

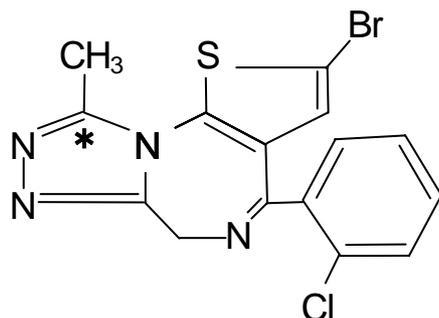
ブロチゾラムの食品健康影響評価について(案)

1. 薬剤の概要

(1) 物質名 (資料番号: ⑧-1)

ブロチゾラム(Brotizolam)

(2) 構造式



(3) 分子式 : $C_{15}H_{10}BrClN_4S$

(4) 分子量 : 393.69

(5) 常温における性状 : 白色～微黄白色の結晶性粉末

(6) 融点 : 209.9～210.3°C

(7) 溶解度 : 氷酢酸、ジクロルメタンに溶けやすく、メタノールにやや溶けにくく、エタノール、アセトン、メチルエチルケトンに溶けにくく、無水エーテルに極めて溶けにくく、水にはほとんど溶けない。

(8) 使用状況

ブロチゾラムは鎮静洗静、抗痙攣、筋弛緩、睡眠効果を有する薬剤であり、動物用医薬品としては日本及びEUで使用されており、種々の措置後の食欲不振の改善の補助等を目的としている。

ブロチゾラムはヒトの医薬品としても睡眠導入、抗不安、催眠鎮静洗静作用を効能として使用されている。

ヒトにおける臨床用量は1回あたりおおよそ0.1 mg/ヒト以上である。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

【雄マウスにおける投与試験】 (資料番号: ⑥-1)

Chbb: NMRI系雄マウス(9匹/群)に¹⁴C標識ブロチゾラム^aを単回経口(0.3、10、200 mg/kg体重)投与あるいは非標識ブロチゾラムを4週間反復経口(0.3、10、200 mg/kg体重)投与後、同用量の¹⁴C標識ブロチゾラムを単回経口投与した際の体内動態が調べられている。なお、本試験の投与量はマウスを用いた18ヶ月間発がん性試験(資料番号: ④-1)と同一濃度に設定された。

^a 標識部位は炭素数9位(*)。以下、特に記載がなければ同じ。

1 ¹⁴C 標識プロチゾラムの単回投与および非標識プロチゾラム 0.3、10 mg の 4 週間前投与における C_{max}
2 は、全血量の 2.1-4.6%の範囲にあった。一方、非標識プロチゾラム 200 mg を前投与した場合は C_{max}
3 (1.0-1.6%) および AUC に低値が認められ、この原因として、反復投与による吸収率の低下や酵素誘導
4 による代謝亢進が示唆された。しかしながら、C_{max} および AUC は ¹⁴C 標識プロチゾラムの単回および非
5 標識プロチゾラムの 4 週間前投与に関わらず、いずれの用量においても線形の相関性を示した。また、
6 T_{1/2}については、前投与の有無および投与量による差は認められず (T_{1/2}: 2.5-3.8 時間)、いずれにおいて
7 も速やかな排泄が認められた。HPLC による分析により、¹⁴C 標識プロチゾラムの単回および非標識プロ
8 チゾラムの前投与に関わりなく主要代謝物として We964 (22.2-30.7%) が認められ、その他に We956
9 (17.2%)、We1061 (12.3%) および未変化体 (23%) が認められた。なお、これらの代謝物はいずれも
10 投与後 30 分に検出されていることから、いずれの用量においてもプロチゾラムは極めて速やかに代謝さ
11 れることが示唆された。¹⁴C 標識プロチゾラムの単回投与による主要代謝物は We964 で、その他に We1061
12 および We956 が検出されている。一方、非標識プロチゾラムの 10 および 200 mg を前投与した時に限り、
13 代謝パターンに変化が生じ、高極性物質 (21.4-30.5%、プロチゾラムのフェニル環が水酸化されたもの
14 と考えられる) の割合が増加した。これに伴い We1061 および We956 の割合は減少したが、We964 の割
15 合に変化は認められなかった。また、非標識プロチゾラムの 200 mg の前投与では未変化体の割合 (5.3%)
16 が減少した。このことから、マウスにおける 10 および 200 mg の 4 週間前投与では、チトクローム P450
17 による酵素誘導が生じている可能性が示唆された。(表 1)

19 **【雄ラットにおける投与試験】(資料番号: ⑥-2)**

20 Sprague-Dawley 系雄ラットに ¹⁴C 標識プロチゾラム 0.5 mg/kg 体重/日を単回および 7 日間反復経口投
21 与した後の体内動態が調べられている。単回投与後の T_{max} は 1 時間で、そのときの C_{max} は 18.6 ng/mL
22 であった。血中からの消失はおおむね二相性であり、T_{1/2} は 10.5 時間であった。7 日間反復経口投与後
23 の T_{max} は最終回投与後 30 分で、そのときの C_{max} は 51.6 ng/mL であった。血中からの消失は単回投与時
24 と比べ緩徐であったが経時的に減衰した。(表 2)

26 単回投与時の組織内濃度は投与後 1 時間までにほとんどの組織で最高値を示し、胃腸管、肝臓、副腎、
27 腎臓および甲状腺に高濃度の分布が認められた。以降は経時的に減衰し、24 時間後では極めて低値と
28 なった。7 日間反復経口投与後の組織内濃度は、単回投与時と同様に最終回投与後 1 時間までに最大と
29 なり、それらの濃度も単回投与時と同程度であった。投与 4 時間以降は単回投与時に比べ高値傾向にあ
30 ったが経時的に減衰し、48 時間では全ての組織で最高値の 1/10 以下となった。また、特定組織に放射能
31 が残留することはなかった。(表 3、表 4)

33 単回投与後 48 時間までの尿中排泄率は 7.6%、糞中排泄率は 88.0%であった。7 日間反復経口投与にお
34 ける最終回投与後 48 時間までの尿・糞中排泄率は、各々全投与量の 5.8%および 83.9%で、単回投与と
35 同様であった。(表 5)

37 単回投与後 24 時間までの胆汁中排泄率は 84.0%と高く、その約 1/2 は投与後 1 時間までに迅速に排泄
38 された。採取した胆汁を別の動物の十二指腸内に投与すると、24 時間以内に総放射能の 39.2%が胆汁中
39 に再排泄され、腸肝循環率は 32.9%であった。

40 ラット血漿蛋白との結合率は *in vivo* で 50.6%、*in vitro* で 77.7%であった。ヒト血漿および血清アルブ
41 ミンとの結合率は、各々 94.0%および 90.9%であった。

1 単回投与後 2-24 時間の血中放射能濃度と血漿中濃度の比はおおむね全期間にわたって一定であり、約
2 1.5 であった。

3
4 **【ラット、イヌおよびサルにおける投与試験】** (資料番号：⑥-3)

5 Chbb: THOM ラット (雄) に ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投
6 与した際の代謝、吸収および排泄、泌乳期のラットに単回経口 (1 mg/kg 体重/日) 投与した際の血中お
7 よび乳汁中への分布、雄ラットおよび妊娠ラット (妊娠 14、20 および 22 日) に単回経口あるいは静脈
8 内 (雄：2.8 mg/kg 体重/日、妊娠雌：3.4 mg/kg 体重/日) 投与した際の全身オートラジオグラフィーによ
9 る体内分布について調べられている。ビーグル犬 (雌、4 匹) およびアカゲザル (雄 3 頭、雌 2 頭) に
10 ついては、それぞれ ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与し、ビーグル犬は投与 5
11 週間後に、アカゲザルでは投与 3 週間後に同用量を単回静脈内投与したときの体内動態について調べら
12 れている。

13 いずれの種においても、経口投与後のプロチゾラムは迅速かつ良好な吸収性を示し、 C_{\max} および T_{\max}
14 はそれぞれラットで 63 ng eq/mL および 0.25 時間、イヌで 83 ng eq/mL および 1 時間、サルでは 167 ng
15 eq/mL および 1 時間であった。また、経口および静脈内投与ともに血漿中総放射能の消失は二相性を示
16 し、経口投与における第一相の $T_{1/2}$ はラットで 0.5 時間、イヌで 2.3 時間、サルでは 1.3 時間、第二相の
17 $T_{1/2}$ はそれぞれ 17.5 時間、20.8 時間および 17.1 時間であった。静脈内投与における第一相の $T_{1/2}$ はラッ
18 トで 0.4 時間、イヌで 0.8 時間、サルでは 1.1 時間、第二相ではそれぞれ 14.8 時間、18.4 時間および 18.9
19 時間であった。(表 6)

20
21 腎および糞中からの総排泄率は、経口投与ではラットで 83.6%、イヌで 93.6%、サルでは 87.8%、静
22 脈内投与ではそれぞれ 88.5%、82.6% および 87.0% であった。ラットでは腎排泄率は低く、経口および静
23 脈内投与後 6 日間において 5-6% であった。一方、イヌおよびサルにおける腎排泄率はそれぞれ 49-51%
24 および 28-34% であった。いずれの種においても、プロチゾラムは投与後 3-4 日で完全に排泄された。

25 腸管吸収率はラットで 89%、イヌとサルでは 100% と高値を示し、いずれの種においても良好な吸収
26 性が認められた。(表 7)

27
28 胆汁中排泄率はラットにおいて投与後 10 時間まで調べられており、投与後 1-2 時間で最も高く、1 時
29 間あたりの排泄率は静脈内投与で 24.6%、経口投与では 14.3% であった。また、投与後 3 時間までに静
30 脈内投与では 54.7%、投与後 10 時間では経口投与で 72.9%、静脈内投与では 84.8% が排泄された。

31 (表 8)

32
33 血中および乳汁中排泄率は、泌乳期ラットにおいて投与後 24 時間まで調べられている。血中と乳汁中
34 濃度の推移には並行性が認められ、投与後 24 時間までにいずれも速やかな低下が認められた。投与後
35 4-8 時間の乳汁サンプルを用いて TLC による分析を行なった結果、ほとんどの代謝物は確認されたが、
36 未変化体はごく微量であった。

37 全身オートグラフィーを用いた体内分布は、雄ラットを用いて投与後 0.5、1、4、8 および 24 時間に
38 調べられている。経口および静脈内投与とともに同様の分布パターンを示し、投与後 0.5 時間には既に全
39 身への分布が認められ、肝臓、腎臓、胃腸管および副腎で高濃度の分布が認められた。また、いずれの
40 投与経路においても、被験物質は脳-血液関門を通過することが確認された。投与後 8 時間には主に消
41 化管および肝臓に分布が認められ、腎臓、副腎および膀胱への分布はわずかであった。その他の臓器・

1 組織への分布はほとんど認められなかった。妊娠ラットにおける体内分布は、投与後 15 分および 24 時
2 間に調べられており、経口および静脈内投与とともに妊娠 14 日には胎盤への通過が認められた。妊娠後期
3 における放射活性の胎児および母動物への分布は同程度であった。投与後 24 時間では、胎児に微量なが
4 ら放射活性が認められた。

5 ラットの胆汁中代謝物、サルおよびイヌの尿中代謝物について、TLC により調べられている。 β -グル
6 クロニダーゼ/アリアルスルファターゼによる加水分解前は、ラットの胆汁およびサルの尿中に放射活
7 性はほとんど認められなかったが、イヌの尿中にはいくつかの非抱合体が認められた。一方、加水分解
8 後は、個々の代謝物は異なるものの、いずれの種においても 2~3 種の主要代謝物が認められ、これらの
9 代謝物の大部分は抱合体であった。なお、未変化体については、検出されたとしても極微量であった。

10 ^{14}C 標識プロチゾラムのタンパク結合率が調べられている。ウシ血清アルブミンおよびヒト血清アル
11 ブミンとの結合率はそれぞれ 73-87% および 86-91% であった。また、ヒト血漿との結合率は 89-95% であ
12 った。血中における ^{14}C 標識プロチゾラムは、主に血清アルブミンと結合した状態で存在することが示唆
13 された。

14 **【ラット、イヌ、サルおよびヒトにおける投与試験】(資料番号: ⑥-4)**

15 Chbb: THOM ラット (計 6 匹) に ^{14}C 標識プロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後の胆汁中排泄物、
16 雌のビーグル犬およびアカゲザル (雌雄各 2 例) に ^{14}C 標識プロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後の
17 尿中排泄物、健常ヒトボランティア (男性 3 名、女性 1 名) に ^{14}C 標識プロチゾラム 0.5 mg を経口投与
18 した後の尿中排泄物について調べられている。

19 全ての種において、プロチゾラムはほぼ完全に代謝された。ラット、イヌ、サルおよびヒトにおいて、
20 主要代謝経路はプロチゾラム分子の様々な部位における水酸化とその後続く抱合であることが確認さ
21 れている。未変化体は排泄されたとしても非常に微量である。質量分析法により、ラットの胆汁および
22 サルの尿から未変化体の ^{14}C 標識プロチゾラムが分離同定されたが、その量はラットの胆汁中で 4%未満、
23 サルの尿中では 3%未満であった。イヌとヒトにおいてはさらに少なくなると考えられ、RIA を用いた
24 検討では、ヒトにおける未変化体の腎排泄量は投与量のおよそ 1%であることが確認された。

25 全ての種で認められた代謝物の中で最も多いものは We964 (メチル基の水酸化) および We1061 (ジ
26 アゼピン環の水酸化) であった。ヒトとサルにおける主要代謝物は We964 (各々 $\geq 27\%$ および約 46%、
27 腎排泄) と We1061 (各々 $\geq 43\%$ および $\geq 20\%$ 、腎排泄) であり、ヒトにおけるプロチゾラムの代謝はサ
28 ルと非常に類似していることが確認された。また、ヒトおよびサルの尿抽出物における We964 と We1061
29 の比率はそれぞれ、およそ 4:1 および 3:2 であった。イヌの主要代謝物は We964 と We1064 (各々 $\geq 43\%$
30 および $\geq 20\%$ 、腎排泄) であり、尿中における We964 と We1064 の比率は 2:1 以上であった。なお、We1064
31 は We1061 の異性体であり、We1061 はアルカリ媒体中で We1064 に変化する。それ故、イヌの尿中から
32 同定された We1064 は幾多のクリーンアップおよび単離過程で We1061 から形成されるもので、実際に
33 腎臓から排泄されているものは We1061 であると考えられている。ラットの主要代謝物は、フェニル
34 ヒドロキシル基を含むプロチゾラムと We1061 (各々 $\geq 14\%$ および $\geq 13\%$ 、胆汁中排泄) であった。

35 **【マウス、ラット、イヌ、サル、ウシおよびヒトにおける投与試験】(資料番号: ⑥-5)**

36
37 マウス、ラット、イヌ、サルおよびヒトに ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口あるいは静脈内投与した
38 後の体内動態について以下のように調べられている。

39 ラット、イヌおよびサルに ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口投与すると腸管から速やかに吸収され完
40 全に排泄された (ラット: 89%、イヌおよびサル: 100%)。

1 ラットおよびマウスに¹⁴C 標識プロチゾラムをそれぞれ単回経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与
2 した際の投与量と AUC、C_{max} の間には良好な相関性が認められた。

3 ¹⁴C 標識プロチゾラムをマウス (0.3、10、200 mg/kg 体重/日)、ラット (0.3、0.5、10、200 mg/kg 体重
4 /日)、イヌ (0.5 mg/kg 体重/日) およびサル (0.5、7、10 mg/kg 体重/日) にそれぞれ単回経口投与した際
5 の T_{max} および C_{max} は、それぞれマウスで 0.5 時間および 86-71,539 ng/mL、ラットで 0.25-1.0 時間およ
6 び 23-15,018 ng/mL、イヌで 1-2 時間および 83 ng/mL、サルで 0.5-2 時間および 167-1,800 ng/mL であった。
7 また、マウス (10 mg/kg 体重/日)、ラット (0.5 mg/kg 体重/日)、イヌ (0.5 mg/kg 体重/日) およびサル (0.5、
8 7、10 mg/kg 体重/日) にそれぞれ単回経口投与した際の分布半減期および消失半減期は、それぞれマウ
9 スで 0.8 時間および 5.6 時間、ラットで 0.5 時間および 17.5 時間、イヌで 1.8 時間および 20.8 時間、サル
10 では 0.5 mg 投与で 1.0 時間および 17.0 時間、7 mg 投与で 21 時間 (消失半減期のみ)、10 mg 投与で 10
11 時間 (消失半減期) であった。同様に、単回静脈内投与した際の分布半減期および消失半減期は、ラッ
12 トで 0.33 時間および 14.8 時間、イヌで 0.9 時間および 18.4 時間、サル (0.5 mg 投与) で 1.25 時間およ
13 び 18.9 時間であった。(表 9、表 10)

14 ¹⁴C 標識プロチゾラムを単回経口および静脈内投与すると、いずれの投与経路でも全身に広く分布す
15 る。体内分布は投与後 30 分には腸管 (胆汁排泄のため)、肝臓、腎臓および副腎に高濃度が認められ、
16 投与後 8 時間には主に腸管に残留がみられるが、肝臓では低濃度、腎臓および副腎ではごく微量が検出
17 されるに過ぎない。

18 経口および静脈内投与により ¹⁴C 標識プロチゾラムは血液-脳関門を通過する。妊娠ラットに投与す
19 ると胎盤を通過し、妊娠後期には胎児と母動物への分布は同等となる。授乳ラットに経口投与すると放
20 射活性は乳汁中に認められ、乳汁中濃度は血中濃度と同様の推移を示し、速やかに消失することが確認
21 された。泌乳牛に静脈内投与すると、放射活性は投与後 4 時間までに乳汁中に検出される。また、血漿
22 中濃度は乳汁中濃度と同様に速やかな消失が認められた。

23 サルおよびラットを用いた反復投与試験の結果、プロチゾラムには蓄積傾向および酵素誘導は認めら
24 れなかった。また、ラット肝ミクロソームを用いて薬物代謝酵素誘導について調べた結果、酵素誘導は
25 認められなかった。一方、マウスではプロチゾラムを 4 週間反復経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投
26 与後、同用量の ¹⁴C 標識プロチゾラムを単回経口投与した際に、200 mg 投与群でやや代謝亢進が認めら
27 れ、酵素誘導が示唆された。

28 マウスにおける単回経口 (10 mg/kg 体重/日) 投与後 6 日までの尿中排泄率は 22.5%、糞中排泄率は 53.3%
29 であった。尿中および胆汁中から 7 つの代謝物が同定されており、胆汁中の主要代謝物は We964 および
30 We1061、その他に We1073 および We956 が低濃度に、未変化体は極微量ながら検出された。胆汁中
31 において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び/あるいは硫酸抱合体として認められた。
32 血漿中の主要代謝物は We964 であり、その他に We1061 および We956 が認められた。

33 ラットにおける単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与後 7 日までの尿中排泄率は 5.3-6.0%、
34 胆汁中排泄率は 72.9-84.9%、糞中排泄率は 78.3-82.6% であり、尿中への排泄は主として未変化体であ
35 った。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。胆汁中の主要代謝物はフェ
36 ニルヒドロキシ基を含むプロチゾラム (We941) および We1061 であり、未変化体は極微量ながら検
37 出された。胆汁中において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び/あるいは硫酸抱合
38 体として認められた。血漿中における主要代謝物は 2 種類の高極性物質で、その他に We964、We1061、
39 We1073 および We956 が検出された。

40 イヌでは単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与後 8 日までの尿中排泄率は 51.5-49.3%、糞
41 中排泄率は 42.3-33.5% であった。尿中における主要代謝物は We964 (43%) および We1064 (20%) であ

1 り、未変化体は極微量ながら検出された。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び／ある
2 いは硫酸抱合体として認められた。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかつ
3 た。

4 サルにおける単回経口あるいは静脈内（0.5、7、10 mg/kg 体重/日）投与後3あるいは5日までの尿中
5 排泄率は28-69.2%、糞中排泄率は23.3-59%であった。尿中の主要代謝物は We964（46%）および We1061
6 （26%）であった。We941 は尿中からほぼ完全に排泄され、未変化体としての排泄はわずか3%に過ぎ
7 なかった。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び／あるいは硫酸抱合体として認められ
8 た。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。また、1年間反復経口（7
9 mg/kg 体重/日）投与においても代謝パターンは同様であった。（表11、表12）

10 健常人におけるプロチゾラムの各剤形による吸収性が調べられており、溶液>錠剤>カプセルの順に
11 良好な吸収性を示した。また、いずれの剤形においても AUC に差は認められなかった。プロチゾラム
12 の血漿中濃度は0.125-1.0 mg の用量ではほぼ線形の上昇を示すが、1.5 mg 以上の用量では上昇に明ら
13 かな停滞が認められた。健常人においてプロチゾラムは腸管から速やかに吸収され、絶対的生物学的利用
14 率はおよそ70%であった。血漿中の $T_{1/2}$ は4.3-7.3 時間と短く、投与量の64.9%は尿中から、23.6%は糞
15 中から排泄された。7日間反復（1 mg）投与試験では、血漿中濃度および $T_{1/2}$ はそれぞれ初回投与日に
16 19.2 ng/mL および3.6 時間、最終投与日では19.6 ng/mL および3.7 時間と同一であり、蓄積性は認められ
17 なかった。プロチゾラムはほぼ完全に代謝されて尿中排泄され、投与後8時間までに未変化体の占める
18 割合は1%であった。主要代謝物である We964 および We1061 は、それぞれ27%および7%が尿中へ排
19 泄された。いずれの代謝物も抱合体として認められた。また、これら代謝物の排出半減期は未変化体の
20 それと大差はないことが確認された。

21 重度の腎疾患患者にプロチゾラムを単回あるいは7日間反復（0.25 mg）投与したときの $T_{1/2}$ は6.9-7.6
22 時間で、健常人の値の範囲内にあった。高齢者患者に単回あるいは3週間反復投与（0.25 mg）したとき
23 の $T_{1/2}$ は6.0-9.8 時間であった。肝硬変の患者に単回（0.25 および0.5 mg）投与したときの $T_{1/2}$ には大幅
24 な延長（9.4-53.3 時間）が認められ、排出が遅く $T_{1/2}$ の検出できない患者も認められた。また、肝硬変患
25 者の蛋白結合率は健常人に比べてやや低いことが確認された。健常人、高齢者患者および腎疾患患者の
26 いずれにおいても反復投与による蓄積性および酵素誘導は認められなかった。（表13）

27

28 **【泌乳牛における体内分布】**（資料番号：⑥-6、⑥-7）

29 ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛3頭（動物番号：1♀、2♀および3♀）に静脈内（10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）投与した
30 際の吸収、分布および排泄について、次に示す2種類の試験で調べられている。

31 第1試験は2相試験（Phase 1 および Phase 2）から構成されており、 ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛1頭
32 （1♀）に単回静脈内投与した際の代謝および薬物動態について調べられている。

33 第2試験は ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛（2♀および3♀）に単回静脈内投与した際の体内動態につ
34 いて調べられている。

35

36 第1試験

37 ・第1相試験、Phase 1：試験開始後1-6日目

38 ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛1頭（1♀）に単回静脈内（10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）投与した際の、総放射活性の回
39 収率および排泄経路、血漿、全血および乳汁中における残留量が調べられている。血液試料は投与前お
40 よび投与後144時間までに19時点で、糞尿は投与後12-24時間間隔で、乳汁は朝夕（08:00 および18:00
41 の2回）の時点で採取され、それぞれにおける回収率が測定された。

1 放射活性の総回収率は投与後 6 日目で 112%を示し、投与量の 25%は投与 144 時間までに尿中に排泄
2 され (24 時間では 24%)、86%は糞中から排泄率された。

3 投与後 1 時間における血漿中の総放射活性値は、投与 5 分の 16.4 ng-eq/mL から投与 1 時間では 8.6
4 ng-eq/mL まで低下した。さらに、12 時間後には 0.47 ng-eq/mL まで低下し、その後は検出限界以下となっ
5 た。全血の放射活性値は血漿のそれに比べて低かったが、同様の動態傾向を示した。(表 14、表 15)

6 乳汁中における総放射活性値は非常に低く、総投与量に対する回収量の比率はわずか 0.1%であった。
7 総放射活性の C_{max} (0.58 ng-eq/mL) は初回乳汁サンプル (0-9 時間) で確認され、それ以降、乳汁中の放
8 射活性の濃度は低値を示した。乳汁成分である乳脂、凝乳および乳清のうち、高濃度の放射活性が認め
9 られたのは乳脂分画で C_{max} は 1.73 ng-eq/mL であった。

10 ・第 2 相試験、Phase 2 : 試験開始後 7 日目

11 第 1 相試験終了後、 ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛 1 頭 (1 ♀) に単回静脈内 (10 μ g/kg) 投与し、そ
12 の 6.5 時間後に安楽死させ、全血、血漿、臓器および組織中それぞれの総放射活性の残留量について調
13 べられている。血液試料は投与前および投与後 6.5 時間までの計 5 時点で採取した。投与 6.5 時間後に安
14 楽死させた後、肺、心臓、骨格筋、肝臓、皮膚、胃粘膜、舌、骨塩、骨髓、脂肪 (腎臓および皮下)、脾
15 臓、腎臓、副腎、脳、乳汁、胆汁、乳房組織、血漿および全血が採取され、個々の組織および臓器につ
16 いては重量が測定された。また、投与後 6 時間までの糞尿、乳汁および胆汁が採取され、重量あるいは
17 容量の測定が行われた。

18 血漿中の総放射活性の濃度は投与後 30 分に 14.05 ng-eq/mL、1 時間では 10.71 ng-eq/mL を示し、6.5 時
19 間には 1.22 ng-eq/mL まで低下した。全血中の濃度は投与後 30 分に 11.00 ng-eq/mL、1 時間では 8.25
20 ng-eq/mL を示し、6.5 時間には 1.16 ng-eq/mL まで低下した。これらの結果は、第 1 相試験の結果と同程
21 度であった。(表 16、表 17)

22 臓器および組織中濃度は胆汁、肝臓および腎臓の順で高く、総放射活性値はそれぞれ 192.5、16.9 およ
23 び 5.3 ng-eq/g であった。

24 未変化体の存在について、第 1 相試験で投与 0.25、0.75、1.5、2 および 8 時間後に採取した血漿を用
25 いて調べたところ、それぞれ 5.91、5.71、2.97、1.85 および 0.59 ng/mL の未変化体が検出された。(表 1
26 8)

27 肝臓および腎臓中の代謝物産物について HPLC にて分析したところ、We964 あるいは We1061 の代謝
28 物は検出されなかったが、少量の未変化体 (肝臓で 22.5%、腎臓で 21.5%) が確認された。

30 第 2 試験

31 ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛 2 頭 (2 ♀および 3 ♀) に 12 時間毎に 2 回 (0 および 12 時間)、単回静
32 脈内 (10 μ g/kg) 投与したときの体内動態について調べられている。2 回目の静脈内投与後、泌乳牛 1 頭
33 (2 ♀) は 24 時間に、泌乳牛 1 頭 (3 ♀) は 72 時間に屠殺した。

34 泌乳牛 1 頭 (2 ♀) では投与後 36 時間までに放射活性の 70%が回収され、そのうち 57%は糞中に、13%
35 は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1%と微量であった。泌乳牛 1 頭 (3 ♀) では投与後 84 時間ま
36 までに放射活性の 79%が回収され、そのうち 63%は糞中に (36 時間までに 59%が排泄)、15%は尿中に排
37 泄された。乳汁中への排泄は 0.1%と微量であった。(表 19)

38 泌乳牛 1 頭 (2 ♀) に初回 (0 時間) 単回静脈内投与したときの血漿中の総放射活性値は、投与後 5 分
39 の 30.9 ng-eq/mL から投与後 3 時間 ($T_{1/2}$ は投与後 0.5 時間であると推測) には 3.1 ng-eq/mL まで低下し、
40 投与後 12 時間では 0.5 ng-eq/mL となった。2 回目 (12 時間) の投与後の総放射活性値は、投与後 5 分
41 15.2 ng-eq/mL を示し、投与後 16 時間 ($T_{1/2}$ は投与後 1 時間であると推測) では 1.0 ng-eq/mL まで低下し

1 た後、投与後 20 時間では 0.6 ng-eq/mL となった。泌乳牛 1 頭 (3 ♀) に初回単回静脈内投与後の血漿中
2 の総放射活性値は、投与後 5 分の 23.9 ng-eq/mL から投与後 2 時間 ($T_{1/2}$ は投与後 1 時間と推測) には 5.0
3 ng-eq/mL まで低下し、投与後 12 時間では 1.0 ng-eq/mL となった。2 回目 (12 時間) の投与後の総放射
4 活性値は、投与後 5 分で 27.0 ng-eq/mL を示し、投与後 15 時間では 3.7 ng-eq/mL まで低下した ($T_{1/2}$ は投
5 与後 1 時間であると推測)。その後、投与後 24 時間では 1.1 ng-eq/mL となった ($T_{1/2}$ は投与後 5 時間であ
6 ると推測)。泌乳牛 2 頭 (2 ♀および 3 ♀) の総放射活性値は、第 1 試験の第 1 相試験で確認した泌乳牛 1
7 頭 (1 ♀) の結果と類似していた。(表 20)

8 泌乳牛 2 頭 (2 ♀および 3 ♀) に ^{14}C 標識プロチゾラムを 2 回、単回静脈内投与した後の乳汁中濃度は、
9 2 頭共に 0.1% と微量であった。2 回目の投与後 0-9 時間に採取された乳汁中の最高値は、2 ♀で 0.1
10 ng-eq/mL、3 ♀で 0.7 ng-eq/mL であった。乳汁中の濃度についても、第 1 試験の第 1 相試験の泌乳牛 1 頭
11 (1 ♀) の結果と類似していた。

12 泌乳牛 2 頭に ^{14}C 標識プロチゾラムを 2 回、単回静脈内投与したときの 24 時間後 (2 ♀) および 72 時
13 間後 (3 ♀) の肺、心臓、肝臓、腎臓、舌、皮膚、脂肪 (腎臓および皮下)、全血、胆汁および骨格筋の
14 総放射活性値について調べたところ、肝臓以外のほとんどは検出限界以下であった。肝臓では 2 回目の
15 投与後 24 時間で 9.7 ng-eq/mL (0.8%)、72 時間では 12.0 ng-eq/mL (0.7%) の濃度が確認された。(表 2
16 1)

17
18 以上の 2 試験の結果から、 ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛 3 頭 (1 ♀、2 ♀および 3 ♀) に静脈内 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
19 投与すると、放射活性は急速に排泄されることが確認された。主要排泄経路は糞中 (57-86%) であり、
20 胆汁中に大量に排泄されることが考えられた。一方、尿中排泄は少量であった (15-25%)。これらの結
21 果は、先に実施されたラット (糞中排泄 : 86%、尿中排泄 : 6%) およびサル (糞中排泄 : 59%、尿中排
22 泄 : 28%) の試験結果と一致するものであった^{1),2)}。また、いずれにおいても放射活性の大部分は投与後
23 24 時間までに排泄された。

24 血漿中からも急速に排泄され、泌乳牛 3 頭に静脈内投与したときの $T_{1/2}$ は 0.5-1 時間であった。これら
25 の結果は、ラット ($T_{1/2}$: 0.3 時間)、イヌ ($T_{1/2}$: 0.9 時間) およびサル ($T_{1/2}$: 1.3 時間) を用いた先の試
26 験結果と一致している³⁾。全血中の濃度は血漿中よりも低い (1 ♀)、赤血球中への選択的な取り込み
27 は示されていない。

28 泌乳牛 3 頭共に乳汁中の総放射活性値は低く、わずか 0.1% であることが確認された。乳汁成分の分析
29 では、乳脂分画中に高濃度の放射活性が認められた (1 ♀)。

30 泌乳牛 3 頭に静脈内投与後 6.5 時間 (1 ♀)、24 時間 (2 ♀) および 72 時間 (3 ♀) で屠殺したときの肝
31 臓の濃度は、それぞれ 16.9 ng-eq/mL (2.6%)、9.7 ng-eq/mL (0.8%) および 12.0 ng-eq/mL (0.7%) あった。
32 腎臓中の濃度は投与後 6.5 時間で 5.3 ng-eq/mL を示し、24 および 72 時間では検出限界以下となった。こ
33 の結果より、糞中への排泄は高く、尿中への排泄は低いことが明らかになった。また、肝臓では投与後
34 72 時間において 0.1% 以下のプロチゾラムおよび/あるいはその代謝物の残留が確認された。(6-6)

35
36 泌乳牛 (3 頭/群) に ^{14}C 標識プロチゾラムを静脈内 (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 投与後 6.5、24、72 時間に各 3 頭から
37 血液、乳汁および組織・臓器 (血漿、骨格筋、脂肪、腎臓、胆汁、肝臓) を採取し、各試料中のプロチ
38 ゾラム濃度を測定した。血漿では二相性の半減期がみられ、投与後 7 分に C_{max} (2.83 ng-eq/mL) が認め
39 られ、3 時間後には 0.53 ng-eq/mL まで急速に減少 ($T_{1/2}$ は 1.2 時間) し、その後は緩やかな減少を示し
40 36 時間後には 0.01 ng-eq/mL まで減少した ($T_{1/2}$ は 5 時間)。乳汁中の残留量は低く、初回搾乳後 7 時間
41 で C_{max} (0.08 ng-eq/mL) が認められ、47 時間後には検出限界まで減少した。各組織・臓器中における残

1 留は主に肝臓（投与後 6.5 時間：3.54 ng-eq/mL、24 時間：1.24 ng-eq/mL、72 時間：0.56 ng-eq/mL）およ
2 び腎臓（投与後 6.5 時間：1.12 ng-eq/mL、24 時間：0.13 ng-eq/mL、72 時間：0.02 ng-eq/mL）で認められ
3 た。肝臓では投与後 72 時間まで明らかな残留が認められ、 $T_{1/2}$ は 30 分であった。また、胆汁中にはか
4 かなりの量の残留が認められ（投与後 6.5 時間：33.61 ng-eq/mL、24 時間：3.94 ng-eq/mL、72 時間：0.01
5 ng-eq/mL）、プロチゾラムの主要排泄経路は糞中であることが示唆された。筋肉および脂肪中の残留はい
6 ずれの時点においても微量であった。（⑥-7）（表 2 2、表 2 3、表 2 4）

7 8 **【ウシにおける残留試験】**（資料番号：⑦-2、⑦-3、⑦-4、⑦-5）

9 雌子牛（約 6 ヶ月齢、31 頭）に SPV-708（プロチゾラム 0.2 mg/mL 製剤）を体重 100 kg あたり常用量
10 群 1.0 mL（有効成分として 0.2 mg、以下同じ）および 2 倍量群 2.0 mL（有効成分として 0.4 mg、以下同
11 じ）として左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与し、最終投与後 2 時間、1、2、3 および 5 日目に各群 3
12 頭から各組織・臓器（血液、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸）を採取してプロチゾラムの経時的な残留
13 推移を確認した。なお、対照群には 1 頭を供した。常用量群では、最終投与後 2 時間目において全試料
14 が検出限界未満であった。2 倍量群では、最終投与後 2 時間目において筋肉、肝臓、腎臓、小腸および
15 血液は検出限界未満であった。一方、脂肪については 2/3 例で検出限界未満、1/3 例では 0.001 $\mu\text{g/g}$ が検
16 出されたが、最終投与後 1 日目には全例が検出限界未満となった。（⑦-2）（表 2 5、表 2 6）

17
18 雌子牛（約 6 ヶ月齢、31 頭）に SPV-708 を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL および 2 倍量群 2.0 mL
19 として左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与し、最終投与後 2 時間、1、2、3 および 5 日目に各群 3 頭
20 から各組織・臓器（血液、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸）を採取してプロチゾラムの経時的残留推移
21 を確認した。なお、対照群には 1 頭を供した。常用量群では、最終投与後 2 時間において筋肉は検出限
22 界未満であった。一方、肝臓については 2/3 例から 0.001 および 0.003 $\mu\text{g/g}$ が検出され、腎臓、脂肪、小
23 腸および血液については各 1/3 例から 0.001-0.002 $\mu\text{g/g}$ が検出された。最終投与後 1 日においては、い
24 ずれの試料も検出限界未満となった。2 倍量群においては、最終投与後 2 時間で全試料が検出限界未満と
25 なった。（⑦-3）（表 2 7、表 2 8）

26
27 泌乳牛（2~6 才齢、3 頭/群）に SPV-708 を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL および 2 倍量群 2.0 mL
28 として、朝の搾乳直後に左頸静脈内に 3 日間連続投与した。乳汁採取は 1 回目投与前 1 回（対照）、最終
29 投与後 12、24、36、48、60 および 72 時間目に、血液採取は 1 回目投与前 1 回（対照）、最終投与後 15、
30 30 分、1、2、6 および 12 時間目に右頸静脈から行い、プロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。乳
31 汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与後 24 時間目まで全試料が検出限界未満であった。血液
32 においては、常用量群で最終投与後 15 分目に全例から 0.001-0.002 $\mu\text{g/g}$ 、2 倍量群では 15 分および 30 分
33 目に全例から 0.001-0.003 $\mu\text{g/g}$ が検出されたが、最終投与後 1 時間目にはいずれも検出限界未満となった。
34 （⑦-4）（表 2 9、表 3 0）

35
36 泌乳牛（4 才齢、3 頭/群）に SPV-708 を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL および 2 倍量群 2.0 mL と
37 して、朝の搾乳直後に左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与した。乳汁採取は 1 回目投与前 1 回（対照）、
38 最終投与後 12、24、36、48、60 および 72 時間目に、血液採取は 1 回目投与前 1 回（対照）、最終投与後
39 15、30 分、1、2、6 および 12 時間目に右頸静脈から行い、プロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。
40 乳汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与後 12 時間目で全試料が検出限界未満であった。血液
41 においては、最終投与後 15 分目に常用量群の全例で 0.001 $\mu\text{g/g}$ 、2 倍量群では 0.002-0.003 $\mu\text{g/g}$ が検出さ

1 れたが、それぞれ最終投与後 30 分および 1 時間目には検出限界未満となった。(⑦-5) (表 3 1、3 2)

2-2. 毒性試験

(1) 急性毒性試験

【マウスを用いた急性毒性試験】(資料番号：①-1a、①-1b、①-7)

6 Chbi: NMRI 系アルビノマウス (雌雄各 10 匹/群) にプロチゾラムを単回強制経口 (6,000、8,000、10,000
7 mg/kg 体重/日) 投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 10,000 mg/kg 体重以上であった。死亡例は ~~10,000~~ 8,000
8 mg/kg 投与群の雄 3 例、~~8,000~~ 10,000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。死亡した雄 1/3 例の胃腸管内
9 は乳白色の投与液で満たされていた。また、2/3 例では胃腸管内に残留物は認められなかったものの、1
10 例の粘膜に充血が認められた。雄 2/3 例および雌 1 例では脱水が認められた。計画解剖例では投与に関
11 連すると思われる変化は認められなかった。

12 薬物による影響として、全例において投与後に自発運動の著しい減少あるいは睡眠が認められたが、
13 投与後 4 日までには完全に回復した。なお、これらの症状の程度に群間差および性差は認められなかつ
14 た。(①-1a、①-7)

16 ICR-JCL 系マウス (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回静脈内 (0、20 mg/kg 体重/日) 投与したが、
17 死亡例は認められず、ときのLD₅₀ は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。~~死亡例は認められなかつ~~
18 ~~た。~~

19 薬物による影響として、鎮静、~~睡眠、~~自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、翌日には回
20 復した。剖検では病理学的変化は認められなかった。(①-1b)

22 ICR-JCL 系マウス (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回腹腔内 (0、1,000 mg/kg 体重/日) 投与した
23 が、死亡例は認められず、ときのLD₅₀ は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。~~死亡例は認められ~~
24 ~~なかつた。~~

25 薬物による影響として、鎮静、睡眠、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、投与 2 日目
26 には全例が回復した。剖検ではいずれの投与群においても腹膜炎が認められた。(①-1b)

【ラットを用いた急性毒性試験】(資料番号：①-1b、①-2)

29 SD-~~JCL~~~~JCR~~ 系ラット (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回静脈内 (0、16 (雌のみ)、20 mg/kg 体
30 重/日) 投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。死亡例は 20 mg 投与群の雌 2 例
31 で認められ、1 例は睡眠中 5 分後に、別の 1 例は 6 時間後に強直性痙攣および呼吸困難により死亡した。

32 薬物による影響として、雌雄共に鎮静および睡眠が認められたが、投与後 6 時間以内に回復した。ま
33 た、雌雄共に摂水量の高値が認められた。剖検では、死亡例および計画解剖例に病理学的変化は認めら
34 れなかった。(①-1b)

36 SD-~~JCL~~~~JCR~~ 系ラット (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回腹腔内 (0、1,000 mg/kg 体重/日) 投与
37 したときの LD₅₀ は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。投与翌日に 1,000 mg 投与群の雄 1 例で死
38 亡が認められ、剖検では胃底部粘膜の点状出血、腹腔内には被験物質の白色沈着がみられた。

39 薬物による影響として、鎮静および睡眠、失調様歩行、自発運動の減少、軟便等が認められたが、投
40 与後 2~3 日後に回復した。体重変化は雄で投与後 7 日まで遅延し、この期間は摂水量にも低値が認めら
41 れた。雌では摂水量は高値を示した。計画解剖例ではいずれの投与群でも腹膜炎が認められた。(①-1b)

1
2 SD-JCL 系ラット（雌雄各 10 匹）にプロチゾラムを単回強制経口（7,000 mg/kg 体重）投与したとき、
3 死亡例は雌 1 例で認められ、LD₅₀ は雌雄ともに 7,000 mg/kg 体重以上であった。死亡例は雌 1 例で認
4 められ、剖検では胃腸管内に投与液が満たされていた以外、明らかな変化は認められなかった。

5 薬物による影響として、雌雄共に投与 5 分後から鎮静沈静、10 分後にうずくまり、1 時間後に腹臥位、
6 3 時間後には雄では失調様歩行を開始し、雌では腹臥位のまま労作性呼吸を行っていた。雄は翌朝に
7 は回復していたが、雌の 3 例が衰弱状態に陥り、そのうち 1 例が死亡した。なお、雌雄共にこれらの症
8 状は投与後 48 時間までには回復した。（①-2）

9 10 【イヌを用いた急性毒性試験】（資料番号：①-7）

11 イヌ（雌雄 2 頭/群、計 6 頭）にプロチゾラムを単回経口投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 2,000 mg/kg
12 体重以上であった。薬物による影響として、投与後 1-28 時間に心拍数および呼吸数の増加、運動失調が
13 認められ、投与後 48 時間までに睡眠、鎮静、振戦および嘔吐が認められた。投与後 2~4 日に摂餌量の
14 低値および体重の軽度な低値が認められた。

15 16 【ウサギを用いた急性毒性試験】（資料番号：①-7）

17 ウサギ（雌雄 2 羽/群、計 4 羽）にプロチゾラムを単回経口投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 2,000 mg/kg
18 体重以上であった。薬物による影響として、運動失調、筋弛緩および鎮静が認められた。

19 20 【サルを用いた急性毒性試験】（資料番号：①-1c）

21 カニクイザル（雌雄各 1 頭）を用いた強制経口（0.063、0.25、1、4 mg/kg 体重/日）投与による急性毒
22 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、投与は雌雄各 1 頭に対し、各用量を
23 7 日間隔で行なった。

24 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

25 一般的な臨床症状観察では、0.063 mg 投与群の雌雄で発声やひっきりたりする行動の減少、怯えや攻
26 撃性の低下を示す例が認められた。また、振戦、握力の低下および探索行動の増加がいずれも軽度な
27 ら認められた。0.25 および 1 mg 投与群では、自発運動および探索行動の増加が認められた後、鎮静お
28 よび無関心の状態となった。これ等の症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。4 mg 投
29 与群の症状および程度は 1 mg 投与群と類似していたが、投与後に探索行動は認められず、鎮静状態が
30 長時間認められた。なお、鎮静状態は投与後 24 時間までには回復が認められた。

31 32 (2) 亜急性毒性試験

33 【ラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験】（資料番号：①-7）

34 ラット（雌雄各 20 匹/群、最高用量の雌は 30 匹）を用いた強制経口（0.3、10、400 mg/kg 体重/日）投
35 与における 4 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。また、対照群
36 と高用量群の雌雄各 10 匹は回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

37 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

38 一般的な臨床症状観察では、10 mg 投与群以上で鎮静を示した後、興奮が認められた。

39 摂餌量では、400 mg 投与群の雌で低値高値が認められた。

40 血液生化学検査では、400 mg 投与群で血清コレステロールの高値が認められた。

41 臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の高値が認められたが、回復期間中に回復がみられた。

1 病理組織学的検査では、肝臓を含めて投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

2 3 **【ラットを用いた5週間亜急性毒性試験】**（資料番号：①-2）

4 SD-JCL系ラット（雌雄各15匹/群）を用いた強制経口（0.5、100、1,000 mg/kg 体重/日、低用量の0.5 mg/kg
5 は推定臨床用量である0.005 mg/kgの100倍量に相当）投与における5週間の亜急性毒性試験において
6 認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群にはそれぞれ雌雄各10匹を加えて
7 回復群とし、投与終了後6週間の観察と検査を行った。

8 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

9 一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 投与群に一般状態の変化はみられなかった。100 mg 以上投与群で
10 投与10～15分後から鎮静状態が認められた。鎮静は100 mg 投与群では4時間、1,000 mg 投与群では4
11 ～7時間継続したが、投与回数を重ねるにつれて徐々に短くなり、投与終了時には両群ともに継続時間
12 は約2時間となった。また、両群共に投与2週目から攻撃性を示すようになり、1,000 mg 回復群では投
13 与終了後3～4日間、全例において興奮と自発運動の亢進が認められた。

14 体重変化では、1,000 mg 回復群の雄で体重増加に有意な低値が認められた。

15 摂餌量は100 mg 投与群以上の雌で増加傾向が認められた。1,000 mg 回復群の雌雄では回復期間第1
16 週に減少が認められた。

17 摂水量は100 mg 投与群以上の雌雄で投与第1週中に増加が認められたが、回復期間には明らかな変動
18 は認められなかった。

19 血液学的検査では、~~0.5 mg 投与群の雌で白血球数の減少、~~100 mg 投与群の雌で赤血球・白血球数の減
20 少、~~MCHの増加、~~（~~削除部分は用量相関性なし~~）1,000 mg 投与群の雄で白血球の減少、雌ではHb量、
21 RBC、Ht値および好酸球率の減少、分葉核好中球率の増加が認められた。回復群では、1,000 mg 投与群
22 の雌でRBCになお低値が認められたが、その他の項目については対照群との間に有意差は認められな
23 かった。

24 骨髓塗抹検査は対照群と1,000 mg 投与群で実施され、1,000 mg 投与群の雌雄で分葉核好中球率の増加、
25 雌で好酸球率の減少にいずれも僅かな有意差が認められた。また、1,000 mg 投与群の雌で骨髓中の桿状
26 球にも有意な増加が認められている^b。しかし、回復期間終了時には、これらの値に有意差は認められな
27 かった。

28 血液生化学検査では、1,000 mg 投与群の雌雄でコレステロールの軽度な高値が認められた。また、雄
29 ではカリウムおよびナトリウムの高値、雌ではGPT、総たん白、アルブミン、カルシウムの軽度な高値
30 およびクロライドの低値が認められた^c。その他、回復群ではいくつかの項目で有意差がみられたが、い

^b 生データでは1,000 mg/kg 投与群の雌で骨髓中の桿状球にも有意な増加が認められている（Table 3、P285）。

^c 生データでは0.5 mg 以上の雌でグルコースの有意な高値が認められる（Table 4、P286）（軽度な変化ですが、確かに用量依存性に増加しており、休薬後も有意な増加をしています。投与の影響の可能性は否定できませんが、雌のみであり、この程度の増加が毒性であるのか、は疑問です。毒性とすべき変化ではないと思います。また他の試験でのGLU増加は高用量での変化です）。ラットを用いた18ヶ月間慢性毒性試験（資料番号：①-6）においても、400 mg 投与群の雄で投与25～52週、雌では投与25～65週間にグルコースの高値が認められている。また、APについても用量依存的な低値が認められている（1000 mg/kg 投与群の雌で有意差あり）（有意差のある群から影響だと思えます）。なお、APの「低値」についての毒性学的な意味は不明であるが、ラットを用いた13週間亜急性毒性試験（資料番号：①-7）およびラットを用いた18ヶ月間慢性毒性試験では、いずれも400 mg 投与群においてAPの低値が認められており、所見として採用されている。

1 ずれも対照群との差はわずかであった。

2 尿検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

3 臓器重量では、1,000 mg 投与群の雌で肝臓の絶対・相対重量の有意な増加が認められ、回復期間終了
4 時においても有意な差が認められた。

5 剖検、病理組織学的検査および肝細胞の電子顕微鏡学的検査では、投与に関連すると考えられる変化
6 は認められなかった。

7 本試験のNOAELは0.5 mg/kg 体重/日と設定された。(表33)

9 **【プロチゾラム、ニトラゼパムおよびフルゼパムのラットにおける5週間経口投与による比較経口亜急性毒性試験】** (資料番号:①-3)

11 SD-JCL系ラット(雌雄各15匹/群)を用いたプロチゾラムの強制経口(0.5、100、1,000 mg/kg 体重/
12 日)投与における5週間の亜急性毒性試験(資料番号:①-2)と、同時に実施した同効薬のニトラゼパ
13 ム(25、100 mg/kg 体重/日)およびフルゼパム(50、400 mg/kg 体重/日)の結果を比較検討した試験
14 が行われている。プロチゾラム投与群では、最大無作用量を推定するために中間用量を設定した。さら
15 に、対照群と各被験物質の高用量群にはそれぞれ雌雄各10匹を加えた回復群を設け、投与終了後6週間
16 の観察と検査を行った。なお、各被験物質の安全域は低用量で100倍、高用量ではプロチゾラムで200,000
17 倍、ニトラゼパムで400倍、フルゼパムでは800倍であった。

18 本試験期間中、各被験物質ともに薬物に関連すると考えられる死亡は認められなかった。

19 一般的な臨床症状観察では、各被験物質ともに本来の薬理作用による鎮静が、プロチゾラム100 mg
20 投与群以上、ニトラゼパム25 mg 投与群以上、フルゼパム50 mg 投与群以上で認められた。プロチゾ
21 ラムおよびフルゼパム投与群でみられた鎮静の持続時間は投与2週より徐々に短縮したが、これは連
22 日投与により肝細胞における代謝酵素誘導作用が生じた結果、軽度の耐性が発現した可能性がも
23 えられた。また、プロチゾラム投与群では投与2週目以降に攻撃性を示すようになり、1,000 mg 投与群
24 では投与期間中に興奮状態を示し、投与中止直後数日間には中程度の禁断症状(顕著な体重、摂餌量の
25 減少、自発運動の亢進など)がみられた。ニトラゼパム25 mg 投与群では軽度な振戦作用、100 mg 投与
26 群では投与期間中に顕著な失調様歩行、立毛、濡れ犬の身震い動作、目瞼下垂、頻繁な身づくろい動作
27 が認められた。フルゼパム400 mg 投与群では興奮状態および多食現象が顕著に認められた。禁断症
28 状はプロチゾラムおよびフルゼパム投与群で投与中止後3~4日間認められたが、症状の程度および持
29 続期間はフルゼパム投与群に比べてプロチゾラム投与群は軽度であった。両者の違いはフルゼパム
30 代謝物の蓄積に起因すると考えられた。なお、ニトラゼパム投与群では禁断症状は認められなかった。

31 機能検査として、聴覚のPreyer反射および瞳孔反射の検査を対照群および各被験物質の高用量群の雌
32 雄各3例について行なったところ、対照群と各投与群との間に差は認められなかった。

33 体重変化は、プロチゾラム投与群では投与に関連した変化は認められなかった。ニトラゼパム投与群
34 では、100 mg 投与群の雄で体重増加に有意な低値が認められ、それは投与1~2週目に顕著であった。
35 フルゼパム投与群では、400 mg 投与群の雄で有意な低値、雌では有意な高値が認められ、この増減は
36 投与1~2週で顕著であった。一方、回復群では、ニトラゼパム投与群は雌雄共に投与中止の影響はみら
37 れなかった。プロチゾラムおよびフルゼパムともに高用量群の雌雄では投与中止後2~3日間に体重が
38 著しく減少し、プロチゾラム投与群の雄の体重は2日間で平均12 g、フルゼパム投与群の雄では3日
39 間で39 gの減少がみられた。その後、両群の体重はそれぞれ急速に回復したが、投与中止時の体重に回
40 復するのにプロチゾラム投与群の雄で6日、雌では11日、フルゼパム投与群では雄で11日、雌では

21 日を要した。

摂餌量は、プロチゾラム投与群、ニトラゼパム 25 mg 投与群および 100 mg 投与群の雌、フルラゼパム 50 mg 投与群では投与に関連した変化は認められなかった。一方、ニトラゼパム 100 mg 投与群およびフルラゼパム 400 mg 投与群の両群の雄の摂餌量は投与 1 および 2 週のみ有意に減少したが、フルラゼパム 400 mg 投与群の雌では投与 3~5 週に有意に増加した。回復群では、投与中止後 1 週間にプロチゾラムおよびフルラゼパム投与群における雌雄の摂餌量は有意に減少したが、翌週には増加した。

摂水量は、いずれの被験物質においても投与期間および回復期間に、投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では、プロチゾラム投与群およびフルラゼパム投与群ではいくつかの項目で有意差は認められたものの、血液検査値の変動と病理所見との間に関連性は認められなかった。一方、ニトラゼパム 100 mg 投与群の雌雄では Hb、RBC、Ht 値に極めて軽度な減少およびリンパ球数の有意な減少が認められた。なお、回復期間終了時の検査では、投与に関連すると考えられる明らかな変化は認められなかった。

骨髓検査では、対照群と各被験物質の高用量群との間に明らかな変化は認められなかった。しかしながら、ニトラゼパム 100 mg 投与群の雄 1 例では赤血球造血がやや低下しており、それが末梢血の赤血球の軽度の減少に反映されていた。

血液生化学検査では、プロチゾラム 1,000 mg 投与群の雌雄でコレステロールの軽度~中程度の高値、雌で GPT およびアルブミンの軽度な高値が認められた。ニトラゼパム投与群では、25 mg 投与群以上の雄で GOT の軽度な高値、25 mg 投与群の雌でコレステロールの軽度な高値が認められた^d。フルラゼパム投与群では、50 mg 投与群の雄で BUN の軽度な低値、50 mg 投与群以上の雄で GPT の軽度な高値、雌雄でコレステロールの軽度~中程度 (50 mg) および重度 (400 mg) の高値、400 mg 投与群の雌雄で GOT の中程度の高値、アルブミンの軽度な高値および BUN の高値が、雌では GPT の軽度な高値が認められた。なお、回復期間終了時の検査では、各被験物質ともに対照群と投与群との間に明らかな変動は認められなかった。

尿検査では、プロチゾラム 1,000 mg 投与群の雄の尿比重は有意に高値を示し、2 例の蛋白反応は+++ を示した。ニトラゼパム 100 mg 投与群では 2 例で潜血反応が認められたが、泌尿器系に関連すると考えられる病理学的変化は認められなかった。回復期間終了時の検査では、いずれの投与群でも明らかな変化は認められなかった。

剖検では、プロチゾラム投与群に薬物に関連すると考えられる変化は認められなかった。一方、ニトラゼパムおよびフルラゼパム両投与群で認められた所見は薬物との関連性が疑われた。ニトラゼパム 25 mg 投与群以上で精巣・精巣上体の萎縮がほぼ全例で認められ、萎縮した精巣は著しく小さく柔軟となり黄色を帯びていた。100 mg 投与群の雄で付属性腺の萎縮が 3 例で、雌雄で胸腺の萎縮が認められた。フルラゼパム 400 mg 投与群では肝臓の腫脹が雄 11 例および雌 9 例で認められ、中程度~著しく腫脹した肝臓は帯黄褐色で小葉構造が明瞭であった。また、雌雄ともに大多数の胃は拡張しており、そのうち 1 例には胃粘膜に点状出血が認められた。回復期間終了時には、各被験物質に特異的な変化は認められなかった。

臓器重量では、プロチゾラム 1,000 mg 投与群の雄で肝臓の相対重量の高値、雌では肝臓、腎臓および

^d ニトラゼパム 25 mg 投与群の雄のコレステロール値は、有意差はついていないものの雌と同値である (Table 8-2、P59)。但し、100 mg 投与群では雌雄ともに影響は認められていない。 (対照群との差がないので影響としない)

1 甲状腺の絶対および相対重量の高値、脾臓および胸腺の絶対及び相対重量の軽度な低値が認められた。
2 ニトラゼパム 25 mg 投与群以上で精巣・精巣上体の絶対および相対重量の低値、100 mg 投与群の雌雄で
3 胸腺の絶対および相対重量の低値、雌で脾臓の絶対および相対重量の低値が認められた。フルラゼパム
4 400 mg 投与群では、雌雄の肝臓で絶対および相対重量の高値、雄で副腎および甲状腺の絶対および相対
5 重量の有意な高値が認められた。回復群では、プロチゾラム 1,000 mg 投与群の雌で肝臓の絶対および相
6 対重量の高値、ニトラゼパム 100 mg 投与群の精巣・精巣上体の絶対および相対重量の低値、フルラゼ
7 パム 400 mg 投与群の雌で副腎の絶対および相対重量の高値が認められた。

8 病理組織学的検査では、プロチゾラム投与群は薬物関連性と考えられる変化は認められなかった。
9 一方、ニトラゼパムおよびフルラゼパムでは剖検所見と一致した薬物関連性と考えられる変化が認めら
10 れた（ニトラゼパム：25 mg 投与群以上で雄性腺の萎縮、100 mg 投与群で胸腺の萎縮、フルラゼパム：
11 400 mg 投与群で肝臓に脂肪変性）。ニトラゼパムでは、25 mg 投与群以上で片側性～両側性の精巣萎縮
12 がみられ、両側性の萎縮を示す例では精子形成はほぼ完全に停止していた。100 mg 投与群では全例の精
13 巣で両側性の萎縮がみられ、精細管の萎縮は顕著であった。また、前立腺、精巣上体および精囊の萎縮、
14 精巣の間細胞の肥大が認められた。その他、全例で胸腺の萎縮が認められた。回復期間中、雄性腺に対
15 する影響に回復傾向はみられたものの、精巣については依然として萎縮が認められた。フルラゼパムで
16 は、400 mg 投与群の全例で小葉中心性の肝細胞肥大の腫脹が認められ、小葉構造は明瞭であった。また、
17 肝小葉の中間帯および周辺帯には脂肪変性が認められた。回復群ではこれらの変化は認められなかった。

18 電子顕微鏡学的検査では、フルラゼパム 400 mg 投与群で小葉中心性に滑面小胞体の著しい増加と肥
19 大および多数の脂肪粒がみられたが、回復群ではこれらの変化は完全に消失し、正常構造を示していた。
20 本結果より、組織学的検査で認められた肝細胞の腫脹は滑面小胞体の肥大によるものであることが確認
21 されたが、ベンゾジアゼピン類の中には薬物代謝亢進作用を有するものがあること、さらに酵素誘導剤
22 により誘発された滑面小胞体の増加は可逆性であることから、肝細胞肥大の腫脹はフルラゼパムの肝臓
23 に対する直接的な作用ではなく、単に適応現象であると考えられた。

24 以上のように、プロチゾラム投与群では、同効薬であるニトラゼパムおよびフルラゼパムに比べて高
25 用量が用いられたにも関わらず、ラットは十分に耐えて得て、肝臓における形態学的変化を伴わない軽
26 度の機能的反応と中程度の禁断症状がみられたに過ぎなかったことから、他の2剤に比べてその毒性は
27 極めて低いことが確認された。一方、ニトラゼパム 100 mg 投与群では顕著な一般状態の変化とともに、
28 雄では精巣の萎縮が、また雌では軽い貧血とリンパ球の減少が認められた。フルラゼパム 400 mg 投与
29 群では多食現象、顕著な禁断症状および可逆性ではあるが著しい肝臓肥大腫脹と脂肪変性が認められた。

30 (表34)

31
32 ※ p12 の25 行目からの試験はプロチゾラムについての結果は同じであり、同一の試験と
33 考えますので、一方で良いと思います。

34 その場合、類似化合物のニトラゼパムとフルラゼパムの結果も併記すべきか否か、
35 前例がわかりませんが、個人的には煩雑にもなるので、最後の部分のこれらの2剤に比べ
36 て毒性が低いとの記述のみでも良いと思いますが、如何でしょうか？

37
38
39 **【ラットを用いた13週間亜急性毒性試験】** (資料番号：①-7)

40 ラット（雌雄各20匹/群、高用量群は雌雄各30匹）を用いた混餌（0.3、10、400 mg/kg 体重/日）投与

1 における 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。また、対照群と
2 高用量群の雌雄各 10 匹は回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

3 本試験期間中、投与に関連すると考えられる死亡例は認められなかった。

4 一般的な臨床症状観察では、400 mg 投与群の雌雄で、投与 9 週頃から触れると怖がり防御反応を示す
5 など反応性の増強が認められたが、これらの反応は回復性を示した。

6 体重変化および摂餌量は、いずれも 400 mg 投与群の雌雄で低値が認められた。

7 血液生化学的検査では、400 mg 投与群で AP の低値および血清コレステロールの高値が認められたが、
8 いずれも回復期間中に回復した。

9 臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の増加認められたが、回復期間中に回復した。

10 病理組織学的検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

11 12 **【イヌを用いた 4 週間亜急性毒性試験】** (資料番号: ①-4)

13 ビーグル犬 (雌雄各 3 匹/群) を用いた静脈内 (0, 0.05, 0.1, 0.3 mg/kg 体重/日) 投与における 4 週間
14 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、試験は 5 群構成とし、対
15 照群には生理食塩液を、溶媒対照群には 10% アルコール溶液を投与した。

16 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

17 一般的な臨床症状観察では、0.05 mg 投与群以上で重篤な運動失調が認められたが、症状は数分以内
18 に軽減し、1 時間以内に消失した。なお、本症状の発症は試験の経過とともに軽減した。溶媒対照群お
19 よび 0.05 mg 投与群以上で流涎が認められ、0.1 および 0.3 mg 投与群雄の各 1 例では下痢が頻発した。

20 本薬の薬理作用として、自発運動能について投与 2 週および 4 週目の投与後 4 時間まで調べられてい
21 る。いずれの時点においても、0.05 mg 投与群以上で対照群に比べ自発運動の亢進がみられ、症状の程
22 度および持続時間には用量相関性が認められた。

23 体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、臓器重量、剖検および病
24 理組織学的検査に、被験物質の投与による明らかな影響は認められなかった。

25
26 吉田 この経路は静脈内であること、その他にも亜急性毒性試験データは得られているので、参考資料と
27 し、評価には使用せずともよいのではないのでしょうか。

28 29 **【サルを用いた 13 週間亜急性毒性試験】** (資料番号: ①-5)

30 赤毛ザル (雌雄各 3 頭/群) を用いた強制経口 (0, 1, 10, 100 mg/kg 体重/日) 投与による 13 週間の
31 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、脳波検査用として、別に 100
32 mg 投与群 (雌雄各 3 頭) を設定し、13 週間の投与終了後に 5 週間の回復期間を設けて観察した後に脳
33 波検査に供した。

34 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

35 一般的な臨床症状観察では、1 mg 投与群以上で運動失調様歩行、10 mg 投与群以上では嗜眠睡眠、明
36 らかな攻撃性の明らかな低下、運動失調に伴う筋肉の痙攣が認められ、症状の程度には用量相関性がみ
37 られた。100 mg 投与群では過反射やハンドリングによる四肢筋肉の痙攣が認められた。回復群では、音
38 刺激による強直性間代性痙攣を示す例が認められた。

39 体重変化では、投与群の全例において体重増加量の高値が認められたが、回復期間中に回復を示した。

40 摂餌量および摂水量の測定は行なわれていないが、投与期間中の摂餌は旺盛であった。

1 血液生化学的検査では、100 mg 投与群でカルシウムの低値が認められたが、回復期間中に回復した。
2 臓器重量では、100 mg 投与群で肝臓重量の高値が認められたが、回復期間中に回復した。
3 性周期、筋電図、脳波、血液学的検査、尿排泄、尿検査、眼科検査、剖検および病理組織学的検査に、
4 被験物質の投与によると考えられる明らかな異常は認められなかった。

6 (3) 慢性毒性試験

7 【サルを用いた 12 ヶ月間慢性毒性試験】(資料番号：①-7)

8 サル(雌雄各 4 頭/群)を用いた強制経口(0、1、7、50 mg/kg 体重/日)投与による 12 ヶ月間の慢性
9 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。

10 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

11 一般的な臨床症状観察では、7 mg 投与群以上で鎮静、運動失調、傾眠および睡眠が認められ、症状の
12 程度および持続時間には用量相関性が認められた。50 mg 投与群では投与 4 週目から反射性筋収縮の亢
13 進が認められた。また、禁断症状として、7 mg 投与群以上で嘔吐、50 mg 投与群では突発性あるいは聴
14 原性の強直性間代性発作が認められた。

15 体重変化では、7 mg 投与群以上で体重増加量の高値が認められた。

16 摂餌量は測定されていないが、摂餌は旺盛であった。

17 病理組織学的検査では、50 mg 投与群の 4 例で副腎皮質への脂肪浸潤が認められた。

19 【ラットを用いた 18 ヶ月間慢性毒性試験】(資料番号：①-6)

20 Chbb: THOM 系ラット(雌雄各 25 匹/群)を用いた混餌(0、0.3、10、400 mg/kg 体重/日、低用量は予
21 想臨床用量の 10 倍量に相当)投与による 18 ヶ月間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下
22 の通りであった。

23 本試験期間中に对照群の 11 例、0.3 mg 投与群の 3 例、10 mg 投与群の 4 例、400 mg 投与群の 24 例に
24 死亡が認められた。死因は自然発生性病変によるものに加え、採血時の麻酔死が多数を占めたが、400 mg
25 投与群の死亡例増加は、腎盂腎炎と肺のリン脂質症に起因する一般状態の悪化によるものであった。

26 一般的な臨床症状観察では、各投与群の多くの例において、口周囲の皮膚にパストレラ感染によると
27 考えられる小さな膿瘍が認められた。400 mg 投与群の雌雄では、投与 3 週目から軽度な立毛と興奮が認
28 められたが、これらの症状は投与 10 週目には消失した。また、投与 27 週目から試験終了まで一般状態
29 の悪化が認められた。

30 体重変化は、10 mg 投与群の雌雄で体重増加量の軽度な高値が認められた。400 mg 投与群では、雌雄
31 で体重増加量の低値が認められた。特に、投与 8 週以降に明らかな低下が認められ、23 週以降は体重増
32 加量の抑制が認められた。

33 摂餌量は体重変化に伴う変動を示し、10 mg 投与群では軽度な増加が、400 mg 投与群では明らかな減
34 少が認められた。

35 摂水量および尿検査には、投与に関連する変化は認められなかった。

36 血液学的検査では、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。網状赤血球の明らかな高
37 値が雄で投与 65 週目、雌では投与 25 週目から認められた。また、MCH および MCHC の軽度な低値が、
38 雌雄において投与 25 週目より認められた。白血球数の軽度な高値が雌で投与 25 週目より認められた。
39 また、多形核白血球 好中球 の中程度から顕著な高値とそれに伴うリンパ球の低値が雄で投与 6 週目、雌
40 では投与 13 週目より、血小板の軽度な低値が雄で投与 25 週目、雌では投与 52 週目より認められた。

1 生化学検査においても、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。雌雄において、コレ
2 ステロールの顕著な高値、AP の明らかな低値、BUN の低値およびグルコースの軽度かつ一過性の高値
3 が認められた。また、雄ではカリウムの軽度な低値が認められた。

4 剖検では、4 例で精巣の萎縮等の所見が見られている。その他に薬物に関連すると考えられる変化は
5 認められなかった。

6 臓器重量では、400 mg 投与群の雌雄で脾臓の顕著な低値および唾液腺の低値が、雄で精巣の顕著な低
7 値、心臓、肺および脳の低値が、雌では副腎の顕著な低値が認められた。

8 病理組織学的検査では、400 mg 投与群の雌雄において、肺の肺胞腔内に泡沫状細胞の集簇がみられる
9 リン脂質症および腎臓で腎盂腎炎が認められた。また、雄では精上皮細胞の減少による精巣萎縮が 18
10 例で認められ、そのうち 10 例は重度な萎縮であった。

11 本試験における NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と設定された。(表 3 5)

12 **【マウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験】(資料番号：④-1)**

14 Chbi: NMRI マウス (対照群：雌雄各 100 匹、低用量および中用量群：雌雄各 50 匹、高用量群：雌雄
15 各 80 匹、計 560 匹) を用いた混餌 (0、0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与による 18 ヶ月間の発がん性
16 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。

17 死亡率において、薬物に関連する変化はみられなかった。

18 一般的な臨床症状観察では、投与期間を通して全投与群の雌雄で明らかな用量依存性の鎮静が認めら
19 れ、特に雄で強い影響が認められた。また、10 mg 投与群以上の雄の半数例で、膀胱の拡張に起因する
20 と考えられる腹部の膨張が認められた。

21 体重変化は、全投与群の雌雄で明らかな高値が認められ、特に雄で強く認められた。

22 摂餌量は雄でわずかな低値を示し、雌では高値を示した。

23 摂水量は、10 mg 投与群以上の雌雄でわずかな低値が認められた。

24 血液学的検査では、投与に関連する変化は認められなかった。

25 臓器重量では、200 mg 投与群で肝重量の高値が認められた。

26 剖検では、10 mg 投与群以上の雄で膀胱の中程度～重度の拡張および膀胱壁の肥厚が認められた。

27 病理組織学的検査では、10 mg 投与群以上の雄で認められた膀胱の拡張に関連する所見として膀胱壁
28 の圧迫萎縮、肥厚に関連する所見として膀胱粘膜下における巣状限局性あるいはびまん性の浮腫、線維

° 剖検では、精巣で小型化、萎縮等 (very small、shrunk、atrophy etc.) の所見が途中死亡例 (0 mg : 一、0.3 mg : 一、10 mg : 一、400 mg : 8 例) および計画解剖例 (0 mg : 1 例、0.3 mg : 2 例、10 mg : 一、400 mg : 4 例) で認められているが、剖検所見は、精巣を含めいずれについても薬物に関連する変化ではなく、ラットの自然発生性変化であると評価されている (P4)。一方、病理組織学的検査では、計画解剖例の 400 mg 投与群で認められた精巣萎縮 (0 mg : mild 23 例、0.3 mg : mild 3 例、severe 2 例、10 mg : mild 4 例、400 mg : mild 4 例、moderate 4 例、severe 10 例) は薬物投与による影響と評価されており、剖検で精巣に所見が認められた 4 例についても組織学的に精巣萎縮 (1/4 例 : moderate、3/4 例 : severe) が認められている。精巣の剖検所見については、薬物との関連性のない変化として評価することは可能か否か。(剖検所見も評価の対象ですが、病理組織学的検査が行われている場合はこちらを重視します。Table1 の今回の組織学的検査から、高用量の 400mg/kg のみ精巣に影響ありと考えるのが妥当だと思います)

1 ~~化または~~膠原線維の増生 繊維化が認められた。また、雄では、膀胱壁における炎症細胞浸潤や包皮腺に
2 おける慢性炎症の発症に増加が認められた。200 mg 投与群では、膀胱の所見に随伴して片側性あるいは
3 両側性に水腎症を示す例が 17 例認められた。

4 558/560 匹 (2 例は試験中に行方不明) は死亡もしくは安楽死後に病理組織学的に検査されたが、自然
5 発生性腫瘍の頻度、腫瘍の種類および発生時期のいずれにおいても投与による影響は認められなかった。
6 本試験において、被験物質投与に関連する発がん性は認められなかった。

7 8 【ラットを用いた2年間発がん性試験】(資料番号: ④-2)

9 Chbb: THOM (Wistar) ラット (対照群: 雌雄各 100 匹、低用量および中用量群: 雌雄各 50 匹、高用
10 量群: 雌雄各 80 匹、計 560 匹) を用いた混餌 (0, 0.3, 10, 200 mg/kg 体重/日) 投与による 2 年間の発
11 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。

12 死亡率は ~~対照群を含め 10 mg 投与群までは雌で増加が認められた。一方、~~200 mg 投与群では雄では 対
13 照群より 有意な増加が認められた。

14 一般的な臨床症状観察では、200 mg 投与群の雌雄でしばしば被毛の粗剛、雄では著しい鎮静および尿
15 量の増加、雌では後肢足底および膝の角質肥厚が認められた。

16 体重変化は、雌雄共に 0.3 および 10 mg 投与群で高値を示した。一方、200 mg 投与群では雌雄共に低
17 値を示し、特に雄で明らかであった。

18 摂餌量は 10 mg 投与群の雌で高値を示し、200 mg 投与群では雌雄共に低値を示した。

19 摂水量は 10 mg 投与群の雌で高値を示した。

20 血液学的検査では、白血球数の高値が 10 mg 投与群以上の雄 4 例、全投与群の雌 9 例で認められた。
21 また、対照群を含む全投与群において相対的なリンパ球減少症が認められ、その発生頻度は 200 mg 投
22 与群で高かった。本変化は加齢性的変化である可能性が考えられたが、200 mg 投与群については薬物投
23 与との関連性も示唆された。

24 途中解剖例の剖検では、200 mg 投与群で泌尿器系および雄の副生殖腺に所見の増加が認められた。一
25 方、計画解剖例では、200 mg 投与群の雌雄に共通して食道拡張、肺、肝臓および腎臓に所見が散見され
26 た。また、性差がみられた所見として、雄で甲状腺の大きさや外観の変化、膀胱および副生殖腺の変化、
27 鼻汁産生を伴う鼻腔粘膜の変色 (茶褐色変化) が、雌では胸腺の大きさや外観の変化、後肢足底表面の
28 角質肥厚が認められた。

29 病理組織学的検査では、腫瘍性病変として、200 mg 投与群の雄で甲状腺 濾胞腺腫、雌では胸腺型 ~~(+~~
30 ~~細胞性)~~ の悪性リンパ腫および子宮における神経鞘腫の発生に有意な増加がみられた。また 同群では、
31 非腫瘍性病変として、雌雄の 甲状腺 における 甲状腺濾胞の退行性変化、濾胞サイズのばらつき、コロイ
32 ドの好塩基性化、嚢胞状濾胞、結節性過形成、濾胞上皮細胞のびまん性過形成、甲状腺の結節性過形成、
33 腺腫性甲状腺腫 (adenomatous goiter) および 肺のリポタンパク症、主として雄における泌尿生殖器系に
34 おける炎症性 (腎盂炎、腎盂腎炎、化膿性膀胱炎、前立腺炎、精囊腺炎) および増殖性 (腎盂粘膜上皮
35 のびまん性過形成、膀胱の粘膜上皮過形成) 変化が認められた。

36 本試験で観察された項目における NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった。(表 3 6)

37
38 吉田 いくつかの腫瘍が増加しています。その他の変化から、考えられる発生機序もないのですが、投与の影
39 響である可能性は否定できません。しかし遺伝毒性試験が陰性であることから、ADI を設定することは可能
40 だと思えます。

1 2 (4) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

3 二世世代繁殖毒性試験の代わりにFDAの3節試験が実施されている。

4 【ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験（第I節）】（資料番号：②-1、①-7）

5 SD系ラット（雌雄各20匹/群）を用いた強制経口（雄；0、0.05、2.5、100 mg/kg 体重/日、雌；0、0.05、
6 2.5、50 mg/kg 体重/日）投与による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。被験物質
7 の投与は、雄は交配前60日から交配期間中を通じて、雌には交配前14日から妊娠7日までの間行い、
8 それぞれ交配期間終了後及び妊娠21日に剖検した。

9 本試験では投与に関連した死亡はみられなかった。

10 一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群の雌雄で投与初日にのみ、投与後に弱い鎮静を示す例がみ
11 られた。高用量群では投与20～60分後から鎮静状態が3～4時間みられたが、その深さ、持続時間とも
12 に投与期間中は徐々に軽減していった。

13 体重変化は、雄では0.05および2.5 mg 投与群でわずかに、100 mg 投与群では有意な低値が認められ
14 た。雌では2.5 mg 投与群の体重は交配前期間で軽度な低値を示し、50 mg 投与群では投与期間終了後の
15 妊娠8～9日に体重増加に有意な低値がみられたが、妊娠21日には対照群と同程度まで回復した。

16 摂餌量は雄では変化はみられず、雌では50 mg 投与群で投与期間終了後に低値が認められた。

17 摂水量は100 mg 投与群の雄で投与期間の最初の2週間に、雌では50 mg 投与群で交配前第1週に高
18 値がみられた。

19 臓器重量では、2.5 mg 投与群の雄で包皮腺の絶対重量に軽度な低値がみられた。

20 剖検では、雌雄ともに薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

21 いずれの投与群においても、交尾率、妊娠率、胎仔数、胎仔の子宮内位置、黄体数、生存胎仔数、死
22 胚数（早期・後期吸収胚数、死亡胎仔数）、胎仔体重に異常は認められなかった。なお、本試験では未熟
23 児が対照群の1例および0.05 mg 投与群の2例で、奇形胎児が対照群の3例で認められた。また、0.05 mg
24 投与群で変異胎仔発現率にわずかな高値がみられ、50 mg 投与群では胎仔の骨格の成熟にわずかな遅れ
25 が認められた。

26 本試験における親動物の一般毒性に対するNOAELは2.5 mg/kg 体重/日、生殖発生に対するNOELは
27 雄で100 mg/kg 体重/日、雌では50 mg/kg 体重/日であった。（②-1）

28
29 ラット（雌雄各20匹/群）を用いた強制経口（0、1、2、10 mg/kg 体重/日）投与による試験において
30 認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄は交配前9週間、雌は交配前2週間
31 の間行なった。

32 親動物の一般状態、交配、妊娠および出産のいずれにおいても被験物質による影響は認められなかつ
33 た。また、胎児においても胎児毒性および催奇形性は認められなかった。

34 本試験におけるNOELは、親動物および胎児ともに10 mg/kg 体重/日であった。（①-7）

35 36 37 【ラットを用いた器官形成期投与試験（第II節）】（資料番号：②-1、②-2、②-3）

38 SD系ラット（雌37匹/群）を用いた強制経口（0、0.05、2.5、250 mg/kg 体重/日）投与による試験に
39 いて認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠7日から17日までの間行い、
40 21日に25匹を帝王切開して妊娠末期胎仔（F_{1a}）への影響を検査し、残りの母体については新生仔

1 (F_{1a}) を自然分娩させ離乳まで哺育した。離乳後、新生仔は各群各腹から雌雄各 2 匹を選抜・飼育し、
2 11 週齢で交配して次々世代胎仔 (F₂) を検査した。授乳を終えた母動物 (F₀) は、離乳後 1 週間を経て
3 再び第一産と同じ雄動物と交配させ、妊娠末期に次産胎仔 (F_{1b}) を検査した。

4 本試験中に、250 mg 投与群の 2 例で死亡 (1 例：剖検では胃内に異嗜によると考えられる多量の床敷
5 および噴門部に新鮮な潰瘍が認められた。1 例：分娩予定日の 24 日後に死亡。子宮内に自家中毒による
6 と考えられる浸軟胎児の残存が認められた。) が認められたが、いずれも薬物による直接作用ではないと
7 考えられた。

8 F₀ 母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群で投与開始後 1~2 日間に、弱い鎮静作用が 5
9 例に認められた。250 mg 投与群では投与 10~30 分後から鎮静状態が 3~4 時間続いたが、この持続時間
10 は投与回数を重ねるにつれて短くなった。立毛が若干数に認められた。体重変化は、250 mg 投与群で投
11 与期間中に低値を示し、投与期間終了後には一過性の低値が認められた。自然分娩群では分娩後離乳時
12 まで体重は徐々に回復した。250 mg 投与群では投与期間中に摂餌量は低値を示し、摂水量は高値を示し
13 た。帝王切開時の剖検では、250 mg 投与群で母動物 1 例の左子宮角に水腫状の肥厚がみられた。自然分
14 娩群では、250 mg 投与群の 7 例において妊娠期間が対照群に比べ 1 日延長した。

15 F_{1a} 胎仔では、250 mg 投与群の 3 例に死亡が認められたが、外表奇形はみられなかった。2.5 および 250
16 mg 投与群では各 2 例に未熟児がみられた。250 mg 投与群では、同腹仔および胎仔体重に低値がみられ、
17 後肢の指骨化骨点数も対照群に比べて有意に少なかった。また、14 肋骨の出現および仙椎の腰椎化の発
18 現頻度が上昇し、4 例の奇形胎仔^f (無尾症、胸椎の異常、水頭症および口蓋裂が各 1 例) が認められた。

19 F_{1a} 新生仔では、250 mg 投与群で次のような所見がみられた。生後 3 日以内および哺乳期間中に新生
20 仔の死亡率の上昇が認められた。また、奇形仔^gについては、死亡仔 1 例に無尾症が、離乳仔 1 例に尿管
21 膨大が認められた。体重変化では新生仔の体重に低値がみられ、哺乳期間中および離乳後 11 週齢までの
22 体重増加にも停滞が認められた。成長、機能および行動の発達に関する変化では、哺育期間中に、立ち
23 直り反射および眼瞼開裂の遅延、耳介の開展および遊泳能の発達にわずかな遅れが認められた。生殖能
24 については、交尾率および妊娠率ともに明らかな影響は認められなかったが、黄体数、着床数および生
25 存胎仔数は有意に少なかった。離乳後、雄では精巣下降の時期に遅れがみられた。

26 F₂ 次々世代胎仔および F_{1b} 次産胎仔には、薬物投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

27 本試験における母動物および胎児に対する NOAEL は、2.5 mg/kg 体重/日であった。(2-1)(表37)

28
29 Chbb: THOM ラット (雌 20 匹/群) を用いた強制経口 (0、1.5、3、30 mg/kg 体重/日) 投与による催奇
30 形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。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 16 日ま
31 での間行い、22 日に帝王切開して 2/3 例の妊娠末期胎仔は骨格検査に、残りの 1/3 例は内臓検査に供し
32 た。

33 本試験では投与に関連した死亡はみられなかった。

34 母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。体重変化では、投与
35 量依存的な低値傾向がみられ、30 mg 投与群では投与 10 日目に有意な低値が認められたが、試験終了時

^f 250 mg 投与群で認められた奇形胎仔および奇形仔 (計 6 例) については、考察の部分で薬物投与による影響ではないと評価されている (P836-837)。一方、結論の部分では、250 mg 投与群でみられた変化として、14 肋骨の出現頻度の上昇に加え奇形仔の発生についても記載がなされている。

^g f と同様。

1 には回復傾向が認められた。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

2 胎仔観察では、催奇形性は認められなかった。

3 本試験における母動物に対する NOEL は求められなかった。一方、催奇形性は認められなかったこと
4 から、胎仔に対する NOEL は 30 mg/kg 体重/日であった。(②-2)(表38)

5
6 SD 系ラット (雌 15 匹/群) を用いた強制経口 (0、10、30、250、500 mg/kg 体重/日) 投与による催奇
7 形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。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 17 日ま
8 での間行い、21 日に帝王切して胎仔観察を行なった。

9 母動物の一般的な臨床症状観察では、10 mg 投与群以上で投与後 10~30 分に鎮静が認められ、3~4
10 時間持続した。なお、鎮静の持続時間および程度は、投与回数を重ねるごとに短縮あるいは軽減した。
11 また、数例において色素涙が認められた。体重変化では 10 mg 投与群以上で低値がみられ、250 mg 投与
12 群以上では投与終了後に顕著な低値が認められた。摂餌量についても 10 mg 投与群以上で低値が認めら
13 れ、250 mg 投与群以上ではより顕著であった。摂水量は 10 mg 投与群以上で高値が認められた。剖検で
14 は、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

15 胎仔観察では、250 mg 投与群以上で吸収死亡胚の増加、同腹児重量および胎仔重量の低値がいずれも
16 用量依存的に認められた。500 mg 投与群では、後期死亡吸収胚が認められた。また、1 例の同腹児中に
17 2 例の死亡胎仔が認められたが、肉眼的な異常は認められなかった。外表観察では無尾が 500 mg 投与群
18 の 3 例で認められた。内臓観察では大動脈右位が 250 mg 投与群の 2 例、500 mg 投与群の 1 例で認めら
19 れた。骨格変異では、30 mg 投与群以上で 14 肋骨の出現頻度が上昇し、250 mg 投与群以上では過剰肋
20 骨および仙椎の腰椎化が認められた。

21 本試験における母動物に対する NOEL は求められなかった。一方、胎仔に対しては、30 mg 投与群以
22 上で 14 肋骨の出現頻度の上昇、250 mg 投与群で胚・胎児毒性、500 mg 投与群では胚死亡が認められた
23 ことから、NOEL は 10 mg/kg 体重/日と設定された。(②-3)(表39)

24 25 **【ウサギを用いた器官形成期投与試験 (第 II 節)】 (資料番号: ②-1、②-4)**

26 ヒマラヤウサギ (妊娠雌 15 羽/群) を用いた強制経口 (0、0.05、0.5、3 mg/kg 体重/日) 投与による催
27 奇形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。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日ま
28 での間行い、妊娠 29 日に帝王切開して妊娠末期胎仔を検査した。

29 母動物の一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 投与群以上で投与開始直後から弱い鎮静が 1~4 時間み
30 られたが、投与回数を重ねるにつれて持続時間は短くなり、およそ 1 週間後にはほとんど見られなくな
31 った。3 mg 投与群の 1 例が妊娠 27 日に 8 例の胎仔を流産した。体重変化は、0.5 mg 投与群以上で投与開
32 始後に低下し、投与期間中の体重増加は停滞したが、投与期間終了後は急速に回復した。また、体重の
33 低下と並行して摂餌量および摂水量は低下した。奇形胎仔は、3 mg 投与群の 1 例で口蓋裂を伴う多発性
34 関節湾曲症がみられ、この他に肋骨に変異が認められたが、その発現率は低く、用量との相関性は認め
35 られなかった。

36 本試験における母動物に対する NOEL は、0.05 mg/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められな
37 かったことから、胎児に対する NOEL は 3 mg/kg 体重/日であった。(②-1)(表40)

38
39 ヒマラヤウサギ (13 羽/群) を用いた強制経口 (0、1.5、3、9 mg/kg 体重/日) 投与による催奇形性試
40 験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日まで行い、

1 妊娠 29 日に帝王切開して妊娠末期胎仔 (F₁) を検査した。

2 本試験では投与に関連した死亡はみられなかった。

3 母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。また、死産および自然分娩も認められなかった。体重変化では、いずれの投与群においても投与初期に一過性の低値が認められ、9 mg 投与群では投与 7 日目に 100 g の低値が認められた。なお、母動物の体重低値による胎仔への影響は認められなかった。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

7 胎仔には、胚・胎児毒性および催奇形性は認められなかった。

8 本試験における母動物に対する NOEL は求められなかった。また、催奇形性は認められなかったことから、胎児に対する NOEL は 9 mg/kg 体重/日であった。(②-4)(表41)

11 【ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験 (第Ⅲ節)】 (資料番号 : ①-7、②-1、②-5、②-6)

12 SD 系ラット (雌 23 匹/群) を用いた強制経口 (0、0.05、2.5、25 mg/kg 体重/日) 投与による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。被験物質の投与は、妊娠 17 日から分娩後 21 日までの間行った。母動物 (F₀) は自然分娩させ、新生仔 (F₁) の成長、機能、行動および生殖能を検査した。また、離乳時に各同腹仔から雌雄各 1 匹を選抜・飼育し、次々世代胎仔 (F₂) への影響を検査した。

16 本試験では投与に関連した死亡はみられなかった。

17 F₀ 母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg/kg 投与群で弱い鎮静が投与後約 2 時間続き、25 mg 投与群では投与 10 分後から鎮静が 2~3 時間持続したが、分娩後は次第に軽減し、やがて現れなくなった。体重変化は、2.5 mg 投与群以上で用量依存的に体重の低値が認められた。また、2.5 mg 投与群以上で摂餌量に低値がみられ、摂水量は 25 mg 投与群で妊娠末期に高値が認められた。

21 F₀ 母動物の妊娠期間については、25 mg 投与群の 6 例で対照群に比べて 1 日延長した。剖検所見に薬物投与の影響は認められなかった。

23 F₁ 新生仔では、2.5 mg 投与群以上で生後 1 日および生後 3 日までの死亡仔数に用量依存的な増加がみられ、25 mg 投与群では離乳時までの生存率が低下した。体重変化は、25 mg 投与群で雌雄仔ともに生後 1 日の体重に低値がみられ、離乳後まで体重増加に停滞が認められた。また、25 mg 投与群では耳介の開展、立ち直り反射および眼瞼開裂の遅れ、行動観察におけるオープンフィールド試験では立ち上がりの回数の低下、精巣下降および膣開口の時期にわずかな遅れが認められた。

28 25 mg 投与群では黄体数、着床数および生存胎仔数に低値が認められ、生殖能に対する薬物の影響が示唆されたが、F₁ 新生仔の交尾率および妊娠率には影響は認められなかった。その他、胚吸収数、同腹子数、性比、胎児体重に影響は認められなかった。

31 本試験の母動物および新生仔に対する NOEL は 0.05 mg/kg 体重/日であった。(表 4 2)

33 SD 系ラット (雌 10 匹/群) を用いた強制経口 (0、25 mg/kg 体重/日) 投与による交差乳母哺育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。本試験では、母動物 (F₀) の分娩、哺育状態および交換した新生仔 (F₁) の死亡率、成長への影響を検査した。母動物 (F₀) は自然分娩させ、以下に示す組み合わせに従って、いずれも生後 4 時間以内に新生仔を交換し観察を行なった。

37 Cc : 溶媒投与母動物 (C) + 溶媒投与母動物の新生仔 (c)

38 Ct : 溶媒投与母動物 (C) + 薬物投与母動物の新生仔 (t)

39 Tc : 薬物投与母動物 (T) + 溶媒投与母動物の新生仔 (c)

40 Tt : 薬物投与母動物 (T) + 薬物投与母動物の新生仔 (t)

F₀母動物の一般的な臨床症状観察は、上記第Ⅲ試験の25 mg 投与群の母動物と同様であった。

F₁新生仔を交換した後3日齢までの新生仔死亡はTt群で多発し、CtおよびCc群では少なかったことから、新生仔死亡は投薬中の母動物側に要因があることが確認された。哺乳仔死亡はTt群で多数認められ、Tc群でも有意に多かった。哺乳期間中の体重変化は、Cc群では良好な増加がみられ、Tt群では哺乳仔数の減少に伴って生存仔の体重は特に哺乳期間の後半に増加し、Cc群に近づいた。離乳時におけるTc群の体重は最も低かった。(②-1) (表43)

Chbb: THOM (SPF)ラット (雌24匹/群) を用いた強制経口 (0、1、2、10 mg/kg 体重/日) 投与による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。被験物質の投与は、妊娠16日から分娩後21日までの間行った。また、新生仔 (F₁) の機能 (遊泳試験、聴覚および視覚機能試験)、行動 (水迷路試験による学習能および記憶能) および生殖能について検査した。

母動物の一般的な臨床症状観察では、妊娠および泌乳期間を通して、被験物質による影響は認められなかった。

F₁新生仔では、10 mg 投与群で死産仔数の増加が認められた。F₁新生仔の機能、行動および生殖能に被験物質投与による影響は認められなかった。

本試験における母動物に対するNOELは10 mg/kg 体重/日、新生仔に対するNOELは2 mg/kg 体重/日であった。(②-5) (表44)

Chbb: THOM ラット (雌24匹/群) を用いた強制経口 (0、400 mg/kg 体重/日) 投与による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。被験物質の投与は、妊娠16日から離乳時 (分娩後21日) までの間行った。また、新生仔 (F₁) の機能、行動および生殖能について検査した。なお、本試験では、前述の試験 (資料番号: ②-5) で母動物に投与による影響が認められなかったことから、ラットを用いた13週間亜急性毒性試験 (資料番号: ①-7) で体重低下作用が確認されている用量 (400 mg) について影響評価が行われた。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与後30分から立毛、鎮静および運動失調が認められ、それらの症状は数時間持続した。体重変化では、体重の低値が認められた。

F₁新生仔では、死産仔数の増加および体重の低値が認められた。生存例では、母動物の鎮静作用に起因する哺育能欠如による死亡率の増加が認められ (死亡率90% : 15腹/17腹)、特に生後3日までに高頻度に認められた。剖検では胃内に内容物は認められず、奇形や変異も認められなかった。また、生存例では体重増加抑制および歩行遅延が認められたが、感覚機能、生殖能力および新生仔の発生に異常は認められなかった。

本試験における母動物および新生仔に対するNOELは求められなかった。(①-7、②-6) (表44)

(5) 遺伝毒性試験

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を次表にまとめた。

【遺伝毒性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
----	----	-----	----

Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	10-5,000 µg/plate (±S9) ^h	陰性 (資料番号: ③-1)
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0.3, 10, 200 mg/kg/day ^j ① 200 µL/plate ^j ② マウス: 100 µL/plate ^k ラット: 200 µL/plate ^k	陰性 (資料番号: ③-2)
不定期 DNA 合成試験	ヒト胎児肺由来の線維芽細胞 (MRC-5)	20, 60, 100, 140, 180, 220, 260, 300 µg/mL (±S9) ^{h, l}	陰性 (資料番号: ③-3)
形質転換試験	マウス胎児線維芽細胞 (C3H/10T1/2 Cl 8 cells)	50, 100, 150 µg/mL (±S9) ^h	陰性 (資料番号: ③-4)
遺伝子変換試験	酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4)	62.6, 125, 250, 500, 1,000 µg/mL (±S9) ^h	陰性 (資料番号: ③-5)
HGPRT 突然変異試験	チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞	10, 100, 250, 350 g/mL (±S9) ^h	陰性 (資料番号: ③-6)
点突然変異試験 ^m	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 (ラット・マウス), TA1538 (ラット)	0, 100, 200 mg/kg/day ⁿ 100 µL/plate (±S9) ^h	陰性 (資料番号: ③-10)

1
2

in vivo 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常試験	チャイニーズハムスター骨髄	62, 311 mg/kg 体重/day 5 日間経口投与	陰性 (資料番号: ③-7)
小核試験	マウス骨髄	80, 400, 2,000 mg/kg 体重/day 2 日間経口投与	陰性 (資料番号: ③-8)
優勢致死試験	CD-1BR マウス	200, 640, 2,000 mg/kg 体重/day 単回経口投与	陰性 (資料番号: ③-9)

3
4
5
6

上記のように、*in vitro* の細菌、酵母、ヒトを含む動物細胞を用いた Ames 試験、不定期 DNA 合成試験、形質転換試験、遺伝子変換試験および突然変異試験、及び *in vivo* のげっ歯類を用いた染色体異常試験、小核試験および優勢致死試験のいずれも陰性であり、プロチゾラムはヒト生体内において問題となる遺伝毒性を有さないものと考えられる。

^h S9 はラット由来を使用。

ⁱ Chbi: NMRI マウス (雄 3 例) および Chbb: THOM ラット (雄 3 例) にプロチゾラムをそれぞれ 6 日間および 8 日間強制経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与し、採取した尿 (マウス: 3 例のプール尿、ラット: 個体別の尿) を試験に供した。

^j マウスおよびラットから採取した各尿を 200 µL/plate の濃度で培地上にまいて検査を行なった。

^k マウスおよびラット共に 200 mg/kg 投与群から得られた尿を蒸留水で 10 倍希釈し、マウスは 100 µL/plate、ラットは 200 µL/plate の濃度で同様に検査を行なった。

^l 260 µg/mL 以上の濃度で沈殿が認められた。

^m ラットおよびマウスにおける血漿中の高極性代謝物に対する試験。

ⁿ Chbb: THOM ラット (雄 5 例/群) および Chbi: NMRI マウス (雄 5 例/群) にプロチゾラムをそれぞれ 2 週間強制経口 (0、100、200 mg/kg 体重/日) 投与し、最終投与後に採取した血液から血漿を分離・凍結乾燥し、メタノール抽出の後、試験に供した。

1
2 (6) 一般薬理試験 (資料番号: ⑤-1、⑤-2、⑤-3、⑤-4)

3 **【呼吸・循環器系への作用】** (資料番号: ⑤-1)

4 雌雄のビーグル雑種犬 (各3匹群、プロチゾラム 1、5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻醉
5 下) の呼吸数、血圧、心拍数、心電図を観察したところ、1 mg および 5 mg 投与群共に投与後 120 分ま
6 で心拍数の明らかな低下とこれに伴う T 波の増高および RR 間隔の延長がみられ、呼吸数の低下が投与
7 後 120 分以上にわたり認められた。なお、血圧には明らかな影響は認められなかった。

8
9 雄ウサギ (プロチゾラム 5、10 mg/kg の静脈内投与、ウレタン麻醉下) の呼吸、血圧、心拍数を観察
10 したところ、10 mg 投与群で呼吸数にわずかな低下が認められた。血圧と心拍には明らかな影響は認め
11 られなかった。なお、非麻醉下のウサギでも同様の影響が認められた。

12
13 モルモットの摘出心房 (プロチゾラム 1-10 mg/L、5 分間隔で累積作用) の心筋収縮力と心拍数につい
14 て観察したところ、心筋収縮力には明らかな影響は認められなかったが、心拍数は 10 mg/L の濃度で軽
15 度な低下が認められた。

16
17 雌雄の雑種犬 (プロチゾラム 0.05、0.5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻醉下) の脊椎動脈
18 流および内頸動脈流について観察したところ、0.5 mg 投与群で脊椎動脈流の増加と頸動脈流の軽度な増
19 加が認められた。なお、これらの変動は 3 分以内に投与前値まで回復した。また、同様の方法でプロチ
20 ゾラム 0.5、1 mg/kg の静脈内投与により、血圧、心拍数、心拍出量、冠血流および大腿動脈流について
21 観察したところ、1 mg 投与群で血圧と心拍数の低下に伴い心拍出量および冠血流の軽度な減少が認めら
22 れた。なお、これらの変動は投与後 30 分で正常値まで回復した。いずれの投与群においても、大腿動脈
23 流に変化は認められなかった。

24
25 雌雄の雑種犬 (プロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻醉下) の頸動脈洞反射、
26 迷走神経刺激、星状神経節の節前および節後神経刺激に対する反射性昇圧について観察したところ、頸
27 動脈洞反射刺激 (30 秒間の閉塞) に対する血圧反応および迷走神経刺激に対する陰性変時作用にプロチ
28 ゾラム投与による影響は認められなかった。また、プロチゾラムは星状神経節の節前および節後神経刺
29 激における陽性変時作用を増強したが、有意な増強 (プロチゾラム投与後 15 分) が認められたのは節前
30 神経刺激に対する影響であった。

31 雌雄の雑種犬 (プロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻醉下) に、ノルエピネフ
32 リンおよびエピネフリンを 1 μg/kg 投与した際の心血管系への作用に対するプロチゾラム投与の影響に
33 ついて確認したところ、両被験物質の投与による血圧および心拍数への作用はプロチゾラム投与後 15
34 分および 60 分で増強され、エピネフリン投与時の血圧に対する影響は有意であった。

35
36 **【自律神経系および平滑筋への作用】** (資料番号: ⑤-1、⑤-3)

37 瞬膜反射に対する作用は、ネコ (プロチゾラム 10 μg-3 mg/kg の舌動脈内投与、ウレタン麻醉下) の上
38 頸神経節の節前神経刺激による瞬膜の収縮について確認したところ、プロチゾラム投与による明らかな
39 影響は認められなかった。(⑤-1)

40
41 瞳孔径 (マウス) に対する作用は、プロチゾラム (3、30、100 mg/kg、経口)、ニトラゼパムおよびエ

1 スタゾラム（各 30、100 mg/kg）について比較検討されている。プロチゾラムは 30 mg 投与群まで瞳孔
2 径に明らかな影響を及ぼさず、100 mg 投与群では投与後 30 分から 60 分に縮瞳が認められた。エスタゾ
3 ラムは 30 mg 投与群以上で、ニトラゼパムは 100 mg 投与群で縮瞳が認められた。(5-3)

4
5 ラット摘出血管（胸部大動脈、Krebs 液）では、プロチゾラムは 10 mg/L の濃度まで平滑筋収縮に影
6 響を及ぼさないが、塩化カリウム（5-30 mM）による収縮およびノルエピネフリン（3 mg/L）による持
7 続性収縮に対して抑制作用を示した。なお、ノルエピネフリンによる一過性収縮には影響は認められな
8 かった。(5-1)

9
10 ウサギ摘出回腸（自動運動測定）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討
11 されている。両被験物質ともに 0.001-1.0 mg/L の濃度まで自発運動に影響はみられなかったが、静止張
12 力については 10 mg/L でわずかな減少が認められた。(5-3)

13
14 モルモット摘出回腸（アセチルコリン誘導れん縮）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパム
15 について比較検討されている。両被験物質ともに 10 mg/L でアセチルコリン収縮の抑制作用を示した。
16 (5-3)

17
18 ラット摘出子宮（妊娠および非妊娠子宮）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて
19 比較検討されている。摘出非妊娠子宮では、プロチゾラム 0.1-10 mg/L の濃度まで自発運動の振幅に影響
20 は認められなかった。ニトラゼパムについても 10 mg/L の濃度で自発運動に影響は認められなかった。
21 摘出妊娠子宮では、両被験物質ともに自発運動に明らかな影響は認められなかった。(5-3)

22
23 ラット生体位子宮に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。ブ
24 ロチゾラムを 10 mg/kg の濃度まで静脈内投与しても、自発運動能に影響は認められなかった。一方、ニ
25 トラゼパムは同様の濃度で自発運動能にわずかな増幅が認められた。(5-3)

26
27 モルモットの摘出気管（自発収縮）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検
28 討されている。両被験物質ともに 10 mg/L の濃度で摘出気管のヒスタミンによる収縮反応を低下させた。
29 (5-3)

30
31 モルモット摘出輸精管に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。
32 プロチゾラムは 0.01-10 mg/L の濃度まで影響はみられなかった。一方、ニトラゼパムは 1.0-10 mg/L の濃
33 度で収縮反応が認められた。(5-3)

34 **【血液系への作用】**（資料番号：5-1）

35
36 溶血に対する作用は、ウサギの耳介静脈から得られた血液を用いて、プロチゾラム、エスタゾラムお
37 よびニトラゼパムについて比較検討されている。各被験物質を 125-500 mg/L の濃度で血球とインキュ
38 ベートした結果、いずれにおいても溶血作用は認められなかった。

39 凝集に対する作用は、プロチゾラム、エスタゾラムおよびニトラゼパムをウサギに強制経口（各 25
40 mg/kg 体重/日）投与し、投与後 15、30 および 60 分後に耳介静脈から得られた血液を用いて確認されて
41 いる。いずれの被験物質についても、凝集作用は認められなかった。

1
2 **【中枢神経系への作用】**（資料番号：⑤-2、⑤-3、⑤-4）

3 脊髄反射に対する作用が、ブロチゾラムとエスタゾラムについて比較検討されている。エーテル麻酔
4 下で第一および第二頸椎間の脊髄神経を遮断した雌雄のネコに、ブロチゾラムを静脈内（0.1 mg/kg）あ
5 るいは強制経口（1 mg/kg）投与し、投与後30、60 および120分に単シナプス反射（MSR）および多シ
6 ナプス反射（PSR）の活動電位について確認したところ、いずれの投与経路および用量においてもPSR
7 に影響を及ぼし、弱い抑制作用を有することが確認された。一方、エスタゾラムを強制経口（1 mg/kg）
8 投与した場合は、MSR およびPSR 共に投与後30 および60分で抑制作用が認められた。ブロチゾラム
9 の脊髄反射に対する抑制作用は、エスタゾラムに比べて軽度であった。（⑤-2）

10
11 エチルアルコールおよびヘキソバルビタールで誘導される睡眠に対する作用は、ブロチゾラム、ニト
12 ラゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。エチルアルコール
13 をマウスに皮下（6.25 mg/kg）投与した際に誘導される睡眠時間（30分）は、各被験物質を投与30分前
14 に経口（0.125 mg/kg）投与することにより有意な延長が認められた。ヘキソバルビタールをマウスに腹
15 腔内（85 mg/kg）投与する30分前に各被験物質を経口（5、15、45 mg/kg）投与すると、用量非依存的
16 ではあるが睡眠時間は2.7～3.6倍に延長した。（⑤-3）

17
18 メタンフェタミンを投与した際の自発運動量および咀嚼行動に対する作用は、ブロチゾラム、ニトラ
19 ゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。自発運動量は、メタ
20 ンフェタミンをマウスに皮下（5 mg/kg）投与する30分前にブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタ
21 ゾラム（各10、30 mg/kg）、陽性対照としてジアゼパム（10 mg/kg）をそれぞれ経口投与すると、ブロチ
22 ゾラム、ニトラゼパム、ジアゼパムは10 mg 投与群、エスタゾラムは30 mg 投与群で自発運動量の亢進
23 が認められた。咀嚼行動は、メタンフェタミンをマウス（6匹/群）に静脈内（16 mg/kg）投与する30分
24 前に、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラム（各30、90 mg/kg）、陽性対照としてハロペリ
25 ドール（5 mg/kg）をそれぞれ経口投与すると、ハロペリドールは全例に抑制作用を示したが、ブロチゾ
26 ラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは明らかな抑制は認められなかった。（⑤-3）

27 無麻酔下の自発脳波に対する作用は、ウサギを用いて実施されている。ウサギ（雌雄、14羽）にブロ
28 チゾラムを静脈内（0.001、0.003、0.01 mg/kg 体重/日）投与し、投与前30分（最後の10分間：ベースラ
29 イン）から投与後2時間まで脳波を測定したところ、0.003 mg 投与群以上では明らかにブロチゾラムの
30 鎮静催眠作用が認められた。一方、0.001 mg 投与群では、脳波に鎮静や中枢興奮作用を示す明らかな変
31 動は認められなかった。

32 本試験におけるNOELは0.001 mg/kg 体重/日であった。（⑤-4）

33
34 鎮痛作用がブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット（計6匹）
35 に各被験物質を強制経口（ブロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾ
36 ラム：1、10、100 mg/kg 体重/日）投与後30、60、120、180 および240分に、ラットの尾を動脈鉗子で
37 止めた際の疼痛に対する鎮痛作用を確認した。ブロチゾラムに鎮痛作用は認められなかったが、ニトラ
38 ゼパムでは10 mg 投与群以上で、エスタゾラムは100 mg 投与群では明らかな鎮痛作用が認められた。
39 ブロチゾラムの鎮静作用の程度は、高用量においてもニトラゼパムおよびエスタゾラムの約1/3であっ
40 た。（⑤-2）

1 正常体温に対する作用が、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されて
2 いる。ラット（Wistar 系、雄）を用いて、各被験物質を強制経口（プロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg
3 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム：1、10、50 mg/kg 体重/日）投与後 30、60、120、180 およ
4 び 240 分に体温を測定した。プロチゾラムでは、10 mg 投与群以上で投与後 30 分から用量依存的な下降
5 が認められたが、投与後 240 分以内には正常範囲まで回復あるいは回復傾向が認められた。同様に、ニ
6 トラゼパムは 10 mg 投与群以上で、エスタゾラムは 1 mg 投与群以上で用量依存的な下降がみられた。
7 いずれの被験物質も高用量で体温下降作用を示し、類似の作用が認められた。(5-2)

9 **【消化器系への作用】**（資料番号：5-3）

10 腸管運動（雄イヌ、3 匹、空腸）に対する作用は、プロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討
11 されている。両被験物質ともに 0.01-1 mg/kg の静脈内投与では影響は認められなかった。

12
13 腸管輸送能（マウス）に対する作用は、プロチゾラムおよびニトラゼパムを経口投与した時のバリウム
14 液の移動率について比較検討されている。プロチゾラムは 1-100 mg/kg で、ニトラゼパムは 30 mg/kg で
15 影響は認められなかった。

16
17 唾液分泌（マウス）に対する作用は、カルバコール刺激時の唾液分泌作用への影響についてプロチゾ
18 ラムおよびニトラゼパムで比較検討されている。プロチゾラムは 3 mg/kg までの皮下投与で影響は認めら
19 れなかった。一方、両被験物質ともに 10 mg/kg では軽度ながら有意な分泌低下を示した。

20
21 胃液分泌（ラット）に対する作用は、プロチゾラム 1-10 mg/kg までの経口投与では胃液量および酸分
22 泌量ともに影響は認められなかった。

23
24 胆汁分泌（ラット：各被験物質ともに 12.5、25、50 mg/kg、経口）に対する作用は、プロチゾラム、
25 ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されている。プロチゾラムおよびニトラゼパムでは
26 50 mg まで排泄量および胆汁量ともに影響は認められなかった。一方、エスタゾラムでは 12.5 mg で胆
27 汁量の増加、25 mg では排泄量の増加が認められた。

28 **【体性神経系への作用】**（資料番号：5-2、5-3）

29
30 局所麻酔作用は、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。モルモ
31 ト（Hartley 系、雄）およびウサギ（日本白色種、雄）の目に各被験物質を 1 および 2% の濃度で 0.5 mL
32 滴下し、同様にもう片方の目には溶媒（0.5%メチルセルロース）を滴下した。滴下後 10、20、30、60、
33 90 および 120 分に角膜をウマの尻尾で刺激して角膜反射を確認したところ、各被験物質ともにいずれの
34 濃度および測定ポイントにおいても角膜反射は認められ、局所麻酔作用は認められなかった。プロチゾ
35 ラムの局所麻酔作用は、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと同様の傾向を示した。(5-2)

36
37 横隔膜神経筋標本（Wistar 系ラット、雄）の電気刺激に対する作用が、プロチゾラム、ニトラゼパム
38 およびツボクラリン（陽性対照）で比較検討されている。電気刺激に対する攣縮反応に対し、プロチゾ
39 ラムは 0.1 mg/L まで影響はみられなかったが、1-10 mg/L の濃度では軽度な抑制が認められた。ニトラ
40 ゼパムは 10 mg/L で軽度な抑制が、ツボクラリンでは 0.1 mg/L で明らかな抑制が認められた。(5-3)

【水および電解質代謝への作用】(資料番号：⑤-2)

尿量、電解質代謝 (Na⁺、K⁺、Cl⁻、Na/K)、pH、グルコースおよび総タンパク質に対する作用が、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット (Wistar 系、雄、5 匹/群) に各被験物質をそれぞれ強制経口 (プロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム：1、10、100 mg/kg 体重/日) 投与し、採取した尿について確認したところ、尿量の増加がプロチゾラムでは 50 mg 投与群以上で、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは 100 mg 投与群で認められた。尿中電解質、pH、グルコースおよび総タンパク質については、いずれの被験物質においても明らかな影響は認められなかった。プロチゾラムは高用量で尿排泄量を増加させたが、尿中電解質、pH、グルコースおよび総タンパク質に影響を及ぼさず、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと類似の作用がみられた。

【抗炎症作用】(資料番号：⑤-2)

抗炎症作用は、ラット (Wister 系、雄) を用いた浮腫 (カラゲニン誘発の足蹠浮腫) に対する影響について、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。1% のカラゲニン 0.1 mL をラットの足蹠に投与後、直ちに各被験物質を強制経口 (1、10、100 mg/kg 体重/日) 投与し、足蹠の体積を 1 時間毎に測定した。カラゲニン足蹠浮腫に対する抑制作用はプロチゾラムには認められず、ニトラゼパムおよびエスタゾラムにも明らかな抑制作用は認められなかった。プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムとの間に作用差異は認められなかった。

【ラットを用いた 1 週間あるいは 1 ヶ月間投与試験による血液生化学的パラメータおよび体重への影響】

(資料番号：⑤-3)

ラットを用いたプロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムの 1 週間あるいは 1 ヶ月間強制経口 (10 mg/kg) 投与による血清中のグルコース、乳酸、TG、Tcho、非エステル化脂肪酸、インスリン値および体重への影響について検討されている。

1 週間投与投与試験

体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

グルコース、TG および Tcho 値は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。一方、非エステル化脂肪酸はプロチゾラムおよびエスタゾラムで低値がみられ、乳酸はプロチゾラムで高値、エスタゾラムで軽度な高値、ニトラゼパムでは軽度な低値を示し、インスリンはプロチゾラムおよびニトラゼパムで軽度な低値、エスタゾラムでは低値が認められた。

1 ヶ月間投与試験

体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

グルコース、TG およびインスリン値は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。一方、非エステル化脂肪酸はプロチゾラムで高値、Tcho はプロチゾラムおよびニトラゼパムで高値、乳酸はプロチゾラムで低値が認められた。

(7) その他

ラットを用いた 2 年間発がん性試験において、200 mg 投与群の雌雄で甲状腺に結節性および腺腫性病変が認められていることから、以下に示す甲状腺機能に関する特殊毒性試験が実施されている。

1
2 **【ラットを用いた甲状腺機能に関する特殊毒性試験】** (資料番号:⑩-1、⑩-2、⑩-3)

3 Chbb: THOM (Wistar) ラット (雌雄各 24 匹/対照群、雌雄各 12 匹/投与群) を用いた強制経口 (0、100、
4 400 mg/kg 体重/日) 投与による 78 週間の特殊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
5 た。なお、甲状腺ホルモン (T_3 および T_4) および甲状腺刺激ホルモン (TSH) の測定は、投与 28 週目
6 に全例について、投与 32 週目には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施した。

7 T_3 値は、投与 28 週目に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、
8 その程度には用量相関性が認められた (100 mg: $p \leq 0.05$ 、400 mg: $p \leq 0.01$)。また、400 mg 投与群では投与
9 32 週目においても有意 ($p \leq 0.01$) な高値が認められ、いずれの例も投与 28 週目の測定値より高値を示
10 した。一方、 T_4 値は投与 28 週目に 400 mg 投与群の雄で有意 ($p \leq 0.01$) な低値が認められたが、32 週
11 目には回復が認められた。TSH 値については、100 mg 投与群以上で軽度ながら高値傾向がみられ、400 mg
12 投与群の雌では有意 ($p \leq 0.01$) であった。(⑩-1)

13
14 Chbb: THOM (Wistar) ラット (雌 12 匹、雄 36 匹/対照群、雌 12 匹、雄 12-24 匹/投与群) を用いた強
15 制経口 (0、100、400 mg/kg 体重/日) 投与による 65 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は
16 以下の通りであった。なお、 T_3 および T_4 および TSH の測定は、投与 28 週目に全投与群の雌雄各 12 例
17 について、投与 32、53 および 65 週目には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施した。

18 T_3 値は、投与 28 週目に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、
19 その程度には用量相関性が認められた (100 mg: $p \leq 0.05$ 、400 mg: $p \leq 0.01$)。また、400 mg 投与群では投与
20 32 週目においても有意 ($p \leq 0.01$) な高値が認められ、平均値は投与 28 週目より高値を示した。投与 53
21 および 65 週目では、いずれも各 1 例に高値が認められた。一方、 T_4 値には低値傾向が認められ、400 mg
22 投与群の雄では投与 28 および 53 週に有意 (各々 $p \leq 0.01$ 、 $p \leq 0.05$) であった。

23 TSH 値は、投与 28 週目に 100 mg 投与群以上で高値がみられ、400 mg 投与群の雌では有意 ($p \leq 0.01$)
24 であった。なお、投与群では対照群に比べて雄で 2.5 倍、雌では 5.7 倍の高値が認められた。投与 32 お
25 よ 53 週目では 400 mg 投与群の 2 例で高値が認められたが、投与 65 週目にはいずれの例においても対
26 照群と同程度の値であった。(⑩-2)

27
28 Chbb: THOM (Wistar) ラット (雄各 60/群) を用いた強制経口 (試験番号 G44 : 0、200 mg/kg 体重/日、
29 試験番号 G61 : 0、0.5、2.5 mg/kg 体重/日) 投与による 13 週間の特殊毒性試験において認められた毒性
30 所見は以下の通りであった。なお、本試験では高用量試験 (G44) および低用量試験 (G61) の 2 種類の
31 試験が実施されている。G44 ではラットにおける発がん性試験で甲状腺に影響 (甲状腺腫、甲状腺濾胞
32 の変性、甲状腺の結節性過形成、腺腫性甲状腺腫等) が認められた 200 mg の用量を設定しており、甲
33 状腺の経時的な機能変化について確認することを目的としている。一方、G61 で用いている 0.5 および 2.5
34 mg の用量は、推定臨床用量の各々 100 および 500 倍であり、低用量における甲状腺機能への影響確認お
35 よび NOEL の設定を目的としている。血液生化学検査 (TSH および T_4) は、投与 1 週 (2 日および 7 日
36 目)、2 週 (7 日目)、4、8 および 13 週 (各 2 日目) に各群 10 例について実施し、その 2 日あるいは 3
37 日後に剖検に供した。

38 本試験期間中、いずれの試験においても被験物質に起因する死亡は認められなかった。

39 一般的な臨床症状観察、体重、摂餌量では、いずれの試験においても被験物質による明らかな影響は

認められなかった。摂水量は測定されていない。

血液生化学検査では、G44 の 200 mg 投与群で投与 2 週目から TSH の有意な高値が認められたが、試験の経過と共に値は低下し、投与 13 週目には回復が認められた。T₄ 値は投与 1、2 および 4 週目に一過性の低値が認められた。G61 では TSH および T₄ 値ともに影響は認められなかった。

臓器重量では、G44 の 200 mg 投与群では、肝臓の絶対・相対重量の高値が投与 3、4、8 および 13 週目に認められた。また、甲状腺は投与 3 週目より高値傾向が認められ、投与 13 週目には絶対・相対重量に有意な高値が認められた。G61 では異常は認められなかった。

剖検では、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査は実施されていない。(⑩-3)

【ヒトを用いた甲状腺機能に関する特殊毒性試験】(資料番号:⑩-4)

健康人ボランティア(男女各 3 名)に 0.25 mg/日の錠剤を 1 日 1 回 14 日間経口投与し、T₃、T₄ および TSH の変動について検査した。各項目について投与前 8 週(対照値)、初回投与前および最終投与後の計 3 回測定した結果、甲状腺機能に投与による明らかな影響は認められなかった。

(8) ヒトにおける知見について⁶⁾ (資料番号:⑩-4)

健康人ボランティアによる甲状腺機能への影響が調べられており、臨床用量である 0.25 mg/日を 14 日間投与した際に甲状腺機能に影響は認められなかった。また、類薬であるジアゼパムを 12 mg/日の用量で 12~18 週間投与した場合においても、甲状腺機能に影響は認められなかった。

ヒトにおけるプロチゾラムの精神活性作用は、0.1 mg/ヒト/日(1.7 μg/kg 体重/日、経口)である。

(9) ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響について

プロチゾラムに関しては、*in vivo* および *in vitro* において抗菌作用を示唆するデータは得られていない。

3. 食品健康影響評価について

【繁殖毒性および催奇形性について】⁶⁾

【遺伝毒性/発がん性について】⁴⁻⁷⁾

【一般薬理試験について】

【ヒトにおける影響について】⁷⁻⁹⁾

【毒性学的影響のエンドポイントの選択について】

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】⁶⁾

【食品健康影響評価について】

以上より、プロチゾラム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当と考えられる。

プロチゾラム _____ μg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

1 <参考資料>

2 メデランチル食品健康影響評価に係る補足資料 No.1-2

3
4 <参考文献>

5 1) Bechtel, W.D., Kramer, I. and Stiasni, M., Biochemical investigations with [¹⁴C]-WE 941 BS in rats. (ADME I).
6 Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica, July 1975.

7
8 2) Meirau, J., Biochemical investigations with [¹⁴C]-WE 941 BS in monkeys. (ADME II). Confidential report from
9 Boehringer Ingelheim Vetmedica, January 1977.

10
11 3) Bechtel, W.D., Biochemical study of WE 941 BS in man. (ADME III, Oral administration.) Confidential report
12 from Boehringer Ingelheim Vetmedica, January 1978.

13
14 4) キャサレット&ドール トキシコロジー 第6版、pp.827-839、2004

15
16 5) Finch, J.M, Capen, C.C., A mode of action for induction of thyroid gland tumors by Pyrethrins in the rat. Toxicol.
17 Appl. Pharmacol. 214, 253-262, 2006.

18
19 6) EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, BROtizolam, SUMMARY
20 REPORT

21
22 7) 日本医薬品集 医療薬 2007年版、pp. 2082-2083

23
24 8) 医薬品インタビューフォーム 睡眠導入剤グッドミン[®]錠 0.25 mg

25
26 9) グッドマン・ギルマン薬理書 上 第10版、pp. 501-530

27

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン／グロブリン比
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(→AST)
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(→ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
HPLC	高速液体クロマトグラフ
Ht	ヘマトクリット
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MBC	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
RBC	赤血球数
RIA	放射免疫測定法(ラジオイムノアッセイ)
PEG	ポリエチレングリコール
T _{1/2}	消失半減期
T ₃	トリヨードサイロニン
T ₄	サイロキシン
TBIL	総ビリルビン
TBG	サイロキシン結合グロブリン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐容一日摂取量
TG	トリグリセリド
TLC	薄層クロマトグラフ法
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間
TSH	甲状腺刺激ホルモン

各試験における毒性比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量(mg/kg 体重/日)	
			社内資料	EMA
ラット、 イヌ、 サル	反復投与 試験(18ヶ月 以下)	ラット(経口) <1000 イヌ(静脈内) 0-0.3 サル(経口) 0-100		0.3(ラット) EMA SR 5 自発運動の亢進、攻撃性(サル除く)、暴食、鎮静、運動失調、運動性の向上、行動変化
ラット、 マウス	発がん性 試験(マウス: 18ヶ月、 ラット:2年 間)	0, 0.3, 10, 200		無毒性量の記載なし (発がん性なし) EMA SR 10
ラット	4週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	0.3 鎮静	
	35日間 亜急性 毒性試験	0, 0.5, 100, 1000	0.5 鎮静 雌: 赤血球・白血球の減少、 MCHの増加	
	5週間 亜急性 毒性試験	0, 0.5, 100, 1000	100 興奮状態、禁断症状、Cholの高 値 雄: 尿比重の高値、肝相対重量 の高値 雌: GPT・アルブミンの高値、肝 臓・腎臓・甲状腺の絶対及び相 対重量の高値、脾臓・胸腺の絶 対及び相対重量の低値	
	13週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	10 体重・摂餌量の低値、APの低 値、血清 Cholの高値、肝重量 の増加	
	18ヶ月間 慢性毒性 試験	0, 0.3, 10, 400	10 網状赤血球の高値、MCH・ MCHCの低値、白血球数の高 値、好中球の高値、リンパ球の 低値、血小板の低値、Cholの高 値、APの低値、BUNの低値、グ ルコースの高値、臓器重量の低 値(脾臓、唾液腺)、肺のリン脂 質症、腎盂腎炎 雄: カリウムの低値、臓器重量 の低値(精巣、心臓、肺、脳) 雌: 臓器重量の低値(副腎)	

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	
			社内資料	EMA
ラット	2年間 発がん性 試験	0, 0.3, 10, 200	10 雄: 死亡率の増加、甲状腺腫の増加 雌: 胸腺型の悪性リンパ腫・子宮における神経鞘腫の増加	
	妊娠前及び 妊娠初期 投与試験	雄; 0, 0.05, 2.5, 100 雌; 0, 0.05, 2.5, 50	母動物: 2.5 生殖発生: 雄 100、雌 50 母動物: 体重増加の低値	
		0, 1, 2, 10	母動物: 10 胎児 : 10 (催奇形性は認められなかった)	
	器官形成期 投与試験	0, 0.05, 2.5, 250	母動物: 2.5 胎児 : 2.5 母動物: 体重増加の低値、左子宮角に水腫状の肥厚 胎児 : 死亡 3/25 例、体重の低値、奇形児増加	
		0, 1.5, 3, 30	母動物: — 胎児 : 30 母動物: 体重増加の低値 (催奇形性は認められなかった)	
	器官形成期 投与試験	0, 10, 30, 250, 500	母動物: — 胎児 : 10 母動物: 鎮静、体重増加の低値 胎児: 14 肋骨の出現頻度の上昇	
	周産期及び 授乳期 投与試験	0, 0.05, 2.5, 25	母動物: 0.05 新生児: 0.05 母動物: 体重増加量の低値、 新生児: 死亡児数増加、体重増加の停滞、黄体数・着床数・生存胎児数の低値	
		0, 1, 2, 10	母動物: 10 新生児: 2 新生児: 死産仔数の増加	
		0, 400	母動物: — 新生児: — 母動物: 鎮静、運動失調、体重増加抑制 新生児: 死産仔数増加、体重増加の低値、歩行遅延	
	出産前及び 出産後 投与試験	0.05-400		0.05 死産の増加、出産後胎児の死亡増加 EMEA SR 8

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)		
			社内資料	EMA	
ラット	繁殖毒性試験	0.05-100		無毒性量の記載なし (繁殖への影響なし) EMA SR 6	
	催奇形性試験	0.05-500		母動物: 2.5 胎児 : 2.5 EMA SR 7	
マウス	18ヶ月間発がん性試験	0, 0.3, 10, 200	0.3 鎮静、体重増加の高値 雄: 膀胱の拡張及び肥厚 (発がん性認められない)		
ウサギ	器官形成期投与試験	0, 0.05, 0.5, 3	母動物: 0.05 胎児 : 3 母動物: 鎮静、体重増加の低値 (催奇形性は認められなかった)		
		0, 1.5, 3, 9	母動物: - 胎児 : 9 母動物: 体重増加の低値 (催奇形性は認められなかった)		
	催奇形性試験	0.05-9			母動物: 0.05 EMA SR 7
	自発脳波に対する作用	0.001, 0.003, 0.01	0.001 鎮静催眠作用		0.001
イヌ	4週間亜急性毒性試験	0, 0.05, 0.1, 0.3	- 自発運動の亢進、重篤な運動失調		
サル	13週間亜急性毒性試験	0, 1, 10, 100	- 体重増加量の高値、失調様歩行		
	12ヶ月間慢性毒性試験	0, 1, 7, 50	1 鎮静、運動失調、傾眠、睡眠、禁断症状(嘔吐)、体重増加量の高値		
毒性学的 ADI				0.00001mg/kgbw/dy NOEL: 0.001mg/kgbw/day (ウサギ自発脳波に対する作用) SF: 100	
ADI				0-0.00001	