目次

頁

表一覧 3
略号及び用語の定義 4
2.4　非臨床試験の概括評価 6
2.4.1　非臨床試験計画概略 6
2.4.2　薬理試験 9
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 9
2.4.2.1.1　成熟ラットにおける排卵阻害 9
2.4.2.1.2　成熟ラットにおける受精卵の移動／着床に対する影響 9
2.4.2.1.3　成熟ウサギにおける交尾誘発性排卵の阻害 10
2.4.2.1.4　成熟ウサギの子宮頸部の機能に対する影響 10
2.4.2.2　副次的薬理試験 10
2.4.2.2.1　プロゲステロン活性 10
2.4.2.2.2　アンドロゲン活性及びタンパク同化活性 10
2.4.2.2.3　（抗）エストロゲン活性 10
2.4.2.2.4　ミネラルコルチコイド様活性 11
2.4.2.2.5　その他のホルモン活性 11
2.4.2.3　安全性薬理試験 11
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用 11
2.4.2.5　結論 11
2.4.3　薬物動態試験 11
2.4.3.1　分析法 11
2.4.3.2　吸収 11
2.4.3.3　分布 12
2.4.3.4　代謝（動物種間の比較） 12
2.4.3.5　排泄 14
2.4.3.6　薬物動態学的薬物相互作用 14
2.4.3.7　その他の薬物動態試験 15
2.4.3.8　結論 15
2.4.4　毒性試験 15
2.4.4.1　単回投与毒性試験 15
2.4.4.2　反復投与毒性試験 15
2.4.4.2.1　ラットを使用した試験 16
2.4.4.2.2　イヌを使用した試験 17
2.4.4.2.3　サルを使用した試験 19

2.4.4.3　遺伝毒性試験 20
2.4.4.4　がん原性試験 20
2.4.4.5　生殖発生毒性試験 21
2.4.4.5.1　受胎能及び一般生殖能試験 21
2.4.4.5.2　受胎能／胚毒性試験 21
2.4.4.5.3　胚毒性試験 21
2.4.4.5.4　周産期及び出生後の毒性 22
2.4.4.6　局所刺激性試験 22
2.4.4.7　その他の毒性試験 23
2.4.4.8　結論 23
2.4.5　総括及び結論 23
2.4.5.1　薬理試験 23
2.4.5.2　薬物動態試験 23
2.4.5.3　毒性試験 24
2.4.6　全体の結論 24
2.4.7　参考文献 24
参考文献 34

表一覧

表 2.4.1-1　デソゲストレル含有経口避妊薬の組成.....6
表 2.4.1-2　デソゲストレル含有経口避妊薬が投与された被験者数、期間及び用量.....7

表2.4.A 1　ENG、DSG、LNG 及びLNG-ac のホルモン活性の概要.....26
表2.4.A 2　非臨床薬理試験の概要.....27
表2.4.A 3　非臨床薬物動態試験の概要.....28
表2.4.A 4　非臨床毒性試験の概要.....30

略号及び用語の定義

略号	用語の定義
ADP	adenosine diphosphate（アデノシン二リン酸）
AP	alkaline phosphatase（アルカリホスファターゼ）
APTT	activated partial thromboplastin time（活性化部分トロンボプラスチン時間）
AUC	area under curve（曲線下面積）
CO	Clinical Overview（臨床試験の概括評価）
DHT	5α-dihydrotestosterone（5α-ジヒドロテストステロン）
DSG	desogestrel（デソゲストレル）
EE	ethinylestradiol（エチニルエストラジオール）
e.g.	exempli gratia (for example)（例）
ENG	etonogestrel（エトノゲストレル）
ESR	erythrocyte sedimentation rate（赤血球沈降速度）
F_0	parent generation（親世代）
F_1	first filial generation（第1世代）
GSD	gestodene（ゲストデン）
H	hydrogen（水素）
hr	hour（時間）
i.e.	id est (that is)（すなわち）
IRS	infrared spectrophotometry（赤外分光光度法）
i.v.	intravenous（静脈内）
kg	kilogram（キログラム）
l	liter（リットル）
LD_{50}	dose at which 50% mortality occurs（50%致死量）
LNG	levonorgestrel（レボノルゲストレル）
LNG-ac	levonorgestrel-acetate（レボノルゲストレル酢酸塩）
mg	milligram（ミリグラム）
min	minute（分）
ml	milliliter（ミリリットル）
MS	mass spectrometry（質量分析）
NCO	nonclinical overview（非臨床試験の概括評価）
NE	norethisterone（ノルエチステロン）
NMR	nuclear magnetic resonance（核磁気共鳴法）
OC	oral contraceptive（経口避妊薬）
Org 2058	(16α)-16-ethyl-21-OH-19-norpregn-4-ene-3,20-dione
Org 2969	desogestrel（デソゲストレル）
Org 3236	3-keto-desogestrel / etonogestrel（3-ケト-デソゲストレル／エトノゲストレル）
P	progesterone（プロゲステロン）
PER	preclinical expert report（前臨床専門報告書）
pmol	picomole（ピコモル）
PTT	prothrombin time（プロトロンビン時間）
RBC	red blood cell（赤血球）
SHBG	sex hormone binding globulin（性ホルモン結合グロブリン）
TLC	thin layer chromatography（薄層クロマトグラフィー）
TSR	tabulated study report（表形式の試験報告書）
WBC	white blood cell（白血球）
µg	microgram（マイクログラム）

°C	degree Celsius（摂氏）

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

本稿では、Org 2969（デソゲストレル／DSG）及び Org 2969の活性代謝物であるエトノゲストレル（3-ケト-デソゲストレル／ENG／Org 3236）について、単剤又は現在すべての経口避妊薬（OC）でエストロゲン成分として使用されているエチニルエストラジオール（EE）との配合剤を使用して行われた非臨床試験のデータ（薬力学、薬物動態及び毒性）について考察する。本稿は、1999年2月付けの前臨床専門報告書（PER）（DocID NL0032260）の内容を改訂したものである。

原発性月経困難症は、プロトタイプのプロスタグランジン（PG）介在性疾患と考えられる。正常月経の女性では、排卵後に受胎が生じなかったときには、プロゲステロンが減少して子宮内膜が刺激され、プロスタグランジンが産生されて、局所的な血管収縮と子宮筋収縮が生じる。血管収縮により子宮内膜虚血が生じて子宮内膜脱落時の出血の調節に寄与し、子宮筋収縮は月経時に子宮内腔からの溶出物の排出を促す。

月経困難症の女性は、子宮内膜及び月経血中のプロスタグランジン値、特にプロスタグランジン F2α（PGF2α）値が、月経困難症ではない女性の2倍から4倍になっている。そのため、子宮筋の過剰な収縮及び子宮内膜虚血が起こり、典型的な痙攣と骨盤の放散痛が生じ、悪心、嘔吐及び下痢などの症状の引き金となる Dawood 2006［1］Dawood 1991［2］Mannix 2008［3］。月経血中の PGF2α の量は痙攣症状と疼痛に相関していると考えられる。同様に、月経困難症に伴い、バソプレシンの上昇も観察されている Dawood 1993［4］Ekström 1992［5］。

ホルモン避妊薬（HC）は、1960年代の導入以来、月経困難症の治療薬としての使用が提唱されてきた。OC は、月経血中のプロスタグランジンを低減し Chan 1978［6］、子宮の収縮力を低下させる Lalos 1981［7］ことが示されている。排卵が阻害されると、子宮内膜のプロスタグランジン産生刺激が著明に減少する。さらに、プロゲスチン成分はエストロゲン誘発性の子宮内膜の増殖を制限するため、プロスタグランジンを産生する組織も減少する Dawood 2006［1］。

DSG と EE を配合した経口避妊薬（COC）は、有効成分として0.25～150 mg の DSG（(+) -17α-Ethynyl-18-methyl-11-methylene-4-estren-17-ol）、及び／又は0.01～0.05 mg のエチニルエストラジオール（19-Nor-17-α-pregna-1,3,5 (10)-trien-20-yne-3,17-diol）を含んだ錠剤である。一方、プロゲストゲンのみの Cerazette®錠は、有効成分として0.75 mg の DSG を含む。比較のために、DSG を含んだ種々の経口避妊薬の組成及び総ホルモン量を*表 2.4.1-1*に要約した。

表 2.4.1-1　デソゲストレル含有経口避妊薬の組成

Product	**Dosage regimen**	**Total EE dose per cycle**	**Total DSG dose per cycle**
Mercilon®	21 days: 20 µg EE + 150 µg DSG per day	420 µg	3150 µg
Mircette®	21 days: 20 µg EE + 150 µg DSG per day 2 days: placebo 5 days: 10 µg EE per day	470 µg	3150 µg
Marvelon®	21 days: 30 µg EE + 150 µg DSG per day	630 µg	3150 µg

Laurina®	7 days: 35 µg EE + 50 µg DSG per day 7 days: 30 µg EE + 100 µg DSG per day 7 days: 30 µg EE + 150 µg DSG per day	665 µg	2100 µg
Gracial®	7 days: 40 µg EE + 25 µg DSG per day 15 days: 30 µg EE + 125 µg DSG per day	730 µg	2050 µg
Ovidol®	7 days: 50 µg EE 15 days: 50 µg EE + 125 µg DSG per day	1100 µg	1875 µg
Cyclessa®	7 days: 25 µg EE + 100 µg DSG per day 7 days: 25 µg EE + 125 µg DSG per day 7 days: 25 µg EE + 150 µg DSG per day	525 µg	2625 µg
Clira®	7 days: 35 µg EE + 50 µg DSG per day 7 days: 30 µg EE + 125 µg DSG per day 7 days: 30 µg EE + 150 µg DSG per day	665 µg	2275 µg
Cerazette®	28 days: 75 µg DSG per day	--	2100 µg

一部のレジメンでは、有効成分を含まない（プラセボ）錠剤を服用する6～7日間の期間が設定され、錠剤服用を中断する必要がない。不活性成分としては、all-rac-α-トコフェロール、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン又はα化デンプン、ヒプロメロース、インジゴカルミン、ポビドン、マクロゴール400、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、無水コロイド状シリカ、ラクトース一水和物、ポリエチレングルコール、二酸化チタン、タルク及び酸化鉄（黄色及び赤）などが用いられる。錠剤の組成は製剤ごとに異なり、各製剤の力価によっても異なる。

この評価に含まれる DSG 単剤と DSG と EE の配合剤に関する非臨床データの大半は、19[redacted]年代に Organon 社の最初の製剤である1相性経口避妊薬マーベロン®（DSG を含む）の承認申請書類を提出した際に報告されている。これらの製剤については25年を超える市販経験があり、この間のヒトにおける DSG／EE COC の安全性に関して、前向き試験や観察試験、薬物有害反応の自発的報告から多くの知見が得られている。非臨床及び臨床の経験に基づき、DSG と EE（現在使用できるすべての配合経口避妊薬に含まれるエストロゲン）の有効性及び安全性、並びに ENG 単独と EE との配合剤の有効性及び安全性はよく確立されていると考えられる。そのため、一般文献を幅広く参照した。

DSG 含有経口避妊薬については、非臨床データ及び臨床データの他に市販後調査から長年にわたる大量のデータが得られている（*表 2.4.1-2*）。これらのデータでは、非臨床試験をさらに行う必要を示唆する予期されない安全性の問題はみられない。

表 2.4.1-2　　デソゲストレル含有経口避妊薬が投与された被験者数、期間及び用量

Product name	**Year of market introduction**	**Exposure in clinical trials**		**Total exposure in post marketing surveillance [1)] (in women years)**
		Total exposure in clinical trials (n/cycles)	Total exposure in clinical trials in women years	
Marvelon	1981	3,283/37,685	2,899	103,129,000
Mircette	1998	1,886/17,682	1,363	1,710,000

Mercilon	1986	1,736/48,329	3,718	33,707,000
Gracial	1984	822/12,980	998	2,808,190
Ovidol	1981	Not known	Not known	5,255,430
Laurina	1998	3,946/29,424	2,263	629,504
Cyclessa	2000	2,905/15,013	1,155	253,780
Clira	Not marketed	2,909/15,005	1,154	Not applicable
Cerazette	1999	1,586/13,339	1,026	3,927,000
All product totals		19,073/189,457	14,576	151,419,904

[1)] Cut-off point 31 December 2005

この非臨床試験の概括評価では、DSG のみ又は DSG と EE の配合剤について得られている非臨床データを評価する。非臨床データの評価にあたっては、以下の側面を考慮した。

- EE の全身作用は動物を使用した試験でもヒトを対象とした試験でもよく確立されているため、EE について追加の試験は行われていない。
- がん原性試験を含むいくつかの毒性試験で使用した実験動物における曝露量は（体重1 kg あたりの mg）、ヒトで予想される曝露量の100倍超であり、適切と考えられる。このような高用量を投与しても、血清中ステロイド値は女性が経口避妊薬を使用したときにみられる濃度にはほとんど到達しない。これは、げっ歯類ではステロイドが迅速に代謝され、ENG と EE の全身曝露量が少なくなるためである。動物における全身曝露量は Humpel らが検討しており［8］、全般にステロイドについてはこれ以上の曝露量は達成できないと結論付けている。
- 数件の化合物の吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）試験及び毒性試験についてはモニタリングが行われておらず、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）適合確認書がない。しかし、ほとんどの試験は実施時点での「最新の原則」に従って行われており、NV Organon 社内で監査が行われている。したがって、これらの試験も適切に行われていると判断している。

この非臨床試験の概括評価は、DSG と EE の非臨床安全性を正確に反映していると考えられる。

DSG 150 µg/EE 20 µg（OG-8276A、以下、本剤）について実施した非臨床試験成績において、本剤と同一有効成分で EE の含量が異なるマーベロン21、同28（平成11年6月16日製造販売承認）承認申請時に提出、評価済みである非臨床試験成績から安全性に関する新たな知見は得られていないことから、本剤の申請区分「新医療用配合剤」の承認申請に必要とされる非臨床試験成績である薬理試験成績（効力を裏付ける試験、副次的薬理・安全性薬理）、薬物動態試験成績（吸収、分布、代謝、排泄）、毒性試験成績（単回投与毒性、反復投与毒性）について、資料の提出を省略する。

2.4.2　　薬理試験

COC はゴナドトロピンを抑制することにより作用し、主な作用機序は排卵の阻害である。COC はその他に、頸管粘液を変化させて精子の子宮への進入を困難にする、子宮内膜を変化させて着床の可能性を下げるなどの作用がある。

プロゲストゲン DSG はプロドラッグであり、生物活性のある誘導体の ENG に迅速かつ完全に変化する。DSG の避妊作用には、中心的な作用（下垂体-卵巣軸に対する作用）と周辺的な作用（子宮内膜、卵子移動、粘液の粘性に対する作用）がある。プロゲストゲンは化学構造に応じて、（抗）アンドロゲン、（抗）エストロゲン、（抗）ミネラルコルチコイド又は（抗）グルココルチコイド活性などの他のホルモンとしての性質も示す。アンドロゲン活性とエストロゲン活性以外のホルモン活性は、プロゲステロン作用の発現に必要な用量よりはるかに高い用量でなければ発現しない［9］。DSG 及び ENG を含む種々のプロゲストゲンについては、薬理学的プロファイルが文献で幅広く検討されている。概要は Benagiano［10］、Schindler［11］及び Stanczyk［12］を参照のこと。

これまでに DSG 及び ENG について得られている *in vitro* データ及び *in vivo* データに基づき、DSG の薬理活性代謝物である ENG は強力なプロゲステロン活性を有すると結論付けられる。さらに *in vivo* では、強力な排卵阻害活性、弱いアンドロゲン活性とタンパク同化活性、強力な抗エストロゲン活性を有し、エストロゲン活性はない。DSG とエチニルエストラジオールを配合したとき、性ホルモン結合グロブリン（SHBG）のエストロゲン誘導による増加を弱めることはない。そのため、血清中遊離テストステロン値は低くなる。ENG と DSG の比較から得た ENG の薬理学的性質、及び広く使用されているプロゲストゲンである LNG と LNG-ac の薬理学的性質の概要を、添付資料 A の表2.4.A-1として示した。

添付資料 A の表2.4.A-2に、DSG と ENG について行われた非臨床薬理試験の概要を示した。

2.4.2.1　　効力を裏付ける試験

ENG と DSG の比較から得た ENG の薬理学的性質、及び広く使用されているプロゲストゲンである LNG と LNG-ac の薬理学的性質の概要を、添付資料 A の表2.4.A-1として示した。

2.4.2.1.1　　成熟ラットにおける排卵阻害

成熟雌ラットに1.5 mg/kg の DSG を1日2回経口投与すると、排卵が完全に阻害され、親化合物の活性は ENG の活性の2倍であった［13］。

DSG を1日2回皮下投与すると、0.75 mg/kg の用量で排卵が完全に阻害され、活性は ENG、3α-OH-DSG 及び3ß-OH-DSG に比べ、それぞれ30分の1、16分の1、8分の1であった。DSG の排卵阻害活性を基準化合物のノルエチステロン（NE）及び LNG と比べると、それぞれ2分の1又は16分の1である。ENG を皮下投与したときの活性は、経口投与した場合の67倍である。

2.4.2.1.2　　成熟ラットにおける受精卵の移動／着床に対する影響

成熟雌ラットに1.5 mg/kg の DSG と ENG を着床前の期間及び着床期間に1日2回経口投与したと

き、受精卵の移動及び着床に対する影響はなかった［13］。

2.4.2.1.3　成熟ウサギにおける交尾誘発性排卵の阻害

成熟雌 Dutch Belted ウサギに0.1 mg/kg の DSG を単回経口投与すると、交尾誘発性排卵が完全に阻害された。DSG の活性は ENG の活性の約2分の1であったが、LNG 及び NE と比べると、それぞれ約4倍と約32倍であった［13］。

2.4.2.1.4　成熟ウサギの子宮頸部の機能に対する影響

膣から授精して HCG で処理した成熟雌 Dutch Belted ウサギに0.05 mg/kg の DSG を連日経口投与すると、受精卵の数が減少し、精子の子宮頸部通過が阻害されたことが示された。DSG の活性は ENG の2～4倍、LNG の8倍以上であった［13］。

2.4.2.2　副次的薬理試験

2.4.2.2.1　プロゲステロン活性

未熟ウサギに0.03 mg/kg の DSG を経口投与すると、エストラジオールで初回刺激した子宮内膜の変化が生じた。DSG の活性は ENG と同じであり、NE の約16倍、LNG の約2倍であった。0.06 mg/kg の DSG を皮下投与すると、エストラジオールで初回刺激した子宮内膜を変化させる効果を示した。DSG の活性は ENG の約16分の1、NE の約8分の1、LNG の5分の1であった。ENG の活性は皮下投与でも経口投与でも同程度であった。

2.4.2.2.2　アンドロゲン活性及びタンパク同化活性

精巣を摘出した未熟ラットに DSG を経口投与すると、付属器官に対する弱いアンドロゲン活性がみられた。腹側前立腺重量に関する作用は、基準化合物である17α-メチルテストステロンの活性の約0.05倍であり、ENG と DSG では同程度であった。ENG のアンドロゲン活性は LNG よりも低かった。

肛門挙筋の重量増加はタンパク同化活性の指標である。皮下投与した ENG の活性は LNG 及び LNG-ac の約2分の1で、17α-メチルテストステロンよりも低かった。経口投与した DSG の活性は、基準化合物である17α-メチルテストステロンの約0.6倍であり、ENG の活性は基準化合物の約0.4倍であった。

2.4.2.2.3　（抗）エストロゲン活性

卵巣を摘出した成熟ラットに DSG と ENG を経口投与したとき、試験に使用した用量（0.04～40 mg/kg）ではエストロゲン活性はみられなかった［13］。EE は0.04 mg/kg で明らかなエストロゲン活性を示すため、DSG と ENG のエストロゲン活性は EE の0.001倍よりかなり小さいと結論付けられる。

卵巣を摘出してエストラジオールで処理したラットにおける ENG の抗エストロゲン活性は、

LNG 及び LNG-ac と同程度であった［13］。

2.4.2.2.4　　ミネラルコルチコイド様活性

副腎を摘出した未熟ラットに2.5 mg/kg の DSG を連日経口投与すると、非常に弱いミネラルコルチコイド様活性がみられた。ENG を同じ用量（2.5 mg/kg）で経口投与したときには、ミネラルコルチコイド様活性はみられなかった。

2.4.2.2.5　　その他のホルモン活性

動物を使用した試験から得たデータは、DSG と ENG は弱い抗炎症活性、DSG は血清中コレステロール値に対する弱い低下作用（ただし、血清中トリグリセリド値に対する作用はない）を有すること、及び DSG と ENG は血小板凝集阻害作用がないことを示している。

2.4.2.3　　安全性薬理試験

ネコに Org 2969を静脈内投与して、DSG が心血管系に及ぼす影響を評価した。この試験で得たデータは、DSG にはネコの心血管系に対する影響はないことを示した。

2.4.2.4　　薬力学的薬物相互作用

DSG と EE について薬力学的薬物相互作用を評価する非臨床試験は行われていない。

2.4.2.5　　結論

ENG と DSG から得た薬理データに基づき、DSG は非常に選択性の高いプロゲストゲンであると結論付けられた。DSG 及び ENG は全般に強力なプロゲステロン活性、強力な排卵阻害活性、強力な抗エストロゲン活性を有し、エストロゲン活性はなく、アンドロゲン／タンパク同化活性は非常に弱い。DSG は心血管系に対する影響はなく、この点で安全と判断される。

2.4.3　　薬物動態試験

添付資料 A の表2.4.A-3に、DSG と EE について行われた非臨床薬物動態試験の概要を示す。

2.4.3.1　　分析法

生体サンプルの分析に使用した分析法については、情報が少ないため考察することはできない。

2.4.3.2　　吸収

雌ラットに DSG 又は DSG＋EE を7日間経口投与すると、DSG は急速に吸収された。定常状態で ENG を単一の化合物として投与したときには投与後1.3時間以内、配合剤として投与したときには1.8時間以内に最大血漿中濃度に達し、投与量1 µmol あたりの最大血漿中濃度はそれぞれ6.0 ±

3.2 pmol/ml と5.2±3.0 pmol/ml であった。これらに対応する定常状態における、投与から次の投与までの間の AUC は、投与量1 µmol あたりそれぞれ43.4 pmol/ml·hr と54.3 pmol/ml·hr であった。^{3}H-DSG を経口投与したときの累積尿中排泄データに基づき、ENG の全身バイオアベイラビリティは約15%と考えられた。

雌イヌに DSG、ENG、DSG＋EE 又は ENG+EE を21日間にわたり慢性経口投与したとき、吸収に有意差はなかった。平均血漿中 ENG 濃度は投与後0.7～1.7時間以内にピークに達し、投与量1 µmol あたりで13.6±4.9 pmol/ml～42.7±16.5 pmol/ml であった。定常状態における、投与から次の投与までの間の AUC は、投与量1 µmol あたりで43.2±19.3 pmol/ml·hr～78.4±18.6 pmol/ml·hr であった。

2.4.3.3　　分布

雌ラットに^{3}H-DSG を単回静脈内投与したとき、全身オートラジオグラフィーによる観察では放射能は投与3分後には全身に広く分布していた。最も高い放射能濃度は、肺、心筋、肝臓、副腎及び舌でみられた。放射能は投与4～14日後には検出不能になった。経口投与したときには、多くの量の放射能が肝臓からのみ回収された。他の臓器及び組織で検出された放射能は非常に少なく、6日間の試験期間中、徐々に減少した。

雌イヌに ENG を静脈投与したときも同様に分布は速やかであった。コンパートメントモデルに基づくと、分布相半減期は0.18時間であった。中心コンパートメントの分布容積及び総分布容積は、それぞれ3.3±1.0 L と11.5±5.1 L であった。中心コンパートメントの分布容積は体重の約30%であり、総分布容積は体重の100%よりわずかに多かったため、ENG の組織結合は弱いことが示された。

血漿タンパク結合は、ヒトの女性、イヌ、ラットから得た血漿を使用して *in vitro* で評価した。結合 ENG の割合はそれぞれ98.4%、97.4%及び97.2%であり、結合 DSG の割合はそれぞれ99.9%、99.8%、99.8%であった。ヒトの女性から得た血漿を使用したゲルろ過試験では、DSG は SHBG に結合するが、ENG は DSG と異なり主にアルブミン分画に結合し、親和性はやや低いことが示された。さらに、ENG の *in vitro* におけるタンパク結合は、子宮を摘出した女性から得た血漿を使用して測定した［14］。文献でも同様の結果が報告されている［15,16］。

2.4.3.4　　代謝（動物種間の比較）

雌イヌに^{3}H-DSG を経口投与して代謝経路を評価し、血漿中及び尿中の代謝物を薄層クロマトグラフィー（TLC）で評価した。投与2時間後の血漿中放射能のうち29%は容易に抽出可能であり、51%は酵素による加水分解で抽出可能であった。TLC で分析すると、容易に抽出可能であった放射能の約60%は比較的非極性の物質と関連があり、DSG（±18%）、ENG（±18%）及び3β-OH-5α-H-DSG（±11%）の存在が示された。尿中では放射能の54%が容易に抽出可能であり、3-ケト-5α-H-DSG、3α/β-H-DSG 及び／又は3α-OH-5α-H-DSG の存在が示された。1種類の代謝物（容易に抽出可能であった放射能の±12%）を単離し、MS、NMR 及び IRS でさらに分析すると、13-ethyl-2α-hydroxy-

11-methylene-18,19-dinor-D-homo-androst-4-ene-3,17a-dione と同定された。

^{3}H-DSG の *in vitro* 代謝は、ウサギ及びヒト［17］の肝ホモジネート（上清1 kg あたり100,000N）を使用した試験、及びラット、ウサギ、イヌ及びヒトの女性から得た肝ホモジネートを組み合わせた試験で評価した。3-ケト代謝物は定量的に重要な代謝物であった。単離された他の代謝物は3α-OH-DSG、3β-OH-DSG、3-ケト-5α-H-DSG（ラット、ウサギ）及び3α-OH-5α-H-DSG であった。^{3}H-ENG の *in vitro* 代謝をラットの肝ホモジネートで評価し、代謝物を NMR と MS で分析した。^{3}H-ENG の主要代謝物は3α-OH-5α-H DSG と同定され、3ξ-OH、3ξ-OH-5ξ-H 及び2α-OH の各代謝物の構造も示された。

ラット及びイヌに[^{3}H]-ENG を単回経口投与又は単回皮下投与し、[^{3}H]-DSG を単回経口投与して、尿中及び糞中の各代謝物のプロファイルを決定した。ラット又はイヌに[^{3}H]-ENG 又は[^{3}H]-DSG を単回経口投与し、尿中及び糞中の各代謝物を単離し、NMR 又は MS で分析して同定した。ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの肝ミクロソームを使用し、*in vitro* で形成された[^{3}H]-ENG 及び[^{3}H]-DSG の第1相代謝物のプロファイルを比較した。いずれの実験系でも[^{3}H]-ENG 及び[^{3}H]-DSG は広範囲に代謝され、同様の代謝プロファイルを示した。この実験の条件下では、[^{3}H]-ENG の代謝に対して活性が最も高かったのはラット肝ミクロソームで、ウサギとイヌの肝ミクロソームは中程度の活性、ヒト肝ミクロソームは活性が最も低いと考えられた。

ヒト肝ミクロソームと[^{3}H]-ENG をインキュベートしたときの主要代謝物は以下のとおりである：

- 6β-ヒドロキシ-13-ヒドロキシエチル代謝物
- 6β-ヒドロキシ代謝物及び／又は3β-ヒドロキシ、5α-H、6α-ヒドロキシ代謝物
- 15α-ヒドロキシ代謝物及び／又は13-ヒドロキシエチル代謝物

ラット及びイヌに[^{3}H]-ENG を投与した後の主要代謝経路は以下のとおりである：

- 3-ケト部分が還元され、3α-又は3β-ヒドロキシ代謝物が形成される
- Δ4二重結合が還元され、5α-H 代謝物が形成される

ラットにおけるその他の主要経路は以下のとおりである：

- 3α-又は3β-ヒドロキシ代謝物の硫酸化
- 15α-水酸化

イヌにおけるその他の主要経路は以下のとおりである：

- D-ホモ-環化反応

ラットとイヌを使用した *in vitro* 試験を行って DSG から ENG への代謝経路を確認し［18］、ENG 形成に関与するチトクローム P450酵素を特定した。その結果、チトクローム P450 2C9及び2C19が DSG の最初の水酸化を触媒する重要なアイソフォームであることが示された［19］。他の *in vitro* 試験では、ENG の酸化的代謝には別のチトクローム P450アイソフォーム（3A4）が関与している

ことが示された［20］。

結論として、ENG は *in vitro* でも *in vivo* でも広範囲に代謝され、予想されたように、主要代謝経路は試験に使用したすべての動物種で同様であり、また DSG とも同様であった。

In vitro データ及び *in vivo* データに基づき、DSG の主な生体内分解経路について以下が明らかになった。

1)　酸化され、3-ケト類似体（3-ケト-デソゲストレル；ENG）が形成される

2)　3-ケト-Δ4 系の還元

DSG から3-ケト代謝物への生体内分解はヒトでも重要な役割を担い、ENG は生物活性のある代謝物であることが示されている。そのため、ヒトの肝臓及び腸壁の粘膜組織を使用して、DSG と ENG の代謝を *in vitro* で広範囲に検討した。これらの結果は臨床試験の概括評価で記述されている。

DSG の *in vitro* 生体内分解速度（ENG の形成を含む）及び ENG の *in vitro* 生体内分解速度は、予め雌ラットに代謝酵素を誘導するフェノバルビタールナトリウムを高用量（10 mg）で14日間連日投与すると上昇する。未投与ラットの肝ホモジネートは約20%の DSG 及び約25%の ENG を2.5分以内に分解するが、フェノバルビタールナトリウムを前投与したラットの肝ホモジネートはそれぞれ70%と50%を2.5分で分解する。

2.4.3.5　　排泄

雌ラットに^{3}H-DSG を経口投与したとき、投与後3日間の放射能の平均尿中排泄及び糞中排泄はそれぞれ投与量の15%と67%であった。静脈内投与では、投与後4日間の尿中排泄及び糞中排泄はそれぞれ約13%と80%であった。投与した放射能のうち約25%が45分以内に胆汁中に排泄された。投与後6.5時間以内に投与量の63%が胆汁中排泄された。肝臓で検出された DSG と ENG は微量であったため、腸肝循環は有効化合物の全身アベイラビリティに有意な影響を及ぼしていない。

定常状態で DSG 又は DSG＋EE を経口投与したとき、ENG の消失半減期はそれぞれ5.9時間と6.1時間であった。したがって、雌ラットでは EE が ENG の排出動態に影響を及ぼすことはないと結論付けられる。

DSG を投与したとき（EE がある場合とない場合）、定常状態での消失半減期は7.2～9.9時間の範囲であった。ENG を投与したとき（EE がある場合とない場合）、消失半減期は DSG よりも短く2.3～5.7時間であった。ENG の消失半減期に対して EE が統計的に有意な影響を及ぼすことはなかった。静脈内投与したときのデータに基づくと、全身クリアランスは5.9 L/hr であった。

雌授乳ラットに^{3}H-ENG を経口投与し、放射能の乳汁移行性を評価した。分娩5日後に母動物に^{3}H-ENG を経口投与し、5時間後に仔に30分間吸乳させた。同腹仔あたりの平均回収率は投与した放射能の0.024%であり、個別の仔では0.002%であった。

2.4.3.6　　薬物動態学的薬物相互作用

薬物相互作用試験は行われていない。DSG/EE 含有製剤に関する現行の処方情報は、過去に作成

されたクラス表示に基づいている。

2.4.3.7　その他の薬物動態試験

DSG／ENG についてその他の薬物動態試験は行われていない。

2.4.3.8　結論

非臨床薬物動態試験に基づくと、DSG は急速に吸収され、バイオアベイラビリティは15%（ラット）～約31%（イヌ）である。DSG は迅速に生体内分解され、主に活性代謝物の ENG が形成される。ENG は種々の組織全体に迅速に分布し、最高濃度は肝臓でみられ、投与後何日間かで徐々に低下し、ENG の組織結合及びタンパク結合（SHBG とアルブミン）は弱いことが示された。標識した DSG をラット及びイヌに経口投与したとき、標識は尿及び糞に排泄され（比は2：3）、消失半減期は約6～7時間である。標識した ENG を授乳ラットに経口投与したとき、標識の乳汁への移行はごくわずかと考えられた。

2.4.4　毒性試験

添付資料 A の表2.4.A-4に、非臨床毒性試験の概要を示す。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

DSG を単独及び EE と配合して投与したときの急性毒性は、マウスとラットに経口投与及び腹腔内投与して検討した。内因性ホルモンと構造が類似する化合物でによる検討結果から予想されるように、毒性は低かった。LD_{50}は、試験に使用した投与量（経口投与で2,000 mg/kg、腹腔内投与で500 mg/kg）より高かった。一般状態及び臓器の肉眼的変化はほとんどなく、大半が非特異的であった。

急性毒性試験はラットとマウスに経口投与及び腹腔内投与して行った。ENG は2000 mg/kg の用量で強制経口投与、又は500 mg/kg の用量で腹腔内投与した。いずれの用量でも死亡は認められなかった。

これらのデータは、一般に動物ではステロイドの急性毒性は低いことを示す公表データと一致している。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は経口投与で行った。行った試験は以下のとおりである：ラットとイヌを使用した DSG＋EE（2.5：1）及び DSG のみの最長1年間の試験、イヌとサルを使用した DSG＋EE（5：1）の最長1年間の試験、ラットを使用した DSG＋EE（2.5：1）及び DSG のみの最長2年間の試験並びにイヌとサルを使用した DSG＋EE（5：1）の最長3年間の試験、マウスを使用した DSG＋EE（2.5：1）及び DSG のみの最長81週間のがん原性試験、ラットを使用した DSG＋EE（2.5：1）及び DSG のみの最長2年間のがん原性試験、並びにイヌとサルを使用した DSG＋EE（5：1）

の最長3年間のがん原性試験。添付資料 A の表2.4.A-4に、DSG と EE について行った非臨床毒性試験と使用した用量の概要を示す。

2.4.4.2.1　　ラットを使用した試験

52週間試験で DSG を投与したとき、高用量を投与した雌のみで13～26週目に体重増加がわずかに亢進したが、摂餌量には検出可能な影響はなく、104週間試験では体重に影響はなかった。DSG＋EE を投与したとき、体重増加及び摂餌量は用量に関連して抑制され、中用量及び高用量では食餌利用が損なわれた。

げっ歯類に EE などのエストロゲンを使用した長期試験では、体重増加の抑制、摂餌量減少及び食餌利用低下はよくみられる所見であり［21, 22,23,24］、プロゲストゲンとエストロゲンの配合剤を投与したときにも同様の影響が観察される［23］。

最終的には脱毛症につながる被毛喪失が DSG＋EE ではみられたが、DSG のみではみられなかった。この影響は、配合剤のエストロゲン成分によると考えられる［21,22,23,24］。

RBC パラメータ値の低下が DSG＋EE ではみられたが、DSG のみではみられなかった。RBC パラメータ値の低下はげっ歯類がエストロゲン又はプロゲストゲンとエストロゲンの配合剤に曝露するとよくみられる所見である［21］。WBC、リンパ球及び好中球数の変化は、DSG を投与した2つの試験で結果が一致しなかったため、毒性学的意義は乏しい。このことは、DSG と EE の配合剤を投与したときに報告された WBC パラメータ値のわずかな変化にもあてはまる。APPT は DSG＋EE 投与後に増加した。同様の変化が EE を投与したラットでも報告されているため［24］、この影響はエストロゲン成分に関連があると考えられる。

26週間試験では、DSG を投与した雄で血漿中グルコース値が低下した。この変化は52週間試験ではみられなかったため、毒性学的な意義は乏しいと考えられる。

最長104週間の試験では、主に高用量の DSG＋EE を投与したラットの脾臓でヘモジデリン（フェリチンミセル）の形成が増加した。この影響は、配合剤のエストロゲン活性による可能性がある。

最長104週間の試験でみられた肝臓の変化は、DSG＋EE を投与したラットのみで生じ、重量の増加、局所過形成及び門脈周囲肝細胞の空胞化などがみられた。これらの肝臓に対する影響は、配合剤中のエストロゲン活性によると考えられる。門脈周囲肝細胞の空胞化は一般に、エストロゲン活性を有するステロイドに関連する［21,22］。

ラットを使用した最長104週間の試験では、腎臓の変化（皮質の尿細管上皮における黄色色素の沈着、皮髄境界部の石灰化と腎石灰化症）が DSG＋EE を投与したラットのみで観察され、これらの変化は配合剤中のエストロゲン成分によると考えられる［25,26］。

DSG を26週間投与したとき、高用量を投与した雌で下垂体重量が減少したが、52週間試験ではみられなかった。最長104週間の試験で DSG＋EE を投与したラットの下垂体にはさらに著明な変化が生じ、中用量群と高用量群で下垂体重量の増加、肥大と変色、及び下垂体前葉の増殖性変化が観察された。下垂体の成長反応は、性腺抑制の代償性反応である。DSG＋EE を投与したラットの雄の生殖系でも、予想された変化として精巣における精子形成の抑制及び前立腺と精嚢の活性

抑制が生じた。これらの抑制作用は、DSG のみを投与したラットではみられていない。これらの変化はエストロゲンに関連する変化と考えられる［21,22］。尿中のタンパク含有量減少は、雄の付属腺の分泌活性が低下したことに関連すると考えられる。

雌の生殖器系でも、抑制又は刺激を示す徴候が観察された。排卵と卵胞成熟の阻害、卵巣重量減少が DSG＋EE を投与した雌で生じ、下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌の阻害に関連すると考えられる。DSG のみの投与では別の変化が生じ、卵巣重量が増加して黄体を有する雌が増加した。

最長104週間の試験では、子宮の刺激（子宮内膜の肥厚及び過形成）が DSG＋EE の中用量群及び高用量群で生じたが、DSG のみを投与したラットでは抑制作用（子宮内膜の重量減少と間質の幅の減少）が生じた。子宮組織の反応は、組織の感度、外因性ステロイドのエストロゲン／プロゲストゲン活性、用量、子宮に対する直接の作用と卵巣や下垂体を介した間接的な作用などの複雑な要因で決定される。子宮組織が活性の増加という反応を示すか、活性の低下という反応を示すかは、この複雑な相互関係により決定される。げっ歯類においてエストロゲンに対する子宮の一般的な反応は過形成である［21,22］。

最長104週間の3つの試験すべてにおいて、高用量の DSG のみ、及びすべての用量の DSG と EE の配合剤で、膣上皮の粘液産生がみられた。これはプロゲストゲンによる刺激に対するこの組織の正常な反応である［2735,28］。52週間試験で DSG＋EE を投与したとき、高用量を投与したラットの最終安楽死時のみに膣上皮の粘液産生に角化が伴っており、これは既知のエストロゲン作用である。

雌ラットの乳腺では DSG のみを0.625 mg/kg/day で投与したときのみ、26週間後に軽度の過形成がみられたが、最高で0.5 mg/kg/day を最長104週間投与しても影響はなかった。乳腺の過形成と分泌活性は、いずれの用量でも DSG＋EE を投与したラットに52週後にみられ、104週間後には中用量群と高用量群の雄でみられた。DSG＋EE を52週間投与したすべての群で良性の乳腺腫瘍の発現率が上昇し、104週間後には良性及び悪性の乳腺腫瘍の発現率が中用量群の雄、及び高用量群の雄と雌で上昇した。この作用は配合剤のエストロゲン作用によるものである［22,29］。DSG のみを投与したときは、最長で104週間まで乳腺腫瘍の発現率に影響はなかった。

52週間試験では投与休止期間後に回復所見があったが、程度は下がったとはいえ、いくつかの変化が投与休止期間の終了時まで種々の程度で残存しており、回復は部分的であった。

要約すると、ラットに DSG のみ又は DSG＋EE を最長2年間経口投与したとき、種々の影響が生じた。これらの変化はいずれも、外因性ステロイドのホルモンとしての性質に起因する。DSG のみ又は DSG＋EE の固有の毒性を示す変化はなかった。

2.4.4.2.2　　イヌを使用した試験

イヌでは、DSG のみでは53週間後、DSG＋EE（2.5：1）では52週間後に高用量で体重が増加した。DSG＋EE（5：1）を1年間、2年間及び3年間投与した雌の体重は対照動物よりわずかに高値を示したが、統計的有意差はなかった。高用量の DSG＋EE（2.5：1）では、他の高用量プロゲストゲンとエストロゲンの配合剤をイヌに投与した他の試験と同様に、いくつかの変化が生じた。こ

れらの変化は、このクラスの薬剤で生じることが知られた皮膚の変化（肥厚、着色と皺、乳腺過形成）である［30,31,32］。陰茎鞘の拡大は、配合剤中のエストロゲン成分に関連すると考えられる［24］。2.5：1の配合で投与したとき、被毛再生の減少と脱毛症が生じた。これはイヌにエストロゲンを投与したときに一般的にみられる所見である［24］。これらの変化は、3年間の周期試験で DSG＋EE（5：1）を投与したとき、53週間試験で DSG のみを投与したときにはみられていない。53週間の試験における DSG のみの投与及び3年間の試験における DSG＋EE（5：1）の投与では、中用量群と高用量群で発情周期と乳腺の発達が抑制された。DSG＋EE 試験では、対照動物と試験薬を投与したイヌの数匹で乳腺に小結節が触知された。これらの小結節は検出から最長で12週間以内に消失した。52週間試験で高用量の DSG＋EE（2.5：1）を投与した雌1匹の小結節1個のみが残存しており、顕微鏡で結節性過形成であることが確認された。

RBC パラメータに関連する値が低下した。これはエストロゲン及び／又はプロゲストゲンを投与したイヌで一般的にみられる［33,34］。高用量の DSG 及び DSG＋EE（2.5：1）を最長52週間投与したイヌでは、赤血球沈降速度（ESR）が増加した。WBC 数や好中球数の増加、及び循環中の後骨髄球及び／又は杆状球の出現は子宮留膿症の発現によるものであり、性的に成熟した雌に高用量の避妊薬ステロイドを投与したときによくみられる所見である［32］。これらの変化はいずれも、3年間の試験で DSG＋EE（5：1）を投与したときには観察されなかった。

DSG＋EE（2.5：1）を投与した動物では試験中の種々の時点で脂質パラメータ値が上昇し、DSG のみを投与した雌ではコレステロール値が用量に関連して上昇した。26週間後には高用量を投与したすべての雌で遊離脂肪酸が著明に減少した。DSG＋EE（5：1）の1年間の投与後には減少が生じ、その後は変化がなかった。イヌについても同様の結果が他の著者から報告されている［35］。

3年間の試験では高用量の DSG＋EE（5：1）を投与した群で AP が減少した。これは、通常の状態では AP の豊富な源である骨芽細胞の活性がエストロゲンの介在により低下したためと考えられる。

26週間の試験では、DSG を投与したとき肝臓重量とスルホブロモフタレイン保持が増加した。高用量の DSG を14週間投与したイヌでは、肥大、空胞化及びグリコーゲン含量増加が肝小葉中心の肝細胞に生じ、26週間後にも程度は低いがこれらの所見が観察された。この所見は、DSG を1年間投与したイヌ、DSG＋EE（2.5：1）を投与したイヌ、又は DSG＋EE（5：1）を最長3年間投与したイヌでは観察されなかった。

52週間試験では、高用量の DSG を投与したイヌで甲状腺重量が減少した。

高用量の DSG＋EE（2.5：1）を投与した動物では、副腎の束状層と網状層の細胞に空胞化が生じたが、DSG＋EE（5：1）を最長3年間投与したイヌではみられていない。

精巣と精巣上体の重量減少及び精子形成抑制からみられた雄の性腺機能の抑制は、最長52週間の試験で DSG＋EE（2.5：1）を投与したときにみられたが、同程度の用量で DSG のみを投与したときにはみられなかった。この結果は、雄に DSG＋EE を投与したときの性腺機能抑制は EE によることを示唆する。DSG のみの投与では、前立腺活性が低下した。DSG＋EE（2.5：1）が前立腺に及ぼす影響は二元的であり、刺激を示す徴候が生じるか阻害を示す徴候が生じるかは、用量によって異なる。

卵巣の組織学的評価では、中用量及び高用量の DSG＋EE（2.5：1）を最長3年間、DSG＋EE（5：1）を最長3年間、及び DSG のみを最長53週間投与したときに発情周期が抑制された。この結果は、卵巣の重量及び大きさの減少、スムーズな表面、及び成熟した卵胞と黄体がないことで裏付けられた。

子宮では、中用量及び高用量の DSG 及び DSG＋EE を投与したときに用量に関連した嚢胞性子宮内膜過形成が生じ、52週間試験における DSG＋EE（2.5：1）高用量群のほうが、3年間試験における DSG＋EE（5：1）高用量群より重症度が高かった。嚢胞性子宮内膜過形成では、子宮壁の肥厚（時に粘膜下嚢胞を伴う）及び子宮内膜上皮と腺上皮の過形成が生じた。中用量及び高用量の DSG＋EE（2.5+1）を投与したイヌでは、性的に成熟した雌に高用量のステロイド避妊薬を投与したときに一般的によくみられる子宮留膿症［34］（子宮中の粘膿性又は膿性滲出物が存在することで示される）が生じた。

DSG のみの投与ではまれに粘液嚢胞及び膣上皮の菲薄化が生じた。エストロゲン刺激の正常な徴候である膣上皮の角化及び外陰部腫脹は、1年間の試験で DSG＋EE（2.5：1）を投与したときのみに観察された。

投与に関連して腫瘍性の変化が増加する所見はなかった。

投与休止期間後（該当する試験）には回復性が認められたが、程度は下がったとはいえ、いくつかの変化が投与休止期間の終了時まで種々の程度で残存しており、回復は部分的であった。

要約すると、イヌに DSG のみ又は DSG＋EE を最長3年間にわたり経口投与したとき、種々の影響が生じた。いずれの変化も外因性ステロイドのホルモンとしての性質によるものであった。DSG のみ、DSG＋EE（2.5：1）又は DSG＋EE（5：1）に固有の毒性を示す変化はなかった。

2.4.4.2.3　　サルを使用した試験

DSG＋EE（5：1）を3年間投与したとき、予想されたパターンのホルモン介在性変化が生じた。高用量を投与した雌で月経サイクル活性が低下し、中用量と高用量では卵巣の組織所見で排卵活性阻害が示された。乳腺の分泌活性は用量に関連して増加した。ホルモンに関連したその他の変化として、中用量及び高用量の投与で線維化と APPT の増加、PTT の減少、トリグリセリドとコレステロールの上昇、及びアルブミンとアルブミン／グロブリン比の低下などが観察された［36,37］。血漿中 AP 値の低下は、通常の状態では AP の豊富な源である骨芽細胞の活性がエストロゲンの介在により低下したためと考えられる。

子宮内膜では、刺激（中用量及び高用量）又は不活性（高用量群の一部の雌）のいずれかがみられた。用量に関連して子宮頸管粘液が増加し、膣上皮が菲薄化した。中用量及び高用量を投与した雌の下垂体では、好酸球の数と大きさが用量に関連して増加し、好塩基球の数は明らかに減少した。

要約すると、サルに DSG＋EE を3年間周期的に経口投与したとき、種々の影響が生じた。いずれの変化もサルに OC を投与したときにみられる変化と一致しており、DSG と EE の配合剤のホルモンとしての性質によると考えられる。DSG＋EE 固有の毒性を示す変化はなかった。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

DSG と EE の配合剤と DSG のみが遺伝毒性を有する可能性は、*in vitro* 及び *in vivo* で評価した。

遺伝子変異の評価項目は、大腸菌のトリプトファン遺伝子及びネズミチフス菌のヒスチジン遺伝子の復帰変異とした（エームス試験）。染色体事象の評価項目は、小核の形成につながる染色分体切断、染色体切断又は紡錘体の障害とし、ラット骨髄の多染性赤血球を使用して評価した。

ENG の遺伝毒性の可能性は、骨髄小核試験（*in vivo*）、及びエームス試験と染色体異常試験（*in vitro*）で評価した。マウスに DSG 又は ENG（最高2000 mg/kg）を投与したとき、いずれの用量でも小核を有する多染性赤血球が対照に比べて統計的に有意に増加することはなかった。ENG のエームス試験では、プレートあたり最高5 mg を添加したが変異原性はなかった。DSG と ENG による染色体の損傷をチャイニーズハムスター卵巣細胞で評価したとき、いずれの用量でも異常を有する細胞の数が統計的に増加することはなかった。したがって、DSG のみ、DSG と EE の配合剤、及び DSG の主要代謝物である ENG はいずれも遺伝毒性を有しないと結論付けられた。

2.4.4.4　がん原性試験

DSG＋EE をマウスに80週間、ラットに104週間にわたり連日強制経口投与した。ヒトに対して予定されている用量の2倍、20倍及び200倍の用量を投与したとき、腫瘍性の変化も非腫瘍性の変化も観察されなかった。

マウスとラットを使用した試験における死亡率は、低用量群と中用量群では対照群と同程度であったが、高用量群では上昇した。高用量群で生存率を低下させた原因は、マウスでは下垂体腫瘍、ラットでは下垂体腫瘍と乳腺腫瘍であった。

マウスとラットの下垂体腫瘍は腺腫であり、ラットの乳腺腫瘍は腺腫、線維腺腫及び腺癌であった。これらの腫瘍又は他の腫瘍の誘発は、DSG のみを投与した動物ではみられなかった。この結果は、配合剤を投与したときのがん原性は DSG ではなく EE によるものであることを示唆する。一般に、げっ歯類ではエストロゲンにより下垂体及び乳腺の腫瘍が誘発されることが広く認識されており［23,24,38,39］、IARC は EE を発がん物質と分類している［40］。

骨髄スメアを分析しても変化はなく、マウスとラットの血液パラメータに対する影響はないことが示された。がん原性試験でマウスとラットに DSG＋EE を投与したとき、投与に関連した非腫瘍性の変化はほとんど生じなかった。中用量及び高用量の DSG＋EE を投与した雄マウスの脾臓で髄外造血が観察され、マウスにおけるこの所見はいくつかのエストロゲンについて報告されている［41］。

高用量を投与したラットでは、進行性糸球体ネフローゼの程度及び発現率がわずかに低下した。これも配合剤中のエストロゲン成分が原因である［22］。

DSG のみをマウスに81週間、ラットに104週間にわたり連日強制経口投与した。ヒトに対して予定されている用量の2倍、20倍及び200倍の用量を投与したとき、腫瘍性の変化は生じなかったが、いくつかの非腫瘍性の変化が観察された。

著明な所見は高用量を投与したラットの生存率上昇であった。

投与に関連したその他の影響はいずれもこのクラスの薬剤に関する文献で報告され、ラットを使用した短期間の試験でもみられているため、予想される影響であった。

DSG と EE の配合剤を3年間にわたり、カプセル又は錠剤でイヌに連日経口投与し、ソフトドリンクでサルに連日経口投与したとき、予想された非腫瘍性の変化がみられたのみであった。用量は、カプセル又は錠剤ではヒトに対して予定されている用量の2倍、10倍、25倍、ソフトドリンクでは2倍、10倍、50倍であった。イヌとサルの試験でみられた変化は、雌の性器と付属器に対する典型的なホルモン活性であった。具体的には、発情周期の抑制とこれに伴う卵巣の形態変化、子宮内膜の変化、子宮頸管内の粘液の増加（サルのみ）、及び乳腺組織の過形成であった。腫瘍原性作用はなかった。

ENG（10 μg/day 又は20 μg/day）を皮下インプラントで24ヵ月間にわたりラットに投与したとき、腫瘍性の変化はなかった。

要約すると、DSG のみ又は DSG＋EE（2.5：1）をマウスに80週間又は81週間、ラットに104週間経口投与、DSG＋EE（5：1）をイヌとサルに3年間経口投与したとき、種々の影響が生じた。すべての腫瘍性の変化（マウスとラットのみ DSG＋EE）、非腫瘍性の変化（すべての動物種）は、外因性ステロイドのホルモンとしての性質によるものであり、DSG のみ又は DSG＋EE の固有の毒性を示す変化はなかった。

これらの試験では血清中 ENG 濃度は測定しなかったため、ヒト血漿中の濃度に対しての安全マージンは算出できなかった。

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

2.4.4.5.1　受胎能及び一般生殖能試験

受胎能試験は雌ラットを使用して行った。DSG＋EE と DSG のみを、交配の前6週間にわたり投与し、投与休止期間後に受胎能の可逆性を評価した。ステロイド誘発性の低受胎と不妊は、DSG＋EE の経口投与では最高0.5+0.2 mg/kg/day の用量、DSG のみの経口投与では最高3.0 mg/kg/day の用量まで完全に可逆的であった。投与休止期間後の交尾能及び受胎能は正常であった。F_0世代の雌に対する投与は、妊娠の経過と転帰、及び F_1世代の出生前と出生後の発生に影響を及ぼさなかった。

2.4.4.5.2　受胎能／胚毒性試験

雌ラットに DSG＋EE を、交配前6週間、交配期間及び交尾から15日後までの妊娠期間の間、連日経口投与した。妊娠前及び妊娠中に最高で0.025＋0.010 mg/kg/day（subcontraceptive）の用量を中断せず連日投与したとき、F_1仔の数は減少したが、F_1世代の質に影響はなかった。

2.4.4.5.3　胚毒性試験

雌ラットとウサギを使用した胚毒性試験では、DSG＋EE と DSG のみを妊娠中投与した。本試験では特に胚と胎仔の損失、胎盤の重量と形態、胎仔の重量と外見、内臓及び骨格の奇形を観察

した。いくつかの試験で半数の雌は自然分娩とした。

0.5＋0.2 mg/kg/day の DSG＋EE を妊娠中のラットに連日投与し、0.020＋0.008 mg/kg/day の DSG＋EE を妊娠中のウサギに連日投与すると、母動物に対する毒性と胚死亡が生じたが、仔に対する催奇形性はなかった。ウサギに DSG のみを2 mg/kg/day 及び4 mg/kg/day の用量で投与したときも同様の観察結果が得られた。ラットに1 mg/kg/day を超える用量の DSG のみを連日投与すると、母動物の体重及び摂餌量が一過性に減少したが、胚死亡や胎仔の形態に対する影響はなかった。DSG のみ又は DSG＋EE を低用量で投与したとき、ラットでもウサギでもこれらの影響はみられなかった。

2.4.4.5.4　　周産期及び出生後の毒性

ラットを使用した周産期試験で、母動物に対する投与が生殖器の分化に悪影響を及ぼす可能性を検討した。DSG は、生殖器分化に対する影響を最も受けやすいタイミングである妊娠後期に投与した。ラットに最高4.0 mg/kg/day の DSG のみを妊娠14～20日目に経口投与したとき、雌胎仔の雄化も雄胎仔の雌化もみられなかった。

母動物が産生する自然のステロイドと母動物に投与した合成ステロイドは一部が乳汁に移行するため、ラットに DSG＋EE と DSG のみを投与した出生後試験を行い、F_1世代の仔に影響が生じる可能性を評価した。授乳期間中に DSG＋EE 又は DSG のみを連日投与し、F_0世代の母動物と F_1世代に対する影響を評価した。雌ラットに0.250 + 0.100 mg/kg/day の DSG＋EE を投与したとき、母動物に対する毒性と離乳前の成長低下が生じたが、F_1世代の身体の発達や受胎能に対する影響はなかった。DSG のみの投与では、最高で2.0 mg/kg/day の用量まで F_0世代の母動物と F_1世代に影響はなかった。

ラット（Segment I と Segment II）、及びウサギ（Segment II）を使用して生殖毒性試験を行った。DSG は妊娠中の患者には禁忌であるため、Segment III の試験は行わなかった。最高4 mg/kg/day を経口投与したとき、受胎能の ENG 誘発性抑制は可逆的であることが示された。実際の ENG 曝露に関するデータはないが、対照ラットに比べて DSG を投与したラットでは受胎能が有意に抑制されたため、試験は有効であると判断された。ラットに ENG を投与したときの排卵阻害用量は約0.0048 mg/kg/day と決定されているため、これは当然の結果であった。同腹仔のパラメータに対する有害作用はみられず（投与中断後）、ENG による受胎能抑制後、受胎能が戻れば ENG による作用はないことが示された。

ヒトに対して予想される用量と比べて最高で約250倍の用量の ENG をラットとウサギに投与したとき、胚毒性や催奇形性はなかった。これまでに DSG について報告されているデータもこの結論を支持する。したがって、DSG に関する過去のデータ及び ENG に関する最近のデータに基づき、ENG には生殖毒性のハザードはないと結論付けられた。

2.4.4.6　　局所刺激性試験

DSG の局所刺激性試験は行われていない。ENG はいくつかの試験で皮下投与及び膣内投与が行

われ、局所刺激性が評価されている。これらのデータはインプラノン（ENG 含有皮下インプラント）及びヌーバリング（ENG/EE 含入膣リング）の提出書類に記載されており、ここでは考察しない。これらの試験では、ENG の局所刺激性は良好と結論付けられている。

2.4.4.7　その他の毒性試験

DSG 又は ENG についてその他の毒性試験は行われていない。

2.4.4.8　結論

結論として、DSG と ENG の毒性試験では急性毒性は低いことが示された。DSG のみ又は DSG＋EE を長期にわたりラット、イヌ、サルに投与しても固有の毒性を示す変化はなく、DSG と ENG に生殖発生毒性はないと結論付けられた。

データパッケージ全体に基づき、DSG も ENG も固有の毒性、遺伝毒性、がん原性はないと結論付けられた。この見解は、DSG を含有する配合経口避妊薬の長期にわたる（累積25年間）市販経験でみられた安全性データによっても支持される。実際にすべての市販の配合経口避妊薬（Organon 社の製品を含む）で EE の使用がよく確立されており、EE をエストロゲン化合物として使用することは安全と判断される。

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1　薬理試験

動物を使用した種々の試験で得たデータに基づき、DSG は選択的なプロゲストゲンであると結論付けられる。理由は以下のとおりである：

1) 強力なプロゲステロン活性。これに対応して、DSG の活性代謝物である ENG は P 受容体に対して高い親和性を示す
2) 強力な排卵阻害活性
3) 非常に弱いアンドロゲン活性。これに伴い、アンドロゲン受容体に対する結合親和性は弱い
4) 弱いタンパク同化活性
5) 強力な抗エストロゲン活性
6) エストロゲン活性はない

2.4.5.2　薬物動態試験

非臨床薬物動態試験では、経口投与した DSG は急速に吸収されると考えられ、バイオアベイラビリティは15%（ラット）～約31%（イヌ）である。DSG は迅速に生体内分解され、主に活性代謝物の ENG になる。ENG は種々の組織全体に迅速に分布し、最高濃度は肝臓でみられ、投与後何日間かで徐々に低下し、ENG の組織結合及びタンパク結合（SHBG とアルブミン）は弱いことが示されている。標識した DSG をラット及びイヌに経口投与したとき、標識は尿及び糞に排泄され

（比は2：3）、消失半減期は約6～7時間であった。標識した DSG を授乳ラットに経口投与したとき、標識の乳汁への移行はごくわずかと考えられた。

2.4.5.3　　毒性試験

DSG のみ又は DSG＋EE をラットに最長2年間、及びイヌに最長3年間に経口投与したとき、種々の影響が生じた。変化はいずれも外因性ステロイドのホルモンとしての性質によるものである。

DSG＋EE をサルに3年間周期的に経口投与したとき、サルに OC を投与したときにみられる変化と一致した変化が生じ、DSG と EE の配合剤のホルモンとしての性質によると考えられる。

DSG のみ、DSG＋EE（2.5：1）又は DSG＋EE（5：1）の固有の毒性又は遺伝毒性を示す変化はなかった。ENG を投与しても腫瘍性の変化や生殖毒性はなかった。

非臨床データは、DSG（DSG のみ又は EE との配合剤）が選択性の高いプロゲストゲンであり、毒性は低く、月経困難症の治療薬として非常に適した化合物であることを示している。

2.4.6　　全体の結論

DSG はプロドラッグであり、生物活性を有する誘導体の ENG に迅速かつ完全に変化する。DSG は主に下垂体-卵巣軸に対して作用するが、その他に子宮内膜、卵子の移動と粘液の粘性に対しても作用する。

まとめると、本専門報告書で提示したすべての試験から以下の結論が得られる。DSG／ENG と EE による受胎能の抑制は完全に可逆的であった。ヒトに対して予想される DSG／ENG の1日量の250倍の用量まで、胚毒性はなく催奇形性もなかった。さらに、DSG／ENG は遺伝毒性もがん原性もないことが示された。ラットとイヌを使用した慢性毒性試験では、DSG／ENG はヒトに対して予想される1日量の160倍の用量まで、毒性はなかった。観察された影響はいずれも、主にホルモンとしての薬理作用によるものであった。DSG／/ENG の *in vivo* 試験では、全身的異常の徴候はみられなかった。

DSG と ENG の広範囲な毒性のデータパッケージに基づき、安全性の懸念はない。動物を使用した試験の結果をヒト被験者に外挿することは困難であるが、広範囲な市販後調査データが得られており、これらのデータでは非臨床試験を追加で行う必要性を示す予期されない安全性の問題は検出されていない。

2.4.7　　参考文献

参考文献を添付資料 B に一覧で示す。

添付資料 A 表形式のデータの一覧

表 2.4.A 1　　ENG、DSG、LNG 及びLNG-ac のホルモン活性の概要

	Type of steroid*				Reference
	ENG	DSG	LNG	LNG-ac	
PROGESTATIONAL ACTIVITY (in vitro)					
Receptor binding					
Progesterone (rabbit myometrium cytosol)	++	±	++		[14]
Progesterone (human endometrium cytosol)	++	-	++		[42]
Progesterone (human myometrium cytosol)	++	-	++		[43]
Progesterone (MCF-7 cell line)	+++	-	++		[43], [44]
Androgen (rat prostate)	±	-	+		[14]
Androgen (MCF-7 cell line)	+	-	++		[43], [44],
Estrogen receptor (MCF-7 cell line)	-	-			[43]
Plasma binding					
SHBG (human)	+	-	++		[14]
Total protein (human, dog, rat)	++	+++			
PROGESTATIONAL ACTIVITY (in vivo)					
Clauberg-McPhail assay in rabbits (PO)	+++	+++	++	+	
Clauberg-McPhail assay in rabbits (SC)	+++	+	++	++	
ANTI-FERTILITY ACTIVITY (in vivo)					
Ovulation inhibition in rats (PO)	+	++	-	+/-	
Ovulation inhibition in rats (SC)	+++	+	++	++	
Transport / implantation of fertilized ova (rats) (PO)	-	-			
Inhibition of coitus-induced ovulation (rabbits) (PO)	+++	++	+		
Inhibition of uterine cervix function (rabbits) (PO)	++	+++	+		
OTHER HORMONAL ACTIVITIES (in vivo)					
Inhibition of testes growth in rats (PO)	+	+			
Inhibition of seminal vesicle growth in rats (PO)	+	+			
Androgenic activity in rats (seminal vesicle) (PO)	+	+			
Androgenic activity in rats (seminal vesicle) (SC)	+		++	++	
Inhibition of ventral prostate growth in rats (PO)	-	+			
Androgenic activity in rats (ventral prostate) (PO)	+	+			
Androgenic activity in rats (ventral prostate) (SC)	+		++	++	
Anabolic activity (M. levator ani) (PO)	+	+			
Anabolic activity (M. levator ani) (SC)	+		++	++	
Estrogenic activity (PO)	-	-			
Anti-estrogenic activity in rats (SC)	++		++	+	
Mineralocorticoid-like activity	-	±			
OTHER ACTIVITIES (in vivo)					
Anti-inflammatory activity (SC)	±	±			
Hypolipaemic activity (PO) / cholesterol		±			
Hypolipaemic activity (PO) / triglycerides		-			
Inhibition of platelet aggregation	-	-			

* In this table the potencies, presented on a semi-quantitative scale, should only be compared between the four compounds tested but not between the various in vitro or in vivo tests because the results are derived from different studies. Hormonal activities are expressed on a relative scale using the following symbols: - (not active); ± (weakly active); + (active); ++ (more active); and +++ (strongly active). SC = subcutaneous; PO = per os. No symbol means that data were not available.

表 2.4.A 2　　非臨床薬理試験の概要

Species	Dosage (mg/kg)	Route/duration	Primary trial parameter	Reference
Primary pharmacodynamics				
Rat	DSG: range 0.18-1.5	Oral, twice daily, 5 days	Inhibition of ovulation	
Rat	ENG: range s.c.: 0.006-0.75; range oral: 0.38-3.0	s.c., twice daily, 5 days Oral, twice daily, 5 days	Inhibition of ovulation	
Rat	DSG: range 0.18-0.75 ENG: range 0.003-0.96	s.c., twice daily, 5 days	Inhibition of ovulation	
Rat	DSG: range 0.20-1.5	Oral, twice daily, 5 days	Inhibition of ovulation	[13]
Rat	ENG: range 0.006-0.024	s.c., twice daily, 5 days	Inhibition of ovulation	
Rat	DSG: range 0.37-1.5	Oral, twice daily, 8 days	Effect on transport and implantation of fertilized ova	
Rat	ENG: 1.5	Oral, twice daily, 5 days	Effect on transport and implantation of fertilized ova	
Rat	DSG: range 0.37-1.5	Oral, twice daily, 8 days	Effect on transport and implantation of fertilized ova	[13]
Rabbit	DSG: range 0.025-0.10	Oral, single dose	Inhibition of coitus-induced ovulation	
Rabbit	ENG: range 0.025-0.25	Oral, single dose	Inhibition of coitus-induced ovulation	
Rabbit	DSG: range 0.025-0.100	Oral, single dose	Inhibition of coitus-induced ovulation	[13]
Rabbit	DSG: range 0.01-0.20	Oral, once daily, 8 days	Effect on uterine cervix	
Rabbit	ENG: range oral 0.05-0.2; range s.c. 0.006-0.024	Oral, once daily, 8 days s.c., once daily, 8 days	Effect on uterine cervix	
Rabbit	DSG: range 0.05-0.20	Oral, once daily, 8 days	Effect on uterine cervix	[13]
Secondary pharmacodynamics				
Rat	DSG: range: 10-40	Oral, once daily, 7 days	Androgenic activity (Hershberger test)	
Rat	ENG: range: 10- 40	Oral, once daily, 7 days	Androgenic activity (Hershberger test)	
Rat	ENG: range: 0.3, 1.25 and 5	s.c., once daily, 7 days	Androgenic activity (Hershberger test)	
Rat	ENG: range: 32- 500 mg/rat	s.c., once daily, 7 days	Androgenic activity (Hershberger test)	
Rat	DSG or ENG: range: 0.04- 40	Oral, 3 doses in 2 days	Estrogenic activity (Allen-Doisy test)	
Rat	DSG: range 0.04- 40	Oral, 3 doses in 2 days	Estrogenic activity (Allen-Doisy test)	[13]
Rat	DSG or ENG: range 0.05-5	Oral, once daily, 10 days	Anti-estrogenic activity	
Rat	DSG: range 0.06-1.0 ENG: range 0.04-0.32	s.c., once daily, 10 days	Anti-estrogenic activity	
Rat	ENG: 1-8 µg/rat	s.c., once daily, 10 days	Anti-estrogenic activity	
Rat	DSG: range 0.12-2.0	Oral, once daily, 10 days	Anti-estrogenic activity	[13]
Rat	DSG: range 0.0075-2.0	Oral, twice daily, 3 days	Anti-estrogenic activity	[13]
Rat	DSG or ENG: 2.5	Oral, once daily, until death	Mineralocorticoid activity	
Rat	DSG: 1.25	Oral, once daily, 4 days	Hypolipaemic activity	
Rat	DSG or ENG: 5 or 20	s.c., single dose	Anti-inflammatory activity	
Rabbit	DSG: range: 0.009-0.036	Oral, single dose	Progestational activity (Clauberg-McPhail test)	
Rabbit	ENG: range oral: 0.0075-0.060; range s.c.: 0.0015-0.125	Oral, twice daily, 5 days s.c., twice daily, 5 days	Progestational activity (Clauberg-McPhail test)	
Rabbit	ENG: range: 4-12 µg/rabbit	s.c., twice daily, 5 days	Progestational activity (Clauberg-McPhail test)	
Rabbit	DSG: range 0.008-0.125 ENG: range 0.002-0.125	s.c., once daily, 6 days	Progestational activity (Clauberg-McPhail test)	
Safety pharmacology				
Cat	DSG: 1.0	i.v., single dose	Effect on cardiovascular system	
Pharmacodynamic drug interactions				
Not applicable				

Key:　DSG = desogestrel; ENG = etonogestrel; s.c. = subcutaneous; i.v. = intravenous

表 2.4.A 3　　非臨床薬物動態試験の概要

Species	Dosage/number of animals	Route/duration	Primary study parameter	Reference
Distribution/excretion				
Rat	^{3}H-ENG 0.002 mg/kg (n=3)	Gavage, SD	Excretion in milk	
Rat	^{3}H-DSG 52.7 µg (n=7)	Intravenous, SD	Distribution/excretion	
Rat	^{3}H-DSG 0.005 mg/day (n=6)	Oral, once daily, 6 days	Distribution/excretion	
Rat	^{3}H-DSG 0.529 mg (n=2)	Intravenous, SD	Biliary excretion	
Rat	DSG/EE Group I: 0.504/- (n=6); Group II: 0.532/0.213 (n=6)	Oral, once daily, 7 days	Pharmacokinetics after repeated administration	
Dog	DSG/EE Group I: 0.625/0.125 (n=3); Group II: 0.521/0.125 (n=3); Group III: 0.521/- (n=3)	Oral, once daily, 21 days	Pharmacokinetics after repeated administration	
Dog	ENG/EE: 0.150/0.030 (n=3)	Oral, once daily, 21 days	Pharmacokinetics after repeated administration	
Protein binding				
Human, dog, rat	Concentration ^{3}H-ENG: 500 pg·mL^{-1}; ^{3}H-DSG: 500 pg·mL^{-1}	*In vitro*	Binding of etonogestrel and desogestrel to plasma proteins *in vitro*	
Human	DSG; 10 nM 7-[^{3}H]-Org 2058 (30 Ci/mmol)	*In vitro*	*In vitro* binding of DSG and ENG to receptor proteins and human sex hormone binding globulin	[14]
***In vitro* metabolism**				
Rat	[^{3}H]-ENG, 4 mg/162 ml	*In vitro*	*In vitro* biotransformation in rat post-mitochondrial liver fraction	
Rat	DSG 0.5 mg/40.5 ml	*In vitro*	*In vitro* biotransformation-rate in rat post-mitochondrial liver fraction	
Rat	ENG 0.5 mg/40.5 ml	*In vitro*	*In vitro* biotransformation-rate in rat post-mitochondrial liver fraction	
Rabbit	[^{3}H]-DSG, 37.5 mg/300.5 ml	*In vitro*	*In vitro* biotransformation in rabbit post-mitochondrial liver fraction	
Rat, rabbit, dog, human	Concentration [^{3}H]-Org 3236 (ENG): 10 nmol·mL^{-1}; [^{3}H]-Org 2969 (DSG): 10 nmol·mL^{-1}	*In vitro*	*In vitro* biotransformation by hepatic microsomes	
Human	[^{3}H]-DSG; concentration: NA	*In vitro*	*In vitro* biotransformation by human hepatic microsomes	[17]
Human	[^{3}H]-DSG; concentration: NA	*In vitro*	*In vitro* biotransformation by human hepatic microsomes	[19]
Human	[^{3}H]-ENG; concentration: NA	*In vitro*	*In vitro* biotransformation by human hepatic microsomes	[20]
***In vivo* metabolism**				
Rat	Low dose (n=3): [^{3}H]-Org 3236 (ENG) 52 µg·kg^{-1}, [^{3}H]-Org 2969 (DSG) 56 µg·kg^{-1}; High dose (n=3): [^{3}H]-Org 3236 104 mg·kg^{-1}, [^{3}H]-Org 2969 106 mg·kg^{-1}	Oral, s.c., SD	*In vivo* biotransformation	
Dog	[^{3}H]-DSG 10 mg	Oral	*In vivo* biotransformation	
Dog	Low dose (n=3): [^{3}H]-Org 3236 (ENG) p.o. 52 µg·kg^{-1} and s.c. 62 µg·kg^{-1}, [^{3}H]-Org 2969 (DSG) p.o. 67 µg·kg^{-1};	Oral, s.c. or p.o., SD	*In vivo* biotransformation	

Species	Dosage/number of animals	Route/duration	Primary study parameter	Reference
	High dose (n=1): [^{3}H]-Org 3236 p.o. 10 mg·kg^{-1}, [^{3}H]-Org 2969 p.o. 9.6 mg·kg^{-1}; n=3 per dose level			

Key: DSG = desogestrel; ENG = etonogestrel; Org 3236 = etonogestrel; Org 2969 = desogestrel; s.c. = subcutaneous; p.o. = per os; SD = single dose; NA = not applicable

表 2.4.A 4　　非臨床毒性試験の概要

Species	Dosage	Route/duration	Number of animals per dose (Male/Female)
Single-dose toxicity			
Mouse	DSG; 2000 mg/kg	Oral, SD	6/6
Mouse	DSG; 500 mg/kg	Intraperitoneal, SD	6/6
Rat	DSG; 2000 mg/kg	Oral, SD	6/6
Rat	DSG; 500 mg/kg	Intraperitoneal, SD	6/6
Rat	DSG/EE; 1428/571 mg/kg	Oral, SD	10/10
Mouse	DSG/EE; 1428/571 mg/kg	Oral, SD	10/10
Mouse	ENG; 2000 mg/kg	Oral, SD	6/6
Mouse	ENG; 500 mg/kg	Intraperitoneal, SD	6/6
Rat	ENG 2000 mg/kg	Oral, SD	6/6
Rat	ENG; 500 mg/kg	Intraperitoneal, SD	6/6
Mouse	DSG/EE; 357/143 mg/kg	Intraperitoneal, SD	10/10
Rat	DSG/EE; 357/143 mg/kg	Intraperitoneal, SD	10/10
Repeated-dose toxicity			
Rat	DSG; 0.00625, 0.0625, 0.625 mg/kg/day	By gavage, 26 weeks	0.00625 and 0.0625 mg/kg/day: 24/24 0.625 mg/kg/day: 32/32
Rat	DSG; 0.005, 0.05, 0.5 mg/kg/day	By gavage, 52 weeks	0.005 and 0.05 mg/kg/day: 20/20 0.5 mg/kg/day: 30/30
Rat	DSG; 0.005, 0.05, 0.5 mg/kg/day	By gavage, 2 years	55/55 per dose
Rat	DSG/EE; 0.005/0.002, 0.05/0.02, 0.5/0.2 mg/kg/day	By gavage, 2 years	55/55 per dose
Rat	DSG/EE; 0.005/0.002, 0.05/0.02, 0.5/0.2 mg/kg/day	By gavage, 52 weeks	0.005/0.002 and 0.05/0.02 mg/kg/day: 25/25 0.5/0.2 mg/kg/day: 35/35
Dog	DSG; 0.005, 0.05, 0.5 mg/kg/day	Oral, 52 weeks	0.005 and 0.05 mg/kg/day: 4/4 0.5 mg/kg/day: 6/6
Dog	DSG; 0.00625, 0.0625, 0.625 mg/kg/day	Oral, 26 weeks	0.00625 and 0.0625 mg/kg/day: 5/5 0.625 mg/kg/day: 7/7
Dog	DSG/EE; 0.005/0.002, 0.05/0.02, 0.5/0.2 mg/kg/day	Oral, 52 weeks	0.005/0.002 and 0.05/0.02 mg/kg/day: 5/5 0.5/0.2 mg/kg/day: 7/7
Dog	DSG/EE; 3.0/0.6, 30.0/6.0, 75.0/15.0 mg/kg/day	Oral, 3 years	20 females per dose
Monkey	DSG/EE; 6.0/1.2, 30.0/6.0, 150.0/30.0 µg/kg/day	Oral, 3 years	20 females per dose
Genotoxicity			
Salmonella Typhimurium	DSG; 25-100 µg/plate	*In vitro,* Ames test	2 independent experiments, 3 plates per dose per experiment
Salmonella Typhimurium	DSG/EE; 25/10, 50/20, 100/40 µg/plate	*In vitro,* Ames test	2 independent experiments, 3 plates per dose per experiment
Salmonella Typhimurium	DSG/EE; 0.052/0.011, 0.104/0.021, 0.208/0.042	*In vitro,* Ames test	2 independent experiments, 3 plates per dose per experiment
Salmonella Typhimurium	DSG; 0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 mg per plate	*In vitro,* Ames test	2 independent experiments, 3 plates per dose per experiment
Salmonella Typhimurium	ENG; 25, 50 and 100 µg/plate	*In vitro,* Ames test	2 independent experiments, 3 plates per dose per experiment

Species	Dosage	Route/duration	Number of animals per dose (Male/Female)
Salmonella Typhimurium	ENG; 8, 40, 200, 1000 and 5000 µg/plate	*In vitro,* Ames test	2 independent experiments, 3 plates per dose per experiment
Mouse	DSG; 500, 1000 and 2000 mg/kg	Oral, SD *In vivo* micronucleus test	5/5 per dose
Mouse	ENG; 500, 1000 and 2000 mg/kg	Oral, SD *In vivo* micronucleus test	500 mg/kg: 5/5 1000 mg/kg: 5/5 5000 mg/kg: 10/10
Rat	DSG; 0.002, 0.2, 2.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 2 days *In vivo* micronucleus test	6 females per dose
Rat	DSG/EE; 0.0025/0.0010, 0.25/0.10, 2.5/1.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 2 days *In vivo* micronucleus test	6 females per dose
Chinese Hamster Ovary cells	DSG; 13.5, 29.0 and 62.5 µg/ml	*In vitro* chromosome aberration	2 cultures per dose, 100 cells/culture
Chinese Hamster Ovary cells	DSG/EE; 13.5/2.7, 29.05/2.75, 62.5/12.5 µg/ml	*In vitro* chromosome aberration	2 cultures per dose, 100 cells/culture
Chinese Hamster Ovary cells	ENG; 62.5, 125 and 250 µg/ml	*In vitro* chromosome aberration	2 cultures per dose, 100 cells/culture
Carcinogenicity			
Mouse	DSG; 0.005, 0.05, 0.5 mg/kg/day	By gavage, 81 weeks	56/56 per dose
Mouse	DSG/EE; 0.005/0.002, 0.05/0.02, 0.5/0.2 mg/kg/day	By gavage, 80 weeks	56/56 per dose
Rat	DSG; 0.005, 0.05, 0.5 mg/kg/day	By gavage, 2 years	55/55 per dose
Rat	DSG/EE; 0.005/0.002, 0.05/0.02, 0.5/0.2 mg/kg/day	By gavage, 104 weeks	55/55 per dose
Rat	ENG; 10 or 20 µg/day	Subcutaneous implant, 24 months	50/50 per dose
Dog	DSG/EE; 3.0/0.6, 30.0/6.0, 75.0/15.0 mg/kg/day	Oral, 3 years	20 females per dose
Monkey	DSG/EE; 6.0/1.2, 30.0/6.0, 150.0/30.0 µg/kg/day	Oral, 3 years	20 females per dose
Reproductive and developmental toxicity			
Rat (pregnant)	ENG; 4 mg/kg/day	Intragastric, 4 weeks	24 females
Rat (pregnant)	ENG; 0.005 0.1 and 2.0 mg/kg/day	Intragastric, 10 days	20 females per dose
Rat (pregnant)	DSG; 0.2 mg/kg/day	Gastric intubation, 6 weeks	30 females
Rat	DSG; 0.625, 2.0, 3.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 6 weeks	10 females per dose
Rat	DSG/EE; 0.5/0.2 mg/kg day, two groups	Gastric intubation, 6 weeks	30 females per group
Rat	DSG; 0.005, 0.1, 2.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 6 weeks	30 females per group
Rat (pregnant)	DSG/EE; 5/2, 25/10, 125/50 µg/kg/day	Gastric intubation, 8 weeks	30 females per group
Rat (pregnant)	DSG/EE; 5/2, 50/20, 500/200 µg/kg/day	Gastric intubation, 10 days	25 females per group
Rat (pregnant)	DSG; 0.005, 0.1, 2.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 16 days	20 females per dose

Species	Dosage	Route/duration	Number of animals per dose (Male/Female)
Rat (pregnant)	DSG; 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 10 days	2.0 mg/kg/day: 12 females Other doses: 13 females per dose
Rat (pregnant)	DSG; 2.0, 4.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 7 days	20 females per dose
Rat	DSG/EE; 5/2, 37.5/15, 250/100 µg/kg/day	Gastric intubation, 16 days	15 females per dose
Rat	DSG; 0.005, 0.1, 2.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 22 days	15 females per dose
Rabbit (pregnant)	DSG; 1.0, 2.0, 4.0 mg/kg/day	Gastric intubation, 13 days	12 females per dose
Rabbit (pregnant)	DSG/EE; 5/2, 10/4, 20/8 µg/kg/day	Gastric intubation, 18 days	5/2 µg/kg/day: 26 females 10/4 µg/kg/day: 25 females 20/8 µg/kg/day: 27 females
Rabbit (pregnant)	ENG; 0.005 0.1 and 2.0 mg/kg/day	Oral, 13 days	0.005 mg/kg: 21 females 0.1 mg/kg: 21 females 2.0 mg/kg: 20 females
Local tolerance			
Not applicable			
Other toxicity			
Not applicable			

Key: DSG = desogestrel; ENG = etonogestrel; EE = ethinylestradiol; Org 3236 = etonogestrel; Org 2969 = desogestrel; SD = single dose.

添付資料 B 参考文献一覧

参考文献

1. Dawood M, Khan-Dawood F. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management. Obstet Gynaecol 2006, 108(2):428-41.
2. Dawood MY. Dysmenorrhea. In: Max MB, Portenoy RK, Laska EM, eds. Advances in pain research and therapy: the design of analgesic clinical trials. Volume 18. New York: Raven Press, 1991:429-43.
3. Mannix K. Menstrual-related pain conditions: dysmenorrhea and migraine. J Womens Health 2008, 17(5):879-91.
4. Dawood, Y. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and reproduction. American Journal of Obstetrics and Gynecology, Volume 169, Issue 5, Nov 1993.
5. Ekström P1, Akerlund M, Forsling M, Kindahl H, Laudanski T, Mrugacz G. Stimulation of vasopressin release in women with primary dysmenorrhoea and after oral contraceptive treatment--effect on uterine contractility. Br J Obstet Gynaecol 1992, 99(8):680-684.
6. Chan W, Hill J. Determination of menstrual prostaglandin levels in non-dysmenorrheic and dysmenorrheic subjects. Prostaglandins 1978, 15(2), 365-375.
7. Lalos O, Joelsson I. Effect of an oral contraceptive on uterine tonicity in women with primary dysmenorrhea. Acta Obstet Gynecol Scandinavica. 1981, Jan.
8. Humpel M, Dusterberg B, Beier S, Schuppler J, Gunzel P, Elger W. The role of pharmacokinetics in preclinical safety studies of synthetic sex steroids. In: Gregoire AT, Blye RP, eds. Contraceptive steroids. Pharmacology and safety. New York: Plenum Press 1986: 47-63.
9. Neumann F. The physiological action of progesterone and the pharmacological action of progestagens - a short review. Postgrad Med J 1978;54:11-24.
10. Benagiano G, Primiero FM, Farris M. Clinical profile of contraceptive progestins. Eur J Contr Reprod Health Care 2004;9:182-193.
11. Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R, Huber J, Pasqualini JR, Schweppe KW, Thijssen JHH. Classification and pharmacology of progestins. Maturitas 2003;46S1:S7-S16.
12. Stanczyk FZ. All progestins are not created equal. Steroids 2003;68:879-890.
13. Vies J van der, Visser J de. Endocrinological studies with desogestrel. Arzneimittelforschung 1983;33:231-6.
14. Bergink EW, Hamburger AD, Jager E de, Vies J van der. Binding of a contraceptive progestogen Org 2969 and its metabolites to receptor proteins and human sex hormone binding globulin. J Steroid Biochem 1981;14:175-83.
15. Hammond GL, Bocchinfuso WP, Orava M, Smith CL, Van den Ende A, Van Enk A. Serum distribution of two contraceptive progestins: 3-ketodesogestrel and gestodene. Contraception 1994;50:301-18.
16. Kuhnz W, Pfeffer M, Al-Yacoub G. Protein binding of the contraceptive steroids gestodene, 3-keto-desogestrel and ethinylestradiol in human serum. J Steroid Biochem 1990;35:313-8.
17. Viinikka L. Metabolism of a new synthetic progestagen, Org 2969, by human liver in vitro. J. Steroid Biochem 1979;10:353-7.
18. Verhoeven CHJ, Krebbers SFM, Wagenaars GN, Vos RME. In vitro and in vivo metabolism of desogestrel in several species. Drug Metab Dispos 1998;26:927-36.
19. Gentile DM, Verhoeven CHJ, Shimada T, Back DJ. The role of CYP2C in the bioactivation of the oral contraceptive steroid desogestrel in vitro. J Pharm Exp Ther 1998;287:975-82.
20. Gentile DM, Halifax KL, Back DJ. Cytochrome P4503A4 is responsible for the metabolism of 3-ketodesogestrel in vitro. Br J Clin Pharmacol 1998;45:515P.
21. Gibson JP, Newberne JW, Kuhn WL, Elsea J. Comparative chronic toxicity of three 2.9/41 oral estrogens in rat. Toxicol Appl Pharmacol 1967;11:489-510.

22. Schardein JL, Kaump DH, Woosely ET, Jellema MM. Long term toxicological and tumorigenesis studies on an oral contraceptive agents in albino rats. Toxicol Appl Pharmacol 1970;16:10-23.
23. Schardein JL. Studies of the components of an oral contraceptive agent in albino rats. I. estrogenic component. J Toxicol Environ Health 1980;6:885-94.
24. Heywood R, Wadsworth PF. The experimental toxicology of estrogens. Pharmacol Ther 1980;8:125-42.
25. Harris C. A lipofuscin-like pigment in the kidney of estrogen-treated rats. Arch Pathol 1966;82:353-5.
26. Geary CP, Cousins FB. An oestrogen-linked nephrocalcinosis in rats. Br J Exp Pathol 1969;50:507-15.
27. Jones RC, Edgren RA. The effects of various steroids on the vaginal histology in the rat. Fertil Steril 1973;24:284-91.
28. Kennedy TG, Armstrong DT. Extra ovarian effect of prolactin on vaginal mucification in the rat. Endocrinology 1972;90:815-22.
29. Marois M. The carginogenic action of oestrogens in man. Proceedings of the European Society for the study of drug toxicity. Excerpta Medica 1964;3:83-99.
30. Frank DW, Kirton KT, Murchison TE, Quinlan WJ, Coleman ME, Gilbertson TJ, Feenstra ES, Kimball ME. Mammary tumors and serum hormones in the bitch treated with medroxyprogesterone acetate or progesterone for four years. Fertil Steril 1979;31:340-46.
31. El Etreby MF, Graf KJ, Beier S, Elger W, Günzel P, Neumann F. Suitability of the beagle dog as a test model for the tumorigenic potential of contraceptive steroids, a short review. Contraception 1979;20:237-56.
32. Weikel JH, Nelson LW. Problems in evaluating chronic toxicity of contraceptive steroids in dogs. J Toxicol Environ Health 1977;3:167-77.
33. Tietz WJ, Benjamin MM, Angleton GM. Anemia and cholesteremia during estrus and pregnancy in the beagle. Am J Physiol 1967;212:693-7.
34. Geil RG, Lamar JK. FDA studies of estrogen, progestogens and estrogen/progestogen combinations in the dog and monkey. J Toxicol Environ Health 1977;3:179-93.
35. Lehmann M, Putz B, Poggel HA, Günzel P. Experimental toxicity studies with contraceptive steroids and their relevance for human risk estimation. In: Advances in applied toxicology, Dayan AD, Paine AJ, editors. London: Taylor and Francis, 1989:51-79.
36. St. Clair RW, Henderson GR, Heaster V, Wagner WD, Bond MG, Mc Mahon. Influence of dietary fats and an oral contraceptive on plasma lipids, high density lipo-proteins, gallstones and atherosclerosis in African green monkeys. Atherosclerosis 1980;37:103-21.
37. Coulston F, Stein AA, Jacobsen HI, Phelps AH, Peck HM. The effects of a mixture of mestranol and ethynerone IN-20 on the female monkey. Exp Mol Pathol 1979;30:279-302.
38. Committee on Safety of Medicines (CSM). Carcinogenicity Tests of Oral Contraceptives. Her Majesty'Stationary Office, London, 1972.
39. International Agency for the Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks of chemicals to man. Sex Hormones (II). Lyon: IARC, 1979:21.
40. International Agency for the Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans: hormonal contraception and post-menopausal hormonal therapy. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum 1999;72:iii-x, 9-628.
41. Fried W, Tickler T, Dennenberg I, Borone J, Wang F. Effects of estrogens on hematopoietic stem cells and on hematopoiesis of mice. J Lab Clin Med 1974;83:807-15.
42. Hoppen HO, Hammann P. The influence of structural modification on progesterone and androgen recptor binding of norethisterone. Correlation with nuclear magnetic resonance signals. Acta Endocrinol 1987;115:406-12.

43. Bergink EW, Meel F van, Turpijn EW, Vies J van der. Binding of progestagens to receptor proteins in MCF-7 cells. J Steroid Biochem 1983;19:1563-70.
44. Kloosterboer HJ, Vonk-Noordegraaf CA, Turpijn EW. Selectivity in progesterone and androgen receptor binding of progestagens used in oral contraceptives. Contraception 1988;38:325-32.