

動物用医薬品評価書

d-クロプロステノールを有効成分とする牛及び豚の注射剤(ダルマジン)の食品健康影響評価について

2006年6月

食品安全委員会

<目次>

	頁
1 . d-クロプロステノールについて	3
2 . 製剤について	3
3 . ダルマジンの安全性に係る知見等について	4
(1)ヒトに対する安全性について	4
(2)残留性について	6
(3)対象動物における安全性試験	7
4 . その他の知見について	7
5 . 食品健康影響評価について	8
6 . 参考文献	9

審議の経緯

平成18年 2月20日	厚生労働大臣及び農林水産大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成18年 2月23日	第132回食品安全委員会（要請事項説明）
平成18年 2月24日	第47回動物用医薬品専門調査会
平成18年 3月29日	第50回動物用医薬品専門調査会
平成18年 4月28日	第52回動物用医薬品専門調査会
平成18年 5月11日	第142回食品安全委員会
平成18年 5月11日	
- 6月9日	国民からの意見情報の募集
平成18年 6月21日	動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
平成18年 6月22日	第148回食品安全委員会 同日付で食品安全委員会委員長から農林水産大臣、厚生労働大臣に通知

食品安全委員会委員

委員長	寺田 雅昭
委員長代理	寺尾 允男
	小泉 直子
	坂本 元子
	中村 靖彦
	本間 清一
	見上 彪

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員

H17.10.1～

座長	三森 国敏	
座長代理	井上 松久	
	青木 宙	津田 修治
	明石 博臣	寺本 昭二
	江馬 眞	長尾 美奈子
	大野 泰雄	中村 政幸
	小川 久美子	林 眞
	渋谷 淳	藤田 正一
	嶋田 甚五郎	吉田 緑
	鈴木 勝士	

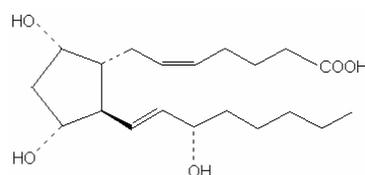
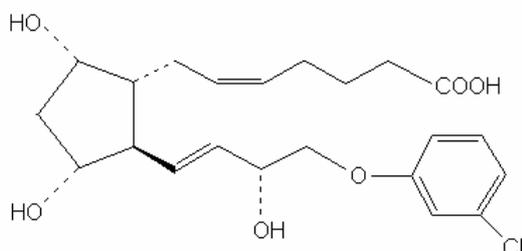
d-クロプロステノールを有効成分とする牛及び豚の注射剤(ダルマジン)の食品健康影響評価について

食品安全委員会は食品安全基本法(平成 15 年法律第 48 号)第 24 条 1 項第 8 号の規定に基づき、農林水産大臣から、d-クロプロステノールを有効成分とする牛及び豚の注射剤(ダルマジン)について、同法第 24 条 1 項第 1 号の規定に基づき厚生労働大臣から d-クロプロステノールについて、意見を求められた。(平成 18 年 2 月 17 日、関係書類を接受)

本製剤の有効成分は d-クロプロステノールであり、牛の発情周期の同調、黄体退行遅延に基づく卵巣疾患の治療、豚の分娩誘発の目的で用いられる。

1. d-クロプロステノールについて^{(1),(2),(3)}

d-クロプロステノール(d-cloprostenol)



PGF2

分子式	: C ₂₂ H ₂₉ ClO ₆
分子量	: 424.92
常温における性状	: 白色～微黄色の粘調性油またはワックス
融点	: 約 44.2～44.7
溶解度	: アセトン及びジクロロメタンに可溶

プロスタグランジンは子宮収縮性物質として発見され、その後生体内の組織に広く存在し様々な生理作用を有することが明らかにされている。このうちプロスタグランジン F_{2α}(PGF_{2α})はウシでは子宮内膜上皮細胞等で産生され、卵巣で黄体退行因子として作用する。ブタにおいても同様の効果が認められており、これらの動物においては生理的な黄体退行因子と考えられている。クロプロステノールは PGF_{2α} の合成類縁体で、通常ラセミ体として合成される。ラセミ体のうち、子宮収縮や黄体退行作用の PGF_{2α} 様の生理活性を有するのは d-体のみである。PGF_{2α}、あるいはクロプロステノールは、後述するようにいずれも投与後速やかに排泄されることから、畜産において黄体を退行させ発情を同期化する目的や子宮収縮作用による分娩誘発の目的で汎用されている。

クロプロステノールを主剤とする動物用医薬品は、すでに国内でラセミ体を用いた製剤が承認され、使用されている。国外では、EU、米国等において広く使用されている。

2. 製剤について⁽⁴⁾

ダルマジンはd-クロプロステノールを主剤とする注射剤で、同一製剤がすでに主としてEUで承認され、牛、豚及び馬を対象に使用されている。用法・用量は牛で 2mL、豚で 1mL、馬で 1mL を筋肉内に注射するとされており、休薬期間は牛、豚で 24 時間、牛乳で 12 時間である。防腐剤を含有するが、ヒト用の注射剤にも 0.1w/v%程度添加されて使用されてきており、動物体内におけ

る代謝、排泄も速やかであることから、ヒト用医薬品と同レベルの防腐剤の動物用製剤への含有が食品を介してヒトに与える影響は無視できるものと考えられる。

なお、国内における使用対象は牛の発情周期の同調、黄体退行遅延に基づく卵巣疾患の治療、豚の分娩誘発であり、用法・用量は牛で 2mL、豚で 1mL を筋肉内に注射するとされており、休薬期間は牛 3 日、豚 1 日、牛乳 12 時間とされている。

3. ダルマジンの安全性に係る知見等について

(1) ヒトに対する安全性について^{(5),(6)}

変異原性については次のような *in vitro* 及び *in vivo* 試験の知見が得られている。

in vitro 試験

試験	対象	用量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102	313 ~ 5000 µg/plate(±S9)	陰性 ¹
染色体異常試験	培養ヒトリンパ球	23.2 ~ 4990 µg/mL (-S9; 2hr+22hr)	陰性 ²
		23.2 ~ 4990 µg/mL (+S9; 3hr+21hr)	陽性 ³ (2320µg/mL)

1 plate incorporation, pre-incubation のそれぞれを実施。Pre-incubation の最高濃度で生育阻害が認められた。

2 4990µg/mL では細胞毒性が認められた。

3 4990µg/mL では細胞毒性が認められた。

in vivo 試験

試験系	試験対象	用量	結果
小核試験	マウス骨髄	10, 20, 40mg/kg 体重/日 単回腹腔内	陰性 ¹

1 投与群では多染性赤血球に対する成熟赤血球比率の上昇が認められた

上記のように、*in vitro* の試験においては、培養ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験で S9 存在条件下の高用量時で陽性と判定される所見が認められたが、骨髄に対して毒性の認められる用量まで試験されたげっ歯類を用いた *in vivo* の小核試験では陰性であった。このため、d-クロプロステノールが生体にとって問題となるような遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられる。

また、次の毒性試験の知見が報告されている。

【ラットを用いた亜急性毒性試験】

4 週齢の SD 系ラット(雌雄各 3 匹/群)を用いた筋肉内(0, 6, 40, 300, 2000 µg/kg/日)投与における 21 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通りであった。

一般的な臨床症状観察では、2000µg 投与群の雌雄で呼吸数の増加、眼瞼下垂、軟便が認められた。

体重変化では、300µg 以上投与群の雄において低値が認められ、摂餌量では 300µg 以上投与群の雌、2000µg 投与群の雄で低下が認められた。

眼科的検査では異常は認められなかった。

血液学的検査では、300µg 以上投与群の雌雄で血小板の減少、雄で活性化トロンボプラスチン時間の短縮、雌で赤血球数、Hb の減少が認められ、2000µg 投与群の雄でプロトロンビン時間の延長、雌で MCV の増加が認められた。

血液生化学的検査では、40µg 以上投与群の雄及び 2000µg 投与群の雌で塩素の高値が認められた。300µg 以上投与群の雄でナトリウム、2000µg 投与群の雄でグロブリン、BUN の増加が

認められた。また、300 μ g 投与群の雄 1 匹、2000 μ g 投与群の 2 匹で ALT、AST の高値が認められた。

尿検査では、40 μ g 以上の投与群の雄、300 μ g 投与群の雌において pH の低値が認められた。

臓器重量では、300 μ g 以上投与群の雄で甲状腺の相対重量の増加、雌で増加傾向が認められた。

剖検では、2000 μ g 投与群の雄の 1 例で甲状腺の拡張が認められた。

病理組織学的検査では、40 μ g 以上投与群の雌で黄体細胞の空胞化が認められた。また 300 μ g 以上投与群の雌雄で甲状腺濾胞細胞の萎縮、雄腎臓で両側性の好塩基性尿細管、2000 μ g 投与群の雄の 1 例で肝臓の多巣性及び単細胞壊死が認められた。

また、4 週齢の SD 系ラット(雌雄各 10 匹/群)を用いた強制経口(0、4、20、100、500 μ g/kg/日)投与における 91 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通りであった。

一般的な臨床症状観察では、特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

体重変化、摂餌量では 500 μ g 投与群の雄で低い傾向が認められた。

眼科的検査では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伴う異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、20 μ g 投与群の雄及び 100 μ g 投与群の雌で AST、ALT、 γ -GTP の高値傾向、100 μ g 以上投与群の雄及び 500 μ g 投与群の雌では高値が認められた¹。また、100 μ g 以上投与群の雄でコリンエステラーゼの高値、500 μ g 投与群の雌雄で LDH の高値、雄で AP、総たん白質、Tcho の高値が認められた。

尿検査では、500 μ g 投与群の雄において比重の高値が認められた。

臓器重量では、500 μ g 投与群の雌で腎臓の相対重量の高値が認められた。

剖検では、500 μ g 投与群の雌で肝臓、腎臓(片側)、卵巣の大型化がそれぞれ 1 例で認められた。

病理組織学的検査では、20 μ g 以上投与群の雄、500 μ g 投与群の雌で肝臓の巣状壊死の発生率増加、20 μ g 以上投与群の雌で黄体細胞の空胞化が認められた。剖検で卵巣の大型化が認められた個体では黄体数の増加が認められた。

最も低い用量で認められた影響は 13 週間投与の雌の黄体細胞の空胞化と雄の肝臓の巣状壊死で、NOAEL は 4 μ g/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた 1 世代繁殖毒性試験】

SD 系ラット(雌雄各 25 匹/群)を用いた強制経口 (0、2、10、50 μ g/kg 体重/日)投与による 1 世代繁殖試験が実施されている。被験物質の投与は、交配前 8 週から雄は交配成立まで、雌は分娩後 21 日の F₁ 児離乳まで行った。

親動物においては、50 μ g 投与群の雌で妊娠 20 日から全ほ育期間にわたって摂餌量が低下した。25 例中 7 例で早産が認められ、妊娠期間の短縮と出産率の低下が認められた。性周期、交尾率、受胎率には投与の影響はみられなかった。

児動物においては、50 μ g 投与群で早産の影響と考えられるほ育 0 日の生存児数減少、ほ育 4 日生存率の低下、ほ育期間中の体重増加量低下、開眼の遅延が認められた。その他には児動物の臨床観察や感覚反射機能検査に被験物質投与の影響は認められなかった。

本試験における NOAEL は親動物の雄で 50 μ g/kg 体重/日、雌で 10 μ g/kg 体重/日、児動物で 10 μ g/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた催奇形性試験】

SD 系ラットを用いた強制経口(0、6、30、150 μ g/kg 体重/日²)投与による催奇形性試験において

¹雌の γ -GTP については 500 μ g 投与群の高値傾向のみ。

² 交配の結果用量順に 23、25、25、21 匹の妊娠が確認されたためこれらを用いて試験が実施された。

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 日の間行い、妊娠 20 日に帝王切開した。

母動物に死亡は認められなかったが、150 μ g 投与群の約半数(11/21)で早産あるいは初期流産が認められた。早産は 30 μ g でも 1 例(1/25)認められた。体重や摂餌量に投与の影響はみられなかった。

流産及び早産と関連して 150 μ g 投与群で胎児の死亡率の増加が認められた。生存胎児の性比³や体重に投与の影響は認められなかった。また、150 μ g 投与群で骨化遅延が観察されたが、胎児の外表、内臓および骨格観察において奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物に対する NOAEL は 6 μ g/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 30 μ g/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかった。

【ウサギを用いた催奇形性試験】

日本白色種ウサギ(10~12 匹/群)を用いた強制経口(0, 0.1, 0.5, 2.5 μ g/kg 体重/日)投与による催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 日の間行い、妊娠 28 日に帝王切開した。

母動物に死亡は認められなかったが、2.5 μ g 投与群の 8 匹に膣出血が認められ、そのうちの 7 匹が流産した。体重や摂餌量に投与の影響はみられなかった。

胎児の死亡率、性比および体重に被験物質投与の影響は認められず、外表、内臓および骨格観察においても奇形の発現率に影響は認められなかった。2.5 μ g/kg 体重/日で腎盂拡張の発現率の上昇がみられた。

以上の結果から、本試験の母動物に対する NOAEL は 0.5 μ g/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 0.5 μ g/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかった。

(2)残留性について^{(7),(8),(9),(10)}

【ラットにおける分布、排泄試験】

ラットに ¹²⁵I でヨウ素化した d-クロプロステノールを大腿部に筋肉内投与し、4320 分後まで全血、血漿及び肝臓、腎臓、甲状腺、子宮、卵巣、投与部位及び投与と反対側の大腿筋を採取し、放射活性を測定した。血漿中濃度は投与直後(5 分後)に最大値を示し、その後減少して 12 時間後には検出されなくなった。各臓器への分布は速やかで筋肉や腎臓では投与直後(5 分後)、肝臓、卵巣、子宮では 20 分後に C_{max} に達した。その後の消失は速やかで、肝臓における T_{1/2} は 5.7 時間であった。

【乳牛における分布、排泄試験】

製剤 2mL⁴を体重約 520kg の乳牛に筋肉注射し、360 分後まで採血して RIA 法で血漿中濃度の推移が検討された。T_{max} は約 90 分、その時の C_{max} は約 1338pg/mL であり、T_{1/2} は 97 分であった。

常用量(2mL⁵)あるいは 2 倍量(4mL⁶)の製剤をホルスタイン種の雌成牛の大腿部に筋肉内注射し、投与 1 時間、1 日、2 日後に各 3 頭から血漿、背部筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸、注射部位筋肉及びその周囲の筋肉を採取し RIA 法で d-クロプロステノールの分布を確認した。1 時間後の被験物質濃度は注射部位において最も高く、次いで注射部位周辺筋肉であった。その他の部位はいずれも 1ppb 未満程度が検出されたのみであった。常用量、2 倍量とも投与 1 日後には全試料が検出限界以下⁷となった。

同様の条件で別途行われた試験においても分布、消長ともほぼ同様の結果が認められたが、

³ 対照群との比較では有意差が認められたが、これは対照群の性比が低いことに起因するもので、通常の変動の範囲内であった。

⁴ d-クロプロステノール 150 μ g/頭

⁵ d-クロプロステノール 150 μ g/頭

⁶ d-クロプロステノール 300 μ g/頭

⁷ 検出限界 0.1ppb

2 倍量投与群の 1 頭の注射部位で 1 日後の採取で 0.4ppb が検出された。2 日後には全て検出限界以下となったが、さらに確認のため、試験試料の採取を 3 日後に設定した残留確認試験が実施された。その結果、3 日後の注射部位及び周辺の筋肉のいずれからも d-クロプロステノールは検出されなかった。

乳汁における消長を確認するために、ホルスタイン種の泌乳牛に常用量あるいは 2 倍量の製剤を臀部筋肉内に注射し、投与 12 時間後から 12 時間毎に 72 時間までの乳汁を採取し、RIA 法で d-クロプロステノールの分泌を確認した。常用量、2 倍量ともに 12 あるいは 24 時間後の試料のいずれからも d-クロプロステノールは検出されなかった。同様の条件で別途行われた試験においても同様に乳汁から d-クロプロステノールは検出されなかった。

また、排泄経路は糞から 4 割前後、尿から 5 割強であり、乳汁からの排泄は 1% に満たないと報告されている。

【雌豚における分布、排泄試験】

製剤 1mL⁸ を体重約 100kg の雌豚に筋肉注射し、480 分後まで採血して RIA 法で血漿中濃度の推移が検討された。T_{max} は 10-120 分とばらつきが認められたが平均では約 37 分で、その時の C_{max} は 2216-2266pg/mL であり、T_{1/2} は 192 分であった。

常用量(1mL⁹)あるいは 2 倍量(2mL¹⁰)の製剤を雌成豚の大腿部に筋肉内注射し、投与 1 時間、1 日、2 日後に各 3 頭から血漿、背部筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸、注射部位筋肉及びその周囲の筋肉を採取し RIA 法で d-クロプロステノールの分布を確認した。1 時間後の被験物質濃度は注射部位において最も高く、注射部位周辺筋肉にも認められたが、その他の部位はいずれも 1ppb 未満程度が検出されたのみであった。常用量、2 倍量とも投与 1 日後には全試料が検出限界以下¹¹となった。同様の条件で別途行われた試験においても分布、消長ともほぼ同様の結果が認められ、投与 1 日後には常用量、2 倍量とも全試料が検出限界以下となった。

これらより、対象動物においては、休薬期間後にはいずれの部位からも d-クロプロステノールは ppb レベルでも検出不可能となり、事実上消失することが確認された。

(3)対象動物における安全性試験⁽¹¹⁾

【泌乳牛における安全性試験】

泌乳牛(ホルスタイン種系非妊娠雌; 3 頭/群)を用いた 3 日間の筋肉内投与(0、2、20 mL/頭)による安全性試験においては、投与群で投与 2 日から全ての個体で発情徴候が認められた他には、一般状態、体重、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、病理学的検査のいずれにも投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

【豚における安全性試験】

雌豚(3 頭/群)を用いた 3 日間の筋肉内投与(0、1、10 mL/頭)による安全性試験においては、投与群で投与開始前から発情徴候を示した 1 頭を除き全ての個体で投与後 5 日までに発情徴候が認められた他には、一般状態、体重、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、病理学的検査のいずれにも投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

4. その他の知見について^{(12),(13),(14),(15)}

プロスタグランジンはアラキドン酸等から動物の組織で合成される生理活性物質で、様々な種類及び生理的活性を有する一群の化合物であり、A~J の各群に分けられ、さらに側鎖の二重結合の数で 1~3 に分類されている。PGF₂ はプロスタグランジンの一種で、血圧上昇、血管収

⁸ d-クロプロステノール 75µg/頭

⁹ d-クロプロステノール 75µg/頭

¹⁰ d-クロプロステノール 150µg/頭

¹¹ 検出限界 0.1ppb

縮、腸管運動亢進、子宮収縮、黄体退行、気管支収縮作用等を有することが知られており、ヒト用の医薬品としても利用されている。d-クロプロステノールはクロプロステノールのラセミ体のうちの一つで PGF₂ の合成類縁体である。

国内では PGF₂ 、クロプロステノールのラセミ体がすでに動物用医薬品として使用されており、海外では d-クロプロステノールもすでに使用されている。通常のウシ、ブタ等の食肉中には検出限界である 0.1ppb 以上のレベルの内因性 PGF₂ が存在しているとされており、薬理作用からこの系統の薬剤の用途は必然的に限定される。さらに排泄が極めて早いことが確認されていることから、クロプロステノールについて EMEA では ADI を設定しつつも MRL の設定は不要であるとしている。FDA では ADI、MRL とともに設定していない。JECFA における評価は実施されていない。

5. 食品健康影響評価について

上記の通り、ダルマジンの主剤である d-クロプロステノールは、各種の遺伝毒性試験から生体において遺伝毒性発がん性を示す可能性は低く、催奇形性試験の結果から、催奇形性はないと認められる。毒性試験において認められた主な影響はプロスタグランジン作用によるものと考えられ、また、臨床用量を投与した対象動物の試験においても、いわゆるプロスタグランジン作用以外の異常な副作用は認められていない。

さらに、薬剤の性質から使用機会が限定されており、また、動物体内における代謝・排泄が早く、投与 1 日後には ppb オーダーでほとんど検出不可能となる。これらのことから、本薬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 d-クロプロステノールを継続的に摂取する可能性は事実上ないものと考えられる。

これらのことを考慮すると、d-クロプロステノールを有効成分とする牛及び豚の注射剤(ダルマジン)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。

6. 参考文献

- 1) ダルマジン輸入承認書添付資料:物理的・化学的試験(未公表)
- 2) 新編畜産大辞典; 養賢堂(1996)
- 3) ダルマジン輸入承認書添付資料:開発の経緯及び外国における使用状況(未公表)
- 4) ダルマジン輸入承認申請書(未公表)
- 5) ダルマジン輸入承認書添付資料:吸入毒性等の特殊毒性に関する試験資料(未公表)
- 6) ダルマジン輸入承認書添付資料:亜急性毒性及び慢性毒性に関する試験資料(未公表)
- 7) ダルマジン輸入承認書添付資料:吸収、分布、代謝及び排泄に関する試験資料(未公表)
- 8) ダルマジン輸入承認書添付資料:残留性に関する試験資料(未公表)
- 9) Peter R. Reeves (1978); Distribution, elimination, and residue studies in the cow with synthetic prostaglandin estrumate
J. Agric. Food Chem. 26, No.1, 152-155
- 10) Geoffrey RB et, al(1980); Clearance of the synthetic prostaglandin cloprostenol ("Estrumate") from the milk of cows
J. Agric. Food Chem. 28, No.1, 142-144
- 11) ダルマジン輸入承認書添付資料:安全性に関する試験資料(未公表)
- 12) cloprostenol and R-cloprostenol SUMMARY REPORT(1); EMEA(1997)
- 13) cloprostenol and R-cloprostenol SUMMARY REPORT(1); EMEA(2004)
- 14) FDA ANADA 200-310
- 15) 21CFR § 522.460 Cloprostenol sodium