

経口セフェム系抗生物質 ME 1207 の安全性に関する研究

第 5 報 ラットを用いた胎児器官形成期投与試験

畑 俊明・浅岡 宏康・伊藤美奈子・岡野 一男
井沢 正典・神藤 康弘・小杉 功・藤田 正敬
明治製薬株式会社薬品総合研究所*

経口セフェム系抗生物質 ME 1207 の 125, 250, 500 及び 1,000 mg/kg を SD 系ラットの胎児器官形成期に経口投与して、その母動物、胎児及び出生児の発育並びに生殖能力に及ぼす影響を検討した。母動物では、250 mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制が認められた。しかし、妊娠の維持、分娩、哺育行動に影響はなかった。着床率、死亡・吸収胚数、生存胎児数(率)及び胎児体重に影響はなく、また、胎児内臓観察の結果にも ME 1207 投与に起因した異常・変異は認められなかった。しかし、骨格観察の結果では、500 mg/kg 以上の投与群で仙尾椎骨化数に減少がみられたが催奇形性は認められなかった。一方、生後の発育分化、初期行動、視聴覚機能、学習能、情動性及び生殖機能に特定の影響は認められなかった。以上の結果からラット胎児器官形成期投与試験における無影響量は、母動物に対しては 125 mg/kg、胚・胎児に対しては 250 mg/kg、出生児に対しては 1,000 mg/kg と推定される。

Key words : ME 1207, 経口セフェム, 胎児器官形成期投与, ラット

ME 1207 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 ME 1206 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、ME 1207 の母動物、胎児及び出生児の発育に及ぼす影響を検討するために、経口投与によるラットの胎児器官形成期投与試験を実施したので報告する。

I. 実験材料及び方法

1. 被験物質

ME 1207 原末 (Lot No.7003, 含量 96.1%, 以下 ME 1207) を用いた。本物質は淡黄色、無臭の粉末で、以下記載の投与量はいずれも含量で表示した。

なお、ME 1207 は媒体中では 25°C で 3 時間安定である。

2. 使用動物及び飼育条件

雌 7 及び 8 週齢、雄 9 及び 10 週齢の Crj : CD(SD) 系ラット (SPF, 日本チャールス・リバー(株)から雌 270 匹 (内 20 匹は生殖機能検査用)、雄 50 匹購入) を用い、一週間以上の検疫及び馴化の後、健康な雌雄を選びそれぞれ試験に供した。

交配は常法によって行い、膣垢検査で精子を認め、更に、7 日後の体重増加が 20 g 以上を示した個体を妊娠したもののみなし、精子確認日を妊娠 0 日として起

算し試験に供した。妊娠動物の各群への振り分けは無作為に行い、1 群当りの動物数は 38~41 例とした。なお、妊娠成立動物の妊娠 0 日での体重は 190 g~278 g、9~12 週齢であった。

動物はすべて室温 21~25°C、湿度 45~65%、照明 12 時間 (7 時~19 時) に設定されたオールフレッシュ方式のバリヤシステムを維持した試験室内で、間口 200 mm、奥行 350 mm、高さ 180 mm のステンレス製金網ケージ (哺育期間中は同サイズの底部のみアルミ製のケージ) に収容し飼育した。飼料は製造 6 ヶ月以内の固型飼料 (NMF-R, オリエンタル酵母工業(株)) を自由に摂取させた。また、飲料水は水道水を塩素殺菌 (塩素濃度 2 ppm 前後) してから自由に摂取させた。

3. 用量及び投与方法

投与量は、本被験物質の経口投与によるラット亜急性毒性試験の結果を参考にした。すなわち、ME 1207 の 125, 250, 500 及び 1,000 mg/kg を 28 日間連続投与した結果、死亡例はいずれの群にも観察されなかったが、腸内細菌叢の変動によると考えられる盲腸の膨満や摂水量の増加、尿への Na 排泄の減少等が認められたことから、本試験の投与量は亜急性毒性試験と同量として最高投与量を 1,000 mg/kg とし、以下公比 2 にて 500, 250 及び 125 mg/kg とした。

*〒 222 横浜市港北区師岡町 760

投与期間は妊娠 7 日から 17 日までの 11 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、金属製胃ゾンデを用いて胃内に 1 日 1 回強制投与した。投与量は妊娠 7 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(株)：以下 0.1% CMC 液〕で被験物質を用時に懸濁調製した。

対照群には 0.1% CMC 液を同様に投与した。

4. 観察項目及び方法

生死及び一般状態の観察は妊娠期間中及び分娩後毎日行った。妊娠期間中の母動物の体重、摂餌量及び摂水量の測定は妊娠 0, 7, 9, 11, 13, 15, 18 及び 20 日(ただし、妊娠 0 日の摂餌量及び摂水量の測定は除く)、分娩後の母動物の体重、摂餌量及び摂水量の測定は分娩日を 0 日として 0, 4, 7, 14 及び 21 日(ただし、分娩 0 日の摂餌量及び摂水量の測定は除く)にそれぞれ行った。

各群とも妊娠母動物の約 2/3 は妊娠末期開腹試験に、残り約 1/3 は哺育試験に供した。

妊娠末期開腹試験では母動物を妊娠 20 日に麻酔下で帝王切開して器官・組織を肉眼的に観察した後、子宮及び卵巣を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、浸軟・死亡胎児数及び生存胎児数を調べ、生存胎児については性別、体重、外形異常の有無等を測定観察した。

各母動物から得られた生存胎児の約 1/3 は Bouin 液に固定後、胸部は西村の顕微解剖法、その他は Barrow 法により内臓観察し、残り約 2/3 は 80% アルコールで固定後、Dawson の変法によりアリザリン・レッド S 染色して骨格観察した。

哺育試験では自然分娩させ、出生児の生後発育を観察した。すなわち、分娩が終了した時点で妊娠期間を算定し、出産児についてはその数及び生死を確認して外形異常の有無を観察した。また、生後 4 日に出生児を原則として 1 腹当り雌雄各 4 例となるように、コンピュータから発生させた乱数に従い無作為に選別調整した。

出生児の生死及び一般状態の観察は毎日行うとともに、体重は生後 4, 7, 14 及び 21 日に測定した。

発育分化については生後 4 日に耳介展開を、生後 12 日に切歯萌出を、生後 14 日に開眼を、生後 21 日に精巣下降を、生後 35 日に膈開口をそれぞれ観察した。

初期行動については生後 7 日に回転運動を、生後 10 日に正向反射を、生後 14 日に棒つかみ反射を、また、視聴覚検査については生後 21 日に対光反射及びガルトンホイッスルによる耳介反射を観察した。生後 21 日に出生児を母動物から分離(離乳)し、オープンフ

ールド試験(5週齢)、シャトルボックス試験(6週齢)、ウォーターメイズ試験(7週齢)などの行動・学習機能検査及び生殖機能検査(10週齢)に 1 群当り雌雄各 10 例ずつを振り分けた。残りは予備動物として継続飼育した。

離乳後出生児の生死及び一般状態の観察は毎日行うとともに、体重は行動・学習能検査用動物では生後 8 週まで、生殖機能検査用動物では生後 10 週までそれぞれ週 1 回測定した。

母動物は離乳後 1 週間以内に剖検して着床痕跡数を算出し、胸腹部器官・組織を肉眼的に観察した後、主要器官の重量測定を行った。なお、測定後は Lillie の緩衝ホルマリン液にて固定、保存した。

生後 5 週でオープンフィールド試験を、生後 6 週でシャトルボックス試験を、生後 7 週でウォーターメイズ試験をそれぞれ行い、情動性あるいは学習能力を検査した。

生後 8 週で行動・学習能検査に供した動物と予備動物を剖検して胸腹部器官・組織を肉眼的に観察した後、主要器官の重量測定を行った。

生殖機能検査は生後 10 週に行った。また、雌については性周期の観察を生後 8 週から交尾確認日まで毎日膈垢検査により行った。

交配は同群内の雄 1 例に対し雌 1 例を同居させ常法により行い、交配期間は 14 日間を限度(第 1 回交配)とした。妊娠の判定は同居後翌朝の膈垢検査で精子の認められた個体を妊娠したものとみなし、精子確認日を妊娠 0 日として起算した。また、第 1 回交配で交尾しなかった動物は、更に、14 日間の交配期間(第 2 回交配)を設け、雌については同一群内の授胎能力のある雄と、雄については生殖機能検査用(無処置)の処女雌と交配させた。

妊娠した雌の生死及び一般状態の観察は毎日行うとともに、体重は妊娠 0, 7 及び 13 日に測定した。妊娠母動物は妊娠 13 日に帝王切開して妊娠の有無及び着床状況等を観察した。

また、帝王切開終了後、交配に供した雄動物を剖検し、胸腹部器官・組織を肉眼的に観察して精巣及び精巣上体の重量測定を行った。

5. 統計学的解析方法

測定値等の統計処理は平均及び標準偏差で表わされた測定値については t 検定で、交尾率、受(授)胎率等についてはフィッシャーの確立計算法による検定で、その他については順位和検定でそれぞれ対照群と ME 1207 の各投与群との間で行い、胎児及び離乳期までの出生児に関する測定項目は原則として 1 腹児を標

本単位とした。

なお、有意水準は危険率5%及び1%未満とした。

II. 結 果

1. 母動物に及ぼす影響

母動物の死亡例はいずれの群にも観察されなかった。妊娠期間中の一般状態では左後肢及び腹部の脱毛が対照群で1例に、一過性の軟便が250, 500及び1,000 mg/kg群で各2例に、赤色尿及び口吻部と肛門周囲の汚れが500 mg/kg群で1例ずつ計2例に観察されたほか、分娩後では眼瞼周囲の汚れが125 mg/kg群で1例に、右下腹部鼠径部附近の腫脹が250 mg/kg群で1例に観察されただけであった。また、哺育状態の観察では、出生児全例死亡の母動物が1,000 mg/kg群で1例(生後5日)に認められたが、本例に関しては給水器からの漏水で床敷、母動物の腹部被毛及び出生児が濡れ、汚れていたことから、哺育環境の悪化による偶発的な死亡と考えられた。その他には各群とも変化はなかった。

妊娠期間中の体重は、125 mg/kg以上の投与群で連続的あるいは散発的に対照群を有意に下回ったが、500 mg/kg群を除く他の投与群では投与開始前の妊娠7日目体重にも有意な減少が認められた(Fig. 1)。妊娠7日目の体重を基準にした体重増加率では、妊娠9日においては全投薬群で対照群を下回ったが、125 mg/kg群ではその後は順調に推移し、250 mg/kg以上の投与群では妊娠末期まで散発的に対照群を下回った(Table 1)。分娩後の体重は125 mg/kg以上の投与群で散発的に対照群を下回ったが、分娩後21日ではいずれの投与群にも対照群との間に有意差はなかった(Fig. 2)。

摂餌量には、いずれの投与群にも妊娠15日まで有意な減少あるいは減少傾向が認められ、妊娠20日には有意な増加が認められたが、投与群の摂餌量に明らかな

用量相関性はなかった(Fig. 3)。また、分娩後では各投与群とも対照群と同程度であった(Fig. 4)。

摂水量はいずれの投与群とも妊娠11日から分娩後7日まで有意な増加あるいは増加傾向を示したが、投与群の摂水量に明らかな用量相関性はなかった。

妊娠20日における帝王切開時の剖検で、水腎症が対

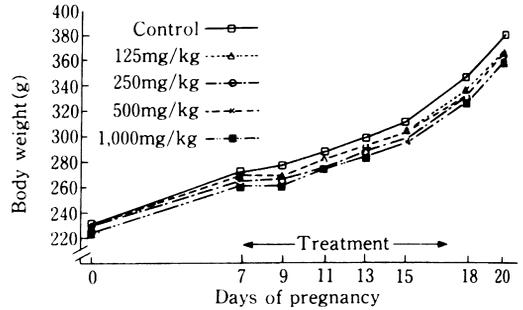


Fig. 1. Changes in body weight of rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

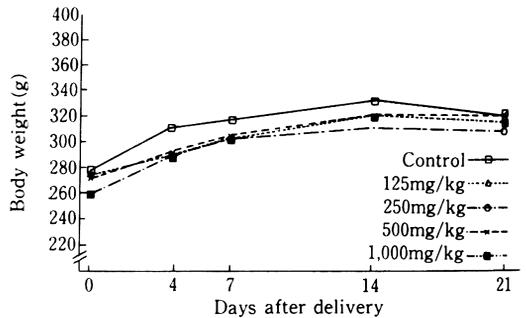


Fig. 2. Changes in body weight after delivery in rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

Table 1. Changes in rate of body weight gain of rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Experimental condition	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)								
			125	250	500	1,000					
	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD					
Days of pregnancy 9	39	2.01±2.47	41	0.69±2.31*	38	0.15±3.09**	41	-0.06±3.28**	39	0.03±2.07**	
	11	39	5.66±3.13	41	6.22±2.78	38	3.75±3.73*	41	4.86±4.22	39	5.00±3.02
	13	39	9.92±3.53	41	9.88±3.01	38	8.86±3.14	41	8.53±4.85	39	8.67±3.34
	15	39	14.66±4.98	41	14.38±3.77	38	12.56±4.01*	41	12.54±5.46	39	12.94±3.57
	18	39	27.87±4.92	41	26.81±4.62	38	25.22±4.49*	41	23.85±5.73**	39	25.12±4.04**
20	39	40.11±5.39	41	38.04±5.76	38	38.02±5.99	41	36.65±6.84*	39	37.75±4.67*	

Each value shows mean ± SD of rate of body weight gain (%)

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

照群で1例に、盲腸の膨満が対照群を除く各投与群のほぼ全例に観察された。また、分娩後21日の離乳後の剖検では子宮水腫が125及び250 mg/kg群でそれぞれ2及び3例に、右下腹部鼠径部附近の皮下に母指頭大の腫瘍が250 mg/kg群で1例(一般状態観察時に鼠

径部腫脹を認めた個体)に、盲腸の膨満が500 mg/kg群を除く各群で1例ずつに観察された。なお、上述の腫瘍は病理組織学的検査の結果、良性の乳腺腺腫であった。器官重量では各投与群とも絶対値及び相対値に共通して変動した器官は認められなかった (Table 2)。

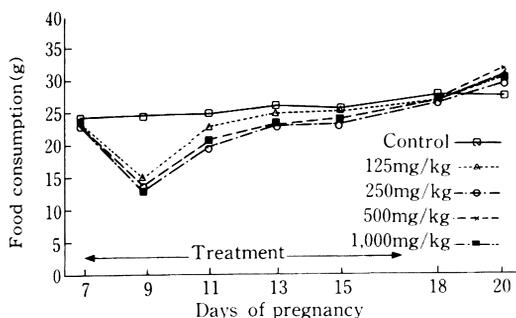


Fig. 3. Changes in food consumption of rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

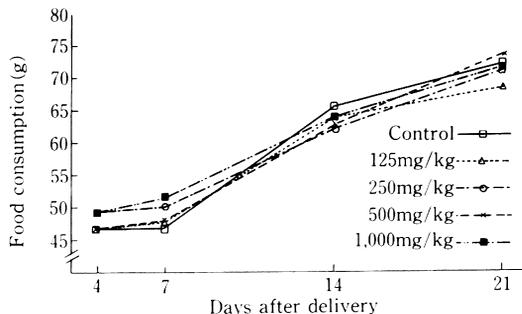


Fig. 4. Changes in food consumption after delivery in rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

Table 2. Organ weights after weaning in rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
			125		250		500		1,000	
	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD
Body Weight (g)	12	300.8 ± 18.06	12	289.2 ± 20.30	12	286.8 ± 17.82	12	291.8 ± 16.37	12	285.8 ± 19.04
Organ weight (g)										
Brain		1.80 ± 0.130		1.85 ± 0.109		1.78 ± 0.152		1.80 ± 0.153		1.69 ± 0.240
Thymus		0.29 ± 0.070		0.30 ± 0.086		0.32 ± 0.063		0.32 ± 0.060		0.27 ± 0.081
Heart		1.15 ± 0.111		1.17 ± 0.096		1.15 ± 0.097		1.15 ± 0.059		1.13 ± 0.080
Lung		1.18 ± 0.136		1.25 ± 0.094		1.26 ± 0.135		1.28 ± 0.121		1.23 ± 0.188
Liver		15.00 ± 1.702		14.17 ± 1.154		14.75 ± 1.591		14.97 ± 2.007		15.26 ± 1.937
Spleen		0.60 ± 0.083		0.63 ± 0.059		0.61 ± 0.085		0.64 ± 0.099		0.63 ± 0.108
Kidneys		2.46 ± 0.158		2.46 ± 0.203		2.46 ± 0.181		2.52 ± 0.197		2.49 ± 0.170
Adrenals		0.086 ± 0.016		0.082 ± 0.011		0.086 ± 0.021		0.087 ± 0.010		0.088 ± 0.014
Ovaries		0.17 ± 0.027		0.17 ± 0.029		0.17 ± 0.027		0.17 ± 0.043		0.16 ± 0.029
Uterus		0.46 ± 0.085		0.50 ± 0.123		0.46 ± 0.168		0.49 ± 0.061		0.45 ± 0.095
Relative weight (%)										
Brain		0.60 ± 0.052		0.64 ± 0.062		0.62 ± 0.084		0.62 ± 0.059		0.59 ± 0.089
Thymus		0.10 ± 0.026		0.11 ± 0.032		0.11 ± 0.020		0.11 ± 0.022		0.10 ± 0.030
Heart		0.38 ± 0.041		0.41 ± 0.043		0.40 ± 0.036		0.39 ± 0.022		0.40 ± 0.032
Lung		0.39 ± 0.042		0.43 ± 0.041*		0.44 ± 0.047*		0.44 ± 0.046*		0.43 ± 0.071
Liver		5.00 ± 0.608		4.90 ± 0.321		5.15 ± 0.518		5.13 ± 0.648		5.35 ± 0.666
Spleen		0.20 ± 0.023		0.22 ± 0.022		0.21 ± 0.025		0.22 ± 0.035		0.22 ± 0.037
Kidneys		0.82 ± 0.051		0.85 ± 0.076		0.86 ± 0.062		0.86 ± 0.055*		0.87 ± 0.064*
Adrenals		0.029 ± 0.006		0.028 ± 0.004		0.030 ± 0.009		0.030 ± 0.004		0.031 ± 0.005
Ovaries		0.06 ± 0.010		0.06 ± 0.012		0.06 ± 0.011		0.06 ± 0.016		0.06 ± 0.011
Uterus		0.15 ± 0.032		0.18 ± 0.046		0.16 ± 0.057		0.17 ± 0.019		0.16 ± 0.036

Each value of relative weight is indicated in percent of body weight

Significantly different from control * : P < 0.05

Table 3. Findings at caesarean section of rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)	ME1207 (mg/kg/day)			
		125	250	500	1,000
No. of dams	27	29	26	29	26
No. of corpora lutea Mean±SD	441 16.3±2.04	451 15.6±1.80	401 15.4±1.84	447 15.4±2.35	388 14.9±1.41**
No. of implantations Mean±SD (%) ¹⁾	410 15.2±1.62 (93.5)	408 14.1±2.70 (90.9)	373 14.3±2.30 (92.9)	419 14.4±2.20 (94.0)	365 14.0±2.01* (94.1)
No. of dead fetuses or resorptions (%) ¹⁾	25 (6.2)	27 (6.6)	22 (5.7)	17 (4.4)	11 (2.9)
Early and late resorptions (%) ¹⁾	25 (6.2)	27 (6.6)	21 (5.4)	17 (4.4)	11 (2.9)
Dead fetuses (%) ¹⁾	0	0	1 (0.2)	0	0
No. of live fetuses Mean±SD(%) ¹⁾	385 14.3±1.97 (93.8)	381 13.1±2.80 (93.4)	351 13.5±2.18 (94.3)	402 13.9±2.59 (95.6)	354 13.6±2.00 (97.1)
Sex ratio (Male/Female)	1.02 (194/191)	1.07 (197/184)	0.98 (174/177)	0.86 (186/216)	0.86 (164/190)
Body weight (g)					
Male Mean±SD	3.8±0.38	3.8±0.23	3.7±0.27	3.6±0.27	3.8±0.24
Female Mean±SD	3.6±0.34	3.6±0.24	3.5±0.25	3.5±0.25	3.5±0.20
External malformations (%) ¹⁾	0	1 ²⁾ (0.34)	0	0	0

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

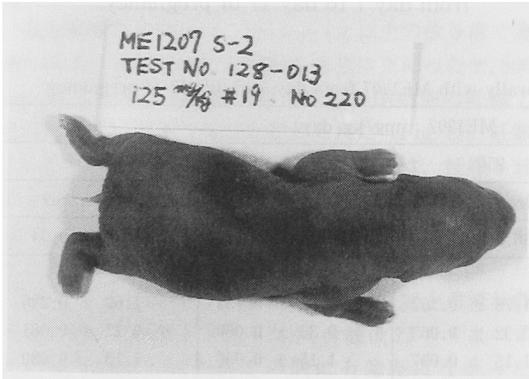
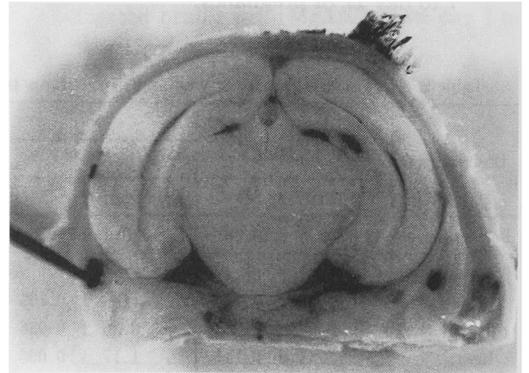
¹⁾ : Mean of percent values per litter²⁾ : Vestigial tailFig. 5. Vestigial tail in a fetus.
(125mg/kg, ME1207)

Fig. 7. Petechial hemorrhage in the telencephalon in a fetus. (control)

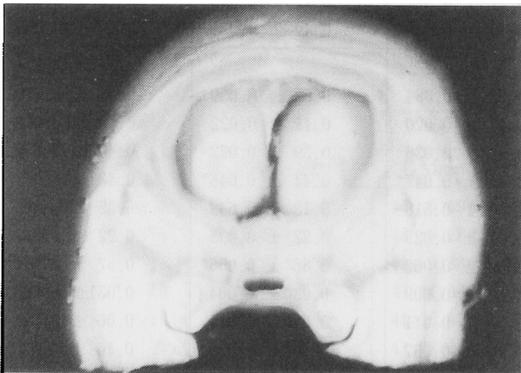


Fig. 6. Microphthalmia in a fetus. (1,000mg/kg, ME1207)

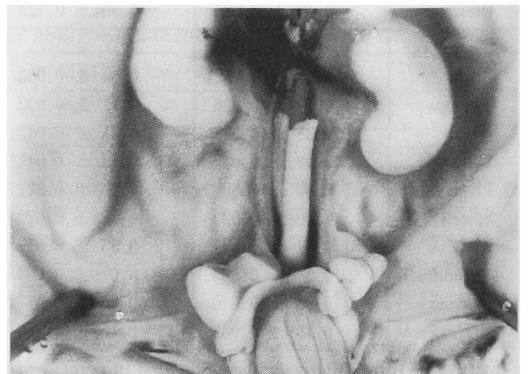


Fig. 8. Testicular hypoplasia in a fetus. (control)

2. 胚・胎児に及ぼす影響

平均黄体数及び平均着床数は1,000 mg/kg 群で対照群より低値であったが、着床率にはいずれの投与群にも著変は認められなかった。

吸収胚が各群で認められ、死亡胎児は250 mg/kg 群で1例(0.2%)認められたが、いずれにも各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。また、生存胎児数(率)、性及び雌雄の胎児体重についても対照群との間に有意差は認められなかった (Table 3)。

外形異常は125 mg/kg 群で痕跡尾が1例(0.34%, Fig. 5) 観察されただけであった (Table 3)。なお、この外形異常児は骨格観察に供した。

生存胎児の内臓観察では異常として、小眼症 (Fig. 6) が1,000 mg/kg 群の1例に、胸腺頸部残留、腎盂拡張、尿管拡張あるいは異常の併発例が各群の数例に観察されたが、いずれの発現数(率)にも用量に依存した変化は認められなかった。その他、対照群に終脳の点状出血 (Fig. 7) 及び精巣形成不全 (Fig. 8) が各1例に認められた。変異としては、左臍動脈が250 mg/kg 群を除く各群で1~3例に観察されたが、その発現数(率)にも対照群との間に有意な差は認められなかった (Table 4)。

生存胎児の骨格観察では異常として、胸骨核不相称 (Fig. 9)、波状肋骨 (Fig. 10)、外形異常児の観察で仙尾椎の欠損 (Fig. 11) が観察され、また、変異として、胸椎体分離、腰椎体分離、頭頂骨骨化遅延、頸椎弓骨化遅延、胸骨核骨化遅延、胸椎体骨化遅延、第13肋骨骨化遅延及び腰部肋骨、更に、変異併発例、異常

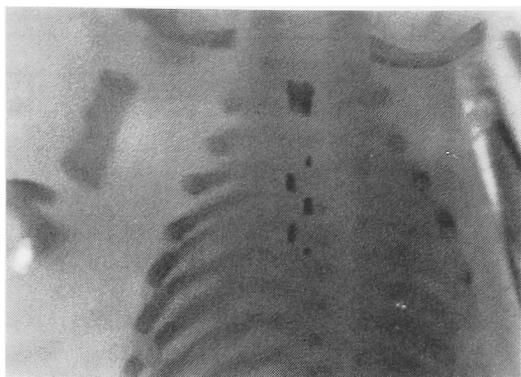


Fig. 9. Asymmetry of sternbrae in a fetus. (250mg/kg, ME1207)

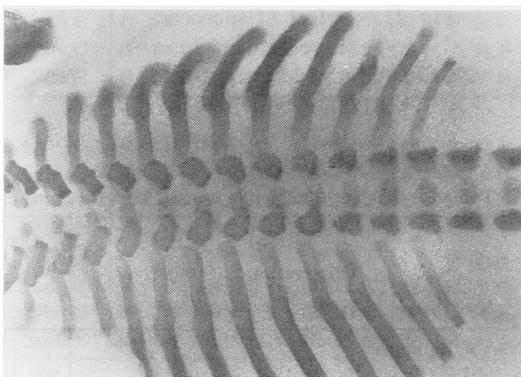


Fig. 10. Wavy ribs in a fetus. (250mg/kg, ME1207)

Table 4. Visceral findings in fetuses from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
			125		250		500		1,000	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Number of dams	27		29		26		29		26	
Number of fetuses for visceral observation	120		116		108		125		109	
Anomalies										
Petechial hemorrhage in the telencephalon	1	(0.9)	0		0		0		0	
Microphthalmia	0		0		0		0		1	(1.0)
Thymic remnant in the neck	0		2	(1.6)	9	(8.1)**	4	(3.4)*	3	(2.7)
Dilatation of the renal pelvis	4	(3.0)	3	(2.2)	1	(1.3)	2	(1.4)	1	(0.8)
Dilatation of the ureter	4	(3.6)	2	(1.6)	1	(1.0)	3	(2.0)	3	(2.9)
Testicular hypoplasia	1	(0.6)	0		0		0		0	
Variation										
Left umbilical artery	3	(2.4)	1	(0.7)	0		2	(2.0)	1	(1.0)
Combined anomalies	1	(0.7)	3	(2.4)	3	(2.7)	4	(4.3)	2	(1.7)

% : Mean of percent values per litter

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

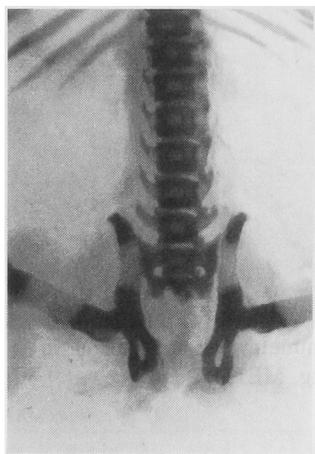


Fig. 11. Defect of sacrococcygeal vertebrae in a fetus. (125mg/kg, ME1207)

併発例が観察されたが、いずれの発現数(率)にも用量に依存した変化は認められなかった (Table 5)。

骨化については、仙尾椎骨化数が500及び1,000 mg/kg群で対照群を下回り軽度ながら毒性的影響が認められた (Table 5)。

3. 母動物の分娩及び出産児に及ぼす影響

妊娠期間、出産率、平均着床数、出産児数(率)、出生産児数、出生率、生後4日生児数(率)、性比及び生後7、14及び21日生存数あるいは離乳率、離乳後の生存数(率)には各投与群と対照群との間に有意差は認められなかった (Table 6)。また、出生児数調整後の余剰出生児の剖検ではいずれの群にも著変はなかった。

出生児の外形異常はいずれの群にも観察されなかった。

生後4日の出生児数調整後から、離乳までの出生児の死亡例あるいは食殺例については、250及び500 mg/kg群で食殺例が各1例、1,000 mg/kg群で死亡例が9例(内8例は給水器からの漏水により1腹全例が死亡)あり、これら死亡例の剖検では著変はなかった。

また、一般状態では500 mg/kg群で発育不良の出生児

Table 5. Skeletal findings in fetuses from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
			125		250		500		1,000	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Number of dams	27		29		26		29		26	
Number of fetuses for skeletal observation	265		265		243		277		245	
Anomalies										
Asymmetry of sternbrae	0		0		1 (0.4)		1 (0.3)		0	
Wavy ribs	0		0		8 (3.7)**		0		7 (2.7)	
Variations										
Separation of thoracic vertebral bodies	0		0		1 (0.4)		3 (1.0)		0	
Separation of lumbar vertebral bodies	0		0		0		0		1 (0.4)	
Delayed ossification of parietal bone	0		1 (0.4)		0		0		0	
Delayed ossification of cervical vertebral arches	0		0		1 (0.3)		0		0	
Delayed ossification of sternbrae	19 (7.6)		24 (8.5)		15 (6.1)		31 (10.8)		13 (5.2)	
Delayed ossification of thoracic vertebral bodies	0		1 (0.4)		2 (0.9)		1 (0.4)		0	
Delayed ossification of 13th rib	0		0		0		0		1 (0.4)	
Lumbar ribs	0		0		0		0		2 (0.7)	
Combined anomalies	1 (0.4)		0		3 (1.2)		2 (0.7)		3 (1.3)	
Combined variations	0		3 (1.1)		0		6 (2.2)		1 (0.3)	
Ossification (Mean±SD)										
Forelimb (Metacarpi+Proximal phalanges)	4.1±0.74		4.0±0.68		3.8±0.40		3.9±0.55		4.1±0.55	
Hindlimb (Metacarpi+Proximal phalanges)	4.0±0.02		4.0±0.02		4.0±0.02		4.0±0.02		4.0±0.02	
Sacrococcygeal vertebrae	5.7±0.34		5.7±0.27		5.6±0.29		5.4±0.35**		5.4±0.33*	
Number of fetuses with external malformations										
Anomalies										
Defect of sacrococcygeal vertebrae	0		1		0		0		0	

% : Mean of percent values per litter

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

Table 6. Postnatal development of offspring (F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation		Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
				125		250		500		1,000	
Length of pregnancy (days)	Mean±SD	12	21.7±0.49	12	21.8±0.45	12	21.9±0.29	12	21.7±0.49	13	21.8±0.44
No. of pregnant animals		12		12		12		12		13	
No. of delivery animals	(%)	12	(100.0)	12	(100.0)	12	(100.0)	12	(100.0)	13	(100.0)
No. of implantations	Mean±SD	178	14.8±2.25	177	14.8±1.29	178	14.8±2.21	178	14.8±1.03	191	14.7±1.03
No. of offspring at birth	Mean±SD	165	13.8±2.56	166	13.8±1.47	170	14.2±2.12	167	13.9±0.79	178	13.7±1.18
	(%) ¹⁾		(92.3)		(93.8)		(95.7)		(94.0)		(93.3)
No. of survivors at birth	Mean±SD	161	13.4±2.68	163	13.6±1.62	166	13.8±2.29	166	13.8±0.72	176	13.5±1.33
	(%) ¹⁾		(90.2)		(92.0)		(93.3)		(93.5)		(92.2)
No. of offspring at day 4 after birth	Mean±SD	161	13.4±2.68	160	13.3±1.56	165	13.8±2.22	155	12.9±2.02	173	13.3±1.18
	(%) ¹⁾		(100.0)		(98.3)		(99.5)		(93.7)		(98.5)
Sex ratio (Male/Female)		0.71	(67/94)	0.93	(77/83)	0.88	(77/88)	0.68	(63/92)	1.08	(90/83)
No. of offspring ²⁾ Male : Female	(%) ¹⁾	4	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	49	47 (100.0)	46	49(100.0)	52	52(100.0)
		7	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	49	47 (100.0)	46	49(100.0)	48	48(100.0) ⁴⁾
Days after birth	14	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48 ³⁾	47 (99.0)	45 ³⁾	49(98.8)	47 ³⁾	48(99.0)	
	21	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48	47 (99.0)	45	49(98.8)	47	48(99.0)	
No. of offspring Male : Female	(%)	3	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48	47 (100.0)	45	49(100.0)	47	48(100.0)
	4	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48	46 ³⁾ (98.9)	45	49(100.0)	47	48(100.0)	
	5	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48	46 (98.9)	45	49(100.0)	47	48(100.0)	
Weeks after birth	6	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48	46 (98.9)	45	49(100.0)	47	48(100.0)	
	7	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48	46 (98.9)	45	49(100.0)	47	48(100.0)	
	8 ⁵⁾	44 : 51(100.0)	49	47(100.0)	48	46 (98.9)	45	49(100.0)	47	48(100.0)	
	9 ⁶⁾	10 : 10(100.0)	10 : 10(100.0)	10	10(100.0)	10	10 (100.0)	10	10(100.0)	10	10(100.0)
	10	10 : 10(100.0)	10 : 10(100.0)	10	10(100.0)	10	10 (100.0)	10	10(100.0)	10	10(100.0)

¹⁾ : Mean of percent values per litter.

²⁾ : On day 4 after parturition, offspring were culled to eight in principle in each litter.

³⁾ : One offspring was lost by cannibalism.

⁴⁾ : All offspring born from one dam were dead because of water bottle trouble.

⁵⁾ : One offspring was dead.

⁶⁾ : Offspring used for reproduction test were retained.

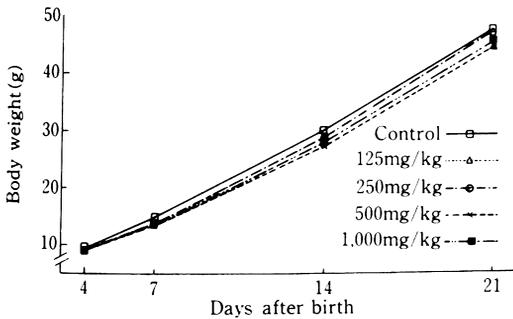


Fig. 12. Changes in body weight of male offspring (F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

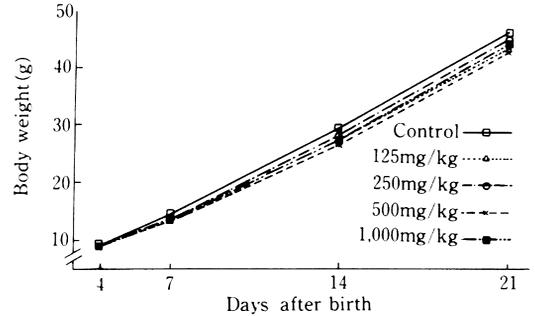


Fig. 13. Changes in body weight of female offspring (F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

が1例観察されたほかには著変なく、体重でも125 mg/kg 群で雄の生後14日に对照群を下回ったほかには各投与群の雌雄とも对照群との間に有意差は認められなかった (Figs. 12, 13)。

生後の発育分化、初期行動及び視聴覚検査では各投与群とも对照群との間に有意差は認められなかった (Table 7)。

離乳後の出生児の死亡例は、250 mg/kg 群で1例認められただけであり、剖検では著変はなかった。また、一般状態では眼瞼周囲の汚れが250 mg/kg 群の雄で2例に、赤色尿が500 mg/kg 群の雄及び1,000 mg/kg 群の雌で各1例に観察されただけであった。体重には雌雄の各投与群で散発的に有意な低下が認められたが、

用量に依存した変化は認められなかった (Figs. 14, 15)。

行動・学習能検査については、オープンフィールド試験、シャトルボックス試験及びウォーターメイズ試験のいずれにも被験物質投与による影響は何ら認められなかった (Tables 8~10)。

生後8週の剖検で、雄では水腎症が各群で1~7例に、精巣の水腫様変化が125 mg/kg 群で1例に、精巣の萎縮が1,000 mg/kg 群で1例に、水腎症と精巣の水腫様変化の併発が500及び1,000 mg/kg 群で各1例に観察された。また、雌では子宮水腫が各群で2~5例に、水腎症が500及び1,000 mg/kg 群で2及び5例に、水腎症と子宮水腫の併発が1,000 mg/kg 群で1例

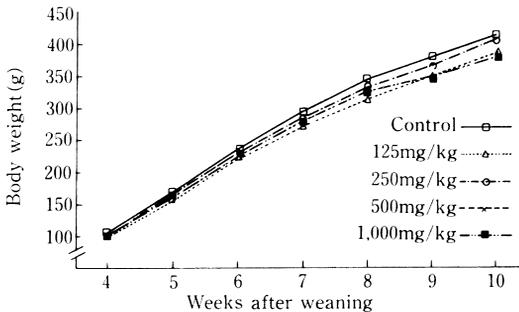


Fig. 14. Changes in body weight of male offspring (F_1) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

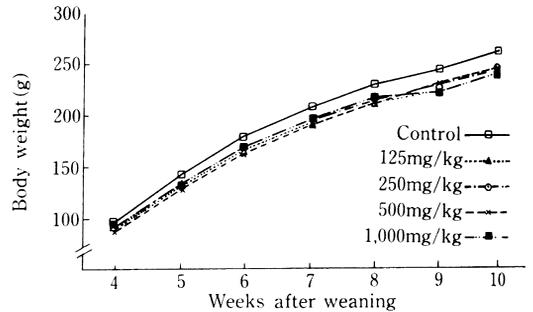


Fig. 15. Changes in body weight of female offspring (F_1) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy.

Table 7. Physical and behavioral development of offspring (F_1) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)								
			125		250		500		1,000		
	N ¹⁾	Mean	N ¹⁾	Mean	N ¹⁾	Mean	N ¹⁾	Mean	N ¹⁾	Mean	
Physical development (%)											
Separation of auricles	On 4th day	12	100.0	12	94.8	12	100.0	12	91.7	13	100.0
Eruption of incisors	On 12th day	12	96.9	12	94.8	12	97.9	12	93.8	12	99.0
Separation of eyelids	On 14th day	12	47.3	12	31.3	12	32.3	12	26.0	12	24.4
Descent of testes	On 21st day	12	89.6	12	98.3	12	95.8	12	100.0	12	93.8
Opening of vagina	On 35th day	12	22.9	12	10.4	12	22.9	12	15.8	12	20.8
Behavioral development (%)											
Pivoting	On 7th day	12	95.8	12	94.8	12	96.9	12	100.0	12	99.0
Righting reflex	On 10th day	12	100.0	12	97.9	12	100.0	12	98.6	12	100.0
Supporting	On 14th day	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	95.8	12	99.0
Preyer's reflex	On 21st day	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	100.0
Light reflex	On 21st day	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	98.6	12	100.0

% : Mean of percent values per litter

¹⁾ : Number of dams

Table 8. Open field test upon offspring (F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation		Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
				125		250		500		1,000	
		N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD
Male	Latency	10	84.7±82.37	10	62.8±55.86	10	98.1±76.67	10	95.3±65.73	10	61.2±59.84
	Ambulation		21.9±29.52		14.8±13.56		7.0±10.99		9.4±13.34		13.3±12.22
	Rearing		5.4± 6.67		3.7± 4.06		2.6± 3.63		1.8± 2.78		2.4± 2.41
	Preening & Grooming		0.5± 0.71		0.5± 0.53		0.6± 0.70		0.6± 0.84		0.4± 0.70
	Defecation		0.9± 1.66		1.3± 1.83		1.9± 2.88		2.4± 2.27		2.0± 1.89
	Urination		1.0± 0.82		0.7± 1.25		1.2± 1.69		1.4± 2.01		0.8± 1.32
Female	Latency	10	56.7±52.49	10	23.7±11.91	10	43.2±27.93	10	56.0±46.94	10	44.9±32.65
	Ambulation		20.9±23.93		33.2±18.62		15.2±10.72		21.9±17.56		33.9±20.74
	Rearing		4.5± 3.81		6.3± 4.45		4.6± 2.72		5.3± 2.79		6.9± 3.63
	Preening & Grooming		0.6± 0.70		0.8± 0.42		0.8± 0.92		0.9± 0.99		0.4± 0.70
	Defecation		0.1± 0.32		0		0.8± 1.48		0.2± 0.63		0.5± 1.08
	Urination		1.3± 1.34		0.5± 1.27		0.7± 0.82		1.3± 2.21		1.5± 1.72

The time of latency is represented in sec. and other parameters in frequencies/3min.

Table 9. Shuttle box test upon offspring (F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation		Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
				125		250		500		1,000	
		N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD
Male	Avoidance	10	22.3±14.32	10	22.7±18.61	10	22.4±14.54	10	22.6±14.53	10	26.6±22.81
	Time (sec.) ¹⁾		3.7± 1.27		3.3± 1.59		3.4± 1.26		3.6± 1.21		3.1± 1.90
Female	Avoidance	10	25.9±15.50	10	29.2±17.56	10	28.0± 9.01	10	23.3±12.55	10	30.1±15.65
	Time (sec.) ¹⁾		3.0± 1.21		3.0± 1.58		2.8± 0.67		3.2± 1.22		2.8± 0.88

¹⁾: The unit of escape response latency is indicated in sec./trial.

Table 10. Water-maze test upon offspring (F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation			Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
					125		250		500		1,000	
			N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD
Male	Time (sec.)	Straight	10	37.3± 13.82	10	41.8± 12.91	10	31.1± 9.62	10	38.9± 10.07	10	43.2± 20.38
		Multiple 1st		129.2± 47.81		159.2± 50.01		172.0± 77.36		156.1± 75.76		135.2± 42.03
		2nd		106.1± 53.84		88.8± 35.11		106.4± 51.13		91.1± 25.24		97.5± 45.53
		3rd		95.6± 52.44		87.8± 39.32		110.6± 46.30		62.0± 18.46		85.1± 58.62
	Error	Multiple 1st		15.0± 7.09		19.5± 6.60		20.3± 7.33		19.0± 7.80		16.3± 6.00
		2nd		8.7± 6.53		6.6± 5.85		6.2± 5.77		7.5± 4.55		7.8± 6.05
		3rd		4.7± 6.11		5.5± 5.28		5.2± 3.65		2.1± 2.42		4.1± 4.98
		Female	Time (sec.)	Straight	10	41.4± 15.96	10	35.6± 9.55	10	32.3± 9.33	10	32.6± 9.05
Multiple 1st				162.9± 51.78		208.9±102.76		164.8± 92.13		172.8± 69.38		209.6±129.97
2nd				145.4± 99.52		124.0± 82.53		118.4± 73.58		109.4± 57.65		78.6± 35.95
3rd				117.0± 66.89		101.1± 19.43		89.9± 49.36		97.7± 54.89		73.4± 30.25
Error	Multiple 1st			17.7± 5.66		23.3± 11.54		18.9± 8.74		19.0± 11.10		22.5± 12.09
	2nd			11.6± 9.91		9.5± 8.63		9.2± 8.01		9.2± 8.38		5.0± 3.06
	3rd			6.2± 5.81		6.8± 3.97		4.7± 4.88		4.7± 5.62		4.1± 4.53

に観察された。

器官重量については、雄では絶対値及び相対値に共通して変動した器官は 250 mg/kg 以上の投与群の心重量の減少であった。また、雌では絶対値及び相対値に共通して変動した器官は認められなかった (Tables 11, 12)。

生殖機能検査では、第一回交配及び第二回交配で全例に交尾が認められ、交尾率及び受(授)胎率に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 13)。また、性周期観察では、交配2週間前(生後8週)から交配開始日までの15日間の発情回数を表示したが、各群とも対照群との間に差は認められなかった (Table 13)。

ラットの妊娠期間中の死亡例はいずれの群にも観察されず、また、一般状態については、眼瞼周囲の汚れが 250 mg/kg 群で1例に観察されただけであった。体重は 125 mg/kg 群で妊娠7及び13日に対照群を下回

っただけであった (Table 13)。

ラットの妊娠13日における帝王切開時の剖検では、会陰部の皮下組織に浮腫と充血が 125 mg/kg 群で1例に観察されただけで、病理組織学的検査の結果から円形細胞浸潤及び脂肪芽細胞増生がみられたことから外部からの物理的な要因による炎症性変化とみなされた。また、不妊動物が対照群及び 1,000 mg/kg 群で各2例に観察されたが、剖検では特に著変はなかった。その他、着床状況にはいずれの投与群にも著変はなかった (Table 13)。

生殖機能検査後の雄の剖検では、精巣の水腫様変化が 250 mg/kg 群で1例に、水腎症が 1,000 mg/kg 群で1例に観察されただけであった。

精巣及び精巣上体の重量では、精巣の絶対重量が 500 及び 1,000 mg/kg 群で、精巣上体の絶対重量が 250 及び 500 mg/kg 群でそれぞれ減少したが、相対重量にはいずれの投与群にも有意な変化は認められな

Table 11. Organ weights of male offspring (8 weeks old, F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
			125		250		500		1,000	
	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD
Body weight (g)	34	345.7 ± 22.58	39	315.5 ± 26.43**	38	331.2 ± 27.75*	35	333.0 ± 20.11*	37	327.7 ± 27.42**
Organ weight (g)										
Brain		1.81 ± 0.115		1.81 ± 0.111		1.75 ± 0.165		1.78 ± 0.078		1.70 ± 0.209*
Thymus		0.67 ± 0.111		0.61 ± 0.120*		0.64 ± 0.115		0.63 ± 0.096		0.65 ± 0.111
Heart		1.29 ± 0.120		1.14 ± 0.118**		1.16 ± 0.143**		1.19 ± 0.087**		1.17 ± 0.096**
Lung		1.39 ± 0.162		1.30 ± 0.167*		1.32 ± 0.153		1.27 ± 0.113**		1.32 ± 0.151*
Liver		16.50 ± 1.680		15.13 ± 1.881**		15.98 ± 2.189		16.30 ± 1.663		15.52 ± 1.486*
Spleen		0.79 ± 0.125		0.80 ± 0.147		0.75 ± 0.100		0.82 ± 0.080		0.85 ± 0.189
Kidneys		2.96 ± 0.292		2.77 ± 0.269**		2.87 ± 0.263		2.98 ± 0.281		2.79 ± 0.232**
Adrenals		0.065 ± 0.014		0.055 ± 0.012**		0.059 ± 0.008		0.058 ± 0.009*		0.056 ± 0.009**
Testes		2.86 ± 0.232		2.94 ± 0.506		2.87 ± 0.318		2.87 ± 0.387		2.85 ± 0.393
Epididymides		0.65 ± 0.071		0.60 ± 0.082*		0.64 ± 0.083		0.59 ± 0.119*		0.60 ± 0.076*
Relative weight (%)										
Brain		0.52 ± 0.042		0.58 ± 0.060**		0.53 ± 0.059		0.54 ± 0.041		0.52 ± 0.072
Thymus		0.20 ± 0.029		0.19 ± 0.037		0.19 ± 0.034		0.19 ± 0.032		0.20 ± 0.040
Heart		0.37 ± 0.028		0.36 ± 0.023		0.35 ± 0.032**		0.36 ± 0.027*		0.36 ± 0.019**
Lung		0.40 ± 0.048		0.41 ± 0.041		0.40 ± 0.042		0.38 ± 0.039		0.40 ± 0.040
Liver		4.77 ± 0.323		4.79 ± 0.391		4.82 ± 0.442		4.89 ± 0.358		4.74 ± 0.273
Spleen		0.23 ± 0.029		0.25 ± 0.038**		0.23 ± 0.035		0.25 ± 0.023*		0.26 ± 0.056**
Kidneys		0.86 ± 0.069		0.88 ± 0.060		0.87 ± 0.057		0.90 ± 0.067*		0.85 ± 0.052
Adrenals		0.019 ± 0.004		0.017 ± 0.004		0.018 ± 0.003		0.017 ± 0.003		0.017 ± 0.003
Testes		0.83 ± 0.067		0.94 ± 0.179**		0.87 ± 0.078*		0.86 ± 0.094		0.87 ± 0.115
Epididymides		0.19 ± 0.022		0.19 ± 0.019		0.19 ± 0.022		0.18 ± 0.037		0.18 ± 0.020

Each value of relative weight is indicated in percent of body weight.

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

Table 12. Organ weights of female offspring (8 weeks old, F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
			125		250		500		1,000	
	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD
Body weight (g)	41	229.1±17.27	37	213.7±16.89**	36	215.3±19.83**	39	213.9±18.31**	38	217.8±20.40**
Organ weight (g)										
Brain		1.71 ± 0.135		1.70 ± 0.115		1.68 ± 0.117		1.67 ± 0.113		1.68 ± 0.108
Thymus		0.63 ± 0.106		0.60 ± 0.110		0.58 ± 0.117		0.62 ± 0.120		0.63 ± 0.121
Heart		0.88 ± 0.075		0.82 ± 0.072**		0.83 ± 0.088**		0.81 ± 0.071**		0.85 ± 0.076
Lung		1.13 ± 0.170		1.07 ± 0.118		1.05 ± 0.113*		1.03 ± 0.116**		1.10 ± 0.123
Liver		10.93 ± 1.293		9.97 ± 1.005**		10.10 ± 1.269**		9.96 ± 1.145**		10.22 ± 1.216*
Spleen		0.58 ± 0.101		0.59 ± 0.116		0.55 ± 0.080		0.54 ± 0.084*		0.58 ± 0.092
Kidneys		2.02 ± 0.206		1.97 ± 0.188		1.93 ± 0.169*		1.92 ± 0.180*		1.96 ± 0.189
Adrenals		0.071± 0.012		0.063± 0.009**		0.066± 0.011		0.065± 0.008**		0.065± 0.011*
Ovaries		0.13 ± 0.030		0.13 ± 0.024		0.13 ± 0.027		0.13 ± 0.025		0.13 ± 0.030
Uterus		0.42 ± 0.086		0.38 ± 0.083*		0.37 ± 0.072**		0.38 ± 0.088*		0.41 ± 0.087
Relative weight (%)										
Brain		0.75 ± 0.071		0.80 ± 0.074**		0.79 ± 0.089*		0.78 ± 0.064*		0.78 ± 0.083
Thymus		0.28 ± 0.043		0.28 ± 0.048		0.27 ± 0.048		0.29 ± 0.063		0.29 ± 0.056
Heart		0.39 ± 0.028		0.39 ± 0.026		0.38 ± 0.028		0.38 ± 0.020		0.39 ± 0.027
Lung		0.50 ± 0.067		0.50 ± 0.055		0.49 ± 0.049		0.48 ± 0.047		0.50 ± 0.047
Liver		4.77 ± 0.407		4.66 ± 0.312		4.68 ± 0.309		4.66 ± 0.362		4.70 ± 0.425
Spleen		0.25 ± 0.039		0.27 ± 0.045*		0.25 ± 0.035		0.25 ± 0.030		0.27 ± 0.035
Kidneys		0.88 ± 0.076		0.92 ± 0.082*		0.90 ± 0.086		0.90 ± 0.067		0.90 ± 0.081
Adrenals		0.031± 0.005		0.030± 0.004		0.031± 0.005		0.030± 0.004		0.030± 0.004
Ovaries		0.06 ± 0.012		0.06 ± 0.011		0.06 ± 0.010		0.06 ± 0.012		0.06 ± 0.016
Uterus		0.19 ± 0.041		0.18 ± 0.041		0.17 ± 0.037		0.18 ± 0.046		0.19 ± 0.036

Each value of relative weight is indicated in percent of body weight.

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

った (Table 14)。

III. 考 察

ME 1207 の 125, 250, 500 及び 1,000 mg/kg をラットの胎児器官形成期に経口投与して、その母動物、胎児及び出生児の発育並びに生殖能力に及ぼす影響を検討した。

1. 母動物に及ぼす影響

一般状態では、赤色尿、口吻部と肛門周囲の汚れ、眼瞼周囲の汚れ及び右下腹部鼠径部附近に腫脹が観察されたが、いずれも少数例であり、用量依存性や各症状相互の関連性のないことなどから、ME 1207 投与と関連のない所見であると考え。その他、250 mg/kg 以上の投与群で各 2 例に軟便が観察された。

体重は 125 mg/kg 群では投与初期に一過性の増加抑制が認められたものの以後は順調に経過したが、250 mg/kg 以上の投与群では増加抑制が投与初期だけでなく以降も継続的に認められた。摂餌量は妊娠期間中

各投与群で減少したが、投与期間中に回復し、妊娠 20 日には増加した。また、摂水量は各投与群で増加した。

剖検では子宮水腫が少数例に観察されたが、発現例数から考え ME 1207 投与によるとは考えられない。その他、盲腸の膨満が各投与群で観察された。

以上のように ME 1207 投与により軟便、摂水量の増加及び盲腸の膨満が観察されたが、これらの変化は経口用セフェム系抗生物質の ceftoram pivoxil (CFTM-PI)²⁾ 及び cefuroxime axetil (CXM-AX)³⁾ のラット胎児器官形成期投与試験でも観察されており、また本剤のラット亜急性毒性試験¹⁾でも認められている。ME 1207 投与によるこれらの変化は上述の CFTM-PI 及び CXM-AX を含めセフェム系抗生物質やペニシリン系抗生物質²⁻¹²⁾ で報告されているように、腸内細菌叢の変化に起因する二次的な変化と考えられる。また、ME 1207 投与群に認められた摂餌量の変動は体重抑制と同様に用量相関性が認められず、前述の腸内

Table 13. Reproductive performance by offspring (F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
			125		250		500		1,000	
Male Treated animals	10		10		10		10		10	
Mated animals (%)	10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)	
Impregnated animals (%)	8 (80.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		9 (90.0) ²⁾	
Female Treated animals	10		10		10		10		10	
Mated animals (%)	10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)	
Pregnant animals (%)	8 (80.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		10 (100.0)		8 (80.0)	
No. of estrus/15 days Mean±SD	10	3.6±0.70	10	3.4±0.70	10	3.7±0.48	10	3.0±1.05	10	3.7±0.68
Body weight (g)	0	8 271.0±27.49	10	250.2±25.31	10	252.0±18.09	10	260.0±18.26	8	246.8±28.92
Days of pregnancy	7	8 310.0±26.96	10	281.8±24.93*	10	289.4±21.38	10	289.0±17.54	8	278.8±33.47
	13	8 343.8±32.45	10	312.4±26.11*	10	320.8±20.23	10	318.2±14.86	8	309.8±38.21
Caesarean section findings										
No. of dams	8		10		10		10		8	
No. of corpora lutea Mean±SD	124	15.5± 2.39	144	14.4± 2.41	153	15.3± 0.95	159	15.9± 1.37	113	14.1± 2.42
No. of implantations Mean±SD (%) ¹⁾	114	14.3± 3.88 (91.1)	133	13.3± 3.80 (90.3)	151	15.1± 1.10 (98.7)	149	14.9± 3.38 (93.0)	101	12.6± 4.00 (88.3)
No. of early and late resorptions (%) ¹⁾	7	(6.2)	7	(7.3)	5	(3.0)	7	(4.4)	4	(3.4)
No. of embryos Mean±SD (%) ¹⁾	107	13.4± 3.93 (93.8)	126	12.6± 3.95 (92.7)	146	14.6± 0.84 (97.0)	142	14.2± 3.19 (95.6)	97	12.1± 3.80 (96.6)

Significantly different from control * : P<0.05

¹⁾ : Mean of percent values per litter²⁾ : Includes the male rat which impregnates a non-treated female ratTable 14. Testes and epididymides weights of male offspring (13 weeks old, F₁) from rat dams treated orally with ME1207 from day 7 to day 17 of pregnancy

Observation	Control (0.1%CMC)		ME1207 (mg/kg/day)							
			125		250		500		1,000	
	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD
Body weight (g)	10	482.6±36.49	10	448.8±40.72	10	477.4±58.18	10	443.2±44.77 *	9	447.1±39.80
Organ weight (g)										
Testes	3.50±0.191		3.48±0.350		3.29±0.261		3.28±0.254*		3.28±0.250*	
Epididymides	1.32±0.109		1.24±0.087		1.20±0.093*		1.19±0.114*		1.22±0.144	
Relative weight (%)										
Testes	0.73±0.069		0.78±0.057		0.69±0.065		0.74±0.041		0.74±0.055	
Epididymides	0.27±0.032		0.28±0.023		0.25±0.031		0.27±0.016		0.27±0.028	

Each value of relative weight is indicated in percent of body weight.

Significantly different from control * : P<0.05

細菌叢の変化に起因したものとも考えられる。

経口用セフェム系抗生物質の妊娠ラット体重に及ぼす影響では、CFTM-PI²⁾が1,000 mg/kgの投与で、cefaclor (CCL)¹⁰⁾が500 mg/kg以上の投与で、cefadroxil¹²⁾が2,300 mg/kgの投与で、及びcephalexin¹³⁾が500 mg/kg以上の投与でそれぞれ増

加抑制を示しており、これらセフェム系抗生物質は大量投与により母動物体重に抑制的影響を及ぼすと考えられる。

哺育行動にはME 1207投与による影響はなかった。

離乳後母動物の器官重量では、絶対値及び相対値共に変動した器官はなかった。

2. 胚・胎児に及ぼす影響

平均黄体数及び平均着床数が 1,000 mg/kg 群で対照群のそれを下回ったが、本試験は器官形成期投与試験であることから、これらの所見は偶発的な変化と考えられる。その他、着床率、死亡・吸収胚数（率）、生存胎児数（率）、性比及び胎児体重に影響はなく、着床や胎児の生存性には ME 1207 投与による影響は認められなかった。

外形異常では 125 mg/kg 群で痕跡尾が 1 例発現したが、本症は自然発生することが知られており、更に、他の投与群では観察されなかったことから、ME 1207 投与によるとは考え難い。

生存胎児の内臓及び骨格観察では異常、変異あるいはこれらの併発例いずれにも一定の傾向を示唆する異常発現はなく、また、発現率に用量依存性もないこと、更に、いずれも自然発生することが知られているもので¹⁵⁾、その発現率は自然発生率の範囲¹⁶⁾を越えるものではないことから、ME 1207 投与が影響を及ぼしたとは考えられない。しかし、骨化進行度の指標のひとつである仙尾椎骨化数は 500 及び 1,000 mg/kg 群で対照群より低値を示し、軽度ながら ME 1207 投与による影響と考えられる。経口用セフェム系抗生物質の胎児の骨化進行度に及ぼす影響では、CFTM-PI 1,000 mg/kg 投与群で波状肋骨²⁾が、CXM-AX 1,000 mg/kg 投与群で中足骨の骨化遅延³⁾が、また、CCL 1,000 mg/kg 投与群で尾椎骨数の減少¹¹⁾がそれぞれ観察されていることから、ME 1207 はこれらセフェム系抗生物質と同様に大量投与により胎児の骨化進行度にわずかながら、遅延の影響を及ぼすと考えられる。

3. 母動物の分娩及び出生児に及ぼす影響

母動物の妊娠期間及び出産率には何ら影響は認められなかった。

平均着床数、出産児数（率）、出産生児数、出生率、生後 4 日生児数（率）、性比、生後 7 日から 21 日までの生存数あるいは離乳率及び離乳後の生存数（率）にも ME 1207 投与による影響は認められなかった。その他、生後の発育分化、初期行動及び視聴覚検査結果にも影響は認められなかった。

生後 4 日の出生児数選別調整後からの死亡例は各群で少数例に観察されたが、剖検ではいずれにも著変はなかった。また、一般状態では 250 mg/kg 群で眼瞼周囲の汚れが 2 例に、500 mg/kg 群で発育不良が 1 例に観察されたが、発現例数から考え ME 1207 投与による影響とは考え難い。その他、赤色尿が 500 mg/kg 群の雄、1,000 mg/kg 群の雌で各 1 例に観察されたが、その症状は一過性であり、剖検でも著変はなく、更に、

発現例数から考えて偶発的な変化と判断した。

離乳までの体重には 125 mg/kg 群の生後 14 日に有意な減少が認められただけであることから ME 1207 投与による毒性的影響ではないと考えられる。

離乳後の体重は 125 mg/kg 以上の投与群で連続的あるいは散発的に対照群を下回ることもあったが、明らかな用量相関性はないことから、離乳後の出生児体重に ME 1207 が毒性的影響を及ぼしたとは考え難い。

行動・学習能検査では、オープンフィールド、シャトルボックス及びウォーターメイズ各試験いずれにも何ら影響はなく、ME 1207 は行動・学習能に影響しないと考えられる。

生後 8 週におけるラットの剖検では、特に ME 1207 投与による影響はなかった。器官重量では、雄の 250 mg/kg 以上の投与群で心重量が絶対値、相対値共に減少したが、相対値比較では正常範囲（対照群の平均値 $\pm 2\sigma$ ）内の変動であり、毒性的には意味のないものと考えられる。

生後 10 週における生殖機能検査では、性周期、雌雄の交尾率及び受（授）胎率いずれにも影響は認められなかった。また、妊娠期間中に死亡例はなく、一般状態にも影響はなかった。

妊娠期間中の体重には 125 mg/kg 群で有意な減少が認められただけであることから ME 1207 投与による毒性的影響はないと考えられる。妊娠 13 日での帝王切開時の剖検では特に ME 1207 投与による影響は認められず、帝王切開時所見でも黄体数、着床数等に影響はなかった。更に、生殖機能検査後の雄の剖検でも特に ME 1207 投与による影響は認められず、精巣及び精巣上体の重量では絶対値及び相対値いずれにも共通した変動は認められなかった。従って、ME 1207 はラットの生殖能力に影響しないと考えられる。

以上の結果を通覧すると、ME 1207 250 mg/kg 以上の投与群で母動物の体重増加抑制が認められたが、妊娠の維持、分娩、哺育行動には影響なく、胚あるいは胎児の外形、内臓観察にも影響はなかった。骨格観察では 500 mg/kg 以上の投与群で仙尾椎骨の骨化が軽度ながら遅延したが、他のセフェム系抗生物質においても胎児の発育が抑制された場合に発現する現象であり、また、催奇形作用も他のセフェム系抗生物質同様認められなかった^{2,3,6,7,10-14)}。更に、出生児の発育分化、初期行動、視聴覚機能、学習能、情動性及び生殖機能にも毒性的影響はなかった。

したがって、ラット胎児器官形成期投与試験における無影響量は、母動物に対しては 125 mg/kg、胚・胎児に対しては 250 mg/kg、出生児に対しては 1,000

mg/kg と推定される。

文 献

- 1) 新里鉄太郎, 大西正敏, 朴 潔喜, 早坂弘康, 松下直子, 白石 明, 脇川典子, 西山省二, 西田信一, 藤田正敬: 経口セフェム系抗生物質 ME 1207 の安全性に関する研究, 第1報 マウス, ラットを用いた急性及びラットを用いた亜急性, 慢性毒性試験. *Chemotherapy* 40(S-2): 157~185, 1992
- 2) 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
- 3) 古橋忠和, 須田 宏, 村瀬えるみ, 仲吉洋: Cefuroxime axetil (CXM-AM) の生殖試験。(I) -ラットにおける胎児の器官形成期投与試験- *Chemotherapy* 34(S-5): 210~234, 1986
- 4) 青山卓夫, 高橋淳一, 佐藤和一, 大野木滋, 星野恭治, 飯島カツ子, 野沢千鶴子: Cephalexin の急性・亜急性ならびに慢性毒性実験. *応用薬理* 3(3): 229~247, 1969
- 5) 峰下鎮雄, 村岡義博, 矢原 功, 狗田忠義, 石川路夫, 上原今朝生, 川口順子, 岡田照子: Cephaloglycin の毒性について. *Chemotherapy* 18(1): 22~38, 1970
- 6) 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之: Cefazolin sodium の毒性及び胎児への影響. *Chemotherapy* 18(5): 528~543, 1970
- 7) 増田 裕, 鈴木善雄, 小此木丘: Cephadrine の実験動物に対する毒性試験及び胎児に及ぼす影響について. *Chemotherapy* 23(1): 37~68, 1975
- 8) 松崎明紀, 吉田昭雄, 土田 稔, 奥山大輔, 関野実, 佐村恵治, 福島順乃, 浅野昌子: Cefatrizine(S-640 P) の毒性に関する研究. 第3報 ラットにおける慢性毒性. *Jpn J Antibiot* 29(6): 670~686, 1976
- 9) 今井章浩, 森下けい子: Aminobenzyl penicillin (ABPC) 及び Aminocyclohexyl penicillin (ACPC) 経口投与によるマウスの糞便菌叢の変化及び盲腸重量の変化について. *Chemotherapy* 23(10): 3192~3196, 1975
- 10) 野村 章, 古橋忠和, 池谷恵里, 沢木あけみ, 仲吉洋: Cefaclor の催奇形性及び生殖に及ぼす影響。(第1報) マウス, ラット及びウサギにおける器官形成期経口投与による検討. *Chemotherapy* 27(S-7): 846~864, 1979
- 11) 清水万律子, 打屋尚章, 野田有俊, 宇高奎二: Ro 13-9904 (Ceftriaxone) の毒性に関する研究。(第7報) -ラットに対する器官形成期投与試験-。基礎と臨床 18(5): 1899~1912, 1984
- 12) 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6報 生殖試験: ラットにおける胎児の器官形成期投与試験. *Jpn J Antibiot* 33(4): 487~496, 1980
- 13) 青山卓夫, 古岡隼二郎, 長谷川徳雄, 根本克利: Cephalexin のマウス及びラットにおける催奇形性試験. *応用薬理* 3(3): 249~263, 1969
- 14) 古橋忠和, 武井あき子, 本田伴子, 仲吉洋: Ceftriaxime の安全性に関する研究。(VII) ラットにおける器官形成期投与試験. *Chemotherapy* 31(S-3): 940~960, 1983
- 15) 亀山義郎, 谷村 孝, 安田峯生: 実験動物における自然発生奇形-写真図譜及び参考資料-。先天異常 20: 25~106, 1980
- 16) Morita H, Ariyuki F, Inomata N, Nishimura K, Hasegawa Y, Miyamoto M, Watanabe T: Spontaneous malformations in laboratory animals: Frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice. *Cong Anom* 27: 147~206, 1987

TOXICITY STUDIES OF ME1207, A NEW ORAL CEPHEM ANTIBIOTIC

V. REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY STUDY OF ME1207 IN RATS
BY ORAL ADMINISTRATION DURING THE PERIOD OF ORGANOGENESIS

Toshiaki Hata, Hiroyasu Asaoka, Minako Ito, Kazuo Okano,
Masanori Izawa, Yasuhiro Shindo, Isao Kosugi, Masataka Fujita
Pharmaceutical Research Center, Meiji Seika Kaisha, Ltd.
760 Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama 222, Japan

ME1207 at doses of 125, 250, 500 and 1,000mg/kg was orally administered to SD strain rats during the period of fetal organogenesis to investigate its effects on dams, their fetuses and on postnatal development and reproductive function of offspring. The following results were obtained. In dams, suppression of body weight gain was observed in the 250mg/kg and higher dose groups, however, no effects were noted on continuance of pregnancy, delivery or nursing behavior. In embryos and fetuses, no deleterious effects were observed on the implantation rate, number of dead fetuses or resorptions, number (rate) of live fetuses or fetal body weights. Further more, no increase in the development of anomalies or variations related to the administration of ME1207 was noted by visceral observation. However, in the findings of skeletal observation a decrease in the number of ossified sacrococcygeal vertebrae was observed in the 500mg/kg and higher dose groups. No deleterious effects were observed in postnatal physical and behavioral development, visuoauditory function, learning ability, emotionality or reproductive function. From these results, the non-effect doses are estimated to be 125mg/kg for dams, 250mg/kg for embryos and fetuses and 1,000mg/kg for the offspring, which suggests that ME1207 has, potentially, no teratogenic effect in rats.