

剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

臓器重量では、75 mg/kg 体重/日投与群の雄の生殖器に栄養不良に起因すると考えられる減少、雌雄で内分泌腺に減少が認められたが、いずれも休薬により回復が認められた。

病理組織学的検査では、全投与群で心筋壊死が認められ、その発生頻度と程度には用量依存性が認められた。病変は概ね左心室乳頭筋に限局して認められたが、左心室全体にび慢性の分布を示すものが7例で認められた。また、病変は慢性虚血性病変に類似した心筋線維の消失、線維化であった。これら心筋病変は、特に25 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で散見され病変も重篤であったが、雌での発現は少数例（3例）で、また明瞭な変化ではなかった。なお、回復群においても雄3例で心筋病変が認められた。その他、75 mg/kg 体重/日投与群の雄では、体重の減少に伴い肝細胞において脂肪滴の減少が認められた。

本試験において、全投与群でGluの減少、心筋壊死が認められたことから、NOAELは設定できず、LOAELは1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 20 6ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
75	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 ・体重増加抑制 ・摂餌量の減少傾向（回復） ・生殖器重量の減少（回復） ・内分泌腺重量の減少（回復） ・肝細胞の脂肪滴の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 ・体重増加抑制 ・摂餌量の減少傾向（回復） ・内分泌腺重量の減少（回復）
25 以上		
5 以上		
1 以上	・ Glu の減少（回復）	・ Glu の減少（回復）
	・ 心筋壊死（雌雄不明）	

※（回復）は、1ヶ月間の回復期間後において回復が認められたもの

（4）13週間亜急性毒性試験（イヌ）（参照3、5、20、21）

イヌ（ビーグル種、8~10ヶ月齢、雌雄各3匹/群）を用いた塩酸クレンブテロールの経口投与（0、0.4、4、20/30/40 mg/kg 体重/日）による13週間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。高用量群の投与は20 mg/kg 体重/日から開始し、投与5週より30 mg/kg 体重/日、投与9週より40 mg/kg 体重/日と漸増投与した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。なお、20 mg/kg 体重/日投与群の1例が投与23日に突然興奮状態、痙攣及び息切れ等の症状を示し、死亡した。同個体では剖検で、肺、肝臓、腎臓及び結膜に鬱血、心臓及び肺には出血が認められ、病理組織学的検査では、肺に出血性気管支肺炎が認められたことから、死因は急性かつ重篤な肺感染症であると考えられ、投与により症状が増強された可能性が示唆

された。

一般状態では、雄の 20 mg/kg 体重/日以上投与群、雌では 40 mg/kg 体重/日投与群で鎮静が認められ、症状は投与 1 週に顕著に認められた後は次第に消失した。また、投与量増加により再発が確認された。

体重では、30 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で停滞が認められ、雄では 40 mg/kg 体重/日投与群で減少が認められた。

摂餌量では、20/30/40 mg/kg 体重/日投与群（40 mg/kg 体重/日に増量したとき）で減少傾向が認められた。

心電図検査では、初回投与後、全投与群の全例で頻脈が認められた。頻脈は投与翌日まで持続し、翌週以降は次第に軽減したが、0.4 mg/kg 体重/日投与群においても投与終了時まで観察された。20/30/40 mg/kg 体重/日投与群では、頻脈の程度は投与量の増加に伴い増強が認められた。また、心拍数の増加に起因する P-Q、Q-T 及び T-P 間隔の短縮が全例で認められた。

糞性状、飲水量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、聴覚検査、眼科検査、計画解剖例における剖検、臓器重量及び病理組織学的検査に、投与に起因する影響は認められなかった。

本試験において、全投与群の雌雄で頻脈が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 0.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 3、5、20）

表 21 13 週間亜急性毒性試験（イヌ）において認められた毒性影響①

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
20/30/40	・鎮静 ・体重減少	・鎮静 ・体重減少
4 以上		
0.4 以上	・頻脈（雌雄不明） ・P-Q、Q-T 及び T-P 間隔の短縮（雌雄不明）	

イヌ（ビーグル種、8~15 ヶ月齢、雌雄各 3 匹/群）を用いた塩酸クレンブテロールの経口投与（0、2.5、40 mg/kg 体重/日）による 13 週間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、本試験は次の目的により、計画実施された。イヌを用いた 12 ヶ月間の慢性毒性試験（参照 24）では低用量（0.1~2.5 mg/kg 体重/日）から心筋の壊死及び線維化巣（壊死巣の癒痕化）が認められたが、その一方で、13 週間の亜急性毒性試験（参照 20）では 40 mg/kg 体重/日の用量においても心臓に病理組織学的な変化が認められなかったことから、本試験では 2.5 及び 40 mg/kg 体重/日の用量を用いて 13 週間亜急性毒性試験を実施し、クレンブテロールの心臓に対する影響について再評価した。以上の試験目的により、本試験における病理組織学的検査は心臓についてのみ実施した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

一般状態では、投与 1 週に、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の全例で無関心、皮膚の紅

斑、眼球の発赤、散瞳、瞳孔固定が認められた。また、聴診では全例で頻脈が認められた。

体重、摂餌量及び尿検査には、投与による影響は認められなかった。

血液学的検査では、いくつかの項目に変動は認められたものの、いずれも正常範囲内であった。

血液生化学的検査では、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme、及び CK に増加が認められた。また、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で心臓の左心室筋及び肝臓におけるグリコーゲン量の減少、40 mg/kg 体重/日投与群では雌にも肝臓のグリコーゲン量の減少が認められた。

剖検では、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で、左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の小さな線状の病巣が認められた。

病理組織学的検査では、肉眼所見に一致して左心室乳頭筋に所見が認められ、2.5 mg/kg 体重/日投与群では心筋線維の変性及び線維化巣が、40 mg/kg 体重/日投与群では壊死巣及び線維化巣に加え、壊死部に異栄養性の石灰沈着が認められた。なお、これらの所見の程度には明らかに用量依存性が認められた。

本試験において、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の一般状態（無関心、皮膚の紅斑、眼球の発赤、散瞳、瞳孔固定、頻脈）、血液生化学的検査（AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme 及び CK の増加、雄で心臓の左心室筋及び肝臓におけるグリコーゲン量の減少）、剖検（雌雄で左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の病巣）、病理組織学的検査（心筋線維の変性及び線維化巣）に影響が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 2.5 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 3、5、21）

表 22 13ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）において認められた毒性影響②

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
40		<ul style="list-style-type: none"> 肝臓のグリコーゲン量の減少 壊死巣及び線維化巣、壊死部に異栄養性の石灰沈着（40のみ）
2.5 以上	<ul style="list-style-type: none"> AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme 及び CK に増加 心臓の左心室筋及び肝臓のグリコーゲン量の減少 左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の線状の病巣 心筋線維の変性及び線維化巣（2.5のみ） 	<ul style="list-style-type: none"> AST、ALT、LDH、LDH-1-isoenzyme 及び CK に増加 左心室乳頭筋に灰白色~灰黄色の線状の病巣
	<ul style="list-style-type: none"> 無関心、皮膚の赤斑、眼球の発赤、散瞳、瞳孔固定、頻脈（雌雄不明） 	

(5) 64日間亜急性毒性試験(馬)(参照3、5)

馬を用いた塩酸クレンブテロールの経口投与(0.8~17.5 µg/kg 体重/日)による64日間亜急性毒性試験では、一過性の頻脈、発汗、筋肉振戦、高血糖及び低リン血症が認められた。

(参考) 1ヶ月間亜急性毒性試験(マウス)(参照3、5、18)

マウス(ICR系、6週齢、雌雄各15匹/群)を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与(0、2.5、12.5、62.5 mg/kg 体重/日)による1ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

試験期間中、62.5 mg/kg 体重/日投与群では投与2週に無関心(apyathy)となり、雄1例及び雌5例に死亡が認められた。

一般状態では、62.5 mg/kg 体重/日投与群で無関心が認められたが、死亡例を除き、投与30分後には回復した。

体重では、全投与群において雌雄ともに体重の軽度な増加傾向が認められた。また、摂餌量及び飲水量は、体重増加量に並行して用量依存的な増加傾向を示した。

血液学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査は実施されていない。

臓器重量では、12.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝臓の絶対重量の増加が用量依存的に認められた。

病理組織学的検査では、12.5 mg/kg 体重/日投与群の雄1例で右心室壁の心内膜下に急性壊死及び左心室の心外膜下に多発性の慢性虚血性病変が、雌1例では慢性の虚血性巣状心筋炎が認められた。62.5 mg/kg 体重/日投与群では雄1例の右心に広範囲な急性壊死が、雌1例の心臓には巣状の血管周囲炎が認められた。

表23 1ヶ月間亜急性毒性試験(マウス)において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
62.5	・死亡例 ・右心に広範囲な急性壊死 ・無関心(雌雄不明)	・死亡例 ・心臓に巣状の血管周囲炎
12.5以上	・肝臓の絶対重量の増加 ・右心室壁の心内膜下に急性壊死及び左心室の心外膜下に多発性の慢性虚血性病変(12.5のみ)	・慢性の虚血性巣状心筋炎(12.5のみ)
2.5	毒性影響なし	毒性影響なし

5. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 12ヶ月間慢性毒性試験(ラット)(参照22)

ラット(Wistar系、6週齢、雌雄各15匹/群)を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与(0、0.01、0.05、0.25 mg/kg 体重/日)による12ヶ月間慢性毒性試験において

認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、対照群及び0.25 mg/kg 体重/日投与群には回復群（雌雄各 15 匹/群）を設け、投与終了後 6 週間観察した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

一般状態、体重及び剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

摂餌量及び飲水量では、全投与群で増加傾向が認められた。

血液学的検査では、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で Plt の軽度な減少が認められた。

血液生化学的検査では、全投与群の雌で Glu の減少が認められたが、休薬により回復した。また、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄でナトリウムの軽度な増加が認められた。

尿検査では、全投与群の雌雄でナトリウムの排泄量の増加が認められたが、休薬により回復した。0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で投与開始 9 ヶ月後に潜血が認められる例があり、同じ時期に 0.25 mg/kg 体重/日投与群では 4 例にビリルビン陽性を認めた。

臓器重量では、全投与群の雌雄で心臓の絶対重量の増加、雄で心臓の比重量の増加、肺の絶対及び比重量の増加が、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群では、雄で腎臓の絶対及び比重量の増加、雌で心臓の比重量の増加、卵巣の絶対及び比重量の増加が、0.25 mg/kg 体重/日投与群では雌で脳の絶対及び比重量の減少、雄で肝臓の絶対及び比重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、死亡例では投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。生存例では、対照群を含む全投与群の雌雄において、心筋線維化巣あるいは心筋炎が認められたが、用量依存性はなく、加齢による自然発生性の病変であると考えられた。また、心臓では全投与群で重量増加が認められたが、これに関連すると考えられる心筋線維肥大などの質的な異常は認められなかった。0.25 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 1 例、回復群の雄 1 例に肺の細気管支の拡張が認められた。その他、臓器重量に変化が認められた腎臓を含む主要臓器、組織に投与に起因する変化は認められなかった。

電子顕微鏡学的検査では、0.05 mg/kg 体重/日以上投与群の腎臓で近位尿管上皮にライソゾーム様の暗顆粒のわずかな増加が認められた。肝臓には異常は認められなかった。

本試験において、全投与群の血液生化学的検査（雌で Glu の減少）、臓器重量（雌雄で心臓の絶対重量の増加、雄で心臓の比重量の増加、肺の絶対及び比重量の増加）に影響が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 0.01 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 24 12 ヶ月間慢性毒性試験（ラット）において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
0.25	・肝臓の絶対及び比重量の減少 ・肺の細気管支の拡張	・ビリルビン陽性 ・脳の絶対及び比重量の減少 ・肺の細気管支の拡張
0.05 以上	・血中ナトリウムの増加	・Plt の減少

	<ul style="list-style-type: none"> 腎臓の絶対及び比重量の増加 	<ul style="list-style-type: none"> 血中ナトリウムの増加 尿に潜血 心臓の比重量の増加 卵巣の絶対及び比重量の増加
	<ul style="list-style-type: none"> 腎臓で近位尿細管上皮にライソゾーム様の暗顆粒の増加（雌雄不明） 	
0.01 以上	<ul style="list-style-type: none"> ナトリウム尿中排泄量の増加（回復） 心臓の絶対及び比重量の増加 肺の絶対及び比重量の増加 	<ul style="list-style-type: none"> Glu の減少（回復） ナトリウム尿中排泄量の増加（回復） 心臓の絶対重量の増加
0.25（回復群）	<ul style="list-style-type: none"> 肺の細気管支の拡張 	

(2) 18ヶ月間慢性毒性試験（ラット）（参照3、5、23）

ラット（FW49/Biberach系、日齢不明、雌雄各20匹/群）を用いた塩酸クレンブテロールの混餌投与（0、0.1、0.5、2.5 mg/kg 体重/日）による18ヶ月間慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、2.5 mg/kg 体重/日投与群については、回復群（雌雄各10匹）を別に設け、投与終了後6週間観察した。また、対照群については、雌雄各5例を回復群とみなして投与終了後に観察した。なお、β-アドレナリン作動薬では心筋壊死の発生が報告されていることから、本試験では特に心臓に対する影響に留意し、各群雌雄5例の心臓（左右心室壁及び中隔）について凍結切片を作製し、組織化学的検査（LDH、NADH-T-R、SDH、グリコーゲン、ホスホリラーゼ、ATPase（pH 7.2 及び 9.4）、AMPase、ALP、ACPase）を実施した。また、投与群の全例において徐脈が確認されたことから、18ヶ月間の投与終了後、各群雌雄3例について14日間の混餌投与（0、0.1、0.5、2.5 mg/kg 体重/日）を行ない、心電図検査を実施した。14日間の投与終了後、対照群及び2.5 mg/kg 体重/日投与群については21日間の回復期間を設けて観察した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

体重、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

一般状態では、全投与群で徐脈が認められた以外に異常は認められなかった。

血液学的検査では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌で、白血球分画におけるリンパ球の減少及びそれに伴う分葉核好中球の増加が認められ、回復期間終了時にも回復性は認められなかった。

血液生化学的検査では、全投与群の雄でT.Cholの減少、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌でALPの増加が認められたが、いずれも投与終了時は対照群と大きな差はなかった。また、全投与群の雌雄において心筋、骨格筋及び肝臓のグリコーゲン量に顕著な減少が認められたが、いずれにおいても有意差及び明らかな用量依存性は認められなかった。

臓器重量では、全投与群の雄で肝臓重量の減少及び0.5 mg/kg 体重/日以上投与群で副腎重量の減少がいずれも用量依存性に認められた。一方、雌では全投与群で心臓重量の

用量依存的な増加が認められた。いずれの変化も回復期間中に回復が認められた。

組織化学的検査では、対照群及び投与群ともに、左右心室壁の特に左室乳頭筋基部において各種酵素系 (SDH、LDH、NADH-T-R、ATPase (pH7.2 及び9.4)、AMPase、ホスホリラーゼ及びACPase) に顕著な活性低下が認められた。一方、ALP については、同部位における活性増加が認められた。0.1 mg/kg 体重/日投与群では、これらの酵素系の変動に最も強い影響が認められた。回復群においても同様の結果が得られたが、影響はより広範囲に認められた。なお、投与群及び回復群ともに、心筋のグリコーゲン量に影響は認められなかった。

心電図検査では、投与1日後以降に全投与群の雌雄で用量依存的に心拍数の減少が認められ、2.5 mg/kg 体重/日投与群での減少は初期値の20%にも及んだ。徐脈は、投与期間終了時まで継続して認められた。回復群では、心拍数が初期値まで回復するのに2日間以上を要した。14日間の投与期間中、頻脈は認められなかった。なお、予期せぬ徐脈が認められた原因についての適切な見解は得られていない。

本試験において、全投与群の雌雄で徐脈及び心拍数の減少、雄でT.Chol及び肝臓重量の減少、雌で心臓重量の増加が認められたことから、NOAELは設定できず、LOAELは雌雄とも0.1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表25 18ヶ月間慢性毒性試験(ラット)において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
2.5		・白血球分画におけるリンパ球の減少及びそれに伴う分葉核好中球の増加が認められた。
0.5 以上	・白血球分画におけるリンパ球の減少及びそれに伴う分葉核好中球の増加が認められた。 ・副腎重量の減少	・ALPの増加
0.1	・徐脈 ・T.Cholの減少 ・肝臓重量の減少 ・心拍数の減少	・徐脈 ・心臓重量の増加 ・心拍数の減少

(3) 1年間慢性毒性試験(イヌ)(参照3、5、24)

イヌ(ビーグル種、6~8ヶ月齢、雌雄各3匹/1~3群、雌雄各6匹/4群)を用いた塩酸クレンブテロールの経口投与(0、0.1、0.5、2.5 mg/kg 体重)における1年間慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。投与終了後、2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各3例は回復群とし、6週間観察した。

試験期間中、投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

一般状態では、投与群の全例で、投与1週に無関心及び皮膚にびまん性の発赤が認め

られ、投与2週以降には自発運動の低下が認められた。また、全例において、用量依存的ではないが、顕著な心拍数の増加が認められた。一方、心拍数の増加には時間依存性が認められ、投与1~34日後では投与41日後以降に比べより顕著に認められた。また、いずれも投与1.5時間後で最大値を示し、投与6.5時間後には初期値まで回復が認められた。

眼科検査では、投与群の全例で、投与1週に上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定が認められた。また、多くの例で濾胞性結膜炎が認められた。

体重では、2.5 mg/kg 体重/日投与群の全例で、自発運動低下に起因すると考えられる体重の増加が認められた。摂餌量に異常は認められなかった。

血液学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、全投与群でALT、LDH、LDH-1-isoenzyme、CK及びALPの増加が認められたが、これらの変動は用量依存的ではなかった。2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌雄では、正常範囲内の変動ではあるが、対照群に比べてクレアチニンに明らかな増加が認められた。また、試験期間を通して肝臓のグリコーゲン量に減少が認められた。

剖検では、全投与群で左心室乳頭筋の心内膜下に、帽針頭大~その2倍大の灰黄色病巣が認められた。

臓器重量では、投与群の全例で心臓重量に増加が認められた。

病理組織学的検査では、肉眼所見に一致して、全投与群で左心室乳頭筋の心内膜下に線維化（心筋壊死の瘢痕化）が認められ、回復群でも同様の変化が認められた。

組織化学的検査では、投与群の全例で左右心室壁におけるNADH-TR、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少が認められた。また、酵素活性の低下が認められた部位では、グリコーゲン量の著しい減少が認められた。なお、これらの変化は特に左心室の乳頭筋基部で強く認められた。また、雄に比べて雌の方がやや影響が強かった。回復群では、酵素活性及びグリコーゲン量に部分的な回復性が認められた。酵素活性の増加は左心室でより顕著に認められ、グリコーゲン量については酵素活性の低下が認められる領域のうち外部領域において正常量まで回復が認められた。

本試験において、全投与群の一般状態（無関心、皮膚の発赤、自発運動の低下及び心拍数の増加）、眼科検査（上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定、濾胞性結膜炎）、臓器重量（心臓重量の増加）、剖検（左心室乳頭筋の心内膜下に帽針頭大からその2倍大の灰黄色病巣）、病理組織学的検査（左心室乳頭筋の心内膜下に線維化）、組織化学的検査（左右心室壁におけるNADH-TR、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少）が認められたことから、NOAELは設定できず、LOAELは雌雄とも0.1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 26 1年間慢性毒性試験（イヌ）において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
2.5	・肝臓のグリコーゲン量の減少	・肝臓のグリコーゲン量の減少

	・自発運動低下に起因する体重増加 (雌雄不明)	
0.5 以上		
0.1 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・無関心、皮膚にびまん性の発赤、自発運動の低下、心拍数の増加 ・上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定、濾胞性結膜炎 ・左心室乳頭筋の心内膜下に帽針頭大からその2倍大の灰黄色病巣 ・心臓重量の増加 ・左心室乳頭筋の心内膜下に線維化 (心筋壊死の癒痕化) ・左右心室壁の NADH-TR、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・無関心、皮膚にびまん性の発赤、自発運動の低下、心拍数の増加 ・上強膜血管の充血、散瞳及び瞳孔固定、濾胞性結膜炎 ・左心室乳頭筋の心内膜下に帽針頭大からその2倍大の灰黄色病巣 ・心臓重量の増加 ・左心室乳頭筋の心内膜下に線維化 (心筋壊死の癒痕化) ・左右心室壁の NADH-TR、LDH、ATPase (pH7.2)、ATPase (pH9.4) 及びホスホリラーゼの顕著な減少

(4) 2年間発がん性試験 (マウス) (参照 3、5、25)

マウス (BDF₁系、7週齢、雌雄各 50 匹/投与群、100 匹/対照群) を用いた塩酸クレンプテロールの飲水投与 (0、0.1、1、25 mg/kg 体重/日) による 2 年間発がん性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

試験終了時における生存率は、雄で 78~86%、雌では 54~60% であった。

一般状態、血液学的検査及び剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。なお、血液生化学的検査は実施されていない。

体重では、投与 1 年後までにいずれの投与群でも雌雄で用量依存的な体重の増加が認められたが、投与 1 年後以降はいずれも減少を示し、25 mg/kg 体重/日投与群では顕著な減少が認められた。

摂餌量及び飲水量では、試験期間を通じて、いずれの投与群でも雌雄で増加が認められた。

臓器重量では、1 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 25 mg/kg 体重/日投与群の雌で心臓の絶対重量の増加が認められた。また、全投与群の雌雄において、心臓の比重量に用量依存的な増加が認められた。

病理組織学的検査では、主に左心室の心尖部に微小な癒痕が対照群 (雄: 5/100 例) を含め、0.1 mg/kg 体重/日投与群 (雄: 1/50 例)、1 mg/kg 体重/日投与群 (雌: 1/50 例) 及び 25 mg/kg 体重/日投与群 (雄: 9/50 例、雌: 7/50 例) で認められた。25 mg/kg 体重/日投与群ではわずかに発生率の増加が認められるものの、癒痕は小さく、他のβ受容体刺激薬の毒性試験で認められているような左心室壁の広範な心筋壊死とは異なるものと考えられることから、投与との関連性は否定されている。その他、25 mg/kg 体重/日投与群では、精巢の白膜における石灰化の発生頻度の上昇及び程度の増強が認められた。

本試験において、全投与群の雌雄において心臓の比重量の増加が認められたことから、NOAELは設定できず、LOAELは雌雄ともに0.1 mg/kg体重/日であると考えられた。また、本試験では、マウスに発がん性は認められなかった。

表 27 2年間発がん性試験（マウス）において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
25	<ul style="list-style-type: none"> ・体重減少 ・精巢の白膜における石灰化の発生頻度上昇及び程度の増強 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重減少 ・心臓の絶対重量の増加
1	<ul style="list-style-type: none"> ・心臓の絶対重量の増加 	
0.1 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・心臓の比重量の増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・心臓の比重量の増加

(5) 2年間発がん性試験（ラット）（参照 3、5、26）

ラット（Chbb: THOM系、6週齢、雌雄各48~72匹/群）を用いた塩酸クレンブテロールの混餌あるいは飲水投与⁵（0、6.25、12.5、25 mg/kg体重/日）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とおりであった。本試験では、腫瘍発生におけるラットの系統差を考慮するために、対照群及び25 mg/kg体重/日投与群については、別のラット（SD系：Charles River CD、雌雄各72匹/群）群を設けた。

試験終了時における生存率は、雄で70~87%、雌では50~71%であった。死亡率は途中解剖例も含めて34.4%であった。

一般状態では、全投与群において神経過敏、筋緊張及び攻撃性が認められた。また、ストレスに起因すると考えられる色素涙が認められた。

体重では、いずれの系統の雌雄においても用量依存的な減少が認められた。

飲水量では、SD系ラットの25 mg/kg体重/日投与群で減少が認められた⁶。

摂餌量及び剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、Chbb: THOMラットに投与に起因する影響は認められなかった。一方、SD系ラットでは、25 mg/kg体重/日投与群で卵巣間膜に平滑筋腫（別紙1参照）の発生が認められた（0 mg: 0例/72匹、25 mg: 11例/72匹⁷）。その他、対照群も含めていずれの投与群においても心内膜下の線維化が認められ、特にChbb: THOMラットでは高い発生が認められたが、いずれも老齢性変化であると考えられた。

本試験において、全投与群の雌雄で神経過敏、筋緊張及び攻撃性、色素涙、体重減少、が認められたことから、NOAELは設定できず、LOAELは雌雄ともに6.25 mg/kg体重/日であると考えられた。また、本試験では、Chbb: THOMラットには発がん性は認め

⁵ 混餌投与は最初の20週間のみ。対照群の1例で投与群と同様の臨床症状が認められ、被験物質の粉塵による暴露の可能性が考えられたことから、試験20週目以降は飲水投与に変更。

⁶ 飲水中の高濃度の塩（被験物質）が減少の原因と考えられる。

⁷ 2/11例では両側性に認められた。

られなかったが、SD系ラットでは卵巣間膜に平滑筋腫の発生が認められた。

表 28 2年間発がん性試験（ラット）において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
6.25 以上 (THOM)	<ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少 ・神経過敏、筋緊張及び攻撃性、色素涙（雌雄不明） 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少
25 (SD)	<ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少 ・飲水量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少 ・飲水量の減少 ・卵巣間膜に平滑筋腫

6. 生殖発生毒性試験

(1) 1世代繁殖試験（ラット）（参照 3、5、27）

ラット（Chbb:THOM系、雄：6週齢、雌：7週齢、雌雄各30匹/群）を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与（0、1、7、50 mg/kg 体重/日）による1世代繁殖試験が実施された。被験物質の投与は、雄は交配10週前から交配期間を通して、雌は交配2週前から妊娠13日あるいは離乳時まで連日行った。妊娠13日に母動物の半数を開腹して胚の生死を検査した。残りの半数については自然分娩させ、生後3週に児を剖検した。また、ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験（参照33）で7 mg/kg 体重/日以上投与群で生存児数の減少及び死産児数の増加が認められたことから、本試験では、対照群及び50 mg/kg 体重/日投与群の母動物（各6例）から生まれた児動物を出生直後に交差哺育し、これらの影響が被験物質の胎盤を介した胎児への作用によるものか、あるいは母動物の哺育能の低下によるものかを確認した。さらに、β刺激薬には心筋壊死の誘発が知られていることから、対照群及び50 mg/kg 体重/日投与群の生後1日の児動物（各3例）について、心臓の病理組織学的検査と組織化学的検査（LDH、NADH-TTR、SDH、グリコーゲン、ホスホリラーゼ、ATPase（pH 7.2及び9.4）、AMPase、ALP、ACPase：ラットを用いた18ヶ月間慢性毒性試験と同項目）を実施した。

親動物については、試験期間中に投与に起因する死亡例は認められなかった。また、一般状態、雌雄の繁殖能、雌の受胎率及び剖検に投与に起因する影響は認められなかった。体重では、50 mg/kg 体重/日投与群で雄の体重増加抑制が認められ、雌では妊娠期間中の体重増加抑制が認められた。

妊娠13日の胚生存率及び胚死亡吸収率には投与の影響は認められなかった。

出生後の児動物については、50 mg/kg 体重/日投与群で死産児数の増加及び生存児数の減少が認められ生後1日までに全児が死亡した。対照群と50 mg/kg 体重/日投与群で児動物を交差哺育した場合も、50 mg/kg 体重/日投与群の児動物で死亡が認められた。一方、50 mg/kg 体重/日投与群の母動物に哺育された対照群の児動物においても、授乳期間中に生存児数の減少が認められ、投与の影響による母動物の哺育能の低下あるいは児動物への被験物質の乳汁暴露による生存に対する有害影響が示唆された。生後7日の生存児数の減少が7 mg/kg 体重/日投与群で認められた。また、体重については生後1日に全投与群で減少が認められ、生後21日には7 mg/kg 体重/日投与群で児体重の減少

がみられた。病理組織学的検査では、心臓に明らかな異常は認められなかったが、組織化学的検査では、50 mg/kg 体重/日投与群で脱水素酵素及びフォスファターゼの活性低下が主に左心室壁で認められ、グリコーゲン量の減少が主に左心側で認められた。

本試験において、親動物では50 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制が認められたことから、親動物に対するNOAELは7 mg/kg 体重/日、児動物では全投与群で体重の減少が認められたことからNOAELは設定できず、児動物に対するLOAELは1 mg/kg 体重/日であると考えられた。(表29)

表29 1世代繁殖試験(ラット)で認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	親動物	児動物
50	・体重増加抑制(雌では妊娠期間のみ)	<ul style="list-style-type: none"> ・死産児数の増加、生存児数の減少(生後1日までに全例死亡) ・児動物の死亡(対照群の母動物が交差哺育) ・交差哺育した対照群の児動物の生存児数の減少 ・左心室壁で脱水素酵素及びフォスファターゼの活性低下 ・左心側でグリコーゲン量の減少
7以上	7 mg/kg 体重/日以下、毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・生後7日の生存児数の減少 ・生後21日に児体重の減少
1以上		<ul style="list-style-type: none"> ・生後1日の体重減少

(2) 2世代繁殖試験(ラット)(参照3、5、28)

高投与量による上記の試験をヒトでの服用量を用いて追試した。ラット(Chbb・THOM系、日齢不明、雌雄各34匹/群)を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与(0、1.5、7.5、15 µg/kg 体重/日)による2世代繁殖試験が実施された。被験物質の投与は、雄は交配10週間前から交配期間を通して、雌は交配2週間前から妊娠期間終了まで連日行った。妊娠12~14日に母動物の半数を開腹して胚の生死を検査し、残りの半数については自然分娩させ生後3週まで哺育し、身体発達を含む各種検査に供した。また、一腹につき雌雄各2例の児動物(F₁)を選択し、各種の感覚機能及び行動を検査した。その後、F₁を交配して得られた児動物(F₂)の発育及び行動を観察した。

親動物については、15 µg/kg 体重/日投与群の雄に投与13日から1週間興奮が認められたが、より高用量の他の試験において同様の影響が認められていないことから、投与に起因する影響ではないと考えられた。体重、摂餌量、繁殖能、生存胚数、吸収胚数、剖検及び妊娠期間に投与に起因する影響は認められなかった。

児動物については、F₁では体重、各種の感覚機能及び行動検査、繁殖能等いずれにおいても投与に起因する影響は認められず、また、F₂の発育及び行動にも投与に起因する影響は認められなかった。

本試験において、親動物及び児動物では投与に起因する影響は認められなかったことから、親動物及び児動物に対するNOAELは本試験の最高用量である15 µg/kg体重/日であると考えられた。

(3) 催奇形性試験 (ラット) (参照 3、5、29、30、31、32)

ラット (SD系、11週齢、雌32~34匹/群) の妊娠7日から17日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与 (0、0.4、2、10 mg/kg体重/日) し、妊娠20日に妊娠動物の2/3を帝王切開して胎児 (F₁) を検査した。残りの1/3の妊娠ラットについては自然分娩させて得た児動物 (F₁) を離乳後も飼育して内臓/骨格検査、機能/行動/学習試験及び生殖能力を検査した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡は認められなかった。一般状態、妊娠期間、出生率、剖検等に投与に起因する影響は認められなかった。なお、体重、摂餌量及び飲水量については、全投与群で投与初期に一過性の減少が認められたが、直ちに対照群と同程度まで回復した。

胎児 (F₁) については、着床数、吸収胚数、胚/胎児死亡率、生存胎児数、性比、外表/内臓/骨格奇形の所見に投与に起因する影響は認められなかった。胎児体重は2 mg/kg体重/日以上投与群で減少が認められた。また、骨格観察では、全投与群で第6胸骨核未化骨胎児の発現頻度の増加、2 mg/kg体重/日以上投与群で上後頭骨及び仙尾椎骨の骨化遅延が認められ、10 mg/kg体重/日投与群では肋骨湾曲の発現頻度の増加が認められた。

しかし、出生後の児動物 (F₁) の検査では、10 mg/kg体重/日投与群の出生率の減少、雌児の体重増加抑制が認められた。また第6胸骨核未化骨、上後頭骨及び仙尾椎骨の骨化遅延、肋骨湾曲はいずれの投与群の出生児にも観察されなかったことから、これらの骨格所見は一過性の変化と判断される。児動物 (F₁) の生後観察では、生存率、一般状態、臓器重量、機能試験、オープンフィールド試験、条件回避反応試験及び生殖能力に投与に起因する影響は認められなかった。10 mg/kg体重/日投与群の雌雄でGluの増加及びASTの減少が認められた。F₂胎児では10 mg/kg体重/日投与群において腎盂拡張又は腰肋の発現頻度の上昇が認められた。

本試験において、母動物では投与に起因する影響は認められず、F₁児では2 mg/kg体重/日以上投与群の胎児に体重減少が認められたことから、母動物に対するNOAELは本試験の最高用量である10 mg/kg体重/日、F₁児に対するNOAELは0.4 mg/kg体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(表30) (参照29)

表 30 催奇形性試験（ラット）で認められた毒性影響①

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児 (F ₁ 、F ₂)・児動物 (F ₁)
10	10 mg/kg 体重/日以下、毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・出生率の減少 (F₁ 児動物) ・体重増加抑制 (F₁ 雌児動物) ・Glu の増加 (F₁ 雌雄児動物) ・AST の減少 (F₁ 雌雄児動物) ・腎盂拡張又は腰肋の発現頻度の上昇 (F₂ 胎児)
2 以上		<ul style="list-style-type: none"> ・胎児体重の減少 (F₁ 胎児)
0.4		毒性所見なし

ラット (Biberach 系、110 日齢、雌 20 匹/群) の妊娠 5 日から 14 日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与 (0、0.04、0.2、1 mg/kg 体重/日) し、妊娠 20 日に胎児を検査した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡は認められなかった。また、一般状態、摂餌量、体重、繁殖能及び剖検に投与に起因する影響は認められなかった。

胎児については、吸収胚数、生存胎児数、胎児体重に投与に起因する影響は認められなかった。また、胎児奇形の発現率に投与による影響は認められなかった。

本試験において、母動物及び胎児には投与に起因する影響が認められなかったことから、母動物及び胎児に対する NOAEL は本試験の最高用量である 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 3、5、30)

ラット (SD 系、概ね 100 日齢、雌 25 匹/群) の妊娠 8 日から 13 日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与 (0、0.01、1、10、100 mg/kg 体重/日) し、妊娠 21 日に各群 20 匹を帝王切開して胎児を検査し、残りの 5 匹については自然分娩させ、児動物の発育等を観察した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡例は認められなかった。一般状態では、100 mg/kg 体重/日投与群で脱力、過敏あるいは血様の膣分泌物が認められた。投与期間中の体重は、10 mg/kg 体重/日以上投与群で増加抑制が認められた。剖検では、1 mg/kg 体重/日以上投与群で子宮角粘膜出血が認められたが、発現頻度に用量依存性は認められなかった。

胎児について、10 mg/kg 体重/日以上投与群で生存胎児数の減少、吸収胚数の増加、着床後胚/胎児死亡率の増加及び奇形発生率の増加が認められた。なお、主な奇形は全身浮腫、肋骨奇形及び椎骨の分離であった。

自然分娩群では、出生時に 100 mg/kg 体重/日投与群で生存児数の減少及び生存児の平均体重の減少が認められた。100 mg/kg 体重/日投与群では出生時に 33 匹であった生存児がわずか 4 匹に減少した。

本試験において、母動物では 10 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制が認められ、F₁ 児では 10 mg/kg 体重/日以上投与群で胚/胎児死亡率の増加等が認められたことから、