

条件：直水路試行 3 試行 / 日, 1 日間
水迷路試行 3 試行 / 日, 3 日間
項目：遊泳時間, エラー回数

生殖機能

10 週齢以降に生殖機能検査用動物について, 各群内で兄妹交配を避けて雄 1 雌 1 の交配対を設け, 14 日間を限度に昼夜同居させた (第 1 次交配). 雌の膣垢を毎日午前中に採取し, 鏡検した. 膣栓あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立と判断し, その日を妊娠 0 日とした. 第 1 次交配の結果, 交尾能に被験物質の影響が認められなかったため, 第 2 次交配は実施しなかった. これらの結果から次の項目を算出した.

交尾所要日数 (第 1 次交配) : 交配開始後, 交尾成立までに要した日数

交尾成立までに逸した発情期の回数

交尾率 (%) : $(\text{交尾動物数} / \text{同居動物数}) \times 100$

受胎率 (%) : $(\text{受胎動物数} / \text{交尾動物数}) \times 100$

妊娠中期帝王切開

妊娠 13 日に卵巢および子宮を摘出し, 黄体数, 着床数, 生存胚数, 死亡胚数 (早期死亡胚数 : 着床痕数 + 胎盤遺残数, 後期死亡胚数 : 浸軟胚数 + 心停止胚数) および胎盤を肉眼的に検査した. また, 肉眼的に着床が認められない動物の子宮は 10 v/v% 硫化アンモニウム水溶液に浸漬し, 着床の有無を確認した. 検査結果に基づき次の項目を算出した.

着床前胚死亡率 (%) : $\{(\text{黄体数} - \text{着床数}) / \text{黄体数}\} \times 100$

着床後胚死亡率 (%) : $\{(\text{早期死亡胚数} + \text{後期死亡胚数}) / \text{着床数}\} \times 100$

総胚死亡率 (%) : $[(\text{黄体数} - \text{着床数}) + \text{早期死亡胚数} + \text{後期死亡胚数}] / \text{黄体数} \times 100$

剖検

離乳時に除外された児動物は生後 21 日, 行動検査用動物は検査終了後にペントバルビタールナトリウム (ネンブタール注射液, 大日本製薬株式会社) の腹腔内投与による麻酔下で開腹し, 腹大動脈の切断・放血により安楽死させた後, 頭部, 胸腔および腹腔内器官・組織を肉眼的に検査した. 生殖機能検査用動物については, 交尾した雌動物を妊娠 13 日, 未交尾動物を交配期間終了後 7 日, 雄は交配対の雌の剖検終了後に, 上記動物と同様に検査した. 死亡した出生児は速やかに剖検した. ただし, 児数調整前は食殺などで検査に耐えない場合を除き外表異常の有無を検査した後, 全身を 10 v/v% 中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した. 異常が認められた器官・組織は 10 v/v% 中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した. なお, 離乳時に除外された児動物の剖検では対照群の代表例雌雄各 3 例の全身, 生後 34 日に人為的操作ミスにより歩行の異常を示した 0.1 mg/kg 群の 1 例の左側前肢を 10v/v% 中性リン酸緩衝ホルマリン液で保存した.

生殖機能検査で交尾あるいは受胎が認められなかった動物の精巣, 精巣上体, 卵巢および子宮を 10 v/v% 中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した. 精巣はブアン液で固定した後, 10 v/v%

中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。生殖機能検査用動物のオープンフィールド試験において、立ち上がり回数の有意な減少が認められたため、以後の検査が可能なように剖検時に全例の脳を摘出し、10 v/v%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。

結果および結論

母動物に対する影響として、一般状態、体重、摂餌量、分娩・哺育状態および剖検所見のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

出生児に対する影響として、オープンフィールド試験において4～5週齢の検査では、被験物質投与群の雄で立ち上がり回数および身繕いまたは洗顔回数の有意な減少、有意な差はなかったものの行動潜時の延長傾向ならびに区画移動数の減少傾向が認められた。この変化が被験物質に起因する変化か否かを確認するため、オープンフィールド試験を実施していない新規の動物を用いて、8～9週齢で追加検査を実施した。その結果、0.3 および 1 mg/kg の雄、0.1 および 0.3 mg/kg 群の雌で立ち上がり回数の有意な減少、有意な差はなかったものの行動潜時の延長傾向が被験物質投与群の雌雄で観察された。ただし、実験動物におけるオープンフィールド試験の結果の解釈については、現在、確定的なものはなく、各測定指標の意味づけや評価方法については今後の議論が待たれる。それ以外、胚の発生および出生児の成長、生後の形態的発育および分化、各種の反射および反応、ローターロッド試験、Beil 型水迷路学習試験、交尾および受胎能ならびに剖検の各検査においては、被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上のように、本試験条件下における母動物の一般毒性学的無影響量 (NOEL) および母動物の機能に対する無影響量 (NOEL) は 1 mg/kg/day、出生児に対しては無影響量 (NOEL) を観察することができなかった。

5.2.3 DPAA ラット出生前後の発生・母動物に関する試験 (低用量追加試験)

コード番号： B-4

試験番号： SBL801-001

DPAA を 0, 0.01, 0.03 および 0.1 mg/kg の用量で SD 系ラット [CrI:CD(SD), SPF] の妊娠 7 日から分娩を経て哺育 20 日まで経口投与し、母体の機能、胚の発生および出生児の発生、成長および行動に及ぼす影響を検討した。各群の妊娠動物数はそれぞれ 24, 24, 21 および 24 匹であった。

群構成

群名	交尾動物数 (妊娠動物数)
対照	24 (24)
0.01 mg/kg	24 (24)
0.03 mg/kg	24 (21)
0.1 mg/kg	24 (24)

F0 母動物の観察・測定項目

一般状態

投与期間は1日2回（投与前，投与後約30分）観察し，他の期間は1日1回午前中に観察した。

体重

妊娠0，7，10，14，17および20日，哺育0，4，7，10，14，17および21日に測定した。測定には動物用天秤（GX-4000，株式会社エー・アンド・デイ）を用いた。また，妊娠期間は妊娠7日，哺育期間は哺育0日の体重を基準に体重増加量を算出した。

摂餌量

妊娠0，7，10，14，17および20日，哺育0，4，7，10，14，17および21日に風袋込み重量を測定し，各測定日間の1匹あたりの1日平均摂餌量を算出した。測定には動物用天秤（GX-4000，株式会社エー・アンド・デイ）を用いた。

分娩および哺育の観察

分娩の観察は妊娠21日から26日まで1日2回（午前および午後）行った。哺育の観察は1日1回とし，授乳，営巣，食殺の有無等を中心に哺育21日まで行った。分娩動物は哺育21日に子宮を摘出して着床数を検査した。これらの検査結果から次の項目を算出した。

妊娠期間：妊娠0日から分娩開始までの日数

出産率（%）：（生存児出産雌数/妊娠雌数）× 100

出生率（%）：（出產生存児数/着床数）× 100

剖検

分娩動物は哺育21日に，ペントバルビタールナトリウム（東京化成工業株式会社）水溶液（6.48 mg/mL，8 mL/kg）の尾静脈内投与により麻酔を行い，放血安楽死後，外表，内部器官および組織を肉眼的に観察し，着床痕数を調べた。

F1 動物の観察・検査項目

児数調整

生後 4 日に原則として 1 腹当り雌雄各 4 匹となるように無作為 (MiTOX システム) に選択した。雌雄どちらかが 4 匹以下の場合は合計匹数を 8 匹とした。同腹児数が 8 匹以下の場合は調整を行わなかった。淘汰児はペントバルビタールナトリウム (東京化成工業株式会社) 水溶液 (6.48 mg/mL, 0.5 mL/body) の腹腔内への過剰量投与により安楽死させた。

離乳時の振り分け

出生児について、生後 21 日に各母動物の出生児のうち、出生児個体番号が若い雌雄それぞれ 2 例ずつ (計 4 例) を離乳させた。この時、動物番号の若い方を 4 週齢時オープンフィールド試験用育成児とし、残りの雌雄各 1 例を 8 週齢時オープンフィールド試験用育成児とした。

観察

出生日に出生児数 (生存児数, 死亡児数), 性別および口腔内を含む外表異常の有無を検査した。その後は一般状態, 死亡の有無等を毎日観察した。出生日, 生後 4 および 21 日の生存児数から, 次の項目を算出した。

出生時生存率 (%) : (出生生存児数 / 出生児数) × 100

4 日生存率 (%) : (生後 4 日の生存児数 / 出生生存児数) × 100

離乳率 (%) : (離乳時の生存児数 / 児数調整後の生存児数) × 100

体重

離乳前は, 全例について出生日, 生後 4, 7, 14 および 21 日に個体ごとに測定した。離乳後は, 行動試験予備検査用育成児について生後 28 日, 35 日, 42 日, 49 日および剖検日に電子天秤 (GX-4000, 株式会社エー・アンド・デイ) を用いて測定した。

オープンフィールド試験

※装置と検査室

装置 : 円形フィールド (60 φ × 50H cm, 25 区画), 円形フィールド中央上部約 80cm の高さに照明を設置した。

検査室 : 消灯した動物のいない検査室

※動物と観察

週 齢 : 4 週齢および 8 週齢 (雌雄)

試行日数 : 1 日

試行回数 : 1 回 (目視検査)

観察時間 : 3 分間 / 試行

観察手順 : 検査対象動物を検査室へ移動させ, フィールド中央区画に置き, 即座にフタをして約 30 秒間放置 (暗順応) した。30 秒後にフタを取り去り, 観察を開始した。3 分間の観察終了ごとにフィールドを十分に清掃し, 糞尿を除去した。

観察項目：行動潜時，区画移動数，立ち上がり回数，身繕いまたは洗顔回数，脱糞数，排尿回数
(目視により検査実施)

剖検

離乳時に除外された児動物は生後 21 日，オープンフィールド試験用動物は検査終了後にペントバルビタールナトリウム(東京化成工業株式会社)水溶液(6.48 mg/mL，離乳時;1 mL/body，行動検査用動物;5 mL/kg)の腹腔内投与により麻酔を行い，放血安楽死後，外表，内部器官および組織を肉眼的に観察した。

異常が認められた器官・組織は 10 vol%中性緩衝ホルマリンに固定し，保存した。

また，4 週齢のオープンフィールド試験において，立ち上がり回数の有意な減少が 0.1 mg/kg 群の雌に認められたため，以後の検査が可能なように剖検時に全例の脳を採取し，重量を測定した。脳重量は電子天秤(HR-200，株式会社エー・アンド・デイ)を用いて測定し，剖検時の体重から相対重量を算出した。脳は 10 v/v%中性緩衝ホルマリン液に保存し，固定した。

結果および結論

母動物に対する影響として，一般状態，体重，摂餌量，分娩・哺育状態および剖検所見のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

出生児に対する影響として，4 週齢のオープンフィールド試験において，0.1 mg/kg 群の雌で立ち上がり回数の有意な減少が認められた。しかしながら，0.1 mg/kg 群の雌では行動潜時，区画移動数，身繕いまたは洗顔回数，脱糞数および排尿回数に有意な差は認められず，0.03 および 0.01 mg/kg 群の雌ならびに雄では，全群においてオープンフィールド試験の検査項目に有意な差は認められなかった。また，8 週齢の検査においても，全群においてオープンフィールド試験の検査項目に被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。先に実施された高用量の試験(B-3 参照)では，4~5 週齢の 0.1 mg/kg 群の雄で立ち上がり回数および身繕いまたは洗顔回数の有意な減少，有意な差はなかったものの行動潜時の延長傾向ならびに区画移動数の減少傾向が，8~9 週齢での検査では 0.3 および 1 mg/kg の雄，0.1 および 0.3 mg/kg 群の雌で立ち上がり回数の有意な減少，0.1 mg/kg 群以上の全群の雌雄で有意な差はなかったものの行動潜時の延長傾向が観察された。これら 2 つの試験のオープンフィールド試験結果を総合的に考えると，これら 2 つの試験(B-3 および B-4)のオープンフィールド試験共通の結果として，0.1 mg/kg/day 以上で DPAA の次世代の行動への影響が認められたことから，0.03 mg/kg/day が無影響量(NOEL)と考えられた。なお，4 および 8 週齢のオープンフィールド試験後に実施した剖検では，いずれの群においても肉眼的異常所見は見出されず，脳重量にも差はなかった。その他，出生児の一般状態および体重推移にも被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から，本試験条件下における母動物の一般毒性学的無影響量(NOEL)および母動物の機能に対する無影響量(NOEL)は 0.1 mg/kg/day 以上，出生児の無影響量(NOEL)は 0.03 mg/kg/day であると考えられた。

5.3 遺伝毒性試験

5.3.1 DPAA 細菌を用いた復帰突然変異試験

コード番号： C-1

試験番号： B041297

ネズミチフス菌株 TA100, TA1535, TA98 および TA1537 ならびに大腸菌株 WP2*uvrA*/pKM101 の 5 菌株を用いる復帰突然変異試験で DPAA の変異原性を調べた。試験は S9 mix 非存在下および存在下でプレインキュベーション法により実施した。

予備試験を 1.22, 4.88, 19.5, 78.1, 313, 1250 および 5000 μg /プレートの 7 用量で実施した結果, S9 mix 非存在下の TA100 および TA1537 において, 5000 μg /プレートの用量で菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの用量においてもプレート上に沈殿物は認められなかった。

これらの結果をもとに, 本試験では以下の用量を設定した。

S9 mix 非存在下： 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 μg /プレート

S9 mix 存在下： 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 μg /プレート

2 回の本試験の結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの試験菌株においても被験物質処理群における復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍未満であった。また, S9 mix 非存在下の TA100 および TA1537 において 2500 μg /プレート以上の用量で菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの用量においてもプレート上に沈殿物は認められなかった。

本試験の陰性 (溶媒) 対照値および陽性対照値は, 当研究所の適正範囲内であった。また, 陽性対照により誘発された復帰変異コロニー数は, S9 mix 非存在下および存在下のいずれの試験菌株においても陰性対照値の 2 倍を超えて増加し, 明らかな陽性結果を示した。従って, 本試験の妥当性が確認された。

以上の結果から, DPAA は本試験条件下において変異原性を有さない (陰性) と結論づけた。

5.3.2 DPAA ほ乳類細胞を用いた染色体異常試験

コード番号： C-2

試験番号： B041298

雌チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 CHL/IU を用い, DPAA の *in vitro* における染色体異常試験を実施した。

短時間処理法 S9 mix 非共存下 (以下-S9 mix) および共存下 (以下+S9 mix) ならびに連続処理法 24 時間処理 (以下 24 時間処理) で 9.8, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を設定して, 細胞増殖抑制試験を実施した。

その結果、50%細胞増殖抑制用量は、-S9 mix で 764 $\mu\text{g/mL}$ 、+S9 mix で 739 $\mu\text{g/mL}$ 、24 時間処理で 193 $\mu\text{g/mL}$ であった。

この結果に基づいて、-S9 mix および+S9 mix では 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 $\mu\text{g/mL}$ 、24 時間処理では 25, 50, 100, 200, 300, 400 $\mu\text{g/mL}$ を設定して、染色体異常試験（本試験）を実施した。

-S9 mix の 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 $\mu\text{g/mL}$ における構造異常細胞の出現頻度は、それぞれ 1.5%, 1.5%, 4.5%, 18.0%, 24.5%, 29.0% であった (D_{20} 値 : 0.93 mg/mL)。これらの用量における細胞増殖率は、それぞれ 106%, 83%, 59%, 51%, 34%, 25% であった。数的異常細胞の出現頻度は、いずれの用量においても 5% 未満であった。

+S9 mix の本試験の 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 $\mu\text{g/mL}$ における構造異常細胞の出現頻度は、それぞれ 2.0%, 1.0%, 4.5%, 10.5%, 21.0%, 31.5% であった (D_{20} 値 : 0.99 mg/mL)。

また、これらの用量における数的異常細胞の出現頻度は、それぞれ 1.0%, 0.0%, 1.5%, 9.5%, 6.5%, 1.5% であった（用量相関性が認められなかったため、 D_{20} 値は算出しなかった）。これらの用量における細胞増殖率は、それぞれ 106%, 85%, 75%, 67%, 38%, 28% であった。

この結果に基づいて、+S9 mix について 600, 800, 1000, 1200 $\mu\text{g/mL}$ で確認試験を実施した。その結果、各用量における構造異常細胞の出現頻度は、それぞれ 2.5%, 4.0%, 20.0%, 39.0% であった (D_{20} 値 : 0.92 mg/mL)。また、これらの用量における数的異常細胞の出現頻度は、それぞれ 5.5%, 3.5%, 4.0%, 2.0% であった（用量相関性が認められなかったため、 D_{20} 値は算出しなかった）。これらの用量における細胞増殖率は、それぞれ 70%, 55%, 35%, 18% であった。以上の確認試験結果により、本試験の再現性が示されたものと判断した。

24 時間処理の 25, 50, 100, 200, 300 $\mu\text{g/mL}$ における構造異常細胞の出現頻度は、それぞれ 1.0%, 2.0%, 2.5%, 13.5%, 33.1% であった (D_{20} 値 : 0.11 mg/mL)。これらの用量における細胞増殖率は、それぞれ 94%, 87%, 81%, 50%, 37% であった。なお 300 $\mu\text{g/mL}$ の標本については、細胞毒性のために、観察可能な分裂中期像が、一方のプレートでは 70 個、もう一方のプレートでは 72 個しか得られなかった。また 400 $\mu\text{g/mL}$ （細胞増殖率 22%）の標本については、細胞毒性のために標本観察が不可能であった。数的異常細胞の出現頻度は、いずれの用量においても 5% 未満であった。

以上の結果より、DPAA は、当試験条件下において CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性を中程度有すると結論づけた。

5.3.3 DPAA ラット小核試験

コード番号 : C-3

試験番号 : B041300

雌雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF, 7 週齢] を用いて DPAA のラット骨髓細胞における小核誘発性の有無を検討した。

予備試験の結果、DPAA 投与により雄で 40 mg/kg 以上の群、雌で 80 mg/kg 以上の群に死亡が

認められた。毒性発現に性差が認められたため、本試験についても雌雄で実施した。すなわち、雄では高用量を予備試験で死亡のみられなかった最高用量の 20 mg/kg, 中用量を 10 mg/kg および低用量を 5 mg/kg の 3 用量を、雌では高用量を予備試験で死亡のみられなかった最高用量の 40 mg/kg, 中用量を 20 mg/kg および低用量を 10 mg/kg の 3 用量を、ならびに媒体（局方注射用水, pH を 0.1 mol/L NaOH 溶液を用いて pH 7.23 に調整したもの）を 1 群 5 匹の動物に、24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。また、陽性対照物質 (Cyclophosphamide monohydrate, CP) については単回腹腔内投与した。最終投与後 24 時間に骨髓細胞を採取し、1 匹あたり 2000 個の多染性赤血球 (PCE) を数えて、小核をもつ PCE (MNPCE) の出現数を求めた。また、赤血球 1000 個あたりの PCE の割合を調べて、骨髓造血機能の指標とした。

その結果、雄では、10000 個の PCE 中 (2000 個×5 匹/群) の MNPCE 出現数は、陰性対照群で 13 個、被験物質群では 5, 10 および 20 mg/kg でそれぞれ 13, 10 および 14 個であり、陰性対照群と比較していずれも有意差はみられなかった。また、全赤血球中の PCE の割合は、被験物質投与群の 5, 10 および 20 mg/kg でそれぞれ 52.0 ± 2.3 , 48.6 ± 4.9 および $51.0 \pm 3.0\%$ で、陰性対照群の $51.8 \pm 2.4\%$ と比較して有意差はみられなかった。一方、陽性対照群では、MNPCE 出現数は 274 個であり、陰性対照群と比較して有意な高値 ($p < 0.01$) を示した。PCE の割合 ($49.2 \pm 3.4\%$) は、陰性対照群と比較して有意差はみられなかった。

雌では、10000 個の PCE 中 (2000 個×5 匹/群) の MNPCE 出現数は、陰性対照群で 18 個、被験物質群では 10, 20 および 40 mg/kg でそれぞれ 8, 13 および 13 個であり、陰性対照群と比較していずれも有意差はみられなかった。また、全赤血球中の PCE の割合は、被験物質投与群の 10, 20 および 40 mg/kg でそれぞれ 43.8 ± 6.0 , 44.5 ± 1.9 および $36.5 \pm 7.4\%$ で、陰性対照群の $51.5 \pm 1.2\%$ と比較して有意な低値 (10 mg/kg は $p < 0.05$, 20 および 40 mg/kg は $p < 0.01$) を示し、骨髓造血機能の抑制がみられた。一方、陽性対照群では、MNPCE 出現数は 219 個であり、陰性対照群と比較して有意な高値 ($p < 0.01$) を示した。PCE の割合 ($43.5 \pm 3.1\%$) は、陰性対照群と比較して有意な低値 ($p < 0.01$) を示し、骨髓造血機能の抑制がみられた。

陰性対照群の各個体における MNPCE 出現頻度および PCE の割合は、いずれも試験施設の背景値の範囲の値であり、陽性対照群では有意で明らかな小核誘発がみられ、背景値の範囲内の値を示したことから、本試験は適切に実施されたと判断した。

以上の結果から、DPAA は本試験条件下で陰性と判定され、ラット骨髓細胞における小核誘発性を有さないものと結論づけた。

5.4 薬物動態試験

5.4.1 ^{14}C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の血液・血漿中濃度試験

コード番号： D-1

試験番号： B041305

^{14}C 標識 DPAA (^{14}C -DPAA) を雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に非絶食条件下、各群 3 匹ずつ単回経口 (0.1, 0.3 および 1 mg/kg) および静脈内 (0.1 mg/kg) 投与し、血液、血漿中放射能濃度推移および吸収性を検討した。また、同様に雌ラットに 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与し、血液および血漿中放射能濃度推移における性差を検討した。

雄ラットに 0.1, 0.3 および 1 mg/kg の用量で経口投与したとき、血液および血漿中放射能濃度は投与量に比例して増加し、最高濃度 (C_{\max}) および濃度・時間曲線下面積 (AUC_{0-t}) は、いずれにおいても投与量に比例して増加した。また、投与量による消失速度の大きな変化がないことから、0.1~1 mg/kg の投与量範囲においては ^{14}C -DPAA の体内動態は大きく変動しないことが示唆された。なお、血漿中放射能濃度の検出限界まで低下する時間の違いは投与放射エネルギーの違いに由来するものであり、体内動態の変動ではないと考える。

経口投与したときの血液中放射能濃度は投与後約 4~8 時間に最高濃度に到達し、血漿中放射能濃度は投与後 30 分に最高濃度に到達した。その後、放射能濃度は経時的に低下し、血漿中放射能濃度は 0.1 mg/kg では投与後 48 時間、0.3 mg/kg では投与後 96 時間でそれぞれ検出限界未達となったが、血液中放射能濃度の低下は血漿中放射能濃度に比べ緩徐であり、いずれの投与量においても最終測定時点 (投与後 168 時間) まで血液中放射能濃度は測定された。

さらに、静脈内投与時においては、血漿中放射能濃度は最初の測定時点である投与後 5 分以降低下し、投与後 72 時間で検出限界未達となったが、血液中放射能濃度は投与後 6 時間までほぼ一定に推移し、血漿中放射能濃度との乖離は経時的に大きくなった。

雄ラットにおける吸収率 (F) を経口投与時と静脈内投与時の $\text{AUC}_{0-\infty}$ の比率から算出した結果、血液中放射能濃度の場合は約 84~96%、血漿中放射能濃度の場合は約 72~77%であり、 ^{14}C -DPAA の経口吸収性は比較的高いことが示唆された。

また、雌ラットに 0.3 mg/kg 経口投与したときの血液および血漿中放射能濃度推移は雄ラットの場合とほぼ同様であり、ラットにおいては ^{14}C -DPAA の体内動態に性差はないものと考えられた。

5.4.2 ^{14}C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の体内分布試験

コード番号： D-2

試験番号： B041306

^{14}C 標識 DPAA (^{14}C -DPAA) を 8 週齢の雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に非絶食条件下 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の体内分布について組織中放射能濃度の測定 (組織摘出法) および全身オートラジオグラフィ (ARG) により検討した。組織

摘出法では各群 3 匹および ARG では各群 1 匹の動物を用いて評価した。

^{14}C -DPAA を雄ラットに経口投与したとき、放射能はほぼ全身に分布し、大脳、小脳、延髄および坐骨神経を除く大部分の組織中放射能濃度は、投与後 0.5 または 4 時間に最高値を示し、その後は経時的に低下した。投与部位である胃を除き、特に高い放射能濃度を示した組織は腎臓 (1034.2 ng eq/g, 投与後 0.5 時間) であった。放射能分布率では、消化管内容物を除くと血液、骨格筋、小腸、肝臓および皮膚で比較的高く、これらの組織においては投与量の 3% 以上の放射能が認められた。

大脳、小脳、延髄および坐骨神経への放射能の移行は緩徐であり、投与後 24 時間に最高値 (それぞれ 60.2, 60.1, 68.4 および 37.6 ng eq/g) を示した。投与後 24 時間における放射能分布率としては、大脳、小脳および延髄において投与量のそれぞれ 0.102, 0.020 および 0.016% であった。その後、放射能濃度は緩徐に低下し、投与後 168 時間において、大脳 (12.9 ng eq/g)、小脳 (11.6 ng eq/g) および延髄 (14.9 ng eq/g) では各最高値の約 20%、坐骨神経 (14.5 ng eq/g) では最高値の約 40% の放射能濃度が認められた。また、皮膚からの放射能の消失も緩やかであり、投与後 168 時間において最高値 (56.0 ng eq/g) の約 20% の放射能濃度 (10.5 ng eq/g) が認められた。一方、他の組織においては、投与後 168 時間までに放射能濃度は最高濃度の 10% 以下、または検出限界未満まで低下していた。

全身 ARG においても組織摘出法による放射能分布の結果とほぼ同様の傾向が示された。投与後 0.5 および 4 時間においては全身に放射能が認められ、特に消化管内容物、次いで腎臓に顕著であった。その後は、全身の放射能は経時的に低下し、投与後 168 時間においては脳および脊髄に微量の放射能が認められたが、他の組織には放射能は検出されなかった。

以上の結果から、全身の組織に分布した放射能は経時的に低下し、大部分については体外に排泄されるが、一部の組織においては低下が緩徐であり、特に中枢・末梢神経系において顕著であることが示唆された。

また、 ^{14}C -DPAA の血球成分への移行または結合性は高いことが推察された。

5.4.3 ^{14}C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の排泄・体内残留性試験

コード番号： D-3

試験番号： B041307

^{14}C 標識 DPAA (^{14}C -DPAA) を雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に非絶食条件下、各群 3 匹ずつ単回経口 (0.3 mg/kg) および静脈内 (0.1 mg/kg) 投与したときの放射能の尿、糞、呼気中排泄および体内残留性について検討した。

経口および静脈内投与したときの投与後 168 時間までの総排泄率は、それぞれ投与量の 99.5% および 102.7% であった。いずれの投与経路においても投与量の約 100% が排泄されており、投与された ^{14}C -DPAA は大部分が体外に排泄されることが示された。投与後 168 時間におけるカーカス中の残存放射能は、経口投与の場合は投与量の 0.7%、静脈内投与の場合は 0.8% であった。

静脈内投与したとき、 ^{14}C -DPAA は尿中に投与量の 63.0%の放射能が排泄され、吸収された ^{14}C -DPAA の主排泄経路は尿中排泄であることが示された。また、糞中に投与量の 38.0%の放射能が排泄されたことから、 ^{14}C -DPAA の排泄には胆汁排泄が関与することが示唆された。

^{14}C -DPAA の吸収率は 76.5%【経口投与時の尿中総排泄率 (48.2%) / 静脈内投与時の尿中総排泄率 (63.0%) \times 100%】と推定された。

さらに、投与後 24 時間までに経口投与の場合は投与量の 77.7%、静脈内投与の場合は 83.0% の放射能がそれぞれ排泄されており、 ^{14}C -DPAA の排泄は比較的速やかであると考えられた。

5.4.4 ^{14}C 標識 DPAA を用いた *in vitro* 代謝試験

コード番号： D-4

試験番号： B041308

ヒトおよびラットの肝ミクロソームおよび肝細胞を用いて ^{14}C 標識 DPAA (^{14}C -DPAA) を最終濃度として 10 $\mu\text{mol/mL}$ および 100 $\mu\text{mol/mL}$ で 1 時間 *in vitro* 反応し、代謝物を HPLC により検索した。

in vitro 反応後の反応液を HPLC で分析した結果、いずれの反応液においても ^{14}C -DPAA の保持時間と一致する放射能ピークが 99.6%以上で検出され、モノフェニルアルソン酸 (MPAA) の保持時間と一致する放射能ピークが最大で 0.5%検出された。*in vitro* 反応に用いた基質溶液を分析した結果、MPAA の保持時間と一致する放射能ピークが 0.5%確認され、反応液の分析で検出された MPAA は基質中に含まれていたと考えられた。以上の結果から、肝ミクロソームおよび肝細胞の *in vitro* 反応では ^{14}C -DPAA は代謝を受けず、さらに、種差および反応液中の ^{14}C -DPAA 濃度による代謝の差はないことが示唆された。

5.4.5 ^{14}C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の胎盤・胎児移行性試験

コード番号： D-5

試験番号： B050299

^{14}C 標識 DPAA (^{14}C -DPAA) を SD 系妊娠ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の胎盤・胎児移行性を組織中放射能濃度の測定 (組織摘出法) および全身オートラジオグラフィ (ARG) により検討した。組織摘出法では各群 3 匹および ARG では各群 1 匹の動物を用いて評価した。

^{14}C -DPAA を妊娠ラットに経口投与したとき、放射能はほぼ全身に分布し、母動物の脳、小脳、延髄、脊髄および胎児の血液、脳においては、投与後 24 時間で最高濃度を示し、その他の組織においては投与後 0.5 時間で最高濃度を示した。特に高い放射能濃度を示した組織は母動物の腎臓であった。投与後 0.5 および 24 時間における血漿、血液、腎臓、肝臓、脳等の主要な組織中放射能濃度および放射能の血球移行率は、雄性ラットの場合 (D-2 参照) と

ほぼ同様であり、DPAA の分布には、性差または妊娠による大きな変動はないことが示唆された。

胎盤中放射能濃度は投与後 24 および 48 時間においては血漿中放射能濃度より高い値を示したが、いずれの測定時点においても血液中放射能濃度よりは低く、胎盤への DPAA の分布は特に高くないことが示唆された。また、胎児全身および組織中濃度は胎盤中放射能濃度と同レベルまたはそれ以下であり、妊娠後期において DPAA の母動物から胎児への移行は胎盤により制限されていることが推察された。

胎児脳濃度は母動物の中樞神経系の場合と同様に投与後 24 時間で最高値となり、胎児においても DPAA の中樞神経系への移行は緩徐であることが示唆された。一方、母動物における血液中濃度に対する脳濃度は約 52% (大脳) であるが、胎児における血液中濃度に対する脳濃度は約 23% と母動物に比べ低く、胎児においては DPAA の中樞神経系への移行性は低いことが推察された。

また、乳腺、卵巣および子宮中放射能濃度は血液中放射能濃度より低く、妊娠後期の母動物において DPAA の乳腺、卵巣および子宮への分布の程度は低いことが示唆された。

5.4.6 ^{14}C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の乳汁移行性試験

コード番号： D-6

試験番号： B050300

^{14}C 標識 DPAA (^{14}C -DPAA) を哺育中の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に各群 3 匹ずつ 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与し、放射能の乳汁移行性を検討した。

血漿中放射能濃度の最高値 (C_{\max}) は 70.1 ng eq/mL (最高濃度到達時間, t_{\max} : 2.0 hr) であった。その後、投与後 8 時間以降投与後 24 時間には 5.5 ng eq/mL まで低下し、投与後 48 時間には 1.2 ng eq/mL まで低下した。投与後 8 時間以降の消失半減期 ($t_{1/2}$) は 9.6 hr であり、濃度・時間曲線下面積 (AUC_{0-t} および $\text{AUC}_{0-\infty}$) はそれぞれ 575.7 および 592.0 ng eq·hr/mL であった。

乳汁中放射能濃度は投与後 4~8 時間まではほぼ同程度のレベルで推移し、 C_{\max} は 15.6 ng eq/mL (t_{\max} : 6.7 hr) であった。その後、投与後 24 時間には 4.9 ng eq/mL まで低下し、投与後 48 時間には 0.9 ng eq/mL まで低下した。投与後 8 時間以降の $t_{1/2}$ は 9.8 hr であり、 AUC_{0-t} および $\text{AUC}_{0-\infty}$ はそれぞれ 321.1 および 333.9 ng eq·hr/mL であった。

血漿中放射能濃度に対する乳汁中放射能濃度の比率は、投与後 8 時間までは経時的に上昇したが、それ以降はほぼ一定 (0.8~0.9) であり、乳汁中放射能濃度は血漿中放射能濃度とほぼ同程度の $t_{1/2}$ で減衰した。また、乳汁中放射能濃度の $\text{AUC}_{0-\infty}$ は血漿中放射能濃度の $\text{AUC}_{0-\infty}$ の約 56% であった。以上の結果から、 ^{14}C -DPAA を単回経口投与したとき、乳汁中に放射能は特に残留しないことが推察された。