

【原著・基礎】

Telithromycin のラットまたはウサギを用いた経口投与生殖・発生毒性試験
ならびにトキシコキネティクス重栖 幹夫¹⁾・Weill D²⁾・Bode G²⁾・Baeder Ch³⁾・Fabreguettes C⁴⁾
Richard J⁴⁾・Vicat P⁵⁾・Bonnat C⁵⁾・Lenfant B⁵⁾¹⁾アベンティスファーマ株式会社研究開発本部開発研究所安全性研究室*²⁾Department of Toxicology, Aventis Pharma, France³⁾Department of Toxicology/Pathology, Aventis Pharma, Germany⁴⁾Centre International de Toxicologie (C. I. T.), France⁵⁾Department of Pharmacokinetics, Aventis Pharma, France

Telithromycin (TEL) の経口投与による生殖・発生毒性試験を SD 系ラットおよびヒマラヤ系ウサギを用いて行った。ラットの生殖能および初期胚発生に関する試験では、TEL 50, 150 および 300 mg/kg/日 を雌雄に交配前の期間から交配期間中および交尾後 7 日目まで (雌) 投与した。交尾への影響はみられなかったが、150 および 300 mg/kg/日 で雄の授胎率、精巣精子数および 1 日の精子産生率の軽度減少、雌では受胎率の低下がみられ、黄体数の減少が 300 mg/kg/日 で認められた。以上の結果より、無毒性量は、雌雄動物の耐容性について 150 mg/kg/日、配偶子の発生および成熟について 50 mg/kg/日、交尾行動および受精について 300 mg/kg/日 および 50 mg/kg/日、着床前および着床後胚損失率でそれぞれ 300 mg/kg/日 であると考えられる。ラットの胚・胎児発生に関する試験では、胎児器官形成期に 50, 150 および 300 mg/kg/日 を投与した。150 mg/kg/日 で母体に軽度の毒性症状が現れ、300 mg/kg/日 で増大した。50 および 150 mg/kg/日 では、出生児への影響はみられず、300 mg/kg/日 では骨格検査で異常 (頭蓋骨、頸椎および四肢の化骨不全) および奇形 (彎曲肋骨) がみられたが、いずれも母体毒性に関連したものと考えられた。以上の結果より、無毒性量は、雌雄動物の耐容性で 50 mg/kg/日、胚・胎児の発生で 150 mg/kg/日 と考えられる。ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、20, 60 および 180 mg/kg/日 を雌に妊娠 6 日目から 18 日目まで投与した。母動物で用量依存的な摂餌量の減少がみられ、60 mg/kg/日 以上で体重増加の抑制がみられた。母体の血液および血液生化学的検査では、180 mg/kg/日 での ALP の上昇以外に異常はみられず、剖検でも異常は認められなかった。胎児では、180 mg/kg/日 で軽微な成長遅延以外に胚・胎児の発育障害は認められず、子宮内死亡率の増加もみられなかった。形態学的検査では、変異、異常、化骨遅延または催奇形性などの所見はまったく認められなかった。母体の血漿中濃度は明らかに投与量に相関し、血中からの消失は速やかで、反復投与による蓄積傾向はみられなかった。また、胎児にも低濃度の本薬暴露が確認された。本試験の条件下では、無毒性量は、母動物で 20 mg/kg/日、胚・胎児で 60 mg/kg/日 であると推定される。ラットの周産期および授乳期の発育および母体機能に関する試験では、本薬 50, 125 および 200 mg/kg/日 を妊娠 6 日目から出生児の離乳まで投与した。125 mg/kg/日 以上で妊娠期間中の体重増加量および摂餌量の軽度減少がみられた。200 mg/kg/日 では、子宮内発育遅延により出生児体重が対照群を約 10% 下回り、F1 出生児の出生後 4 日間の生存率および体重増加がわずかに低下したが、その後の授乳期間の生存率および成長率は正常であった。離乳から性成熟までの期間ではまったく異常はみられず、F1 動物の生殖能に対する影響も認められなかった。以上の結果より、本実験条件下において、無毒性量は、親ラット (F0 ラット) 雌の妊娠・授乳期の耐容性で 50 mg/kg/日、次世代 (F1) 動物の出生前および新生児期の発達について 125 mg/kg/日、F1 動物の生後発達および受胎能については各 200 mg/kg/日 であると推定される。

Key words: telithromycin, reproductive and development study, rats and rabbits

Telithromycin (TEL) の経口投与による生殖・発生毒性を調べるために、

1) ラットを用いた生殖能・初期胚発生におよぼす影響に関する試験

2) ラットを用いた胚・胎児発生におよぼす影響に関する試験

3) ウサギを用いた胚・胎児発生におよぼす影響に関する試験およびトキシコキネティクス

4) ラットを用いた周産期および授乳期の発育および母体機能におよぼす影響に関する試験
について行った結果を報告する。

I. 材料と方法

1. 被験物質

本試験で使用した TEL (化学名: (+)-(3a*S*, 4*R*, 7*R*, 9*R*, 10*R*, 11*R*, 13*R*, 15*R*, 15*aR*)-4-ethyloctahydro-11-methoxy-3a, 7, 9, 11, 13, 15-hexamethyl-1-[4-(3-pyridyl)imidazol-1-yl]butyl]-10-[[3, 4, 6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-xyllo-hexopyranosyl]oxy]-2*H*-oxacyclotetradecino[4, 3-*d*]oxazole-2, 6, 8, 14(1*H*, 7*H*, 9*H*)-tetrone) は、フランス、アベンティスファーマ社で開発された経口抗生物質である。本試験ではラット、ウサギいずれにおいても TEL を 0.5%メチルセルロースに懸濁して経口投与した。

2. 使用動物および飼育条件

使用動物は、1) の生殖能・初期胚発生毒性試験では、9週齢の CrI CD (SD) BR 系ラットを用い、搬入後 7 日間の馴化期間をおいた。試験開始時の体重は雄: 356~408 g, 雌: 227~285 g であった。2) の胚・胎児発生毒性試験では、雌雄 SD 系ラットを用い、搬入後 5 日間以上の馴化期間をおいた。試験開始時の体重は、雌 (10~11 週齢): 134.2~171.2 g であり、交配用の雄は 18~19 週齢のラットを用いた。4) の周産期および授乳期の発育および母体機能に対する毒性試験では、8~9 週齢の CrI CD (SD) BR 系を交尾確認第 1 日目に搬入し、5 日間の馴化期間をおいた。試験開始時の体重は 201~307 g であった。3) の試験では、6~9 か月齢のヒマラヤ系ウサギを搬入し、少なくとも 5 日間の馴化期間をおいた。試験開始時の体重は 2,670±221 g であった。

ラットの飼育室の環境は、いずれの試験でも試験期間を通じて室温 22±2°C, 湿度 50±20%, 陽圧下換気 (≧13 回/時間), 12 時間照明 (7 a.m.~7 p.m.) に設定した。1) の試験では、交配時を除きポリカーボネートケージ (430×215×200 mm) に滅菌おがくず (SICSA, Alfortville) を入れて個別飼育した。2) では、プラスチックケージ (245×266×180 mm) に滅菌おがくずを入れて個別飼育した。4) の試験では、雌親ラットはポリカーボネートケージ (430×215×200 mm) に滅菌おがくずを入れて個別飼育し、離乳後の離乳児ラットは金網ケージ (430×215×180 mm) に 1 腹ごとに入れ、ケージの下に滅菌おがくずを敷いた金属トレイを置いて飼育した。

飼料はラットの試験ではいずれもげっ歯類用標準ペレット (U.A.R.A 04 C-10) を、水は 0.22 μm 膜 (Millipore)

で濾過した水を給水ビンよりいずれも自由摂取させた。

ウサギの飼育室の環境は、試験期間を通じて室温 21±2°C, 湿度 32~64%, 陽圧下換気 (16~20 回/時間), 12 時間照明 (6 a.m.~6 p.m.), 照度 450 lux (床上 1 m) に設定した。ウサギは穴あき金属床の金網ケージに個別飼育し、飼料は標準のペレット (Ssniff K-H) を、水は飲料水を自動給水装置よりいずれも自由摂取させた。

3. 試験方法

1) ラットを用いた生殖能・初期胚発生におよぼす影響に関する試験

① 投与量, 群構成および投与方法

投与量はラットの 30 日間投与試験の結果を参考に 0, 50, 150 および 300 mg/kg/日とし、0.5%メチルセルロース液に懸濁して 5 mL/kg の容量で経口投与した。1 群の動物数は雌雄各 24 例とし、雄には交配前 29 日から交配期間中および交配期間 (最長 2 週間) 終了後まで、雌には交配前 15 日から交配期間中および妊娠 7 日まで投与した。

② 親動物の一般状態観察, 摂餌量, 体重測定および死亡動物の有無

雌雄の親動物の一般状態を 1 日 1 回ほぼ同時刻に観察し、一般状態の異常または死亡の有無を 1 日に少なくとも 2 回観察した。一般状態が悪化して致死が予測された場合は、炭酸ガスで窒息死させ、肉眼的検査を行った。摂餌量は、雄では交配期間を除き投与開始日から安楽致死まで 1 週間単位で動物ごとに行い、雌では投与開始日から交配までの期間は 1 週間単位で動物ごとに行い、交配期間中は測定せず、妊娠確認後は、妊娠 0 日~7 日, 7~11 日, 11~15 日の間隔で測定した。体重は、雄では、動物ごとに投与 1 日目およびそれ以降は隔日に安楽致死まで、雌では、動物ごとに投与 1 日目から交配まで隔日に、その後は妊娠 0, 4, 7, 11, 13 および 15 日に測定した。

③ 精巣上体および精巣の精子の検査

ケタミンおよびアセプロマジン麻酔下に右側の精巣上体を摘出し、精液 1 mm³ 中の精子数およびその生存度の測定に供し、左側は病理検査用に固定した。精子の生存度は、エオジン-ニグロシン染色後に判定し、100 匹数え生存精子率を求めた。また、右側精巣を摘出し、重量測定後軽く粉碎希釈し、ノイバウエル細胞中の精子頭数を数えた。結果は 1 日あたりの精子産生率を知るために組織 1 g 中の精子頭数で示した¹⁾。

④ 親動物の観察項目

交尾の成立した雌は、妊娠 15 日目に炭酸ガスで窒息死させ、子宮切開にて胎児を摘出した。卵巣および子宮を摘出し、黄体数, 生存および死亡胎児数とその分布, 早期および後期死胎数とその分布, 着床部位数を測定した。交尾の成立しなかった雌は、交配期間終了後炭酸ガスで窒息死させた。雄も交配期間終了後炭酸ガスで窒息

させ放血死させた。

安楽致死前に体重を測定した後剖検し、精巣上体、卵巣、前立腺、精囊、精巣、子宮および陰の重量を測定した。

また、各群について交尾率、雄の授胎率、雌の受胎率、着床前胚損失率および着床後胚損失率を算出した。

統計処理については、平均値は一元配置分散分析およびDunnett法^{2,3)}で検定し、%値はFischerの直接確立法⁴⁾で検定した。

2) ラットを用いた胚・胎児発生におよぼす影響に関する試験

① 投与量、群構成および投与方法

投与量はラット胚・胎児毒性予備試験および30日間投与試験の結果を参考に0, 50, 150 および 300 mg/kg/日とし、0.5%メチルセルロース液に懸濁して10 mL/kgの容量で経口投与した。1群の動物数は雌各25例とし、妊娠7日から17日目まで投与した。

② 母動物の観察および測定項目

一般状態の異常および生死の有無を毎日観察し、体重は妊娠0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 および 21日に、摂餌量および摂水量は妊娠0~3, 3~6, 6~9, 9~12, 12~15, 15~18, 18~21の期間で測定した。6%ペントバルビタール投与により安楽死させ、妊娠子宮重量、黄体数、着床痕数、胎盤の状態および重量、生存胎児数、死亡胎児数および吸収胚数を観察記録した。また、妊娠率、出産率、着床前胚損失率および着床後胚損失率を算出した。

③ 胎児の観察および測定項目

胎児では、個々の体重、外表検査、内部検査(全胎児の50%)、性別および骨格検査(全胎児の50%)について観察記録した。内部検査はWilsonの方法⁵⁾にしたがい胸・腹部の諸臓器を観察し、骨格検査はStaplesおよびSchnellの方法⁶⁾にしたがい観察した。

3) ウサギを用いた胚・胎児発生におよぼす影響に関する試験およびトキシコキネティックス

① 投与量、群構成および投与方法

投与量は0, 50, 150 および 300 mg/kg/日とし、0.5%メチルセルロース液に懸濁して3 mL/kgの容量で経口投与した。1群の動物数は雌各24例(トキシコキネティックス用の4例を含む)とし、妊娠6日から18日目まで投与した。また、各群の母動物2例には胎児のトキシコキネティックス用に妊娠29日目に再度1回投与した。

② 母動物の観察および測定項目

行動および一般状態を少なくとも1日2回観察し、体重および摂餌量を週2回測定した。妊娠6日目の投与前、妊娠19日目の最終投与24時間後に各群の4例より採血し、以下の項目の血液学的検査と血液生化学的検査を実施した。

血液学的検査: 赤血球数(RBC)、ヘマトクリット値

(Ht)、ヘモグロビン(Hb)、平均血球容積(MCV)、平均血球ヘモグロビン(MCH)、平均血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数(Plt)、白血球数(WBC)および白血球分画—リンパ球(Lymph)、好中球(Neutro)、好酸球(Eosino)、好塩基性球(Baso)および単球(Mono)

血液生化学的検査: aspartate aminotransferase (ASAT), alanine aminotransferase (ALAT), alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyltransferase (γ -GT), カリウム (K), ナトリウム (Na), カルシウム (Ca), 塩素 (Cl), 無機リン (P), 総ビリルビン (T-Bil), クレアチニン (Cre) および総蛋白 (T-Pro)

すべての母動物は妊娠29日目にチオペンタールNaの静注で安楽致死させ、帝王切開で子宮を摘出した。着床数、黄体数、早期死胎児数、後期死胎児数および生存胎児数を数え、吸収胚の直径および胎盤重量を測定した。また、母体の剖検を行い、肝臓および腎臓重量を測定し胎盤とともに病理検査に供した。

③ 胎児の観察および測定項目

子宮より取り出した胎児の外観および外表異常の有無を観察し、体重を測定した後炭酸ガスで窒息死させた。体長を測定し、アルコールで固定した後、性別、内部諸臓器の異常の有無を観察した。眼、脳、心臓および腎臓は十字切開し異常の有無を観察した。すべてのカルカスをアルカリ処理後、常法により染色して骨格について骨状態および異常の有無を観察した。観察した外表、内臓および骨格異常について、奇形、軽度の欠損、変異および遅延に分類して評価した。

④ トキシコキネティックス

トキシコキネティックス用の採血は、投薬群の各4例より妊娠6日目の投薬前、投与4および24時間後、妊娠18日目の投与4および24時間後に採血した。妊娠29日目に再投与した雌2例について、投与4時間後にすべての胎児から採血した。血漿中濃度は、HPLC-蛍光検出法⁷⁾により測定した。

4) ラットを用いた周産期および授乳期の発育および母体機能におよぼす影響に関する試験

① 投与量、投与方法、群構成および試験系

投与量は0, 50, 125 および 200 mg/kg/日とし、0.5%メチルセルロース液に懸濁して5 mL/kgの容量で経口投与した。1群の動物数は交尾を確認した雌各25例とし、妊娠6日から分娩後21日目まで投与した。

F0母動物は自然分娩させ、F1出生児を分娩後21日目まで哺育させた。分娩後22日目に離乳させた各群のF1動物のなかから雌雄各20例を選び、12~14週間飼育後交配させ、妊娠15日目に子宮切除で胎児を取り出した。

② F0母動物の観察および測定項目

一般状態の異常および死亡の有無を少なくとも1日2回観察した。体重は交配確認後2, 6, 9, 12, 15, 20

日目および分娩後1, 4, 7, 10, 14, 18および21日に測定し、摂餌量は、交配確認後2~6, 6~9, 9~12, 12~15, 15~20日、分娩後1~7, 7~14, 14~21日の間隔で測定した。母動物の分娩状態を観察し、妊娠期間を算出した。

③ 授乳期間中のF1動物の観察項目

分娩終了時に出産児数、出産児の生死、性別および外形異常の有無を観察した。一般状態を毎日観察し、体重を生後1, 4, 7, 14および21日に測定した。F1新生児の身体的、機能的(反射)発達を所定期日に観察し、正常な発達を示した動物数を一腹ごとに数えた。身体的発達として、耳介展開、腹部生毛を生後5日目に、切歯萌出を生後13日目に、眼瞼開裂、耳管開口を生後17日目に、反射機能として、正向反射を生後5日目に、断崖回避反応を生後11日目に、空中での正向反射を生後17日目に観察した。

④ 離乳後のF1動物の臨床検査

分娩22日目に各群雌雄各20例となるように各腹から雌雄各1~2例選んでF1を構成し、離乳後の性発達および神経行動発達の検査に供した。残りのF1動物は安楽致死させ、胸腹部臓器の肉眼的検査に供した。

離乳させたF1動物について、一般状態の異常および死亡の有無を少なくとも1日2回観察した。体重は離乳後1日目およびそれ以降週1回測定した。摂餌量は、雄では離乳後から交配期間中を除き週1回、雌では交配前まで週1回、期間中を除き交配確認後0~8, 8~15日の間隔で測定した。また、性発達として、雄では生後35日から亀頭包皮溝の開裂がみられるまで毎日(生後50日間で)、雌では、生後28日頃から陰開口がみられるまで毎日(生後40日)観察した。

⑤ F1の神経行動検査

4~5週齢になった時、音響驚愕反応で聴覚機能を、瞳孔収縮反応で瞳孔反応を調べた。6~7週齢になった時、water multiple T-maze法で学習・記憶能を、open field法で自発運動活性を調べた。

⑥ F1の交配および子宮切開

F1動物が12~14週齢になった時、同用量群のなかでたがいに違う腹の雌雄を同居させた。陰栓または陰垢の精子で交配を確認するまで、または21日間同居させ、交配成立までの日数を測定した。交配確認後15日目に炭酸ガスで窒息死させ、子宮切開で胎児を取り出した。卵巣および子宮の検査で黄体数、着床痕数、生存または死亡胎児数、早期および後期吸収胚数を調べた。

⑦ 病理学的検査

F0の生存雌はF1動物離乳後に、すべてのF0非妊娠雌は交配後26日目に、選ばれたF1雄はF1雌の子宮切開後に、選ばれなかったF1動物は分娩後22日目に、交配しなかったF1雌は交配期間終了後に炭酸ガスで窒息死させた。すべての親動物(F0雌、F1の雌雄)

および試験期間中の死亡例について、胸腹部の主要臓器の肉眼的検査を行った。雌については着床痕数および黄体数を計測した。

II. 結 果

1. ラットを用いた生殖能・初期胚発生におよぼす影響に関する試験

1) 親動物の臨床検査

50および150 mg/kg/日では、両群の雄1例が投与過誤で身体状態悪化のため死亡または安楽死させた以外に被験薬に関連した死亡はみられなかった。300 mg/kg/日では、雌雄各1例が死亡した。これらの死亡例では体重低下が認められたが、その他には異常所見はなく、剖検でも異常所見は認められなかった。

本薬投与各群の雌雄のほぼ全例に流涎が投与期間を通じて認められ、全身状態の悪化または呼吸困難の症状が50 mg/kg/日の雄1例、150 mg/kg/日の雌雄各1例、300 mg/kg/日の雄1例と雌3例に認められた。また、300 mg/kg/日の雄6例に着色鼻汁がみられた。

雄の摂餌量は、投与1週目で本薬投与群では有意に減少し、低、中用量群はその後回復したが、高用量群では有意な減少が続いた。50, 150および300 mg/kg/日の各群で対照群に比べそれぞれ平均3, 6および22%減少した。雌では150および300 mg/kg/日で有意な減少がみられ、対照群に比べそれぞれ平均6および19%減少した。

体重は、雌雄いずれも50および150 mg/kg/日で影響はみられなかったが、300 mg/kg/日で有意な減少がみられ、対照群に比べそれぞれ投与終了時において11および12%減少した。

2) 雌雄の受胎能に対する影響

雄の授胎能に対する影響をTable 1に示した。交尾率に影響はみられなかったが、授胎率に有意差はないものの用量依存的に軽度ないし中程度に減少した。精巣上体の精子数および精子生存率に対しすべての投与群で影響は認められなかったが、精巣の精子頭数および1日の精子産生率は150および300 mg/kg/日で軽度に低下した。

雌の授胎能に対する影響および子宮切開時のデータをTable 2に示した。

性周期はすべての投与群で影響は認められなかった。雌の交尾率はすべての投与群で影響は認められなかったが、授胎率は用量依存的に抑制傾向が認められた。すべての投与群で有意差はみられなかったが、50 mg/kg/日の授胎率は実施施設のバックグラウンドデータの最小値と同レベルであり、150および300 mg/kg/日の授胎率はかなり下回った。対照群の黄体数はバックグラウンドデータの最大値を若干超え、50および150 mg/kg/日の黄体数はバックグラウンドデータの平均値と同レベルであったが、300 mg/kg/日の黄体数は明らかに低いものであった。着床前および着床後胚損失率はいずれの群でも影

Table 1. Male fertility data in rats treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	150 mg/kg/day	300 mg/kg/day	CIT-data ^{c)}
Males paired	24	24	24	23	97.4 ± 3.7% min. = 88 max. = 100
Male able to mate	24	22	23	22	
Male mating index (%)	100	92	96	96	
Pregnant female partners	23	19	18	17	95.4 ± 6.0% min. = 82.4 max. = 100
Male fertility index (%)	96	86	<u>78</u>	<u>77</u>	
Number of spermatozoa	374	315	336	299	387 ± 77 min. = 274 max. = 490
Difference from control (%)		-16	-10	-20	
Viability of spermatozoa	83	79	73	78	75 ± 5 min. = 69 max. = 82
Difference from control (%)		-5	-12	-6	
Number of sperm head ^{a)}	109	<u>106</u>	<u>96</u> *	<u>96</u> *	113 ± 6 min. = 107 max. = 121
Difference from control (%)		-3	-12	-12	
Daily sperm production rate ^{b)}	17.8	<u>17.3</u>	<u>15.7</u> *	<u>15.7</u> *	18.5 ± 1 min. = 17.5 max. = 19.9
Difference from control (%)		-3	-12	-12	

^{a)}Number of sperm head ($\times 10^6$)/gram of testis

^{b)}Daily sperm production rate ($\times 10^6$)/gram of testis/day

^{c)}CIT historical data, N = 11

Underlined values: outside the range of historical data

*Significantly different from control, P < 0.05

Table 2. Female fertility and hysterectomy data in rats treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	150 mg/kg/day	300 mg/kg/day	CIT-data ^{b)}
Females paired	24	24	24	23	99.7 ± 1.0% min. = 97 max. = 100
Female able to mate	24	24	24	22	
Female mating index (%)	100	100	100	<u>96</u>	
Pregnant females	23	21 (19 + 2 ^{a)})	19	17	95.9 ± 5.1% min. = 88.2 max. = 100
Female fertility index (%)	96	<u>88</u>	<u>79</u>	<u>77</u>	
Females at hysterectomy	23	19	19	17	
Corpora lutea/female	<u>20.8</u>	18.2*	18.0*	<u>14.2</u> **	mean = 18.4 min. = 16.8 max. = 20.5
Pre-implantation loss (%)	<u>21.1</u>	<u>22.8</u>	<u>21.9</u>	16.1	mean = 9.9 min. = 6.6 max. = 17.6
Post-implantation loss (%)	10.3	6.4	4.9	7.9	mean = 12.2 min. = 4.0 max. = 23.7

^{a)}two pregnant females with no evidence of mating

^{b)}CIT historical data, N = 9~10

Underlined values: outside the range of historical data

*Significantly different from control, P < 0.05

**Significantly different from control, P < 0.001

響は認められなかった。

3) 病理学的検査

雌雄の生殖臓器重量に対する影響を Table 3 に示した。

雄の生殖臓器に対しては、300 mg/kg/日で前立腺、

精囊および精巣上体の絶対重量がそれぞれ 17, 23 および 10% 減少し有意差が認められ、精囊の相対重量も有意に (14%) 減少していた。雌の生殖臓器に対し用量相関はみられないが全体的に減少傾向が認められた。卵

Table 3. Main genital organ weights of rats treated with telithromycin

	Control		50 mg/kg/day		150 mg/kg/day		300 mg/kg/day	
	A	R	A	R	A	R	A	R
Final body weight	♂533.4 ± 46.5		♂517.6 ± 41.2		♂516.0 ± 36.3		♂473.5 ± 26.2**	
Prostate	1.82 ± 0.26	0.342 ± 0.043	1.75 ± 0.336	0.339 ± 0.062	1.76 ± 0.310	0.341 ± 0.055	1.51 ± 0.189**	0.319 ± 0.036
Seminal vesicles	2.17 ± 0.313	0.409 ± 0.063	2.11 ± 0.176	0.411 ± 0.051	1.96 ± 0.197	0.382 ± 0.044	1.67 ± 0.268**	0.353 ± 0.055**
Epididymides	1.47 ± 0.140	0.278 ± 0.036	1.39 ± 0.125	0.270 ± 0.033	1.42 ± 0.150	0.276 ± 0.031	1.32 ± 0.139**	0.280 ± 0.035
Final body weight	♀378.8 ± 18.7		♀373.0 ± 29.2		♀358.8 ± 36.6		♀341.2 ± 27.4**	
Ovary	0.197 ± 0.034	0.052 ± 0.008	0.169 ± 0.031*	0.045 ± 0.008*	0.172 ± 0.034*	0.048 ± 0.007	0.156 ± 0.031**	0.046 ± 0.007
Uterus	3.72 ± 0.947	0.978 ± 0.245	3.00 ± 1.41	0.792 ± 0.356	2.98 ± 1.42	0.809 ± 0.358	2.73 ± 1.33*	0.786 ± 0.361
Vagina	0.318 ± 0.061	0.084 ± 0.018	0.323 ± 0.056	0.087 ± 0.014	0.296 ± 0.048	0.083 ± 0.015	0.278 ± 0.042*	0.082 ± 0.011

A: absolute, R: relative

*Significantly different from control, P<0.05

**Significantly different from control, P<0.01

巣の絶対重量は 50, 150 および 300 mg/kg/日 で有意に減少し (14, 13 および 21%), 相対重量は 300 mg/kg/日 で有意に減少 (12%) した。子宮では, 300 mg/kg/日 で絶対重量 (27%) の有意な減少を認めたが, 相対重量は (20% の減少) 有意ではなかった。また, 50 および 150 mg/kg/日 で絶対重量および相対重量いずれも 17~20% の減少を示したが有意ではなかった。

肉眼的検査において, 50 および 150 mg/kg/日 では問題となる所見はみられなかったが, 精囊の縮小が 300 mg/kg/日 で 1 例にみられた。

2. ラットを用いた胚・胎児発生におよぼす影響に関する試験

1) 母動物におよぼす影響

50 mg/kg/日 の投与過誤による 1 例の死亡以外に投与期間中の死亡例はみられなかった。

一般状態の観察において, 対照群の 1 例, 50 mg/kg/日 の 2 例に脱毛がみられた以外に異常はみられず, 150 mg/kg/日 では異常は認められなかった。300 mg/kg/日 では全例に挙尾反応がみられ, 一部に脊柱の後彎を伴う例がみられた。また, 2 例に脱毛がみられた。

体重の推移は, 50 mg/kg/日 では対照群と差はみられなかったが, 150 mg/kg/日 では妊娠 9~18 日にかけて軽度な体重増加の抑制がみられた。300 mg/kg/日 では妊娠 9 日目に軽度減少し, その後増加に向かったが, 対照群に比べ 6~17% 低く有意差がみられた。

摂水量はいずれの群にも影響はみられなかったが, 摂餌量は対照群に比べ 150 mg/kg/日 で妊娠 6~9 日目に

27%, 以降 8~17% 少なく, 300 mg/kg/日 では妊娠 6~9 日目に 49%, 以降 36~37% 少なくいずれも有意差が認められた。これらの変化は体重の推移に対応していた。

妊娠 21 日目における帝王切開時の母動物の観察結果を Table 4 に示した。

妊娠経過については, 対照群に 1 例, 150 mg/kg/日 で 2 例, 300 mg/kg/日 で 1 例が非妊娠であった。50 mg/kg/日 の 1 例が剖検前に自然分娩したので, これらの胎児のデータは平均値の計算に入れなかった。

着床前胚損失率は 150 mg/kg/日 で, 着床後胚損失率は用量依存的に軽度の増加を示したが, 有意差は認められなかった。胎盤の外形変化や異常はいずれの群でも認められなかった。子宮重量は 150 mg/kg/日 以上で軽度ながら有意な減少がみられ, 胎盤重量は 150 mg/kg/日 で増加傾向を示し, 300 mg/kg/日 では逆に有意な減少がみられた。母体単位の胎児重量は 50 および 150 mg/kg/日 では対照群と差はなく, 300 mg/kg/日 で有意に減少していた。母体の剖検では各臓器の外見に異常は認められなかった。

2) 胎児におよぼす影響

胎児の外表面および内臓検査の結果を Table 5 に, 骨格検査の結果を Table 6 に示した。

外表検査における変異および異常所見として, 全群に一側または両側後肢の過屈曲例が 10~15 例認められた。矮小胎児が対照群に 2 例, 50 mg/kg/日 に 1 例, 300 mg/kg/日 に 6 例, 出血例が各投与群に 2~4 例, 曲尾が対照群を含む各群に 4~10 例認められた。300 mg/kg/日

Table 4. Caesarean section data of mother rats treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	150 mg/kg/day	300 mg/kg/day
Number of mated females	25	25	25	25
Number of females excluded	0	1	0	0
Number of females dying	0	0	0	0
Number of females sacrificed	25	24	25	25
Number of pregnant females	24	24	23	24
Pregnancy rate (%)	96.0	96.0	92.0	96.0
Number of gestating females	24	24	23	22
Gestation rate (%)	100	100	100	91.7
Number of females excluded calcu.	0	1 ^{a)}	0	0
Total number of corpora lutea	408	382	392	368
Total number of implantation	372	345	314	327
Mean uterus weight (g)	117.5 ± 2.2	115.6 ± 2.8	100.6 ± 4.0*	96.1 ± 3.3*
Total number of foetal losses	10	5	12	17
Total number of live fetuses	362	340	302	310
Mean implantation number/female	15.5 ± 0.4	15.0 ± 0.3	13.7 ± 0.6	14.9 ± 0.5
Mean foetal losses/female	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2
Mean live fetuses/female	15.1 ± 0.4	14.8 ± 0.3	13.1 ± 0.6	14.1 ± 0.5
Ratio of males (%)	56.9	51.8	54.6	47.7*
Pre-implantation loss rate (%)	8.8	9.7	19.9	11.1
Post-implantation loss rate (%)	2.7	1.4	3.8	5.2
Mean placental weight/litter (g)	0.58 ± 0.01	0.63 ± 0.02	0.64 ± 0.02*	0.51 ± 0.01*
Mean placental weight/foetus (g)	0.58 ± 0.00	0.62 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.51 ± 0.01
Mean foetal weight/litter (g)	5.72 ± 0.07	5.57 ± 0.08	5.80 ± 0.06	5.13 ± 0.11*
Mean foetal weight/foetus (g)	5.70 ± 0.03	5.76 ± 0.03	5.77 ± 0.02	5.11 ± 0.04

^{a)} Delivery just before autopsy, mean ± s.e.

*significantly different from control, P<0.05

で無尾が2例の母体から各1例、軽度の舌突出が2例の母体から5例（4例と1例）認められた。内臓検査では、一側または両側の骨盤腎・高位尿管および水腎が対照群を含む各群に認められた。また、内臓奇形として小型で異所性精巣が対照群で1例、融合腎が300 mg/kg/日で1例みられた。

骨格検査では、変異および異常として頸椎の化骨不全が50 mg/kg/日で対照群に比べ有意に少なかった以外には、50および150 mg/kg/日群で有意な差はみられなかった。300 mg/kg/日では、頭蓋、頸椎および四肢の化骨不全が有意に増加していた。また、骨格奇形は300 mg/kg/日のみ（22腹中7腹、および161胎児中23例）に認められ、大部分が一側または両側の彎曲肋骨で、第6胸骨分節の未化骨が1例であった。

3. ウサギを用いた胚・胎児発生におよぼす影響に関する試験およびトキシコキネティクス

1) 母動物におよぼす影響

20および60 mg/kg/日では、両群で1~2例が褐色

または赤色尿を呈したが、妊娠経過に影響はみられず、それ以外に行動および一般状態になんら影響はみられなかった。120 mg/kg/日では、流産（妊娠26日）および未熟児分娩（妊娠25日）が各1例認められた。また、1例が赤色尿を呈したが、妊娠経過に影響はみられなかった。対照群に1例流産（妊娠23日）がみられた。

摂餌量は妊娠19日頃まで用量依存的に減少し、対照群に比べ20、60および180 mg/kg/日でそれぞれ12、30および63%減少したが、妊娠後期には低および中用量群では対照群レベルに回復し、高用量群では対照群より増大した。

体重は、20 mg/kg/日ではほとんど影響はみられなかったが、60 mg/kg/日では妊娠初期に軽度の減少を示した後徐々に回復した。180 mg/kg/日では、投与後1週間は著明な体重減少がみられたが、投与終了後急速な体重増加を示し、妊娠29日目では対照群に比べ約5%軽い程度まで回復した。

血液学的検査では、いずれの投薬群にも影響は認めら

Table 5. External and internal examination of term fetuses from mother rats treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	150 mg/kg/day	300 mg/kg/day
Total number of fetuses	362	340	302	310
External examination				
Number of litters examined	24	23	23	22
Number of litters affected (%)	13 (54.2)	12 (52.2)	11 (47.8)	14 (63.6)
Number of fetuses examined	362	340	302	310
Number of fetuses affected (%)	26 (7.2)	22 (6.5)	23 (7.6)	27 (8.7)
Variations (number of fetuses)				
Unilateral hyperflexion of hindpaw	13	11	13	10
Bilateral hyperflexion of hindpaws	2	2	0	0
Anomalies (number of fetuses)				
Small fetuses	2	1	0	6
Hemorrhage on snout	0	1	0	0
Hemorrhage on neck	0	0	1	1
Hemorrhage on back on shoulders	0	2	0	0
Hemorrhage on hind limb	0	1	1	1
Local edema on flank	0	0	0	1
Bent tail	10	4	8	9
Malformations (number of fetuses)	0	0	0	5
Slight protruding tongue	0	0	0	5
Acaudate	0	0	0	2
Internal examination				
Number of litters examined	24	23	23	22
Number of litters affected (%)	11 (45.8)	11 (47.8)	8 (34.8)	2 (9.1)
Number of fetuses examined	178	163	143	149
Number of fetuses affected (%)	32 (18.0)	19 (11.7)	11 (7.7)	4 (2.7)
Variations (number of fetuses)				
Dilatation of renal pelvis and upper ureter				
-unilateral	13	11	9	1
-bilateral	18	8	2	1
Anomalies (number of fetuses)				
Unilateral hydronephrosis	0	1	0	1
Bilateral hydronephrosis	2	0	1	0
Malformations (number of fetuses)				
Fused kidney	0	0	0	1
Small and malpositioned testis	1	0	0	0

れなかった。また、血液生化学的検査においても、投与13日目の検査でALPが約2倍に上昇していた以外にまったく影響は認められなかった。

2) 帝王切開時所見

妊娠期間中および帝王切開時の母動物の観察結果をTable 7に示した。

帝王切開の結果、60および180 mg/kg/日に各1例非妊娠例が認められた。黄体数および着床数に影響はみ

られず、生存胎児数も対照群と投薬群の間に差は認められなかった。着床前胚損失率の高い個体(30~66.7%)が対照群, 60および180 mg/kg/日で各2例, 20 mg/kg/日で3例認められたことは注目されるが、いずれの投薬群も対照群と差はみられなかった。

20および60 mg/kg/日の生存胎児はいずれも正常に生育しており、体重も対照群との間に差はみられなかった。胎児重量が29.9 gより軽い発育遅延個体の比率は

Table 6. Skeletal examination of term fetuses from mother rats treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	150 mg/kg/day	300 mg/kg/day
Genetic variations/Anomalies				
Number of litters examined	24	24	23	22
Number of litters affected (%)	24(100)	24(100)	23(100)	22(100)
Number of fetuses examined	184	175	159	161
Number of fetuses affected (%)	178(96.7)	155(88.6)	153(96.2)	161(100)
Number of fetuses with several variations (%)	84(45.7)	70(40.0)	87(54.7)	142(88.1)*
Types (number): incomplete ossification				
-Cranium	0	1	2	14*
-Sternum	174	152	150	158
-Ribs	0	0	0	0
-Cervical vertebrae	68	34	72	117*
-Paws (extremities)	36	54	47	109*
Anomalies/Malformations				
Number of litters examined	24	24	23	22
Number of litters affected (%)	0(0)	0(0)	0(0)	7(31.8)*
Number of fetuses examined	184	175	159	161
Number of fetuses affected (%)	0(0)	0(0)	0(0)	23(14.3)*
Types (number)				
-Unossified 6th sternebra	0	0	0	1
-Unilateral bent ribs	0	0	0	5
-Bilateral bent ribs	0	0	0	17

*Significantly different from control, $P < 0.05$

それぞれ5.8および3.0%で対照群の5%と同レベルであった。180 mg/kg/日の胎児体重は対照群との間に有意差はみられなかったが、発育遅延個体の比率は15.7%と非常に高かった。早期および後期子宮内死亡児は対照群を含む各群にみられ、有意差は認められなかったが、20 mg/kg/日では非常に少なかった。60および180 mg/kg/日の着床数に対する生存児の比率は、有意差はみられないが実施施設の正常範囲からわずかに外れていた。また、180 mg/kg/日の胎盤重量も有意差はみられないが、対照群に比べわずかに低く、実施施設の正常範囲からも外れていた。

3) 胎児の形態学的所見

生存児の外形および内臓検査の主要な結果をTable 8に、骨格検査の主要な結果をTable 9に示した。

生存胎児の形態学的検査では、被験薬投与に起因すると考えられる外形、内臓および骨格上の奇形はまったく認められなかったが、脳の第1および第2脳室の拡張例が20 mg/kg/日に2例(1母体)認められた。

軽度の異常として、胸部または腹部の出血例が対照群、60および180 mg/kg/日に1~2例、肺小葉の部分的癒合、矮小または無形成例が対照群を含む全群に2~4例、胆嚢肥大が投薬3群に各1例みられた。胃が肥大し、液状物質で膨満した例が対照群を含む全群にみられ、60 mg/kg/日で有意に多く認められた。腎臓の偏位例が対

照群を含む全群に5~12例みられたが、有意な差は認められなかった。その他、手根骨関節で前肢が尾側に偏位している例が対照群と20 mg/kg/日にそれぞれ4例みられたが、中、高用量群ではまったく認められなかった。

骨格検査において、投薬群の化骨状況は対照群とほぼ同程度であり、妊娠29日目に相当する化骨進行状態であり、60 mg/kg/日の1例に頭頂骨の化骨の弱い胎児を認めたのみであった。胸骨分節の未化骨または弱化骨の胎児あるいは第13尾椎中心より少ない化骨状態の胎児が対照群を含む各群で多く認められたが、同程度の頻度であった。

その他、軽度の骨格異常として、頭頂骨の分離、亀裂、癒合、環状または卵状の穿孔を認めた例または鼻骨・前頭骨の過剰骨が全群に数例みられたが、投薬群に有意な増加は認められなかった。胸骨分節の癒合または縦軸偏位も全群でみられたが、60 mg/kg/日で軽度ながら有意な増加が認められた。第7頸椎に片側または両側に短い過剰肋骨を有する胎児が全群で認められ、また、骨格変異として、第13胸椎に片側または両側に主に長い過剰肋骨を有する胎児が20および60 mg/kg/日で2~3例認められた。

母動物剖検時の内部諸臓器の肉眼的観察および肝臓および腎臓重量測定において、被験薬投与に起因するような変化はまったく認められなかった。

Table 7. Results during gestation and at caesarean section of female rabbits treated with telithromycin

Parameters	Control	20 mg/kg/day	60 mg/kg/day	180 mg/kg/day
Number of pregnancies	24	24	23	23
Number of inter-current death	0	0	0	0
Number of females with abortion	1	0	0	1
Number of females with Premature delivery	0	0	0	1
Number of females at term with live fetuses	23	24	23	21
Number of corpora lutea/litter	9.1 ± 1.5	8.7 ± 1.9	9.3 ± 1.3	8.9 ± 1.6
Number of implantation/litter	7.9 ± 1.5	7.6 ± 2.1	8.1 ± 1.5	7.7 ± 2.0
Pre-implantation loss (%)	12.52	13.02	10.23	13.79
Post-implantation loss (%)	12.22	6.50	12.73	14.20
Early intrauterine death % of implantation	16 9.65	5 4.56	14 7.88	13 9.51
Late intrauterine death % of implantation	5 2.57	4 1.94	9 4.85	9 4.69
Total intrauterine death (mean ± SD)	21 (0.91 ± 0.90)	9 (0.38 ± 0.77)	23 (1.00 ± 1.31)	22 (1.05 ± 1.28)
Live Fetuses (mean ± SD) % of implantation	161 (7.0 ± 1.9) 87.78	173 (7.2 ± 2.4) 93.50	164 (7.1 ± 2.0) 87.27*	140 (6.7 ± 2.1) 85.80*
Male (%)	41.6	47.4	42.7	47.9
Body weight (g)	38.9 ± 4.0	39.1 ± 3.0	39.5 ± 3.4	36.0 ± 4.9
Crown/Rump length (mm)	96.8 ± 3.2	96.9 ± 3.3	97.7 ± 3.4	94.8 ± 4.9
Placental weight (g)	4.66 ± 0.66	4.73 ± 0.64	4.54 ± 0.56	4.22 ± 0.74*

*Outside the normal range

Table 8. External and visceral examination of fetuses from mother rabbits treated with telithromycin

Parameters	Control		20 mg/kg/day		60 mg/kg/day		180 mg/kg/day	
Number of fetuses examined	161		173		164		140	
Number of litters examined	23		24		23		21	
External defects	A	B	A	B	A	B	A	B
Retarded fetus	0	0	0	0	0	0	1(0.7)	1
Lateral ventricles dilated of brain	0	0	2(1.2)	1	0	0	0	0
Blood in thoracic cavity	0	0	0	0	2(1.2)	1	1(0.7)	1
Blood in pericardium of heart	1(0.6)	1	0	0	0	0	0	0
Lobuli of lung partly fused, aplasia	3(1.9)	3	4(2.3)	4	2(1.2)	2	4(2.9)	4
Abdominal cavity defects								
Blood in abdominal cavity	1(0.6)	1	0	0	1(0.6)	1	2(1.4)	2
Enlarged gallbladder	0	0	1(0.6)	1	1(0.6)	1	1(0.7)	1
Enlarged stomach and taut with fluid	4(2.5)	4	2(1.2)	2	14(8.5)*	9	7(5.0)	5
Displaced kidney	5(3.1)	5	9(5.2)	7	12(7.3)	10	8(5.7)	6
Pelvis distended of kidney	0	0	2(1.2)	2	0	0	0	0
Deflected in carpal region of forepaw	4(2.5)	2	4(2.3)	3	0	0	0	0

A: Number and incidence of defect fetuses, B: Number of litters

*Significantly different from control, P<0.05

Table 9. Skeletal examination of fetuses from mother rabbits treated with telithromycin

Parameters	Control		20 mg/kg/day		60 mg/kg/day		180 mg/kg/day	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Number of fetuses examined	161		173		164		140	
Number of litters examined	23		24		23		21	
Skeletal defects								
Skull-Splitting of bone on parietal bone	3 (1.9)	3	3 (1.7)	3	3 (1.8)	3	3 (2.1)	2
- Fissure in parietal bone	1 (0.6)	1	2 (1.2)	2	6 (3.7)	5	5 (3.6)	4
- Perforation in parietal bone	3 (1.9)	3	0	0	4 (2.4)	3	5 (3.6)	3
- Epactal bone between both parts of nasal/frontal bone	1 (0.6)	1	6 (3.5)	5	5 (3.0)	4	3 (2.1)	2
- Parietal bone weak ossification	0	0	0	0	1 (0.6)	1	0	0
- Sutura parietofrontallis asymmetrical	0	0	0	0	1 (0.6)	1	0	0
Caudal vert. Centra								
- Dislocated 12 th	0	0	1 (0.6)	1	0	0	0	0
- Ossification of less than 13 vertebral centers	45 (28.0)	16	31 (17.9)	14	25 (15.2)	11	39 (27.9)	12
Sternebra								
- Non or weakly ossified	78 (48.4)	20	66 (38.2)	20	67 (40.9)	19	81 (57.9)	18
- Longitudinally displaced, fused	3 (1.9)	3	8 (4.6)	6	12 (7.3)*	12**	7 (5.0)	5
Rib-Shortened 12 th	1 (0.6)	1	0	0	0	0	0	0
Extra rib								
- At 7 th cervical vertebra short	1 (0.6)	1	5 (2.9)	5	3 (1.8)	3	3 (2.1)	2
- At 13 th thoracic vertebra short or long	0	0	2 (1.2)	2	3 (1.8)	1	0	0
Forpaw								
- 5 th toe Phalanx 2 weakly ossified	4 (2.5)	1	0	0	0	0	0	0

A: Number and incidence of defect fetuses, B: Number of litters

*Significantly different from control, P<0.05

**Significantly different from control, P<0.01

Table 10. The plasma concentrations mated female rabbits and their fetuses treated with telithromycin

Animal	Parameters	Day	20 mg/kg/day	60 mg/kg/day	180 mg/kg/day
Mated female	C ₀ (mg/L) [min-max]	D 6	0.051 ± 0.034 [LOQ-0.146]	0.146 ± 0.046 [0.014-0.228]	1.6 ± 1.2 [0.23-5.25]
Mated female	C _{4h} (mg/L) [min-max]	D 6	0.376 ± 0.066 [0.193-0.490]	4.00 ± 0.75 [2.10-5.72]	17.0 ± 2.0 [12.7-20.9]
		D 18	0.135 ± 0.070 [0.031-0.336]	1.27 ± 0.66 [0.033-3.12]	20.9 ± 1.2 [19.2-24.5]
Fetus		D 29	0.011	0.36	0.46
Mated female	C _{24h} (mg/L) [min-max]	D 6	0.017 ± 0.005 [0.008-0.033]	0.13 ± 0.10 [0.017-0.434]	0.234 ± 0.070 [0.096-0.429]
		D 18	0.19 ± 0.19 [LOQ-0.754]	0.140 ± 0.089 [0.013-0.401]	1.9 ± 1.2 [0.21-5.31]

LOQ: concentration below the limit of quantification (0.005 mg/L)

4) トキシコキネティクス

サテライトの投薬群の各4例より妊娠6日目の投薬前、投与4および24時間後、妊娠18日目の投与4および24時間後の血漿中濃度、妊娠29日目に再投与した雌2例について、投与4時間後の胎児の血漿中濃度について測定した結果をTable 10に示した。

血漿中濃度には大きな個体間変動がみられたが、妊娠6日目および18日目では確実にTELに暴露され、血漿中濃度は明らかに投与量に依存して高くなり、用量比より高い上昇を示した。血漿中濃度は投与後速やかに低下し、投与24時間後の値は20 mg/kg/日の18日目を除いて4時間後の値のほぼ11%まで低下し、初回投与か

ら最終投与まで13日間の反復投与で蓄積所見は認められなかった。また、胎児についても低濃度の暴露を受けていることが示された。

4. ラットを用いた周産期および授乳期の発育および母体機能におよぼす影響に関する試験

1) 母動物 (F0) における観察所見

流涎が125および200 mg/kg/日の母動物のほぼ全例に投与開始10~13日目から授乳期間終了時まで認められた。その他、投与とは無関係にうい瘦が50 mg/kg/日に1例、膣出血が200 mg/kg/日に1例、脱毛が125および200 mg/kg/日に各1例みられたが、観察期間中の死亡例はいずれの群にも認められなかった。

F0動物の体重増加量、摂餌量および妊娠・分娩時の観察事項をTable 11に示した。

妊娠期間中の体重増加量は、125および200 mg/kg/日で有意に少なく、妊娠20日目の体重も200 mg/kg/日で有意に低かった。しかし、授乳期間中の体重増加量は125および200 mg/kg/日で軽度増大し、200 mg/kg/日で有意差が認められた。その結果、分娩21日目の体重は対照群と投薬群との間にまったく差はみられなかった。

摂餌量は、体重増加量の低下に対応して減少し、投薬開始後の3日間の摂餌量は50, 125および200 mg/kg/

日でそれぞれ16, 24および32%減少し、有意差が認められた。また、妊娠期間中の平均摂餌量は投薬群でそれぞれ4, 12および18%減少した。しかし、授乳期間中の摂餌量は軽度の減少傾向がみられたが有意差は認められなかった。

非妊娠母体が対照群、50および125 mg/kg/日にそれぞれ2, 1および6例みられたが、出産率は全群100%であった。妊娠期間は、いずれの群も正常範囲の21~22日の間にあり、平均着床痕数および平均出生率にも差異は認められなかった。

F0母動物の剖検では、いずれの群にも肉眼的異常所見は認められなかった。

2) 分娩時および授乳期間中の出生児 (F1) における観察所見

分娩時および授乳期間中のF1出生児における観察所見をTable 12に示した。出生児体重は対照群に比べ200 mg/kg/日で軽度ながら有意に軽く、子宮内での胎児成長の遅れが示唆された。

出生後早期の死亡例が200 mg/kg/日で14例(うち7例は1母体に集中)と対照群の3例に比べ有意に多く、4日生存率は有意に低かったが、その後の離乳期までの生存率に差異は認められず、新生児の一般状態にも異常はみられなかった。しかし、体重増加は、200 mg/kg/

Table 11. The body weight gain, food consumption and pregnancy-delivery findings in F0 females treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	125 mg/kg/day	200 mg/kg/day
Body weight gain during pregnancy (g)	150 ± 15	147 ± 21	131 ± 25**	126 ± 17***
Difference from controls (%)	-	-2	-13	-16
BW evolution from day 6 p.c. (%)	+67.2	+66.3	+58.5	+56.4
BW on day 20 p.c.	373 ± 25	371 ± 32	354 ± 40	349 ± 28*
Body weight gain during lactation (g)	33 ± 10	33 ± 13	46 ± 23	55 ± 18***
Difference from controls (%)	-	0	+39	+66
BW evolution from day 1 p.p. (%)	+3.4	+3.3	+4.9	+6.0
BW on day 21 p.p.	320 ± 16	318 ± 23	319 ± 26	320 ± 21
FC during pregnancy (g/rat/day)	26.3	25.3	23.0	21.5
Difference from controls (%)	-	-4	-12	-18
FC during lactation (g/rat/day)	66.9	66.2	65.0	62.0
Difference from controls (%)	-	-1	-3	-7
Number of mated females	25	25	25	25
Number of non-pregnant females	2	1	6	0
Number of pregnant females (%)	23 (92)	24 (96)	19 (76)	25 (100)
Number of females with live born pups	23	24	19	25
Gestation index (%)	100	100	100	100
Number of implantation sites	13.8 ± 2.0	13.9 ± 3.2	13.6 ± 3.7	14.3 ± 1.7
Number of pups delivered	13.2 ± 1.9	13.2 ± 3.1	12.2 ± 3.7	12.9 ± 2.0

BW: body weight, FC: food consumption, p.c.: post-coitum, p.p.: post-partum

***, **Significantly different from control, P<0.05, P<0.01, P<0.001

Table 12. Reproductive findings in F 0 females treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	125 mg/kg/day	200 mg/kg/day
Number of live fetus at birth	303	317	231	323
Sex ratio at birth - % of male pups	47.9	52.1	48.5	48.0
Number of pups dying from day 1 to 4	2	3	2	14***
Number of surviving pups on day 4 (%)	301 (99.3)	314 (99.1)	229 (99.1)	309 (95.7)**
Number of surviving pups on day 21 (%)	300	313	227	309
Lactation index on day 21 (%)	99.7	99.7	99.1	100
Body weight day 1	6.7 ± 0.5	6.8 ± 0.6	6.7 ± 0.9	6.1 ± 0.6*
day 4	9.8 ± 0.8	10.0 ± 1.0	9.9 ± 1.6	8.6 ± 1.0**
day 7	14.5 ± 1.2	14.9 ± 1.4	14.7 ± 2.3	13.0 ± 1.6**
day 14	27.8 ± 2.5	28.8 ± 3.1	27.6 ± 3.9	26.0 ± 2.9
day 21	43.2 ± 5.3	44.0 ± 5.6	42.7 ± 7.0	40.1 ± 5.9

***Significantly different from control, P<0.05, P<0.01, P<0.001

Table 13. Mating, fertility and caesarean section data in the F 1 male and female animals from mother rats treated with telithromycin

Parameters	Control	50 mg/kg/day	125 mg/kg/day	200 mg/kg/day
Number of paired males	19	20	20	20
Number of males able to mate	19	20	19	20
Mating index (%)	100	100	95.0	100
Male fertility index (%)	100	100	100	100
Number of paired females	19	20	20	20
Number of mated females	19	20	19	20
Mating index (%)	100	100	95.0	100
Number of pregnant females	19	20	19	20
Female fertility index (%)	100	100	100	100
Corpora lutea (mean no./female)	17.3	17.4	18.6	17.1
Implantation sites (mean no./female)	15.1	16.1	16.2	15.1
Pre-implantation loss, total (%)	43 (13.1)	26 (7.5)*	46 (13.0)	40 (11.7)
Live concepti (mean no./female)	14.3	15.1	14.9	13.9
Post-implantation loss mean no./female and (%)	0.8 (5.2)	1.0 (6.5)	1.2 (7.5)	1.2 (7.9)

*Significantly different from control, P<0.05

日で分娩後7日まで対照群に比べ有意に低かったが、離乳時には対照群レベルまで増加した。出生児の性別比率はいずれも50%前後で差は認められなかった。

出生児の身体的発達について、耳介展開、腹部生毛、切歯萌出、眼瞼開裂および耳管開口を規定の期日に測定した結果、全群100%であった。また、反射機能として、表面での正向反射、断崖回避反応および空中での正向反射を観察した結果、いずれの群も98.4~100%で群間に差は認められなかった。

授乳期間中の死亡例およびF1世代試験に使用しなかったF1動物の剖検では、投薬に起因または用量相関を示唆するような肉眼的異常所見は認められなかった。

3) 離乳後のF1の臨床症状、行動試験および生殖能の観察所見

F1に雌雄ラットの交配前期間、交配期間および妊娠期間中にはいずれの群にも一般状態に異常はみられず、正常に成育し、死亡例も認められなかった。また、各群の体重増加および摂餌量の推移も対照群と同様であり、性発達(亀頭包皮溝の開裂日および陰開口日の観察)も正常で対照群との間に差はみられなかった。

F1の神経行動検査として聴覚機能(音響驚愕反応)、瞳孔機能(瞳孔収縮反応)、学習・記憶能(water multiple T-maze法)および自発運動活性(open field法)を調べた結果、いずれの機能も正常であった。

F1の雌雄の交配、受胎および帝王切開時の観察所見をTable 13に示した。

対照群を含む全群のF1雌雄の受胎パラメータはいずれも正常であった。雌雄ラットの剖検においても肉眼的

な異常所見はまったく認められなかった。また、帝王切開時の母体および胎児に関するデータも対照群との差異は認められなかった。

III. 考 察

TELの経口投与による生殖および発生におよぼす影響をラットおよびウサギを用いて検索した。

最初に、TEL 50, 150 および 300 mg/kg/日を雌雄ラットに経口投与した場合の生殖能および初期胚発生におよぼす影響について検討した。被験薬投与と各群の雌雄のほぼ全例にみられた流産は、ラットの反復投与試験でも認められ、本薬の苦味によるもので、作用によるものではないと考えられる⁸⁾。また、少数例で呼吸困難の症状が認められたが、これは胃からの逆流に起因すると考えられる。50 および 150 mg/kg/日では被験薬投与に関連した死亡は認められなかったが、300 mg/kg/日の雌雄各1例で認められた死亡例は、体重減少以外には関連するような死亡前の臨床所見や剖検時の異常所見が見当たらず、死因の確定はできなかったが、本薬物の投与との関連性を完全に除外することはできないと考えられる。

雄の授胎能に対しては、150 および 300 mg/kg/日で授胎率に有意差はみられなかったが、用量依存的に軽度ないし中程度に減少し、施設のバックグランドデータの正常範囲を逸脱していることから、投薬に起因したものと考えられる。精巣上体の精子数および精子生存率に対し影響は認められなかったが、精巣の精子頭数および1日の精子産生率は、用量依存性がないものの150 および 300 mg/kg/日で有意に低下し、施設のバックグランドデータの正常範囲を超えており、また、生殖臓器重量の減少も認められていることから、投薬との関連性が示唆される。

雌の授胎能に対しては、交尾率に300 mg/kg/日で軽度の低下がみられたが、有意差はなく毒性学的に重要性はないと考えられる。しかし、授胎率はすべての投与群で有意差はみられなかったが、用量依存的に低下した。50 mg/kg/日の授胎率は施設のバックグランドデータの最小値と同レベルであったが、150 および 300 mg/kg/日の授胎率はかなり下回ったことから投薬による影響が考えられる。黄体数については、対照群の値が施設のバックグランドデータの最大値を若干超え、一方、全投与群で有意な減少が認められたが、50 および 150 mg/kg/日の黄体数はバックグランドデータの平均値と同レベルであり、毒性学的な意義はないと考えられる。しかし、300 mg/kg/日の黄体数はバックグランドデータの最小値より明らかに低く、卵巣重量の減少とも対応しており、前述の授胎率減少の説明要因として本薬による排卵過程の障害が示唆される。

以上の結果より、本実験条件下では、雌雄動物の耐容性についての無毒性量はいずれも150 mg/kg/日、配偶子の発生および成熟についての無毒性量は50 mg/kg/

日、交尾行動および受精についての無毒性量はそれぞれ300 mg/kg/日および50 mg/kg/日、着床前および着床後胚損失率についての無毒性量はそれぞれ300 mg/kg/日であると考えられる。

ラットの胚・胎児発生におよぼす影響を調べるために、胎児器官形成期に50, 150 および 300 mg/kg/日を経口投与した。母動物に対しては150 mg/kg/日で摂餌量の減少を伴った軽度の体重減少が初回投与日にみられ、子宮重量の減少も認められた。300 mg/kg/日では立毛が現れ、投与期間中摂餌量の減少を伴った有意な体重減少が認められ、胎盤および子宮重量の有意な減少もみられた。このような高用量群での摂餌量の減少、体重増加の抑制および生殖臓器重量の減少といった関連は、前述の妊娠前・初期投与試験でも認められている。

胎児の外表、内臓および骨格検査において、50 および 150 mg/kg/日ではいずれも発育の障害や奇形誘発性を示唆するような所見は認められなかった。300 mg/kg/日では母動物にみられた毒性所見と関連して胎児にも影響がみられ、胎児重量の減少、彎曲肋骨のような骨格奇形や化骨にみられる骨格発育遅延（頭蓋骨、頸椎および四肢）および融合腎、無尾または軽度の舌突出などの奇形も認められた。胎児の奇形や発育毒性の発生要因として母体毒性との関連性が指摘されており⁹⁻¹¹⁾、Kheraは、肋骨欠損や無尾が母体毒性に起因する奇形として発現すると報告している¹²⁾。

以上の結果より、本実験条件下では、雌雄動物の耐容性についての無毒性量はいずれも50 mg/kg/日、胚・胎児の発生に関する無毒性量は150 mg/kg/日と考えられる。

ヒマラヤ系ウサギを用い、20, 60 および 180 mg/kg/日の投与量で胚・胎児発生に対する影響を調べた。母動物の一般状態の観察において、いずれの群にも健康状態の悪化を示唆するような所見はみられなかったが、摂餌量が60 および 180 mg/kg/日で明らかに減少し、体重増加の抑制を伴っていた。180 mg/kg/日で流産および未熟児分娩が各1例みられたが、対照群でも流産が1例認められ、われわれのこれまでの同系ウサギを用いた9試験の対照群190例中4例に流産を認めていることから、自然発生的な事象と考えられる。赤色または褐色尿を示す母動物が本薬投薬群で1~2例みられたが、妊娠への影響が認められず偶発的なものと考えられる。血液学的検査および血液生化学的検査では、180 mg/kg/日で投与13日目にALPの上昇がみられた以外には投薬による影響は認められなかった。また、剖検時の内臓の肉眼的観察および肝、腎重量の測定においても投薬に起因する変化は認められなかった。

子宮内胎児は20 および 60 mg/kg/日ではなんら影響はみられず正常な発育を示したが、180 mg/kg/日では、胎児体重および胎盤重量の軽度の減少、胎児体重が29.5

g以下の胎児数の増加が認められた。形態学的検査では、20 mg/kg/日の1母体に2例の側脳室の拡張がみられたが、実施施設における2試験の対照群で約7.5%の胎児(7腹中11例および6腹中10例)に同様の所見を認めており、自然発生的な事象と考えられる。内臓の軽度の異常を示す胎児数は本薬投薬群で1例を除き比較的低く、施設におけるこれまでの発生頻度を超えるものではなかった。胆嚢肥大を示した胎児が投薬群に各1例みられたが、用量依存性もみられないことから本薬の投与に起因しているとは考え難い。胃が肥大し、液状物質で膨満した例が対照群を含む全群にみられ、60 mg/kg/日で有意に多く認められたが、用量依存性もなく、その頻度も本系統の自然発生頻度の範囲内であったので、本薬との関連性は考えられない。骨格検査において2, 3認められた変異や異常、化骨遅延などの所見も対照群との有意差または用量相関性がみられず、実施施設におけるこれまでの発生頻度を超えるものではないことから、本薬投与に起因するものとは考えられない。

トキシコキネティックスの測定では、母動物は確実に本薬に暴露されており、血漿中濃度は明らかに投与量に相関していた。血漿中濃度は投与後速やかに減少し、反復投与によって蓄積する傾向はみられなかった。また、胎児も低濃度で本薬の暴露を受けていることが確認された。

したがって、本試験の条件下では、母動物に対する無毒性量は20 mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は60 mg/kg/日であると推定される。

ラットを用いた周産期および授乳期の発育および母体機能におよぼす影響を調べるために、本薬50, 125および200 mg/kg/日を経口投与した。

本試験においても125 mg/kg/日以上投与群で本薬の苦味に起因する流涎がみられた。F0母動物の妊娠期間中の体重増加量および摂餌量は、用量依存的に減少した。50 mg/kg/日ではきわめて軽度で毒性作用と見なすことはできないが、125および200 mg/kg/日では有意差がみられ、本薬の影響と考えられる。しかし、授乳期間に入ると摂餌量の減少は少なくなり、125および200 mg/kg/日で体重増加量は逆に増加した。F0母体の出産率、妊娠期間、分娩経過および生殖データ(腹児数、着床痕数)は、対照群と投薬群との間に差はみられなかった。

F1出産児体重は、対照群に比べ200 mg/kg/日で軽度ながら有意に軽く、子宮内での胎児成長の遅れが示唆され、これに関連して出生後早期の死亡例が多く、4日生存率が低く、また、分娩後7日までの体重増加も有意に少なかった。その後の離乳期までの生存率に差異は認められず、体重は離乳時には対照群レベルまで増加し、一般状態にも異常はみられなかった。出生児の身体的発達および反射機能の発達について観察した結果、いずれ

の群も98.4~100%で対照群との間に差は認められなかった。

F1世代の離乳後から交配前、交配および妊娠期間中、いずれの投与群も一般状態、体重増加、摂餌量に異常はみられず、性成熟、聴覚・視覚機能、学習・記憶機能および自発運動性は正常であった。また、F1世代の受精能の検査項目はいずれも正常で、雌の妊娠経過および胎児検査項目にも本薬投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本実験条件下において、F0雌の妊娠・授乳期における耐容性の無毒性量は50 mg/kg/日、F1動物の出生前および新生児期の発達についての無毒性量は125 mg/kg/日、F1動物の生後発達および受胎能についての無毒性量はいずれも200 mg/kg/日であると考えられる。

文 献

- 1) Blazak W F, et al.: Male reproductive toxicology, In: Methods in Toxicology, Chapin R E, Heindel J J, Eds., vol. 3 Academic press Inc., 1993
- 2) Dunnet C W: A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J. Am. Stat. Assoc. 50: 1096~1121, 1955
- 3) Dunnet C W: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 20: 482~491, 1964
- 4) Fisher R A: Statistical methods for research workers (5th ed). Edinburgh: Oliver and Boyd, 1934 and The logic of inductive inference; Royal Statistical Society, Series A, 98: S. 39~54, 1935
- 5) Wilson J G: Teratology: Principles and Techniques. Eds: Wilson J G, Warkany J. The University of Chicago press: 251~277, 1965
- 6) Staples R E, Schnell V L: Refinements in rapid clearing technic on the KOH-Alizarin Red S method for fetal bone. Stain. Technol. 39: 61~63, 1964
- 7) 山崎浩子, 土田晃敬, 小幡淳雄, 他: Telithromycinの体内測定法に関する研究. 日化療会誌 51 (S-1): 168~181, 2003
- 8) 重柄幹夫, Eluard B, Roeder V, et al.: Telithromycinのラットを用いた反復経口投与毒性およびトキシコキネティックス試験. 日化療会誌 51 (S-1): 103~114, 2003
- 9) Froberg H, Gleich J, Unkelbach H D: Reproduction toxicological studies on cefazedone. Arzneimittel. Forsch. 29: 419~423, 1979
- 10) Guittin P, Elefant E, Saint-Salvi B: Hierarchization of animal teratology findings for improving the human risk evaluation of drugs. Reprod. Toxicol. 14: 369~375, 2000
- 11) Kelich S L, Mercieca M D, Pohland R C: Developmental toxicity of N-methylformamide administered by gavage to CD-rats and New Zealand White rabbits. Fundam. Appl. Toxicol. 27: 239~246, 1995
- 12) Khara K S: Maternal toxicity. A possible factor in fetal malformations in mice. Teratology 29: 411~416, 1984, and A possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species. Teratology 31: 129~153, 1985

Reproductive and developmental toxicity studies of orally administered telithromycin in rats and rabbits with toxicokinetics

Mikio Omosu¹, Weill D², Bode G², Baeder Ch³, Fabreguettes C⁴,
Richard J⁴, Vicat P⁵, Bonnat C⁵ and Lenfant B⁵

¹Drug Safety Evaluation, Drug Innovation & Approval Division, Lead Optimization, Aventis Pharma Ltd., 1-3-2, Minamidai, Kawagoe, Saitama, Japan

²Department of Toxicology, Aventis Pharma

³Department of Toxicology/Pathology, Aventis Pharma Deutschland GmbH

⁴Centre International de Toxicologie (C. I. T.)

⁵Department of Pharmacokinetics, Aventis Pharma

Reproductive and developmental toxicity studies of orally administered telithromycin (TEL) were carried out in SD rats and Himalayan rabbits. At first, in studies on fertility and embryonic development to implantation in rats, TEL of 50, 150 and 300 mg/kg/day were administered orally throughout pre-mating period, mating period in males, and in females, throughout pre-mating period, mating period and during pregnancy, until implantation. Although mating was not affected at any dose-level, fertility index, testicular head sperm count and daily sperm production rate in males, and fertility index in females were reduced at 150 and 300 mg/kg/day, and the number of corpora lutea was also reduced at 300 mg/kg/day. Consequently, under our experimental conditions, it is estimated that the No Observed Adverse Effect Levels (NOAEL) on paternal and maternal tolerance are 150 mg/kg/day and NOAEL on the development and maturation of gametes is 50 mg/kg/day. It is also considered that NOAEL on mating behavior and fertilization are 300 and 50 mg/kg/day, respectively and NOAEL on pre-implantation and post-implantation loss is 300 mg/kg/day. In the studies on rat embryo-fetal development, TEL was administered orally at dose levels of 50, 150 and 300 mg/kg/day during the period of fetal organogenesis in rats. Pregnant females showed slight signs of toxicity at 150 mg/kg/day, and increased at 300 mg/kg/day. No significant disruption of development and dysmorphogeny of offspring were observed at 50 and 150 mg/kg/day. Anomalies (incomplete ossification of cranium cervical vertebrae and extremities of paws) and malformations (bent ribs) were observed in fetuses born from the group treated with 300 mg/kg/day. These effects were associated with maternal toxicity. It is considered that in terms of maternal tolerance NOAEL is 150 mg/kg/day and in terms of embryo-fetal development NOAEL is also 150 mg/kg/day. In the studies on rabbit embryo-fetal development, rabbits received daily doses of 20, 60 and 180 mg/kg/day of TEL from the 6th to the 18th day of pregnancy. Dose-dependent reduction of food intake and body weight gain was detected in the dams from doses of 60 mg/kg/day. The hematological and blood biochemical parameters were not impaired by TEL except increased ALP at 180 mg/kg/day. In addition, autopsy of the dams did not reveal any macroscopic changes in the liver and kidneys. Apart from marginally delayed growth of fetuses at 180 mg/kg/day, the embryo-fetal development was not disturbed, and the intrauterine death rate was not increased. In morphological examination of the fetuses, no effects were observed on the findings of variation, anomaly and delayed ossification, and indications of teratogenic effect. The plasma levels of TEL in mated females were apparently dose-related. Plasma concentrations declined rapidly after treatment and there was no evidence of accumulation after repeated dosing. Fetuses, too, were exposed to TEL at a low level. Based on the results of this study, it is evaluated that NOAEL on mated female and embryo-fetal rabbits are 20 and 60 mg/kg/day, respectively. In the studies on pregnant, lactating female and on the development of the conceptus and offspring, the test compound was administered to pregnant rats from implantation through lactation at dose levels of 50, 125 and 200 mg/kg/day. The test substance produced only a slightly lower body weight gain and food intake at 125 and 200 mg/kg/day. At 200 mg/kg/day, the body weight of pups at birth was about 10% lower than controls as the result of a slight intrauterine growth retardation. As a consequence, the early post-natal survival rate and body weight gain during first four days of the lactation period of the F1 pups were slightly decreased. However, viability and growth rate during the rest of the lactation period were subsequently normal. No late adverse effects during the period weaning to sexual maturity occurred in any group and the reproductive capacity of the F1 animals was not affected by treatment with the test substance. Under our experimental conditions, it is estimated that NOAEL on maternal tolerance in pregnant/lactating F0 females is 50 mg/kg/day, NOAEL on pre- and neo-natal development in F1 animals is 125 mg/kg/day, NOAEL on post-natal development and fertility in F1 animals are both 200 mg/kg/day.