

オキサロール

オキサロール注 2.5 μ g

オキサロール注 5 μ g

オキサロール注 10 μ g に関する資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、
中外製薬株式会社にあります。また、本資料を本薬剤の
適正使用に利用する以外の営利目的に利用することは
できません。

中外製薬株式会社

目 次

イ. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料	
1. 起原及び発見の経緯	1
2. 開発の背景	2
3. 開発の経緯	3
(1) 非臨床試験	3
(2) 臨床試験	4
4. 他疾患への適応及び海外における使用状況	8
5. 特長及び有用性	8
(1) 非臨床試験からの特長及び有用性	8
(2) 臨床試験からの特長及び有用性	8
6. 特許関連	9
7. 一般的名称	10
(1) JAN	10
(2) INN	10
8. 同種同効品との比較	10
ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料	23
ハ. 安定性に関する資料	23

二. 急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性, 催奇形性, その他の毒性に関する資料

総 括	133
1. 急性毒性	136
(1) ラットにおける単回投与毒性試験	136
(2) イヌにおける単回投与毒性試験	138
2. 亜急性・慢性毒性	140
(1) ラット3カ月間静脈内反復投与毒性試験	140
(2) イヌ3カ月間静脈内反復投与毒性試験	143
(3) ラット12カ月間静脈内反復投与毒性試験	148
(4) イヌ12カ月間静脈内反復投与毒性試験	152
(5) 本剤の安全性に関する考察	158
3. 生殖に及ぼす影響	162
(1) ラット妊娠前および妊娠初期静脈内投与試験	162
(2) ラット器官形成期静脈内投与試験	164
(3) ウサギ器官形成期静脈内投与試験	168
(4) ラット周産期および授乳期静脈内投与試験	170
4. 依存性	173
5. 抗原性	173
(1) モルモットにおける抗原性試験	173
(2) マウスにおける抗原性試験	174
6. 変異原性	175
(1) 細菌を用いる復帰突然変異試験	175
(2) 培養細胞を用いる染色体異常試験	179
(3) マウスを用いる小核試験	182
7. がん原性	184
(1) マウス18カ月間静脈内投与がん原性試験	184
(2) ラット24カ月間静脈内投与がん原性試験	187
8. その他	192
(1) 製剤のウサギ筋肉内投与による局所障害性試験	192
9. 強制劣化品の毒性	194
(1) 製剤および原薬の強制劣化品のラット1カ月間静脈内反復投与毒性試験	194
(2) 製剤および原薬の強制劣化品の変異原性試験	196
10. 強制劣化品の類縁物質	199

ホ. 薬理作用に関する資料

総 括	201
1. 効力を裏付ける試験	209
(1) <i>In vitro</i> 試験でのPTH分泌に対する作用	210
(2) <i>In vivo</i> 試験でのPTH低下作用	213
(3) 柴田腎炎ラットの副甲状腺・骨に対する作用	221
(4) 慢性イヌ腎不全モデルの骨病変に対する効果	224

2. 効力発現に関する薬理作用	227
(1) 副甲状腺細胞内への移行に関する検討	228
(2) ビタミンD受容体に対する親和性	229
(3) 副甲状腺 pre-pro PTH mRNA 発現に対する作用	233
(4) 小腸 Ca 結合タンパク遺伝子に対する作用	235
(5) 小腸 Ca 吸収能に対する作用	237
(6) ビタミンD結合タンパクに対する親和性	238
(7) 骨芽細胞に対する作用	240
(8) 代謝物に関する検討	241
3. 一般薬理試験	243
(1) 一般薬理作用	243
ヘ. 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する資料	
総 括	247
1. 被験物質及びその定量法	252
(1) 放射性標識体	252
(2) 定量法	254
2. 動物における成績	257
(1) 血漿 (血清) 中濃度推移	257
(2) 分布	265
(3) 代謝	280
(4) 排泄	293
3. ヒトにおける成績	297
(1) 血清中濃度推移	297
(2) タンパク結合	301
(3) 尿中排泄	301
ト. 臨床試験の試験成績に関する資料	
1. 臨床試験の全容	303
2. 試験成績の概要	305
3. 慢性腎不全における二次性副甲状腺機能亢進症の病態と臨床的評価方法	306
4. 臨床試験成績	307
(1) 第 I 相試験	307
(2) 前期第 II 相試験	316
(3) 後期第 II 相試験	344
(4) 第 III 相比較試験	366
(5) 一般臨床試験	381
(6) その他の長期投与試験	407
(7) 臨床薬理試験	442
5. 臨床試験成績のまとめ	474
(1) 有効性	474
(2) 安全性	487
(3) 有用性	490

◎臨床試験の試験成績に関する資料追補	517
1. 追加臨床試験の全容	517
2. 長期投与試験	518
3. 臨床試験成績のまとめ	548
◎効能・効果, 用法・用量, 使用上の注意とその設定理由	567
(1) 効能・効果とその設定理由	567
(2) 用法・用量とその設定理由	567
(3) 使用上の注意とその設定理由	577
◎毒薬・劇薬等の指定審査資料のまとめ	585

イ. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

1. 起原及び発見の経緯

はじめに

昭和 59 年, Slatopolsky らは維持透析下の慢性腎不全における低カルシウム血症を伴わない難治性の二次性副甲状腺機能亢進症 (以下 2° HPT) 患者に対して, 従来経口投与により血清カルシウム上昇を期待して投与されていた $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ [一般名 (INN): calcitriol, 以下 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] を静脈内投与することにより, 血清副甲状腺ホルモン (以下 PTH) 値の著しい低下効果が得られることを発見した (R-1)。本治療法は現在, 欧米で実施されているものの, 少量投与でも血清カルシウムが上昇し, 投与量の調節が困難とされている。一方, わが国では静脈内投与の代わりに $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ など活性型ビタミン D の経口投与によるパルス療法が試行されているが, 同様に血清カルシウムが上昇しやすい的確な効果が一定に得られず, 十分な治療成績を得るに至っていない。

当社は, 最近問題とされているこのような難治性の 2° HPT に対する活性型ビタミン D 静注療法に着目し, 血清カルシウム上昇作用が弱く, かつ PTH 抑制作用の強い薬剤の創薬を目的としてさまざまなビタミン D 誘導体を合成して検討を重ねた結果, 22-oxacalcitriol [一般名: マキサカルシトール (maxacalcitol), 以下 OCT] を見出した。

ビタミン D 研究の進歩と OCT の創製

ビタミン D は今世紀はじめに抗クル病因子として発見され (R-2), 昭和 46 年に最終的に腎臓で水酸化され $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ として活性を示すことが発見された (R-3, 4)。

$1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ は PTH とともに血清カルシウムを上昇させてカルシウムホメオスタシスを維持・調節しているだけでなく, PTH と相互に各々の産生を調節している (図イ-2)。

ビタミン D の研究は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の発見を機に飛躍的に進歩し, カルシウム代謝の面では, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が副甲状腺に直接作用して PTH の合成・分泌を抑制することが明らかにされた。また, 昭和 56 年には, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ はカルシウム代謝調節作用だけでなく分化誘導作用を有することが報告され (R-5), その後, 細胞増殖抑制作用, 免疫抑制作用, 抗がん作用などが次々と明らかとなり (R-6~8), その多彩な作用が注目されるに至った。

しかしながら, PTH 合成・分泌抑制の直接作用や新しく発見された分化誘導作用などの生物学的作用を発揮させるべく活性型ビタミン D の臨床応用を考える時, その至適濃度が生理的濃度の 10^2 倍程度高く, *in vivo* では血清カルシウム上昇作用が低濃度より現われ, 目的となる効果を得る前に著しい高カルシウム血症を引き起こすことが常に問題となった。

そこで当社は、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のこれらの生物学的活性を血清カルシウム上昇作用から分離することを意図して、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の化学構造を修飾した誘導体の探索に取り組んだ。数多くの誘導体のなかで、OCTが*in vitro*での分化誘導作用は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同等かそれ以上に強く、*in vivo*においては血清カルシウム上昇作用の弱いビタミンD誘導体であることを見出した(R-9)。併せて*in vitro*、*in vivo*において明らかなPTH抑制効果を有することを確認した。

2. 開発の背景

慢性腎不全の進行に伴う低カルシウム血症と骨病変

慢性腎不全では腎実質の崩壊に伴うリンの貯留と $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 産生低下が引き金となって2°HPTが引き起こされ、慢性的な血清カルシウム濃度の低下によりPTH分泌刺激はさらに強められ、異常な分泌亢進が進展するとされている。2°HPTではPTH分泌過剰状態の持続により骨吸収が亢進し、骨代謝回転の亢進による未熟な線維性骨(woven bone)の形成と骨髓内の線維組織による置換が起こり骨組織が骨硬化、脆弱化した線維性骨炎が引き起こされる。また、2°HPTにおいては動脈壁、肺、関節周囲など軟部組織の異所性石灰化を引き起こすことも知られている。これらは活性型ビタミンD欠乏による低カルシウム血症が根底にあり、骨軟化症(クル病)などとともに腎性骨異常栄養症(以下ROD)として総称され、その骨病変に対して活性型ビタミンD経口投与が奏功してきた(図イー3)。

わが国では慢性腎不全に伴うビタミンD代謝異常による低カルシウム血症などの諸症状改善のために活性型ビタミンD製剤の経口投与が広く行われてきたが、2°HPTおよびその骨病変に対してもその血清カルシウム上昇作用を介したPTH分泌抑制を期待し治療が行われていた。

低カルシウム血症を伴わないさらに進行した2°HPT

現在、本症に伴う低カルシウム血症患者は治療の結果少なくなっているが、透析の長期化などにより低カルシウム血症を示さないにもかかわらず、PTHがさらに異常高値となり高(代謝)回転骨を呈する難治性の2°HPTが治療の困難な病態として問題となってきた(図イー4)。従来の活性型ビタミンDの経口投与では容易に高カルシウム血症を引き起こすため、PTHの過剰分泌の改善はなかなか得られていない。これはカルシウムによるPTH抑制のためのセットポイントが高値側にずれることに基づく理解されている。

低カルシウム血症を伴わない2°HPTの治療

透析療法の進歩によって長期生存が可能になった反面、透析患者の合併症のなかで難治性の2°HPTを中心とするRODによる骨病変、骨障害は患者の日常生活を損なう危険性が大きく、今日では医療上

大きな問題とされている。慢性腎不全に伴う 2° HPT の病態は透析の長期化とともに進行し、維持透析患者の 20% 程度（3 万人前後）は積極的な治療の必要とされる 2° HPT ともされている。

現在 2° HPT の最終的な治療法としては、過形成副甲状腺を摘除する手術を行うこととされている。しかし、手術のできない症例があるほか、術後の再発や過切除による副甲状腺機能低下などの問題が残されており、外科的侵襲を伴わない効果の高い内科的治療が求められている。

昭和 59 年、Slatopolsky らは $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 静脈内間歇投与による著しい PTH の抑制効果を報告し (R-1)、本症に対する画期的な内科的治療法と評価された。この機序については、腎不全患者の副甲状腺においてはビタミン D 受容体密度が低下しているため (R-10)、過剰分泌している PTH の抑制には通常よりも高い血清 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ レベルが必要であるためであると考えられている。しかしながら、この方法も PTH 分泌抑制作用を発揮する以前に、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の強力な血清カルシウム上昇作用によって高カルシウム血症を容易に惹起することが問題となっている。

このような状況のなかで、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較して血清カルシウム上昇作用が弱く PTH 分泌抑制作用を有する OCT を注射剤として開発することにより、最近問題とされている難治性の 2° HPT に対する有力な内科的治療手段を提供可能と考えられた。

3. 開発の経緯

(1) 非臨床試験

OCT は正常マウスに対して血清カルシウム上昇作用がほとんど無いこと (R-11)、正常ラットに対して、同量の $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与と同様に pre-proPTH mRNA の発現を抑制することが確認された。副甲状腺細胞培養系における OCT の細胞と核への取り込みは、速度、量とも $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様であった。培養副甲状腺細胞での検討で、OCT は pre-proPTH mRNA の合成抑制と PTH の分泌抑制効果が確認された (R-12)。数動物種のビタミン D 受容体に対する親和性は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較して、 $1/4$ から $1/12$ であること、また、ビタミン D 結合タンパクに対する親和性は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較して、 $1/570$ と非常に低いことが確認された。

ラットあるいはイヌを用いた亜急性毒性試験などから、OCT の毒性所見のほとんどは血清カルシウム上昇作用に基づく変化で、その他の特異的な毒性は認められなかった。

以上、OCT の PTH 遺伝子の発現抑制と PTH 分泌抑制効果が *in vivo* 及び *in vitro* で確認され、2° HPT に対する効果を示すことが示唆されたこと、安全性、薬効薬理、薬物動態の各試験成績を総合的に検討し、血清カルシウム上昇に留意して臨床試験を行うことを決定した。

(2) 臨床試験

1) 第I相試験

平成 年 月から健康成人男子を対象に 6 用量 (0.033, 0.11, 0.33, 1.1, 3.3 及び 6.6 μg) の単回静脈内投与、次いで 2 用量 (1.1 及び 3.3 μg) を隔日 4 回連続 (間歇) 静脈内投与した。その結果、安全性にとくに問題は認められなかった。

2) 第II相試験

平成 年 月, OCT臨床評価研究会 (治験総括医師

) を組織した。前期第II相試験として慢性腎不全維持透析患者における 2°HPT を対象に、1.1~5.5 μg を週 1 回あるいは 3 回 4 週間、及び週 3 回 22 μg / 回までの漸増法による 12 週間投与 (透析終了直前に透析回路静脈側より注入) を行った。その結果、OCT の 5.5~22 μg / 回 (漸増/例) で著明な intact-PTH 抑制効果が認められた。また、血清カルシウム上昇も認められたが、重篤な高カルシウム血症例はなく、その他特異な副作用はみられなかった。

後期第II相試験は、2°HPT 症例を対象に二重盲検法で週 3 回 12 週間投与の用量比較 (0, 5, 10 及び 15 μg / 回) を目的に検討を行った。その結果、プライマリーエンドポイントである血清 intact-PTH の低下効果は、OCT 投与群はプラセボ対照群に対して有意に優れ、用量相関が認められた。また、血清カルシウム上昇が OCT 投与群で認められたが、臨床上の安全性面での問題は少ないと考えられた。本試験の成績より、投与前 intact-PTH 500 pg/mL 未満では OCT 5 μg / 回から、同様に intact-PTH 500 pg/mL 以上では OCT 10 μg / 回 から投与を開始することが適切であることが示された。

3) 第III相試験

プラセボとの二重盲検比較試験を、10 μg / 回 (投与前 intact-PTH $\geq$ 500 pg/mL 例) あるいは 5 μg / 回 (投与前 intact-PTH < 500 pg/mL 例) の用量で週 3 回 6 週間投与により検討した。その結果、OCT の投与により、2°HPT の評価としてもっとも重要な PTH の抑制効果が認められ、最終時の intact-PTH 平均低下率はプラセボ対照群で -9.1% と悪化したのに対して、OCT 投与群では +44.0% と有意に優れた。OCT 投与群はプラセボ対照群に比し、intact-PTH による PTH 改善度、全般改善度及び有用度において有意に優り、明らかな 2°HPT に対する改善効果が確認された。因果関係の否定出来ない有害事象は軽度の痒痒感、胃部不快感各 1 例と、高カルシウム血症 7 例で、高度例は血清カルシウム上昇中止の 1 例で他は軽度例であった。高カルシウム血症例は基準により投与を中止することにより、他の 2 例では投与の継続中にいずれも症状が消失した。

また一般臨床試験として、同様の基準で 10 μg / 回あるいは 5 μg / 回の用量より開始し、患者ごとの血清 PTH 値及びカルシウム値により投与量を調節する 1.7~20 μg / 回 (週平均投与量)、26 週間の維持投与を行った。その結果、OCT 投与により明らかに PTH が抑制されて 2°HPT が改善し、さら

にPTHレベルが良好に維持されることが示された。また、本来副甲状腺瘤摘除術の対象となる高度のPTHレベルを示す (intact-PTH が 500 pg/mL 以上) 重症の 2° HPT に対しての「中等度改善」以上の改善例は63.2%に認められた。安全性については、長期投与のなかで高カルシウム血症が多く観察された (48.1%) が、臨床症状を伴わない軽度の症例が大部分で、12.5 mg/dL 以上の上昇により副作用とされた症例は発現率 7.5% と低下した。そのほか、CPKの上昇 (8.1%)、痒痒感 (5.6%) などが因果関係の否定されない有害事象として頻度が高かったが、重篤で臨床問題となるものは認められなかった。

4) 長期投与試験

6ヵ月以上の長期投与試験として 36 週間及び 12ヵ月間投与を行い、ガイドラインに従った安全性及び維持投与による有効性を検討した。その結果、安全性面では重篤な副作用はみられず、血清カルシウム及び PTH レベルにより投与量を調節することにより、PTH レベルの低下と抑制維持効果を示すことが確認された。

5) 臨床薬理試験

骨病変に対する効果は、OCT 投与前後での骨生検による骨組織形態計測を 2 試験で行い、2° HPT における異常な線維組織量の減少、その病態である高代謝回転骨の是正が認められ、臨床的にもっとも注目する骨病変に対する本質的な骨組織動態の改善が認められた。

また、副甲状腺瘤摘除術に対する効果は 26 週間投与の試験にて検討された。その結果、血中イオン化カルシウム濃度に反応する PTH で示される副甲状腺機能を改善することが認められた。

さらに、長期投与による血中動態への影響、免疫系への影響について検討を行った。透析患者への 25 週間投与したときの OCT の血中動態及び 52 週間までの投与による免疫パラメーターには影響が認められなかった。

以上の結果より、OCT は、慢性腎不全患者の二次性副甲状腺機能亢進症に対し明らかなPTH抑制効果を有し、長期投与によりこの抑制効果を維持可能なことが示された。また、本疾患に伴う骨病変に対しては異常に亢進した骨代謝回転を是正することが示された。副作用では主に軽度のカルシウム上昇 (高カルシウム血症) が認められたが、投与量の調節などで回避できることが示された。このことより、OCT は持続的高 PTH 分泌で起因する本症に対し、PTH 分泌抑制作用の基本治療を行うとともに、腎性骨異栄養症の終末である骨病変の是正を行うことが認められた。本症に対する的確な内科的治療法がない現状で本剤の臨床的意義は高く、また、外科的な副甲状腺瘤摘除術によるしかなかった重症例に対しても改善が期待できる医療上有用性の高い薬剤であるとされた。

OCT 注の開発経過を図イー1に示す。

図イー1.. OCTの開発の経緯図

4. 他疾患への適応及び海外における使用状況

前述の前期第Ⅱ相試験と同時期に骨髓異形成症候群（MDS）の患者を対象として、4 週間の投与試験を実施したが効果が認められず3 例にて中断した。安全性にはとくに問題はみられなかった。

また、OCT の静注製剤の海外での開発は行っていない。

5. 特長及び有用性

OCT 静注製剤（オキサロール注）は、臨床及び非臨床試験の結果から、以下のような特長及び有用性を有する薬剤である。

(1) 非臨床試験からの特長及び有用性

- 1) 正常ウシ副甲状腺細胞及び慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞に対して、天然の活性型ビタミンD である $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同等の PTH 分泌抑制作用を示す（210～212 頁）。
- 2) 腎不全モデル動物（5/6 腎摘ラット、腎動脈結紮イヌ）において、血中カルシウムの上昇を示さず、有意に PTH 値を低下させる（213～220 頁）。
- 3) 柴田腎炎ラットにおける骨の高代謝回転に対して抑制効果を示すとともに、イヌ腎不全モデルに認められた骨病変に対して、増加した線維性類骨の形成を抑制する。また、*in vitro* において骨芽細胞様細胞に作用してオステオカルシン遺伝子の発現を促進する（223～226, 240 頁）。
- 4) ビタミンD 欠乏ラットにおいて小腸への作用時間が短く、小腸カルシウム吸収能促進作用が短いことから、血清カルシウム上昇作用は弱い。毒性所見はいずれも血清カルシウム上昇に起因するものであるが、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比較し安全域が広い（136～161, 235～237 頁）。

(2) 臨床試験からの特長及び有用性

- 1) 維持透析下の慢性腎不全における 2° HPT 患者に対する二重盲検試験（後期第Ⅱ相試験、第Ⅲ相比較試験）において明らかな血清 PTH 抑制作用が認められ、プラセボに対して明らかな優位性を有する（344～380 頁）。
- 2) 外科的な副甲状腺腺摘除術を回避し、2° HPT に対する画期的な内科的治療を可能とする（381～406 頁）。
- 3) 長期投与試験においても重篤な問題はみられず、血清カルシウム上昇に留意することによって安全性は高いと判断され、さらに PTH 抑制の維持効果も持続する（381～441, 517～566 頁）。

- 4) 血中イオン化カルシウムに対応する intact-PTH によって検討された副甲状腺機能の改善が認められた。
(442~449 頁)
- 5) 骨生検での骨組織形態計測によって、異常な線維組織を減少させ高代謝回転骨を低下、是正した。また、骨代謝マーカーに反映される骨代謝改善効果が示された (336~340, 357~359, 393~400, 450~462 頁)。
- 6) 初めての 2° HPT 治療薬であり、活性型ビタミンD誘導体の本邦における初めての静注製剤で、透析時の確実な投与が可能となる。

6. 特許関連

7. 一般的名称

(1) JAN

平成6年11月22日及び12月16日第11回医薬品名称調査会で審議され、平成7年2月1日付薬研第19号及び平成10年1月9日付医薬審第10号により以下のとおり通知された。

JAN: (和名) マキシカルシトール

(英名) maxacalcitol

化学名: (和名) (+)-(5Z,7E)-(1S,3R,20S)-20-(3-ヒドロキシ-3-メチルブチルオキシ)-9,10-セコプレグナ-5,7,10(19)-トリエン-1,3-ジオール

(英名) (+)-(5Z,7E)-(1S,3R,20S)-20-(3-hydroxy-3-methylbutoxy)-9,10-secopregna-5,7,10(19)-triene-1,3-diol

(2) INN

Maxacalcitol (マキシカルシトール) の名称で1997年にrecommended INN (list 37, WHO Drug Information 11(1):44, 1997) として掲載された。

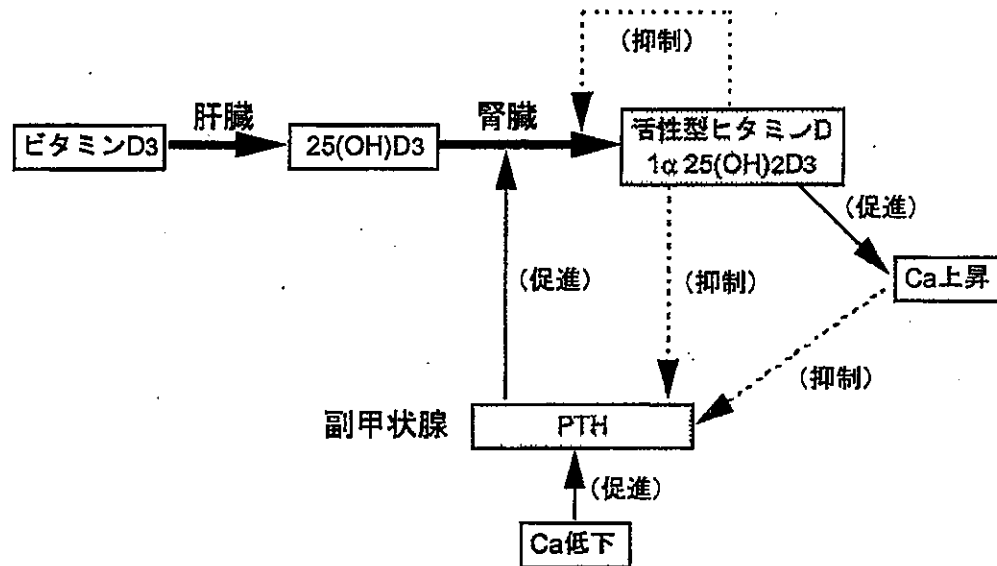
r - INN: maxacalcitol (マキシカルシトール)

化学名: (+)-(5Z,7E,20S)-(3-hydroxy-3-methylbutoxy)-9,10-secopregna-5,7,10(19)-triene-1 α , 3 β -diol

8. 同種同効品との比較

OCT 注と同種同効品との比較を表イー1に示す。

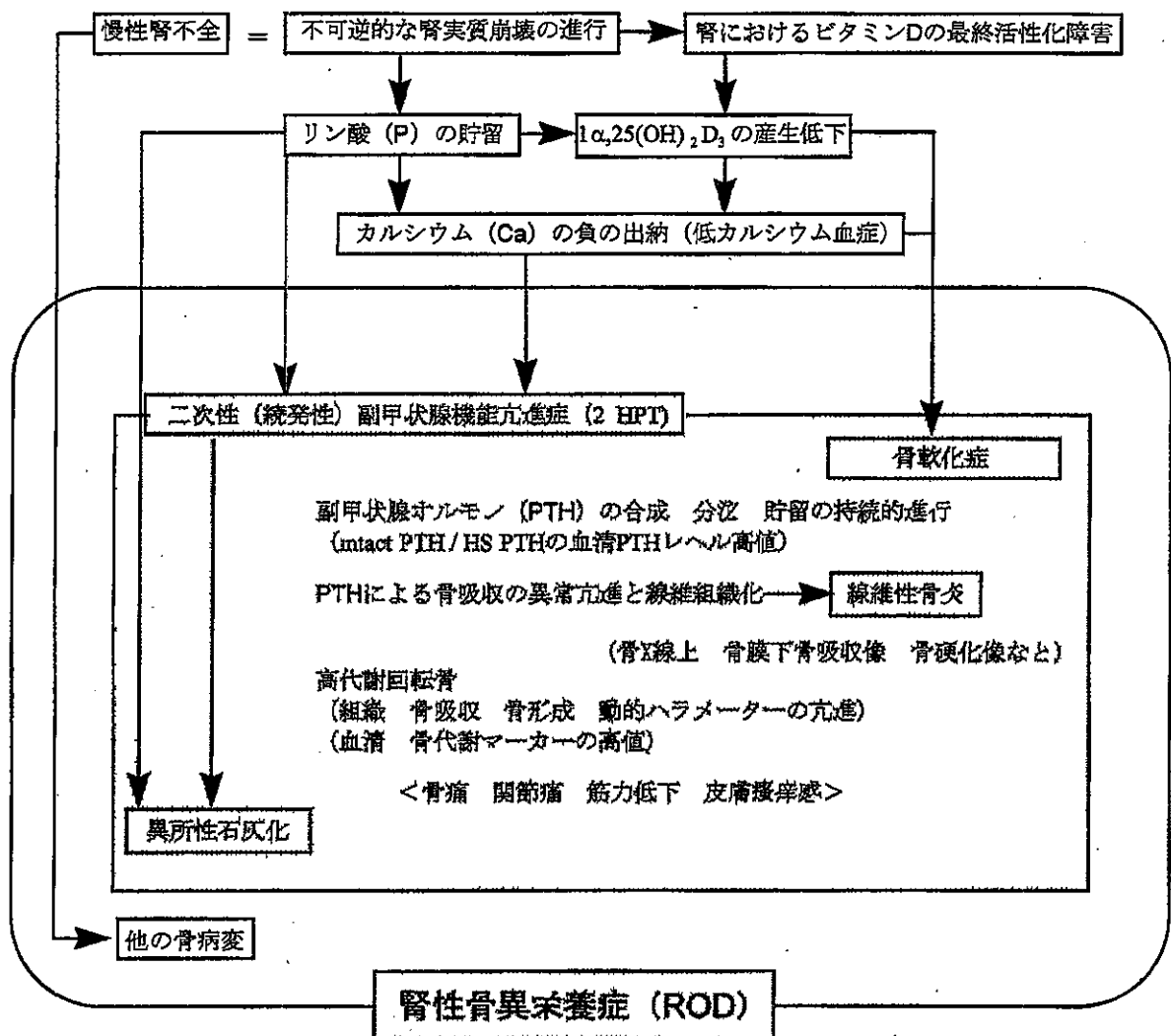
<参考>



図イー2 活性型ビタミンDとPTHの生体内調節機構

天然型ビタミンD₃は肝臓で25位の水酸化を受け25(OH)D₃となり、次いで腎臓で1α位が水酸化され最終活性型である1α,25(OH)₂D₃へと変換される。血清カルシウムの低下によって分泌が促進されるPTHにより、腎臓の1α位水酸化酵素が誘導され1α,25(OH)₂D₃の産生は促進する。

1α,25(OH)₂D₃は標的器官である副甲状腺においてPTHの合成を直接抑制する。また、1α,25(OH)₂D₃による血清カルシウム上昇により、間接的にPTHの合成・分泌が抑制される。



図イー3 二次性副甲状腺機能亢進症と腎性骨異常栄養症の発症と病態

慢性腎不全はその病態の進行が不可逆的かつ長期にわたり、最終的には腎移植以外は慢性透析への導入を余儀なくされる。最近の透析療法の著しい進歩に伴い患者の延命が得られるようになった反面、当初予想のされなかった骨病変が合併症として顕在化してきている。その骨病変は単一な代謝性疾患ではなく複数の病態の集合であり、腎性骨異常栄養症 renal osteodystrophy (ROD) と総称され、腎性骨症、透析骨症などとも呼ばれている。

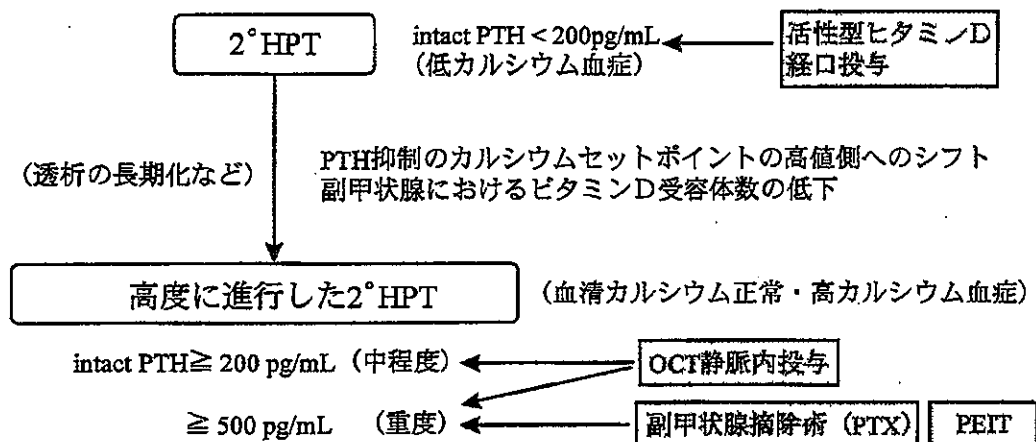
慢性腎不全に伴うネフロン数の減少により、腎臓に特異的な $25(\text{OH})\text{D}_3$ の 1α 位水酸化酵素活性が減少し $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 産生が低下する。 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 産生の低下は腎不全に伴うリン酸の貯留も原因となるが、結果として小腸におけるカルシウム吸収の低下、PTH の骨塩動員作用の不応性をきたし、低カルシウム血症を生じる。低カルシウムあるいは高リン血症によって続発的に副甲状腺機能が亢進し、その異常亢進が持続した病態が二次性副甲状腺機能亢進症 secondary hyperparathyroidism (2° HPT) であり、過剰分泌された PTH による著しい骨吸収による骨代謝の高回転と線維性骨炎、あるいは軟骨組織に異所性の石灰化が引き起こされるなど、臨床的に大きな問題とされている。また、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の低下が骨の石灰化障害を伴う代謝性骨疾患である骨軟

化症（小児の腎性骨病）を引き起こすことも明らかとされた。

これらの ROD のカルシウム代謝異常はいずれも低カルシウム血症の改善が第一に重要であり、その治療は活性型ビタミンDの投与が中心である。活性型ビタミンD投与によって、低カルシウム血症とともに自覚症状、線維性骨炎や骨軟化症などの骨病変の改善も数多く報告されている。

また、ROD はこれらの $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 産生障害によるカルシウム代謝異常の他にも、アルミニウムの貯留による活性型ビタミンD不応性の骨軟化症や β_2 -ミクログロブリンの貯留などが引き金とされる透析アミロイドーシス（腎不全アミロイド症）、あるいは腎不全に伴う種々の要因からの続発性骨粗鬆症などの混在が考えられる。

2° HPT の評価については、血清カルシウム、リン、ALP およびPTH の測定と線維性骨炎などの骨所見の評価などが必要であるが、現在では根幹のPTH分泌亢進を反映する血清 intact-PTH の測定が特に第一義的と考えられ、また、2° HPT の高代謝回転型の骨病変の指標としては血清の骨代謝マーカー（TRACP, ICTP, 骨型ALP, BGP, PICP）の測定が有用と注目されてきている。



図イー4 二次性副甲状腺機能亢進症の病態推移と治療法の変化

二次性副甲状腺機能亢進症 (2° HPT) は、透析の長期化に伴いその重症度が高度な患者が増加する傾向にあり、特に10年以上となるような透析歴の長期透析患者においては、血清カルシウムレベルが正常以上であるにもかかわらず、さらに高度のPTHレベルを呈することが問題となっている。この原因として、PTHの分泌を制御しているカルシウムのセットポイントが高値側へシフトして、正常な血清カルシウム上昇のレベルではその分泌を制御できないこと、副甲状腺におけるビタミンD受容体数が減少し、ビタミンDに対する反応性も低下していること、と理解されている。高度に進行した病態での血清PTHレベルは、殆どが中等度以上 (intact PTH: ≥ 200 pg/mL) となっており、さらに高度 (≥ 500 pg/mL) のPTHレベルに対しては外科的な副甲状腺摘除による治療しかないとされている。従来より行われている活性型ビタミンDの経口投与による治療は、軽度 (< 200 pg/mL) の患者に対して血清カルシウムの上昇を介したものであり、中等度以上の患者は血清カルシウム値が低下していないため投与対象とはならない。これに対して、米国では代表的な内科的治療として活性型ビタミンDの静脈内投与が行われ、本邦では経口/静注療法が試行されているものの、高カルシウム血症の問題は解決されていない。OCTにより、外科的手術だけが現状の有効な処置となる血清intact PTHレベルが500 pg/mL以上の患者においても、著しいPTH抑制効果が認められている。

表イ－１．同種同効品一覧

＜引用文献＞

- R-1) Slatopolsky E. et al., J. Clin. Invest., 74, 2136 (1984)
- R-2) Steenbock, H. et al., J. Biol. Chem., 61, 405 (1924)
- R-3) Lawson D. E. M. et al., Nature, 230, 228 (1971)
- R-4) Holick M. F. et al., Biochemistry, 10, 2799 (1971)
- R-5) Abe E. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 4990 (1981)
- R-6) Miyaura M. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 102, 937 (1981)
- R-7) Tsoukas C. D. et al., Science, 224, 1438 (1984)
- R-8) Eisman J. A. et al., Cancer Res., 47, 21 (1987)
- R-9) Murayama E. et al., Chem. Pharm. Bull., 34, 4410 (1986)
- R-10) Korkor A. B. et al., N. Engl. J. Med., 316, 1573 (1987)
- R-11) Abe J. et al., Endocrinol., 124, 2645 (1989)
- R-12) Brown A. J. et al., J. Clin. Invest., 84, 728 (1989)

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料

ハ. 安定性に関する資料

1. 製剤の組成・性状等

1 アンプル (1 mL) 中

販売名	オキサロール注 2.5 μ g	オキサロール注 5 μ g	オキサロール注 10 μ g
成分・含量	マキサカルシトール		
	2.5 μ g	5 μ g	10 μ g
性状	無色澄明の液, 褐色透明アンプル		
添加物	モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン (20 E.O.) 0.1mg 無水エタノール 2 μ L		
pH	7.80~8.20		
浸透圧比	約 1 (生理食塩液に対する比)		

2. 有効成分に関する理化学的知見

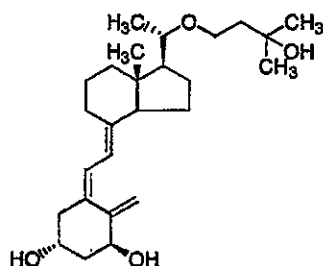
一般名: マキサカルシトール (maxacalcitol)

慣用名: 22-oxacalcitriol

1 α ,25-dihydroxy-22-oxavitamin D₃

化学名: (+)-(5Z,7E)-(1S,3R,20S)-20-(3-Hydroxy-3-methylbutyloxy)-9,10-secopregna-5,7,10(19)-triene-1,3-diol

構造式:



分子式および分子量: C₂₆H₄₂O₄: 418.62

性状: 白色の結晶性の粉末である。

メタノールに極めて溶けやすく, エタノール (99.5) に溶けやすく, エーテルにやや溶けやすく, 水にほとんど溶けない。

3. 製剤学的事項

オキサロール注 2.5 μ g, 10 μ g において, 高温保存 (60℃, 80℃) および光照射によって含量低下, 類縁物質の増加が認められた。オキサロール注 2.5 μ g, 5 μ g, 10 μ g において, 10℃, 3年間の長期保存において, 含量低下はほとんど認められず, わずかに類縁物質の増加を認めたが, 規格値の範囲内であった。

二. 急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性, 催奇形性, その他の毒性に関する資料

総 括

OCTの安全性を評価する目的で、「医薬品毒性試験法ガイドライン（薬審1第24号）」、「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン（薬審第877号）」に準拠して、試験を実施した。これらの毒性試験成績の概要を、一括して表ニ-1に示す。

急性毒性

ラットおよびイヌを用いて、臨床投与経路である静脈内投与で検討した。その結果、ラットでは6 mg/kg 以上で死亡例がみられた。50%致死量は雄8 mg/kg, 雌12mg/kgであった。イヌでは200 μ g/kg 以上で嘔吐, 多尿および体重減少がみられ, 800 μ g/kg の雌は死亡した。死亡例には血清カルシウム, 無機リン, 尿素窒素およびクレアチニンの増加がみられ, 組織学的には諸臓器の石灰沈着, 尿細管の拡張, 肝臓および肺のうっ血, 消化管出血が認められた。

亜急性および慢性毒性

ラット, イヌを用いて, 臨床投与経路である静脈内投与で検討した。

ラットにおいては, 摂水量の増加, 尿量の増加, 尿中カルシウム, 無機リンの排泄が増加した。また生化学的検査において血清カルシウムの上昇が認められ, 無機リンも投与期間の延長により増加した。病理学的検査では諸臓器の石灰沈着や腎の尿細管拡張が主な毒性として認められた。以上の変化のうち尿量や摂水量の増加, 腎尿細管拡張はいずれも血清カルシウム上昇による腎での尿濃縮力低下に関連する変化と考えられる。諸臓器の石灰沈着は血清カルシウムの持続的増加の結果生じたものである。一方, 血清無機リンの上昇や尿排泄の増加は活性型ビタミンDの持つ腸管からの吸収促進効果によると推察される。これらの変化の多くは休薬により回復性を示した。無毒性量は3ヵ月間投与試験では0.1 μ g/kg/日, 12ヵ月間投与試験では0.011 μ g/kg/日であった。

イヌでは, 一般状態における嘔吐や自発運動量の減少, 摂餌量および体重の減少が観察され, 尿中カルシウム排泄は増加した。また生化学的検査において血清カルシウムの上昇が認められ, 尿素窒素, クレアチニンも増加した。その他, グルコースの減少など低栄養状態を示す変化もみられ, 投与期間中死亡例も発現した。病理学的検査では持続的血清カルシウム上昇による全身諸臓器への石灰沈着や腎臓での尿細管の拡張, 石灰沈着が認められ, そのための組織障害の結果と考えられる動脈内膜の肥厚, 腎臓における間質の線維化がみられた。ここで認められた一般状態の変化や低栄養状態は血清カルシウムの上昇による食欲不振のためと考えられる。また尿素窒素, クレアチニンの増加も持続的血清カルシウム上昇による腎の組織障害によるものである。一方, ビタミンD誘導体の薬理作用に関連すると考えられる骨梁の菲薄化や成長軟骨骨端板の萎縮が認められた。これらの変化の多くは休薬により回復性を示した。以上より, 無毒性量は3ヵ月間投与試験で0.03 μ g/kg/日, 12ヵ月間投与試験で0.011 μ g/kg/日と判断された。

生殖に及ぼす影響

ラットを用いて静脈内投与で検討したところ、親動物に一般毒性学的変化として、摂水量の増加や、体重、摂餌量の減少が認められた。生殖機能に関しては、妊娠前および妊娠初期投与試験、器官形成期投与試験および周産期および授乳期投与試験では影響は認められなかったことより、無毒性量は最高投与量であった $100 \mu\text{g/kg/日}$ と判断された。胎児および出生児においては、妊娠前および妊娠初期投与試験、器官形成期投与試験で影響は認められなかったが、周産期および授乳期投与試験では $1.1 \mu\text{g/kg}$ 以上で出生児体重の増加抑制がみられた。したがって、胎児および出生児への無毒性量はそれぞれ $100 \mu\text{g/kg/日}$ および $0.11 \mu\text{g/kg/日}$ と判断された。

一方、ウサギにおける静脈内投与による器官形成期投与試験では、 $1 \mu\text{g/kg}$ の投与群で、母動物の摂餌量、摂水量および体重減少が認められた。しかし、母動物の生殖機能および胎児には投薬の影響は認められなかった。したがって、母動物の生殖機能および胎児に対する無毒性量は、いずれも $1 \mu\text{g/kg/日}$ と判断された。

依存性

一般薬理試験および反復投与試験等において、本薬の薬物依存を疑わせる所見が認められなかったことより依存性はないものと判断し、特に試験は行わなかった。

抗原性

モルモットをOCTで感作し、能動性全身アナフィラキシー反応、受動性皮膚アナフィラキシー反応および皮内反応で検討した結果、陰性と判定された。また、マウスの感作血清を用いたラット受動性皮膚アナフィラキシー反応においても陰性と判定された。

変異原性

細菌を用いる復帰突然変異試験、哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験およびマウスを用いる小核試験でそれぞれ検討したが、いずれも陰性と判定された。

がん原性

ラットに週1回 24 ヶ月間静脈内投与したところOCT投与群で副腎の限局性過形成と良性褐色細胞腫の発現頻度が増加した。これらの群では動脈壁の石灰沈着の増加もみられた。この変化はOCTによる直接作用ではなく血清カルシウムの上昇にともなうラットに特異的な変化と考えられる。マウス週1回 18 ヶ月間静脈内投与では発がん性は認められなかった。

その他の毒性

製剤の局所障害性についてウサギに筋肉内投与して検討した結果、なんら異常は認められなかった。

製剤および原薬の強制劣化品の毒性

OCTの製剤および原薬の強制劣化品について、ラットでの1 ヶ月間静脈内反復投与試験および変異原性試験によりその安全性を検討した。その結果、何れの強制劣化品もOCTの原薬と比較し、新たな毒性が出現したり、OCTの毒性が増強されることはなかった。また、復帰突然変異試験および染色体異常試験、何れにおいても強制劣化品は陰性であった。以上のことは製剤および原薬において規格値以内の分解物は臨床使用上毒性学的に問題はないことを示している。

表二-1 毒性試験一覧表

試験項目		動物種等	投与(処置) 経路, 期間	投与量又は処置 濃度 (μg/kg/日)	試験結果 (μg/kg/日)	
急性毒性		ラット	静脈内, 単回	6, 9, 13, 20, 30 (mg/kg)	LD ₅₀ ♂: 8, ♀: 12 (mg/kg)	
		イヌ		200, 400, 800	800 μg/kg で雄死亡	
亜急性・慢性毒性		ラット	静脈内, 3 ヶ月	0.1, 3, 90	無毒性量	0.1
		イヌ		0.006, 0.03, 0.15		0.03
		ラット	静脈内, 12 ヶ月	0.011, 0.11, 1.1, 3.3 22 (μg/kg/週)		0.011
		イヌ		0.011, 0.033, 0.11 0.66 (μg/kg/週)		0.011
生殖機能に 及ぼす影響	Seg. I	ラット	静脈内	1, 10, 100	無毒性量	親: 100, 児: 100
	Seg. II	ラット		1, 10, 100		母: 100, 児: 100
		ウサギ		0.04, 0.2, 1		母・児: 1
	Seg. III	ラット		0.011, 0.11, 1.1, 11, 110		母: 110, 児: 0.11
抗原性		モルモット	皮下(+CFA)	0.1, 1 (μg/匹)	ASA, PCA, 皮内反応: 陰性	
		マウス	腹腔内(+Alum)	1, 10 (μg/kg)	陰性	
変異 原性	復帰突然変異	サルモネラ菌	直接法	3.1~750	陰性	
			代謝活性化法	(μg/plate)		
		大腸菌	直接法	46.9~1500		
			代謝活性化法	(μg/plate)		
	染色体異常	CHL/IU	直接法	1.9~15		
			代謝活性化法	(μg/mL)		
小核	マウス	腹腔内, 単回	1.25~10 (mg/kg)			
がん原性		マウス	静脈内, 18 ヶ月	3.3, 11, 33 (μg/kg/週)	陰性	
		ラット	静脈内, 24 ヶ月	1.1, 3.3, 11 (μg/kg/週)	良性褐色細胞腫	
局所障害性		ウサギ	筋肉内, 単回	4.4 (μg/mL)	陰性	
強制劣化品 亜急性毒性		ラット	静脈内, 1 ヶ月	300	原薬との差認めない	
強制劣化品 復帰突然変異		サルモネラ菌	直接法	0.78~100	陰性	
			代謝活性化法	(μg/plate)		
強制劣化品 染色体異常		CHL/IU	直接法	3.75~60 (μg/mL)		

CFA: Complete Freund's adjuvant

ASA: 能動性全身アナフィラキシー

PCA: 受動性皮膚アナフィラキシー

Alum: 水酸化アルミニウムゲル

CHL/IU: チャイニーズハムスター肺由来の株化培養細胞

1. 急性毒性

(1) ラットにおける単回投与毒性試験

ラット (Slc:SD, 各群雌雄5匹ずつ) を用い、OCTのO (溶媒), 6, 9, 13, 20 および 30mg/kg を単回静脈内投与し, 14 日間にわたって観察した。その成績を表ニ-2に示す。一般状態の変化として, 6 mg/kg 以上の投薬群で投与後2日以降に自発運動の低下および流涙がみられ, 投与後4日までに死亡例が認められた。50%致死量は雄8 mg/kg, 雌12mg/kgであった。死亡例は病理組織学的に心臓, 腎臓, 肺および胃における石灰沈着, 加えて腎臓尿細管の拡張, 肝臓および肺のうっ血が認められたことから, 高カルシウム血症によると考えられる循環障害ないし腎臓障害が死因と考えられた。

表二-2 ラット単回毒性試験成績

使用動物・系統	ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)		ラット (Sic-SD, 6週齢)	
試験・性・体重	体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g		体重範囲 (投与時) 雄160.7~202.6g, 雌133.1~167.7g	
投与経路・投与方法	3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)		3%原液を溶解 (99.5%エタノール) を用いて希釈調整し、1mL/kgの投与容量で経静脈内に単回投与した (投与速度1mL/分)	
投与量 (mg/kg)	0 (溶解)		0 (溶解)		0 (溶解)		0 (溶解)		0 (溶解)		0 (溶解)		0 (溶解)		0 (溶解)		0 (溶解)	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
死亡数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
死亡日 (投与後日)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態	—		—		—		—		—		—		—		—		—	
自発運動の低下	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
流涎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重 (投与後1日, g)	187.9 ± 5.4 145.1 ± 11.3		171.5 ± 12.4 *		138.7 ± 5.9		170.3 ± 11.1 *		136.9 ± 4.5		169.9 ± 19.8		135.4 ± 7.7		171.1 ± 9.9 *		136.5 ± 6.1	
剖検	—		—		—		—		—		—		—		—		—	
心臓：白色化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腎臓：退色	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肝臓および肺：うっ血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
胃：膜胃部の暗赤色化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腎：腎臓の白色化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
病理組織学的検査 ¹⁾	—		—		—		—		—		—		—		—		—	
肺臓器 ²⁾ ：石灰沈着	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
腎臓：尿管の拡張	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
肝臓および肺：うっ血	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50%致死量 (95%信頼限界) 雄 8 (4~16) mg/kg, 雌 12 (8~20) mg/kg Litchfield-Wilcoxon法	—		—		—		—		—		—		—		—		—	

一：検査対象なし、数値は平均値±標準偏差または発現例数、() 内は死亡例の発現数、* $p<0.05$, ** $p<0.01$ (StudentあるいはAspin-Welchのt検定)

1) 溶媒 (99.5%エタノール) の影響と考えられる自発運動の低下、よろめき歩行、腹臥および呼吸深大が投与直後から投与後1時間までみられた

2) 死亡例 (30mg/kg群の雄2例および30mg/kg群の雌1例) および生存例 (20mg/kg群の雄1例) のみ実施

3) 心臓、腎臓、肺をいし腎

(2) イヌにおける単回投与毒性試験

ビーグル犬 (Beagle/CSK, 各群雌雄 1 匹ずつ) を用い, OCT の 200, 400 および 800 μ g/kg を単回静脈内投与し, 14 日間にわたって観察した。その成績を表ニ-3 に示す。一般状態の変化として, 200 μ g/kg 以上の投薬群で投与後 1 日以降に嘔吐および多尿がみられ, 体重が減少し, 800 μ g/kg の雌は自発運動の低下を呈して投与後 3 日に死亡した。死亡前日には赤血球数および白血球数の増加, 血小板数の減少や血清カルシウム, 無機リン, 尿素窒素, クレアチニン, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性, アラニンアミノトランスフェラーゼ活性, アルカリ性フォスファターゼ活性, 乳酸脱水素酵素活性およびクレアチンフォスフォキナーゼ活性の増加などがみられた。病理組織学的には諸臓器の石灰沈着, 腎臓尿細管の拡張, 肝臓および肺のうっ血, 消化管の出血が認められた。よって, 死因は高カルシウム血症による循環障害ないし腎臓障害あるいは消化管からの出血と考えられた。

生存例でも一過性に白血球数の増加, 血小板数の減少や血清カルシウム, 無機リン, 尿素窒素およびクレアチニンの増加などがみられたが, 投与後 7 日には回復ないし回復傾向が認められた。病理組織学的には 400 μ g/kg 以上で, 諸臓器の石灰沈着, 腎臓尿細管の拡張, 腎臓および胃粘膜の線維化などが認められた。

表二-3 イヌ単回毒性試験成績

使用動物・系統	イヌ (Beagle/CSK, 6ヵ月齢)					
月齢・性・体重	体重範囲 (投与前) 雄7.6~8.7kg, 雌7.5~7.9kg					
投与経路	3%炭液を錠剤 (99.5%エタノール) を用いて希釈し、0.1mL/kgの投与容量で桃樹皮静脈内に単回投与した (投与速度 0.3mL/分)					
投与量 (μg/kg)	200		400		800	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	1	1	1	1	1	1
死亡数	0	0	0	0	0	1
死亡日 (投与後日)	-	-	-	-	-	3
一般状態	-	-	-	-	-	-
嘔吐	-	+	+	+	+	+
多尿	-	+	+	+	+	+
自発運動の低下	-	-	-	-	+	+
体重 (投与前, kg)	8.5	7.9	7.6	7.5	8.7	7.8
(投与後7日, kg)	8.3	7.4	7.0	6.7	7.8	D
(投与後14日, kg)	8.7	7.9	7.3	7.0	8.2	D
摂餌量 (投与前, g)	250	250	250	250	250	250
(投与後3日, g)	250	63	1	0	0	0
(投与後14日, g)	250	250	250	250	250	D
尿水量 (投与前, g)	716	658	627	564	670	571
(投与後7日, g)	1237	1920	1415	1856	1862	D
(投与後14日, g)	836	799	1257	1509	1953	D
血液学的検査						
赤血球数(10 ⁶ /μL) (投与前)	715	676	629	537	610	595
(投与後2日)	599	682	660	596	617	970
白血球数(10 ³ /μL) (投与前)	118	106	117	82	101	80
(投与後2日)	123	121	234	170	196	199
血小板数(10 ³ /μL) (投与前)	323	264	269	303	282	248
(投与後2日)	230	224	167	164	216	142
血液化学的検査						
カルシウム(mg/dL) (投与前)	10.80	10.91	10.24	10.86	10.78	10.20
(投与後2日)	13.05	13.70	14.15	18.88	14.95	51.72
(投与後7日)	11.32	11.63	11.04	11.68	13.84	D
無機リン(mg/dL) (投与前)	7.7	6.8	6.9	6.8	7.5	7.1
(投与後2日)	9.3	8.4	11.6	12.3	10.4	39.1
(投与後7日)	6.0	5.6	5.6	5.1	6.2	D
尿素窒素(mg/dL) (投与前)	10.6	11.7	11.2	14.1	11.8	12.3
(投与後2日)	68.0	70.2	64.7	100.9	61.8	124.8
(投与後7日)	16.7	24.7	23.8	38.1	36.9	D
クレアチニン(mg/dL) (投与前)	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8
(投与後2日)	2.1	3.4	2.1	4.1	2.1	4.2
(投与後7日)	0.9	1.1	1.0	1.2	1.2	D
γ-グルタミン酸アミノトランスフェラーゼ (IU/L) (投与前)	27	21	25	25	25	28
(投与後2日)	16	19	28	127	34	360
(投与後7日)	35	20	23	25	19	D
γ-グルタミンアミノトランスフェラーゼ (IU/L) (投与前)	28	34	26	23	28	24
(投与後2日)	29	51	54	58	38	238
(投与後7日)	53	42	29	45	36	D
γ-グルタミンアミノトランスフェラーゼ (IU/L) (投与前)	258	203	257	318	292	220
(投与後2日)	265	237	547	351	352	920
(投与後7日)	247	200	278	212	229	D
乳酸脱水素酵素 (IU/L) (投与前)	117	149	78	107	115	70
(投与後2日)	79	95	82	236	113	686
(投与後7日)	288	114	92	90	136	D
クレアチンフォスファターゼ (IU/L) (投与前)	224	190	196	203	251	240
(投与後2日)	141	163	154	2923	250	5780
(投与後7日)	201	140	123	118	155	D
剖検						
肉眼：過色	-	-	+	+	+	+
甲状腺：白色化	-	-	+	+	+	+
心臓：白色化	-	-	+	+	+	+
胃：粘膜の粗造	-	-	-	+	+	+
肝臓および肺：うっ血	-	-	-	-	-	+
消化管 ^a ：暗赤色タール状物貯留	-	-	-	-	-	+
消化管 ^a ：粘膜の暗赤色化	-	-	-	-	-	+
病理組織学的検査						
諸臓器 ^a ：石灰沈着	NT	NT	+	+	+	+
腎臓：尿管の拡張	NT	NT	+	+	+	+
腎臓：間質の繊維化	NT	NT	+	+	+	-
胃：粘膜の繊維化	NT	NT	NT	+	+	-
最小致死量	800 μg/kg					

-: 特記すべき所見なし, +: 所見あり
D: 死亡により検査値なし, NT: 検査実施せず

- 1) 十二指腸から回腸にかけて
2) 胃から直腸にかけて
3) 心臓, 腎臓, 甲状腺, 胃ないし肺

[各検査の実施時期および検査項目]

血液学的検査

(実施時期) 投与前, 投与後1, 2, 7, 14日

(検査項目) 赤血球数, 血色素量, ヘマトクリット値, 白血球数, 血小板数, 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

血液化学的検査

(実施時期) 投与前, 投与後1, 2, 7, 14日

(検査項目) アスパラギン酸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, アルカリ性フォスファターゼ, コリンエステラーゼ, γ-グルタミルトランスアミド化酵素, 尿素窒素, 尿酸, クレアチニン, グルコース, 総コレステロール, 無機リン, カルシウム, 総タンパク質, アルブミン, アルブミン・グロブリン比, 総ビリルビン, 直接ビリルビン, 間接ビリルビン, 遊離コレステロール, クレアチンフォスフォキナーゼ, 鉄, ロイシンアミノペプチダーゼ, 乳酸脱水素酵素, 遊離脂肪酸, リン脂質, トリグリセリド, ナトリウム, カリウム, 塩素

2. 亜急性・慢性毒性

(1) ラット3ヵ月間静脈内反復投与毒性試験

ラット (Slc:SD, 各群雌雄 15 例ずつ) を用いて, OCT の 0 (溶媒), 0.1, 3, 90 μ g/kg/日および生理食塩液を静脈内に3ヵ月間反復投与して毒性を検討した。各群の雌雄各5例は投薬期間終了後に5週間の休薬期間を設けて, 毒性変化の回復性を検討した。その成績の概略を表ニ-4に示す。ラットにおける1ヵ月間静脈内反復投与毒性試験

において, 3 μ g/kg 以上で血清カルシウムは増加し, 300 μ g/kg では腎臓の石灰沈着などが認められた。本試験での投与量については, 投与期間の延長により毒性変化が低用量でも発現することを想定して, 高用量を90 μ g/kg/日とし, 以下3および0.1 μ g/kg/日を設定した。

一般状態の変化として, 90 μ g/kg 群で投与開始後3週以降に多尿がみられ, 3 μ g/kg 以上で摂餌量の増加が認められたが, いずれの群にも死亡例はなかった。尿検査において, 3 μ g/kg 以上で摂水量の増加を伴う尿量の増加, ナトリウム, カリウムおよび塩素排泄の増加が認められ, 加えて90 μ g/kg 群では尿比重の低下が認められた。また, 投薬各群で尿中カルシウムと無機リン排泄の増加およびpHの低下がみられた。一方, 血液化学的検査では, 3 μ g/kg 以上で血清カルシウムの増加, 尿素窒素およびクレアチニンの減少がみられ, 加えて90 μ g/kg 群では無機リンの増加が認められた。これらはいずれも多くビタミンD誘導体において認められる高カルシウム血症にともなう毒性変化と判断された。また, 90 μ g/kg 群でアルカリ性フォスファターゼ活性が上昇したが, 病理組織学的な骨の異常は認められなかった。

血液学的検査では, 3 μ g/kg 以上の群の雌で白血球数の増加, 90 μ g/kg 群の雄で赤血球数および血小板数の減少が認められたが, その原因は不明であった。

病理学的検査では, 3 μ g/kg 以上で腎臓および副腎の重量増加が認められ, 組織学的検査では, 腎臓尿細管の拡張が認められた。副腎に組織学的な異常はなかった。また, 90 μ g/kg 群の投与部位表皮には肥厚が認められた。

5週間の休薬後には, 3 μ g/kg 以上で血清クレアチニンの減少, 90 μ g/kg 群で尿素窒素の減少および腎臓尿細管の拡張, 投与部位の表皮の肥厚が残存した以外はいずれの毒性変化とも回復した。

以上, 0.1 μ g/kg/日投与で認められた尿中カルシウムおよび無機リン排泄の増加などは生体の恒常性を維持するための生理的反応と判断した。一方, 3 μ g/kg/日以上以上の投与では高カルシウム血症に起因すると考えられる毒性変化が認められたことから, 無毒性量は0.1 μ g/kg/日と結論した。

表二-4 ラット3カ月経膈内反復投与毒性試験成績

動物種・系	ラット (SlcSD, 6週齢)									
性別・月・体重	体重範囲 (投与開始時) 雄156.4~193.3g, 雌125.0~159.5g									
投与経路・法	1日1回, 3カ月間隔経膈内投与 投与量: 2mL/kg 投与部位: 2mL/分, 溶液: 0.4% Tween20を含む1%エタノール生理食塩水									
投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		0.1		3		90		生月 対照法	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数/試験例数	15/5	15/5	15/5	15/5	15/5	15/5	15/5	15/5	15/5	15/5
死亡数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
予快性多尿	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
体重 (12週後, g/1)	30.0±0.8	14.2±0.4	20.2±0.6	15.1±0.8	22.3±0.5*	19.4±0.8**	24.6±1.4**	0.3±0.6**	20.4±0.4	17.4±0.2**
排水量 (12週後, g/1)	25.2±6.3	17.9±1.4	27.0±2.9	21.2±4.1	38.3±3.7*	27.3±2.1**	48.6±1.1*	1.6±3.8**	22.5±1.6	16.5±2.8
眼目の検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査										
尿量 (mL/1)	0 ± 4.8	9.6 ± 3.3	11.3 ± 2.0	8 ±	1 ± 5.0	12.5 ± 7	1 ± 4.2	19.0 ± 4.6**	9.2 ± 3.4	7 ± 2.1
尿比重	1.067 ± 0.013	1.059 ± 0.025	1.057 ± 0.011	1.069 ± 0.022	1.054 ± 0.017	1.049 ± 0.014	1.039 ± 0.008	1.034 ± 0.006*	1.072 ± 0.018	1.071 ± 0.015
ナトリウム (mEq/kg)	3.5 ± 1.0	4.8 ± 0.7	3.5 ± 0.9	4.7 ± 0.7	4.4 ± 0.8*	4.6 ± 1.5	4.2 ± 0.5	5.2 ± 0.9	3.8 ± 0.6	5.3 ± 0.8
カリウム (mEq/kg)	6.8 ± 1.4	9.1 ± 0.9	6.8 ± 1.3	8.9 ± 2.0	8.5 ± 1.0**	9.6 ± 1.9	9.1 ± 0.8*	11.8 ± 1.5**	6.8 ± 0.7	9.6 ± 1.6
塩素 (mEq/kg)	3.7 ± 1.0	4.8 ± 0.7	3.7 ± 0.9	4.8 ± 0.9	4.5 ± 0.8*	4.7 ± 1.8	4.6 ± 0.5*	5.8 ± 1.2*	3.9 ± 0.5	5.5 ± 0.8
カルシウム (mg/kg)	2.24 ± 0.58	6.47 ± 1.70	6.66 ± 1.54*	21.53 ± 9.57**	18.32 ± 6.72*	45.26 ± 11.88**	25.54 ± 9.09	58.37 ± 12.58**	3.05 ± 1.08	6.24 ± 2.07
マグネシウム (mg/kg)	52.61 ± 6.29	80.84 ± 9.00	57.87 ± 7.30	8.62 ± 14.94**	80.69 ± 17.03	123.81 ± 37.41**	85.65 ± 18.12	142.58 ± 26.90**	60.49 ± 7.35	84.55 ± 12.52
pH	8.3 ± 0.4	8.4 ± 0.3	8.1 ± 0.4	7.3 ± 0.7*	6.7 ± 0.6**	6.9 ± 0.7**	6.6 ± 0.4**	6.6 ± 0.5**	8.4 ± 0.2	8.3 ± 0.5
血液学的検査										
赤血球数 (10 ¹² /L)	1009 ± 53	934 ± 73	986 ± 55	904 ± 70*	1011 ± 46	942 ± 41	971 ± 44*	927 ± 63	1017 ± 62	924 ± 93
血小板数 (10 ⁹ /L)	653 ± 78	771 ± 87	652 ± 110	708 ± 109	691 ± 81	744 ± 99	654 ± 65	660 ± 101**	732 ± 87*	755 ± 116
白血球数 (10 ⁹ /L)	120 ± 14	84 ± 21	113 ± 20	86 ± 15	122 ± 16	104 ± 20*	119 ± 17	103 ± 21*	138 ± 13**	91 ± 16
血液化学的検査										
カルシウム (mg/dL)	10.13 ± 0.14	10.48 ± 0.83	10.33 ± 0.29	10.75 ± 0.6	10.77 ± 0.20*	11.4 ± 0.40*	11.62 ± 0.35	11.7 ± 0.40	10.14 ± 0.19	10.71 ± 0.1
無機リン (mg/dL)	6.28 ± 0.71	6.34 ± 1.14	6.14 ± 0.69	6.72 ± 1.08	6.45 ± 0.66	7.01 ± 1.01	7.07 ± 0.64	7.47 ± 0.82*	6.22 ± 0.85	6.53 ± 0.92
尿酸素 (mg/dL)	18.7 ± 1.9	20.6 ± 2.4	18.4 ± 1.6	19.5 ± 1.6	18.1 ± 1.4	18.1 ± 2.4*	16.4 ± 1.9*	15.2 ± 3.0**	19.1 ± 1.1	19.8 ± 2.1
クレアチニン (mg/dL)	0.72 ± 0.04	0.74 ± 0.05	0.71 ± 0.02	0.72 ± 0.03	0.66 ± 0.03**	0.70 ± 0.03*	0.63 ± 0.03	0.68 ± 0.02**	0.71 ± 0.05	0.73 ± 0.03
γ-GT (IU/L)	271 ± 44	167 ± 39	257 ± 31	144 ± 30	274 ± 31	194 ± 39	285 ± 60	254 ± 53*	279 ± 49	135 ± 21*
剖検										
臓器重量	0	0	0	0	0	0	5	6	0	0
臓器: 臓大	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
投与部位: 表皮の肥厚	0	0	0	0	0	0	9	9	0	0
肝臓 (m/100g B.W.)	560 ± 40	607 ± 27	564 ± 32	610 ± 43	1 ±	652 ± 55*	668 ± 52**	738 ± 56**	572 ± 27	610 ± 55
腎臓	13.2 ± 1.9	26.6 ± 2.4	14.6 ± 1.9	27.1 ± 3.0	14.5 ± 1.5	29.9 ± 4.1*	16.0 ± 1.6*	31.9 ± 4.1**	13.4 ± 1.3	27.5 ± 3.4
腎臓組織学的検査										
腎臓: 尿細管の拡張	0	0	0	0	2	2	7	8	0	0
投与部位: 角化亢進	0	0	0	0	0	0	10	10	0	0
組織学的検査 (5週間) 例数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
血液化学的検査										
クレアチニン (mg/dL)	0.65 ± 0.04	0.70 ± 0.03	0.73 ± 0.0	0.68 ± 0.04	0 ± 0.04	0.6 ± 0.04*	0.60 ± 0.01	0.6 ± 0.1	0.61 ± 0.0	0.71 ± 0.08
尿酸素 (mg/dL)	21.2 ± 0.9	21.5 ± 2.1	20.1 ± 1.2	21.0 ± 1.6	20.9 ± 2.8	18.3 ± 1.7*	18.3 ± 0.8*	21.5 ± 2.0	20.4 ± 1.7	19.7 ± 3.2
肝臓										
投与部位: 表皮の肥厚	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
組織学的検査										
腎臓: 尿細管の拡張	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
投与部位: 角化亢進	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
無毒試験	0.1 mg/kg/1									

-: 特記すべき所見なし, +: 所見あり, 数値は平均値±標準偏差あるいは発現例数, *p<0.05, **p<0.01 (StudentあるいはA p n-Welchの1検定)

[各検査の] 実施時期及び検査項目]

検査項目

(実施時期) 投与開始後85日, 休薬期間開始後29日

(検査項目) 尿, 尿比重, ナトリウム, カリウム, 塩素, カルシウム, マグネシウム, pH, タンパク質, グルコース, ケトン体, ウロビリノーゲン, ビリルビン, 潜血, 尿沈渣

血液学的検査

(実施時期) 投与開始後90日, 休薬期間開始後34日

(検査項目) 赤血球数, 血色素, ヘマトクリット値, 平均赤血球容積, 平均赤血球容積分布, 平均赤血球容積分布, 白血球数, 血小板数, 白血球: 分比, 網状赤血球比, 血球形態, プロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間

血液化学的検査

(実施時期) 投与開始後91日 (剖検時), 休薬期間開始後35日 (剖検時)

(検査項目) アスパラギン酸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, アルカリ性フォスファターゼ, コリンエステラーゼ, γ-グルタミルトランスアミナーゼ, 尿酸素, 尿酸, クレアチニン, グルコース, 総コレステロール, マグネシウム, カルシウム, タンパク質, アルブミン, アルブミン: グロブリン比, 総ビリルビン, 直接ビリルビン, 間接ビリルビン, 遊離コレステロール, クレアチンフォスフォキナーゼ, 鉄, ロイシンアミノヘプタゲナーゼ, 乳酸脱水素酵素, 乳酸脱氢酵素, リン酸, トリグリセリド, ナトリウム, カリウム, 塩素, タンパク質

眼科学的検査

(実施時期) 投与開始前, 投与開始後87日

(検査項目) 前眼部, 中間部, 後眼部の肉眼的観察及び顕微鏡による観察

剖検

(実施時期) 投与開始後91日 (剖検時), 休薬期間開始後35日 (剖検時)

(検査項目) 肝臓, 腎臓, 心臓, 脾臓, 膵臓, 肺臓, 腸, 精巣 (雄), 前立腺 (雄), 精嚢 (雄), 卵巣 (雌), 子宮 (雌), トンネル, 膵臓, 胆嚢 (胆), 小腸 (胆), 大腸 (胆)

[追記] 尿中カルシウムの増加に関する考察

一般的にビタミンD誘導体は、カルシウム代謝調節作用を有し、腸管からのカルシウム吸収促進、腎臓におけるカルシウム再吸収の促進、骨からのカルシウム動員促進等により血清カルシウム量を増加させることが知られている。なお、腎臓におけるカルシウム再吸収促進効果は生理的な量のビタミンDにおいて認められ、それ以上に存在しても作用が増強することはない。

ラットにビタミンD誘導体であるOCTを投与すると、腸管から飼料中に含まれるカルシウムやリンの吸収促進がおこり、血清のカルシウムおよび無機リンが上昇する。生体は血清のカルシウムおよび無機リンを生理的範囲に維持するために、速やかに尿中への排泄を増加させるものと考えられる。投薬全群に認められた尿中カルシウムおよび無機リン排泄の増加は、このような恒常性を維持するための生体反応と評価している。しかし、この反応にも限度があり、生理的許容量を超えともはや生体の恒常性を維持できなくなり、血清カルシウムおよび無機リンの持続的増加を生じてしまう。従って、血清カルシウムおよび無機リン値の増加が認められた場合はもはや通常の生理反応を超えた毒性反応と判断した。一方、血清カルシウムの変化が生じない $0.1 \mu\text{g/kg/日}$ 群は恒常性が維持された生理反応の中に含まれるものと判断した。

(2) イヌ3ヵ月間静脈内反復投与毒性試験

ビーグル犬 (Beagle/CSK, 各群雌雄5例ずつ) を用い, OCTの0 (溶媒), 0.006, 0.03 および 0.15 μ g/kg/日を静脈内に3ヵ月間反復投与して毒性を検討した。各群の雌雄各2例について投薬期間終了後5週間の休薬期間を設け, 毒性変化の回復性を検討した。なお, 0.15 μ g/kg群では, 雄が投与期間中に4例が死亡あるいは切迫殺されたため, 雌2例のみについて回復性を検討した。その成績の概略を表ニ-5に示す。投与量には, イヌの1ヵ月間反復投与毒性試験

において0.3 μ g/kg以上の群で血清カルシウムの上昇などの変化が認められたが, 0.03 μ g/kgでは毒性変化が認められなかった。本試験の投与量は投与期間の延長により毒性変化が低用量でも発現することを想定し, 0.15 μ g/kgを高投与量とし, 以下0.03 および 0.006 μ g/kgの3投与群を設定した。

一般状態では0.15 μ g/kg群で多尿や摂水量の増加が投与初期にみられ, その後減少した。また, 投与期間を通じて摂餌量, 体重, 自発運動の低下が認められ, 雄4例, 雌2例が死亡するか切迫殺を行った。死因は摂餌量の減少から低栄養状態が継続し, 衰弱死したものと考えられた。生存例は, 休薬開始後に再び多尿が出現したが, 体重, 摂餌量や自発運動の低下とも合わせ, 休薬期間中に回復した。摂水量は休薬期間中に著しく増加した。

尿検査では, 投与開始後6週の時点で0.15 μ g/kg群ではカルシウム排泄は増加し, ナトリウム, カリウム, 塩素および無機リンの排泄が減少した。またpHならびに尿比重は低下し, 尿量の減少も認められた。投与開始後6および12週での生存例ではカルシウム排泄の増加とカリウムおよび塩素の減少が認められ, また, 雌1例で尿量および尿比重の減少が認められた。休薬後には, 尿量は逆に増加し, カルシウム排泄の増加および尿比重の減少は依然認められた。心電図学的検査では, 0.15 μ g/kg群の雌で心拍数の減少が認められた。血液化学的検査では, 0.15 μ g/kg群で γ -グルタミルトランスペプチダーゼ活性, カルシウムの増加, 尿素窒素, クレアチニン, 乳酸脱水素酵素活性, トリグリセリドおよび遊離コレステロールの増加などが認められ, このうち尿素窒素の増加は休薬後も認められた。これらはいずれもOCT投与により誘発された高カルシウム血症によって引き起こされた変化や障害によるものと考えられた。

その他に投与開始後6ないし12週では, 赤血球数, 血色素量, ヘマトクリット値の増加や白血球数の減少, プロトロンビン時間ならびに活性化部分トロンボプラスチン時間の延長がみられた。また, 剖検時における骨髓検査では骨髓有核細胞の減少とME比 (顆粒球系細胞/赤芽球系細胞) の増加が認められた。投与開始後6週の血液化学検査において, 前述した変化に加えて, アルカリ性フォスファターゼ活性, グルコースの減少, 遊離脂肪酸の増加などがみられた。上記の変化は, いずれも摂餌量の低下による低栄養状態に関連した変化と考えられた。

表二-5-1 イヌ3ヵ月静脈内反復投与毒性試験成績

動物種・系統		イヌ (Beagle/C57BL/6 ~7ヵ月齢)									
月齢・性・体重		体重範囲 (投与開始時) 雄 8.3 ~ 9.5 kg, 雌 7.4 ~ 8.6 kg									
投与経路		1口1回, 3ヵ月間静脈内投与 投与液量: 0.5ml/kg 溶液: 生理食塩液									
投与量 (mg/kg/日)		0.006									
性別		雄					雌				
動物数/回復試験例数		5/2					5/2				
死亡数 (初投与を含む)		0					0				
死亡日											
一般状態											
多尿		-					-				
無便		-					-				
自発運動の低下		-					-				
よろめき歩行		-					-				
体重 (13週後, kg)		10.4 ± 0.6					9.6 ± 0.7				
摂餌量 (13週後, g/日)		250 ± 0					234 ± 37				
排水量 (13週後, g/日)		846 ± 140					745 ± 74				
尿検査											
(6週後)											
尿量 (ml/日)		198 ± 89					316 ± 149				
尿比重		1.043 ± 0.016					1.033 ± 0.013				
ナトリウム (mEq/kg)		2.2 ± 0.6					3.1 ± 0.9				
カリウム (mEq/kg)		2.6 ± 0.5					4.1 ± 0.5				
塩素 (mEq/kg)		2.1 ± 0.6					3.3 ± 0.5				
カルシウム (mg/kg)		0.99 ± 0.43					1.91 ± 0.68				
血漿リン (mg/kg)		23.59 ± 6.39					39.90 ± 8.44				
pH		8.8 ± 0.3					7.8 ± 1.0				
(12週後)											
尿量 (ml/日)		262 ± 124					237 ± 95				
尿比重		1.039 ± 0.018					1.043 ± 0.015				
カリウム (mEq/kg)		2.9 ± 0.2					4.0 ± 0.7				
塩素 (mEq/kg)		2.2 ± 0.3					2.8 ± 0.5				
カルシウム (mg/kg)		0.73 ± 0.24					1.39 ± 0.78				
服薬前検査											
心臓図学的検査											
(6週後)											
心拍数 (beats/min)		96 ± 25					114 ± 19				
(12週後)											
心拍数 (beats/min)		90 ± 16					104 ± 23				
血算学的検査											
(6週後)											
赤血球数 (10 ¹² /μL)		699 ± 63					688 ± 43				
網状赤血球比 (%)		0.2 ± 0.1					0.1 ± 0.1				
血色素量 (g/dL)		16.0 ± 1.5					15.2 ± 0.7				
ヘマトクリット値 (%)		48.5 ± 4.5					46.3 ± 2.6				
白血球数 (10 ⁹ /μL)		90 ± 12					98 ± 4				
プロトロンビン時間 (sec)		7.5 ± 0.5					7.2 ± 0.3				
活性化部分トロンボプラスチン時間 (sec)		14.7 ± 1.0					17.4 ± 2.6				
(12週後)											
赤血球数 (10 ¹² /μL)		713 ± 65					663 ± 70				
血色素量 (g/dL)		16.3 ± 1.5					14.5 ± 1.3				
ヘマトクリット値 (%)		49.3 ± 4.5					44.1 ± 4.1				
白血球数 (10 ⁹ /μL)		101 ± 7					104 ± 11				

血液化学的検査									
(6週後)									
7-ヒドロキシコレステロール (U/L)	25 ± 3	30 ± 8	30 ± 7	30 ± 7	25 ± 5	28 ± 6	93 ± 72	45 ± 30	
7-ヒドロキシコレステロール (U/L)	173 ± 42	172 ± 59	180 ± 21	165 ± 23	174 ± 52	260 ± 98	78 ± 27**	63 ± 18*	
γ-グルテリル转氨酶 (U/L)	1.9 ± 0.5	2.0 ± 0.4	1.8 ± 0.2	2.2 ± 0.3	1.8 ± 0.2	2.0 ± 0.3	3.2 ± 0.3**	3.3 ± 0.5**	
グルコース (mg/dL)	92 ± 7	96 ± 4	98 ± 4	92 ± 5	100 ± 9	93 ± 4	59 ± 21*	78 ± 3**	
カルシウム (mg/dL)	10.78 ± 0.10	10.78 ± 0.11	10.68 ± 0.06	10.86 ± 0.09	10.84 ± 0.25	10.92 ± 0.70	15.05 ± 0.70**	14.69 ± 0.65**	
尿酸 (mg/dL)	13.1 ± 2.6	14.6 ± 2.9	12.8 ± 3.1	12.4 ± 1.2	13.6 ± 1.0	14.1 ± 1.3	30.6 ± 3.8**	23.4 ± 4.0**	
クレアチニン (mg/dL)	0.92 ± 0.09	0.87 ± 0.06	0.89 ± 0.07	0.86 ± 0.05	0.9 ± 0.06	0.84 ± 0.09	1.13 ± 0.10**	1.11 ± 0.14**	
0-ヒドロキシコレステロール (U/L)	43 ± 4	39 ± 9	31 ± 8*	38 ± 10	32 ± 7*	32 ± 8	29 ± 6**	29 ± 7	
乳酸脱水素 (U/L)	236 ± 121	148 ± 93	103 ± 27	148 ± 66	139 ± 79	132 ± 61	190 ± 251	118 ± 105	
遊離脂肪酸 (Eq/L)	805 ± 250	1076 ± 444	760 ± 162	1003 ± 219	895 ± 286	574 ± 135	2434 ± 528**	1874 ± 258**	
遊離コレステロール (mg/dL)	57 ± 9	49 ± 5	52 ± 6	53 ± 8	56 ± 12	50 ± 10	74 ± 15	52 ± 7	
トリグリセリド (mg/dL)	46 ± 5	43 ± 11	41 ± 5	41 ± 9	45 ± 10	55 ± 6	67 ± 8**	59 ± 11	
直接ビリルビン (mg/dL)	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.02**	0.09 ± 0.02*	
総ビリルビン (mg/dL)	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.13 ± 0.03*	0.13 ± 0.04*	
(12週後)									
γ-グルテリル转氨酶 (U/L)	1.9 ± 0.3	1.8 ± 0.2	2.0 ± 0.4	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.3	1.9 ± 0.2	4.9	3.8 ± 0.1	
カルシウム (mg/dL)	10.51 ± 0.31	10.75 ± 0.22	10.43 ± 0.13	10.70 ± 0.10	10.69 ± 0.42	10.64 ± 0.54	15.24	16.32 ± 0.44	
尿酸 (mg/dL)	10.7 ± 2.5	10.8 ± 2.7	11.2 ± 3.7	9.8 ± 1.0	11.0 ± 1.1	11.8 ± 2.9	35.2	41.1 ± 8.7	
クレアチニン (mg/dL)	0.93 ± 0.05	0.87 ± 0.06	0.91 ± 0.11	0.87 ± 0.04	0.90 ± 0.07	0.82 ± 0.05	0.82	0.96 ± 0.23	
0-ヒドロキシコレステロール (U/L)	41 ± 4	37 ± 10	29 ± 7	34 ± 9	30 ± 7	29 ± 8	22	19 ± 4	
乳酸脱水素 (U/L)	207 ± 115	111 ± 21	96 ± 33	126 ± 71	172 ± 95	76 ± 5	534	166 ± 133	
遊離コレステロール (mg/dL)	61 ± 9	47 ± 6	52 ± 6	53 ± 9	51 ± 9	49 ± 10	81	64 ± 4	
トリグリセリド (mg/dL)	47 ± 7	41 ± 13	40 ± 9	44 ± 9	47 ± 11	48 ± 15	69	68 ± 10	
骨髄検査									
骨髓有核細胞数 (10 ⁹ /μL)	161 ± 23	153 ± 8	160 ± 14	172 ± 20	126 ± 24	166 ± 26	139	56	
M/E 比	1.26 ± 0.30	1.20 ± 0.03	1.33 ± 0.01	1.20 ± 0.16	1.22 ± 0.12	1.14 ± 0.04	1.29	2.52	
剖検あるいは「臓器」の萎縮									
腎臓の退色	0	0	0	0	0	0	1 (4)	1 (2)	
大動脈の硬化	0	0	0	0	0	0	1 (1)	1	
消化管における暗赤色ターナル状物の貯留	0	0	0	0	0	0	1 (4)	1 (2)	
肝臓の黄色化	0	0	0	0	0	0	0 (1)	0 (2)	
器官重量 (mg/100g H.W.)							(1)	0	
腎臓	398 ± 39	348 ± 38	396 ± 88	401 ± 4	355 ± 52	343 ± 64	776	844	
膵臓	7.9 ± 0.7	11.1 ± 3.6	8.8 ± 0.6	9.9 ± 1.3	8.0 ± 1.0	10.5 ± 2.3	21.9	29.2	
病理組織学的検査									
膵臓	0	0	0	0	0	0	1 (4)	1 (2)	
石灰沈着	0	0	0	0	0	0	1	1	
膵臓 (心臓)	0	0	0	0	0	0			
動脈内腔の肥厚	0	0	0	0	0	0			
腎臓	0	0	0	0	0	0	1 (4)	1 (2)	
好塩基性尿管	0	0	0	0	0	0	1 (3)	1 (1)	
尿細管の拡張	0	0	0	0	0	0	1 (3)	1 (1)	
線維化	0	0	0	0	0	0	1 (3)	1 (1)	
肝臓	0	0	0	0	0	0	(2)	(2)	
小葉中心性脂肪化	0	0	0	0	0	0	1 (4)	1 (2)	
骨髄の非骨化	0	0	0	0	0	0	1 (4)	1 (2)	
成長軟骨骨端板の萎縮	0	0	0	0	0	0	1 (4)	1 (2)	

*p<0.05, **p<0.01 (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test) (Student t-test)

表二一五-2 イヌ3カ月静脈内反復投与毒性試験成績（回復期間）

検査項目(mg/kg/日)	0.036g		0.006		0.03		0.15
一般状態	-	-	-	-	-	-	+
多尿	-	-	-	-	-	-	+
自発運動の低下	-	-	-	-	-	-	+
よめき歩行	-	-	-	-	-	-	+
体重(経口5週後、kg)	10 ± 0	9.4 ± 9	11 ± 0.5	10.1 ± 3	11.2 ± 1.1	10 ± 1.2	0.2
尿量(経口5週後、g/日)	2.1	250 ± 0	2.0 ± 0	250 ± 0	250 ± 0	2 ± 0	2 ± 0
排水量(経口5週後、g/日)	707 ± 260	691 ± 83	602 ± 115	551 ± 76	584 ± 17	4.2 ± 46	1071 ± 346
尿検査(経口4週後)							
尿蛋白(m/L)	135 ± 4	157 ± 46	191 ± 49	237 ± 28	102 ± 21	242 ± 71	487 ± 126
尿比重	1.050 ± 0.014	1.045 ± 0.022	1.042 ± 0.010	1.039 ± 0.001	1.053 ± 0.015	1.037 ± 0.005	1.017 ± 0.006
カルシウム(mg/dl)	0.39 ± 0.03	0.73 ± 0.30	0.55 ± 0.04	0.58 ± 0.16	0.24 ± 0.14	1.27 ± 1.03	5.06 ± 0.94
尿糖の有無	-	-	-	-	-	-	-
血清尿素窒素(経口4週後)	-	-	-	-	-	-	-
血清尿酸(経口4週後)	-	-	-	-	-	-	-
赤血球数($10^6/\mu\text{L}$)	735 ± 106	756 ± 69	727 ± 16	702 ± 40	718 ± 57	642 ± 102	566 ± 115
血色素(g/dL)	16.5 ± 2.8	17.5 ± 1.9	15.7 ± 0.1	16.5 ± 0.4	16.1 ± 2.1	15.2 ± 2.2	12.7 ± 3.0
ヘマトクリット値(%)	50.1 ± 9.5	52.0 ± 4.4	47.4 ± 0.2	49.1 ± 0.2	48.1 ± 6.7	45.3 ± 6.6	37.4 ± 7.4
鉄代謝 $\alpha_2\text{-MF}$ (経口4週後)							
血清鉄(mg/dL)	12.8 ± 0.1	14.7 ± 1.2	11 ± 6	11.0 ± 2.0	12.2 ± 1.1	13.7 ± 1.3	22.3 ± 5.1
血清鉄蛋白(経口3週後)	-	-	-	-	-	-	-
肝臓							
肝硬	0	0	0	0	0	0	2
肝臓の色	0	0	0	0	0	0	2
大動脈の硬化	0	0	0	0	0	0	1
腎臓重量(mg/100g B.W.)							
腎重	465 ± 55	438 ± 8	403 ± 58	414 ± 68	399 ± 77	380 ± 19	530 ± 21
腎厚	10.6 ± 1.1	10.1 ± 3.3	7.4 ± 0.1	8.9 ± 1.0	9.0 ± 0.3	10.1 ± 0.8	17 ± 1.7
病理組織学的検査							
膵臓							
石灰化	0	0	0	0	0	0	2
膵臓(心臓、胃)							
膵臓内腔の肥厚	0	0	0	0	0	0	2
腎臓							
好塩基性尿細胞	0	0	0	0	0	0	2
尿細管 尿張	0	0	0	0	0	0	2
線維化	0	0	0	0	0	0	2
骨							
骨質における好塩基性物質の沈着	0	0	0	0	0	0	2

—: 特記すべき所見なし。 +: 所見あり。 数値は十均値±標準偏差あるいは発現例数。 * $p<0.05$, ** $p<0.01$ (StudentあるいはAspin-Welchのt検定)

- 1) 胸腺、脾臓、精巣、前立腺、卵巣、子宮
- 2) その他に低酸素状態になると考えられる臓器重量の変動が、心臓、肝臓、膵、脾臓、肺臓、膀胱、尿管、甲状腺、下垂体、下顎腺、精巣、前立腺、卵巣、子宮でみられた。
- 3) 消化管、腎臓、腎臓、心臓、大腸臓、脾臓、膵、大腸、小腸、骨、骨髄
- 4) その他に低酸素状態になると考えられる臓器重量の変動が、心臓、肝臓、膵、脾臓、下顎腺、尿管、子宮
- 5) その他に低酸素状態によると考えられる変化が「臓器」でみられた。
- 6) 消化管、腎臓、心臓、大腸臓、膵、小腸

【各検査の実施時期及び検査項目】

鹿梅春

(検査項目) 尿量、尿比重、尿水色、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、pH、タンパク質、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、胆血、尿沈渣

血液学的检查

(検査項目) 赤血球数、血色素量、ヘマトクリント値、平均赤血球血色素量、平均赤血球容積、平均赤血球血色素濃度、白血球数、血小板数、白血球百分比、網状赤血球比率、血球形質、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

血液化学的概要

【実施時期】投子開始前、投子開始後6週、投子開始後12週、休養開始後4週
 (検査項目) アスベスト繊維アミトランスフェラーゼ、アラニンアミトランスフェラーゼ、アルカリリンゴ酸デヒドロゲナーゼ、コリンエステラーゼ、γ-グルトミルトランスフェラーゼ、尿酸窒素、尿酸、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、血糖値、カルシウム、総タンパク質、アルブミン、アルブミン、グロブリン比、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、尿酸コレステロール、クレアチニンクリアランス、尿酸、ロイシンアミノ酸デヒドロゲナーゼ、乳酸脱氢酵素、尿酸窒素、尿酸、トリグリセリド、タンパク質、ナトリウム、カリウム、塩素

眼科学的未来

〔実施時期〕投与開始前、投与開始後12週、休薬開始後4週
〔検査項目〕前視鏡、中視鏡及び体内視鏡による眼底部の観察と撮影

小、花開時在

(案床時間) 投与開始前、投与開始後5週、投与開始後12週、休薬開始後4週

骨髓檢查

(檢査項目) 受胎有核細胞数、受胎分類、ME片

穩定所費

(按季项目) 肝臟、腎臟、脾臟、心臟、肺、腦、下消化、胸腺、胸腺、下咽腔、新基、背立腔、膀胱、耳、中耳腔、新基

病理学的検査では0.15 μ g/kg 群で腎臓と副腎の重量が増加し、休薬後も、腎臓と副腎重量は増加した。剖検では、腎臓の退色、大動脈に硬結部がみられ、死亡例あるいは切迫殺例では、さらに消化管に暗赤色タール状物の貯留や肝臓の黄色化がみられた。休薬後においても腎臓の退色や大動脈に硬結部が認められた。組織学的検査では、生存例で、諸臓器における石灰沈着や動脈内膜の肥厚が観察され、腎臓では好塩基性尿細管、尿細管の拡張、間質の線維化等、骨では骨梁の菲薄化と成長軟骨骨端板の萎縮が認められた。死亡例と切迫殺例では、さらに肝臓で小葉中心性の脂肪化が認められた。休薬後にも諸臓器における石灰沈着や動脈内膜の肥厚が依然として認められ、腎臓と心臓では計画殺例と同様な変化がみられた。骨では休薬後に骨梁に線条に好塩基性物質の沈着が認められた。これらはOCT投与により誘発された高カルシウム血症によって引き起こされた変化や石灰沈着に付随した組織変化と考えられた。

その他に病理学的検査でも低栄養状態を反映したと考えられる変化として、0.15 μ g/kg 群の生存例で消瘦や諸臓器の萎縮ならびに重量の変化がみられた。

以上、0.15 μ g/kg 群で高カルシウム血症に起因すると考えられる毒性変化が認められたことから、無毒性量は0.03 μ g/kg/日であると結論した。

(3) ラット 12 ヶ月間静脈内反復投与毒性試験

ラット (Slc:SD, 各群雌雄 15 匹ずつ) を用いて, OCT の 0 (溶媒), 0.011, 0.11, 1.1, 3.3 μ g/kg/日および 22 μ g/kg/週 (11 μ g/kg/日を週 2 回間歇) を静脈内に 12 ヶ月間反復投与して毒性を検討した。なお, 長期間の投与を考慮して無処置対照群を設けた。その成績の概略を表ニ-6 に示す。

投与量については, ラットにおける 3 ヶ月間静脈内反復投与毒性試験において, 3 μ g/kg 以上で血清カルシウムの増加が認められたため, 本試験では, 高用量を 3.3 μ g/kg/日とした。また, 臨床適用を考慮し間歇投与群を設け, 1 週間あたりの投与量が高用量に相当するように設定した。

一般状態の変化として, 1.1 μ g/kg 以上で眼球混濁がみられ, 3.3 μ g/kg 群では粗毛, 削瘦, 自発運動の低下などを呈して雄 4 例および雌 3 例が投与開始後 46 週以降に死亡するか切迫殺を行った。病理組織学的検査では諸臓器に高度な石灰沈着が認められ, 死因と考えられた。眼科学的検査において眼球 (角膜) の混濁は投与期間終了時には無処置対照群を含む全群で認められ, 組織学的には角膜の石灰沈着と診断されたが, 1.1 μ g/kg 以上では増強されていた。また, 1.1 μ g/kg 以上では体重増加抑制が認められ, 0.11 μ g/kg 以上で摂餌量および摂水量の増加が認められた。

尿検査において, 0.11 μ g/kg 以上の群および間歇投与群で摂水量の増加を伴う尿量の増加, 尿比重の低下, カルシウムおよび無機リン排泄の増加などが認められた。また, 血液化学的検査では, 0.11 μ g/kg 以上で血清カルシウム, 無機リンの増加および塩素の減少が認められた。これらはいずれも 3 ヶ月投与試験と同様に, 本薬により誘発された高カルシウム血症にともなう変化と判断された。さらに, 1.1 μ g/kg 以上では低栄養状態を反映したと考えられるトリグリセリドおよびアルブミンの減少に加え, γ -グルタミルトランスペプチダーゼ活性の上昇などが認められた。

血液学的検査では, 3 ヶ月投与試験と同様に, 0.11 μ g/kg 以上の群および間歇投与群で赤血球数, 血色素量およびヘマトクリット値の低下が認められた。

病理学的検査では, 0.11 μ g/kg 以上の群および間歇投与群で副腎重量の増加, 1.1 μ g/kg 以上で腎臓および脾臓重量の増加が認められ, 組織学的には 0.11 μ g/kg 以上で眼球角膜を含む諸臓器の石灰沈着の他, 腎臓尿細管の拡張・間質の線維化および副腎の髄質細胞の過形成などが認められた。また, 0.11 μ g/kg 以上では脾臓および肝臓での髄外造血の亢進もみられた。この他に投与の長期化に伴う変化として, 0.11 μ g/kg 以上の群および間歇投与群で大腿骨における骨増生が認められ, 骨髓腔が狭小化していたことから, 同群での赤血球数の減少に関与している可能性が考えられた。

一方, 22 μ g/kg/週間歇投与群で認められた毒性変化は 0.11 μ g/kg/日投与とほぼ同等であり, 本薬の毒性は間歇投与により軽減されることが示唆された。

以上、 $0.11 \mu\text{g/kg/日}$ 以上の投与では高カルシウム血症に起因すると考えられる毒性変化が認められ、投与の長期化にともなう所見として骨増生などが発現した。よって、本試験における無毒性量は $0.011 \mu\text{g/kg/日}$ と結論した。

表二—6
ラット12カ月経歴内反復投与毒性試験成績[illegible]

(4) イヌ 12 ヶ月間静脈内反復投与毒性試験

ビーグル犬 (Beagle/CSK, 各群雌雄 3 例ずつ) を用い, OCT の 0 (溶媒), 0.011, 0.033, 0.11 μ g/kg/日および生理食塩液と 0.66 μ g/kg/週 (0.33 μ g/kg/日を週 2 回間歇) を静脈内に 12 ヶ月間反復投与して毒性試験を検討した。その成績の概略を表ニ-7 に示す。投与量については, イヌの 3 ヶ月間反復投与毒性試験の結果より, 血清カルシウムの上昇が予想された 0.11 μ g/kg を高投与群とし, 以下 0.033 および 0.011 μ g/kg の 3 群を設定した。また, 臨床適用を考慮した間歇投与群を設け, 1 週間あたりの投与量が高用量に相当するように設定した。

一般状態では 0.11 μ g/kg 群で, 多尿, 摂水量の増加がみられたが, その後減少した。さらに摂餌量, 体重は減少し, 嘔吐もみられた。投与開始後 9 週より雌 1 例を除き死亡, あるいは切迫殺され, これらの個体は自発運動の低下, よろめき歩行, 脱力あるいは側臥位等が認められた。死因は摂餌量の減少から低栄養状態が継続し, 衰弱死したものと考えられた。

間歇投与群でも, 多尿ならびに摂水量の増加がみられ, 摂餌量の減少がみられたが, 体重は著しく減少することなく増加抑制にとどまった。

尿検査では 0.033 μ g/kg 以上の群で, カルシウム排泄の増加, 0.11 μ g/kg 群および間歇投与群では, 尿量と無機リン排泄の増加や尿比重の低下がみられた。血液化学的検査では, 0.033 μ g/kg 群で雌 1 例に投与開始後 25 週にクレアチニンが 1.29mg/dL に上昇した。0.11 μ g/kg 群ではカルシウム, 無機リン, 尿素窒素, クレアチニン, 総コレステロール, 遊離コレステロール, リン脂質, トリグリセリドなどの増加がみられ, 塩素は減少した。間歇投与群でも 0.11 μ g/kg 群と同様の変化が認められた。これらはいずれも OCT 投与により誘発された高カルシウム血症によって引き起こされた変化や障害によるものと考えられた。血液学的検査では 0.11 μ g/kg 群において, 低栄養によると考えられる赤血球数, 血色素量およびヘマトクリット値の増加や白血球の減少がみられた。生存例においては投与後半には赤血球数, 血色素量およびヘマトクリット値が減少した。

病理学的検査では, 0.11 μ g/kg 群の腎臓重量が高値を示した。間歇投与群では腎臓と副腎の重量が高値を示した。剖検では諸臓器の白色化, 退色, 大動脈に硬結部がみられた。間歇投与群でも腎臓の腫大, 退色, 大動脈に硬結部が認められた。組織学的検査では, 0.11 μ g/kg 群で諸臓器の石灰沈着, 動脈内膜の肥厚, 心筋あるいは骨格筋の変性・壊死, また骨格筋では線維化, 胃体部に糜爛, 腎臓では間質の線維化, 尿細管の好塩基性化ならびに拡張, 糸球体の萎縮等, 甲状腺では傍濾胞細胞の増生, 濾胞の萎縮, 副甲状腺では主細胞の減少, 副腎では束状体細胞の空胞化が認められた。投与開始後 12 週以内に死亡あるいは切迫殺された例では, 骨梁の菲薄化や成長軟骨骨端板の萎縮が見られたが, その後死亡あるいは剖検された例では骨の増生がみられ, 骨塩量ならびに骨密度が高値を示した。間歇投与群でも諸臓器の石灰沈着が観察され, また腎臓と甲状腺に 0.11 μ g/kg 群と同様の変化がみられた。これらは OCT 投与により誘発された高カルシウム血症により引き起こされた変化や石灰沈着に基づく二次的变化と考えられた。

その他に病理学的検査でも低栄養状態を反映したと考えられる変化として, 0.11 μ g/kg 群で消瘦や諸臓器の萎縮がみられた。

血清の $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$ 濃度は間歇投与群を含む OCT 投与群で低値を示した。さらに intact-PTH 濃度の測定では $0.033\ \mu\text{g/kg}$ 以下の群で変動は認められなかったが、 $0.11\ \mu\text{g/kg}$ 群ならびに間歇投与群で定量限界 (1.0pg/mL) 未満の値であった。

以上、 $0.11\ \mu\text{g/kg}$ 群ならびに間歇投与群で認められた変化の多くは、高カルシウム血症によるものと考えられた。しかし、その程度は間歇投与することにより軽減された。 $0.11\ \mu\text{g/kg}$ 群では、長期間投与により骨増生が認められた。 $0.033\ \mu\text{g/kg}$ 群でクレアチニンの増加が認められたことから、無毒性量は $0.011\ \mu\text{g/kg/日}$ であると結論した。

[illegible]

項目	対照	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004	1005	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1018	1019	1020	1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045	1046	1047	1048	1049	1050	1051	1052	1053	1054	1055	1056	1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068	1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080	1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092	1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104	1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128	1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140	1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248	1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260	1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272	1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284	1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296	1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308	1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332	1333	1334	1335	1336	1337	1338	1339	1340	1341	1342	1343	1344	1345	1346	1347	1348	1349	1350	1351	1352	1353	1354	1355	1356	1357	1358	1359	1360	1361	1362	1363	1364	1365	1366	1367	1368	1369	1370	1371	1372	1373	1374	1375	1376	1377	1378	1379	1380	1381	1382	1383	1384	1385	1386	1387	1388	1389	1390	1391	1392	1393	1394	1395	1396	1397	1398	1399	1400	1401	1402	1403	1404	1405	1406	1407	1408	1409	1410	1411	1412	1413	1414	1415	1416	1417	1418	1419	1420	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1428	1429	1430	1431	1432	1433	1434	1435	1436	1437	1438	1439	1440	1441	1442	1443	1444	1445	1446	1447	1448	1449	1450	1451	1452	1453	1454	1455	1456	1457	1458	1459	1460	1461	1462	1463	1464	1465	1466	1467	1468	1469	1470	1471	1472	1473	1474	1475	1476	1477	1478	1479	1480	1481	1482	1483	1484	1485	1486	1487	1488	1489	1490	1491	1492	1493	1494
----	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

【各検査の実施時期及び検査項目】

尿检查

(实施时期) 投与開始前, 投与開始後3週, 投与開始後12週, 投与開始後25週, 投与開始後38週, 投与開始後51週

(検査項目) 尿量、尿比重、尿水量、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、pH、タンパク質、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、尿沈渣

血液学的检查

(实施时期) 投与開始前、投与開始後3週、投与開始後12週、投与開始後25週、投与開始後38週、投与開始後51週

(検査項目) 赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素量、平均赤血球容積、平均赤血球血色素濃度、白血球数、血小板数、白血球百分比、凝状赤血球比率、血球形態、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

血液化学的检查

〔实施时期〕投与開始前，投与開始後3週，投与開始後12週，投与開始後25週，投与開始後38週，投与開始後51週

(検査項目) アスパラギン酸・アミノトランスフェラーゼ、アラニン・アミントランスフェラーゼ、アルカリ性フォスファターゼ、コリンエステラーゼ、 γ -グルタミルトランスアミナーゼ、尿酸値等、尿酸、クレアチニン、グルコース、赤血球数、白血球数、カルシウム、総タンパク質、アルブミン・ globulin比、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、逆黄コレステロール、クレアチンフォスホキナーゼ、鉄、ロイシンアミノーペプチダーゼ、乳酸脱水素酵素、近端腎臓、肝臓機能、トリグリセリド、タンパク分画、ナトリウム、カリウム、塩素

服科学的検査

(實施時期) 投与開始前, 投与開始後25週, 投与開始後51週

(検査項目) 前眼部、中間透光体の肉眼的観察及び眼底像の撮影と観察

心電圖検査 -

(實施時期) 投与開始前、投与開始後25週、投与開始後51週

骨髓检查

(实施时期) 制検時

〔檢查項目〕骨髓有核細胞數，骨髓分類，ME比

设备重量

(實施時期) 創設時

(檢查項目) 肝臟、腎臟、脾臟、心臟、肺、腦、下垂體、副腎、胸腺、下視丘、精巢、前立腺、卵巢、子宮、甲狀腺、睪丸

骨塩量測定

(実施時期) 採採時 (最高疫与群は雄2例測定, 1例は採与後254日)

〔検査項目〕大腸骨（全体、遠位端および近位端）ならびに第5腰椎の骨密度、面積、骨密度

1.25 (OH) D漫度測定

(实施时期) 投与開始後51週

intact-PTH検定

【実施時期】投与開始後S1週

〔追記〕 病理組織学的変化の発生機序について

主要な諸臓器における病理組織学的変化を血清カルシウムの上昇に基づく変化、石灰沈着に基づく二次的変化、あるいはビタミンD誘導体の有するカルシウム上昇作用以外の薬理作用に関連する変化に分類した。血清カルシウムの上昇に基づく変化ならびに石灰沈着による二次的変化は血清カルシウムの上昇が持続的に生じた場合に発現するものと考えられる。薬理作用に関連する骨の変化における骨梁の菲薄化は、著明な血清カルシウムの上昇で、摂餌が廃絶したことにより、消化管からのカルシウム吸収が抑制された結果、骨からのカルシウム動員が促進されたことにより発現したものと考えられる。これらの変化はいずれも、血清カルシウムの上昇に関連するものであり、臨床的にも血清カルシウムの持続的増加や急激な血清カルシウムの上昇に注意を要するものと考えられる。

表二-7-2 病理組織学的変化の発生機序別分類

主な病理組織学的変化	発 生 機 序	
諸臓器における石灰沈着	血清カルシウムの上昇に伴ういわゆる転移性石灰沈着であり、特に筋肉、胃、肺、腎臓などの酸（乳酸、塩酸、炭酸、尿酸）を産生する臓器は間質が塩基性となる傾向が強いことから、石灰沈着が生じやすいとされる。	血清カルシウムの上昇に基づく変化
尿細管の拡張	血清カルシウムの上昇により尿濃縮力が低下し、尿量が増加することに生じたものと考えられる。	血清カルシウムの上昇に基づく変化
甲状腺における傍濾胞細胞の増生、甲状腺濾胞の萎縮	傍濾胞細胞は血清カルシウムの低下作用を有するカルシトニンを分泌する。ビタミンD投与による甲状腺傍濾胞細胞の増生は既に報告されており、血清カルシウムの上昇に対応する変化と考えられる。 甲状腺濾胞の萎縮については濾胞における石灰沈着や上記の傍濾胞細胞の増生、さらに長期間に及ぶ摂餌量の低下による低栄養状態等が加わった変化と考えられる。	血清カルシウムの上昇に基づく変化 石灰沈着に基づく二次的変化
諸臓器における動脈内膜の肥厚	諸臓器内に分布する動脈において、内弾性板を中心に石灰沈着が内膜側に及ぶことから、同部が障害されることにより反応性の内膜増生が生じたものと考えられる。	石灰沈着に基づく二次的変化
心筋・骨格筋の変性・壊死 骨格筋の線維化	これらの臓器・組織にも石灰沈着がみられており、石灰沈着により組織は変性・壊死に陥ったものと考えられる。線維化は変性・壊死した組織が線維により置換されたものと解釈される。	石灰沈着に基づく二次的変化
胃におけるびらん	粘膜から筋層に石灰沈着がみられている。粘膜の石灰沈着は胃腺の正常な機能を障害しているものと思われ、粘膜の保護作用に影響を及ぼし、軽度ながら1例にびらんが生じたものと考えられる。	石灰沈着に基づく二次的変化
腎臓における間質の線維化、尿細管の好塩基性化、糸球体の萎縮等	石灰沈着は尿細管を始めとする腎組織に広範に観察され、組織の障害を引き起こす。特に尿細管を障害することから、間質の線維化や尿細管の再生性変化と思われる好塩基性化等を引き起こしたものと考えられる。さらに、これらの変化の長期化により糸球体の萎縮等がもたらされたものと思われる。	石灰沈着に基づく二次的変化
副甲状腺における主細胞の減少	血清カルシウムの上昇が長期間持続したことによるネガティブフィードバック、あるいはビタミンD誘導体であるOCTの長期投与による直接的なPTH抑制を反映した薬効に関連する変化と考えられる。	薬理作用に関連する変化
骨における骨梁の菲薄化、骨増生	ビタミンD誘導体が有する骨からのカルシウム動員促進や骨形成作用に加え、摂餌量の減少と血清カルシウム増加の持続が関連した変化と考えられる。	薬理作用に関連する変化

(5) 本剤の安全性に関する考察

活性型ビタミンD誘導体製剤であるOCT注(オキサロール注)の臨床的な用法・用量(案)は、週3回の投与で、1回2.5~20 μg と申請しているが、ヒトの体重を60kgとすると0.042~0.33 $\mu\text{g/kg}$ となる。OCTの非臨床試験における安全性評価は、毒性試験に汎用されているラット、イヌを用いて週7日間の連続静脈内投与を行い検討した。その結果、表ニ-8-1に示したように3カ月、12カ月反復投与試験の無毒性量はラット、イヌともに臨床用量を下回るものであった。

一方、カルシトリオール [$1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] は活性型ビタミンDの標準薬であり、注射剤も米国においては承認されている。カルシトリオールの注射剤の臨床用量は週3回で1回投与量が0.5~4 μg (R-1)と報告されており、体重60kgとすると、0.008~0.067 $\mu\text{g/kg}$ となる。この量はOCTの5分の1である。

表ニ-8-2に示したように、国内の公表されているカルシトリオールの非臨床試験成績では無毒性量の情報が明確でなく、13週間連日静脈内反復投与のラットは0.05 $\mu\text{g/kg}$ で、イヌは0.025 $\mu\text{g/kg}$ で血清カルシウムの上昇が認められ、無毒性量が得られていない(R-2, R-3)。これに対して、OCTの3カ月間反復投与毒性試験の無毒性量はラットで0.1 $\mu\text{g/kg}$ であり、イヌでは0.03 $\mu\text{g/kg}$ であった。カルシトリオールの長期の反復投与毒性試験は連続投与ではなく週3回の間歇投与で実施している(R-4, R-5)。OCTでは間歇投与により毒性が軽減することが12カ月間反復投与毒性試験で示されているが、カルシトリオールは間歇投与でさえも、ラット26週間投与では0.05 $\mu\text{g/kg/日}$ (0.15 $\mu\text{g/kg/週}$)、イヌ52週間投与では0.02 $\mu\text{g/kg/日}$ (0.06 $\mu\text{g/kg/週}$)が無毒性量であり臨床使用量を上回ることではなく、OCTの安全性はカルシトリオールより低くはないと考えられる。

OCTおよびカルシトリオールいずれにおいても、摂水量の増加を伴う尿量の増加、体重増加抑制、血清カルシウムおよび無機リンの増加、尿素窒素、クレアチニンの増加、全身諸臓器への石灰沈着、腎臓尿細管の拡張、間質の線維化等が認められている。これらは活性型ビタミンDおよびこの誘導体製剤の毒性試験において共通して認められるものであり、血清カルシウムの上昇が長期間継続したことによる毒性と考えられる。これらの毒性のほとんどが、血清カルシウムの高度の上昇あるいはその持続によるとされることから、血清カルシウム濃度の測定が重要である。

毒性の発現の原因である血清カルシウムの上昇作用に関して投与経路、投与期間、投与間隔が一致しているカルシトリオールの13週間反復投与毒性試験成績とOCTの3カ月間反復投与毒性試験を比較検討した。表ニ-8-3および図ニ-1に示すように、ラットにおいてはOCTは0.1 $\mu\text{g/kg}$ で血清カルシウムの上昇はみられなかったが、カルシトリオールは0.05 $\mu\text{g/kg}$ でも血清カルシウム上昇は認められ、その値はOCT 90 $\mu\text{g/kg}$ 投与時の値を上回るものであった。表ニ-8-4, 5および図ニ-2に示すように、イヌにおいてもカルシトリオールは0.025 $\mu\text{g/kg}$ で血清カルシウムの上昇を認めたが、OCTでは0.03 $\mu\text{g/kg}$ で変化は認められなかった。イヌの試験においては、カルシトリオールは最高投与量である0.1 $\mu\text{g/kg}$ の投与を途中で中止している。先に示したように臨床用量ではOCTとカルシトリオールには5倍の差がある。カルシトリオールにおいて血清カルシウム上昇の無

作用量が得られていないため、正確な比較は困難であるが、イヌではOCTとカルシトリオール
の血清カルシウム上昇作用はほぼ臨床用量比と同等の5倍程度と思われる。しかし、ラ
ットにおいては明らかにOCTの血清カルシウム上昇作用はカルシトリオールよりも弱か
った。

なお、OCT、カルシトリール
ともに上昇した血清カルシウム値は投与中止により正常値に回復した。

このように同一静脈内の投与経路では、すでに米国で静注製剤が臨床使用されているカル
シトリオールと比べて、OCT注の血清カルシウム上昇作用は弱いものと考えられる。この
点においてOCTの臨床使用上の安全性は確保されているものとする。

表ニ－８－１ OCTの反復投与毒性試験における無毒性量

動物種	投与経路	投与期間	投与量 ($\mu\text{g/kg/日}$)	無毒性量 ($\mu\text{g/kg/日}$)
ラット	静脈内	3カ月 (連日)	0.1, 3, 90	0.1
イヌ	静脈内	3カ月 (連日)	0.006, 0.03, 0.15	0.03
ラット	静脈内	12カ月 (連日)	0.011, 0.11, 1.1, 3.3 22 ($\mu\text{g/kg/週}$) ^{a)}	0.011 (0.077 $\mu\text{g/kg/週}$)
イヌ	静脈内	12カ月 (連日)	0.011, 0.033, 0.11 0.66 ($\mu\text{g/kg/週}$) ^{b)}	0.011 (0.077 $\mu\text{g/kg/週}$)

a) : 11 $\mu\text{g/kg/回}$, 2回/週

b) : 0.33 $\mu\text{g/kg/回}$, 2回/週

表ニ－８－２ カルシトリオールの反復投与毒性試験における無毒性量

動物種	投与経路	投与期間	投与量 ($\mu\text{g/kg/回}$)	無毒性量
ラット	静脈内	13週 (連日)	0.05, 0.15, 0.45	0.05 $\mu\text{g/kg/日}$ 未満
イヌ	静脈内	13週 (連日)	0.025, 0.05, 0.1	0.025 $\mu\text{g/kg/日}$ 未満
ラット	静脈内	26週 週3回 (間歇)	0.05, 0.15, 0.45, 0.9	0.05 $\mu\text{g/kg/日}$ (0.15 $\mu\text{g/kg/週}$)
イヌ	静脈内	52週 週3回 (間歇)	0.01, 0.02, 0.04 (0.06) ^{a)}	0.02 $\mu\text{g/kg/日}$ (0.06 $\mu\text{g/kg/週}$)

a) : 93日目より0.06 $\mu\text{g/kg/回}$ に増量

表ニ－８－３ OCT およびカルシトリオール のラットにおける 3 ヶ月 (18 週) 間静脈内
反復投与毒性試験における血清カルシウム値(mg/dL)

OCT					Calcitriol				
投与量 ($\mu\text{g/kg}$)	13週(連日)		4週間回復		投与量 ($\mu\text{g/kg}$)	13週(連日)		4週間回復	
	雄	雌	雄	雌		雄	雌	雄	雌
	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.		Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.
0	10.13 $\pm$ 0.14	10.48 $\pm$ 0.83	10.26 $\pm$ 0.21	10.23 $\pm$ 0.33	0	10.13 $\pm$ 0.20	10.51 $\pm$ 0.58	10.53 $\pm$ 0.31	10.70 $\pm$ 0.26
0.1	10.33 $\pm$ 0.29	10.75 $\pm$ 0.61	10.23 $\pm$ 0.21	10.39 $\pm$ 0.41	0.05	12.08 $\pm$ 0.27**	11.99 $\pm$ 0.70**	10.43 $\pm$ 0.24	10.98 $\pm$ 0.64
3	10.77 $\pm$ 0.20**	11.34 $\pm$ 0.40**	10.27 $\pm$ 0.10	10.56 $\pm$ 0.47	0.15	13.61 $\pm$ 0.53**	13.33 $\pm$ 0.75**	10.48 $\pm$ 0.26	11.00 $\pm$ 0.23
90	11.62 $\pm$ 0.35**	11.37 $\pm$ 0.40**	10.11 $\pm$ 0.24	10.35 $\pm$ 0.47	0.45	14.08 $\pm$ 0.65**	13.73 $\pm$ 0.54**	10.33 $\pm$ 0.28	10.38 $\pm$ 0.21*

Significance of treatment-control difference: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

表ニ－８－４ カルシトリオール のイヌにおける 13 週間静脈内反復投与毒性試験に
おける血清カルシウム値(mg/dL)

投与量 ($\mu\text{g/kg}$)	5週(連日)		9週(連日)		13週(連日)		4週間回復	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean	Mean
0	10.44 $\pm$ 0.45	10.54 $\pm$ 0.44	10.50 $\pm$ 0.29	10.68 $\pm$ 0.26	10.70 $\pm$ 0.22	11.06 $\pm$ 0.38	10.70	11.00
0.025	12.98 $\pm$ 0.91**	13.98 $\pm$ 0.82**	14.24 $\pm$ 0.84**	16.14 $\pm$ 0.21**	14.14 $\pm$ 0.97**	14.74 $\pm$ 1.18**	10.50	11.10
0.05	14.28 $\pm$ 1.11**	15.14 $\pm$ 0.68**	16.24 $\pm$ 1.52**	16.00 $\pm$ 1.01**	15.52 $\pm$ 0.54**	16.60 $\pm$ 1.09**	11.20	12.10
0.1	15.04 $\pm$ 0.64**	14.88 $\pm$ 1.37**	16.32 $\pm$ 1.04**	16.35 $\pm$ 0.63**	16.33 $\pm$ 0.23**	16.13 $\pm$ 0.29**	ND	ND

Significance of treatment-control difference: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

死亡例出現 ND: No data

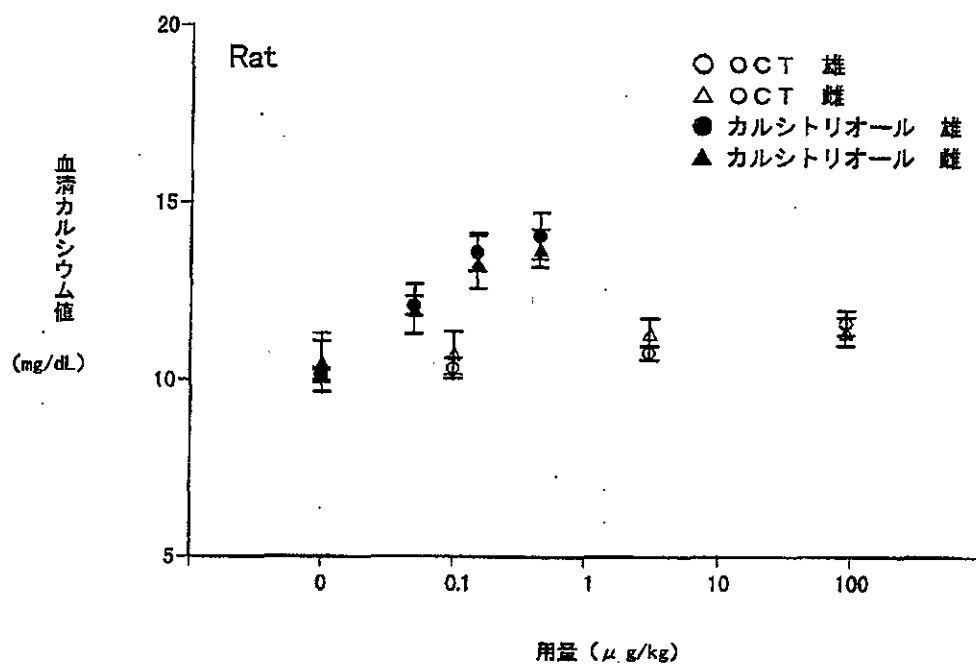
0.1 $\mu\text{g/kg}$ 群は死亡例がみられたため 8 週目 (56 日間) で投与を中止した。

表ニ－８－５ OCT のイヌにおける 3 ヶ月間静脈内反復投与毒性試験における血清
カルシウム値(mg/dL)

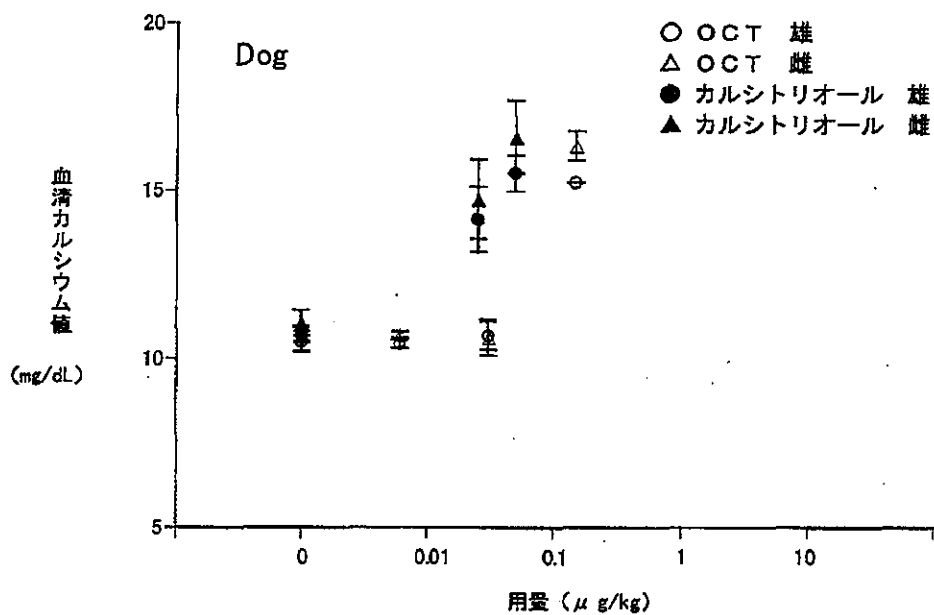
投与量 ($\mu\text{g/kg}$)	6週(連日)		12週(連日)		4週間回復	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.	Mean	Mean
0	10.78 $\pm$ 0.10	10.78 $\pm$ 0.11	10.51 $\pm$ 0.31	10.75 $\pm$ 0.22	10.23	10.35
0.006	10.68 $\pm$ 0.06	10.86 $\pm$ 0.09	10.43 $\pm$ 0.13	10.70 $\pm$ 0.10	10.07	10.23
0.03	10.84 $\pm$ 0.25	10.92 $\pm$ 0.70	10.69 $\pm$ 0.42	10.64 $\pm$ 0.54	10.43	10.39
0.15	15.05 $\pm$ 0.70**	14.69 $\pm$ 0.65**	15.24 $\pm$ 0.44**	16.32 $\pm$ 0.44**	ND	10.99

Significance of treatment-control difference: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

死亡例出現 ND: No data



図ニー 1 OCT およびカルシトリオールのラットにおける 3 ヲ月 (13 週) 間静脈内反復投与
毒性試験における血清カルシウム値



図ニー 2 OCT およびカルシトリオールのイヌにおける 12 ないし 13 週間静脈内反復投与
毒性試験における血清カルシウム値

3. 生殖に及ぼす影響

(1) ラット妊娠前および妊娠初期静脈内投与試験

ラット (Slc:SD) を用い、OCTのO (溶媒), 1, 10, 100 μ g/kg/日および生理食塩液を雄では交配前63日以上, 雌では交配前14日間静脈内投与し, 親動物の生殖機能および胎児に及ぼす影響を検討した。その成績の概略を表ニ-9に示す。投与量はラット1ヵ月間静脈内反復投与毒性試験の成績を参考に設定した。同試験において300 μ g/kg/日で多尿, 3 μ g/kg/日以上で摂水量の増加および血清カルシウムの増加が認められたことから, 本試験の高用量を100 μ g/kg/日とした。

親動物では雌雄とも1 μ g/kg以上の投与群に摂水量の増加, 10 μ g/kg以上の投与群に摂餌量の増加が認められたが体重に変化はみられなかった。ただし100 μ g/kg群の雌では投与7日に摂餌量および体重が減少し, その後増加に転じた。血液化学的検査において, 雄では1 μ g/kg以上の投与群で血清カルシウムの増加および尿素窒素の減少, 10 μ g/kg以上の投与群でクレアチニンの減少, 雌では10 μ g/kg以上の投与群で尿素窒素の減少が認められた。

性周期, 交尾率, 受胎率, 黄体数, 着床数, 着床率, 胎児の着床後死亡率, 生存胎児数, 胎児の性比および生存胎児体重において投薬の影響は認められなかった。また胎児の外形, 内臓および骨格の各形態観察の結果においても投薬の影響は認められなかった。

以上の結果から, 雌雄親動物において1 μ g/kg/日の投与によっても軽度な一般毒性学的影響が認められるものの, 生殖機能および胎児の発生に対する無毒性量はいずれも100 μ g/kg/日であると結論した。

表二—9 ラット妊娠前および妊娠初期静脈内投与試験成績

動物種・系統 週齢・性・体重		ラット (Slc:SD, 雄6~7週齢, 雌8~9週齢) 体重範囲 (投与開始時) 雄207~236g, 雌188~219g				
投与方法 投与経路		雄 交配前63日間以上, 雌 交配前14日間~妊娠7日 1日1回, 静脈内投与 投与液量: 2mL/kg				
投与量 (μ g/kg/日)		0(溶解)	1	10	100	生理食塩液
動物数	雄	25	25	25	25	25
	雌(妊娠)	25(25)	25(24)	25(22)	25(23)	25(21)
親動物 雄	死亡数	0	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—	—
	体重 (投与63日, g)	421.5 $\pm$ 25.6	415.8 $\pm$ 26.8	417.8 $\pm$ 26.0	413.2 $\pm$ 27.0	416.5 $\pm$ 38.7
	摂餌量 (投与45日, g/日)	22.2 $\pm$ 0.8	22.8 $\pm$ 1.1	24.6 $\pm$ 1.1**	25.4 $\pm$ 1.1**	22.4 $\pm$ 0.5
	摂水量 (投与8日, g/日)	29.8 $\pm$ 2.0	34.2 $\pm$ 3.1*	37.6 $\pm$ 1.7**	45.2 $\pm$ 5.5**	31.2 $\pm$ 1.5
	交尾率 (%)	100	96.0	88.0	96.0	87.5
	受胎率 (%)	100	100	100	95.8	100
	剖検	—	—	—	—	—
	血液化学的検査					
	カルシウム (mg/dL)	10.25 $\pm$ 0.44	11.38 $\pm$ 0.66**	11.51 $\pm$ 0.42**	12.05 $\pm$ 0.65**	10.25 $\pm$ 0.33
親動物 雌	尿素窒素 (mg/dL)	17.2 $\pm$ 2.2	15.8 $\pm$ 1.7*	15.4 $\pm$ 1.9**	15.0 $\pm$ 2.6**	16.3 $\pm$ 2.0
	クレアチニン (mg/dL)	0.66 $\pm$ 0.04	0.64 $\pm$ 0.05	0.60 $\pm$ 0.03**	0.61 $\pm$ 0.04**	0.65 $\pm$ 0.07
	死亡数 交配前	0	0	0	0	1 ¹⁾
	死亡数 交配後	0	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—	—
	体重 (投与7日, g)	211.6 $\pm$ 9.1	211.5 $\pm$ 9.0	210.3 $\pm$ 11.6	202.6 $\pm$ 9.9**	212.3 $\pm$ 8.1
	摂餌量 (投与7日, g/日)	15.8 $\pm$ 0.4	15.4 $\pm$ 1.1	15.6 $\pm$ 1.5	14.8 $\pm$ 0.8*	16.2 $\pm$ 0.4
	摂餌量 (妊娠7日, g/日)	17.8 $\pm$ 1.8	18.7 $\pm$ 3.0	20.3 $\pm$ 2.9**	20.5 $\pm$ 2.8**	18.8 $\pm$ 2.6
	摂水量 (妊娠8日, g/日)	25.9 $\pm$ 3.6	39.2 $\pm$ 8.3**	53.8 $\pm$ 12.2**	63.1 $\pm$ 12.8**	27.0 $\pm$ 4.3
	性周期正常率 (%)	92.0	92.0	88.0	72.0	95.8
胎児 F1	交尾率 (%)	100	96.0	88.0	96.0	87.5
	受胎率 (%)	100	100	100	95.8	100
	黄体数	13.6 $\pm$ 1.6	12.8 $\pm$ 1.4	13.5 $\pm$ 1.1	13.2 $\pm$ 1.8	13.0 $\pm$ 1.2
	着床数	12.6 $\pm$ 2.1	11.6 $\pm$ 2.7	13.0 $\pm$ 1.1	12.1 $\pm$ 2.2	12.6 $\pm$ 1.6
	着床率 (%)	92.8 $\pm$ 11.2	90.6 $\pm$ 18.2	96.1 $\pm$ 5.2	92.4 $\pm$ 15.0	97.0 $\pm$ 7.6
	剖検	—	—	—	—	—
	血液化学的検査					
	尿素窒素 (mg/dL)	17.4 $\pm$ 2.6	17.2 $\pm$ 3.1	14.9 $\pm$ 2.5**	15.6 $\pm$ 3.0*	16.3 $\pm$ 3.1
	着床後死亡率 (%)	6.3 $\pm$ 7.3	7.7 $\pm$ 9.8	5.3 $\pm$ 9.8	6.2 $\pm$ 7.5	7.7 $\pm$ 7.4
	生存胎児数	11.8 $\pm$ 2.2	10.8 $\pm$ 2.9	12.3 $\pm$ 1.7	11.4 $\pm$ 2.4	11.6 $\pm$ 1.9
胎児 F1	性・比 (雄/雌)	1.05	0.98	0.94	1.00	1.10
	体重 (g)					
胎児 F1	雄	5.26 $\pm$ 0.22	5.37 $\pm$ 0.25	5.29 $\pm$ 0.28	5.37 $\pm$ 0.24	5.25 $\pm$ 0.20
	雌	5.04 $\pm$ 0.22	5.04 $\pm$ 0.26	4.96 $\pm$ 0.26	5.07 $\pm$ 0.28	4.96 $\pm$ 0.21
胎児 F1	外形異常頻度 (%)	0	0	0	0	0
	内臓異常頻度 (%)	2.8	1.0	2.3	0	0
胎児 F1	型 (例数)	腎盂拡張(1) 胸腺頸部残留(2)	小舌、脳室拡張 および無眼球(1)	胸腺頸部残留(2)		
	骨格異常頻度 (%)	0	0	0	0	0
胎児 F1	骨格変異頻度 (%)	11.3	9.9	4.9	9.9	4.6
	型 (例数)	腰肋(15)他	仙椎の腰椎化(1) 腰肋(13)他	腰肋(4)他	仙椎の腰椎化(4) 腰肋(16)他	腰肋(2)他
胎児 F1	仙尾椎体数	12.6 $\pm$ 0.5	12.9 $\pm$ 0.7	12.6 $\pm$ 0.7	12.9 $\pm$ 0.7	12.7 $\pm$ 0.7
	無毒性量 親動物一般毒性 親動物生殖機能 胎児	1 μ g/kg/日未満 100 μ g/kg/日 100 μ g/kg/日				

—: 特記すべき所見なし, 数値は平均値 $\pm$ 標準偏差あるいは発現頻度

*p<0.05, **p<0.01(StudentあるいはAspin-Welchのt検定)

1) 尿道結石のため死亡。

(2) ラット器官形成期静脈内投与試験

ラット (Slc:SD) を用い、OCTの0 (溶媒), 1, 10, 100 μ g/kg/日を胎児の器官形成期 (妊娠7~17日) に静脈内投与し、母動物の生殖機能並びに胎児および出生児に及ぼす影響を検討した。その成績の概略を表ニ-10に示す。投与量はラット妊娠前および妊娠初期静脈内投与試験の成績を参考に設定した。同試験において1 μ g/kg/日以上で摂水量の増加および血清カルシウムの増加, 100 μ g/kg/日で体重および摂餌量の減少が認められたが、胎児や生殖機能への影響は認められなかったことから、本試験の高用量を100 μ g/kg/日とした。

母動物において、1 μ g/kg以上の投与群に摂水量の増加, 10 μ g/kg以上の投与群に摂餌量および体重の減少が認められた。

黄体数, 着床数, 着床率および胎児の性比において投薬の影響は認められなかった。1 μ g/kg群において胎児の着床後死亡率の上昇, 生存胎児数の減少および出生児体重の減少が認められた。しかし, 10 μ g/kg以上の投与群においてはそれらの変化は認められなかったことから、投薬に起因した変化ではないと判断した。また10 μ g/kg以上の投与群において胎児体重の増加が認められたが、軽度であり同群の出生児体重に投薬の影響が認められないことから、毒性変化ではないと判断した。胎児の外形, 内臓および骨格の各形態観察の結果において、投薬の影響は認められなかった。また出生児の生存, 形態分化, 行動・機能検査ならびに生殖機能においても投薬の影響は認められなかった。

以上の結果から、母動物において1 μ g/kg/日の投与によっても軽度な一般毒性学的影響が認められるものの、生殖機能および次世代児の発生・発達に対する無毒性量はいずれも100 μ g/kg/日であると結論した。

表二-10 ラット器官形成期静脈内投与試験成績

動物種・系統 週齢・性・体重		ラット (SIC:SD, 雌11~14週齢), 11~14週齢の同系統雄と交配 体重(妊娠0日) 雌 212~281g			
投与経路・投与経路		妊娠7~17日に1日1回, 静脈内投与 投与液量: 2mL/kg			
投与量(μ g/kg/日)		0(溶媒)	1	10	100
動物数	妊娠末期剖検	22	23	21	23
	自然分娩	11	12	12	12
母動物	死亡数	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	体重(妊娠11日, g)	279.6 $\pm$ 11.6	278.0 $\pm$ 14.3	272.1 $\pm$ 11.0**	264.9 $\pm$ 12.8**
	摂餌量(妊娠11日, g/日)	19.1 $\pm$ 2.2	19.4 $\pm$ 3.4	17.0 $\pm$ 2.5**	14.0 $\pm$ 4.4**
	摂水量(妊娠18日, g/日)	38.0 $\pm$ 11.2	49.1 $\pm$ 5.5**	61.5 $\pm$ 15.2**	70.7 $\pm$ 17.5**
	黄体数	14.8 $\pm$ 1.7	14.6 $\pm$ 1.3	14.3 $\pm$ 1.4	14.2 $\pm$ 1.3
	着床数	14.1 $\pm$ 1.6	13.7 $\pm$ 2.0	13.4 $\pm$ 1.6	14.0 $\pm$ 1.4
	着床率(%)	95.9 $\pm$ 6.0	93.9 $\pm$ 10.0	93.4 $\pm$ 7.1	98.4 $\pm$ 3.1
	剖検	—	—	—	—
	妊娠期間	21.7 $\pm$ 0.5	21.3 $\pm$ 0.5	21.5 $\pm$ 0.5	21.3 $\pm$ 0.5
胎児	分娩異常例数	0	0	0	0
	着床後死亡率(%)	5.1 $\pm$ 5.6	14.4 $\pm$ 16.6*	5.8 $\pm$ 6.1	7.3 $\pm$ 5.6
	生存胎児数	13.5 $\pm$ 2.0	11.7 $\pm$ 2.8*	12.6 $\pm$ 1.8	12.9 $\pm$ 1.3
	性比(雌/雄)	0.97	0.82	0.93	0.89
	体重(g) 雄	5.21 $\pm$ 0.19	5.34 $\pm$ 0.26	5.33 $\pm$ 0.21	5.38 $\pm$ 0.12**
	雌	4.88 $\pm$ 0.20	5.01 $\pm$ 0.36	5.08 $\pm$ 0.21**	5.13 $\pm$ 0.15**
	外形異常頻度(%)	0.6	0.7	0	0
	型(例数)	矮小児(2)	矮小児(1) 無下顎(1)		
	内臓異常頻度(%)	3.2	7.4	0	1.1
	型(例数)	胸腺頸部残留(3)	眼球欠如(1), 小舌(1) 心室中隔欠損(1)他		腎盂拡張(1)
F1	骨格異常頻度(%)	0.5	0.5	0	1.0
	型(例数)	中軸骨格異常(1)	胸椎, 肋骨欠如(1)		波状肋骨(1) 頸椎弓癒合(1)
	骨格変異頻度(%)	10.7	9.1	7.6	11.7
	型(例数)	腰肋(11)他	腰肋(9)他	腰肋(9)他	腰肋(14)他
出生児	仙尾椎体数	12.9 $\pm$ 0.7	12.9 $\pm$ 0.8	13.0 $\pm$ 0.9	13.0 $\pm$ 0.8
	出産率(%)	100	100	100	100
	出生率(%)	93.2	93.3	89.3	87.2
	4日生存率(%)	100	100	98.7	100
	離乳率(%)	100	100	100	100
	体重(g) 生後0日 雄	6.01 $\pm$ 0.39	5.87 $\pm$ 0.40	6.11 $\pm$ 0.52	5.90 $\pm$ 0.45
	雌	5.75 $\pm$ 0.43	5.58 $\pm$ 0.37	5.76 $\pm$ 0.41	5.58 $\pm$ 0.36
	生後21日 雄	46.7 $\pm$ 4.7	44.5 $\pm$ 2.4**	46.8 $\pm$ 4.7	46.1 $\pm$ 4.7
	雌	45.1 $\pm$ 4.0	42.8 $\pm$ 3.0**	44.7 $\pm$ 4.3	44.4 $\pm$ 4.0
	一般状態	—	—	—	—
F1	形態分化 ^{a)}	—	—	—	—
	行動・機能検査 ^{a)}	—	—	—	—
	交尾率(%)	100	100	100	100
	受胎率(%)	100	100	100	100
胎児	着床率(%)	95.2 $\pm$ 6.4	97.9 $\pm$ 3.1	86.4 $\pm$ 25.5	95.7 $\pm$ 4.4
	着床後死亡率(%)	4.1 $\pm$ 6.5	9.6 $\pm$ 9.5	3.8 $\pm$ 6.0	6.5 $\pm$ 17.6
	生存胎児数	13.9 $\pm$ 2.3	14.0 $\pm$ 2.3	13.3 $\pm$ 4.4	13.8 $\pm$ 2.7
	性比(雌/雄)	1.01	0.85	1.05	1.10
F2	体重(g) 雄	5.26 $\pm$ 0.21	5.35 $\pm$ 0.15	5.39 $\pm$ 0.29	5.41 $\pm$ 0.19
	雌	5.00 $\pm$ 0.21	5.07 $\pm$ 0.22	5.14 $\pm$ 0.27	5.08 $\pm$ 0.22
	外形異常頻度(%)	0	0	0	0
無毒性量 母動物一般毒性 母動物生殖機能 胎児及び出生児		1 μ g/kg/日未満 100 μ g/kg/日 100 μ g/kg/日			

—: 特記すべき所見なし, 数値は平均値 $\pm$ 標準偏差あるいは発現頻度

*p<0.05, **p<0.01 (StudentあるいはAspin-Welchのt検定又はpitman検定)

1) 耳介開展(生後4日), 歯芽萌出(生後13日以降), 眼瞼開裂(生後18日), 精巣下降(生後28日), 臍開口(生後35日以降)

2) 正向反射(生後9日), 背地走性(生後14日), 耳介反射(生後28日), ロ-プロット(生後28日), オ-フ-ン-ノ-ット(生後35日),

瞳孔反射(生後35日), ホットプレート(生後42日), 水迷路(生後56日), 性周期(生後63日以降)

〔追記〕 1 μ g/kg 群の着床後死亡率上昇に関する考察

ラット器官形成期静脈内投与試験(試験期間:91.2.26-91.11.29)前後に当施設でF0動物の帝王切開検査を実施した6試験の対照群における着床後死亡率および生存胎児数のデータ(平均値 $\pm$ 標準偏差)を以下に示した。

試験期間	90.3.7- 91.2.19	90.6.19- 91.2.25	90.7.10- 91.1.16	91.1.8- 91.8.29	92.12.22- 93.6.16	93.12.14- 94.6.29
試験種	Seg. II po	Seg. I iv	Seg. I po	Seg. II po	Seg. I pc	Seg. I im
投与物質	3%77t [*] アコ [*] ム	リン酸緩衝液	3%77t [*] アコ [*] ム	3%77t [*] アコ [*] ム	白色ワリソ	リン酸緩衝液
動物数	23	25	22	23	25	24
着床後死亡率	6.7 $\pm$ 11.4	6.3 $\pm$ 7.3	8.2 $\pm$ 7.3	4.4 $\pm$ 6.7	4.5 $\pm$ 5.7	1.4 $\pm$ 3.7
生存胎児数	12.4 $\pm$ 2.9	11.8 $\pm$ 2.2	13.4 $\pm$ 1.5	13.1 $\pm$ 1.5	12.6 $\pm$ 1.6	13.6 $\pm$ 3.1

投与期間 Seg. I : 交配前 14 日から妊娠 7 日まで, Seg. II : 妊娠 7 日から 17 日

上記のように本試験実施当時の当施設における着床後死亡率は 1.4~8.2%であり, 本試験の対照群における着床後死亡率は 5.6%であったことから, 背景データと比較し大差は無いものとする。一方, 1 μ g/kg 群において着床後死亡率が 14.4 $\pm$ 16.6% (平均値 $\pm$ 標準偏差) と背景データと比較して高いが, 着床後死亡率が 24~64%と極端に高い 5/23 例 (表ニ-10-2 部分) により引き上げられたためである。この原因は不明であるが, 中間用量の 10 μ g/kg 群および高用量の 100 μ g/kg 群では着床後死亡率の増加が認められていないことから, 1 μ g/kg 群における着床後死亡率の増加は少なくとも OCT によるものでないと判断した。なお, 着床後死亡率が極端に高い 5 例を除いた 1 μ g/kg 群の残りの 18 例の着床後死亡率は 7.2 $\pm$ 6.6% (平均値 $\pm$ 標準偏差) であった。また, 生存胎児数の減少は着床後死亡率の増加に付随した変化であり, OCT によるものでないと判断した。

表ニ-10-2 対照群および1 μ g/kg 群の個体別の着床後死亡率

対照群 (動物番号)	着床後死亡数 ／着床数	着床後 死亡率(%)	1 μ g/kg 群 (動物番号)	着床後死亡数 ／着床数	着床後 死亡率(%)
20001	0/14	0	20101	2/14	14
20002	1/17	6	20102	4/14	29
20003	1/15	7	20103	1/14	7
20004	0/15	0	20104	9/14	64
20005	2/14	14	20105	5/15	33
20006	2/12	17	20106	1/17	6
20008	1/14	7	20107	1/14	7
20009	0/17	0	20108	1/14	7
20010	0/14	0	20109	2/11	18
20011	0/13	0	20110	3/16	19
20012	1/16	6	20111	0/14	0
20013	0/13	0	20112	2/13	15
20014	1/14	7	20113	0/14	0
20015	1/14	7	20114	4/17	24
20016	2/12	17	20115	1/13	8
20017	0/15	0	20116	0/11	0
20018	0/15	0	20117	6/12	50
20019	0/13	0	20118	1/16	6
20020	1/12	8	20119	0/8	0
20021	1/15	7	20120	1/13	8
20022	1/11	9	20121	0/14	0
20023	0/16	0	20122	2/13	15
			20123	0/15	0

部分；着床後死亡率が極端に高い例

(3) ウサギ器官形成期静脈内投与試験

ウサギ (Kb1:JW) を用い、OCTのO (溶媒), 0.04, 0.2, 1 μ g/kg/日および生理食塩液を胎児の器官形成期 (妊娠6~18日) に静脈内投与し, 母動物の生殖機能並びに胎児に及ぼす影響を検討した。その成績の概略を表ニ-11に示す。投与量は0.3~300 μ g/kgの用量で妊娠ウサギを用いて実施した予備試験において3 μ g/kg以上の投与群で母動物が死亡し, 0.3 μ g/kg群においても母動物の体重増加が抑制されたことから, 本試験の高用量を1 μ g/kg/日とした。

母動物において, 死亡が0.04 μ g/kg群, 流産が0.2, 1 μ g/kg群および生理食塩液投与群に認められたが, これらはOCTの影響ではなく投与操作など他の因子によるものと判断された。一般状態の異常は認められなかったが, 1 μ g/kg群に摂餌量, 摂水量および体重の減少が認められた。妊娠20日の血清カルシウムおよび無機リンに投薬による変化は認められなかった。剖検において1 μ g/kg群に腺胃部粘膜の肥厚, 赤色斑散在, 腎臓の表面粗造が観察された。

黄体数, 着床数, 着床率, 胎児の着床後死亡率, 生存胎児数, 胎児の性比および生存胎児体重において投薬の影響は認められなかった。また胎児の外形, 内臓および骨格の各形態観察の結果においても, 投薬の影響は認められなかった。

以上の結果から, 母動物の一般毒性学的指標における無毒性量は0.2 μ g/kg/日, 母動物の生殖機能並びに胎児発生における無毒性量はいずれも1 μ g/kg/日であると結論した。

[追記] 死亡, 流産に関する考察

死亡例については, 低用量群(0.04 μ g/kg群)の1例が妊娠26日に死亡したが, 中間用量の0.2 μ g/kg群, 高用量の1 μ g/kg群では死亡例がみられないことから, この死亡は投薬に起因するものではないと判断した。

流産例については, 0.2 μ g/kgの1例で妊娠26日, 1 μ g/kg群の1例で妊娠28日, 生理食塩液群の2例で妊娠23日および妊娠28日に流産が観察された。本試験では流産が中間用量および高用量群で各1例ずつみられたものの, 生理食塩液群においても2例観察されており, 頻度的に生理食塩液群と差がないことから投薬による影響ではないと判断した。

これらの原因としては, 投与に際しての保定もしくは投与操作など動物を取り扱う操作が個体によっては過重なストレスとなり, 結果的に死亡や流産につながったと推察する。

表二-11 ウサギ器官形成期静脈内投与試験成績

動物種・系統	ウサギ(日本白色種: Kbl:JW, 雌4~5カ月齢)				
月齢・性・体重	同系統雄と交配, 体重(妊娠0日) 雌3.30~4.57kg				
投与経路・投与方法	妊娠6~18日に1日1回, 静脈内投与 投与液量: 0.1mL/kg				
投与量(μ g/kg/日)	0(溶媒)	0.04	0.2	1	生理食塩液
動物数	15	13	13	13	14
死亡数	0	1 ¹⁾	0	0	0
流産数	0	0	1	1	2
一般状態	—	—	—	—	—
母 体 重(妊娠17日, kg)	4.288 $\pm$ 0.382	4.132 $\pm$ 0.456	4.112 $\pm$ 0.284	3.809 $\pm$ 0.443**	4.111 $\pm$ 0.429
摂餌量(妊娠17日, g/日)	165.1 $\pm$ 63.6	155.8 $\pm$ 89.6	114.3 $\pm$ 55.2*	31.9 $\pm$ 51.8**	150.4 $\pm$ 76.9
摂水量(妊娠19日, g/日)	486.7 $\pm$ 87.7	578.1 $\pm$ 214.7	474.0 $\pm$ 213.2	219.6 $\pm$ 231.8**	530.0 $\pm$ 263.3
動物 黄体数	12.0 $\pm$ 1.7	12.3 $\pm$ 1.9	13.0 $\pm$ 2.6	11.8 $\pm$ 2.1	11.1 $\pm$ 1.7
着床数	9.3 $\pm$ 2.9	8.3 $\pm$ 3.1	10.9 $\pm$ 2.3	8.8 $\pm$ 2.2	8.5 $\pm$ 3.2
着床率(%)	77.8 $\pm$ 21.8	68.0 $\pm$ 24.3	84.7 $\pm$ 10.9	76.0 $\pm$ 19.2	76.1 $\pm$ 24.4
剖検(例数)	—	—	—	腺胃部粘膜の肥厚及び赤色斑腎臓表面粗造(3)	—
血液化学的検査					
カルシウム(mg/dL)	14.32 $\pm$ 0.65	14.65 $\pm$ 0.67	14.36 $\pm$ 0.80	14.24 $\pm$ 0.99	14.72 $\pm$ 0.97
無機リン(mg/dL)	4.95 $\pm$ 0.88	4.65 $\pm$ 0.49	4.96 $\pm$ 0.75	4.51 $\pm$ 1.19	5.02 $\pm$ 0.67
胎 着床後死亡率(%)	11.7 $\pm$ 13.3	12.4 $\pm$ 18.2	18.5 $\pm$ 26.4	17.2 $\pm$ 27.3	20.0 $\pm$ 34.6
生存胎児数	8.2 $\pm$ 2.7	7.1 $\pm$ 2.9	8.9 $\pm$ 3.4	7.2 $\pm$ 2.9	7.1 $\pm$ 4.1
性 比(雌/雄)	0.95	1.07	0.93	1.38	0.77
体 重(g)					
雄	40.15 $\pm$ 9.96	46.87 $\pm$ 6.40	44.54 $\pm$ 4.49	45.03 $\pm$ 8.40	45.73 $\pm$ 9.11
雌	40.89 $\pm$ 8.81	43.48 $\pm$ 6.85	41.47 $\pm$ 5.17	43.82 $\pm$ 6.90	45.05 $\pm$ 10.08
外形異常頻度(%)	0	2.1	1.0	0	0
型(例数)		無尾, 脊椎裂(2)	臍帯ヘルニア(1)		
内臓異常頻度(%)	0.8	2.1	0	0	0.8
型(例数)	無脾(1)	横隔膜ヘルニア(2)			総動脈幹(1)
骨格異常頻度(%)	0.7	3.3	2.2	0	1.7
型(例数)	肋骨短小(1)	中軸骨格異常(2) 肋骨癒合(1)	肋骨結節(2) 肋骨短小(1)		肋骨短小(1)
F1 骨格変異頻度(%)	53.3	55.0	41.8	56.6	36.1
型(例数)	腰肋(51)他	腰肋(37)他	腰肋(30)他	腰肋(38)他	腰肋(23)他
仙尾椎体数	19.2 $\pm$ 0.8	19.2 $\pm$ 1.1	19.0 $\pm$ 0.3	19.0 $\pm$ 0.6	19.2 $\pm$ 0.4
無毒性量 母動物一般毒性	0.2 μ g/kg/日				
母動物生殖機能	1 μ g/kg/日				
胎 児	1 μ g/kg/日				

—: 特記すべき所見なし, 数値は平均値 $\pm$ 標準偏差あるいは発現頻度* $p<0.05$, ** $p<0.01$ (StudentあるいはAspin-Welchのt検定)

1)妊娠26日に死亡

(4) ラット周産期および授乳期静脈内投与試験

ラット (Slc:SD) を用い、OCTのO (溶媒), 1.1, 11, 110 μ g/kg/日 (試験I) さらにO (溶媒), 0.011, 0.11, 1.1 μ g/kg/日 (試験II) を周産期および授乳期 (妊娠17日～分娩後21日) に静脈内投与し、母動物の生殖機能および出生児に及ぼす影響を検討した。その成績の概略を表ニ-12に示す。投与量はラット妊娠前および妊娠初期静脈内投与試験

並びにラット器官形成期静脈内投与試験の成績を参考に設定した。両試験において、1 μ g/kg/日以上で摂水量の増加、100 μ g/kg/日で体重および摂餌量の減少が認められたが、胎児や生殖機能への影響は認められなかったことから、本試験の高用量を110 μ g/kg/日とした。

母動物において、摂餌量の減少が1.1 μ g/kg以上の投与群において認められたが、体重には投薬の影響が認められなかった。妊娠期間および分娩においても投薬の影響は認められなかった。

出生児において、1.1 μ g/kg以上の投与群に体重の増加抑制が認められたが、生存、形態分化、行動・機能検査並びに生殖機能に対し投薬の影響は認められなかった。

この出生児の体重増加抑制は、110 μ g/kg群では生後7日から、1.1 μ g/kgおよび11 μ g/kg群では生後21日から認められた。

本試験において投薬群における母動物の摂餌量は投与開始直後に一時的に減少したものの、授乳期間中は対照群と同様に推移していることから、出生児の体重増加抑制は母動物の栄養状態の不良に起因した変化ではないと考える。また、胎児の器官形成期静脈内投与試験では次世代児の体重推移に投薬の影響は認められなかった。さらに、本試験における生後0日の体重は、1.1あるいは11 μ g/kg群において対照群と差がなく、110 μ g/kg群においてはむしろ重く、出生時に発育抑制は認められなかった。

乳汁中移行に関する検討において、分娩10日目の哺育中の母ラットに[2- 3 H] OCTを1 μ g/kgの投与量で単回静脈内投与した時、不揮発性放射能の血漿中濃度のAUCに対する乳汁中濃度のAUCの比は87.1%であり、OCTの乳汁中への移行が示唆されている。

これらのことから、1.1 μ g/kg以上の投薬群に認められた出生児の体重増加抑制は授乳期間中の投薬による影響と考えられた。原因としては乳汁中への移行が示唆されていることから、乳汁を介したOCTの影響であると推察しているが、母動物の哺育・泌乳への影響による可能性も否定できない。

1回目の試験においては、出生児の体重増加抑制が低用量の1.1 μ g/kgの投与量まで認められ、次世代児に対する無毒性量を得られなかったことから、次世代児の無毒性量を求めるため用量を下げて2回目の試験を実施した。その結果、1.1 μ g/kgの投与量まで母動物、次世代児には影響は認められなかった。

以上の結果から、1.1 μ g/kg/日の用量は母動物の摂餌量並びに出生児の体重増加に影響を及ぼす用量であると判断された。したがって、母動物の生殖機能における無毒性量は110 μ g/kg/日、出生児に対する無毒性量は0.11 μ g/kg/日であると結論した。

表二-12-1

ラット周産期および授乳期静脈内投与試験成績 (I)

動物種・系統 週齢・性・体重	ラット (Slc:SD, 雌12~15週齢), 11~15週齢の同系統雄と交配 体重(妊娠0日) 雌204~288g			
投与経路・投与方法	妊娠17日~分娩後21日に1日1回, 静脈内投与 投与液量: 2mL/kg			
投与量(μ g/kg/日)	0(溶媒)	1.1	11	110
動物数	25	25	25	25
母 動 物	死亡数	0	0	0
	一般状態	—	—	—
	体重(妊娠21日, g)	353.6 $\pm$ 19.7	348.6 $\pm$ 29.5	354.2 $\pm$ 29.5
	摂餌量(妊娠18日, g/日)	20.6 $\pm$ 2.2	19.3 $\pm$ 2.3*	19.0 $\pm$ 2.3*
	着床数	14.3 $\pm$ 1.5	13.7 $\pm$ 2.2	14.2 $\pm$ 1.2
	剖検	—	—	—
	妊娠期間	21.4 $\pm$ 0.5	21.5 $\pm$ 0.5	21.6 $\pm$ 0.5
	分娩異常例数	0	0	0
	出産率(%)	100	100	100
	出生率(%)	92.5	88.7	89.9
出 生 児	4日生存率(%)	93.0	86.7	89.6
	離乳率(%)	99.5	100	100
	体重(g) 生後0日 雄	5.68 $\pm$ 0.31	5.75 $\pm$ 0.51	5.89 $\pm$ 0.41
	雌	5.35 $\pm$ 0.31	5.46 $\pm$ 0.51	5.51 $\pm$ 0.37
	生後21日 雄	43.6 $\pm$ 4.3	42.0 $\pm$ 4.7*	41.4 $\pm$ 4.5**
	雌	42.1 $\pm$ 4.0	40.2 $\pm$ 4.4**	40.0 $\pm$ 3.7**
	一般状態	—	—	—
	形態分化 ¹⁾	—	—	—
	行動・機能検査 ²⁾	—	—	—
	交尾率(%)	100	100	100
F1	受胎率(%)	100	95.5	100
	着床率(%)	89.4 $\pm$ 20.0	95.2 $\pm$ 7.8	95.2 $\pm$ 6.4
	着床後死亡率(%)	7.3 $\pm$ 9.1	7.7 $\pm$ 16.2	6.4 $\pm$ 7.5
	生存胎児数	13.2 $\pm$ 3.6	14.1 $\pm$ 3.2	14.5 $\pm$ 2.0
	性比(雌/雄)	1.16	0.87	0.94
	体重(g) 雄	5.28 $\pm$ 0.41	5.27 $\pm$ 0.31	5.36 $\pm$ 0.27
	雌	5.01 $\pm$ 0.22	4.99 $\pm$ 0.29	5.04 $\pm$ 0.32
	外形異常頻度(%)	0	0	0
	無毒性量 母動物一般毒性	1.1 μ g/kg/日未満		
	母動物生殖機能	110 μ g/kg/日		
F2	出生児	1.1 μ g/kg/日未満		

—: 特記すべき所見なし, 数値は平均値 $\pm$ 標準偏差あるいは発現頻度* $p<0.05$; ** $p<0.01$ (StudentあるいはAspin-Welchのt検定)# $p<0.05$ (Pitman検定)

1) 耳介開展(生後4日), 歯芽萌出(生後13日以降), 眼瞼開裂(生後18日), 精巣下降(生後28日), 膈開口(生後35日以降)

2) 正向反射(生後9日), 背地走性(生後14日), 耳介反射(生後28日), ローレット(生後28日), オープンフィールド(生後35日), 瞳孔反射(生後35日), ホットプレート(生後42日), 水迷路(生後56日), 性周期(生後63日以降)

表二-12-2

ラット周産期および授乳期静脈内投与試験成績 (II)

動物種・系統		ラット (Slc:SD, 雌10~13週齢), 10~13週齢の同系統雄と交配			
週齢・性・体重		体重(妊娠0日) 雌196~256g			
投与経路・投与方法		妊娠17日~分娩後21日に1日1回, 静脈内投与 投与液量: 2mL/kg			
投与量(μ g/kg/日)		0(溶媒)	0.011	0.11	1.1
動物数		23	23	23	23
母動物	死亡数	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	体重(妊娠21日, g)	343.7 $\pm$ 26.6	347.2 $\pm$ 18.6	345.1 $\pm$ 15.8	345.1 $\pm$ 17.2
	摂餌量(妊娠20日, g/日)	16.5 $\pm$ 4.0	18.5 $\pm$ 2.6*	18.0 $\pm$ 2.2	17.5 $\pm$ 2.9
	着床数	14.5 $\pm$ 1.8	14.2 $\pm$ 1.5	14.4 $\pm$ 1.1	14.3 $\pm$ 1.5
	剖検	—	—	—	—
	妊娠期間	21.7 $\pm$ 0.5	21.7 $\pm$ 0.6	21.8 $\pm$ 0.5	21.6 $\pm$ 0.5
出生	分娩異常例数	0	0	0	0
	出産率(%)	100	100	100	100
	出生率(%)	89.8	81.9	89.5	90.7
	4日生存率(%)	69.8	77.3	76.5	80.8
	離乳率(%)	99.3	100	100	99.1
	体重(g) 生後0日 雄	5.7 $\pm$ 0.5	5.9 $\pm$ 0.4	5.9 $\pm$ 0.4	5.8 $\pm$ 0.4
	雌	5.4 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.4	5.6 $\pm$ 0.3	5.5 $\pm$ 0.4
F1	生後21日 雄	44.5 $\pm$ 4.9	45.1 $\pm$ 4.5	44.9 $\pm$ 5.0	43.9 $\pm$ 3.2
	雌	42.4 $\pm$ 5.1	42.9 $\pm$ 4.1	43.0 $\pm$ 4.0	42.6 $\pm$ 3.3
	一般状態	—	—	—	—
	形態分化 ^{a)}	—	—	—	—
	行動・機能検査 ^{b)}	—	—	—	—
	交尾率(%)	100	100	100	100
	受胎率(%)	94.1	100	100	100
胎児	着床率(%)	96.3 $\pm$ 6.6	91.5 $\pm$ 13.4	95.1 $\pm$ 7.2	97.4 $\pm$ 3.8
	着床後死亡率(%)	6.6 $\pm$ 11.6	8.8 $\pm$ 9.3	9.9 $\pm$ 15.3	4.3 $\pm$ 5.5
	生存胎児数	14.2 $\pm$ 2.4	13.3 $\pm$ 3.0	13.9 $\pm$ 3.0	15.1 $\pm$ 2.1
	性比(雄/雌)	1.14	0.79	1.10	1.00
	体重(g) 雄	5.2 $\pm$ 0.3	5.2 $\pm$ 0.3	5.4 $\pm$ 0.3	5.2 $\pm$ 0.3
	雌	4.9 $\pm$ 0.2	4.9 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.3	4.9 $\pm$ 0.3
	外形異常頻度(%)	0	0.3	0.4	0.8
F2	型(例数)		矮小児(1)	臍帯ヘルニアおよび矮小児(1)	臍帯ヘルニアおよび矮小児(1) 全身浮腫(1)
	無毒性 ^{c)} 母動物一般毒性 出生児	0.11 μ g/kg/日 0.11 μ g/kg/日			

—: 特記すべき所見なし, 数値は平均値 $\pm$ 標準偏差あるいは発現頻度

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ (StudentあるいはAspin-Welchのt検定)

- 1) 耳介開展(生後4日), 歯芽萌出(生後13日以降), 眼瞼開裂(生後18日), 精巣下降(生後28日), 陰嚢開口(生後35日以降)
2) 正向反射(生後9日), 背地走性(生後14日), 耳介反射(生後28日), ローレット(生後28日), 瞳孔反射(生後35日), 性周期(生後63日以降)

4. 依存性

一般薬理試験 において $100 \mu\text{g/kg}$ までを静脈内投与したが、マウスの一般症状、自発運動量、バルビタール睡眠、体温に影響は認められず、抗痙攣作用や鎮痛作用もみられなかった。

ラットおよびイヌにおける亜急性・慢性毒性 の結果、投薬期間および休薬期間を通して、OCTの中樞作用を反映したと思われる一般状態の変化、あるいは依存を形成したと思われる所見も認められなかった。

従って、OCTは依存形成能のない薬物であると判断し、依存性試験は実施しなかった。

5. 抗原性

(1) モルモットにおける抗原性試験

Hartley系雌モルモットにOCTの0.1あるいは $1 \mu\text{g/匹}$ を投与した時の特異的抗体産生を能動性全身アナフィラキシー (ASA) 反応、皮内反応および受動性皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応により検討した。その成績の概略を表二-13に示す。

いずれの惹起方法においても陽性反応は観察されなかった。なお、ovalbumin (OVA) をcomplete Freund's adjuvant (CFA) と共に皮下投与して感作した陽性対照群では、いずれの惹起方法においても全例にOVAに対する抗体が認められた。

表二-13 モルモットにおける抗原性試験成績

感作物質 および感作条件	誘発物質 反応系	OCT			OVA		
		ASA	皮内	PCA	ASA	皮内	PCA
		陽性動物数/検査動物数					
OCT ($0.1 \mu\text{g/匹}$) をCFAと共に 週1回、計4回背部に皮下投与		0/10	0/4	0/15	—	—	—
OCT ($1 \mu\text{g/匹}$) をCFAと共に 週1回、計4回背部に皮下投与		0/10	0/5	0/15	—	—	—
OVA (1mg/匹) をCFAと共に 週1回、計4回背部に皮下投与		—	—	—	10/10	5/5	15/15

—: not tested, CFA: complete Freund's adjuvant, OVA: ovalbumin

ASA: 能動性全身アナフィラキシー, PCA: 受動性皮膚アナフィラキシー

ASA反応での誘発投与量: OCT $30 \mu\text{g/匹}$, OVA 5mg/匹

皮内反応での誘発投与量: OCT $5 \mu\text{g}$, OVA $10 \mu\text{g}$

PCA反応での誘発投与量: OCT $30 \mu\text{g/匹}$, OVA 5mg/匹

(2) マウスにおける抗原性試験

OCTの1あるいは10 μ g/kgを水酸化アルミニウムゲル (Alum) と共に1週間間隔で計2回腹腔内投与した雄マウス (BALB/c, C3H/He) の血清を用い、ラットPCA反応で検討した。その成績の概略を表ニ-14に示す。

その結果、いずれにおいても陽性反応は観察されなかった。なお、OVAをAlumと共に腹腔内投与して感作した陽性対照群では、全例にOVAに対する陽性反応が認められた。

表ニ-14 マウスにおける抗原性試験成績

感作物質 および感作条件	マウス系統 誘発物質	BALB/c		C3H/He	
		OCT	OVA	OCT	OVA
		陽性動物数／検査動物数			
OCT(1μg/kg)をAlumと共に 1週間隔で2回腹腔内投与		0/5	—	0/5	—
OCT(10μg/kg)をAlumと共に 1週間隔で2回腹腔内投与		0/5	—	0/5	—
OVA(10μg/kg)をAlumと共に 1週間隔で2回腹腔内投与		—	5/5	—	5/5

—: not tested, Alum: aluminum hydroxide gel, OVA: ovalbumin
誘発投与量: OCT: 30 μ g/匹, OVA: 5mg/匹

以上、OCTは本実験条件下で抗原性を示さないと結論された。

6. 変異原性

OCTの変異原性を細菌を用いる復帰突然変異試験, 培養細胞を用いる染色体異常試験およびマウスを用いる小核試験により検討した。それらの成績の概略を表ニ-15~17に示す。

(1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA の5菌株を使用した。予備試験を行った結果(表ニ-15a), サルモネラ菌(TA100)では復帰変異コロニー数の減少傾向が93.8 μ g/plate以上で観察され, 大腸菌(WP2)では1500 μ g/plateでのみ同じ傾向がみられた。また, エタノールの添加可能な量はサルモネラ菌では50 μ L/plate, 大腸菌では100 μ L/plateであるとそれぞれ判断された。そこで, 最初の本試験では, サルモネラ菌については93.8 μ g/plateに近い100 μ g/plateを, 大腸菌では1500 μ g/plateをそれぞれ最高濃度に設定した。この試験においてサルモネラ菌における復帰変異コロニー数の減少傾向が予備試験で認められた程ではなかった(表ニ-15-1)。そこで, 溶媒のエタノールの添加可能な量も勘案して, サルモネラ菌だけで750 μ g/plate(エタノール添加可能量: 50 μ L/plate)を最高濃度とした追加試験を実施した。

したがって, 試験濃度は前者では3.1~750 μ g/plate, 後者では46.9~1500 μ g/plateとした。その結果, S9mix添加による代謝活性化の有無にかかわらず, 試験菌株の復帰変異コロニーの増加は観察されなかった。なお, すべての陽性対照物質は, 復帰変異コロニー数を明瞭に増加させた。

表ニ-15 a 細菌を用いた復帰突然変異予備試験成績

		プレート当たりの復帰変異コロニー数(平均値)			
試験物質濃度		TA100		WP2	
(μ g/plate)		S9Mix(-)	S9Mix(+)	S9Mix(-)	S9Mix(+)
OCT	0 ²⁾	77	112	78	69
	0.4	85	119	89	79
	1.5	83	139	71	80
	5.9	71	120	69	75
	23.4	78	112	73	86
	93.8	54	85	78	85
	375	43	56	53	69
	1500	28	17	41	50
ENNG ²⁾	2	-	-	1208	-
	3	584	-	-	-
2AA ³⁾	1	-	806	-	-
	20	-	-	-	1008
ethanol	0 (μ L)	128	157	80	78
	50	141	154	77	93
	100	79	116	78	70
	200	1	3	(Uncountable)	23

1) ethanol(99.5%) 100 μ L

2) N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

3) 2-aminoanthracene

サルモネラ菌に 対する抗菌性閾値

大腸菌に 対する抗菌性閾値

表二-15-1 細菌を用いる復帰突然変異試験成績（直接法1）

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/plate (平均値)				
		TA1535	TA100	TA1537	TA98	WP2uvrA
陰性対照 (溶媒)	0	9	77	12	39	—
OCT	3.1	12	80	7	40	—
	6.3	17	85	8	24	—
	12.5	13	84	12	31	—
	25	11	95	14	29	—
	50	13	77	12	35	—
	100	16	59	13	32	—
陽性対照						
ENNG	3	—	496	—	—	—
2NF	1	—	—	—	1371	—
SA	0.5	149	—	—	—	—
ICR-191	1	—	—	655	—	—

表二-15-2 細菌を用いる復帰突然変異試験成績（直接法2）

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/plate (平均値)				
		TA1535	TA100	TA1537	TA98	WP2uvrA
陰性対照 (溶媒)	0	18	145	13	26	35
OCT	46.9	—	—	—	—	31
	93.8	15	87	12	26	23
	187.5	13	89	8	19	32
	375	12	106	12	17	35
	750	16	109	8	24	31
	1500	—	—	—	—	45
陽性対照						
ENNG	2	—	—	—	—	945
	3	—	368	—	—	—
2NF	1	—	—	—	822	—
SA	0.5	140	—	—	—	—
ICR-191	1	—	—	505	—	—

n=2, —: not tested, 溶媒: エタノール

ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

2NF: 2-nitrofluorene

SA: sodium azide

ICR-191: 6-chloro-9-[3-(2-chloroethylamino)propylamino]-2-methoxyacridine

表二-15-3 細菌を用いる復帰突然変異試験成績（代謝活性化法1）

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/plate (平均値)				
		TA1535	TA100	TA1537	TA98	WP2uvrA
陰性対照 (溶媒)	0	9	109	17	43	—
OCT	3.1	16	106	13	38	—
	6.3	16	92	22	55	—
	12.5	20	84	13	37	—
	25	12	94	12	48	—
	50	21	74	12	54	—
	100	12	92	18	63	—
陽性対照 2AA	0.5	—	—	—	271	—
	1	—	443	—	—	—
	2	175	—	230	—	—

表二-15-4 細菌を用いる復帰突然変異試験成績（代謝活性化法2）

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/plate (平均値)				
		TA1535	TA100	TA1537	TA98	WP2uvrA
陰性対照 (溶媒)	0	15	172	31	44	39
OCT	46.9	—	—	—	—	35
	93.8	18	147	20	37	42
	187.5	10	126	17	45	31
	375	17	141	16	50	37
	750	19	129	28	47	31
	1500	—	—	—	—	38
陽性対照 2AA	0.5	—	—	—	161	—
	1	—	380	—	—	—
	2	230	—	99	—	—
	20	—	—	—	—	1112

n=2

—: not tested

溶媒: エタノール

2AA: 2-aminoanthracene

(2) 培養細胞を用いる染色体異常試験

チャイニーズハムスター肺由来の株化培養細胞 (CHL) を用いて実施した。予備試験 (表ニ-16-1a, 表ニ-16-2a) において, 直接法では $18.8 \mu\text{g/mL}$ で 59% の増殖抑制が, 代謝活性化法では $2.5 \mu\text{g/mL}$ 以上で 50% を超える増殖抑制が観察された。これらの成績をもとに $15 \mu\text{g/mL}$ を最高用量に設定した。直接法では 24 および 48 時間試験物質を暴露させ, 代謝活性化法では S9mix の存在化で 6 時間暴露後にさらに 18 時間細胞を培養した。その結果, 直接法および代謝活性化法ともにいずれの異常も増加しなかった。なお, 陽性対照物質では, 染色体異常細胞の増加がみられた。

表ニ-16-1 a OCT の染色体異常予備試験 (直接法)

試験物質	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	分裂指数 (%)	増殖抑制率 (%)
OCT	0	12.3	0
	4.7	8.4	31
	9.4	7.8	37
	18.8	5.1	59
	37.5	1.1	91
	75	0	100
	150	0	100
増殖抑制率50%閾値			

表ニ-16-2 a OCT の染色体異常予備試験 (代謝活性化法)

試験物質	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	分裂指数 (%)	増殖抑制率 (%)
OCT	0	12.2	0
	0.625	12.2	0
	1.25	13	-6
	2.5	5.9	52
	5	5.5	55
	10	5.4	56
	20	3.8	69
増殖抑制率50%閾値			

表二—16—1 培養細胞を用いる染色体異常試験成績 (直接法, 24時間暴露)

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	異常細胞出現率 (%)					総異常細胞 (%)	総異常細胞 (gap除く, %)	倍數性細胞 (%)
		gap	ctb	cte	csb	cse			
陰性対照 (溶媒)	0	0	0	0	0	0	0	0	1
OCT	1.9	0	0	0	0	0	0	0	0
	3.8	0	0	0	0	0	0	0	0.5
	7.5	0	0	0	0	0	0	0	0.5
	15	0	0	0	0	0	0	0	1
無処置対照	—	0.5	0	0	0.5	0	1	0.5	1
陽性対照									
Mitomycin C	0.05	0.5	20.5	41.5	2.5	0.5	52	51.5	4

表二—16—2 培養細胞を用いる染色体異常試験成績 (直接法, 48時間暴露)

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	異常細胞出現率 (%)					総異常細胞 (%)	総異常細胞 (gap除く, %)	倍數性細胞 (%)
		gap	ctb	cte	csb	cse			
陰性対照 (溶媒)	0	0.5	0	0	0	0	0.5	0	1
OCT	1.9	0.5	0	0	0	0	0.5	0	1.5
	3.8	0.5	0	0.5	0.5	0.5	2	1.5	0
	7.5	0	0	0	1	0	1	1	1
	15	0.5	0	0	0	0.5	1	0.5	0.5
無処置対照	—	1.5	0	0.5	0.5	0.5	2.5	1	0
陽性対照									
Mitomycin C	0.05	3.5	13.5	43	8	5.5	54	53	0

ctb: 染色体分型切断, cte: 染色体分型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換

表二-16-3 培養細胞を用いる染色体異常試験成績 (代謝活性化法、6時間暴露/18時間培養)

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9Mix	異常細胞出現率 (%)						総異常細胞 (%)	総異常細胞 (gap除く, %)	倍数性細胞 (%)
			gap	ctb	cte	csb	csc				
陰性対照 (溶媒)	0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5
OCT	1.9	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5
	3.8		0	0	0.5	0.5	0	0	1	1	1.5
	7.5		0	0.5	0	0	0	0	0.5	0.5	0.5
	15		0	0	0	0.5	0	0	0.5	0.5	2
無処置対照	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0	
陽性対照											
Benzo(a)pyrene	50	—	0	0	0	0	0.5	0.5	0.5	2.5	
陰性対照 (溶媒)	0	+	0	0	0	0	0	0	0	1	
OCT	1.9	+	0	0	0	0.5	0	0.5	0.5	0.5	1
	3.8		0.5	0	0	0	0	0	0	1	1
	7.5		0	0	0	0.5	0	0	0.5	0.5	1
	15		1	0	0	0	0	0	1	0	0.5
無処置対照	—	+	0	0	0.5	0	0	0.5	0.5	0.5	
陽性対照											
Benzo(a)pyrene	50	+	2.5	5.5	23	7.5	1.5	34	32	0.5	

ctb: 染色体分型切断, cte: 染色体分型交換, csb: 染色体分型切断, csc: 染色体分型交換

(3) マウスを用いる小核試験

雄マウス (Slc:ddY) の腹腔内にOCTを単回投与し、骨髓中の赤血球に形成される小核の出現頻度を調べた。予備試験において10mg/kg 投与で体重の減少や増加抑制がみられたので、投与量はその10mg/kg を最高用量にした1.25~10mg/kg に設定した。骨髓塗抹標本は投与後24, 48 および72 時間に作製した。各個体につき多染性赤血球および正染性赤血球それぞれ1000 個ずつを観察したところ、OCTのいずれの投与群においても小核の出現頻度に増加は認められなかった。なお、陽性対照物質では、小核を有する多染性赤血球の増加がみられた。

表ニ-17 a 小核予備試験における体重推移

試験物質	投与量 (mg/kg)	体重(g) ¹⁾				
		投与前	24h	48h	72h	96h
無処置	-	35.3±1.1	35.4±0.9	35.8±1.2	35.9±1.3	36.4±1.5
溶媒	0	37.0±1.2	37.3±1.0	37.6±1.0	38.7±1.0	38.5±0.8
	0.625	34.4±0.9	33.6±0.8	34.5±0.9	34.6±0.8	35.0±1.0
OCT	1.25	35.5±0.4	34.6±1.3	34.7±0.8	35.1±0.5	35.6±0.8
	2.5	35.1±1.1	34.8±0.8	34.7±0.9	35.3±0.7	36.0±0.7
	5	35.2±1.5	34.2±1.9	34.3±2.2	34.7±2.5	34.8±2.8
	10	34.9±0.9	34.4±0.6	34.0±0.9	34.0±0.5	34.5±0.7

1) 平均値±標準偏差

以上の成績から、OCTには変異原性はないと判断した。

表二-17 マウスを用いる小核試験成績

試験物質	投与量 (mg/kg)	骨髓採取時間 (hr)	MNPCE/PCE (per mil; 平均値)	MNNCE/NCE (per mil; 平均値)	PCE/E (%; 平均値)
陰性対照 (溶媒)	0	24	0.8	0.7	65.4
OCT	1.25	24	1.2	0.7	60.5
	2.5		1.7	0.5	59.2
	5		1.8	0.7	64.5
	10		1.2	0.5	59.9
無処置対照	—	24	2.3	1.0	67.8
陽性対照					
Mitomycin C	2	24	53.0**	0.8	54.3*
OCT	1.25	48	1.0	1.0	60.7
	2.5		2.0	0.2	64.3
	5		0.7	0.8	68.2
	10		0.5	0.8	64.4
OCT	1.25	72	1.0	0.8	57.4
	2.5		1.2	1.3	58.6
	5		1.7	0.8	59.9
	10		1.4	0.8	52.1*

n=5 or 6, *: p<0.05(Studentのt検定), **: p<0.01(Wilcoxonのrank-sum検定)

MNPCE: 小核保有多染性赤血球

PCE: 多染性赤血球

MNNCE: 小核保有正染性赤血球

NCE: 正染性赤血球

E: 赤血球

7. がん原性

(1) マウス 18 ヶ月間静脈内投与がん原性試験

マウス (Crj:B6C3F1) を用い OCT の 0 (溶媒), 3.3, 11 および 33 μ g/kg を 18 ヶ月間にわたり週 1 回静脈内投与し, がん原性を検討した。その成績の概略を表ニ-18 に示す。

一般状態において, 各群の生存率は雄で 78 から 96%, 雌で 90 から 96% の間にあり, 雌雄とも OCT 投与による影響は認められなかった。

体重, 摂餌量, 血液学的検査, 剖検および臓器重量では, OCT 投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査では, 肝細胞癌の発生頻度が 33 μ g/kg 群の雌 (5 例) で溶媒対照群 (0 例) と比べ有意に高かったが, 無処置対照群 (2 例) における発生頻度と大差なく, OCT 投与による影響はないと判断した。計画殺動物において肝細胞腺腫の発生頻度が, 33 μ g/kg 群の雄 (18 例) で溶媒対照群 (11 例) と比べ有意に高かったが, 死亡例も含めた集計では差がなかった。また, 雄では計画殺動物における肝細胞癌の発生頻度は溶媒対照群と差はなかった。これらの結果から, OCT は肝臓における腫瘍の発生頻度を増加させないと判断した。

その他の器官・組織においても, OCT 投与との関連性を疑わせる腫瘍は認められなかった。

以上の結果から, OCT はマウスに対して発がん性を示さないと結論した。

表二—18—1 マウス経脈内投与がん原性試験成績

動物種・系統・性別・体重	投与経路・投与方法	投与量 (mg/kg/週)	マウス (Cj: B6C3F ₁ , 6週齢)									
			体重増進 雄22.5~27.2g, 雌17.5~22.0g (投与開始時)					1週に1回, 雄78週齢, 雌79週齢 (投与開始時)				
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数			50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡動物数 (切道殺動物を含む)			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
投与開始1~26週			1	1	0	0	2	0	2	0	6	1
投与開始27~52週			4	2	0	4	6	2	9	2	1	4
投与開始53~投与期間終了時			5	3	4	4	8	2	11	2	7	5
生存率 (%)			90	94	96	92	84	94	78	96	86	90
一般状態			2	0	5	2	4	1	1	0	6	0
投与期間			13	4	11	5	16	5	14	3	15	8
体中 (g)			24.8 ± 1.0	19.6 ± 0.9	24.8 ± 0.9	19.6 ± 0.7	24.8 ± 1.0	19.5 ± 0.7	24.9 ± 1.0	19.5 ± 0.8	24.9 ± 0.9	19.3 ± 0.9
果糖 (g/100g)			45.5 ± 5.4	38.2 ± 4.5	43.5 ± 5.7	39.0 ± 4.3	44.1 ± 5.8	38.0 ± 4.2	43.0 ± 5.2	39.0 ± 5.2	41.6 ± 5.8	37.2 ± 3.9
果糖 (g/100g)			4.9 ± 0.6	4.1 ± 0.5	4.9 ± 0.6	3.9 ± 0.5	5.0 ± 1.1	4.0 ± 0.5	4.9 ± 0.9	3.8 ± 0.6	4.9 ± 0.6	3.7 ± 0.4
血液学的検査			5.7 ± 0.5	5.6 ± 1.3	6.0 ± 0.6	6.0 ± 1.7	6.2 ± 0.6	5.9 ± 0.9	5.9 ± 0.6	6.0 ± 1.6	5.7 ± 0.5	5.5 ± 0.8
白血球数 (10 ⁶ /mm ³) (投与期間終了時)			896 ± 140	864 ± 69	908 ± 104	910 ± 153	913 ± 123	857 ± 91	908 ± 96	872 ± 79	910 ± 101	881 ± 153
白血球数 (10 ⁶ /mm ³) (投与期間終了時)			28 ± 11	24 ± 14	39 ± 23	25 ± 14	54 ± 88	29 ± 36	31 ± 15	32 ± 36	37 ± 22	27 ± 18
血小板数 (10 ⁶ /mm ³)			43	46	48	45	41	47	39	48	43	45
血小板数 (mg%)			4.6 ± 1.0	7.3 ± 1.9	4.5 ± 1.1	7.2 ± 1.3	4.6 ± 1.1	7.3 ± 1.0	4.6 ± 1.7	7.6 ± 1.4	4.3 ± 0.6	7.4 ± 1.1
血小板数 (mg%)			10.3 ± 3.0	19.3 ± 4.9	10.6 ± 3.6	18.5 ± 3.0	10.9 ± 3.4	19.7 ± 3.2	10.8 ± 4.3	19.8 ± 3.9	10.7 ± 2.8	20.1 ± 3.1
血小板数 (mg%)			45 (5)	47 (3)	48 (2)	45 (5)	42 (8)	47 (3)	39 (11)	48 (2)	43 (7)	45 (5)
血小板数 (mg%)			0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (1)
血小板数 (mg%)			45 (5)	47 (3)	48 (2)	45 (5)	42 (8)	47 (3)	39 (11)	48 (2)	43 (7)	45 (5)
血小板数 (mg%)			23 (3)	15 (1)	20 (0)	16 (0)	16 (3)	11 (1)	22 (2)	13 (0)	17 (0)	9 (1)
血小板数 (mg%)			14 (4)	2 (2)	9 (0)	8 (3)	7 (4)	9 (2)	7 (8)	9 (2)	10 (0)	12 (5)
血小板数 (mg%)			28 (5)	17 (3)	25 (0)	23 (3)	19 (5)	17 (3)	25 (8)	18 (2)	23 (0)	20 (5)
血小板数 (mg%)			45 (5)	47 (3)	48 (2)	45 (5)	42 (8)	47 (3)	39 (11)	48 (2)	43 (7)	45 (5)
血小板数 (mg%)			0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
血小板数 (mg%)			45 (5)	47 (3)	48 (2)	45 (5)	42 (8)	47 (3)	39 (11)	48 (2)	43 (7)	45 (5)
血小板数 (mg%)			0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

a) 体重, 果糖量, 血液学的検査 (Studentの検定ないしAspin-Welchの検定) **p<0.01 *p<0.05

表二-18-2 マウス静脈内投与がん原性試験成績 (臓器別所見)

投与量 (ug/kg/週)	性別	例数/生存動物 (死亡動物)	0 (経口)			3.3			11			33			無処置					
			雄	雌	雄	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌			
投与量 (ug/kg/週)	性別	例数/生存動物 (死亡動物)	45 (5)	47 (3)	雄	48 (2)	45 (5)	雄	42 (8)	雌	47 (3)	雄	39 (11)	雌	48 (2)	雄	43 (7)	雌	45 (5)	
0	雄	皮膚腫瘍	0 (0)	0 (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)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	
		肝細胞腫瘍	11 (3)	6 (0)	0 (0)	13 (0)	6 (0)	0 (0)	14 (3)	2 (1)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	18* (3)	7 (0)	3 (2)*	11 (0*)	4 (0)	4 (0)	
		肝細胞癌	7 (2)	0 (0)	0 (0)	4 (0)	3 (1)	0 (0)	2 (1)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (3)	1 (0)	0 (0)	5 (0)	2 (0)	2 (0)	
		悪性血管内皮腫	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	3 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (0)	3 (0)	
		悪性組織球腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	
		腺腫 (腺癌)	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)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
		悪性血管内皮腫	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
		腺腫 (前葉)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
		腺腫 (中葉)	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 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	
		甲状腺/副甲状腺	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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
0	雌	肺腫瘍	4 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (0)	0 (1)	3 (0)	3 (0)	2 (0)	2 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	2 (0)
		悪性血管内皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性血管内皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)
		悪性血管内皮腫	0 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		白血球 (顆粒球系)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性リンパ腫	0 (1)	2 (1)	0 (0)	1 (0)	2 (1)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	5 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (0)	2 (0)	2 (0)	3 (1)	3 (1)
		悪性肥満細胞腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)
		悪性血管内皮腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	2 (0)
		悪性血管内皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		腺腫 (気管支肺胞)	8 (0)	1 (0)	0 (0)	3 (0)	2 (0)	0 (0)	2 (0)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (0)	1 (0)	1 (0)	2 (0)	3 (0)	0 (0)	0 (0)
0	雄	乳頭腫	1 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (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)
		腺腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	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)	0 (0)
		腺腫	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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		腺腫	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)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性組織球腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		平滑筋腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性血管内皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性血管内皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性組織球腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		平滑筋腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0	雌	子宮	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 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)
		内臓肉腫性ポリープ	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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性血管内皮腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	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)	0 (0)
		悪性組織球腫	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (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 (0)
		腺腫 (管状)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	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)	0 (0)
		奇形腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性血管内皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		血管腫	5 (0)	7 (0)	0 (0)	5 (0)	5 (0)	0 (0)	0*	0*	4 (0)	4 (0)	1 (0)	1 (1)	0*	0**	4 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		腺腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	2 (0)
		腺腫	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)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)
0	雄	脂肪腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		腺腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性血管内皮腫	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)
		悪性組織球腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		肉腫 (NOS*)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		悪性血管内皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		骨肉腫	0 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		骨肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		骨肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		骨肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

数値は発現例数。一は検出対象をなし
*p<0.05, **p<0.01 (Fisherの正確確率検定), 生存動物 (死亡動物) 全動物の順に検定結果を記載
a) 内臓肉腫リンパ腫および腸間膜リンパ腫以外のリンパ腫, b) 未分類

(2) ラット 24 カ月間静脈内投与がん原性試験

ラット (F344/DuCrj, 各群雌雄 50 例ずつ) を用い OCT の 0 (溶媒) 1.1, 3.3 および 11 μ g/kg を 24 カ月間にわたり週 1 回静脈内投与し, がん原性を検討した。なお, 無処置群も設けた。その成績の概略を表ニ-19 に示す。

一般状態では, 11 μ g/kg 群の雌の生存率 (54%) が溶媒対照群 (82%) と比較して有意に低下した。死亡動物の推定死因をみると, 白血病/悪性リンパ腫が雌 11 μ g/kg 群では 23 例中 11 例に, 溶媒対照群で 9 例中 4 例であった。白血病/悪性リンパ腫を含め特定の死因が, 有意に増加することはなかった。このことから自然発生性の病変による死亡が雌 11 μ g/kg 群で多かったものと判断した。

体重, 摂餌量および血液学的検査では, OCT 投与によると考えられる変化は認められなかった。

病理学的検査では, 副腎重量の増加が, 雌の全ての OCT 投与群と雄の 11 μ g/kg 群にみられ, 雌の 11 μ g/kg 群では肉眼的にも腫大あるいは結節の発生頻度が増加した。病理組織学的検査において, 副腎髄質細胞の限局性過形成が雌雄ともに OCT 投与群で発生頻度が増加した。また, 良性の副腎褐色細胞腫が全ての群で発生したが, 3.3 μ g/kg 群の雄および 11 μ g/kg 群の雌雄でその発生率は有意に増加した。一方, 副腎の悪性褐色細胞腫の発生は無処置対照群, 溶媒対照群あるいは OCT 投与群の雌雄いずれにおいても, 1 ないし 2 例にみられ, 発生頻度に統計学的差はなかった。

全ての投与群の雄に, 舌と心臓の動脈壁に石灰沈着がみられ, OCT 投与群で発生頻度が増加した。また, 雌においても, OCT 投与群で舌の動脈壁に石灰沈着の発生頻度が増加した。これらの所見は, 血清カルシウムの上昇によるものと判断した。

副腎髄質腫瘍の発生はラットに多くみられ, F344 ラットは好発系の代表例であることが知られている (R-6)。酢酸レチニール (R-7) およびキシリトール (R-8) のラットがん原性試験において血中のカルシウム濃度の上昇により, 自然発生する褐色細胞腫あるいは副腎髄質細胞の過形成の発生が増加することが報告されている。また, 活性型ビタミン D 誘導体を長期間ラットに反復投与することにより同様の変化が生ずることも既に報告されている (R-9)。

以上のことから, OCT 投与群で観察された副腎の良性の褐色細胞腫および髄質細胞の限局性過形成の発生例数の増加は, 血清カルシウムの上昇によると考えられるラットに特異的な反応と判断した。

その他, 病理組織学的検査では, 腎臓重量の増加が 11 μ g/kg 群の雌雄にみられたが, OCT 投与に起因すると考えられる病理組織学的変化はみられなかった。なお, 3.3 μ g/kg 群の雄 3 例で, 旁神経節腫がみられた。しかし, 11 μ g/kg 群では認められないことから, 投薬に起因するものではないと判断した。

以上の結果から, OCT の 1.1, 3.3 および 11 μ g/kg をラットに 24 カ月間にわたり週 1 回静脈内投与した結果, OCT そのものはラットに発がん性は示さないが, OCT の作用である血清カルシウム増加に基づくと考えられる変化として, ラットに自然発生する副腎髄質細胞の限局性過形成と良性の褐色細胞腫の発生を促進させることが示された。

〔追記〕 ラットにおける副腎髓質腫瘍に関する考察

副腎髓質腫瘍の発生はラットに多くみられ、がん原性試験で用いた F344 ラットは好発系であることが知られている (R-6)。また酢酸レチニールやキシリトールを2年間ラットに投与することにより、褐色細胞腫あるいは副腎髓質細胞の過形成の発生が増加することが報告されている (R-7, R-8)。酢酸レチニールをラットに投与した場合、骨組織からカルシウムが遊出して、血清のカルシウム濃度が上昇し、それに伴い、副腎髓質細胞におけるカテコールアミン合成が高まり、副腎髓質細胞の機能亢進が生じ、機能亢進の長期間持続に伴い過形成および腫瘍化が促進されると考えられている (R-10)。また、キシリトールなどのポリオールについては、消化管からのカルシウム吸収が増大することによって副腎髓質細胞腫瘍の発生率が増加するとされており、血清カルシウム濃度の増加に反応した副腎髓質の過形成ないし腫瘍性変化の発症は、ラットにおいて感受性が高いと考えられている (R-8, R-11)。

一方、マウスでは、消化管からのカルシウム吸収の増加と副腎髓質病変との関連性はないと考えられており、B6C3F1 マウスによる OCT のがん原性試験は、予備試験の結果から各 OCT 投与群でラットの3倍の投与量として行った。その結果、OCT 投与と関連した病理組織学的変化はなく、特に副腎の褐色細胞腫の発生は、溶媒対照群の雌 (1例) のみにみられ、髓質細胞の過形成は全く認められていない。

また、OCT の遺伝毒性について、微生物変異復帰試験、マウスを用いた小核試験およびほ乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験の結果、いずれの試験でも陰性であり、OCT は、遺伝子を直接障害する物質ではないと判断している。

Roe ら (R-8) は、ヒトにおいて副腎病変の発現とカルシウムの因果関係については証拠はなく、原発性副甲状腺機能亢進症と関連して血清カルシウム濃度の上昇した 700 症例について、副腎髓質腫瘍の発生を検討し、700 症例中 1 症例で認められたが、その症例は Sipple's disease (多発性内分泌腺腫症の II 型に相当する症候群で家族性に発生) であったことを報告している。

以上のことから、OCT のラットがん原性試験において、OCT 投与群で観察された副腎の褐色細胞腫および髓質細胞の過形成の発生例数の増加は、ビタミン D 誘導体である OCT が腸管からのカルシウム吸収を増加させ、血清カルシウム濃度の上昇をもたらした結果によるものと考えている。このような所見は、ラットに特異的に発症し易いものと考えられ、ヒトで副腎腫瘍の起こりうる可能性は極めて少ないものと思われる。

ラット静脈内投与がん原性試験成績

④生存率は落葉対照樹との比較 (ログランク型)の検定 ** $p<0.01$
⑤体内、肝臓、血液等の酸素、器官重 (Student)の検定ないしAspin-Welchの検定 ** $p<0.01$ * $p<0.05$
⑥樹皮組織中の炭素の阻礙性毒要の発生率の落葉対照樹と比較 Fisher の正確法 ** $p<0.01$ * $p<0.05$

表二-19-2 ラット静脈内投与がん原性試験成績 (臓器別所見)

投与量 (mg/kg/週)	0 (溶解)				1.1				3.3				11				無処置			
	雄	雌	41 (9)	44 (6)	雄	雌	38 (12)	43 (7)	雄	雌	41 (9)	39 (11)	雄	雌	40 (10)	27 (23)	雄	雌	40 (10)	43 (7)
病理組織学的所見	例数/生存動物 (死亡動物)																			
腫瘍性病変																				
副腎																				
肝臓	0 (0)	0 (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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
脾臓	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
膵臓	3 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腎臓 (腎臓)	6 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腎臓 (腎臓細胞・腎臓)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腎臓 (前葉)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腎臓 (前葉)	16 (1)	0 (0)	21 (4)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
中脳/前中脳	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
後葉細胞腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
C細胞腫	7 (1)	0 (0)	3 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
過剰上皮腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
C細胞腫	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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
白血腫 (LGL-)	1 (0)	0 (0)	6 (5)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
悪性リンパ腫	0 (0)	0 (0)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
悪性組織球腫	0 (0)	0 (0)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
血管腫 (肉腫)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腺腫 (気管支細胞)	3 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腺腫 (気管支細胞)	1 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
前門乳頭腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腺腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
平滑筋腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
平滑筋肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腺腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肉腫	42 (5)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腺腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓間質性ポリープ	0 (0)	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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腺腫	0 (0)	16 (3)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
平滑筋肉腫	0 (0)	1 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓間質性肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
悪性顆粒性肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
悪性顆粒性肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
悪性セロトリ細胞腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓間質性肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肉腫	0 (0)	2 (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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肉腫	0 (0)	0 (0)	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 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肉腫	0 (0)	0 (0)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肉腫 (尿管)	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肉腫	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
移行上皮癌	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)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

数値は発現例数。一は検査対象なし
a) *p<0.05, **p<0.01 (Fisherの正確確率検定), a)以外は*p<0.05, **p<0.01 (Fisherの正確確率検定), 生存動物 (死亡動物) 全動物の順に検定結果を記す
b) large granular lymphocytic

表二—19—3 ラット静脈内投与がん原性試験成績 (臓器別所見)

投与 部位	(μg/kg/週)	0.33				1.1				3.3				11				無処置			
		症	数	例	数	症	数	例	数	症	数	例	数	症	数	例	数	症	数	例	数
病理組織学的所見 (臓器別所見)	例数/生存動物 (死亡動物)	44 (6)	41 (9)	38 (12)	43 (7)	41 (9)	39 (11)	40 (10)	27 (23)	40 (10)	43 (7)										
頸下腺	神経鞘腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	腺癌	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	肉腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	線維肉腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	脂肪細胞腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)										
	乏突起線細胞腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	悪性神経鞘腫	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	星状線細胞腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)										
	悪性線細胞腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	線細胞腫	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	1 (0)	0 (0)	3 (0)	1 (1)	2 (1)	1 (0)										
甲状腺	脂肪肉腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	乳頭癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	神経鞘腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	皮膚扁平上皮癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	基底細胞癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	扁平上皮癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	線維肉腫	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)										
	骨肉瘤	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	悪性繊維性組織球腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	悪性血管肉腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
乳腺	血管肉腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	悪性神経鞘腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	腺癌	0 (0)	1 (0)	0 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)										
	多発性腺癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	悪性上皮癌	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	平滑筋肉腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	肝臓	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	扁平上皮癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	腺癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	脂肪肉腫	1 (1)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	2 (0)	0 (0)										
皮膚	扁平上皮癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	腺癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	腺癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	腺癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
陰核腺	腺癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	腺癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
角化細胞癌	角化細胞癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										
	角化細胞癌	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)										

数値は発現例数、一は必ず対象なし

8. その他

(1) 製剤のウサギ筋肉内投与による局所障害性試験

OC T注射用製剤 (4.4 μ g/mL バイアル) をウサギ (Kb1:JW) 各群雌3例の大腿外側広筋に単回投与し、局所障害性を検討した。投与後2日および14日に注射局所の充血および変色の程度を肉眼的に観察すると共に障害部面積 (長径 $\times$ 短径) を計測し、陰性対照の生理食塩液あるいは陽性対照の0.425%および1.7%酢酸溶液投与群と比較した。その成績の概略を表ニ-20に示す。

その結果、OC T投与では、投与後2日および14日いずれにおいてもウサギ左側外側広筋に何ら異常変化は観察されず、生理食塩液投与と同等であった。

以上の成績から、OC T注射用製剤は臨床使用時に、局所障害を起こす可能性は低いと考えられた。

表二—20 ウサギ筋肉内投与局所障害性試験成績

試験濃度		4.4 µg/mL バイアル (治験処方品)					
動物種・系統・月齢・性・体重		ウサギ (Kbi:JW, 3カ月齢) 体重 (投与時) 雌2.6~3.2kg					
投与経路 (方法)		大腿外側広筋に1mL/匹を筋肉内単回投与					
試験物質	観察日 (投与後)	動物数	充出血		変色		障害部面積 (mm ²)
			-	+	-	+	
生理食塩液	2日	3	3	0	0	0	0
4.4 µg/mL OCT溶液	2日	3	3	0	0	0	0
0.425% 酢酸溶液	2日	3	0	3	0	3	104~176
1.7% 酢酸溶液	2日	3	0	2	1	0	160~379
生理食塩液	14日	3	3	0	0	0	0
4.4 µg/mL OCT溶液	14日	3	3	0	0	0	0
0.425% 酢酸溶液	14日	3	2	1	0	1	0~35
1.7% 酢酸溶液	14日	3	1	2	0	1	35~186

障害部面積は長径×短径により算出した。

9. 強制劣化品の毒性

(1) 製剤および原薬の強制劣化品のラット1ヵ月間静脈内反復投与毒性試験

雌雄各群10匹のラット(S1c:SD)を用いて、OCTの注射用製剤強制劣化品、原体強制劣化品、原薬および溶媒を静脈内に1ヵ月間反復投与して毒性を比較検討した。投与量は、OCTのラット1ヵ月間の反復投与で明らかな毒性が認められた300 μ g/kg/日と設定した。両劣化品の投与量表示は劣化前のOCT量として示し、その成績の概略を表ニ-21に示す。

強制劣化品(製剤、原薬)および原薬投与群ではいずれも多尿、体重の増加抑制、摂餌量および摂水量の増加がみられた。また、尿検査においては尿量、尿中カルシウム排泄、尿中無機リン排泄の増加ならびに尿比重、pHの低下がみられた。血液化学的検査ではアルカリ性フォスファターゼ活性、血清カルシウムの増加および尿素窒素の減少等が認められた。病理学的には副腎、腎臓の重量増加、尿細管の石灰沈着、拡張および好塩基性化、大腿骨および胸骨海綿骨の増加がみられた。これらの変化に三者の間で著しい差はみられず、いずれもOCTにより誘発された高カルシウム血症にともなう毒性変化と判断された。

以上のように分解生成物を含む製剤あるいは原薬強制劣化品を投与したことによる新たな毒性が出現したり、OCTの毒性が増強されることはなかった。このことは、製剤および原薬において規格値以内の分解物は臨床使用上毒性学的に問題はないことを示している。

表二-21 OCT強制劣化品のラットにおける1か月間静脈内反復投与毒性試験成績

動物種・系統	ラット (SlcSD, 6週齢)							
雌雄・性・体重	体重範囲 (投与開始時) 雄187.5~212.6g, 雌134.7~160.9g							
投与溶液	製剤強制劣化品150µg/mL ^a 溶液, 原薬強制劣化品150µg/mL ^b 溶液, 原薬150µg/mL溶液							
溶媒	0.4%Tween20を含む1%エタノール生理食塩液							
投与経路・投与方法	1日1回, 1か月間静脈内投与, 投与経量 2mL/kg, 投与速度: 2mL/分							
投与物質	溶媒		製剤強制劣化品		原薬強制劣化品		原薬	
投与量 (µg/kg/日)	0		300 ^b		300 ^b		300	
性別	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
死亡数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態								
多尿 (投与6日以後)	—	—	+	+	+	+	+	+
体重(g)								
投与27日	350.0 ± 18.3	226.2 ± 14.1	341.7 ± 19.9	217.3 ± 13.0	340.3 ± 19.3	211.3 ± 16.8*	339.6 ± 15.3	208.4 ± 14.0*
摂餌量 (g/日)								
投与27日	24.5 ± 1.8	17.7 ± 0.6	28.1 ± 0.4	19.6 ± 0.2	26.6 ± 0.1	19.0 ± 0.6	28.1 ± 0.2	19.6 ± 0.3
摂水量 (g/日)								
投与27日	33.7 ± 0.8	30.9 ± 4.0	53.6 ± 0.7**	45.5 ± 1.0*	52.1 ± 2.8*	44.3 ± 0.8*	60.0 ± 3.5**	54.1 ± 3.2*
尿検査 ^{a)}								
尿量 (mL/日)	11.81 ± 3.37	11.26 ± 2.41	16.29 ± 5.17*	18.12 ± 3.91**	19.04 ± 10.14	17.92 ± 5.61**	17.02 ± 4.11**	19.70 ± 6.57**
尿比重	1.056 ± 0.010	1.054 ± 0.014	1.046 ± 0.01*	1.035 ± 0.007**	1.043 ± 0.009**	1.035 ± 0.009**	1.043 ± 0.008**	1.031 ± 0.007**
pH	—	—	—	↓	↓	↓	↓	↓
無機リン(mg/kg)	76.21 ± 10.19	90.49 ± 14.41	124.78 ± 22.68**	168.00 ± 17.18**	154.91 ± 20.24**	161.31 ± 21.28**	132.93 ± 13.28**	165.60 ± 17.10**
カルシウム(mg/kg)	2.42 ± 0.59	6.88 ± 4.52	37.20 ± 16.67**	60.45 ± 10.71**	40.47 ± 13.37**	56.48 ± 13.09**	40.13 ± 9.58**	66.63 ± 10.80**
血液学的検査 ^{a)}								
赤血球数 (10 ⁶ /µL)	881 ± 40	821 ± 43	872 ± 50	814 ± 53	884 ± 43	806 ± 54	850 ± 41	839 ± 56
血色素量 (g/dL)	17.1 ± 0.9	16.5 ± 0.7	16.7 ± 0.4	16.3 ± 0.8	16.7 ± 0.8	15.8 ± 0.9	16.1 ± 0.6**	16.3 ± 1.1
ヘマトクリット値 (%)	54.1 ± 2.6	49.6 ± 2.4	52.7 ± 2.3	48.5 ± 3.2	53.5 ± 2.9	48.1 ± 3.4	51.5 ± 2.3*	50.6 ± 3.4
平均赤血球容積 (pg)	19.4 ± 0.7	20.1 ± 0.5	19.2 ± 0.8	20.0 ± 0.8	18.9 ± 0.4	19.7 ± 0.5	18.9 ± 0.5	19.4 ± 0.5**
平均赤血球血色素量 (%)	31.7 ± 0.5	33.3 ± 0.7	31.7 ± 1.0	33.7 ± 1.0	31.3 ± 0.5	32.9 ± 0.7	31.2 ± 0.5	32.2 ± 0.4**
血液化学的検査 ^{a)}								
7-ヒドロキシコルチコステロン (IU/L)	531 ± 56	342 ± 28	576 ± 72	493 ± 74**	645 ± 114*	426 ± 72**	641 ± 61**	409 ± 72*
γ-グルタミル转氨酶 (IU/L)	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.1	2.1 ± 0.7	1.7 ± 0.2	1.9 ± 0.2	1.8 ± 0.2	2.0 ± 0.3*
尿酸値 (mg/dL)	18.2 ± 1.6	17.8 ± 2.3	16.7 ± 1.5*	14.4 ± 2.7**	16.4 ± 1.6*	14.1 ± 1.3**	15.7 ± 1.7**	14.6 ± 2.0**
クレアチニン (mg/dL)	0.32 ± 0.04	0.35 ± 0.04	0.29 ± 0.04	0.32 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.03**	0.31 ± 0.04	0.30 ± 0.02**
総タンパク質 (g/dL)	6.30 ± 0.23	6.30 ± 0.16	6.12 ± 0.09*	6.28 ± 0.35	6.14 ± 0.19	6.08 ± 0.28*	6.09 ± 0.14*	6.19 ± 0.37
7-ヒドロキシコルチコステロン比	1.51 ± 0.09	1.58 ± 0.07	1.59 ± 0.05*	1.56 ± 0.16	1.64 ± 0.11**	1.61 ± 0.08	1.64 ± 0.12*	1.63 ± 0.11
無機リン (mg/dL)	7.24 ± 0.73	7.64 ± 0.44	7.35 ± 0.49	7.34 ± 0.48	7.26 ± 0.63	6.85 ± 0.35**	7.62 ± 0.69	6.96 ± 0.57**
カルシウム (mg/dL)	9.90 ± 0.17	9.74 ± 0.19	10.64 ± 0.51**	10.12 ± 0.41*	10.43 ± 0.34**	9.88 ± 0.32	10.74 ± 0.43**	10.23 ± 0.51*
剖検								
臓器重量 ^{a)} (mg/100g B.W.)								
腎臓	656 ± 35	677 ± 30	725 ± 51**	763 ± 37**	718 ± 46**	775 ± 59**	736 ± 42**	782 ± 28**
脾臓	19.9 ± 2.0	32.2 ± 3.5	21.9 ± 1.8*	37.3 ± 2.8*	21.5 ± 2.2	39.3 ± 3.3**	22.2 ± 3.3	39.0 ± 4.0**
病理組織学的検査								
腎臓 (尿細管)								
石灰化	1	3	8	9	9	6	8	8
拡張	1	0	2	1	3	5	2	5
好塩基性化	1	2	4	1	7	3	3	4
大腿骨 (骨幹部)								
海綿骨増加	0	0	3	1	0	0	1	1
胸骨								
海綿骨増加	0	0	2	0	2	0	1	0

—: 特記すべき所見なし, +: 所見あり, ↓: 低下, 数値は平均値と標準偏差あるいは発見例数, *p<0.05, **p<0.01 (StudentあるいはAspin-Welchのt検定)

1) 劣化前のOCT量に相当する。

2) 投与開始後3週に実施

検査項目: 尿量, 尿比重, pH, 潜血, ケトン体, グルコース, タンパク質, ウロビリノーゲン, ビリルビン, 尿酸値, ナトリウム, カリウム, 塩素, カルシウム, 無機リン

3) 投与開始後3週に実施

検査項目: 赤血球数, 血色素量, 網状赤血球比率, ヘマトクリット値, 血小板数, 白血球数, 白血球百分率, 血液像観察, 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, プロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間

4) 剖検時に実施

検査項目: アスパラギン酸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, アルカリ性フォスファターゼ, ロイシンアミノペプチダーゼ, 乳酸脱水素酵素,

コリンエステラーゼ, γ-グルタミル转氨酶, クレアチンフォスホキナーゼ, グルコース, 総ビリルビン, 直接ビリルビン, 間接ビリルビン,

総コレステロール, 遊離コレステロール, リン脂質, トリグリセリド, 遊離脂肪酸, 尿酸値, クレアチニン, 尿酸, 無機リン, カルシウム, 鉄, ナトリウム,

カリウム, 塩素, 総タンパク質, アルブミン, アルブミン・グロブリン比, タンパク分画 (アルブミン, α₁-グロブリン, α₂-グロブリン, β-グロブリン, γ-グロブリン)

5) 投与期間終了時に実施

測定臓器: 脳 (大脳, 小脳, 脳幹), 下垂体, 唾液腺 (下顎腺, 舌下腺), 胸腺, 心臓, 脾, 肝臓, 脾臓, 膵臓, 腎臓, 精巣, 前立腺, 精囊, 卵巣, 子宮

組織検査器官: 若重鼠測定臓器に加え, 眼球, 外視器, 耳下腺, ハーゲ腺, 舌, 咽頭, 中咽頭, 扁桃腺, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸,

腸間膜リンパ節, 大血管, 内臓諸臓器リンパ節, 脾臓, 膀胱, 皮膚, 精巣1休 (雄), 陰 (雄), 乳腺 (雌), 奇嚢 (胸部), 骨 (胸骨, 大腿骨), 骨髄 (胸骨・大腿骨),

骨髄腔 (大腿骨), 坐骨神経, 尾 (投与部位)

(2) 製剤および原薬の強制劣化品の変異原性試験

ＯＣＴ製剤劣化品および原薬劣化品 に関して、細菌を用いる復帰突然変異試験と培養細胞を用いる染色体異常試験により遺伝毒性の有無を検討した。劣化品の表示は劣化前のＯＣＴ量として示し、それらの成績の概略を表ニ-22に示す。

復帰突然変異試験には *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 の2種の菌株を使用した。予備試験で高濃度で抗菌活性が認められたことから、試験可能な濃度範囲として製剤劣化品は直接法で 0.78~50 μ g/plate, 代謝活性化法で 3.13~100 μ g/plate とした。また、原薬劣化品では直接法で 1.56~50 μ g/plate, 代謝活性化法で 3.13~100 μ g/plate とした。その結果、S9mix 添加による代謝活性化の有無に関わらず、試験菌株の復帰変異コロニーの増加は観察されなかった。なお、陽性対照物質は復帰変異コロニー数を明瞭に増加させた。

染色体異常試験にはチャイニーズハムスター肺由来の株化培養細胞（CHL）細胞を用い、直接法で24時間試験物質を暴露させた。50%以上の細胞増殖抑制を示した濃度を最高用量とし、製剤劣化品 3.75, 7.5, 15 μ g/mL とし、原薬劣化品は 15, 30, 60 μ g/mL とした。その結果、いずれの異常も増加しなかった。なお、陽性対照物質では、異常細胞は増加した。

以上の結果から、今回の実験条件下でＯＣＴの製剤および原薬に変異原性を有する分解生成物は生じないと結論できる。

表二-22-1 製剤劣化品の微生物復帰突然変異試験成績

S9 mix	試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/plate (平均値)	
			TA98	TA100
なし	陰性対照(溶媒)	0	11	151
	製剤劣化品 ¹⁾	0.78	11	135
		1.56	15	107
		3.13	10	137
		6.25	12	140
		12.5	10 *	140
		25	6 *	107 *
		50	10 *	44 *
	陽性対照			
	2NF	1	462	-
あり	ENNG	3	-	1536
	陰性対照(溶媒)	0	16	164
	製剤劣化品	3.13	17	173
		6.25	15	178
		12.5	16	180
		25	15	170
		50	16	177
		100	17 *	140 *
	陽性対照			
	2AA	0.5	74	-
		1	-	552

表二-22-2 原薬劣化品の微生物復帰突然変異試験成績

S9 mix	試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/plate (平均値)	
			TA98	TA100
なし	陰性対照(溶媒)	0	11	151
	原薬劣化品 ¹⁾	1.56	12	142
		3.13	14	118
		6.25	12	147
		12.5	19	126
		25	13	140
		50	10 *	101 *
	陽性対照			
	2NF	1	462	-
	ENNG	3	-	1536
あり	陰性対照(溶媒)	0	16	164
	原薬劣化品	3.13	16	164
		6.25	18	179
		12.5	24	149
		25	17	160
		50	12	173
		100	16	150
	陽性対照			
	2AA	0.5	74	-
		1	-	552

n=2

1) 試験濃度は劣化させる前のOCT濃度で表示。

溶媒：エタノール、

*：抗菌性あり

2NF：2-nitrofluorene

ENNG：N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

2AA：2-aminoanthracene

表二一22-3 製剤劣化品および原薬劣化品の染色体異常試験成績 (直接法)

試験物質	試験濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	構造異常を持つ細胞の出現率 (%)						総数 gap含む (%)	総数 gap除く (%)	1細胞あたりの 異常数	倍数体 (%)
		gap	ctb	cte	csb	csc	others				
陰性対照 (溶媒)	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0
製剤劣化品 ¹⁾	3.75	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	0.02	2.0
	7.5	2.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	6.0	4.0	0.04	0.0
	15	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	0.02	0.0
陽性対照 Mitomycin C	0.05	0.0	42.0	32.0	22.0	2.0	0.0	68.0	68.0	1.32	0.0
陰性対照 (溶媒)	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.0
原薬劣化品 ¹⁾	15	2.0	0.0	2.0	2.0	0.0	0.0	6.0	4.0	0.04	0.0
	30	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	0.02	0.0
	60	0.0	3.0	0.0	2.0	1.0	0.0	5.0	5.0	0.07	0.0
陽性対照 Mitomycin C	0.05	2.0	44.0	52.0	26.0	2.0	0.0	78.0	78.0	1.80	0.0

1) 被験物質の試験濃度は劣化させる前のOCT濃度で表示。

溶媒：エタノール

ctb: 染色分体型交換, cte: 染色分体型交換, csb: 染色分体型交換, csc: 染色分体型交換

10. 強制劣化品の類縁物質量

<引用文献>

- R-1) Physicians' Desk Reference^R 52 ed., 412 (1998)
- R-2) 小林和子ほか：薬理と治療, 23, Suppl.5, 11 (1995)
- R-3) 久保田隆ほか：薬理と治療, 23, Suppl.5, 63 (1995)
- R-4) 小林和子ほか：薬理と治療, 23, Suppl.5, 121 (1995)
- R-5) 久保田隆ほか：薬理と治療, 23, Suppl.5, 159 (1995)
- R-6) Strandberg, J. D.: Hyperplasia, Adrenal Medulla, Rat, Jones, T.C. et al. (eds):
Endocrine System, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 18 (1983)
- R-7) Kurokawa, Y., et al., J. Natl. Cancer Inst., 74, 715 (1985)
- R-8) Roe, F. J. C. and Bar, A., Human Toxicol., 4, 27 (1985)
- R-9) 八木健一ほか, 基礎と臨床, 30, 75 (1996)
- R-10) 林 裕, トキシコロジーフォーラム, 11, 550 (1988)
- R-11) Roe, F. J. C., Human Toxicol., 8, 87, (1989)

ホ. 薬理作用に関する資料

総 括

OCTの効力を裏付ける試験として、正常ウシ副甲状腺細胞あるいは慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞に対する副甲状腺ホルモン (PTH) 分泌抑制作用と腎不全動物モデルに対するPTH低下作用および骨病変に対する効果を検討した。

OCTは正常ウシ副甲状腺細胞あるいは慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来の副甲状腺細胞に対して有意なPTH分泌抑制作用を示し、その効果は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同程度であった。

また、慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症の動物モデルとして腎臓を部分摘除した5/6腎摘ラットと腎動脈を結紮したイヌ腎不全モデルを用いてOCTの効果を検討した。OCTは5/6腎摘ラットに対しては血清N-PTH値を低下させ、血清カルシウム(Ca)値の上昇は軽微であった。OCTと $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の用量反応直線の比較試験において、PTH抑制率は同等であるが、Ca上昇作用は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の方が強いことから、OCTは、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較して安全域の広い薬物である可能性が示された。また、イヌ腎不全モデルの血清intact-PTH値に対してもOCTは有意な低下作用を発揮したが、この時血中イオン化Ca値の上昇は認められなかった。

腎性骨異栄養症を呈する柴田腎炎ラットを用いて二次性副甲状腺機能亢進症によって引き起こされる骨病変に対するOCTの効果を骨組織形態計測で検討した結果、OCTは病態に伴う骨の高代謝回転を低下させた。またイヌ腎不全モデルに認められた腎性骨異栄養症に対しては無形成骨を誘導することなく異常な骨形成の亢進を抑制した。

効力発現に関する薬理作用を明らかにする目的で、OCTの副甲状腺細胞内への移行、ビタミンD受容体(VDR)との親和性、PTH mRNA発現、小腸Ca輸送、ビタミンD結合タンパク(DBP)との親和性、骨芽細胞に対する作用、代謝物のVDRとの親和性等について検討した。

ウシ副甲状腺細胞に取り込まれVDRに結合するOCTと $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の量を比較検討したところ、ほぼ同様の時間経過で細胞内への取り込みが増加し、VDRとの親和性は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のそれと比較して1/4から1/12であり、この程度の親和性を保持しているOCTの作用発現はVDRを介していると予想された。*In vivo*の効力発現についての検討では、正常ラットにOCTを投与すると $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同等の副甲状腺pre-pro PTH mRNAの発現抑制が認められ、腎不全ラットにOCTを投与しても副甲状腺のpre-pro PTH mRNAの発現の抑制が認められた。

血清Ca上昇作用に関するビタミンD欠乏ラットを用いた検討では、小腸Ca結合タンパクであるカルビンディンD9kの遺伝子は、OCT投与では $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与と同様そのmRNAの発現促進が認められたが、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与では48時間後までそれが持続したのに対してOCT投与では48時間まで

に投与前のレベルに戻った。また反転腸管法による検討では、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ により誘導される能動的腸管Ca輸送は明らかな二相性を示した。第一相は、投与後1時間から6時間にかけて急激に上昇する作用であり、第二相は投与後12時間以降から上昇する作用であった。OCTでも第一相は同様な傾向は見られたが第二相は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比べると、吸収能は有意に低いレベルで推移した。

またOCTの血中でのDBPとの親和性を検討した結果、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のそれに比較して著しく低いことが示され、このことがOCTの血中からの速やかな消失の一要因であると考えられた。

その他に、*in vitro*で骨芽細胞様細胞に対して作用が認められ骨への効果も予想された。

一般薬理試験では、OCTのラットへの静脈内投与において尿中Ca排泄や尿量の増加等が認められた。その他、*in vitro*の試験においてOCTはモルモット摘出回腸の収縮を抑制した。

以上の結果より、OCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様の機序で作用を発現していることが示唆された。一方、OCTのCa上昇作用は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比較して弱く、これはその生体からの速やかな消失と小腸におけるCa輸送機序の差異に起因すると考えられた。

[統計解析に関する一般原則]

なお、今回の薬効薬理試験で用いた統計解析は、以下に示す方針で行った。

- 1, 正常対照群（偽手術群）、病態対照群と薬物処理群がある試験の統計解析においては、実験モデルの成立の確認として、正常対照群（偽手術群）と病態対照群の比較を行った後、薬効の確認として、病態対照群と各薬物処理群との比較を行った。
- 2, 正常対照群（偽手術群）と病態対照群の計量値の比較については t 検定を用いた。
- 3, 等分散とみなせない2群の t 検定には Welch法を用いた。
- 4, 病態対照群と各薬物処理群の計量値の比較についてはDunnett検定を用いた。但し、投与前値のある投与後値の比較では、目的変数として投与前値に対する投与後値の比の対数値を用い、共変量としての投与前値あるいはその対数値と目的変数との相関を検定し、相関がない場合は、そのままDunnett検定を、相関がある場合は共変量で平均値を調整したDunnett検定を行った。
- 5, 各時点における対照群と各薬物処理群の計量値の比較については、対応のない t 検定を行い、時点についてBonferroniの方法により多重性の調整を行った。
- 6, 対照群と処理群の計量値の経時変化全体の比較については、時点と群についての二元配置分散

分析を用いて反応の経時的変化を比較し、さらにそれが有意でない場合は、最終時点での群間の比較を行った。

7, 計量値の濃度依存性は、Pearsonの相関係数を用いて検討した。

8, 順序のある尺度の用量相関性は、Jonckheereの傾向性検定により検討した。

9, 各検定の有意水準は、Jonckheereの傾向性検定は片側5%, その他は両側5%とした。

10, 検定結果の表示は、p値が0.05より小さい場合は文中では $p < 0.05$, 図中では*あるいは#, さらにp値が0.01より小さい場合は文中では $p < 0.01$, 図中では**, またp値が0.001より小さい場合は文中では $p < 0.001$, 図中では***で示した。

11, 対応のある投与前値と投与後値の群内比較には対応のある t 検定を用いた。

12, *In vivo*試験における1 α , 25(OH)2D₃との比較に際しては、各薬剤ごとに対数変換後の用量と反応変数で一次回帰直線を求め、直線の傾きの違いを検討した。

OCT の効果を裏付ける試験成績の総括を表ホー1に示した。

表ホ-1 試験成績の総括

1. 効力を裏付ける試験

(1) *In vitro* 試験での PTH 分泌に対する作用

試験	由来, 材料	方法	試験結果
正常ウシ副甲状腺細胞における PTH 分泌に対する作用	正常ウシ副甲状腺細胞	正常ウシ副甲状腺細胞初代培養系に OCT あるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し 72 時間後の PTH 分泌量を測定した。	OCT は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様に濃度依存的な PTH 抑制作用を示し, その作用は 10^{-8} mol/L で対照群に対して有意であった。
慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞における PTH 分泌に対する作用	二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞	二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞の初代培養系に OCT あるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し 48 時間後の PTH 分泌量を測定した。	OCT は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様に濃度依存的な PTH 抑制作用を示し, その作用は 10^{-11} mol/L 以上の濃度で対照群に対して有意であった。

(2) *In vivo* 試験での PTH 低下作用

病態モデル	動物系統	総例数	性別	投与回数	投与経路	投与量	試験結果
腎部分摘除	ラット SD	33	雄	14 日間連日投与	i. p.	0.001, 0.005, 0.025, 0.125 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で血清 Ca 値を上昇させずに血清 N-PTH 値を有意に低下させた。
腎部分摘除	ラット SD	21	雄	14 日間連日投与	i. v.	0.125, 0.625 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で血清 Ca 値を上昇させずに血清 N-PTH 値を有意に低下させた。
腎部分摘除	ラット SD	21	雄	週 3 回 15 日間間歇投与	i. v.	0.6, 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で血清 Ca 値を上昇させずに血清 N-PTH 値を有意に低下させた。

病態モデル	動物 系統	総例数 性	投与回数	投与経路	投与量	試験結果
腎部分摘除	ラット SD	58 雄	週 3 回 15 日間 間歇投与	i. v.	OCT 0.25, 1.25, 6.25 µg/kg, 1α, 25 (OH)2D3 0.025, 0.125, 0.625 µg/kg	同程度の PTH 抑制率を示す用量 において, OCT は 1α, 25 (OH)2D3 より血清 Ca 上昇は弱い。
腎動脈結紮	イス ビーグル	4 雌	単回投与	i. v.	0.011, 0.055, 0.11, 0.55, 1.1, 5.5 µg/kg	0.055 µg/kg 以上で血中イオン 化 Ca 値を上昇させずに血清 intact-PTH を有意に抑制し た。
腎動脈結紮 (軽度の腎 不全)	イス ビーグル	3 雌	週 3 回 13 週間 間歇投与	i. v.	0.11 µg/kg	投与 5 週目から有意に血清 intact-PTH 値を抑制し, その低 下率は 80%以上であった。
腎動脈結紮 (中等度の 腎不全)	イス ビーグル	2 雌	週 3 回 13 週間 間歇投与	i. v.	0.055, 0.11 µg/kg	0.11 µg/kg の投与 3 週目に血清 intact-PTH 値は低下し, 4 週か ら血中イオン化 Ca 値の上昇が 認められ, 投与量を半減したと ころその上昇はなく, 血清 intact-PTH 値を低値のまま推 移させた。

(3) 柴田腎炎ラットの副甲状腺・骨に対する作用

試験	動物 総例数 系統 性	投与回数	投与経路	投与量	試験結果
血清 PTH 低下作用	ラット 17 Wistar- Imamichi 雄	週 3 回計 8 回間 歇投与	i. v.	0.165, 0.66 µg/kg	0.165 µg/kg で血中イオン化 Ca 値を上昇させずに血清 N-PTH 値を有意に低下させた。
副甲状腺および骨組織の病理組織学的所見	ラット 28 Wistar- Imamichi 雄	週 3 回 15 週間 間歇投与	i. v.	0.033, 0.165 µg/kg	腎不全初期に見られる副甲状腺の過形成を有意に抑制した。
骨形態計測による評価	ラット 26 Wistar- Imamichi 雄	週 3 回 15 週間 間歇投与	i. v.	0.033, 0.165 µg/kg	二次性副甲状腺機能亢進症に伴う ROD の高回転型の骨代謝を改善した。

(4) 慢性イヌ腎不全モデルの骨病変に対する効果

病態モデル	動物 総例数 系統 性	投与回数	投与経路	投与量	試験結果
腎動脈結紮	イヌ 34-36 ビーグル 雌	週 3 回 1 年間 間歇投与	i. v.	0.011 ~ 0.33 µg/kg	二次性副甲状腺機能亢進症に伴う骨病変を無形成骨を誘導することなく遅延させた。特に類骨の増加に対して抑制効果を発揮した。
腎動脈結紮	イヌ 10, 12 ビーグル 雌	週 3 回 8 カ月間 間歇投与	i. v.	0.033 ~ 0.33 µg/kg	二次性副甲状腺機能亢進症に伴う骨病変である線維性類骨を有意に低下させた。また, OCT の投与中止後もその効果が持続した。

2. 効力発現に関する薬理作用

試験	材料, 由来	方法	試験結果
副甲状腺細胞内への移行に関する検討	正常ウシ副甲状腺	ウシ副甲状腺細胞に OCT, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し, 核内受容体との結合を経時的に測定した。	正常ウシ副甲状腺細胞内および核内へ取り込まれる速度および量は OCT と $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ではほぼ同等であった。
ビタミンD受容体 (VDR) に対する親和性	ラット小腸, 腎臓, ウシ副甲状腺, 腎臓, 骨芽細胞様細胞 (ROS 17/2.8)	各組織, 細胞の核内 VDR に OCT あるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し, その競合的結合阻害活性を測定した。	OCT の VDR との親和性は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のそれに比較して 1/4 から 1/12 であった。
副甲状腺 pre-pro PTH mRNA 発現に対する作用: 正常ラットにおける作用	正常ラット	正常ラットに OCT あるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を $0.13 \mu\text{g/kg}$ 単回腹腔内投与し, 48 時間後の副甲状腺の RNA を抽出し, スロットブロットおよびノーザンブロット解析により検討した。	OCT は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様に対照とした肝臓, 無処置群に比較して pre-pro PTH mRNA 発現量を減少させた。
副甲状腺 pre-pro PTH mRNA 発現に対する作用: 腎不全ラットにおける作用	腎部分摘除ラット	5/6 腎摘ラットに OCT ($0.25, 1.25, 6.25 \mu\text{g/kg}$) と $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($0.025, 0.125, 0.625 \mu\text{g/kg}$) を週 3 回 15 日間静脈内投与し, 最終投与 24 時間後の副甲状腺の pre-pro PTH mRNA 発現を検討した。	対照群では pre-pro PTH mRNA の発現量が偽手術群に比較して上昇し, OCT $1.25, 6.25 \mu\text{g/kg}$, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ $0.125, 0.625 \mu\text{g/kg}$ の投与によりその発現量を有意に抑制した。

試験	材料, 由来	方法	試験結果
小腸 Ca 結合タンパク遺伝子に対する作用	ビタミンD欠乏ラット	ビタミンD欠乏ラットに OCT, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を $0.13 \mu\text{g}/\text{kg}$ 単回腹腔内投与し, カルビンディンD 9K mRNA の発現を検討した。	OCT のカルビンディンD 9K mRNA 発現は 16 時間まで $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様に認められたが, その後 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ とは異なり速やかにその作用が消失した。
小腸 Ca 吸収能に対する作用	ビタミンD欠乏ラット	ビタミンD欠乏ラットに OCT, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を $0.2, 6.25 \mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与し, 腸管からの Ca 吸収能を経時的に測定した。	OCT は投与初期においては小腸に作用して Ca 吸収作用を発揮するがその作用は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のような持続性を示さず短時間で消失した。
ビタミンD結合タンパク (DBP) に対する親和性	ラット血漿由来 DBP	DBP に OCT, $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ または $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を種々の濃度で添加し, その結合能を測定した。	OCT の DBP への親和性は $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の $1/85000$, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の $1/570$ であり, OCT は DBP に対する親和性が低かった。
骨芽細胞に対する作用	骨芽細胞様細胞株 (ROS 17/2.8)	ROS 17/2.8 に OCT, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を種々の濃度で添加し, オステオカルシン (BGP) mRNA 発現に対する効果を検討した。	両薬物で同様に BGP 遺伝子の発現が亢進した。
代謝物に関する検討	VDR, DBP, HL-60 細胞	OCT 代謝物の VDR, DBP の親和性, および HL-60 細胞の増殖に対する作用を検討した。	代謝物の VDR, DBP に対する親和性は OCT のそれより低く, 増殖抑制作用も OCT に比較して弱かった。

1. 効力を裏付ける試験

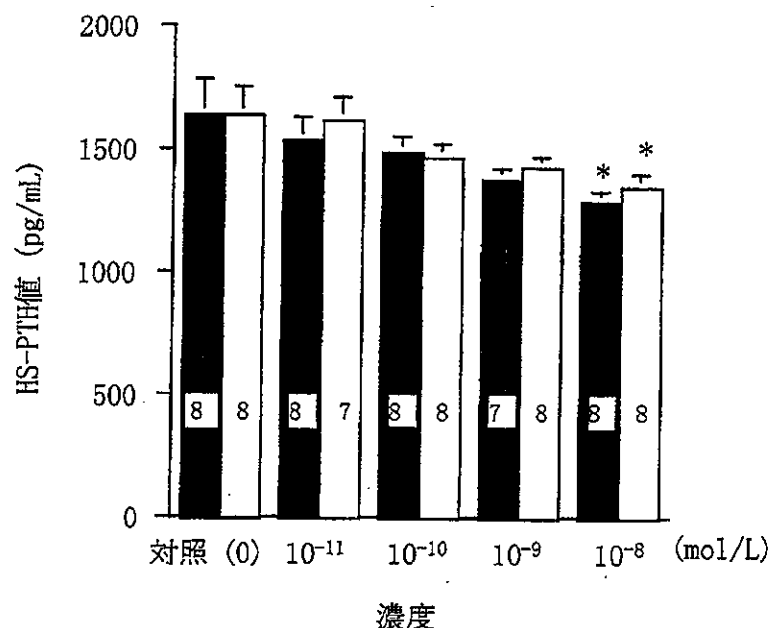
活性型ビタミンDである $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ がPTHの合成・分泌に対して抑制作用を示すことが報告され(R-1), その作用はPTH遺伝子の調節領域にあるビタミンD反応領域を介した転写の抑制によることも報告されている(R-2)。

「(1) *In vitro*試験でのPTH分泌に対する作用」では副甲状腺細胞のPTH分泌に対するOCTの作用を明らかにする目的で, 正常ウシ由来あるいは慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞の初代培養系を用いて, HS-PTH値を指標に $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較検討した。「(2) *In vivo*試験でのPTH低下作用」では*in vivo*試験として慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症に対するOCTのPTH抑制作用と血清Ca上昇作用を $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のそれらと比較検討する目的で腎部分摘除(ラット)および腎動脈結紮(イヌ)により作製した腎不全モデルを用いて検討した。「(3) 柴田腎炎ラットの副甲状腺・骨に対する作用」では柴田腎炎ラットを用いて「(4) 慢性イヌ腎不全モデルの骨病変に対する効果」ではイヌ腎不全モデルを用いてOCTの骨病変に対する効果を検討した。

(1) *In vitro*試験でのPTH分泌に対する作用

1) 正常ウシ副甲状腺細胞におけるPTH分泌に対する作用

正常ウシ副甲状腺細胞の初代培養系にOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し72時間後のPTH分泌量を測定した。その結果、OCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同程度で濃度依存的な ($p < 0.05$) PTHの分泌抑制作用を発揮し、両剤とも 10^{-8} mol/Lの濃度で対照群に対して有意であった ($p < 0.05$) (図ホー1)。この結果から、OCTは正常ウシ副甲状腺細胞のPTH分泌に対して抑制作用を示すことが明らかとなった。

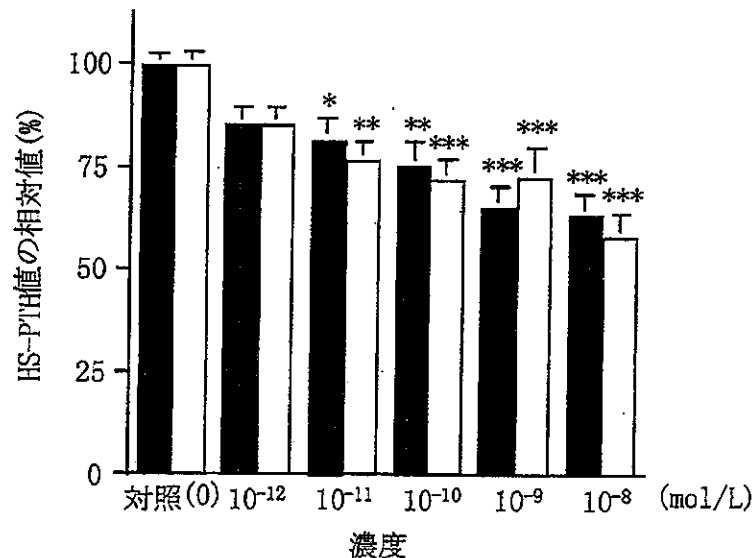


図ホー1 正常ウシ副甲状腺細胞の初代培養系におけるOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のPTH分泌に対する作用

正常ウシ副甲状腺細胞の初代培養系にOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (10^{-11} — 10^{-8} mol/L)を添加し72時間インキュベーションした後上清を除き、新鮮な培地を加え2時間インキュベーションした。この2時間に分泌されたPTH量をRIA法(HS-PTH)で測定した。カラムの中はサンプルの数を示した。各値は平均値±標準誤差で示した。■: OCT, □: $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 統計は各対照群と各処置群間でDunnett検定による(*: $p < 0.05$)。濃度依存性はPearsonの相関係数による($p < 0.05$)。

2) 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞におけるPTH分泌に対する作用

慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞の初代培養系にOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し、48時間後のPTH分泌量を測定した。その結果、OCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同程度で濃度依存的な($p < 0.05$) PTH分泌抑制作用を発揮し、 10^{-11} mol/L以上の濃度で対照群に対して有意であった(図ホ-2)。



図ホ-2 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞の初代培養系におけるOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のPTH分泌に対する作用

二次性副甲状腺機能亢進症患者由来副甲状腺細胞の初代培養系(培養液のCa濃度は2 mmol/L)にOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (10^{-12} — 10^{-8} mol/L)を添加し、48時間後に上清を除き新鮮な培地を加え2時間インキュベーションした。この2時間に分泌されたPTH量をRIA法(HS-PTH)で測定した。薬物未添加細胞の分泌量を100%として示した。各値は平均値±標準誤差で示した。各群はすべて22サンプルである。統計は各対照群と各処置群間でDunnett検定による(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)。濃度依存性はPearsonの相関係数による($p < 0.05$)。■: OCT, □: $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$

以上の結果から、正常ウシあるいは二次性副甲状腺機能亢進症患者由来の副甲状腺細胞に対しOCTはPTHの分泌を抑制することが明らかとなった。

[追記]

各対照群及び各処置群での結果 [HS-PTH 値 (絶対値) の平均値±標準偏差 (表ホ-2) , および分泌抑制量の絶対値の平均値±標準偏差 (標準誤差) (表ホ-3)] を以下に示す。

表ホ-2 HS-PTH 値の実測値 (単位 : ng/mL)

	OCT	1 α , 25 (OH) 2D3
対照 (0)	46.3±31.1	42.9±32.0
10 ⁻¹² mol/L	38.7±27.8	34.2±21.8
10 ⁻¹¹ mol/L	34.6±20.9	29.8±19.7
10 ⁻¹⁰ mol/L	31.5±21.5	27.9±19.9
10 ⁻⁹ mol/L	28.8±23.1	28.1±21.2
10 ⁻⁸ mol/L	26.9±17.8	23.5±17.6

各値は平均値±標準偏差で示した。各群はすべて 22 サンプルである。

表ホ-3 OCT および 1 α , 25 (OH) 2D3 の HS-PTH 分泌抑制量 (単位 : ng/mL)

	OCT	1 α , 25 (OH) 2D3
対照 (0)	-	-
10 ⁻¹² mol/L	7.6±11.3 (2.4)	8.7±13.8 (2.9)
10 ⁻¹¹ mol/L	11.7±15.0 (3.2)	13.1±16.3 (3.5)
10 ⁻¹⁰ mol/L	14.8±18.6 (4.0)	15.0±15.9 (3.4)
10 ⁻⁹ mol/L	17.5±18.3 (3.9)	14.8±17.9 (3.8)
10 ⁻⁸ mol/L	19.4±19.3 (4.1)	19.4±17.7 (3.8)

各値は対照群の平均値から処置群の値を差し引いた平均値±標準偏差 (標準誤差) を示した。各群はすべて 22 サンプルである。

(2) *In vivo*試験でのPTH低下作用

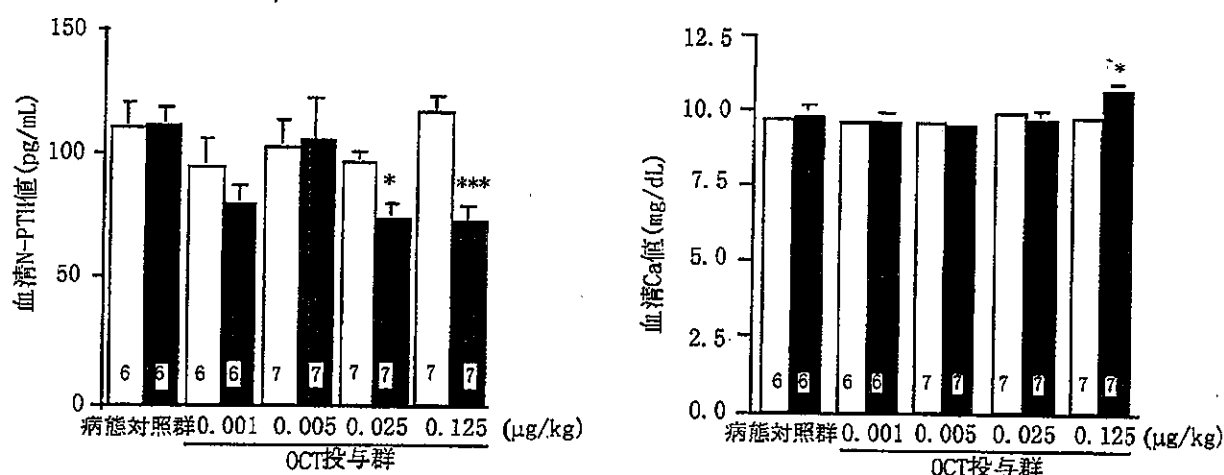
1) ラット腎不全モデルにおける効果

ラットの左腎の2/3を切除し1週間後に右腎を全摘出し5/6腎摘ラットを作製した。その後約3ヵ月飼育し腎不全ラットとして使用した。

i) 腹腔内連日投与による血清N-PTH値および血清Ca値への作用

OCT 0.001, 0.005, 0.025, 0.125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を腎不全ラットに14日間連日腹腔内投与し、最終投与24時間後の血清N-PTH値と血清Ca値を測定した。その結果、血清N-PTH値は、病態対照群が投与前後で $109.7 \pm 10.1 \text{ pg/mL}$ から $110.8 \pm 7.7 \text{ pg/mL}$ であったのに対して、OCT 0.025あるいは0.125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では病態対照群に比べて有意な低下が認められた(0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$: $p < 0.05$, 0.125 $\mu\text{g}/\text{kg}$: $p < 0.001$) (図ホ-3)。また、血清Ca値は、病態対照群との比較において、OCT 0.125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群に有意な上昇が認められた($p < 0.05$) (図ホ-3)。

この結果から、OCTは腎不全ラットに0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を14日間連日腹腔内投与することにより、血清Ca値を上昇させずに血清N-PTH値を有意に低下させることが明らかとなった。



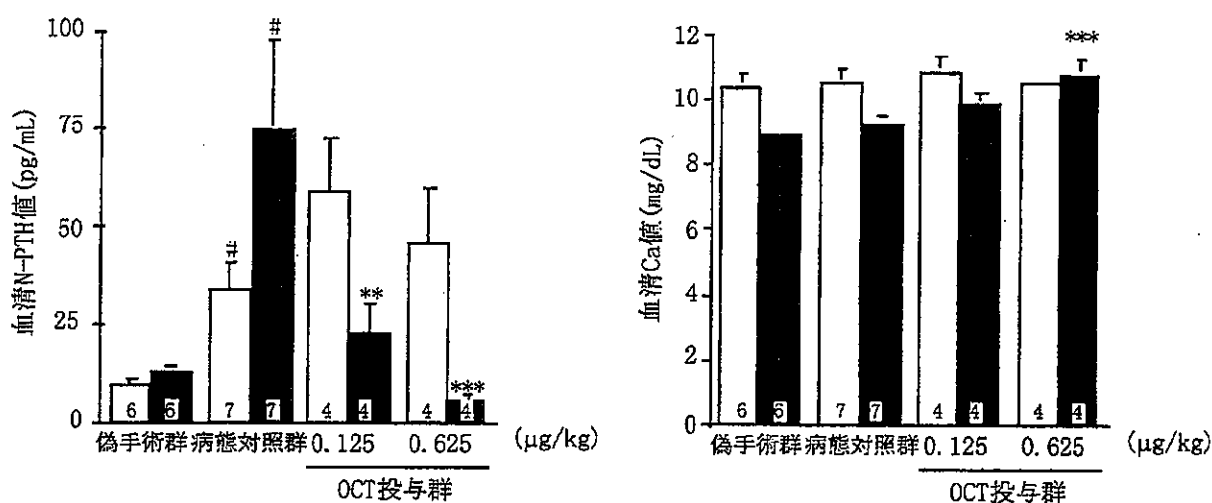
図ホ-3 腎不全ラットにおけるOCTの腹腔内連日投与による血清N-PTH値と血清Ca値に対する作用

OCTを0.001, 0.005, 0.025, 0.125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を14日間連日腹腔内投与し、最終投与24時間後の血清N-PTH値と血清Ca値を測定した。□：投与前，■：投与後。各値は平均値±標準誤差で示した。カラムの中の数字は被験動物の数。統計はいずれの群においても投与前値と投与後値間に相関がないことを確認し、血清N-PTHでは投与前値と投与後値の比の対数値、また血清Caは投与後値での病態対照群と各OCT投与群間のDunnett検定を行った(* : $p < 0.05$, *** : $p < 0.001$)。

ii) 静脈内連日投与による血清N-PTH値および血清Ca値への作用

静脈内投与は腹腔内投与に比較して、OCTが血中から速やかに消失することが予想され、前項 i) の結果を考慮してOCTの投与量を0.125, 0.625 $\mu\text{g/kg}$ と設定した。腎不全ラットに14日間連日静脈内投与し、最終投与24時間後の血清N-PTH値と血清Ca値を測定した。その結果、血清N-PTH値は病態対照群で投与前後で約2倍に上昇したのに対して、OCT投与群では病態対照群に比較して有意な低下が認められた(0.125 $\mu\text{g/kg}$: $p<0.01$, 0.625 $\mu\text{g/kg}$: $p<0.001$) (図ホー4)。血清Ca値は、病態対照群との比較において、OCT 0.625 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で有意な上昇が認められた($p<0.001$) (図ホー4)。

この結果から、OCTは腎不全ラットに0.125 $\mu\text{g/kg}$ で14日間連日静脈内投与することにより血清Ca値を上昇させずに血清N-PTH値を有意に低下させることが明らかとなった。



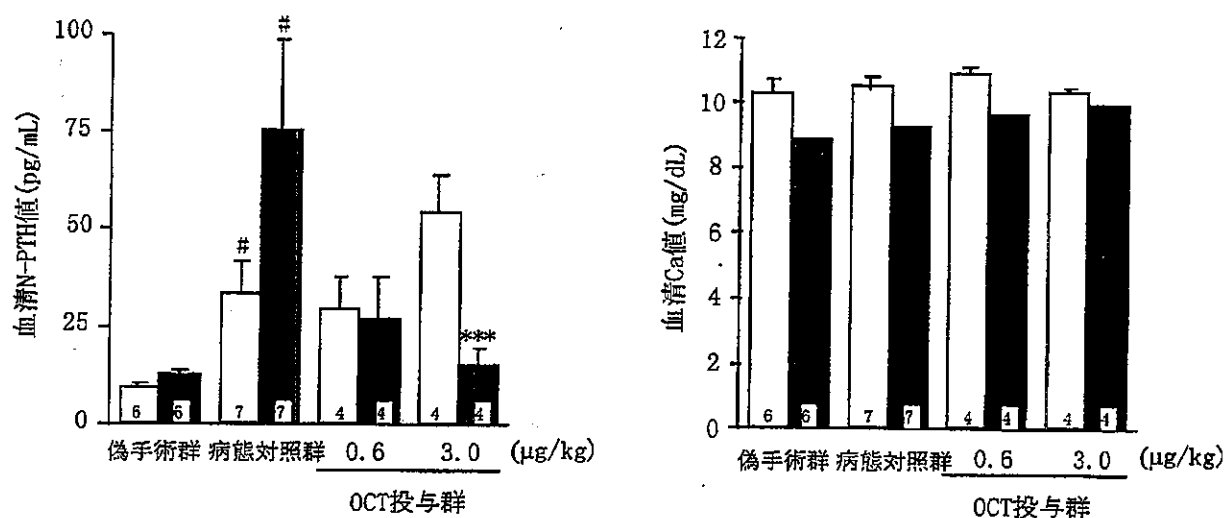
図ホー4 腎不全ラットにおけるOCTの静脈内連日投与による血清N-PTH値と血清Ca値に対する作用

OCTを0.125, 0.625 $\mu\text{g/kg}$ を連日2週間合計14回静脈内投与し、最終投与24時間後の血清N-PTH値と血清Ca値を測定した。各値は平均値±標準誤差で示した。□：投与前，■：投与後。カラムの中の数字は被験動物の数。統計は偽手術群と病態対照群間で対応のないt検定による(#: $p<0.05$)。病態対照群とOCT投与群の比較は、いずれの群においても投与前値と投与後値間に相関がないことを確認し、血清N-PTHでは投与前値と投与後値の比の対数値、また血清Caは投与後値での病態対照群と各OCT投与群間のDunnett検定を行った(**: $p<0.01$, ***: $p<0.001$)。

iii) 静脈内間歇投与による血清N-PTH値および血清Ca値への作用

臨床的にはビタミンDのパルスの投与の有効性が報告されていることから(R-3), OCTの効果を連日投与に続いて間歇的な投与によっても検討した。OCT 0.6, 3.0 $\mu\text{g/kg}$ を腎不全ラットに週3回15日間, 間歇的に合計7回静脈内投与し, 最終投与24時間後の血清N-PTH値と血清Ca値に対する作用を検討した。その結果, 図ホー5に示すように血清N-PTH値は病態対照群では投与前後で約2倍に上昇したのに対して, OCT 3.0 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で病態対照群に比較して有意に低下した($p<0.001$)。また, これらのOCTの投与量では血清Ca値の有意な上昇は認められなかった。

この結果より, OCTを腎不全ラットに間歇的に静脈内投与を行うことによって血清Ca値を上昇させずに血清N-PTH値を低下させることが明らかとなった。



図ホー5 腎不全ラットにおけるOCTの静脈内間歇投与による血清N-PTH値と血清Ca値に対する作用

OCTを0.6, 3.0 $\mu\text{g/kg}$ 週3回15日間間歇的に合計7回静脈内投与した。各値は平均値±標準誤差で示した。□: 投与前, ■: 投与後。カラムの中の数字は被験動物の数。統計は偽手術群と病態対照群間で対応のないt検定による(#: $p<0.05$)。病態対照群とOCT投与群の比較はいずれの群においても投与前値と投与後値間に相関がないことを確認し, 血清N-PTHでは投与前値と投与後値の比の対数値, また血清Caは投与後値での病態対照群と各OCT投与群間のDunnett検定を行った(***: $p<0.001$)。

[追記1] 腹腔内連日投与試験および静脈内連日投与試験の試験開始時の血清N-PTH値について

両試験の実験開始時において、病態対照群の血清N-PTH値の平均値が異なっている。これは、腹腔内連日投与試験では、血清N-PTH値により群分けを行っているのに対して、静脈内連日投与試験では腎機能（血清クレアチニン値および血中尿素窒素値）により群分けをしたためであり、結果として両試験間で血清N-PTH値は異なる平均値となっている。腹腔内投与試験では、血清N-PTH値が約100 pg/mLで安定している時期での薬効評価試験として、静脈内投与試験では、投与期間中、血清N-PTH値が約30 pg/mLから約75 pg/mLに上昇する時期での薬効評価試験として位置づけられる。

[追記2] $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に関する報告

八島由紀彦らは、腎部分摘除ラットに $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を0.02, 0.10, 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 週3回2週間間歇的に静脈内投与し血清PTH値および血清Ca値に対する効果を検討している。その結果、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ は0.02, 0.10, 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のいずれの投与群においても有意に血清PTH値を低下させた。一方、0.10, 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では有意な血清Ca上昇作用を示した(R-4)。

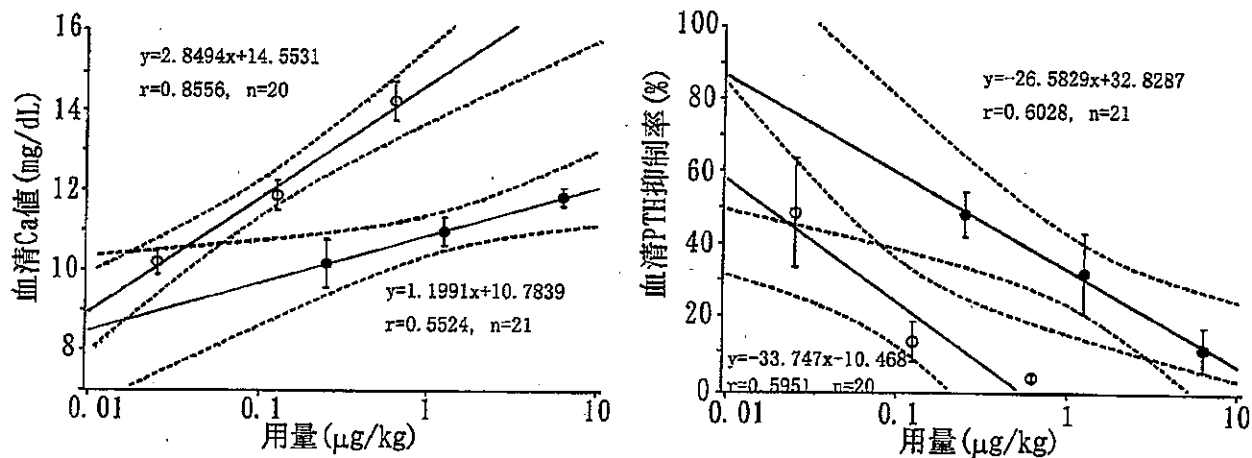
2) $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との比較

ラットの左腎の2/3を切除し1週間後に右腎を全摘出し5/6腎摘ラットを作製した。その後約3ヵ月飼育し腎不全ラットとして使用した。この腎不全ラットを用いてOCTのPTHに対する作用とCaに対する作用の分離を $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較検討した。OCT 0.25, 1.25, 6.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 0.025, 0.125, 0.625 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を腎不全ラットにそれぞれ週3回15日間静脈内投与し、血清N-PTH値と血清Ca値を測定した。

PTH抑制効果に関しては、抑制率の用量反応関係に直線を仮定したところ、OCTが $y = -26.5829x + 32.8287$ ($r^2 = 0.3634$, $p = 0.0038$)、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ は $y = -33.747x - 10.0468$ ($r^2 = 0.3541$, $p = 0.056$)であり、寄与率は両薬剤とも低いものの直線の仮定は妥当であると考えられた。また、傾きの差は -7.1641 ($\text{SE} = 13.29$, $p = 0.5931$)であり、傾きが異なるとはいえなかった。この傾きに有意差がないことはバラツキが大きいことに起因しているとも考えられるが、PTH抑制効果に関してはOCTと $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ で同様の反応関係を示すと判断した(図ホ-6)。

一方、血清Ca上昇作用については、投与後の血清Ca値の用量反応関係に直線を仮定したところ、OCTが $y = 1.1991x + 10.7839$ ($r^2 = 0.3052$, $p = 0.0094$)、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ は $y = 2.8494x + 14.5531$ ($r^2 = 0.7321$, $p = 0.0001$)であり、PTH抑制率と同様に直線の仮定は妥当であると考えられた。また、傾きの差は 1.6503 ($\text{SE} = 0.5843$, $p = 0.0076$)で、傾きは有意に異なり、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の方が用量の増加に伴うCa上昇作用が大きいと考えられた(図ホ-6)。

すなわち、同程度のPTH抑制率を示す用量では、OCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ より血清Ca上昇作用が弱いと考えられ、Ca上昇という副作用を発現せずかつ薬効(PTH抑制)を発揮できる、つまり薬用量が広いという点においてOCTの方が、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ より安全域の広い薬物であると考えられた。



図ホー6 OCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与後における各薬物の用量と血清Ca値および血清PTH抑制率との用量反応直線

OCTを0.25, 1.25, 6.25 $\mu\text{g/kg}$, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を0.025, 0.125, 0.625 $\mu\text{g/kg}$ を週3回15日間静脈内投与し最終投与24時間後の血清N-PTH値および血清Ca値を測定した。●: OCT投与群, ○: $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与群。血清Caに関しては、その実測値を用量の対数値を横軸としてプロットし、血清N-PTHに関しては、投与前値に対する投与後値の比率を求め、病態対照群の上昇率を100とした時の各投与群の比率を用量の対数値を横軸としてプロットした。各値は平均値±標準誤差で示した。図中の数式は、それぞれの用量反応直線を一次回帰分析により求めたものである。破線は各直線の95%信頼区間を示した。また、 r は相関係数、 n は各式に用いた全被験動物の数を示した。

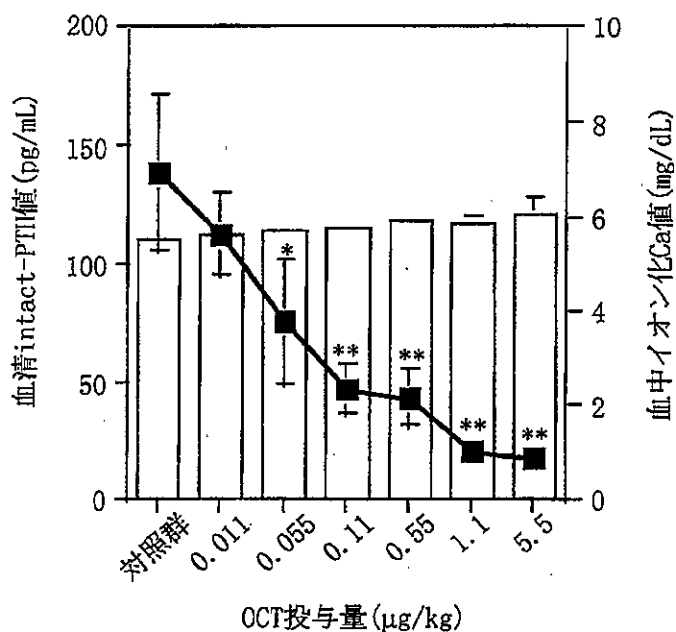
3) イヌ腎不全モデルにおける効果

OCTの血清intact-PTH値および血中イオン化Ca値への作用を腎動脈結紮イヌ腎不全モデルを用いて検討した。

i) 単回静脈内投与による血清 intact-PTH 値および血中イオン化 Ca 値への作用

OCT をイヌ腎不全モデルに 0.011 $\mu\text{g}/\text{kg}$ から 5.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ まで単回静脈内投与した結果、0.055 $\mu\text{g}/\text{kg}$ から用量依存的 ($p < 0.05$) かつ有意な血清 intact-PTH 値の低下作用が認められ、血中イオン化 Ca 値は 5.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ まで有意な上昇は認められなかった (図ホ-7)。

この結果から、イヌ腎不全モデルに対しても OCT は単回静脈内投与により血中イオン化 Ca 値を上昇させない用量で血清 intact-PTH 値を低下することが確認された。



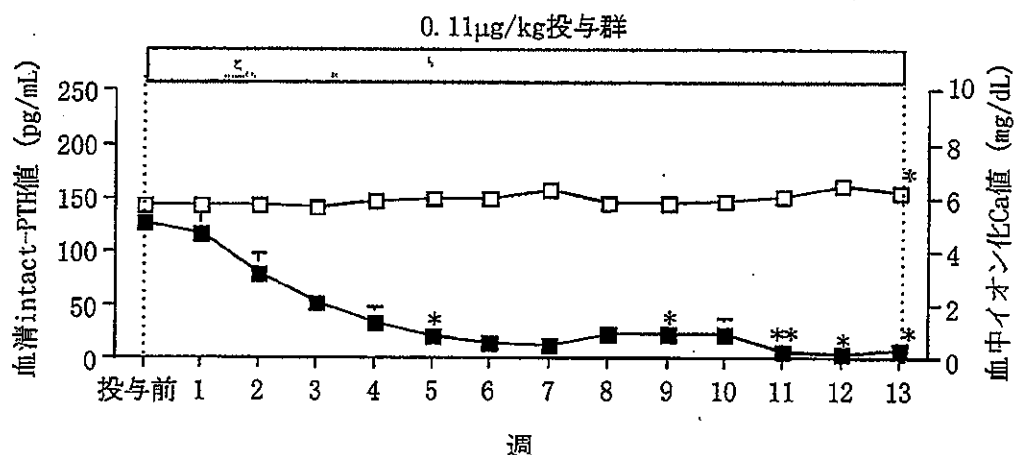
図ホ-7 イヌ腎不全モデルにおける OCT 単回静脈内投与による血清 intact-PTH 値および血中イオン化 Ca 値の変化

雌性イヌ (ビーグル, 成犬) の左腎の腎動脈結紮および右腎を全摘出して腎不全モデルを作製した。このイヌ腎不全モデルにOCTを0.011, 0.055, 0.11, 0.55, 1.1 あるいは5.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 単回静脈内投与した。血清 intact-PTH値および血中イオン化Ca値は投与24時間後の値を示した。各値は平均値 $\pm$ 標準誤差で示した (例数は4)。線グラフ■は血清intact-PTH値を、棒グラフは血中イオン化Ca値を示す。統計は対照群に対してDunnett検定 (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)、用量依存性はJonckheereの傾向性検定による。

ii) イヌ軽度二次性副甲状腺機能亢進症モデルに対する静脈内間歇投与

OCTの二次性副甲状腺機能亢進症に対する反復間歇投与による効果とCa作用について検討した。まず軽度（血清intact-PTH値200 pg/mL未満）の二次性副甲状腺機能亢進症のイヌ腎不全モデルに対してOCTを投与した。投与量は、単回静脈内投与で血中イオン化Ca値が上昇せず血清intact-PTH値を50%以上抑制した0.11 µg/kgとし、これを週3回静脈内投与した。血清intact-PTH値は投与開始5週目に有意な低下作用が認められ（ $p<0.05$ ），これ以降80%以上の抑制作用が認められ，これは投与期間中持続した。血中イオン化Ca値はOCT投与後13週目に投与前値と比較して有意な上昇を示した（ $p<0.05$ ）（図ホー8）。

OCTは軽度二次性副甲状腺機能亢進症のイヌ腎不全モデルに対して0.11 µg/kgで十分に血清intact-PTH値を低下させる効果が認められた。



図ホー8 イヌ軽度腎不全モデルにおけるOCTの静脈内間歇投与による血清intact-PTH値および血中イオン化Ca値の推移

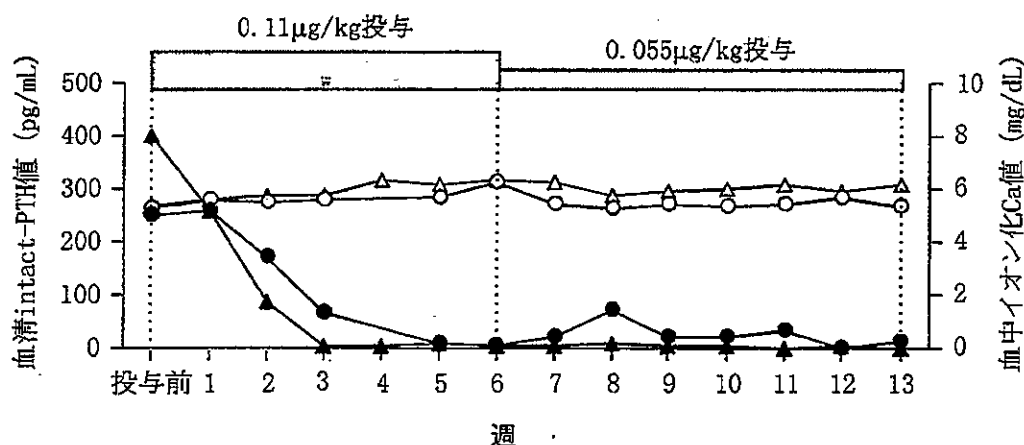
雌性イヌ（ビーグル，成犬）の左腎の腎動脈結紮および右腎を全摘出して腎不全モデルを作製した。血清intact-PTH値が200 pg/mL未満のイヌ腎不全モデルにOCTを0.11 µg/kg，13週間間歇（週3回：月，水，金曜日）静脈内投与し，月曜日の投与直前の血清intact-PTH値および血中イオン化Ca値を測定した。各値は平均値±標準誤差で示した（例数は3）。■：血清intact-PTH値，□：血中イオン化Ca値 統計は投与前値に対する各ポイント間での対応のあるt検定による（*： $p<0.05$ ，**： $p<0.01$ ）。

iii) イヌ中等度二次性副甲状腺機能亢進症モデルに対する静脈内間歇投与

さらに重症な二次性副甲状腺機能亢進症として血清 intact-PTH 値が 200 pg/mL 以上のイヌ腎不全モデルを用いて、血清 intact-PTH 値と血中イオン化 Ca 値に対する OCT の効果について検討した。この中等度二次性副甲状腺機能亢進症のイヌ腎不全モデル 2 例に OCT を 0.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 週 3 回静脈内投与した。投与 3 週目に血清 intact-PTH 値は 253.8, 404.4 pg/mL からそれぞれ 72.9, 9.0 pg/mL まで低下した。4 週目より、1 例で血中イオン化 Ca 値の軽微な上昇が認められた。6 週目では両個体に血中イオン化 Ca 値の上昇が認められたので用量を 0.055 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に減量して投与を継続した。その結果、血清 intact-PTH 値は低値のまま推移し、血中イオン化 Ca 値を上昇させることなく経過した（図ホー 9）。

このように中等度に二次性副甲状腺機能亢進症が進行したイヌ腎不全モデルに対しても OCT は血中イオン化 Ca 値を上昇させず血清 intact-PTH 値を著明に低下、維持させることができた。

また血清 intact-PTH 値の低下により血中イオン化 Ca 値の上昇を招く可能性があることから、血清 PTH 値改善に伴い投与量を減量する必要性も示唆された。



図ホー 9 イヌ中等度腎不全モデルにおける OCT の静脈内間歇投与による血清 intact-PTH 値および血中イオン化 Ca 値の推移

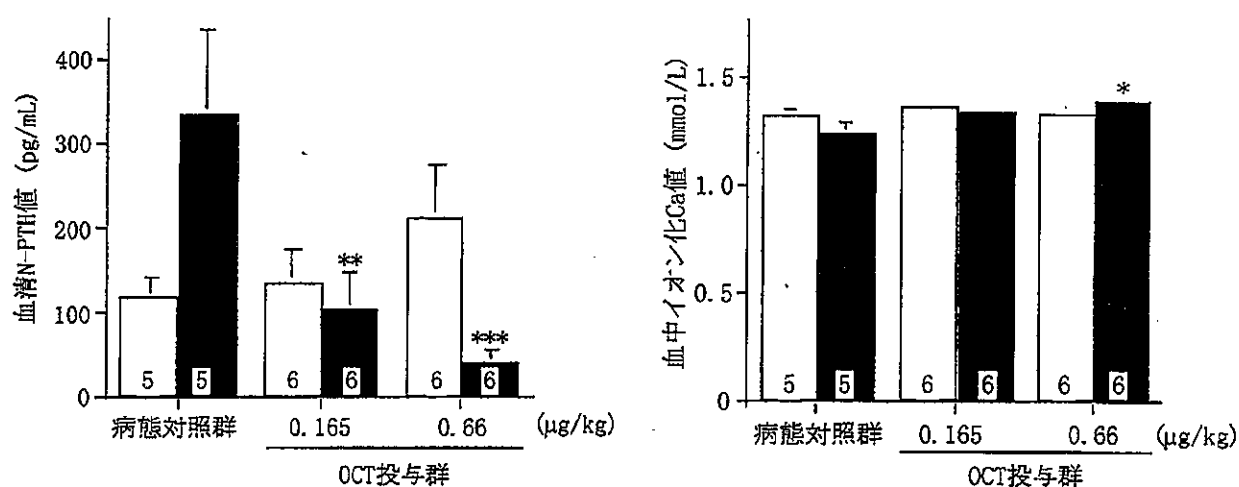
雌性イヌ（ビーグル，成犬）の左腎の腎動脈結紮および右腎を全摘出して腎不全モデルを作製した。血清 intact-PTH 値が 200 pg/mL 以上のイヌ腎不全モデルに OCT を 0.11 ないし 0.055 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，13 週間間歇（週 3 回：月，水，金曜日）静脈内投与し，月曜日の投与直前の血清 intact-PTH 値および血中イオン化 Ca 値を測定した。グラフの ● ○ および ▲ △ は 2 例の個体別のデータを表す。●，▲：血清 intact-PTH 値，○，△：血中イオン化 Ca 値

(3) 柴田腎炎ラットの副甲状腺・骨に対する作用

柴田腎炎ラットは、慢性的に腎炎が進行し、ヒトでの腎不全におけるRODに近い病態を呈するモデル動物として確立されている(R-5)。すなわち柴田らは、ラット正常腎組織から抽出した腎炎惹起物質をラットに1回投与することでヒトの進行性慢性腎炎に類似した腎炎モデルを作製し(R-6)、本モデルが血清PTH値の恒常的な上昇を伴う二次性副甲状腺機能亢進症を引き起こし、その特徴的な線維性骨炎などのRODの骨所見が認められることを報告した(R-7)。本モデルは小動物であるがRODに対する薬物の骨組織形態計測の評価系として有用なモデルであることから、OCTの効果について検討した。

1) 血清PTH低下作用

柴田腎炎モデルにOCT 0.165あるいは 0.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を週3回計8回静脈内投与した結果、0.165 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では血中イオン化Ca値を上昇させずに血清N-PTH値を有意に低下させた($p<0.01$) (図ホー10)。



図ホー10 柴田腎炎ラットにおけるOCTの静脈内間歇投与による血清N-PTH値と血中イオン化Ca値に対する作用

ラットに腎炎惹起物質を投与して柴田腎炎ラットを作製し、OCT 0.165および0.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を週3回計8回静脈内投与した。最終投与24時間後に採血し、血清N-PTH値と血中イオン化Ca値を測定した。各値は平均値±標準誤差で示した。□：投与前値，■：投与後値。カラムの中の数字は被験動物の数を示す。統計は各群において投与前値と投与後値間に相関がないことを確認し、血清N-PTHでは投与前値と投与後値の比の対数値を、血中イオン化Caでは投与後値での病態対照群と各投与群間のDunnett検定で行った (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$)。

2) 副甲状腺および骨組織の病理組織学的所見

二次性副甲状腺機能亢進症に伴う線維性骨炎に対するOCTの効果を柴田腎炎ラットを用いて病理組織学的に検討した。腎不全初期の柴田腎炎ラット（血清N-PTH値：13.0～200 pg/mL）に、OCT 0.033あるいは0.165 $\mu\text{g/kg}$ を週3回15週間静脈内投与し、腎炎ラットの線維性骨炎および副甲状腺に対する効果を病理組織学的に検討した。その結果、副甲状腺では主細胞が増殖した過形成が病態対照群でほぼ全例、OCT 0.033 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で4/7例(57.1%)およびOCT 0.165 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で4/8例(50.0%)にそれぞれ認められ、OCT 0.165 $\mu\text{g/kg}$ 投与により病態に伴う副甲状腺の過形成が有意に抑えられた($p<0.05$)。脛骨および腰椎では、線維性骨炎が病態対照群で6/9例(66.7% : +++; 1例, ++; 2例, +; 2例, $\pm$; 1例), OCT 0.033 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で4/7例(57.1% : ++; 1例, $\pm$; 3例)およびOCT 0.165 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で3/8例(37.5% : +++; 1例, ++; 1例, +; 1例)にそれぞれ認められた。線維性骨炎はOCT投与により発生率が減少しているものの有意ではなかった(表ホ-4)。

以上の結果から、OCT は腎不全初期の柴田腎炎ラットに見られる副甲状腺の過形成を抑制することが明らかとなった。

表ホ-4 柴田腎炎ラットにおけるOCT静脈内間歇投与後の副甲状腺および骨組織の病理組織学的所見

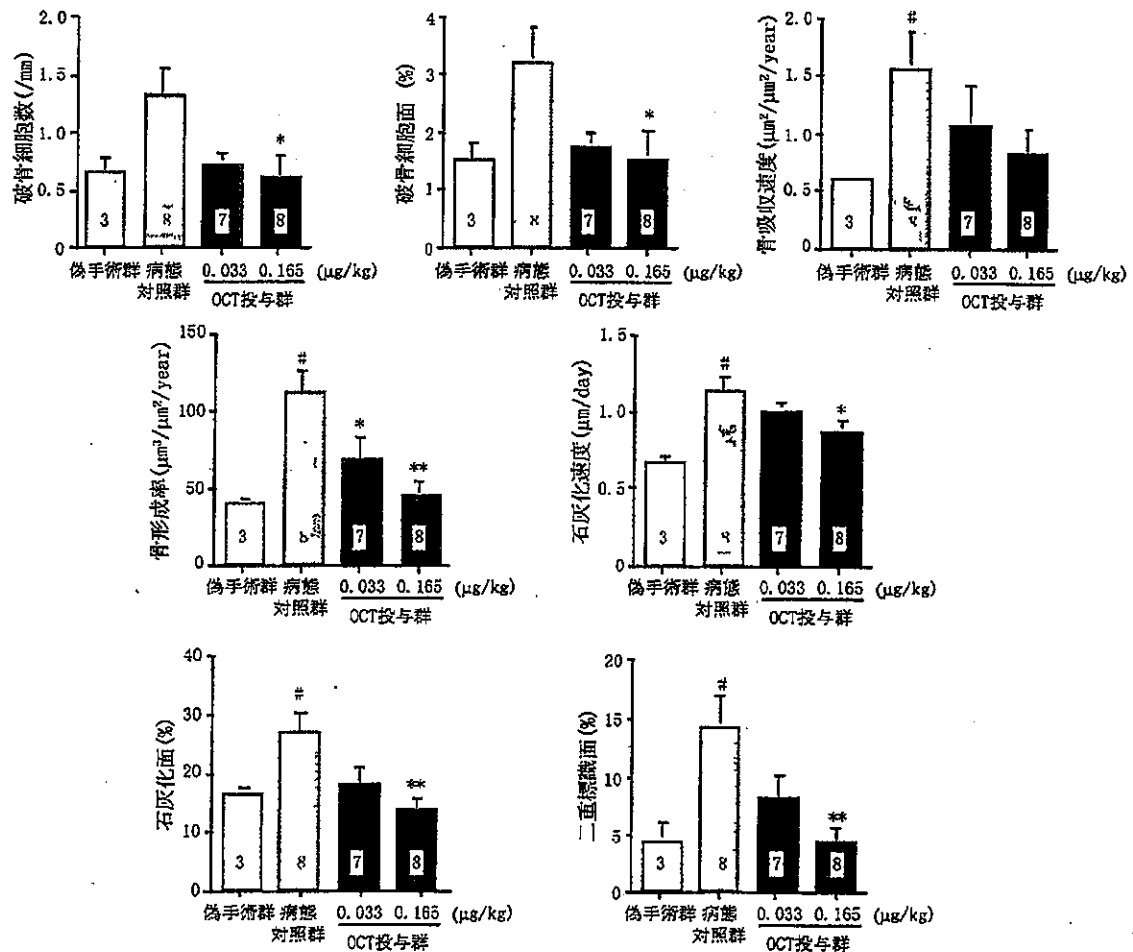
	個体 番号	副甲状腺 過形成	線維性骨炎		
			脛骨		腰椎
			海綿骨	皮質骨	
偽手術群	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
病態対照群	1	+	$\pm$	-	-
	2	$\pm$	-	-	-
	3	NT	-	-	-
	4	+	-	-	-
	5	+	-	-	+
	6	+++	++	++	+
	7	+	++	++	++
	8	+	+	+	+
	9	++	+++	++	-
OCT 0.033 $\mu\text{g/kg}$ 群	1	+	-	-	$\pm$
	2	-	-	-	$\pm$
	3	-	$\pm$	$\pm$	-
	4	+++	++	++	-
	5	+	-	-	-
	6	+	-	-	-
	7	-	-	-	-
OCT 0.165 $\mu\text{g/kg}$ 群	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
	5	+	+++	++	$\pm$
	6	+	-	-	-
	7	+	+	+	+
	8	+	++	++	-

柴田腎炎ラットに、OCT 0.033あるいは0.165 $\mu\text{g/kg}$ を週3回15週間静脈内投与し、腎炎ラットの骨および副甲状腺に対する効果を病理組織学的に検討した。評価は、-：正常， $\pm$ ：軽微な病変，+：軽度な病変，++：中等度な病変，+++：重度な病変，NT：サンプルなしを示す。統計はJonckheereの傾向性検定による。

3) 骨組織形態計測による評価

柴田腎炎ラットにOCT 0.033あるいは0.165 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を週3回15週間静脈内投与し、第3腰椎について非脱灰薄切標本を作製し骨形態計測により、その骨吸収、骨形成および動的パラメーターに関して評価した。その結果、病態対照群で、骨吸収パラメーターの破骨細胞数、破骨細胞面の増加および骨吸収速度の有意な上昇と骨形成パラメーターの骨形成率、石灰化速度、石灰化面、テトラサイクリンによる二重標識面の有意な増加が認められたことから、このモデルの骨回転は、骨吸収および骨形成の亢進した高代謝回転型であることが示された。OCT 0.165 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では増加した破骨細胞数、破骨細胞面が有意に低下し($p<0.05$)、また骨形成率、石灰化速度、石灰化面の亢進および二重標識面が有意に低下したことから($p<0.05$ あるいは $p<0.01$)、高代謝回転骨に対する効果が認められた(図ホー11)。

以上の結果から、OCTは二次性副甲状腺機能亢進症に伴う高代謝回転骨を改善することが認められた。

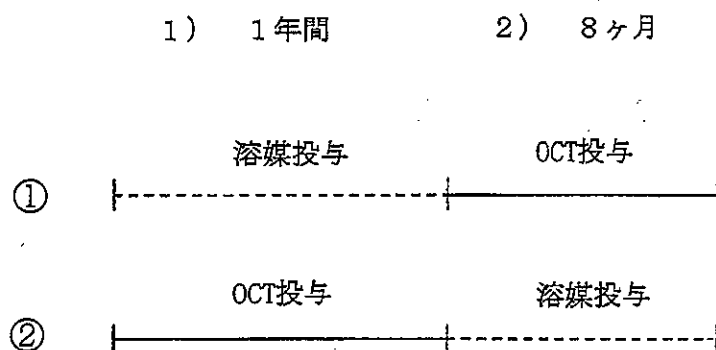


図ホー11 柴田腎炎ラットを用いた骨形態計測によるOCTの骨病変に対する作用

ラットに腎炎惹起物質を投与し柴田腎炎ラットを作製し、OCT 0.033および0.165 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を週3回15週間静脈内投与した。最終投与24時間後に第3腰椎を摘出し骨形態計測を行った。各値は平均値±標準誤差で示した。カラムの中の数字は被験動物の数を示す。統計は偽手術群と病態対照群との対応のないt検定(#: $p<0.05$)および病態対照群とOCT投与群とのDunnett検定による(*: $p<0.05$, **: $p<0.01$)。

(4) 慢性イヌ腎不全モデルの骨病変に対する効果

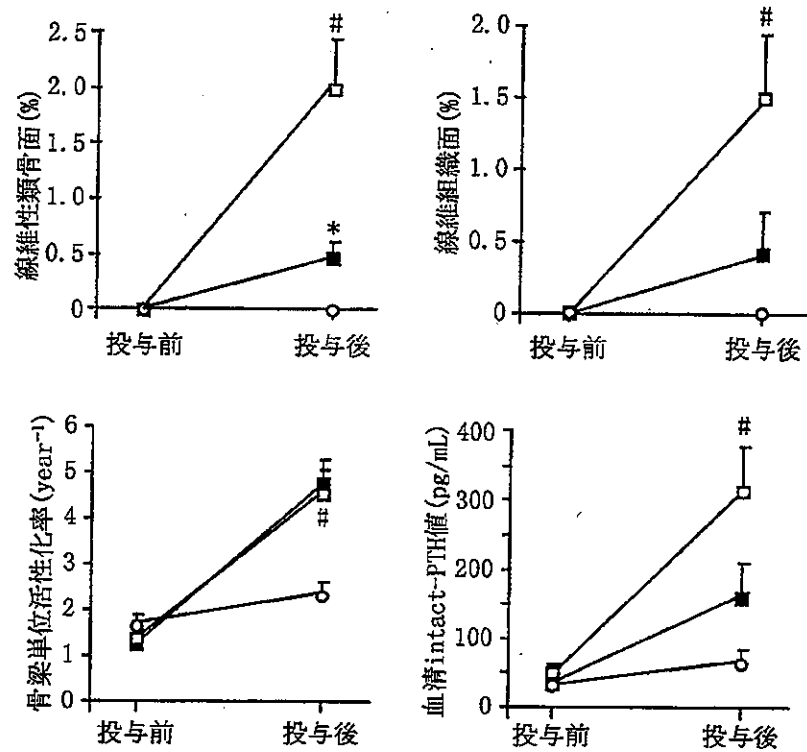
OCT長期投与の骨代謝に対する作用を明らかにする目的でイヌ腎不全モデルを用いてOCTの効果を検討した。試験デザインを下に示した。1) の実験では1年間①群の腎不全イヌに溶媒を投与し、②群のそれらにはOCTを投与した。2) の実験では8ヵ月間①群の腎不全イヌにはOCTを投与し、②群のそれらには溶媒を投与した。



1) 二次性副甲状腺機能亢進症に伴う骨病変に対する進展遅延作用

二次性副甲状腺機能亢進症の進展に伴う骨病変に対するOCTの効果を用いて検討した。イヌ腎不全モデルの病態を安定させた後、血清Ca値が11.5 mg/dLを超えないようOCTの投与量を0.011~0.33 $\mu\text{g/kg}$ に調整しながら週3回1年間、間歇的に静脈内投与した。投与前および投与後に行われた病態対照群についての骨生検の結果、二次性副甲状腺機能亢進症に伴い異常な線維性類骨面や線維組織面の有意な増加が認められた。また骨梁単位活性化率の亢進および血清 intact-PTH 値の上昇も有意に認められた。これに対してOCT投与群では線維性類骨面が病態対照群に比較して有意に低下しており ($p<0.05$)、骨病変進行の遅延が認められた。この時、骨梁単位活性化率の動きに両群間で差は認められず、OCTの効果は骨回転に影響していないことが推察された。また血清 intact-PTH 値はOCT投与により上昇の程度を抑制しているものの有意ではなかった (図ホ-12)。

この結果から、OCTは二次性副甲状腺機能亢進症に伴う骨病変に対して無形成骨を誘導することなくその進行を遅延させることが明らかとなった。



図ホー 1 2 イヌ腎不全モデルの二次性副甲状腺機能亢進症およびそれに伴う骨病変に対する進展遅延作用

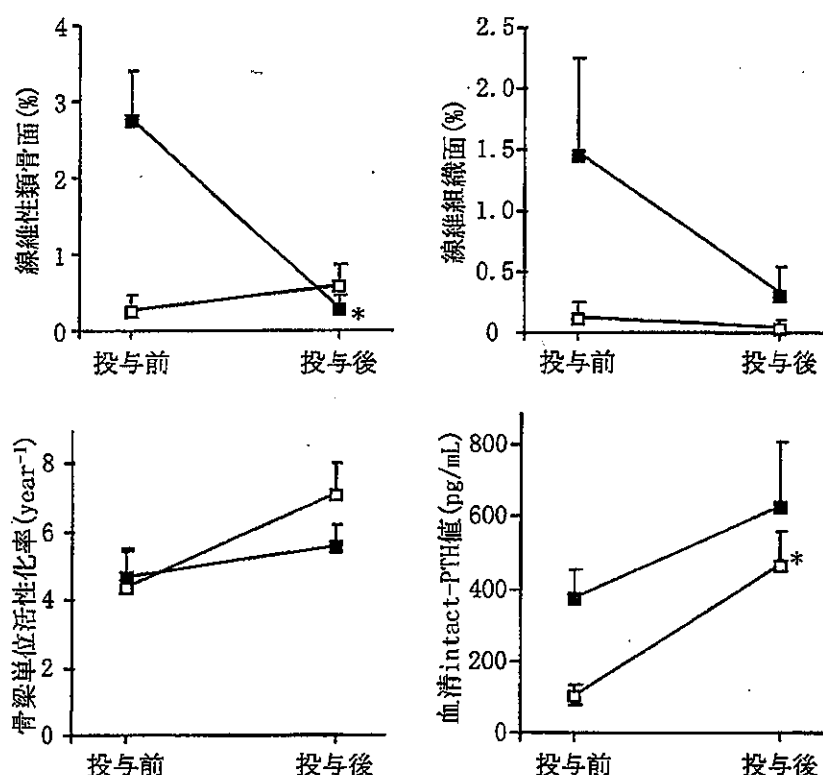
雌性イヌ（ビーグル，成犬）に腎結紮手術を施しイヌ腎不全モデルを作製した。慢性腎不全の病態が安定してからOCT 0.011–0.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を週3回1年間投与した。骨生検を実験開始時と1年間の投与終了時に行いOCTの効果を評価した。○は正常対照群（例数は10），□は病態対照群（例数は14あるいは15），■はOCT投与群（例数は10あるいは11）。各値は平均値±標準誤差で示した。統計は偽手術群と病態対照群間で対応のないt検定を行った（#： $p<0.05$ ）。病態対照群とOCT投与群の比較は投与前値と投与後値間に相関がないことを確認し，投与前値に対する投与後値の比の対数値を用いて対応のないt検定を行った（*： $p<0.05$ ）。

2) 二次性副甲状腺機能亢進症に伴い進展した骨病変に対する効果

OCTが慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症の骨病変に効果を示すか、またOCT投与中止後の骨病変について観察した。

1) で示した如く骨病変の進展遅延作用の検討で病態対照群であった被験動物にOCTを0.033から0.33 $\mu\text{g/kg}$ 投与し、OCT投与群であったそれらには溶媒を、それぞれ週3回8ヵ月間投与した。2) で病態対照群となった被験動物は実験開始時に線維性類骨面、線維組織面は高値であったが、OCT投与により線維性類骨面が投与前に比較して有意に低下した($p<0.05$)。また骨梁単位活性化率は投与前後で大きな差は認められなかった。一方、1) でOCTを投与された被験動物は、OCT投与を中止後、血清intact-PTH値の上昇は認められたものの線維性類骨面や線維組織面には変化はなかった(図ホ-13)。

以上のようにOCTはイヌ腎不全に伴う骨病変に対して線維性類骨や線維組織の形成を改善する効果を示すことに加えて、その投与を中断した後も骨病変に対する作用が持続することが明らかとなった。このようにOCTは骨のリモデリング動物においても二次性副甲状腺機能亢進症に伴う骨病変に効果を発揮したことから、臨床における骨組織の改善効果が予想された。



図ホ-13 イヌ腎不全モデルの二次性副甲状腺機能亢進症に伴う骨病変に対する効果

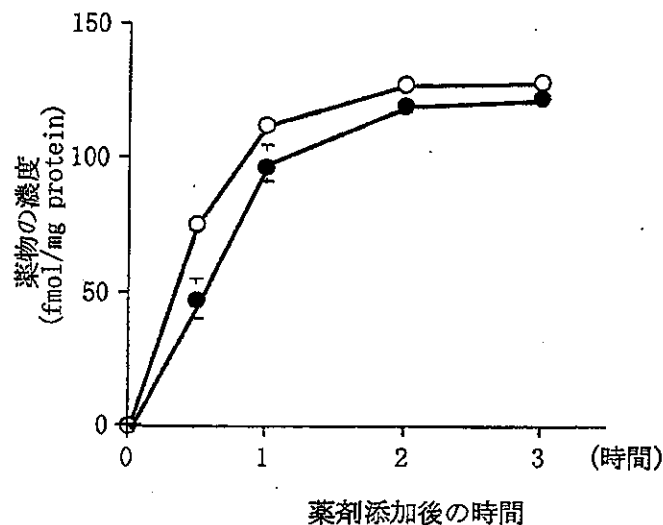
雌性イヌ(ビーグル, 成犬)に腎結紮手術を施しイヌ腎不全モデルを作製した。1)の実験終了後、数週間してからOCTを0.033-0.33 $\mu\text{g/kg}$ 週3回8ヵ月間投与した。骨生検を実験開始時と8ヵ月の投与終了時に行った。□は病態対照群(3あるいは4例), ■はOCT投与群(7あるいは8例)。各値は平均値±標準誤差で示した。統計は各群内における投与前値と投与後値での対応のあるt検定で行った(*: $p<0.05$)。

2. 効力発現に関する薬理作用

OCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様に血中で生体内のビタミンD輸送担体であるビタミンD結合タンパク (DBP) と結合し、ビタミンD受容体 (VDR) を発現する様々な組織に運ばれると考えられ、骨、小腸、腎臓および副甲状腺を含む甲状腺に比較的速やかに分布する（「ヘー2 (2) 1) ラットにおける単回静脈内投与時の組織内分布」）。副甲状腺に到達しその細胞内に取り込まれたOCTは核内に移行し（「ヘー2 (2) 4) ラットにおける単回静脈内投与時の副甲状腺のマイクロラジオグラフィー」）VDRと結合し作用を発揮すると考えられる。（1）ではOCTの副甲状腺細胞への移行について $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較検討した。（2）ではOCTのVDRに対する親和性を小腸、腎臓及び副甲状腺などから抽出したVDRを用いて検討した。（3）では正常あるいは腎不全ラットを用いて副甲状腺組織のpre-pro PTH mRNA発現に対するOCTの効果を $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較検討した。（4）、（5）ではOCTの腸管でのCa作用を $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較した。（6）ではOCTのDBPとの親和性を $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および $25(\text{OH})\text{D}_3$ と比較した。（7）ではOCTの骨芽細胞様細胞への作用を $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較した。（8）ではOCTの代謝物のVDRおよびDBPに対する親和性とHL-60細胞に対する増殖抑制作用を検討した。

(1) 副甲状腺細胞内への移行に関する検討

OCTの副甲状腺細胞内への移行を調べる目的で、正常ウシ副甲状腺細胞を用いて $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較検討した。OCTと $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の $5 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ を正常ウシ副甲状腺細胞に添加した結果、OCTと $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ はウシ副甲状腺細胞内に同様な時間経過で取り込まれ、その量は2から3時間後に最大に達した。核内を含む細胞内へ取り込まれる速度および量はOCTと $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ で同様であった(図ホ-14)。



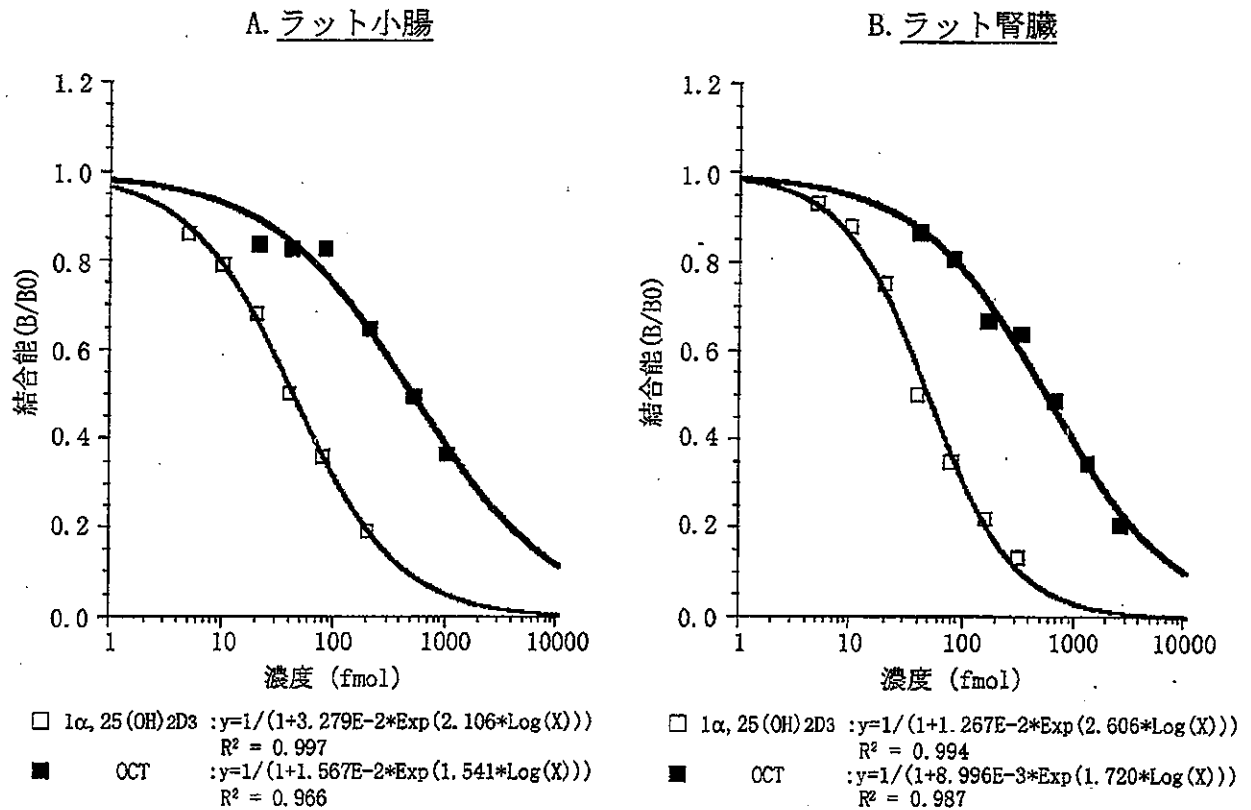
図ホ-14 ウシ副甲状腺細胞内に取り込まれるOCTと $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 量の経時的変化

ウシ副甲状腺細胞培養系に ^3H ラベルしたOCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し、各時間に副甲状腺細胞内に取り込まれ受容体と結合したそれぞれの薬物の濃度を測定した。各値は平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。各ポイントのサンプル数は4である。○: OCT, ●: $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 統計は両薬物の経時変化を二元配置分散分析により比較し、3時間目の薬物濃度を対応のないt検定により比較した。

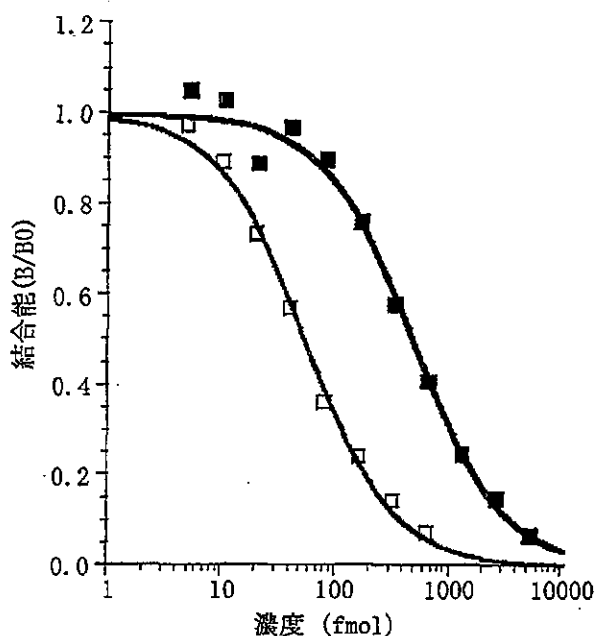
(2) ビタミンD受容体に対する親和性

VDRとOCTとの親和性を、ラット小腸、ラット腎臓、ウシ腎臓、ウシ副甲状腺および骨芽細胞様細胞株 (ROS 17/2.8細胞) を用いて競合的反応により求め $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較した (図ホ-1 5A~I)。

この結果から、OCTのVDRとの親和性は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のそれに比較して1/4から1/12であることが明らかとなった (表ホ-5, 6)。

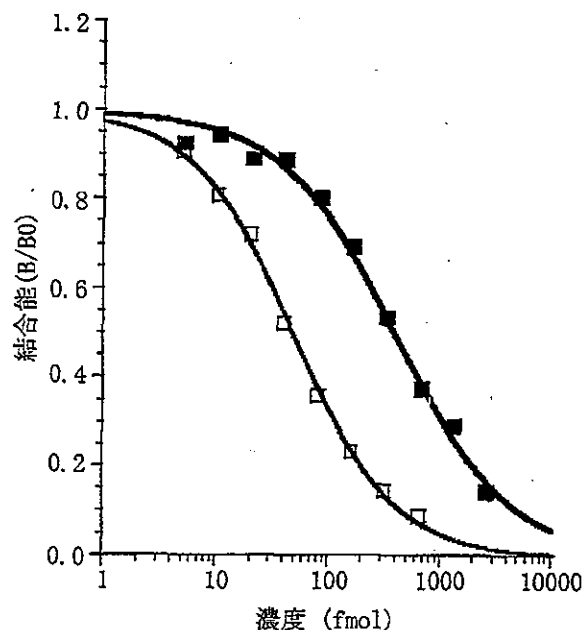


C. ウシ腎臓(1)



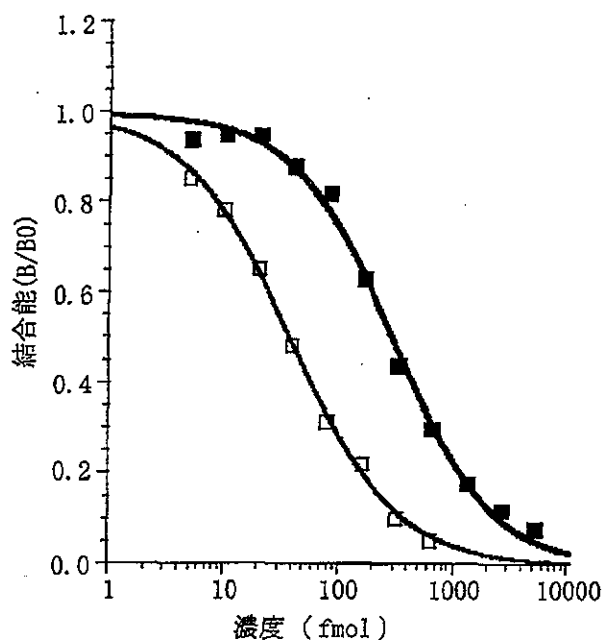
□ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$: $y=1/(1+1.194\text{E}-2*\text{Exp}(2.574*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.995$
 ■ OCT : $y=1/(1+1.243\text{E}-3*\text{Exp}(2.511*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.990$

D. ウシ腎臓(2)



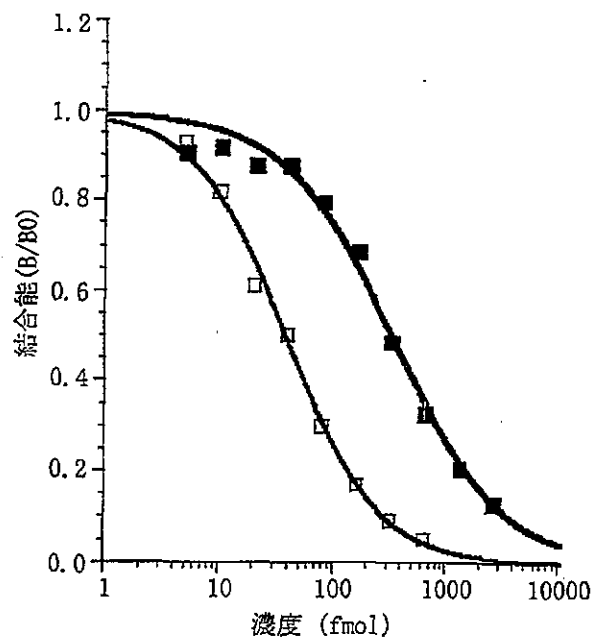
□ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$: $y=1/(1+2.386\text{E}-2*\text{Exp}(2.237*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.998$
 ■ OCT : $y=1/(1+6.360\text{E}-3*\text{Exp}(1.951*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.993$

E. ウシ腎臓(3)



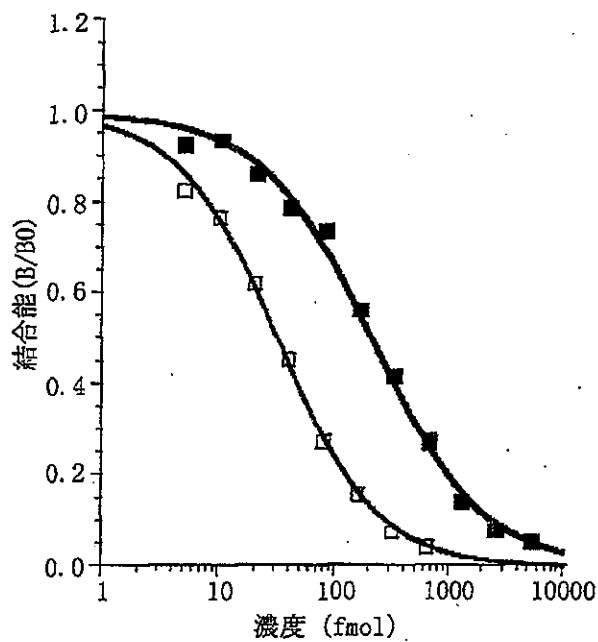
□ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$: $y=1/(1+3.328\text{E}-2*\text{Exp}(2.178*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.998$
 ■ OCT : $y=1/(1+3.502\text{E}-3*\text{Exp}(2.307*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.996$

F. ウシ副甲状腺(1)



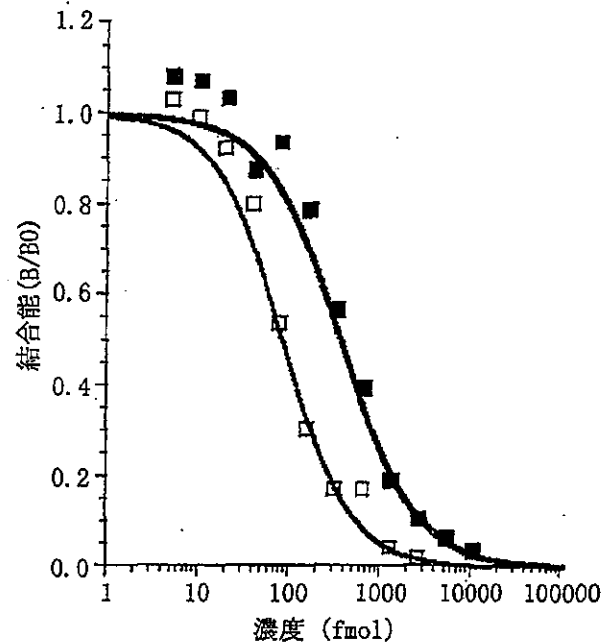
□ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$: $y=1/(1+2.027\text{E}-2*\text{Exp}(2.488*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.995$
 ■ OCT : $y=1/(1+5.404\text{E}-3*\text{Exp}(2.086*\text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.989$

G. ウシ副甲状腺(2)



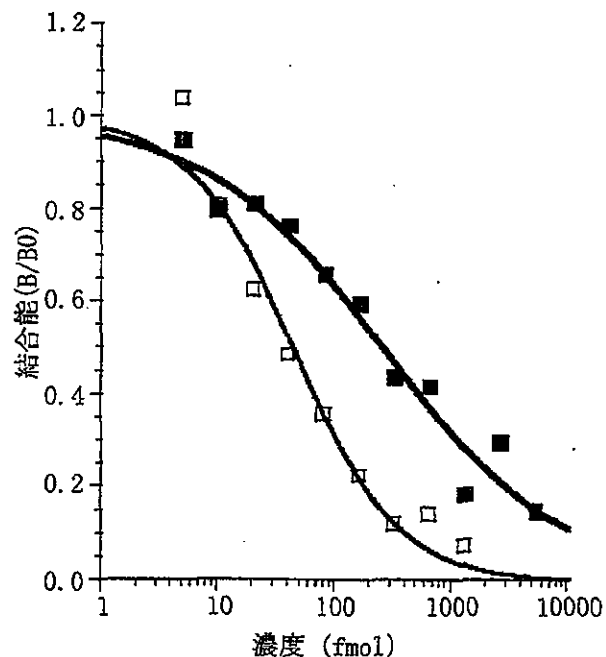
□ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$: $y = 1 / (1 + 3.231\text{E-}2 * \text{Exp}(2.305 * \text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.996$
 ■ OCT : $y = 1 / (1 + 8.779\text{E-}3 * \text{Exp}(2.040 * \text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.996$

H. ウシ副甲状腺(3)



□ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$: $y = 1 / (1 + 5.750\text{E-}3 * \text{Exp}(2.690 * \text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.982$
 ■ OCT : $y = 1 / (1 + 2.002\text{E-}3 * \text{Exp}(2.434 * \text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.980$

I. ROS 17/2.8 細胞



□ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$: $y = 1 / (1 + 2.531\text{E-}2 * \text{Exp}(2.250 * \text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.964$
 ■ OCT : $y = 1 / (1 + 4.174\text{E-}2 * \text{Exp}(1.310 * \text{Log}(X)))$
 $R^2 = 0.962$

図ホー 1 5 VDR に対する OCT の競合的反應曲線

表ホー 5 VDR に対する OCT の親和性の算出

部位	番号	薬剤	IC50 (fmol)	相対値	OCT 親和性
ラット小腸		1 α , 25 (OH) 2D3	41.98	1	1/12
		OCT	497.74	11.9	
ラット腎臓		1 α , 25 (OH) 2D3	47.42	1	1/12
		OCT	548.28	11.6	
ウシ腎臓	(1)	1 α , 25 (OH) 2D3	52.48	1	1/9
		OCT	461.32	8.8	
	(2)	1 α , 25 (OH) 2D3	46.77	1	1/8
		OCT	390.84	8.4	
	(3)	1 α , 25 (OH) 2D3	36.48	1	1/8
		OCT	282.49	7.7	
ウシ副甲状腺	(1)	1 α , 25 (OH) 2D3	36.90	1	1/9
		OCT	318.42	8.6	
	(2)	1 α , 25 (OH) 2D3	30.83	1	1/7
		OCT	209.41	6.8	
	(3)	1 α , 25 (OH) 2D3	82.79	1	1/4
		OCT	357.27	4.3	
ROS 17/2.8細胞		1 α , 25 (OH) 2D3	43.05	1	1/6
		OCT	266.07	6.2	

表ホー 6 VDR に対する OCT の親和性

ラット小腸	1/12
ラット腎臓	1/12
ウシ腎臓	1/8 - 1/9
ウシ副甲状腺	1/4 - 1/9
ROS 17/2.8細胞	1/6

(1 α , 25 (OH) 2D3 の結合能を 1 とした場合の相対値)

常法に従いラット小腸, ラット腎臓, ウシ腎臓, ウシ副甲状腺および ROS 17/2.8細胞より核を抽出し VDR を得た。OCT および 1 α , 25 (OH) 2D3 を様々な濃度で加え競合的反応試験により濃度反応曲線を求めた。これにより各薬物の VDR に対して 50% 結合する濃度を算出した。右のカラムは 1 α , 25 (OH) 2D3 を 1 とした場合の相対値を示した。

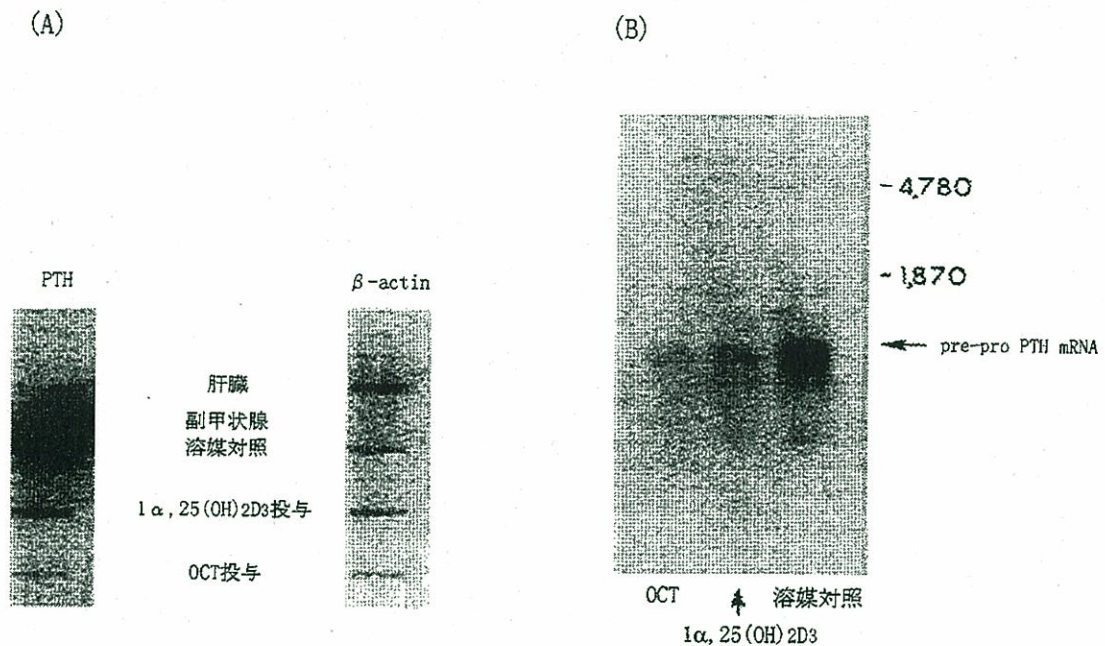
本実験は, OCT の性質を明らかにする目的で VDR との親和性を検討したものである。その結果, OCT の VDR との親和性は 1 α , 25 (OH) 2D3 を 1 とした場合 1/4 から 1/12 であった。今回の検討で VDR との親和性に関してラットとウシによる種差や小腸, 腎臓, 副甲状腺あるいは骨芽細胞様細胞 (ROS 17/2.8 細胞) といった臓器・細胞間に大きな差は認められなかった。

(3) 副甲状腺pre-pro PTH mRNA発現に対する作用

1) 正常ラットにおける作用

OCTが生体内で副甲状腺のPTH遺伝子発現にどのように作用するかを明らかにする目的で正常ラット副甲状腺を用いて検討した。OCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の $0.13 \mu\text{g/kg}$ を正常ラットに単回腹腔内投与し、その48時間後の肝臓および副甲状腺組織のPTH遺伝子の発現をスロットブロット解析した。その結果、両薬物とも副甲状腺のpre-pro PTH mRNAの発現量を減少させた(図ホ-16(A))。これはノーザンブロット解析によっても同様であった(図ホ-16(B))。

OCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様に副甲状腺組織のpre-pro PTH mRNAの発現を抑制することが明らかとなった。



図ホ-16 正常ラット副甲状腺組織の pre-pro PTH mRNA の発現に対する OCT および $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作用

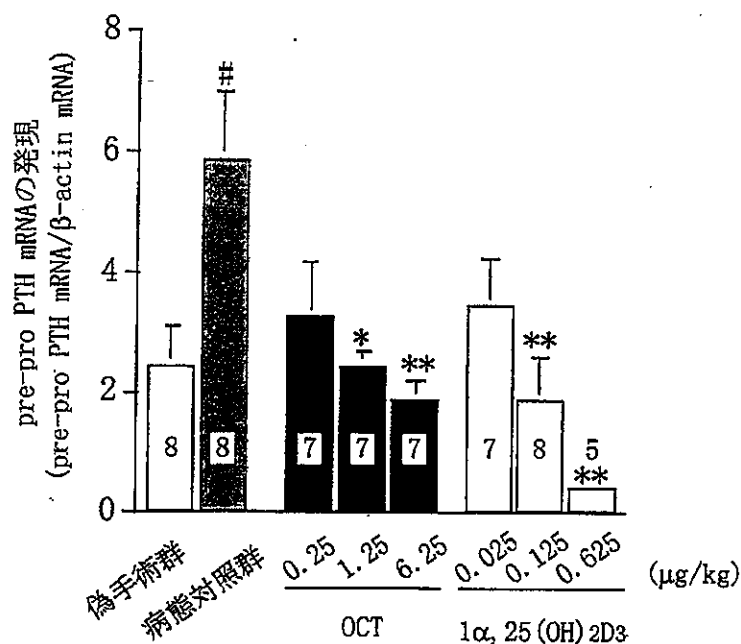
(A) 正常ラットの肝臓、副甲状腺と $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ あるいは OCT 投与ラットの副甲状腺細胞質 RNA を抽出しスロットブロット解析を行った。左のスロットは PTH m122cDNA と、右のスロットはラット β -actin オリゴヌクレオタイド cDNA をハイブリダイズさせた。

(B) 溶媒、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ あるいは OCT を投与した正常ラットの副甲状腺から RNA を抽出しノーザンブロット解析を行った。

2) 腎不全ラットにおける作用

5/6腎摘出術を施した腎不全ラットを用いてOCT 0.25, 1.25, 6.25 $\mu\text{g/kg}$ あるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 0.025, 0.125, 0.625 $\mu\text{g/kg}$ を静脈内投与し最終投与24時間後に副甲状腺を摘出し、ノーザンブロット解析によりpre-pro PTH mRNAの発現を検討した。その結果、OCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ともに最低投与量を除きpre-pro PTH mRNAの発現量を有意に抑制した($p<0.05$ あるいは $p<0.01$) (図ホ-17)。

このことから、OCTはPTH遺伝子の転写抑制を介してPTHの合成・分泌を抑制していると考えられた。



図ホ-17 腎不全ラットのpre-pro PTH mRNAの発現に対するOCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作用

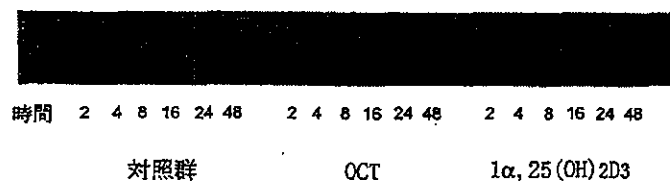
5/6腎摘出術を施したラットにOCT 0.25, 1.25, 6.25 $\mu\text{g/kg}$ あるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 0.025, 0.125, 0.625 $\mu\text{g/kg}$ を週3回15日間静脈内投与し最終投与24時間後に副甲状腺を摘出した。ノーザンブロット解析によりpre-pro PTH mRNAの発現を検討し、その発現量を β -actin mRNAのそれで除した値を示した。各値は平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。カラムの中は被験動物の数を示した。統計は偽手術群と病態対照群間の対応のないt検定(#: $p<0.05$)と病態対照群と各薬物投与群間はDunnett検定を行った(*: $p<0.05$, **: $p<0.01$)。

(4) 小腸Ca結合タンパク遺伝子に対する作用

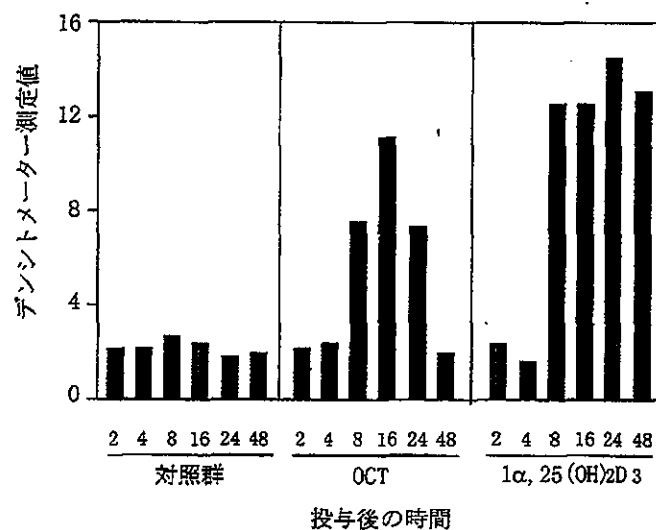
腸管でのCa作用についてビタミンD欠乏ラットを用いて検討した。OCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ をビタミンD欠乏ラットに $0.13 \mu\text{g}/\text{kg}$ 単回腹腔内投与し、小腸でのCa結合タンパクであるカルビンディンD9K mRNAの発現の経時変化を観察した。その結果、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与すると8時間目からカルビンディンD9K mRNAの発現が亢進し、48時間後でも持続していた。これに対してOCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様に8時間目から同様の現象が認められたものの、16時間で最高となった後減少し48時間の時点では対照群と同じレベルまで低下した(図ホ-18)。

このことから、OCTのカルビンディンD9K遺伝子発現亢進は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と16時間まで同様に認められるものの、その後は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ とは異なり速やかにその発現が消失することが明らかとなった。

(A)



(B)



図ホ-18 ビタミンD欠乏ラットの小腸Ca結合タンパクの誘導能に対するOCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作用

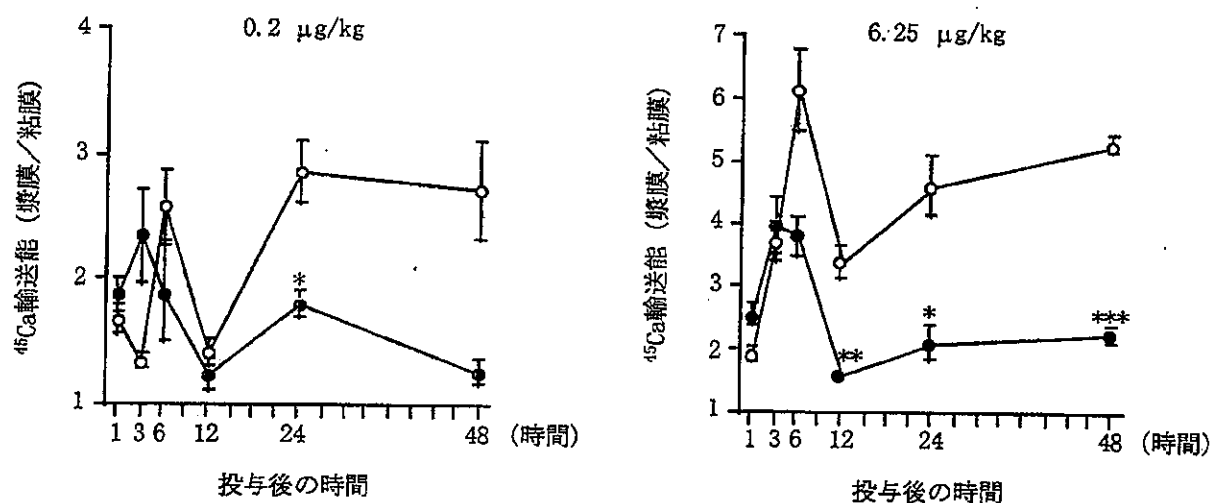
ビタミンD欠乏ラットにOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を $0.13 \mu\text{g}/\text{kg}$ で腹腔内投与した。その後各時間で十二指腸のRNAを抽出した。各時間に5匹のラットから得たtotal RNA $10 \mu\text{g}$ を用いてノーザンブロット解析を行った(A)。得られたRNAのバンドをデンスitomーターで測定し数値化した(B)。

【追記】
では腎不全ラットを用いて検討しており、静脈内間歇7回投与24時間後で、OCT 1.25, 6.25 µg/kg 投与群では血清 N-PTH 値の有意な抑制が観察されるものの、小腸のカルビンディンD9K遺伝子発現亢進は認められない。これに対してこれまでの知見から同等の薬効が期待される1/10の投与量として設定した1α,25(OH)2D3 0.125, 0.625 µg/kg 投与群では、血清 N-PTH 値はOCTと同様に有意に抑制されるが、小腸のカルビンディンD9K遺伝子発現の顕著な亢進が認められた。

(5) 小腸Ca吸収能に対する作用

腸管からのCa吸収は生体のCa代謝調節において重要な役割の一つと考えられている。そこでOCTの腸管でのCa吸収作用について反転腸管法を用いて検討した。ビタミンD欠乏ラットに $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ あるいはOCTを0.2あるいは6.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与した。投与後各時間にラットより十二指腸を摘出しCa輸送能を測定した。その結果、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ により誘導される能動的腸管Ca輸送は明らかな二相性を示した。第一相の作用は、投与後1時間から6時間にかけて急激に上昇する作用であり、第二相の作用は投与後12時間以降から持続的に上昇する作用であった。OCTの作用は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と異なり、第一相は認められるものの、第二相は低いことが明らかとなった(図ホ-19)。

この結果から、OCTによる小腸Ca吸収能促進作用は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比較して持続されないことが明らかとなった。



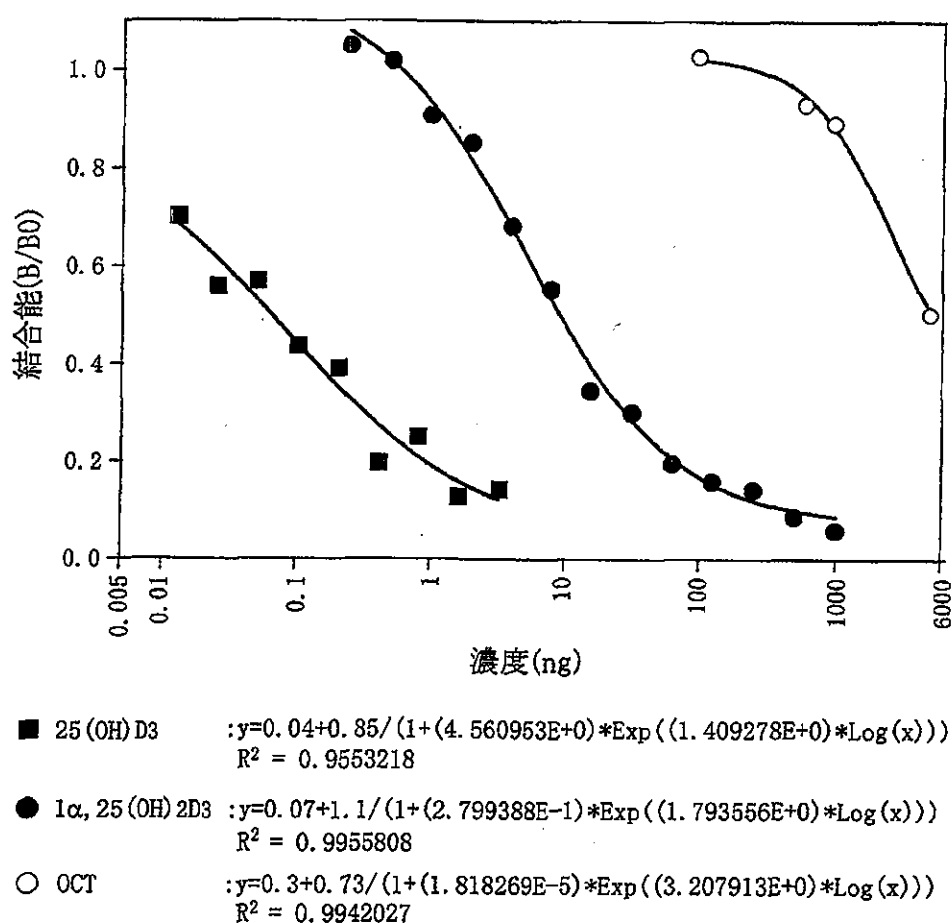
図ホ-19 腸管からのCa吸収能に対するOCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作用

ビタミンD欠乏食で飼育したラットを薬物投与12時間前より絶食飼育し、OCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を0.2あるいは6.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与後、経時的に屠殺し十二指腸を摘出し反転腸管法を施行した。各値は平均値±標準誤差で示した。各ポイントはすべて5例である。●: OCT, ○: $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 統計は各ポイントにおける $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与群とOCT投与群間の対応のないt検定を行い、時点についてBonferroniの方法により多重性の調整を行った (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)。

(6) ビタミンD結合タンパクに対する親和性

一般にビタミンD誘導体は血流中で体内のビタミンDの輸送タンパクであるDBPと結合し、血中循環している。ラット血漿由来DBPに対するOCTの親和性を25(OH)D₃および1 α , 25(OH)2D₃と比較した(図ホ-20)。その結果、OCTはDBPに対する親和性が25(OH)D₃と1 α , 25(OH)2D₃に比べてそれぞれ1/85000あるいは1/570と低いことが明らかとなった(表ホ-7)。

この結果はOCTの血中からの消失が1 α , 25(OH)2D₃と比較して早い要因の一つと考えられた(ヘ-2(1)1)ラットにおける単回静脈内投与時の血漿中濃度推移)。



図ホ-20 ラット血漿DBPに対するビタミンDの競合的反応曲線

ラット血漿DBPに[³H]-25(OH)D₃を添加し、これにOCT, 25(OH)D₃および1 α , 25(OH)2D₃を様々な濃度で加え、競合的反応曲線を求めた。

表ホー 7 DBPに対するOCT, 25 (OH) D₃および1 α , 25 (OH) 2D₃の親和性

25 (OH) D ₃	1	150
1 α , 25 (OH) 2D ₃	1/150	1
OCT	1/85000	1/570

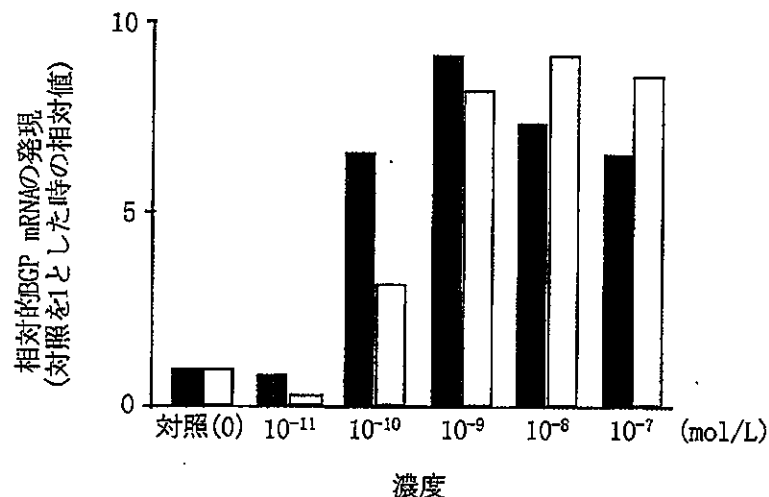
ラット血漿DBPに [³H]-25 (OH) D₃を添加しこれにOCT, 25 (OH) D₃および1 α , 25 (OH) 2D₃を様々な濃度で加え競合的反應試験により濃度反應曲線を求めた。これにより各薬物のDBPに対して50%結合する濃度を算出した。中央のカラムは25 (OH) D₃を1とした場合、右のカラムは1 α , 25 (OH) 2D₃を1とした場合の相対値を示した。

(7) 骨芽細胞に対する作用

二次性副甲状腺機能亢進症に伴う腎性骨異栄養症の特徴である線維性骨炎に対するOCTの作用は、PTH分泌抑制を介する作用に加えて骨芽細胞への直接作用の可能性が考えられる。そこで、骨芽細胞様細胞株であるROS 17/2.8細胞を用いてオステオカルシン(BGP)産生に対するOCTおよび $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($10^{-11} \sim 10^{-7} \text{ mol/L}$)の作用を検討した。ROS 17/2.8細胞の培養系にOCTあるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し24時間後のBGPのmRNAを測定した結果、OCTは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様にROS 17/2.8細胞のBGP mRNA発現を亢進させた(図ホ-21)。

この結果から、OCTは骨芽細胞様細胞に作用し、骨関連遺伝子の発現を促進することが明らかとなった。

なお、臨床試験において、OCT投与によりBGPが増加し、投与終了2週後でBGPが低下することが明らかになっている。さらに血清 intact-PTH 抑制の不十分であった症例においても高代謝回転骨の是正が認められるものもあることから、OCTは臨床においてPTHを抑制することにより骨へ作用するのみならず、直接に骨へ作用し、骨病変を改善する可能性が示唆された。



図ホ-21 ROS 17/2.8細胞のBGPのmRNA発現におよぼす作用

骨芽細胞様細胞株 ROS 17/2.8 細胞の培養系に OCT あるいは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を $10^{-11} \sim 10^{-7} \text{ mol/L}$ まで添加し 24 時間後に細胞より RNA を抽出しノーザンブロット解析により BGP の mRNA を測定した。各バーは対照群の発現量を 1 とした時の各処理群の相対値を示した。各カラムは 2 回の実験の平均値を示す。■ : OCT, □ : $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$

(8) 代謝物に関する検討

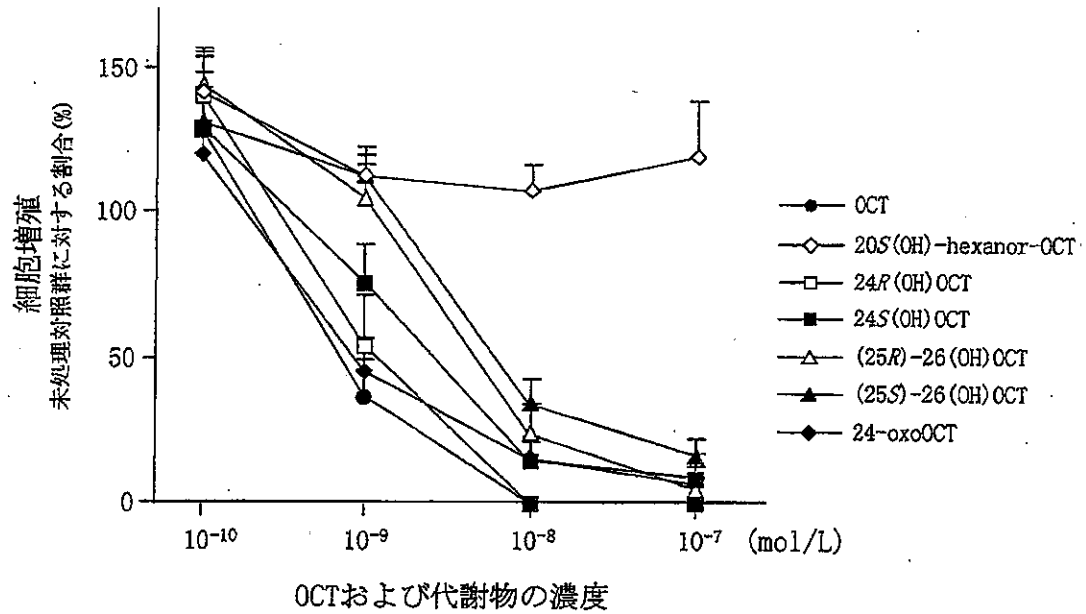
OCTの代謝物として同定されている種々の化合物について、VDRおよびDBPに対する親和性、さらにヒト骨髄性白血病細胞(HL-60)の増殖抑制作用を検討した。VDRに対する50%結合能を比較した場合、(25*R*)-26(OH)OCT, (25*S*)-26(OH)OCT, 24*R*(OH)OCT, 24*S*(OH)OCTおよび24-oxoOCTはOCTの約1/10から1/100程度で、20*S*(OH)-hexanor-OCTは1/3800であった(表ホ-8)。また、DBPへの50%結合能の比較では、OCT代謝物はOCTの1/4から1/40であった(表ホ-8)。HL-60細胞の増殖抑制作用に関しては、OCT, 24-oxoOCT, 24*S*(OH)OCTおよび24*R*(OH)OCTは同程度であった。また、(25*R*)-26(OH)OCTおよび(25*S*)-26(OH)OCTは 10^{-9} mol/L添加では細胞増殖抑制作用は認められないが、 10^{-8} mol/L以上では50%以上の抑制効果が認められた。20*S*(OH)-hexanor-OCTの細胞増殖抑制作用は 10^{-7} mol/Lにおいても認められなかった(図ホ-22)。

以上の結果から、代謝物の血漿中の存在比はOCTに比べ小さく量的にもごくわずかであることから、これらのOCTの薬効発現への影響は少ないと考えられる。

表ホ-8 OCT代謝物のVDRおよびDBPに対する親和性

	VDRに対する 親和性	DBPに対する 親和性
OCT	1	1
20 <i>S</i> (OH)-hexanor-OCT	1/3800	1/41
24 <i>R</i> (OH)OCT	1/22	1/4
24 <i>S</i> (OH)OCT	1/100	1/11
24-oxoOCT	1/12	1/6
(25 <i>R</i>)-26(OH)OCT	1/106	1/6
(25 <i>S</i>)-26(OH)OCT	1/98	1/6

VDRはウシ胸腺由来のものを、DBPはビタミンD欠乏ラットの血漿を用いた。OCTを1とした場合の相対的親和性を示した。構造式はへの略号表を参照。



図ホー 2 2 OCT 代謝物の HL-60 細胞に対する増殖抑制作用

HL-60 細胞を 1×10^5 cells/mL の条件で、OCT およびその代謝物のエタノール溶液を 10^{-7} – 10^{-10} mol/L になるようそれぞれ添加し 72 時間培養した。培養終了後、トリパンプルーで細胞を染めた後、生細胞数を hemocytometer を用いて測定した。なお、対照としては 0.1% のエタノールが含まれるようにエタノール溶液を添加し、その後は OCT を添加した場合と同様に行った。薬物未処理群の細胞数を 100% として示した。各処理群はすべて 4 サンプルである。各値は平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。

3. 一般薬理試験

(1) 一般薬理作用

OCT の一般薬理作用、すなわち一般症状および行動、中枢神経系、自律神経系および平滑筋、呼吸・循環器系、消化器系、水および電解質代謝、その他（血小板凝集、血液凝固、炎症）について、種々の動物への静脈内投与（1～100 $\mu\text{g/kg}$ ）と *in vitro*（1～30 $\mu\text{mol/L}$ ）の実験系で検討した。その成績の概略を表ホ-9に示す。

1) 一般症状および行動に及ぼす影響

マウスへの静脈内投与は、一般症状および行動に影響を与えなかった。

2) 中枢神経系に及ぼす影響

マウスへの静脈内投与において、自発運動量、バルビタール睡眠、体温に影響を与えず、抗痙攣作用と鎮痛作用を示さなかった。

3) 自律神経系および平滑筋に及ぼす影響

*In vitro*の実験において、10 mmol/L 以上の濃度でモルモット回腸の自発収縮を抑制し、回腸縦走筋標本のhistamine, acetylcholine, BaCl₂ およびKCl収縮を抑制した。また、モルモット回腸縦走筋標本のcaffeine収縮とCaCl₂収縮に対する作用を30 mmol/L で検討したところ、これらの収縮も抑制した。

*In vitro*でモルモットの胸部大動脈の静止張力を変化させず、またnorepinephrine収縮とKCl収縮にも影響を与えなかった。

*In vitro*でモルモットの気管平滑筋に対して収縮あるいは弛緩反応を惹起しなかった。

4) 呼吸・循環器系に及ぼす影響

麻酔イヌへの静脈内投与では、呼吸・循環器系に影響を与えなかった。

5) 消化器系に及ぼす影響

マウスの小腸BaSO₄輸送能に影響を与えなかった。

6) 水および電解質代謝に及ぼす影響

ラットへの静脈内投与では、1 mg/kg 以上で尿中Ca排泄量の増加と無機リン（IP）排泄量の減少がみられ、10 mg/kg 以上では尿中Cl排泄量の増加と尿浸透圧の低下が認められた。100 mg/kg では尿量の増加と尿中Na排泄量の増加がみられた。

7) その他

血小板凝集；ヒトとイヌの血小板を用いた *in vitro*の実験において、血小板凝集に対する影響を示さなかった。

血液凝固；ラットへの静脈内投与において、血小板数、プロトロンビン時間、活性化部

分トロンボプラスチン時間，ユーグロブリン溶解時間，血漿プラスミン活性に影響を与えなかった。

炎症；ラットへの静脈内投与は，カラゲニン足浮腫に影響を与えなかった。

表ホ-9. 一般薬理試験成績

試験項目	動物種 (n)	投与経路	用量	結果
一般症状および行動に及ぼす影響				
一般症状・行動 (Irwin法)	マウス (5)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	影響なし
中枢神経系に及ぼす影響				
自発運動量 (Animex法)	マウス (10)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	影響なし
Barbital睡眠	マウス (10)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	影響なし
抗痙攣作用 (最大電撃痙攣法)	マウス (10)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	作用なし
鎮痛作用 (酢酸whiting法)	マウス (10)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	作用なし
体温	マウス (10)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	影響なし
自律神経系および平滑筋に及ぼす影響				
摘出回腸				
単独作用	モルモット (8)	in vitro	1, 3, 10, 30 μmol/L	≥10 μmol/Lで自発収縮の抑制
回腸痙攣走筋				
Acetylcholine収縮	モルモット (8)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	≥10 μmol/Lで抑制
Histamine収縮	モルモット (7~8)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	≥10 μmol/Lで抑制
BaCl ₂ 収縮	モルモット (8)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	≥10 μmol/Lで抑制
KCl収縮	モルモット (7~8)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	≥10 μmol/Lで抑制
Caffeine収縮	モルモット (6)	in vitro	30 μmol/L	抑制
CaCl ₂ 収縮	モルモット (6)	in vitro	30 μmol/L	抑制
胸部大動脈標本				
単独作用	モルモット (7)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	作用なし
Norepinephrine収縮	モルモット (5)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	影響なし
KCl収縮	モルモット (5)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	影響なし
気管標本				
単独作用	モルモット (5)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	作用なし
呼吸・循環器系に及ぼす影響				
血圧 心拍数 左心室内圧 左心室内圧最大上昇速度 大動脈血流量 腎血流量 大腸動脈血流量 呼吸数 心電図	麻酔イヌ (5)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	影響なし
消化器系に及ぼす影響				
小腸輸送能 (BaSO ₄ 輸送能)	マウス (10)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	影響なし
水及び電解質代謝に及ぼす影響				
尿量	ラット (10)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	100 μg/kgで増加
尿pH				影響なし
尿浸透圧				≥10 μg/kgで低下
尿中Na排泄量				100 μg/kgで増加
尿中K排泄量				影響なし
尿中Cl排泄量				≥10 μg/kgで増加
尿中Ca排泄量				≥1 μg/kgで増加
尿中IP排泄量				≥1 μg/kgで減少
その他				
血小板凝集				
凝集惹起作用	イヌ (6)、ヒト (4)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	作用なし
Collagen凝集	イヌ (7)、ヒト (4)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	影響なし
ADP凝集	イヌ (9)、ヒト (4)	in vitro	3, 10, 30 μmol/L	影響なし
血液凝固				
血小板数 プロトロンビン時間 活性化部分トロンボプラスチン時間 ユーグロブリン溶解時間 血漿プラスミン活性	ラット (6)	i.v.	1, 10, 100 μg/kg	影響なし
炎症				
カラゲニン足浮腫	ラット (8)	i.v.	0.01, 0.1, 1, 10, 100 μg/kg	影響なし

<引用文献>

- R-1) Y-L.Chan et al., Calcif. Tissue Int., 38, 27 (1986)
- R-2) T.Okazaki et al., J. Biol. Chem., 263, 2203 (1988)
- R-3) E. Slatopolsky et al., J. Clin. Invest., 74, 2136 (1984)
- R-4) 八島由紀彦ら, 薬理と治療, 21, 79 (1993)
- R-5) Shibata S. et al., Lab. Invest., 27, 457 (1972)
- R-6) Nishii Y. et al., Endocrinology, 107, 3191 (1980)
- R-7) 第 38 回日本腎臓学会発表 R-149 (1995)

へ. 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する資料

総括

表へー1 吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する試験一覧

試験項目		動物種又はヒト	被験物質	投与経路	投与量	
血漿あるいは血清中濃度	単回投与	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	0.1, 1, 10 μg/kg	
		雄ラット	[26- ³ H]OCT	静脈内	0.1, 1, 10 μg/kg	
		雌ラット	[2β- ³ H]OCT, [26- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg	
		病態モデル雄ラット	[2β- ³ H]OCT, [26- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg	
		雄イヌ	OCT	静脈内	0.3, 1, 10 μg/kg	
		病態モデル雌雄イヌ	OCT	静脈内	1 μg/kg	
		ヒト(健常人)	OCT注	静脈内	1.1, 3.3, 6.6 μg/body	
	反復投与	雄ラット	[26- ³ H]OCT	静脈内	0.1, 1, 10 μg/kg/day × 1, 7, 14回	
		ヒト(健常人)	OCT注	静脈内	1.1, 3.3 μg/body × 4回	
		ヒト(患者)	OCT注	静脈内	0.5, 10, 15 μg/body × 週3回, 12週間	
		ヒト(患者)	OCT注	静脈内	2.5から15 μg/body × 週3回, 26週間	
		ヒト(患者)	OCT注	静脈内	10から17.5 μg/body × 週3回, 26週間	
	分布	臓器, 組織中濃度	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg/day × 1, 7, 14回
			雌ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg
全身オートラジオグラフィー		雌雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	10 μg/kg	
マイクロオートラジオグラフィー		雄ラット	[26- ³ H]OCT	静脈内	0.25から16 μg/kg	
胎児移行性		妊娠ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg	
タンパク結合		ラット, イヌ, ヒト血漿	[2β- ³ H]OCT, [26- ³ H]OCT	-	0.2, 2, 20 ng/mL	
代謝		血漿, 尿, 胆汁中代謝物	雄性ラット	[2β- ³ H]OCT, [26- ³ H]OCT, OCT	静脈内, 腹腔内	1 μg/kgから25 mg/kg
	組織中代謝物	雄性ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	10 μg/kg	
	血漿, 尿, 胆汁中代謝物	雄性イヌ	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1, 10 μg/kg	
	代謝部位	ラット, イヌ, 肝, 腎ホモジネート, ミクロソーム, ミトコンドリア, ヒト肝ミクロソーム	[2β- ³ H]OCT	-	1, 10 nmol/L	
	肝薬物代謝酵素誘導	雄性ラット	OCT	静脈内	0.1, 1, 10 μg/kg/day × 7回	
	腎薬物代謝酵素誘導	雄性ラット	OCT	静脈内	0.1, 1, 10 μg/kg/day × 7回	
	薬物代謝酵素阻害	ヒト肝ミクロソーム	OCT	-	0.1, 1 μmol/L	

表へー1 続き(吸収, 分布, 代謝, 排泄に関する試験一覧)

試験項目		動物種又はヒト	被験物質	投与経路	投与量
排泄	尿,糞,呼吸 中排泄	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg
		雌ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg
	反復投与 尿,糞中排泄	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg/day × 14回
	尿中排泄	雄イヌ	OCT	静脈内	0.3, 1, 10 μg/kg
		ヒト(健常人)	OCT注	静脈内	6.6 μg/body
	胆汁排泄	雌雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	0.1, 1, 10 μg/kg
	腸肝循環	雄ラット	[2β- ³ H]OCT 投与後4時間 までの胆汁	十二指腸 内	0.2 μg eq./kg
	乳汁移行	哺育中雌ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg
参考資料	血漿中濃度推移	雄ラット	[26- ³ H]OCT, OCT	静脈内	1, 10, 50, 100 μg/kg
	血漿中濃度推移および尿, 糞中排泄	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1, 10 μg/kg
	血漿中濃度推移	雄イヌ	OCT	静脈内	1, 10 μg/kg
	体内分布	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg
	代謝 (in vivo, 肝灌 流, 肝細胞)	雄ラット, 雄ラット摘出肝, 雄ラット遊離肝細胞	[26- ³ H]OCT, OCT	腹腔内, 灌流時は 門脈内	投与: 25 mg/kg, 灌流: 1 μg/mL, 細胞: 2 μg(OCT) あるいは30 ng ([26- ³ H]OCT)
	胆汁排泄	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	0, 1, 10 μg/kg
	反復投与時の 血漿中濃度推移および尿, 糞中排泄	雄ラット	[2β- ³ H]OCT	静脈内	1 μg/kg/day × 14回

<動物における成績>

雄性ラットにおける静脈内単回投与時の放射能のマスバランスの結果を図へー1に示す。静脈内投与された放射能は、体内に分布した後、主に胆汁を介して消化管に排泄され、一部は再吸収されるが、大部分は糞中へ排泄された。なお、尿中への放射能の排泄は15%以下であった。ラット及びイヌにおいて、胆汁及び尿中には未変化 OCT は認められず、OCT は体内から代謝によって消失した。

血漿(血清)中濃度

雄性ラットに 0.1, 1, 10 μg/kg の投与量で単回静脈内投与した時の未変化 OCT の半減期 ($T_{1/2}$) は 16.2 から 20.7 分で、血漿中からの消失は速やかであった。投与量間で全身血漿クリアランス(CL)及び $T_{1/2}$ には有意な差は認められず、この投与量の範囲でラットにおける OCT の動態は線形性を示した。また、雌性ラットにおける 1 μg/kg 投与後の血漿中濃度推移は雄性ラットの場合と同様に推移したことから、性差はないものと考えられた。

雄性イヌに 0.3, 1, 10 μg/kg の投与量で単回静脈内投与した時の $T_{1/2}$ は 0.72 から 1.23 時間であり、ラットの場合よりも長かった。イヌにおける血清中濃度-時間曲線下面積(AUC)はラットにお

ける同じ投与量での AUC の 3.2 から 3.4 倍であった。投与量間で CL に有意な差は認められず、イヌにおいてもこの投与量範囲で線形性を示した。

慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症モデルのラットおよびイヌにおける血漿(血清)中濃度推移はそれぞれの対照動物での濃度推移と同様であった。

雄性ラットに 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で 1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与した時、いずれの場合にも投与 4 時間後の血漿中濃度は定量限界未満であり、蓄積性は認められなかった。0.1 $\mu\text{g/kg}$ 反復投与では単回投与の場合と同様に推移したが、10 $\mu\text{g/kg}$ 反復投与では単回投与の場合と比べ消失は早かった。

分布

雄性ラットに 1 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時、放射能は速やかに全身に分布した。特に高い濃度で分布したのは、副甲状腺を含む甲状腺、肝臓、副腎および消化管であった。最高濃度に達した後の放射能の消失は速やかであった。雌性ラットにおける単回静脈内投与後の放射能分布挙動は雄性ラットと同様であった。これらの結果は、雌雄ラットに 10 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の全身オートラジオグラフィーにおいても確認された。

雄性ラットに 1 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で 1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与した時、投与 30 分後の不揮発性放射能濃度の増加は認められず、反復投与による組織への放射能の蓄積はほとんどないものと考えられた。

雄性ラットに単回静脈内投与した時のマイクロオートラジオグラムより、副甲状腺を含む甲状腺において認められた高い放射能分布は、副甲状腺の細胞核への分布に由来することが明らかとなった。

妊娠ラットに 1 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時、最高濃度に達した投与 30 分後において母獣血漿中濃度に対する胎児および胎児組織中不揮発性放射能濃度の比は、0.46 以下であった。また、母獣および胎児における各組織中放射能の消失は速やかであり、投与 24 時間後までにほとんど消失していた。

ラット、イヌおよびヒト血漿における 0.2 から 20 ng/mL の濃度での OCT のタンパク結合率はいずれの動物種においても 97% 以上と高かった。また、種々の結合タンパクおよび結合サイトに結合する薬物と OCT との間で、血漿タンパク結合における薬物相互作用は起こらないものと考えられた。

代謝

静脈内投与された OCT は、一部側鎖酸化型代謝物が生成するが、主に 22 位で側鎖が開裂し、グルクロン酸抱合を受け、ラットは胆汁中に、イヌでは胆汁及び尿中に排泄されるものと考えられた。22 位開裂体のグルクロン酸抱合体の排泄経路に違いがみられた他は、ラットとイヌで代謝パターン

は同様であった。

雄ラットおよび雄イヌの肝および腎ホモジネートを用い、OCTの代謝活性を検討したところ、肝ホモジネートの方が高い活性を示した。また、これらの臓器では肝ミクロゾームにより側鎖開裂型代謝物が、腎ミトコンドリアにより側鎖酸化型代謝物がいずれの場合も主として生成した。また、ヒト肝ミクロゾームでも側鎖開裂型代謝物(20S(OH)-hexanor-OCT)が生成した。

雄性ラットにOCTを0.1, 1, 10 µg/kgの投与量で1日1回、7日間反復静脈内投与したところ、肝薬物代謝酵素系への影響は認められなかった。腎ミトコンドリアの $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 24位水酸化活性は10 µg/kgの時、有意に上昇したが、休薬3日間で対照レベルに回復した。

ヒト肝ミクロゾームを用い、ヒト肝P450分子種選択的代謝反応に対するOCTの阻害作用を検討したところ、OCT濃度1 µmol/Lにおいても阻害作用は認められなかった。

排泄

雌雄ラットに1 µg/kgの投与量で単回静脈内投与した時の放射能の主排泄経路は糞中排泄であった。また、胆汁中へは投与後24時間までに雄では投与量の77.59%、雌では投与量の97.50%の放射能が排泄され、放射能の高率な糞中への排泄は、高い胆汁中排泄に起因するものと考えられた。なお、胆汁中へ排泄された放射能の58.45%以上は再吸収され、再び主に胆汁中に排泄された。

ラットおよびイヌにおいて尿中に未変化OCTは検出されず、OCTの消失に尿中排泄は寄与していないものと考えられた。

分娩10日目の哺育中のラットに1 µg/kgの投与量で単回静脈内投与した時、不揮発性放射能の血漿中濃度のAUCに対する乳汁中濃度のAUCの比は、87.1%であり、乳汁中移行が示唆された。

<ヒトにおける成績>

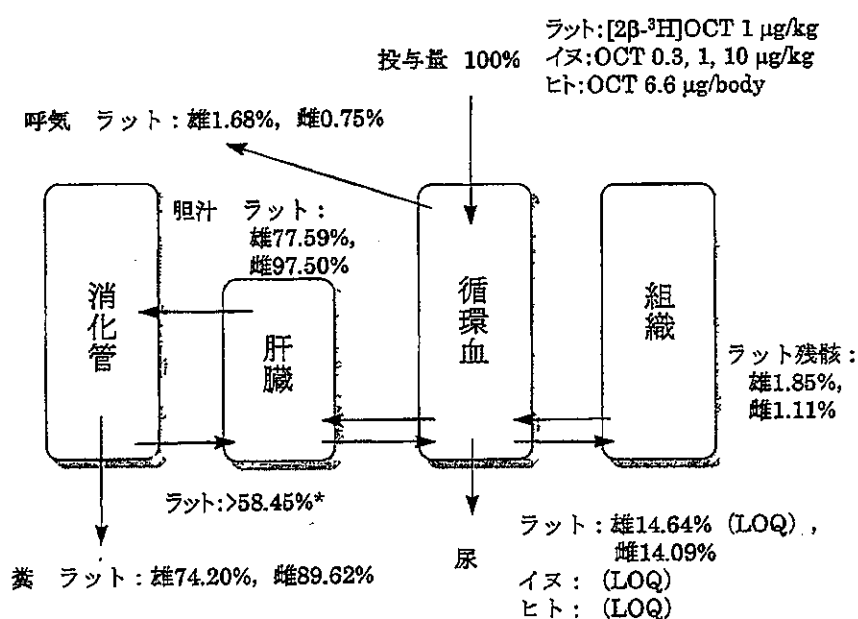
健常人

健常人男子に3.3または6.6 µg/bodyの投与量で単回静脈内投与した時、 $T_{1/2}$ は108.1から138.7分と速やかに消失し、AUCはそれぞれ354および795 pg·h/mLであった。AUCを除く薬物動態パラメータに両投与量間で有意な差はなかった。また、尿中の未変化OCT濃度は定量限界未満であり、消失に尿中排泄は寄与していないものと考えられた。

健常人男子に3.3 µg/bodyの投与量で1日1回隔日4回反復静脈内投与した時、初回と4回目投与時の薬物動態パラメータに有意な差はなく、血清中濃度は同様に推移し、反復投与によりOCTの消失が遅延しないと考えられた。

患者

週3回の血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に、透析毎、10から17.5 $\mu\text{g/body}$ の投与量で26週間反復投与(透析終了時投与)し、初回投与および最終回投与(10 $\mu\text{g/body}$)において血清中濃度推移を検討した。初回投与時の $T_{1/2}$ は平均 62.2 分であり、個人差が大きく明確ではないものの、健常人と比べ血清からの消失は遅延していないと考えられた。また、最終回投与開始直前ではいずれの症例においても定量限界未満であり、反復投与による血清中での蓄積は認められなかった。さらに、初回と最終回投与時の薬物動態パラメータを比べると、AUC, $T_{1/2}$, MRT に低下傾向が、CL, Vd に増加傾向がみられた。



図へー1 OCT のラット、イヌおよびヒトにおける体内動態

数値は、単回静脈内投与後 168 時間までに排泄された放射能の投与放射能に対する百分率を示す。残骸は、投与 168 時間後に残存した放射能の投与放射能に対する百分率を示す。括弧内の数値は排泄された未変化 OCT 量の投与量に対する百分率を示す。LOQ は定量限界未満。

*投与胆汁放射能に対する吸収された放射能の百分率。

1. 被験物質及びその定量法

(1) 放射性標識体

薬物動態試験には、OCTの2β位あるいは26位の水素をトリチウム(³H)で置換した放射性標識体(それぞれ、[2β-³H]OCT、[26-³H]OCT)を用いた。[2β-³H]OCTは、比較的代謝されにくいと期待される部位に放射性標識された標識体であり、ラットを用いた血漿中濃度推移、分布、代謝および排泄試験において使用した。[26-³H]OCTは、高い比放射能を持った標識体であり、ラジオレセプターアッセイおよびラジオイムノアッセイのトレーサーとして、また、ラット血漿中未変化体濃度推移、マイクロオートラジオグラフィーおよび一部の代謝試験において使用した。試験に用いた標識体の比放射能および放射化学的純度を表へー2に示す。

[2β-³H]OCTの生体試料中での安定性をラットの血液、血漿、胆汁、糞、尿を用いて検討した。38℃ 24時間のインキュベートによっても分解されなかった。また、-20℃ 2ヵ月および4℃ 24時間の安定性並びに凍結融解時の安定性も確認された。

表へー2 OCTの放射性標識体の比放射能および放射化学的純度

標識体	ロット番号	比放射能	放射化学的純度
[2β- ³ H]OCT	V003J12	1.27 MBq/μg	約100%
	V104A11	1.32 MBq/μg	約100%
	V105J30	0.596 MBq/μg	99.1%
	Y201I07	0.881 MBq/μg	98.7%
	Y301A08	1.53 MBq/μg	96.19%
	Y301D06	0.881 MBq/μg	98.60%
	Y302F30	0.881 MBq/μg	99.1%
	Y302J2002	0.794 MBq/μg	99.3%
	Y302J2003	0.794 MBq/μg	98.2%
	Y302J2005	0.794 MBq/μg	99.92%
	Y302J2006	0.814 MBq/μg	99.01%
	Y302J2007	0.814 MBq/μg	97.97%
	Y601A21	1.29 MBq/μg	98.16%
	Y603F04	1.41 MBq/μg	99.36%
	Y705C11	1.39 MBq/μg	98.97%
[26- ³ H]OCT	S101F03	9.88 MBq/μg	83.44%
	V801I05	9.88 MBq/μg	78.0%
	V202E20	5.90 MBq/μg	97.5%
	Y202H20	5.90 MBq/μg	97.19%
	Y203I28	5.90 MBq/μg	96.09%
	Y204I30	5.90 MBq/μg	98.57%
	Y205K16	5.90 MBq/μg	98.00%
	Y206L09	5.90 MBq/μg	97.6%
	Y207L09	5.90 MBq/μg	96.19%
	Y301H02	6.30 MBq/μg	97.96%
	Y302J06	6.36 MBq/μg	96.70%
	Y401C17	6.30 MBq/μg	98.75%
	Y601J29	5.36 MBq/μg	96.85%
	Y702C05	5.36 MBq/μg	97.70%
	Y702E21	5.36 MBq/μg	99.25%
	Y703I04	8.24 MBq/μg	99.26%

1) [2 β - ^3H]OCT の合成

[2 β - ^3H]OCT の合成経路を図へー2に示す。

図へー2 [2 β - ^3H]OCT の合成経路

2) [26- ^3H]OCT の合成

[26- ^3H]OCT の合成経路を図へー3に示す。

図へー3 [26- ^3H]OCT の合成経路

(2) 定量法

1) 放射能の定量法

試料中の放射能は、試料をそのまま、あるいはオキシダイザーで燃焼しトリチウム水に変換した後、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。放射能濃度は OCT 濃度 (pg eq./mL または g) に換算して記した。

不揮発性放射能は、五酸化リン存在遮光下、16 時間以上減圧乾燥させた試料をオキシダイザーで燃焼し、トリチウム水に変換した後、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。

2) 未変化 OCT の定量法

未変化 OCT の定量法として、ラジオレセプターアッセイ (RRA) 法、ラジオイムノアッセイ (RIA) 法、高速液体クロマトグラフィー-液体シンチレーション (HPLC-LSC) 法を用いた。RRA 法は第 I 相臨床試験での血清中および尿中 OCT 濃度の測定に、RIA 法はイヌでの血清中および尿中 OCT 濃度並びに第 II 相以降の臨床試験での血清中 OCT 濃度の測定に、HPLC-LSC 法はラットでの [26-³H]OCT 投与時の血漿中および尿中未変化 OCT 濃度の測定に用いた。これらの定量法のバリデーション試験の結果を表へー3 に示す。

i) RRA 法

ヒト血清を前処理用カラム (Sep Pak tC₁₈) による分画後、順相 HPLC (Capcell Pak NH₂) による分画により OCT 画分を得た。ヒト尿の場合は、テトラヒドロフランおよび酢酸エチルによる抽出、前処理用カラム (Bond Elut NH₂) による分画後、順相 HPLC (Zorbax SIL) による分画により OCT 画分を得た。これらの分取した OCT 画分にトレーサーである [26-³H]OCT およびウシ胸腺ビタミン D 受容体 (VDR) を添加し、レセプターアッセイにより試料中 OCT 濃度を求めた。

ヒト血清前処理に用いた HPLC 条件では、OCT と 1 α ,25(OH)₂D₃ などのビタミン D 代謝物とは完全に分離した。OCT を添加した健常人血清を用い、定量法の真度および精度を検討したところ、精度がやや低いものの定量法として問題ないと判断された。ヒト血清での定量限界は約 60 pg/mL であった。

ヒト尿の前処理に用いた HPLC 条件では、OCT は 1 α ,25(OH)₂D₃ などのビタミン D 代謝物に加え、OCT の主代謝物である 20S(OH)-hexanor-OCT と完全に分離された。

ii) RIA 法

生体試料をエーテルによる抽出、前処理用カラム (Bond Elut C₁₈) による分画後、順相 HPLC (Zorbax SIL) による分画により OCT 画分を得た。この分取した OCT 画分にトレーサーである [26-

^3H]OCT および抗 OCT ウサギ抗血清を添加し、イムノアッセイにより試料中 OCT 濃度を求めた。

前処理に用いた HPLC はヒト尿の前処理に用いたものと同じものを用いた。また、用いた抗体のビタミン D 代謝物や $20\text{S}(\text{OH})$ -hexanor-OCT に対する交差反応性は OCT の 0.5% 以下であり、OCT に特異的である(R-1)。

健常人、二次性副甲状腺機能亢進症患者 およびイヌ
の試料を用い、測定法のバリデーションを行った(表へー3)。

OCT を添加した健常人血清を用い、定量法の真度および精度を検討したところ、精度がやや低いものの定量法として問題ないと判断された。定量限界は血清 1 mL を用いた場合 50 pg/mL であった。臨床第 I 相試験において得られた試料を用いて RIA および RRA 両法により血清中 OCT 濃度を測定したところ、両法で得られた濃度はよく相関した(相関係数 $r=0.8681$)。

腎不全を伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者血清に OCT を添加し、定量法の真度および精度を検討したところ、低濃度において添加量よりやや大きな値を示すものの定量法として問題ないと判断された。

OCT を添加したイヌ血清および尿を用い、定量法の真度および精度を検討したところ、尿において添加量よりやや小さな値を示すものの定量法として問題ないと判断された。また、イヌ血清および尿では -20°C 17 日間保存での安定性が確認された。定量限界は、イヌ血清 0.5 mL を用いた場合 100 pg/mL、イヌ尿 1 mL を用いた場合 50 pg/mL であった。

iii) HPLC-LSC 法

$[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を投与した後に得られた生体試料をメタノールにより除タンパクした後、逆相 HPLC (Capcell Pak C18) にて分画し、未変化 OCT 画分を得た。この OCT 画分に含まれる放射能を液体シンチレーションカウンターを用いて測定し、未変化 OCT 濃度を求めた。

分画に用いた HPLC では、OCT とそのラット主代謝物である $20\text{S}(\text{OH})$ -hexanor-OCT および $24\text{R}(\text{OH})\text{OCT}$ とは完全に分離した。OCT を添加したラット血漿および尿を用い、定量法の真度および精度を検討したところ、定量法として問題ないと判断された。ラット尿での -20°C 2 ヶ月間の保存安定性およびラット血漿および尿での凍結融解での安定性が確認された。定量限界は、ラット血漿で 10.2 kdpm/mL (510.5 dpm/50 μL)、 $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ の比放射能が 6.36 MBq/ μg の時、26.8 pg/mL、ラット尿で 8.1 kdpm/mL (403.0 dpm/50 μL) であった。

表へー3 未変化 OCT 定量法のバリデーション

定量法	分析試料	OCT添加量	真度 ^{a)}	精度 ^{a)}	定量限界 ^{b)}
RRA法	健常人血清	200 - 400 pg/mL	87.4 - 101.4%	23.0% 9.5%	約60 pg/mL
	健常人尿	100 - 200 pg/mL	91.8 - 109.3%	-	約60 pg/mL
		100 - 400 pg/mL	-	18.3 - 26.2% 2.0 - 22.4%	
RIA法	健常人血清	50 - 200 pg/mL	106.3 - 116.0%	9.6 - 15.2%	50 pg/mL
		3.7 - 7.7 ng/mL	-	6.9 - 10.3%	
	患者血清	50 - 800 pg/mL	-	8.1 - 9.5%	50 pg/mL
			85.4 - 136.8% 86.0 - 119.2%	1.0 - 10.0% 1.3 - 12.5%	
	イヌ血清	100 - 1400 pg/mL	88.2 - 102.2% 87.3 - 104.8%	5.7 - 18.8% 8.5 - 21.4%	100 pg/mL
			75.5 - 88.3% 66.8 - 104.1%	11.8 - 19.4% 7.7 - 18.5%	
HPLC- LSC法	ラット血漿	10.2 - 997 kdpm/mL	88.8 - 100.0%	2.42 - 17.01%	10.2 kdpm/mL
	ラット尿	8.1 - 92.7 kdpm/mL	92.6 - 108.6%	3.45 - 20.24%	(26.8 pg/mL) ^{c)}
			88.2 - 124.8% 92.0 - 131.0%	3.5 - 5.0% 4.0 - 6.4%	8.1 kdpm/mL

a)上段は同時再現性, 下段は測定間再現性試験での結果。b)定量限界は試料 1 mL (イヌ血清では 0.5 mL, ラット血漿および尿では 50 μ L) を用いた場合の値。c)用いた標識体の比放射能が 6.36 MBq/ μ g の場合での値。-:検討せず。

2. 動物における成績

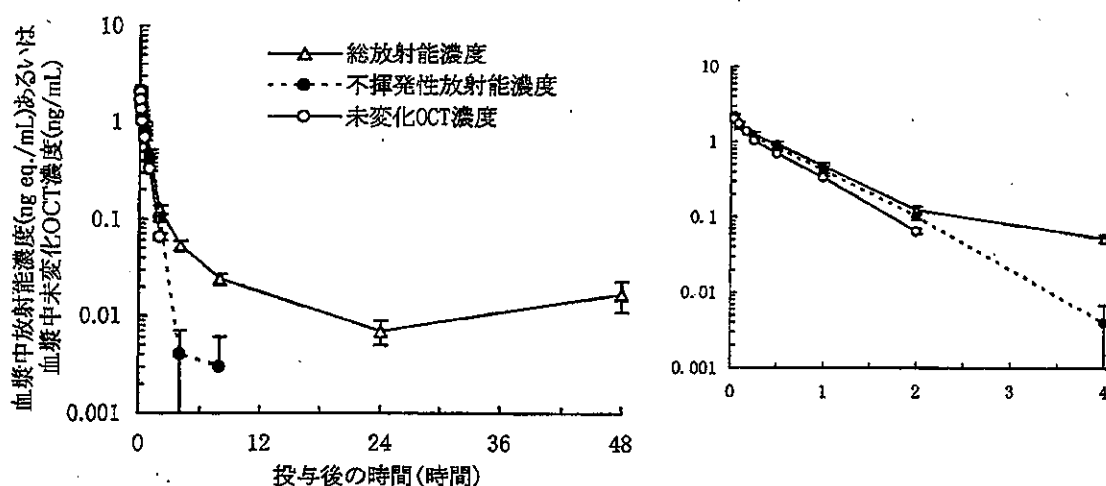
(1) 血漿(血清)中濃度推移

1) ラットにおける単回静脈内投与時の血漿中濃度推移

i) 雄性ラットにおける血漿中放射能濃度推移

雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ あるいは $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の血漿中放射能濃度推移を図へー4に示す。図には、 $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を投与した後の総放射能濃度および不揮発性放射能濃度、ならびに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を投与した後のHPLC-LSC法で測定した未変化OCT濃度を示す。投与1時間後までは、総放射能濃度、不揮発性放射能濃度、未変化OCT濃度はほぼ同じ推移を示したが、総放射能濃度は 0.01 ng eq./mL 付近で推移し、不揮発性放射能濃度は緩やかに減少したのに対し、未変化OCT濃度は1相性に減少した。

総放射能濃度と不揮発性放射能濃度との差はOCTの代謝の際生じたトリチウム水に、不揮発性放射能濃度と未変化OCT濃度との差はOCTの代謝物に由来すると考えられ、血漿中における未変化OCTに対する代謝物の比が投与2時間後以降増加すると推察された。



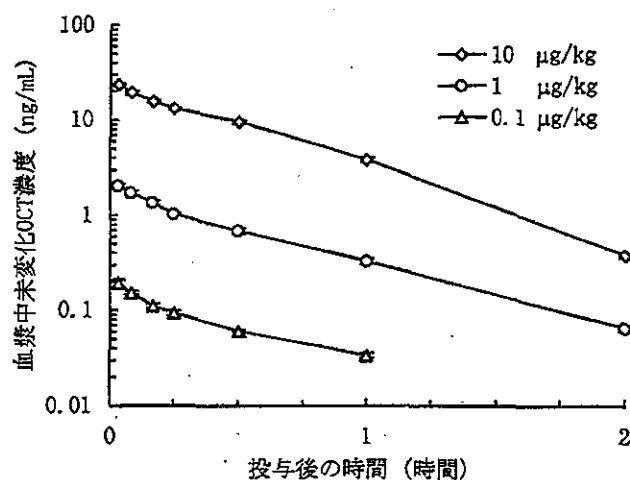
図へー4 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の血漿中総放射能濃度および不揮発性放射能濃度推移ならびに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の血漿中未変化OCT濃度推移

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。 $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ 投与時の血漿中総放射能濃度および不揮発性放射能濃度推移は $n=5$ 、 $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ 投与時の血漿中未変化OCT濃度は $n=4$ 。右図は、投与4時間後までの拡大図。 $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ 投与時の不揮発性放射能濃度推移では投与24時間後以降は定量限界未満、 $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ 投与時の血漿中未変化OCT濃度では投与4時間後は定量限界未満。

ii) 雄性ラットにおける血漿中未変化 OCT 濃度推移

雄性ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を0.1, 1あるいは10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の HPLC-LSC 法で測定した血漿中未変化 OCT 濃度推移を図へー5に、薬物動態パラメータを表へー4に示す。各時点における血漿中未変化 OCT 濃度は投与量に応じ増大した。 $T_{1/2}$ は16.2 から20.7分, 平均残留時間(MRT)は0.49から0.69時間と OCT の血漿中からの消失は速やかであった。投与量間で CL および $T_{1/2}$ に有意な差は認められず, この投与量の範囲において OCT の動態は線形性を示した。

OCT のラットでの血漿中濃度推移を $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の場合(R-2)を比較すると, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の $T_{1/2}$ は17.4, 13.9時間(雄0.1および0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ での値, 以下同じ), MRTは15.2, 8.95時間, CLは20.0, 32.4 $\text{mL}/\text{h}/\text{kg}$ であり, OCT の $T_{1/2}$ および MRT は, $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の場合の1/20以下と短く, CLは30倍以上大きかった。OCT は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較し, 血漿からの消失が非常に早いことが明らかとなった。



図へー5 雄性ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を0.1, 1または10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与した時の血漿中未変化 OCT 濃度推移

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=4$)を示す。0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ では投与2時間後以降は定量限界未満, 1および10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ では投与4時間後は定量限界未満。

表へー4 雄ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を単回静脈内投与した時の OCT の薬物動態パラメータ

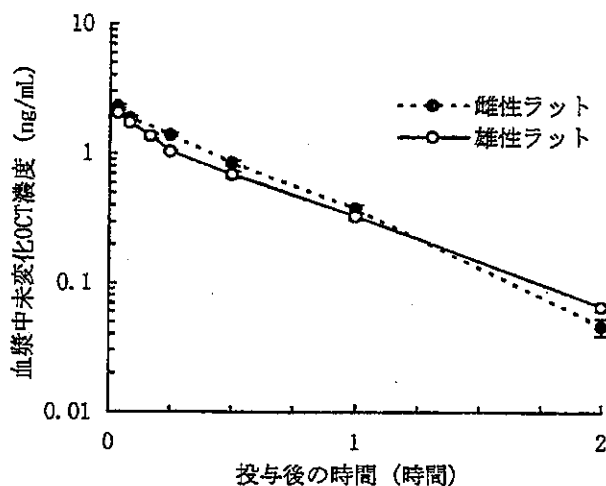
	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	検定
AUC ($\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	0.104 $\pm$ 0.004	1.10 $\pm$ 0.03	13.1 $\pm$ 0.4	—
$T_{1/2}$ (min)	16.2 $\pm$ 1.0	17.5 $\pm$ 1.5	20.7 $\pm$ 1.0	NS
MRT (h)	0.69 $\pm$ 0.04 a	0.57 $\pm$ 0.01 b	0.49 $\pm$ 0.01 b	$p<0.05$
CL ($\text{mL}/\text{h}/\text{kg}$)	989 $\pm$ 41	936 $\pm$ 28	855 $\pm$ 28	NS
Vd (mL/kg)	685 $\pm$ 45 a	528 $\pm$ 9 b	418 $\pm$ 13 c	$p<0.05$

各値は, 平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=4$)を示す。

各投与量間の比較では, それぞれのパラメータについて異なる記号(a, b, c)間で有意差あり(Tukey検定, $p<0.05$)。NS:有意差なし。—:検定せず。

iii) ラットにおける血漿中未変化 OCT 濃度推移の雌雄比較

雌性ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の HPLC-LSC 法で測定した血漿中未変化 OCT 濃度推移を図へー6に、薬物動態パラメータを表へー5に示す。分布容積(Vd)に雌雄間で有意な差がみられたもののその差は小さく、雌性ラットにおける血漿中未変化 OCT 濃度は、雄性ラットにおける濃度と同様に推移した。このことから、ラットにおいて OCT の血漿中濃度推移には性差はないものと考えられた。



図へー6 雌雄ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の血漿中未変化 OCT 濃度推移

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差(雄は $n=4$, 雌は $n=5$)を示す。雄ラットの結果は、図へー5の $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。雌雄ラットとも投与4時間後は定量限界未満。

表へー5 雌雄ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の OCT の薬物動態パラメータ

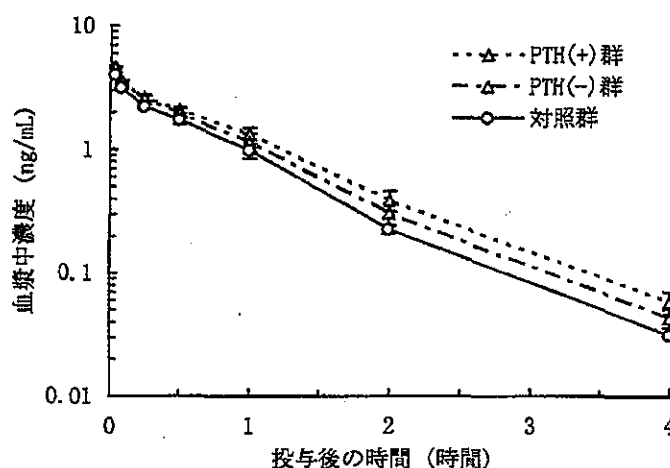
	雌性	雄性	検定
AUC (ng·h/mL)	1.24 $\pm$ 0.06	1.10 $\pm$ 0.03	NS
$T_{1/2}$ (min)	20.5 $\pm$ 1.1	17.5 $\pm$ 1.5	NS
MRT (h)	0.52 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.01	NS
CL (mL/h/kg)	814 $\pm$ 35	936 $\pm$ 28	NS
Vd (mL/kg)	419 $\pm$ 8	528 $\pm$ 9	$p < 0.05$

各値は、平均値 $\pm$ 標準誤差(雌は $n=5$, 雄は $n=4$)を示す。雄ラットの結果は、表へー4の $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。

検定は、t検定($p < 0.05$)。NS:有意差なし。

2) 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症モデルラットにおける単回静脈内投与時の血漿中濃度推移

雄性ラットを 5/6 腎摘し、約 2 ヶ月間飼育することにより腎不全を発症し、かつ血漿 N-末端副甲状腺ホルモン(N-PTH)が上昇した 5/6 腎摘ラットを作製した(PTH(+))群。この病態モデルラットに加え、同様に 5/6 腎摘を行ったが血漿 N-PTH が上昇しなかったラット(PTH(-))群、および対照として偽手術を施したラット(対照群)のそれぞれに、 $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した後の血漿中未変化 OCT 濃度推移(HPLC-LSC 法で測定)を検討した。血漿中未変化 OCT 濃度推移を図へー7に、薬物動態パラメータを表へー6に示す。PTH(+))群、PTH(-))群および対照群間で薬物動態パラメータには有意な差は認められず、血漿中 OCT 濃度はいずれの場合もほぼ同様に推移した。



図へー7 5/6 腎摘ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の血漿中未変化 OCT 濃度推移

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=4) を示す。

表へー6 5/6 腎摘ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の OCT の薬物動態パラメータおよび血液生化学分析値

	対照群	PTH(-)群	PTH(+))群	検定
N-PTH(pg/mL)	168.7 $\pm$ 8.3	129.5 $\pm$ 23.3	405.6 $\pm$ 122.7	NS
BUN(mg/dL)	20.0 $\pm$ 0.9 a	60.9 $\pm$ 5.5 b	75.6 $\pm$ 15.0 b	p<0.05
クレアチニン(mg/dL)	0.4 $\pm$ 0.0 a	1.0 $\pm$ 0.1 a,b	1.5 $\pm$ 0.5 b	p<0.05
AUC (ng·h/mL)	2.75 $\pm$ 0.19	3.25 $\pm$ 0.33	3.58 $\pm$ 0.33	NS
$T_{1/2\beta}$ (min)	36.2 $\pm$ 1.9	36.5 $\pm$ 3.9	42.5 $\pm$ 3.3	NS
MRT (h)	0.8 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.1	NS
CL (mL/h/kg)	368.5 $\pm$ 23.7	317.9 $\pm$ 32.2	287.2 $\pm$ 28.1	NS
Vd (mL/kg)	285.9 $\pm$ 19.0	253.7 $\pm$ 14.6	251.2 $\pm$ 13.0	NS

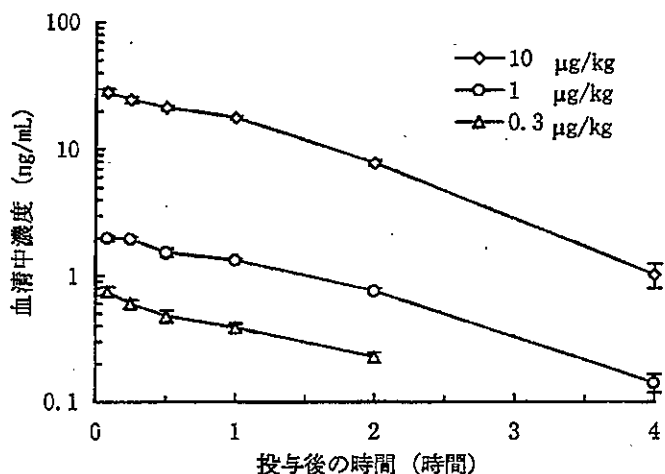
各点は平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=4) を示す。

各群間の比較では、それぞれのパラメータについて異なる記号(a, b)間で有意差あり(Tukey 検定, p<0.05)。NS:有意差なし。

3) イヌにおける単回静脈内投与時の血清中濃度推移

雄性イヌに OCT を 0.3, 1, 10 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の RIA 法により測定した血清中未変化 OCT 濃度推移を図へー8に, 薬物動態パラメータを表へー7に示す。投与量間での CL を比較した限りでは有意な差がなく, この投与量範囲では OCT の動態は線形性を示した。

イヌにおける OCT の $T_{1/2}$ は 0.72 から 1.23 時間であり, 雄ラットにおける $T_{1/2}$ (16.2 から 20.7 分) より長かった。イヌにおける AUC はラットにおける同じ投与量での AUC の 3.2 から 3.4 倍であった。



図へー8 雄性イヌに OCT を 0.3, 1, 10 $\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の血清中未変化 OCT 濃度推移

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=4$) を示す。0.3 $\mu\text{g/kg}$ では投与 4 時間後以降は定量限界未満, 1 および 10 $\mu\text{g/kg}$ では投与 8 時間後以降は定量限界未満。

表へー7 雄性イヌに OCT を 0.3, 1, 10 $\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の OCT の薬物動態パラメータ

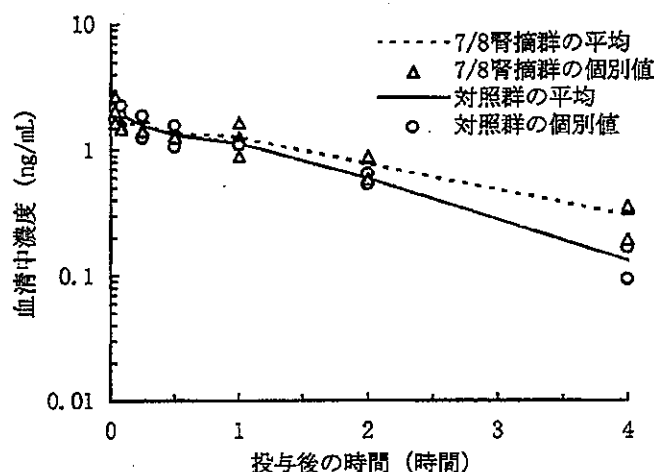
	0.3 $\mu\text{g/kg}$	1 $\mu\text{g/kg}$	10 $\mu\text{g/kg}$	検定
AUC (ng·h/mL)	1.23 $\pm$ 0.11	3.77 $\pm$ 0.05	42.2 $\pm$ 0.6	—
$T_{1/2}$ (h)	1.23 $\pm$ 0.06 a	1.03 $\pm$ 0.12 a,b	0.72 $\pm$ 0.06 b	$p<0.05$
MRT (h)	1.77 $\pm$ 0.07 a	1.55 $\pm$ 0.13 a,b	1.21 $\pm$ 0.08 b	$p<0.05$
CL (mL/h/kg)	268 $\pm$ 23	264 $\pm$ 13	239 $\pm$ 3	NS
Vd (mL/kg)	471 $\pm$ 26 a	406 $\pm$ 29 a	289 $\pm$ 16 b	$p<0.05$

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=4$) を示す。

各投与量間の比較では, それぞれのパラメータについて異なる記号 (a, b) 間で有意差あり (Tukey 検定, $p<0.05$)。NS: 有意差なし。—: 検定せず。

4) 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症モデルイヌにおける単回静脈内投与時の血清中濃度推移

雌性イヌを 7/8 腎摘し、約 2 年間飼育することにより腎不全を発症し、かつ血清 intact-PTH が上昇した 7/8 腎摘イヌを作製した。この病態モデルイヌおよび対照として無処置の雌イヌに、OCT を 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量で単回静脈内投与し、血清中未変化 OCT の濃度推移 (RIA 法で測定) を検討した。血清中 OCT の濃度推移を図へー 9 に、薬物動態パラメータを表へー 8 に示す。薬物動態パラメータは対照群が 2 例のため有意差検定ができないものの大きな差はなく、7/8 腎摘群における血清中未変化 OCT 濃度は、対照群における濃度と同様に推移した。



図へー 9 7/8 腎摘イヌに OCT を 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与した時の血清中未変化 OCT 濃度推移

各点は各個体の個別値を示す。破線および実線は、それぞれ 7/8 腎摘群 (n=3) および対照群 (n=2) の平均を示す。

表へー 8 7/8 腎摘イヌに OCT を 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与した時の OCT の薬物動態パラメータおよび血液生化学値

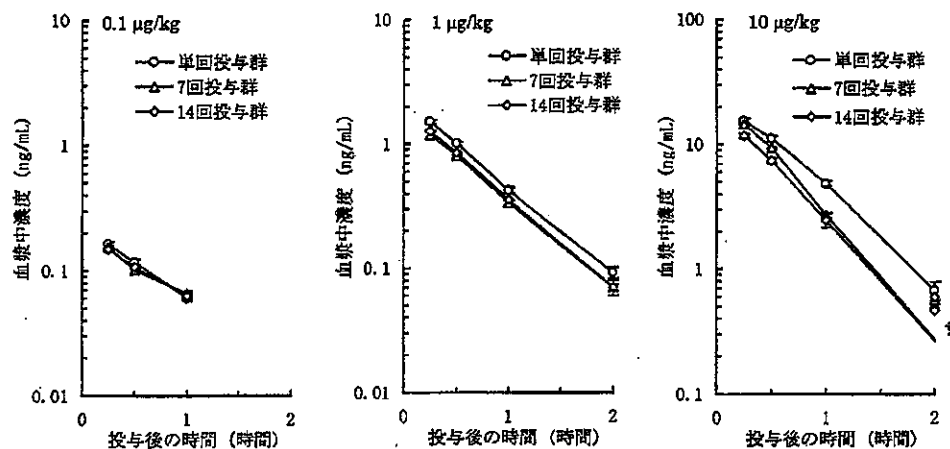
	対照イヌ		7/8腎摘イヌ		
intact-PTH(pg/mL)	43.8	10.4	100.7	177.4	166.7
BUN(mg/dL)	12.3	17.0	27.3	26.7	35.6
クレアチニン(mg/dL)	0.90	1.29	1.43	1.88	1.90
AUC (ng·h/mL)	2.8	3.6	4.6	5.0	3.1
T _{1/2} (h)	1.2	1.1	1.5	1.8	1.3
MRT (h)	1.4	1.5	2.2	2.5	1.8
CL (mL/h/kg)	349	283	213	195	318
Vd (mL/kg)	490	423	469	488	587

数値は各個体の値を示す。

5) ラットにおける反復静脈内投与時の血漿中濃度推移

雄性ラットに $[26-^3\text{H}]\text{OCT}$ を0.1, 1, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量で単回(単回投与群)あるいは1日1回, 7日間(7回投与群)または14日間(14回投与群)反復静脈内投与し, 最終回投与後の血漿中未変化 OCT 濃度を HPLC-LSC 法により測定した。結果を図へー10に, 薬物動態パラメータを表へー9に示す。いずれの投与量, 投与群においても投与4時間後の血漿中 OCT 濃度は定量限界未満であり, OCT の蓄積は認められなかった。7回および14回投与群の血漿中 OCT 濃度は, 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の反復投与においては単回投与群とほぼ同様に推移した。一方, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の反復投与では単回投与群に比べ消失は早かった。

「へー2(3)8)ラットにおける肝および腎薬物代謝酵素系へ及ぼす影響」の項で述べるように, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を反復投与した場合, 肝ミクロソーム薬物代謝酵素系には影響を与えないが, 腎ミトコンドリアの $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 24位水酸化酵素が誘導される。ラットにおける OCT の消失に腎での代謝の寄与は低いものの, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を反復投与した場合は腎による代謝が誘導され, CL の増加につながったものと考えられる。



図へー10 雄性ラットに $[26-^3\text{H}]\text{OCT}$ を0.1, 1, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回または1日1回7日間あるいは14日間反復静脈内投与した時の血漿中未変化 OCT 濃度推移

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=4$) を示す。0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ では投与2時間後以降は定量限界未満, 1 および 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ では投与4時間後は定量限界未満。

†7回および14回投与群は, 定量限界以上の各2例をプロットし, 実線は定量限界未満を場合0とした各4例の平均値を示す。

表へー9 雄性ラットに[26-³H]OCTを0.1, 1, 10 µg/kg 単回あるいは1日1回7日間または14日間反復静脈内投与した時のOCTの薬物動態パラメータ

0.1 µg/kg	単回投与	7回投与	14回投与	検定
AUC (ng·h/mL)	0.232 ± 0.012	0.310 ± 0.054	0.249 ± 0.021	NS
T _{1/2} (min)	71.7 ± 4.4	118.9 ± 33.7	85.0 ± 6.2	NS
MRT (h)	0.96 ± 0.08	1.92 ± 0.69	1.23 ± 0.13	NS
CL (mL/h/kg)	435 ± 21	348 ± 49	410 ± 31	NS
Vd (mL/kg)	413 ± 24	573 ± 97	493 ± 16	NS
1 µg/kg	単回投与	7回投与	14回投与	検定
AUC (ng·h/mL)	1.54 ± 0.06 a	1.21 ± 0.08 b	1.28 ± 0.01 b	p<0.05
T _{1/2} (min)	60.1 ± 1.9	58.8 ± 2.5	57.9 ± 0.6	NS
MRT (h)	0.54 ± 0.02	0.53 ± 0.02	0.52 ± 0.01	NS
CL (mL/h/kg)	652 ± 27 a	839 ± 51 b	782 ± 6 a,b	p<0.05
Vd (mL/kg)	350 ± 11 a	445 ± 18 b	408 ± 7 b	p<0.05
10 µg/kg	単回投与	7回投与	14回投与	検定
AUC (ng·h/mL)	15.4 ± 0.92 a	13.02 ± 0.09 a,b	10.8 ± 0.57 b	p<0.05
T _{1/2} (min)	50.3 ± 2.6	45.8 ± 3.4	47.8 ± 3.4	NS
MRT (h)	0.50 ± 0.01 a	0.45 ± 0.01 b	0.47 ± 0.01 a,b	p<0.05
CL (mL/h/kg)	655 ± 41 a	768 ± 6 a	930 ± 47 b	p<0.05
Vd (mL/kg)	327 ± 13 a	345 ± 9 a	436 ± 16 b	p<0.05

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=4)を示す。

各投与回数間の比較では、それぞれのパラメータについて異なる記号(a, b)間で有意差あり (Tukey 検定, p<0.05)。NS:有意差なし。

(2) 分布

1) ラットにおける単回静脈内投与時の組織内分布

i) 雄性ラット

雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の体内分布を組織摘出法により検討した。組織中不揮発性放射能濃度、血漿中不揮発性放射能濃度に対する組織中不揮発性放射能濃度の比および組織内総放射能分布率をそれぞれ表へー10, 表へー11 および表へー12 に示す。

各組織への放射能の移行は速やかであり、回腸上部および下部を除き、投与30分後において最高組織内濃度が観察された。投与30分後では空腸、副腎、十二指腸および盲腸に最も高い放射能濃度がみられ、血漿中濃度の2.6から2.7倍であった。ついで、副甲状腺を含む甲状腺、肝臓、回腸上部、ハーダー腺、下垂体、回腸下部、結腸および腎臓に高い放射能濃度がみられ、血漿中濃度の1.8から2.3倍であった。その他の組織は、血漿中濃度と同様かあるいはそれ以下であった。最高濃度に至った後の放射能の消失は速やかであり、投与8時間後においては、結腸に最高濃度の時の71%、盲腸、回腸下部および膀胱に最高濃度の時の25から43%がみられた他は、いずれも最高濃度の時の19%以下に減少した。脳および生殖器官に、高い放射能分布は認められなかった。

投与30分後において、皮膚、骨格筋および肝臓への総放射能分布率は投与量の13.22から27.20%、血液、白色脂肪および空腸に投与量の2.71から4.68%が認められ、他の組織はいずれも投与量の1.78%以下であった。投与2時間後においては、空腸、回腸上部および下部の内容物中に投与量の11.27から20.54%、他の消化管内容物中には投与量の0.33から2.30%の放射能が、投与24時間後の消化管各部の内容物中には投与量の0.16から2.16%の放射能がそれぞれ認められた。このような消化管内容物における放射能の高率な分布は、「へー2(4)排泄」の項で述べるように、放射能が胆汁中に高率に排泄されるためであると考えられた。

OCTのラットでの体内分布を $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の場合(R-2)と比較すると、OCTでは血液中濃度より高い組織中濃度が副甲状腺を含む甲状腺をはじめいくつかの組織において認められたのに対し、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ では大腸を除いて血液中濃度より顕著に高い組織中濃度が得られた組織はほとんどなく、OCTは $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比べ高い組織移行性が認められた。また、OCTでは速やかな組織中濃度の減少がみられたのに対し、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ では血液中濃度の緩やかな減少に呼応した緩慢な組織中濃度の減少がみられている。特に小腸中濃度は、OCTの場合では十二指腸および空腸が投与30分後に、回腸上部および下部が投与2時間後に最高濃度を示しその後速やかに消失したのに対し、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の場合では投与24時間後においても、投与30分後の約3割の

濃度を示している。さらに、OCTでは投与2時間後の小腸中放射能の12.81%が未変化体(「へー2
(3)2)ラットにおける単回静脈内投与時の組織中代謝物」の項参照)であったのに対し、
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ では投与24時間後においても小腸中放射能の50.0%が未変化体であり、OCTは
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ に比べ小腸中未変化体の消失が速やかであった。

表へー10 雄性ラットに[2 β - 3 H]OCTを1 μ g/kg単回静脈内投与した時の組織中不揮発性放射能濃度

組織	組織中不揮発性放射能濃度 (pg eq./gまたはmL)							
	30 分		2 時間		8 時間		24 時間	
血漿	1103 $\pm$	53	202 $\pm$	10	44 $\pm$	10	10 $\pm$	1
血液	746 $\pm$	36	153 $\pm$	8	43 $\pm$	6	15 $\pm$	2
血球	214 $\pm$	15	79 $\pm$	9	41 $\pm$	3	22 $\pm$	4
大脳	267 $\pm$	16	49 $\pm$	5	11 $\pm$	1	11 $\pm$	2
小脳	294 $\pm$	8	50 $\pm$	5	9 $\pm$	1	4 $\pm$	1
延髄	352 $\pm$	6	65 $\pm$	8	13 $\pm$	2	8 $\pm$	1
脳下垂体	2247 $\pm$	274	1154 $\pm$	286	N.D.		N.D.	
脊髓	363 $\pm$	7	84 $\pm$	12	11 $\pm$	1	8 $\pm$	0
眼球	146 $\pm$	5	49 $\pm$	3	12 $\pm$	1	4 $\pm$	0
ハーパー腺	2332 $\pm$	62	905 $\pm$	61	235 $\pm$	32	128 $\pm$	16
舌	761 $\pm$	35	256 $\pm$	21	45 $\pm$	4	12 $\pm$	1
顎下腺	1096 $\pm$	44	322 $\pm$	32	44 $\pm$	4	12 $\pm$	0
甲状腺 ^{a)}	2496 $\pm$	562	987 $\pm$	443	102 $\pm$	38	43 $\pm$	6
気管	716 $\pm$	35	250 $\pm$	32	30 $\pm$	5	N.D.	
胸腺	651 $\pm$	19	280 $\pm$	20	28 $\pm$	3	6 $\pm$	0
大動脈	733 $\pm$	73	220 $\pm$	37	35 $\pm$	2	12 $\pm$	2
心臓	1074 $\pm$	48	241 $\pm$	22	46 $\pm$	5	16 $\pm$	1
肺	992 $\pm$	30	242 $\pm$	11	55 $\pm$	6	18 $\pm$	1
肝臓	2465 $\pm$	105	1481 $\pm$	61	391 $\pm$	24	84 $\pm$	5
腎臓	1959 $\pm$	83	654 $\pm$	40	131 $\pm$	21	48 $\pm$	2
副腎	2970 $\pm$	180	658 $\pm$	53	98 $\pm$	20	25 $\pm$	1
脾臓	1326 $\pm$	54	249 $\pm$	22	48 $\pm$	6	14 $\pm$	1
脾臓	736 $\pm$	24	198 $\pm$	9	39 $\pm$	7	14 $\pm$	0
腸間膜リンパ節	676 $\pm$	31	281 $\pm$	114	46 $\pm$	7	12 $\pm$	1
膀胱	531 $\pm$	28	297 $\pm$	67	134 $\pm$	52	11 $\pm$	1
精巣	494 $\pm$	10	191 $\pm$	11	23 $\pm$	4	5 $\pm$	0
精巣上体	768 $\pm$	25	306 $\pm$	32	39 $\pm$	4	11 $\pm$	1
精囊	431 $\pm$	43	125 $\pm$	14	27 $\pm$	4	9 $\pm$	0
前立腺	973 $\pm$	12	196 $\pm$	6	42 $\pm$	5	18 $\pm$	1
皮膚	1225 $\pm$	83	775 $\pm$	54	158 $\pm$	15	26 $\pm$	1
白色脂肪	644 $\pm$	22	103 $\pm$	7	11 $\pm$	1	6 $\pm$	0
褐色脂肪	1318 $\pm$	96	254 $\pm$	19	52 $\pm$	6	18 $\pm$	2
骨格筋	547 $\pm$	13	120 $\pm$	7	29 $\pm$	5	8 $\pm$	0
骨	580 $\pm$	92	220 $\pm$	33	33 $\pm$	3	10 $\pm$	1
骨髓	808 $\pm$	43	385 $\pm$	63	42 $\pm$	6	17 $\pm$	2
坐骨神経	782 $\pm$	92	367 $\pm$	107	36 $\pm$	11	N.D.	
胃	874 $\pm$	45	236 $\pm$	16	56 $\pm$	16	18 $\pm$	3
十二指腸	2924 $\pm$	377	1629 $\pm$	288	127 $\pm$	20	25 $\pm$	3
空腸	2994 $\pm$	268	1201 $\pm$	243	218 $\pm$	46	22 $\pm$	3
回腸上部	2350 $\pm$	93	2590 $\pm$	1037	313 $\pm$	92	36 $\pm$	5
回腸下部	2215 $\pm$	236	2491 $\pm$	1029	637 $\pm$	146	54 $\pm$	9
盲腸	2812 $\pm$	259	1853 $\pm$	361	1214 $\pm$	113	125 $\pm$	19
結腸	1994 $\pm$	52	1318 $\pm$	250	1419 $\pm$	208	153 $\pm$	18

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=4) を示す。

a) 副甲状腺を含む甲状腺。N.D.は検出限界未満。

表へー11 雄性ラットに[2β-³H]OCTを1 μg/kg 単回静脈内投与した時の血漿中不揮
発性放射能濃度に対する組織中不揮発性放射能濃度の比

組織	血漿中不揮発性放射能濃度に対する組織中不揮発性放射 能濃度の比			
	30 分	2 時間	8 時間	24 時間
血液	0.68	0.76	0.98	1.50
血球	0.19	0.89	0.93	2.20
血漿	1.00	1.00	1.00	1.00
大脳	0.24	0.24	0.25	1.10
小脳	0.27	0.25	0.20	0.40
延髄	0.32	0.32	0.30	0.80
脳下垂体	2.04	5.71	—	—
脊髓	0.33	0.42	0.25	0.80
眼球	0.13	0.24	0.27	0.40
ハーパー腺	2.11	4.48	5.34	12.80
舌	0.69	1.27	1.02	1.20
顎下腺	0.99	1.59	1.00	1.20
甲状腺 ^{a)}	2.26	4.89	2.32	4.30
気管	0.65	1.24	0.68	—
胸腺	0.59	1.39	0.64	0.60
大動脈	0.66	1.09	0.80	1.20
心臓	0.97	1.19	1.05	1.60
肺	0.90	1.20	1.25	1.80
肝臓	2.23	7.33	8.89	8.40
腎臓	1.78	3.24	2.98	4.80
副腎	2.69	3.26	2.23	2.50
脾臓	1.20	1.23	1.09	1.40
腸間膜リンパ節	0.67	0.98	0.89	1.40
膀胱	0.61	1.39	1.05	1.20
精巣	0.48	1.47	3.05	1.10
精巣上体	0.45	0.95	0.52	0.50
精囊	0.70	1.51	0.89	1.10
前立腺	0.39	0.62	0.61	0.90
皮膚	0.88	0.97	0.95	1.80
白色脂肪	1.11	3.84	3.59	2.60
褐色脂肪	0.58	0.51	0.25	0.60
骨格筋	1.19	1.26	1.18	1.80
骨	0.50	0.59	0.66	0.80
骨髓	0.53	1.09	0.75	1.00
坐骨神経	0.73	1.91	0.95	1.70
胃	0.71	1.82	0.82	—
十二指腸	0.79	1.17	1.27	1.80
空腸	2.65	8.06	2.89	2.50
回腸上部	2.71	5.95	4.95	2.20
回腸下部	2.13	12.82	7.11	3.60
盲腸	2.01	12.33	14.48	5.40
結腸	2.55	9.17	27.59	12.50
結腸	1.81	6.52	32.25	15.30

各値は平均値(n=4)を示す。

a)副甲状腺を含む甲状腺。—:組織中濃度が検出限界未満であったため、算出で
きなかった。

表へー12 雄性ラットに[2β-³H]OCTを1 μg/kg 単回静脈内投与した時の組織内総放射能分布率

組織	組織内総放射能分布率 (% of dose)			
	30 分	2 時間	8 時間	24 時間
血液	4.68 ± 0.23	1.24 ± 0.04	0.89 ± 0.03	0.78 ± 0.03
大脳	0.16 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
ハート腺	0.20 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00
顎下腺	0.17 ± 0.02	0.05 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
胸腺	0.14 ± 0.02	0.04 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
心臓	0.39 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00
肺	0.41 ± 0.01	0.12 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.02 ± 0.01
肝臓	13.22 ± 0.55	7.36 ± 0.20	1.97 ± 0.06	0.56 ± 0.04
腎臓	1.78 ± 0.05	0.67 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.06 ± 0.01
脾臓	0.21 ± 0.02	0.06 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00
膵臓	0.41 ± 0.03	0.08 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00
白色脂肪	3.25 ± 0.15	0.51 ± 0.04	0.08 ± 0.01	0.05 ± 0.01
骨格筋	21.44 ± 0.43	4.83 ± 0.34	1.23 ± 0.20	0.71 ± 0.29
皮膚	27.20 ± 0.68	19.16 ± 1.53	3.97 ± 0.31	0.92 ± 0.18
精巣	0.72 ± 0.07	0.33 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.00
精巣上体	0.10 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
精囊	0.09 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
胃	0.46 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01
十二指腸	0.41 ± 0.20	0.22 ± 0.03	0.02 ± 0.00	0.00 ± 0.00
空腸	2.71 ± 0.32	0.98 ± 0.20	0.17 ± 0.03	0.02 ± 0.00
回腸上部	1.19 ± 0.15	1.22 ± 0.38	0.21 ± 0.07	0.03 ± 0.01
回腸下部	1.07 ± 0.12	1.13 ± 0.34	0.30 ± 0.07	0.04 ± 0.00
盲腸	0.73 ± 0.04	0.52 ± 0.11	0.36 ± 0.06	0.07 ± 0.02
結腸	1.09 ± 0.14	0.82 ± 0.13	0.90 ± 0.13	0.09 ± 0.01
胃内容物	0.17 ± 0.07	0.33 ± 0.15	0.20 ± 0.04	0.34 ± 0.11
十二指腸内容物	1.49 ± 0.13	0.54 ± 0.06	0.20 ± 0.02	0.16 ± 0.01
空腸内容物	16.79 ± 1.69	11.27 ± 2.23	2.31 ± 0.35	0.26 ± 0.06
回腸上部内容物	2.66 ± 0.51	20.54 ± 3.73	2.92 ± 0.88	0.39 ± 0.06
回腸下部内容物	0.88 ± 0.20	19.46 ± 3.93	6.94 ± 0.50	0.71 ± 0.12
盲腸内容物	0.44 ± 0.04	2.30 ± 1.10	28.31 ± 0.46	1.91 ± 0.24
結腸内容物	0.45 ± 0.04	0.54 ± 0.05	26.41 ± 1.93	2.16 ± 0.59
残骸	48.1 ± 1.7	21.0 ± 0.9	11.4 ± 0.6	7.0 ± 0.4

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=4) を示す。血液、白色脂肪、骨格筋および皮膚の全量はそれぞれ体重の 6.4, 5, 40 および 22% として算出した。

ii) 雌性ラット

雌性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の体内分布を組織摘出法により検討した。結果を表へー13に示す。

投与30分後において、血漿中濃度より明らかに高い濃度を示したのは肝臓、副腎、十二指腸、小腸および大腸であった。組織中放射能濃度は、血漿中濃度と同様に、経時的に減少した。このような、放射能分布挙動は雄の場合と同様であった。

表へー13 雌性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の組織中不揮発性放射能濃度

組織	組織中不揮発性放射能濃度 (pg eq./g or mL)							
	30 分		2 時間		8 時間		24 時間	
血漿	1122 ±	12.1	180 ±	6.3	36 ±	3.1	10 ±	0.6
血液	690 ±	12.0	116 ±	5.9	27 ±	1.4	11 ±	0.6
赤血球	43 ±	19.4	21 ±	6.0	13 ±	3.7	13 ±	1.4
大脳	301 ±	2.9	49 ±	1.9	13 ±	0.6	7 ±	0.5
小脳	310 ±	5.1	53 ±	2.6	15 ±	1.1	9 ±	0.8
脳下垂体	1253 ±	91.6	299 ±	16.8	0 ±	0.0	0 ±	0.0
眼球	214 ±	1.7	64 ±	4.9	18 ±	1.5	2 ±	2.1
舌	832 ±	13.1	214 ±	7.6	40 ±	2.5	15 ±	1.2
顎下腺	1196 ±	107.3	250 ±	12.3	40 ±	2.0	12 ±	1.0
甲状腺 ^{a)}	1108 ±	288.8	431 ±	21.5	0 ±	0.0	0 ±	0.0
気管	774 ±	43.8	203 ±	2.8	0 ±	0.0	0 ±	0.0
胸腺	670 ±	6.1	233 ±	10.2	32 ±	1.7	7 ±	0.7
大動脈	801 ±	27.1	84 ±	48.4	0 ±	0.0	0 ±	0.0
心臓	994 ±	24.5	183 ±	9.3	46 ±	3.7	16 ±	0.9
肺	994 ±	14.5	229 ±	6.6	54 ±	2.2	16 ±	1.2
肝臓	3750 ±	170.3	2016 ±	189.3	581 ±	29.8	145 ±	8.2
腎臓	2151 ±	100.8	870 ±	56.7	129 ±	11.5	52 ±	2.5
副腎	4203 ±	281.1	662 ±	96.6	92 ±	9.2	0 ±	0.0
脾臓	1190 ±	21.9	193 ±	17.1	40 ±	3.4	11 ±	1.5
脾臓	669 ±	11.8	168 ±	6.9	34 ±	1.9	12 ±	0.8
リンパ節	721 ±	20.2	173 ±	18.6	59 ±	6.9	0 ±	0.0
膀胱	656 ±	33.6	645 ±	148.3	75 ±	12.2	8 ±	8.2
卵巢	1765 ±	56.9	317 ±	29.0	46 ±	0.9	0 ±	0.0
子宮	617 ±	44.3	147 ±	9.9	25 ±	1.7	11 ±	0.6
皮膚	826 ±	47.4	494 ±	29.7	103 ±	10.9	15 ±	1.1
褐色脂肪	1355 ±	46.5	227 ±	6.5	28 ±	16.3	0 ±	0.0
白色脂肪	724 ±	157.0	135 ±	7.7	27 ±	2.0	17 ±	2.7
骨格筋	525 ±	10.9	92 ±	4.3	19 ±	1.1	8 ±	0.7
骨	603 ±	9.2	232 ±	15.5	37 ±	0.5	10 ±	0.8
骨髓	829 ±	332.2	63 ±	62.8	0 ±	0.0	50 ±	50.5
胃	837 ±	71.6	314 ±	29.2	105 ±	15.4	58 ±	12.7
十二指腸	6623 ±	456.9	3630 ±	345.6	571 ±	38.6	121 ±	8.5
小腸	5761 ±	551.4	6405 ±	866.0	1765 ±	194.7	206 ±	19.6
大腸	2547 ±	72.5	1656 ±	74.4	2860 ±	300.0	889 ±	337.5

各値は平均 ± 標準誤差 (n=4)を示す。

a)副甲状腺を含む甲状腺。

2) ラットにおける反復静脈内投与時の組織内分布

雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で1日1回7あるいは14回反復静脈内投与した時の体内分布を組織摘出法により検討した。組織中不揮発性放射能濃度を表へー14に示す。

表へー14 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で1日1回7あるいは14回静脈内反復投与した時の組織中不揮発性放射能濃度

組織	組織中不揮発性放射能濃度 (pg eq./g or mL)							
	7 回投与				14 回投与			
	30 分	24 時間	30 分	2 時間	30 分	2 時間	30 分	2 時間
血液	670 ± 16	51 ± 4	768 ± 21	244 ± 9				
血球	235 ± 47	107 ± 7	294 ± 24	227 ± 17				
血漿	934 ± 38	18 ± 1	1077 ± 28	245 ± 3				
大脳	298 ± 13	25 ± 2	330 ± 16	65 ± 2				
小脳	291 ± 16	21 ± 2	324 ± 18	76 ± 3				
延髄	366 ± 10	34 ± 3	400 ± 21	106 ± 4				
脳下垂体	2064 ± 485	N.D.	1669 ± 131	660 ± 18				
脊髓	393 ± 16	34 ± 4	374 ± 21	121 ± 6				
眼球	153 ± 11	11 ± 1	165 ± 9	61 ± 6				
ハーパー腺	2679 ± 141	242 ± 43	2378 ± 148	1063 ± 49				
舌	745 ± 27	37 ± 3	778 ± 26	278 ± 14				
顎下腺	1010 ± 44	32 ± 2	1122 ± 36	345 ± 15				
甲状腺 ^{a)}	1656 ± 275	69 ± 11	1708 ± 245	623 ± 76				
気管	713 ± 34	40 ± 8	875 ± 49	228 ± 14				
胸腺	628 ± 23	20 ± 1	583 ± 15	246 ± 12				
大動脈	531 ± 117	39 ± 2	972 ± 85	197 ± 9				
心臓	1013 ± 49	53 ± 1	1053 ± 4	280 ± 8				
肺	923 ± 24	40 ± 1	939 ± 26	275 ± 7				
肝臓	2638 ± 112	221 ± 14	2962 ± 62	2038 ± 135				
腎臓	1999 ± 74	165 ± 7	2018 ± 70	925 ± 20				
副腎	3773 ± 388	77 ± 6	3571 ± 467	743 ± 78				
脾臓	1217 ± 37	43 ± 5	1199 ± 21	290 ± 17				
腸間膜リンパ節	687 ± 35	43 ± 3	698 ± 19	242 ± 13				
膀胱	770 ± 112	29 ± 3	625 ± 33	211 ± 13				
精巣	611 ± 55	26 ± 3	598 ± 24	308 ± 42				
精巣上体	456 ± 8	17 ± 1	474 ± 22	202 ± 10				
精囊	715 ± 21	35 ± 1	764 ± 28	303 ± 15				
前立腺	437 ± 24	28 ± 1	464 ± 41	150 ± 5				
皮膚	764 ± 32	41 ± 2	855 ± 114	212 ± 10				
白色脂肪	987 ± 57	60 ± 2	958 ± 101	631 ± 76				
褐色脂肪	667 ± 69	29 ± 1	623 ± 37	153 ± 13				
骨格筋	1168 ± 47	75 ± 7	1165 ± 105	274 ± 11				
骨	529 ± 27	29 ± 1	535 ± 35	146 ± 2				
骨髓	634 ± 44	22 ± 2	577 ± 51	299 ± 17				
坐骨神経	770 ± 22	108 ± 37	762 ± 48	319 ± 39				
胃	1019 ± 113	67 ± 11	779 ± 63	310 ± 70				
十二指腸	839 ± 35	51 ± 5	948 ± 44	269 ± 11				
空腸	3529 ± 494	34 ± 3	3433 ± 315	1583 ± 230				
回腸上部	3354 ± 413	38 ± 5	2752 ± 491	1560 ± 206				
回腸下部	2477 ± 191	46 ± 6	2139 ± 194	2243 ± 251				
盲腸	2220 ± 222	72 ± 15	2039 ± 163	2040 ± 341				
結腸	2153 ± 107	113 ± 13	2230 ± 366	1542 ± 209				
	2310 ± 142	170 ± 14	1911 ± 229	1172 ± 129				

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=4) を示す。

a) 副甲状腺を含む甲状腺。N.D.は検出限界未満。

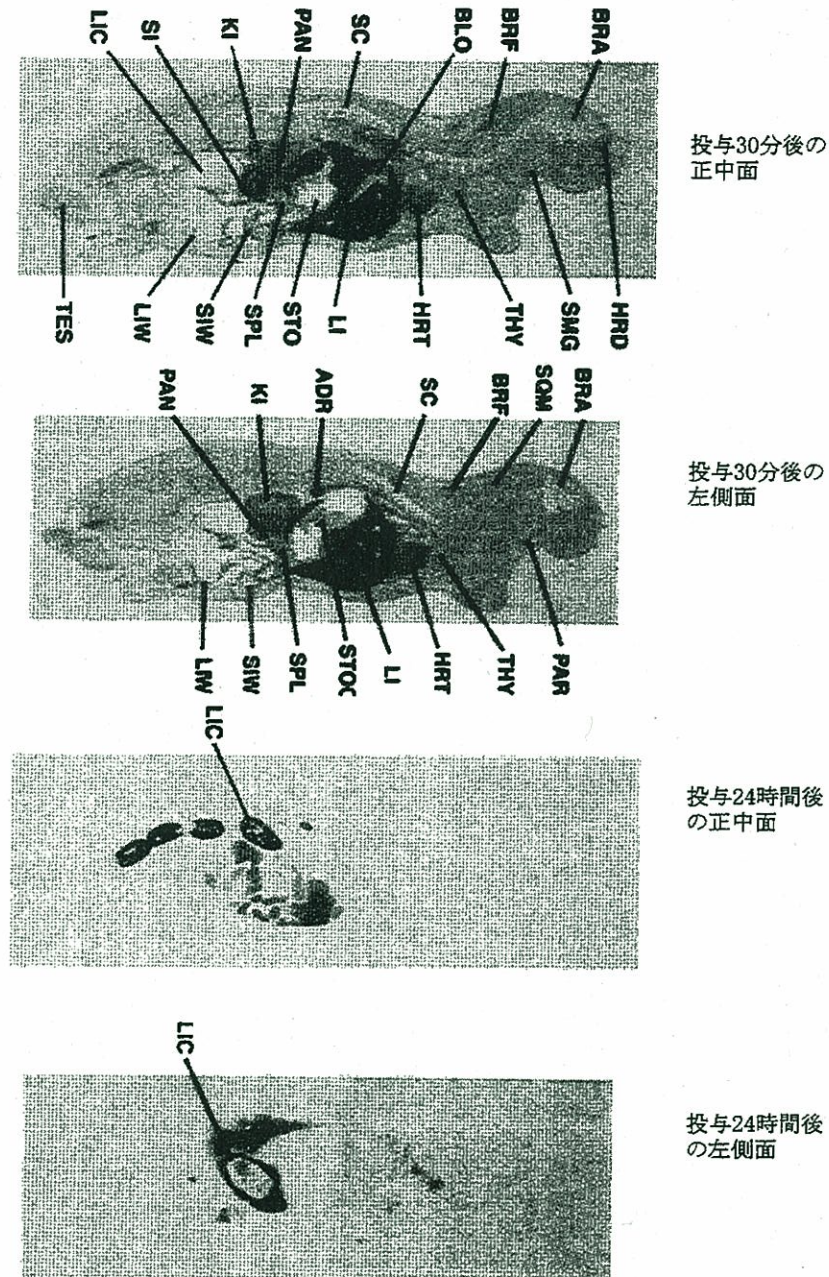
表へー10の単回投与の結果と比較すると、投与30分後の組織中不揮発性放射能濃度は単回、7回、14回投与の場合で同程度であり、投与回数に伴う組織中不揮発性放射能濃度の増加は認められなかった。一方、投与24時間後での組織中不揮発性放射能濃度は、反復投与により上昇する傾向が観察されたが、ほとんどの組織でその濃度は投与30分後の濃度の10分の1以下に低下していた。以上より、反復投与による組織への放射能の蓄積はほとんどないものと考えられた。

表へー14 続き (雄性ラットに[2β-³H]OCTを1 μg/kgの投与量で1日1回7あるいは14回静脈内反復投与した時の組織中不揮発性放射能濃度)

組織	組織中不揮発性放射能濃度 (pg eq./g or mL)							
	14 回投与							
	8 時間		24 時間		48 時間		168 時間	
血液	122 ± 5		78 ± 7		81 ± 5		58 ± 5	
血球	203 ± 11		160 ± 17		169 ± 11		129 ± 11	
血漿	59 ± 3		24 ± 2		19 ± 1		5 ± 1	
大脳	49 ± 4		34 ± 2		38 ± 3		28 ± 2	
小脳	37 ± 1		32 ± 3		31 ± 3		25 ± 2	
延髄	51 ± 2		45 ± 2		49 ± 4		39 ± 2	
脳下垂体	126 ± 13		74 ± 8		72 ± 11		N.D.	
脊髄	53 ± 1		49 ± 5		47 ± 3		29 ± 10	
眼球	24 ± 1		16 ± 2		12 ± 0		9 ± 0	
ハーダー腺	426 ± 76		257 ± 14		151 ± 20		50 ± 3	
舌	78 ± 3		43 ± 2		34 ± 3		23 ± 1	
顎下腺	76 ± 5		40 ± 3		34 ± 2		20 ± 1	
甲状腺 ^{a)}	173 ± 21		153 ± 21		122 ± 20		101 ± 13	
気管	56 ± 5		52 ± 5		34 ± 4		28 ± 3	
胸腺	46 ± 2		24 ± 2		22 ± 2		15 ± 1	
大動脈	66 ± 12		64 ± 9		62 ± 13		51 ± 4	
心臓	100 ± 8		69 ± 4		65 ± 6		42 ± 2	
肺	87 ± 5		54 ± 4		41 ± 5		23 ± 3	
肝臓	592 ± 22		259 ± 15		188 ± 11		80 ± 5	
腎臓	330 ± 11		208 ± 8		168 ± 13		83 ± 2	
副腎	161 ± 13		97 ± 4		81 ± 8		50 ± 5	
脾臓	84 ± 5		55 ± 4		46 ± 6		28 ± 2	
脾臓	85 ± 2		66 ± 4		54 ± 3		44 ± 2	
腸間膜リンパ節	60 ± 2		36 ± 3		31 ± 2		17 ± 1	
膀胱	81 ± 18		28 ± 5		27 ± 0		19 ± 2	
精巣	37 ± 2		17 ± 0		16 ± 1		11 ± 1	
精巣上部	76 ± 4		46 ± 3		37 ± 3		23 ± 1	
精囊	52 ± 2		35 ± 3		28 ± 1		17 ± 1	
前立腺	67 ± 2		45 ± 3		33 ± 2		15 ± 1	
皮膚	158 ± 5		70 ± 6		54 ± 3		34 ± 3	
白色脂肪	57 ± 5		42 ± 5		48 ± 4		43 ± 2	
褐色脂肪	132 ± 7		98 ± 9		98 ± 6		80 ± 4	
骨格筋	56 ± 3		38 ± 3		30 ± 1		21 ± 1	
骨	50 ± 1		26 ± 2		22 ± 1		15 ± 1	
骨髓	67 ± 3		36 ± 4		36 ± 2		22 ± 2	
坐骨神経	79 ± 10		59 ± 5		67 ± 3		55 ± 6	
胃	100 ± 4		61 ± 3		51 ± 6		29 ± 2	
十二指腸	189 ± 22		46 ± 4		33 ± 3		19 ± 2	
空腸	216 ± 27		44 ± 5		32 ± 3		20 ± 0	
回腸上部	302 ± 24		58 ± 3		40 ± 3		21 ± 2	
回腸下部	509 ± 117		67 ± 5		37 ± 5		20 ± 4	
盲腸	673 ± 111		98 ± 8		35 ± 2		19 ± 2	
結腸	1202 ± 275		93 ± 17		39 ± 3		21 ± 1	

3) ラットにおける単回静脈内投与時の全身オートラジオグラフィー

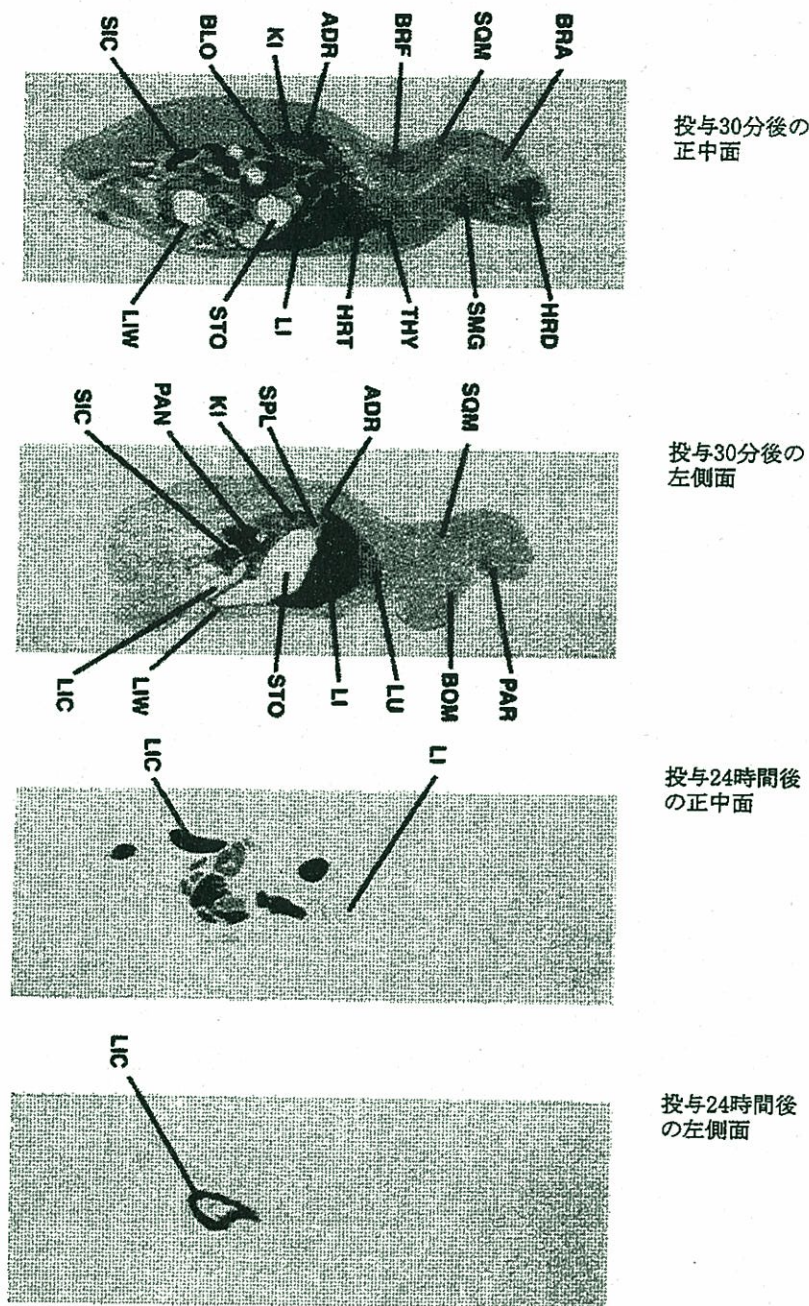
雄性および雌性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与し、全身オートラジオグラフィーを行った。投与30分後および24時間後の雄性および雌性ラットにおける全身オートラジオグラムをそれぞれ図へー11および図へー12に示す。



図へー11 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の全身オートラジオグラム

ADR:副腎, BLO:血液, BRA:脳, BRF:褐色脂肪, HRD:ハーダー腺, HRT:心臓, KI:腎臓, LI:肝臓, LIC 大腸内容物, LIW:大腸壁, PAN:膵臓, PAR:甲状腺, SC:脊髄, SI:小腸, SIW:小腸壁, SMG:顎下腺, SPL:脾臓, SQM:骨格筋, STO:胃, STOC:胃内容物, TES:精巣, THY:胸腺。

雌雄とも、投与 30 分後には全身に放射能の分布が認められ、特に肝臓、副腎、ハーダー腺、小腸壁、大腸壁および小腸内容物に高濃度の放射能が観察された。投与 24 時間後には、大腸内容物に高濃度の放射能が認められたものの、各組織からは放射能はほとんど消失していた。この結果は、組織摘出法による分布の結果とよく一致していた。また、全身オートラジオグラム上も、雌雄で同様な放射能分布挙動を示した。



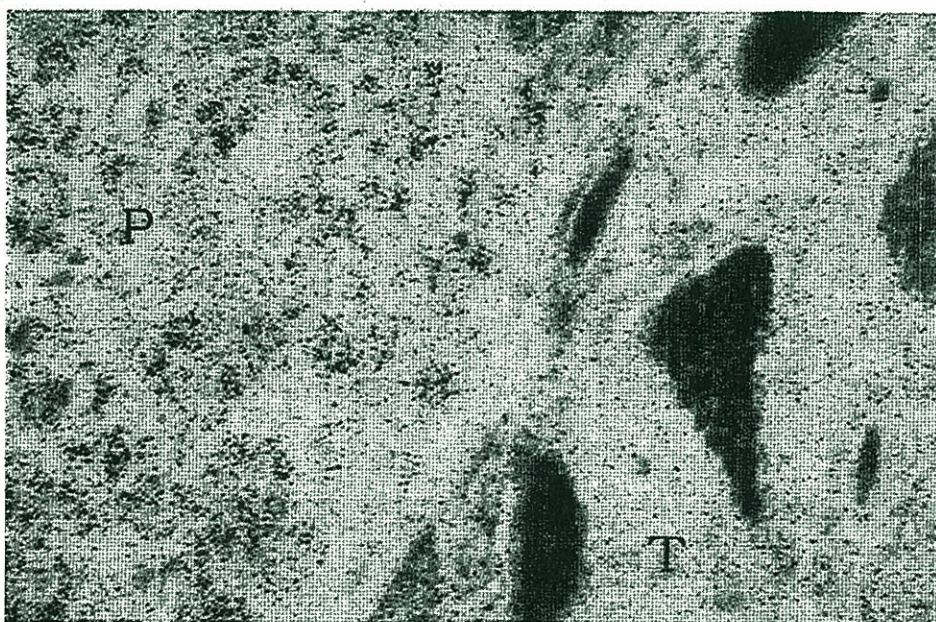
図ヘー12 雌性ラットに[2β-³H]OCTを10 µg/kg 単回静脈内投与した時の全身オートラジオグラム

ADR:副腎, BLO:血液, BOM:骨髄, BRA:脳, BRF:褐色脂肪, HRD:ハーダー腺, HRT:心臓, KI:腎臓, LI:肝臓, LIC:大腸内容物, LIW:大腸壁, LU:肺, PAN:膵臓, PAR:甲状腺, SIC:小腸内容物, SMG:顎下腺, SPL:脾臓, SQM:骨格筋, STO:胃, THY:胸腺。

4) ラットにおける単回静脈内投与時の副甲状腺のマイクロオートラジオグラフィ

雄性ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8または16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量(投与放射能量は投与量に比例)で単回静脈内投与し、投与1時間後において、副甲状腺、小腸絨毛上皮、腎臓遠位および近位尿細管、皮膚上皮、肝臓のマイクロオートラジオグラフィを行った。8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を投与した時の副甲状腺のマイクロオートラジオグラムを図へー13に示す。また、各投与量でのマイクロオートラジオグラムを用いて、肝臓を除く各組織細胞の核内銀粒子の数を測定した結果を図へー14に示す。

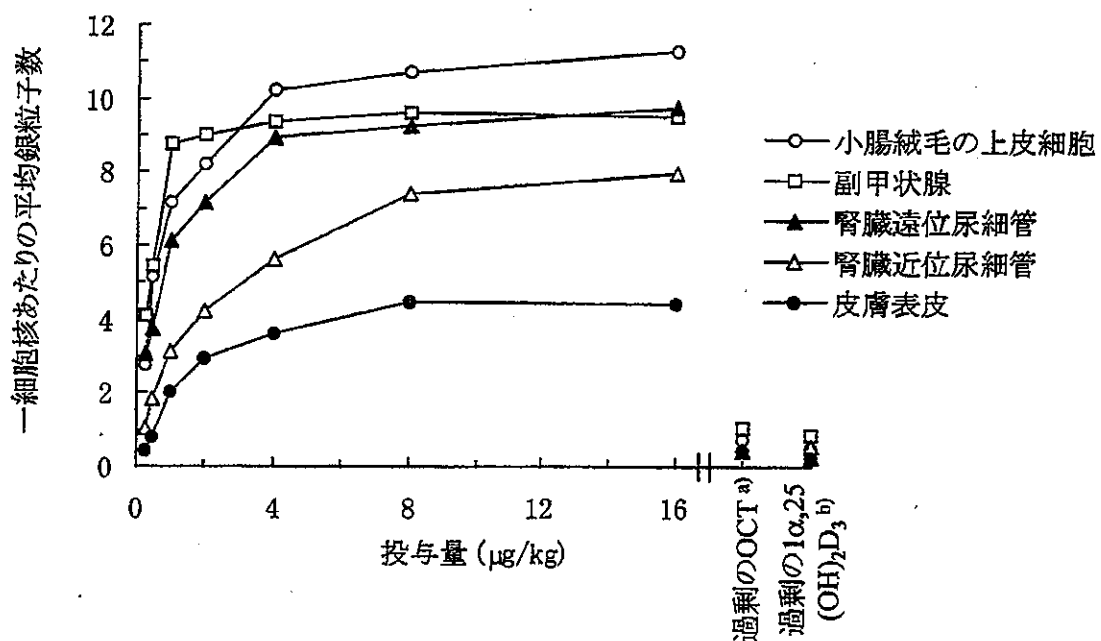
いずれの投与量においても、副甲状腺への放射能分布は隣接する甲状腺に比べ高かった。したがって、摘出法で認められた副甲状腺を含む甲状腺への高い放射能分布は、副甲状腺への高い放射能分布に起因しているものと考えられた。また、肝臓では放射能は細胞質内に均一に分布したが、副甲状腺、小腸絨毛上皮、腎臓遠位および近位尿細管、皮膚上皮では放射能はそれらの細胞核内に局在して分布した。細胞核内に局在化した放射能は、副甲状腺では投与量が1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ まで、その他の組織では4ないし8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ までは投与量の増加に伴い増大するものの、それ以上の投与量では放射能の局在化に飽和現象が認められた。さらに、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ と2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の非標識OCTまたは $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を同時に投与すると、細胞核内への放射能の局在化は著しく低下した。



図へー13 雄性ラットに $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与した時の投与1時間後における副甲状腺のマイクロオートラジオグラム

P:副甲状腺, T:甲状腺。

黒い点は銀粒子であり、放射能の分布を示す。



図へー14 雄性ラットに[26-³H]OCTを0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8または16 μg/kg 単回静脈内投与した時の投与1時間後におけるマイクロオートラジオグラムより計測した一細胞核当たりの平均銀粒子数

a)[26-³H]OCT 2 μg/kg に加え, 非標識 OCT 2000 μg/kg を同時投与。

b)[26-³H]OCT 2 μg/kg に加え, 非標識 1α,25(OH)₂D₃ 2000 μg/kg を同時投与。

5) 妊娠ラットにおける単回静脈内投与時の胎盤、胎児移行性

妊娠 13 日目および 18 日目のラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の不揮発性放射能濃度を組織摘出法により検討した。妊娠 13 日目および 18 日目のラットにおける組織中不揮発性放射能濃度を、それぞれ表へー 15 および表へー 16 に示す。

妊娠 13 日目において、最高濃度を示した投与 30 分後の母獣血漿中不揮発性放射能濃度に対する胎児中不揮発性放射能濃度の比は 0.19 であり、胎児への不揮発性放射能の移行性は低かった。妊娠 18 日目における胎児組織中不揮発性放射能濃度は妊娠 13 日目の胎児中不揮発性放射能濃度を上回ったものの、最高濃度を示した投与 30 分後の母獣血漿中不揮発性放射能濃度に対する胎児組織中不揮発性放射能濃度の比は 0.46 以下であった。妊娠 13 日目および 18 日目のラットとも、母獣および胎児からの放射能の消失は速やかであり、投与 24 時間後までに放射能はほとんど消失していた。

表へー 15 妊娠 13 日目のラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の組織中不揮発性放射能濃度

組織	組織中不揮発性放射能濃度 (pg eq./g)					
	30 分	2 時間	8 時間	24 時間	48 時間	
血漿	1104 ± 26.0 (1.00)	282 ± 32.3 (1.00)	37 ± 0.6 (1.00)	0 ± 0.0	0 ± 0.0	
血液	701 ± 24.2 (0.63)	190 ± 12.8 (0.69)	31 ± 1.3 (0.85)	10 ± 0.3	7 ± 0.3	
羊膜	593 ± 34.3 (0.54)	323 ± 15.3 (1.20)	53 ± 12.8 (1.45)	23 ± 0.6	19 ± 1.6	
羊水	34 ± 1.5 (0.03)	19 ± 1.2 (0.07)	1 ± 1.3 (0.03)	0 ± 0.0	0 ± 0.0	
脳	271 ± 11.9 (0.25)	70 ± 6.3 (0.25)	19 ± 1.7 (0.51)	12 ± 0.6	14 ± 1.5	
心臓	971 ± 60.4 (0.88)	261 ± 25.4 (0.93)	42 ± 2.9 (1.14)	18 ± 0.6	13 ± 0.9	
肺	1029 ± 62.0 (0.94)	318 ± 26.3 (1.14)	50 ± 2.2 (1.35)	16 ± 0.7	10 ± 1.0	
腎臓	2061 ± 170.2 (1.85)	830 ± 62.9 (2.98)	141 ± 12.8 (3.85)	77 ± 3.5	49 ± 2.0	
肝臓	3752 ± 196.1 (3.37)	1962 ± 183.9 (7.13)	570 ± 51.4 (15.45)	131 ± 10.9	56 ± 1.4	
卵巣	2423 ± 221.5 (2.19)	530 ± 81.6 (1.86)	53 ± 3.7 (1.45)	0 ± 0.0	0 ± 0.0	
胎盤	662 ± 35.3 (0.60)	217 ± 14.9 (0.78)	36 ± 1.4 (0.99)	14 ± 0.6	8 ± 0.6	
甲状腺/副甲状腺	1224 ± 136.0 (1.11)	491 ± 52.8 (1.77)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0	0 ± 0.0	
子宮	813 ± 43.8 (0.74)	298 ± 16.9 (1.08)	32 ± 1.3 (0.89)	12 ± 0.4	8 ± 0.6	
胎児	206 ± 7.6 (0.19)	66 ± 5.6 (0.24)	9 ± 0.5 (0.25)	0 ± 0.0	2 ± 1.0	

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=4) を示す。括弧内は母獣血漿中不揮発性放射能濃度に対する組織中不揮発性放射能濃度の比を示す。

表へー16 妊娠18日目のラットに[2β-³H]OCTを1 μg/kg 単回静脈内投与した時の組織中不揮発性放射能濃度

組織	組織中不揮発性放射能濃度 (pg eq./g)				
	30 分	2 時間	8 時間	24 時間	48 時間
母獣					
血漿	1284 ± 162.1 (1.00)	335 ± 9.6 (1.00)	41 ± 1.8 (1.00)	5 ± 1.8 (1.00)	0 ± 0.0
血液	862 ± 78.1 (0.68)	239 ± 9.7 (0.72)	35 ± 0.9 (0.87)	10 ± 0.5 (1.35)	6 ± 0.3
羊膜	754 ± 48.8 (0.62)	832 ± 41.5 (2.49)	149 ± 23.4 (3.65)	90 ± 5.9 (13.09)	76 ± 6.8
羊水	43 ± 2.1 (0.04)	34 ± 2.4 (0.10)	5 ± 2.8 (0.11)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
脳	306 ± 22.9 (0.25)	90 ± 2.2 (0.27)	8 ± 4.8 (0.19)	5 ± 5.0 (0.93)	0 ± 0.0
心臓	1204 ± 43.0 (0.97)	346 ± 16.8 (1.04)	54 ± 1.8 (1.34)	14 ± 5.4 (2.70)	9 ± 5.3
肺	1346 ± 62.4 (1.08)	410 ± 18.9 (1.23)	69 ± 2.9 (1.70)	19 ± 1.0 (2.70)	8 ± 2.8
腎臓	2925 ± 213.0 (2.33)	1434 ± 73.9 (4.31)	185 ± 3.2 (4.56)	76 ± 4.3 (11.23)	56 ± 2.9
肝臓	4277 ± 163.4 (3.45)	2937 ± 128.3 (8.80)	696 ± 51.8 (17.18)	149 ± 6.6 (20.58)	71 ± 2.9
卵巣	3426 ± 234.0 (2.74)	739 ± 66.4 (2.21)	67 ± 3.9 (1.66)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
胎盤	908 ± 88.4 (0.72)	304 ± 6.7 (0.91)	37 ± 0.9 (0.91)	4 ± 4.0 (0.74)	0 ± 0.0
甲状腺/副甲状腺	1507 ± 97.4 (1.22)	711 ± 82.7 (2.12)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
子宮	783 ± 40.3 (0.63)	308 ± 9.3 (0.93)	30 ± 2.3 (0.74)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
胎児					
血液	213 ± 17.6 (0.17)	90 ± 2.6 (0.27)	5 ± 5.3 (0.13)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
血漿	236 ± 11.7 (0.20)	98 ± 2.2 (0.29)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
脳	380 ± 21.2 (0.31)	128 ± 2.1 (0.39)	16 ± 0.6 (0.41)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
心臓	443 ± 13.4 (0.36)	168 ± 3.7 (0.50)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
肺	454 ± 14.6 (0.37)	238 ± 9.3 (0.72)	29 ± 1.4 (0.73)	2 ± 2.3 (0.30)	6 ± 0.6
腎臓	496 ± 17.8 (0.41)	221 ± 13.1 (0.66)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0 (0.00)	0 ± 0.0
肝臓	570 ± 12.8 (0.46)	238 ± 3.2 (0.71)	56 ± 2.1 (1.37)	18 ± 2.3 (2.73)	13 ± 0.6
残骸	358 ± 9.8 (0.30)	174 ± 0.9 (0.52)	25 ± 1.1 (0.62)	7 ± 1.8 (0.59)	7 ± 2.1

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=4) を示す。括弧内は母獣血漿中不揮発性放射能濃度に対する組織中不揮発性放射能濃度の比を示す。

6) ラット、イヌおよびヒトにおける血漿タンパク結合率

i) *In vitro* 血漿タンパク結合率

ラット、イヌおよびヒトの各血漿タンパクに対する OCT の結合率を限外ろ過法により検討した。結果を表へー17 に示す。

OCT の濃度が 0.2 から 20 ng/mL の範囲における血漿タンパク結合率は、いずれの動物種においても 97% 以上であり、OCT は血漿中で高率に血漿タンパクに結合することが明らかになった。

表へー17 ラットおよびヒトの各血漿タンパクに対する OCT の結合率

	血漿タンパク結合率 (%)					
	0.2 ng/mL		2 ng/mL		20 ng/mL	
ラット	98.2 ±	0.0	98.0 ±	0.1	97.8 ±	0.0
イヌ	97.1 ±	0.1	98.9 ±	0.0	98.9 ±	0.0
ヒト	98.8 ±	0.2	98.8 ±	0.1	98.9 ±	0.1

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=4) を示す。

ii) *In vivo* 血漿タンパク結合率

雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量で単回静脈内投与し、投与 15 分、2 時間および 4 時間後において得られた血漿中の放射能のタンパク結合率を表へー18 に示す。

放射能の血漿タンパク結合率は、投与 15 分後においては 97.0% であり、*in vitro* 試験における OCT の血漿タンパク結合率と同程度であった。しかし、結合率は時間の経過とともに低下し、投与 4 時間後では 47.5% まで低下した。投与 15 分後においては、血漿中の放射能の大部分は未変化 OCT によるものであり、4 時間後ではほとんど代謝物によるものであること(「へー2(3)1)ラットにおける単回投与時の血漿中代謝物」の項参照)から、OCT 血漿中代謝物の血漿タンパクへの結合率は未変化 OCT に比べ低いことが示唆された。

表へー18 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回静脈内投与した後
に得られた血漿における放射能の血漿タンパク結合率

血漿タンパク結合率 (%)					
15 分		2 時間		4 時間	
97.0 ±	0.3	74.6 ±	1.4	47.5 ±	1.4

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=3) を示す。

iii)OCT のタンパク結合における薬物間相互作用 (*in vitro*)

ラットおよびヒト血漿を用いて、OCT の血漿タンパク結合率に及ぼす各種薬物の影響および各種薬物の結合率に及ぼす OCT の影響を限外ろ過法により検討した。ラットおよびヒトの血漿に、アルブミンのサイト I, II および III にそれぞれ結合することが知られているワルファリン、ジアゼパム、ジギトキシン、 α_1 -酸性糖タンパクに結合することが知られているプロプラノロールおよびクロルプロマジン、リポプロテインに結合することが知られているイミプラミンおよびシクロスポリン A のそれぞれと OCT を同時に添加し、OCT の血漿タンパク結合率に対する結合部位の異なる薬物の影響を検討した。さらに、結合部位の異なる薬物、内因性の $25(\text{OH})\text{D}_3$ および $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の血漿タンパク結合率に対する OCT の影響を検討した。なお、これら薬物および OCT の添加濃度は臨床用量での血漿中濃度付近に設定した。結果を表へー19 および表へー20 に示す。

結合部位の異なるいずれの薬物も、OCT のラットおよびヒト血漿タンパク結合率に影響を与えなかった。また、OCT は結合部位の異なる薬物ならびに内因性の $25(\text{OH})\text{D}_3$ および $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のラットおよびヒト血漿タンパク結合率に影響を与えなかった。これらのことより、臨床用量において、種々のタンパク、サイトに結合する薬物と OCT、内因性 $25(\text{OH})\text{D}_3$ および $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と OCT との間で、血漿タンパクへの結合に起因する薬物間相互作用はほとんど起こらないものと考えられた。

表へー19 OCT の血漿タンパク結合率に対する種々の薬物の影響

添加薬物 (濃度)	OCTの血漿タンパク結合率 (%)			
	ラット血漿		ヒト血漿	
なし(OCTのみ)	97.1 ±	0.0	98.7 ±	0.0
ワルファリン (0.1 µg/mL)	97.7 ±	0.1	98.8 ±	0.2
ワルファリン (10 µg/mL)	98.2 ±	0.4	99.0 ±	0.3
ジアゼパム (0.03 µg/mL)	96.7 ±	0.0 *	98.4 ±	0.3
ジアゼパム (3 µg/mL)	97.4 ±	0.5	98.1 ±	0.3
ジギトキシン (1 ng/mL)	97.1 ±	0.1	98.4 ±	0.2
ジギトキシン (25 ng/mL)	97.3 ±	0.3	98.4 ±	0.3
クロルプロマジン (0.1 µg/mL)	97.4 ±	0.1	98.3 ±	0.2
クロルプロマジン (2 µg/mL)	97.7 ±	0.3	98.4 ±	0.1 *
プロプラノロール (50 ng/mL)	96.8 ±	0.2	98.5 ±	0.1
プロプラノロール (400 ng/mL)	97.0 ±	0.1	98.4 ±	0.2
イミプラミン (50 ng/mL)	97.1 ±	0.1	98.3 ±	0.2
イミプラミン (300 ng/mL)	97.7 ±	0.1	98.6 ±	0.1

各値は平均値 ± 標準誤差 (n=3) を示す。

OCT 濃度は 2 ng/mL。

*薬物を添加しない場合に比べ有意差あり (t-検定, $p<0.05$)。

表へー20 結合部位の異なる薬物, 25(OH)D₃ および 1 α ,25(OH)₂D₃ の血漿タンパク結合率に及ぼす OCT の影響

薬物	(濃度)	血漿タンパク結合率 (%)							
		ラット血漿				ヒト血漿			
		OCT 0 ng/mL		OCT 2 ng/mL		OCT 0 ng/mL		OCT 2 ng/mL	
ワルファリン	(0.1 μ g/mL)	98.3 $\pm$ 0.2	98.3 $\pm$ 0.1	98.3 $\pm$ 0.1	98.6 $\pm$ 0.1	98.7 $\pm$ 0.1	98.7 $\pm$ 0.1	98.7 $\pm$ 0.1	98.7 $\pm$ 0.1
ワルファリン	(10 μ g/mL)	97.8 $\pm$ 0.0	97.8 $\pm$ 0.2	97.8 $\pm$ 0.2	99.0 $\pm$ 0.0	99.1 $\pm$ 0.1	99.1 $\pm$ 0.1	99.1 $\pm$ 0.1	99.1 $\pm$ 0.1
ジアゼパム	(0.03 μ g/mL)	83.2 $\pm$ 0.0	83.1 $\pm$ 0.3	83.1 $\pm$ 0.3	98.0 $\pm$ 0.0	98.1 $\pm$ 0.3	98.1 $\pm$ 0.3	98.1 $\pm$ 0.3	98.1 $\pm$ 0.3
ジアゼパム	(3 μ g/mL)	83.1 $\pm$ 0.7	81.8 $\pm$ 0.8	81.8 $\pm$ 0.8	97.8 $\pm$ 0.1	97.8 $\pm$ 0.1	97.8 $\pm$ 0.1	97.8 $\pm$ 0.1	97.8 $\pm$ 0.1
ジギトキシン	(1 ng/mL)	90.7 $\pm$ 0.5	90.3 $\pm$ 0.7	90.3 $\pm$ 0.7	95.7 $\pm$ 0.2	95.7 $\pm$ 0.3	95.7 $\pm$ 0.3	95.7 $\pm$ 0.3	95.7 $\pm$ 0.3
ジギトキシン	(25 ng/mL)	91.2 $\pm$ 0.8	91.4 $\pm$ 0.3	91.4 $\pm$ 0.3	96.5 $\pm$ 0.4	95.8 $\pm$ 0.0	95.8 $\pm$ 0.0	95.8 $\pm$ 0.0	95.8 $\pm$ 0.0
シクロスポリン	(0.05 μ g/mL)	99.4 $\pm$ 0.0	99.4 $\pm$ 0.1	99.4 $\pm$ 0.1	98.8 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1
シクロスポリン	(3 μ g/mL)	99.2 $\pm$ 0.2	99.2 $\pm$ 0.1	99.2 $\pm$ 0.1	99.0 $\pm$ 0.2	98.9 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1
プロプラノロール	(50 ng/mL)	77.2 $\pm$ 1.8	75.7 $\pm$ 0.5	75.7 $\pm$ 0.5	84.0 $\pm$ 1.6	84.4 $\pm$ 1.7	84.4 $\pm$ 1.7	84.4 $\pm$ 1.7	84.4 $\pm$ 1.7
プロプラノロール	(400 ng/mL)	75.5 $\pm$ 0.5	75.4 $\pm$ 0.4	75.4 $\pm$ 0.4	82.8 $\pm$ 0.9	82.7 $\pm$ 1.3	82.7 $\pm$ 1.3	82.7 $\pm$ 1.3	82.7 $\pm$ 1.3
イミプラミン	(50 ng/mL)	92.6 $\pm$ 1.4	92.9 $\pm$ 1.1	92.9 $\pm$ 1.1	96.3 $\pm$ 0.9	96.5 $\pm$ 0.7	96.5 $\pm$ 0.7	96.5 $\pm$ 0.7	96.5 $\pm$ 0.7
イミプラミン	(300 ng/mL)	91.0 $\pm$ 0.7	93.0 $\pm$ 0.6	93.0 $\pm$ 0.6	97.4 $\pm$ 0.2	96.8 $\pm$ 0.7	96.8 $\pm$ 0.7	96.8 $\pm$ 0.7	96.8 $\pm$ 0.7
25(OH)D ₃	(100 pg/mL)	98.8 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.2	98.9 $\pm$ 0.2	98.2 $\pm$ 0.1	98.1 $\pm$ 0.1	98.1 $\pm$ 0.1	98.1 $\pm$ 0.1	98.1 $\pm$ 0.1
1 α ,25(OH) ₂ D ₃	(35 pg/mL)	99.5 $\pm$ 0.2	99.6 $\pm$ 0.2	99.6 $\pm$ 0.2	98.7 $\pm$ 0.1	99.3 $\pm$ 0.2	99.3 $\pm$ 0.2	99.3 $\pm$ 0.2	99.3 $\pm$ 0.2

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=3) を示す。

OCT 0 ng/mL の値と 2 ng/mL の値は有意差なし (対応のある t-検定, $p>0.05$)。

7) ラットにおける単回静脈内投与時の赤血球への移行性

雄性ラットに[2 β -³H]OCT を 1 μ g/kg の投与量で単回静脈内投与した時の赤血球中放射能濃度を求めた (表へー10)。最高濃度を示した投与 30 分後の血漿中不揮発性放射能濃度に対する赤血球中不揮発性放射能濃度の比は 0.19 (表へー11) であり, 赤血球への移行性は低かった。

(3) 代謝

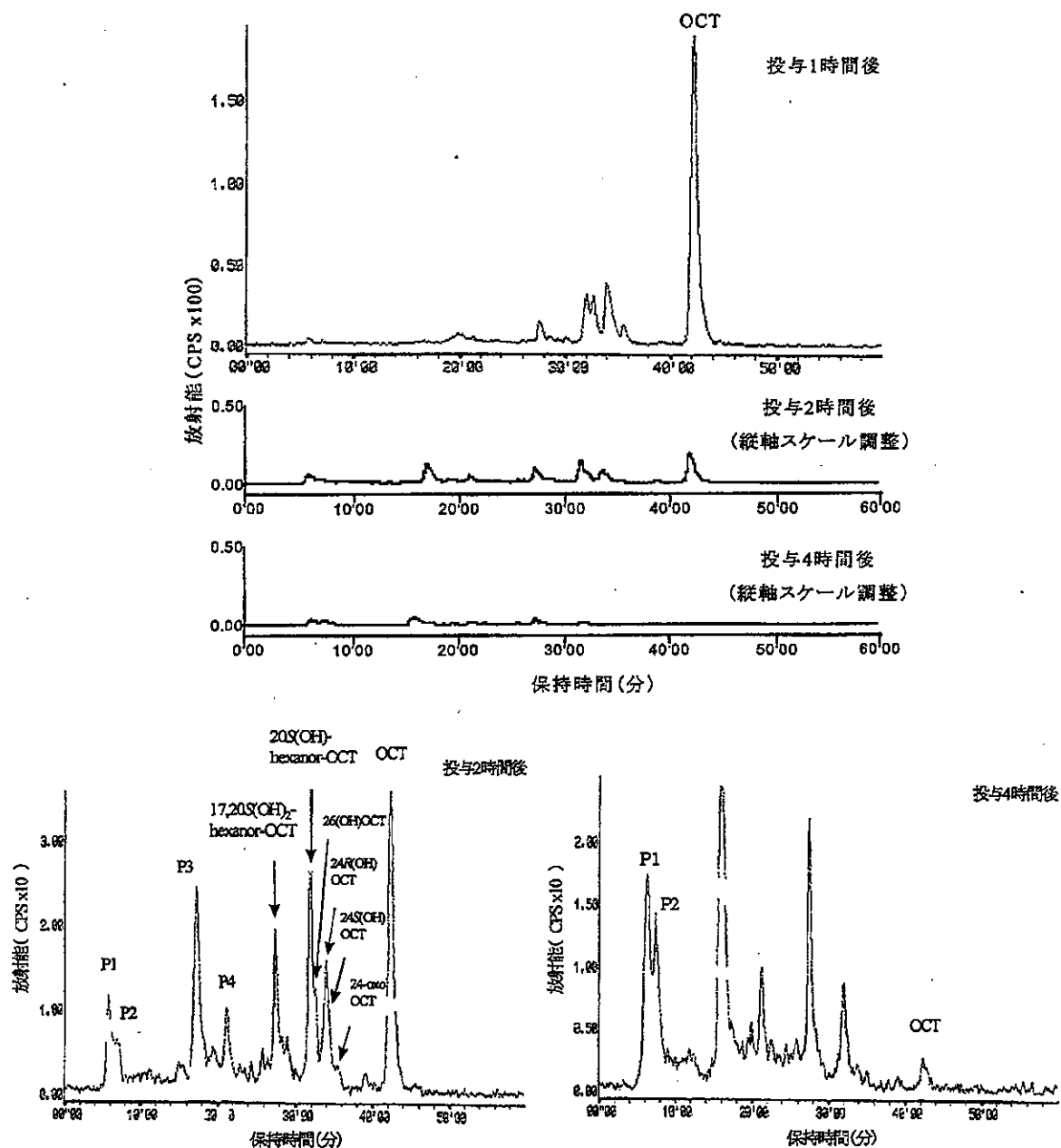
1) ラットにおける単回静脈内投与時の血漿中代謝物

雄性ラットに[2 β -³H]OCT を 10 μ g/kg の投与量で単回静脈内投与し, 投与 1, 2 および 4 時間後に得た血漿中放射能プロファイルを放射能検出器を備えた HPLC (radioHPLC) により検討した結果を図へー15 に示す。

投与 1 時間後の血漿中には主に未変化 OCT が確認された。また, 投与 2 時間後には, 未変化 OCT 以外に, 側鎖酸化型代謝物である 24*R*(OH)OCT, 24*S*(OH)OCT, 24-oxoOCT, (25*R*)-26(OH)OCT および (25*S*)-26(OH)OCT と, 側鎖開裂型代謝物である 20*S*(OH)-hexanor-OCT および 17,20*S*(OH)₂-hexanor-OCT が確認された。投与 4 時間後の血漿中には未変化 OCT はほとんど存在しておらず, 上記の代謝物より極性の高い代謝物 (P1 および P2) が認められた。

血漿中における代謝物の未変化体に対する存在比は小さいのに加え, 代謝物の VDR に対する親和性も未変化体に比べ小さく (最も強い 24-oxoOCT においても未変化体の 1/12

), ラットにおいてはほとんど未変化体のみが薬効発現に関わっているものと推察された。



図へー15 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の1, 2 および4 時間後における血漿の radioHPLC クロマトグラム

上図では、投与2および4時間後のクロマトグラム(下図)を、投与1時間後のクロマトグラムの分析に用いた血漿量に合わせて縦軸スケールを調整した。

2) ラットにおける単回静脈内投与時の組織中代謝物

雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与し、投与0.5および2時間後における肝臓、腎臓、小腸および十二指腸に存在する代謝物の存在比率を検討した。各組織における放射能濃度と代謝物の存在比率を表へー21に示す。

投与0.5時間後では、いずれの組織においても未変化OCTの割合が最も大きく、未変化OCTの占める割合は、肝臓で52.78%、腎臓で61.17%、小腸で81.56%、十二指腸で63.76%であった。また、側鎖酸化型代謝物は、それぞれ11.01%、14.89%、9.65%および7.14%であった。

投与2時間後では、各組織とも未変化OCTの占める割合は減少し、肝臓、腎臓、小腸および十二指腸においてそれぞれ4.64%、25.44%、12.81%および24.68%であり、これらの組織中放射能の大部分は代謝物によるものであった。

表へー21 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の0.5および2時間後における肝臓、腎臓、小腸および十二指腸中放射能濃度と各代謝物の存在比率

肝臓	放射能濃度	PM1 ^{a)} (L1, L2) (pg eq./g) (% of L) ^{e)}	PM2 ^{b)} (L3 - L6) (pg eq./g) (% of L) ^{e)}	20S ^{c)} (pg eq./g) (% of L) ^{e)}	SCOM ^{d)} (pg eq./g) (% of L) ^{e)}	OCT	その他 (L7を含 (pg eq./g) (% of L) ^{e)}	合計
0.5 時間	42045 ± 2120	7.38 ± 0.95	9.64 ± 0.41	0.72 ± 0.37	11.01 ± 1.38	52.78 ± 2.85	11.35 ± 1.38	92.88 ± 2.25
2 時間	22783 ± 960	16.73 ± 0.46	53.08 ± 3.21	0.96 ± 0.23	4.05 ± 0.38	4.64 ± 0.28	14.61 ± 3.50	94.07 ± 0.65
腎臓	放射能濃度	PM1 (K1, K2) (pg eq./g) (% of K) ^{e)}	PM2 (K3 - K5) (pg eq./g) (% of K) ^{e)}	20S (pg eq./g) (% of K) ^{e)}	SCOM (pg eq./g) (% of K) ^{e)}	OCT	その他 (K6を含 (pg eq./g) (% of K) ^{e)}	合計
0.5 時間	21062 ± 1230	2.74 ± 1.08	2.52 ± 0.93	5.56 ± 0.67	14.89 ± 0.58	61.17 ± 1.67	7.00 ± 0.73	93.88 ± 0.60
2 時間 ^{f)}	7381	14.65	16.41	8.57	9.29	25.44	9.60	83.95
小腸	放射能濃度	PM1 (S1, S2) (pg eq./g) (% of SI) ^{e)}	PM2 (S3 - S5) (pg eq./g) (% of SI) ^{e)}	20S (pg eq./g) (% of SI) ^{e)}	SCOM (pg eq./g) (% of SI) ^{e)}	OCT	その他 (pg eq./g) (% of SI) ^{e)}	合計
0.5 時間	18689 ± 868	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.86 ± 0.99	9.65 ± 3.00	81.56 ± 3.46	1.10 ± 1.10	94.17 ± 1.26
2 時間	25033 ± 6435	29.71 ± 1.29	33.45 ± 17.04	2.87 ± 1.27	5.85 ± 5.18	12.81 ± 8.53	5.07 ± 1.68	89.76 ± 3.41
十二指腸	放射能濃度	PM1 (D1, D2) (pg eq./g) (% of D) ^{e)}	PM2 (D3 - D6) (pg eq./g) (% of D) ^{e)}	20S (pg eq./g) (% of D) ^{e)}	SCOM (pg eq./g) (% of D) ^{e)}	OCT	その他 (pg eq./g) (% of D) ^{e)}	合計
0.5 時間	39837 ± 5105	8.85 ± 2.5	6.29 ± 6.29	0.50 ± 0.50	7.14 ± 0.12	63.76 ± 6.66	5.80 ± 3.15	92.34 ± 2.37
2 時間	14115 ± 3050	15.24 ± 4.33	36.08 ± 9.15	4.36 ± 0.54	8.02 ± 3.65	24.68 ± 7.16	3.25 ± 3.25	91.63 ± 1.40

各値の上段は平均値、下段は±標準誤差(n=3)を示す。

a)極性代謝物1, b)極性代謝物2, c)20S(OH)-hexanor-OCT, d)側鎖酸化型代謝物, e)各臓器(L:肝臓, K:腎臓, SI:小腸, D:十二指腸)中放射能に対する百分率, f)2例の平均。

3) ラットにおける単回静脈内投与時の胆汁中、尿中および糞中代謝物

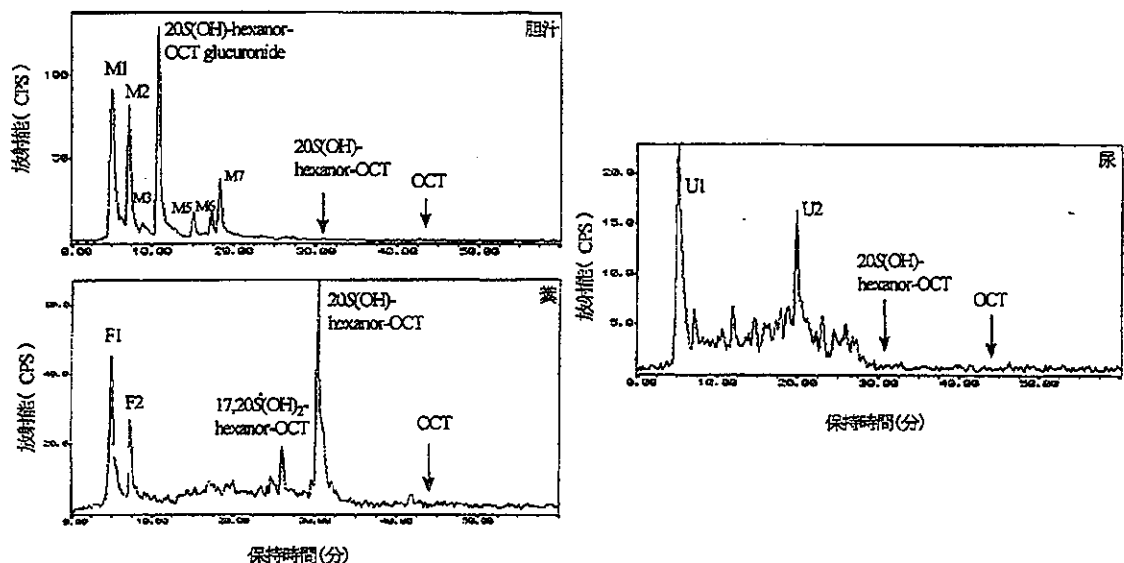
雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与し、投与24時間後までに排泄された胆汁と尿ならびに投与48時間後までに排泄された糞に含まれる放射能をradioHPLCにより調べた結果を図へー16に、代謝物の胆汁中および尿中排泄率を表へー22に示す。

胆汁中代謝物としてM1-M7が認められた。そのうち、 $20S(\text{OH})\text{-hexanor-OCT}$ の20位のグルクロン酸抱合体と同定された胆汁中の主代謝物の排泄率は投与量の28.88%であった。また、M1は投与量の16.44%が、M2は11.57%が胆汁中に排泄された。血漿中に認められたOCT、 $20S(\text{OH})\text{-hexanor-OCT}$ および $24R(\text{OH})\text{OCT}$ は、いずれも胆汁中には検出されなかった。

M1はグルクロン酸あるいは硫酸抱合体ではなく、ビタミンD₃の骨格を持たない代謝物あるいは一部脱離したトリチウムが生体成分などに取り込まれたものである可能性が考えられた。

尿中代謝物としては、U1とU2が認められ、その排泄率はそれぞれ投与量の5.42%および2.06%であった。OCT、 $20S(\text{OH})\text{-hexanor-OCT}$ および $24R(\text{OH})\text{OCT}$ は尿中にも検出されなかった。

糞中には、 $20S(\text{OH})\text{-hexanor-OCT}$ が主として認められ、その他に $17,20S(\text{OH})_2\text{-hexanor-OCT}$ と極性の高い代謝物(F1およびF2)が認められた。



図へー16 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の投与24時間後までに排泄された胆汁と尿ならびに48時間後までに排泄された糞のradioHPLCクロマトグラム

表へー22 雄性ラットに[2β-³H]OCTを1あるいは10 μg/kg 単回静脈内投与した時の投与24時間後までの代謝物の胆汁中および尿中排泄率

胆汁中代謝物	排泄率 (% of dose)	
	1 μg/kg	10 μg/kg
M1	20.51 ± 1.4	16.44 ± 1.1
M2	11.27 ± 0.6	11.57 ± 0.7
M3	2.29 ± 0.2	1.39 ± 0.6
20S(OH)-hexanor-OCT glucuronide	24.87 ± 1.10	28.88 ± 1.8
M5	2.52 ± 0.2	3.67 ± 0.4
M6	2.56 ± 0.20	3.40 ± 0.3
M7	7.07 ± 0.6	6.57 ± 0.2
総放射能	77.59 ± 2.2	77.99 ± 2
尿中代謝物	排泄率 (% of dose)	
	10 μg/kg	
U1	5.42 ± 1.4	
U2	2.06 ± 0.3	
総放射能	12.94 ± 1.6	

各値は平均値 ± 標準誤差 (1 μg/kg は n = 5, 10 μg/kg は n = 6) を示す。

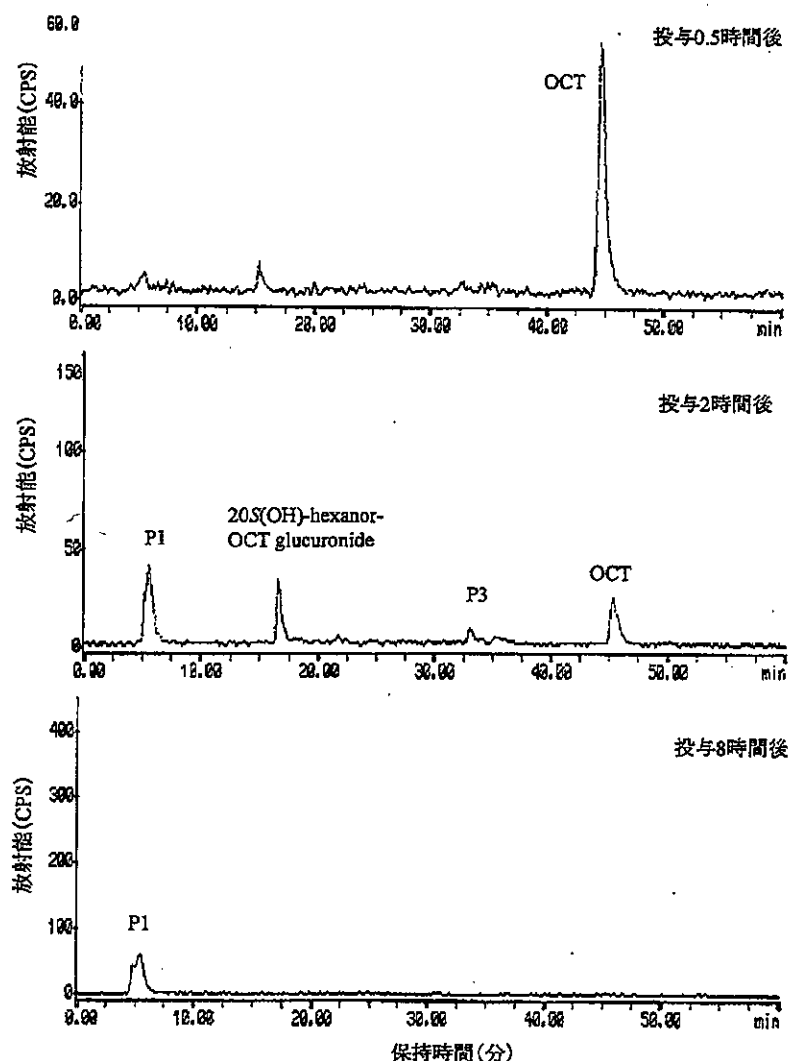
尿は 1 μg/kg の場合, 得られた放射能が少ないため測定しなかった。

4) イヌにおける単回静脈内投与時の血漿中代謝物

雄性イヌに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与し、投与0.5、2および8時間後に得た血漿のradioHPLCクロマトグラムを図へー17に示す。

投与0.5時間後の血漿中には代謝物はほとんど認められず、主として未変化OCTが存在していた。また、投与2時間後には代謝物(20S(OH)-hexanor-OCT glucuronideおよびP1、P3)が認められ、投与8時間後には未変化OCTは認められず、極性の高い代謝物(P1)のみが観察された。

ラットの場合と比較し異なる点は、血漿中代謝物として、側鎖酸化型代謝物がほとんど認められず、20S(OH)-hexanor-OCT glucuronideが認められたことである。



図へー17 雄性イヌに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の0.5、2および8時間後における血漿のradioHPLCクロマトグラム

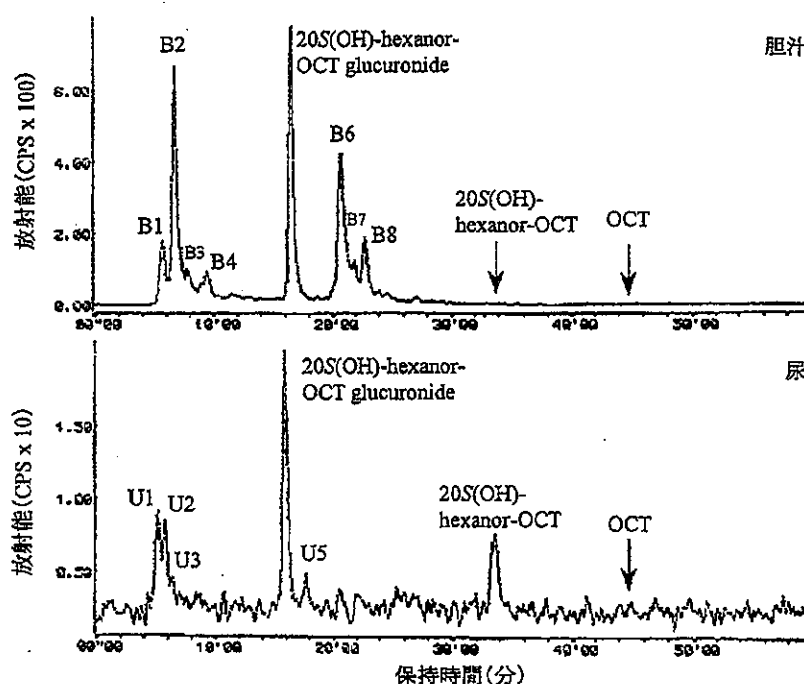
投与2および8時間後のクロマトグラムは、投与30分後のクロマトグラムの分析に用いた血漿量に合わせて縦軸スケールを調整した。

5) イヌにおける単回静脈内投与時の胆汁中および尿中代謝物

雄性イヌに[2β-³H]OCTを10 μg/kgの投与量で単回静脈内投与し、投与24時間後までに排泄された胆汁および尿をradioHPLCにより調べた結果を図へー18に、代謝物の胆汁中および尿中排泄率を表へー23に示す。

胆汁中には8種、尿中には6種の代謝物が認められた。胆汁中および尿中の主代謝物である20S(OH)-hexanor-OCT glucuronideは、投与24時間後までに胆汁中および尿中へそれぞれ投与放射能量の18.54%および8.57%が排泄された。また、20S(OH)-hexanor-OCTが尿中にのみ排泄された他、構造が未知の代謝物(B1-B4, B6-B8, U1-U3およびU5)が排泄された。なお、胆汁中および尿中のいずれにも、未変化OCTは認められなかった。

ラットの場合と比較し異なる点は、20S(OH)-hexanor-OCT glucuronideがラットでは胆汁中にのみ認められたのに対し、イヌでは尿中にも認められた。



図へー18 雄性イヌに[2β-³H]OCTを10 μg/kg単回静脈内投与した時の投与24時間後までに排泄された胆汁および尿のradioHPLCクロマトグラム

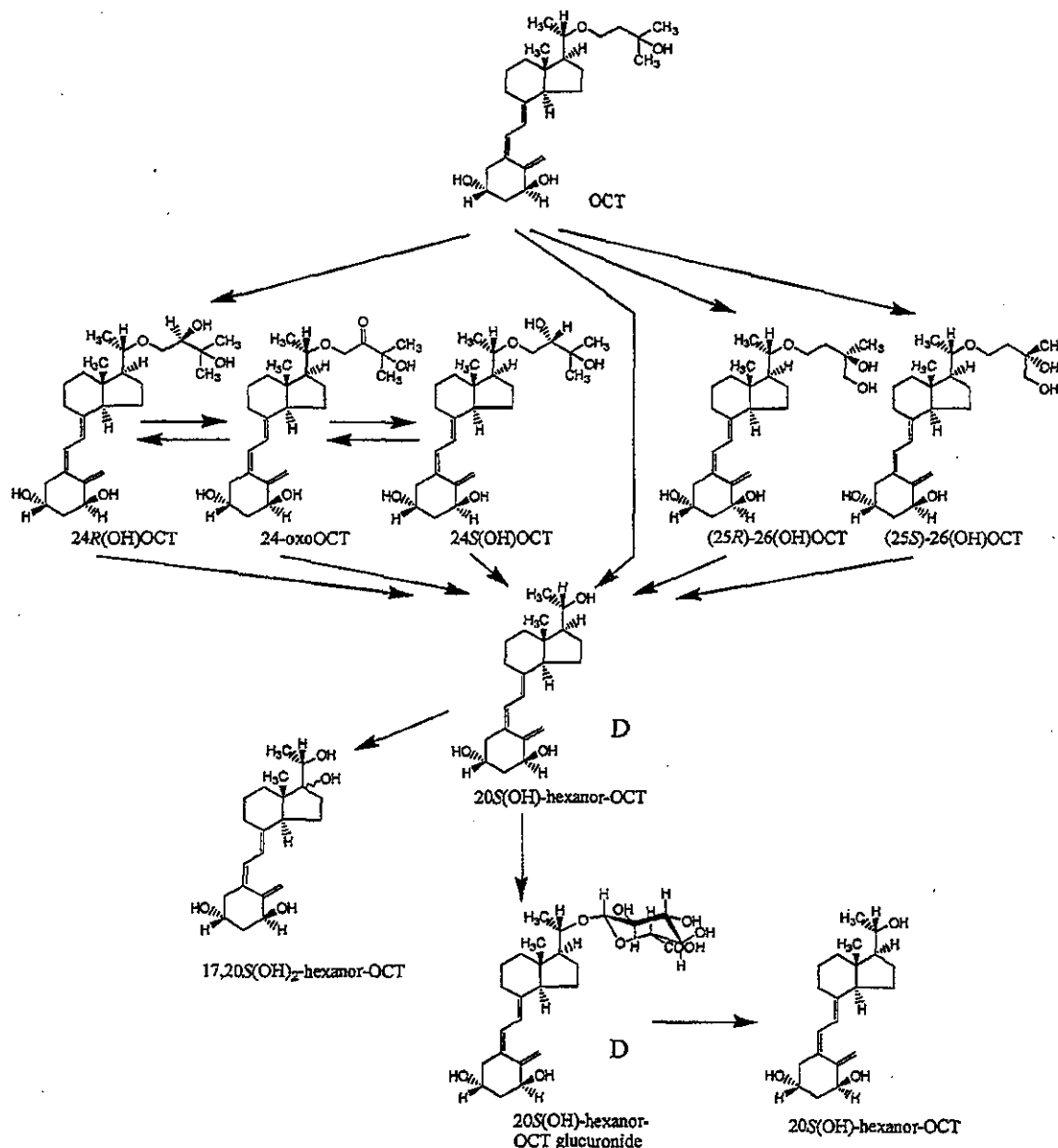
表へー23 雄性イヌに[2β-³H]OCTを10 μg/kg 単回静脈内投与した時の投与24時間後までの代謝物の胆汁中および尿中排泄率

排泄率 (% of dose)			
胆汁中代謝物		尿中代謝物	
OCT	N.D.	OCT	N.D.
B1	4.58	U1	3.56
B2	15.69	U2	3.14
B3	2.57	U3	1.02
B4	3.72		
20 <i>S</i> (OH)-hexanor-OCT glucuronide	18.54	20 <i>S</i> (OH)-hexanor-OCT glucuronide	8.57
		U5	1.35
B6	13.4		
B7	2.3		
B8	6.43		
		20 <i>S</i> (OH)-hexanor-OCT	3.82
その他	痕跡	その他	痕跡

イヌ1例の値。N.D.は検出されず。

6) ラットおよびイヌにおける推定代謝経路

図へー19 に示すように、ラットおよびイヌの静脈内に投与された OCT は、直接 22 位で開裂し 20*S*(OH)-hexanor-OCT へと代謝されるか、あるいは側鎖が酸化され、24*R*(OH)OCT, 24*S*(OH)OCT, (25*R*)-26(OH)OCT あるいは (25*S*)-26(OH)OCT となった後 22 位で開裂し、20*S*(OH)-hexanor-OCT へと代謝されると推定した。さらに 20*S*(OH)-hexanor-OCT はそのグルクロン酸抱合体に代謝され、ラットでは主に胆汁中に、イヌでは胆汁および尿中に排泄されるものと考えられた。さらに、ラットでは胆汁中に排泄された 20*S*(OH)-hexanor-OCT のグルクロン酸抱合体は消化管内で加水分解を受け、20*S*(OH)-hexanor-OCT として糞中に排泄されるものと考えられた。



図へー19 ラットおよびイヌにおける OCT の推定代謝経路

ラットでは上記代謝物すべて同定。イヌでは D を付した 2 つの代謝物について同定。

7) 代謝部位

雄性ラットおよび雄性イヌの肝臓および腎臓それぞれのホモジネート、ミクロゾームおよびミトコンドリアならびにヒト肝ミクロゾームを用い、OCTの代謝に関与する臓器について検討した。

肝および腎ホモジネートにおける臓器あたりのOCT代謝速度を肝臓と腎臓で比較した結果を表へー24に示す。ラット、イヌいずれにおいても肝ホモジネートの活性の方が高く、これらの動物種ではOCTは肝臓および腎臓のうち主に肝臓において代謝されることが明らかになった。

肝、腎ミクロゾームおよびミトコンドリアを用い、OCTの代謝プロファイルを比較した。ラット、イヌいずれの場合も肝ミクロゾームでは側鎖開裂型代謝物(20S(OH)-hexanor-OCT)、腎ミトコンドリアでは側鎖酸化型代謝物(24(OH)OCT)が主に認められたが、肝ミトコンドリアおよび腎ミクロゾームでは代謝物はほとんど認められなかった。また、ヒト肝ミクロゾームにより、OCTは主に20S(OH)-hexanor-OCTに代謝された(図へー20)。

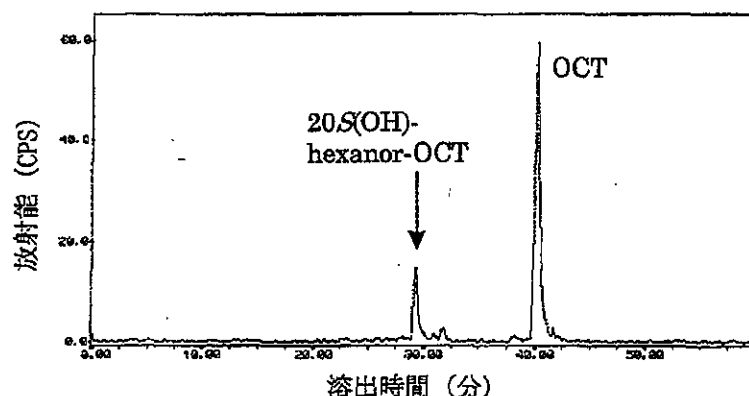
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ についても、肝、腎ミクロゾームおよびミトコンドリアを用い、代謝プロファイルを検討した。ラット、イヌいずれの場合も腎ミトコンドリアでのみ側鎖代謝物が認められ、肝および腎ミクロゾーム、肝ミトコンドリアでは代謝物は認められなかった。また、ヒト肝ミクロゾームでも代謝物は認められなかった。

これらのことから、OCTは、ラットおよびイヌにおいて、1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ と同様に腎ミトコンドリアにより側鎖酸化を受けるものの、1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ に対しては代謝活性がない肝ミクロゾームにより主に側鎖開裂を受けて代謝されることが明らかとなった。さらに、ヒト肝ミクロゾームにおいても側鎖開裂代謝反応が認められたことから、ヒトにおいても肝ミクロゾームによって代謝されるものと推察された。

表へー24 雄性ラットおよび雄性イヌの肝、腎ホモジネートによる、臓器あたりのOCT代謝活性

OCT濃度	臓器あたりのOCT代謝活性(pmol/min/tissue)			
	雄性ラット		雄性イヌ	
	肝ホモジネート	腎ホモジネート	肝ホモジネート	腎ホモジネート
1 nmol/L	28.27 $\pm$ 7.27	8.98 $\pm$ 1.72	218.67 $\pm$ 48.68	44.44 $\pm$ 0.37
10 nmol/L	315.29 $\pm$ 59.42	19.59 $\pm$ 4.05	2115.45 $\pm$ 1135.58	127.07 $\pm$ 70.16

各値は平均値 $\pm$ 標準偏差(ラットはn=5, イヌはn=3)を示す。



図へー20 ヒト肝ミクロゾームによる, $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ 代謝物の radioHPLC クロマトグラム
ヒト肝ミクロゾーム, $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ 10 nmol/L, 37°C, 30 分間反応。

8) ラットにおける肝および腎薬物代謝酵素系へ及ぼす影響

雄性ラットに OCT を 0.1, 1 または 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量で 1 日 1 回, 7 日間反復静脈内投与し, 肝および腎の薬物代謝酵素系へ及ぼす影響について検討した。肝薬物代謝酵素系へ及ぼす影響を表へー25 に示す。いずれの酵素含量および活性においても, 対照群と OCT 投与群との間に有意な差はなく, 肝薬物代謝酵素系には影響を与えなかった。腎薬物代謝酵素系へ及ぼす影響を表へー26 に示す。腎ミトコンドリアの $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 24 位水酸化活性は, OCT 0.1 および 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群において対照群との間に有意な差はみられなかったが, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で有意に上昇した。しかし, この誘導は, 休薬 3 日間で対照レベルにまで回復し (表へー27), 可逆的であることが明らかとなった。

表へー25 雄性ラットに OCT 0.1, 1 または 10 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で 1 日 1 回, 7 日間反復静脈内投与した時の肝薬物代謝酵素系へ及ぼす影響

	対照	OCT (0.1 $\mu\text{g/kg/day}$)	OCT (1 $\mu\text{g/kg/day}$)	OCT (10 $\mu\text{g/kg/day}$)	Phenobarbital (80 mg/kg/day)	β -Naphthoflavone (20 mg/kg/day)
体重 (g)	230.3 $\pm$ 4.6	228.4 $\pm$ 12.0	230.9 $\pm$ 9.9	227.8 $\pm$ 14.1	235.7 $\pm$ 8.8	225.2 $\pm$ 6.5
肝重量 (g)	7.923 $\pm$ 0.431	7.719 $\pm$ 0.479	8.198 $\pm$ 0.852	7.959 $\pm$ 0.559	10.145 $\pm$ 0.759	8.998 $\pm$ 0.794
体重に対する肝重量の比 (%)	3.440 $\pm$ 0.144	3.378 $\pm$ 0.070	3.545 $\pm$ 0.248	3.493 $\pm$ 0.110	4.301 $\pm$ 0.206*	3.992 $\pm$ 0.264*
ミクロゾームタンパク含量 (mg/g liver)	20.4 $\pm$ 2.8	20.0 $\pm$ 1.3	22.2 $\pm$ 3.2	22.0 $\pm$ 1.2	27.7 $\pm$ 2.4*	20.7 $\pm$ 2.2
サイトゾールタンパク含量 (mg/g liver)	82.7 $\pm$ 10.0	81.1 $\pm$ 8.7	81.6 $\pm$ 11.0	76.4 $\pm$ 6.6	68.5 $\pm$ 3.8*	66.9 $\pm$ 2.4*
非タンパク性SH含量 ($\mu\text{mol/g liver}$)	2.619 $\pm$ 0.260	2.893 $\pm$ 0.478	2.669 $\pm$ 0.285	2.778 $\pm$ 0.315	2.766 $\pm$ 0.337	2.898 $\pm$ 0.504
P450含量 (nmol/mg)	0.901 $\pm$ 0.064	0.984 $\pm$ 0.179	0.951 $\pm$ 0.175	0.836 $\pm$ 0.116	1.909 $\pm$ 0.142*	1.352 $\pm$ 0.187*
NADPH-チトクロームC還元 酵素活性 ($\mu\text{mol/min/mg}$)	226.4 $\pm$ 37.1	238.6 $\pm$ 19.4	244.5 $\pm$ 53.8	266.9 $\pm$ 29.4	347.5 $\pm$ 50.0*	213.9 $\pm$ 29.9
アミノピリンN-脱メチル化活 性 (nmol/min/mg)	5.072 $\pm$ 1.474	5.011 $\pm$ 1.110	5.253 $\pm$ 1.757	5.023 $\pm$ 1.138	15.850 $\pm$ 3.795*	3.342 $\pm$ 0.632
アニリン水酸化活性 (nmol/min/mg)	3.116 $\pm$ 0.355	3.238 $\pm$ 0.176	3.042 $\pm$ 0.416	3.213 $\pm$ 0.122	3.455 $\pm$ 1.017	3.098 $\pm$ 0.496
7-エトキシマリノールO-脱エ チル化活性 (nmol/min/mg)	0.087 $\pm$ 0.010	0.091 $\pm$ 0.006	0.079 $\pm$ 0.013	0.087 $\pm$ 0.014	0.294 $\pm$ 0.047*	0.975 $\pm$ 0.060*
UDP-グルクロン酸転移酵素 活性 (nmol/min/mg)	32.2 $\pm$ 5.8	29.8 $\pm$ 2.8	26.5 $\pm$ 6.4	27.5 $\pm$ 5.0	52.3 $\pm$ 7.6*	90.6 $\pm$ 13.1*
グルタチオンS-転移酵素活性 ($\mu\text{mol/min/mg}$)	1.114 $\pm$ 0.052	1.221 $\pm$ 0.088	1.196 $\pm$ 0.083	1.142 $\pm$ 0.051	2.249 $\pm$ 0.350*	1.580 $\pm$ 0.160*
テストステロン水酸化活性 (nmol/min/mg)						
6 β	4.325 $\pm$ 1.165	4.818 $\pm$ 0.856	8.758 $\pm$ 1.169	4.710 $\pm$ 0.810	8.966 $\pm$ 0.711*	4.400 $\pm$ 0.307
7 α	0.235 $\pm$ 0.024	0.241 $\pm$ 0.017	0.226 $\pm$ 0.020	0.217 $\pm$ 0.016	0.472 $\pm$ 0.091*	0.348 $\pm$ 0.034*
16 α	4.438 $\pm$ 0.510	3.902 $\pm$ 0.821	3.964 $\pm$ 0.892	4.162 $\pm$ 0.762	5.544 $\pm$ 0.864	2.457 $\pm$ 0.221*
16 β	0.129 $\pm$ 0.020	0.119 $\pm$ 0.015	0.106 $\pm$ 0.032	0.121 $\pm$ 0.018	3.620 $\pm$ 0.599*	0.122 $\pm$ 0.008
2 α	2.850 $\pm$ 0.307	2.528 $\pm$ 0.489	2.575 $\pm$ 0.506	2.642 $\pm$ 0.436	0.989 $\pm$ 0.224*	1.560 $\pm$ 0.149*
2 β	0.635 $\pm$ 0.168	0.597 $\pm$ 0.051	0.517 $\pm$ 0.164	0.656 $\pm$ 0.102	2.004 $\pm$ 0.239*	0.603 $\pm$ 0.032
17-keto	1.298 $\pm$ 0.129	1.138 $\pm$ 0.210	1.154 $\pm$ 0.206	1.197 $\pm$ 0.211	2.528 $\pm$ 0.259*	0.797 $\pm$ 0.079*

各値は平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=5) を示す。

OCT は 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した。フェノバルビタールおよび β -ナフトフラボン は 1 日 1 回 3 日間反復腹腔内投与した。対照群は、0.01% Tween 20 および 1% エタノールを含む生理食塩液 (OCT の投与液溶媒) 1 mL/kg/day を 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した。

* 対照群に対して有意な差あり (Dunnett 検定, $p < 0.05$)。

表へー26 雄性ラットに OCT 0.1, 1 または 10 $\mu\text{g/kg}$ の投与量で 1 日 1 回, 7 日間反復静脈内投与した時の腎薬物代謝酵素系へ及ぼす影響

	対照	OCT (0.1 $\mu\text{g/kg/day}$)	OCT (1 $\mu\text{g/kg/day}$)	OCT (10 $\mu\text{g/kg/day}$)	1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ (5 $\mu\text{g/kg/day}$)
体重	230.3 $\pm$ 4.6	228.4 $\pm$ 12.0	230.9 $\pm$ 9.9	227.8 $\pm$ 14.1	223.3 $\pm$ 2.0
腎重量 (g)	2.189 $\pm$ 0.188	2.132 $\pm$ 0.217	2.155 $\pm$ 0.105	2.049 $\pm$ 0.164	2.236 $\pm$ 0.099
体重に対する腎重量の重量 (%)	0.950 $\pm$ 0.074	0.932 $\pm$ 0.066	0.934 $\pm$ 0.025	0.900 $\pm$ 0.052	1.001 $\pm$ 0.037
ミトコンドリアタンパク含量 (mg/g kidney)	27.5 $\pm$ 4.1	27.5 $\pm$ 4.5	25.1 $\pm$ 2.2	38.0 $\pm$ 5.0	22.8 $\pm$ 2.9
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ 24位水酸化活性 (fmol/min/mg)	14.65 $\pm$ 2.73	18.48 $\pm$ 11.15	29.31 $\pm$ 9.41	175.11 $\pm$ 86.32*	402.33 $\pm$ 161.41*

各値は平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=5) を示す。

OCT は 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した。1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ は単回腹腔内投与した。対照群は、0.01% Tween 20 および 1% エタノールを含む生理食塩液 (OCT の投与液溶媒) 1 mL/kg/day を 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した。

* 対照群に対して有意な差あり (Dunnett 検定, $p < 0.05$)

表へー27 雄性ラットに OCT 10 µg/kg を 1 日 1 回, 7 日間反復静脈内投与した後の腎ミトコンドリア 1α,25(OH)₂D₃ 24 位水酸化活性の回復試験

	最終投与24時間後		最終投与3日後	
	対照	OCT (10 µg/kg/day)	対照	OCT (10 µg/kg/day)
1α, 25(OH) ₂ D ₃ 24位水酸化活性 (fmol/min/mg)	41.02 ± 11.44	359.27 ± 69.03*	38.42 ± 14.55	26.67 ± 14.11

各値は平均値 ± 標準偏差 (n=5) を示す。

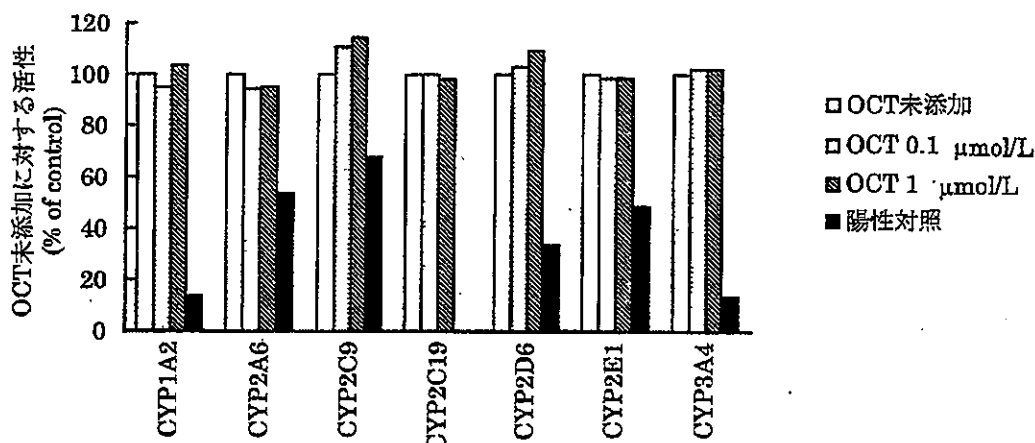
OCT は 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した。対照群は, 0.01% Tween 20 および 1% エタノールを含む生理食塩液 (OCT の投与液溶媒) 1 mL/kg/day を 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した。

* 対照群に対して有意な差あり (t-検定, p<0.05)

9) 薬物代謝酵素阻害

ヒト肝ミクロゾームによるヒト P450 分子種選択的代謝反応系に OCT を添加し, ヒト P450 代謝反応に対する OCT の阻害効果を検討した。結果を図へー21 に示す。

臨床試験での血清中濃度の 400 倍以上の濃度である 1 µmol/L を反応液中加入しても, いずれのヒト P450 分子種選択的代謝反応を阻害しなかった。このことから, OCT がこれらの P450 によって代謝される薬物の代謝に影響を与えず, OCT の代謝阻害による薬物間相互作用は起こらないものと考えられた。



図へー21 ヒト肝ミクロゾームの P450 分子種選択的代謝反応に対する OCT 添加の影響

グラフは n=2 の平均を示した。CYP1A2 はフェナセチン O-水酸化 (100 µmol/L), CYP2A6 はクマリン 7-水酸化 (1 µmol/L), CYP2C9 はトルブタミドメチル基水酸化 (500 µmol/L), CYP2C19 は S-メフェニトイン 4'-水酸化 (500 µmol/L), CYP2D6 はブフロール 1'-水酸化 (100 µmol/L), CYP2E1 はクロルゾキサゾン 6-水酸化 (500 µmol/L), CYP3A4 はテストステロン 6β-水酸化 (250 µmol/L) 反応を指標にし, 陽性対照として, CYP1A2 に対してフルフラリン (10 µmol/L), CYP2A6 および CYP2E1 に対してジクロロジチオカルバメート (50 µmol/L), CYP2C9 に対してスルファフェナゾール (5 µmol/L), CYP2D6 に対してキニジン (2 µmol/L), CYP3A4 に対してケトコナゾール (1 µmol/L) を用い, CYP2C19 は陽性対照をおこななかった。カッコ内は反応液中の基質あるいは阻害剤の濃度を示した。

(4) 排泄

1) ラットにおける単回静脈内投与時の尿中、糞中および呼気中排泄

雌雄ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の、投与7日後までの放射能の尿中、糞中および呼気中累積排泄率を表へー28に示す。

雄性ラットにおいて、投与7日後までに投与放射能の74.20%が糞中へ、14.64%が尿中へ、1.68%が呼気中に排泄された。また、投与7日後において残骸中に残存していた放射能は投与量の1.85%であり、ほとんどの放射能は7日後までに排泄されていた。以上の結果より、放射能は主として糞中へ速やかに排泄されることが明らかになった。

また、 $[26\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の、投与24時間後までの尿中未変化OCT濃度をHPLC-LSC法により測定したところ、いずれの試料においても定量限界未満(各採取時点試料において投与量の0.53%未満)であった。このことから、OCTの消失に未変化OCTの尿中排泄は寄与していないものと考えられた。

雌性ラットでは、投与7日後までに投与放射能の89.62%が糞中へ、14.09%が尿中へ、0.75%が呼気中に排泄された。また、投与7日後において残骸中に残存していた放射能は投与量の1.11%であり、ほとんどの放射能は7日後までに排泄されていた。雌性ラットにおける糞中放射能排泄率は、雄性ラットに比べて高いものの、糞中排泄が主であるという排泄挙動は雄の場合と同様であった。

表へー28 雌雄ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の投与7日後までの放射能の尿中、糞中および呼気中累積排泄率および残骸中残存率

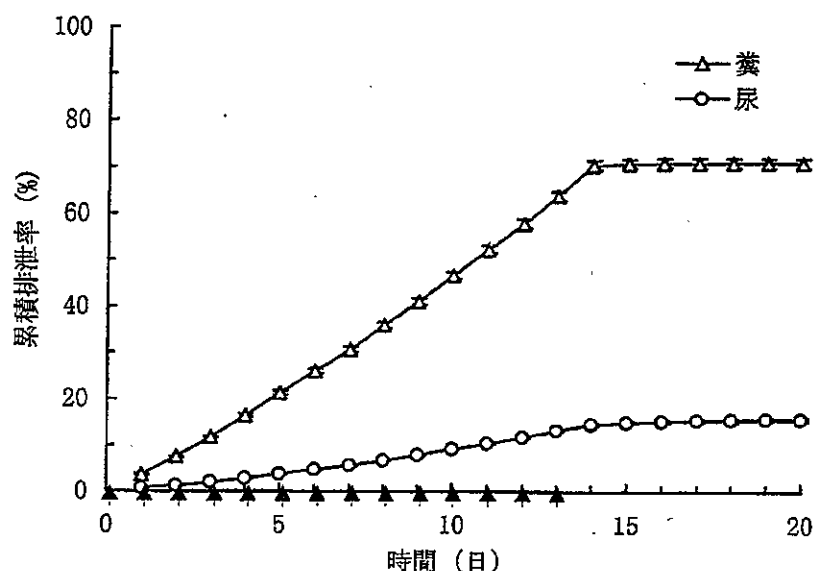
	雄性ラット			雌性ラット		
	0-24 時間	0-48 時間	0-168 時間	0-24 時間	0-48 時間	0-168 時間
尿	9.54 ± 1.549	11.45 ± 1.719	14.64 ± 1.942	10.82 ± 2.527	11.88 ± 2.537	14.09 ± 2.601
糞	52.53 ± 3.555	71.82 ± 0.939	74.20 ± 1.302	73.87 ± 3.497	87.68 ± 3.524	89.62 ± 3.558
呼気	0.24 ± 0.019	0.59 ± 0.047	1.68 ± 0.185	0.13 ± 0.043	0.28 ± 0.047	0.75 ± 0.077
残骸			1.85 ± 0.054			1.11 ± 0.021
合計			92.37 ± 0.974			105.56 ± 1.541

各値は平均値 ± 標準誤差(雄の場合 $n=3$, 雌の場合 $n=4$)を示す。
値は投与放射能に対する放射能の排泄率(% of dose)を表す。

2) ラットにおける反復静脈内投与時の尿中および糞中排泄

雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で1日1回、14日間反復静脈内投与した時の、放射能の尿中および糞中累積排泄率を図へー22に示す。

最終投与7日後までに総投与量の71.0%が糞中へ、15.7%が尿中へ排泄された。また、最終投与7日後において残骸中に残存していた放射能は総投与量の1.0%であり、ほとんどの放射能は最終投与の7日後までに排泄され、体内に残留しなかった。一方、排泄率は時間の経過に従い直線的に上昇したことから、放射能の排泄挙動には反復投与による影響はないものと考えられた。



図へー22 雄性ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で1日1回、14日間反復静脈内投与した時の総投与量に対する放射能の尿中および糞中累積排泄率

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=4$) を示す。

↑: 投与

3) イヌにおける単回静脈内投与時の尿中排泄

雄性イヌにOCTを0.3, 1または $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の未変化OCTの尿中排泄率をRIAにより測定した。いずれの投与量においても、尿中の未変化OCT濃度は定量限界未満(各採取時点試料において、0.3および $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ では投与量の0.5%未満、 $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ では投与量の0.02%未満)であり、イヌにおいてもラットと同様に、OCTの消失に未変化OCTの尿中排泄は寄与していないものと考えられた。

4) ラットにおける単回静脈内投与時の胆汁中排泄

胆管カニューレを施した雌雄ラットに、 $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与した時の放射能の尿中および胆汁中累積排泄率を表へー29に示す。投与24時間後までの胆汁中総放射能排泄率は、雄では投与量の77.59%、雌では投与量の97.50%と雌性ラットの方が高い排泄率を示したものの、雌雄ラットとも放射能は速やかにかつ高率に胆汁中に排泄された。「へー2(4)1)ラットにおける単回静脈内投与時の尿中、糞中および呼気中排泄」の項で述べた放射能の高率な糞中への排泄は、高い胆汁中排泄率に起因するものと考えられた。また、「へー2(3)3)ラットにおける単回静脈内投与時の胆汁中、尿中および糞中代謝物」の項で述べたように、胆汁中には未変化OCTは検出されなかったことから、OCTの消失に未変化OCTの胆汁排泄は寄与していないものと考えられた。

表へー29 雌雄ラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の放射能の尿中および胆汁中排泄率

		雄性ラット		雌性ラット	
尿	0-8 時間	4.82 ±	1.19	2.43 ±	1.45
	0-24 時間	9.04 ±	1.22	7.47 ±	1.62
胆汁	0-2 時間	51.96 ±	3.87	62.00 ±	2.23
	0-4 時間	66.38 ±	2.82	84.03 ±	3.00
	0-8 時間	73.95 ±	2.47	93.30 ±	2.25
	0-24 時間	77.59 ±	2.21	97.50 ±	1.70

各値は平均値 ± 標準誤差(雄 n=6, 雌 n=4)を示す。値は投与放射能に対する放射能の排泄率(% of dose)を表す。

5) ラットにおける単回静脈内投与時の腸肝循環

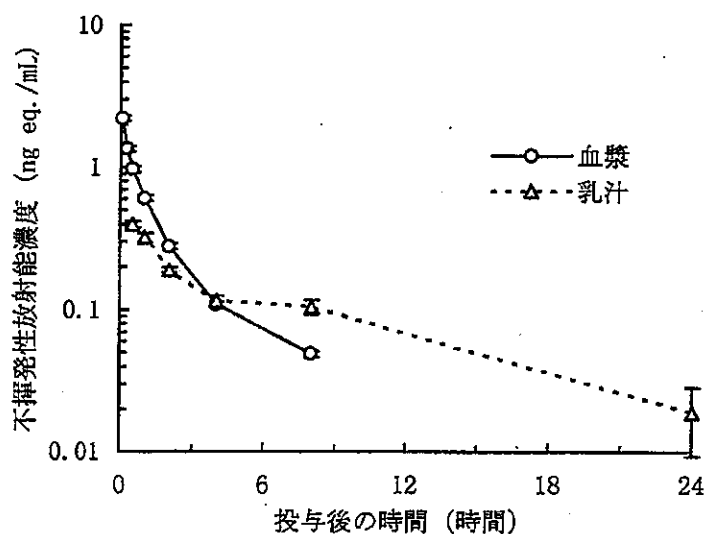
胆管カニューレを施した雄性ラットに、 $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与し、投与4時間後までに得られた胆汁を、胆管カニューレを施した別の雄性ラットの十二指腸内に投与(放射能の投与量は $0.2\text{ }\mu\text{g eq./kg}$)し、投与24時間後までの放射能の胆汁中および尿中排泄率を調べた。

胆汁投与24時間後までに胆汁中および尿中へはそれぞれ投与放射能の51.81%および6.65%、合計58.45%が排泄された。このことから、 $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を投与後胆汁中に排泄された放射能は高率に再吸収され、ふたたび主に胆汁中に排泄されるものと考えられた。

6) 哺育中のラットにおける単回静脈内投与時の乳汁中移行

分娩 10 日目の哺育中のラットに, $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ の投与量で単回静脈内投与し, 血漿中および乳汁中不揮発性放射能濃度を測定した。結果を図へー23 に示す。

乳汁中不揮発性放射能濃度は, 投与 2 時間後までは血漿中不揮発性放射能濃度よりも低く推移したが, 投与 4 時間後以降は高かった。血漿中不揮発性放射能濃度の AUC に対する乳汁中不揮発性放射能濃度の AUC の比は 87.1%であった。



図へー23 分娩後 10 日目の哺育中のラットに $[2\beta\text{-}^3\text{H}]\text{OCT}$ を $1\text{ }\mu\text{g/kg}$ 単回静脈内投与した時の血漿中および乳汁中不揮発性放射能濃度推移

各点は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=5-9$) を示す。投与 24 時間後の血漿中濃度は定量限界未満。

3. ヒトにおける成績

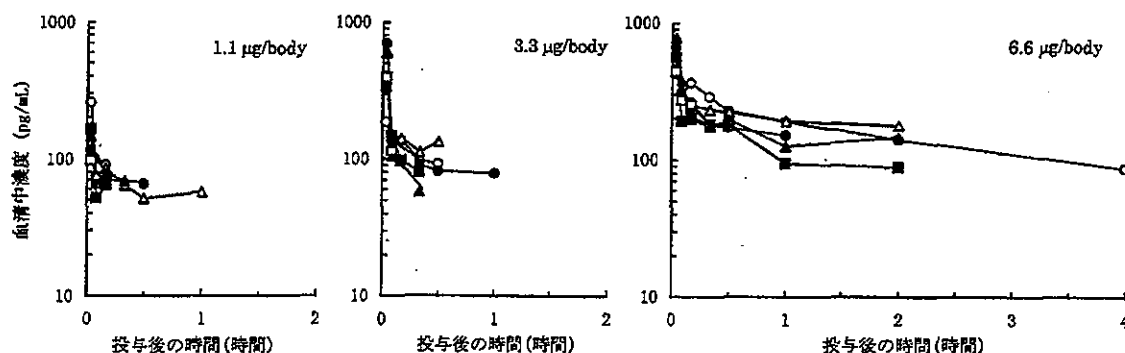
(1) 血清中濃度推移

1) 健常人における単回静脈内投与時の血清中濃度推移

健常人男子に OCT を 1.1, 3.3 または 6.6 $\mu\text{g/body}$ の投与量で単回静脈内投与した時の血清中 OCT 濃度推移を検討した。血清中 OCT 濃度は RRA により測定した。結果を図へー 24 に示す。1.1 $\mu\text{g/body}$ を投与した時の血清中 OCT 濃度は多くの測定点で定量限界未満であり、薬物動態解析を行うには不十分であった。3.3 および 6.6 $\mu\text{g/body}$ を投与した時の薬物動態パラメータを表へー 30 に示す。

3.3 および 6.6 $\mu\text{g/body}$ を投与した時の $T_{1/2\beta}$ はそれぞれ 108.1 および 138.7 分であり、AUC はそれぞれ 354 および 795 $\text{pg}\cdot\text{h/mL}$ であった。AUC を除く薬物動態パラメータに投与量間で有意な差はなかった。

OCT の健常人における血清中濃度推移を $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の場合 (R-3) を比較すると、OCT の $T_{1/2\beta}$ は 108.1 から 138.7 分であるのに対し、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の $T_{1/2}$ は 11.4 時間と、OCT は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比べ血清からの消失が早いことが明らかとなった。



図へー 24 健常人男子に OCT を 1.1, 3.3 または 6.6 $\mu\text{g/body}$ 単回静脈内投与した時の血清中 OCT 濃度推移

各シンボルは各々の被験者を示す。投与 24 時間後まで試料を採取したが、プロットした時点より後は定量限界未満であった。

表へー 30 健常人男子に OCT を 3.3 または 6.6 $\mu\text{g/body}$ 単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ

	3.3 $\mu\text{g/body}$	6.6 $\mu\text{g/body}$
AUC ($\text{pg}\cdot\text{h/mL}$)	354 $\pm$ 135	795 $\pm$ 192
$T_{1/2\alpha}$ (min)	0.71 $\pm$ 0.16	2.08 $\pm$ 0.81
$T_{1/2\beta}$ (min)	108.1 $\pm$ 45.9	138.7 $\pm$ 39.9
MRT (h)	0.70 $\pm$ 0.38	2.45 $\pm$ 0.67
CL (mL/h/kg)	237 $\pm$ 70	174 $\pm$ 50
Vd (mL/kg)	259 $\pm$ 48	362 $\pm$ 32

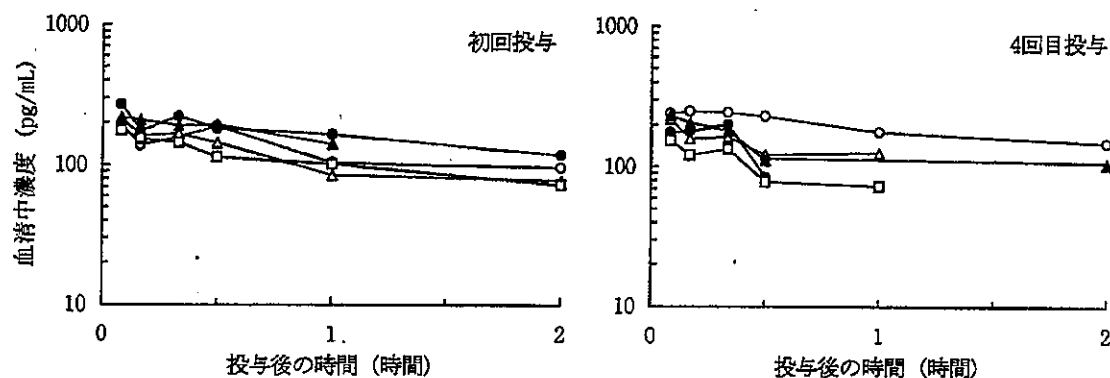
各値は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=5$ または 6) を示す。

AUC を除くパラメータに投与量群間で有意な差はなかった (t -検定, $p>0.05$)。AUC は検定せず。

2) 健常人における反復静脈内投与時の血清中濃度推移

健常人男子に OCT を 1.1 または 3.3 $\mu\text{g}/\text{body}$ の投与量で 1 日 1 回, 隔日 4 回反復静脈内投与した時の初回および最終回投与時の血清中 OCT 濃度を検討した。血清中 OCT 濃度は RRA により測定した。1.1 $\mu\text{g}/\text{body}$ を投与した時には, ほとんどの試料の OCT 濃度が定量限界未満の濃度であったため, 3.3 $\mu\text{g}/\text{body}$ 投与時の血清中 OCT 濃度推移を図へー25 に, 薬物動態パラメータを表へー31 に示す。

3.3 $\mu\text{g}/\text{body}$ を投与した時, 初回と 4 回目投与時の薬物動態パラメータには有意な差はなく, 初回投与時と 4 回目投与時で血清中 OCT 濃度はほぼ同様に推移し, 反復投与により OCT の消失が遅延しないと考えられた。



図へー25 健常人男子に OCT 3.3 $\mu\text{g}/\text{body}$ を 1 日 1 回隔日 4 回反復静脈内投与した時の血清中 OCT 濃度推移

各シンボルは各々の被験者を示す。投与 48 時間後まで試料を採取したが, プロットした時点より後は定量限界未満であった。

表へー31 健常人男子に OCT 3.3 $\mu\text{g}/\text{body}$ を 1 日 1 回隔日 4 回反復静脈内投与した時の薬物動態パラメータ

	初回投与		4回目投与	
AUC ($\text{pg}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	483	± 59	456	± 121
$T_{1/2}(\text{min})$	103.8	± 8.8	99.4	± 21.0
MRT (h)	2.54	± 0.21	2.47	± 0.52
CL ($\text{mL}/\text{h}/\text{kg}$)	118	± 14	159	± 46
Vd (mL/kg)	290	± 23	300	± 31

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n=5$) を示す。

初回投与と 4 回目投与との間にパラメータに有意な差はなかった (対応のある t-検定, $p>0.05$)。

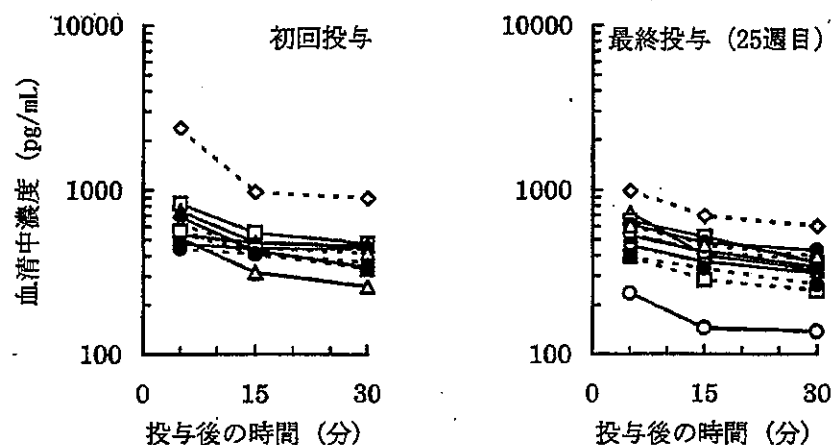
3) 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者における反復静脈内投与時の血清中濃度推移

週 3 回の血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に、26 週間にわたり透析毎に 1 回の投与量 10 から 17.5 μg の範囲で OCT を反復投与した。投与は、OCT 注を血液透析終了直前に透析回路静脈側より徐々に注入し行った。初回投与および最終投与(25 週目)は 10 μg の投与量で行い、血清中 OCT 濃度を RIA により測定した。血清中 OCT 濃度推移を図へー 26 に、薬物動態パラメータを表へー 32 に示す。

最終回投与開始直前では、いずれの症例においても定量限界未満であり、反復投与による血清中での OCT の蓄積はみられなかった。また、ほとんどの症例において、血清中濃度は時間の経過とともに 1 相性に低下した。初回投与時の $T_{1/2}$ は平均 62.2 分であり、個人差が大きく明確ではないものの健常人と比べ患者での血清からの消失が遅延してはいないと考えられた。

「へー 2(3)7 代謝部位」の項で記載したように、OCT は $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ とは異なり、ラットおよびイヌにおいては腎での代謝に加え主に肝により代謝され、ヒト肝ミクロゾームにおいても代謝されることが確認されている。腎機能が期待できない腎透析患者においても血清からの消失が健常人に比べて遅延しないのは、OCT の血清からの消失に肝による代謝も寄与しているためと考えられる。

初回投与時と最終投与時の薬物動態パラメータを比べると、AUC, $T_{1/2}$, MRT に低下傾向が、CL, Vd に増加傾向がみられた。ラットにおいても同様のパラメータ変動が認められているが、反復投与による肝薬物代謝酵素の誘導がみられないことより、このパラメータ変動の原因としては腎ミトコンドリアの $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 24 位水酸化酵素の誘導による OCT の腎での代謝亢進が推察された。また、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 24 位水酸化酵素は腎以外の臓器、例えば小腸においても発現、誘導されることが知られている(R-4)。以上のことから、腎機能が期待できない腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進患者においては、腎以外の臓器での $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 24 位水酸化酵素の誘導による OCT の代謝亢進がパラメータ変動の原因の一つと推察される。



図ヘー26 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者に OCT 10 から 17.5 $\mu\text{g/body}$ を 1 日 1 回 週 3 回 26 週間反復静脈内投与した時の血清中 OCT 濃度推移

各シンボルは各々の患者を示す。

初回と最終投与時は 10 $\mu\text{g/body}$ の投与量で行った。

表ヘー32 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症患者に OCT 10 から 17.5 $\mu\text{g/body}$ を 1 日 1 回 週 3 回 26 週間反復静脈内投与した時の薬物動態パラメータ

	初回投与	最終投与
AUC ($\text{pg}\cdot\text{h/mL}$)	922 $\pm$ 222	553 $\pm$ 59
$T_{1/2}(\text{min})$	62.2 $\pm$ 20.8	39.3 $\pm$ 2.5
MRT (h)	1.50 $\pm$ 0.50	0.95 $\pm$ 0.06
CL (mL/h/kg)	311 $\pm$ 37	454 $\pm$ 80
Vd (mL/kg)	321 $\pm$ 30	420 $\pm$ 67

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=11) を示す。初回と最終投与時は 10 $\mu\text{g/body}$ の投与量で行った。

初回投与と最終投与との間にパラメータに有意な差はなかった(対応のある t 検定, $p>0.05$)。

4) 後期第 II 相二重盲検臨床試験および第 III 相一般臨床試験における血清中濃度(トラフ値)

後期第 II 相二重盲検臨床試験において、初回、6 週目、最終 12 週目の投与前および後観察期(最終投与の 2 週間後)に採血し、トラフにおける血清中 OCT 濃度を RIA により測定した。また、第 III 相一般臨床試験においても、初回、12 週目、最終 26 週目の投与前に採血し、トラフにおける血清中 OCT 濃度を RIA により測定した。トラフにおける血清中濃度はほとんどが定量限界未満であり、反復投与による血清中での OCT の蓄積はないと考えられた。

(2)タンパク結合

「へー2(2)6)ラット, イヌおよびヒトにおける血漿タンパク結合率」に記載。

(3)尿中排泄

健常人男子に OCT を $6.6 \mu\text{g/body}$ の投与量で単回静脈内投与した時の尿中の未変化 OCT 濃度を RRA により測定した。全ての被験者において尿中に未変化 OCT は検出されなかった。OCT の消失に, ラットやイヌと同様, ヒトにおいても未変化体の尿中排泄は寄与していないものと考えられた。

<引用文献>

- (R-1) Kobayashi, N., et al., Chem. Pharm. Bull., 40, 1520 (1992)
- (R-2) 中山幸子ほか, 薬理と治療, 23, S-1457 (1995)
- (R-3) Salusky, I.B., et al., In: Norman, A.W., et al., eds. Vitamin D Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology. Berlin, New York: Walter de Gruyter, 781(1988)
- (R-4) Furuichi, T., et al., Life Sciences, 62, 453(1998)