional development.

The gestation period, delivery and nursing behavior were normal.

In the postnatal examination, there were no significant differences in number and body weight of newborn pups, physical development, sensory function, reflexes, emotionality, learning ability and reproductive performance between the T-3262 and the control groups. In the skeletal examination of 4-day-old pups in the T-3262 groups, deformity of the tibia was observed, though not in 17-18-week-old F₁ rats.

From these results, the maximum no-effect dose of T-3262 was estimated to be 3,000 mg/kg for dams and under 80 mg/kg for offspring.