

Meropenemのラットにおける 生殖発生毒性試験

川村 聡

住友化学工業株式会社
生物環境科学研究所*

Russell A.W. · Freeman S.J. · Siddall R.A.

ICI Pharmaceuticals Safety of Medicines Department**

Meropenem (MEPM) をラットの妊娠前および妊娠初期 (Seg. I), 胎児の器官形成期 (Seg. II) ならびに周産期および授乳期 (Seg. III) に静脈内投与し, 生殖に及ぼす影響を検討した。なお投与量は, Seg. I および Seg. III では 240, 500 および 1000 mg/kg ならびに Seg. II では 240, 500 および 750 mg/kg とした。

1. 親動物では投与群で軟便および下痢がみられたが, 投与による死亡はみられなかった。体重あるいは摂餌量の低値が雄では, 500 mg/kg 以上, 雌では 240 mg/kg 以上の投与群でみられた。

2. 親動物の生殖能, 妊娠の維持, 分娩ならびに授乳に影響はなかった。

3. 胎児に対しては致死作用, 催奇形作用はなく, 胎児の発育に影響を及ぼすこともなかった。

4. 出生児において Seg. II の 240 mg/kg 以上の投与群および Seg. III の 1000 mg/kg 群で雌の成熟期間中の体重に低値がみられた以外は, 出生後の成長や機能発達に影響はなかった。

Key words: Meropenem, ラット生殖発生毒性試験

Meropenem (MEPM) は住友製薬株式会社で合成された抗菌スペクトルの広いカルバペネム系抗生物質である。

今回, MEPM の生殖・発生毒性試験として, ラットで妊娠前および妊娠初期投与試験, 胎児の器官形成期投与試験ならびに周産期および授乳期投与試験を行ったので, その結果をまとめて報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験物質

MEPM は住友製薬株式会社から提供された Batch number U-203 (ADM49414/87) または U-204 (ADM50017/88) を使用した。被験物質はモル比 1:1 で炭酸ナトリウムと混合した無菌粉末として各バイアル中に MEPM 1g/力価または 2.5g/力価を含むように充填した。

2. 試験動物および飼育条件

Alpk:ApfSD (Wistar 由来) ラットを Alderley Park の SPF 嚙歯動物飼育施設から受入し, 飼料は固形 NDD 飼料 (Special Diet Service Limited) をあたえた。水は自

動給水システムあるいは給水ピンを用いて自由に摂取させた。飼育室の温度は $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度は $55 \pm 25\%$, 照明は 1日12時間に調整した。

3. 被験物質の調整および投与方法

MEPM は使用直前に注射用蒸留水で濃度 200 mg/ml の溶液にし, 2時間以内に使用した。投与は臨床適用経路と同じ静脈内とし 1日1回投与した。なお調製液は少なくとも2時間は安定であることが確認されている。

4. 投与量の設定

投与量の設定は次のように行った。

妊娠前および妊娠初期投与試験 (Seg. I) では, 催奇形性予備試験と3カ月反復投与試験の結果をもとに設定した。催奇形性予備試験では 750 および 1000 mg/kg/day 投与で母動物への毒性がみられ, さらに 1000 mg/kg では胎児体重の低値が認められた。3カ月反復投与試験では 1000 mg/kg で雄の体重の抑制がみられた。Seg. I の高用量はこの製剤を反復投与しうる最大量であり, 親動物に何らかの毒性を示すと考

*〒554 大阪市此花区春日出中3丁目1-98号

** Alderley Park, Macclesfield Cheshire, SK10 4TG, England

えられた1000mg/kgとし、中間用量および低用量は臨床推定用量からそれぞれ500mg/kgおよび240mg/kgを設定した。しかし、240および高用量の1000mg/kg投与で統計学的に有意な胎児体重の高値がみられたため、再現性を調べる目的で1000mg/kgのみを用いた追加試験を行った。

胎児の器官形成期投与試験(Seg. II)においても、Seg. Iと同様に催奇形性予備試験および3カ月反復投与試験の結果をもとに、母動物の毒性はみられると考えられた750mg/kgを高用量とし、中間用量および低用量は臨床推定用量からそれぞれ500mg/kgおよび240mg/kgを設定した。しかし、成熟期の雌児で低用量から体重増加に有意な低値がみられたため、再現性および無影響量を検索する目的で750および120mg/kgを設定し、追加試験を行った。

周産期および授乳期投与試験(Seg. III)では、予備試験においていずれの投与群でも分娩および授乳への影響はなく、母動物の体重増加および新生児の出生時体重にも影響はみられなかったため、高用量として1000mg/kgを設定し、中間用量および低用量として、500および240mg/kgを設定した。

いずれの試験においても、対照群には英国局方の0.9%W/V注射用塩化ナトリウム溶液を投与した。

5. 妊娠前および妊娠初期投与試験

群内動物数は雌雄とも各群22匹とし、雄は交配11週間前から屠殺まで、雌は交配2週間前から妊娠7日まで0, 240, 500および1000mg/kgを尾静脈内投与した。

投与期間およびその後の妊娠期間を通じて毎日、一般症状および死亡の有無を観察し、体重および摂餌量を測定した。交配は同一群内の雌雄1対1で行った。交配期間は2週間とし、毎日陰垢像を観察した。なお、陰垢中に精子が認められた雌を交尾成立雌とし、この日を妊娠0日とした。

2週間の交配の結果、交尾しなかった動物のうち雄については屠殺し、雌についてはさらに2週間同一群内の交尾能力が確認された雄と交配させた。交配期間終了後、交尾能力の確認された雄はHalothane™吸入により屠殺し、胸腹部臓器を剖検した。

交尾成立雌は妊娠20日にHalothane™吸入により屠殺後、帝王切開し、胸腹部臓器を剖検するとともに妊娠の有無をしらべた。妊娠雌は黄体数、着床数、生存胎児数および死亡胚・児数をしらべた。

生存胎児については口腔を含む外形異常の有無および性別を観察した後、体重を測定した。

追加試験では雌雄ラット1群各26匹を用い、雌は0,

1000mg/kg/dayを交配前2週間から妊娠7日まで投与し、雄には投与しなかった。交配期間は14日間とし精子確認日を妊娠0日とした。妊娠20日にHalothane™吸入で屠殺・剖検し、Seg. Iと同様に観察した。

6. 胎児の器官形成期投与試験

約10週令の雌を妊娠0日(精子検出日)に受入した。各群36匹の交尾雌ラットに妊娠6日から妊娠17日まで0, 240, 500および750mg/kgを尾静脈内投与した。

試験期間を通じて一般症状および生死の有無を観察し、体重および摂餌量を測定した。いずれの群も約24母獣を妊娠20日にHalothane™吸入により屠殺・帝王切開し、Seg. Iと同様に母獣および子宮内を観察した。生存胎児についてはさらに骨格および内臓観察を行った。一方、各群残りの約12母獣は自然分娩させ、妊娠期間ならびに分娩状態を観察した。分娩母獣には生後21日まで児を哺育させ、哺育状態を観察し、分娩後21日にHalothane™吸入により屠殺し、胸腹部臓器を剖検するとともに着床痕数を調べ生産率を算出した。

児は出生後毎日、死亡の有無および一般症状を観察するとともに、生後0, 3, 7および14日ならびに21日以降12週令まで1週間ごとに体重を測定した。

児は耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂、精巣下降および陰開口などの形態分化を観察した。生後35日に各群雌雄各12匹を残して屠殺・剖検し、肉眼的観察を行った。対照群と高用量群については各々10匹から摘出した眼球を病理組織学的に評価し、視覚発達を検査した。児の機能検査としては、生後7日に断崖回避、8日に背走地性および嗅覚識別ならびに21日に聴覚機能などを調べた。

生後35日に選出したF₁(雌雄各12匹)の行動検査としては、生後35日と77日にfigure-8-maze activity¹⁻³⁾を、また生後77日にStartle habituation^{4,5)}を検査した。

生後少なくとも12週令に達した時点で生殖能力検査を行った。交配は兄妹交配を避けて行い、交配期間は3週間とし、未交尾の雌は、交尾能力が確認されている雄とさらに3週間交配させ、交尾率および受胎率を算出した。

生殖能力検査の結果、未交尾の雌および未交尾の雄は屠殺、剖検した。交尾成立雌は、すべて自然分娩させ、分娩後21日にすべての出生児を致死させた以外はF₀の分娩例と同様に観察した。

なお、Seg. IIにおいて出生児の成熟期に低用量から雌の体重増加に有意な低値が認められたため、再現性および無影響量を検索する目的で各群約20匹の妊娠ラットを用い0, 120および750mg/kgの3群で追加試

験を行い、いずれの群も全例を自然分娩させた。

児は、体重測定および形態分化の観察を行い、生後12週に全児をHalothane™吸入により致死させ剖検した。

7. 周産期および授乳期投与試験

生後10週令に達した雌を妊娠0日に受入し、各群22匹の妊娠ラットに妊娠17日から分娩後21日まで0, 240, 500および1000mg/kgを尾静脈内投与した。

母獣についてはSeg. IIの分娩例と同様に分娩および授乳状態、児については出生後の成長や機能、発達を調べ生殖能力検査を行い次世代の胎児についても観察した。

F₁の生後35日に、各群とも雌雄各22匹を選び、12週令時に交配、妊娠雌は妊娠20日に全例屠殺、子宮内容物の検査を行った。

8. 統計処理法

得られた諸種の数値は母獣単位で処理した後、t検定などにより統計処理を行った。なお、帝王切開時に妊娠日数のことなる母獣については胎児体重、胎盤重量、羊水重量などは統計から除外した。

II. 結 果

1. 妊娠前および妊娠初期投与試験

1000mg/kg群の2例(雌雄各1例)が投与期間中に死亡した。雄は投与のための保定中に死亡し、雌は尾部の潰瘍化のため人道的理由で屠殺した。これらの死亡はいずれも投与技術によるものと考えられ、MEPM投与に関連した死亡はみられなかった。すべての投与群

の雌雄で軟便および下痢、またはいずれか一方の発現頻度が増加した。500および1000mg/kgを投与した雄では尿による汚れが対照群と比較して比較的高頻度に認められた。さらにすべての投与群の雌で被毛の汚れが、また、すべての群の雌雄で投与経路と関連した尾部の損傷すなわち発赤、尾尖部の黒色化が認められた。体重の推移はFig. 1に示したように1000mg/kg投与群の雄では交配前の全期間を通じて体重増加の抑制がみられた。500mg/kgを投与した雄でも投与初期の2週間に体重に軽度の変化がみられた。1000mg/kgを投与した雌では交配前に体重増加の抑制がみられた。しかし、妊娠期間中はいずれの群でも投与の影響はみられなかった。1000mg/kg投与群の雄では投与期間を通して、またすべての投与群の雌では投与第1週に摂餌量が減少した。生殖能力検査ではTable 1に示したように、いずれの投与群でも、交尾能および授(受)胎能に影響は認められなかった。また、性周期にも異常は認められなかった。

子宮内の観察では、Table 2に示したようにいずれの投与群も黄体数、着床数および生存胎児数、着床前および着床後の胚の喪失数に対照群との間で差は認めなかった。平均胎児体重はすべての投与群で高値を示し、胎盤指数は軽度に低値を示した。対照群と比較していずれの投与群も平均胎盤重量、羊水重量および空の子宮重量に影響はみられず、性比にも差はなかった。胎児の観察では投与に関連した異常は全く認められなかった。

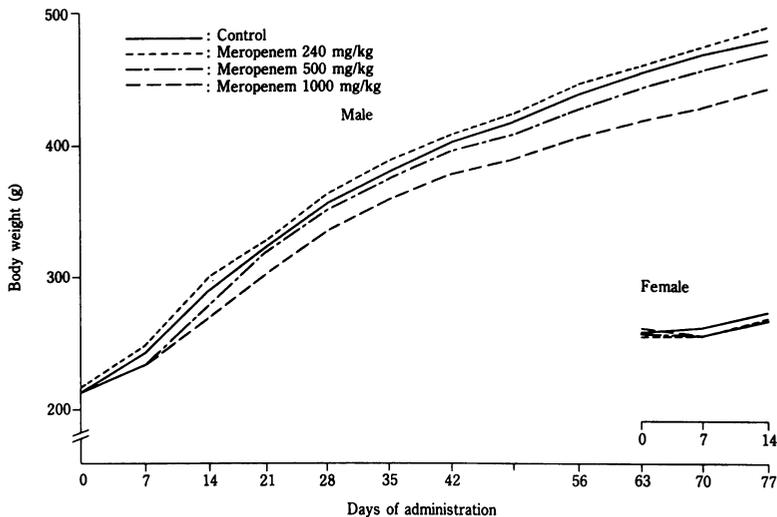


Fig. 1. Body weights of male and female rats intravenously administered meropenem for 77 days and 14 days before mating (Segment I).

Table 1. Mating and fertility (Segment I)

Index	Control	Meropenem		
		240 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
Males				
Number in study	22	22	22	22
Number paired	22	22	22	21
Number mated	22	22	21	21
Number fertile	22	20	20	21
Copulation index mated/paired (%)	100	100	95	100
Fertility index fertile/mated (%)	100	91	95	100
Fertile/paired (%)	100	91	91	100
Females				
Number in study	22	22	22	22
Number paired	22	22	22	21
Number mated	22	22	22	21
Number pregnant	22	20	21	21
Number not pregnant	0	2	1	0
Copulation index mated/paired (%)	100	100	100	100
Fertility index pregnant/mated (%)	100	91	95	100
Pregnant/paired (%)	100	91	95	100

Table 2. Uterine examination (Segment I)

Index	Control		Meropenem					
			240 mg/kg		500 mg/kg		1000 mg/kg	
	No.	Mean	No.	Mean p	No.	Mean p	No.	Mean p
Number of corpora lutea	22	16.0	20	15.2	21	15.3	20	15.0
Number of implants	22	14.5	20	14.2	21	13.8	20	14.0
Number of live fetuses	22	13.6	20	13.8	21	12.9	20	13.3
Pre-implantation loss	22	1.5	20	1.2	21	1.5	20	1.3
Post-implantation loss	22	0.9	20	0.4	21	1.0	20	0.8
Pre-implantation loss (as a % of corpora lutea)	22	8.7	20	8.1	21	11.1	20	8.4
Post-implantation loss (as a % of implants)	22	5.8	20	2.6	21	6.4	20	5.4
Fetal body weight (g)	21	3.305	17	3.453*	18	3.384	20	3.620***
Placental weight (g)	21	0.464	17	0.470	18	0.465	20	0.500
Placental index	21	14.27	17	13.84	18	13.80*	20	13.80*
Amniotic fluid weight per fetus (g)	21	1.039	17	1.061	18	1.057	20	1.045
Male proportion	22	0.557	20	0.550	21	0.501	20	0.525
Empty uterus weight (g)	21	4.381	17	4.494	18	4.239	20	4.495

p = Statistical significance of difference from control mean.

Significance levels — *p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001.

胎児体重への影響を確認するために行った追加試験において、MEPMを1000mg/kg静脈内投与した結果、体重増加の抑制、摂餌量の低値および症状の発現などの影響が母獣にみられた。これらの影響は投与期間終了後もみられたが、胎児への影響はみられなかった。すなわち、Table 3に示したように1000mg/kgの投与によっても胎児体重への影響は認められなかった。

2. 胎児の器官形成期投与試験

対照群の1例は投与によって著しく尾を損傷したため人道上の理由により妊娠13日に屠殺したが、MEPMの投与に関連した死亡はみられなかった。対照群および750mg/kgの各1例で出生児が全て死亡したため、この2例は分娩後21日より以前に屠殺した。

観察された症状の大部分は投与技術に関連した尾の損傷であった。損傷の頻度は投与液量が最も多かった

対照群および750mg/kgで最も高かった。ラットを用いた他の試験では軟便と尿の着色がみられたが、本試験では軟便と尿の着色の発現頻度は低く、全群ではほぼ同程度であった。その他の症状に重要なものではなく、MEPM投与との関連はないと考えられた。

体重の推移はFig. 2に示したように、すべての投与群でF₀雌の体重増加量が妊娠期間中に軽度到低値を示したが、授乳期間の体重および体重増加量には影響はなかった。摂餌量は投与期間中はすべての投与群で低値であったが、投与期間終了以後投与の影響はみられなかった。

妊娠15日にMEPMを750mg/kg投与した際の15分後の母動物の血漿中のMEPMの平均濃度は、144±13.7 μg/mlで、胎児の平均濃度は4.6±0.6 μg/gであり、MEPMが胎盤を通過することおよび投与15分後の胎

Table 3. Uterine examination (Segment I additional study)

Index	Control		Meropenem		
			1000 mg/kg		
	No.	Mean	No.	Mean	p
Fetal body weight (g)	22	3.199	24	3.158	
Placental weight (g)	22	0.4811	24	0.4748	
Placental index	22	15.10	24	15.12	
Amniotic fluid weight per fetus (g)	22	1.101	24	1.026	
Male proportion	22	0.454	25	0.514	
Empty uterus weight (g)	22	4.94	24	5.02	

*Data from animal which had only implantation sites on pregnancy day 20 has not been included in this analysis.

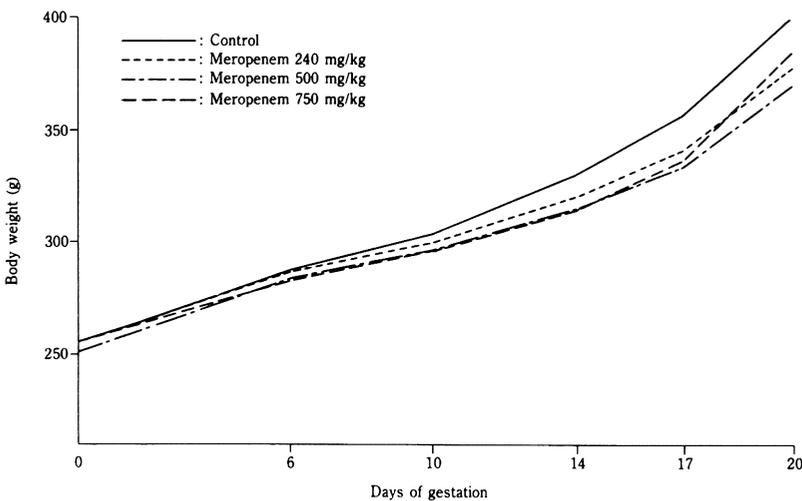


Fig. 2. Body weights of dams (F₀) intravenously administered meropenem on days 7 to 17 of gestation — Caesarean section group — (Segment II).

Table 4. Uterine examination (Segment II)

Index	Control		Meropenem					
			240 mg/kg		500 mg/kg		750 mg/kg	
	No.	Mean	No.	Mean p	No.	Mean p	No.	Mean p
Number of live fetuses	24	11.9	23	10.5	24	11.0	23	12.0
Total implants	24	12.8	23	11.3	24	12.2	23	12.6
Number of corpora lutea	24	14.0	23	13.6	24	14.1	23	13.8
Pre-implantation loss	24	1.3	23	2.3	24	1.8	23	1.2
Post-implantation loss	24	0.9	23	0.8	24	1.3	23	0.6
Fetal body weight (g)	24	3.364	23	3.342	24	3.228*	23	3.251
Placental weight (g)	24	0.5195	23	0.5190	24	0.4910	23	0.4879
Placental index	24	15.44	23	15.58	24	15.24	23	15.03
Amniotic fluid weight per fetus (g)	24	1.181	23	1.187	24	1.125	23	1.167
Male proportion	24	0.529	23	0.510	24	0.499	23	0.522

p = Statistical significance of difference from control mean.

Significance levels: *p<0.05.

Table 5. Fetal examination (Segment II)

Index	Control	Meropenem		
		240 mg/kg	500 mg/kg	750 mg/kg
No. of dams	24	23	24	23
External examination				
No. of fetuses examined	285	241	263	277
Haematoma	2	1	3	1
Micrognathia	0	0	0	1
Visceral examination				
No. of fetuses examined	89	72	79	88
Renal pelvic cavitation	9	7	2	7
Kinked/dilated ureters	17	9	8	12
Irregular ridging of palate	5	6	3	3
Skeletal examination				
No. of fetuses examined	196	169	184	189
Abnormal or slight cranial ossification	35 (17.9%)	23 (13.6%)	33 (17.9%)	26 (13.8%)
Incomplete cranial ossification	50 (25.5%)	31 (18.3%)	40 (21.7%)	45 (23.8%)
Hyoid — bifid, reduced or absent	7 (3.6%)	5 (3.0%)	5 (2.7%)	5 (2.6%)
Bifid centra	3 (1.5%)	2 (1.2%) ⁻	4 (2.2%) ⁻	3 (1.6%) ⁻
Dumbell centra	23 (11.7%)	28 (16.6%)	30 (16.3%)	33 (17.5%)*
Deltoid tuberosity — reduced or absent	3 (1.5%)	14 (8.3%)	14 (7.6%)	7 (3.7%)
Extra ribs	58 (29.6%)	29 (17.2%)	30 (16.3%)	39 (20.6%)
Incomplete sternebral ossification	73 (37.2%)	69 (40.8%)	71 (38.6%)	62 (32.8%)
Reduced sternebrae	68 (34.7%)	50 (29.6%)	58 (31.5%)	69 (36.5%)
Vestigial sternebrae	31 (15.8%)	18 (10.7%)	23 (12.5%)	24 (12.7%)
Bifid sternebrae	10 (5.1%)	2 (1.2%)	5 (2.7%)	5 (2.6%)
Asymmetric sternebrae	22 (11.2%)	10 (5.9%)	22 (12.0%)	18 (9.5%)

p = Statistical significance increase from control group incidence (one-sided test for increase in incidence due to dosing).

Approximate significance levels: *p<0.05.

A dash (—) indicates unsuitable data for significance test.

児中の濃度は母体血漿中濃度の約3%であることが確認された。

妊娠20日のF₀雌の子宮内の検査では、Table 4に示したように、いずれの投与群においても対照群と比較して、黄体数、着床数、生存胎児数ならびに着床前および着床後の喪失数には影響を認めなかった。平均胎児体重は500mg/kg群では有意に低値であったが、その差は小さく(4%)、生物学的に重要ではないと思われた。胎盤重量、羊水重量、空の子宮重量および性比にも影響を認めなかった。

胎児の外形、内臓および骨格観察はTable 5に示した。外形観察では750mg/kgでは1例の胎児に小顎症が、対照群、240、500および750mg/kg群の2、1、3および1例で血腫がみられた。内臓観察では少数例で泌尿器と口蓋の異常がみられた。これらの異常は対照群を含む全群にみられ、各群の発現率は同程度であった。この他対照群、240および750mg/kg群の胎児の少数例(13例)に鼻腔の拡張、心臓の拡大、右心房の肥大など幾つかの異常がみられた。骨格検査では、この系統のラットに一般的にみられる軽度異常と変異だけが認められた。750mg/kg群で、亜鈴形椎体を持つ

た胎児の発現頻度の増加がみられた。分娩させたF₀雌では、全投与群で妊娠期間に影響はみられなかった。Table 6に示したように分娩後21日までの生存率、離乳率、全児または少なくとも1児が死亡した母動物数に影響はなく、雄の比率および平均胎児体重にもMEPMの影響はみられなかった。出生児の発達では形態分化、反射と知覚、運動能力の発達、聴覚および生殖器官の発達が正常であった出生児の比率には有意差はなかった。生後35日と77日のFigure-8-maze試験と生後77日に実施したStartle habituation試験の解析では、対照群と比較して投与群に明らかな差を認めなかった。すべての投与群のF₁雌ではFig. 3に示したように成熟期間の生後5週から、対照群に比較して体重の低値がみられた。この低値はその後も妊娠期間および授乳期間を通して持続したが妊娠期間中および授乳期間中の体重増加量は対照群と差はなく、これらの時期には体重増加の抑制はなかった。しかし、いずれの投与群においても、交尾成立期間、交尾率、妊娠率、妊娠期間、生存児数、児の平均体重、性比および出生児の発達に差は認められなかった。

F₁雌の全投与群でみられた成熟期間中の体重の低

Table 6. F₀ litter survival (Segment II)

Index	Day p.p.	Control		Meropenem								
				240 mg/kg			500 mg/kg			750 mg/kg		
		No. Dams	Total	No. Dams	Total	p	No. Dams	Total	p	No. Dams	Total	p
Total No. of pups	Day 0	11	113	12	124		12	142		12	134	
No. of pups alive (percentage of total no. of pups)	Day 0	11	112 (99.1%)	12	123 (99.2%)	—	12	141 (99.3%)	—	12	132 (98.5%)	—
	Day 3	11	103 (91.2%)	12	117 (94.4%)		12	124 (87.3%)		12	112 (83.6%)	
	Day 7	11	100 (88.5%)	12	117 (94.4%)		12	122 (85.9%)		12	107 (79.9%)	
	Day 14	11	99 (87.6%)	12	117 (94.4%)		12	122 (85.9%)		12	107 (79.9%)	
	Day 21	11	99 (87.6%)	12	113 (91.1%)		12	122 (85.9%)		12	107 (79.9%)	
Viability index (percentage of live pups day 0)	Day 3	11	103 (92.0%)	12	117 (95.1%)		12	124 (87.9%)		12	112 (84.8%)	
Lactation index (percentage of live pups day 3)	Day 21	10	99 (96.1%)	12	113 (96.6%)		12	122 (98.4%)		12	107 (95.5%)	
No. of whole litters lost	Day 21		1		0			0			1	
No. of litters with at least one dead pup	Day 0		1		1			1			2	
	Day 21		7		4			7			7	

p = Statistical significance of difference from control group (none were significant p > 0.05) (one-sided test for decrease in survival due to dosing).

A dash (—) under p indicates unsuitable data for analysis.

値の再現性の確認および無影響量を求める目的で行った追加試験において、MEPMの750mg/kg投与では、体重増加の抑制および摂餌量の低値がみられたが、妊娠および授乳に影響はなく、哺育児に対する影響もなかった。しかし、750mg/kg群の成熟期間中のF₁雌の体重で低値傾向がみられ、12週で有意な低値がみられたが、腔開口には影響はなかった。F₁雄に対する影響もなかった。児の横隔膜ヘルニアが120および750mg/kg群で2および1例みられた。120mg/kg群で

は投与の影響はみられなかった。

3. 周産期および授乳期投与試験

MEPMの投与に関連すると考えられる死亡はみられなかった。240mg/kg群の2例は投与の保定器から取り出した時死亡しており、これは投与ミスによるものと思われた。対照群および500mg/kg群の各1例では出生児が全て死亡し、分娩後21日以前に屠殺した。観察された症状の大部分は投与技術に関連した尾の損傷であった。その発現頻度は投与液量の最も多い対照

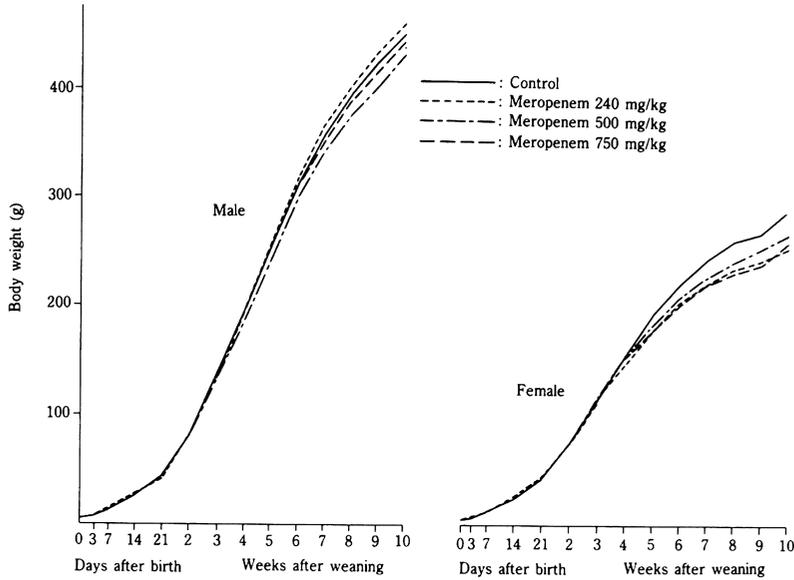


Fig. 3. Body weights of male and female offspring (F₁) before and after weaning (Segment II).

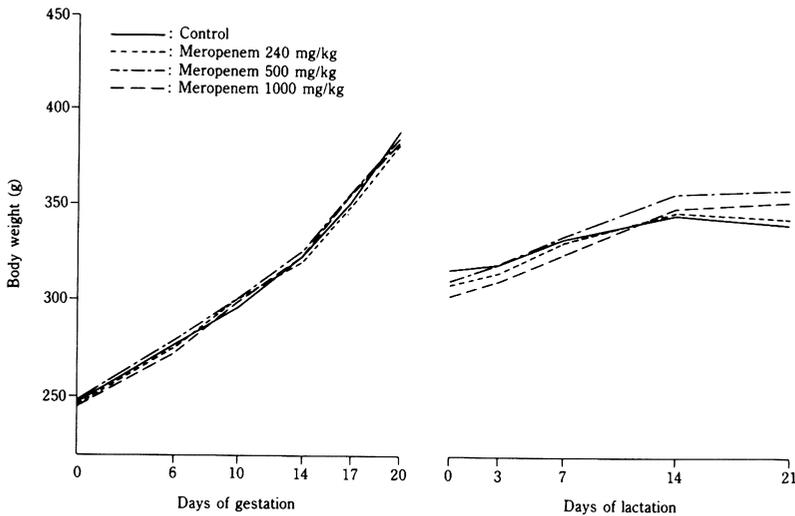


Fig. 4. Body weights of dams (F₀) intravenously administered meropenem from day 17 of gestation through day 21 of lactation (Segment III).

群と1000mg/kg群で最も高かった。MEPMのラットを用いた他の試験では、軟便と尿の着色がみられたが、本試験では軟便と尿の着色の発現頻度は比較的 low (1~2%), すべての群で同程度であった。認められたその他の症状は重要なものでなく、MEPMの投与に関連するものではないと考えられた。

Fig. 4に示したように、妊娠期間中の体重および体重増加に影響はなかった。500および1000mg/kg群で授乳期間中に軽度な体重増加量の高値がみられた。すべての投与群で妊娠期間中に摂餌量の有意な低値がみられたが、授乳期間中には影響はなかった。

Table 7に示したように、対照群と比べていずれの投与群においても平均妊娠期間、生後21日までの生存率と離乳率、全児または少なくとも1児が死亡した動物数、雄の比率または平均体重にMEPMの影響はみられなかった。

新生児の発達に関連した指標をTable 8に示した。背地走性を示した児は240mg/kg群で有意に多かった。生後35日と77日に実施したFigure-8 mazeと生後77日に実施したSartle habituationによる行動のデータ解析結果では、迷路内での活動性が240mg/kg群雌で生後

35日の検査中に、また1000mg/kg群雄で生後77日の検査中に一時的に上昇した。500mg/kg群雌で驚愕反応の軽度の亢進がみられた。その他の形態分化、生得反射、知覚運動、聴覚の発達状態に差は認められなかった。

F₁児の成熟期間中の体重の推移はFig. 5に示した。1000mg/kg群雌で平均体重は成熟期間を通して低値であったが、雄では対照群と同様であった。F₁動物の生殖能力検査では、いずれの群においても生殖能力に異常はみられなかった。

妊娠20日に屠殺したF₁雌の子宮内の観察では、黄体数、着床数、生存胎児数および着床前後の喪失数にはいずれの投与群とも対照群と比較して差はなかった。胎児、胎盤、羊水、空の子宮の平均重量および雄胎児比率にはいずれの投与群とも対照群との間に差はなかった。胎児の肉眼的検査では投与に関連した異常はみられなかった。

III. 考 察

MEPMのラットにおける生殖・発生に及ぼす影響を検討するために、妊娠前および妊娠初期(Seg. I)、胎児の器官形成期(Seg. II)ならびに周産期および授乳期

Table 7. F₀ litter survival (Segment III)

Index	Day p.p.	Control		Meropenem								
				240 mg/kg			500 mg/kg			1000 mg/kg		
		No. Dams	Total	No. Dams	Total	p	No. Dams	Total	p	No. Dams	Total	p
Total No. of pups	Day 0	22	260	19	200		22	238		22	264	
No. of pups alive (percentage of total no. of pups)	Day 0	22	255 (98.1%)	19	195 (97.5%)	—	22	235 (98.7%)	—	22	261 (98.9%)	—
	Day 3	22	241 (92.7%)	19	185 (92.5%)		22	223 (93.7%)		22	243 (92.0%)	
	Day 7	22	228 (87.7%)	19	183 (91.5%)		22	221 (92.9%)		22	243 (92.0%)	
	Day 14	22	225 (86.5%)	19	183 (91.5%)		22	218 (91.6%)		22	241 (91.3%)	
	Day 21	22	224 (86.2%)	19	183 (91.5%)		22	217 (91.2%)		22	241 (91.3%)	
Viability index (percentage of live pups day 0)	Day 3	22	241 (94.5%)	19	185 (94.9%)		22	223 (94.9%)		22	243 (93.1%)	
Lactation index (percentage of live pups day 3)	Day 21	22	224 (92.9%)	19	183 (98.9%)		21	217 (97.3%)		22	241 (99.2%)	
No. of whole litters lost	Day 21		1		0			1			0	
No. of litters with at least one dead pup	Day 0		4		5			2			1	
	Day 21		15		11			11			9	

p = Statistical significance of difference from control group (none were significant p > 0.05) (one-sided test for decrease in survival due to dosing).

A dash (—) under p indicates unsuitable data for analysis.

(Seg. III)にMEPMを静脈内投与し、交尾および妊娠の成立、妊娠の維持、分娩・授乳など親動物の生殖に及ぼす影響ならびに胚・胎児死亡、発育遅延、奇形発生、生後の成長や機能発達など次世代の発生に及ぼす影響を検討した。

なお、投与量はSeg. I およびSeg. IIIで240, 500および1000mg/kgならびにSeg. IIでは240, 500, 750mg/kgとした。

1. 親に及ぼす影響

親動物の投与群で観察された軟便あるいは下痢の発現頻度の増加は抗生物質を投与されたラットでは通常みられる所見である^{6,7)}。また、投与群でみられた体重増加量および摂餌量の低値は、投与に起因するものと考えられ、Seg. IIではすべての投与群で低値であった。摂餌量の低値は、他のβ-ラクタム系抗生物質の生殖試験においても一般的に認められている²⁻⁴⁾。しかし、Seg. IIの追加試験の120mg/kg群では、これらの影響はみられなかった。

従って、親動物に対する一般毒性学的な無影響量は120mg/kgと考えられた。生殖に及ぼす影響については、雄動物では影響はなく、無影響量は1000mg/kgと考えられた。雌動物では、750mg/kgあるいは1000mg/kgの投与によっても性周期、生殖能、妊娠の維持、分娩ならびに授乳に影響はなく、無影響量は750mg/kgと考えられた。

2. 胎児に及ぼす影響

いずれの試験においても黄体数、着床数、胎児数、

着床前喪失数、着床後喪失数、雄の比率には影響はなかったが、Seg. Iにおいてすべての投与群で胎児体重の高値がみられた。しかし、1000mg/kgを投与したSeg. Iの追加試験においては胎児体重に影響は認められず、Seg. Iでみられた胎児体重の高値は投与によるものではないと考えられた。

Seg. IIにおいて胎児の外形観察で小顎症および血腫が、内臓観察で泌尿器や口蓋等の異常がみられたが、いずれも対照群との間に差なく、かつ、少数例のみの発現あるいは用量相関のない発現であり、投与によるものではないと考えられた。また、Seg. II追加試験の出生児において、横隔膜ヘルニアがみられたが、用量相関のない少数例の発現であり、Seg. IIでは認められず、また自然発生することが知られていることから、投与によるものではないと考えられた。胎児の骨格観察ではSeg. IIの750mg/kgで、亜鈴椎体の発現頻度の高値がみられたが、背景データの範囲内(5.3%から21.4%、平均=16.3%)の軽微な変化であり、MEPM投与によるものとは考えられなかった。

これらのことから、MEPMには胎児致死作用および催奇形作用はなく、胎児の発育に影響を及ぼすこともなく、無影響量は750mg/kgと考えられた。

3. 出生児に及ぼす影響

Seg. IIおよびIIIでは児の生存、および機能発達に投与の影響はみられなかった。しかし、Seg. IIの全投与群において、雌の成熟期間中の体重に低値がみられた。この低値はその後の児動物の妊娠および哺育期間中に

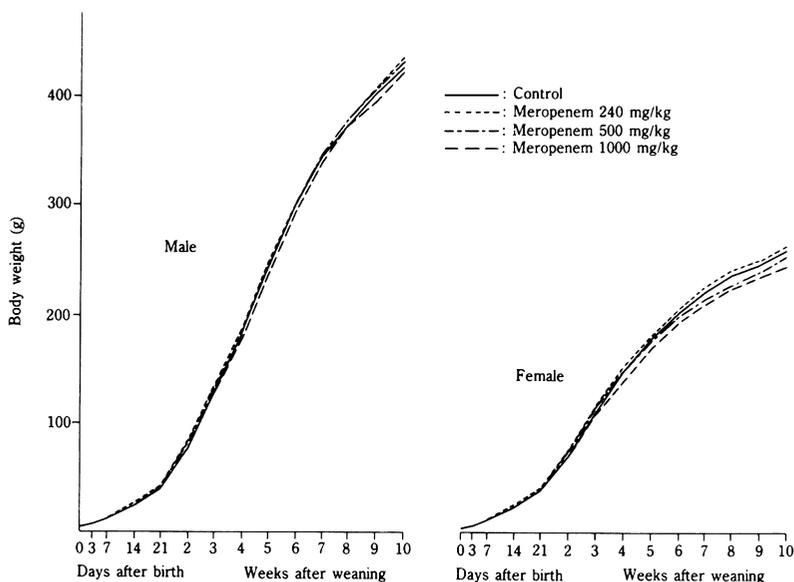


Fig. 5. Body weights of male and female offspring (F_1) before and after weaning (Segment III).

Table 8. F₀ neonatal development (Segment III)

Index	Control		Meropenem										
			240 mg/kg			500 mg/kg			1000 mg/kg				
	No.	Mean	No.	Mean	p	No.	Mean	p	No.	Mean	p		
Pinnae detachment	22	0.550	19	0.547		21	0.563		22	0.497			
Incisor eruption	21	0.670	19	0.605		21	0.686		22	0.566			
Eye opening	21	0.489	19	0.563		21	0.575		22	0.390			
Cliff avoidance	22	0.644	19	0.698		21	0.737		22	0.686			
Negative geotaxis	22	0.572	19	0.731	*	21	0.647		22	0.729			
Olfactory discrimination	22	0.229	19	0.330		21	0.270		22	0.256			
Startle response	21	1.000	19	1.000	-	21	1.000	-	22	1.000	-		
Testicular descent/Vaginal opening	21	0.745	19	0.655		21	0.671		22	0.754			
Maze Activity (No. receptors broken)	Time	Sex											
	Day 35												
	0~900s	M	21	125.43	19	126.37	20	122.75	21	126.19			
	0~1800s	M	21	167.05	19	180.42	20	174.20	21	186.29			
	0~2700s	M	21	183.62	19	191.37	20	182.00	21	204.81			
	0~end	M	21	196.90	19	200.79	20	188.35	21	213.14			
	Day 77												
	0~900s	M	22	122.73	21	127.38	20	131.30	20	134.95			
	0~1800s	M	22	187.64	21	207.95	20	215.10	20	217.90	*		
	0~2700s	M	22	242.18	21	272.86	20	275.75	20	275.15			
	0~end	M	22	289.86	21	325.10	20	323.40	20	319.80			
	Day 35												
	0~900s	F	21	125.52	19	132.47	20	131.10	21	130.62			
	0~1800s	F	21	173.57	19	199.74	20	193.95	21	186.24			
	0~2700s	F	21	187.48	19	226.05	*	20	208.65	21	202.81		
	0~end	F	21	206.67	19	247.58	*	20	215.50	21	211.14		
	Day 77												
	0~900s	F	22	143.82	21	144.57	19	152.89	20	157.80			
0~1800s	F	22	226.64	21	229.43	19	253.47	20	261.55				
0~2700s	F	22	294.82	21	301.38	19	332.16	20	341.75				
0~end	F	22	356.73	21	362.81	19	388.42	20	405.00				
Startle response	Time interval	Sex											
Absolute response	1	M	22	128.76	22	119.15	-	22	148.06	-	22	104.92	-
	2	M	22	13.55	22	3.43		22	-13.73		22	9.51	
(Percentage relative to interval 1)	3	M	22	6.04	22	-11.38		22	-20.39		22	0.08	
	4	M	22	1.60	22	-23.16		22	-28.87		22	-15.99	
	5	M	22	-6.02	22	-17.82		22	-32.02		22	-7.50	
	6	M	22	-10.18	22	-29.43		22	-31.71		22	-14.59	
Absolute response	1	F	22	149.26	22	160.81	-	21	124.08	-	22	135.19	-
	2	F	22	10.51	22	2.51		21	16.47		22	13.41	
(Percentage relative to interval 1)	3	F	22	-6.11	22	-1.82		21	15.36		22	6.33	
	4	F	22	3.99	22	9.65		21	20.51		22	16.56	
	5	F	22	-2.91	22	6.67		21	20.03		22	26.32	
	6	F	22	-1.21	22	12.37		21	29.84	*	22	7.26	

p = Statistical significance of difference from control group.

Significance levels: *p < 0.05.

A dash (-) under p indicates unsuitable data for significance test.

Note: For percentage relative to interval 1, a negative value indicates a relative reduction in response.

も継続して認められたが、増加量には差はなく、これらの時期には、体重の抑制はないことが示唆された。

Seg. II 追加試験においても750mg/kg群で成熟期間中のF₁雌の体重の低値がみられたが、120mg/kgにおいては雌雄のいずれにも投与の影響は認められなかった。このF₁雌の成熟期間中の体重の低値はSeg. IIIの1000mg/kg群においても認められた。Seg. II およびSeg. III でみられた雌児の成熟期間中の体重の低値の原因は明らかでないが、生存性、性成熟および生殖能などに影響はなく、重要な影響を示唆するものではなかった。

Seg. III の240mg/kg群の背地走性、240および1000mg/kg群の迷路活動性ならびに500mg/kg群の驚愕反応でみられた有意な差は用量相関もなく、一時的なものであり、投与によるものではないと考えられた。

これらのことから、児に対する無影響量は120mg/kgと考えられた。

文 献

- 1) Pisano R G and Storer T I: Burrows and feeding of the Norway rat. *J Mammal* 29: 374 ~ 383, 1946
- 2) Reiter L W: Chemical exposures and animal activity: utility of the figure-8 maze. In: *Developments in the science and practice of toxicology*. Edited by Hayes, A W, Schnell, R C and Miya, T.S New York Elsevier Press, pp73 ~84, 1983
- 3) Adams J, Oglesby D M, Ozemek H S, Rath J, Kimmel C A, and Buelke-Sam J: Collaborative behavioral teratology study: programmed data entry and automated test systems. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology* 7 (6): 547 ~554, 1985
- 4) Davis M: Neurochemical modulation of sensory-motor reactivity: acoustic and tactile startle reflexes. *Neurosci Biobehav Rev* 4: 241 ~263, 1980
- 5) Groves P M and Thompson R F: Habituation: a dual process theory. *Psychol Rev* 77: 419 ~ 450, 1970
- 6) Takayama S, Furuhashi K, Kato M, Yamada A, Onodera T, Ogawa H and Akimoto T: Toxicological studies of cefoxitin I. Acute, subacute and chronic toxicity. *Chemotherapy* 26 (S-1): 150 ~175, 1978
- 7) Morimoto K, Shimizu M, Tadokoro T, Takahashi S and Miyaji T: Subacute toxicity study of cefroxadine (CGP-9000) *Chemotherapy*: 28 (S-3), 103~115, 1980
- 8) Furuhashi T, Uehara M, Nakayoshi H: Safety study on ceftazidime (VI). Fertility study in rats. *Chemotherapy* 31 (S-3): 928 ~ 939, 1983
- 9) Furuhashi T, Kato I, Nomura A and Nakayoshi H: Safety study on ceftazidime (IX) perinatal and postnatal study in rats. *Chemotherapy* 31 (S-3): 968~986, 1983
- 10) Furuhashi T, Takei A, Honda T and Nakayoshi H: Safety study on ceftazidime (VII) teratological study in rats. *Chemotherapy* 31 (S-3): 940~960, 1983
- 11) Hasegawa Y, Takegawa Y and Yoshida T: Reproduction of rats under 6315-S (Flomoxof) (2). Intravenous administration during fetal organogenesis. *Chemotherapy* 35 (S-1): 370 ~403, 1987
- 12) Hasegawa Y and Yoshida T: A teratology study on 6059-S in rats. *Chemotherapy* 28 (S-7): 1119~1141, 1980
- 13) Tanaka Y, Shimakoshi Y, Kato T and Nakatani H: Teratogenicity study on SM-1652 in rats. *Kiso to Rinshou* 17 (3): 164~168, 1983
- 14) Kobayashi F, Muranaka R: Reproduction of rats under 6315-S (Flomoxef) (1). Fertility study. *Chemotherapy* 35 (S-1): 351 ~ 369, 1987
- 15) Hasegawa Y, Andou M: Reproduction of rats under 6315-S (Flomoxof) (3) Intravenous administration during the perinatal and lactation period. *Chemotherapy* 35 (S-1): 404 ~ 434, 1987

REPRODUCTION AND DEVELOPMENTAL STUDY OF MEROPENEM IN RATS

Satoshi Kawamura

Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co. Ltd.
1-98 Kasugade-naka, 3-chome, Konohana-ku, Osaka 554, Japan

A.W. Russel, S.J. Freeman and R.A. Siddall
Safety of Medicines Department, ICI Pharmaceuticals

Meropenem was administered intravenously to rats prior to and in the early stages of pregnancy (Seg. I), during the period of fetal organogenesis (Seg. II) and during the perinatal and lactation periods (Seg. III) to investigate the effects of the drug on reproduction. The dosages were 240, 500 and 1,000 mg/kg in Seg. I and Seg. III and 240, 500 and 750 mg/kg in Seg. II.

1. In the parent animals, soft stool and diarrhea were found in the treatment groups, but no drug-related death occurred. Low body weight or low food consumption was found in the 500 mg/kg and higher dose groups in males and in the 240 mg/kg group and higher in females.

2. The reproductive performance of parent animals and the maintenance of pregnancy, delivery and lactation in female animals were not affected.

3. There were no effects on fetal lethality, teratogenicity or retardation of fetal growth.

4. There were no effects on growth or functional development, except that, in F₁ females in the maturation phase, low body weights were found in the 240 mg/kg group and higher in Seg. II and in the 1,000 mg/kg group in Seg. III.