

(別添)

ウシ用インターフェロンアルファ経口投与剤(ビムロン)に関する食品影響評価について

1. インターフェロン (interferon)

インターフェロン(以下 IFN と略す)は、1950 年代にウイルス干渉作用(ウイルスの感染を阻止する現象)の研究中に干渉因子として発見され、その後、生体内抗ウイルス物質であることが明らかにされた。現在は抗原構造の違いにより IFN - α 、 β 、 γ に大別され、いずれも糖蛋白質であることが判明している。IFN - α ではさらに 18 以上のサブタイプが確認されている。

IFN - α と β は α 型 IFN、 γ は γ 型 IFN と呼ばれている。このうち α 型 IFN は、生体内でウイルス感染等の刺激に反応して体細胞で生産され、標的細胞のレセプターを介して結合し、十数種類の遺伝子群を発現ないしは抑制して、抗ウイルス作用を一過的に誘起する。この他に細胞増殖抑制作用、ナチュラルキラー細胞及びマクロファージの活性化を介する免疫増強作用、さらに MHC クラス II 分子や他の表面マーカーの増強作用等を示す。これらの作用が確認されたことから、人体用医薬品としての研究開発が進み、1980 年代後半にはがん等の治療薬として実用化されている。一方、 γ 型 IFN は T リンパ球で生産される。

現在人体用医薬品として実用化されている IFN - α には培養細胞によって生産される天然型と遺伝子組み換え大腸菌を利用して生産される遺伝子組み換え型がある。天然型 IFN - α は複数のサブタイプを含む糖蛋白質混合物であり、遺伝子組み換え型は 1 種類の糖鎖を持たない蛋白質である。しかしながら、これらの間で主要な適応疾患、薬理薬効作用は共通であり、投与量や副作用にも大きな違いは認められていない。

このように天然型 IFN - α は混合物であり、その用量は通常抗ウイルス活性をもとにした力価(一般には国際単位 ; IU)で示される。

ヒトインターフェロンの他の動物種における活性については、*in vitro* で動物の培養細胞に様々な強度で抗ウイルス活性を誘導したと報告されている。また、静脈中等に投与された場合にはヒトインターフェロンは動物において異種蛋白として認識され、長期の投与では中和抗体が産生される可能性がある。

2. ウシ用インターフェロンアルファ経口製剤(商品名 ; ビムロン)

ウシ用インターフェロンアルファ経口製剤(ビムロン)は、有効成分として天然型のヒト IFN - α (BALL-1)を含む散剤であり、ウシに対し、1 日 1 回、体重 1 kg あたり、2.5mg (IFN - α として 0.5 IU) を 5 日間経口投与するとされている。本製剤の効能効果は、1 ヶ月齢未満のウシにおける、口タウウイルス感染症による軽度下痢の発症日数の短縮、症状改善、増体量低減の改善である。

使用されているヒト IFN - α は医療用医薬品(製剤原料)として既に承認されており、現在もヒトに使用されているものである。ヒトの医療においては、IFN - α は 500 万 IU 程度を筋肉内注射して用いることが多いが、本剤は経口でかつ 0.5 IU/kg 体重というヒト臨床用量と比較して極めて微量を投与している。IFN - α は蛋白質であり、経口投与後は速やかに消化・吸収され活性を失うと考えられる。従ってこの投与法による作用機序は定かでないが、口腔内あるいはその近傍の細胞に作用して投与局所の免疫反応を亢進させるとともに、何らかの情報伝達機構を介し全身的な免疫賦活作用を示すのではないかと仮説が報告されている。

3．毒性試験の概要

3-1．吸収・分布・代謝・排泄

【マウスを用いた投与試験】⁽¹⁾

Swiss マウス(雌；6-7 週齢)を用いた組み換え型 ^{125}I -ヒトインターフェロン - α (以下 rHuIFN- α) 2×10^7 IU の静脈、腹腔内、経口単回投与試験において認められた投与物質の薬物動態は次の通りであった。

血液中の放射活性レベルについては、各投与法で投与後、全血及び血清中に存在する放射活性レベルを 24 時間測定した。静脈投与では、投与後開始直後の計測で最も高い値を示し、その後は徐々に減少した。腹腔内投与では、投与後 4 時間で最高値に達しその後ゆっくりと減少した。経口投与では、投与後約 1 時間で最高値に達し、その後徐々に減少した。全血及び血清中の放射性物質の消失曲線は 2 相性のものであり、消失率の平衡状態は投与後 4～8 時間の間に観察された。経口投与された血中の放射活性レベルは、いずれの時点においても静脈内及び腹腔内投与で検出されたレベルよりも低かった。また、どの投与法においても、全血中よりも血清中で高い放射活性が認められた。血清中に認められた放射性物質を免疫沈降し、SDS-PAGE で分析したところ、静脈及び腹腔内投与した動物の血清中には rHuIFN- α に相当するバンドが認められたが、経口投与した動物の血清中からは検出されなかった。また、各血清について IFN の生物活性を測定したところ、静脈及び腹腔内投与された動物の血清では IFN の生物活性が認められたが、経口投与した動物の血清では検出できなかった。

【ウサギを用いた投与試験】⁽²⁾

ウサギを用いたヒトインターフェロン - α (以下 HuINF- α) 300 万 IU の静脈内、筋肉内、皮下、経口投与試験において認められた HuINF- α の血液中薬物動態は次の通りであった。

静脈内投与では、投与後 1 時間で HuINF- α の血中濃度は急速に低下した。この時の消失半減期($T_{1/2}$)は約 13 分であった。消失曲線には tailing 作用があり、投与後 1～6 時間で $T_{1/2}$ を算出した場合 73 分であった。投与後 12 時間には活性はほぼ消失した。筋肉内投与では、投与後約 1 時間で最高濃度に達しこれはほぼ 12 時間まで持続した。皮下投与では、投与後 3～6 時間に最高濃度に達し、その後徐々に低下したが投与後 24～36 時間でもなお活性の痕跡が認められた。投与量を増加した場合、活性の持続時間が延長された。経口投与では、250 万 IU、600 万 IU を投与しても、投与後 1～24 時間の血中にインターフェロン活性は検出されなかった。⁽²⁾

【イヌを用いた投与試験】⁽⁴⁾

雄ビーグル犬を用いた組換え型インターフェロン A (以下 rINF- α A と略す) 18000 ng/kg 体重の静脈点滴、静脈内、筋肉内、皮下、経口投与試験において認められた rINF- α A の血液中薬物動態は次の通りであった。(1 IU = 0.006 ng と換算)

静脈点滴の点滴終了時の最高血中濃度($C_{\max}$)は 116 ± 11.4 ng/ml、 $T_{1/2}$ は 4.5 時間であった。静脈内投与の $T_{1/2}$ は 6.9 時間であった。筋肉内投与の $C_{\max}$ は 17.5 ± 5.8 ng/ml、 $T_{\max}$ は 3.0 ± 1.0 時間、 $T_{1/2}$ は 4.7 時間であった。皮下投与した場合の $C_{\max}$ は 13.1 ± 1.99 ng/ml、 $T_{\max}$ は 3.0 ± 0.58 時間、 $T_{1/2}$ (消失半減期)は 9.5 時間であった。なお、経口投与した場合は、血中に rINF- α A は全く検出されなかった。(<20 pg/ml)

【サルを用いた投与試験】

アフリカミドリザル(*Cercopithecus aethiops*)を用いた組換え型インターフェロン A (以下 rINF- α A と略す) 300 万 IU/kg 体重(胃管は 600 万 IU/kg 体重)の静脈点滴、静脈内、筋肉内、皮下、胃管投与試験において認められた rINF- α A の血液中薬物動態は次の通りであった。

静脈点滴の点滴終了時の最高血中濃度(Cmax)は 144 ± 61 ng/ml、T1/2 は 2.9 時間であった。静脈内投与の T1/2 は 2.6 時間であった。筋肉内投与の Cmax は 19 ± 3.4 ng/ml、Tmax は 3 ± 1 時間、T1/2 は 3.4 時間であった。なお、経口投与した場合は、血中に rINF- α は全く検出されなかった。(<20pg/ml) ⁽⁵⁾

【ラットを用いた投与試験】

SD 雄ラットを用いて ^{14}C 標識 INF- α を経口投与し、全身オートラジオグラフィー法により体内分布が検討された。

投与後 1 時間では、口腔を含めた消化管内に高い放射活性が存在した。その他、放射活性は全身的に認められた。

投与 4 時間後では 1 時間後と比較して、口腔内を含め消化管内の放射活性が著しく低下し、臓器や血液中の放射活性は高くなる傾向が認められた。ただし、大脳、脂肪、肝臓、胃壁では変化は少なかった。 ⁽⁶⁾

Wistar 系ラットを用いた ^{125}I 標識ヒトインターフェロン - α (以下 HuINF- α) 1×10^5 IU/kg 体重もしくは 1×10^6 IU/kg 体重の静脈内投与、筋肉内投与において認められた HuINF- α の薬物動態は次の通りであった。

1×10^5 IU/kg 体重もしくは 1×10^6 IU/kg 体重の筋肉内投与あるいは 1×10^5 IU/kg 体重の静脈内投与後、24 時間までの尿中に 67.2 ~ 83.6%、糞中に 4.7 ~ 7.2% が排泄された。

静脈内投与では、血中の放射活性は投与開始直後の測定で最高値を示し、以後急速に低下した。血清中の免疫活性は、投与開始直後の測定で最高値を示した後急速に低下し、1 時間後には消失した。

筋肉内投与では、血中の放射活性は投与後 30 分 ~ 2 時間の間に最高値を示し、以後漸次に低下し 24 時間後には 24 IUeq./ml 以下となった。

HuINF- α を 1×10^5 IU/kg 体重もしくは 1×10^6 IU/kg 体重を筋肉内あるいは静脈内に投与したときに認められた放射活性の組織内分布は次の通りであった。

雌雄ラットへの筋肉内投与では、1 時間後の腎臓の放射活性が最も高く、他に血液、肝臓、肺での放射活性が高かった。雌雄、投与量、投与経路が異なってもこの傾向は同じであった。

雄ラットに 1×10^6 IU/kg 体重の HuINF- α を筋肉内投与したときに認められた主要臓器の抗ウイルス活性は次のとおりであった。

筋肉内投与の 30 分後には、腎臓および肺で抗ウイルス活性が検出されたが、肺では 2 時間後に、腎臓では 4 時間後に抗ウイルス活性は消失した。心臓、肝臓、脾臓では抗ウイルス活性は全く検出されなかった。

HuINF- α を 1×10^6 IU/kg 体重で筋肉内投与し、投与 1,4,24 時間後の腎臓ホモジネート及び尿中の総放射活性、TCA 沈殿性放射活性、免疫活性及び抗ウイルス活性を測定した。投与後 1 時間の総放射活性に対する TCA 沈殿性放射活性、免疫活性及び抗ウイルス活性は 36.3%, 31.3%, 5.8% であり、4 時間後には 5.5%, 17.4%, ND に低下し、24 時間後にはいずれも検出されなくなった。 ⁽³⁾

【ヒトにおける臨床知見】 ⁽⁷⁾

悪性腫瘍患者に 500 万 IU を筋肉内投与したところ、1 時間後より血清中に抗ウイルス活性が認められ、4 時間後には 23 IU/ml に達し、その後漸減し 24 時間後には検出限界以下となった。

健常人男性に 500 万 IU を皮下あるいは筋肉内投与したところ、皮下投与では Tmax は 7 時間、その時の Cmax は 45.5 IU/ml、筋肉内投与では Tmax は 4 時間、その時の Cmax は

53.3IU/ml であった。

3-2. 毒性試験

(1)急性毒性試験

経口投与、静脈内投与及び筋肉内投与による LD₅₀ は、マウス、ラットで 2.5×10^8 IU/kg 体重以上であった。

【マウスを用いた急性毒性試験】^(8,9,10,11)

マウスの急性毒性について、独立した 4 つの IFN - α 投与試験が実施された。

- ・ 7 週齢の ICR 系マウスを用いた静脈内投与($1 \times 10^6, 3 \times 10^6, 1 \times 10^7$ IU/kg 体重)及び筋肉内投与(1×10^7 IU/kg 体重)⁽⁸⁾
 - ・ 6 週齢の ICR 系マウスを用いた筋肉内投与($5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重)⁽⁹⁾
 - ・ 6 週齢の ICR 系マウスを用いた静脈内投与($5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重)⁽¹⁰⁾
 - ・ 6 週齢の ICR 系マウスを用いた強制経口投与($1 \times 10^7, 5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重)⁽¹¹⁾
- いずれの試験においても死亡例、投与に起因する異常とも認められなかった。

【ラットを用いた急性毒性試験】⁽¹²⁾

Wistar 系ラットに $1 \times 10^7, 5 \times 10^7, 2.5 \times 10^8$ IU/kg 体重の用量で IFN - α を静脈内、筋肉内及び経口投与した。いずれの投与方法、用量においても死亡例、投与に起因する異常とも認められなかった。

(2)亜急性毒性試験

【マウスを用いた 30 日間亜急性毒性試験】⁽¹³⁾

ICR 系マウスを用いた静脈内投与($1 \times 10^6, 3 \times 10^6, 1 \times 10^7$ IU/kg 体重)による 30 日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とおりであった。

摂餌量、体重変化、血液学的検査では、散発的に有意差が認められた事象もみられたが、いずれも一過性が用量相関がないもので、投与に起因した影響とは認められなかった。

血液生化学的検査では、 1×10^7 IU 投与群の雌雄でグルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)の上昇、雄でグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)の上昇、アルブミン/グロブリン比(A/G 比)の低下が認められた。 3×10^6 IU 投与群の雄で GPT の上昇、A/G 比の低下、雌でアルカリフォスファターゼ(ALP)の低下が認められた。 1×10^6 IU/kg 投与群の雄で ALP 活性値の低下が認められた。ただし、GOT、GPT の上昇の程度は軽度で、病理組織学的検査でもこれを反映する変化は観察されていないことから、毒性学的に大きな意味を持つものとは認められなかった。

臓器重量では、全ての投与群の雌雄で脾臓の絶対及び相対重量が増加した。 1×10^7 IU 投与群の雄で肝臓の相対的重量の増加が認められた。その他、 1×10^6 IU/kg 投与群の雄で腎臓の絶対及び相対重量の減少、雌で顎下腺の絶対重量の増加が認められた。

剖検では、対照群を含め大多数例で尾部の投与部位に軽度のうっ血が認められた。その他、胸腺の軽度退縮、腺胃部の点状出血等が対照群を含めて少数例で認められたがいずれの変化も用量依存性は認められなかった。

病理組織学的検査では、全ての投与群で脾臓の胚中心の反応性増生(リンパ芽球及び大食細胞の増生)、赤脾髄の大食細胞を主とする細網系細胞の原形質の腫大が認められた。これらの所見は 1×10^7 IU 投与群で強くみられた。 1×10^7 IU 投与群の雌の 3 例(3/10)及び雄の 1 例(1/10)で腸間膜リンパ節のリンパ節髄質の増生が認められた。その他に投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。脾臓で認められた変化については、INF - α がマウスにとって異種蛋白質であることから通常の生体の防御反応である可能性やインターフェロ

ンの薬理作用を反映している可能性が示唆されたが、その原因は明らかでなかった。なお、ヒトインターフェロン(BALL-1)がマウスにおいてマウスの I 型インターフェロンの作用を代替するという知見は現在まで得られていない。

この試験から NOAEL を求めることはできなかった。 $(1 \times 10^6 \text{ IU/kg 体重未満})$

【ラットを用いた 30 日間亜急性毒性試験】⁽¹⁴⁾

Wistar 系ラットを用いた静脈内投与 (3×10^5 , 1×10^6 , 3×10^6 , $1 \times 10^7 \text{ IU/kg 体重}$)による 30 日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりである。

摂餌量、飲水量、体重変化では、散発的に有意差が認められた事象もみられたが、いずれも用量相関性はなく、投与に起因した影響は認められなかった。

血液学的検査では、 $3 \times 10^5 \text{ IU}$ 以上の投与群の雄、 $3 \times 10^6 \text{ IU/kg}$ 以上の投与群の雌で血小板の減少が認められた。

血液生化学的検査では、 $3 \times 10^6 \text{ IU}$ 以上の投与群の雌雄で ALP 活性値の上昇、 $1 \times 10^7 \text{ IU}$ 投与群の雌で γ - グロブリン分画の増加が認められた。

尿検査では、投与に起因する異常は認められなかった。

視聴覚検査では、投与に起因する異常は認められなかった。

剖検では、投与に起因する異常は認められなかった。

臓器重量では、雄で $3 \times 10^6 \text{ IU}$ 以上の投与群で胸腺と心臓の絶対及び相対重量の減少が認められた。雌で $1 \times 10^6 \text{ IU}$ 以上の投与群で胸腺の絶対及び相対重量の減少、 $1 \times 10^7 \text{ IU}$ の投与群で副腎の絶対及び相対重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、全ての投与群の脾臓で軽度ないし中程度のリンパ濾胞の反応性増生が認められた。その他に投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

従ってこの試験から NOAEL を求めることはできなかった。 $(3 \times 10^5 \text{ IU/kg 体重未満})$

【ラットを用いた 91 日間亜急性毒性試験】⁽¹²⁾

Wistar 系ラットを用いた筋肉内投与 (3×10^5 , 1×10^6 , 3×10^6 , $1 \times 10^7 \text{ IU/kg 体重}$)による 91 日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりである。

体重変化には投与による影響は認められなかった。摂餌量では、 $1 \times 10^7 \text{ IU}$ 投与群の雌で 6 週及び 7 週目に摂餌量の減少が認められたが、これは一過的であった。その他摂水量、血液学的検査では、散発的に有意差が認められた事象もみられたが、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、 $1 \times 10^7 \text{ IU}$ 投与群の雌で総ビリルビンの減少が認められた。

尿検査では、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

眼科的検査では、 $1 \times 10^7 \text{ IU}$ の雌 1 例に左目の軽度な混濁がみられたが、右目には異常はなく、毒性学的に意義のない変化と考えられた。

臓器重量では、 $1 \times 10^7 \text{ IU}$ の雌で肝臓、副腎の相対及び絶対重量の減少が認められた。その他、 $1 \times 10^7 \text{ IU}$ の雄で甲状腺の絶対重量の減少、 $3 \times 10^6 \text{ IU}$ の雄で肝臓の相対重量の減少、 $1 \times 10^6 \text{ IU}$ の雄で脳の絶対重量の増加、肝臓の相対重量の減少、 $3 \times 10^5 \text{ IU}$ の雄で甲状腺及び肝臓の絶対重量の減少、雌で副腎の絶対重量の減少が認められたが、いずれも用量相関性は認められなかった。

剖検では、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、対照群を含めて、心臓に小肉芽や小瘢痕、肺に微小肺炎巣、限局性の線維症及び無気肺が散発的に認められ、雌雄全群で脾臓の血鉄素症、雄の全ての投与群で尿細管主部上皮細胞に eosinophilic body の出現、雌の全ての投与群で遠位尿細管に石灰沈着が認められたが、いずれも投与と関連のない自然発生病変と考えられた。なお、30 日間の試験で認められた脾臓の軽度ないし中程度のリンパ濾胞の反応性増生は本試験で

は認められなかった。

以上の結果から、本試験の NOAEL は 3×10^6 IU/kg 体重/日と考えられた。

(3)生殖・発生毒性試験

二世世代繁殖毒性試験は実施されていないが、医薬品の安全性試験ガイドラインに沿った生殖・発生毒性試験が行なわれている。

【ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験】⁽¹⁵⁾

SD ラットを用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による妊娠前及び妊娠初期投与試験(投与期間；雄：同居前 63 日間を含む 91 日間 雌：同居前 14 日間、同居期間中及び妊娠 0-7 日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌雄の親動物の体重変化、摂餌量には、投与による影響は認められなかった。雌の性周期にも異常は認められなかった。

臓器重量では、 1×10^7 IU 投与群の雄で精巣の絶対重量の増加が認められたが、相対重量に差はなかった。

剖検では、 1×10^7 IU 投与群の雄で脾臓の肥大及び脾臓と腹膜の癒着、雌で乳腺腫がそれぞれ 1 例認められた。これらは少数例のため、偶発例と考えられた。

生殖機能については、交尾率、受授精率、受胎率に投与による影響は認められなかった。また、平均黄体数、平均非未着床率、平均着床率、平均胚致死亡率、平均生存胎児数、性比、生存胎児の発育に異常は認められなかった。

胎児については、 1×10^6 IU 投与群で平均浸軟胎児率の増加が認められたが用量相関性はなかった。外表奇形は 1×10^6 IU 投与群で外脳及び口蓋裂の合併が 1 例認められたが、偶発的なものと考えられた。内臓異常として心室中隔欠損、右奇静脈遺残、膀胱部左側臍動脈、胸腺の頸部残留、腎盂拡張及び尿管拡張が散見され、骨格変異として椎体化骨核の分離、腰椎数の変異、頸肋、13 肋骨の短縮及び腰肋が散見されたが、これらの出現頻度に対照群との間で有意な差は認められなかった。 3×10^6 IU 投与群で第 5 中手骨未化骨が 5 例認められ、これは対照群と比べて有意であったが用量相関性は認められなかった。

以上の結果から、本試験の雌雄親動物及び胎児動物に対する NOAEL は 1×10^7 IU/kg 体重/日と考えられた。

【ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験】⁽¹⁶⁾

SD ラットを用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による周産期及び授乳期投与試験(投与期間；妊娠 17-分娩後 21 日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌親動物(F0)については、体重変化、摂餌量、分娩及び哺育状態、妊娠期間、出産率、剖検のいずれにも被験物質の投与に起因する異常は認められなかった。

F1 児については、平均出生児数、死亡率、性比、出生率、生存率及び離乳率に異常は認められなかった。生後分化状態の観察で、 1×10^7 IU 投与群で生後 17 日の眼瞼開裂率の減少が認められたが、軽度であり、生後 18 日には対照群と差が認められなくなったことから、正常範囲内の変動と判断された。内臓異常として 1×10^7 IU で横隔膜ヘルニア、片側精巣腫大(病理組織学的には精細管拡張、精子及び精上皮の減少)がそれぞれ 1 例、 1×10^7 IU 及び 1×10^6 IU で肝臓の過形成がそれぞれ 1 例、 1×10^6 IU 投与群で精巣周囲の脂肪組織内における腫瘤(病理組織学的には脂肪壊死)が 1 例認められたが、いずれも偶発例と考えられた。

さらに機能検査として、全 F1 児に角膜反射、耳介反射、正向反射及び痛覚反応、加えて 4 - 5 週齢時の各腹雌雄各 1 匹について瞳孔反射、Preyer 反射(5000 及び 15000Hz)を、行動検査として 4 - 5 週齢時の各腹雌雄各 1 匹について、回転棒、傾斜板、懸垂を、情動性検査

として5-6週齢時の各腹雌雄各1匹についてオープンフィールド検査を行った。 1×10^6 IU 投与群の雄で傾斜板角度の減少が認められたが、用量相関性は認められなかった。その他に異常は認められなかった。また、電撃回避試験による学習能力にも投与に起因する異常は認められなかった。

F1の交尾率、授精率、受胎率に異常は認められなかった。

F2胎児については、胎盤癒着が 1×10^7 IU 投与群で1例、 1×10^7 IU 投与群で2例、 1×10^7 IU 投与群で1例にみられたが、その発現率は変動の範囲内であった。その他、平均黄体数、平均着床数、胎児の死亡率、平均生存胎児数、胎児の性比、体重、胎盤重量について投与に起因する異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び次世代動物に対するNOAELは 1×10^7 IU/kg 体重/日と考えられた。

【ラットを用いた器官形成期投与試験】⁽¹⁷⁾

SDラットを用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による器官形成期投与試験(投与期間；妊娠7-17日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌親動物については、体重変化、摂餌量、分娩及び哺育状態、妊娠期間、出産率、剖検、臓器重量、黄体数、着床数のいずれにも被験物質の投与に起因する異常は認められなかった。

胎児については、吸収胚・死亡胎児数、生存胎児数、性比、生存胎児体重及び胎盤重量のいずれにも被験物質の投与に起因する異常は認められなかった。外表奇形は認められなかった。

内臓異常として 1×10^7 IU で心室中隔欠損が1例、 3×10^6 IU 投与群で右心症、腎臓と精巢の位置異常が各1例、内臓変異として肝臓の横隔膜面中央部の小隆起、左臍動脈及び腎盂の軽度な拡張、骨格変異として頸肋、14肋骨、胸椎椎体分離及び胸骨核の分離又は非対称が散見されたが、これらの出現頻度に対照群との間で有意な差は認められなかった。 3×10^6 IU 投与群で第5中手骨未化骨が5例認められ、対照群と比べて有意であったが用量相関性は認められなかった。

出生児については、 1×10^7 IU 投与群において離乳時のオープンフィールド試験において潜時の減少が認められたが、区画移動数には変化はなく、離乳後のオープンフィールド試験では異常は認められなかったことから、この変化は本質的な意義はないものと考えられた。その他、離乳前の外表奇形、性比、体重、生存率、生後分化、離乳率、離乳時の感覚機能、運動機能、剖検所見、離乳後の体重、摂餌量、情動性、学習能力、性成熟、生殖能力、剖検所見、臓器重量、F2胎児への影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の雌親動物及び次世代動物に対するNOAELは 1×10^7 IU/kg 体重/日と考えられた。

【ウサギ胎児の器官形成期投与試験】⁽¹⁸⁾

ウサギ(ニュージージーランドホワイト)を用いた筋肉内投与(1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 IU/kg 体重)による器官形成期投与試験(投与期間；妊娠6-18日)において認められた毒性所見は以下の通りであった。

雌親動物については、全投与群で妊娠14日前後から体重増加の抑制傾向が認められ、 1×10^7 IU 投与群では妊娠23,24日及び26-29日の体重増加の抑制が認められた。摂餌量についても全投与群で妊娠10日頃から減少傾向が認められ、 1×10^6 IU 投与群で妊娠13,14日に、 3×10^6 IU 投与群では妊娠14,19日に、 1×10^7 IU 投与群では妊娠14-22日に摂餌量が有意に減少した。また、試験期間中に対照群の1例が安楽死処分され、 1×10^6 IU 投与群の1例が死亡した。この死亡例については剖検の結果、粘液性腸疾患が疑われた。また、対照

群及び 1×10^6 IU 投与群でそれぞれ 1 例流産が認められた。

雌親動物の帝王切開時の剖検では、脱毛が対照群を含め用量順に、1,1,1,4 例、腎臓の嚢胞が投与群で用量順に 1,1,5 例認められた。ただし、脱毛及び腎臓の嚢胞はウサギではまれな所見ではない。

胎児については、 3×10^6 , 1×10^7 IU 投与群で着床後胚死亡率がやや高く生存胎児数が低値を示した。着床前胚死亡率、性比、胎児体重、胎盤重量については投与に起因する異常は認められなかった。外表奇形は認められなかった。内臓異常として心室中隔欠損、総房室管遺残、大静脈後尿管、胆嚢欠損、胸腺頸部残留、異所食道、胸部大型動脈の分枝異常、肺副葉欠損、重複後大動脈、後大静脈の位置異常、重複腎静脈、腎盂拡張、胆嚢減形成、肝臓分葉異常、腸骨動脈の分岐位置異常等が散見されたが、対照群との間で差は認められなかった。骨格変異については、腰椎数 8 が 1×10^6 IU 投与群で少なく、尾椎体の偏位が用量依存的に低下した。他には、舌骨の屈曲、頸肋、第一頸椎弓の形態異常、仙椎の腰椎化、13 肋骨、長 13 肋骨、肋軟骨の癒合、胸骨分節非対称、胸骨分節癒合、胸骨分節分離かつ非対称が認められたが、対照群と差は認められなかった。

以上の結果から、胎児動物に対する NOAEL は 1×10^6 IU/kg 体重/日と考えられたが、母動物に対する NOAEL は決定できなかったことから、最低投与量を 1×10^5 IU にした追加試験が実施された。本試験においては対照群にはヒト血清アルブミンを投与した。

親動物については、前回の試験と同様 1×10^7 IU 投与群で妊娠 23,24 日に有意な体重増加抑制が認められた。摂餌量についても 1×10^7 IU 投与群で妊娠 14-20 日に有意な減少と、妊娠 27,28 日には逆に有意な増加が認められた。また、試験期間中に対照群の 1 例が安楽死処分され、 1×10^7 IU 投与群の 2 例が死亡したが死因は特定できなかった。また、対照群の 2 例、 1×10^7 IU 投与群の 1 例で流産が認められた。

雌親動物の帝王切開時の剖検では、投与に起因する異常は認められなかった。 1×10^5 , 1×10^7 IU 投与群で黄体数が有意に多く、 1×10^7 IU 投与群では着床数も有意に多かったが、投与時期がこれらに影響する時期ではないこと、背景資料の範囲内であったことから偶発的なものと考えられた。

胎児については、早期吸収胚数、総死亡胎児数、着床後胚死亡率が統計学的に有意ではないが 1×10^7 IU 投与群でやや高く、着床後胚死亡率の高値傾向に再現性がみられた。外表奇形は認められなかった。なお、追加試験においては胎児の内臓及び骨格検査は実施されなかった。

以上の結果からは母動物に対する NOAEL は 1×10^5 IU/kg 体重/日、胎児動物に対する NOAEL は 2 回の試験結果から 1×10^6 IU/kg 体重/日と考えられる

(4) 遺伝毒性試験⁽¹⁹⁾

IFN- α について実施された復帰変異試験、染色体異常試験、及び DNA 修復試験の結果は、以下の通りであった。(表 1 参照)

表 1 遺伝毒性試験結果概要

試験		対象	投与量	結果
In vitro	復帰変異試験 ($\pm$ S9mix)	<i>S.typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 <i>E.coli</i> WP2uvrA	5×10^2 , 1×10^3 , 5×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 (IU/plate)	陰性
	染色体異常試験 ($\pm$ S9mix)	チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞 (CHL)	1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 注 1) (IU/ml)	陰性
	DNA 修復試験	<i>B.subtilis</i> H17(Rec ⁺), M45(Rec ⁻)	2.5×10^3 , 5×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 4×10^4 (IU/disk)	陰性

注 1) 当用量で 20 ~ 50% の細胞増殖抑制が認められた。

以上より、IFN - α について遺伝毒性はないと考えられた。

(5)一般薬理試験⁽²⁰⁾

【一般症状及び行動】

一般症状及び行動については、Irwin の多次元観察法(マウス)に準じて実施されたが一般症状及び行動に著変は認められなかった。

【中枢神経系への作用】

中枢神経系への作用は、自発運動(マウス；自発運動測定装置)、ペントバルビタール睡眠(マウス；正向反射、睡眠時間)、痙攣(マウス；電撃痙攣、ペンテトラゾール痙攣)、体温測定(マウス；直腸温)、鎮痛(マウス；Koster 法(酢酸の腹腔内注射に対する身もだえの測定))、筋弛緩(マウス；回転棒、斜面法、けんすい法)、急性脳波(ウサギ；自発脳波測定)について実施されたが、被験物質投与による影響は認められなかった。

【自律神経系への作用】

自律神経系への作用は、*in vitro* で平滑筋の収縮について回腸(モルモット；アセチルコリン、ヒスタミン、塩化バリウムによる収縮への影響)、回腸(ウサギ；自動運動測定)、気管(モルモット；筋緊張及びヒスタミンによる収縮への影響)、胃条片(ラット；筋緊張及びセロトニンによる収縮への影響)、輸精管(ラット；筋緊張及びノルエピネフリンによる収縮への影響)及び子宮(ラット；自動運動測定)、*in vivo* で瞬膜(ネコ；収縮への影響)について実施された。また、消化器系について腸管輸送能(マウス；炭末移動)、胃液分泌(ラット；胃液量、pH、総酸度)について実施された。いずれの試験においても被験物質投与による影響は認められなかった。

【呼吸循環器系への作用】

呼吸循環器系への作用は、呼吸、血圧、心拍数、血流量、心電図(いずれもウサギ)、摘出心房(モルモット；心拍数及び収縮力)について実施されたが、被験物質投与による影響は認められなかった。

【末梢神経系への作用】

末梢神経系への作用は、表面麻酔作用(ウサギ；瞬目反応)、眼粘膜(ウサギ；角膜、虹彩、結膜及び分泌物への影響)、神経筋伝達(ラット；腓腹筋の攣縮) について実施されたが、被験物質投与による影響は認められなかった。

【血液系への作用】

血液系への作用は、血液凝固能(ラット；凝固時間)、血糖値(ラット)、赤血球膜(ウサギ；溶血率)、血小板凝集(ウサギ；最大凝集率) について実施されたが、被験物質投与による影響は認められなかった。

【ウサギの発熱試験】

発熱試験には、100 万 IU/ml の IFN- α (BALL-1)をウサギ体重 1kg 当たり 1ml を用いて実施した。ウサギ 3 羽の発熱反応の和は 1.3 以下であった。

【その他】

その他、利尿作用(ラット；尿量、Na⁺、K⁺、Cl⁻ 測定)、浮腫形成(ラット；カラゲニン皮下注射による浮腫率測定)が実施されたが、被験物質投与による影響は認められなかった。

(6)ウシにおける安全性試験⁽²¹⁾

ウシ(ホルスタイン種系雄；1-2 カ月齢)を用いた経口投与 (20, 200 IU/kg 体重)による 5 日間の安全性試験で認められた所見は以下のとおりである。

体重変化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、高用量群において投与終了後 1 日のリンパ球が低値を示し、投与後

7 日の単球が高値を示した。ただし、リンパ球、単球とも投与前の平均値とは差が無かったことから、偶発的なものと考えられた。その他には、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

血液生化学的検査、尿検査、臓器重量では投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

剖検では、常用量群の 1 頭に右腎の嚢胞性変化が認められたが、病理組織学的検査から、投与に起因するものではないと考えられた。

病理組織学的検査では、剖検で嚢胞性変化が認められた右腎に嚢胞性変化、実質の軽微な圧迫萎縮性変化が認められたが、器質的異常所見は認められず、先天的な変化と考えられた。その他、常用量群の 1 頭の腎臓に間質性炎、対照群を含めて各群 1 頭ずつに肺に細気管支周囲にリンパ球浸潤を伴った間質性肺炎様病変が認められた。これらの変化は軽微であり、またほ乳期動物の輸送や採血に伴うストレス等によって引き起こされる反応性変化であることも考えられ、投与に起因するものではないと考えられた。

4．残留性試験の概要⁽²²⁾

本製剤（ビムロン）については、以下の理由により残留性試験は実施されていない。

本剤の有効成分は IFN - α であるが、前述したようにウサギ、イヌそしてサルにおいて IFN - α を 250 ~ 600 万 IU/kg 体重の用量で経口投与しても、血中に IFN - α は検出されていない。ビムロンをウシに投与する場合は、0.5 IU/kg 体重で経口投与することが規定されているが、これは先の実験投与量の数百万分の一であり、この用量で経口投与された IFN - α が血中に検出される可能性はほとんどないと考えられること。

さらに、ラットに IFN - α を筋肉内投与したときの組織分布試験の結果から、100 万 IU/kg 体重の投与後 4 時間には、分布濃度が最も高い腎臓においても活性のある IFN - α の存在を示す抗ウイルス活性は検出されなくなることから、IFN - α は生体内に投与後速やかに分解されており、特定の臓器に蓄積することもないと考えられること。

現時点における IFN - α の抗ウイルス活性による検出限界 3.4 IU/ml と使用量を考慮すると、IFN - α が臓器や血中から検出される可能性はほとんどないと考えられること。

5．その他の知見について⁽²²⁾

IFN - α は既に、腎がん、HBe 抗原陽性かつ DNA ポリメラーゼ陽性 B 型慢性活動性肝炎ウイルス血症の改善、C 型慢性肝炎ウイルス血症の改善、慢性骨髄性白血病についてヒト用医薬品として承認されており、10 年以上の使用実績がある。臨床用量は成人では 250 ~ 1000 万 IU/ヒト、小児では 10 万 IU/kg 体重である。B 型肝炎では 4 週間の連日投与、C 型肝炎では週 3 回 12 週間を目安、白血病では 12 週間の連日投与となっている。

重大な副作用として間質性肺炎、うつ状態、自己免疫現象、糖尿病、汎血球減少、白血球減少、血小板減少、肝障害、腎障害、心疾患、消化管出血、消化性潰瘍、中枢・精神神経障害、ショック、脳出血、敗血症等が指摘されているが、最も一般的な副作用は発熱、悪寒等のインフルエンザ様症状である。

6．食品健康影響評価について

上記のように、ウシ用インターフェロンアルファ経口投与剤(ビムロン)の主剤である天然型のヒトインターフェロン - α は、臨床予定使用量の数億倍の用量でも急性毒性を認めない。また、各種の遺伝毒性試験、発生毒性試験の結果から、遺伝毒性発がん性や催奇形性はないと認められる。

また、各種ほ乳類における本製剤の臨床予定使用量の数百万倍用量を経口投与した場合でも、糖蛋白質であるヒトインターフェロン - α が経口投与された場合速やかに分解され

るため、血液中から薬理活性のある成分は検出されておらず、また、静脈中への強制投与試験から、動物体内への蓄積性も認められていない。このことから、本製剤が適切に使用される限りにおいて、ヒトが食品を通じて薬理活性を有するヒトインターフェロン - α を摂取する可能性はほとんど無いと考えられる。なお、本製剤の使用量はヒトの臨床用量の数百万分の一である。

これらのことを考慮すると、ウシ用インターフェロンアルファ経口投与剤(ビムロン)は、適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

< 出 典 >

- 1) Pierre Eid, Jean-Francois Meritet, Chantel Maury, Ahmed Lasfar, Dominique Weill and Michael G. Tovey
Oromucosal Interferon Therapy: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics;
J. Interferon and Cytokine Res. 19: 157-169(1999)
- 2) K. Cantell and Liisa Phyhala
Circulating Interferon in Rabbits after Administration of Human Interferon by Different Routes;
J. gen. Virol.20:97-104(1973)
- 3) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); 生体内動態 (未公表)
- 4) D.M. Gibson, S. Cotler, H.E. Spiegel and W.A. Colburn
Pharmacokinetics of Recombinant Leukocyte A Interferon Following Various Routes and Modes of Administration to the Dog;
J. Interferon Res. 5: 403-408(1985)
- 5) Robert J. Wills, Herbert E. Spiegel and Kenneth F. Soike
Pharmacokinetics of Recombinant Alpha A Interferon Following IV IFNusion and Bolus, IM, and PO Administrations to African Green Monkeys;
J. Interferon Res. Vol. 4, No.3, 399-409(1984)
- 6) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); 経口インターフェロン - α の動態試験 ラットにおける分布 (未公表)
- 7) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); ヒトインターフェロン - α を有効成分とする医療用医薬品に関する資料 (未公表)
- 8) ヒト Interferon Alfa 製剤の毒性試験 (第1報) マウスにおける筋肉内及び静脈内投与急性毒性試験; 医薬品研究 17(2) 215-221 (1986)
- 9) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); マウスにおける筋肉内投与急性毒性試験 (未公表)
- 10) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); マウスにおける静脈内投与急性毒性試験 (未公表)
- 11) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); マウスにおける経口投与急性毒性試験 (未公表)
- 12) ヒト Interferon Alfa 製剤の毒性研究 ラットにおける急性及び亜急性毒性試験;
医薬品研究 18(1) 45-59 (1987)
- 13) ヒト Interferon Alfa 製剤の毒性試験 (第2報) マウスにおける 30 日間静脈内投与亜急性毒性試験; 医薬品研究 17(2) 222-233 (1986)
- 14) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); ラットにおける静脈内投与亜急性毒性試験 (未公表)
- 15) ヒト Interferon Alfa 製剤の生殖試験 (第1報) ラットにおける妊娠前及び妊娠初期筋肉内投与試験; 医薬品研究 17(2) 234-245 (1986)
- 16) ヒト Interferon Alfa 製剤の生殖試験 (第2報) ラットにおける周産期及び授乳期筋肉内投与試験;
医薬品研究 17(2) 246-260 (1986)
- 17) ヒト Interferon Alfa 製剤の毒性研究 ラット胎仔の器官形成期投与試験;
医薬品研究 18(1) 60-78 (1987)

- 18) ヒト Interferon Alfa 製剤のウサギにおける器官形成期筋肉内投与試験;
基礎と臨床® Vol.21 No.6 Apr. '87
- 19) ヒト Interferon Alfa 製剤の変異原性試験; 医薬品研究 17(2) 208-214 (1986)
- 20) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); 一般薬理作用(未公表)
- 21) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); 牛における安全性試験(未公表)
- 22) 動物用医薬品製造承認申請書(ビムロン); 概要書(未公表)