

### (9) ヒトにおける知見について

#### 【ヒトにおけるβ-作動薬の毒性影響】

β-作動薬は古くからヒト臨床に用いられており、その毒性影響として循環器系への影響(頻脈、血管拡張)、振戦、代謝影響(低カリウム血症、高血糖)がよく知られている。これらは薬剤の性質から予想できる症状であり、継続的な暴露により耐性が獲得されることが知られている。この耐性の獲得が受容体の感受性の低下によるものなのか、中枢神経系の適応なのかは明らかとなっていない。また、気管支過敏症や気管支炎との関連も示唆されている。これらの毒性影響の程度にはレセプターの遺伝的多型が関与しているとする報告もある<sup>(5),(79)</sup>。蛋白質同化剤としてのクレンブテロール、あらゆる種類のβ-2作動薬はドーピングの禁止薬物リストに記載されている<sup>(80)</sup>。

また、過去に isoproterenol を高用量(2.5-5 倍)で使用していたイギリス、オーストラリアにおいて気管支喘息による死者の増加が認められている。これは心疾患の死亡率とも相関していた。fenoterol を高用量(200μg)で使用していたニュージーランドにおいては気管支炎喘息の死者の増加が認められたが、この喘息による死亡増加と fenoterol の使用との関連性には疑問を呈する報告もある。過剰なβ-作動薬の使用(特に1.4canisters/月を超える場合)はリスクを増加させると報告されている<sup>(79)</sup>。

このように、β-作動薬の過剰使用にはリスクがあると考えられる。一方、最近の総説では、薬理学的に予想できるβ-作動薬の影響は低酸素症または併発症が認められる場合を除き問題とされるものではなく、容易に耐性が獲得されると結論している<sup>(79)</sup>。

また、ヒトにおけるβ-作動薬の使用に伴う毒性影響について、論文のサーベイランスが実施されているが、β-作動薬の使用により平滑筋腫が誘導されたという報告はなかったとされている<sup>(81)</sup>。

### 3. 食品健康影響評価について

#### 【対象動物に対する影響について】

対象動物であるウシ、ブタへの安全性については、亜急性毒性試験において臨床症状、体重(増体重)、飼料摂取量、飼料要求率、血液検査(赤血球数、白血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量)、血液生化学検査(血糖、尿素窒素、クレアチニン、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、ナトリウム、カリウム、塩素)、剖検(病理解剖検査、臓器重量測定)、病理組織検査が行われている。FDA ではブタでは20ppm、ウシでは90ppm まで有害影響は認められなかったと評価しており<sup>(3),(4)</sup>、オーストラリアでは特に言及されていない<sup>(82)</sup>。当調査会においては、これらの投与量においても血漿クレアチニン濃度の増加が認められており、これは毒性影響というより薬理作用と考えられるものの、厳密な意味での NOEL は求められていないと判断された。ただし、ブタの20ppm(0.6mg/kg 体重/日)投与では個別の結果を対照群と比較した場合には統計学的な有意差は認められておらず、この投与量はNOELの近傍であると考えられる。

#### 【催奇形性について】

催奇形性については、ラットを用いて2世代繁殖試験を兼ねた試験が実施されている<sup>(48)</sup>。奇形の発生率の上昇は親動物に影響が認められた最高投与量の2000ppm(160mg/kg 体重/日)でのみ認められ、親動物及び子動物に対するNOAELはその下の用量段階である200ppm(15mg/kg 体重/日)であった。その他、非げっ歯類を用いた試験は報告されていない。

催奇形性の試験については、従来まで非げっ歯類(ウサギを推奨)における試験が要求されていたが、日欧米等の国際間で合意に向けた最終段階の調整が進められている最新のVICHの発生毒性試験ガイドライ

ン<sup>(83)</sup>においては、ウサギとラットとの比較で催奇形性について多くの場合両動物種の反応性がほぼ同じであったこと、及びウサギがより高感受性を示した場合でもその差は10倍以内であったとする過去の知見の蓄積<sup>(84)</sup>に基づき、ラットでまず試験を実施することを推奨し、この結果、催奇形性を誘発する投与量が特定でき、さらにその試験で得られたNOELがADI設定の根拠として用いられない場合は、第2の種における試験は必要ないとしている。日本においても本年「動物用医薬品関係事務の取扱いについて」(平成12年3月31日12-33農林水産省畜産局衛生課薬事室長通知)の別紙第4、毒性試験法等のガイドラインが更新され、この方針が踏襲された。

塩酸ラクトパミンの催奇形性については、ラットにおける奇形の発生率の上昇は親動物に影響が生じた比較的高用量(160mg/kg 体重/日)でのみ認められることから、選択的な催奇形作用<sup>bb</sup>ではないと考えられる。また、ラットで特定されたNOAEL(15mg/kg 体重/日)に、非げっ歯類がより高感受性であると仮定して安全係数10を考慮しても、この用量(1.5mg/kg 体重/日)と他の毒性試験等で認められているより低いNOEL(0.125mg/kg 体重/日)とにはまだ安全域があると考えられる。

これらのことから塩酸ラクトパミンについてはウサギの試験は必要でないと判断された。

#### 【遺伝毒性について】

遺伝毒性試験については、*in vitro* で不定期DNA合成試験(ラット肝細胞)<sup>(50)</sup>、Ames試験<sup>(51),(52),(53)</sup>、染色体異常試験(培養ヒトリンパ球<sup>(54)</sup>、培養ヒト全血リンパ球<sup>(55)</sup>、CHO細胞<sup>(56)</sup>)、前進突然変異試験(*Tk*)<sup>(57),(58),(59)</sup>、*in vivo* で染色体異常試験(マウス骨髄)<sup>(60),(61)</sup>、小核誘導試験(マウス<sup>(62)</sup>、ラット骨髄<sup>(63)</sup>)、姉妹染色体交換試験(チャイニーズハムスター骨髄)<sup>(64)</sup>が実施されている。

*In vitro* では培養ヒトリンパ球の染色体異常試験及び前進突然変異分析(*Tk*)で陽性と判定される結果が得られている。しかしながら、これらの試験の内容を詳細に検討した結果次のような結論を得た。培養ヒトリンパ球の試験では、通常、染色体異常試験で認められない染色体切断(Chromosome break)が陽性対照を含めて多数観察されており、試験の質に疑義が認められた。また、統計学的には有意となるものの、異常細胞の割合はいずれも10%を超えていなかった。培養ヒト全血リンパ球では、高濃度で弱い染色体異常の誘発が認められているに過ぎない(1000µg/mLで16.5%)。CHO細胞で観察されたdiplochromosomeはendoreduplicationの徴候であると説明されている。このendoreduplicationは倍数性の一様で、gene balanceに異常を生じる変化ではないため、昨今では重篤な異常ではないと見なされている。一方、前進突然変異分析(*Tk*)については特に+S9では陽性所見(小コロニーの増加)が複数の試験で認められており、-S9の場合も、+S9の場合も、そのメカニズムとして染色体異常が示唆されている。以上の結果から、塩酸ラクトパミンは*in vitro* で染色体異常を誘発することが示唆されたが、強いものではない。

*In vivo* では、マウス骨髄の染色体異常試験、マウス骨髄の小核誘導試験、チャイニーズハムスター骨髄の姉妹染色体交換試験では明確に陰性の所見が得られている。一方、ラット骨髄の小核誘導試験では、50~200mg/kgの傾向検定で有意となっており、FDAはこの傾向検定をもって50~200mg/kgで染色体異常が認められたと記している。しかしながら、この内容を詳細に検討すると、個々の用量と対照の比較では有意差はなく、背景対照との比較でも大きな差は認められていなかった。さらに追加で実施された400及び600mg/kgの試験では染色体異常の誘発は認められていない。これらのことを考慮すると、ラット骨髄の小核試験についても結果は陰性と判断され、*in vivo* において塩酸ラクトパミンは遺伝毒性を示さないと考えられる。

以上のように、塩酸ラクトパミンは、*in vitro* で染色体異常を誘発することが示唆されたが、*in vivo* にお

<sup>bb</sup> 母体毒性のないところで起こる催奇形性

ける3種の試験ではいずれも陰性を示した。これらを総合的に考慮した結果、塩酸ラクトパミンは生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと判断された。

なお *in vitro* において認められる弱い染色体傷害性には酸化ストレスが関与している可能性が示唆されているが、それだけでは十分に説明できず、さらに解明すべき問題として残されている。

#### 【発がん性について】

慢性毒性試験については、イヌで1年間<sup>(41)</sup>、マウスで21ヶ月間<sup>(42)</sup>、ラットで2年間<sup>(46)</sup>、サルで1年間<sup>(47)</sup>の試験が実施されている。このうち発がん性については、マウスの21ヶ月間及びラットの2年間で子宮平滑筋腫の発生が認められている。

$\beta$ -作動薬については、げっ歯類に子宮あるいは卵巣間膜に平滑筋腫を発生することが知られており、申請者が第三者機関に依頼した $\beta$ -作動薬の発がん性に関する論文のサーベイランスにおいては<sup>(81)</sup>、soterenol、mesuprine、medroxalol、salbutamol、metaproterenol、terbutaline、salmeterol、bitolterol、pirbuterolの9種のうち、最後の2種を除いたすべてでマウスあるいはラットで子宮あるいは卵巣間膜に平滑筋腫を発生したとする報告が認められた。metaproterenolはさらにマウスに肝細胞腫瘍を発生させたとされている。

これらのことから、げっ歯類の子宮あるいは卵巣間膜の平滑筋腫の発生は、 $\beta$ -作動薬に広く認められる作用であると考えられる。このうちmedroxalol、salbutamol、terbutalineについて、平滑筋腫の誘導が $\beta$ -受容体拮抗薬であるpropranololにより抑制されたとする報告があり<sup>(43),(44),(45)</sup>、この $\beta$ -作動薬の発がんの作用機作として $\beta$ -受容体を介する反応であることが示唆されている。ラクトパミンについてこの抑制の確認は行われていないが、遺伝毒性試験の結果から遺伝毒性発がん物質とは認められず、ラクトパミンの長期投与でげっ歯類に認められた子宮平滑筋腫の発生は遺伝子傷害によるものではないと考えられる。

なお、ヒトにおける $\beta$ -作動薬の使用に伴う毒性影響について実施された論文のサーベイランスでは、 $\beta$ -作動薬の使用により平滑筋腫が発生したという報告はないとされている<sup>(81)</sup>。

#### 【循環器系への影響について】

塩酸ラクトパミンの投与において観察される毒性及び生理影響のうち、最も鋭敏と考えられるのは循環器系に対する影響と考えられる。このため、塩酸ラクトパミンの試験においては、通常の毒性試験ガイドラインで規定されている試験の他に心拍数、血圧、心電図等の循環器系に対する影響を観察した特殊毒性試験がイヌ、サル及びヒトにおいて実施されている。

イヌについては1年間慢性毒性試験<sup>(41)</sup>において循環器系への影響についてのNOELは求められなかったが、さらに低用量について急性作用が検討され0.002mg/kgのNOELが求められている<sup>(68)</sup>。なお、この次の用量段階は0.050mg/kgと幅があり、真のNOELは0.002-0.050mg/kgの間にあると思われる。サルについては1年間慢性毒性試験において循環器系への影響を含めNOEL 0.125mg/kg体重/日が求められている<sup>(47)</sup>。ヒトにおいては6名のボランティアに対し0, 5, 10, 25, 40mgの単回漸増投与計画法で心臓血管系機能に関するパラメーターが調べられ、心拍数、血圧、動悸等に影響が認められたのは25mg以上の投与であったが、電気機械収縮時間、左心室駆出時間、円周方向短縮速度といったパラメーターには、10mgでも影響が認められたことから、NOELは5mg/ヒトと判断された<sup>(71)</sup>。

単純な数値の比較では、イヌで最も低い用量で影響が認められている。しかしながら、ラクトパミンに関する影響の内容を詳細に検討すると、イヌでは、特に拡張期の動脈圧に顕著な降下や皮膚発赤が観察されているのに対し、ヒトでは皮膚発赤は認められず、動脈圧は逆に上昇している等、反応に $\beta$ -アドレナリン受容体の分布の差に起因すると思われる差異が認められている。一方、サルにおいて認められた所見は、ヒトと類似していた。

これらのことから、塩酸ラクトパミンのヒト循環器系への影響を評価するにあたっては、イヌよりもサルを用いた試験結果を外挿することが適当と考えられる。

#### 【エンドポイントの選択について】

各種の遺伝毒性試験及び慢性毒性/発がん性併合試験の結果から、塩酸ラクトパミンは遺伝毒性発がん性を示さないと考えられ、ADIを設定することが可能である。

亜急性毒性、慢性毒性/発がん性併合、催奇形性、繁殖毒性試験等の通常評価に用いられる各種試験に加え、ラクトパミンについては $\beta$ -作動薬の薬理作用に関連する指標として、心拍数、血圧、心電図等の循環器系への影響がイヌ、サル及びヒトにおいて調べられている。このうち、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は循環器系への影響に関するもので、イヌでは0.002mg/kg 体重/日、サルでは0.125mg/kg 体重/日、ヒトでは0.066mg/kg 体重であった。3者の比較ではイヌで最も低い値で影響が認められているが、循環器系への影響については、先にも触れたように、イヌでは動脈圧を低下させるのに対しヒトでは上昇させる等、ヒトとイヌではその影響に相違点が認められているのに対し、サルとヒトでは類似している。また、サルとヒトの試験を比較すると、サルの試験が1年間の長期投与でかつ病理組織学的検査を含めたフルセットの検査が行われているのに対し、ヒトの試験は6名のボランティアに対し単回漸増投与計画法で心臓血管系機能に関するパラメーターのみの測定となっている。

このことから、ヒトに対する食品健康影響評価を実施する上でのエンドポイントとしては、サルにおける1年間慢性毒性試験における循環器系への影響を採用することが最も適当であると考えられた。ただし、ヒトにおいて直接の知見が得られていることから、これについてもあわせて考慮すべきであるとされた。

#### 【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

塩酸ラクトパミンのADIはサルの1年間慢性毒性試験のNOEL 0.125mg/kg 体重/日に種差10、個体差10の安全係数100を考慮して、0.00125mg/kg 体重/日と設定されることが考えられる。

なお、6名のヒトボランティアにおける心臓血管系の作用についての試験(経口)からは、NOEL 5mg/ヒトが得られており、試験に参加した6名の平均体重75.5kgで体重あたりに補正すると、0.066mg/kg 体重である。ヒト試験については、安全係数として個人差10のみが適用される。しかしながら、他の $\beta$ 作動薬の副作用として、動悸、頻脈、心(筋)虚血、不整脈、血圧上昇と心拍数増加等が知られており、冠動脈疾患、心房細動等の心疾患に対してはこの作用が時に強く表れるとされている<sup>(5)</sup>ように、高リスクと思われる心臓疾患のバックグラウンドレベルがある程度見込まれるのに対して、この試験の対象は限られた人数の健常男性であり限定的であることから、追加の安全係数が適用されるべきであろうと考えられる。また、NOELの特定で考慮された影響は心電図の微細な変化であり、心拍数や血圧に変化が認められるのは15mg/ヒト以上の用量である。これらのことを総合的に考慮し、追加の安全係数については5を適用するのが適当とされた。安全係数として、個人差10、追加5の合計50を用いた場合、ADIは0.00132mg/kg 体重/日となる。

これらの知見と現時点における国際的慣行<sup>(85)</sup>でADIは数的に最も意味のある1桁で示すとされていることを考慮すると、塩酸ラクトパミンの残留基準を設定するに際してのADIとしては、0.001mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

無毒性量(NOEL)	0.125 mg/kg 体重/日
	動物種 サル
	投与量/投与経路 0.125mg/kg 体重/日 / 経鼻胃挿管
	試験期間 1年間
	試験の種類 1年間慢性毒性
安全係数	100
ADI	0.001mg/kg 体重/日

**【食品健康影響評価について】**

以上より、塩酸ラクトパミンの食品健康影響評価については、ADIとして次の値を採用することが適切と考えられる。

塩酸ラクトパミン 0.001 mg/kg 体重/日