新規抗悪性腫瘍薬 S-1 の生殖・発生毒性試験 (第3報)

— ウサギ経口投与による胎児の器官形成期投与試験 —

四宮 充普, 柚木山史郎, 池淵 一也

大鵬薬品工業株式会社 製薬センター 安全性研究所

〒771-01 徳島市川内町平石夷野224-2

REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY STUDY OF A NEW ANTINEOPLASTIC AGENT, S-1 (III)

— Teratological Study in Rabbits by Oral Administration —

Mitsuhiro SHINOMIYA, Sirou YUKIYAMA and Kazuya IKEBUCHI

Drug Safety Research Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

224-2 Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima 771-01, Japan.

(Received May 28, 1996 ; Accepted October 15, 1996)

ABSTRACT — S-1 is a newly developed antineoplastic agent consisting of the mixture of tegafur (FT), 5-chloro-2, 4-dihydroxypyridine (CDHP), and potassium oxonate (Oxo) in a molar ratio of 1 : 0.4 : 1. As part of a reproductive and developmental toxicity study of S-1, a teratogenicity study was carried out in rabbits administered daily oral doses of S-1 0, 0.5, 1, or 1.5 mg/kg/day (as a dose of FT). S-1 was administered from day 6 to day 18 of pregnancy. Two additional studies were conducted in order to evaluate the effect on embryos or fetuses at higher S-1 dosage. One study (additional study I) tested during organogenesis dividing it into 3 periods (Day 6-10, Day 10-14, and Day 14-18) at doses of 2, 4 or 6 mg/kg/day. Another study (additional study II) tested during organogenesis dividing it into 4 periods (Day 8 · 9, Day 10 · 11, Day 12 · 13, and Day 14 · 15) at doses of 3 or 6 mg/kg/day due to many embryo deaths at high dose level in the additional study I. The results were as follows.

1. Teratogenicity study

One dam died on day 16 of pregnancy and there was a weak teratogenic potential in the 1.5 mg/kg/day group. There were no remarkable other changes in dams and fetuses.

連絡先：〒771-01 徳島市川内町平石夷野224-2

大鵬薬品工業株式会社 製薬センター 安全性研究所

四宮 充普

The non-observed effects dose level of S-1 for general toxicity in dams was 1 mg/kg/day, for pregnancy in dams was 1.5 mg/kg/day, and for development of fetuses was 1 mg/kg/day under the conditions of this study.

2. Additional study I

Abortion was observed at 6 mg/kg/day in the day 14-18 administration group. General toxicity in dams were observed in all administration groups.

Fetal lethality was observed at 4 mg/kg/day or more in the day 6-10 and day 10-14 groups, and at 6 mg/kg/day in the day 14-18 administration group. Inhibition of fetal growth was observed at 2 mg/kg/day in the day 10-14 group and at 2 mg/kg/day or more in the day 14-18 administration group. There was a weak teratogenic potential at 2 mg/kg/day or more in the day 10-14 group and at 4 mg/kg/day in the day 14-18 administration group.

3. Additional study II

Abortion was observed at 6 mg/kg/day in the day 8 · 9, day 10 · 11, and day 12 · 13 administration groups. General toxicity in dams were observed in all administration groups.

Fetal lethality was observed at 3 mg/kg/day in the day 8 · 9 group and at 6 mg/kg/day in all administration groups. Inhibition of fetal growth and teratogenic potential were clearly observed at 3 mg/kg/day in the day 8 · 9 and day 10 · 11 groups, and at 6 mg/kg/day in the day 12 · 13 and day 14 · 15 administration groups.

4. In conclusion, when S-1 was administered at a low dose (≤ 1.5 mg/kg/day) during organogenesis effects were not detected clearly. When higher doses were administered (2-6 mg/kg/day), fetal lethality, inhibition of fetal growth, and teratogenicity were observed.

KEY WORDS : S-1, Antineoplastic agent, Teratogenicity study, Rabbits

緒 言

S-1 は制がん作用を持つ 5-fluorouracil (以下 5-FU と略) のプロドラッグである tegafur (以下 FT と略) に, 5-FU 分解阻害剤である 5-chloro-2, 4-dihydropyridine (以下 CDHP と略) と 5-FU のリン酸化を阻害する potassium oxonate (以下 Oxo と略) を 1 : 0.4 : 1 のモル濃度で配合した新規経口フッ化ピリミジン系抗悪性腫瘍薬である。S-1 は CDHP の作用により 5-FU の高い血中濃度を長時間維持し, 制がん効果を高め, さらに消化管組織に高濃度に分布した Oxo の作用で 5-FU の活性化を阻害し, 消化管の副作用を軽減させることを目的として開発された (Shirasaka *et al.*, 1996)。

今回, 我々は S-1 の安全性試験の一環として, ウサギ経口投与による胎児の器官形成期投与試験を実施

し, 母獣および胚・胎児に及ぼす影響を検討した。その後, 推定臨床用量 (2 ~ 3 mg/kg/day) を上回る高用量の S-1 を投与した場合の, 母獣および催奇形作用を含め胚・胎児に及ぼす影響およびその発現時期を詳細に検討する目的で, 器官形成期を 3 分割 (妊娠 6 ~ 10 日, 10 ~ 14 日, 14 ~ 18 日) した分割投与試験 I を実施した。さらに, 分割投与試験 I では高用量で多数の胚が死亡したことより, S-1 投与による催奇形作用およびその発現時期を詳細に検討する目的で, 妊娠 8 ~ 15 日を 4 分割 (妊娠 8 · 9 日, 10 · 11 日, 12 · 13 日, 14 · 15 日) した分割投与試験 II を実施したので, その結果を報告する。

実験材料および方法

1. 被験物質

S-1 の配合成分である FT は, 化学名 5-fluoro-1-

(tetrahydro-2-furanyl)-2, 4 (1*H*, 3*H*)-pyrimidinedione で、分子量200.17であり、メタノールにやや溶けやすく、水またはエタノールにやや溶けにくい白色の結晶性の粉末である。CDHP は、化学名 5-chloro-2, 4-dihydroxypyridine で、分子量145.55であり、ジメチルホルムアミドに溶けやすく、メタノールにやや溶けにくく、無水エタノールに溶けにくい白色の結晶性の粉末である。Oxo は化学名 potassium 1, 3, 5-triazine-2, 4 (1*H*, 3*H*)-dione-6-carboxylate で、分子量195.18であり、水に溶けにくく、メタノールまたは無水エタノールにほとんど溶けない白色の結晶性の粉末である。

なお、S-1 の投与量は他の毒性試験、薬効試験、臨床試験などの表示と一致させ、また、FT や FT と uracil の配合剤である UFT などの類薬との比較を容易にするために本薬に含有される FT 量として表示した。

2. 使用動物および飼育条件

動物は、器官形成期投与試験用に、4 カ月齢の Kbl: NZW (SPF) ウサギの雄20匹と雌70匹、および分割投与試験Ⅰ・Ⅱ用に雄20匹と雌130匹をそれぞれ北山ラベスから購入後、7 日間の検疫期間中に一般状態の観察、体重測定および鼻腔 SWAB 培養検査を実施し、馴化期間を経たのち健康と判断されたものを試験に供した。

交配適期と判断された未経産雌と雄を 1 対 1 で交配用ケージに入れ、観察下で交尾行動が確認された雌を妊娠動物とみなし、この日を妊娠 0 日として妊娠日を起算した。交配開始時の雌の月齢は 4 カ月以上、および妊娠 0 日の体重範囲は3.13~4.41 kg であった。

動物は、試験期間を通じて、温度20~26℃および湿度30~70%に空調され、照明時間12時間（午前 6 時点灯一午後 6 時消灯）および換気回数10回以上/時間に設定された飼育室にて、FRP・ステンレス製ブラケットケージ (350×527×350 mm) を使用し、1 匹/ケージで飼育した。

飼料として CR-1 (日本クレア) を検疫期間は制限給餌 (約100 g/日)、その後の試験期間中雌は自由に摂取させたが、雄は引き続き制限給餌(100~150 g/日)した。飲水として水道水を自動給水装置にて自由に摂取させた。なお、検疫あるいは馴化期間中に食欲不振

を示した動物の一部については、CR-3 (日本クレア) あるいは LRC-4 (オリエンタル酵母工業) を食欲不振が回復するまで制限給餌した。

3. 用量設定および投与期間

1) 器官形成期投与試験

投与量は、先に実施した S-1 のウサギ経口投与による胎児の器官形成期投与予備試験の結果を参考にして設定した。すなわち、S-1 の 1, 2, 3, 4, 7 および10 mg/kg/day を妊娠 6 日から18日まで母獣に投与した結果、2 mg/kg/day 以上の群で母獣の体重増加抑制がみられ、7 および10 mg/kg/day 群で全ての母獣が死亡した。2 mg/kg/day 群の大部分の母獣ならびに 3 および 4 mg/kg/day 群の全ての母獣で一腹全ての胚が死亡した。また、1 mg/kg/day 群では胎児体重に低値傾向が認められた。従って、本試験では1.5 mg/kg/day を最高用量とし、以下 1 および0.5 mg/kg/day を設定し、妊娠 6 日から18日の13日間投与した。

各群の交尾確認動物数は15~16匹とした。

対照群には媒体として使用した0.5% hydroxypropyl methylcellulose (以下 HPMC と略; メトロース®, 信越化学工業) 溶液のみを S-1 と同様に投与した。

2) 分割投与試験Ⅰ

器官形成期(妊娠 6 日から18日)を妊娠 6 日から10 日 {[D 6-10] 分割}、妊娠10日から14日 {[D 10-14] 分割} および妊娠14日から18日 {[D 14-18] 分割} に 3 分割し、それぞれを投与期間とした。投与量は、器官形成期投与試験の予備試験結果を参考にして、母獣および胚・胎児に何らかの影響がみられると推測された 6 mg/kg/day を最高用量とし、以下 4 および 2 mg/kg/day 群を設定した。この他に妊娠 6 日から18日まで0.5% HPMC 溶液のみを投与する対照群を設定した。

各群の交尾確認動物数は 5 ~ 9 匹とした。

3) 分割投与試験Ⅱ

分割投与試験Ⅰの結果から、S-1 の催奇形作用の高感受期と推定された妊娠 8 日から15日を妊娠 8, 9 日 {[D 8-9] 分割}、妊娠10, 11日 {[D 10-11] 分割}、妊娠12, 13日 {[D 12-13] 分割}、妊娠14, 15日 {[D 14-15] 分割} に 4 分割し、それぞれを投与期間とした。投与量は、分割投与試験Ⅰの結果を参考にして 6 mg/

kg/day 群を最高用量とし、以下 3 mg/kg/day 群を設定した。この他に妊娠 8 日から 15 日まで 0.5% HPMC 溶液のみを投与する対照群を設定した。

各群の交尾確認動物数は 7 匹とした。

4. 被験液の調製および投与方法

S-1 は 0.5% HPMC 溶液に懸濁し、被験液を調製した。

被験液は、各投与期間に 1 日 1 回、胃カテーテルを用いて強制経口投与した。

投与量は 5 ml/kg 体重とし、妊娠 6 日の体重より算出した。

5. 観察および検査

1) 母獣の観察および検査

(1) 一般状態観察、体重および摂餌量測定

一般状態観察および生死の確認を毎日 1 回以上実施した。体重を妊娠 0, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24 および 28 日に測定した。摂餌量を妊娠 1, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24 および 28 日に前日からの 1 日量として測定した。

(2) 剖検

妊娠 28 日にネンブタール®（大日本製薬）で麻酔死させ、妊娠成立の有無および全身諸臓器の異常の有無を観察し、肝臓、脾臓および腎臓の重量を測定した。妊娠例について、着床数および黄体数を数えた。死亡母獣は発見後速やかに剖検し、妊娠の有無、着床数および胚・胎児の状態を調べた。流産母獣は発見後速やかにネンブタール®で麻酔死させた後剖検し、着床数および胚・胎児の状態を調べた。

2) 胎児の観察および検査

生存胎児、吸収胚および死亡胎児の位置および数を観察した。吸収胚および死亡胎児は吸収進行度あるいは死亡時期により着床痕（着床した痕跡の認められるもの）、胎盤遺残（胚が完全に吸収され胎盤のみ認められるもの）、早期吸収胚（四肢指放線の不明瞭な吸収胚）、後期吸収胚（四肢指放線の明瞭な吸収胚）、浸軟胎児（水分を吸収し膨軟化した胎児）および死亡胎児（機械的刺激に反応しない胎児）に区分した。生存胎児について、外表観察、性別判定、体重および胎盤重量測定を行った後、一腹あたり約半数例を内臓観察用にブアン液で、残りを骨格観察用に 95% エタノール

液で固定した。

内臓検査については、頭部および腹部を Wilson 法（Wilson, 1965）で、胸部を顕微解剖法（西村, 1974）で行い、異常および変異の有無を観察した。骨格検査については、Inouye 法（Inouye, 1976）を参考にし、硬・軟骨二重染色標本を作製し、異常および変異の有無および骨化進行度を観察した。

6. 統計学的方法

体重、体重増加量、摂餌量、胎盤重量、臓器重量および臓器重量比については Bartlett の等分散検定後、等分散であれば一元配置分散分析を、不等分散であれば Kruskal-Wallis の順位和検定を行い、有意で各群の例数が等しい場合は Dunnett の多重比較を、例数が等しくない場合は Dunn の多重比較を行った。黄体数、着床数、着床率、着床後胚・胎児死亡率、生存胎児数、外表異常発現率および内臓・骨格の異常・変異発現率については Kruskal-Wallis の順位和検定を行い、有意で各群の例数が等しい場合は Dunnett の多重比較を、例数が等しくない場合は Dunn の多重比較を行った。性比は Fisher-Irwin の直接確率検定を行った。

性比を除く胎児に関するデータは母獣単位で取り扱い、有意水準を 5% 未満とした。

実験結果

1. 器官形成期投与試験

不妊動物が 1 および 1.5 mg/kg/day 群で各 1 匹、誤投与による母獣死亡が 1 mg/kg/day 群で 2 匹、1.5 mg/kg/day 群で 1 匹にみられたため、各群における有効母獣数は、対照群、0.5, 1 および 1.5 mg/kg/day 群で、それぞれ 15, 15, 13 および 14 匹であった。

1) 母獣に及ぼす影響

(1) 一般状態

死亡が 1.5 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 16 日にみられた。本例は妊娠 14 日より死亡前まで自発運動減少を示した。流産が 0.5 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 23 日にみられた。下痢が対照群の 1 匹で妊娠 28 日にみられた。この他、血尿が 0.5 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 4 日にみられ、糞排泄量の減少が各群で妊娠中期より末期にかけて散見された。

(2) 体重および摂餌量 (Fig. 1, 2)

摂餌量の有意な高値が1 mg/kg/day 群の妊娠4日から6日および1.5 mg/kg/day 群の妊娠1日から6日にそれぞれみられた以外、体重および体重増加量には対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。

(3) 剖検および臓器重量

帝王切開動物の剖検では、胃の潰瘍および脂肪肝が1.5 mg/kg/day 群で1匹に、副脾が対照群を含む各群で、頸部の外傷・痂皮形成および副副腎が対照群で、腹部の脱毛が0.5および1 mg/kg/day 群で散見された。1.5 mg/kg/day 群の妊娠16日における死亡例の剖検では胃の出血がみられた。0.5 mg/kg/day 群の流産例の剖検では膀胱内に赤褐色尿の貯留および胆汁の貯留に

よる胆嚢の肥大が認められた。

臓器重量には対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。

2) 胎児に及ぼす影響

(1) 帝王切開時検査 (Table 1)

着床数および生存胎児数が0.5 mg/kg/day 群で対照群に比べ有意に多かったが、黄体数、着床率、胚・胎児死亡率、性比、生存胎児体重および胎盤重量には対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。

(2) 胎児観察

外表観察結果をTable 1に、内臓観察結果をTable 2に、および骨格検査結果をTable 3, 4にそれぞれ示した。

外表異常として、前肢の拘縮が対照群で1例および1.5 mg/kg/day 群で3例にみられた。

内臓異常として、横隔膜ヘルニアが1 mg/kg/day 群で1例に、右鎖骨下動脈の起始異常が対照群および1 mg/kg/day 群でそれぞれ1例、および1.5 mg/kg/day 群で2例にみられた。内臓変異として、胸腺頸部遺残、心血管系の起始異常あるいは過剰冠状動脈口が各群に散見された。これら内臓異常および変異の発生頻度には対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。なお、雌雄判別の際に変位腎が1.5 mg/kg/day 群で1例にみられた。

骨格異常として、肋軟骨癒合が1.5 mg/kg/day 群で4例に、胸骨核癒合が1 mg/kg/day 群で2例および1.5 mg/kg/day 群で1例にみられた。これら骨格異常を有する胎児の発生頻度では1.5 mg/kg/day 群に有意差が認められた。骨格変異として、0.5 mg/kg/day 群の腰肋骨痕および1 mg/kg/day 群のダンベル状の胸骨核の発現率に有意差が認められた。その他、13胸椎、6腰椎、13肋骨、腰肋骨、胸骨核の分離・骨化遅延などが各群にみられたが、これらの発現率には対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。

骨化進行では、対照群に比べ1 mg/kg/day 群で前肢の基節骨数が有意な低値を示した以外、いずれの部位においても対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。

2. 分割投与試験 I

不妊動物が[D 6-10] 分割の2, 6 mg/kg/day 群お

Fig. 1. Body weight gains of rabbits treated orally with S-1 from day 6 to 18 of pregnancy.

Fig. 2. Food consumptions of rabbits treated orally with S-1 from day 6 to day 18 of pregnancy. Significant difference from control (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$).

Table 1. Caesarean section findings in rabbits treated orally with S-1 from day 6 to day 18 of pregnancy.

Compound	Control	S-1		
Dosage (mg/kg/day)	0	0.5	1	1.5
No. of animals examined	15	15	13	14
No. of dead animals	0	0	0	1
No. of aborted animals	0	1	0	0
No. of dissected animals	15	14	13	13
No. of corpora lutea	138	153	137	134
Mean±S.D.	9.2±2.4	10.9±1.7	10.5±2.2	10.3±2.2
No. of implantation sites	106	138	121	114
Mean±S.D.	7.1±2.5	9.9±2.1**	9.3±2.6	8.8±2.7
Implantation rate (%) ^{a)}				
Mean±S.D.	78.5±24.1	89.9±12.3	88.6±14.5	84.0±16.3
<hr/>				
Post implantation loss (%)				
Mean±S.D.	5.0±7.3	7.2±9.9	7.7±16.8	7.0±10.8
No. of dead-resorbed fetuses	5	11	7	9
Metrial glands	0	0	0	0
Placental remnant	2	3	4	3
Early resorbed	2	0	2	1
Late resorbed	1	2	0	3
Macerated	0	6	1	2
Dead	0	0	0	0
No. of live fetuses	101	127	114	105
Mean±S.D.	6.7±2.6	9.1±1.9*	8.8±2.9	8.1±2.5
Male/Female	48/53	58/69	48/66	52/53
Sex ratio	0.91	0.84	0.73	0.98
Body weight of live fetuses				
Male (Mean±S.D.)	33.83±6.54	32.55±5.78	31.82±7.12	32.39±5.49
Female (Mean±S.D.)	34.37±6.12	31.79±4.67	31.97±6.52	31.91±4.96
Placental weight of live fetuses				
Male (Mean±S.D.)	5.11±1.05	4.89±1.00	4.48±1.16	4.71±0.70
Female (Mean±S.D.)	5.02±0.70	4.56±0.72	4.65±1.07	4.66±0.83
External examination				
No. of fetuses examined	101	127	114	105
No. of fetuses with anomalies (%)	1 ^{b)} (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 ^{b)} (3.5)

Significant difference from control (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$).^{a)} : Implantation rate = No. of implantation sites / No. of corpora lutea $\times 100$.^{b)} : Flexion contracture.

Table 2. Visceral findings of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 from day 6 to day 18 of pregnancy.

Compound	Control	S-1		
		0.5	1	1.5
Dosage (mg/kg/day)	0			
No. of fetuses examined	50 (15) ^{a)}	62 (14)	57 (13)	53 (13)
No. of fetuses with anomalies	1 (3.3) ^{b)}	0	2 (2.8)	2 (9.6)
Diaphragmatic hernia	0	0	1 (1.5)	0
Aberrant right subclavian artery	1 (3.3)	0	1 (1.3)	2 (9.6)
No. of fetuses with variations	15 (27.8)	14 (21.0)	14 (23.1)	15 (25.8)
Thymic remnant in the neck	2 (5.0)	4 (5.7)	5 (7.7)	3 (5.1)
Cardiovascular minor anomaly	13 (22.8)	12 (18.1)	8 (14.1)	13 (21.9)
Supernumerary coronary orifice	0	1 (1.4)	2 (2.8)	0
No. of fetuses examined at sexual decision	101 (15)	127 (14)	114 (13)	105 (13)
No. of fetuses with anomalies	0	0	0	1 (1.1)
Renal ectopia	0	0	0	1 (1.1)

^{a)} : Values in parentheses represent number of litters examined.

^{b)} : Values in parentheses represent average percentage per litter.

および [D 10-14] 分割の 4 mg/kg/day 群で各 1 匹, [D 14-18] 分割の 4 mg/kg/day 群で 3 匹, 6 mg/kg/day 群で 2 匹にみられたため, 各群における有効母獣数は対照群で 5 匹, [D 6-10] 分割の 2, 4, 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 4, 5, 4 匹, [D 10-14] 分割の 2, 4, 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 5, 4, 5 匹, [D 14-18] 分割の 2, 4, 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 6, 6, 3 匹であった。

1) 母獣に及ぼす影響

(1) 一般状態

死亡例はいずれの分割群においてもみられなかった。

対照群において, 糞排泄量の減少が 2 匹で妊娠 16 日から 21 日にみられた。

[D 6-10] 分割において, 膣出血が 4 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 20 日および 21 日にみられ, 糞排泄量の減少が 4 mg/kg/day 群の 2 匹および 6 mg/kg/day 群の 4 匹で妊娠初期から中期にみられた。

[D 10-14] 分割において, 膣出血が 4 および 6 mg/kg/day 群の各 1 匹で妊娠 18 日から 22 日にかけて散

見された。糞排泄量の減少が 2 mg/kg/day 群の 2 匹, 4 mg/kg/day 群の 3 匹および 6 mg/kg/day 群の 4 匹で妊娠中期から後期に, および糞の廃絶が 2 mg/kg/day 群の 1 匹の妊娠後期にみられた。

[D 14-18] 分割において, 流産が 4 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 20 日に, 6 mg/kg/day 群の 3 匹全例で妊娠 21 日および 24 日にみられた。膣出血が 6 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 22 日および 23 日にみられた。糞排泄量の減少が 2 mg/kg/day 群の 5 匹, 4 mg/kg/day 群の 4 匹および 6 mg/kg/day 群の 2 匹で妊娠期間を通じ, 糞の廃絶が 2 mg/kg/day 群の 1 匹, 4 mg/kg/day 群の 1 匹および 6 mg/kg/day 群の 2 匹で妊娠中期から後期にかけて, および軟便が 2 mg/kg/day 群の 2 匹で妊娠後期にみられた。

(2) 体重および摂餌量

[D 6-10] 分割において, 妊娠 6 日の投与開始日からの体重増加量では, 4 mg/kg/day 群で妊娠 18 日から 20 日に低値傾向がみられ, 6 mg/kg/day 群で妊娠 8 日から 24 日に減少あるいは低値傾向を示し妊娠 10 日から 16 日に有意な低値が認められた。摂餌量では 6 mg/

Table 3. Skeletal findings of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 from day 6 to day 18 of pregnancy.

Compound Dosage (mg/kg/day)	Control	S-1		
	0	0.5	1	1.5
No. of fetuses examined	51 (15) ^{a)}	65 (14)	57 (13)	44 (11)
No. of fetuses with anomalies	0	0	2 (2.6) ^{b)}	5 (9.5)*
Costochondral fusion	0	0	0	4 (7.7)
Fusion defect of sternebrae	0	0	2 (2.6)	1 (1.8)
No. of fetuses with variations	34 (71.1)	49 (74.5)	48 (86.6)	37 (87.7)
13 thoracic vertebrae	13 (25.7)	10 (14.9)	15 (26.6)	22 (53.5)
6 lumbar vertebrae	3 (6.7)	5 (6.9)	2 (5.8)	1 (2.3)
8 lumbar vertebrae	0	1 (1.8)	0	0
Sacralization of lumbar vertebra	1 (1.7)	1 (1.2)	0	0
Lumbarization of sacral vertebra	0	3 (4.6)	2 (5.4)	0
Rudimentary 1st rib	0	0	0	1 (1.8)
13 ribs	13 (25.7)	10 (14.9)	15 (26.6)	21 (51.7)
Lumbar rib	15 (28.2)	21 (33.9)	24 (45.2)	14 (32.9)
Rudimentary lumbar rib	5 (13.9)	24 (35.7)**	14 (24.0)	1 (1.3)
Separation of costicartilage	0	1 (1.2)	1 (1.5)	1 (1.8)
Asymmetry of sternebra	0	0	1 (1.9)	0
Dumbbell shaped sternebra	0	0	5 (8.4)*	0
Separation of sternebra	2 (5.6)	0	2 (3.1)	0
Accessory sternebra	0	0	0	1 (1.8)
Retarded ossification of sternebrae	0	4 (5.6)	1 (1.5)	2 (3.6)

Significant difference from control (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$).^{a)} : Values in parentheses represent number of litters examined.^{b)} : Values in parentheses represent average percentage per litter.

kg/day 群で妊娠10日に有意な低値が認められた。

[D 10-14] 分割において、妊娠10日の投与開始日からの体重増加量では、S-1 投与群で減少あるいは低値傾向を示し、2 mg/kg/day 群の妊娠12日および6 mg/kg/day 群の妊娠18日には有意な低値が認められた。摂餌量では、S-1 投与群で低値傾向を示したが有意差はみられなかった。

[D 14-18] 分割において、妊娠14日の投与開始日からの体重増加量では、S-1 投与群で減少あるいは低値傾向を示し、2 mg/kg/day 群の妊娠24日に有意差が認められた。摂餌量では、2 mg/kg/day 群および6 mg/kg/day 群で減少傾向を示したが有意差はみられなかった。

(3) 剖検および臓器重量

対照群において、副脾が3匹にみられた。

[D 6-10] 分割において、副脾が2, 4 および6 mg/kg/day 群の3, 1 および1匹にみられた。膀胱内壁の赤色点が6 mg/kg/day 群の1匹にみられた。

[D 10-14] 分割において、副脾が2, 4 および6 mg/kg/day 群の2, 1 および2匹にみられた。肝の黄色化が2 mg/kg/day 群の1匹に、脾の大型化が6 mg/kg/day 群の1匹にみられた。

[D 14-18] 分割において、副脾が2 および4 mg/kg/day 群の各1匹にみられた。胃の腺胃部の赤色点が2 mg/kg/day 群の1匹にみられた。流産例の剖検では2 mg/kg/day 群で脾臓萎縮が1匹に、6 mg/kg/day 群

Table 4. Ossifications of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 from day 6 to day 18 of pregnancy.

Compound	Control	S-1		
Dosage (mg/kg/day)	0	0.5	1	1.5
No. of fetuses examined	51 (15) ^{a)}	65 (14)	57 (13)	44 (11)
No. of vertebrae				
Cervical	7.0±0.0 ^{b)}	7.0±0.0	7.0±0.0	7.0±0.0
Thoracic	12.3±0.4	12.2±0.2	12.3±0.3	12.5±0.4
Lumbar	6.9±0.3	7.0±0.2	6.9±0.1	7.0±0.1
Sacro-coccygeal	19.2±0.5 ^{c)}	18.9±0.6	18.8±0.6	19.2±0.8
No. of ribs				
Right	12.5±0.4	12.4±0.3	12.6±0.3	12.9±0.2*
Left	12.5±0.4	12.5±0.3	12.7±0.3	12.9±0.2*
No. of sternebrae	5.8±0.3	5.8±0.3	5.8±0.3	5.9±0.3
No. of metacarpi				
Right	5.0±0.0	5.0±0.1	5.0±0.0	5.0±0.0 ^{e)}
Left	5.0±0.0	5.0±0.1	5.0±0.0	5.0±0.0 ^{e)}
No. of metatarsi				
Right	4.0±0.0 ^{d)}	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0 ^{e)}
Left	4.0±0.0 ^{d)}	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0 ^{e)}
No. of carpal proximal phalanges				
Right	5.0±0.0	4.9±0.3	4.7±0.4*	5.0±0.0 ^{e)}
Left	5.0±0.0	4.9±0.3	4.7±0.4*	5.0±0.0 ^{e)}
No. of tarsal proximal phalanges				
Right	4.0±0.0 ^{d)}	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0 ^{e)}
Left	4.0±0.0 ^{d)}	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0 ^{e)}

Significant difference from control (* : P<0.05).

^{a)} : Values in parentheses represent number of litters examined.^{b)} : Values represent mean±S.D.

No. of fetuses examined are c) : 50, d) : 49 and e) : 42.

で胃の赤色点が3匹あるいは胃の茶褐色斑が全例に、十二指腸の赤色点あるいは茶褐色斑が2匹に、膀胱内に血尿の貯留が1匹に、肺の茶褐色斑および副脾が1匹にみられた。

臓器重量には、いずれの分割においても対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。

2) 胎児に及ぼす影響

(1) 帝王切開時検査 (Table 5)

黄体数、着床数および着床率には、いずれの分割においても対照群とS-1投与群との間に有意差はみられなかった。

[D 6-10] 分割において、4および6 mg/kg/day 群

Table 5. Caesarean section findings in rabbits treated orally with S-1 during day 6-10, day 10-14 and 14-18 of pregnancy.

Compound (Treated period)	Control			S-1 (D 6-10)			S-1 (D 10-14)			S-1 (D 14-18)		
	0	2	4	5	6	4	2	5	4	6	2	4
Dosage (mg/kg/dal)	0	4	5	4	5	4	5	4	4	5	6	6
No. of animals examined	5	4	5	4	5	4	5	4	4	5	6	6
No. of dead animals	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. of aborted animals	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. of dissected animals	5	4	5	4	4	4	5	4	4	5	6	5
No. of corpora lutea	41	34	38	25	25	38	50	44	38	44	59	59
Mean $\pm$ S.D.	8.2 $\pm$ 1.1	8.5 $\pm$ 2.4	9.5 $\pm$ 3.1	6.3 $\pm$ 2.6	10.0 $\pm$ 1.6	9.5 $\pm$ 2.6	10.0 $\pm$ 2.4	8.8 $\pm$ 2.4	9.5 $\pm$ 2.6	9.8 $\pm$ 2.6	11.8 $\pm$ 1.3	11.8 $\pm$ 1.3
No. of implantation sites	35	27	45	19	19	27	42	40	27	40	55	51
Mean $\pm$ S.D.	7.0 $\pm$ 1.2	6.8 $\pm$ 3.4	9.0 $\pm$ 2.0	4.8 $\pm$ 3.1	8.4 $\pm$ 2.3	6.8 $\pm$ 3.3	8.0 $\pm$ 3.2	8.0 $\pm$ 3.2	6.8 $\pm$ 3.3	9.2 $\pm$ 2.4	10.2 $\pm$ 3.7	10.2 $\pm$ 3.7
Implantation rate (%) ^{a)}	86.5 $\pm$ 18.7	74.7 $\pm$ 26.3	93.9 $\pm$ 7.5	71.9 $\pm$ 21.3	83.6 $\pm$ 17.2	67.0 $\pm$ 22.6	90.0 $\pm$ 22.4	93.5 $\pm$ 5.4	85.6 $\pm$ 27.7	93.5 $\pm$ 5.4	85.6 $\pm$ 27.7	85.6 $\pm$ 27.7
Mean $\pm$ S.D.	86.5 $\pm$ 18.7	74.7 $\pm$ 26.3	93.9 $\pm$ 7.5	71.9 $\pm$ 21.3	83.6 $\pm$ 17.2	67.0 $\pm$ 22.6	90.0 $\pm$ 22.4	93.5 $\pm$ 5.4	85.6 $\pm$ 27.7	93.5 $\pm$ 5.4	85.6 $\pm$ 27.7	85.6 $\pm$ 27.7
Post implantation loss (%)	0.0 $\pm$ 0.0	48.2 $\pm$ 41.0	100.0 ^{**}	100.0 ^{**}	100.0 [*]	94.5 $\pm$ 11.1 [*]	100.0 ^{**}	100.0 ^{**}	94.5 $\pm$ 11.1 [*]	100.0 ^{**}	9.9 $\pm$ 15.4	3.1 $\pm$ 6.9
Mean $\pm$ S.D.	0.0 $\pm$ 0.0	48.2 $\pm$ 41.0	100.0 ^{**}	100.0 ^{**}	100.0 [*]	94.5 $\pm$ 11.1 [*]	100.0 ^{**}	100.0 ^{**}	94.5 $\pm$ 11.1 [*]	100.0 ^{**}	9.9 $\pm$ 15.4	3.1 $\pm$ 6.9
No. of dead-resorbed fetuses	0	9	45	19	19	25	1	40	25	40	6	2
Metrial glands	0	6	45	19	19	18	0	40	18	40	0	0
Placental remnant	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Early resorbed	0	0	0	0	0	7	0	0	7	0	2	0
Late resorbed	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Macerated	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. of live fetuses	35	18	0	0	0	2	41	0	2	0	49	49
Mean $\pm$ S.D.	7.0 $\pm$ 1.2	4.5 $\pm$ 4.1	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 1.0	8.2 $\pm$ 2.4	0.0 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 1.0	0.0 $\pm$ 0.0	8.2 $\pm$ 2.0	9.8 $\pm$ 3.4
Male/Female	16/19	13/5	0/0	0/0	0/0	0/2	23/18	0/0	0/2	0/0	23/26	26/23
Sex ratio	0.84	2.60	— ^{e)}	—	—	—	1.28	—	—	—	0.88	1.13
Body weight of live fetuses	37.39 $\pm$ 2.70	36.38 $\pm$ 2.07	—	—	—	—	31.36 $\pm$ 5.48	—	—	—	28.29 $\pm$ 5.47	32.66 $\pm$ 6.46
Male (Mean $\pm$ S.D.)	37.39 $\pm$ 2.70	36.38 $\pm$ 2.07	—	—	—	—	31.36 $\pm$ 5.48	—	—	—	28.29 $\pm$ 5.47	32.66 $\pm$ 6.46
Female (Mean $\pm$ S.D.)	36.38 $\pm$ 3.11	36.01 $\pm$ 3.23	—	—	—	33.9	29.60 $\pm$ 5.27	—	33.9	—	28.44 $\pm$ 5.32 [*]	30.06 $\pm$ 4.74
Placental weight of live fetuses	5.10 $\pm$ 0.93	5.17 $\pm$ 0.53	—	—	—	—	4.86 $\pm$ 0.70	—	—	—	4.28 $\pm$ 0.72	4.28 $\pm$ 0.66
Male (Mean $\pm$ S.D.)	5.10 $\pm$ 0.93	5.17 $\pm$ 0.53	—	—	—	—	4.86 $\pm$ 0.70	—	—	—	4.28 $\pm$ 0.72	4.28 $\pm$ 0.66
Female (Mean $\pm$ S.D.)	5.02 $\pm$ 0.77	5.03 $\pm$ 1.19	—	—	—	6.35	4.48 $\pm$ 0.87	—	6.35	—	4.18 $\pm$ 0.69	3.88 $\pm$ 0.33
External examination	35	18	0	0	0	2	41	0	2	0	49	49
No. of fetuses examined	35	18	0	0	0	2	41	0	2	0	49	49
No. of fetuses with anomalies	0	0	—	—	—	2 ^{b)}	0	—	2 ^{b)}	—	0	0
(%) (Mean $\pm$ S.D.)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	—	—	—	100.0	0.0 $\pm$ 0.0	—	100.0	—	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0

Significant difference from control (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$).^{a)} : Implantation rate = No. of implantation sites / No. of corpora lutea $\times 100$.^{b)} : Microtia (2) and oligodactyly (1)^{c)} : No data.

の全母獣の胚全てが死亡胚であり、生存胎児は得られなかった。2 mg/kg/day 群でも胚・胎児死亡率に高値傾向、生存胎児数に低値傾向がみられたが、性比、生存胎児体重、胎盤重量に有意差はみられなかった。

[D 10-14] 分割において、4 mg/kg/day 群の4匹中3匹の母獣および6 mg/kg/day 群の全母獣の胚全てが死亡胚であり、生存胎児は4 mg/kg/day 群の1母獣で2匹が得られたのみであった。2 mg/kg/day 群では、生存胎児体重に低値傾向がみられたが胚・胎児死亡率、生存胎児数、性比、胎盤重量には有意差はみられなかった。

[D 14-18] 分割において、6 mg/kg/day 群では3匹全ての母獣が流産したため、生存胎児は得られなかった。2および4 mg/kg/day 群では、生存胎児体重および胎盤重量に有意な低値あるいは低値傾向がみられたが、胚・胎児死亡率、生存胎児数、性比には有意差はみられなかった。

(2) 胎児観察

外表観察結果を Table 5, 内臓検査結果を Table 6 および骨格検査結果 Table 7 にそれぞれ示した。

対照群において、外表、内臓および骨格異常はみられなかった。内臓変異として心血管系の起始異常が8例にみられた。骨格変異として13胸椎、6腰椎、13肋骨、腰肋骨痕、肋軟骨の分離などが15例にみられた。

[D 6-10] 分割において、外表異常および内臓異常はみられなかった。内臓変異として左奇静脈遺残および心血管系の起始異常が2 mg/kg/day 群で2例にみられた。骨格異常として肋軟骨の癒合が2 mg/kg/day 群で1例にみられた。骨格変異として13胸椎、14胸椎、6腰椎、第1肋骨痕、13肋骨などが2 mg/kg/day 群で9例にみられた。骨化進行度は著変はなかった。

[D 10-14] 分割において、外表異常として4 mg/kg/day 群で得られた2匹の生存胎児に小耳あるいは欠指がみられた。内臓異常として口蓋裂が2 mg/kg/day

Table 6. Visceral findings of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 during day 6-10, day 10-14 and day 14-18 of pregnancy.

Compound (Treated period)	Control	S-1 (D 6-10)	S-1 (D 10-14)		S-1 (D 14-18)	
Dosage (mg/kg/day)	0	2	2	4	2	4
No. of fetuses examined	16 (5) ^{a)}	9 (3)	22 (5)	1 (1)	25 (6)	24 (5)
No. of fetuses with anomalies	0	0	1 (3.3) ^{b)}	1 (100.0)	0	4 (16.0)
Cleft palate	0	0	1 (3.3)	0	0	0
Renal ectopia	0	0	0	0	0	1 (4.0)
Lobulated kidney	0	0	0	0	0	4 (16.0)
Ventricular septal defect	0	0	0	1 (100.0)	0	0
No. of fetuses with variations	8 (50.0)	2 (23.3)	5 (21.7)	1 (100.0)	8 (33.6)	9 (32.7)
Thymic remnant in the neck	0	0	1 (3.3)	1 (100.0)	1 (4.2)	1 (4.0)
Azygous vein anomaly	0	1 (16.7)	0	0	0	0
Cardiovascular minor anomaly	8 (50.0)	1 (6.7)	3 (15.0)	1 (100.0)	6 (21.1)	9 (32.7)
Supernumerary coronary orifice	0	0	1 (3.3)	0	2 (11.7)	0
No. of fetuses examined at sexual decision	35 (5)	18 (3)	41 (5)	2 (1)	49 (6)	49 (5)
No. of fetuses with anomalies	0	0	0	0	0	5 (10.0)
Renal hypoplasia	0	0	0	0	0	5 (10.0)

^{a)} : Values in parentheses represent number of litters examined.

^{b)} : Values in parentheses represent average percentage per litter.

Table 7. Skeletal findings of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 during day 6-10, day 10-14 and day 14-18 of pregnancy.

Compound (Treated period)	Control	S-1 (D 6-10)	S-1 (D 10-14)		S-1 (D 14-18)	
Dosage (mg/kg/day)	0	2	2	4	2	4
No. of fetuses examined	19 (5) ^{a)}	9 (3)	19 (5)	1 (1)	24 (6)	25 (5)
No. of fetuses with anomalies	0	1 (16.7) ^{b)}	0	1 (100.0)	0	1 (3.3)
Kinky tail	0	0	0	0	0	1 (3.3)
Costochondral fusion	0	1 (16.7)	0	1 (100.0)	0	0
Fusion defect of sternum	0	0	0	1 (100.0)	0	0
Oligodactyly of digiti manus	0	0	0	1 (100.0)	0	0
No. of fetuses with variations	15 (80.0)	9 (100.0)	17 (92.0)	1 (100.0)	17 (76.7)	22 (77.1)
13 thoracic vertebrae	12 (63.3)	8 (83.3)	15 (84.0)	1 (100.0)	11 (51.4)	16 (55.4)
14 thoracic vertebrae	0	1 (16.7)	0	0	0	0
6 lumbar vertebrae	10 (50.0)	1 (16.7)	8 (52.0)	0	6 (27.8)	8 (26.9)
Lumbarization of sacral vertebra	2 (10.0)	0	0	0	1 (5.6)	4 (13.7)
Separation of rib	1 (5.0)	0	0	0	0	0
Short ribs	1 (5.0)	0	0	0	0	0
Rudimentary 1st rib	0	1 (16.7)	0	0	0	0
13 ribs	12 (63.3)	8 (83.3)	14 (77.3)	1 (100.0)	11 (51.4)	16 (55.4)
Rudimentary 14th rib	0	1 (16.7)	0	0	0	0
Lumbar rib	1 (6.7)	0	0	0	3 (12.2)	2 (8.0)
Rudimentary lumbar rib	3 (16.7)	0	2 (8.0)	0	3 (12.2)	5 (17.7)
Separation of costicartilage	3 (15.0)	0	5 (25.3)	0	1 (4.2)	1 (4.0)
Costochondral variation	0	0	1 (4.0)	0	1 (4.2)	0
Accessory sternebra	0	1 (6.7)	0	0	0	0
Retarded ossifications of sternebra	0	0	0	0	0	1 (4.0)

^{a)} : Values in parentheses represent number of litters examined.

^{b)} : Values in parentheses represent average percentage per litter.

群で1例に、心室中隔欠損が4 mg/kg/day 群で1例にみられた。内臓変異として胸腺頸部遺残、心血管系の起始異常あるいは過剰冠状動脈口が2 mg/kg/day 群で5例および4 mg/kg/day 群で1例にみられた。骨格異常として肋軟骨の癒合、胸骨核の癒合および欠指が4 mg/kg/day 群の1例にみられた。骨格変異として13胸椎、6腰椎、13肋骨、肋軟骨の分離などが2 mg/kg/day 群で17例、および4 mg/kg/day 群で13肋骨が1例にみられた。骨化進行度は著変はなかった。

[D 14-18] 分割において、外表異常はみられなかった。内臓異常として4 mg/kg/day 群で分葉腎が4例、変位腎が1例にみられた。さらに雌雄判別の際に腎の

形成不全（小腎）が4 mg/kg/day 群の1母獣で5例にみられた。内臓変異として胸腺頸部遺残、心血管系の起始異常あるいは過剰冠状動脈口が2 mg/kg/day 群で8例および4 mg/kg/day 群で9例にみられた。骨格異常として曲尾が4 mg/kg/day 群で1例にみられた。骨格変異として13胸椎、6腰椎、13肋骨、腰肋骨、腰肋骨痕などが2 mg/kg/day 群で17例および4 mg/kg/day 群で22例にみられた。骨化進行度は著変はなかった。

3. 分割投与試験Ⅱ

不妊動物が[D 8・9] 分割の6 mg/kg/day 群、[D 10・11] 分割の3および6 mg/kg/day 群、[D 12・13] 分割の6 mg/kg/day 群および[D 14・15] 分割の3 mg/kg/day

day 群で各 1 匹みられたため、各群における有効母獣数は対照群で 7 匹, [D 8・9] 分割の 3, 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 7, 6 匹, [D 10・11] 分割の 3, 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 6 匹, [D 12・13] 分割の 3, 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 7, 6 匹および [D 14・15] 分割の 3, 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 6, 7 匹であった。

1) 母獣に及ぼす影響

(1) 一般状態

死亡例はいずれの分割においてもみられなかった。

対照群において、糞排泄量の減少が 2 匹で妊娠 17 から 28 日にみられた。

[D 8・9] 分割において、6 mg/kg/day 群の 2 匹が膣出血の後、妊娠 20 日および 21 日に流産した。糞排泄量の減少が 3 mg/kg/day 群の 3 匹で妊娠 15 日から 28 日および 6 mg/kg/day 群の 5 匹で妊娠 18 日から 22 日にみられた。3 mg/kg/day 群の 1 匹で頸部脱毛が妊娠 27 日および 28 日にみられた。

[D 10・11] 分割において、6 mg/kg/day 群の 1 匹が膣出血の後、妊娠 20 日に流産した。糞排泄量の減少が 3 mg/kg/day 群の 2 匹で妊娠 25 日から 28 日および 6 mg/kg/day 群の 3 匹で妊娠 14 日から 27 日に、軟便が 3 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 25 日から 27 日および 6 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 26 日および 27 日にみられた。

[D 12・13] 分割において、6 mg/kg/day 群の 4 匹が妊娠 21 日または 23 日に流産した。糞排泄量の減少が 3 mg/kg/day 群の 3 匹で妊娠 7 日から 28 日および 6 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 25 日から 28 日に、軟便が 3 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 24 日から 28 日および 6 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 26 日から 28 日にみられた。胸部および前肢の脱毛が 3 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 15 日から 28 日にみられた。

[D 14・15] 分割において、3 mg/kg/day 群の 1 匹が妊娠 28 日に早産した。糞排泄量の減少が 3 mg/kg/day 群の 4 匹で妊娠 15 日から 28 日および 6 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 15 日に、軟便が 3 mg/kg/day 群の 2 匹で妊娠 28 日にみられた。大量の抜け毛が 6 mg/kg/day 群の 1 匹で妊娠 22 日から 24 日および妊娠 27 日および 28 日にみられた。

(2) 体重および摂餌量

[D 8・9] 分割において、妊娠 8 日の投与開始日からの体重増加量では、3 mg/kg/day 群の妊娠 16 日から 28 日および 6 mg/kg/day 群の妊娠 10 日から 28 日に減少あるいは低値傾向がみられ、6 mg/kg/day 群の妊娠 10, 16, 18 および 20 日に有意な低値が認められた。摂餌量では、6 mg/kg/day 群の妊娠中期に低値あるいは妊娠末期に高値傾向がみられたが有意差はなかった。

[D 10・11] 分割において、妊娠 10 日の投与開始日からの体重増加量では、3 mg/kg/day 群の妊娠 28 日に低値傾向が、6 mg/kg/day 群の妊娠 12 日から 24 日に減少あるいは有意な低値が認められた。摂餌量では、3 mg/kg/day 群の妊娠末期および 6 mg/kg/day 群の投与後に低値傾向がみられたが有意差はなかった。6 mg/kg/day 群の妊娠 28 日に有意な高値が認められた。

[D 12・13] 分割において、妊娠 12 日の投与開始日からの体重増加量では、3 mg/kg/day 群の妊娠 14, 16 および 28 日に低値傾向が、6 mg/kg/day 群の妊娠 14 日から 28 日に減少あるいは低値傾向がみられた。摂餌量では、6 mg/kg/day 群の投与後から低値傾向あるいは妊娠中期に高値傾向がみられたが有意差はなかった。

[D 14・15] 分割において、妊娠 14 日の投与開始日からの体重増加量では、3 mg/kg/day 群の妊娠 16, 24 および 28 日に低値傾向が、6 mg/kg/day 群の妊娠 16 日から 28 日に減少あるいは低値傾向がみられた。摂餌量では、各投与群の投与後から低値傾向が、あるいは 3 mg/kg/day 群の妊娠 18 に高値傾向がみられたが有意差はなかった。

(3) 剖検および臓器重量

対照群において、副脾が 1 匹にみられた。

[D 8・9] 分割において、副脾が 3 mg/kg/day 群の 3 匹および 6 mg/kg/day 群の 2 匹にみられた。子宮内暗赤褐色血餅あるいは暗赤色液体の貯留が 3 mg/kg/day 群の 2 匹にみられた。6 mg/kg/day 群の流産例 2 匹の剖検では、膣内出血あるいは受胎産物の残存がみられた。6 mg/kg/day 群の肝の重量比に有意な高値が認められた。

[D 10・11] 分割において、副脾が 3 mg/kg/day 群の 3 匹および 6 mg/kg/day 群の 1 匹にみられた。6 mg/kg/day 群の流産例 1 匹の剖検では著変はみられな

かった。6 mg/kg/day 群の肝の重量および重量比に有意な高値が認められた。

[D 12・13] 分割において、副脾が 3 mg/kg/day 群の 2 匹および 6 mg/kg/day 群の 1 匹にみられた。臍内赤褐色液体の貯留および子宮内暗赤褐色液の貯留および肝の黄色化が 6 mg/kg/day 群の各 1 匹にみられた。

6 mg/kg/day 群の流産例 4 匹の剖検では受胎産物の残存が全例に、副脾が 1 匹に、臍内の出血が他の 1 匹にみられた。6 mg/kg/day 群の肝の重量比に有意な高値が認められた。

[D 14・15] 分割において、副脾が 3 mg/kg/day 群の 2 匹および 6 mg/kg/day 群の 1 匹にみられた。肝の褪色（黄白色化）が 3 mg/kg/day 群の 1 匹にみられた。子宮内暗褐色液の貯留が 6 mg/kg/day 群の 2 匹にみられた。臓器重量には対照群と各投与群の間に有意差はみられなかった。

2) 胎児に及ぼす影響

(1) 帝王切開時検査 (Table 8)

着床数、黄体数および着床率には、いずれの分割投与群においても対照群と各投与群との間に有意差はみられなかった。

[D 8・9] 分割において、6 mg/kg/day 群の全母獣の一腹全ての胚が死亡胚であり、生存胎児は得られなかった。3 mg/kg/day 群では胚・胎児死亡率が高値傾向、生存胎児数に低値傾向、雄の胎児体重に低値傾向、雌の胎児体重に有意な低値および雌雄の胎盤重量に低値傾向がみられた。性比には有意差はみられなかった。

[D 10・11] 分割において、6 mg/kg/day 群の全母獣の一腹全ての胚が死亡胚であり、生存胎児は得られなかった。3 mg/kg/day 群では雌雄の生存胎児体重に低値傾向がみられたが、胚・胎児死亡率、生存胎児数、性比、胎盤重量には有意差はみられなかった。

[D 12・13] 分割において、6 mg/kg/day 群では胚・胎児死亡率が高値傾向、生存胎児数に低値傾向および雄の胎児体重に低値傾向がみられた。性比には有意差はみられなかった。3 mg/kg/day 群では、生存胎児体重、胎盤重量、性比、胚・胎児死亡率、生存胎児数に有意差はみられなかった。

[D 14・15] 分割において、6 mg/kg/day 群では胚・胎児死亡率に高値傾向、生存胎児数に低値傾向、雌雄

の胎児体重に低値傾向がみられた。胎盤重量および性比には有意差はみられなかった。3 mg/kg/day 群では、生存胎児体重、胎盤重量、性比、胚・胎児死亡率、生存胎児数に有意差はみられなかった。

(2) 胎児観察

外表観察結果を Table 9、内臓検査結果を Table 10 および骨格検査結果を Table 11-1, 11-2 にそれぞれ示した。

対照群において、外表異常として屈曲拘縮が 1 例にみられた。内臓異常はみられなかった。内臓変異として、心血管系（左総頸動脈あるいは頸部小血管）の起始異常あるいは過剰冠狀動脈口が 8 例にみられた。骨格異常として、胸椎体の癒合、胸椎弓の分岐および胸椎の乱配列が 1 例にみられた。骨格変異として、13 胸椎、6 腰椎、肋骨短小、13 肋骨、腰肋骨、肋軟骨の分離などが 25 例にみられた。

[D 8・9] 分割において、外表異常として、3 mg/kg/day 群では短尾・臍帯ヘルニアの合併、左前肢第 1 指の逸所、右前肢の欠指・裂手の合併がそれぞれ 1 例の計 3 例にみられた。内臓異常として、3 mg/kg/day 群で異常右鎖骨下動脈（右背側大動脈）・心室中隔欠損・肺動脈狭窄の合併、血管輪・大動脈弓部欠損（遮断）・心室中隔欠損の合併、肺分葉異常・腎無発生（無腎）・副腎無形成の合併、腎形成不全（小腎）・心室中隔欠損の合併、大動脈弓部欠損（遮断）、心室中隔欠損、腎無発生（無腎）がそれぞれ 1 例および異常右鎖骨下動脈（右背側大動脈）が 2 例の計 9 例にみられ有意に増加した。型別では心室中隔欠損が有意に増加した。その他、雌雄判別の際、3 mg/kg/day 群に水泡様の腎、無腎あるいは変位腎が 5 例にみられた。内臓変異として、3 mg/kg/day 群で胸腺頸部遺残あるいは心血管系（頸部小血管あるいは左鎖骨下動脈）の起始異常が 5 例にみられた。骨格異常として、3 mg/kg/day 群に肋骨の癒合・二分肋骨・肋軟骨の癒合・裂手・前肢の欠指・尾椎の乱配列の合併、頸椎体の癒合・頸椎の低形成・胸椎の乱配列・二分肋軟骨の合併、胸椎の半椎・肋骨の癒合・肋骨欠損・胸骨癒合異常の合併、肋軟骨の癒合・胸骨癒合異常の合併、肋軟骨の癒合・二分肋軟骨の合併、頸胸椎の癒合、頸椎の低形成がそれぞれ 1 例および肋軟骨の癒合が 5 例の計

Table 8. Caesarean section findings in rabbits treated orally with S-1 on day 8·9, day 10·11, day 12·13 and day 14·15 of pregnancy.

Compound (Treated days)	Control			S-1 (D 8·9)			S-1 (D 10·11)			S-1 (D 12·13)			S-1 (D 14·15)		
	0	3	6	3	6	6	3	6	6	3	6	3	6	6	6
Dosage (mg/kg/day)															
No. of animals examined	7	7	6	6	6	6	7	7	6	6	6	6	6	7	7
No. of dead animals	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. of aborted animals	0	0	2	0	2	1	0	0	4	0	4	0	0	0	0
No. of premature labored animals	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
No. of dissected animals	7	7	4	6	5	5	7	7	2	5	2	5	7	7	7
No. of corpora lutea	76	88	42	66	52	52	81	33	33	51	79	51	79	79	79
Mean $\pm$ S.D.	10.9 $\pm$ 0.9	12.6 $\pm$ 2.4	10.5 $\pm$ 1.7	11.0 $\pm$ 2.0	10.4 $\pm$ 3.8	11.6 $\pm$ 0.5	16.5 $\pm$ 0.7	10.2 $\pm$ 1.8	11.3 $\pm$ 1.5	10.2 $\pm$ 1.8	11.3 $\pm$ 1.5	10.2 $\pm$ 1.8	11.3 $\pm$ 1.5	10.2 $\pm$ 1.8	11.3 $\pm$ 1.5
No. of implantation sites	65	72	41	61	49	49	68	25	65	48	65	48	65	48	65
Mean $\pm$ S.D.	9.3 $\pm$ 2.5	10.3 $\pm$ 2.7	10.3 $\pm$ 2.2	10.2 $\pm$ 1.7	9.8 $\pm$ 4.5	9.7 $\pm$ 2.8	12.5 $\pm$ 0.7	9.6 $\pm$ 1.8	9.3 $\pm$ 3.4	9.6 $\pm$ 1.8	9.3 $\pm$ 3.4	9.6 $\pm$ 1.8	9.3 $\pm$ 3.4	9.6 $\pm$ 1.8	9.3 $\pm$ 3.4
Implantation rate (%) ^{a)}															
Mean $\pm$ S.D.	84.8 $\pm$ 19.1	81.8 $\pm$ 14.8	96.9 $\pm$ 6.3	93.1 $\pm$ 9.7	91.7 $\pm$ 11.8	84.2 $\pm$ 23.8	75.7 $\pm$ 1.0	94.1 $\pm$ 5.5	81.9 $\pm$ 25.8	94.1 $\pm$ 5.5	81.9 $\pm$ 25.8	94.1 $\pm$ 5.5	81.9 $\pm$ 25.8	94.1 $\pm$ 5.5	81.9 $\pm$ 25.8
Post implantation loss (%)															
Mean $\pm$ S.D.	2.5 $\pm$ 4.3	42.0 $\pm$ 25.9	100.0**	8.5 $\pm$ 12.9	100.0**	6.2 $\pm$ 10.7	50.6 $\pm$ 48.0	12.4 $\pm$ 12.5	34.6 $\pm$ 38.6	12.4 $\pm$ 12.5	34.6 $\pm$ 38.6	12.4 $\pm$ 12.5	34.6 $\pm$ 38.6	12.4 $\pm$ 12.5	34.6 $\pm$ 38.6
No. of dead-resorbed fetuses	2	30	41	5	49	5	5	13	27	6	27	6	27	6	27
Metrial glands	0	0	41	0	49	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
Placental remnant	1	26	0	3	0	4	4	1	1	2	1	2	1	2	1
Early resorbed	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Late resorbed	0	4	0	2	0	1	1	12	25	0	25	0	25	0	25
Macerated	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	3	0
Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
No. of live fetuses	63	42	0	56	0	63	12	42	38	42	38	42	38	42	38
Mean $\pm$ S.D.	9.0 $\pm$ 2.2	6.0 $\pm$ 3.2	0.0 $\pm$ 0.0**	9.3 $\pm$ 2.2	0.0 $\pm$ 0.0**	9.0 $\pm$ 2.4	6.0 $\pm$ 5.7	8.4 $\pm$ 2.1	5.4 $\pm$ 3.7	8.4 $\pm$ 2.1	5.4 $\pm$ 3.7	8.4 $\pm$ 2.1	5.4 $\pm$ 3.7	8.4 $\pm$ 2.1	5.4 $\pm$ 3.7
Male/Female	35/28	21/21	0/0	25/31	0/0	35/28	3/9	20/22	17/21	20/22	17/21	20/22	17/21	20/22	17/21
Sex ratio	1.25	1.00	— ^{b)}	0.81	—	1.25	0.33	0.91	0.81	0.91	0.81	0.91	0.81	0.91	0.81
Body weight of live fetuses															
Male (Mean $\pm$ S.D.)	33.75 $\pm$ 2.94	28.91 $\pm$ 4.37	—	30.92 $\pm$ 3.14	—	33.68 $\pm$ 1.98	30.55 $\pm$ 5.87	33.59 $\pm$ 3.63	30.43 $\pm$ 10.60	33.59 $\pm$ 3.63	30.43 $\pm$ 10.60	33.59 $\pm$ 3.63	30.43 $\pm$ 10.60	33.59 $\pm$ 3.63	30.43 $\pm$ 10.60
Female (Mean $\pm$ S.D.)	34.97 $\pm$ 3.67	25.96 $\pm$ 5.85**	—	31.74 $\pm$ 3.81	—	33.70 $\pm$ 3.41	33.52 $\pm$ 6.34	33.75 $\pm$ 5.04	31.23 $\pm$ 5.98	33.75 $\pm$ 5.04	31.23 $\pm$ 5.98	33.75 $\pm$ 5.04	31.23 $\pm$ 5.98	33.75 $\pm$ 5.04	31.23 $\pm$ 5.98
Placental weight of live fetuses															
Male (Mean $\pm$ S.D.)	4.83 $\pm$ 0.50	4.50 $\pm$ 0.96	—	4.89 $\pm$ 0.58	—	5.35 $\pm$ 0.50	6.13 $\pm$ 2.75	5.13 $\pm$ 0.24	5.15 $\pm$ 1.24	5.13 $\pm$ 0.24	5.15 $\pm$ 1.24	5.13 $\pm$ 0.24	5.15 $\pm$ 1.24	5.13 $\pm$ 0.24	5.15 $\pm$ 1.24
Female (Mean $\pm$ S.D.)	4.94 $\pm$ 0.93	4.13 $\pm$ 0.70	—	4.78 $\pm$ 0.69	—	5.51 $\pm$ 0.87	5.76 $\pm$ 2.12	5.04 $\pm$ 0.70	5.00 $\pm$ 0.93	5.04 $\pm$ 0.70	5.00 $\pm$ 0.93	5.04 $\pm$ 0.70	5.00 $\pm$ 0.93	5.04 $\pm$ 0.70	5.00 $\pm$ 0.93

Significant difference from control (** : $P < 0.01$).^{a)} : Implantation rate = No. of implantation sites / No. of corpora lutea $\times 100$.^{b)} : No data.

Table 9. External findings of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 on day 8·9, day 10·11, day 12·13 and day 14·15 of pregnancy.

Compound (Treated days)	Control	S-1 (D 8-9)	S-1 (D 10-11)	S-1 (D 12-13)	S-1 (D 14-15)
Dosage (mg/kg/day)	0	3	3	3 6	3 6
No. of fetuses examined	63 (7) ^{a)}	42 (7)	56 (6)	63 (7) 12 (2)	42 (5) 38 (7)
No. of fetuses with anomalies	1 (2.9) ^{b)}	3 (10.5)	0	0 7 (75.0)*	2 (5.4) 14 (44.7)
Omphalocele	0	1 (4.8)	0	0 0	0 0
Cleft hand	0	1 (2.9)	0	0 0	0 0
Microdactyly	0	0	0	0 0	0 1 (1.6)
Oligodactyly	0	1 (2.9)	0	0 6 (70.0)**	0 3 (6.7)
Syndactyly	0	0	0	0 3 (15.0)	0 0
Flexion contracture	1 (2.9)	0	0	0 0	1 (2.9) 0
Extention contracture	0	0	0	0 0	1 (2.5) 0
Brachyury	0	1 (4.8)	0	0 0	0 0
Kinky tail	0	0	0	0 0	0 2 (4.1)
Anonychia	0	0	0	0 2 (30.0)*	0 12 (41.6)**
Micronychia	0	0	0	0 0	0 8 (26.8)*
Ectopic thumb	0	1 (2.9)	0	0 0	0 0

Significant difference from control (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$).^{a)} : Values in parentheses represent number of litters examined.^{b)} : Values in parentheses represent average percentage per litter.

13例にみられた。型別では肋軟骨の癒合が有意に増加した。骨格変異として、13胸椎、14胸椎、6腰椎、13肋骨、14肋骨、肋軟骨非対称、胸骨核非対称などが20例にみられ、型別では14胸椎、14肋骨、胸骨核非対称が有意に増加し、肋骨短小が有意に減少した。骨化進行度に著変はなかった。

[D 10·11] 分割において、外表異常および内臓異常はみられなかった。内臓変異として、3 mg/kg/day 群で心血管系（左総頸動脈、頸部小血管あるいは左鎖骨下動脈）の起始異常が14例にみられた。骨格異常として、3 mg/kg/day 群で胸椎の半椎・仙椎の半椎・肋骨の癒合の合併、肋骨の癒合・肋軟骨の癒合の合併、肋骨の癒合、肋軟骨の癒合がそれぞれ1例および仙椎の低形成が2例の計6例にみられた。型別では肋骨の癒合が有意に増加した。骨格変異として、13胸椎、13肋骨、腰肋骨、腰肋骨痕、肋軟骨の分離などが27例にみられた。骨化進行度に著変はなかった。

[D 12·13] 分割において、外表異常として、6 mg/kg/day 群で欠指・合指・無爪の合併、欠指・合指

の合併、欠指・無爪の合併、合指がそれぞれ1例および欠指が3例の計7例にみられ有意に増加した。型別では欠指および無爪が有意に増加した。内臓異常として、3 mg/kg/day 群で異常右鎖骨下動脈（右背側大動脈）が1例にみられた。6 mg/kg/day 群で小頭・腎形成不全（小腎）・副腎無形成の合併および心室中隔欠損がそれぞれ1例の計2例にみられた。型別では小頭および副腎無形成が有意に増加した。その他、雌雄判別の際に6 mg/kg/day 群で腎の形成不全（小腎）が8例にみられた。内臓変異として、3 mg/kg/day 群で奇静脈異常（左奇静脈）、過剰冠状動脈口あるいは心血管系（左総頸動脈、頸部小血管あるいは左鎖骨下動脈）の起始異常が12例にみられた。6 mg/kg/day 群で胸腺頸部遺残、奇静脈異常（左奇静脈および左奇静脈残存）、過剰冠状動脈口あるいは心血管系（左総頸動脈、左椎骨動脈あるいは左鎖骨下動脈）の起始異常が5例にみられ、型別では奇静脈異常が有意に増加した。骨格異常として、6 mg/kg/day 群で曲尾・肋軟骨の癒合・胸骨癒合異常・前肢の欠指・後肢の欠指と合指の合併、

Table 10. Visceral findings of live fetuses from rabbits dams treated orally with S-1 on day 8-9, day 10-11, day 12-13 and day 14-15 of pregnancy.

Compound (Treated days)		Control		S-1 (D 8-9)		S-1 (D 10-11)		S-1 (D 12-13)		S-1 (D 14-15)	
Dosage (mg/kg/day)		0		3		3		3		3	
No. of fetuses examined		32 (7) ^{a)}	20 (7)	28 (6)	31 (7)	6 (2)	21 (5)	20 (7)			
No. of fetuses with anomalies		0	9 (42.9) ^{*b)}	0	1 (7.1)	2 (60.0)	1 (3.3)	6 (42.9)			
Microcephaly		0	0	0	0	1 (10.0) [*]	0	1 (3.6)			
Schizencephaly		0	0	0	0	0	0	1 (14.3)			
Hypoplasia of lung		0	0	0	0	0	0	1 (14.3)			
Abnormal lobulation of lung		0	1 (3.6)	0	0	0	0	0			
Renal agenesis		0	2 (6.4)	0	0	0	0	0			
Renal hypoplasia		0	1 (2.9)	0	0	1 (10.0)	0	6 (42.9)			
Renal ectopia		0	0	0	0	0	0	1 (3.6)			
Double kidney		0	0	0	0	0	1 (3.3)	0			
Aplasia of adrenal gland		0	1 (3.6)	0	0	1 (10.0) [*]	0	0			
Aberrant right subclavian artery		0	3 (12.9)	0	1 (7.1)	0	0	0			
Vascular ring		0	1 (14.3)	0	0	0	0	0			
Absence of aortic arch		0	2 (17.1)	0	0	0	0	0			
Stricture of ductus arteriosus		0	0	0	0	0	0	1 (3.6)			
Ventricular septal defect		0	4 (23.6) ^{**}	0	0	1 (50.0)	0	0			
Pulmonary stenosis		0	1 (2.9)	0	0	0	0	1 (3.6)			
No. of fetuses with variations		8 (30.5)	5 (14.3)	14 (49.4)	12 (35.7)	5 (90.0)	11 (48.3)	6 (36.9)			
Thymic remnant in the neck		0	2 (5.7)	0	0	2 (20.0)	0	0			
Azygous vein anomaly		0	0	0	1 (3.6)	2 (20.0) [*]	0	0			
Other vascular minor anomaly		0	0	0	0	1 (10.0)	0	0			
Supernumerary coronary orifice		1 (4.8)	0	0	1 (2.9)	1 (10.0)	0	0			
Abnormal origin of left CCA ^{c)}		1 (2.9)	0	1 (2.8)	1 (3.6)	1 (50.0)	4 (16.7)	0			
Abnormal origin of cervical small artery		7 (27.6)	3 (8.6)	12 (43.9)	8 (23.3)	0	10 (41.7)	6 (36.9)			
Abnormal origin of left subclavian artery		0	1 (2.9)	2 (6.1)	1 (2.4)	1 (10.0)	0	0			
No. of fetuses examined at sexual decision		63 (7)	42 (7)	56 (6)	63 (7)	12 (2)	42 (5)	38 (7)			
No. of fetuses with anomalies		0	5 (7.6)	0	0	8 (40.0)	0	10 (27.0)			
Bullous kidney		0	1 (1.3)	0	0	0	0	0			
Renal agenesis		0	3 (4.8)	0	0	0	0	0			
Renal hypoplasia		0	0	0	0	8 (40.0)	0	10 (27.0)			
Renal ectopia		0	1 (1.6)	0	0	0	0	0			

Significant difference from control (* : P<0.05, ** : P<0.01).

a) : Values in parentheses represent number of litters examined.

b) : Values in parentheses represent average percentage per litter.

c) : CCA : Common cervical artery.

Table 11-1. Skeletal findings of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 on day 8·9, day 10·11, day 12·13 and day 14·15 of pregnancy.

Compound (Treated days)	Control	S-1 (D 8·9)			S-1 (D 10·11)			S-1 (D 12·13)			S-1 (D 14·15)		
		0	3	6	0	3	6	0	3	6	0	3	6
Dosage (mg/kg/day)													
No. of fetuses examined	31 (7) ^{a)}		22 (7)	28 (6)	32 (7)	6 (2)	18 (6)						
No. of fetuses with anomalies	1 (4.8) ^{b)}		13 (61.9)	6 (23.6)	0	4 (80.0)	8 (51.7)						
Fused cervical vertebral body	0		2 (14.3)	0	0	0	0						
Hypoplasia of cervical vertebra	0		3 (28.6)	0	0	0	0						
Fused cervicothoracic vertebra	0		1 (2.4)	0	0	0	0						
Fused thoracic vertebral body	1 (4.8)		0	0	0	0	0						
Bifid thoracic vertebral arch	1 (4.8)		0	0	0	0	0						
Hemivertebra of thoracic vertebra	0		1 (4.8)	1 (4.2)	0	0	0						
Disarrangement of thoracic vertebra	1 (4.8)		2 (14.3)	0	0	0	0						
Hemivertebra of sacral vertebra	0		0	1 (4.2)	0	0	0						
Hypoplasia of sacral vertebra	0		0	2 (8.3)	0	0	0						
Kinky tail	0		0	0	0	1 (10.0)	0						
Fused rib	0		2 (9.5)	3 (12.5)*	0	0	0						
Rib defect	0		1 (4.8)	0	0	0	0						
Bifid rib	0		1 (4.8)	0	0	0	1 (16.7)						
Costochondral fusion	0		9 (33.3)*	2 (5.6)	0	3 (30.0)	0						
Bifid costicartilage	0		2 (9.5)	0	0	0	0						
Fusion defect of sternebra	0		2 (9.5)	0	0	2 (20.0)*	0						
Cleft hand	0		1 (4.8)	0	0	0	0						
Oligodactyly of digiti manus	0		1 (4.8)	0	0	3 (70.0)**	0						
Oligodactyly of digiti pedis	0		0	0	0	1 (10.0)	8 (51.7)**						
Syndactyly of digiti pedis	0		0	0	0	1 (10.0)	0						
Disarrangement of coccygeal vertebra	0		1 (4.8)	0	0	0	0						

Significant difference from control (* : P<0.05, ** : P<0.01).

a) : Values in parentheses represent number of litters examined.

b) : Values in parentheses represent average percentage per litter.

Table 11-2. Skeletal findings of live fetuses from rabbit dams treated orally with S-1 on day 8·9, day 10·11, day 12·13 and day 14·15 of pregnancy.

Compound (Treated days)		Control		S-1 (D 8·9)		S-1 (D 10·11)		S-1 (D 12·13)		S-1 (D 14·15)	
Dosage (mg/kg/day)		0		3		3		3		3	
No. of fetuses examined		31 (7) ^{a)}		22 (7)		28 (6)		32 (7)		21 (5)	
No. of fetuses with variations		25 (82.9) ^{b)}		20 (90.5)		27 (96.7)		28 (87.1)		12 (58.3)	
Separation of cervical vertebral body		0		2 (14.3)		0		0		0	
8 cervical vertebrae		0		1 (7.1)		0		0		0	
Separation of thoracic vertebral body		0		4 (14.3)		0		0		0	
13 thoracic vertebrae		18 (62.1)		9 (51.2)		22 (75.3)		15 (49.0)		9 (46.7)	
14 thoracic vertebrae		0		9 (29.8)*		0		0		0	
6 lumbar vertebrae		10 (30.7)		15 (73.8)		2 (8.3)		6 (21.0)		5 (28.3)	
8 lumbar vertebrae		1 (2.9)		0		2 (8.3)		0		0	
Sacralization of lumbar vertebra		1 (3.6)		0		0		3 (12.4)		0	
Separation of sacral vertebral body		0		0		2 (8.3)		0		0	
Retarded ossification of sacral vertebral body		0		0		1 (2.8)		0		0	
Lumbarization of sacral vertebra		1 (2.9)		1 (4.8)		1 (3.3)		0		0	
Separation of coccygeal vertebra		0		0		1 (2.8)		0		0	
Short ribs		4 (12.1)		0*		0		2 (9.5)		1 (6.7)	
Rudimentary cervical rib		0		1 (7.1)		0		0		0	
Rudimentary 1st rib		1 (4.8)		5 (20.2)		0		0		0	
13 ribs		18 (62.1)		7 (40.5)		22 (75.3)		15 (49.0)		9 (46.7)	
Rudimentary 13th rib		0		0		0		1 (2.4)		1 (3.3)	
14 ribs		0		9 (29.8)*		0		0		0	
Lumbar rib		7 (20.7)		3 (13.1)		3 (11.7)		11 (32.4)		2 (8.3)	
Rudimentary lumbar rib		1 (3.6)		0		3 (13.1)		5 (14.3)		2 (8.3)	
Asymmetry of costicartilage		0		6 (26.2)		0		0		0	
Separation of costicartilage		5 (15.0)		2 (4.8)		3 (11.7)		7 (23.6)		3 (15.0)	
Asymmetry of sternbra		0		4 (17.9)**		0		0		0	
Dumbbell shape of sternbra		0		1 (2.4)		0		0		0	
Separation of sternbra		0		3 (8.3)		0		0		0	
Retarded ossification of sternbra		2 (7.6)		1 (4.8)		0		0		0	

Significant difference from control (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$).

a) : Values in parentheses represent number of litters examined.

b) : Values in parentheses represent average percentage per litter.

肋軟骨の癒合・胸骨癒合異常・前肢の欠指の合併、前肢の欠指、肋軟骨の癒合がそれぞれの1例の計4例にみられた。型別では胸骨癒合異常および前肢の欠指が有意に増加した。3 mg/kg/day 群には骨格異常はみられなかった。骨格変異として、3 mg/kg/day 群では13胸椎、6腰椎、13肋骨、腰肋骨、肋軟骨の分離などが28例に、6 mg/kg/day 群では腰肋骨、腰肋骨痕あるいは肋軟骨の分離が3例にみられた。骨化進行度に著変はなかった。

[D 14・15] 分割において、外表異常として、3 mg/kg/day 群では屈曲拘縮および伸展拘縮がそれぞれ1例の計2例にみられた。6 mg/kg/day 群では無爪・矮爪の合併が6例、欠指・無爪の合併が2例、曲尾・無爪・矮爪の合併が1例、曲尾・無爪の合併が1例、小指・欠指の合併が1例、無爪が2例、矮爪が1例の計14例にみられた。型別では無爪および矮爪が有意に増加した。内臓異常として、3 mg/kg/day 群で重複腎が1例に、6 mg/kg/day 群で小頭・腎形成不全（小腎）・変異腎・動脈管狭窄・肺動脈狭窄の合併が1例、裂脳・肺の低形成・腎形成不全（小腎）の合併が1例、腎形成不全（小腎）が4例の計6例にみられた。その他、雌雄判別の際に6 mg/kg/day 群で腎の形成不全（小腎）が10例にみられた。内臓変異として、3 mg/kg/day 群で心血管系（左総頸動脈、頸部小血管）の起始異常が11例に、6 mg/kg/day 群で心血管系（頸部小血管）の起始異常が6例にみられた。骨格異常として、6 mg/kg/day 群で前肢・後肢の欠指が2例、二分肋骨・後肢の欠指の合併が1例、後肢の欠指が5例の計8例にみられ、型別では後肢の欠指が有意に増加した。3 mg/kg/day 群では骨格異常はみられなかった。骨格変異として、3 mg/kg/day 群で13胸椎、6腰椎、13肋骨、肋軟骨の分離などが12例の胎児にみられた。6 mg/kg/day 群では腰肋骨、腰肋骨痕などが12例の胎児にみられ、型別では腰肋骨痕が有意に増加し、13胸椎、13肋骨が有意に減少した。骨化進行度では、6 mg/kg/day 群で両前肢および左後肢の基節骨数に有意な低値がみられた。

考 察

S-1 のウサギ経口投与による胎児の器官形成期投与試験を、0, 0.5, 1 および1.5 mg/kg/day の用量で実施し、母獣および胚・胎児に及ぼす影響を検討した。その後、推定臨床用量（2～3 mg/kg/day）を上廻る2, 4 および6 mg/kg/day を投与した場合の、胚・胎児に及ぼす影響および発現時期を詳細に検討する目的で、器官形成期を3分割した分割投与試験Ⅰを実施した。さらに、分割投与試験Ⅰでは、高用量で多数の胚が死亡し、催奇形作用が充分把握できなかったため、高用量の3および6 mg/kg/day を投与した場合の、催奇形作用を含めて胚・胎児に及ぼす影響および発現時期を詳細に検討する目的で、器官形成期中の妊娠8～15日を4分割した分割投与試験Ⅱを実施した。

器官形成期投与試験では、1.5 mg/kg/day 群の母獣1匹が死亡し、剖検で胃壁の出血が、および生存例の1匹に胃の潰瘍および脂肪肝がみられ、母獣への影響が認められた。0.5 mg/kg/day 群でみられた流産はより高用量群ではみられなかったこと、また1および1.5 mg/kg/day 群でみられた摂餌量の有意な高値は投与前であることより、いずれも偶発的なものと考えられた。S-1 投与群でみられた糞排泄量の減少は、対照群と同程度であったことから、S-1 投与に起因する変化ではないと考えられた。

胎児については、0.5 mg/kg/day 群の着床数および生存胎児数に有意な高値がみられたが、より高用量群で増加が認められていないことより偶発的なものと考えられた。各投与群で胚・胎児死亡率に有意な増加はなかったこと、および生存胎児体重に有意な低値はみられず、骨化進行度で1 mg/kg/day 群で前肢の基節骨数が有意に低値を示したが、より高用量群では低値が認められていないことより、本試験での1.5 mg/kg/day では胚・胎児致死作用および胎児発育抑制作用はないものと考えられた。一方、胎児の外表および内臓観察では著変はなかったが、骨格観察において、1.5 mg/kg/day 群で肋軟骨癒合および胸骨核癒合の発現率に有意な増加がみられた。5-FU 系薬剤の Emitefur の器官形成期投与試験（大井ら、1994）、および UFT 高

用量の器官形成期投与試験（浅野間，1981）において肋骨癒合，肋軟骨癒合あるいは胸骨核癒合が報告されており，S-1は1.5 mg/kg/dayで軽度ながら催奇形作用を有することが示唆された。

S-1の配合成分であるCDHPおよびOxoのウサギの器官形成期投与試験（小井田ら，1996 a, b）では，母獣に対する無影響量はそれぞれ400および100 mg/kg/day，および胎児に対する無影響量はそれぞれ800および200 mg/kg/dayであった。本試験の最高用量1.5 mg/kg/day中のCDHPおよびOxo量はそれぞれ0.4および1.5 mg/kg/dayであることから，これら母獣および胎児への影響はFTによるものと考えられた。

したがって，S-1の器官形成期投与試験では，母獣に対する一般毒性学的無影響量は1 mg/kg/day，母獣の生殖能に対する無影響量は1.5 mg/kg/dayおよび胚・胎児に対する無影響量は1 mg/kg/dayであると考えられた。

分割投与試験Ⅰでは，母獣に対する影響として，[D 14-18]分割の6 mg/kg/day群で流産がみられ，妊娠の維持への影響が認められた。また，各分割で体重減少あるいは増加抑制，摂餌量の減少または糞排泄量の減少あるいは廃絶がみられ，母獣への影響が認められた。胎児に対する影響として，ほとんど全ての胚の死亡による胚・胎児致死作用が[D 6-10]および[D 10-14]分割の4 mg/kg/day以上の群，および[D 14-18]分割の6 mg/kg/day群で認められ，[D 6-10]および[D 10-14]分割で強く発現した。生存胎児体重の低下による胎児発育抑制作用が[D 10-14]分割の2 mg/kg/day群および[D 14-18]分割の2 mg/kg/day以上の群で認められた。一方，[D 10-14]分割の2 mg/kg/day以上の群で，5-FU系化合物で報告されている欠指，口蓋裂，肋軟骨の癒合，胸骨核の癒合，心室中隔欠損などが（浅野間，1981；宮崎ら，1974；大井ら，1994）が，および[D 14-18]分割の4 mg/kg/day群で，投与時期が腎の発生時期（加藤，1975；Moore，1977；岡本，1983）に相当していたためと考えられる分葉腎，変位腎，小腎がみられ催奇形作用が認められた。

分割投与試験Ⅱでは，母獣に対する影響として，流産による妊娠の維持への影響が[D 8・9]，[D 10・11]

および[D 12・13]分割の6 mg/kg/day群で認められた。また，各分割の3 mg/kg/dayで，体重減少あるいは増加抑制，摂餌量の減少あるいは減少傾向，または軟便がみられ，母獣への影響が認められた。胎児に対する影響として，一腹全ての胚死亡を含めた胚・胎児致死作用が[D 8・9]分割の3 mg/kg/day以上の群，およびその他の分割全ての6 mg/kg/day群で認められ，[D 8・9]分割で強く発現した。生存胎児体重の低下による胎児発育抑制作用が，[D 8・9]および[D 10・11]分割の3 mg/kg/day群，[D 12・13]および[D 14・15]分割の6 mg/kg/day群で認められ，[D 8・9]および[D 10・11]分割で強く発現した。催奇形作用に関しては，[D 8・9]分割の3 mg/kg/day群では，心室中隔欠損，心血管系の異常，腎異常，中軸骨格系の異常などが，[D 10・11]分割の3 mg/kg/day群では，中軸骨格系の異常が，[D 12・13]分割の6 mg/kg/day群では，指・爪の異常，心室中隔欠損，腎異常，副腎異常，小頭，中軸骨格系の異常などが，[D 14・15]分割の6 mg/kg/day群では，指・爪の異常，腎異常，心血管系，小頭・裂脳，中軸骨格系の異常などが主にみられ，分割投与試験Ⅰと同様な，あるいは5-FU系化合物で報告されている（浅野間，1981；宮崎ら，1974；大井ら，1994）異常がみられ，[D 8・9]および[D 10・11]分割で，その後の分割よりも低い3 mg/kg/dayから催奇形作用が認められた。これらの異常は，時期および器官特異的ではなく，各分割の投与期間が発生時期に対応した器官にみられたものと考えられた。

FTとuracilの配合剤であるUFTの器官形成期投与試験（浅野間ら，1980）では，UFT（FTとして4 mg/kg/day）投与でも母獣および胚・胎児への影響はなかった。また，UFT高用量の器官形成期投与試験（浅野間，1981）では，UFT（FTとして8 mg/kg/day）を妊娠6～12日および妊娠12～18日の前後半へ分割投与すると，前半投与で母獣死亡を含め母獣への影響はみられたが胎児には影響はなく，後半投与では母獣・胎児とも影響はなかった。UFT（FTとして20 mg/kg/day以上）の妊娠10日および12日での1回投与により，母獣への影響，胚致死作用および催奇形作用が認められた。S-1およびUFTには，FTの活性代謝物である5-FUの分解阻害の目的で，それぞれCDHPあ

るいは uracil が配合されている。S-1 に配合されている CDHP の 5-FU 分解阻害作用は uracil より強い（Tatsumi et al., 1987），血中に 5-FU が高濃度に長時間維持される。そのため，UFT より低濃度の FT が配合されている S-1 で，母獣および胚・胎児への影響が強くみられたものと考えられた。

以上のように，器官形成期を分割して投与用量を上昇させたことにより，S-1 の胚・胎児致死作用，胎児発育抑制作用および催奇形作用が明確になり，器官形成期の早い時期の分割の方が胚・胎児に対する影響が強いことが判明した。また催奇形作用は，特異的な時期および器官にではなく，各分割の投与期間が発生時期に対応した器官にみられたものと考えられた。さらに，S-1 は，その特性により含有する FT 量で比較すると UFT よりも低用量で，母獣および胚・胎児への影響がみられたものと考えられた。

要 約

被験物質 S-1 は FT，CDHP および Oxo をモル比 1：0.4：1 で配合したフツ化ピリミジン（5-FU）系の抗悪性腫瘍薬として開発された配合剤である。今回，S-1 の安全性試験の一環として，ウサギ経口投与による胎児の器官形成期投与試験を，0，0.5，1 および 1.5 mg/kg/day の用量で実施し，母獣および胚・胎児に及ぼす影響を検討した。その後，推定臨床用量（2～3 mg/kg/day）を上廻る 2，4 および 6 mg/kg/day を投与した場合の胚・胎児に及ぼす影響を詳細に検討する目的で，器官形成期を 3 分割した分割投与試験Ⅰを実施した。さらに，分割投与試験Ⅰでは，高用量で多数の胚が死亡し，催奇形作用が充分把握できなかったため，高用量の 3 および 6 mg/kg/day を投与した場合の，催奇形作用を含めて胚・胎児に及ぼす影響を詳細に検討する目的で，器官形成期中の妊娠 8～15 日を 4 分割した分割投与試験Ⅱを実施した。

S-1 をウサギ胎児の器官形成期の全期間に投与した試験では，1.5 mg/kg/day 群で母獣死亡，生存例の胃出血・潰瘍または脂肪肝がみられ母獣への影響が認められた。また軽度ながら催奇形作用を有することが示唆された。胚・胎児致死作用および胎児発育抑制作用

はないものと考えられた。母獣に対する一般毒性学的無影響量は 1 mg/kg/day，母獣の生殖能に対する無影響量は 1.5 mg/kg/day および胚・胎児に対する無影響量は 1 mg/kg/day であると考えられた。

分割投与試験Ⅰでは，[D 14-18] 分割の 6 mg/kg/day 群で流産がみられた。各分割で母獣の体重・摂餌量への影響が認められた。胚・胎児致死作用が [D 6-10] および [D 10-14] 分割の 4 mg/kg/day 以上の群，および [D 14-18] 分割の 6 mg/kg/day 群で，胎児発育抑制作用が [D 10-14] 分割の 2 mg/kg/day 群および [D 14-18] 分割の 2 mg/kg/day 以上の群で，催奇形作用が [D 10-14] 分割の 2 mg/kg/day 以上の群および [D 14-18] 分割の 4 mg/kg/day 群で認められた。

分割投与試験Ⅱでは，[D 8・9]，[D 10・11] および [D 12・13] 分割の 6 mg/kg/day 群で流産がみられた。各分割で，母獣の体重・摂餌量への影響が認められた。胚・胎児致死作用が [D 8・9] の 3 mg/kg/day 以上の群およびその他の分割の 6 mg/kg/day 群で，胎児発育抑制作用および催奇形作用が [D 8・9] および [D 10・11] 分割の 3 mg/kg/day 群，[D 12・13] および [D 14・15] 分割の 6 mg/kg/day 群で認められた。

このように，器官形成期を分割して投与用量を上昇させたことにより，胚・胎児致死作用，胎児発育抑制作用および催奇形作用が明確となり，器官形成期の早い時期の分割の方が胚・胎児に対する影響が強いことが判明した。催奇形作用は，特異的な時期および器官にではなく，各分割が発生時期に相当する器官でみられたものと考えられた。

参 考 文 献

- 浅野間光治，松原友重，森田健一（1980）：Tegafur-Uracil 配合剤（UFT）の生殖試験（第 1 報）ウサギにおける器官形成期投与試験．応用薬理，20(6)，1001-1007.
- 浅野間光治（1981）：UFT 高用量のウサギを用いた器官形成期投与試験．社内資料．
- Inouye, M. (1976) : Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue and Arizarin Red S. Cong. Anom., 16, 171-173.
- 加藤嘉太郎（1975）：泌尿器の発生．家畜比較発生学，129-137，養賢堂，東京．

- 小井田雅弘, 今村健二, 山北修 (1996 a) : CDHP の生殖・発生毒性試験—ウサギ経口投与による胎児の器官形成期投与試験—. 社内資料.
- 小井田雅弘, 柚木山史郎, 山北修 (1996 b) : Oxo の生殖・発生毒性試験—ウサギ経口投与による胎児の器官形成期投与試験—. 社内資料.
- Moore, K. L. (1977) : The urogenital system - The urinary and genital systems. The developing human, Second edition, 220-258, Press of W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- 宮崎英治, 今村敏, 小山薫, 原卓司, 西川智, 白水完治, 大黒友路, 清水源昭 (1974) : 5-Fluorouracil の経口投与時における安全性に関する研究—急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性および催奇形性実験—. 基礎と臨床, **8** (9), 17-50.
- 西村耕一 (1974) : マウスおよびラット胎児の胸部内臓奇形観察のための顕微解剖法. Cong. Anom., **14**, 23-40.
- 岡本直正 編 (1983) : 臨床人体発生学, 南江堂, 東京.
- 大井明英, 西大條亮一, 玉川実 (1994) : 新規抗悪性腫瘍薬 Emitefur の生殖・発生毒性試験 (第3報)—ウサギにおける器官形成期経口投与試験—. 薬理と治療, **22**(1), 223-232.
- Shirasaka, T., Shimamoto, Y., Ohshima, H., Yamaguchi, M., Kato, K., Yonekura, K. and Fukushima, M. (1996) : Development of a novel form of an oral 5-fluorouracil derivative directed to the potentiation of the tumor selective cytotoxicity of 5-fluorouracil by two biochemical modulators. Anti-Cancer Drugs, **7**, 548-557.
- Tatsumi, K., Fukushima, M., Shirasaka, T. and Fujii, S. (1987) : Inhibitory effects of pyrimidine, barbituric acid and pyridine derivative on 5-fluorouracil degradation in rat liver extracts. Jpn. J. Cancer Res. (Gann), **78**, 748-755.
- Wilson, J. G. (1965) : Teratology, Principles and Techniques. Univ. of Chicago, Illinois, 262-277.