

## 8. 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

### (1) ビリプロキシフェン原体のラットにおける2世代繁殖性試験

(資料8-1)

試験機関: Bio-Research Laboratories Ltd.

報告書作成年: 1991年 [GLP対応]

検体: ビリプロキシフェン原体

純度:

試験動物: SD系ラット (開始時44日齢、体重: 雄205~250g、雌157~195g)、  
1群雌雄各26匹

試験期間: 1989年10月4日 F0親動物投与開始、1990年6月25日 F1雌動物最終剖検日

投与期間: F0世代: F0親動物への投与開始からF1児離乳時まで

F1世代: F1親動物離乳時からF2児離乳時まで

投与方法: 検体を0、200、1,000および5,000ppmの濃度で基礎飼料に混入し、自由に摂取させた。飼料は毎週調製した。

試験方法および試験項目: 概要を表1にまとめた。

一般状態および死亡: 全動物について死亡の有無を1日2回観察し、明らかな毒性徴候がみられた場合は1日1回以上観察した。さらに、健康状態や異常行動について詳細な臨床観察を週1回の頻度で行った。

**体重：**全動物について、毎週体重を測定した。ただし、交尾が確認された雌については、妊娠0、6、12、18および21日、分娩後0、4、7、14および21日に体重を測定した。全動物について、剖検日に体重を測定した。

**摂餌量および検体摂取量：**個体別の摂餌量は雌雄とも検疫期間及び投与期間（交配開始時まで）を通じて毎週測定した。交尾が確認された雌については、妊娠0～6、6～12、12～18および18～21日の間、分娩後0～4、4～7、7～10、10～14、14～17、17～19および19～21日の間の摂餌量を測定した。

雄については、交配期間終了後3週間、摂餌量を測定した。

**繁殖性：**全ての雌動物について、交配のための配架前10日間、性周期を膣垢検査により観察した。

F0世代については投与70日後、F1世代については投与77～90日後（98～111日齢）、一匹の雌を同じ群の雄一匹と最高21日間同居させた。膣内の精子の有無（または膣栓の有無）を観察することにより交尾の確認を毎日行い、精子の存在が確認された日を妊娠0日とした。

雌については、分娩の徴候について妊娠20日から1日3回観察し、同腹児全例の分娩が完了した日を生後0日とした。

児動物の匹数と一般状態について、同腹児毎に哺育期間中毎日観察した。出生時（生後0日）に体重を測定し、さらに、生後4（間引き前後）、7および14日に雌雄別に、生後21日には個体別に体重を測定した。

生後4日に、必要ならば同腹児数が8匹（可能であれば、同腹児が雄4匹、雌4匹）となるよう無作為に間引きを行い、21日間哺育した。

生後21日に、F1世代の動物を各群雄26匹、雌26匹となるよう、各同腹児から少なくとも雄1匹、雌1匹を無作為に選抜した。

**病理検査：**試験期間中に死亡または人為的に屠殺した全動物について、体表および内臓の詳細な肉眼的観察を行った。

F0、F1世代の交配期間終了時から約3週間後、雄を屠殺し剖検を行った。

交尾しなかった雌は、交配期間終了後26または27日に屠殺し、詳細な肉眼的観察を行った。交尾したが出産しなかった雌については、交尾後26、27または28日に屠殺し、肉眼的観察を行い、特に、着床痕の有無や妊娠を妨げるような異常について生殖器官の観察を行った。出産した児動物が全例死亡した母動物は屠殺し、着床痕数を数え、乳腺組織の検査を行った。母動物は分娩後21、22または23日に屠殺し、肉眼的観察を行ない、着床痕数を数え記

録した。

肉眼的病理検査終了後、以下の組織および臓器を保存した。

個体識別部位、脳\*\*、精巣上体<sup>+</sup>、腎臓<sup>+++</sup>、肝臓<sup>+++</sup>、  
乳腺(胸部および鼠径部)、卵巢<sup>+</sup>、下垂体、前立腺<sup>+</sup>、精囊<sup>+</sup>、  
精巣<sup>+</sup>、子宮<sup>+</sup>、膈<sup>+</sup>、その他の異常病変部位<sup>++</sup>

\*\* F1世代親動物のみ保存

+ 対照群と高用量群について病理組織学的検査実施

++ 全群について病理組織学的検査実施

また、脳、下垂体、肝臓、腎臓、精巣、精囊、精巣上体および前立腺については、F1世代親動物についてのみ臓器重量測定(両側性の臓器は片側ずつ測定)を行った。

交尾が確認されなかった動物の生殖器官についても検査を行った。

死産または生後7日以前に死亡した児動物については、Bouin溶液中に保存し、Barrow and Taylorの方法(1969)を応用し、後日観察を行った。生後8日から20日の間に死亡した児動物は、詳細な剖検を行った。

離乳動物については、F1、F2世代の各群雄10匹、雌10匹を、10例の別々の同腹児より無作為に選抜し、生後21、22または23日に、剖検を行った。また、外形に異常所見のあったラットについても同様に剖検を行った。

試験結果：試験結果を表2にまとめた。

親動物：投与に関連した死亡または臨床所見は認められなかった。

体重については、F0世代の雄では、5,000ppm群で、交配前期間中(0-10週)の総体重増加量および投与10、11週の体重で有意な低値が認められた。F1世代の雄では、5,000ppm群で、離乳時に体重の有意な低値が、投与1、2、4及び15週には体重増加量の有意な低値が認められ、投与期間中(0-18週)を通じ体重は有意な低値を示した。

F0世代の雌では、5,000ppm群で、投与1、2週の体重増加量の有意な低値が認められ、その結果、交配前期間の体重は有意な低値を示し、妊娠期間中および哺育期間の初期も、有意な低値が一貫して認められた。哺育期間中(分娩後0日から21日)には総体重増加量の有意な増加が認められ、その結果、分娩後21日には対照群との有意差は認められなくなった。F1世代の雌では、5,000ppm群で、離乳時、体重の有意な低値が認められ、その結果交配前期間中、妊娠および哺育期間中の体重は一貫して有意な低値を示した。交配前期間中の総体重増加量には有意差は認められなかったが、対照群に比べ低値傾向を示した。しかし、哺育期間中の総体重増加量(分娩後0-21日)は有意に高値を

示し、体重は、分娩後21日には対照群との有意差が認められなくなった。  
 摂餌量について、F0世代の雄では、5,000ppm群で、検査終了週、投与開始週および6週に有意な低値を示し、その後も対照群より低値傾向を示した。F1世代の雄では、5,000ppm群で一貫して低値を示し、1、2、4、7、10および12-18週では有意差も認められた。  
 F0世代の雌では、5,000ppm群で、交配前期間の8、9週および妊娠期間中の0-6、6-12日に、対照群に比べ摂餌量の有意な低値が認められた。F1世代の雌では、5,000ppm群で、交配前1週および妊娠6-12日に、有意な低値が認められた。  
 各世代における交配前期間中の検体摂取量は次の通りであった。

投 与 量 (ppm)			200	1000	5000
ピリプロキシフェン 摂 取 量 (mg/kg/日)	雄	F0	15.50	76.37	386.18
		F1	19.43	97.29	519.23
		平均	17.47	86.83	452.71
	雌	F0	17.70	87.34	442.22
		F1	20.63	105.09	553.61
		平均	19.17	96.22	497.92

剖検では投与に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。  
 病理組織学的検査において、F0世代では、明らかに投与に関連していると考えられる所見は認められなかった。F1世代の雄では、5,000ppm群で、慢性間質性腎炎を示唆する所見の頻度および程度の増加が認められた。  
 臓器重量について、F1世代の雌雄では、5,000ppm群で、肝臓重量（絶対、相対）の有意な高値が認められた。雄では、1,000ppm群で、相対（対体重）肝臓重量の高値が、1,000および5,000ppm群で、相対（対体重）腎臓重量の高値が認められた。  
 性周期、親動物の成績（交尾率、受胎率および妊娠率）、母動物の成績（妊娠期間および出産率、分娩時生存児および死亡児数、性比、着床痕数および着床後死亡）については投与による影響は認められなかった。  
 児動物；生存率および離乳率については、対照群と比較して有意な差は認められなかった。臨床および剖検所見についても投与の影響は認められなかった。  
 両世代とも、5,000ppm群で、雄、雌および雌雄合計の児動物体重について、生後14日および21日に有意な低値が認められた。ただし、F1世代の雄では、生後21日のみ有意な低値が認められた。

以上の如く、ピリプロキシフェン原体のラットにおける2世代繁殖性試験において、各世代の雌雄とも5,000ppm群で、交配前期間中の体重増加の抑制、摂餌量の低値が認められた。また、臓器重量について、F1世代の雌雄では、5,000ppm群で、肝臓重量（絶対、相対）の有意な高値が認められた。雄では、1,000ppm群で、相対（対体重）肝臓重量の高値が、1,000および5,000ppm群で、相対（対体重）腎臓重量の高値が認められた。児動物に対しては、両世代とも5,000ppmで体重増加の抑制が認められた。

このように、本試験の結果では、最大無作用量は、親動物に対しては200ppm（♂:17.47mg/kg/日, ♀:19.17mg/kg/日）、繁殖性に対しては5,000ppm（♂:452.71mg/kg/日, ♀:497.92mg/kg/日）、また、児動物に対しては1,000ppm（♂:86.83mg/kg/日, ♀:96.22mg/kg/日）であった。

表1 試験の概要

世代	試験の段階 (期間)	作業手順	試験項目
F0	育成(10週)	各群雌雄26匹 6週齢より投与開始 一般状態、生死の観察；毎日 詳細な臨床観察、 体重、摂餌量；週1回	臨床症状、体重、体重増加量、 摂餌量、検体摂取量
	交配(3週)	膣垢像の観察(交配10日前～) 雌雄1対1で交配、交尾は膣栓と膣垢 中の精子の存在で確認(妊娠0日)	性周期 交尾率、交配期間
	妊娠(3週)	体重、摂餌量； 妊娠 0, 6, 12, 18, 21日	体重、摂餌量、受胎率、妊娠率
	分娩	分娩状況の観察、分娩完了の 確認(哺育0日) 児動物の一般状態、生死の確認	妊娠期間、分娩状況、 出産率、着床痕数、着床後死亡、 平均産児数(生存および死亡)、性比
	哺育(3週)	母動物の体重(哺育0, 4, 7, 14, 21日)、 摂餌量(哺育0, 4, 7, 10, 14, 17, 19, 21日) の測定 哺育4日に各腹8匹(可能ならば 雄4匹、雌4匹)に選抜。それ 以外の児動物は廃棄。 哺育児の児数、一般状態を毎日観察 生後0, 4, 7, 14日に雌雄毎の 同腹児体重、21日に個別別体重を測定	母動物の体重、体重増加量 摂餌量、検体摂取量  哺育児の児数、臨床症状、体重、 生存率、離乳率
	離乳	F1親動物として各群雌雄各26匹 (各腹から雌雄各1例)を選抜 児動物から各群雌雄各10例を選択し 剖検 F0親動物の屠殺、剖検、 病理組織学的検査	F1離乳児の剖検所見  F0親動物の剖検所見、 病理組織学的検査
F1	育成(11～ 13週)	┌ ├── (F0世代に準ずる) └	┌ ├── (F0世代に準ずる) └
	交配(3週)		
	妊娠(3週)		
	分娩		
F2	哺育(3週)		
	離乳	児動物から各群雌雄各10例を選択し 剖検 F1親動物の屠殺、剖検、 臓器重量、病理組織学的検査	F2離乳児の剖検所見  F1親動物の剖検所見、臓器重量、 病理組織学的検査

表2 試験結果

世 代		親; F0 児; F1				親; F1 児; F2					
投 与 量 (ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000		
動物数 雌雄各		26	26	26	26	26	26	26	26		
親	死亡・途中屠殺	雄		1			1	2			
		雌				1					
	一般状態										
	体重増加 (育成期)	雄				抑制			抑制		
		雌				抑制			抑制		
	摂餌量	雄				低値			低値		
		雌				低値			低値		
	交尾率 (%) a)		100	92.3	88.5	96.2	88.5	88.5	100	92.3	
	受胎率 (%) b)		84.6	84.6	76.9	84.6	76.9	73.1	80.8	80.8	
	妊娠率 (%) c)		84.6	91.7	87.0	88.0	87.0	82.6	80.8	87.5	
着床痕数		16.6	16.0	17.1	16.6	17.0	16.9	16.5	16.9		
世	着床後死亡 (%) d)		10.4	9.5	7.8	11.4	9.3	12.5	16.0	9.3	
	妊娠期間 e)		21.9	21.7	21.7	21.7	21.8	21.8	21.9	21.6	
	出産率 (%) f)		100	100	100	100	100	100	95.2	100	
	肉眼的病理所見										
代	臓器重量	肝 臓	雄	-	-	-	-			△112	
			雌	-	-	-	-			▲121	
		前立腺	-	-	-	-				▽85	
	臓器重量 (体重比)	肝 臓	雄	-	-	-	-			▲110	▲128
			雌	-	-	-	-				▲127
		左 腎	-	-	-	-			△108	▲111	
		右 腎	雄	-	-	-	-			▲109	▲111
			雌	-	-	-	-				▲111
		脳	-	-	-	-				▲111	
		左 精 巢	-	-	-	-				▲119	
左精巢上体	-	-	-	-				▲113			
病理組織学的所見 慢性間質性腎炎 <sup>g)</sup>		雄	-	-	-		7/26	3/26	7/26	↑15/26	

臓器重量の数値は統計学的に有意差を示したものを対照群値に対する百分率 (%) で示す。

△、▽: P<0.05、▲: P<0.01、Dunnettの検定  
空欄は特記すべき変化のないことを示す。-は測定していないことを示す。

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

a): (交尾が確認された雌動物数 / 交配させた雌動物数) × 100

b): (妊娠動物数 / 交配させた雌動物数) × 100

c): (妊娠動物数 / 交尾が確認された雌動物数) × 100

d): (着床痕数 - 分娩時生存児動物数) / 着床痕数 × 100

e): 交尾を認めた日から分娩完了日までの日数

f): (分娩時に生存児動物のいた雌動物数 / 妊娠動物数) × 100

g): 申請者注参照

Fisherの直接確率検定を実施した(申請者実施); ↑↓: p≤0.05; ↑↑↓: p≤0.01

(つづく)

【申請者注】 慢性間質性腎炎について

本試験の試験計画では、腎臓重量測定や腎臓の病理組織学的検査を実施する予定はなかった(注)が、試験進行中(F1世代の解剖前)、マウス亜急性毒性試験(資料5-3)が終了し、腎臓が標的器官であることが判明したため、急速、試験計画を変更して、F1世代についての腎臓重量および腎臓の病理組織学的検査を実施した。

その結果、雄において、慢性間質性腎炎(chronic interstitial nephritis)の発現が認められ、5000ppm群ではその発現頻度が高かった。しかしながら、慢性間質性腎炎は、腎臓における独立した6所見(好塩基性尿細管、尿細管拡張、尿細管壊死、尿細管内硝子様好酸性物質貯留、間質線維化、単核細胞浸潤)のうち4所見以上を併発する組織変化について診断したものであると報告書に記載されており、当該組織像は、特異的な所見ではなく、ラットの加齢性変化として知られるいわゆる慢性腎症と同様のものと考えられた。

(注) 本試験の試験開始時(1989年)、試験ガイドライン上、腎臓の器官重量測定、病理組織学的検査は要求されていなかった。



表2 試験結果 (つづき)

世 代		親: F0 児: F1				親: F1 児: F2					
投 与 量 (ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000		
母 動 物 数		22	22	20	20	20	19	20	21		
児	生存産児数 (ノ腹)	14.9	14.4	15.8	14.7	15.4	14.7	14.4	15.3		
	死亡産児数 (ノ群)	13	6	↓ 4	6	5	4	7	11		
	性比 (雄の比率)	51.0	53.2	49.9	52.5	51.7	49.9	49.7	54.2		
	生存率 (%) g	4日	95.4	99.0	97.2	98.1	97.1	98.2	99.1	95.3	
		7日	99.4	99.4	99.4	99.4	100	96.8	98.8	99.4	
		14日	94.9	94.0	96.9	98.1	100	96.8	98.8	99.4	
	離乳率 (%) h	94.9	94.0	96.3	98.1	100	96.8	98.8	99.4		
一般状態 (哺育期)											
世 代	体 重	0日	雄	6.6	6.7	6.6	6.5	6.4	6.5	6.6	6.4
			雌	6.3	6.3	6.3	6.2	6.1	6.1	6.2	6.1
			全	6.4	6.5	6.4	6.3	6.3	6.3	6.4	6.2
		4日	雄	9.9	10.7	10.6	9.7	10.2	9.9	10.7	9.8
			雌	9.6	10.1	10.0	9.2	9.7	9.3	10.0	9.4
			全	9.8	10.4	10.3	9.5	9.9	9.6	10.3	9.6
		7日	雄	15.8	17.0	17.1	15.2	16.9	16.0	17.0	15.8
			雌	15.5	16.0	16.1	14.4	16.0	15.4	15.8	15.2
			全	15.6	16.5	16.6	14.8	16.4	15.5	16.4	15.5
		14日	雄	30.6	31.6	33.1	27.9	34.5	32.1	34.2	▽31.0
			雌	30.3	30.3	31.3	▽26.8	32.7	31.4	32.5	▽30.1
			全	30.4	30.9	32.1	▽27.3	33.6	31.4	33.4	▽30.6
		21日	雄	51.0	54.6	54.2	▼44.7	57.0	52.7	55.5	▼49.7
			雌	51.0	52.3	51.7	▼42.9	54.0	51.4	52.8	▼48.3
			全	51.0	53.4	53.1	▼43.8	55.5	51.4	54.1	▼49.0
		肉眼的病理所見									

↓: P < 0.05, Fisherの直接確率検定

▽: P < 0.05, ▼: P < 0.01, Dunnettの検定

空欄は特記すべき変化のないことを示す。

太字は検体の投与による影響であることを示す。

g): 4日: (生後4日(間引き前)における生存児動物数/生後0日における生存児動物数) × 100

7日: (生後7日における生存児動物数/生後4日(間引き後)における生存児動物数) × 100

14日: (生後14日における生存児動物数/生後4日(間引き後)における生存児動物数) × 100

h): (生後21日における生存児動物数/生後4日(間引き後)における生存児動物数) × 100

(2) ビリプロキシフェン原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 8-2)

試験機関：隣生物科学技術研究所

報告書作成年：1988年【厚生省GLP 対応】

検体：ビリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：SD系雌ラット（試験開始時11週齢、体重：197.6～296.9 g）、  
1群36～42匹

試験方法：検体を加温融解後コーンオイルで希釈し、0、100、300、1000mg/kg/日を妊娠  
7日<sup>a)</sup>から妊娠17日までの11日間、妊娠7日の体重に基づいてそれぞれ5ml/kgの  
割合で経口投与した。対照群にはコーンオイルを同様に投与した。  
なお、検体は7日間を限度として調製した。

a):精子あるいは膣栓を確認した日を妊娠0日として起算した。

試験項目：母獣の一般状態および生死を毎日観察し、体重、摂餌量、および摂水量は妊娠0、  
3、5日および妊娠7日以降毎日、さらに授乳期間中は、分娩当日（0日）、4、  
7、14および21日に測定した（ただし、妊娠0日および分娩0日の摂餌量および  
摂水量は妊娠1日および分娩後1日に測定）。

母獣は剖検時（帝王切開群；妊娠21日、自然分娩群；分娩後21日）に以下の臓器重  
量を測定し、体重比を算出した。

心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巣<sup>\*)</sup>、胸腺

\*)：自然分娩群のみ

また、自然分娩群については子宮の着床痕数も調べた。

## 〔帝王切開群〕

各群20～23母体を妊娠21日に屠殺・剖検した。剖検時黄体数を計数し、子宮については、着床数、生存胎児数および死亡胚・児数を調べ、胎盤重量を測定した。生存胎児については、体重の測定、性別および外表異常を調べた。その後各腹の約1/3の胎児についての内臓検査を、残りの胎児はアリザリンレッドS染色後骨格検査を行った。

## 〔自然分娩群〕

各群10～13母体を自然分娩させ、妊娠期間を算出した。分娩時に児の生死数、性別、外形異常の有無を検査した。出生児は生後4日に1腹8匹を越える母体については8匹に淘汰（可能な限り雌雄同数）し、21日間母獣に哺育させた。残りの出生児は屠殺して骨格検査を行った。

出生児の一般状態を毎日観察し、成長分化についても調べた。体重は出生時、生後4、7、14および21日に、また、離乳以後は週1回測定した。離乳時（3週齢時）に1母体あたり雌雄各2匹を除き、屠殺・剖検し、主要臓器の重量を測定し、ホルマリン液に保存した。また、これらの児については骨格検査も行った。出生児は感覚機能（生後20日の生存児全例）を調べ、離乳後、各母体の雌雄各1匹の児について情緒（4週齢時）、運動協調性（5週齢時）、学習能（6週齢時）を、また、他の雌雄各1匹の児について繁殖能の検査を行った。

なお、学習能を検査した児は8週齢時に屠殺・剖検し、主要臓器は重量測定後保存した。

試験結果：結果の概要は表1に示す通りである。

## 〔母獣〕

一般状態では、1000mg/kg投与群に中毒症状（軟便ないし下痢便、肛門部の発赤・腫脹、自発運動の減少、削瘦、鼻周囲の血性汚れ、耳介および四肢の蒼白化、体温低下等）が観察され、42例中12例が死亡した。生存例においても少数例では同様の重篤な症状を認めたが、ほとんどの例において、投与期間終了後比較的速やかに消失した。300mg/kg以下の投与群では検体投与に起因する中毒症状は認められなかった。

体重については、1000mg/kg投与群では妊娠および哺育期間を通じて有意な低値を示した。体重増加量は妊娠期間には有意な低値であったが、哺育期間中はむしろ高値を示した。300mg/kg投与群では妊娠13日以降哺育期間を通じて軽度ながら有意な低値で推移し、100mg/kg投与群では妊娠中期の体重増加量に軽度の有意な低値が認められた。

摂餌量は、1000mg/kg投与群で投与期間中低値を示し、その後の妊娠期間および哺育期間の初期には軽度な高値が見られた。300mg/kg投与群では投与期間に軽度な減少が見られ、100mg/kg投与群でも投与期間に低値が散見された。

摂水量は300mg/kg以上の投与群において、投与期間中およびその後の妊娠期間を通じて高値を認め、1000mg/kg群でより顕著であった。哺育期間中の摂水量もこれらの群で有意な高値が散見された。100mg/kg群では投与期間の初期に軽度な高値が認められたのみであった。

剖検において、死亡例ではほとんどの例に肝臓の鬱血、脾臓の萎縮、副腎の腫大および胸腺の退縮が、約半数には胃粘膜の出血、さらに一部には出血性胃潰瘍が観察された。帝王切開時の剖検では、1000mg/kg投与群で副腎の腫大および胸腺の退縮が認められたのみであった。離乳時の剖検では検体投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量では、帝王切開時には、1000mg/kg投与群において胸腺重量の低値、腎臓および副腎重量の高値、心臓重量の低値および肝臓の相対重量の高値が認められ、300mg/kg投与群では、肝臓および腎臓の相対重量の軽度な高値が認められた。離乳時においては、1000mg/kg投与群の脾臓重量が有意な低値を示した以外には変化は見られなかった。

#### 〔胎仔〕

子宮内所見では、黄体数、着床数、および着床率には差はなかった。着床数に対する胚・児死亡数の比は1000mg/kg投与群で若干高値を示し、それを反映して生存胎児数が低値傾向を示した。生存胎児体重、性比および胎盤重量には検体投与の影響はなかった。

外形および内臓検査では、検体投与によると考えられる異常の発生頻度の増加は認められなかった。

骨格検査では、骨格異常の発生については検体投与の影響は認められなかった。骨格変異については第7頸椎横突孔の開存の発現率が300mg/kgでは軽度、1000mg/kg投与群では明らかに増加した。催奇形性を示す化合物でこの変異は、催奇形閾値以下でも増加もしくは増加傾向を示すが、同時に腰肋等の変異も増加するといわれている。本試験では、腰肋等の出現率に差はなく、またこの変異の明らかに増加した1000mg/kgの投与群は母体に死亡例をみるほどの限界用量であり、この変異の増加の延長上に催奇形作用が結びつくとは考えられなかった。骨化進行度には検体投与の影響は認められなかった。

## 〔出生仔〕

妊娠期間、出生率、生存児数、出生児の生存率、体重いずれにも検体投与による影響は観察されなかった。

出生児に外形異常は認められず、内臓観察においても各検査時期いずれにも検体投与に起因する異常の発現頻度の増加はなかった。なお、1000mg/kg投与群の8週齢時における内臓異常を有する出生児の出現頻度が軽度に増加したが、これは腎盂拡張を有する児が増加傾向を示したためであった。しかし、腎盂拡張はしばしば偶発的に出現する異常であり、胎児検査では1例も認められず、しかもその他のいずれの剖検時にもその出現率に有意な増加はなく、さらに重量にも影響が認められないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。臓器重量測定および骨格観察においては、検体投与の影響は認められなかった。

出生児の発育分化、感覚機能の発達、情緒、運動強調整および学習能の検査いずれにも対照群と差はなく、出生児の繁殖能ならびにその胎児にも検体投与の影響は観察されなかった。

以上の如く、ピリプロキシフェン原体をラット胎児の器官形成期に経口投与すると、母獣に対して1000mg/kgの投与量において中毒症状を発現し死亡を認めた。また、100mg/kg以上の各投与群において用量相関性のある体重増加の抑制、摂餌量の低値、摂水量の高値を認め、剖検時所見あるいは臓器重量にも300もしくは1000mg/kg投与群で影響が認められた。次世代に対する影響としては、300mg/kg以上の投与群において骨格変異として第7頸椎横突孔の開存を有する胎児の増加が認められた。しかしながら、母獣に対して影響が認められた1000mg/kg群においても催奇形性作用は認められなかった。

従って、本試験条件下におけるピリプロキシフェン原体の最大無作用量は、母獣に対しては100 mg/kg/日以下、胎児に対しては100mg/kg/日、出生児に対しては1000 mg/kg/日と結論した。

---

申請者注：母獣毒性に関して、最低用量100mg/kg群で、体重増加、摂餌・摂水に軽微な影響が認められた。しかしながら、それらの変動は、対照群に比べ数%程度のものであり、あるいは投与初期の一過性のものであり、ごく軽微な変化であった。  
従って、本試験の母獣に対する最大無作用量は、100mg/kgを若干下回る程度であると考えられる。

表1 試験結果

投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000
親	1群当たりの動物数	36	36	36	42
	死亡数 (%)	0	0	0	12(28.6)
	一般症状			耳介および四肢の蒼白化、削瘦、自発運動減少、体温低下 (児の娩出を認めないため妊娠25日に屠殺した1例のみ)	軟便、下痢便、肛門部の発赤・腫脹、自発運動減少、削瘦、耳介および四肢の蒼白化、体温低下等、鼻周囲の血性汚れ
	体重		体重増加量の軽度低値 (妊娠中期)	体重の軽度低値 (妊娠13日から授乳期間を通じ)、体重増加量の低値 (妊娠10~20日)	体重の低値 (妊娠および授乳期間)、体重増加量の低値 (妊娠期間) あるいは高値 (授乳期間)
	摂餌量		低値を散見 (投与期間中)	軽度減少 (投与期間中)	減少 (投与期間中) あるいは軽度高値 (投与期間以後授乳初期まで)
	摂水量		軽度高値 (投与2、3日目)	高値 (投与期間およびその後の妊娠期間、分娩1日まで)	高値 (投与期間およびその後の妊娠期間、分娩7日まで)
動物	剖検所見 (死亡例)	-	-	-	肝臓の鬱血、脾臓の萎縮、副腎の腫大、胸腺の退縮、胃粘膜の出血、出血性胃潰瘍
	[帝王切開群]				
	母獣数	23	23	23	20
	剖検所見				副腎の腫大、胸腺の退縮
	臓器重量			肝臓/体重↑ 腎臓/体重↑	胸腺↓、心臓↓ 腎臓↑、副腎↑ 肝臓/体重↑
	黄体数	15.1	15.3	15.5	15.2
	着床数 (%) a)	13.8(93.0)	14.0(92.2)	14.1(90.05)	13.8(91.9)
	死亡胚・児率 (%)	4.7	7.0	7.7	14.6
	生存胎児数 性比b)	13.2 0.49	13.0 0.52	13.0 0.54	11.6 0.50

太枠は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化のないことを示す。

: 死亡例なし

a): (着床数/黄体数) × 100

b): 雄胎児数/総胎児数

表1 試験結果(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000
[帝王切開群]					
母 獣 数		23	23	23	23
体 重 (g)	雄	4.95	4.99	5.01	5.02
	雌	4.67	4.75	4.77	4.70
胎 盤 重 量 (g)	雄	0.41	0.42	0.40	0.38
	雌	0.41	0.41	0.39	0.37
外形異常 (%)	外形異常を有する胎児数	0	0	2(0.7)	0
	象鼻を伴う単眼	0	0	1 (0.3)	0
	多指	0	0	1 (0.3)	0
内臓異常 (%)	内臓異常を有する胎児数	9(8.9)	5(5.1)	3(3.0)	1(1.3)*
	片側性視神経欠損	1(1.0)	0	0	0
	食道右方転移	1(1.0)	0	0	0
	心室中隔欠損	5(5.0)	3(3.0)	0	1(1.3)
	左側臍動脈	2(2.0)	2(2.0)	1(1.0)	0
	無嗅脳	0	0	1(1.0)	0
	片側性甲状腺形成不全	0	0	1(1.0)	0
骨格異常 (%)	骨格異常を有する胎児数	1(0.5)	0	2(1.0)	0
	肋骨の癒合・胸椎弓の癒合・肋骨欠損および頸椎弓化骨不全の複合異常	1(0.5)	0	0	0
	外後頭骨と第一頸椎弓の癒合・肋骨の癒合・胸骨核の癒合および頸椎弓の欠損の複合異常	0	0	1(0.5)	0
	多指	0	0	1(0.5)	0
骨格変異 (%)	骨格変異を有する胎児数	14(6.9)	14(7.0)	15(7.5)	37(24.0)**
	頸肋	6(3.0)	3(1.5)	2(1.0)	1(0.6)
	腰肋	7(3.5)	6(3.0)	4(2.0)	11(7.1)
	第13肋骨短小	1(0.5)	1(0.5)	1(0.5)	1(0.6)
	7腰椎	1(0.5)	1(0.5)	0	1(0.6)
	椎体二分	1(0.5)	1(0.5)	0	0
	亜鈴型椎体	1(0.5)	0	0	1(0.6)
	第7頸椎横突孔の開存	0	3(1.5)	10* (5.0)	22** (14.3)
	第1仙椎の腰椎化	0	0	1(0.5)	3(1.9)
	胸骨核の癒合	0	0	0	1(0.6)
	胸骨核の分離および不相称	0	0	0	1(0.6)
化骨進行状況					

太枠は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化のないことを示す。

\* : p<0.05 \*\* : p<0.01

表1 試験結果(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000		
親動物	[自然分娩群]						
	母 獣 数	13	13	13	10		
	剖 検 所 見						
	臓 器 重 量				脾臓↓		
	出産率 (%) a)	100	100	92.3	100		
	妊娠期間 (日)	21.7	21.5	21.6	21.5		
	着 床 数	14.2	14.9	12.7	14.4		
	出生率 (%) b)	93.1	90.4	86.3	86.1		
	出 生 児 数	13.3	13.5	11.6	12.4		
	死 産 児 数	3	0	0	0		
出生児	生存率・%	0~4日	雄	95.6	88.6	97.6	96.8
			雌	97.1	90.4	100	100
		4~21日	雄	94.2	97.9	91.7	97.5
			雌	98.1	100	91.7	100
		21~56日	雄	100	100	100	100
			雌	100	100	100	100
		56~77日	雄	100	100	100	100
			雌	100	100	100	100
	体重・g	出生時	雄	5.8	5.7	5.9	5.7
			雌	5.5	5.3	5.5	5.3
		生後4日	雄	7.4	7.6	8.0	8.1
			雌	7.2	7.3	7.6	7.8
		生後21日	雄	34.9	37.5	38.3*	38.3
			雌	34.8	37.1	37.9	37.1
		生後56日	雄	232.2	252.0	253.4	257.8
			雌	171.1	182.1	170.6	168.5
		生後77日	雄	341.3	370.0	364.5	373.2
			雌	216.0	231.0	213.6	215.1
	成長分化・日	耳介の開展		3.3	3.5	3.3	3.4
		被毛の発生		11.3	11.1	11.0	11.0
		下切歯の萌出		12.5	12.6	12.7	12.3
		眼瞼開裂		16.3	16.1	15.9	16.2
		精巢下垂		27.8	25.8	24.5*	25.7
		陰開口		37.1	34.8	35.2	36.7
感覚機能 (20日齢)		0	自由落下反射 陰性 1/95 <sup>c)</sup>	0	0		
外形異常		0	0	0	0		

太枠は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化のないことを示す。

a) : (新生児を持つ母獣数/妊娠母獣数) × 100    b) : (生存新生児/着床数) × 100    c) : 発現例数/観察例数

\* : p < 0.05



表1 試験結果 (続き)

		投与量 (mg/kg/日)	0	100	300	1000		
出生児	剖検所見 (%)	3週齢	異常所見を有する児数	1(2.2)	0	0	4(10.3)	
			肝実質の横隔膜面への突出 ないし部分的癒着	1(2.2)	0	0	1(2.6)	
			腎盂腔の拡張	0	0	0	3(7.7)	
		8週齢	異常所見を有する児数	0	1(4.2)	1(4.5)	7* (35.0)	
			肝実質の横隔膜面への突出 ないし部分的癒着	0	0	0	2(10.0)	
			腎盂腔の拡張	0	1(4.2)	1(4.5)	5(25.0)	
		繁殖試験終了時	異常所見を有する児数	5(19.2)	4(16.7)	4(18.2)	6(30.0)	
			肝実質の横隔膜面への突出 ないし部分的癒着	0	0	2(9.1)	3(15.0)	
			腎盂腔の拡張	0	0	2(9.1)	1(5.0)	
	精巣の小型化		5(19.2)	3(12.5)	0	1(5.0)		
	精巣の腫大		0	0	0	1(5.0)		
	子宮旁組織の肥厚		0	1(4.2)	0	0		
	臓器重量	3週齢				雄：精巣↑ 精巣/体重↑ 雌：肝臓↑、 脾臓↑		
		8週齢		雄：肝臓↑	雄：心臓↑、 肝臓↑ 脳/体重↓ 肺/体重↓ 精巣↑ 精巣/体重↑ 雌：脳↑	雌： 腎臓/体重↑		
	骨検査 (%)	3週齢	変異	異常を有する児数	0	0	0	0
				変異所見を有する児数	4(8.7)	5(10.6)	7(17.1)	7(17.9)
				頸肋	1(2.2)	1(2.1)	3(7.3)	1(2.6)
				第1腰椎突起の分離	3(6.5)	3(6.4)	3(7.3)	3(7.7)
				第2腰椎体の形成不全	0	1(2.1)	1(2.4)	2(5.1)
				7腰椎	0	0	0	2(5.1)
				第7腰椎横突起の開存	0	0	0	2(5.1)

太枠は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化のないことを示す。

\* : p < 0.05

表1 試験結果(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000		
[ 自然分娩群 ]							
情緒検査 (4週齢)							
運動協調性 (5週齢)							
学習能 (6週齢)					雌:ゴール到達時間延長(2日目)		
出生	交配	a) 第1回目	交配数	13	12	11	10
			交尾数%	10(76.9)	11(91.7)	11(100.0)	10(100.0)
			妊娠数%	8(80.0)	9(81.8)	10(90.9)	10(100.0)
		b) 第2回目	交配数	雄 3 雌	雄 1 雌	c) -	-
			交尾数%	雄 3 雌	雄 1 雌	-	-
			妊娠数%	雄 3 雌	雄 1 雌	-	-
生殖	剖検病理組織検査 (未交尾、不妊例)		雄:両側性精巣萎縮(1)	雄:両側性精巣萎縮(1) 雌:子宮旁組織肥厚のstromal cellの過形成(1)			
	母獣数(F1)		8	9	10	10	
	体重						
児能	帝王切開所見	黄体数		13.4	14.7	13.3	12.9
		着床数(%)		11.3(84.4)	12.9(88.7)	12.3(91.9)	11.3(88.0)
		死亡胚・児率(%)		2.1	6.6	5.7	2.4
	生存胎児数性比d)		11.0 0.52	12.0 0.46	11.6 0.44	11.0 0.54	
	胎児体重(g)		雄 5.00 雌 4.66	雄 4.80 雌 4.54	雄 5.00 雌 4.69	雄 5.06 雌 4.74	
	外形異常		0	0	0	0	

太枠は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化のないことを示す。

a): 同一群の雌雄を2週間交配した。

b): 雄は無処置群の雌と、雌は同一群の生殖能が確認された雄と1週間交配した。

c): 第2回目の交配は行わなかった。

d): 雄胎児数/総胎児数

(3) ビリプロキシフェン原体のウサギを用いた催奇形性試験

(資料8-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1988年〔GLP対応〕

検体：ビリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：JW-NIBS系妊娠ウサギ（約5カ月齢）、1群15～18匹（各群の供試動物数は結果の表に示す）

試験期間：妊娠6日から18日までの13日間

試験方法：検体を約50℃で加熱融解後、室温に戻し、溶媒を使用せず、そのままを100、300 および1000mg/kgの投与レベルで妊娠6日から18日までの13日間、毎日1回経口投与した。なお、投与は投与開始時の体重を基準に比重換算して行った。対照群には滅菌蒸留水を1ml/kgの割合で同様に投与した。交配は毎日午前中に雌雄1：1で同居させ、交尾状況を観察し、交尾が2～3回確認された雌および1回でも膈垢中に精子が認められた雌を交尾成立とし、この日を妊娠0とした。

試験項目：

〔親動物〕

一般状態および生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15、18、22、25および28日に体重を測定した。また、妊娠0日を除く、各体重測定日に摂餌量を測定した。妊娠28日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。また、胸部および腹部の剖検を行った。

〔生存胎仔〕

全生存胎児について、性別、体重、外表および内臓異常の観察を行った後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果：親動物の300mg/kg以上の投与群で軟便、削瘦、被毛光沢不良、自発運動減少および呼吸緩徐あるいは呼吸深大等の症状が発現し、流・早産がみられた。1000mg/kg投与群では初回投与後から妊娠25日まで体重および摂餌量の低値が認められ、死亡例もみられた。これら流・早産、死亡および強制屠殺動物の剖検所見として、胃の内出血痕、盲腸の内出血痕、うっ血および内容物の状態（性状、色および粘張度）の変化等がみられ、摂餌不良との関連性が窺われた。

胎児動物に対しては1000mg/kg投与群で流・早産による生存胎児数の減少がみられた以外、検体投与の影響はみられなかった。全投与群の生存胎児および1000mg/kg投与群の流・早産児についても催奇形性は認められなかった。

以上の結果から、ピリプロキシフェン原体を妊娠ウサギに投与したときの母体における最大無作用量は100mg/kg/日であった。胎児に対する最大無作用量は、胚児致死作用、催奇形作用もなく、胎児発育に影響の認められなかった300mg/kgと考えられた。

また、流・早産を誘発した1000mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

## 試験結果

投与群 (mg/kg)		対 照	100	300	1000	
1群あたり動物数		15	17	15	18	
親動物	一般状態	軟便 脱毛 クシャミ	軟便	軟便、 消瘦、 被毛光沢 不良、 自発運動 減少、 呼吸緩徐、 呼吸深大	軟便、 消瘦、 被毛光沢 不良、 自発運動 減少、 呼吸緩徐、 呼吸深大、 下痢、 粘液便、 起立不能	
	妊娠数 (率)	15(100)	13(76.5)	14(93.3)	13(72.2)	
	除外動物数 <sup>a)</sup>	1	1	0	0	
	試験成立動物数	14	12	14	13	
	体重変化 [妊娠6日の体重を基準とした変化(kg)]	妊娠12日	0.04	0.02	0.01	-0.12**
		妊娠18日	0.11	0.10	0.02	-0.29**
		妊娠25日	0.18	0.18	0.06	-0.12*
		妊娠28日	0.19	0.22	0.17	0.16
	摂餌量 (g/体重kg)	妊娠12日	49	46	46	26**
		妊娠18日	45	44	37	13**
		妊娠25日	37	38	30	25
		妊娠28日	34	37	33	37
	流・早産数 (率)	1(7.1)	0(0)	3(21.4)	6(46.2)	
	死亡・屠殺数 (率)	0(0)	0(0)	0(0)	3(23.1)	
	生存胎児が得られた動物数	13	12	11	4	
子宮内所見	黄体数	8.9	8.8	9.7	8.0	
	着床数 (率)	8.0(89.9)	8.1(92.0)	8.6(88.7)	7.0(87.5)	
	生存胎児数 (率)	7.2(90.0)	7.6(93.8)	8.1(94.2)	6.5(92.9)	
	死亡・吸収胚数 (率)	0.8(9.6)	0.5(6.2)	0.6(6.3)	0.5(7.1)	
胎児	平均体重 (g)	雄	34.73	36.31	38.28	36.55
		雌	37.11	35.28	36.42	38.41
性比 (雄/雌×100)	100	133	89	117		
外表異常	検査胎児数	94	91	89	26	
	奇形を有する胎児数 (率)	頭蓋裂	1(1.1)	0(0)	0(0)	0(0)
		口蓋裂	1(1.1)	0(0)	0(0)	0(0)
		左手関節屈曲拘縮	0(0)	1(1.1)	0(0)	0(0)
		外反手	1(1.1)	0(0)	0(0)	0(0)
		臍帯ヘルニア	1(1.1)	0(0)	0(0)	0(0)

試験結果 (続き)

投与群 (mg/kg)		対 照	100	300	1000		
1 群あたり動物数		15	17	15	18		
胎 児	骨 格 異 常	検査胎児数	93	90	89	26	
		奇形を有する胎児数 (率)	趾骨末節骨欠損	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)
		軽度なる異常を有する胎児数を数 (率)	頸椎癒合	12(12.9)	9(10.0)	0(0)	2(7.7)
			胸骨核非対称	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)
			指骨末節骨形成不全	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)
			趾骨末節骨形成不全	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)
		変異を有する胎児数 (率)	頸椎体分離	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)
			頸椎体変形	5(5.4)	0(0)	0(0)	1(3.8)
			尾椎体偏位	0(0)	1(1.1)	3(3.4)	0(0)
			13肋骨	7(7.5)	3(3.3)	5(5.6)	2(7.7)
	胸骨核分離		0(0)	0(0)	0(0)	1(3.8)	
	舌骨体分離		12(12.9)	5(5.8)	3(3.4)	0(0)	
	舌骨弓短小		1(1.1)	1(1.1)	0(0)	1(3.8)	
	舌骨弓湾曲		1(1.1)	2(2.2)	1(1.1)	3(11.5)	
	化骨進行未化骨を有する胎児数 (率)	第5、6胸骨核	8(8.8)	17(18.9)	19(21.3)	1(3.8)	
		第1指列中手骨	0(0)	0(0)	2(2.2)	0(0)	
		第5趾列中節骨	2(2.2)	0(0)	1(1.1)	0(0)	
	内 臓 異 常	検査胎児数	93	90	89	26	
		奇形を有する胎児数 (率)	嚢胞肺	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)
			心室中隔欠損	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)
左心耳形成不全			0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)	
総動脈幹遺残			0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)	
胆嚢欠損			0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)	
軽度の異常を有する胎児数 (率)		左奇静脈遺残	0(0)	0(0)	1(1.1)	0(0)	
変異を有する胎児数 (率)		後大静脈走行異常	17(18.3)	14(15.6)	14(15.7)	9(34.6)	
		右鎖骨下動脈走行異常	5(5.4)	0(0)	5(5.6)	0(0)	
		虫垂分岐	0(0)	2(2.2)	2(2.2)	1(3.8)	

a) : 対照群の1例は右側前胸部骨折のため妊娠13日に、100mg/kg投与群の1例は初回投与当日までの体重および摂餌量減少のため試験から除外した。

統計学的方法 : t-検定、\* : p<0.05、\*\* : p<0.01

(4) ピリプロキシフェン原体のラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験

(資料8-4)

試験機関：株式会社 生物科学技術研究所

報告書作成年：1988年【厚生省GLP 対応】

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：SD系ラット

(供試時 雄：6週齢、体重153.5~189.6g、雌：9週齢、体重177.3~224.6g)

投与期間：雄：同居開始の9週間前より交配期間終了までの12週間

雌：同居開始の2週間前より交配期間を含め妊娠7日<sup>a)</sup>まで

a) 膣栓または膣垢中に精子を確認した日を妊娠0日として起算した。

投与方法：検体をコーンオイルで希釈し、100、300、500および1000mg/kgの投与量で、1日1回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒であるコーンオイルのみを投与した。

**試験項目：**

**親動物：**一般症状および生死について毎日観察した。体重、摂餌量および摂水量の測定を雌雄ともに投与開始時より同居時までそれぞれ週2回、妊娠期間中の雌については妊娠0日（ただし摂餌量および摂水量は妊娠1日）から8日までの毎日と以降12、16、21日に行った。また、雄については交配開始時より剖検まで週1回体重を測定した。

雄の15週齢、雌の11週齢時に交配を開始し、交尾率および受胎率を求めた。

すべての雄を交配試験が終了した時点で、交尾が確認された雌を妊娠21日に屠殺し、剖検するとともに、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、心臓、肺、胸腺及び精巣（精巣上体を含む）の重量を測定した。雌については妊娠の成否を確認した。

**胎児：**すべての妊娠母体について、卵巣と子宮を摘出して黄体数を数え、子宮内の初期死亡、後期死亡および生存胎児の位置と数を調べた。生存胎児については個別に体重および胎盤重量を測定し、雌雄を判別したのち、外形異常の有無を精査した。各母体の約1/3の胎児についてはブアン固定を行い、Wilson法により内臓検査を行い、残りの約2/3の胎児については95%アルコール固定後Dawson法により作成された骨格標本にて骨格検査を行った。

**試験結果：**結果の概要は別表に示す通りである。

**親動物：**500mg/kg以上の投与群の雌雄および300mg/kg投与群の雌に肛門周囲の被毛の汚れを伴った軟便ないし下痢便の排泄、肛門部の発赤・腫脹が概ね用量依存的に認められ、1000mg/kg投与群の雌の少数例では消瘦および自発運動の減少が加わることもあり、このうち2例が死亡した。

雄の体重は1000mg/kg投与群で投与初期に減少し、その後も有意に増加抑制された。500および300mg/kg投与群の体重はそれぞれ投与中期から有意に増加抑制された。雌の体重は500mg/kg以上の投与群で投与3日に有意な減少ないし増加抑制を示し、その後も当該群の体重は試験期間を通じ低値に推移した。300mg/kg投与群の体重も交配前投与期間中に軽度ながら増加抑制された。

雄の摂餌量は1000mg/kg投与群で投与初期に有意に減少した。雌の摂餌量は500mg/kg以上の投与群で初期投与に有意に減少した。

各検体投与群の雄の摂水量は投与3日以後試験期間を通じ概ね用量依存的かつ有



意に増加した。雌の500mg/kg以上の投与群の摂水量も投与3日からその後の同居前の投与期間および妊娠中期まで有意に増加し、1000mg/kg投与群でより顕著であった。また、300mg/kg投与群の摂水量も妊娠3日以降の投与期間中に軽度ではあるが有意に増加した。

雄の剖検では300mg/kg以上の投与群に肝臓、腎臓および副腎の腫大が認められた。このうち、肝臓では実質の暗褐色化を、腎臓では表面の粗造化を伴っており、これらの変化の程度はいずれも用量依存的であった。また、胸腺の萎縮が1000mg/kg投与群の半数例と300および500mg/kg投与群の各1例に認められた。雄の臓器重量の測定では100mg/kg以上の投与群の肝臓、腎臓および副腎重量が肉眼的な所見と同様に概ね用量依存的に増加または増加傾向を示し、300mg/kg以上の投与群の胸腺重量が概ね用量依存的に減少ないし減少傾向を示した。その他、体重の低値を反映する重量変動が認められた。

雌の剖検では死亡例に肝臓の鬱血および腫大、胸腺および脾臓の萎縮、副腎の腫大ならびに幽門部付近の胃粘膜における粟粒大の潰瘍が認められたが、生存例には検体投与の影響は認められなかった。雌の臓器重量の測定では100mg/kg以上の投与群の腎臓重量が有意に増加した。1000mg/kg投与群の副腎、胸腺および脾臓重量が増加ないし増加傾向を示した。

繁殖能：交尾率および受胎率はともに対照群との間に差がなく、また、不妊動物の剖検および組織学的検査においても不妊の原因と考えられる所見は得られなかった。

胎児：1000mg/kg投与群の黄体数が対照群に比べて有意な低値を示したが、この黄体数の低下は軽度なものであり、背景データと比べて正常範囲内であることから検体投与の影響はないと考えられた。

100、500および1000mg/kg投与群の着床数は対照群と比べて有意ではないが、極く軽度な低値を示した。このことにより着床率も100および500mg/kg投与群で軽度ながら有意な低値を示した。しかし、この変動は軽度なもので、かつ用量依存性がなく検体投与の影響とは考えられず、着床阻害作用は認められなかった。生存胎児数は100および1000mg/kg投与群で若干低値を示した。しかしながら、これらの変動も極く軽度なもので、かつ用量依存性がなく、背景データと比べても正常範囲内の変動であった。さらに、各群の黄体数、着床数および着床率には影響なく、胚・児死亡率にも差がないことからこれらの生存胎児数の軽度な変動が検体投与による影響とは考えられなかった。

各検体投与群の胎児体重は軽度ながら高値を示した。しかし、この変動も軽度で、しかも用量依存性がなかった。一般に一腹の胎児数と胎児体重は反比例することが知られている。当該試験においては胎児数と胎児体重との間に高い相関性は認められなかったが、胎児数の少ない腹では胎児体重が比較的高い傾向を示し、当該群でみられた胎児体重の軽度な高値は胎児数の低値に関連する可能性が考えられた。さらに背景データと比較してもその範囲内か、あるいはその値に近似しており、いずれにしても検体投与による影響とは考え難かった。また、1000mg/kg投与群の胎盤重量がその原因は不明であるが軽度に高値を示した。

外形、内臓および骨格異常は検体投与により増加せず、骨格変異にもその影響は認められなかった。骨化進行状況では各投与群の前肢基節骨の骨化数が対照群と比べ若干の高値を示したが、胎児の体重と骨化数が密接に関連することはよく知られており、当該群でみられた骨化数の増加は前述の胎児体重の高値に関連する変動と考えられた。

ピリプロキシフェン原体の投与により、雄の500mg/kg以上、雌の300mg/kg以上で軟便、下痢便および肛門部の発赤・腫脹等が発現し、雌の1000mg/kgで24例中2例が死亡した。雌雄とも300mg/kg以上で体重増加が抑制され、雄の1000mg/kgおよび雌の500mg/kg以上で投与初期の摂餌量の減少が、さらに雄の100mg/kg以上および雌の300mg/kg以上で摂水量の増加がみられた。雄の300mg/kg以上で肝臓の暗褐色化・腫大、腎臓の粗面・腫大および副腎の腫大が、主に1000mg/kgで胸腺の萎縮がみられたが、雌では影響はなかった。臓器重量では、雄の100mg/kg以上で肝臓、腎臓および副腎重量の増加ないし増加傾向並びに300mg/kg以上で胸腺重量の低値ないし低値傾向が、雌では100mg/kg以上で腎臓重量の増加ないし増加傾向が、更に1000mg/kgで副腎、胸腺および脾臓重量の増加ないし増加傾向が認められた。

雌雄ラットの繁殖能には影響はなかった。

排卵および着床阻害はなく、胚・児致死作用および胎児の発育抑制作用ならびに催奇形作用も認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下におけるピリプロキシフェン原体の親動物に対する一般毒性学的最大無作用量は、摂水量および臓器重量に軽度ながらその影響がみられたことから100mg/kg/日以下と考えられるが、雌雄ラットの繁殖能および胎児に対する最大無作用量は1000mg/kg/日以上であった。

別表

投与群(mg/kg/day)			0	100	300	500	1000
1群当り動物数			♂24, ♀24	♂24, ♀24	♂24, ♀24	♂24, ♀24	♂24, ♀24
親	死	雄	0	0	0	1 <sup>a)</sup>	0
		雌	0	0	0	0	2
親	一般症状						
	雄	軟便・下痢便	0	0	0	20	24
		肛門部発赤・腫脹	0	0	0	22	24
	雌	軟便・下痢便	0	0	9	22	24
		肛門部発赤・腫脹	0	0	1	9	23
		消瘦	0	0	0	0	6
		自発運動減少	0	0	0	0	4
動物	体	重			低値	低値	低値
					低値	低値	低値
動物	摂	餌					低値
		量				低値	低値
動物	摂	水		増加	増加	増加	増加
		量			増加	増加	増加
動物	剖検所見						
	雄	肝臓 暗褐色化	0	0	21	23	24
		腫大	0	0	18	21	22
		腎臓 粗面	0	0	8	22	22
		腫大	0	0	1	6	16
		副腎 腫大	0	0	12	18	24
	胸腺 萎縮	0	0	1	1	12	

太枠内は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化がないことを示す。

a) : 交尾成立後、誤投与による死亡

(つづく)

別表 (つづき)

投 与 群 (mg/kg/day)		0	100	300	500	1000	
親	臓器重量 (雄)	胸腺 絶対 相対			▽ 89	▼ 78 ▽ 89	▼ 58 ▼ 74
		心臓 絶対 相対				▼ 92 △105	▼ 84 ▲107
		肺 絶対				▽ 89	▼ 84
		肝臓 絶対 相対		▲108	▲123 ▲131	▲124 ▲141	▲127 ▲162
		脾臓 絶対				▼ 86	▼ 78
		腎臓 絶対 相対		▲110	△109 ▲116	▲122	△108 ▲138
		副腎 絶対 相対		△108 ▲113	▲128 ▲137	▲136 ▲156	▲162 ▲208
		精巣 絶対 相対			△105	▽ 95 ▲110	▼ 93 ▲118
動物	臓器重量 (雌)	胸腺 相対				△113	
		肺 絶対 相対			▼ 93 ▽ 95		
		脾臓 相対					△110
		腎臓 絶対 相対		▲108	△105	▲108	▲108 ▲112
		副腎 絶対 相対					▲110 ▲114
繁殖能	b) 第一回目	交 配 数	24	24	24	24	22
		交尾数 (% <sup>c)</sup> )	22(91.7)	24(100)	23(95.8)	24(100)	21(95.5)
		妊娠数 (% <sup>d)</sup> )	20(90.9)	24(100)	22(95.7)	23(95.8)	18(85.7)
	e) 第二回目	交配数	2	—	1	—	1
		交尾数 (%)	2(100)	—	1(100)	—	1(100)
		妊娠数 (%)	2(100)	—	1(100)	—	1(100)

太枠内は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化がないことを示す。  
臓器重量の数値は統計学的に有意差を示したものを対照群値に対する百分率(%)で示す。  
有意差の検定はStudent-T検定またはWelch検定を行った(△、▽: p<0.05、▲、▼: p<0.01)  
—: 該当する動物なし。

b): 同一群の雌雄を2週間同居させた。ただし、1000mg/kgの雌2例が死亡したことにより、第一回目の検査に供しなかった雄2例について第2回目検査で無処置雌と同居させたところ、2例中1例が交尾し、その交尾成立雌は妊娠成立していた。

c): (交尾成立数/同居数) × 100

d): (妊娠成立数/交尾成立数) × 100

e): 雄は無処置の雌と、雌は同一群の繁殖能が確認された雄と1週間同居させた。(つづく)

別表 (つづき)

投与群 (mg/kg/day)		0	100	300	500	1000	
子宮内所見	母 獣 数	22	24	23	23	19	
	平均黄体数	15.8	15.4	15.9	15.3	▼14.2	
	平均着床数 (%) <sup>f)</sup>	14.9 (93.6)	13.4 ▼(87.1)	15.1 (95.2)	14.0 ▼(91.8)	13.5 (94.9)	
	胚・児死亡率 (%)	3.7	5.8	4.6	6.6	6.3	
胎児所見	平均生存胎児数	14.3	▽12.6	14.4	13.1	▽12.6	
	性 比 <sup>g)</sup>	0.47	0.50	0.49	0.52	0.50	
	平均体重 (g)	雄	4.82	▲5.11	4.94	▲5.04	▲5.11
		雌	4.58	▲4.87	△4.72	▲4.76	▲4.86
	胎盤重量 (g)	雄	0.40	0.42	0.41	0.41	▲0.44
		雌	0.40	0.41	0.41	0.41	▲0.44
	外形異常 (%)	異常を有する胎児数 (%)	1(0.3)	0	0	1(0.3)	0
		内反足	1(0.3)	0	0	0	0
		片側足・内反手・痕跡尾 および鎖肛の複合異常	0	0	0	1(0.3)	0
	内臓異常 (%)	異常を有する胎児数	10(9.5)	3(3.0)	7(6.3)	4(3.9)	2(2.5)
		片側性甲状腺形成不全	1(1.0)	0	0	0	0
		奇静脈形成不全を伴う半 奇静脈の遺残	0	0	1(0.9)	0	0
		奇静脈の起始異常	2(1.9)	0	2(1.8)	0	0
		左椎骨動脈の起始異常	0	0	0	1(1.0)	0
		血管輪	1(1.0)	0	0	0	0
心室中隔欠損		2(1.9)	2(2.0)	0	1(1.0)	0	
右冠状動脈口の過剰		0	0	0	0	1(1.3)	
左側臍動脈		5(4.8)	1(1.0)	4(3.6)	2(2.0)	1(1.3)	
骨格異常 (%)	異常を有する胎児数	0	0	0	1(0.5)	0	
	脊椎の複合異常	0	0	0	1(0.5)	0	

空欄は特記すべき変化がないことを示す。

有意差の検定は Student-t 検定または Welch 検定を行った (△、▽: p<0.05、▲、▼: p<0.01)

f): (着床数/黄体数) ×100

g): 雄胎児数/生存胎児数

別表 (つづき)

投与群 (mg/kg/day)		0	100	300	500	1000	
胎 児 所 見	骨 格 変 異 (%)	変異を有する胎児数	10 (4.8)	13 (6.4)	11 (5.0)	5 (2.5)	11 (6.9)
		頸肋	1 (0.5)	2 (1.0)	0	0	2 (1.3)
		腰肋	7 (3.3)	2 (1.0)	6 (2.7)	3 (1.5)	6 (3.8)
		第 13 肋骨短小	0	1 (0.5)	0	0	0
		5 腰椎	1 (0.5)	0	0	0	0
		胸骨核癒合	1 (0.5)	0	0	0	0
		胸骨核不相称および分離	0	0	0	1 (0.5)	0
		亜鈴型椎体	1 (0.5)	1 (0.5)	0	0	0
		椎体二分	0	1 (0.5)	2 (0.9)	1 (0.5)	1 (0.6)
		第 7 頸椎横突孔開存	0	△ <sup>a)</sup> 6 (3.0)	3 (1.4)	0	3 (1.9)
骨化進行状況 <sup>b)</sup> 前肢基節骨骨化数		6.7	△7.4	7.2	▲7.4	▲7.6	

空欄は特記すべき変化がないことを示す。

有意差の検定は Student-t 検定または Welch 検定を行った (△、▽: p < 0.05、▲、▼: p < 0.01)

a) : 有意差の検定は Wilcoxon の順位和検定または  $\chi^2$  検定を行った (△: p < 0.05)

b) : 舌骨、胸骨核および頸椎弓の骨化状態ならびに指趾骨、頸椎体、胸骨核および仙尾椎骨の骨化数を指標とした。

(5) ピリプロキシフェン原体のラットにおける周産期および授乳期投与試験

(資料8-5)

試験機関：株式会社 生物科学技術研究所

報告書作成年：1988年 [厚生省 GLP 対応]

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：SD系妊娠ラット<sup>a)</sup> (1群 23~24匹、交配開始時：11週齢、体重 213.8~285.0g)

a) 11週齢に達した雌雄1対をケージ内で終夜同居させて交配を行い、翌朝、  
膣栓または膣垢中に精子を確認した雌ラットを供試した。

投与期間：妊娠17日<sup>b)</sup>から分娩後20日まで

b) 膣栓または膣垢中に精子を確認した日を妊娠0日として起算した。

投与方法：検体をコーンオイルで希釈し、30、100、300および500 mg/kgの投与量(投与液量：  
5 ml/kg体重の割合)で1日1回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒であるコー  
ンオイルのみを投与した。

試験項目：試験の概要参照

親動物：一般症状および生死について毎日2回観察した。体重、摂餌量および摂水量の測定に  
ついては、妊娠期間中では妊娠0日、4日、7日、14日および17日以降の毎日、授  
乳期間中では分娩当日(分娩0日)、4日、7日、14日および21日に行った。但し、摂  
取量・摂水量は妊娠0日、分娩0日の代わりに妊娠1日、分娩後1日に測定した。  
離乳時(分娩後21日)に親動物は安楽死させ、剖検するとともに、心臓、肺、肝臓、脾  
臓、腎臓、副腎、胸腺および卵巣の重量を測定した。また、子宮の着床痕数を調べ、  
出生率(出産生存児数÷着床痕数×100)を算出した。

尚、全ての親動物は自然分娩させ、分娩時に児の生死の観察を行い、出生率(生存児を  
出産した母体数÷妊娠動物数×100)および妊娠期間を算出した。

出生児：出生児の性別および外形異常の観察を行った。出生児の体重測定は、出生時、生後4、  
7、14および21日に行った。

生後4日に1腹の児数が雄4匹、雌4匹になるよう選抜し、各種検査に供した。  
授乳期間中、哺育状態および出生児の成長分化(離乳以降の生殖器の分化を含む)を観察し、生存率(生後4日の児数調整直前生存児数÷出産時の生存児数)、離乳率(離乳時の生存児数÷生後4日の児数調整直後生存児数)を算出した。

3週齢時に離乳させ、離乳後の各種検査に供する1腹当り雌雄各2匹を残し、剖検を実施すると共に、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣(精巣上体を含む)および卵巣の重量を測定した。

8週齢時には学習能の検査を終えた児について、剖検し、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣(精巣上体を含む)および卵巣の重量を測定した。

尚、生後4日に選抜されなかった児については骨格検査を行った。

#### [感覚機能検査]

生後20日に全生存児を対象に視覚性置き直し反射、疼痛反応、Preyer反射、正向反射および自由落下反射により視覚、痛覚、聴覚、その他感覚反射機能の発達について検査した。

#### [情緒および運動協調性検査]

1腹当り雌雄各1匹の出生児について、4週齢時に情緒検査(Open field test)、5週齢時に運動協調性検査(回転棒法)を行った。

#### [学習能検査]

情緒および運動協調性検査に供した動物について、6週齢時にWater filled multiple T-maze法で学習能検査を行った。第1日目に直線水路、第2、3日目に水迷路をそれぞれ5回遊泳させて、エラー数やゴール到達所要時間を5試行の合計で算定した。

#### [繁殖能検査]

学習能検査に供さなかった1腹当り雌雄各1匹について、繁殖能検査に供した。それらの動物について、交配終了まで一般状態を2回/日観察し、離乳後から11週齢まで週1回体重測定を行った。

11週齢時に同一群内で兄妹交配を避け、雌雄1対1で、2週間を限度で交配させた。交尾が確認されなかった雌雄については、雄は無処理の雌、雌は同一群内の授胎能が確認された雄とさらに1週間を限度で同居、交配させた。

これら動物につき、交尾率(交尾成立数÷同居数×100)および、受胎率(妊娠成立数÷交尾成立数×100)を求めた。F1妊娠動物は、3日毎に体重測定を行い、妊娠21日に帝王切開し、卵巣、子宮を摘出して黄体数、子宮内の吸収胚、浸軟・死亡胚および生存胎児の位置と数の確認を行った。

生存胎児については、体重を測定し、性別・外形異常の有無を確認した。

なお、授胎能が確認された雄については剖検し、未交尾雌については、性周期観察(2週間陰垢採取)を行い、さらに不妊・未交尾雌雄ラットについては、剖検後、子宮、卵巣、精巣、精嚢腺、前立腺の病理組織学的検査を行った。

試験結果：結果の概要は別表に示す通りである。

親動物；500 mg/kg 群で24例中2例の死亡(投与5日目発現。その他、誤投与による死亡が1例あり)が認められた。試験期間中の中毒症状としては、500 mg/kg 群で軟便・下痢便



の排泄が投与4日ではほぼ全例観察されたが、発現後1週間で軽減・消失し、かわって、この頃から、約1/3例に肛門部発赤・腫脹が見られた。その他、自発運動の減少、粗毛、体温低下、流涙等が認められ、少数例に一過性の流涎が観察された。300 mg/kg群では、軟便・下痢便の排泄が3例に投与2～5日の間に散見され、また、投与後半には一過性の流涎が2例観察された。100 mg/kg以下の投与群では特記すべき中毒症状は観察されなかった。

体重については、500 mg/kg群で妊娠17日(初回投与)を基準とした増加量において、妊娠期間を通じて有意な低値が認められたが、授乳期間中では分娩後4日から体重増加量は高値を示し、分娩後21日の体重は対照群とほぼ同程度にまで回復した。300 mg/kg群においては、体重増加抑制の傾向が見られ、妊娠19日～21日の体重増加量は有意な低値を示した。同群の授乳期間中の体重増加量は、授乳後期で高値を示した。摂餌量については、300 mg/kg以上の群において、妊娠期間中、有意な低値を示し、分娩後4、21日にも軽度な低値が見られた。100 mg/kg以下の投与群では分娩後4日に軽度な低値を示したが、この変動は軽度なもので、その後の授乳期間には一定の傾向をもつ変動は認められず検体投与の影響とは考えられなかった。摂水量については、300 mg/kg以上の投与群で有意な高値が散見されたが、100 mg/kg以下の投与群では検体投与によると考えられる一定の傾向は見られなかった。

離乳時の剖検においては、500 mg/kg群で少数例に肝臓の大型化が認められた。また、死亡例および中毒症状が比較的重度に発現した例では脾臓の萎縮、副腎の腫大、胸腺の萎縮および肝臓の鬱血ないし胃底腺部の潰瘍が観察された。臓器重量では、300 mg/kg以上の投与群で肝臓の絶対重量、相対重量(対体重比)が有意に高値を示した。分娩時の観察として、500 mg/kg群では中毒症状が比較的重度に発現した2腹に死産児が集中して発現し、総死産児数は対照群6例に対し、500 mg/kg群では26例であり、500 mg/kg群の出生率には有意差はないものの、若干の低値傾向を示した。妊娠期間は300 mg/kg群で有意な短縮が見られたが、軽度かつ用量との関連も認められなかった。

出生児：生後4日の生存率は、500 mg/kg群で若干低値を示し、雌では有意差が認められた。また、離乳時(生後21日時)の生存率(離乳率)は、500 mg/kg群で雌雄とも有意な低値を示した。

体重については、300 mg/kg以上の群で有意な低値を示し、生後8週(生後56日)まで有意差が認められた。さらに、成長分化の観察においては、300 mg/kg以上の投与群で耳介の開展、腹部被毛の発生、眼瞼開裂および下切歯萌出の所要日数の有意な延長、あるいは延長傾向が見られた。生殖器分化では、300 mg/kg群で精巣下垂、500 mg/kg群で陰開口に至る日齢の有意な遅延が認められ、当該群における発育抑制が示唆された。

感覚機能検査においては、300 mg/kg群、500 mg/kg群で各2例が自由落下反射陰性を示し、このうち500 mg/kg群の1例ではPreyer反射、視覚性置き直し反射でも陰性であった。これらの出生児はいずれも発育不良であり、500 mg/kg群の2例は生後23日、24日に死亡した。

外形異常はいずれの群にも認められなかった。

3週齢、8週齢および繁殖能検査終了時に剖検を行った結果、3週齢時では300 mg/kg以上の投与群で腎盂腔の拡張の発現頻度が高値を示した。また、500 mg/kg群では膀胱壁の肥厚ないし充血の発現頻度の高値も認められた。なお、異常所見を有する出生児の発現頻度は、300 mg/kg以上の投与群で有意に高値を示した。しかしながら、8週齢時および繁殖能検査終了時では、腎盂腔の拡張、精巣・精囊腺の小型化、精巣腫大等が対照群も含め散見されたが、検体投与による影響は認められず、腎盂腔の拡張の原因としては、腎乳頭の一時的な発育遅延に基づくものであって、発育に伴って消失もしくは認め難くなったと考えられた。

臓器重量の測定においては、3週齢時では500 mg/kg群の雌心臓重量除いて、300 mg/kg以上の群で測定された全臓器(心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣、卵巣)の実重量の低値を示した。また、これらの臓器の相対重量の高値あるいは低値が認められたが、体重の増加抑制に起因した変化と考えられた。8週齢時の臓器重量測定においても、種々の臓器において統計的に有意な変化がみられたが、検体投与による影響ではないと考えられた。

骨格検査(生後4日齢)において、検体投与による影響は認められなかった。骨格検査(3週齢)においても、全例で骨格異常は観察されず、骨格変異では頸肋、第1腰椎横突起分離、第2頸椎体の骨化不全、第13肋骨の骨化不全、過剰胸骨核が各群で散見されたが、検体投与による有意な増加は認められなかった。

情緒検査(Open field test)では、100 mg/kg以上の投与群の雄で区画移動数の高値が見られ、100 mg/kg群の雄で立ち上がり回数の高値、排便個数の高値ならびに30および300 mg/kg群の雄で洗顔回数の高値が認められたが、各項目間に関連がなく用量との関連もなかったことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

運動協調性検査(回転棒法)では、検体投与群と対照群との間に差は認められなかった。学習能検査においては、100mg/kg群の雌でゴール到達時間の遅延、300mg/kg群の雄でゴール到達時間の短縮が見られたが、用量との関連はなく、検体投与による影響ではないと考えられた。

繁殖能検査では、11週齢時に第1回交配、交尾が確認されなかった雌雄について、2週間後に第2回交配を行ったが、交尾率および受胎率はともに対照群との間に差がなく、また、不妊動物を剖検し生殖器の病理組織学的検査を実施した結果、30、100、500 mg/kg群の雄各1例で両側性の精巣萎縮が見られた以外は、特記すべき異常は観察されなかった。

F1妊娠動物の妊娠期間中の体重増加量は投与群と対照群で差はなかった。

帝王切開所見では、500 mg/kg群で着床数が軽度ながら有意に低下し、生存胎児数が有意に低値であった。30 mg/kg群でも、黄体数および着床数が軽度ながら有意な低値を示し、生存胎児数も低値であった。しかしながら、着床率および胚・児死亡率に、有意差はなく、変化の程度も軽度で用量との関連もなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。F2胎児の体重、性比および外形異常に検体投与による影響は認められなかった。

ピリプロキシフェン原体の投与により、500 mg/kg で軟便・下痢便の排泄、肛門部の発赤・腫脹、自発運動減少、粗毛、体温低下、流涙等が発現し、2例が死亡した。300 mg/kg では軟便・下痢便の排泄が少数例に散見された。300 mg/kg 以上で体重の増加抑制、摂餌量の減少、および摂水量の増加がみられた。剖検では、500 mg/kg 群で少数例に肝臓の大型化が認められ、また、死亡例および中毒症状が比較的重度に発現した例では脾臓の萎縮、副腎の腫大、胸腺の萎縮および肝臓の鬱血ないし胃底腺部の潰瘍が観察された。300 mg/kg 以上の投与群では肝臓重量の高値が認められた。

出生児については、500 mg/kg で死産児増加に伴う出生率の低下傾向が認められ、軽度ではあるが授乳期間中の生存率の低下が見られた。300 mg/kg 以上で出生児の体重増加抑制、成長分化の遅延が観察された。

外形検査、骨格検査では検体投与による影響はなく、3週齢の剖検時には300 mg/kg 以上で腎盂腔の拡張、500 mg/kg で膀胱壁の肥厚・充血の発現頻度が増加した。8週齢および繁殖能検査終了時の剖検では当該所見の発現頻度増加は見られなかった。

出生児の感覚機能の発達、情緒・運動協調性、学習能および繁殖能については、検体投与による影響は見られなかった。

以上の結果から、本試験条件下におけるピリプロキシフェン原体の親動物および出生児に対する無毒性量はいずれも100 mg/kg/日と考えられた。

試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	交配 妊娠	雌雄 1 対 1 で終夜同居 翌朝、膣栓および膣内精子で交尾確認 (妊娠 0 日)	<b>親動物</b> 一般状態観察、生死確認(2 回/日) 体重：妊娠期間 妊娠 0、4、7、14 日および 17 日以降毎日 授乳期間 分娩当日(0 日)、4、7、14 および 21 日 摂餌量・摂水量： 妊娠期間 妊娠 1、4、7、14 日および 17 日以降毎日 授乳期間 分娩後 1、4、7、14 および 21 日 分娩時の観察：児の生死数 剖検(分娩後 21 日、離乳時)： 主要臓器の肉眼的観察、臓器重量測定(心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、卵巣)、子宮内検査(着床痕数の観察)  <b>出生児</b> 分娩時の観察：性別、外表異常の有無 体重：出生時、生後 4、7、14 および 21 日 哺育状態 成長分化観察 生存率および離乳率 骨格検査 (生後 4 日に選抜されなかった児動物) 感覚機能検査：生後 20 日齢全児動物対象 各種検査用以外の動物 離乳時剖検 (3 週齢)：主要臓器の肉眼的観察、臓器重量測定(心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣 (精巣上体を含む)、卵巣) 情緒・運動協調性検査および学習能検査用動物 情緒検査 (4 週齢)：Open Field Test 運動協調性検査 (5 週齢)：回転棒法検査 学習能検査 (6 週齢)：Water filled multiple T-maze test 剖検 (8 週齢)：主要臓器の肉眼的観察、臓器重量測定(脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣 (精巣上体を含む)、卵巣)
	出産 哺育	生後 4 日：同腹児数の調整 (雌雄各 4 匹/腹)	
F1	離乳	F1 動物の選抜 ・各腹雌雄各 1 匹： 情緒・運動協調性検査および学習能検査用 ・各腹雌雄各 1 匹： 繁殖能検査用 ・残り (各腹雌雄各 2 匹)： 離乳時剖検	情緒・運動協調性検査および学習能検査用動物 情緒検査 (4 週齢)：Open Field Test 運動協調性検査 (5 週齢)：回転棒法検査 学習能検査 (6 週齢)：Water filled multiple T-maze test 剖検 (8 週齢)：主要臓器の肉眼的観察、臓器重量測定(脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣 (精巣上体を含む)、卵巣)
	生育		
	交配	生後 11 週齢： 同一群内で雌雄 1 対 1 で終夜同居、交配(2 週間を限度)  交尾不成立の場合； 雄は無処理の雌、雌は同一群内の授胎能が確認された雄と交配(1 週間を限度)	<b>繁殖能検査用動物</b> 一般状態観察 (2 回/日) 体重測定(離乳後 11 週齢まで 1 回/週) 繁殖能検査 母動物の体重測定(妊娠後 3 日毎) 母動物の帝王切開(妊娠 21 日)： 剖検、黄体数、子宮内の吸収胚、浸軟・死亡胚および生存胎児の位置、数の確認 生存胎児の観察：体重測定、性別、外形異常の有無観察 授胎能が確認された雄：剖検 未交尾雌：性周期観察 (2 週間膣垢採取) 不妊・未交尾雌雄ラット： 剖検後、子宮、卵巣、精巣、精囊腺、前立腺の組織学的検査

網がけ部分：投与期間 (妊娠 17 日～分娩後 20 日)

別表

投与量 (mg/kg/day)		0	30	100	300	500		
親動物	1群当たりの動物数	23	23	23	24	24		
	死亡数	0	0	0	0	3 <sup>a)</sup>		
	一般症状	軟便・下痢便	0	0	0	3	22	
		肛門部発赤・腫脹	0	0	0	0	8	
		自発運動の減少	0	0	0	0	4	
		体温低下	0	0	0	0	4	
		粗毛	0	0	0	0	3	
		流涙	0	0	0	0	3	
		流涎	0	0	1	2	4	
	体重				増加量の低値	増加量の低値		
	摂餌量				低値	低値		
	摂水量				高値	高値		
	剖検所見					肝臓大型化、脾臓の萎縮、副腎の腫大、胸腺の萎縮、肝臓の鬱血、胃底腺部の潰瘍		
	臓器重量(肝臓)				増加	増加		
	出産率 (%)	95.7	100.0	100.0	100.0	90.5		
	妊娠期間 (日)	21.8	21.8	21.6	21.3**	21.5		
	平均着床数	14.6	13.2	13.6	15.0	13.6		
	出生率 (%)	86.2	86.6	87.1	93.3	77.2		
	総死産児数	6	2	3	0	26		
平均出生児数	13.1	11.6	12.0	14.0	10.9			
出生 (F1)	生存率 (%)	生後 0~4 日	雄	98.8	97.6	98.4	93.7	87.4
			雌	96.2	91.0	98.3	97.1	79.1*
	生後 4~21 日 (離乳率)	雄	97.4	97.4	97.8	93.5	74.4*	
		雌	98.9	97.0	97.8	93.8	78.1*	
	生後 21~56 日	雄	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	
		雌	100.0	100.0	97.8	100.0	93.3	
	生後 56~77 日	雄	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
		雌	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	

太枠内は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化がないことを示す。

\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$  (妊娠期間については、分散の検定を実施し、等分散の場合は Student の t 検定、不等分散の場合は Welch の検定を行った。生存率については Wilcoxon の順位和検定を行った。)

a) : 誤投与による死亡例 1 例を含む。

投与量 (mg/kg/day)		0	30	100	300	500			
出生児 (F1)	体重 (g)	出生時	雄	5.9	5.9	5.8	5.3**	5.0**	
			雌	5.6	5.6	5.6	5.1**	4.7**	
		生後 4 日	雄	8.0	7.9	8.0	7.1**	6.6**	
			雌	7.7	7.3	7.6	6.9**	6.2**	
		生後 21 日	雄	41.1	39.3	38.5	34.3**	32.7**	
			雌	39.3	37.2	37.0	34.2**	31.8**	
		生後 56 日	雄	266.2	258.6	254.7	242.7*	240.8*	
			雌	180.7	173.9	171.6	171.0*	173.1	
		生後 77 日	雄	376.5	371.8	367.1	360.0	358.6	
			雌	227.5	220.8	216.3	217.2	222.6	
		成長分化 (日)	耳介の開展		3.1	3.3	3.2	3.9**	3.6**
			腹部被毛の発生		10.2	11.0**	10.5	11.3**	11.5**
	下切歯の萌出		12.1	11.9	11.4*	12.8*	12.5		
	眼瞼開裂		16.1	16.3	16.0	16.8**	16.6*		
	精巣下垂		23.0	24.1	23.8	24.9**	24.6		
	膈開口		35.6	36.8	36.9	36.9	37.3*		
	感覚機能 (陰性例数 / 観察例数)	自由落下反射		0/173	0/167	0/173	2/177	2/106	
		Preyer 反射		0/173	0/167	0/173	0/177	1/106	
		視覚性置き直し反射		0/173	0/167	0/173	0/177	1/106	
	外形異常								
	剖検所見	3 週齢	異常動物数 (発現頻度%)	0/85 (0.0)	8*/80 (10.0)	1/82 (1.2)	15**/87 (17.2)	14**/49 (28.6)	
			肝実質の横隔膜面への突出・横隔膜との部分癒着	0	3	0	0	0	
			腎盂腔の拡張	0	3	1	12**	9**	
			膀胱壁の肥厚・充血	0	3	0	5	6**	
腎盂腎炎			0	0	0	0	1		

太枠内は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化がないことを示す。

\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$  (体重および成長分化所要日数については、分散の検定を実施し、等分散の場合は Student の t 検定、不等分散の場合は Welch の検定を行った。所見発現率については Wilcoxon の順位和検定を行った。)

		投与量 (mg/kg/day)		0	30	100	300	500	
出生児 (F1)	剖検所見	8週齢	異常動物数 (発現頻度%)	3/44 (6.8)	8/43 (18.6)	4/44 (9.1)	7/45 (15.6)	3/26 (11.5)	
			肝実質の横隔膜面への突出・横隔膜との部分癒着	0	1	0	0	1	
			腎盂腔の拡張	2	1	0	3	2	
			精巣・精囊腺の小型化	0	4	2	1	0	
			精巣腫大	1	2	2	3	0	
		繁殖検査終了時	異常動物数 (発現頻度%)	3/44 (6.8)	6/44 (13.6)	4/46 (8.7)	5/45 (11.1)	2/28 (7.1)	
			肝実質の横隔膜面への突出・横隔膜との部分癒着	0	1	1	0	0	
			腎盂腔の拡張	0	1	1	2	0	
			精巣・精囊腺の小型化	2	3	1	3	2	
			精巣腫大	1	0	0	0	0	
	乳腺腫	0	1	0	0	0			
	完全内臓逆位	0	0	1	0	0			
	臓器重量	雄	3週齢	心臓	絶対 相対			▼ (90) ▲ (108)	▽ (94) ▲ (112)
				肺	絶対 相対			▼ (92) ▲ (111)	▽ (94) ▲ (112)
肝臓			絶対 相対			▼ (79) ▽ (94)	▽ (85)		
脾臓			絶対 相対			▼ (73) ▼ (87)	▼ (79)		
腎臓			絶対 相対			▼ (83)	▼ (87)		
精巣			絶対 相対			▼ (74) ▼ (89)	▼ (78)		
雌		3週齢	心臓	絶対 相対			▽ (92) △ (107)	▲ (110)	
			肺	絶対 相対			▽ (92) △ (107)	▽ (92) △ (111)	
		肝臓	絶対 相対			▼ (83) ▽ (95)	▽ (85)		
		脾臓	絶対 相対			▼ (74) ▼ (85)	▼ (77)		
		腎臓	絶対 相対			▼ (87)	▽ (88) △ (105)		
		卵巣	絶対 相対		▽ (78) ▽ (82)		▼ (78) ▼ (80)	▽ (78)	

太枠内は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化がないことを示す。  
 カッコ内の数値は対照群に対する変動率%を示す (△▽: p<0.05, ▲▼: p<0.01 分散の検定を実施し、等分散の場合は Student の t 検定、不等分散の場合は Welch の検定を行った。)

		投与量 (mg/kg/day)		0	30	100	300	500	
臓器重量	8週齢	雄	脳	絶対 相対			△(107)	▼(95) △(107)	▽(97)
			心臓	絶対 相対			▲(105)	▽(92)	
			肺	絶対 相対			▲(107)	△(105)	
			肝臓	絶対 相対				▽(89)	
			脾臓	絶対 相対			△(107)		
			腎臓	絶対 相対			▲(105)	▼(88)	
			精巣	絶対 相対				▽(85)	
	雌	心臓	相対				△(104)		
		肝臓	相対					△(108)	
		脾臓	相対					△(108)	
骨格検査 (4日齢)									
骨格異常 発現頻度 (3週齢)				0/85	0/80	0/82	0/87	0/49	
出生児 (F1)	骨格変異 (3週齢) (発現率%)	骨格変異発現頻度		15/85 (17.6)	5/80 (6.3)	9/82 (11.0)	11/87 (12.6)	11/49 (22.4)	
		頸肋		8(9.4)	2(2.5)	4(4.9)	7(8.0)	6(12.2)	
		第1腰椎横突起分離		4(4.7)	2(2.5)	4(4.9)	2(2.3)	4(8.2)	
		第2頸椎体の骨化不全		3(3.5)	0(0.0)	1(1.2)	2(2.3)	2(4.1)	
		第13肋骨の骨化不全		0(0.0)	1(1.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	
		過剰胸骨核		1(1.8)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	
情緒検査 (4週齢)	区画移動数	雄	52.0	59.5	68.3*	78.2**	71.3*		
		雌	59.6	60.7	66.6	69.8	56.8		
	立ち上がり回数	雄	8.3	9.9	12.4*	9.5	8.7		
		雌	9.4	8.5	10.5	9.2	6.6		
	洗顔回数	雄	1.5	0.7*	1.0	0.5*	0.6		
		雌	0.8	0.7	1.0	0.6	1.2		
	排便回数	雄	1.5	1.0	0.5*	1.0	0.5		
		雌	0.5	0.2	0.7	0.2	0.6		
	毛づくろい回数	雄	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		雌	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
排尿個体数	雄	6	5	2	1	2			
	雌	2	2	2	0	1			
運動協調性 (5週齢)									
学習能 (6週齢)						J'-J'到達 時間延長 (2日目:雌)	J'-J'到達 時間短縮 (2日目:雄)		

太枠は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化のないことを示す。

△▽内の数値は対照群に対する変動率%を示す(△▽: p<0.05, ▲▼: p<0.01 分散の検定を実施し、等分散の場合は Student の t 検定、不等分散の場合は Welch の検定を行った。)

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 (分散の検定を実施し、等分散の場合は Student の t 検定、不等分散の場合は Welch の検定を行った。)



投与量 (mg/kg/day)		0	30	100	300	500						
出生児 (F <sub>1</sub> ) 繁殖能検査	第1回目 <sup>b)</sup>	交配数 (ペア数)	22	22	23	22	14					
		交尾数 (交尾率:%)	21 (95.5)	19 (86.4)	22 (95.7)	18 (81.8)	13 (92.9)					
		妊娠数 (受胎率:%)	21 (100.0)	17 (89.5)	18 (81.8)	14 (77.8)	12 (92.3)					
	第2回目 <sup>c)</sup>		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		交配数	1	1	3	3	1	1	4	5 <sup>d)</sup>	1	1
		交尾数 (交尾率:%)	1 (100.0)	1 (100.0)	2 (66.7)	2 (66.7)	1 (100.0)	1 (100.0)	3 (75.0)	4 (80.0)	1 (100.0)	1 (100.0)
		妊娠数 (受胎率:%)	1 (100.0)	1 (100.0)	1 (50.0)	2 (100.0)	1 (100.0)	1 (100.0)	3 (100.0)	4 (100.0)	1 (100.0)	0 (0.0)
	母 獣 数 (F <sub>1</sub> )	22		19		19		18		12		
	体重増加量											
	帝王切開所見	平均黄体数	13.6		11.9**		13.4		12.9		13.1	
		平均着床数 (平均着床率:%)	12.3 (90.4)		10.2** (83.8)		11.9 (90.0)		10.7 (81.9)		9.2* (68.6)	
		胚・胎児死亡率 (%)	6.2		8.5		5.0		4.0		7.3	
	胎児 (F <sub>2</sub> )	平均生存胎児数	11.6		9.3**		11.4		10.2		8.5*	
		性比(雄数/雌数) <sup>e)</sup>	0.49		0.50		0.54		0.46		0.51	
		平均胎児体重 (雄/雌) (g)	4.92/4.68		4.81/4.59		4.86/4.63		4.84/4.66		4.89/4.66	
外形異常		0		0		0		1 (頭蓋脊椎裂・ 曲尾の複合 奇形)		0		

太枠内は検体の影響と思われる変化を示し、空欄は特記すべき変化がないことを示す。

b) : 同一群の雌雄を 2 週間同居・交配させた。c) : 雄は無処置の雌と、雌は同一群の生殖能が確認された雄と 1 週間同居・交配させた。

d) : 1 匹の雌は、第 1 回目の交配では相手雄がいないため、同居・交配させることができなかった。

e) : 雄胎児数/生存胎児数

\* : p < 0.05, \*\* : p < 0.01 (分散の検定を実施し、等分散の場合は Student の t 検定、不等分散の場合は Welch の検定を行った。)

## 9 変異原性

### (1) ピリプロキシフェン原体の細菌を用いた復帰変異試験

(資料9-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1988年【GLP対応】

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験方法：サルモネラ菌5株(TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538)および大腸菌WP2uvrA株を用い、薬物代謝酵素系(S9mix)の存在下、非存在下で、プレインキュベーション法により変異原性の有無を調べた。  
溶媒としてジメチルスルホキシド(DMSO)を用いた。

試験結果：結果を次頁の表にまとめた。

S9mix 存在下では5000  $\mu$ g/プレートの濃度で被験物質の析出が認められた。

S9mix 存在下、非存在下共に、試験した6菌株すべてにおいて、ピリプロキシフェン処理群の復帰変異コロニー数は溶媒対照群に比べて増加することはなかった。

一方、S9mix 存在下及び非存在下の陽性対照であるメタンスルホン酸メチル、2-ニトロフルオレン、アジ化ナトリウム、ICR-191、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、ベンゾ[a]ピレン及び2-アミノアントラセンでは明瞭な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下では、ピリプロキシフェンに変異原性は無いと結論した。

検体濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)					
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 a)	-	77	8	18	30	7	12
		81	14	16	31	14	7
リゾキシフェン 10	-	85	10	23	31	6	11
		77	18	24	27	14	14
50	-	93	10	18	36	7	11
		66	12	18	29	11	10
100	-	90	11	20	27	9	9
		76	12	13	26	7	5
500	-	81	9	20	25	7	9
		68	10	16	25	11	7
1000	-	82	11	18	30	5	9
		73	12	26	27	11	11
5000	-	87	10	18	29	14	13
		66	7	21	31	9	8
陽性対照 b)	-	445	388	428	520	1288	536
		302	304	316	395	1370	611
溶媒対照 a)	+	68	11	17	48	25	37
		68	9	18	49	36	32
リゾキシフェン 10	+	80	10	18	49	22	44
		74	8	22	46	34	46
50	+	107	8	24	50	20	35
		73	12	17	42	35	23
100	+	74	11	22	30	24	34
		58	12	12	44	38	21
500	+	86	7	26	39	22	32
		65	9	28	44	28	24
1000	+	83	10	22	41	25	30
		70	10	21	39	32	33
5000	+	79	15	21	37	32	27
		66	8	19	39	26	25
陽性対照 c)	+	954	179	610	674	169	218
		558	143	451	433	149	118

a): ジメチルスルホキシド

b): TA100 ;メタンサルホン酸メチル

TA1535 ;アジ化ナトリウム

WP2uvrA;N-イフル-N'-ニトロ-N-ニトロソジアジシン

TA98 ;2-ニトロフルオレン

TA1537 ;ICR-191

TA1538 ;2-ニトロフルオレン

200  $\mu\text{g}/\text{プレート}$

0.5 //

2 //

1 //

1 //

2 //

c): TA100 ;ベンゾ[a]ピレン 5  $\mu\text{g}/\text{プレート}$

TA1535 ;2-アミノアントラセン 2 //

WP2uvrA;2-アミノアントラセン 80 //

TA98 ;ベンゾ[a]ピレン 5 //

TA1537 ;ベンゾ[a]ピレン 5 //

TA1538 ;ベンゾ[a]ピレン 5 //

アンダーライン: 検体の析出を認めた

各濃度の上段の数値は試験 I、下段の数値は試験 II での平均値を示す。

(2) ピリプロキシフェン原体のチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞(CHO-K1)を用いた in vitro 染色体異常試験

(資料9-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1988年 [GLP対応]

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの卵巣由来の培養細胞(CHO-K1)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在化および非存在下で検体を処理した後、染色体標本を作成し、顕微鏡下で観察した。検体の処理時間はS9 Mix存在下では6時間、非存在下では6、24および48時間とした。

そこで本試験における最高処理濃度をS9 Mixの有無にかかわらず $1 \times 10^{-3}$ Mとし、以下公比約3で合計4濃度を設定した。

試験結果：結果を表1に要約した。

S9 Mix非存在下においては、各処理時間のいずれの処理濃度においても溶媒対照群と比較して有意な染色体異常の増加は認められなかった。S9 Mix存在下においては、溶媒対照群でギャップを含む異常が6.5%の細胞に出現したので、同じ試験を追加した。2つの試験において

検体の $1 \times 10^{-4}$ Mの濃度で異常細胞の出現率に若干の増加が認められたが、溶媒対照群と比較して有意な増加ではなかった。

一方、陽性対照であるマイトマイシンC (S9 Mix非存在下) およびベンゾ[ $\alpha$ ]ピレン (S9 Mix存在下) は、いずれも染色体異常の有意な増加を引き起こした。

以上の結果より、本試験条件下においてピリプロキシフェン原体はCHO-K1細胞に対して染色体異常を誘発しないと結論した。

表 1

a) 時間 (h)	検 体	処理濃度 (M)	S 9 Mix	構造異常を有する細胞数 <sup>b)</sup>						染色体異常 <sup>d)</sup> 細胞数 (%)		e) 倍 数 細 胞 (%)	f) 細 胞 増 殖 率 (%)
				キ ャ ッ プ	染色体型		染 色 体 型		c) そ の 他	TAG	TA		
					切 断	交 換	切 断	交 換					
24-0	溶媒対照g)	0	-	1	1	0	1	1	0	2	1.5	0.8	-
	ビブナキチフェン	$3 \times 10^{-5}$	-	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	1.3	-
		$1 \times 10^{-4}$	-	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	3.0	-
		$3 \times 10^{-4h}$	-	1	0	0	0	1	0	1	0.5	3.8	-
		$1 \times 10^{-3i}$	-	1	0	0	0	0	1	1	0.5	2.8	-
	陽性対照j)	$1.5 \times 10^{-7}$	-	18	37	63	5	1	2	41.5**	37.5**	0.8	-
48-0	溶媒対照g)	0	-	4	2	0	0	0	0	3	1	3.0	100
	ビブナキチフェン	$3 \times 10^{-5}$	-	4	2	0	1	0	0	3	1.5	2.5	97.8
		$1 \times 10^{-4}$	-	3	0	0	0	0	0	1.5	0	1.3	87.4
		$3 \times 10^{-4h}$	-	1	0	1	0	0	0	1	0.5	1.8	68.8
		$1 \times 10^{-3i}$	-	0	2	0	0	0	0	1	1	3.0	68.0
	陽性対照j)	$1.5 \times 10^{-7}$	-	19	86	66	5	0	0	52**	49.5**	2.3	58.4
6-18	溶媒対照g)	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	1.8 <sup>l)</sup>	100
	ビブナキチフェン	$3 \times 10^{-5}$	-	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	1.3	101
		$1 \times 10^{-4}$	-	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	2.8	100
		$3 \times 10^{-4h}$	-	1	3	0	0	0	0	2	1.5	3.0	87.4
		$1 \times 10^{-3i}$	-	1	0	0	0	0	0	0.5	0	1.3	74.8
	陽性対照j)	$1.5 \times 10^{-7}$	-	5	20	42	0	0	0	24**	23**	0.8	83.4
6-18 試験 1	溶媒対照g)	0	+	5	5	3	0	0	0	6.5	4	2.8	100
	ビブナキチフェン	$3 \times 10^{-5}$	+	2	6	1	3	1	0	5.5	5	3.0	104
		$1 \times 10^{-4}$	+	10	4	7	0	0	0	10	5	2.8	91.3
		$3 \times 10^{-4h}$	+	2	1	0	0	0	0	1	0.5	1.3	61.9
		$1 \times 10^{-3i}$	+	2	3	1	0	0	0	3	2	1.8	48.0
	陽性対照k)	$2.5 \times 10^{-5}$	+	28	52	148	6	0	0	68.5*	62**	2.3	80.9
6-18 試験 2	溶媒対照g)	0	+	3	0	2	1	0	0	3	1.5	1.8	100
	ビブナキチフェン	$3 \times 10^{-5}$	+	1	0	2	0	0	0	1.5	1	2.3	95.4
		$1 \times 10^{-4}$	+	9	8	4	0	0	0	9	5	3.5	92.1
		$3 \times 10^{-4h}$	+	5	5	1	0	0	0	5.5	3	3.3	58.8
		$1 \times 10^{-3i}$	+	2	0	0	0	0	0	1	0	3.0	43.0
	陽性対照k)	$2.5 \times 10^{-5}$	+	21	34	98	8	2	0	47.5*	44**	1.3	99.7

a): 処理時間一回復時間  
 b): 各濃度当たりの200個の分裂中期像を観察した。  
 c): 断片化および10個以上の異常を持つ細胞  
 d): TAG;キヤップをふくむ場合、TA;キヤップを除く場合  
 e): 各濃度当たりの400個の分裂中期像を観察した。  
 f): 2枚のシャーレの平均値

g): ジメチルスルホキシド(DMSO)0.5%  
 c): 検体による白濁が認められた。  
 i): 検体の析出が認められた。  
 j): マイトマイシンC  
 k): ベンゾ[α]ピレン  
 \*\*): P<0.01

(3) ビリプロキシフェン原体のチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞(CHO-K1)を用いた  
in vitro染色体異常試験

(資料9-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1989年〔GLP対応〕

検体：ビリプロキシフェン原体

純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの卵巣由来の培養細胞(CHO-K1)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在化および非存在下で検体を処理した後、染色体標本を作成し、顕微鏡下で観察した。

検体の処理時間はS9 Mix存在下では2時間、非存在下では18および24時間とした。

そこで、本試験における最高処理濃度は、S9 Mix非存在下では100 $\mu$ g/ml、S9 Mix存在下では、300 $\mu$ g/mlとし、以下公比3でそれぞれ合計3濃度を設定した。

試験結果：結果を表1に要約した。

検体はS9 Mixの有無にかかわらず各処理時間のいずれの処理濃度においても溶媒対照群と比較して有意な染色体異常の増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照であるマイトマイシンC(S9 Mix非存在下)およびシクロホスファミド(S9 Mix存在下)は、いずれも染色体異常の有意な増加を引き起こした。

以上の結果より、本試験条件下においてビリプロキシフェン原体はCHO-K1細胞に対して染色体異常を誘発しないと結論した。

---

[申請者注] ビリプロキシフェンの染色体異常試験(資料7-2)は、1988年に実施されたが、米国EPAのガイドラインに適合した試験として本試験を追加実施した。

表1

a) 時間	検体	処理濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	b) 構造異常を有する細胞数							d) 染色体異常 細胞数 (%)		e) 分裂指数 (%)
			SS Mix	キ+77	染色分体型		染色体型		c) その他	TAG	TA	
					切断	交換	切断	交換				
18-0	無処理対照	0	-	0.5	1.5	0	0	0.5	0	2.5	2.0	6.3
	溶媒対照f)	0	-	0	0	0	0	0.5	0	0.5	0.5	6.3
	ビロキチン	10	-	0	0	0	0	0.5	0	0.5	0.5	3.8
		30	-	0	0.5	0	0	1.5	0	2.0	2.0	2.9
		100	-	0.5	0.5	0	0	0	0	1.0	0.5	2.0
	陽性対照g)	0.2	-	12	17	22	3	1	1	41.0**	33.0**	2.2
24-0	無処理対照	0	-	1	0	0	0	0	0	1.0	0.0	6.3
	溶媒対照f)	0	-	0.5	0	0	0	0	0	0.5	0.0	5.1
	ビロキチン	10	-	0	0.5	0	0	1	0	1.5	1.5	3.4
		30	-	0	0	0	0	1	0	1.0	1.0	3.1
		100	-	1	0.5	0.5	0	0	0	1.5	1.0	2.7
	陽性対照g)	0.2	-	10	26	57	0	0	0	61.0**	58.0**	2.4
2-16	無処理対照	0	+	0.5	0.5	0	0	0	0	1.0	0.5	5.8
	溶媒対照f)	0	+	1	0.5	0.5	0	1	0	2.5	2.0	6.4
	ビロキチン	30	+	1	0	0.5	0	0	0	1.5	0.5	2.9
		100	+	0.5	0	0	0	0	0	0.5	0.0	3.0
		300	+	1	1	0.5	0	0	0	2.5	1.5	3.2
	陽性対照h)	50	+	3	18	25	2	1	0	35.0**	34.0**	3.5
2-22	無処理対照	0	+	1	0	0.5	0	0.5	0	2.0	1.0	8.9
	溶媒対照f)	0	+	1	1	0.5	0	0.5	0	2.5	2.0	7.8
	ビロキチン	30	+	0	0	0.5	0	2	0	2.5	2.5	8.6
		100	+	0.5	0	0.5	0	1	0	2.0	1.5 <sup>1</sup>	2.3
		300	+	0	0	1	0	0	0	1.0	1.0	1.7
	陽性対照h)	50	+	10	22	52	5	1	1	57.0**	52.0**	3.5

a): 処理時間-回復時間

b): 各濃度あたり200個(陽性対照群は100個)の分裂中期像を観察し、100個あたりの細胞数を示す。

c): 断片化および100以上の異常を持つ細胞

d): TAG;ギャップを含む場合、TA;ギャップを除く場合

e): 1000個の細胞中の分裂中期細胞の割合を示す。

f): ジメチルスルホキシド(DMSO)0.5%

g): マイトマイシンC

h): シクロホスファミド

\*\* P<0.01

(4) ピリプロキシフェン原体の細菌を用いたDNA修復試験

(資料9-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1992年【GLP対応】

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験方法：枯草菌M45株（DNA組換え修復欠損株）およびH17株（野性株）を用いて、  
薬物代謝酵素系（S9）存在下および非存在下でDNA修復試験を実施した。

以下、10800、5380、2690、1350および673  $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ の計6濃度で試験を2回実施した。

試験結果：試験結果を表1および表2に示した。

S9非存在下、存在下の両条件下、ピリプロキシフェン処理群では、M45株およびH17株のいずれにおいても生育阻止円は認められなかった。

一方、S9非存在下および存在下の陽性対照化合物であるマイトマイシンCおよびステリグマトシスチン処理群では、M45株とH17株との間に明瞭な生育阻止円径の差が認められた。また、陰性対照化合物であるカナマイシン処理群では両菌株に同程度の生育阻止作用が認められた。

以上の結果から、本試験条件下では、ピリプロキシフェンにDNA損傷性はないと結論した。



表1 ビリプロキシフェンの細菌を用いたDNA修復試験結果(薬物代謝酵素系非存在下)

化合物名	処理濃度 μg/ディスク	試験 1			試験 2		
		阻止円径(mm)		差 <sup>1)</sup> (mm)	阻止円径(mm)		差 <sup>1)</sup> (mm)
		M45株	H17株		M45株	H17株	
溶媒対照 (DMSO)	—	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
ビリプロキシフェン 原体	673	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	1350	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	2690	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	5380	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	10800	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	21500	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
カナマイシン	3	14.5, 14.7 (14.6)	16.0, 16.2 (16.1)	-1.5	17.8, 18.0 (17.9)	17.6, 18.2 (17.9)	0
マイトマイシンC	0.3	36.0, 35.4 (35.7)	23.2, 22.8 (23.0)	12.7	46.2, 45.4 (45.8)	23.6, 24.0 (23.8)	22.0

1) (M45株における阻止円径)-(H17株における阻止円径)

表2 ピリプロキシフェンの細菌を用いたDNA修復試験結果（薬物代謝酵素系存在下）

化合物名	処理濃度 μg/ディスク	試験 1			試験 2		
		阻止円径(mm)		差 <sup>1)</sup> (mm)	阻止円径(mm)		差 <sup>1)</sup> (mm)
		M45株	H17株		M45株	H17株	
溶媒対照 (DMSO)	—	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
ピリプロキシ フェン原体	673	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	1350	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	2690	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	5380	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	10800	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
	21500	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0	<8, <8 ( <8)	<8, <8 ( <8)	0
カナマイシン	3	13.7, 12.9 (13.3)	13.2, 14.0 (13.6)	-0.3	18.4, 18.0 (18.2)	16.5, 16.0 (16.3)	1.9
ステリガマトシ フェン	3	16.1, 15.4 (15.8)	<8, <8 ( <8)	>7.8	16.2, 15.0 (15.6)	<8, <8 ( <8)	>7.6

1) (M45株における阻止円径)-(H17株における阻止円径)

(5) マウスを用いた小核試験

(資料9-5)

試験施設: Huntingdon Research Centre Ltd.

報告書作成年: 1991年 [GLP 対応]

検体: ピリプロキシフェン原体

検体純度:

供試動物: CD-1系マウス (雄 5~6週齢、体重 19~25 g、雌 6~7週齢、体重 18~23 g)

1群雌雄各5匹

試験方法: 検体をコーンオイルに懸濁し、5000 mg/kgの用量で単回経口投与した。投与 24、48 および 72 時間後に各動物から大腿骨を採取して骨髓塗抹標本を作製した。陽性対照群にはマイトマイシン C 12 mg/kg を経口投与して 24 時間後に標本を作製した。標本はメタノールで固定後、10%ギムザ液で染色した。

各動物当たり 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞の出現頻度を求めた。1000 個以上の赤血球 (多染性赤血球及び正染性赤血球) 中の正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合を求め、小核を有する正染性赤血球数も記録した。

試験結果: 結果を次頁の表に示す。被験物質投与 (5000 mg/kg) の予備動物において死亡が 1 例認められた。一般症状としては、立毛、円背姿勢、自発運動減少、眼瞼下垂が認められた。被験物質投与群では、溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度の有意な増加は認められず、小核を有する正染性赤血球数の増加も認められなかった。48 時間群では、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合に有意なわずかな減少が見られたが、24 および 78 時間群では認められなかった。陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の有意な増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体はマウス骨髓細胞に対して小核を誘発しないと結論した。

標本作製 時期 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数		PCE/NCE (平均)	MNPCE <sup>a)</sup> (平均、%)	MNNCE <sup>b)</sup> (%)
			雄	雌			
24	陰性対照 (コーンオイル)	— <sup>c)</sup>	5	5	1.011	0.0	0.0
	ピリパロキシフェン原体	5000	5	5	1.015	0.3	0.6
	陽性対照 (マイトマイシンC)	12	5	5	1.070	29.9**	3.0
48	陰性対照 (コーンオイル)	— <sup>c)</sup>	5	5	0.933	0.4	0.2
	ピリパロキシフェン原体	5000	5	5	0.719*	0.5	0.3
72	陰性対照 (コーンオイル)	— <sup>c)</sup>	5	5	1.632	0.3	0.2
	ピリパロキシフェン原体	5000	5	5	1.495	0.6	0.5

PCE：多染性赤血球      NCE：正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球      MNNCE：小核を有する正染性赤血球

a) 個体ごとの出現頻度の平均値

b) 群ごとの総出現数を1000個の正染性赤血球あたりで表した

c) 10 mL/kg

統計学的解析：小核を有する多染性赤血球の出現頻度および正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合についてはWilcoxonの順位和検定を行った。

\* p=0.004

\*\* p<0.001

(6) ピリプロキシフェン原体のチャイニーズハムスター細胞 (V79) を用いた  
遺伝子突然変異試験

(資料9-6)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1990年[GLP対応]

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験方法：チャイニーズハムスター細胞 (V79) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) 存在下および非存在下で、6-チオグアニン存在下でのコロニー増殖を指標とするヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT) 遺伝子座の突然変異誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、S9 Mix 存在下および非存在下とも検体で 5 時間処理した。試験は 2 回行った。

試験結果：試験結果を次表に示した。

2 回の試験を通じて S9 Mix 存在下および非存在下とも、検体は溶媒対照と比較して有意な突然変異率の増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照物質であるエチルメタンスルホン酸 (EMS、S9 Mix 非存在下) および 9, 10-ジメチル-1, 2-ベンズアンスラセン (DMBA、S9 Mix 存在下) は突然変異率の顕著な増加を誘発した。

以上の結果から、代謝活性化を含む本試験条件下において、検体は突然変異誘発性を有しないと判断される。

## I 回目試験の試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 Mix の有無	相対細胞 生存率 <sup>a)</sup> (%)	コロニー形成率 <sup>b)</sup> (%)	突然変異率 <sup>c)</sup> ( $\times 10^{-6}$ )
溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	76.8 $\pm$ 7.0	5.2 $\pm$ 5.3
検体	10	—	104	73.6 $\pm$ 8.0	4.5 $\pm$ 3.0
	30	—	110	81.0 $\pm$ 6.2	4.5 $\pm$ 2.3
	100	—	91	82.6 $\pm$ 7.7	6.9 $\pm$ 6.0
	300#	—	61	76.2 $\pm$ 5.8	5.7 $\pm$ 5.9
陽性対照 (EMS)	200	—	105	75.2 $\pm$ 3.0	196.8 $\pm$ 26.7*
溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	89.0 $\pm$ 12.2	6.0 $\pm$ 4.7
検体	3	+	93	75.8 $\pm$ 11.5	4.8 $\pm$ 3.2
	10	+	84	83.4 $\pm$ 6.5	6.0 $\pm$ 5.4
	30	+	56	85.8 $\pm$ 9.2	9.3 $\pm$ 6.1
	100	+	12	83.4 $\pm$ 7.2	4.4 $\pm$ 5.1
陽性対照 (DMBA)	5	+	78	74.2 $\pm$ 11.3	240.0 $\pm$ 26.6*

a) : 相対細胞生存率 = (コロニー数 / 溶媒対照群のコロニー数)  $\times$  100、5枚のプレートの平均値

b) : コロニー形成率 = (コロニー数 / 接種細胞数)  $\times$  100、5枚のプレートの平均値  $\pm$  SD

c) : 突然変異率 = (6-チオグアニン耐性コロニー数 / (接種細胞数  $3 \times 10^5 \times$  コロニー形成率))  $\times$  100、  
10枚のプレートの平均値  $\pm$  SD

EMS : エチルメタンスルホン酸

DMBA : 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアンスラセン

# : 検体の析出が認められた。

\* : 溶媒対照の突然変異率の3倍以上に増加

## 2 回目試験の試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 Mix の有無	相対細胞 生存率 <sup>a)</sup> (%)	コロニー形成率 <sup>b)</sup> (%)	突然変異率 <sup>c)</sup> ( $\times 10^{-6}$ )
溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	76.2 $\pm$ 10.4	9.6 $\pm$ 5.4
検体	10	—	103	72.6 $\pm$ 3.5	3.2 $\pm$ 4.4
	30	—	102	76.6 $\pm$ 7.8	6.1 $\pm$ 4.2
	100	—	104	77.6 $\pm$ 4.6	5.2 $\pm$ 5.7
	300#	—	91	71.6 $\pm$ 5.9	2.8 $\pm$ 3.9
陽性対照 (EMS)	200	—	110	76.2 $\pm$ 4.4	184.2 $\pm$ 34.0*
溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	71.8 $\pm$ 9.3	4.6 $\pm$ 4.9
検体	3	+	91	79.4 $\pm$ 10.2	3.4 $\pm$ 3.9
	10	+	84	71.4 $\pm$ 5.0	10.7 $\pm$ 5.4
	30	+	57	76.6 $\pm$ 3.7	1.7 $\pm$ 3.0
	100	+	16	82.6 $\pm$ 11.2	11.3 $\pm$ 7.3
陽性対照 (DMBA)	5	+	71	72.8 $\pm$ 6.2	247.7 $\pm$ 30.9*

a) : 相対細胞生存率 = (コロニー数/溶媒対照群のコロニー数)  $\times$  100、5枚のプレートの平均値

b) : コロニー形成率 = (コロニー数/接種細胞数)  $\times$  100、5枚のプレートの平均値  $\pm$  SD

c) : 突然変異率 = (6-チオグアニン耐性コロニー数 / (接種細胞数  $3 \times 10^6 \times$  コロニー形成率))  $\times$  100、  
10枚のプレートの平均値  $\pm$  SD

EMS : エチルメタンスルホン酸

DMBA : 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアンスラセン

# : 検体の析出が認められた。

\* : 溶媒対照の突然変異率の3倍以上に増加

(7)ピリプロキシフェン原体のヒト培養上皮細胞(HeLa S3)を用いた不定期DNA合成(UDS)試験

(資料9-7)

試験機関：Huntingdon Research Centre Ltd.

報告書作成年：1988年[GLP対応]

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験方法：ヒト培養上皮細胞(HeLa S3)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 Mix)存在下および非存在下で、DNA損傷誘発性を検定した。

検体はDMSOに溶解して用いた。細胞を<sup>3</sup>H-チミジン存在下、検体で3時間処理した。細胞を洗浄し、エタノール：酢酸(3:1)液で固定後、オートラジオグラフィ標本を作製した。各シャーレについて100個の非S期細胞を観察した。核内総粒子数を計数し、核と同じ面積の細胞質の粒子数を差し引いて正味の核内粒子数を求めた。試験は2連制(溶媒対照群は10連)とし、2回行った。

試験結果：試験結果を次表に示した。

S9 Mix非存在下では、2回の試験を通じていずれの用量でも核内総粒子数及び正味の核内粒子数とも統計学的に有意な増加は認められなかった。

S9 Mix存在下では、2回目試験の検体処理群の低用量において、軽微であるが統計学的に有意な核内総粒子数の増加が認められたが、1回目試験では認められていなかった。また、1回目試験の検体処理群において、軽微であるが統計学的に有意な正味の核内粒子数の増加が散見され、2回目試験の検体処理群の1用量において、軽微であるが統計学的に有意な正味の核内粒子数の増加が認められた。しかしながら1回目試験については、通常よりも低い溶媒対照群の正味の核内粒子数によるものであり、さらに2回の試験とも核内総粒子数の増加を伴う変化ではなかった。以上のとおり、増加はいずれも軽微であり用量依存性や再現性は認められなかったことから、これらの見かけ上の増加は検体により誘発されたDNA修復の結果ではないと考えられた。

一方、陽性対照物質の4-ニトロキノリン-1-オキサイド(4NQO)および2-アミノアントラセン(2AA)は核内総粒子数および正味の核内粒子数の顕著で有意な増加を誘発した。

以上の結果から、代謝活性化を含む本試験条件下において、検体はヒト培養上皮細胞に対してDNA損傷性を誘発しないと判断される。



## 1回目試験の試験結果

(表中の数値は2連の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9-Mix の有無	核内 総粒子数	正味の 核内粒子数	正味の核内粒子数 3以上の細胞 の割合 (%)
溶媒対照 (DMSO)	0	—	130 <sup>a)</sup>	-6 <sup>a)</sup>	1.3 <sup>a)</sup>
検体	0.1	—	124	17	0
	0.2	—	146	-19	3
	0.4	—	119	7	0.5
	0.8	—	128	-12	0.5
	1.6	—	138	-5	2
	3.2	—	152	25	1
	6.4	—	/	/	/
	12.8	—	/	/	/
	25.6	—	/	/	/
	51.2	—	/	/	/
	102.4	—	/	/	/
204.8#	—	/	/	/	
陽性対照 (4NQO)	0.02	—	1647***	1481***	100
	0.04	—	2354***	2211***	100
	0.08	—	2854***	2710***	100
	0.16	—	3737***	3547***	100
	0.32	—	3204***	3065***	100
溶媒対照 (DMSO)	0	+	161 <sup>a)</sup>	-30 <sup>a)</sup>	1.4 <sup>a)</sup>
検体	0.1	+	165	-19	2
	0.2	+	133	-31	1
	0.4	+	209	12*	2
	0.8	+	167	6*	0.5
	1.6	+	164	27**	2.5
	3.2	+	152	3*	0.5
	6.4	+	150	-7	0
	12.8	+	136	31**	1.5
	25.6	+	135	-4	1.5
	51.2	+	133	7*	2
	102.4	+	113	3*	0.5
204.8#	+	/	/	/	
陽性対照 (2AA)	2.5	+	279*	37	5.5
	5	+	349***	158***	16.5
	10	+	623***	429***	39
	20	+	691***	493***	54
	40	+	962 <sup>b)</sup> ***	769 <sup>b)</sup> ***	79 <sup>b)</sup>

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$  (一元配置分散分析)

#: 析出が認められた。

a): 10連の平均値

b): 1連の値

/: 細胞死または重度ないし高度のS期チミジン取り込み阻害が認められたため測定しなかった。

4NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキサイド

2AA: 2-アミノアントラセン

## 2回目試験の試験結果

(表中の数値は2連の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9-Mix の有無	核内 総粒子数	正味の 核内粒子数	正味の核内粒子数 3以上の細胞 の割合 (%)
溶媒対照 (DMSO)	0	—	146 <sup>a)</sup>	29 <sup>a)</sup>	1.5 <sup>a)</sup>
検体	0.1	—	123	16	1.5
	0.2	—	132	-9	0.5
	0.4	—	149	-3	0.5
	0.8	—	112	-9	0.5
	1.6	—	109	-3	0.5
	3.2	—	/	/	/
	6.4	—	/	/	/
	12.8	—	/	/	/
	25.6	—	/	/	/
	51.2	—	/	/	/
	102.4	—	/	/	/
204.8#	—	/	/	/	
陽性対照 (4NQO)	0.02	—	1924***	1820***	100
	0.04	—	2663***	2560***	100
	0.08	—	3659***	3541***	100
	0.16	—	3208***	3116***	100
	0.32	—	3802***	3663***	100
溶媒対照 (DMSO)	0	+	158 <sup>a)</sup>	-22 <sup>a)</sup>	1.8 <sup>a)</sup>
検体	0.1	+	180	17	4
	0.2	+	145	-37	0.5
	0.4	+	204*	-6	2
	0.8	+	134	-41	1
	1.6	+	174	-19	2
	3.2	+	161	-10	1
	6.4	+	167	9	1
	12.8	+	180	18	3.5
	25.6	+	162	25*	3
	51.2	+	166 <sup>b)</sup>	30 <sup>b)</sup>	2 <sup>b)</sup>
	102.4	+	132	-5	0.5
204.8#	+	/	/	/	
陽性対照 (2AA)	2.5	+	321***	135**	9.5
	5	+	413***	268***	27
	10	+	707***	526***	50
	20	+	860***	627***	65
	40	+	243***	16	3.5

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$  (一元配置分散分析)

#: 析出が認められた。

/: 細胞死または重度ないし高度のS期チミジン取り込み阻害が認められたため測定しなかった。

a): 10連の平均値

b): 1連の値

4NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキサイド

2AA: 2-アミノアントラセン

## 10 生体の機能に及ぼす影響

### ピリプロキシフェン原体の一般薬理作用

(資料 10)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年

検 体：ピリプロキシフェン原体

純 度：

試験方法：経口投与による試験のうち、水および電解質におよぼす影響の試験では0.5%メチルセルロースに懸濁し、その他の試験ではコーンオイルに溶解して用いた。静脈内投与、点眼および摘出臓器についての試験ではグリセロールフォルマルに溶解して用いた。被験液（投与液・添加液）は用時調製した。対照群にはそれぞれの溶媒を処置した。なお、摘出臓器の試験における検体の添加量は、反応液中の最終濃度で示した。

試験項目および試験結果：

#### 1. 一般症状および行動におよぼす影響

試験動物；ICR系雌雄マウス（体重 18.7～29.7g）

方法；1群雌雄各3匹のマウスに検体を200、1000および5000mg/10ml/kg経口投与し、投与前および投与後30分、1、2、4および24時間に行動観察を行った。

結果；溶媒対照群を含む全群で油状物の排泄を認めた。5000mg/kg投与群ではそれに加え軟便・下痢の発現を認めた。その他の症状についてはいずれの群においても異常を認めなかった。

#### 2. 中枢神経系に及ぼす影響

##### (1) 自発運動量

試験動物；ICR系雄マウス（体重 24.1～29.3g）

方法；1群3匹のマウスに検体を30、125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、投与直後より10分ごとに4時間までの運動量を自発運動量測定装置を用いて測定した。試験は別の動物を用いて1群計4回行った。

結果；30mg/kg投与群の投与後150～160分で溶媒対照群と比較して有意な増加を認めたが、その他の測定時点および他の投与群では有意な変化を認めなかった。

##### (2) 睡眠

試験動物；ICR系雄マウス（体重 24.3～29.7g）

方法；1群9～10匹のマウスに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、

その10分後にペントバルビタールナトリウム45mg/kgを腹腔内投与し、正向反射の消失を指標として睡眠時間を測定した。

結果；ペントバルビタールナトリウムによる睡眠作用に対し、検体投与の影響を認めなかった。

### (3) 抗痙攣

試験動物；ICR系雄マウス（体重 25.4～30.9g）

#### a. ペンチレンテトラゾール痙攣

方法；1群10匹のマウスに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その60分後にペンチレンテトラゾール100mg/kgを腹腔内投与し、間代性痙攣および死亡発現の有無を30分間観察した。

結果；ペンチレンテトラゾールによる痙攣作用および死亡発現に対し、検体投与の影響を認めなかった。

#### b. 電撃痙攣

方法；1群9～10匹のマウスに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その60分後に電撃刺激装置を用いて角膜を刺激し、強直性伸展性痙攣および死亡発現の有無を10分間観察した。

結果；電気刺激による痙攣作用および死亡発現に対し、検体投与の影響を認めなかった。

### (4) 痙攣誘発

試験動物；ICR系雄マウス（体重 25.5～31.8g）

方法；1群10匹のマウスに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その60分後にペンチレンテトラゾール(52mg/kg)を腹腔内投与し、間代性痙攣および死亡発現の有無を30分間観察した。

結果；ペンチレンテトラゾールによる痙攣作用に対し、検体投与の影響を認めなかった。死亡発現はいずれの投与群にも認めなかった。

### (5) 鎮痛

試験動物；ICR系雄マウス（体重 26.4～30.2g）

方法；1群9～10匹のマウスに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その60分後に0.7%酢酸10ml/kgを腹腔内投与し、酢酸投与5分後から10分間に発現するwrithing（苦悶反応）の回数を測定した。

結果；酢酸投与によるwrithingの発現に対し、検体投与の影響を認めなかった。

## (6) 体温

試験動物；New Zealand White雄ウサギ（体重 2.2~2.7kg）

方法；1群3匹のウサギに検体を200、1000および5000mg/10ml/kg経口投与し、投与2時間前より1時間間隔で3回、投与後1、2、3、4時間にサーミスタ温度集録装置を用いて直腸体温を測定した。

結果；ウサギ体温に対し、検体投与の影響を認めなかった。

## (7) 脳液

試験動物；New Zealand White雄ウサギ（体重 2.4~2.7kg）

方法；3匹のウサギを用い、ガラミン不動化、人工呼吸下で大脳皮質運動領および海馬より単極誘導にてアンプを介して記録した。検体の10、20、50および100mg/kgを0.1~0.25ml/kgの割合で静脈内投与し、投与前、投与後5分、15分および30分の脳液を測定した。

結果；ウサギの自発脳液に対し、検体投与の影響を認めなかった。

## 3. 自律神経系および平滑筋におよぼす影響

## (1) ウサギ摘出回腸

試験動物；New Zealand White雄ウサギ（体重 2.5~2.6kg）

方法；ウサギから回腸を摘出し、回腸標本を作製した。標本を混合ガス(95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>)を通気したタイロード液(37℃)中に約1gの負荷を加えて懸垂し、収縮をアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。検体を最終濃度が10<sup>-8</sup>~10<sup>-6</sup>g/mlになるように添加し、自動収縮に対する作用を添加後5分間調べた。

結果；検体の10<sup>-8</sup>および10<sup>-5</sup>g/mlでは自動収縮の振幅の軽度な抑制および基線の低下を認めたが、使用した溶媒においても同様の影響を認めた。10<sup>-6</sup>~10<sup>-7</sup>g/mlでは影響を認めなかった。

## (2) モルモット摘出回腸

試験動物；Hartley系雄モルモット（体重 280~669g）

方法；モルモットから回腸を摘出し、回腸標本を作製した。標本を混合ガス(95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>)を通気したタイロード液(30℃)中に約0.5gの負荷を加えて懸垂し、収縮をアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。検体を最終濃度が10<sup>-8</sup>~10<sup>-5</sup>g/mlになるように添加し、直接作用を添加後5分間調べた。また、アセチルコリン10<sup>-6</sup>、10<sup>-7</sup>g/ml、ヒスタミン10<sup>-7</sup>g/ml、セロトニン10<sup>-5</sup>g/ml、塩化バリウム5X10<sup>-4</sup>g/mlによるアゴニスト収縮反応に対する検体の影響も検討した。

結果；検体の $10^{-8}$ ～ $10^{-5}$ g/mlではモルモット回腸の筋緊張度に対し影響を認めなかった。

アセチルコリンおよびヒスタミンによる収縮反応に対し、検体の $10^{-6}$ g/mlで軽度な収縮抑制を認めたが、使用した溶媒においても同様な収縮抑制を認めた。 $10^{-6}$ g/ml以下の濃度では影響を認めなかった。セロトニンによる収縮反応に対し、検体の $10^{-6}$ g/mlで溶媒よりも若干強い収縮抑制を認め、 $10^{-6}$ g/mlでは溶媒と同様の収縮抑制を認めた。 $10^{-7}$ g/ml以下の濃度では影響を認めなかった。バリウムによる収縮に対し、検体のいずれの濃度においても影響を認めなかった。

### (3) モルモット摘出輸精管

試験動物；Hartley系雄モルモット（体重 310～397g）

方法；モルモットから輸精管を摘出し、輸精管標本を作製した。標本を混合ガス（95%  $O_2$ , 5%  $CO_2$ ）を通気したタイロード液（30°C）中に約0.5gの負荷を加えて懸垂し、収縮をアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。検体を最終濃度が $10^{-8}$ ～ $10^{-5}$ g/mlになるように添加し、直接作用を添加後5分間調べた。また、エピネフリン $10^{-6}$ g/mlによるアゴニスト収縮反応に対する検体の影響も検討した。

結果；検体の $10^{-8}$ ～ $10^{-6}$ g/mlではモルモット輸精管の筋緊張度に対し影響を認めなかった。

エピネフリンによる収縮反応に対し、検体の $10^{-6}$ および $10^{-5}$ g/mlで軽度な収縮抑制を認めたが、使用した溶媒においても同様な収縮抑制を認めた。 $10^{-7}$ g/ml以下の濃度では影響を認めなかった。

## 4. 呼吸・循環器系におよぼす影響

### (1) 呼吸・血圧・心拍数・心電図・血流量

試験動物；beagle雄イヌ（体重 11.9～14.9kg）

方法；イヌ3頭をペントバルビタールで麻酔して用いた。呼吸は気管チューブを装着したピックアップよりアンプを介して、血圧は圧トランスデューサーおよび圧力アンプを介して、心電図は第II誘導によりアンプを介して、心拍数は心電図より瞬時心拍数ユニットを介して、血流量は大動脈に接続した血流プローブより血流計を介して、それぞれ記録した。検体の2、10および50mg/kgを0.1～0.25ml/kgの割合で静脈内に漸増投与し、30分または60分間にわたり測定した。

結果；50mg/kgの投与により、呼吸促迫および一時的な呼吸停止、血圧の軽度な低下お

よびその後の上昇、血流量の増加を認めた。呼吸促迫を除いたこれらの作用は投与15分後には消失した。心拍数および心電図に対しては検体の影響を認めなかった。10mg/kg以下の投与では影響を認めなかった。

## (2) 摘出心房

試験動物；Hartley系雄モルモット（体重 286～736g）

方法；モルモットから心房を摘出し、心房標本を作製した。標本を混合ガス(95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>)を通気したクレブスーヘンゼライト液(32℃)中に約1gの負荷を加えて懸垂し、収縮力はFDピックアップを介して、拍動数は瞬時心拍計ユニットを介してそれぞれ記録した。検体を最終濃度が10<sup>-8</sup>～10<sup>-5</sup>g/mlになるように添加し、直接作用を添加後5分間調べた。

結果；検体の10<sup>-5</sup>および10<sup>-8</sup>g/mlで心房の振幅増加を認めたが、使用した溶媒でも同様の影響を認めた。検体の10<sup>-7</sup>および10<sup>-8</sup>g/mlでは心房の振幅に対して影響を認めず、また、拍動数に対してはいずれの濃度においても検体投与の影響を認めなかった。

## 5. 消化器系におよぼす影響

試験動物；ICR系雄マウス（体重 23.4～29.9g）

方法；1群10匹のマウスに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その60分後に10%骨炭末懸濁液(20%アラビアゴム添加)10ml/kgを経口投与した。その25分後に全腸管を摘出し、骨炭末移動距離から輸送率を求めることにより腸管輸送能を調べた。

結果；125mg/kg投与群で溶媒対照と比較して有意な増強を認めたが、500および2000mg/kg投与群では影響を認めず、用量依存性は認められなかった。

## 6. 体性神経系におよぼす影響

### (1) 摘出横隔膜神経筋

試験動物；SD系雄ラット（体重 318～354g）

方法；ラットから横隔膜を摘出し、横隔膜神経筋標本を作製した。標本を混合ガス(95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>)を通気したクレブスーヘンゼライト液(37℃)中に懸垂した。神経および筋に10秒毎交互に電気刺激を加え、筋収縮をFDピックアップを介して記録した。検体を最終濃度が10<sup>-8</sup>～10<sup>-5</sup>g/mlになるように添加し、神経および筋の電気刺激による筋収縮反応に対する作用を調べた。

結果；検体の10<sup>-8</sup>～10<sup>-5</sup>g/mlでは間接（神経）および直接（筋肉）刺激ともに収縮反応に対し影響を認めなかった。

## (2) 局所麻酔作用

試験動物；New Zealand White雄ウサギ（体重 2.2～2.5kg）

方法；1群3匹のウサギに検体(1、5、20%)および陽性対照物質(0.4%塩酸オキシプロカイン)を0.1ml点眼し、投与前、投与後10、30、60、120分に角膜刺激を5回行い、瞬目反応の回数を測定した。

結果；塩酸オキシプロカインが角膜反射を消失させたのに対し、検体の1、5、20%の各濃度ともに影響を認めなかった。

## 7. 水および電解質におよぼす影響

試験動物；SD系雄ラット（体重 217～244g）

方法；1群10匹のラットに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その30分後に生理食塩液30ml/kgを経口投与した。その後ラットを1匹ずつ採尿ケージに入れ、生理食塩液投与後5時間までの尿を採取し、尿量および尿中電解質( $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ )の測定を行った。

結果；2000mg/kg投与群では $\text{Na}^+$ の有意な上昇および $\text{K}^+$ の有意な低下を認めたが、 $\text{Cl}^-$ および尿量については変化を認めなかった。125および500mg/kg投与群では影響を認めなかった。

## 8. 血液におよぼす影響

### (1) 血液凝固

試験動物；SD系雄ラット（体重 214～237g）

方法；1群4～5匹のラットに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その4時間後に採血し、3.8%クエン酸ナトリウムを加え血漿を採取し、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量の測定を行った。

結果；プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量のいずれにおいても検体投与の影響を認めなかった。

### (2) 溶血

試験動物；SD系雄ラット（体重 214～237g）

方法；1群5匹のラットに検体を125、500および2000mg/10ml/kg経口投与し、その4時間後に採血し、ヘパリンを加え血漿を採取し、シアンメトヘモグロビン法により血漿中のヘモグロビン濃度を求めた。

結果；検体の500および2000mg/kg投与群では溶媒対照群と比較してヘモグロビン濃度の有意な低下を認めたが、いずれの投与群においても溶血作用を認めなかった。



以上の結果より、ピリプロキシフェン原体は哺乳動物に対して、高用量の適用により下痢・軟便の発現、呼吸・循環器および尿中電解質に影響を示したが、その他の作用はほとんど認められず、生体機能に対する影響は弱いものと考えられた。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	適用量 (ng/kg)	動物数 /群	作用量 (ng/kg)	無作用量 (ng/kg)	結果
中枢神経系 一般症状 (マウス)	行動観察 P. O. (コソオイル)	200, 1000, 5000	3	5000	1000	5000ng/kgで軟便・下痢
中枢神経系 自発運動量 (マウス)	自発運動量測定装置 P. O. (コソオイル)	30, 125, 500, 2000	12	-	2000	影響なし
中枢神経系 睡眠 (マウス)	投与10分後にペンタニ ヒターを投与し睡眠時 間を測定 P. O. (コソオイル)	125, 500, 2000	9~10	-	2000	影響なし
中枢神経系 抗痙攣 (マウス)	投与60分後にペンテ トリンを投与し間代 性痙攣の発現を観察 投与60分後に電気刺 激し強直性伸屈性痙 攣の発現を観察 P. O. (コソオイル)	125, 500, 2000	9~10	-	2000	影響なし
中枢神経系 痙攣誘発 (マウス)	投与60分後にペンテ トリンを投与し間代 性痙攣の発現を観察 P. O. (コソオイル)	125, 500, 2000	10	-	2000	影響なし
中枢神経系 鎮痛 (マウス)	投与60分後に酢酸を 投与しwrithingの発 現回数を測定 P. O. (コソオイル)	125, 500, 2000	9~10	-	2000	影響なし
中枢神経系 体温 (ウサギ)	直腸体温を測定 P. O. (コソオイル)	200, 1000, 5000	3	-	5000	影響なし
中枢神経系 脳波 (ウサギ)	ガラミン不動化、人工呼 吸下で大脳皮質運動 領および海馬より 誘導 I. V. (クリロル フォルマール)	10, 20, 50, 100	3	-	100	影響なし
自律神経系 摘出回腸 (ウサギ)	マウス法;直接作用 in vitro (クリロル フォルマール)	10 <sup>-8</sup> ~ 10 <sup>-6</sup> (g/ml)	3	-	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	影響なし
自律神経系 摘出回腸 (モルモット)	マウス法;直接作用、 Ach, His, 5-HT, Ba <sup>2+</sup> と の相互作用 in vitro (クリロル フォルマール)	10 <sup>-8</sup> ~ 10 <sup>-6</sup> (g/ml)	3	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	10 <sup>-6</sup> g/mlで5-HT収縮を 抑制 影響なし(直接作用、 Ach, His, Ba <sup>2+</sup> との相互 作用)
自律神経系 摘出輸精管 (モルモット)	マウス法;直接作用、 エピネフリンとの 相互作用 in vitro (クリロル フォルマール)	10 <sup>-8</sup> ~ 10 <sup>-6</sup> (g/ml)	3	-	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	影響なし
呼吸・循環器系 呼吸・血圧・ 心拍数・心電 図・血流量 (イヌ)	麻酔下で、呼吸ピッチ 7.7、圧トランスデュー サー、 第II誘導、血流計で測 定 I. V. (クリロル フォルマール)	2, 10, 50 (ng/kg)	3	50	10	50ng/kgで呼吸の促進 および一時停止、血圧 の軽度な低下及びその 後の上昇、血流量の 増加
呼吸・循環器系 摘出心房 (モルモット)	マウス法;直接作用 in vitro (クリロル フォルマール)	10 <sup>-8</sup> ~ 10 <sup>-6</sup> (g/ml)	3	-	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	影響なし
消化器系 腸管輸送能 (マウス)	投与60分後に骨炭末 懸濁液を投与し骨炭 末移動距離を測定 P. O. (コソオイル)	125, 500, 2000	10	-	2000	影響なし
体性神経系 神経筋接合部 (ラット)	マウス法;横隔膜神経 筋の直接/間接的な 電気刺激による収縮 in vitro (クリロル フォルマール)	10 <sup>-6</sup> ~ 10 <sup>-8</sup> (g/ml)	3	-	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	影響なし
体性神経系 局所麻酔作用 (ウサギ)	角膜反射の有無 点眼 (クリロル フォルマール)	1, 5, 20 (%)	3	-	20 (%)	影響なし
水および電解質 尿検査 (ラット)	投与30分後に生理食 塩液を投与し尿量お よび尿中電解質を測 定 P. O. (0.5%ナ トルス)	125, 500, 2000	10	2000	500	2000ng/kgでNa <sup>+</sup> の上昇 およびK <sup>+</sup> の低下 影響なし(尿量、Cl <sup>-</sup> )
血液 血液凝固 (ラット)	プロトロン時間、活性 化部分トロンボプラス チン時間、フィブリン ゲン測定 P. O. (コソオイル)	125, 500, 2000	4~5	-	2000	影響なし
血液 溶血 (ラット)	ジアンカセロロメソ ン法により血漿中のヘ モグロビン 濃度測定 P. O. (コソオイル)	125, 500, 2000	5	-	2000	影響なし

2. 原体混在物及び代謝物

2-1 原体混在物

(1) 急性毒性

①ピリプロキシフェン原体混在物

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混1-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年〔非GLP〕

検 体：

純 度：

試験動物：ICR系マウス（6週令，体重：雄24.9～27.7g，雌19.6～23.4g）

1群雌雄各5匹

試験期間：7日間観察

試験方法：検体を蒸留水に懸濁し，約20時間絶食したマウスに10～20ml/kg体重の割合で1回投与した。

試験項目：中毒症状および生死を7日間観察した。

試験結果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	♂♀共 1000, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂♀共 > 2000
死亡開始および 終了時間	死亡例なし
症状発現および 消失時間	症状の発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 > 2000
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	♂♀共 2000

中毒症状の発現を認めなかった。

(2) 変異原性

① ピリプロキシフェン原体混在物

細菌を用いる復帰変異原性試験

(資料 混2-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

検体：

純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*)の4株(TA100, TA98, TA1535, TA1537)およびトリプトファン要求性の大腸菌(*Escherichia coli*)のWP2uvrA株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝系(S9Mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検討した。  
溶媒としてジメチルスルホキシドを用いた。

試験結果：本試験結果を別表にまとめた。

被験物質処理群の復帰変異コロニー数が溶媒対照値の2倍を超えて、かつ濃度依存的に増加することはなかった。

一方、S9Mix存在下および非存在下の各菌株に対する陽性対照である2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、7ジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロギアニジン、ベンゾ[a]ピレンおよび2-アミノアントラセンでは明瞭な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、  
異原性はないと結論した。

は本試験条件下では変

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix	復帰変異コロニー/プレート <sup>c)</sup>				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 <sup>a)</sup>		-	87	10	17	26	4
	156	-	93	10	16	18	4
	313	-	96	10	21	18	6
	625	-	101	8	19	19	5
	1250 #	-	88	8	17	19	6
	2500 #	-	86	10	20	17	5
	5000 #	-	84	7	18	20	7
陽性対照 <sup>b)</sup>		-	355	359	666	354	854
溶媒対照 <sup>a)</sup>		+	107	14	26	40	14
	156	+	108	11	31	44	16
	313	+	112	11	26	36	18
	625	+	94	12	26	38	12
	1250	+	100	12	24	40	16
	2500	+	103*	8*	25*	36*	11*
	5000 #	+	116*	5*	27*	35*	6*
陽性対照 <sup>b)</sup>		+	983	243	852	798	235

a): ジメチルスルホキシド

b): 陽性対照化合物 ( $\mu\text{g}/$ プレート)

S9Mix 非存在化  
 TA100 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.01)  
 TA1535 7ジ化ナトリウム(0.5)  
 WP2uvrA N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(2)  
 TA98 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.1)  
 TA1537 9-アミノアクリジン(80)

S9Mix 存在化  
 ベンゾ[a]ピレン(5)  
 2-アミノアントラセン(2)  
 2-アミノアントラセン(10)  
 ベンゾ[a]ピレン(5)  
 ベンゾ[a]ピレン(5)

c): 2枚のプレートの平均を示す。

\*: 被験物質による生育阻害作用が認められた。

#: 被験物質の析出が認められたもの。

2-2 代謝物

(1) 急性毒性

①ピリプロキシフェン代謝物 4'-OH-Pyr、5"-OH-Pyr、DPH-Pyr、POPA 及び

PYPAC のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代1-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年 [非GLP]

検体：4'-OH-Pyr (動植物・土壌代謝物)、5"-OH-Pyr (動植物代謝物)、  
DPH-Pyr (動植物・土壌代謝物)、POPA (動植物代謝物)、  
PYPAC (動物・土壌代謝物)

純度：4'-OH-Pyr;                   5"-OH-Pyr;  
DPH-Pyr ;                   POPA ;  
PYPAC ;

試験動物：ICR系マウス (6週令, 体重：雄25.0~30.7g, 雌18.4~23.4g)

1群雌雄各5匹

試験期間：7日間観察

試験方法：検体を, 約20時間絶食したマウスに投与量を10および20ml/kg体重の割合で1回経口  
投与した。

試験項目：中毒症状および生死を7日間観察した。

試験結果：次頁

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	4' -OH-Pyr 5" -OH-Pyr DPH-Pyr POPA PYPAC	♂♀共 1000, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	4' -OH-Pyr 5" -OH-Pyr DPH-Pyr POPA PYPAC	♂♀共 > 2000
死亡開始および 終了時間	5" -OH-Pyr  4' -OH-Pyr DPH-Pyr POPA PYPAC	開始: ♂; 1日目 ♀;- 終了: ♂; 2日目 ♀;-  死亡例なし
症状発現および 消失時間	4' -OH-Pyr 5" -OH-Pyr  DPH-Pyr  POPA  PYPAC	症状発現を認めず 発現: ♂♀共 2時間後 消失: ♂♀共 1日目 発現: ♂♀共 10分後 消失: ♂; 4時間後 ♀; 1時間後 発現: ♂♀共 30分後 消失: ♂; 4時間後 ♀; 1日目 発現: ♂♀共 4時間後 消失: ♂♀共 1日目
最大無作用量 (mg/kg)	4' -OH-Pyr 5" -OH-Pyr DPH-Pyr POPA PYPAC	♂♀共 2000 ♂♀共 <1000  ♂♀共 1000
死亡例の認められ なかった最高投与量 (mg/kg)	5" -OH-Pyr 4' -OH-Pyr DPH-Pyr POPA PYPAC	♂: 1000 ♀: 2000  ♂♀共 2000

4' -OH-Pyr では中毒症状の発現を認めなかった。5" -OH-Pyr では自発運動減少、失調性歩行、DPH-Pyrでは自発運動減少、失調性歩行、腹臥、POPAでは自発運動減少、失調性歩行、腹臥、側臥および呼吸不規則、PYPACでは自発運動減少が認められた。

## (2) 変異原性

- ①ピリプロキシフェン代謝物 4'-OH-Pyr, 5"-OH-Pyr, DPH-Pyr, POPA 及び PYPAC の細菌を用いる復帰変異原性試験

(資料 代2-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

検体：

(略称：4'-OH-Pyr, 純度： ; 動植物・土壌代謝物)

(略称：5"-OH-Pyr, 純度： ; 動植物代謝物)

(略称：DPH-pyr, 純度： ; 動植物・土壌代謝物)

(略称：POPA, 純度： ; 動植物代謝物)

(略称：PYPAC, 純度： ; 動物・土壌代謝物)

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*)の4株(TA100, TA98, TA1535, TA1537)およびトリプトファン要求性の大腸菌(*Escherichia coli*)の WP2uvrA 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝系(S9 Mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検討した。

溶媒としてジメチルスルホキシドを用いた。

予備的に行った試験結果を基に、5000 μg/プレートまたは生育阻害作用を示す濃度を最高用量として、合計6濃度で試験を1回実施した。

試験結果：いずれの被験物質においても、被験物質処理群の復帰変異コロニー数が溶媒対照値の2倍を超えて、かつ濃度依存的に増加することはなかった。

一方、S9 Mix 存在下および非存在下の各菌株に対する陽性対照である2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、7β-ヒドロキシフラキム、9-β-アクリジン、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソアクリジン、ベンゾ[a]ピレンおよび2-アミノアントラセンでは明瞭な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下ではピリプロキシフェンの代謝物 4'-OH-Pyr, 5"-OH-Pyr, DPH-Pyr, POPA および PYPAC には変異原性はないと結論した。



表1 4'-OH-Pyr の細菌を用いる復帰突然変異試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix	復帰変異コロニー/プレートc)				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照a)		-	91	14	19	30	16
4'-OH-Pyr	2.5	-	102	11	NT	34	10
	5	-	103	16	NT	27	7
	10	-	97	12	NT	23	9
	20	-	104	7	NT	28	4
	39	-	0*	0*	NT	23	0*
	78	-	0*	0*	NT	15*	0*
	156	-	NT	NT	16	NT	NT
	313	-	NT	NT	16	NT	NT
	625	-	NT	NT	14	NT	NT
	1250#	-	NT	NT	14	NT	NT
	2500#	-	NT	NT	13	NT	NT
5000#	-	NT	NT	10*	NT	NT	
陽性対照b)		-	835	320	527	288	678
溶媒対照a)		+	99	11	29	41	9
4'-OH-Pyr	5	+	109	9	NT	39	10
	10	+	99	8	NT	35	11
	20	+	123	10	NT	44	17
	39	+	106	10	NT	47	14
	78	+	85	7	NT	31	6
	156	+	67*	6*	25	35*	8*
	313	+	NT	NT	27	NT	NT
	625	+	NT	NT	12	NT	NT
	1250#	+	NT	NT	20	NT	NT
	2500#	+	NT	NT	15*	NT	NT
	5000#	+	NT	NT	16*	NT	NT
陽性対照b)		+	1009	263	885	740	185

表2 5"-OH-Pyr の細菌を用いる復帰突然変異試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix	復帰変異コロニー/プレートc)				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照a)		-	95	8	21	23	9
5"-OH-Pyr	2.5	-	98	7	NT	26	8
	5	-	93	10	NT	24	7
	10	-	106	11	NT	23	7
	20	-	89*	4*	NT	15	0*
	39	-	0*	0*	NT	12*	0*
	78	-	0*	0*	NT	16*	0*
	156	-	NT	NT	21	NT	NT
	313	-	NT	NT	20	NT	NT
	625	-	NT	NT	20	NT	NT
	1250#	-	NT	NT	14	NT	NT
	2500#	-	NT	NT	8	NT	NT
5000#	-	NT	NT	11	NT	NT	
陽性対照b)		-	610	353	462	261	755
溶媒対照a)		+	95	13	28	39	9
5"-OH-Pyr	5	+	106	13	NT	32	10
	10	+	113	7	NT	39	11
	20	+	103	11	NT	41	14
	39	+	88	8	NT	52	11
	78	+	83	8*	NT	38	6*
	156	+	72*	0*	20	22*	0*
	313	+	NT	NT	14	NT	NT
	625	+	NT	NT	14	NT	NT
	1250#	+	NT	NT	14	NT	NT
	2500#	+	NT	NT	7	NT	NT
	5000#	+	NT	NT	11	NT	NT
陽性対照b)		+	1059	224	766	720	189

表3 DPH-Pyr の細菌を用いる復帰突然変異試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix	復帰変異コロニー/プレートc)				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照a)		-	103	14	17	27	6
DPH-Pyr	62.5	-	117	9	19	23	5
	125	-	108	7	17	24	5
	250	-	91	7	18	26	10
	500	-	99	11	21	25	8
	1000	-	72*	0*	8*	0*	2*
	2000	-	0*	0*	0*	0*	0*
陽性対照b)		-	670	345	475	280	643
溶媒対照a)		+	99	7	20	34	10
DPH-Pyr	62.5	+	97	7	34	37	11
	125	+	88	12	26	35	17
	250	+	88	6	22	27	10
	500	+	100	9	26	37	10
	1000	+	62*	5*	23*	19*	3*
	2000	+	0*	0*	4*	0*	0*
陽性対照b)		+	1066	238	714	777	187

a): ジメチルスルホキシド

b): 陽性対照化合物 ( $\mu\text{g}/$ プレート)

S9Mix 非存在化

TA100 2-(2-フリル)-8-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.01)

TA1535 アジ化ナトリウム(0.5)

WP2uvrA N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロゲン(2)

TA98 2-(2-フリル)-8-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.1)

TA1537 9-アミノアクリン(80)

S9Mix 存在化

ベンゾ[a]ピレン(5)

2-アミノアントラセン(2)

2-アミノアントラセン(10)

ベンゾ[a]ピレン(5)

ベンゾ[a]ピレン(5)

c): 2枚のプレートの平均を示す。

\*: 被験物質による生育阻害作用が認められた。

#: 被験物質の析出が認められたもの。

表4 POPA の細菌を用いる復帰突然変異試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix	復帰変異コロニー/プレートc)				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照a)		-	101	10	15	15	6
POPA	15.6	-	107	10	19	17	9
	31.3	-	108	11	20	22	9
	62.5	-	97	8	15	25	13
	125	-	89	12	15	18	5
	250	-	70*	3*	14*	0*	0*
	500	-	33*	0*	13*	0*	0*
陽性対照b)		-	686	299	526	259	596
溶媒対照a)		+	92	11	25	32	5
POPA	15.6	+	95	8	27	36	8
	31.3	+	95	7	26	26	16
	62.5	+	86	5	30	27	9
	125	+	99	10	20	36	7
	250	+	85*	8*	24	25*	8*
	500	+	0*	0*	7*	0*	0*
陽性対照b)		+	891	197	745	703	139

a): ジメチルスルホキシド

b): 陽性対照化合物 ( $\mu\text{g}/$ プレート)

S9Mix 非存在化

TA100 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.01)

TA1535 7ジ化ナトリウム(0.5)

WP2uvrA N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン(2)

TA98 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.1)

TA1537 9-アミノアクリジン(80)

S9Mix 存在化

ベンゾ[a]ピレン(5)

2-アミノアントラセン(2)

2-アミノアントラセン(10)

ベンゾ[a]ピレン(5)

ベンゾ[a]ピレン(5)

c): 2枚のプレートの平均を示す。

\*: 被験物質による生育阻害作用が認められた。

#: 被験物質の析出が認められたもの。

表5 PYPAC の細菌を用いる復帰突然変異試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix	復帰変異コロニー/プレートc)				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照a)		-	103	9	18	21	7
PYPAC	156	-	84	10	26	25	8
	313	-	107	6	23	24	7
	625	-	103	8	17	23	7
	1250	-	105	7	21	26	7
	2500	-	86	6	27	22	6
	5000	-	93	10	18	23	7
陽性対照b)		-	688	299	480	237	657
溶媒対照a)		+	97	11	29	25	9
PYPAC	156	+	94	8	19	29	12
	313	+	94	10	24	28	7
	625	+	92	8	28	22	8
	1250	+	95	10	32	40	8
	2500	+	87	7	19	36	7
	5000	+	95	10	26	26	9
陽性対照b)		+	1069	222	720	792	209

a): ジメチルホルムジド

b): 陽性対照化合物 ( $\mu\text{g}/$ プレート)

TA100 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.01)  
 TA1535 75化ナトリウム(0.5)  
 WP2uvrA N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(2)  
 TA98 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(0.1)  
 TA1537 9-アミノアクリジン(80)

S9Mix 非存在化  
 S9Mix 存在化  
 ベンゾ[a]ピレン(5)  
 2-アミノアントラセン(2)  
 2-アミノアントラセン(10)  
 ベンゾ[a]ピレン(5)  
 ベンゾ[a]ピレン(5)

c): 2枚のプレートの平均を示す。

\*: 被験物質による生育阻害作用が認められた。

#: 被験物質の析出が認められたもの。

3. 製剤

(1) 急性毒性

①ラノール剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製1-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1989年 [GLP対応]

検体：ラノール剤

組成：ピリプロキシフェン原体 10.0%  
有機溶剤、界面活性剤等 残量  
100%

試験動物：SD系ラット（7週令，体重：雄193～224g，雌133～166g）

1群雌雄各6匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体を，約20時間絶食したラットに投与量を1.10～7.14ml/kg体重の割合で1回経口投与した。対照群には投与操作を除き投与群と同様な処理をした。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察し，体重は投与直前，投与後7，14日目および死亡動物発見時に測定した。途中死亡動物および観察期間終了時に生存していた全ての動物について肉眼的に観察した。LD<sub>50</sub>はLitchfield & Wilcoxonの方法で計算した。

試験結果：

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 0, 1000, 2000, 3500, 5000, 6500	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ ; >6500*	♀ ; 5700 (4470~7270)
死亡開始および終了時間	開始 : ♂ ; 2日目, ♀ ; 1日目 終了 : ♂ ; 3日目, ♀ ; 4日目	
症状発現および消失時間	発現 : ♂ ♀ 共 30分後 消失 : ♂ ; 7日目, ♀ ; 5日目	
最大無作用量 (mg/kg)	♂ ♀ 共 1000	
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂ ♀ 共 3500	

中毒症状としては自発運動減少，歩行失調，四肢麻痺，正向反射消失，呼吸不規則，流涙，尿失禁，下痢および立毛などが認められた。

生存動物の体重では雌雄共2000mg/kg以上の投与群に対照群より低い値を認めた。

死亡は雌雄共に5000mg/kg以上の投与群において認められ，これらの死亡動物の剖検では胃内褐色点，小腸内褐色物質残留，膀胱内の褐色尿貯留が認められた。生存動物の剖検では検体投与に起因する変化は認められなかった。

[申請者注] \* : 6500mg/kg群(♂)で死亡率が33%(2/6例)であったため、LD50値は、>6500mg/kgと表記した。  
尚、報告書では、5000mg/kg, 6500mg/kg群での死亡例(1/6例, 2/6例)から、Litchfield & Wilcoxonの方法でLD50値を計算した。  
(報告書記載のLD50値: ♂ ; 8100mg/kg)

②ラノー乳剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製1-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1992年 [GLP対応]

検体：ラノー乳剤

組成：ピリプロキシフェン原体 10.0%  
有機溶剤、界面活性剤等 残量  
100%

試験動物：ICR系マウス（6週令，体重：雄24.3～29.3g，雌17.8～21.4g）

1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体を蒸留水に懸濁し，約20時間絶食したマウスに10ml/kg体重の割合で1回経口投与した。対照群の動物は無処置とした。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察し，体重は投与直前，投与後1，3，5，7，10，14日目および死亡動物発見時に測定した。途中死亡動物および観察期間終了時に生存していた全ての動物について肉眼的に観察した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 0, 2000, 3500, 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂♀共 >5000
死亡開始および終了時間	開始： ♂ ; 2日目, ♀ ; 1日目 終了： ♂ ; 3日目, ♀ ; 2日目
症状発現および消失時間	発現： ♂♀共 10分後 消失： ♂♀共 1日目
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 <2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂ ; 2000      ♀ ; 3500

中毒症状としては自発運動減少，失調性歩行，呼吸不規則，腹臥，側臥などが認められた。

体重では雌の3500mg/kg以上の投与群で投与1日目に体重減少を，雄の2000mg/kg投与群および雌の2000mg/kg以上の投与群で投与後1日目に体重増加抑制を認めた。

死亡は雄の3500mg/kgの投与群および雌の5000mg/kg投与群で各々5例中1例に認めた。剖検では生存動物において前胃の肥厚を認めたのみであった。

## ③ラノー乳剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製1-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1989年〔GLP対応〕

検 体：ラノー乳剤

組 成：ピリプロキシフェン原体 10.0%  
有機溶剤、界面活性剤等 残 量  
100 %

試験動物：SD系ラット（7週令，体重：雄224 ~243 g，雌155 ~190 g）

1群雌雄各6匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体そのままをラットの剪毛した皮膚（約30 cm<sup>2</sup>）に2.2 ml/kg体重の割合で塗布し、サージカルテープで24時間閉塞した。24時間後、検体が残存しないようにジェチルエーテルに浸した脱脂綿で塗布面を拭き取った。対照群は被験物質を塗布しないことを除いて同様に処置した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重は投与直前、投与後7および14日目に測定した。観察期間終了時に生存していた全ての動物について肉眼的に観察した。

試験結果：

投 与 方 法	経 皮
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 0, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂, ♀共 >2000
死亡開始および 終了時間	死亡例なし
症状発現および 消失時間	症状の発現なし
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	♂, ♀共 2000

中毒症状および死亡は認められず、体重変化への影響もなかった。剖検においても検体投与の影響は認められず、また投与部位の刺激性も認められなかった。



④ラノー乳剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 製1-4)

試験機関：Huntingdon Research Centre Ltd.,

報告書作成年：1990年〔GLP対応〕

検 体：ラノー乳剤

組 成：ピリプロキシフェン原体 10.0%  
 有機溶剤、界面活性剤等 残 量  
 100 %

試験動物：SD系ラット（♂；6週令 ♀；8週令，体重 雌雄共 200g）

1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：気中濃度；0，5.12mg/l

曝露条件；チャンパー容積 120 l， 通気量 25 l/分

噴射量 0.35ml/分， 全身曝露， 4時間連続曝露/日

粒子径；5.5 μm 以下（97%含有）

粒度分布表；

粒子径 (μm)	1回 (%)	2回 (%)
5.5 以上	2.2	4.1
2.0~5.5	12.1	14.2
2.0 以下	85.8	81.8
合 計	100.1	99.9

試験項目および試験結果：

曝露気中濃度 (mg/l)	0 (無溶剤対照)， 5.12 (ピリプロキシフェン;0.563)
LC <sub>50</sub> (mg/l) (95% 信頼限界)	雌雄共 >5.12 (ピリプロキシフェン;0.563)
死亡始および 終了時間	死亡例なし
症状発現および 消失時間	発現：曝露開始直後 消失：曝露終了後4日目
死亡例の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/l)	雌雄共 >5.12 (ピリプロキシフェン;0.563)

一般症状；曝露中は曝露開始直後，0.25，0.5，1，2，3および4時間目に、以後毎日2回2週間に亘って観察した。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。曝露中、雌雄とも部分的閉眼，呼吸数の減少，活動の低下および彎曲姿勢を認めた。曝露終了後、呼吸深大，尿性器周囲の被毛の湿潤，鼻部・顎部周囲の褐色の汚れおよび全身の粗毛を認めた。これらの中毒症状は曝露終了後4日目までに消失した。

体重変化；入荷日から曝露後14日目まで全動物を対象として測定した。

体重および体重増加量は曝露群の雌雄とも曝露1日後に減少した。以後、曝露群の体重増加量は対照群と比較して同等であった。

肉眼的検査；試験終了時に全動物を対象として剖検した。その結果，雄1例に肺の斑状充血と腫張が認められたが，その他の動物には異常は認められなかった。

病理組織学的検査；肺，気管および鼻甲介について実施した。ピリプロキシフェン10%乳剤の吸入に起因すると思われる変化は認められなかった。

以上の結果より，ピリプロキシフェン10%乳剤の急性的曝露において一過性の中毒症状発現以外にはピリプロキシフェン10%乳剤の吸入に起因する変化は認められず，そのLC<sub>50</sub>値は雌雄とも5.12mg/♂以上（ピリプロキシフェン：0.563mg/♂）であると結論する。

⑤ブルーート MC のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製 1-5)

試験機関：株式会社 大雄会医科学研究所

報告書作成年：2004年 [GLP 対応]

検 体： ブルーート MC

組 成： ピリプロキシフェン原体 9.0%  
水等 91.0%

試験動物： Crj:CD(SD)IGS 系雌ラット(8~9 週齢)、1 群雌 6 匹  
投与時体重:1 回目投与 203~223g、2 回目投与 212~228g

試験期間：14 日間観察

方 法：ブルーート MC 原液を、約 16 時間絶食させた動物に 1 回強制経口投与した。1 回目投与として、雌 3 匹に 2000mg/kg を投与し、死亡が認められなかったことから、ガイドラインに従い、2 回目投与として、雌 3 匹に 2000mg/kg を投与した。尚、投与液量は 1.96mL/kg とした。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。  
体重は投与開始時、投与後 1,3,5,7 及び 14 日に測定し、試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
性 別	雌
投与量 (mg/kg)	2,000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	>2,000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時期 及び消失時期	発現例なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2,000

観察期間を通じて、中毒症状は観察されなかった。  
体重変化並びに剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

⑥ブルート MC のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製1-6)

試験機関：株式会社 大雄会医科学研究所

報告書作成年：2004年 [GLP 対応]

検 体： ブルート MC

組 成： ピリプロキシフェン原体 9.0%  
水等 91.0%

試験動物：Crj:CD(SD)IGS系雌雄ラット(雄7~8週齢、雌8~9週齢)、1群雌雄各5匹  
投与時体重:雄271~291g、雌221~229g

試験期間：14日間観察

方 法：ブルート MC 原液を、刈毛した背部皮膚(4×5cm<sup>2</sup>)に2000mg/kgの用量で24時間塗布した。24時間塗布後、蒸留水を含ませた脱脂綿で検体を除去した。尚、投与液量は1.96mL/kgとした。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。  
体重は投与開始時、投与後3、7及び14日に測定し、試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 皮	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2,000	2,000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	>2,000	>2,000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時期 及び消失時期	発現例なし	発現例なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2,000	2,000

観察期間を通じて、中毒症状は観察されなかった。  
体重変化並びに剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

## (2) 皮膚及び眼に対する刺激性

## ①ラノー乳剤のウサギの眼及び皮膚に対する刺激性試験

(資料 製2-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1989年 [GLP対応]

検 体：ラノー乳剤

組 成：	ピリプロキシフェン原体	10.0%
	<u>有機溶剤、界面活性剤等</u>	<u>残 量</u>
		100 %

試験動物：New-Zealand White 系雌雄ウサギ (体重；2.30~2.73kg)

## [眼に対する刺激性試験]

供試動物数：非洗浄群3匹 (♂1, ♀2), 洗浄群3匹 (♂1, ♀2)

試験期間：非洗浄群；3週間観察, 洗浄群；3週間観察

試験方法：被験物質を0.1mlずつ3匹の片眼結膜嚢内に適用し、適用後に洗浄処置は行わず、経時的に観察した (非洗浄群)。非洗浄群において刺激性が認められたので適用30秒後に1分間約300mlの微温湯にて洗浄する群を別途もうけた。尚、他眼は対照とした。

観 察：適用1, 24, 48, 72, 96時間後および1, 2, 3週間後に角膜, 虹彩, 結膜を観察し, Draizeの判定基準に従い局所反応を点数化して記録した。刺激性の評価は, Kay and Calandraの方法に従って行った。

試験結果：Draizeの判定基準による局所反応の平均点は次頁の表の通りであった。

非洗浄群では適用後, 強さ1~2, 広さ4の角膜混濁, 角膜の血管新生, 強さ1の虹彩充血, 強さ1~2の結膜潮紅, 強さ1~3の結膜浮腫および眼脂分泌を認めた。これらの局所反応は, 適用後1週間認められたが, 2週間後には1例を除いて全ての局所反応が消失した。この1例では適用3週間後においても角膜混濁, 角膜の血管新生, 結膜潮紅および眼脂分泌が認められた。

他方洗浄群では, 適用後, 強さ1, 広さ1~4の角膜混濁, 強さ1の虹彩充血, 強さ1~2の結膜潮紅, 強さ1~3の結膜浮腫および眼脂分泌を認めた。

これらの局所反応は, 1例を除いて適用1週間後に消失した。この1例では適用3週間後においても角膜混濁および角膜の血管新生が認められた。

処置	組織	刺激反応の最高評点	適用後の経過時間								
			1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	1週間	2週間	3週間	
非洗淨群 3匹の平均	角膜	80	0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	33.3	6.7	6.7
	虹彩	10	3.3	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	20	10.0	12.0	10.0	10.0	9.3	6.0	1.3	1.3	
	潮紅*	(6)	4.0	3.3	3.3	4.0	3.3	2.0	0.66	0.66	
	浮腫*	(8)	6.0	4.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0	0	
	眼脂*	(6)	0	4.7	4.7	4.0	4.0	2.0	0.66	0.66	
	合計	110	13.3	32.0	30.0	30.0	29.3	39.3	8.0	8.0	
洗淨群 3匹の平均	角膜	80	0	20.0	15.0	8.3	5.0	1.7	1.7	1.7	
	虹彩	10	1.7	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	20	10.0	12.7	11.3	11.3	6.7	2.0	1.3	0	
	潮紅*	(6)	4.0	4.0	4.0	4.0	2.0	0.66	0.66	0	
	浮腫*	(8)	6.0	4.0	2.0	2.0	2.0	0.66	0	0	
	眼脂*	(6)	0	4.7	5.3	5.3	2.7	0.66	0.66	0	
	合計	110	11.7	32.7	26.3	19.6	11.7	3.7	3.0	1.7	

表中の数値は3匹の平均値を示す。

\*結膜の各刺激反応（潮紅、浮腫、眼脂）の評点は申請者が算出した。

以上の結果より、非洗淨群では強度の刺激性あり、洗淨群では中等度の刺激性ありと判定され、洗淨効果が認められた。

## 〔皮膚に対する刺激性試験〕

試験方法：ウサギ3匹（♂2，♀1）を使用した。剪毛したウサギの背部を正中線をはさんで二分し，その一方に「井」型の創傷をつけた。正常および創傷をつけた各部位に，検体 0.5ml をリント布（2.5×2.5cm）に展延して貼布し，サージカルテープで4時間閉塞適用した。適用後，リント布を取り除き，皮膚に付着した検体を水を含ませた脱脂綿で拭き取った。

観察：適用 4.5，24，48 および 72 時間後，更に 1 および 2 週間後に局所を観察し，局所反応は Draize の判定基準に従って点数化し，一次刺激率を求めて評価した。

試験結果：観察した刺激性反応の採点を下表に示した。

適用部位	反応の種類	刺激反応の最高評点	適用後の経過時間					
			4.5 時間	24時間	48時間	72時間	1 週間	2 週間
正 常	紅 斑	4	1.00	2.00	2.00	2.67	痂皮	0
	浮 腫	4	1.00	1.67	2.00	2.00	硬結	0
	小 計	8	2.00	3.67	4.00	4.67	—	0
創 傷	紅 斑	4	1.00	2.00	2.00	2.67	痂皮	0
	浮 腫	4	1.00	1.67	2.00	2.00	硬結	0
	小 計	8	2.00	3.67	4.00	4.67	—	0
平 均		8	2.00	3.67	4.00	4.67	—	0

（表中の数字は平均値で示した）

$$\text{一次刺激率} = \frac{2.00 + 3.67 + 4.00}{3} = 3.22$$

正常部位，創傷部位いずれにも適用後，軽度ないし中等度の紅斑と極く軽度ないし中等度の浮腫を認めた。適用の1週間後には痂皮および硬結となり，2週間後に局所反応は消失した。

これらの反応には正常および創傷部位間に差はなく，一次刺激率は3.22であった。

以上の結果から，ラノール剤のウサギの皮膚に対する刺激性は中等度と判定された。

②ラノー乳剤 1000 倍希釈液のウサギの眼及び皮膚に対する刺激性試験  
(資料 製 2-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年 [GLP 対応]

検 体：ラノー乳剤 1000 倍希釈液

以下の組成のラノー乳剤を蒸留水で 1000 倍希釈して検体とした。

組 成：ピリプロキシフェン原体 10.0%  
有機溶剤、界面活性剤等 残 量  
100 %

試験動物：New-Zealand White 系雌雄ウサギ (体重；2.64~2.96kg)

[眼に対する刺激性試験]

試験方法：検体 0.1 ml をウサギ (雌 6 匹) の一方の眼に適用し、洗眼は行わなかった。他の眼は対照とした。

観 察：検体適用 1, 24, 48 および 72 時間後に観察し、刺激反応を Draize の判定基準に従って点数化して記録した。刺激性の評価は Kay and Calandra の方法に従って行った。

試験結果：観察した刺激性反応の評点は次の表の通りである。

組織	刺激反応の最高評点	適用後の経過時間 (時間)			
		1	24	48	72
角 膜	80	0	0	0	0
虹 彩	10	0	0	0	0
結 膜	20	0	0	0	0
潮紅 *	( 6 )	0	0	0	0
浮腫 *	( 8 )	0	0	0	0
眼脂 *	( 6 )	0	0	0	0
合計	110	0	0	0	0

表中の数値は 6 匹の平均値を示す。

観察期間を通じて何ら局所反応は認められなかった。

以上の結果から、ラノー乳剤 1000 倍希釈液はウサギの眼に対して刺激性なしと判定した。



## 〔皮膚に対する刺激性試験〕

試験方法：ウサギ雄6匹を使用した。剪毛した背部皮膚に、検体 0.5mlをリント布（2.5×2.5cm）に展延して貼布し、サージカルテープで4時間閉塞適用した。  
適用後、リント布を取り除き、皮膚に付着した検体を水を含ませた脱脂綿で拭き取った。

観察：貼布除去の 0.5, 24, 48および72時間後に局所を観察し、局所反応はDraizeの判定基準に従って点数化し、一次刺激率を求めて評価した。

試験結果：観察した刺激性反応の評点は次の表の通りである。

適用部位	反応の種類	刺激反応の最高評点	貼布除去後の経過時間（時間）			
			0.5	24	48	72
無傷部位	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0

表中の数値は6匹の平均値を示す。

観察期間を通じ紅斑、浮腫等の刺激性反応を認めず、一次刺激率は0であった。

以上の結果から、ラノー乳剤 1000 倍希釈液はウサギの皮膚に対して刺激性なしと判定した。

## ③プルート MC のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製2-3)

試験機関：ボゾリサーチセンター

(GLP 対応)

報告書作成年：2005 年

検体の組成：ピリプロキシフェン原体 9.0%

水等 91.0%

試験動物：日本白色種ウサギ

非洗眼群；雌 3 匹、試験開始時 15 週齢、体重 2.93～3.18kg

洗眼群；雌 3 匹、試験開始時 15 週齢、体重 2.85～3.13kg

試験期間：72 時間観察

方法：検体 0.1mL を、非洗眼群及び洗眼群の計 6 匹について左眼に投与した。洗眼群については投与 30 秒後に 100mL の注射用水で 30 秒間洗眼した。なお、右眼は対照眼とした。

試験項目：投与 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し Draize の基準に従って採点した。一般状態は投与直後から投与 6 時間後までは 1 時間ごとに、その後は投与 3 日後まで 1 日 1 回観察した。また、体重は投与日及び観察終了日に測定した。

結果：観察した刺激性変化の評点は以下の表の通りである。

項 目※			最高評点※※	投 与 後 時 間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (3 匹平均)	角膜 混濁	程度 A	4	0	0	0	0
		面積 B	4	0	0	0	0
	虹 彩	C	2	0	0	0	0
	結膜	発赤 D	3	0.7	0	0	0
		浮腫 E	4	0	0	0	0
		分泌 F	3	1.3	0	0	0
	合 計*			110	4.0	0	0
洗眼群 (3 匹平均)	角膜 混濁	程度 A	4	0	0	0	0
		面積 B	4	0	0	0	0
	虹 彩	C	2	0	0	0	0
	結膜	発赤 D	3	0	0	0	0
		浮腫 E	4	0	0	0	0
		分泌 F	3	0	0	0	0
	合 計*			110	0	0	0

※観察項目は試験内容により適宜記載する。

※※判定基準の最高評点

\*合計は Draize 法による評価点(個体値{(A×B×5)+(C×5)+[(D+E+F)×2]})の平均点  
(最高 110 点)

非洗眼群では、結膜発赤及び分泌物が認められた。これらの反応は投与 24 時間後までに全て消失した。眼のその他の変化として閉眼が観察された。平均値の最大値は 4.0 であった。

洗眼群では、角膜、虹彩及び結膜に変化は認められなかった。また、眼のその他の変化はいずれの動物にも観察されなかった。平均値の最大値は 0 であった。

なお、各試験群とも、一般状態及び体重に検体投与による異常は見られなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対し「極く軽度の刺激性あり」と結論された。また、洗眼により明らかに刺激性の軽減が認められた。

## ④プルート MC のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製 2-4)

試験機関：ポゾリサーチセンター  
(GLP 対応)

報告書作成年：2005 年

検体の組成：ピリプロキシフェン原体 9.0%  
水等 91.0%

試験動物：日本白色種雌ウサギ、試験開始時 18 週齢、体重 3.24~3.56kg、1 群雌 3 匹

試験期間：6 日間観察

方法：検体 0.5mL を 2.5cm 四方のリント布に均一に湿らせた後、刈毛した 3 匹の動物の背部皮膚に貼付した。貼付時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は注射用水を用いて拭き取った。

試験項目：検体除去 1、24、48 時間及び 72 時間後に、その後は投与 6 日後まで 1 日 1 回、貼付部位の刺激性変化（紅斑・痂皮、浮腫）の有無等を観察し、Draize の基準に従って採点した。

一般状態は投与直後、投与 1、4 及び 5 時間後に、その後は投与 6 日後まで 1 日 1 回、観察した。また、体重は投与日及び観察終了日に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目	最高評点※	除去後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0.7	0.7	0.7	0.7
浮腫	4	0	0.3	0	0
合計	8	0.7	1.0	0.7	0.7
皮膚一次刺激性指数：0.8					

項目	最高評点※	投与後日数		
		4 日	5 日	6 日
紅斑・痂皮	4	0.3	0.3	0
浮腫	4	0	0	0
合計	8	0.3	0.3	0

注) 表の点数は 3 匹の平均値である。

※判定基準の最高評点

検体投与部位では、検体除去 1、24、48 及び 72 時間後に評点 1 又は 2 の紅斑が、また、検体除去 24 時間後には評点 1 の浮腫が認められたが、投与 6 日後までに全て消失した。皮膚一次刺激性指数は 0.8 であった。

なお、一般状態及び体重に検体投与による異常は見られなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して「軽度刺激物」と結論された。

(3) 皮膚感作性

① ラノー乳剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 製3-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体：ラノー乳剤

組成：ピリプロキシフェン原体 10.0%  
有機溶剤、界面活性剤等 残量  
100%

試験動物：Hartley 系雄モルモット (体重 378~496g)，1群5~10匹

試験期間：30日間

試験方法：米国環境保護局の基準に従って Buehler法 (貼布法) で実施した。

感作；1群5~10匹のモルモットの腹部側を剪毛し，ピリプロキシフェン10%乳剤0.5ml を6時間閉塞貼布して，3回 (週1回，1週間間隔) 適用した。

尚，1.0%DNCBのアセトン溶液0.5ml を上記同様に適用した。

誘発；最終感作の2週間後に，検体感作群および非感作群にはピリプロキシフェン10%乳剤の25%水溶液を感作と同様の方法で適用した。DNCB感作群および非感作群には0.5%DNCBアセトン溶液を適用した。

観察；それぞれの感作および誘発適用の24時間後および48時間後に局所反応の強さを紅斑と浮腫に分け，点数化して評価した。

試験結果：

群	ピリプロキシフェン10%乳剤				DNCB			
	感作		非感作		感作		非感作	
誘発後の時間	24	48	24	48	24	48	24	48
局所反応 <sup>a)</sup>	E	S	E	S	E	S	E	S
反応の程度 <sup>b)</sup>	0	10	10	10	10	10	0	0
1	0	0	0	0	0	0	3	5
2	0	0	0	0	0	0	2	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
陽性率 (%)	0	0	0	0	100	40	0	0

a) E；紅斑 S；浮腫

b) 0；変化なし 1；境界不明瞭 (軽度) な反応 2；境界明瞭 (中等度) な反応  
3；強度な反応

検体感作群では、誘発24および48時間後の観察において、非感作群と同様に皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性対照のDNCB感作群では、誘発24時間後に全例に軽度ないし中等度の紅斑および軽度の浮腫を、48時間後2例で軽度の紅斑を認めたが、DNCB非感作群ではいずれの観察時期においても局所反応は認められなかった。

以上の結果から、ラノー乳剤はBuehler法(貼布法)で皮膚感作性なしと判定した。

②プルートMCのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製3-2)

試験機関：ポゾリサーチセンター

(GLP 対応)

報告書作成年：2005年

検体の組成：ピリプロキシフェン 原体 9.0%  
水等 91.0%

試験動物：ハートレー系雌モルモット、試験開始時6週齢、体重307~391g、  
検体感作群20匹、検体非感作群10匹、陽性対照感作群10匹、陽性対照非感作群10匹

試験期間：30日間観察

方法：Buehler Test法

投与量設定根拠：

検体原液(100%)並びに注射用水を用いて50、25及び10%(w/v%)に調製した検体を0.2mLずつ側胴部の皮膚に6時間閉塞貼付し、検体除去24及び48時間後に観察を行った結果、各濃度とも刺激性変化は認められなかった。  
したがって、感作誘導及び惹起濃度を100%とした。

感作：感作開始日(0日)に、あらかじめ刈毛・剃毛した左側胴部の皮膚に、直径2.5cmのパッチに100%濃度の検体0.2mLを塗布し、6時間閉塞貼付した。同様の操作を7日ごとに合計3回実施した。また、非感作群には注射用水を同様に投与した。

なお、陽性対照感作群には0.1%DNCBを、陽性対照非感作群にはエタノールを同様に投与した。

惹起：最終感作の14日後に、あらかじめ刈毛・剃毛した右側胴部の皮膚に、検体感作群及び非感作群について、直径2.5cmのパッチに100%濃度の検体0.2mLを塗布し、6時間閉塞貼付した。

なお、陽性対照感作群及び非感作群には0.25%DNCBを同様に投与した。

試験項目：検体除去24及び48時間後に投与部位の紅斑及び浮腫の有無等を、肉眼的に観察し、Magnusson & Kligman法の評価基準により採点した。一般状態は感作30日後まで1日1回観察した。また、体重は感作誘導開始日、最終感作日、惹起日及び惹起2日後に測定した。

結果：各観察時間において、皮膚反応が認められた動物数及びその評点を以下に示す。

群	供試動物数	感作物質	惹起物質	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率(%)	
				24時間				48時間				24時間	48時間			
				皮膚反応評点												
0	1	2	3	0	1	2	3									
検体	感作群	20	100%検体	100%検体	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
	非感作群	10	注射用水	100%検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照	感作群	10	1%DNCB	0.25%DNCB	0	0	8	2	0	0	8	2	2.2	2.2	10	100
	非感作群	10	エタノール	0.25%DNCB	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0

感作陽性率(%) = 感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

検体感作群及び非感作群とも皮膚反応は認められず、陽性率はいずれも0%であった。  
陽性対照感作群では明らかな皮膚感作反応が認められ、陽性率は100%であった。一方、陽性対照非感作群では皮膚反応は認められなかった。  
なお、各試験群とも一般状態及び体重に検体投与による異常は認められなかった。

以上の結果から、本検体に皮膚感作性はないと結論された。