Propiverine hydrochlorideのラット経口投与による 52週間慢性毒性試験および5週間回復試験

山下 和正, 桑田 雅彦, 入村 兼司, 森永 秀信
黒川 恭子, 芦沢 真

大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所

FIFTY-TWO-WEEKS ORAL CHRONIC TOXICITY STUDY OF PROPIVERINE HYDROCHLORIDE IN RATS

Kazumasa YAMASHITA, Masahiko KUWATA, Kenzi IRIMURA,
Nobuhide MORINAGA, Kyōko KUROKAWA and Makoto ASHIZAWA

Drug Safety Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.,
224-2, Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima, 771-01, Japan

Accepted January 24, 1990

Abstract.....An oral chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4), a new anti-pollakiuria agent, was carried out at dose levels of 0 (control), 0.5, 5 and 50mg/kg/day using male and female rats. They were treated for 52 weeks, followed by 5 weeks recovery period. The results obtained from the present study were as follows.

1. There were no deaths related to P-4. Mydriasis, transitory salivation were observed in both sexes receiving 50mg/kg/day, and soil of the abdomen was also noted in females receiving 50mg/kg/day.

2. Body weight gain was suppressed from initiation of administration in both sexes receiving 50mg/kg/day.

3. There were no significant or remarkable changes in food consumption, hematology and ophthalmology.

4. Urinary findings in animals receiving 50mg/kg/day showed increases of urine and potassium excretion volumes and decrease of urine osmotic pressure in both sexes, negativity of urine protein and decrease of urobilinogen value in females.

5. Biochemical findings in animals receiving 50mg/kg/day showed increase of urea-nitrogen (Urea N) in both sexes and decrease of triglyceride (TG), total cholesterol (T. cho), free cholesterol (F. cho), non-esterified fatty acids (NEFA) and phospholipid (PL) in males.

連絡先: ☎771-01 徳島市川内町平石字夷野224-2

大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所 山下 和正

6. The absolute and/or relative weights of the liver increased in animals receiving 50mg/kg/day.

Histopathological examination in animals receiving 50mg/kg/day revealed intranuclear eosinophilic inclusions and cytoplasmic eosinophilic substance in renal proximal tubular epithelium and midzonal lipid droplets in liver.

Histochemical examination in animals receiving 50mg/kg/day revealed the slight increase of γ -GTP positive area in peripheral zone of liver.

Electron-microscopic examination in animals receiving 50mg/kg/day revealed intranuclear and intracellular large and homogeneous spherical-like structure with low electron density in renal proximal tubular epithelium, and slight hyperplasia of smooth endoplasmic reticulum with dilatation of cisternae and deposition of large lipid droplets in hepatocytes, but there was no difference of VLDL and its distributions in hepatocytes among groups.

7. After 5 weeks recovery period, above-mentioned changes were almost disappeared and considered to be reversible.

8. From the above results, the non-effective dose level of P-4 was estimated to be 5mg/kg/day for both sexes.

Key words : Propiverine hydrochloride, anti-pollakiuria agent, chronic oral toxicity, rats.

緒 言

Propiverine hydrochloride (1-methyl-4-piperidyl diphenylpropoxyacetate hydrochloride, 以下P-4と略)は, VEB Sächsisches Serumwerk Dresden社(ドイツ民主共和国)で開発された平滑筋直接作用および抗コリン作用を併せ持つ新しいタイプの頻尿改善薬である。

今回著者らは安全性試験の一環として, ラットにP-4を52週間経口投与し, 慢性毒性を検討するとともに5週間休薬することにより回復性についても検討したので報告する。

実験材料および方法

1. 被験物質

P-4の構造式をFig. 1に示した。

P-4 (VEB Sächsisches Serumwerk Dresden社提供, Lot No. 021085)は分子式 $C_{23}H_{29}NO_3 \cdot HCl$, 分子量403.95で, 水およびエタノールにやや溶けやすい化合物である。

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Fig. 1. Chemical structure of Propiverine hydrochloride (P-4).

2. 使用動物および飼育条件

動物は4週齢のWistarラット（SPF）雌雄各150匹を日本クレア(株)より購入し、14日間検疫および馴化したのち、体重増加および一般状態の良好な雌雄各120匹を使用した。

動物は温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、照明午前6時点灯、午後6時消灯、換気回数10回以上/時に設定されたバリアーシステム飼育室のラット用ステンレス製ブラケットケージR-IS（日本クレア(株)）にて検疫・馴化期間は1ケージ5匹ずつ、以後は1ケージ2匹ずつ収容して飼育した。また、高圧蒸気滅菌した固型飼料CE-2（日本クレア(株)）および殺菌水を自由に摂取させた。投与開始時の体重範囲は雄133～153g、雌101～121gであった。

3. 投与量および投与方法

投与量はラット経口投与による13週間亜急性毒性試験の結果（中野ら，1989）を参考にして設定した。すなわち、P-4の2，10，50および150mg/kgを投与した結果、確実中毒量は雄が50mg/kg、雌が150mg/kgと推定されている。従って、本試験における投与量は50mg/kgを最高用量とし、以下5および0.5mg/kgとした。

投与方法は雌雄とも投与容量を1 ml/100g体重とし、ラット用胃ゾンデにより1日1回の強制経口投与とした。対照群には注射用蒸留水のみを同様の方法で投与した。

P-4は注射用蒸留水（大塚製薬(株)，Lot No. 6H850）にて一括調製（1週間以内の分）し、投与に際し1日分ずつに分注したのち低温室に保管した。なお、調製検体は冷所にて7日間、室温にて1日間の安定性が確認されている。

4. 動物数および投与期間

投与期間は52週間とし、動物数は雌雄とも各群30匹を用い、52週間投与後の屠殺剖検群（以下52週解剖群）および52週間投与したのち5週間休薬後の屠殺剖検群（以下回復群）に分け、それぞれ20匹および10匹を使用した。

5. 観察項目および検査項目

一般状態の観察は、投与期間中は連日投与前および投与後の2回、回復期間中は1日1回実施し、体重は個体別に投与5週までは週3回、26週までは週1回、以後2週に1回の割合で測定した。摂餌量は投与13週までは週1回、以後2週に1回の割合でケージ毎（2匹）に測定し、1匹当りの摂取量を算出した。尿検査は投与25（雄）～

26週（雌）、投与38（雄）～39週（雌）（以下投与25～26週および投与38～39週中間検査）および解剖前（52週解剖群）に雌雄各群の10匹ずつ、また、回復期間終了時に雌雄全例を代謝ケージに移し、新鮮尿について定性的検査を、さらに18時間の蓄積尿について定量的検査および尿沈渣の鏡検を行った。また、眼科学的検査は投与27週および52週解剖前に対照群および50mg/kg群の雌雄各10例ずつ、および回復期間終了時に対照群および50mg/kg群雌雄全例について実施した。すなわちミドリンP®（参天製薬株）にて散瞳させた後、眼底カメラ（RC-2, Kowa）を用いて眼底写真の撮影を行い精査した。投与期間および回復期間終了時には動物は16時間以上絶食したのちエーテル麻酔下で開腹し、血液学的および血液生化学的検査のため採血を行った。すなわち、血液学的検査は後大静脈より採取したEDTA-2K加血を用いて細胞成分検査を、また、凝固系検査はクエン酸ナトリウム加血の血漿を用いて実施した。血液生化学的検査は腹部大動脈より採取したヘパリン加血の血漿を用いて実施した。上記臨床検査の方法をTable 1に示した。

採血後、動物は直ちに大腿動静脈切断により放血致死させ、全身諸臓器の肉眼的観察と主要臓器（脳、下垂体、胸腺、心、肺、肝、脾、腎、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮）の重量を測定するとともに、重量比（体重比重量）を算出した。重量測定臓器のほかに大動脈、腸間膜リンパ節、骨髄、舌、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸および回腸）、大腸（盲腸および結腸）、脾、眼球、骨格筋、皮膚、乳腺、顎下腺、甲状腺、上皮小体、気管、脊髄、腔、膀胱、喉頭、精囊、前立腺、下顎リンパ節、ハーダー腺、坐骨神経およびその他病変部は20%緩衝ホルマリン液で固定したのち10%緩衝ホルマリン液で再固定後、通常のごとく処理しヘマトキシリン・エオジン（H. E.）染色を実施した。また、一部の標本についてはPAS染色、鉄染色、胆汁色素染色あるいはリポフスチン染色（鍍銀染色およびチールネルゼン染色）を施し、病理組織学的検査に供した。さらに対照群および50mg/kg群の代表例（52週解剖群および回復群の雌雄各群3例）については病理組織化学的検査として肝の γ -GTPおよびAIP検査を実施した。また、電子顕微鏡的観察に供するため、52週解剖群および回復群の雌雄各群3例ずつについて解剖時に肝および腎皮質の小片を採取し、常法に従って電子顕微鏡用ブロックを作製した。すなわち、採取した小片は2.5%グルタルアルデヒド液で2時間、前固定後、1.0%四酸化オスミウムで2時間、後固定を行った。緩衝液はいずれも0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）を用いた。固定終了後、アルコール系列にて脱水しプロピレンオキサイドに置換後、Luftの方法に従ってEpoxy® 812に包埋した。これらのうち対照群および50mg/kg群（肝は52週解剖群の5mg/kg群の雄、腎は同群の雌についても実施）の標本はLKB8800を用いて超薄切片を作製し、酢酸ウラニルおよびクエン酸鉛で二重染色後、電子顕微鏡（H-500, 日立製作所）にて観察した。さらに対照群および50mg/kg群の代表例（52週解剖群および回復群の雌雄各群3例）については肝のVLDL染色を施し、電子顕微鏡的観察を行った。

6. 統計学的方法

体重、摂餌量、臓器重量および重量比については一元配置分散分析および多重比較を行った。また、臨床検査項目のうち型別白血球分類、網赤血球率、尿定性についてはKruskal-Wallis検定を、その他の項目については一元配置分散分析および多重比較を行った。

実験成績

1. 一般状態の観察

投与期間中、P-4投与に起因すると考えられる症状として散瞳、流涎および尿による下腹部の汚染が観察された。

散瞳は50mg/kg群の雌雄とも投与2日の投与30分後頃から連日みられ、経時的にその例数および程度は増強され、多い日には雄で約20例、雌ではほぼ全例に観察された。しかし、投与後翌日の投与前観察時にはほぼ消失していた。そのほか対照群を含む5mg/kg以下の群の雄または雌にも1～2例で散見された。

流涎は50mg/kg群の雌雄とも投与6週頃から投与後一過性にみられ始め、多い日には雌雄とも20例以上で観察されたが、雌雄とも投与日数の増加に伴う例数の増加はみられなかった。5mg/kg以下の群については0.5mg/kg群の雌1例にのみ投与8週に認められた。

尿による下腹部の汚染は50mg/kg群の雌で投与5週頃からみられ始め、多い日には12例に認められた。

また、50mg/kg群の雄では投与40週頃から受け皿への餌の食いこぼしが他群に比べて多かった。

休薬後、上記流涎は全例で消失し、散瞳は50mg/kg群の雌に、尿による下腹部の汚染は対照群および0.5mg/kg群の雌に散見されたのみであった。

そのほか、投与あるいは回復期間を通じて50mg/kg群の雌雄に検体の一部誤飲あるいは誤燕の影響と考えられる呼吸音の異常（ラッセル音）、また、対照群を含む雌雄各群に頭部、頸部、頬部、背部、体側あるいは四肢などの疎毛ないし脱毛、紅涙あるいは紅涙痕、眼球白濁あるいは眼底付近への輝白色物の沈着などがみられた。さらに雄では各群の少数例にペニス先端の血様物付着が、雌では各群の少数例に投与後期より外陰部皮下の硬結がみられた。

なお、投与期間中对照例を含む雌雄の合計12例の死亡がみられたが、投与後の症状、死亡に至る経過あるいは剖検所見からいずれも誤投与による死亡と判断された。また、対照群の雌1例では投与53日より左右腹部に各々鶏卵大および母指頭大の腫瘤がみられ、四肢の貧血色、腹部膨満、脱力およびうずくまり姿勢が観察されたため投与55日に切迫屠殺し、病理学的検査に供した。

2. 体重の推移

雌雄各群の平均体重の推移をFig. 2に示した。

5mg/kg以下の雌雄各群では著変はみられなかった。

50mg/kg群では雌雄とも投与4週頃より体重増加抑制が投与期間中継続してみられ、雌に比べ雄の方がやや強かった。

休薬後、50mg/kg群の雌雄とも増加傾向を示した。

3. 摂餌量の推移

雌雄各群の平均摂餌量の推移をFig. 3に示した。

5mg/kg以下の雌雄各群では著変はみられなかった。

50mg/kg群では雄で投与15週、雌で投与8週頃より摂餌量の増加傾向がみられた。

休薬後、雌雄各群とも著変はみられなかった。

Table 1. Items and methods for hematological serum biochemical, urinary and fecal examinations.

Examination	Items	Abbreviation	Method
Hematology	Erythrocyte	RBC	Optical flow cytometry ¹⁾
	Hemoglobin	Hb	Cyanmethemoglobin method ¹⁾
	Hematocrit	Ht	Optical flow cytometry ¹⁾
	Mean corpuscular volume	MCV	Calculation as Htx10/RBC
	Mean corpuscular hemoglobin	MCH	Calculation as Hbx10/RBC
	Mean corpuscular hemoglobin concentration	MCHC	Calculation as Hbx100/Ht
	Reticulocyte	Retic.	Brilliant cresyl blue stain
	Leucocyte	WBC	Optical flow cytometry ¹⁾
	Differential leucocyte count		Microscopic cell count
	Meta myelocyte	Meta	(Wright-Giemsa stain)
	Neutrocyte-Stab form	N-St	
	Neutrocyte-Segmented	N-Seg	
	Lymphocyte	Lym	
	Atypical lymphocyte	A.Lym	
	Monocyte	Mono	
	Eosinophile	Eosino	
	Basophile	Baso	
	Platelet	PLAT	Optical flow cytometry ¹⁾
	Prothrombin time	PT	Quick one-stage method
	Activated partial thromboplastin time	APTT	Proctor and Rapaport method
	Fibrinogen	FIB	Thrombin time method
Biochemistry	Glutamic oxaloacetic transaminase	GOT	GSCC method ²⁾
	Glutamic pyruvic transaminase	GPT	GSCC method ²⁾
	Lactate dehydrogenase	LDH	Wroblewski-La Due method ²⁾
	Alkaline phosphatase	ALP	P-NPP substrate method
	Cholinesterase	ChE	Δ pH method ²⁾
	Glucose	GLU	Enzyme method (GO-POD system) ²⁾
	γ -Glutamyltranspeptidase	γ -GTP	L- γ -glutamyl-p-N-ethyl-N-hydroxyethylaminoanilide substrate method ²⁾
	Non-esterified fatty acid	NEFA	ACA-ACOD method ²⁾
	Total cholesterol	T.cho	Enzyme method (CEH-COD-POD system) ²⁾

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Free cholesterol			
Triglyceride			
Cholesterol ester ratio			
Total protein		F. cho	Enzyme method (COD-POD system) ²⁾
Phospholipid		TG	GPO-MEHA method ²⁾
Albumin		EST/T	Calculation as (T.cho-F. cho) / T. cho
Albumin-globulin ratio		TP	Biuret method ²⁾
Total bilirubin		PL	Enzyme method (PLD-COD-POD system) ²⁾
Urea nitrogen		ALB	Calculation as (TP×A/G ratio) / (A/G ratio+1)
Creatinine		A/G	Electrophoresis & densitometry
Uric acid		T.Bil	Jendrassik-Cleghorn method ²⁾
Calcium		Urea N	Modification of urease-indophenol method ²⁾
Inorganic phosphorus		CRN	Jaffe method ²⁾
Sodium		UA	Enzyme method (Uricase-POD system) ²⁾
Potassium		Ca	Orthocresolphthalein complexone method ²⁾
Chloride		IP	Direct molybdenum blue method ²⁾
		Na	Ion-selective electrode method
		K	Ion-selective electrode method
		Cl	Ion-selective electrode method
Urinalysis (Fresh voided)		Spec. Grav	Modification of Addis method
			Nultistix® SG : AMES
			Nultistix® SG : AMES
			Nultistix® SG : AMES
(18 hrs accumulated)		volume	Freezing point method
		Osmo. Press	Ion-selective electrode method
		Na	Ion-selective electrode method
		K	Ion-selective electrode method
		Cl	Coulometric titrator method

1) : Optical flow cytometry using laser light scattering and hydrodynamic focusing ELT-8 hematology analyzer

: Ortho Instrument

2) : Hitachi 726 automatic analyzer

Fig. 2. Changes in mean body weight of male and female rats during the oral administration of P-4 for 52 weeks and the recovery period for 5 weeks.

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Fig. 3. Changes in mean food consumption of male and female rats during the oral administration of P-4 for 52 weeks and the recovery period for 5 weeks.

4. 尿検査

投与25～26週および38～39週中間検査, 52週解剖群および回復群の尿検査の結果をTable 2に示した。

1) 投与25～26週中間検査

5 mg/kg以下の雌雄各群には著変はみられなかった。

50mg/kg群の雌雄では尿量およびK排泄量の増加あるいは増加傾向と浸透圧の減少がみられ, 雌ではさらに蛋白の陰性化およびウロビリノーゲン量の減少がみられた。

2) 投与38～39週中間検査

5 mg/kg以下の雌雄各群には著変はみられなかった。

50mg/kg群の雌雄では尿量およびK排泄量の増加あるいは増加傾向と浸透圧の減少あるいは減少傾向がみられ, 雌ではさらに蛋白の陰性化およびウロビリノーゲン量の減少がみられた。

3) 52週解剖群

5 mg/kg以下の雌雄各群では0.5mg/kg群の雄に尿比重の上昇がみられた以外に著変はみられなかった。

50mg/kg群の雌雄では尿量およびK排泄量の増加あるいは増加傾向と浸透圧の減少あるいは減少傾向がみられ, さらに雄ではpHの低下およびウロビリノーゲン量の減少が, 雌では蛋白の陰性化およびウロビリノーゲン量の減少がみられた。

4) 回復群

0.5mg/kg群の雄にC1排泄量の増加がみられた以外, 雌雄各群に著変はみられなかった。

5. 血液学的検査

52週解剖群および回復群の血液学的検査の結果をTable 3および4に示した。

1) 52週解剖群

5 mg/kg以下の雌雄各群では0.5mg/kg群の雌に網赤血球数の減少がみられた以外に著変はみられなかった。

50mg/kg群では雄に活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮がみられた。

2) 回復群

雌雄各群とも著変はみられなかった。

6. 血液生化学的検査

52週解剖群および回復群の血液生化学的検査の結果をTable 5および6に示した。

1) 52週解剖群

5 mg/kg以下の雌雄各群で0.5mg/kg群の雄にLDHの上昇が, 雌にALP活性の上昇がみられた以外に著変はみられなかった。

50mg/kg群では雄に総ビリルビンおよび尿素窒素の増加とグルコース, 総コレステロール, 遊離コレステロール, 中性脂肪, 遊離脂肪酸およびリン脂質の減少が, 雌にALP活性の上昇, 尿素窒素の増加およびアルブミンの減少がみられた。

2) 回復群

5 mg/kg以下の雌雄各群では0.5mg/kg群の雄に総コレステロール, 遊離コレステロールの増加と雌に総蛋白の増加が, 5 mg/kg群の雌にリン脂質の増加がみられた。

50mg/kg群では雌にアルブミンおよびA / G比の減少がみられた。

7. 眼科学的検査

1) 27週中間検査

50mg/kg群では雄1例で左眼血管走行が不明瞭となり、視神経部が赤色を呈していた。

2) 52週解剖群

対照群および50mg/kg群の雌雄とも特記すべき変化はみられなかった。

3) 回復群

対照群および50mg/kg群の雌雄とも特記すべき変化はみられなかった。

8. 臓器重量および重量比

52週解剖群および回復群の臓器重量および重量比をTable 7～10に示した。

1) 52週解剖群

5 mg/kg以下の雌雄各群では5 mg/kg群の雄で肺の重量および5 mg/kg群の雌で脾の重量が増加し、子宮の重量比が減少した以外に著変はなかった。

50mg/kg群では雄に肝の重量比の増加が、雌に肝の重量および重量比の増加が認められた。そのほか雄あるいは雌に諸臓器（脳、下垂体、肺、心、脾、腎、副腎、精巣、精巣上体および卵巣）の重量減少あるいは重量比増加が散見された。

2) 回復群

5 mg/kg以下の雌各群では0.5および5 mg/kg群に脾重量および重量比の増加が、0.5mg/kg群に肺重量および肝重量比の増加がみられた。

50mg/kg群の雌では肺および左副腎の重量および重量比の増加がみられ、さらに心、肝、脾、右副腎、右卵巣および子宮では重量比増加がみられた。

9. 病理学的検査

1) 肉眼的検査

(1) 52週解剖群

雌雄各群ともP-4投与に起因すると考えられる肉眼的変化は観察されなかった。そのほか、胸腺の萎縮が対照群を含む雌雄各群の14～19例に、肺の点状出血あるいは赤色～黒色巣が3～8例に、右腎盂拡張あるいは乳白色～乳褐色結石様固形物の貯留ないし沈着が雄各群の5～8例に、肝外胆管に拡張あるいは白色～淡緑色液ないし固型物の貯留が雄各群の3～9例および雌の対照群を除く各群1～2例にみられた。また、雌雄各群の少数例に肝の点状ないし斑状灰白色～灰黄色巣、肺の白色～灰黄白色巣ないし小結節あるいは赤色～赤褐色化、脾の点状ないし斑状灰白色巣など、雌各群の少数例に陰核腺の膿瘍様硬結も散見された。

切迫屠殺例（対照群の雌1例）では血様腹水が貯留し、全身諸臓器が貧血色を呈しており、また、脾に腫瘤がみられた。そのほか全身のリンパ節の腫大、肝の腫大、副腎の肥大なども観察された。

(2) 回復群

対照群を含む雌雄各群のほぼ全例に胸腺の萎縮、雄の各群の少数例～約半数例に右腎盂拡張あるいは乳白色～乳褐色結石様固形物の貯留ないし沈着がみられた。また、雄の各群では半数以下の例に肝外胆管の拡張あるいは白色～淡緑色液ないし固型物の貯留がみられたほか、各群の少数例に52週解剖群と同様の諸臓器の変化が散見された。

Table 2. Urinary findings in male and female rats during the oral administration of P-4 for 52 weeks and the recovery period for 5 weeks.

Item		Group	Color	pH					Protein					Glu- cose	Ketone body	Occult blood					Bilirubin	Urobilinogen (Ehrlich Unit/dl)				
				6.0 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5					- ± + ++							- ± + ++						0.1 1 2				
				N																						
Control	a)	10	25	10	0	1	1	4	3	1	0	2	4	4	0	10	10	8	2	0	0	0	10	0	6	4
	b)	10	38	10	0	1	4	4	1	0	0	6	4	0	10	10	10	0	0	0	0	10	0	8	2	
		10	51	10	0	0	3	4	3	0	0	1	7	2	0	10	10	9	0	0	0	1	10	0	2	8
		10	57	10	0	3	1	4	2	0	0	2	4	4	10	10	9	0	0	0	1	10	0	0	10	
0.5mg/kg	a)	10	25	10	0	2	1	1	6	0	0	2	5	3	0	10	10	10	0	0	0	0	10	0	7	3
	b)	10	38	10	0	2	3	4	1	0	0	3	7	0	10	10	9	1	0	0	0	10	0	7	3	
		10	51	10	0	1	4	5	0	0	0	2	7	1	10	10	9	0	0	1	0	10	0	1	9	
		10	57	10	0	1	4	5	0	0	0	4	6	10	10	9	1	0	0	0	10	0	0	10		
5 mg/kg	a)	10	25	10	0	0	1	4	3	2	0	0	6	4	0	10	10	6	1	0	0	3	10	0	5	5
	b)	10	38	10	0	2	2	4	2	0	0	4	6	0	10	10	9	0	0	1	0	10	0	8	2	
		10	51	10	0	0	1	7	2	0	0	1	3	6	0	10	10	5	3	0	2	0	10	0	1	9
		9	57	9	0	0	4	4	1	0	0	1	4	4	9	9	5	1	0	1	2	9	0	0	9	
50 mg/kg	a)	10	25	10	0	1	4	5	0	0	0	2	8	0	0	10	10	10	0	0	0	0	10	0	6	4
	b)	10	38	10	0	4	3	2	1	0	0	2	8	0	0	10	10	9	1	0	0	0	10	1	9	0
		10	51	10	0	2	6	1	1	0*	1	5	1	3	0	10	10	10	0	0	0	0	10	2	7	1**
		8	57	8	0	0	5	3	0	0	0	1	3	4	8	8	6	0	0	2	0	8	0	0	8	

— 119 —

a):No. of animals b):Weeks
c:Values are means $\pm$ S.D
*: Differs from control ($P<0.05$)
*: Differs from control ($P<0.01$)
N:Normal A:Abnormal

Table 2. continued.

Group	Item	a)	b)	Spec. Grav						Sediment		Volume	
				1.010	1.015	1.020	1.025	1.030	1.035	N	A	(ml)	
Male	Control	10	25	0	4	4	2	0	0	9	1	8.66±	2.06 ^{c)}
		10	38	0	2	3	5	0	0	9	1	9.31±	2.23
		10	51	0	2	4	3	1	0	8	2	10.14±	1.81
		10	57	0	1	2	4	1	2	8	2	8.91±	3.01
	0.5mg/kg	10	25	0	5	3	0	2	0	10	0	11.47±	3.47
		10	38	0	2	4	1	3	0	8	2	10.03±	1.50
		10	51	0	0	1	5	4	0*	7	3	12.05±	2.32
		10	57	0	0	1	7	1	1	9	1	12.29±	5.26
	5 mg/kg	10	25	0	2	6	2	0	0	6	4	10.09±	1.63
		10	38	0	1	6	2	1	0	7	3	10.29±	2.59
		10	51	0	1	2	7	0	0	6	4	11.04±	3.10
		9	57	0	0	3	3	3	0	3	6	9.12±	1.47
	50 mg/kg	10	25	0	1	6	3	0	0	10	0	16.28±	7.88**
		10	38	0	3	2	3	1	1	9	1	19.26±	10.77**
		10	51	0	4	2	3	1	0	10	0	19.94±	8.94**
		8	57	0	0	1	3	3	1	7	1	9.64±	4.81
Female	Control	10	26	0	0	2	5	1	2	10	0	6.43±	2.23
		10	39	0	2	4	1	3	0	10	0	9.60±	4.65
		10	52	0	3	4	2	1	0	10	0	12.14±	3.55
		9	57	0	1	3	4	1	0	9	0	11.69±	4.29
	0.5mg/kg	10	26	0	0	2	5	1	2	10	0	8.90±	2.56
		10	39	0	2	6	1	0	1	10	0	10.11±	2.49
		10	52	0	5	2	1	0	2	10	0	13.53±	4.66
		10	57	0	1	4	3	2	0	10	0	15.66±	5.57
	5 mg/kg	10	26	0	0	1	4	2	3	10	0	8.42±	5.71
		10	39	0	0	4	2	1	3	10	0	10.59±	5.92
		10	52	0	2	4	2	2	0	10	0	12.34±	5.74
		9	57	0	0	2	4	3	0	9	0	14.28±	5.70
	50 mg/kg	10	26	0	1	2	3	1	3	10	0	11.86±	5.20
		10	39	0	3	3	1	0	3	10	0	14.74±	6.40
		10	52	1	4	2	2	1	0	10	0	17.39±	6.89
		10	57	0	3	4	2	1	0	10	0	12.24±	4.04

a): No. of animals b): Weeks

c): Values are means ± S.D

*: Differs from control (P<0.05)

**: Differs from control (P<0.01)

N: Normal A: Abnormal

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Osmo. Press	Na	K	Cl
(mOsm/kg)	(mEq/18hrs)	(mEq/18hrs)	(mEq/18hrs)
2079.9±337.9	1.233±0.181	1.430±0.268	1.635±0.160
1808.9±211.2	1.049±0.168	1.541±0.260	1.518±0.225
1806.7±303.1	1.143±0.292	1.604±0.133	1.633±0.207
1972.8±404.9	1.049±0.233	1.531±0.386	1.432±0.253
1810.1±319.3	1.361±0.296	1.783±0.381	1.825±0.297
1745.1±266.6	1.069±0.140	1.676±0.157	1.597±0.199
1665.5±294.7	1.132±0.126	1.884±0.245	1.662±0.153
1787.0±525.7	1.219±0.289	2.029±0.577	1.749±0.250*
2009.6±204.0	1.413±0.191	1.641±0.210	1.881±0.227
1771.0±266.8	1.101±0.186	1.699±0.329	1.627±0.298
1827.5±318.3	1.223±0.248	1.770±0.304	1.755±0.276
1959.3±269.3	1.048±0.191	1.661±0.220	1.533±0.192
1373.5±462.2**	1.199±0.226	1.996±0.543**	1.684±0.253
1101.2±378.8**	0.987±0.347	2.078±0.591**	1.661±0.815
1023.0±292.7**	1.026±0.250	2.152±0.502**	1.525±0.313
1968.6±470.0	1.089±0.182	1.618±0.512	1.533±0.202
2166.2±461.5	0.898±0.185	1.047±0.278	1.182±0.216
1655.5±504.9	0.870±0.168	1.378±0.418	1.177±0.282
1397.3±279.6	1.141±0.172	1.679±0.311	1.501±0.237
1480.7±430.7	1.149±0.225	1.777±0.486	1.501±0.257
1799.5±350.8	1.043±0.189	1.355±0.340	1.451±0.261
1526.7±292.5	0.908±0.143	1.513±0.263	1.366±0.198
1260.4±209.6	1.201±0.281	1.839±0.494	1.552±0.360
1185.8±243.4	1.186±0.195	2.160±0.430	1.617±0.205
2214.8±848.5	1.002±0.241	1.242±0.531	1.386±0.268
1541.9±472.9	0.831±0.215	1.442±0.505	1.117±0.325
1414.5±405.3	1.082±0.286	1.663±0.521	1.398±0.301
1262.3±398.7	1.136±0.200	1.977±0.375	1.508±0.150
1488.8±577.6*	1.019±0.241	1.552±0.474	1.268±0.298
1176.9±389.4	0.865±0.191	1.715±0.428	1.585±0.846
1072.5±369.1	1.103±0.207	1.949±0.428	1.427±0.199
1375.0±442.9	1.132±0.231	1.756±0.436	1.470±0.225

Table 3. Hematological findings in male and female rats after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Sex	Dose	No. of Animals	Male				Female			
			Control	0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg	Control	0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg
			19	19	20	17	17	20	20	20
WBC	(1.0E9/l)		8.56±1.22 ^a	9.09±2.00	9.14±2.32	8.95±1.84	6.08±1.10	6.25±1.38	6.18±1.18	6.98±1.98
RBC	(1.0E12/l)		9.214±0.239	9.149±0.260	9.230±0.253	9.251±0.221	8.464±0.257	8.464±0.271	8.529±0.318	8.578±0.288
Hb	(g/dl)		15.40±0.37	15.28±0.34	15.32±0.36	15.45±0.34	15.29±0.40	15.21±0.33	15.22±0.45	15.30±0.41
Ht	(%)		44.78±1.23	44.54±1.09	44.59±0.94	45.06±1.50	44.31±1.28	44.18±1.13	44.14±1.43	44.48±1.06
MCV	(fl)		48.6±1.6	48.7±1.3	48.3±1.3	48.7±1.0	52.5±1.4	52.3±1.2	51.9±1.1	52.0±1.4
MCH	(pg)		16.72±0.54	16.71±0.46	16.61±0.40	16.69±0.32	18.07±0.55	17.97±0.43	17.85±0.47	17.84±0.52
MCHC	(%)		34.41±0.53	34.31±0.59	34.35±0.48	34.29±0.76	34.52±0.31	34.43±0.36	34.50±0.44	34.39±0.49
PLAT	(1.0E9/l)		1014.2±70.4	981.4±58.8	1027.4±101.6	984.7±67.2	992.3±60.6	1023.1±114.6	1004.9±80.2	1057.3±78.1
Retic.	(%)		2.25±0.59	2.51±0.40	2.28±0.41	2.42±0.58	3.45±0.75	2.84±0.51	3.05±0.63	3.15±0.62
Retic.	(1.0E9/l)		207.0±54.4	229.6±37.2	210.2±36.7	224.1±53.6	292.2±63.7	240.2±45.1*	260.3±55.9	269.6±52.8
Meta	(1.0E9/l)		0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
N-St	(1.0E9/l)		0.008±0.024	0.009±0.026	0.011±0.028	0.007±0.030	0.011±0.025	0.002±0.011	0.004±0.018	0.018±0.037
N-Seg	(1.0E9/l)		1.983±0.622	2.520±1.367	2.151±1.062	2.426±1.164	1.354±0.559	1.596±0.995	1.520±0.489	1.767±0.883
Lym	(1.0E9/l)		6.261±1.336	6.243±1.363	6.621±1.714	6.271±1.392	4.468±1.029	4.362±0.750	4.319±0.876	4.874±1.208
A.Lym	(1.0E9/l)		0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
Mono	(1.0E9/l)		0.247±0.155	0.270±0.132	0.260±0.174	0.185±0.100	0.184±0.095	0.221±0.098	0.260±0.119	0.272±0.175
Eosino	(1.0E9/l)		0.096±0.113	0.072±0.096	0.116±0.196	0.067±0.073	0.077±0.088	0.077±0.078	0.082±0.092	0.049±0.065
Baso	(1.0E9/l)		0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
Meta	(%)		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
N-St	(%)		0.1±0.3	0.1±0.3	0.2±0.4	0.1±0.2	0.2±0.4	0.1±0.2	0.1±0.2	0.2±0.4
N-Seg	(%)		23.6±8.1	26.8±10.8	23.3±8.0	26.6±11.3	22.3±8.1	24.3±9.1	24.6±6.1	24.3±7.4
Lym	(%)		72.6±8.5	69.5±10.0	72.9±7.7	70.6±11.3	73.4±7.9	71.0±8.9	70.0±5.7	71.0±8.0
A.Lym	(%)		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Mono	(%)		2.9±2.0	3.1±1.5	2.9±1.8	2.1±1.2	3.1±1.6	3.6±1.5	4.2±1.5	3.9±1.9
Eosino	(%)		1.1±1.2	0.7±0.9	1.1±1.8	0.7±0.7	1.4±1.7	1.2±1.2	1.3±1.3	0.7±0.9
Baso	(%)		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
PT	(sec)		14.86±0.56	14.72±0.59	14.93±0.56	14.96±0.93	13.18±0.16	13.28±0.18	13.16±0.16	13.17±0.16
APTT	(sec)		22.87±0.70	22.55±0.91	22.85±0.42	22.09±0.85**	21.70±0.80	21.44±0.88	21.35±0.63	21.27±0.78
FIB	(mg/dl)		209.7±25.3	224.9±93.2	211.5±32.3	219.2±32.6	104.6±13.1	125.3±30.6	125.9±26.3	128.0±40.5

a : Values are means ± S.D * : Differs from control (P<0.05) ** : Differs from control (P<0.01)

Table 4. Hematological findings in male and female rats allowed to recover for 5 weeks after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Sex	Dose No. of Animals	Male				Female			
		Control 10	0.5mg/kg 10	5mg/kg 9	50mg/kg 8	Control 9	0.5mg/kg 10	5mg/kg 9	50mg/kg 10
WBC	(1.0E9/l)	10.21±2.20 ^a	10.93±1.97	10.08±1.99	9.76±2.11	6.20±1.19	7.07±1.51	7.07±0.93	6.84±0.98
RBC	(1.0E12/l)	9.616±0.200	9.642±0.206	9.679±0.418	9.776±0.297	8.839±0.276	8.698±0.254	8.898±0.233	9.077±0.262
Hb	(g/dl)	15.62±0.44	15.57±0.38	15.72±0.35	15.90±0.35	15.62±0.52	15.26±0.47	15.52±0.48	15.71±0.34
Ht	(%)	46.77±1.45	46.72±1.49	46.96±1.13	47.93±1.44	46.70±1.20	45.70±1.42	46.34±1.34	47.03±0.91
MCV	(fl)	48.8±1.1	48.5±1.6	48.7±1.8	49.3±1.5	52.9±1.3	52.6±1.3	52.1±0.6	51.7±1.2
MCH	(pg)	16.26±0.32	16.15±0.53	16.26±0.62	16.26±0.52	17.67±0.44	17.56±0.66	17.44±0.20	17.32±0.52
MCHC	(%)	33.41±0.55	33.34±0.44	33.49±0.36	33.19±0.58	33.44±0.71	33.41±0.53	33.49±0.41	33.40±0.33
PLAT	(1.0E9/l)	968.7±82.1	1007.5±77.1	1092.4±201.6	942.0±62.9	928.2±58.3	967.9±96.4	995.0±91.4	987.8±95.1
Retic.	(%)	2.92±0.42	2.95±0.29	3.03±0.73	2.60±0.33	3.37±0.36	3.31±0.74	3.33±0.72	2.90±0.48
Retic.	(1.0E9/l)	281.2±43.3	284.5±29.1	293.2±70.0	254.1±32.3	297.7±34.6	287.0±60.1	296.5±63.6	263.4±45.9
Meta	(1.0E9/l)	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
N-St	(1.0E9/l)	0.010±0.031	0.008±0.027	0.037±0.056	0.036±0.051	0.008±0.024	0.007±0.022	0.000±0.000	0.007±0.023
N-Seg	(1.0E9/l)	2.218±1.172	2.494±0.607	2.313±1.243	2.534±1.155	1.331±0.709	1.545±0.674	1.645±0.447	1.447±0.518
Lym	(1.0E9/l)	7.651±1.428	8.103±1.764	7.196±1.304	6.771±1.421	4.592±0.797	5.328±1.035	5.126±0.938	5.174±0.732
A.Lym	(1.0E9/l)	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
Mono	(1.0E9/l)	0.277±0.239	0.280±0.201	0.482±0.305	0.328±0.269	0.205±0.138	0.168±0.106	0.214±0.098	0.201±0.155
Eosino	(1.0E9/l)	0.071±0.091	0.045±0.060	0.049±0.085	0.093±0.103	0.063±0.060	0.032±0.045	0.074±0.081	0.019±0.030
Baso	(1.0E9/l)	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
Meta	(%)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
N-St	(%)	0.1±0.3	0.1±0.3	0.3±0.5	0.4±0.5	0.1±0.3	0.1±0.3	0.0±0.0	0.1±0.3
N-Seg	(%)	21.3±6.9	23.2±6.4	22.1±9.1	25.4±9.9	20.7±7.6	21.3±6.3	23.7±6.7	21.0±6.5
Lym	(%)	75.6±7.4	73.8±7.5	72.1±8.4	70.1±9.4	74.8±7.9	75.8±6.1	72.2±6.0	75.9±6.3
A.Lym	(%)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Mono	(%)	2.5±1.8	2.5±1.4	4.9±3.1	3.3±2.5	3.3±2.0	2.5±1.6	3.0±1.2	2.8±2.0
Eosino	(%)	0.7±0.8	0.4±0.5	0.6±1.0	0.9±0.8	1.1±1.1	0.5±0.7	1.0±1.0	0.3±0.5
Baso	(%)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
PPT	(sec)	14.77±0.50	14.30±0.42	15.13±0.56	15.06±0.58	13.30±0.15	13.27±0.22	13.31±0.20	13.31±0.22
APTT	(sec)	22.08±0.54	21.73±0.60	22.19±0.31	22.45±0.64	21.24±0.73	21.43±0.79	21.50±0.46	21.64±0.66
FIB	(mg/dl)	209.9±52.4	205.0±18.3	224.4±60.9	199.0±27.6	104.8±15.4	116.5±25.0	119.7±17.5	120.1±22.7

a : Values are means ± S.D

Table 5. Biochemical findings in male and female rats after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Sex	Dose	No. of animals	Male				Female			
			Control	0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg	Control	0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg
			19	19	20	17	17	20	20	20
GOT	(IU/l)		62.3±19.0 ^a	69.8±19.0	61.8±10.3	57.0±4.4	70.5±30.8	74.4±36.4	95.9±43.6	55.2±8.2
GPT	(IU/l)		34.4±25.0	34.9±12.3	33.6±10.3	32.9±7.1	32.9±15.6	35.9±25.3	43.6±24.3	25.9±4.4
LDH	(IU/l)		144.9±40.2	236.9±145.3 ^{**}	159.4±69.0	144.8±35.0	148.8±58.6	147.4±68.0	195.3±103.4	109.1±22.9
ALP	(IU/l)		137.7±22.1	136.6±19.2	144.8±26.5	142.7±20.9	62.9±11.5	83.0±16.9 ^{**}	75.1±18.9	94.7±17.8 ^{**}
ChE	(Δ pH)		0.1520±0.0366	0.1462±0.0384	0.1611±0.0332	0.1402±0.0217	0.8421±0.1841	0.7357±0.1968	0.7327±0.2002	0.6974±0.1892
GLU	(mg/dl)		130.93±12.66	129.66±13.14	123.96±11.30	113.91±14.59 ^{**}	112.95±12.42	112.72±10.48	114.37±11.76	106.21±14.53
T.cho	(mg/dl)		82.39±8.68	82.63±9.31	87.20±12.73	69.87±9.37 ^{**}	68.41±11.54	65.97±15.37	69.78±10.25	67.97±7.27
F.cho	(mg/dl)		19.92±3.26	19.99±3.66	21.26±3.85	16.60±2.75 [*]	18.08±3.22	17.93±5.36	18.53±3.01	18.33±3.58
TP	(g/dl)		6.014±0.113	6.025±0.157	6.076±0.202	6.056±0.210	6.279±0.243	6.097±0.280	6.211±0.332	6.093±0.244
ALB	(g/dl)		2.909±0.184	2.916±0.243	2.931±0.219	2.928±0.248	3.484±0.206	3.334±0.219	3.419±0.280	3.240±0.281 [*]
T.Bil	(mg/dl)		0.231±0.034	0.222±0.036	0.234±0.032	0.282±0.053 ^{**}	0.299±0.047	0.304±0.039	0.282±0.032	0.306±0.053
Urea N	(mg/dl)		15.92±1.44	15.75±1.61	16.61±1.43	18.86±2.33 ^{**}	16.85±1.34	17.08±1.44	17.46±1.24	20.66±2.41 ^{**}
CRN	(mg/dl)		0.491±0.043	0.531±0.075	0.485±0.046	0.494±0.055	0.599±0.043	0.615±0.055	0.599±0.047	0.620±0.061
UA	(mg/dl)		0.856±0.303	1.019±0.370	0.833±0.357	0.761±0.196	0.918±0.228	0.810±0.188	0.853±0.155	0.777±0.179
Ca	(mEq/l)		4.554±0.103	4.542±0.116	4.608±0.134	4.511±0.110	4.553±0.158	4.511±0.184	4.562±0.131	4.513±0.087
IP	(mg/dl)		5.293±0.470	5.485±0.505	5.678±0.618	5.543±0.659	4.403±0.801	4.525±0.948	4.598±0.809	4.707±0.700
TG	(mg/dl)		112.58±32.75	120.43±40.78	118.13±36.69	62.55±14.50 ^{**}	85.38±48.49	65.95±28.04	71.36±30.57	65.65±23.80
γ-GTP	(IU/l)		1.74±0.45	1.96±0.66	1.69±0.30	1.74±0.21	1.32±0.27	1.54±0.47	1.37±0.29	1.64±0.81
EST/T			0.759±0.019	0.759±0.021	0.758±0.014	0.763±0.013	0.735±0.021	0.731±0.033	0.733±0.023	0.731±0.032
A/G			0.944±0.115	0.949±0.129	0.940±0.131	0.946±0.145	1.256±0.142	1.217±0.145	1.233±0.151	1.145±0.155
Na	(mEq/l)		142.52±1.27	143.17±2.06	143.24±1.55	142.48±1.53	143.33±1.57	143.43±1.83	143.18±2.12	142.33±1.26
K	(mEq/l)		3.603±0.182	3.589±0.173	3.801±0.527	3.617±0.122	3.496±0.416	3.409±0.546	3.471±0.328	3.333±0.241
Cl	(mEq/l)		116.6±1.2	116.3±2.0	115.4±2.0	115.4±2.0	114.5±2.0	114.6±1.4	114.4±2.1	113.2±1.2
NEFA	(mEq/l)		0.9956±0.1300	1.0298±0.1590	1.0094±0.1743	0.8648±0.1320 [*]	1.0309±0.3481	0.9166±0.1886	0.9177±0.1804	0.9654±0.1921
PL	(mg/dl)		113.6±10.7	114.2±10.2	119.5±14.9	92.8±9.8 ^{**}	130.6±16.5	122.9±18.2	130.5±17.6	119.2±12.1

a : Values are means ± S.D

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Table 6. Biochemical findings in male and female rats allowed to recover for 5 weeks after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Sex	Dose	No. of animals	Male				Female			
			Control	0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg	Control	0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg
			10	10	9	8	9	10	9	10
GOT	(IU/l)		57.3±6.4 ^a	71.1±21.7	64.7±14.3	58.6±5.6	100.8±75.2	98.7±35.1	80.3±31.3	78.0±29.2
GPT	(IU/l)		33.8±11.2	45.6±18.0	43.3±20.0	39.1±13.7	47.2±23.5	42.7±10.1	43.3±14.7	39.9±15.4
LDH	(IU/l)		173.3±37.5	364.0±590.4	219.9±69.2	187.1±47.4	257.8±217.2	235.1±63.4	183.0±80.9	170.0±64.7
AIP	(IU/l)		129.8±18.3	146.8±24.2	148.0±22.5	113.9±13.8	73.1±18.5	68.8±10.5	69.3±8.7	66.7±9.0
ChE	(Δ pH)		0.1435±0.0181	0.1690±0.0377	0.1660±0.0100	0.1398±0.0242	0.8449±0.2448	0.7714±0.1696	0.6977±0.1346	0.7318±0.1652
GLU	(mg/dl)		129.78±13.95	130.85±11.18	127.59±11.28	127.33±10.45	114.84±19.22	116.71±7.91	116.24±11.19	107.32±15.38
T.cho	(mg/dl)		86.76±4.47	97.71±14.77*	85.36±7.41	82.91±6.35	66.52±11.33	74.08±13.70	80.94±14.52	68.33±11.05
F.cho	(mg/dl)		22.35±2.24	25.87±4.43*	22.08±2.10	21.15±1.94	16.80±3.39	19.51±4.34	21.36±3.82	17.86±3.76
TP	(g/dl)		6.182±0.118	6.212±0.105	6.226±0.131	6.083±0.074	6.266±0.112	6.472±0.227*	6.354±0.189	6.197±0.145
ALB	(g/dl)		2.881±0.202	2.837±0.173	2.839±0.246	2.846±0.175	3.438±0.099	3.513±0.207	3.414±0.178	3.254±0.115**
T.Bil	(mg/dl)		0.228±0.033	0.238±0.046	0.232±0.032	0.250±0.036	0.231±0.030	0.294±0.056	0.322±0.056	0.284±0.037
Urea N	(mg/dl)		17.62±1.35	17.78±1.72	16.46±2.60	17.35±1.48	16.23±1.33	15.75±1.78	17.30±2.24	17.17±1.05
CRN	(mg/dl)		0.521±0.056	0.498±0.066	0.532±0.100	0.445±0.088	0.568±0.055	0.578±0.062	0.534±0.039	0.582±0.033
UA	(mg/dl)		0.929±0.243	1.102±0.260	0.880±0.292	0.821±0.270	1.076±0.248	1.079±0.307	1.088±0.306	0.884±0.223
Ca	(mEq/l)		4.562±0.065	4.582±0.119	4.539±0.160	4.531±0.125	4.422±0.060	4.498±0.164	4.434±0.070	4.341±0.067
IP	(mg/dl)		5.250±0.447	5.209±0.411	5.263±0.351	5.708±0.297	4.287±0.543	4.433±0.614	4.381±0.541	4.440±0.659
TG	(mg/dl)		155.68±39.26	163.45±42.40	143.62±32.33	132.73±31.77	72.52±26.52	86.53±46.49	106.10±66.71	57.79±20.38
γ-GTP	(IU/l)		1.46±0.54	2.60±2.73	1.78±0.51	1.48±0.40	1.50±0.34	1.48±0.29	1.47±0.30	1.79±0.45
EST/T			0.743±0.014	0.735±0.014	0.741±0.011	0.744±0.009	0.749±0.020	0.737±0.018	0.736±0.014	0.740±0.023
A/G			0.881±0.128	0.845±0.092	0.847±0.136	0.883±0.086	1.257±0.059	1.188±0.079	1.167±0.116	1.107±0.054**
Na	(mEq/l)		142.17±1.06	142.69±1.56	142.27±1.98	142.15±1.32	140.93±1.93	141.69±1.55	140.98±1.30	142.16±1.43
K	(mEq/l)		3.656±0.128	3.687±0.204	3.820±0.435	3.659±0.137	3.120±0.123	3.089±0.314	3.008±0.259	2.978±0.375
Cl	(mEq/l)		117.9±1.1	118.3±1.2	117.5±2.4	118.1±2.1	119.1±1.3	118.0±2.4	117.6±2.0	119.0±1.7
NEFA	(mEq/l)		0.8346±0.1711	0.7739±0.1279	0.7809±0.1424	0.8156±0.1406	0.8984±0.1550	0.9391±0.2071	0.9877±0.2823	0.9183±0.2051
PL	(mg/dl)		126.8±7.3	134.3±14.4	124.1±9.6	123.3±9.2	131.9±12.7	145.7±20.6	155.4±19.3*	127.1±14.2

a : Values are means ± S.D

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Table 7. Absolute organ weights in male and female rats after oral administration of P-4 for 52 weeks.

	Dose	Control	P-4		
			0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg
	No. of animals	19(17) ^a	19(20)	20(20)	17(20)
Male	Pituitary (mg)	13.97±1.86 ^b	13.34±0.96	13.61±1.25	12.24±1.55**
	Adrenal-R (mg)	24.99±3.05	23.58±3.37	23.89±3.39	22.81±2.70
	Adrenal-L (mg)	26.39±4.01	25.24±2.68	26.53±4.89	25.29±2.02
	Brain (g)	2.095±0.070	2.048±0.049	2.081±0.066	1.988±0.064**
	Thymus (mg)	36.29±11.14[15]	43.23±21.44[18]	49.08±20.34[18]	38.66±17.24[14]
	Heart (g)	1.349±0.071	1.339±0.069	1.365±0.100	1.268±0.105*
	Lung (g)	1.268±0.078	1.261±0.057	1.355±0.120*	1.252±0.096
	Liver (g)	11.855±1.105	12.304±1.035	12.301±1.410	12.075±1.254
	Kidney-R (g)	1.402±0.115	1.426±0.130	1.443±0.101	1.386±0.111
	Kidney-L (g)	1.423±0.117	1.396±0.089	1.413±0.095	1.397±0.121
	Spleen (g)	0.780±0.071	0.797±0.090	0.804±0.089	0.648±0.059**
	Testis-R (g)	1.626±0.095	1.609±0.094	1.551±0.248	1.565±0.073
	Testis-L (g)	1.661±0.108	1.657±0.101	1.591±0.268	1.615±0.085
	Epidid-R (g)	0.638±0.063	0.643±0.043	0.626±0.068	0.594±0.039
	Epidid-L (g)	0.648±0.061	0.639±0.042	0.624±0.068	0.612±0.065
Female	Pituitary (mg)	15.22±1.87	16.33±6.52	16.31±3.55	12.50±1.62
	Adrenal-R (mg)	32.00±4.60	30.76±4.05	33.24±3.61	32.38±2.81
	Adrenal-L (mg)	30.79±5.28	32.00±3.34	34.30±6.21	32.27±3.30
	Brain (g)	1.889±0.044	1.861±0.049	1.862±0.061	1.887±0.061
	Thymus (mg)	40.15±8.18	38.53±9.96	43.11±12.86[19]	42.26±9.19[19]
	Heart (g)	0.888±0.052	0.831±0.053	0.918±0.061	0.851±0.056
	Lung (g)	0.941±0.066	0.954±0.056	0.962±0.050	0.955±0.051
	Liver (g)	6.462±0.432	6.420±0.419	6.773±0.435	6.903±0.518*
	Kidney-R (g)	0.922±0.073	0.897±0.056	0.911±0.056	0.889±0.064
	Kidney-L (g)	0.881±0.064	0.865±0.059	0.894±0.049	0.868±0.073
	Spleen (g)	0.536±0.052	0.573±0.061	0.585±0.065*	0.488±0.052*
	Ovary-R (mg)	40.27±10.15	45.12±8.92	39.35±11.91	45.70±10.66
	Ovary-L (mg)	46.18±14.20	50.01±14.23	42.46±11.04	50.99±8.65
	Uterus (g)	0.701±0.150	0.656±0.141	0.610±0.078	0.663±0.110

()^a : No. of females^b : Values are means ± S.D.

[] : No. of animals examined

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Table 8. Relative organ weights in male and female rats after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Dose		Control	P-4		
No. of animals		19(17) ^a	0.5mg/kg 19(20)	5mg/kg 20(20)	50mg/kg 17(20)
Male	Pituitary (mg%)	3.12±0.35 ^b	2.93±0.22	2.94±0.27	3.18±0.32
	Adrenal-R(mg%)	5.58±0.63	5.19±0.84	5.16±0.72	5.98±0.76
	Adrenal-L(mg%)	5.88±0.83	5.54±0.65	5.69±0.86	6.62±0.60*
	Brain (g%)	0.468±0.023	0.449±0.031	0.450±0.037	0.521±0.037**
	Thymus (mg%)	8.15±2.42[15]	9.42±4.43[18]	10.56±4.39[18]	10.17±4.74[14]
	Heart (g%)	0.302±0.015	0.294±0.018	0.294±0.017	0.331±0.025**
	Lung (g%)	0.283±0.017	0.277±0.019	0.293±0.029	0.326±0.017**
	Liver (g%)	2.643±0.169	2.695±0.126	2.641±0.159	3.149±0.199**
	Kidney-R (g%)	0.312±0.023	0.313±0.030	0.311±0.016	0.362±0.021**
	Kidney-L (g%)	0.318±0.032	0.306±0.022	0.304±0.019	0.365±0.025**
	Spleen (g%)	0.174±0.015	0.175±0.018	0.174±0.016	0.171±0.014
	Testis-R (g%)	0.364±0.025	0.353±0.031	0.335±0.056	0.412±0.035**
	Testis-L (g%)	0.372±0.028	0.365±0.030	0.343±0.058	0.424±0.035**
	Epidid-R (g%)	0.142±0.013	0.142±0.012	0.136±0.014	0.155±0.014 *
	Epidid-L (g%)	0.144±0.013	0.140±0.011	0.135±0.014	0.159±0.016**
Female	Pituitary (mg%)	5.67±0.61	6.06±2.55	5.91±1.16	5.10±0.61
	Adrenal-R(mg%)	11.91±1.54	11.41±1.92	12.08±1.51	13.19±1.15*
	Adrenal-L(mg%)	11.47±1.78	11.84±1.52	12.43±2.16	13.12±1.24*
	Brain (g%)	0.706±0.031	0.689±0.053	0.677±0.052	0.769±0.043**
	Thymus (mg%)	15.01±3.12	14.25±3.77	15.63±4.43[19]	17.25±3.97[19]
	Heart (g%)	0.332±0.017	0.326±0.022	0.332±0.020	0.346±0.020
	Lung (g%)	0.351±0.023	0.353±0.033	0.348±0.026	0.390±0.023**
	Liver (g%)	2.409±0.128	2.368±0.124	2.454±0.129	2.809±0.154**
	Kidney-R (g%)	0.345±0.026	0.330±0.030	0.331±0.029	0.361±0.014
	Kidney-L (g%)	0.329±0.023	0.320±0.032	0.324±0.021	0.353±0.024*
	Spleen (g%)	0.201±0.018	0.211±0.022	0.212±0.016	0.199±0.021
	Ovary-R (mg%)	15.08±3.94	16.67±3.30	14.26±4.15	18.65±4.46*
	Ovary-L (mg%)	17.22±5.08	18.46±5.04	15.42±4.10	20.81±3.76
	Uterus (g%)	0.261±0.058	0.243±0.057	0.221±0.027*	0.271±0.047

()^a : No. of females

^b : Values are means ± S.D.

[] : No. of animals examined

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Table 9. Absolute organ weights in male and female rats allowed to recover for 5 weeks after oral administration of P-4 for 52 weeks.

	Dose	Control	P-4		
			0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg
	No. of animals	10(9) ^a	10(10)	9(9)	8(10)
Male	Pituitary (mg)	12.89±2.10 ^b	14.25±1.34	13.23±2.87	13.26±1.43
	Adrenal-R (mg)	23.61±2.55	23.77±1.80	24.48±4.54	22.45±2.56
	Adrenal-L (mg)	26.23±3.73	25.50±2.11	27.59±3.64	24.40±3.49
	Brain (g)	2.083±0.086	2.024±0.110	2.054±0.068	2.045±0.079
	Thymus (mg)	33.37±8.05[6]	25.78±10.03[5]	34.60±7.45[5]	23.87±8.72[3]
	Heart (g)	1.334±0.091	1.377±0.110	1.377±0.088	1.296±0.085
	Lung (g)	1.335±0.130	1.394±0.082	1.374±0.167	1.259±0.106
	Liver (g)	12.008±1.486	12.580±1.134	12.540±0.856	11.273±1.149
	Kidney-R (g)	1.303±0.261	1.375±0.202	1.526±0.145	1.378±0.116
	Kidney-L (g)	1.384±0.144	1.449±0.162	1.446±0.099	1.373±0.104
	Spleen (g)	0.796±0.119	0.857±0.116	0.822±0.094	0.735±0.106
	Testis-R (g)	1.637±0.117	1.645±0.100	1.619±0.103	1.581±0.123
	Testis-L (g)	1.679±0.099	1.697±0.084	1.668±0.113	1.651±0.087
	Epidid-R (g)	0.636±0.046	0.654±0.041	0.668±0.037	0.614±0.055
	Epidid-L (g)	0.641±0.038	0.645±0.039	0.671±0.050	0.636±0.050
Female	Pituitary (mg)	22.99±17.47	15.93±2.56	20.04±9.57	13.09±0.96
	Adrenal-R (mg)	29.66±3.32	30.04±3.44	32.76±4.15	32.87±2.77
	Adrenal-L (mg)	29.19±3.45	31.30±4.19	33.81±4.41	34.11±3.57*
	Brain (g)	1.897±0.053	1.837±0.065	1.898±0.058	1.834±0.078
	Thymus (mg)	44.11±11.77[8]	45.69±8.99[9]	41.19±3.63[8]	44.10±14.85[8]
	Heart (g)	0.891±0.089	0.936±0.056	0.958±0.075	0.887±0.046
	Lung (g)	0.900±0.066	1.013±0.073**	0.956±0.056	0.982±0.083*
	Liver (g)	6.518±0.637	7.233±0.653	7.029±0.848	6.431±0.373
	Kidney-R (g)	0.921±0.072	0.932±0.061	0.987±0.153	0.914±0.069
	Kidney-L (g)	0.896±0.084	0.890±0.051	0.908±0.065	0.858±0.054
	Spleen (g)	0.508±0.060	0.600±0.073*	0.600±0.086*	0.527±0.043
	Ovary-R (mg)	38.06±5.84	39.52±12.26	35.40±7.68	43.22±7.50
	Ovary-L (mg)	43.50±5.63	42.67±11.08	37.18±6.32	47.29±5.89
	Uterus (g)	0.596±0.077	0.650±0.107	0.649±0.119	0.679±0.123

()^a : No. of females^b : Values are means ± S. D.

[] : No. of animals examined

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Table 10. Relative organ weights in male and female rats allowed to recover for 5 weeks after oral administration of P-4 for 52 weeks.

	Dose	Control	P-4		
			0.5mg/kg	5mg/kg	50mg/kg
	No. of animals	10(9) ^a	10(10)	9(9)	8(10)
Male	Pituitary (mg%)	2.85±0.53 ^b	3.01±0.36	2.77±0.63	3.19±0.41
	Adrenal-R(mg%)	5.22±0.65	5.00±0.62	5.08±0.85	5.36±0.62
	Adrenal-L(mg%)	5.76±0.56	5.35±0.50	5.76±0.91	5.81±0.71
	Brain (g%)	0.462±0.043	0.426±0.037	0.428±0.025	0.488±0.028
	Thymus (mg%)	7.60±1.85[6]	5.44±2.13[5]	7.16±1.73[5]	5.80±2.21[3]
	Heart (g%)	0.295±0.020	0.289±0.016	0.286±0.022	0.310±0.009
	Lung (g%)	0.295±0.033	0.293±0.021	0.286±0.028	0.300±0.013
	Liver (g%)	2.637±0.116	2.636±0.148	2.607±0.139	2.684±0.125
	Kidney-R(g%)	0.286±0.055	0.286±0.028	0.318±0.038	0.329±0.019
	Kidney-L(g%)	0.308±0.039	0.305±0.033	0.300±0.017	0.330±0.020
	Spleen (g%)	0.174±0.016	0.179±0.019	0.170±0.013	0.176±0.013
	Testis-R(g%)	0.363±0.039	0.345±0.029	0.337±0.021	0.379±0.027
	Testis-L(g%)	0.371±0.041	0.356±0.030	0.348±0.032	0.395±0.036
	Epidid-R(g%)	0.141±0.020	0.140±0.014	0.139±0.011	0.146±0.014
	Epidid-L(g%)	0.142±0.019	0.136±0.013	0.138±0.012	0.154±0.011
Female	Pituitary (mg%)	7.73±5.19	5.45±0.85	6.64±2.40	5.18±0.45
	Adrenal-R(mg%)	10.41±1.58	10.25±0.79	11.11±1.36	12.95±1.01**
	Adrenal-L(mg%)	10.22±1.57	10.69±1.36	11.47±1.40	13.48±1.51**
	Brain (g%)	0.663±0.053	0.632±0.068	0.648±0.055	0.724±0.033
	Thymus (mg%)	15.21±3.28[8]	15.80±2.35[9]	13.83±1.31[8]	17.84±6.45[8]
	Heart (g%)	0.311±0.021	0.322±0.034	0.326±0.025	0.350±0.017**
	Lung (g%)	0.314±0.030	0.347±0.040	0.327±0.024	0.388±0.035**
	Liver (g%)	2.267±0.127	2.473±0.162*	2.381±0.146	2.539±0.140**
	Kidney-R(g%)	0.322±0.033	0.320±0.034	0.334±0.032	0.360±0.032
	Kidney-L(g%)	0.312±0.036	0.306±0.031	0.310±0.033	0.339±0.025
	Spleen (g%)	0.178±0.020	0.204±0.018**	0.201±0.023*	0.207±0.009**
	Ovary-R (mg%)	13.36±2.50	13.48±3.93	12.00±2.32	17.09±3.05*
	Ovary-L (mg%)	15.26±2.19	14.69±4.23	12.67±2.43	18.66±2.30
	Uterus (g%)	0.210±0.041	0.224±0.045	0.221±0.047	0.269±0.052*

()^a : No. of females

^b : Values are means ± S.D.

[] : No. of animals examined

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

2) 病理組織学的検査

病理組織学的検査結果をTable 11～14に示した。

(1) 52週解剖群

P-4に起因すると思われる病変は腎および肝に認められた。すなわち、腎では50mg/kg群の雌雄全例の近位尿細管上皮細胞に好酸性で均質な円形の核内封入物(Photo. 1)がみられ、さらに雌雄のほぼ全例(雄16例, 雌18例)には同様の好酸性物質が細胞質内にも認められた。腎ではほかに対照群を含む雌各群(5 mg/kg以下の群では4～5例, 50mg/kg群では16例)に尿細管上皮内の褐色顆粒が確認され、特殊染色の結果、抗酸性リポフスチン顆粒と同定された。また、対照群を含む雄各群の少数例～半数例に尿細管上皮の好塩基性変化、硝子円柱、細胞浸潤、腎盂炎などが、雄各群の少数例に腎盂拡張がみられた。

肝では50mg/kg群の雄11例に小葉中間帯の脂肪沈着(Photo. 2)が認められた。また、対照群を含む雄各群の少数例に小円形細胞の局所性集簇巣が、雌雄のごく少数例にグリソン鞘細胞浸潤などがみられた。

そのほか対照群を含む各群で脾に軽度ないし中等度のヘモジデリン顆粒増加、胸腺に中等度のリンパ球減少、副腎に皮質細胞の空胞形成、肺にマクロファージの増加および肺胞壁の肥厚、気管に細胞浸潤、食道の筋肉変性などがみられた。胆管(総胆管)では雌雄の検査例のほぼ全例に内腔の拡張、粘膜の肥厚あるいは胆砂などが散見され、また、雌の陰核腺に認められた膿瘍様硬結は、嚢胞の形成であった。

(2) 回復群

腎では50mg/kg群の雌雄全例の近位尿細管上皮細胞内に好酸性核内封入物が残存して認められた。また、細胞質内の好酸性物質も雌雄のほぼ全例にみられたがいずれも軽度であった。細胞質内の褐色顆粒は雌の50mg/kg群で8例に、5 mg/kg以下の群で1～2例に認められたのみである。

肝では50mg/kg群の雄2例の小葉中間帯に脂肪沈着が認められた。同所見は0.5mg/kg群の雌1例にもみられた。

肝、腎ではさらに52週解剖群と同様の用量相関性のない諸変化が少数例ないし約半数例にみられた。

そのほか雌雄の脾、胸腺、副腎、胆管(総胆管)および雌の尿道口付近に52週解剖群と同様の変化がみられた。

(3) 腫瘍性病変

切迫屠殺例(対照群の雌1例)では脾の脾組織を圧排する大きな間葉系腫瘍がみられた。肝、腎、副腎および肺にも脾と同様の腫瘍細胞が浸潤増殖しており、脾原発の白血病と判断された。

52週解剖群における腫瘍性病変として下垂体腺腫(雌雄0.5および5 mg/kg群の1～3例)、甲状腺C細胞腺腫(雌雄対照群の各1例および雌0.5mg/kg群の1例)、乳腺線維腺腫(雌5および50mg/kg群の各1例)、皮膚脂肪腫(雌5 mg/kg群の1例)、子宮内膜ポリープ(雌5 mg/kg群の1例)および口唇の毛のう上皮腫(雄0.5mg/kg群の1例)がみられた。

回復群では52週解剖群とほぼ同様な腫瘍に加えて肺腺腫、良性線維性組織球腫あるいは腹腔内脂肪腫が散見された。

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Table 11. Histopathological findings in male rats after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Organ	Findings	Dose No. of rats		0mg/kg 19		0.5mg/kg 19		5mg/kg 20		50mg/kg 17	
		Grade		+	#	+	#	+	#	+	#
Skin :	Hyperplasia of epidermis									1	
	Hyperkeratosis					1					
	Parakeratosis									1	
	Keratinized cyst			1						1	
	Fibrosis							1		1	
Mammary gland :	Granulation tissue			1							
	Cell infiltration			0(12)		1(12)		0(16)		0(11)	
	Lymphoid depletion			14(14)		16(16)		16(16)		16(16)	
	Increase of hemosiderin granules			19		19		20		17	
Submandibular lymph node :	Hemorrhage			0(18)				1			
	Hemosiderin granules							1			
Mesenteric lymph node :	Hemorrhage					1		2		1	
	Hemosiderin granules					1		1		2	
Skeletal muscles:	Cell infiltration							1			
	Cell infiltration			0(17)		0(18)		1			
	Cell infiltration			1		1		2		4	
	Thickening of alveolar wall			1				3		9	
Lung :	Congetion(focal)			1		2		3		2	
	Hemorrhage(focal)			7		3		3		4	
	Increase of macrophages			1		1		3		9	1
	Perivascular cell-infiltration					1	1			1	
	Hyperplasia of epithelial cells					2					
	Abscess							1		1	
	Thickening of pleura					1					
Heart :	Focal myocarditis			1		4		2			
	Cell infiltration					3		2			

Table 11. Continued

Organ	Findings	Dose	0mg/kg			0.5mg/kg			5mg/kg			50mg/kg		
		No. of rats	19			19			20			17		
		Grade	+	+	#	+	+	#	+	+	#	+	+	#
Submandibular gland :														
	Inflammation of capsule								1					
Esophagus :	Degeneration of muscle	1							1				4	
Fore-stomach :	Hyperplasia of mucous epithelium					1								
Glandular stomach :	Degeneration of mucous epithelium					1			1			1		
	Cell infiltration					2								
Duodenum :	Degeneration of mucous epithelium											1		
	Congestion											1		
Jejunum :	Congestion	1												
Ileum :	Congestion											1		
Cecum :	Degeneration of mucous epithelium	1										1		
	Congestion								1					
Liver :	Midzonal lipid droplets											11		
	Focal necrosis	1										1		
	Cell infiltration in Glisson's capsule	3				3			3					
	Focal nest of small round cells	13				14			16			9		
	Focal fibrosis	1												
Pancreas :	Degeneration of acinar cells	5				4						1		
	Cell infiltration	1				2								
Kidney :	Intranuclear eosinophilic inclusions in tubular epithelium											1	16	
	Eosinophilic substance in tubular epithelium											16		
	Basophilic change of tubular epithelium	4				2			4			2		
	Hyaline casts	4				4			10			5		
	Dilatation of renal pelvis	6				7			6			5		
	Cell infiltration	3							2			2		
	Pyelitis	4	3			4	2		8			4		
	Fibrosis	2							1			1		
	Cystic change	1										1		

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Urinary bladder :	Cell infiltration	1	1	1
	Congestion			1
Testis :	Degeneration of spermatogenic cells		1	1
Epididymis :	Decrease of sperm in duct			1
Hypophysis :	Cystic change	1		
	Degeneration of glandular cells	1		
	Hyperplasia of glandular cells	1		
	Adenoma	1	1	
Adrenal :	Vacuoles in cortical cells	13	15	11
	Focal hypertrophy of cortical cells		1	11
	Yellow-brown granules		1	1
Thyroid :	C-cell adenoma	1		
Eye ball :	Granular degeneration of lens	1		
	Eosinophilic substance in retina	1		
Harderian gland :	Cell infiltration	1	1	
	Hyperplasia of acinar cells	1		
Bile duct :	Dilatation of cavity	9(11)	9(10)	12(12)
	Thickening of mucosa	5(11)	4(10)	8(12)
	Gall sand	5(11)	3(10)	5(12)
	Cell infiltration			1(12)
Mediastinal lymph node :	Hemorrhage	1(1)		
	Hemosiderin granules	1(1)		
Lymph node in abdominal cavity :	Hemorrhage	1(1)		
	Hemosiderin granules	1(1)		
Pancreatic lymph node :	Hemorrhage		1(1)	
	Hemosiderin granules		1(1)	
Preputial gland :	Cystic change			2(2)
	Cell infiltration			1(2)
Lip :	Papillary hyperplasia		0(1)	1(1)
	Tricholemmoma		1(1)	

+ : slight, ++ : moderate, +++ : severe
() : No. of rats examined

Table 12. Histopathological findings in female rats after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Organ	Findings	Dose No. of rats	0mg/kg 17			0.5mg/kg 20			5mg/kg 20			50mg/kg 20		
			+	+	#	+	+	#	+	+	#	+	+	#
Skin :	Lipoma								1			0(19)		
Mammary gland :	Fibroadenoma		0(16)						1			1(19)		
Thymus :	Lymphoid depletion		17				20			20				20
	Cystic change					1			1					
Spleen :	Increase of hemosiderin granules		17				20			20			1	20
	Accessory spleen													
Larynx :	Cell infiltration					2						3		
Bone marrow :	(Sternum) Increase of hematopoietic cells											1		
	(Femur) Increase of hematopoietic tissue											2		
Bone :	(Sternum) Degeneration of cartilaginous tissue					1								
Trachea :	Cell infiltration											1		
Lung :	Thickening of alveolar wall		1						1					
	Congetion(focal)		1									1		
	Hemorrhage(focal)					1			4					
	Increase of macrophages		1			2			3			7		1
	Perivascular cell-infiltration											2		
Ileum :	Cell infiltration								1					
Liver :	Perilobular lipid droplets								1					
	Cell infiltration in Glisson's capsule					2								
	Focal nest of small round cells		1			2			2			1		
	Spotty lipid droplets								1					
Pancreas :	Degeneration of acinar cells		2			1						2		
	Cell infiltration					1			1					
Kidney :	Intranuclear eosinophilic inclusions in tubular epithelium												1	19
	Eosinophilic substance in tubular epithelium												18	
	Brown granules in tubular epithelium		4			5			4			16		
	Basophilic change of tubular epithelium											1		
	Hyaline casts		1						1					
	Cell infiltration					1						1		
	Pyelitis								1					
	Fibrosis								1					

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Urinary bladder :	Cell infiltration		1	
Ovary :	Cystic change	2	1	2
Uterus :	Dilatation of cavity	2		1
	Dilatation of uterine gland	2		
	Endometrial polyp		1	
Hypophysis :	Cystic change	1		1
	Hyperplasia of glandular cells	4	1	2
	Adenoma		3	
	Yellow-brown granules	2		
Adrenal :	Hemorrhage	3	7	4
	Focal hypertrophy of cortical cells		2	2
	Cell infiltration	6	4	3
	Degeneration of cortical cells		1	
	Yellow-brown granules	3	1	4
Thyroid :	Hyperplasia of C-cell		2	
	C-cell adenoma	1	1	
Parathyroid :	Focal swelling of glandular cells	1(16)		
Cerebrum :	Fibrosis of choroid plexus		1	
Eye ball :	Degeneration of retina			2
	Granular degeneration of lens			1
Harderian gland :	Degeneration of acinar cells			1
	Cell infiltration	2		1
	Fibrosis			1
Bile duct :	Dilatation of cavity	2(2)	1(1)	1(2)
	Gall sand	1(2)	1(1)	
Lip :	Cell infiltration	1(2)		
Auricle :	Cell infiltration			1(1)
Clitoral gland :	Cystic change	2(3)	2(2)	2(2)
	Abscess	2(3)	1(5)	
	Degeneration of glandular cells	1(3)		
	Cell infiltration	1(3)		1(2)
Joint :	Arthritis	2(2)		
Abdominal cavity :	Hemorrhage in adipose tissue	1(1)		
	Endometriosis of uterus		1(1)	

+ : slight, ++ : moderate, +++ : severe
() : No. of rats examined

Table 13. Histopathological findings in male rats allowed to recover for 5 weeks after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Organ	Findings	Dose No. of rats	0mg/kg 10			0.5mg/kg 10			5mg/kg 9			50mg/kg 8		
			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Skin :	Submucous cell-infiltration									1				
	Keratinized cyst					1								
	Fibrosis									1				
	Abscess													1
	Lipoma		1											
Thymus :	Lymphoid depletion							10						8
Spleen :	Increase of hemosiderin granules							10						8
	Accessory spleen									1				
Mesenteric lymph node :	Hemorrhage													
Bone marrow :	(Femur) Increase of hematopoietic cells													
Bone :	(Sternum) Degeneration of cartilaginous tissue													
Larynx :	Cell infiltration		1											
Trachea :	Cell infiltration		1			1						1		
Lung :	Congestion(focal)		2			1			4					
	Hemorrhage(focal)		1			2						3		
	Increase of macrophages		1						1			3		
	Adenoma								1					
Heart :	Focal myocarditis		1			2			2			1		1
	Cell infiltration											1		
	Pericarditis											1		
	Fibrosis											1		
Glandular stomach :	Degeneration of mucous epithelium		1									1		
	Cell infiltration											1		
Liver :	Midzonal lipid droplets											2		
	Cell infiltration in Glisson's capsule		1			1						1		
	Focal nest of small round cells		5			5			4			4		
	Fibrosis in Glisson's capsule					1								
	Hemosiderin granules					1								
Pancreas :	Degeneration of acinar cells					1			1					

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Kidney :	Intranuclear eosinophilic inclusions in tubular epithelium					8
	Eosinophilic substance in tubular epithelium					7
	Basophilic change of tubular epithelium	2	1	2	1	1
	Hyaline casts	1		6	3	1
	Dilatation of renal pelvis	1		3	1	
	Cell infiltration	1	2	2	1	3
	Pyelitis	3	3	3	1	1
	Fibrosis	2	2	1	1	2
Testis :	Degeneration of spermatogenic cells			2	2	
Hypophysis :	Swelling of glandular cells			1		
	Cystic change	1		2		
	Degeneration of glandular cells	1				
	Adenoma			1		2
Adrenal :	Vacuoles in cortical cells	9		8		6
	Hemorrhage	1				
	Focal hypertrophy of cortical cells	1		2		1
	Hyperplasia of cortical cells					1
Thyroid :	Hyperplasia of epithelium					1
Parathyroid :	Focal swelling of glandular cells					1 (7)
Harderian gland :	Cell infiltration					1
	Fibrosis			1		
Bile duct :	Dilatation of cavity	1 (2)		2 (2)	3 (5) 1 (5)	2 (2)
	Thickening of mucosa	1 (2)		1 (2)	3 (5)	1 (2)
	Gall sand	1 (2)		1 (2)	3 (5)	2 (2)
	Cell infiltration	1 (2)				1 (2)
Mediastinal lymph node :	Hemorrhage					1 (1)
	Hemosiderin granules					1 (1)
Auricle :	Increase of sebaceous gland			2 (2)		
Scrotum :	Congestion in adipose tissue					1 (1)
	Granulation tissue in adipose tissue					1 (1)

+ : slight, ++ : moderate, +++ : severe

() : No. of rats examined

Table 14. Histopathological findings in female rats allowed to recover for 5 weeks after oral administration of P-4 for 52 weeks.

Organ	Findings	Dose		0.5mg/kg		5mg/kg		50mg/kg	
		No. of rats	Grade	+	#	+	#	+	#
Skin :	Submucous cell-infiltration					1			
	Benign fibrous histiocytoma					1			
Mammary gland :	Fibroadenoma			1				0(9)	
Thymus :	Lymphoid depletion	9			10	9			9(9)
Spleen :	Increase of hemosiderin granules	9			10	9			10
Trachea :	Cell infiltration								2
Lung :	Hemorrhage(focal)			1				1	
	Increase of macrophages								3
	Perivascular cell-infiltration			1					
Heart :	Focal myocarditis							1	
Esophagus :	Cell infiltration	1			0(9)				
Glandular stomach :	Congestion			1				1	
Liver :	Midzonal lipid droplets			1					
	Cell infiltration in Glisson's capsule	1		1					
	Focal nest of small round cells	1		1		2		1	
	Hemosiderin granules							1	1
	Altered cell focus							1	
Pancreas :	Degeneration of acinar cells							2	
Kidney :	Intranuclear eosinophilic inclusions in tubular epithelium							1	9
	Eosinophilic substance in tubular epithelium								9
	Brown granules in tubular epithelium	1		2		1			8

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

Basophilic change of tubular epithelium			1	
Hyaline casts				1
Cell infiltration		1		1
Fibrosis			1	
Ovary :	Cystic change	1	1	
Uterus :	Dilatation of cavity			1
	Dilatation of uterine gland	1	1	2
	Endometrial polyp	2		
Hypophysis :	Cystic change	1		2(9)
	Hyperplasia of glandular cells		1	2(9)
	Adenoma	4	2	1(9)
Adrenal :	Hemorrhage	4	2	1
	Focal hypertrophy of cortical cells	1	4	1
	Hyperplasia of cortical cells	1		
	Cell infiltration	3	2	1
	Degeneration of cortical cells		2	
	Yellow-brown granules	2	1	2
Eye ball :	Granular degeneration of lens			1
Harderian gland :	Degeneration of acinar cells	1		1
	Cell infiltration	1	3	1
Auricle :	Cell infiltration			1(1)
Clitoral gland :	Cystic change		1(1)	3(3)
Abdominal cavity :	Lipoma			1(1)

+ : slight, ++ : moderate, +++ : severe

() : No. of rats examined

Photo. 1. Kidney of male rat showing a intranuclear eosinophilic inclusions and eosinophilic substance in proximal tubular epithelium. The rat was treated orally with 50 mg/kg/day of P-4. H. E. staining. $\times 132$.

Photo. 2. Liver of male rat showing a midzonal lipid droplets. The rat was treated orally with 50 mg/kg/day of P-4. H. E. staining. $\times 66$.

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

上記試験期間中にみられた腫瘍性病変の発現頻度には投与量との関係から特定の腫瘍の増加傾向は認められなかった。

3) 病理組織化学的検査

(1) 52週解剖群

γ -GTP検査では50mg/kg群の雌雄各3例中2例で肝小葉辺縁帯に γ -GTP染色陽性細胞の軽度な増加が認められた。

ALP検査ではALP染色陽性の肝細胞数の増加傾向はみられなかった。

(2) 回復群

γ -GTP検査では50mg/kg群の雄3例中2例に γ -GTP染色陽性細胞の軽微な増加が認められた。雌では群間に差はみられなかった。

ALP検査では雌雄とも群間に差はみられなかった。

4) 電子顕微鏡的検査

(1) 52週解剖群

肝では50mg/kg群の雄2例に肝細胞の滑面小胞体の軽度増生およびcisternaeの拡張 (Photo. 3) が認められ、このうち1例では大型脂肪滴の沈着がみられた。また、肝組織内VLDL量およびその分布に群間の差はなかった。

腎では雌雄の検索全例に近位尿細管上皮細胞の核内および細胞質内に大型で均質、低電子密度の類円形構造物がみられた (Photo. 4)。

(2) 回復群

肝では雌雄とも特記すべき変化は認められなかった。また、肝組織内VLDL量およびその分布に群間の差はなかった。

腎では雌雄の検索例全例に近位尿細管上皮細胞の核内および細胞質内に52週解剖群と同様の類円形構造物がみられたが、52週解剖群と比較して内部構造の一部がやや不均質となっていた。

総括および考察

Wistarラットを用いてP-4の0.5, 5および50mg/kgを52週間連続経口投与することにより、慢性毒性およびその回復性を検討した。

P-4投与に起因すると考えられる変化は50mg/kg群のみにみられ、雌雄に散瞳、一過性の流涎および体重の増加抑制、さらに雌に下腹部の尿による汚染が認められた。散瞳は投与初期より発現し時間の経過とともに例数および程度が増強されたが、投与翌日にはほぼ全例において消失したことから、毒性変化というよりむしろ本剤の血中濃度に相関した薬理作用（抗コリン作用）に基づく変化と考えられた。一過性の流涎については投与日数の増加に伴う例数の増加などはみられず、本剤の苦味（社内資料）による直接的な作用が考えられた。また、下腹部の尿による汚染がみられたが、尿検査において同群の雌雄に尿量およびK排泄量の増加、浸透圧の減少、雌ではさらに蛋白の陰性化およびウロビリノーゲン量の減少など尿排泄の亢進あるいは希釈性変化を示唆する結果がみられていることから、P-4本体のもつ平滑筋直接作用に基づいた利尿作用（春野ら, 1989）によるものと推察された。そのほか、50mg/kg群の雌雄では投与初期より摂餌量の増加傾向がみられたが、同群では他群に比べて餌の食いこぼし

Photo. 3. Liver of male rat showing a increase of vesicularform smooth endoplasmic reticulum and dilatation of cisternae in hepatocyte. The rat was treated orally with 50 mg/kg/day of P-4. uranyl acetate and citrate staining. $\times 30,000$.

Photo. 4. Kidney of female rat showing a intranuclear and intracellular circuloids structures in proximal tubular epithelium. The rat was treated orally with 50 mg/kg/day of P-4. uranyl acetate and citrate staining. $\times 8,000$.

Chronic toxicity study of propiverine hydrochloride (P-4) in rats

の多いことが確認されており、その影響と考えられた。

病理学的検査では50mg/kg群に腎の変化がみられ、雄では肝の変化もみられた。腎では近位尿細管の上皮細胞内に好酸性で均質な円形の核内および細胞質内封入物がみられた。同所見はラット経口投与による13週間亜急性毒性試験（中野ら，1989）においてすでに報告されており、蛋白質を含有することが示唆されているが、その詳細は不明とされている。しかし、核内および細胞質内封入物のみられる細胞に進行性あるいは退行性病変などを示唆する異常所見はみられず、血液生化学的に尿素窒素の軽度な増加がみられたのみであった。一方、イヌ経口投与による13週間亜急性（山下ら，1989）および1年間慢性毒性試験（香田ら，1989）では同様の所見は全くみられていない。従ってその毒性学的な意義は不明であるが、腎障害性を示唆する変化ではないものと考えられた。肝では雄に小葉中間帯の脂肪沈着が認められ、血液生化学的検査で中性脂肪、総および遊離コレステロール、リン脂質等の血清脂質の低下がみられた。しかし、肝では脂肪沈着以外に肝障害性を示唆する変化はみられず、また、その程度には性差がみられ雄に強く認められていることなどオロト酸摂取ラット（長瀬ら，1976）にみられる脂肪肝と極めて類似していた。さらに電顕的に肝組織内VLDL顆粒は増加していないことから、その発生機序はオロト酸と同様アポ蛋白からのリポ蛋白形成、特にVLDL形成の障害が示唆された。雌では上記脂肪沈着は観察されず、重量および重量比の軽度増加がみられたのみであった。津田ら（1989）はラットに本剤を経口投与した場合、肝ミクロゾーム分画のアミノピリン—N—脱メチル化酵素活性が上昇することを認め、薬物代謝酵素の誘導を確認している。また、本試験では病理組織化学的検査において雌雄の肝小葉辺縁帯に軽度な γ -GTP染色陽性細胞数の増加が認められたが、同変化は先に実施したイヌ経口投与による13週間亜急性毒性試験（山下ら，1989）においても認められ、その一因として本剤の肝から胆汁中への排泄機能の亢進、すなわち適応的現象であることが示唆されている。従って、肝重量あるいは重量比の軽度増加については本剤投与後の機能的亢進に基づく変化と考えられた。そのほか50mg/kg群では血液生化学的検査において雌雄の総ビリルビンあるいはAIP活性の軽度な上昇、グルコースあるいはアルブミンの軽度な減少がみられたが、上述のごとく組織学的には肝の脂肪沈着以外には障害像は認められず、また、その他の臓器障害を示唆する変化もないことなどからいずれも機能的変化が考えられ、毒性学的に意義の少ない変化と考えられた。

上記一般状態、各種検査値あるいは病理学的検査等の変化は本剤のラット経口投与による13週間亜急性毒性試験結果（中野ら，1989）と良く類似したが、本試験では比較的軽度であり、その影響は長期間連続投与においても増悪されないことが示された。また、上記諸変化は5週間の休薬により回復ないし回復傾向を示し、可逆性の変化であった。

以上の結果から、ラットを用いた52週間の慢性毒性試験におけるP-4の無影響量は雌雄とも5 mg/kgと推定された。

要 約

P-4を0，0.5，5および50mg/kgの投与量で52週間経口投与し、その慢性毒性なら

びに回復性を検討し、以下の知見を得た。

1. P-4投与による死亡例はなかった。一般状態の観察では50mg/kg群に散瞳、一過性の流涎および雌に下腹部の尿による汚染がみられた。
2. 体重の推移では50mg/kg群で投与初期より増加抑制がみられた。
3. 摂餌量の推移では著変はみられなかった。
4. 尿検査では50mg/kg群に尿量およびK排泄量の増加あるいは増加傾向、浸透圧の減少あるいは減少傾向が、雌ではさらに蛋白の陰性化およびウロビリノーゲン量の減少がみられた。
5. 血液学的検査では著変はみられなかった。
6. 血液生化学的検査では50mg/kg群の雌雄に尿素窒素の増加がみられ、雄ではさらに中性脂肪、総コレステロール、遊離コレステロール、遊離脂肪酸およびリン脂質の減少がみられた。
7. 眼科学的検査では著変はみられなかった。
8. 病理学的検査では50mg/kg群に腎近位尿細管の上皮細胞内に好酸性核内封入物および細胞質内に同様の好酸性物質がみられ、電顕的に大型で均質な低電子密度を持つ類円形構造物が認められた。肝では50mg/kg群に重量あるいは重量比の増加がみられ、小葉中間帯の脂肪沈着と組織化学的に小葉辺縁帯の γ -GTP染色陽性細胞数の軽度な増加が認められた。また、電顕的に滑面小胞体の軽度増生、cisternaeの拡張および大型脂肪滴の沈着がみられた。肝組織内VLDL量およびその分布に群間の差はなかった。
9. 上記諸変化は休薬により回復ないし回復傾向を示し、可逆性の変化であった。
10. 本試験における無影響量は雌雄とも5 mg/kgと推定された。

文 献

- 春野明弘, 神田敦弘, 田島清孝, 他 (1989) : Propiverine hydrochloride (P-4)の一般薬理試験 (第1報) 呼吸, 循環器系およびその他に及ぼす影響. 応用薬理, 37(5), 447-456.
- 香田 繁, 西川洋史, 住野昌幸, 他 (1989) : Propiverine hydrochlorideのイヌ経口投与による1年間慢性毒性試験および1カ月間回復試験. J. Toxicol. Sci., 14, Suppl. II, 111-160.
- 長瀬すみ, 田中寿子 (1976) : 実験動物の臨床生化学データ — 病理組織像との関連 —, p.256-265. ソフトサイエンス社.
- 中野茂樹, 桑田雅彦, 長谷川浩之, 他 (1989) : Propiverine hydrochlorideのラット経口投与による13週間亜急性毒性試験および5週間回復試験. J. Toxicol. Sci., 14, Suppl. II, 13-59.
- 津田益広, 山本佳男, 宇田和彦, 他 (1989) : Propiverine hydrochlorideの体内動態 (第3報) ラット反復投与での吸収, 分布, 代謝, 排泄および薬物代謝酵素系におよぼす影響. 薬物動態, 4, 563-579.
- 山下和正, 矢田英昭, 入村兼司, 他 (1989) : Propiverine hydrochlorideのイヌ経口投与による13週間亜急性毒性試験および5週間回復試験. J. Toxicol. Sci., 14, Suppl. II, 61-109.