

## クロルテトラサイクリンおよび酢酸鉛の母獣への単独投与と併用投与が胎仔と新生仔の発育におよぼす影響

西尾 晃・川原 成明\*

(家畜薬理学研究室)

平成元年8月10日 受理

### Effects of Chlortetracycline, Lead Acetate and Their Combination on Pregnant Rats

Akira NISHIO and Nariaki KAWAHARA

(Laboratory of Veterinart Pharmacology)

#### 緒 言

ヒトおよび家畜においてみられる先天異常のうちで、原因として特定のウイルス感染や特定の薬剤による場合は少く、大部分の先天異常の原因が不明である。

今回、ウシの先天異常の発現にクロルテトラサイクリンや鉛の摂取の関与する可能性があるか否かを、妊娠ラットを用いて検討した。クロルテトラサイクリンは飼料添加剤として広く用いられており、同系の薬剤であるテトラサイクリンには古くから催奇形性のあることが指摘されていること<sup>1-3)</sup>、鉛も催奇形性の疑いのあること<sup>8,10)</sup>、および、ウシは鉛を含んだペンキ等をなめる癖があり、中毒例も多くあること<sup>7)</sup>から両薬剤をとりあげて検討した。

#### 材 料 と 方 法

##### 1. 使用動物

Wistar系ラットを室温23±2℃、湿度40~60%、明暗12時間サイクル(7:00~19:00が明)に調節した動物室にて飼育した。飼料(クレア固型飼料CE-2)と水道水は自由に摂取させた。

10~12週齢(体重210g前後)の処女ラットを同系の雄ラットと1対1で同居させ、翌朝膣栓および膣内に精子の認められたものを妊娠とみなし、この日を妊娠0日として、分離して個別ケージで飼育した。

##### 2. 薬物の投与

クロルテトラサイクリン(Sigma)と酢酸鉛(半井化学)を妊娠7日から18日まで単独又は併用して与えた。クロルテトラサイクリンは粉末飼料(クレアCE-2)に混合して、また酢酸鉛は蒸留水に溶解し、飲料水として与えた。

##### 3. 母ラットの観察

母ラットの体重測定および一般症状の観察は、妊娠期間中毎日行った。また、妊娠20日に頸椎脱臼により屠殺して諸臓器の異常の有無および着床所見を肉眼的に観察した。一部の妊娠ラットについては自然分娩させた後の1週間毎に行い、分娩後21日に屠殺して剖検後、着床痕数などを記録した。

##### 4. 妊娠末期胎仔の観察

妊娠ラットを妊娠20日に屠殺し、胎仔の生死数および吸収胚数を調べ、生存胎仔については外表異常の有無を検査した後、雌雄を判別し、体重測定を行った。生存胎仔の約半数は内臓を除去し、99%エタノールで固定後Dawsonの方法<sup>9)</sup>によりアリザリン赤Sで染色し、骨格異常の検索用に供した。また、残りの約半数の胎仔はBouin液で固定したのち、Wilson法<sup>15)</sup>による内臓異常の有無の検索用に供した。

##### 5. 自然分娩仔の観察

薬物投与群および対照群の妊娠ラットを自然分娩させ、新生仔を得た。分娩日(生後0日)に分娩仔数とその生死を調べ、生存仔については外表異常の有無を検査し、雌雄別に番号を付したのち体重を測定した。生後0日に1腹当りの生存仔数を8匹(雄4匹、雌4匹)に調整した。生存仔の体重測定およ

\*現在 鹿児島市中央保健所, 鹿児島市鴨池2-25-1-11  
Kagoshima city central health center, 25-1-11 Kamoike 2  
Kagoshima 890.

びその他の一般症状の観察は生後4日と7日、それ以降は1週毎に行った。生後21日に仔を離乳し、雌雄を分離して6週齢まで飼育した後、屠殺して剖検後、肝臓と腎臓の重量を測定した。

なお一部の自然分娩母ラットには授乳期間中に薬物を与え、新生仔への影響を観察した。

## 6. その他

その他の必要な事項については、それぞれの個所に記載した、数値の有意性の検討は Student's t-test により行い、危険率5%以下を有意とした。

## 結 果

### 1. クロルテトラサイクリン単独投与

250, 1,500および3,000 ppm のクロルテトラサイクリンを含む粉末飼料を、それぞれ一群16~19匹の妊娠ラットに7日から18日まで与えた。

#### 1) 妊娠ラットの体重変化と飼料摂取量

クロルテトラサイクリンを妊娠7日から18日まで与えると、体重増加の促進がほぼクロルテトラサイクリン量の増加に応じてみられた。飼料の摂取量も3,000 ppm 群では有意に増加した(図表は省略)。なお、いずれの群にも死亡例は認められなかった。

#### 2) 妊娠ラットの着床所見と胎仔の外表面所見

妊娠20日目に開腹したときの母ラットの肝臓重量、着床所見、胎仔の性別と体重および外表面異常の有意などを Table 1 に示した。母ラットの肝臓重量、着床数および生存胎仔数には各群間に有意差はなかつ

た。なお、吸収胚の出現率には有意差はないものの、高用量群で増加傾向がみられた。胎仔体重は、高用量群で有意な低下がみられたが、外表奇形胎仔の発現率には有意差はなかった。

#### 3) 胎仔の骨格と内臓所見

生存胎仔の骨格および内臓について検索し、その結果を Table 2 に示した。腰肋や第13肋骨の短小例などが各群に認められた。また、化骨の指標として、尾椎や胸骨数を調べたが各群間に有意差は認められなかった。内臓の検索では、側脳室の拡大や左心室壁の肥厚例がクロルテトラサイクリン投与群に散在した。

#### 4) 新生仔の生後発育所見

10匹の妊娠ラットに、妊娠7日から18日まで3,000 ppm のクロルテトラサイクリンを含む飼料を与え、その後自然分娩させ、生後発育の推移を、体重、生存率、耳介起立および開眼までの日数等を指標として6週間観察した。クロルテトラサイクリンを与えた母ラットから得た新生仔の体重が生後24および42日で対照ラットから得た新生仔のそれに比し有意に大きかった以外は著明な差はなかった(図表は省略)。

### 2. 酢酸鉛単独投与

5, 50および500 ppm の鉛を含む飲料水を、それぞれ一群10匹の妊娠ラットに妊娠7日から18日まで与えた。

#### 1) 妊娠ラットの体重変化と飼料摂取量

Table 1. Effects of chlortetracycline in diet on rat fetuses and dams, given from day 7 to 18 of pregnancy

Dose (ppm)	Dam				No. of implantations (mean) <sup>*3</sup>	No. of resorptions (%) <sup>*4</sup>	No. of dead fetuses	No. of live fetuses (mean) <sup>*3</sup> (male/female)	Fetal weight (g) □ male □ female	No. of fetuses with external anomalies
	No. of dams	Body weight gain (Δg)	Total intake of chlortetracycline (mg)	Liver weight (g)						
0	19	97.2±26.7	—	13.6±1.2	254(13.7)	16(6.3)	0	238(12.5) (115/123)	4.02±0.37 3.69±0.35	1 <sup>*5</sup>
250	16	104.2±17.1	56.1±4.3	13.9±1.3	227(14.2)	16(7.0)	0	211(13.2) (119/92)	3.89±0.28 3.63±0.21	1 <sup>*6</sup>
1,500	17	115.1±18.3 <sup>*2</sup>	342.3±27.8	14.0±1.3	263(15.5)	23(8.7)	1	239(14.1) (123/116)	3.68±0.34 <sup>*2</sup> 3.42±0.35 <sup>*1</sup>	1 <sup>*7</sup>
3,000	16	120.1±16.9 <sup>*2</sup>	744.6±84.9	13.8±1.5	232(14.5)	22(9.5)	1	209(13.1) (105/104)	3.73±0.19 <sup>*2</sup> 3.61±0.19	0

\*1: p<0.05

\*2: p<0.01

\*3: Number per litter

\*4: (Number of resorptions/Number of implantations)×100

\*5: Aplasia of tail and aproctia.

\*6: Shortness of submaxilla.

\*7: General edema.

Mean ± S. D.

Table 2. Skeletal and visceral examination of fetuses derived from the dams given chlortetracycline in diet from day 7 to 18 of pregnancy

	Control	Chlortetracycline (ppm)		
		250	1,500	3,000
<b>Skeletal examination</b>				
No. of fetuses examined	124	107	118	110
Shortness of 2nd rib	0	0	1	0
Shortness of 12th rib	0	0	1	0
Two of 12th rib	0	0	0	1
Shortness of 13th rib	7	3	6	5
Lumber rib	4	6	10	5
Retardation of occipital bone-ossification	0	1	0	0
Aplasia of bone	1* <sup>1</sup>	1* <sup>2</sup>	2* <sup>3</sup>	0
Separation of one thoracic vertebral body	0	1	0	1
No. of caudal vertebrae (mean ± S. D.)	4.34 ± 0.55	4.35 ± 0.47	4.04 ± 0.39	4.25 ± 0.34
No. of sternebras (mean ± S. D.)	5.69 ± 0.35	5.64 ± 0.37	5.47 ± 0.66	5.56 ± 0.49
<b>Visceral examination</b>				
No. of fetuses examined	114	104	121	95
Dilatation of paracele	0	0	0	1
Focal necrosis near paracele	0	1	1	0
Hypertrophy of ventricular paries	0	5	6	5

\*<sup>1</sup>: Caudal V.

\*<sup>2</sup>: Pubis

\*<sup>3</sup>: Occipital bone, pubis and caudal V.

Table 3. Effects of lead acetate in drinking water on rat fetuses and dams, given from day 7 to 18 of pregnancy

Dose (ppm)	No. of dams	Dam								Fetal weight (g) [ male female	No. of fetuses with external anomalies
		Body weight gain (Δg)	Total intake of lead (mg)	Liver weight (g)	No. of implantaions (mean) * <sup>2</sup>	No. of resorptions (%) * <sup>3</sup>	No. of dead fetuses	No. of live fetuses (mean) * <sup>2</sup> (male/female)			
0	19	115.2 ± 15.1	—	13.6 ± 1.2	254 (13.7)	16 ( 6.3)	0	238 (12.5) (115/123)	4.02 ± 0.37 3.69 ± 0.35	1* <sup>4</sup>	
5	10	112.2 ± 12.6	2.1 ± 0.2	13.5 ± 1.9	165 (16.5)	11 ( 6.7)	1	153 (15.3) (80/73)	3.90 ± 0.31 3.70 ± 0.32	0	
50	10	123.4 ± 13.6	20.7 ± 2.9	14.6 ± 1.5	161 (16.1)	14 ( 8.3)	0	147 (14.7) (79/74)	4.01 ± 0.16 3.82 ± 0.10	0	
500	10	109.8 ± 18.0	204.5 ± 8.2	12.9 ± 1.6	153 (15.3)	16 (10.5)	0	137 (13.7) (69/68)	3.75 ± 0.25* <sup>1</sup> 3.65 ± 0.24	0	

\*<sup>1</sup>: p < 0.05

\*<sup>2</sup>: Number per litter

\*<sup>3</sup>: (Number of resorptions / Number of implantations) × 100

\*<sup>4</sup>: Aplasia of tail and aproctia.

Mean ± S. D.

上述の鉛を含む飲料水を妊娠7日から18日まで与えた妊娠ラットの体重増加および飼料の摂取量ともに対照群のそれらと著明な差なかった (図表は省略).

2) 妊娠ラットの着床所見と胎仔の外表面所見  
妊娠20日目に開腹したときの母ラットの肝臓重量、着床所見、胎仔の性別と体重および外表異常の有無などを Table 3 に示した. 500 ppm 投与群の雄胎仔

Table 4. Skeletal and visceral examination of fetuses derived from the dams given lead acetate in drinking water from day 7 to 18 of pregnancy

	Control	Lead acetate (ppm)		
		5	50	500
Skeletal examination				
No. of fetuses examined	124	77	77	71
Shortness of 13th rib	7	5	14	1
Lumber rib	4	0	2	5
Separation of stenebrae	0	0	1	0
No. of caudal vertebrae (mean $\pm$ S. D.)	4.34 $\pm$ 0.55	4.20 $\pm$ 0.54	4.14 $\pm$ 0.49	4.50 $\pm$ 0.27
No. of stenebrae (mean $\pm$ S. D.)	5.69 $\pm$ 0.35	5.79 $\pm$ 0.26	5.62 $\pm$ 0.38	5.81 $\pm$ 0.21
Visceral examination				
No. of fetuses examined	114	76	70	66
Left-side displacement of the heart	0	0	1	0
Hypertrophy of ventricular paries	0	7	2	6
Dilatation of renal pelvis	0	0	1	0

Table 5. Effects of lead acetate in drinking water on growth of rat neonates from dams, given from day 7 to 18 of pregnancy

	Control	Lead acetate (ppm)		
		5	50	500
Dam				
No. of dams	5	5	5	5
Total intake of lead (mg)	—	2.6 $\pm$ 0.4	27.4 $\pm$ 10.9	217.1 $\pm$ 31.6
Day 0 (At birth)				
Body weight (g) male	5.25 $\pm$ 0.36	5.58 $\pm$ 0.04	5.59 $\pm$ 0.08	5.31 $\pm$ 0.31
female	5.07 $\pm$ 0.58	5.29 $\pm$ 0.58	5.32 $\pm$ 0.19	5.07 $\pm$ 0.24
No. of live neonatas	67	72	75	65
No. of dead neonatas	0	7	0	5
% of neonatal death* <sup>3</sup>	0	8.9* <sup>1</sup>	0	7.1* <sup>1</sup>
Abnormality of neonates	0	0	0	0
Day 4				
Body weight (g) male	9.48 $\pm$ 0.52	10.76 $\pm$ 1.20	10.93 $\pm$ 0.71* <sup>2</sup>	9.44 $\pm$ 0.61
female	9.30 $\pm$ 0.51	10.38 $\pm$ 1.28	10.15 $\pm$ 0.34* <sup>2</sup>	9.25 $\pm$ 0.62
Survival rate (%) * <sup>4</sup>	95.0	97.5	100.0* <sup>2</sup>	97.5
Day 21 (At weaning)				
Body weight (g) male	49.23 $\pm$ 4.50	50.91 $\pm$ 5.53	51.26 $\pm$ 3.05	46.24 $\pm$ 4.46
female	46.82 $\pm$ 4.74	48.85 $\pm$ 4.88	49.32 $\pm$ 2.39	45.83 $\pm$ 3.53
Survival rate (%) * <sup>5</sup>	97.4	100.0	100.0	100.0
Day 42				
Body weight (g) male	162.2 $\pm$ 14.6	174.1 $\pm$ 18.4	167.8 $\pm$ 7.8	153.4 $\pm$ 12.7
female	138.2 $\pm$ 7.1	147.2 $\pm$ 14.1	141.5 $\pm$ 6.9	134.4 $\pm$ 6.2
Survival rate (%) * <sup>6</sup>	97.4	100.0	100.0	100.0

\*<sup>1</sup>:  $p < 0.05$ \*<sup>2</sup>:  $p < 0.01$ \*<sup>3</sup>: (No. of dead neonates at birth/No. of total neonates at birth)  $\times$  100\*<sup>4</sup>: (No. of live neonates at day 4/No. of examined new-borns)  $\times$  100\*<sup>5</sup>: (No. of live neonates at weaning/No. of live neonates at day 4)  $\times$  100\*<sup>6</sup>: (No. of live neonates at day 42/No. of live neonates at day 4)  $\times$  100

の体重が有意に小さかった。また、吸収胚の出現率は、飲料水中の鉛の含量が多いほど増加する傾向を示した。その他特に対照群との間に著明な差は認められなかった。

3) 胎仔の骨格と内臓所見

Table 4 に骨格および内臓検査の結果を示した。腰肋や第13肋骨の短小例が各群に散在していた。左心室の肥厚例が投与群で認められた。

4) 新生仔の生後発育所見

一群5匹の妊娠ラットに、妊娠7日から18日まで、5, 50および500 ppm の鉛を含む飲料水を与え、その後自然分娩させ、生後発育の推移を、体重、生存率、耳介起立および開眼までの日数等を指標として6週間観察した。Table 5 に示したように、5および500 ppm 投与群で出生時死亡率が有意に高かった。しかし、その後の生存率は対照群との間に有意差はなかった。その他の事項については、投与群と対照群との間に著明な差異は認められなかった。

3. クロルテトラサイクリンと酢酸鉛の併用投与

250 ppm のクロルテトラサイクリンを含む粉末飼

料と、5, 50および500 ppm の鉛を含む飲料水をそれぞれ一群9~10匹の妊娠ラットに妊娠7日から18日まで与えた。

1) 妊娠ラットの体重変化と飼料摂取量

Fig. 1 と 2 に示すように、250 ppm のクロルテトラサイクリンを含む粉末飼料と各種濃度の鉛を含む飲料水を与えると、鉛含量の少ない飲料水を与えた群、すなわち5 ppm と50 ppm 群で飼料摂取量の低下と体重増加の抑制がみられた。

体重増加の抑制時期には、これらの群のラットは鈍い行動を示し、頸部の被毛が赤味を帯び光沢が無くなっていった。しかし、いずれの群にも死亡例はなかった。

2) 妊娠ラットの着床所見と胎仔の外表所見

妊娠20日目に開腹したときの母ラットの肝臓重量、着床所見、胎仔の性別と体重および外表異常の有無などをTable 6 に示した。250 ppm のクロルテトラサイクリンと5 ppm の鉛を併用投与した群の生存胎仔の雄の体重が有意に小さかった以外は、各群間に著明な差は認められなかった。

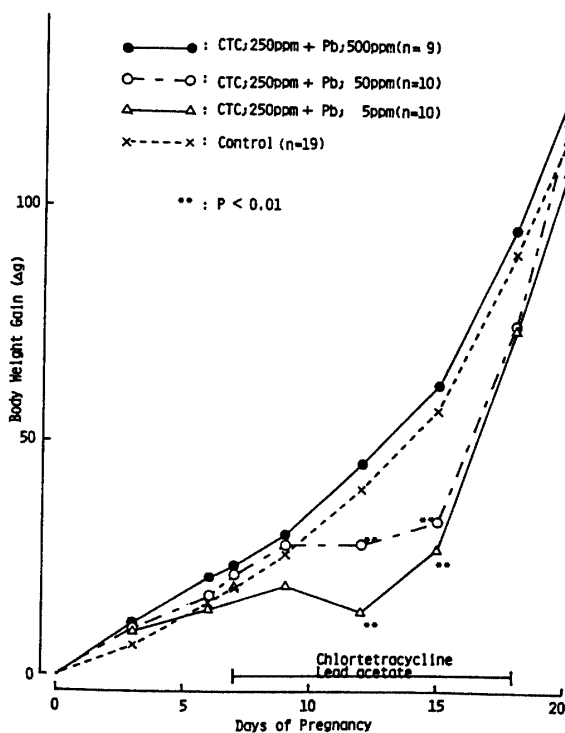


Fig. 1. Body weight gain of pregnant rats given chlortetracycline (CTC) in diet and lead acetate (Pb) in drinking water from day 7 to 18 of pregnancy.

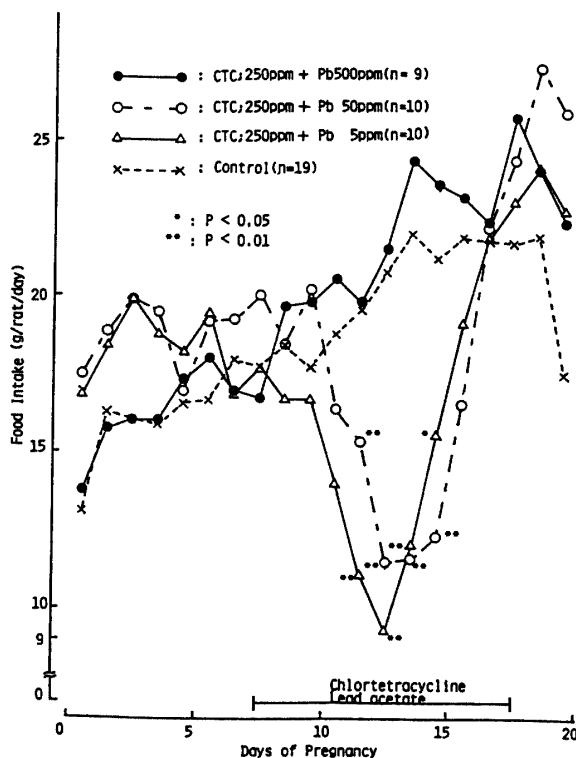


Fig. 2. Food intake of pregnant rats given chlortetracycline (CTC) in diet and lead acetate (Pb) in drinking water from day 7 to 18 of pregnancy.

## 3) 胎仔の骨格と内臓所見

生存胎仔の骨格および内臓について検索し、その結果を Table 7 に示した。500 ppm の鉛をクロルテトラサイクリンと同時投与した群に後頭骨、下顎骨等に化骨の遅延傾向がみられた。しかし、胸骨や尾椎の化骨では他の群と有意差はなかった。また、こ

の群に左心室の肥厚例が多くみられた。

## 4) 新生仔の生後発育所見

一群 4 ~ 6 匹の妊娠ラットに 250 ppm のクロルテトラサイクリンを含む飼料と各種濃度の鉛を含む飲料水を妊娠 7 日から 18 日まで与え、その後自然分娩させ、生後発育の推移を、体重、生存率、耳介起

Table 6. Effects of chlortetracycline (CTC) in diet and lead acetate (Pb) in drinking water on rat fetuses and dams, given from day 7 to 18 of pregnancy

Dose (ppm)	No. of dams	Dam				Liver weight (g)	No. of implantations (mean) <sup>*3</sup>	No. of resorptions (%) <sup>*4</sup>	No. of dead fetuses	No. of live fetuses (mean) <sup>*3</sup> (male/female)	Fetal weight (g) [ male female	No. of fetuses with external anomalies
		Body weight gain ( $\Delta$ g)	Total intake of chlortetracycline (mg)	Total intake of lead (mg)								
CTC 0 Pb 0	19	115.2 $\pm$ 15.1	-	-	13.6 $\pm$ 1.2	254(13.7)	16(6.3)	0	238(12.5) (115/123)	4.02 $\pm$ 0.37 3.69 $\pm$ 0.35	1 <sup>*4</sup>	
CTC 250 Pb 5	10	107.9 $\pm$ 18.3	44.8 $\pm$ 0.8	2.5 $\pm$ 0.6	14.1 $\pm$ 1.8	166(16.6)	11(6.6)	1 <sup>*4</sup>	153(15.3) (79/74)	3.70 $\pm$ 0.18 <sup>*1</sup> 3.49 $\pm$ 0.25	0	
CTC 250 Pb 50	10	118.1 $\pm$ 16.2	47.4 $\pm$ 5.6	21.0 $\pm$ 4.1	14.0 $\pm$ 1.5	158(15.8)	9(5.7)	0	149(14.9) (74/75)	3.89 $\pm$ 0.23 3.75 $\pm$ 0.19	0	
CTC 250 Pb 500	9	123.9 $\pm$ 15.7	59.6 $\pm$ 4.1	220.0 $\pm$ 13.3	13.8 $\pm$ 0.9	136(15.1)	9(6.6)	0	127(14.1) (68/59)	3.89 $\pm$ 0.39 3.71 $\pm$ 0.32	0	

\*1:  $p < 0.05$

\*2: Number per litter

\*3: (Number of resorptions / Number of implantations)  $\times$  100

\*4: Aplasia of tail and aprectia.

Mean  $\pm$  S. D.

Table 7. Skeletal and visceral examination of fetuses derived from the dams given chlortetracycline (CTC) in diet and lead acetate (Pb) in drinking water from day 7 to 18 of pregnancy

	Control	CTC 250 ppm Pb 5 ppm	CTC 250 ppm Pb 50 ppm	CTC 250 ppm Pb 500 ppm
Skeletal examination				
No. of fetuses examined	124	81	72	68
Shortness of 13th rib	7	9	9	4
Lumber rib	4	2	2	1
Delayed ossification				
Occipital bone	0	0	0	2
Mandibula	0	0	0	1
Vertebral arch	0	0	0	1
(Lumber v. and Sacral v.)				
Aplasia of caudal v.	1	0	0	0
No. of caudal vertebrae (mean $\pm$ S. D.)	4.34 $\pm$ 0.55	3.95 $\pm$ 0.43	4.04 $\pm$ 0.14	4.45 $\pm$ 0.53
No. of sternebrae (mean $\pm$ S. D.)	5.69 $\pm$ 0.35	5.48 $\pm$ 0.37	5.75 $\pm$ 0.26	5.87 $\pm$ 0.22
Visceral examination				
No. of fetuses examined	114	72	77	59
Focal necrosis near paracele	0	1	0	0
Hypertrophy of ventricular paries	0	4	3	7
Dilation of renal pelvis	0	0	0	2

Table 8. Effects of chlortetracycline (CTC) in diet and lead acetate (Pb) in drinking water on rat fetuses and dams, given from day 7 to 18 of pregnancy

	Control	CTC 250 ppm Pb 5 ppm	CTC 250 ppm Pb 50 ppm	CTC 250 ppm Pb 500 ppm
Dam				
No. of dams	5	4	6	5
Total intake of chlortetracycline (mg)	—	60.4 ± 2.4	61.3 ± 5.7	57.5 ± 5.2
Total intake of lead (mg)	—	2.2 ± 0.1	20.6 ± 1.6	207.8 ± 13.8
Day 0 (At birth)				
Body weight (g) male	5.25 ± 0.36	5.45 ± 0.44	5.64 ± 0.32	5.56 ± 0.45
female	5.07 ± 0.21	5.31 ± 0.61	5.34 ± 0.25	5.05 ± 0.43
No. of live neonates	67	55	91	72
No. of dead neonates	0	1	0	1
% of neonatal death* <sup>2</sup>	0	1.8	0	1.4
Abnormality of neonates	0	0	0	0
Day 4				
Body weight (g) male	9.84 ± 0.52	12.08 ± 2.14	10.96 ± 0.89	10.52 ± 1.55
female	9.30 ± 0.51	10.40 ± 1.44	10.70 ± 0.97* <sup>1</sup>	10.07 ± 1.67
Survival rate (%)* <sup>3</sup>	95.8	93.8	100.0	95.0
Day 21 (At weaning)				
Body weight (g) male	49.23 ± 4.50	54.78 ± 5.23	49.90 ± 2.70	46.93 ± 5.53
female	46.82 ± 4.74	54.81 ± 5.36	49.33 ± 3.75	45.29 ± 6.54
Survival rate (%)* <sup>4</sup>	97.4	96.7	100.0	97.4
Day 42				
Body weight (g) male	162.2 ± 14.6	167.6 ± 6.6	161.3 ± 11.4	161.0 ± 14.8
female	138.2 ± 7.1	143.5 ± 3.3	137.7 ± 8.2	130.2 ± 17.0
Survival rate (%)* <sup>5</sup>	97.4	96.7	100.0	97.4

\*<sup>1</sup>: p < 0.05\*<sup>2</sup>: (No. of dead neonates at birth / No. of total neonates at birth) × 100\*<sup>3</sup>: (No. of live neonates at day 4 / No. of examined new-borns) × 100\*<sup>4</sup>: (No. of live neonates at weaning / No. of live neonates at day 4) × 100\*<sup>5</sup>: (No. of live neonates at day 42 / No. of live neonates at day 4) × 100

Mean ± S. D.

Table 9. Development of neonates from the dams given chlortetracycline in diet and lead acetate in drinking water from day 7 to 18 of pregnancy

	Control	CTC 250 ppm Pb 5 ppm	CTC 250 ppm Pb 50 ppm	CTC 250 ppm Pb 500 ppm
Days of ear and eye opening				
Ear				
male	3.45 ± 0.14	3.02 ± 0.33* <sup>1</sup>	3.13 ± 0.47	3.19 ± 0.51
female	3.56 ± 0.26	2.84 ± 0.41* <sup>1</sup>	2.94 ± 0.34* <sup>2</sup>	3.11 ± 0.56
Eye				
male	15.91 ± 0.14	15.20 ± 0.56* <sup>1</sup>	15.04 ± 0.58* <sup>1</sup>	15.23 ± 0.55* <sup>1</sup>
female	15.80 ± 0.23	14.99 ± 0.66* <sup>1</sup>	14.84 ± 0.30* <sup>2</sup>	15.16 ± 0.73
Organ weight (g) at 42 day-old				
Liver				
male	8.55 ± 1.06	8.80 ± 1.10	8.63 ± 1.44	8.71 ± 0.97
female	7.61 ± 0.43	7.46 ± 0.84	7.54 ± 0.81	7.28 ± 0.89
Kidney				
male	0.88 ± 0.12	0.91 ± 0.04	0.84 ± 0.07	0.80 ± 0.07
female	0.74 ± 0.04	0.83 ± 0.08	0.76 ± 0.04	0.70 ± 0.02

\*<sup>1</sup>: p < 0.05\*<sup>2</sup>: p < 0.01

Mean ± S. D.

Table 10. Effects of chlortetracycline (CTC) in diet, lead acetate (Pb) in drinking water, and both of them on growth of rat neonate

	Control	CTC 250 ppm	Pb 500 ppm	CTC 250 ppm Pb 500 ppm
Dam				
No. of dams	5	5	5	5
Total intake of chlortetracycline (g)	—	3.24 ± 0.12	—	3.19 ± 0.16
Total intake of lead (mg)	—	—	787.8 ± 144.0	786.5 ± 82.9
Day 0 (At birth)				
Body weight (g) male	5.25 ± 0.36	5.50 ± 0.44	5.46 ± 0.52	5.49 ± 0.35
female	5.07 ± 0.21	5.25 ± 0.47	5.28 ± 0.45	5.24 ± 0.30
No. of live neonates	67	68	60	65
No. of dead neonates	0	0	3	0
% of neonates death* <sup>2</sup>	0	0	4.8	0
Abnormality of neonates	0	0	0	0
Day 4				
Body weight (g) male	9.48 ± 0.52	10.92 ± 1.05* <sup>1</sup>	10.15 ± 1.36	10.52 ± 0.95
female	9.30 ± 0.51	10.50 ± 0.96* <sup>1</sup>	10.03 ± 1.10	9.95 ± 0.91
Survival rate (%)* <sup>3</sup>	95.8	97.5	100.0	100.0
Day 21 (At weaning)				
Body weight (g) male	49.23 ± 4.50	53.31 ± 1.98	43.68 ± 3.28	50.22 ± 2.89
female	46.82 ± 4.74	52.21 ± 1.63* <sup>1</sup>	44.35 ± 2.43	49.21 ± 3.49
Survival rate (%)* <sup>4</sup>	97.4	100.0	90.0	100.0
Day 42				
Body weight (g) male	162.2 ± 14.6	171.0 ± 15.1* <sup>1</sup>	152.9 ± 10.0	168.8 ± 8.3
female	138.2 ± 7.1	148.3 ± 4.5* <sup>1</sup>	136.2 ± 4.8	144.2 ± 4.4
Survival rate (%)* <sup>5</sup>	97.4	100.0	90.0	100.0

\*<sup>1</sup>: p < 0.05

Mean ± S. D.

\*<sup>2</sup>: (No. of dead neonates at birth / No. of total neonates at birth) × 100\*<sup>3</sup>: (No. of live neonates at day 4 / No. of examined new-borns) × 100\*<sup>4</sup>: (No. of live neonates at weaning / No. of live neonates at day 4) × 100\*<sup>5</sup>: (No. of live neonates at day 42 / No. of live neonates at day 4) × 100

立および開眼までの日数等を指標として6週間観察した。その結果を Table 8 と 9 に示した。出生時の死亡率および生後4, 21および42日目の生存率ともに各群間に有意差は認められなかった。また、新生仔の耳介起立および開眼までの日数も投与群と対照群との間に著明な差は認められなかった。

#### 4. 授乳期の母獣への投与

妊娠ラット20匹を自然分娩させたのち、5匹つづ4群にわけた。第1群は対照、第2群は250 ppmのクロルテトラサイクリンを、第3群は500 ppmの鉛を、第4群は250 ppmのテトラサイクリンと500 ppmの鉛を分娩直後から離乳までの21日間与え、これら薬物の母乳を介しての新生仔への影響を検討した。その結果を Table 10 に示した。新生仔の体重増加率は、250 ppm テトラサイクリン群で増加傾向が、500 ppm 鉛群では抑制傾向が、両者を投与した群ではそれぞれを単独で与えた群の中間的な値を

示した。新生仔の生存率および耳介起立や開眼までの日数等に各群間に著明な差はみられなかった。

#### 考 察

テトラサイクリンについては古くから大量ではヒトで肝毒性<sup>14)</sup>、胎児の肢の異常<sup>2)</sup>を、またラットで催奇形<sup>9)</sup>や胎仔の発育遅延<sup>1,3)</sup>をおこすことが知られている。本研究でのクロルテトラサイクリンの成績でも、Table 1 に示したように高用量では胎仔体重の低下がみられた。また、吸収胚や骨格および内臓の異常例の増加傾向がみられた。しかし、その傾向は必ずしもクロルテトラサイクリンの用量に依存するものではなかった (Table 2) こと、および新生仔の発育もきわめて良好であったことから、本実験に用いたクロルテトラサイクリンの用量はラット胎仔の発育には著明な悪影響をおよぼさないと考えられる。



大量の鉛の投与は、実験動物では胎仔の発育遅延や催奇形性があると報告されている<sup>5,10,12)</sup>。しかし、Kimmel らは<sup>9)</sup>、250 ppm の酢酸鉛を飲料水に添加して妊娠ラットに与えても催奇形性はないとしており、Kennedy ら<sup>8)</sup>もマウスやラットで催奇形性はみられなかったと報告している。本研究での結果は Table 3 と 4 に示したように、5 および 50 ppm では胎仔体重に影響しなかったし、催奇形性もなかった。しかし、500 ppm 投与群では吸収胚の増加や出生仔の発育遅延傾向がみられた。

いずれにしても、本実験で用いたクロルテトラサイクリンと酢酸鉛の用量範囲では、妊娠母獣および胎仔発育に著明な害作用を示さないことが示唆された。いっぽう、クロルテトラサイクリンと鉛を併用投与すると、Fig. 1 と 2 に示したように、飼料摂取量の減少を伴う体重増加の抑制がみられた。しかも、このような減少および抑制は、250 ppm のクロルテトラサイクリンと 5 ppm および 50 ppm の酢酸鉛を併用投与したときにのみ観察され、500 ppm の酢酸鉛と併用したときには認められなかった。なぜ少量の鉛の併用時のみにこのような現象がみられるのかは現時点では不明である。併用投与時の胎仔発育への影響は、Table 6 に示したように、それぞれの薬剤を単独投与した時に比べ、胎仔毒性が相加または相乗して発現せず、逆に Table 3 に示した鉛単独投与時にみられた吸収胚の増加や、Table 5 に示した新生仔の死亡率の増加がクロルテトラサイクリンとの併用により減少し、クロルテトラサイクリンと鉛の拮抗現象の起こることが示唆された。

授乳中の母ラットやマウスに鉛を与えると、乳汁を介して仔に移行することが知られており<sup>11,13)</sup>、大量投与では神経症状をはじめ仔の発育障害のみられることが報告されている<sup>13)</sup>。しかし、本研究で用いた用量では、鉛単独投与により、仔の体重増加の抑制がみられたものの、神経症状等を示す仔は 1 例もみられなかった。また、クロルテトラサイクリンと鉛の母ラットへの併用投与も仔の発育に著明な影響をおよぼさなかった。

## 要 約

クロルテトラサイクリンや鉛の妊娠中の摂取が母体、胎仔および新生仔の発育にどのように影響するかを検討して以下の成績を得た。

1. 250, 1,500 および 3,000 ppm のクロルテトラサイクリンを含む飼料を妊娠ラットに、妊娠 7 日

から 18 日まで与えた。母ラットの体重増加が用量依存性に促進されたが、用量に応じて吸収胚も増加し、妊娠 20 日目の胎仔体重も抑制された。また、骨格や内臓の異常例も増加した。しかし、新生仔の発育は良好であった。

2. 5, 50 および 500 ppm の鉛を含む飲料水を妊娠ラットに、妊娠 7 日から 18 日まで与えた。母ラットの体重増加は著明な影響を受けなかったが、用量に応じて吸収胚の増加、妊娠 20 日目の胎仔体重の抑制および出生時の新生仔死亡率が上昇した。また、骨格や内臓の異常例も増加し、新生仔の発育も遅延傾向を示した。

3. 250 ppm のクロルテトラサイクリンと、5, 50 および 500 ppm の鉛を妊娠ラットに、妊娠 7 日から 18 日まで併用投与した。母ラットの体重増加は 5 および 50 ppm の鉛とクロルテトラサイクリンの併用投与で著明に抑制されたが 500 ppm の鉛と併用投与した群では抑制はみられなかった。鉛単独投与時にみられた吸収胚の増加や出生時の新生仔の死亡率が低下した。妊娠 20 日目の胎仔体重の抑制も鉛単独投与に比べ弱かった。また、鉛単独投与時にみられた骨格や内臓の異常例の増加や新生仔の発育遅延傾向も軽減した。

4. 授乳期の母ラットに 250 ppm のクロルテトラサイクリンを与えると仔の発育が促進された。500 ppm の鉛を与えると仔の発育が抑制された。両者を併用投与すると仔の発育は対照群と変わらなかった。

以上の成績から、クロルテトラサイクリンおよび鉛の妊娠ラットへの単独投与は、ともに、高用量では胎仔発育に悪影響を示すが、両者を併用投与しても増強効果は認められなかった。

**謝辞** 本研究の一部は文部省科学研究費（一般研究 B）の補助を受けた。また、研究と論文作成に協力を受けた石黒茂助教授および鳥丸由美子氏に謝意を表します。

## 文 献

- 1) Bevelander, G., Nakahara, H. and Rolle, G.: The effect of tetracycline on the development of the skeletal system of the chick embryo. *Developmental Biol.*, **2**, 298-312 (1960)
- 2) Carter, M. P. and Wilson, F.: Tetracycline and congenital limb abnormalities. *Br. Med. J.*, **2**, 407-408 (1962)
- 3) Cohan, S. Q., Bevelander, G. and Tiamsic, T.: Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *Am. J. Dis. Child.*, **105**, 453-461 (1963)
- 4) Dawson, A. B.: A note on the staining of the skeleton of

- the cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.*, **1**, 123-124 (1926)
- 5) Ferm, V. H. and Carpenter, S. J. : Developmental malformations resulting from the administration of lead salts. *Expt. Mol. Pathol.*, **7**, 208-213 (1967)
  - 6) Filippi, B. : Antibiotics and congenital malformations : Evaluation of the teratogenicity of antibiotics. *Adv. Teratol.*, **2**, 239-256 (1967)
  - 7) Humphreys, D. J. : Recent trends in animal poisoning. In "Trends in veterinary pharmacology and toxicology." ed by van Miert, A. S. J. P. A. M., Frens, J. and van der Kreek, F. W. Elsevier Scientific Publishing Comp., Amsterdam, pp. 307-313 (1980)
  - 8) Kennedy, G. L., Arnold, D. W. and Calandra, J. C. : Teratogenic evaluation of lead compounds in mice and rats. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **13**, 629-632 (1975)
  - 9) Kimmel, C. A., Grant, L. D. and Sloan, C. S. : Chronic lead exposure : assessment of developmental toxicity. *Teratol.*, **13**, 27A-28A (1976)
  - 10) McClain, R. M. and Becker, B. A. : Teratogenicity, fetal toxicity, and placental transfer of lead nitrate in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **31**, 72-82 (1975)
  - 11) Mylroie, A. A., Tucker, C. and Rosselli-Austin, L. : Lead-exposure of neonatal rats through maternal milk. *Biological Trace Element Res.*, **14**, 209-216 (1987)
  - 12) Pentschew, A. and Garro, F. : Lead encephalo-myelopathy on the suckling rat and its implicatous on the porphyrinopathic nervous diseases. *Acta Neuropathologica* **6**, 266-278 (1966)
  - 13) Rosenblum, W. I. and Johnson, M. G. : Neuropathologic changes produced in suckling mice by adding lead to the maternal diet. *Arch Pathol.*, **85**, 640-648 (1968)
  - 14) Schultz, J. C., Adamson, J. S., Workman, W. W. and Norman, T. D. : Fatal liver disease after intravenous administration of tetracycline in high dosage. *New Eng J. Med.*, **269**, 999-1004 (1963)
  - 15) Wilson, J. G. : Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals. In "Teratology : Principles and Techniques." ed by Wilson, J. G. and Warkany, J. Univ. of Chicago Press, pp. 262-277 (1965)

### Summary

Fetotoxicity was studied in the pregnant rats treated with chlortetracycline, lead acetate and their combination. Three groups of the pregnant rats were administered chlortetracycline in diet at doses of 250, 1,500 and 3,000 ppm, and lead acetate in drinking water at doses of 5, 50 and 500 ppm, respectively, and the combination of chlortetracycline (250 ppm in diet) and lead acetate (5 and 50 ppm in drinking water), from the 7th day to the 18th day of pregnancy. At term (on the 20th day of pregnancy) they were killed and examined to ascertain the intrauterine death, external, visceral and skeletal malformations.

Chlortetracycline in diet enhanced the maternal body weight gain dose-dependently, and lead acetate in drinking water had no effect on it, the combination of chlortetracycline (in diet) with lead acetate (in drinking water), however, depressed body weight gain with the depression of the food intake.

The intrauterine deaths and the skeletal and visceral anomalies were noted to be increasing in rats treated with chlortetracycline or lead acetate, while not in those treated with the combination of both.

The growth of the newborn rats, obtained from the dams given chlortetracycline (250 ppm), was enhanced, but that in the newborn rats from the dams given lead acetate (500 ppm), was depressed, and combination of both showed no adverse effects on the neonatal growth.

Based on the above mentioned results, it was suggested that the high dose of chlortetracycline and lead acetate had the adverse effects on the fetal developments, but the combination of them showed no potentiation effect on them.