



資料5-1



府 食 第 8 2 7 号
平成17年 8月25日

厚生労働大臣
尾辻 秀久 殿

食品安全委員会
委員長 寺田 雅昭



食品健康影響評価の結果の通知について

平成17年8月22日付け厚生労働省発食安第0822003号をもって貴省から当委員会に対して求められた塩酸ジフロキサシンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。食品健康影響評価の詳細をまとめたものは別添のとおりです。

なお、別添は平成17年7月14日付け府食第692号により農林水産大臣あて通知したものと同一です。

記

ジフロキサシンの1日摂取許容量を0.0013mg/kg体重/日と設定する。

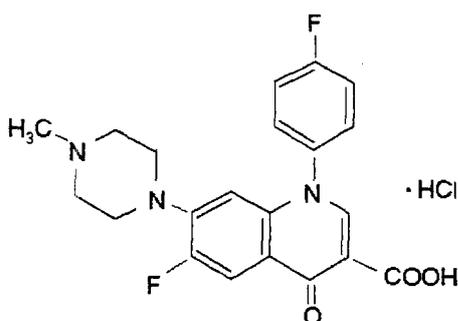
(別添)

塩酸ジフロキサシンの食品健康影響評価について

1. 薬剤の概要

(1) 物質名^{(1),(2)}

塩酸ジフロキサシン(Difloxacin hydrochloride)



分子式 : $C_{21}H_{19}F_2N_3O_3 \cdot HCl$

分子量 : 435.86

常温における性状 : 白～微黄白色の結晶性粉末

融点 : 210.5～212.5°C

溶解度 : 70 g/L (pH 4.5)、3 g/L (pH 13)

蒸気圧 : nonvolatile

(2) 効能・効果

ジフロキサシンはニューキノロン^a剤に属し、グラム陰性菌に加え、多くのグラム陽性菌に対しても有効である。作用は殺菌的であり、細菌のⅡ型トポイソメラーゼ^bである DNA ジャイレース、あるいはトポイソメラーゼⅣに作用し DNA 複製を阻害するものと考えられている⁽³⁾。通常塩酸塩の形態で使用されている。

(3) その他

塩酸ジフロキサシンを主剤とする動物用医薬品は、国内では豚の細菌性肺炎を対象に使用されているが、欧州では食用動物全般に対して使用が認められている。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

【ラットにおける単回投与試験】^{(4),(5)}

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 2 匹/群)における ¹⁴C 標識塩酸ジフロキサシン(10mg/kg 体重)の単回強制経口投与において、 T_{max} は 1～2 時間であり、その時の C_{max} は 3.04-5.45 μ g-eq./ml であった。放射活性は全般的に雄でより高い傾向が見られたが、静脈内に投与した場合、投与直後及び 8-24 時間後で雄がやや高かった他に差は認められなかった。また、投与終了後 1、3、6、12 時間後の各時点で剖検された個体における組織中濃度は肝臓で最も高く、ついで腎臓、筋肉、肺であったが、筋肉と肺の差はほとんどなく、個体に

^a ノルフロキサシン以降に合成された塩基性環の 6 位にフッ素、7 位に環状塩基性基を有するキノロン薬を総称して言う。

^b DNA 鎖に一時的な切れ目を導入し、閉環 DNA の超らせんの程度の調節や連環状二量体の形成・解除に作用する。

よっては逆転した例も認められた。組織中濃度のピークは3時間で、その後は徐々に低下したが、12時間の時点でもピーク時の 50-60%程度の残留が認められた。脂肪組織では 12 時間後が最も高くなっていたが個体間の差が大きかった。

経口投与後 1 日間までに尿中から雌で 7.5%、雄で 15.7%、糞中から雌で 52.2%、雄で 41.8%が回収され、投与後 3 日間までには尿中から雌で 8.9%、雄で 18.3%、糞中から雌で 87.8%、雄で 78.0%が回収された。この傾向は静脈内に投与した場合も同様であった。

さらに、静脈内あるいは十二指腸内にジフロキサシンを投与した胆管カニューレラットの胆汁からは、24 時間以内に静脈内投与で 62.2-84.9%が、十二指腸内投与では 51.4-63.6%が回収されていた。この時尿中からは 4.6-11.6%、2.7-5.7%がそれぞれ回収されていた。この試験は雌雄各1匹を用いて行われたため、性差について判断はできなかった。

上記の試験で回収された血漿、尿、糞、胆汁中の代謝物が同定されている。

血漿中では、92.8-97.4%が未変化体であり、その他少量の N-oxide、N-脱メチル化体^c、グルクロン酸抱合体が検出された。尿中では、27.3-51.5%未変化体であり、32.1-56.2%が N-脱メチル化体、9.6-16.0%が N-oxide であり、その他少量のグルクロン酸抱合体、3'-oxo 体、未同定代謝物が検出された。糞中では 88.4-96.0%が未変化体であり、3.1-10.7%が N-脱メチル化体、その他個体によっては少量のグルクロン酸抱合体、3'-oxo 体、未同定代謝物が検出された。主要な排泄物(尿+糞)の総投与量に対する割合では、未変化体が約 80%を占め、ついで N-脱メチル化体が約 10%、N-oxide が 1.7%でその他は 1%未満であった。代謝物の平均糞中排泄量は雌より雄で多くなっていた。胆汁中ではグルクロン酸抱合体が主要な代謝物で 60%程度、未変化体が 30%程度、その他 N-oxide、N-脱メチル化体、3'-oxo 体が少量存在していた。胆汁への排泄量と糞便への排泄量の差から、胆汁から腸管内に排泄された抱合体は腸管で脱抱合され、一部は腸肝循環していると考えられる。

経口投与された塩酸ジフロキサシンの生物学的利用率は高く、10mg/kg 体重の投与において 92%を示していた。

【ラットの有色眼における放射活性】⁽⁶⁾

Long-Evans ラット(雄 3 匹/群)に ¹⁴C 標識塩酸ジフロキサシン(10mg/kg 体重)を単回強制経口投与し、投与 3 時間、1、3、7、10、14、21 及び 42 日に血漿と眼球を採取した。

血漿中濃度は3時間で平均して約 2.0µg-eq/ml、24 時間で 0.14µg-eq/ml、3 日目には 0.01µg-eq/ml 以下となった。一方、眼組織では、3 時間で平均して約 67µg-eq/g、24 時間で 68µg-eq/g、7、14、21 及び 42 日ではそれぞれ 25、16、9.4、5.4µg-eq/g であった。投与後 3 時間時点における眼中濃度は先の Sprague-Dawley 系ラット(アルビノ)と比較して Long-Evans ラットで 30 倍の高値を示した。報告者はメラニン色素に富む組織に対して、ジフロキサシンあるいはその代謝物の親和性が高いのではないかと考察している。眼組織における消失曲線は 2 相性を示し、 $T_{1/2}$ は 2.3 日(α 相)、19 日(β 相)であった。

【イヌにおける単回投与試験】^{(7),(8)}

ビーグル犬(雌雄各 2 頭/群)における ¹⁴C 標識塩酸ジフロキサシン(10mg/kg 体重)の単回強制経口あるいは静脈内投与後の血漿中濃度変化において、経口投与の T_{max} は 2 時間以内であり、その時の C_{max} は

^c サラフロキサシン

2.21-3.82 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{ml}$ であった。1頭のみ6時間後にも第二のピークが認められた。静脈内投与時の $T_{1/2}(\beta)$ 相は8.2時間であった。経口投与では、4頭のうち2頭は2相性の消失を示し、1頭は1相性、さらに第二のピークが認められた個体ではモデル化できなかったが、消失の傾向は静脈投与時と同様であった。Htを45%と仮定して平均濃度を用いて計算した場合、血球/血漿比は経口投与の6時間後では0.40、12時間後では0.61であった。静脈投与された4頭では投与1, 3, 6, 12時間後で0.54-0.74の範囲であり、放射活性は血球に浸透しているものと考えられた。未変化体のAUCから計算した生物学的利用率は95.7%であった。

経口投与では投与後5日間までに尿中から平均して雌で16.3%、雄で15.8%、糞中から雌で79.0%、雄で81.9%が回収された。この傾向は静脈内に投与した場合も同様であった。

胆管カニューレを行ったイヌ(雌;各1頭)に静脈内あるいは十二指腸内に ^{14}C 標識ジフロキサシンを投与し、投与6時間後の胆汁及び尿を回収したところ、静脈内投与では胆汁から総投与量の51.5%、尿から13.6%、十二指腸内投与では胆汁から39.5%、尿から5.1%が回収された。

上記の試験で回収された血漿、尿、糞、胆汁中の数種代謝物が同定されている。

経口投与1及び3時間後、静脈内投与3時間後の血漿中では、90.2-96.4%が未変化体であり、3時間後の血漿中には極めて少量のグルクロン酸抱合体が含まれていたとコメントされている。尿中では未変化体は経口で20.8%、静脈内投与で24.8%、グルクロン酸抱合体が20.3%、21.3%、N-脱メチル化体が41.1%、39.1%、N-oxide体が13.7%、7.0%で、その他未同定の代謝物3種少量(最大5.4%)検出された。糞中では未変化体は経口で77.5%、静脈内投与で75.5%、グルクロン酸抱合体が11.9%、10.6%、N-脱メチル化体が6.9%、10.8%、その他未同定の代謝物3種が少量(最大1.9%)検出され、N-oxide体は検出されなかった。胆汁中ではグルクロン酸抱合体が主要な代謝物で、静脈内投与で71.9%、十二指腸内投与で79.5%を占め、未変化体は8.6%、6.0%、その他未同定の代謝物が17.8%、13.0%存在していた。

ビーグル犬(雄4頭)に ^{14}C 標識塩酸ジフロキサシン(10mg/kg体重)を単回強制経口投与し、2, 6, 24時間後に血液を採取した。さらに、2時間後に2頭、6時間後に1頭、24時間後に1頭を安楽死させ、組織を採取した。

血漿中濃度は2時間後の値が最も高く、徐々に減少していた。また、組織中濃度は消化管を除くと投与2及び6時間後では肝臓で最も高く、ついで骨、腎臓であった。24時間後では骨、肝臓の順となった。試験を通じて胆汁中に非常に高い放射活性が検出された。また、消化管も高い放射活性を示したが、これは粘膜表面に保持された未吸収の薬剤が関与しているものと考えられている。

眼組織の濃度については詳細に検討され、房水、硝子体液、水晶体及び角膜で低い一方、網膜やブドウ膜といったメラニン色素顆粒層に富む組織では約160 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ という高い濃度が検出された。

ラットとイヌの組織及び血液中放射能濃度は類似していると考えられた。

【イヌにおける1ヶ月間経口投与試験】⁽⁹⁾

ビーグル犬(雌雄各4頭/群)における塩酸ジフロキサシン(5, 25, 125mg/kg体重;カプセル)の1ヶ月間強制経口投与において、1, 15及び29回投与後の1, 3, 6及び24時間後における経時的血漿中薬物濃度の消長が測定されている。

5mg及び25mg投与群における T_{max} はいずれの時点でも1~3時間であり、その時の C_{max} は5mg投与群の1回投与後で1.02-2.29、15回で1.47-2.56、29回で1.26-2.38 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{ml}$ 、25mg投与群では順に1.71-5.98、2.27-13.23、5.11-11.04 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{ml}$ であり蓄積性は認められなかった。1回投与後の $T_{1/2}(\beta)$ 相は5mgで7.62時間、25mgで7.15時間であった。125mg投与群については、 T_{max} が1~6時間とばらつき、 C_{max} は投与量比か

ら予測される値より低かった。また、頻繁な嘔吐、死亡(1/8)、毒性徴候が認められたため、 $T_{1/2}$ の算出は行われなかったとされている。

最終投与約 24 時間後に採取した脳脊髄液／血漿比の平均値は、投与量順に 0.49, 0.42, 0.47 であった。

25mg 以上投与群では剖検時に胆汁に沈殿物が認められたためこの同定が実施された。沈殿物はジフロキサシンのグルクロン酸抱合体であった。

【ブタにおける単回投与試験】^{(10),(11)}

ブタ(去勢雄 5 頭/群)における ^{14}C 標識塩酸ジフロキサシンの単回強制経口(5mg/kg 体重)あるいは静脈内(1mg/kg 体重)投与において、経口投与の T_{\max} は 2 時間以内であり、その時の血清中濃度の C_{\max} は 3.01-4.48 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{ml}$ であった。 $T_{1/2}$ は経口投与で 17.17 時間、静脈内投与で 7.92 時間であった。血清中濃度の AUC から計算された生物学的利用率は平均して 66%であった。

N-脱メチル化体は経口投与した場合にのみ、投与後 0.75～12 時間の間に認められ、最大濃度は 0.06 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、ジフロキサシンに対する比率は最大 2.3%であった。

ブタ(去勢雄 6 頭)に塩酸ジフロキサシンを単回強制経口(10mg/kg 体重^d)投与し、3 頭を血漿中濃度測定試験及び排泄試験、3 頭を分布試験に用いた。

血漿中濃度測定試験において血漿中濃度の T_{\max} は 2 時間であり、その時の C_{\max} は 5.5-7.0 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。排泄試験においては、投与後 120 時間までに尿中から 9.7-15.1%、糞中から 57.7-63.4%が回収された。N-脱メチル化体は尿中から 1.3-2.1%が、糞中から約 1%が検出された。尿中のジフロキサシンの 50%以上(56-84%)、N-脱メチル化体の少なくとも 10%以上(10-43%)が抱合体として存在していた。

分布試験では、投与 2 時間後において、胆汁中で最も高濃度(51 $\mu\text{g}/\text{g}$)が検出された。その他の組織中濃度は胃、肝臓、小腸と腎臓及び脾臓、肺、筋肉及び心臓、血漿、脂肪の順で、消化管を除くと肝臓で最も高かった。N-脱メチル化体は肝臓、腎臓、胆汁、胃、脾臓、心臓、肺、血漿及び小腸、筋肉、脂肪の順であった。

【ブタにおける 3 日間経口投与試験】^{(12),(13)}

ブタ(3 頭/群)に塩酸ジフロキサシン(5.0, 10.1mg/kg 体重/日^e)を 3 日間飲水投与し、投与期間中及び投与終了後 33 時間までの血漿中ジフロキサシン濃度の推移が測定されている。

血漿中濃度は 5mg 及び 10mg 投与群とも、投与期間中緩やかに上昇し、投与終了時点で 5mg 投与群では 0.26 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、10mg 投与群では 0.53 $\mu\text{g}/\text{g}$ の最高値を示した。投与終了後は速やかに減少し 5mg 投与群の $T_{1/2}$ は 9.4 時間、10mg 投与群の $T_{1/2}$ は 8.7 時間であった。投与終了後 24 時間の時点の血漿中濃度は 5mg 投与群で 0.04 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、10mg 投与群で 0.07 $\mu\text{g}/\text{g}$ となり、33 時間後にはいずれも検出限界(0.02 $\mu\text{g}/\text{g}$)未満となった。N-脱メチル化体はいずれの時点でも検出されなかった。

また、ブタ(18 頭/群)に塩酸ジフロキサシン(5.0, 10mg/kg 体重/日^f)を 3 日間飲水投与し、最終投与後 1, 3, 5, 7, 10 日後の組織中濃度が測定されている。いずれの投与群も 5 日後には全ての臓器で検出限界未満となった。N-脱メチル化体の検出量はほとんど全ての例でジフロキサシンの 1/10 に満たなかった。

^d フリーベース換算量

^e フリーベース換算量

^f フリーベース換算量

【血漿中たん白質結合試験】^{(10),(14)}

ラット、ウサギ、イヌ及びヒトボランティアの血液を用いて、塩酸ジフロキサシン(1, 10, 100 μ g/ml)の血漿中たん白質への結合能が測定されている。平均値はラットで42-44%、ウサギで52-55%、イヌで46-52%、ヒトで41-43%であった。

また、10mg/kg 体重^gを強制経口投与したブタ(去勢ブタ;3 頭)の投与 2 時間後における結合率は 48-49%、N-脱メチル化体では 50-65%であった。

【ヒトボランティアにおける投与試験】^{(15),(16)}

健康ボランティア男性におけるカプセルによる経口投与(200, 400, 600mg/ヒト ; n=6, 6, 11)において、血漿中濃度の T_{max} は投与量順に 3.9, 5.2, 4.7 時間、 C_{max} は $2.17 \pm 0.28, 4.09 \pm 0.61, 6.12 \pm 0.68 \mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ は $20.6 \pm 1.4, 27.1 \pm 3.3, 28.8 \pm 4.9$ 時間であった。投与後 48(200mg)あるいは 96 時間(400 及び 600mg)までの尿中からジフロキサシン及びその代謝物を合計して $26.8 \pm 4.0, 28.4 \pm 5.5, 28.3 \pm 6.3\%$ が回収された。400mg 投与群の代謝物毎の内訳は未変化体が 9.6%、グルクロン酸抱合体が 10%、N-脱メチル化体が 4%、N-oxide が 3%であった。代謝物比に投与量間で大きな差は認められなかった。なお、糞中の回収率は検討されていない。

2-2. 毒性試験

(1) 急性毒性試験^{(17),(18),(19)}

経口投与による LD_{50} は ICR 系マウスの雌で 1.60g/kg 体重、雄で 1.38g/kg 体重、Sprague-Dawley 系ラットの雌で 6.27g/kg 体重、雄で 5.51g/kg 体重であった。皮下投与では、マウス(ICR)、ラット(SD)とも 2.0g/kg 体重以上であった。

(2) 亜急性毒性試験

【ラットを用いた 3 ヶ月間亜急性毒性試験】⁽²⁰⁾

約 5 週齢の Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 15 匹/群)を用いた強制経口(0, 20, 50, 150 mg/kg 体重/日^h)投与における 3 ヶ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、試験期間中に対照群の 2 匹及び 150mg 投与群の 4 匹が死亡した。また、各群 5 匹について、投与終了後 1 ヶ月間を回復期とし、その間についても状態の観察が実施されている。

一般的な臨床症状観察では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

体重変化では、150mg 投与群の雄で統計学的に有意ではないが 48-97 日の間体重の低値が認められた。97 日では統計学的に有意であった。また、投与期間中の体重増加が有意に減少していた。20 及び 50mg 投与群の雄でも対照群と比較して投与期間中の体重増加の低値が認められたが、統計学的に有意ではなかった。雌では 150mg 投与群の 13-97 日の間の平均体重及び投与期間中の平均体重増加が他の群の雌と比較してわずかに低かったがいずれも統計学的に有意ではなかった。

摂餌量では、差は認められなかった。

眼検査(眼底鏡及び細隙灯)では投与に起因した異常は認められなかった。

血液学的検査では、50mg 以上投与群の雄で RBC の減少と Ht の低値が認められ、150mg 投与群の雄では Hb の低値、雌では Ht の低値が認められた。Hb、Ht、RBC の低値は本試験に先立って実施された 1 ヶ月

^g フリーベース換算量

^h フリーベース換算量。投与は所定の濃度に調整された懸濁液を最新の体重測定値に基づき 10mL/kg の容量で経口投与。

間の亜急性毒性試験で雌でも認められたが、値はラットの生理的変動の範囲内であった。また、150mg 投与群の雌雄で白血球数の増加が認められた。ただし、好中球/リンパ球比に異常はなく、未熟形白血球の増加や骨髄細胞の異常は認められなかった。プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間に異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、50mg 以上投与群の雄及び150mg 投与群の雌で総たん白質、グロブリン、アルブミンの減少、150mg 投与群の雄でALTの増加が認められた他、散発的に有意差が認められる項目が認められた。グロブリン、アルブミン、総たん白質の減少は本試験に先立って実施された1ヶ月間の亜急性毒性試験でも認められたが、値はラットの生理的変動の範囲内であった。

尿検査では被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、150mg 投与群の雌雄で肝臓の相対重量の増加、脳の絶対重量の低値が認められた。さらに雄では心臓の絶対重量の低値、雌では腎臓の相対重量の増加が認められた。これらに関連する生化学的あるいは病理組織学的所見は認められなかった。

剖検では特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査は対照群と150mg 投与群のみで実施されたが、特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。

本試験におけるNOAELは50mg/kg体重/日であった。

【若齢イヌを用いた3ヶ月間亜急性毒性試験】^{(21),(22),(23)}

9~12ヵ月齢のビーグル犬(対照群及び60mg 投与群は雌雄各7頭/群、5及び20mg 投与群は雌雄各4頭/群)を用いた強制経口投与(0、5、20、60 mg/kg体重/日)による3ヶ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。なお、対照群及び60mg 投与群の雌雄各3頭は、投与終了後1ヶ月間を回復期とし、その間についても状態の観察が実施されている。

一般的な臨床症状観察では、被験物質の投与に関連すると考えられる所見として、自発運動低下、嘔吐、眼瞼下垂、流涎、耳の腫脹、縮瞳が認められた。60mg 投与群の雄の1例では投与後に振戦が認められた。流涎、下痢あるいは軟便も認められたが、これらの用量相関性は明確でなかった。

眼科学検査(眼底鏡及び細隙灯)では網膜を含む眼の構造に異常は認められなかった。

体重変化、摂餌量に特に被験物質の投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的検査では、60mg 投与群の雄で活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が認められたが、通常の変動範囲内と考えられた。他に特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、60mg 投与群の雄の数頭でALTの増加が認められた。回復期まで観察された個体では、試験118日には正常範囲に回復していた。このALTの増加は本試験に先だって実施された1ヶ月間亜急性毒性試験においても認められていた。1ヶ月間亜急性毒性試験で認められていた血清中総たん白質の減少は本試験では認められなかった。

尿検査では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

剖検では、20mg 以上の投与群で顆粒を含む胆汁が認められ(4/8、5/8)、組織学的検査では結晶性物質であった。結晶性物質については1ヶ月間亜急性毒性試験においてジフロキサシンのグルクロン酸抱合体であ

ⁱ フリーベース換算量。投与量は最新の体重測定値に基づき補正。

ることが確認されている。これらの結晶性物質は回復試験群では認められなかった。

この他、網膜電(位)図検査、心電図検査が実施されている。網膜電(位)図検査では 20mg 以上投与群で A 及び B 波頂点時間の規則的延長と振幅の減少が特に 3ヶ月の投与後に観察された。同様の所見は1ヶ月間亜急性毒性試験においても認められているが、回復期には消失した。心電図検査では特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 5mg/kg 体重/日であった。

3.5~3.8 カ月齢のビーグル犬(対照群及び 125mg 投与群は雌雄各 8 頭/群、他の投与群は雌雄各 6 頭/群)を用いた強制経口投与(0、5、25、35、50、125mg/kg 体重/日)による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。なお、対照群及び 125mg 投与群の雌雄各 2 頭は、投与終了後 1ヶ月間を回復期とし、その間についても状態の観察が実施されている。なお、跛行、手根関節の平坦化が発現したため、25mg 投与群の 3 頭(雄 2、雌 1)、35mg 以上投与群では 4 頭(雌雄各 2)を投与 24 日に(125mg 投与群の雄については 8 及び 10 日に 1 頭ずつ)安楽死させ、剖検に供した。その他には試験期間中に死亡例はなかった。

一般的な臨床症状観察では、被験物質の投与に関連すると考えられる所見として、眼窩周囲の腫脹 (swelling)、耳部、鼻口部、腹部の一部あるいは全ての皮膚の紅潮(red skin)、瞬膜腫脹(elevated)、結膜、耳部、鼻口部の一部あるいは全ての腫脹(swollen)が認められた。また、35mg 以上の投与群で嘔吐が用量相関的に増加した。125mg 投与群では瞳孔収縮、痙攣(convulsion)、脱水症状、横臥、流涎、斜視、緊張(tonic)、振戦、引きつり(twitching)、衰弱も認められた。

体重変化では 50mg 投与群の雌及び 125mg 投与群の雌雄で有意に低下した期間が認められた。

摂餌量では 25mg 投与群の雌で投与 1-2 日、35mg 及び 50mg 投与群の雌、125mg 投与群の雌雄で 42 日までの間でしばしば有意な減少が認められた。5mg 投与群の雌、25、35、50mg 投与群の雌雄の平均摂餌量は有意ではないがしばしば対照群を下回った。

眼科学検査(間接検眼鏡)では特に異常は認められなかった。

血液学的検査では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、25mg 以上投与群の雌雄でグロブリン及び総たん白質の低下が認められた。50mg 以上投与群の雄及び 125mg 投与群の雌で ALT が増加した。125mg 投与群の雌では AST の増加も認められた。γ-グルタミルトランスフェラーゼは 125mg 投与群の雌で有意な、雄で有意ではないが増加が認められた。

尿検査では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、大腿骨、脛骨近位端、橈骨遠位端及び手根骨部の関節軟骨に中間層の空隙形成、軟骨原線維形成、軟骨細胞密集等の病変が全ての投与群で認められた。発生の頻度は高用量でより顕著であった。また、肝内胆管増殖が 35mg 以上投与群で認められた。

この他、網膜電(位)図検査、心電図検査、跛行検査が実施されている。網膜電(位)図検査では特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。心電図検査では投与群で心拍数の増加が認められたが、統計学的な有意差、用量相関性とも認められなかった。跛行検査では全ての投与群で左右手根関節の平坦化の発生頻度が用量依存的に増加した。跛行は 50mg 以上の投与群で認められた。踵関節の低位が 35mg 以上

^j フリーベース換算量。投与量は最新の体重測定値に基づき補正。

投与群の雄及び 125mg 投与群の雌で認められた。

全ての投与群で関節軟骨の変化が認められたため、本試験における NOAEL は求められなかった。

3～4 ヶ月齢のビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いた強制経口投与(0, 0.3, 1.0, 3.0mg/kg 体重/日^k)による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。なお、試験期間中に死亡例はなかった。

一般的な臨床症状観察では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

体重変化では 0.3 及び 1.0mg 投与群の雄で数週間の間、増加が認められた。これらの投与群では散発的に摂餌量の増加が観察されていた。3.0mg 投与群ではこのような変化は認められなかった。

眼科学検査(間接検眼鏡)、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では、いずれも特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

跛行検査では両側性で軽度な手根関節平坦化が 3.0mg 投与群の雌雄各 1 例で認められた。

本試験における NOAEL は 1.0mg/kg 体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

【マウスを用いた 2 年間発がん性試験】⁽²⁴⁾

CD-1 マウス(雌雄各 70 匹/群)を用いた混餌(0, 5, 25, 75, 150mg/kg 体重/日^l; 雄 0, 4.0, 20.5, 67.6, 123.0mg/kg 体重/日, 雌 0, 4.1, 20.6, 61.7, 123.6mg/kg 体重/日^m)投与による 2 年間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含めて雄で肛門性器の汚れが認められ、75mg 以上の投与群では発生率の増加が明らかであった。雌では同様の所見は認められなかった。

体重変化では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

飼料摂取量では、統計学的に有意な変化が散発的に認められたが、用量相関性はなかった。

血液学的検査では 150mg 投与群の雌雄でヘモグロビン、ヘマトクリットの低下、赤血球数の減少が認められたが、低下の程度は試験実施施設の背景データの範囲内であった。なお、血液生化学的検査は実施されていない。

剖検及び病理組織学的検査で、投与量にかかわらず5%以上の発生頻度で腫瘍が認められたのは、肺気管支/肺胞癌、腺腫、肝細胞癌、腺腫、血管腫、子宮組織球性肉腫、平滑筋腫、血管腫、子宮内膜ポリープ、下垂体腺腫、リンパ腫、ハーダー腺の嚢胞腺腫であった。雄では肺腺癌が150mg投与群で多く認められたが、Peto法では統計学的な有意差は無く、またこの系統は肺気管支/肺胞癌、腺腫の自然発生頻度が高いため、毒性学的意義はないと考えられた。雌ではいずれも差は認められなかった。肝臓では150mg投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大が対照群よりも多く認められたが、肝細胞腺腫および癌、これらの併発例の発生率には投与群と対照群間で有意差は認められなかった。150mg投与群の雌雄で鼻甲介のエオシン好性の呼吸上皮、嗅覚上皮、エナメル器の陥入、鼻孔内のタンパク様液の発生頻度の増加が認められ、また、雌の75mg投与群で子宮血管腫の発現数が増加したが、150mgを含め他の投与群では認められなかった。雄の75mg以上投与群で精巣細動脈の石灰沈着(mineral deposit)、150mg投与群で精母細胞・精子細胞の巨細胞及び精巣白膜石灰沈着が認められた。

^k フリーベース換算量。投与量は最新の体重測定値に基づき補正。

原末換算における計画投与量。混餌濃度は最新の体重測定値及び摂餌量に基づき調整。

^m 混餌濃度及び摂餌量から求めた実投与量(フリーベース換算量)

本試験において被験物質投与に係るがん原性は認められなかった。また、原末で雄の 75mg 投与群で影響が認められたことから、フリーベース換算における NOAEL は 20.5mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験】⁽²⁵⁾

CD 系ラット(雌雄各 70 匹/群)を用いた混餌(0、5、25、50、100mg/kg 体重/日ⁿ; 雄 0、4.0、20.5、41.2、82.2mg/kg 体重/日, 雌 0、4.0、20.6、41.0、81.4mg/kg 体重/日^o)投与による 2 年間の慢性毒性/発がん性併合試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、雌の 50mg 投与群で生存率が低かった他は、群間比較では有意な生存率の変化は認められなかったが、雄では傾向検定で生存率の減少傾向が認められた。

一般的な臨床症状観察では、赤く腫脹した耳部が 50mg 投与群の雌及び 100mg 投与群の雌雄で認められた。片側性血涙が 50mg 以上投与群の雄で認められた。

体重変化では、100mg 投与群の雌雄の 2 年目に減少が認められた。

飼料摂取量では、100mg 投与群の雄で全期間を通じて、雌の 100mg 投与群で 44 週まで、25 及び 50mg 投与群で 40 週まで増加が認められた。

血液学的検査は 3 ヶ月毎に血液を採取して実施された。白血球数の増加が 100mg 投与群の雄及び 12 ヶ月までの雌で認められ、50mg 投与群の雄でも 3 及び 9 ヶ月に認められた。100mg 投与群の雄では、投与開始後 12 ヶ月までヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、9 ヶ月まで赤血球数が低下もしくは減少した。15 ヶ月では血小板数が増加していた。これらの変化はいずれも背景データの範囲内であった。また、12 ヶ月までの間にプロトンビン時間の増加が認められたが、投与との関連性は不明であった。

血液生化学的検査では、50mg 以上投与群の雌雄で投与 15 ヶ月までの間でしばしば無機リン酸濃度の増加が認められた。また、総たん白質の減少と総コレステロールの増加が散発的に認められたが、これらは背景データの範囲内であった。

尿検査では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、50mg 以上投与群の雄で前立腺の相対及び絶対重量の減少が認められた。また、100mg 投与群の雄で精巣の絶対重量の減少、腎臓の相対重量の増加、脳の絶対重量の減少、雌で脳の絶対重量の減少が認められた。

剖検では、50mg 以上投与群の雌雄で耳部の腫脹及び褪色、肝臓の褪色の発生頻度が上昇した。100mg 投与群の雄で精巣の萎縮又は軟化が認められ、雌の投与群で卵巣の嚢胞が認められた。

病理組織学的検査では、50mg 以上の投与群で高頻度に認められた腫脹あるいは褪色した耳部で類軟骨過形成、うっ血が認められた。肝臓では胆管増生及び胆管線維症の発生率の増加が 25mg 以上投与群の雌雄で認められたが、これらの病変では投与との関連性はなかった。肝臓の褪色部ではうっ血が認められたが、不完全な放血に起因するものと考えられた。100mg 投与群の雄では精母細胞・精子細胞性巨細胞の精細管内形成を伴う精上皮の変性又は萎縮が高頻度で認められた。これらの変化を有する精巣上体では無精子症、精子減少症、上体管腔内の細胞破片集簇が認められた。卵巣の嚢胞は対照群を含めて用量に無関係に散発的に認められ、剖検で嚢胞とカウントされたものの多くは病理組織学的には嚢胞を確認できなかった。

腫瘍の発生頻度については、対照群と投与群間で有意差は認められなかった。

原末で雌雄の 50mg 投与群で影響が認められたことから、フリーベース換算における本試験の NOAEL

ⁿ原末換算における計画投与量。混餌濃度は最新の体重測定値及び摂餌量に基づき調整。

^o混餌濃度及び摂餌量から求めた実投与量(フリーベース換算量)