

静脈	58.81	20.58
筋肉	52.72	29.42

総放射活性の排泄及び回収量は、経口投与において吸収率の減少により持続的な排泄が認められたことを除き、投与経路による明らかな差異は認められなかった。(参照 10)

第2相試験

泌乳牛(同上)に¹⁴C-標識クレンプテロールを単回筋肉内投与(0.8 µg/kg 体重)し、経時的に血漿(投与前、投与2、6、12時間後、その後12時間間隔)、乳汁(投与前及び投与143時間後まで)、尿及び糞(投与前24時間から24時間間隔)、組織(肝臓、腎臓、骨格筋、投与部位、脂肪、血漿、全血、尿、乳汁、胆汁:投与6時間、3日及び6日後)を採取して濃度を測定した。

血漿、乳汁、尿及び糞中濃度の結果は第1相試験(筋肉内投与)の結果をよく反映していた。血漿中C_{max}は0.23 ng-eq/mL、T_{max}は投与2時間後であった。乳汁中最高濃度は0.67 ng-eq/mL、最高濃度到達時間は投与7時間後であり、投与79時間後まで検出された。組織中残留濃度は肝臓>腎臓>投与部位の順で、肝臓では高濃度かつ長期残留(投与6日後:0.65 ng-eq/mL)が認められたが、肝臓、腎臓及び投与部位を除く全ての組織では投与6日後までに検出限界(乳汁:0.007 ng-eq/mL、血漿:0.02 ng-eq/mL、脂肪以外組織:0.06 ng-eq/mL、筋肉:0.18 ng-eq/g、脂肪:0.46 ng-eq/g)未満となった。(参照 10)

第1相試験及び第2相試験(共通データ)

単回筋肉内投与6時間後に採取した肝臓及び腎臓、投与後24時間に採取した尿及び糞、経口投与8~12時間後に採取した血漿を用いてHPLCにより各試料中の放射性代謝物を同定した結果、いずれも主として未変化体が認められた。

第1相及び第2相試験における経口、静脈内及び筋肉内投与後144時間までの尿・糞中及び乳汁中への平均累積排泄率は、それぞれ57.30、23.63及び2.12%であった。(表10)(参照 10)

表10 牛における経口、静脈内、筋肉内投与後144時間までの尿、糞及び乳汁中の平均累積排泄率(%)

試験	投与経路	尿中排泄率	糞中排泄率	乳汁中排泄率	合計
第1相	経口	57.67	20.45	2.67	80.79
	静脈内	58.81	20.58	1.91	81.30
	筋肉内	52.57	29.42	2.06	84.05
第2相	筋肉内	60.16	24.06	1.83	86.05
全経路平均		57.30	23.63	2.12	83.05

牛(系統不明、性別不明、頭数不明)に¹⁴C-標識クレンプテロールを単回筋肉内投与(0.8 µg/kg 体重)したとき、肝臓で高濃度の放射活性が確認された。投与直後の筋肉中

では、放射活性のほとんどは未変化体であった。(参照3)

子牛(ヘレフォード/フリージアン種、3頭/群:雄5頭、雌4頭)に ^{14}C -標識クレンプテロールを1日2回、10日間で21回筋肉内投与($0.8\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)した。初回投与後の血漿中の平均 C_{max} は $0.34\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ で T_{max} は投与1時間後であった。血漿中濃度は投与期間を通して安定した上昇を示し、最終投与前の濃度は $1.37\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ であった。その後、血漿中濃度は減少($T_{1/2}$:約70時間)したが、最終投与10日後においても $0.22\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ が検出された。高レベルの放射活性は肝臓及び腎臓で認められ、筋肉及び脂肪では最終投与6日後には検出限界($0.18\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$)未満となった。胆汁及び尿中にも有意な検出が認められた。投与部位の放射活性については、投与回数に関わらず血漿中濃度と類似の推移を示したことから、クレンプテロールは高い吸収性を示すとともに投与部位での組織結合性は低いことが示唆された。また、投与部位の病理組織学的検査では、投与による明らかな影響は認められなかった。(参照4、5、11)

妊娠牛(系統不明、頭数不明)に ^{14}C -標識クレンプテロールを筋肉内投与($7\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)し、投与3時間後の体内分布を調べた。放射活性は胎盤を通過し、骨格筋、腎臓及び肝臓を含む胎児組織中に検出された。また、放射活性は母動物や胎児の眼球にも検出された。(参照3)

(7) 薬物動態試験(馬) (参照3、4、5、12)

馬(雌雄各6頭)に ^{14}C -標識クレンプテロールを1日2回、21日間経口投与($0.8\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)したとき、初回投与時における血漿中の T_{max} は投与1.5~4時間後で、血漿中 C_{max} は $0.6\sim 1.2\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ であった。連続投与期間中、血漿中濃度は速やかに定常状態に達し、 C_{max} は $1\sim 2\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ 、 T_{max} は投与3時間後であった。最終投与後の血漿中 C_{max} は $1.1\sim 1.9\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ 、 T_{max} は最終投与2~4時間後、末期 $T_{1/2}$ は約22時間であった。主要排泄経路は尿中、排泄率は約75~91%であり、主に未変化体であった。糞中排泄率は6~15%であった。放射活性の組織内への分布は、最終投与12時間、9、12及び28日後に調べられており、いずれも肝臓(12時間後: $5.7\sim 27\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、9日後: $4.6\sim 7.2\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、12日後: $1.8\sim 7.5\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、28日後: $0.51\sim 0.79\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$)及び腎臓(12時間後: $1.7\sim 8\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、9日後: $0.17\sim 0.59\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、12日後: $0.12\sim 0.44\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、28日後: $0.14\sim 0.23\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$)で高濃度が検出され、筋肉及び脂肪への分布はバックグラウンドの範囲内あるいは定量限界(筋肉 $0.3\sim 0.5\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、脂肪 $0.3\sim 1.6\ \text{ng}\cdot\text{eq}/\text{g}$)未満であった。(参照3、4、5、12)

(8) 薬物動態試験(サル及びヒヒ) (参照3)

カニクイザル(性別不明、匹数不明)に ^{14}C -標識クレンプテロールを単回静脈内投与($30\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)すると、投与後72時間に尿中に総放射活性の約60%、糞中には4%が排泄された。排泄は2相性の形態をとり、 α 相の $T_{1/2}$ は算出できなかったが、 β 相では $T_{1/2}$ は20~30時間であった。

ヒト（雄、匹数不明）に¹⁴C-標識クレンプテロールを単回静脈内投与（2.5 mg/kg 体重）すると、投与後5日間に総放射活性の約82%が尿中（約68%）及び糞中（14%）に排泄され、そのうち72%は投与後48時間に排泄された。なお、経口投与した場合も同様の排泄パターンを示すことが確認されている。放射活性は肺、肝臓及び腎臓に迅速かつ高濃度の分布が認められた。

妊娠ヒトに¹⁴C-標識クレンプテロールを単回静脈内投与（3.3 mg/kg 体重）したときの胎盤移行性について調べた結果、投与3.5時間後に投与量の約1.5%が胎児に検出された。

(9) ヒトにおける知見（参照3）

健康人ボランティアに¹⁴C-標識クレンプテロール塩酸塩を単回経口投与（20 µg/kg 体重）すると、尿中に67%が排泄され、糞中への排泄は微量であった。尿中における主要排泄物は未変化体であり、代謝経路は実験動物での報告と類似していた。血漿中 C_{max} は0.11 µg/L、 T_{max} は投与2~3時間後であり、投与量の約87%が尿中に認められたが、糞中への排泄は少量であった。

2. 残留試験

(1) 残留試験（牛）（参照13、14）

子牛（ホルスタイン種、13~18ヶ月齢、雌、3頭/群、1頭/対照群）に塩酸クレンプテロールを単回静脈内投与（0.3（常用最高量）、0.6 mg/頭（2倍量））し、投与1、6、9、12及び15日後に（対照群は投与1日後）、血漿、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び小腸中濃度をELISA法により測定した。

0.3 mg/頭投与群では、投与1日後に全個体の血漿及び組織から検出され、肝臓に平均1.04 ng/g、腎臓及び小腸にそれぞれ平均0.73及び0.71 ng/gのほぼ同レベルの残留が認められた。血漿では1例で高濃度の残留（0.9 ng/g）があったため、平均0.60 ng/gと高値になった。また、低濃度ながら脂肪（0.14 ng/g）に残留が認められた。0.6 mg/頭投与群では、2例の脂肪を除く全試料から検出された。肝臓では平均3.47 ng/gと高濃度の残留が認められ、腎臓及び小腸ではそれぞれ平均1.23及び0.78 ng/gであり、残留傾向は0.3 mg/頭投与群と類似していた。投与6日後には、いずれの投与群においても血漿及び組織の全てが検出限界（0.1 ng/g）未満となった。（表11）（参照13）

表11 牛における単回静脈内投与後の血漿及び組織中の平均残留濃度（ng/g） n=3

投与量 (mg/頭)	採取試料	平均残留濃度(ng/g)				
		投与1日後	投与6日後	投与9日後	投与12日後	投与15日後
0.3	血漿	0.60	<0.1	<0.1	—	—
	筋肉	0.31	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	1.04	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	0.73	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	0.14	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.71	<0.1	<0.1	—	—
0.6	血漿	0.60	<0.1	<0.1	—	—

	筋肉	0.23	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	3.47	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	1.23	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	0.32 ¹⁾	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.78	<0.1	<0.1	—	—

1) 3頭中1頭で0.32 ng/gを検出、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

※ — : 分析せず

※ 検出限界は0.1 ng/g

子牛 (ホルスタイン種、9~10ヶ月齢、雌、3頭/投与群、1頭/対照群) に前述の試験 (参照13) と同様に投与し、血漿及び組織中濃度を測定した。0.3 mg/頭投与群では、投与1日後の3例の脂肪、1例の血漿及び筋肉を除く全試料から検出され、特に肝臓には平均1.74 (0.67~2.46) ng/gの高濃度が認められた。0.6 mg/頭投与群は、投与1日後には脂肪を除く全試料から検出され、肝臓には平均1.64 (1.03~2.20) ng/gの高濃度が、腎臓には平均0.78 (0.52~0.98) ng/gの比較的高濃度が検出された。投与6日後には、いずれの投与群においても血漿及び組織の全てで検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。(表12) (参照14)

表12 牛における単回静脈内投与後の血漿及び組織中の平均残留濃度 (ng/g) n=3

投与量 (mg/頭)	採取試料	平均残留濃度(ng/g)				
		投与1日後	投与6日後	投与9日後	投与12日後	投与15日後
0.3	血漿	0.26 ¹⁾	<0.1	<0.1	—	—
	筋肉	0.24 ²⁾	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	1.74	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	0.79	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	<0.1	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.46	<0.1	<0.1	—	—
0.6	血漿	0.20	<0.1	<0.1	—	—
	筋肉	0.19	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	1.64	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	0.78	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	<0.1	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.31	<0.1	<0.1	—	—

1) 3頭中2頭で0.31、0.21 ng/gを検出、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

2) 3頭中2頭で0.18、0.30 ng/gを検出、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

※ — : 分析せず

※ 検出限界は0.1 ng/g

(2) 残留試験 (乳汁) (参照15、16)

牛 (ホルスタイン種、2.5~3.5歳齢、雌、3頭/群) に塩酸クレンプテロールを単回静脈内投与 (0.3及び0.6 mg/頭) し、乳汁及び血漿中濃度を調べた。乳汁は投与前及び投与12時間後より12時間間隔で投与10日後まで採取し、血液は投与前から投与120時

間後まで計 8 時点を採取した。

乳汁中では投与 12 時間後において、0.3 mg/頭投与群の全例から平均 0.86 (0.82~0.87) ng/g、0.6 mg/頭投与群の全例から平均 0.61 (0.26~1.22) ng/g が検出された。いずれの投与群も減衰速度に個体差はあったものの、投与 60 時間後には全て検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。血漿中では、0.3 mg/頭投与群で投与 1 時間後に 1 例 (0.27 ng/g) にのみ検出され、投与 6 時間後には全例が検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。0.6 mg/頭投与群では、投与 1 時間後に 1 例で 0.5 ng/g、他の 1 例で 0.38 ng/g の比較的高濃度を示したが、投与 24 時間後には全例が検出限界未満となった。(表 13) (参照 15)

表 13 牛における単回静脈内投与後の乳汁及び血漿中の平均残留濃度 (ng/g) n=3

試料	投与量	試料採取時間 (投与後時間)							
		1	6	12	24	36	48	60	72
乳汁	0.3	/	/	0.86	0.49	0.31	0.21	<0.1	<0.1
	0.6	/	/	0.61	0.355 ¹⁾	0.43 ²⁾	0.29 ³⁾	<0.1	<0.1
血漿	0.3	0.27 ⁴⁾	<0.1	<0.1	—	/	—	/	—
	0.6	0.44 ⁵⁾	0.23 ⁶⁾	0.12 ⁷⁾	<0.1	/	<0.1	/	—

1) 3 頭中 2 頭で 0.44、0.27 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

2) 3 頭中 2 頭で 0.50、0.36 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

3) 3 頭中 2 頭で 0.39、0.19 ng/g、残りは分析せず

4) 3 頭中 1 頭で 0.27 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

5) 3 頭中 2 頭で 0.50、0.38 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

6) 3 頭中 2 頭で 0.29、0.17 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

7) 3 頭中 1 頭で 0.12 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満及び分析せず

※ — : 分析せず

牛 (ホルスタイン種、4~5 歳齢、雌、3 頭/群) に前述の試験 (参照 15) と同様の方法で投与し、乳汁及び血漿中濃度を調べた。

乳汁中では、0.3 及び 0.6 mg/頭投与群で投与 12 時間後にそれぞれ平均 0.27 (0.17~0.38) 及び 0.48 (0.33~0.58) ng/g が検出されたが、投与 48 時間後 (投与 2 日後) にはいずれの投与群も全例が検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。血漿中では、0.3 mg/頭投与群で投与 1 時間後に 2 例から検出されたが、投与 6 時間後には全例が検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。0.6 mg/頭投与群では、投与 1 時間後に平均 0.29 (0.27~0.34) ng/g の比較的高濃度が検出されたが、投与 12 時間後には全例が検出限界未満となった。(表 14) (参照 16)

表 14 牛における単回静脈内投与後の乳汁及び血漿中の平均残留濃度 (ng/g) n=3

試料	投与量	試料採取時間 (投与後時間)							
		1	6	12	24	36	48	60	72
乳汁	0.3	/	/	0.27	0.15	0.23	<0.1	<0.1	—
	0.6	/	/	0.48	0.37	0.24 ¹⁾	<0.1	<0.1	—
血漿	0.3	0.145 ²⁾	<0.1	<0.1	—	/	—	/	—

	0.6	0.29	0.17 ³⁾	<0.1	<0.1	／	—	／	—
--	-----	------	--------------------	------	------	---	---	---	---

- 1) 3頭中1頭で0.24、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満
 2) 3頭中2頭で0.17、0.12 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満
 3) 3頭中1頭で0.17、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

※ — : 分析せず

3. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (マウス、ラット及びウサギ) (参照 17、18)

マウス (ddY系、雌雄各 10 匹/群) 及びラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) に塩酸クレンプテロールを経口、皮下及び腹腔内投与したときの LD₅₀ は、マウスの雄でそれぞれ 150、63 及び 48 mg/kg 体重、雌では 147、69 及び 56 mg/kg 体重であった。ラットでは、雄でそれぞれ 184、148 及び 76 mg/kg 体重/日、雌では 159、155 及び 77 mg/kg 体重であった。LD₅₀ はマウス、ラットとも経口>皮下>腹腔内投与の順で、性差は認められなかった。また、種差は皮下投与において認められ、マウスの LD₅₀ はラットに比べて低かった。

一般状態では、マウス及びラットともにいずれの投与経路においても、歩行失調、自発運動の低下、鎮静あるいは呼吸促迫が認められ、高用量群では投与量に相関して横転、痙攣、流涙及び流涎等の症状が加わった。死亡例は、経口及び皮下投与ではマウス及びラットともに、それぞれ投与後 3 及び 6 時間以内、腹腔内投与ではラットで投与後 1 時間以内、マウスでは投与後 3 時間以内に認められた。剖検では、皮下投与部位に壊死様変化が認められた以外に明らかな変化は認められなかった。(参照 17)

表 15 マウス及びラットにおける投与経路別の LD₅₀

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
		雄	雌
マウス	経口	150	147
	皮下	63	69
	腹腔内	48	56
ラット	経口	184	159
	皮下	148	155
	腹腔内	76	77

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) にクレンプテロールの代謝物 A を経口投与したときの LD₅₀ は、雌雄ともに >5,000 mg/kg 体重であった。また、同じく代謝物 C を経口投与したときの LD₅₀ は、雄で 4,930 mg/kg 体重、雌では 4,618 mg/kg 体重であった。

一般状態では、両代謝物投与群ともに自発運動の低下、歩行失調、呼吸運動の抑制が認められ、さらに代謝物 C では下痢が、代謝物 A では雌で赤色尿が認められた。また、両代謝物投与群ともに、死亡例は投与 2 日後までに認められ、剖検において代謝物 C 投与群で死亡例の幽門部及び空回腸に充血が認められた以外は、いずれの投与群でも生存例及び死亡例ともに特記すべき所見は認められなかった。(参照 17)

表 16 マウスにおけるクレンプテロール代謝物の LD₅₀

動物種	投与経路	投与物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
			雄	雌
マウス	経口	代謝物 A	>5,000	>5,000
		代謝物 C	4,930	4,618

マウス (ICR 系、7 週齢、雌雄各 10 匹/群) 及びラット (SD 系、11 週齢、雌雄各 10 匹/群) に経口、皮下、静脈内及び腹腔内投与したときの LD₅₀ 及びヒマラヤン系ウサギに皮下投与した際の LD₅₀ を調べた。マウスの経口投与による LD₅₀ は、雄、雌でそれぞれ 80、133 mg/kg 体重、皮下投与では雄、雌で 64、80 mg/kg 体重、静脈内投与では雄、雌で 38、46 mg/kg 体重、腹腔内投与では雄、雌で 46、74 mg/kg 体重であった。ラットの経口投与による LD₅₀ は、雄、雌でそれぞれ 170、180 mg/kg 体重、皮下投与では雌雄ともに 170 mg/kg 体重、静脈内投与では雌雄ともに 30 mg/kg 体重、腹腔内投与では雄、雌で 72、67 mg/kg 体重であった。ウサギ (ヒマラヤン系、3~4 ヶ月齢、雌雄各 4 匹/群) の皮下投与による LD₅₀ は、雄で 80 mg/kg 体重、雌で 87 mg/kg 体重であった。(参照 18)

表 17 マウス、ラット及びウサギにおける投与経路別の LD₅₀

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
		雄	雌
ICR 系マウス	経口	80	133
	皮下	64	80
	静脈内	38	46
	腹腔内	46	74
SD 系ラット	経口	170	180
	皮下	170	170
	静脈内	30	30
	腹腔内	72	67
ヒマラヤン系ウサギ	皮下	80	87

(2) 急性毒性試験 (イヌ) (参照 3)

イヌ (品種不明、性別不明、匹数不明) にクレンプテロールを経口及び静脈内投与したときの LD₅₀ は、雌雄でそれぞれ 400~800 mg/kg 体重及び 45~52 mg/kg 体重であった。

4. 亜急性毒性試験

(1) 1ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 3、5、18)

ラット (SD 系、13 週齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた塩酸クレンプテロールの強制経口投与 (0、1、10、100 mg/kg 体重/日) による 1ヶ月間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。

試験期間中に、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 7 例 (46.7 %) で投与に起因すると考えられる死亡が認められた。

一般状態では、100 mg/kg 体重/日投与群の数例で眼及び鼻に赤色の痂皮が認められた。また、流涎により口の周囲が濡れている例や口腔内に泡沫状の唾液を含んでいる例が認められた。

体重では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で顕著な増加抑制が認められた。摂餌量では、100 mg/kg 体重/日投与群で投与 1 週に減少が認められた。

血液学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で Glu の減少が認められた。

臓器重量では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の絶対重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、死亡例には明らかな変化は認められなかった。100 mg/kg 体重/日投与群では、2 例の左心室に慢性虚血性病変に類似した所見 (心筋線維の消失、線維化) が認められた。

本試験において、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で Glu の減少が認められたことから、雌雄とも NOAEL は 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 18 1ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
100	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 ・体重増加抑制 ・肝臓の絶対重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例
	<ul style="list-style-type: none"> ・目及び鼻に赤色の痂皮、流涎、口腔内に泡沫状の唾液 (雌雄不明) ・摂餌量の減少 (雌雄不明) ・左心室に慢性虚血性病変に類似した所見 (心筋線維の消失、線維化) (雌雄不明) 	
10 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ Glu の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Glu の減少
1	毒性影響なし	毒性影響なし

(2) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 19)

ラット (Wistar 系、6 週齢、雌雄各 25 匹/群) を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与 (0, 0.4, 2, 10, 25 mg/kg 体重/日) による 3 ヶ月間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。なお、投与 45 日後に、各群とも雌雄各 10 例について各種臨床検査を実施し、剖検した。また、対照群及び 25 mg/kg 体重/日投与群には回復群 (雌雄各 15 匹/群) を設け、投与終了後 6 週間観察した。

試験期間中、25 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例及び雌 3 例に死亡が認められた。

一般状態では、10 mg/kg 体重/日以上投与群で鎮静、流涙、流涎、軟便及び下痢が認められた。

体重では、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で体重減少あるいは増加抑制が認められた。

摂餌量、飲水量及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液学的検査では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌で Plt の減少が認められた。

血液生化学的検査では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌雄で Glu の減少及び雌で ALP の増加、2 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で ALP の増加が認められた。3 ヶ月間の投与終了時の検査では、投与 45 日後の検査と同様に全投与群の雌雄で Glu の減少及び雌で ALP の増加が認められ、さらに、雄では全投与群でカリウムの増加、10 mg/kg 体重/日以上投与群で ALP の増加が認められた。回復期間終了時には、25 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で ALP の増加が、雌で Glu の減少が認められた。

剖検では、死亡例で口腔周囲の汚れが認められた。生存例は、いずれの検査時期においても異常は認められなかった。

臓器重量では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌雄で肝臓の比重量²の減少³、雌で腎臓の絶対重量の増加、2 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝臓の絶対重量及び副腎の比重量の減少、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で副腎の絶対重量の減少が認められた。最終投与時の検査では、全投与群の雌雄で肝臓及び副腎の比重量の減少、精巣上体の比重量の減少が認められ、これらの絶対重量の減少が雌雄ともに 2 あるいは 10 mg/kg 体重/日以上投与群で認められた。また、10 mg/kg 体重/日以上投与群では精巣の絶対重量、前立腺の絶対及び比重量の減少が認められた。回復群では、25 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の絶対及び比重量の減少、雌で副腎の比重量の減少がいずれも回復傾向にはあるものの、対照群に比べて有意な変化として認められた (p<0.01)。

病理組織学的検査では、死亡例で肺にうっ血、無気肺様変化、気管支周囲及び血管周囲の細胞浸潤が認められた。生存例では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌雄各 1~3 例で、主に左心室乳頭部に限局して単核細胞浸潤及び線維化が認められた。最終投与時にも同様の病変が認められたが、発現頻度は雌より雄が多かった。回復期間終了時には、心筋への影響は対照群及び 25 mg/kg 体重/日投与群の雄各 2 例を除いて、ほとんどが消失した。なお、重量に変化が認められた肝臓を含むその他の臓器には組織学的変化は認められなかった。

本試験において、全投与群の雌雄で Glu の低値及び肝臓・副腎の比重量の減少、雌で Plt の減少、ALP の増加及び腎臓の絶対重量の増加、雄でカリウムの増加及び精巣上体の比重量の減少が認められ、また、左心室乳頭部に限局して単核細胞浸潤及び線維化が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 0.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 19 3 ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
25	・死亡例	・死亡例

² 体重比重量を比重量という。以下同じ。

³ 雌の 2 mg/kg 体重/日投与群のみ有意差なし。

	<ul style="list-style-type: none"> ・肺にうっ血、無気肺様変化、気管支炎周囲及び血管周囲の細胞浸潤 (死亡例) 	<ul style="list-style-type: none"> ・肺にうっ血、無気肺様変化、気管支炎周囲及び血管周囲の細胞浸潤 (死亡例)
10 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重減少あるいは増加抑制 ・副腎の絶対重量の減少 ・精巣の絶対重量の減少 ・前立腺の絶対及び比重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝臓の絶対重量の減少
	<ul style="list-style-type: none"> ・鎮静、流涙、流涎、軟便、下痢 (雌雄不明) 	
2 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP の増加 ・肝臓の絶対重量 ・精巣上体の絶対重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎の絶対重量の減少
0.4 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu の減少、カリウムの増加 ・肝臓の比重量の減少 ・副腎の比重量の減少 ・精巣上体の比重量の減少 ・左心室乳頭部に限局した単核細胞浸潤及び線維化 	<ul style="list-style-type: none"> ・Plt の減少 ・Glu の減少、ALP の増加 ・肝臓の比重量の減少 ・副腎の比重量の減少 ・腎臓の絶対重量の増加 ・左心室乳頭部に限局した単核細胞浸潤及び線維化
25 (回復群)	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP の増加 ・肝臓の絶対及び比重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu の減少、ALP の増加 ・副腎の比重量の減少

(3) 6ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 3、5、18)

ラット (SD 系、11 週齢、雌雄各 15 匹(最高量投与群のみ 20 匹)/群) を用いた塩酸クレブテロールの混餌投与 (0、1、5、25、75 mg/kg 体重/日) による 6 ヶ月間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。また、試験後に 1 ヶ月間の回復期間が設けられた。

試験期間中、75 mg/kg 体重/日投与群の雄 9 例及び雌 5 例の死亡が認められた。

一般状態、飲水量、血液学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

体重では、75 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で増加抑制が認められた。

摂餌量は、75 mg/kg 体重/日投与群で試験期間中に減少傾向を示したが、休薬により急速に回復した。

飲水量は、投与 1 週において全投与群の飲水量は用量依存的ではないが、有意に増加した。

血液生化学的検査では、全投与群で Glu の減少が認められたが、休薬により回復が認められた。

⁴ 75 mg 投与群における被験物質の実摂取量については、最初の 1 ヶ月間で高値であったことを除き、摂餌量の減少に伴い目標摂取量 (75 mg/kg) に良好な一致を示した。

剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

臓器重量では、75 mg/kg 体重/日投与群の雄の生殖器に栄養不良に起因すると考えられる減少、雌雄で内分泌腺に減少が認められたが、いずれも休薬により回復が認められた。

病理組織学的検査では、全投与群で心筋壊死が認められ、その発生頻度と程度には用量依存性が認められた。病変は概ね左心室乳頭筋に限局して認められたが、左心室全体にびまん性の分布を示すものが7例で認められた。また、病変は慢性虚血性病変に類似した心筋線維の消失、線維化であった。これら心筋病変は、特に25 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で散見され病変も重篤であったが、雌での発現は少数例(3例)で、また明瞭な変化ではなかった。なお、回復群においても雄3例で心筋病変が認められた。その他、75 mg/kg 体重/日投与群の雄では、体重の減少に伴い肝細胞において脂肪滴の減少が認められた。

本試験において、全投与群でGluの減少、心筋壊死が認められたことから、NOAELは設定できず、LOAELは1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 20 6ヶ月間亜急性毒性試験(ラット)において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
75	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 ・体重増加抑制 ・摂餌量の減少傾向(回復) ・生殖器重量の減少(回復) ・内分泌腺重量の減少(回復) ・肝細胞の脂肪滴の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 ・体重増加抑制 ・摂餌量の減少傾向(回復) ・内分泌腺重量の減少(回復)
25以上		
5以上		
1以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Gluの減少(回復) ・心筋壊死(雌雄不明) 	<ul style="list-style-type: none"> ・Gluの減少(回復)

※(回復)は、1ヶ月間の回復期間後において回復が認められたもの

(4) 13週間亜急性毒性試験(イヌ)(参照3、5、20、21)

イヌ(ビーグル種、8~10ヶ月齢、雌雄各3匹群)を用いた塩酸クレムブテロールの経口投与(0、0.4、4、20/30/40 mg/kg 体重/日)による13週間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。高用量群の投与は20 mg/kg 体重/日から開始し、投与5週より30 mg/kg 体重/日、投与9週より40 mg/kg 体重/日と漸増投与した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。なお、20 mg/kg 体重/日投与群の1例が投与23日に突然興奮状態、痙攣及び息切れ等の症状を示し、死亡した。同個体では剖検で、肺、肝臓、腎臓及び結膜に鬱血、心臓及び肺には出血が認められ、病理組織学的検査では、肺に出血性気管支肺炎が認められたことから、死因は急性かつ重篤な肺感染症であると考えられ、投与により症状が増強された可能性が示唆

された。

一般状態では、雄の 20 mg/kg 体重/日以上投与群、雌では 40 mg/kg 体重/日投与群で鎮静が認められ、症状は投与 1 週に顕著に認められた後は次第に消失した。また、投与量増加により再発が確認された。

体重では、30 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で停滞が認められ、雄では 40 mg/kg 体重/日投与群で減少が認められた。

摂餌量では、20/30/40 mg/kg 体重/日投与群（40 mg/kg 体重/日に増量したとき）で減少傾向が認められた。

心電図検査では、初回投与後、全投与群の全例で頻脈が認められた。頻脈は投与翌日まで持続し、翌週以降は次第に軽減したが、0.4 mg/kg 体重/日投与群においても投与終了時まで観察された。20/30/40 mg/kg 体重/日投与群では、頻脈の程度は投与量の増加に伴い増強が認められた。また、心拍数の増加に起因する P-Q、Q-T 及び T-P 間隔の短縮が全例で認められた。

糞性状、飲水量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、聴覚検査、眼科検査、計画解剖例における剖検、臓器重量及び病理組織学的検査に、投与に起因する影響は認められなかった。

本試験において、全投与群の雌雄で頻脈が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 0.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 3、5、20）

表 21 13 週間亜急性毒性試験（イヌ）において認められた毒性影響①

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
20/30/40	・鎮静 ・体重減少	・鎮静 ・体重減少
4 以上		
0.4 以上	・頻脈（雌雄不明） ・P-Q、Q-T 及び T-P 間隔の短縮（雌雄不明）	

イヌ（ビーグル種、8~15 ヶ月齢、雌雄各 3 匹/群）を用いた塩酸クレンプテロールの経口投与（0、2.5、40 mg/kg 体重/日）による 13 週間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。なお、本試験は次の目的により、計画実施された。イヌを用いた 12 ヶ月間の慢性毒性試験（参照 24）では低用量（0.1~2.5 mg/kg 体重/日）から心筋の壊死及び線維化巣（壊死巣の瘢痕化）が認められたが、その一方で、13 週間の亜急性毒性試験（参照 20）では 40 mg/kg 体重/日の用量においても心臓に病理組織学的な変化が認められなかったことから、本試験では 2.5 及び 40 mg/kg 体重/日の用量を用いて 13 週間亜急性毒性試験を実施し、クレンプテロールの心臓に対する影響について再評価した。以上の試験目的により、本試験における病理組織学的検査は心臓についてのみ実施した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

一般状態では、投与 1 週に、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の全例で無関心、皮膚の紅

斑、眼球の発赤、散瞳、瞳孔固定が認められた。また、聴診では全例で頻脈が認められた。

体重、摂餌量及び尿検査には、投与による影響は認められなかった。

血液学的検査では、いくつかの項目に変動は認められたものの、いずれも正常範囲内であった。

血液生化学的検査では、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme、及び CK に増加が認められた。また、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で心臓の左心室筋及び肝臓におけるグリコーゲン量の減少、40 mg/kg 体重/日投与群では雌にも肝臓のグリコーゲン量の減少が認められた。

剖検では、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で、左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の小さな線状の病巣が認められた。

病理組織学的検査では、肉眼所見に一致して左心室乳頭筋に所見が認められ、2.5 mg/kg 体重/日投与群では心筋線維の変性及び線維化巣が、40 mg/kg 体重/日投与群では壊死巣及び線維化巣に加え、壊死部に異栄養性の石灰沈着が認められた。なお、これらの所見の程度には明らかに用量依存性が認められた。

本試験において、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の一般状態（無関心、皮膚の紅斑、眼球の発赤、散瞳、瞳孔固定、頻脈）、血液生化学的検査（AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme 及び CK の増加、雄で心臓の左心室筋及び肝臓におけるグリコーゲン量の減少）、剖検（雌雄で左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の病巣）、病理組織学的検査（心筋線維の変性及び線維化巣）に影響が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 2.5 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 3、5、21）

表 22 13 ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）において認められた毒性影響②

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
40		<ul style="list-style-type: none"> 肝臓のグリコーゲン量の減少 壊死巣及び線維化巣、壊死部に異栄養性の石灰沈着（40のみ）
2.5 以上	<ul style="list-style-type: none"> AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme 及び CK に増加 心臓の左心室筋及び肝臓のグリコーゲン量の減少 左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の線状の病巣 心筋線維の変性及び線維化巣（2.5のみ） 	<ul style="list-style-type: none"> AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme 及び CK に増加 左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の線状の病巣
	<ul style="list-style-type: none"> 無関心、皮膚の赤斑、眼球の発赤、散瞳、瞳孔固定、頻脈（雌雄不明） 	

(5) 64日間亜急性毒性試験 (馬) (参照 3、5)

馬を用いた塩酸クレンプテロールの経口投与 (0.8~17.5 µg/kg 体重/日) による64日間亜急性毒性試験では、一過性の頻脈、発汗、筋肉振戦、高血糖及び低リン血症が認められた。

(参考) 1ヶ月間亜急性毒性試験 (マウス) (参照 3、5、18)

マウス (ICR系、6週齢、雌雄各15匹/群) を用いた塩酸クレンプテロールの強制経口投与 (0、2.5、12.5、62.5 mg/kg 体重/日) による1ヶ月間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。

試験期間中、62.5 mg/kg 体重/日投与群では投与2週に無関心 (apathy) となり、雄1例及び雌5例に死亡が認められた。

一般状態では、62.5 mg/kg 体重/日投与群で無関心が認められたが、死亡例を除き、投与30分後には回復した。

体重では、全投与群において雌雄ともに体重の軽度な増加傾向が認められた。また、摂餌量及び飲水量は、体重増加量に並行して用量依存的な増加傾向を示した。

血液学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査は実施されていない。

臓器重量では、12.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝臓の絶対重量の増加が用量依存的に認められた。

病理組織学的検査では、12.5 mg/kg 体重/日投与群の雄1例で右心室壁の心内膜下に急性壊死及び左心室の心外膜下に多発性の慢性虚血性病変が、雌1例では慢性的虚血性巣状心筋炎が認められた。62.5 mg/kg 体重/日投与群では雄1例の右心に広範囲な急性壊死が、雌1例の心臓には巣状の血管周囲炎が認められた。

表 23 1ヶ月間亜急性毒性試験 (マウス) において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
62.5	・死亡例 ・右心に広範囲な急性壊死 ・無関心 (雌雄不明)	・死亡例 ・心臓に巣状の血管周囲炎
12.5 以上	・肝臓の絶対重量の増加 ・右心室壁の心内膜下に急性壊死及び左心室の心外膜下に多発性の慢性虚血性病変 (12.5のみ)	・慢性的虚血性巣状心筋炎 (12.5のみ)
2.5	毒性影響なし	毒性影響なし

5. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 12ヶ月間慢性毒性試験 (ラット) (参照 22)

ラット (Wistar系、6週齢、雌雄各15匹/群) を用いた塩酸クレンプテロールの強制経口投与 (0、0.01、0.05、0.25 mg/kg 体重/日) による12ヶ月間慢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。なお、対照群及び0.25 mg/kg 体重/日投与群には回復群（雌雄各 15 匹/群）を設け、投与終了後 6 週間観察した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

一般状態、体重及び剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

摂餌量及び飲水量では、全投与群で増加傾向が認められた。

血液学的検査では、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で Plt の軽度な減少が認められた。

血液生化学的検査では、全投与群の雌で Glu の減少が認められたが、休薬により回復した。また、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄でナトリウムの軽度な増加が認められた。

尿検査では、全投与群の雌雄でナトリウムの排泄量の増加が認められたが、休薬により回復した。0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で投与開始 9 ヶ月後に潜血が認められる例があり、同じ時期に 0.25 mg/kg 体重/日投与群では 4 例にビリルビン陽性を認めた。

臓器重量では、全投与群の雌雄で心臓の絶対重量の増加、雄で心臓の比重量の増加、肺の絶対及び比重量の増加が、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群では、雄で腎臓の絶対及び比重量の増加、雌で心臓の比重量の増加、卵巣の絶対及び比重量の増加が、0.25 mg/kg 体重/日投与群では雌で脳 of 絶対及び比重量の減少、雄で肝臓の絶対及び比重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、死亡例では投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。生存例では、対照群を含む全投与群の雌雄において、心筋線維化巣あるいは心筋炎が認められたが、用量依存性はなく、加齢による自然発生性の病変であると考えられた。また、心臓では全投与群で重量増加が認められたが、これに関連すると考えられる心筋線維肥大などの質的な異常は認められなかった。0.25 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 1 例、回復群の雄 1 例に肺の細気管支の拡張が認められた。その他、臓器重量に変化が認められた腎臓を含む主要臓器、組織に投与に起因する変化は認められなかった。

電子顕微鏡学的検査では、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の腎臓で近位尿細管上皮にライソゾーム様の暗顆粒のわずかな増加が認められた。肝臓には異常は認められなかった。

本試験において、全投与群の血液生化学的検査（雌で Glu の減少）、臓器重量（雌雄で心臓の絶対重量の増加、雄で心臓の比重量の増加、肺の絶対及び比重量の増加）に影響が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 0.01 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 24 12 ヶ月間慢性毒性試験（ラット）において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
0.25	<ul style="list-style-type: none"> ・肝臓の絶対及び比重量の減少 ・肺の細気管支の拡張 	<ul style="list-style-type: none"> ・ビリルビン陽性 ・脳 of 絶対及び比重量の減少 ・肺の細気管支の拡張
0.05 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・血中ナトリウムの増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・Plt の減少

	<ul style="list-style-type: none"> 腎臓の絶対及び比重量の増加 	<ul style="list-style-type: none"> 血中ナトリウムの増加 尿に潜血 心臓の比重量の増加 卵巣の絶対及び比重量の増加
	<ul style="list-style-type: none"> 腎臓で近位尿細管上皮にライソゾーム様の暗顆粒の増加 (雌雄不明) 	
0.01 以上	<ul style="list-style-type: none"> ナトリウム尿中排泄量の増加 (回復) 心臓の絶対及び比重量の増加 肺の絶対及び比重量の増加 	<ul style="list-style-type: none"> Glu の減少 (回復) ナトリウム尿中排泄量の増加 (回復) 心臓の絶対重量の増加
0.25 (回復群)	<ul style="list-style-type: none"> 肺の細気管支の拡張 	

(2) 18ヶ月間慢性毒性試験 (ラット) (参照 3、5、23)

ラット (FW49/Biberach 系、日齢不明、雌雄各 20 匹/群) を用いた塩酸クレンブテロールの混餌投与 (0、0.1、0.5、2.5 mg/kg 体重/日) による 18ヶ月間慢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。なお、2.5 mg/kg 体重/日投与群については、回復群 (雌雄各 10 匹) を別に設け、投与終了後 6 週間観察した。また、対照群については、雌雄各 5 例を回復群とみなして投与終了後に観察した。なお、β-アドレナリン作動薬では心筋壊死の発生が報告されていることから、本試験では特に心臓に対する影響に留意し、各群雌雄 5 例の心臓 (左右心室壁及び中隔) について凍結切片を作製し、組織化学的検査 (LDH、NADH-TR、SDH、グリコーゲン、ホスホリラーゼ、ATPase (pH 7.2 及び 9.4)、AMPase、ALP、ACPase) を実施した。また、投与群の全例において徐脈が確認されたことから、18ヶ月間の投与終了後、各群雌雄 3 例について 14 日間の混餌投与 (0、0.1、0.5、2.5 mg/kg 体重/日) を行ない、心電図検査を実施した。14 日間の投与終了後、対照群及び 2.5 mg/kg 体重/日投与群については 21 日間の回復期間を設けて観察した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

体重、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

一般状態では、全投与群で徐脈が認められた以外に異常は認められなかった。

血液学的検査では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌で、白血球分画におけるリンパ球の減少及びそれに伴う分葉核好中球の増加が認められ、回復期間終了時にも回復性は認められなかった。

血液生化学的検査では、全投与群の雄で T.Chol の減少、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で ALP の増加が認められたが、いずれも投与終了時は対照群と大きな差はなかった。また、全投与群の雌雄において心筋、骨格筋及び肝臓のグリコーゲン量に顕著な減少が認められたが、いずれにおいても有意差及び明らかな用量依存性は認められなかった。

臓器重量では、全投与群の雄で肝臓重量の減少及び 0.5 mg/kg 体重/日以上投与群で副腎重量の減少がいずれも用量依存性に認められた。一方、雌では全投与群で心臓重量の

用量依存的な増加が認められた。いずれの変化も回復期間中に回復が認められた。

組織化学的検査では、対照群及び投与群ともに、左右心室壁の特に左室乳頭筋基部において各種酵素系 (SDH、LDH、NADH-T-R、ATPase (pH7.2 及び 9.4)、AMPase、ホスホリラーゼ及び ACPase) に顕著な活性低下が認められた。一方、ALP については、同部位における活性増加が認められた。0.1 mg/kg 体重/日投与群では、これらの酵素系の変動に最も強い影響が認められた。回復群においても同様の結果が得られたが、影響はより広範囲に認められた。なお、投与群及び回復群ともに、心筋のグリコーゲン量に影響は認められなかった。

心電図検査では、投与 1 日後以降に全投与群の雌雄で用量依存的に心拍数の減少が認められ、2.5 mg/kg 体重/日投与群での減少は初期値の 20% にも及んだ。徐脈は、投与期間終了時まで継続して認められた。回復群では、心拍数が初期値まで回復するのに 2 日間以上を要した。14 日間の投与期間中、頻脈は認められなかった。なお、予期せぬ徐脈が認められた原因についての適切な見解は得られていない。

本試験において、全投与群の雌雄で徐脈及び心拍数の減少、雄で T.Chol 及び肝臓重量の減少、雌で心臓重量の増加が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は雌雄とも 0.1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 25 18ヶ月間慢性毒性試験 (ラット) において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
2.5		・白血球分画におけるリンパ球の減少及びそれに伴う分葉核好中球の増加が認められた。
0.5 以上	・白血球分画におけるリンパ球の減少及びそれに伴う分葉核好中球の増加が認められた。 ・副腎重量の減少	・ALP の増加
0.1	・徐脈 ・T.Chol の減少 ・肝臓重量の減少 ・心拍数の減少	・徐脈 ・心臓重量の増加 ・心拍数の減少

(3) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) (参照 3、5、24)

イヌ (ビーグル種、6~8ヶ月齢、雌雄各 3 匹/1~3 群、雌雄各 6 匹/4 群) を用いた塩酸クレンブテロールの経口投与 (0、0.1、0.5、2.5 mg/kg 体重) における 1 年間慢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。投与終了後、2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 3 例は回復群とし、6 週間観察した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

一般状態では、投与群の全例で、投与 1 週に無関心及び皮膚にびまん性の発赤が認め

られ、投与2週以降には自発運動の低下が認められた。また、全例において、用量依存的ではないが、顕著な心拍数の増加が認められた。一方、心拍数の増加には時間依存性が認められ、投与1~34日後では投与41日後以降に比べより顕著に認められた。また、いずれも投与1.5時間後で最大値を示し、投与6.5時間後には初期値まで回復が認められた。

眼科検査では、投与群の全例で、投与1週に上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定が認められた。また、多くの例で濾胞性結膜炎が認められた。

体重では、2.5 mg/kg 体重/日投与群の全例で、自発運動低下に起因すると考えられる体重の増加が認められた。摂餌量に異常は認められなかった。

血液学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、全投与群でALT、LDH、LDH-1-isoenzyme、CK及びALPの増加が認められたが、これらの変動は用量依存的ではなかった。2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌雄では、正常範囲内の変動ではあるが、対照群に比べてクレアチニンに明らかな増加が認められた。また、試験期間を通して肝臓のグリコーゲン量に減少が認められた。

剖検では、全投与群で左心室乳頭筋の心内膜下に、帽針頭大~その2倍大の灰黄色病巣が認められた。

臓器重量では、投与群の全例で心臓重量に増加が認められた。

病理組織学的検査では、肉眼所見に一致して、全投与群で左心室乳頭筋の心内膜下に線維化（心筋壊死の癒痕化）が認められ、回復群でも同様の変化が認められた。

組織化学的検査では、投与群の全例で左右心室壁におけるNADH-T-R、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少が認められた。また、酵素活性の低下が認められた部位では、グリコーゲン量の著しい減少が認められた。なお、これらの変化は特に左心室の乳頭筋基部で強く認められた。また、雄に比べて雌の方がやや影響が強かった。回復群では、酵素活性及びグリコーゲン量に部分的な回復性が認められた。酵素活性の増加は左心室でより顕著に認められ、グリコーゲン量については酵素活性の低下が認められる領域のうち外部領域において正常量まで回復が認められた。

本試験において、全投与群の一般状態（無関心、皮膚の発赤、自発運動の低下及び心拍数の増加）、眼科検査（上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定、濾胞性結膜炎）、臓器重量（心臓重量の増加）、剖検（左心室乳頭筋の心内膜下に帽針頭大からその2倍大の灰黄色病巣）、病理組織学的検査（左心室乳頭筋の心内膜下に線維化）、組織化学的検査（左右心室壁におけるNADH-T-R、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少）が認められたことから、NOAELは設定できず、LOAELは雌雄とも0.1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表26 1年間慢性毒性試験（イヌ）において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
2.5	・肝臓のグリコーゲン量の減少	・肝臓のグリコーゲン量の減少

	・自発運動低下に起因する体重増加 (雌雄不明)	
0.5 以上		
0.1 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・無関心、皮膚にびまん性の発赤、自発運動の低下、心拍数の増加 ・上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定、濾胞性結膜炎 ・左心室乳頭筋の心内膜下に帽針頭大からその2倍大の灰黄色病巣 ・心臓重量の増加 ・左心室乳頭筋の心内膜下に線維化 (心筋壊死の癒痕化) ・左右心室壁の NADH-TR、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・無関心、皮膚にびまん性の発赤、自発運動の低下、心拍数の増加 ・上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定、濾胞性結膜炎 ・左心室乳頭筋の心内膜下に帽針頭大からその2倍大の灰黄色病巣 ・心臓重量の増加 ・左心室乳頭筋の心内膜下に線維化 (心筋壊死の癒痕化) ・左右心室壁の NADH-TR、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少

(4) 2年間発がん性試験 (マウス) (参照 3、5、25)

マウス (BDF₁系、7 週齢、雌雄各 50 匹/投与群、100 匹/対照群) を用いた塩酸クレンプテロールの飲水投与 (0、0.1、1、25 mg/kg 体重/日) による 2 年間発がん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。

試験終了時における生存率は、雄で 78~86%、雌では 54~60%であった。

一般状態、血液学的検査及び剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。なお、血液生化学的検査は実施されていない。

体重では、投与 1 年後までにいずれの投与群でも雌雄で用量依存的な体重の増加が認められたが、投与 1 年後以降はいずれも減少を示し、25 mg/kg 体重/日投与群では顕著な減少が認められた。

摂餌量及び飲水量では、試験期間を通じて、いずれの投与群でも雌雄で増加が認められた。

臓器重量では、1 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 25 mg/kg 体重/日投与群の雌で心臓の絶対重量の増加が認められた。また、全投与群の雌雄において、心臓の比重量に用量依存的な増加が認められた。

病理組織学的検査では、主に左心室の心尖部に微小な癒痕が対照群 (雄: 5/100 例) を含め、0.1 mg/kg 体重/日投与群 (雄: 1/50 例)、1 mg/kg 体重/日投与群 (雌: 1/50 例) 及び 25 mg/kg 体重/日投与群 (雄: 9/50 例、雌: 7/50 例) で認められた。25 mg/kg 体重/日投与群ではわずかに発生率の増加が認められるものの、癒痕は小さく、他のβ受容体刺激薬の毒性試験で認められているような左心室壁の広範な心筋壊死とは異なるものと考えられることから、投与との関連性は否定されている。その他、25 mg/kg 体重/日投与群では、精巢の白膜における石灰化の発生頻度の上昇及び程度の増強が認められた。