REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY STUDY OF GADOBENATE DIMEGLUMINE FORMULATION (E7155) (2) — COMBINED STUDY OF EFFECTS ON FERTILITY AND EMBRYO-FETAL TOXICITY IN FEMALE RATS BY INTRAVENOUS ADMINISTRATION —

Takashi KAWAGUCHI¹, Fumio SAGAMI¹, Piero TIRONE², Alberto MORISETTI²,
Simona BUSSI² and Jane K. BAGULEY³

¹*Department of Developmental Safety Assessment Research, Eisai Co., Ltd.*

1 Takehaya, Kawashima-cho, Hashima-gun, Gifu 501-6195, Japan

²*Research Laboratories of Bracco S.p.A.*

Via E. Folli, 50-20134 Milan, Italy

³*Huntingdon Life Sciences Ltd.*

Eye, Suffolk IP23 7PX, England

(Received February 25, 1999; Accepted September 16, 1999)

ABSTRACT — The influence of gadobenate dimeglumine formulation (E7155) on fertility and general reproductive performance and embryo-fetal development was assessed in female Sprague-Dawley rats. E7155 was administered by intravenous injection at a dose of 0.3, 1.0 or 2.0 mmol/kg/day to groups of 22 female rats for 15 days before pairing. Treatment was continued throughout mating and up to Day 17 of gestation. Control animals received 0.9% sterile physiological saline throughout the same period. All females were killed on Day 20 of gestation for examination of their uterine contents. There were no toxic clinical signs of treatment. The body weight and food consumption of females before pairing and during gestation were not affected by treatment. Estrous cycles, mating performance, litter size and fetal weight, survival and development were also not affected by treatment. Based on the above results, the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) of E7155 was 2.0 mmol/kg/day for general toxicologic effects and reproduction of female rats and the development of their fetuses.

KEY WORDS: Gadobenate dimeglumine formulation, E7155, Contrast agent for MRI imaging, Fertility, Teratology, Rat

ガドベン酸ジメグルミン製剤 (E7155) の生殖発生毒性試験 (第2報) — 雌性ラットにおける静脈内投与による受胎能および 胚・胎児発生に及ぼす影響に関する併合試験 —

川口 隆¹, 佐神文郎¹, Piero TIRONE², Alberto MORISETTI², Simona BUSSI²
Jane K. BAGULEY³

¹エーザイ株式会社 開発安全性研究部
〒501-6195 岐阜県羽島郡川島町竹早町1

²Research Laboratories of Bracco S.p.A.
Via E. Folli, 50-20134 Milan, Italy

³Huntingdon Life Sciences Ltd.
Eye, Suffolk IP23 7PX, England

要 約 — 受胎能および胚・胎児発生に及ぼすガドベン酸ジメグルミン製剤 (E7155) の影響について雌性SDラットを用いて検討した。一群22匹の雌性ラットに0.3, 1.0または2.0 mmol/kg/日のE7155を交配前15日間, 静脈内投与を行った。投与は交配中も継続し, 妊娠17日まで投与を行った。対照動物には同じ期間中0.9%滅菌生理食塩液を投与した。妊娠20日にすべての雌動物を屠殺し, 子宮内容物の検査を行った。

交配前および妊娠期間中の雌動物の体重増加量および摂餌量にはE7155投与による影響は認められなかった。発情周期, 生殖能, 同腹児数, 胎児体重および妊娠20日までの胎児の生存および発生には投薬による影響は認められなかった。

以上の結果より, E7155の雌動物の一般毒性学的無毒性量, 生殖能力および胎児の発生に対する無毒性量は, いずれも2.0 mmol/kg/日と推察された。

緒 言

ガドベン酸ジメグルミン製剤 (以下E7155と略) は, Bracco社 (イタリア) により開発されたMRI (Magnetic Resonance Imaging, 磁気共鳴撮像法) で用いられる造影剤である。

今回, E7155の安全性評価の一環として, 雌性ラットにおける静脈内投与による受胎能および胚・胎児発生に及ぼす影響に関する併合試験をHuntingdon Life Sciences社 (イギリス) で実施したので報告する。

実験材料および方法

被験物質

E7155は, ガドベン酸ジメグルミン (化学名: 1-deoxy-1-(methylamino)-D-glucitol (*RS*)-dihydrogen [4-carboxy-5,8,11-tris(carboxymethyl) -1-phenyl-2-oxa-5,8,11-triazatridecan -13-oato(5-)] gadolinate (2-) (2:1), 分子量: 1058.16, 化学構造: Fig. 1) を1 ml中に0.5 mmol含有する無色～淡黄色の澄明な製剤 (媒体: 注射用水, 中性で生理食塩液に対する浸透圧: 約7) である。本試験にはBracco社で製造されたロット番号B5/20 (ガドベン酸ジメグルミンの純度: 99.1%) を使用した。なお, 被験物質の投与量は, ガドベン酸ジメグルミンの量を表記した。

使用動物および飼育条件

98匹のSprague-Dawley雌ラットをCharles River UK Ltd. (Kent, England) から購入し, 5日間馴化飼育を行い, 健康状態が良好な動物を試験に供した。動物は室温21℃ (許容範囲19～25℃), 相対湿度55% (許容範囲

Fig. 1. Chemical structure of gadobenate dimeglumine.

40～70%), 換気回数15回以上/時間, 人工照明12時間/日(午前6時～午後6時)に設定された動物室で飼育した。動物は, ステンレス製ケージ(38×54×20cm)には1ケージ当たり最高5匹まで飼育し, 交尾後はステンレス製の網底付の高密度ポリプロピレン製ケージ(23.5×39.5×21.5cm)で個別飼育した。飼料は, げっ歯類用固型飼料Laboratory Animal Diet No.1 SQC (Special Diet Services Ltd., Essex, England)を, 飲水は上水道水をそれぞれ自由に摂取させた。馴化後は, 雌動物を5gの体重幅で区分し, 各体重区分から順次, 動物を選択して群分けを行った。動物数は1群当たり22匹とした。投与開始時の雌動物は, 約10～11週齢で, 体重は200～237gの範囲にあった。

投与量および投与方法

投与量は, ラットにおける静脈内投与による4週間投与試験(Aoki *et al.*, 1999)の結果において3.0 mmol/kg/日で投与部位である尾に顕著な痂皮および潰瘍が認められ投与できない日があったため, 本試験では2.0 mmol/kg/日を最高用量とし, 以下1.0および0.3 mmol/kg/日を設定した。投与容量はそれぞれ4.0 ml/kg/日, 2.0 ml/kg/日および0.6 ml/kg/日とし, 対照群には4.0 ml/kg/日の0.9%生理食塩液を投与した。投与当日の体重に基づいて1匹当たりの投与容量を算出した。投与期間は交配前15日から交配期間を通して妊娠17日まで, 尾静脈より約6 ml/分の速度で1日1回投与した。

観察方法

1. 雌動物の観察

一般状態の観察は毎日行った。体重については投与開始日および交尾が確認されるまでは週2回の間隔, 交尾成立後0日から18日まで毎日および20日に測定した。摂餌量については, 交配前は1週間の摂餌量を測定し, 交尾成立後は0～2, 3～6, 7～9, 10～13, 14～17, 18～19日の間の摂餌量をそれぞれ測定した。

発情周期については, 交配前10日間にわたって膣垢標本を作製し, 発情周期のステージを分類して評価した。

投与15日目に雌動物と無処置の雄動物を1対1で同居させた。交尾の成立は毎朝膣栓あるいは膣垢中の精子の存在により判定し, 交尾が確認された日を妊娠0日とした。

2. 帝王切開観察

妊娠20日に二酸化炭素ガスの吸入により安楽死させた後, 生殖器を摘出し, 黄体数, 着床数, 子宮内の胎児数および分布, 胚・胎児死亡数を調べ, 胎児の性別および外表を観察し, 個体別に胎児体重および胎盤重量を測定した。また, 交尾成立動物の外表, 頸部, 胸腔, 腹腔, 骨盤腔および腔内の臓器・組織を観察した。外見上の非妊娠動物については, Salewski (1964)の染色法により着床痕がないことを確認した。

3. 胎児検査

胎児は約4℃で冷却して安楽死させた。各同腹児の約半数を新鮮状態での内臓検査を行った後, メタノールで固定し, アリザリンレッドで染色して骨格検査(Dawson, 1926)を行った。残りの胎児はブアン液で固定し, フリーハンド連続切片作製法(Wilson, 1965)で内臓検査を行った。胎児の形態変化は, 奇形, 異常および変異の3つのカテゴリーに分類した。奇形はまれなものあるいは致死性である可能性の高いものとし, 異常は比較的高い頻度で検出される「正常」から軽度に関連するもの, 変異は対照母集団において定期的に発現するような変化としてそれぞれ定義した。

統計学的解析

体重, 体重増加量, 摂餌量, 胎児体重および胎盤重量について有意差検定を行った。これらの検定は, 対照群との群間比較に先立ち分散分析を実施した。投与群間の分散(等分散あるいは不等分散)に応じて, パラメトリック検定として分散分析(Snedecor and Cochran, 1967)とWilliams検定(Williams, 1971 and 1972)あるいはノンパラメトリック検定としてKruskal-Wallis検定(Hollander and Wolfe, 1973)とShirley検定(Shirley, 1977)を用いた。性比, 交尾成立期間, 黄体数, 着床数, 吸収胚数のデータ解析にはKruskal-Wallis検定の後にWilcoxon順位検定とShirley検定を用いた。同腹中の胎児奇形および異常の頻度と分布のデータ解析には線形関連検定(Agresti, 1990; Agresti *et al.*, 1990)と不均一性のデータに対するKruskal-Wallis検定を用いた。統計学的に有意でなかった場合($p > 0.05$ 線形関連検定, $p > 0.01$ Kruskal-Wallis検定)には更なる解析は実施しなかった。線形関連検定が有意であった場合($p \leq 0.05$)には, またKruskal-Wallis検定が有意でない場合には, 線形関連検定をステップダウン方式で繰り返した。確率値 $p < 0.05$

未満である場合を有意と判定した。

実験結果

雌動物に及ぼす影響

1. 死亡および一般状態

2.0 mmol/kg/日群の1匹で妊娠12日に死亡した。剖検を行った結果、胸腺の肥大およびうっ血が認められた。それ以外には死亡動物はなかった。1.0 mmol/kg/日

群の2匹および2.0 mmol/kg/日群の6匹において投与部位に軽微な局所紅斑が認められ、2.0 mmol/kg/日群の4匹では投与部位に挫傷、剥脱、痂皮形成を含む顕著な局所損傷も認められたが、これら以外に一般状態の変化は認められなかった。

2. 体重および摂餌量

交配前15日間および妊娠期間中の体重と摂餌量をTable 1に示した。交配前および妊娠中の体重と摂餌量

Table 1. Body weights and food consumption of female rats treated with E7155.

Dose (mmol/kg/day)	0	0.3	1.0	2.0
Body weights (g)				
No. of females	22	22	22	22
Premating period (day)				
0	224 ± 8	222 ± 9	223 ± 7	222 ± 8
3	226 ± 9	229 ± 10	229 ± 8	229 ± 8
7	231 ± 12	235 ± 12	235 ± 11	233 ± 10
10	235 ± 13	240 ± 13	239 ± 11	238 ± 11
14	241 ± 14	246 ± 15	246 ± 12	243 ± 12
0-3	2 ± 4	7 ± 5	6 ± 5	6 ± 3
0-14	18 ± 9	24 ± 9	23 ± 8	21 ± 10
No. of pregnant females	22	22	22	21
No. of pregnant females dead	0	0	0	1
Gestation period (day)				
0	248 ± 13	252 ± 12	251 ± 13	251 ± 12
1	257 ± 14	261 ± 13	259 ± 12	258 ± 11
6	277 ± 16	283 ± 15	283 ± 15	279 ± 13
12	304 ± 19	310 ± 20	311 ± 17	306 ± 13
18	360 ± 25	372 ± 22	368 ± 23	365 ± 14
20	392 ± 29	406 ± 24	400 ± 26	398 ± 16
0-6	30 ± 5	30 ± 6	32 ± 6	28 ± 5
6-12	26 ± 7	28 ± 6	28 ± 6	27 ± 6
12-18	56 ± 10	61 ± 6	57 ± 10	57 ± 10
18-20	32 ± 9	34 ± 5	32 ± 5	33 ± 8
Food consumption				
No. of cages	5	5	5	5
Premating period (week : g/rat/week)				
1	125 ± 8	131 ± 8	128 ± 5	127 ± 5
2	126 ± 4	129 ± 9	128 ± 4	128 ± 5
No. of pregnant females	22	22	22	21
Gestation period (day : g/rat/day)				
0-2	25 ± 2	26 ± 3	26 ± 2	26 ± 2
3-6	27 ± 3	27 ± 3	27 ± 2	27 ± 2
7-9	27 ± 2	28 ± 3	27 ± 3	27 ± 2
10-13	29 ± 3	30 ± 3	29 ± 2	29 ± 2
14-17	29 ± 2	31 ± 2	30 ± 2	30 ± 2
18-19	29 ± 2	30 ± 3	30 ± 2	30 ± 2

Values represent mean ± S.D.

はE7155のいずれの投与群も対照群との間に差は認められなかった。

3. 発情周期

交配前の発情周期をTable 2に示した。全群の大多数の雌動物の発情周期は4日間あるいは5日間の規則的周期を呈していたが、2.0 mmol/kg/日群では、対照群に比して4日間の発情周期を示す雌動物数が有意に少なく ($p < 0.05$)、それに伴って、4日間および5日間の周期を示す雌動物数がわずかに多かった。さらに、この投与量では無発情の雌動物 (少なくとも10日間無発情) が2匹認められた。

4. 交尾能および受胎能

交配成績をTable 3に示した。全群全動物で交尾が認められ、交尾率は100%であった。受胎率は95~100%の範囲であり、対照群とE7155の各投与群との間に有意な差は認められなかった。

帝王切開所見

帝王切開時の観察結果をTable 4に示した。黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数、着床前および着床後死亡の頻度、胎児体重、胎盤重量のいずれにおいても対照群とE7155の各投与群との間に有意な差は認められなかった。胎児外表においても、E7155に起因した異常は認められなかった。また、妊娠動物においてE7155に起因した肉眼的異常は認められなかった。

胎児の内臓および骨格観察

胎児の内臓および骨格観察の結果をTable 5およびTable 6のそれぞれに示した。奇形として、0.3 mmol/kg/日群の1例に右網膜皺壁、1.0 mmol/kg/日群の1例に第1左側および第6右側頸椎弓の小型化、2.0 mmol/kg/日群の1例に横隔膜ヘルニアが認められたが、対照群に比べE7155投与群で有意な増加を示す奇形は認められなかった。その他の形態変化である内臓異常 (新鮮標本観察、ブアン固定後観察) 並びに骨格異常および変異において、対照群とE7155の各投与群との間に発現数の有意な差は認められなかった。

考 察

雌ラットにE7155を0.3, 1.0, 2.0 mmol/kg/日の投与量で交配前15日から交配期間を経て妊娠17日まで静脈内投与した。

Table 3. Mating performance and fertility of female rats treated with E7155.

Dose (mmol/kg/day)	0	0.3	1.0	2.0
No. of paired	22	22	22	22
No. of mating	22	22	22	22
Pre-coital interval (days)	3.0	2.5	2.6	2.9
Copulation rate (%)	100	100	100	100
No. of pregnant	22	22	22	21
Conception rate (%)	100	100	100	95

Table 2. Estrous cycles of female rats treated with E7155.

Dose (mmol/kg/day)	0	0.3	1.0	2.0
No. of animals examined	22	22	22	22
Regular cycles				
4 day (%)	20 (91)	20 (91)	21 (95)	13*(59)
4/5 day (%)	1 (5)	2 (9)	0 (0)	7 (32)
5 day (%)	1 (5)	0 (0)	1 (5)	0 (0)
Irregular cycle #	0	0	0	0
Acyclic ##(%)	0	0	0	2 (9)

Values represent number of animals in category.

* : Significantly different from control, $p < 0.05$ (Fisher's exact test).

: At least one cycle of two, three or six to ten days.

: At least ten days without estrus.

Table 4. Cesarean section data of pregnant rats treated with E7155.

Dose (mmol/kg/day)	0	0.3	1.0	2.0
No. of litters	22	22	22	20
No. of corpora lutea	15.9±2.7	16.3±1.4	15.8±2.1	16.9±1.3
No. of implantations	15.4±2.5	15.7±1.6	14.9±1.8	15.4±1.2
No. of resorptions				
Early	1.14±1.07	0.59±0.77	0.77±0.88	1.00±1.00
Late	0.00±0.00	0.05±0.21	0.00±0.00	0.00±0.00
Total	1.14±1.07	0.64±0.80	0.77±0.88	1.00±1.00
Pre - implantation loss (mean %) ^{a)}	3.9	3.3	6.5	8.4
Post - implantation loss (mean %) ^{b)}	8.0	4.1	5.1	6.6
No. of live fetuses	14.3±3.7	15.1±1.8	14.1±2.0	14.4±2.3
Sex ratio (% males)	44.1	57.2	43.9	52.3
Fetal weights (g)				
Male	3.77±0.23	3.87±0.16	3.83±0.26	3.85±0.26
Female	3.57±0.26	3.68±0.16	3.60±0.25	3.64±0.23
Placental weights (g)	0.55±0.07	0.54±0.05	0.53±0.04	0.57±0.17
No. of fetuses with shiny skin	1	1	0	2

Values represent mean±S.D.

^{a)} [(No. of corpora lutea - No. of implantations) / No. corpora lutea]×100.^{b)} [(No. of implantations - No. of live fetuses) / No. of implantations]×100.**Table 5.** Visceral findings of rat fetuses.

Dose (mmol/kg/day)	0	0.3	1.0	2.0
No. of fetuses (litters) examined (fresh)	157(22)	167(22)	154(22)	144(20)
No. of fetuses (litters) with malformations				
Diaphragmatic hernia	0	0	0	1(1)
No. of fetuses (litters) with anomalies				
Renal cavitation	9(7)	14(10)	17(11)	13(6)
Hydroureter	3(3)	6(6)	11(8)	12(6)
No. of fetuses (litters) examined (fixed)	157(22)	165(22)	157(22)	144(20)
No. of fetuses (litters) with malformations				
Right retinal fold	0	1(1)	0	0
No. of fetuses (litters) with anomalies				
Hemorrhages				
Brain/spinal cord	3(2)	6(5)	2(2)	3(2)
Eye/surrounding tissue	0	0	1(1)	0
Subcutaneous	2(2)	6(4)	1(1)	4(3)
Other				
dorsal fat pad	0	1(1)	0	0
intra abdominal	1(1)	2(2)	3(2)	0
within liver	1(1)	3(3)	4(4)	3(2)
Absent innominate artery	0	1(1)	0	0
Interventricular septal defect (small)	0	0	0	1(1)
Kidney(s) rudimentary/absent papilla	1(1)	1(1)	2(2)	2(2)
Ureter(s) dilated	6(4)	3(3)	3(3)	1(1)
Eyes(s) small	1(1)	0	0	0
Thyroid rudimentary	0	0	0	1(1)
Thymus undecadec horn	0	1(1)	0	0
Diaphragm thin with protruding liver	3(3)	2(2)	4(4)	3(3)
Liver additional lobe	0	3(3)	0	0
pale area	0	0	0	1(1)
Testis(es) displaced	5(4)	5(5)	5(4)	8(6)

Values represent number of affected fetuses.

Combined Study on Fertility and Teratology of E7155 in Female Rats.

母動物において、2.0 mmol/kg/日群の1匹が妊娠12日に死亡した。この動物の剖検では胸腺の肥大およびうっ血が認められたのみであった。この死亡動物は投与前の一般状態に異常は認められず、同投与量を投与されたラットの催奇形性試験（未発表）および3.0 mmol/kg/日が投与されたラットの4週間反復投与毒性試験（Aoki *et al.*, 1999）では投薬に起因した死亡は認められていないことから、今回の死亡は投薬との関連性はなく、偶発的なものと推察された。1.0 mmol/kg/日群および2.0 mmol/kg/日群で投与部位に局所刺激性変化が認められた。この変化は本剤の高浸透圧と大量投与によるもの

であり、通常の毒性試験の毒性変化に該当しないと考えられ、毒性評価から除外した。その他、一般状態、体重、摂餌量および剖検において投薬の影響は認められなかった。

生殖機能に関しては、2.0 mmol/kg/日群で性周期の延長が示唆された。しかしながら、本試験の対照群で4日間周期の動物の出現頻度（91%）が背景対照データ（50～86%）を越えており、2.0 mmol/kg/日群の出現頻度（59%）は背景対照データの範囲内であったことから、2.0 mmol/kg/日群の発情周期の延長は投薬との関連性はないと考えられた。更に、雌動物の受胎能および妊娠状

Table 6. Skeletal findings of rat fetuses.

Dose (mmol/kg/day)	0	0.3	1.0	2.0
No. of fetuses (litters) examined	157(22)	167(22)	154(22)	144(20)
No. of fetuses (litters) with malformations				
Small 1st left and 6th right cervical vertebral arches	0	0	1(1)	0
No. of fetuses (litters) with anomalies				
Incomplete ossification				
Cranial centers	5(3)	6(3)	3(2)	5(3)
Vertebrae cervical	0	0	3(3)	6(2)
thoracic/lumbar	2(2)	4(3)	5(5)	5(5)
sacrocaudal	4(2)	6(3)	12(7)	5(4)
Ischial bones	2(2)	2(2)	2(2)	4(2)
Pubic bones	3(1)	3(2)	4(3)	3(2)
Metacarpals/metatarsals	0	0	1(1)	1(1)
Precocious ossification				
Cervical vertebral center	2(1)	5(5)	7(5)	5(5)
Other abnormalities				
Cranial bone plaque	1(1)	1(1)	1(1)	1(1)
Vertebral dumbbell/bipartite	2(2)	7(5)	3(3)	9(7)
asymmetrically ossified centrum				
Ribs short	0	0	0	1(1)
Sternebrae offset/bipartite	0	0	2(2)	1(1)
Tail short	0	0	1(1)	0
Rib/vertebral configuration				
20 thoracolumbar vertebrae	1(1)	0	1(1)	0
Offset pelvic girdle	1(1)	0	1(1)	1(1)
No. of fetuses (litters) with variants				
No. of fetuses with 13 ribs	136(22)	160(22)	140(22)	126(20)
No. of fetuses with 13/14 or 14/14 ribs (mean %)	21(10) (13.4)	7(6) (4.2)	14(9) (9.7)	18(7) (12.1)
No. of fetuses with incomplete ossification 5th/6th sternebrae	100(20)	100(21)	97(22)	78(19)
No. of fetuses with incomplete ossification other sternebrae	2(2)	5(3)	7(5)	1(1)
Total No. of affected fetuses (mean %)	100(20) (61.5)	100(21) (59.4)	97(22) (63.8)	78(19) (56.0)

Values represent number of affected fetuses.

態並びに胎児の生存、体重および形態に対して投薬による影響は認められなかった。一方、類薬であるガドペンテト酸メグルミンを腹腔内投与したラットの妊娠前および妊娠初期投与試験（児玉ら，1987a）では雌動物の生殖能力および次世代への影響は認められていないが、静脈内投与したラットの器官形成期投与試験（児玉ら，1987b）では高用量で胚胎児死亡率の増加および化骨進行度の遅延が認められている。

以上の結果より、本剤の毒性は認められなかったが、技術的に連続投与が可能である2.0 mmol/kg/日を最高用量として設定しており、予定臨床用量（0.1 mmol/kg/日）の20倍であるため、十分な暴露量により毒性の全容を把握することができたと考えられた。したがって、E7155の妊娠動物における一般毒性学的無毒性量、生殖能力および胎児の発生に対する無毒性量は、いずれも2.0 mmol/kg/日と推察された。

参考文献

- Agresti, A. (1990) : Categorical data analysis. John Wiley & Sons, New York.
- Agresti, A., Mehta, C.R. and Patel, N.R. (1990) : Exact inference for contingency tables with ordered categories. *JASA*, **85**, 452-458.
- Aoki, T., Sagami, F., Tirone, P., Moresetti, A., Bussi, S. and Masters, R. E. (1999) : General toxicity of gadobenate dimeglumine formulation (E7155) (3) -4-week repeated dose intravenous toxicity study followed by 4-week recovery period in rats-, *J. Toxicol. Sci.*, **24** Suppl. I, 19-39 (in Japanese).
- Dawson, A.B. (1926): A note on the staining of the skeletal of cleared specimens with Alizarin Red S. *Stain Technol*, **1**, 123-124.
- Hollander, M. and Wolfe, D.A. (1973) : Non-parametric statistical methods. pp. 68-75 and 114-132, J. Wiley & Sons, New York.
- 児玉直己, 川崎知子, 加藤和恵, 占部圭子, 岡田智美, 中尾寿夫 (1987a) : ガドペンテト酸メグルミンの生殖試験 (I) —ラットの妊娠前および妊娠初期投与試験—。日獨医報, **32**, 502-510.
- 児玉直己, 占部圭子, 岡田智美, 加藤和恵, 中尾寿夫 (1987b) : ガドペンテト酸メグルミンの生殖試験 (II) —ラットの器官形成期投与試験—。日獨医報, **32**, 511-525.
- Salewski, E. (1964): Färbemethode zum makroskopischen Nachweis von implantationsstellen am Uterus der Ratte. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol Pharmacol.* **247**, 367.
- Shirley, E. (1977) : A non-parametric equivalent of Williams' test for contrasting increasing dose levels of a treatment. *Biometrics*, **33**, 386-389.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. (1967) : Statistical Methods. 6th ed. The Iowa State University Press, U.S.A.
- Williams, D.A. (1971) : A test for differences between treatment means when several dose levels are compared with a zero dose control *Biometrics*, **27**, 103-117.
- Williams, D.A. (1972) :The comparison of several dose levels with a zero dose control. *Biometrics*, **28**, 519-531.
- Wilson, J.G.(1965) : Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals. In: *Teratology: Principles and Techniques* (Wilson, J.G. and Warkany, J. eds.), pp. 262-277, University of Chicago Press, Chicago.