Mofezolac (N-22)の生殖・発生毒性試験 (第2報)

— ラット経口投与による胎仔器官形成期投与試験 —

迎野 勲, 齒黒 重樹, 古川 茂典, 守永太賀彦,
森野 久弥, 藤井 重信, 山北 修*

株式会社 環境保健生物研究センター

*大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所

REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY STUDY OF MOFEZOLAC (N-22) (2)

— Study by Oral Administration of N-22 during
the Period of Fetal Organogenesis in Rats —

Isao TOTENO, Sigeki HAGURO, Shigenori FURUKAWA, Tagahiko MORINAGA,
Kyuya MORINO, Shigenobu FUJII and Osamu YAMAKITA *

The Biological Research Center for the Protection of Environment,
555, Inaba, Ukawa, Minakuchi-cho, Kohka-gun, Shiga 528, Japan

*Drug Safety Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.,
224-2, Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima-shi 771-01, Japan

Accepted February 7, 1990

Abstract.....The teratogenicity of mofezolac (N-22), a new developed analgesic and anti-inflammatory agent, was investigated in rats.

N-22 was given orally to pregnant rats of the Jcl : Wistar strain (30 rats per group) at dose levels of 10, 50, 100 and 150 mg/kg/day from days 7 to 17 of gestation. Caesarean sections were performed on 20 dams per group on day 20 of gestation and their fetuses were examined for external, visceral and skeletal abnormalities. The remaining 10 dams per group were allowed to deliver and their offspring were examined for growth and reproductive performance. Results were as follows.

1. Effects on F₀ generation

At 150 mg/kg, eleven out of the 30 dams exhibited decreased motor activity, pale eyes, unkempt fur, urine-smear lower abdomen, weakness and emaciation.

連絡先: ☎771-01 *徳島市川内町平石字夷野224-2

大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所 山北 修

At autopsy, twelve dams revealed gastrointestinal ulcers, peritonitic lesions, hypertrophy of the spleen, adrenal and mesenteric lymph node, atrophy of the submaxillary gland, thymus and liver and discoloration of the liver and kidney. Death, sacrificing in extremis, premature or delayed delivery and poor nursing occurred in one to two dams each. Food consumption was significantly decreased and body weight gain was significantly retarded in this dose level group.

At 100 mg/kg, urine-smeared lower abdomen, hypertrophy of the spleen and poor nursing were observed in one dam each.

2. Effects on F₁ generation

At 150 mg/kg, significantly decreased fetal weight, increased number of immature fetuses and significantly retarded ossification of the 5th and 6th sternbrae and coccygeal vertebrae as well as significantly depressed body weight gain of female offspring were observed.

No abnormalities were observed in each treated group in terms of development, behavior, learning ability and reproductive performance of offspring.

3. Effects on F₂ generation

No abnormalities were observed in fetuses and newborn young in each treated group.

Based on these results, the maximum non-effective doses of N-22 in this study were considered to be 50 mg/kg/day for dams and offspring and 100 mg/kg/day for fetuses.

Key words : Mofezolac, N-22, analgesic and anti-inflammatory agent, teratological study, oral administration, rat.

緒 言

Mofezolac (以下、N-22と記す)は、大鵬薬品工業株式会社で新しく開発されたイソキサゾール骨格を有する非ステロイド性酸性鎮痛抗炎症薬である。

今回著者らは、N-22の安全性評価の一環として、本薬を妊娠ラットの胎仔の器官形成期に経口投与し、母獣および胎仔の発育におよぼす影響を検討するとともに次世代動物の成長および繁殖能におよぼす影響を検討したので報告する。

試験材料および方法

1. 被験物質

被験物質N-22は、Fig. 1に示す構造式を有し、化学名 [3, 4-di(4-methoxyphenyl)-5-isoxazolyl]acetic acid, 分子量339.35, 融点145~149℃の白色の結晶性の粉末で、においてはまたはずかに特異なにおいがある。本薬の溶解性は、ジメチルホルムアミドに極めて溶けやすく、クロロホルムに溶けやすく、メタノール、エタノールまたはアセトンに

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

やや溶けやすく、エーテルまたは希水酸化ナトリウム試液にやや溶けにくく、水またはヘキサンにほとんど溶けない。

今回の試験には、大鵬薬品工業株式会社から提供されたN-22 (Lot No. 1076-B-1) を用いた。

なお、N-22の懸濁液調製には、キシダ化学(株)製のC. M. C. (Lot No. 67015 N) を用いた。

Fig. 1. Chemical structure of mofezolac (N-22).

2. 使用動物および飼育条件

日本クレア(株)よりJcl: Wistar系のSPF雌雄ラットを8週齢で購入し、2週間の予備飼育の後、健康と思われる動物を選んで10~13週齢で試験に供した。

動物の飼育は、室温 23 ± 1 ℃、湿度 $55 \pm 10\%$ 、照明時間14時間(7時点燈, 21時消燈)、換気15回/時間としたbarrierの飼育室において、アルミ製金網底ケージ(375×235×180mm)に個別に収容して行い、自然分娩母獣の場合は、出生仔の哺育のために巣作り材料の木製床敷を入れたアルミ製平底ケージ(340×460×180mm)に妊娠19日目から離乳時まで個別に収容して行った。飼料は、オリエンタル酵母工業(株)製の繁殖用固型飼料NMFを、飲料水は、ポリカーボネート製給水瓶から水道水(水口町営)を、それぞれ自由に摂取させた。

動物の交配は、10週齢に達した成熟処女ラットのうち膣垢検査により発情前期と認められた雌と同週齢の雄とを、1対1の割合で夕刻16時30分頃から翌朝9時頃まで同居させて行い、膣洗滌液中に精子あるいは膣栓の認められた雌を交尾が成立したとみなし、この日を妊娠0日目と起算した。

妊娠雌(妊娠0日目の体重: 220~246g)の使用数は1群30匹とし、各群の平均体重がほぼ均等になるように無作為に群分けした。

3. 投与量の設定

本試験における投与量の設定のため、N-22のラットにおける亜急性毒性試験の成績を参考にして予備催奇形性試験を行った。すなわち、本試験と同系、同週齢の妊娠ラットを1群10~11匹ずつ用い、N-22の0(対照)、50, 100, 150mg/kgを妊娠7日目から17日目まで毎日1回強制経口投与し、各群半数の母獣は妊娠20日目に帝王切開し、残りの母獣は自然分娩後7日目まで出生仔を哺育させ、母獣、胎仔および出生仔への投薬の影響を検討して以下の結果を得た。

150mg/kg群では投与期間中から妊娠末期にかけて11匹中4匹の母獣に挙動不活発、下腹

部の尿汚染あるいは眼の退色が認められた。帝王切開時にはそのうち1匹に削瘦、顎下線と胸腺の萎縮、脾臓と副腎の肥大、小腸の穿孔性腹膜炎などが観察され、生存胎仔は全例が未熟仔であった。また、他の1匹に胸腺の萎縮と脾臓の肥大の合併が観察された。さらに、同群の摂餌量は投与開始後から妊娠末期まで有意に減少し、投与期間中の体重増加量も有意に減少した。しかし、同群の上述以外の胎仔、産仔、分娩状態、哺育状態に異常は認められなかった。100mg/kg群では11匹中1匹の母獣に胸腺の萎縮と副腎の肥大の合併が観察された。しかし、同群ではその他に投薬の影響は認められなかった。50mg/kg群では投薬の影響は認められなかった。なお、外表異常としては、100mg/kg群の産仔に尾端部血腫が1例観察されたのみであった。

以上の結果から、今回の試験におけるN-22の過大量は母獣と胎仔に影響が確実に発現すると考えられる150mg/kg/day、大量は母獣に影響が若干あると考えられる100mg/kg/day、中量および小量は無影響量と考えられる50mg/kg/dayおよび10mg/kg/dayとそれぞれ設定し、別に0mg/kg/day(対照)をおいた(Table 1)。

4. 薬液の調製および投与容量 (Table 1)

投与の都度、N-22を磁製乳鉢に秤取し、0.5% C.M.C.溶液を加えてよく磨砕し、1回の投与容量が1ml/100gとなるように懸濁液を調製した。対照群には同容量の0.5% C.M.C.溶液のみを用いた。

Table 1. Experimental design for a teratological study of N-22 in rat dams.

Dose (mg/kg)	Concentration of N-22 suspension (W/V%)	Dosage volume of N-22 suspension (ml/100g)	No. of rat dams
0 ^a	—	1.0	30
10	0.1	1.0	30
50	0.5	1.0	30
100	1.0	1.0	30
150	1.5	1.0	30

a : 0.5% C. M. C. solution

5. 投与方法および投与期間

臨床適用経路にしたがい、ラット用金属製胃ゾンデによる胃内への強制経口投与を、妊娠7日目から17日目までの11日間に毎日1回、10～12時の間の定刻に行った。

各個体への投薬量は、投与開始日の体重を基準に算定した。

6. 検査項目

1) 妊娠母獣 (F₀) の観察

一般症状および早流産例、瀕死例、死亡例の有無の観察は毎日行い、これらの異常例が認められた場合はその時点で剖検した。体重は妊娠0, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 14,

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

16, 18, 20日目に測定し、摂餌量は妊娠1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 20日目に測定した。

2) 帝王切開母獣 (F_0) および胎仔 (F_1) の観察

各群20母獣を妊娠20日目に屠殺し剖検を行うとともに、帝王切開して卵巣を摘出し黄体数を調べ、子宮を切開して早期死胚仔（着床痕、胎盤遺残、吸収胚）、後期死胚仔（浸軟胎仔、死亡胎仔）、生存胎仔のそれぞれの数とそれらを併せた着床数および子宮内分布を記録し、併せて着床率（着床数/黄体数 $\times 100$ ）、生存胎仔率（生存胎仔数/着床数 $\times 100$ ）を算出した。生存胎仔については性別、個別の体重、口腔内および外表異常の有無を記録し、併せて性比（雄/雌）、未熟仔（体重が対照群における生存胎仔の平均体重の70%未満の胎仔）数を算出した。

各腹半数の生存胎仔を無作為に選びBouin液で固定の後Wilson法の猪俣・安田変法（Inomata and Yasuda, 1971）により頭部、胸部、腹部の内臓異常の有無の検査を行い、残り半数の生存胎仔は胸部、腹部の内臓を観察の後70%エタノール溶液で固定しDawson法にしたがいalizarin red S染色の骨格標本を作製し、骨格異常、骨格変異、骨化状態の検査を行った。14肋骨についてはKimmelらの方法（Kimmel and Wilson, 1973）にしたがいrudimentaryとextraに分類して検討した。

3) 自然分娩母獣 (F_0) および出生仔 (F_1) の観察

各群10母獣を自然分娩させ、分娩終了時にその日を分娩0日目（産仔では生後0日目）と起算し、妊娠期間、産仔の数、生死、性別、外表異常の有無を記録し、併せて周産期死亡仔（分娩終了観察時の死亡例）数、総産仔数（出產生仔数+周産期死亡仔数）、死産仔率（周産期死亡仔数/総産仔数 $\times 100$ ）、性比（雄/雌）を算出した。母獣の体重および出生仔の個別の体重の測定は分娩（生後）0, 4, 7, 14, 21日目に行い、母獣の摂餌量の測定は体重測定日と同日に行った。哺育期間中は、母獣の一般症状および巣作り、授乳行動、回収行動などの母性行動を毎日観察し、出生仔をすべて死亡させた母獣はその時点で剖検した。また、出生仔の一般症状および死亡例の有無を毎日観察し、死亡例は剖検して死因の解明に努めた。litter sizeは生後4日目に1腹8匹（原則として雌雄各4匹）を無作為に選んで調整し、余った淘汰仔は剖検した。出生仔の生存率については、4日生存率（生後4日目の淘汰前の生仔数/出產生仔数 $\times 100$ ）、7日生存率（生後7日目の生仔数/淘汰直後の生仔数 $\times 100$ ）、21日生存率（離乳時生仔数/生後7日目の生仔数）を算出した。分娩後21日目の離乳時に全母獣を剖検し、同時に子宮の着床痕数を記録し、併せて出生率（出產生仔数/着床痕数 $\times 100$ ）を算出した。

4) 次世代動物 (F_1) の観察

次世代動物を生後21日目に1匹ずつ個別ケージに収容して離乳の後、一般症状および死亡例の有無の観察を毎日、体重の測定を毎週1回行った。死亡例は剖検した。

分化状態の検査は耳介展開、腹部毛生、切歯萌出、眼瞼開裂についてそれぞれ生後2, 8, 8, 11日目から、反射機能（初期行動）の検査は平面での正向反射、空中での正向反射、

視覚性置き直し反射, Preyer反射, 角膜反射, 疼痛反射について生後21日目に, 性成熟の検査は精巣下降, 腔開口についてそれぞれ生後28, 35日目から, いずれも全動物について行った。

行動(情動性)の検査のためButcherらの方法(Butcher et al., 1971)によるオープンフィールド試験を, 各腹の雌雄各1匹について6週齢に行った。すなわち, 45inch平方の床面を25区画に分けたフィールド内において1日1試行(3分間)を連続3日間課し, 区画移動数, 立ち上り回数, 洗顔回数, 身づくろい回数, 脱糞回数, 排尿回数を指標とした。

学習能の検査のためBielの方法(Biel, 1940)によるWater filled multiple T-maze試験を, 各腹の雌雄各1匹について8週齢に行った。すなわち, 1日目には直線路において5試行, 2~5日目には迷路において1日3試行を課し, 目標到達所要時間(以下, 所要時間と略す)および方向誤り回数(以下, 誤り回数と略す)を指標とした。

行動, 学習能の検査に用いた動物は10週齢で剖検した。

5) 次世代動物(F_1)繁殖能の検査

各腹より雌雄各2匹を選び10週齢から同用量群内で兄妹交配を避けて雌雄1対1に無作為に組合せ14日間同居交配させた。初回の交配において交尾不成立の雄には無処置の雌を, 雌には同用量群内の交尾実績のある雄を配し, それぞれ7日間同居交配させた。

雌については8週齢から交尾成立まで腔垢像検査による性周期の観察を行い, 交尾が確認された母獣(F_1)の体重の測定は妊娠0, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20日目および分娩0, 4, 7, 14, 21日目に行った。母獣は各群半数を妊娠20日目に帝王切開して黄体数ならびに着床痕, 胎盤遺残, 吸収胚, 浸軟胎仔, 死亡胎仔, 生存胎仔のそれぞれの数とそれらを併せた着床数および子宮内分布を記録した。生存胎仔(F_2)については体重, 性別, 外表異常の有無を調べた後, 各腹半数の胎仔は内臓検査を, 残りの半数の胎仔は骨格検査を行った。母獣の各群残り半数は自然分娩させて妊娠期間, 産仔の数, 生死, 性別, 体重, 外表異常の有無を記録した。母獣と出生仔(F_2)は分娩後21日目に剖検し, 同時に母獣の着床痕数を調べた。

なお, 雌雄それぞれについて2回の交配期間を通じての成績に基づき, 交尾率(交尾動物数/同居動物数 $\times 100$), 妊娠率(妊娠動物数/同居動物数 $\times 100$)を算出した。

繁殖能の検査を終了した雄(F_1)は13週齢で剖検した。

6) 剖検および病理組織学的検査

全動物は剖検して病理肉眼所見を記録し, 哺育仔以外の動物の脳, 下垂体, 顎下腺, 胸腺, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 脾臓, 精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺, 卵巣, 子宮, 胃, 小腸, 大腸を10%ホルマリン液に固定, 保存した。剖検時に異常が認められた臓器のうち必要と考えられるものおよび繁殖能の検査において妊娠不成立の雌雄の精巣, 精巣上体, 卵巣, 子宮のすべてを病理組織学的に検査した。

7. 統計処理

平均値の差の検定にはStudentのt検定法(分散比の大きいときはAspin-Welch法), 百分

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

率の差の検定には χ^2 検定法, Fisherの直接確率検定法およびWilcoxonの順位和検定法を用いた。離乳期までは1腹の値を標本単位として扱った。

試験成績

1. 母獣 (F_0) におよぼす影響

1) 一般症状, 妊娠所見, 分娩所見および哺育所見

10および50mg/kg群では一般症状, 妊娠経過, 分娩状態, 哺育状態に異常は認められなかった。

100mg/kg群では30匹中1匹に下腹部の尿汚染が妊娠15日目(投与9日目)に一過性に認められた。また, 他の1匹は妊娠期間中の一般症状, 妊娠経過, 分娩状態に異常はみられなかったが, 哺育不良により産仔の全例(12匹)を分娩後4日目までに死亡させた。その他には同群の母獣の一般症状, 妊娠経過, 分娩状態, 哺育状態に異常は認められなかった。

150mg/kg群では30匹中11匹に妊娠15日目(投与9日目)前後から妊娠末期まで一般症状の変化がみられた。共通してみられた変化は挙動不活発, 眼の退色, 毛生状態の粗剛, 下腹部の尿汚染, 衰弱, 消瘦であった。その結果, 1匹は妊娠17日目(投与11日目)に死亡, 1匹は妊娠19日目に切迫屠殺, 1匹は妊娠20日目に胎仔の一部を早産, 1匹は分娩遅延の後妊娠24日目に産仔の全例(9匹)を死産した。その他に自然分娩させた母獣9匹中2匹の哺育状態はやや不良であった。同群のその他の母獣の一般症状, 妊娠経過, 分娩状態, 哺育状態に異常は認められなかった。

2) 摂餌量 (Fig. 2)

10, 50および100mg/kg群の摂餌量は投薬開始後, 対照群のそれとほぼ同様に推移した。

150mg/kg群の摂餌量は妊娠9~10日目(投与3~4日目)から妊娠末期まで有意の大幅な減少を示した。しかし, 哺育期間中の摂餌量は対照群のそれとほぼ同等であった。

3) 体重推移 (Fig. 3)

各投薬群の体重推移には摂餌量との相関性がみられた。すなわち, 10, 50および100mg/kg群の体重は終始対照群のそれとほぼ同様に推移し, 一方, 150mg/kg群の体重は妊娠10日目(投与4日目)から分娩0日目まで有意の増加抑制を示したが, それ以降は回復に転じ, 哺育末期には対照群との間に差は認められなかった。

4) 剖検所見および病理組織学的検査

投薬の影響と考えられる変化は主として150mg/kg群において一般症状に異常がみられた母獣など12匹に認められた。それらは小腸の潰瘍および穿孔性潰瘍による腹腔内臓器の癒着7例, 胃粘膜の潰瘍2例, 腹水貯留3例などの腹膜炎症状のほか顎下腺, 胸腺, 肝臓の萎縮それぞれ4, 8, 1例, 脾臓, 副腎, 腸間膜リンパ節の肥大それぞれ6, 6, 3例, 肝臓, 腎臓の退色それぞれ4, 2例であり, 病理組織学的には胃, 回腸に比較的急性の細胞壊死による潰瘍, 肝臓に被膜肥厚と細胞浸潤, 脾臓に被膜肥厚と髄外造血などが観察された。これらの変化の発現は同群の途中死亡例, 切迫屠殺例, 早産例, 分娩遅延例を含む

Fig. 2. Mean food consumption during gestation and lactation of F_0 rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Fig. 3. Mean body weight changes during gestation and lactation of F_0 rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

7 母獣において特に顕著であった。

100mg/kg群では分娩後4日目までに全産仔を哺育不良により死亡させた1母獣に乳腺の

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

未発達が認められ、他の1母獣に脾臓の肥大が認められた。10mg/kg群では1母獣に右側腎臓の萎縮および左側腎臓の肥大の合併症が認められた。

その他には副脾、片側性着床が各群に散見された。

2. 胎仔 (F₁) におよぼす影響

1) 帝王切開所見 (Table 2)

投薬の影響と考えられる変化は150mg/kg群における胎仔(雌雄)体重の有意の低下および未熟仔数の増加であった。同群での未熟仔の出現頻度は χ^2 検定で有意であったが、順位和検定では有意ではなかった。なお、これらの未熟仔の大多数は一般症状および剖検所見に異常のみられた4母獣の腹仔であった。

その他の黄体数、着床数、着床率、生存胎仔数、死胚仔数、生存胎仔率、性比では対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

外表異常はいずれの群にも認められなかった。

2) 内臓検査 (Table 3)

内臓変異として、胸腺の頸部残留、半奇静脈の遺存、冠状動脈口(右または左)の過剰、左側腎臓の上昇不全、腎盂拡張、尿管の拡張・屈曲、左側臍動脈が対照群あるいは投薬群に少数例ずつ散見された。内臓異常として、側脳室の拡張が対照群に1例(0.74%)、10mg/kg群に1例(0.70%)、側脳室と第三脳室の拡張(Photo. 1)が10mg/kg群に1例(0.70%)、150mg/kg群に1例(0.85%)出現したほかに口蓋裂(Photo. 2)が対照群に1例(0.74%)出現した。これらの内臓変異および内臓異常の出現頻度では対照群と各投薬群との間に有意差は認められず用量依存の関係も認められなかった。

3) 骨格検査 (Table 3)

50および150mg/kg群に骨化遅延傾向がみられ、両群の第5胸骨骨核と尾椎骨の骨化数はいずれも有意に減少したほか、150mg/kg群では第6胸骨骨核の骨化数も有意に減少した。一方、10mg/kg群では歯状突起の骨化数が有意に増加する反面、第5胸骨骨核の骨化数が有意に減少した。他方、100mg/kg群の骨化状態と対照群のそれとの間に有意差は認められなかった。なお、150mg/kg群において一般症状、剖検所見に異常のみられた母獣の未熟な腹仔に上記の骨化遅延が明らかに認められた。

骨格変異では胸椎椎体および14肋骨の変異が比較的に出現率が高く、すなわち、胸椎椎体の啞鈴型が対照群、10、50、100、150mg/kg群にそれぞれ6、11、3、2、2例、胸椎椎体の分離型がそれぞれ0、1、1、0、2例、rudimentary 14肋骨がそれぞれ19、6、7、7、6例、extra 14肋骨がそれぞれ1、0、0、1、1例出現し、その他に前頭骨、頭頂骨の余剰骨、頸肋骨、腰椎椎体の啞鈴型、27仙椎前椎骨、胸骨骨核の非対称と分離型の少数例が対照群あるいは投薬群に散見されたが、いずれも出現率は対照群に対して有意ではなかった。

骨格異常はいずれの群にも認められなかった。

Table 2. Findings at caesarean section in F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)	0 ^a	10	50	100	150
No. of F ₀ dams examined	20	20	20	20	17 ^b
No. of corpora lutea (Mean ± S.D.)	312 15.60 ± 1.78	311 15.55 ± 0.99	310 15.50 ± 1.67	325 16.25 ± 0.78	269 15.82 ± 1.50
No. of implantations (Mean ± S.D.)	299 14.95 ± 1.57	299 14.95 ± 1.27	295 14.75 ± 1.86	311 15.55 ± 1.23	236 13.88 ± 4.01
Implantation rate ^c (%)	95.83	96.14	95.16	95.69	87.73
No. of live fetuses	283	290	280	300	225
Total (Mean ± S.D.)	14.15 ± 1.78	14.50 ± 1.31	14.00 ± 2.00	15.00 ± 1.55	13.23 ± 3.70
Male (Mean ± S.D.)	7.05 ± 1.73	7.55 ± 2.23	7.20 ± 1.93	8.20 ± 2.14	7.05 ± 2.65
Female (Mean ± S.D.)	7.10 ± 1.33	6.95 ± 2.16	6.80 ± 2.11	6.80 ± 2.04	6.17 ± 2.81
No. of postimplantation loss	16	9	15	11	11
Total (Mean ± S.D.)	0.80 ± 0.95	0.45 ± 0.60	0.75 ± 0.78	0.55 ± 0.75	0.64 ± 1.05
Embryonic deaths ^d (Mean ± S.D.)	0.75 ± 0.85	0.40 ± 0.59	0.70 ± 0.73	0.50 ± 0.76	0.35 ± 0.70
Fetal deaths ^e (Mean ± S.D.)	0.05 ± 0.22	0.05 ± 0.22	0.05 ± 0.22	0.05 ± 0.22	0.29 ± 0.77
Rate of live fetuses ^f (%)	94.64	96.98	94.91	96.46	95.33
Sex ratio (Male/Female)	0.99 (141/142)	1.08 (151/139)	1.05 (144/136)	1.20 (164/136)	1.14 (120/105)
Fetal weight (g)					
Male (Mean ± S.D.)	3.78 ± 0.21	3.66 ± 0.33	3.77 ± 0.20	3.78 ± 0.19	3.47 ± 0.48*
Female (Mean ± S.D.)	3.62 ± 0.17	3.54 ± 0.25	3.55 ± 0.20	3.58 ± 0.20	3.23 ± 0.46**
No. of immature fetuses ^g (%)	0(0)	2(0.68)	0(0)	0(0)	25(11.11)
No. of fetuses with external abnormalities(%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

a : 0.5% C. M. C. solution

b : Excludes three dams, a first which died on day 17 of gestation, a second which was sacrificed on day 19 of gestation because death appeared imminent and a third which had premature delivery on day 20 of gestation

c : (No. of implantations / No. of corpora lutea) × 100

d : Early deaths (implantation sites, resorptions and placental remnants)

e : Late deaths (macrated fetuses and dead fetuses)

f : (No. of live fetuses / No. of implantations) × 100

g : Fetuses weighing less than 70% of mean body weight in Control group

* and** : Significant difference from Control, P < 0.05 and 0.01

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

Photo. 1. Dilation of the lateral and third ventricles in an F_1 rat fetus in 10mg/kg group.

Photo. 2. Cleft palate in an F_1 rat fetus in Control group.

Table 3. Visceral and skeletal findings in F₁ rat fetuses from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)	0 ^a	10	50	100	150
Viscera					
No. of F ₀ dams	20	20	20	20	18 ^b
No. of F ₁ fetuses examined	134	142	136	146	117 ^c
No. of F ₁ fetuses with variations	14(10.44)	8(5.63)	9(6.61)	12(8.21)	9(7.69)
Thymic remnant in the neck	2(1.49)	2(1.40)	1(0.73)	1(0.68)	1(0.85)
Persistence of the hemiazygos vein	3(2.23)	0(0)	3(2.20)	2(1.36)	3(2.56)
Supernumerary coronary orifice	1(0.74)	0(0)	3(2.20)	2(1.36)	2(1.70)
Incomplete ascent of the left kidney	1(0.74)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Dilation of the renal pelvis	6(4.47)	3(2.11)	2(1.47)	4(2.73)	3(2.56)
Dilation and flexion of the ureter	4(2.98)	1(0.70)	0(0)	3(2.05)	0(0)
Left umbilical artery	1(0.74)	2(1.40)	0(0)	3(2.05)	0(0)
No. of F ₁ fetuses with malformations	2(1.49)	2(1.40)	0(0)	0(0)	1(0.85)
Dilation of the lateral ventricle	1(0.74)	1(0.70)	0(0)	0(0)	0(0)
Dilation of the lateral and third ventricles	0(0)	1(0.70)	0(0)	0(0)	1(0.85)
Cleft palate	1(0.74)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Skeleton					
No. of F ₁ fetuses examined	149	148	144	154	124 ^c
No. of F ₁ fetuses with retarded ossification					
Interparietal bone	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Hyoid bone	3(2.01)	5(3.37)	3(2.08)	3(1.94)	0(0)
Odontoid process	106(71.14)	85(57.43)*	98(68.05)	91(59.09)	96(77.41)
Ischium and pubic bone	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.80)
Sternebrae I ~ IV	4(2.68)	7(4.72)	8(5.55)	2(1.29)	2(1.61)
V	20(13.42)	54(36.48)**	51(35.41)**	35(22.72)	52(41.93)**
VI	32(21.47)	58(39.18)	55(38.19)	43(27.92)	70(56.45)**

NII-Electronic Library Service

a : 0.5% C.M.C. solution
b : Includes one dam which had premature delivery on day 20 of gestation
c : Includes eight fetuses born to the above-mentioned dam
d : Less than half the length of 13th rib
e : Half or greater than half the length of 13th rib
* and ** : Significant difference from Control , $P < 0.05$ and 0.01

3. 次世代動物 (F₁) におよぼす影響

1) 出産時所見 (Table 4)

外表異常として、150mg/kg群に全身浮腫 (Photo. 3) 2例が認められた。これらの異常例はいずれも、分娩遅延後に産仔の全例を死産した母獣の腹のものであり、総産仔数におけるその出現頻度 (1.45%) に有意性は認められなかった。

投薬群における分娩遅延例は上記の150mg/kg群の1母獣 (妊娠期間, 24.5日間) のみであり、妊娠期間では各投薬群と対照群との間に有意差は認められなかった。その他の観察値も対照群と各投薬群でほぼ同等であり、すなわち、着床痕数、出産生仔数、周産期死亡仔数、総産仔数、出生率、死産仔率、出産生仔体重、性比のいずれにも有意差は認められなかった。

Photo. 3. General edema of an F₁ rat found among perinatal deaths in 150mg/kg group.

2) 哺育期間中の一般症状および生死の観察 (Table 5)

哺育期間中の死亡数は対照群, 10, 50, 100, 150mg/kg群にそれぞれ 6, 7, 5, 16, 9例であり、これらの死亡仔の剖検において著変は認められず、死因はいずれも母獣による哺育不良、食殺あるいは圧死と推察された。

litter size調整時および調整後の哺育仔の生存数、生存率では対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

哺育期間中の発育状態では、150mg/kg群において哺育状態がやや不良であった2母獣の腹仔に体重増加あるいは分化状態に若干の遅れが認められた。各群ともその他に異常症状は認められなかった。

Table 4. Findings at delivery in F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)	0 ^a	10	50	100	150
No. of F ₀ dams examined	10	10	10	10	10 ^b
Pregnancy period (day) (Mean±S.D.)	21.95±0.15	22.05±0.15	21.90±0.21	22.10±0.31	22.15±0.88
No. of implantations (Mean±S.D.)	150 15.00±2.49	160 16.00±1.41	154 15.40±1.26	150 15.00±1.76	150 15.00±1.05
No. of live young at birth	141	151	145	143	124
Total (Mean±S.D.)	14.10±2.42	15.10±1.79	14.50±1.64	14.30±1.82	12.40±4.47
Male (Mean±S.D.)	6.60±1.64	7.60±2.27	7.70±1.76	7.40±1.57	6.80±2.79
Female (Mean±S.D.)	7.50±1.35	7.50±2.06	6.80±1.22	6.90±2.07	5.60±2.50
No. of perinatal deaths (Mean±S.D.)	2 0.20±0.42	0 0	0 0	1 0.10±0.31	13 1.30±2.79
No. of newborn young ^c (Mean±S.D.)	143 14.30±2.16	151 15.10±1.79	145 14.50±1.64	144 14.40±1.95	137 13.70±1.76
Rate of live young (%) ^d	94.00	94.37	94.15	95.33	82.66
Mortality of newborn young (%) ^e	1.39	0	0	0.69	9.48
Sex ratio (Male/Female)	0.88 (66/75)	1.01 (76/75)	1.13 (77/68)	1.07 (74/69)	1.21 (68/56)
Body weight of live young at birth					
Male (Mean±S.D.)	5.79±0.43	5.73±0.30	5.78±0.26	5.83±0.40	5.56±0.23
Female (Mean±S.D.)	5.52±0.47	5.45±0.31	5.44±0.32	5.55±0.52	5.16±0.23
No. of external abnormalities (%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0) ^f

a : 0.5% C.M.C. solution

b : Includes one dam which had delayed delivery, and all her young (nine pups) were stillborn

c : No. of live young at birth + No. of perinatal deaths

d : (No. of live young at birth / No. of implantations) × 100

e : (No. of perinatal deaths / No. of newborn young) × 100

f : Two cases of general edema were observed among perinatal deaths.

Table 5. Viability during lactation of F₁ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)	0 ^a	10	50	100	150
No. of live F ₁ offspring (Mean±S.D. per litter)					
At birth	141 (14.10±2.42)	151 (15.10±1.79)	145 (14.50±1.64)	143 (14.30±1.82)	124 (13.77±1.09)
Postpartum day 4	135 (13.50±2.46)	144 (14.40±2.11)	140 (14.00±1.63)	128 (14.22±1.64)	117 (13.00±1.73)
4 ^b	80 (8.00±0.00)	80 (8.00±0.00)	80 (8.00±0.00)	72 (8.00±0.00)	72 (8.00±0.00)
7	80 (8.00±0.00)	80 (8.00±0.00)	80 (8.00±0.00)	72 (8.00±0.00)	71 (7.88±0.33)
21	80 (8.00±0.00)	80 (8.00±0.00)	80 (8.00±0.00)	71 (7.88±0.33)	70 (7.77±0.44)
Viability index (%)					
Postpartum days 0-4 ^c	95.74	95.36	96.55	89.51	94.35
4-7 ^d	100.00	100.00	100.00	100.00	98.61
7-21 ^e	100.00	100.00	100.00	98.61	98.59

a : 0.5% C.M.C. solution

b : After litter size control

c : (No. of live offspring at day 4 / No. of live offspring at birth) × 100

d : (No. of live offspring at day 7 / No. of live offspring after litter size control) × 100

e : (No. of live offspring at day 21 / No. of live offspring at day 7) × 100

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

3) litter size調整 4日齢仔 (F₁) 剖検所見

50mg/kg群を除く各群に尿管の拡張, 屈曲が1, 2例ずつ認められた。

4) 哺育期間中の体重推移 (Fig. 4)

100mg/kg群の雄に生後21日目での有意な体重増加, 150mg/kg群の雌に哺育期間をほぼ通して体重の増加抑制傾向と生後21日目での有意な増加抑制が認められた。その他の投薬群と対照群との間に有意差は認められなかった。

Fig. 4. Mean body weight changes during lactation of F₁ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

5) 離乳後の一般症状および生死の観察

異常例として、10mg/kg群に左側眼球の腫大および突出1例が5週齢で、150mg/kg群に左側小眼球および小眼瞼の合併症1例が3週齢で観察された。死亡は、対照群に4週齢で1例、150mg/kg群に3週齢で1例、6週齢で1例がそれぞれ認められた。これらの死亡例の剖検において著変は認められなかった。その他に10mg/kg群に事故による死亡1例が認められた。各群ともその他に異常所見は認められなかった。

6) 離乳後の体重推移 (Figs. 5, 6)

10, 50および100mg/kg群の雌雄の体重は3～7週齢の間に一時的に対照群を有意に上回り、それ以降は対照群と同等となった。150mg/kg群の雄と対照群との間に有意差は認められなかったが、同群の雌は明らかな体重増加抑制を示し、3週齢から10週齢まで終始対照群を有意に下回った。

7) 分化状態および反射機能検査 (Table 6)

分化状態では、耳介展開、腹部毛生、切歯萌出、眼瞼開裂の各分化日齢において対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

反射機能では、平面での正向反射、空中での正向反射、視覚性置き直し反射、Preyer反射、角膜反射、疼痛反射の各検査においていずれの動物も正常な反応を示した。

Fig. 5. Mean body weight changes after weaning of F₁ male rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

Fig. 6. Mean body weight changes after weaning of F₁ female rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

8) 性成熟検査 (Table 6)

精巣下降, 腔開口の日齢では対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。異常例はいずれの群にも認められなかった。

9) オープンフィールド試験 (Table 7)

いずれの群の雌雄にも区画移動数は試行1日目よりも2, 3日目において増加する通常の行動様式が認められた。区画移動数は雄では対照群と各投薬群でほぼ同様であったが, 雌では各投薬群が対照群を上回り, 150mg/kg群の試行1日目の値および各投薬群の試行2日目の値は有意差をもって増加した。しかし, 雌での区画移動数以外の各投薬群の立ち上り, 洗顔, 身づくろい, 脱糞, 排尿の回数のいずれにも用量に依存する変化は認められなかった。

10) 水迷路試験 (Table 8)

各群の直線路の値に著しい差は認められなかった。迷路においていずれの群の雌雄も試行の反復による一様な誤り回数の減少とそれに伴う所要時間の短縮を示した。ただ, 投薬群の雌雄に誤り回数が増加し所要時間が延長する少数の有意な変化が散見されたが, いずれも用量依存性の変化ではなかった。

Table 6. Physical development, reflex function and sexual maturation of F₁ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)	0 ^a	10	50	100	150
Day of physical development					
Mean $\pm$ S.D.(observed)					
Auricular standing	2.76 $\pm$ 0.46 (136)	2.81 $\pm$ 0.35 (145)	2.72 $\pm$ 0.37 (140)	2.57 $\pm$ 0.36 (126)	2.98 $\pm$ 0.83 (113)
Full coat growth	10.46 $\pm$ 0.48 (80)	10.13 $\pm$ 0.29 (80)	10.08 $\pm$ 0.44 (80)	10.16 $\pm$ 0.55 (71)	10.52 $\pm$ 1.00 (71)
Incisor eruption	10.29 $\pm$ 0.72 (80)	10.26 $\pm$ 1.10 (80)	10.58 $\pm$ 0.59 (80)	10.05 $\pm$ 0.94 (71)	10.55 $\pm$ 0.69 (71)
Eye opening	15.36 $\pm$ 0.42 (80)	15.54 $\pm$ 0.55 (80)	15.56 $\pm$ 0.43 (80)	15.19 $\pm$ 0.53 (71)	15.85 $\pm$ 0.84 (71)
Reflex function on day 21					
% (positive/observed)					
Righting reflex on surface	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (71/71)	100.0 (70/70)
Righting reflex in midair	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (71/71)	100.0 (70/70)
Vibrissa placing response	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (71/71)	100.0 (70/70)
Preyer reflex	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (71/71)	100.0 (70/70)
Corneal reflex	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (71/71)	100.0 (70/70)
Pain reflex	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (80/80)	100.0 (71/71)	100.0 (70/70)
Day of sexual maturation					
Mean $\pm$ S.D.(observed)					
Descent of testes	28.13 $\pm$ 0.24 (38)	28.00 $\pm$ 0.00 (39)	28.00 $\pm$ 0.00 (40)	28.10 $\pm$ 0.22 (35)	28.02 $\pm$ 0.08 (34)
Vaginal opening	36.27 $\pm$ 0.88 (41)	36.29 $\pm$ 0.98 (40)	35.95 $\pm$ 0.83 (40)	35.61 $\pm$ 0.60 (36)	36.72 $\pm$ 1.42 (35)

^a : 0.5% C.M.C. solution

11) 繁殖能試験 (Table 9)

繁殖能試験に用いた雌の性周期では、大多数が4日周期の動物であり少数の動物は4日周期と5日周期とを混じえる性周期を示し、異常例は認められなかった。

1回目の交配に組合せた対照群, 10, 50, 100, 150mg/kg群のそれぞれ20, 20, 20, 18, 18対のうち最初の発情期における交尾成立の対はそれぞれ15, 18, 17, 18, 17対であり、また、1回目の交配における交尾不成立の対は対照群に1対, 50mg/kg群に2対のみであったが、これらの対の雌雄は新たに組合せた2回目の交配において対照群の雄のみが交尾不成立に終わった。その結果、交尾率は対照群の雄のみが94.73%のほかは他のいずれの群の雌雄も100%であった。妊娠率は雄ではそれぞれ84.21, 85.00, 85.00, 94.44, 83.33%, 雌では90.00, 85.00, 80.00, 94.44, 83.33%であった。このように交配の成績は対照群と各投薬群ではほぼ同様であった。

母獣 (F₁) の所見では、100mg/kg群の1匹は軽度に分娩遅延して妊娠23日目に生仔1匹のみを分娩し、翌日に食殺した。この母獣を除いて各群の母獣の一般症状、妊娠経過、分娩状態、哺育状態に異常は認められなかった。

母獣 (F₁) の体重推移 (Fig. 7) では、150mg/kg群は妊娠中に終始対照群を有意に下回ったが妊娠期間中の体重増加量に有意差は認められず、哺育期間中は対照群と概ね同様に推移した。10, 50および100mg/kg群の体重推移は対照群のそれとほぼ同様であった。

4. 胎仔 (F₂) におよぼす影響

1) 帝王切開所見 (Table 10)

対照群と比べて有意な変化は50mg/kg群の黄体数、着床数、生存胎仔数の増加に認められたにとどまり、その他の着床率、死胚仔数、生存胎仔率、性比、胎仔体重、未熟仔数では対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

外表異常として、100mg/kg群に無顎、無口および耳介低位附着の合併症 (Photo. 4) が1例 (0.86%), 150mg/kg群に小頭、小顎、舌脱、湾曲手および曲尾の合併症 (Photo. 5) が1例 (1.44%) 出現した。これらの異常例の出現頻度はいずれも有意ではなかった。

2) 内臓検査 (Table 11)

内臓変異として、胸腺の頸部残留、半奇静脈の遺存、冠状動脈口の過剰、腎盂拡張、尿管の拡張・屈曲、左側臍動脈が対照群あるいは投薬群に1～3例ずつ散見された。内臓異常として、側脳室と第三脳室の拡張が150mg/kg群に1例 (2.94%), 右鎖骨下動脈の食道背側走行例 (Photo. 6) が10mg/kg群に1例 (1.81%), 膜性部心室中隔欠損 (Photo. 7) が150mg/kg群に1例 (2.94%) 出現し、その他に対照群に側脳室の拡張が2例 (4.08%), 右側動脈弓、肺動脈幹の低形成 (上行大動脈の左方に転位) および騎乗大動脈を伴う高位心室中隔欠損の合併症 (Photos. 8～10) が1例 (2.04%) 出現した。これらの内臓変異および内臓異常の出現頻度では対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

Table 7. Open-field behavior of F₁ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)		0 ^a		10		50		100		150	
Male		10		10		10		9		8	
No. of F ₁ offspring examined											
Ambulation (Mean±S.D.)	Trial day	1st	51.70±18.92	47.00±13.17	48.10±13.91	55.55±18.57	52.50±11.84				
		2nd	77.10±16.10	67.60±17.87	72.50±32.17	84.33±30.29	69.50±16.91				
		3rd	77.50±32.07	76.80±28.57	87.90±22.32	82.88±25.21	80.87±21.95				
Rearing (Mean±S.D.)	Trial day	1st	4.80±2.44	4.40±1.95	5.20±2.61	4.11±2.89	4.50±2.13				
		2nd	5.60±1.95	5.80±1.47	7.30±2.58	6.11±2.08	7.75±3.28				
		3rd	5.50±3.02	6.10±3.90	7.80±3.39	6.44±3.08	8.12±3.97				
Preening (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0.20±0.42	0.10±0.31	0.20±0.42	0.11±0.33	0.75±1.16				
		2nd	0.30±0.48	0.80±1.03	0.50±0.70	0.55±0.72	1.25±1.03*				
		3rd	0.40±0.51	0.50±0.84	0.90±0.56	0.44±0.72	0.75±0.70				
Grooming (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0	0.10±0.31	0.20±0.42	0.11±0.33	0				
		2nd	0.70±0.94	0.20±0.63	0.10±0.31	0.55±1.01	0.50±0.53				
		3rd	0.30±0.48	0.70±1.15	0.50±0.70	0.44±0.72	0.50±0.92				
Defecation (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0.40±1.26	0	0	0	0				
		2nd	0.10±0.31	0	0.10±0.31	0.11±0.33	0				
		3rd	0.10±0.31	0	0	0.11±0.33	0				
Urination (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0.30±0.67	0.10±0.31	0	0	0				
		2nd	0.20±0.42	0.10±0.31	0.10±0.31	0	0				
		3rd	0	0.30±0.94	0.10±0.31	0	0				

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

Female		10			10			9		
No. of F ₁ offspring examined										
Ambulation (Mean±S.D.)	Trial day	1st	54.20±20.21	72.20±27.02	69.40±18.89	75.88±30.08	74.33±16.83*			
		2nd	83.70±24.48	113.70±25.48*	116.60±25.61**	109.55±19.60*	124.55±25.39**			
		3rd	101.60±33.06	122.70±32.95	124.80±25.07	119.77±20.21	126.33±15.11			
Rearing (Mean±S.D.)	Trial day	1st	6.10±4.40	7.10±2.37	6.40±2.87	6.00±2.34	7.33±2.17			
		2nd	6.80±3.39	8.80±2.57	9.30±3.83	8.33±3.50	7.88±3.62			
		3rd	7.20±5.32	8.40±2.31	8.50±3.30	9.77±5.49	8.11±3.91			
Preening (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0.10±0.31	0.10±0.31	0.40±0.51	0.22±0.44	0.22±0.44			
		2nd	0.40±0.51	1.40±1.57	0.30±0.94	0.77±1.09	0.55±0.52			
		3rd	0.90±1.28	0.40±0.51	0.60±0.84	0.22±0.44	0.11±0.33			
Grooming (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0.20±0.42	0.80±1.47	0.30±0.48	0.77±1.98	0.88±2.31			
		2nd	0.30±0.67	3.90±7.29	1.90±2.13*	1.44±3.24	0.88±2.31			
		3rd	0.70±1.05	3.20±6.06	2.30±3.19	1.44±2.92	1.44±1.50			
Defecation (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0	0	0	0	0			
		2nd	0	0	0	0	0			
		3rd	0	0	0	0	0			
Urination (Mean±S.D.)	Trial day	1st	0	0	0	0.11±0.33	0.11±0.33			
		2nd	0.20±0.42	0	0	0	0.44±1.33			
		3rd	0.10±0.31	0.30±0.67	0.10±0.31	0	0			

a : 0.5% C. M. C. solution

* and ** : Significant difference from Control, P<0.05 and 0.01

Table 8. Water T-maze (straight line and multiple T-maze) trials of F₁ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)		0 ^a	10	50	100	150
Male						
No. of F ₁ offspring examined		10	10	10	9	8
No. of errors (Mean±S.D.)						
Straight line Multiple T-maze	Day					
	1st	0.90±1.19	0.60±0.69	1.20±1.03	0.22±0.44	0.37±0.74
	2nd	17.10±6.93	12.60±2.87	21.10±11.69	18.55±8.79	17.75±9.88
	3rd	9.60±6.25	9.10±6.53	6.40±3.74	7.33±5.54	6.25±6.31
		3.30±2.40	5.90±4.84	2.30±2.49	3.33±4.35	4.12±4.12
		1.10±1.59	4.40±8.68	0.70±1.25	3.33±2.29*	3.00±2.77
Performance time (sec.) (Mean±S.D.)						
Straight line Multiple T-maze	Day					
	1st	46.93±12.29	41.49±8.70	54.14±13.97	51.33±15.51	43.68±11.43
	2nd	118.73±30.46	107.18±41.43	177.06±110.82	150.03±33.06*	143.97±53.43
	3rd	88.60±41.32	92.28±41.52	75.93±17.16	102.83±49.02	80.28±33.56
		55.27±17.87	73.14±25.48	62.11±19.41	76.54±52.46	91.28±41.16*
		48.86±17.86	84.89±56.15	58.40±21.05	85.31±33.26*	89.87±54.06
Female						
No. of F ₁ offspring examined		10	10	10	9	9
No. of errors (Mean±S.D.)						
Straight line Multiple T-maze	Day					
	1st	1.00±0.81	0.90±0.87	1.40±0.96	0.44±0.52	1.11±1.26
	2nd	22.20±9.93	18.30±8.20	17.70±16.10	23.77±9.85	16.55±6.65
	3rd	11.90±13.71	8.20±4.39	10.90±9.37	11.77±10.59	8.88±4.88
		3.90±3.75	4.30±3.16	3.80±2.48	7.44±4.95	8.33±7.24
		1.00±1.63	3.90±3.14*	2.10±1.66	4.77±4.35*	2.22±1.85
Performance time (sec.) (Mean±S.D.)						
Straight line Multiple T-maze	Day					
	1st	53.86±14.36	47.44±9.47	58.28±12.84	48.57±9.31	50.70±14.99
	2nd	173.82±81.19	147.63±55.80	161.71±93.64	169.74±61.94	133.17±41.40
	3rd	100.36±54.56	88.24±32.14	103.04±63.60	108.86±63.94	100.03±48.12
		65.83±26.54	70.15±18.45	64.77±23.19	110.78±42.29*	102.75±69.82
		52.33±18.17	83.22±37.58*	59.03±25.02	94.62±42.27*	64.61±39.29

Results represent total values of five trials in the straight line testing in one day, and total values of three trials per day in the maze testing in each of the four consecutive days.

a : 0.5% C. M. C. solution

* : Significant difference from Control, P<0.05

Table 9. Mating and fertility data of F₁ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)		0 ^a			10			50			100			150		
Male		No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating
Progress of mating																
1st		19	18	16	20	20	17	20	18	15	18	18	17	18	18	15
2nd		1	0	0	--	--	--	2	2	2	--	--	--	--	--	--
Copulating/paired (%)		18/19 (94.73)			20/20 (100)			20/20 (100)			18/18 (100)			18/18 (100)		
Impregnating/paired (%)		16/19 (84.21)			17/20 (85.00)			17/20 (85.00)			17/18 (94.44)			15/18 (83.33)		
Female		No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating	No. of paired	No. of copul- ating	No. of impreg- nating
Progress of mating																
1st		20	19	17	20	20	17	20	18	15	18	18	17	18	18	15
2nd		1	1	1	--	--	--	2	2	1	--	--	--	--	--	--
Copulating/paired (%)		20/20 (100)			20/20 (100)			20/20 (100)			18/18 (100)			18/18 (100)		
Pregnant/paired (%)		18/20 (90.00)			17/20 (85.00)			16/20 (80.00)			17/18 (94.44)			15/18 (83.33)		

a : 0.5% C. M. C. solution

Fig. 7. Mean body weight changes during gestation and lactation of F_1 rat dams from F_0 rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

3) 骨格検査 (Table 11)

骨化状態では、第5胸骨骨核、尾椎骨を始めその他いずれの骨格においても各投薬群に有意の骨化促進、遅延は認められなかった。骨格変異では、やや出現数の多い胸椎椎体の啞鈴型、rudimentary 14肋骨、その他少数の変異のいずれにおいても各投薬群の出現頻度は有意ではなかった。

骨格異常はいずれの群にも認められなかった。

5. 次世代動物 (F_2) におよぼす影響

1) 出産時所見 (Table 12)

各投薬群の妊娠期間、着床痕数、出産生仔数、周産期死亡仔数、総産仔数、出生率、死産仔率、出産生仔体重、性比のいずれにも対照群と比べて有意な変化は認められなかった。

外表異常はいずれの群にも認められなかった。

2) 哺育期間中の一般症状および生死の観察 (Table 13)

50mg/kg群の同腹仔2匹に右側小眼球症が眼瞼開裂検査時に認められた。哺育期間中の死亡数は対照群、10, 50, 100, 150mg/kg群にそれぞれ0, 0, 4, 3, 2例であった。これらの死亡仔の剖検において、上記の50mg/kg群の1匹にみられた小眼球症のほかには著変は認められず、死因はいずれも母獣による哺育不良、食殺あるいは圧死と推察された。各群にその他の異常症状は観察されなかった。

litter size調整時および調整後の哺育仔の生存数、生存率では対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

Table 10. Findings at caesarean section in F₁ rat dams from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)	0 ^a	10	50	100	150
No. of F ₁ dams examined	9	8	8	8	7
No. of corpora lutea (Mean ± S.D.)	144 16.00 ± 2.00	124 15.50 ± 1.41	145 18.12 ± 1.72*	131 16.37 ± 2.06	89 12.71 ± 4.57
No. of implantations (Mean ± S.D.)	108 12.00 ± 5.59	120 15.00 ± 1.60	136 17.00 ± 2.00*	125 15.62 ± 1.59	75 10.71 ± 6.42
Implantation rate ^b (%)	75.00	96.77	93.79	95.41	84.26
No. of live fetuses	104	114	131	115	69
Total (Mean ± S.D.)	11.55 ± 5.79	14.25 ± 2.25	16.37 ± 2.19*	14.37 ± 1.59	9.85 ± 5.87
Male (Mean ± S.D.)	5.66 ± 4.12	8.12 ± 3.31	8.50 ± 1.30	7.25 ± 2.91	5.42 ± 4.19
Female (Mean ± S.D.)	5.88 ± 2.80	6.12 ± 1.95	7.87 ± 2.41	7.12 ± 2.47	4.42 ± 2.81
No. of postimplantation loss	4	6	5	10	6
Total (Mean ± S.D.)	0.44 ± 0.52	0.75 ± 0.88	0.62 ± 0.51	1.25 ± 1.66	0.85 ± 1.21
Embryonic deaths ^c (Mean ± S.D.)	0.44 ± 0.52	0.75 ± 0.88	0.50 ± 0.53	1.25 ± 1.66	0.85 ± 1.21
Fetal deaths ^d (Mean ± S.D.)	0	0	0.12 ± 0.35	0	0
Rate of live fetuses ^e (%)	96.29	95.00	96.32	92.00	92.00
Sex ratio (Male/Female)	0.96 (51/53)	1.32 (65/49)	1.07 (68/63)	1.01 (58/57)	1.22 (38/31)
Fetal weight (g)					
Male (Mean ± S.D.)	3.65 ± 0.41	3.64 ± 0.30	3.63 ± 0.16	3.63 ± 0.23	3.86 ± 0.34
Female (Mean ± S.D.)	3.38 ± 0.58	3.46 ± 0.28	3.42 ± 0.22	3.44 ± 0.27	3.63 ± 0.34
No. of immature fetuses ^f (%)	7 (6.73)	1 (0.87)	0 (0)	1 (0.86)	0 (0)
No. of fetuses with external abnormalities (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.86) ^g	1 (1.44) ^h

a : 0.5% C. M. C. solution

b : (No. of implantations / No. of corpora lutea) × 100

c : Early deaths (implantation sites, resorptions and placental remnants)

d : Late deaths (macrated fetuses and dead fetuses)

e : (No. of live fetuses / No. of implantations) × 100

f : Fetuses weighing less than 70% of mean body weight in Control group

g : Agnathia, astomia, low set auricle

h : Microcephaly, micrognathia, glossocele, talipomanus, kinky tail

* : Significant difference from Control, P < 0.05

Photo. 4. Agnathia, astomia and low set auricle of an F_2 rat fetus in 100mg/kg group.

Photo. 5. Microcephaly, micrognathia, glossocoele, talipomanus and kinky tail of an F_2 rat fetus in 150mg/kg group.

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

3) litter size調整 4 日齢仔 (F₂) 剖検所見

50および150mg/kg群に尿管の拡張、屈曲が1, 2例散見された。

4) 哺育期間中の体重推移 (Fig. 8)

150mg/kg群の雄に生後7日目と21日目で一過性の有意な体重増加が認められた。その他の投薬群の雌雄の体重推移は対照群のそれとほぼ同様であった。

5) 分化状態および反射機能検査 (Table 14)

分化状態および反射機能検査では対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

6) 3 週齢仔 (F₂) 剖検所見

腎盂拡張が対照群, 10, 50, 100, 150mg/kg群にそれぞれ4, 1, 8, 4, 9例認められたほか右側小眼球症が50mg/kg群に1例, 副肝, 肝臓の異常分葉あるいは副脾が150mg/kg群を除く各群に1~3例散見された。

6. 次世代動物 (F₁) 剖検所見および病理組織学的検査

行動学習試験に用いた動物の10週齢時の剖検では、腎盂拡張が雄では対照群, 10, 50, 100, 150mg/kg群にそれぞれ4, 7, 7, 6, 4例, 雌ではそれぞれ0, 2, 1, 0, 1例認められた。その他, 対照群の雄に肝臓の異常分葉, 雌に胸腺のうっ血が各1例, 150mg/kg群の雄に左側小眼球および小眼瞼の合併症が1例, 50および150mg/kg群の雌に小腸の充血が各1例認められたのみであった。

繁殖能試験に用いた母獣の剖検では、腎盂拡張が対照群, 50および100mg/kg群に1, 2例ずつ認められたほか肝臓の異常分葉, 子宮の片側性着床など少数の変化が対照群あるいは投薬群に散見されたにとどまった。また, 妊娠不成立の雌の生殖器に特に異常は認められなかった。

繁殖能試験に用いた雄の13週齢時の剖検では、腎盂拡張が対照群, 10, 50, 100, 150mg/kg群にそれぞれ3, 8, 7, 2, 11例認められ, その他に肝臓の異常分葉が10, 50および150mg/kg群に各1例, 腎臓の穿孔状陥凹が150mg/kg群に1例, 左側眼球の腫大および突出が10mg/kg群に1例など少数の変化が認められた。また, 妊孕性を示さなかった雄の生殖器に特に異常は認められなかった。

繁殖能試験において妊娠不成立の対 (対照群, 10, 50, 100, 150mg/kg群にそれぞれ2, 3, 4, 1, 3対) の雌雄の精巣, 精巣上体, 卵巣, 子宮の病理組織学的検査では, 50mg/kg群の雄2匹に妊娠不成立と関連すると考えられる変化が認められた。すなわち, その1匹では精巣に限局性の石灰化, 精子形成不全とそれに伴う精細管萎縮および精巣上体に精子減少が観察され, その他の1匹では精巣に限局性の精子形成不全とそれに伴う精細管の萎縮, 巨細胞形成が観察された。その他の雄および雌に妊娠不成立を裏付ける変化は認められなかった。

Table 11. Visceral and skeletal findings in F₂ rat fetuses from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)		0 ^a	10	50	100	150
Viscera						
No. of F ₁ dams		9	8	8	8	6
No. of F ₂ fetuses examined		49	55	62	56	34
No. of F ₂ fetuses with variations	(%)	5(10.20)	5(9.09)	2(3.22)	6(10.71)	5(14.70)
Thymic remnant in the neck	(%)	0(0)	0(0)	1(1.61)	2(3.57)	2(5.88)
Persistence of the hemiazygos vein	(%)	1(2.04)	1(1.81)	0(0)	1(1.78)	0(0)
Supernumerary coronary orifice	(%)	1(2.04)	1(1.81)	0(0)	1(1.78)	2(5.88)
Dilation of the renal pelvis	(%)	3(6.12)	3(5.45)	1(1.61)	1(1.78)	0(0)
Dilation and flexion of the ureter	(%)	1(2.04)	0(0)	0(0)	1(1.78)	0(0)
Left umbilical artery	(%)	0(0)	0(0)	1(1.61)	1(1.78)	1(2.94)
No. of F ₂ fetuses with malformations	(%)	3(6.12)	1(1.81)	0(0)	0(0)	1(2.94)
Dilation of the lateral ventricle	(%)	2(4.08)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Dilation of the lateral and third ventricles	(%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.94)
Retrosophageal right subclavian artery	(%)	0(0)	1(1.81)	0(0)	0(0)	0(0)
Right aortic arch	(%)	1(2.04) ^b	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Hypoplasia of pulmonary trunk	(%)	1(2.04) ^b	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Ventricular septal defect	(%)	1(2.04) ^b	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.94)
Riding aorta	(%)	1(2.04) ^b	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Skeleton						
No. of F ₂ fetuses examined		55	59	69	58	34
No. of F ₂ fetuses with retarded ossification						
Interparietal bone	(%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Hyoid bone	(%)	2(3.63)	5(8.47)	4(5.79)	4(6.89)	5(14.70)
Odontoid process	(%)	33(60.00)	31(52.54)	60(86.95)	46(79.31)	26(76.47)
Ischium and pubic bone	(%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Sternebrae I ~ IV		2(3.63)	2(3.38)	4(5.79)	3(5.17)	0(0)
V		15(27.27)	13(22.03)	22(31.88)	21(36.20)	12(35.29)
VI		15(27.27)	24(40.67)	22(31.88)	18(31.03)	13(38.23)

a : 0.5% C. M. C. solution
b : These malformations were found in one fetus.
c : Less than half the length of 13th rib
d : Half or greater than the length of 13th rib

Photo. 6. Retroesophageal right subclavian artery (cephalic view) in an F₂ rat fetus in 10mg/kg group.

(E; Esophagus, T; Trachea, DA; Descending aorta, RCCA; Right common carotid artery, RSA; Right subclavian artery, LCCA; Left common carotid artery, LSA; Left subclavian artery)

Photo. 7. Ventricular septal defect in an F₂ rat fetus in 150mg/kg group.

Photo. 8. Right aortic arch (lateral view) in an F_2 rat fetus in Control group.
(T; Trachea, AA; Ascending aorta, DA; Descending aorta, DuA; Ductus arteriosus, RCCA; Right common carotid artery, RSA; Right subclavian artery, LCCA; Left common carotid artery)

Photo. 9. Hypoplasia and partial transposition of the pulmonary trunk in the same rat fetus as in Photo. 8.
(AA ; Ascending aorta, PT ; Pulmonary trunk)

Photo. 10. Ventricular septal defect associated with riding aorta in the same rat fetus as in Photo. 8. (All valves were excised)

Table 12. Findings at delivery in F₁ rat dams from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)	0 ^a	10	50	100	150
No. of F ₁ dams examined	9	9	8	9	8
Pregnancy period (day) (Mean±S.D.)	22.00±0.00	22.05±0.16	22.00±0.00	22.11±0.33	22.12±0.23
No. of implantations (Mean±S.D.)	130 14.44±3.20	129 14.33±3.16	121 15.12±2.23	122 13.55±5.54	108 13.50±3.16
No. of live young at birth Total (Mean±S.D.)	114 12.66±3.24	114 12.66±3.20	117 14.62±2.61	107 11.88±6.00	96 12.00±2.50
Male (Mean±S.D.)	7.00±2.64	7.33±2.50	7.62±1.50	5.66±4.03	7.12±1.72
Female (Mean±S.D.)	5.66±1.73	5.33±1.50	7.00±2.39	6.22±3.41	4.87±1.55
No. of perinatal deaths (Mean±S.D.)	1 0.11±0.33	1 0.11±0.33	0 0	5 0.55±1.33	2 0.25±0.46
No. of newborn young ^b (Mean±S.D.)	115 12.77±3.03	115 12.77±3.27	117 14.62±2.61	112 12.44±5.29	98 12.25±2.65
Rate of live young (%) ^c	87.69	88.37	96.69	87.70	88.88
Mortality of newborn young (%) ^d	0.86	0.86	0	4.46	2.04
Sex ratio (Male/Female)	1.23 (63/51)	1.37 (66/48)	1.08 (61/56)	0.91 (51/56)	1.46 (57/39)
Body weight of live young at birth Male (Mean±S.D.)	5.90±0.36	6.25±0.34	5.98±0.49	6.01±0.50	6.26±0.38
Female (Mean±S.D.)	5.76±0.40	5.85±0.29	5.74±0.34	5.80±0.50	5.85±0.41
No. of external abnormalities (%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

a : 0.5% C. M. C. solution

b : No. of live young at birth + No. of perinatal deaths

c : (No. of live young at birth / No. of implantations) × 100

d : (No. of perinatal deaths / No. of newborn young) × 100

Table 13. Viability during lactation of F₂ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)		0 ^a	10	50	100	150
No. of live F ₂ offspring (Mean ± S.D. per litter)						
At birth		114 (12.66 ± 3.24)	114 (12.66 ± 3.20)	117 (14.62 ± 2.61)	107 (11.88 ± 6.00)	96 (12.00 ± 2.50)
Postpartum day 4		114 (12.66 ± 3.24)	114 (12.66 ± 3.20)	114 (14.25 ± 2.91)	104 (13.00 ± 4.78)	95 (11.87 ± 2.53)
4 ^b		71 (7.88 ± 0.33)	71 (7.88 ± 0.33)	64 (8.00 ± 0.00)	60 (7.50 ± 1.41)	62 (7.75 ± 0.70)
7		71 (7.88 ± 0.33)	71 (7.88 ± 0.33)	64 (8.00 ± 0.00)	60 (7.50 ± 1.41)	61 (7.62 ± 0.74)
21		71 (7.88 ± 0.33)	71 (7.88 ± 0.33)	63 (7.87 ± 0.35)	60 (7.50 ± 1.41)	61 (7.62 ± 0.74)
Viability index (%)						
Postpartum days 0-4 ^c		100.00	100.00	97.43	97.19	98.95
4-7 ^d		100.00	100.00	100.00	100.00	98.38
7-21 ^e		100.00	100.00	98.43	100.00	100.00

a : 0.5% C.M.C. solution

b : After litter size control

c : (No. of live offspring at day 4 / No. of live offspring at birth) × 100

d : (No. of live offspring at day 7 / No. of live offspring after litter size control) × 100

e : (No. of live offspring at day 21 / No. of live offspring at day 7) × 100

Teratogenicity study of mofezolac (N-22) in rats

Fig. 8. Mean body weight changes during lactation of F_2 rat offspring from F_0 rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Table 14. Physical development and reflex function of F₂ rat offspring from F₀ rat dams given N-22 orally from days 7 to 17 of gestation.

Dose (mg/kg)		0 ^a	10	50	100	150
Day of physical development Mean ± S.D. (observed)						
Auricular standing		2.49 ± 0.35 (114)	2.68 ± 0.42 (114)	2.62 ± 0.28 (114)	2.46 ± 0.28 (104)	2.76 ± 0.25 (95)
Full coat growth		10.51 ± 0.61 (71)	10.51 ± 0.57 (71)	10.41 ± 0.57 (64)	10.12 ± 0.58 (60)	10.26 ± 0.35 (61)
Incisor eruption		9.83 ± 0.32 (71)	9.89 ± 0.51 (71)	10.07 ± 0.57 (64)	9.62 ± 0.50 (60)	9.92 ± 0.41 (61)
Eye opening		15.41 ± 0.56 (71)	15.54 ± 0.45 (71)	15.24 ± 0.59 (62) ^b	15.29 ± 0.30 (60)	15.44 ± 0.45 (61)
Reflex function on day 21 % (positive/observed)						
Righting reflex on surface		100.0 (71/71)	100.0 (71/71)	100.0 (63/63)	100.0 (60/60)	100.0 (61/61)
Righting reflex in midair		100.0 (71/71)	100.0 (71/71)	100.0 (55/55) ^c	100.0 (60/60)	100.0 (61/61)
Vibrissa placing response		100.0 (71/71)	100.0 (71/71)	100.0 (63/63)	100.0 (60/60)	100.0 (61/61)
Preyer reflex		100.0 (71/71)	100.0 (71/71)	100.0 (63/63)	100.0 (60/60)	100.0 (61/61)
Corneal reflex		100.0 (71/71)	100.0 (71/71)	100.0 (54/54) ^{c,d}	100.0 (60/60)	100.0 (61/61)
Pain reflex		100.0 (71/71)	100.0 (71/71)	100.0 (63/63)	100.0 (60/60)	100.0 (61/61)

a : 0.5% C.M.C. solution

b : Excludes two pups with the case of microphthalmia

c : Excludes eight pups which were inadvertently not observed

d : Excludes one pup with the case of microphthalmia

総括および考察

被験物質N-22の10, 50, 100, 150mg/kg/dayをJcl: Wistar系の妊娠ラットに妊娠7日目から17日目までの11日間にわたり毎日1回経口投与し、母獣、胎仔および次世代動物におよぼす影響について検討した。

1. 母獣 (F₀) におよぼす影響

N-22が妊娠ラットに経口投与されて呈する毒性および致死作用の主要因は、胃、小腸における潰瘍形成および穿孔性腹膜炎の発症であり、この消化管障害とそれに基づく諸種の変化の発現は150mg/kg群において顕著に観察された。すなわち、150mg/kg群の母獣30匹中11匹に投薬に伴い挙動不活発、眼の退色、毛生状態の粗剛、下腹部の尿汚染、衰弱、消瘦などの変化が発現し、途中死亡1匹、切迫屠殺1匹、早産1匹、分娩遅延（産仔全例を死産）1匹が発生した。また、自然分娩母獣9匹中2匹の哺育状態はやや不良であった。剖検において30匹中12匹に胃、小腸の潰瘍、穿孔性潰瘍、腹腔内臓器の癒着、腹水の貯留などの腹膜炎所見のほか顎下腺、胸腺、肝臓の萎縮、脾臓、副腎、腸間膜リンパ節の肥大、肝臓、腎臓の退色などが観察された。これらの変化と相関して摂餌量は妊娠中に大幅の有意な減少を示し、体重も妊娠中と哺育初期に有意の増加抑制を示した。

150mg/kg群にみられたこれらの変化はいずれも胃および小腸の潰瘍と関連するものであり、潰瘍部からの出血に伴う貧血により眼、肝臓、腎臓の退色、脾臓の肥大（出血に対する二次的応答としての髄外造血）を来とし、さらに胃腸障害による食欲減退、消化・吸収の障害に伴う栄養障害が加わり毛生状態の劣化、下腹部の尿汚染、衰弱、消瘦および顎下腺、肝臓など主要臓器の萎縮を招き、そのうえに消化管潰瘍が穿孔性に進行して腹膜炎に致ったことが死亡、切迫屠殺、早産、分娩遅延の発生の原因と考えられる。しかし、これらの消化管障害は本薬と同様な非ステロイド性酸性抗炎症薬であるAcemetacinなどにおいても報告されている（古賀ら、1981）もので、本薬に特有のものではない。また、副腎の肥大は消化管障害のストレスによる反応であり、胸腺の萎縮はストレスにより副腎から放出されたglucocorticoidの作用により生じた変化と考えられる。

100mg/kg群では投薬の影響と考えられる変化として30匹中1匹が妊娠中に下腹部の尿汚染を一過性に呈し、自然分娩母獣10匹中1匹は哺育不良により分娩後4日目までに産仔全例を死亡させた。剖検において乳線の未発達がこの哺育不良の母獣に認められたほか脾臓の肥大が1母獣に認められた。同群のその他の母獣の妊娠経過、分娩状態、哺育状態に投薬と関連すると考えられる変化は認められなかった。また、摂餌量では対照群との間に差は認められず、体重は対照群とほぼ同様に推移し、いずれも投薬の影響は認められなかった。

10および50mg/kg群では一般症状に変化は認められず、妊娠経過、分娩状態、哺育状態にも異常は認められなかった。摂餌量についても対照群との間に差は認められず、体重は対照群とほぼ等しい順調な増加を示した。剖検においても投薬の影響と考えられる変化は

認められなかった。ただ、10mg/kg群に右側腎臓の萎縮および左側腎臓の肥大の合併が1例観察されたが、偶発的な変化と判断される。

2. 胎仔 (F₁) におよぼす影響

帝王切開所見では、150mg/kg群の胎仔に発育遅延が認められ、すなわち、雌雄胎仔体重は対照群と比べ有意に減少し、未熟仔の発生数も有意でないものの増加を示し、同群の母獣の多くに観察された消化管障害、栄養障害など投薬の影響が胎仔には発育遅延として反映したものと推察される。胎仔体重の減少などの変化は前述のAcemetacinの報告（古賀ら、1981）においてもみられ、それらは母獣の全身症状の悪化に由来するものであると考察されている。同群のその他の黄体数、着床数、生存胎仔数、性比などに投薬の影響は認められなかった。10、50および100mg/kg群におけるこれらの観察値に投薬の影響を示唆する変化は認められなかった。

外表異常および骨格異常はいずれの群にも認められなかった。内臓異常として、口蓋裂が対照群に1例（0.74%）出現したほかに側脳室の拡張が対照群に1例（0.74%）、10mg/kg群に1例（0.70%）、側脳室と第三脳室の拡張が10mg/kg群に1例（0.70%）、150mg/kg群に1例（0.85%）出現したにとどまり、これらの異常は出現頻度に有意の差は認められず用量依存の関係も認められないことから自然発生的な変化と推察される。

内臓において変異とみなされる半奇静脈の遺存、冠状動脈口の過剰、左側臍動脈および胎仔の発育過程における変化と思われる胸腺の頸部残留、左側腎臓の上昇不全、腎盂拡張、尿管の拡張・屈曲の出現頻度はいずれも有意ではなく用量依存性も認められなかった。骨格変異において胸椎椎体の啞鈴型および分離型、rudimentaryおよびextra 14肋骨を始めその他の少数の変異が出現したがいずれも用量依存性の変化ではなかった。なお、Kimmelらはextra 14肋骨が用量依存性を持って増加する場合は催奇形作用検出の指標としての意義を持つと報告している（Kimmel and Wilson, 1973）。今回の試験では、extra 14肋骨は対照群、100および150mg/kg群に各1例のみ出現したほか10および50mg/kg群には出現しなかったことからN-22が催奇形作用を有する可能性は少ないと考えられる。このように内臓、骨格の変異および内臓の発育過程には投薬の影響は認められなかった。

骨化状態では150mg/kg群に第5、6胸骨骨核および尾椎骨の有意な骨化遅延が認められた。母獣の妊娠中における摂餌量の制限が胎仔体重の減少および骨化遅延をもたらすことはWarkanyにより報告されている（Warkany, 1945）。150mg/kg群の母獣には前述のように投薬により消化管障害、栄養障害およびこれらの変化と相関する摂餌量減少が発現し、この母獣を介しての二次的な作用により胎仔体重の減少ひいては胎仔の骨化遅延がもたらされたものと考えられる。一方、10および50mg/kg群に2、3の骨格の有意な骨化促進あるいは遅延が認められた。しかし、100mg/kg群の骨化状態に有意な促進、遅延は何ら認められないことから10および50mg/kg群にみられた骨化状態の変化は偶発的なものと考えられる。

3. 次世代動物 (F₁) におよぼす影響

出産時所見では、分娩遅延後に産仔全例を死産した150mg/kg群の1母獣の腹仔に外表異常として全身浮腫2例(1.45%)の出現が認められた。この異常は出現頻度が有意ではないことから投薬により誘発された変化とは判断し難い。その他の妊娠期間、着床痕数、出産産仔数、周産期死亡仔数、出産産仔体重、性比などについても対照群と各投薬群との間に有意差は認められなかった。

哺育期間中における出生仔の一般症状、途中死亡の例数と剖検所見、4日齢仔の剖検所見、分化状態、反射機能、生存率に投薬の影響を示唆する異常は認められなかった。

離乳後には異常例として左側眼球の腫大および突出が10mg/kg群に1例、左側小眼球および小眼瞼の合併症が150mg/kg群に1例観察された。死亡は対照群に1例、150mg/kg群に2例が観察されたが剖検において著変は認められなかった。これらの異常はいずれも出現頻度が低率であることから偶発的な変化と推察される。

性成熟については雄の精巣下降、雌の腔開口の日齢に対照群と各投薬群との差は認められなかった。雌の性周期についてはいずれの群にも異常は認められなかった。

体重推移では、150mg/kg群の雄と対照群との間に差は認められなかったが雌は出生後から10週齢に到るまで終始対照群を下回って推移し、3週齢から10週齢の間には有意な増加抑制を示した。Chowらは母獣の妊娠中における摂餌量の制限は次世代動物の発育阻害をもたらすと報告しており (Chow and Lee, 1964)、投薬により150mg/kg群の母獣に発現した消化管障害、栄養障害などが胎仔に続いて次世代動物にも発育遅延をもたらしたものと考えられる。10、50および100mg/kg群の雌雄はいずれも対照群と同様かあるいはこれを凌ぐ順調な体重推移を示し、投薬の影響は認められなかった。

オープンフィールド試験では、各投薬群の雌の区画移動数は対照群のそれを上回り、150mg/kg群の試行1日目および各投薬群の試行2日目の値は有意な増加を示し、情動性の上昇の可能性が考えられた。しかし、他の指標である立ち上り、洗顔、身づくろい、脱糞、排尿の回数は対照群と各投薬群でほぼ同様であり情動性に差は認められないことから各投薬群の雌にみられた区画移動数の増加は偶発的な変化と推察される。雄には投薬の影響を示唆する変化は認められなかった。

水迷路試験では、対照群および各投薬群の雌雄は試行の反復による一様な誤り回数の減少とそれに伴う所要時間の短縮を示し、それぞれほぼ同等の明らかな学習成績の上昇を示した。ただ、測定値に少数の有意な変化が散見されたものの、いずれも一定の方向性を示すことなく投薬に起因する変化とは考えられない。

10週齢時での剖検で目立った変化としては自然発生的変化と考えられる左側小眼球および小眼瞼の合併症が150mg/kg群に1例および腎盂拡張が各群にほぼ同率に観察されたにとどまった。

繁殖能試験において最初の発情期における交尾数に対照群と各投薬群との差は認められず、交尾率は対照群の雄の94.73%のほかはいずれも100%であり、妊娠率は対照群の雄の

84.21%, 雌の90.00%に対し各投薬群の雌雄は80.00~94.44%であって、交配の成績に投薬に起因すると思われる異常は認められなかった。

F₁母獣における一般症状、妊娠経過、分娩状態、哺育状態に投薬の影響は認められなかった。ただ、100mg/kg群の1母獣は生仔1匹を分娩して翌日に食殺したが、この例は発生率が低いことから偶発的な変化と考えられる。体重推移では150mg/kg群のみが妊娠中に終始対照群を有意に下回りF₀母獣を介しての投薬の影響が認められた。しかし、同群の妊娠期間中の体重増加量に有意差は認められず、哺育期間中の体重推移は対照群と概ね同様であった。その他の投薬群の体重推移に投薬の影響は認められなかった。

繁殖能試験に用いたF₁雌雄の剖検において、左側眼球腫大および突出が10mg/kg群に1例認められたほか腎盂拡張、肝臓の異常分葉など自然発生と思われる変化が散見されたのみであり、その他生殖器にも投薬の影響と思われる変化は認められなかった。妊娠不成立であった雌雄は各群に1~4対認められたがこれらの動物における生殖器の病理組織学的検査では、50mg/kg群の雄2匹に限って妊娠不成立と関連性があると考えられる変化、すなわち、精巣に精子形成不全とそれに伴う精細管萎縮、精巣上体に精子減少などが観察された。しかし、これらの変化は100および150mg/kg群の雄には観察されないことから自然発生的な変化と考えられる。

4. 胎仔 (F₂) におよぼす影響

帝王切開所見では、有意な変化は50mg/kg群の黄体数、着床数、生存胎仔数の増加のみであり、これらも用量依存性を欠くことから偶発的な変化と考えられる。また、150mg/kg群のF₂胎仔には同群のF₁胎仔にみられた有意の体重減少、未熟仔数の増加などの発育遅延は認められず、したがって、F₀母獣を介しての投薬の影響はF₁胎仔に発現したもののF₂胎仔まではおよばなかったと考えられる。

外表異常として、無顎、無口および耳介低位附着の合併症が100mg/kg群に1例(0.86%)、小頭、小顎、舌脱、湾曲手および曲尾の合併症が150mg/kg群に1例(1.44%)出現した。内臓異常として、対照群に側脳室の拡張が2例(4.08%)、右側動脈弓、肺動脈幹の低形成および騎乗大動脈を伴う高位心室中隔欠損の合併症が1例(2.04%)出現し、その他に側脳室と第三脳室の拡張が150mg/kg群に1例(2.94%)、右鎖骨下動脈の食道背側走行例が10mg/kg群に1例(1.81%)、膜性部心室中隔欠損が150mg/kg群に1例(2.94%)出現した。これらの異常はいずれも出現頻度が有意ではなく、非特異的に散見されることから投薬の影響によるものではなく自然発生異常と考えられる。骨格異常はいずれの群にも出現しなかった。また、F₂胎仔での内臓変異、骨格変異の種類、出現頻度はF₁胎仔の場合とほぼ同様であり、投薬の影響も同様に認められなかった。

骨化状態は、対照群と各投薬群でほぼ同様であり、150mg/kg群のF₁胎仔にみられた有意な骨化遅延はF₂胎仔には認められず、このことは同群のF₂胎仔の帝王切開所見を反映したものと考えられる。

5. 次世代動物 (F₂) におよぼす影響

出産時所見では、各投薬群の妊娠期間、着床痕数、出産生仔数、出産生仔体重、性比などに有意の変化が認められなかったほか外表異常はいずれの群にも認められなかった。

哺育期間中の所見では、50mg/kg群の同腹仔2匹に右側小眼球症が認められたが同群にのみ出現であることから自然発生によるものと判断される。その他、一般症状、途中死亡の例数と剖検所見、4日齢仔剖検所見、分化状態、反射機能、生存率に投薬の影響を示唆する変化は認められなかった。体重推移は対照群と各投薬群ではほぼ同様であり、150mg/kg群のF₁雌出生仔にみられた有意な体重増加抑制はF₂雌出生仔には認められず、このことは同群のF₂胎仔に発育遅延が認められなかったことと一致するものと考えられる。

F₂ 3週齢仔の剖検では自然発生の変化と思われる腎盂拡張、副肝、副脾などが対照群および投薬群に散見されたのみで投薬の影響は認められなかった。

以上のように、N-22を胎仔の器官形成期にあるラット母獣に経口投与しても今回検討した投与量の範囲ではF₁胎仔の外表、内臓、骨格における催奇形作用は認められず、F₁次世代動物の行動、学習能、繁殖能およびF₂にも投薬の影響は認められなかった。一方、150mg/kg/dayの用量群のF₀母獣には衰弱、有意の摂餌量減少、有意の体重増加抑制、消化管潰瘍の発現が観察されたほか死亡、早産、分娩遅延、出生仔哺育不良が散見され、F₁胎仔に有意の体重減少、骨化遅延およびF₁次世代動物の雌に有意の体重増加抑制が認められ、また、100mg/kg/dayの用量群のF₀母獣には下腹部の尿汚染、脾臓の肥大、出生仔哺育不良が散見された。他方、10および50mg/kg/dayの用量群のF₀母獣には異常は認められなかった。したがって、今回の試験におけるN-22の無影響量は母獣および出生仔に対しては50mg/kg/dayであり、胎仔に対しては100mg/kg/dayと考えられた。

要 約

被験物質N-22の10, 50, 100および150mg/kg/dayをラット母獣の妊娠7日目から17日目までの11日間にわたり毎日経口投与し、F₀母獣、F₁胎仔ならびにF₁次世代動物におよぼす影響を検討するとともに一部の次世代動物を繁殖能試験に供してF₂におよぼす影響についても検討した。

1. F₀におよぼす影響

10および50mg/kg群の一般症状、妊娠経過、分娩状態、哺育状態、剖検において異常を認めなかった。100mg/kg群では妊娠中における下腹部の尿汚染、脾臓の肥大、出生仔哺育不良が1例ずつ観察され投薬の影響と認められた。150mg/kg群では有意の摂餌量減少および体重増加抑制が認められ、約1/3の母獣には穿孔性腹膜炎およびそれに関連する病変が発現し、死亡、切迫屠殺、早産、分娩遅延、出生仔哺育不良が1, 2例ずつ観察されるなどの投薬の影響が認められた。

2. F₁におよぼす影響

10, 50および100mg/kg群では投薬の影響と考えられる胎仔毒性および催奇形作用は認め

られなかった。150mg/kg群では胎仔体重の有意な減少，未熟仔数の増加，第5，6胸骨骨核および尾椎骨の有意な骨化遅延，次世代動物の雌の有意な体重増加抑制に投薬の影響が認められた。次世代動物の分化，行動，学習能，繁殖能において各投薬群は投薬の影響を受けなかった。

3. F₂におよぼす影響

各投薬群の胎仔および出生仔に投薬の影響と考えられる異常は認められなかった。

4. 無影響量

今回の試験条件によるN-22の無影響量は母獣および出生仔で50mg/kg/day，胎仔で100mg/kg/dayと考えられた。

以上，N-22の大量経口投与によりラット母獣に消化管潰瘍の形成および死亡の発生が認められ，胎仔および次世代動物には母獣の栄養障害による発育遅延が認められた。しかし，このような用量においても催奇形作用は認められず，次世代動物の繁殖能にも影響をおよぼさないと結論された。

(試験期間 1982年8月～1983年9月)

文 献

- Biel, W. C. (1940) : Early age differences in maze performance in the albino rat. *J. Gen. Psychol.*, **56**, 439-453.
- Butcher, R. E., Stutz, R. M. and Berry, H. K. (1971) : Behavioral abnormalities in rats with neonatal jaundice. *Am. J. Ment. Defic.*, **75**, 755-759.
- Chow, B. and Lee, C. (1964) : Effect of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring. *J. of Nutrition*, **82**, 10-18.
- Inomata, N. and Yasuda, M. (1971) : Prevalence and types of spontaneous interventricular septal defects in rat fetuses. *Exp. Animal*, **20**, 15-20.
- Kimmel, C. A. and Wilson, J. G. (1973) : Skeletal Deviations in rats : Malformations or variations? *Teratology*, **8**, 309-315.
- 古賀昭二，太田隆雄，青木泰道，他(1981) : Acemetacin(K-708)の生殖試験 ラットにおける胎仔の器官形成期投与試験. *応用薬理*, **22**(6), 765-776.
- Warkany, J. (1945) : Manifestation of prenatal nutritional deficiency. *Vitamins and Hormones*, **3**, 73-103.