

ウシ用インターフェロンアルファ経口投与剤(ビムロン) に関する食品影響評価について（案）

1. インターフェロン (interferon)

インターフェロン（以下 IFN と略す）は、1950 年代にウイルス干渉作用(ウイルスの感染を阻止する現象)の研究中に干渉因子として発見され、その後、生体内抗ウイルス物質であることが明らかにされた。現在は抗原構造の違いにより IFN- α 、 β 、 γ に大別され、いずれも糖蛋白質であることが判明している。IFN- α ではさらに 18 以上のサブタイプが確認されている。

IFN- α と β は I 型 IFN、 γ は II 型 IFN と呼ばれている。このうち I 型 IFN は、生体内でウイルス感染等の刺激に反応して体細胞で生産され、標的細胞のレセプターを介して結合し、十数種類の遺伝子群を発現ないしは抑制して、抗ウイルス作用を一過的に誘起する。この他に細胞増殖抑制作用、ナチュラルキラー細胞及びマクロファージの活性化を介する免疫増強作用、さらに MHC クラス I 分子や他の表面マーカーの増強作用等を示す。これらの作用が確認されたことから、人体用医薬品としての研究開発が進み、1980 年代後半には癌等の治療薬として実用化されている。一方、II 型 IFN は T リンパ球で生産される。

現在人体用医薬品として実用化されている IFN- α には培養細胞によって生産される天然型と遺伝子組み換え大腸菌を利用して生産される遺伝子組み換え型がある。天然型 IFN- α は複数のサブタイプを含む糖蛋白質混合物であり、遺伝子組み換え型は 1 種類の糖鎖を持たない蛋白質である。しかしながら、これらの間で主要な適応疾患、薬理薬効作用は共通であり、投与量や副作用にも大きな違いは認められていない。

このように天然型 IFN- α は混合物であり、その用量は通常抗ウイルス活性をもとにした力価(一般には国際単位 ; IU)で示される。

ヒトインターフェロンの他の動物種における活性については、*in vitro* で動物の培養細胞に様々な強度で抗ウイルス活性を誘導したと報告されている。また、静脈中等に投与された場合にはヒトインターフェロンは動物において異種蛋白として認識され、長期の投与では中和抗体が産生される可能性がある。

2. ウシ用インターフェロンアルファ経口製剤（商品名 ; ビムロン）

ウシ用インターフェロンアルファ経口製剤（ビムロン）は、有効成分として天然型のヒト IFN- α (BALL-1)を含む散剤であり、ウシに対し、1日1回、体重 1kg あたり、2.5mg (IFN- α として 0.5 IU) を 5 日間経口投与するとされている。本製剤の効能効果は、1ヶ月齢未満のウシにおける、ロタウイルス感染症による軽度下痢の発症日数の短縮、症状改善、増体量低減の改善である。

使用されているヒト IFN- α は医療用医薬品（製剤原料）として既に承認されており、現在もヒトに使用されているものである。ヒトの医療においては、IFN- α は 500 万 IU 程度を筋肉内注射して用いることが多いが、本剤は経口でかつ 0.5 IU/kg 体重というヒト臨床用量と比較して極めて微量を投与している。IFN- α は蛋白質であり、経口投与後は速やかに消化・吸収され活性を失うと考えられる。従ってこの投与方法による作用機序は定かでないが、口腔内あるいはその近傍の細胞に作用して投与局所の免疫反応を亢進させるとともに、何らかの情報伝達機構を介し全身的な免疫賦活作用を示すのではないかと仮説が報告されている。

3. 毒性試験の概要

3-1. 吸収・分布・代謝・排泄

【マウスを用いた投与試験】⁽¹⁾

Swiss マウス(雌; 6-7 週齢)を用いた組み換え型 ^{125}I -ヒトインターフェロン- α (以下 rHuIFN- α) 2×10^7 IU の静脈、腹腔内、経口単回投与試験において認められた投与物質の薬物動態は次の通りであった。

血液中の放射活性レベルについては、各投与方法で投与後、全血及び血清中に存在する放射活性レベルを 24 時間測定した。静脈投与では、投与後開始直後の計測で最も高い値を示し、その後は徐々に減少した。腹腔内投与では、投与後 4 時間で最高値に達しその後ゆっくりと減少した。経口投与では、投与後約 1 時間で最高値に達し、その後徐々に減少した。全血及び血清中の放射性物質の消失曲線は 2 相性のようであり、消失率の平衡状態は投与後 4~8 時間の間に観察された。経口投与された血中の放射活性レベルは、いずれの時点においても静脈内及び腹腔内投与で検出されたレベルよりも低かった。また、どの投与方法においても、全血中よりも血清中で高い放射活性が認められた。血清中に認められた放射活性物質を免疫沈降し、SDS-PAGE で分析したところ、静脈及び腹腔内投与した動物の血清中には rHuIFN- α に相当するバンドが認められたが、経口投与した動物の血清中からは検出されなかった。また、各血清について IFN の生物活性を測定したところ、静脈及び腹腔内投与された動物の血清では IFN の生物活性が認められたが、経口投与した動物の血清では検出できなかった。

【ウサギを用いた投与試験】⁽²⁾

ウサギを用いたヒトインターフェロン- α (以下 HuINF- α) 300 万 IU の静脈内、筋肉内、皮下、経口投与試験において認められた HuINF- α の血液中薬物動態は次の通りであった。

静脈内投与では、投与後 1 時間で HuINF- α の血中濃度は急速に低下した。この時の消失半減期(T1/2)は約 13 分であった。消失曲線には tailing 作用があり、投与後 1~6 時間で T1/2 を算出した場合 73 分であった。投与後 12 時間には活性はほぼ消失した。筋肉内投与では、投与後約 1 時間で最高濃度に達しこれはほぼ 12 時間まで持続した。皮下投与では、投与後 3~6 時間に最高濃度に達し、その後徐々に低下したが投与後 24~36 時間でもなお活性の痕跡が認められた。投与量を増加した場合、活性の持続時間が延長された。経口投与では、250 万 IU、600 万 IU を投与しても、投与後 1~24 時間の血中にインターフェロン活性は検出されなかった。⁽²⁾

【イヌを用いた投与試験】⁽⁴⁾

雄ビーグル犬を用いた組換え型インターフェロン A(以下 rINF- α A と略す) 18000ng/kg 体重の静脈点滴、静脈内、筋肉内、皮下、経口投与試験において認められた rINF- α A の血液中薬物動態は次の通りであった。(1 IU=0.006ng と換算)

静脈点滴の点滴終了時の最高血中濃度(Cmax)は 116 ± 11.4 ng/ml、T1/2 は 4.5 時間であった。静脈内投与の T1/2 は 6.9 時間であった。筋肉内投与の Cmax は 17.5 ± 5.8 ng/ml、Tmax は 3.0 ± 1.0 時間、T1/2 は 4.7 時間であった。皮下投与した場合の Cmax は 13.1 ± 1.99 ng/ml、Tmax は 3.0 ± 0.58 時間、T1/2(消失半減期)は 9.5 時間であった。なお、経口投与した場合は、血中に rINF- α A は全く検出されなかった。(<20pg/ml)

【サルを用いた投与試験】

アフリカミドリザル(*Cercopithecus aetiops*)を用いた組換え型インターフェロン A(以下 rINF- α A と略す) 300 万 IU/kg 体重(胃管は 600 万 IU/kg 体重)の静脈点滴、静脈内、筋肉内、皮下、胃管投与試験において認められた rINF- α A の血液中薬物動態は次の通りであった。

静脈点滴の点滴終了時の最高血中濃度(Cmax)は 144 ± 61 ng/ml、T1/2 は 2.9 時間であった。静脈内投与の T1/2 は 2.6 時間であった。筋肉内投与の Cmax は 19 ± 3.4 ng/ml、Tmax は 3 ± 1 時間、T1/2 は 3.4 時間であった。なお、経口投与した場合には、血中に rINF- α は全く検出されなかった。(5)

【ラットを用いた投与試験】

SD 雄ラットを用いて ^{14}C 標識 INF- α を経口投与し、全身オートラジオグラフィー法により体内分布が検討された。

投与後 1 時間では、口腔を含めた消化管内に高い放射活性が存在した。その他、放射活性は全身的に認められた。

投与 4 時間後では 1 時間後と比較して、口腔内を含め消化管内の放射活性が著しく低下し、臓器や血液中の放射活性は高くなる傾向が認められた。ただし、大脳、脂肪、肝臓、胃壁では変化は少なかった。(6)

Wistar 系ラットを用いた ^{125}I 標識ヒトインターフェロン- α (以下 HuINF- α) 1×10^5 IU/kg 体重もしくは 1×10^6 IU/kg 体重の静脈内投与、筋肉内投与において認められた HuINF- α の薬物動態は次の通りであった。

1×10^5 IU/kg 体重もしくは 1×10^6 IU/kg 体重の筋肉内投与あるいは 1×10^5 IU/kg 体重の静脈内投与後、24 時間までの尿中に 67.2~83.6%、糞中に 4.7~7.2% が排泄された。

静脈内投与では、血中の放射活性は投与開始直後の測定で最高値を示し、以後急速に低下した。血清中の免疫活性は、投与開始直後の測定で最高値を示した後急速に低下し、1 時間後には消失した。

筋肉内投与では、血中の放射活性は投与後 30 分~2 時間の間に最高値を示し、以後漸次に低下し 24 時間後には 24 IUeq./ml 以下となった。

HuINF- α を 1×10^5 IU/kg 体重もしくは 1×10^6 IU/kg 体重を筋肉内あるいは静脈内に投与したときに認められた放射活性の組織内分布は次の通りであった。

雌雄ラットへの筋肉内投与では、1 時間後の腎臓の放射活性が最も高く、他に血液、肝臓、肺での放射活性が高かった。雌雄、投与量、投与経路が異なってもこの傾向は同じであった。

雄ラットに 1×10^6 IU/kg 体重の HuINF- α を筋肉内投与したときに認められた主要臓器の抗ウイルス活性は次のとおりであった。

筋肉内投与の 30 分後には、腎臓および肺で抗ウイルス活性が検出されたが、肺では 2 時間後に、腎臓では 4 時間後に抗ウイルス活性は消失した。心臓、肝臓、脾臓では抗ウイルス活性は全く検出されなかった。

HuINF- α を 1×10^6 IU/kg 体重で筋肉内投与し、投与 1,4,24 時間後の腎臓ホモジネート及び尿中の総放射活性、TCA 沈殿性放射活性、免疫活性及び抗ウイルス活性を測定した。投与後 1 時間の総放射活性に対する TCA 沈殿性放射活性、免疫活性及び抗ウイルス活性は 36.3%, 31.3%, 5.8% であり、4 時間後には 5.5%, 17.4%, ND に低下し、24 時間後にはいずれも検出されなくなった。(3)

【ヒトにおける臨床知見】(7)

悪性腫瘍患者に 500 万 IU を筋肉内投与したところ、1 時間後より血清中に抗ウイルス活性が認められ、4 時間後には 23 IU/ml に達し、その後漸減し 24 時間後には検出限界以下となった。

健常人男性に 500 万 IU を皮下あるいは筋肉内投与したところ、皮下投与では Tmax は 7 時間、その時の Cmax は 45.5 IU/ml、筋肉内投与では Tmax は 4 時間、その時の Cmax は

53.3IU/mlであった。

3-2. 毒性試験

(1)急性毒性試験

経口投与、静脈内投与及び筋肉内投与による LD₅₀ は、マウス、ラットで 2.5×10^8 IU/kg 体重以上であった。

【マウスを用いた急性毒性試験】^(8, 9, 10, 11)

マウスの急性毒性について、独立した4つのIFN- α 投与試験が実施された。

- ・ 7週齢のICR系マウスを用いた静脈内投与($1 \times 10^6, 3 \times 10^6, 1 \times 10^7$ IU/kg 体重)及び筋肉内投与(1×10^7 IU/kg 体重)⁽⁸⁾
 - ・ 6週齢のICR系マウスを用いた筋肉内投与($5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重)⁽⁹⁾
 - ・ 6週齢のICR系マウスを用いた静脈内投与($5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重)⁽¹⁰⁾
 - ・ 6週齢のICR系マウスを用いた強制経口投与($1 \times 10^7, 5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重)⁽¹¹⁾
- いずれの試験においても死亡例、投与に起因する異常とも認められなかった。

【ラットを用いた急性毒性試験】⁽¹²⁾

Wistar系ラットに $1 \times 10^7, 5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重の用量でIFN- α を静脈内、筋肉内及び経口投与した。いずれの投与方法、用量においても死亡例、投与に起因する異常とも認められなかった。

(2)亜急性毒性試験

【マウスを用いた30日間亜急性毒性試験】⁽¹³⁾

ICR系マウスを用いた静脈内投与($1 \times 10^6, 3 \times 10^6, 1 \times 10^7$ IU/kg 体重)による30日間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

摂餌量、体重変化、血液学的検査では、散発的に有意差が認められた事象もみられたが、いずれも一過性か用量相関がないもので、投与に起因した影響とは認められなかった。

血液生化学的検査では、 1×10^7 IU 投与群の雌雄でグルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)の上昇、雄でグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)の上昇、アルブミン/グロブリン比(A/G比)の低下が認められた。 3×10^6 IU 投与群の雄でGPTの上昇、A/G比の低下、雌でアルカリフォスファターゼ(ALP)の低下が認められた。 1×10^6 IU/kg 投与群の雄でALP活性値の低下が認められた。ただし、GOT、GPTの上昇の程度は軽度で、病理組織学的検査でもこれを反映する変化は観察されていないことから、毒性学的に大きな意味を持つものとは認められなかった。

臓器重量では、全ての投与群の雌雄で脾臓の絶対及び相対重量が増加した。 1×10^7 IU 投与群の雄で肝臓の相対的重量の増加が認められた。その他、 1×10^6 IU/kg 投与群の雄で腎臓の絶対及び相対重量の減少、雌で顎下腺の絶対重量の増加が認められた。

剖検では、対照群を含め大多数例で尾部の投与部位に軽度のうっ血が認められた。その他、胸腺の軽度退縮、腺胃部の点状出血等が対照群を含めて少数例で認められたがいずれの変化も用量依存性は認められなかった。

病理組織学的検査では、全ての投与群で脾臓の胚中心の反応性増生(リンパ芽球及び大食細胞の増生)、赤脾髄の大食細胞を主とする細網系細胞の原形質の腫大が認められた。これらの所見は 1×10^7 IU 投与群で強くみられた。 1×10^7 IU 投与群の雌の3例(3/10)及び雄の1例(1/10)で腸間膜リンパ節のリンパ節髓質の増生が認められた。その他に投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。脾臓で認められた変化については、INF- α がマウスにとって異種蛋白質であることから通常の生体の防御反応である可能性やインターフェロ

ンの薬理作用を反映している可能性が示唆されたが、その原因は明らかでなかった。なお、ヒトインターフェロン(BALL-1)がマウスにおいてマウスのI型インターフェロンの作用を代替するという知見は現在まで得られていない。

この試験からNOAELを求めることはできなかった。(1×10⁶ IU/kg 体重未満)

【ラットを用いた30日間亜急性毒性試験】⁽¹⁴⁾

Wistar系ラットを用いた静脈内投与(3×10⁵, 1×10⁶, 3×10⁶, 1×10⁷ IU/kg 体重)による30日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりである。

摂餌量、飲水量、体重変化では、散発的に有意差が認められた事象もみられたが、いずれも用量相関性はなく、投与に起因した影響は認められなかった。

血液学的検査では、3×10⁵ IU以上の投与群の雄、3×10⁶ IU/kg以上の投与群の雌で血小板の減少が認められた。

血液生化学的検査では、3×10⁶ IU以上の投与群の雌雄でALP活性値の上昇、1×10⁷ IU投与群の雌でγ-グロブリン分画の増加が認められた。

尿検査では、投与に起因する異常は認められなかった。

視聴覚検査では、投与に起因する異常は認められなかった。

剖検では、投与に起因する異常は認められなかった。

臓器重量では、雄で3×10⁶ IU以上の投与群で胸腺と心臓の絶対及び相対重量の減少が認められた。雌で1×10⁶ IU以上の投与群で胸腺の絶対及び相対重量の減少、1×10⁷ IUの投与群で副腎の絶対及び相対重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、全ての投与群の脾臓で軽度ないし中程度のリンパ濾胞の反応性増生が認められた。その他に投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

従ってこの試験からNOAELを求めることはできなかった。(3×10⁵ IU/kg 体重未満)

【ラットを用いた91日間亜急性毒性試験】⁽¹²⁾

Wistar系ラットを用いた筋肉内投与(3×10⁵, 1×10⁶, 3×10⁶, 1×10⁷ IU/kg 体重)による91日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりである。

体重変化には投与による影響は認められなかった。摂餌量では、1×10⁷ IU投与群の雌で6週及び7週目に摂餌量の減少が認められたが、これは一過的であった。その他摂水量、血液学的検査では、散発的に有意差が認められた事象もみられたが、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、1×10⁷ IU投与群の雌で総ビリルビンの減少が認められた。

尿検査では、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

眼科的検査では、1×10⁷ IUの雌1例に左目の軽度な混濁がみられたが、右目には異常はなく、毒性学的に意義のない変化と考えられた。

臓器重量では、1×10⁷ IUの雌で肝臓、副腎の相対及び絶対重量の減少が認められた。その他、1×10⁷ IUの雄で甲状腺の絶対重量の減少、3×10⁶ IUの雄で肝臓の相対重量の減少、1×10⁶ IUの雄で脳 of 絶対重量の増加、肝臓の相対重量の減少、3×10⁵ IUの雄で甲状腺及び肝臓の絶対重量の減少、雌で副腎の絶対重量の減少が認められたが、いずれも用量相関性は認められなかった。

剖検では、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、対照群を含めて、心臓に小肉芽や小癬痕、肺に微小肺炎巣、限局性の線維症及び無気肺が散発的に認められ、雌雄全群で脾臓の血鉄素症、雄の全ての投与群で尿細管主部上皮細胞にeosinophilic bodyの出現、雌の全ての投与群で遠位尿細管に石灰沈着が認められたが、いずれも投与と関連のない自然発生病変と考えられた。なお、30日間の試験で認められた脾臓の軽度ないし中程度のリンパ濾胞の反応性増生は本試験で

は認められなかった。

以上の結果から、本試験の NOAEL は 3×10^6 IU/kg 体重/日と考えられた。

(3) 生殖・発生毒性試験

二世世代繁殖毒性試験は実施されていないが、医薬品の安全性試験ガイドラインに沿った生殖・発生毒性試験が行なわれている。

【ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験】⁽¹⁵⁾

SD ラットを用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による妊娠前及び妊娠初期投与試験(投与期間; 雄: 同居前 63 日間を含む 91 日間 雌; 同居前 14 日間、同居期間中及び妊娠 0-7 日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌雄の親動物の体重変化、摂餌量には、投与による影響は認められなかった。雌の性周期にも異常は認められなかった。

臓器重量では、 1×10^7 IU 投与群の雄で精巣の絶対重量の増加が認められたが、相対重量に差はなかった。

剖検では、 1×10^7 IU 投与群の雄で脾臓の肥大及び脾臓と腹膜の癒着、雌で乳腺腫がそれぞれ 1 例認められた。これらは少数例のため、偶発例と考えられた。

生殖機能については、交尾率、受授精率、受胎率に投与による影響は認められなかった。また、平均黄体数、平均非未着床率、平均着床率、平均胚致死率、平均生存胎児数、性比、生存胎児の発育に異常は認められなかった。

胎児については、 1×10^6 IU 投与群で平均浸軟胎児率の増加が認められたが用量相関性はなかった。外表奇形は 1×10^6 IU 投与群で外脳及び口蓋裂の合併が 1 例認められたが、偶発的なものと考えられた。内臓異常として心室中隔欠損、右奇静脈遺残、膀胱部左側臍動脈、胸腺の頸部残留、腎盂拡張及び尿管拡張が散見され、骨格変異として椎体化骨核の分離、腰椎数の変異、頸肋、13 肋骨の短縮及び腰肋が散見されたが、これらの出現頻度に対照群との間で有意な差は認められなかった。 3×10^6 IU 投与群で第 5 中手骨未化骨が 5 例認められ、これは対照群と比べて有意であったが用量相関性は認められなかった。

以上の結果から、本試験の雌雄親動物及び胎児動物に対する NOAEL は 1×10^7 IU/kg 体重/日と考えられた。

【ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験】⁽¹⁶⁾

SD ラットを用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による周産期及び授乳期投与試験(投与期間; 妊娠 17-分娩後 21 日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌親動物(F0)については、体重変化、摂餌量、分娩及びほ育状態、妊娠期間、出産率、剖検のいずれにも被験物質の投与に起因する異常は認められなかった。

F1 児については、平均出生児数、死亡率、性比、出生率、生存率及び離乳率に異常は認められなかった。生後分化状態の観察で、 1×10^7 IU 投与群で生後 17 日の眼瞼開裂率の減少が認められたが、軽度であり、生後 18 日には対照群と差が認められなくなったことから、正常範囲内の変動と判断された。内臓異常として 1×10^7 IU で横隔膜ヘルニア、片側精巣腫大(病理組織学的には精細管拡張、精子及び精上皮の減少)がそれぞれ 1 例、 1×10^7 IU 及び 1×10^6 IU で肝臓の過形成がそれぞれ 1 例、 1×10^6 IU 投与群で精巣周囲の脂肪組織内における腫瘤(病理組織学的には脂肪壊死)が 1 例認められたが、いずれも偶発例と考えられた。

さらに機能検査として、全 F1 児に角膜反射、耳介反射、正向反射及び痛覚反応、加えて 4-5 週齢時の各腹雌雄各 1 匹について瞳孔反射、Preyer 反射(5000 及び 15000Hz)を、行動検査として 4-5 週齢時の各腹雌雄各 1 匹について、回転棒、傾斜板、懸垂を、情動性検査

として5-6週齢時の各腹雌雄各1匹についてオープンフィールド検査を行った。 1×10^6 IU投与群の雄で傾斜板角度の減少が認められたが、用量相関性は認められなかった。その他に異常は認められなかった。また、電撃回避試験による学習能力にも投与に起因する異常は認められなかった。

F1の交尾率、授精率、受胎率に異常は認められなかった。

F2胎児については、胎盤癒着が 1×10^7 IU投与群で1例、 1×10^7 IU投与群で2例、 1×10^7 IU投与群で1例にみられたが、その発現率は変動の範囲内であった。その他、平均黄体数、平均着床数、胎児の死亡率、平均生存胎児数、胎児の性比、体重、胎盤重量について投与に起因する異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び次世代動物に対するNOAELは 1×10^7 IU/kg 体重/日と考えられた。

【ラットを用いた器官形成期投与試験】⁽¹⁷⁾

SDラットを用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による器官形成期投与試験(投与期間; 妊娠7-17日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌親動物については、体重変化、摂餌量、分娩及び保育状態、妊娠期間、出産率、剖検、臓器重量、黄体数、着床数のいずれにも被験物質の投与に起因する異常は認められなかった。

胎児については、吸収胚・死亡胎児数、生存胎児数、性比、生存胎児体重及び胎盤重量のいずれにも被験物質の投与に起因する異常は認められなかった。外表奇形は認められなかった。

内臓異常として 1×10^7 IUで心室中隔欠損が1例、 3×10^6 IU投与群で右心症、腎臓と精巢の位置異常が各1例、内臓変異として肝臓の横隔膜面中央部の小隆起、左臍動脈及び腎盂の軽度な拡張、骨格変異として頸肋、14肋骨、胸椎椎体分離及び胸骨核の分離又は非対称が散見されたが、これらの出現頻度に対照群との間で有意な差は認められなかった。 3×10^6 IU投与群で第5中手骨未化骨が5例認められ、対照群と比べて有意であったが用量相関性は認められなかった。

出生児については、 1×10^7 IU投与群において離乳時のオープンフィールド試験において潜時の減少が認められたが、区画移動数には変化はなく、離乳後のオープンフィールド試験では異常は認められなかったことから、この変化は本質的な意義はないものと考えられた。その他、離乳前の外表奇形、性比、体重、生存率、生後分化、離乳率、離乳時の感覚機能、運動機能、剖検所見、離乳後の体重、摂餌量、情動性、学習能力、性成熟、生殖能力、剖検所見、臓器重量、F2胎児への影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の雌親動物及び次世代動物に対するNOAELは 1×10^7 IU/kg 体重/日と考えられた。

【ウサギ胎児の器官形成期投与試験】⁽¹⁸⁾

ウサギ(ニュージーランドホワイト)を用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による器官形成期投与試験(投与期間; 妊娠6-18日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌親動物については、全投与群で妊娠14日前後から体重増加の抑制傾向が認められ、 1×10^7 IU投与群では妊娠23,24日及び26-29日の体重増加の抑制が認められた。摂餌量についても全投与群で妊娠10日頃から減少傾向が認められ、 1×10^6 IU投与群で妊娠13,14日に、 3×10^6 IU投与群では妊娠14,19日に、 1×10^7 IU投与群では妊娠14-22日に摂餌量が有意に減少した。また、試験期間中に対照群の1例が安楽死処分され、 1×10^6 IU投与群の1例が死亡した。この死亡例については剖検の結果、粘液性腸疾患が疑われた。また、対照