

経口セフェム系抗生物質 cefditoren pivoxil の安全性に関する研究

—第8報 ウサギを用いた胎児器官形成期投与試験—

伊藤美奈子・蓮沼 恵子・岡野 一男・井澤 正典
藤井千恵子・小杉 功・藤田 正敬

明治製菓株式会社薬品総合研究所*

(平成4年4月30日受付・平成4年8月6日受理)

経口用セフェム系抗生物質である cefditoren pivoxil (CDTR-PI) の 2, 4, 7.5, 15 および 30 mg/kg を Kbl-JW 系ウサギの胎児器官形成期に経口投与して、母動物および胚・胎児におよぼす影響を検討し、次の結論を得た。母動物では、7.5 および 15 mg/kg 投与群で流産が各 1 例に、30 mg/kg 投与群で早産が 1 例、流産が 7 例に観察された。摂餌量については、4 mg/kg 投与群で投与期間中に減少したが、体重増加量では妊娠期間を通して対照群との間に有意差は認められなかった。一方、7.5 mg/kg 以上の投与群では用量依存的な摂餌・摂水量減少を反映した体重増加抑制が認められた。胚・胎児では、7.5 mg/kg 以上の投与群で生存胎児数の減少が、30 mg/kg 投与群で雌の胎児体重の減少がそれぞれ認められたが、外形異常観察および内部器官・骨格観察の結果では、CDTR-PI 投与に起因した異常および変異の発現は認められなかった。以上の結果から、ウサギ胎児器官形成期投与試験における CDTR-PI の無影響量は、母動物の一般毒性に対しては 2 mg/kg と推定される。母動物の生殖および胚・胎児に対しては 4 mg/kg と推定されるが、催奇形性はないものと考えられる。

Key words: cefditoren pivoxil, 経口セフェム, 胎児器官形成期投与, ウサギ

Cefditoren pivoxil (CDTR-PI) は新しく合成された経口用セフェム系抗生物質で、体内で cefditoren (CDTR) となりグラム陰性菌、グラム陽性菌に広範囲の抗菌力を示すプロドラッグタイプの抗生物質である。

今回は、CDTR-PI の母動物および胚・胎児におよぼす影響を検討するため、経口投与によるウサギ胎児器官形成期投与試験を実施したので報告する。なお、当初、本試験(試験1)では投与量を 7.5, 15, 30 mg/kg に設定し実施したが、母動物および胚・胎児に対する無影響量を推定することができなかったため、さらに 2 および 4 mg/kg の低用量について追加試験(試験2)を行い検討したので合わせて報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

CDTR-PI 原末 (Lot No.7017: 含量 95%, 以下 CDTR-PI) を用いた。本物質は淡黄色、無臭の粉末で、媒体中では 25°C で 3 時間まで安定である。

2. 使用動物および飼育条件

雄 16 週齢, 雌 15 週齢の Kbl-JW 系ウサギ (SPF,

納入元; オリエンタル酵母工業㈱, 生産元; 北山ラベス㈱から雄 18 匹, 雌 160 匹 (試験 1 で 100 匹, 試験 2 で 60 匹) 購入) を用い, 4 日間の検疫および 3 日間以上の馴化の後, 健康な動物を選び試験に供した。なお, 交配開始時の週齢は雄は試験 1 では 17 週齢, 試験 2 では 38 週齢 (試験 1 で使用した動物), 雌は試験 1 および 2 とも 16 週齢であった。

交配は外陰部検査により発情兆候を示したと思われる雌を午前 9 時半前後から約 1 時間雄と 1:1 で同居させて行い, 膣垢検査で精子が認められた動物を交尾成立動物とし, その日を妊娠 0 日とした。

交尾成立動物は, 試験 1 では乱数にしたがって各群に振り分け配置した。試験 2 では妊娠 0 日の体重値において対照群と各投与群との間に有意差がないように配置した。なお, 試験 1 では 1 群当たりの匹数は 16~18 匹, 妊娠成立動物の妊娠 0 日における体重は 3,058~3,597 g, 週齢は 16~18 週齢であった。試験 2 では 1 群当り 14~17 匹, 妊娠成立動物の妊娠 0 日の体重は 2,940~3,621 g, 週齢は 16~17 週齢であっ

* 横浜市港北区師岡町 760

た。

両試験とも動物は室温 21~25°C, 湿度 45~65%, 照明 12 時間 (7 時~19 時) に設定したオールフレッシュ方式のパリヤシステムを維持した試験室内で, 幅 380 mm, 高さ 370 mm, 奥行き 500 mm の金網製ケージ (交配期間中は雄は同寸法のアルマイト製) に 1 匹収容し飼育した。飼料は製造 6 か月以内の放射線滅菌固型飼料 (GC 4-R, オリエンタル酵母工業㈱) を 1 日約 110 g~130 g (妊娠期間中は 150 g) の制限給餌とした。また, 飲料水は塩素濃度を 2 ppm 前後に調整した水道水を自由に摂取させた。

3. 用量および投与方法

【試験 1】

CDTR-PI 製剤のウサギ胎児器官形成期投与試験¹⁾の結果を参考とし, 7.5, 15 および 30 mg/kg 投与群を設定した。

【試験 2】

試験 1 の結果, 7.5 mg/kg 以上の投与群に母動物では流産例の出現および体重増加抑制が, 胚・胎児では生存胎児数の減少が認められ, 無影響量を把握することができなかった。したがって, CDTR-PI 投与による母動物および胚・胎児に対する無影響量を推定するため, 本試験の投与量には 7.5 mg/kg の約 1/2 用量である 4 mg/kg とその半量である 2 mg/kg を設定した。

両試験とも投与期間は妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間とした。投与経路は臨床適用経路に準じ経口投与とし, ゴム製胃ゾンデを用いて胃内に 1 日 1 回強制経口投与した。投与液量は妊娠 6 日の体重値を基準として 10 ml/kg の投与容量になるように 0.1% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液 (丸石製薬㈱: 以下 0.1% CMC 水溶液) で被験物質を用時に懸濁調製した。

対照群は試験 1 および 2 にそれぞれ設定し, 0.1% CMC 水溶液を同様に投与した。

4. 観察項目および方法

母動物の生死および一般状態の観察は妊娠期間中毎日行った。ただし, 投与期間中の一般状態観察は投与前と投与後の 1 日 2 回行った。

妊娠期間中の体重測定は, 妊娠 0 日, 6~19, 22, 25 および 29 日 (ただし, 統計学的処理は妊娠 0 日を基準とした各測定日における体重増加量について実施) に摂餌量測定は妊娠 0 日を除く妊娠期間中毎日 (ただし, 統計学的処理は妊娠 6, 8, 10, 12, 14, 16, 19, 22, 25 および 29 日について実施), 摂水量測定は妊娠 6, 8, 10, 12, 14, 16, 19, 22, 25 およ

び 29 日に行った。なお, 摂餌量および摂水量は各測定日の前日に定量を給餌・給水し測定した。

各群とも母動物は妊娠 29 日に麻酔下で帝王切開し, 胸腹部器官・組織を肉眼的に観察した後, 子宮および卵巣を摘出し, 黄体数, 着床数の算定および着床位置を観察した。なお, 異常が認められた場合は, 必要に応じて写真撮影し, 異常器官は緩衝ホルマリン液に固定後, 病理組織学的検査を実施した。早産および流産母動物はただちに帝王切開し, 妊娠 29 日まで生存した母動物と同様の処置を行った。

不妊と判定された母動物はデータから除外した。

帝王切開後, 各母動物ごとに子宮内の早期・後期吸収胚数, 浸軟・死亡胎児数および生存胎児数を調べた。また, 各母動物から得られた生存胎児は, 口腔内を含めた外形異常観察および体重測定を行った後, 約 1/3 は Bouin 液に固定後, 胸部は西村の顕微解剖法²⁾, その他は Barrow 法³⁾ によって内部器官を観察し, 残り約 2/3 は胸腹部器官・組織の肉眼的観察および性別判定を行い, 90% 以上のアルコールで固定後, アリザリン染色して骨格を観察した。なお, 外形異常胎児で骨格観察用に供した胎児はアリザリン・レッド S とアルシアンブルーで骨・軟骨染色して観察した。異常所見について写真撮影を行った。

5. 統計学的解析方法

体重増加量, 摂餌量, 摂水量, 黄体数, 着床数, 吸収胚数, 死亡胎児数, 死亡・吸収胚数, 生存胎児数, 胎児体重, 外形異常胎児数, 骨化数の平均および標準偏差で表された測定値は対照群と投与群間で F 検定を行った後, 等分散の場合は Student の t 検定を, 不等分散の場合は Welch の検定を行った。その他, 着床率, 吸収胚率, 死亡胎児率, 死亡・吸収胚率, 生存胎児率, 外形異常胎児率, 骨格および内部器官観察での変異, 異常および異常併発例の発現率は順位と検定を, 早産および流産母動物の出現数, 生存胎児の性はフィッシャーの直接確率法による検定を行った。いずれの検定も各試験の対照群と CDTR-PI 投与群との 2 群間比較を行い, 有意水準は 5% ($p < 0.05$) および 1% ($p < 0.01$) とした。なお, 胚・胎児に関する項目は原則として 1 腹児を標本単位とした。

II. 結果

【試験 1】

1. 母動物におよぼす影響

死亡例は対照群を含むすべての投与群で観察されなかった。

早産および流産例は対照群では観察されなかったが, 7.5 mg/kg 投与群で流産が 18 例中 1 例 (5.6%)

Table 1. Findings at caesarean section of rabbit dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy (Experiment 1)

Observation	Control (0.1% CMC)		Cefditoren pivoxil (mg/kg/day)					
			7.5		15		30	
Pregnant dams	16		18		16		17	
Aborted dams (%)	0		1 (5.6)		1 (6.3)		7 (41.2)**	
Prematurely labored dams (%)	0		0		0		1 (5.9)	
No. of corpora lutea	166	10.4 ± 2.0	197	10.9 ± 2.7	161	10.1 ± 1.8	172	10.1 ± 2.2
No. of implantations (%) ¹⁾	160	10.0 ± 2.2 (95.94)	161	8.9 ± 2.7 (83.15)	141	8.8 ± 2.3 (86.97)	150	8.8 ± 3.0 (86.20)
No. of dams ²⁾	16		17		15		9	
No. of dead fetuses or resorptions (%) ¹⁾	12	0.8 ± 1.1 (6.99)	27	1.6 ± 1.7 (16.57)	20	1.3 ± 1.8 (13.09)	24	2.7 ± 3.5 (26.00)
Dead fetuses (%) ¹⁾	8	0.5 ± 0.9 (4.72)	18	1.1 ± 1.3 (10.70)	14	0.9 ± 1.6 (9.10)	9	1.0 ± 1.3 (9.24)
Early and late resorptions (%) ¹⁾	4	0.3 ± 0.6 (2.28)	9	0.5 ± 0.6 (5.86)	6	0.4 ± 0.6 (3.99)	15	1.7 ± 3.2 (16.76)
No. of live fetuses (%) ¹⁾	148	9.3 ± 2.1 (93.01)	123	7.2 ± 2.7 * (83.43)	112	7.5 ± 2.1 * (86.91)	56	6.2 ± 3.2 ** (74.00)
Sex ratio (Male/Female)	1.18 (80/68)		1.12 (65/58)		0.90 (53/59)		0.75 (24/32)	
No. of dams with live fetuses	16		17		15		8	
Body weight ³⁾ (g)								
Male	43.92 ± 3.11		45.97 ± 7.06		46.47 ± 5.79		43.39 ± 5.31	
Female	44.59 ± 3.86		45.38 ± 5.45		45.75 ± 7.22		38.03 ± 6.48**	
No. of live fetuses with external malformations (%) ¹⁾	0		1 0.1 ± 0.2 (0.84)		0		1 0.1 ± 0.3 (0.92)	

Significantly different from control * p<0.05 ** p<0.01

Each value shows mean ± SD

¹⁾ Mean of percent values per litter²⁾ Aborted and prematurely labored dams were excluded from pregnant dams³⁾ Fetuses with external malformations were excluded from the calculation

に、15 mg/kg 投与群で流産が16例中1例(6.3%)にいずれも妊娠24日に観察された。30 mg/kg 投与群では早産が17例中1例(5.9%)に妊娠28日に、流産が7例(41.2%)に妊娠22日から27日の間に観察され、流産率は対照群を有意に上回った(Table 1)。

早産および流産母動物の一般状態では糞量の減少、糞小粒化および糞尿の無排泄のいずれか、あるいはこれらの併発が7.5 mg/kg 投与群の1例に妊娠14日から、15 mg/kg 投与群の1例に妊娠11日から、30 mg/kg 投与群の全例(8例)に妊娠7日頃からいずれもほぼ継続して観察された。さらに、30 mg/kg 投与群の3例では軟便、下痢便、粘液便のいずれか、あるいはこれらの併発が投与開始後より6日から12日

間、継続的あるいは断続的に観察された。また、このうちの1例では外陰部出血が流産する前日に見られた。

帝王切開日の妊娠29日まで妊娠維持した母動物の一般状態では、早産および流産母動物でみられたと同様の糞量の減少等の症状が7.5 mg/kg 投与群で17例中8例に、15 mg/kg 投与群で15例中9例に、30 mg/kg 投与群で全例(9例)に妊娠7日から23日の間に散発的あるいは継続的に観察された。また、対照群でも16例中2例に妊娠16日以降、糞量の減少等が散発的にみられた。そのほかの症状では、軟便あるいは下痢便が対照群で2例に、7.5 mg/kg 投与群で1例に、15 mg/kg 投与群で6例に、30 mg/kg 投与群で4例にいずれも妊娠17日以降、散発的にみられた。

また、30 mg/kg 投与群の1例では下痢便が投与開始前に、血液が混入したと思われる赤色の尿が妊娠11日にみられた。

体重については、増加抑制あるいは抑制傾向が7.5 mg/kg 投与群では投与期間の中頃から、15 mg/kg 投与群では投与開始後からそれぞれみられはじめ、7.5 mg/kg 投与群では妊娠22日に、15 mg/kg 投与群では妊娠8~10, 13, 16~22日に対照群との間に有意な差が認められた。しかし、いずれの投与群とも妊娠末期には回復する傾向がみられた。一方、30 mg/kg 投与群では妊娠8日から帝王切開日の妊娠29日まで継続して著しい増加抑制が認められた (Fig. 1)。

摂餌量については、すべての投与群で妊娠8日に著しい減少が認められた。以降、7.5 mg/kg 投与群では減少傾向が、15 mg/kg 投与群では有意な減少がそれぞれ投与終了日の翌日頃まで継続したが、その後徐々に回復し、いずれの投与群とも妊娠末期には対照群を上回るか、上回る傾向を示した。30 mg/kg 投与群では著しい摂餌量減少が妊娠22日まで継続してみられたが、この減少も他の投与群ほど顕著ではないものの回復する傾向がみられ、妊娠末期では対照群との間に差は認められなかった (Fig. 2)。

摂水量では、摂餌量と同様にすべての投与群で妊娠8日に著しい減少が認められた。以降、7.5および15 mg/kg 投与群では若干の回復傾向が認められたものの、7.5 mg/kg 投与群で妊娠10および14日に、15 mg/kg 投与群で妊娠10日から16日に継続して対照群を有意に下回った。しかし、いずれの投与群とも投与終了後では回復傾向が認められ、対照群との差はみられなかった。一方、30 mg/kg 投与群で妊娠8日に認められた著しい摂水量減少は妊娠29日まで継続し

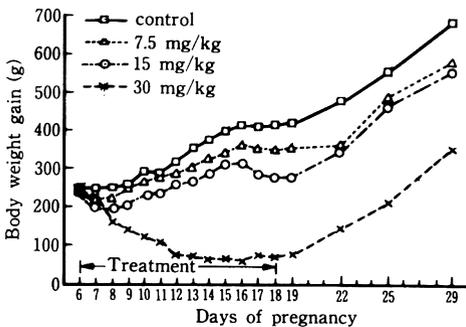


Fig. 1. Changes in body weight gain of rabbit dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy [Experiment 1].

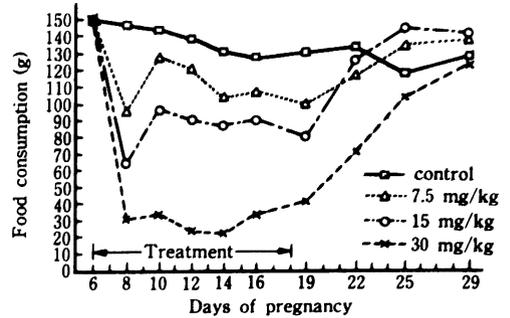


Fig. 2. Changes in food consumption of rabbit dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy [Experiment 1].

た。

剖検では、30 mg/kg 投与群で、妊娠29日まで妊娠維持した母動物の1例に子宮捻転が観察された。捻転は右子宮角に認められ、捻転部から卵巣側の子宮は全体にわたって壊死に陥っており、子宮内に血液が貯留し肥大した胎盤2つとそれぞれに腹部の浸軟化した死亡胎児2例を確認した。しかし、死亡胎児、その他の生存胎児および母動物の器官・組織には異常は認められなかった。その他、一般状態観察で妊娠11日に赤色の尿が認められた1例では、子宮内に着床痕跡のみが観察された以外、母動物の器官・組織に異常はみられなかった。また、流産母動物では3例に盲腸膨満が、1例に胃内に毛塊が、1例に胃内に毛塊および盲腸膨満がそれぞれ観察された。15 mg/kg 投与群では、妊娠29日まで妊娠維持した母動物および流産母動物の各1例に胃内に毛塊が観察された以外は著変なかった。対照群および7.5 mg/kg 投与群では異常所見はみられなかった。

帝王切開時の所見では、平均黄体数および平均着床数(率)はいずれの投与群とも対照群との間に有意な差は認められなかった (Table 1)。

2. 胚・胎児におよぼす影響

生存胎児数が7.5 mg/kg 以上の投与群で対照群に比較し有意に減少した。さらに、30 mg/kg 投与群では死亡・吸収胚数(率)の増加傾向が認められた。胎児体重では30 mg/kg 投与群の雌に対照群に比較し有意な減少が認められたが、雄およびその他の投与群では対照群と同程度であった (Table 1)。

外形異常は7.5 mg/kg 投与群で1例(0.84%)に頸部浮腫が、30 mg/kg 投与群で1例(0.92%)に複合奇形(外脳症、口蓋裂、右内反手、左前肢欠損、胸

腹壁破裂、脊椎の異常、左右後肢の異常、顔面の変形)が観察された (Table 1)。

内部器官観察では、異常として胸腺頸部残留が7.5 mg/kg 投与群で1例 (3.13%) に、心臓の右方旋回が対照群で2例 (4.17%) に、後大静脈走行異常が15 mg/kg 投与群で1例 (2.38%) に、腎静脈の分岐が対照群および7.5 mg/kg 投与群で各1例 (2.08% および2.08%) に、腎臓の位置異常が対照群および7.5 mg/kg 投与群で各1例 (1.56% および2.08%) に、片側性停留精巣が対照群で2例 (5.21%)、15 mg/kg 投与群で1例 (3.57%) に観察された。また、変異として重複後大静脈右優位が対照群で9例 (16.66%)、7.5 mg/kg 投与群で4例 (14.58%)、15 mg/kg 投与群で8例 (26.19%)、30 mg/kg 投与群で5例 (37.50%) に、重複後大静脈左優位が対照群で1例 (2.08%)、7.5 mg/kg 投与群で2例 (9.38%) に観察されたほか、異常併発として対照群で重複後大静脈左優位および腎臓の位置異常の併発が1例 (1.56%) に、7.5 mg/kg 投与群で重複後大静脈右優位および腎静脈の分岐の併発が1例 (6.25%) に、15 mg/kg 投与群で重複後大静脈右優位および腎臓の位置異常の併発と網膜嚢および心室中隔欠損の併発が各1例 (5.95%) に、30 mg/kg 投与群で重複後大静脈右優位、腎臓の位置異常および片側性卵巣の形成不全の併発が1例 (4.16%) に観察された。しかし、いずれの発現率も対照群との間に有意な差は認められなかった。また、外形異常が認められた7.5 mg/kg 投与群の1例では心臓の肥大、先尖二分、右心室の拡張、左心室の發育不全および肺の形成不全が、30 mg/kg 投与群の1例 (骨格観察用に供した胎児) では心室中隔欠損および肝臓の変形がそれぞれ観察された (Table 2)。

骨格観察では、異常として頭蓋骨の形成不全および癒合が対照群で各1例 (1.04% および0.69%) に、胸骨核の癒合が対照群および30 mg/kg 投与群で各1例 (1.04%、1.79%) に、胸骨核の不相称および胸椎体の癒合が7.5 mg/kg 投与群で各1例 (1.18% および1.47%) にそれぞれ観察された。また、変異として頭蓋骨の骨化遅延が対照群で3例 (3.23%)、7.5 mg/kg 投与群で1例 (0.98%)、15 mg/kg 投与群で4例 (5.11%) に胸骨核の骨化遅延が対照群で1例 (1.56%) に、恥骨の骨化遅延が30 mg/kg 投与群で1例 (3.13%) に、8腰椎が15および30 mg/kg 投与群で各1例 (1.11% および2.09%) に観察されたほか、異常併発として7.5 mg/kg 投与群で第一肋軟骨の分岐および第一胸骨核の分離の併発が1例 (0.84

%) に観察された。しかし、いずれの発現率も対照群との間に有意な差は認められなかった。また、外形異常が認められた30 mg/kg 投与群の1例では前頭骨、頭頂骨および後頭骨外側部の形成不全、頭頂間骨および後頭骨の欠損、口蓋裂、脊椎の彎曲、左頸椎弓の欠損、右頸椎弓の形成異常、左肩甲骨、鎖骨および前肢の欠損、胸骨の癒合不全、肋骨および肋軟骨の変形、右手根部の屈曲および左右足根部の伸展が観察された (Table 2)。

骨化進行度については、いずれの投与群にも対照群との間に有意差は認められなかった (Table 2)。

【試験2】

1. 母動物におよぼす影響

死亡例、早産および流産例は対照群、2および4 mg/kg 投与群では観察されなかった。

母動物の一般状態では、糞量の減少、糞尿の無排泄のいずれか、あるいはこれらの併発が対照群で15例中1例に、2 mg/kg 投与群で17例中3例に、4 mg/kg 投与群で14例中7例に妊娠7日から26日の間に散発的にみられた。また、2 mg/kg 投与群で妊娠末期に摂餌全廃が認められた2例では上述の症状が妊娠26日頃から帝王切開日まで継続してみられ、他の母動物と異なる経過を示した。そのほかの症状では、軟便あるいは下痢便が2 mg/kg 投与群で5例、4 mg/kg 投与群で3例にほとんどが投与終了後から妊娠後期にかけて散発的にみられた。また、血液が混入したと思われる赤色尿が2 mg/kg 投与群の1例に妊娠4日にみられた。

体重では、2および4 mg/kg 投与群で妊娠期間中を通して対照群との間に有意な差は認められなかった

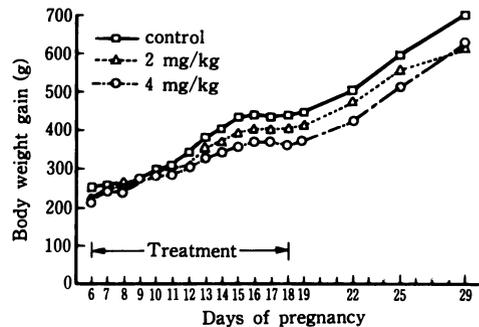


Fig. 3. Changes in body weight gain of rabbit dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy [Experiment 2].

Table 2. Visceral and skeletal findings in rabbit fetuses from dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy [Experiment 1]

Observation	Control (0.1% CMC)		Cefditoren pivoxil (mg/kg/day)					
			7.5		15		30	
	N	%	N	%	N	%	N	%
No. of dams with live fetuses	16		16		14		8	
No. of fetuses for visceral observations	45		33		32		16	
Anomalies								
Thymic remnant in the neck	0		1 (3.13)		0		0	
Dextrorotation of the heart	2 (4.17)		0		0		0	
Anomalous course of inferior vena cava	0		0		1 (2.38)		0	
Bifurcation of left renal vein	1 (2.08)		1 (2.08)		0		0	
Malposition of kidney	1 (1.56)		1 (2.08)		0		0	
Unilateral undescended testis	2 (5.21)		0		1 (3.57)		0	
Variations								
Double caudal vena cava (right predominant)	9 (16.66)		4 (14.58)		8 (26.19)		5 (37.50)	
Double caudal vena cava (left predominant)	1 (2.08)		2 (9.38)		0		0	
Combined anomalies	1 (1.56)		1 (6.25)		2 (5.95)		1 (4.16)	

No. of fetuses with external malformations	0		1		0		0	
Combined anomalies	0		1		0		0	

No. of dams with live fetuses	16		17		15		8	
No. of fetuses for skeletal observations	103		89		80		39	
Anomalies								
Hypoplasia of cephalic bone	1 (1.04)		0		0		0	
Fusion of cephalic bone	1 (0.69)		0		0		0	
Fusion of sternbrae	1 (1.04)		0		0		1 (1.79)	
Asymmetry of sternbrae	0		1 (1.18)		0		0	
Fusion of thoracic vertebral body	0		1 (1.47)		0		0	
Variations								
Delayed ossification of cephalic bone	3 (3.23)		1 (0.98)		4 (5.11)		0	
Delayed ossification of sternbrae	1 (1.56)		0		0		0	
Delayed ossification of pubic bone	0		0		0		1 (3.13)	
Formation of 8th lumbar vertebra	0		0		1 (1.11)		1 (2.09)	
Combined anomalies	0		1 (0.84)		0		0	
Ossification (Mean±SD)								
Forelimb (Proximal+Middle phalanges)	8.98± 0.07		9.00± 0		8.99± 0.05		8.85± 0.35	
Hindlimb (Proximal+Middle phalanges)	8.00± 0		8.00± 0		8.00± 0		7.98± 0.07	
Sacrococcygeal vertebrae	10.93± 0.25		11.05± 0.24		10.98± 0.42		10.91± 0.40	

No. of fetuses with external malformations	0		0		0		1	
Combined anomalies on skeletal and visceral observations	0		0		0		1	

%; Mean of percent values per litter

(Fig. 3)。

摂餌量では、2 mg/kg 投与群で投与初期および妊娠末期に減少する傾向が認められたが、妊娠末期の減

少傾向は2例の摂餌全廃動物による変動であった。4 mg/kg 投与群では投与期間中に減少あるいは減少する傾向が認められ、妊娠8日および12日に対照群を

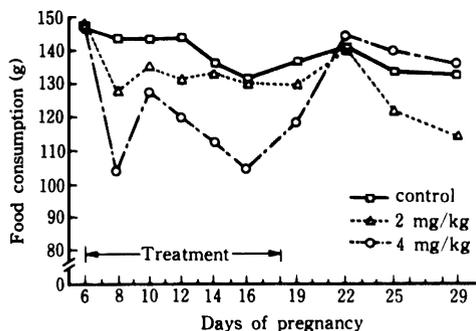


Fig. 4. Changes in food consumption of rabbit dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy (Experiment 2).

有意に下回ったが、投与終了後では回復し対照群と同程度の数値を示した (Fig. 4)。

摂水量では、2 mg/kg 投与群で投与期間中に減少し、妊娠 8, 12, 14 および 16 日対照群を有意に下回った。しかし、4 mg/kg 投与群では投与期間中に減少する傾向がみられたが、対照群との間に有意な差は認められず、投与終了後では逆に増加する傾向を示し、明らかな用量相関性は認められなかった。

剖検では、対照群で 1 例に左子宮角のほぼ全域に腫瘤が観察された。病理組織学的検査では、内膜部に明るい大きな空胞状の細胞質と濃染する核をもつ脱落膜様の細胞集団が認められた。その中心部には壊死傾向が認められたが、異形性はなかった。2 mg/kg 投与群では、妊娠末期に摂餌全廃が認められた 1 例に軽度の肝臓の退色および胃内に毛塊が観察された。肝臓の病理組織学的検査の結果では門脈領域の肝細胞に脂肪

Table 3. Findings at caesarean section of rabbit dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy (Experiment 2)

Observation	Control (0.1% CMC)		Cefditoren pivoxil (mg/kg/day)			
			2		4	
Pregnant dams	15		17		14	
No. of corpora lutea	153 10.2 ± 1.7		160 9.4 ± 1.6		138 9.9 ± 1.7	
No. of implantations	135 9.0 ± 2.6		143 8.4 ± 1.7		123 8.8 ± 1.9	
	(%)	(87.05)	(89.62)		(89.48)	
No. of dead fetuses or resorptions	12 0.8 ± 1.1		3 0.2 ± 0.4		10 0.7 ± 1.2	
	(%)	(8.58)	(1.89)		(7.90)	
Dead fetuses	9 0.6 ± 1.0		2 0.1 ± 0.3		9 0.6 ± 1.2	
	(%)	(6.58)	(1.24)		(7.11)	
Early resorptions	3 0.2 ± 0.4		1 0.1 ± 0.2		1 0.1 ± 0.3	
	(%)	(2.00)	(0.65)		(0.79)	
No. of live fetuses	123 8.2 ± 2.6		140 8.2 ± 1.7		113 8.1 ± 2.1	
	(%)	(91.42)	(98.11)		(92.10)	
Sex ratio (Male/Female)	0.98 (61/62)		1.09 (73/67)		1.05 (58/55)	
No. of dams with live fetuses	15		17		14	
Body weight ²⁾ (g)	Male	45.04 ± 7.19	45.66 ± 5.59		46.74 ± 4.26	
	Female	46.31 ± 6.05	45.41 ± 5.71		45.15 ± 4.02	
No. of fetuses with external malformations						
Live fetuses	0		2 0.1 ± 0.3		1 0.1 ± 0.3	
	(%)		(1.76)		(0.65)	
Macerated fetuses	0		0		1 0.1 ± 0.3	
	(%)				(1.02)	

Each value shows mean ± SD

¹⁾: Mean of percent values per litter

²⁾: Fetuses with external malformations were excluded from the calculation

滴が認められ、周辺性脂肪肝と判断された。4 mg/kg 投与群では異常所見はみられなかった。

帝王切開時の所見では、平均黄体数および平均着床数(率)は投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった (Table 3)。

2. 胚・胎児におよぼす影響

死亡・吸収胚数(率)、生存胎児数(率)、性比および胎児体重では投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった (Table 3)。

外形異常では 2 mg/kg 投与群で複合奇形(左前肢の減形成奇形, 右前肢の手関節屈曲拘縮) および左右手関節屈曲拘縮が各 1 例 (1.76%) に 4 mg/kg 投与群で右後肢の減形成奇形が 1 例 (0.65%) に観察された。また、4 mg/kg 投与群の浸軟児で複合奇形(右後肢の内反足および減形成奇形) が 1 例 (1.02%) みられた。しかし、いずれの発現数(率)とも対照群との間に有意差は認められなかった (Table 3)。

内部器官観察では、異常として胸腺頸部残留が対照群および 2 mg/kg 投与群で各 1 例 (2.38%, 1.96%) に、食道の走行異常が 2 mg/kg 投与群で 1 例 (2.94%) に、後大静脈走行異常が対照群および 4 mg/kg 投与群で各 2 例 (5.95%, 4.76%), 2 mg/kg 投与群で 3 例 (7.84%, Fig. 5) に、腎静脈の分岐が対照群で 1 例 (2.38%) に観察された。また、変異として重複後大静脈右優位が対照群で 6 例 (15.48%), 2 mg/kg 投与群で 7 例 (16.66%), 4 mg/kg 投与群で 9 例 (30.95%) に、重複後大静脈左優位が 2 mg/kg 投与群で 2 例 (4.90%) に観察されたほか、異常併発が対照群で 2 例 (4.76%) [胸腺頸部残留および重複後大静脈右優位の併発と腎臓の位置異常および重複後大静

脈右優位の併発が各 1 例] に観察された。しかし、いずれの発現率も対照群との間に有意な差は認められなかった。また、内部器官観察に供した外形異常胎児では、2 mg/kg 投与群で左右手関節屈曲拘縮が認められた 1 例に重複後大静脈右優位がみられた以外、異常は観察されなかった (Table 4)。

骨格観察では、異常として頭蓋骨の形成不全が 2 および 4 mg/kg 投与群で各 2 例 (1.96%, 2.38%) に、頭蓋骨の癒合が 4 mg/kg 投与群で 1 例 (1.19%) に、胸骨格の癒合が対照群で 1 例 (1.11%) に、仙尾椎体の片側性欠損が 2 mg/kg 投与群で 1 例 (0.98%) にそれぞれ観察された。また、変異として頭蓋骨の骨化遅延が対照群, 2 および 4 mg/kg 投与群で各 1 例 (1.11%, 0.98%, 1.02%) に、胸椎体の骨化遅延が 4 mg/kg 投与群で 1 例 (1.02%) に、8 腰椎が対照群および 2 mg/kg 投与群で各 1 例 (0.95%, 0.98%), 4 mg/kg 投与群で 4 例 (5.26%) に観察されたほか、異常併発が対照群で 1 例 (2.22%) [右第一肋軟骨の分岐, 左第一肋骨の位置異常および第一胸骨核の分離の併発], 2 mg/kg 投与群で 2 例 (1.82%) [左右前頭骨の癒合および剣状突起の形成不全の併発 (Fig. 6) と第一肋軟骨の分岐および第一胸骨核の分離の併発が各 1 例] に観察された。しかし、いずれの発現率も対照群との間に有意な差は認められなかった。また、骨格観察に供した外形異常胎児では、2 mg/kg 投与群で複合奇形が認められた 1 例に左前肢の橈骨と尺骨の離開および指骨の欠損, 右前肢の手根部関節の屈曲拘縮が、4 mg/kg 投与群で右後肢の減形成奇形が認められた 1 例に趾骨の欠損が認められた (Table 4)。

骨化進行度については、いずれの投与群とも対照群

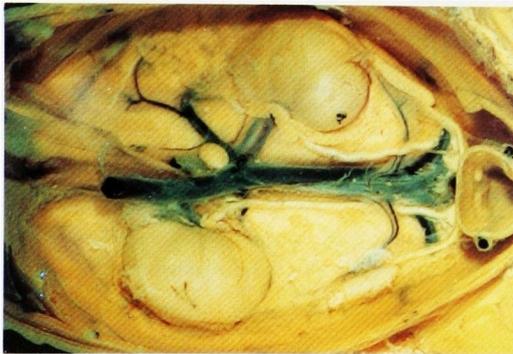


Fig. 5. Anomalous course of the inferior vena cava in a rabbit fetus (2 mg/kg, cefditoren pivoxil).



Fig. 6. Hypoplasia of processus xiphoideus in a rabbit fetus (2 mg/kg, cefditoren pivoxil).

Table 4. Visceral and skeletal findings in rabbit fetuses from dams treated orally with cefditoren pivoxil from day 6 to day 18 of pregnancy (Experiment 2)

Observation	Control (0.1% CMC)		Cefditoren pivoxil (mg/kg/day)			
			2		4	
	N	%	N	%	N	%
No. of dams with live fetuses	15		17		14	
No. of fetuses for visceral observations	36		40		34	
Anomalies						
Thymic remnant in the neck	1	(2.38)	1	(1.96)	0	
Tracheoesophageal transposition	0		1	(2.94)	0	
Anomalous course of inferior vena cava	2	(5.95)	3	(7.84)	2	(4.76)
Bifurcation of left renal vein	1	(2.38)	0		0	
Variations						
Double caudal vena cava (right predominant)	6	(15.48)	7	(16.66)	9	(30.95)
Double caudal vena cava (left predominant)	0		2	(4.90)	0	
Combined anomalies	2	(4.76)	0		0	

No. of fetuses with external malformations	0		1		0	
Double caudal vena cava (right predominant)	0		1		0	

No. of dams with live fetuses	15		17		14	
No. of fetuses for skeletal observations	87		98		78	
Anomalies						
Hypoplasia of cephalic bone	0		2	(1.96)	2	(2.38)
Fusion of cephalic bone	0		0		1	(1.19)
Fusion of sternbrae	1	(1.11)	0		0	
Absence of sacrococcygeal vertebral body	0		1	(0.98)	0	
Variations						
Delayed ossification of cephalic bone	1	(1.11)	1	(0.98)	1	(1.02)
Delayed ossification of thoracic vertebral body	0		0		1	(1.02)
Formation of 8th lumbar vertebra	1	(0.95)	1	(0.98)	4	(5.26)
Combined anomalies	1	(2.22)	2	(1.82)	0	
Ossification (Mean±SD)						
Forelimb (Proximal+Middle phalanges)	9.00 ± 0		8.99 ± 0.05		8.99 ± 0.05	
Hindlimb (Proximal+Middle phalanges)	8.00 ± 0		8.00 ± 0		8.00 ± 0	
Sacrococcygeal vertebrae	10.85 ± 0.36		10.79 ± 0.25		10.87 ± 0.22	

No. of fetuses with external malformations	0		1		1	
Absence of phalanges of toes	0		0		1	
Combined anomalies	0		1		0	

#: Mean of percent values per litter

との間に有意差は認められなかった (Table 4)。

III. 考 察

CDTR-PI の 2, 4, 7.5, 15 および 30 mg/kg をウサギの胎児器官形成期に経口投与して、母動物およびその胚・胎児におよぼす影響を検討した。

1. 母動物におよぼす影響

流産あるいは早産が 7.5 および 15 mg/kg 投与群で各 1 例、30 mg/kg 投与群で 8 例に観察され、CDTR-PI 投与による妊娠維持への影響が示唆された。しかし、早産および流産は妊娠期間中の極度な摂餌量減少

により引き起こされることが知られており⁴⁾、本試験の早産および流産も投与開始後から継続して認められた著しい摂餌量減少に誘発された二次的影響と考えられる。また、他の経口セフェム系抗生物質との比較では、cefroxadin⁹⁾ (1.25, 2.5, 5.0, 10 mg/kg) で死亡例が10 mg/kg 投与群で3/8例、2.5 mg/kg 投与群で1/11例、流産例が1.25 mg/kg 投与群で1/10例に、また、T-2588¹⁰⁾ (10, 20, 40, 80 mg/kg) で死亡および流産例が各投与群で観察されていることから、CDTR-PIのウサギ母動物に対する影響は類薬と大きくことなるものではないと考えられる。

一般状態では、すべての投与群に共通した症状として糞量の減少、糞小粒化、糞尿の無排泄のいずれか、あるいはこれらの併発例が観察された。これらの症状は摂餌量の減少を反映し、高用量群で発現頻度は高く、発現期間も長期化する傾向がみられた。また、軟便、下痢便あるいは粘液便が各投与群で散見されたが、軟便等は一般的に抗生物質を投与した場合に認められることから^{7,8)}、CDTR-PI投与に特有の影響ではないと考えられる。その他の症状では、血液が混入したと思われる赤色の尿が30 mg/kg 投与群で1例に妊娠11日に観察されたが、1日のみの発現であり、妊娠29日の剖検では着床痕跡が認められた以外、異常はみられなかったことから、胚死亡に起因した出血が尿中に混入したものと考えられる。

摂餌量では、2 mg/kg 投与群で投与初期に一過性の減少傾向が、4 mg/kg 投与群で投与期間中に減少あるいは減少傾向が認められた。しかし、体重増加量では妊娠期間を通して対照群との間に有意な差は認められなかった。7.5 mg/kg 投与群では投与初期の摂餌・摂水量減少が以降も軽度ながら継続し、妊娠22日の体重増加抑制をもたらした。しかし、妊娠後期では摂餌・摂水量の増加あるいは増加傾向とともに回復する傾向がみられた。また、15 mg/kg 投与群では妊娠8日から投与期間中継続した摂餌・摂水量の減少あるいは減少傾向が妊娠8日から22日の体重増加抑制あるいは抑制傾向をもたらしたが、妊娠後期では7.5 mg/kg 投与群と同様に体重増加抑制の回復が認められた。しかし、30 mg/kg 投与群では妊娠8日から22日あるいは29日までみられた摂餌・摂水量の著しい減少が妊娠8日から妊娠末期までの継続的な体重増加抑制をもたらした。

CDTR-PI投与群にみられた摂餌量減少は投与初期に顕著にみられたが、投与終了後では回復する傾向を示した。このような摂餌量の変動はCDTR-PI投与特有の現象ではなく、他の抗生物質を投与した場

合^{7,9)}にも認められている変化である。

剖検では、2 mg/kg 投与群で妊娠末期に摂餌全廃が認められた1例に軽度の肝臓の退色がみられ、病理組織学的検査の結果、周辺性の脂肪肝と判断された。脂肪肝は妊娠時の母動物の低栄養状態に由来する変化と考えられるが、4 mg/kg 以上の投与群では同様の所見は認められていないことから、CDTR-PI投与とは関連性のない変化と考えられる。30 mg/kg 投与群では妊娠29日まで妊娠維持した母動物の1例に子宮捻転が観察された。捻転は死亡胎児の発育状態から判断し、妊娠の末期に起きたものと推察されることからCDTR-PI投与に起因した影響ではなく偶発的変化と考えられる。そのほか、数例に盲腸膨満が観察されたが、一般状態で観察された軟便等と同様に抗生物質投与⁹⁾による腸内細菌叢の変動によるものと考えられ、CDTR-PI投与特有の影響ではないと考えられる。

黄体数、着床数(率)では対照群と各投与群との間に有意な差は認められなかったことから、CDTR-PIはウサギの着床に対して影響をおよぼさないと推察される。

2. 胚・胎児におよぼす影響

妊娠29日の帝王切開時の所見では7.5 mg/kg 以上の投与群で生存胎児数の有意な減少が認められた。しかし、7.5および15 mg/kg 投与群における数値は当施設のバックグラウンドデータの変動範囲内(7.0±1.81~9.6±1.8)¹⁰⁻¹³⁾であり、生存胎児率、死亡・吸収胚数(率)では著変なかったこと、また、試験1の対照群と試験2の対照群を合算した総合対照群との比較では有意な差は認められなかったことから、その差は極軽微なものと考えられる。一方、30 mg/kg 投与群では死亡・吸収胚率の増加傾向もみられ、また、総合対照群との比較においても有意な減少(p<0.05)が認められた。生存胎児数の減少および死亡・吸収胚率の増加は母動物の摂餌量減少により引き起こされることが知られており⁴⁾、これら胚・胎児への影響は母動物の栄養障害による二次的影響と考えられる。その他、30 mg/kg 投与群では雌の胎児体重の有意な減少が認められた。胎児体重の減少もまた母動物の栄養障害による影響と考えられるが、生存胎児の骨化進行度では著変なかったことから、その程度は胎児に発育遅延をもたらすものではなかった。

外形異常は、15 mg/kg 投与群を除く各投与群で観察されたが、いずれも少数例であり、発現率に用量依存性もないことから偶発的変化と考えられる。

内部器官・骨格観察では異常、変異例等が対照群を含む各群で散見されたが、いずれの発現率も対照群と

の間に有意な差は認められず、用量相関性もないことから、CDTR-PI はウサギ胎児に対して他の抗生物質^{7,9,14,15)}と同様に催奇形性を有さないと推察される。

したがって、ウサギ胎児器官形成期投与試験における無影響量は、母動物の一般毒性に対しては摂餌量の減少から 2 mg/kg、生殖に対しては流産例の出現から 4 mg/kg と推察される。胚・胎児に対しては生存胎児数の減少から 4 mg/kg と推察されるが、催奇形性はないものと考えられる。

文 献

- 1) 畑 俊明, 他: ME 1207 製剤のウサギを用いた経口投与による胎児器官形成期投与試験。明葉社内報, 1989
- 2) 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: 23~40, 1974
- 3) Barrow M V, Taylor W J: A rapid method for detecting malformations in rat fetuses. J. Morph. 127: 291~306, 1969
- 4) Matsuzawa T, Nakata M, Goto I, Tsushima M: Dietary deprivation induces fetal loss and abortion in rabbits. Toxicology 22: 255~259, 1981
- 5) 廣岡哲夫, 高橋昌三, 田所 規, 北川純夫: 経口抗生物質 Cefroxadin (CGP-9000) の生殖試験 (第 4 報) ウサギによる器官形成期投与試験。応用薬理 19: 669~679, 1980
- 6) 第 33 回日本化学療法学会総会新薬シンポジウム。T-2588, 1985
- 7) 松崎明紀, 阿久津貞夫, 向川秀生, 小林こずゑ: Cefatrizine (S-640 P) の催奇形性に関する研究 第 2 報 妊娠ウサギに対する経口投与時の胎仔に及ぼす影響。Jpn. J. Antibiot. 29: 144~152, 1976
- 8) 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: 375~384, 1981
- 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。Jpn. J. Antibiot. 33: 497~502, 1980
- 10) 暮部 勝, 浅岡安康, 森口政英, 畑 俊明, 岡野一男, 伊藤美奈子: 新しい制痛剤 (2" R) 4'-O-Tetrahydroxypranyladiamycin の生殖試験 (2) ラット及びウサギにおける胎仔器官形成期投与試験。Jpn. J. Antibiot. 39: 477~506, 1986
- 11) 伊藤美奈子, 他: ME 1228 二塩酸塩原末のウサギを用いた静脈内投与による胎児器官形成期投与試験。明葉社内報, 1990
- 12) 暮部 勝, 浅岡安康, 森口政英, 畑 俊明, 井沢正典, 永井修子: 新しい Cepharmycin MT-141 に関する毒性学的研究 (IX) ラット及びウサギにおける胎児器官形成期投与試験。Jpn. J. Antibiot. 37: 1186~1210, 1984
- 13) 暮部 勝, 浅岡安康, 森口政英, 岡野一男, 畑 俊明, 渡辺俊彦, 伊藤美奈子, 駒井義生, 伊藤逸實, 喜多川学, 日比野英樹, 入山浩二, 久間田淳一: HBK の生殖試験 3. 筋肉内投与によるラットおよびウサギ胎児器官形成期投与試験。基礎と臨床 20: 7875~7907, 1986
- 14) 古橋忠和, 三好幸二, 仲吉 洋: Cefuroxime axetil (CXM-AX) の生殖試験 (4) ウサギにおける胎仔の器官形成期投与試験。Chemotherapy 34 (S-5): 271~279, 1986
- 15) 長谷川靖彦, 葺石米孝: Cephem 系経口抗生物質 7432-S の生殖に及ぼす影響 (3) ウサギにおける胎児器官形成期投与試験。Chemotherapy 37 (S-1): 1026~1039, 1989

Toxicity studies of cefditoren pivoxil, a new oral cephem antibiotic

VIII. Reproductive and developmental toxicity study of cefditoren pivoxil in rabbits
by oral administration during the period of organogenesis

Minako Ito, Keiko Hasunuma, Kazuo Okano,
Masanori Izawa, Chieko Fujii, Isao Kosugi
and Masataka Fujita

Pharmaceutical Research Center, Meiji Seika Kaisha, LTD., 760
Morooka-cho, Kouhoku-ku, Yokohama, Kanagawa Prefecture 222, Japan

Effects of cefditoren pivoxil (CDTR-PI) on dams and their fetuses were evaluated in Kbl-JW rabbits. CDTR-PI was administered orally to pregnant rabbits during the period of fetal organogenesis at doses of 2, 4, 7.5, 15 and 30 mg/kg. One abortion each was observed in the 7.5 and 15 mg/kg groups, and one premature birth and seven abortions were observed in the 30 mg/kg group. Food consumption of dams decreased at 4 mg/kg and higher. The suppression of body weight gain of dams, as the result of a dose-related decrease of food and water consumption, was observed at 7.5 mg/kg and higher. The number of fetuses decreased at 7.5 mg/kg and higher, and fetal body weight decreased in the 30 mg/kg group. However, external, visceral and skeletal observations showed no anomalies and variations attributable to the administration of CDTR-PI. From these results, CDTR-PI may have no teratogenic effect in rabbits, and the no effect dose level of CDTR-PI for dams' reproductive performance and their fetuses is estimated to be 4 mg/kg.