（案）

動物用医薬品評価書

ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤
（メデランチル）

２００８年１月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目次

頁

〇審議の経緯 3
〇食品安全委員会委員名簿 3
〇食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿 3

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要 3
１．主剤 3
２．効能・効果 3
３．用法・用量 3
４．その他 3
５．開発の経緯 3

Ⅱ．安全性に係る試験の概要 3
１．ヒトに対する安全性 3
２．安全性に関する研究報告 3
３．承認後の副作用報告 4

Ⅲ．食品健康影響評価 4

・参照 5

（別添） （案）動物用医薬品評価書　ブロチゾラム

〈審議の経緯〉

2006 年　4 月 21 日　農林水産大臣より再審査に係る食品健康影響評価について要請（17 消安第 13900 号）
2006 年　4 月 24 日　関係書類接受
2006 年　4 月 27 日　第 141 回食品安全委員会（要請事項説明）
2006 年　4 月 28 日　第 51 回動物用医薬品専門調査会
2006 年 10 月 16 日　厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 1016003 号）
2007 年　9 月 28 日　第 80 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 10 月 23 日　第 82 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 11 月 27 日　第 84 回動物用医薬品専門調査会
2008 年　1 月 24 日　第 223 回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2006 年 6 月 30 日まで）

寺田　雅昭（委員長）
寺尾　允男（委員長代理）
小泉　直子
坂本　元子
中村　靖彦
本間　清一
見上　彪

（2006 年 12 月 20 日まで）

寺田　雅昭（委員長）
見上　彪　（委員長代理）
小泉　直子
長尾　拓
野村　一正
畑江　敬子
本間　清一

（2006 年 12 月 21 日から）

見上　彪　（委員長）
小泉　直子（委員長代理*）
長尾　拓
野村　一正
畑江　敬子
廣瀬　雅雄**
本間　清一

*：2007 年 2 月 1 日から
**：2007 年 4 月 1 日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

（2007年2月11日まで）

三森　国敏　（座長）
井上　松久　（座長代理）
青木　宙　　津田　修治
明石　博臣　　寺本　昭二
江馬　眞　　長尾　美奈子
大野　泰雄　　中村　政幸
小川　久美子　　林　真
渋谷　淳　　藤田　正一
嶋田　甚五郎　　吉田　緑
鈴木　勝士

（2007 年 9 月 30 日まで）

三森　国敏　（座長）
井上　松久　（座長代理）
青木　宙　　寺本　昭二
明石　博臣　　長尾　美奈子
江馬　眞　　中村　政幸
小川　久美子　　林　真
渋谷　淳　　平塚　明
嶋田　甚五郎　　藤田　正一
鈴木　勝士　　吉田　緑
津田　修治

（2007年10月1日から）

三森　国敏　（座長）
井上　松久　（座長代理）
青木　宙　　寺本　昭二
今井　俊夫　　頭金　正博
今田　由美子　　戸塚　恭一
江馬　眞　　中村　政幸
小川　久美子　　林　真
下位　香代子　　山崎　浩史
津田　修治　　吉田　緑
寺岡　宏樹

Ⅰ.評価対象動物用医薬品の概要（参照１）

1.主剤

主剤はブロチゾラムである。

2.効能・効果

適応症は、牛の諸疾患における食欲不振の改善に対する補助的効果である。

3.用法・用量

体重100kgあたりブロチゾラムとして0.2mgをゆっくりと静脈内に投与する。休薬期間は牛2日間、牛乳12時間とされている。

4.その他

本剤は1バイアル(50mL)中、主剤ブロチゾラム10mg、溶剤プロピレングリコール適量含まれている。

5.開発の経緯

ブロチゾラムは、ヒト用医薬品としては睡眠導入剤として開発されているが、動物に対して食欲誘発作用を示すことから、食欲不振改善を効能として開発された。

Ⅱ. 安全性にかかる試験の概要

1.ヒトに対する安全性

メデランチルは上記の通り牛の諸疾患における食欲不振の改善に対する補助的効果を目的として使用されているが、主剤であるブロチゾラムは沈静、抗痙攣、筋弛緩、睡眠効果を有する薬剤であることから、動物用医薬品としては、種々の措置後の食欲不振の改善の補助等を目的として日本のほかEUで使用されている。また、ブロチゾラムはヒトの医薬品としても睡眠導入、抗不安、催眠鎮静作用を効能として使用されており、ヒトにおける臨床用量は1回あたり0.25mg/ヒト/日とされている。

EMEAで0.01μg/kg体重/日のADIが設定されているが残留基準は不要としている。また、日本においては残留基準[1]が設定されているが、ADIの設定はされていない。

溶剤として使用されているプロピレングリコールは、JECFAにおいてはADIが設定されており、食品添加物として使用されている。EMEAにおいては、毒性が低く、急速に代謝され、排出されることから残留基準を設定しておらず、またFDAにおいては「一般に安全と認められる」(GRAS: Generally Recognized as Safe)物質として残留基準は設定されていない。（参照２、３）

2.安全性に関する研究報告

調査期間中のMedlineを含むデータベース検索の結果、安全性を否定する研究報告は得られなかったとされている。

---

[1] 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって新たに定められた残留基準

3.承認後の副作用報告

臨床及び有効性試験等おいて牛に対する安全性について延べ478頭の調査が実施され、以前に指摘されていない所見として頻度は低いものの流涎、呼吸速拍、食欲の低下、深呼吸、疝痛症状、発咳が一過的に認められた。これらの所見と本剤との因果関係は不明であるが、申請者は使用者に対する注意喚起のために呼吸速拍、流涎については使用上の注意に記載するとしている。

Ⅲ. 食品健康影響評価

上記のように、承認時から再審査調査期間中にこれまで把握されていなかった新たな副作用報告として流涎、呼吸速拍、食欲の低下、深呼吸、疝痛症状、発咳が認められた。これらの副作用報告は一過性で軽度のものであり、本製剤とこれらの所見との因果関係は不明であるが、申請者は使用者に対する注意をより喚起するために呼吸速拍と流涎については使用上の注意に記載するとしている。その他の副作用報告、安全性を懸念させる研究報告は認められておらず、提出された資料の範囲において、当製剤に関する安全性を懸念させる新たな知見の報告は認められないと考えられる。また、溶剤については、現在の使用状況や外国評価機関等における評価及び休薬期間を考慮すると、これらの溶剤が食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

しかしながら、本製剤は牛の静脈内に注射されるものであり、日本においてブロチゾラムの残留基準は設定されているが、ADIが設定されていないことから、ブロチゾラムのADIの設定について別添の通り評価を実施した。

ブロチゾラムの食品健康影響評価については、ADIとして次の値を採用することが適当であると考えられる。

ブロチゾラム　　0.013μg/kg体重/日

＜参照＞

1　ブロチゾラム　再審査申請書（未公表）

2　ブロチゾラム　再審査申請書添付資料：安全性に関する事項（未公表）

3　EMEA：COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, BROTIZOLAM, SUMMARY REPORT

（案）

動物用医薬品評価書

ブロチゾラム

２００８年１月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目次

頁

〇審議の経緯…… 3
〇食品安全委員会委員名簿…… 4
〇食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿…… 4
〇要約…… 5

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要…… 6
１．用途…… 6
２．有効成分の一般名…… 6
３．化学名…… 6
４．分子式…… 6
５．分子量…… 6
６．構造式…… 6
７．開発の経緯…… 6

Ⅱ．安全性に係る試験の概要…… 7
１．吸収・分布・代謝・排泄試験…… 7
（１）投与試験（雄マウス）…… 7
（２）投与試験（雄ラット）…… 8
（３）投与試験（ラット、イヌおよびサル）…… 8
（４）投与試験（ラット、イヌ、サルおよびヒト）…… 10
（５）投与試験（マウス、ラット、イヌ、サル、牛およびヒト）…… 10
（６）体内分布（泌乳牛）…… 12
（７）残留試験（牛）…… 15
２．急性毒性試験…… 17
（１）急性毒性試験（マウス）…… 17
（２）急性毒性試験（ラット）…… 18
（３）急性毒性試験（イヌ）…… 19
（４）急性毒性試験（ウサギ）…… 19
（５）急性毒性試験（サル）…… 19
３．亜急性毒性試験…… 19
（１）４週間亜急性毒性試験（ラット）…… 19
（２）５週間亜急性毒性試験（ラット）…… 20
（３）１３週間亜急性毒性試験（ラット）…… 21
（４）１３週間亜急性毒性試験（サル）…… 21
（５）４週間亜急性毒性試験（イヌ）…… 22
４．慢性毒性試験および発がん性試験…… 23
（１）１２ヶ月間慢性毒性試験（サル）…… 23
（２）１８ヶ月間慢性毒性試験（ラット）…… 23
（３）１８ヶ月間慢性毒性試験（マウス）…… 24
（４）２年間発がん性試験（ラット）…… 25
５．生殖発生毒性試験…… 27
（１）妊娠前及び妊娠初期投与試験（第Ⅰ節）（ラット） …… 27

（２）器官形成期投与試験（第Ⅱ節）（ラット） ……28
（３）器官形成期投与試験（第Ⅱ節）（ウサギ）…… 30
（４）周産期及び授乳期投与試験（第Ⅲ節）（ラット）…… 31
６．遺伝毒性試験 …… 34
７．一般薬理試験 …… 35
（１）呼吸・循環器系への作用 …… 35
（２）自律神経系および平滑筋への作用 …… 36
（３）血液系への作用 …… 37
（４）中枢神経系への作用 …… 37
（５）消化器系への作用 …… 39
（６）体性神経系への作用 …… 39
（７）水および電解質代謝への作用 …… 40
（８）抗炎症作用 …… 40
（９）1 週間あるいは 1 ヶ月間投与試験による血液生化学的パラメーターおよび
体重への影響（ラット） …… 40
８．その他 …… 41
（１）甲状腺機能に関する特殊毒性試験（ラット） …… 41
（２）甲状腺機能に関する特殊毒性試験（ヒト）…… 42
（３）その他の甲状腺機能に関する知見 …… 42
９．ヒトにおける知見について …… 43
（１）ヒトボランティア試験 …… 43
（２）副作用等について …… 43
１０．ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響について …… 44

Ⅲ．食品健康影響評価 …… 44
１．亜急性・慢性毒性試験について …… 44
２．生殖発生毒性試験について …… 44
３．遺伝毒性／発がん性について …… 44
４．ヒトにおける影響について …… 45
５．毒性学影響のエンドポイントの選択について …… 45
６．一日摂取許容量（ADI）の設定について…… 46

・別紙１ …… 47
・参照 …… 48

〈審議の経緯〉

2006 年　4 月 21 日	農林水産大臣より再審査に係る食品健康影響評価について要請（17 消安第 13900 号）
2006 年　4 月 24 日	関係書類の接受
2006 年　4 月 27 日	第 141 回食品安全委員会（要請事項説明）
2006 年　4 月 28 日	第 51 回動物用医薬品専門調査会
2006 年 10 月 16 日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 1016003 号）、関係書類の接受
2006 年 10 月 19 日	第 164 回食品安全委員会（要請事項説明）
2007 年　9 月 28 日	第 80 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 10 月 23 日	第 82 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 11 月 27 日	第 84 回動物用医薬品専門調査会
2008 年　1 月 24 日	第 223 回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2006年6月30日まで）
寺田雅昭　（委員長）
寺尾允男　（委員長代理）
小泉直子
坂本元子
中村靖彦
本間清一
見上彪

（2006年12月20日まで）
寺田雅昭　（委員長）
見上彪　（委員長代理）
小泉直子
長尾拓
野村一正
畑江敬子
本間清一

（2006年12月21日から）
見上彪　（委員長）
小泉直子　（委員長代理*）
長尾拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄**
本間清一
*：2007年2月1日から
**：2007年4月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

（2007年2月11日まで）
三森　国敏　（座長）
井上　松久　（座長代理）
青木　宙　津田　修治
明石　博臣　寺本　昭二
江馬　眞　長尾　美奈子
大野　泰雄　中村　政幸
小川　久美子　林　真
渋谷　淳　藤田　正一
嶋田　甚五郎　吉田　緑
鈴木　勝士

（2007年9月30日まで）
三森　国敏　（座長）
井上　松久　（座長代理）
青木　宙　寺本　昭二
明石　博臣　長尾　美奈子
江馬　眞　中村　政幸
小川　久美子　林　真
渋谷　淳　平塚　明
嶋田　甚五郎　藤田　正一
鈴木　勝士　吉田　緑
津田　修治

（2007年10月1日から）
三森　国敏　（座長）
井上　松久　（座長代理）
青木　宙　寺本　昭二
今井　俊夫　頭金　正博
今田　由美子　戸塚　恭一
江馬　眞　中村　政幸
小川　久美子　林　真
下位　香代子　山崎　浩史
津田　修治　吉田　緑
寺岡　宏樹

要約

2-bromo-thieno-triazolo-1,4diazepine 誘導体であり、鎮静、抗痙攣、筋弛緩、睡眠効果を有する動物用医薬品「ブロチゾラム」（CAS No.57801-81-7）について、各種評価書等（EMEA レポート、動物用医薬品再審査申請時の添付資料等）を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、投与試験（マウス、ラット、イヌ、サル、牛及びヒト）、残留試験（牛）、急性毒性試験（マウス、ラット、イヌ、ウサギ及びサル）、亜急性毒性試験（ラット、イヌ及びサル）、慢性毒性試験及び発がん性試験（マウス、ラット及びサル）、生殖発生毒性試験及び催奇形性試験（ラット、ウサギ）、遺伝毒性試験等である。

試験の結果から、ブロチゾラム投与による影響は、鎮静、運動失調など主に薬理作用に関連していた。繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験において、ラットの雄に甲状腺濾胞腺腫、ラットの雌に胸腺型悪性リンパ腫及び子宮における神経鞘腫の増加が認められたが、ブロチゾラムが遺伝毒性物質ではないこと、マウスについて発がん性を示唆する所見が得られていないこと及びラットにおいては高用量群にのみ、これら腫瘍性病変の発生の増加が認められていることから、一日摂取許容量（ADI）の設定は可能であると考えられた。

各毒性試験の無毒性量または作用量の最小値は、ヒトボランティア試験から得られた最小作用量 0.0013 mg/kg 体重/日であったため、これを根拠として安全係数 100 で除した 0.013 μg/kg 体重/日を一日摂取許容量（ADI）と設定した。

Ⅰ． 評価対象動物用医薬品の概要

１． 用途（参照 1）

動物の食欲不振の改善の補助的効果を目的としている。

２．有効成分の一般名

和名：ブロチゾラム

英名：Brotizolam

３． 化学名

IUPAC

和名：2-ブロモ-4-(2-クロロフェニル)-9-メチル-6H-1-チア-5,7,8,9a-テトラアザ-シクロペンタ[e]アズレン

英名：2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-1-thia-5,7,8,9a-tetraaza-cyclopenta[e]azulene

CAS(No.57801-81-7)

和名：2-ブロモ-4-(2-クロロフェニル)-9-メチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3a][1,4]ジアゼピン

英名：2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-thieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3a][1,4]diazepine

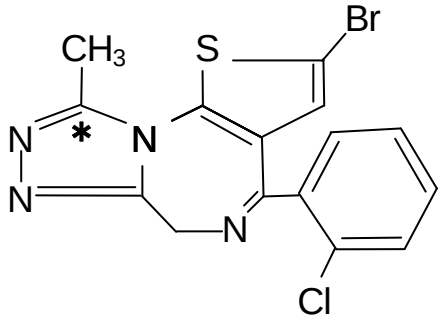
４． 分子式

$C_{15}H_{10}BrClN_4S$

５． 分子量

393.69

６． 構造式



７． 開発の経緯

ブロチゾラムは、ドイツ・ベーリンガーインゲルハイム社において抗不安薬あるいは睡眠薬の研究の中から発見された 2-bromo-thieno-triazolo-1,4diazepine 誘導体である。ヒト

用医薬品としては睡眠導入剤として開発されているが、動物に対しては食欲不振改善の補助等を目的として開発された。

わが国では、牛用注射剤として 1998 年 9 月に承認され、1999 年 6 月より販売されている。用法・用量は、牛に対して 1 日量として体重 1kg 当たり 2μg 以下の量を静脈内に注射することとされ、食用に供するためにと殺する前 2 日間又は食用に供するために搾乳する前 12 時間使用禁止期間としている。

また、フランス（1987 年 6 月承認）、ドイツ（1988 年 9 月承認）、アイルランド（1990 年 10 月承認）、イタリア（1988 年 9 月承認）等諸外国においても広く承認を受け、市販されている。

Ⅱ．安全性に係る試験の概要

１．吸収・分布・代謝・排泄試験

（１）投与試験（雄マウス）（参照 2）

Chbb: NMRI 系雄マウス（9 匹/群）に ^{14}C 標識ブロチゾラム[1]を単回経口（0.3、10、200 mg/kg 体重）投与あるいは非標識ブロチゾラムを 4 週間反復経口（0.3、10、200 mg/kg 体重）投与後、同用量の ^{14}C 標識ブロチゾラムを単回経口投与した際の体内動態が調べられている。なお、本試験の投与量はマウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験（参照 3）と同一濃度に設定された。

^{14}C 標識ブロチゾラムの単回投与および非標識ブロチゾラム 0.3、10 mg の 4 週間前投与後の ^{14}C 標識ブロチゾラムの単回投与における血中最大放射活性濃度は、全血量における投与放射活性の 2.1-4.6%の範囲にあった。一方、非標識ブロチゾラム 200 mg を前投与した場合の血中最大放射活性濃度は 1.0-1.6%に低下し、C_{max} および AUC も低値が認められた。この原因として、反復投与による吸収率の低下や酵素誘導による代謝亢進が示唆された。しかしながら、C_{max} および AUC は ^{14}C 標識ブロチゾラムの単回および非標識ブロチゾラムの 4 週間前投与に関わらず、いずれの用量においても線形の相関性を示した。また、$T_{1/2}$ については、前投与の有無および投与量による差は認められず（$T_{1/2}$：2.5-3.8 時間）、いずれにおいても速やかな排泄が認められた。HPLC による分析により、^{14}C 標識ブロチゾラムの単回および非標識ブロチゾラムの前投与に関わりなく主要代謝物として代謝物 A（メチル基の水酸化）（22.2-30.7%）が認められ、その他に代謝物 D（脱メチル体）（17.2%）、代謝物 B（ジアゼピン環の水酸化）（12.3%）および未変化体（9.3-23%）が認められた。なお、これらの代謝物はいずれも投与後 30 分に検出されていることから、いずれの用量においてもブロチゾラムは速やかに代謝されることが示唆された。一方、非標識ブロチゾラムの 10 および 200 ㎎ を前投与した時に限り、代謝パターンに変化が生じ、高極性物質（21.4-30.5%、ブロチゾラムのフェニル環が水酸化されたものと考えられる）の割合が増加した。これに伴い代謝物 B および代謝物 D の割合は減少したが、代謝物 A の割合に変化は認められなかった。また、非標識ブロチゾラムの 200 mg の前投与では未変化体の割合（5.3%）が減少した。このことか

[1] 標識部位は炭素数９位(＊：１ページ構造式参照。以下、特に記載がなければ同じ。)

ら、マウスにおける 10 および 200 mg の 4 週間前投与では、チトクローム P450 による酵素誘導が生じている可能性が示唆された。

（2）投与試験（雄ラット）（参照 4）

Sprague-Dawley 系雄ラットに ^{14}C 標識ブロチゾラム 0.5 mg/kg 体重/日を単回および 7 日間反復経口投与した後の体内動態が調べられている。単回投与後の T_{max} は 1 時間で、そのときの C_{max} は 18.6 ng/mL であった。血中からの消失はおおむね二相性であり、$T_{1/2}$（β相）は 10.5 時間であった。7 日間反復経口投与後の T_{max} は最終回投与後 30 分で、そのときの C_{max} は 51.6 ng/mL であった。血中からの消失は単回投与時と比べ緩徐であったが経時的に減衰した。

単回投与時の組織内濃度は投与後 1 時間までにほとんどの組織で最高値を示し、胃腸管、肝臓、副腎、腎臓および甲状腺に高濃度の分布が認められたが、以降は経時的に減衰した。7 日間反復経口投与後の組織内濃度は、単回投与時と同様に最終回投与後 1 時間までに最大となり、それらの濃度も単回投与時と同程度であった。投与 4 時間以降は単回投与時に比べ高値傾向にあったが経時的に減衰し、投与 48 時間後には全ての組織で最高値の 1/10 以下となった。また、特定組織に放射能が残留することはなかった。

単回投与後 48 時間までの尿中排泄率は 7.6%、糞中排泄率は 88.0%であった。7 日間反復経口投与における最終回投与後 48 時間までの尿・糞中排泄率は、各々全投与量の 5.8%および 83.9%で、単回投与と同様であった。

単回投与後 24 時間までの胆汁中排泄率は 84.0%と高く、その約 1/2 は投与後 1 時間までに迅速に排泄された。採取した胆汁を別の動物の十二指腸内に投与すると、投与 24 時間後以内に総放射能の 39.2%が胆汁中に再排泄され、腸肝循環率は 32.9%であった。

ラット血漿タンパクとの結合率は *in vivo* で 50.6%、*in vitro* で 77.7%であった。ヒト血漿および血清アルブミンとの結合率は、各々94.0%および 90.9%であった。

単回投与後 2-24 時間の血中放射能濃度と血漿中濃度の比はおおむね全期間にわたって一定であり、約 1.5 であった。

（3）投与試験（ラット、イヌおよびサル）（参照 5）

Chbb: THOM ラット(雄)、ビーグル犬（雌、4 頭）及びアカゲザル（雄 3 頭、雌 2 頭）に ^{14}C 標識ブロチゾラムを単回経口あるいは静脈内（0.5 mg/kg 体重/日）投与した時の体内動態について調べられている。また、ラットについては胆汁中排泄率についても調べられている。

いずれの種においても、経口投与後のブロチゾラムは迅速かつ良好な吸収性を示し、C_{max} および T_{max} はそれぞれラットで 63 ng eq/mL および 0.25 時間、イヌで 83 ng eq/mL および 1 時間、サルでは 167 ng eq/mL および 1 時間であった。また、経口および静脈内投与ともに血漿中総放射能の消失は二相性を示し、経口投与における $T_{1/2}$（α相）はラットで 0.5 時間、イヌで 2.3 時間、サルでは 1.3 時間、$T_{1/2}$（β相）はそれぞれ

17.5 時間、20.8 時間および 17.1 時間であった。静脈内投与における $T_{1/2}$（α相）はラットで 0.4 時間、イヌで 0.8 時間、サルでは 1.1 時間、$T_{1/2}$（β相）ではそれぞれ 14.8 時間、18.4 時間および 18.9 時間であった。

腎および糞中からの総排泄率は、経口投与ではラットで 83.6%、イヌで 93.6%、サルでは 87.8%、静脈内投与ではそれぞれ 88.5%、82.6%および 87.0%であった。ラットでは腎排泄率は低く、経口および静脈内投与後 6 時間において 5-6%であった。一方、イヌおよびサルにおける腎排泄率はそれぞれ 49-51%および 28-34%であった。いずれの種においても、ブロチゾラムは投与 3-4 日後に完全に排泄された。

腸管吸収率はラットで 89%、イヌとサルでは 100%と高値を示し、いずれの種においても良好な吸収性が認められた。

胆汁中排泄率はラットにおいて投与後 10 時間まで調べられており、投与後 1-2 時間で最も高く、1 時間あたりの排泄率は静脈内投与で 24.6%、経口投与では 14.3%であった。また、投与後 3 時間までに静脈内投与では 54.7%、投与後 10 時間では経口投与で 72.9%、静脈内投与では 84.8%が胆汁中に排泄された。

ラットの胆汁中代謝物、サルおよびイヌの尿中代謝物について、TLC により調べられている。ラットの胆汁およびサルの尿中に未変化体の放射活性はほとんど認められず、β-グルクロニダーゼ／アリールスルファターゼによる加水分解前は TLC 上の原点以外に放射活性は認められなかった。一方、イヌの尿中には未変化体と TLC 上で同じ挙動を示す放射活性体およびいくつかの非抱合代謝物が認められた。β-グルクロニダーゼ／アリールスルファターゼによる加水分解後は、個々の代謝物は異なるものの、いずれの種においても 2～3 種の主要代謝物が認められた。

泌乳期のラットに単回経口（1 mg/kg 体重/日）投与した際の血中および乳汁中への分布、雄ラットおよび妊娠ラット（妊娠 14、20 および 22 日）に単回経口あるいは静脈内（雄：2.8 mg/kg 体重/日、妊娠雌：3.4 mg/kg 体重/日）投与した際の体内分布について全身オートラジオグラフィーにより調べられている。

血中および乳汁中排泄率は、泌乳期ラットにおいて投与後 24 時間まで調べられている。血中と乳汁中濃度の推移には並行性が認められ、投与後 24 時間までにいずれも速やかな低下が認められた。投与 4-8 時間後の乳汁サンプルを用いて TLC による分析を行なった結果、大部分がブロチゾラムの代謝物であり、未変化体はごく微量であった。

全身オートグラフィーを用いた体内分布は、雄ラットを用いて投与 0.5、1、4、8 および 24 時間後に調べられている。経口および静脈内投与ともに同様の分布パターンを示し、投与 0.5 時間後には既に全身への分布が認められ、肝臓、腎臓、胃腸管および副腎で高濃度の分布が認められた。また、いずれの投与経路においても、被験物質は脳－血液関門を通過することが確認された。投与 8 時間後には主に消化管および肝臓に分布が認められ、腎臓、副腎および膀胱への分布はわずかであった。その他の臓器・組織への分布はほとんど認められなかった。妊娠 14 日と 20 日のラットにおける体内分布は、経口および静脈内投与 15 分及び 24 時間後では胎盤への通過が認められた。妊娠後期における放射活性の胎児および母動物への分布は同程度であった。投与 24 時間後では、胎児に微量ながら放射活性が認められた。

^{14}C 標識ブロチゾラムのタンパク結合率が調べられている。ウシ血清アルブミンおよびヒト血清アルブミンとの結合率はそれぞれ 73-87%および 86-91%であった。また、ヒト血漿との結合率は 89-95%であった。血中における ^{14}C 標識ブロチゾラムは、主に血清アルブミンと結合した状態で存在することが示唆された。

（4）投与試験（ラット、イヌ、サルおよびヒト）（参照 6）

Chbb: THOM ラット（計 6 匹）に ^{14}C 標識ブロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後の胆汁中排泄物、雌のビーグル犬およびアカゲザル（雌雄各 2 例）に ^{14}C 標識ブロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後の尿中排泄物、健常ヒトボランティア（男性 3 名、女性 1 名）に ^{14}C 標識ブロチゾラム 0.5 mg を経口投与した後の尿中排泄物について調べられている。

全ての種において、ブロチゾラムはほぼ完全に代謝された。ラット、イヌ、サルおよびヒトにおいて、主要代謝経路はブロチゾラム分子の様々な部位における水酸化とその後に続く抱合であることが確認されている。未変化体は排泄されたとしても非常に微量である。質量分析法により、ラットの胆汁およびサルの尿から未変化体の ^{14}C 標識ブロチゾラムが分離同定されたが、その量はラットの胆汁中で 4%未満、サルの尿中では 3%未満であった。イヌとヒトにおいてはさらに少なくなると考えられ、RIA を用いた検討では、ヒトにおける未変化体の腎排泄量は投与量のおよそ 1%であることが確認された。

全ての種で認められた代謝物の中で最も多いものは代謝物Aおよび代謝物Bであった。ヒトとサルにおける主要代謝物は代謝物 A（各々≧27%および約 46%、腎排泄）と代謝物 B（各々≧43%および≧20%、腎排泄）であり、ヒトにおけるブロチゾラムの代謝はサルと非常に類似していることが確認された。また、ヒトおよびサルの尿抽出物における代謝物 A と代謝物 B の比率はそれぞれ、およそ 4:1 および 3:2 であった。イヌにおける主要代謝物は代謝物 A と代謝物 E（We1064）（各々≧43%および≧20%、腎排泄）であり、尿中における代謝物 A と代謝物 E の比率は 2:1 以上であった。なお、代謝物 E は代謝物 B の異性体であり、代謝物 B はアルカリ媒体中で代謝物 E に変化する。それ故、イヌの尿中から同定された代謝物 E は試料の抽出・精製過程で代謝物 B から形成されるもので、実際に腎臓から排泄されているのものは代謝物Bであると考えられている。ラットの主要代謝物は、フェニルヒドロキシル基を含むブロチゾラムと代謝物 B（各々≧14%および≧13%、胆汁中排泄）であった。

（5）投与試験（マウス、ラット、イヌ、サル、牛およびヒト）（参照 7）

マウス、ラット、イヌ、サルおよびヒトに ^{14}C 標識ブロチゾラムを単回経口あるいは静脈内投与した後の体内動態について以下のように調べられている。

ラット、イヌおよびサルに ^{14}C 標識ブロチゾラムを単回経口投与すると腸管から速やかに吸収された（ラット：89%、イヌおよびサル：100%）。

ラットおよびマウスに ^{14}C 標識ブロチゾラムをそれぞれ単回経口（0.3、10、200 mg/kg 体重/日）投与した際の投与量と AUC、C_{max} の間には良好な相関性が認められた。

^{14}C 標識ブロチゾラムをマウス（0.3、10、200 mg/kg 体重/日）、ラット（0.3、0.5、10、200 mg/kg 体重/日）、イヌ（0.5 mg/kg 体重/日）およびサル（0.5、7、10 mg/kg 体

重/日）にそれぞれ単回経口投与した際の T_{max} および C_{max} は、それぞれマウスで 0.5 時間および 86-71,539 ng/mL、ラットで 0.25-1.0 時間および 23-15,018 ng/mL、イヌで 1-2 時間および 83 ng/mL、サルで 0.5-2 時間および 167-1,800 ng/mL であった。また、マウス（10 mg/kg 体重/日）、ラット（0.5 mg/kg 体重/日）、イヌ（0.5 mg/kg 体重/日）およびサル（0.5、7、10 mg/kg 体重/日）にそれぞれ単回経口投与した際の分布相半減期および消失相半減期は、それぞれマウスで 0.8 時間および 5.6 時間、ラットで 0.5 時間および 17.5 時間、イヌで 1.8 時間および 20.8 時間、サルでは 0.5 mg 投与で 1.0 時間および 17.0 時間、7 mg 投与で 21 時間（消失相半減期のみ）、10 mg 投与で 10 時間（消失相半減期）であった。同様に、単回静脈内投与した際の分布相半減期および消失相半減期は、ラットで 0.33 時間および 14.8 時間、イヌで 0.9 時間および 18.4 時間、サル（0.5 mg 投与）で 1.25 時間および 18.9 時間であった。

^{14}C 標識ブロチゾラムを単回経口および静脈内投与すると、いずれの投与経路でも全身に広く分布する。体内分布は投与 30 分後には腸管（胆汁排泄のため）、肝臓、腎臓および副腎に高濃度が認められ、投与 8 時間後には主に腸管に残留がみられるが、肝臓では低濃度、腎臓および副腎ではごく微量が検出されるに過ぎない。

経口および静脈内投与により ^{14}C 標識ブロチゾラムは血液ー脳関門を通過する。妊娠ラットに投与すると胎盤を通過し、妊娠後期には胎児と母動物への分布は同等となる。授乳ラットに経口投与すると放射活性は乳汁中に認められ、乳汁中濃度は血中濃度と同様の推移を示し、速やかに消失することが確認された。泌乳牛に静脈内投与すると、放射活性は投与後 4 時間までに乳汁中に検出される。また、血漿中濃度は乳汁中濃度と同様に速やかな消失が認められた。

サルおよびラットを用いた反復投与試験の結果、ブロチゾラムには蓄積傾向および酵素誘導は認められなかった。また、ラット肝ミクロソームを用いて薬物代謝酵素誘導について調べた結果、酵素誘導は認められなかった。一方、マウスではブロチゾラムを 4 週間反復経口（0.3、10、200 mg/kg 体重/日）投与後、同用量の ^{14}C 標識ブロチゾラムを単回経口投与した際に、200 mg 投与群でやや代謝亢進が認められ、酵素誘導が示唆された。

マウスにおける単回経口（10 mg/kg 体重/日）投与後 6 日までの尿中排泄率は 22.5%、糞中排泄率は 53.3%であった。尿中および胆汁中から 7 つの代謝物が同定されおり、胆汁中の主要代謝物は代謝物 A および代謝物 B、その他に代謝物 C および代謝物 D が低濃度に、未変化体は極微量ながら検出された。胆汁中において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び／あるいは硫酸抱合体として認められた。血漿中の主要代謝物は代謝物 A であり、その他に代謝物 B および代謝物 D が認められた。

ラットにおける単回経口あるいは静脈内（0.5 mg/kg 体重/日）投与後 7 日までの尿中排泄率は 5.3-6.0%、胆汁中排泄率は 72.9-84.9%、糞中排泄率は 78.3-82.6%であり、尿中への排泄は主として未変化体であった。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。胆汁中の主要代謝物はフェニルヒドロキシル基を含むブロチゾラムおよび代謝物Bであり、未変化体は極微量ながら検出された。胆汁中において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び／あるいは抱合体として認められた。血漿中における主要代謝物は 2 種類の高極性物質で、その他に代謝物 A、代謝物

B、代謝物 C および代謝物 D が検出された。

イヌでは単回経口あるいは静脈内（0.5 mg/kg 体重/日）投与後 8 日までの尿中排泄率は 51.5-49.3%、糞中排泄率は 42.3-33.5%であった。尿中における主要代謝物は代謝物 A（43%）および代謝物 E（20%）であり、未変化体は極微量ながら検出された。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び／あるいは硫酸抱合体として認められた。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。

サルにおける単回経口あるいは静脈内（0.5、7、10 mg/kg 体重/日）投与後 3 あるいは 5 日までの尿中排泄率は 28-69.2%、糞中排泄率は 23.3-59%であった。尿中の主要代謝物は代謝物 A（46%）および代謝物 B（26%）であった。ブロチゾラムは尿中からほぼ完全に排泄され、未変化体としての排泄はわずか 3%に過ぎなかった。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び／あるいは硫酸抱合体として認められた。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。また、1 年間反復経口（7 mg/kg 体重/日）投与においても代謝パターンは同様であった。

健常人におけるブロチゾラムの各剤型による吸収性が調べられており、溶液＞錠剤＞カプセルの順に良好な吸収性を示した。また、いずれの剤型においても AUC に差は認められなかった。ブロチゾラムの血漿中濃度は 0.125-1.0 mg の用量ではほぼ線形の上昇を示すが、1.5 mg 以上の用量では上昇に明らかな停滞が認められた。健常人においてブロチゾラムは腸管から速やかに吸収され、絶対的生物学的利用率はおよそ 70%であった。血漿中の $T_{1/2}$ は 4.3-7.3 時間と短く、投与量の 64.9%は尿中から、23.6%は糞中から排泄された。7 日間反復（1 mg）投与試験では、血漿中濃度および $T_{1/2}$ はそれぞれ初回投与日に 19.2 ng/mL および 3.6 時間、最終投与日では 19.6 ng/mL および 3.7 時間と同一であり、蓄積性は認められなかった。ブロチゾラムはほぼ完全に代謝されて尿中排泄され、投与後 8 時間までに未変化体の占める割合は 1%であった。主要代謝物である代謝物 A および代謝物 B は、それぞれ 27%および 7%が尿中へ排泄された。いずれの代謝物も抱合体として認められた。また、これら代謝物の排出半減期は未変化体のそれと大差はないことが確認された。

重度の腎疾患患者にブロチゾラムを単回あるいは 7 日間反復（0.25 mg）投与したときの $T_{1/2}$ は 6.9-7.6 時間で、健常人の値の範囲内にあった。高齢者患者に単回あるいは 3 週間反復投与（0.25 mg）したときの $T_{1/2}$ は 6.0-9.8 時間であった。肝硬変の患者に単回（0.25 および 0.5 mg）投与したときの $T_{1/2}$ には大幅な延長（9.4-53.3 時間）が認められ、排出が遅く $T_{1/2}$ の検出できない患者も認められた。また、肝硬変患者のタンパク結合率は健常人に比べてやや低いことが確認された。健常人、高齢者患者および腎疾患患者のいずれにおいても反復投与による蓄積性および酵素誘導は認められなかった。

（6）体内分布（泌乳牛）（参照 8,9）

^{14}C 標識ブロチゾラムを泌乳牛 3 頭（動物番号：1♀、2♀および 3♀）に静脈内（10 μg/kg）投与した際の吸収、分布および排泄について、次に示す 2 種類の試験で調べられている。

第 1 試験は 2 相試験（Phase 1 および Phase 2）から構成されおり、^{14}C 標識ブロチゾラムを泌乳牛 1 頭（1♀）に単回静脈内投与した際の代謝および薬物動態について調

べられている。

第 2 試験は ^{14}C 標識ブロチゾラムを泌乳牛（2♀および 3♀）に単回静脈内投与した際の体内動態について調べられている。

①第 1 試験

a. 第 1 相試験、Phase 1：試験開始後 1-6 日目

^{14}C 標識ブロチゾラムを泌乳牛 1 頭（1♀）に単回静脈内（10 μg/kg）投与した際の、総放射活性の回収率および排泄経路、血漿、全血および乳汁中における残留量が調べられている。血液試料は投与前および投与後 144 時間までに 19 時点で、糞尿は投与後 12-24 時間間隔で、乳汁は朝夕（08:00 および 18:00 の 2 回）の時点で採取され、それぞれにおける回収率が測定された。

放射活性の総回収率は投与後 6 日目で 112%を示し、投与量の 25%は投与後 144 時間までに尿中に排泄され（24 時間では 24%）、86%は糞中から排泄された。

単回静脈内（10 μg/kg）投与した際の血漿中の総放射活性値は、投与 5 分後の 16.4 から投与 1 時間後には 8.6 ng eq/mL まで低下した。さらに、投与 12 時間後には 0.47 ng eq/mL まで低下し、その後は検出限界未満となった。全血の放射活性値は血漿のそれに比べて低かったが、同様の動態傾向を示した。

乳汁中における総放射活性値は非常に低く、総投与量に対する回収量の比率はわずか 0.1%であった。総放射活性の C_{max}（0.58 ng eq/mL）は初回乳汁サンプル（0-9 時間）で確認され、それ以降、乳汁中の放射活性の濃度は検出限界未満であった。乳汁成分である乳脂、凝乳および乳清のうち、高濃度の放射活性が認められたのは乳脂分画で C_{max} は 1.73 ng eq/mL であった。

b. 第 2 相試験、Phase 2：試験開始後 7 日目

第 1 相試験終了後、^{14}C 標識ブロチゾラムを泌乳牛 1 頭（1♀）に単回静脈内（10 μg/kg）投与し、その 6.5 時間後に安楽死させ、全血、血漿、臓器および組織中それぞれの総放射活性の残留量について調べられている。血液試料は投与前および投与 6.5 時間後までの計 5 時点で採取した。投与 6.5 時間後に安楽死させた後、肺、心臓、骨格筋、肝臓、皮膚、胃粘膜、舌、骨塩、骨髄、脂肪（腎臓および皮下）、脾臓、腎臓、副腎、脳、乳汁、胆汁、乳房組織、血漿および全血が採取され、個々の組織および臓器については重量が測定された。また、投与後 6 時間までの糞尿、乳汁および胆汁が採取され、重量あるいは容量の測定が行われた。

血漿中の総放射活性の濃度は投与 30 分後に 14.05 ng eq/mL、投与 1 時間後では 10.71 ng eq/mL を示し、投与 6.5 時間後には 1.22 ng eq/mL まで低下した。全血中の濃度は投与 30 分後に 11.00 ng eq/mL、投与 1 時間後では 8.25 ng eq/mL を示し、投与 6.5 時間後には 1.16 ng eq/mL まで低下した。これらの結果は、第 1 相試験の結果と同程度であった。

臓器および組織中濃度は胆汁、肝臓および腎臓の順で高く、総放射活性値はそれぞれ 192.5、16.9 および 5.3 ng eq/g であった。

未変化体の存在について、第 1 相試験で投与 0.25、0.75、1.5、2 および 8 時間後に採取した血漿を用いて調べたところ、それぞれ 5.91、5.71、2.97、1.85 および 0.59 ng/mL

の未変化体が検出された。

肝臓および腎臓中の代謝物産物について HPLC にて分析したところ、代謝物 A あるいは代謝物 B の代謝物は検出されなかったが、少量の未変化体（肝臓で 22.5%、腎臓で 21.5%）が確認された。

②第 2 試験

^{14}C 標識ブロチゾラムを泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）に 12 時間毎に 2 回（0 および 12 時間）、静脈内（10 μg/kg）投与したときの体内動態について調べられている。2 回目の静脈内投与後、泌乳牛 1 頭（2♀）は 24 時間に、泌乳牛 1 頭（3♀）は 72 時間に屠殺した。

泌乳牛 1 頭（2♀）では投与後 36 時間までに放射活性の 70%が回収され、そのうち 57%は糞中に、13%は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1%と微量であった。泌乳牛 1 頭（3♀）では投与後 84 時間までに放射活性の 79%が回収され、そのうち 63%は糞中に（36 時間までに 59%が排泄）、15%は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1%と微量であった。

泌乳牛 1 頭（2♀）に初回（0 時間）静脈内投与したときの血漿中の総放射活性値は、投与 5 分後の 30.9 ng eq/mL から投与 3 時間後（$T_{1/2}$ は投与後 0.5 時間であると推測）には 3.1 ng eq/mL まで低下し、投与 12 時間後では 0.5 ng eq/mL となった。2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、投与 5 分後で 15.2 ng eq/mL を示し、投与 16 時間後（$T_{1/2}$ は投与後 1 時間であると推測）では 1.0 ng eq/mL まで低下した後、投与 20 時間後には 0.6 ng eq/mL となった。泌乳牛 1 頭（3♀）に初回静脈内投与後の血漿中の総放射活性値は、投与 5 分後の 23.9 ng eq/mL から投与 2 時間後（$T_{1/2}$ は投与後 1 時間と推測）には 5.0 ng eq/mL まで低下し、投与 12 時間後では 1.0 ng eq/mL となった。2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、投与 5 分後で 27.0 ng eq/mL を示し、投与 15 時間後では 3.7 ng eq/mL まで低下した（$T_{1/2}$ は投与後 1 時間であると推測）。その後、投与 24 時間後では 1.1 ng eq/mL となった（$T_{1/2}$ は投与後 5 時間であると推測）。泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）の総放射活性値は、第 1 試験の第 1 相試験で確認した泌乳牛 1 頭（1♀）の結果と類似していた。

泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）に ^{14}C 標識ブロチゾラムを 2 回、静脈内投与した後の乳汁中濃度は、2 頭共に 0.1%と微量であった。2 回目の投与 0-9 時間後に採取された乳汁中の最高値は、2♀で 0.1 ng eq/mL、3♀で 0.7 ng eq/mL であった。乳汁中の濃度についても、第 1 試験の第 1 相試験の泌乳牛 1 頭（1♀）の結果と類似していた。

泌乳牛 2 頭に ^{14}C 標識ブロチゾラムを 2 回、静脈内投与したときの 24 時間後（2♀）および 72 時間後（3♀）の肺、心臓、肝臓、腎臓、舌、皮膚、脂肪（腎臓および皮下）、全血、胆汁および骨格筋の総放射活性値について調べたところ、肝臓以外のほとんどは検出限界未満であった。肝臓では 2 回目の投与 24 時間後で 9.7 ng eq/mL（0.8%）、投与 72 時間後では 12.0 ng eq/mL（0.7%）の濃度が確認された。

以上の 2 試験の結果から、^{14}C 標識ブロチゾラムを泌乳牛 3 頭（1♀、2♀および 3♀）

に静脈内（10 μg/kg）投与すると、放射活性は急速に排泄されることが確認された。主要排泄経路は糞中（57-86%）であり、多くが胆汁中に排泄されることが考えられた。一方、尿中排泄は少量であった（15-25%）。これらの結果は、先に実施されたラット（糞中排泄：86%、尿中排泄：6%）およびサル（糞中排泄：59%、尿中排泄：28%）の試験結果と一致するものであった（参照 10,11）。また、いずれにおいても放射活性の大部分は投与後 24 時間までに排泄された。

血漿中からも急速に排泄され、泌乳牛 3 頭に静脈内投与したときの $T_{1/2}$ は 0.5-1 時間であった。これらの結果は、ラット（$T_{1/2}$：0.3 時間）、イヌ（$T_{1/2}$：0.9 時間）およびサル（$T_{1/2}$：1.3 時間）を用いた先の試験結果と一致している（参照 12）。全血中の濃度は血漿中よりも低いが（1♀）、赤血球中への選択的な取り込みは示されていない。

泌乳牛 3 頭共に乳汁中の総放射活性値は低く、わずか 0.1%であることが確認された。乳汁成分の分析では、乳脂分画中に高濃度の放射活性が認められた（1♀）。

泌乳牛 3 頭に静脈内投与 6.5 時間後（1♀）、投与 24 時間後（2♀）および投与 72 時間後（3♀）に屠殺したときの肝臓における濃度は、それぞれ 16.9 ng eq/mL（2.6%）、9.7 ng eq/mL（0.8%）および 12.0 ng eq/mL（0.7%）あった。腎臓中の濃度は投与 6.5 時間後で 5.3 ng eq/mL を示し、投与 24 および 72 時間後では検出限界未満となった。この結果より、糞中への排泄は高く、尿中への排泄は低いことが明らかになった。また、肝臓では投与 72 時間後において 0. 1%以下のブロチゾラムおよび／あるいはその代謝物の残留が確認された。（参照 8）

泌乳牛（3 頭/群）に ^{14}C 標識ブロチゾラムを静脈内（2 μg/kg）投与 6.5、24、72 時間後に各 3 頭から血液、乳汁および組織・臓器（血漿、骨格筋、脂肪、腎臓、胆汁、肝臓）を採取し、各試料中のブロチゾラム濃度を測定した。血漿では二相性の半減期がみられ、投与 7 分後に C_{max}（2.83 ng eq/mL）が認められ、投与 3 時間後には 0.53 ng eq/mL まで急速に減少（$T_{1/2}$ は 1.2 時間）し、その後は緩やかな減少を示し投与 36 時間後には 0.01 ng eq/mL まで減少した（$T_{1/2}$ は 5 時間）。乳汁中の残留量は低く、初回搾乳 7 時間後で C_{max}（0.08 ng eq/mL）が認められ、47 時間後には検出限界まで減少した。各組織・臓器中における残留は主に肝臓（投与 6.5 時間後：3.54 ng eq/mL、24 時間後：1.24 ng eq/mL、72 時間後：0.56 ng eq/mL）および腎臓（投与 6.5 時間後：1.12 ng eq/mL、24 時間後：0.13 ng eq/mL、72 時間後：0.02 ng eq/mL）で認められた。肝臓では投与 72 時間後まで明らかな残留が認められ、$T_{1/2}$ は 30 分であった。また、胆汁中にはかなりの量の残留が認められ（投与 6.5 時間後：33.61 ng eq/mL、24 時間後：3.94 ng eq/mL、72 時間後：0.01 ng eq/mL）、ブロチゾラムの主要排泄経路は糞中であることが示唆された。筋肉および脂肪中の残留はいずれの時点においても微量であった。（参照 9）

（7）残留試験（牛）（参照 13,14,15,16）

雌子牛（約 6 ヶ月齢、31 頭）に SPV-708（ブロチゾラム 0.2 mg/mL 製剤）を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL（有効成分として 0.2 mg、以下同じ）および 2 倍量群 2.0 mL（有効成分として 0.4 mg、以下同じ）として左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与し、最終投与 2 時間、1、2、3 および 5 日後に各群 3 頭から各組織・臓器を採取してブロチ

ゾラムの経時的な残留推移を確認した。表１に示すように最終投与１日後には全例が検出限界未満となった。（参照 13）

表１　ブロチゾラム製剤投与後の組織内残留濃度　　３試行　単位：μg/g

試　料		採材時点		
		２時間目	１日目	２日目
常用量	筋肉	<0.001	<0.001	－
	肝臓	<0.001	<0.001	－
	腎臓	<0.001	<0.001	－
	脂肪	<0.001	<0.001	－
	小腸	<0.001	<0.001	－
	血液	<0.001	<0.001	－
２倍量	筋肉	<0.001	<0.001	－
	肝臓	<0.001	<0.001	－
	腎臓	<0.001	<0.001	－
	脂肪	0.001*	<0.001	<0.001
	小腸	<0.001	<0.001	－
	血液	<0.001	<0.001	－

・（＊）３例中２例が検出限界未満　　・　－：　実施せず

同じ試験を異なる雌子牛（約６ヶ月齢、31 頭）を用いて実施された残留試験の結果は、表２に示すように最終投与 １ 日後においては、いずれの試料も検出限界未満となった。（参照 14）

表２　ブロチゾラム製剤投与後の組織内残留濃度　　３試行　単位：μg/g

試　料		採材時点		
		２時間目	１日目	２日目
常用量	筋肉	<0.001	<0.001	－
	肝臓	0.001 , 0.003*	<0.001	<0.001
	腎臓	0.002**	<0.001	<0.001
	脂肪	0.002**	<0.001	<0.001
	小腸	0.002**	<0.001	<0.001
	血液	0.001**	<0.001	<0.001
２倍量	筋肉	<0.001	<0.001	－
	肝臓	<0.001	<0.001	－
	腎臓	<0.001	<0.001	－
	脂肪	0.001*	<0.001	－
	小腸	<0.001	<0.001	－
	血液	<0.001	<0.001	－

*は３例中１例で検出限界未満、**は３例中２例で検出限界未満　－：　実施せず

泌乳牛（2～6 才齢、3 頭/群）に SPV-708 を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL および 2 倍量群 2.0 mL として、朝の搾乳直後に左頸静脈内に 3 日間連続投与した。乳汁採取は 1 回目投与前 1 回（対照）、最終投与 12、24、36、48、60 および 72 時間後に、血液採取は 1 回目投与前 1 回（対照）、最終投与 15、30 分、1、2、6 および 12 時間後に右頸静脈から行い、ブロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。表 3 においては乳汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与 24 時間後まで全試料が検出限界未満であった。表 4 においては血液においては、最終投与 1 時間後にはいずれも検出限界未満となった。（参照 15）

表 3　ブロチゾラム製剤投与後の乳汁中残留濃度　　単位：μg/g

	投与前	12 時間	24 時間	36 時間
常用量	<0.001	<0.001	<0.001	－
2 倍量	<0.001	<0.001	<0.001	－

表 4　　ブロチゾラム製剤の血液中残留濃度　　単位：μg/g

	投与前	15 分	30 分	1 時間	2 時間
常用量	<0.001	0.001, 0.002, 0.002	0.001*	<0.001	<0.001
2 倍量	<0.001	0.002, 0.003, 0.003	0.001, 0.002, 0.002	<0.001	<0.001

同じ試験で異なる泌乳牛（4 才齢、3 頭/群）を用いて実施された残留試験の結果は、表 5 と表 6 に示すように乳汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与 12 時間後で全試料が検出限界未満であった。血液においては、常用量群および 2 倍量群でそれぞれ最終投与 30 分および 1 時間後には検出限界未満となった。（参照 16）

表 5　　ブロチゾラム製剤投与後の乳汁中残留濃度　　単位：μg/g

	投与前	12 時間	24 時間
常用量	<0.001	<0.001	<0.001
2 倍量	<0.001	<0.001	<0.001

36 時間以降は実施せず

表 6　　ブロチゾラム製剤の血液中残留濃度　　単位：μg/g

	投与前	15 分	30 分	1 時間	2 時間
常用量	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	－
2 倍量	<0.001	0.003, 0.002, 0.002	0.002, 0.002*	<0.001	<0.001

・　－は実施せず　　・　*3 例中 1 例で検出限界未満　　・　6 時間以降は検査実施せず

2．急性毒性試験

（1）急性毒性試験（マウス）（参照 17,18,19）

Chbi: NMRI 系アルビノマウス（雌雄各 10 匹/群）にブロチゾラムを単回強制経口（6,000、8,000、10,000 mg/kg 体重/日）投与したときの LD_{50} は雌雄ともに 10,000 mg/kg

体重以上であった。死亡例は 8,000 mg/kg 投与群の雄 3 例 10,000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。死亡した雄 1/3 例の胃腸管内は乳白色の投与液で満たされていた。また、2/3 例では胃腸管内に残留物は認められなかったものの、1 例の粘膜に充血が認められた。雄 2/3 例および雌 1 例では脱水が認められた。計画解剖例では投与に関連すると思われる変化は認められなかった。

薬物による影響として、全例において投与後に自発運動の著しい減少あるいは睡眠が認められたが、投与後 4 日までには完全に回復した。なお、これらの症状の程度に群間差および性差は認められなかった。（参照 17,19）

ICR-JCL 系マウス（雌雄各 5 匹/群）にブロチゾラムを単回静脈内（0、20 mg/kg 体重/日）投与したが、死亡例は認められず、LD_{50} は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、鎮静、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、翌日には回復した。剖検では病理学的変化は認められなかった。（参照 18）

ICR-JCL 系マウス（雌雄各 5 匹/群）にブロチゾラムを単回腹腔内（0、1,000 mg/kg 体重/日）投与したが、死亡例は認められず、LD_{50} は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、鎮静、睡眠、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、投与 2 日後には全例が回復した。剖検ではいずれの投与群においても腹膜炎が認められた。（参照 18）

（2）急性毒性試験（ラット）（参照 18,20）

SD-JCL 系ラット（雌雄各 5 匹/群）にブロチゾラムを単回静脈内（0、16（雌のみ）、20 mg/kg 体重/日）投与したときの LD_{50} は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。死亡例は 20 mg 投与群の雌 2 例で認められ、1 例は睡眠中投与 5 分後に、別の 1 例は投与 6 時間後に強直性痙攣および呼吸困難により死亡した。

薬物による影響として、雌雄共に鎮静および睡眠が認められたが、投与後 6 時間以内に回復した。また、雌雄共に摂水量の高値が認められた。剖検では、死亡例および計画解剖例に病理学的変化は認められなかった。（参照 18）

SD-JCL 系ラット（雌雄各 5 匹/群）にブロチゾラムを単回腹腔内（0、1,000 mg/kg 体重/日）投与したときの LD_{50} は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。投与翌日に 1,000 mg 投与群の雄 1 例で死亡が認められ、剖検では胃底部粘膜の点状出血、腹腔内には被験物質の白色沈着がみられた。

薬物による影響として、鎮静および睡眠、失調様歩行、自発運動の減少、軟便等が認められたが、投与 2～3 日後に回復した。体重変化は雄で投与 7 日後まで遅延が認められ、この期間は摂水量にも低値が認められた。雌では摂水量は高値を示した。計画解剖例ではいずれの投与群でも腹膜炎が認められた。（参照 18）

SD-JCL 系ラット（雌雄各 10 匹）にブロチゾラムを単回強制経口（7,000 mg/kg 体重）投与したとき死亡例は雌 1 例で認められ、LD_{50} は雌雄ともに 7,000 mg/kg 体重以上で

あった。剖検では胃腸管内に投与液が満たされていた以外、明らかな変化は認められなかった。

薬物による影響として、雌雄共に投与 5 分後から鎮静、投与 10 分後にうずくまり、投与 1 時間後に腹臥位、投与 3 時間後には雄では失調様歩行を開始し、雌では腹臥位のまま労作性呼吸を行なっていた。雄は翌朝には回復していたが、雌の 3 例が衰弱状態に陥り、そのうち 1 例が死亡した。なお、雌雄共にこれらの症状は投与後 48 時間までには回復した。（参照 20）

（3）急性毒性試験（イヌ）（参照 19）

イヌ（雌雄 2 頭/群、計 6 頭）にブロチゾラムを単回経口投与したときの LD_{50} は雌雄ともに 2,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、投与 1-28 時間後に心拍数および呼吸数の増加、運動失調が認められ、投与後 48 時間までに睡眠、鎮静、振戦および嘔吐が認められた。投与 2～4 日後に摂餌量の低値および体重の軽度な低値が認められた。

（4）急性毒性試験（ウサギ）（参照 19）

ウサギ（雌雄 2 羽/群、計 4 羽）にブロチゾラムを単回経口投与したときの LD_{50} は雌雄ともに 2,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、運動失調、筋弛緩および鎮静が認められた。

（5）急性毒性試験（サル）（参照 21）

カニクイザル（雌雄各 1 頭）を用いた強制経口（0.063、0.25、1、4 mg/kg 体重/日）投与による急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、投与は雌雄各 1 頭に対し、各用量を 7 日間隔で行なった。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.063 mg 投与群の雌雄で発声やひっかき行動の減少、怯えや攻撃性の低下を示す例が認められた。また、振戦、握力の低下および探索行動の増加がいずれも軽度ながら認められた。0.25 および 1 mg 投与群では、自発運動および探索行動の増加が認められた後、鎮静および無関心の状態となった。これ等の症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。4 mg 投与群の症状および程度は 1 mg 投与群と類似していたが、投与後に探索行動は認められず、鎮静状態が長時間認められた。なお、鎮静状態は投与後 24 時間までに回復が認められた。

3．亜急性毒性試験

（1）4 週間亜急性毒性試験（ラット）（参照 19）

ラット（雌雄各 20 匹/群、最高用量の雌は 30 匹）を用いた強制経口（0.3、10、400 mg/kg 体重/日）投与における 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群の雌雄各 10 匹は回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、10 mg 以上投与群で鎮静を示した後、興奮が認められた。

摂餌量では、400 mg 投与群の雌で高値が認められた。

血液生化学検査では、400 mg 投与群で Tcho の高値が認められた。

臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の高値が認められたが、回復期間中に回復がみられた。

病理組織学的検査では、肝臓を含めて投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

本試験の NOAEL は 0.3mg/kg 体重/日と考えられた。

（2）5 週間亜急性毒性試験（ラット）（参照 20,22）

SD-JCL 系ラット（雌雄各 15 匹/群）を用いた強制経口（0.5、100、1,000 mg/kg 体重/日、低用量の 0.5 mg/kg は推定臨床用量である 0.005 mg/kg の 100 倍量に相当）投与における 5 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群にはそれぞれ雌雄各 10 匹を加えて回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 投与群に一般状態の変化はみられなかった。100 mg 以上投与群で投与 10～15 分後から鎮静状態が認められた。鎮静は 100 mg 投与群では 4 時間、1,000 mg 投与群では 4～7 時間継続したが、投与回数を重ねるにつれて徐々に短くなり、投与終了時には両群ともに継続時間は約 2 時間となった。また、両群共に投与 2 週目から攻撃性を示すようになり、1,000 mg 回復群では投与終了後 3～4 日間、全例において興奮と自発運動の亢進が認められた。

体重変化では、1,000 mg 回復群の雄で体重増加に有意な低値が認められた。

摂餌量は 100 mg 投与群以上の雌で増加傾向が認められた。1,000 mg 回復群の雌雄では回復期間第 1 週に減少が認められた。

摂水量は 100 mg 投与群以上の雌および、1000 mg 投与群の雄で投与第 1 週中に増加が認められたが、その後は投与に関連した変動は認められなかった。

血液学的検査では、100 mg 投与群の雌で赤血球数の減少、1,000 mg 投与群の雄で白血球の減少、雌では Hb 量、RBC、Ht 値および好酸球率の減少、分葉核好中球率の増加が認められた。回復群では、1,000 mg 投与群の雌で RBC になお低値が認められたが、その他の項目については対照群との間に有意差は認められなかった。

骨髄塗抹検査は対照群と 1,000 mg 投与群で実施され、1,000 mg 投与群の雌雄で分葉核好中球率の増加、雌で好酸球率の減少にいずれも僅かな有意差が認められた。また、1000mg 投与群の雌で骨髄の桿状球にも有意な増加が認められている。しかし、回復期間終了時には、これらの値に有意差は認められなかった。

血液生化学検査では、0.5 mg 以上の雌でグルコースの軽度ながら有意な高値が認められたが、背景データと比較して対照群の値が低かったことによるものであり[2]、これらの

[2] 本試験におけるグルコースの背景データは 9.1±0.7mmol/l、対照データは 8.4±0.8 mmol/l であった。

高値は投与による影響ではないと考えられた。また、1,000 mg 投与群の雌雄でコレステロールの軽度な高値が認められた。また、雄ではカリウムおよびナトリウムの高値、雌ではGPT、総タンパク、アルブミン、カルシウムの軽度な高値およびAP、クロライドの低値が認められた。その他、回復群ではいくつかの項目で有意差がみられたが、いずれも対照群との差はわずかであった。

尿検査では、1000mg 投与群の雄の尿比重は有意に高値を示し、２例のタンパク反応は＋＋＋を示したが回復期間終了時には、いずれの投与群出でも明らかな変化は認めなかった。

臓器重量では、1,000 mg 投与群の雌雄で甲状腺の絶対・比重量[3]の高値と脾臓および胸腺の絶対・比重量の低値が認められ、雄では肝臓と腎臓の比重量の高値が、雌ではそれらの絶対・比重量の有意な増加が認められ、回復期間終了時においても肝重量の有意な高値が認められた。

剖検、病理組織学的検査および肝細胞の電子顕微鏡学的検査では、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

本試験の NOAEL は 0.5 mg/kg 体重/日と考えられた。

（３）13 週間亜急性毒性試験（ラット）（参照 19）

ラット（雌雄各 20 匹/群、高用量群は雌雄各 30 匹）を用いた混餌（0.3、10、400 mg/kg 体重/日）投与における 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群の雌雄各 10 匹は回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

本試験期間中、投与に関連すると考えられる死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、400 mg 投与群の雌雄で、投与 9 週頃から触れると怖がり防御反応を示すなど反応性の増強が認められたが、これらの反応は回復性を示した。

体重変化および摂餌量は、いずれも 400 mg 投与群の雌雄で低値が認められた。

血液生化学的検査では、400 mg 投与群で AP の低値および Tcho の高値が認められたが、いずれも回復期間中に回復した。

臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の増加認められたが、回復期間中に回復した。

病理組織学的検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

本試験の NOAEL は 10mg/kg 体重/日と考えられた。

（４）13 週間亜急性毒性試験（サル）（参照 24）

アカゲザル（雌雄各 3 頭/群）を用いた強制経口（0、1、10、100 mg/kg 体重/日）投与による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、脳波検査用として、別に 100 mg 投与群（雌雄各 3 頭）を設定し、13 週間の投与終了後に 5 週間の回復期間を設けて観察した後に脳波検査に供した。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

[3] 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

一般的な臨床症状観察では、1 mg 以上投与群で運動失調、10 mg 以上投与群では睡眠傾向、攻撃性の明らかな低下、運動失調に伴う筋肉の痙攣が認められ、症状の程度には用量相関性がみられた。100 mg 投与群では過反射やハンドリングによる四肢筋肉の痙攣が認められた。回復群では、音刺激による強直性間代性痙攣を示す例が認められた。

体重変化では、投与群の全例において体重増加量の高値が認められたが、回復期間中に回復を示した。摂餌量および摂水量の測定は行なわれていないが、投与期間中の摂餌は旺盛であった。

血液生化学的検査では、100 mg 投与群でカルシウムの低値が認められたが、回復期間中に回復した。

臓器重量では、100 mg 投与群で肝臓重量の高値が認められたが、回復期間中に回復した。

性周期、筋電図、脳波、血液学的検査、尿排泄、尿検査、眼科学的検査、剖検および病理組織学的検査に、被験物質の投与によると考えられる明らかな異常は認められなかった。

本試験では NOAEL は求められず、LOAEL は 1mg/kg 体重/日と考えられた。

（5）4 週間亜急性毒性試験（イヌ）（参考）（参照 23）

ビーグル犬（雌雄各 3 匹/群）を用いた静脈内（0、0.05、0.1、0.3 mg/kg 体重/日）投与における 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、試験は 5 群構成とし、対照群には生理食塩液を、溶媒対照群には 10%アルコール溶液を投与した。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.05 mg 投与群以上で重篤な運動失調が認められたが、症状は数分以内に軽減し、1 時間以内に消失した。なお、本症状の発現は試験の経過とともに軽減した。溶媒対照群および 0.05 mg 以上投与群で軽度の流涎が認められ、0.1 および 0.3 mg 投与群雄の各 1 例では下痢が頻発した。

本薬の薬理作用として、自発運動能について投与 2 週および 4 週の投与後 3 時間まで調べられている。いずれの時点においても、0.05 mg 以上投与群で対照群に比べ自発運動の亢進がみられ、症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、臓器重量、剖検および病理組織学的検査に、被験物質の投与による明らかな影響は認められなかった。

表 7　各種亜急性毒性試験の比較

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量（mg/kg 体重/日）
ラット	4 週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	0.3 鎮静

	5 週間 亜急性 毒性試験	0, 0.5, 100, 1000	0.5 鎮静、攻撃性 雌：摂餌量の増加傾向、摂水量の増加、赤血球数の減少
	13 週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	10 反応性の増強、体重の低値、摂餌量の低値、AP の低値、Tcho の高値、肝重量の増加
サル	13 週間 亜急性毒性 試験	0, 1, 10, 100	－ 運動失調、体重増加量の高値

４．慢性毒性試験および発がん性試験

（１）12 ヶ月間慢性毒性試験（サル）（参照 19）

アカゲサル（雌雄各 4 頭/群）を用いた強制経口（0、1、7、50 mg/kg 体重/日）投与による 12 ヶ月間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、7 mg 以上投与群で鎮静、運動失調、傾眠および睡眠が認められ、症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。50 mg 投与群では投与 4 週から反射性筋収縮の亢進が認められた。また、禁断症状として、7 mg 以上投与群で嘔吐､50 mg 投与群では突発性あるいは聴原性の強直性間代性発作が認められた。

体重変化では、7 mg 以上投与群で体重増加量の高値が認められた。

摂餌量は測定されていないが、摂餌は旺盛であった。

病理組織学的検査では、50 mg 投与群の 4 例で副腎皮質への脂肪浸潤が認められた。

本試験の NOAEL は 1mg/kg 体重/日と考えられた。

（２）18 ヶ月間慢性毒性試験（ラット）（参照 25）

Chbb: THOM 系ラット（雌雄各 25 匹/群）を用いた混餌（0、0.3、10、400 mg/kg 体重/日、低用量は予想臨床用量の 10 倍量に相当）投与による 18 ヶ月間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

本試験期間中に対照群の 11 例、0.3 mg 投与群の 3 例、10 mg 投与群の 4 例、400 mg 投与群の 24 例に死亡が認められた。死因は自然発生性病変によるものに加え、採血時の麻酔死が多数を占めたが、400 mg 投与群の死亡例増加は、腎盂腎炎と肺のリン脂質症に起因する一般状態の悪化によるものであった。

一般的な臨床症状観察では、各投与群の多くの例において、口周囲の皮膚にパスツレラ感染によると考えられる小さな膿瘍が認められた。400 mg 投与群の雌雄では、投与 3 週から軽度な立毛と興奮が認められたが、これらの症状は投与 10 週には消失した。また、投与 27 週から試験終了まで一般状態の悪化が認められた。

体重変化は、10 mg 投与群の雌雄で体重増加量の軽度な高値が認められた。400 mg 投与群では、雌雄で体重増加量の低値が認められた。特に、投与 8 週以降に明らかな低

下が認められ、投与 23 週以降は体重増加量の抑制が認められた。

摂餌量は体重変化に伴う変動を示し、10 mg 投与群では軽度な増加が、400 mg 投与群では明らかな減少が認められた。

摂水量および尿検査には、投与に関連する変化は認められなかった。

血液学的検査では、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。網状赤血球の明らかな高値が雄で投与 65 週、雌では投与 25 週から認められた。また、MCH および MCHC の軽度な低値が、雌雄において投与 25 週より認められた。白血球数の軽度な高値が雌で投与 25 週より認められた。また、好中球の中程度から顕著な高値とそれに伴うリンパ球の低値が雄で投与 6 週、雌では投与 13 週より、血小板の軽度な低値が雄で投与 25 週、雌では投与 52 週より認められた。

生化学検査においても、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。雌雄において、Tcho の顕著な高値、AP の明らかな低値、BUN の低値およびグルコースの軽度かつ一過性の高値が認められた。また、雄ではカリウムの軽度な低値が認められた。

剖検では、4 例で精巣の萎縮等の所見が見られている。その他に薬物に関連すると考えられる変化は

認められなかった。

臓器重量では、400 mg 投与群の雌雄で脾臓の顕著な低値および唾液腺の低値が、雄で精巣の顕著な低値、心臓、肺および脳の低値が、雌では副腎の顕著な低値が認められた。

病理組織学的検査では、400 mg 投与群の雌雄において、肺の肺胞腔内に泡沫状細胞の集簇がみられるリン脂質症および腎臓で腎盂腎炎が認められた。また、雄では精上皮細胞の減少による精巣萎縮が 18 例で認められ、そのうち 10 例は重度な萎縮であった。

本試験の NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。

（3）18 ヶ月間発がん性試験（マウス）（参照 3）

Chbi: NMRI マウス（対照群 : 雌雄各 100 匹、低用量および中用量群 : 雌雄各 50 匹、高用量群 : 雌雄各 80 匹、計 560 匹）を用いた混餌（0、0.3、10、200 mg/kg 体重/日）投与による 18 ヶ月間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

死亡率において、薬物投与に関連する変化はみられなかった。

一般的な臨床症状観察では、投与期間を通して全投与群の雌雄で明らかな用量依存性の鎮静が認められ、特に雄で強い影響が認められた。また、10 mg 以上投与群の雄の半数例で、膀胱の拡張に起因すると考えられる腹部の膨張が認められた。

体重変化は、全投与群の雌雄で明らかな高値が認められ、特に雄で強く認められた。

摂餌量は雄でわずかな低値を示し、雌では高値を示した。

摂水量は、10 mg 以上投与群の雌雄でわずかな低値が認められた。

血液学的検査では、投与に関連する変化は認められなかった。

臓器重量では、200 mg 投与群で肝重量の高値が認められた。

剖検では、10 mg 以上投与群の雄で膀胱の中程度～重度の拡張および膀胱壁の肥厚が認められた。

病理組織学的検査では、10 mg 投与群以上の雄で認められた膀胱の拡張に関連する所見として膀胱壁の圧迫萎縮、肥厚に関連する所見として膀胱粘膜下における限局性あるいはびまん性の浮腫、繊維化が認められた。また、雄では、膀胱壁における炎症細胞浸潤や包皮腺における慢性炎症の増加が認められた。200 mg 投与群では、膀胱の所見に随伴して片側性あるいは両側性に水腎症を示す例が 17 例認められた。

558/560 匹（2 例は試験中に行方不明）は死亡もしくは安楽死後に病理組織学的に検査されたが、自然発生性腫瘍の頻度、腫瘍の種類および発生時期のいずれにおいても投与による影響は認められなかった。

本試験において、被験物質投与に関連する発がん性は認められなかった。

本試験では NOAEL は求められず、LOAEL は 0.3mg/kg 体重/日と考えられた。

（4）2 年間発がん性試験（ラット）（参照 26）

Chbb: THOM（Wistar）ラット（対照群：雌雄各 100 匹、低用量および中用量群：雌雄各 50 匹、高用量群：雌雄各 80 匹、計 560 匹）を用いた混餌（0、0.3、10、200 mg/kg 体重/日）投与による 2 年間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

死亡率は 200 mg 投与群雄では対照群より有意な増加が認められた。

一般的な臨床症状観察では、200 mg 投与群の雌雄でしばしば被毛の粗剛、雄では著しい鎮静および尿量の増加、雌では後肢足底および膝の角質肥厚が認められた。

体重変化は、雌雄共に 0.3 および 10 mg 投与群で高値を示した。一方、200 mg 投与群では雌雄共に低値を示し、特に雄で明らかであった。

摂餌量は 10 mg 投与群の雌で高値を示し、200 mg 投与群では雌雄共に低値を示した。

摂水量は 10 mg 投与群の雌で高値を示した。

血液学的検査では、白血球数の高値が 10 mg 以上投与群の雄 4 例、全投与群の雌 9 例で認められた。また、対照群を含む全投与群において相対的なリンパ球減少症が認められ、その発生頻度は 200 mg 投与群で高かった。本変化は加齢性の変化である可能性が考えられたが、200 mg 投与群については薬物投与との関連性も示唆された。

途中解剖例の剖検では、200 mg 投与群で泌尿器系および雄の副生殖腺に所見の増加が認められた。一方、計画解剖例では、200 mg 投与群の雌雄に共通して食道拡張、肺、肝臓および腎臓に所見が散見された。また、性差がみられた所見として、雄で甲状腺の大きさと外観の変化、膀胱および副生殖腺の変化、鼻汁を伴う鼻腔粘膜の変色（茶褐色変化）が、雌では胸腺の大きさと外観の変化、後肢足底表面の角質肥厚が認められた。

病理組織学的検査では、腫瘍性病変として、200 mg 投与群の雄で甲状腺濾胞腺腫、雌では胸腺型の悪性リンパ腫および子宮における神経鞘腫の発生に有意な増加がみられた。また同群では、非腫瘍性病変として、雌雄の甲状腺におけるコロイドの好塩基性

化、嚢胞状濾胞、結節性過形成、濾胞上皮細胞のびまん性過形成、肺のリポタンパク症、主として雄における泌尿生殖器系における炎症性（腎盂炎、腎盂腎炎、化膿性膀胱炎、前立腺炎、精嚢腺炎）および増殖性（腎盂粘膜上皮のびまん性過形成、膀胱の粘膜上皮過形成）変化が認められた。

本試験の NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった。

表 8　各種慢性毒性試験および発がん性試験の比較

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量（mg/kg 体重/日）
サル	12 ヶ月間 慢性毒性 試験	0, 1, 7, 50	1 鎮静、運動失調、傾眠および睡眠、禁断症状（嘔吐）、
ラット	18 ヶ月間 慢性毒性 試験	0, 0.3, 10, 400	10 死亡例増加、軽度な立毛、興奮、体重増加量の低値、摂餌量の減少、網状赤血球の高値、MCH・MCHC の軽度な低値、好中球の高値、リンパ球の低値、血小板の軽度な低値、Tcho の高値、AP の低値、BUN の低値、グルコースの軽度かつ一過性の高値、臓器重量の低値（脾臓、唾液腺）、肺のリン脂質症、腎盂腎炎 雄：カリウムの軽度な低値、臓器重量の低値（精巣、心臓、肺、脳）、精巣萎縮 雌：白血球数の軽度な高値、臓器重量の低値（副腎）
マウス	18 ヶ月間 発がん性 試験	0, 0.3, 10. 200	－ 鎮静 雄：摂餌量の低値 (発がん性は認められていない)
ラット	2 年間 発がん性 試験	0, 0.3, 10, 200	10 被毛粗剛、体重の低値、摂餌量の低値、リンパ球減少症、食道拡張、肺・肝臓および腎臓の所見散見、甲状腺におけるコロイドの好塩基性化、嚢胞状濾胞、結節性過形成、濾胞上皮細胞のびまん性過形成、肺のリポタンパク症 雄：死亡率増加、鎮静、尿量増加、副生殖腺の所見の増加、甲状腺濾胞腺腫、泌尿生殖器系の炎症性およ

			び増殖性変化 雌：後肢足底・膝の角質厚肥、胸腺型悪性リンパ腫・神経鞘腫（子宮）

5. 生殖発生毒性試験

二世代繁殖毒性試験の代わりに FDA の 3 節試験が実施されている。

（1）妊娠前及び妊娠初期投与試験（第Ⅰ節）（ラット）（参照 19,27）

SD 系ラット（雌雄各 20 匹/群）を用いた強制経口（雄；0、0.05、2.5、100 mg/kg 体重/日、雌；0、0.05、2.5、50 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄は交配前 60 日から交配期間中を通じて、雌には交配前 14 日から妊娠 7 日までの間行い、それぞれ交配期間終了後及び妊娠 21 日に剖検した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群の雌雄で投与初日にのみ、投与後に弱い鎮静を示す例がみられ、高用量群では投与 20～60 分後から鎮静状態が 3～4 時間みられたが、その深さ、持続時間ともに投与期間中徐々に軽減していった。

体重変化は、雄では 100 mg 投与群で有意な低値が認められた。雌では 50 mg 投与群で投与期間終了後の妊娠 8～9 日の体重増加に有意な低値がみられたが、妊娠 21 日には対照群と同程度まで回復した。

摂餌量は雄では有意な変化はみられず、雌では 50 mg 投与群で投与期間終了後に有意な低値が認められた。

摂水量は 100 mg 投与群の雄で投与期間の最初の 2 週間に、雌では 50 mg 投与群で交配前第 1 週に有意な高値がみられた。

臓器重量では、特記すべき変化は認められなかった。

剖検では、雌雄ともに薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

いずれの投与群においても、交尾率、妊娠率、黄体数、生存胎児数、死胚数（早期・後期吸収胚数、死亡胎児数）、胎児体重に異常は認められなかった。50 mg 投与群では胎児の有意な骨化遅延が認められた。

本試験における親動物の一般毒性に対する NOAEL は雌雄ともに 0.05 mg/kg 体重/日、生殖に対する NOAEL は雄で 100 mg/kg 体重/日、雌では 50 mg/kg 体重/日、発生に対する NOAEL は 2.5 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 27）

ラット（雌雄各 20 匹/群）を用いた強制経口（0、1、2、10 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄は交配前 9 週間、雌は交配前 2 週間の間行なった。

親動物の一般状態、交配、妊娠および出産のいずれにおいても被験物質による影響は認められなかった。また、胎児においても胎児毒性および催奇形性は認められなかった。

本試験の NOAEL は、親動物および胎児ともに 10 mg/kg 体重/日と考えられた。（参

照 19)

表 9　妊娠前及び妊娠初期投与試験（第Ⅰ節）（ラット）

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量（mg/kg 体重/日）
ラット	妊娠前及び妊娠初期 投与試験	雄；0, 0.05, 2.5, 100 雌；0, 0.05, 2.5, 50	親動物：0.05 生殖： 雄 100、雌 50 発生： 2.5 親動物：弱い鎮静 発生：胎児の骨化遅延
		0, 1, 2, 10	親動物：10 胎児　：10 　投与による影響は認められなかった (催奇形性は認められなかった)

（2）器官形成期投与試験（第Ⅱ節）（ラット）（参照 27,28,29）

SD 系ラット（雌 37 匹/群）を用いた強制経口（0、0.05、2.5、250 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 17 日までの間行い、21 日に 25 匹を帝王切開して胎児（F_{1a}）への影響を検査し、残りの母体については自然分娩させ新生児（F_{1a}）を離乳まで哺育して身体発達と行動を検査した。離乳後の児は各群の各母体から雌雄各 2 匹を選抜・飼育し、11 週齢で交配して妊娠末期に次々世代胎児（F_2）を検査した。授乳を終えた母動物（F_0）は、離乳後 1 週間を経て再び第一産と同じ雄動物と交配させ、妊娠末期に胎児（F_{1b}）を検査した。

本試験中に、250 mg 投与群の母動物 2 例で死亡（1 例：剖検では胃内に異嗜によると考えられる多量の床敷および噴門部に新鮮な潰瘍が認められた。1 例：分娩予定日の 24 日後に死亡。子宮内に自家中毒によると考えられる浸軟胎児の残存が認められた。）が認められたが、いずれも薬物による直接作用ではないと考えられた。

F_0母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群で投与開始後 1～2 日間に、弱い鎮静が 5 例に認められた。250 mg 投与群では投与 10～30 分後から鎮静状態が 3～4 時間続いたが、この持続時間は投与回数を重ねるにつれて短くなった。立毛が若干数に認められた。体重変化は、250 mg 投与群で投与期間中に有意な低値を示し、投与期間終了後には一過性の低下が認められた。自然分娩群では分娩後離乳時まで体重は徐々に回復した。250 mg 投与群では投与期間中に摂餌量は有意な低値を示し、摂水量は高値を示した。自然分娩群では、250 mg 投与群の 7 例において妊娠期間が対照群に比べ 1 日延長した。

F_{1a}胎児では、250 mg 投与群で胎児体重および趾骨の化骨数に有意な低値がみられた。また、14 肋骨および仙椎の腰椎化の発現頻度が有意に上昇し、4 例の奇形胎児（無尾症、胸椎の異常、水頭症および口蓋裂が各 1 例）が認められた。

F_{1a}新生児では、250 mg 投与群で次のような所見がみられた。生後 1 日の新生児の体重に有意な低値がみられた。哺乳期間中に児の死亡率が有意に増加し、生存児の立ち直り反射および眼瞼開裂に有意な遅延が認められた。離乳後も、精巣下降の遅延と 11 週齢までの体重に増加抑制が認められた。F_1の生殖能については、交尾率および妊娠率ともに影響は認められなかったが、黄体数、着床数および生存胎児(F2)数は有意に少なかった。

次々世代胎児（F_2）および次産胎児（F_{1b}）には、薬物投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

本試験の母動物（F_0）に対する NOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日、次世代（F_1）に対する NOAEL は、2.5 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 27）

Chbb: THOM ラット（雌 20 匹/群）を用いた強制経口（0、1.5、3、30 mg/kg 体重/日）投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 15 日までの間行い、妊娠 21 日に帝王切開して 2/3 例の胎児は骨格検査に、残りの 1/3 例は内臓検査に供した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。体重変化では 30 mg 投与群では投与 10 日後に有意な低値が認められたが、試験終了時には回復傾向が認められた。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

胎児への影響は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は 3 mg/kg 体重/日と考えられ、胎児に対する NOAEL は 30 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 28）

SD 系ラット（雌 15 匹/群）を用いた強制経口（0、10、30、250、500 mg/kg 体重/日）投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 17 日までの間行い、妊娠 21 日に帝王切開して胎児の観察を行なった。

母動物の一般的な臨床症状観察では、10 mg 以上投与群で投与 10～30 分後に鎮静が認められ、3～4 時間持続した。なお、鎮静の持続時間および程度は、投与回数を重ねるごとに短縮あるいは軽減した。また、数例において色素涙が認められた。体重変化では 10 mg 以上投与群で有意な低値がみられ、250 mg 以上投与群では投与終了後に顕著な低下が認められた。摂餌量についても 10 mg 以上投与群で有意な低値が認められ、250 mg 以上投与群ではより顕著であった。摂水量は 10 mg 以上投与群で有意な高値が認められた。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

胎児観察では、250 mg 投与群以上で胎児体重の有意な低下、500 mg 投与群で胚／胎児死亡（特に胎児死亡）の増加が認められた。外表観察では無尾が 500 mg 投与群の 3 例で認められた。内臓観察では大動脈右位が 250 mg 投与群の 2 例、500 mg 投与群の 1

例で認められたほか、500 mg 投与群では胸腺の頸部残留が観察された。骨格変異では、30 mg 以上投与群で 14 肋骨の出現頻度が有意に上昇し、250 mg 以上投与群では仙椎の腰椎化の出現頻度が有意に上昇し、骨化遅延が認められた。

本試験の母動物に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 10mg/kg 体重/日と考えられた。一方、胎児に対しては、30 mg 投与群以上で 14 肋骨の出現頻度の上昇が認められたことから、NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 29）

表 10　器官形成期投与試験（第Ⅱ節）（ラット）

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量（mg/kg 体重/日）
ラット	器官形成期 投与試験	0, 0.05, 2.5, 250	母動物：0.05 胎児：2.5 母動物：弱い鎮静 児(F_1)：体重の低値、趾骨の化骨数の低値、14 肋骨および仙椎の腰椎化の発現頻度の上昇、死亡率の増加（哺乳期間中）、立ち直り反射および眼瞼開裂の遅延、精巣下降の遅延、体重の増加抑制（11 週齢まで）
		0, 1.5, 3, 30	母動物：3 胎児　：30 母動物：体重の低値 （催奇形性は認められなかった）
		0, 10, 30, 250, 500	母動物：－ 胎児　：10 母動物：鎮静、体重増加の低値 胎児：14 肋骨の出現頻度の上昇

（３）器官形成期投与試験（第Ⅱ節）（ウサギ）（参照 27,30）

ヒマラヤウサギ（妊娠雌 15 匹/群）を用いた強制経口（0、0.05、0.5、3 mg/kg 体重/日）投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日までの間行い、妊娠 29 日に帝王切開して胎児を検査した。

母動物の一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 以上投与群で投与開始直後から弱い鎮静が 1～4 時間みられたが、投与回数を重ねるにつれて持続時間は短くなり、およそ 1 週間後にはほとんど見られなくなった。3 mg 投与群の 1 例が妊娠 27 日に 8 匹の胎児を流産した。0.5 mg 以上投与群で投与期間中の体重増加が有意に抑制されたが、投与期間終了後は急速に回復した。また、体重の低下と並行して摂餌量および摂水量は低下した。

胎児では、被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は、0.05 mg/kg 体重/日と考えられ、胎児に対する

NOAEL は 3 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 27）

ヒマラヤウサギ（13 匹/群）を用いた強制経口（0、1.5、3、9 mg/kg 体重/日）投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日まで行い、妊娠 29 日に帝王切開して胎児を検査した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。いずれの投与群においても投与初期に著しい体重低下が認められ、9 mg 投与群では投与 7 日目に 100 g 低下した。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

胎児には投与の影響は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 1.5mg/kg 体重/日と考えられ、胎児に対する NOAEL は 9 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 30）

表 11　器官形成期投与試験（第Ⅱ節）（ウサギ）

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量（mg/kg 体重/日）
ウサギ	器官形成期 投与試験	0, 0.05, 0.5, 3	母動物：0.05 胎児　：3 母動物：弱い鎮静、体重増加抑制、摂餌量の低下、摂水量の低下 （催奇形性は認められなかった）
		0, 1.5, 3, 9	母動物：－ 胎児　：9 母動物：体重低下 （催奇形性は認められなかった）

（4）周産期及び授乳期投与試験（第Ⅲ節）（ラット）（参照 19,27,31,32）

SD 系ラット（雌 23 匹/群）を用いた強制経口（0、0.05、2.5、25 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 17 日から分娩後 21 日までの間行った。母動物（F_0）は自然分娩させ、児（F_1）の成長、機能および行動に及ぼす影響を検討した。また、離乳時に各母体から雌雄各 1 匹を選抜・飼育し、交配させ生殖能への影響を検査した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

F_0母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg/kg 投与群で弱い鎮静が投与後約 2 時間続き、25 mg 投与群では投与 10 分後から鎮静が 2～3 時間持続したが、分娩後は次第に軽減し、やがて現れなくなった。体重変化は、2.5 mg 以上投与群で用量依存的に低値が認められた。また、2.5 mg 以上投与群で摂餌量に低値がみられ、摂水量は 25 mg 投与群で妊娠末期に高値が認められた。

F_0母動物の妊娠期間については、25 mg 投与群の 6 例で対照群に比べて 1 日延長した。剖検所見に薬物投与の影響は認められなかった。

児（F_1）では、2.5 mg 以上投与群で生後 3 日までの生存率の有意な低下がみられ、25 mg 投与群では離乳時の児生存率が有意に低かった。25 mg 投与群の生後 1 日および 21 日の雌児の体重、0.05 mg 投与群以上の生後 21 日の雄児の体重が有意に低かった。また、25 mg 投与群ではオープンフィールド試験で立ち上がりの回数が有意に低下した。

F_1の交配試験では、25 mg 投与群で交尾率および妊娠率には影響は認められなかったが、黄体数、着床数および生存胎児（F_2）数に有意な低値が認めらた。

本試験の母動物（F_0）に対する NOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日と考えられ、次世代（F_1）に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日と考えられた。

SD 系ラット（雌 10 匹/群）を用いた強制経口（0、25 mg/kg 体重/日）投与による交差乳母哺育試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。本試験では、母動物（F_0）の分娩、哺育状態および交換した新生児（F_1）の死亡率、成長への影響を検査した。母動物（F_0）は自然分娩させ、以下に示す組み合わせに従って、いずれも生後 4 時間以内に児を交換し観察を行なった。

Cc ： 溶媒投与母動物（C）＋ 溶媒投与母動物の児（c）
Ct ： 溶媒投与母動物（C）＋ 薬物投与母動物の児（t）
Tc ： 薬物投与母動物（T）＋ 溶媒投与母動物の児（c）
Tt ： 薬物投与母動物（T）＋ 薬物投与母動物の児（t）

F_0母動物の一般的な臨床症状観察は、上記第Ⅲ節試験の 25 mg 投与群の母動物と同様であった。

F_1児を交換した後 3 日齢までの児の死亡は Tt 群で多発し、Ct および Cc 群では少なかったことから、児死亡は投薬中の母動物側に要因があることが確認された。3 日齢から離乳までの児死亡は Tt 群で多数認められ、Tc 群でも有意に多かった。哺乳期間中の体重変化は、Cc 群では良好な増加がみられ、Tt 群では児数の減少に伴って生存児の体重は特に哺乳期間の後半に増加し、Cc 群に近づいた。離乳時における Tc 群の体重は最も低かった。（参照 27）

Chbb: THOM (SPF)ラット（雌 24 匹/群）を用いた強制経口（0、1、2、10 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 15 日から分娩後 20 日までの間行った。また、児（F_1）の機能（遊泳試験、聴覚および視覚機能試験）、行動（水迷路試験による学習能および記憶能）および生殖能について検査した。

母動物の一般的な臨床症状観察では、妊娠および哺乳期間を通して、被験物質による影響は認められなかった。体重変化にも投与群と対照群で有意な差は認められなかった。

児（F_1）では、10 mg 投与群で死産児数の増加および哺乳期間中の死亡率の増加が認

められたが、行動・機能および生殖能に被験物質投与による影響は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は 10 mg/kg 体重/日、F_1に対する NOAEL は 2 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 31）

Chbb: THOM ラット（雌 24 匹/群）を用いた強制経口（0、400 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 15 日から離乳時（分娩後 20 日）までの間行った。また、児（F_1）の行動・機能および生殖能について検査した。なお、本試験では、前述の試験（資料番号：②-5）で母動物に投与による影響が認められたなかったことから、ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験（資料番号：①-7）で体重低下作用が確認されている用量（400 mg）について影響評価が行われた。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与後 30 分から立毛、鎮静および運動失調が認められ、それらの症状は数時間持続した。体重変化では、体重の低値が認められた。

F_1では、死産児数の増加および体重の有意な低値が認められた。生存例では、母動物の鎮静作用に起因する哺育能欠如による死亡率の増加が認められ(死亡率 90%:15 腹/17 腹)、特に生後 3 日までに高頻度に認められた。また、生存例では体重増加抑制および歩行遅延が認められたが、感覚機能、生殖能力および児の発生に異常は認められなかった。

本試験の母動物およびF_1に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 400mg/kg 体重/日であった。（参照 19,32）

表 12　周産期及び授乳期投与試験（第Ⅲ節）(ラット)

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量（mg/kg 体重/日）
ラット	周産期及び 授乳期 投与試験	0, 0.05, 2.5, 25	母動物：0.05 児(F_1)：0.05 未満 母動物：弱い鎮静、体重の低値、摂餌量の低値、 児(F_1)： 雄；体重の低値
		0, 1, 2, 10	母動物：10 児(F_1)：2 児(F_1)：死産児数の増加、死亡率の増加
		0, 400	母動物：－ 児(F_1)：－ 母動物：立毛、鎮静、運動失調、体重の低値 児(F_1)：死産児数の増加、体重の低値、歩行遅延

６．遺伝毒性試験

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を次表にまとめた。

表 13　*in vitro* 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, *E. coli* WP2 *uvrA*	10-5,000 μg/plate (±S9)[1]	陰性（参照 33）
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0.3、10、200 mg/kg/day[2] ① 200 μL/plate[3] ② マウス：100 μL/plate[4] ラット：200 μL/plate[4]	陰性（参照 34）
不定期 DNA 合成試験	ヒト胎児肺由来の線維芽細胞（MRC-5）	20、60、100、140、180、220、260、300 μg/mL (±S9) [3,5]	陰性（参照 35）
形質転換試験	マウス胎児線維芽細胞 (C3H/10T1/2 Cl 8 cells)	50、100、150 μg/mL (±S9) [3]	陰性（参照 36）
遺伝子変換試験	酵母(*Saccharomyces cerevisiae* D4)	62.6、125、250、500、1,000 μg/mL (±S9) [3]	陰性（参照 37）
HGPRT 突然変異試験	チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞	10、100、250、350 g/mL [3] (±S9)	陰性（参照 38）
点突然変異試験[6]	*S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 (ラット・マウス), TA1538（ラット）	0、100、200 mg/kg/day[7] 100 μL/plate (±S9) [3]	陰性（参照 39）

1．S9 はラット由来を使用。

2．Chbi: NMRI マウス（雄 3 例）および Chbb: THOM ラット（雄 3 例）にブロチゾラムをそれぞれ 6 日間および 8 日間強制経口（0.3、10、200 mg/kg 体重/日）投与し、採取した尿（マウス : 3 例のプール尿、ラット : 個体別の尿）を試験に供した。

3．マウスおよびラットから採取した各尿を 200 μL/plate の濃度で培地上にまいて検査を行なった。

4．　マウスおよびラット共に 200 mg/kg 投与群から得られた尿を蒸留水で 10 倍希釈し、マウスは 100 μL/plate、ラットは 200 μL/plate の濃度で同様に検査を行なった。

5．260 μg/mL 以上の濃度で沈殿が認められた。

6．ラットおよびマウスにおける血漿中の高極性代謝物に対する試験。

7．Chbb: THOM ラット（雄 5 例/群）および Chbb: NMRI マウス（雄 5 例/群）にブロチゾラムをそれぞれ 2 週間強制経口（0、100、200 mg/kg 体重/日）投与し、最終投与後に採取した血液から血漿を分離・凍結乾燥し、メタノール抽出の後、試験に供した。

表 14　*in vivo* 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常試験	チャイニーズハムスター骨髄細胞	62、311 mg/kg 体重/day 5 日間経口投与	陰性（参照 40）

小核試験	マウス骨髄細胞	80、400、2,000 mg/kg 体重/day 2 日間経口投与	陰性 （参照 41）
優性致死試験	CD-1BR マウス	200、640、2,000 mg/kg 体重/day 単回経口投与	陰性 （参照 42）

上記のように、*in vitro* の細菌、酵母、ヒトを含む動物細胞を用いた Ames 試験、不定期 DNA 合成試験、形質転換試験、遺伝子変換試験および突然変異試験、及び *in vivo* のげっ歯類を用いた染色体異常試験、小核試験および優性致死試験のいずれも陰性であり、ブロチゾラムは遺伝毒性を有さないものと考えられる。

７．一般薬理試験（参照 43,44,45,46）

（１）呼吸・循環器系への作用（参照 43）

雌雄のビーグル雑種犬（各 3 匹/群、ブロチゾラム 1、5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）の呼吸数、血圧、心拍数、心電図を観察したところ、1 mg および 5 mg 投与群共に投与後 120 分まで心拍数の明らかな低下とこれに伴う T 波の増高および RR 間隔の延長がみられ、呼吸数の低下が投与後 120 分以上にわたり認められた。なお、血圧には明らかな影響は認められなかった。

雄ウサギ（ブロチゾラム 5、10 mg/kg の静脈内投与、ウレタン麻酔下）の呼吸、血圧、心拍数を観察したところ、10 mg 投与群で呼吸数にわずかな低下が認められた。血圧と心拍には明らかな影響は認められなかった。なお、非麻酔下のウサギでも同様の影響が認められた。

モルモットの摘出心房（ブロチゾラム 1-10 mg/L、5 分間隔で累積作用）の心筋収縮力と心拍数について観察したところ、心筋収縮力には明らかな影響は認められなかったが、心拍数は 10 mg/L の濃度で軽度な低下が認められた。

雌雄の雑種犬（ブロチゾラム 0.05、0.5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）の椎骨動脈流および内頚動脈流について観察したところ、0.5 mg 投与群で椎骨動脈流の増加と頚動脈流の軽度な増加が認められた。なお、これらの変動は 3 分以内に投与前値まで回復した。また、同様の方法でブロチゾラム 0.5、1 mg/kg の静脈内投与により、血圧、心拍数、心拍出量、冠血流および大腿動脈流について観察したところ、1 mg 投与群で血圧と心拍数の低下に伴い心拍出量および冠血流の軽度な減少が認められた。なお、これらの変動は投与 30 分後に正常値まで回復した。いずれの投与群においても、大腿動脈流に変化は認められなかった。

雌雄の雑種犬（ブロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）の頚動脈洞反射、迷走神経刺激、星状神経節の節前および節後神経刺激に対する反射性昇圧について観察したところ、頚動脈洞反射刺激（30 秒間の閉塞）に対する血圧反応およ

び迷走神経刺激に対する陰性変時作用にブロチゾラム投与による影響は認められなかった。また、ブロチゾラムは星状神経節の節前および節後神経刺激における陽性変時作用を増強したが、有意な増強（ブロチゾラム投与 15 分後）が認められたのは節前神経刺激に対する影響であった。

雌雄の雑種犬（ブロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）に、ノルエピネフリンおよびエピネフリンを 1 μg/kg 投与した際の心血管系への作用に対するブロチゾラム投与の影響について確認したところ、両被験物質の投与による血圧および心拍数への作用はブロチゾラム投与 15 分後および 60 分後で増強され、エピネフリン投与時の血圧に対する影響は有意であった。

（2）自律神経系および平滑筋への作用（参照 43,45）

瞬膜反射に対する作用は、ネコ（ブロチゾラム 10 μg-3 mg/kg の舌動脈内投与、ウレタン麻酔下）の上頸神経節の節前神経刺激による瞬膜の収縮について確認したところ、ブロチゾラム投与による明らかな影響は認められなかった。（参照 43）

瞳孔径（マウス）に対する作用は、ブロチゾラム（3、30、100 mg/kg、経口）、ニトラゼパムおよびエスタゾラム（各 30、100 mg/kg）について比較検討されている。ブロチゾラムは 30 mg 投与群まで瞳孔径に明らかな影響を及ぼさず、100 mg 投与群では投与 30 分後から 60 分後に縮瞳が認められた。エスタゾラムは 30 mg 以上投与群で、ニトラゼパムは 100 mg 投与群で縮瞳が認められた。（参照 45）

ラット摘出血管（胸部大動脈、Krebs 液）では、ブロチゾラムは 10 mg/L の濃度まで平滑筋収縮に影響を及ぼさないが、塩化カリウム（5-30 mM）による収縮およびノルエピネフリン（3 mg/L）による持続性収縮に対して抑制作用を示した。なお、ノルエピネフリンによる一過性収縮には影響は認められなかった。（参照 43）

ウサギ摘出回腸（自動運動測定）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 0.001-1.0 mg/L の濃度まで自発運動に影響はみられなかったが、静止張力については 10 mg/L でわずかな減少が認められた。（参照 45）

モルモット摘出回腸（アセチルコリン誘導収縮）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 10 mg/L でアセチルコリン収縮の抑制作用を示した。（参照 45）

ラット摘出子宮（妊娠および非妊娠子宮）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。摘出非妊娠子宮では、ブロチゾラム 0.1-10 mg/L の濃度まで自発運動の振幅に影響は認められなかった。ニトラゼパムについても 10 mg/L の濃度で自発運動に影響は認められなかった。摘出妊娠子宮では、両被験物質ともに自発運動に明らかな影響は認められなかった。（参照 45）

ラット生体位子宮に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。ブロチゾラムを 10 mg/kg の濃度まで静脈内投与しても、自発運動能に影響は認められなかった。一方、ニトラゼパムでは同様の濃度で自発運動能にわずかな亢進が認められた。（参照 45）

モルモットの摘出気管（自発収縮）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 10 mg/L の濃度で摘出気管のヒスタミンによる収縮反応を低下させた。（参照 45）

モルモット摘出輸精管に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。ブロチゾラムは 0.01-10 mg/L の濃度まで影響はみられなかった。一方、ニトラゼパムは 1.0-10 mg/L の濃度で収縮反応が認められた。（参照 45）

（３）血液系への作用（参照 43）

溶血に対する作用は、ウサギの耳介静脈から得られた血液を用いて、ブロチゾラム、エスタゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。各被験物質を 125-500 mg/L の濃度で血球とインキュベートした結果、いずれにおいても溶血作用は認められなかった。

凝固に対する作用は、ブロチゾラム、エスタゾラムおよびニトラゼパムをウサギに強制経口（各 25 mg/kg 体重/日）投与し、投与 15、30 および 60 分後に耳介静脈から得られた血液を用いて確認されている。いずれの被験物質についても、凝固作用に影響は認められなかった。

（４）中枢神経系への作用（参照 44,45,46）

脊髄反射に対する作用が、ブロチゾラムとエスタゾラムについて比較検討されている。エーテル麻酔下で第一および第二頸椎間の脊髄神経を遮断した雌雄のネコに、ブロチゾラムを静脈内（0.1 mg/kg）あるいは強制経口（1 mg/kg）投与し、投与 30、60 および 120 分後に単シナプス反射（MSR）および多シナプス反射（PSR）の活動電位について確認したところ、いずれの投与経路および用量においても PSR に影響を及ぼし、弱い抑制作用を有することが確認された。一方、エスタゾラムを強制経口（1 mg/kg）投与した場合は、MSR および PSR 共に投与後 30 および 60 分で抑制作用が認められた。ブロチゾラムの脊髄反射に対する抑制作用は、エスタゾラムに比べて軽度であった。（参照 44）

エチルアルコールおよびヘキソバルビタールで誘導される睡眠に対する作用は、ブロチゾラム、ニトラゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。エチルアルコールをマウスに皮下（6.25 mg/kg）投与した際に誘導される睡眠時間（30 分）は、各被験物質を投与 30 分前に経口（0.125 mg/kg）投与することにより有意な延長が認められた。ヘキソバルビタールをマウスに腹腔内（85 mg/kg）投

与する 30 分前に各被験物質を経口（5、15、45 mg/kg）投与すると、用量非依存的ではあるが睡眠時間は 2.7～3.6 倍に延長した。（参照 45）

メタンフェタミンを投与した際の自発運動量および咀嚼行動に対する作用は、ブロチゾラム、ニトラゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。自発運動量は、メタンフェタミンをマウスに皮下（5 mg/kg）投与する 30 分前にブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラム（各 10、30 mg/kg）、陽性対照としてジアゼパム（10 mg/kg）をそれぞれ経口投与すると、ブロチゾラム、ニトラゼパム、ジアゼパムは 10 mg 投与群、エスタゾラムは 30 mg 投与群で自発運動量の亢進が認められた。咀嚼行動は、メタンフェタミンをマウス（6 匹/群）に静脈内（16 mg/kg）投与する 30 分前に、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラム（各 30、90 mg/kg）、陽性対照としてハロペリドール（5 mg/kg）をそれぞれ経口投与すると、ハロペリドールは全例に抑制作用を示したが、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは明らかな抑制は認められなかった。（参照 45）

無麻酔下の自発脳波に対する作用は、ウサギを用いて実施されている。ウサギ（雌雄、14 匹）にブロチゾラムを静脈内（0.001、0.003、0.01 mg/kg 体重/日）投与し、投与前 30 分（最後の 10 分間：ベースライン）から投与後 2 時間まで脳波を測定したところ、0.003 mg 投与群以上では明らかにブロチゾラムの鎮静催眠作用が認められた。一方、0.001 mg 投与群では、脳波に鎮静や中枢興奮作用を示す明らかな変動は認められなかった。

本試験における NOEL は 0.001 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 46）

鎮痛作用がブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット（計 6 匹）に各被験物質を強制経口（ブロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム：1、10、100 mg/kg 体重/日）投与 30、60、120、180 および 240 分後に、ラットの尾を動脈鉗子で摘んだ際の疼痛に対する鎮痛作用を確認した。ブロチゾラムに鎮痛作用は認められなかったが、ニトラゼパムでは 10 mg 以上投与群で、エスタゾラムは 100 mg 投与群では明らかな鎮痛作用が認められた。ブロチゾラムの鎮静作用の程度は、高用量においてもニトラゼパムおよびエスタゾラムの約 1/3 であった。（参照 44）

正常体温に対する作用が、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されている。ラット（Wistar 系、雄）を用いて、各被験物質を強制経口（ブロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム：1、10、50 mg/kg 体重/日）投与 30、60、120、180 および 240 分後に体温を測定した。ブロチゾラムでは、10 mg 以上投与群で投与 30 分後から用量依存的な下降が認められたが、投与 240 分以内には正常範囲まで回復あるいは回復傾向が認められた。同様に、ニトラゼパムは 10 mg 以上投与群で、エスタゾラムは 1 mg 以上投与群で用量依存的な下降がみられた。いずれの被験物質も高用量で体温下降作用を示し、類似の作用が認められた。（参照 44）

（５）消化器系への作用（参照 45）

腸管運動（雄イヌ、3 匹、空腸）に対する作用は、ブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 0.01-1 mg/kg の静脈内投与では影響は認められなかった。

腸管輸送能（マウス）に対する作用は、ブロチゾラムおよびニトラゼパムを経口投与した時のバリウム液の移動率について比較検討されている。ブロチゾラムは 1-100 mg/kg で、ニトラゼパムは 30 mg/kg で影響は認められなかった。

唾液分泌（マウス）に対する作用として、カルバコール刺激時の唾液分泌作用への影響についてブロチゾラムおよびニトラゼパムで比較検討されている。ブロチゾラムは 3 mg/kg までの皮下投与で影響は認められなかった。一方、両被験物質ともに 10 mg/kg では軽度ながら有意な分泌低下を示した。

胃液分泌（ラット）に対する作用は、ブロチゾラム 1-10 mg/kg までの経口投与では胃液量および酸分泌量ともに影響は認められなかった。

胆汁分泌（ラット：各被験物質ともに 12.5、25、50 mg/kg、経口）に対する作用は、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されている。ブロチゾラムおよびニトラゼパムでは 50 mg まで排泄量および胆汁量ともに影響は認められなかった。一方、エスタゾラムでは 12.5 mg で胆汁量の増加、25 mg では排泄量の増加が認められた。

（６）体性神経系への作用（参照 44,45）

局所麻酔作用は、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。モルモット（Hartley 系、雄）およびウサギ（日本白色種、雄）の目に各被験物質を 1 および 2%の濃度で 0.5 mL 滴下し、同様にもう片方の目には溶媒（0.5%メチルセルロース）を滴下した。滴下 10、20、30、60、90 および 120 分後に角膜をウマの尾の毛で刺激して角膜反射を確認したところ、各被験物質ともにいずれの濃度および測定ポイントにおいても角膜反射は認められ、局所麻酔作用は認められなかった。ブロチゾラムの局所麻酔作用は、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと同様の傾向を示した。（参照 44）

横隔膜神経筋標本（Wistar 系ラット、雄）の電気刺激に対する作用が、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびツボクラリン（陽性対照）で比較検討されている。電気刺激に対する攣縮反応に対し、ブロチゾラムは 0.1 mg/L まで影響はみられなかったが、1-10 mg/L の濃度では軽度な抑制が認められた。ニトラゼパムは 10 mg/L で軽度な抑制が、ツボクラリンでは 0.1 mg/L で明らかな抑制が認められた。（参照 45）

（7）水および電解質代謝への作用（参照 44）

尿量、電解質代謝（Na^+、K^+、Cl^-、Na/K）、pH、グルコースおよび総タンパクに対する作用が、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット（Wistar 系、雄、5 匹/群）に各被験物質をそれぞれ強制経口（ブロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム：1、10、100 mg/kg 体重/日）投与し、採取した尿について確認したところ、尿量の増加がブロチゾラムでは 50 mg 以上投与群で、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは 100 mg 投与群で認められた。尿中電解質、pH、グルコースおよび総タンパクについては、いずれの被験物質においても明らかな影響は認められなかった。ブロチゾラムは高用量で尿排泄量を増加させたが、尿中電解質、pH、グルコースおよび総タンパクに影響を及ぼさず、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと類似の作用がみられた。

（8）抗炎症作用（参照 44）

抗炎症作用は、ラット（Wister 系、雄）を用いた浮腫（カラゲニン誘発の足蹠浮腫）に対する影響について、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。1%のカラゲニン 0.1 mL をラットの足蹠に投与後、直ちに各被験物質を強制経口（1、10、100 mg/kg 体重/日）投与し、足蹠の体積を 1 時間毎に測定した。カラゲニン足蹠浮腫に対する抑制作用はブロチゾラムには認められず、ニトラゼパムおよびエスタゾラムにも明らかな抑制作用は認められなかった。ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエストゾラムとの間に作用差異は認められなかった。

（9）1 週間あるいは 1 ヶ月間投与試験による血液生化学的パラメーターおよび体重への影響（ラット）（参照 45）

ラットを用いたブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムの 1 週間あるいは 1 ヶ月間強制経口（10 mg/kg）投与による血清中のグルコース、乳酸、TG、Tcho、非エステル化脂肪酸、インスリンおよび体重への影響について検討されている。

①1 週間投与試験

体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

グルコース、TG および Tcho は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。一方、非エステル化脂肪酸はブロチゾラムおよびエスタゾラムで低値がみられ、乳酸はブロチゾラムで高値、エスタゾラムで軽度な高値、ニトラゼパムは軽度な低値を示し、インスリンはブロチゾラムおよびニトラゼパムで軽度な低値、エスタゾラムでは低値が認められた。

②1 ヶ月間投与試験

体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

グルコース、TG およびインスリン値は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。一方、非エステル化脂肪酸はブロチゾラムで高値、Tcho はブロチゾラムおよびニトラゼパムで高値、乳酸はブロチゾラムで低値が認められた。

8. その他

ラットを用いた 2 年間発がん性試験において、200 mg 投与群の雌雄で甲状腺に結節性および腺腫性病変が認められていることから、以下に示す甲状腺機能に関する特殊毒性試験が実施されている。

（1）甲状腺機能に関する特殊毒性試験（ラット）（参照 47,48,49）

Chbb: THOM（Wistar）ラット（雌雄各 24 匹/対照群、雌雄各 12 匹/投与群）を用いた強制経口（0、100、400 mg/kg 体重/日）投与による 78 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、甲状腺ホルモン（T_3 および T_4）および甲状腺刺激ホルモン（TSH）の測定は、投与 28 週に全例について、投与 32 週には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施した。

T_3 値は、投与 28 週に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、その程度には用量相関性が認められた（100 mg: $p \leq 0.05$、400 mg: $p \leq 0.01$）。また、400 mg 投与群では投与 32 週においても有意（$p \leq 0.01$）な高値が認められ、いずれの例も投与 28 週の測定値より高値を示した。一方、T_4 値は投与 28 週に 400 mg 投与群の雄で有意（$p \leq 0.01$）な低値が認められたが、32 週には回復が認められた。TSH 値については、100 mg 投与群以上で軽度ながら高値傾向がみられ、400 mg 投与群の雌では有意（$p \leq 0.01$）であった。（参照 47）

Chbb: THOM（Wistar）ラット（雌 12 匹、雄 36 匹/対照群、雌 12 匹、雄 12-24 匹/投与群）を用いた強制経口（0、100、400 mg/kg 体重/日）投与による 65 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、T_3 および T_4 および TSH の測定は、投与 28 週に全投与群の雌雄各 12 例について、投与 32、53 および 65 週には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施した。

T_3 値は、投与 28 週に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、その程度には用量相関性が認められた（100 mg: $p \leq 0.05$、400 mg: $p \leq 0.01$）。また、400 mg 投与群では投与 32 週においても有意（$p \leq 0.01$）な高値が認められ、平均値は投与 28 週より高値を示した。投与 53 および 65 週では、いずれも各 1 例に高値が認められた。一方、T_4 値には低値傾向が認められ、400 mg 投与群の雄では投与 28 および 53 週に有意（各々$p \leq 0.01$、$p \leq 0.05$）であった。

TSH 値は、投与 28 週に 100 mg 投与群以上で高値がみられ、400 mg 投与群の雌では有意（$p \leq 0.01$）であった。なお、投与群では対照群に比べて雄で 2.5 倍、雌では 5.7 倍の高値が認められた。投与 32 およ 53 週では 400 mg 投与群の 2 例で高値が認められたが、投与 65 週にはいずれの例においても対照群と同程度の値であった。（参照 48）

Chbb: THOM（Wistar）ラット（雄各 60/群）を用いた強制経口（試験番号 G44：0、200 mg/kg 体重/日、試験番号 G61：0、0.5、2.5 mg/kg 体重/日）投与による 13 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、本試験では高用量試験（G44）および低用量試験（G61）の 2 種類の試験が実施されている。G44 で

はラットにおける発がん性試験で甲状腺に影響（甲状腺腫、甲状腺濾胞の変性、甲状腺の結節性過形成、腺腫性甲状腺腫等）が認められた 200 mg の用量を設定しており、甲状腺の経時的な機能変化ついて確認することを目的としている。一方、G61 で用いている 0.5 および 2.5 mg の用量は、推定臨床用量の各々100 および 500 倍であり、低用量における甲状腺機能への影響確認および NOEL の設定を目的としている。血液生化学検査（TSH および T_4）は、投与 1 週（2 日および 7 日目）、2 週（7 日目）、4、8 および 13 週（各 2 日目）に各群 10 例について実施し、その 2 日あるいは 3 日後に剖検に供した。

本試験期間中、いずれの試験においても被験物質に起因する死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、体重、摂餌量では、いずれの試験においても被験物質による明らかな影響は認められなかった。

血液生化学検査では、G44 の 200 mg 投与群で投与 2 週から TSH の有意な高値が認められたが、試験の経過と共に値は低下し、投与 13 週には回復が認められた。T_4 値は投与 1、2 および 4 週に一過性の低値が認められた。G61 では TSH および T_4 値ともに影響は認められなかった。

臓器重量では、G44 の 200 mg 投与群では、肝臓の絶対・比重量の高値が投与 3、4、8 および 13 週に認められた。また、甲状腺は投与 3 週より高値傾向が認められ、投与 13 週には絶対・比重量に有意な高値が認められた。G61 では異常は認められなかった。

剖検では、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査は実施されていない。（参照 49）

（２）甲状腺機能に関する特殊毒性試験（ヒト）（参照 50）

健常人ボランティア（男女各 3 名）に 0.25 mg/日の錠剤を 1 日 1 回 14 日間経口投与し、T_3、T_4 および TSH の変動について検査した。各項目について投与前 8 週（対照値）、初回投与前および最終投与後の計 3 回測定した結果、甲状腺機能に投与による明らかな影響は認められなかった。

（３）その他の甲状腺機能に関する知見（参照 51,52）

下垂体－甲状腺軸が長期にわたり様々な外来性物質や生理学的な変動により撹乱された場合、ヒトのに比べてラットの甲状腺の方が、慢性的な TSH 刺激反応による増殖性病変の発生率が高いことが報告されている。また、雄ラットでは TSH の血中レベルが雌に比べて高いため、慢性毒性および発がん性試験において種々の薬物や化学物質を投与された場合、濾胞上皮細胞過形成および腫瘍の高い発生率が報告されている。ラットとヒトの間でみられる種差として、ヒトに比べてラットでは T_4 の血漿中半減期が著しく短いこと（ヒト：5-9 日、ラット：12-24 時間）、ヒトでは血中の T_4 は輸送タンパクであるサイロキシン結合グロブリン（TBG）に結合しているが、ラットではこのタンパクは存在せず、プレアルブミンやアルブミンと結合していることが挙げられる。なお、TBG の T_4 に対する結合親和性は、プレアルブミンに比べて約 1,000 倍も高く、ヒトでは未結

合の活性 T_4 の比率はラットに比べて低いことが知られている。

９．ヒトにおける知見について

（１）ヒトボランティア試験（参照 53）

健常なヒトボランティア（男性、19~29 歳、12 名、平均体重 76kg）により、ブロチゾラム（0.1、0.3mg：0.0013、0.0039mg/kg に相当）あるいはフルラゼパム（10mg：0.13 mg/kg に相当）単回経口投与後の脳波および認知・行動について検討されている。

ブロチゾラム 0.1mg、0.3 mg 投与とフルラゼパム 10mg 投与により、投与 1 時間から 6 時間の間に脳波に有意な変化が現れ、その変化は 2 時間後に最も顕著であった。変化としては 8Hz 領域の活性は減少していた。脳波への影響ではブロチゾラム 0.1mg がフルラゼパム 10mg に相当し、さらにブロチゾラム 0.3mg ではこれらのほぼ 3 倍の活性を示した。

脳波測定中に行われた認知機能試験などでもブロチゾラム 0.1mg から影響が認められた。

（２）副作用等について（参照 55,56）

ブロチゾラムはヒト医薬品として睡眠導入、抗不安、催眠鎮静作用を効能として使用されている。重大な副作用として、薬物依存（0.1%未満）、不穏、興奮（0.1%未満）、肝機能障害、黄疸（いずれも頻度不明）が報告されている。また、類薬のベンゾジアゼピン系薬剤の投与では、呼吸抑制が現れることが報告されている。ブロチゾラムの臨床試験および再審査終了時の副作用調査では、調査症例数 6,548 例中、副作用が報告されたのは 256 例（3.91%）であった。主な副作用は、残眠感・眠気 144 件（2.20%）、ふらつき 66 件（1.01%）、頭重感 50 件（0.76%）、だるさ 48 件（0.73%）、めまい 25 件（0.38%）、頭痛 8 件（0.12%）、倦怠感 7 件（0.11%）等であった。就眠時に服用した場合、本剤の作用が翌朝以降に及び、眠気、注意力・集中力・反射運動能力等の低下が起こることがある。また、中枢神経系に対する毒性の強さと発現頻度は、一般に加齢と共に増加することが知られており、高齢者に対しては慎重投与の必要性があるとされている。

妊婦、産婦、授乳婦等、小児等への投与も慎重に投与する必要性があり、特に、妊婦または妊娠している可能性のある婦人には、以下①-③のような報告があることから投与しないことが望ましいとされている。

① 妊娠中にベンゾジアゼピン系化合物の投与を受けた患者の中に奇形を持つ児等の障害児を出産した例が対照群と比較して有意に多いという疫学調査の結果が報告されている。

② 新生児に哺乳困難、筋緊張低下、嗜眠、黄疸の増強等を起こすことがベンゾジアゼピン系化合物（ジアゼパム、ニトラゼパム）で報告されている。

③ 分娩前に連用した場合、出産後新生児に禁断症状（神経過敏、振戦、過緊張等）が現れることがベンゾジアゼピン系化合物（ジアゼパム）で報告されている。

授乳婦への投与は以下に示す④、⑤ような報告があること、また新生児の黄疸を増強する可能性があることから避けることが望ましいが、やむを得ず投与する場合、授乳は

避けさせることになっている。

④　動物実験で乳汁中に移行することが報告されている。

⑤　ヒト母乳中へ移行し、新生児に嗜眠、体重減少等を起こすことが、ベンゾジアゼピン系化合物（ジアゼパム）で報告されている。

低出世体重児、新生児、乳児、幼児または小児に対する安全性は確立されていない。

１０．ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響について

ブロチゾラムに関しては、*in vivo* および *in vitro* において抗菌作用を示唆するデータは得られていない。

Ⅲ．食品健康影響評価

１．亜急性・慢性毒性試験等について

亜急性・慢性毒性試験について、ブロチゾラム投与による影響は、鎮静、運動失調など主に薬理作用に関連していた。ラットにおいて行われた経口投与試験においては、NOAEL が得られている。マウスの 18 ヶ月発がん性試験では 0.3 mg/kg 体重/日以上投与群で鎮静が認められ、サルを用いた 13 週間亜急性毒性試験では、1 mg/kg 体重/日以上投与群で運動失調が認められており、NOAEL は得られなかった。さらに、サルを用いた単回経口投与試験では、0.063mg/kg 体重/日で発声やひっかき行動の減少、怯えや攻撃性の低下を示す例がみられ、NOAEL は得られなかった。この LOAEL（0.063mg/kg 体重/日）は、亜急性・慢性毒性試験で得られた NOAEL 又は LOAEL より低かった。

なお、ブロチゾラムの鎮静作用についての試験は、一般薬理試験でウサギを用いたブロチゾラムの静脈内投与によるウサギの自発脳波に対する影響が確認されており、本試験の NOEL（NOAEL）は 0.001mg/kg 体重/日であった。しかし、投与方法が静脈投与のため、リスク評価にはこの結果を用いるのは適当でないと考えられた。

２．生殖発生毒性試験について（参照 54）

ラットを用いた FDA の 3 節試験及びウサギによる器官形成期投与試験が実施されている。催奇形性についてはラット、ウサギとも認められていない。ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験（第Ⅲ節）では、母動物に対する NOAEL が求められたが、0.05 mg 以上投与群で児（F_1）の生後 21 日の雄児の体重が有意に低かったことから NOAEL が求められていない。他の生殖発生毒性試験では NOAEL が求められているが、周産期及び授乳期投与試験の LOAEL が他の生殖発生毒性試験で求められた NOAEL と同じまたは低いことから、生殖発生毒性試験の評価としては、0.05 mg/kg 体重/日を LOAEL とするのが適当と考えられた。

３．遺伝毒性／発がん性について（参照 51,52,54,55）

遺伝毒性については *in vitro* で Ames 試験、不定期 DNA 合成試験、形質転換試験、遺伝子変換試験、HGPRT 突然変異試験において結果は全て陰性であった。また *in vivo* における染色体異常試験、小核試験及び優性致死試験のいずれも陰性あったことから、ブロチゾラムは遺伝毒性を有さないものと考えられる。

発がん性試験については、マウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験及びラットを用いた 2 年間発がん性試験が実施されている。マウスの試験では、発がん性を示唆する所見は得られなかったが、ラットの試験では、200mg 投与群の雄で甲状腺濾胞腺腫、雌では胸腺型悪性リンパ腫及び子宮における神経鞘腫の有意な発生の増加が認められた。この甲状腺濾胞腺腫の発生増加のメカニズムを検討するため複数の甲状腺機能に関する特殊毒性試験が実施されている。その結果、ラットではブロチゾラムの高用量の投与において甲状腺ホルモン(T_3およびT_4）及び甲状腺刺激ホルモン（TSH）への影響が認められ、TSH の慢性的刺激により、ラットに甲状腺濾胞上皮細胞の増殖性変化を引き起こし、甲状腺濾胞腺腫の発生増加をもたらす可能性が示唆された。

雄のラットで認められた甲状腺濾胞腺腫は、ホルモンバランスの変動が関与している可能性が示唆された。また、雌の子宮で認められた神経鞘腫の発生率増加及び雌の胸腺型の悪性リンパ腫の増加原因については不明ではあるが、ブロチゾラムが遺伝毒性物質ではないこと、マウスについて発がん性を示唆する所見が得られていないこと、及びラットにおいては高用量群にのみ、これら腫瘍性病変の発生の増加が認められていることから、ADI の設定は可能であると考えられた。

４．ヒトにおける影響について（参照 55,56,57）

健常のヒトボランティアにブロチゾラムを単回経口投与し、脳波及び認知・行動検査を行ったところ、0.1mg 投与により脳波及び認知機能試験で影響が確認された。この試験における LOAEL は 0.1mg/ヒト/日（＝0.0013mg/kg 体重/日＝1.3μg/kg 体重/日）であった。

また、ブロチゾラムは既にヒト医薬品として睡眠導入、抗不安、催眠鎮静作用を効能とし使用されている。0.25mg/ヒト/日（ヒト体重を 60kg とすると、0.0042 mg/kg 体重/日）の臨床用量で薬物依存、不穏、興奮等の副作用が報告されている。また、薬理作用である中枢神経系への作用が翌朝以降に及んだ眠気、注意力・集中力・反射運動能力等の低下、妊婦、産婦、授乳婦及び小児等への作用が懸念されている。

５．毒性学的影響のエンドポイントの選択について

各種の毒性試験において、サルを用いた急性毒性試験においては LOAEL が 0.063 mg/kg 体重/日、生殖発生毒性試験では LOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日、ヒトの健常ボランティア試験においての LOAEL は 0.0013 mg/kg 体重/日が得られた。ブロチゾラム投与による影響は、鎮静、運動失調など薬理作用に関連している。これらの影響は、ヒトで最も感受性が高いと考えられ、実験動物から得られた LOAEL はヒト臨床用量より約 40～50 大きい値となっている。

以上のことを踏まえて、ADI を設定するためのエンドポイントとして、ヒトの健常ボランティア試験における LOAEL0.0013 mg/kg 体重/日を採用するのが適当であると考えられる。

6. 一日摂取許容量(ADI)の設定について

ブロチゾラムについては、遺伝毒性を示さないことから ADI を設定することが可能である。

毒性学的試験において、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、ヒトの健常ボランティア試験におけるLOAEL 0.0013mg/kg 体重/日であった。この知見からADIを設定するにあたっては、LOAELからNOAELへの変換10、個体差10 の安全係数100 を考慮し、毒性学的データからはADI は0.013μg/kg 体重/日と設定される。

以上より、ブロチゾラムの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

ブロチゾラム　　0.013 μg /kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

＜別紙１　検査値等の略称＞

ADI	一日摂取許容量
AP	アルカリフォスファターゼ
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
C_{max}	最高血(漿)中濃度
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(→ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
HPLC	高速液体クロマトグラフ
Ht	ヘマトクリット
LD_{50}	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
RBC	赤血球数
RIA	放射免疫測定法(ラジオイムノアッセイ)
$T_{1/2}$	消失相半減期
T_3	トリヨードサイロニン
T_4	サイロキシン
TBG	サイロキシン結合グロブリン
Tcho	総コレステロール
TG	トリグリセリド
TLC	薄層クロマトグラフ法
T_{max}	最高血(漿)中濃度到達時間
TSH	甲状腺刺激ホルモン

＜参照＞

1　ブロチゾラムの物理的化学的性質等に関する資料，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

2　Blood levels and metabolite pattern of [14C]We 941 in mice after a single administration and after 4 weeks of pretreatment with 0.3, 10 and 200 mg/kg，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

3　We 941 BS Carcinogenicity study in mice with oral administration，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

4　吉田 剛，大岩 陽子，小林 捷治，松村 理一郎，公平 宏，^{14}C-ブロチゾラムの吸収、分布および排泄－ラットにおける単回及び連続経口投与後の血中濃度，組織内濃度，尿・糞中排泄および胆汁中排泄，腸肝循環，蛋白結合－，薬理と治療，1985，13(6)，p.3333-3344

5　W.D，Bechtel.，J. Mierau.，I. Richter.，M. Stiasni.，Blood Level，Distribution，Excretion，and Metabolite Pattern of [^{14}C]-Brotizolam in the Rat，Dog，and Rhesus Monkey，Arzneimittelforsch 36，1986，p.568-574

6　W.D，Bechtel.，J. Mierau，K. Brandt，H.J.Forster，K.H.Pook，Metabolic Fate of [^{14}C]-Brotizolam in the Rat，Dog，Monkey and Man，Arzneim-Forsch，1986，36(3a) , p.578-586

7　Synopsis of the pharmacokinetic data on We 941 (brotizolam) in animals and in man，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

8　The metabolism and pharmacokinetics of [^{14}C]-We 941 BS in 3 milking cows，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

9　The residue kinetics of [^{14}C]-We 941 BS in the lactating cow, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

１０　Bechtel, W.D., Kramer, I. and Stiasni, M., Biochemical investigations with [^{14}C]-WE 941 BS in rats. (ADME Ⅰ). Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica, July 1975.

１１　Meirau, J., Biochemical investigations with [^{14}C]-WE 941 BS in monkeys. (ADME Ⅱ). Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica, January 1977.

１２　Bechtel, W.D., Biochemical study of WE 941 BS in man. (ADME Ⅲ, Oral administration.) Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica, Jan. 1978.

１３　SPV-708 の牛における残留試験, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

１４　SPV-708 の牛における畜体残留性試験, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

１５　SPV-708 の搾乳牛における乳汁残留試験, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

１６　SPV-708 の泌乳牛における乳汁中残留性試験, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

１７　We 941 BS Acute toxicity study (LD50) after oral administration to Chbi:NMRI (SPF) mice, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

１８　ラット，マウスにおけるブロチゾラム（We941-BS）の静脈及び腹腔内投与による急性毒性試験，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

１９　Expanded SYNOPSIS of the Toxicological Studies with WE 941 BS (Brotizolam)，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２０　恒成 靖生, Alexander KAST, 本間 征人, 西川 順子, 柴田勉, 矢部 友邦, Brotizolam のラットにおける急性及び亜急性毒性試験，医薬品研究，1985, 16(2) , p.281-293

２１　INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ACUTE ORAL ADMINISTRATION OF WE 941 BS IN CONSCIOUS MONKEYS，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２２　Brotizolam (We 941-BS)，Nitrazepam および Flurazepam のラットにおける 5 週間経口投与による比較経口亜急性毒性試験，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２３　Subacute toxicity study We 941-BS following intravenous administration in beagles -duration 4 weeks-，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２４　Subacute toxicity study of the substance We 941-Bs in rhesus monkeys (Macaca mulatta) following oral administration -Duration 13 weeks-，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２５　Chronic toxicity study of the substance We 941-BS in rats with oral administration -Duration 18 months-, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２６　We 941 BS Carcinogenicity study of 2 years duration in the rat following oral administration, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２７　松尾 朝紀, Alexander KAST, 恒成 靖生, Brotizolam の経口投与による生殖毒性試験　ラットにおける妊娠前・妊娠初期，器官形成期及び周産期・授乳期投与試験並びにウサギにおける器官形成期投与試験, 医薬品研究, 16(4), 1985, p.818-838

２８　Teratogenicity Study of We 941-BS in Rats, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

２９　Teratology Study with Brotizolam (We 941-BS) in Rats Dosed by Gavage during the period of Organogenesis, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３０　Teratogenicity Study of We 941-BS in Rabbits, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３１　Perinatal and Postnatal Investigations of the Substance We 941- BS on Rats (Test No. A 92), ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３２　Perinatal and Postnatal Study of the Compound We 941 BS in Rats, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３３　岩原 繁雄, 坂本 京子, 大岩 陽子, Brotizolam の細菌による遺伝子突然変異試験, 薬理と治療, 1984, 12(1) , p.121-123

３４　Studies on the possible mutagenicity of metabolites in urine of brotizolam (We 941-BS)-treated mice and rats: Testing for point-mutagenic activity with Salmonella typhimurium（未公表）

３５　We 941 BS Unscheduled DNA synthesis assay in human embryonic cells, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３６　We 941 BS: Induction of morphological transformation in C3H/10T1/2 cells, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３７　Mitotic Gene Conversion In Saccharomyces Cervisiae D4, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３８　Determination of mutations at hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase locus in V79 cells: HGPRT test, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

３９　Studies on the possible mutagenicity of highly polar metabolites in blood plasma of brotizolam-treated rats and mice: Testing for point-mutagenic activity with Salmonella typhimurium, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４０　Cytogenetic study in Chinese hamster of We 941-BS, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４１　Expert report on the possible mutagenic activity of the substance “We 941 BS” as evaluated by the micronucleus test, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４２　Study of the mutagenic activity of the substance “We 941 BS” by the dominant lethal test, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４３　Pharmacological Study of Brotizolam: Effect on the cardiovascular function and autonomic nervous system, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４４　Sato Katsuhiko, Matsuda Hiromi, Hayashi Masaaki, Shibuya Takeshi, Pharmacological Studies on Brotizolam, a Thienotriazolodiazepane Derivative with Special Reference to Central Nervous System and General Pharmacology, J.Tokyo.Med.Coll., 1985, 43(4) , p.649-660

４５　Pharmacological Study of Brotizolam: Effect on smooth muscle and other organs, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４６　EEG studies on rabbits with WE 941-BS to determine a “no effect dose “, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４７　The effect of We 941 BS on thyroid hormones.Interim report on a special study in rats, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４８　Effect of We 941 BS on T3, T4 and TSH in the rat, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

４９　Preliminary report on the influence of We 941 BS on certain parameters possibly associated with thyroid function in the rat, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

５０　Lendormin tablets (We 941) Phase III Assessment of thyroxine levels after 14 days' administration of Lendormin in man, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

５１　キャサレット&ドール トキシコロジー 第 6 版,_仮家公夫, 佐藤哲男, 高橋道人, 野口英世 総監訳, 株式会社サイエンティスト社, 東京, 2004, p.827-839

５２　Finch, J.M, Capen, C.C.,; A mode of action for induction of thyroid gland tumors by Pyrethrins in the rat.; Toxicol. Appl. Pharmacol. 2006, 214, p.253-262

５３　M.Fink, M.D, Professor of Psychiatry, Dept. of Psychiatry and Behavioral Science, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料、1981、未公表

５４　EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, BROTIZOLAM, SUMMARY REPORT

５５　日本医薬品集 医療薬 2007 年版, 日本医薬品集フォーラム監修, 株式会社じほう, 東京, 2007, p. 2082-2083

５６　医薬品インタビューフォーム 睡眠導入剤レンドルミン®錠 0.25 mg 第 7 版, 2007

５７　グッドマン・ギルマン薬理書 上 第 10 版, 高折修治, 福田英臣, 赤池昭紀監訳, 廣川書店, 東京, 2003, p. 501-530