

(粘膜固有層、粘膜下)、球状白血球の浸潤(粘膜表面～頸部)及び表面上皮細胞及び副細胞数の増加、粘膜固有層うっ血(局所)、表面上皮細胞再生がみられた。また、6250mg/kg/日群では、腺胃の胃小窩萎縮(局所)、壁細胞/主細胞壊死(局所)がみられた。胃局所での変化は用量が高くなるに従い変化の程度が増強し、用量依存性がみられた。以上の前胃及び腺胃における組織学的変化は、胃粘膜に対する刺激による変化及び刺激に対する反応性の変化であると考えられた。

投与期間中にみられた変化は、4週間の休薬により完全に回復するか、回復傾向がみられるものであった。

TKでは、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} は雌雄共に投与量の増加に伴い増加する傾向がみられたが、用量比より小さな増加であり、雌雄差はみられなかった。また、 T_{max} では用量及び雌雄差による明らかな変化はみられなかった。

[結論]

ピルビン酸ナトリウムをラットに4週間反復経口投与したとき、いずれの群でも全身性の変化はみられなかった。被験物質投与群で胃局所の変化が用量依存的に増強してみられ、被験物質の刺激性によって引き起こされたか、あるいは刺激性に対して反応性に引き起こされたと考えられた。胃局所の変化は、4週間の休薬期間により回復傾向が確認された。

表 5-3 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験の成績

項目		SD系ラット [CrI:CD (SD)], 投与開始時6週齢、雌雄				
動物種(系統)、週齢、性別		1日1回、4週間、経口投与、10 mL/kg				
投与方法		1日1回、4週間、経口投与、10 mL/kg				
投与量 (mg/kg/日)		0*1	1000	2500	6250	
動物数 (雄/雌) (休薬動物数)		10/10 (6/6)	10/10	10/10	10/10 (6/6)	
トキシコキネティクス*2	0日	AUC_{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	561/561	509/591	762/691
		C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	27.6/32.1	28.6/34.3	39.4/39.2
		T_{max} (h)	-/-	2.3/5.7	4.0/5.7	5.3/4.3
	27日	AUC_{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	310/499	380/700	513/602
		C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	22.2/25.6	28.3/40.0	30.8/40.6
		T_{max} (h)	-/-	0.8/6.0	1.0/2.0	4.3/3.3
死亡動物		0/0	0/0	0/0	0/0	
FOB		-	-	-	-	
一般状態		-	-	-	-	
体重		-	-	-	-	
体重増加量	投与期間	-	-	-	雄↓ (Day 3)	

	休薬期間	-	NA	NA	雄↓ (Day 6) 雌↓ (Day 6, 13, 20)
摂餌量測定	投与期間	-	-	-	雄↓ (Day 12)
	休薬期間	-	NA	NA	-
眼検査		-	-	-	-
尿検査	投与期間	-	-	雌雄：ナトリウム↑ 雄：カリウム↓, 塩素↓	
				-	雄：pH↓ 雌：カリウム↓ 塩素↓
休薬期間		-	NA	NA	-
血液学的検査		-	-	-	-
血液生化学的検査	EDA*3	-	-	雌雄：ナトリウム↓, カリウム↓, 塩素↓ 雌：γ-グロブリン↓	
				雌雄：総蛋白↓ グロブリン↓ 雄：尿素窒素↑ 雌：カルシウム↓	
ERC*3		-	NA	NA	-
剖検	EDA*3	-	-	-	雄：赤色巢 (胃)
	ERC*3	-	NA	NA	-
器官重量	EDA*3	-	-	雌雄：腎臓↑	
	ERC*3	-	NA	NA	雌雄：腎臓↑
病理組織学的検査	EDA*3	-	-	胃 (前胃) : 境界縁扁平上皮過形成 (雌雄) 境界縁扁平上皮空胞変性 (雌) 胃 (腺胃) : 好酸性細胞浸潤 (粘膜固有層, 粘膜下) (雌雄) 球状白血球浸潤 (粘膜表面~頸部) (雌雄) 表面上皮細胞及び副細胞数の増加 (雌雄) 粘膜固有層うっ血 (局所) (雄) 表面上皮細胞再生 (雄)	
				胃 (前胃) : 境界縁扁平上皮空胞変性 (雄) 粘膜固有層うっ血 (局所) (雌) 表面上皮細胞再生 (雌)	

	ERC*3	—	NA	NA	胃（前胃）： 境界縁扁平上皮空 胞変性（雌雄） 胃（腺胃）： 好酸性細胞浸潤 （粘膜固有層，粘 膜下）（雄） 球状白血球浸潤 （粘膜表面～頸 部）（雌雄）
--	-------	---	----	----	--

*1：注射用水、*2：各ポイント雌雄各3例

*3：EDA：投与期間終了時剖検例、ERC：休薬期間終了時剖検例

—：特記すべき所見なし、↓↑：有意な変化（ $p < 0.05$ または $p < 0.01$ ）、NA：Not applicable

5.3.3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性及び 4 週間回復性試験

[SBL743-031]

[目的]

ピルビン酸ナトリウムをラットに毎日 1 回 13 週間反復経口投与したときの毒性変化を調べるとともに、4 週間の休薬期間を設け、その回復性についても検討する。また、そのときの全身曝露についても評価する。

[方法]

ピルビン酸ナトリウムの 0 (対照群)、1000、2500 及び 6250 mg/kg/日を SD ラット (CrI:CD (SD)、雌雄各 10 匹/群) に 13 週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科的検査、尿検査を行うとともに、投与終了後に血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を行った。また、投与終了後 4 週間の休薬期間を設け、上記と同じ検査を行ない回復性について検討した。さらに、塩化ナトリウム投与との比較を行うため、塩化ナトリウムの 3375 mg/kg/日 (投与 7 週目からは 2700 mg/kg/日) をピルビン酸ナトリウムと同様の方法で投与し、検査を行った。

また、全身曝露評価のため、ピルビン酸ナトリウム投与群及び対照群にサテライト群をそれぞれ設けた (雌雄各 3 匹/群)。なお、対照群には注射用水を被験物質群と同様の方法で投与した。

[成績]

試験成績の概要を表 5-4 及び 5-5 に示した。ピルビン酸ナトリウム投与群では、いずれの群にも投与期間中の死亡はなく、一般状態、体重、摂餌量及び眼検査ではピルビン酸ナトリウム投与の影響と考えられる所見はみられなかった。塩化ナトリウム投与群では、呼吸音の異常や自発運動の減少、赤色鼻汁痕がみられ、投与 33 日目以降に雄 3 例、雌 7 例が死亡した。

尿検査及び血液生化学的検査では、ピルビン酸ナトリウム投与群及び塩化ナトリウム投与群各群で電解質の変動が散見されたが、被験物質の大量投与または被験物質投与により引き起こされた飲水量及び尿量の増加に伴い発生した二次的变化であると考えられ、毒性学的な意義はないと判断した。

血液学的検査において、ピルビン酸ナトリウムの 6250 mg/kg/日群で血小板数の高値がみられ、塩化ナトリウム投与群で赤血球数及びヘマトクリットの低値がみられたが、病理組織学的検査において、胃でのびらんなどがみられていることから、これらの変化に起因すると考えられた。

血液生化学的検査では、アルブミン及びグロブリン濃度の低値を伴う総蛋白の低値が 2500 及び 6250 mg/kg/日群でみられ、塩化ナトリウム投与群でも同様の変化がみられたが、

肝臓及び免疫系の異常を示す変化はほとんどみられておらず、変動幅もわずかであることから、毒性学的な意義は少ないと判断した。

器官重量では、2500 及び 6250 mg/kg/日群及び塩化ナトリウム投与群の雌雄で腎臓重量の高値がみられたが、基質的变化を伴わない軽度な変化であり、尿量の増加に伴い発生した二次的变化であると考えられ、毒性学的な意義はないと判断した。

剖検では、6250 mg/kg/日群の 4 例で腺胃の赤色巣がみられ、塩化ナトリウム投与群では腺胃の赤色巣が 2 例のみみられた。また、塩化ナトリウム投与群の死亡例では、肺の暗赤色巣、暗赤色化がみられ、胃の拡張、腺胃の赤色巣、白色巣、陥凹巣が散見された。

病理組織学的検査では、被験物質投与及び塩化ナトリウム投与各群で前胃の境界縁において扁平上皮の過形成、腺胃の好酸性細胞浸潤（粘膜固有層、粘膜下）、球状白血球の浸潤（粘膜表面～頸部）及び表面上皮細胞及び副細胞数の増加、粘膜固有層うっ血（局所）、表面上皮細胞再生、表面上皮細胞萎縮、副細胞内の好酸性顆粒がみられた。また、6250mg/kg/日群では、腺胃の表面上皮壊死がみられた。胃局所での変化は用量が高くなるに従い変化の程度は増強しており、用量依存性がみられた。

以上の前胃及び腺胃における組織学的変化は、胃粘膜に対する刺激による変化及び刺激に対する反応性の変化であると考えられ、4 週間投与試験と比較して、わずかに増強する傾向がみられた。

死亡例では、上記の病理組織の変化に加え、気管の粘膜の水腫が認められた。投与期間中にみられた変化は、4 週間の休薬により完全に回復するか、回復傾向がみられるものであった。

ピルビン酸ナトリウム投与群でみられた変化は塩化ナトリウム投与群でも確認され、変化は塩化ナトリウム投与群のほうが強い傾向がみられた。

TK では、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} は雌雄共に投与量の増加に伴い増加する傾向がみられたが、用量比より小さな増加であり、雌雄差はみられなかった。また、 T_{max} では用量及び雌雄差による明らかな変化はみられなかった。さらに、4 週間投与試験と比較して、血漿中濃度に明らかな変化はみられなかった。

[結論]

ピルビン酸ナトリウムをラットに 13 週間反復経口投与したとき、いずれの群でも全身性の変化はみられなかった。被験物質投与群で胃局所の変化が用量依存的に増強してみられ、被験物質の刺激性によって引き起こされたか、あるいは刺激性に対して反応性に引き起こされたと考えられた。これらの変化は投与期間の延長に伴い、わずかに増強する傾向がみられた。胃局所の変化は、4 週間の休薬期間により回復傾向が確認された。

塩化ナトリウム (3375 mg/kg/日) の 13 週間投与では、呼吸音の異常などがみられ、投与 33 日目以降に死亡が発現した。死亡例の病理組織学的検査では気管の粘膜の水腫がみられ

ていることから、被験物質の刺激に伴う変化の可能性が考えられた。その他の胃の変化については死亡例では変化が増強しているものの、その他の動物では投与期間の延長に伴う明らかな違いはみられなかった。

表 5-4 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験の成績（ピルビン酸ナトリウム）

項目		SD 系ラット [CrI:CD (SD)], 投与開始時 6 週齢、雌雄				
動物種 (系統)、週齢、性別		SD 系ラット [CrI:CD (SD)], 投与開始時 6 週齢、雌雄				
投与方法		1 日 1 回、13 週間、経口投与、10 mL/kg				
投与量 (mg/kg/日)		0*1	1000	2500	6250	
動物数 (雄/雌) (休薬動物数)		10/10 (6/6)	10/10	10/10	10/10 (6/6)	
トキシコキネティクス*2	0 日	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	347/378	440/578	598/647
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	20.1/22.1	25.2/32.1	34.7/39.3
		T _{max} (h)	-/-	3.1/2.0	4.7/5.3	4.0/3.3
	90 日	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	456/469	521/632	615/738
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	24.3/30.5	31.2/41.4	32.0/41.9
		T _{max} (h)	-/-	2.3/1.3	4.0/1.1	6.7/2.2
死亡動物		0/0	0/0	0/0	0/0	
一般状態		-	-	-	-	
体重		-	-	-	-	
体重増加量		-	-	-	-	
摂餌量測定		-	-	-	-	
眼検査		-	-	-	-	
尿検査	投与期間	-	-	雄：カリウム↓，塩素↓ 雌：カリウム↓， 塩素↓	雄雌：ナトリウム↑， 尿量↑ 雄：尿比重↓	
	休薬期間	-	NA	NA	-	
血液学的検査	EDA*3	-	-	-	雌：血小板↑	
	ERC*3	-	NA	NA	-	
血液生化学的検査	EDA*3	-	-	雄：ナトリウム↓	雄雌：尿素窒素↑	
				雄：カルシウム↓，カリウム↓，塩素↓， 総蛋白↓，アルブミン↓ 雌：ナトリウム↓，グロブリン↓		

					雄雌: a1-グロブリン↓, アルブミン↓ 雄: 尿素窒素↑, グロ ブリン↓, クレアチニ ン↓ 雌: 総蛋白↓, カルシ ウム↓, カリウム↓, 塩素↓	
	ERC*3	-	NA	NA	-	
剖検	EDA*3	-	-	-	雄: 赤色巣 (胃)	
	ERC*3	-	NA	NA	-	
器官重量	EDA*3	-	-	雌雄: 腎臓↑		
	ERC*3	-	NA	NA	-	
病理組織学的検 査	EDA*3	-	胃 (前胃) :			境界縁扁平上皮過形成 (雌雄)
			胃 (腺胃) :			好酸球浸潤 (粘膜固有層, 粘膜下) (雌雄)
			球状白血球浸潤 (粘膜表面~頸部) (雌雄)			表面上皮細胞数及び副細胞数の増加 (雌雄)
			副細胞内好酸性顆粒 (雄)			
			胃 (腺 胃) :	胃 (腺胃) :	副細胞内好酸性顆粒 (雌)	
			表面上 皮再生 (雄)			
					胃 (前胃) :	
					境界縁扁平上皮のう 胞 (雄)	
					胃 (腺胃) :	
					表面上皮萎縮 (雄)	
					表面上皮再生 (雌雄)	
					表面上皮壊死 (雄)	
					粘膜固有層うっ血 (局所) (雌雄)	
					肝臓 :	
					多巣性肝細胞壊死 (雌)	

	ERC*3	-	NA	NA	<p>胃（腺胃）：</p> <p>好酸球浸潤（粘膜固有層，粘膜下）（雌雄）</p> <p>副細胞内好酸性顆粒（雌雄）</p> <p>球状白血球浸潤（粘膜表面～頸部）（雌雄）</p> <p>表面上皮細胞数及び副細胞数の増加（雌雄）</p> <p>肝臓：</p> <p>多巢性肝細胞壊死（雌雄）</p> <p>褐色色素含有クッパー細胞（雌）</p>
--	-------	---	----	----	--

*1：注射用水

*2：各ポイント雌雄各3例

*3：EDA：投与期間終了時剖検例、ERC：休薬期間終了時剖検例

-：特記すべき所見なし

↓↑：有意な変化（ $p < 0.05$ または $p < 0.01$ ）

NA：Not applicable

表 5-5 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験の成績 (塩化ナトリウム)

項目		
動物種 (系統)、週齢、性別	SD 系ラット [CrI:CD (SD)], 投与開始時 6 週齢、雌雄	
投与方法	1 日 1 回、13 週間、経口投与、10 mL/kg	
投与量 (mg/kg/日)	3375 ⇒ 2700 (投与 7 週目より)	
動物数 (雄/雌) (休薬動物数)	16/16 (0/0)	
死亡動物	3/7	
一般状態	呼吸音の異常 (雌雄) 自発運動の減少, 赤色鼻汁痕 (雌)	
体重	雄 ↓	
体重増加量	-	
摂餌量測定	-	
眼検査	-	
尿検査	雌雄: 尿量 ↑, ナトリウム ↑, 塩素 ↑, 尿比重 ↓, カリウム ↓	
血液学的検査	雄: RBC ↓, MCV ↑, MCH ↑ 雌: ヘマトクリット ↓	
血液生化学的検査	雌雄: 総蛋白 ↓, アルブミン ↓, グロブリン ↓, ナトリウム ↓, 塩素 ↓, カルシウム ↓	
剖検	EDA*1	雄: 赤色巢 (腺胃)
	MOR*1	雌雄: 暗赤色化, 暗赤色巢 (肺) 拡張 (胃) 赤色巢, 陥凹巢 (腺胃) 雄: 白色巢 (腺胃)
器官重量	雌雄: 腎臓 ↑	
病理組織学的検査	EDA*1	胃 (前胃): 境界縁扁平上皮過形成 (雌雄) 胃 (腺胃): 好酸球浸潤 (粘膜固有層, 粘膜下) (雌雄) 球状白血球浸潤 (粘膜表面~頸部) (雌雄) 表面上皮細胞数及び副細胞数の増加 (雌雄) 副細胞内好酸性顆粒 (雌雄) 表面上皮萎縮 (雌) 表面上皮再生 (雌雄) 粘膜固有層うっ血 (局所) (雌雄)

	MOR*1	気管： 粘膜水腫（雌雄） 胃（前胃）： 境界縁扁平上皮過形成（雌雄） 胃（腺胃）： 粘膜固有層うっ血（局所）（雄） 好酸球浸潤（粘膜固有層，粘膜下）（雌雄） 副細胞内好酸性顆粒（雌雄） びらん（雌） 球状白血球浸潤（粘膜表面～頸部）（雌） 粘膜出血（雌） 表面上皮細胞数及び副細胞数の増加（雌雄） 表面上皮再生（雌） 肝臓： 肝細胞巢状壊死（雌）
--	-------	---

*1：EDA：投与期間終了時剖検例、MOR：死亡例

—：特記すべき所見なし

↓↑：対照群と比較した時の傾向

5.3.4 ラットを用いた塩化ナトリウムの4週間反復経口投与毒性試験

[SBL743-022, GLP 非適用]

[目的]

塩化ナトリウムをラットに毎日1回4週間反復経口投与したときの毒性変化を調べることが目的とした。

[方法]

塩化ナトリウムの0(対照群)、540、1350及び3375 mg/kg/日をSDラット(Crl:CD(SD)、雄10匹/群)に4週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査を行うとともに、投与終了後に血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び病理組織学的検査を行った。

[成績]

試験成績の概要を表5-6に示した。いずれの群にも投与期間中の死亡はなく、一般状態及び血液学的検査では塩化ナトリウム投与の影響と考えられる所見はみられなかった。

体重増加量及び摂餌量では、3375 mg/kg/日群で投与17日目に低値がみられたが、一過性の軽度な変化であること、被験物質投与により引き起こされた飲水量の増大に伴い、摂餌量が減少したために発生したと考えられることから、毒性学的な意義は少ないと判断した。

尿検査及び血液生化学的検査では、被験物質投与各群で電解質の変動が散見されたが、塩化ナトリウムの大量投与または塩化ナトリウム投与により引き起こされた飲水量及び尿量の増加に伴い発生した二次的な変化であると考えられ、毒性学的な意義はないと判断した。

血液生化学的検査では総蛋白の低値が塩化ナトリウム投与群全群でみられ、アルブミン濃度、グロブリン濃度、 α_1 -グロブリン比率及び γ -グロブリン比率の低値が 3375 mg/kg/日群でみられたが、肝臓及び免疫系の異常を示す変化はみられておらず、変動幅もわずかであることから、毒性学的な意義は少ないと判断した。

剖検では、3375 mg/kg/日群の 4 例で腺胃の赤色巣がみられ、病理組織学的検査では、前胃の境界縁において扁平上皮の過形成、腺胃の表面上皮の萎縮、固有層のうっ血／出血、好酸性細胞浸潤（粘膜固有層、粘膜下）、びらん、球状白血球の浸潤（粘膜表面～頸部）、表面上皮細胞における有糸分裂数の増加、表面上皮細胞及び副細胞数の増加及び表面上皮細胞再生がみられた。540 及び 1350 mg/kg/日群では、前胃の境界縁において扁平上皮の過形成及び空胞変性、腺胃の好酸性細胞浸潤（粘膜固有層、粘膜下）、球状白血球の浸潤（粘膜表面～頸部）、表面上皮細胞及び副細胞数の増加及び表面上皮細胞再生が散見され胃局所での変化は用量が高くなるに従い変化の程度は増強しており、用量依存性がみられた。

以上の前胃及び腺胃における組織学的変化は、胃粘膜に対する刺激による変化及び刺激に対する反応性の変化であると考えられた。

また、剖検及び病理組織学的検査で、左腎臓の腎盂拡張が 1350 mg/kg/日群の 1 例、3375 mg/kg/日群の 2 例でみられた。

[結論]

ナトリウム換算でピルビン酸ナトリウム（1000、2500、6250 mg/kg/日）と等量の塩化ナトリウム（540、1350、3375 mg/kg/日）をラットに 4 週間反復経口投与したとき、いずれの群でも全身性の変化はみられなかった。被験物質投与群で胃局所の変化が用量依存的に増強してみられ、被験物質の刺激性によって引き起こされたか、あるいは刺激性に対して反応性に引き起こされたと考えられた。

表 5-6 塩化ナトリウムのラット 4 週間反復経口投与毒性試験成績

項目	SD 系ラット [CrI:CD (SD)], 投与開始時 6 週齢、雄			
投与方法	1 日 1 回、4 週間、経口投与、10 mL/kg			
投与量 (mg/kg/日)	0*1	540	1350	3375
動物数	10	10	10	10
死亡動物	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
体重	-	-	-	-
体重増加量	-	-	-	↓ (Day 17)
摂餌量測定	-	-	-	↓ (Day 16)
尿検査	-	カリウム ↓		
		-	ナトリウム、塩素 ↑	
		-	尿量 ↑、尿比重 ↓	

血液学的検査	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	総蛋白、ナトリウム、塩素↓
				カルシウム、アルブミン濃度、グロブリン濃度、 α_1 -グロブリン比率、 γ -グロブリン比率↓
剖検	-	-	-	赤色巣（胃） 腎盂拡張
病理組織学的検査	-	-	-	胃（前胃）： 境界縁扁平上皮過形成 胃（腺胃）： 好酸性細胞浸潤（粘膜固有層，粘膜下） 球状白血球浸潤（粘膜表面～頸部） 表面上皮細胞及び副細胞数の増加
				胃（腺胃）： 表面上皮細胞再生
				胃（前胃）： 境界縁扁平上皮空胞変性 胃（腺胃）： 表面上皮の萎縮 固有層のうっ血／出血 びらん 表面上皮細胞における有糸分裂数の増加

*1 : 0.5 w/v%MC

- : 特記すべき所見なし

↓↑ : 有意な変化 (p<0.05 または p<0.01)

5.3.5 イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験

[SBL743-004]

〔目的〕

ピルビン酸ナトリウムをイヌ（ビーグル）に毎日 1 回 2 週間反復経口投与したときの毒性変化を予備的に調べる。また、そのときの全身的曝露についても評価する。

〔方法〕

ピルビン酸ナトリウムの 0（対照群）、1000、2500 及び 6250 mg/kg/日をイヌ（ビーグル、雌雄各 1 匹/群）に 2 週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査を行った。なお、対照群には注射用水を被験物質群と同様の方法で投与した。

〔成績〕

試験成績の概要を表 5-7 に示した。いずれの群にも投与期間中の死亡はなく、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査ではピルビン酸ナトリウム投与の影響と考えられる所見はみられなかった。

一般状態では、投与期間中、用量依存的に嘔吐がみられた。一方、下痢や軟便については 6250 mg/kg/日群と比較して、2500 mg/kg/日群あるいは 1000 mg/kg/日群のほうがやや多く発現していた。これは、高濃度投与液の場合は上部消化管での刺激により嘔吐を誘発し、下部消化管に移行する量が低濃度投与液と同程度もしくは低くなったことによるものであると推測された。この嘔吐及び下痢もしくは軟便については、被験物質調製液の物性による影響であり、病理組織学的検査で消化管に毒性変化と考えられる異常はみられなかったことから、毒性学的意義のないものであると判断した。なお、6250 mg/kg/日群でみられた流涎は、嘔吐が頻発したことによる二次的な影響であると判断した。

トキシコキネティクスでは、 C_{max} あるいは AUC_{0-24h} に用量による明らかな差はみられなかった。これは特に高用量では投与後に嘔吐が発現し、被験物質の吸収に個体毎のばらつきが大きかったためと考えられる。しかし、いずれの用量においても投与前値で得られるような通常の生体内濃度と考えられる濃度より上昇を示した。 C_{max} 、 T_{max} 及び AUC_{0-24h} に雌雄差はみられなかった。

〔結論〕

ピルビン酸ナトリウムをイヌに 2 週間反復経口投与したときの無毒性量は 6250 mg/kg/日を上回る量であった。

表 5-7 イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験の成績

項目		イヌ（ビーグル）、馴化開始時 8~10 ヶ月齢、雌雄				
動物種（系統）、年齢、性別等		経口投与、15 mL/kg				
投与方法		経口投与、15 mL/kg				
投与量 (mg/kg/日)		0*1	1000	2500	6250	
動物数 (雄/雌)		1/1	1/1	1/1	1/1	
トキシコキネティクス	0 日	AUC_{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	88.0/121	42.7/78.6	95.5/51.2
		C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	24.5/17.5	13.9/6.74	103/10.5
		T_{max} (h)	-/-	0.5/0.5	0.5/8.0	0.5/1.0
	13 日	AUC_{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	65.5/85.1	89.8/101	66.9/42.6
		C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	17.3/31.2	21.2/45.4	13.8/16.3
		T_{max} (h)	-/-	1.0/0.5	1.0/0.5	1.0/0.5
死亡動物		0/0	0/0	0/0	0/0	
一般状態		-	嘔吐 (雌: 7 日) 下痢 (雄: 8 日, 雌: 4 日)	嘔吐 (雄: 9 日, 雌 14 日) 下痢 (雄: 9 日, 雌: 1 日)	嘔吐 (雌雄: 14 日) 下痢 (雄: 7 日, 雌: 1 日) 軟便 (雄: 1 日)	

				流涎（雌雄：8日）
体重	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-
尿検査	-	-	ナトリウム↑ (0/1)	ナトリウム↑ (1/0)
血液学的検査	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-
剖検	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-

*1：注射用水

5.3.6 イヌを用いた4週間反復経口投与毒性及び4週間回復性試験

[SBL743-010]

〔目的〕

ピルビン酸ナトリウムをイヌ（ビーグル）に毎日1回4週間反復経口投与したときの毒性変化を調べるとともに、4週間の休薬期間を設け、その回復性についても検討する。また、そのときの全身的曝露についても評価する。

〔方法〕

ピルビン酸ナトリウムの0（対照群）、1000、2500及び6250 mg/kg/日をイヌ（ビーグル、雌雄各3匹/群）に4週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科的検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定を行った。病理組織学的検査については投与期間終了時剖検例まで実施し、休薬期間終了時剖検例は現在実施中である。また、投与終了後4週間の休薬期間（対照群及び6250 mg/kg/日群のみ、雌雄各2例/群）を設け、上記と同じ検査を行ない回復性について検討した。なお、対照群には注射用水を被験物質群と同様の方法で投与した。

〔成績〕

試験成績の概要を表5-8に示した。いずれの群にも投与期間中の死亡はなく、一般状態、体重、摂餌量、眼検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量ではピルビン酸ナトリウム投与の影響と考えられる所見はみられなかった。

尿検査及び血液生化学的検査では、被験物質投与各群でナトリウムの高値が散見されたが、ナトリウム塩である被験物質の大量投与による変化であると考えられ、血清中電解質濃度には影響のない程度であるため、毒性学的な意義は少ないと判断した。

剖検では、2500 mg/kg/日群の1例で十二指腸の赤色巣、空腸及び回腸の赤色化がみられた。

病理組織学的検査では、胃体部の粘膜固有層における軽度の好酸球浸潤が6250 mg/kg/日群の雄で、胃体部は軽度の、胃幽門部では軽度あるいはごく軽度の表面上皮再生が6250及び

2500 mg/kg/日群の雄あるいは雌でみられた。以上の組織学的変化は、胃粘膜に対する刺激による変化及び刺激に対する反応性の変化であると考えられた。

休薬期間の検査でいずれの動物にも被験物質起因と考えられる変化はなかった。

〔結論〕

ピルビン酸ナトリウムをイヌ（ビーグル）に4週間反復経口投与したとき、いずれの群でも全身性の変化はみられなかった。2500 mg/kg/日以上群で胃局所の変化が散見され、被験物質の刺激性によって引き起こされたか、あるいは刺激性に対して反応性に引き起こされたと考えられた。休薬期間の検査でいずれの動物にも被験物質起因と考えられる変化はみられず、投与期間中にみられた変化は4週間の休薬により回復した。

表 5-8 イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験の成績

項目		イヌ（ビーグル）、馴化開始時 8～10 ヶ月齢、雌雄				
動物種（系統）、年齢、性別等		イヌ（ビーグル）、馴化開始時 8～10 ヶ月齢、雌雄				
投与方法		経口投与、15 mL/kg				
投与量（mg/kg/日）		0*1	1000	2500	6250	
動物数（雄/雌） （休薬動物数）		3/3 (2/2)	3/3	3/3	3/3 (2/2)	
トキシコキネティクス	0 日	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	73.5/131	60.5/80.8	75.5/87.6
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	20.7/21.0	15.5/12.0	9.08/18.3
		T _{max} (h)	-/-	0.5/0.8	0.7/0.7	1.3/2.1
	27 日	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	66.0/98.8	180/122	194/192
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	21.5/18.2	49.3/57.2	39.6/88.7
		T _{max} (h)	-/-	0.8/0.8	0.5/0.7	0.8/0.6
死亡動物		0/0	0/0	0/0	0/0	
一般状態	投与期間	-	嘔吐（雄：10 日/1 例，雌：8～21 日間/2 例） 下痢（雄：6～17 日/3 例，雌：5～14 日/3 例）	嘔吐（雄：14～23 日/3 例，雌：17～19 日/3 例） 下痢（雄：7～25 日/3 例，雌：18～21 日/3 例） 流涎（雄：6 日/1 例，雌：1～4 日/3 例）	嘔吐（雄：23～28 日/5 例，雌：23～27 日/5 例） 下痢（雄：21～27 日/5 例，雌：15～25 日/5 例） 便色異常（雄：3～18 日/5 例，雌：1～5 日/4 例） 流涎（雄：12～19 日/5 例，雌：6～18 日/5 例）	

	休薬期間	—	NA	NA	—
体重		—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—
眼科的検査		—	—	—	—
心電図検査		—	—	—	—
尿検査	投与期間	—	ナトリウム↑ (2/1)	ナトリウム↑ (2/2)	ナトリウム↑ (2/2)
	休薬期間	—	NA	NA	—
血液学的検査		—	—	—	—
血液生化学的検査		—	—	—	—
剖検	EDA* ²	—	—	赤色巣（十二指腸），赤色化（空腸及び回腸） (1/-)	—
	ERC* ²	—	NA	NA	—
器官重量		—	—	—	—
病理組織学的検査	EDA* ²	—	—	胃体部：表面上皮再生（軽度） (2/1) 胃幽門部：表面上皮再生（軽度，ごく軽度） (1/-)	胃体部：好酸球浸潤，粘膜固有層（軽度） (1/-) 表面上皮再生（軽度） (3/2) 胃幽門部：表面上皮再生（軽度，ごく軽度） (2/2)
	ERC* ²	—	NA	NA	—

*¹：注射用水*²：EDA：投与期間終了時剖検例、ERC：休薬期間終了時剖検例

NA：Not applicable

5.4 幼若ラットを用いた7週間反復経口投与毒性及び4週間回復性試験

[SBL743-025]

[目的]

ピルビン酸ナトリウムを幼若ラットに生後4日から毎日1回7週間反復経口投与したときの毒性変化を調べるとともに、4週間の休薬期間を設け、その回復性についても検討する。また、そのときの全体的曝露についても評価する。

[方法]

ピルビン酸ナトリウムの0（対照群）、1000、2000及び4000 mg/kg/日を幼若のSDラット（CrI:CD（SD）、雌雄各12匹/群）に生後4日から7週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、生後発育検査を行うとともに、投与終了後に血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、骨長測定、器官重量測定及び病理組織学的検査を行った。また、投

与終了後 4 週間の休薬期間を設け、上記と同じ検査を行ない回復性について検討した。また、全身的曝露評価のため、サテライト群をそれぞれ設けた（雌雄各 3 匹/群）。なお、対照群には注射用水を被験物質群と同様の方法で投与した。

[成績]

試験成績の概要を表 5-9 に示した。4000 mg/kg 群では、雌雄各 24 例のうち、投与開始翌々日（生後 6 日）までに雄 18 例及び雌 17 例の死亡が確認された。なお、剖検に異常はみられなかった。

2000 及び 1000 mg/kg 群では死亡はみられず、一般状態、一般分化、機能発達、生殖器の形態分化、血液学的検査及び骨長に被験物質の影響はみられなかった。

2000 及び 1000 mg/kg 群の雌雄において、投与期間中及び休薬期間中の体重、体重増加量及び摂餌量の高値が散見された。しかし、これらは高値方向の変化であり、特に発達という観点でも毒性学的意義はないものと考えられた。

器官重量測定では、腎臓重量の高値が投与期間終了時の 2000 及び 1000 mg/kg 群の雄でみられた。本変化は休薬期間終了時の 2000 mg/kg 群の雄でもみられたが、投与期間終了時よりも軽度であった。また血液生化学的検査において、2000 mg/kg 群の雄では投与期間終了時にナトリウムの低値がみられた。病理組織学的検査では、腎臓に被験物質の影響と考えられる変化はみられなかった。これらの変化は被験物質の過剰摂取によって飲水量が増加し、それによる尿量の増加に伴い電解質の尿中への排泄量が増えたことによる 2 次的な変化であり、毒性学的意義はないものと考えられた。

剖検ではいずれの器官及び組織でも肉眼的異常は認められなかった。病理組織学的検査では、2000 及び 1000 mg/kg 群の雌雄で、投与期間終了時及び休薬期間終了時に、腺胃において表面上皮細胞数及び副細胞数の増加、表面上皮の再生、球状白血球の浸潤（粘膜表面から頸部）、粘膜固有層及び粘膜下組織への好酸球の浸潤がみられ、前胃において境界縁における扁平上皮の過形成がみられた。これらの変化では用量依存的な増加がみられ、また投与期間終了時と比べて、休薬期間終了時には頻度及び程度の減少あるいは変化の消失が認められた。これらの変化はナトリウムの大量投与による物理的刺激あるいは酸や消化酵素の環境の変化による腺胃の表面上皮あるいは前胃境界縁における扁平上皮への刺激によって生じた障害に対する反応性の変化であると考えられた。

TK では、 C_{max} において生後 4 日の雌雄で用量比以上の増加がみられたが、生後 4 日の AUC_{0-24h} ならびに生後 52 日の C_{max} 及び AUC_{0-24h} では投与量による明確な差はみられなかった。また、雌雄による差はみられず、7 週間反復経口投与による蓄積の傾向はみられなかった。 T_{max} には用量差及び雌雄差はみられなかった。

[結論]

ピルビン酸ナトリウムを幼若ラットに7週間反復経口投与したとき、4000 mg/kg/日群では動物の死亡がみられたが、2000 mg/kg/日以上群では全身性の変化はみられなかった。被験物質投与群で胃局所の変化が用量依存的に増強してみられ、被験物質の刺激性によって引き起こされたか、あるいは刺激性に対して反応性に引き起こされたと考えられた。胃局所の変化は、4週間の休薬期間により回復傾向が確認された。

表 5-9 幼若ラット7週間反復経口投与毒性試験の成績

項目		SD系ラット [CrI:CD (SD)]、投与開始時4日齢、雌雄				
投与方法		1日1回、7週間、経口投与、10 mL/kg				
投与量 (mg/kg/日)		0*1	1000	2000	4000	
動物数 (雄/雌) (休薬動物数)		12/12 (12/12)	12/12	12/12 (12/12)	12/12 (12/12)	
トキシコキネティクス*2	4日	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	236/188	278/210	NA
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	24.1/16.1	97.0/78.2	
		T _{max} (h)	-/-	0.50/0.50	0.50/0.50	
	52日	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-/-	350/456	342/431	
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-/-	16.5/21.7	21.6/25.4	
		T _{max} (h)	-/-	8.0/1.0	2.0/2.0	
死亡動物		0/0	0/0	0/0	18/17	
安楽死動物		0/0	0/0	0/0	6/7	
一般状態		-	-	-	-	
体重		-	↑/↑	↑/↑	-	
体重増加量		-	↑/↑	↑/↑	-	
摂餌量		-	↑/-	↑/↑	-	
一般分化		-	-	-	-	
機能発達		-	-	-	-	
生殖器の形態分化		-	-	-	NA	
血液学的検査	EDA*3	-	-	-	-	
	ERC*3	-	NA	-	-	
血液生化学的検査	EDA*3	-	-	雄：ナトリウム↓	-	
	ERC*3	-	NA	-	-	
剖検	EDA*3	-	-	-	-	
	ERC*3	-	NA	-	NA	
骨長	EDA*3	-	-	-	-	
	ERC*3	-	NA	-	-	
器官重量	EDA*3	-	-	雄：腎臓↑	NA	
	ERC*3	-	NA	-	-	

病理組織学的検査	EDA*3	—	雌雄： 胃（前胃）： 境界縁扁平上皮過形成 胃（腺胃）： 好酸球浸潤（粘膜固有層，粘膜下） 球状白血球浸潤（粘膜表面～頸部） 表面上皮の再生 表面上皮細胞数及び副細胞数の増加		NA
	ERC*3	—	NA	雌雄： 胃（前胃）： 境界縁扁平上皮過形成 胃（腺胃）： 球状白血球浸潤（粘膜表面～頸部）	

*1：注射用水

*2：各ポイント雌雄各3例

*3：EDA：投与期間終了時剖検例、ERC：休薬期間終了時剖検例

—：特記すべき所見なし、↓↑：有意な変化（ $p<0.05$ または $p<0.01$ ）、NA：Not applicable

5.5 生殖毒性試験

5.5.1 ラットにおける経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験

[SBL743-026]

[目的]

ピルビン酸ナトリウムを胚の着床から胎児硬口蓋の閉鎖までの期間（妊娠6日から17日）に妊娠ラットに経口投与し、妊娠動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を調べる。また、そのときの全身的曝露についても評価する。

[方法]

ピルビン酸ナトリウムを妊娠SDラット（各群雌19～20匹）に1000、2500及び6250 mg/kg/日の用量で、胚の着床から胎児硬口蓋の閉鎖までの期間（妊娠6日から17日）1日1回経口投与し、母動物の一般状態観察、体重測定、摂餌量測定を行い、妊娠20日に剖検を行って胎児を摘出した。胎児は生死、性別、胎児体重、胎盤重量を調べ、外表、内臓、骨格検査を実施した。なお、対照群には注射用水を被験物質群と同様の方法で投与した。

[成績]

試験成績の概要を表5-10に示した。6250 mg/kg群において、投与期間中に摂餌量の減少がみられた。同群では一般状態、体重、体重増加量及び剖検所見に被験物質投与の影響はみられなかった。

2500及び1000 mg/kg群では、母動物の一般状態、体重、体重増加量、摂餌量及び剖検所見に被験物質投与の影響はみられなかった。

胎児については、6250、2500 及び 1000 mg/kg のいずれの群においても、生存胎児数、胎児生存率、死亡胚・胎児数、胚・胎児死亡率、性比、胎児体重、胎盤重量ならびに胎盤、胎児外表、内臓及び骨格所見に被験物質投与の影響はみられなかった。

TK では、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} は、投与量の増加に伴う変化はみられず、反復投与の影響もほぼみられなかった。

[結論]

ピルビン酸ナトリウムラットを胚の着床から胎児硬口蓋の閉鎖までの期間、母動物に投与したとき、6250 mg/kg 群で摂餌量の減少がみられたが、その他はいずれの被験物質群でも母動物及び胚・胎児に変化はみられなかった。