Calcipotriol (MC903) の生殖・発生毒性試験 (第4報)

— ラット皮下投与による周産期および授乳期投与試験 —

内山 長久, 鈴木登志郎, 小池 嘉秀,
小野 正博*, 白川 清美*, 永田 充宏*, 小西 良士*

株式会社 日本セイギケン総合研究所

〒433 静岡県浜松市葵町95-10

*帝國製薬株式会社 研究開発本部

〒769-26 香川県大川郡大内町三本松567番地

REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY STUDIES OF CALCIPOTRIOL (MC903) : (4)

— A Perinatal and Postnatal Study in Rats by
Subcutaneous Administration —

Hisashi UCHIYAMA, Toshiro SUZUKI, Yoshihide KOIKE,
Masahiro ONO*, Kiyomi SHIRAKAWA*, Mitsuhiro NAGATA*
and Ryoji KONISHI*

Japan Seigiken Research Center Co., Ltd.,

95-10 Aoi-cho, Hamamatsu, Shizuoka 433, Japan

**Research and Development Division, Teikoku Seiyaku Co., Ltd.,*

567 Sanbonmatsu, Ochi-cho, Ohkawa-gun, Kagawa 769-26, Japan

(Received November 7, 1995 ; Accepted March 13, 1996)

ABSTRACT — Perinatal and postnatal toxicity of calcipotriol (MC903), an anti-psoriasis agent, was studied. MC903 at doses of 6.25, 12.5 and 25 $\mu\text{g/kg/day}$ were subcutaneously administered to pregnant Slc : SD rats from day 17 of gestation to day 21 after delivery.

1. Administration of MC903 at any doses did not adversely affect pregnant animals in regard to gestation, delivery and maternal behavior. In dams administered MC903 25 $\mu\text{g/kg/day}$, food consumption and body weight gain were marginally lower than those of control animals during lactation period.

2. In group administered MC903 25 $\mu\text{g/kg/day}$, body weight gain in F_1 offsprings was significantly lower as compared with those of control group. The drug did not

連絡先：〒769-26 香川県大川郡大内町三本松567番地
帝國製薬株式会社 研究開発本部
小野 正博

have any adverse effects on the postnatal development of the offspring such as differentiation, functional development, emotionality, motor ability, learning ability or reproductive performance.

3. On the basis of results obtained in the present study, it is considered that the no-toxic dose level for general toxicity and reproduction in the dams was estimated to be 12.5 and 25 $\mu\text{g/kg/day}$, respectively, the no-toxic dose levels in the offspring was also estimated to be 12.5 $\mu\text{g/kg/day}$.

KEY WORDS : Anti-psoriatic agent, Calcipotriol, MC903, Perinatal and postnatal study, Rats

緒 言

Calcipotriol (以下, MC903 と略す) は, Leo Pharmaceutical Products Ltd. (Denmark) で開発された新規乾癬治療剤である。本剤はビタミン D_3 の活性本体である $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の類縁化合物であり, 表皮細胞に対する細胞増殖抑制作用および分化誘導作用を有し, カルシウム代謝に及ぼす作用は活性型ビタミン D_3 の $1/100 \sim 1/200$ と報告されている (Binderup and Bramm, 1988)。欧米では本剤の $50 \mu\text{g/g}$ 濃度の軟膏が臨床適用されており, 本邦においても安全な乾癬治療剤として有用性が期待されている。

今回, 著者らは MC903 の安全性評価の一環として, ラットを用いて周産期および授乳期皮下投与試験を実施し, 母動物の分娩および哺育ならびに出生児の発育, 行動, 学習能力および生殖能力に及ぼす影響を検討したので報告する。

実験材料および方法

1. 被験物質

本試験には, Lot No. 9307-80 (純度: 98.2%) の MC903 を使用した。

MC903 は, 化学名を (+)-(5Z, 7E, 22E, 24S)-24-cyclopropyl-9, 10-secochole-5, 7, 10, (19), 22-tetraene- $1\alpha, 3\beta, 24$ -triol と称し, 分子量 412.61 で, エタノールに溶けやすく, クロロホルムおよびプロピレングリコールにやや溶けやすく, 水および流動パラフィンにはほとんど溶けない白色の結晶性粉末である。MC903 の化学構造式を Fig. 1 に示した。

2. 使用動物および飼育条件

9 週齢の Slc: SD 系 SPF 雌雄ラットを日本エスエルシー(株)より購入し, 2 週間の検疫・予備飼育の後, 一般状態の良好な動物を選択し試験に用いた。11 週齢に達した時点で, 雌雄一対を雄のケージ内で終夜同居させ, 翌朝に陰栓が認められた動物を交尾成立雌とし, その日を妊娠 0 日とした。母動物の交尾確認時の体重は $210.8 \sim 275.5 \text{ g}$ であった。また, F_1 雄動物の再交配用の予備雌として同系 SPF 雌ラットを 8 週齢で購入し, 試験に用いた。

試験期間を通して, 動物は温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $50 \pm 10\%$, 換気回数約 16 回/時間, 12 時間照明 (7:00~19:00) に設定したバリエーションシステム動物室で, オートクレーブ滅菌した床敷 (ソフトチップ, 日本

Fig. 1. Chemical structure of calcipotriol.

エスエルシー(株))を入れたアルミ製床平板ケージ(25 W × 40 D × 18 H (cm))で個別に飼育した。ただし、予備飼育期間中は、雌をステンレススチール製網底・尿皿付網ケージ (37 W × 47 D × 19 H (cm)) に各 5 匹ずつ、雄をステンレススチール製網底・尿皿付網ケージ (27 W × 39 D × 18 H (cm)) に個別に、交配期間中は雌雄 1 匹ずつを前述の雄と同形式のケージに収容した。また、出生児については、哺育期間中は母動物と同一ケージに、離乳後から生後 56 日までは雌雄別に 2 匹ずつ、それ以後は 1 匹ずつ前述のアルミ製床平板ケージに収容した。

動物には、放射線照射滅菌した固型飼料 (FR-2, (株)船橋農場) および塩素消毒した飲料水を自由に摂取させた。

3. 投与量および群構成

投与量は、Slc: SD 系妊娠ラットを用いた器官形成期皮下投与試験 (内山ら, 1996) のための投与量設定試験において、30 $\mu\text{g/kg}$ 群で死亡、体重および摂餌量の減少等が認められたことから、25 $\mu\text{g/kg/day}$ を本試験の最高用量に、中間用量に 12.5 $\mu\text{g/kg/day}$ 、最低用量に 6.25 $\mu\text{g/kg/day}$ を設定した。これらに溶媒のみを投与する対照群を加え、計 4 群とした。各群に交尾が成立したラット 24 匹を配した。また、動物の群分けは、交尾が成立した雌動物の体重が均一になるように等数法に従って行った。

4. 投与液の調製および投与方法

MC903 を 99.5% エタノールに溶解して各群の投与液の 100 倍濃度の保存液を調製し、これを 0.2% の割合で Triton X-100 を加えた生理食塩液 (以下 0.2% TritonX-100 加生理食塩液) で希釈して各群の投与液を調製した。保存液および投与液は、安定性試験の結果をふまえて、 -20°C で遮光・冷凍保管し、それぞれ調製後 30 日および 7 日以内に使用した。

臨床適用経路は経皮投与であるが、本試験では代替経路として皮下投与とした。投与期間は、ラットの周産期および授乳期である妊娠 17 日から分娩後 21 日までとした。投与は 1 日 1 回、頸背部皮下に注射した。投与容量は、妊娠期間中は各動物の毎日の体重を、授乳期間中は最新測定時の体重を基準とし、0.5 ml/kg の割合で算出した。なお、対照群の動物

には、0.2% Triton X-100 加生理食塩液のみを同様の方法で投与した。

5. 検査方法

1) 母動物の観察

一般状態を毎日観察し、体重は妊娠 0, 4, 7, 14 日および 17 日以降から分娩するまでは毎日、授乳期間中では分娩 0, 4, 7, 14 および 21 日に測定した。摂餌量は妊娠 1, 4, 7, 14 日および 17 日以降から分娩するまでは毎日、授乳期間中では分娩後 1, 4, 7, 14 および 21 日に測定した。母動物は全例自然分娩させ、分娩異常の有無、妊娠日数、出産児数、周産期死亡児数および出產生児数を記録し、出産率 ((生児出産雌数/妊娠雌数) × 100) を算出した。母動物には分娩後 21 日まで出生児を哺育させ、授乳および哺育状態を観察した。分娩後 21 日の最終投与終了後に出生児を離乳させ、その後に母動物をエーテル麻酔下にて放血死させて剖検し、主要器官の重量 (絶対重量) を測定して解剖日の体重に対する比重量 (相対重量) を算出した。また、子宮内着床痕数を調べ、出生率 ((出產生児数/着床痕数) × 100) を算出した。

2) 出生児の観察

出生児について、出生日 (生後 0 日) に外表異常の有無および性別を記録した。また、一般状態と生死を毎日観察し、体重を哺育期間中は生後 0, 4, 7, 14 および 21 日に測定した。生存児は、生後 4 日に 4 日目生存率 ((生後 4 日の生児数/出產生児数) × 100) を算出した後、各腹 8 匹 (可能な限り雄 4 匹、雌 4 匹) に調整した。淘汰した児は屠殺し、骨格検査を行った。発育分化の指標として耳介開展、腹部被毛の発生、下顎歯牙萌出および眼瞼開裂の時期を検査した。反射・感覚機能は、全生存児について生後 20 日に視覚性置き直し反射、疼痛反射、Preyer 反射 (聴覚反射)、正向反射および自由落下反射の有無を検査した。生後 21 日に離乳率 ((離乳時生児数/4 日齢での調整後生児数) × 100) を求め、各腹につき雌雄各 2 匹 (情動性・運動協調性・学習能検査用に雌雄各 1 匹、生殖能力検査用に雌雄各 1 匹) を離乳させた。残りの出生児については、エーテル麻酔下にて放血死させ剖検した後、主要器官の重量を測定した。また、Dawson 法 (1926) に準じてアリザリンレツ

ド S 染色骨格透明標本を作製し、骨格検査を行った。

離乳後は、一般状態を毎日観察し、体重を週 1 回測定した。発育分化の検査として、精巣下降および腔開口をそれぞれ 19 および 28 日から観察した。各腹の雌雄各 1 例について、open field 試験による情動検査を 4 週齢時に、回転棒による運動協調性の検査を 5 週齢時に、水迷路による学習能の検査を 6 週齢時にそれぞれ行った。

Open field 試験では、Hall (1934) の方法を参考にして底面の直径 60 cm、高さ 50 cm、底面 19 区画の open field 装置を用い、3 分間に観察された区画移動数、立ち上がり回数、洗顔行動回数、毛づくろい回数、排糞回数および排尿の有無を記録した。回転棒による検査は、Lynch ら (1975) の方法に準じて、毎分 8 回転する直径 9 cm のドラム上で動物を歩行させ、3 分間に観察された落下回数を記録した。水迷路学習試験は、Butcher ら (1973) の方法に準じて水迷路を用い、動物を第 1 日目は直線水路で、第 2・3 日目は迷路でそれぞれ 4 回遊泳させた。ゴール到達所要時間およびエラー回数を 4 試行の合計で算出した。なお、判定は袋小路に動物の身体が半分入った場合にエラーとした。8 週齢時に学習能の検査を終えた出生児について、エーテル麻酔下にて放血死させ剖検した後、主要器官の重量を測定した。

生殖能力は、各腹雌雄 1 匹ずつについて検査した。11 週齢で同一群の雌雄を兄妹交配を避けて、14 日間を限度に 1 対 1 で交配し、雌に腔栓または腔垢中に精子が認められた場合を交尾成立とした。初回の交配で交尾が成立しなかった場合、雄は予備の無処置雌と、雌は同一群の妊孕能確認雄と 7 日間を限度に再交配し、初回の交配結果と総合して生殖能力を評価した。交尾成立雌は、妊娠 0 日から 3 日ごとに体重を測定し、妊娠 21 日にエーテル麻酔下で放血死させて剖検し、妊娠成立の有無を調べた。妊娠動物については黄体数、着床数、初期死亡（吸収胚）および後期死亡（浸軟、死亡）ならびに生存胎児の位置と数を調べた。生存胎児は体重を測定し、性別および外表異常の有無を調べた。交尾不成立あるいは妊娠の成立が認められなかった雌雄の動物は、生殖器（卵巣、子宮、精巣、精巣上体）を組織学的に検査

した。生殖能力試験に使用した雄は、交配期間終了後にエーテル麻酔下で放血致死させ、剖検した。

6. 統計学的処理

得られた各成績について、下記の検定法により統計学的解析を行った。統計学的有意水準は、いずれも危険率 1 % あるいは 5 % とした。ただし、胎児 (F_2) および離乳までの出生児 (F_1) に関する成績については、1 腹の値を標本単位として集計した。

1) 多重比較検定

計測値は“平均値±標準偏差”で表し、各計測値について全群の等分散性を Bartlett 法で検定した。等分散の場合は一元配置型分散分析を行い、有意ならば Dunnett 法（群間例数が等しい）あるいは Scheffé 法（群間例数が異なる）で多重比較を行った。不等分散の場合は Kruskal-Wallis 法の順位検定を行い、有意ならば Dunnett 型あるいは Scheffé 型の順位による多重比較を行った。

母動物の体重、母動物の摂餌量、母動物の器官重量および相対重量、黄体数、着床数、生存胎児数、生存胎児体重、妊娠期間、着床痕数、出生児数、死産児数、出生児体重、出生児の成長分化所要日数、情動検査における出生児の歩行量・立ち上がり回数・洗顔行動回数・毛づくろい回数・排糞回数、運動協調性の検査における落下回数、水迷路におけるゴール到達所要時間・エラー数、出生児の器官重量および相対重量

2) Fisher の直接確率計算法

出産率、感覚反射の異常な児の出現率、情動検査における排尿のみられた個体の出現率、出生児の交尾率、出生児の妊娠率

3) Wilcoxon の順位和検定

着床率、性比、胚・胎児死亡率、出生率、4 日目生存率、離乳率、外表異常の出現率、内臓異常の出現率、骨格異常の出現率、骨格変異の出現率

実験結果

1. 母動物に及ぼす影響

1) 一般状態および生死

死亡動物は、対照群および MC903 投与群のいず

れの群にも認められなかった。また、妊娠および授乳期間を通して、MC903 投与によると思われる一般状態の変化および妊娠経過の異常は認められなかった。その他、6.25 $\mu\text{g/kg}$ 群に片側性の角膜の白色点を観察された。

2) 体 重

妊娠期間中および授乳期間中の体重推移を Fig. 2 に示した。妊娠期間中の MC903 投与各群の体重は、いずれも対照群とほぼ同等に推移した。授乳期間中、25 $\mu\text{g/kg}$ 群において僅かな増加抑制傾向がみられた。

3) 摂 餌 量

妊娠期間中および授乳期間中の摂餌量を Fig. 3 に示した。妊娠期間中の MC903 投与各群の摂餌量は、いずれも対照群とほぼ同等に推移した。授乳期間中、25 $\mu\text{g/kg}$ 群において、僅かな抑制傾向がみられ、分娩後21日では対照群と比べて有意に減少した。

4) 分娩状態および哺育行動

母動物の分娩に関する成績を Table 1 に示した。すべての母動物が正常に生存児を分娩し、対照群および MC903 投与各群ともに出産率は100%であった。また、妊娠日数は MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

哺育行動の不良が対照群に1例認められ、この母動物の保育児が全例死亡した。

5) 剖検所見および器官重量

対照群に胸腺の赤色化、肺の褐色斑および赤色ないし暗赤色斑、肝横隔膜面結節および卵管の嚢胞、6.25 $\mu\text{g/kg}$ 群に肺の赤色ないし暗赤色斑、脾臓の腫大・結節・癒着（肝臓、脾臓および脂肪との癒着）、腎臓の腫大、副腎の腫大、子宮の拡張および腎門リンパ節の腫大、12.5 $\mu\text{g/kg}$ 群に肝横隔膜面結節および子宮の片側性形成不全、25 $\mu\text{g/kg}$ 群に肺の赤色ないし暗赤色斑、肝横隔膜面結節、子宮の拡張および卵管の嚢胞が散発的（1～3例）に認められた。その他、対照群および MC903 投与各群において、投与部皮下に赤色斑が5～12例観察された。

母動物の器官重量を Table 2 に示した。25 $\mu\text{g/kg}$ 群において、副腎（右）の相対重量が対照群と比べて有意に増加したが、その他の器官重量には、

MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

2. 出生児 (F_1) に及ぼす影響

1) 出生時観察所見

出生時の観察成績を Table 1 に示した。着床痕数、周産期死亡児数、出産生存児数、出生率および出生児体重には MC903 投与各群と対照群との間に有意差はなく、出生児には外表異常の発生もみられなかった。

2) 一般状態および生存性

MC903 投与に起因すると考えられる異常症状は観察されなかった。哺育期間中、対照群において1腹の出生児が全例死亡したが、4日目生存率および21日生存率（離乳率）には、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった（Table 1）。また、離乳後では、MC903 投与各群および対照群において死亡例はなかった。

3) 体 重

出生児の体重推移を Fig. 4～6 に示した。哺育期間中は、25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雌雄において生後14および21日に対照群と比較して有意に低下した。離乳後は、25 $\mu\text{g/kg}$ 群において、行動および学習能の検査に付した雄では生後28、35および42日、雌では生後28日に有意な低下が認められた。生殖能力検査に付した雌雄では、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

4) 発育分化

発育分化の観察結果を Table 3 に示した。12.5 $\mu\text{g/kg}$ 群において精巣下降の所要日数が対照群と比べて有意に延長した。耳介の開展、腹部被毛の発生、下顎歯牙萌出および眼瞼開裂に至るまでの所要日数ならびに腔開口の日齢は、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

5) 反射・感覚機能

出生児の反射・感覚機能検査の結果を Table 3 に示した。正向反射、自由落下反射、疼痛反射、Preyer 反射、視覚性置き直し反射の検査結果は、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

Fig. 2. Body weight of rat dams (F₀) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Fig. 3. Food consumption of rat dams (F₀) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Table 1. Litter data with natural delivery of rat dams (F₀) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)		0	6.25	12.5	25
No. of pregnant animals		24	24	24	24
No. of animals with liveborn pups		24	24	24	24
Delivering rate (%) ^{a)}		100.0	100.0	100.0	100.0
Gestation period (day)	(mean $\pm$ S.D.)	21.9 $\pm$ 0.4	21.8 $\pm$ 0.5	21.8 $\pm$ 0.6	21.8 $\pm$ 0.4
No. of implantations	(total)	336	331	341	334
	(mean $\pm$ S.D.)	14.0 $\pm$ 2.1	13.8 $\pm$ 1.4	14.2 $\pm$ 1.9	13.9 $\pm$ 2.0
Birth rate (%) ^{b)}		91.8	90.9	90.3	88.1
No. of stillbirths	(total)	2	2	6	4
No. of livebone pups	(total)	311	301	307	295
	(mean $\pm$ S.D.)	13.0 $\pm$ 2.7	12.5 $\pm$ 1.9	12.8 $\pm$ 2.3	12.3 $\pm$ 2.9
Sex ratio (%) ^{c)}		52.2	52.1	47.0	49.7
No. of livebone pups with external anomalies	(total)	0	0	0	0
Body weight of live pups at birth (g)					
Male	(mean $\pm$ S.D.)	6.05 $\pm$ 0.49	5.87 $\pm$ 0.35	5.95 $\pm$ 0.44	6.04 $\pm$ 0.37
Female	(mean $\pm$ S.D.)	5.69 $\pm$ 0.36	5.64 $\pm$ 0.34	5.58 $\pm$ 0.44	5.73 $\pm$ 0.32
Survival rate (%) ^{d)}	(total)	97.4	97.8	98.8	98.2
Weaning rate (%) ^{e)}	(total)	95.8	99.5	100.0	100.0

a) : (No. of females with liveborns / No. of pregnant females) $\times$ 100.

b) : (No. of liveborn pups / No. of implantation sites) $\times$ 100.

c) : (No. of male pups / No. of liveborn pups) $\times$ 100.

d) : From day 0 to day 4.

e) : From day 4 (post-culling) to day 21.

6) 情 動 性

Open field 試験の結果を Table 4 に示した。6.25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雄で、区画移動数の有意な増加が認められた。その他の検査項目に MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

7) 運動協調性

回転棒による試験の結果を Table 5 に示した。落下回数に MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

8) 学習能の検査

水迷路学習試験の結果を Table 6 に示した。第 1 日目におけるゴール到達時間、第 2 および第 3 日目におけるゴール到達時間およびエラー回数には、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

9) 生殖能力

交配成績を Table 7 に示した。雌雄の交尾率およ

び受胎率（雄においては雌を妊娠させた率）には MC903 投与の影響は認められなかった。また、妊娠母動物の一般状態に何ら異常は認められず、体重推移についても、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった (Fig. 7)。また、未交尾あるいは不妊であった対照群の雄 3 例および雌 4 例、6.25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雌雄各 2 例、12.5 および 25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雌雄各 3 例の生殖器官を組織学的に検査した結果、対照群の雄 2 例および 6.25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雄 1 例に精子形成減少、水腫あるいは鉍質化、対照群の雌 1 例および 12.5 $\mu\text{g/kg}$ 群の雌 3 例に黄体嚢胞、6.25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雌 1 例に黄体増加がみられたが、いずれも用量依存性はなく MC903 投与の影響はないと考えられた。

帝王切開所見を Table 8 に示した。25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雄の胎児体重が対照群と比べて有意に増加した。黄体数、着床数、着床率、胚・胎児死亡率、生存胎児

Table 2. Absolute and relative organ weights of rat dams (F₀) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)		0	6.25	12.5	25
No. of dams examined		23	24	24	24
Body weight	(g)	286.09 $\pm$ 18.06	286.01 $\pm$ 20.23	283.05 $\pm$ 16.63	282.19 $\pm$ 12.82
Organ weight					
Thymus	(g)	0.2236 $\pm$ 0.0487	0.2247 $\pm$ 0.0479	0.2290 $\pm$ 0.0492	0.2377 $\pm$ 0.0423
	(g%)	0.0780 $\pm$ 0.0157	0.0786 $\pm$ 0.0160	0.0808 $\pm$ 0.0160	0.0842 $\pm$ 0.0143
Heart	(g)	0.9410 $\pm$ 0.0644	0.9739 $\pm$ 0.1186	0.9575 $\pm$ 0.0997	0.9348 $\pm$ 0.0921
	(g%)	0.3292 $\pm$ 0.0163	0.3403 $\pm$ 0.0306	0.3383 $\pm$ 0.0291	0.3311 $\pm$ 0.0270
Lung	(g)	1.1322 $\pm$ 0.0835	1.1628 $\pm$ 0.1238	1.1473 $\pm$ 0.1095	1.1591 $\pm$ 0.1138
	(g%)	0.3961 $\pm$ 0.0222	0.4061 $\pm$ 0.0222	0.4056 $\pm$ 0.0339	0.4109 $\pm$ 0.0370
Liver	(g)	11.852 $\pm$ 1.305	11.896 $\pm$ 1.564	11.835 $\pm$ 1.189	11.486 $\pm$ 1.229
	(g%)	4.1343 $\pm$ 0.2557	4.1504 $\pm$ 0.3506	4.1785 $\pm$ 0.3080	4.0651 $\pm$ 0.3399
Spleen	(g)	0.5700 $\pm$ 0.0743	0.7502 $\pm$ 0.7913	0.5705 $\pm$ 0.0722	0.5852 $\pm$ 0.0677
	(g%)	0.1990 $\pm$ 0.0211	0.2537 $\pm$ 0.2287	0.2018 $\pm$ 0.0252	0.2076 $\pm$ 0.0243
Adrenal (Right)	(mg)	32.0 $\pm$ 4.5	32.0 $\pm$ 4.9	32.7 $\pm$ 3.8	35.4 $\pm$ 4.7
	(mg%)	11.23 $\pm$ 1.69	11.16 $\pm$ 1.17	11.59 $\pm$ 1.49	12.53 $\pm$ 1.43*
Adrenal (Left)	(mg)	35.3 $\pm$ 5.1	35.3 $\pm$ 6.0	36.9 $\pm$ 4.9	38.5 $\pm$ 4.2
	(mg%)	12.41 $\pm$ 2.08	12.31 $\pm$ 1.40	13.05 $\pm$ 1.75	13.63 $\pm$ 1.31
Kidney (Right)	(g)	0.8711 $\pm$ 0.0778	0.8720 $\pm$ 0.0991	0.8753 $\pm$ 0.0616	0.8732 $\pm$ 0.0629
	(g%)	0.3044 $\pm$ 0.0187	0.3048 $\pm$ 0.0253	0.3096 $\pm$ 0.0195	0.3093 $\pm$ 0.0144
Kidney (Left)	(g)	0.8738 $\pm$ 0.0794	0.8715 $\pm$ 0.1037	0.8642 $\pm$ 0.0664	0.8797 $\pm$ 0.0713
	(g%)	0.3053 $\pm$ 0.0176	0.3045 $\pm$ 0.0252	0.3055 $\pm$ 0.0191	0.3116 $\pm$ 0.0193
Ovary (Right)	(mg)	51.0 $\pm$ 8.9	47.6 $\pm$ 8.2	50.7 $\pm$ 6.8	51.8 $\pm$ 8.4
	(mg%)	17.86 $\pm$ 3.02	16.67 $\pm$ 2.75	17.94 $\pm$ 2.39	18.34 $\pm$ 2.55
Ovary (Left)	(mg)	49.4 $\pm$ 10.9	47.2 $\pm$ 10.0	49.9 $\pm$ 6.1	49.2 $\pm$ 9.5
	(mg%)	17.29 $\pm$ 3.75	16.54 $\pm$ 3.44	17.67 $\pm$ 2.21	17.39 $\pm$ 3.02

Values represent mean $\pm$ S.D.* : Significantly different from 0 $\mu\text{g/kg}$ group ($P < 0.05$).

数および性比には MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。また、F₂ 胎児の外表面異常として外脳および臍ヘルニアの合併が12.5 $\mu\text{g/kg}$ 群に1例観察されたのみであった。

10) 剖検所見および器官重量

生後21日の剖検において、胸腺の赤色化、肝横隔膜面結節あるいは腎盂の拡張、また、生後56日およ

び生殖能力検査終了時の剖検において、胸腺の充血あるいは赤色化、肺の暗赤色斑、肝横隔膜面結節、腎臓の嚢胞あるいは白色斑、精巣腫大、精巣萎縮、卵巣の嚢胞、子宮の拡張、皮下の塊あるいは脂肪壊死が対照群および MC903 投与各群に散見された。これら各異常の出現率には、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

Fig. 4. Body weight of offspring (F_1) until weaning in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Fig. 5. Body weight of offspring (F_1) after weaning in perinatal and postnatal study of calcipotriol.
—Behavioral development and learning ability test group—

Fig. 6. Body weight of offspring (F_1) after weaning in perinatal and postnatal study of calcipotriol.
—Reproductivity test group—

Table 3. Physical and sensory development of rat offspring (F_1) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	0	6.25	12.5	25
Physical development				
No. of offspring examined ^{a)} (litter)	311 (24)	301 (24)	307 (24)	295 (24)
Day of age when offspring showing (mean $\pm$ S.D.)				
Separation of auricle	3.2 $\pm$ 0.78	3.3 $\pm$ 0.69	3.1 $\pm$ 0.63	3.3 $\pm$ 0.53
Emergence of hair	10.2 $\pm$ 0.42	10.3 $\pm$ 0.61	10.3 $\pm$ 0.59	10.3 $\pm$ 0.56
Eruption of lower incisor	11.6 $\pm$ 0.69	12.1 $\pm$ 0.68	11.6 $\pm$ 0.60	11.9 $\pm$ 0.82
Separation of eyelids	15.8 $\pm$ 0.79	16.0 $\pm$ 0.79	15.8 $\pm$ 0.66	15.9 $\pm$ 0.82
Descent of testis	21.7 $\pm$ 1.01	22.3 $\pm$ 1.79	23.1 $\pm$ 1.26**	22.9 $\pm$ 1.56
Opening of vagina	33.9 $\pm$ 1.36	34.7 $\pm$ 1.68	34.4 $\pm$ 1.84	34.7 $\pm$ 1.99
Sensory development				
No. of offspring examined	180	191	191	188
No. of offspring showing no reflex at 20 days of age				
Righting reflex on surface	0	0	0	0
Righting reflex in mid-air	0	0	0	0
Response to pain	0	0	0	0
Preyer reflex	0	0	0	0
Visual placing reflex	0	0	0	0

^{a)} : No. of offspring at birth.

** : Significantly different from 0 $\mu\text{g/kg}$ group ($P < 0.01$).

Table 4. Locomotor activity and emotionality measured by the open field test in offspring (F₁) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined				
Male	22	24	24	24
Female	23	23	24	24
Measurement values (mean $\pm$ S.D.)				
Male				
Ambulation ^{a)}	59.8 $\pm$ 23.1	88.2 $\pm$ 27.5**	68.0 $\pm$ 27.7	79.6 $\pm$ 19.1
Rearing (number)	15.0 $\pm$ 6.3	18.3 $\pm$ 7.6	14.4 $\pm$ 5.7	15.8 $\pm$ 6.6
Preening (number)	1.3 $\pm$ 1.8	0.5 $\pm$ 0.8	0.7 $\pm$ 1.1	1.0 $\pm$ 1.4
Grooming (number)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Defecation (number)	1.2 $\pm$ 1.4	0.4 $\pm$ 0.9	0.7 $\pm$ 1.3	0.4 $\pm$ 0.9
Female				
Ambulation ^{a)}	62.9 $\pm$ 31.0	74.7 $\pm$ 26.5	58.0 $\pm$ 27.1	69.0 $\pm$ 23.0
Rearing (number)	14.7 $\pm$ 8.9	15.2 $\pm$ 7.9	13.5 $\pm$ 7.4	14.6 $\pm$ 7.4
Preening (number)	0.6 $\pm$ 0.9	0.7 $\pm$ 1.6	0.9 $\pm$ 1.5	1.0 $\pm$ 1.2
Grooming (number)	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.3	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Defecation (number)	0.6 $\pm$ 1.2	0.1 $\pm$ 0.6	0.5 $\pm$ 1.1	0.2 $\pm$ 0.7
No. of animals which urinated				
Male	6	6	6	4
Female	6	3	1	1

^{a)} : No. of squares crossed for 3 min.

** : Significantly different from 0 $\mu\text{g/kg}$ group ($P < 0.01$).

Table 5. Motor coordination of rat offspring (F₁) measured by the rotarod in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined				
Male	22	24	24	24
Female	23	23	24	24
No. of falls for 3 min				
Male	7.5 $\pm$ 7.7	8.1 $\pm$ 6.9	8.0 $\pm$ 5.8	4.2 $\pm$ 4.0
Female	6.7 $\pm$ 5.0	5.7 $\pm$ 4.8	5.2 $\pm$ 3.7	4.0 $\pm$ 2.4

Values represent mean $\pm$ S.D.

Table 6. Learning ability of rat offspring (F₁) measured by the water-filled multiple T-maze test in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined				
Male	22	24	24	24
Female	23	23	24	24
Elapsed time (sec)				
Male				
1st day	13.4 $\pm$ 3.8	11.6 $\pm$ 2.9	12.3 $\pm$ 3.8	12.7 $\pm$ 3.1
2nd day	83.5 $\pm$ 44.7	78.3 $\pm$ 33.1	79.8 $\pm$ 34.1	68.8 $\pm$ 25.4
3rd day	27.7 $\pm$ 14.9	24.2 $\pm$ 8.5	33.3 $\pm$ 27.4	27.1 $\pm$ 7.4
Female				
1st day	11.7 $\pm$ 2.6	11.4 $\pm$ 2.2	10.9 $\pm$ 3.2	10.8 $\pm$ 1.9
2nd day	62.9 $\pm$ 19.5	61.5 $\pm$ 15.8	64.0 $\pm$ 24.3	62.0 $\pm$ 21.0
3rd day	21.8 $\pm$ 7.1	24.4 $\pm$ 9.6	20.9 $\pm$ 8.4	25.4 $\pm$ 9.3
No. of errors				
Male				
2nd day	6.7 $\pm$ 3.5	6.9 $\pm$ 3.6	6.8 $\pm$ 2.8	6.2 $\pm$ 2.8
3rd day	1.2 $\pm$ 1.6	0.8 $\pm$ 1.1	1.4 $\pm$ 2.2	1.3 $\pm$ 1.0
Female				
2nd day	6.5 $\pm$ 2.0	7.1 $\pm$ 2.4	7.0 $\pm$ 3.2	6.4 $\pm$ 2.2
3rd day	1.2 $\pm$ 1.1	1.5 $\pm$ 1.9	1.1 $\pm$ 1.3	1.5 $\pm$ 1.6

Values represent mean $\pm$ S.D.

Fig. 7. Body weight of rat dams (F₁) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Table 7. Reproductive ability of offspring (F₁) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose (μ g/kg)		0		6.25		12.5		25	
1st mating									
No. of mated		23		24		24		24	
No. of copulated		19		20		23		23	
No. of pregnant		17		19		20		20	
Copulated / Mated		(%)	82.6	83.3		95.8		95.8	
Pregnant / Copulated		(%)	89.5	95.0		87.0		87.0	
2nd mating									
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
No. of mated		4	4	4	4	1	1	1	1
No. of copulated		4	3	3	3	1	1	1	1
No. of pregnant or impregnated		3	2	3	3	1	1	1	1
Copulated / Mated		(%)	100.0	75.0	75.0	75.0	100.0	100.0	100.0
Pregnant or impregnated / Copulated		(%)	75.0	66.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 8. Litter data with cesarean section of rat dams (F₁) in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose (μg/kg)		0	6.25	12.5	25
No. of litters examined		19	22	21	21
No. of corpora lutea	(total)	279	318	315	296
	(mean ± S.D.)	14.7 ± 1.6	14.5 ± 1.7	15.0 ± 2.2	14.1 ± 1.3
No. of implantations	(total)	258	285	283	249
	(mean ± S.D.)	13.6 ± 2.0	13.0 ± 2.3	13.5 ± 2.7	11.9 ± 3.1
Implantation rate	(%)	92.8	89.4	90.1	84.4
Rate of resorbed or dead fetuses					
Total	(%)	7.7	6.9	7.3	9.0
Early	(%)	7.7	6.9	6.9	8.5
Late	(%)	0	0	0.4	0.5
No. of live fetuses	(total)	238	266	262	228
	(mean ± S.D.)	12.5 ± 2.2	12.1 ± 2.4	12.5 ± 2.8	10.9 ± 3.4
Sex ratio ^{a)}	(%)	55.0	49.0	52.0	46.1
Fetal body weight (g)					
Male	(mean ± S.D.)	5.03 ± 0.21	5.08 ± 0.21	5.13 ± 0.26	5.25 ± 0.30*
Female	(mean ± S.D.)	4.75 ± 0.32	4.81 ± 0.20	4.85 ± 0.25	4.91 ± 0.33
No. of fetuses with external abnormalities	(%)	0	0	1 (0.3) ^{b)}	0

^{a)} : (No. of male fetuses / No. of live fetuses) × 100.^{b)} : Exencephaly and omphalocele.

* : Significantly different from 0 μg/kg group (P < 0.05).

生後21日の器官重量の測定結果を Table 9, 10 に、生後56日の器官重量の測定結果を Table 11, 12 に示した。生後21日の器官重量では、25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雌において肺、肝臓および左右の腎臓の絶対重量が対照群と比べて有意に低下し、生後56日の器官重量では、25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雄において肺、肝臓および右腎臓の絶対重量が対照群と比べて有意に低下した。

11) 骨格検査

生後21日の出生児の骨格検査の結果を Table 13 に示した。骨格異常は、いずれの MC903 投与群にも観察されなかった。骨格変異として頸肋骨、腰肋骨、椎体二分、第2頸椎体の未骨化または形成不全あるいは胸骨核の過剰が各群に散見(1～8例)された。これら骨格変異の出現率には、MC903 投与各群と対照群との間に有意差はみられなかった。

考 察

MC903 の6.25, 12.5および25 $\mu\text{g/kg/day}$ を、Slc : SD 系ラットの周産期および授乳期に皮下投与し、母動物および出生児 (F_1) に及ぼす影響について検討した。

母動物では、いずれの動物も妊娠経過に異常はなく、一般状態の変化および死亡動物は認められなかった。25 $\mu\text{g/kg}$ 群において授乳期間中、摂餌量に僅かな減少傾向がみられ、分娩後21日では対照群と比べて有意な減少が認められた。この減少については、25 $\mu\text{g/kg}$ 群の体重にも増加抑制傾向がみられ、MC903 のラットにおける器官形成期皮下投与試験(内山ら, 1996)においても同様の傾向がみられることから、MC903 投与に起因する変化と考えられた。剖検では MC903 投与に起因すると考えられる異常は観察されなかった。投与部皮下の赤色斑が対照群および MC903 投与各群に高頻度(5～12例)に観察されたが、用量依存的な変化がみられないことから溶媒投与の影響あるいは投与手技に関連した変化と考えられた。器官重量では、25 $\mu\text{g/kg}$ 群において副腎(右)の相対重量が増加したが、絶対重量に有意差がなく、また、左側の副腎およびその他の器官重量にも有意差がみられないことから、偶発的

な変化と考えられた。

出生児では、出産児数、周産期死亡児数、出産生児数、出生率および性比のいずれにも MC903 投与の影響は認められず、外表異常の発生もみられなかった。また、感覚機能、運動協調性、学習能の検査、生殖能力試験での交尾率および受胎率、 F_1 母動物の妊娠中の体重、 F_2 胎児の外表検査、出生児の外表、剖検および骨格検査においても MC903 投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。25 $\mu\text{g/kg}$ 群において、哺育期間中に、雌雄出生児の体重が対照群より低く推移した。25 $\mu\text{g/kg}$ 群では、母動物にも哺育期間中に、体重および摂餌量の軽度な増加抑制あるいは減少傾向がみられており、このことが出生児の発育に影響したものと考えられた。この傾向は離乳後も継続して認められた。器官重量では、25 $\mu\text{g/kg}$ 群において生後21日の雌の肺、肝臓および左右の腎臓、生後56日の雄の肺、肝臓および右腎臓の絶対重量が対照群と比べて有意に低下した。しかし、いずれの器官も相対重量に有意差がなかったことから、これらの変動は、同群において認められた体重増加抑制に関連した変化と考えられた。発育分化状態では、12.5 $\mu\text{g/kg}$ 群において精巣下降の所要日数が有意に延長したが、雌の腔開口の所要日数に差はなく、用量依存性もないことから偶発的な変化と推察され、発育分化状態に MC903 投与の影響はないと考えられた。Open field 試験法による情動性検査では、6.25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雄に区画移動数の有意な増加が認められたが、他の検査項目に有意差がみられなかったことから、情動性に MC903 投与の影響はないと考えられた。 F_2 胎児において、25 $\mu\text{g/kg}$ 群の雄の胎児体重が有意に増加したが、雌では体重に差はなく、胚・胎児死亡率にも差がないことから偶発的な変化と推察された。

以上の結果から、本試験条件下における MC903 の母動物に対する一般毒性学的無毒性量は12.5 $\mu\text{g/kg/day}$ 、母動物の生殖毒性学的無毒性量は25 $\mu\text{g/kg/day}$ 、また、次世代に及ぼす影響に対する無毒性量は12.5 $\mu\text{g/kg/day}$ であると推定された。

Table 9. Absolute organ weights of male offspring (F₁) on day 21 after birth in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined (litter)	44 (22)	50 (24)	47 (23)	44 (22)
Body weight (g)	46.82 $\pm$ 3.86	44.63 $\pm$ 5.75	44.49 $\pm$ 5.62	43.68 $\pm$ 3.84
Organ weight				
Thymus (g)	0.1918 $\pm$ 0.0257	0.1786 $\pm$ 0.0302	0.1783 $\pm$ 0.0323	0.1760 $\pm$ 0.0246
Heart (g)	0.2499 $\pm$ 0.0212	0.2450 $\pm$ 0.0254	0.2433 $\pm$ 0.0327	0.2450 $\pm$ 0.0215
Lung (g)	0.4481 $\pm$ 0.0270	0.4339 $\pm$ 0.0446	0.4304 $\pm$ 0.0525	0.4215 $\pm$ 0.0341
Liver (g)	1.892 $\pm$ 0.254	1.776 $\pm$ 0.284	1.722 $\pm$ 0.333	1.695 $\pm$ 0.224
Spleen (g)	0.1892 $\pm$ 0.0238	0.1778 $\pm$ 0.0404	0.1769 $\pm$ 0.0429	0.1632 $\pm$ 0.0318
Adrenal (Right) (mg)	7.3 $\pm$ 1.4	6.8 $\pm$ 1.2	7.0 $\pm$ 1.5	7.1 $\pm$ 1.2
Adrenal (Left) (mg)	7.7 $\pm$ 1.4	7.5 $\pm$ 1.1	7.2 $\pm$ 1.4	7.8 $\pm$ 1.1
Kidney (Right) (g)	0.2513 $\pm$ 0.0266	0.2362 $\pm$ 0.0310	0.2341 $\pm$ 0.0355	0.2265 $\pm$ 0.0265
Kidney (Left) (g)	0.2438 $\pm$ 0.0263	0.2292 $\pm$ 0.0314	0.2277 $\pm$ 0.0341	0.2217 $\pm$ 0.0247
Testis (Right) (g)	0.1194 $\pm$ 0.0141	0.1154 $\pm$ 0.0222	0.1164 $\pm$ 0.0225	0.1163 $\pm$ 0.0176
Testis (Left) (g)	0.1182 $\pm$ 0.0131	0.1144 $\pm$ 0.0227	0.1150 $\pm$ 0.0210	0.1154 $\pm$ 0.0176

Values represent mean $\pm$ S.D.**Table 10.** Absolute organ weights of female offspring (F₁) on day 21 after birth in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined (litter)	45 (23)	46 (23)	48 (24)	48 (24)
Body weight (g)	46.02 $\pm$ 3.66	43.89 $\pm$ 6.24	42.99 $\pm$ 3.84	41.69 $\pm$ 4.43
Organ weight				
Thymus (g)	0.2019 $\pm$ 0.0241	0.1883 $\pm$ 0.0359	0.1860 $\pm$ 0.0248	0.1871 $\pm$ 0.0277
Heart (g)	0.2469 $\pm$ 0.0194	0.2454 $\pm$ 0.0268	0.2358 $\pm$ 0.0231	0.2333 $\pm$ 0.0240
Lung (g)	0.4373 $\pm$ 0.0341	0.4155 $\pm$ 0.0387	0.4113 $\pm$ 0.0346	0.4035 $\pm$ 0.0373*
Liver (g)	1.912 $\pm$ 0.222	1.767 $\pm$ 0.306	1.720 $\pm$ 0.258	1.657 $\pm$ 0.259*
Spleen (g)	0.1906 $\pm$ 0.0288	0.1870 $\pm$ 0.0468	0.1776 $\pm$ 0.0363	0.1601 $\pm$ 0.0372
Adrenal (Right) (mg)	7.4 $\pm$ 1.5	6.7 $\pm$ 1.3	7.0 $\pm$ 1.5	7.6 $\pm$ 1.8
Adrenal (Left) (mg)	7.9 $\pm$ 1.6	7.5 $\pm$ 1.5	7.5 $\pm$ 1.5	7.8 $\pm$ 1.1
Kidney (Right) (g)	0.2567 $\pm$ 0.0207	0.2384 $\pm$ 0.0374	0.2366 $\pm$ 0.0246	0.2257 $\pm$ 0.0275**
Kidney (Left) (g)	0.2508 $\pm$ 0.0212	0.2334 $\pm$ 0.0331	0.2324 $\pm$ 0.0231	0.2210 $\pm$ 0.0234**
Ovary (Right) (mg)	6.8 $\pm$ 1.2	6.6 $\pm$ 1.6	6.1 $\pm$ 1.5	6.2 $\pm$ 1.8
Ovary (Left) (mg)	6.5 $\pm$ 1.5	6.1 $\pm$ 1.6	6.3 $\pm$ 1.5	6.4 $\pm$ 2.0
Uterus (g)	0.0314 $\pm$ 0.0061	0.0284 $\pm$ 0.0039	0.0293 $\pm$ 0.0057	0.0282 $\pm$ 0.0056

Values represent mean $\pm$ S.D.*, **: Significantly different from 0 $\mu\text{g/kg}$ group ($P < 0.05$, 0.01).

Table 11. Absolute organ weights of male offspring (F₁) on day 56 after birth in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)		0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined		22	24	24	24
Body weight	(g)	300.84 $\pm$ 30.61	296.07 $\pm$ 21.06	293.96 $\pm$ 22.16	276.33 $\pm$ 35.89
Organ weight					
Thymus	(g)	0.6137 $\pm$ 0.1063	0.6252 $\pm$ 0.0561	0.6395 $\pm$ 0.0910	0.6120 $\pm$ 0.0853
Heart	(g)	0.9997 $\pm$ 0.1220	0.9945 $\pm$ 0.1045	0.9776 $\pm$ 0.0846	0.9238 $\pm$ 0.1082
Lung	(g)	1.3772 $\pm$ 0.1475	1.3388 $\pm$ 0.1579	1.3428 $\pm$ 0.1378	1.2374 $\pm$ 0.1476*
Liver	(g)	13.302 $\pm$ 1.894	13.023 $\pm$ 1.509	12.689 $\pm$ 1.637	11.641 $\pm$ 2.110*
Spleen	(g)	0.7131 $\pm$ 0.0667	0.7004 $\pm$ 0.0710	0.6823 $\pm$ 0.0785	0.6553 $\pm$ 0.0922
Adrenal (Right)	(mg)	22.1 $\pm$ 3.6	22.2 $\pm$ 3.3	22.1 $\pm$ 3.9	21.2 $\pm$ 3.2
Adrenal (Left)	(mg)	23.1 $\pm$ 3.4	23.6 $\pm$ 3.0	22.5 $\pm$ 2.7	22.4 $\pm$ 3.1
Kidney (Right)	(g)	0.9786 $\pm$ 0.1082	0.9588 $\pm$ 0.0720	0.9313 $\pm$ 0.0836	0.8957 $\pm$ 0.1057*
Kidney (Left)	(g)	0.9795 $\pm$ 0.1185	0.9511 $\pm$ 0.0943	0.9328 $\pm$ 0.0912	0.8985 $\pm$ 0.0970
Testis (Right)	(g)	1.7868 $\pm$ 0.1855	1.6889 $\pm$ 0.1705	1.7529 $\pm$ 0.1764	1.6590 $\pm$ 0.1521
Testis (Left)	(g)	1.7560 $\pm$ 0.1463	1.7282 $\pm$ 0.1628	1.7363 $\pm$ 0.1252	1.6665 $\pm$ 0.1592

Values represent mean $\pm$ S.D.* : Significantly different from 0 $\mu\text{g/kg}$ group ($P < 0.05$).**Table 12.** Absolute organ weights of female offspring (F₁) on day 56 after birth in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)		0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined		23	23	24	24
Body weight	(g)	207.18 $\pm$ 14.93	200.68 $\pm$ 17.06	198.06 $\pm$ 15.88	198.23 $\pm$ 21.16
Organ weight					
Thymus	(g)	0.4877 $\pm$ 0.0653	0.4996 $\pm$ 0.0564	0.4987 $\pm$ 0.0734	0.4983 $\pm$ 0.0663
Heart	(g)	0.7314 $\pm$ 0.0592	0.7112 $\pm$ 0.0751	0.7186 $\pm$ 0.0594	0.7203 $\pm$ 0.0714
Lung	(g)	1.0381 $\pm$ 0.0825	1.0388 $\pm$ 0.0958	1.0140 $\pm$ 0.0889	1.0215 $\pm$ 0.0783
Liver	(g)	7.970 $\pm$ 0.974	7.827 $\pm$ 0.965	7.666 $\pm$ 0.823	7.647 $\pm$ 1.039
Spleen	(g)	0.4609 $\pm$ 0.0508	0.4777 $\pm$ 0.0587	0.4727 $\pm$ 0.0689	0.4534 $\pm$ 0.0414
Adrenal (Right)	(mg)	25.6 $\pm$ 4.0	26.3 $\pm$ 5.4	25.8 $\pm$ 4.1	26.0 $\pm$ 4.0
Adrenal (Left)	(mg)	27.7 $\pm$ 3.1	28.0 $\pm$ 5.1	27.5 $\pm$ 4.0	27.8 $\pm$ 3.7
Kidney (Right)	(g)	0.7107 $\pm$ 0.0652	0.6797 $\pm$ 0.0815	0.6686 $\pm$ 0.0689	0.6608 $\pm$ 0.0729
Kidney (Left)	(g)	0.6992 $\pm$ 0.0638	0.6698 $\pm$ 0.0724	0.6679 $\pm$ 0.0753	0.6814 $\pm$ 0.0857
Ovary (Right)	(mg)	38.7 $\pm$ 7.0	38.1 $\pm$ 6.4	39.6 $\pm$ 6.6	39.5 $\pm$ 6.3
Ovary (Left)	(mg)	38.6 $\pm$ 5.8	38.4 $\pm$ 8.1	38.3 $\pm$ 6.0	39.7 $\pm$ 8.0
Uterus	(g)	0.4147 $\pm$ 0.1248	0.4329 $\pm$ 0.1597	0.3987 $\pm$ 0.1378	0.3850 $\pm$ 0.1070

Values represent mean $\pm$ S.D.

Table 13. Skeletal findings (abnormalities and variations) of rat offspring (F₁) at 21 days old in perinatal and postnatal study of calcipotriol.

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	0	6.25	12.5	25
No. of offspring examined (litter)	89 (23)	96 (24)	95 (24)	92 (24)
No. of offspring with skeletal abnormality (%)	0	0	0	0
No. of offspring with skeletal variations (%)	17 (18.5)	14 (14.9)	10 (10.4)	12 (12.8)
Cervical rib (%)	6 (6.5)	5 (5.2)	1 (1.0)	5 (5.2)
Lumbar rib (%)	2 (2.2)	0	0	0
Bipartite vertebral body (%)	7 (7.6)	8 (8.3)	8 (8.3)	8 (8.7)
Un-ossification of the 2nd cervical vertebral body (%)	3 (3.3)	0	0	0
Hypoplasia of the 2nd cervical vertebral body (%)	0	0	1 (1.0)	0
Accessory of sternabra (%)	0	1 (1.4)	0	0

要 約

MC903 の6.25, 12.5および25 $\mu\text{g/kg/day}$ を, Slc : SD 系ラットの周産期および授乳期に皮下投与し, 母動物および出生児 (F₁) に及ぼす影響について検討した。

1. 母動物では, 25 $\mu\text{g/kg}$ 群において授乳期間中, 摂餌量の減少傾向および体重の増加抑制傾向がみられ, 分娩後21日に摂餌量の有意な減少がみられた。いずれの投与群においても一般状態に異常は観察されず, 剖検および器官重量にも影響は認められなかった。

2. 出生児 (F₁) では, 25 $\mu\text{g/kg}$ 群において哺育期間および離乳後に体重増加抑制が認められた。出生児の出生率, 生存率, 発育分化, 感覚機能・行動・学習の検査, 出生児の外表・内臓・骨格検査, さらに出生児の生殖能および F₂ 胎児の発生に影響は認められなかった。

以上の結果から, 本試験条件下における MC903 の母動物に対する一般毒性学的無毒性量は12.5 $\mu\text{g/kg/day}$, 母動物の生殖毒性学的無毒性量は25 $\mu\text{g/kg/day}$, また, 次世代に及ぼす影響に対する無毒性量は12.5 $\mu\text{g/kg/day}$ であると推定された。

(試験期間: 1994年1月~1994年9月)

文 献

- Binderup, L. and Bramm, E. (1988): Effects of a novel vitamin D analogue MC903 on cell proliferation and differentiation in vitro and on calcium metabolism in vivo. *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 889-895.
- Butcher, R. E., Scott, W. J., Kazmaier, K. and Ritter, E. J. (1973): Postnatal effects in rats of prenatal treatment with hydroxyurea. *Teratology*, **7**, 161-166.
- Dawson, A. B. (1926): A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.*, **1**, 123-124.
- Hall, C. S. (1934): Drive and emotionality; Factors associated with adjustment in the rat. *J. Comp. Psychol.*, **17**, 89-108.
- Lynch, A., Smart, J. L. and Dobbing, J. (1975): Motor coordination and cerebellar size in adult rats under nourished in early life. *Brain Res.*, **83**, 249-259.
- 内山長久, 鈴木登志郎, 小池嘉秀, 他 (1996): Calcipotriol (MC903) の生殖・発生毒性試験 (第2報) ラット皮下投与による器官形成期投与試験. *J. Toxicol. Sci.*, **21**, Suppl. II, 403-424.