

メノエイドコンピパッチ

(エストラジオール及び酢酸ノルエチステロン)

2.6.6 毒性試験の概要文

あすか製薬株式会社

略号一覧表

略号	略号内容
A/G 比	アルブミン / グロブリン比
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中薬物濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-t(last)}	投与後 0 ~ 薬物濃度が定量された最終時点までの AUC
BUN	尿素窒素
C _{ave}	平均血漿中濃度
C _{max}	最高血漿中濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
CMC-Na	カルボキシメチルセルロース-ナトリウム
DMSO	ジメチルスルホキシド
E ₂	エストラジオール
FCA	Freund の完全アジュバント
HDL	高比重リポたん白
LDL	低比重リポたん白
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	平均赤血球容積
NET	ノルエチステロン
NETA	酢酸ノルエチステロン
NZW	New Zealand White
OVX	卵巣摘出動物
PT	プロトロンビン時間
SD	Sprague Dawley
TK	トキシコキネティクス
UVA	紫外線 A 波

目次

2.6.6	毒性試験の概要文.....	136
2.6.6.1	まとめ.....	136
2.6.6.2	単回投与毒性試験.....	142
2.6.6.3	反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）.....	144
2.6.6.4	遺伝毒性試験.....	152
2.6.6.5	がん原性試験.....	152
2.6.6.6	生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）.....	153
2.6.6.7	局所刺激性試験.....	163
2.6.6.8	その他の毒性試験.....	165
2.6.6.9	考察及び結論.....	177
2.6.6.10	表.....	181
2.6.6.11	参考文献.....	181

表

表 2.6.6-1. 毒性試験プログラム.....	136
表 2.6.6-2. ラット単回経皮投与毒性試験における投与量.....	142
表 2.6.6-3. ウサギ単回経皮投与毒性試験における投与量.....	142
表 2.6.6-4. サル単回経皮投与毒性試験における投与量.....	143
表 2.6.6-5. ラット 4 週間反復経皮及び経口投与毒性試験における経皮投与量.....	144
表 2.6.6-6. 卵巣摘出ラットの 4 週間反復皮下投与毒性試験における投与量.....	145
表 2.6.6-7. 卵巣摘出ラットの 52 週間反復皮下投与毒性試験における投与量.....	147
表 2.6.6-8. 卵巣摘出ラットの 52 週間反復皮下投与毒性試験における下垂体前葉の腺腫又は癌あるいは乳腺腺癌の発生数.....	147
表 2.6.6-9. 卵巣摘出サルの 4 週間反復経皮投与毒性試験における投与量.....	149
表 2.6.6-10. 卵巣摘出サルの 39 週間反復経皮投与毒性試験における投与量.....	150
表 2.6.6-11. ラット皮下投与による交配前投与予備試験における投与量.....	153
表 2.6.6-12. ラット皮下投与による交配前投与試験における投与量.....	154
表 2.6.6-13. ラット皮下投与による妊娠初期投与予備試験における投与量.....	155
表 2.6.6-14. ラット皮下投与による妊娠初期投与試験における投与量.....	156
表 2.6.6-15. ラット皮下投与による胚・胎児発生予備試験における投与量.....	157
表 2.6.6-16. ラット皮下投与による胚・胎児発生試験における投与量.....	158
表 2.6.6-17. ウサギ皮下投与による胚・胎児発生予備試験における投与量.....	159
表 2.6.6-18. ウサギ経皮投与による胚・胎児発生予備試験における投与量.....	160
表 2.6.6-19. ウサギ経皮投与による胚・胎児発生試験における投与量.....	162
表 2.6.6-20. 劣化製剤の E ₂ 分解物含有率（％）.....	166
表 2.6.6-21. 劣化製剤の NETA 分解物含有率（％）.....	166
表 2.6.6-22. ラットにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験における投与量.....	167

表 2.6.6-23. 抽出原液中の E ₂ 並びに NETA 含量	168
表 2.6.6-24. 新規添加物の毒性試験プログラム	171

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

RPR106522 の毒性試験は、米国及び欧州での承認申請に使用されたラットとウサギを用いた単回投与毒性試験、ラットを用いた4週間反復投与毒性試験、ウサギを用いた局所刺激性試験、モルモットを用いた皮膚感作性試験と皮膚光感作性試験、ウサギを用いた光毒性試験及び不純物に関する毒性試験に加え、[REDACTED] の治験相談 (5.4.2-1 項参照) における助言に基づいて卵巣を摘出したラットとサルを用いた反復投与毒性試験を追加実施した。また、卵巣摘出サルを用いた単回投与毒性試験及びラットとウサギを用いた生殖発生毒性試験を追加実施した。更に、ウサギの皮膚刺激性試験を再実施した。

新規添加物のアクリル樹脂については、製造元 ([REDACTED]) で実施した試験の成績並びに追加実施したラットを用いた小核試験及びウサギを用いた皮膚累積刺激性試験の成績をまとめた (2.6.6.8 (4) 項参照)。

表 2.6.6-1. 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間等		動物種等	投与経路	被験物質	試験番号	CTD番号	GLP適用
単回投与毒性試験		ラット	経皮	RPR106522	DS/CVRC 96-013	4.2.3.1-1	適
		ウサギ	経皮	RPR106522	DS/CVRC 96-014	4.2.3.1-2	適
		サル (OVX)	経皮	RPR106522	B040480	4.2.3.1-3	適
反復投与毒性試験	4週間反復投与	ラット	経皮, 経口	RPR106522, E ₂ + NETA	DS/CVRC 96-009	4.2.3.2-1	適
		ラット (OVX)	皮下	E ₂ + NETA	P031194	4.2.3.2-2	適
	52週間反復投与	ラット (OVX)	皮下	E ₂ + NETA	P040250	4.2.3.2-3	適
	4週間反復投与	サル (OVX)	経皮	RPR106522	B031222	4.2.3.2-4	適
	39週間反復投与	サル (OVX)	経皮	RPR106522	B040481	4.2.3.2-5	適
生殖発生毒性試験	交配開始前2週間投与及び交配期間	ラット	皮下	E ₂ + NETA	P031104	4.2.3.5.1-1	非適
		ラット	皮下	E ₂ + NETA	P040022	4.2.3.5.1-2	適
	妊娠0～6日投与	ラット	皮下	E ₂ + NETA	P031105	4.2.3.5.1-3	非適
		ラット	皮下	E ₂ + NETA	P040023	4.2.3.5.1-4	適
	妊娠6～17日投与	ラット	皮下	E ₂ + NETA	P031106	4.2.3.5.2-1	非適
		ラット	皮下	E ₂ + NETA	P040024	4.2.3.5.2-2	適
	妊娠6～18日投与	ウサギ	皮下	E ₂ + NETA	P031107	4.2.3.5.2-3	非適
		ウサギ	経皮	RPR106522	P040025	4.2.3.5.2-4	非適
		ウサギ	経皮	RPR106522	P040262	4.2.3.5.2-5	適
局所刺激性試験	一次刺激性 (背部)	ウサギ	経皮	RPR106522	P020546	4.2.3.6-1	適
	累積刺激性 (背部)	ウサギ	経皮	RPR106522	P020547	4.2.3.6-2	適
	累積刺激性 (耳介)	ウサギ	経皮	RPR106522	DS92-115	4.2.3.6-3	適
その他の毒性試験	皮膚感作性 (+FCA)	モルモット	経皮	RPR106522	DS 94-081	4.2.3.7.1-1	適
	皮膚光感作性 (-FCA)	モルモット	経皮	RPR106522	DS/CVRC 96-029	4.2.3.7.1-2	適
	不純物	4週間反復投与	ラット	劣化 RPR106522	DS/CVRC 96-047	4.2.3.7.6-1	適
		復帰突然変異	<i>S.typhimurium</i>	<i>in vitro</i> 劣化 RPR106522	DS/CRVA 96-0168	4.2.3.7.6-2	適
		小核試験	ラット	劣化 RPR106522	DS/CRVA 96-0169	4.2.3.7.6-3	適
	光毒性	ウサギ	経皮	RPR106522	DS/CVRC 96-030	4.2.3.7.7-1	適

OVX：卵巣摘出動物，FCA：Freund の完全アジュバント，E₂ + NETA：E₂ と NETA の原薬の混合液

(1) 単回投与毒性試験

ラット、ウサギ及びサルに RPR106522 をそれぞれの貼付面積が、 $29 \text{ cm}^2/\text{head}$ [エストラジオール (E_2) : $2.0 +$ 酢酸ノルエチステロン (NETA) : $8.8 \text{ mg}/\text{head}$] , $87 \text{ cm}^2/\text{head}$ [E_2 : $6.0 +$ NETA: $26.4 \text{ mg}/\text{head}$] 及び $108 \text{ cm}^2/\text{head}$ [E_2 : $7.44 +$ NETA: $32.4 \text{ mg}/\text{head}$] の用量まで単回貼付したが、死亡は認められず、概略の致死量を求めることはできなかった。ウサギでは投与の初期に体重減少が認められ、サルでは摂餌量の減少、総ビリルビンの増加及びグルコースの減少が認められたが、いずれも観察期間中には消失する可逆的な変化であった。各動物とも、RPR106522 投与による一般状態の変化や組織学的な変化は認められなかった。

(2) 反復投与毒性試験

雌ラットに RPR106522 を 4 週間反復貼付する試験、卵巢摘出ラットに $E_2 +$ NETA 混合液を 4 週間及び 52 週間反復皮下投与する試験、並びに卵巢摘出サルに RPR106522 を 4 週間及び 39 週間反復貼付する試験を実施した。なお、卵巢摘出ラットに $E_2 +$ NETA 混合液を反復皮下投与する試験では、ラットに RPR106522 を長期間反復投与することが困難と考え、RPR106522 を貼付したときと同様な曝露量 ($AUC_{0-t(\text{last})}$, 2.6.4.3 (3)) が得られる用量の $E_2 +$ NETA 混合液を皮下投与した。

雌ラットに RPR106522 を 4 週間反復貼付する試験では、RPR106522 と NETA パッチ (NETA のみを含有する同様な製剤) を 3 ないし 4 日間隔で更新しながら 4 週間反復貼付する群に加えて、 E_2 : $1 +$ NETA: $2 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}$ の混合液を 4 週間反復経口投与する群を設けた。その結果、RPR106522 群と $E_2 +$ NETA 混合液の経口投与群には、尿量の増加、赤血球数の減少、胸腺の重量低下を伴う萎縮、肝細胞肥大、乳腺小葉の過形成、子宮内膜過形成と扁平上皮化生及び膈上皮の肥厚などが共通して認められた。これらに加えて RPR106522 群では、リンパ球数の減少、子宮重量の増加、下垂体前葉の過形成及び骨硬化などが認められた。これらの変化は主に E_2 の作用に起因したものと考えられたが、 $E_2 +$ NETA 混合液の経口投与群では体重増加抑制、摂餌量の減少、総コレステロールの減少、肝臓重量の増加、尿量の増加などが RPR106522 群と比較して強く認められた。なお、NETA パッチ群では、肝細胞肥大と胸腺小型化が軽度認められたのみであった。RPR106522 の $0.4 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $0.028 +$ NETA: $0.12 \text{ mg}/\text{head}$) 群で胸腺重量の減少並びに肝臓、乳腺、子宮、膈及び胸腺に軽微～軽度な病理組織学的変化が認められたため、RPR106522 の 4 週間反復貼付における無毒性量は求めることができなかった。

卵巢摘出ラットに $E_2 +$ NETA 混合液を 4 週間反復皮下投与する試験では、 $E_2 +$ NETA 混合液、 E_2 又は NETA のみの懸濁液を 4 週間反復皮下投与した。その結果、卵巢摘出対照群では体重や摂餌量の増加、各種血液学的変化及び血液化学的变化 (造血系及び血清たん白パラメータの変動など) 並びに子宮、膈及び下垂体などにおける器官重量及び病理組織学的検査の変化が認められたが、 $E_2 +$ NETA 混合液を皮下投与した群ではこれら卵巢摘出による影響の軽減作用が認められた。また、尿たん白の増加、赤血球数の減少、リンパ球数の減少、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) とアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の増加、総コレステロールとリン脂質の増加、下垂体前葉の過形成、子宮腺上皮の高円柱上皮化、乳腺の発達、大腿骨骨髓にお

ける造血の低下，腎臓における好塩基性尿細管の出現，肝細胞肥大，胸腺の萎縮などが認められた．これらの変化は， E_2 のみを投与した群でも同様に認められたため， E_2 の作用に基づく変化であると考えられた．NETAの併用投与による影響としては， E_2 + NETA 混合液の高用量群で腔の異常角化像と粘膜固有層における好酸球の増加が認められたが，性周期に伴って認められる変化と同様であった． E_2 + NETA 混合液の中用量群と高用量群では，乳腺・下垂体及び子宮などにおいて過剰なホルモン作用が認められたため，無毒性量は，卵巢摘出ラットに対する作用が生理的な変動の範囲に留まる E_2 : 1.5 + NETA: 3.0 $\mu\text{g/kg/day}$ であった．

卵巢摘出ラットに E_2 + NETA 混合液を 52 週間反復皮下投与する試験では， E_2 + NETA 混合液， E_2 又は NETA のみの懸濁液を 52 週間反復皮下投与した．その結果，卵巢摘出対照群では， E_2 + NETA 混合液を 4 週間反復皮下投与する試験と同様に，体重増加，各種血液学的変化及び血液化学的变化（造血系及び血清たん白パラメータの変動など）並びに子宮，腔及び下垂体などにおける器官重量及び病理組織学的検査の変化が認められたが， E_2 + NETA 混合液を皮下投与した群ではこれら卵巢摘出による影響が用量依存的に軽減した． E_2 + NETA 混合液の中用量 2 群と高用量群では乳腺，下垂体及び子宮などにおいて過剰なホルモン作用が認められた．また， E_2 + NETA 混合液を投与した群では，尿量と尿中電解質排泄量の増加，赤血球数とヘマトクリットの減少，プロトロンビン時間（PT）の短縮，無機リン，尿素窒素（BUN）及びクロールの増加などが認められた．更に，高用量群では下垂体前葉の腺腫又は癌及び肺への転移を伴った乳腺腺癌による死亡が多発し，生存例でも用量依存的に下垂体の重量増加と結節又は腫瘤並びに前葉の血管拡張と巣状過形成，乳腺腺癌，腎臓の重量増加と近位尿細管上皮への褐色色素沈着，副腎髄質細胞の巣状過形成，後肢の胼胝及び潰瘍，肺胞内泡沫細胞集積などが認められた．これらの変化は， E_2 のみを投与した群でも同様に認められたため， E_2 の作用に基づく変化であると考えられた．一方，NETA 投与に起因した毒性所見は認められず， E_2 と NETA の併用投与による新たな毒性は認められなかった．無毒性量は，下垂体前葉の腺腫又は癌及び乳腺腺癌による死亡や貧血などが見られない E_2 : 0.6 + NETA: 1.2 $\mu\text{g/kg/day}$ であった．また，これら E_2 の作用に基づくと考えられる変化は，5 週間の休薬期間終了後に回復性が認められたことから，腫瘍を除く変化についてはいずれも可逆的な変化と考えられた．

卵巢摘出サルに RPR106522 を 4 週間反復貼付する試験では，RPR106522 及びフェミエスト®（ E_2 のみを含有する製剤）を 3 ないし 4 日間隔で更新しながら 4 週間反復貼付した．その結果，卵巢摘出対照群では，血液化学的变化（総たん白，アルブミン及びカルシウムの増加）並びに子宮の器官重量及び病理組織学的検査の変化が認められたが，RPR106522 を貼付した群ではこれら卵巢摘出による影響が用量依存的に軽減した．この作用は，フェミエスト®を貼付した群でも同様に認められたため， E_2 の作用に基づく変化であると考えられた．子宮の形態計測の結果では，RPR106522 群とフェミエスト®群で子宮内膜厚*，子宮壁厚*及び子宮内膜/子宮壁 比の低下といった卵巢摘出による影響が用量依存的に軽減したが，RPR106522 群における子宮の組織像は全く異なるものであった．すなわち，フェミエスト®群の子宮では卵胞期（増殖期）に類似した組織像が認められたのに対し，RPR106522 群の子宮では月経期又は黄体期（分泌期）に類似した組織像が認められた．これらのことから，RPR106522 を 4 週間反復貼付した卵巢摘出サルでは， E_2 の作用に加えて期待される NETA の併用効果が認められた．NETA の併用投与によって新たな毒性が認められず， E_2 の作用が増強されることもなかった．無毒性量は，総コレステロール及びリン脂

質の減少が生理的な変動の範囲に留まる $2.25 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $0.155 + \text{NETA}$: 0.675 mg/head) であった。

RPR106522 を 39 週間反復貼付する試験では、卵巢摘出サルに RPR106522 及びフェミエスト® を 3 ないし 4 日間隔で更新しながら 39 週間反復貼付した。その結果、卵巢摘出対照群では、血液化学的变化（アルカリホスファターゼ（ALP）、総コレステロール及び総たん白の増加）並びに子宮、膣及び乳腺の病理組織学的検査の変化が認められたが、RPR106522 を貼付した群ではこれら卵巢摘出による影響がほぼ用量依存的に軽減した。これらの変化は、フェミエスト® を貼付した群でも同様に認められたため、 E_2 の作用に基づく変化であると考えられた。子宮の形態計測の結果では、RPR106522 を 4 週間反復貼付する試験と同様に RPR106522 とフェミエスト® 群で卵巢摘出による影響が用量依存的に軽減したが、RPR106522 の 2.25 及び $9 \text{ cm}^2/\text{head}$ 貼付群の子宮では、フェミエスト® 群とは異なり、間質細胞が増生した妊娠期の子宮に類似する組織像が認められた。したがって、RPR106522 を 39 週間反復貼付した卵巢摘出サルでは、 E_2 の作用に加えて期待される NETA の併用効果が認められたものの、NETA の併用投与によって新たな毒性は見られず、 E_2 の各種変化が増強されることもなかった。無毒性量は、コレステロールの減少が生理的な変動の範囲に留まる $2.25 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $0.155 + \text{NETA}$: 0.675 mg/head) であった。また、いずれの変化も 4 週間の休薬期間終了後には回復性が認められたことから可逆的な変化であった。

（３） 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験とラット及びウサギの胚・胎児発生への影響に関する試験を実施した。

雌ラットに $E_2 + \text{NETA}$ 混合液及び E_2 又は NETA のみの懸濁液を交配開始前 2 週間及び交尾確認前日まで皮下投与し、妊娠 13 日に帝王切開して検査した結果、母動物の体重に減少が認められ、母動物における無毒性量は E_2 : $1 + \text{NETA}$: 2 µg/kg/day であった。雌生殖能に及ぼす影響については、性周期の延長、発情回数、受胎率及び黄体数の減少並びに交尾所要日数の短縮が認められ、無毒性量は E_2 : $0.2 + \text{NETA}$: 0.4 µg/kg/day であった。初期胚の発生に及ぼす影響については、被験物質投与の影響は認められず、無毒性量は E_2 : $5 + \text{NETA}$: 10 µg/kg/day であった。これらの影響は、 E_2 のみを投与した群でも同様に認められ、NETA のみを投与した群では見られなかったため、いずれも E_2 の作用に基づく影響であると考えられた。また、反復皮下投与後に 7 週間休薬した動物を交配させた結果、交配前投与で認められた上記の変化は見られず、速やかな回復性を示した。

交配させた雌ラットに $E_2 + \text{NETA}$ 混合液及び E_2 又は NETA のみの懸濁液を妊娠 0～6 日に皮下投与し、妊娠 13 日に帝王切開して検査した結果、母動物では体重及び摂餌量の減少並びに不妊が認められ、母動物における無毒性量は E_2 : $0.2 + \text{NETA}$: 0.4 µg/kg/day であった。初期胚の発生に及ぼす影響については、黄体数と着床数の減少、未着床率の増加、死亡胚率の増加及び生存胚数の減少が認められ、無毒性量は E_2 : $0.2 + \text{NETA}$: 0.4 µg/kg/day であった。これらの影響は、 E_2 のみを投与した群でも同様に認められ、NETA のみを投与した群では見られなかったため、いずれも E_2 の作用に基づく影響であると考えられた。

交配させた雌ラットに E_2 + NETA 混合液及び E_2 又は NETA のみの懸濁液を妊娠 6～17 日に皮下投与し、妊娠 20 日に帝王切開して胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した結果、腔からの出血、体重の増加抑制、摂餌量の減少、全胚吸収と総胎児死亡率の増加、生存胎児数の減少、着床数の減少及び未着床率の増加が認められ、母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響に関する無毒性量はいずれも E_2 : 12.5 + NETA: 25 $\mu\text{g/kg/day}$ であった。これらの影響は、 E_2 のみを投与した群でも同様に認められ、NETA のみを投与した群では見られなかったため、いずれも E_2 の作用に基づく影響であると考えられた。なお、催奇形作用はいずれの群においても認められなかった。

交配させたウサギに RPR106522 を 3 日に 1 回の頻度で更新しながら妊娠 6～18 日に反復貼付し、妊娠 29 日に帝王切開して胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した結果、腔からの出血、体重及び摂餌量の減少、全胚吸収と総胎児死亡率及び早期吸収胚率の増加、生存胎児数の減少、未着床率の増加あるいは増加傾向が認められ、母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響に関する無毒性量はいずれも 0.04 cm^2/head (E_2 : 0.00276 + NETA: 0.012 mg/head) であった。これらの影響は、いずれも E_2 の作用に基づく影響と推察された。なお、催奇形作用はいずれの群においても認められなかった。

(4) 局所刺激性試験

ウサギの背部皮膚を用いた一次刺激性試験と累積刺激性試験並びに耳介を用いた累積刺激性試験を実施した。皮膚一次刺激性試験では、RPR106522 を健常皮膚と損傷皮膚に 24 時間貼付した結果、いずれの貼付部位にもごく軽度の紅斑が見られ、弱い刺激性に評価された。この変化は、RPR106522 の除去後 4 日までに回復し、RPR106522 の除去に伴う物理的な皮膚刺激によるものと推察された。皮膚累積刺激性試験では、RPR106522 を 3～4 日間隔で更新しながら同一部位に 4 週間反復貼付した結果、初回貼付後 72 時間には健常皮膚及び損傷皮膚で共にごく軽度の紅斑が認められたが、投与 7 日以降から皮膚反応は増強し、投与 10 日以降には浮腫、投与 14 日以降には痂皮形成も認められ、中等度の刺激性を示した。一方、耳介を用いた皮膚累積刺激性試験では、RPR106522 を 3～4 日間隔で貼付場所を変更しながら 4 週間反復貼付した結果、製剤の除去後 3～4 時間に中等度の紅斑を示す動物も認められたが、製剤の除去時にはいずれも軽度の紅斑のみであり、全例で浮腫は認められなかった。また、その皮膚刺激の程度はプラセボパッチ群と同程度であり、製剤除去後 3～4 日で回復する可逆的な変化であった。

(5) その他の毒性試験

モルモットを用いた皮膚感作性試験及び皮膚光感作性試験では、陽性反応は認められなかった。

ウサギを用いた皮膚光毒性試験では、紅斑や浮腫は認められず、光毒性は認められなかった。

冷蔵保存した非劣化製剤 (RPR106522) と 30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤並びに 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤の毒性を、ラットを用いた 4 週間反復経皮投与毒性試験、細菌を用いた復帰突然変異試験、並びにラット骨髓細胞を用いた小核試験を実施して比較した。その結果、30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤と 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤の毒性は、非劣化製剤

の毒性と同等又はそれ以下であった。したがって、不純物を含む劣化製剤の毒性が非劣化製剤の毒性を上回ることではなく、非劣化製剤の毒性以外に新たな毒性は認められなかった。

アクリル樹脂（新規添加物）の毒性試験については、ラット単回経口投与毒性試験、ウサギ単回経皮投与毒性試験、ラット4週間反復経皮投与毒性試験、復帰突然変異試験、*in vitro* 並びに *in vivo* の染色体異常試験、ウサギ皮膚刺激性試験、モルモット皮膚感作性試験及びヒト皮膚での刺激性評価の成績並びに追加実施したラットを用いた小核試験及びウサギを用いた皮膚累積刺激性試験の成績をまとめた。単回投与毒性試験では、5000 mg/kg という高い用量を経口投与したラットに活動性の低下及び摂餌量減少などが見られたが、可逆的な変化であった。経皮投与を行ったウサギ単回投与毒性試験並びにラットの4週間反復投与毒性試験では投与部位の皮膚に障害性を示したが、全身性の反応は認められなかった。皮膚刺激については、溶媒を含む液状の樹脂で皮膚刺激性が認められたが、溶媒を除去したアクリル樹脂をウサギの皮膚やヒトの皮膚に反復貼付しても問題となる刺激は認められなかった。遺伝毒性試験では、*in vitro* の染色体異常試験において構造異常の誘発が2500 及び5000 µg/mL という高濃度曝露時に認められたが、ラットに経口投与あるいは腹腔内投与しても骨髓細胞に染色体異常あるいは小核の誘発は認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

（１） ラットにおける単回経皮投与毒性試験（試験番号：DS/CVRC 96-013） 4.2.3.1-1

5～6週齢の Sprague Dawley（SD）系ラットを用い、各群雌雄 5 匹の刈毛した背部皮膚に RPR106522、プラセボパッチ（基剤）及び NETA パッチを表 2.6.6-2 に示す用量で 3 日間貼付した。また、刈毛のみの対照群を設けた。

表 2.6.6-2. ラット単回経皮投与毒性試験における投与量

被験物質	貼付面積 (cm ² /head)	E ₂ 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	29	2	8.8
プラセボパッチ		0	0
NETA パッチ		0	8.8

貼付期間を含めて 14 日間観察した結果、観察期間中に死亡はなく、被験物質投与による一般状態、体重及び器官・組織への影響は認められなかった。

（２） ウサギにおける単回経皮投与毒性試験（試験番号：DS/CVRC 96-014） 4.2.3.1-2

5 箇月齢の New Zealand White（NZW）ウサギを用い、各群雌雄 4 匹の両耳介背面に RPR106522、プラセボパッチ及び NETA パッチを表 2.6.6-3 に示す用量で片耳あたり 43.5 cm² ずつ両側に 3 日間貼付した。また、刈毛のみの対照群を設けた。

表 2.6.6-3. ウサギ単回経皮投与毒性試験における投与量

被験物質	貼付面積 (cm ² /head)	E ₂ 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	87	6	26.4
プラセボパッチ		0	0
NETA パッチ		0	26.4

貼付期間を含めて 14 日間観察した結果、観察期間中に死亡はなく、被験物質投与による一般状態及び器官・組織への影響は認められなかった。RPR106522 群では、投与 4 日目にプラセボパッチ群及び対照群と比較してわずかな体重減少が認められたが、投与 8 日目以降はプラセボパッチ群及び対照群と同様に推移した。プラセボパッチ群を含むすべての投与群で被験物質を除去した直後に紅斑が認められたが、被験物質の除去に伴う物理的な刺激によるものと考えられた。

（３） 卵巣摘出サルにおける単回経皮投与毒性試験（試験番号：B040480） 4.2.3.1-3

４～５歳の卵巣摘出カニクイザルを用い，各群雌２匹に RPR106522 を表 2.6.6-4 に示す用量で 4 日間貼付した．また，粘着包帯の貼付，筒状包帯及びサル用ジャケットの着用のみを行う対照群を設けた．

表 2.6.6-4. サル単回経皮投与毒性試験における投与量

被験物質	貼付面積 (cm ² /head)	E ₂ 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	27	1.86	8.1
	108	7.44	32.4

RPR106522 の除去後 14 日間観察した結果，観察期間中に死亡は認められなかった．
RPR106522 の 27 及び 108 cm² 群では，投与期間中に摂餌量の減少が認められたが，RPR106522 除去後の観察期間中に消失した．また，投与期間中あるいは RPR106522 を除去した直後に，108 cm² 群では総ビリルビンの増加が，27 及び 108 cm² 群ではグルコースの減少が認められたが，いずれも観察期間中に消失した．器官重量及び剖検では，対照群を含むすべての群で，卵巣摘出による子宮重量の減少あるいは小型化が認められた．一般状態，体重及び血液学的検査では，RPR106522 による毒性変化あるいは卵巣摘出による変化は認められなかった．トキシコキネティクス（TK）試験の結果，血漿中 E₂ 及びノルエチステロン（NET）濃度の用量依存的な増加が認められた．なお，血漿中 NETA 濃度はいずれの群においても定量下限未満であった．

2.6.6.3 反復投与毒性試験 (トキシコキネティクス評価を含む)

(1) ラットにおける4週間反復経皮投与及び経口投与毒性試験 (試験番号: DS/CVRC 96-009) 4.2.3.2-1

11～12週齢のSD系ラットを用い、各群雌10匹の刈毛した背部皮膚に左右2箇所 of 貼付部位を設けてRPR106522若しくはNETAパッチを表2.6.6-5に示す用量にて3ないし4日間隔で貼付部位を更新しながら4週間反復貼付した。また、E₂ + NETA 混合液をE₂: 1 + NETA: 2 mg/kg/dayの用量で4週間反復経口投与し、経皮投与群の対照群にはプラセボパッチを同様に貼付し、経口投与群の対照群には媒体 [0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液 + 0.5% Tween80] のみを同様に経口投与した。

表 2.6.6-5. ラット4週間反復経皮及び経口投与毒性試験における経皮投与量

被験物質		貼付面積 (cm ² /head)	E ₂ 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	低用量	0.4	0.028	0.12
	中用量	1.29	0.089	0.39
	高用量	3.25	0.224	0.98
NETA パッチ	低用量	0.4	-	0.12
	中用量	1.29	-	0.39
	高用量	3.25	-	0.98

経皮投与群:

各投与群に死亡はなく、体重及び摂餌量に被験物質投与による影響は認められなかった。一般状態では、RPR106522の中用量及び高用量群並びにNETAパッチの高用量群で乳頭肥大が認められた。

また、RPR106522群では、尿検査において尿量の増加が、血液学的検査では赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット及びリンパ球数の減少並びに好中球数の増加が見られ、血液化学的検査ではグルコース、アルブミン、 α_1 -グロブリン並びに総たん白の増加が用量依存的に認められた。器官重量では下垂体、子宮、肝臓、腎臓の重量増加及び胸腺重量の減少が見られ、剖検では乳腺の肥厚及び胸腺の小型化が用量依存的に認められ、高用量群で下垂体の肥大及び子宮内腔拡張が見られた。病理組織学的検査では、RPR106522群で卵巣における成熟黄体の維持、下垂体前葉の過形成、子宮内膜過形成及び扁平上皮化生、腔上皮の肥厚、乳腺小葉の過形成、肝細胞肥大、胸腺の萎縮が認められた。また、中用量及び高用量群で骨硬化が認められた。これらの変化は、主にE₂の作用によるものと考えられた。なお、NETAパッチ群では、主に肝細胞肥大と胸腺の萎縮が認められたのみであった。RPR106522の低用量 (0.4 cm², E₂: 0.028 + NETA: 0.12 mg/head) 群では、胸腺重量の減少並びに肝臓、乳腺、子宮、腔及び胸腺に軽微～軽度な病理組織学的変化が認められたため、無毒性量は求めることができなかった。

経口投与群：

死亡は認められず，一般状態に被験物質投与による影響は認められなかった．摂餌量の減少に伴う体重の増加抑制が見られ，尿検査では尿量の増加が認められた．また，血液学的検査では赤血球数，ヘモグロビン量及びヘマトクリットの減少などが認められ，血液化学的検査でアルブミンと総コレステロールの減少及び α_1 -グロブリンの増加などが認められた．器官重量では肝臓重量の増加と胸腺重量の減少が見られ，剖検では胸腺の小型化が認められた．病理組織学的検査では，生殖器官の器官・組織（乳腺，卵巣，子宮，膣）に RPR106522 群と同様の影響が見られたほか，肝細胞肥大と胸腺の萎縮が認められた．これらの変化は，主に E_2 の作用に基づく変化であると考えられた．

（２） 卵巣摘出ラットにおける 4 週間反復皮下投与毒性試験（試験番号：P031194）**4.2.3.2-2**

9 週齢の卵巣摘出 SD 系ラットを用い，各群雌 10 匹に E_2 + NETA 混合液を表 2.6.6-6 に示す用量で 4 週間反復皮下投与した（併用群）．また， E_2 又は NETA のみを投与する群（各単独群）と媒体を投与した卵巣摘出対照群と非卵巣摘出対照群を設定した．

表 2.6.6-6. 卵巣摘出ラットの 4 週間反復皮下投与毒性試験における投与量

試験群構成		投与量（ $\mu\text{g/kg/day}$ ）	
		E_2	NETA
併用群	低用量	1.5	3.0
	中用量	15	30
	高用量	150	300
E_2 単独群		150	-
NETA 単独群		-	300

媒体：0.5 %カルボキシメチルセルロース-ナトリウム (CMC-Na) 溶液

各投与群で死亡はなく，一般状態及び眼科学的検査に被験物質投与による影響は認められなかった．

E_2 + NETA 併用群においては，非卵巣摘出対照群と比較して，尿検査では，高用量群で尿たん白反応陽性例の増加が認められた．血液学的検査では，高用量群で赤血球数，ヘモグロビン量，ヘマトクリット，網状赤血球数及びリンパ球数の減少，白血球数の減少傾向並びに活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長が認められた．血液化学的検査では，各群で総コレステロールとリン脂質の増加が見られ，中用量以上の群で総たん白，トリグリセライド及びカルシウムの増加並びに ALP 及び β -グロブリンの減少が見られ，高用量群で AST と ALT の増加及びカリウムの減少が認められた．剖検では，高用量群で下垂体の肥大と胸腺の小型化が認められた．器官重量では，中用量以上の群で下垂体重量と肝臓重量の増加が見られ，高用量群で腎臓重量と副腎重量の増加及び胸腺重量の減少が認められた．また，低用量群と中用量群でグルコースの増加

と子宮重量の減少が認められた。高用量群で α_1 -グロブリンの増加がそれぞれ卵巣摘出対照群と同様に認められた。

病理組織学的検査では、高用量群で乳腺の発達と導管の拡張が見られ、下垂体前葉のび慢性過形成と血管拡張が認められた。子宮では、子宮腺での高円柱上皮の出現、子宮腔の拡張、内膜における好酸球の増加と内膜上皮の扁平上皮化生が認められた。大腿骨では、骨梁の肥厚が見られ、骨髓における造血の減少が認められた。更に、腎臓では近位尿細管上皮細胞への褐色色素沈着、糸球体への硝子滴沈着、好塩基性尿細管の出現が、肝臓では、肝細胞のび慢性肥大が、胸腺では皮質の萎縮が認められた。下垂体前葉のび慢性過形成と血管拡張、子宮腺への高円柱上皮の出現並びに乳腺の発達は、中用量群でも認められたが、その発現頻度は E_2 単独群に比較して低かった。

これら、併用群で認められた変化は、 E_2 単独群においても同様に認められたことから、いずれも E_2 の作用に基づく変化であると考えられた。また、卵巣摘出対照群では、体重や摂餌量の増加、各種血液学的変化及び血液化学的变化（造血系及び血清たん白パラメータの変動など）並びに子宮、膣及び下垂体などにおける器官重量及び病理組織学的検査の変化が認められたが、併用群ではこれら卵巣摘出による変化の軽減作用が認められた。ただし、中用量又は高用量群では、非卵巣摘出対照群と比較して有意な変化、すなわち過剰なホルモン作用が乳腺・下垂体及び子宮などに認められた。

一方、 E_2 及び NETA 単独群に見られなかった変化として、高用量群で膣に異常角化像及び粘膜固有層に見られる好酸球の増加が認められたが、性周期に伴って認められる変化と同様であった。そのほか、低用量群では大腿骨骨梁の減少が卵巣摘出対照群と同質・同程度に認められ、低用量及び中用量群では下垂体前葉好塩基性細胞の肥大が卵巣摘出対照群と同質に認められたが、その程度は卵巣摘出対照群に比較して軽減する傾向を示した。

TK 試験の結果、血漿中 E_2 、NETA 及び NET 濃度の最高血漿中濃度 (C_{max}) 及び投与後 0～薬物濃度が定量された最終時点までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積 ($AUC_{0-t(last)}$) には、用量依存的な上昇が認められた。また、併用群の血漿中 E_2 、NETA 及び NET 濃度は、初回投与及び最終投与の投与 24 時間後までに速やかに消失する傾向が認められた。各血漿中濃度の C_{max} 及び $AUC_{0-t(last)}$ は、初回投与時に比して最終投与時に上昇する傾向にあったが、同様の傾向は E_2 及び NETA 単独群にも認められた。なお、低用量群における血漿中 NETA 及び NET 濃度は、初回投与及び最終投与の各測定時点では共に定量下限未満であった。

以上、 E_2 + NETA 併用群では、 E_2 単独群と同様の变化、すなわち E_2 の作用に基づく変化が認められ、NETA 併用投与による新たな毒性は認められなかった。 E_2 : 15 + NETA: 30 $\mu\text{g/kg/day}$ 以上の用量群で生理的反応の域を超える乳腺の発達、下垂体前葉のび慢性過形成及び子宮腺での高円柱上皮の出現が見られたことから、無毒性量は、 E_2 : 1.5 + NETA: 3.0 $\mu\text{g/kg/day}$ であった。

（３） 卵巣摘出ラットにおける 52 週間反復皮下投与毒性試験（試験番号：P040250）

4.2.3.2-3

9 週齢の卵巣摘出 SD 系ラットを用い、各群雌 20 匹に E_2 + NETA 混合液を表 2.6.6-7 に示す用量で 52 週間反復皮下投与した（併用群）。また、 E_2 又は NETA のみを投与する群（各単独群）並びに媒体を投与した卵巣摘出対照群（雌 12 匹）及び非卵巣摘出対照群（雌 20 匹）を設定した。非卵巣摘出対照群及び各併用群には、投与期間終了後 5 週間の休薬を行う回復期間を設けた。

表 2.6.6-7. 卵巣摘出ラットの 52 週間反復皮下投与毒性試験における投与量

試験群構成		投与量（ $\mu\text{g/kg/day}$ ）	
		E_2	NETA
併用群	低用量	0.6	1.2
	中用量 1	3.0	6.0
	中用量 2	15	30
	高用量	75	150
E_2 単独群		15	-
		75	-
NETA 単独群		-	150

媒体：0.5 % CMC-Na 溶液

E_2 + NETA 併用群においては、途中死亡又は瀕死例の発生が中用量 1 以上の併用群に認められ、高用量群では、ほとんどの動物が途中死亡した。これらの例では、病理組織学的検査で脳底部を圧排する下垂体前葉の腺腫又は癌、あるいは後肢の潰瘍や肺への転移を伴った乳腺腺癌が見られており（表 2.6.6-8）、本所見が死亡あるいは状態悪化の原因と判断された。

表 2.6.6-8. 卵巣摘出ラットの 52 週間反復皮下投与毒性試験における下垂体前葉の腺腫又は癌あるいは乳腺腺癌の発生数

試験群構成		例数	下垂体前葉の腺腫	下垂体前葉の癌	乳腺腺癌
非卵巣摘出対照群		20	1	1	2
卵巣摘出対照群		12	0	0	0
併用群	低用量	20	2	0	0
	中用量 1	20	3	0	3
	中用量 2	20	5	1	13
	高用量	20	13	7	6
E_2 単独群	15 $\mu\text{g/kg/day}$	12	1	0	8
	75 $\mu\text{g/kg/day}$	12	7	5	8
NETA 単独群		12	0	0	0

非卵巣摘出対照群と比較して、体重では、投与期間終了時における体重減少が中用量 2 群に認められた。尿検査では、尿量の増加が中用量 1 及び中用量 2 群に見られ、ナトリウム、カリウム及びクロールの尿中排泄量の増加が中用量 1 群に認められた。血液学的検査では、赤血球数及び

ヘマトクリットの減少が中用量 1 及び中用量 2 群に見られ、ヘモクロビン量及び MCHC の減少と MCV の増加及び PT の短縮が、中用量 2 群に認められた。血液化学的検査では、無機リンの増加が中用量 1 及び中用量 2 群に見られ、BUN 及びクロールの増加が中用量 2 群に認められた。

剖検では、腎臓の黒褐色化が中用量 2 群 (1/10 例) に見られ、下垂体では、結節又は腫瘍 (4/10 例) が中用量 2 群に認められた。器官重量では、腎臓の相対重量の増加と下垂体及び心臓の絶対及び相対重量の増加が中用量 2 群に認められた。病理組織学的検査では、中用量 2 群において以下の所見の発現頻度の増加又は程度の増強が認められた。下垂体では巣状過形成 (4/10 例) が、乳腺では乳腺腺癌 (6/10 例) が、腎臓では近位尿細管上皮への褐色色素沈着 (7/10 例) が見られ、副腎では髄質細胞の巣状過形成 (4/10 例) が、肺では肺胞内の泡沫細胞集積 (5/10 例) が認められた。以上のほか、一般状態及び剖検では中用量 1 群で肝臓の発生頻度の増加が、病理組織学的検査では中用量 2 群で潰瘍の発生頻度の増加が、それぞれ後肢に認められた。

これら併用群に見られた変化は、 E_2 単独群 (E_2 : 15 及び E_2 : 75 $\mu\text{g/kg/day}$ 群) においても同質の変化が同程度に認められており、 E_2 の作用に基づく変化であると考えられた。なお、中用量 2 群では、同用量の E_2 単独群に比較して多くの例で下垂体の血管拡張が認められた。また、卵巣摘出対照群では、非卵巣摘出対照群との比較において、体重増加、摂餌量の変化 (投与初期に増加し投与終了時には減少)、血液学的及び血液化学的变化 (造血系及び血清たん白パラメータなど) 並びに子宮、膣、乳腺、副腎及び下垂体における器官重量及び病理組織学的な変化などが認められ、低用量群でも一部に卵巣摘出による影響が同様に認められた。中用量 2 又は高用量群では、非卵巣摘出対照群と比較して有意な変化、すなわち過剰なホルモン作用が乳腺・下垂体及び子宮などに認められた。

一方、NETA 投与に起因した毒性所見は認められず、 E_2 と NETA の併用投与による新たな毒性所見も認められなかった。また、休薬期間終了時の検査では、上述した E_2 投与による変化に回復性が認められ、腫瘍を除く変化については可逆的な変化と考えられた。

TK 試験の結果、血漿中 E_2 、NETA 及び NET 濃度の $C_{\max}$ 及び $\text{AUC}_{0-t(\text{last})}$ には用量依存的な増加が認められた。また、投与 1、182 及び 364 日の各時点における併用群の血漿中 E_2 、NETA 及び NET 濃度は、投与後 24 時間までに速やかに消失した。各測定時期における血漿中 E_2 、NETA 及び NET 濃度の $C_{\max}$ 及び $\text{AUC}_{0-t(\text{last})}$ は、各併用群共に同様な値を示した。

以上、各併用群では E_2 単独群と同様の変化が認められ、NETA 併用投与による新たな毒性は認められなかった。 E_2 : 3.0 + NETA: 6.0 $\mu\text{g/kg/day}$ 以上の群では、死亡又は瀕死例の発生と貧血が認められたことから、無毒性量は、 E_2 : 0.6 + NETA: 1.2 $\mu\text{g/kg/day}$ と考えられた。

（４） 卵巣摘出サルにおける４週間反復経皮投与毒性試験（試験番号：B031222）4.2.3.2-4

３～５歳の卵巣摘出カニクイザルを用い，各群雌３匹の刈毛した背部皮膚に４箇所の貼付部位を設け，RPR106522を表2.6.6-9に示す用量で３ないし４日間隔で貼付部位を更新しながら４週間反復貼付した．また，卵巣摘出対照群と非卵巣摘出対照群を設定したほか，RPR106522の低用量及び中用量１群とほぼ同等の血漿中 E_2 濃度となるフェミエスト[®]群を設けた．

表 2.6.6-9. 卵巣摘出サルの４週間反復経皮投与毒性試験における投与量

被験物質	群	貼付面積 (cm ² /head)	E_2 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	低用量	0.56	0.039	0.169
	中用量 1	1.13	0.078	0.338
	中用量 2	2.25	0.155	0.675
	高用量	9	0.62	2.7
フェミエスト [®]	低用量	1.81	0.541	-
	高用量	3.63	1.083	-

一般状態，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査，尿検査，心電図検査及び眼科学的検査では，被験物質投与による影響及び卵巣摘出による影響は認められなかった．

血液化学的検査では，卵巣摘出対照群で総コレステロールとリン脂質の増加が見られたが，RPR106522群ではこれら卵巣摘出による影響が用量依存的に軽減した．また，卵巣摘出対照群に見られた総たん白，アルブミン，アルブミン／グロブリン比（A/G比）及びカルシウムの増加，子宮重量の減少を伴った小型化と子宮の病理組織学的な萎縮についても，RPR106522群では，用量依存的に軽減した．しかし，RPR106522の高用量群では生理的な変動範囲を下回る総コレステロールとリン脂質の減少が認められた．

これら RPR106522 群で認められた変化は，フェミエスト[®]群でも同様に認められたことから， E_2 の作用に基づく変化であると考えられた．

子宮の形態計測の結果では，RPR106522 及びフェミエスト[®]群で卵巣摘出による子宮内膜厚*，子宮壁厚*，子宮内膜／子宮壁比の低下が用量依存的に軽減した．なお，RPR106522 群では，月経期の子宮と類似した子宮の病理組織像，あるいは大型の子宮腺，基底部の空胞を伴った丈の高い大型の腺上皮の発達，不規則な子宮腺腔の拡張，卵円形—円形の間質細胞及び間質の浮腫を特徴とする黄体期（分泌期）の子宮と類似した組織像が観察された．これに対し，フェミエスト[®]群では子宮腺の拡張は見られず，小型の上皮及び紡錘形—卵円形の間質細胞を特徴とする卵胞期（増殖期）の子宮に類似した組織像が観察された．

TK 試験の結果，初回貼付時には RPR106522 群で血漿中 E_2 及び NET 濃度の用量依存的な上昇が認められた．血漿中 NET 濃度は，最終貼付時にほぼ用量依存的な上昇が初回貼付時と同様に認められたが，中用量 2 及び高用量群では血漿中 E_2 濃度が初回貼付時の 50%以下に減少した．フェミエスト[®]群では，初回貼付時及び最終貼付時共に血漿中 E_2 濃度の用量依存的な上昇が認め

られ、最終貼付時の血漿中 E_2 濃度は初回貼付時に比較して上昇した。なお、血漿中 NETA 濃度については、いずれの投与群においても定量下限未満であった。

以上、RPR106522 群では、用量の高い群で血漿中 E_2 濃度の減少が認められたものの、血液化学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査における卵巣摘出による各種影響は、RPR106522 投与によって用量依存的に軽減した。RPR106522 群で見られたこれらの変化は、フェミエスト®群でも同様に認められたことから、いずれも E_2 の作用に基づく変化であると考えられた。一方、RPR106522 群では子宮の病理組織像がフェミエスト®群とは明らかに異なる黄体期の組織像を呈しており、 E_2 の作用に加えて期待される NETA の併用効果が認められた。RPR106522 の高用量群で総コレステロールとリン脂質の生理的な変動範囲を下回る減少が認められたことから、無毒性量は $2.25 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $0.155 + \text{NETA}$: 0.675 mg/head) と考えられた。

(5) 卵巣摘出サルにおける 39 週間反復経皮投与毒性試験 (試験番号: B040481)

4.2.3.2-5

3～5 歳の卵巣摘出カニクイザルを用い、各群雌 4～6 匹の刈毛した背部皮膚に 4 箇所 of 貼付部位を設け、RPR106522 を表 2.6.6-10 に示す用量で 3 ないし 4 日間隔で貼付部位を更新しながら 39 週間反復貼付した。また、卵巣摘出対照群と非卵巣摘出対照群を設定したほか、RPR106522 の低用量及び中用量 1 群とほぼ同等の血漿中 E_2 濃度となるフェミエスト®群を設けた。なお、非卵巣摘出対照群並びに RPR106522 の中用量 2 及び高用量群 (各群 2 匹) は、投与期間終了後 4 週間の休薬を行う回復期間を設けた。

表 2.6.6-10. 卵巣摘出サルの 39 週間反復経皮投与毒性試験における投与量

被験物質	群	貼付面積 (cm^2/head)	E_2 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	低用量	0.56	0.039	0.169
	中用量 1	1.13	0.078	0.338
	中用量 2	2.25	0.155	0.675
	高用量	9.0	0.62	2.7
フェミエスト®	低用量	1.81	0.541	-
	高用量	3.63	1.083	-

一般状態、摂餌量、血液学的検査、尿検査、心電図検査及び眼科学的検査では、被験物質投与による影響及び卵巣摘出による影響は認められなかった。

RPR106522 の高用量群で体重増加が投与 22 日から投与終了時まで認められた。血液化学的検査では、卵巣摘出対照群において総コレステロール、高比重リポたん白 (HDL) コレステロール、低比重リポたん白 (LDL) コレステロール、リン脂質、ALP、総たん白、A/G 比、アルブミン、カルシウム及び無機リンの増加が認められ、RPR106522 群ではこれら卵巣摘出による影響が用量依存的に軽減した。しかし、RPR106522 の高用量群では、生理的な変動範囲を下回る総コレステロール及び HDL コレステロールの減少が認められた。器官重量と剖検では、卵巣摘出による子

宮の小型化及び子宮重量の減少が認められ、RPR106522 群では用量依存的に軽減した。これら RPR106522 群で認められた変化は、フェミエスト®群でも同様に見られたことから、いずれも E₂ の作用に基づく変化であると考えられた。

病理組織学的検査では、卵巢摘出対照群で子宮の萎縮、乳腺小葉の萎縮及び下垂体における前葉の酸好性細胞減少が認められ、RPR106522 群及びフェミエスト®群ではこれらの発現頻度と程度が用量依存的に軽減した。このほか、卵巢摘出対照群に腔の萎縮が見られ、RPR106522 の高用量群でも同程度に認められたが、その他の用量の RPR106522 及びフェミエスト®群では観察されなかった。

子宮の形態計測の結果、卵巢摘出対照群において子宮内膜厚*、子宮壁厚*、子宮内膜/子宮壁比の低下が認められたが、RPR106522 及びフェミエスト®群ではこれらが用量依存的に軽減した。なお、RPR106522 群とフェミエスト®群では、子宮の病理組織学的特徴に明らかな相違が認められた。すなわち、フェミエスト®群では子宮腺の拡張が見られず、卵胞期（増殖期）の子宮に類似した組織像が観察されたのに対し、RPR106522 の中用量 2 及び高用量群では間質細胞が増生した妊娠期の子宮に類似した組織像を呈した。

TK 試験の結果、RPR106522 群では、血漿中 NET 濃度は、4 週間（第 8 回）貼付時及び最終（第 78 回）貼付時には初回貼付時と比べて減少傾向を示したものの、いずれの測定時期においても血漿中 NET 濃度の用量依存的な上昇が認められた。一方、血漿中 E₂ 濃度については、初回貼付時には用量依存的な上昇が認められたが、4 週間貼付時及び最終貼付時には各用量群で初回貼付時と比べて明らかに減少した。なお、血漿中 NETA 濃度はいずれの投与群においても定量下限未満であった。フェミエスト®群では、初回貼付時、4 週間貼付時及び最終貼付時とも用量依存的な血漿中 E₂ 濃度の上昇が認められた。

休薬期間終了時の検査では、投与期間終了時に認められた体重の増加、乳腺小葉の萎縮及び下垂体の酸好性細胞減少は回復終了時に消失した。卵巢摘出による影響に対し RPR106522 の投与によって軽減した変化、すなわち、総コレステロール、リン脂質、ALP、総たん白、A/G 比、アルブミン、カルシウム及び無機リンの増加、子宮重量の減少及び小型化、子宮及び腔の萎縮に対する RPR106522 の影響は回復期間終了時に投与終了時の卵巢摘出対照群と同様若しくは同様となる傾向を示した。したがって、E₂ 投与によるこれらの影響には回復性が見られ、いずれも可逆的な変化と考えられた。

以上の成績から、RPR106522 群では、血漿中 E₂ 濃度の低下が認められたものの、血液化学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査において見られた卵巢摘出の影響が RPR106522 投与によって用量依存的に軽減した。RPR106522 群で見られたこれらの変化は、フェミエスト®群においても同様に認められたことから、いずれも E₂ の作用に基づく変化であると考えられた。また、これら E₂ 投与による影響には回復性が認められ、可逆的な変化であった。RPR106522 の高用量群では、体重増加や生理的な変動範囲を下回る総コレステロールの減少が認められたため、無毒性量は 2.25 cm²/head (E₂:0.155 + NETA:0.675 mg/head) であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

E₂と NETA の遺伝毒性については、新たに試験を実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

E₂と NETA のがん原性については、新たに試験を実施しなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

（１） ラット皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

１） ラット皮下投与による交配前投与予備試験（試験番号：P031104） 4.2.3.5.1-1

10週齢のSD系ラットを用い、各群雌8匹にE₂ + NETA混合液を表2.6.6-11に示す用量で交配開始前2週間及び交尾確認前日まで皮下投与し、雌生殖能に及ぼす影響を検査した。また、妊娠13日に帝王切開し、初期胚の発生に及ぼす影響を検討した。交配には、無処置の雄を使用した。

表 2.6.6-11. ラット皮下投与による交配前投与予備試験における投与量

試験群構成		E ₂ (µg/kg/day)	NETA (µg/kg/day)
併用 投与	低用量	0.2	0.4
	中用量	1	2
	高用量	5	10

母動物に及ぼす影響については、各群で死亡はなく、一般状態、体重、摂餌量及び剖検で被験物質投与による影響は認められなかった。雌生殖能に及ぼす影響では、発情回数及び発情周期に对照群と比較して有意な差は認められないものの中用量及び高用量群で不規則な周期を示す動物がそれぞれ2及び4例認められた。なお、交尾率、受胎率及び交尾所要日数に被験物質投与による影響は認められなかった。初期胚の発生に及ぼす影響では、高用量群で黄体数及び着床数の減少傾向並びに未着床率の増加傾向が見られ、それに伴い生存胚数にも減少傾向が認められた。低用量及び中用量群では、黄体数、着床数、未着床率、死亡胚率及び生存胚数に有意な変化は認められなかった。

以上、E₂ + NETA混合液の交配前投与では、中用量及び高用量群で不規則な性周期を示す母動物が見られ、高用量群で黄体数及び着床数の減少並びに未着床率の増加が認められた。

2) ラット皮下投与による交配前投与試験（試験番号：P040022） 4.2.3.5.1-2

10週齢のSD系ラットを用い、各群雌20匹にE₂ + NETA混合液を交配開始前2週間及び交尾確認前日まで皮下投与し、雌生殖能に及ぼす影響を検査した。また、妊娠13日に帝王切開し、初期胚の発生に及ぼす影響を検査した。更に、別の雌各群20匹にも同様に2週間皮下投与し、7週間休薬した後に交配させて回復性についても検討した。投与量は、交配前投与予備試験（試験番号：P031104；4.2.3.5.1-1）の結果から、生殖能力を含めて母動物に何らかの毒性兆候が認められる用量を含む表2.6.6-12に示した用量を設定した。また、E₂又はNETAの影響を把握するため、E₂ + NETA混合液の高用量に相当する用量を単独で投与する群（各単独群）を設定した。

表 2.6.6-12. ラット皮下投与による交配前投与試験における投与量

試験群構成		E ₂ (µg/kg/day)	NETA (µg/kg/day)
併用 投与	低用量	0.2	0.4
	中用量	1	2
	高用量	5	10
単独 投与	E ₂ 単独	5	-
	NETA 単独	-	10

母動物に及ぼす影響では、死亡はなく、一般状態にも変化は認められなかったが、投与期間終了後に交配させた雌の高用量及びE₂単独群では妊娠期間中に体重の減少が認められた。雌生殖能に及ぼす影響では、投与期間中に中用量及び高用量群並びにE₂単独群で発情回数の減少及び性周期の延長が認められた。交配成績では、投与期間終了後の交尾率が各投与群で共に100%であったが、中用量及び高用量群並びにE₂単独群で受胎率の減少傾向が認められた。また、高用量及びE₂単独群では性周期の延長が見られているにもかかわらず、交尾所要日数の短縮あるいは短縮傾向が認められた。初期胚の発生に及ぼす影響では、高用量及びE₂単独群で黄体数の減少傾向が認められた。更に、E₂単独群では、着床数の減少傾向、未着床率の増加傾向が見られ、それに伴い生存胚数にも減少傾向が認められた。これらの母動物並びに初期胚発生に及ぼす影響は、休薬後には認められず、可逆的な変化であった。

以上、E₂ + NETA混合液の交配前投与では、母動物に及ぼす影響として体重の減少が認められ、無毒性量はE₂: 1 + NETA: 2 µg/kg/dayであった。雌生殖能に及ぼす影響では発情回数の減少、性周期の延長、受胎率と黄体数の減少及び交尾所要日数の短縮が認められ、無毒性量はE₂: 0.2 + NETA: 0.4 µg/kg/dayであった。初期胚の発生に及ぼす影響では被験物質投与の影響は認められず、無毒性量はE₂: 5 + NETA: 10 µg/kg/dayであった。なお、上述の毒性変化はNETA単独投与では認められず、いずれもE₂投与に起因したものと考えられた。また、E₂単独群で認められた変化は併用投与群よりも強い傾向を示し、NETAの併用投与により卵子の成熟、排卵及び着床に及ぼす影響が軽減する傾向が見られた。

3) ラット皮下投与による妊娠初期投与予備試験（試験番号：P031105） 4.2.3.5.1-3

12週齢以上で交配させたSD系ラットを用い、各群雌8匹にE₂ + NETA混合液を表2.6.6-13に示す用量で妊娠0～6日まで皮下投与し、妊娠13日に帝王切開して受精、胚の着床前段階及び着床に及ぼす影響を検討した。

表 2.6.6-13. ラット皮下投与による妊娠初期投与予備試験における投与量

試験群構成		E ₂ (µg/kg/day)	NETA (µg/kg/day)
併用 投与	低用量	0.2	0.4
	中用量	1	2
	高用量	5	10

母動物に及ぼす影響については、各群で死亡はなく、一般状態にも被験物質投与による影響は認められなかったが、高用量群では体重及び摂餌量の減少が認められた。剖検では各群とも異常は認められなかった。初期胚の発生に及ぼす影響では、中用量群の1例及び高用量群の全例で着床を確認できなかった。また、着床が確認された中用量群では、黄体数と着床数の減少及び生存胚数の減少並びに未着床率及び死亡胚率の増加が認められた。低用量群では、黄体数、着床数、未着床率、死亡胚率及び生存胚数に被験物質投与による影響は認められなかった。

以上、E₂ + NETA 混合液の妊娠初期投与では、中用量及び高用量群で黄体数及び着床数の減少、生存胚数の減少並びに未着床率及び死亡胚率の増加が認められ、中用量群の1例及び高用量群の全例で着床を確認できなかった。また、高用量群では、体重及び摂餌量の減少が認められた。

4) ラット皮下投与による妊娠初期投与試験（試験番号：P040023） 4.2.3.5.1-4

12週齢以上で交配させたSD系ラットを用い、各群雌20匹にE₂ + NETA混合液を妊娠0～6日まで皮下投与し、妊娠13日に帝王切開して受精、胚の着床前段階及び着床に及ぼす影響について検討した。投与量は、妊娠初期投与予備試験（試験番号：P031105；4.2.3.5.1-3）の結果から、表2.6.6-14に示す用量を設定した。また、E₂又はNETAの影響を把握するため、E₂ + NETA混合液の高用量に相当する用量を単独で投与する群（各単独群）を設定した。

表 2.6.6-14. ラット皮下投与による妊娠初期投与試験における投与量

試験群構成		E ₂ (µg/kg/day)	NETA (µg/kg/day)
併用 投与	低用量	0.2	0.4
	中用量	1	2
	高用量	5	10
単独 投与	E ₂ 単独	5	-
	NETA 単独	-	10

母動物に及ぼす影響については、各群で死亡はなく、一般状態にも被験物質投与による影響は認められなかったが、高用量及びE₂単独群で体重及び摂餌量の減少が認められ、中用量群の2例、高用量群の15例及びE₂単独群の全例が不妊であった。なお、剖検では、各群共に異常は認められなかった。初期胚の発生に及ぼす影響では、中用量及び高用量群で黄体数及び着床数の減少が認められ、未着床率の増加も認められた。更に、高用量群では生存胚が認められず、中用量群では死亡胚率の増加及び生存胚数の減少が認められた。

以上、E₂ + NETA混合液の妊娠初期投与では、母動物に及ぼす影響として体重及び摂餌量の減少並びに不妊が認められ、初期胚の発生に及ぼす影響では黄体数と着床数の減少、未着床率と死亡胚率の増加及び生存胚数の減少が認められた。したがって、母動物及び初期胚の発生に及ぼす影響に関する無毒性量は、共にE₂: 0.2 + NETA: 0.4 µg/kg/dayと考えられた。なお、これらの毒性変化はNETA単独群では認められず、いずれもE₂投与に起因したものと考えられた。なお、着床阻害についてはNETAの併用投与により軽減される傾向が見られた。

（２） ラット胚・胎児発生への影響に関する試験

１） ラット皮下投与による胚・胎児発生への影響に関する予備試験（試験番号：P031106）

4.2.3.5.2-1

12週齢以上で交配させたSD系ラットを用い、各群雌8匹にE₂ + NETA混合液を表2.6.6-15に示す用量で妊娠6～17日まで皮下投与し、妊娠20日に帝王切開して胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した。また、E₂又はNETAの影響を把握するため、E₂ + NETA混合液の最高用量に相当する用量を単独で投与する群（各単独群）を設定した。

表 2.6.6-15. ラット皮下投与による胚・胎児発生予備試験における投与量

試験群構成		E ₂ (µg/kg/day)	NETA (µg/kg/day)
併用 投与	最低用量	0.2	0.4
	低用量	1	2
	中用量	5	10
	高用量	25	50
	最高用量	125	250
単独 投与	E ₂ 単独	125	-
	NETA 単独	-	250

母動物に及ぼす影響については、各群で死亡はなかったが、最高用量及びE₂単独群で妊娠中期～末期に膣からの出血が認められた。また、高用量、最高用量及びE₂単独群では体重の増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。剖検では、被験物質投与による影響は認められなかったが、最高用量及びE₂単独群における総胎児死亡率がそれぞれ100%及び97.98%を示し、ほとんど生存胎児を得ることができなかった。更に、最高用量群では黄体数及び着床数の減少が認められ、E₂単独群では着床数の減少及び未着床率の増加が認められた。

以上、E₂ + NETA混合液の高用量及び最高用量群並びにE₂単独群で体重及び摂餌量の減少が認められ、最高用量及びE₂単独群で膣からの出血、胎児の死亡及び着床数の減少が認められた。

2) ラットの皮下投与による胚・胎児発生への影響に関する試験 (試験番号: P040024)

4.2.3.5.2-2

12週齢以上で交配させたSD系ラットを用い、各群雌20匹にE₂ + NETA混合液を妊娠6～17日まで皮下投与し、妊娠20日に帝王切開して胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した。投与用量は、胚・胎児発生への影響に関する予備試験 (試験番号: P031106; 4.2.3.5.2-1) の結果から、表2.6.6-16の用量を設定した。E₂又はNETAの影響を把握するため、E₂ + NETA混合液の高用量に相当する用量を単独で投与する群 (各単独群) を設定した。

表 2.6.6-16. ラット皮下投与による胚・胎児発生試験における投与量

試験群構成		E ₂ ($\mu\text{g/kg/day}$)	NETA ($\mu\text{g/kg/day}$)
併用 投与	低用量	12.5	25
	中用量	25	50
	高用量	50	100
単独 投与	E ₂ 単独	50	-
	NETA 単独	-	100

母動物に及ぼす影響については、各群で死亡はなかったが、中用量、高用量及びE₂単独群で妊娠中期～末期に腔からの出血、体重の増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。剖検では、各群とも被験物質投与による異常は認められなかった。胚・胎児の発生に及ぼす影響では、中用量群の2例、高用量群の15例及びE₂単独群の17例で全胚吸収が認められ、高用量及びE₂単独群で総胎児死亡率の増加、生存胎児数の減少、着床数の減少及び未着床率の増加が認められた。黄体数、生存胎児の性比及び体重並びに胎盤の肉眼的観察では、被験物質投与による影響は認められなかった。胎児の形態学的検査では、被験物質投与による異常又は変異は見られず、椎骨、胸骨及び指趾骨の化骨進行度にも被験物質投与による影響は認められなかった。

E₂ + NETA混合液を投与した各群の血漿中E₂、NET及びNETA濃度のC_{max}及びAUC_{0-t(last)}は、用量依存的に上昇した。また、最終投与時におけるC_{max}及びAUC_{0-t(last)}は、各群共に初回投与時と比較して著しく変動することはなかった。なお、初回投与時及び最終投与時における各群の血漿中濃度は、E₂では投与後24時間までに、NET及びNETAでは投与後8時間までに、それぞれ速やかに消失する傾向が認められた。

以上、被験物質投与による催奇形作用は認められなかった。E₂ + NETA混合液の中用量以上の投与群並びにE₂単独群では、腔からの出血、体重の増加抑制、摂餌量の減少及び全胚吸収が認められ、高用量群とE₂単独群では、総胎児死亡率の増加、生存胎児数の減少、着床数の減少及び未着床率の増加が認められた。これらの毒性変化は、NETA単独群では認められず、いずれもE₂投与に起因した変化と考えられた。母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響に関する無毒性量はいずれもE₂: 12.5 + NETA: 25 $\mu\text{g/kg/day}$ であった。

(3) ウサギ胚・胎児発生への影響に関する試験

1) ウサギ皮下投与による胚・胎児発生への影響に関する予備試験 (試験番号: P031107)

4.2.3.5.2-3

5 箇月齢以上で交配させた NZW ウサギを用い、各群雌 7 匹に表 2.6.6-17 に示す用量で妊娠 6 ~ 18 日まで皮下投与し、妊娠 29 日に帝王切開して胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した。

表 2.6.6-17. ウサギ皮下投与による胚・胎児発生予備試験における投与量

試験群構成		E ₂ ($\mu\text{g/kg/day}$)	NETA ($\mu\text{g/kg/day}$)
併用 投与	低用量	0.2	0.4
	中用量	1	2
	高用量	5	10

また、RPR106522 をウサギに貼付したときの曝露量が把握されていないため、卵巣摘出 NZW ウサギの雌 3 匹に RPR106522 を $4.5 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E₂: 0.31 + NETA: 1.35 mg/head) の用量で貼付し、また、雌 2 匹に E₂ + NETA 混合液を E₂: 50 + NETA: 100 $\mu\text{g/kg/day}$ 及び E₂: 150 + NETA: 300 $\mu\text{g/kg/day}$ の用量で皮下投与し、各血漿中濃度の推移から製剤代替投与 (皮下投与) の妥当性を予備的に検討した。

母動物に及ぼす影響については、各群で死亡はなく、一般状態にも変化は認められなかった。中用量及び高用量群では体重及び摂餌量の減少あるいは減少傾向が認められた。剖検では各群とも異常は認められなかった。胚・胎児発生に及ぼす影響では、中用量群の 3 例及び高用量群の全例で全胚吸収が認められ、総胎児死亡率 (主に早期吸収胚率) の増加及び生存胎児数の減少が認められた。低用量群では、胚・胎児発生に及ぼす影響は認められなかった。

製剤代替投与の妥当性の検討では、E₂ + NETA 混合液の E₂: 50 + NETA: 100 $\mu\text{g/kg/day}$ 及び E₂: 150 + NETA: 300 $\mu\text{g/kg/day}$ 群で血漿中 E₂ 及び NET 濃度が用量依存的に上昇した。NETA は、E₂: 150 + NETA: 300 $\mu\text{g/kg/day}$ 群で投与後 1 時間及び 2 時間でわずかに認められるのみであった。一方、卵巣摘出したウサギに RPR106522 を $4.5 \text{ cm}^2/\text{head}$ の用量で貼付した結果、血漿中 NETA 濃度は定量下限未満であったが、血漿中 NET 濃度は投与後 8 時間まで上昇し、以降はほぼ一定の濃度で推移した。血漿中 E₂ 濃度も投与後 4 時間まで上昇し、以降はほぼ一定濃度で推移した。RPR106522 を $4.5 \text{ cm}^2/\text{head}$ の用量でウサギに貼付したときの曝露量に相当する E₂ + NETA 混合液の E₂: NETA 比は、約 1 : 7.5 と算出された。

以上、E₂ + NETA 混合液の中用量及び高用量群で体重及び摂餌量の減少並びに胚致死が認められた。一方、製剤代替投与の妥当性を検討した結果、RPR106522 を貼付したときの曝露量に相当する E₂ + NETA 混合液の比はラットで確認された 1 : 2 とは異なり、1 : 7.5 であった。これらの成績から、ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する試験では、代替投与経路である E₂ + NETA 混合液による皮下投与で検討を進めるのではなく、RPR106522 を貼付して実施するのが望ましいと考えられた。

2) ウサギ経皮投与による胚・胎児発生への影響に関する予備試験 (試験番号: P040025)

4.2.3.5.2-4

5 箇月齢以上で交配させた NZW ウサギを用い、各群雌 8 匹に RPR106522 を表 2.6.6-18 に示す用量で 3 日に 1 回の頻度で更新しながら妊娠 6～18 日に反復貼付し、妊娠 29 日に帝王切開して胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した。

表 2.6.6-18. ウサギ経皮投与による胚・胎児発生予備試験における投与量

被験物質	群	貼付面積 (cm ² /head)	E ₂ 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	低用量	0.5625	0.039	0.169
	中用量	2.25	0.155	0.675
	高用量	9.0	0.62	2.7

母動物に及ぼす影響については、各群で死亡はなく、一般状態にも変化は認められなかったが、各用量群で体重の減少傾向及び摂餌量の減少傾向 (妊娠 9～12 日) 又は増加傾向 (妊娠末期) が認められた。剖検では、各群とも異常は見られなかった。胚・胎児発生に及ぼす影響では、各群の全例で全胚吸収、総胎児死亡率の増加及び生存胎児数の減少が認められた。黄体数、着床数及び未着床率には被験物質投与による影響は見られなかった。なお、全例で生存胎児を得ることができなかったため、胎児の性比、体重、胎盤の肉眼的観察及び外表検査については実施することができなかった。

TK 試験の結果、RPR106522 の用量依存的に血漿中 E₂ 濃度の上昇が認められた。また、投与後 72 時間には低下が見られるものの、各群とも血漿中 E₂ 濃度の持続的な曝露が確認された。血漿中 NETA 濃度は、いずれの群においても定量下限未満であった。血漿中 NET 濃度については、中用量及び高用量群で用量依存的な上昇が認められた。また、投与後 72 時間にはやや減少するものの、中用量及び高用量群とも血漿中 NET 濃度の持続的な曝露が確認された。なお、低用量群の血漿中 NET 濃度は、ほとんどの採血時点で定量下限未満か定量下限値をわずかに上回る程度であった。

以上、RPR106522 各用量群で体重減少、摂餌量の減少又は増加傾向、全胚吸収が認められ、生存胎児を得ることができなかった。

なお、RPR106522 9 cm² 製剤のヒトでの放出量 (50 µg/day) をもとにウサギの皮下投与量を換算すると E₂: 14.85 µg/kg/day に相当する。本試験で卵巣摘出ウサギに RPR106522 の 9 cm²/head を貼付したときの平均血漿中濃度 (C_{ave}) が 468 pg/mL であり、ウサギ皮下投与による胚・胎児発生予備試験 (試験番号: P031107; 4.2.3.5.2-3) において E₂ + NETA 混合液を E₂: 50 + NETA: 100 µg/kg/day で皮下投与したときの C_{ave} は 368 pg/mL であったことから、経皮投与は皮下投与と比較して約 4 倍高い E₂ 曝露が得られると推察された。したがって、ウサギに RPR106522 を貼付して胚・胎児発生への影響を検討する場合は、皮下投与による予備試験 (試験番号: P031107; 4.2.3.5.2-3) で異常が認められなかった E₂ の 0.2 µg/kg/day にほぼ相当する製剤の大きさであり、かつ、技術的に切断可能な最低量である 0.04 cm²/head (E₂: 0.00276 + NETA: 0.012 mg/head) を低

用量に設定し、RPR106522 貼付による予備試験で全胚吸収が認められた $0.56 \text{ cm}^2/\text{head}$ の約 $1/3$ 用量に相当する $0.18 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $0.0124 + \text{NETA}$: 0.054 mg/head) を高用量に設定するのが妥当と考えられた。

3) ウサギ経皮投与による胚・胎児発生への影響に関する試験 (試験番号: P040262)

4.2.3.5.2-5

約 5 箇月齢で交配させた NZW ウサギを用い、各群雌 20 匹に RPR106522 を 3 日に 1 回の頻度で更新しながら妊娠 6～18 日に反復貼付し、妊娠 29 日に帝王切開して胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。投与用量は、E₂ + NETA 混合液の皮下投与による予備試験 (試験番号: P031107; 4.2.3.5.2-3) 及び RPR106522 貼付による予備試験 (試験番号: P040025; 4.2.3.5.2-4) の結果から表 2.6.6-19 に示す用量を設定した。

表 2.6.6-19. ウサギ経皮投与による胚・胎児発生試験における投与量

被験物質	群	貼付面積 (cm ² /head)	E ₂ 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
RPR106522	低用量	0.04	0.00276	0.012
	中用量	0.09	0.0062	0.027
	高用量	0.18	0.0124	0.054

母動物に及ぼす影響については、各群で被験物質投与による死亡はなかったが、中用量及び高用量群で妊娠中期～末期に膣からの出血が認められ、高用量群の 1 例が妊娠 21 日に多量の出血と共に胎盤を娩出したため流産と判断した。中用量群では妊娠 21 日には摂餌量の減少が見られ、高用量群では妊娠中期～末期に摂餌量並びに体重の減少が認められた。剖検では、被験物質投与による影響は認められなかった。

胚・胎児の発生に及ぼす影響では、中用量及び高用量群で全胚吸収がそれぞれ 4 例及び 15 例認められ、これらの群では総胎児死亡率及び早期吸収胚率の増加、生存胎児数の減少、未着床率の増加が認められた。黄体数、着床数、後期吸収胚率、死亡胎児率、性比及び生存胎児体重には被験物質投与による影響は見られず、胎盤異常も認められなかった。また、胎児に被験物質投与による形態学的異常又は変異は見られず、椎骨、胸骨及び指趾骨の化骨進行度にも被験物質投与による影響は認められなかった。

血漿中 E₂ 濃度は、低用量群では初回貼付後 6 時間と最終貼付後 24 時間にはわずかに認められたが、その他の測定時点では定量下限未満であった。中用量及び高用量群では、初回貼付時にはおおむね用量依存的に上昇したが、最終貼付後 6～96 時間には定量下限未満又は定量下限値をわずかに上回る濃度で推移した。そのため、中用量及び高用量群では、C_{max}、AUC_{0-t(last)} 及び C_{ave} はほぼ同等の値を示した。血漿中 NET 及び NETA 濃度については、初回貼付時及び最終貼付時のいずれの採血時点においても、定量下限未満であった。

以上、RPR106522 による催奇形作用は認められなかった。RPR106522 の中用量以上の投与群で膣からの出血、体重の減少、摂餌量の減少、全胚吸収、総胎児死亡率及び早期吸収胚率の増加、生存胎児数の減少、未着床率の増加あるいは増加傾向が認められ、母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響に関する無毒性量はいずれも 0.04 cm²/head (E₂: 0.00276 + NETA: 0.012 mg/head) であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

(1) ウサギ皮膚一次刺激性試験 (試験番号: P020546) 4.2.3.6-1

4 箇月齢の NZW ウサギを用い、雌 6 匹の健常皮膚と損傷皮膚に RPR106522 ($9 \text{ cm}^2/\text{head}$, E_2 : $0.62 + \text{NETA}$: 2.7 mg/head) 及び対照として日本薬局方絆創膏 (9 cm^2) を 24 時間貼付し、それぞれを除去した後の皮膚反応を Draize らの基準に従って評価した。

RPR106522 の貼付部位では、製剤除去後の健常皮膚及び損傷皮膚は共にごく軽度の紅斑を示したが、製剤除去後 4 日までには全例の各貼付部位で正常に回復した。RPR106522 の一次刺激指数は 0.4 となり、「弱い刺激物」に評価された。一方、日本薬局方絆創膏では、製剤を除去した後の健常皮膚及び損傷皮膚では共に皮膚反応は認められず、同じく「弱い刺激物」に評価された。

以上、RPR106522 は「弱い刺激物」に評価された。RPR106522 は日本薬局方絆創膏よりも粘着性が強かったことから、RPR106522 に見られた皮膚反応の原因としては、製剤を除去したときの物理的な皮膚刺激による可能性が高いと推察された。

(2) ウサギ皮膚累積刺激性試験 (試験番号: P020547) 4.2.3.6-2

4 箇月齢の NZW ウサギを用い、雌 6 匹の健常皮膚と損傷皮膚に RPR106522 ($9 \text{ cm}^2/\text{head}$, E_2 : $0.62 + \text{NETA}$: 2.7 mg/head) 及び対照として日本薬局方絆創膏 (9 cm^2) を 3~4 日間隔で更新しながら同一部位に 4 週間反復貼付し、それぞれを除去した後 (更新時及び最終投与後) の皮膚反応を Draize らの基準に従って評価した。

RPR106522 の貼付部位では、初回貼付後 72 時間 (初回貼り替え時) に健常皮膚及び損傷皮膚で共にごく軽度の紅斑が認められ、平均評点はそれぞれ 0.7 及び 0.8 であった。投与 7 日以降から皮膚反応は増強し、紅斑に加えて投与 10 日以降には浮腫、投与 14 日以降には痂皮形成が認められた。健常皮膚では、皮膚反応が投与 14 日及び 17 日にピークに達し、平均評点は 4.7 であった。損傷皮膚では、皮膚反応が投与 17 日にピークに達し、平均評点は 5.0 であった。なお、皮膚反応に健常皮膚と損傷皮膚との間で差は見られなかった。貼付部位の病理組織学的検査では、扁平上皮の過形成、真皮への偽好酸球及びリンパ球の浸潤、上皮の変性又は壊死、上皮への偽好酸球の浸潤、真皮の出血及び真皮の浮腫が認められた。これらの皮膚組織の変化についても、その程度及び頻度において健常皮膚と損傷皮膚との間で差は認められなかった。

一方、日本薬局方絆創膏の貼付部位では、投与 3 日から 28 日までのいずれの観察日においても、健常皮膚及び損傷皮膚共に皮膚反応は認められなかった。

以上、RPR106522 は総平均評点が 3.5 の皮膚累積刺激性を示し、「中等度刺激物」と評価された。

(3) ウサギ耳介皮膚累積刺激性試験 (試験番号: DS92-115) 4.2.3.6-3

約6箇月齢のNZWウサギを用い、雌10匹の右耳介にRPR106522^{注1}の7.2 cm²/head (E₂: 0.115 + NETA: 1.825 mg/head)を、左耳介にはRPR106522と同面積のプラセボパッチをそれぞれ3~4日間隔で更新すると共に耳介近位部と耳介遠位部とで貼付部位を変更しながら4週間反復貼付して皮膚累積刺激性を検討した。なお、半数の動物では注射針で貼付部位を擦過し、損傷皮膚とした。

RPR106522及びプラセボパッチの各貼付部位には紅斑が認められたが、その頻度及び程度は健常皮膚と損傷皮膚で同様であった。各貼付の3日目の観察について集計すると、RPR106522では66観察中26例(39.4%)でごく軽度の紅斑が、3例(4.5%)で軽度の紅斑が認められ、プラセボパッチでは73観察中33例(45.2%)でごく軽度の紅斑が、4例(5.5%)で軽度の紅斑が認められた。また、貼付4日目について集計すると、軽度の紅斑がRPR106522では36観察中5例(13.9%)、プラセボパッチでは36観察中6例(16.7%)に認められ、それぞれ3日目の観察に比較してやや高い頻度で認められた。このように、紅斑の頻度と程度は、RPR106522とプラセボパッチでは同様に認められており、刺激がRPR106522中のE₂及びNETAによるものではないことが示唆された。紅斑の頻度及び程度は各製剤の除去によって増加し、除去後3~4時間にはRPR106522では65観察中3例(4.6%)、プラセボパッチでは65観察中4例(6.2%)で中等度の紅斑が認められた。したがって、RPR106522並びにプラセボパッチで同様に認められた皮膚刺激は、製剤を除去したときの物理的な刺激によると考えられた。紅斑は各製剤を除去した後3~4日で(次回貼付前までに)消失し、全例で浮腫は認められなかった。貼付部位の病理組織学的検査では、RPR106522及びプラセボパッチの両貼付部位で軽度~中等度の皮膚炎、表皮の肥厚及び角質層の増殖が認められた。

以上、ウサギ耳介に貼付部位を変更しながらRPR106522を4週間反復貼付したときの皮膚刺激性は、軽度~中等度であったが、プラセボパッチにも同様の皮膚刺激が認められた。当該試験で認められた皮膚刺激は紅斑のみであり、中等度の紅斑が製剤の除去後3~4時間に見られたが、製剤除去時はいずれも軽度の紅斑のみであった。したがって、これらの皮膚刺激は製剤を除去することによる物理的なものと推察された。また、これら変化は、製剤を除去した後、次回貼付(3~4日後)までに消失する可逆的な変化であった。

^{注1} 当該試験の被験物質は基剤中のアクリル樹脂の含有比率が20%(製剤処方: ■%)であり、シリコン樹脂が56~60%(製剤処方: ■~■%)であるほか、ポビドン10%(製剤処方: ■%)含有し、ブチルヒドロキシアニソールを0.1~1.0%(製剤処方: ■■■)を含有する。

2.6.6.8 その他の毒性試験

(1) 抗原性試験

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (試験番号: DS 94-081) 4.2.3.7.1-1

成熟した Hartley 系モルモット雌雄各 10 匹の背部皮膚に RPR106522 ($3.6 \text{ cm}^2/\text{head}$, E_2 : $0.252 + \text{NETA}$: $1.08 \text{ mg}/\text{head}$) ^{注2}を 0, 2, 4 及び 7 日目に 6 時間貼付 (感作) し, 4 日目には Freund の完全アジュバント (FCA) を投与した. 22 日目に RPR106522 とプラセボパッチ (3.6 cm^2) を 6 時間貼付して惹起し, 23, 24 及び 25 日目に貼付部位の皮膚反応を観察した. なお, 感作しない非感作対照群及び陽性対照の α -Hexylcinnamaldehyde を貼付して感作及び惹起する群 (各群雌雄各 5 匹) を設定した.

惹起後の観察期間中には, RPR106522 感作群で 20 例中 4 例にスコア 1 以上の反応 (軽度 ~ 中等度) が認められたが, その頻度は非感作対照群 (10 例中 2 例) と同様であり, RPR106522 には皮膚感作性は認められなかった. また, プラセボパッチについても同様に, 皮膚感作性は認められなかった. 一方, 陽性対照群では, 10 例中 7 例にスコア 1 以上の皮膚反応が認められ, 皮膚感作性が認められた.

以上, RPR106522 及びプラセボパッチに皮膚感作性は認められなかった.

2) モルモットを用いた皮膚光感作性試験 (試験番号: DS/CVRC 96-029) 4.2.3.7.1-2

4 ~ 5 週齢の Hartley 系モルモットを用い, 各群雌 12 匹の刈毛した背部に RPR106522 ($9 \text{ cm}^2/\text{head}$, E_2 : $0.62 + \text{NETA}$: $2.7 \text{ mg}/\text{head}$) 又はプラセボパッチ ($9 \text{ cm}^2/\text{head}$) を連日更新しながら 9 日間反復貼付して感作した. 光照射として紫外線 A 波 (UVA) を製剤の更新ごとに照射 ($30 \text{ J}/\text{cm}^2$) した. 最終照射の 20 日後に, モルモットの背部を刈毛して 2 箇所 of 投与部位を作製し, RPR106522 感作群には RPR106522 ($3.25 \text{ cm}^2/\text{head}$, E_2 : $0.2 + \text{NETA}$: $1.0 \text{ mg}/\text{head}$) を, プラセボパッチ感作群にはプラセボパッチ ($3.25 \text{ cm}^2/\text{head}$) をそれぞれ約 24 時間貼付し, 投与部位の 1 箇所に UVA 照射 ($10 \text{ J}/\text{cm}^2$) を行って惹起した.

いずれの群においても, 光照射による有意な皮膚反応は見られず, RPR106522 及びプラセボパッチに皮膚光感作性は認められなかった.

^{注2}当該試験の被験物質は基剤中のアクリル樹脂の含有比率が 10% (製剤処方: ■%) であり, シリコン樹脂が 61 ~ 64% (製剤処方: ■ ~ ■%) であるほか, ポビドン を 15% (製剤処方: ■%) 含有する.

（２） 不純物の毒性試験

RPR106522 を冷蔵保存した非劣化製剤と 30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤並びに 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤の毒性を「ラットにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（試験番号：DS/CVRC 96-047；4.2.3.7.6-1）」，「細菌を用いた復帰突然変異試験（試験番号：DS/CRVA 96-0168；4.2.3.7.6-2）」並びに「ラット骨髓細胞を用いた小核試験（試験番号：DS/CRVA 96-0169；4.2.3.7.6-3）」を実施して比較した．なお，30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤並びに 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤の E₂ と NETA の分解物の含有率を表 2.6.6-20 と表 2.6.6-21 にそれぞれ示した．

上記試験の結果，30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤及び 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤の毒性は，非劣化製剤の毒性と同等又はそれ以下であった．したがって，不純物を含む劣化製剤の毒性が非劣化製剤の毒性を上回ることとはなく，また，非劣化製剤の毒性以外に新たな毒性は認められなかった．

表 2.6.6-20. 劣化製剤の E₂ 分解物含有率（％）

	非劣化製剤	30℃ 5 箇月間保存	40℃ 4.5 箇月間保存
E2分解物A	ND	ND	1.00
E2分解物B	ND	ND	0.52
E2分解物C	0.18	0.67	1.35
E2分解物D	0.11	0.98	3.83
E2分解物E ^{*)}	ND	1.78	3.38
合計	0.29	3.43	10.08

ND：検出されなかった．

*) 分子量が ██████████ E₂ 由来の類縁物質

表 2.6.6-21. 劣化製剤の NETA 分解物含有率（％）

	非劣化製剤	30℃ 5 箇月間保存	40℃ 4.5 箇月間保存
NETA分解物A	0.10	1.09	2.96
NETA分解物B	ND	0.21	0.64
NETA分解物C	ND	0.26	0.57
NETA分解物D	0.44	1.69	1.98
NETA分解物E	ND	0.42	0.85
NETA分解物F	0.35	1.53	2.24
NETA分解物G	0.18	0.21	0.24
合計	1.07	5.41	9.48

ND：検出されなかった．

1) ラットにおける4週間反復経皮投与毒性試験（試験番号：DS/CVRC 96-047）

4.2.3.7.6-1

16～17週齢のCD Hairless ラットを用い、各群雌10匹の刈毛した背部皮膚に左右2箇所（貼付部位）を設け、RPR106522を冷蔵保存した非劣化製剤及び30℃で5箇月間若しくは40℃で4.5箇月間保存した劣化製剤を表2.6.6-22に示した用量で3ないし4日間隔で貼付部位を更新しながら4週間反復貼付した。

表 2.6.6-22. ラットにおける4週間反復経皮投与毒性試験における投与量

試験群構成		貼付面積 (cm ² /head)	E ₂ 含量 (mg/head)	NETA 含量 (mg/head)
無処置対照		-	-	-
偽処置対照（カラー等装着）		-	-	-
プラセボパッチ		3.25	-	-
RPR106522 （非劣化製剤）	低用量	1.29	0.09	0.39
	高用量	3.25	0.22	0.98
劣化製剤	劣化製剤 1 （30℃ / 5 箇月保存）	1.29	-	-
	劣化製剤 2 （30℃ / 5 箇月保存）	3.25	-	-
	劣化製剤 3 （40℃ / 4.5 箇月保存）	3.25	-	-

体重では、各群とも被験物質投与による影響は認められなかった。また、貼付部位における皮膚反応を含め、一般状態に被験物質投与による変化は認められなかった。

RPR106522（非劣化製剤）及び劣化製剤の各群では、血液学的検査で赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリットの減少が認められ、血液化学的検査でアルブミン、 α_1 -グロブリン、総たん白、総コレステロール及びトリグリセライドの増加などが認められた。また、膣垢検査で正常性周期の減少と第 発情間期の延長を特徴とする性周期の延長が認められた。

非劣化製剤及び劣化製剤の各群では、卵巣の重量減少（卵巣の小型化を含む）、成熟若しくは退行黄体の維持及び黄体数の減少が認められ、子宮の重量増加と内膜過形成、粘液分泌を伴う膣上皮の肥大及び乳腺の腺房上皮の過形成が認められた。更に、下垂体の重量増加を伴った肥大と前葉の過形成が非劣化製剤及び劣化製剤の各群に認められた。これら下垂体の変化は、非劣化製剤の低用量群と劣化製剤 3 群に比べて非劣化製剤の高用量群と劣化製剤 2 群で強かった。そのほか、胸腺の重量減少と小型化、骨形成増加と貼付部位とその近傍の皮膚で皮脂腺などの付属器の萎縮が非劣化製剤及び劣化製剤の各群に認められ、非劣化製剤及び劣化製剤共に E₂ 及び NETA の含量が低い用量群に比べ高い用量群で増加する傾向を示した。

投与 2 日目と投与 26 日目（貼付後約 24 時間）に採血して血漿中濃度を測定した結果、用量の増加に伴って E₂ 及び NET の濃度が上昇した。各群の血漿中 E₂ 濃度は、2 日目に比較して 26 日目に減少したが、血漿中 NET 濃度に同様な傾向は認められなかった。劣化製剤群の血漿中 E₂ 及び NET 濃度は、同じサイズの非劣化製剤群の血漿中濃度に比較して減少する傾向にあった。

以上、雌の CD Hairless ラットに RPR106522 の非劣化製剤を貼付した結果、主に E₂ の作用に基づく変化が認められた。劣化製剤の各群で見られた所見は、非劣化製剤の各群で見られた所見と同質のものであったが、各所見の程度は劣化製剤 3 群でわずかに減少した。劣化製剤による特異的な毒性は認められず、非劣化製剤と比較して毒性が増強することもなかった。また、非劣化製剤、劣化製剤及びプラセボパッチの各群では、反復貼付部位の皮膚に刺激性や有害な変化は認められなかった。

2) 細菌を用いた復帰突然変異試験 (試験番号: DS/CRVA 96-0168) 4.2.3.7.6-2

Salmonella typhimurium TA1535, TA1537, TA98, TA100 及び TA102 を用い、Aroclor で前処理したラット肝ホモジネート (S9 mix) を用いた代謝活性化系の存在下及び非存在下で、RPR106522 抽出物の遺伝子突然変異誘発性の有無を評価した。

RPR106522 の非劣化製剤 (26 cm², E₂: 1.84 + NETA: 7.65 mg/head) 並びに 30°C で 5 箇月間若しくは 40°C で 4.5 箇月間劣化させた製剤をジメチルスルホキシド (DMSO) 又は生理食塩液を使って抽出し、抽出液をそれぞれ DMSO 又は生理食塩液で 1~32 倍に希釈して使用した。抽出液 0.1 mL をプレート 3 枚に添加し、培養後 48 時間の復帰突然変異コロニー数を測定した。

表 2.6.6-23. 抽出原液中の E₂ 並びに NETA 含量

抽出液	被験物質	E ₂ 含量 (µg/mL)	NETA 含量 (µg/mL)
DMSO 抽出	RPR106522 (非劣化製剤)	66.4	860.8
	劣化製剤 (30°C / 5 箇月保存)	49.3	871.3
	劣化製剤 (40°C / 4.5 箇月保存)	36.3	783.3
生理食塩液抽出	RPR106522 (非劣化製剤)	1.2	4.6
	劣化製剤 (30°C / 5 箇月保存)	2.7	5.3
	劣化製剤 (40°C / 4.5 箇月保存)	4.0	6.2

その結果、抽出法、希釈、製剤の劣化・非劣化又は代謝活性化系の有無にかかわらず、復帰突然変異コロニー数は増加しなかった。

以上、RPR106522 の非劣化、劣化並びに代謝活性化系の有無にかかわらず、RPR106522 の DMSO 及び生理食塩液抽出液には遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

3) ラット骨髓細胞を用いた小核試験 (試験番号: DS/CRVA 96-0169) 4.2.3.7.6-3

7 週齢の Hairless ラットを用い、各群雌 10 匹の背部に、RPR106522 の非劣化製剤 (18 cm²/head, E₂: 1.24 + NETA: 5.40 mg/head) 又は 30°C で 5 箇月間若しくは 40°C で 4.5 箇月間保存した劣化製剤 (18 cm²/head) を 3 日間反復貼付した。陰性対照群は無処置とし、陽性対照群には cyclophosphamide 20 mg/kg を 1 回腹腔内投与した。

RPR106522 (非劣化製剤) 及び劣化製剤を 3 日間貼付した後にラットから骨髓サンプルを採取した。陽性対照群では、投与後 24 時間に骨髓サンプルを採取した。

いずれの群においても、死亡及び一般状態の変化は認められなかった。非劣化製剤及び劣化製剤群では、いずれも小核を有する多染性赤血球数の増加は認められなかった。陽性対照では小核を有する多染性赤血球数が有意に増加した。

各製剤貼付後 24 時間における血漿中 E_2 及び NET 濃度を測定した。陰性対照群とプラセボパッチ群の血漿中 E_2 及び NET 濃度は定量下限未満であったが、非劣化製剤群の血漿中 E_2 濃度は 10622 pg/mL, NET 濃度は 17660 pg/mL であり, 30°C 劣化製剤群の血漿中 E_2 濃度は 9983 pg/mL, NET 濃度は 16525 pg/mL, 40°C 劣化製剤群の血漿中 E_2 濃度は 6978 pg/mL, NET 濃度は 12245 pg/mL であった。

以上, RPR106522 の非劣化製剤及び劣化製剤は, いずれも Hairless ラットの骨髓に小核誘発能を示さなかった。

(3) ウサギを用いた光毒性試験 (試験番号: DS/CVRC 96-030) 4.2.3.7.7-1

15 週齢の NZW ウサギを用い、雌 6 匹の刈毛した背部に左右を 1 組として 4 組、計 8 箇所の投与部位を設け、一組に RPR106522 ($9 \text{ cm}^2/\text{head}$, E_2 : $0.62 + \text{NETA}$: $2.7 \text{ mg}/\text{head}$) を、もう一組にはプラセボパッチ ($9 \text{ cm}^2/\text{head}$) を貼付した。更に、もう一組に陽性対照物質を塗布し、残りの一組を無処置とした。RPR106522 及びプラセボパッチは 24 時間貼付し、陽性対照物質の 8-Methoxypsoralen は RPR106522 除去の 15 分前に塗布した。RPR106522 除去後に投与部位の右側を遮光し、UVA (320 nm 以上) を 60 分間照射し、照射終了後 24, 48, 72, 96 時間に皮膚の状態を観察した。

RPR106522 及びプラセボパッチの貼付部位には、いずれも紅斑及び浮腫が認められず、光毒性は認められなかった。

(4) 添加物の毒性試験

1) まとめ

新規添加物であるアクリル樹脂については、製造元 () で実施したラット単回経口投与毒性試験、ウサギ単回経皮投与毒性試験、ラット4週間反復経皮投与毒性試験、復帰突然変異試験、*in vitro* 並びに *in vivo* の染色体異常試験、ウサギ皮膚刺激性試験及びモルモット皮膚感作性試験の成績並びに追加実施したラットを用いた小核試験及びウサギを用いた皮膚累積刺激性試験の成績をまとめた。また、ヒトの皮膚に適用して障害の評価を行った試験の報告書についても併せてまとめた。

表 2.6.6-24. 新規添加物の毒性試験プログラム

試験の種類及び期間等		動物種等	投与経路	試験番号	CTD番号	GLP適用
単回投与毒性試験		SD系ラット	経口	4835-83	4.2.3.7.7-2	非適
		NZWウサギ	経皮	4836-83	4.2.3.7.7-3	非適
4週間反復投与毒性試験		SD系ラット	経皮	87128	4.2.3.7.7-4	非適
遺伝毒性試験	復帰突然変異試験	<i>S.typhimurium</i>	<i>in vitro</i>	SR-87-250	4.2.3.7.7-5	非適
	染色体異常試験	チャイニーズハムスターの卵巣細胞	<i>in vitro</i>	SR-87-251	4.2.3.7.7-6	非適
		ラット	経口	PH315-MO-003-88	4.2.3.7.7-7	非適
	小核試験	ラット	腹腔内	FU07339	4.2.3.7.7-8	適
局所刺激性試験	皮膚一次刺激性試験	NZWウサギ	経皮	4838-83	4.2.3.7.7-9	非適
	皮膚累積刺激性試験	NZWウサギ	経皮	P070891	4.2.3.7.7-10	適
	ヒト皮膚障害の評価	ヒト	経皮	3324	4.2.3.7.7-11	非適
	ヒト皮膚障害の評価	ヒト	経皮	3315	4.2.3.7.7-12	非適
抗原性試験	皮膚感作性試験	Hartley系モルモット	経皮	4448-87	4.2.3.7.7-13	非適

上記試験のうち、ラット単回経口投与毒性試験、ウサギ単回経皮投与毒性試験及びウサギ皮膚刺激性試験については、報告書中に GLP で実施した旨の陳述及び署名がないため GLP 非適用試験とした。また、ラット4週間反復経皮投与毒性試験、復帰突然変異試験、染色体異常試験及びモルモット皮膚感作性試験については、GLP に準拠して実施した旨が報告書中に記載されているが、19 年～19 年に実施された試験であるため、GLP 非適用試験とした。ただし、これらの試験は、いずれも試験実施施設の信頼性保証部門がデータの信頼性を確認しており、試験データの信頼性は確保されていると判断した。なお、アクリル樹脂の毒性試験として追加実施したラットを用いた小核試験とウサギを用いた皮膚累積刺激性試験については、GLP 適用試験として実施した。

ラット及びウサギの単回投与毒性試験では、5000 mg/kg を単回経口投与及び経皮投与（塗布）したが、いずれも死亡は認められなかった。ラットでは、投与の初期に活動性低下などの一般状態の変化が認められ、投与7日には摂餌量減少なども散発的に認められたが、投与後8～14日には回復した。ウサギでは、適用部位に著しい皮膚反応（壊死の後に痂皮形成、裂傷、痂皮の剥

離），一部の動物に鼻汁などが認められたが，ほとんどの動物で全身性の変化は認められなかった．

ラット 4 週間反復経皮投与毒性試験では，一般状態，体重，摂餌量及び器官重量に被験物質投与による影響は認められなかった．各用量群で適用部位における痂皮形成や皮膚刺激による病理組織学的変化並びに皮膚傷害に伴う二次的な変化が認められたが，そのほかに全身性の毒性を示す所見は認められず，全身性毒性に関する無影響量は，1000 mg/kg/day であった．

復帰突然変異試験では，代謝活性化系の有無にかかわらず遺伝子突然変異誘発性は認められなかった．チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた染色体異常試験（*in vitro*）では，代謝活性化系の存在下で染色体異常は認められなかったが，代謝活性化系の非存在下では構造異常を有する細胞の割合と構造異常の頻度に軽度な増加が認められた．したがって，アクリル樹脂は代謝活性化系の非存在下で染色体異常を示したが，それは 2500 及び 5000 µg/mL という高濃度曝露条件下における影響であった．また，ラットに 5000 mg/kg を単回経口投与しても骨髓細胞に染色体異常は誘発されず，ラットに 2000 mg/kg までを 2 回腹腔内投与しても骨髓細胞に小核の誘発は認められなかった．

ウサギ皮膚一次刺激性試験では，軽度から高度の刺激が認められ，24 時間適用した場合の一次刺激性指数は 4.9 であった．ヒトの背部皮膚に適用した場合は，感作時に 14/54 例で炎症性変化が認められ，惹起時には 2/54 例でごく軽度な紅斑が，2/54 例で紅斑や硬化といったアレルギー性接触皮膚炎が認められた．しかし，溶媒を除去したアクリル樹脂をウサギの皮膚やヒトの皮膚に反復貼付しても，問題となる刺激は認められなかった．モルモット皮膚感作性試験では，皮膚感作性は認められなかった．

なお，反復投与毒性試験と生殖発生毒性試験については，アクリル樹脂を含む製剤である RPR106522 の毒性試験として，ラット 4 週間反復経皮投与及び経口投与毒性試験（試験番号：DS/CVRC 96-009；4.2.3.2-1），卵巣摘出サル 4 週間反復経皮投与毒性試験（試験番号：B031222；4.2.3.2-4），卵巣摘出サル 39 週間反復経皮投与毒性試験（試験番号：B040481；4.2.3.2-5）及びウサギ胚・胎児発生への影響に関する試験（試験番号：P040262；4.2.3.5.2-5）を実施しており，アクリル樹脂を含めた安全性が評価されていると考え，新たに試験を実施しなかった．

2) ラットを用いた単回経口投与毒性試験（試験番号：4835-83） 4.2.3.7.7-2

9～12 週齢の SD 系ラットを用い，各群雌雄 5 匹にアクリル樹脂を 5000 mg/kg の用量で単回経口投与し，14 日間観察した．

観察期間中に死亡は認められなかった．投与当日には鼻や口腔からの排泄物，湿性ラッセル音，活動性低下が認められ，投与後 7 日までは摂餌量減少や投与当日と同様な一般状態の変化が散発的に認められた．投与後 8～14 日には，全例で異常は認められなかった．剖検時の肉眼的観察では，アクリル樹脂投与による影響は認められなかった．

以上、ラットにアクリル樹脂を 5000 mg/kg の用量で単回経口投与したが、死亡は認められず、概略の致死量を求めることができなかった。

3) ウサギを用いた単回経皮投与毒性試験 (試験番号: 4836-83) 4.2.3.7.7-3

8 週齢以上の NZW ウサギを用い、各群雌雄 5 匹の刈毛した背部 (体表面積の 10% 以上) にアクリル樹脂を 5000 mg/kg の用量で均一に塗布して 24 時間適用し、適用期間を含めて 14 日間観察した。

観察期間中に死亡は認められなかった。適用部位に著しい皮膚反応 (壊死の後に痂皮形成、裂傷、痂皮の剥離) が認められた。一部の動物に鼻汁や糞の着色が見られたが、ほとんどの動物では全身性の症状変化は認められなかった。肉眼的観察でも皮膚の損傷が確認されたが、そのほかにはアクリル樹脂投与による影響は認められなかった。

以上、ウサギにアクリル樹脂を単回経皮投与したときの概略の致死量は、5000 mg/kg を超える量であった。

4) ラットを用いた 4 週間反復経皮投与毒性試験 (試験番号: 87128) 4.2.3.7.7-4

約 8 週齢の SD 系ラットを用い、各群雌雄 10 匹の背部 (約 25 cm² の刈毛した部位) にアクリル樹脂を 0, 250, 750 及び 1000 mg/kg/day の用量で、週 5 日の頻度で 4 週間反復経皮投与した。

一般状態 (適用部位以外)、体重、摂餌量及び器官重量については、アクリル樹脂投与による影響は認められなかった。雌雄とも各用量群で適用部位に痂皮形成や皮膚刺激による病理組織学的変化 (棘細胞症、皮膚の炎症、角化 / 錯角化、皮膚の線維化、潰瘍 / 糜爛、小胞 / 膿疱、表皮剥離 (雌のみ) 及び表皮表面における壊死性の炎症細胞残屑) が認められた。また、これら皮膚傷害による二次的な変化として、肘リンパ節におけるリンパ系細胞や免疫芽細胞又は形質細胞の過形成、白血球数の増加 (好中球やリンパ球の増加による) 及び血清グロブリンの増加が見られたが、そのほかに全身性の毒性を示す所見は認められなかった。したがって、全身性毒性に関する無影響量は、1000 mg/kg/day と考えられた。

5) 細菌を用いた復帰突然変異試験 (試験番号: SR-87-250) 4.2.3.7.7-5

Salmonella typhimurium TA1535, TA1537, TA1538, TA98 及び TA100 を用い、アクリル樹脂の突然変異誘発性をプレインキュベーション法により評価した。

その結果、代謝活性化系の有無にかかわらず、復帰突然変異コロニー数は増加しなかった。したがって、本試験の条件下では、アクリル樹脂の遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

6) チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験 (試験番号: SR-87-251)

4.2.3.7.7-6

チャイニーズハムスターの卵巣細胞 (CHO) に, S9 mix を用いた代謝活性化系の存在下又は非存在下でアクリル樹脂を 1250, 2500 及び 5000 µg/mL の濃度で曝露し, 処置開始後 8~10 時間に細胞を採取し, 鏡検して分裂指数や染色体異常を評価した。

代謝活性化系の非存在下では, 2500 及び 5000 µg/mL 群で構造異常を有する細胞の割合と構造異常の軽度な頻度増加が認められた。代謝活性化系の存在下では, 構造異常を有する細胞の割合と構造異常の頻度に有意差は認められなかった。したがって, アクリル樹脂は, 代謝活性化系の非存在下で染色体異常を誘発すると判断された。

7) ラットの骨髓細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験 (試験番号: PH 315-MO-003-88)

4.2.3.7.7-7

7週齢の SD 系ラットを用い, 各群雌雄 5 匹にアクリル樹脂を 5000 mg/kg の用量で単回経口投与し, 投与後 6, 18 及び 30 時間に各動物の両側の大腿骨骨髓細胞を採取した。陰性対照群には投与操作のみを行った。陽性対照群には cyclophosphamide 15 mg/kg を 1 回腹腔内投与し, 投与後 18 時間の骨髓細胞を用いて評価した。なお, いずれの動物も大腿骨骨髓採取の 2~3 時間前に colchicine 4 mg/kg を腹腔内に投与し, 分裂中期の骨髓細胞の染色体異常を評価した。

その結果, アクリル樹脂を 5000 mg/kg の用量で単回経口投与しても骨髓細胞に対する染色体異常誘発能は認められなかった。

8) 腹腔内投与によるラット小核試験 (試験番号: FU07339) 4.2.3.7.7-8

8週齢の SD 系雄ラット各群 6 匹に, アクリル樹脂を 500, 1000 及び 2000 mg/kg の用量で 2 日間 (2 回) 腹腔内投与した。2 回目投与の 23~24 時間後に骨髓塗抹標本を作製し, 1 個体あたり 2000 個の幼若赤血球 (PCE) における小核出現率を調べた。また, 骨髓細胞の増殖抑制の指標として全赤血球を 1 個体につき 1000 個以上観察し, その中に占める PCE の割合 (%) を求めた。

その結果, 被験物質投与群の小核出現率には有意な増加が見られず, アクリル樹脂はラット骨髓細胞染色体に異常を誘発しないと判断された。なお, 被験物質投与群の PCE (%) には有意な減少が見られ, 骨髓細胞が被験物質に適切に曝露されたことが確認された。

9) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (試験番号: 4838-83) 4.2.3.7.7-9

成熟した NZW ウサギを用い, 雄 6 匹の刈毛した背部 4 箇所にあクリル樹脂の 0.5 mL をそれぞれ塗布し, 2 箇所は半閉塞状態で 4 時間, 2 箇所は閉塞状態で 24 時間適用した。適用期間を含めて 14 日間観察し, Draize らの基準に従って評価した。

半閉塞状態で 4 時間適用した部位では軽度から高度の刺激が認められ, 閉塞状態で 24 時間適用した部位では中等度から高度の刺激が認められた。4 時間適用した部位では 3/6 匹に, 24 時間

適用した部位では 5/6 匹に表皮又は皮下組織における組織学的な変化が認められた．24 時間適用した場合の一次刺激性指数は，4.9 であった．

10) ウサギにおける 28 日間皮膚累積刺激性試験（試験番号：P070891）4.2.3.7.7-10

5 箇月齢の NZW ウサギを用い，雄 6 匹の背部に 2.5 × 2.5 cm の除毛した区画を 2 箇所設け，その内 1 区画には注射針で角質層に井桁状の傷をつけて損傷皮膚とした．アクリル樹脂の 0.5 mL を 2.5 × 2.5 cm のガーゼ（3 枚 1 組）に塗布し，ドラフト内（室温）で 16～17 時間放置して溶媒を除去した後に両区画へ貼付した．更に，貼付部位を約 5 × 5 cm 不織布粘着包帯で固定し，粘着性布伸縮包帯を巻いて閉塞した．3～4 日間隔で貼替えながら同一部位に合計 8 回（28 日間）貼付し，貼替え時及び最終貼付後の皮膚反応を Draize らの評価基準に従って評価した．また，皮膚反応の最終観察終了後に貼付部位の皮膚を採取し，ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した．

溶媒を除去したアクリル樹脂の貼付部位（健常皮膚及び損傷皮膚）では，観察期間を通して皮膚反応は認められず，評点の総平均値は 0 だった．また，いずれの貼付部位においても，病理組織学的変化は認められなかった．

11) ヒト皮膚障害の評価（試験番号：3324） 4.2.3.7.7-11

54 人の被験者の背部にアクリル樹脂の 0.2 mL を含ませたパッチを 24 時間 × 4 日 / 週の頻度で 3 週間適用して感作した．1 週間の休薬期間を設けた翌週には，被験者の無処置部位にパッチを 24 時間 × 4 日適用して惹起し，各惹起の 24 時間後に貼付部位を観察した．

感作期には，14 例で炎症性変化が認められた．このうちの 12 例ではごく軽度の紅斑が散発的に認められ，1 例では初回貼付の除去時にグレード 3 の反応（ある程度の硬結を伴った紅斑，丘疹は明確でない）が認められた．また，1 例では第 8 回貼付の除去時にグレード 3 の反応が認められた．

惹起期には，2 例でごく軽度の紅斑が一時的に認められ，別の 2 例で紅斑と硬化といったアレルギー性接触皮膚炎が認められた．したがって，非アレルギー性の皮膚刺激については，使用条件が今回の試験方法よりも厳しくなければ，多数のヒトに許容されると解釈できる．また，アレルギー性反応については，その頻度から多くのヒトに許容できると判断された．

12) ヒト皮膚障害の評価（試験番号：3315） 4.2.3.7.7-12

215 人の被験者の背部にアクリル樹脂をテープ状にした製剤（約 1/2 インチ × 1/2 インチ）を 24，48，72 及び 96 時間貼付し，翌週及び翌々週にも同様に貼付して感作した．1 週間の休薬期間を設けた翌週に，被験者の無処置部位に同製剤を 24，48，72 及び 96 時間貼付して惹起し，製剤除去時に貼付部位を観察した．

感作期には、19 例でごく軽度な紅斑が散発的に見られ、認められた反応のほとんどは翌週中に消失した。3 例では、ごく軽度な紅斑が除去後 24 時間以上持続して認められた。

惹起期には、2 例で炎症性変化が認められたが、ごく軽度な紅斑であり、感作性としては意義がないと考えられた。したがって、非アレルギー性の皮膚刺激については、使用条件が今回の試験方法よりも厳しくなければ、多数のヒトに許容されると推察された。また、214 人の被験者に感作性が全く認められなかったことから、アレルギー性の反応については多くのヒトに許容できると判断された。

13) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (試験番号: 4448-87) 4.2.3.7.7-13

5～6 週齢の Hartley 系モルモットを用い、各群雌雄 5 匹の背部にアクリル樹脂をアセトンで 50%の濃度に希釈した液 0.3 mL を 1 週間に 1 回 6 時間の頻度で 3 回適用して感作し、最終感作の 14 日後に被験物質を無処置部位に 6 時間適用して惹起した。惹起の 24 及び 48 時間後に適用部位を観察し、評価した。

アクリル樹脂で惹起した動物では、ごく軽度な皮膚反応（かろうじて認められる発赤）が 2/9 例に認められたが、明らかな皮膚反応は認められなかった。したがって、アクリル樹脂はモルモットに皮膚感作性を示さないと結論された。

2.6.6.9 考察及び結論

単回投与毒性試験では、RPR106522 の貼付可能最大面積として、ラットでは $29 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $2.0 + \text{NETA}$: 8.8 mg/head)、ウサギでは $87 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $6.0 + \text{NETA}$: 26.4 mg/head)、サルでは $108 \text{ cm}^2/\text{head}$ (E_2 : $7.44 + \text{NETA}$: 32.4 mg/head) までの用量を単回貼付したが、死亡は認められず、概略の致死量は求められなかった。投与の初期に体重並びに血液化学的検査値の変動が見られたが、これらは観察期間中に消失する可逆的な変化であった。

ラットの反復投与毒性試験は、RPR106522 を 4 週間反復貼付する試験に加えて $E_2 + \text{NETA}$ 混合液を 4 週間及び 52 週間反復皮下投与する試験を実施した。 $E_2 + \text{NETA}$ 混合液を反復皮下投与する試験では、RPR106522 をラットに長期間反復投与（貼付）することが困難と考え、 $E_2 + \text{NETA}$ 混合液を連日皮下投与した。4 週間反復皮下投与試験では、RPR106522 を 24 時間貼付したときと $E_2 + \text{NETA}$ 混合液を単回皮下投与したときの曝露量比較（2.6.4.3(2)項参照）から、RPR106522 を反復貼付する試験の高用量群とほぼ同等の曝露が得られる皮下投与量を高用量に設定した。52 週間反復皮下投与試験では、4 週間反復皮下投与試験の結果に基づいて用量を設定した。4 週間反復投与毒性試験では、RPR106522 の貼付及び $E_2 + \text{NETA}$ 混合液の皮下投与共に、造血系への影響として赤血球数、ヘマトクリット及びヘモグロビン量の減少、血液化学的な変化として総たんぱく質、グルコース及びアルブミンの増加が認められ、生殖器系の器官・組織への影響として下垂体前葉の過形成、乳腺の発達、子宮内膜上皮の扁平上皮化生が認められたほか、肝臓の重量増加を伴う肝細胞肥大、腎臓重量の増加、胸腺の小型化を伴う胸腺の萎縮及び骨硬化が認められた。また、 $E_2 + \text{NETA}$ 混合液の皮下投与では、AST、ALT 及び総コレステロールの増加並びに腎臓の近位尿細管上皮細胞への褐色色素沈着及び糸球体への硝子滴沈着が認められた。52 週間反復皮下投与毒性試験では、4 週間反復皮下投与毒性試験と同様の体重減少、造血系への影響、血液化学的な変化、生殖器系の器官・組織への影響が認められ、肝臓の重量増加、腎臓重量の増加を伴う近位尿細管上皮への褐色色素沈着及び骨硬化が認められたほか、脳底部を圧排する下垂体前葉の腺腫又は癌あるいは乳腺腺癌に起因した死亡又は瀕死例が認められた。

これらの変化は、 E_2 の単独群でも同様に認められること、NETA の単独群ではほとんど認められないこと、 E_2 に関する報告でも同様の変化が認められること¹⁾から、 E_2 の作用に基づく変化であると考えられた。また、ラットにおける E_2 のがん原性として下垂体や乳腺の腫瘍発現率が上昇することが報告されており²⁾、ラットに NET を投与すると雄の肝臓と雌雄の乳腺で腫瘍発現率が上昇することが報告されている³⁾。したがって、ラットの 52 週間反復皮下投与毒性試験で見られたこれら発癌性変化は、主に E_2 で報告された変化と同様のものであり、 E_2 と NETA を併用したことによる新たな腫瘍性変化は観察されなかった。なお、同試験では副腎髄質細胞の巣状過形成が認められたが、プロラクチン産生腫瘍が副腎の髄質細胞の増殖性病変を発達させることが報告されていること⁴⁾から、 E_2 の下垂体に対する作用に関連した二次的な変化であると推察された。

一方、NETA 併用投与による影響としては、4 週間皮下投与の高用量群で腔の異常角化像と粘膜固有層における好酸球の軽度増加が認められたが、性周期に伴ってエストロゲン優位から黄体ホルモン優位に移行する際に通常認められる変化と同様であった。なお、52 週間反復皮下投与試験の中用量 2 群 (E_2 : $15 + \text{NETA}$: 30 µg/kg/day) では、同用量の E_2 単独群に比較して多くの例で

下垂体の血管拡張が認められた。以上，NETA 併用投与による新たな毒性は認められず， E_2 投与によって認められる毒性が NETA を併用することで増強することもほとんどなかった。また，ラットの 52 週間皮下投与で認められた E_2 投与による影響にはいずれも回復性が認められ，腫瘍を除く変化については可逆的なものであった。

なお， E_2 + NETA 混合液の 4 週間反復皮下投与毒性試験の E_2 : 150 + NETA:300 $\mu\text{g/kg/day}$ （高用量群）とほぼ同様の曝露量（ $\text{AUC}_{0-t(\text{last})}$ ）となる RPR106522 の 4 週間反復経皮投与毒性試験の 3.25 cm^2/head （ E_2 : 0.224 + NETA: 0.98 mg/head ）の毒性所見を比較したところ， E_2 + NETA 混合液の 4 週間反復皮下投与毒性試験では，AST，ALT 及び総コレステロールの増加並びに腎臓の組織学的変化が認められるなど，RPR106522 の 4 週間反復経皮投与毒性試験に比較して肝臓と腎臓に対する影響がやや強く認められた。しかしながら， E_2 + NETA 混合液の 4 週間反復皮下投与毒性試験で認められた多くの毒性所見は RPR106522 の 4 週間反復経皮投与毒性試験で認められたものと同様であり， E_2 + NETA 混合液の反復皮下投与が RPR106522 の反復貼付を代替できていると考えられた。

サルの反復投与毒性試験では，4 週間反復貼付及び 39 週間反復貼付共に，卵巢摘出対照群で認められた血液学的変化及び血液化学的变化（総コレステロール，リン脂質，アルブミン，A/G 比及びカルシウムの増加）並びに子宮の器官重量及び病理組織学的検査の変化が RPR106522 貼付群では用量依存的に軽減した。これらの軽減作用は，フェミエスト®群でも同様に認められたことから， E_2 投与による影響と考えられた。また，投与期間が 4 週間から 39 週間へと延長しても毒性が増強することはなく，回復可能な可逆的な変化であった。

一方，NETA 併用投与による影響は，サルでは子宮の組織像に認められた。すなわち，フェミエスト®を貼付したサルの子宮では卵胞期（増殖期）に類似した組織像が認められたのに対し，RPR106522 を貼付したサルの子宮では，月経期又は黄体期（4 週間反復貼付）及び妊娠期（39 週間反復貼付）に類似した組織像へと変化した。したがって，RPR106522 を貼付したサルの子宮では期待される NETA の併用効果が認められたが，そのほかに認められた毒性変化はいずれも前述のとおり E_2 投与に起因したものであり，NETA の併用投与によって新たな毒性が認められたり， E_2 の作用が増強されることはなかった。このため，RPR106522 を長期使用しても NETA を併用することによる新たな毒性は発現しないと推察された。

なお，サルの 4 週間及び 39 週間反復経皮投与毒性試験では，貼付 4 週以降に RPR106522 群で血漿中 E_2 濃度（曝露）の低下が認められた。血漿中 E_2 濃度の低下に比べ血漿中 NET 濃度の低下が小さいことから RPR106522 の貼付操作に問題があったとは考えられなかった。また，39 週間反復投与終了時のサルの皮膚を用いた皮膚透過性試験（試験番号：P050289；4.2.2.7-1，2.6.4.8.2 項参照）を実施して E_2 の曝露低下の原因を検討した結果では，皮膚透過性の低下や吸収性の低下は認められず，皮膚組織での E_2 の代謝亢進も認められなかった。これらの成績から，長期間反復貼付することで E_2 の透過性と吸収性及び貼付部位（皮膚）における代謝が亢進して曝露が低下したとは考えられなかった。一方， E_2 のみを含有するフェミエスト®群では RPR106522 群のような血漿中 E_2 濃度の低下は認められなかったため，NETA の配合が E_2 の曝露低下に関与する可能性が考えられた。しかし，サルに E_2 + NETA 混合液を 4 週間反復皮下投与（試験番号：P050288；4.2.2.2-8，2.6.4.8.3 項参照）しても E_2 と NET の血中動態に変化は認められず，NETA

配合によって皮膚以外の器官・組織（肝臓など）における代謝が亢進して E_2 の曝露低下を引き起こした可能性も考えられなかった。したがって、サルに RPR106522 を反復貼付したときに認められる E_2 の曝露低下の原因を特定できなかったが、ヒトに RPR106522 を 40 週間反復貼付しても血漿中 E_2 濃度の低下は認められておらず（2.7.2.3 項参照）、当該変化は RPR106522 を動物に反復貼付したときにのみ認められる現象であると推察された。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、投与期間を交配開始前 2 週間～交配期間（交配前投与試験）と妊娠 0～6 日（妊娠初期投与試験）に分けて検討した。交配前投与試験では母体重の減少、発情回数の減少、性周期の延長、受胎率の減少、黄体数の減少、交尾所要日数の短縮などが認められ、妊娠初期投与試験では母体重と摂餌量の減少、黄体数と着床数の減少、未着床率の増加、死亡胚率の増加及び生存胚数の減少も認められた。したがって、妊娠前あるいは妊娠初期の婦人に本剤を適用した場合、母体重の減少、性周期への影響、不妊及び流産などになる可能性が考えられた。しかし、交配前投与による E_2 の影響には回復性が認められていることから、妊娠前の適用により変化が認められた場合でも休薬することによって回復可能であると推察された。なお、 E_2 単独群にも同様に認められたこと、エストロゲンの生殖発生毒性として着床阻害作用や胎児の致死作用が報告されていること⁵⁾から、いずれの変化も E_2 投与による影響であると考えられた。

胚・胎児発生への影響に関する試験では、ラットの妊娠 6～17 日に E_2 + NETA 混合液を皮下投与し、ウサギでは妊娠 6～18 日に RPR106522 を貼付した。その結果、各試験では膣からの出血、体重の増加抑制、摂餌量の減少、全胚吸収、総胎児死亡率の増加、生存胎児数の減少、着床数の減少及び未着床率の増加などが認められたものの、被験物質投与による催奇形作用は認められなかった。したがって、RPR106522 が誤って妊婦に適用された場合に催奇形作用が認められる可能性は極めて少ないと推察されるが、NETA の生殖発生に及ぼす影響として骨格異常、水頭症、内反足などの発現が知られている⁶⁾ことから、妊婦への適用を避ける必要があると考えられた。

皮膚一次刺激性試験では、ウサギで健常皮膚及び損傷皮膚共に弱い刺激性が認められた。皮膚累積刺激性試験では、同一部位に 4 週間反復貼付した場合には紅斑、浮腫及び痂皮が認められ、中等度の刺激性を示した。しかし、耳介の貼付部位を変更しながら 4 週間貼付した試験における刺激性は軽度～中等度（可逆性）であり、認められた刺激も紅斑のみであった。したがって、貼付部位を変更しながら使用することによって RPR106522 の刺激を弱い刺激性に抑えることができると推察された。なお、サルを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験で貼付部位を変更しながら反復投与した結果では、皮膚に痂皮形成以外の著変は認められなかったことから貼付部位の変更が皮膚への刺激を弱く抑えることに有効であると考えられた。

皮膚感作性並びに皮膚光感作性は認められなかった。したがって、本剤適用による皮膚アレルギー発現の可能性は低いものと推察された。また、皮膚光毒性も認められなかったことから、臨床使用において RPR106522 を除去した皮膚に太陽光が照射されても皮膚毒性が発現することはないと推察された。

不純物の毒性試験については、冷蔵保存された RPR106522 の非劣化製剤と 30℃ で 5 箇月間保存された劣化製剤並びに 40℃ で 4.5 箇月間保存された劣化製剤の毒性を「ラットにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験」、「細菌を用いた復帰突然変異試験」並びに「ラット骨髓細胞を用いた

小核試験」を実施して比較した結果、両劣化製剤の毒性は、非劣化製剤の毒性と同等又はそれ以下であった。したがって、劣化製剤中に含まれる不純物の毒性が 非劣化製剤の毒性を上回る可能性はないと考えられた。また、不純物による新たな毒性も認められなかった。

新規添加物であるアクリル樹脂については、ラットの単回経口投与毒性試験において、活動性の低下、摂餌量減少などの可逆性の変化が見られたが、この変化は 5000 mg/kg という高い用量を投与したときに認められるものであった。ラットの 4 週間反復経皮投与毒性試験、ウサギの皮膚一次刺激性試験並びにウサギの単回経皮投与毒性試験では皮膚刺激性が認められたが、溶媒を除去したアクリル樹脂をウサギの皮膚やヒトの皮膚に反復貼付しても、問題となる刺激は認められなかった。また、皮膚感作性は、認められなかった。一方、細菌を用いた復帰突然変異試験は陰性であったが、*in vitro* の染色体異常試験では代謝活性化系の非存在下で構造異常の誘発が認められた。しかしながら、アクリル樹脂を 2500 及び 5000 µg/mL という高濃度で曝露させたときの反応であり、臨床使用において血漿中濃度が遺伝毒性を発現する濃度に到達するとは考えられなかった。また、ラットに経口投与あるいは腹腔内投与しても骨髓細胞に染色体異常あるいは小核の誘発は認められなかった。したがって、RPR106522 の臨床使用においては、アクリル樹脂による遺伝毒性が発現する可能性は極めて少ないと推察された。なお、アクリル樹脂の長期反復投与毒性試験と生殖発生毒性試験を実施しなかったが、本添加物を含む RPR106522 を使用した長期反復投与毒性試験と生殖発生毒性試験では、主薬の E₂ と NETA の作用に起因する変化以外に特記すべき所見は認められなかった。また、本添加物を含む基剤（主薬の E₂ と NETA を含まない製剤の基剤）を反復貼付したラットでは、性腺系諸器官（乳腺、子宮、卵巣、下垂体等）への影響を含め、基剤貼付による影響は認められなかった。したがって、RPR106522 を臨床使用しても、アクリル樹脂による毒性が発現することはないと考えられた。

2.6.6.10 表

本文中に示した。

2.6.6.11 参考文献

- 1) 永江 祐輔, 高橋 昌三, 高橋 宏幸, 出口 二郎, 安田 さゆり, 河原 守行 他. 17 β -Estradiol の卵巣摘出ラットを用いた 3 カ月間持続皮下投与による亜急性毒性試験. 薬理と治療. 1992;20:3899-913.
- 2) Oestradiol-17 β , Oestradiol 3-Benzoate, Oestradiol Dipropionate, Oestradiol-17 β -Valerate and Poly oestradiol Phosphate. In: IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Sex Hormones () Volume 21. IARC; 1979. p.279-326.
- 3) Norethisterone and Norethisterone Acetate. In: IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Sex Hormones () Volume 21. IARC; 1979. p.441-60.
- 4) Capen CC, DeLellis RA, Yarrington JT. Endocrine system. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, editors. Handbook of toxicologic pathology, Second edition Volume 2. Academic Press. San Diego: 2002. p.681-783.
- 5) Lehmann AD, Ptuz B, Poggel HA, Gunzel P. Experimental toxicity studies with contraceptive steroids and their relevance for human risk estimation. In: Dayan AD, Paine AJ, editors. Advances in applied toxicology. London, New York: Philadelphia; 1989. p.51-79.
- 6) Giannina T, Butler M, Popick F, Steinetz B. Comparative effects of some steroidal and nonsteroidal antifertility agents in rats and hamsters. Contraception 1971;3:347-59.

メノエイドコンピパッチ

(エストラジオール及び酢酸ノルエチステロン)

2.6.7 毒性試験概要表

あすか製薬株式会社

目次

2.6.7	毒性試験概要表.....	182
2.6.7.1	毒性試験：一覧表.....	182
2.6.7.2	トキシコキネティクス（試験の一覧）.....	186
2.6.7.3	トキシコキネティクス試験成績の一覧.....	187
2.6.7.4	毒性試験：被験物質一覧.....	191
2.6.7.5	単回投与毒性試験.....	194
2.6.7.6	反復投与毒性試験（重要な試験）.....	195
2.6.7.7	遺伝毒性試験.....	231
2.6.7.8	がん原性試験.....	231
2.6.7.9	生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）.....	232
2.6.7.10	生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（交配前 投与試験）.....	234
2.6.7.11	生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠初 期投与試験）.....	236
2.6.7.12	生殖発生毒性試験：ラットの胚・胎児発生に関する試験.....	238
2.6.7.13	生殖発生毒性試験：ウサギの胚・胎児発生に関する試験.....	242
2.6.7.14	局所刺激性試験.....	246
2.6.7.15	その他の毒性試験（抗原性試験）.....	249
2.6.7.16	その他の毒性試験（不純物の毒性試験）.....	251
2.6.7.17	その他の毒性試験（光毒性試験）.....	263
2.6.7.18	その他の毒性試験（新規添加物）.....	264

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

試験の種類	動物種/系統	投与方法 ¹⁾	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Section	Vol.
単回投与 毒性試験	SD系ラット	経皮	単回	E ₂ : 2 + NETA: 8.8 (mg/head)	適	■	DS/CVRC 96-013	4.2.3.1	1
	NZW ウサギ	経皮	単回	E ₂ : 6 + NETA: 26.4 (mg/head)	適	■	DS/CVRC 96-014	4.2.3.1	2
	カニクイザル (OVX)	経皮	単回	E ₂ : 1.86, 7.44 + NETA: 8.1, 32.4 (mg/head)	適	■	B040480	4.2.3.1	3
反復投与 毒性試験	SD系ラット	経皮及び 経口	4週間	経皮 : E ₂ : 0.028 ~ 0.224 + NETA: 0.12 ~ 0.98 (mg/head) 経口 : E ₂ : 1 + NETA: 2 (mg/kg/day)	適	■	DS/CVRC 96-009	4.2.3.2	1
	SD系ラット (OVX)	皮下	4週間	E ₂ : <u>1.5</u> ~ 150 + NETA: <u>3.0</u> ~ 300 (µg/kg/day) ¹⁾	適	■	P031194	4.2.3.2	2
	SD系ラット (OVX)	皮下	52週間	E ₂ : <u>0.6</u> ~ 75 + NETA: <u>1.2</u> ~ 150 (µg/kg/day) ²⁾	適	■	P040250	4.2.3.2	3
	カニクイザル (OVX)	経皮	4週間	E ₂ : 0.039 ~ 0.62 + NETA: 0.169 ~ 2.7 (mg/head) ³⁾	適	■	B031222	4.2.3.2	4
	カニクイザル (OVX)	経皮	39週間	E ₂ : 0.039 ~ 0.62 + NETA: 0.169 ~ 2.7 (mg/head) ⁴⁾	適	■	B040481	4.2.3.2	5
生殖発生 毒性試験	SD系ラット	皮下	交配開始前 2 週間及び交配 期間 (交尾確 認前日まで)	E ₂ : 0.2 ~ 5 + NETA: 0.4 ~ 10 (µg/kg/day)	非適	■	P031104	4.2.3.5.1	1
	SD系ラット	皮下	交配開始前 2 週間及び交配 期間 (交尾確 認前日まで)	E ₂ : 0.2 ~ 5 + NETA: 0.4 ~ 10 (µg/kg/day) ^{2) 5)}	適	■	P040022	4.2.3.5.1	2

OVX：卵巣摘出，NZW：New Zealand White，SD：Sprague Dawley，下線：無毒性量

1) 経皮投与では RPR106522 を貼付し，経口又は皮下投与では E₂ + NETA の混合液を投与した。2) E₂ と NETA の単独投与群を設定した。3) 無毒性量は，E₂: 0.155 + NETA: 0.675 mg/head であった。4) 無毒性量は，E₂: 0.155 + NETA: 0.675 mg/head であった。5) 母動物の生殖能に及ぼす影響の無毒性量は E₂: 0.2 + NETA: 0.4 µg/kg/day，初期胚発生に対する無毒性量は E₂: 5 + NETA: 10 µg/kg/day であった。

一覧表 (続き)

試験の種類	動物種/系統	投与方法 ¹⁾	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Section	Vol.
生殖発生毒性試験	SD系ラット	皮下	妊娠0～6日	E ₂ : 0.2～5 + NETA: 0.4～10 (μg/kg/day)	非適	■	P031105	4.2.3.5.1	3
	SD系ラット	皮下	妊娠0～6日	E ₂ : <u>0.2</u> ～5 + NETA: <u>0.4</u> ～10 (μg/kg/day) ²⁾	適	■	P040023	4.2.3.5.1	4
	SD系ラット	皮下	妊娠6～17日	E ₂ : 0.2～125 + NETA: 0.4～250 (μg/kg/day) ²⁾	非適	■	P031106	4.2.3.5.2	1
	SD系ラット	皮下	妊娠6～17日	E ₂ : <u>12.5</u> ～50 + NETA: <u>25</u> ～100 (μg/kg/day) ²⁾	適	■	P040024	4.2.3.5.2	2
	NZWウサギ	皮下	妊娠6～18日	E ₂ : 0.2～5 + NETA: 0.4～10 (μg/kg/day) ³⁾	非適	■	P031107	4.2.3.5.2	3
	NZWウサギ	経皮	妊娠6～18日	E ₂ : 0.039～0.62 + NETA: 0.169～2.7 (mg/head)	非適	■	P040025	4.2.3.5.2	4
	NZWウサギ	経皮	妊娠6～18日	E ₂ : <u>0.00276</u> ～0.0124 + NETA: <u>0.0124</u> ～0.054 (mg/head)	適	■	P040262	4.2.3.5.2	5
局所刺激性試験	NZWウサギ	経皮	24時間	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 (mg/head)	適	■	P020546	4.2.3.6	1
	NZWウサギ	経皮	4週間	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 (mg/head)	適	■	P020547	4.2.3.6	2
	NZWウサギ	経皮	4週間	E ₂ : 0.115 + NETA: 1.825 (mg/head)	適	■	DS92-115	4.2.3.6	3
その他の毒性試験									
抗原性試験	Hartley系モルモット	経皮	0, 2, 4及び7日目に感作し, 22日目に惹起	感作: E ₂ : 0.252 + NETA: 1.08 (mg/head) 惹起: E ₂ : 0.252 + NETA: 1.08 (mg/head)	適	■	DS 94-081	4.2.3.7.1	1
	Hartley系モルモット	経皮	毎日更新しながら9日間感作, 最終照射の20日後に惹起	感作: E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 (mg/head) 惹起: E ₂ : 0.2 + NETA: 1.0 (mg/head)	適	■	DS/CVRC 96-029	4.2.3.7.1	2

下線: 無毒性量

1) 経皮投与では RPR106522 を貼付し, 経口又は皮下投与では E₂ + NETA の混合液を投与した。2) E₂ と NETA の単独投与群を設定した。3) 卵巣摘出ウサギに RPR106522 を貼付する群並びに E₂:50 + NETA:100 μg/kg/day 及び E₂:150 + NETA: 300 μg/kg/day を皮下投与する群を設定した。

一覧表 (続き 2)

試験の種類	動物種/系統	投与方法 ¹⁾	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所 Section Vol.	
その他の毒性試験									
不純物の 毒性試験	CD Hairless ラット	経皮	4 週間	30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤と 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤	適	■	DS/CVRC 96-047	4.2.3.7.6	1
	<i>S.typhimurium</i>	<i>in vitro</i>	-	30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤と 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤か ら抽出した 1 ~ 32 倍抽出液	適	■	DS/CRVA 96-0168	4.2.3.7.6	2
	Ico:OFA-hr Hairless ラット	経皮	3 日間	30℃ で 5 箇月間保存した劣化製剤と 40℃ で 4.5 箇月間保存した劣化製剤	適	■	DS/CRVA 96-0169	4.2.3.7.6	3
光毒性試験	NZW ウサギ	経皮	24 時間	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 (mg/head)	適	■	DS/CVRC 96-030	4.2.3.7.7	1

1) 経皮投与では RPR106522 を貼付した .

■

一覧表 (続き 3)

被験物質：アクリル樹脂 (新規添加物)

試験の種類	動物種/系統	投与 方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施 施設	試験番号	記載箇所 Section Vol.	
その他の毒性試験 (新規添加物の毒性試験)									
単回投与 毒性試験	SD 系ラット	経口	単回	5000 mg/kg	非適	■■■■■■■■■■	4835-83	4.2.3.7.7	2
	NZW ウサギ	経皮	単回	5000 mg/kg	非適	■■■■■■■■■■	4836-83	4.2.3.7.7	3
反復投与 毒性試験	SD 系ラット	経皮	4 週間	250 ~ 1000 mg/kg (週 5 日投与)	非適	■■■■■■■■■■	87128	4.2.3.7.7	4
遺伝毒性 試験	<i>S.typhimurium</i>	<i>in vitro</i>	-	10 ~ 5000 µg/mL	非適	■■■■■■■■■■	SR-87-250	4.2.3.7.7	5
	チャイニーズハム スターの卵巣細胞	<i>in vitro</i>	-	1250 ~ 5000 µg/mL	非適	■■■■■■■■■■	SR-87-251	4.2.3.7.7	6
	SD 系ラット	経口	単回	5000 mg/kg	非適	■■■■■■■■■■	PH 315-MO- 003-88	4.2.3.7.7	7
	SD 系ラット	腹腔内	2 回	500 ~ 2000 mg/kg	適	■■■■■■■■■■	FU07339	4.2.3.7.7	8
皮膚一次 刺激性試験	NZW ウサギ	経皮	背部 4 箇所に各 0.5 mL を塗布し, 2 箇所は半 閉塞状態で 4 時間, 2 箇所は閉塞状態で 24 時 間適用		非適	■■■■■■■■■■	4838-83	4.2.3.7.7	9
皮膚累積 刺激性試験	NZW ウサギ	経皮	アクリル樹脂の 0.5 mL を 2.5 × 2.5 cm のガー ゼに塗布し, ドラフト内 (室温) で 16 ~ 17 時 間放置して溶媒を除去したものを動物の背部 2 箇所 (健康皮膚及び損傷皮膚) に 3 ~ 4 日間 隔で貼替えながら合計 8 回 (28 日間) 閉塞貼 付		適	■■■■■■■■■■	P070891	4.2.3.7.7	10
ヒト皮膚 刺激性試験	ヒト	経皮	0.2 mL を 24 時間 × 4 日 / 週の頻度で 3 週間感 作し, 1 週間休薬後に 24 時間 × 4 日適用して 惹起		非適	■■■■■■■■■■	3324	4.2.3.7.7	11
	ヒト	経皮	テープを 24 ~ 96 時間 × 3 週間貼付して感作 し, 1 週間休薬後に 24 ~ 96 時間貼付して惹起		非適	■■■■■■■■■■	3315	4.2.3.7.7	12
皮膚感作性 試験	Hartley 系 モルモット	経皮	50% の液 0.3 mL を 6 時間 × 3 週間適用して感 作し, 14 日後に 6 時間適用して惹起		非適	■■■■■■■■■■	4448-87	4.2.3.7.7	13

2.6.7.2 トキシコキネティクス (試験の一覧)

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

トキシコキネティクス試験の一覧表

試験の種類	試験系	投与方法	投与量	GLP 適用	試験番号	記載箇所	
						Section	Vol.
単回投与毒性試験	カニクイザル (OVX)	経皮	E ₂ : 1.86, 7.44 + NETA: 8.1, 32.4 (mg/head)	適	B040480	4.2.3.1	3
4週間反復投与毒性試験	SD系ラット (OVX)	皮下	E ₂ : 1.5 ~ 150 + NETA: 3.0 ~ 300 (µg/kg/day) ¹⁾	適	P031194	4.2.3.2	2
52週間反復投与毒性試験	SD系ラット (OVX)	皮下	E ₂ : 0.6 ~ 75 + NETA: 1.2 ~ 150 (µg/kg/day) ₁₎	適	P040250	4.2.3.2	3
4週間反復投与毒性試験	カニクイザル (OVX)	経皮	E ₂ : 0.039 ~ 0.62 + NETA: 0.169 ~ 2.7 (mg/head)	適	B031222	4.2.3.2	4
39週間反復投与毒性試験	カニクイザル (OVX)	経皮	E ₂ : 0.039 ~ 0.62 + NETA: 0.169 ~ 2.7 (mg/head)	適	B040481	4.2.3.2	5
胚・胎児発生への影響に関する試験	SD系ラット	皮下	E ₂ : 12.5 ~ 50 + NETA: 25 ~ 100 (µg/kg/day)	適	P040024	4.2.3.5.2	2
胚・胎児発生への影響に関する試験	NZW ウサギ	経皮	E ₂ : 0.00276 ~ 0.0124 + NETA: 0.012 ~ 0.054 (mg/head)	適	P040262	4.2.3.5.2	5

1) E₂ と NETA の単独投与群を設定

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：エストラジオール／酢酸ノルエチステロン

皮下投与における E₂ の AUC と C_{max}

試験系	試験の種類	投与量 (μg/kg/day)	AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)		C _{max} (pg/mL)	
			初回	最終回	初回	最終回
ラット (OVX)	4 週間反復投与毒性試験 (試験番号：P031194；4.2.3.2-2)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	146	516	141	195
		E ₂ : 15 + NETA: 30	1498	3173	559	1472
		E ₂ : 150 + NETA: 300	15003	28018	1352	5136
		E ₂ : 150 (E ₂ 単独群)	19444	27080	1989	5456
	52 週間反復投与毒性試験 (試験番号：P040250；4.2.3.2-3)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	49	382	81.1	71.4
		E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	276	546	278	164
		E ₂ : 15 + NETA: 30	1463	2298	537	852
		E ₂ : 75 + NETA: 150	9597	13797 ^{a)}	1315	1619 ^{a)}
		E ₂ : 15 (E ₂ 単独群)	1589	2258	737	600
		E ₂ : 75 (E ₂ 単独群)	7395	16102 ^{a)}	1744	2331 ^{a)}
	胚・胎児発生への影響に 関する試験 (試験番号：P040024；4.2.3.5.2-2)	E ₂ : 12.5 + NETA: 25	1352	712	756	387
		E ₂ : 25 + NETA: 50	3578	1760	1336	682
		E ₂ : 50 + NETA: 100	6724	4092	2041	933

a) 52 週間反復投与毒性試験の投与 182 日目の値

トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

被験物質：エストラジオール／酢酸ノルエチステロン

皮下投与における NETA 及び NET の AUC と C_{max}

試験系	試験の種類	投与量 (µg/kg/day)	NETA				NET			
			AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)		C _{max} (ng/mL)		AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)		C _{max} (ng/mL)	
			初回	最終回	初回	最終回	初回	最終回	初回	最終回
ラット (OVX)	4 週間反復投与毒性試験 (試験番号：P031194；4.2.3.2-2)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
		E ₂ : 15 + NETA: 30	0.449	0.561	0.700	0.834	1.83	2.86	1.18	2.05
		E ₂ : 150 + NETA: 300	5.14	14.9	1.85	7.02	22.2	27.7	3.59	10.6
		NETA: 300 (NETA 単独群)	6.12	16.5	3.08	3.42	24.9	46.0	5.38	8.63
	52 週間反復投与毒性試験 (試験番号：P040250；4.2.3.2-3)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
		E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	NC	NC	NC	NC	0.972	NC	0.868	NC
		E ₂ : 15 + NETA: 30	0.360	0.259	0.563	0.412	1.68	1.65	1.10	1.29
		E ₂ : 75 + NETA: 150	5.04	2.77 ^{a)}	2.14	1.23 ^{a)}	15.8	14.2 ^{a)}	3.68	3.70 ^{a)}
		NETA: 150 (NETA 単独群)	9.37	2.04	4.06	1.09	22.4	17.6	6.31	3.85
	胚・胎児発生への影響に 関する試験 (試験番号：P040024；4.2.3.5.2-2)	E ₂ : 12.5 + NETA: 25	0.403	NC	0.609	NC	0.735	1.77	1.23	1.38
		E ₂ : 25 + NETA: 50	1.65	0.439	1.43	0.674	5.75	3.93	3.19	3.11
		E ₂ : 50 + NETA: 100	4.62	0.641	2.53	1.21	10.7	7.33	4.98	3.91

NC：算出できず。

a) 52 週間反復投与毒性試験の投与 182 日目の値

トキシコキネティクス試験成績の一覧 (続き 2)

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

経皮投与における E₂ の AUC と C_{ave}

試験系	試験の種類	投与量 (mg/head or ヒト)	AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)		C _{ave} (pg/mL)	
			初回	最終回	初回	最終回
サル (OVX)	単回投与毒性試験 (試験番号：B040480；4.2.3.1-3)	E ₂ : 1.86 + NETA: 8.1	127807		888	
		E ₂ : 7.44+ NETA: 32.4	429649		2984	
	4 週間反復投与毒性試験 (試験番号：B031222；4.2.3.2-4)	E ₂ : 0.039 + NETA: 0.169	2979	3949	31.0	54.7
		E ₂ : 0.078 + NETA: 0.338	8745	4387	91.0	60.9
		E ₂ : 0.155 + NETA: 0.675	13902	5748	145	79.8
		E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	53581	7411	558	103
		E ₂ : 0.541(フェミエスト®)	3671	7030	38.2	97.5
		E ₂ : 1.083(フェミエスト®)	9794	15625	102	217
	39 週間反復投与毒性試験 (試験番号：B040481；4.2.3.2-5)	E ₂ : 0.039 + NETA: 0.169	8534	1141	89.0	15.9
		E ₂ : 0.078 + NETA: 0.338	15380	1198	160	16.6
		E ₂ : 0.155 + NETA: 0.675	27757	3280	289	45.6
		E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	68843	5034	717	69.9
		E ₂ : 0.541(フェミエスト®)	7575	5353	79.0	74.5
		E ₂ : 1.083(フェミエスト®)	12596	10317	131	143
ウサギ	胚・胎児発生への影響に 関する試験 (試験番号：P040262；4.2.3.5.2-5)	E ₂ : 0.00276 + NETA: 0.012	NC	NC	NC	NC
		E ₂ : 0.0062 + NETA: 0.027	1173	2323	16.3	24.2
		E ₂ : 0.0124 + NETA: 0.054	924	1913	12.8	19.9
ヒト	2 週間経皮投与試験 (2.5.3 (1)項参照)	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	4926	4547	68.4	47.4
		E ₂ : 0.51 + NETA: 4.8	4427	5226	61.5	54.4
		E ₂ : 0.57 + NETA: 7.8	4815	6554	66.9	68.3

ヒトの C_{ave} は初回投与は AUC_{0-t(last)/72hr} , 最終回 (4 回貼付後)投与は AUC_{0-t(last)/96hr} で算出した . NC : 算出できず .

トキシコキネティクス試験成績の一覧 (続き 3)

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

経皮投与における NET の AUC と C_{ave}

試験系	試験の種類	投与量 (mg/head or ヒト)	AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)		C _{ave} (ng/mL)	
			初回	最終回	初回	最終回
サル (OVX)	単回投与毒性試験 (試験番号：B040480；4.2.3.1-3)	E ₂ : 1.86 + NETA: 8.1	919		8.94	
		E ₂ : 7.44+ NETA: 32.4	2440		18.8	
	4週間反復投与毒性試験 (試験番号：B031222；4.2.3.2-4)	E ₂ : 0.039 + NETA: 0.169	18.3	46.2	0.385	0.693
		E ₂ : 0.078 + NETA: 0.338	66.7	85.8	0.695	1.60
		E ₂ : 0.155 + NETA: 0.675	120	127	1.29	1.76
		E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	463	430	4.83	5.98
	39週間反復投与毒性試験 (試験番号：B040481；4.2.3.2-5)	E ₂ : 0.039 + NETA: 0.169	NC	NC	NC	NC
		E ₂ : 0.078 + NETA: 0.338	117	56.8	1.21	0.789
		E ₂ : 0.155 + NETA: 0.675	199	134	2.08	1.86
		E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	503	304	5.24	4.22
ウサギ	胚・胎児発生への影響に 関する試験 (試験番号：P040262；4.2.3.5.2-5)	E ₂ : 0.00276 + NETA: 0.012	NC	NC	NC	NC
		E ₂ : 0.0062 + NETA: 0.027	NC	NC	NC	NC
		E ₂ : 0.0124 + NETA: 0.054	NC	NC	NC	NC
ヒト	2週間経皮投与試験 (2.5.3 (1)項参照)	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	44.8	57.4	0.623	0.598
		E ₂ : 0.51 + NETA: 4.8	48.9	82.9	0.680	0.863
		E ₂ : 0.57 + NETA: 7.8	183	199	2.54	2.08

上記動物(サル・ウサギ)では，NETA は検出限界以下であった．

ヒトの C_{ave} は初回投与は AUC_{0-t(last)/72hr}，最終回 (4 回貼付後)投与は AUC_{0-t(last)/96hr} で算出した．

NC：算出できず．

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

使用ロット (1) 被験物質：エストラジオール/酢酸ノルエチステロン (RPR106522 製剤を含む)

ロット番号	面積 (E ₂ ・NETA 含量)	規格設定された不純物	試験番号	試験の種類
申請規格	9 cm ² (E ₂ : 0.62 + NETA: 2.70 mg)			
921014-01 ^{**})	14.4 cm ² (E ₂ : 0.23 + NETA: 3.65 mg)	-	DS92-115 ; 4.2.3.6-3	ウサギ耳介皮膚累積刺激性試験
4E ₂ 501-A2-L1 ^{***})	3.6 cm ² (E ₂ : 0.252 + NETA: 1.08 mg)		DS 94-081 ; 4.2.3.7.1-1	モルモット皮膚感作性試験
5J0103-A1	9 cm ² (E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 mg)		DS/CVRC 96-009 ; 4.2.3.2-1	ラット 4 週間反復経皮・経口投与毒性試験
5J0103	9 cm ² (E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 mg)		DS/CVRC 96-013 ; 4.2.3.1-1 DS/CVRC 96-014 ; 4.2.3.1-2 DS/CRVA 96-0168 ; 4.2.3.7.6-2 DS/CRVA 96-0169 ; 4.2.3.7.6-3 DS/CVRC 96-029 ; 4.2.3.7.1-2 DS/CVRC 96-047 ; 4.2.3.7.6-1	ラット単回経皮投与毒性試験 ウサギ単回経皮投与毒性試験 不純物の復帰突然変異試験 不純物のラット骨髓細胞小核試験 モルモット皮膚光感作性試験 不純物のラット 4 週間反復経皮投与毒性試験

*) 被験物質 E₂ 由来の類縁物質

**) 基剤中のアクリル樹脂の含有比率が 20% (製剤処方：■%) であり，シリコン樹脂が 56～60% (製剤処方：■～■%) であるほか，ポビドン を 10% (製剤処方：■%) 含有し，ブチルヒドロキシアニソールを 0.1～1.0% (製剤処方：■) を含有する．

***) 基剤中のアクリル樹脂の含有比率が 10% (製剤処方：■%) であり，シリコン樹脂が 61～64% (製剤処方：■～■%) であるほか，ポビドン を 15% (製剤処方：■%) 含有する．

ロット番号	面積 (E ₂ ・NETA 含量)	規格設定された不純物	試験番号	試験の種類
5J2202-A1	9 cm ² (E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 mg)		DS/CVRC 96-029 ; 4.2.3.7.1-2 DS/CVRC 96-030 ; 4.2.3.7.7-1	モルモット皮膚光感作性試験 ウサギ光毒性試験
6107104	9 cm ² (E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 mg)		P031107 ; 4.2.3.5.2-3 P040025 ; 4.2.3.5.2-4 P020546 ; 4.2.3.6-1 P020547 ; 4.2.3.6-2	ウサギ胚・胎児発生予備試験 ウサギ胚・胎児発生予備試験 ウサギ皮膚一次刺激性試験 ウサギ皮膚累積刺激性試験
8388101	9 cm ² (E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 mg)		B040480 ; 4.2.3.1-3 B031222 ; 4.2.3.2-4 B040481 ; 4.2.3.2-5 P040262 ; 4.2.3.5.2-5	サル単回経皮投与毒性試験 サル 4 週間反復経皮投与毒性試験 サル 39 週間反復経皮投与毒性試験 ウサギ経皮投与生殖発生毒性試験

$$*)$$

使用ロット（2）被験物質：エストラジオール

ロット番号	純度	試験番号	試験の種類
50074-02	約 100%	DS/CVRC 96-009 ; 4.2.3.2-1	ラット 4 週間反復経皮・経口投与毒性試験
L00022690	99.5%	P031104 ; 4.2.3.5.1-1 P040022 ; 4.2.3.5.1-2 P031105 ; 4.2.3.5.1-3 P040023 ; 4.2.3.5.1-4 P031106 ; 4.2.3.5.2-1 P031107 ; 4.2.3.5.2-3 P040024 ; 4.2.3.5.2-2 P031194 ; 4.2.3.2-2 P040250 ; 4.2.3.2-3	ラット交配前投与予備試験 ラット交配前投与試験 ラット妊娠初期投与予備試験 ラット妊娠初期投与試験 ラット胚・胎児発生予備試験 ウサギ胚・胎児発生予備試験 ラット胚・胎児発生試験 ラット 4 週間反復皮下投与毒性試験 ラット 52 週間反復皮下投与毒性試験

使用ロット（3）被験物質：酢酸ノルエチステロン

ロット番号	純度	試験番号	試験の種類
40387-11	約 99.8%	DS/CVRC 96-009 ; 4.2.3.2-1	ラット 4 週間反復経皮・経口投与毒性試験
L00020825	99.8%	P031104 ; 4.2.3.5.1-1 P040022 ; 4.2.3.5.1-2 P031105 ; 4.2.3.5.1-3 P040023 ; 4.2.3.5.1-4 P031106 ; 4.2.3.5.2-1 P031107 ; 4.2.3.5.2-3 P040024 ; 4.2.3.5.2-2 P031194 ; 4.2.3.2-2 P040250 ; 4.2.3.2-3	ラット交配前投与予備試験 ラット交配前投与試験 ラット妊娠初期投与予備試験 ラット妊娠初期投与試験 ラット胚・胎児発生予備試験 ウサギ胚・胎児発生予備試験 ラット胚・胎児発生試験 ラット 4 週間反復皮下投与毒性試験 ラット 52 週間反復皮下投与毒性試験

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

単回投与毒性試験

動物種 / 系統	投与方法 (溶媒 / 投与形態)	投与量 (mg/head)	最大 非致死量 (mg/head)	概略の致死量 (mg/head)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット / Sprague Dawley	経皮投与 / 3 日間貼付	RPR106522 : E ₂ : 2 + NETA: 8.8 プラセボパッチ (基剤) NETA パッチ : NETA: 8.8	E ₂ : 2 + NETA: 8.8	E ₂ : 2 + NETA: 8.8 を超える量	性別：雌雄 一群動物数： 10 匹 (M5,F5)	観察期間中に死亡は認められなかった． 一般状態，体重及び器官・組織に変化は 認められなかった．	DS/CVRC 96-013 ; 4.2.3.1-1
ウサギ / New Zealand White	経皮投与 / 3 日間貼付	RPR106522 : E ₂ : 6 + NETA: 26.4 プラセボパッチ NETA パッチ : NETA: 26.4	E ₂ : 6 + NETA: 26.4	E ₂ : 6 + NETA: 26.4 を超える量	性別：雌雄 一群動物数： 8 匹 (M4,F4)	試験期間中に死亡は認められず，一般状態 の変化も観察されなかった．器官・組織 の変化には RPR106522 群とプラセボパ ッチ群で差は認められなかった． RPR106522 群では，投与初期にわずかな 体重減少が認められたが，8 日目以降は回 復した．製剤除去後の投与部位にわずかな 紅斑が認められたが，この変化はプラ セボパッチ群を含むすべての投与群に認 められたため，製剤の除去に伴う物理的 な刺激によるものと考えられた．	DS CVRC 96-014 ; 4.2.3.1-2
サル / カニクイ ザル	経皮投与 / 4 日間貼付	低用量 : E ₂ : 1.86 + NETA: 8.1 高用量 : E ₂ : 7.44 + NETA:32.4	E ₂ : 7.44 + NETA: 32.4	E ₂ : 7.44 + NETA: 32.4 を超える量	性別：雌 一群動物数： 2 匹 (OVX 雌)	試験期間中に死亡例は認められなかつ た．摂餌量測定及び血液化学的検査にお いて RPR106522 貼付に起因すると考えら れる毒性変化が低用量あるいは高用量群 で認められた．しかし，いずれの変化も RPR106522 除去後の観察期間中には認め られなかった．	B040480 ; 4.2.3.1-3

2.6.7.6 反復投与毒性試験 (重要な試験)

(1) 反復投与毒性試験 (DS/CVRC 96-009)

報告書の題名: 4-WEEK DERMAL TOXICITY STUDY OF RPR106522 IN RATS

被験物質: エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種/系統: ラット / HSD: Sprague Dawley

投与期間: 4 週間

試験番号: DS/CVRC 96-009

試験開始週齢: 11 ~ 12 週齢

休薬期間: 設定せず

CTD における記載箇所: 4.2.3.2-1

初回投与年月日: 19■■年■■月■■日

投与方法: 経皮及び経口投与

GLP 適用: 適

溶媒/投与形態: 経皮投与; プラセボパッチ, 経口投与; 0.5% CMC 溶液+0.5% Tween 80

特記事項: 経皮投与群と経口投与群を設定した。経皮投与群では, RPR106522, NETA のみが配合された NETA パッチ及び E₂ と NETA を含まない
プラセボパッチを貼付した。貼付箇所を 2 箇所用意し, 3 ~ 4 日間隔でパッチを更新した。RPR106522 は, 面積 0.4 cm² (E₂: 0.028 + NETA:
0.12 mg), 面積 1.29 cm² (E₂: 0.089 + NETA: 0.39 mg) と面積 3.25 cm² (E₂: 0.224 + NETA: 0.98 mg) を使用した。

経口投与群には, E₂ と NETA の混合液を経口投与した。

無毒性量: 無毒性量は求められていない。

試験番号: DS/CVRC 96-009; 4.2.3.2-1

投与経路	経皮投与							経口投与	
被験物質	プラセボ パッチ	RPR106522 (mg/head)			NETA パッチ (mg/head)			媒体	E ₂ + NETA 混合液 (mg/kg/day)
投与量	0 (対照)	E ₂ : 0.028 NETA: 0.12	E ₂ : 0.089 NETA: 0.39	E ₂ : 0.224 NETA: 0.98	NETA: 0.12	NETA: 0.39	NETA: 0.98	0 (対照)	E ₂ : 1 NETA: 2
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
特記すべき所見									
体重 (% a) ¹⁾	-	-	-	-	-	-	-	239.25 g	-4 [#]
摂餌量 (% a) ¹⁾	-	-	-	-	-	-	-	20.010 g	-11 ^{##}
一般状態	-	-	乳頭肥大 (3/10 例)	乳頭肥大 (10/10 例)	-	-	乳頭肥大 (1/10 例)	-	-
皮膚刺激性	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : 特記すべき所見なし。

1) 経皮投与群における対照 (プラセボパッチ群) と被験物質投与群間 (RPR106522 又は NETA パッチ) の比較は Dunnett 検定にて, 経口投与群の対照 (媒体群) と E₂ + NETA 投与群との比較は Student t 検定にて行った。t 検定: # p<0.05, ## p<0.01, 統計学的有意差は実測値から算出。

a) 投与終了時の値, 対照群の値は平均値, 投与群の数字は媒体対照群との差を% で示した。

試験番号：DS/CVRC 96-009；4.2.3.2-1（続き）

投与経路	経皮投与							経口投与	
被験物質	プラセボ パッチ	RPR106522 (mg/head)			NETA パッチ (mg/head)			媒体	E ₂ + NETA 混合液 (mg/kg/day)
投与量	0 (対照)	E ₂ : 0.028 NETA: 0.12	E ₂ : 0.089 NETA: 0.39	E ₂ : 0.224 NETA: 0.98	NETA: 0.12	NETA: 0.39	NETA: 0.98	0 (対照)	E ₂ : 1 NETA: 2
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-
発情周期検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査 ¹⁾									
検査動物数	F:9	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:9
赤血球数 (10 ⁶ /μL)	7.939	7.666	7.589	7.168*	7.959	7.964	7.977	8.0220	6.9155 ^{###}
ヘモグロビン量 (g/dL)	15.30	14.67	14.56	13.62*	15.10	15.26	15.25	15.470	13.188 ^{###}
ヘマトクリット (%)	45.40	44.16	43.31	40.44*	44.88	45.82	45.59	45.920	40.133 ^{###}
好中球 (%)	9.00	13.05	13.64	24.46*	9.12	11.39	10.36	-	-
リンパ球 (%)	81.74	77.85	77.57	65.07*	81.60	78.92	80.65	-	-
好酸球 (%)	-	-	-	-	-	-	-	2.6400	1.7666 [#]
好塩基球 (%)	-	-	-	-	-	-	-	0.7500	0.4888 [#]
網状赤血球 (%)	-	-	-	-	-	-	-	2.1500	3.1444 ^{##}
好中球数 (10 ³ /μL)	0.823	1.332	1.176	2.177*	0.913	1.117	1.001	-	-
リンパ球数 (10 ³ /μL)	7.552	7.783	6.429	5.801*	7.948	7.847	8.030	-	-
好酸球数 (10 ³ /μL)	-	-	-	-	-	-	-	0.286	0.1711 [#]
PT (sec)	17.41 ^{b)}	16.89	16.24 ^{*c)}	16.19*	16.84	16.97 ^{c)}	16.86	16.377 ^{c)}	18.777 ^{###}

-：特記すべき所見なし。

1) 経皮投与群における対照 (プラセボパッチ群) と被験物質投与群間 (RPR106522 又は NETA パッチ) の比較は Dunnett 検定にて，経口投与群の対照 (媒体群) と E₂ + NETA 投与群との比較は Student t 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，## p<0.01，### p<0.001，Dunnett 検定：* p<0.05。

b) 検査動物数は 8 例。

c) 検査動物数は 9 例。

試験番号：DS/CVRC 96-009；4.2.3.2-1（続き 2）

投与経路	経皮投与							経口投与	
被験物質	プラセボ パッチ	RPR106522 (mg/head)			NETA パッチ (mg/head)			媒体	E ₂ + NETA 混合液 (mg/kg/day)
投与量	0 (対照)	E ₂ : 0.028 NETA: 0.12	E ₂ : 0.089 NETA: 0.39	E ₂ : 0.224 NETA: 0.98	NETA: 0.12	NETA: 0.39	NETA: 0.98	0 (対照)	E ₂ : 1 NETA: 2
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
血液化学的検査 ¹⁾									
ALP (u/L)	84.0	70.3	63.9*	70.6	87.1	81.5	87.3	79.700	99.800 [#]
AST (u/L)	-	-	-	-	-	-	-	111.30	88.100 [#]
総ビリルビン (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	0.1600	0.2000 [#]
総コレステロール (mg/dL)	71.7	84.6	89.1*	62.9	68.0	67.5	64.1	75.200	18.400 ^{###}
グルコース (mg/dL)	91.5	92.3	93.1	106.0*	93.9	95.8	97.7	95.600	118.00 ^{###}
BUN (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	21.000	17.500 [#]
総たん白 (g/dL)	6.64	6.71	6.89	7.21*	6.45	6.55	6.44	-	-
ナトリウム (mEq/L)	146.2	145.2	144.2*	143.6*	144.9	145.8	145.4	-	-
カルシウム (mg/dL)	10.48	10.67	10.60	10.89*	10.52	10.73	10.43	-	-
アルブミン (g/dL)	3.64	3.78	3.91*	3.98*	3.57	3.64	3.49	3.6300	3.3400 ^{##}
α ₁ -グロブリン (g/dL)	1.26	1.28	1.33	1.51*	1.21	1.25	1.25	1.3100	1.8000 ^{###}
γ-グロブリン (g/dL)	-	-	-	-	-	-	-	0.2400	0.1900 [#]
尿検査 ¹⁾									
尿量 (mL)	6.1	5.3	6.9	12.1*	5.2	8.2	8.2	6.5000	22.375 [#]
ナトリウム (mEq/L)	46.2	48.7	40.8	29.5	52.0	47.2	37.6	-	-
カリウム (mEq/L)	147.6	139.4	117.5	80.6	165.3	134.6	111.8	106.10	47.000 [#]
クレアチニン (mg/dL)	83.3	80.6	65.2	46.9	95.4	73.9	62.4	76.700	36.500 ^{##}
浸透圧 (mOsm/kg)	1101.0	1120.4	938.2	657.6	1228.0	1062.9	873.4	893.00	430.50 [#]

-：特記すべき所見なし。

1) 経皮投与群における対照 (プラセボパッチ群) と被験物質投与群間 (RPR106522 又は NETA パッチ) の比較は Dunnett 検定にて，経口投与群の対照 (媒体群) と E₂ + NETA 投与群との比較は Student t 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，## p<0.01，### p<0.001，Dunnett 検定：* p<0.05。

試験番号：DS/CVRC 96-009；4.2.3.2-1（続き 3）

投与経路		経皮投与						経口投与	
被験物質		プラセボ パッチ	RPR106522 (mg/head)			NETA パッチ (mg/head)			媒体 E ₂ + NETA 混合液 (mg/kg/day)
投与量		0 (対照)	E ₂ : 0.028 NETA: 0.12	E ₂ : 0.089 NETA: 0.39	E ₂ : 0.224 NETA: 0.98	NETA: 0.12	NETA: 0.39	NETA: 0.98	0 (対照) E ₂ : 1 NETA: 2
動物数		F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
器官重量(% ^{a)} ¹⁾									
腎臓	絶対重量	1.4870 g	6	9*	9*	2	3	1	-
	相対重量 ^{d)}	0.6787	7	11*	10*	4	3	3	-
肝臓	絶対重量	5.744 g	6	5	16*	-5	-0	-4	5.4980 g
	相対重量 ^{d)}	2.616	6	7	18*	-4	0	-1	2.5560
肺/ 気管支	絶対重量	1.1980 g	6	-4	-3	-6	-6	-11*	-
	相対重量 ^{d)}	0.5465	6	-2	-2	-4	-6	-8*	-
下垂体	絶対重量	0.01320 g	26	33*	57*	-6	2	-11	0.0131 g
	相対重量 ^{d)}	0.00603	26	34*	58*	-5	2	-9	0.0061
胸腺	絶対重量	0.2180 g	-22*	-52*	-65*	3	10	7	0.2181 g
	相対重量 ^{d)}	0.0998	-22	-52*	-65*	4	10	9	0.1015
子宮	絶対重量	0.806 g	-18	-16	122*	-27	-22	-16	0.6380 g
	相対重量 ^{d)}	0.373	-18	-15	116*	-25	-22	-16	0.2967

-：特記すべき所見なし。

1) 経皮投与群における対照 (プラセボパッチ群)と被験物質投与群間 (RPR106522 又は NETA パッチ)の比較は Dunnett 検定にて、経口投与群の対照 (媒体群)と E₂ + NETA 投与群との比較は Student t 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，## p<0.01，### p<0.001，Dunnett 検定：* p<0.05。統計学的有意差は実測値から算出。

a) 対照群の値は平均値，投与群の数字は経皮投与群ではプラセボパッチ対照群，経口投与群では媒体対照群との差を%で示した。

d) 相対重量=絶対重量/最終体重×100。対照群の値は平均値，投与群の数字は経皮投与群ではプラセボパッチ対照群，経口投与群では媒体対照群との差を%で示した。

試験番号：DS/CVRC 96-009；4.2.3.2-1（続き 4）

投与経路	経皮投与							経口投与	
被験物質	プラセボ パッチ	RPR106522 (mg/head)			NETA パッチ (mg/head)			媒体	E ₂ + NETA 混合液 (mg/kg/day)
投与量	0 (対照)	E ₂ : 0.028 NETA: 0.12	E ₂ : 0.089 NETA: 0.39	E ₂ : 0.224 NETA: 0.98	NETA: 0.12	NETA: 0.39	NETA: 0.98	0 (対照)	E ₂ : 1 NETA: 2
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
剖検所見 ^{e)}									
乳腺の肥厚	0	2	2	7	0	0	0	0	0
卵巢の肥大	0	0	0	1	0	0	0	0	0
下垂体の肥大	0	0	0	1	0	0	0	0	0
子宮内腔拡張	3	1	2	7	0	1	1	1	0
胸腺の小型化	0	0	7	10	0	1	1	0	1
病理組織学的検査 ^{e)}									
大腿骨/脛骨：骨硬化									
軽微	0	0	4	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	2	10	0	0	0	0	0
胸骨：骨硬化									
軽微	0	0	0	7	0	0	0	0	0
肝臓：細胞肥大									
軽微	0	4	6	4	0	0	2	0	10
軽度	0	0	0	2	0	0	0	0	0
乳腺：小葉の過形成									
軽微	0	8	2	2	0	0	0	0	5
軽度	0	1	5	5	0	0	0	0	2
中等度	0	0	0	3	0	0	0	0	1

e) 発現例数を示した。

試験番号：DS/CVRC 96-009；4.2.3.2-1 (続き 5)

投与経路	経皮投与							経口投与	
被験物質	プラセボ パッチ	RPR106522 (mg/head)			NETA パッチ (mg/head)			媒体	E ₂ + NETA 混合液 (mg/kg/day)
投与量	0 (対照)	E ₂ : 0.028 NETA: 0.12	E ₂ : 0.089 NETA: 0.39	E ₂ : 0.224 NETA: 0.98	NETA: 0.12	NETA: 0.39	NETA: 0.98	0 (対照)	E ₂ : 1 NETA: 2
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
病理組織学的検査 ^{e)}									
卵巣：成熟黄体の維持	0	4	9	10	0	0	0	1	10
下垂体：前葉の過形成									
軽微	0	1	6	5	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	3	0	0	0	0	0
子宮：内膜過形成									
軽微	0	4	5	4	0	0	0	0	9
軽度	0	0	2	6	0	0	0	0	1
子宮：扁平上皮化生									
軽微	0	4	4	7	0	0	0	0	5
軽度	0	0	0	2	0	0	0	0	1
膣：上皮肥厚									
軽微	0	0	1	1	0	0	0	1	1
軽度	0	2	6	7	0	0	0	0	4
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1
膣：粘液分泌期									
軽微	0	3	1	1	0	0	0	1	2
軽度	0	2	5	6	0	0	0	0	3
中等度	0	0	1	2	0	0	0	0	1
胸腺：萎縮									
軽微	0	2	5	0	0	0	0	3	5
軽度	0	0	4	1	0	0	0	0	0
中等度	0	0	0	6	0	0	0	0	0

e) 発現例数を示した。

(2) 反復投与毒性試験 (P031194)

報告書の題名：酢酸ノルエチステロン及びエストラジオールの卵巣摘出ラットを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種/系統：ラット / Crj: CD (SD) IGS (雌)	投与期間：4 週間	試験番号：P031194
試験開始週齢：9 週齢	休薬期間：設定せず	CTD における記載箇所：4.2.3.2-2
初回投与年月日：20■年■月■日	投与方法：皮下投与	GLP 適用：適
	溶媒/投与形態：0.5% CMC-Na 溶液	

特記事項：被験物質を卵巣摘出動物に投与し、媒体を非卵巣摘出動物及び卵巣摘出動物に投与した。

眼科的検査は、投与前に全例について、投与 4 週目に各群 5 匹について実施した。

血漿中の E₂、NETA 及び NET の濃度測定は、E₂ + NETA 併用群と E₂ と NETA の単独投与群では 1 群 12 匹を別途設け、投与 1 及び 28 日に実施した。対照群 (非卵巣摘出及び卵巣摘出) では、1 群 4 匹を別途設け、血漿中 E₂ 濃度の測定を投与 1 及び 28 日に実施した。

血漿中濃度測定 of 採血は、対照群 (非卵巣摘出と卵巣摘出) で投与 1 日の投与前と投与 28 日の投与後 24 時間に、そのほかの群で投与 1 日の投与後 0.5, 1, 2, 4, 8 及び 24 時間と投与 28 日の投与前、投与後 0.5, 1, 2, 4, 8 及び 24 時間に実施した。

無毒性量：E₂: 1.5 + NETA: 3.0 µg/kg/day

試験番号：P031194 ; 4.2.3.2-2

被験物質 (µg/kg/day)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 150 + NETA: 300	E ₂ : 150	NETA: 300
トキシコキネティクス								
E ₂								
C _{max} (pg/mL)	初回投与	22.8 ^{a)}	NC ^{a)}	141	559	1352	1989	25.8
	最終投与	20.9 ^{b)}	NC ^{b)}	195	1472	5136	5456	20.0
AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	ND	146	1498	15003	19444	NC
	最終投与	ND	ND	516	3173	28018	27080	NC

ND：測定せず，NC：算出できず。

a) 投与開始前の値。

b) 投与後 24 時間の値。

試験番号：P031194；4.2.3.2-2（続き）

被験物質 (µg/kg/day)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 150 + NETA: 300	E ₂ : 150	NETA: 300
トキシコキネティクス NETA								
C _{max} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	NC	0.700	1.85	NC	3.08
	最終投与	ND	ND	NC	0.834	7.02	NC	3.42
AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)	初回投与	ND	ND	NC	0.449	5.14	NC	6.12
	最終投与	ND	ND	NC	0.561	14.9	NC	16.5
NET								
C _{max} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	NC	1.18	3.59	NC	5.38
	最終投与	ND	ND	NC	2.05	10.6	NC	8.63
AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)	初回投与	ND	ND	NC	1.83	22.2	NC	24.9
	最終投与	ND	ND	NC	2.86	27.7	NC	46.0
動物数		F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
特記すべき所見 死亡及び途中剖検動物数		0	0	0	0	0	0	0
体重 (% ^{c)}) ¹⁾	初回投与	236.0 g	21 ^{##}	21 ^{**}	21 ^{**}	21 ^{**}	22 ^{##}	21 ^{##}
	最終投与	282.2 g	29 ^{##}	10 [*]	12 ^{**}	1	3	22 ^{##}
摂餌量 (% ^{c)}) ¹⁾	初回投与	21.7 g	20 ^{##}	19 ^{**}	10	10	4	12 [#]
	最終投与	20.1 g	20 [#]	3	10	7	11	17 [#]
一般状態		-	-	-	-	-	-	-
眼科的検査		-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし，ND：測定せず，NC：算出できず。

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)，E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01，統計学的有意差は実測値から算出。

c) 対照 (非卵巣摘出) は平均値を示した。投与群は対照 (非卵巣摘出) との差を% で示した。

試験番号：P031194；4.2.3.2-2 (続き 2)

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 150 + NETA: 300	E ₂ : 150	NETA: 300
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
尿検査 ¹⁾							
尿量 (mL/24hr)	7.7	12.1 ^{##}	11.4	13.1*	10.4	12.9 [#]	12.4 [#]
ナトリウム (mEq/24hr)	0.860	1.218 ^{##}	0.998	1.078	1.013	1.066 [#]	1.391 ^{##}
カリウム (mEq/24hr)	1.731	2.375 [#]	2.080	2.237	2.050	2.184 [#]	2.577 ^{##}
クロール (mEq/24hr)	1.190	1.765 ^{##}	1.449	1.528	1.357	1.495 [#]	1.896 ^{##}
たん白 (定性)	-	#	-	-	*	#	-
変化なし	6	10	10	9	2	2	9
極軽度	4	0	0	1	2	3	1
軽度	0	0	0	0	3	2	0
中等度	0	0	0	0	3	2	0
重度	0	0	0	0	0	1	0
血液学的検査 ¹⁾							
白血球数 (10 ³ /µL)	7.56	11.06 ^{##}	8.74	7.46	5.30	6.36	9.58 [#]
赤血球数 (10 ⁴ /µL)	745	789 [#]	747	735	661**	664 ^{##}	795 ^{##}
ヘモグロビン量 (g/dL)	14.1	15.3 ^{##}	14.3	14.1	12.6**	12.8 ^{##}	15.1 ^{##}
ヘマトクリット (%)	40.3	43.7 ^{##}	40.4	39.9	35.3**	36.1 ^{##}	43.2 ^{##}
網状赤血球数 (10 ⁴ /µL)	15.1	14.1	12.5*	12.7	9.7**	10.4 ^{##}	12.8
PT (sec)	12.2	12.7	12.1	12.0	11.8	11.7 ^{##}	12.9 ^{##}
APTT (sec)	20.2	19.9	19.9	20.2	22.2*	21.1 [#]	19.7
好酸球数 (10 ² /µL)	1.2	1.6 [#]	1.2	1.2	1.2	1.4	1.5
リンパ球数 (10 ² /µL)	61.2	91.3 [#]	72.5	60.2	36.5*	46.3	76.3
好塩基球数 (10 ² /µL)	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1*	0.1	0.2

-：特記すべき所見なし。

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)、E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05, ## p<0.01, Dunnett 検定：* p<0.05, ** p<0.01。

試験番号：P031194；4.2.3.2-2（続き 3）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 150 + NETA: 300	E ₂ : 150	NETA: 300
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
血液化学的検査 ¹⁾							
総たん白 (g/dL)	5.7	5.5	6.0	6.6**	7.2**	7.4 ^{##}	5.5
A/G 比	1.39	1.31 [#]	1.49	1.50	1.43	1.42	1.25 ^{##}
α ₁ -グロブリン比 (%)	15.7	17.5 [#]	16.0	17.2	18.4**	19.3 ^{##}	17.7 ^{##}
α ₂ -グロブリン比 (%)	6.5	6.6	6.2	5.9*	6.0	5.8 [#]	6.9
β-グロブリン比 (%)	13.4	13.9	12.9	11.8**	11.2**	10.8 ^{##}	14.4
γ-グロブリン比 (%)	6.2	5.5 [#]	5.3	5.1	5.8	5.7	5.4
アルブミン比 (%)	58.2	56.6 [#]	59.6	60.0	58.6	58.5	55.6 ^{##}
AST (IU/L)	77	82	74	125	166**	191 [#]	82
ALT (IU/L)	21	18	17	45	61**	63 ^{##}	17
ALP (IU/L)	146	167	109	95*	73**	71 ^{##}	186
総コレステロール (mg/dL)	78	87	111**	109**	105*	111 ^{##}	87
トリグリセライド (mg/dL)	18	22	23	35*	35**	42 ^{##}	27
リン脂質 (mg/dL)	147	147	193**	209**	222**	236 ^{##}	150
グルコース (mg/dL)	105	113 [#]	122**	125**	111	112	115
BUN (mg/dL)	16.3	17.1	16.2	17.2	16.4	18.4 [#]	15.0
無機リン (mg/dL)	6.0	6.9 [#]	6.2	6.1	5.9	5.9	6.2
カルシウム (mg/dL)	9.8	9.9	10.0	10.6**	10.9**	11.1 ^{##}	9.7
カリウム (mEq/L)	3.99	4.08	3.95	3.92	3.60**	3.75 [#]	4.09
クロール (mEq/L)	108.3	106.6 [#]	106.9	107.4	106.9	106.1 [#]	106.6 [#]

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)、E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05, ## p<0.01, Dunnett 検定：* p<0.05, ** p<0.01。

試験番号：P031194；4.2.3.2-2 (続き 4)

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 150 + NETA: 300	E ₂ : 150	NETA: 300
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
剖検 ²⁾							
胸腺の小型化	0	0	0	0	2	1	0
腎臓の黄白色斑	0	0	0	1	0	0	1
腎臓の水疱状嚢胞	1	0	0	0	0	0	0
子宮の小型化	0	10**	0	0	0	0	10**
子宮の嚢胞	0	0	1	0	0	0	0
下垂体の肥大	0	0	0	0	7**	7**	0
器官重量(% ^{c)}) ¹⁾							
最終体重	259.8 g	29 ^{##}	12**	12**	2	3	23 ^{##}
脳	絶対重量 ^{d)} 0.80	絶対重量 ^{d)} -21 ^{##}	絶対重量 ^{d)} -9**	絶対重量 ^{d)} -10**	絶対重量 ^{d)} -4	絶対重量 ^{d)} -4	絶対重量 ^{d)} -19 ^{##}
下垂体	絶対重量 16.3 mg	絶対重量 -4	絶対重量 12	絶対重量 28**	絶対重量 142**	絶対重量 147 ^{##}	絶対重量 -3
	相対重量 ^{d)} 6.3	相対重量 ^{d)} -25 ^{##}	相対重量 ^{d)} 0	相対重量 ^{d)} 14	相対重量 ^{d)} 135**	相対重量 ^{d)} 140 ^{##}	相対重量 ^{d)} -21 ^{##}
顎下腺	相対重量 ^{d)} 0.16	相対重量 ^{d)} -13 ^{##}	相対重量 ^{d)} -6	相対重量 ^{d)} 0	相対重量 ^{d)} 0	相対重量 ^{d)} 0	相対重量 ^{d)} -13 ^{##}
甲状腺	相対重量 ^{d)} 5.9	相対重量 ^{d)} -20 [#]	相対重量 ^{d)} -5	相対重量 ^{d)} -5	相対重量 ^{d)} -2	相対重量 ^{d)} 8	相対重量 ^{d)} -14
心臓	絶対重量 0.93 g	絶対重量 15 ^{##}	絶対重量 8	絶対重量 12*	絶対重量 4	絶対重量 4	絶対重量 10 [#]
	相対重量 ^{d)} 0.36	相対重量 ^{d)} -11 ^{##}	相対重量 ^{d)} -3	相対重量 ^{d)} 0	相対重量 ^{d)} 3	相対重量 ^{d)} 3	相対重量 ^{d)} -11 ^{##}
肺	絶対重量 1.10 g	絶対重量 12 ^{##}	絶対重量 8	絶対重量 5	絶対重量 0	絶対重量 -4	絶対重量 6
	相対重量 ^{d)} 0.42	相対重量 ^{d)} -12 ^{##}	相対重量 ^{d)} -2	相対重量 ^{d)} -5*	相対重量 ^{d)} 0	相対重量 ^{d)} -5	相対重量 ^{d)} -12 ^{##}
胸腺	絶対重量 0.44 g	絶対重量 64 ^{##}	絶対重量 2	絶対重量 11	絶対重量 -59**	絶対重量 -41 ^{##}	絶対重量 50 ^{##}
	相対重量 ^{d)} 0.17	相対重量 ^{d)} 24 [#]	相対重量 ^{d)} -12	相対重量 ^{d)} 0	相対重量 ^{d)} -59**	相対重量 ^{d)} -41 ^{##}	相対重量 ^{d)} 24 [#]

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)、E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05, ## p<0.01, Dunnett 検定：* p<0.05, ** p<0.01, 統計学的有意差は実測値から算出。

2) 対照 (非卵巣摘出) と各群間との比較は Fisher の確率検定にて行った。Fisher の確率検定：** p<0.01。

c) 対照群の値は平均値、投与群の数字は対照 (非卵巣摘出) との差を% で示した。

d) 相対重量=絶対重量/最終体重 × 100。

試験番号：P031194；4.2.3.2-2（続き 5）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 150 + NETA: 300	E ₂ : 150	NETA: 300
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
器官重量 (% ^{c)} ¹⁾							
肝臓							
絶対重量	7.19 g	22 ^{##}	13	24 ^{**}	34 ^{**}	35 ^{##}	19 ^{##}
相対重量 ^{d)}	2.76	-5 [#]	1	11 ^{**}	32 ^{**}	32 ^{##}	-3
脾臓							
絶対重量	0.56 g	32 ^{##}	13	11	-5	-2	18
腎臓							
絶対重量	1.95 g	3	4	8	15 ^{**}	18 [#]	3
相対重量 ^{d)}	0.75	-20 ^{##}	-7	-3	13 ^{**}	15 ^{##}	-16 ^{##}
副腎							
絶対重量	73.8 mg	-2	3	11	7	14 [#]	-4
相対重量 ^{d)}	28.3	-24 ^{##}	-7	0	6	12 [#]	-20 ^{##}
子宮							
絶対重量	0.48 g	-81 ^{##}	-23 ^{**}	-25 ^{**}	15	10	-77 ^{##}
相対重量 ^{d)}	0.19	-84 ^{##}	-32 ^{**}	-37 ^{**}	11	5	-84 ^{##}
病理組織学的検査 ³⁾							
小葉辺縁部の肝細胞の脂肪変性	0	5*	0	0	0	0	2
肝細胞のび慢性肥大	0	0	0	0	1	2	0
胸腺皮質の萎縮	0	0	0	0	2	1	0
大腿骨骨髓の造血減少	0	0	0	0	2	3	0
好塩基性尿細管の出現	0	0	0	0	2	2	0
糸球体への硝子滴沈着	0	0	0	0	2	4*	0
近位尿細管上皮細胞への リポフスチン沈着	0	0	0	0	5*	4*	0
腎臓の嚢胞	1	0	0	0	0	0	0
腎臓の癒痕	0	0	0	1	1	0	1

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)、E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05, ## p<0.01, Dunnett 検定：* p<0.05, ** p<0.01, 統計学的有意差は実測値から算出。

3) 対照 (非卵巣摘出) と各群間の比較は Mann-Whitney U 検定にて行った。Mann-Whitney U 検定：* p<0.05。

c) 対照群の値は平均値、投与群の数字は対照 (非卵巣摘出) との差を% で示した。

d) 相対重量=絶対重量/最終体重 × 100。

試験番号：P031194；4.2.3.2-2（続き 6）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 1.5 + NETA: 3.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 150 + NETA: 300	E ₂ : 150	NETA: 300
動物数	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10	F:10
病理組織学的検査 ³⁾							
子宮の萎縮	0	10**	0	0	0	0	10**
子宮内膜での好酸球の増加	0	0	0	0	3	1	0
子宮腺での高円柱上皮の出現	0	0	0	1	7**	6**	0
子宮内膜上皮での高円柱上皮の出現	0	0	0	0	1	2	0
子宮内膜上皮の扁平上皮化生	0	0	0	0	2	1	0
子宮腔の拡張	0	0	0	0	3	2	0
子宮の嚢胞	0	0	1	0	0	0	0
膣上皮の異常角化像	0	0	0	0	8**	0	0
膣粘膜の萎縮	0	10**	0	0	0	0	0
膣上皮の粘液変性	0	0	0	0	0	0	10**
膣粘膜固有層での好酸球の増加	0	0	0	0	3	0	0
乳腺の発達	0	0	0	1	10**	9**	0
乳腺の巣状過形成	0	0	0	0	0	2	0
乳腺の導管拡張	0	0	0	0	4*	3	0
下垂体前葉の好塩基性細胞肥大	0	10**	10**	10**	0	0	10**
下垂体前葉のび慢性過形成	0	0	0	2	10**	10**	0
下垂体中間葉の嚢胞	0	0	0	1	0	0	0
下垂体前葉の血管拡張	0	0	0	1	7**	6**	0
大腿骨骨梁の減少	0	2	1	0	0	0	1
大腿骨骨梁の肥厚	0	0	0	0	10**	10**	0

3) 対照 (非卵巣摘出)と各群間の比較は Mann-Whitney U 検定にて行った。Mann-Whitney U 検定：* p<0.05，** p<0.01。

(3) 反復投与毒性試験 (P040250)

報告書の題名：酢酸ノルエチステロン及びエストラジオールの卵巣摘出ラットを用いた 52 週間反復皮下投与毒性試験及び 5 週間回復性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種/系統：ラット / Crj:CD(SD)IGS (雌)

投与期間：52 週間

試験番号：P040250

試験開始週齢：9 週齢

休薬期間：5 週間

CTD における記載箇所：4.2.3.2-3

初回投与年月日：20■■年■■月■■日

投与方法：皮下投与

GLP 適用：適

溶媒/投与形態：0.5% CMC-Na 溶液

特記事項：被験物質を卵巣摘出動物に投与し、媒体を非卵巣摘出動物及び卵巣摘出動物に投与した。

毒性試験群では、投与期間終了時の検査動物を各群 12 匹とし、非卵巣摘出対照群及び各併用群では回復期間終了時の検査動物に各群 8 匹を割り当てた。

眼科的検査は、投与前に全例について実施し、投与 52 週目及び回復 5 週目には、各剖検対象動物の全例について実施した。

血漿中 E₂、NETA 及び NET の濃度測定は、対照群 (非卵巣摘出及び卵巣摘出) では 1 群 6 匹を、そのほかの群では 1 群 15 匹を別途に設け、投与 1、182 及び 364 日に実施した。血漿中濃度測定の採血は、対照群で投与 1 日の投与前と投与 182 及び 364 日の投与後 24 時間に、そのほかの群で投与 1、182 及び 364 日の投与前、投与後 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間に実施した。

無毒性量：E₂: 0.6 + NETA: 1.2 µg/kg/day

試験番号：P040250；4.2.3.2-3

被験物質 (µg/kg/day)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
トキシコキネティクス										
E ₂										
C _{max} (pg/mL)	初回投与	37.3 ^{a)}	NC ^{a)}	81.1	278	537	1315	737	1744	NC
	投与 182 日	30.5 ^{b)}	NC ^{b)}	102	239	667	1619	813	2331	NC
	最終投与	NC ^{b)}	NC ^{b)}	71.4	164	852	NC	600	NC	NC
AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	ND	49	276	1463	9597	1589	7395	NC
	投与 182 日	ND	ND	861	1034	3651	13797	3809	16102	NC
	最終投与	ND	ND	382	546	2298	NC	2258	NC	NC
NETA										
C _{max} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	NC	NC	0.563	2.14	NC	NC	4.06
	投与 182 日	ND	ND	NC	NC	0.407	1.23	NC	NC	1.28
	最終投与	ND	ND	NC	NC	0.412	NC	NC	NC	1.09
AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)	初回投与	ND	ND	NC	NC	0.360	5.04	NC	NC	9.37
	投与 182 日	ND	ND	NC	NC	NC	2.77	NC	NC	3.83
	最終投与	ND	ND	NC	NC	0.259	NC	NC	NC	2.04
NET										
C _{max} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	NC	0.868	1.10	3.68	NC	NC	6.31
	投与 182 日	ND	ND	NC	0.475	1.95	3.70	NC	NC	5.09
	最終投与	ND	ND	NC	NC	1.29	NC	NC	NC	3.85
AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)	初回投与	ND	ND	NC	0.972	1.68	15.8	NC	NC	22.4
	投与 182 日	ND	ND	NC	0.322	2.57	14.2	NC	NC	28.9
	最終投与	ND	ND	NC	NC	1.65	NC	NC	NC	17.6

ND：測定せず，NC：算出できず．

a) 投与開始前の値．

b) 投与後 24 時間の値．

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き）

被験物質 (µg/kg/day)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
動物数	投与期	F:20	F:12	F:20	F:20	F:20	F:20	F:12	F:12	F:12
	回復期	F:8	0	F:8	F:8	F:6	0	0	0	0
特記すべき所見										
死亡及び途中剖検動物数		0	0	0	1	4	18	0	12	0
体重(% ^c) ¹⁾	最終投与時	448.1 g	21 ^{##}	11	-2	-13 ^{**}	-19	-7 [#]	ND	19 ^{##}
	回復終了時	464.9 g		14 [*]	-3	-4				
摂餌量(% ^c) ¹⁾	最終投与時	19.8 g	-11	-6	2	12	-6	25 [#]	ND	-9
	回復終了時	22.8 g		-2	-4	27 [*]				
一般状態										
[投与期間]										
後肢の胼胝		12	8	18	17	17	11	12	5	8
皮膚蒼白		1	1	6	6	14	5	9	4	2
眼球蒼白		0	0	0	1	3	0	2	1	1
[回復期間]										
後肢の胼胝		5		8	6	6				
皮膚蒼白		4		1	1	3				
眼球蒼白		0		0	0	0				
眼科学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし。

ND：動物が全例死亡したため測定できず

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)，E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01，統計学的有意差は実測値から算出。

c) 対照 (非卵巣摘出) は平均値を示した。投与群は対照 (非卵巣摘出) との差を% で示した。

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 2）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
尿検査 ¹⁾									
[投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[1]	[12]	[0]	[12]
尿量 (mL/24hr)	15.2	11.9	18.3	25.7*	25.6*	17.0	31.0 ^{##}		11.8
浸透圧 (Osm/kg)	1.150	1.370	1.075	0.889	0.838	0.694	0.795 ^{##}		1.443
比重	1.040	1.046	1.037	1.030	1.029	1.022	1.027 [#]		1.048
ナトリウム (mEq/24hr)	0.963	0.836	1.065	1.376*	1.139	0.515	1.333		0.946
カリウム (mEq/24hr)	2.240	2.113	2.570	3.046**	2.818	1.549	3.153 ^{##}		2.314
クロール (mEq/24hr)	1.229	1.191	1.481	1.790*	1.365	0.663	1.711 [#]		1.297
血液学的検査 ¹⁾									
[投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[2]	[12]	[0]	[12]
赤血球数 (10 ⁴ /µL)	593	654	550	423*	361**	254	316 ^{##}		667
ヘモグロビン量 (g/dL)	11.7	12.0	11.0	8.9	7.5**	5.8	7.1 ^{##}		12.4
ヘマトクリット (%)	34.8	36.7	33.0	26.9*	23.5**	18.4	22.5 ^{##}		37.6
MCV (fL)	60.3	56.7	61.4	65.4	70.2*	72.6	71.3 ^{##}		57.0
MCH (pg)	20.1	18.3 [#]	20.3	21.3	21.6	22.7	22.3 ^{##}		18.4 [#]
MCHC (g/dL)	33.3	32.4	33.1	32.6	31.2*	31.3	31.4 ^{##}		32.4
網状赤血球数 (10 ⁴ /µL)	32.6	32.5	40.4	52.5	54.4	58.6	65.2 ^{##}		29.0
血小板数 (10 ⁴ /µL)	114.2	117.7	119.8	135.8	132.4	136.0	147.1 ^{##}		120.1
PT (sec)	11.4	11.7	11.7	11.1	10.4**	9.7	11.1		11.9
好酸球数 (10 ² /µL)	1.0	1.3	0.8	1.0	0.6	0.5	0.6 ^{##}		1.1
リンパ球数 (10 ² /µL)	28.0	36.0 [#]	32.0	27.0	26.6	8.8	26.3		38.7 [#]
好塩基球数 (10 ² /µL)	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1 [#]		0.1

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)，E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った．t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01．

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 3）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
血液化学的検査 ¹⁾									
[投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[2]	[12]	[0]	[12]
総たん白 (g/dL)	6.3	5.5 ^{##}	5.9	5.9	6.1	5.7	5.9 ^{##}		5.6 ^{##}
アルブミン (g/dL)	3.48	2.86 ^{##}	3.23	2.97	2.83*	2.86	2.54 ^{##}		2.81 ^{##}
A/G 比	1.28	1.15	1.23	1.04	0.94	1.07	0.77 ^{##}		1.07
α ₁ -グロブリン比 (%)	14.8	14.6	14.6	16.8	16.3	17.0	17.8 ^{##}		14.5
α ₂ -グロブリン比 (%)	6.3	7.3 [#]	7.1	7.6	7.7	6.2	8.4 ^{##}		7.8
β-グロブリン比 (%)	16.1	18.9 [#]	17.7	18.5	19.2*	18.3	20.3 ^{##}		19.5 ^{##}
γ-グロブリン比 (%)	7.6	6.8	6.6	7.4	10.0	8.4	10.6 ^{##}		7.6
アルブミン比 (%)	55.2	52.4	54.1	49.7	46.7	50.1	43.0 ^{##}		50.6
ALP (IU / L)	47	100 ^{##}	67	74	70	97	85 ^{##}		101 ^{##}
総コレステロール (mg/dL)	116	105	106	100	103	115	98 [#]		98 [#]
リン脂質 (mg/dL)	213	172 ^{##}	203	205	204	192	192		169 ^{##}
グルコース (mg/dL)	103	116 ^{##}	119*	100	89	82	87 ^{##}		120 ^{##}
BUN (mg/dL)	16.0	15.5	15.3	15.7	19.8	19.7	19.0 [#]		14.4
無機リン (mg/dL)	4.6	4.6	4.9	5.5**	5.6**	6.1	6.0 ^{##}		5.3
カルシウム (mg/dL)	10.3	9.9 ^{##}	10.1	10.0	10.2	10.2	10.2		10.0 [#]
ナトリウム (mEq/L)	144.8	146.1 ^{##}	145.1	144.7	144.5	144.7	144.5		145.9 [#]
カリウム (mEq/L)	3.80	4.20 [#]	3.95	3.97	3.92	4.33	3.79		4.38 ^{##}
クロール (mEq/L)	105.1	106.2	105.4	105.1	107.7*	107.5	105.3		106.3

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)，E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った．t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01．

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 4）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
血液化学的検査 ¹⁾									
[回復終了時，検査例数]	[8]	[0]	[8]	[8]	[6]	[0]	[0]	[0]	[0]
β-グロブリン比 (%)	18.6		19.7	18.5	22.3*				
γ-グロブリン比 (%)	9.5		8.8	8.3	14.6**				
アルブミン比 (%)	47.0		48.6	51.8	36.1*				
トリグリセライド (mg/dL)	84		76	51	36*				
リン脂質 (mg/dL)	204		187	191	160**				
ナトリウム (mEq/L)	144.3		146.1**	146.1**	145.6*				
剖検 ²⁾									
[投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[2]	[12]	[0]	[12]
脾臓の肥大	1	2	3	3	6*	1	7*		2
腎臓の黒褐色化	0	0	0	0	1	2	1		0
子宮の小型化	0	12**	0	0	0	0	0		12**
下垂体の結節 / 腫瘍	0	0	0	1	4*	2	2		0
後肢の胼胝	7	8	10	11*	8	1	12*		7
[回復終了時，検査例数]	[8]	[0]	[8]	[8]	[6]	[0]	[0]	[0]	[0]
脾臓の肥大	4		1	0	4				
下垂体の結節 / 腫瘍	0		0	0	2				
後肢の胼胝	5		8	6	6				

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)，E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った．t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01．

2) 対照 (非卵巣摘出) と各群間との比較は Fisher の確率検定にて行った．

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き5）

被験物質(μg/kg/day)	0 (対照： 非卵巢摘出)	0 (対照： 卵巢摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
剖検 [死亡／瀕死例，検査例数]	[0]	[0]	[0]	[1]	[4]	[18]	[0]	[12]	[0]
脾臓の肥大				1	2	0		0	
腎臓の黒褐色化				0	0	7		5	
下垂体の結節／腫瘍				0	4	18		12	
後肢の胼胝				1	3	10		5	
肺の灰白色結節				1	1	0		0	
皮下の結節／腫瘍				1	4	5		7	
器官重量(% ^{c)}) ¹⁾ [投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[2]	[12]	[0]	[12]
最終体重	418.8 g	24 ^{##}	13	1	-13*	-18	-7 [#]		22 ^{##}
脳 相対重量 ^{d)}	0.53	-19 ^{##}	-9	-2	15**	23	9 ^{##}		-17 ^{##}
下垂体 絶対重量	39.4 g	-53 ^{##}	-29	29	126*	MV	96 ^{##}		-49 ^{##}
相対重量 ^{d)}	9.5	-62 ^{##}	-37	25	157*	MV	109 ^{##}		-59 ^{##}
顎下腺 絶対重量	0.56 g	-7	-11*	-5	-5	-23	0		-7
相対重量 ^{d)}	0.13	-23 ^{##}	-15**	0	15	0	8 [#]		-23 ^{##}
甲状腺 相対重量 ^{d)}	5.3	-9	-9	-4	26**	11	11		-11
心臓 絶対重量	1.29 g	3	8	10	16*	2	22 ^{##}		5
相対重量 ^{d)}	0.31	-16 ^{##}	-3	10	32**	26	29 ^{##}		-16 ^{##}
肺 相対重量 ^{d)}	0.32	-19 ^{##}	-13	0	22**	16	16 ^{##}		-19 ^{##}

MV：欠測値

1) 対照 (非卵巢摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巢摘出) と対照 (卵巢摘出)，E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った．t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01，統計学的有意差は実測値から算出．

c) 対照 (非卵巢摘出) は平均値を示した．投与群は対照 (非卵巢摘出) との差を%で示した．

d) 相対重量=絶対重量/最終体重×100．

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 6）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
器官重量 (% ^{c)}) ¹⁾									
[投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[2]	[12]	[0]	[12]
肝臓 相対重量 ^{d)}	2.55	-25 ^{##}	-9	5	22 ^{**}	20	20 ^{##}		-18 ^{##}
副腎 相対重量 ^{d)}	27.7	-59	-40	-14	1	-21	-3		-57
脾臓 絶対重量	0.81 g	16	9	49	102 ^{**}	57	117 ^{##}		19
脾臓 相対重量 ^{d)}	0.20	-10	-5	45	125 ^{**}	80	125 ^{##}		-5
腎臓 絶対重量	2.57 g	-5	-4	7	9	-7	13 ^{##}		-9 ^{##}
腎臓 相対重量 ^{d)}	0.62	-24 ^{##}	-15 ^{**}	5	24 ^{**}	15	21 ^{##}		-26 ^{##}
子宮 絶対重量	1.08 g	-89 ^{##}	-44 ^{**}	-41 ^{**}	-34	-26	-32 ^{##}		-88 ^{##}
子宮 相対重量 ^{d)}	0.26	-92 ^{##}	-50 ^{**}	-42 ^{**}	-23	-4	-27 ^{##}		-92 ^{##}
[回復終了時，検査例数]	[8]	[0]	[8]	[8]	[6]	[0]	[0]	[0]	[0]
最終体重	435.4 g		16 [*]	-2	-5				
下垂体 絶対重量	34.4 g		-28	-20	91 [*]				
肺 相対重量 ^{d)}	0.32		-16 ^{**}	3	9				
胸腺 絶対重量	0.09 g		11	11	33 [*]				
胸腺 相対重量 ^{d)}	0.02		0	0	50 [*]				
肝臓 相対重量 ^{d)}	2.55		-13 [*]	-2	13 [*]				
副腎 相対重量 ^{d)}	24.8		-37 ^{**}	-12	8				
子宮 絶対重量	0.93 g		-59 ^{**}	-61 ^{**}	-49				
子宮 相対重量 ^{d)}	0.22		-64 ^{**}	-59 ^{**}	-50				

1) 対照 (非卵巣摘出) と E₂ + NETA 併用群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出)，E₂ 単独群若しくは NETA 単独群との比較は Student t 検定又は Welch 検定にて行った．t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01，統計学的有意差は実測値から算出．

c) 対照 (非卵巣摘出) は平均値を示した．投与群は対照 (非卵巣摘出) との差を%で示した．

d) 相対重量=絶対重量/最終体重 × 100．

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 7）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
病理組織学的検査 ³⁾									
[投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[2]	[12]	[0]	[12]
小葉辺縁部の肝細胞の脂肪変性 (+ ~ ++)	2	5	4	3	0	0	1		7*
肝臓における髓外造血 (+)	0	0	0	2	4*	1	3		0
肺胞内の泡沫細胞集積 (+)	1	1	1	1	5*	0	4		0
子宮の萎縮 (+)	0	12**	0	0	0	0	0		12**
子宮腺での高円柱上皮の出現 (+)	0	0	2	6**	1	0	3		0
子宮腺の拡張 (+)	0	0	8**	2	2	0	0		0
膣上皮の異常角化像 (+)	0	0	4*	3	3	0	3		0
膣粘膜の萎縮 (+)	0	11**	0	0	0	0	0		10**
膣粘膜の粘液変性 (+ ~ ++)	3	0	4	4	1	0	4		3
乳腺の発達 (+)	7	0**	0**	1*	6	0	0**		0**
乳腺の導管拡張 (+ ~ ++)	8	0**	4	11	10*	2	12		0**
乳腺の腺癌 (+)	1	0	0	2	6*	2	8**		0
下垂体前葉の好塩基性細胞肥大 (+ ~ ++)	0	12**	1	0	0	0	0		12**
下垂体前葉の巣状過形成 (+)	0	1	2	1	4*	0	5*		1
下垂体前葉の血管拡張 (+)	2	0	1	2	8**	0	2		0
下垂体前葉の腺腫 (+)	0	0	0	2	1	1	1		0
下垂体前葉の癌 (+)	0	0	0	0	1	1	0		0
脾臓における髓外造血 (+ ~ +++)	5	4	6	8	7	2	12**		3
胸骨骨髓の造血亢進 (+)	6	3	4	8	7	2	11*		3
大腿骨骨髓の造血亢進 (+)	7	3	4	8	7	2	11		3

程度：+，軽度；++，中等度；+++，重度。

3) 対照 (非卵巣摘出) と各群間の比較は Mann-Whitney の U 検定にて行った。* p<0.05，** p<0.01。

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 8）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巢摘出)	0 (対照： 卵巢摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
病理組織学的検査 ³⁾									
[投与終了時，検査例数]	[12]	[12]	[12]	[11]	[10]	[2]	[12]	[0]	[12]
腎臓の近位尿細管の褐色色素沈着(+)	0	0	0	0	7**	2	6**		0
副腎の髄質細胞の巣状過形成 (+)	0	0	0	2	4*	0	4*		0
胸骨骨梁の減少 (+)	0	8**	5*	1	0	0	0		8**
大腿骨骨梁の減少 (+)	0	10**	7**	6**	2	0	3		8**
後肢の仮骨形成 (+ ~ ++)	3	3	6	6	5	1	12**		4
後肢の潰瘍 (+ ~ +++)	6	8	10	11	8*	1	12**		7
[回復終了時，検査例数]	[8]	[0]	[8]	[8]	[6]	[0]	[0]	[0]	[0]
小葉辺縁部の肝細胞の脂肪変性 (+)	0		6**	3	1				
肺胞内の泡沫細胞集積 (+)	1		0	0	1				
子宮の萎縮 (+)	0		1	0	0				
子宮腺での高円柱上皮の出現 (+)	1		0	0	0				
子宮腺の拡張 (+)	1		1	0	0				
膣粘膜の萎縮 (+)	0		8**	7**	6**				
膣粘膜の粘液変性 (+ ~ ++)	4		0*	0*	0				
乳腺の発達 (+)	7		0**	0**	2				
乳腺の導管拡張 (+ ~ ++)	4		3	5	6				
乳腺の腺癌 (+)	1		0	0	3				

程度：+，軽度；++，中等度；+++，重度。

3) 対照 (非卵巢摘出) と各群間の比較は Mann-Whitney の U 検定にて行った。* p<0.05，** p<0.01。

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 9）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
病理組織学的検査 ³⁾									
[回復終了時，検査例数]	[8]	[0]	[8]	[8]	[6]	[0]	[0]	[0]	[0]
下垂体前葉の好塩基性細胞肥大 (+)	0		5*	2	0				
下垂体前葉の巣状過形成 (+)	1		1	1	1				
下垂体前葉の血管拡張 (+)	0		0	0	5**				
下垂体前葉の腺腫 (+)	1		2	1	2				
下垂体前葉の癌 (+)	1		0	0	0				
脾臓における髄外造血 (+ ~ +++)	5		5	6	6				
胸骨骨髓の造血亢進 (+)	5		5	4	6				
大腿骨骨髓の造血亢進 (+)	5		5	4	6				
腎臓の近位尿細管の褐色色素沈着 (+)	0		0	0	3*				
副腎の髄質細胞の巣状過形成 (+)	2		0	0	2				
胸骨骨梁の減少 (+)	0		2	2	1				
大腿骨骨梁の減少 (+)	2		7*	7*	4				
後肢の仮骨形成 (+ ~ ++)	3		6	6	6				
後肢の潰瘍 (+ ~ +++)	5		7	5	6				
[死亡 / 瀕死例，検査例数]	[0]	[0]	[0]	[1]	[4]	[18]	[0]	[12]	[0]
小葉辺縁部の肝細胞の脂肪変性 (+)				0	0	0		1	
肝臓における髄外造血 (+)				0	1	1		0	
肺胞内の泡沫細胞集積 (+)				0	1	7		2	
子宮腺での高円柱上皮の出現 (+)				0	1	1		1	
膣上皮の異常角化像 (+)				0	0	6		0	
膣粘膜の粘液変性 (+)				0	0	2		0	

程度：+，軽度；++，中等度；+++，重度。

3) 対照 (非卵巣摘出) と各群間の比較は Mann-Whitney の U 検定にて行った。* p<0.05，** p<0.01。

試験番号：P040250；4.2.3.2-3（続き 10）

被験物質 (µg/kg/day)	0 (対照： 非卵巢摘出)	0 (対照： 卵巢摘出)	E ₂ : 0.6 + NETA: 1.2	E ₂ : 3.0 + NETA: 6.0	E ₂ : 15 + NETA: 30	E ₂ : 75 + NETA: 150	E ₂ : 15	E ₂ : 75	NETA: 150
病理組織学的検査									
[死亡 / 瀕死例，検査例数]	[0]	[0]	[0]	[1]	[4]	[18]	[0]	[12]	[0]
乳腺の発達 (+)				1	0	6		0	
乳腺の導管拡張 (+ ~ ++)				1	4	18		12	
乳腺の腺癌 (+)				1	4	4		8	
下垂体前葉の巣状過形成 (+)				0	2	0		0	
下垂体前葉の血管拡張 (+)				0	1	0		0	
下垂体前葉の腺腫 (+)				0	2	12		7	
下垂体前葉の癌 (+)				0	0	6		5	
脾臓における髄外造血 (+ ~ ++)				1	3	2		0	
胸骨骨髓の造血亢進 (+)				1	4	7		4	
胸骨骨髓の造血減少 (+)				0	0	2		1	
大腿骨骨髓の造血亢進 (+)				1	4	7		4	
大腿骨骨髓の造血減少 (+)				0	0	2		1	
腎臓の近位尿細管の褐色色素沈着 (+ ~ ++)				0	2	17		8	
後肢の仮骨形成 (+)				0	1	5		3	
後肢の潰瘍 (+ ~ ++)				1	3	10		5	

程度：+，軽度；++，中等度。

(4) 反復投与毒性試験 (B031222)
報告書の題名：卵巣摘出カニクイザルを用いた RPR106522 の 4 週間反復投与毒性試験
被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統：サル / カニクイザル (OVX 雌)	投与期間：4 週間	試験番号：B031222
試験開始年齢：3 ~ 5 歳	休薬期間：設定せず	CTD における記載箇所：4.2.3.2-4
初回投与年月日：20 年 月 日	投与方法：経皮投与	GLP 適用：適
	溶媒/投与形態：製剤の貼付	

特記事項：RPR106522 (面積 9 cm²) を 1 枚 (E₂: 0.62 + NETA: 2.7 mg/head), 1/4 枚 (E₂: 0.155 + NETA: 0.675 mg/head), 1/8 枚 (E₂: 0.078 + NETA: 0.338 mg/head) 及び 1/16 枚 (E₂: 0.039 + NETA: 0.169 mg/head) の大きさに切断し、動物の背部に貼付部位を 4 箇所用意し、3 ~ 4 日に 1 回の頻度で製剤を更新しながら計 8 回貼付した。E₂ のみを含む貼付剤であるフェミエスト® を比較対照群として 1/4 枚 (E₂: 1.083 mg/head) 及び 1/8 枚 (E₂: 0.541 mg/head) で RPR106522 と同様な方法で貼付した。対照群として卵巣摘出した動物にジャケット・包帯などを着用 (偽処置) した卵巣摘出群のほかに非卵巣摘出群を設けた。

血漿中濃度測定 of 採血は、初回投与の貼付前、貼付後 6, 12, 24, 48, 72 及び 96 時間並びに最終投与の貼付前、貼付後 6, 12, 24, 48 及び 72 時間に行った。

無毒性量：E₂: 0.155 + NETA: 0.675 mg/head

試験番号：B031222；4.2.3.2-4									
被験物質 (mg/head)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
				E ₂ ：0.039 + NETA：0.169	E ₂ ：0.078 + NETA：0.338	E ₂ ：0.155 + NETA：0.675	E ₂ ：0.62 + NETA：2.7	E ₂ ：0.541	E ₂ ：1.083
トキシコキネティクス									
E ₂									
C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	ND	42.4	143	233	821	69.7	177
	最終投与	ND	ND	133	242	246	388	179	370
C _{ave} (pg/mL)	初回投与	ND	ND	31.0	91.0	145	558	38.2	102
	最終投与	ND	ND	54.7	60.9	79.8	103	97.5	217
AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	ND	2979	8745	13902	53581	3671	9794
	最終投与	ND	ND	3949	4387	5748	7411	7030	15625

ND：測定せず。

試験番号：B031222；4.2.3.2-4（続き）

被験物質 (mg/head)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®		
			E ₂ ： 0.039 + NETA： 0.169	E ₂ ： 0.078 + NETA： 0.338	E ₂ ： 0.155 + NETA： 0.675	E ₂ ： 0.62 + NETA： 2.7	E ₂ ： 0.541	E ₂ ： 1.083	
トキシコキネティクス NET									
C _{max} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	0.531	1.02	1.91	6.70	ND	ND
	最終投与	ND	ND	1.55	3.94	2.69	7.61	ND	ND
C _{ave} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	0.385	0.694	1.29	4.83	ND	ND
	最終投与	ND	ND	0.693	1.60	1.76	5.98	ND	ND
AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)	初回投与	ND	ND	18.3	66.7	120	463	ND	ND
	最終投与	ND	ND	46.2	85.8	127	430	ND	ND
動物数	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3
特記すべき所見									
死亡及び瀕死期解剖動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査 ¹⁾									
総コレステロール (mg/dL)	投与開始前	126.3	135.3	115.7	138.7	109.0	128.7	154.0	165.3
	投与 9 日	121.7	130.3	113.0	125.0	91.7	96.7	140.3	147.3
	投与 19 日	134.0	139.0	118.7	133.7	91.7	91.3	152.0	143.3
	投与 25 日	124.3	134.0	118.0	129.0	89.3	90.0	145.3	143.7
リン脂質 (mg/dL)	投与開始前	181.3	218.0 [#]	177.7	193.3	156.3	208.0	228.0	234.7*
	投与 9 日	172.7	213.7	169.7	178.3	137.3	153.0	214.3	212.3
	投与 19 日	186.7	232.3	172.3	182.0	139.0	139.7	231.7	212.7
	投与 25 日	181.7	226.0	167.0	181.3	134.7	142.3	211.3	208.3

-：特記すべき所見なし，ND：測定せず。

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，Dunnett 検定：* p<0.05。

試験番号：B031222；4.2.3.2-4 (続き 2)

被験物質 (mg/head)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
				E ₂ ：0.039 + NETA：0.169	E ₂ ：0.078 + NETA：0.338	E ₂ ：0.155 + NETA：0.675	E ₂ ：0.62 + NETA：2.7	E ₂ ：0.541	E ₂ ：1.083
動物数		F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3
血液化学的検査 ¹⁾									
ALP (U/L)	投与開始前	894.7	1294.7	1593.0**	1416.0*	1283.7	1123.7	1107.0	1046.0
	投与 9 日	854.7	1190.0	1378.7*	1354.3*	1157.0	807.3	1022.3	1028.7
	投与 19 日	777.7	1156.7	1367.7*	1261.3	1042.7	713.7	988.3	877.7
	投与 25 日	720.3	1093.3	1337.7**	1180.3*	985.7	702.7	947.0	848.3
総たん白 (g/dL)	投与開始前	7.47	8.20 [#]	8.23	7.70	8.13	7.93	8.03	8.17
	投与 9 日	7.47	7.97	7.90	7.23	7.53	7.03	7.60	7.70
	投与 19 日	7.43	8.10 [#]	7.93	7.13	7.60	6.90	7.73	7.60
	投与 25 日	7.43	8.07	8.03	7.17	7.80	7.03	7.80	7.73
アルブミン (g/dL)	投与開始前	3.93	4.50 [#]	4.40	4.33	4.50	4.50	4.63**	4.67**
	投与 9 日	4.00	4.40	4.23	4.20	4.23	3.87	4.53*	4.53*
	投与 19 日	3.93	4.53	4.23	3.90	4.20	3.70	4.43	4.37
	投与 25 日	3.83	4.40	4.30	3.90	4.27	3.63	4.47*	4.27
A/G 比	投与開始前	1.110	1.233	1.163	1.323	1.257	1.313	1.363	1.363
	投与 9 日	1.180	1.247	1.160	1.397	1.293	1.240	1.453	1.437
	投与 19 日	1.133	1.277	1.150	1.220	1.237	1.163	1.353	1.333
	投与 25 日	1.067	1.207	1.147	1.223	1.203	1.070	1.343	1.247
カルシウム (mg/dL)	投与開始前	9.83	10.47	10.53	10.10	10.67	10.67	10.63	10.93*
	投与 9 日	9.60	10.07	10.13	9.63	10.00	9.80	10.23	10.20
	投与 19 日	9.80	10.47	10.13	9.73	9.90	9.53	10.33	10.00
	投与 25 日	9.67	10.37 [#]	10.00	9.70	9.83	9.63	10.30	9.80

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05, Dunnett 検定：* p<0.05, ** p<0.01。

試験番号：B031222；4.2.3.2-4（続き 3）

被験物質 (mg/head)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
			E ₂ ：0.039 + NETA：0.169	E ₂ ：0.078 + NETA：0.338	E ₂ ：0.155 + NETA：0.675	E ₂ ：0.62 + NETA：2.7	E ₂ ：0.541	E ₂ ：1.083
動物数	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 (% ^{a)} ¹⁾								
子宮重量 絶対重量	8.777 g	-80 ^{##}	-60 ^{**}	-49 ^{**}	-33 [*]	-37 ^{**}	-41	-32 [*]
子宮重量 相対重量 ^{b)}	270.17	-77 ^{##}	-53	-40	-24	-36	-34	-18
剖検								
子宮の小型化	0	3	3	3	0	1	2	1
病理組織学的検査								
子宮の萎縮	0	3	3	1	1	0	3	0
その他の検査								
子宮の形態計測								
子宮内膜厚* (% ^{a)} ¹⁾	0.4413 cm	-78 ^{##}	-59	-33	-18	-12	-65 ^{**}	-25
子宮壁厚* (% ^{a)} ¹⁾	0.7563 cm	-55 ^{##}	-42 [*]	-26	-21	-15	-34 ^{**}	-23 [*]
子宮内膜/子宮壁比 (% ^{a)} ¹⁾	58.213	-52 ^{##}	-29	-11	2	2	-46 ^{**}	-3

-：特記すべき所見なし。

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01，統計学的有意差は実測値から算出。

a) 対照 (非卵巣摘出) は平均値を示した。投与群は対照 (非卵巣摘出) との差を%で示した。

b) 相対重量=絶対重量/最終体重 (kg) × 100。

* 新薬承認情報提供時に訂正（訂正前：子宮内膜高，子宮壁高）

(5) 反復投与毒性試験 (B040481)

報告書の題名：卵巣摘出カニクイザルを用いた RPR106522 の 39 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統：サル / カニクイザル (OVX 雌)	投与期間：39 週間	試験番号：B040481
試験開始年齢：3 ~ 5 歳	休薬期間：4 週間	CTD における記載箇所：4.2.3.2-5
初回投与年月日：20 年 月 日	投与方法：経皮投与	GLP 適用：適
	溶媒/投与形態：製剤の貼付	

特記事項：RPR106522 (面積 9 cm²) を 1 枚 (E₂: 0.62 + NETA: 2.7 mg/head), 1/4 枚 (E₂: 0.155 + NETA: 0.675 mg/head), 1/8 枚 (E₂: 0.078 + NETA: 0.338 mg/head) 及び 1/16 枚 (E₂: 0.039 + NETA: 0.169 mg/head) の大きさに切断し、動物の背部に貼付部位を 4 箇所用意し、3 ~ 4 日に 1 回の頻度で製剤を更新しながら貼付した。E₂ のみを含む貼付剤であるフェミエスト® を比較対照群として 1/4 枚 (E₂: 1.083 mg/head) 及び 1/8 枚 (E₂: 0.541 mg/head) で RPR106522 と同様な方法で貼付した。

血漿中濃度測定 of 採血は、初回投与の貼付前、貼付後 6, 12, 24, 48, 72 及び 96 時間、第 8 回投与並びに最終投与の貼付前、貼付後 6, 12, 24, 48 及び 72 時間に行った。

無毒性量：E₂: 0.155 + NETA: 0.675 mg/head

試験番号：B040481 ; 4.2.3.2-5

被験物質 (mg/head)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
				E ₂ ： 0.039 + NETA： 0.169	E ₂ ： 0.078 + NETA： 0.338	E ₂ ： 0.155 + NETA： 0.675	E ₂ ： 0.62 + NETA： 2.7	E ₂ ： 0.541	E ₂ ： 1.083
トキシコキネティクス									
E ₂									
C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	ND	150	425	565	1442	162	240
	第 8 回投与	ND	ND	97.7	137	358	525	157	230
	最終回投与	ND	ND	42.2	115	312	313	146	278
C _{ave} (pg/mL)	初回投与	ND	ND	89.0	160	289	717	79.0	131
	第 8 回投与	ND	ND	34.0	35.5	153	124	87.6	131
	最終回投与	ND	ND	15.9	16.6	45.6	69.9	74.5	143
AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	ND	8534	15380	27757	68843	7575	12596
	第 8 回投与	ND	ND	2447	2556	11032	8949	6293	9420
	最終回投与	ND	ND	1141	1198	3280	5034	5353	10317

ND：測定せず。

試験番号：B040481；4.2.3.2-5（続き）

被験物質 (mg/head)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
				E ₂ ： 0.039 + NETA： 0.169	E ₂ ： 0.078 + NETA： 0.338	E ₂ ： 0.155 + NETA： 0.675	E ₂ ： 0.62 + NETA： 2.7	E ₂ ： 0.541	E ₂ ： 1.083
トキシコキネティクス									
NET									
C _{max} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	0.938	2.69	3.80	9.57	ND	ND
	第 8 回投与	ND	ND	0.855	1.11	2.65	7.44	ND	ND
	最終回投与	ND	ND	0.360	1.31	3.40	6.22	ND	ND
C _{ave} (ng/mL)	初回投与	ND	ND	NC	1.21	2.08	5.24	ND	ND
	第 8 回投与	ND	ND	0.552	0.719	1.74	5.12	ND	ND
	最終回投与	ND	ND	NC	0.789	1.86	4.22	ND	ND
AUC _{0-t(last)} (ng・hr/mL)	初回投与	ND	ND	NC	117	199	503	ND	ND
	第 8 回投与	ND	ND	21.1	51.8	125	369	ND	ND
	最終回投与	ND	ND	NC	56.8	134	304	ND	ND
動物数		F:6 ^{a)}	F:4	F:4	F:4	F:6 ^{a)}	F:6 ^{a)}	F:4	F:4
特記すべき所見									
死亡及び瀕死期解剖動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		-	-	-	-	-	-	-	-
体重 (% ^{b)}) ¹⁾	初回投与時	2.92 kg	-1	2	-3	-2	-2	-1	-4
	投与終了時	3.40 kg	-2	-1	-10	-4	11	-6	-9
	回復終了時	3.65 kg				-16	4		
摂餌量		-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし，ND：測定せず，NC：算出できず。

a) 回復試験動物2匹を含む。

b) 対照 (非卵巣摘出) は平均値を示した。投与群は対照 (非卵巣摘出) との差を%で示した。

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて，対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。

試験番号：B040481；4.2.3.2-5（続き 2）

被験物質 (mg/head)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
				E ₂ ：0.039 + NETA：0.169	E ₂ ：0.078 + NETA：0.338	E ₂ ：0.155 + NETA：0.675	E ₂ ：0.62 + NETA：2.7	E ₂ ：0.541	E ₂ ：1.083
動物数		F:6 ^{a)}	F:4	F:4	F:4	F:6 ^{a)}	F:6 ^{a)}	F:4	F:4
血液化学的検査 ¹⁾									
総コレステロール (mg/dL)	投与開始前	122.5	142.5 [#]	122.3	142.3	135.0	132.8	123.3	145.0
	投与第 4 週	120.7	132.0	115.3	123.0	107.7	98.5	116.5	133.5
	投与第 13 週	119.8	138.3	125.8	136.0	115.8	110.3	111.0	125.8
	投与第 39 週	133.5	156.5	134.8	140.0	141.0	125.7	120.0	141.0
	回復第 4 週	140.0				139.5	157.0		
HDL コレステロール (mg/dL)	投与開始前	62.8	73.0	63.0	64.5	69.8	68.0	62.0	72.0
	投与第 4 週	61.5	70.0	60.3	57.3	53.2	46.0	61.8	64.5
	投与第 13 週	64.0	74.8	64.0	61.8	60.3	55.2	61.8	63.0
	投与第 39 週	71.8	83.5	70.0	65.0	76.2	64.0	66.5	73.0
	回復第 4 週	92.0				80.0	86.0		
LDL コレステロール (mg/dL)	投与開始前	45.5	57.0	46.5	66.0	51.5	52.2	48.8	60.8
	投与第 4 週	45.7	51.3	45.3	54.8	41.0	40.0	42.8	59.3
	投与第 13 週	45.2	55.5	54.5	64.5	45.0	45.0	39.5	52.8
	投与第 39 週	49.7	64.8	55.0	65.3	54.3	51.2	42.3	58.0
	回復第 4 週	37.0				50.0	65.0		
リン脂質 (mg/dL)	投与開始前	190.7	205.5	179.5	191.3	200.5	183.2	179.5	201.0
	投与第 4 週	180.3	194.8	160.0	169.3	161.5	141.0	177.3	184.3
	投与第 13 週	183.2	200.0	177.3	182.3	179.7	167.3	174.3	173.3
	投与第 39 週	212.2	220.5	190.8	183.5	209.0	188.7	190.0	199.0
	回復第 4 週	251.0				205.5	222.5		

a) 回復試験動物 2 匹を含む。

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05。

試験番号：B040481；4.2.3.2-5（続き 3）

被験物質 (mg/head)		0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
				E ₂ ：0.039 + NETA：0.169	E ₂ ：0.078 + NETA：0.338	E ₂ ：0.155 + NETA：0.675	E ₂ ：0.62 + NETA：2.7	E ₂ ：0.541	E ₂ ：1.083
動物数		F:6 ^{a)}	F:4	F:4	F:4	F:6 ^{a)}	F:6 ^{a)}	F:4	F:4
血液化学的検査 ¹⁾									
ALP (U/L)	投与開始前	927.3	1336.3	1093.8	908.8	1019.3	1046.8	928.3	993.3
	投与第 4 週	871.3	1254.0	1107.5	949.3	911.7	761.3	998.5	889.8
	投与第 13 週	718.5	1183.3 ^{##}	940.8	771.5	707.0	552.0	849.0	639.3
	投与第 39 週	612.5	1143.5 ^{##}	955.5*	616.0	705.0	581.7	650.5	593.5
	回復第 4 週	422.5				789.5	564.0		
総たん白 (g/dL)	投与開始前	8.03	8.28	8.05	8.15	8.37	8.22	8.38	8.50
	投与第 4 週	8.13	8.03	8.10	7.90	8.12	7.52*	8.25	8.18
	投与第 13 週	8.00	7.83	7.80	7.75	7.98	7.55	8.08	7.93
	投与第 39 週	8.23	8.25	7.88	8.03	8.57	8.05	8.38	8.35
	回復第 4 週	7.90				8.35	7.75		
アルブミン (g/dL)	投与開始前	4.55	4.93 [#]	4.70	4.80	4.88	4.87	4.85	4.95*
	投与第 4 週	4.55	4.83 [#]	4.63	4.53	4.48	4.13**	4.68	4.65
	投与第 13 週	4.53	4.53	4.40	4.38	4.50	4.10	4.53	4.53
	投与第 39 週	4.73	4.83	4.60	4.68	4.85	4.57	4.78	4.90
	回復第 4 週	4.50				4.90	4.55		
A/G 比	投与開始前	1.328	1.463	1.403	1.433	1.417	1.478	1.390	1.408
	投与第 4 週	1.295	1.503 [#]	1.348	1.325	1.242	1.228	1.330	1.333
	投与第 13 週	1.317	1.385	1.288	1.295	1.295	1.197	1.273	1.330
	投与第 39 週	1.358	1.408	1.395	1.413	1.340	1.312	1.323	1.450
	回復第 4 週	1.350				1.425	1.420		

a) 回復試験動物 2 匹を含む。

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05, ## p<0.01, Dunnett 検定：* p<0.05, ** p<0.01。

試験番号：B040481；4.2.3.2-5（続き 4）

被験物質 (mg/head)			0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
					E ₂ ： 0.039 + NETA： 0.169	E ₂ ： 0.078 + NETA： 0.338	E ₂ ： 0.155 + NETA： 0.675	E ₂ ： 0.62 + NETA： 2.7	E ₂ ： 0.541	E ₂ ： 1.083
動物数			F:6 ^{a)}	F:4	F:4	F:4	F:6 ^{a)}	F:6 ^{a)}	F:4	F:4
血液化学的検査 ¹⁾										
カルシウム (mg/dL)	投与開始前		10.27	10.40	10.60	10.55	10.80*	10.75*	10.50	10.80
	投与第 4 週		10.03	10.43	10.13	10.08	10.12	9.78	10.30	10.18
	投与第 13 週		10.12	10.25	10.15	10.03	10.12	9.97	9.98	9.95
	投与第 39 週		10.35	10.43	10.13	10.28	10.58	10.60	10.35	10.30
	回復第 4 週		10.40				10.90	10.50		
無機リン (mg/dL)	投与開始前		4.52	5.58 [#]	4.93	5.28	4.83	5.15	5.83**	5.50*
	投与第 4 週		4.88	5.48	5.68*	5.15	5.22	4.78	5.50	5.50
	投与第 13 週		4.77	5.30	5.05	5.03	4.80	4.65	5.45	4.93
	投与第 39 週		5.12	5.53	5.08	5.03	4.88	4.75	4.93	5.00
	回復第 4 週		4.50				5.60	5.95		
尿検査			-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査			-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査			-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 (% ^{b)}) ¹⁾										
子宮	絶対重量	投与終了時	8.183 g	-73 [#]	-49	-35	-36	-22	-36	-31
		回復終了時	8.130 g				-61	-54		
	相対重量 ^{c)}	投与終了時	247.23	-72 ^{##}	-48	-30	-36	-30	-32	-22
		回復終了時	232.65				-55	-58		

-：特記すべき所見なし。

a) 回復試験動物 2 匹を含む。

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05, ## p<0.01, Dunnett 検定：* p<0.05, ** p<0.01。

b) 対照 (非卵巣摘出) の値は平均値、投与群の数字は対照 (非卵巣摘出) との差を%で示した。

c) 相対重量=絶対重量/最終体重(kg)×100。

試験番号：B040481；4.2.3.2-5（続き 5）

被験物質 (mg/head)	0 (対照： 非卵巣摘出)	0 (対照： 卵巣摘出)	RPR106522				フェミエスト®		
			E ₂ ： 0.039 + NETA： 0.169	E ₂ ： 0.078 + NETA： 0.338	E ₂ ： 0.155 + NETA： 0.675	E ₂ ： 0.62 + NETA： 2.7	E ₂ ： 0.541	E ₂ ： 1.083	
動物数	F:6 ^{a)}	F:4	F:4	F:4	F:6 ^{a)}	F:6 ^{a)}	F:4	F:4	
剖検									
小型の子宮	投与終了時 回復終了時	0 0	4	3	1	1 2	0 2	2	2
病理組織学的検査									
子宮：萎縮	投与終了時 回復終了時	0 0	4	4	4	3 2	0 2	4	2
腔：萎縮	投与終了時 回復終了時	0 0	3	0	1	0 2	4 2	0	0
乳腺： 小葉の萎縮	投与終了時 回復終了時	0 0	3	3	3	2 0	0 0	4	1
下垂体：好酸 性細胞減少	投与終了時 回復終了時	0 0	4	2	0	1 0	0 0	2	2
その他の検査 子宮の形態計測 (% ^{b)} ¹⁾									
子宮内膜厚*	投与終了時 回復終了時	0.3293 cm 0.4060 cm	-67 ^{##}	-52 ^{**}	-43 ^{**}	-39* -72	-21 -80	-47 ^{**}	-31
子宮壁厚*	投与終了時 回復終了時	0.6405 cm 0.6740 cm	-40 ^{##}	-28 ^{**}	-14	-14 -32	-2 -26	-27 ^{**}	-20*
子宮内膜/子 宮壁比	投与終了時 回復終了時	50.750 60.050	-43 ^{##}	-33*	-33*	-29* -58	-19 -72	-25	-13

a) 回復試験動物 2 匹を含む。

1) 対照 (非卵巣摘出) と RPR106522 群間並びに対照 (非卵巣摘出) とフェミエスト® 群間の比較は Dunnett 検定にて、対照 (非卵巣摘出) と対照 (卵巣摘出) の比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01。

b) 対照 (非卵巣摘出) の値は平均値，投与群の数字は対照 (非卵巣摘出) との差を%で示した。

* 新薬承認情報提供時に訂正（訂正前：子宮内膜高，子宮壁高）

試験番号：B040481；4.2.3.2-5（続き 6）

被験物質 (mg/head)	0 (対照： 非卵巢摘出)	0 (対照： 卵巢摘出)	RPR106522				フェミエスト®	
			E ₂ ： 0.039 + NETA： 0.169	E ₂ ： 0.078 + NETA： 0.338	E ₂ ： 0.155 + NETA： 0.675	E ₂ ： 0.62 + NETA： 2.7	E ₂ ： 0.541	E ₂ ： 1.083
回復性の評価	被験物質投与に起因する毒性学的変化と判断した体重の増加並びに総コレステロール及び HDL コレステロールの低下については，回復性が認められた。 卵巢摘出に伴って発現した LDL コレステロール，ALP，リン脂質，総たん白，アルブミン，A/G 比，カルシウム及び無機リンの増加，子宮の重量低下及び小型化並びに子宮内膜厚*，子宮壁厚*及び子宮内膜/子宮壁 比の低下に対する被験物質の効果は，回復期間終了時には消失若しくは消失する傾向を示した。							

* 新薬承認情報提供時に訂正（訂正前：子宮内膜高，子宮壁厚高）

2.6.7.7 遺伝毒性試験

該当する資料なし。

2.6.7.8 がん原性試験

該当する資料なし。

2.6.7.9 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

重要な試験以外の試験

動物種 / 系統	投与方法 (溶媒 / 投与形態)	投与期間	投与量 (µg/kg/day)	一群の 動物数	特記すべき所見	試験 番号
ラット / Sprague Dawley	E ₂ 及び NETA を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁して皮下投与	交配開始前 2 週間及び交配期間 (交尾確認前日まで)	低用量： E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4 中用量： E ₂ : 1 + NETA: 2 高用量： E ₂ : 5 + NETA: 10	8 匹/群	発情回数，発情周期に有意差は認められないものの中用量及び高用量群では不規則な周期を示す動物がそれぞれ 2 及び 4 例認められた．なお，交配成績に変化は認められなかった．高用量群で黄体数及び着床数に減少傾向並びに未着床率に増加傾向が見られ，それに伴い生存胚数にも減少傾向が認められた．	P031104； 4.2.3.5.1-1
	E ₂ 及び NETA を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁して皮下投与	妊娠 0～6 日	低用量： E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4 中用量： E ₂ : 1 + NETA: 2 高用量： E ₂ : 5 + NETA: 10	8 匹/群	高用量群で母動物の体重及び摂餌量の減少が認められた．高用量群の全例及び中用量群の 1 例では，着床を確認できなかった．着床が確認された母動物の妊娠 13 日における帝王切開時検査では，中用量群で黄体数，着床数及び生存胚数の有意な減少並びに未着床率及び死亡胚率の有意な増加が認められた．低用量群では，被験物質投与による影響は認められなかった．	P031105； 4.2.3.5.1-3

重要な試験以外の試験 (続き)

動物種 / 系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (µg/kg/day)	一群の 動物数	特記すべき所見	試験 番号
ラット / Sprague Dawley	E ₂ 及び NETA を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁し て皮下投与	妊娠 6 ~ 17 日	最低用量 : E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4 低用量 : E ₂ : 1 + NETA: 2 中用量 : E ₂ : 5 + NETA: 10 高用量 : E ₂ : 25 + NETA: 50 最高用量 : E ₂ : 125 + NETA: 250 E ₂ 単独 : E ₂ : 125 NETA 単独 : NETA: 250	8 匹/群	最高用量及び E ₂ 単独群の母動物で は、妊娠中～末期にかけて膣からの出 血が見られ、これら 2 群と高用量群で 母動物の体重の増加抑制及び摂餌量の 減少が認められた。最高用量及び E ₂ 単独群の総胎児死亡率は 100 % 及び 97.98 % となり、これら 2 群に着床数 の減少が認められた。	P031106 ; 4.2.3.5.2-1
ウサギ / New Zealand White	E ₂ 及び NETA を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁し て皮下投与	妊娠 6 ~ 18 日	投与量 (µg/kg/day) 低用量 : E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4 中用量 : E ₂ : 1 + NETA: 2 高用量 : E ₂ : 5 + NETA: 10	7 匹/群	中用量及び高用量群で母動物の体重 及び摂餌量の減少あるいは減少傾向が 認められた。全胚吸収が、中用量群の 3 例及び高用量群の全例で見られ、総 胚・胎児死亡率 (主に早期吸収胚率) の 上昇及び生存胎児数の減少が認められ た。	P031107 ; 4.2.3.5.2-3
	RPR106522 の経皮投与	妊娠 6 ~ 18 日	投与量 (mg/head) 低用量 : E ₂ : 0.039 + NETA: 0.169 中用量 : E ₂ : 0.155 + NETA: 0.675 高用量 : E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	8 匹/群	体重の減少傾向が投与開始以降に見 られ摂餌量の減少傾向 (妊娠 9 ~ 12 日) と増加傾向 (妊娠末期) が認められた。 このほか、各群の全例で全胚吸収が認 められ、生存胎児を得ることができな かった。	P040025 ; 4.2.3.5.2-4

2.6.7.10 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（交配前投与試験）

報告書の題名：酢酸ノルエチステロン及びエストラジオールのラットを用いた皮下投与による生殖発生毒性試験 - 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（交配前投与試験） -

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

試験計画：ICH 4.1.1 準拠
 動物種 / 系統：ラット / Crj: CD (SD) IGS
 試験開始週齢：10 週齢
 初回投与年月日：20 年 月 日
 投与方法：皮下投与
 特記事項：投与は雌に交配前 2 週間及び交配期間 (交尾確認前日まで) に実施し，交配には無処置の雄を使用した．
 半数例 (20 例) は交配前 2 週間投与後，7 週間休薬させた後に交配させ，回復性を確認した．
 無毒性量：F₀ 雌：E₂: 0.2 + NETA: 0.4 µg/kg/day
 F₁ 胎児：E₂: 5 + NETA: 10 µg/kg/day

投与期間：雌：交配前 2 週間及び交配期間 (交尾確認前日まで)
 回復期間：7 週間
 交尾成立日：妊娠 0 日
 帝王切開日：妊娠 13 日
 溶媒/投与形態：0.5% CMC-Na 溶液

試験番号：P040022
 CTD における記載箇所：4.2.3.5.1-2
 GLP 適用：適

試験番号：P040022；4.2.3.5.1-2

投与量 (µg/kg/day)		0 (対照)	E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4	E ₂ : 1 + NETA: 2	E ₂ : 5 + NETA: 10	E ₂ : 5	NETA: 10
親 (雌) 動物	評価動物数 ^{a)}	40	40	40	40	40	40
	一般状態	-	-	-	-	-	-
	体重 妊娠 0 日目	250.8 g	0	-1	-4	-5 [#]	0
	(% ^{b)} 4 日目	278.5 g	0	-1	-4	-4 [#]	-2
	7 日目	292.2 g	0	-1	-4	-3 [#]	-2
摂餌量		-	-	-	-	-	-

- : 特記すべき所見なし．
- a) 半数例 (20 例) は回復群．
- b) 対照群の値は平均値，投与群の数字は対照群との差を% で示した．
- 1) 対照群 と併用投与群間の比較は Dunnett 検定にて，対照群と E₂ 単独投与群並びに NETA 単独投与群との比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った．t 検定：# p<0.05，統計学的有意差は実測値から算出．

試験番号：P040022；4.2.3.5.1-2（続き）

投与量 (µg/kg/day)		0 (対照)	E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4	E ₂ : 1 + NETA: 2	E ₂ : 5 + NETA: 10	E ₂ : 5	NETA: 10
親 (雌) 動物	評価動物数 ^{a)}	40	40	40	40	40	40
	剖検	-	-	-	-	卵巣の嚢胞：1	-
	投与期間	-	-	-	-	-	-
	回復期間	-	-	-	-	-	-
	発情回数 ¹⁾	3.80	3.65	3.23*	2.95**	2.95 ^{##}	3.85
	投与期間	3.80	3.80	3.80	3.90	3.75	3.70
	回復期間	3.80	3.80	3.80	3.90	3.75	3.70
	性周期(日) ¹⁾	4.05	4.15	4.66	5.20**	6.38 ^{##}	4.02
	投与期間	4.09	4.05	4.09	4.03	4.00	4.00
	回復期間	4.09	4.05	4.09	4.03	4.00	4.00
	交尾率(%) ²⁾	100	100	100	100	100	100
	投与期間	90	95	100	100	100	100
	回復期間	90	95	100	100	100	100
	受胎率(%) ²⁾	100	100	75.00	75.00	45.00	100
	投与期間	94.44	100	95.00	100	95.00	100
	回復期間	94.44	100	95.00	100	95.00	100
	平均交尾所要日数 ¹⁾	3.35	2.75	2.95	1.75**	1.95	2.60
	投与期間	2.61	2.53	3.00	2.95	2.25	2.40
	回復期間	2.61	2.53	3.00	2.95	2.25	2.40
	妊娠動物数	20 + 17 ^{c)}	20 + 19 ^{c)}	15 + 19 ^{c)}	15 + 20 ^{c)}	9 + 19 ^{c)}	20 + 20 ^{c)}
	平均黄体数 ¹⁾	15.30	14.35	14.47	14.07	14.00	14.95
	投与期間	15.06	15.37	16.00	15.10	15.42	14.65
	回復期間	15.06	15.37	16.00	15.10	15.42	14.65
	平均着床数 ¹⁾	14.00	13.30	13.40	13.67	12.00	14.10
	投与期間	13.65	14.74	13.63	14.15	14.89 [#]	14.00
	回復期間	13.65	14.74	13.63	14.15	14.89 [#]	14.00
	平均未着床率(%) ³⁾	8.50	7.32	7.37	2.84	14.29	5.69
	投与期間	9.38	4.11	14.80	6.29	3.41	4.44
	回復期間	9.38	4.11	14.80	6.29	3.41	4.44
	死亡胚率(%) ³⁾	5.36	6.39	3.48	10.24*	6.48	4.26
	投与期間	8.19	7.14	11.20	6.71	7.42	6.43
	回復期間	8.19	7.14	11.20	6.71	7.42	6.43
	平均生存胚数 ¹⁾	13.25	12.45	12.93	12.27	11.22	13.50
	投与期間	12.53	13.68	12.11	13.20	13.79 [#]	13.10
	回復期間	12.53	13.68	12.11	13.20	13.79 [#]	13.10

-：特記すべき所見なし。

a) 半数例 (20 例) は回復群。c) 回復群の妊娠動物数。

1) 対照群 と併用投与群間の比較は Dunnett 検定にて，対照群と E₂ 単独投与群並びに NETA 単独投与群との比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01。2) 統計処理は χ^2 検定にて行った。

3) 統計処理は Wilcoxon の順位和検定にて行った。* p<0.05，** p<0.01。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与試験）

報告書の題名：酢酸ノルエチステロン及びエストラジオールのラットを用いた皮下投与による生殖発生毒性試験 - 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与試験） -

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

試験計画：ICH 4.1.1 準拠

動物種 / 系統：ラット / Crj:CD (SD) IGS

試験開始週齢：12 週齢

初回投与年月日：20■年■月■日

投与期間：妊娠 0～6 日

交尾成立日：妊娠 0 日

帝王切開日：妊娠 13 日

投与方法：皮下投与

溶媒/投与形態：0.5% CMC-Na 溶液

試験番号：P040023

CTD における記載箇所：4.2.3.5.1-4

GLP 適用：適

特記事項：妊娠初期にのみ投与を実施した。

無毒性量：F₀ 雌：E₂: 0.2 +NETA: 0.4 µg/kg/day

F₁ 胎児：E₂: 0.2 +NETA: 0.4 µg/kg/day

試験番号：P040023；4.2.3.5.1-4

投与量 (µg/kg/day)				0 (対照)	E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4	E ₂ : 1 + NETA: 2	E ₂ : 5 + NETA: 10	E ₂ : 5	NETA: 10
親 (雌) 動物	評価動物数			20	20	20	20	20	20
	一般状態			-	-	-	-	-	-
	体重	妊娠 10 日目		326.5 g	0	-1	-4	-3	1
		(%) ^{a)1)} 13 日目		341.9 g	0	-1	-7**	-7 ^{##}	1
	摂餌量	妊娠 5 日目		25.9 g	-1	-1	-5	-8 ^{##}	0
		(%) ^{a)1)} 7 日目		26.7 g	-3	-3	-8*	-10 ^{##}	-2
		10 日目		27.0 g	0	1	-7	-9 [#]	0
		13 日目		27.2 g	1	2	-12*	-13 ^{##}	1
	剖検			-	-	-	-	-	-

-：特記すべき異常なし。

a) 対照群の値は平均値，投与群の数字は対照群との差を%で示した。

1) 対照群と併用投与群の比較は Dunnett 検定にて，対照群と E₂ 単独投与群若しくは NETA 単独投与群との比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った。t 検定：# p<0.05，## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01，統計学的有意差は実測値から算出。

試験番号：P040023；4.2.3.5.1-4（続き）

投与量 (µg/kg/day)		0 (対照)	E ₂ : 0.2 + NETA: 0.4	E ₂ : 1 + NETA: 2	E ₂ : 5 + NETA: 10	E ₂ : 5	NETA: 10
親 (雌) 動物	妊娠動物数	20	20	18	5	0	20
	平均黄体数 ¹⁾	15.85	16.10	14.22**	12.60**	全例不妊	15.45
	平均着床数 ¹⁾	15.65	15.25	9.56**	1.40**		14.80
	平均未着床率 (%) ²⁾	1.26	5.28	32.81**	88.89**		4.21
	死亡胚率 (%) ²⁾	6.39	9.51	45.93**	100**		6.42
	平均生存胚数 ¹⁾	14.65	13.80	5.17**	0**		13.85

1) 対照群 と併用投与群間の比較は Dunnett 検定にて，対照群と E₂ 単独投与群並びに NETA 単独投与群との比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った．Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01

2) 統計処理は Wilcoxon の順位和検定にて行った．** p<0.01

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：ラットの胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：酢酸ノルエチステロン及びエストラジオールのラットを用いた皮下投与による生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生への影響に関する試験 -

被験物質：酢酸ノルエチステロン / エストラジオール

試験計画：ICH 4.1.3 に準拠

投与期間：妊娠 6 ~ 17 日

試験番号：P040024

動物種/系統：ラット/Crj:CD (SD) IGS

交尾成立日：妊娠 0 日

CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-2

試験開始週齢：12 週齢

帝王切開日：妊娠 20 日

GLP 適用：適

初回投与年月日：20 年 月 日

投与方法：皮下投与

特記事項：特になし。

溶媒/投与形態：0.5% CMC-Na 溶液

無毒性量：F₀ 雌：E₂: 12.5 + NETA: 25 µg/kg/day

F₁ 胎児：E₂: 12.5 + NETA: 25 µg/kg/day

試験番号：P040024 ; 4.2.3.5.2-2

投与量 (µg/kg/day)			0 (対照)	E ₂ : 12.5 + NETA: 25	E ₂ : 25 + NETA: 50	E ₂ : 50 + NETA: 100	E ₂ : 50	NETA: 100
母体 / 雌動物	トキシコキネティクス							
	E ₂	T _{max} (hr)	初回投与	ND	1.0	1.0	1.0	24
			最終投与	ND	1.0	1.0	0.50	NC
		C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	756	1336	2041	20.7
			最終投与	ND	387	682	933	NC
		AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	1352	3578	6724	NC
			最終投与	ND	712	1760	4092	NC

ND：測定せず，NC：算出できず。

試験番号：P040024；4.2.3.5.2-2（続き）

投与量 (μg/kg/day)			0 (対照)	E ₂ : 12.5 + NETA: 25	E ₂ : 25 + NETA: 50	E ₂ : 50 + NETA: 100	E ₂ : 50	NETA: 100	
母体 / 雌動物	トキシコキネティクス								
	NETA	T _{max} (hr)	初回投与	ND	0.50	1.0	1.0	NC	1.0
			最終投与	ND	NC	1.0	1.0	NC	0.50
		C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	0.609	1.43	2.53	NC	2.33
			最終投与	ND	NC	0.674	1.21	NC	1.40
		AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	0.403	1.65	4.62	NC	3.02
			最終投与	ND	NC	0.439	0.641	NC	0.993
	NET	T _{max} (hr)	初回投与	ND	1.0	1.0	1.0	NC	1.0
			最終投与	ND	1.0	0.50	0.50	NC	0.50
		C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	1.23	3.19	4.98	NC	4.27
			最終投与	ND	1.38	3.11	3.91	NC	4.89
		AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	0.735	5.75	10.7	NC	8.25
			最終投与	ND	1.77	3.93	7.33	NC	5.67
	妊娠動物数			20	19	20	20	18	20
	全胚吸収母体数			0	0	2	15	17	0
	一般状態			-	-	膣からの 出血：1-2 例/日 (妊娠 14-20 日)	膣からの 出血：1-11 例/日 (妊娠 9,12-19 日)	膣からの 出血：3-13 例/日 (妊娠 12-19 日)	-
	体重 (% ^a) ¹⁾			390.1 g	-1	-3	-17**	-18 ^{##}	0
摂餌量 (% ^a) ¹⁾			28.9 g	-6	-9	-33**	-35 ^{##}	-1	
剖検			-	脾臓の黄白 色斑：1 例	-	-	皮下の灰白色腫 瘍：1 例	-	
平均黄体数 ¹⁾			16.45	16.32	16.70	15.85	15.67	16.25	
平均着床数 ¹⁾			15.65	15.58	15.25	13.15*	13.33 ^{##}	15.75	
平均未着床率 (%) ²⁾			4.86	4.52	8.68	17.03	14.89**	3.08	

ND：測定せず，NC：算出できず，-：特記すべき所見なし。

a) 投与終了時の値，対照群の値は平均値．投与群の数字は対照群との差を%で示した．統計学的有意差は実測値から算出した．

1) 対照群と併用投与群間の比較はDunnett検定にて，対照群とE₂単独投与群並びにNETA単独投与群との比較はStudent t検定又はAspin-Welch検定にて行った．t検定：## p<0.01，Dunnett検定：* p<0.05，** p<0.01．

2) 統計処理はWilcoxonの順位和検定にて行った．** p<0.01．

試験番号：P040024；4.2.3.5.2-2（続き 2）

投与量 (µg/kg/day)		0 (対照)	E ₂ : 12.5 + NETA: 25	E ₂ : 25 + NETA: 50	E ₂ : 50 + NETA: 100	E ₂ : 50	NETA: 100
胎児	評価母体数	20	19	20	20	18	20
	生存胎児数 ¹⁾	14.05	13.47	12.40	1.75**	0.33 ^{##}	14.95
	総胎児死亡率 (%) ²⁾	10.22	13.51	18.69	86.69**	97.50**	5.08
	胎児の性比 (♂ / ♀)	0.98 (139/142)	0.94 (124/132)	1.30 (140/108)	0.67 (14/21)	2.00 (4/2)	1.18 (162/137)
	平均胎児体重 (g) ¹⁾						
	♂	3.91	3.95	3.83	3.66	3.87	3.69*
	♀	3.62	3.65	3.56	3.56	3.40	3.47
	胎盤異常数	0	0	0	0	0	0
	胎児検査						
	外表異常 (出現率%) ²⁾						
	全身浮腫	0	0	0.40	0	0	0
	舌突出	0	0	0.40	0	0	0
	小肢	0	0	0.40	0	0	0
	眼瞼開存	0	0	0.40	0	0	0
	臍ヘルニア	0	0	0	0	0	0.33
	内臓異常 (出現率%) ²⁾						
	小眼球	0.69	NE	0	0	0	0
	腎盂拡張	1.38	NE	0	0	0	0.65
	尿管拡張	5.52	NE	3.13	0	0	0.65
	胸腺の頸部遺残	1.38	NE	3.91	0	0	3.25
	大動脈弓離断	0	NE	0.78	0	0	0
	側脳室の拡張	0	NE	0	0	0	0.65
	右鎖骨下動脈の背側走行	0	NE	0	0	0	0.65

NE：検査未実施

1) 対照群 と併用投与群間の比較は Dunnett 検定にて，対照群と E₂ 単独投与群並びに NETA 単独投与群との比較は Student t 検定又は Aspin-Welch 検定にて行った．t 検定：## p<0.01，Dunnett 検定：* p<0.05，** p<0.01．

2) 統計処理は Wilcoxon の順位和検定にて行った．* p<0.05，** p<0.01．

試験番号：P040024；4.2.3.5.2-2（続き 3）

投与量 (µg/kg/day)		0 (対照)	E ₂ : 12.5 + NETA: 25	E ₂ : 25 + NETA: 50	E ₂ : 50 + NETA: 100	E ₂ : 50	NETA: 100
胎児	評価母体数	20	19	20	20	18	20
	骨格異常 (出現率 %) ²⁾						
	波状肋骨	0.74	NE	1.67	0	33.33	0
	骨格変異 (出現率 %) ²⁾						
	短小過剰肋骨	9.56	NE	4.17	0	0	9.66
	完全過剰肋骨	0.74	NE	0	0	0	0.69
	胸骨非対称	0.74	NE	4.17	0	0	0
	胸椎体分離	0.74	NE	0.83	0	0	1.38
	第 13 肋骨の短小	0.74	NE	0	0	0	0.69
	胸骨分離	0	NE	1.67	0	0	0.69
	頸肋	0	NE	0	0	0	2.07
化骨進行度		-	NE	左前肢基節骨 増加	-	-	-

NE：検査未実施， -：特記すべき所見なし。
2) 統計処理は Wilcoxon の順位和検定にて行った。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：ウサギの胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：RPR106522のウサギを用いた経皮投与による生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生への影響に関する試験 -

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

試験計画：ICH 4.1.3 準拠	投与期間：妊娠 6 ~ 18 日	試験番号：P040262
動物種/系統：ウサギ/Kbs:New Zealand White	交尾成立日：妊娠 0 日	CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-5
投与開始週齢：約 5 箇月齢	帝王切開日：妊娠 29 日	GLP 適用：適
初回投与年月日：20■年■月■日	投与方法：経皮投与	
	溶媒/投与形態：製剤の貼付	

特記事項：RPR106522 (面積 9 cm², E₂: 0.62 + NETA: 2.7 mg/head)を 0.04 cm² (E₂: 0.00276 + NETA: 0.012 mg/head), 0.09 cm² (E₂: 0.0062 + NETA: 0.027 mg/head)及び 0.18 cm² (E₂: 0.0124 + NETA: 0.054 mg/head)の大きさに切断し, 妊娠 6 日から妊娠 18 日まで 3 日に 1 回の頻度で製剤を更新しながら計 4 回貼付した。

無毒性量：F₀ 雌：E₂: 0.00276 + NETA: 0.012 mg/head
F₁ 胎児：E₂: 0.00276 + NETA: 0.012 mg/head

試験番号：P040262 ; 4.2.3.5.2-5

投与量 (mg/head)				0 (対照)	E ₂ : 0.00276 + NETA: 0.012	E ₂ : 0.0062 + NETA: 0.027	E ₂ : 0.0124 + NETA: 0.054
母体 / 雌動物	トキシコキネティクス						
	E ₂	C _{ave} (pg/mL)	初回投与	ND	NC	16.3	12.8
			最終投与	ND	NC	24.2	19.9
		C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	29.3	26.3	49.8
			最終投与	ND	20.2	34.5	30.3
		AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	NC	1173	924
			最終投与	ND	NC	2323	1913

ND：測定せず，NC：算出できず。

試験番号：P040262；4.2.3.5.2-5（続き）

投与量 (mg/head)				0 (対照)	E ₂ : 0.00276 + NETA: 0.012	E ₂ : 0.0062 + NETA: 0.027	E ₂ : 0.0124 + NETA: 0.054	
母体 / 雌動物	NETA	C _{ave} (pg/mL)	初回投与	ND	NC	NC	NC	
			最終投与	ND	NC	NC	NC	
		C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	NC	NC	NC	
			最終投与	ND	NC	NC	NC	
		AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	NC	NC	NC	
			最終投与	ND	NC	NC	NC	
	NET	C _{ave} (pg/mL)	初回投与	ND	NC	NC	NC	
			最終投与	ND	NC	NC	NC	
		C _{max} (pg/mL)	初回投与	ND	NC	NC	NC	
			最終投与	ND	NC	NC	NC	
		AUC _{0-t(last)} (pg・hr/mL)	初回投与	ND	NC	NC	NC	
			最終投与	ND	NC	NC	NC	
	妊娠動物数				19	18	18	18
	全胚吸収母体数				0	0	4	15
	一般状態				-	死亡： 1例 (妊娠 29日) ^{a)}	膣からの出血： 1例 (妊娠 18-28日)	膣からの出血： 1例 (妊娠 19-21日) 流産： 1例 (妊娠 21日)
体重 (%) ¹⁾	妊娠	18日	3536 g	-1	-2	-4*		
		21日	3592 g	-1	-3	-7**		
		25日	3669 g	-2	-3	-6**		
		29日	3711 g	-1	-2	-5*		
摂餌量 (%) ¹⁾	妊娠	21日	122 g	-13	-26*	-31*		
		29日	88 g	-5	14	34*		

-：特記すべき所見なし。

ND：測定せず，NC：算出できず。

1) 対照群と投与群間の比較はDunnett検定にて行った。* p<0.05，** p<0.01。

a) 被験物質の投与とは関連なく，偶発的な摂餌不良により死亡した。

試験番号：P040262；4.2.3.5.2-5（続き 2）

投与量 (mg/head)		0 (対照)	E ₂ : 0.00276 + NETA: 0.012	E ₂ : 0.0062 + NETA: 0.027	E ₂ : 0.0124 + NETA: 0.054
母体 / 雌動物	剖検	-	肝臓の褪色：1 例 死亡例： 胸腺の小型化 肺の暗赤色化 肝臓の褪色 胆嚢の胆汁による膨満 脾臓の小型化 胃粘膜の暗赤色点	-	-
	平均黄体数 ¹⁾	8.16	8.82	8.89	7.35
	平均着床数 ¹⁾	7.63	7.88	6.94	6.06
	平均未着床率 (%) ²⁾	6.45	10.67	21.88*	17.60
胎児	評価母体数	19	17	18	17
	生存胎児数 ¹⁾	7.05	6.94	4.33**	0.76**
	総胎児死亡率 (%) ²⁾	7.59	11.94	37.60**	87.38**
	早期吸収胚率 (%) ²⁾	5.52	11.19	33.60**	87.38**
	後期吸収胚率 (%) ²⁾	2.07	0.75	4.00	0
	死亡胎児率 (%) ²⁾	0	0	0	0
	胎児の性比 (♂ / ♀)	0.94 (65/69)	0.84 (54/64)	1.05 (40/38)	1.17 (7/6)
	平均胎児体重 (g) ¹⁾				
	♂	42.35	41.33	41.84	47.10
	♀	40.26	38.21	42.35	42.07
	胎盤異常数	0	0	0	0

-：特記すべき所見なし。

1) 対照群 と投与群間の比較は Dunnett 検定にて行った。** p<0.01。

2) 統計処理は Wilcoxon の順位和検定にて行った。* p<0.05，** p<0.01。

試験番号：P040262；4.2.3.5.2-5（続き 3）

投与量 (mg/head)		0 (対照)	E ₂ : 0.00276 + NETA: 0.012	E ₂ : 0.0062 + NETA: 0.027	E ₂ : 0.0124 + NETA: 0.054
胎児	胎児の異常				
	外表異常 胎児数	0	0	0	0
	内臓異常 (出現率%) ²⁾				
	胸腺の頸部遺残	1.49	0	1.28	0
	脳室拡張	0	0	1.28	0
	右鎖骨下動脈の背側走行	0	0	1.28	0
	骨格異常 (出現率%) ²⁾				
	肋骨欠損	0.75	0	0	0
	胸骨癒合	2.24	4.24	3.85	7.69
	胸椎体癒合	0.75	0	0	0
	腰椎体癒合	0.75	0	0	0
	腰椎弓欠損	0.75	0	0	0
	肋骨結節	0	0.85	0	0
	骨格変異 (出現率%) ²⁾				
	短小過剰肋骨	4.48	3.39	5.13	0
	完全過剰肋骨	84.33	72.03	67.95	46.15
	第 8 腰椎数	0.75	0.85	0	0
	胸椎体不完全骨化	0.75	0	0	0
	胸骨非対称	0	0.85	1.28	0
	第 6 腰椎	0	0.85	0	0
	頸肋	0	0	1.28	0
	化骨進行度	-	左中手骨低下	-	-

-：特記すべき所見なし。

2) 統計処理は Wilcoxon の順位和検定にて行った。

2.6.7.14 局所刺激性試験

(1) ウサギ皮膚一次刺激性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統	投与方法	投与量 (mg/head)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ / New Zealand White	ウサギ背部の健常皮膚と 損傷皮膚に RPR106522 (面積 9 cm ²)1 枚を 24 時間 貼付した。対照群には、 日本薬局方絆創膏を貼付 した。	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	性別：雌 一群動物数： 6 匹 (4 箇月齢)	RPR106522 は、製剤除去後に健常皮膚及び損傷皮膚で共にごく軽度の紅斑が見られたが、製剤除去後 4 日までには全例の健常皮膚及び損傷皮膚で正常に回復した。RPR106522 の一次刺激指数は 0.4 となり、「弱い刺激物」に評価された(Draize らの基準)。	P020546 ; 4.2.3.6-1

(2) ウサギ皮膚累積刺激性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統	投与方法	投与量 (mg/head)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ / New Zealand White	ウサギ背部の健常皮膚 と損傷皮膚に RPR106522 (面積 9 cm ²)1 枚を 3~4 日間隔で更新しながら同 一部位に 4 週間反復貼付 した。対照群には、日本 薬局方絆創膏を同様に貼 付した。	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	性別：雌 一群動物数： 6 匹 (4 箇月齢)	RPR106522 の初回貼付後 72 時間ではごく軽度の紅斑が 見られるのみであったが、投与 7 日以降から皮膚反応は 増強し、紅斑に加えて投与 10 日以降に浮腫、投与 14 日 以降に痂皮形成が認められた。この変化は健常皮膚では 投与 14 日及び 17 日に、損傷皮膚では投与 17 日にピー クに達し、平均評点はそれぞれ 4.7 及び 5.0 であった。 貼付部位の病理組織学的検査では、扁平上皮の過形 成、真皮への偽好酸球及びリンパ球の浸潤、上皮の変性 又は壊死、上皮への偽好酸球の浸潤、真皮の出血及び真 皮の浮腫が認められた。 なお、いずれの皮膚反応も健常皮膚と損傷皮膚との間 で差は見られなかった。 以上、RPR106522 は総平均評点が 3.5 の皮膚累積刺激性 を示し、「中等度刺激物」と評価された(Draize らの基 準)。	P020547 ; 4.2.3.6-2

(3) ウサギ耳介皮膚累積刺激性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統	投与方法	投与量 (mg/head)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ / New Zealand White	ウサギ左右耳介の健常 皮膚と損傷皮膚に RPR106522 (面積 14.4 cm ²)1/2 枚を 3～4 日間 隔で貼付部位を交替し ながら 4 週間反復貼付 した。対照群には、プ ラセボパッチを同様に 貼付した。	E ₂ : 0.115 + NETA: 1.825	性別：雌 一群動物数： 10 匹 (約 6 箇月齢)	各貼付 3 日目の観察では、紅斑が RPR106522 とプ ラセボパッチ群に同程度認められた。また、各貼 付 4 日目の観察では、紅斑が 3 日目の観察よりや や高い頻度で認められたが、紅斑の頻度と程度は RPR106522 とプラセボパッチ群とで差がなかつ た。紅斑は製剤を除去した後 3～4 日 (次回貼付前) までに消失し、全例で浮腫は認められなかった。 貼付部位の病理組織学検査では、RPR106522 とプ ラセボパッチの両群に軽度～中等度の皮膚炎、表 皮の肥厚及び角質層の増殖が認められ、差は認め られなかった。なお、いずれの皮膚反応も健常皮 膚と損傷皮膚との間で差は見られなかった。以上 の結果から、ウサギ耳介に RPR106522 及びプラセ ボパッチを貼付部位を交替しながら 4 週間連続貼 付したときの皮膚刺激性は、軽度～中等度の紅斑 のみであり、これらの変化は、3～4 日で消失する 可逆的な変化であった。	DS92-115 ; 4.2.3.6-3

2.6.7.15 その他の毒性試験（抗原性試験）

（１） モルモットを用いた皮膚感作性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統	投与方法及び投与期間	投与量 (mg/head)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
モルモット / Hartley	モルモット背部皮膚に RPR106522 (面積 3.6 cm ²)を 0, 2, 4 及び 7 日に 6 時間ずつ 貼付して感作し, 4 日目にフロイント完全 アジュバントを投与した。また, 22 日目 に RPR106522 を 6 時間貼付して惹起し, 皮膚を 23, 24 及び 25 日に観察した。対 照群には, プラセボパッチを貼付した。 このほか, 非感作対照及び陽性対照群 (α - Hexylcinnamaldehyde)を設けた。	E ₂ : 0.252 + NETA:1.08	性別：雌雄 一群動物数： 20 匹 (M10, F10), 非感作対 照並びに陽性 対照群は 10 匹 (M5, F5)	RPR106522 貼付によりスコア 1 以上の皮膚 反応を示した動物数は, RPR106522 感作群 で 4 例/20 例であり, 非感作対照群の 2 例 /10 例とで同様であった。 したがって, RPR106522 に皮膚感作性は認 められなかった。また, プラセボパッチで も同様に皮膚感作性は認められず, 基剤に は皮膚感作性がないものと考えられた。	DS94- 081; 4.2.3.7.1-1

(2) モルモットを用いた皮膚光感作性試験

被験物質： エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統	投与方法と投与期間	投与量 (mg/head)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
モルモット / Hartley	モルモット背部皮膚に RPR106522 (面積 9 cm ²) を、毎日更新しながら 9 日間貼付し、製剤更新時に UVA (30 J/cm ²) を照射した。最終照射から 20 日後に RPR106522 (面積 3.25 cm ²) を 24 時間貼付し、UVA (10 J/cm ²) を照射し惹起を行い、皮膚を観察した。対照群には、プラセボパッチを貼付したほか、偽処置群を設けた。	感作： E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7 惹起： E ₂ : 0.2 + NETA: 1.0	性別：雌 一群動物数： 12 匹 (4～5 週 齢)	基剤感作 - 基剤惹起群及び RPR106522 感作 - RPR106522 惹起群に光照射による有意な皮膚反応は認められなかった。したがって、RPR106522 及びプラセボパッチに皮膚光感作性はないものと考えられた。	DS/CVRC 96-029 ; 4.2.3.7.1-2

2.6.7.16 その他の毒性試験 (不純物の毒性試験)

(1) 反復投与毒性試験 (DS/CVRC 96-047)

報告書の題名: RPR 106522: 4-WEEK DERMAL TOXICITY STUDY OF DEGRADED PATCHES IN RATS

被験物質: RPR106522 (非劣化製剤)・劣化製剤 (30°C で 5 箇月間保存, 40°C で 4.5 箇月間保存)

動物種/系統: ラット/Crl: CDHairless
試験開始週齢: 16 ~ 17 週齢
初回投与年月日: 19■■年■■月■■日

投与期間: 4 週間
休薬期間: 設定せず
投与方法: 経皮投与
溶媒/投与形態: 貼付箇所を 2 箇所用意し, 3 ~ 4 日間隔でパッチを更新した。

試験番号: DS/CVRC 96-047
CTD における記載箇所: 4.2.3.7.6-1
GLP 適用: 適

特記事項: 対照群には無処置対照群, 胴包帯とエリザベスカラーのみを装着した偽処置対照群及びプラセボパッチ (面積 3.25 cm²) 群を設定した。
RPR106522 (非劣化製剤) は, 面積 1.29 cm² (E₂: 0.09 + NETA: 0.39 mg) と面積 3.25 cm² (E₂: 0.22 + NETA: 0.98 mg) を使用した。
投与 2 日目及び投与 26 日目に, 製剤を更新した後約 24 時間の E₂ 及び NETA の血漿中濃度を測定した。
劣化製剤 1: RPR106522 を 30°C で 5 箇月間保存した製剤 (1.29 cm², E₂ 分解物合計 3.43%, NETA 分解物合計 5.41%)。劣化製剤 2: RPR106522 を 30°C で 5 箇月間保存した製剤 (3.25 cm², E₂ 分解物合計 3.43%, NETA 分解物合計 5.41%)。劣化製剤 3: RPR106522 を 40°C で 4.5 箇月間保存した製剤 (3.25 cm², E₂ 分解物合計 10.08%, NETA 分解物合計 9.48%)。
無毒性量: 無毒性量は求められなかった。

試験番号: DS/CVRC 96-047; 4.2.3.7.6-1

被験物質 / 投与群	0 (対照: 無処置)	偽処置群	プラセボ パッチ	RPR106522 (非劣化製剤) (mg/head)		劣化条件: 30°C/5 箇月		劣化条件: 40°C/4.5 箇月
				E ₂ : 0.09 NETA: 0.39	E ₂ : 0.22 NETA: 0.98	劣化製剤 1	劣化製剤 2	劣化製剤 3
動物数	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10
トキシコキネティクス								
E ₂ (pg/mL) ^{a)}								
投与 2 日目	BLQ	BLQ	BLQ	465	1171	383	946	921
投与 26 日目	BLQ	BLQ	BLQ	343	647	228	487	581
NET (pg/mL) ^{a)}								
投与 2 日目	BLQ	BLQ	BLQ	577	1704	592	1553	1345
投与 26 日目	BLQ	BLQ	BLQ	569	2018	440	1454	1708

BLQ: 定量下限未満。
a) 製剤更新後約 24 時間の E₂ 及び NETA の血漿中濃度 (投与 2 日目及び投与 26 日目)。

試験番号：DS/CVRC 96-047；4.2.3.7.6-1（続き）

被験物質 / 投与群	0 (対照： 無処置)	偽処置群	プラセボ パッチ	RPR106522（非劣化製剤） (mg/head)		劣化条件： 30°C/5 箇月		劣化条件： 40°C/4.5 箇月
				E ₂ : 0.09 NETA: 0.39	E ₂ : 0.22 NETA: 0.98	劣化製剤 1	劣化製剤 2	劣化製剤 3
動物数	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10
特記すべき所見 死亡及び途中剖検動物数	0	1 ³⁾	1 ³⁾	0	0	0	0	0
一般状態観察	-	-	-	-	-	-	-	-
体重 (% ^{b)}) ¹⁾	300.5 g	-5	-5	-9*	-3	-9*	-6	-8
摂餌量 (% ^{b)}) ¹⁾	26.11 g	50*	52*	27	44*	30	38	40
性周期 (総サイクル数) ²⁾	14	12	12	4	0	1	5	1
血液学的検査 ¹⁾								
赤血球数 (10 ⁶ /μL)	7.492	7.238	7.327	7.066	6.601*	6.882	6.853	6.809
ヘモグロビン量 (g/dL)	14.22	13.86	14.03	13.52	12.64*	13.27	13.08	12.70*
ヘマトクリット (%)	40.35	39.71	40.70	38.54	35.88*	37.79	37.19	36.43
血液化学的検査 ¹⁾								
ALP (u/L)	89.3	91.6	90.3	55.6*	54.2*	53.2*	54.7*	57.8*
AST (u/L)	161.9	226.3	229.0	247.7	266.0	298.9*	249.9	225.9
ALT (u/L)	60.9	91.4	83.3	104.8	133.5*	120.7	121.5	102.2
カルシウム (mg/dL)	10.23	10.14	10.20	10.48	10.97*	10.71*	11.09*	10.73*
総コレステロール (mg/dL)	63.2	66.4	58.0	81.6	92.2*	93.1*	92.4*	88.8*
トリグリセリド (mg/dL)	37.9	37.4	37.0	47.7*	49.4*	45.8	46.0	43.5
グルコース (mg/dL)	126.0	105.7	96.2*	88.7*	85.6*	100.6*	88.1*	87.0*
BUN (mg/dL)	16.3	20.9*	21.0*	22.1*	19.0	20.4*	21.0*	19.9
総たん白 (g/dL)	7.30	7.48	7.41	8.13*	8.49*	8.16*	8.59*	8.15*
アルブミン (g/dL)	3.58	3.56	3.57	3.95*	4.24*	4.11*	4.21*	4.06*
グロブリン (g/dL)	3.72	3.92	3.84	4.18*	4.25*	4.05	4.38*	4.09

- : 特記すべき所見なし。

b) 投与終了時の値，無処置対照群の値は平均値，偽処置群と投与群の数字は無処置対照群との差を%で示した，統計学的有意差は実測値から算出。

1) 無処置対照群と各投与群間の比較は Dunnett 検定にて行った (5% 有意水準についてのみ実施)。Dunnett 検定：* p<0.05。

2) 2 回の正常性周期が認められる期間における性周期の総回数 (10 匹の合計)。

3) 被験物質投与とは関連なく，採血操作時に偶発的に死亡した。

試験番号：DS/CVRC 96-047；4.2.3.7.6-1 (続き 2)

被験物質 / 投与群	0 (対照： 無処置)	偽処置群	プラセボ パッチ	RPR106522 (非劣化製剤) (mg/head)		劣化条件： 30°C/5 箇月		劣化条件： 40°C/4.5 箇月
				E ₂ : 0.09 NETA: 0.39	E ₂ : 0.22 NETA: 0.98	劣化製剤 1	劣化製剤 2	劣化製剤 3
動物数	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10
電気泳動 ¹⁾								
アルブミン (g/dL)	3.51	3.50	3.50	3.99*	4.22*	4.04*	4.20*	3.93*
α ₁ -グロブリン (g/dL)	1.28	1.20	1.14	1.41	1.66*	1.50*	1.64*	1.58*
γ-グロブリン (g/dL)	0.82	1.02*	1.01	1.03*	0.98	0.93	1.00	0.99
尿検査 ¹⁾								
ナトリウム (mEq/L)	34.4	65.7*	49.4	37.0	53.7	47.7	44.3	45.2
尿浸透圧 (mOsm/kg)	771.2	1224.8	1000.9	941.4	1322.3*	1017.4	948.0	1022.6
臓器重量 (%) ^{b) 1)}								
卵巣								
絶対重量	0.1218 g	-14	-10	-50*	-39*	-48*	-52*	-57*
相対重量 ^{b)}	0.04559	-9	-4	-44*	-36*	-42*	-49*	-53*
下垂体								
絶対重量	0.01310 g	2	2	43	121*	81*	129*	108*
相対重量 ^{b)}	0.00488	9	11	60*	130*	101*	149*	127*
脾臓								
絶対重量	0.5500 g	-13	-12	-15*	-10	-15*	-16*	-17*
相対重量 ^{b)}	0.2052	-7	-5	-4	-5	-6	-9	-9
胸腺								
絶対重量	0.1924 g	11	5	-42*	-36*	-34*	-43*	-48*
相対重量 ^{b)}	0.0703	20	15	-34*	-31*	-25	-37*	-42*
子宮								
絶対重量	0.709 g	12	9	48	58	80*	67	107*
相対重量 ^{b)}	0.263	21	18	67	67	103*	82	129*

- : 特記すべき所見なし .

b) 対照群の値は平均値，偽処置群と投与群の数字は無処置対照群との差を% で示した .

c) 相対重量=絶対重量/最終体重×100 . 無処置対照群の値は平均値，投与群の数字は無処置対照群との差を% で示した .

1) 無処置対照群 と各投与群間の比較は Dunnett 検定にて行った (5% 有意水準についてのみ実施) . Dunnett 検定 : * p<0.05 .

試験番号：DS/CVRC 96-047；4.2.3.7.6-1（続き 3）

被験物質 / 投与群	0 (対照： 無処置)	偽処置群	プラセボ パッチ	RPR106522（非劣化製剤） (mg/head)		劣化条件： 30°C/5 箇月		劣化条件： 40°C/4.5 箇月
				E ₂ : 0.09 NETA: 0.39	E ₂ : 0.22 NETA: 0.98	劣化製剤 1	劣化製剤 2	劣化製剤 3
動物数	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10
剖検所見 ^{d)}								
乳腺の肥厚	1	0	0	2	5	6	4	5
卵巢の小型化	0	0	0	0	0	3	2	2
下垂体の肥大	0	0	2	9	9	8	9	8
胸腺の小型化	1	0	0	4	6	3	7	6
子宮の拡張	0	2	0	2	1	6	5	6
子宮の肥大	0	0	0	0	1	0	0	0
病理組織学的検査 ^{d)}								
大腿骨								
小柱骨形成 軽微	0	0	0	3	5	7	4	7
軽度	0	0	0	1	5	0	6	3
胸骨								
小柱骨形成 軽微	0	0	0	2	10	4	10	10
下垂体								
前葉の過形成 軽微	0	0	0	6	0	8	0	6
軽度	0	0	0	1	10	2	10	3
貼付部位								
皮膚の付属器官								
軽微～軽度の萎縮	0	0	0	8	10	6	10	10

d) 発現例数を示した。

試験番号：DS/CVRC 96-047；4.2.3.7.6-1 (続き 4)

被験物質 / 投与群	0 (対照： 無処置)	偽処置群	プラセボ パッチ	RPR106522 (非劣化製剤) (mg/head)		劣化条件： 30°C/5 箇月		劣化条件： 40°C/4.5 箇月
				E ₂ : 0.09 NETA: 0.39	E ₂ : 0.22 NETA: 0.98	劣化製剤 1	劣化製剤 2	劣化製剤 3
動物数	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10
病理組織学的検査 ^{d)}								
卵巣								
成熟/退行 黄体の維持	0	0	1	10	9	9	10	10
黄体数の減少 軽微	0	0	0	1	2	1	2	0
軽度	0	0	0	2	4	0	3	5
中等度	0	0	0	2	2	2	4	3
重度	0	0	0	4	1	4	0	1
子宮								
内膜過形成 軽微	0	0	0	4	3	5	1	4
軽度	0	0	0	6	6	5	9	6
中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
内膜扁平上皮化生								
軽微	0	0	0	1	1	2	0	0
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
膣								
膣上皮粘液分泌を 伴う肥大 軽微	0 ^{e)}	0	0	6	4	4	3	6
軽度	0	0	0	1	3	1	5	2
中等度	0	0	0	0	3	1	0	0
乳腺								
腺房上皮過形成 軽微	0	0	1	5	1	1	0	1
軽度	0	0	0	5	9	8	10	8
中等度	0	0	0	0	0	1	0	1

d) 発現例数を示した。

e) 検査動物数：9 匹

試験番号：DS/CVRC 96-047；4.2.3.7.6-1 (続き 5)

被験物質 / 投与群	0 (対照： 無処置)	偽処置群	プラセボ パッチ	RPR106522 (非劣化製剤) (mg/head)		劣化条件： 30°C/5 箇月		劣化条件： 40°C/4.5 箇月
				E ₂ : 0.09 NETA: 0.39	E ₂ : 0.22 NETA: 0.98	劣化製剤 1	劣化製剤 2	劣化製剤 3
動物数	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10	F : 10
病理組織学的検査 ^{d)}								
顎下腺								
小葉内管萎縮 軽微	0	3	2	2	1	2	1	3
軽度	0	5	5	7	5	7	5	6
中等度	0	1	0	0	3	1	2	1
舌下腺								
萎縮 軽微	0	4	2	1	2	1	1	1
軽度	0	3	5	6	5	8	6	6
中等度	0	0	0	0	1	0	1	2
腎臓								
多巣状の好塩基球増加 軽微	0	4	3	5	4	7	4	5

d) 発現例数を示した。

(2) *In Vitro* 遺伝毒性試験

報告書の題名：RPR106522 (ESTRADIOL / NETA PATCH): BACTERIAL REVERSE MUTATION TEST OF EXTRACTS OF DEGRADED AND REFRIGERATED PATCHES

被験物質：RPR106522 (非劣化製剤)・劣化製剤 (30°C で 5 箇月間保存，40°C で 4.5 箇月間保存)

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験

独立して実施した試験数：2

試験番号：DS/CRVA 96-0168

菌株：*Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA98,

プレート数：3

CTD における記載箇所：4.2.3.7.6-2

TA100, TA102 (5 菌株)

代謝活性化系：Aroclor 誘導ラット肝 S9

分析細胞数/培養：全コロニーを計測

GLP 適用：適

溶媒：DMSO 又は生理食塩液

被験物質：RPR106522 (非劣化製剤)及び劣化製剤を DMSO 又は生理食塩液で抽出し，その原液又は希釈液をプレートに投与．

処理：プレート法で 48 時間

陽性対照：代謝活性化系なし; Sodium azide, 9-Aminoacridine, 2-Nitrofluorene, Mitomycin C, 代謝活性化系あり; 2-Anthramine

処理年月：19■■年 ■月 ■,■■日，■月■■日

特記事項：RPR106522 (非劣化製剤)は E₂: 1.84 + NETA: 7.65 mg を含有する．劣化製剤は，RPR106522 を 30°C で 5 箇月間保存 (E₂ 分解物合計

3.43%，NETA 分解物合計 5.41%)したものと，40°C で 4.5 箇月間保存 (E₂ 分解物合計 10.08%，NETA 分解物合計 9.48%)したものをを用いた．

細胞毒性：DMSO 抽出液では，代謝活性化系の有無にかかわらず，抽出原液群から 4 倍希釈液群まで細胞毒性が観察された菌株があった．生理食塩液抽出液では細胞毒性はなかった．

遺伝毒性：なし

試験番号：DS/CRVA 96-0168；4.2.3.7.6-2

抽出溶媒	代謝活性化系	被験物質 (劣化条件)	濃度又は 用量段階	復帰変異コロニー数 (平均値)				
				TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
DMSO	なし	陰性対照		11	8	19	127	327
		陽性対照		110	40	148	664	798
		RPR106522 (非劣化製剤)	32 倍希釈液	12	9	22	126	272
			16 倍希釈液	12	9	19	136	279
			8 倍希釈液	12	6	20	120	256
			4 倍希釈液	11 ^T	8	15 ^T	128	223
			2 倍希釈液	6 ^T	6 ^T	14 ^T	77 ^T	218
			抽出原液	5 ^T	1 ^T	13 ^T	67 ^T	187 ^T

T 細胞毒性

試験番号：DS/CRVA 96-0168；4.2.3.7.6-2（続き）

抽出溶媒	代謝活性化系	被験物質 (劣化条件)	濃度又は 用量段階	復帰変異コロニー数 (平均値)				
				TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
DMSO	なし	劣化製剤 (30°C/5 箇月)	32 倍希釈液	13	7	20	141	280
			16 倍希釈液	11	7	19	125	329
			8 倍希釈液	10	7	18	119	258
			4 倍希釈液	12 ^T	8	20	131	294
			2 倍希釈液	7 ^T	6 ^T	14 ^T	85 ^T	229 ^T
			抽出原液	7 ^T	1 ^T	10 ^T	73 ^T	240 ^T
		劣化製剤 (40°C/4.5 箇月)	16 倍希釈液	12	7	20	134	284
			8 倍希釈液	11	7	19	120	296
			4 倍希釈液	9	7	18	121	271
			2 倍希釈液	8	6	18	107 ^T	245
			抽出原液	4 ^T	3 ^T	14 ^T	84 ^T	248
	あり	陰性対照		11	7	19	111	194
		陽性対照		98	37	234	722	481
		RPR106522 (非劣化製剤)	16 倍希釈液	10	8	22	119	220
			8 倍希釈液	12	8	20	123	219
			4 倍希釈液	10	6	23	111	209
			2 倍希釈液	9	7	22	117	250
			抽出原液	6 ^T	2 ^T	18	92 ^T	242
		劣化製剤 (30°C/5 箇月)	16 倍希釈液	12	8	19	114	204
			8 倍希釈液	11	7	22	127	227
			4 倍希釈液	11	6	23	112	216
			2 倍希釈液	11	5	20	109	231
			抽出原液	3 ^T	4 ^T	19	97 ^T	240

T 細胞毒性

試験番号：DS/CRVA 96-0168；4.2.3.7.6-2（続き 2）

抽出溶媒	代謝活性化系	被験物質 (劣化条件)	濃度又は 用量段階	復帰変異コロニー数 (平均値)				
				TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
DMSO	あり	劣化製剤 (40°C/4.5 箇月)	16 倍希釈液	10	7	19	113	262
			8 倍希釈液	11	7	20	116	272
			4 倍希釈液	10	7	24	114	272
			2 倍希釈液	10	5	22	110	263
			抽出原液	12	1 ^T	21	123	286
生理食塩液	なし	陰性対照		13	10	20	158	282
		陽性対照		95	55	158	560	836
		RPR106522 (非劣化製剤)	16 倍希釈液	11	8	24	176	374
			8 倍希釈液	10	12	20	163	344
			4 倍希釈液	13	10	19	159	398
			2 倍希釈液	16	13	19	176	367
			抽出原液	13	10	17	157	334
		劣化製剤 (30°C/5 箇月)	16 倍希釈液	13	10	23	167	290
			8 倍希釈液	11	8	25	169	329
			4 倍希釈液	12	11	22	150	298
			2 倍希釈液	12	10	27	161	293
			抽出原液	9	11	23	160	347
		劣化製剤 (40°C/4.5 箇月)	16 倍希釈液	12	12	28	147	318
			8 倍希釈液	12	8	20	141	320
			4 倍希釈液	10	8	26	144	326
			2 倍希釈液	13	10	26	145	410
			抽出原液	9	9	24	152	345

T 細胞毒性

試験番号：DS/CRVA 96-0168；4.2.3.7.6-2（続き 3）

抽出溶媒	代謝活性化系	被験物質 (劣化条件)	濃度又は 用量段階	復帰変異コロニー数 (平均値)				
				TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
生理食塩液	あり	陰性対照		14	8	20	113	234
		陽性対照		101	39	330	779	525
		RPR106522 (非劣化製剤)	16 倍希釈液	10	7	20	110	220
			8 倍希釈液	10	7	18	104	219
			4 倍希釈液	12	8	21	106	196
			2 倍希釈液	11	9	17	102	189
			抽出原液	11	6	20	106	195
		劣化製剤 (30°C/5 箇月)	16 倍希釈液	12	8	26	109	229
			8 倍希釈液	13	8	19	102	220
			4 倍希釈液	12	7	25	108	255
			2 倍希釈液	10	9	28	110	245
			抽出原液	12	6	21	108	238
		劣化製剤 (40°C/4.5 箇月)	16 倍希釈液	11	8	19	107	217
			8 倍希釈液	11	7	17	108	206
			4 倍希釈液	11	9	22	107	236
			2 倍希釈液	9	7	23	104	251
			抽出原液	12	8	21	104	234

(3) *In Vivo* 遺伝毒性試験

報告書の題名：RPR106522 (ESTRADIOL / NETA PATCH): TRANSDERMAL BONE MARROW MICRONUCLEUS TEST IN RATS WITH DEGRADED AND REFRIGERATED PATCHES

被験物質：RPR106522 (非劣化製剤)・劣化製剤 (30°C で 5 箇月間保存，40°C で 4.5 箇月間保存)

試験方法：ラットの骨髓細胞を用いる小核試験

分析細胞数/動物：1000 細胞/ラット

試験番号：DS/CRVA 96-0169

動物種/系統：ラット/Ico: OFA-hr (Hairless)

処理計画：3 日間貼付

CTD における記載箇所：4.2.3.7.6-3

週齢：7 週齢

計測時間：3 日間

GLP 適用：適

評価した細胞：多染性赤血球 (PE)

投与方法：経皮投与

投与年月日：19■■年■■月■■日

溶媒/投与形態：製剤の貼付

特記事項：ラットは雌を用いた．RPR106522 (非劣化製剤)は E₂: 1.24 + NETA: 5.4 mg を含有する．劣化製剤は，RPR106522 を 30°C で 5 箇月間保存 (E₂ 分解物合計 3.43%，NETA 分解物合計 5.41%)したものと，40°C で 4.5 箇月間保存 (E₂ 分解物合計 10.08%，NETA 分解物合計 9.48%)したものを用いた．陽性対照物質には cyclophosphamide (CP)を用いた．

各製剤貼付後 24 時間における血漿中 E₂ 及び NET 濃度を測定した．

毒性/細胞毒性：あり

遺伝毒性：なし

曝露証明：あり

試験番号：DS/CRVA 96-0169；4.2.3.7.6-3

被験物質	投与量	標本作製時間	動物数	細胞毒性 (R) ¹⁾ (平均値 ± 標準偏差)	小核を有する多染性赤血球の出現頻度 (M) ²⁾ (平均値 ± 標準偏差)
無処置対照	-	3 日間	10	1.07 ± 0.34	1.20 ± 0.54
プラセボパッチ (非劣化)	-	3 日間	10	1.19 ± 0.35	1.10 ± 0.52
RPR106522 (非劣化製剤)	E ₂ : 1.24 + NETA: 5.4 (mg/head)	3 日間	10	0.81 ± 0.15	1.65 ± 1.06
劣化製剤 (劣化条件：30°C/5 箇月)	RPR106522 (非劣化)の E ₂ 劣化率 3.4%， NETA 劣化率 5.4%	3 日間	10	0.75 ± 0.21	1.75 ± 0.72
劣化製剤 (劣化条件：40°C/4.5 箇月)	RPR106522 (非劣化)の E ₂ 劣化率 10.1%， NETA 劣化率 9.5%	3 日間	10	0.98 ± 0.42	0.90 ± 0.88
陽性対照 (CP)	20 mg/kg	24 時間	10	0.70 ± 0.16	12.65 ± 2.52***

$$1) : R = \frac{\frac{PE \text{ (slide A)}}{NE \text{ (slide A)}} + \frac{PE \text{ (slide B)}}{NE \text{ (slide B)}}}{2}$$

$$2) : M = \frac{MNPE \text{ (slide A)} + MNPE \text{ (slide B)}}{2}$$

PE：多染性赤血球
NE：正染色赤血球
MNPE：小核を有する多染性赤血球
χ²検定：*** p<0.001 .

2.6.7.17 その他の毒性試験（光毒性試験）

(1) ウサギを用いた光毒性試験

被験物質：エストラジオール / 酢酸ノルエチステロン

動物種 / 系統	投与方法と投与期間	投与量 (mg/head)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ / New Zealand White	雌ウサギの背部を刈毛し左右 1 組で 4 組の貼付部位を設け，1 組の左右に RPR106522 (面積 9 cm ²) を，もう 1 組にプラセボパッチを貼付した．もう 1 組に陽性対照物質 (8-Methoxypsoralen) を塗布し，残りの 1 組を無処置とした． RPR106522 を 24 時間貼付した後，右側は遮光部として左側のみに UVA (320 nm 以上) を 60 分間照射し，照射後の皮膚を観察した．	E ₂ : 0.62 + NETA: 2.7	性別：雌 一群動物数： 6 匹 (15 週齢)	RPR106522 及びプラセボパッチ貼付部位に紅斑及び浮腫は認められず， 本剤に光毒性は認められなかった．	DS/CVRC 96-030； 4.2.3.7.7-1

2.6.7.18 その他の毒性試験（新規添加物）

(1) 単回投与毒性試験

被験物質：アクリル樹脂

単回投与毒性試験

動物種/系統	投与方法 (溶媒 / 投与形態)	投与量 (mg/kg)	性別及び 一群の動物数	最大 非致死量 (mg/kg)	概略の 致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
ラット / Sprague Dawley	経口投与 (樹脂をそのまま強制経口投与)	5000	性別：雌雄 一群動物数： 10 匹 (M5,F5)	5000	5000 を 超える量	死亡は認められなかった。鼻や口腔からの排泄物、湿ったう音、活動性低下、摂餌量減少が見られたが、投与後 8 日以降はこれら変化は消失し、剖検時の肉眼的観察ではアクリル樹脂投与による影響は認められなかった。	4835-83； 4.2.3.7.7-2
ウサギ / New Zealand White	経皮投与 (樹脂を直接塗布後 24 時間適用)	5000	性別：雌雄 一群動物数： 10 匹 (M5,F5)	5000	5000 を 超える量	死亡は認められなかった。著しい皮膚反応 (壊死の後に痂皮形成、裂傷、痂皮の剥離) が認められたが、ほとんどの動物では全身性の症状は認められなかった	4836-83； 4.2.3.7.7-3

(2) 反復投与毒性試験

報告書の題名：One Month Dermal Studies of アクリル樹脂 in Sprague-Dawley Rats

被験物質：アクリル樹脂

動物種/系統：ラット/Sprague Dawley (雌雄)

投与期間：4週間

試験番号：87128

試験開始週齢：約 8 週齢

休薬期間：設定せず

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-4

初回投与年月日：19■■年■■月■■日

投与方法：経皮投与

GLP 適用：非適

溶媒/投与形態：媒体や溶媒を使用することなく、そのまま動物の刈毛した上背部に閉塞せずに適用 (塗布) した。

特記事項：アクリル樹脂は 5 回/週の頻度で皮膚に塗布し、塗布後 6 時間はラットにカラーを装着した。対照群には何も塗布しないこと以外は、アクリル樹脂投与群と同様に処置した。

無毒性量：皮膚刺激や二次的な変化が認められたが、そのほかに全身性の毒性を示す所見は認められなかった。したがって、全身性の毒性に関する無影響量は、1000 mg/kg と考えられた。

試験番号：87128；4.2.3.7.7-4

被験物質 (mg/kg)	0 (無処置)		250		750		1000	
動物数	M : 10	F : 10	M : 10	F : 10	M : 10	F : 10	M : 10	F : 10
特記すべき所見								
死亡	0	0	0	0	0	0	1 ^{a)}	0
一般状態	-		軽度な痂皮形成					
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査 ¹⁾								
[検査動物数]	[M:9]	[F:8]	[M:10]	[F:5]	[M:10]	[F:7]	[M:8]	[F:7]
白血球数 ^{b)}	13.1	8.1	13.4	9.1	14.0	10.2	16.3	10.1
好中球数 ^{b)}	1.60	0.79	1.93	1.58**	2.11	1.32	2.25	0.95
リンパ球数 ^{b)}	10.71	6.69	10.60	6.64	11.29	8.07	12.83	8.33
血液化学的検査 ¹⁾								
[検査動物数]	[M:10]	[F:10]	[M:10]	[F:10]	[M:10]	[F:10]	[M:9]	[F:10]
グロブリン (g/dL)	3.1	3.1	3.2	3.1	3.3	3.4*	3.4*	3.4*

- : 特記すべき所見なし。

1) 対照 (無処置) との比較は Dunnett 検定にて行った (統計学的有意差は実測値から算出)。

a) 10 日後に死亡した。膀胱中の腫脹 / 結節による尿路閉塞が死因と推測され、アクリル樹脂との関連性はないと考えられた。

b) 報告書中に記載がなかったため、単位については記載を省略した。

試験番号：87128；4.2.3.7.7-4（続き）

被験物質 (mg/kg)	0 (無処置)		250		750		1000	
剖検								
皮膚 (適用部位)痂皮 / 外皮	0	0	2	1	3	3	5	1
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 ²⁾								
肘リンパ節 リンパ過形成	5	2	3	10**	8	4	6	10**
免疫芽細胞 / 形質細胞の過形成	0	0	3	3	4	4	6	5
皮膚 (適用部位)								
棘細胞症	0	1	9**	10**	1	10**	9**	10**
炎症	0	0	8**	9**	9**	10**	8**	5
角化症 / 錯角化症	0	0	3	6	9**	7**	6	8**
線維症	0	0	3	4	0	6	4	6
潰瘍 / 糜爛	0	0	1	3	3	2	2	2
小胞 / 膿疱	0	0	1	2	2	0	1	0
表皮剥離	0	0	0	1	0	1	0	0
表皮表面における壊死性の 炎症細胞残屑	0	0	4	4	2	4	4	3

-：特記すべき所見なし。

2) 対照 (非卵巣摘出)と各群間の比較はフィッシャーの直接確率法 (Bonferroni の不等式による補正あり)にて行った。 ** p<0.01。

(3) *In Vitro* 遺伝毒性試験

報告書の題名：IN VITRO MICROBIOLOGICAL MUTAGENICITY ASSAYS OF アクリル樹脂

被験物質：アクリル樹脂

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験

独立して実施した試験数：2

試験番号：SR-87-250

菌株：Salmonella typhimurium TA1535, TA1537, TA1538,
TA98, TA100 (5 菌株)

プレート数：3

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-5

代謝活性化系：Aroclor 誘導ラット肝 S9

分析細胞数/培養：全コロニーを計測

GLP 適用：非適

溶媒：アセトン

処理年月：19■■年■■月■■日，■■月■■日

処理：被験物質，代謝活性化系，菌株をあらかじめ混合して 20 分間インキュベートし，NaCl，biotin 及び histidine を含む寒天と混合してグルコース寒天培地に注ぎ，48 時間培養した (プレインキュベーション法)。

特記事項：溶解した被験物質がトップアガーと接触したときに沈殿しないようプレインキュベーション法を採用した。

細胞毒性：代謝活性化系の非存在下では，5000 µg/plate の用量で TA1535，TA1538，TA98 及び TA100 に細胞毒性が認められた。代謝活性化系の存在下では，5000 µg/plate の用量で TA98 に細胞毒性が認められた。

遺伝毒性：なし

試験番号：SR-87-250；4.2.3.7.7-5

代謝活性化系	被験物質	濃度又は用量段階 (μg/plate)	1 回目 復帰変異コロニー数 (平均値)				
			TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100
なし	対照 (アセトン)	50 μL/plate	14	7	11	17	115
	Sodium azide	1	452	NE	NE	NE	454
	9-Aminoacridine	50	NE	926	NE	NE	NE
	2-Nitrofluorene	5	NE	NE	1308	874	NE
	2-Anthramine	1	NE	NE	14	21	104
		2.5	18	11	NE	NE	NE
	アクリル樹脂	10	10	15	12	19	132
		50	8	18	10	15	110
		100	7	18	11	23	110
		500 ^P	8	22	7	16	107
		1000 ^P	7	16	13	16	113
		5000 ^P	5 ^T	17	10 ^T	13 ^T	118 ^T
あり (4% S-9)	対照 (アセトン)	50 μL/plate	10	4	23	20	91
	2-Anthramine	1	NE	NE	1431	1741	2021
		2.5	304	301	NE	NE	NE
	アクリル樹脂	10	12	9	30	23	125
		50	11	10	29	26	130
		100	14	8	23	33	105
		500 ^P	12	8	21	28	141
		1000 ^P	9	8	31	28	115
		5000 ^P	9	8	20	21 ^T	116

P：被験物質析出，T：細胞毒性，NE：実施せず。

試験番号：SR-87-250；4.2.3.7.7-5 (続き)

代謝活性化系	被験物質	濃度又は用量段階 (µg/plate)	2 回目 復帰変異コロニー数 (平均値)				
			TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100
なし	対照 (アセトン)	50 µL/plate	18	10	11	15	97
	Sodium azide	1	464	NE	NE	NE	449
	9-Aminoacridine	50	NE	962	NE	NE	NE
	2-Nitrofluorene	5	NE	NE	1343	1162	NE
	2-Anthramine	1	NE	NE	22	20	110
		2.5	17	14	NE	NE	NE
	アクリル樹脂	10	15	8	13	18	116
		50	15	10	15	15	117
		100	14	8	12	15	139
		500 ^P	18	8	13	13	135
		1000 ^P	13	6	12	14	116
		5000 ^P	12	7	10 ^T	16 ^T	98 ^T
あり (10% S-9)	対照 (アセトン)	50 µL/plate	9	7	26	25	101
	2-Anthramine	1	NE	NE	378	529	560
		2.5	109	132	NE	NE	NE
	アクリル樹脂	10	12	5	25	28	126
		50	12	5	25	24	139
		100	11	8	23	32	110
		500 ^P	9	6	19	26	110
		1000 ^P	10	6	20	37	117
		5000 ^P	11	8	20	35	118

P：被験物質析出，T：細胞毒性，NE：実施せず。

(4) *In Vitro* 遺伝毒性試験

報告書の題名：AN ASSESSMENT OF THE CLASTOGENIC POTENTIAL OF ^{アクリル樹脂} UTILIZING THE MAMMALIAN CELL CYTOGENETICS ASSAY WITH CHO CELLS

被験物質：アクリル樹脂

試験の種類：染色体異常試験

細胞：チャイニーズハムスター卵巣細胞

代謝活性化系：Aroclor1254 誘導ラット肝 S9

溶媒：アセトン

細胞毒性：なし

遺伝毒性：代謝活性化系の非存在下では、2500 及び 5000 µg/mL で構造異常を有する細胞の率と頻度の増加が認められた。代謝活性化系の存在下では、染色体異常は認められなかった。

独立して実施した試験数：1

フラスコ数：2

分析細胞数/培養：100

処理：37°C で 8 ~ 10 時間

試験番号：SR-87-251

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-6

GLP 適用：非適

処理年月：19■■年 ■■月 ■■ ~ ■■日

試験番号：SR-87-251；4.2.3.7.7-6

代謝活性化系	評価項目	Solvent (1% アセトン)	アクリル樹脂 (µg/mL)			MMS (110 µg/mL)
			1250	2500	5000	
なし	分裂指数 (%)	3.4	2.9	2.0	2.3	1.0
	観察細胞数	100	100	100	100	100
	異常細胞の総数 (%)	0.0	2.0	6.0	7.0	87.0
	構造異常細胞の頻度 (%)	0.0	2.0	6.0*	7.0*	87.0*
	染色体切断型 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	染色体交換型 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	染色分体切断型 (%)	0.0	2.0	6.0	5.0	79.4
	染色分体交換型 (%)	0.0	0.0	1.0	2.0	7.9
	著しい障害	0.0	0.0	0.0	0.0	37.0

MMS：Methylmethanesulfonate， χ^2 検定 * p < 0.05

試験番号：SR-87-251；4.2.3.7.7-6（続き）

代謝活性化系	評価項目	Solvent (1% アセトン)	アクリル樹脂 (μg/mL)			MMS (110 μg/mL)
			1250	2500	5000	
なし	細胞当りの染色体異常の頻度	0.00	0.02	0.09	0.08	3.04
	構造異常	0.00	0.02	0.09*	0.08*	3.04*
	染色体切断型	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	染色体交換型	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	染色分体切断型	0.00	0.20	0.08	0.05	1.79
	染色分体交換型	0.00	0.00	0.01	0.03	0.10
	染色分体ギャップを有する細胞 (%)	3.0	2.0	14.0	18.0	39.7
	同位染色分体ギャップを有する細胞 (%)	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
あり	分裂指数 (%)	3.7	2.8	2.5	1.8	0.6
	観察細胞数	100	100	100	100	100
	異常細胞の総数 (%)	2.0	0.0	1.0	4.0	19.0
	構造異常細胞の頻度 (%)	2.0	0.0	1.0	4.0	19.0*
	染色体切断型 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	染色体交換型 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	染色分体切断型 (%)	2.0	0.0	1.0	4.0	17.0
	染色分体交換型 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0
	著しい障害	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	細胞当りの染色体異常の頻度	0.02	0.00	0.01	0.05	0.28*
	構造異常	0.00	0.00	0.01	0.05	0.28*
	染色体切断型	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	染色体交換型	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	染色分体切断型	0.02	0.00	0.01	0.05	0.20
	染色分体交換型	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08
	染色分体ギャップを有する細胞 (%)	5.0	5.0	3.0	2.0	17.00
	同位染色分体ギャップを有する細胞 (%)	0	1.0	0	2.0	2.0

MMS：Methylmethanesulfonate， χ^2 検定 * p < 0.05

(5) In Vivo 遺伝毒性試験

報告書の題名：IN VIVO BONE MARROW CYTOGENETICS RAT METAPHASE ANALYSIS

被験物質：アクリル樹脂

試験の種類：ラットの骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験
動物種/系統：ラット/Sprague Dawley (雌雄)
週齢：7 週齢
評価した細胞：分裂中期細胞

分析細胞数/動物：50 細胞/ラット
処理計画：単回投与
計測時間：投与後 6, 18, 30 時間
投与方法：経口投与
溶媒/投与形態：溶媒なし

試験番号：PH 315-MO-003-88
CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-7
GLP 適用：非適
投与年月日：19■■年■■月■■日

特記事項：雌雄のラットにアクリル樹脂を 5000 mg/kg (最大耐量)で単回経口投与し、投与後 6, 18 及び 30 時間に動物を剖検して大腿骨骨髄細胞を採取した。大腿骨骨髄採取前 2～3 時間に colchicine (4 mg/kg)を腹腔内に投与した。無処置対照群には、経口投与操作のみを行った。陽性対照物質には cyclophosphamide (CP)を用いた。

細胞毒性：解析されていない

遺伝毒性：なし

試験番号：PH 315-MO-003-88；4.2.3.7.7-7

被験物質	投与量 (mg/kg)	細胞 採取時間 (hr)	総測定 細胞数	染色分体異常						染色体異常				染色体 異常総数	染色体 異常を 有する 総細胞数
				Gaps Del Iso			交換			Del Ring Dicen Misc					
							Inter	Intra	Trir						
無処置	0	6	500	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
アクリル樹脂	5000	6	500	3	4	0	0	1	0	1	0	0	0	6	5
無処置	0	18	500	3	3	2	0	0	0	0	0	0	1	6	6
アクリル樹脂	5000	18	500	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
CP	15	18	500	23	140	16	41	31	23	6	0	0	0	257**	124**
無処置	0	30	500	3	6	1	0	0	0	0	0	0	0	7	7
アクリル樹脂	5000	30	500	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Gaps：ギャップ，Del：染色分体若しくは染色体の断片，Iso：同位染色体切断，Inter：腕間染色分体交換，Intra：腕内染色分体交換，Trir：三放射状交換，Ring：環状染色体異常，Dicen：二動原体染色体異常，Misc：複雑型染色体異常

t 検定 (片側)：** p<0.01

(6) *In Vivo* 遺伝毒性試験

報告書の題名：

アクリル樹脂

 の腹腔内投与によるラットを用いる小核試験

被験物質：アクリル樹脂 (

アクリル樹脂

)

試験方法：ラットの骨髓細胞を用いる小核試験

動物種/系統：ラット/Crl:CD(SD)

週齢：8 週齢

評価した細胞：幼若弱赤血球 (PCE)

分析細胞数/動物：2000 細胞/ラット

処理計画：1 日 1 回 2 日間 (合計 2 回) 投与

計測時間：2 回目投与の 23 ~ 24 時間後

投与方法：腹腔内投与

溶媒/投与形態：原液をそのまま投与した

試験番号：FU07339

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-8

GLP 適用：適

投与年月日：20 年 月 , 日

特記事項：陽性対照物質にはマイトマイシン C (MMC) を用いた .

毒性/細胞毒性：あり

遺伝毒性：なし

曝露証明：あり (被験物質群の PCE(%) を無処理群のそれと比較することで確認した .)

被験物質	投与量 (mg/kg)	標本作製時間 2 回目投与後	動物数	細胞毒性 (PCE(%)) ¹⁾ (平均値 ± 標準偏差)	小核を有する幼若赤血球の 出現頻度 (MNPCE(%)) ²⁾ (平均値 ± 標準偏差)
無処置対照	-	-	6	56.4 ± 10.8	0.13 ± 0.08
アクリル樹脂	500	23 ~ 24 時間	6	33.0 ± 10.4**	0.06 ± 0.06
アクリル樹脂	1000	23 ~ 24 時間	6	34.8 ± 8.4**	0.09 ± 0.06
アクリル樹脂	2000	23 ~ 24 時間	3 ³⁾	38.9 ± 3.7	0.07 ± 0.08
MMC	2 ⁴⁾	24 ~ 25 時間 ⁴⁾	6	39.6 ± 13.8*	2.33 ± 0.66**

1) 全赤血球を 1000 個以上観察し，全赤血球中に占める幼若赤血球の割合 (PCE (%)) を算出した .
2) 幼若赤血球を 1 個体につき 2000 個観察し，その中に含まれる小核を有する幼若赤血球の出現率 (MNPCE (%)) を算出した .
3) 2000mg/kg 群では，投与後に運動性の低下，腹臥位及び不規則呼吸等がみられ，2 回目投与の翌日に 3/6 例が死亡した .
4) MMC 投与群では，MMC を単回投与した 24 ~ 25 時間後に標本作製した .
*:p<0.05, **:p<0.01 [PCE(%) は Dunnett 法により，MNPCE(%) は Fisher の正確検定計算法により有意差検定を行った]

(7) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

被験物質：アクリル樹脂

動物種 / 系統	投与方法	投与量	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ / New Zealand White	アクリル樹脂をウサギの背部 4 箇所 に塗布し，2 箇所は半閉塞状態で 4 時間， 2 箇所は閉塞状態で 24 時間適用した．	0.5 mL / 箇所	性別：雄 一群動物数： 6 匹	半閉塞部位では軽度から高度の刺激が認め られ，3/6 匹で組織障害が認められた．閉塞 部位では中等度から高度の刺激が認めら れ，5/6 匹で組織障害が認められた．24 時間 適用した場合の一次刺激性指数は，4.9 であ った (Draize らの基準) ．	4838-83； 4.2.3.7.7-9

(8) ウサギ皮膚累積刺激性試験

被験物質：アクリル樹脂

動物種 / 系統	投与方法	投与量 (mL/site)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ / New Zealand White	ウサギの背部に 2.5 × 2.5 cm の除毛した区画を 2 箇 所設け，その内 1 区画には注射針で角質層に井桁 状の傷をつけて損傷皮膚とした．アクリル樹脂の 0.5 mL を 2.5 × 2.5 cm のガーゼ (3 枚 1 組) に塗布 し，ドラフト内 (室温) で 16 ~ 17 時間放置して溶 媒を除去した後に両区画へ貼付した．更に貼付部 位を約 5 × 5cm 不織布粘着包帯で固定し，粘着性布 伸縮包帯を巻いて閉塞した．3 ~ 4 日間隔で貼替え ながら同一部位に合計 8 回 (28 日間) 貼付し，貼 替え時及び最終貼付後の皮膚反応を Draize らの評 価基準に従って評価した．	0.5	性別：雄 一群動物数： 6 匹 (5 箇月齢)	溶媒を除去したアクリル樹脂の貼 付部位 (健常皮膚及び損傷皮膚) では，観察期間を通して皮膚反応 は認められず，評点の総平均値は 0 だった．また，いずれの貼付部 位においても，病理組織学的変化 は認められなかった．	P070891； 4.2.3.7.7-10

(9) ヒト皮膚障害性の評価

被験物質：アクリル樹脂 (テープ)

被験物質	投与方法	投与量	被験者数	特記すべき所見	試験番号
アクリル樹脂	アクリル樹脂を含ませたパッチを被験者の背部に 24 時間 × 4 日/週の頻度で 3 週間適用して感作した。1 週間の休薬期間を設けた翌週には、被験者の無処置部位にパッチを 24 時間 × 4 日適用して惹起し、各惹起の 24 時間後に貼付部位を観察した。	0.2 mL / 箇所	54 人	感作期には、14 例で炎症性変化 (ごく軽度な紅斑やある程度の硬結を伴った紅斑) が認められた。 惹起期には、2 例でごく軽度な紅斑が一時的に認められ、別の 2 例で紅斑と硬化といったアレルギー性接触皮膚炎が認められた。	3324 ; 4.2.3.7.7-11
アクリル樹脂テープ	アクリル樹脂テープを被験者の背部に 24, 48, 72 及び 96 時間貼付し、翌週及び翌々週にも同様に貼付して感作した。1 週間の休薬期間を設けた翌週に、被験者の無処置部位に 24, 48, 72 及び 96 時間貼付して惹起し、テープ除去時に貼付部位を観察した。	約 1/2 インチ × 1/2 インチ	215 人	感作期には、19 例でごく軽度な紅斑が散発的に認められ、3 例ではごく軽度な紅斑が除去後 24 時間以上持続して認められた。 惹起期には、2 例で炎症性変化が認められたが、ごく軽度な紅斑であった。このほかに明らかな変化は認められなかった。	3315 ; 4.2.3.7.7-12

(10) モルモットを用いた皮膚感作性試験

被験物質：アクリル樹脂

動物種 / 系統	投与方法	投与量	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
モルモット / Hartley	アクリル樹脂の 50% アセトン溶液をモルモットの背部皮膚に 1 週間に 1 回 6 時間の頻度で 3 回適用して感作し、最終感作の 14 日後に被験物質を無処置部位に 6 時間適用して惹起した。惹起の 24 及び 48 時間後に貼付部位を観察し、評価した。	0.3 mL / head	性別：雌雄 一群動物数： 10 匹 (M5, F5) (5 ~ 6 週齢)	惹起後には、明らかな皮膚反応は認められなかった。	4448-87 ; 4.2.3.7.7-13