

## SY5555 のラット経口投与による生殖・発生毒性

岡本 雅 春・大 高 忠 彦

サントリー株式会社医薬センター\*

Müller, W., Osterburg, I., Korte, R.

HAZLETON Laboratories Deutschland GmbH

SY5555 の生殖に及ぼす影響をラットを用いた経口投与による妊娠前および妊娠初期投与試験 (Seg. I), 胎児の器官形成期投与試験 (Seg. II) ならびに周産期および授乳期投与試験 (Seg. III) により検討し, 以下の結果を得た。

1) いずれの試験においても SY5555 投与に起因した死亡例は認められなかった。親動物では摂餌量の軽度な減少および摂水量の増加がみられたが, 一般状態および体重には投与による影響は認められなかった。

2) いずれの試験においても, 親動物の生殖機能, 胎児および出生児に対する影響はみられず, 催奇形作用も認められなかった。

3) Seg. I 試験における親動物の生殖機能および胎児に対する無毒性量は1,620mg/kg, Seg. II 試験における母動物の生殖機能, 胎児および出生児に対する無毒性量は2,000mg/kg, さらに, Seg. III 試験における母動物の生殖機能および出生児に対する無毒性量は1,620mg/kg と判断される。

**Key words :** SY5555, 生殖・発生毒性, ラット, 経口

SY5555 はサントリー株式会社で新規に合成された経口用ペネム系抗菌薬であり, 幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌作用を有する。今回, SY5555 の安全性評価の一環として, ラットを用いた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実施したので, その結果をまとめて報告する。

なお, これらの試験は HAZLETON laboratories Deutschland GmbH において, 1988年12月より1991年11月にかけて実施した。

## I. 材料および方法

## 1. 被験物質

SY5555 は白色ないし黄白色の結晶性粉末で, 水に溶けやすい。SY5555 はサントリー株式会社より供給され, Seg. I および Seg. III 試験には Lot No. 5588814 (力価: 824 $\mu$ g/mg) を, Seg. II 試験には Lot No. 5589602 (力価: 809 $\mu$ g/mg) をそれぞれ用いた。

被験物質は, 蒸留水またはイオン交換水に用時溶解して調製した。なお, 投与量は力価で表示した。

## 2. 使用動物および飼育条件

雌雄の CrI:CD (SD) ラットを Charles River Wiga GmbH (ドイツ) より入手した。試験には, 1週間以

上予備飼育を行い, 健康状態に異常が認められなかった雌雄を使用した。動物は, 温度19~25 $^{\circ}$ C, 湿度30~70%および12時間照明に設定された動物飼育室に, 予備飼育, 交配および授乳期間を除き, 高圧蒸気滅菌した床敷を入れた飼育ケージに1匹ずつ収容して飼育した。飼料は粉末飼料 (Ssniff R 10, Ssniff Spezialdiäten GmbH) を, 飲水は給水瓶を用いてそれぞれ自由に摂取させた。Seg. I 試験における投与開始時の体重範囲および週齢は, 雄162~233g (6週齢), 雌179~216g (8~9週齢), Seg. II および Seg. III 試験における妊娠0日の週齢は8~12週齢で, 体重範囲はそれぞれ180~246g, 182~254g であった。

## 3. 投与量の設定

## 1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

投与量は, 雄ラットに対する投与期間を考慮して, 3か月間反復経口投与毒性試験<sup>1)</sup>と同じ80, 360および1,620mg/kg を設定した。別に, 蒸留水を投与する対照群を設定した。

## 2) 胎児の器官形成期投与試験

胎児の器官形成期経口投与予備試験 (500, 1,000および2,000mg/kg)<sup>2)</sup>の結果, いずれの投与量においても母動物に摂水量の増加が, さらに2,000mg/kgでは

母体重の増加がみられたが、胎児に対する影響は認められなかった。したがって、高用量を2,000mg/kgとし、中および低用量に800および320mg/kgをそれぞれ設定した。別に、イオン交換水を投与する対照群を設定した。

### 3) 周産期および授乳期投与試験

胎児の器官形成期経口投与試験の結果、いずれの投与量においても母動物に摂餌量の軽度な減少および摂水量の増加が認められた。したがって、高用量を1,620mg/kgとし、中および低用量に360および80mg/kgをそれぞれ設定した。別に、イオン交換水を投与する対照群を設定した。

## 4. 群構成および投与方法

### 1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

1群雌雄各24匹のラットを用い、雄には交配前63日間および交配期間、雌には交配前14日間、交配期間および妊娠7日まで、80, 360および1,620mg/kgを経口ゾンデを用いて強制経口投与した。投与液量は10ml/kgとし、交配前および交配期間中は直近の体重に、妊娠期間中は妊娠0日の体重に基づいて個別に算出した。

### 2) 胎児の器官形成期投与試験

1群46匹(帝王切開用34匹、出産用12匹)の交尾成立雌ラットを用い、妊娠7日から17日まで、320, 800および2,000mg/kgを経口ゾンデを用いて強制経口投与した。投与液量は10ml/kgとし、妊娠7日の体重に基づいて個別に算出した。

### 3) 周産期および授乳期投与試験

1群25匹の交尾成立雌ラットを用い、妊娠17日から出産後21日まで、80, 360および1,620mg/kgを経口ゾンデを用いて強制経口投与した。投与液量は10ml/kgとし、妊娠期間中は妊娠17日の体重に、授乳期間中は直近の体重に基づいて個別に算出した。

## 5. 交配方法

妊娠前および妊娠初期投与試験では、同一群内の雌雄を1対1で2週間を限度として同居させた。2週間以内に交尾しなかった場合、雄は無処置の雌と、雌は交尾がみられた雄と1週間を限度として同居させた。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では、5～6匹の雄と20～25匹の雌を交配用ケージに同居させた。いずれも、膣栓または膣スミア中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠0日として起算した。

## 6. 観察および検査項目

### 1) 妊娠前および妊娠初期投与試験

一般状態については1日1回以上、死亡の有無につ

いては1日2回観察した。体重は、交配前および交配期間中は雄雌ともに週2回、交尾成立雌についてはさらに妊娠0～8, 12, 17および20日に測定した。摂餌および摂水量は、雄雌とも交配前(ただし、雄の摂水量については投与第43日以降)週2回、交尾成立雌についてはさらに妊娠期間中に2～4日間隔で測定した。各群の約半数例の雌について、交配前および交配期間中に膣スミアを採取し、性周期を観察した。

雄については交配期間終了後にCO<sub>2</sub>吸入により屠殺し、肉眼的に観察するとともに精巢および精巢上体の重量を測定した。交尾成立雌については妊娠20日にCO<sub>2</sub>吸入により屠殺した後、帝王切開して妊娠の有無を調べるとともに肉眼的に観察した。

不妊動物については、子宮を10%硫化アンモニウム液に浸し、着床痕の有無を確認した<sup>3)</sup>。妊娠動物については黄体数、着床数、生存胎児数および死胚数を観察し、胎盤重量を測定した。生存胎児については外表面異常の有無および性別を観察した後、体重を測定した。各腹の約2/3の胎児については、骨格染色透明標本<sup>4)</sup>を作成した後、骨格異常の有無について、残りの約1/3の胎児については、Bouin液に固定した後、内部器官の異常の有無についてそれぞれ観察した<sup>5)</sup>。

### 2) 胎児の器官形成期投与試験

一般状態については1日1回以上、死亡の有無については1日2回観察した。母動物について、妊娠0, 4, 7, 12, 17および20日、ならびに出産後1, 4, 7, 14および21日に体重を測定するとともに、妊娠および授乳期間中に摂餌および摂水量を定期的に測定した。

各群34匹の母動物は妊娠20日に帝王切開し、Seg. I試験と同様に母動物および子宮内を観察するとともに、生存胎児については骨格および内部器官の異常の有無について観察した。各群12匹の母動物については自然分娩させ、分娩状態を観察するとともに妊娠期間を算出した。さらに、出産後21日まで哺育させ、哺育状態を観察するとともに、出産後21日以降に剖検して着床痕数を観察し、出生率を算出した。なお、妊娠25～27日までに出産しなかった母動物については屠殺剖検し、着床痕の有無について観察した。出生時に生存児数および死亡児数を数え、生存児については性別を観察した。体重は生後1, 4, 7, 14および21日に、離乳以降は週1回測定した。生後4日には無作為に1腹8匹(原則として雌雄各4匹)となるように児数を調整した。出生児は耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂、精巢下降および膣開口を指標として形態学的検査を、正向反射(生後8日)、背地走性(生後15日)、握り反

射(生後17日)ならびに瞳孔反射および聴覚機能(生後21日)を指標として機能検査をそれぞれ実施した。

離乳日以降に1群雌雄各10~11匹(原則として1腹雌雄各1匹)の出生児を選出し、行動検査として生後35日にロータロッド試験を、5~6週齢時に水迷路試験(E迷路)を、生後45~50日にはオープンフィールド試験(25区画, 70×70cm)をそれぞれ実施した。さらに、約13週齢時に兄妹交配を避けて同一群内の雌雄を1対1で交配させ、生殖機能について検査した。交配期間は2週間を限度とし、精子または膣栓の認められた日を妊娠0日として起算した。交尾の成立した雌については妊娠0, 4, 7, 12, 17および20日に体重を測定した。妊娠20日に帝王切開を行い、妊娠の有無を

確認するとともに胎児について検査した。なお、雄については、交配期間終了後CO<sub>2</sub>吸入により屠殺し、剖検を実施した。

### 3) 周産期および授乳期投与試験

一般状態については1日1回以上、死亡の有無については1日2回観察した。母動物については、妊娠0, 6, 12, 17および20日、ならびに出産後1, 4, 7, 14および21日に体重を測定するとともに、妊娠および授乳期間中に摂餌および摂水量を定期的に測定した。

母動物は全例自然分娩させ、Seg. II試験と同様に分娩および哺育状態を観察するとともに、出生児については形態、機能、行動および生殖機能の各種検査を実施した。なお、生後4日には1腹10匹(原則として雌雄各5匹)、離乳以降には1群雌雄各20~22匹(原則として1腹雌雄各1匹)となるように児数を調整した。

### 7. 統計学的処理

体重、体重増加量、摂餌量および摂水量については、Leveneの方法により分散の検定を行い、さらに一元配置の分散分析法で有意差が認められた場合にはDunnett法による群間の有意差検定を実施した。胎児体重については、分散分析法で有意差が認められた場合にはStudent-Newman-Keuls法<sup>6)</sup>による群間の有意差検定を実施した。

妊娠期間、着床数、死胚率、生存胎児数、性比、胎盤重量、出生児数、出生率、各種生存率、授乳期間中の出生児体重、形態学的検査の発現率ならびに機能および行動検査結果については順位和を用いた分散分析を行い、有意差が認められた場合にはStudent-Newman-Keuls法<sup>6,7)</sup>による順位和検定を用いて群間の有意差検定を実施した。なお、有意水準はいずれも

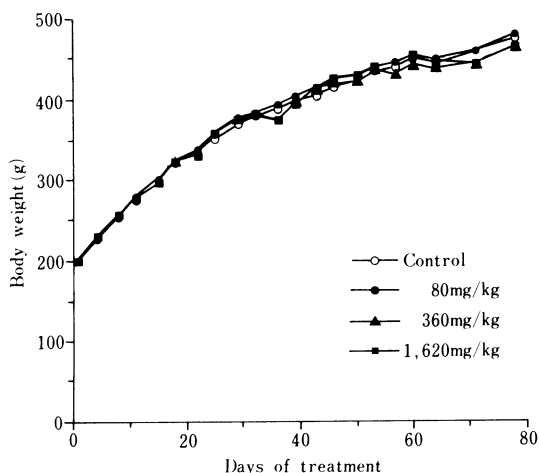


Fig. 1. Body weight in male rats treated orally with SY5555 (Seg. I)

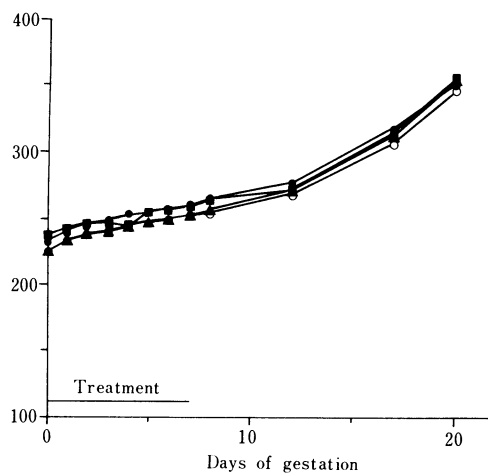
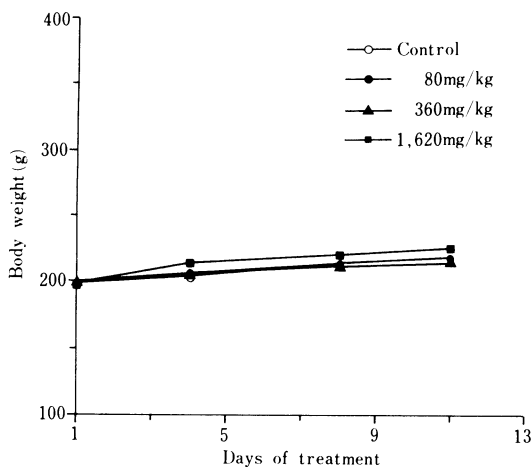


Fig. 2. Body weight in female rats before mating and during gestation period (Seg. I)

5%未満とした。

II. 結 果

1. 妊娠前および妊娠初期投与試験

1) 親動物に及ぼす影響

雌雄ともに死亡例はみられず、投与に起因した一般状態の異常も認められなかった。体重には雌雄ともに

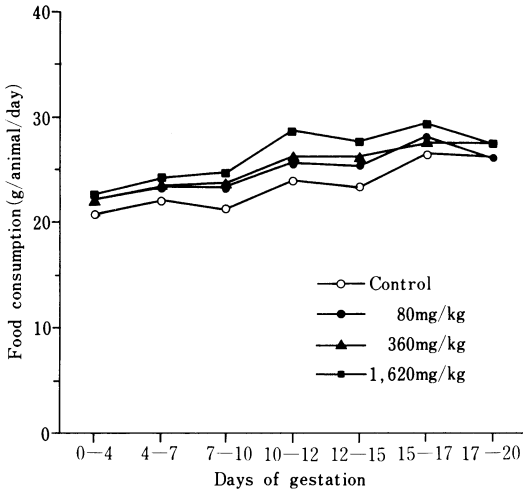


Fig. 3. Food consumption in dams during gestation period (Seg. I)

投与による影響は認められなかった (Fig. 1, 2)。雄の摂餌量には投与による影響はみられなかったが、雌の1,620mg/kg群において妊娠期間中の摂餌量に高値が認められた (Fig. 3)。摂水量では、全てのSY555投与群において投与量に依存した高値が認められた (Table 1)。雌の性周期においても投与による影響は認められず、雌雄の交尾率、受胎 (授精) 率にも群間に差を認めなかった (Table 2)。剖検の結果、雄の精巣および精巣上体の重量にも群間に差はみられず、また、雌雄ともに投与に起因した肉眼的な異常も認められなかった。

2) 胎児に及ぼす影響

着床数、着床後死胚率、生存胎児数、死胚数、性比、胎児体重および胎盤重量には投与による影響は認められなかった (Table 3)。なお、対照群と比較して、80 mg/kg群において着床後死胚率の高値が、全てのSY555投与群において胎児体重の高値がみられたが、投与量に依存した変化でないこと、あるいは正常範囲内の変化であることより、SY555投与による影響ではないと判断した。

胎児の外表、内部器官および骨格検査において、SY555投与に起因した異常は認められなかった。外表異常では80mg/kg群に小顎、小舌、口蓋裂および異所性耳の併発が1例、内部器官の異常では80mg/kg群

Table 1. Water consumption (g/animal/day) in male and female rats before mating and in dams during gestation period (Seg. I)

Dose (mg/kg)		Control	SY555 80	SY555 360	SY555 1,620
Male	Days of treatment				
	43~46	41.7± 6.9 (24)	48.4± 9.8 (24)	51.2±11.3 (24)**	60.8±10.5 (24)**
	46~50	42.4± 7.4 (24)	49.0± 8.6 (24)*	51.3± 9.5 (24)**	57.9± 8.6 (24)**
	50~53	44.0± 8.5 (24)	52.6±10.5 (24)**	56.4± 6.5 (24)**	67.8±10.4 (24)**
	53~57	39.2± 7.6 (24)	48.0±12.0 (24)**	51.9± 8.0 (24)**	65.9± 8.5 (24)**
	57~60	40.7± 7.0 (24)	50.4± 9.0 (24)**	56.1± 8.5 (24)**	69.5± 7.7 (24)**
Female	Days of treatment				
	50~53	32.5± 6.5 (24)	36.2± 5.0 (23)	38.2± 7.3 (24)**	42.1± 6.6 (24)**
	53~57	30.0± 5.6 (23)	34.1± 5.5 (24)	41.6± 8.4 (24)**	47.1± 8.8 (24)**
	57~60	31.7± 4.8 (24)	36.5± 5.6 (24)	44.0± 7.0 (24)**	48.7±10.7 (24)**
	Days of gestation				
	0~ 4	36.9± 6.5 (23)	41.2± 6.8 (24)	47.9±10.0 (23)**	54.5± 9.4 (24)**
	4~ 7	38.9± 6.9 (23)	42.3± 5.9 (24)	47.8±10.1 (23)**	55.9± 5.4 (24)**
	7~10	40.7± 6.2 (23)	43.5± 5.6 (24)	48.9± 8.1 (23)**	55.6± 6.7 (24)**
	10~12	44.9± 6.5 (23)	49.7± 9.4 (24)	55.7± 8.4 (23)**	58.8± 7.4 (24)**
	12~15	44.5± 8.0 (22)	47.8± 7.5 (24)	54.7± 9.6 (23)**	54.3± 7.3 (24)**
15~17	53.6± 8.2 (22)	55.2± 7.7 (23)	59.8± 8.7 (23)	63.1±10.9 (24)**	
17~20	51.7± 6.9 (23)	51.2± 9.3 (24)	55.1± 8.7 (23)	61.1±12.4 (24)**	

Each value represents mean ± SD and each parenthesis represents numbers of animals.

\*, \*\* : Significantly different from control at p<0.05 and p<0.01, respectively (Dunnett's test)

Table 2. Mating performance in male and female rats treated orally with SY5555 (Seg. I)

Dose (mg/kg)	Control	SY5555 80	SY5555 360	SY5555 1,620
Mean duration of estrus cycle (days)	3.8±0.2 (12) <sup>a)</sup>	3.6±0.4 (11)	3.7±0.4 (12)	3.7±0.5 (12)
No. of mated animals male/female	24/24	24/24	24/24	24/24
No. of inseminated females	23 <sup>b)</sup>	24	24	24
No. of pregnant females	23	24	23	24
Mean mating period (days)	2.9±1.2 (23) <sup>a)</sup>	3.1±1.2 (24)	2.5±1.1 (24)	3.4±2.3 (24)
Copulation index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%)	100.0	100.0	95.8	100.0

a) Mean±SD and parenthesis represents numbers of animals.

b) One additional female, in which sperm could not be detected, littered.

Copulation index = (No. of animals with successful copulation/No. of mated animals) × 100

Fertility index = (No. of pregnant animals/No. of animals with successful copulation) × 100

Table 3. Intrauterine observations in dams treated orally with SY5555 (Seg. I)

Dose (mg/kg)	Control	SY5555 80	SY5555 360	SY5555 1,620
No. of dams examined	23	24	23	24
No. of dams with live fetuses	23	24	23	24
No. of corpora lutea Total	424	435	386	415
Mean±SD	18.4±4.1	18.1±3.7	16.8±2.4	17.3±3.0
No. of implants Total	335	351	328	346
Mean±SD	14.6±1.9	14.6±1.6	14.3±1.8	14.4±2.1
Pre-implantation loss (%)	17.7	17.4	14.2	15.0
No. of dead fetuses Total(%)	17 (4.6)	32 (9.2)*	16 (5.0)	12 (3.7)
Early	14	32	14	12
Late	2	0	2	0
Dead	1	0	0	0
No. of live fetuses Total	318	319	312	334
Mean±SD	13.8±1.6	13.3±2.1	13.6±2.2	13.9±2.5
Sex ratio (%)	48.9	52.1	54.5	47.7
Male/Female	156/162	168/151	168/144	159/175
Fetal weight (g) Male	3.2±0.2	3.4±0.3*	3.5±0.2*	3.6±0.3*
Female	3.2±0.2	3.2±0.3	3.3±0.2	3.3±0.3*
Placental weight (g)	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
No. of external anomalies	3 <sup>a)</sup>	1 <sup>b)</sup>	0	0

\* : Significantly different from control at p<0.05 (Newman-Keuls test)

Pre-implantation loss = (No. of corpora lutea - No. of implants) / (No. of corpora lutea) × 100

Sex ratio = (No. of male fetuses) / (No. of male and female fetuses) × 100

a) 1 umbilical hernia, 1 agnathia, and 1 agnathia, microstomia, microglossia and displaced ears

b) Micrognathia, cleft palate, microglossia and displaced ears

に内臓逆位が1例, 1,620mg/kg群に横隔膜ヘルニアが1例それぞれ観察されたのみであった。骨格異常はいずれのSY5555投与群においても観察されなかった。なお, 対照群で外表異常3例(膈ヘルニア1例, 無頸1例, 無頸, 小口, 小舌, 異所性耳の併発1例), 内部器官の異常1例(眼の出血)および骨格異常2例

(頬骨および肋骨の異常各1例)が認められた。

## 2. 胎児の器官形成期投与試験

### 1) 母動物に及ぼす影響

投与に起因した死亡例および一般状態の異常は認められなかった。なお, 800mg/kg群の2例および2,000mg/kg群の1例が投与過誤により死亡した。体重で

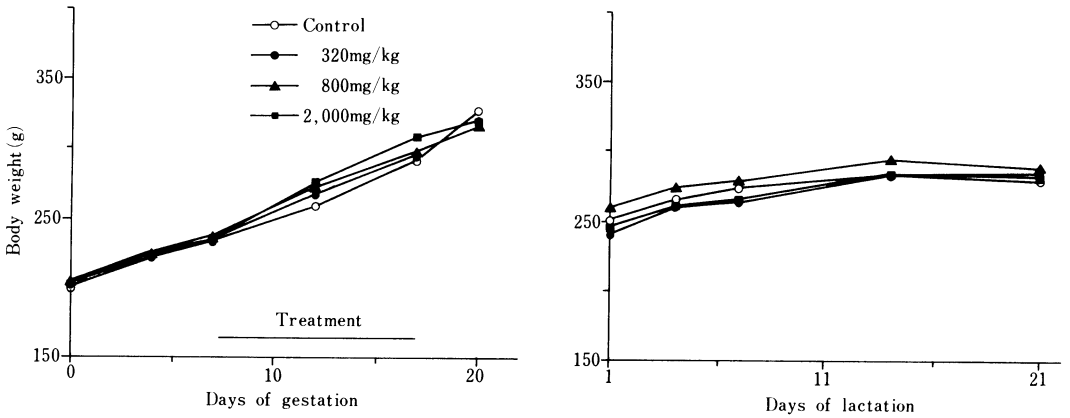


Fig. 4. Body weight in dams during gestation and lactation period (Seg. II)

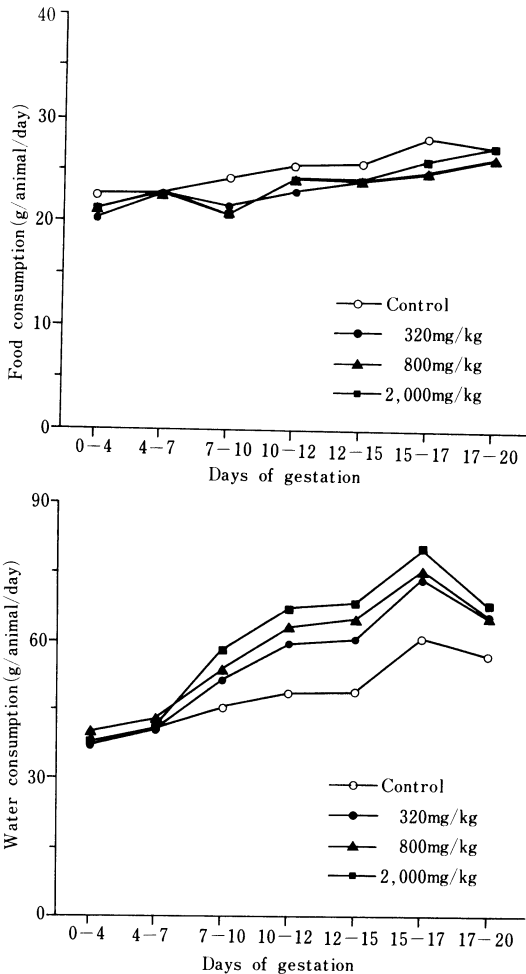


Fig. 5. Food and water consumption in dams during gestation period (Seg. II)

は、全てのSY5555投与群において妊娠7～12日の増加量が対照群に比べて高値であったが、妊娠期間中の増加量には群間に差を認めなかった (Fig. 4)。授乳期間中の体重には投与による影響は認められなかった。全てのSY5555投与群において投与期間中に摂餌量の軽度な低値が、妊娠7～20日の摂水量に投与量に依存した高値が認められた (Fig. 5)。なお、授乳期間中の摂餌量および摂水量には群間に差を認めなかった。

自然分娩させた母動物において、妊娠期間および出産率には群間に差を認めなかった。また、全母動物の剖検の結果、投与に起因した肉眼的な異常も認められなかった。

## 2) 胎児に及ぼす影響

着床数、着床後死胚率、生存胎児数、死胚数、性比、胎児体重および胎盤重量には投与による影響は認められなかった (Table 4)。なお、320および2,000mg/kg群の胎盤重量が対照群と比較して低値であったが、明らかな用量相関性がみられないことより偶発的な変化と判断した。

胎児の外表、内部器官および骨格検査において、SY5555投与に起因した異常は認められなかった。外表異常では2,000mg/kg群に小顎および鼻孔閉鎖の併発が1例、内部器官の異常では320mg/kg群に内臓逆位が1例、さらに、骨格異常では2,000mg/kg群に脊柱側弯が1例ならびに肋骨・胸椎の欠損および腰椎癒合の併発が1例観察されたのみであった。

## 3) 出生児に及ぼす影響

いずれの群においても死産児はなく、分娩状態に異常はみられなかった。出生率および出生児数にも投与による影響は認められなかったが、対照群の出生児数がやや低値であった (Table 5)。一般状態には投与に

Table 4. Intrauterine observations in dams treated orally with SY5555 (Seg. II)

Dose (mg/kg)		Control	SY5555 320	SY5555 800	SY5555 2,000
No. of dams examined		25	26	19	28
No. of dams with live fetuses		25	26	19	28
No. of corpora lutea	Total	358	378	260	403
	Mean ± SD	14.3 ± 3.5	14.5 ± 3.5	13.7 ± 3.0	14.4 ± 3.1
No. of implants	Total	274	304	208	319
	Mean ± SD	11.0 ± 4.2	11.7 ± 2.5	10.9 ± 5.0	11.4 ± 4.2
Pre-implantation loss (%)		25.6	16.4	22.8	23.1
No. of dead fetuses	Total (%)	12 (4.9)	19 (5.9)	16 (6.0)	12 (3.3)
	Early	12	18	16	12
	Late	0	0	0	0
	Dead	0	1	0	0
No. of live fetuses	Total	262	285	192	307
	Mean ± SD	10.5 ± 4.2	11.0 ± 2.5	10.1 ± 4.7	11.0 ± 4.1
Sex ratio %		48.1	47.2	59.0	56.6
	Male/Female	122/140	136/149	103/89	162/145
Fetal weight g	Male	3.7 ± 0.3	3.5 ± 0.3	3.5 ± 0.4	3.6 ± 0.3
	Female	3.4 ± 0.2	3.3 ± 0.3	3.3 ± 0.3	3.4 ± 0.3
Placental weight (g)		0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1*	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1*
No. of external anomalies		0	0	0	1 <sup>a)</sup>

\* : Significantly different from control at  $p < 0.05$  (Newman-Keuls test)

Pre-implantation loss = (No. of corpora lutea - No. of implants) / (No. of corpora lutea) × 100

Sex ratio = (No. of male fetuses) / (No. of male and female fetuses) × 100

a) Micrognathia and non-patent nares

Table 5. Delivery observations in dams treated orally with SY5555 (Seg. II)

Dose (mg/kg)		Control	SY5555 320	SY5555 800	SY5555 2,000
No. of dams examined		12	10	10	11
Delivery index (%)		100.0	100.0	100.0	90.9
Gestation period (days)	Mean ± SD	21.8 ± 0.4	21.5 ± 0.5	21.4 ± 0.5	21.8 ± 0.4
No. of implants	Total	118	124	119	133
	Mean ± SD	9.8 ± 4.1	12.4 ± 2.5	11.9 ± 2.7	13.3 ± 1.9
No. of live offspring	Total	111	122	112	128
	Mean ± SD	9.3 ± 4.3	12.2 ± 2.6	11.2 ± 3.2	12.8 ± 1.9
No. of dead offspring		0	0	0	0
Sex ratio (%)		53.2	49.2	45.0	47.1
Live birth index (%)		92.4	98.2	93.6	96.3
Offspring weight on day 1 (g) Mean ± SD		6.8 ± 0.7	5.8 ± 0.4*	5.8 ± 0.6*	5.8 ± 0.9*
Survival rate on day 4 (%)		99.3	98.5	98.3	97.3
Weaning rate on day 21 (%)		88.5	92.1	88.8	82.5

\* : Significantly different from control at  $p < 0.05$  (Newman-Keuls test)

Delivery index = (No. of dams delivered) / (No. of dams examined) × 100

Sex ratio = (No. of male live offspring) / (No. of all live offspring) × 100

Live birth index = (No. of live offspring) / (No. of implants) × 100

Survival rate = (No. of live offspring on day 4) / (No. of live offspring on day 0) × 100

Weaning rate = (No. of live offspring on day 21) / (No. of live offspring on day 4 after culling) × 100

よる影響は認められなかった。体重では、全てのSY5555投与群において生後1日に对照群に比べて低値がみられたが、出生児数の差による影響と考えられた。その後の体重には群間に差を認めなかった (Fig. 6)。また、4日目生存率および離乳率においても投与

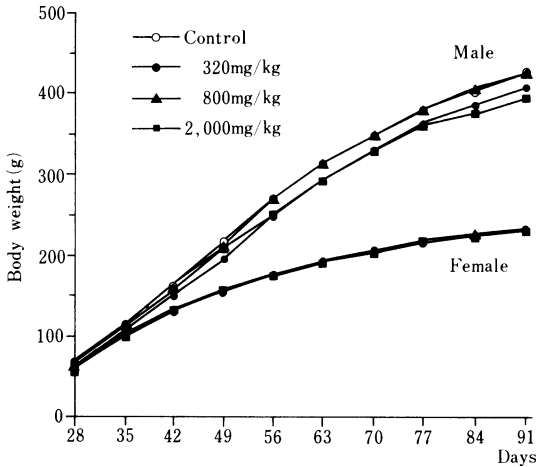


Fig. 6. Body weight in male and female offspring (Seg. II)

による影響は認められなかった (Table 5)。出生児の形態学的検査、機能検査および行動検査においても群間に明らかな差はみられず、投与による影響は認められなかった。

生殖機能検査においても、交配期間、交尾率および受胎 (授精) 率に差はみられず、投与による影響は認められなかった。帝王切開の結果、黄体数、着床数、着床後死胚率、生存胎児数、性比、胎児体重および胎盤重量には投与による影響は認められなかった (Table 6)。なお、2,000mg/kg 群の生存胎児数が对照群に比べて低値であったが、正常範囲内の変化であった。出生児の剖検においても投与に起因した肉眼的な異常は認められなかった。

### 3. 周産期および授乳期投与試験

#### 1) 母動物に及ぼす影響

投与に起因した死亡例および一般状態の異常は認められなかった。なお、1,620mg/kg 群の1例が投与過誤により死亡した。体重には、妊娠および授乳期間を通じて群間に差を認めなかった (Fig. 7)。全てのSY5555投与群において投与初期 (妊娠17~20日) に摂餌量の軽度な低値が認められたが、授乳期間中の摂餌量には群間に差を認めなかった (Fig. 8)。摂水量には、投与

Table 6. Intrauterine observations in F1 dams (Seg. II)

Dose (mg/kg)	Control	SY5555 320	SY5555 800	SY5555 2,000	
No. of dams examined	10	10	10	10	
No. of dams with live fetuses	10	10	10	10	
No. of corpora lutea	Total	156	147	158	148
	Mean±SD	15.6±1.6	14.7±1.4	15.8±2.4	14.8±3.9
No. of implants	Total	148	139	151	132
	Mean±SD	14.8±1.3	13.9±1.4	15.1±2.3	13.2±1.9
Pre-implantation loss (%)		4.7	5.2	4.2	8.4
No. of dead fetuses	Total (%)	2 (1.3)	5 (3.6)	8 (4.7)	8 (5.2)
	Early	2	5	7	7
	Late	0	0	1	1
	Dead	0	0	0	0
No. of live fetuses	Total	146	134	143	124
	Mean±SD	14.6±1.3	13.4±1.4	14.3±1.8	12.4±1.3*
Sex ratio (%)		45.0	52.5	48.2	58.7
	Male/Female	66/80	71/63	70/73	72/52
Fetal weight (g)	Male	3.6±0.3	3.4±0.2	3.5±0.2	3.6±0.2
	Female	3.4±0.2	3.3±0.3	3.3±0.2	3.5±0.2
Placental weight (g)		0.6±0.1	0.5±0.1	0.5±0.0	0.5±0.1
No. of external anomalies		1 <sup>a)</sup>	0	0	0

\* : Significantly different from control at  $p < 0.05$  (Newman-Keuls test)

Pre-implantation loss = (No. of corpora lutea - No. of implants) / (No. of corpora lutea) × 100

Sex ratio = (No. of male fetuses) / (No. of male and female fetuses) × 100

a) Umbilical hernia



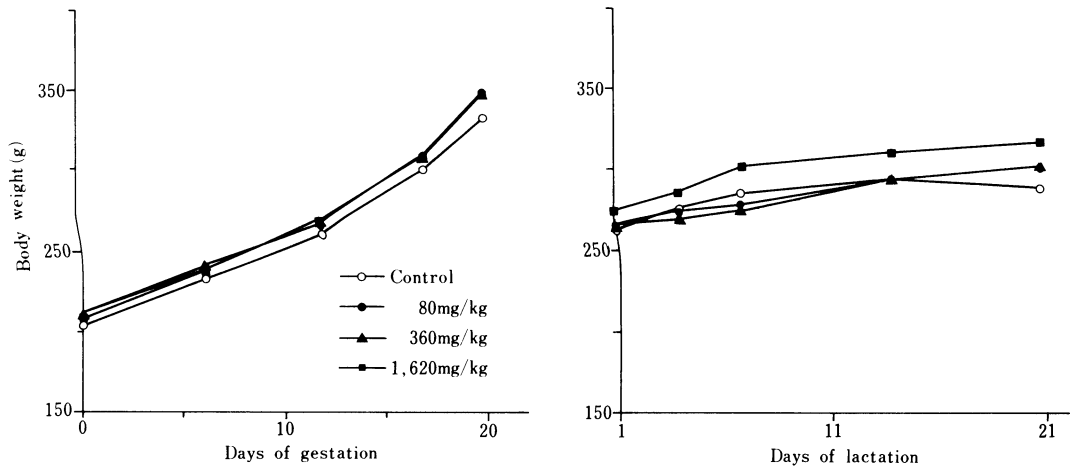


Fig. 7. Body weight in dams during gestation and lactation period (Seg. III)

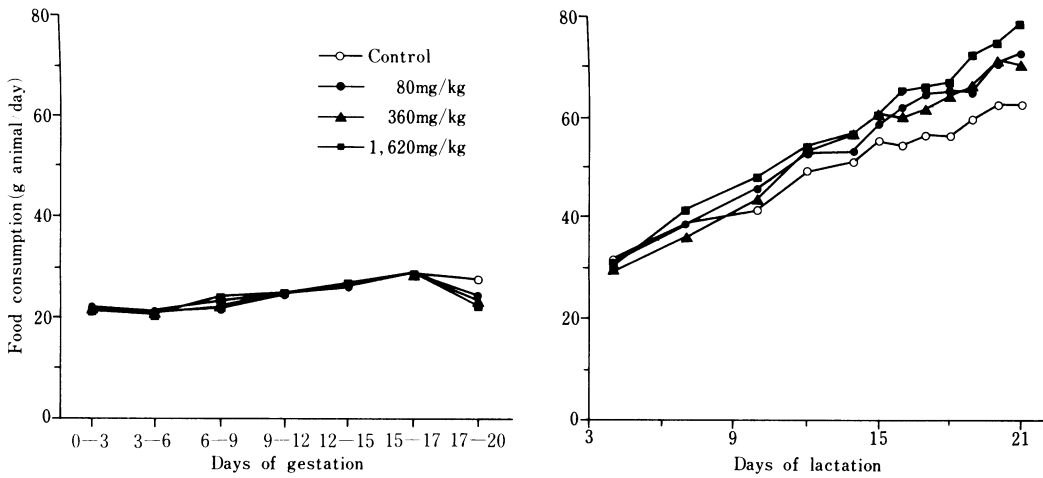


Fig. 8. Food consumption in dams during gestation and lactation period (Seg. III)

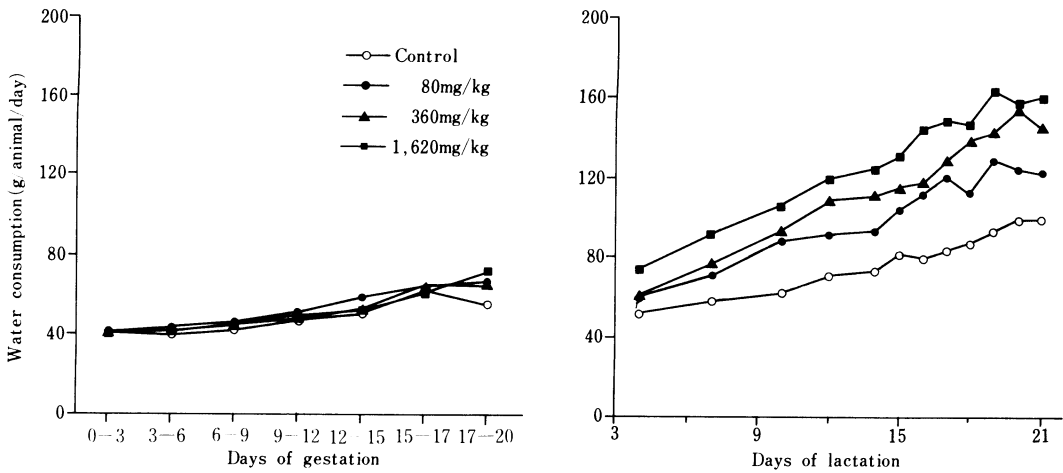


Fig. 9. Water consumption in dams during gestation and lactation period (Seg. III)

Table 7. Delivery observations in dams treated orally with SY5555 (Seg. III)

Dose (mg/kg)		Control	SY5555 80	SY5555 360	SY5555 1,620
No. of dams examined		23	22	21	23
Delivery index (%)		100.0	100.0	100.0	95.7 <sup>a)</sup>
Gestation period (days)	Mean±SD	21.7±0.5	21.7±0.6	21.6±0.5	21.9±0.3 (21) <sup>b)</sup>
No. of implants	Total	280	293	280	234
	Mean±SD	12.2±2.9	13.3±3.7	13.3±2.3	11.1±3.4 (21)
No. of live offspring	Total	247	282	266	218
	Mean±SD	10.7±2.7	12.8±3.6*	12.7±2.5*	10.4±3.0 (21)
No. of dead offspring		2	0	0	0 (21)
Sex ratio (%)		44.0	52.0	47.5	52.3 (21)
Live birth index (%)		89.1	96.5	94.7	93.8 (21)
Offspring weight on day 1 (g)	Mean±SD	6.3±0.8	5.9±0.9	5.6±0.8*	6.4±0.8 (21)
Survival rate on day 4 (%)		96.9	92.8	94.4	97.8 (21)
Weaning rate on day 21 (%)		74.2	75.3	76.7	89.8 (21)

\* : Significantly different from control at  $p < 0.05$  (Newman-Keuls test)

Delivery index = (No. of dams delivered) / (No. of dams examined) × 100

Sex ratio = (No. of male live offspring) / (No. of all live offspring) × 100

Live birth index = (No. of live offspring) / (No. of implants) × 100

Survival rate = (No. of live offspring on day 4) / (No. of live offspring on day 0) × 100

Weaning rate = (No. of live offspring on day 21) / (No. of live offspring on day 4 after culling) × 100

a) One pregnant female with 100% intrauterine deaths.

b) One female died on day of parturition and parenthesis represents numbers of animals.

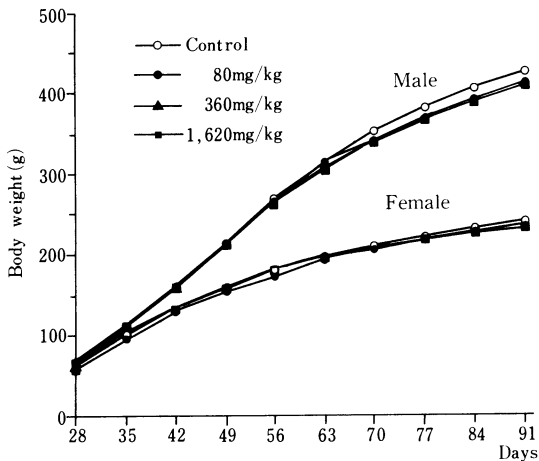


Fig. 10. Body weight in male and female offspring (Seg. III)

期間中に投与量に依存した増加が認められた (Fig. 9)。

妊娠期間および出産率には群間に差を認めなかった。なお、1,620mg/kg 群の1例は全胚死亡であった。また、剖検の結果、投与に起因した肉眼的な異常も認められなかった。

## 2) 出生児に及ぼす影響

全ての SY5555 投与群において死産児はなく、分娩状態に異常はみられなかった。80および360mg/kg 群の出生児数が対照群に比べて高値であったが、用量相関性がないことより投与による影響ではないと考えられる。なお、出生率には群間に差がみられなかった (Table 7)。一般状態には投与による影響は認められなかった。体重では、80および360mg/kg 群において生後1および4日に対照群に比べて低値がみられたが、出生児数の差による影響と考えられた。その後の体重には群間に差を認めなかった (Fig. 10)。また、4日目生存率および離乳率においても投与による影響は認められなかった (Table 7)。出生児の形態学的検査、機能検査 (Table 8) および行動検査 (Table 9, 10) においても群間に明らかな差はみられず、投与による影響は認められなかった。

生殖機能検査においても、交配期間、交尾率および受胎 (授精) 率に差はみられず、投与による影響は認められなかった。帝王切開の結果、黄体数、着床数、着床後死胚率、生存胎児数、性比、胎児体重および胎盤重量には投与による影響は認められなかった。胎児の外表異常では360mg/kg 群に2例 (象鼻、頭蓋奇形、眼球突出および小顎の併発1例ならびに眼球突出、無顎、鎖肛、痕跡尾および膈ヘルニアの併発1例) およ

Table 8. Functional development in F1 offspring (Seg. III)

Dose (mg/kg)		Control	SY5555 80	SY5555 360	SY5555 1,620
No. of dams examined		22	20	17	21
Surface righting reflex on day 8 post partum					
No. of offspring examined		189	177	165	184
No. of offspring with positive response		181	169	162	180
(%)	Mean ± SD	95.7 ± 6.9	95.4 ± 8.3	98.2 ± 3.9	98.0 ± 5.2
Negative geotaxis on day 15 post partum					
No. of offspring examined		153	162	158	167
No. of offspring with positive response		148	157	146	162
(%)	Mean ± SD	96.8 ± 7.5	95.1 ± 15.5	92.8 ± 12.7	97.2 ± 5.2
Gripping reflex on day 17 post partum					
No. of offspring examined		153	160	157	166
No. of offspring with positive response		124	131	137	137
(%)	Mean ± SD	82.0 ± 15.3	83.1 ± 16.9	86.8 ± 15.2	84.0 ± 16.5
Pupillary reflex on day 21 post partum					
No. of offspring examined		147	159	157	166
No. of offspring with positive response		147	159	156	166
(%)	Mean ± SD	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	99.3 ± 2.7	100.0 ± 0.0
Auditory response on day 21 post partum					
No. of offspring examined		147	159	157	166
No. of offspring with positive response		147	159	157	166
(%)	Mean ± SD	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0

Table 9. Rotarod and open-field test in F1 offspring (Seg. III)

Dose (mg/kg)		Control	SY5555 80	SY5555 360	SY5555 1,620
Rotarod test					
Staying time at 15 r.p.m.	Male	3.4 ± 2.6 (22)	4.9 ± 4.0 (20)	4.2 ± 2.9 (19)	4.9 ± 3.5 (21)
(sec)	Female	4.1 ± 2.6 (22)	6.5 ± 5.2 (20)	4.6 ± 4.2 (19)	4.3 ± 2.7 (21)
Open-field test					
No. of squares touched	Male	48.0 ± 12.9 (22)	44.6 ± 13.4 (20)	47.4 ± 14.5 (19)	48.5 ± 11.9 (21)
during 2 minutes	Female	47.3 ± 11.1 (22)	47.3 ± 19.2 (20)	45.4 ± 15.4 (19)	52.1 ± 15.6 (21)

Each value represents mean ± SD and parenthesis represents numbers of animals.

び2,000mg/kg群に1例(無胸骨)観察されたのみであった。

出生児の剖検においても投与に起因した肉眼的な異常は認められなかった。

### III. 考 察

SY5555の生殖に及ぼす影響について、ラットを用いた妊娠前および妊娠初期投与試験(Seg. I)、胎児の器官形成期投与試験(Seg. II)ならびに周産期および授乳期投与試験(Seg. III)により検討した。

#### 1. 親動物に及ぼす影響

いずれの試験においても投与に起因した死亡例はみられず、一般状態にも異常は認められなかった。Seg. I試験において1,620mg/kg群の雌に摂餌量の高値(妊

娠期間)が、Seg. IIおよびSeg. III試験においてSY5555の全ての投与群に摂餌量の軽度な低値が認められた。このような摂餌量の変化は他の抗生物質投与でも認められており<sup>8-11)</sup>、SY5555に特有な変化ではない。また、いずれも体重には投与による影響が認められないことより、毒性学的に問題となる変化ではないと考えられる。いずれの試験においても投与量に依存した摂水量の増加が認められたが、他の抗生物質投与においてもみられる変化<sup>8-11)</sup>であり、腸内細菌叢の変化によると考えられている。

親動物の交尾能、妊娠の成立および維持、分娩ならびに哺育等の生殖機能に対する影響はいずれの試験においても認められなかった。したがって、親動物の生

Table 10. Water maze test in F1 offspring (Seg. III)

	Sex	Dose (mg/kg)	No. of offspring	Memory	No. (%) of offspring with correct escape					
					Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	Trial 6
Day 1	Male	Control	22	—	2 ( 9.1)	10 (45.5)	15 (68.2)	17 (77.3)	16 (72.7)	19 (86.4)
		80	20	—	1 ( 5.0)	10 (50.0)	16 (80.0)	19 (95.0)	14 (70.0)	16 (80.0)
		360	20	—	1 ( 5.0)	5 (25.0)	16 (80.0)	15 (75.0)	17 (85.0)	17 (85.0)
		1,620	20	—	1 ( 5.0)	4 (20.0)	14 (70.0)	13 (65.0)	16 (80.0)	18 (90.0)
	Female	Control	22	—	1 ( 4.5)	10 (45.5)	13 (59.1)	17 (77.3)	14 (63.6)	16 (72.7)
		80	20	—	2 (10.0)	11 (55.0)	19 (95.0)	13 (65.0)	13 (65.0)	13 (65.0)
		360	20	—	1 ( 5.0)	7 (35.0)	15 (75.0)	15 (75.0)	15 (75.0)	16 (80.0)
		1,620	20	—	3 (15.0)	11 (55.0)	16 (80.0)	16 (80.0)	15 (75.0)	14 (70.0)
Day 2	Male	Control	22	10 (45.5)	0 ( 0.0)	8 (36.4)	14 (63.6)	15 (68.2)	17 (77.3)	21 (95.5)
		80	20	14 (70.0)	0 ( 0.0)	4 (20.0)	9 (45.0)	18 (90.0)	16 (80.0)	19 (95.0)
		360	20	12 (60.0)	1 ( 5.0)	5 (25.0)	7 (35.0)	14 (70.0)	15 (75.0)	15 (75.0)
		1,620	20	11 (55.0)	0 ( 0.0)	6 (30.0)	12 (60.0)	11 (55.0)	19 (95.0)	16 (80.0)
	Female	Control	22	16 (72.7)	1 ( 4.5)	7 (31.8)	17 (77.3)	14 (63.6)	16 (72.7)	18 (81.8)
		80	20	14 (70.0)	1 ( 5.0)	4 (20.0)	6 (30.0)	12 (60.0)	13 (65.0)	15 (75.0)
		360	20	15 (75.0)	1 ( 5.0)	7 (35.0)	16 (80.0)	16 (80.0)	14 (70.0)	16 (80.0)
		1,620	20	14 (70.0)	1 ( 5.0)	9 (45.0)	13 (65.0)	15 (75.0)	13 (65.0)	16 (80.0)

殖機能に対する無毒性量は Seg. I および Seg. III 試験では1,620mg/kg, Seg. II 試験では2,000mg/kg と考えられる。

## 2. 胎児に及ぼす影響

Seg. I および Seg. II 試験において、着床数、着床後死胚率、生存胎児数、死胚数、性比、胎児体重および胎盤重量のいずれの観察項目においても投与による影響は認められなかった。抗生物質を大量投与した場合には胎児の発育が遅延する報告<sup>9,10)</sup>がみられるが、SY5555 を大量投与しても胎児に対する影響は認められなかった。また、胎児の外表、内部器官および骨格の異常が散見されたが、いずれの出現頻度も対照群との間に差はみられず、少数例のみの出現または用量相関性のない変化であることより、投与による影響ではないと考えられる。

したがって、SY5555 投与による胎児致死作用ならびに催奇形作用は認められず、胎児に対する無毒性量は Seg. I 試験では1,620mg/kg ならびに Seg. II 試験では2,000mg/kg と考えられる。

## 3. 出生児に及ぼす影響

Seg. II および Seg. III 試験において、出生児数、生存率ならびに出生児の形態学的、機能的および行動学的発達に対して投与による影響は認められなかった。また、生殖機能にも異常はみられず、F<sub>2</sub>胎児の体重および外表異常の出現率等においても投与による影響は認められなかった。

したがって、出生児に対する無毒性量は Seg. II 試験

では2,000mg/kg ならびに Seg. III 試験では1,620mg/kg と考えられる。

## 文 献

- 1) Spicer E J F: SUN5555 のラットを用いた3か月間反復経口投与毒性試験および1か月間回復試験。サントリー株式会社社内資料
- 2) Müller W: SUN5555 のラットを用いた胎児の器官形成期経口投与予備試験。サントリー株式会社社内資料
- 3) Salewski E: Färbemethode zum makroskopischen Nachweis von Implantationstellen am Uterus der Ratte. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pathol Pharmacol 247: 367, 1964
- 4) Wilson J G: Environment and Birth Defects. p. 227~232, Academic Press, New York, 1973
- 5) Wilson J G, Warkany J: Teratology: Principles and Techniques. p. 162~163, The University of Chicago Press, Chicago, 1965
- 6) Sachs L: Angewandte Statistik. p. 99~385, Springer Verlag, Berlin, 1984
- 7) Conover W J: Practical Nonparametric Statistics. p. 174~291, John Wiley & Sons, New York, 1971
- 8) 古橋忠和, 加藤育雄, 五十嵐裕子, 仲吉 洋: Cefuroxime axetil (CXM-AX) の生殖試験 (II) ラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験。Chemotherapy 34 (S-5): 235~250, 1986
- 9) 野村 章, 古橋忠和, 池谷恵理, 沢木あけみ, 仲吉 洋: Cefaclor の催奇形性および生殖におよぼす影響 (第1報) マウス, ラットおよびウサギにける器官

- 形成期経口投与による検討。Chemotherapy 27 (S-7) : 846~864, 1979
- 10) 長谷川靖彦, 竹川裕司: Cephem系経口抗生物質7432-Sの生殖に及ぼす影響(2)ラットにおける胎仔器官形成期投与試験。Chemotherapy 37 (S-1) : 990~1025, 1989
- 11) 服部充晴, 井上重美, 片野 拓, 橋 一郎, 磯和弘一, 駒井義生, 伊藤美奈子, 小杉 功, 藤田正敬: 経口セフェム系抗生物質ME1207の安全性に関する研究第6報 ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験。Chemotherapy 40 (S-2) : 272~283, 1992

Reproductive and developmental toxicity study in rats  
treated orally with SY5555

Masaharu Okamoto, Tadahiko Otaka

Suntory Bio · Pharma Tech Center

2716-1 Kurakake, Akaiwa, Chiyoda-machi, Ohra-gun, Gunma 370-05, Japan

Müller, W., Osterburg, I. and Korte, R.

HAZLETON Laboratories Deutschland GmbH

Effects of SY5555 on reproductive abilities in rats were examined in fertility (Seg. I), teratology (Seg. II), and perinatal and postnatal (Seg. III) studies. The following results were obtained.

1) No deaths were observed in any study. In parent animals, slightly lower food and higher water consumption was observed in all treated groups, but there were no effects on general signs or body weight.

2) There were no effects on reproductive performance in parent animals or the development of fetuses and offspring in any study.

3) Non-toxic dosage level was 1,620 mg/kg for reproductive performance in parent animals and fetuses in the Seg. I study, 2,000 mg/kg for reproductive performance in dams, fetuses and offspring in the Seg. II study, and 1,620 mg/kg for reproductive performance in dams and offspring in the Seg. III study.