

VIII. 毒性

<毒性試験一覧表>

1. 原体を用いた試験成績

資料No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量(NOEL) (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1-1 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 0, 1000, 2500, 5000	♂♀: >5000	住友化学 (1987年)	47
1-2 (GLP)	急性毒性 14日間観察	マウス	♂♀各5	経口	♂♀: 0, 1000, 2000, 5000	♂♀: >5000	住友化学 (1987年)	48
1-3 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀: 0, 2000	♂♀: >2000	住友化学 (1987年)	49
1-4 (GLP)	急性毒性 14日間観察	マウス	♂♀各5	経皮	♂♀: 0, 2000	♂♀: >2000	住友化学 (1987年)	50
1-5 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	吸入	♂♀: 0, 600, 1300 mg/m ³ (4時間曝露)	♂♀: >1300 mg/m ³	住友化学 (1987年)	51
2-1 (GLP)	刺激性 (眼) (皮膚)	ウサギ	♂♀各3	眼への適用	♂♀: 0.1g/眼	極く軽度の刺激性あり	住友化学 (1987年)	53
			♂♀各3	皮膚への貼布	♂♀: 0.5g/2.5×2.5cm	刺激性なし		
3-1 (GLP)	皮膚感作性	モルモット	♂各10~20匹	Maximization法	0.5%コロンイ液0.05mlを皮内投与及び25%ワセリン軟膏0.4gを貼布して感作、25%ワセリン軟膏0.2gを貼布して誘発	皮膚感作性なし	住友化学 (1987年)	55
4	急性神経毒性	急性経口投与及び亜急性経口投与毒性試験等で特異的な神経毒性を示唆する所見は何ら認められていないことから、試験省略。						57
5-1 (GLP)	亜急性毒性 (3ヶ月間)	ラット	♂♀各10	飼料混入	♂♀: 0, 400, 2000, 5000, 10000ppm ♂: 0, 23.49, 117.79, 309.05, 641.81 ♀: 0, 27.68, 141.28, 356.30, 783.96	♂♀: 400ppm ♂: 23.48 ♀: 27.68	HLA (1989年)	58
5-2 (GLP)	亜急性毒性 (3ヶ月)	イヌ	♂♀各4	経口 (ガゼル)	♂♀: 0, 100, 300, 1000	♂♀: 100	住友化学 (1988年)	65
5-3 (GLP)	亜急性毒性 (3ヶ月)	マウス	♂♀各10	飼料混入	♂♀: 0, 200, 1000, 5000, 10000ppm ♂: 0, 28.2, 149.4, 838.1, 2034.5 ♀: 0, 37.9, 196.5, 963.9, 2345.3	♂♀: 200ppm ♂: 28.2 ♀: 37.9	HLA (1990年)	71
5-4 (GLP)	亜急性毒性 (6ヶ月間)	ラット	♂♀各21	飼料混入	♂♀: 0, 80, 400, 2000, 10000ppm ♂: 0, 4.80, 24.0, 121, 682 ♀: 0, 5.36, 27.5, 136, 688	♂♀: 400ppm ♂: 24.0 ♀: 27.5	住友化学 (1988, 1989年修正)	77-1
6	反復経口神経毒性	亜急性経口投与毒性試験等で特異的な神経毒性を示唆する所見は何ら認められていないことから、試験省略。						78
7-1 (GLP)	慢性毒性 (1年)	イヌ	♂♀各4	経口 (ガゼル)	♂♀: 0, 30, 100, 300, 1000	♂♀: 毒性学的無影響量30	LSR (1991年)	79
7-2 (GLP)	慢性毒性 [追加試験] (1年)	イヌ	♂♀各4	経口 (ガゼル)	♂♀: 0, 3, 10	♂♀: 10	LSR (1993年)	88
7-3 (GLP)	慢毒・発癌性 (2年)	ラット	主群: ♂♀各50 副群: ♂♀各30	飼料混入	♂♀: 0, 120, 600, 3000ppm ♂: 0, 5.42, 27.31, 138.00 ♀: 0, 7.04, 35.10, 182.70	発癌性なし 600ppm ♂: 27.3 ♀: 35.1	HLA (1991年)	93

資料No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量(NOEL) (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
7-4 (GLP)	発癌性 (1.5年)	マウス	♂♀各60	飼料混入	♂♀: 0, 120, 600, 3000ppm ♂: 0, 16.37, 81.31, 422.54 ♀: 0, 21.11, 107.30, 532.80	発癌性なし ♂: 120ppm ♂: 16.34 ♀: 600ppm ♀: 107.30	HLA (1991年)	111
8-1 (GLP)	繁殖性	ラット	♂♀各26	飼料混入	♂♀: 0, 200, 1000, 5000ppm ♂: 0, 17.47, 86.83, 452.71 ♀: 0, 19.17, 96.22, 497.82	親: 200ppm ♂: 17.47 ♀: 19.17 親の繁殖能: 5000ppm ♂: 452.71 ♀: 497.92 尾: 1000ppm ♂: 86.83 ♀: 96.22	BRL (1991年)	127
8-2 (厚生省GLP)	催奇形性	ラット	♀36~42	経口	♂♀: 0, 100, 300, 1000	催奇形性なし 母獣: <100 胎児: 100 出生児: 1000	生技研 (1988年)	136
8-3 (GLP)	催奇形性	ウサギ	♂15~18	経口	♂♀: 0, 100, 300, 1000	催奇形性なし 母獣: 100 胎児: 300	住友化学 (1988年)	145
8-4 (厚生省GLP)	生植性 (妊娠前及び妊娠初期)	ラット	♂♀各24	経口	♂♀: 0, 100, 300, 500, 1000	母獣: <100 胎児: 1000 繁殖能: 1000	生技研 (1988年)	149
8-5 (厚生省GLP)	生植性 (周産期及び授乳期)	ラット	♂♀各23~24	経口	♂♀: 0, 30, 100, 300, 500	母獣: 100 出生児: 100	生技研 (1988年)	157
9-1 (GLP)	変異原性 (復帰変異)	細菌			非S9mix, S9mix共 0, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/プレート	陰性	住友化学 (1988年)	168
9-2 (GLP)	変異原性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞			非S9mix, S9mix共 0, 3X10 ⁻⁶ , 1X10 ⁻⁴ , 3X10 ⁻⁴ , 1X10 ⁻⁵ M	陰性	住友化学 (1988年)	170
9-3 (GLP)	変異原性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞			非S9mix; 0, 10, 30, 100 µg/ml S9mix; 0, 30, 100, 300 µg/ml	陰性	住友化学 (1989年)	172
9-4 (GLP)	変異原性 (DNA修復)	細菌			非S9mix, S9mix共 0, 673, 1350, 2690, 5380, 10800, 21500 µg/7.5ml	陰性	住友化学 (1992年)	174
9-5 (GLP)	変異原性 (小核試験)	マウス	♂♀各5	経口	♂♀: 5000	陰性	Huntingdon (1991年)	177
9-6 (GLP)	変異原性 (遺伝子突然変異)	チャイニーズハムスター細胞 (V79)			非S9mix; 0, 10, 30, 100, 300 µg/ml S9mix; 0, 3, 10, 30, 100 µg/ml	陰性	住友化学 (1990年)	178 -1
9-7 (GLP)	変異原性 (UDS)	ヒト培養上皮細胞 (HeLa S3)			非S9mix, S9mix共 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4, 12.8, 25.6, 51.2, 102.4, 204.8 µg/ml	陰性	Huntingdon (1988年)	178 -4

H L A: Hazleton Laboratories America Inc. (USA)

B R L: Bio-Research Laboratories Ltd. (Canada)

生技研: (株) 生物科学技術研究所

資料No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (NOAEL) (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
10	一般薬理	マウス ラット モルモット ウサギ イヌ					住友化学 (1993年)	179

中枢神経系：
 ①一般症状；5000mg/kgで軟便・下痢が発現
 ②自発運動、睡眠、痙攣、鎮痛、体温、脳波；影響なし
 自律神経系：
 ①摘出回腸；10⁻⁵mg/kgで5-HT収縮を抑制
 ②摘出輸精管；影響なし
 呼吸・循環器系
 ①呼吸・血圧・血流量；50mg/kgで呼吸の促進および一時停止、血圧の軽度低下及びその後の上昇、血流量の増加が発現
 ②心拍数、心電図、摘出心房；影響なし
 消化器系：
 腸管輸送能；影響なし
 体性神経系：
 神経筋接合部、局所麻酔作用；影響なし
 水および電解質；
 尿検査；2000mg/kgでNa⁺の上昇およびK⁺の低下が発現
 血液学的検討：
 血液凝固、溶血；影響なし

2. 原体中混在物及び代謝物を用いた試験成績

資料No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (NOAEL) (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
混1-1	急性毒性 (原体混在物①*) 14日間観察	マウス	♂♀各5	経口	♂♀：1000, 2000	♂♀：>2000	住友化学 (1993年)	187
混2-1	変異原性 (復帰変異) (原体混在物①*)	細菌			非S9mix, S9mix 共 0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 μg/7v-ト	陰性	住友化学 (1993年)	188
代1-1	急性毒性 (代謝物①~⑤*) 7日間観察	マウス	♂♀各5	経口	♂♀：1000, 2000	♂♀：>2000 (代謝物①~⑤とも)	住友化学 (1993年)	190
代2-1	変異原性 (復帰変異) (代謝物①~⑤*)	細菌			代謝物①②： 非S9mix；0, 2.5~5000 μg/7v-ト S9mix；0, 5~5000 μg/7v-ト 代謝物③： 非S9mix, S9mix 共； 0, 62.5~2000 μg/7v-ト 代謝物④： 非S9mix, S9mix 共； 0, 15.6~500 μg/7v-ト 代謝物⑤： 非S9mix, S9mix 共； 0, 156~5000 μg/7v-ト	代謝物①~⑤ 共に陰性	住友化学 (1993年)	192

*：

- 代謝物①；4'-OH-Pyr (動植物、土壌代謝物)
- 代謝物②；5"-OH-Pyr (動植物代謝物)
- 代謝物③；DPH-Pyr (動植物、土壌代謝物)
- 代謝物④；POPA (動植物代謝物)
- 代謝物⑤；PYPAC (動物、土壌代謝物)

3. 製剤を用いた試験成績

資料No	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (NOAEL) (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
製1-1 (GLP)	急性毒性 (10%乳剤) 14日間観察	ラット	♂♀各6	経口	♂♀: 0, 1000, 2000, 3500, 5000, 6500	♂: >6500 ♀: 5700	住友化学 (1989年)	198
製1-2 (GLP)	急性毒性 (10%乳剤) 14日間観察	マウス	♂♀各5	経口	♂♀: 0, 2000, 3500, 5000	♂♀: >5000	住友化学 (1992年)	199
製1-3 (GLP)	急性毒性 (10%乳剤) 14日間観察	ラット	♂♀各6	経皮	♂♀: 0, 2000	♂♀: >2000	住友化学 (1989年)	200
製1-4 (GLP)	急性毒性 (10%乳剤) 14日間観察	ラット	♂♀各5	吸入	♂♀: 0, 5.12mg/0 (トリアロキシフェン)として 0.583mg/0 (4時間曝露)	♂♀: >5.12 (トリアロキシフェン)として 0.583mg/0	Huntingdon (1990年)	201
製1-5 (GLP)	急性毒性 (9%MC) 14日間観察	ラット	♀6	経口	♀: 2000	♀: >2000	大雄会医研 (2004年)	203
製1-6 (GLP)	急性毒性 (9%MC) 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀: 2000	♂♀: >2000	大雄会医研 (2004年)	204
製2-1 (GLP)	刺激性 (10%乳剤) (眼) (皮膚)	ウサギ	非洗浄: 3匹 洗浄群: 3匹	眼への適用	♂♀: 0.1ml/眼	非洗浄群: 強度の刺激性あり 洗浄群: 中等度の刺激性あり	住友化学 (1989年)	205
			3匹 ♂2 ♀1	皮膚への貼布	♂♀: 0.5ml/2.5×2.5cm	中等度の刺激性あり		207
製2-2 (GLP)	刺激性 (眼) (10%乳剤の1000倍希釈液) (皮膚)	ウサギ	♀6匹	眼への適用	♀: 0.1ml (10%乳剤の1000倍希釈液)/眼	刺激性なし	住友化学 (1993年)	208
			♂6匹	皮膚への貼布	♂♀: 0.5ml (10%乳剤の1000倍)/2.5×2.5cm	刺激性なし		209
製2-3 (GLP)	刺激性 (9%MC) (眼)	ウサギ	♀6匹	眼への適用	♀: 0.1ml/眼	極く軽度の刺激性あり 洗眼効果あり	ボゾリサーチセンター (2005年)	210
製2-4 (GLP)	刺激性 (9%MC) (皮膚)	ウサギ	♀3匹	皮膚への貼布	♀: 0.5ml/2.5×2.5cm	軽度の刺激性あり	ボゾリサーチセンター (2005年)	211
製3-1 (GLP)	皮膚感作性 (10%乳剤)	モルモット	♂5~10	Buehler法	0.5mlを皮膚へ貼布して感作、25%液0.5mlを同様に皮膚へ貼布して誘発	皮膚感作性なし	住友化学 (1990年)	212
製3-2 (GLP)	皮膚感作性 (9%MC)	モルモット	♂10~20	Buehler法	0.2mlを皮膚へ貼布して感作、0.2mlを同様に皮膚へ貼布して誘発	皮膚感作性なし	ボゾリサーチセンター (2005年)	214

大雄会医研: 株式会社 大雄会医科学研究所

1. 急性毒性

(1) ビリプロキシフェン原体のラットにおける急性経口毒性試験

(資料1-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1987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（7週令、体重：雄 232～256g、雌 156～180g）1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体をコーンオイルに懸濁して500mg/mlの懸濁液を調製した。この溶液をステンレス製胃ゾンデ（直径1.2mm、長さ80mm）を取りつけたプラスチック製注射器を用いて、20時間絶食させた動物に2、5、10ml/kgの割合で経口的に胃内投与した。

対照群にはコーンオイル10ml/kgを投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を毎日観察した。体重は投与直前、投与後7、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剖検した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂、♀共：0、1000、2500、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂、♀共：>5000
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	発現：2時間後 消失：2日以内
最大無作用量 (mg/kg)	♂：1000 ♀：2500
死亡例を認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂、♀共：5000

中毒症状としては雄では2500mg/kg以上、雌では5000mg/kg投与群に自発運動減少、軟便、下痢を認めた。これらの症状は投与後2時間より発現し2日以内に消失した。

体重については5000mg/kg投与群において増加の抑制が認められた。

剖検では検体投与による影響は認められなかった。

(2) ビリプロキシフェン原体のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料1-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1987年 [GLP対応]

検体：ビリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：ICR系マウス（6週令、体重：雄 25.3~31.6g、雌 19.4~24.2g）

1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、100、200および500mg/mlの溶液を調製した。

ステンレス製胃ゾンデ（直径0.7mm、長さ70mm）を取りつけたプラスチック製注射器を用いて、約20時間絶食させた動物に10ml/kgの割合で経口的に胃内投与した。

対照群にはコーンオイル10ml/kgを投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を毎日観察した。体重は投与直前、投与後7、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剖検した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂、♀：0、1000、2000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂、♀共：>5000*
死亡開始および終了時間	開始：1日目 終了：2日目
症状発現および消失時間	発現：1日目 消失：5日目
最大無作用量 (mg/kg)	♂：1000 ♀：2000
死亡例を認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂：1000 ♀：2000

中毒症状としては雄では2000mg/kg以上、雌では5,000mg/kg投与群において自発運動減少、歩行失調および呼吸不規則が認められた。死亡は雄では2000および5000mg/kg投与群の各2例に、雌では5000mg/kg投与群の1例に認められた。体重は、雄の5000mg/kg投与群において軽度の一過性の増加抑制が認められた。剖検では、検体投与による影響は認められなかった。

[申請者注] *：5000mg/kg群で死亡率が20~40%（♂；2/5例死亡、♀；1/5例死亡）であったため、LD₅₀値は、>5000mg/kgと表記した。尚、報告書に記載したLD₅₀値は、死亡の認められない用量以上とした。（報告書記載のLD₅₀値：♂；>1000mg/kg ♀；>2000mg/kg）

(3) ピリプロキシフェン原体のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料1-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1987年 [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（7週令、体重：雄 226~257g、雌 153~169g）1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：コーンオイルに400mg/mlの割合で懸濁した検体を5ml/kgの割合で、剪毛した動物の背部皮膚（約30cm²）に塗布し、サージカルテープで閉塞した。塗布24時間後にサージカルテープを除き、ジエチルエーテルに浸した脱脂綿で検体を拭き取った。

対照群にはコーンオイルを5ml/kgの割合で塗布した。

試験項目：中毒症状及び生死を毎日観察した。体重は投与直前、投与後7、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剖検した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♂、♀共：0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂、♀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	中毒症状発現せず
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

いずれの投与群においても症状の発現は認められなかった。

体重および剖検においても検体投与による影響は認められなかった。

(4) ビリプロキシフェン原体のマウスにおける急性経皮毒性試験

(資料1-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1987年【GLP対応】

検 体：ビリプロキシフェン原体

純 度：

試験動物：ICR系マウス（6週令、体重：雄 30.6~35.0g、雌 22.4~25.5g）

1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、200mg/mlに調製した。この溶液を剪毛した動物の後背部皮膚約4.5cm²に、プラスチック製注射器を用いて10ml/kgの割合で塗布し、サージカルテープで閉塞した。24時間後にサージカルテープを除きジエチルエーテルを浸した脱脂綿で検体を拭き取った。対照群にはコーンオイルを10ml/kgの割合で塗布した。

試験項目：中毒症状及び生死を毎日観察した。体重は投与直前、投与後7、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剖検した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♂、♀共：0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂、♀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
死亡例を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例は認められず、体重および剖検にも検体投与の影響は認められなかった。

(5) ピリプロキシフェン原体のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料1-5)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1987年 [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（6週令、体重：雄 172~207g、雌 140~174g）1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体をコーンオイルで希釈し、ガラス製のアトマイザーを用いて噴射したミスト中に動物を4時間全身曝露した。別に溶媒対照群（検体噴射相当量）および無処置群を設けた。

実測気中濃度：0、600、1300mg/m³（シリカゲルカラムに捕集後ガスクロマトグラフィで分析した値を捕集時の吸引空気量で割った値、1300mg/m³は噴射可能な最大量）

平均粒子径：0.75~0.86μm

粒度分布表：代表例として、1300mg/m³群の5回測定のうち、第1回目(1st)の結果を以下に示す。

Group (mg/m ³)	Time	Distribution of particle size	
		Diameter(μm)	Cumulative %
1,300	1st	1.30	88.8
		1.04	76.3
		1.01	66.7
		0.976	59.2
		0.763	48.7
		0.621	39.5
		0.598	27.6
		0.577	19.7
		0.538	9.2

曝露条件：噴射空気圧 2.0 kg/cm²

通気量 50 l/分

チャンパーの容積 0.64m³

曝露時間 連続4時間

試験項目：中毒症状、生死について毎日観察した。体重は曝露開始直前および曝露後3、7、14日測定した。観察期間終了時に生存していた全動物を剖検し、鼻腔、気管および肺の病理組織学的検査を行った。

試験結果：

投与方法	吸入
曝露濃度 (mg/m ³)	♂、♀共：0 ^{a)} 、600、1300
LC ₅₀ (mg/m ³)	♂、♀共：>1300
死亡開始時期	死亡例なし
症状発現および 消失時間	発現：曝露開始後 4時間 消失：曝露終了後 1時間以内
死亡例を認められ なかった最高投与 量 (mg/m ³)	♂、♀共：1300

a)無処置対照および溶媒対照

中毒症状は、1,300mg/m 用量群にのみ曝露開始後4時間に流涎が雄2例および雌1例に尿失禁が雌2例にみられたが、曝露終了後1時間以内に消失した。

1,300mg/m 用量群の雄において曝露終了後3日に体重増加の軽度な抑制がみられたが7日目には回復した。観察期間終了後に実施した肉眼的病理検査および呼吸器系器官の病理組織学的検査においては、雄および雌ともピリプロキシフェンの曝露に起因する変化はなかった。

2. 眼および皮膚に対する刺激

(1) ビリプロキシフェン原体のウサギの眼および皮膚に対する刺激性試験

(資料 2-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1987年【GLP対応】

検体：ビリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：New Zealand White系雌雄ウサギ（体重；2.26～2.78kg）

〔眼に対する刺激性試験〕

試験方法：試験は農林水産省のガイドラインに準拠し実施した。検体0.1gをウサギ（雌雄各3匹計6匹）の一方の眼に適用し、洗眼は行わなかった。他眼を対照とした。検体適用1、24、48および72時間後に観察し、刺激性反応はDraizeの判定基準に従って点数化して記録し、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以下の通りであった。

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
角膜	80	0	0	0	0
虹彩	10	0	0	0	0
結膜	20	4.7	1.7	0	0
潮紅*	(8)	2.0	0.7	0	0
浮腫*	(8)	2.7	0.3	0	0
眼脂*	(8)	0	0.7	0	0
合計	110	4.7	1.7	0	0

表中の数値は6匹の平均を示す

*：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。

適用1時間後、全例（6例）に強さ1の結膜潮紅、および強さ1ないし2の結膜浮腫を認めた。24時間後には2例に強さ1の結膜潮紅、うち1例に強さ1の結膜浮腫および強さ2の眼脂分泌を認めるのみとなり、48時間後には全ての局所反応が消失した。以上の結果より、ビリプロキシフェンはウサギの眼に対し、極く軽度の刺激性ありと判定した。

〔皮膚に対する刺激性試験〕

試験方法：試験は、農林水産省のガイドラインに準拠し実施した。ウサギ6匹（雌雄各3匹）を使用した。剪毛した動物の背部（15cm×15cm）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0.5gを少量の生理食塩水で湿らせ、均等に展延したリント布（2.5cm×2.5cm）を貼布し、サージカルテープで4時間閉塞適用した。適用後リント布を除き水を含ませたガーゼで皮膚表面に付着した検体を拭き取った。適用4.5、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。

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
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。

いずれの観察時期においても正常部位および創傷部位共紅斑および浮腫等の局所反応を認めず、一次刺激率は0であった。

以上の結果から、ピリプロキシフェンはウサギの皮膚に対して刺激性なしと判定した。

3. 皮膚感作性

(1) ビリプロキシフェン原体のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 3-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1987年〔GLP対応〕

検体：ビリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：Hartley系雄モルモット（体重300～380g）1群20匹

試験方法：Maximization法

〔感作〕（皮内）モルモットの肩甲骨上を剪毛した皮膚（2×4cm）の正中線をはさんだ両側各3箇所を投与部位とし、以下の試料を1箇所当り0.05mlずつ皮内投与した。

上部：蒸留水とFreund complete adjuvant（以下FCAと記す）との等量乳化液

中間部：被験物質の0.5%コーンオイル溶液またはDNCBの0.05%コーンオイル溶液

下部：被験物質の1%FCA液またはDNCBの0.1%FCA溶液と蒸留水との等量乳化液

（経皮）皮内感作の6日後、10%ラウリル硫酸ナトリウムワセリン軟膏0.2gを肩甲骨上皮膚（2×4cm）に適用し、その翌日に被験物質の25%ワセリン軟膏の0.4gあるいはDNCBの0.5%コーンオイル溶液0.4mlをリント布を用いて48時間閉塞した。

別に被験物質およびDNCB非感作群を設け、被験物質あるいはDNCBを除いて同様処置を行った。

〔誘発〕最終感作の2週間後に、モルモットの腹側部を剪毛し、被験物質の25%ワセリン軟膏0.2gまたは、DNCBの0.5%コーンオイル溶液の0.2mlを、リント布を用いて24時間閉塞貼布。非感作群の動物に対しても同様の処置を行った。

〔観察〕感作および誘発それぞれの適用24、48時間後に貼布部位の皮膚反応（紅斑、浮腫）を観察した。体重は初回感作時および誘発時の2回測定した。

評価はMagnussonらの判定基準に従った。

試験結果：観察した皮膚感作性反応は以下の通りである。

試験群	ピリプロキシフェン				D N C B			
	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 ^{a)}	E S	E S	E S	E S	E S	E S	E S	E S
0	c, d) 19 19	19 19	d) 19 19	19 19	0 0	0 0	10 10	10 10
反応の1程度 ^{b)}	0 0	0 0	0 0	0 0	1 0	3 3	0 0	0 0
2	0 0	0 0	0 0	0 0	5 8	5 7	0 0	0 0
3	0 0	0 0	0 0	0 0	4 2	2 0	0 0	0 0
陽性率 (%)	0	0	0	0	100	100	0	0

DNCB：2, 4-ジニトロクロロベンゼン

a)：E；紅斑、 S；浮腫

b)：0；変化なし、1；軽度の反応（境界不明瞭）、2；中程度の反応（境界明瞭）、3；強度の反応

c)：数字はそれぞれの反応を示した動物数を示す。

d)：誘発前に1例死亡（脱肛または脱腸が認められたが、この死亡は検体あるいは溶媒投与に起因するものとは考えられなかった）。

検体感作群では誘発の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群では誘発の24および48時間後、全例に軽度からの紅斑および浮腫を認めた。また、各群の体重においても影響は見られなかった。

以上の結果より、ピリプロキシフェンは本試験条件下（Maximization test）において皮膚感作性なしと結論した。

4. 急性神経毒性

ピリプロキシフェンの急性神経毒性試験の省略理由

(資料4)

ピリプロキシフェンの急性神経毒性について、関連する試験結果から考察した。

1 急性経口毒性試験 (資料1-1)

ラットの急性経口毒性試験は、雌雄ともに0、1000、2500 および 5000 mg/kg の用量にて実施された。雌雄共に死亡の発現は認められなかった。雄の 1000mg/kg、雌の 2500mg/kg 以下の用量では、症状発現を認めなかったが、雄の 2500mg/kg で自発運動減少、雌雄の 5000mg/kg で自発運動減少、軟便および下痢が認められた。これらの症状は2日以内に消失した。

症状発現の認められた用量は急性神経毒性試験の限界用量である 2000mg/kg を上回る高い用量であり、また、認められた所見は必ずしも神経系への影響を示すものではないと考えられた。

2 ラットの90日間反復経口投与毒性試験 (資料5-1)

現行の神経毒性試験ガイドラインにおいて、外観、体位、姿勢、自律神経機能、歩行の異常、動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応、神経系及び異常行動について、詳細な状態の観察が求められている。

一般毒性試験における一般症状観察では、上記に該当するいずれの観察項目においても本剤が関連したと思われる影響はみられず、特異的な神経毒性を示唆する所見は得られていない。なお、機能検査の一環としての自発運動量、刺激に対する感覚運動反応および握力検査は実施されていない。

神経毒性に関わる坐骨神経、脳、下垂体、脊髄及び眼球及びその付属器における病理組織学的検査では、異常所見は認められていない。また、脳重量および眼科学的検査が実施されているが、本剤が関連したと思われる所見はない。

3 既知神経毒性物質との化学構造の相関

有機リン、カーバメート、ピレスロイド化合物などの既知神経毒性物質^{1), 2)}との化学構造に相関はないものと考えられる。

4 考察・結論

ラット急性経口毒性試験において投与後2日以内に消失する一過性の自発運動減少、軟便および下痢が認められた。しかしながら、これらの症状は急性神経毒性試験の限界用量である 2000mg/kg を上回る高い用量において認められており、また、認められた所見は必ずしも神経系への影響を示すものではないことから、本剤が特異的な神経系への影響を有するとは考えられなかった。本剤のラット90日間反復経口投与毒性試験においても致死用量以下の用量において特異的な神経毒性を示唆する所見は何ら認められていない。また、本剤の化学構造も既知神経毒性物質と相関はない。従って、以上の点を考慮すると、本剤には特異的な神経毒性作用はないものと判断される。

以上のことから、ピリプロキシフェンの急性神経毒性試験実施の必要性はないものと考えられる。

[参考文献]

1) EPA Guidelines for Neurotoxicity Risk Assessment (1998)

2) WHO Environmental Health Criteria 223, Neurotoxicity Risk Assessment for Human Health: Principles and Approaches (2001)

5. 亜急性毒性

(1) ピリプロキシフェン原体のラットにおける亜急性毒性試験

(資料5-1)

試験機関：Hazleton Laboratories
America, Inc.

報告書作成年：1989年〔GLP対応〕

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：CD(SD)ラット（開始時6週齢、体重：雄 189.8～241.1g、雌 151.2～197.2g）、

1群雌雄各10匹

試験期間：13週間（投与開始1987年10月13日、解剖終了日1988年1月14日）

投与方法：検体を0、400、2000、5000、および10000ppmの濃度で飼料中に混入し、ラットに13週間自由に摂取させた。飼料は毎週調製した。

試験項目および結果：

〔一般状態および死亡率〕

投与期間中毎日一般状態および生死を観察し、詳細な身体検査は週1回行った。

2000ppm群雌1例が第11週に事故死した以外に死亡例はなく、一般状態にも検体投与の影響は認められなかった。

〔体 重〕

体重は毎週 1 回測定した。

投与期間中雌雄とも用量に相関して体重増加の抑制傾向がみられ、投与終了時には 5000ppm以上の投与群で雌雄とも体重の有意な低値がみられた。

〔摂餌量〕

摂餌量は毎週 1 回測定した。

検体投与に関連のある変化は見られなかった。

〔検体摂取量〕

投与期間中の摂餌量および飼料中検体濃度から算出した検体摂取量は次の通りであった。

投与群 (ppm)	400	2000	5000	10000
雄(mg/kg/日)	23.49	117.79	309.05	641.81
雌(mg/kg/日)	27.68	141.28	356.30	783.96

〔摂水量〕

摂水量は 4 および 8 日間隔で週 2 回測定し、各週の摂水量を求めた。

各群間に著しい差は認められなかった。

〔眼科学的検査〕

投与開始前および第13週目に全生存動物について検査した。

いずれの動物にも眼病変は認められなかった。

〔尿検査〕

13週間の投与終了後、全生存動物から絶食状態で 1 晩尿を採取し、以下の項目の検査を行った。

pH、潜血、外観、ビリルビン、糖、ウロビリノーゲン、ケトン体、
蛋白、沈渣

各投与群とも特記すべき変化はなかった。

〔血液学的検査〕

投与期間終了後、1晩絶食した全生存動物をケタミンで麻酔し、眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

白血球数、補正白血球数、白血球分類、赤血球数、血球状態、
ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素量(MCH)、
平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数

対照群と比べて統計学的に有意差を認めた項目を以下の表に示す。

性別	雄				雌			
	400	2000	5000	10000	400	2000	5000	10000
赤血球数		▽ 93	▽ 91	▽ 94			▽ 94	
ヘモグロビン濃度		▽ 94	▽ 95				▽ 94	▽ 93
ヘマトクリット値		▽ 94	▽ 94	▽ 96			▽ 92	▽ 92
M C V						▽ 97		▽ 97
M C H			△ 104	△ 103				
M C H C								

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。(△、▽: $p < 0.05$)

統計学的検定は、分散の均一性の検定(Levene's test)を行い、もし分散が不均一である場合は種々の変換を行ったのち、分散分析(ANOVA)の方法により行った。

これらの変化はいずれも検体投与に関連したものと考えられた。

〔血液生化学的検査〕

血液学的検査の項で得た血液から血清を分取し、以下の項目の検査を行った。

ナトリウム、カリウム、クロライド、総蛋白、アルブミン、グロブリン、
カルシウム、無機燐、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、糖、
GOT、GPT、ALP、総コレステロール、リン脂質、
トリグリセライド、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)

対照群と比べて統計学的に有意差を認めた項目を以下の表に示す。

性 別	雄				雌			
	400	2000	5000	10000	400	2000	5000	10000
尿 素 窒 素								△ 114
クレアチニン								△ 117
総コレステロール		△ 148	△ 195	△ 206			△ 130	△ 177
総 蛋 白				△ 109				△ 111
アルブミン				△ 114				△ 119
カルシウム								△ 106
リン脂質		△ 133	△ 176	△ 178				△ 155

表中の数字は対照群に対する変動率 (%) を示す。 (△、▽ : $p < 0.05$)

統計学的検定は、分散の均一性の検定(levene's test)を行い、もし分散が不均一である場合は種々の変換を行ったのち、分散分析(ANOVA)の方法により行った。

これらの変動の内、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、およびリン脂質の変化が検体投与に関連のある生物学的に意味のあるものであった。その他の所見は生物学的に重要であるとは考えられなかった。

[剖 検]

投与期間終了後、全生存動物をペントバルビタールナトリウムで麻酔し、放血致死させ、剖検を行った。また、死亡動物も剖検した。

肝臓において、10000ppm投与群雄で肥大、褪色域、斑点、暗色化が各々2例、2例、1例、1例に、同群の雌で褐色域、隆起域が各1例にみられ、他に400ppm雌で褪色域を2例、2000ppm雄で暗色化を1例に認めたが、肥大のみが後述の組織学的検査と関連する検体投与に起因する変化と考えられた。その他腎臓に褪色、腺胃に暗色域、卵巣に嚢胞等が観察されたが、いずれも散発的であり検体投与と関連性があるとは考えられなかった。

[臓器重量]

剖検時に肝臓、腎臓、副腎^{a)}および精巣の重量(絶対重量)を測定し、対体重比(相対重量)を算出した。

a) : 固定後測定

対照群と比べて統計学的に有意差を認めた項目を次の表に示す。

性	投与量 (ppm)	肝 臓		腎 臓		副 腎	
		絶 対	相 対	絶 対	相 対	絶 対	相 対
雄	400		△ 121				
	2000		△ 145		△ 118		
	5000	△ 131	△ 166		△ 118		
	10000	△ 143					△ 130
雌	400						
	2000						
	5000	△ 118	△ 132				
	10000	△ 139	△ 162		△ 114		

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。(△: p<0.05)

統計学的検定は、分散の均一性の検定(levene's test)を行い、もし分散が不均一である場合は種々の変換を行ったのち、分散分析(ANOVA)の方法により行った。

上記の変化の内、腎臓および副腎については絶対重量に変化はなく、体重の低値に起因した変動と考えられた。

[病理組織学的検査]

剖検時に全ての動物の以下の臓器・組織を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン中に保存した。対照群および10000ppm投与群の全動物および死亡動物についてはこれらの臓器・組織のヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、組織学的に検査した。また、その他の群については、肺、肝臓、腎臓および肉眼的異常部位について同様に検査した。

脳幹を含む脳(延髄、橋、小脳皮質、皮質)、下垂体、
 甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肺、気管、心臓、胸骨(骨髄)、
 唾液腺(顎下腺)、乳腺、大腿筋、眼、大腿骨(関節表面を含む)、
 腎臓、副腎、脾臓、精巣・精巣上体、卵巣、子宮、肝臓、脾臓、
 大動脈、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、直腸、
 膀胱、腸間膜リンパ節、坐骨神経、皮膚、脊髄(頸部、中胸部、腰部)、
 肉眼的異常部位

観察された主な所見を表1に示す。

検体投与に関連のある所見が肝臓に認められた。その変化は細胞質の変性であり2000ppm以上の投与群の雌雄に見られ、軽微な細胞質の増加を反映して核/細胞質比が減少し、類洞腔も減少していた。この変化の発生は肝臓重量増加とよく一致し、脂質代謝の変化と関連した可能性が考えられた。その他に観察された所見は、検体投与との関連性はないと考えられた。

以上の如く、ピリプロキシフェン原体のラット13週間混餌投与試験における影響として、体重増加の抑制（5000ppm以上の雌雄）、赤血球指標の減少（2000ppm雄と5000ppm以上の雌雄）、血液生化学的検査値の変動（2000ppm雄と5000ppm以上の雌雄）がみられ、病理学的検査では肝臓において重量の増加（2000ppm以上の雌雄）と細胞質含量の増加（2000ppm以上の雌雄）が認められた。400ppm投与群では、検体投与の影響は認められなかった。

従って、本試験の最大無作用量は、400ppm（雄：23.49mg/kg/日、雌：27.68mg/kg/日）と考えられた。

表1 病理組織学的所見

臓器・所見	雄					雌				
	a) 0	400	2000	5000	10000	0	400	2000	5000	10000
	b) 10	10	10	10	10	10	10	9	10	10
肺：										
血管の石灰化	2	1	2	0	3	0	0	1	0	0
リンパ様組織をもつ細気管支	10	10	10	10	10	10	10	9	10	10
肺胞の組織球増殖症	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0
血管周囲白血球浸潤	0	1	2	2	1	1	2	0	0	2
限局性骨性異形性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
肝臓：										
限局性慢性炎症	10	9	7	7	↓6	10	8	8	8	↓6
細胞質の変性	1	2	↑6	↑10	↑9	1	2	↑6	↑7	↑9
限局性壊死	1	1	0	1	0	0	0	0	0	2
中間帯の壊死	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
すり硝子様小増殖巣	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
胆管の過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
明細胞性小増殖巣	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腎臓：										
慢性進行性腎症 c)	4	1	3	6	7	1	0	0	0	1
腎盂の拡張	5	3	3	5	5	3	1	1	1	0
髓質尿細管の石灰化	4	↓0	1	3	2	1	1	3	3	2
腎盂の結石	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腎盂上皮の過形成	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0
腎盂粘膜下の炎症	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
皮質尿細管の石灰化	0	0	0	0	0	4	↓0	1	4	2
髓質尿細管の顆粒状円柱	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
囊胞	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

a) : 投与量, ppm

b) : 検索動物数

c) : 申請者注

慢性進行性腎症 (chronic progressive nephropathy) は、再生性近位尿細管 (small foci of regenerative proximal tubular cells) と定義されており、いわゆる好塩基性尿細管と同義であり、ラットの加齢性変化としてしばしば認められる慢性腎症の初期変化であると考えられた。

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

(2) ピリプロキシフェン原体のイヌを用いた強制経口投与による亜急性毒性試験

(資料5-2)

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：

試験動物：ビーグル犬 1群雌雄各4匹(6ヶ月齢)

開始時体重範囲；雄 7.7~11.1kg、雌 7.1~11.1kg

試験期間：3ヶ月(1986年8月28日~11月27日)

投与方法：検体をカプセルに充填し、100、300および1000mg/kg/日の投与量で3ヶ月間強制経口投与した。

試験項目および結果：

[一般状態および死亡率]

一般状態および生死を毎日観察した。

対照群を含む全群で嘔吐および軟便が認められたが、対照群と投与群の間でその発現頻度に差が認められなかったため、検体投与に起因するものとは考えられなかった。試験期間中に死亡例はみられなかった。

[体重変化]

投与開始前2週間および投与期間中は毎週1回全動物の体重を測定した。

いずれの投与群でも検体投与による影響はみられなかった。

[摂餌量]

投与開始前2週間および投与期間中、毎日全動物の摂餌量を測定した。

また、週毎の食餌効率も算出した。

摂餌量および食餌効率に、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

[血液学的検査]

投与開始前、投与開始後4、8および12週目に各群全動物を対象として、橈側皮静脈から血液を採取し、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、赤芽球数、網状赤血球数、白血球数、白血球百分比、血小板数、赤血球沈降速度、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

各検査時期とも各投与群で対照群と統計学的有意差はなく、異常は認められなかった。

[血液生化学的検査]

上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて、総蛋白、蛋白分画、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、直接ビリルビン、総ビリルビン、GOT、GPT、ALP、CPK、 γ -GTP、LDH、ナトリウム、カリウムおよびカルシウムを測定した。

対照群と比較して統計学的有意差がみられた順目を下表に示す。

検査時期	検査項目	雄 (mg/kg/日)			雌 (mg/kg/日)		
		100	300	1000	100	300	1000
4週	総蛋白						110↑
	α 1-グロブリン						64↓↓
	リン脂質						121↑
	GPT			63↓↓			
8週	α 1-グロブリン					75↓	73↓

統計学的方法：ASSIT法、↓、↑：P<0.05、↓↓：P<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

300mg/kg投与群の雌で投与開始後8週目以降および1000mg/kg投与群の雌で投与開始後4週目以降で、総コレステロールおよびリン脂質に軽度な増加がみられ、1000mg/kg投与群の雌では投与開始後4週目でリン脂質に対照群と比較して統計学的に有意な増加がみられた。1000mg/kg投与群の雄では統計学的有意差はみられなかったが、投与開始後8週目以降、ALPの軽度な上昇が認められた。その他統計学的有意差のみられた変化は、個体別にみると1例のみの変化によるか、毒性学的意義のない変化であり、検体投与との関連はないものと考えられた。

[尿検査]

投与開始前、投与開始後6および11週目に全動物を対象として、外観、尿量、比重、pH、ブドウ糖、蛋白、潜血、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲンおよび沈渣を検査した。

各検査時期とも各投与群で、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

[糞便検査]

投与開始前、投与開始後6および11週目の尿採取時に全動物を対象として24時間分の糞便を採取し、糞便潜血および重量を測定した。

各検査時期とも各投与群で、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

[肝機能検査]

投与開始前、投与開始後6および13週目に全動物を対象として、BSP停滞率試験を実施した。

各検査時期とも各投与群で、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

[腎機能検査]

投与開始前、投与開始後5および11週目に全動物を対象として、PAH停滞試験を実施した。

各検査時期とも各投与群で、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

[眼科学的検査]

投与開始前、投与開始後6および12週目に全動物を対象として、検査した。

各検査時期とも各投与群で、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

[心電図検査]

投与開始前、投与開始後5および12週目に全動物を対象として、標準肢第II誘導により無麻酔下で振幅P、振幅R、PR時間、QRS時間、QT時間を測定した。

又、同時に心拍数も測定した。

各検査時期とも各投与群で、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

[臓器重量]

投与期間終了時の全生存動物を対象として解剖の後、脳、下垂体、顎下腺、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、脾臓、脾臓、腎臓、副腎、胃、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、大腸(盲腸、結腸、直腸)、精巣、前立腺、卵巣および子宮の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
投与群 (mg/kg)	100	300	1000	100	300	1000
体重						
顎下腺	重量	134 ↑ ↑				
	体重比					
肝	重量	130 ↑	126 ↑			
	体重比	124 ↑				
子宮	重量			150 ↑ ↑		
	体重比					

統計学的方法：ASSIT法、↑：P<0.05、↑↑：P<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

300mg/kg以上の投与群で、肝重量および対体重比がやや大であり、300および1000mg/kg投与群の雄では肝重量に、また300mg/kg投与群の雄では、対体重比に統計学的有意差が認められた。

その他に300mg/kg投与群の雄で顎下腺および100mg/kg投与群の雌で子宮重量の統計学的に有意な増加がみられたが、対体重比では有意差がみられず、用量相関性もみられなかったため、検体投与による影響とは考えられなかった。

[肉眼的病理検査]

投与期間終了時の全生存動物を対象として、検査した。

300mg/kg投与群では、雄1例で肝臓の大型、雄2例で肺左中葉に暗赤色域あるいは左中葉に灰黄色域、軽度な硬化および被膜下表面赤色線状巣、雌1例で左前葉と中葉の癒着、右中葉先端部の黄褐色化および両後葉先端部に散在性の乳白色斑が認められた。1000mg/kg投与群では、雄2例および雌1例で肝臓の大型、雌雄各1例で心臓右房室弁に黒色結節、雌1例で右中葉に灰黄色退縮、雄1例で胸腺に散在性の赤色点、雌1例で胆嚢粘膜面白色顆粒、雄1例で背部皮膚に腫瘤が認められた。100mg/kg投与群では、雌1例で腹部皮層に腫瘤が認められた。

その他の所見はいずれも用量相関性がなく、検体投与の影響によるものとは考えられなかった。

[病理組織学的検査]

上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、臓器重量測定臓器を含め、眼球(視神経を含む)、耳下腺、舌、顎下リンパ節、喉頭、気管、大動脈、胆嚢、膀胱(尿管を含む)、食道、腸間膜リンパ節、脊髄、坐骨神経、大腿部骨格筋、腹部皮膚、乳腺、胸部骨髄、大腿部骨髄、精巣上体、膈および肉眼的病変部について病理標本を作成し、検鏡した。

主要な病変の発現頻度を別表に示す。

300mg/kg以上の投与群の雌および1000mg/kg投与群の雄で、肝細胞肥大が認められた。この変化は、滑面小胞体の増加によるものであり、同時に細胞質内に検体の解毒に関与する滑面小胞体増殖の特殊型を示す同心円状構造物が認められた。その他の臓器および組織には、検体投与の影響によると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤の3ヶ月間強制経口投与による亜急性毒性試験における影響として、300mg/kg以上の投与群で総コレステロールおよびリン脂質の軽度な増加、肝重量および対体重の増加、肝細胞の肥大が認められ、1000mg/kg投与群ではALPの軽度な上昇も認められたので、最大無作用量は雌雄とも100mg/kg/日であると判断される。

申請者注：

報告書には、所見として肝細胞腫大と用語を使用しているが、肝細胞肥大と同義であるため、本抄録では、肝細胞肥大という用語を使用した。

主要な病変の発現頻度

性別		雄				雌			
投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
肝	限局性細胞浸潤	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	単細胞壊死	2/4	2/4	1/4	3/4	2/4	2/4	1/4	3/4
	細胞肥大	0/4	0/4	0/4	↑4/4	0/4	0/4	3/4	↑4/4
	好酸性小体	0/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	0/4	2/4
脾	限局性うっ血	3/4	2/4	4/4	1/4	2/4	1/4	2/4	3/4
	脾柱動脈壁出血	0/4	1/4	1/4	2/4	2/4	1/4	0/4	2/4
顎下リンパ節	髓質褐色色素沈着	2/4	3/4	3/4	2/4	1/4	0/4	1/4	0/4
腸間膜リンパ節	出血	1/4	2/4	1/4	4/4	4/4	2/4	2/4	3/4
胸腺	萎縮	1/4	2/4	1/4	0/4	1/4	3/4	1/4	0/4
	出血	2/4	1/4	2/4	2/4	2/4	2/4	1/4	0/4
肺	間質性肺炎	1/4	2/4	3/4	0/4	2/4	4/4	2/4	0/4
腎	乳頭部尿細管石灰沈着	2/4	2/4	4/4	4/4	2/4	3/4	3/4	4/4
	尿細管上皮細胞空胞化	1/4	3/4	0/4	1/4	3/4	1/4	1/4	3/4
	皮質間質限局性細胞湿潤	2/4	1/4	1/4	1/4	2/4	3/4	3/4	3/4

表中の数値の分母は検査例数、分子は病変例数を表す。

Fisherの直接確率検定を実施した(申請者実施); ↑↓ : $P \leq 0.05$, ↑↓ : $P \leq 0.01$

(3) ピリプロキシフェンのマウスにおける亜急性経口毒性試験

(資料5-3)

試験機関: Hazleton Laboratories America

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990年

検体の純度:

試験動物: Cr1: CD-1 (ICR) BR系マウス、約7週齢

(体重; 雄 27.6~32.1g, 雌; 19.8~24.3g)、1群雌雄各10匹

投与期間: 13週間 (1987年11月24日~1988年2月25日)

投与方法: 検体を200、1000、5000及び10000ppmの濃度で基礎飼料に混合し、90日間にわたって自由に摂取させた。対照群には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡; 1日2回死亡の有無を確認し、1日1回一般状態観察を行った。

触診は週1回の頻度で行った。

累積生存率を以下の表に示す。雄では用量依存性の生存率低下が認められた。途中死亡例では削瘦、円背姿勢、糞便少量または糞便なしが高頻度に認められたが、生存動物については検体に関連する変化は認められなかった。

投与量 (ppm)		0	200	1000	5000	10000
13週目における生存率 (%)	雄	10/10	10/10	10/10	8/10	3/9*
	雌	10/10	10/10	10/10	10/10	1/10
	計	20/20	20/20	20/20	18/20	4/19*

*; National Cancer Institute Package を用いて解析

対照群に比べて有意差あり $p < 0.05$

#; 10000ppm群の雄1例は採血時に偶発的に死亡

体重変化; 全動物の体重を投与前及び投与1~13週に毎週測定した。

200及び1000ppm群では、雌雄ともに平均体重に対照群と比較して有意差は認められなかった。5000ppm群の雄及び10000ppm群の雌雄では、4週目の平均体重が対照群に比べて有意に低値であった。試験終了時には、5000及び10000ppm群の雄の平均体重が有意に低値であった。Raoの統計学的手法を用いて求めた平均成長率を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
	平均値 ± SD (例数)	平均値 ± SD (例数)
0	0.00032 ± 0.00007 (10)	0.00039 ± 0.00005 (10)
200	0.00036 ± 0.00012 (10)	0.00036 ± 0.00009 (10)
1000	0.00032 ± 0.00007 (10)	0.00043 ± 0.00009 (10)
5000	0.00011* ± 0.00012 (8)	0.00032 ± 0.00014 (10)
10000	-0.00022* ± 0.00029 (3)	データなし

*; 対照群に比べて有意差あり $p < 0.05$

摂餌量; 全動物の摂餌量を投与1~13週に毎週測定した。

各群とも平均摂餌量に差は認められず、総摂餌量に有意差は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量から算出した投与期間中の平均検体摂取量は次の通りであった。

投与量 (ppm)		200	1000	5000	10000
検体摂取量 ± SD (mg/kg/日)	雄	28.2 ± 1.62	149.4 ± 9.09	838.1 ± 37.3	2034.5 ± 310.9
	雌	37.9 ± 2.84	196.5 ± 14.05	963.9 ± 54.3	2345.3 ± 301.16

摂水量；全動物の摂水量を3または4日ごとに週2回測定した。

試験期間を通じて5000及び10000 ppm群で平均摂水量の高値が認められた。

眼科学的検査；投与前及び投与12週目の終わりに全動物について間接的な検査を行った。いずれの群においても異常は認められなかった。

血液学的検査；投与終了後の解剖日（一晩絶食下）に全生存動物について眼窩静脈叢より血液サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、白血球分類、血球形態、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、補正白血球数

対照群に比べ統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

検査項目	投与量 (ppm)							
	200		1000		5000		10000	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
赤血球数						↓90	↓76	93
ヘモグロビン濃度					↓85	↓87	↓68	93
ヘマトクリット値					↓87	↓88	↓70	93
MCV					↓91		↓91	
MCH			↓96		↓89		↓89	
MCHC					↓97			
血小板数					↑122	↑124	↑115	110

有意差の検定は、Dunnett法により行った。↑↓：p < 0.05

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

10000ppm群の雌については、1例のみのデータであるため、統計解析を実施しなかった。

5000 ppm群の雌及び10000 ppm群の雄で赤血球数低下、5000 ppm群の雌雄及び10000 ppm群の雄でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低下、血小板数増加、5000及び10000 ppm群の雄で、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の低下が認められた。5000 ppm群の雄で平均赤血球血色素濃度低下が認められた。1000 ppm群の雄では平均赤血球血色素量低下が認められた。

血清生化学的検査；投与終了後の解剖日（一晩絶食下）に全生存動物についてペントバルビタールナトリウム麻酔下で腹大動脈より血液サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

ナトリウム、血糖、アスパルテートアミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルブミン、グロブリン、カルシウム、トリグリセライド、カリウム、総蛋白、総コレステロール、リン脂質、総ビリルビン、尿素窒素、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ

対照群に比べ統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

検査項目	投与量 (ppm)							
	200		1000		5000		10000	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿素窒素					↑ 196	↑ 269	350	156
総コレステロール				↑ 130		↑ 206		142
AST					↑ 180		190	
ALT					↑ 214		200	
リン脂質						↑ 163		124

有意差の検定は、Dunnett 法により行った。 ↑ : $p < 0.05$

表中の数値は対照群 (100) に対する変動率 (%) を示す。

10000ppm 群の雌雄については、雄で 2 例および雌で 1 例のみのデータであるため、統計解析を実施しなかった。

1000 及び 5000 ppm 群の雌で総コレステロールの増加、5000 ppm 群の雌雄で尿素窒素の増加、雄でアスパルテートアミノトランスフェラーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼの増加、雌でリン脂質の増加が認められた。

尿検査；投与終了後、全生存動物について一晩絶食下で尿サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

pH、外観、糖、ケトン体、蛋白、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン、沈渣の光学顕微鏡観察

いずれの群においても変化は認められなかった。

肉眼的病理学検査；投与終了後、全生存動物についてペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死させ、以下の項目について剖検を行った。途中死亡動物についても同様に剖検を行った。

体表、口、頭蓋腔、屠体、頭部表面、鼻腔及び鼻介骨、胸腔・腹腔・骨盤腔及び内臓、頸部組織及び臓器

認められた主要な肉眼的病理学検査所見を次表に示す。

性別		雄					雌					
		0	200	1000	5000	10000	0	200	1000	5000	10000	
途中死亡例	投与量 (ppm)	0	200	1000	5000	10000	0	200	1000	5000	10000	
	所見											
	腎臓	検査動物数	0	0	0	2	7	0	0	0	0	9
		腎盂拡張				1	4					4
		嚢胞					3					2
		褪色					3					1
		腎盂内液貯留				1	2					
		左右大小不同				1						2
生存例	所見											
	腎臓	検査動物数	10	10	10	8	3	10	10	10	10	1
		腎盂拡張	1		1	4	2				1	
		嚢胞				1	↑2				1	
		褪色				↑4	↑2				2	
		腎盂内液貯留									1	
		左右大小不同				2					3	
		大型化	1									
		暗色域			1				1		1	
		小型化						1				
	肝臓	暗色化				↑4	↑2				3	
	褪色域	1						1				

表中の数値は、所見の認められた動物数を示す。

Fisher の直接確率検定 (申請者実施) ; ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

但し、途中死亡例については対応する対照群がないため、検定を実施しなかった。

途中死亡例では、腎臓所見が 5000 ppm 群の雄で 1/2、10000 ppm 群の雄で 5/7、雌で 6/9 の頻度で認められた。生存例においては、腎臓所見が 0、200、1000、5000 及び 10000 ppm 群の雄でそれぞれ 1/10、0/10、2/10、4/8 及び 2/3、雌でそれぞれ 1/10、1/10、0/10、4/10、0/1 で認められた。生存例では 5000 ppm 群の雄 4/8 及び雌 3/10、10000 ppm 群の雄 2/3 において肝臓暗色化が認められた。

臓器重量；全生存動物について肝臓 (胆嚢を含む)、腎臓、精巣及び副腎 (固定後) の重量を測定した。また、体重比臓器重量を算出した。

対照群に比べ統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

検査項目	投与量 (ppm)							
	200		1000		5000		10000	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終体重					↓85		↓70	
肝臓	絶対重量					↑117		160
	相対重量				↑122	↑126	↑141	164
精巣	絶対重量						↓66	
副腎	相対重量				↑145		↑199	

有意差の検定は、Dunnnett 法により行った。↑↓ : $p < 0.05$

表中の数値は対照群 (100) に対する変動率 (%) を示す。

10000ppm 群の雌については 1 例のみのデータであるため、統計解析を実施しなかった。

5000 ppm 群の雌雄及び 10000 ppm 群の雄で肝臓重量の高値が認められた。雄において精巣、副腎重量の高値が認められたが、これらの変化は最終体重の変化によるものと考えられた。

病理組織学的検査；対照群及び 10000ppm 群の全動物ならびに途中死亡例については、以下の組織をパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色後、光学顕微鏡下で観察した。肉眼的異常病変部位、肺、肝臓及び腎臓についてはその他の群の全動物についても同様に観察した。

脳幹を含む脳（延髄/橋、小脳、大脳皮質）、下垂体、甲状腺（上皮小体）、胸腺、肺、気管、心臓、胸骨（骨髄を含む）、唾液腺（顎下腺）、乳腺、大腿筋、眼球、大腿骨（関節部を含む）、腎臓、副腎、膵臓、精巣/精巣上体、卵巣、子宮、肝臓（胆嚢を含む）、脾臓、大動脈、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、腸間膜リンパ、坐骨神経、皮膚、頸部脊椎、胸部中央脊椎、腰部脊椎

認められた主要な病理組織学的検査所見を次表に示す。

性別		雄					雌					
		0	200	1000	5000	10000	0	200	1000	5000	10000	
所見												
途中死亡例	心臓	検査動物数	0	0	0	2	7	0	0	0	0	9
		変性心筋症					3					4
	脾臓	色素増加				1	5					4
		髓外造血低下										2
	肝臓	うっ血				2	5					5
		限局性単核細胞浸潤					2					
	腎臓	うっ血				2	5					2
		小嚢胞/尿細管拡張				2	7					9
		腎盂拡張				2	7					9
		尿細管腎症				2	7					9
		尿細管石灰沈着				1	7					7
		腎乳頭壊死					2					1
	胸腺	リンパ球減少				2	3					2
	骨髄	顆粒球系細胞過形成				1	4					3

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	200	1000	5000	10000	0	200	1000	5000	10000	
所見												
生存例	脾臓	検査動物数	10	10	10	8	3	10	10	10	10	1
		色素増加					2					
	肝臓	限局性単核細胞浸潤	6	5	5	3		9	U3	↓4	↓4	1
		うっ血	3		1			3		10		
	腎臓	限局性単核細胞浸潤	6	5	6	4	1	4	4	2	4	
		慢性進行性腎症*)	5	6	5	1		3	4	3		1
		小嚢胞/尿細管拡張	3	1	1	↑7	2	1	2		↑7	1
		腎盂拡張	1		1	4	2				↑4	
		尿細管腎症				↑7	↑3				↑8	
		尿細管石灰沈着				3	↑2				↑6	

表中の数値は、所見の認められた動物数を示す。

Fisher の直接確率検定 (申請者実施) ; ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

但し、途中死亡例については対応する対照群がないため、検定を実施しなかった。

*) 申請者注：慢性進行性腎症 (Nephropathy, chronic progressive) は、軽微な好塩基性尿細管、単核細胞浸潤、尿細管拡張、尿細管内好酸性物質貯留などを併発した複合病変であり、いわゆる慢性腎症と考えられた。

5000 及び 10000 ppm 群の生存動物の腎臓において、検体投与に関連した組織形態学的変化として小嚢胞/尿細管拡張、尿細管石灰沈着、腎盂拡張を伴う尿細管腎症が認められた。その他に投与に関連した変化が胸腺、骨髄、心臓、脾臓に認められた。

以上の結果より、ピリプロキシフェン原体を雌雄マウスに 200、1000、5000 及び 10000 ppm の濃度で 90 日間混餌投与したところ、検体投与に関連した変化が認められた。5000 及び 10000 ppm 群では生存率低下、体重低下、摂水量増加が認められた。臨床変化として赤血球パラメータの低下が認められた。剖検では腎盂拡張、腎髄色が認められ、病理組織学的検査では尿細管拡張、尿細管石灰沈着、腎盂拡張を伴う尿細管腎症が認められた。肝臓重量の増加が認められたが、それに関連した組織形態学的変化は見られなかった。5000 ppm 群では血小板数増加が認められ、尿素窒素、総コレステロール、アスパルテートアミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ及びリン脂質の増加が見られた。1000 ppm 群では投与に関連した所見として平均赤血球血色素量低下、総コレステロール増加が認められた。200 ppm 群では投与に関連した変化は認められなかった。

申請者注：無毒性量について

本試験における無毒性量は、雌雄とも 200ppm (雄 28.2mg/kg/day、雌 37.9mg/kg/day) と考えられた。

(4) ピリプロキシフェン原体のラットにおける6ヵ月亜急性毒性試験

(資料5-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP対応]

報告書作成年：1988、1989年修正

検体：ピリプロキシフェン原体

検体純度：

供試動物：CD (SD) 系ラット、1群雌雄各21匹、開始時週齢：5週齢

開始時体重：雄165～189g、雌133～161g

投与期間：6ヵ月間（雄：1986年10月20日～1987年4月20、21日、雌：1986年10月20日～1987年4月22、23日）

投与方法：検体を0、80、400、2000および10000ppmの濃度で飼料に混入し、6ヵ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は2週間に1回調製した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

投与期間中に死亡例はなかった。

10000ppm群雌雄で、頸背部を中心とした脱毛が投与初期に、軟便が投与開始後から投与12週まで、また、糞の黄白色化が投与期間を通じて認められた。

2000ppm以下の投与群に検体投与による影響は認められなかった。

体重変化；投与開始後3日目、その後投与13週目までは週1回、14週以降は4週間に1回の頻度で全動物の体重を測定した。

10000ppm群雌雄において全投与期間にわたって著明な体重増加抑制が認められ、投与期間を通じた体重増加量は雄で対照群の81%、雌で77%であった。

2000ppm以下の群の雌雄に検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量および食餌効率；投与開始後13週目までは週に1回、14週以降は4週間に1回の頻度で各ケージ単位に連続2日間の摂餌量を測定し、動物1匹1日当たりの摂餌量を算出した。また、平均体重比摂餌量（食餌効率）を算出した。

摂餌量については10000ppm群雌雄で投与開始後3日目に有意な低値が認められたが、それ以降は対照群とほぼ同様の推移を示した。

2000 ppm 以下の投与群に検体投与による影響は認められなかった。

摂水量；投与開始後 13 週目までは週に 1 回、14 週以降は 4 週間に 1 回の頻度で各ケージ単位に連続 2 日間の摂水量を測定し、動物 1 匹 1 日当たりの摂水量を算出した。また、平均体重比摂水量を算出した。

摂水量については 10000 ppm 群雄で投与開始初期に有意な高値が認められ、雌においても統計学的有意差はないものの同様の傾向がみられた。しかし、投与期間の後半では雌雄とも若干の低値傾向が認められた。

2000 ppm 以下の投与群については雄で投与期間中に有意な低値を示す検査時期もあったが、明瞭な投与量との相関はなく検体投与の影響ではないと考えられた。雌では投与期間を通じて検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を下表に示す。

投与量 (ppm)		80	400	2000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.80	24.0	121	682
	雌	5.36	27.5	136	688

血液学的検査；投与終了後に全動物について約 16 時間絶食させた後に、エーテル麻酔下で腹動脈から採血し、以下の項目を検査した。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球分類

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
赤血球数	101	99	↓ 97	↓ 94	101	98	101	↓ 94
ヘモグロビン量	101	101	↓ 97	↓ 97	100	↓ 97	101	↓ 93
ヘマトクリット値	101	100	↓ 97	↓ 97	100	97	102	↓ 94
MCH	99	101	100	↑ 102	98	99	99	98
MCHC	100	100	100	99	99	99	↓ 99	↓ 98
血小板数	101	98	98	93	100	101	99	↓ 90

LSD 法 ↑↓ : p < 0.05, ↑↓ : p < 0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値。

10000 ppm 群において、雌雄で赤血球数の有意な減少が認められ対照群に対する減少割合は 6%であった。また、雌雄でヘモグロビン量およびヘマトクリット値も有意に低下した。雄では平均赤血球血色素量 (MCH) が軽度に増加し、雌では平均赤血球血色素濃度 (MCHC) と血小板数の低下が認められた。

2000 ppm 群雄において赤血球数の有意な減少が認められ対照群に対する減少割合は 3%であった。また、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値も有意に低下した。雌では平均赤血球血色素濃度が低下した。

400 ppm 群雌においてヘモグロビン量が軽度に低下したが、1 例に認められた腫瘍性変化によると考えられ検体投与の影響とは判断しなかった。

400 ppm 群雄および 80 ppm 群雌雄に検体投与の影響は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査時に採取した血液の一部から血清および血漿（抗凝固剤はヘパリンナトリウム）を分取し、以下の項目を検査した。

①血清

アルブミン、総コレステロール、トリグリセライド、アルカリ性ホスファターゼ (ALP)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT)、尿素窒素、血糖、総タンパク、総ビリルビン、ナトリウム、クレアチニン、カリウム、カルシウム、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)、リン脂質、クロライド、コリンエステラーゼ、血清タンパク分画、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)

なお、血清タンパク分画については総タンパクに各グロブリン比率を乗じた絶対値を算出し各群を比較した。

②血漿

乳酸脱水素酵素、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

10000 ppm 群雌雄で、総タンパク、アルブミン、総コレステロール、尿素窒素、リン脂質、カルシウムが増加し、血糖値と GOT が低下した。雄では GGT、血清タンパク分画でアルブミン比と A/G 比が増加し、トリグリセライド、カリウムが低下した。雌ではナトリウムの増加および GPT とコリンエステラーゼの低下が認められた。

2000 ppm 群雄では血清タンパク分画でアルブミン比および A/G 比、総コレステロール、リン脂質が増加した。雌では GPT の低下とナトリウムの増加が認められた。

2000 ppm 群雌では総タンパクとアルブミンが低下し、400 ppm 群雌でもアルブミンが低下したが、いずれも 10000 ppm 群とは逆の変化であり検体投与の

影響とは考えなかった。

血清タンパク分画のグロブリンについて、 α_1 分画比率の低下が雄の 400 ppm 以上の群で、 β 分画比率の低下が雄の 2000 ppm 以上の群並びに雌の 10000 ppm 群で認められた。また、10000 ppm 群雄では α_2 分画比率が増加した。また、雌では 10000 ppm 群で α_1 分画比率、80 および 2000 ppm 群で γ 分画比率が増加した。しかし、総タンパクに各グロブリン比率を乗じた絶対値で比較すると、 α_1 分画の増加が雌の 10000 ppm 群で、 α_2 分画の増加が雌雄の 10000 ppm 群で、 β 分画の低下が雄の 2000 ppm 以上の群および雌の 10000 ppm 群で認められた。これらの絶対値の変動が検体投与の影響と考えた。その他の変化はアルブミンの増加に伴った変動であり検体投与の一時的影響とは判断しなかった。

2000 ppm 以下の投与群雌雄において上記以外にも一部の項目に有意な変動が認められたが検体投与の影響とは考えなかった。

申請者注：

10000 ppm 群の雄のクロライドの有意な低下については、報告書中で考察されていない変化である。しかしながら、当該変化は軽微かつ片性のみで認められた変化であることから、検体投与による変化ではないと判断した。

検査項目	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
総タンパク	98	100	98	↑104	100	97	↓96	↑106
アルブミン	100	100	103	↑109	98	↓98	↓98	↑110
血糖	101	107	92	↓86	104	102	98	↓88
総コレステロール	87	112	↑138	↑195	111	111	110	↑148
トリグリセライド	114	↑139	93	↓54	114	100	55	59
尿素窒素	94	94	100	↑113	104	96	104	↑122
総ビリルビン	100	100	100	↑100 ^a	100	100	100	100
GOT	97	108	103	↓71	114	135	60	↓43
GPT	98	133	83	69	115	129	↓51	↓39
乳酸脱水素酵素	93	89	101	71	117	↑148	57	55
LAP	100	↑108	98	98	106	104	↑109	100
GGT	1 ^b	1 ^b	1 ^b	↑6 ^b	100	100	100	200
リン脂質	94	113	↑130	↑180	105	102	93	↑127
ナトリウム	100	100	100	101	101	100	↑101	↑101
カリウム	98	↓96	98	↓94	98	100	98	93
カルシウム	99	101	101	↑105	99	99	99	↑105
クロライド	100	100	101	↓99	100	99	100	100
コリンエステラーゼ	99	109	97	108	98	95	99	↓64
アルブミン比	100	102	↑105	↑108	↓97	98	98	101
グロブリン								
-1 α ₁ 分画比率	98	↓93	↓91	↓89	99	93	93	↑111
-2 α ₂ 分画比率	106	98	102	↑114	107	109	105	114
-3 β分画比率	100	100	↓94	↓88	106	106	103	↓82
-4 γ分画比率	100	103	105	93	↑114	109	↑116	99
α ₁ 分画絶対値 ^c	96	93	↓90	93	99	89	88	↑117
α ₂ 分画絶対値	103	97	100	↑117	103	107	100	↑117
β分画絶対値	99	100	↓92	↓92	33	101	98	↓86
A/G比	101	106	↑111	↑119	↓91	95	96	103

LSD法 ↑↓: p < 0.05、↑↓: p < 0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値。

a: 計算上で統計学的有意差が算出された。

b: 対照群の値が0のため増加割合は算出できないので測定値を記載。

c: 分画絶対値、総タンパクに各グロブリン分画比率を乗じた値

尿検査； 投与 26 週目に採取した尿について全動物を対象として以下の項目を検査した。
pH、潜血、糖、ケトン体、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン
並びに 80 ppm 群雌を除いた全群で外観、尿量、ナトリウム、カリウム、浸透
圧、沈渣

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

10000 ppm 群雌雄で尿蛋白陽性、黄色あるいは黄褐色尿およびカリウムの増加が認められた。同群雌でビリルビン陽性の増加、比重の高値、ナトリウムの増加並びにケトン体陽性の減少が認められた。同群雄ではビリルビン陽性例の増加傾向がみられた。

検査項目	投与量 (ppm)									
	雄					雌				
	0	80	400	2000	10000	0	80	400	2000	10000
蛋白										
-	1	2	0	0	0	3	1	0	0	0
±	1	0	2	0	1	2	4	7	4	1
+	6	10	9	10	2	12	11	10	13	2
2+	9	6	8	8	6	3	5	4	3	9
3+	3	3	1	3	5	1	0	0	1	5
4+	1	0	1	0	↑7	0	0	0	0	↑4
ケトン体										
-	10	8	11	5	7	7	7	11	10	16
±	9	10	7	9	11	10	9	4	9	4
+	2	3	3	7	3	4	5	6	2	1
2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	↓0
ビリルビン										
-	9	12	15	11	6	11	14	14	13	4
±	9	8	6	5	2	6	4	5	5	2
+	3	1	0	5	9	4	3	2	3	14
2+	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1
3+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	↑0
尿外観										
淡黄色	21	21	21	21	8	21	- ^a	20	21	6
淡褐色	0	0	0	0	0	0	-	1	0	0
黄色	0	0	0	0	9	0	-	0	0	8
黄褐色	0	0	0	0	4	0	-	0	0	6
褐色	0	0	0	0	0	0	-	0	0	1
尿比重										
-	0	2	0	1	0	0	0	2	1	0
±	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0
+	4	0	2	2	1	2	3	3	0	0
2+	2	3	5	4	1	7	6	5	8	1
3+	15	16	14	14	19	10	10	9	10	↑20
ナトリウム	100	↓61	↓48	↓69	104	100	- ^a	103	142	↑157
カリウム	100	95	96	104	↑130	100	-	126	126	↑162
浸透圧	100	90	↑120	90	119	100	-	95	↓77	118

Scheffe type の順位和検定、ナトリウム・カリウム・浸透圧は LSD 法

↑↓ : $p < 0.05$ 、↑↑ : $p < 0.01$

表中の数字については認められた例数、ナトリウム・カリウム・浸透圧は対照群を 100 とした場合の値。

a : 測定せず

眼科学的検査；投与 26 週目に全動物を対象として以下の項目を検査した。

角膜、結膜、虹彩、水晶体、硝子体、眼底

検査したいずれの動物にも異常は認められなかった。

臓器重量；投与終了後に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、精巣、甲状腺*、卵巢*、下垂体*、副腎*、胸腺、前立腺 (*：10%中性緩衝ホルマリン液で固定後に測定)

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

10000 ppm 群雌雄において、肝臓の重量および対体重比増加、腎臓の対体重比増加が認められ、さらに、雌では甲状腺の重量および対体重比増加、下垂体の重量低下が観察された。一方、重量低下が雌雄で肺・心臓に、また、雄の胸腺および雌の脾臓にみられ、対体重比増加が雌雄の脳、雄の精巣・甲状腺および副腎に認められたが、いずれも体重増加抑制に起因する見かけ上の変化であり検体投与との関連性は少ないと考えられた。

2000 ppm 群雄で肝臓の対体重比が増加し、雌で下垂体の絶対重量が低下した。また、雄では腎臓の対体重比増加もみられたが、投与量との相関性が明瞭でなく検体投与の影響とは考えられなかった。

400 ppm 群雌雄に対照群との差は認められなかった。

80 ppm 群雄で腎臓の対体重比が増加したが投与量との相関性が明瞭でなく検体投与の影響とは考えられなかった。

臓器・組織		投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
脳	重量	97	97	98	97	102	100	100	100
	対体重比	98	98	100	↑113	97	103	100	↑114
胸腺	重量	118	112	94	↓76	119	100	119	100
	対体重比	133	100	100	100	120	100	120	120
肺	重量	96	99	99	↓92	↑106	97	104	↓93
	対体重比	96	100	100	↑107	100	103	103	↑108
心臓	重量	99	100	106	↓91	↑106	98	99	↓93
	対体重比	104	104	111	107	100	100	100	↑106
肝臓	重量	99	104	109	↑134	106	99	104	↑128
	対体重比	100	103	↑109	↑156	100	102	104	↑148
脾臓	重量	100	101	103	96	104	102	96	↓83
	対体重比	100	100	100	↑114	100	106	94	94
腎臓	重量	106	104	106	107	104	100	99	100
	対体重比	↑107	105	↑107	↑125	99	103	99	↑116
精巣	重量	99	99	98	103				
	対体重比	102	100	100	↑121				
下垂体	重量	93	100	107	100	90	94	↓84	↓77
	対体重比	100	100	↑108	↑119	87	97	85	91
甲状腺	重量	100	96	96	100	100	100	111	↑121
	対体重比	100	95	98	↑120	93	105	110	↑139
副腎	重量	104	98	102	112	104	99	99	↓89
	対体重比	104	99	103	↑128	100	102	99	103

LSD法 ↑↓: p < 0.05, ↑↑: p < 0.01

表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値。

肉眼的病理検査；投与終了後に全動物について剖検し、肉眼的異常の有無を観察した。

検体投与の影響と考えられる所見を下表に示す。

臓器/所見	投与量 (ppm)									
	雄					雌				
	0	80	400	2000	10000	0	80	400	2000	10000
肝臓/検査例数	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21
小葉構造明瞭化	12	7	4	1	0	0	0	0	0	0
黒褐色化	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
肥大	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1

10000 ppm 群において肝臓に検体投与の影響を認めた。黒褐色化が雄においてのみ高頻度に認められた。小葉構造明瞭化が本試験では雄のみに観察され

たが、その出現率は投与量依存性に減少し、対照群の 12/21 例に対し 10000 ppm 群では 1 例も認めなかった。肥大を雌雄共に 1 例ずつ、黄白色点を雄 4 例・雌 3 例に認めた。

上記以外にも各臓器に種々の病変が認められたが、投与量との相関性のない変化であり、投与との関連はないものと考えられた。

病理組織学的検査；対照群と 10000 ppm 群は以下に示す臓器について、また、80、400、2000 ppm 群は肝臓、腎臓および肺について病理標本を作製し、鏡検した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、胸腺、精巣、前立腺、卵巣、下垂体、甲状腺および上皮小体、副腎、眼球、ハーダー腺、脊髄、胸大動脈、坐骨神経、気管、食道、大腿骨（骨髄を含む）、腸間膜リンパ節、胃、膵臓、小腸、大腸、唾液腺（顎下腺）、精巣上体、子宮、膀胱、皮膚、舌、包皮腺、乳腺（雌のみ）、胸骨、精囊、顎下リンパ節、大腿部筋肉、膈、肉眼的異常病変部位

検体投与の影響と考えられる病理組織学的病変を下表に示す。

臓器／所見	投与量 (ppm)									
	雄					雌				
	0	80	400	2000	10000	0	80	400	2000	10000
肝臓／検査動物数	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21
瀰漫性肥大 (軽度)	0	0	0	0	*21	0	0	0	0	*21

Fisher の正確確率検定法 * : $p < 0.01$

10000 ppm 群雌雄全例の肝臓に瀰漫性肝細胞肥大が観察された。

その他にも各投与群に種々の病変がみられたが投与量との相関性はなく自然発生的なものであった。

以上の結果から、ピリプロキシフェン原体を SD 系ラットに 6 ヶ月間混餌投与したところ、体重増加抑制が明瞭な 10000 ppm の投与量において肝臓に重量増加および肝細胞の瀰漫性肥大等の軽度な影響が観察された。腎臓についても重量増加等の非常に弱い作用を及ぼすことが示唆された。2000 ppm の投与量において血清中タンパクおよび脂質関連のパラメーター等の変動が認められたが、変化の程度はいずれも軽微であり、本投与量における毒性発現は極めて弱いものと考えられた。

従って、本試験の無毒性量は 400 ppm (雄 : 24.0 mg/kg/日、雌 : 27.5mg/kg/日) であった。

6. 反復経口投与神経毒性

ピリプロキシフェンの反復経口投与神経毒性試験の省略理由

(資料 6)

ピリプロキシフェンの反復経口投与神経毒性について、関連する試験結果から考察した。

1 ラットの90日間反復経口投与毒性試験(資料5-1)

現行の神経毒性試験ガイドラインにおいて、外観、体位、姿勢、自律神経機能、歩行の異常、動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応、神経系及び異常行動について、詳細な状態の観察が求められている。

一般毒性試験における一般症状観察では、上記に該当するいずれの観察項目においても本剤が関連したと思われる影響はみられず、特異的な神経毒性を示唆する所見は得られていない。なお、機能検査の一環としての自発運動量、刺激に対する感覚運動反応および握力検査は実施されていない。

神経毒性に関わる坐骨神経、脳、下垂体、脊髄及び眼球及びその付属器における病理組織学的検査では、異常所見は認められていない。また、脳重量および眼科学的検査が実施されているが、本剤が関連したと思われる所見はない。

2 その他の試験(90日より長期の試験)

下記の長期の試験において、レポートの要約、考察及び結論の中に致死量以下の用量で本剤が関連したと思われる特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

- (1) 亜急性毒性試験(イヌ; 1988年 資料5-2)
- (2) 慢性毒性試験(イヌ; 1991年 資料7-1, 追加試験1993年 資料7-2)
- (3) 慢性・発癌性試験(ラット; 1991年 資料7-3)
- (4) 発癌性試験(マウス; 1991年 資料7-4)
- (5) 繁殖試験(ラット; 1991年 資料8-1)

3 既知神経毒性物質との化学構造の相関

有機リン、カーバメート、ピレスロイド化合物などの既知神経毒性物質^{1)、2)}との化学構造に相関はないものと考えられる。

4 考察・結論

ラット90日間反復経口投与毒性試験において特異的な神経症状を示唆する毒性症状および神経毒性に関わる病理組織学的異常所見は何ら認められていない。90日より長期の試験においても、致死用量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。また、本剤の化学構造も既知神経毒性物質と相関はない。従って、本剤には特異的な神経毒性作用はないものと判断される。

以上のことから、ピリプロキシフェンの反復経口投与神経毒性試験実施の必要性はないものと考えられる。

[参考文献]

- 1) EPA Guidelines for Neurotoxicity Risk Assessment (1998)
- 2) WHO Environmental Health Criteria 223, Neurotoxicity Risk Assessment for Human Health: Principles and Approaches (2001)

7. 慢性毒性及び発癌性

(1) ピリプロキシフェン原体のビーグル犬における52週間経口(カプセル)試験

(資料7-1)

試験機関：Life Science Research Limited

報告書作成年：1991年[GLP対応]

検体：ピリプロキシフェン原体

純度：

試験動物：ビーグル犬(投与開始時23~27週令、体重：雄10.3~11.7kg、雌9.5~10.9kg)

1群雌雄各4頭

投与期間：52週間(投与開始：1988年8月4日)

投与方法：検体を30、100、300、1000mg/kgの割合でゼラチンカプセルに入れ、52週間毎日1回経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

試験項目および試験結果：

一般症状および死亡：投与期間を通じて毎日一般症状ならびに死亡の有無を観察した。また週毎にさらに詳細な症状観察を行った。

1000mg/kg群では投与と嘔吐に関連した流涎が見られ、これらの例では軽度ながら下痢の発現頻度が増加した。1000mg/kg群雄2例では一般状態の悪化および体重減少のため投与17および31週目にそれぞれ切迫屠殺した。また切迫屠殺例の他300mg/kg群雄2例では投与23および38週目より消瘦が認められた。

体重：投与期間を通じ毎週1回体重を測定した。

300および1000mg/kg群の雄では、投与開始後13週間において体重増加量が対照群より低値であった。また、同群の雌では投与期間を通じて同様の結果が認められた。

摂餌量：投与期間を通じて各週毎に摂餌量を算定した。

1000mg/kg群雄では投与期間を通じて対照群と比較して摂餌量の減少が見られた。
食餌効率には全般にかなりばらつきがあり、投与によると思われる一定の変化は認められなかった。

眼科学的検査：試験開始前および投与26および51週目に全生存動物について実施したが、本検体に関連すると考えられる眼科学的な変化は認められなかった。

血液学的検査：試験開始前および投与12、24、37および50週目に一晚絶食させた後、頸静脈より採血し、検査を行った。

EDTA処理血液により以下の項目の検査を行った。

血球容積(PCV)、ヘモグロビン量(Hb)、赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)
血小板数、白血球分類、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)

クエン酸処理の血液で以下の検査を行った。

プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(PTTK)

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を次の表にまとめた。

項目	検査時期 週	雄				雌			
		投与量(mg/kg/日)							
		30	100	300	1000	30	100	300	1000
PCV	12							▽89	
	37						▽85	▼81	▽87
ヘモグロビン量	12			▽88		▽91	▼86	▼85	
	24			▽87					
	37			▽88			▼82	▼79	▼84
赤血球数	12			▼87	▽89		▼86	▼83	▽90
	24			▼85					
	37			▽87			▼82	▼78	▼82
MCHC	12					▽97		▽97	
	37					▽97	▽97		▼94
	50					▽94			▽94
MCV	12			△105	▲106		▲106	▲106	▲106
	24			△106	△106		△104	△104	▲106
	37						▲104	△103	▲107
	50					△103	△103		▲106
リンパ球数	12			▽65		▽63	▽72	▽68	
	24				△150				
	37					▽70	▼60	▽70	▼60
血小板数	12				▲210				▲138
	24			△148	▲221				△123
	37		▲156	▲155	▲188				▲147
	50			△138	▲170				▲135

項目	検査 時期 週	雄				雌			
		投与量 (mg/kg/日)							
		30	100	300	1000	30	100	300	1000
プロトロン 時間	12				▲126				△109
	24			△106	▲114				
	37			△108	▲134				
	50				▲164				△116
PTTK	12		△141	△150					
	37				△164			△142	

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

(△、▽ ; P<0.05、▲、▼ ; P<0.01)

有意差検定はStudent検定によって行った。

上記の表でも明らかのように、100mg/kg以上の群では血球容積、ヘモグロビン量および赤血球数の減少、平均赤血球容積および血小板数の増加が認められ、軽微ながら貧血の可能性が示唆された。また、300mg/kg以上の群ではプロトロンビン時間の延長が認められ、これは肝臓の変化に関するものと考えられた。その他の変化はとくに検体投与によるものとは考えられなかった。

なお、貧血所見は途中屠殺例においても認められた。

骨髄検査：最終屠殺数日前に腸骨穿刺により骨髄を採取し、検査を行った。各群雌雄とも検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

血液生化学的検査：採血時期、採血方法、分析順序とも血液学的検査と同様に行い、抗凝固剤としてヘパリンリチウムを用いた。分離後血漿について以下の検査を行った。

アルカリホスファターゼ (AP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、クレアチンホスファキナーゼ (CPK)、尿素、クレアチニン、血糖、総ビリルビン、総トリグリセライド、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、A/G比、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を次の表にまとめた。

項目	検査 時期 週	雄				雌			
		投与量 (mg/kg/日)							
		30	100	300	1000	30	100	300	1000
AP	12				▲361			△245	▲317
	24			△207	▲409				△304
	37			▲228	▲372			▲356	△310
	50			△275	▲496				

項目	検査 時期 週	雄				雌			
		投与量 (mg/kg/日)							
		30	100	300	1000	30	100	300	1000
ALT	12				▲875				△445
	24				▲983				△806
	37				▲504				△831
	50				▲580				△432
AST	12		▽60		▲179				
	24				△247				
	37		▼53		△135				
	50		▽52			△306			
CPK	12	▽62	▼40	▼45	▼22				
クレアチニン	12							▽80	
	24			▽70	▽70				
	37		▽80					▽89	
	50		▼64	▼64				▼89	
血糖	24				▽80				
	50				▽76		▽91	▽91	
総ビリルビン	12				▲200				
	24		▽50						
	37		▲129	▲157	▲271			▲138	▲175
	50				▲250				
総トリグリセライド	12				▲983			▲306	▲335
	24				▲572			△156	▲168
	37			▲221	▲176		△154	▲176	▲173
	50		▲179	▲188					
総コレステロール	12		▲164	▲205	▲176		▲157	▲183	
	24	△158	▲205	▲243	▲203				
	37	△151	▲191	▲228			▲184	▲189	
	50		▲257	▲244		▽76	▽77		▽78
総蛋白	37		△109				△107		
	50		△114						▽93
アルブミン	24		△113				△106		
A/G比	24				▼69				
	37							▽85	▽85
	50								△127
ナトリウム	12								▼99
カリウム	12						▲107		
	50	△112							
塩素	12								▼97
	24				▽96				▽96
	37		▼98		▼97	△103			
	50		▽97						

項目	検査 時期 週	雄				雌			
		投与量 (mg/kg/日)							
		30	100	300	1000	30	100	300	1000
カルシウム	12			▽96					
	24							▼89	
	37							▽96	
	50					▽96	▽96	▽96	
無機リン	24				△119	▽83			
	37		△113			▽88			
	50					▼78	▽78		

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

(△、▽; P<0.05、▲、▼; P<0.01)

有意差検定はStudent検定によって行った。

100mg/kg以上の群で総コレステロールの上昇、300mg/kg以上の群でアルカリフォスファターゼの上昇およびトリグリセライドの増加、また、1000mg/kgの群でアラニンアミノトランスフェラーゼおよびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの上昇がそれぞれ投与期間を通じて認められた。この内で特にアラニンアミノトランスフェラーゼおよびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性ならびにコレステロール濃度の上昇は肝障害の可能性を示唆するものであった。その他塩素濃度およびカルシウム濃度の変化はいずれも正常範囲内の変化であり、偶発性とみられ投与によるものとは考えられなかった。

なお、途中屠殺例においても肝毒性を示唆する血液生化学的パラメータの変化が同様に認められた。

尿検査：試験開始前および投与11、23、35および49週目に以下の検査を行った。

外観、尿量、pH、比重、蛋白、総還元物質、グルコース、ケトン体、
ビリルビン、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩、潜血、尿沈査

1000mg/kg群雌では投与期間を通じて尿量の増加と軽度な尿のpH低下が認められた。

100あるいは300mg/kg群の雄でも投与11週目に軽度のpH低下がみられた。

さらに、投与35週目に300あるいは1000mg/kg群の雄および1000mg/kg雌2例に総還元物質が認められ、また、1000mg/kg群雌では尿のpHが低下した。これらの変化は病理組織学的な腎などの障害をともなっておらず、その意義は不明である。

肉眼的病理所見：投与期間終了後ペントバルビタールナトリウム麻酔下に放血致死させ、全身の組織・器官を肉眼的に観察した。途中屠殺動物も同様に剖検した。

1000mg/kg群雌2例において肝臓の大型化が、また同群3例に肝臓の表面不整が見られた。その他には検体投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

臓器重量：投与期間終了後屠殺した動物について剖検時下記の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺(および気管支)、卵巣、下垂体、前立腺(および尿道)、唾液腺(顎下腺)、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺(および上皮小体)、子宮(および子宮頸管)

対照群と比べて統計学的に有意差の認められた項目は次表のとおりである。

項目		雄				雌			
		投与量(mg/kg/日)							
		30	100	300	1000	30	100	300	1000
腎臓	絶対								
	相対			△150				△125	△125
肝臓	絶対	△129	△147	▲168	△191			△144	△139
	相対		▲158	▲192	▲200			▲157	▲154
肺	絶対				▽86				
	相対								
甲状腺	絶対							▲182	△163
	相対						△175	▲200	▲175

表中の数字は対照群に対する割合(%)を示す。
 (△、▽; P<0.05、▲、▼; P<0.01)
 有意差検定はDunnett検定によって行った。

100mg/kg以上の投与群では肝臓重量の高値が認められ、30mg/kg群雄1例でも高い傾向にあった。100mg/kg以上の投与群でみられた甲状腺重量の増加および300mg/kg以上の投与群でみられた腎臓重量の増加はいずれも正常範囲内での変動であり、また、いずれも病理組織学的障害を伴うものではなく、その意義は不明である。

病理組織学的検査：解剖した動物の剖検時の異常部位を含む臓器・組織を10%緩衝ホルマリン液に固定後、以下の臓器・組織について病理標本を作製し、組織学的検査を行った。ただし、眼球および視神経はDavidson固定液中で固定後70%工業用メタノール中に保存した。

副腎、大動脈(胸部)、脳、気管支、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼球および視神経、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(頸部、腸間膜、気管支周囲)、乳腺(尾側、頭側)、食道、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺(および尿道)、直腸、左唾液腺(顎下腺)、左坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨および骨髄、胃(胃底部、幽門部)、精巣、胸腺、甲状腺(および上皮小体)、気管、膀胱、子宮、膣、肉眼的異常部位

主要臓器に認められた所見を表1に示す。

1000mg/kg群では1例を除く全例に肝障害が認められた。肝障害は雌より雄に強く、小葉中心性の線維化と胆管増生に特徴づけられ、被膜下領域において最も顕著であり、全般に活動性慢性炎症性浸潤に関連するものであった。時に嚢胞変性巣が見られ、それは空胞細胞巣から生じていると思われた。より重度の障害部位では、結節性増生を伴っていた。肝臓に障害の見られた動物では胆嚢粘膜下の線維化も認められた。その他の異常所見はいずれも軽度であり、当研究所の同年令のイヌで通常見られる変化であった。途中屠殺例においても同様に肝障害が認められた。

以上のごとくピリプロキシフェン原体のビーグル犬における52週間経口投与試験の結果、体重増加抑制および肝毒性の発現を認めた。その内1000mg/kg群雄2例では肝毒性が著明であり、それぞれ投与17および31週目に切迫屠殺した。肝毒性の兆候は100および300mg/kg群においても認められた。

これらの結果から本剤の毒性学的無影響量は30mg/kg/日と結論した。

表 1 病理組織学的所見^{a)} (所見が認められた臓器のみを記載)

臓器および所見		雄					雌					
		投与量 (mg/kg/日)										
		0	30	100	300	1000		0	30	100	300	1000
		T ^{b)}	T	T	T	T	MS	T	T	T	T	T
		4 ^{c)}	4	4	4	2	2	4	4	4	4	4
副腎	: 嚢胞	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	: 皮質細胞の脂肪空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
脳	: 脳室の拡張	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
気管支	: 上皮の炎症	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
盲腸	: 嚢胞 (粘膜下組織)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
結腸	: 石灰化 (粘膜組織)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	: 漿膜性肉芽腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
精巣上体	: 無精液	1	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—
眼	: 結膜の炎症	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
胆嚢	: 粘膜下組織の線維化	0	0	0	1	2	2	0	0	0	0	3
	: 分泌物で拡張した腺	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	: リンパ球浸潤の増加	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	1
	: 粘膜水腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
回腸	: 石灰化 (絨毛)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
腎臓	: 乳頭石灰化	2	0	2	1	0	0	2	3	1	1	3
	: 好塩基性皮質尿管	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
リンパ節 頸部	: 色素含有大食細胞	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	: 洞の拡張	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腸間膜	: 赤血球貧食	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
気管支 周辺	: 濾胞過形成	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
腎臓	: 傍濾胞過形成	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	: 動脈炎/動脈周囲炎	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
喉頭	: 赤血球貧食	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	: 濾胞過形成	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
喉頭	: 赤血球貧食	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	: 潰瘍	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
喉頭	: 慢性炎症	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	: 慢性炎症	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓	: 嚢胞状変性	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	: 胆管増生	0	1	0	0	2	2	0	0	0	0	3
	: 空胞細胞巣	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	1
	: 小葉中心性の線維化	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	3
	: 結節性過形成	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	: 活動性慢性炎症	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	2
	: 被膜下の線維化	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
肺	: 間質性肺炎	3	1	0	4	1	0	1	3	2	4	3
	: 骨片	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	: 肺炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
乳腺	: 部位のみ確認	4	3	4	4	2	2	0	0	1	0	2
	: 腺房過形成	0	0	0	0	0	0	3	3	1	2	0
	: 分泌物を伴った管の拡張	0	0	0	0	0	0	2	3	2	1	2
卵巣	: 石灰化	—	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
下垂体	: 頭蓋咽頭管嚢胞	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
前立腺/ 尿道	: リンパ球巣	1	1	0	0	0	0	—	—	—	—	—
	: 尿管中の線虫	0	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—

Fisherの直接確率検定を実施したが、有意差は認められなかった (申請者実施)。

但し、雄1000mg/kg群のMS (切迫殺) 2例は、対応する対照群がないため、検定を行わなかった。

臓器および所見		雄					雌					
		0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000	
		T ^{b)}	T	T	T	T	MS	T	T	T	T	T
		4 ^{c)}	4	4	4	2	2	4	4	4	4	4
脾臓	: 動脈周囲の色素沈着	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	: 異所性腺組織	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
胸骨/骨髄	: 線維性骨異栄養症	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
胃	: 腺萎縮	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	
	: 胃腺の石灰化	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
左唾液腺	: リンパ球巣	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
精巣	: 精細管上皮の変性	0	0	0	0	1	2	—	—	—	—	
	: 全体的な萎縮	1	0	0	0	0	0	—	—	—	—	
	: 精細管の石灰化	0	0	0	0	1	0	—	—	—	—	
甲状腺	: 慢性リンパ球性甲状腺炎	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	
	: 傍濾胞過形成	1	0	1	3	0	0	0	0	0	1	
気管	: 慢性炎症	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
膀胱	: 移行上皮細胞過形成	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	
腹部	: 陰嚢膜の巣状出血	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
左瞬膜腺	: 濾胞管	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	: 慢性炎症	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
皮膚他	: 乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

a) : 表中の数字は所見を有する動物数を示す。

b) : T ; 最終屠殺 S ; 切迫屠殺

c) : 検査した動物数

— : 対象臓器なし

Fisherの直接確率検定を実施したが、有意差は認められなかった(申請者実施)。

但し、雄1000mg/kg群のMS(切迫殺)2例は、対応する対照群がないため、検定を行わなかった。

(2) ピリプロキシフェン原体のビーグル犬における52週間経口(カプセル)投与試験

[追加試験]

(資料7-2)

試験機関: Life Science Research Limited

報告書作成年: 1993年 [GLP対応]

検 体: ピリプロキシフェン原体

純 度:

試験動物: ビーグル犬(開始時19~24週令、体重: 雄 7.0~9.0kg、雌 6.1~8.9kg)

1群雌雄各4頭

投与期間: 52週間(投与開始: 1991年9月23日)

投与方法: 検体を3および10mg/kgの割合でゼラチンカプセルに入れ、52週間毎日1回経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

試験項目および試験結果:

一般症状および死亡: 投与期間を通じ毎日一般症状ならびに死亡の有無を観察した。また週毎にさらに詳細な症状観察を行った。

投与期間を通じ全く異常は認められず、死亡もなかった。

体 重: 投与期間を通じ毎週1回体重を測定した。

体重には検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

摂餌量: 投与期間を通じて毎日摂餌量を測定した。

摂餌量には検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

眼科学的検査: 試験開始前および投与26および51週に全動物につき実施したが、本検体に関連すると考えられる眼科学的な変化は認められなかった。

血液学的検査: 試験開始前および投与12、24、36および50週に一晩絶食後、頸静脈より採血し、検査を行った。

EDTA処理血液により以下の項目の検査を行った。

血球容積(PCV)、ヘモグロビン濃度(Hb)、赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)

血小板数、白血球分類、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、平均赤血球

容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、網赤血球数

クエン酸処理の血液で以下の検査を行った。

プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (PTTK)

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を次の表にまとめた。

項目	検査 時期 週	雄		雌	
		投与量 (mg/kg/日)			
		3	10	3	10
PCV	50			△113	
Hb	50			△113	
MCHC	50	▽97	▽97		
MCV	36			▲103	
	50		△103		
MCH	12		△105	△105	
	24			△105	
リンパ球数	12			▽68	
	24			▽68	
血小板数	24	△126			
	36	▲140	△126		▲144
	50	△127			△125
PT	24			▲108	△110
	50			△108	

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

(△、▽; P<0.05、▲、▼; P<0.01)

有意差検定はStudentのt-検定によって行った。

上記の表でも明らかのように、投与期間を通じ10mg/kg群雌の血小板数が高値であり、投与36および50週に有意差が認められた。しかしながらこれは1例を除き、当研究所のバックグラウンドデータ内の変化であり、投与に起因するものとは考えられなかった。また、3および10mg/kg群雄においても、投与期間を通じ僅かながら血小板数の高値が認められたが、これらの変化はいずれも用量相関性はなく、偶発的なものと考えられた。

その他の変化も軽微であり、用量相関性もなく、偶発的なものと考えられた。

骨髄検査：最終屠殺数日前に腸骨穿刺により骨髄を採取し、検査を行った。各群雌雄とも検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

血液生化学的検査：採血時期、採血方法、分析順序とも血液学的検査と同様に行い、抗凝固剤としてヘパリンリチウムを用いた。分離後血漿について以下の検査を行った。

アルカリホスファターゼ (AP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、クレアチンホスファキナーゼ (CPK)、尿素、クレアチニン、血糖、総ビリルビン、総トリグリセライド、総コレステロール、総蛋白、蛋白分画、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を次の表にまとめた。

項目	検査 時期 週	雄		雌	
		投与量 (mg/kg/日)			
		3	10	3	10
AP	12	▽81			▽82
	50				▽46
ALT	12			▲136	
	24			▲156	
	50			▲▲138	
尿素	50			△118	
血糖	12	▽94			
総トリグリセリド	12		△120		
	36		△142		
α1グロブリン	24			▼67	
α2グロブリン	36	△125			
	50		▽80		
βグロブリン	12			△108	
γグロブリン	12			▽75	▽71
	24			▽75	
	36			▽71	
A/G比	50		△110		
ナトリウム	36	△101			

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

(△、▽; P<0.05、▲、▼; P<0.01)

有意差検定はStudentのt-検定によって行った。

検体投与に関連した変化は認められなかった。全ての群間差は偶発的な変化であると考えられた。

尿検査：試験開始前および投与11、23、35および49週に以下の検査を行った。

外観、尿量、pH、比重、蛋白、総還元物質、グルコース、ケトン体、

ビリルビン、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩、潜血、尿沈渣

各群雌雄とも検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

肉眼的病理検査：投与期間終了後ペントバルビタールナトリウム麻酔下に放血致死させ、

全身の組織・器官を肉眼的に観察した。

各群雌雄とも検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

臓器重量：下記の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺(および気管支)、卵巣、下垂体、前立

腺(および尿道)、唾液腺(顎下腺)、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺(および上

皮小体)、子宮(および子宮頸管)

臓器重量測定の結果、対照群と投与群間において有意差は認められなかった。

病理組織学的検査：解剖した動物の臓器・組織を10%緩衝ホルマリン液に固定後・以下の臓器・組織について病理標本を作製し、病理組織学的検査を行った。なお、剖検で異常の認められた組織は10%緩衝ホルマリン液中で保存した。ただし、眼球および視神経はDavidson固定液中で固定後70%工業用メタノール中に保存した。

副腎、大動脈(胸部)、脳、気管支、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼球および視神経、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(頸部、腸間膜、気管支周囲)、乳腺、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺(および尿道)、直腸、左唾液腺(顎下腺)、左坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨および骨髄、胃(胃底部、幽門部)、精巣、胸腺、甲状腺(および上皮小体)、気管、膀胱、子宮(および子宮頸管)、膣、肉眼的異常部位

主要臓器に認められた所見を表1に示したが、検体投与に関すると考えられる異常所見は認められなかった。

以上のごとく、ピリプロキシフェン原体を10mg/kg以下の投与量でビーグル犬に52週間連続投与した結果、毒性学的な変化は全く認められなかった。特に前に行った52週間の毒性試験における30mg/kg群で観察された肝臓の変化は全く認められなかった。

これらの結果から本剤の最大無作用量は10mg/kg/日と結論した。

表1 病理組織学的所見* (所見が認められた臓器のみを記載)

臓器および所見		雄			雌		
		投与量 (mg/kg/日)					
		0	3	10	0	3	10
精巣上体	: 慢性炎症		1				
胆嚢	: 上皮の過形成				1	1	1
心臓							
心房	: 心外膜の線維化	1		1			
リンパ節 (気管支)	: 赤血球貧食		1				
喉頭	: 上皮の過形成	1					
肺	: 胸膜の線維化	1		1			
乳腺	: 腺房の増殖				4		2
	: 乳管の増殖				1	2	2
	: 分泌物過多				1	1	
副甲状腺	: 嚢胞状変性	2			1		2
下垂体	: 嚢胞			1			
前立腺	: 慢性炎症		1		—	—	—
脾臓	: 白色髄の過形成				1		
	: 鬱血			1			
胃	: 胃腺の石灰化	1		2			
左唾液腺	: リンパ球巣		1				
甲状腺	: 慢性リンパ球性甲状腺炎		1	1			
膀胱	: リンパ球巣				1		
子宮	: 子宮内膜増殖	—	—	—	1	2	2
リンパ節 (胸腺部)	: 赤血球貧食	1		1			
皮膚他	: 棘細胞症		1				
	: 角化症		1				
胸廓	: 胸膜の線維化			1			

*: 表中の数字は所見を有する動物数を示す。

—: 対象臓器なし

Fisherの直接確率検定を実施したが、有意差は認められなかった(申請者実施)。

申請者注：

1. 雄3mg/kg以上の投与群及び雌10mg/kg投与群において認められた血小板数の増加について

- (1)本試験よりもさらに高用量を投与した犬慢性毒性試験(投与量：0、30、100、300、1000mg/kg；資料7-1)において、本試験と同様、雄の100mg/kg以上の群および雌の1000mg/kg群で血小板数の高値が認められたが、雄30mg/kg群、雌300mg/kg以下の群では何ら変化は認められなかった。
- (2)血小板の増加は、一般的に貧血性変化あるいは骨髄増殖性疾患に関連して生じることが知られている⁽¹⁾。実際、当該投与群では、骨髄検査には異常は認められなかったが、100mg/kg群の雄を除き、血球容積、ヘモグロビン量および赤血球数の減少が認められたことから、当該血小板数の高値は、貧血性変化に関連して発現した可能性が考えられた。
- (3)一方、低用量を投与した本試験においては、このような貧血性変化は何ら認められず、骨髄検査にも異常は認められなかった。
- (4)本試験において認められた雄の血小板数の高値は、3mg/kg群で投与24から50週まで、10mg/kg群では投与36週のみで観察され、発現時期と投与量との関連性は特になかった。また、投与36週時の測定値(平均値)をみると、低用量の3mg/kg群($462 \pm 51 \times 10^3/\text{cmm}$)に比べ高用量の10mg/kg群($415 \pm 41 \times 10^3/\text{cmm}$)でより低値を示したことから、雄の当該変化は、その程度と投与量との関連性はないように思われた。
- (5)本試験において認められた雌の血小板数の高値は、10mg/kg群のみで認められた変化であったが、個体別に見るとその程度は1例(No.4679, 投与36週； $576 \times 10^3/\text{cmm}$)を除き、全て背景データ値(最大背景データ； $533 \times 10^3/\text{cmm}$)の範囲内であった。
- (6)以上のことから、雄の3mg/kg以上の群および雌の10mg/kg群において認められた血小板数の有意な高値は、検体投与に起因する毒性変化ではないと考えられた。

2. 雌の3mg/kg投与群で認められたALTの上昇について

- (1)本試験よりもさらに高用量を投与した犬慢性毒性試験(投与量：0、30、100、300、1000mg/kg；資料7-1)において、最高用量1000mg/kg群でのみ、ALTの有意な高値を示したが、300mg/kg以下の用量では何ら変動は認められなかった。
- (2)ALTは肝細胞の細胞質に高い活性を持つ酵素であり、急性の肝細胞傷害を反映するパラメータとして知られている⁽¹⁾。実際、1000mg/kg投与群では、雌雄とも肝臓の病理組織学的検査において活動性慢性炎症および小葉周辺の線維化が認められており、本検体による肝細胞傷害が示唆されている。
尚、ALTの高値が認められなかった300mg/kg以下の群では、上記所見を含む空胞細胞巣および結節性過形成といった肝細胞傷害を示唆する変化は認められなかった。
- (3)このことから、本検体投与によるALTの高値は肝細胞傷害の結果として生じているものと考えられる。
- (4)一方、本試験において、ALTの高値が認められた3mg/kg群の雌を含めて、10mg/kgの投与群においても、病理組織学的検査では肝臓に肝細胞傷害を示唆する変化を含めて何ら異常は認められなかった。
- (5)尚、雌3mg/kg群の投与開始前のALTについても高値を示していた。
- (6)さらに、この3mg/kg群の雌で認められたALTの高値は、個体別に見るとその程度(個体別データ：28~51iu/L)は全て背景データ(最大背景データ；94iu/L)の範囲内であった。
- (7)以上のことから、雌3mg/kg群のALTの高値は、本検体の肝臓に対する影響に起因した変動ではないと考えられ、検体投与に起因する毒性変化ではないと思われた。

参考文献：

- (1) 石田卓夫 監訳, 獣医臨床検査, 文永堂出版, 東京, (2000).

(3) ピリプロキシフェン原体のラットにおける慢性毒性・発癌性試験

(資料7-3)

試験機関: Hazleton Laboratories America, Inc.

報告書作成年: 1991年 [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(開始時約6週齢、体重:主群;雄 186.4~240.5g、雌 136.2~182.1g、

衛星群;雄 181.1~243.3g、雌 137.8~180.3g)

1群主群雌雄各50匹、衛星群雌雄各30匹

衛星群については投与52週後に各群雌雄10匹ずつ屠殺し、各種の検査に供し、
残りの動物は廃棄処分した。

試験期間: 104週間(投与開始;1988年5月3日、最終屠殺;1990年5月8日)

投与方法: 検体を0、120、600、3000ppmの濃度で基礎飼料に混入し、104週間毎日摂取させた。飼料の調製は毎週行った。

試験項目および結果:

一般状態および生存率: 死亡および瀕死状態の有無を1日2回観察した。明らかな毒性徴候について、ケージの外から1日1回観察した。触診は週1回行った。試験期間中に認められた臨床所見は、本研究所のラットに共通して認められるもので、全群を通じて散発的に認められた。検体投与によると思われる臨床所見は認められなかった。

下表に104週目の主群における生存率(%)を示す。

投与群 (ppm)	0	120	600	3000
雄	28/50 (56)	33/50 (66)	28/50 (56)	27/50 (54)
雌	21/50 (42)	23/50 (46)	23/49 (47)	34/50 (68)

投与群と対照群間で明らかな用量依存性をもった差は認められなかった。

体重変化：投与開始前及び1～14週は毎週、その後は4週に一度測定した。

主群では、3000ppm群の雌雄で、平均体重値が試験期間中を通じて、対照群よりも若干低かった。統計学的に比較した場合、13週目に600ppm群の雌(4%低下)、13、26、50週目に3000ppm群の雄(約4.5～7.5%低下)、13、26、50、78週目に3000ppm群の雌(約12～14%低下)で対照群に比べて有意な低値を示した。

衛星群では、主群とほぼ同様の傾向を示し、13週目に3000ppm群の雄(約6%低下)、26週目に3000ppm群の雌(約6%低下)で有意な低値を示した。

成長率は、主群では、3000ppm群の雄(約8%低下)、600ppmおよび3000ppm群の雌(10%および23%低下)で、衛星群では、3000ppm群の雌で対照群よりも約12%有意に低下していた。[申請者注]

摂餌量：1～14週は毎週、その後は4週に一度測定した。

主群では、13週目および50週目に3000ppm群の雌、26週目に3000ppm群の雌雄で有意な低下が認められた(5～7.5%)。

衛星群では、102週目の3000ppm群の雌で有意な低下が認められた。

検体摂取量：主群の投与期間中の1日あたりの平均検体摂取量は次の通りであった。

投与量 (ppm)		120	600	3000
ピリプロキシフェン 摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.42	27.31	138.00
	雌	7.04	35.10	182.70

[申請者注] 体重変化について

主群の雌600ppm群において、13週目に体重の有意な低値が認められ、体重の変動は5%以内の極く軽微でかつ一過性であり、衛星群の同用量群では影響は認められなかった。また、報告書の補遺として、主群及び衛星群を含めた全動物について、体重変動の統計検定が行われたが、雌600ppm群では有意な変動は観察されなかった。従って、雌600ppm群における体重変動は、一過性の偶発性変化であり、毒性学的意義はないものと考えられた。

摂水量：3または4日毎に週2回測定し、合計の摂水量を1～14週は毎週、その後は4週間に一度算出した。

主群では、13週目の120ppm、600ppmおよび3000ppm群の雌で有意に低値を示し(それぞれ、11、13.5、16.5%)、用量依存性が認められたが、同様の所見がその後は認められないことから生物学的意義のない変化と考えられた。

衛星群でも、78週目の3000ppm群の雄で、対照群の値より有意に低下したが、その変化についても同様に考えられた。

血液学的検査：投与13、26、52、78、104週後に、衛星群の各群雌雄各10匹について(投与104週後には、衛星群の動物の生存数が少なかったため、主群の動物を数例使用した。ケタミン塩40mg/kgの筋肉内注射により麻酔し、眼窩静脈叢より採血し、次の項目の測定を行った。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、平均赤血球血色素量、平均赤血球容積、血球形態、補正白血球数、平均赤血球血色素濃度、白血球分類

対照群に比べ統計学的に有意な変動がみられた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期(週)	雄			雌		
		120ppm	600ppm	3000ppm	120ppm	600ppm	3000ppm
分葉核好中球数	104					△173	
好酸球数	13			△300			

△：P<0.05、有意差の検定はDUNNETT'S検定を用いて行なった。

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

これらの変化は、発現時期に一貫性がないことや、その差がわずかであることから、検体投与に関連したものではないと考えられた。その他、瀕死状態で屠殺され動物の血液標本より得られた個体別データに、顕著な所見はなかった。

血液生化学的検査：投与13週後を除く上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて以下の項目の検査を行った。

Na、グルコース、AST、ALT、アルブミン、グロブリン、Ca、K、総蛋白、総コレステロール、リン脂質、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、トリグリセライド、γ-グルタミルトランスフェラーゼ、クレアチンキナーゼ、A/G比、無機リン、クロライド、アルカリ性ホスファターゼ

対照群に比べ統計学的に有意な変動がみられた項目を次頁の表に示す。

検査項目	検査時期(週)	雄			雌		
		120ppm	600ppm	3000ppm	120ppm	600ppm	3000ppm
総コレステロール	26			△149			△146
	52			△147			
	104		▽46				
リン脂質	26			△131			△128
γ-グルタミルトランスフェラーゼ	26				△-	△-	△-
	52					△-	△-
	104			△-			
アルカリホスファターゼ	26		△130	△146			
	52	△130	△148	△149			
	78	△152	△149	△166			
A S T	52						▽64
無機リン	26			△107			
アルブミン	26						△111
	104		▽76				
グロブリン	104						▽71
A/G比	26						△132
	104		▽66				△146

△、▽：P<0.05、有意差の検定はDUNNETT'S検定を用いて行なった。

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

-：対照群の平均値が0のため算出できない。

26週目に3000ppm群の雌雄、52週目に3000ppm群の雄の総コレステロール値および26週目の3000ppm群の雌雄のリン脂質値が、有意に高値を示した。

その他の変化には、104週目の600ppm群の雄の総コレステロール値の低下があるが、対照群の雄の総コレステロール値が高かったことによるもので、検体投与との関連はないと考えられた。52週の3000ppm群の雌でA S T値が低下したが、発現時期に一貫性がないこと、雌だけにしか認められないこと、さらにA S Tの低下は毒性学的意義が不明であることより、検体投与とは関係のない偶発的な変化と考えられた。アルブミン、無機リン、グロブリンおよびA/G比の変化は、いずれも発現時期に一貫性がないこと、変化が小さいこと、あるいは用量依存性がないことより投与との関連はないと考えられた。γ-グルタミルトランスフェラーゼ値が、26週目に120ppm、600ppmおよび3000ppm群の雌で、52週目に600ppmおよび3000ppm群の雌、104週目に3000ppm群の雄で有意に増加した(有意差が認められた各値：1あるいは2U/L)が、対照群の値に比べてその変化が小さいこと、投与群の値がバックランドデータ内(雄；0~7U/L、雌；0~3U/L)の変化であること

から、これらの所見の毒性学的意義はないと考えられた。同様に、52、78週目に120ppm群の雄、26、52、78週目に600ppmおよび3000ppm群の雄で、アルカリ性ホスファターゼ値が有意に増加した(有意差が認められた各値：87~104U/L)が、その変化が小さいこと、その値がバックランドデータ内(雄;45-114U/L)の変化であることから、やはり毒性学的に重要な変化ではないと考えられた。

尿検査：上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、個体別の尿採取用ケージにて、一晚絶食下で尿を採取し、以下の項目の検査を行った。

pH、外観、糖、ケトン体、蛋白、ビリルビン、ウロビリノーゲン、尿量、比重、潜血、沈渣

26週目に、600ppmおよび3000ppm群の雌でpHの低下が、3000ppm群の雌で尿中蛋白陽性例発現の頻度と程度の増加が認められた[申請者注]。

眼科学的検査：投与前と投与開始後52週目(屠殺が予定されている動物)および104週目(全生存動物)について眼科学的検査を行った。

認められた異常所見は偶発的なものであり、検体投与に関連するものではないと考えられた。

[申請者注] 尿検査結果について

当初、尿検査において、統計検定が実施されていなかったため、報告書の補遺として、尿検査を実施した。その結果、報告書中では影響であると記載されていた検査項目(26週目：pH、蛋白)及び新たに統計学的有意差の認められた検査項目(78週目：pH)の集約値を次表に示す。

検査項目	検査時期(週)	雄				雌			
		0ppm	120ppm	600ppm	3000ppm	0ppm	120ppm	600ppm	3000ppm
pH	26	7.3	7.2	7.1	7.1	7.0	6.8	6.6	6.5
	78	6.5	△6.9	6.7	△6.9	6.3	6.4	6.4	6.7
蛋白a)	26	1.1	1.5	1.3	1.4	0.6	1.0	0.5	1.8

△：p<0.05、有意差の検定は、DUNNETT's検定を用いて行った。

表中の数値は検査値を示す。

a)：蛋白の検査値は、定性レベル値を次のとおり、数値化し、集計平均したもの。

—(陰性)=0.0、I(痕跡)=0.5、Ⅱ1=1.0、Ⅱ2=2.0、Ⅱ3=3.0、Ⅱ4=4.0

26週目の雌600ppm以上の群でのpHに有意差は認められず、その他の検査時期も特段変動がなかったことから、報告書で影響があると記載されたpHの変動については、検体投与による影響ではないと考えられる。

78週目に120および3000ppm群の雄でpHの有意な高値が認められたが、用量との関連性が特段なく、また、他の検査時期には認められないことから、検体投与による影響ではないと考えられた。尚、26週目に3000ppm群の雌で蛋白が高値傾向を示したが、有意差は認められなかった。

臓器重量：52、104週間投与後に屠殺した各群雌雄各10匹について、以下の臓器重量を測定し、体重比臓器重量を算出した。

肝臓、腎臓、副腎(固定後)、心臓、脾臓、脳(脳幹を含む)、精巣、
卵巣(固定後)、上皮小体を含む甲状腺(固定後)

対照群に比べ統計学的に有意な変動がみられた項目を次表に示す。

検査項目	検査 時期 (週)	雄			雌		
		120ppm	600ppm	3000ppm	120ppm	600ppm	3000ppm
肝臓 絶対	53						
肝臓 相対							△120

△：P<0.05、有意差の検定はDUNNETT's検定を用いて行なった。
表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

3000ppm群の雌雄の絶対肝臓重量および対体重比肝臓重量が、対照群の値より若干高く、53週で中間屠殺した3000ppm群の雌の対体重比肝臓重量にのみ有意差が認められた。

肉眼的病理検査：試験期間中に死亡または切迫屠殺した全動物、53週目に屠殺した衛星群の各群雌雄各10匹について、また試験終了時(105週)に主群の全生存動物について剖検を行った。

途中死亡動物についても、53、105週に計画屠殺した動物についても、検体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：対照群と高用量群の計画屠殺された動物および主群の全ての途中死亡例について、以下の臓器・組織の病理標本を作製し、鏡検した。さらに、主群の低、中用量群の動物と、53週目に屠殺した衛星群の動物の肺、肝臓、腎臓について鏡検した。

異常病変部位、脳幹を含む脳(延髄/橋、小脳、大脳皮質)、肝臓、甲状腺(上皮小体)、胸腺、肺、気管、心臓、胸骨(骨)、唾液腺(顎下腺)、乳腺(雌のみ)、大腿筋、眼球(両眼)、骨髓(大腿骨)、腎臓、副腎、脾臓、顎下リンパ節、精囊、精巣/精巣上体、卵巣、下垂体、膣と子宮頸部を含む子宮、脾臓、胸部大動脈、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、腸間膜リンパ節、坐骨神経、皮膚、頸部脊髄、胸部中央脊髄、腰部脊髄、ハーダー腺、前立腺、包皮腺、陰核腺

Fisher-exact testを用いた統計検定の結果は、表1、2に5%(*)および1%(**)の有意水準で示した。

[非腫瘍性病変] 観察された主な非腫瘍性病変を表1-1および1-2に示す。

死亡例3000ppm群の雄では肝臓の壊死の有意な増加が認められたが、試験終了時屠殺例では壊死は認められないことから他の死因に関連した二次的なものと考えられる。また、死亡例3000ppm群の雌では慢性進行性腎症の増加が有意に認められたが、試験終了時屠殺を含めた合計では対照群との間に差なく、被験物質に関連した変化とは考えられない。その他、有意差の認められた変化はいずれも中間群にのみ認められたか、発生頻度の減少によるものであり毒性学的意義のない変化であった。

[腫瘍性病変] 観察された腫瘍性病変を表2-1および2-2に、主群の腫瘍をもつ動物数を表2-3に示す。

検体投与に関連のある腫瘍の発現頻度の増加は認められなかった。

本試験の結果より、ピリプロキシフェン原体の104週間の混餌投与によるラット慢性毒性・発癌性試験において、600ppmでは、雌に体重の低値、尿pHの低下がみられ(申請者注)、3000ppmでは、雌雄に体重の低値、摂餌量の低値、血中総コレステロールおよびリン脂質の増加が、また、雌に尿pHの低下、尿蛋白陽性の増加および体重比肝臓重量の増加が認められたことから、検体による作用の認められなかった雄の600ppm(27.31mg/kg/日)および雌の120ppm(7.04mg/kg/日)を最大無作用量と判断する。また、本試験条件下ではピリプロキシフェン原体に発癌性はないものと考えられた。

[申請者注] 無毒性量について

雌600ppm群において認められた体重低値は、極く軽微でかつ投与初期の一過性の変化であることから、毒性学的意義のない変動と考えられた。また、同群の雌で26週目に尿pHの低値傾向が見られたが、他の検査時期には変動は認められず、また、統計検定の結果、有意な変化ではなかったことから、検体投与による関連性はないと考えられた。

従って、雌600ppm群では、検体投与による毒性学的に意義のある所見は認められなかったことから、本試験の無毒性量は600ppm(雄:27.3mg/kg/日、雌:35.1mg/kg/日)と考えられた。

申請者注：雄の120ppm以上の投与群で認められたアルカリフォスファターゼ活性の上昇について

- (1)投与 52 週および 78 週時において、雄の最低用量 120ppm 以上の群でALPの有意な高値が認められたが、対照群に対する変動率は最低用量群と最高用量群との間で大きな差は認められず、投与量に応じた明確な変動ではなかった。
- (2)また、投与 104 週投与終了時においては、統計学的に有意な変化は認められず、投与期間に応じた変動でもなかった。
- (3)さらに、当該試験報告書では、各投与群のALPの測定値は、当該試験実施機関の背景値の範囲内であるため、毒性学的意義はないと結論されている。
- (4)ALPは殆ど全ての器官組織に広く分布している酵素であり、血清中ALPの変動について、主に肝臓ならびに骨への毒性影響の指標として評価されている^(1,2)。
肝臓由来のALPについては、胆管閉塞、急性肝炎、肝細胞壊死などの際に胆汁中への排泄が障害された場合、血中にうっ滞し高値を示すといわれている^(1,2)。
- (5)この点に関して、3000ppm 群の雄の死亡例で肝細胞壊死の有意な増加が認められたが、104 週投与終了時の検査では壊死の増加は認められなかったことと104 週投与終了時には3000ppm 群で有意なALPの高値は認められなかったことが符合して、肝細胞壊死と血清中ALPの高値が関連しているようにも思われた。
- (6)しかしながら、雄3000ppm 群の52 週時には血清中ALPの高値が認められたが、肝細胞壊死は認められなかった。また、104 週投与終了時では病理組織学的に重篤な肝臓機能障害は認められず、特に胆管には何ら毒性所見は観察されなかった。
- (7)さらに、胆管障害時に増加する血清中総ビリルビンやγ-グルタミルトランスフェラーゼについても毒性学的に有意な変動は認められなかった。
- (8)ラット亜急性毒性試験において、5000 および 10000ppm という高用量で13 週間投与しているが、肝臓の重量増加や病理組織学的検査における毒性所見（細胞質の変性、中間帯の壊死）が認められているものの、血清中ALPの高値は認められなかった。
- (9)以上のことから、本試験で認められたALPの高値は、肝臓/胆管系への影響に関連した変化ではないと考えられた。
- (10)一方、骨由来のALPについては、骨芽細胞より産生されて血中に逸脱してくるため、骨芽細胞が増殖するような場合、血中ALP活性が高くなるといわれている^(1,2)。
- (11)しかしながら、ラット慢性毒性・発癌性試験の血液生化学的検査において、骨代謝マーカーであるカルシウムやリンについて毒性学的に意義のある変動は認められず、また、病理組織学的検査においても骨には異常は認められなかった。
- (12)従って、ALPの高値については、骨への毒性に起因する可能性は乏しいと考えられた。

以上のことから、本試験で認められた血清中ALPの高値は、毒性学的意義のない変化と考えられた。

参考文献：

- (1)久保周一朗、友田 勇 監訳、獣医臨床生化学 第四版、近代出版、東京（1991）
- (2)河合 忠、屋形 稔、伊東 喜久 編集、異常値の出るメカニズム 第四版、医学書院、東京（2002）

(雄)

表 1-1 非腫瘍性病変 a)

臓器・所見	53週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
	b)0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
	脳： 腹側圧迫 (検査動物数)	10	0	0	10	22	17	22	23	28	6	3	27	50	23	25
下垂体： 囊胞 (検査動物数)	0	0	0	0	2	2	5	1	0	4**	3**	0	2	6**	8**	1
副腎皮質： 空胞形成 血囊胞 肥大 (検査動物数)	10	0	0	10	22	17	22	23	28	14	13	27	60	31	35	60
肺： 気管周囲/血管周囲 リンパ球浸潤 血管石灰化 (検査動物数)	0	0	0	0	2	3	1	2	6	4	0	4	8	7*	1	6
心臓： 心筋変性 (検査動物数)	0	0	0	0	3	0	1	4	2	1	1*	1	5	1	2	5
脾臓： 色素増加 (検査動物数)	0	0	0	0	1	1	0	0	3	1	0	5	4	2	0	6
肝臓： 好塩基性細胞変性 好酸性細胞変性 脂肪変性 囊胞変性 壊死 (検査動物数)	10	0	0	10	22	17	22	23	28	3	2	27	60	20	24	60
	0	0	0	0	0	2	0	4	0	0	0	0	0	2	0	4
	10	10	10	10	22	17	22	23	28	33	28	27	60	60	60	60
	0	0	0	0	1	0	0	0	4	4	9	4	5	4	9	4
	0	0	0	0	0	0	0	0	8	3	5	12	8	3	5	12
	0	0	0	0	1	3	6*	2	0	0	0	0	1	3	6	2
	0	0	1	0	0	1	1	1	5	5	5	4	5	6	7	5
	0	0	0	0	0	2	3	8**	0	0	1	0	0	2	4	8**

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

b) : 投与量、ppm

* : p<0.05, ** : p<0.01、統計的有意差あり(Fisher-Irwin Exact test)。

(つづく)

(本誌)

表 1 -- 1 非腫瘍性病変^{a)} (つづき)

臓器・所見	53週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
	b)0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
	脾臓: 腺房変性 (検査動物数)	10	0	0	10	22	17	22	22	28	0	0	27	60	17	22
腎臓: 慢性進行性腎症 ^{c)} 腎盂結石 (検査動物数)	0	0	0	0	1	4	1	0	0	0	0	3	1	4**	1	3
前胃: 化膿性炎症 粘膜炎下織浮腫 (検査動物数)	10	10	10	10	22	17	22	23	28	33	28	27	60	60	60	60
腺胃: 石灰化 化膿性炎症 (検査動物数)	1	6*	2	4	19	13	18	14	25	31	25	21	45	50	45	39
盲腸: 化膿性炎症 (検査動物数)	0	0	0	0	0	1	1	1	2	3	1	0	2	4	2	1
結腸: 化膿性炎症 (検査動物数)	10	0	1	10	22	17	22	23	28	5	1	27	60	22	24	60
小腸: 化膿性炎症 (検査動物数)	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0	0	3*	1	0
胃腸: 化膿性炎症 (検査動物数)	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	4**	0	0
腸間膜リンパ: 化膿性炎症 (検査動物数)	10	1	0	10	21	16	20	22	28	5	3	27	59	22	23	59
精巣: 変性 (検査動物数)	0	0	0	0	2	2	2	5	0	0	0	0	2	2	2	5
前立腺: 化膿性炎症 (検査動物数)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2**	0	0	1	2	0
精巣: 変性 (検査動物数)	10	0	0	10	14	12	15	19	28	0	1	27	52	12	16	56
精巣: 変性 (検査動物数)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	0	1	0
精巣: 変性 (検査動物数)	10	0	0	10	22	16	22	23	28	0	2	27	60	16	24	60
精巣: 変性 (検査動物数)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2**	0	0	0	2	0
精巣: 変性 (検査動物数)	10	0	2	10	22	17	22	23	28	9	8	27	60	26	32	60
精巣: 変性 (検査動物数)	0	0	2*	1	5	6	5	3	5	4	5*	4	10	10*	12*	8
前立腺: 化膿性炎症 慢性炎症 (検査動物数)	10	0	0	10	22	16	22	23	28	0	3	27	60	16	25	60
前立腺: 慢性炎症 (検査動物数)	0	0	0	0	6	5	11	9	4	0	2	8	10	5	13**	17
前立腺: 慢性炎症 (検査動物数)	0	0	0	0	1	6*	0	7*	3	0	1*	0	4	6**	1	7

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。 b) : 投与量, ppm
 c) : 申請者注 慢性進行性腎症 (Chronic progressive nephropathy) は、好塩基性尿細管、尿細管拡張、尿細管内好塩基性物質貯留、細胞浸潤などを併発したいわゆる複合病変としての慢性腎症であった。
 * : p<0.05, ** : p<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)

(つづく)

表 1-1 非腫瘍性病変 a) (つづき) (本誌)

臓器・所見	53週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計							
	120		600		3000		600		3000		120		600		3000					
	b)0	10	0	0	0	10	22	16	22	23	0	28	1	2	27	0	60	17	24	60
精囊： 萎縮 (検査動物数)	0	0	0	0	0	0	8	11*	10	13	2	2	1	1**	2	10	12**	11**	15	15
包皮腺： 化膿性炎症 (検査動物数)	0	0	0	0	0	0	0	2	5*	4	1	0	0	1	0	1	2	6**	4	4
顎下リンパ： リンパ球過形成 (検査動物数)	10	1	0	0	10	22	17	22	23	23	28	1	6	27	60	19	28	60	60	
胸腺： リンパ球減少 (検査動物数)	2	1	0	0	1	0	1	1	1	1	3	1	5**	1	5	3	6	3	3	3
眼球： 網膜変性 (検査動物数)	5	0	0	0	6	12	9	18	15	15	18	0	0	18	36	9	18	39	39	
骨髄： 骨髓細胞過形成 (検査動物数)	0	0	0	0	0	0	2	7	4	4	0	0	0	0	2	3*	7**	4	4	
骨髄： 網膜変性 (検査動物数)	10	0	0	0	10	22	17	22	23	23	28	1	1	27	60	18	23	60	60	
皮膚(病変)： 化膿性炎症 線細胞症 角化症 (検査動物数)	0	0	0	0	0	4	5	8	5	5	7	0	0	5	11	5	8*	10	10	
リンパ(他)： リンパ球過形成 (検査動物数)	10	0	0	0	10	3	3	2	3	3	2	2	7	5	5	5	10	7	8	8
リンパ球過形成	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	2	4	3	3	0*	2	6	4	2	2

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

b) : 投与量、ppm

* : p<0.05, ** : p<0.01、統計的有意差あり(Fisher-Irwin Exact test)。

(此後)

表 1 - 2 非腫瘍性病変^{a)}

臓器・所見	53週層殺				途中死亡・切迫殺				最終層殺				合計			
	b)0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
	脳： (検査動物数)	10	0	0	10	29	26	25	16	21	9	7	34	60	35	32
腹側圧迫	0	0	0	0	7	8	16**	4	1	9**	5**	2	8	17**	21**	6
下垂体： (検査動物数)	10	2	1	10	29	27	26	16	21	18	18	34	60	47	45	60
嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	2
副腎皮質： (検査動物数)	10	2	1	10	29	27	26	16	21	12	13	34	60	41	40	60
空胞形成	0	0	0	1	4	8	7	2	5	1	6	4	9	9	13*	7
血嚢胞	2	1*	1	0	15	20	18	9	16	10	10	27	33	31*	29	36
肥大	0	0	0	0	3	11**	5	3	6	2	6	6	9	13*	11	9
肺： (検査動物数)	10	10	10	10	29	26	26	16	21	23	23	34	60	59	59	60
気管周囲/血管周囲	0	0	0	0	20	15	12	7	17	21	16	27	37	36	28	34
リンパ球浸潤	0	0	0	0	8	9	4	5	15	8*	7**	13*	23	17	11*	18
血管石灰化	10	0	0	10	29	27	26	16	21	0	0	34	60	27	26	60
心臓： (検査動物数)	0	0	0	0	7	7	4	2	9	0	0	8	16	7	4	10
心筋変性	0	0	0	0	0	1	3	2	0	0	0	0	0	1	3*	2
石灰化	10	0	0	10	29	27	26	16	21	1	1	34	60	28	27	60
脾臓： (検査動物数)	0	0	0	0	6	6	1	6	4	0	0	1	10	6	1	7
色素増加	0	0	0	0	1	3	2	2	0	1*	1*	2	1	4*	3	4
骨髄性過形成	10	10	10	10	29	27	26	16	21	23	23	34	60	60	59	60
肝臓： (検査動物数)	0	0	0	0	5	2	1	1	10	5	5	14	15	7*	6*	15
好塩基性細胞変性	0	0	0	1	0	0	0	0	5	6	4	5	5	6	4	6
好酸性細胞変性	0	0	0	0	10	5	3*	2	1	1	3	4	11	6	6	6
脂肪変性	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	2	2	0
嚢胞性変性	0	0	0	0	4	3	4	4	1	0	0	1	5	3	4	5
壊死	0	0	0	0	2	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0*
限局性脂肪変性	0	1	1	0	2	0	0	0	3	0	2	0	5	1	3	0*

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

b) : 投与量、ppm

* : p<0.05, ** : p<0.01、統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。

(つづく)

(比差)

表 1-2 非腫瘍性病変^{a)} (つづき)

臓器・所見	53週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
	b)0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
	腎臓: (検査動物数) 慢性進行性腎症 ^{c)} 腎盂結石 化膿性腎炎	10	10	10	10	29	27	26	16	21	23	23	84	60	60	59
尿管: (検査動物数) 石灰化	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	4*	2
卵巢: (検査動物数) Sertoliform tubular過形成 嚢胞	10	0	0	10	29	26	26	16	21	5	2	34	60	31	28	60
子宮頸部: (検査動物数) 嚢胞	10	0	0	10	29	27	25	16	21	0	1	34	60	27	26	60
顎下リンパ: (検査動物数) リンパ球過形成	10	0	0	10	28	27	26	16	21	1	2	34	59	28	28	60
胸部大動脈: (検査動物数) 石灰化	0	0	0	0	0	0	4*	4*	0	0	0	0	0	0	4**	4
乳腺: (検査動物数) 乳腺嚢胞	8	0	2	7	26	26	25	14	21	13	19	33	55	39	46	54
眼球: (検査動物数) 角膜炎	10	0	0	10	28	27	24	16	21	1	1	34	59	28	25	60
骨髄: (検査動物数) 骨髓細胞過形成	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	1*	0	2	1	2	0

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。 b) : 投与量, ppm
 c) : 申請者注 慢性進行性腎症 (Chronic progressive nephropathy) は、好塩基性尿細管、尿細管拡張、尿細管内好塩基性物質貯留、細胞浸潤などを併発したいわゆる混合病変としての慢性腎症であった。
 * : p<0.05, ** : p<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変^{a)}

性別	臓器・所見	53週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計				
		b) 0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	
雄	血液:	10	0	0	10	22	17	22	23	28	1	0	0	27	60	18	22	60
	悪性組織球腫 M	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1*	0	0	0	1	1	0	1
	顆粒系白血病 M	0	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0	2	0	1	1
	線維性組織球腫 M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
雌	脳:	10	0	0	10	22	17	22	23	28	6	3	27	60	23	25	60	60
	顆粒細胞腫 M	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1
	星状細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1
下垂体	(検査動物数)	10	0	0	10	22	17	22	23	28	14	13	27	60	30	35	60	60
	腺腫	2	0	0	1	12	10	12	15	19	13	11	15	33	23	23	31	31
	癌 M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
副腎髄質	(検査動物数)	10	0	0	10	22	16	22	23	27	7	3	27	60	23	25	60	60
	良性褐色細胞腫	0	0	0	0	4	3	2	3	8	3	3*	4	12	6	5	7	7
	悪性褐色細胞腫 M	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	3	0	0	1	1
甲状腺	(検査動物数)	10	0	0	10	22	17	22	23	28	0	0	27	60	17	22	60	60
	C細胞癌 M	0	0	0	0	2	2	1	1	2	0	0	2	4	2	1	3	3
	C細胞腺腫	0	0	0	0	5	1	1	1	3	0	0	4	8	1	1	5	5
	濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	0	1	2	2	3	0	0	3	3	1	2	5	5
濾胞細胞癌 M	0	0	0	0	1	0	1	0	3	0	0	1	4	0	1	1	1	
上皮小体	(検査動物数)	9	0	0	7	22	17	22	23	28	0	0	25	59	17	22	55	55
	腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

M : 悪性腫瘍

* : p<0.05、統計的有意差あり(Fisher-Irwin Exact test)。

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変^{a)} (つづき)

性別	臓器・所見	53週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
		b)0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雄	脾臓： 血管肉腫	10	0	0	10	22	17	22	23	28	3	2	27	60	20	24	60
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
肝	脾臓： 血管肉腫	10	10	10	10	22	17	22	23	28	33	28	27	60	60	60	60
	M	0	0	0	0	1	0	1	0	3	0	0	0	4	0	1	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
腎	脾臓： 血管肉腫	10	10	10	10	22	17	22	23	28	33	28	27	60	60	60	60
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脾臓	脾臓： 血管肉腫	10	0	0	10	22	17	22	23	28	0	0	27	60	17	22	60
	M	0	0	0	0	0	1	1	0	3	0	0	2	3	1	1	2
	M	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
空腸	脾臓： 平滑筋腫	10	0	0	10	22	11	14	13	28	1	0	27	60	12	14	50
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	0	1	0	0
腸間膜 ^{b)0}	脾臓： 血管肉腫	10	0	0	10	22	16	22	23	28	0	2	27	60	16	24	60
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
精巣	脾臓： 良性間細胞腫	10	0	2	10	22	17	22	23	28	9	8	27	60	26	32	60
	M	0	0	0	0	1	2	5	1	4	5*	6**	4	5	7*	11**	5
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腫瘍総数	腫瘍総数	2	0	0	1	30	21	29	26	55	23	21	40	87	44	50	67
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
良性腫瘍数	良性腫瘍数	2	0	0	1	22	19	23	21	41	22	20	36	65	41	43	58
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
悪性腫瘍数	悪性腫瘍数	0	0	0	0	8	2	6	5	14	1	1	4	22	3	7	9
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。
 b) : 投与量、ppm
 M : 悪性腫瘍
 * : p<0.05, ** : p<0.01、統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。

表 2-2 腫瘍性病変^{a)}

性別	臓器・所見	53週屠殺			途中死亡・切迫殺			最終屠殺			合計		
		b)0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雌	血液： 悪性リンパ球腫 M	0	0	0	0	29	27	26	16	0	21	0	0
	線維性組織球腫 M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	顆粒球性白血病 M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	脳： 星状細胞腫	10	0	0	10	29	26	25	16	0	21	9	34
下垂体	腺腫 M	10	2	1	10	29	27	26	16	21	18	18	
	癌 M	0	1	1	1	26	24	21	10*	21	15	18	
副腎皮質	癌 M	10	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	
	腺腫 M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
副腎髄質	癌 M	10	2	1	10	29	27	26	16	21	12	13	
	良性褐色細胞腫 M	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	
	悪性褐色細胞腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
甲状腺	癌 M	10	0	0	10	29	27	26	16	21	12	13	
	C細胞癌 M	0	0	0	0	0	1	2	0	1	1	0	
	C細胞腺腫 M	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	
	濾胞細胞腺腫 M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
合計		10	0	0	10	29	26	25	16	21	0	0	
	C細胞癌	0	0	0	0	0	3	2	1	1	0	0	
	C細胞腺腫	0	0	0	0	2	1	1	0	4	0	0	
	濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	2	2	1	0	0	
濾胞細胞癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

M : 悪性腫瘍

* : p<0.05, ** : p<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変^{a)} (つづき)

性別	臓器・所見	53週屠殺			途中死亡・切迫殺			最終屠殺			合計		
		b) 0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雌	上皮小体： 腺腫	9	0	0	10	26	23	16	21	0	26	23	33
		0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
雌	肝臓： 肝細胞癌 肝細胞腺腫	10	10	10	10	29	27	16	21	23	23	34	60
		0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	2
		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
雌	腎臓： 移行上皮癌	10	10	10	10	29	27	16	21	23	23	34	60
		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
雌	脾臓： 島細胞腺腫 島細胞癌	10	0	0	10	29	27	16	21	0	0	34	60
		0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	1	2
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
雌	直腸： 平滑筋肉腫	10	0	0	10	21	23	10	21	1	0	34	52
		0	0	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	0
雌	腸間膜リンパ： 血管腫	10	1	0	10	29	26	16	21	1	1	34	60
		0	0	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	0
雌	卵巣： Sertoliiform tubular 腺腫 嚢腫瘍 未分化性器素一固質腫	10	0	0	10	29	26	16	21	5	2	34	60
		0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	3	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
雌	子宮： 子宮内膜間質ポリープ 扁平細胞癌 血管肉腫	10	1	0	10	29	27	16	21	3	6	34	60
		0	0	0	0	1	1	0	1	2*	1	1	2
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

M : 悪性腫瘍

* : p<0.05、統計的有意差あり(Fisher-Irwin Exact test)。

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変^{a)} (つづき)

性別	臓器・所見	53週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
		b)0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雌	子宮頸部: (検査動物数)	10	0	0	10	29	27	25	16	21	0	1	34	60	27	26	60
	子宮内膜間質 ^{*リ-7*}	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	平滑筋肉腫 M	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	扁平細胞癌 M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	顆粒細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	腫: (検査動物数)	10	0	0	10	29	26	26	16	21	1	0	34	60	27	26	60
	子宮内膜間質肉腫 M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	子宮内膜の間質 ^{*リ-7*}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	平滑筋腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	0	1	0	0
	胸腺: (検査動物数)	7	0	0	5	20	19	20	10	11	0	1	28	38	19	21	43
	扁平細胞癌 M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	乳腺: (検査動物数)	8	0	2	7	26	26	25	14	21	13	19	33	55	39	46	54
	線維腺腫	0	0	0	0	4	4	5	2	7	7	8	11	11	11	13	13
	癌 M	0	0	0	0	3	3	6	3	6	3	5	5	9	6	11	8
	腺腫	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	2	1	0	2	3
	胸骨: (検査動物数)	10	0	0	10	29	27	26	16	21	0	0	33	60	27	26	59
	骨肉腫 M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
	腫瘍総数	0	1	1	2	46	44	52	22	49	33	33	67	95	78	86	91
	良性腫瘍数	0	1	1	2	37	34	38	16	40	27	27	53	77	62	66	71
	悪性腫瘍数	0	0	0	0	9	10	14	5	9	6	6	14	18	16	20	20

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

M : 悪性腫瘍

* : p<0.05、統計的有意差あり(Fisher-Irwin Exact test)。

表 2 - 3 腫瘍をもつ動物数

性別	群	途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
		0a)	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雄	例数	22	17	22	23	28	33	28	27	50	50	50	50
	腫瘍をもつ動物数	20	15	19	20	26	25	19	25	46	40	38	45
雌	例数	29	27	27	16	21	23	23	34	50	50	50	50
	腫瘍をもつ動物数	29	26	25	13	21	20	21	28	50	46	46	41

a) : 投与量 ppm

(4) ピリプロキシフェン原体のマウスにおける発癌性試験

(資料7-4)

試験機関：Hazleton Laboratories America, Inc.

報告書作成年：1991年 [GLP対応]

検 体：ピリプロキシフェン原体

純 度：

試験動物：ICR系マウス (開始時7週齢、体重；雄 27.7~35.6g、雌 19.8~28.5g)

1群あたり雌雄各60匹

試験期間：78週間 (投与開始；1988年7月12日、最終解剖；1990年1月15日)

最終解剖は、78週間の投与期間満了後 (79週目) に実施した。

投与方法：検体を0、120、600および3000ppmの濃度で飼料中に混入し、動物に自由に摂取させた。

なお、飼料は毎週1回調製した。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率：マウスの死亡および瀕死状態の有無を1日2回観察した。毒性徴候について、ケージの外から、注意深く、1日1回観察した。触診は週1回の頻度で行った。

生存率は、600ppm、3000ppm群の雄および3000ppm群の雌では、有意な低下が認められた。各用量群の累積生存率は次のとおりであった。

投与群 (ppm)	0	120	600	3000
雄	57	45	▼28	▼18
雌	61	56	45	▼36

▼：P<0.01、National Cancer Institute Packageを用いた。

一般症状観察および触診において、3000ppm群の雄または雌で、円背姿勢または自発運

動減少の発現頻度の軽微な増加が認められた。試験期間中に認められたその他の触診/一般症状所見は、すべて、本研究所ではマウスに共通して認められるもので、全群を通して散発的に認められた。

体重変化：体重は、投与開始前、1週目から16週目までは週1回、その後は4週に1回の頻度で測定した。

3000ppm群の雄において13(約5%低下)、24(約6%低下)および52(約4%低下)週目に、3000ppm群の雌では、76週目(約5.5%低下)に有意な低下が認められた。体重増加量について、3000ppm群の雄では、0~13週(16.5%の低下)および0~24週(19.5%の低下)で、有意な低値が認められた。成長率については群間で有意な差は認められなかった。

摂餌量：1週目から16週目までは週1回、その後は4週に1回の頻度で測定し、記録した。

600ppm群の雄で52および76週目に、120ppmおよび600ppm群の雌で52週目に、摂餌量の有意な増加が認められた。3000ppm群の雌では76週目に、摂餌量が対照群の値に比べ有意な低値を示した。600ppm群の雄の総摂餌量は、対照群の1~76週の値に比べ有意な高値を示した。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量(mg/kg/日)は以下の如くであった。

投与量(ppm)		120	600	3000
ピリプロキシフェン 摂取量(mg/kg/日)	雄	16.37	81.31	422.54
	雌	21.11	107.30	532.80

血液学的検査：52週目に、中間屠殺対象動物の各群雌雄各10例(可能ならば)を、78週目に、生存動物の各群雌雄それぞれ動物番号の若い方より10例を、臨床検査用の検体採取のため一晩絶食させた。血液学的検査用の検体は、無麻酔で眼窩静脈叢穿刺により採取した。白血球分類および血球形態検査用の検体は瀕死状態で屠殺した全動物からも採取した。切迫屠殺動物の血液は、血液塗沫スライド用に、通常は尾切断により採取したが、大静脈より採取した場合もあった。測定項目を以下に示す。

補正白血球数、白血球分類、白血球数、血球形態、赤血球数、平均赤血球血色素量、ヘモグロビン量、平均赤血球容積、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素濃度、血小板数

対照群に比べ統計学的に有意差を示した項目を以下の表に示す。

検査項目	検査時期(週)	雄			雌		
		120ppm	600ppm	3000ppm	120ppm	600ppm	3000ppm
ヘモグロビン	52						▽93
平均赤血球容積	52			▽95			
白血球数	78		▽52				
補正白血球数	78		▽52				

▽;P<0.05、有意差の検定はDUNNETT's検定を用いて行なった。

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

52週目に、対照群と投与群間で統計学的に有意な差が、3000ppm群の雌のヘモグロビン量および3000ppm群の雄の平均赤血球容積にのみ認められ、いずれも対照群に比べ低値を示した。3000ppm群の雌のヘモグロビン量の低下は、投与に関連したものと考えられた。しかしながら、3000ppm群の雄の平均赤血球容積低下は、他の血液学的検査項目に変化がないことから、生物学的意義は明らかではなかった。78週目に600ppm群の雄で白血球数、補正白血球数が対照群に比べ有意に低値を示した。用量相関性がなく、対照群の雄の平均値が高値であることから、600ppm群の雄での低下は生物学的意義が明らかではなかった。

臓器重量：53週目には計画屠殺例について、投与終了時には各群雄雌それぞれ動物番号の若い方より10例について、脳(脳幹を含む)、肝臓(胆嚢を含む)、腎臓、脾臓、精巣または卵巣および副腎(固定後)の重量を測定し、対最終体重比臓器重量を算出した。

対照群に比べ統計学的に有意差を示した項目を以下の表に示す。

検査項目	検査時期(週)	雄			雌		
		120ppm	600ppm	3000ppm	120ppm	600ppm	3000ppm
脾臓	絶対						△150
	相対						
肝臓	絶対						△131
	相対						△123
腎臓	絶対			▽86			
	相対						

△、▽;P<0.05、有意差の検定はDUNNETT's検定を用いて行なった。

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

53週目には、3000ppm群の雌で絶対肝臓重量(胆嚢を含む)および対最終体重比肝臓重量の有意な増加が認められた。79週目に3000ppm群の雄で絶対腎臓重量の有意な低下、53

週目に3000ppm群の雌で絶対脾臓重量の有意な増加が認められたが、対最終体重比重量に有意な変化が認められていないことから、体重変化によるものであると考えられた。

肉眼的病理検査：途中死亡動物も計画屠殺動物も同様に全動物について剖検を行った。

途中死亡の3000ppm群の雌雄および53週時中間屠殺、79週時最終屠殺の3000ppm群の雌で、腎臓表面の顆粒状/陥凹/粗造の発現率増加が認められた。

これらの発現頻度は以下の通りであった。

性別	所見	屠殺時期(週)	発生頻度			
			0ppm	120ppm	600ppm	3000ppm
雄	腎臓表面	途中死亡	2/23	3/28	0/37	12/42
	顆粒状/陥凹/粗造	53	0/9	0/10	1/9	0/9
		79	1/28	0/22	0/14	0/9
雌	腎臓表面	途中死亡	3/20	3/23	2/29	24/32▲
	顆粒状/陥凹/粗造	53	0/10	0/10	0/9	3/10
		79	0/30	0/27	0/22	5/18▲

Fisherの直接確率検定を実施した(申請者実施)：△、▽； $p \leq 0.05$ 、▲、▼； $p \leq 0.01$

病理組織学的検査：対照群と高用量群の全動物および全途中死亡例について、次の組織を光学顕微鏡下で観察した。全動物の肉眼的異常病変部位、低-中間用量群の全動物の肺、肝臓および腎臓についても光学顕微鏡検査を実施した。

腫瘍およびその関連組織、異常病変部位、脳幹を含む脳(延髄/橋、小脳、大脳皮質)、下垂体、甲状腺(上皮小体)、胸腺、気管、肺、心臓、唾液腺(顎下腺)、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、包皮腺、精巣、精巣上体、ハーダー腺、胆嚢、大動脈、前立腺、精嚢、卵巣、膣および頸管を含む子宮、乳腺(雌のみ)、皮膚、食道、胃(腺部および非腺部)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、坐骨神経、頸部脊髄、胸部中央脊髄、腰部脊髄、胸骨(骨髄含む)、大腿筋、眼球(両方)、陰核腺

Fisher-exact testを用いた統計検定の結果は、表1、2に5%(*)および1%(**)の有意水準で示した。

[非腫瘍性病変]

主な非腫瘍性病変を表1-1および1-2に示した。

高用量群では、全動物を合計した場合(52週屠殺例、途中死亡・切迫殺例及び最終屠殺例)で評価すると、アミロイドーシスの有意な発現頻度の増加が、雌で副腎皮質、甲状腺、上皮小体、心臓、肝臓、顎下腺、腎臓、腺胃、十二指腸、空腸および回腸に認められ、雄では上皮小体、胆嚢および腺胃に認められた。また、途中死亡・切迫殺例のみをみると、雌では主に前述した臓器におけるアミロイドーシスの発生数が増加し、その程度も強く認められた。同様の傾向は、雄においても雌とほぼ同じ臓器で認

められた。このことから、アミロイドーシスが主要な途中死亡の原因と考えられ、全身性アミロイドーシスの頻度および程度の増加は、検体投与と関連があると考えられる。なお、最終屠殺例の高用量群の雄では、アミロイドーシスの発生が有意に減少したが、アミロイドーシスによる死亡率の増加に起因した結果と考えられる。この他、雌の腎臓において尿細管石灰化、慢性進行性腎症および皮質の萎縮（部分的）が有意に増加し、雄においても慢性進行性腎症は有意な増加を示した。

中間用量群では、全動物を合計した場合（52週屠殺例、途中死亡・切迫殺例及び最終屠殺例）で評価すると、雌雄ともに高用量群の雌で認められたものと同様の臓器でアミロイドーシスの有意な増加が認められたが、この増加は検査対象動物が少ないために結果的に有意な差として表れたものと考えられた。一方、途中死亡・切迫殺例をみると、これらの臓器におけるアミロイドーシスは雄では頻度に加えてその程度も増強しており、同群では雄のみで生存率の有意な低下が認められたこととの関連が示唆された。

なお、低用量群でも、全動物を合計した場合（52週屠殺例、途中死亡・切迫殺例及び最終屠殺例）にアミロイドーシスの発生数における有意な増加が散見されたが、いずれも検査対象動物が少ないために結果的に有意な差として表れたものと考えられた。途中死亡・切迫殺例をみるといずれの臓器においても対照群と同程度のアミロイドーシスの発現がみられ、程度の増強も認められなかった。

その他の有意差の認められた変化はいずれも中間用量以下の群にのみ認められるのものであり、毒性学的意義のない変化であった。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変を表2-1および2-2にまとめ、途中死亡・切迫殺例および最終屠殺例について腫瘍をもつ動物数を表2-3に示す。

検体投与と腫瘍の発現率増加との関連性は認められなかった。

以上のように、本試験の600ppm群では雄で全身性アミロイドーシスの発生数および程度の増加、ならびにそれによる生存率低下が認められ、3000ppmでは、雌雄で全身性アミロイドーシスの発生数および程度の増加、ならびにそれによる生存率低下、さらには体重増加抑制が認められ、雌でヘモグロビン減少（52週目）、肝臓重量増加（53週目）、腎臓表面の顆粒状/陥凹/粗造の発現率増加、尿細管石灰化、慢性進行性腎症および皮質の萎縮（部分的）、雄で慢性進行性腎症の発生数増加が認められた。

従って、本試験における最大無作用量は、雄では 120ppm (16.37mg/kg/日)、雌では 600ppm (107.30mg/kg/日) と考えられた。

また、本試験条件下ではピリプロキシフェン原体に発癌性はないものと考えられた。

(雄)

表1-1 非腫瘍性病変

臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				計							
	120		3000		120		600		3000		120		600		3000		600		3000	
	例	発現率	例	発現率	例	発現率	例	発現率	例	発現率	例	発現率	例	発現率	例	発現率	例	発現率	例	発現率
副腎皮質: (検査動物数)	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0
膵臓下細胞過形成 アミロイドーシス 発現率 ^{c)}	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0
	6	0	0	0	5	0	0	0	38	15	0	0	0	↓	1	0	0	↓	1	0
甲状腺: (検査動物数)	9	0	0	0	9	0	0	0	41	27	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0
上皮小体: (検査動物数)	9	0	0	0	7	0	0	0	36	22	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0
心臓: (検査動物数)	9	0	0	0	9	0	0	0	42	28	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0
肝臓: (検査動物数)	9	0	0	0	9	0	0	0	41	28	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0
胆臓: (検査動物数)	9	0	0	0	9	0	0	0	30	22	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0

a): 投与量, ppm
 b): 病変をもつ動物数を示す。
 c): 異常無し; 0, 軽微; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, やや重度; 4, 重度; 5とした時の平均値。
 ↑↓: P<0.05, ↓↑: P<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。
 申請者注: 0内の統計結果は検査対象動物数が対照群と条件が異なるため参考として表示する。(つづく)

表1-1 非腫瘍性病変(つづき)

(雄)

臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計				
	40	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	
	検出数	検出率	検出率	検出率	検出数	検出率	検出率	検出率	検出数	検出率	検出率	検出率	検出数	検出率	検出率	検出率	
脾臓	(検査動物数)																
アミロイドシス 発現数	9	0	0	9	23	28	35	42	28	4	0	9	60	32	36	60	
髄外造血 発現数	0	0	0	0	12	16	23	29	11	0	0	0	23	16	(1)23	29	
	1	0	0	1	20	27	32	33	27	(1)2	0	9	48	29	32	43	
腎臓	(検査動物数)																
アミロイドシス 発現数 ^{a)}	9	10	9	9	23	28	36	42	28	22	14	9	60	60	59	60	
程度 ^{b)}	7	8	7	5	19	24	32	38	22	13	9	3	48	45	48	46	
	2.0	1.6	1.9	1.1	3.3	3.3	3.6	3.7	2.5	1.5	1.9	0.6					
尿管石灰化 発現数	0	0	0	0	3	3	3	14	12	8	5	1	15	11	8	15	
程度	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.1	0.5	0.5	0.5	0.6	0.1					
慢性進行性腎症 発現数	4	2	2	6	0	0	1	2	11	10	6	1	15	12	9	16	
程度	0.9	0.4	0.4	1.3	0.0	0.0	0.1	0.1	0.7	0.7	0.8	1.6					
臓腎	(検査動物数)																
粘膜過形成 発現数	9	0	0	9	23	28	34	41	28	1	1	9	60	29	35	59	
アミロイドシス 発現数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(1)1	0	0	0	1	0	
程度	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	(1)24	0	
	0.0	0.0	0.0	0.3	0.8	0.7	1.8	2.5	0.4	0.0	0.0	0.0	14	9	(1)24	34	
十二指腸	(検査動物数)																
アミロイドシス 発現数	9	0	0	9	21	23	32	38	28	0	0	9	58	23	32	56	
程度	3	0	0	5	16	18	25	34	14	0	0	1	33	18	(1)25	40	
	0.4	0.0	0.0	1.1	1.9	1.8	1.8	2.3	1.1	0.0	0.0	0.2					
空腸	(検査動物数)																
アミロイドシス 発現数	9	0	1	9	22	18	27	35	27	0	0	9	58	18	28	53	
程度	5	0	1	5	17	16	23	33	15	0	0	1	37	(1)16	(1)24	39	
	1.7	0.0	4.0	1.6	2.5	2.9	2.7	3.5	1.4	0.0	0.0	0.3					
回腸	(検査動物数)																
アミロイドシス 発現数	7	0	0	7	22	22	31	37	27	0	0	9	58	22	31	55	
程度	3.0	0.0	0.0	2.2	3.4	3.8	3.6	3.8	2.5	0.0	0.0	0.9	42	(1)21	(1)29	42	

a): 投与量, ppm
 b): 病変をもつ動物数を示す。
 c): 異常無し; 0, 軽度; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, やや重症; 4, 重症; 5とした時の平均値。
 ††: P<0.05, †††: P<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。
 申請者注: ()内の統計結果は検査対象動物数が対照群と条件が異なるため参考として表示する。(つづく)

表1-1 非腫瘍性病変(つづき)

(雄)

臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計		
	120		600		3000		600		3000		120		600		3000
	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
腸間膜リンパ: (検査動物数)	8	0	0	0	21	24	31	39	27	4	56	28	33	57	
髄外造血 発現数	0	0	0	0	0	2	1	0	5	1	5	3	1	↓ 0	
精巣: (検査動物数)	9	0	0	0	23	28	37	42	27	4	59	32	38	60	
アミロイドシス 発現数	4	0	0	0	16	20	24	33	8	3	28	(†)23	25	38	
精細管変性 発現数	3	0	0	0	17	19	26	29	8	(†)4	28	(†)23	(†)27	34	
精細管石灰化 発現数	0	0	0	0	10	8	19	16	7	2	17	10	(†)19	22	
精囊: (検査動物数)	9	1	1	9	23	28	37	42	28	7	60	36	44	60	
拡張 発現数	0	0	0	0	1	0	1	1	1	(†)6	2	(†)6	2	1	
包皮腺: (検査動物数)	9	0	2	9	23	28	36	39	27	2	59	30	39	57	
膿 発現数	0	0	1	0	0	1	2	4	1	(†)2	0	3	3	4	
眼球: (検査動物数)	9	1	2	9	23	27	37	42	28	0	60	28	39	60	
慢性炎症 発現数	0	0	(†)2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	
皮膚: (検査動物数)	8	0	0	8	22	28	37	42	28	0	58	28	37	59	
浮腫 発現数	0	0	0	0	6	↓ 1	↓ 2	↓ 2	0	0	5	1	2	2	
胸骨骨髄: (検査動物数)	9	0	0	9	23	28	37	42	28	0	60	28	37	60	
骨髄性過形成 発現数	0	0	0	0	1	4	4	0	0	0	1	(†)4	4	0	

a) : 投与量, DDI
 b) : 病変をもつ動物数を示す。
 c) : 異常無し; 0, 軽微; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, やや重度; 4, 重度; 5とした時の平均値。
 †† : P<0.05, ††† : P<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。
 申請者注: ()内の統計結果は検査対象動物数が対照群と条件が異なるため参考として表示する。
 (つづく)

(雌)

表1-2 非腫瘍性病変

臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
	検出数	検出率	検出数	検出率	検出数	検出率	検出数	検出率	検出数	検出率	検出数	検出率	検出数	検出率	検出数	検出率
副腎皮質: (検査動物数)	10	0	1	10	19	20	29	32	30	0	0	0	18	20	30	60
皮膚境界色素沈着細胞 発現数 ^{b)}	7	0	1	4	9	15	122	21	23	0	0	0	0	15	23	36
アミロイドーシス 発現数 ^{c)}	4	0	0	8	15	17	21	132	10	0	0	5	29	(f)17	(f)21	45
程度 ^{d)}	1.0	0.0	0.0	2.4	1.9	2.4	1.9	3.3	0.9	0.0	0.0	0.9				
甲状腺: (検査動物数)	10	0	0	10	19	22	29	32	30	1	0	0	18	23	29	60
アミロイドーシス 発現数	1	0	0	15	14	19	20	132	9	1	0	5	24	(f)20	(f)20	43
程度	0.1	0.0	0.0	1.5	2.1	2.3	1.6	2.9	0.9	4.0	0.0	0.9				
上皮小体: (検査動物数)	6	0	0	7	14	18	28	28	27	0	0	13	47	18	28	48
アミロイドーシス 発現数	0	0	0	2	7	13	14	27	6	0	0	3	13	(f)13	(f)14	32
程度	0.0	0.0	0.0	0.7	1.0	1.7	1.0	2.5	0.5	0.0	0.0	0.5				
心臓: (検査動物数)	10	0	0	10	20	19	29	32	30	0	0	0	18	19	29	60
アミロイドーシス 発現数	2	0	0	6	14	15	19	131	11	0	0	6	27	(f)15	19	43
程度	0.4	0.0	0.0	1.2	1.7	2.3	1.5	2.2	0.9	0.0	0.0	0.7				
肝臓: (検査動物数)	10	10	9	10	19	23	29	32	30	27	22	18	59	60	60	60
果状壊死 発現数	0	0	2	0	2	2	3	1	10	8	4	1	12	10	9	42
リンパ球浸潤 発現数	0	0	0	0	6	7	14	122	16	14	12	12	22	21	26	134
アミロイドーシス 発現数	3	2	2	18	15	16	20	132	9	9	8	4	27	27	30	144
程度	0.5	0.3	0.4	1.7	1.7	1.6	1.5	2.8	0.6	0.8	0.7	0.6				
胆嚢: (検査動物数)	10	0	0	10	13	14	23	14	30	3	4	15	53	17	27	39
慢性炎症 発現数	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1	1	0	0	1	(f)4	0
アミロイドーシス 発現数	0	0	0	0	5	4	11	10	1	0	0	0	6	4	1	10
胆臓: (検査動物数)	10	1	0	10	19	22	29	32	30	5	1	18	59	28	30	60
色素沈着増加 発現数	0	0	0	0	5	8	4	13	0	0	0	0	5	(f)8	4	13
慢性炎症 発現数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(f)1	0	0	0	1	0
アミロイドーシス 発現数	0	0	0	1	10	14	17	23	7	3	1	1	17	(f)17	(f)18	25

a) : 投与量, ppm
 b) : 病変をもつ動物数を示す。
 c) : 異常無し; 0, 軽微; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, やや重度; 4, 重度; 5とした時の平均値。
 f) : P<0.05, 1f) : P<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。
 申請者注: ()内の統計結果は検査対象動物数が対照群と条件が異なるため参考として表示する。(つづく)

(難)

表1-2 非腫瘍性病変(つづき)

臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計													
	120		3000		120		600		3000		120		600		3000		120		600		3000					
	例	発現数	発現率	検出動物数	例	発現数	発現率	検出動物数	例	発現数	発現率	検出動物数	例	発現数	発現率	検出動物数	例	発現数	発現率	検出動物数	例	発現数	発現率	検出動物数		
腸間膜リンパ: (検査動物数)	10	0	0	1	10	0	0	1	10	0	0	1	10	0	0	1	18	0	0	1	18	0	0	1	57	
リンパ球過形成 発現数 ^{b)}	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	
アミロイドーシス 発現数	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
顎下腺: (検査動物数)	10	0	0	0	10	0	0	0	20	29	32	30	0	0	0	18	60	22	29	60	60	29	60	60	60	
アミロイドーシス 発現数	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	10	2	0	0	1	1	4	2	1	1	4	2	1	1	11	
腎臓: (検査動物数)	10	10	9	10	10	19	23	29	23	29	32	30	27	22	18	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
アミロイドーシス 発現数 ^{a)}	4	4	5	8	16	21	23	23	16	23	32	15	14	12	8	40	48	39	40	48	39	40	48	48	48	
発現率 ^{b)}	0.7	0.7	0.9	2.3	3.7	3.7	3.7	3.2	3.7	3.2	4.8	1.5	1.8	1.8	1.3	1.3	1.3	1.8	1.3	1.3	1.8	1.3	1.3	1.3	1.3	
尿管管石灰化 発現数	0	0	0	1	1	3	3	3	1	3	129	2	1	1	16	4	46	3	4	46	3	4	4	4	46	
発現率	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	1.8	0.1	0.0	0.1	1.6	1.6	1.6	0.1	0.1	1.6	0.1	0.1	0.1	0.1	1.6	
慢性進行性腎症 発現数	3	3	3	9	1	0	0	3	1	0	0	7	10	5	10	12	19	11	13	19	11	13	12	19	19	
発現率	0.3	0.4	0.4	2.0	0.2	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0	0.0	0.3	0.6	0.4	1.4	1.4	1.4	0.3	0.6	1.4	0.3	0.6	0.4	0.6	1.4	
乳頭壊死 発現数	0	0	0	0	4	4	4	5	4	4	1	2	1	0	0	5	1	6	1	5	2	1	5	1	1	
発現率	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.1	0.2	0.1	0.0	0.0	0.4	0.4	0.1	0.1	0.4	0.2	0.1	0.4	0.1	0.4	
皮質萎縮(部分的) 発現数	0	1	2	6	0	1	1	1	0	1	2	2	3	4	6	7	14	2	5	7	2	7	7	14	14	
発現率	0.0	0.1	0.3	1.7	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.2	0.1	0.3	0.5	0.8	0.8	0.8	0.1	0.3	0.8	0.1	0.3	0.5	0.8	0.8	
腎盂拡張 発現数	0	0	0	0	3	6	6	12	3	6	1	1	4	1	0	1	1	4	10	1	4	10	13	1	1	
発現率	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.6	0.6	0.9	0.4	0.6	0.1	0.1	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	1.0	0.0	0.3	1.0	1.3	0.0	0.0	
麻脚: (検査動物数)	10	0	0	10	19	22	29	29	19	22	32	30	2	0	18	60	60	24	29	60	24	29	29	60	60	
アミロイドーシス 発現数	0	0	0	2	6	8	9	9	6	8	25	6	0	0	3	9	30	12	8	9	12	8	9	30	30	
発現率	0.0	0.0	0.0	0.6	0.5	1.0	0.7	0.7	0.5	1.0	2.1	0.5	0.0	0.0	0.4	0.4	0.4	0.5	0.6	0.4	0.5	0.6	0.4	0.4	0.4	
十二指腸: (検査動物数)	10	0	0	10	17	19	28	28	17	19	28	30	0	0	18	56	56	19	28	56	19	28	28	56	56	
アミロイドーシス 発現数	0	0	0	18	14	16	20	20	14	16	28	9	0	0	5	23	41	23	16	23	23	16	23	41	41	
発現率	0.0	0.0	0.0	1.9	2.3	2.2	1.8	1.8	2.3	2.2	2.9	0.7	0.0	0.0	0.7	0.7	0.7	0.0	1.6	0.7	0.7	1.6	0.7	0.7	0.7	

a) : 投与量、pD₅₀
 b) : 病変をもつ動物数を示す。
 c) : 異常無し; 0、軽微; 1、軽度; 2、中等度; 3、やや重度; 4、重症; 5とした時の平均値。
 ↓ : P<0.05、↑ : P<0.01、統計的有意差あり (Fisher-Irwin Exact test)。
 申請者注: ()内の統計結果は検査対象動物数が対照群と条件が異なるため参考として表示する。(つづく)

表1-2 非腫瘍性病変(つづき)

(雌)

臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計						
	a)		b)		c)		d)		e)		f)		g)		h)		i)		
	120	500	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
空腸	10	0	10	18	19	26	26	29	0	0	18	57	19	26	54	27	(f)15	(f)20	(f)39
アミロイドーシス 発現数 程度	4 0.7	0 0.0	8 2.6	15 2.8	16 2.9	20 2.8	26 3.7	8 0.9	0 0.0	0 0.0	5 1.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
回腸	10	0	10	19	20	27	27	30	0	0	18	59	20	27	55	34	(f)17	(f)22	141
アミロイドーシス 発現数 程度	5 2.2	0 0.0	8 3.3	16 3.4	17 3.3	22 3.2	27 4.0	13 1.6	0 0.0	0 0.0	6 1.2	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
卵巣	10	2	10	18	22	29	32	29	15	11	18	57	39	44	60	25	23	27	25
嚢胞 発現数	5	2	7	6	8	13	10	14	(f)13	(f)10	8	25	23	27	25	10	6	5	5
嚢胞 発現数	0	0	0	8	↓3	↓5	↓5	2	3	0	0	10	6	5	5	0	0	0	0
子宮	10	4	10	19	22	29	31	30	17	8	17	59	43	42	58	44	34	33	↓31
嚢胞性内腺過形成 発現数	8	4	6	11	14	20	↓8	25	16	8	17	44	34	33	↓31	44	34	33	↓31
子宮頸部	10	0	10	18	20	29	30	29	0	2	17	57	20	31	57	4	2	2	0
嚢胞性内腺過形成 発現数	0	0	0	4	2	2	↓0	0	0	0	0	4	2	2	0	0	0	0	0
陰核腺	10	0	10	14	16	21	26	19	0	0	13	43	16	21	47	43	16	21	47
萎縮 / 拡張 発現数	0	0	0	14	15	↓15	23	17	0	0	12	39	15	15	42	39	15	15	42
眼球	10	0	10	19	17	29	32	30	1	4	18	59	18	35	60	59	18	35	60
角膜異常症 発現数	0	0	1	0	0	1	0	0	0	(f)2	1	0	0	(f)3	2	0	0	(f)3	2
慢性炎症 発現数	0	0	(f)2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1
ハーダー腺	10	0	9	20	22	29	32	30	0	0	18	60	22	29	59	60	22	29	59
慢性炎症 発現数	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	↑3	0	0	1	↑5	0	0	1	↑5
萎縮 発現数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	↑3	0	0	0	↑3	0	0	0	3

a) : 投与量, ppm
 b) : 病変をもつ動物数を示す。
 c) : 異常無し; 0, 軽微; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, やや重度; 4, 重度; 5とした時の平均値。
 †† : 異常無し; 0, 軽微; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, やや重度; 4, 重度; 5とした時の平均値。
 ††† : P<0.05, †††† : P<0.01, 統計的有意差あり (Fisher-Twin Exact test)。
 申請者注: () 内の統計結果は検査対象動物数が対照群と条件が異なるため参考として表示する。(つづく)

表2-1 腫瘍性病変^{a)}

性別	臓器・所見	52週層殺				途中死亡・切迫殺				最終層殺				合計			
		40	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雄	血液: (検査動物数)	0	0	0	0	0	4	2	2	0	2	0	0	1	2	0	0
	悪性リンパ球腫 M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
	線維性組織球腫 M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	混合型リンパ腫 M	0	0	0	0	0	1	0	2	0	1	0	0	0	2	0	2
	リンパ腫、不分類 M	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	副腎皮質: (検査動物数)	9	0	0	9	22	27	37	42	28	28	0	0	9	59	27	60
	腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0
	肺: (検査動物数)	9	10	9	9	23	28	37	42	28	22	14	9	60	60	60	60
	肺胞/細気管腫	0	0	0	0	1	1	3	0	0	1	0	0	1	2	3	0
	肺胞/細気管支癌 M	0	0	1	0	1	2	2	1	3	2	0	0	4	4	2	1
	心臓: (検査動物数)	9	0	0	9	23	28	37	42	28	0	0	0	9	60	37	60
	血管肉腫 M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓: (検査動物数)	9	0	1	9	23	28	35	42	28	0	0	9	60	36	60	60
	血管肉腫 M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
	肝臓: (検査動物数)	9	10	9	9	23	28	36	41	28	22	14	9	60	59	59	59
	肝細胞癌 M	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
	肝細胞腺腫	0	0	2	1	1	2	2	2	2	1	4	2	3	3	8	5
	血管肉腫 M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1
	精巣上体: (検査動物数)	9	0	1	9	23	28	37	42	27	0	0	9	59	28	38	60
	平滑筋腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量, ppm

M : 悪性腫瘍

Fisher-Irwin Exact test を実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。
申請者注 : Peto 検定を追加で実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変^{a)} (つづき)

性別	臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
		N0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雄	顎下リンパ: 血管肉腫 M (検査動物数)	8	1	0	7	23	34	36	36	25	2	0	9	55	26	34	52
	ハダ-腺: 腺腫 (検査動物数)	9	0	0	8	23	37	42	28	0	0	0	9	80	27	37	59
	包皮腺: 癌 M (検査動物数)	9	0	2	9	23	36	38	27	2	1	1	9	59	30	39	57
	腫瘍総数	0	0	3	1	7	7	13	6	9	8	4	3	16	15	20	10
良性腫瘍数	0	0	2	1	4	3	7	2	4	2	4	3	8	5	13	6	
悪性腫瘍数	0	0	1	0	3	4	6	4	5	6	0	0	8	10	7	4	

a): 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b): 投与量, ppm

M: 悪性腫瘍

Fisher-Irwin Exact test を実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。
申請者注: Peto 検定を追加で実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変^{a)}

性別	臓器・所見	52週屠殺				途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
		10	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雌	血液： (検査動物数)	0	0	0	1	1	2	1	1	0	1	0	1	1	3	1	2
	悪性組織球腫 M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
	悪性リンパ球腫 M	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	2	1	1
	線維性組織球腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
甲状腺：	(検査動物数)	10	0	0	10	19	22	29	32	30	0	0	18	22	29	60	
C細胞癌 M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	
肺：	(検査動物数)	10	10	9	10	19	21	29	32	30	27	22	18	59	58	60	60
肺胞/細気管膜腫 M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	2	3	0	2	4	0	
肺胞/細気管支癌 M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	1	0	3	1	0	
肝臓：	(検査動物数)	10	10	9	10	19	23	29	32	30	27	22	18	59	60	60	60
肝細胞癌 M	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
肝細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2	0	
血管肉腫 M	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0	0	1	1	1	3	
胆臓：	(検査動物数)	10	0	0	10	13	14	23	14	30	3	4	15	53	17	27	39
腺腫 M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	
前胃：	(検査動物数)	10	0	0	10	19	22	29	32	30	0	1	18	59	22	30	60
乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	

a)：表中の数字は腫瘍の数を示す。

b)：投与量, ppm

M：悪性腫瘍

Fisher-Irwin Exact testを実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。

申請者注：Peto検定を追加で実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変の(つづき)

性別	臓器・所見	52週屠殺			途中死亡・切迫殺			最終屠殺			合計					
		120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000				
雌	脾臓： (検査動物数)	10	0	10	19	20	29	32	30	0	0	18	59	21	29	60
	島細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
雌	卵巣： (検査動物数)	10	4	10	18	22	29	32	29	15	11	18	57	39	44	60
	乳頭腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	血管肉腫 M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
雌	子宮： (検査動物数)	10	4	10	19	22	29	31	30	17	8	17	59	43	42	58
	子宮内膜肉腫 M	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	2	2
	平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
	平滑筋肉腫 M	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	血管肉腫 M	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0
雌	肝臓： (検査動物数)	10	0	9	20	22	29	32	30	0	0	18	60	22	29	59
	腺腫	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1
雌	乳腺： (検査動物数)	10	0	10	18	17	28	14	30	6	0	18	58	17	28	42
	癌 M	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
雌	腫瘍総数	0	1	2	2	6	7	5	10	8	6	6	12	15	15	13
	良性腫瘍数	0	0	1	1	2	3	1	6	3	5	3	7	5	9	5
雌	悪性腫瘍数	0	1	1	1	4	4	4	4	5	1	3	5	10	6	8

a)：表中の数字は腫瘍の数を示す。

b)：投与量、ppb

M：悪性腫瘍

Fisher-twin Exact test を実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。
申請者注：Peto 検定を追加で実施したが、いずれの所見も有意差は認められなかった。

表2-3 腫瘍をもつ動物数

性別	群	途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
		0 ^{a)}	120	600	3000	0	120	600	3000	0	120	600	3000
雄	例数	23	28	37	42	28	22	14	9	51	50	51	51
	腫瘍をもつ動物数	6	7	12	5	8	8	4	3	14	15	16	8
雌	例数	20	23	29	32	30	27	22	18	50	50	51	50
	腫瘍をもつ動物数	2	5	5	4	7	8	4	6	9	13	9	10

a) : 投与量 ppm